

锈色粒肩天牛化学感受基因鉴定与分析

周敏 梁志 郑永鑫 顾天滋 张胜男 张龙娃*

(安徽农业大学林学与园林学院, 安徽省林木资源培育重点实验室, 真菌生物技术教育部工程研究中心,
安徽省微生物防治重点实验室, 合肥 230036)

摘要: 为鉴定锈色粒肩天牛 *Apriona swainsoni* 的化学感受基因, 利用 Illumina Novaseq 6000 平台对其雌雄成虫触角、口器、腹部生殖节、前足跗节进行转录组测序, 从中筛选获得化学感受基因并进行生物信息学和系统进化分析, 同时测定其组织表达模式, 进一步通过序列比对和构建进化树分析锈色粒肩天牛、同属共寄主的桑天牛 *Apriona germari* 以及其他鞘翅目昆虫化学感受基因的同源性和系统发育关系。结果表明: 从锈色粒肩天牛各组织中共获得 32 242 条 unigene, 从中鉴定得到 14 个味觉受体 (gustatory receptor, GR) 基因、9 个离子型受体 (ionotropic receptor, IR) 基因和 39 个气味受体 (odorant receptor, OR) 基因; 其中, *AswaGR5*、*AswaGR7*、*AswaGR12*、*AswaGR13* 聚集在果糖受体家族, *AswaGR4* 聚集在糖受体家族, *AswaIR9* 和 *AswaIR8* 为 IR 共受体基因, 且这 3 类基因均与桑天牛的化学感受基因高度同源。大部分化学感受基因在锈色粒肩天牛触角或口器中高表达, 不同基因呈现出不同的组织表达特异性, 如 *AswaGR5*、*AswaIR2*、*AswaIR7*、*AswaOR3*、*AswaOR5*、*AswaOR6*、*AswaOR8*、*AswaOR18*、*AswaOR25*、*AswaOR28*、*AswaOR36* 和 *AswaOR38* 基因仅于雌雄成虫触角中有表达, *AswaGR1* 基因在雄成虫口器中显著高表达。锈色粒肩天牛与桑天牛的 *AswaGR1/AgerGR6*、*AswaIR9/AgerIR9*、*AswaOR13/AgerOR22* 和 *AswaOrco/AgerOR25* 等化学感受基因有极高的同源性, 推测这些基因可能在寄主定位以及生态位分隔中发挥着重要作用。

关键词: 锈色粒肩天牛; 化学感受基因; 嗅觉受体; 表达模式; 同源性分析

Identification and analysis of chemosensory genes in rusty-spotted longhorn beetle *Apriona swainsoni* (Coleoptera: Cerambycidae)

Zhou Min Liang Zhi Zheng Yongxin Gu Tianzi Zhang Shengnan Zhang Longwa*

(Anhui Provincial Key Laboratory of Microbial Control; Engineering Research Center of Fungal Biotechnology,
Ministry of Education; Anhui Provincial Key Laboratory of Forest Resources and Silviculture; School of Forestry
and Landscape Architecture, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, Anhui Province, China)

Abstract: To identify chemosensory genes in rusty-spotted longhorn beetle *Apriona swainsoni*, transcriptome sequencing was performed on antennae, mouthparts, reproductive segments, and prothoracic tarsi of both male and female adults using the Illumina Novaseq 6000 platform. Chemosensory genes were screened and analyzed through bioinformatics and phylogenetic tree analysis. Tissue-specific expression patterns were determined based on fragments per kilobase per million mapped fragments (FPKM) values. Sequence alignment and phylogenetic analyses were also conducted to examine the homology and phylogenetic relationships of chemoreceptor genes among *A. swainsoni*, its congeneric host *Apriona germari*, and other Coleoptera species. The results showed that 32 242 unigenes, among which 14 gustatory receptors (GRs), nine ionotropic receptors (IRs), and 39 odorant receptors (ORs) were iden-

tified. Phylogenetic analysis indicated that *AswaGR5*, *AswaGR7*, *AswaGR12* and *AswaGR13* clustered in the fructose receptor subfamily, *AswaGR4* clustered in the glucose receptor subfamily. *AswaIR9* and *AswaIR8* were identified as IR co-receptor genes. These three types of chemosensory genes showed high homology with those of *A. germari*. Most chemosensory genes were highly expressed in the antennae or mouthparts, with tissue-specific expression patterns observed. For instance, *AswaGR5*, *AswaIR2*, *AswaIR7*, *AswaOR3*, *AswaOR5*, *AswaOR6*, *AswaOR8*, *AswaOR18*, *AswaOR25*, *AswaOR28*, *AswaOR36* and *AswaOR38* were exclusively expressed in the antennae of both sexes, whereas *AswaGRI* showed significantly higher expression in the male mouthparts. Notably, chemosensory genes such as *AswaGRI/AgerGR6*, *AswaIR9/AgerIR9*, *AswaOR13/AgerOR22*, and *AswaOrco/AgerOR25* exhibited high homology between *A. swainsoni* and *A. germari*, suggesting their potential roles in host location and ecological niche segregation.

Key words: *Apriona swainsoni*; chemosense gene; olfactory receptor; expression pattern; homology analysis

昆虫依靠精确且灵敏的嗅觉系统完成取食、产卵及求偶等生命活动。昆虫的嗅觉识别过程涉及多种蛋白,主要包括气味结合蛋白(odorant binding protein, OBP)、化学感觉蛋白(chemosensory protein, CSP)、气味受体(odorant receptor, OR)、味觉受体(gustatory receptor, GR)、离子型受体(ionotropic receptor, IR)和感受神经元膜蛋白(sensory neuron membrane protein, SNMP)等(Leal, 2013; Yuvaraj et al., 2017)。在昆虫的嗅觉基因家族中较保守的是GR,其次是IR。GR基因可根据功能分为糖受体、果糖受体、苦味受体和二氧化碳受体,且GR基因的数量具有物种特异性(Ebbs & Amrein, 2007; Kwon et al., 2007),目前关于鞘翅目昆虫GR功能方面的研究较少。IR具有与离子型谷氨酸受体相似的保守跨膜结构域(Benton et al., 2009),可分为高度或专一性于触角中表达的触角IR和与味觉及听觉相关的物种特异性分化IR(Senthilan et al., 2012; Koh et al., 2014; Szyzka & Galizia, 2018)。IR位于嗅觉感受神经元树突中,在气味诱导的激活反应中发挥着作用(Benton et al., 2009)。IR基因家族在不同时空下的表达具有特异性,如松墨天牛 *Monochamus alternatus* 的 *MalIR33* 基因仅在取食期表达, *MalIR37* 基因在雄性中特异性表达(Han et al., 2024)。目前,关于IR基因的研究主要集中在果蝇上,如Croset et al. (2010)研究表明果蝇的 *IR8a* 与 *IR25a* 基因只有与其他IR基因一起共表达时才能有效发挥其嗅觉功能,并且这2个基因编码的受体高度保守。若 *IR8a* 或 *IR25a* 缺失后黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 会消除多种类型感觉神经元的反应(Chen & Amrein, 2017)。

OR是一类C端在膜外、N端在膜内的七跨膜结构域蛋白(Benton et al., 2006; Liu et al., 2018),仅存在于昆虫中,并且被认为是早期昆虫为适应陆地环境而进化出的(Sánchez-Gracia et al., 2009; Eyun et al., 2017)。OR主要识别来自寄主或非寄主植物的各种气味(Chahda et al., 2019)以及性信息素(Yuvaraj et al., 2017)。一般来说OR可以分为2类,一类是非典型OR,也称为共受体(olfactory receptor coreceptor, Orco)或OR83b,在昆虫产卵和寄主定位中起着至关重要的作用,如通过RNA干扰广聚萤叶甲 *Ophraella communa* 的 *OcomOrco* 后,雄雌成虫对其寄主挥发物的反应显著降低(Ma et al., 2022);另一类是典型OR,包含气味受体和性信息素受体(Touhara & Vosshall, 2009)。鞘翅目昆虫的OR被划分为8个家族,分别为1、2A(2B)、3、4、5A(5B)、6、7和Orco(Mitchell et al., 2020)。同源性较低的典型OR与Orco在嗅觉感受神经元树突膜上构成同源四聚体配体门控阳离子通道,与气味配体特异性结合,让阳离子通过,进而产生神经冲动,并将化学信号转化为电信号(Sato et al., 2008)。尽管在鞘翅目昆虫中已经鉴定到大量OR,但仅有少数的功能被证实,如厚垫黄带蜂天牛 *Megacyllene caryae* 的 *McarOR3*、*McarOR5* 和 *McarOR20* (Mitchell et al., 2012)以及赤拟谷盗 *Tribolium castaneum* (Engsontia et al., 2008)、华山松大小蠹 *Dendroctonus armandi* (Zhang RR et al., 2016)和红棕象甲 *Rhynchophorus ferrugineus* (Soffan et al., 2016)的Orco均可以感应天牛性信息素组分(Mitchell et al., 2020)。

锈色粒肩天牛 *Apriona swainsoni* 属鞘翅目天牛科,是一种破坏性极强的钻蛀性害虫,且是我国重要

的森林植物检疫对象(刘鹏等,2016;宋斌等,2020),主要寄主为国槐 *Sophora japonica*、云实 *Caesalpinia decapetala* 和黄檀 *Dalbergia hupeana* 等。桑天牛 *Apriona germari* 也是我国重要的林业害虫,广泛分布于全国各地,它与锈色粒肩天牛同属且寄主植物也有重叠,如云实、柳树等(王晓红等,2010)。锈色粒肩天牛幼虫破坏树木输导组织且形成不规则的横向扁平虫道,严重影响树木的生长发育。近年来该虫不断扩散为害,且其发生程度不断加重,已在山东省的孔陵、泰山等地造成数株千年古槐枯死(杨忠岐等,2018)。目前,关于锈色粒肩天牛的防治研究主要集中在化学防治方面,尽管这种方法能迅速见效,但易对环境造成负面影响。因此,开发基于植物源和信息素的环境友好型引诱剂迫在眉睫。

本研究通过构建锈色粒肩天牛雌雄成虫触角、前足跗节、口器、腹部生殖节转录组数据库,基于生物信息学方法分析鉴定一系列化学感受基因,根据转录组数据分析这些基因在各组织中的表达水平,并对比分析锈色粒肩天牛和桑天牛化学感受基因的同源性与特异性,以期为进一步解析锈色粒肩天牛嗅觉感受机制以及挖掘化学感受基因分子靶标提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试昆虫:锈色粒肩天牛6龄幼虫采集于湖南省永州市祁阳县(111°35'E,26°06'N),用75%酒精处理后置于放有人工饲料(王文辉等,2017)的底径5.6 cm、口径7.3 cm、高2.6 cm的70 mL圆形塑料盒中,于温度24~26℃、相对湿度65%~70%、黑暗环境中采用人工饲料饲养;待成虫羽化后,每天10:00收集雌雄成虫置于直径10 cm、高6 cm的透明塑料盒里,标记性别及羽化日期。

试剂和仪器:细胞/组织总RNA提取试剂Trizol,南京诺唯赞生物科技股份有限公司;Super-Script™双链cDNA合成试剂盒,美国赛默飞世尔公司;反转录试剂盒,日本TaKaRa公司;Illumina® Stranded mRNA Prep Ligation,美国Illumina公司;RNA Purification Kit,上海美吉生物医药科技有限公司;其余试剂均为国产分析纯。NanoDrop2000超微量分光光度计,美国Thermo Fisher Scientific公司;Tissue Lysee-24全自动样品快速研磨仪,上海净信实业发展有限公司;PowerPac Basic基础型电泳仪,美国伯乐有限公司;Illumina Novaseq 6000,美国

Illumina公司;FD凝胶成像系统,西盟国际金西盟仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 锈色粒肩天牛cDNA文库的构建与测序

随机挑取健康、有活力的7日龄锈色粒肩天牛雌雄成虫各15头,分为3组,每组5头,用手术剪刀和镊子切取成虫触角、口器、前足跗节和腹部生殖节,立即将其置于液氮中冷冻,并于-80℃保存备用。利用细胞/组织总RNA提取试剂盒参照说明书提取雌雄成虫不同组织的RNA,并利用1%琼脂糖凝胶检测其完整性,利用超微量分光光度计检测RNA质量。取合格的各组织总RNA样品,采用Illumina® Stranded mRNA Prep Ligation参照说明书进行文库构建。先通过磁珠(Oligo dT)富集供试样品的mRNA,然后将其随机打断;以mRNA为模板,用六碱基随机引物合成第1条cDNA链,随后加入dNTPs、RNaseH、缓冲液与DNA聚合酶I合成第2条cDNA链,并纯化双链cDNA;加入End Repair Mix将其补成平末端,随后在3'末端加上1个A碱基,用于连接Y字形的接头;对连接产物进行纯化和片段分选,用分选产物进行PCR扩增。50 μL反应体系:cDNA模板20 μL、扩增接头引物10 μL、Buffer 20 μL。反应条件:98℃预变性10 s,98℃变性10 s,60℃退火30 s,72℃延伸30 s,设定12个循环;72℃彻底延伸5 min,12℃保持。纯化得到最终的文库。使用Illumina NovaSeq 6000测序平台对构建的文库进行高通量测序,得到大小为150 bp的双端测序read。文库构建与测序均由上海美吉生物医药科技有限公司协助完成。

1.2.2 锈色粒肩天牛转录组数据组装拼接及注释

对1.2.1所有测序read的每个循环进行碱基分布和质量波动的统计,可以从宏观上直观地反映出样本的测序质量和文库构建质量。对每个样本的原始测序数据进行测序相关质量评估,包括碱基含量、N50长度(按照长度将组装unigene/transcript从大到小排序,累加长度到总长度1/2时对应的长度)、E90N50长度(表达量排前90%的unigene/transcript按照长度从大到小排序,累加长度到总长度1/2时对应的长度)、碱基错误率分布等,利用TransRate程序对组装结果进行评估,最终经质量控制后得到高质量read。鉴于无可以参考的锈色粒肩天牛转录组数据,在获得高质量read后,采用Trinity软件对高序列read进行拼接,获得用于后续分析的参考序列。使用BLAST程序从参考序列中比对得到最长转录

本序列 unigene, 要求 E 值 $<10^{-5}$, 并分别在非冗余蛋白库(non-redundant protein, Nr)、京都基因和基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of genes and genomes, KEGG)、蛋白质家族(Pfam)、基因本体论(gene ontology, GO)、Swiss-Prot 和 eggNOG 数据库中对获得的 unigene 进行注释。使用 Python scipy 软件包对在 KEGG 数据库中获得注释的 unigene 进行通路富集分析, 使用 Fisher 精确检验法进行检验。为控制假阳性率, 采用 Benjamini-Hochberg 方法进行多重检验, 计算错误发现率(false discovery rate, FDR), 并以校正的 P 值小于 0.05 为依据, 满足此条件的 KEGG 通路定义为在差异表达基因中显著富集的通路。

1.2.3 锈色粒肩天牛化学感受基因的鉴定

为鉴定锈色粒肩天牛雌雄成虫触角、口器、前足跗节、腹部生殖节中的化学感受基因, 对 1.2.2 中通过 Nr 数据库注释的 unigene 进行潜在化学感受基因的筛选。为进一步确定候选基因的准确性, 将所有查找到的基因序列逐一在 NCBI 网站的 Nr 数据库中进行比对。将比对后的参数包括氨基酸长度、同源性最高的物种名称、基因名称、登录号、相似度大小及 E 值输入表格, 利用 Clustal X 软件进行序列比对并删除相同的基因序列, 使用在线预测开放阅读框(open reading frame, ORF) 网站 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/>) 查找锈色粒肩天牛嗅觉相关基因的 ORF。在网站 TMHMM 2.0 (<https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?TMHMM-2.0>) 对锈色粒肩天牛的 GR、IR 和 OR 进行跨膜结构域预测, 并利用 BLASTp 程序对锈色粒肩天牛和桑天牛之间的 GR、IR 和 OR 序列进行同源性比对。

1.2.4 锈色粒肩天牛化学感受基因的进化树构建

为分析锈色粒肩天牛化学感受基因的系统进化关系, 在 NCBI 数据库中下载已报道的鞘翅目、鳞翅目等昆虫候选化学感受基因的氨基酸序列。使用 Clustal X 软件对候选化学感受基因的氨基酸序列与锈色粒肩天牛的相应氨基酸序列进行完全比对, 并输出 Phb 结果, 将结果导入 MEGA X 软件以邻接法构建系统进化树, 1 000 次重复检验, 再利用 Itol (<https://itol.embl.de/tree/2232447311821631702542936#>) 在线网站进行可视化和系统进化树编辑。

1.2.5 锈色粒肩天牛化学感受基因的表达水平分析

为明确锈色粒肩天牛化学感受基因在不同性别和不同组织中的表达模式, 根据化学感受基因在各组织中的每千个碱基转录每百万映射读取的 fragments (fragments per kilobase per million, FPKM) 估

算其表达水平, 使用 TBTtools 1.098652 软件对化学感受基因的表达水平进行聚类热图展示。

2 结果与分析

2.1 锈色粒肩天牛转录组数据的组装结果

锈色粒肩天牛雌雄成虫触角、前足跗节、腹部生殖节及口器总 RNA 经转录组测序、优化组装后获得 44 411 条转录本和 32 242 条 unigene, unigene 平均长度为 1 170.54 bp, GC 含量为 38.49% (表 1), 表明获得的转录组数据可靠性高, 可用于后续拼接注释。

表 1 锈色粒肩天牛转录组组装结果

Table 1 Summary of assembly for the transcriptome of *Apriona swainsoni*

指标 Index	基因 Unigene	转录本 Transcript
总序列数 Total number of sequences	32 242	44 411
总碱基数 Total number of bases	37 740 432	60 370 380
最长序列长度 Largest length of sequence/bp	20 853	20 853
最短序列长度 Smallest length of sequence/bp	201	201
序列平均长度 Average length of sequence/bp	1 170.54	1 359.36
N50 长度 N50 length/bp	2 235	2 474
E90N50 长度 E90N50 length/bp	2 687	2 306
片段映射百分比 Fragment mapped percent/%	71.046	78.243
GC 含量 GC percent/%	38.49	38.65
TransRate 得分 TransRate score	0.35	0.39

2.2 锈色粒肩天牛 unigene 功能注释结果

将拼接获得的锈色粒肩天牛 unigene 在 Nr、GO、KEGG、Pfam、Swiss-Prot 和 eggNOG 数据库进行注释, 其中, 在 Nr 数据库获得注释的 unigene 最多, 有 17 198 条; 在 eggNOG 数据库获得注释的 unigene 次之, 有 16 024 条; 在 GO、KEGG、Pfam 和 Swiss-Port 数据库中获得注释的 unigene 分别有 13 005、10 433、13 436 和 12 417 条。

在 Nr 数据库获得注释的 unigene 中, 70.50% 的注释基因与锈色粒肩天牛的 unigene 具有很高的同源性 ($E < 1 \times 10^{-30}$); 获得注释的锈色粒肩天牛 unigene 与光肩星天牛 *Anoplophora glabripennis* 基因的同源性最高, 为 58.64%; 其次是与马铃薯甲虫 *Leptinotarsa decemlineata* 和赤拟谷盗 *Tribolium castaneum* 基因的同源性较高, 分别为 2.19% 和 2.03%。

2.3 锈色粒肩天牛 unigene 的 KEGG 代谢通路分析

在 KEGG 数据库获得注释的锈色粒肩天牛

unigene 中有 3 467 条参与代谢通路,有 2 039 条参与遗传信息处理通路,有 1 439 条参与环境信息处理通

路,有 1 941 条参与细胞过程通路,有 3 653 条参与生物体系统通路,有 4 745 条参与人类疾病通路(图1)。

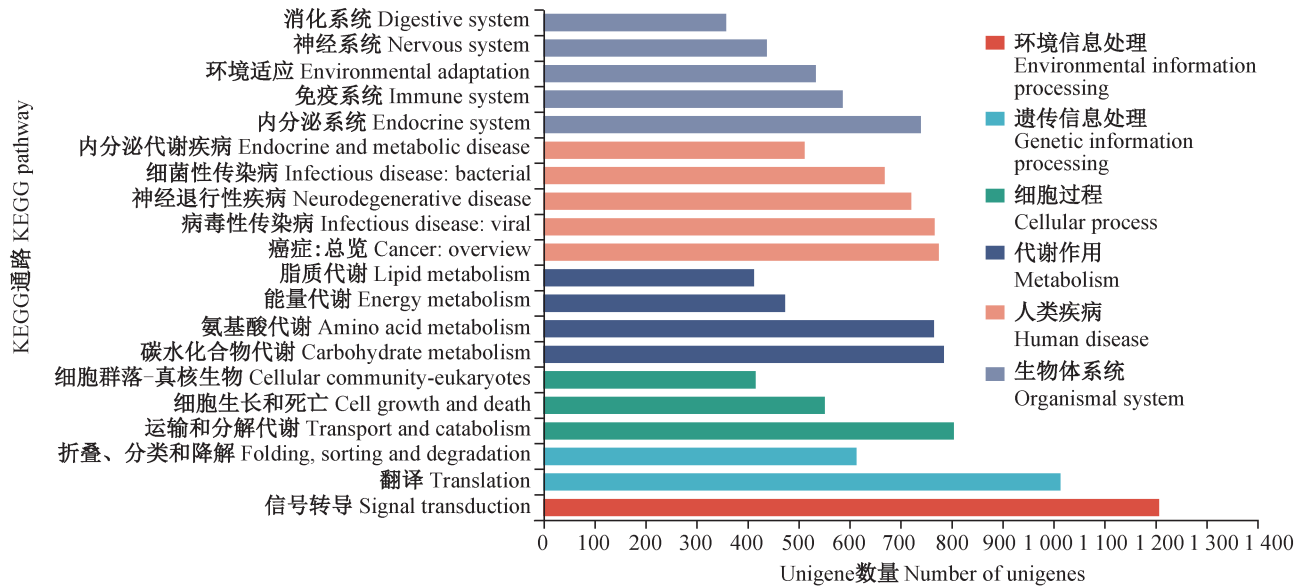


图1 锈色粒肩天牛 unigene 的 KEGG 代谢通路

Fig. 1 KEGG classification of *Apriona swainsoni* unigenes

2.4 锈色粒肩天牛 GR 基因的鉴定及分析

从锈色粒肩天牛转录组中共鉴定得到 14 个 GR, 分别命名为 *AswaGR1*~*AswaGR14*, 这 14 个基因编码的蛋白质片段大小介于 83~428 aa 之间, 且均含有跨膜结构域, 其中 *AswaGR1*、*AswaGR4*、*AswaGR7* 和 *AswaGR8* 含有 7 个跨膜结构域; 另外, 除了 *AswaGR2*、*AswaGR5*、*AswaGR6* 和 *AswaGR14* 之外的其余 10 个基因均具有完整的 ORF。序列比对分析发现大部分锈色粒肩天牛 GR 与桑天牛、星天牛 *Anoplophora chinensis*、光肩星天牛的 GR 基因有较高的同源性。系统发育分析结果显示, *AswaGR5*、*AswaGR7*、*AswaGR12* 和 *AswaGR13* 聚集在果糖受体一支, *AswaGR4* 聚集在糖受体一支, 并且几乎每个 *AswaGR* 都与 1 个或多个桑天牛 *AgerGR* 聚集在一支(图2)。

进一步通过 BLASTp 比对锈色粒肩天牛和桑天牛 GR 之间的同源性, 发现 *AswaGR1* 与 *AgerGR6* 的相似度最高, 为 93.89%; 其次是 *AswaGR7* 与 *AgerGR7* 以及 *AswaGR4* 与 *AgerGR13* 的相似度, 分别为 88.36% 和 86.45%(表2); 另外还发现 2 个锈色粒肩天牛特有的 GR, 即 *AswaGR10* 和 *AswaGR14*。

基因表达分析结果表明, 大多数锈色粒肩天牛 *AswaGR* 基因的转录水平相对较低 ($0 < \text{FPKM} < 5$), 但 *AswaGR10* 和 *AswaGR11* 几乎在所有组织中均高表达, 其中 *AswaGR10* 在雌成虫口器中显著高表达,

AswaGR11 则在雄成虫口器中显著高表达; *AswaGR5* 仅于雌雄成虫触角中表达, *AswaGR2* 仅在雌成虫各组织中表达, 而在雄成虫组织中未见表达, *AswaGR1* 在雄成虫口器中显著高表达(图3)。

2.5 锈色粒肩天牛 IR 基因的鉴定及分析

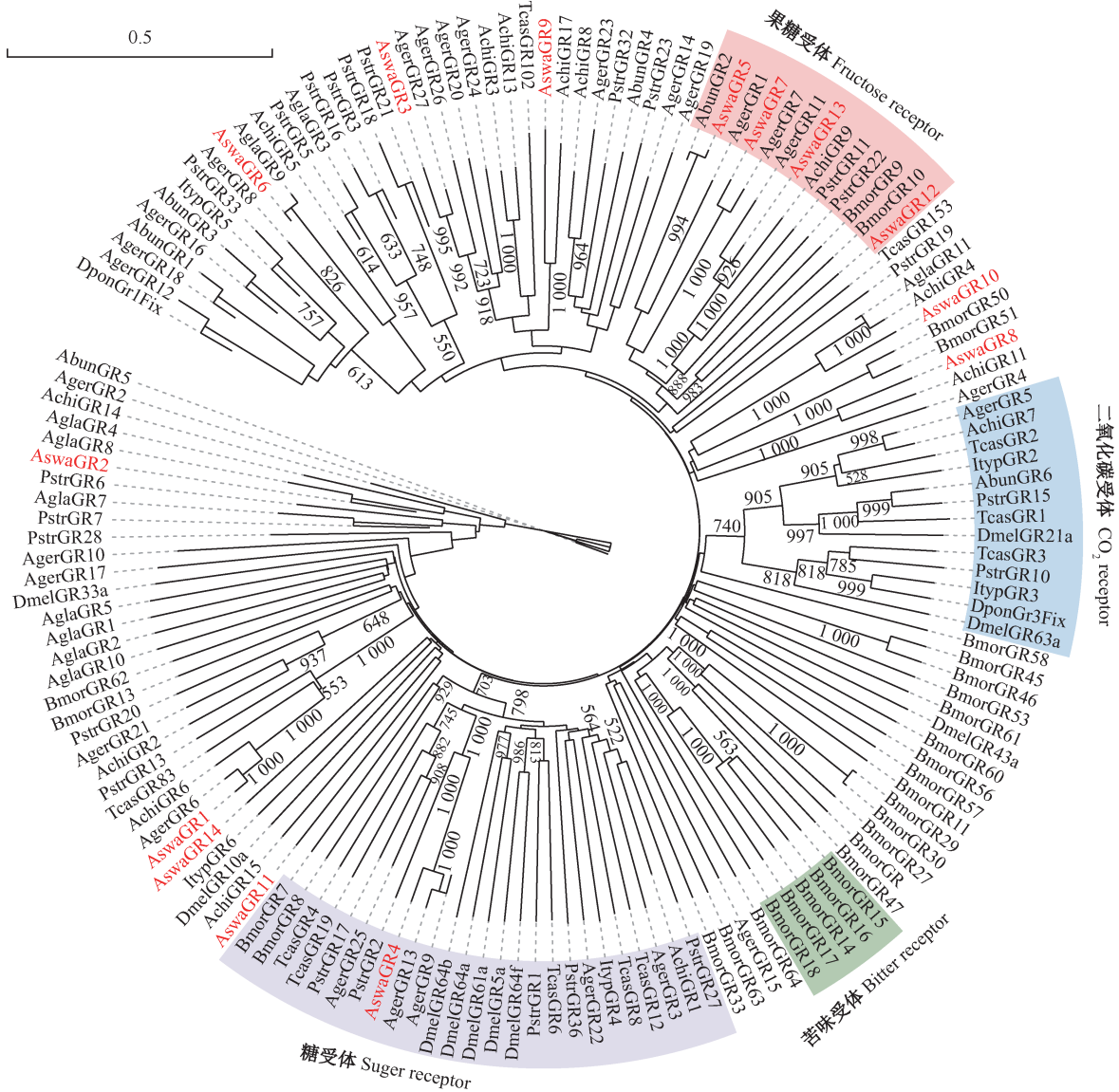
从锈色粒肩天牛转录组中鉴定到 9 个 *AswaIR*, 分别命名为 *AswaIR1*~*AswaIR9*, 其中, *AswaIR4*、*AswaIR5*、*AswaIR6*、*AswaIR9* 和 *AswaIR10* 具有完整的 ORF。序列比对分析发现这些 *AswaIR* 与鞘翅目物种的 IR 均有很高的同源性, *AswaIR9* 与桑天牛 *AgerIR3* 的同源性最高, 为 93.11%; *AswaIR4* 与光肩星天牛 *Aglair93a* 的同源性次之, 为 86.72%。系统发育分析结果显示, *AswaIR8* 与黑腹果蝇的 *DmelIR25a*、中欧山松大小蠹 *Dendroctonus ponderosae* 的 *DponIR25a* 分布在同一支, *AswaIR9* 与黑腹果蝇的 *DmelIR8a*、中欧山松大小蠹的 *DponIR8a* 分布在同一支, *AswaIR8* 和 *AswaIR9* 均为 IR 共受体基因, 总体上锈色粒肩天牛的 IR 序列大多与桑天牛的 IR 聚集在一起(图4)。

进一步通过 BLASTp 比对锈色粒肩天牛和桑天牛 IR 之间的同源性, 发现 *AswaIR3*~*AswaIR9* 这 7 个 IR 基因与桑天牛 *AgerIR* 具有较高的同源性, 其中, *AswaIR9* 与 *AgerIR9* 的同源性最高, 相似度为 93.74%(表3); *AswaIR1* 和 *AswaIR2* 为锈色粒肩天牛特有的 IR。

基因表达分析结果表明, 锈色粒肩天牛 *As-*

*walR4*在各组织中均高表达,其他IR多在触角中高表达,其中 *AswaIR2* 和 *AswaIR7* 在触角中特异性表

达;此外, *AswaIR5*、*AswaIR8* 和 *AswaIR9* 在雌雄成虫口器和触角中的表达量较高(图5)。



AswaGR: 锈色粒肩天牛 GR; AgerGR: 桑天牛 GR; AbunGR: 桃红颈天牛 GR; AchiGR: 星天牛 GR; ItypGR: 云杉八齿小蠹 GR; AglaGR: 光肩星天牛 GR; DmelGR: 黑腹果蝇 GR; PstrGR: 黄曲条跳甲 GR; DponGR: 中欧山松大小蠹 GR; TcasGR: 赤拟谷盗 GR; BmorGR: 家蚕 GR。AswaGR: *Apriona swainsoni* GR; AgerGR: *Apriona germari* GR; AbunGR: *Aromia bungii* GR; AchiGR: *Anoplophora chinensis* GR; ItypGR: *Ips typographus* GR; AglaGR: *Anoplophora glabripennis* GR; DmelGR: *Drosophila melanogaster* GR; PstrGR: *Phyllotreta striolata* GR; DponGR: *Dendroctonus ponderosae* GR; TcasGR: *Tribolium castaneum* GR; BmorGR: *Bombyx mori* GR。

图2 基于GR基因序列采用邻接法构建锈色粒肩天牛及其他昆虫的系统进化树

Fig. 4 Phylogenetic tree based on GR gene sequences of *Apriona swainsoni* and other insects constructed using the neighbor-joining method

2.6 锈色粒肩天牛OR基因的鉴定及分析

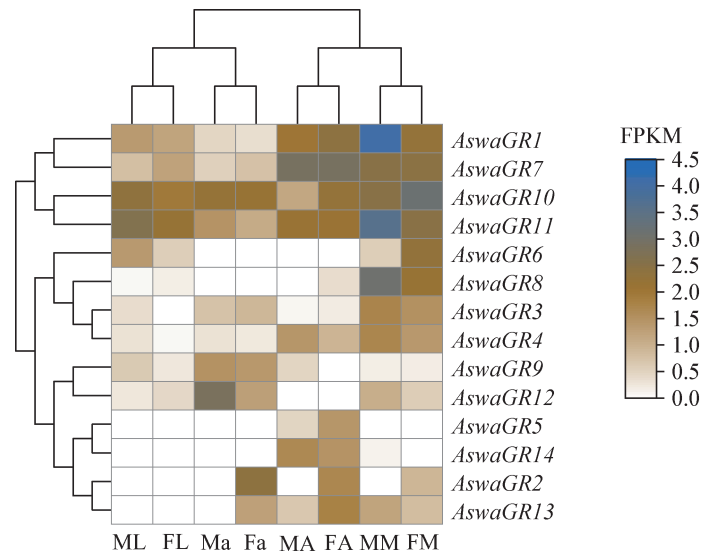
从锈色粒肩天牛转录组中鉴定到39个OR,分别命名为 *AswaOR1*~*AswaOR38* 及 *AswaOrco*,其编码的蛋白质片段大小介于47~479 aa之间;除 *AswaOR3*、*AswaOR4*、*AswaOR7*、*AswaOR8*、*AswaOR9*、

AswaOR11、*AswaOR13*、*AswaOR15* 和 *AswaOR26* 外,其他 *AswaOR* 均具有完整的ORF。序列比对分析发现锈色粒肩天牛 *AswaOrco* 与光肩星天牛 *AglaOrco* 的同源性最高,为95.20%。

表2 锈色粒肩天牛与桑天牛之间GR基因的同源性分析

Table 2 Homology analysis of gustatory receptors (GRs) between *Apriona swainsoni* and *Apriona germari*

查询序列 ID Query sequence ID	目标序列 ID Target sequence ID	比对结果 期望值 Expected value of alignment result (E value)	符合比对的 比对长度 Alignment length/aa	相似度 Identity/%	比对区域在查询序列 上的位点 Position of alignment region on query sequence		比对区域在目标序列 上的位点 Position of alignment region on target sequence	
					开始位点 Starting position	终止位点 Ending position	开始位点 Starting position	终止位点 Ending position
<i>AswaGR2</i>	<i>AgerGR11</i>	3×10^{-54}	111	83.78	1	111	145	255
<i>AswaGR3</i>	<i>AgerGR26</i>	2×10^{-37}	87	78.16	42	128	31	117
<i>AswaGR4</i>	<i>AgerGR13</i>	0	428	86.45	1	428	1	428
<i>AswaGR5</i>	<i>AgerGR1</i>	6×10^{-34}	73	84.93	108	180	4	76
<i>AswaGR6</i>	<i>AgerGR21</i>	7×10^{-42}	86	84.88	34	119	1	86
<i>AswaGR7</i>	<i>AgerGR7</i>	5×10^{-145}	275	88.36	135	406	1	275
<i>AswaGR8</i>	<i>AgerGR15</i>	6×10^{-60}	169	20.71	189	355	68	228
<i>AswaGR9</i>	<i>AgerGR27</i>	1×10^{-10}	56	48.21	289	343	3	58
<i>AswaGR11</i>	<i>AgerGR19</i>	8×10^{-40}	288	30.21	35	322	9	290
<i>AswaGR12</i>	<i>AgerGR18</i>	2×10^{-39}	95	76.84	26	120	8	101
<i>AswaGR13</i>	<i>AgerGR11</i>	3×10^{-41}	83	83.13	1	83	349	431



ML: 雄成虫前足跗节; FL: 雌成虫前足跗节; Ma: 雄成虫腹部生殖节; Fa: 雌成虫腹部生殖节; MA: 雄成虫触角; FA: 雌成虫触角; MM: 雄成虫口器(下颚须和下唇须); FM: 雌成虫口器(下颚须和下唇须)。ML: Anterior tarsal node of male adult; FL: anterior tarsal node of female adult; Ma: genital segment of male adult; Fa: genital segment of female adult; MA: antennae of male adult; FA: antennae of female adult; MM: mouthpart (maxillary palp and labial palp) of male adult; FM: mouthpart (maxillary palp and labial palp) of female adult.

图3 锈色粒肩天牛各组织中GR基因的聚类热图

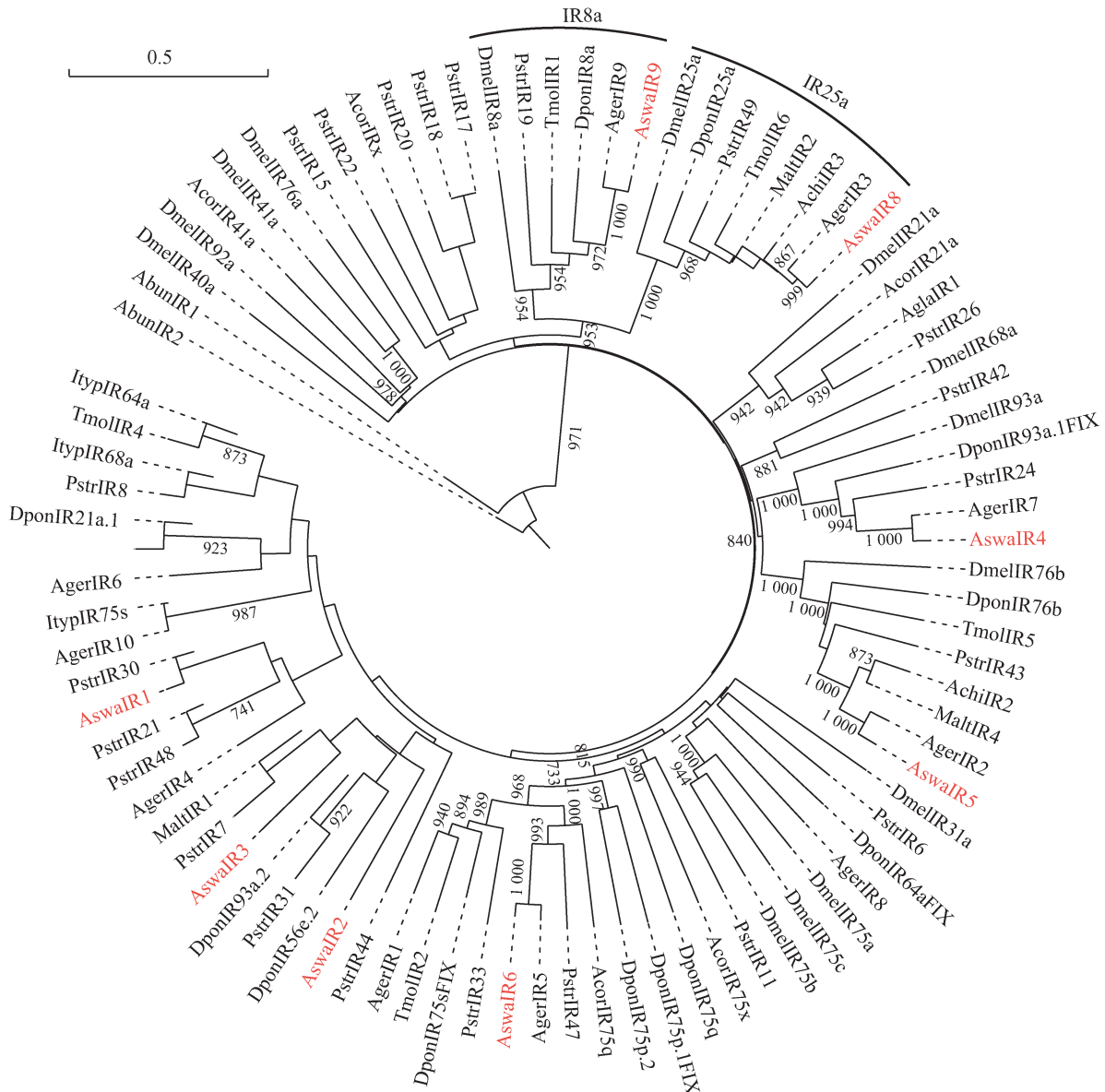
Fig. 3 Heatmap of gustatory receptors (GRs) gene expression across tissues of *Apriona swainsoni*

系统发育分析结果显示, 39个 *AswaOR* 分布在 1、2A(2B)、3、7、Orco 亚家族中; 其中 *AswaOR12*、*AswaOR13*、*AswaOR22*、*AswaOR25*、*AswaOR29* 和 *AswaOR36* 这 6 个基因聚集在 1 亚家族中; *AswaOR4*、*AswaOR15*、*AswaOR21*、*AswaOR27*、*AswaOR32* 和 *AswaOR33* 这 6 个基因聚集在 2A 亚家族中; *AswaOR18*、*AswaOR20* 和 *AswaOR38* 这 3 个基因聚集在 2B 亚家

族中; *AswaOR1*、*AswaOR2*、*AswaOR3*、*AswaOR5*、*AswaOR6*、*AswaOR7*、*AswaOR8*、*AswaOR9*、*AswaOR10*、*AswaOR11*、*AswaOR14*、*AswaOR16*、*AswaOR17*、*AswaOR19*、*AswaOR24*、*AswaOR26*、*AswaOR28*、*AswaOR30*、*AswaOR31*、*AswaOR34*、*AswaOR35* 和 *AswaOR37* 这 22 个基因聚集在 3 亚家族中; *AswaOR23* 聚集在 7 亚家族中; *AswaOrco* 单独聚集在 Orco 亚家

族中(图6)。另外, *AswaOR12*、*AswaOR13*、*AswaOR18*、*AswaOR20*、*AswaOR22*、*AswaOR25*、*AswaOR29*、*AswaOR36*、*AswaOR38*与胡桃缢虎天牛 *Megacyllene caryae* 性信息素受体基因 *McarOR3*、*McarOR5*、*McarOR20* 聚集在一起(图6)。进一步通过BLASTp比对锈色粒肩天牛和桑天牛OR的同源性,发现*AswaOR5*、*AswaOR7*、*AswaOR8*、*AswaOR13*、

AswaOR18、*AswaOR21*、*AswaOR34*、*AswaOR37*、*AswaOR38*、*AswaOrco*与桑天牛的OR序列相似度均超过90.00%;其中*Aswa13*与桑天牛 *AgerOR22*、*AswaOrco*与桑天牛 *AgerOR25*的相似度分别达到97.33%和98.75%(表4);而*AswaOR10*、*AswaOR14*、*AswaOR16*、*AswaOR17*、*AswaOR29*、*AswaOR35*和*AswaOR36*均为锈色粒肩天牛特有的OR。



AswaGR: 锈色粒肩天牛 GR; AgerIR: 桑天牛 IR; AbunIR: 桃红颈天牛 IR; AchiIR: 星天牛 IR; ItypIR: 云杉八齿小蠹 IR; AglaIR: 光肩星天牛 IR; DmelIR: 黑腹果蝇 IR; PstriIR: 黄曲条跳甲 IR; AcorIR: 铜绿丽金龟甲 IR; MaltIR: 松墨天牛 IR; TmolIR: 黄粉虫 IR; DponIR: 中欧山松大小蠹 IR。AswaGR: *Apriona swainsoni* GR; AgerIR: *Apriona germari* IR; AbunIR: *Aromia bungii* IR; AchiIR: *Anoplophora chinensis* IR; ItypIR: *Ips typographus* IR; AglaIR: *Anoplophora glabripennis* IR; DmelIR: *Drosophila melanogaster* IR; PstriIR: *Phyllotreta striolata* IR; AcorIR: *Anomala corpulenta* IR; MaltIR: *Monochamus alternates* IR; TmolIR: *Tenebrio molito* IR; DponIR: *Dendroctonus ponderosae* IR。

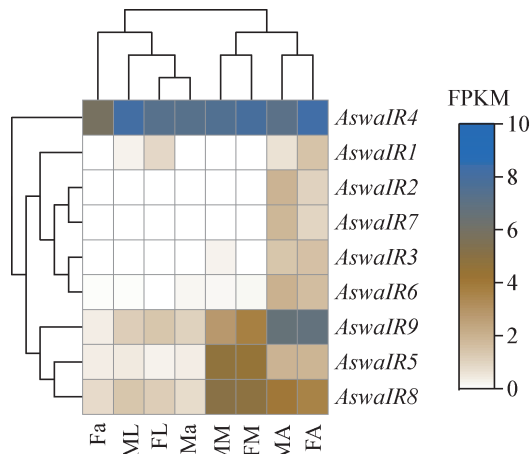
图4 基于IR基因序列采用邻接法构建锈色粒肩天牛及其他昆虫的系统进化树

Fig. 4 Phylogenetic tree based on IR gene sequences of *Apriona swainsoni* and other insects constructed using the neighbor-joining method

表3 锈色粒肩天牛与桑天牛 IR 之间的同源性分析

Table 3 Homology analysis of ionotropic receptors (IRs) between *Apriona swainsoni* and *Apriona germari*

查询序列 ID Query sequence ID	目标序列 ID Target sequence ID	比对结果 期望值 Expected value of alignment result (E value)	符合比对的 比对长度 Alignment length/aa	相似度 Identity/%	比对区域在查询序列 上的位点 Position of alignment region on query sequence		比对区域在目标序列 上的位点 Position of alignment region on target sequence	
					开始位点 Starting position	终止位点 Ending position	开始位点 Starting position	终止位点 Ending position
<i>AswaIR3</i>	<i>AgerIR1</i>	1×10^{-31}	67	85.07	155	220	1	67
<i>AswaIR4</i>	<i>AgerIR7</i>	0	494	93.52	362	855	1	494
<i>AswaIR5</i>	<i>AgerIR2</i>	0	562	89.68	1	562	1	562
<i>AswaIR6</i>	<i>AgerIR5</i>	0	439	93.39	1	439	107	545
<i>AswaIR7</i>	<i>AgerIR5</i>	2×10^{-20}	41	92.68	87	127	1	41
<i>AswaIR8</i>	<i>AgerIR3</i>	0	934	93.36	1	927	10	943
<i>AswaIR9</i>	<i>AgerIR9</i>	0	783	93.74	1	783	1	783



Fa: 雌成虫腹部生殖节; ML: 雄成虫前足跗节; FL: 雌成虫前足跗节; Ma: 雄成虫腹部生殖节; MM: 雄成虫口器(下颚须和下唇须); FM: 雌成虫口器(下颚须和下唇须); MA: 雄成虫触角; FA: 雌成虫触角。Fa: Genital segment of female adult; ML: anterior tarsal node of male adult; FL: anterior tarsal node of female adult; Ma: genital segment of male adult; MM: mouthpart (maxillary palp and labial palp) of male adult; FM: mouthpart (maxillary palp and labial palp) of female adult; MA: antennae of male adult; FA: antennae of female adult.

图5 锈色粒肩天牛各组织中 IR 的聚类热图

Fig. 5 Heatmap of ionotropic receptors (IRs) gene expression across tissues of *Apriona swainsoni*

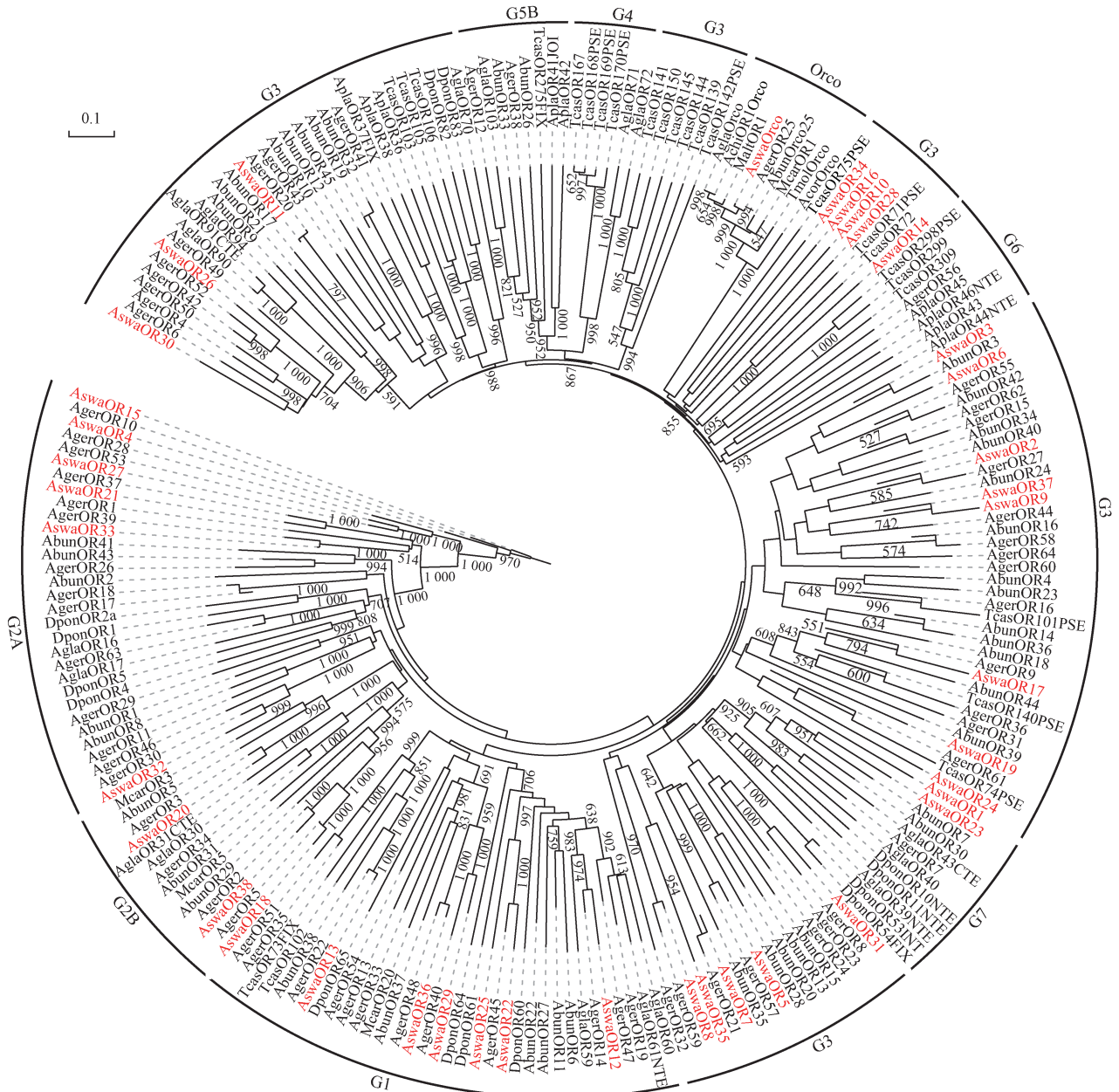
基因表达分析结果显示,锈色粒肩天牛多数 *AswaOR* 基因在触角中高表达,其中 *AswaOR3*、*AswaOR5*、*AswaOR6*、*AswaOR8*、*AswaOR18*、*AswaOR25*、*AswaOR28*、*AswaOR36* 和 *AswaOR38* 这 9 个基因仅在雌雄成虫触角中有表达,且 *AswaOR3*、*AswaOR6*、*AswaOR18*、*AswaOR25* 和 *AswaOR36* 在雄成虫触角中高表达,而 *AswaOR28* 在雌成虫触角中高表达;另外, *AswaOrco* 也在触角中高表达,且在雄成虫触角

中的表达量高于在雌成虫触角中的表达量(图7)。

3 讨论

化学通信在昆虫远距离定位以及选择食物的过程中发挥了关键作用。研究化学感受相关基因在近缘物种间的变化,可以为昆虫的寄主选择行为提供理论依据。本研究通过对锈色粒肩天牛雌雄成虫触角、口器、前足跗节、腹部生殖节 4 个组织进行转录组测序和数据分析,首次鉴定出 14 个 GR、9 个 IR 以及 39 个 OR,并明确了锈色粒肩天牛主要化学感受基因的表达特性。同时,本研究也深入对比分析了锈色粒肩天牛与桑天牛嗅觉化学感受基因的同源性。本研究丰富了天牛科化学感受基因库,对于进一步解析天牛化学通信分子机制以及发掘新型嗅觉受体防控靶标等提供了重要参考。

锈色粒肩天牛 *AswaGR4* 聚集在糖受体家族,推测 *AswaGR4* 可能具有感受海藻糖等糖类物质的功能; *AswaGR5*、*AswaGR7* 和 *AswaGR13* 与家蚕 *Bombyx mori* 的 *BmorGR9* 聚集在同一分支,表明这 3 个 *AswaGR* 可能具有与 *BmorGR9* 相似的功能,如专一性识别果糖;但未发现锈色粒肩天牛 GR 聚集到苦味受体家族和二氧化碳受体家族,可能与测序深度、基因表达量等因素有关(苗春丽等,2021)。FPKM 表达量分析结果显示,锈色粒肩天牛 *AswaGR5* 仅在雌雄成虫触角中有表达,可能参与嗅觉感知等行为活动; *AswaGR2* 和 *AswaGR12* 分别在雌成虫和雄成虫腹部生殖节中高表达,可能与生殖有关; *AswaGR10* 和 *AswaGR11* 分别在雌成虫和雄成虫口器中显著高表达,这可能与锈色粒肩天牛成虫补充营养或产卵等重要的行为活动有关。



AswaGR: 锈色粒肩天牛 GR; AgerOR: 桑天牛 OR; AbunOR: 桃红颈天牛 OR; AglaOR: 光肩星天牛 OR; AcorOR: 铜绿丽金龟 OR; AplaOR: 白蜡窄吉丁 OR; MaltOR: 松墨天牛 OR; TmolOR: 黄粉虫 OR; DponOR: 中欧山松大小蠹 OR; TcasOR: 赤拟谷盗 OR; McarOR: 厚垫黄带蜂天牛 OR。AswaGR: *Apriona swainsoni* GR; AgerOR: *Apriona germari* OR; AbunOR: *Aromia bungii* OR; AglaOR: *Anoplophora glabripennis* OR; AcorOR: *Anomala corpulenta* OR; AplaOR: *Agrilus planipennis* OR; MaltOR: *Monochamus alternates* OR; TmolOR: *Tenebrio molito* OR; DponOR: *Dendroctonus ponderosae* OR; TcasOR: *Tribolium castaneum* OR; *Megacyllene caryae* OR。

图6 基于OR基因序列采用邻接法构建锈色粒肩天牛及其他昆虫的系统进化树

Fig. 6 Phylogenetic tree based on OR gene sequences of *Apriona swainsoni* and other insects constructed using the neighbor-joining method

IR是一个保守的突触配体门控离子通道家族,与嗅觉和味觉功能有关,同时也与温度和湿度感知有关(Missbach et al., 2014; Rimal & Lee, 2018)。目前,昆虫IR嗅觉基因家族已在双翅目(Benton et al., 2009; Szyszka & Galizia, 2018)、鳞翅目(Liu et al.,

2018; Zhang et al., 2019)和鞘翅目昆虫中被发现。本研究在锈色粒肩天牛转录组中挖掘出9个IR,数量少于中欧山松大小蠹(Andersson et al., 2013)和黄曲条跳甲(Wu et al., 2016)转录组中鉴定到的IR数量(分别为15个和49个),但略多于星天牛(Sun et al., 2018)和光

肩星天牛(Hu et al., 2016)转录组中鉴定到的IR数量(均为4个)。锈色粒肩天牛的*AswaIR9*和*AswaIR8*属于IR共受体基因,有较高的表达量和相对较宽的组

量较高,其中*AswaIR2*和*AswaIR7*仅在触角中表达,*AswaIR9*在触角中高表达,这些基因可能在锈色粒肩天牛嗅觉感知中发挥着重要作用;*AswaIR5*和*AswaIR8*在雌雄成虫口中均高表达,可能与味觉识别有关。

表4 锈色粒肩天牛与桑天牛OR之间的同源性分析

Table 4 Homology analysis of odorant receptors (ORs) between *Apriona swainsoni* and *Apriona germari*

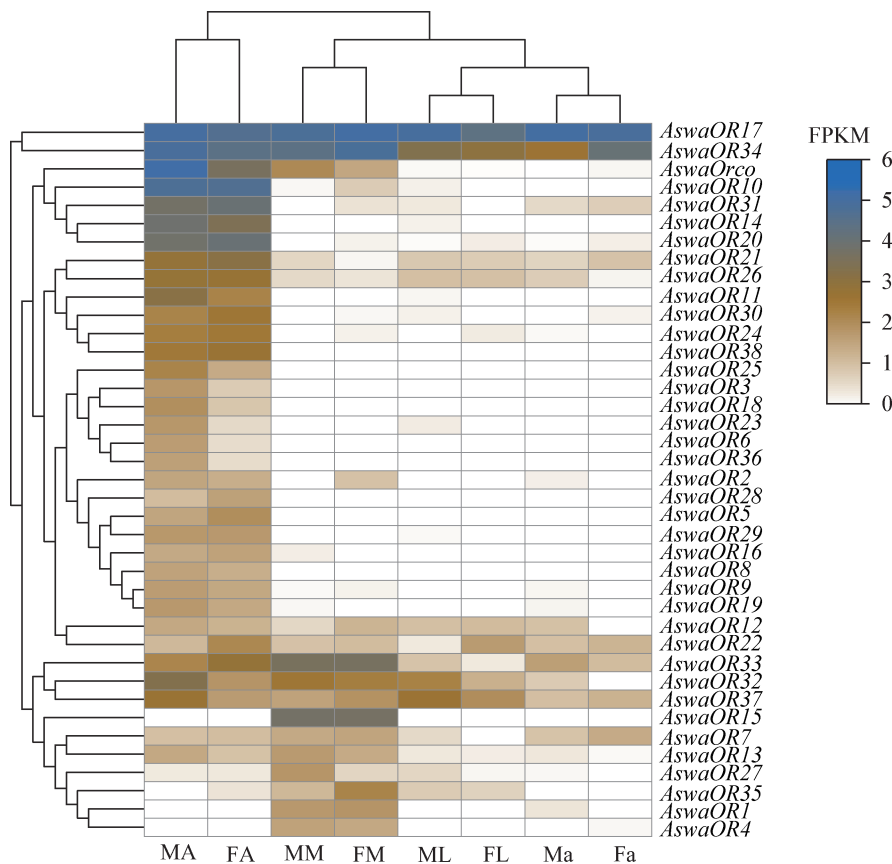
查询序列 ID Query sequence ID	目标序列 ID Target sequence ID	比对结果 期望值 Expected value of alignment result (E value)	符合比对的 比对长度 Alignment length/aa	相似度 Identity/%	比对区域在查询序列 上的位点 Position of alignment region on query sequence		比对区域在目标序列 上的位点 Position of alignment region on target sequence	
					开始位点 Starting position	终止位点 Ending position	开始位点 Starting position	终止位点 Ending position
					<i>AswaOR1</i>	<i>AgerOR59</i>	1×10^{-62}	122
<i>AswaOR2</i>	<i>AgerOR11</i>	5×10^{-22}	48	89.58	1	48	1	48
<i>AswaOR3</i>	<i>AgerOR29</i>	1×10^{-72}	135	89.63	65	198	1	135
<i>AswaOR4</i>	<i>AgerOR10</i>	9×10^{-161}	365	73.70	20	384	1	365
<i>AswaOR5</i>	<i>AgerOR57</i>	3×10^{-44}	98	91.84	18	115	1	98
<i>AswaOR6</i>	<i>AgerOR52</i>	8×10^{-7}	82	28.05	9	88	107	185
<i>AswaOR7</i>	<i>AgerOR44</i>	3×10^{-10}	28	92.86	1	28	52	79
<i>AswaOR8</i>	<i>AgerOR59</i>	2×10^{-38}	72	91.67	1	72	144	215
<i>AswaOR9</i>	<i>AgerOR18</i>	6×10^{-39}	93	72.04	53	145	3	95
<i>AswaOR11</i>	<i>AgerOR62</i>	2×10^{-48}	98	84.69	190	287	1	98
<i>AswaOR12</i>	<i>AgerOR19</i>	4×10^{-55}	173	53.76	138	310	1	173
<i>AswaOR13</i>	<i>AgerOR22</i>	6×10^{-86}	150	97.33	37	186	1	150
<i>AswaOR15</i>	<i>AgerOR10</i>	2×10^{-176}	365	81.37	20	384	1	365
<i>AswaOR18</i>	<i>AgerOR5</i>	4×10^{-121}	212	95.75	207	418	1	212
<i>AswaOR19</i>	<i>AgerOR51</i>	1×10^{-132}	272	81.25	98	367	1	272
<i>AswaOR20</i>	<i>AgerOR56</i>	5×10^{-19}	228	25.44	2	215	151	377
<i>AswaOR21</i>	<i>AgerOR3</i>	0	390	92.82	46	435	1	390
<i>AswaOR22</i>	<i>AgerOR37</i>	5×10^{-173}	352	81.53	35	386	1	349
<i>AswaOR23</i>	<i>AgerOR45</i>	1×10^{-78}	155	83.87	229	383	1	155
<i>AswaOR24</i>	<i>AgerOR7</i>	2×10^{-42}	153	49.67	239	391	1	153
<i>AswaOR25</i>	<i>AgerOR40</i>	8×10^{-37}	166	41.57	91	256	1	165
<i>AswaOR26</i>	<i>AgerOR45</i>	5×10^{-51}	154	55.84	231	384	1	154
<i>AswaOR27</i>	<i>AgerOR52</i>	9×10^{-161}	346	74.86	17	362	1	346
<i>AswaOR28</i>	<i>AgerOR53</i>	0	384	86.46	1	384	8	391
<i>AswaOR30</i>	<i>AgerOR40</i>	3×10^{-53}	118	77.97	1	118	177	294
<i>AswaOR31</i>	<i>AgerOR52</i>	6×10^{-98}	341	49.56	17	354	1	341
<i>AswaOR32</i>	<i>AgerOR8</i>	4×10^{-165}	391	75.45	8	398	1	390
<i>AswaOR33</i>	<i>AgerOR46</i>	3×10^{-108}	263	67.68	138	400	4	266
<i>AswaOR34</i>	<i>AgerOR39</i>	4×10^{-64}	119	91.60	1	119	284	402
<i>AswaOR37</i>	<i>AgerOR48</i>	2×10^{-64}	119	94.12	1	119	16	134
<i>AswaOR38</i>	<i>AgerOR2</i>	2×10^{-113}	204	93.14	215	418	1	204
<i>AswaOrco</i>	<i>AgerOR25</i>	0	479	98.75	1	479	1	479

从锈色粒肩天牛转录组中鉴定得到39个OR,多于鞘翅目中已测序的榛实象*Curculio dieckmanni*(Ma et al., 2022)和红脂大小蠹*Dendroctonus valens*(Gu et al., 2015)的OR数量(分别为15个和22个),少于星天牛(Wang et al., 2017)、厚垫黄带蜂天牛(Mitchell et al., 2012)、大灰象甲*Sympiezomias velatus*(Li et al., 2022)的OR数量(分别为44、57和62个),

且数量明显少于一些多食性物种,如光肩星天牛转录组中鉴定到132个OR(McKenna et al., 2016),赤拟谷盗转录组中鉴定到341个OR(Engsontia et al., 2008)。该结果也反映了OR数量与寄主广度有关(Andersson et al., 2019)。锈色粒肩天牛的*AswaOR3*、*AswaOR6*、*AswaOR18*、*AswaOR25*、*AswaOR36*在雄成虫触角中的表达量高于在雌成虫触角中的表达量,

可能参与对雌性信息化化合物的感知;而 *AswaOR28* 在雌成虫触角中的表达量高于在雄成虫触角中的表达量,推测可能参与雌成虫对产卵场所的选择行为(胡发广等,2020)。有些 OR 基因也可在昆虫口器、头、足、卵巢中高表达,推测可能参与昆虫其他生命活动(Wu et al.,2022)。锈色粒肩天牛的 *AswaOR15* 仅于雌雄成虫口器中表达,可能行使味觉功能或与成虫补充营养等行为活动有关;此外, *AswaOrco* 主要在成虫触角中表达,且在雄成虫触角中的表达量高于在雌成虫触角中的表达量,这与洪波等(2022)对鞘翅目枣食芽象甲 *Pachyrhinus yasumatsui* 的

PyasOrco 的研究结果一致。目前,仅有少数鞘翅目昆虫 OR 的功能被证实,如厚垫黄带蜂天牛的 *McarOR3*、*McarOR5* 和 *McarOR20*, (S)-2-甲基-1-丁醇是 *McarOR3* 的配体, *McarOR5* 可以感应其性信息素组分 2-苯乙醇,而 *McarOR20* 对天牛性信息素组分 3-羟基-2-己酮-(2S,3R)-2,3-己二醇有反应(Zhao et al.,2016)。锈色粒肩天牛的 8 个 *AswaOR* 与上述 3 个 *McarOR* 高度同源,且这些 OR 在触角中有表达或高表达,表明这些 *AswaOR* 可能在锈色粒肩天牛感知性信息素或识别寄主植物挥发物等过程中发挥作用,可作为防治锈色粒肩天牛的潜在靶点。



MA: 雄成虫触角; FA: 雌成虫触角; MM: 雄成虫口器(下颚须和下唇须); FM: 雌成虫口器(下颚须和下唇须); ML: 雄成虫前足跗节; FL: 雌成虫前足跗节; Ma: 雄成虫腹部生殖节; Fa: 雌成虫腹部生殖节。MA: Antennae of male adult; FA: antennae of female adult; MM: mouthpart (maxillary palp and labial palp) of male adult; FM: mouthpart (maxillary palp and labial palp) of female adult; ML: anterior tarsal node of male adult; FL: anterior tarsal node of female adult; Ma: genital segment of male adult; Fa: genital segment of female adult.

图7 锈色粒肩天牛各组织中OR基因的聚类热图

Fig. 7 Heatmap of odorant receptors (ORs) gene expression across tissues of *Apriona swainsoni*

榆黄毛萤叶甲 *Pyrrhalta maculicollis* 和榆绿毛萤叶甲 *Pyrrhalta aenescens* 以同种寄主植物为食主要是受到植物气味即化学信息物质的影响(Zhang B et al.,2016)。而化学感受基因在 2 个近缘物种中的表达可能直接影响昆虫对寄主的选择。桑天牛和锈色

粒肩天牛对不同寄主植物表现出不同的偏好,锈色粒肩天牛喜食国槐,桑天牛喜食柳树,但在桑科、豆科、杨柳科等植物中也存在两者共同的寄主(刘鹏等,2016;Wang et al.,2016;Rim et al.,2018),如云实等。本研究通过同源性分析发现这 2 种天牛之间存在高

度保守的嗅觉受体基因,如 *AswaGRI* 与 *AgerGR6*、*AswaIR4* 与 *AgerIR7*、*AswaIR6* 与 *AgerIR5*、*AswaIR7* 与 *AgerIR5*、*AswaIR8* 与 *AgerIR3*、*AswaIR9* 与 *AgerIR9*。在锈色粒肩天牛转录组中鉴定到的 39 个 OR, 其中 *AswaOR5*、*AswaOR7*、*AswaOR8*、*AswaOR13*、*AswaOR18*、*AswaOR21*、*AswaOR34*、*AswaOR37*、*AswaOR38* 和 *AswaOrco* 与桑天牛的 OR 高度保守; 其中, *Aswa13* 与 *AgerOR22*、*AswaOrco* 与 *AgerOR25* 的相似度在 97% 以上, 可能与这 2 种天牛共享相同寄主有关。但需进一步深入解析 OR 相关功能, 并结合这 2 种天牛的寄主选择行为与生态位分隔机制等予以验证。

参 考 文 献 (References)

- Andersson MN, Grosse-Wilde E, Keeling CI, Bengtsson JM, Yuen MMS, Li M, Hillbur Y, Bohlmann J, Hansson BS, Schlyter F. 2013. Antennal transcriptome analysis of the chemosensory gene families in the tree killing bark beetles, *Ips typographus* and *Dendroctonus ponderosae* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *BMC Genomics*, 14: 198
- Andersson MN, Keeling CI, Mitchell RF. 2019. Genomic content of chemosensory genes correlates with host range in wood-boring beetles (*Dendroctonus ponderosae*, *Agrilus planipennis*, and *Anoplophora glabripennis*). *BMC Genomics*, 20(1): 690
- Benton R, Sachse S, Michnick SW, Vosshall LB. 2006. Atypical membrane topology and heteromeric function of *Drosophila* odorant receptors *in vivo*. *PLoS Biology*, 4(2): e20
- Benton R, Vannice KS, Gomez-Diaz C, Vosshall LB. 2009. Variant ionotropic glutamate receptors as chemosensory receptors in *Drosophila*. *Cell*, 136(1): 149–162
- Chahda JS, Soni N, Sun JS, Ebrahim SAM, Weiss BL, Carlson JR. 2019. The molecular and cellular basis of olfactory response to tsetse fly attractants. *PLoS Genetics*, 15(3): e1008005
- Chen Y, Amrein H. 2017. Ionotropic receptors mediate *Drosophila* oviposition preference through sour gustatory receptor neurons. *Current Biology*, 27(18): 2741–2750
- Croset V, Rytz R, Cummins SF, Budd A, Brawand D, Kaessmann H, Gibson TJ, Benton R. 2010. Ancient protostome origin of chemosensory ionotropic glutamate receptors and the evolution of insect taste and olfaction. *PLoS Genetics*, 6(8): e1001064
- Ebbs ML, Amrein H. 2007. Taste and pheromone perception in the fruit fly *Drosophila melanogaster*. *Pflügers Archiv*, 454(5): 735–747
- Engsontia P, Sanderson AP, Cobb M, Walden KKO, Robertson HM, Brown S. 2008. The red flour beetle's large nose: an expanded odorant receptor gene family in *Tribolium castaneum*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 38(4): 387–397
- Eyun SI, Soh HY, Posavi M, Munro JB, Hughes DST, Murali SC, Qu JX, Dugan S, Lee SL, Chao H, et al. 2017. Evolutionary history of chemosensory-related gene families across the Arthropoda. *Molecular Biology and Evolution*, 34(8): 1838–1862
- Gu XC, Zhang YN, Kang K, Dong SL, Zhang LW. 2015. Antennal transcriptome analysis of odorant reception genes in the red turpentine beetle (RTB), *Dendroctonus valens*. *PLoS ONE*, 10(5): e0125159
- Han XH, Weng MQ, Shi WC, Wen YX, Long YR, Hu XR, Ji GX, Zhu YK, Wen XY, Zhang FP, et al. 2024. The neurotranscriptome of *Monochamus alternatus*. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(8): 4553
- Hong B, Chang Q, Zhai YY, Ren BW, Chen ZJ, Zhang F. 2022. Cloning and tissue expression profiling of the odorant receptor co-receptor gene in jujube bud weevil *Pachyrhinus yasumatsui* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Plant Protection*, 49(4): 1143–1152 (in Chinese) [洪波, 常青, 翟颖妍, 任博文, 陈志杰, 张锋. 2022. 枣食芽象甲非典型气味受体基因的克隆及组织表达谱分析. *植物保护学报*, 49(4): 1143–1152]
- Hu FG, Bi XF, Fu XF, Li GP, Li YN, Lv YL, Huang JX. 2020. Research advances in semiochemicals of cerambycid beetles. *Journal of Tropical Biology*, 11(4): 517–522 (in Chinese) [胡发广, 毕晓非, 付兴飞, 李贵平, 李亚男, 吕玉兰, 黄家雄. 2020. 天牛信息素的研究进展. *热带生物学报*, 11(4): 517–522]
- Hu P, Wang JZ, Cui MM, Tao J, Luo YQ. 2016. Antennal transcriptome analysis of the Asian longhorned beetle *Anoplophora glabripennis*. *Scientific Reports*, 6: 26652
- Koh TW, He Z, Gorur-Shandilya S, Menuz K, Larter NK, Stewart S, Carlson JR. 2014. The *Drosophila* IR20a clade of ionotropic receptors are candidate taste and pheromone receptors. *Neuron*, 83(4): 850–865
- Kwon JY, Dahanukar A, Weiss LA, Carlson JR. 2007. The molecular basis of CO₂ reception in *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(9): 3574–3578
- Leal WS. 2013. Odorant reception in insects: roles of receptors, binding proteins, and degrading enzymes. *Annual Review of Entomology*, 58: 373–391
- Li X, Li JW, Sun WX, Li W, Gao HY, Liu TX, Qu MJ. 2022. Candidate chemosensory genes identified in the adult antennae of *Sympiezomias velatus* and binding property of odorant-binding protein 15. *Frontiers in Physiology*, 13: 907667
- Liu NY, Xu W, Dong SL, Zhu JY, Xu YX, Anderson A. 2018. Genome-wide analysis of ionotropic receptor gene repertoire in Lepidoptera with an emphasis on its functions of *Helicoverpa armigera*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 99: 37–53
- Liu P, Jin MX, Yu AL, Liu XH. 2016. Research status and prospects of *Apriona swainsoni* in biology. *Biological Disaster Science*, 39(3): 153–157 (in Chinese) [刘鹏, 金明霞, 喻爱林, 刘晓华. 2016. 锈色粒肩天牛生物学研究现状及展望. *生物灾害科学*, 39(3): 153–157]
- Ma XQ, Lu XM, Zhang P, Deng X, Bai JY, Xu Z, Diao J, Pang HY, Wang Q, Zhao HY, et al. 2022. Transcriptome analysis of antennal chemosensory genes in *Curculio dieckmanni* Faust. (Coleoptera: Curculionidae). *Frontiers in Physiology*, 13: 896793
- McKenna DD, Scully ED, Pauchet Y, Hoover K, Kirsch R, Geib SM, Mitchell RF, Waterhouse RM, Ahn SJ, Arsalan D, et al. 2016. Genome of the Asian longhorned beetle (*Anoplophora glabripennis*), a globally significant invasive species, reveals key functional and evolutionary innovations at the beetle-plant interface.

- Genome Biology, 17(1): 227
- Miao CL, Hou W, Dong SL. 2021. Developmental stage-, tissue- and sex-specific expression of three major chemoreceptor gene families in diamondback moth *Plutella xylostella*. Journal of Plant Protection, 48(6): 1310–1319 (in Chinese) [苗春丽, 侯雯, 董双林. 2021. 小菜蛾三类主要化感受体基因的虫态、组织和性别表达特异性分析. 植物保护学报, 48(6): 1310–1319]
- Missbach C, Dweck HK, Vogel H, Vilcinskis A, Stensmyr MC, Hansson BS, Grosse-Wilde E. 2014. Evolution of insect olfactory receptors. eLife, 3: e02115
- Mitchell RF, Hughes DT, Luetje CW, Millar JG, Soriano-Agatón F, Hanks LM, Robertson HM. 2012. Sequencing and characterizing odorant receptors of the cerambycid beetle *Megacyllene caryae*. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 42(7): 499–505
- Mitchell RF, Schneider TM, Schwartz AM, Andersson MN, McKenna DD. 2020. The diversity and evolution of odorant receptors in beetles (Coleoptera). Insect Molecular Biology, 29(1): 77–91
- Rim K, Golec JR, Duan JJ. 2018. Host selection and potential non-target risk of *Dastarcus helophoroides*, a larval parasitoid of the Asian longhorned beetle, *Anoplophora glabripennis*. Biological Control, 123: 120–126
- Rimal S, Lee Y. 2018. The multidimensional ionotropic receptors of *Drosophila melanogaster*. Insect Molecular Biology, 27(1): 1–7
- Sánchez-Gracia A, Vieira FG, Rozas J. 2009. Molecular evolution of the major chemosensory gene families in insects. Heredity, 103(3): 208–216
- Sato K, Pellegrino M, Nakagawa T, Nakagawa T, Vossell LB, Touhara K. 2008. Insect olfactory receptors are heteromeric ligand-gated ion channels. Nature, 452(7190): 1002–1006
- Senthilan PR, Piepenbrock D, Ovezmyradov G, Nadrowski B, Bechtold S, Pauls S, Winkler M, Möbius W, Howard J, Göpfert MC. 2012. *Drosophila* auditory organ genes and genetic hearing defects. Cell, 150(5): 1042–1054
- Soffan A, Antony B, Abdelazim M, Shukla P, Witjaksono W, Aldosari SA, Aldawood AS. 2016. Silencing the olfactory co-receptor RferOrco reduces the response to pheromones in the red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus*. PLoS ONE, 11(9): e0162203
- Song B, Ma MY, Liu W, Hao CF, Gao GQ. 2020. Effect of the damage degree of *Apriona swainsoni* Hope on the compositions and contents of amino acids in *Sophora japonica* Linn. Tianjin Agricultural Sciences, 26(8): 84–87 (in Chinese) [宋斌, 马牧云, 刘伟, 郝春风, 高冠群. 2020. 锈色粒肩天牛的危害程度对寄主国槐氨基酸组成和含量的影响. 天津农业科学, 26(8): 84–87]
- Sun L, Zhang YN, Qian JL, Kang K, Zhang XQ, Deng JD, Tang YP, Chen C, Hansen L, Xu T, et al. 2018. Identification and expression patterns of *Anoplophora chinensis* (Forster) chemosensory receptor genes from the antennal transcriptome. Frontiers in Physiology, 9: 90
- Szyska P, Galizia CG. 2018. The role of the sucrose-responsive IR60b neuron for *Drosophila melanogaster*: a hypothesis. Chemical Senses, 43(5): 311–312
- Touhara K, Vossell LB. 2009. Sensing odorants and pheromones with chemosensory receptors. Annual Review of Physiology, 71: 307–332
- Wang JZ, Hu P, Gao P, Tao J, Luo YQ. 2017. Antennal transcriptome analysis and expression profiles of olfactory genes in *Anoplophora chinensis*. Scientific Reports, 7(1): 15470
- Wang LJ, Qu LJ, Zhang LW, Hu JJ, Tang F, Lu MZ. 2016. Metabolic responses of poplar to *Apriona germari* (Hope) as revealed by metabolite profiling. International Journal of Molecular Sciences, 17(5): 923
- Wang WH, Yan YY, Liu XH, Jin MX, Yu AL, Xie GA. 2017. Effects of artificial diets on growth and development of *Apriona swainsoni*. Forest Pest and Disease, 36(6): 26–28 (in Chinese) [王文辉, 严员英, 刘晓华, 金明霞, 喻爱林, 谢谷艾. 2017. 人工饲料对锈色粒肩天牛生长发育的影响研究. 中国森林病虫, 36(6): 26–28]
- Wang XH, Yang ZQ, Tang YL, Wei JR, Wang XY, Wang WW. 2010. Advances in research on the damage and control techniques of *Apriona swainsoni*. Forest Pest and Disease, 29(4): 24–27, 45 (in Chinese) [王晓红, 杨忠岐, 唐艳龙, 魏建荣, 王小艺, 王伟. 2010. 锈色粒肩天牛及其防治技术研究进展. 中国森林病虫, 29(4): 24–27, 45]
- Wu ZR, Tong N, Li Y, Guo JM, Lu M, Liu XL. 2022. Foreleg transcriptomic analysis of the chemosensory gene families in *Plagioderia versicolora* (Coleoptera: Chrysomelidae). Insects, 13(9): 763
- Wu ZZ, Bin SY, He HL, Wang ZB, Li M, Lin JT. 2016. Differential expression analysis of chemoreception genes in the striped flea beetle *Phyllotreta striolata* using a transcriptomic approach. PLoS ONE, 11(4): e0153067
- Yang ZQ, Wang XY, Zhang YN, Zhang YL. 2018. Research advances of Chinese major forest pests by integrated management based on biological control. Chinese Journal of Biological Control, 34(2): 163–183 (in Chinese) [杨忠岐, 王小艺, 张翌楠, 张彦龙. 2018. 以生物防治为主的综合控制我国重大林木病虫害研究进展. 中国生物防治学报, 34(2): 163–183]
- Yuvaraj JK, Corcoran JA, Andersson MN, Newcomb RD, Anderbrant O, Löfstedt C. 2017. Characterization of odorant receptors from a non-ditrysian moth, *Eriocrania semipurpurella* sheds light on the origin of sex pheromone receptors in Lepidoptera. Molecular Biology and Evolution, 34(11): 2733–2746
- Zhang B, Zhang W, Nie RE, Li WZ, Segraves KA, Yang XK, Xue HJ. 2016. Comparative transcriptome analysis of chemosensory genes in two sister leaf beetles provides insights into chemosensory speciation. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 79: 108–118
- Zhang J, Bisch-Knaden S, Fandino RA, Yan SW, Obiero GF, Grosse-Wilde E, Hansson BS, Knaden M. 2019. The olfactory coreceptor IR8a governs larval feces-mediated competition avoidance in a hawkmoth. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 116(43): 21828–21833
- Zhang RR, Gao GQ, Chen H. 2016. Silencing of the olfactory co-receptor gene in *Dendroctonus armandi* leads to EAG response declining to major host volatiles. Scientific Reports, 6: 23136
- Zhao YN, Wang FZ, Zhang XY, Zhang SH, Guo SL, Zhu GP, Liu Q, Li M. 2016. Transcriptome and expression patterns of chemosensory genes in antennae of the parasitoid wasp *Chouioia cunea*. PLoS ONE, 11(2): e0148159