

绿眼赛茧蜂转录组分析及嗅觉相关蛋白基因的鉴定*

王予彤^{1,2**} 徐林波^{2***} 段立清^{1***} 于良斌²
崔进² 曹媛媛³ 赵一安³

(1. 内蒙古农业大学, 呼和浩特 010020; 2. 中国农业科学院草原研究所, 呼和浩特 010020;
3. 张家口市农业农村局, 张家口 075000)

摘要 【目的】绿眼赛茧蜂 *Zele chlorophthalmus* 是草地螟 *Loxoste gesticticalis* 幼虫重要天敌之一。本研究通过构建绿眼赛茧蜂触角转录组数据库, 挖掘其与嗅觉相关的蛋白基因, 为更好的利用绿眼赛茧蜂防治草地螟发挥其生防潜能提供理论依据。【方法】以 Illumina Novaseq 6000 高通量测序平台为基础, 将绿眼赛茧蜂触角的基因进行转录组测序、组装序列, 以及完成其生物信息学的研究分析, 并对绿眼赛茧蜂触角的相关嗅觉基因做鉴定分析。【结果】成功构建绿眼赛茧蜂转录组数据库, 数据库中的 unigenes 序列为 65 228 条, N50 为 3 882 bp。使用 BLAST 软件将绿眼赛茧蜂触角 unigenes 序列各自和 Pfam、Swiss-Prot、NR、COG、KEGG、GO 权威数据库进行对比, 并完成基因功能相关注释, 共注释基因数为 18 662 条, 占总数的 28.61%。其中, NR 数据库获得的注释最多, 占总数的 24.61%, 为 15 863 条, KEGG 数据库获得的注释最少, 为 9 612 条 (14.91%), 其他依次为 Pfam 数据库注释数据库 12 164 条 (18.86%)、COG 数据库注释 15 584 条 (24.17%)、GO 数据库注释 11 634 条 (18.05%), Swiss-Prot 数据库注释达到 11 634 条, 为总数的 18.86%。借助 GO 数据库对 unigenes 的注释, 其功能供分为三大类, 可以细分 49 个分支, 主要包括分子功能、细胞组分以及生物学过程。通过注释基因功能对嗅觉相关基因进行筛选, 共发现 151 条和嗅觉有关的蛋白基因, 包括 3 个感觉神经元膜蛋白基因、22 个离子型受体基因、23 个味觉受体基因、83 个气味受体基因、6 个化学感受蛋白基因、14 个气味结合蛋白基因。【结论】成功收集了绿眼赛茧蜂触角转录组相关数据, 并对与嗅觉相关的蛋白进行鉴定分析, 为深入研究基因功能及嗅觉分子机制提供理论依据。

关键词 绿眼赛茧蜂; 触角转录组; 高通量测序; 基因注释; 嗅觉相关基因

Transcriptome sequencing and identification of the *Zele chlorophthalmus* olfactory related protein gene

WANG Yu-Tong^{1,2**} XU Lin-Bo^{2***} DUAN Li-Qing^{1***} YU Liang-Bin²
CUI Jin² CAO Yuan-Yuan³ ZHAO Yi-An³

(1. Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot 010020, China; 2. Institute of Grassland Research of CAAS, Huhhot 010020, China; 3. Agriculture and Rural Bureau of Zhangjiakou, Zhangjiakou 075000, China)

Abstract 【Objectives】*Zele chlorophthalmus* is an important natural enemy of *Loxoste gesticticalis* larvae. Constructing the *Z. chlorophthalmus* antenna transcriptome database and mining this for olfactory-related protein genes provides a theoretical basis for optimizing the potential of this species as a biocontrol agent. 【Methods】The Illumina Novaseq 6000 high-throughput sequencing platform, transcriptome sequencing and sequence assembly were used to sequence *Z.*

*资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金项目 (31201848); 内蒙古自治区自然科学基金项目 (2015MS0388)

**第一作者 First author, E-mail: 617393291@qq.com

***共同通讯作者 Co-corresponding authors, E-mail: duanlq2013@163.com; xulinbo@caas.cn

收稿日期 Received: 2020-11-19; 接受日期 Accepted: 2021-05-11

chlorophthalmus antennae genes, after which bioinformatics research and analysis were used to identify associated olfactory genes. BLAST software analysis of antennal unigene sequences was compared with that of authoritative databases (Pfam, Swiss-Prot, NR, COG, KEGG and GO) and complete gene function related annotations. **[Results]** A transcriptome database was successfully constructed. A total of 65 228, unigenes were sequenced with an N50 of 3 882 bp. A total of 18 662 genes were annotated, accounting for 28.61% of the total. Among these, the NR database had the most (15 863) annotations, accounting for 24.61% of the total. The KEGG database had the least (9 612) annotations comprising 14.91% of the total, the Pfam database had 12 164 (18.86%), the COG database had 15 584 (24.17%), the GO database had 11 634 (18.05%) and the Swiss-Prot database had 11 634, 18.86% of the total. Unigene functions could be divided into three categories based on GO database annotations, which could be further subdivided into 49 branches. These categories were mainly molecular functions, cellular components, and biological processes. Screening of olfactory-related genes by annotating gene function revealed a total of 151 protein genes related to olfaction, including 3 sensory neuron membrane protein (SNMP) genes, 22 ionotropic receptor (IR) genes, 23 gustatory receptor (GR) genes, 83 odorant receptor (OR) genes, 6 chemosensory protein (CSP) genes and 14 odorant binding protein (OBP) genes. **[Conclusion]** The *Z. chlorophthalmus* antenna transcriptome was successfully sequenced and antennal proteins related to olfaction identified and analyzed. These findings provide a theoretical basis for in-depth study of the function of olfactory genes and the molecular mechanisms underlying olfaction.

Key words *Zele chlorophthalmus* Spinola; antenna transcriptome; high-throughput sequencing; gene annotation; olfactory-related genes

绿眼赛茧蜂 *Zele chlorophthalmus* Spinola 在我国分布广泛, 是草地螟 *Loxoste gesticcali* 幼虫期最主要的一种寄生性天敌(李倩等, 2017)。绿眼赛茧蜂是一类容生性(Koinobiont)单寄生蜂, 被它寄生后的草地螟虽然仍可取食, 但食量大幅减少, 提前入土结茧化蛹或直接死亡, 对草地螟种群数量消长有较好的控制作用。但国内外对绿眼赛茧蜂的相关研究内容较为稀少, 尤其对其嗅觉相关蛋白的研究尚未见报道, 限制了绿眼赛茧蜂的保护利用(康爱国等, 2015; 李倩等, 2017)。研究表明, 绿眼赛茧蜂可寄生草地螟 2-5 龄幼虫, 更喜寄生 3 龄幼虫, 田间越冬幼虫寄生率可达 30%-40%(杜芹, 2015; 李倩等, 2017)。李倩等(2017)研究了绿眼赛茧蜂的生物学特性, 及其对草地螟的控害作用。杜芹(2015)通过研究绿眼赛茧蜂对 3 种害虫的控害程度, 以及对寄主龄期的选择行为, 表明了不同寄主对绿眼赛茧蜂后代发育的影响。田小霞(2010)研究了寄生蜂对草地螟的防治效果, 并研究了我国草地螟主要发生地区寄生蜂幼虫的越冬种类和越冬幼虫的寄生率。明确了草地螟寄生蜂优势种类、寄主龄期选择及影响寄生蜂寄生率的环境因子等, 初步阐明了主要寄生蜂种类的生物学特性。截止目前, 从分子角度探索绿眼赛

茧蜂嗅觉识别机制, 有关其嗅觉蛋白基因鉴定及功能分析的研究尚未见报道(田小霞, 2010)。

嗅觉是昆虫个体间与外界联系的重要桥梁, 表现出功能齐全, 跨神经元相互作用的机制(Renny *et al.*, 2020)。嗅觉识别作为一种生理反应, 主要依靠分布在感觉器官中的感器神经元作用于遍布在淋巴液中的嗅觉蛋白(Pelosi *et al.*, 2006)。如感觉神经元膜蛋白(Sensory neuron membrane protein, SNMP)、味觉受体(Gustatory receptor, GR)、离子型受体(Ionotropic receptors, IR)、嗅觉受体(Olfactory receptor, OR)、化学感觉蛋白(Chemosensory protein, CSP)以及气味结合蛋白(Odorant binding protein, OBP)(Leal, 2013)。通过分子生物学手段研究昆虫嗅觉的分子机制已成为近年来化学生态学领域的研究热点。基于转录组学挖掘昆虫嗅觉相关基因已经广泛开展。但研究对象多以植食性害虫为主, 有关寄生性天敌昆虫寄主选择行为的分子机制研究较少。

本研究拟在前期有关绿眼赛茧蜂寄主选择机制研究的基础上(王丹阳, 2020), 通过采用高通量测序技术, 对绿眼赛茧蜂嗅觉相关蛋白基因进行鉴定和功能分析, 进一步探索嗅觉相关基因在绿眼赛茧蜂嗅觉行为中发挥的作用。研究结

果对揭示绿眼赛茧蜂的嗅觉感受机制、对找寻草地螟绿色防控的分子机理和发掘其生防潜能提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试虫源及样本制备

2019年6月,绿眼赛茧蜂成虫采自中国农业科学院草原研究所沙尔沁农牧交错区试验基地,将绿眼赛茧蜂带回室内置于养虫笼中,养虫笼内预先放有2-4龄草地螟幼虫,供绿眼赛茧蜂寄生。将养虫盒置于光照为16L:8D,温度为21-23℃,相对湿度为60%-70%的人工气候箱,并以15%蜂蜜水继代饲养。

待绿眼赛茧蜂羽化后2d,挑选雌虫和雄虫各120头,置于冰块上剪下触角,置于2mL离心管中,立即放入液氮保存,用于总RNA的提取,以供后续实验。

1.2 总RNA提取、cDNA文库构建和测序

采用Trizol(Invitrogen)法提取绿眼赛茧蜂雌雄成虫触角的RNA,使用DNase I(TaKara)法去除DNA。采用2100 Bioanalyser(Agilent)和ND-2000(NanoDrop Technologies)检测RNA质量进行转录组测序。取合格的RNA样品,加入fragmentation buffer,将mRNA随机断裂成200bp左右的小片段。采用Super Scriptdouble-stranded cDNA synthesis kit(Invitrogen, CA)试剂盒,合成cDNA单链和双链。双链的cDNA加入End Repair Mix,3'末端加一个A碱基。经PCR富集后,利用2%琼脂糖胶回收条带。经TBS380(Picogreen)定量后,文库使用Illumina HiSeqXten/NovaSeq 6000测序平台进行高通量测序,测序读长为PE 150。

1.3 转录组测序数据组装及完整性评估

对原始测序数据进行过滤,得到高质量的测序数据(Clean data),具体步骤及顺序如下:

(1)去除reads中的接头序列;(2)修剪掉序列3'端质量值小于20的碱基;(3)去除N比率在10%以上的reads;(4)在修剪之后去除长

度在20bp以下的序列以及adapter。利用Trinity对序列进行组装。去除核酸序列或蛋白序列冗余、相似的序列。评估基因组或转录组的组装完整性。基因组组装与BUSCO的一致序列进行tBLASTn比对,再用Augustus对基因结构进行预测,寻找转录本的ORF编码框,最后使用HMMER3比对。检测每个unigenes的完整性,以评估转录组组装质量。

1.4 嗅觉相关基因鉴定及序列分析

对比由1.3所得到的unigenes和Pfam、Swiss-Prot、COG、NR、GO和KEGG数据库中的数据,得到有关的注释,在查找转录组结果时使用基因全称或者是缩写等关键词进行查找,以所找到关键词对应的all-unigene注释信息为候选嗅觉相关蛋白基因。之后在NCBI(National Center for Biotechnology Information)网站中的nr核苷酸数据库中与候选的嗅觉蛋白基因进行blastP或者是blastX验证对比,所设定的e值 $< 10^{-5}$ (Zhou *et al.*, 2006)。

2 结果与分析

2.1 绿眼赛茧蜂触角转录组序列分析与组装

绿眼赛茧蜂触角转录组测序获得37.07 Gb Clean data,各样品Clean data皆超过了5.85 Gb,其中Q20碱基和Q30碱基所占的百分比分别在95.61%和89.49%以上,Clean data的测序错误率在0.025 9%-0.030 7%之间,表明数据可靠性高。使用Trinity对所有样本Clean data从头组装,并对组装结果优化评估。结果显示,由组装总共获得65 228个unigenes,3 882 bp为N50的平均长度,GC含量在36.73%-37.07%(表1)。unigenes长度分布图显示(图1),长度在0-500 nt最多,为29 642条(45%),最少为4 001-4 500 nt,仅有966条(1%),长度超过1 001 nt的有21 831条(33%),长度在0-1 000 nt的占比为66%。BUSCO分析结果显示84.1%的unigenes为完整基因,5.1%为基因片段,其余的unigenes未对比到任何序列。

表 1 绿眼赛茧蜂触角转录组数据
Table 1 Overview of antennal transcriptome of adult *Zele chlorophthalmus*

样品编号 Sample	原始数据 Raw reads	筛选后数据 Clean reads	总核酸数 Clean bases	错误率 (%) Error rate (%)	Q20 (%)	Q30 (%)	GC 比值 (%) GC content (%)
CJ_C1	40 310 250	40 309 216	5 846 064 787	0.030 7	95.61	89.49	36.90
CJ_C2	43 557 242	43 556 540	6 346 972 728	0.026 4	97.35	92.99	37.04
CJ_C3	41 646 148	41 645 462	6 038 737 540	0.026 3	97.41	93.02	37.07
CJ_X1	43 385 178	43 384 556	6 305 125 157	0.026 3	97.43	93.05	36.98
CJ_X2	42 177 574	42 176 942	6 134 068 913	0.026 0	97.53	93.26	36.73
CJ_X3	44 018 528	44 017 926	6 398 306 092	0.025 9	97.57	93.33	36.74

CJ_C1、CJ_C2、CJ_C3、CJ_X1、CJ_X2、CJ_X3 表示绿眼赛茧蜂雌和雄蜂触角样本的编号。Q20: 质量值 ≥ 20 碱基的百分比; Q30: 质量值 ≥ 30 碱基的百分比。

CJ_C1, CJ_C2, CJ_C3, CJ_X1, CJ_X2, and CJ_X3 indicates the numbers of the biological replicate samples of the female and drone antennae of *Zele chlorophthalmus*, respectively; Q20: The percentage of bases with quality values ≥ 20 ; Q30: The percentage of bases with quality values ≥ 30 .

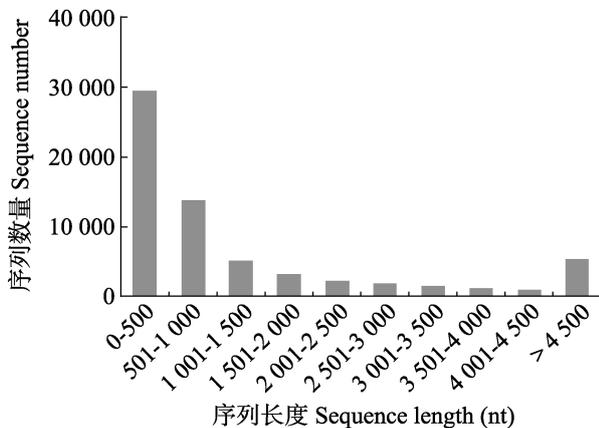


图 1 绿眼赛茧蜂触角转录组 unigenes 长度分布
Fig. 1 Length distribution of all assembled unigenes in the antennal transcriptome of *Zele chlorophthalmus*

2.2 绿眼赛茧蜂触角转录组基因功能注释

绿眼赛茧蜂触角转录组中共有 18 662 条 (28.61%) 获得功能注释, 其中数量最多的 unigenes 是注释到 NR 数据库, 占比为 24.61%, 数量为 15 863 条, 数量紧随其后的 unigenes 为注释到 COG 数据库的 15 584 条 (24.17%), 注释到 KEGG 数据库的条数最少, 为 9 612 条 (14.91%), 注释到 GO 数据库的条数为 11 634 条 (18.05%), 注释到 Swiss-Prot 数据库的条数为 11 634 条 (18.86%), 注释到 Pfam 数据库的条数为 12 164 条 (18.87%) (图 2)。

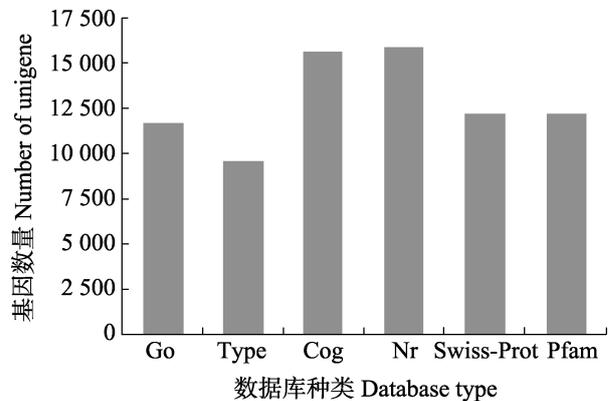


图 2 绿眼赛茧蜂触角转录组功能注释图

Fig. 2 Annotated diagram of the transcriptome function of the antennae of the *Zele chlorophthalmus*

GO: GO 数据库获得基因注释的数量; KEGG: KEGG 数据库获得基因注释的数量; COG: COG 数据库获得基因注释的数量; NR: NR 数据库获得基因注释的数量;

Swiss-prot: Swiss-prot 数据库获得基因注释的数量;

Ptam: Ptam 数据库获得基因注释的数量。

GO: The number of gene annotations obtained by the GO database; KEGG: The number of gene annotations obtained by the KEGG database; COG: The number of gene annotations obtained by the COG database; NR: The number of gene annotations obtained by the NR database; Swiss-prot: The number of genes annotations obtained by the Swiss-prot database; Ptam: The number of gene annotations obtained by the Ptam database.

基于 NR 数据库注释信息, 绿眼赛茧蜂触角转录组共注释到 NR 数据库中 15 863 条, 其中与毁侧沟茧蜂 *Microplitis demolitor* 的相似基因最

多, 占比达 22.38%, 随后按照次序分别为横缝茧蜂 *Diachasma alloenum*, 占比达到 11.19%, 阿里山潜蝇茧蜂 *Fopius arisanus* 的占比达到 7.06%, 麦茎蜂 *Cephus cinctus* 占比为 3.13%, 尾蜂 *Orussus abietinus* 占比为 1.40%, 黑褐毛山蚁 *Lasius niger* 占比为 1.32%, 大避债蛾 *Eumeta japonica* 占比为 1.32%, 斑痣悬茧蜂 *Meteorus pulchricornis* 占比为 1.17%, 毕氏卵角蚁 *Ooceraea biroi* 占比为 1.02%, 学毛虫 *Trichinella patagoniensis* 占比为 0.93%, 佛罗里达弓背蚁 *Camponotus floridanus* 占比为 0.92%, 二化螟盘绒茧蜂 *Cotesia chilonis* 占比为 0.90%, 杜隧蜂 *Dufourea novaeangliae* 占比为 0.89%, 白氏文昌鱼 *Branchiostoma belcheri* 占比为 0.78%, 其他物种占比为 45.61% (图 3)。

基于 GO 数据库对绿眼赛茧蜂转录组的注释统计, 共注释到 GO 数据库中 11 634 条基因, 三大功能分别是生物学过程 (2 953 条 unigenes)、分子功能 (15 121 条 unigenes) 和细胞组分 (16 668 条 unigenes) (图 4)。生物学过程中细胞进程 5 230 条 (44.38%)、代谢过程为 4 068 条 (34.52%) 和生物调控为 1 690 条 (14.34%), 其余生物学过程均不到 900 条; 细胞组分中细胞部分 4 591 条 (38.96%) 最多, 膜部分 3 809 条 (32.32%)、细胞器 2 343 条 (19.88%)、蛋白质复合物 2 277 条 (19.32%)、细胞器部分 1 970 条 (16.71%), 其余均不足 900 条; 分子功能中结合 6 652 条 (56.54%)、催化活性 5 302 条 (44.99%)、结构分子活性 1 056 条 (8.9%), 其余均不足 800 条。

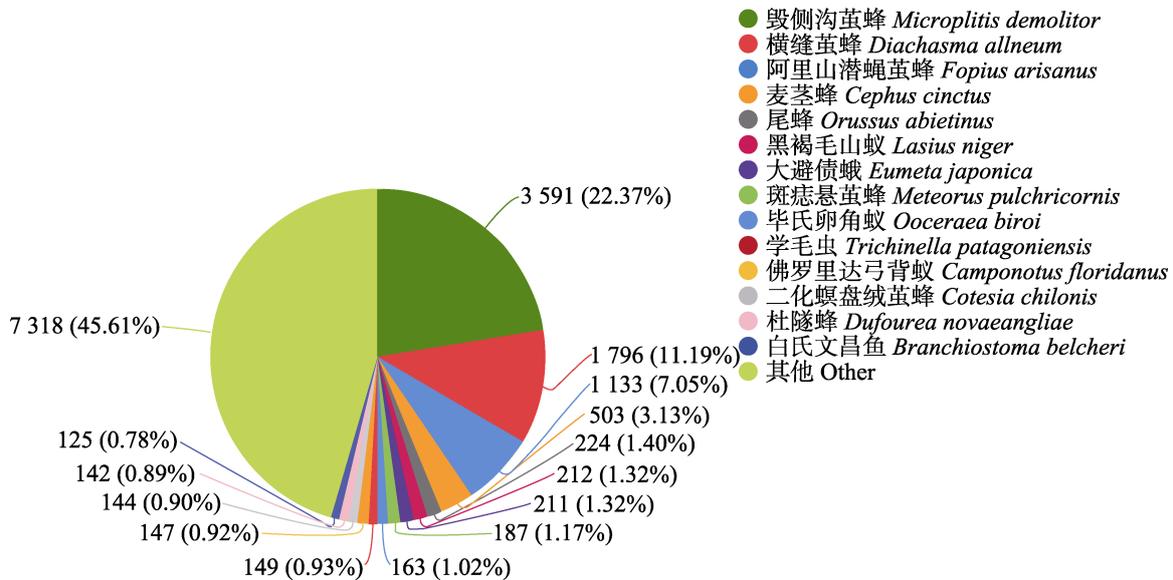


图 3 绿眼赛茧蜂触角 unigenes 在 NR 数据库中的物种分布
Fig. 3 Species distribution of unigenes of *Zele chlorophthalmus* in the NR database

绿眼赛茧蜂触角转录组共注释到 COG 数据库 15 584 条 unigenes, 分为 23 个大类 (图 5)。其中未知功能最多, 为 8 227 条 (52.79%), 其余依次为翻译后修饰、蛋白转换、伴侣 1 390 (8.92%), 修复、重组以及复制的数量为 1 050 条, 占比达 6.74%, 囊泡运输、分泌以及细胞内运输达 993 条, 占比达 6.37%, 翻译、核糖体结构和生物合成 976 条 (6.26%)、转录 744 条 (4.77%)、碳水化合物运输和代谢 582 条

(3.73%), 信号转导机制 568 条 (3.64%), 其余 15 类均不足 500 条 (3.21%)。

根据 KEGG 数据库对绿眼赛茧蜂触角的转录组的注释信息, 将其 unigenes 注释到 6 大通路中, 分别为代谢 2 910 条 (30.27%)、遗传信息处理 2 246 条 (23.37%)、环境信息处理 1 489 条 (15.49%)、细胞过程 1 820 条 (18.93%)、生物体系统 5 196 条 (54.06%)、人类疾病 4 368 条 (45.44%)。其中有 13 条二级通路中 unigene

的数量大于 500, 分别是氨基酸代谢 526 条、碳水化合物代谢 744 条、转录 1 288 条、信号转导 1 251 条、内分泌系统 819 条、癌症概述 770 条、传染病: 病毒性 732 条、运输和分解代谢 689 条、神经退化性疾病 626 条、折叠、分类和退化 603 条、免疫系统 527 条、细胞生长与死亡 527 条、

传染病: 细菌 500 条, 其余 30 条通路中的 unigenes 均不足 500 条 (图 6)。

2.3 绿眼赛茧蜂触角转录组嗅觉相关基因分析

基于 6 大数据库注释的 unigenes 信息, 从绿眼赛茧蜂触角转录组中鉴定出与嗅觉相关基因

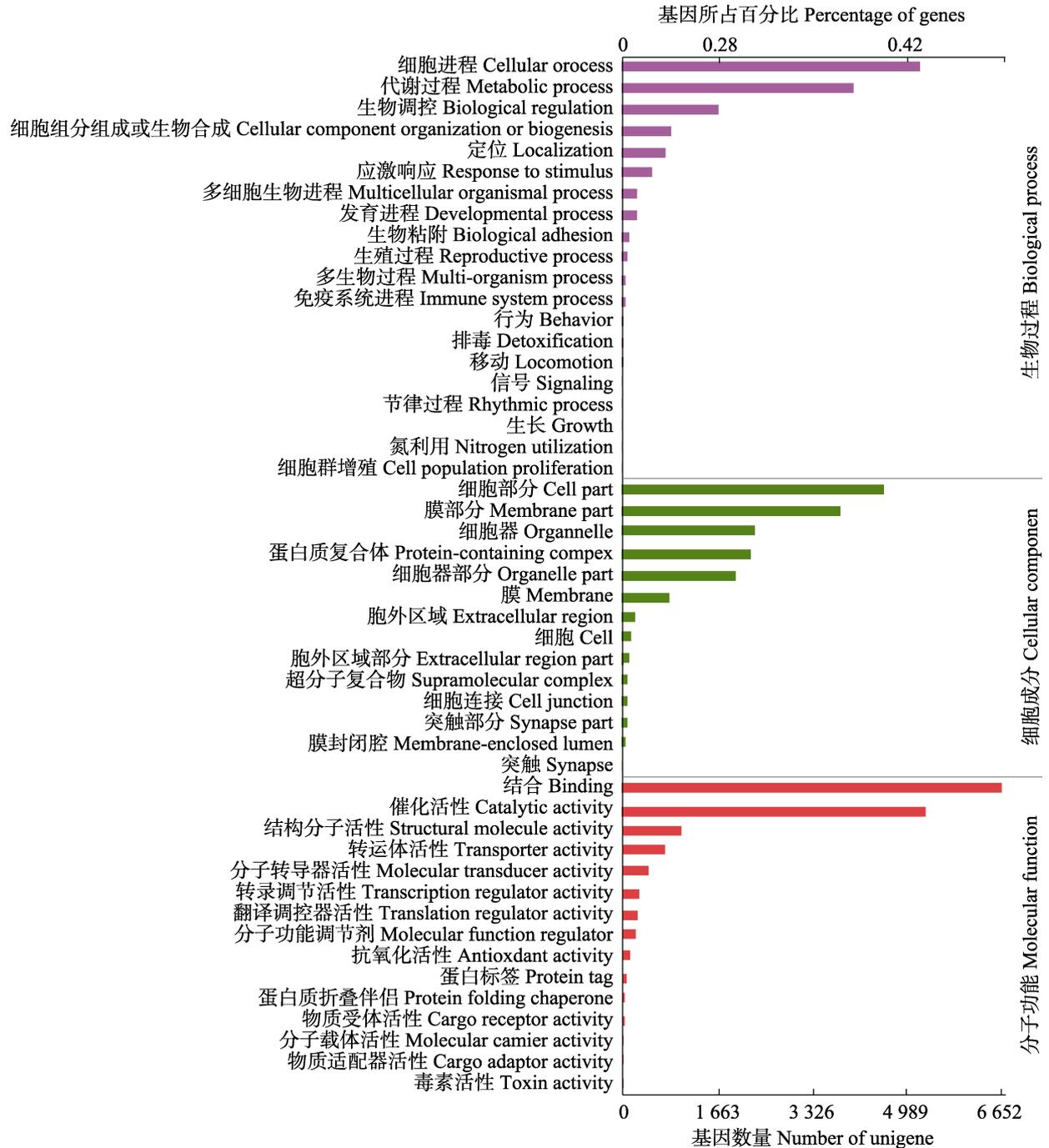


图 4 绿眼赛茧蜂触角 unigenes GO 功能注释

Fig. 4 GO function annotation of antennal unigenes of *Zele chlorophthalmus*

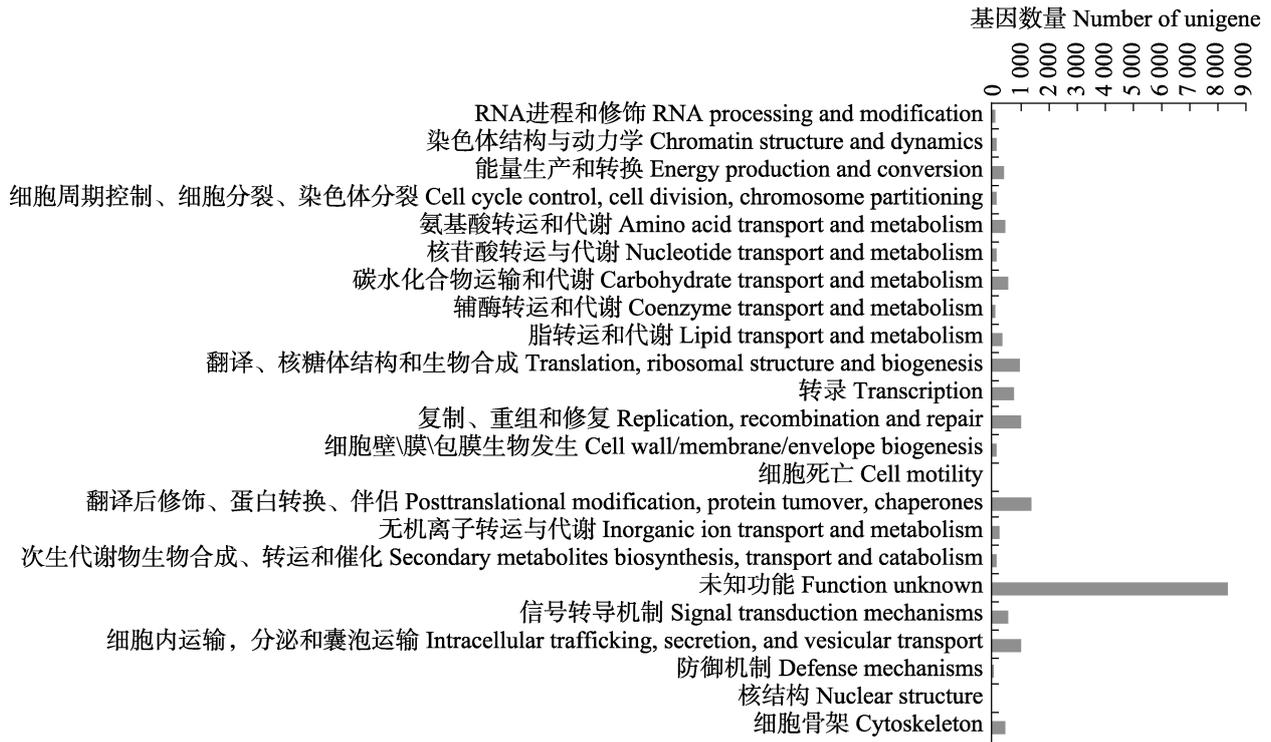


图 5 绿眼赛茧蜂触角 unigenes COG 功能分类

Fig. 5 COG function classification of antennal unigenes of *Zele chlorophthalmus*

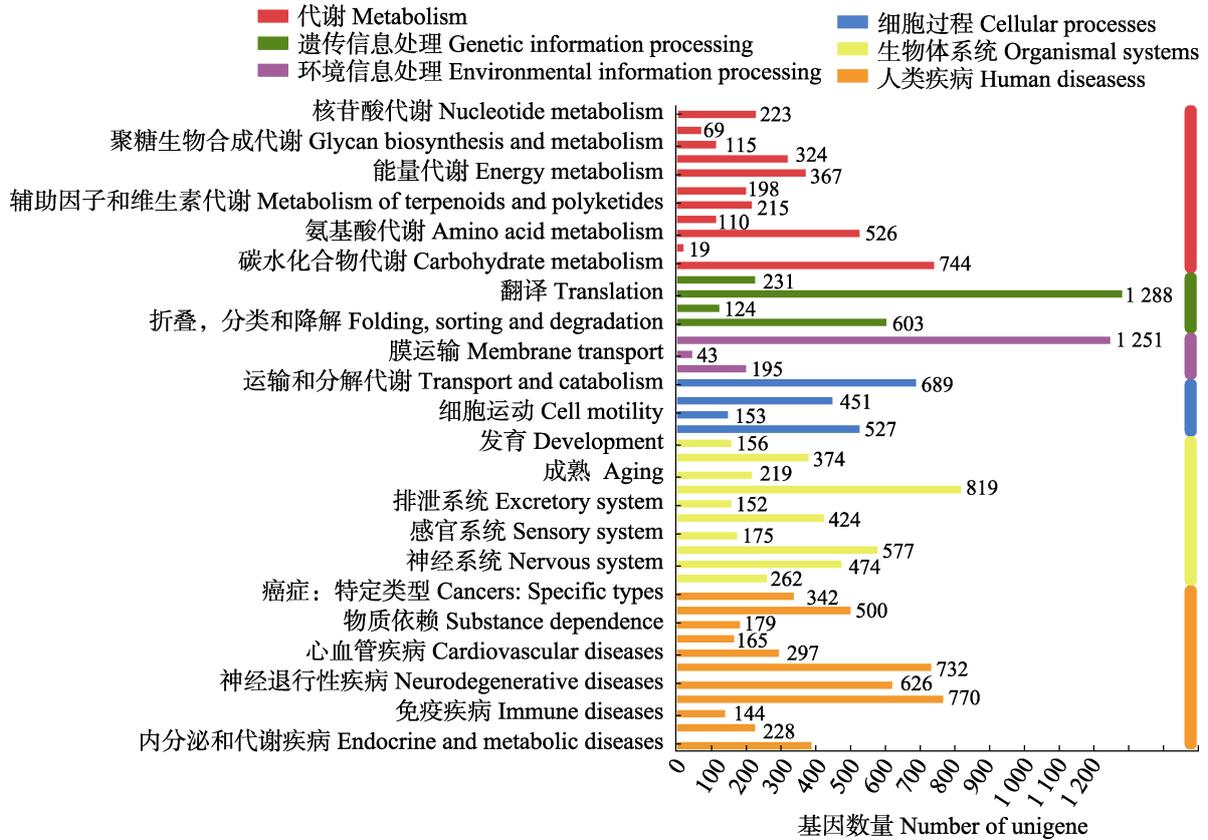


图 6 绿眼赛茧蜂触角转录组 KEGG 通路分析

Fig. 6 KEGG pathways in the antennal transcriptome of *Zele chlorophthalmus*

共 151 条, 其中包括感觉神经元膜蛋白 (SNMP) 基因 3 个、离子型受体 (IR) 基因 22 个、气味结合蛋白 (OBP) 基因 14 个、气味受体 (OR) 基因 83 个、化学感受蛋白 (CSP) 基因 6 个 (表 2)。

表 2 绿眼赛茧蜂触角转录组嗅觉相关基因统计
Table 2 Olfaction-related genes in the transcriptomes of *Zele chlorophthalmus*

基因 Genes	嗅觉相关基因数量 Number of olfaction-related genes	占比 (%) Proportion
气味结合蛋白 Odorant binding protein (OBP)	14	9.27
化学感受蛋白 Chemosensory protein (CSP)	6	3.97
气味\嗅觉受体 Odorant\Olfactory receptor (OR)	83	54.97
离子型受体 Ionotropic receptor (IR)	22	14.57
味觉受体 Gustatory receptor (GR)	23	15.23
感觉神经元膜蛋白 Sensory neuron membrane protein (SNMP)	3	1.99

3 讨论

本研究基于绿眼赛茧蜂触角转录组, 发现 NR 数据库中以毁侧沟茧蜂和横缝茧蜂为最佳, 对比物种的所有 unigenes 仅占据了所有注释基因的 33.57%。寄生蜂间嗅觉相关蛋白基因的差异, 可能与不同种类间嗅觉、基因间的复杂功能密切相连有关 (Sheng *et al.*, 2017)。GO 数据库中将做了分子功能、细胞组分以及生物学过程三个不同亚类的细分, 与其他寄生蜂转录组报道的相类似 (Zhang *et al.*, 2009), 表明参与代谢过程、催化活性、蛋白质复合物、生物调控、结构分子活性都是维持寄生蜂生命活动的必要组成部分。注释到 COG 数据库中的 unigenes 被分成 23 大类, 未知功能有 8 227 条占比 52.79%, 未被挖掘功能的基因数量居多, 表明仍有一大批新的功能基因待鉴定。KEGG 数据库中 unigenes 被注释到 6 大不同通路, 包括环境信息处理、遗传信息处理以及代谢中, 由此可以看出在蛋白质的代谢、遗传响应以及外源物质防御在其嗅觉行为活动中发挥着重要作用。

本研究在嗅觉相关蛋白基因鉴定时一共发现 151 条, 其中气味结合蛋白 (OBPs) 基因数量为 14 条, 相比于其他昆虫的 OBPs 数量较少 (Nishimura *et al.*, 2012; Nie *et al.*, 2018)。这可能是与 OBPs 在绿眼赛茧蜂触角中低表达,

且其存在于身体其他组织有关 (Pelosi *et al.*, 2006)。化学感受蛋白 (CSPs) 基因数量为 6 个, 与 OBPs 功能相似。数量较少的原因可能是寄生蜂间不同基因功能之间的协作差异, 导致 CSP 在触角中的表达量低 (Zhang *et al.*, 2015)。绿眼赛茧蜂触角中鉴定到 83 个嗅觉受体 (ORs) 基因, 少于腰带长体茧蜂 (88 个) (Ahmed *et al.*, 2017) 和中红侧沟茧蜂 (168 个) 中 ORs 基因的数目 (Zhang *et al.*, 2009), 但比菜蛾盘绒茧蜂中的数量 (6 个) 多 (Nishimura *et al.*, 2012)。ORs 基因在不同物种之间存在差异可能是不同物种所生活的环境及与其表现出来的行为相关。例如, 蝇类和蛾类对气味和化学信息素的识别过程与其行为和生态差异有关 (Benton *et al.*, 2006)。鉴定出 22 个离子型受体 (IRs) 基因, 其序列具有高度的保守性。果蝇中 IRs 可以处理诸如氨类和醇类的化合物, 并对其有强烈的特异性反应 (Grosjean *et al.*, 2011; Min *et al.*, 2013; Hussain *et al.*, 2016)。本研究鉴定出 23 个 GRs, 其保守性较 IRs 差, 且物种分化差异较大。有文献报道 GRs 基因在身体其他组织中高度表达, 也许具有嗅觉之外的其它功能 (Mang *et al.*, 2015), 如感知糖类、苦味、二氧化碳以及识别信息素等功能 (Sato *et al.*, 2011)。鉴定出感觉神经元膜蛋白 (SNMPs) 基因有 3 个, 是人类脂肪酸转运体 CD36 基因家族的同源基因 (Vogt *et al.*, 2009)。目前所鉴定出的 SNMP 分为

SNMP1 家族和 SNMP2 家族, 具有不同的表达模式 (杜立啸等, 2016), 但其表达机理尚不明确, 通过对相似度进行排列并对细胞类型进行分析, 说明 SNMP 参与了不同的生理生化过程。

本研究测序、组装及注释了绿眼赛茧蜂触角转录组, 但要明确其组织表达模式和生理生化功能仍需进一步深入研究。后续将利用实时荧光定量 PCR 技术, 辅助明确嗅觉相关蛋白的功能作用, 结合不同的分子组学测序, 通过正反向遗传学手段来展开基因功能型研究, 进一步明确嗅觉相关蛋白在绿眼赛茧蜂生理生态中的作用, 以更好的发挥绿眼赛茧蜂在生物防治中的潜能。

参考文献 (References)

- Ahmed T, Zhang TT, Wang ZY, He KL, Bai SX, 2017. Molecular cloning, expression profile, odorant affinity, and stability of two odorant-binding proteins in *Macrocentrus cingulum* Brischke (Hymenoptera: Braconidae). *Archives of Insect Biochemistry & Physiology*, 94(2): e21374.
- Benton R, Sachse S, Michnick S, Vosshall L, 2006. Atypical membrane topology and heteromeric function of *Drosophila* odorant receptors in vivo. *PLoS Biology*, 4(2): 240–257.
- Du LX, Liu Y, Wang GR, 2016. Molecular mechanisms of signal transduction in the peripheral olfactory system of insects. *Scientia Sinica Vitae*, 46(5): 573. [杜立啸, 刘杨, 王桂荣, 2016. 昆虫外周嗅觉系统信号转导机制研究进展. *中国科学: 生命科学*, 46 (5): 573.]
- Du Q, 2015. Investigation of insect pests of lucern and their natural enemies in kangbao county of Hebei province. Doctoral dissertation. Hubei: Huazhong Agricultural University. [杜芹, 2015. 河北康保县苜蓿害虫及其天敌的研究. 博士学位论文. 湖北: 华中农业大学.]
- Grosjean Y, Rytz R, Farine JP, Abuin L, Cortot J, Jefferis GS, Benton R, 2011. An olfactory receptor for food-derived odours promotes male courtship in *Drosophila*. *Nature*, 478(7368): 236.
- Hussain A, Zhang M, Üçpınar HK, Svensson T, Quillery E, Gompel N, Ignell R, Grunwald Kadow IC, 2016. Ionotropic chemosensory receptors mediate the taste and smell of polyamines. *PLoS Biology*, 14(5): e1002454.
- Kang AG, Yang LJ, Zhang YH, Liu DJ, Zhao ZY, Zhang FY, Feng LR, 2015. Species of wasp parasitoids and their roles in regulating meadow moth, *Loxostege sticticalis* (Lepidoptera: Pyralidae) populations in the agro-pastoral ecotone of northwestern Hebei. *Chinese Bulletin of Entomology*, 52(1): 215–222. [康爱国, 杨立军, 张玉慧, 刘栋军, 赵志英, 张凤英, 冯丽荣, 2015. 冀西北农牧交错区草地螟寄生蜂及其控害作用. *应用昆虫学报*, 52(1): 215–222.]
- Leal WS, 2013. Odorant reception in insects: Roles of receptors, binding proteins, and degrading enzymes. *Annu. Rev. Entomol.*, 58: 373–391.
- Li Q, Cheng YX, Luo LZ, Du Q, Jiang XF, Zhang L, 2017. Biology and bio-control potential of *Zele chlorophthalmus* (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of beet webworm, *Loxostege sticticalis* (Lepidoptera: Crambidae). *Chinese Journal of Biological Control*, 33(6): 803–810. [李倩, 程云霞, 罗礼智, 杜芹, 江幸福, 张蕾, 2017. 绿眼赛茧蜂生物学特性及其对草地螟的控害作用. *中国生物防治学报*, 33(6): 803–810.]
- Mang D, Shu M, Endo H, 2015. Expression of a sugar taste gustatory receptor, Bm Gr6, in the oral sensory organs, midgut, and central nervous system of larvae of the silkworm *Bombyx mori*. *Insect Biochemistry & Molecular Biology*, 70: 85–98.
- Min S, Ai M, Shin SA, Suh GS, 2013. Dedicated olfactory neurons mediating attraction behavior to ammonia and amines in *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(14): E1321–E1329.
- Nie XP, Li QL, Xu C, Li DZ, Zhang Z, Wang MQ, Zhou AM, Li SQ, 2018. Antennal transcriptome and odorant binding protein expression profiles of an invasive mealybug and its parasitoid. *Journal of Applied Entomology*, 142(1/2): 149–161.
- Nishimura O, Brillada C, Yazawa S, Maffei ME, Arimura G, 2012. Transcriptome sequencing of the parasitoid wasp *Cotesia vestalis*: Genes involved in the antennal odorant-sensory system. *PLoS ONE*, 7(11): e50664.
- Pelosi P, Zhou JJ, Ban LP, Calvello M, 2006. Soluble proteins in insect chemical communication. *Cell Mol. Life Sci.*, 63(14): 1658–1676.
- Renny N, Shiu TW, Chih YS, 2020. Neuronal compartmentalization: A means to integrate sensory input at the earliest stage of information processing? *BioEssays*, doi:10.1002/bies.202000026.
- Sato K, Tanaka K, Touhara K, 2011. Sugar-regulated cation channel formed by an insect gustatory receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 108 (28): 11680–11685.
- Sheng S, Liao CW, Zheng Y, 2017. Candidate chemosensory genes identified in the endoparasitoid *Meteorus pulchricornis* (Hymenoptera: Braconidae) by antennal transcriptome analysis. *Comparative Biochemistry & Physiology Part D Genomics & Proteomics*, 22(5): 20–31.
- Tian XX, 2010. The wasp parasitoids and their regulating roles to the populations of beet webworm, *Loxostege sticticalis* (Lepidoptera: Pyralidae). Master dissertation. Beijing: Chinese

- Academy of Agricultural Sciences. [田晓霞, 2010. 草地螟寄生蜂及其对寄主种群的控制作用. 硕士学位论文. 北京: 中国农业科学院.]
- Vogt RG, Miller NE, Litvack R, Fandino RA, Sparks J, Staples J, Friedman R, Dickens JC, 2009. The insect SNMP gene family. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 39(7): 448–456.
- Wang DY, 2020. Host selection behaviour of *Zelex chlorophthalmus* and its mechanism. Master dissertation. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences. [王丹阳, 2020. 绿眼赛茧蜂的寄主选择行为机制研究. 硕士学位论文. 北京: 中国农业科学院.]
- Zhang S, Pang B, Zhang L, 2015. Novel odorant-binding proteins and their expression patterns in grasshopper, *Oedaleus asiaticus*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 460(2): 274–280.
- Zhang S, Zhang YJ, Su HH, Gao XW, Guo YY, 2009. Identification and expression pattern of putative odorant-binding proteins and chemosensory proteins in antennae of the *Icroplitis mediator* (Hymenoptera: Braconidae). *Chemical Senses*, 34(6): 503.
- Zhou JJ, Kan Y, Antoniw J, Pickett JA, Field LM, 2006. Genome and EST analyses and expression of a gene family with putative functions in insect chemoreception. *Chemical Senses*, 31(5): 453.



黑斑园蛛 *Araneus mitificus* (Simon)

蜘蛛是节肢动物门 Arthropoda 蛛形纲 Arachnida 蜘蛛目 Araneae)种的通称。《应用昆虫学报》不仅发表昆虫(节肢动物门的昆虫纲 Insecta)的各类研究成果,同时也从广义角度关注蜘蛛等相关研究成果的报道,同时很多蜘蛛是昆虫的天敌。本期封面照片为黑斑园蛛 *Araneus mitificus* (Simon) (园蛛科 Araneidae, 李枢强鉴定物种名称, 张润志拍摄照片), 2020 年 8 月 20 日拍摄于浙江舟山。黑斑园蛛分布于浙江、安徽、四川、湖南、广东等地。雌蛛体长 9-11 mm, 腹背黄绿色有黑色斑纹, 靠近基部有一 V 字形斑, 端部有 4 个斑纹排成一横列。

(张润志, 中国科学院动物研究所)