植物保护学报 Journal of Plant Protection，2023，50(1)：71−80　　DOI：10.13802/j.cnki.zwbhxb.2022.2021169

腰果角盲蝽气味结合蛋白基因*HtheOBP3*的克隆及组织表达分析

张绍华[1,2]　孟倩倩[1]　刘爱勤[1,2*]　颜日辉[2]　林先武[2]　孙世伟[1]
李付鹏[1]　王　政[1,2,3*]

（1. 中国热带农业科学院香料饮料研究所，海南省热带香辛饮料作物遗传改良与品质调控重点实验室，万宁 571533；2. 海南大学植物保护学院，热带农林生物灾害绿色防控教育部重点实验室，海口 570228；3. 重庆市疾病预防控制中心消毒与媒介生物控制所，重庆 400042）

摘要：为明确腰果角盲蝽*Helopeltis theivora*气味结合蛋白3（odorant binding protein 3，OBP3）功能及其嗅觉感受机制，利用PCR技术结合cDNA末端快速扩增（rapid amplification of cDNA ends，RACE）技术克隆其cDNA全长序列，利用多个生物信息学软件对其进行序列分析，并通过实时荧光定量PCR（real-time quantitative PCR，qPCR）技术检测其在腰果角盲蝽成虫不同组织中的表达量。结果显示，腰果角盲蝽*HtheOBP3*基因（GenBank登录号为QHI06949）开放阅读框为474 bp，编码157个氨基酸残基，预测蛋白分子量约为17.15 kD，等电点为5.14，无信号肽和跨膜结构，蛋白氨基酸序列中具有6个保守半胱氨酸残基和性信息素结合蛋白−普通气味结合蛋白（pheromone binding protein-general odorant binding protein，PBP-GOBP）家族的保守结构域。HtheOBP3蛋白具有6个*α*-螺旋和3对二硫键，其中5个*α*-螺旋形成1个结合口袋。腰果角盲蝽HtheOBP3与其他20种半翅目昆虫OBP的6个保守半胱氨酸位点完全一致，腰果角盲蝽HtheOBP3的氨基酸序列与薇甘菊颈盲蝽*Pachypeltis micranthus* PmicOBP4的氨基酸序列一致性最高，为55.56%。在37种不同昆虫的OBP蛋白中，腰果角盲蝽HtheOBP3与6种半翅目昆虫OBP聚为一个分支，其中与薇甘菊颈盲蝽PmicOBP4亲缘关系最近。腰果角盲蝽成虫各组织中*HtheOBP3*均有表达，其中在触角中表达量最高，其次为足。表明腰果角盲蝽HtheOBP3是典型的气味结合蛋白，其可能兼具嗅觉和非嗅觉感受等生理功能。

关键词：腰果角盲蝽；气味结合蛋白；基因克隆；序列分析；组织表达

Cloning and tissue expression profiling of the odorant binding protein gene *HtheOBP3* in tea mosquito bug *Helopeltis theivora*

Zhang Shaohua[1,2]　Meng Qianqian[1]　Liu Aiqin[1,2*]　Yan Rihui[2]　Lin Xianwu[2]　Sun Shiwei[1]
Li Fupeng[1]　Wang Zheng[1,2,3*]

（1. Hainan Provincial Key Laboratory of Genetic Improvement and Quality Regulation for Tropical Spice and Beverage Crops, Research Institute of Spice and Beverage, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Wanning 571533, Hainan Province, China; 2. Key Laboratory of Green Prevention and Control of Tropical Plant Diseases and Pests, Ministry of Education; College of Plant Protection, Hainan University, Haikou 570228, Hainan Province, China; 3. Department of Disinfection and Vector Control, Chongqing Center for Disease Control and Prevention, Chongqing 400042, China）

基金项目：国家重点研发计划（2020YFD1001202），海南省自然科学基金面上项目（319MS087），中国热带农业科学院基本科研业务费专项（1630142018016）

* 通信作者（Authors for correspondence），E-mail：sallywz618@163.com，laq3680@163.com

收稿日期：2021-08-28

Abstract: To identity the function and the olfactory mechanism of odorant binding protein (OBP) gene *HtheOBP3* of tea mosquito bug *Helopeltis theivora*, the full-length cDNA sequence of *HtheOBP3* was cloned by PCR combined with rapid amplification of cDNA ends (RACE) technology and analyzed by multiple bioinformatics software. The expression profiles of *HtheOBP3* in different tissues of *H. theivora* adults were detected using real-time quantitative PCR (qPCR). The results showed that the open reading frame (ORF) of *HtheOBP3* gene (GenBank accession no. QHI06949) was 474 bp in length, which encoded a polypeptide of 157 amino acids, with a predicted molecular weight of 17.15 kD and an isoelectric point of 5.14. The amino acid sequence of *HtheOBP3* had no signal peptide, no transmembrane structure, but had six conserved cysteine residues and a conserved domain belonging to odorant binding protein PBP-GOBP superfamily. HtheOBP3 had six α-helices and three pairs of disulfide bonds, of which five α-helices formed a binding pocket. The six conserved cysteine sites of HtheOBP3 were completely consistent with those of other 20 species of Hemiptera insects. The amino acid sequence of HtheOBP3 had a highest consistency of 55.56% with that of PmicOBP4 of *Pachypeltis micranthus*. Phylogenetic analysis showed that, among the OBP proteins of 37 different insects, HtheOBP3 was clustered with the OBP proteins of other six Hemiptera insects, in which HtheOBP3 had the closest genetic relationship with PmicOBP. The qPCR results revealed that *HtheOBP3* was expressed in all tissues of *H. theivora* adults. The highest expression was detected in antenna, followed by legs. These results indicated that HtheOBP3 is a typical OBP, which may have both olfactory and non-olfactory functions.

Key words: *Helopeltis theivora*; odorant binding protein; gene cloning; sequence analysis; tissue expression profiling

腰果角盲蝽*Helopeltis theivora*，又名茶角盲蝽、茶刺盲蝽，属半翅目盲蝽科，寄主包括茶树、可可、腰果和咖啡等60余种热带经济作物，在国外其主要分布在印度、孟加拉国、越南、印度尼西亚及非洲国家等，在国内主要分布在海南、云南、广东、广西壮族自治区（简称广西）等南部省区（Roy et al.，2015；王政等，2021）。该虫以刺吸式口器吸食寄主汁液进行为害，取食处形成水渍状黑斑（Pandian et al.，2017），引起受害组织发育不良、干枯，甚至脱落，造成25%~50%的经济损失（Roy & Prasad，2018）。腰果角盲蝽世代重叠，无越冬现象，在热带地区可全年发生，该虫优先选择偏好寄主取食和产卵，当偏好寄主缺乏或被喷施农药后，该虫可就近选择替代寄主维持种群（王政等，2019）。目前，腰果角盲蝽防治主要依靠化学药剂，化学药剂的频用、滥用引发天敌减少、害虫抗药性、环境污染等一系列问题。因此，亟需开发新的防治技术，而干扰靶标昆虫的嗅觉通讯是害虫绿色防控的新策略（Venthur & Zhou，2018）。

昆虫主要靠嗅觉系统调节寄主定位、取食、求偶、躲避天敌和选择产卵场所等多种行为（Guo et al.，2021），其通过嗅觉系统识别外界气味分子的过程中涉及气味结合蛋白（odorant binding protein，OBP）、气味受体（olfactory receptor，OR）、化学感受蛋白（chemosensory protein，CSP）、感觉神经元膜蛋白（sensory neuron membrane protein，SNMP）、气味降解酶（odor degrading enzyme，ODE）及离子型受体（ionotropic receptor，IR）等多种嗅觉相关蛋白（Song et al.，2021；王宏民等，2021a）。其中OBP能与环境中某些特定类型的气味分子相结合，然后运输气味分子穿过感器淋巴液到达嗅觉感受神经元树突膜上，激活树突膜表面分布的气味受体，因此普遍认为OBP是昆虫嗅觉识别过程中与气味物质发生联系的第1个蛋白，也是关键蛋白（Cai et al.，2020；Ai et al.，2021）。目前，已鉴定出半翅目、膜翅目、鞘翅目、双翅目等翅目和鳞翅目等多种昆虫的气味结合蛋白（张玉等，2019），包括苜蓿盲蝽*Adelphocoris lineolatus*（Gu et al.，2011）、绿盲蝽*Apolygus lucorum*（Ji et al.，2013；Yuan et al.，2015）、中黑盲蝽*Ad.suturalis*（Cui et al.，2017）、薇甘菊颈盲蝽*Pachypeltis micranthus*（Liu et al.，2017）、黑肩绿盲蝽*Cyrtorhinus lividipennis*（Wang et al.，2017）等多种盲蝽科昆虫。OBP在昆虫不同组织中均有表达，大多数OBP在触角中表达，也有少量OBP在头、胸、腹、足和翅等组织中表达（Cai et al.，2021；宋月芹等，2021）。OBP可以

与寄主挥发物、性信息素和报警信息素等结合，如绿盲蝽的AlucOBP22能与β-紫罗兰酮和β-石竹烯等萜烯类挥发物结合（Liu et al.，2019）；苹果蠹蛾*Cydia pomonella*的CpomPBP2能与性信息素1-十二醇结合（Tian et al.，2020）；禾谷缢管蚜*Rhopalosiphum padi*的RpadOBP3和RpadOBP7能与报警信息素反-β-法尼烯结合（Fan et al.，2017）。此外，OBP还有其他生理功能，如中华蜜蜂*Apiscerana cerana*的AcerOBP15参与采集花粉和花蜜的味觉识别过程（Du et al.，2019）；棉铃虫*Helicoverpa armigera*的HarmOBP6参与调节飞行能力的过程（Wang et al.，2020）。因此，可通过设计特异性引诱剂或趋避剂来影响昆虫的嗅觉系统，进而影响昆虫定位寄主、觅食和求偶等行为，最终达到控制其种群数量的目的。

目前，关于腰果角盲蝽的研究主要集中在其为害特点（Thube et al.，2020）、寄主种类（Sivakumar & Yeshwanth，2019）、天敌种类（Babu，2020；Deka et al.，2021）等，关于其分子生物学方面的研究还较少，仅见*COI*基因（Chandrashekara et al.，2015）、热休克蛋白（Roy et al.，2019）、实时荧光定量PCR（real-time quantitative PCR，qPCR）内参基因（Wang et al.，2019）等相关报道，而关于腰果角盲蝽气味结合蛋白的研究未见报道。本研究利用PCR技术结合cDNA末端快速扩增（rapid amplification of cDNA ends，RACE）技术拟克隆腰果角盲蝽气味结合蛋白*HtheOBP3*基因，分析其序列、结构特征，并利用qPCR方法检测其在腰果角盲蝽不同组织的表达情况，旨在为深入研究该虫气味结合蛋白的功能及嗅觉感受机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试虫源和植物：腰果角盲蝽采自中国热带农业科学院香料饮料研究所可可园（18°73′69″ N，110°19′17″ E），带回实验室后置于长30 cm、宽30 cm、高30 cm的尼龙纱笼内，于温度（26±1）℃、相对湿度（75±5）%、光周期14 L∶10 D的人工气候室用市售新鲜四季豆饲养，饲养2代后取成虫供试。

LB（Luria-Bertani）培养基：胰蛋白胨10 g、酵母提取物5 g、氯化钠10 g、琼脂粉18 g、蒸馏水1 L，pH 7。

试剂及仪器：Trizol提取试剂盒、柱式DNA胶回收试剂盒、5′-RACE试剂盒、3′-RACE试剂盒、连接载体pMD19-T、大肠杆菌*Escherichia coli*感受态细胞DH5α，生工生物工程（上海）股份有限公司；RevertAid Premium Reverse Transcriptase反转录试剂盒，美国Thermo Fisher公司；LA *Taq*、TB Green™ Premix Ex *Taq*™ II qPCR荧光染料，日本TaKaRa公司；其他试剂均为国产分析纯。Biotek H1荧光酶标仪，美国Biotek公司；EPS-200稳压稳流电泳仪，上海天能科技有限公司；CFX96实时荧光定量PCR仪、T100™梯度PCR仪，美国Bio-Rad公司；E-30B生物培养箱，美国Percival公司。

1.2 方法

1.2.1 腰果角盲蝽样品收集及cDNA合成

取大小一致的腰果角盲蝽雌、雄成虫各5头，用无菌手术刀分离其触角、头、胸、腹、足和翅6个组织，收集6个组织样品，将其立即放入液氮中速冻，于−80℃保存。按照Trizol试剂盒说明书分别提取6个组织样品总RNA，利用荧光酶标仪和1%琼脂糖凝胶电泳检测所提取RNA的浓度、纯度和完整性。每个组织样品取1 μg RNA按照RevertAid Premium Reverse Transcriptase反转录试剂盒说明书合成第一链cDNA，稀释5倍后于−20℃保存备用。

1.2.2 腰果角盲蝽*HtheOBP3*基因序列的克隆

从转录组数据中获得腰果角盲蝽*HtheOBP3*的基因序列片段，以Primer Premier 5.0软件设计接头引物及特异性引物用于*HtheOBP3*基因序列5′ RACE和3′ RACE扩增（表1），引物合成与测序均委托生工生物工程（上海）股份有限公司完成。以3′ adaptor为引物反转获得的cDNA为模板，按照3′-RACE试剂盒说明书进行*HtheOBP3*基因3′端巢式PCR扩增；第1轮PCR反应体系（25 μL）：2×GC Buffer I 12.5 μL、10 μmol/L *HtheOBP3*-F1引物0.5 μL、10 μmol/L 5.3′ outer引物0.5 μL、2.5 mmol/L dNTP 4 μL、ddH$_2$O 6.3 μL、cDNA模板1 μL、5 U/mL *Taq*酶0.2 μL；第2轮PCR反应体系（50 μL）：2×GC Buffer I 25 μL、10 μmol/L *HtheOBP3*-F2引物1 μL、10 μmol/L 5.3′ inner引物1 μL、2.5 mmol/L dNTP 8 μL、ddH$_2$O 13.5 μL、cDNA模板1 μL、5 U/mL *Taq*酶0.5 μL。PCR反应条件：95℃预变性3 min；94℃变性30 s，58℃退火30 s，72℃延伸1 min，35个循环；72℃终延伸7 min；将经1%琼脂糖凝胶检测的PCR扩增产物回收纯化后与pMD19-T载体连接，并转化到大肠杆菌DH5α感受态细胞中，利用含氨苄青霉素（ampicillin，AMP）抗性的LB培养基筛选阳性克隆，阳性克隆经PCR鉴定后送生工生物工程（上海）股份有限公司进行测序。以*HtheOBP3*-RT1/*HtheOBP3*-

RT2反转获得的cDNA为模板，按照5′-RACE试剂盒说明书进行*HtheOBP3*基因5′端巢式PCR扩增；第1轮PCR反应体系（25 μL）：2×GC Buffer I 12.5 μL、10 μmol/L 5′ adaptor 0.5 μL、10 μmol/L *HtheOBP3*-R1 0.5 μL、2.5 mmol/L dNTP 4 μL、ddH$_2$O 6.3 μL、cDNA模板1 μL、5 U/μL *Taq*酶0.2 μL；第2轮PCR反应体系（50 μL）：2×GC Buffer I 25 μL、10 μmol/L 5.3′ outer引物1 μL、10 μmol/L *HtheOBP3*-R2引物1 μL、2.5 mmol/L dNTP 8 μL、ddH$_2$O 13.5 μL、cDNA模板1 μL、5 U/μL *Taq*酶0.5 μL。PCR反应条件：95℃预变性3 min；94℃变性30 s，68℃退火30 s，72℃延伸1 min，35个循环；72℃终延伸7 min；5′端克隆测序同3′端的克隆测序方法。通过拼接获得腰果角盲蝽*HtheOBP3*基因的全长序列。

表1 试验所用的引物

Table 1 Primer sequences used in this study

名称 Primer name	序列（5′−3′） Sequence（5′−3′）	用途 Purpose
3′ adaptor	GCTGTCAACGATACGCTACGTAACGGCATGACAGTGTTTTTTTTTTTTTTTTTT	3′端cDNA扩增 3′-cDNA end amplification
HtheOBP3-F1	GACAAACCAAAACTAGCGAAGGCCAAAG	
5.3′ outer	GCTGTCAACGATACGCTACGTAAC	
HtheOBP3-F2	TCGAAGAGTGTACAAAATCAGTCGAGCCA	
5.3′ inner	GCTACGTAACGGCATGACAGTG	
HtheOBP3-RT1	CCGCTATCTTTCAATTTTGAGTGT	5′端cDNA扩增 5′-cDNA end amplification
HtheOBP3-RT2	ATCCGCCAAATTTCGCAGC	
5′ adaptor	GCTGTCAACGATACGCTACGTAACGGCATGACAGTGGGIIGGGIIGGGIIG	
HtheOBP3-R1	TGACAAATTCTTCTTTCTGTTCCTCCGTGA	
5.3′ outer	GCTGTCAACGATACGCTACGTAAC	
HtheOBP3-R2	GAAGCCCTTGGATTCTATATGGACAACGAG	
HtheOBP3-F	CAGCGGAGTCGAAGATACCC	实时荧光定量PCR Real-time quantitative PCR
HtheOBP3-R	TGGCCTTCGCTAGTTTTGGT	
RPL13A-F	ACACAAAATCGAAAGGGGAAA	
RPL13A-R	CGACCAAGATGACAGTAGGCA	

1.2.3 腰果角盲蝽*HtheOBP3*基因生物信息学分析

利用在线程序ORF Finder预测腰果角盲蝽*HtheOBP3*基因的开放阅读框（open reading frame，ORF）（https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/），通过软件DNAMAN 9.0进行核苷酸序列翻译，利用EXPASY软件预测腰果角盲蝽HtheOBP3蛋白的分子量、等电点及其他的理化特性（http://expasy.org/protparam/）和疏水性（https://web. expasy. org/protscale/），使用SignalP 5.0（http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/、TMHMM 2.0（http://www. cbs. dtu. dk/services/TMHMM）和NCBI（https://www. ncbi. nlm. nih. gov/Structure/cdd/wrpsb. cgi）分别预测其信号肽、跨膜结构域和保守结构域。在NCBI中对腰果角盲蝽HtheOBP3蛋白氨基酸序列的同源相似性进行BLAST比对分析，采用Clustalx 1.83进行多序列比对，采用邻接法利用MEGA X软件构建系统进化树，重复1 000次。利用在线程序I-TASSER（https://zhanglab. ccmb. med. umich. edu/I-TASSER/）选用折叠识别的方法预测蛋白质结构。

1.2.4 腰果角盲蝽各组织中*HtheOBP3*基因的表达谱

以Primer Premier 5.0软件设计腰果角盲蝽*HtheOBP3*基因全长序列引物*HtheOBP3*-F/*HtheOBP3*-R。以*HtheOBP3*-F/*HtheOBP3*-R为上下游引物、以*RPL13A*为内参基因（Wang et al.，2019）、分别以腰果角盲蝽成虫触角、头、胸、腹、足、翅6个组织样品合成的cDNA为模板进行*HtheOBP3*基因的qPCR检测。20 μL qPCR反应体系：Nuclease-free H$_2$O 8 μL、2×*Taq* SYBR Green qPCR Mix 10 μL、10 μmol/L上下游引物各0.5 μL、cDNA模板1 μL。qPCR扩增条件：94℃预变性3 min；94℃变性30 s，60℃退火30 s，72℃延伸1 min，35个循环；72℃终延伸10 min。从60~95℃之间进行熔解曲线分析，每个样品技术重复和生物学重复各3次。根据$2^{-\Delta\Delta CT}$法（Livak & Schmittgen，2001）计算腰果角盲蝽成虫各组织中*HtheOBP3*基因的表达量，以腰果角盲蝽成虫头中的表达量为基准计算相对表达量。

1.3 数据分析

采用SPSS 20.0软件对试验数据进行单因素方

差分析，应用Duncan氏新复极差法进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 腰果角盲蝽*HtheOBP3*基因的序列分析

克隆获得腰果角盲蝽*HtheOBP3*基因全长序列（GenBank登录号为QHI06949），其ORF为474 bp，编码157个氨基酸残基，预测到腰果角盲蝽HtheOBP3蛋白的分子式为$C_{762}H_{1233}N_{191}O_{233}S_{11}$，分子量约为17.15 kD，等电点为5.14，总平均疏水系数为−0.120，不稳定系数为53.23，脂溶系数为85.03，氨基酸序列中有6个保守半胱氨酸残基，排列方式为C_1-X_{27}-C_2-X_3-C_3-X_{41}-C_4-X_{12}-C_5-X_8-C_6，符合典型气味结合蛋白所具有的6个保守半胱氨酸位点结构模型。腰果角盲蝽HtheOBP3蛋白具有性信息素结合蛋白–普通气味结合蛋白（pheromone binding protein-general odorant binding protein，PBP-GOBP）家族的保守结构域，位于31~146位氨基酸之间（图1），E值为$1.65×10^{-13}$，该蛋白无信号肽和跨膜结构。腰果角盲蝽HtheOBP3蛋白含有5个疏水性区域，其中第10~27位氨基酸残基形成的区域最明显，可能是疏水性气味分子的结合位点。

```
  1 ATGGTTCTCATAGACGGGAAGTCAAGTGTACCTTGGCTCGTAGTGGCTCTCATTGGAGGT
  1  M  V  L  I  D  G  K  S  S  V  P  W  L  V  V  A  L  I  G  G
 61 TTTCTCGTTGTCCATATAGAATCCAAGGGCTTCACGGAGGAACAGAAAGAAGAATTTGTC
 21  F  L  V  V  H  I  E  S  K  G  F  T  E  E  Q  K  E  E  F  V
121 AAAGTCATGAAAGAATGTGCAGCGGAGTCGAAGATACCCGAAGCCGAATTTGAAGCGATG
 41  K  V  M  K  E  C  A  A  E  S  K  I  P  E  A  E  F  E  A  M
181 ACTTCCGAAAGAAAACCTCCAGTGTCGAAAGAAGGAGAGTGTTTCGTCAAATGTATCATG
 61  T  S  E  R  K  P  P  V  S  K  E  G  E  C  F  V  K  C  I  M
241 GAAAAAAATGATGTCATTGCGAATAACGAAGTGAATAAAGTGGGCGTAGCTGCGACTCTT
 81  E  K  N  D  V  I  A  N  N  E  V  N  K  V  G  V  A  A  T  L
301 GAAGAAATGATTGAAGACAAACCAAAACTAGCGAAGGCCAAAGAAATTCTCGAAGAGTGT
101  E  E  M  I  E  D  K  P  K  L  A  K  A  K  E  I  L  E  E  C
361 ACAAAATCAGTCGAGCCACTTGCTAAGGGAGACTCGTGCGAATTTGCTGCGAAATTTGGC
121  T  K  S  V  E  P  L  A  K  G  D  S  C  E  F  A  A  K  F  G
421 GGATGCGTACACTCAAAATTGAAAGATAGCGGTATCATCGGGCCAAAGTTTTAA
141  G  C  V  H  S  K  L  K  D  S  G  I  I  G  P  K  F  *
```

方框：起始密码子和终止密码子；下划线：保守结构域；红色字母：6个半胱氨酸。Boxes: start codon and stop codon; underlined: conserved domain; red letters: six cysteines.

图1 腰果角盲蝽*HtheOBP3*核苷酸序列及相应的氨基酸序列

Fig. 1 Nucleotide and amino acid sequences of *HtheOBP3* from *Helopeltis theivora*

2.2 腰果角盲蝽HtheOBP3结构预测

在腰果角盲蝽HtheOBP3组成中，谷氨酸含量最多，其次是赖氨酸、缬氨酸、丙氨酸、甘氨酸、异亮氨酸和亮氨酸等，带正、负电荷的氨基酸总数分别为22个和28个。腰果角盲蝽HtheOBP3结构以6个α-螺旋为主，分别由9~50（α1）、54~62（α2）、74~83（α3）、93~103（α4）、107~123（α5）、134~149（α6）位氨基酸组成，占整体氨基酸的66.9%，其中5个α-螺旋形成1个结合口袋，α1-螺旋处于结合口袋的顶部；6个半胱氨酸之间形成了3对二硫键，即Cys46~Cys78、Cys74~Cys133和Cys120~Cys142，分别连接α1和α3、α3和α6、α5和α6。

2.3 腰果角盲蝽HtheOBP3序列的同源性比对

腰果角盲蝽HtheOBP3氨基酸序列与半翅目、鳞翅目、双翅目和鞘翅目昆虫OBP氨基酸序列的相似性差异很大，其中与薇甘菊颈盲蝽PmicOBP4氨基酸序列（GenBank登录号为ARO46433）一致性最高，为55.56%，其次是与黑肩绿盲蝽ClivOBP2氨基酸序列（GenBank登录号为ARJ35767）和绿盲蝽AlucOBP6氨基酸序列（GenBank登录号为AEP95762）的一致性较高，分别为38.46%和37.50%，与其他昆虫OBP氨基酸序列的一致性为25.85%~36.60%（表2）。BLAST序列比对结果显示虽然腰果角盲蝽HtheOBP3与20种其他半翅目昆虫的OBP一致性不高，但6个保守的半胱氨酸位点完全一致（图2），进一步确定HtheOBP3属于OBP家族。

2.4 腰果角盲蝽HtheOBP3序列的系统发育分析

腰果角盲蝽HtheOBP3与其他19种半翅目、5种双翅目和3种鞘翅目昆虫的OBP聚为一个大分支，而8种鳞翅目昆虫的OBP单独聚为一支，其中腰果角盲蝽HtheOBP3与薇甘菊颈盲蝽PmicOBP4先聚为一支，自展值为99，之后与黑肩绿盲蝽ClivOBP2、绿盲蝽AlucOBP6、AlucOBP27、中黑盲蝽AsutOBP6、苜蓿盲蝽AlinOBP6这7个半翅目盲蝽科昆虫的OBP聚为一支，表明腰果角盲蝽HtheOBP3与PmicOBP4亲缘关系最近，与ClivOBP2、AlucOBP6、AlucOBP27、AsutOBP6和AlinOBP6亲缘关系较近（图3）。

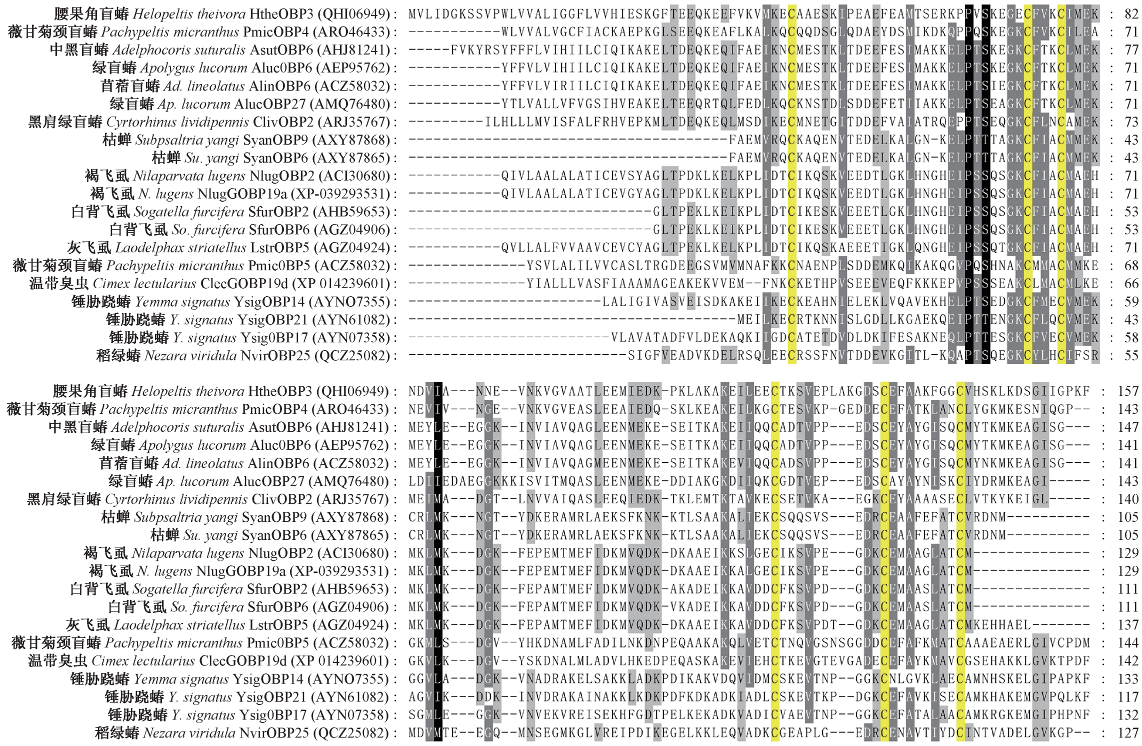
2.5 腰果角盲蝽不同组织中*HtheOBP3*基因的表达量

在腰果角盲蝽成虫各组织中*HtheOBP3*基因均有表达，其中在触角中相对表达量最高，为273.27倍，显著高于其他组织（$P<0.05$），其次是在足中的相对表达量较高，为30.96倍，显著高于在头、胸、腹和翅中的相对表达量（$P<0.05$），在头、胸、腹和翅中相对表达量较低，且4个组织中的相对表达量之间差异不显著（图4）。

表2 腰果角盲蝽HtheOBP3氨基酸序列BLAST分析结果

Table 2 Results of BLAST analysis of amino acid sequence of HtheOBP3 in *Helopeltis theivora*

蛋白 Protein	物种 Species	科 Family	登录号 Accession no.	得分 Score	*E*	一致性 Identity/%
PmicOBP4	薇甘菊颈盲蝽 *Pachypeltis micranthus*	盲蝽科 Miridae	ARO46433	166.0	3×10^{-49}	55.56
ClivOBP2	黑肩绿盲蝽 *Cyrtorhinus lividipennis*	盲蝽科 Miridae	ARJ35767	107.0	4×10^{-26}	38.46
AsutOBP6	中黑盲蝽 *Adelphocoris suturalis*	盲蝽科 Miridae	AHJ81241	106.0	7×10^{-26}	36.60
AlucOBP6	绿盲蝽 *Apolygus lucorum*	盲蝽科 Miridae	AEP95762	106.0	9×10^{-26}	37.50
AlinOBP6	苜蓿盲蝽 *Ad. lineolatus*	盲蝽科 Miridae	ACZ58032	102.0	2×10^{-24}	36.11
AlucOBP27	绿盲蝽 *Ap. lucorum*	盲蝽科 Miridae	AMQ76480	101.0	6×10^{-24}	33.56
ObruOBP2	冬尺蠖蛾 *Operophtera brumata*	尺蛾科 Geometridae	KOB75615	70.1	2×10^{-11}	32.26
AdisOBP	双委夜蛾 *Athetis dissimilis*	夜蛾科 Noctuidae	QCF41949	67.4	2×10^{-10}	32.26
PmicOBP5	薇甘菊颈盲蝽 *Pa. micranthus*	盲蝽科 Miridae	ARO46434	62.4	5×10^{-9}	27.89
SinsOBP8	小线角木蠹蛾 *Streltzoviella insularis*	木蠹蛾科 Cossidae	QLI62011	62.4	1×10^{-8}	30.65
CmedOBP9	稻纵卷叶螟 *Cnaphalocrocis medinalis*	螟蛾科 Pyralidae	ALT31639	62.4	2×10^{-8}	29.45
NlugOBP2	褐飞虱 *Nilaparvata lugens*	飞虱科 Delphacidae	ACI30680	59.7	6×10^{-8}	26.52
ClecGOBP19d	温带臭虫 *Cimex lectularius*	臭虫科 Cimicidae	XP_014239601	59.7	8×10^{-8}	27.52
NlugGOBP19a	褐飞虱 *N. lugens*	飞虱科 Delphacidae	XP_039293531	59.3	9×10^{-8}	26.52
CsupOBP3	二化螟 *Chilo suppressalis*	螟蛾科 Pyralidae	AGK24579	60.5	1×10^{-7}	29.03
YsigOBP14	锤胁跷蝽 *Yemma signatus*	跷蝽科 Berytidae	AYN07355	58.9	1×10^{-7}	30.56
YsigOBP21	锤胁跷蝽 *Y. signatus*	跷蝽科 Berytidae	AYN61082	57.4	4×10^{-7}	30.83
SfurOBP2	白背飞虱 *Sogatella furcifera*	飞虱科 Delphacidae	AHB59653	57.0	7×10^{-7}	28.07
YsigOBP17	锤胁跷蝽 *Y. signatus*	跷蝽科 Berytidae	AYN07358	56.6	9×10^{-7}	29.93
SfurOBP6	白背飞虱 *So. furcifera*	飞虱科 Delphacidae	AGZ04906	56.2	1×10^{-6}	28.07
SyanOBP9	枯蝉 *Subpsaltria yangi*	蝉科 Cicadidae	AXY87868	56.2	2×10^{-6}	27.52
HparOBP15a	暗黑鳃金龟 *Holotrichia parallela*	鳃金龟科 Melolonthidae	ALP75946	56.2	2×10^{-6}	25.85
PakaOBP6	红裸须摇蚊 *Propsilocerus akamusi*	摇蚊科 Chironomidae	QGW50670	55.5	2×10^{-6}	31.13
SyanOBP6	枯蝉 *Su. yangi*	蝉科 Cicadidae	AXY87865	55.6	2×10^{-6}	27.52
DpunOBP37	马尾松毛虫 *Dendrolimus punctatus*	枯叶蛾科 Lasiocampidae	ARO70196	57.0	2×10^{-6}	27.64
LstrOBP5	灰飞虱 *Laodelphax striatellus*	飞虱科 Delphacidae	AGZ04924	55.5	3×10^{-6}	26.62
PrapOBP7	菜粉蝶 *Pieris rapae*	粉蝶科 Pieridae	QNS26347	56.2	3×10^{-6}	28.57
BodoOBP45	韭菜迟眼蕈蚊 *Bradysia odoriphaga*	眼蕈蚊科 Sciaridae	AWC08456	54.7	4×10^{-6}	29.08
PxylOBP18	小菜蛾 *Plutella xylostella*	菜蛾科 Plutellidae	AMR99730	55.5	5×10^{-6}	30.43
LcupGOBP28a	铜绿蝇 *Lucilia cuprina*	丽蝇科 Calliphoridae	XP_023303589	54.7	6×10^{-6}	31.51
BodoOBP3	韭菜迟眼蕈蚊 *B. odoriphaga*	眼蕈蚊科 Sciaridae	AWC08414	53.5	1×10^{-5}	28.37
OtauGOBP19d	食粪金龟 *Onthophagus taurus*	金龟子科 Scarabaeidae	XP_022909577	52.4	3×10^{-5}	26.98
NvirOBP25	稻绿蝽 *Nezara viridula*	椿科 Pentatomidae	QCZ25082	52.0	6×10^{-5}	27.48
BodoOBP39	韭菜迟眼蕈蚊 *B. odoriphaga*	眼蕈蚊科 Sciaridae	AWC08450	51.2	9×10^{-5}	27.48
CmedOBP8	稻纵卷叶螟 *Cn. medinalis*	螟蛾科Pyralidae	ALT31638	52.4	1×10^{-4}	26.72
HoblOBP11	大黑鳃金龟 *H. oblita*	鳃金龟科 Melolonthidae	AZK90215	50.4	2×10^{-4}	27.78



黄色区域：保守的半胱氨酸；黑色区域：相似度为100%；深灰色区域：相似度≥80%；灰色区域：相似度≥60%。Yellow areas: conserved cysteines; black areas: similarity is 100%; dark gray areas: similarity≥80%; gray areas: similarity≥60%.

图2　腰果角盲蝽 HtheOBP3 与其他半翅目昆虫 OBP 的氨基酸序列对比

Fig. 2 Alignment of amino acid sequence of *HtheOBP3* from *Helopeltis theivora* with OBPs from other Hemiptera insects

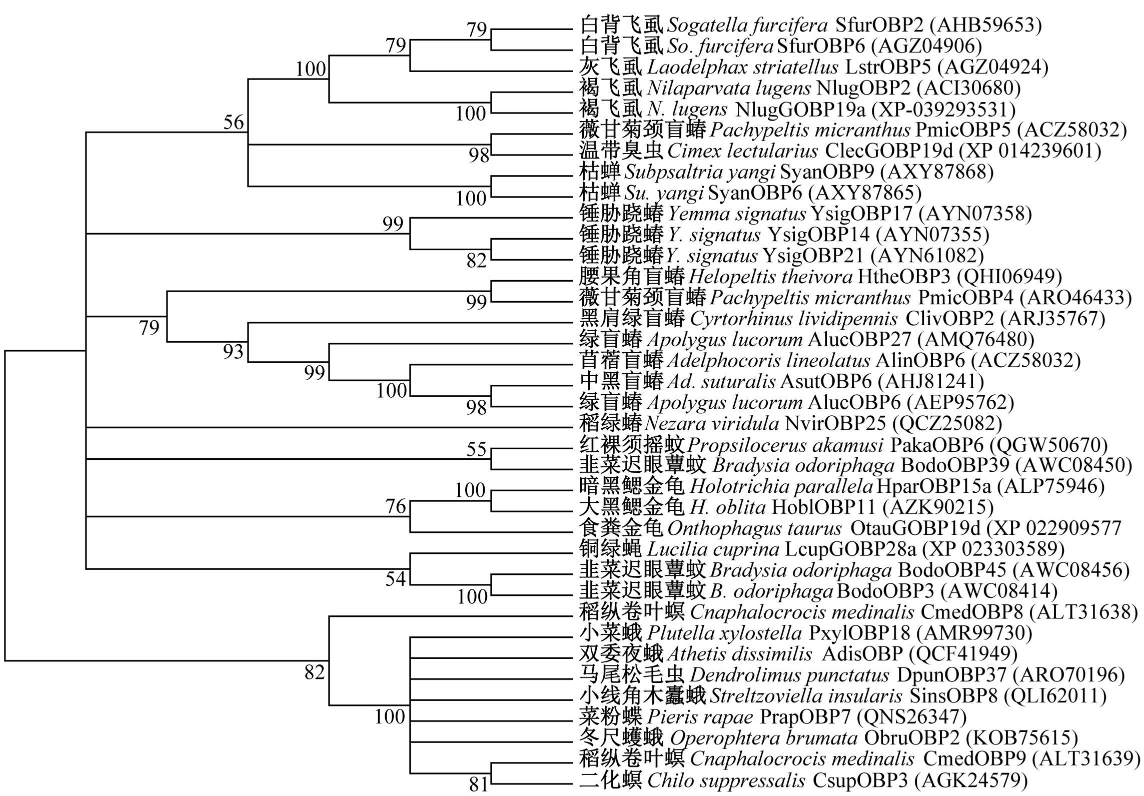


图3　基于氨基酸序列采用邻接法构建腰果角盲蝽 HtheOBP3 与其他昆虫 OBP 的系统进化树

Fig. 3 Phylogenetic tree of HtheOBP3 from *Helopeltis theivora* and OBPs from other insects based on amino acid sequences using neighbor joining method

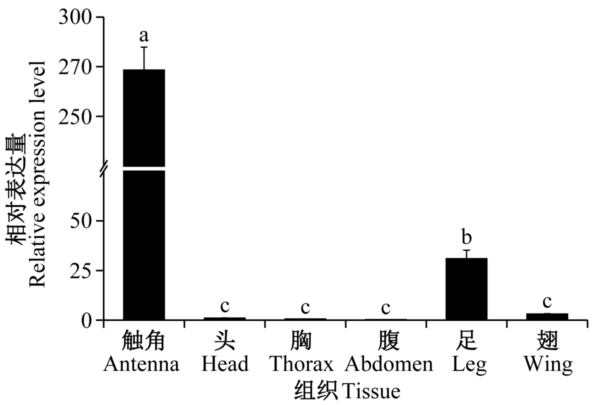


图4 腰果角盲蝽成虫不同组织中*HtheOBP3*的相对表达量

Fig. 4 Relative expression levels of *HtheOBP3* at different tissues of Helopeltis theivora adults

图中数据为平均数±标准差。不同小写字母表示经Duncan氏新复极差法检验差异显著(P<0.05)。Data are mean±SD. Different lowercase letters indicate significant difference by Duncan's new multiple range test (P<0.05).

3 讨论

OBP是一类小分子量酸性可溶性蛋白,广泛存在于昆虫触角淋巴液中,相对分子量一般为15~20 kD,在N端通常有一段信号肽,20个氨基酸左右(Paula et al.,2016;Wang et al.,2022),OBP含有6个高度保守的半胱氨酸残基,这6个残基形成3个二硫键,这3个二硫键连接6个α螺旋,这6个α螺旋结构维持蛋白的结构稳定(Pelosi et al.,2014;郭莉等,2021),腰果角盲蝽HtheOBP3符合昆虫OBP的典型特征。另外腰果角盲蝽HtheOBP3无信号肽,表明其不是分泌蛋白,这与牧草盲蝽*Lygus lineolaris*的LlinOBP7、LlinOBP18、LlinOBP20(Hull et al.,2014)、绿盲蝽的AlucOBP2、AlucOBP11、AlucOBP28(Yuan et al.,2015)、小菜蛾*Plutella xylostella*的PxylOBP13(覃江梅等,2016)和悬铃木方翅网蝽*Corythucha ciliata*的CcilOBP1、CcilOBP10、CcilOBP12(杨海博等,2018)等OBP蛋白N端也无信号肽相似,而绿豆象*Callosobruchus chinensis*的CchiOBP1~CchiOBP6(王宏民等,2021b)、锤胁跷蝽*Yemma signatus*的YsigOBP1~YsigOBP10(Song et al.,2021)等OBP蛋白N端有信号肽,表明信号肽有无不是昆虫气味结合蛋白的鉴别特征。

昆虫OBP在种间和种内高度分化,OBP之间的序列相似性差异很大。尽管腰果角盲蝽HtheOBP3与薇甘菊颈盲蝽PmicOBP4的同源性最高,但两者相似度仅为55.56%,表明HtheOBP3也具有昆虫气味结合蛋白高度特异性的特征。然而由于盲蝽具有相似的生活方式和寄主关系,尽管它们的OBP存在一定差异,但同源度高的OBP仍有相近的关系,这种关系也可能表现在化学信息素的感知过程中(Yuan et al.,2015),因此这些同源蛋白可能具有保守的相似功能。另外,OBP分布的范围与其功能密切相关,通常认为主要在触角中表达的OBP,其主要具有嗅觉功能,如豌豆蚜*Acyrthosiphon pisum*和桃蚜*Myzus persicae*的OBP3和OBP7都具有识别报警信息素反-β-法尼烯的功能(Sun YF et al.,2012);棉铃虫和烟青虫*Helicoverpa assulta*中的OBP10都在触角和生殖器官中表达,均具有检测其产卵驱避剂1-十二醇的功能(Sun YL et al.,2012)。而在头、胸、腹、足和翅等其他部位中表达的OBP可能参与了感知味觉配体或其他代谢过程(Jeong et al.,2013;杜亚丽等,2020),如在三点盲蝽*Adelphocoris fasciaticollis*口器中高度表达的AfasOBP11,其可优先与寄主植物的非挥发性次生代谢物结合,在味觉感受系统中发挥重要作用(Li et al.,2019);在苜蓿盲蝽足中高表达的AlinOBP11,其具有与植物次生物质结合的能力,可能参与寻找产卵场所或味觉识别的相关过程(Sun et al.,2017);薇甘菊颈盲蝽PmicOBP4在触角中高表达,并且在足中也有表达,其可能同时在嗅觉系统和非嗅觉系统中发挥着重要作用(Liu et al.,2017),与HtheOBP3表达分布相似,推测两者可能具有类似的功能。腰果角盲蝽HtheOBP3在触角中高表达,推测其在腰果角盲蝽嗅觉识别中发挥着重要作用,其次在足中的表达量也相对较高,表明其在腰果角盲蝽非嗅觉生理功能中可能也具有重要作用。

本研究克隆和分析了腰果角盲蝽*HtheOBP3*基因,并对其在不同组织的表达情况进行了检测,为揭示该虫化学通讯机制及研发特异的行为调控技术奠定了基础。然而,本研究仅对HtheOBP3可能具备的功能进行了推测,还需通过荧光竞争结合、基因沉默或过表达等技术从离体和活体水平对其功能进一步验证。

参 考 文 献(References)

Ai H, Liu YY, Long GY, Yuan Y, Huang SP, Chen Y. 2021. Functional characteristics of a novel odorant binding protein in the legume pod borer, *Maruca vitrata*. Scientific Reports, 11: 14027

Babu A. 2020. Role of microorganisms in sustainable tea cultivation in north east India: recent advances and current scenario. Applied

Microbiology: Open Access, 6(2): 1−5

Cai L, Cheng X, Qin J, Xu W, You M. 2020. Expression, purification and characterization of three odorant binding proteins from the diamondback moth, *Plutella xylostella*. Insect Molecular Biology, 29(6): 531−544

Cai LJ, Zheng LS, Huang YP, Xu W, You MS. 2021. Identification and characterization of odorant binding proteins in the diamondback moth, *Plutella xylostella*. Insect Science, 28(4): 987−1004

Chandrashekara KN, Kumar RR, Kumar V, Banerjee D, Kundu S, Ghosh B, Tyagi K. 2015. DNA barcoding reveals host associated genetic diversity of 'tea mosquito bug' *Helopeltis theivora* (Miridae: Heteroptera) from India. Journal of Asia-Pacific Entomology, 18(3): 541−545

Cui HH, Gu SH, Zhu XQ, Wei Y, Liu HW, Khalid HD, Guo YY, Zhang YJ. 2017. Odorant-binding and chemosensory proteins identified in the antennal transcriptome of *Adelphocoris suturalis* Jakovlev. Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics, 24: 139−145

Deka B, Babu A, Peter AJ, Pandey AK, Kumhar KC, Sarkar S, Rajbongshi H, Dey P, Amalraj ELD, Talluri VR. 2021. *Beauveria bassiana*: as a potential microbial biocontrol agent for tea mosquito bug, *Helopeltis theivora* Waterhouse (Hemiptera: Miridae) in Dooars and Darjeeling, India. Egyptian Journal of Biological Pest Control, 31(1): 134

Du YL, Xu K, Ma WH, Su WT, Tai MM, Zhao HT, Jiang YS, Li XC. 2019. Contact chemosensory genes identified in leg transcriptome of *Apis cerana cerana* (Hymenoptera: Apidae). Journal of Economic Entomology, 112(5): 2015−2029

Du YL, Xu K, Zhao HT, Liu YL, Niu QS, Jiang YS. 2020. Research progress in odorant binding proteins of insects. Acta Entomologica Sinica, 63(3): 365−380 (in Chinese) [杜亚丽, 徐凯, 赵慧婷, 刘玉玲, 牛庆生, 姜玉锁. 2020. 昆虫气味结合蛋白的研究进展. 昆虫学报, 63(3): 365−380]

Fan J, Xue WX, Duan HX, Jiang X, Zhang Y, Yu WJ, Jiang SS, Sun JR, Chen JL. 2017. Identification of an intraspecific alarm pheromone and two conserved odorant-binding proteins associated with (*E*)-*β*-farnesene perception in aphid *Rhopalosiphum padi*. Journal of Insect Physiology, 101: 151−160

Gu SH, Wang SP, Zhang XY, Wu KM, Guo YY, Zhou JJ, Zhang YJ. 2011. Identification and tissue distribution of odorant binding protein genes in the lucerne plant bug *Adelphocoris lineolatus* (Goeze). Insect Biochemistry and Molecular Biology, 41(4): 254−263

Guo B, Hao EH, Qiao HL, Wang JZ, Wu WW, Zhou JJ, Lu PF. 2021. Antennal transcriptome analysis of olfactory genes and characterizations of odorant binding proteins in two woodwasps, *Sirex noctilio* and *Sirex nitobei* (Hymenoptera: Siricidae). BMC Genomics, 22(1): 172

Guo L, Xie SA, Yang P, Gong XF, Chen D, Lü SJ. 2021. Molecular docking of AzanOBP3 in jewel beetle *Agrilus zanthoxylumi* with its host volatiles. Journal of Plant Protection, 48(2): 376−387 (in Chinese) [郭莉, 谢寿安, 杨平, 巩雪芳, 陈迪, 吕淑杰. 2021. 花椒窄吉丁气味结合蛋白AzanOBP3与其寄主挥发物的分子对接. 植物保护学报, 48(2): 376−387]

Hull JJ, Perera OP, Snodgrass GL. 2014. Cloning and expression profiling of odorant-binding proteins in the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris*. Insect Molecular Biology, 23(1): 78−97

Jeong YT, Shim J, Oh SR, Yoon HI, Kim CH, Moon SJ, Montell C. 2013. An odorant-binding protein required for suppression of sweet taste by bitter chemicals. Neuron, 79(4): 725−737

Ji P, Gu SH, Liu JT, Zhu XQ, Guo YY, Zhou JJ, Zhang YJ. 2013. Identification and expression profile analysis of odorant-binding protein genes in *Apolygus lucorum* (Hemiptera: Miridae). Applied Entomology and Zoology, 48(3): 301−311

Li ZB, Wei Y, Sun L, An XK, Dhiloo KH, Wang Q, Xiao Y, Khashaveh A, Gu SH, Zhang YJ. 2019. Mouthparts enriched odorant binding protein AfasOBP11 plays a role in the gustatory perception of *Adelphocoris fasciaticollis*. Journal of Insect Physiology, 117: 103915

Liu HW, Duan HX, Wang Q, Xiao Y, Wang Q, Xiao Q, Sun L, Zhang YJ. 2019. Key amino residues determining binding activities of the odorant binding protein AlucOBP22 to two host plant terpenoids of *Apolygus lucorum*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 67(21): 5949−5956

Liu NY, Zhu JY, Ji M, Yang B, Ze SZ. 2017. Chemosensory genes from *Pachypeltis micranthus*, a natural enemy of the climbing hemp vine. Journal of Asia-Pacific Entomology, 20(2): 655−664

Livak KJ, Schmittgen TD. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. Methods, 25(4): 402−408

Pandian P, Balakrishnan R, Kodakkadal Kotian S, Bastian Suresh K. 2017. Efficacy of certain common ferns against red spider mite *Oligonychus coffeae* and tea mosquito bug *Helopeltis theivora* infesting tea. Plant Protection Science, 53(4): 232−242

Paula DP, Togawa RC, Costa MMC, Grynberg P, Martins NF, Andow DA. 2016. Identification and expression profile of odorant-binding proteins in *Halyomorpha halys* (Hemiptera: Pentatomidae). Insect Molecular Biology, 25(5): 580−594

Pelosi P, Mastrogiacomo R, Iovinella I, Tuccori E, Persaud KC. 2014. Structure and biotechnological applications of odorant-binding proteins. Applied Microbiology and Biotechnology, 98(1): 61−70

Qin JM, Cheng XJ, Wei H, Cai LJ, You MS. 2016. Cloning and sequence analysis of an odorant binding protein gene PxylOBP13 in the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). Fujian Journal of Agricultural Sciences, 31(4): 377−383 (in Chinese) [覃江梅, 程小娟, 魏辉, 蔡立君, 尤民生. 2016. 小菜蛾气味结合蛋白PxylOBP13基因克隆与序列分析. 福建农业学报, 31(4): 377−383]

Roy S, Muraleedharan N, Mukhapadhyay A, Handique G. 2015. The tea mosquito bug, *Helopeltis theivora* Waterhouse (Heteroptera: Miridae): its status, biology, ecology and management in tea plantations. International Journal of Pest Management, 61(3): 179−197

Roy S, Prasad AK, Roy S. 2019. First report on heat shock protein expression in *Helopeltis theivora* Waterhouse (Hemiptera: Miridae) in response to different hosts. Journal of the Kansas Entomological Society, 91(3): 238

Roy S, Prasad AK. 2018. Sex-based variation in insecticide susceptibility and tolerance related biochemical parameters in tea mosquito bug *Helopeltis theivora*. Phytoparasitica, 46(3): 405−410

Sivakumar T, Yeshwanth HM. 2019. New hosts of tea mosquito bug, *Helopeltis theivora* Waterhouse on eggplant (*Solanum melongena* L.) and amaranth (*Amaranthus* sp. L.) from India. Phytoparasitica, 47(4): 499−503

Song YQ, Song ZY, Dong JF, Chen QX, Sun HZ. 2021. Prokaryotic expression, antibody preparation and expression profiling of the odorant binding protein AdisOBP6 in *Athetis dissimilis* (Lepidoptera: Noctuidae). Acta Entomologica Sinica, 64(2): 149−157 (in Chinese) [宋月芹, 宋智煜, 董钧锋, 陈庆霄, 孙会忠. 2021. 双委夜蛾气味结合蛋白AdisOBP6的原核表达、抗体制备及表达谱分析. 昆虫学报, 64(2): 149−157]

Song YQ, Song ZY, Gu HZ, Sun HZ, Zhao JY. 2021. Identification and expression analysis of odorant-binding proteins and chemosensory proteins in the antennal transcriptome of *Yemma signatus* (Hsiao, 1974). Phytoparasitica, 49(5): 917−933

Sun L, Wang Q, Wang Q, Dong K, Xiao Y, Zhang YJ. 2017. Identification and characterization of odorant binding proteins in the forelegs of *Adelphocoris lineolatus* (Goeze). Frontiers in Physiology, 8: 735

Sun YF, De Biasio F, Qiao HL, Iovinella I, Yang SX, Ling Y, Riviello L, Battaglia D, Falabella P, Yang XL, et al. 2012. Two odorant-binding proteins mediate the behavioural response of aphids to the alarm pheromone (*E*)-*β*-farnesene and structural analogues. PLoS ONE, 7(3): e32759

Sun YL, Huang LQ, Pelosi P, Wang CZ. 2012. Expression in antennae and reproductive organs suggests a dual role of an odorant-binding protein in two sibling *Helicoverpa* species. PLoS ONE, 7(1): e30040

Thube SH, Mahapatro GK, Mohan C, Pandian RTP, Apshara E, Jose CT. 2020. Biology, feeding and oviposition preference of *Helopeltis theivora*, with notes on the differential distribution of species of the tea mosquito bug species complex across elevations. Animal Biology, 70(1): 67−79

Tian Z, Li Y, Zhou T, Ye X, Li RC, Liu JY. 2020. Structure dynamics reveal key residues essential for the sense of 1-dodecanol by *Cydia pomonella* pheromone binding protein 2 ($CpomPBP_2$). Pest Management Science, 76(11): 3667−3675

Venthur H, Zhou JJ. 2018. Odorant receptors and odorant-binding proteins as insect pest control targets: a comparative analysis. Frontiers in Physiology, 9: 1163

Wang GY, Zhu MF, Jiang YD, Zhou WW, Liu S, Heong KL, Cheng JA, Zhu ZR. 2017. Identification of candidate odorant-binding protein and chemosensory protein genes in *Cyrtorhinus lividipennis* (Hemiptera: Miridae), a key predator of the rice planthoppers in Asia. Environmental Entomology, 46(3): 654−662

Wang HM, Dong T, Zheng HX, Bai PH, Liu BS, Zhang XH. 2021a. Analysis of olfaction-related genes in pear lace bug *Stephanitis nashi*. Journal of Plant Protection, 48(2): 367−375 (in Chinese) [王宏民, 董田, 郑海霞, 白鹏华, 刘宝生, 张仙红. 2021a. 梨网蝽触角嗅觉相关基因分析. 植物保护学报, 48(2): 367−375]

Wang HM, Zhang J, Zhang C, Zhuang GD, Zheng HX, Zhang XH. 2021b. Cloning and expression profiling of odorant binding protein genes in *Callosobruchus chinensis* (Coleoptera: Bruchidae). Acta Entomologica Sinica, 64(8): 920−928 (in Chinese) [王宏民, 张静, 张冲, 庄国动, 郑海霞, 张仙红. 2021b. 绿豆象气味结合蛋白基因的克隆及表达分析. 昆虫学报, 64(8): 920−928]

Wang Q, Li YJ, Wang Q, Sun L, Zhang YJ. 2022. The *Adelphocoris lineolatus* OBP4: support for evolutionary and functional divergence of a mirid pheromone-binding protein from that found in lepidopteran moths. Insect Science, 29(1): 151−161

Wang S, Minter M, Homem RA, Michaelson LV, Venthur H, Lim KS, Withers A, Xi JH, Jones CM, Zhou JJ. 2020. Odorant binding proteins promote flight activity in the migratory insect, *Helicoverpa armigera*. Molecular Ecology, 29(19): 3795−3808

Wang Z, Meng QQ, Sun SW, Li FP, Liu AQ, Gao SF, Gou YF. 2021. Behavioral responses of *Helopeltis theivora* Waterhouse to cocoa fruits and volatiles derived from different germplasm resources. Chinese Journal of Tropical Crops, 42(2): 512−518 (in Chinese) [王政, 孟倩倩, 孙世伟, 李付鹏, 刘爱勤, 高圣风, 苟亚峰. 2021. 茶角盲蝽对不同可可种质果实及其挥发物的行为反应. 热带作物学报, 42(2): 512−518]

Wang Z, Meng QQ, Zhu X, Sun SW, Gao SF, Gou YF, Liu AQ. 2019. Evaluation and validation of reference genes for quantitative real-time PCR in *Helopeltis theivora* Waterhouse (Hemiptera: Miridae). Scientific Reports, 9: 13291

Wang Z, Zhu X, Meng QQ, Sun SW, Gao SF, Liu AQ. 2019. Stability evaluation of reference genes in tea mosquito bug *Helopeltis theivora* under temperature and pesticide stress. Journal of Plant Protection, 46(3): 530−541 (in Chinese) [王政, 朱茜, 孟倩倩, 孙世伟, 高圣风, 刘爱勤. 2019. 温度和药剂胁迫下茶刺盲蝽内参基因稳定性分析. 植物保护学报, 46(3): 530−541]

Yang HB, Hu ZJ, Li DX, Zhu PH, Dong JF. 2018. Identification of odorant binding protein genes in antennae of *Corythucha ciliata* (Hemiptera: Tingidae). Acta Entomologica Sinica, 61(10): 1121−1131 (in Chinese) [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气味结合蛋白基因鉴定. 昆虫学报, 61(10): 1121−1131]

Yuan HB, Ding YX, Gu SH, Sun L, Zhu XQ, Liu HW, Dhiloo KH, Zhang YJ, Guo YY. 2015. Molecular characterization and expression profiling of odorant-binding proteins in *Apolygus lucorum*. PLoS ONE, 10(10): e0140562

Zhang Y, Yang B, Wang GR. 2019. Research progress of soluble proteins on chemosensationin insects. Journal of Environmental Entomology, 41(2): 229−240 (in Chinese) [张玉, 杨斌, 王桂荣. 2019. 昆虫嗅觉相关可溶性蛋白的研究进展. 环境昆虫学报, 41(2): 229−240]

（责任编辑:张俊芳）