



黄钧鸿, 张铭淇, 冯启理, 崔勇, 相辉. 草地贪夜蛾与斜纹夜蛾嗅觉味觉相关基因的比较分析 [J]. 环境昆虫学报, 2019, 41 (5): 937–946.

## 草地贪夜蛾与斜纹夜蛾嗅觉味觉相关基因的比较分析

黄钧鸿, 张铭淇, 冯启理, 崔勇\*, 相辉\*

(华南师范大学生命科学学院, 昆虫科学与技术研究所,

广东省昆虫发育生物学与应用技术重点实验室 & 广州市昆虫发育与应用技术重点实验室, 广州 510631)

**摘要:** 草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda*, 近期侵入中国并迅速扩张。与其近缘物种斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 不同, 草地贪夜蛾主要偏好玉米、水稻、小麦等禾本科农作物, 暴食危害重。此外两种害虫在交配、产卵频率等繁殖特征上也存在差异。这些差异可能与嗅觉、味觉相关蛋白的分歧密切相关。本研究对两种夜蛾科害虫的嗅觉、味觉相关基因进行了系统的鉴定及系统发育分析, 并对部分嗅觉结合蛋白进行了选择信号与氨基酸差异位点分析。分别在草地贪夜蛾中鉴定到 261 个嗅觉相关基因, 数目明显大于斜纹夜蛾 (179 个); 鉴定到 233 个味觉相关基因, 数目略大于斜纹夜蛾 (217 个)。嗅觉相关基因中气味结合蛋白 (OBP) 基因数目差异最为明显。系统发育分析显示该基因存在夜蛾科特有的分支, 且该分支中草地贪夜蛾中基因数目远高于斜纹夜蛾; 发现位于 I 类触角结合蛋白 (ABPI) 分支的一类 OBP 成员在草地贪夜蛾中拷贝数增加, 其中两个基因拷贝受到正选择, 且在草地贪夜蛾中特有的氨基酸替换还可能影响蛋白质功能。本研究为草地贪夜蛾食性特征的遗传机制解析提供线索, 为草地贪夜蛾的生物防治提供参考依据和基因素材。

**关键词:** 草地贪夜蛾; 斜纹夜蛾; 嗅觉相关蛋白; 气味分子结合蛋白; 味觉受体; 正选择

中图分类号: Q963; S433.4

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858 (2019) 05-0937-10

### Comparison of olfactory and gustatory genes between *Spodoptera frugiperda* and *Spodoptera litura*

HUANG Jun-Hong, ZHANG Ming-Qi, FENG Qi-Li, CUI Yong\*, XIANG Hui\* (Guangdong Provincial Key Laboratory of Insect Developmental Biology and Applied Technology, Guangzhou Key Laboratory of Insect Development Regulation and Application Research, Institute of Insect Science and Technology, School of Life Sciences, South China Normal University, Guangzhou 510631, China)

**Abstract:** Recently, a gluttonous pest, the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* invaded in China, ravaging crops and threatening the vast supply of maize. Compared with its relative, the tobacco cutworm *Spodoptera litura*, *S. frugiperda* mainly prefers graminaceous plants such as corn, rice and wheat. In addition, there are differences in the reproduction characteristics of the two pests, such as mating and spawning frequency. Differences in olfactory and taste related genes between the two relatives are possibly one important cause. In this study, we collected and identified olfactory and gustatory genes of the two relatives, constructed phylogenetic trees of these genes, test the selection signals and analyzed the

作者简介: 黄钧鸿, 男, 1998 年生, 广东广州人, 在读本科生, 主要从事昆虫化学感受基因的分子进化研究, E-mail: 20162521076@m.scnu.edu.cn

\* 通讯作者 Author for correspondence: 相辉, 教授, 主要从事昆虫进化基因组学研究, E-mail: xiang\_shine@foxmail.com; 崔勇, 博士研究生, 主要从事鳞翅目昆虫比较基因组学研究, E-mail: cuiyongyong@foxmail.com

收稿日期 Received: 2019-07-22; 接受日期 Accepted: 2019-09-17

divergent amino acid site in some odorant binding proteins. We totally identified 261 olfactory genes in *S. frugiperda*, which are obviously more than those in *S. litura* (179); we identified 233 gustatory genes in *S. frugiperda*, slightly more than those in *S. litura* (217). Among the olfactory genes, the number of the olfactory binding protein (OBP) genes were most remarkably different between the two relatives. Phylogenetic analysis showed that there was a Noctuidae specific clade of the OBPs, in which the number of genes in *S. frugiperda* was much higher than that in *S. litura*. OBPs in another group belonging to antennal binding protein I (ABPI clade) also showed increased gene numbers in *S. frugiperda*. Two gene copies in this clade showed positive selection signal in *S. frugiperda*. Furthermore, *S. frugiperda* specific replacements in two amino acids were predicted to affect the protein function. This study provides not only clues for the understanding of the genetic mechanism underlying feeding and mating characteristics of *S. frugiperda* and but also reference and genetic material for its biological control.

**Key words:** *Spodoptera frugiperda*; *Spodoptera litura*; olfactory protein; odorant binding protein; gustatory receptor; positive selection

草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* 为鳞翅目夜蛾科灰翅夜蛾属的农业害虫, 原产于美洲热带和亚热带地区, 是一种对农作物危害性极强的杂食性昆虫。自今年 1 月份首次侵入中国云南后, 极速向北扩展。截止目前, 草地贪夜蛾已在中国 20 个省 (区、市) 1 128 个县发生危害, 累计发生面积 831 万亩, 严重威胁了我国农业和粮食生产安全, 因此, 对草地贪夜蛾的防控任务迫在眉睫。草地贪夜蛾是联合国粮农组织全球预警的迁飞性农业重大害虫, 具有迁飞性强、繁殖能力高、扩散速度快、暴食危害重等特点。该虫为多食性, 寄主植物高达 353 种, 但明显嗜好禾本科包括禾本科的玉米、小麦、水稻、高粱、甘蔗 (Montezano *et al.*, 2018) 草地贪夜蛾因对寄主植物偏好性不同, 分为玉米品系和水稻品系两种单倍型, 当前入侵亚洲的草地贪夜蛾为玉米型, 主要取食玉米、高粱等; 后者主要取食水稻和各种牧草 (Funk, 2012; Juárez *et al.*, 2014)。

斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 为鳞翅目夜蛾科斜纹夜蛾属的农业害虫, 是草地贪夜蛾近缘物种, 斜纹夜蛾主要分布在东南亚地区, 在国内各地都有发生。与草贪夜蛾不同, 斜纹主要为害双子叶植物, 包括白菜、甘蓝、芥菜、马铃薯、茄子、番茄、辣椒、南瓜、丝瓜、冬瓜以及藜科等多种作物都能进行为害。幼虫取食甘薯、棉花、芋、莲、田菁、大豆、烟草、甜菜和十字花科和茄科蔬菜等近 389 种植物的叶片 (秦厚国等, 2006)。

除了食性分歧以外, 草地贪夜蛾与斜纹夜蛾在繁殖行为及特性上也存在一定的差异。草地贪夜蛾交配频率与产卵次数较斜纹夜蛾频繁, 同时

草地贪夜蛾幼虫具有较强的转移为害植株习性, 可以加重对作物的为害 (赵胜园等, 2019), 而昆虫找寻配偶、定位寄主及产卵位点、选择食物、躲避外界不良环境等行为活动往往与化学感受系统如嗅觉、味觉系统密切相关, 因此嗅觉、味觉系统在害虫控制方面具有重要的应用价值。

在昆虫中, 嗅觉系统的主要器官是触角, 参与对外界气味化合物的识别, 是昆虫重要的行为调控元件 (Prestwich, 1996; Bruce *et al.*, 2005)。嗅觉相关基因具有较大的序列多样性 (Engsontia *et al.*, 2008, Krieger *et al.*, 2004; Robertson and Wanner, 2006; Tanaka *et al.*, 2009); 许多不同种类的基因参与了化学感觉信号转导的不同步骤, 至少包括气味结合蛋白 (odorant binding protein, OBP)、化学感受蛋白 (chemosensory protein, CSP)、气味降解酶 (odor degrading enzyme, ODE)、感觉神经元膜蛋白 (sensory neuron membrane protein, SNMP)、气味受体 (olfactory receptor, OR) 和离子型受体 (ionotropic receptor, IR) (Leal, 2013)。昆虫感受气味物质是较为复杂的过程, 疏水性的气味分子扩散至触角感受器后, 被感受器淋巴液中的 OBP 选择性地捕获并结合 (De Bruyne *et al.*, 2008), 并携带气味分子至位于嗅觉感受神经元 (olfactory receptor neurons, ORN) 树突膜上的 OR/IR 附近, 在 SNMP 的影响下释放结合的气味分子, 并进一步引起神经冲动。而后, 残余的气味分子会被 ODE 所降解失活, 从而保证了昆虫嗅觉系统的敏感性 (Vogt and Riddiford, 1981; Rogers *et al.*, 1999a; Leal, 2012)。已经有多种具有气味降解酶功能的分子被鉴定出来, 包

括细胞色素 P450、谷胱甘肽-S 转移酶、酯酶、乙醇脱氢酶等 (Merlin *et al.*, 2005)。

味觉受体 (Gustatory Receptor, GR) 是味觉系统最重要的成员之一, 主要包括二氧化碳受体 (CO<sub>2</sub> receptor)、糖受体 (sugar receptor) 与苦味受体 (bitter receptor)。其中, 糖受体较为保守, 苦味受体的变化较大, 昆虫的味觉受体基因发生了高度的分化, 大约只有 10% 的序列相似性。味觉受体位于味觉神经原上, 能够高效灵敏的识别非挥发性的味觉物质, 对食物选择、交配和产卵等过程起重要作用。味觉感受神经广泛分布于昆虫体表, 不同的神经细胞受到刺激之后, 会引起不同的行为反应。例如, 昆虫前腿的味觉神经受到刺激会使昆虫张开唇瓣产生取食行为, 而刺激产卵器上的味觉神经则会引发昆虫的交配以及产卵行为。

目前, 由于缺乏草地贪夜蛾和斜纹夜蛾的嗅觉和味觉相关基因的系统比较, 因此本研究系统的对这两种夜蛾科害虫的 OBP、CSP、OR、IR、SNMP、GR 基因进行了收集、鉴定、整理、比较, 着重针对嗅觉相关基因, 构建了系统发育树, 进行了分子进化分析。研究结果为目前草地贪夜蛾的害虫防治提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 嗅觉、味觉基因的鉴定

草地贪夜蛾的基因组及相关信息从 BIPPA database (<https://bipaa.genouest.org/data/public/sfrudb/>) 下载; 斜纹夜蛾基因组及相关信息从 NCBI 数据库 ([ftp://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/all/GCA/002/706/865/GCA\\_002706865.2\\_ASM270686v2\\_for\\_S.litura](ftp://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/all/GCA/002/706/865/GCA_002706865.2_ASM270686v2_for_S.litura)) 下载; 利用鳞翅目昆虫已发表的嗅觉相关蛋白序列 OBP、CSP、OR、IR、SNMP、GR 作为参考基因序列, 以 tblastn 的方法从草地贪夜蛾和斜纹夜蛾的注释基因集中搜索相关基因, E 值设置为  $10^{-5}$ , 所有得到的 OBP、CSP、OR、IR、SNMP、GR 序列以手动方式在 NCBI 数据库逐个 blastx 确定, 未确定功能的序列, 利用 SMART 结构域预测平台 ([smart.embl.de/](http://smart.embl.de/)) 进行检验和筛选; 将参考基因的蛋白质集与草地贪夜蛾和斜纹夜蛾的基因组数据库进行 tblastn 比对, 检查比对到的区域与预测信息是否不同; 已发表的斜纹夜蛾嗅觉相关蛋白基因、草地贪夜蛾

的味觉相关蛋白基因主要进行收集和整理, 不再重新鉴定。

### 1.2 嗅觉与味觉基因的系统发育分析

氨基酸序列比对及系统发育树的构建均利用 MEGA 软件完成。系统发育树的构建使用最大似然法, 1 000 次重复的 bootstrap 检验。

### 1.3 嗅觉结合蛋白的选择信号及变异位点分析

根据嗅觉相关基因的系统发育树结果, 选择在草地贪夜蛾中有基因拷贝数增加的一类, 即 I 类触角结合蛋白 (ABPI) 分支的一类 OBP 成员, 利用 PAML (Phylogenetic Analysis by Maximum Likelihood (4.8 版本) 中的分支检验模型, 进行分子进化分析。分别利用 one ratio 模型, free ratio 模型, 以及 two branch 模型计算核酸替换速率 ( $\omega$ )。利用 likelihood ratio 检验进行不同模型适合度的检验, 最终确定分支进化格局。根据 free ratio 结果中推测出的支长作为该物种树的支长。树文件用 MEGA (6.0 版本) (Tamura *et al.*, 2013) 软件生成图形文件。氨基酸变异位点对蛋白质功能影响的预测, 采用在线软件 PolPhen-2 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>) 完成。

## 2 结果与分析

### 2.1 嗅觉、味觉基因的鉴定

分别在草地贪夜蛾中鉴定到 261 个嗅觉相关基因, 数目明显高于斜纹夜蛾的 199 个; 在草地贪夜蛾中鉴定到 233 个味觉相关基因, 数目略高于斜纹夜蛾的 217 个 (表 1)。

表 1 草地贪夜蛾与斜纹夜蛾味觉与嗅觉相关基因数目  
Table 1 The number of gustatory and olfactory related gene in *Spodoptera frugiperda* and *Spodoptera litura*

	草地贪夜蛾 <i>S. frugiperda</i>	斜纹夜蛾 <i>S. litura</i>
OBP	71	38 (Gu, 2015)
CSP	30	21 (Yi, 2017)
OR	111	71
IR	45	45 (Zhu, 2018)
SNMP	4	4
GR Bitter receptors	219	202
Sugar receptors	10	12
CO <sub>2</sub> receptors	4	3

### 2.1.1 气味结合蛋白 OBP 的鉴定

通过对草地贪夜蛾基因集的比对分析, 整合已发表的草地贪夜蛾 50 个 OBP 基因 (Anaïs, 2017), 初步鉴定出 71 个草地贪夜蛾 OBP 基因, 数量明显高于斜纹夜蛾的 38 个 (表 1)。对草地贪夜蛾、斜纹夜蛾、家蚕 OBP 构建最大似然树 (图 1), 绝大部分分支 bootstrap 值高于 70, 根据 OBP 基因序列的结构和同源性, 在进化树中可聚类为 6 个亚家族, 包括信息素结合蛋白 (pheromone binding protein/general odorant binding protein, PBP/GOBP)、Plus-C 和 Minus-C 嗅觉结合蛋白 (odorant binding protein Plus-C, odorant binding protein Minus-

C)、I 类和 II 类触角结合蛋白 (antennal binding protein I, ABPI; antennal binding protein II), 和化学感受相关亲脂性配体结合蛋白 (chemical-sense-related lipophilic-ligand-binding protein, CRLBP) (Gong, 2009)。在 6 个亚家族中草地贪夜蛾 OBP 基因一定程度的基因拷贝数增加 (图 1)。另外, 还发现在斜纹夜蛾与草地贪夜蛾特异的一支, 在该分支中草地贪夜蛾 OBP 基因的拷贝数有 14 个, 远多于斜纹夜蛾的 6 个 (图 1)。更为有趣的是, 在 ABPI 亚家族中的一支 (bootstrap 值为 87) 中, 家蚕和斜纹夜蛾的 OBP 数均仅为 1 个, 而草地贪夜蛾则出现 4 个拷贝 (图 1)。

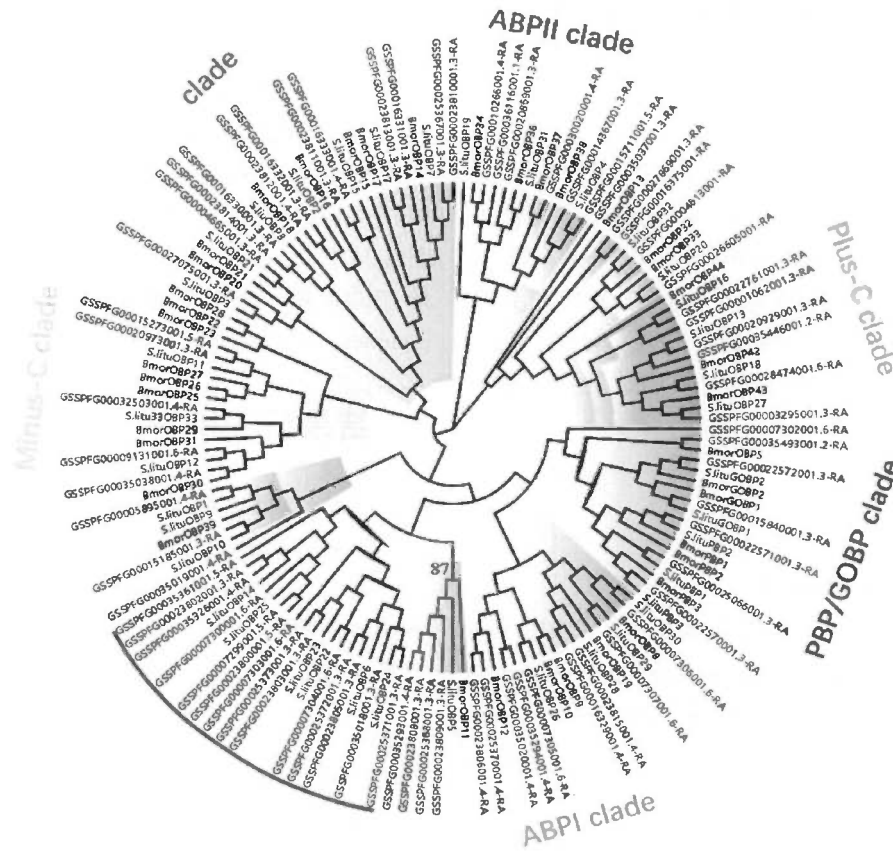


图 1 草地贪夜蛾、斜纹夜蛾及家蚕 OBP 的最大似然法系统发育树

Fig. 1 Maximum likelihood phylogenetic tree of OBPs in *Spodoptera frugiperda*, *Spodoptera litura* and *Bombyx mori*

注: 绿色弧线包括区域为夜蛾科特有的分支; 红色 87 是在草地贪夜蛾中基因拷贝数增加的 ABPI 亚家族的一类的 bootstrap 值。Note: The green arc indicates the Noctuidae specific clade of the OBPs. Red 87 is the bootstrap value in the node where a group belonging to antennal binding protein I (ABPI clade) also showed increased gene numbers in *S. frugiperda*.

### 2.1.2 化学感受蛋白 CSP 的鉴定与分析

通过对草地贪夜蛾基因集的比对分析, 整合以前发表的草地贪夜蛾 22 个 CSP 基因 (Anaïs, 2017), 初步鉴定出 30 个草地贪夜蛾 CSP 基因, 多于斜纹夜蛾的 21 个。对草地贪夜蛾、斜纹夜蛾、家蚕 CSP 构建最大似然树, 绝大部分分支

bootstrap 值高于 70。进化树的分析结果表明, 大部分草地贪夜蛾 CSP 能够与斜纹夜蛾、家蚕的 CSP 聚在同类分支内。但是其中有 3 个分支, 为夜蛾科独有。这 3 个分支在系统发育树中的地位并不明确 (图 2)。

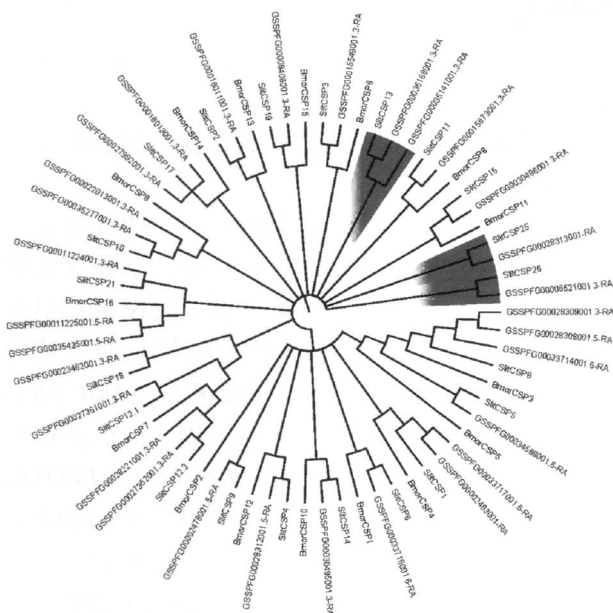


图2 草地贪夜蛾、斜纹夜蛾和家蚕 CSP 的最大似然法系统发育树

Fig. 2 Maximum likelihood phylogenetic tree of OBPs in *Spodoptera frugiperda*, *Spodoptera litura* and *Bombyx mori*

注：红色区块指出三个不确定系统发育地位的，夜蛾科特有分支。Note: The red blocks indicate the three Noctuidae specific clades with uncertain phylogenetic position.

### 2.1.3 气味受体 OR 的鉴定与分析

通过对草地贪夜蛾基因集的比对分析，并整合已发表的草地贪夜蛾 69 个 OR 基因 (Anais, 2017)，初步鉴定出 111 个草地贪夜蛾 ORs，同时也初步鉴定出 71 个斜纹夜蛾 ORs。草地贪夜蛾的 ORs 数量远高于斜纹夜蛾。对草地贪夜蛾、斜纹夜蛾、家蚕 OR 构建最大似然树，绝大部分分支 bootstrap 值高于 70。进化树的分析结果表明，草地贪夜蛾 OR 出现大量扩增。同时，有趣的是，也发现了 1 个分支，该分支中家蚕的 OR 基因呈现明显的拷贝数增加情况，可能与家蚕特殊的寄主选择性有关 (图 3)。

### 2.1.4 感觉神经元膜蛋白 SNMP 的鉴定和分析

通过对草地贪夜蛾基因集的比对分析，初步鉴定出 4 个草地贪夜蛾 SNMP 基因、4 个斜纹夜蛾 SNMP 基因、5 个家蚕 SNMP 基因 (表 1)，没有明显的物种特异的扩张现象。对草地贪夜蛾、斜纹夜蛾和家蚕的 SNMP 构建最大似然树 (图 4)，所有分支的 bootstrap 值均高于 87，SNMP 进化树的分析结果表明，草地贪夜蛾 SNMP 能够与斜纹夜蛾、家蚕的 SNMP 聚在一起。

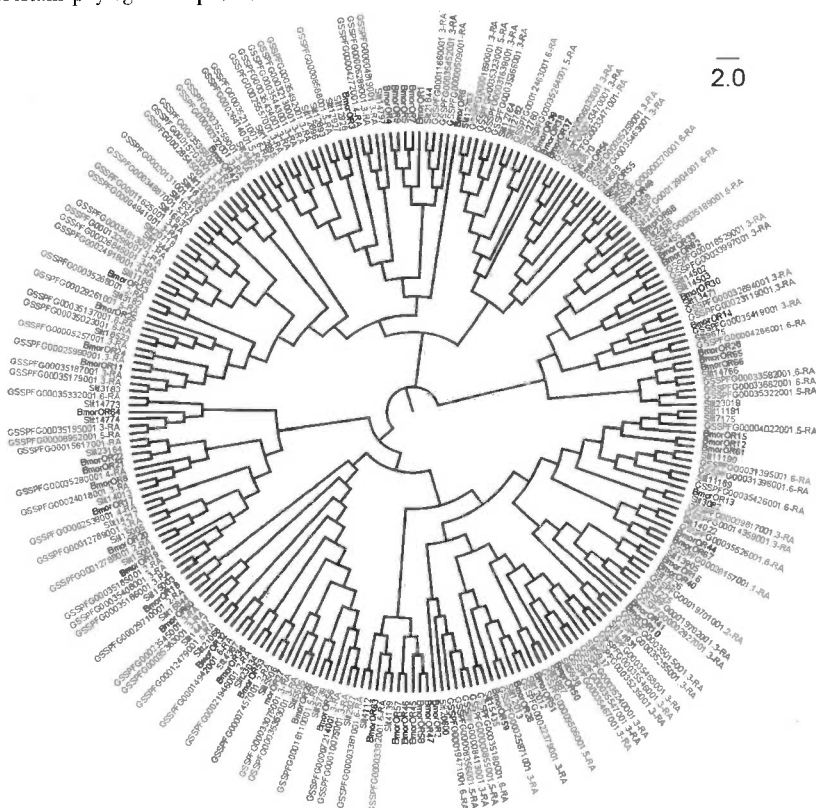


图3 草地贪夜蛾、斜纹夜蛾和家蚕 OR 的最大似然法系统发育树

Fig. 3 Maximum likelihood phylogenetic tree of ORs in *Spodoptera frugiperda*, *Spodoptera litura* and *Bombyx mori*

注：绿色区块指出家蚕特有的基因拷贝数增加的一支。Note: The green blocks indicate the clade in which *B. mori* has increased gene numbers.

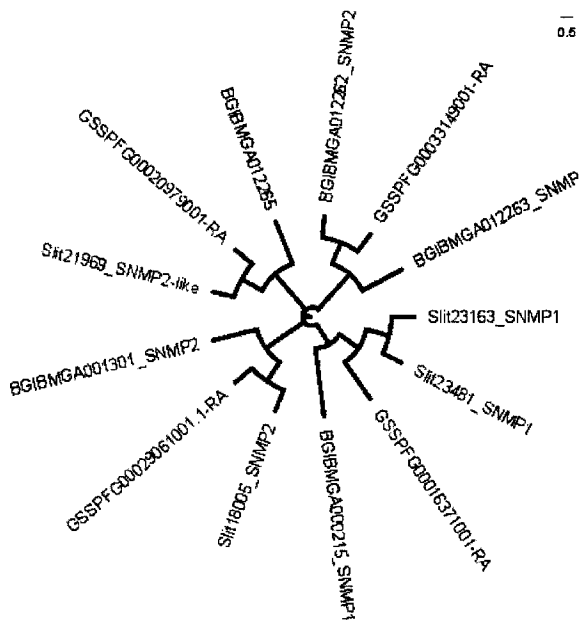


图4 草地贪夜蛾、斜纹夜蛾和家蚕 SNMP 的最大似然法系统发育树

Fig. 4 Maximum likelihood phylogenetic tree of SNMPs in *Spodoptera frugiperda*, *Spodoptera litura* and *Bombyx mori*

### 2.1.5 离子型受体 IR 的鉴定

通过对草地贪夜蛾基因集的比对分析,并整合已发表的草地贪夜蛾 IR 基因 (Anais, 2017),初步鉴定出 45 个草地贪夜蛾 IR 基因,数量和斜纹夜蛾一致 (表 1)。

### 2.1.6 苦味受体的鉴定

参考 Anais 等的预测方法,通过对斜纹夜蛾基因集的比对分析,并整合已发表的斜纹夜蛾苦味受体基因,初步鉴定出 202 个苦味受体,与收集到的草地贪夜蛾 219 个相比,数目略少 (表 1)。对草地贪夜蛾、斜纹夜蛾、家蚕苦味受体构建最大似然树 (图 5),绝大部分分支的 bootstrap 值均高于 70。

### 2.1.7 糖受体的鉴定

通过对斜纹夜蛾基因集的比对分析,并整合已发表的斜纹夜蛾糖受体基因,初步鉴定出 12 个糖受体。对草地贪夜蛾、斜纹夜蛾、家蚕糖受体构建最大似然树 (图 6),绝大部分分支的 bootstrap 值均高于 70。系统发育树中,各物种的糖受体分布较为匀散,3 个物种的糖受体可聚在一起。

### 2.1.8 CO<sub>2</sub>受体的鉴定

通过对斜纹夜蛾基因集的比对分析,并整合已发表的斜纹夜蛾糖受体基因,初步鉴定出 3 个

CO<sub>2</sub>受体。对草地贪夜蛾、斜纹夜蛾、家蚕糖受体构建最大似然树 (图 7),全部分支的 bootstrap 值均高于 80。

## 2.2 气味结合蛋白 (OBP) 的选择信号检测及变异位点分析

OBP 基因的系统发育树显示,在 ABPI 亚家族中的这一支 (bootstrap 值为 87) 中,草地贪夜蛾的基因拷贝数有 4 个,而家蚕和斜纹夜蛾都只有 1 个 (图 1)。为了方便,将草地贪夜蛾的 4 个拷贝重新命名为: GSSPFG00025368001. 3RA: *S. frugOBP1*; GSSPFG00035293001. 4RA: *S. frugOBP2*; GSSPFG00023808001. 3RA: *S. frugOBP3*; GSSPFG00023809001. 3RA: *S. frugOBP4*。研究发现, *S. frugOBP1*、*S. frugOBP2* 均位于草地贪夜蛾基因组的 scaffold2953 上,而 *S. frugOBP3*、*S. frugOBP4* 均位于另一个 scaffold4197 上。

PAML 分支检验分析显示,在 one ratio 模型下,该基因的错义替换率比同义替换率  $\omega$  (dN/dS) 为 0.2831 (表 2)。Free ratio 模型下, *S. frugOBP1* 具有极高的  $\omega$  值 (999),此外 *S. frugOBP2* 和 *S. frugOBP3* 的祖先节点处也具有较高的  $\omega$  值 (1.2) (图 8A)。Likelihood ratio 检验显示 free ratio model 显著优于 one ratio model ( $P < 0.05$ ) (表 2),表明不同基因之间的确存在不同的进化速率。进一步以 *S. frugOBP1* 及 *S. frugOBP2* 和 *S. frugOBP3* 的祖先作为前景支,进行 two ratio branch model 分析发现,该模型显著优于 one ratio model ( $P < 0.05$ , 表 2),且此时前景支的  $\omega$  值 (1.1794) 大于背景支 (0.1951) 和 one ratio 下的  $\omega$  值 (0.2831) (表 2)。该结果表明,在草地贪夜蛾进化过程, *S. frugOBP1* 及 *S. frugOBP2* 和 *S. frugOBP3* 的祖先节点发生了快速进化,可能与草地贪夜蛾的适应性相关。氨基酸变异位点预测显示,草地贪夜蛾和斜纹夜蛾特有的氨基酸替换位点中,有 28 个可能为错义替换位点 (表 3)。其中,21 位的氨基酸变异,在家蚕中为亮氨酸 L,斜纹夜蛾则为异亮氨酸 I,该替换并没有影响到蛋白质功能 (图 8B, 表 3)。然而,该位置在草地贪夜蛾中为谷氨酰胺 (Q),预测显示为最高级别的可能性 (图 8C, 表 3),强烈提示草地贪夜蛾进化中该基因的氨基酸变异可能导致该基因功能发生改变进而与草地贪夜蛾的独特适应性相关。

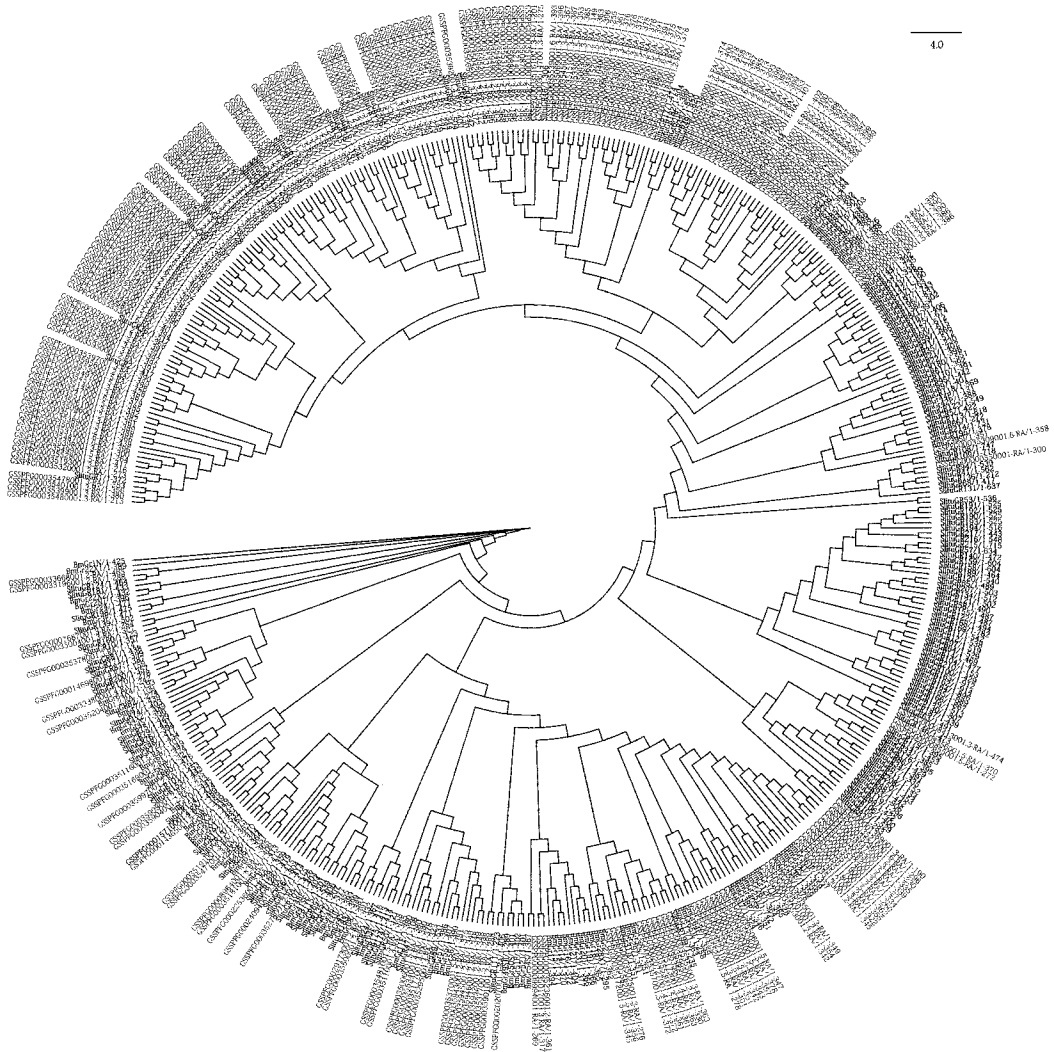


图5 草地贪夜蛾、斜纹夜蛾和家蚕苦味受体的最大似然法系统发育树

Fig. 5 Maximum likelihood phylogenetic tree of bitter receptors in *Spodoptera frugiperda*, *Spodoptera litura* and *Bombyx mori*

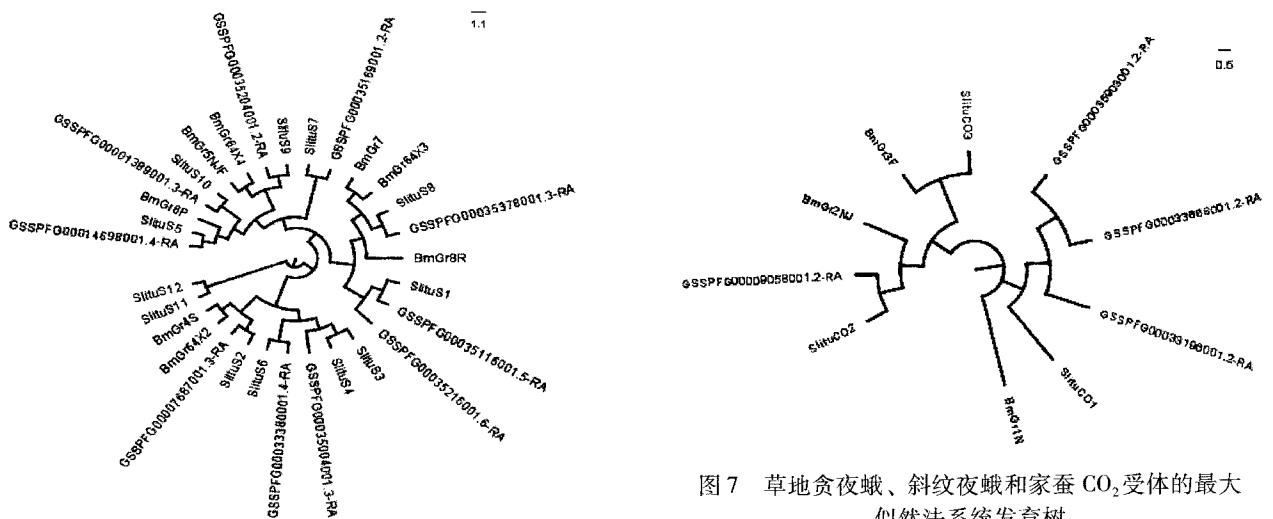


图6 草地贪夜蛾、斜纹夜蛾和家蚕糖受体的最大似然法系统发育树

Fig. 6 Maximum likelihood phylogenetic tree of sugar receptors in *Spodoptera frugiperda*, *Spodoptera litura* and *Bombyx mori*

图7 草地贪夜蛾、斜纹夜蛾和家蚕 CO<sub>2</sub>受体的最大似然法系统发育树

Fig. 7 Maximum likelihood phylogenetic tree of CO<sub>2</sub> receptors in *Spodoptera frugiperda*, *Spodoptera litura* and *Bombyx mori*

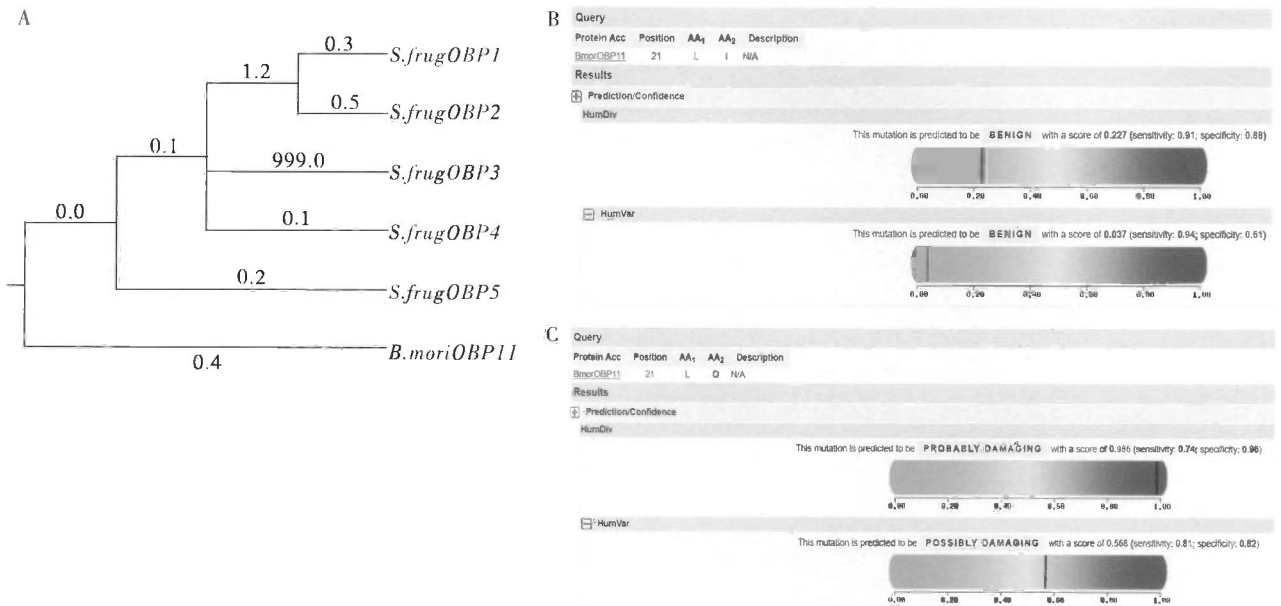


图 8 草地贪夜蛾、斜纹夜蛾和家蚕中 ABPI 家族的几个 OBP 基因的分子进化及突变位点分析  
 Fig. 8 Molecular evolution and amino acid replacements of several OBPs belonging to ABPI clade in *Spodoptera frugiperda*, *Spodoptera litura* and *Bombyx mori*

注: A, PAML 分支检验分析 free-ratio 模型下各个进化节点的错义替换率比同义替换率 ( $\omega$ )。B 和 C 基于 PolyPhen-2 软件预测 21 位氨基酸残基处的氨基酸替换引起蛋白质功能变化的可能性。B, 家蚕中该位置的亮氨酸 (L) 替换为斜纹夜蛾中的异亮氨酸 (I)。C, 家蚕中该位置的亮氨酸 (L) 替换为斜纹夜蛾中的谷氨酰胺 (Q)。BENIGN 几乎不可能。POSSIBLY, 最高级别的可能性。Note: A, Linkage specific Ka/Ks ratios ( $\omega$ ) calculated at free-ratio branch model in PAML analysis. B and C, possibility of the amino acid replacement at residue 21 to affect protein function predicted by the PolyPhen-2 algorithm. B, Leucine (L) in *B. mori* replaced by isoleucine (I) in *S. litura*. C, Leucine in *B. mori* replaced by glutamine (Q) in *S. frugiperda*. BENIGN, nearly impossible to affect protein function. POSSIBLY, the highest degree of possibility to affect protein function.

表 2 草地贪夜蛾、斜纹夜蛾和家蚕中 ABPI 家族的几个 OBP 基因 PAML 分支检验分析  
 Table 2 Molecular evolution and amino acid replacements of several OBPs belonging to ABPI clade in *Spodoptera frugiperda*, *Spodoptera litura* and *Bombyx mori*

Model	ln	2 Δ ln	$\omega$	$\omega_1$ ; $\omega_{background}$	P value
One ratio	-1599.447		0.28301		
Free ratio	-1589.370	20.153934	8		0.00978
2 ratio ( <i>S. frug</i> 23 VS other)	-1592.251	14.393356	1	1.1794; 0.1951	0.00015

注:  $\omega$ , one ratio 模型下的错义替换率比同义替换率 (dN/dS);  $\omega_1$ , 前景支的 dN/dS;  $\omega_{background}$ , 背景支的 dN/dS.

表 3 草地贪夜蛾、斜纹夜蛾和家蚕中 ABPI 家族的几个 OBP 基因错义替换位点统计  
 Table 3 Non synonymous replacements of OBPs belonging to ABPI clade in *Spodoptera frugiperda*, *Spodoptera litura* and *Bombyx mori*

错义突变位点 Non synonymous replacement sites	夜蛾特有 Noctuidae specific	草地贪夜蛾特有 <i>S. frugiperda</i> specific	斜纹夜蛾特有 <i>S. litura</i> specific
相对氨基酸位置 Amino acid position	2, 3, 28, 30, 63, 64, 68, 69, 77, 78, 80, 81, 83, 88, 91, 92, 101, 102, 105, 108, 110, 115, 120, 135, 138, 138, 143, 144	21	31, 59, 136
数量 Number	28	1	3



### 3 结论与讨论

草地贪夜蛾与斜纹夜蛾的生物习性差异，主要为明显偏好禾本科植物，交配与产卵更频繁，同时草地贪夜蛾幼虫具有较强的转移为害植株习性，可以加重对作物的为害（赵胜园，2019）。而草地贪夜蛾与斜纹夜蛾的嗅觉相关蛋白中，差异主要出现在 OBP、CSP、OR、GR 四者数量中（表 1），其中 OBP、OR 的数量差异相对显著。OBP 的功能主要是特异性结合气味分子以及协助其运输，而 OR 在化学传感过程中更是起着核心作用，是决定嗅觉感受灵敏度和特异性的最重要因素（Leal, 2013），OBP、OR 数量的增多，可能暗示着草地贪夜蛾的气味运输机制更为复杂，对气味更为敏感，能识别的气味分子种类更多。GR 主要是用于感受非挥发性物质，对食物选择、交配和产卵等过程起重要作用（Dethier and Crnjar, 1982），GR 数量的增多，可能与草地贪夜蛾较频繁的交配频率与较多的产卵次数有关。虽然草地贪夜蛾与斜纹夜蛾的 CSP、GR 数量差异不大，且 SNMP、IR 数量一致，但其种类、氨基酸序列等的差异可能也是影响草地贪夜蛾食性、交配行为等的重要因素，有待未来进一步探讨。

在草地贪夜蛾的 OBP 家族中，各家族基因均有明显扩增，其中 1 个分支为草地贪夜蛾与斜纹夜蛾相对于家蚕特有，推测该分支在夜蛾科的食性、交配行为等中具有重要作用。有趣的是，本研究发现 OBP 亚家族 ABPI 的这 1 个分支发生了拷贝增加，其中 2 个位于同一 scaffold 上，另外两个位于另外 1 个 scaffold 上。一种可能性，可能发生了基因片段的重复，尚需要进一步确认，以明晰基因拷贝数增加的基因组动态机制。这个分支，由于在家蚕和斜纹夜蛾中都只有一个拷贝，证明该基因相对保守，具有重要的功能性。而在草地贪夜蛾中发生的基因拷贝数增加，有可能是为了适应该类害虫独特的食性特征。进一步通过 PAML 分支进化分析发现，这 4 个草地贪夜蛾 OBP 拷贝中，其中 1 个较为保守，另外 3 个具有明显的正选择信号，推测草地贪夜蛾通过类似的基因分歧与复制行为，实现对气味相关功能的提升，从而更好地定位到禾本科植物。进一步地对家蚕 OBP11、斜纹夜蛾 OBP5、草地贪夜蛾 OBP 的 4 个拷贝进行深入比对与分析，发现了一系列夜蛾特有的，草

地贪夜蛾和斜纹夜蛾特有的错义突变位点。家蚕是单食性的，斜纹夜蛾与草地贪夜蛾均为杂食性的，可见该 OBP 在夜蛾科食性中可能占据重要地位，同时由于草地贪夜蛾该基因拷贝数更多，因此其气味识别等相关功能可能比斜纹夜蛾更为优异。此外，还预测到 1 个氨基酸变异位点在家蚕、斜纹夜蛾中没影响，而在草地贪夜蛾中有影响，3 个氨基酸变异位点在家蚕、草地贪夜蛾中没影响，而在斜纹夜蛾中有影响，这些差异位点，均可能影响到气味的结合能力或特异性，从而产生草地贪夜蛾对双子叶植物的偏好性。

总之，草地贪夜蛾嗅觉、味觉相关蛋白数量的增多、某一特异分支基因的分歧与拷贝数的扩增、蛋白质氨基酸序列的相关突变，皆可能有利于其找寻配偶、定位寄主及产卵位点、选择食物、躲避外界不良环境并进行大规模迁移，成为其能够在缺乏天敌的情况下快速入侵的重要原因之一，未来可通过进一步对嗅觉、味觉相关蛋白的研究，研发出更具特异性的农药产品，有利于开展对草地贪夜蛾更好的防控。

### 参考文献 (References)

- Bruce TJ, Wadhams LJ, Woodcock CM. Insect host location: A volatile situation [J]. *Trends Plant Sci.*, 2005, 10 (6): 269-274.
- Cheng T, Wu J, Wu Y, et al. Genomic adaptation to polyphagy and insecticides in a major East Asian noctuid pest [J]. *Nat. Ecol. Evol.*, 2017, 1 (11): 1747.
- Croset V, Rytz R, Cummins SF, et al. Ancient protostome origin of chemosensory ionotropic glutamate receptors and the evolution of insect taste and olfaction [J]. *PLoS Genet.*, 2010, 6 (8): e1001064.
- De Bruyne M, Baker TC. Odor detection in insects: Volatile codes [J]. *J. Chem. Ecol.*, 2008, 34 (7): 882-897.
- Engsontia P, Sanderson AP, Cobb M, et al. The red flour beetle large nose: An expanded odorant receptor gene family in *Tribolium castaneum* [J]. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 2008, 38 (4): 0-397.
- Funk DJ. Of "Host Forms" and Host Races: Terminological Issues in Ecological Speciation [J]. *International Journal of Ecology*, 2012: 1-8.
- Gong DP, Zhang HJ, Zhao P, et al. Identification and expression pattern of the chemosensory protein gene family in the silkworm, *Bombyx mori* [J]. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 2007, 37: 266-277.
- Tanaka K, Uda Y, Ono Y, et al. Highly selective tuning of a silkworm olfactory receptor to a key mulberry leaf volatile [J]. *Curr. Biol.*, 2009, 19 (11): 881-890.
- Kiefer H, Krieger, Jürgen, et al. Expression of an olfactory receptor in

- Escherichia coli*: Purification, reconstitution, and ligand binding [J]. *Biochem.*, 1996, 35 (50): 16077–16084.
- Krieger J, Grosse – Wilde E, Gohl T, *et al.* Genes encoding candidate pheromone receptors in a moth (*Heliothis virescens*) [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004, 101 (32): 11845–11850.
- Juárez, M. L., Schfl, G, Vera, M. T., *et al.* Population structure of *Spodoptera frugiperda* maize and rice host forms in South America: Are they host strains? [J]. *Entomol. Exp. Appl.*, 2014, 152 (3): 182–199.
- Gong DP, Zhang HJ, Zhao P, *et al.* The odorant binding protein gene family from the genome of silkworm, *Bombyx mori* [J]. *Bmc. Genomics*, 2009, 10 (1): 332.
- Gu SH, Zhou JJ, Gao S, *et al.* Identification and comparative expression analysis of odorant binding protein genes in the tobacco cutworm *Spodoptera litura* [J]. *Sci. Rep.*, 2015, 5 (1): 13800.
- Gouin A, Bretaudeau A, Nam K, *et al.* Two genomes of highly polyphagous lepidopteran pests (*Spodoptera frugiperda*, Noctuidae) with different host – plant ranges [J]. *Sci. Rep.*, 2017, 7 (1): 11816.
- Leal, Walter S. Odorant reception in insects; Roles of receptors, binding proteins, and degrading enzymes [J]. *Annu. Rev. Entomol.*, 2013, 58 (1): 373–391.
- Liu NY, Liu CC, Dong SL. Functional differentiation of pheromone – binding proteins in the common cutworm *Spodoptera litura* [J]. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.*, 2013, 165 (2): 254–262.
- Liu NY, Yang K, Liu Y, *et al.* Two general – odorant binding proteins in *Spodoptera litura* are differentially tuned to sex pheromones and plant odorants [J]. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.*, 2015, 180: 23–31.
- Merlin C, Fran Ois MC, Bozzolan F, *et al.* A new aldehyde oxidase selectively expressed in chemosensory organs of insects [J]. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2005, 332 (1): 0–10.
- Montezano DG, Specht A, Sosa – Cómez, *et al.* Host plants of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas [J]. *Afr. Entomol.*, 2018, 26 (2): 286–301.
- Qin HG, Wang DD, Ding J, *et al.* List of host plants of *Spodoptera litura* [J]. *Acta Agriculture Jiangxi*, 2006, 18 (5): 51–58. [秦厚国, 汪笃栋, 丁建, 等. 斜纹夜蛾寄主植物名录. 江西农业学报, 2006, 18 (5): 51–58]
- Robertson HM, Wanner, K. W. 2006, The chemoreceptor superfamily in the honey bee, *Apis mellifera*: Expansion of the odorant, but not gustatory, receptor family [J]. *Genome. Res.*, 2016, 11: 1395.
- Rogers ME, Jani MK, Vogt RG. An olfactory – specific glutathione-S-transferase in the sphinx moth *Manduca sexta* [J]. *J. Exp. Biol.*, 1999, 202 (12): 1625–1637.
- Vogt RG, Riddiford, Lynn M. Pheromone binding and inactivation by moth antennae [J]. *Nature*, 1981, 293 (5828): 161–163.
- Xu P, Garczynski Stephen F, Atungulu Elizabeth, *et al.* Moth sex pheromone receptors and deceitful parapheromones [J]. *PLoS ONE*, 2012, 7 (7): e41653.
- Yi X, Qi J, Zhou X, *et al.* Differential expression of chemosensory – protein genes in midguts in response to diet of *Spodoptera litura* [J]. *Sci. Rep.*, 2017, 7 (1): 296.
- Zhu JY, Xu ZW, Zhang XM, *et al.* Genome – based identification and analysis of ionotropic receptors in *Spodoptera litura* [J]. *The Science of Nature*, 2018, 105 (5–6): 38.
- Zhao SY, Luo QM, Sun XX, *et al.* The Comparisons of morphological characteristics and biological learning between *Spodoptera frugiperda* and *Spodoptera litura* [J]. *China Plant Protection*, 2019, 39 (5): 26–35. [赵胜园, 罗倩明, 孙小旭, 杨现明, 姜玉英, 吴孔明. 草地贪夜蛾与斜纹夜蛾的形态特征和生物学习性比较 [J]. 中国植保导刊, 2019, 39 (5): 26–35]