



米蛾嗅觉基因的转录组分析*

李鹏燕^{1**} 张秋婷² 黄铮昱² 黄 华¹ 陈伟平¹ 廖永林^{1***}

(1. 广东省农业科学院植物保护研究所, 广东省植物保护新技术重点实验室, 广州 510640;

2. 中南林业科技大学食品科学与工程学院, 稻谷及副产物深加工国家工程实验室, 长沙 410004)

摘 要 【目的】建立米蛾 *Corcyra cephalonica* 成虫转录组数据库, 获得米蛾的嗅觉基因信息。【方法】采用高通量测序平台 (Illumina Hiseq) 对米蛾进行转录组测序, 用 Trinity 软件对原始数据进行组装分析, 在 7 个数据库中用 Blast 软件对 unigene 进行注释, 用 PCR 方法检测米蛾信息素结合蛋白基因 (Pheromone binding protein, PBPs) 和普通气味结合蛋白基因 (General odorant binding protein, GOBPs) 在成虫不同组织中的表达情况。【结果】最终获得 58 534 条 unigene, 其中 25 879 条得到注释; N50 为 2 212 bp, 平均长度 1 251 bp; 与脐橙螟 *Amyelois transitella* 相似度最高 (28.2%); 发掘了 20 个气味结合蛋白 (Odorant binding proteins, OBPs), 18 个化学感受蛋白 (Chemosensory proteins, CSPs), 2 个 GOBPs 和 3 个 PBPs, 均已上传 NCBI。组织表达分析发现 PBPs 和 GOBPs 基因都在米蛾成虫触角上大量表达, 在头、胸、腹、足、翅中少量表达, PBP3 在成虫胸部组织中无表达, GOBP2 仅在成虫触角上大量表达, 在其他组织中无表达。【结论】研究结果丰富和完善了米蛾的嗅觉基因信息, 为米蛾的嗅觉识别机制研究和诱剂研发奠定了分子基础。

关键词 米蛾; 转录组测序; 嗅觉基因; 代谢通路; 功能注释

Analysis of the olfactory genes of *Corcyra cephalonica* (Lepidoptera: Pyralidae)

LI Peng-Yan^{1**} ZHANG Qiu-Ting² HUANG Zheng-Yu² HUANG Hua¹
CHEN Wei-Ping¹ LIAO Yong-Lin^{1***}

(1. Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Plant Protection Research Institute, Guangdong Provincial Key Laboratory of High Technology for Plant Protection, Guangzhou 510640, China; 2. National Engineering Laboratory of Deep Processing of Rice and Byproducts, College of Food Science and Engineering, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, China)

Abstract 【Objectives】To obtain olfactory gene information and establish a transcriptome database for the adult rice moth, *Corcyra cephalonica*. 【Methods】The *C. cephalonica* transcriptome was sequenced on the Illumina HiSeq platform, the original data were assembled and analyzed using the Trinity software package and Blast was used to annotate unigenes in 7 databases. The expression of pheromone binding proteins (PBPs) and general odorant binding proteins (GOBPs) in different adult moth tissues was then detected using PCR. 【Results】A total of 58 534 unigenes were obtained, 25 879 of which were annotated with an N50 value of 2 212 bp and mean length of 1 251 bp. *C. cephalonica* unigenes had highest similarity (28.2%) to those of *Amyelois transitella*; 20 odorant binding proteins (OBPs) genes, 18 chemosensory proteins (CSPs) genes, 2 general odorant binding protein (GOBPs) genes and 3 pheromone binding proteins (PBPs) genes, were identified and uploaded to NCBI. PBPs and GOBPs were highly expressed in the antennae of adult moths but expression was lower in the head, thorax, abdomen, leg and wing. PBP3 was not expressed in the thorax, and GOBP2 was only highly expressed in the antennae and not

*资助项目 Supported projects: 广州市农村科技特派员项目 (GZKTP201918、GZKTP201802); 湖南省研究生科研创新项目 (CX20200720); 广东省农业科学院乡村振兴地方分院工作经费项目 (2020 驻点 46-23)

**第一作者 First author, E-mail: lpycau@163.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: liaoyonglin2108@163.com

收稿日期 Received: 2020-11-04; 接受日期 Accepted: 2021-09-15

in other tissues. **[Conclusion]** The results significantly increase the available information on the olfactory genes of *C. cephalonica*, and provide a molecular foundation for the study of olfactory recognition mechanisms and the development of attractants for this pest.

Key words *Corcyra cephalonica*; transcriptome sequencing; olfactory genes; function annotation

米蛾 *Corcyra cephalonica* Stainton, 属鳞翅目蜡螟科 (Lepidoptera: Pyralidae), 是一种重要的储粮害虫, 对储藏的谷类和谷类商品均造成重大损害 (Meena and Bhargava, 2003)。该虫广泛分布于世界各地, 在我国多分布于南部地区 (Karishma *et al.*, 2016; 徐冬梅等, 2020)。米蛾的为害主要在幼虫阶段, 常以破碎的谷物为食, 同时在取食时常留下丝状物产生致密的织带材料污染谷物, 极大的降低了谷物的质量与数量, 降低了种子的发芽率 (Kumar *et al.*, 2018; Attia *et al.*, 2020)。米蛾绿色防治对保证我国粮食质量安全具有重要作用 (林子木, 2019)。

基于昆虫嗅觉的诱捕剂是一种特异性高、环保、高效的绿色防治产品。昆虫嗅觉系统是一个灵敏、多蛋白参与且功能独特的系统, 在昆虫生命活动中起着重要的作用, 影响着取食、交配、产卵及避敌等行为 (Krieger, 1999; 刘伟等, 2018)。昆虫识别外界挥发性物质的过程非常复杂, 参与这一过程主要是触角感器上的一系列蛋白, 包括气味结合蛋白 (Odorant binding proteins, OBPs) 和化学感受蛋白 (Chemosensory proteins, CSPs)、信息素结合蛋白 (Pheromone binding proteins, PBPs)、普通气味结合蛋白 (General binding proteins, GOBPs) 和气味受体 (Odorant receptors, ORs) 等, 这一系列蛋白负责气味分子的识别、运输和信号传导, 从而指导昆虫完成行为活动 (王桂荣等, 2004; 康克, 2016)。利用嗅觉机制研发高效诱捕剂来防治米蛾不失为一种绿色可行的防治方法, 而米蛾嗅觉基因的鉴定是其嗅觉机制研究的前提。近年来, 昆虫基因测序技术发展迅速, 转录组学被频繁的用于发掘昆虫未知基因, 越来越多的嗅觉基因得到鉴定, 目前, 相当多的鳞翅目、膜翅目、直翅目、双翅目等昆虫的嗅觉基因已被鉴定 (谢翠琴等, 2016; 杜迎刚等, 2019; 胡佳萌等,

2019; Ma *et al.*, 2019; 宋文森, 2019; 王超等, 2019)。

目前, 关于米蛾嗅觉基因的报道是极少的, 米蛾大量的嗅觉基因等待被发掘。所以, 本研究采用高通量测序技术对米蛾进行转录组测序, 目的是获得大量嗅觉基因信息, 为米蛾嗅觉机制研究和诱捕剂研发提供必要的科学基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

米蛾采自广东省农业科学院植物保护研究所生物防治研究室。米蛾化蛹后, 放入指形管中单头饲养。饲养条件设置温度为 $(26 \pm 2)^\circ\text{C}$, 湿度 $70\% \pm 10\%$, 日夜光照时长为 14L : 10D。待蛹羽化后, 用 10% 蜂蜜水饲喂 2-3 d, 取未交配的雌蛾、雄蛾各 4 头放入 -80°C 冰箱保存备用。

1.2 总 RNA 提取

取出米蛾, 用液氮将雌蛾、雄蛾分别研磨为粉末, 按照 Rneasy Plus Mini Kit (Qiagen Co., 德国) 试剂盒说明书提取总 RNA, 用琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 的降解程度、Nanodrop 检测 RNA 的纯度和浓度, 检测合格的总 RNA 用于转录组测序, 以保证测序的质量。

1.3 转录组数据库的构建

采用 RNA-seq 技术建立米蛾的转录组文库, 文库的建立及测序工作由诺禾致源有限公司 (北京) 完成, 采用 Illumina Hiseq 的 Nova 6000 系统进行测序。

1.4 数据组装及注释

从测序结果的 raw data 中过滤筛选出 clean data, 用 Trinity 软件拼接 clean data, 取每条拼接基因中最长的转录本作为 unigene, 将获得的

unigene 分别在 NR (Non-redundant protein data-base, 非冗余蛋白质数据库)、NT(NCBI nucleotide sequences, 核酸序列数据库)、GO(Gene ontology, 基因本体)、KOG (euKaryotic orthologous, 真核生物同源组)、KEGG (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, 代谢途径分析数据库)、Swiss-Prot (A manually annotated and reviewed protein sequence database, 蛋白质注释信息数据库) 和 Pfam (Protein family, 同源蛋白家族数据库) 这 7 个数据库中进行 Blast 比对, 获得基因

功能注释信息。

1.5 米蛾 PBP_s 和 GOBP_s 基因在不同组织中的表达验证

用镊子分别取下 20 只米蛾雌虫和雄虫的头、胸、腹、足、翅和触角, 立即放到 - 80 ℃ 冰箱保存, 待用。各组织的总 RNA 提取方法参见 1.2。反转录按照 Takara 反转录试剂盒说明书进行。根据转录组测序结果, 设计每个基因的特异引物 (表 1)。

表 1 引物信息
Table 1 Primer information

名称 Name		引物序列 (5'-3') Primer sequences	退火温度 (℃) Annealing temperature (℃)
PBP1	MT905108-F	TTAGGAGCCCAGTTTA	43
	MT905108-R	TTCCCAGTTCCGTTA	
PBP2	MT905109-F	CTGGATGGCTCTTTGTT	53
	MT905109-R	TTGCGGATGTCGGTGC	
PBP3	MT905110-F	ACTTGCTTACTGGTGCTG	50
	MT905110-R	AACTCCATAATGCGTCT	
GOBP1	MT905111-F	CTATTCATCTCCTTCAGCTTCC	56
	MT905111-R	TCCGTCGATCTGTTACAA	
GOBP2	MT905112-F	TCAAAATGGTTGCAAAGT	50
	MT905112-R	GAAACGAGGAAAGTAAGAA	

2 结果与分析

2.1 米蛾转录组组装

米蛾雌虫转录组测序平均产出 97 094 882 条 clean reads, 数据大小平均为 7.28 G, G+C 的含量平均为 45.45%, Q30 平均为 95.1%; 雄虫平均产出 89 308 754 条 clean reads, 数据大小平均为 6.7 G, G+C 的含量平均为 44.9%, Q30 平均为 95.16% (表 2)。

序列组装得到转录本的 N50 为 2 212 bp, 平均长度为 1 251 bp, 拼接得到 58 534 条 unigene (表 3)。转录本与 unigene 长度分布显示, >500 bp 的 unigene 有 37 450 条, 占全部 unigene 的 63.98%。

2.2 基因功能注释

将测序得到的 unigene 在 NR、NT、KO、

GO、KOG、PFAM 和 Swiss-Prot 数据库中比对分析结果如表 4 所示, 在 NR 数据库中得到注释的 unigene 最多 (20 081 条), 其它依次为 Pfam 和 GO (16 493 条)、Swiss-Prot (14 574 条)、NT (14 037 条)、KOG (7 050 条)、KO (5 418 条)。注释共得到 58 534 条 unigene, 在 7 个数据库中都注释成功的有 2 583 条 unigene, 比例为 4.41%; 至少在 1 个数据库中注释成功的有 25 879 条 unigene, 比例为 44.21%。

unigene 注释到 NR 数据库中的物种分布图显示 (图 1), 脐橙螟 *Amyelois transitella* 所占比例最高 (28.2%), 其后依次是斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* (9.0%), 棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (8.1%), 烟芽夜蛾 *Heliothis virescens* (6.7%), 家蚕 *Bombyx mori* (5.5%), 其他物种占 42.6%。

表 2 米蛾转录组数据质量统计
Table 2 Quality of transcriptome data of *Corcyra cephalonica*

样本 Sample	clean reads 数 Number of clean reads	数据大小 (%) Data size (%)		Q30 (%)
		G	G+C	
雌虫 1 Female 1	104 005 228	7.80	45.29	94.92
雌虫 2 Female 2	88 594 124	6.64	46.03	95.02
雌虫 3 Female 3	91 499 260	6.86	45.56	95.35
雌虫 4 Female 4	104 280 916	7.82	44.91	95.10
雄虫 1 Male 1	88 160 520	6.61	45.00	95.20
雄虫 2 Male 2	88 182 920	6.61	44.85	95.28
雄虫 3 Male 3	90 615 644	6.80	44.80	94.97
雄虫 4 Male 4	90 275 932	6.77	44.98	95.20

Q30: 表示质量值≥30 的碱基所占百分比。
Q30: Percentages of bases with the quality value ≥30.

表 3 米蛾转录组组装结果长度分布
Table 3 Length distribution of assembly result of *Corcyra cephalonica*

长度范围 (bp) Length interval	转录本个数 Number of transcript	unigene 个数 Number of unigene
300-500	34 344	21 084
500-1 000	32 355	17 985
1 000-2 000	27 617	9 579
>2 000	35 054	9 886
核苷酸总数 Total nucleotides	129 370	58 534
N50 长度 N50 length (bp)	2 835	2 212
平均长度 Mean length (bp)	1 643	1 251

N50: 覆盖 50%所有核苷酸的最大 unigene 长度。
N50: Maximum length of unigene covering 50% of all nucleotides

米蛾的 unigene 在 KEGG 数据库中比对结果表明, 58 534 条 unigene 可能参与或涉及 5 类代谢途径, 从多到少依次为代谢 (Metabolism)、有机系统 (Organismal systems)、环境信息处理 (Environmental information processing)、遗传信息处理 (Genetic information processing) 和细胞过程 (Cellular processes), 这 5 个代谢途径涉及 229 个代谢通路。其中注释最多的 (>100 条 unigene) 7 个代谢通路依次为: 碳代谢 (162 条)、嘌呤代谢 (140 条)、胰岛素信号通路 (115 条)、

表 4 米蛾转录组功能注释结果
Table 4 Annotation results of *Corcyra cephalonica*

注释数据库 Annotation database	unigene 个数 Number of unigene	百分比 (%) Percentage
NR	20 081	34.30
NT	14 037	23.98
KO	5 418	9.25
Swiss-Prot	14 574	24.89
PFAM	16 493	28.17
GO	16 493	28.17
KOG	7 050	12.04
以上数据库都注释成功 Annotated in all database	2 583	4.41
至少一个数据库注释成功 Annotated in at least one database	25 879	44.21
总 unigene Total unigene	58 534	100.00

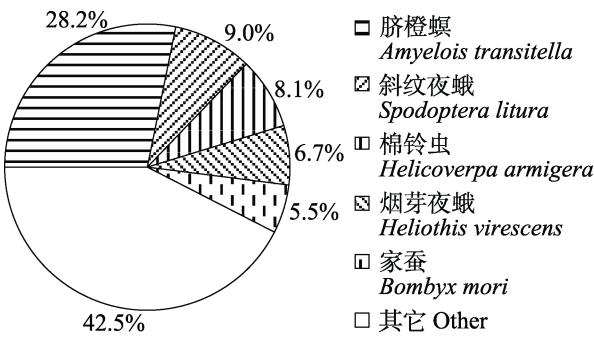


图 1 unigene 在 NR 数据库中的物种分布图
Fig. 1 Distribution map of unigene in NR database

胞吞作用 (112 条)、cAMP 信号通路 (106 条)、氧化磷酸化 (106 条) 和氨基酸生物合成 (102 条) (表 5)。

表 5 KEGG 注释上 unigene 最多的 7 个代谢通路 (>100 条 unigene)
Table 5 Seven unigene pathway hierarchies with the most annotated unigene of *Corcyra cephalonica* on KEGG (>100 unigene)

ID	代谢通路 Pathway hierarchies	基因数 Number of unigene
ko01200	碳代谢 Carbon metabolism	162
ko00230	嘌呤代谢 Purine metabolism	140
ko04910	胰岛素信号通路 Insulin signal pathway	115
ko04144	胞吞作用 Endocytosis	112
ko04024	cAMP 信号通路 cAMP signaling pathway	106
ko00190	氧化磷酸化 Oxidative phosphorylation	106
ko01230	氨基酸的生物合成 Biosynthesis of amino acids	102

米蛾的 unigene 在 GO 数据库中比对结果表明, 1 492 条 unigene 共得到 307 168 条功能注释 (图 2), 分为三大类: 生物学过程、细胞组分和分子功能。参与生物学过程的有 211 536 条, 其中细胞进程基因最多 (47 291 条), 其次是单一组织进程 (19 433 条)、生物调节进程 (13 927 条)、代谢过程 (11 1681 条), 其余的均在 10 000 条以下; 参与细胞组分的有 58 823 条, 其中细胞组分基因最多 (16 093 条), 其次是细胞器 (12 870 条)、细胞 (10 899 条), 其余的均在 10 000 条以下; 参与分子功能的有 36 809 条, 其中具有结合活性的最多 (25 190 条), 其次为水解酶活性 (7 118 条), 其余的均在 7 000 条以下。用 Blast 软件在转录组结果中共发掘 20 个 OBP, 18 个 CSP, 2 个 GOBP, 3 个 PBP (表 6), 均已上传 NCBI。

2.3 米蛾 PBPs 和 GOBPs 基因在不同组织中的表达验证

3 个 PBPs 基因都在米蛾成虫触角上大量表

达 (图 3), PBP1 和 PBP2 在头、胸、腹、足、翅各组织中也有少量表达, PBP3 在头、腹、足、翅中少量表达, 而在成虫胸部组织中无表达。2 个 GOBPs 基因中, GOBP1 在成虫触角上大量表达, 在其他组织中少量表达, GOBP2 仅在成虫触角上大量表达, 在其他组织中无表达。

3 讨论与结论

近几年, 转录组测序分析已广泛应用于基因发掘、功能鉴定、基因表达分析、遗传多样性及适应性进化等研究 (张麒麟和袁明龙, 2013)。本文通过对米蛾成虫进行转录组测序分析, 获得的 Q30 均高于 94%, N50 的长度为 2 212 bp, 与以往的同类数据相比, 该分析数据较高。例如大蜡螟 *Galleria mellonella* 的 Q30 碱基比例在 89.89% 以上, N50 长度为 1 161 bp (杨爽等, 2019); 荔枝蒂蛀虫 *Conopomorpha sinensis* 的 Q30 为 92%, N50 为 1 441 bp (孟翔等, 2016)。这表明本次测序质量好、完整度高、组装结果好, 具有较强的可信度。但本次测序分析结果中, 仍有 32.02% 的 unigene 没有注释, 这可能是因为序列太短比对不上 (魏利斌等, 2012), 或因为这些是未知基因或非编码序列, 所以没有得到注释 (Hou et al., 2011; 郑海霞等, 2018)。

在 7 大公共数据库中对得到的 unigene 进行同源性搜索, 发现在 NR 数据库中注释成功的数目最多。与 NR 库中的物种对比分析的结果表明米蛾基因与脐橙螟的相似度最高, 达到 28.2%, 与其它鳞翅目昆虫 (斜纹夜蛾、棉铃虫、烟芽夜蛾、家蚕) 相似度也较高, 这表明米蛾与这几种昆虫的基因功能相似, 也预示其亲缘关系较近。在嗅觉基因上传 NCBI 过程中, 我们发现米蛾的嗅觉基因与大蜡螟的相似度平均在 70% 左右, 这说明米蛾与大蜡螟的亲缘关系也很近。

GO 数据库的基因功能分类体系有助于全面了解昆虫的基因和基因产物, 基于此数据库, 共得到 307 168 条功能注释, 其中参与细胞进程基因、结合活性、单一组织进程、细胞组分基因的较多。结合 KEGG 数据库对米蛾可能参与或涉及的代谢途径的 unigene 进行分析, 我们发现

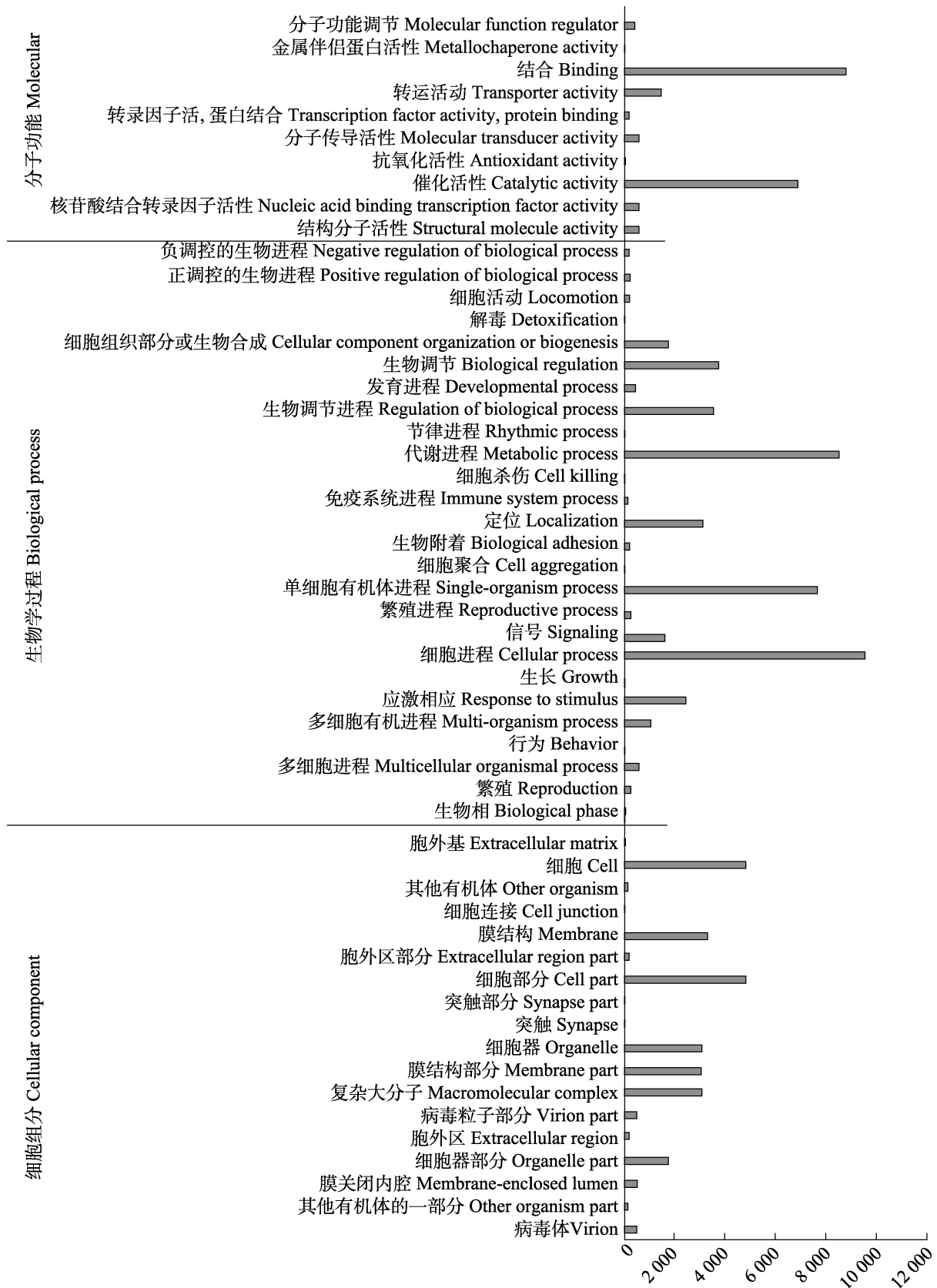


图 2 米蛾转录组 GO 分类图

Fig. 2 GO classification of transcriptome of *Corcyra cephalonica*

表 6 米蛾嗅觉基因注释结果
Table 6 Annotation results of olfactory genes of *Corcyra cephalonica*

嗅觉基因 Olfactory genes	在 NR 中注释的基因数量 Number of olfactory genes annotated in NR database	GenBank 登录号 GenBank accession number
气味结合蛋白 Odorant binding proteins	20	MT849324, MT877074, MT849325, MT849326, MT919303 , MT849327-MT849332 , MT905099- MT905107
化学感受蛋白 Chemosensory proteins	18	MT905081-MT905098
普通气味结合蛋白 General odorant binding proteins	2	MT905111, MT905112
信息素结合蛋白 Pheromone binding proteins	3	MT905108, MT905109, MT905110

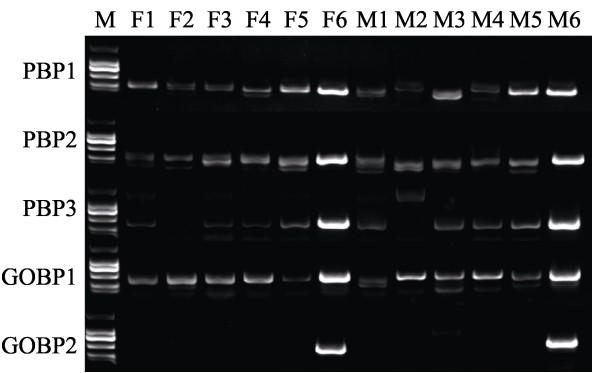


图 3 用特异引物克隆米蛾 PBP 和 GOBP 基因的电泳图
Fig.3 Electrophoretogram of PBPs and GOBPs of *Corcyra cephalonica*
M: 分子量标记; F1: 雌虫头; F2: 雌虫胸; F3: 雌虫腹; F4: 雌虫足; F5: 雌虫翅; F6: 雌虫触角;
M1: 雄虫头; M2: 雄虫胸; M3: 雄虫腹; M4: 雄虫足; M5: 雄虫翅; M6: 雄虫触角。
M: Marker; F1: Female head; F2: Female thorax; F3: Female abdomen; F4: Female leg; F5: Female wing; F6: Female antenna; M1: Male head; M2: Male thorax; M3: Male abdomen; M4: Male leg; M5: Male wing; M6: Male antenna.

58 534 条共注释到 5 类代谢通路分支上, 包括 229 个代谢通路, 其中注释最多的是参与碳代谢的基因, 表明这些基因与米蛾的生长发育和某些重要生物物质的合成有关, 其中某些信号通路基因可能与信号的传递有关。总的来说, 这些基因主要参与嗅觉系统中相关蛋白的合成、转运以及气味信号的传递等功能 (杨海博等, 2018), 这为进一步基因功能研究提供了参考数据。

虽然本次测序质量较好, 但是只鉴定出 20 个 OBPs、18 个 CSPs、2 个 GOBPs 和 3 个 PBPs, 与本研究个数相似的是粘虫 *Mythimna separata* 触角鉴定出 21 个 OBPs (包括 2 个 GOBPs 和 3 个 PBPs) 和 19 个 CSPs (张坤朋, 2019); 桃蛀螟 *Conogethes punctiferalis* 触角鉴定出 20 个 OBPs 和 13 个 CSPs (葛星, 2017)。而大蜡螟触角鉴定出 52 个 OBPs 和 36 个 CSPs (杨爽等, 2019); 棉铃虫触角鉴定出 34 个 OBPs 和 18 个 CSPs (张进, 2015); 美国白蛾 *Hyphantria cunea* 触角鉴定出 30 个 OBPs 和 17 个 CSPs (康克, 2016); 桃小食心虫触角鉴定出 29 个 OBPs 和 13 个 CSPs (田志强, 2018); 小地老虎 *Agrotis ipsilon* 触角鉴定出 33 个 OBPs 和 12 个 CSPs (谷少华, 2013)。本研究发现的米蛾 OBP 数量远远少于以上研究。相同的昆虫组织不同的测序系统也会得到不同的测序结果, 例如杨爽等 (2019) 用 Illumina HiSeq 2500 鉴定出大蜡螟的 52 个 OBPs, 而 Lizana 等 (2020) 用 Illumina HiSeq 4000 鉴定出 20 个; 田志强 (2018) 同样用 Illumina HiSeq 4000 鉴定出桃小食心虫 *Carposina sasakii* 的 29 个 OBPs, 而 Li 等 (2019) 用 Illumina HiSeqXTen 鉴定出 12 个。本研究材料是米蛾成虫, 测序系统是 Illumina Hiseq 的 Nova 6000, 这些都与其它报道不同, 所以, 不同的昆虫材料和测序系统都可能造成测序结果的不同。

基因组织表达研究发现米蛾的 3 个 PBPs 基因都在成虫触角上大量表达, PBP1 和 PBP2 在

头、胸、腹、足、翅各组织中也有少量表达, PBP3 在头、腹、足、翅中少量表达, 而在成虫胸部组织中无表达。2 个 GOBPs 基因中, GOBP1 在成虫触角上大量表达, 在其它组织中少量表达, GOBP2 仅在成虫触角上大量表达, 在其他组织中无表达。与本文结果一致的是桃小食心虫的 PBPs 和 GOBPs 除了在触角中大量表达, 在翅和腹部也有少量表达 (田志强, 2018)。而研究结果表明双委夜蛾 *Athetis dissimilis* 的 PBPs 仅在触角中高表达, 而在头胸腹足翅等组织中不表达 (闫祺等, 2018)。斜纹夜蛾 PBP1 和 PBP2 也仅在雌雄虫触角中表达 (张显勇等, 2016)。这说明米蛾的基因具有与其它昆虫的同类基因有不同的组织表达特征, 也许预示着不同的功能。本文仅用 PCR 方法检测了米蛾 PBPs 和 GOBPs 基因在不同组织中的表达情况, 还需进一步基因定量分析及基因功能验证。

参考文献 (References)

- Attia RG, Rizk SA, Hussein MA, Fattah HMA, Ma'Moun SAM, 2020. Effect of cinnamon oil encapsulated with silica nanoparticles on some biological and biochemical aspects of the rice moth, *Corcyra cephalonica* (Staint.) (Lepidoptera: Pyralidae). *Annals of Agricultural Sciences*, 65(1): 1–5.
- Du YG, Ji QE, Lai SX, 2019. Preliminary analysis of transcriptome and olfaction-related genes in *Bactrocera tau* (Walker). *Chinese Journal of Tropical Crops*, 40(9): 1796–1803. [杜迎刚, 季清娥, 赖蚀雄, 2019. 南亚实蝇转录组及嗅觉相关基因的初步分析. 热带作物学报, 40(9): 1796–1803.]
- Ge X, 2017. Functional study of pheromone binding proteins in yellow peach moth *Conogethes punctiferalis* (Guenée). Doctor dissertation. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences. [葛星, 2017. 桃蛀螟性信息素结合蛋白的功能研究. 博士学位论文. 北京: 中国农业科学院.]
- Gu SH, 2013. Molecular and cellular basis of sex pheromone communication in the black cutworm moth *Agrotis ipsilon*. Doctor dissertation. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences. [谷少华, 2013. 小地老虎性信息素通讯的分子和细胞机制. 博士学位论文. 北京: 中国农业科学院.]
- Hou R, Bao ZM, Wang S, Su HL, Li Y, Du HX, Hu JJ, Wang S, Hu XL, 2011. Transcriptome sequencing and de novo analysis of yesso scallop (*Patinopecten yessoensis*) using 454 GS FLX. *PLoS ONE*, 6(6): e21560.
- Hu JM, Xu DP, Zhuo ZH, Yang W, Yang H, Zheng YR, 2019. Analysis of antennal transcriptome and olfaction-related genes of adult *Batocera horsfieldi* (Hope). *Chinese Journal of Applied Entomology*, 56(5): 1037–1047. [胡佳萌, 徐丹萍, 卓志航, 杨伟, 杨桦, 郑奕然, 2019. 云斑天牛成虫触角转录组及嗅觉相关基因分析. 应用昆虫学报, 56(5): 1037–1047.]
- Kang K, 2016. Identification and expression of olfactory genes in *Hyphantria cunea* (Drury). Master dissertation. Hefei: Anhui Agricultural University. [康克, 2016. 美国白蛾嗅觉基因的鉴定及表达研究. 硕士学位论文. 合肥: 安徽农业大学.]
- Karishma D, Purnima D, Surjit K, Shimantini B, Somar H, 2016. Study on duration of instars and morphometrics of *Corcyra cephalonica* (Stainton). *Research on Crops*, 17(2): 395–397.
- Krieger J, 1999. Olfactory reception in invertebrates. *Science*, 286(5440): 720–723.
- Kumar AS, Babu BN, Rathod AK, Rehman HU, Yadav JS, 2018. An efficient synthesis and bio efficacy confirmation of female sex pheromone of the rice moth, *Corcyra cephalonica* Stainton. *Rice Research: Open Access*, 6(4): 1–5.
- Li J, Wang X, Zhang L, 2019. Identification of putative odorant binding proteins in the peach fruit borer *Carposina sasakii* Matsumura (Lepidoptera: Carposinidae) by transcriptome analysis and their expression profile. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 508(4): 1024–1030.
- Lin ZM, 2019. Green technical measures for controlling stored grain pests. *Agricultural Science & Technology and Equipment*, (4): 67–68. [林子木, 2019. 绿色防治储粮害虫的技术措施. 农业科技与装备, (4): 67–68.]
- Liu W, Liu Y, Wang GR, 2018. Advances in the insect olfactory plasticity. *Journal of Environmental Entomology*, 40(6): 1201–1209. [刘伟, 刘杨, 王桂荣, 2018. 昆虫嗅觉可塑性研究进展. 环境昆虫学报, 40(6): 1201–1209.]
- Lizana P, Machuca J, Larama G, Quiroz A, Mutis A, Venthur H, 2020. Mating-based regulation and ligand binding of an odorant-binding protein support the inverse sexual communication of the greater wax moth, *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Insect Molecular Biology*, 29(3): 337–351.
- Ma C, Zhao CC, Cui SW, Zhang Y, Chen GM, Chen HS, Wan FH, Zhou ZS, 2019. Identification of candidate chemosensory genes of *Ophraella communa* LeSage (Coleoptera: Chrysomelidae) based on antennal transcriptome analysis. *Scientific Reports*, 9(1): 373–391.
- Meena BL, Bhargava MC, 2003. Effect of plant products on reproductive potential of *Corcyra cephalonica* Stainton (Lepidoptera: Pyralidae). *Annals of Plant Protection Sciences*, 11(2): 196–200.

- Meng X, Hu JJ, Liu H, OuYang GC, Guo MF, 2016. Analysis of the transcriptome and olfaction-related genes of *Conopomorpha sinensis* Bradley (Lepidoptera: Gracilariidae). *Acta Entomologica Sinica*, 59(8): 823–830. [孟翔, 胡俊杰, 刘慧, 欧阳革成, 郭明昉, 2016. 荔枝蒂蛀虫转录组及嗅觉相关基因分析. 昆虫学报, 59(8): 823–830.]
- Song WM, 2019. Identification, tissue expression profile and protein expression research of *Glyphodes pyloalis* olfactory genes. Master dissertation. Zhenjiang: Jiangsu University of Science and Technology. [宋文森, 2019. 桑螟嗅觉相关基因的鉴定、组织表达谱及体外表达的研究. 硕士学位论文. 镇江: 江苏科技大学.]
- Tian ZQ, 2018. Molecular cloning and functional analysis of pheromone binding proteins in *Carposina sasakii* (Carpodidae). Master dissertation. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences. [田志强, 2018. 桃小食心虫性信息素结合蛋白基因的克隆及功能鉴定. 硕士学位论文. 北京: 中国农业科学院.]
- Wang C, Bao HE, WuYun GW, Cui ALTWL, BaYin JRGL, Erde MT, 2019. Analysis of the transcriptomes and olfaction-related genes of *Wohlfahrtia magnifica* (Diptera: Sarcophagidae) at different developmental stages. *Acta Entomologica Sinica*, 62(6): 685–693. [王超, 包花尔, 乌云高娃, 崔阿拉腾乌拉, 巴音吉日嘎拉, 额尔敦木图, 2019. 黑须污蝇不同发育阶段转录组及嗅觉相关基因分析. 昆虫学报, 62(6): 685–693.]
- Wang GR, Wu KM, Guo YY, 2004. Research advance on molecular mechanism of odors perception in insects. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 12(6): 720–726. [王桂荣, 吴孔明, 郭予元, 2004. 昆虫感受气味物质的分子机制研究进展. 农业生物技术学报, 12(6): 720–726.]
- Wei LB, Miao HM, Zhang HY, 2012. Transcriptomic analysis of sesame development. *Scientia Agricultura Sinica*, 45(7): 1246–1256. [魏利斌, 苗红梅, 张海洋, 2012. 芝麻发育转录组分析. 中国农业科学, 45(7): 1246–1256.]
- Xie CQ, Nie HY, Su SK, 2016. Advances in research on antennal transcriptome in insects. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 53(6): 1157–1164. [谢翠琴, 聂红毅, 苏松坤, 2016. 昆虫触角转录组研究进展. 应用昆虫学报, 53(6): 1157–1164.]
- Xu DM, Zhang YN, Zhang L, Mao LG, Zheng YQ, Jiang HY, 2020. Effects of feeding density of rice moth on the quality of rice and cooked rice. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 48(4): 191–192, 195. [徐冬梅, 张燕宁, 张兰, 毛连纲, 郑永权, 蒋红云, 2020. 米蛾饲养密度对大米及米饭品质的影响. 安徽农业科学, 48(4): 191–192, 195.]
- Yan Q, Chen Y, Liu XL, Li BH, Liao H, Zhang XQ, Dong SL, 2018. Molecular identification and tissue expression analysis of three pheromone binding protein genes in *Atheris dissimilis*. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 41(6): 1037–1044. [闫祺, 陈严, 刘晓龙, 李柏桦, 廖辉, 张小晴, 董双林, 2018. 双委夜蛾 3 个信息素结合蛋白基因的分子鉴定及组织表达分析. 南京农业大学学报, 41(6): 1037–1044.]
- Yang HB, Hu ZJ, Li DX, Zhu PH, Dong JF, 2018. Analysis of the antennal transcriptome and olfactory-related genes of the sycamore lace bug (*Corythucha ciliata*). *Journal of Agricultural Biotechnology*, 26(12): 2109–2120. [杨海博, 胡镇杰, 李定旭, 朱品红, 董钧锋, 2018. 悬铃木方翅网蝽触角转录组及嗅觉相关基因分析. 农业生物技术学报, 26(12): 2109–2120.]
- Yang S, Zhao HT, Xu K, Guo LN, Du YL, Li XY, Su WT, Feng YJ, Long DL, Jiang YS, 2019. Analysis of the antennal transcriptome and olfaction-related genes of the greater wax moth *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Chinese Journal of Applied Entomology*, 56(6): 1279–1291. [杨爽, 赵慧婷, 徐凯, 郭丽娜, 杜亚丽, 李新宇, 苏文婷, 冯宇佳, 龙登隆, 姜玉锁, 2019. 大蜡螟触角转录组及嗅觉相关基因分析. 应用昆虫学报, 56(6): 1279–1291.]
- Zhang QL, Yuan ML, 2013. Progress in insect transcriptomics based on the next-generation sequencing technique. *Acta Entomologica Sinica*, 56(12): 1489–1508. [张麒麟, 袁明龙, 2013. 基于新一代测序技术的昆虫转录组学研究进展. 昆虫学报, 56(12): 1489–1508.]
- Zhang KP, 2019. Expression pattern of olfactory relative genes and functional analysis of *MsepOR13* in *Mythimna separata* (Walker). Doctor dissertation. Yangling: Northwest A&F University. [张坤朋, 2019. 粘虫嗅觉相关基因的表达模式及 *MsepOR13* 功能研究. 博士学位论文. 杨凌: 西北农林科技大学.]
- Zhang J, 2015. Identification of chemosensory genes and functional characterization of olfactory receptors in *Spodoptera litura* and *Helicoverpa armigera*. Doctor dissertation. Nanjing: Nanjing Agricultural University. [张进, 2015. 斜纹夜蛾与棉铃虫化感基因鉴定及受体功能分析. 博士学位论文. 南京: 南京农业大学.]
- Zhang XY, Gao HS, Jiang MH, Lai CR, Zheng CG, 2016. Study and application of sex pheromone in *Spodoptera litura*. *Journal of Anhui Agricultural*, 44(13): 188–191. [张显勇, 高惠嫻, 江敏华, 赖创荣, 郑常格, 2016. 斜纹夜蛾性信息素的研究与应用. 安徽农业科学, 44(13): 188–191.]
- Zheng HX, Zhang YW, Zhang XH, Yang MH, 2018. Analysis of the antennal transcriptome and olfaction-related genes of *Callosobruchus chinensis* (Coleoptera: Bruchidae). *Acta Entomologica Sinica*, 61(2): 168–177. [郑海霞, 张耀文, 张仙红, 杨美红, 2018. 绿豆象触角转录组及嗅觉相关基因的分析. 昆虫学报, 61(2): 168–177.]