



赵航, 吴国星, 汤永玉, 张曼, 梁晨, 邢孔政, 兰明先, 高熹. 叉角厉蝽触角转录组及嗅觉相关基因分析 [J]. 环境昆虫学报, 2022, 44 (5): 1205 – 1217.

叉角厉蝽触角转录组及嗅觉相关基因分析

赵 航, 吴国星, 汤永玉, 张 曼, 梁 晨, 邢孔政, 兰明先, 高 熹*

(云南农业大学植物保护学院, 昆明 650201)

摘要: 叉角厉蝽 *Eocanthecona furcellata* 是一种在生物防治方面有重要作用和潜力的捕食性天敌昆虫, 触角是昆虫进行信息交换的重要器官, 而嗅觉相关基因则是调控天敌昆虫捕食行为的重要分子基础。为获得叉角厉蝽触角转录组数据库, 挖掘叉角厉蝽嗅觉相关基因, 本研究利用 Illumina 高通量测序平台对叉角厉蝽雌雄成虫与 5 龄若虫触角进行转录组测序。成功构建了叉角厉蝽触角转录组, 获得了 67 843 条 unigenes, N50 长度为 2 300 bp。与七大公共数据库比对注释到 27 686 条 unigenes, 其中 NR 数据库注释最多 (33.33%), 且与茶翅蛾 *Halyomorpha halys* 相似度最高 (64.20%)。14 258 条注释到 GO 数据库中, 分为生物过程、细胞组分和分子功能 3 个大类 42 个亚类; KEGG 代谢途径分析表明, 7 703 条形成 282 条代谢通路, 其中被注释在信号传导通路中的 unigenes 最多 (11.50%)。进一步基因注释分析, 鉴定得到 134 个候选嗅觉相关基因, 32 个化学感应蛋白基因 (Chemosensory protein genes, CSP), 10 个气味结合蛋白基因 (Odorant binding protein genes, OBP), 21 个气味受体基因 (Gustatory receptor genes, GR), 48 个嗅觉受体基因 (Olfactory receptor genes, OR), 17 个离子型受体基因 (Ionotropic receptor genes, IR), 6 个感觉神经元膜蛋白基因 (Sensory neuron membrane protein genes, SNMP)。通过比较叉角厉蝽 5 龄若虫、雌雄成虫触角转录组, 共筛选出 7 324 个差异表达基因, 分析发现 5 龄若虫与成虫间的差异表达基因较多, 雌雄成虫之间差异表达基因较少; 利用 FPKM 值对 OBP 与 CSP 基因进行表达量分析发现, 大部分 OBP 与 CSP 的表达量在雌雄间差异不大, 而若虫与成虫相比基因表达量差异较大, 除少部分基因在 5 龄若虫中高表达外, 其余大部分基因均在雌雄成虫间高表达。本研究获得了叉角厉蝽触角转录组数据, 并鉴定出候选嗅觉相关基因, 结果为进一步研究叉角厉蝽的嗅觉感受机制及昆虫化学生态奠定分子基础。

关键词: 叉角厉蝽; 触角转录组; 基因注释; 嗅觉相关基因; 差异表达基因

中图分类号: Q963; S476

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858 (2022) 05-1205-13

Analysis of the antennal transcriptome and olfaction-related genes of *Eocanthecona furcellata*

ZHAO Hang, WU Guo-Xing, TANG Yong-Yu, ZHANG Man, LIANG Chen, XING Kong-Zheng, LAN Ming-Xian, GAO Xi* (School of Plant Protection, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract: *Eocanthecona furcellata* is a kind of natural predator which plays an important role and potential in biological control. Antennae is an important organ for insect information exchange and its olfaction-related genes are an important molecular basis for regulating insect predatory behavior. The objective of this study is to establish the antennal transcriptome database of *E. furcellata*. The antennal

基金项目: 云南省农业联合专项 (202101BD070001-050); 云南省基础研究计划 (202001AT070139); 云南省中青年学术和技术带头人后备人才项目 (202205AC160077); 云南省教育厅科学研究基金 (2020Y143)

作者简介: 赵航, 男, 硕士研究生, 主要研究方向为害虫生物防治, E-mail: zhaohang6666669@163.com

* 通讯作者 Author for correspondence: 高熹, 博士, 副教授, 主要研究方向为害虫生态控制, E-mail: chonchon@163.com

收稿日期 Received: 2021-06-02; 接受日期 Accepted: 2021-12-31

transcriptome of *E. furcellata* was sequenced using an Illumina platform, analyzed bioinformatically and identification and expression of olfactory related genes. In total, 67 843 unigenes with N50 length of 2 300 bp were obtained. After annotating for unigenes in gene function database, 27 686 unigenes obtained functional annotation. Information 33.33% unigenes were annotated to the NR database. *E. furcellata* unigenes had the highest similarity (64.2%) to those of *Halyomorpha halys*. 14 258 unigenes were divided into 42 branches and three categories (biological processes, cellular components and molecular function) using Gene Ontology (GO). In the KEGG database, 7 703 unigenes were assigned to 282 known metabolic pathways. Among these, 11.50% unigenes were involved in the signal transduction pathway. By further analyzing transcriptome data, 134 olfaction-related genes of *G. mellonella* including 10 odorant binding protein (OBP) genes, 32 chemosensory protein (CSP) genes, 156 odorant receptor (OR) genes, 48 ionotropic receptor (IR) genes and 6 sensory neuron membrane protein (SNMP) genes. By comparing the transcriptome of 5th instar nymph, female and male adults, 7 324 differentially expressed genes were identified. The results showed that there were more differentially expressed genes between 5th instar nymph and adult, but less differentially expressed genes between male and female adults. In this study, FPKM value was used to analyze the gene expression of OBP and CSP. It was found that the gene expression of OBP and CSP had no significant difference between male and female. Most of the genes were up-regulated between male and female adults except a few of them were up-regulated in 5th instar nymphs. This study acquired the antennal transcriptome data of *E. furcellata* and identified olfaction-related genes. The results provide a foundation for the further study of the molecular mechanisms and chemical ecology of insects of olfactory reception in *E. furcellata*.

Key words: *Eocanthecona furcellata*; antennal transcriptome; gene annotation; olfaction-related genes; differentially expressed genes

叉角厉蝽 *Eocanthecona furcellata* 是一种重要的捕食性天敌昆虫, 对鳞翅目 Lepidopteran、鞘翅目 Coleopteran 和半翅目 Hemiptera 的害虫具有很好的控害作用。其属半翅目 Hemiptera 蝽科 Pentatomidae 益蝽亚科 Asopinae, 广泛分布于热带与亚热带, 目前国内外对其生物学特性 (朱涤芳, 1990)、捕食功能 (谢钦铭等, 2001; 李文华等, 2015; 陈然等, 2015; 唐敏等, 2019; 廖贤斌等, 2020)、唾液腺 (高平等, 2020)、臭腺 (Ho *et al.*, 2003)、触角超微结构 (Zhao *et al.*, 2021) 等方面进行了广泛的研究, 但目前未见有对其嗅觉基因方面的研究。

昆虫主要通过触角来感受外界气味环境, 在长时间的进化过程中形成了由位于触角上表皮特化而形成的嗅觉感受器来敏锐且特异地感知各种化学信息的嗅觉系统 (修伟明等, 2005; 周正等, 2012; Brito *et al.*, 2016), 植物-植食性昆虫-天敌三重营养之间的化学通讯主要通过昆虫的触角来完成 (游灵等, 2012)。触角在定位寄主、寻求配偶、觅食或产卵等种群生存及繁衍过程中均

发挥重要作用 (Becher *et al.*, 2012)。目前研究中发现昆虫嗅觉识别过程一般需要多种类型的蛋白参与, 主要有: 载体功能的气味结合蛋白 (odorant-binding Proteins, OBP), 接受、结合、运输功能的化学感受蛋白 (chemosensory proteins, CSP), 激活气味分子功能的嗅觉受体 (odorant receptors, OR) 和离子型受体 (ionotropic receptors, IR), 辅助 OR 的功能感受神经元膜蛋白 (sensory neuron membrane proteins, SNMP)、失活气味分子功能的气味降解酶 (odorant-degrading enzymes, OD) 等 (Leal *et al.*, 2013; 詹文会等, 2018)。由于嗅觉相关蛋白的种类众多, 功能具有多样性, 因此需要探明其类型和数量, 并以此为基础, 深入研究嗅觉相关蛋白在调控昆虫取食中作用 (李卫华等, 2006)。

近几年来, 随着新一代测序技术和转录组分析技术的快速发展, 已有相当多的学者对多种半翅目蝽类昆虫的嗅觉相关蛋白进行鉴定分类, 如: 蝽 *Arma chinensi* (OBP 38 个、CSP 1 个、OR 3 个、IR 12 个、GR 3 个、SNMP 3 个) (Wu

et al., 2020); 锤肋跷蝽 *Yemma signatus* (OBP 30 个、CSP 14 个、OR 66 个、IR 1 个、SNMP 3 个) (宋月芹等, 2019); 悬铃木方翅网蝽 *Corythucha ciliata* (OBP 26 个、CSP 14 个、OR 77 个、IR 11 个、SNMP 2 个) (杨海博, 2018); 点蜂缘蝽 *Riptortus pedestris* (OBP 8 个、CSP 4 个、OR 188 个、IR 2 个、SNMP 4 个) (宋月芹等, 2017); 绿盲蝽 *Apolygus lucorum* (OBP 38 个和 OR 110 个) (Yuan *et al.*, 2015; An *et al.*, 2016) 等, 这些研究成果为深入研究蝽类昆虫的嗅觉感受机制奠定了基础。

目前人们对叉角厉蝽触角转录组及嗅觉相关基因的类型和数目还知之甚少, 对叉角厉蝽的嗅觉系统进行深入研究有助于阐明触角在该虫的捕食定位及种内交流过程中的作用, 为解析嗅觉相关基因调控叉角厉蝽行为的分子机制奠定基础。为此, 本研究通过对叉角厉蝽的触角转录组进行生物信息学分析, 发掘叉角厉蝽嗅觉相关功能基因, 为其嗅觉分子机制的探索提供基础信息, 也为在农田生态系统中更好地利用该虫进行生物防控提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 昆虫采集与饲养

叉角厉蝽为采自云南省元江县并在室内利用黄粉虫蛹 *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) 饲养建立的实验室种群。

1.2 总 RNA 提取与质检

取实验室饲养的健康叉角厉蝽 5 龄若虫及初羽化 2 d 内的雌、雄成虫各 300 头, 用镊子和解剖针分别将触角从其基部分离, 并立即放入液氮中保存, 5 龄若虫、雌、雄成虫各装 3 管, 每管触角 100 对, 置于 -80°C 备用。

按照 Trizol 法提取上述样品总 RNA, 采用 1% 琼脂糖凝胶电泳和 Nanodrop 2000 分光光度计分析 RNA 降解程度和纯度, 使用 Qubit RNA Assay Kit 对 RNA 浓度进行精确的定量, 用 Agilent 2100 (Agilent Technologies, CA, USA) 检测 RNA 完整性。

1.3 cDNA 文库构建与测序

取 1.5 μg 上述质检合格的总 RNA 样品构建文库: 使用带有 Oligo (dT) 的磁珠富集真核生物 mRNA, 之后利用 fragmentation buffer 片段化 mRNA。以 mRNA 目的片段为模板, 使用六碱基随

机引物 (random hexamers) 合成 cDNA 的第 1 链, 随后加入缓冲液、DNA、dNTPs、polymerase I 和 RNase H 合成 cDNA 的第 2 链, 再用 AMPure XP beads 纯化双链 cDNA。纯化后的双链 cDNA 先进行末端修复、加 A 尾和连接测序接头, 再使用 AMPure XP beads 进行片段大小选择。通过 PCR 扩增和 AMPure XP beads 纯化 PCR 产物得到最终的 cDNA 文库。最后将检验合格的 cDNA 文库在 Illumina HiSeq 测序平台上进行测序。cDNA 文库构建与测序由北京诺禾致源生物信息科技有限公司协助完成。

1.4 转录组拼接和功能基因注释

测序得到的原始数据经过处理去除序列接头、poly-N 和低质量 Reads, 获得高质量的 Clean Data, 并计算 Q20、Q30、GC 含量和序列重复水平。获得高质量的测序数据之后, 利用 Trinity 软件进行组装。将组装得到的 unigene 使用 BLAST 软件在七大数据库: 蛋白序列数据库 (NCBI non-redundant protein sequences, Nr)、核酸序列数据库 (NCBI nucleotide sequences, Nt)、蛋白结构域注释 (Protein family, Pfam)、基因本体论 (Gene Ontology, GO)、京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)、Swiss-Prot 数据库 (A manually annotated and reviewed protein sequence database, Swiss-Prot)、直系同源基因簇 (Karyotic Ortholog Groups, KOG/COG) 中进行比对, 从而获得功能基因注释信息。

1.5 嗅觉相关基因的鉴定与序列分析

根据 1.4 获得的 NR 数据库中最佳比对基因注释信息 (基因功能描述和简写), 筛选 (鉴定) 注释到的嗅觉相关基因 (OBP、CSP、GR、OR、IR 和 SNMP), 并根据得到的注释信息, 对嗅觉相关基因进行命名。需要注意的是, 不同的 unigenes 如果拥有完全一致的 NR 注释信息, 则这些 unigenes 序列全部作为同一类基因的不同拷贝, 纳入该基因的数目。

从 NCBI 数据库中下载烟粉虱 *Bemisia tabaci*、褐飞虱 *Nilaparvata lugens*、绿盲蝽 *Apolygus lucorum*、黑肩绿盲蝽 *Cyrtorhinus lividipennis*、灰飞虱 *Laodelphax striatellus* 和白背飞虱 *Sogatella furcifera* 等半翅目昆虫的 OBP 的核酸序列, 采用 ClustalX 进行多序列比对, 利用 MEGAX 软件邻接法 (neighbour-joining method) OBP 构建系统发育树 (bootstrap = 1 000)。

1.6 差异表达基因分析

使用 Salmon 对 unigene 的表达量水平进行估计, 利用每百万条 reads 的转录本 (transcripts per million, TPM) 计量在 RNA 池中某个转录本的比例。使用 DESeq2 软件进行基因表达差异分析, 选择 FDR 小于 0.05 且差异倍数 (fold change, FC) 大于 2 的为差异表达基因。根据 FPKM 值使用 TBTools 绘制基因表达量热图。使用 topGO 对差异表达基因进行 GO 富集分析, 使用 clusterProfiler 进行 KEGG 通路和 KOG 分类和富集分析。

2 结果与分析

2.1 转录组序列分析和组装

利用 Illumina 测序平台测序, 将测序获得的原始图像数据转化为序列数据。每个样本生成超过 6.02 Gb 的高质量数据。样本 GC 含量维持在 37.23% ~ 41.61% 之间。每个样本测得数据 Q20 均大于 97.00%, 碱基 Q30 百分比不少于 92.00%, 表明测序结果是高度准确的, 可以用于后续分析。因此, 经过过滤后得到的 clean reads 可以用于后期的拼接组装和生物信息学分析。

利用 Trinity 软件对所获得的 clean reads 进行拼接, 对拼接获得的 unigenes 的长度分别进行统计。共得到 139 819 个转录本 (transcripts), 序列信息达到 195 318 142 bp, 平均长度为 1 397 bp, N50 (覆盖 50% 所有核苷酸的最大序列重叠群长度) 长度为 2 300 bp。在转录本 (transcripts) 基础上进一步组装获得 67 843 条 unigenes, 长度为 74 194 665 bp, N50 长度为 1 720 bp, 长度超过 1 kb 的 unigenes 有 20 751 条, 占比 30.58% (图 1)。

2.2 基因功能注释

Unigenes 在七大数据库中 Blast 比对得到功能注释信息。组装获得的 unigenes 在至少一个数据库中被注释到的有 27 686 条 (40.80%), 在所有数据库中都被注释的有 3 401 条 (5.01%)。其中, NR 注释的 unigene 最多 22 617 (33.33%), 之后依次是 Pfam 14 259 (21.01%)、GO 14 258 (21.01%)、NT 12 826 (18.9%)、SwissProt 11 797 (17.38%)、KO 7 273 (10.72%); 在 KOG 数据库中注释的最少, 为 6 097 条 (8.98%)。从匹配的物种来源分析 (图 2), 与茶翅蛾 *Halyomorpha halys* 的 unigenes 相似性最高, 达到了 64.20%。其次与膜翅目 *Cryptotermes secundus*、温带臭虫 *Cimex lectularius*、褐飞虱 *Nilaparvata lugens*

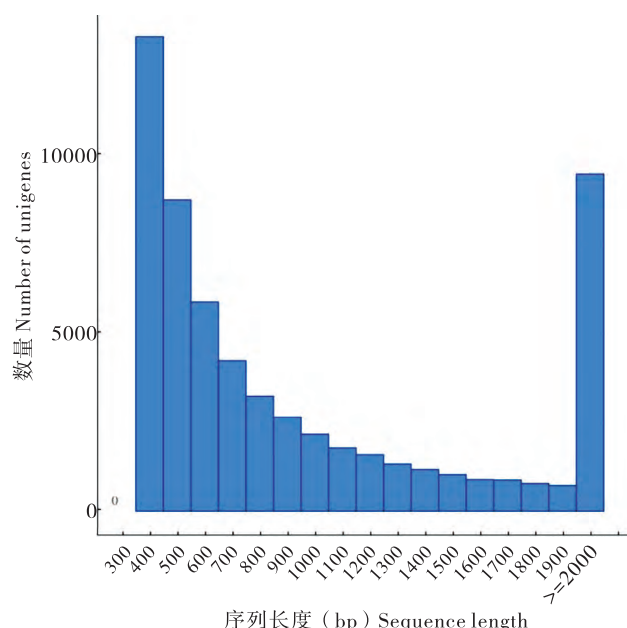


图 1 叉角厉蝽触角转录组 unigenes 长度分布

Fig. 1 Length distribution of unigenes in the antennal transcriptome of *Eocanthecona furcellata*

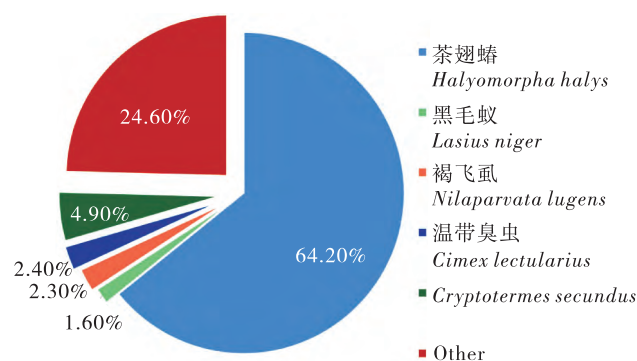


图 2 数据库中注释的叉角厉蝽触角 unigenes 的物种分布

Fig. 2 Species distribution of unigenes in the antennal transcriptome of *Eocanthecona furcellata* annotated in the NR database

lugens、黑毛蚁 *Lasius niger* 等基因序列对比上的分别为 4.90%、2.40%、2.30%、1.60%; 另外与其他物种同源的基因占 24.60%。

2.3 基因功能分类

叉角厉蝽触角转录组分别有 29 656 条 (51.29%)、15 526 条 (26.85%) 和 12 631 条 (21.84%) unigenes 被 GO 注释至生物学过程 (Biological process)、分子功能 (Molecular function) 和细胞组分 (Cellular component) 的 5 个功能亚类 (图 3)。生物学过程功能类型中, 最多的 3 个过程分别为: 细胞过程 (Cellular process) (7 996; 26.96%); 代谢过程 (Metabolic

process) (6 628; 22.34%); 生物调节 (Biological regulation) (3 168; 10.68%)。其余均在 3 000 条以下。分子功能类型中, 7 146 条 (46.02%) 和 5 240 条 (33.74%) unigenes 分别被注释至蛋白结合活性 (Binding) 和催化活性 (Catalytic activity), 数量较多; 被注释至转运活性 (Transporter activity) 的 unigenes 数量达到 1 132 条, 这与触角本身的功能相符。

所有 unigenes 经过 KOG 数据库功能预测和分类, 叉角厉蝽触角转录组共有 6 097 个 unigenes 得到注释, 并被分为 26 个 KOG 类 (图 4)。其中只有一般功能 (General function prediction only, R) 的 unigenes 数量最多, 为 1 107 条; 其次是信号转导机制 (Signal transduction mechanisms, T) 的 758 条, 转录 (Transcription, K) 的 699 条, 参与翻译后修饰、蛋白质转换、分子伴侣 (Posttranslational modification, Protein turnover, Chaperones, O) 的 622 条; 其余均低于 600 条。

将所有的 unigenes 比对到 KEGG 数据库, 结果显示有 7 703 条 unigenes 发现有 7 427 条 unigenes 参与了 5 类代谢通路: 细胞进程 (Cellular process), 环境信息处理 (Environmental information processing), 遗传信息处理 (Genetic information processing), 新陈代谢 (Metabolism) 和有机系统 (Organismal system) (图 5)。获注释数最多的 3 个代谢通路分别为信号转导通路 (Signal transduction, 886 条)、运输和分解代谢 (Transport and catabolism, 566 条) 和氨基酸代谢 (Amino Acid metabolism, 561 条)。



图 3 叉角厉蝽触角 unigenes 的 GO 分类

Fig. 3 Gene ontology (GO) classification of assembled *Eocanthecona furcellata* unigenes

注: A, 生物学过程; B, 分子组分; C, 分子功能。
Note: A, Biology process; B, Cellular Component; C, Molecular Function.

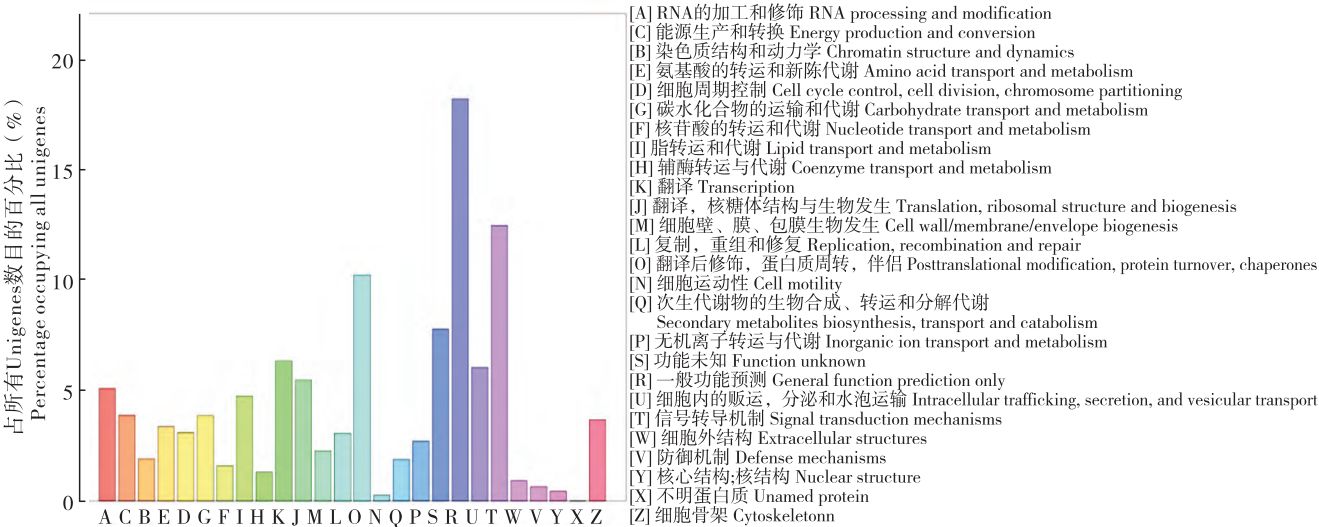


图 4 叉角厉蝽触角 unigenes 的 KOG 分类

Fig. 4 Karyotic orthologous groups (KOG) classification of *Eocanthecona furcellata* unigenes

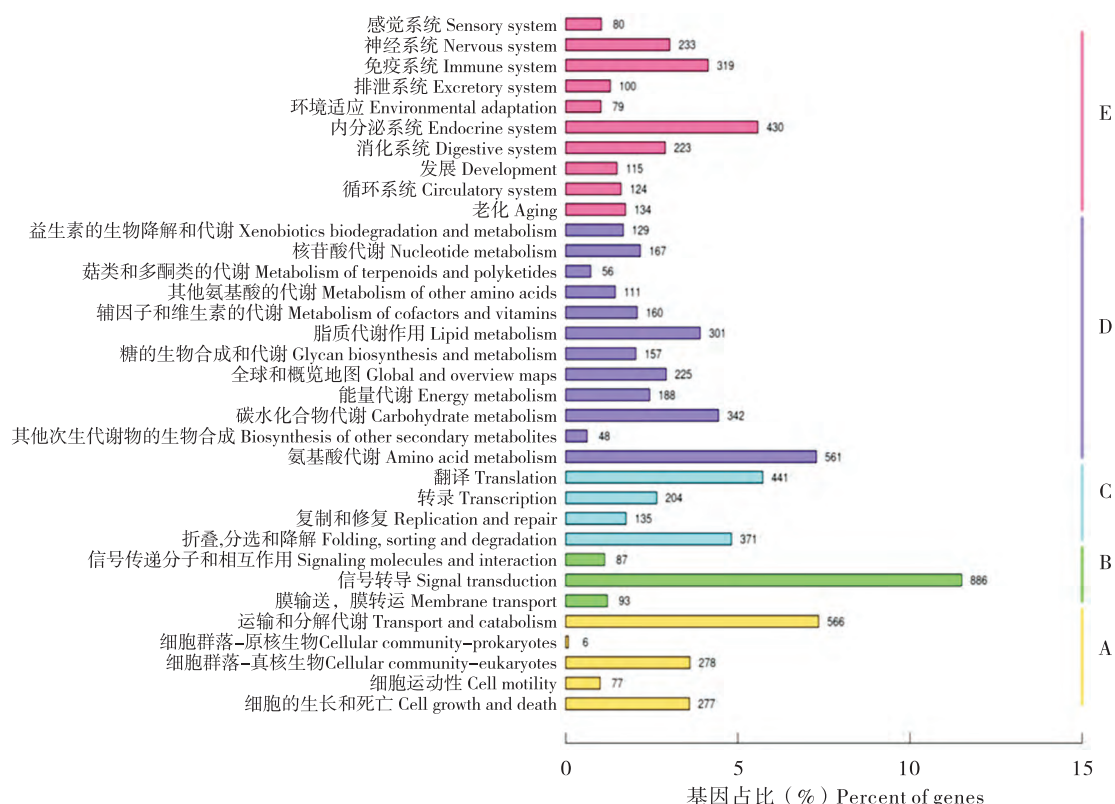


图5 叉角厉蝽触角转录组 unigenes 的 KEGG 通路分析

Fig. 5 Classification of *Eocantecona furcellata* transcriptome based on KEGG

注: A, 细胞过程; B, 环境信息处理; C, 遗传信息处理; D, 代谢; E, 有机系统。Note: A, Cellular Processes; B, Environmental Information Processing; C, Genetic Information Processing; D, Metabolism; E, Organismal Systems.

2.4 差异表达基因分析

本研究发现叉角厉蝽触角共有 67 843 个基因表达。雌雄成虫间共有 90 个基因差异表达, 雌成虫较雄成虫, 高表达 22 个低表达 68 个; 雌成虫与 5 龄若虫间共有 6 510 个基因差异表达, 雌成虫较 5 龄若虫, 高表达 3 059 个低表达 3 451 个; 雄成虫与 5 龄若虫间共有 5 311 个基因差异表达, 雄成虫较 5 龄若虫, 高表达 2 605 个低表达 2 706 个。

将上述差异基因构建差异基因韦恩图 (图 6-A), 可以展示不同比较组间差异基因的重合情况和筛选几个比较组合共有或独有的差异基因。由图可见, 三个比较组合共有的差异基因有 22 个, 雌性成虫比较组合、雌成虫 5 龄若虫比较组合、雄成虫 5 龄若虫比较组合独有的差异基因各有 6 个、1 988 个、765 个, 两两共有的差异基因各有 19、43、481 个。对三组样品差异基因采用层次聚类对基因的 FPKM 值进行聚类分析 (图 6-B), 可以发现雌雄成虫之间基因表达量差异较低, 若虫基因表达量与成虫基因表达量显著差异。

GO 功能富集分析发现, 雌成虫与 5 龄若虫相比差异表达基因中有 108 个 (104 个高表达) 基因涉及嗅觉感官知觉的生物过程; 108 个 (104 个高表达) 基因涉及嗅觉受体活性分子功能; 126 个 (117 个高表达) 基因涉及气味结合分子活性功能。雄成虫与 5 龄若虫相比有 88 个 (85 个高表达) 基因涉及嗅觉感官知觉的生物过程; 87 个 (85 个高表达) 基因涉及嗅觉受体活性分子功能; 103 个 (97 个高表达) 基因涉及气味结合分子活性功能。这些在雌雄成虫触角中高表达的嗅觉基因为叉角厉蝽性信息素结合蛋白的鉴定提供了基础与可能。

KEGG 功能富集发现雌雄成虫之间的差异表达基因之间发现涉及信号转导的通路显著富集如 (图 7-A): AMPK 信号通路 (AMPK signaling pathway) 和 PPAR 信号通路 (PPAR signaling pathway); 雌成虫与 5 龄若虫相比差异表达基因在解毒代谢通路上显著富集如 (图 7-B): 药物代谢-其他酶 (Drug metabolism-other enzymes)、药物

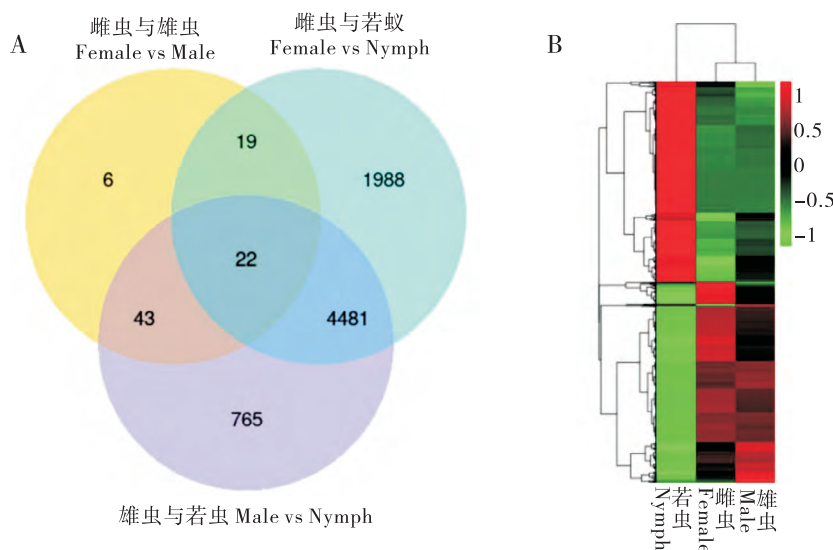


图6 叉角厉蝽雌、雄成虫与5龄若虫差异表达基因的温恩图与聚类热图

Fig. 6 Wenn map and cluster heat map of differentially genes between male and female adults and 5th instar nymphs of *Eocanthecona furcellata*

注：A，差异表达基因韦恩图；B，差异表达基因聚类热图。Note：A，Wenn map of the differentially gene；B，Cluster heat map of differentially genes.

代谢-细胞色素（P450Drug metabolism-cytochrome P450）和谷胱甘肽代谢（Glutathione metabolism）。在激素合成合成的相关通路上也显著富集如：昆虫激素生物合成（Insect hormone biosynthesis）、类固醇类激素的生物合成（Steroid hormone biosynthesis）。雄成虫与5龄若虫相比差异基因在代谢通路上显著富集如（图6-C）：嘧啶代谢作用（Pyrimidine metabolism）、嘌呤代谢（Purine metabolism）、氨基糖和核苷酸糖代谢（Amino sugar and nucleotide sugar metabolism）、花生四烯酸代谢（Arachidonic acid metabolism）、亚油酸代谢（Linoleic acid metabolism）。

2.5 嗅觉相关基因筛选及 OBP 基因系统发育分析

在本研究中，通过同源比对，共鉴定到134个嗅觉相关的基因，包括32个化学感应蛋白基因（Chemosensory protein genes, CSP, 23.88%）、10个气味结合蛋白基因（Odorant binding protein genes, OBP, 7.46%）、21个味觉受体基因（Gustatory receptor genes, GR, 15.67%）、48个嗅觉受体基因（Olfactory receptor genes, OR, 35.82%）、17个离子型受体基因（Ionotropic receptor genes, IR, 12.68%）、6个感觉神经元膜蛋白基因（Sensory neuron membrane protein genes, SNMP, 4.47%）（表1）。

表1 叉角厉蝽嗅觉相关基因

Table 1 Olfaction-related genes in the transcriptomes of *Eocanthecona furcellata*

嗅觉相关基因 Olfaction-related genes	总注释数 Total number of annotated unigenes	占比（%） Proportion
化学感应蛋白基因 Chemosensory protein genes（CSP）	32	23.88
气味结合蛋白基因 Odorant binding protein genes（OBP）	10	7.46
味觉受体基因 Gustatory receptor genes（GR）	21	15.67
嗅觉受体基因 Olfactory receptor genes（OR）	48	35.82
离子型受体基因 Ionotropic receptor genes（IR）	17	12.68
感觉神经元膜蛋白基因 Sensory neuron membrane protein genes（SNMP）	6	4.47

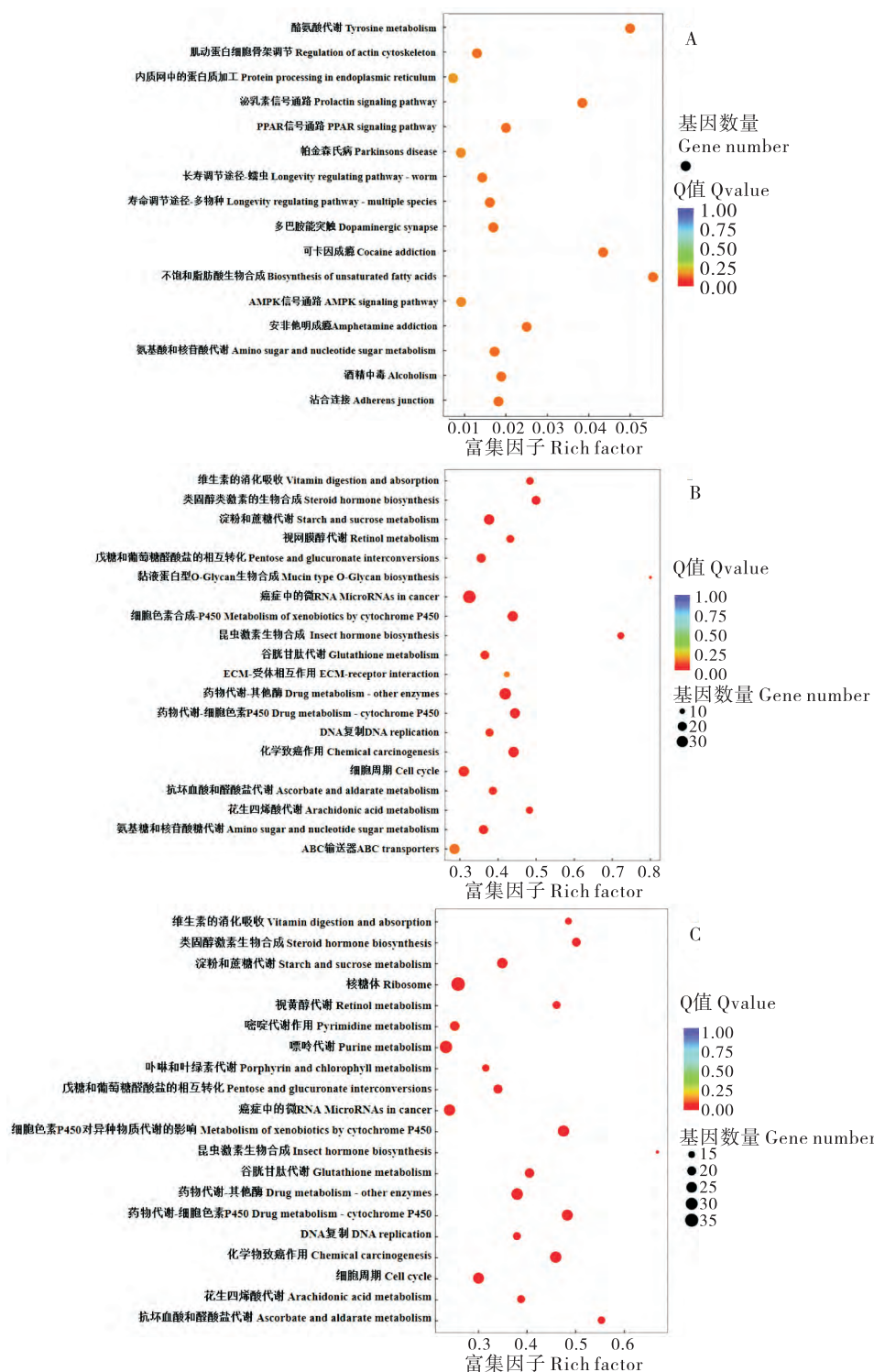


图7 叉角厉蝽差异表达基因 KEGG 功能富集气泡图

Fig. 7 Classification of *Eocanthecona furcellata* differential gene based on KEGG

注: A, 雌成虫与雄成虫; B, 雌成虫与5龄若虫; C, 雄成虫与5龄若虫。纵轴为通路名称, 横轴为通路对应的富集因子, Q值的大小用点的颜色表示, Q值越小颜色越红, 每个 pathway 包含的差异基因多少用点的大小来表示。
Note: A, Female vs Male; B, Female vs Nymph; C, Male vs Nymph. Longitudinal axis was pathway name and Rich factor for pathway of horizontal axis. The size of qvalue was represented by the color of the point, the smaller qvalue the more red. The number of different genes each pathway contains are expressed by the size of the points.

其中初步鉴定到的 10 个气味结合蛋白基因 (EfOBP1-10) 仅有 7 个 EfOBP 具有完整的开放阅读框, 其中 EfOBP2、6、8、9 具有 6 个保守的半胱氨酸位点, 符合气味结合蛋白的特征 (Cys-X15-39-Cys-X3-Cys-X21-44-Cys-X7-12-Cys-X8-Cys 或 C1-X20-66-C2-X3-C3-X21-43-C4-X8-14-C5-X8-C6, X 代表任意一种氨基酸), 为典型的 OBP, 其余 3 条为 Plus-C OBP (含有 8 个保守的 Cys)。气味结合蛋白系统发育树中包含叉角厉蝽所有 10 条 EfOBP 序列及其余 6 种半翅目昆虫的 92 条 OBPs 序列, 共计 102 条 OBPs 氨基酸序列 (图 8)。由图可见, 叉角厉蝽 EfOBP9 与烟粉虱 BtOBP6 聚为同一枝, 且与灰飞虱 LsOBP2、白背飞虱 SfOBP2、叉角厉蝽

EfOBP1、2、3、5、10 聚在同一枝大只, 表明这 6 个叉角厉蝽的 EfOBP 关系比较相近; 其余 4 个 EfOBP 较为分散, 但都分别与至少与一个半翅目昆虫的 OBP 同源基因聚类在一支, 且序列一致性很高, 如: EfOBP7 和烟粉虱 BtOBP7, EfOBP4 和绿盲蝽 AIOBP4、黑肩绿盲蝽 ClOBP1, EfOB6 和绿盲蝽 AIOBP28, EfOB8 和绿盲蝽 AIOBP24, 由此可见叉角厉蝽 EfOBP4、6、8 与绿盲蝽的 OBP 基因具有较高的一致性, 亲缘关系较近; 对于半翅目其他不同种的昆虫的 OBP 基因, 也出现一定的聚类关系分别在进化树中形成多个独立的小分支; 同一种昆虫的不同 OBP 基因聚类关系较分散也形成了多个独立的小分支。

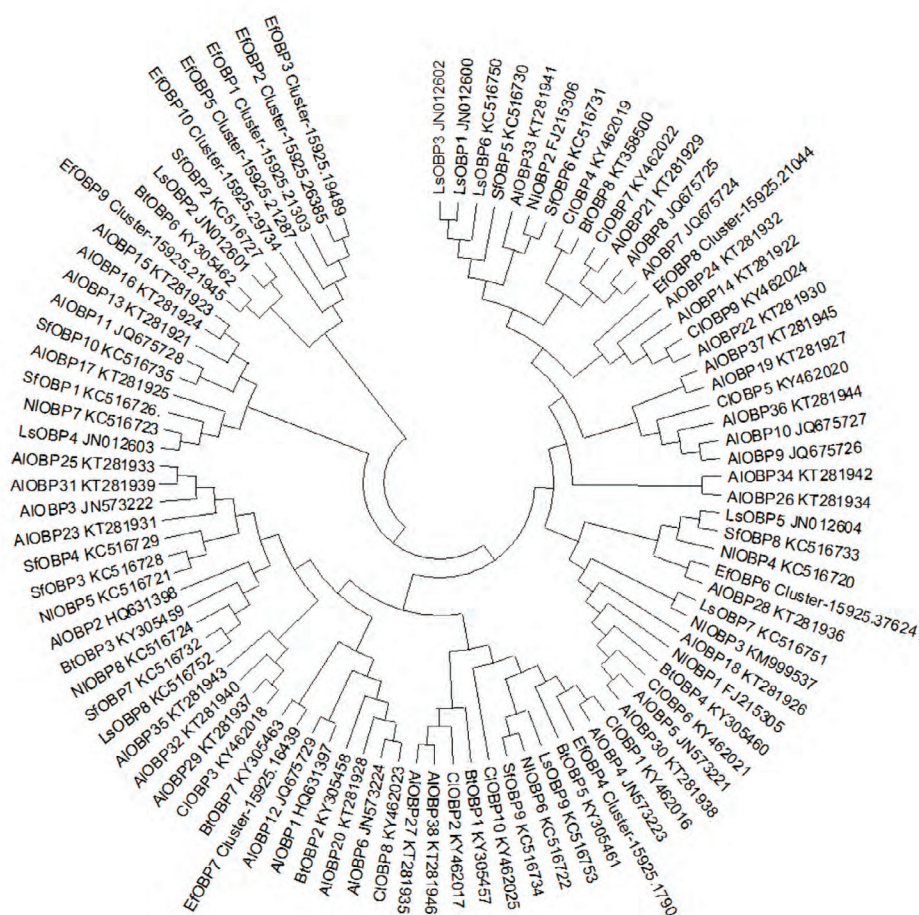


图 8 邻接法构建的基于叉角厉蝽与半翅目昆虫气味结合蛋白核苷酸序列系统发育树

Fig. 8 Neighborjoining tree of odorant binding proteins from *Eocanthecona furcellata* and hemipteran insects based on nucleotide sequence

注: Ef, 叉角厉蝽; Bt, 烟粉虱; Nl, 褐飞虱; Al, 绿盲蝽; Cl, 黑肩绿盲蝽; Ls, 灰飞虱; Sf, 白背飞虱; OBP, 气味结合蛋白。Note: Ef, *Eocanthecona furcellata*; Bt, *Bemisia tabaci*; Nl, *Nilaparvata lugens*; Al, *Apolygus lucorum*; Cl, *Cyrtorhinus lividipennis*; Ls, *Laodelphax striatellus*; Sf, *Sogatella furcifera*; OBP, Odorant binding protein genes.

2.6 气味结合蛋白基因 (OBP) 与化学感受蛋白基因 (CSP) 表达量分析

对叉角厉蝽 10 个气味结合蛋白基因 (OBP) 与 32 个化学感受蛋白基因 (CSP) 各样本表达量 FPKM 值进行均一化处理后, 制作热图发现, 雌雄成虫聚为同一支, 绝大部分 OBP 与 CSP 表达量在雌雄间差异不大, 在若虫与雌雄成虫相比基因表达量显著差异 (图 9)。其中 OBP2、OBP4 在 5 龄若虫中较高表达, OBP1、OBP5、OBP6、OBP7、

OBP8、OBP9 在雌雄成虫中较高表达, OBP3 仅在雌成虫中高表达。CSP13、CSP22、CSP32 在雌雄成虫触角中表达量极低, 甚至不表达, 而在 5 龄若虫触角中较高水平表达, CSP6、CSP15、CSP16、CSP18、CSP21 在若虫中较高表达; CSP8、CSP31 在雄成虫与 5 龄若虫中较高表达, CSP20、CSP2、CSP17 在雌成虫与 5 龄若虫中较高表达; 其余 CSP 在雌雄成虫中较高表达。

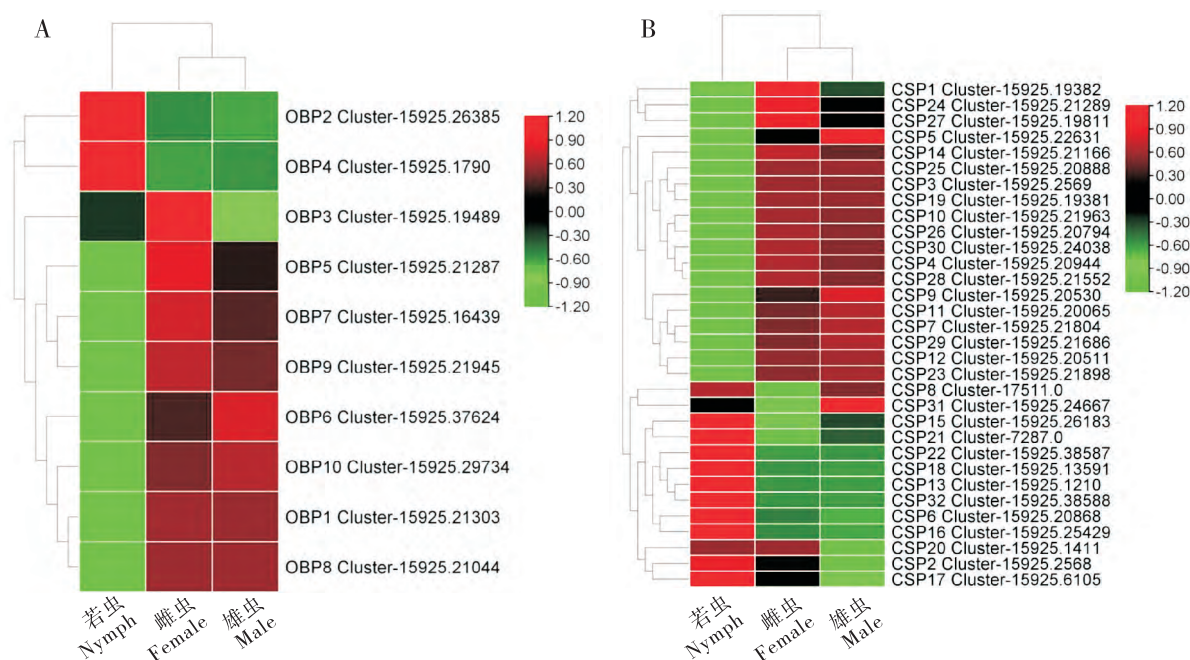


图 9 叉角厉蝽气味结合蛋白与化学感受蛋白表达模式热图—按照 FPKM 法计算差异基因的表达量

Fig. 9 Expression profiles of OBP and CSP expression profiles of genes were calculated based on $\ln$ (FPKM) of *Eocanthecona furcellata*

注: A, 气味结合蛋白; B, 化学感应蛋白。Note: A, OBP; B, CSP.

3 结论与讨论

叉角厉蝽是一种捕食能力很强的天敌昆虫, 尤其是对鳞翅目害虫具有很强的控害能力 (廖贤斌等, 2020)。近年来有许多相关学者对叉角厉蝽进行了系统深入的研究, 但目前针对叉角厉蝽嗅觉基因方面的研究未见有相关的报道。本研究利用 Illumina 测序技术对叉角厉蝽触角进行转录组测序和差异分析, 揭示了触角转录组的整体表达模式。通过序列的预处理、Trinity 拼接、转录本功能注释等步骤, 得到了触角转录组和嗅觉相关蛋白信息。测序得到的叉角厉蝽触角基因数据和其功能注释信息一方面为进一步的分子研究提供了奠

定基础, 另一方面也为反推化学生态学的研究提供了先决条件 (Zhu *et al.*, 2017)。

近些年随着高通量测序的高速发展, 众多的非模式昆虫利用其完成了转录本文库构建和功能基因挖掘, 在昆虫嗅觉方面, 相关学者对许多昆虫的嗅觉相关基因进行了深度的挖掘, 如: 温室白粉虱 *Trialeurodes vaporariorum* (蔡赛波等, 2020)、花椒窄吉丁 *Agrilus zanthoxylumi* (巩雪芳等, 2020)、七星瓢虫 *Coccinella septempunctata* (杨雪娇等, 2020)、苹果蠹蛾 *Cydia pomonella* (田珂等, 2020)、大蜡螟 *Galleria mellonella* (杨爽等, 2019)、云斑天牛 *Batocera horsfieldi* (胡佳萌等, 2019)、苜蓿盲蝽 *Adelphocoris lineolatus* (王琪等, 2019) 等。本次研究的叉角厉蝽触角转录组的拼

接效果良好。对 unigenes 进行功能注释发现, 27 686 条 unigenes 成功注释, 注释率为 40.80%, 有 40 157 条 unigenes 未被成功注释, 原因可能是 unigenes 的长度过短使基因功能注释结果受到影响和昆虫基因信息仍相对缺乏导致该结果 (Hou *et al.*, 2011; 魏利斌等, 2012)。

本次测序共有 14 258 unigenes 被 GO 注释至生物学过程、分子功能、细胞组分 3 个过程的 42 个功能亚类, 其中注释到代谢、细胞、蛋白结合活性、催化相关的基因较多; KOG 数据库功能预测和分类结果显示, 叉角厉蝽触角转录组共有 6 097 个 unigenes 得到注释, 并被分为 26 个 KOG 类, 预测至一般功能的数量最多, 为 1 107 条, 预测至信号转导机制的次之, 为 758 条; 对比 KEGG 数据库的注释信息中, 7 703 条 unigenes 注释 5 大类代谢通路分支, 282 个代谢通路中, 其中被注释在信号传导通路中的基因最多, 有 886 条, 占全部被注释基因的 11.50%, 这与锤胁跷蝽 *Yemma signatus* 触角转录组数据相似 (宋月芹等, 2019), 充分表明了触角在叉角厉蝽嗅觉识别行为中的重要作用。

通过叉角厉蝽雌雄成虫和 5 龄若虫触角的差异表达分析, 发现叉角厉蝽触角的 67 843 个 unigenes 中有 7 324 个 unigenes 在雌雄成虫和 5 龄若虫三者中的表达水平不同。从样品间热图与韦恩图可以发现, 5 龄若虫与成虫间的差异表达基因较多, 雌雄成虫之间差异表达基因较少, GO 功能富集发现与嗅觉相关的基因多数在成虫中上调表达, 但也有少数几个在 5 龄若虫中上调表达, 这些在雌雄成虫触角中上调表达的嗅觉相关基因可能与成虫性信息素、捕食行为等相关, 为后续的鉴定与挖掘提供了可能 (Leal *et al.*, 2013)。

通过基因功能注释, 本研究从叉角厉蝽触角中鉴定获得 134 个候选嗅觉相关基因, 包括 32 个化学感应蛋白基因 (OBP), 10 个气味结合蛋白基因 (CSP), 21 个味觉受体基因 (GR), 48 个嗅觉受体基因 (OR), 17 个离子型受体 (IR), 6 个感觉神经元膜蛋白基因 (SNMP)。相比于其他蝽类昆虫的触角转录组研究相比, 本研究所获得的嗅觉基因数量在合理范围, 但气味结合蛋白基因数量较少, 例如: 苜蓿盲蝽 *Adelphocoris lineolatus* 转录组中, 发掘出 14 个 OBP、80 个 OR、12 个 IR 和 4 个 SNMP (谷少华, 2010); 在绿盲蝽 *Apolygus lucorum* 转录组中, 鉴定出 38 个 OBP (Yuan

et al., 2015) 和 110 个 OR (An *et al.*, 2016); 在小长蝽 *Nysius ericae* 触角转录组中, 鉴定出 28 个 OBP、16 个 CSP、83 个 OR、12 个 IR 和 2 个 SNMP (Zhang *et al.*, 2016); 悬铃木方翅网蝽 *Corythucha ciliata* 触角转录组中, 鉴定出 26 个 OBP、14 个 CSP、77 个 OR、11 个 IR 和 2 个 SNMP (杨海博, 2018); 在蠼螋 *Arma chinensis* 触角转录组中, 发掘出 38 个 OBP、1 个 CSP、3 个 OR、12 个 IR、3 个 GR 和 3 个 SNMP (Wu *et al.*, 2020)。鉴定出 OBP 数量较少的原因除受 NCBI 数据库的参考序列数量的影响外, 还可能是由于不同昆虫物种和类群适应各自独特的生境, 导致化学感受基因中气味结合蛋白与化学感受蛋白两个基因家族进化速度较快, 数量多样性较高, 后续还有待通过对比分析其他昆虫种类和更高级分类单元的触角转录组和昆虫基因组中嗅觉相关基因来进一步进行验证 (赛波等, 2020; 巩雪芳等, 2020)。此外, 由叉角厉蝽与其余 6 种半翅目昆虫构建的 OBP 系统发育树可见, OBP8 与绿盲蝽 AIOBP24 位于同一分支, AIOBP24 能够与寄主挥发物结合, 如: β -紫罗兰酮, β -蒎烯 (刘航玮, 2017); OBP6 与绿盲蝽 AIOBP24 聚在一起, 孙小洁 (2019) 通过对绿盲蝽 AIOBP28 进行结构预测和功能验证, 发现其功能是结合性信息素类似物和普通植物挥发物, 并推测为性信息素结合蛋白, 同时 OBP6 还与灰飞虱 LsOBP7 聚为同一个大支, LsOBP7 能够识别 β -紫罗兰酮和 R (+) 柠檬烯两种活性水稻挥发物 (相颖, 2021)。因此推测叉角厉蝽这些基因可能也有类似的功能。

利用 FPKM 值对 OBP 与 CSP 基因进行表达量分析, 发现其具有龄期偏好, 其中最值得在注意的是 OBP2、OBP4、CSP13、CSP22 和 CSP32 在若虫中高表达, 雌雄成虫触角中表达量极低, 甚至不表达, 这与其他大部分 OBP 与 CSP 基因在成虫中高表达不同。前人研究表明, 一些昆虫的 OBP 主要或特异地在若虫中表达可能与若虫期的聚集或报警行为有关 (郑丽霞等, 2018; 张倩, 2019; Guo *et al.*, 2020); 也有学者认为可能其具有独立于嗅觉的生理功能, 如螟黄赤眼蜂 *Trichogramma chilonis* RfOBP16 除在幼虫生长发育阶段高表达还在高龄幼虫脂肪体中高度表达 (Liu *et al.*, 2018)。表达量除了龄期偏好, 还存在性别偏好如: OBP4 仅在雌成虫中高表达, CSP20 和 CSP2 在雌成虫中高表达, CSP8 和 CSP31 在雄成虫

中高表达, 推测这些在雌雄成虫触角中差异表达的基因可能发挥与信息素结合蛋白相同的作用或者在成虫捕食的定位中发挥关键作用, 需要后续对叉角厉蝽的化学生态和基因功能等进一步的深入探究来确认。

参考文献 (References)

- An XK, Sun L, Liu HW, *et al.* Identification and expression analysis of an olfactory receptor gene family in green plant bug *Apolygus lucorum* (Meyer-Dür) [J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 37870.
- Brito NF, Moreira MF, Melo A. A look inside odorant-binding proteins in insect chemoreception [J]. *Journal of Insect Physiology*, 2016, 95: 51–65.
- Becher PG, Flick G, Rozpedowska E, *et al.* Yeast, not fruit volatiles mediate *Drosophila melanogaster* attraction, oviposition and development [J]. *Functional Ecology*, 2012, 26 (4): 822–828.
- Cai SB, Yin CK, Zhang M, *et al.* Analysis of the antennal transcriptome and identification of olfaction-related genes of *Trialeurodes vaporariorum* [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2020, 28 (11): 2048–2060. [蔡赛波, 尹朝坤, 张蔓, 等. 温室白粉虱触角转录组分析及嗅觉相关基因的鉴定 [J]. 农业生物技术学报, 2020, 28 (11): 2048–2060]
- Chen R, Liang GW, Zhang ZY, *et al.* The functional response of *Catantopidea furcellata* (Hemiptera: Asopinae) to *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2015, 37 (2): 401–406. [陈然, 梁广文, 张拯研, 等. 叉角厉蝽对斜纹夜蛾的捕食功能反应 [J]. 环境昆虫学报, 2015, 37 (2): 401–406]
- Duan YF, Zhu XZ, Ye JT, *et al.* Ultrastructure of antennal sensilla of *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier) [J]. *Plant Protection*, 2020, 46 (6): 103–110. [段云博, 朱晓珍, 叶家桐. 红棕象甲触角感器的超微结构 [J]. 植物保护, 2020, 46 (6): 103–110]
- Gao P, Liao X, Wu G, *et al.* Gross morphology and ultrastructure of the salivary glands of the stink bug predator *Eocanthecona furcellata* [J]. *Microscopy Research and Technique*, 2021, 84 (2): 246–252.
- Guo X, Yu Q, Chen D, *et al.* 4-Vinylanisole is an aggregation pheromone in locusts [J]. *Nature*, 2020, 584: 584–588.
- Gong XF, Xie XF, Yang P, *et al.* Analysis of the antennal transcriptome and olfaction-related genes of *Agrilus zanthoxylumi* (Coleoptera: Buprestidae) [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2020, 63 (10): 1159–1170. [巩雪芳, 谢寿安, 杨平, 等. 花椒窄吉丁触角转录组及嗅觉相关基因分析 [J]. 昆虫学报, 2020, 63 (10): 1159–1170]
- Ho HY, Kou R, Tseng HK. Semiochemicals from the predatory stink bug *Eocanthecona furcellata*: Components of metathoracic gland, dorsal abdominal gland, and sternal gland secretions [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2003, 29 (9): 2101–2114.
- Hou R, Bao Z, Wang S, *et al.* Transcriptome sequencing and de novo analysis for *Yesso scallop* (*Patinopecten yessoensis*) using 454 GS FLX [J]. *PLoS ONE*, 2011, 6 (6): e21560.
- Hu JY, Xu DP, Zhuo ZH, *et al.* Analysis of antennal transcriptome and olfaction-related genes of adult *Batocera horsfieldi* (Hope) [J]. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2019, 56 (5): 1037–1047. [胡佳萌, 徐丹萍, 卓志航, 等. 云斑天牛成虫触角转录组及嗅觉相关基因分析 [J]. 应用昆虫学报, 2019, 56 (5): 1037–1047]
- Leal WS, Choo YM, Xu P, *et al.* Differential expression of olfactory genes in the southern house mosquito and insights into unique odorant receptor gene isoforms [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110 (46): 18704–18709.
- Li WH, Xu HT, Miao XX, *et al.* Research progresses of proteins related with insect olfactory [J]. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2006, 6: 757–762. [李卫华, 涂洪涛, 苗雪霞, 等. 昆虫嗅觉相关蛋白的研究进展 [J]. 昆虫知识, 2006, 6: 757–762]
- Li WH, Jia CJ, Chen HP, *et al.* Functional response of *Eocanthecona furcellata* (Wolff) to the larvae of *Heortia vitessoides* (Moore) [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2015, 37 (4): 843–848. [李文华, 贾彩娟, 陈惠平, 等. 叉角厉蝽对黄野螟幼虫的捕食功能反应 [J]. 环境昆虫学报, 2015, 37 (4): 843–848]
- Liao P, Shi XR, Guo Y, *et al.* Influence of low temperature on growth and development of *Arma chinensis* Fallou (Hemiptera: Pentatomidae) [J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2020, 36 (3): 340–346. [廖平, 石新如, 郭义, 等. 低温饲养对蝽蝽生长发育的影响 [J]. 中国生物防治学报, 2020, 36 (3): 340–346]
- Liu JB, Han W, Yi JQ, *et al.* Transcriptome characterization and gene expression analysis related to chemoreception in *Trichogramma chilonis*, an egg parasitoid [J]. *Gene*, 2018, 678: 288–301.
- Liao XB, Gao P, Zhao H, *et al.* Functional response of adult of *Eocanthecona furcellata* to the larvae of *Mythimna separata* [J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2020, 51 (8): 1992–1997. [廖贤斌, 高平, 赵航, 等. 叉角厉蝽成虫对粘虫幼虫的捕食功能反应 [J]. 南方农业学报, 2020, 51 (8): 1992–1997]
- Liu HW. Binding Characteristics of Four Antennal-Specific Odorant Binding Proteins in *Apolygus lucorum* (Hemiptera: Miridae) [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences Master Thesis, 2017. [刘航玮. 绿盲蝽四个触角特异气味结合蛋白配体结合特征研究 [D]. 北京: 中国农业科学院硕士论文, 2017]
- Song YQ, Dong JF, Chen QX, *et al.* Analysis of the antennal transcriptome and chemoreception-related genes of the bean bug, *Riptortus pedestris* (Hemiptera: Alydidae) [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2017, 60 (10): 1120–1128. [宋月芹, 董钧锋, 陈庆霄, 等. 点蜂缘蝽触角转录组及化学感受相关基因的分析 [J]. 昆虫学报, 2017, 60 (10): 1120–1128]
- Song YQ, Sun HZ. Antennal transcriptome analysis of *Yemma signatus* [J]. *Genomics and Applied Biology*, 2019, 38 (2): 545–550. [宋月芹, 孙会忠. 锤胁跳蝽触角转录组分析 [J]. 基因组学与应用生物学, 2019, 38 (2): 545–550]
- Schneider D. Insect antennae [J]. *Annual Review of Entomology*, 1964, 9 (1): 103–122.
- Sun XJ. Expression Purification, Structure Prediction and Function of 12 Odorant Binding Proteins in *Apolygus lucorum* [D]. Taian: Shandong Agricultural University Master Thesis, 2019. [孙小洁.]

- 绿盲蝽 12 个气味结合蛋白的表达、纯化、结构预测与功能研究 [D]. 泰安: 山东农业大学硕士论文, 2019]
- Tang M, Kuang SL, Li ZY, *et al.* Functional response of *Eocanthecona furcellata* (Wolff) to the larvae of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2019, 41 (5): 979–985. [唐敏, 邝昭琅, 李子园, 等. 叉角厉蝽对草地贪夜蛾幼虫的捕食功能反应 [J]. 环境昆虫学报, 2019, 41 (5): 979–985]
- Tian K. Antennal Transcriptome Analysis and Functional Characterization of Pheromone Receptor Candidates in Codling Moth *Cydia pomonella* [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences Master Thesis, 2020. [田珂. 苹果蠹蛾触角转录组分析与性信息素受体功能鉴定 [D]. 北京: 中国农业科学院硕士论文, 2020]
- Wang Q. Functional Identification and Differentiation of Pheromone Receptors in *Adelphocoris lineolatus* [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences Master Thesis, 2019. [王琪. 苜蓿盲蝽性信息素受体的鉴定与功能分化 [D]. 北京: 中国农业科学院硕士论文, 2019]
- Wei LB, Miao HM, Zhang HY. Transcriptomic analysis of sesame development [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2012, 45 (7): 1246–1256. [魏利斌, 苗红梅, 张海洋. 芝麻发育转录组分析 [J]. 中国农业科学, 2012, 45 (7): 1246–1256]
- Wu S, Deng W, Li M, *et al.* Analysis of chemosensory genes in full and hungry adults of *Arma chinensis* (Pentatomidae) through antennal transcriptome [J]. *Frontiers in Physiology*, 2020, 11: 588291.
- Xie QM, Liang GW, Luo S, *et al.* Observation of the predacious function of a bug *Cantheconidae furcellata* on litchi Looper *Thalassodes proquadria* [J]. *Jiangxi Science*, 2001, 1: 23–25. [谢钦铭, 梁广文, 罗诗, 等. 叉角厉蝽对绿额翠尺蛾幼虫的捕食作用的初步研究 [J]. 江西科学, 2001, 1: 23–25]
- Xiang Y. Research on the Function of *Laodelphax striatellus* Odor Binding Proteins LsOBP4/LsOBP7 in the Oriented Behavior of the Vector by Rice Stripe Virus [D]. Yangzhou: Yangzhou University Master Thesis, 2021. [相颖. 灰飞虱气味结合蛋白 LsOBP4/LsOBP7 在水稻条纹病毒调控介体定向行为中的功能研究 [D]. 扬州: 扬州大学硕士论文, 2021]
- Yang HB, Hu ZJ, Li DX, *et al.* Analysis of the antennal transcriptome and olfactory-related genes of the sycamore lace bug (*Corythucha ciliata*) [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2018, 26 (12): 2109–2120. [杨海博, 胡镇杰, 李定旭, 等. 悬铃木方翅网蝽触角转录组及嗅觉相关基因分析 [J]. 农业生物技术学报, 2018, 26 (12): 2109–2120]
- Yang XJ, Zhang M, Jiang YH, *et al.* Analysis of the antennal transcriptome and olfaction-related genes of *Coccinella septempunctata* (Coleoptera: Coccinellidae) [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2020, 63 (6): 717–726. [杨雪娇, 张蔓, 江宇航, 等. 七星瓢虫触角转录组及嗅觉相关基因分析 [J]. 昆虫学报, 2020, 63 (6): 717–726]
- Yang S, Zhao HT, Xu K, *et al.* Analysis of the antennal transcriptome and olfaction-related genes of the greater wax moth *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) [J]. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2019, 56 (6): 1279–1291. [杨爽, 赵慧婷, 徐凯, 等. 大蜡螟触角转录组及嗅觉相关基因分析 [J]. 应用昆虫学报, 2019, 56 (6): 1279–1291]
- Yuan HB, Ding YX, Gu SH, *et al.* Molecular characterization and expression profiling of odorant-binding proteins in apolygus lucorum [J]. *PLoS ONE*, 2015, 10 (10): e0140562.
- You L, Wang GL, Wei HY. Advances in neuron transferring pathways in insects' olfactory signals [J]. *Biological Disaster Science*, 2012, 35 (1): 7–11. [游灵, 王广利, 魏洪义. 昆虫嗅觉信号神经传递途径的研究进展 [J]. 生物灾害科学, 2012, 35 (1): 7–11]
- Zhu DF. Study on biological characteristics of *Eocanthecona furcellata* [J]. *Natural Enemies of Insects*, 1990, 12 (2): 71–74. [朱涤芳. 叉角厉蝽生物学特性研究 [J]. 昆虫天敌, 1990, 12 (2): 71–74]
- Zhang YN, Zhu XY, Zhang Q, *et al.* De novo assembly and characterization of antennal transcriptome reveal chemosensory system in *Nysius ericae* [J]. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 2016: 1077–1087.
- Zhao H, Liang C, Gao P, *et al.* Observation of the fine structure of antennal sensilla of the stink bug, *Eocanthecona furcellata* (Hemiptera: Pentatomidae) [J]. *Micron*, 2021: 103143. doi: 10.1016/j.micron.2021.103143.
- Zhang Q. Fluorescence in Situ Location of EBF Binding Proteins (SaveOBP3/7/9) in *Sitobion avenae* [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences Master Thesis, 2019. [麦长管蚜识别报警信息素 EBF 的嗅觉蛋白 (SaveOBP3/7/9) 表达定位 [D]. 北京: 中国农业科学院硕士论文, 2019]
- Zhan HW, Zhang SF, Geng HW, *et al.* Research progress on olfactory recognition proteins of longhorn beetle [J]. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2018, 47 (3): 1–6. [詹文会, 张苏芳, 耿红卫, 等. 天牛嗅觉感受相关蛋白研究进展 [J]. 河南农业科学, 2018, 47 (3): 1–6]
- Zhang HP. Key Biological and Physiological Factors Affect the Population Establish Ment of *Arma chinensis* in Greenhouse [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences Master Thesis, 2017. [张海平. 影响蝽定殖行为的主要生物及生理因子研究 [D]. 北京: 中国农业科学院硕士论文, 2017]
- Zheng LX, Wu LH, Yu L, *et al.* Research progress and application prospect of insect pheromone [J]. *Journal of Plant Protection*, 2018, 45 (6): 1185–1193. [郑丽霞, 吴兰花, 余玲, 等. 昆虫类信息素研究进展及应用前景 [J]. 植物保护学报, 2018, 45 (6): 1185–1193]
- Zhu J, Arena S, Spinelli S, *et al.* Reverse chemical ecology: Olfactory proteins from the giant panda and their interactions with putative pheromones and bamboo volatiles [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2017, 114 (46): E9802–E9810.
- Zhou Z, Wang MQ, Hu Y, *et al.* Morphological structure of the antennal sensilla of *Nesidiocoris tenuis* observed with a scanning electron microscope [J]. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2012, 49 (3): 631–635. [周正, 王孟卿, 胡月, 等. 烟盲蝽成虫触角感器的扫描电镜观察 [J]. 应用昆虫学报, 2012, 49 (3): 631–635]