

昆虫化学感受蛋白研究进展

刘金香, 钟国华, 谢建军, 官 珊, 胡美英*

(华南农业大学昆虫毒理研究室 农药与化学生物学教育部重点实验室 广州 510642)

摘要: 昆虫化学感受蛋白(chemosensory proteins)是在长期进化过程中形成的一类低分子量酸性可溶性蛋白,广泛分布于昆虫触角、跗节等各种化学感受器中,蛋白质序列具有较高的保守性,种内种间同源性一般为30%~90%。其主要功能是感受、识别、转运、传导环境化学因子刺激信息,参与调节生理节律和生长发育。该文从昆虫化学感受蛋白的生态进化意义、分布表达部位、生化特性、分子结构、生理功能和研究方法等角度,较详细地综述了近年来国内外昆虫化学感受蛋白的研究进展,指出昆虫化学感受蛋白的深入研究,对于阐明昆虫与环境化学信息联系规律、昆虫行为反应本质原因,探索害虫综合治理和益虫利用效率新途径,开辟创制昆虫行为控制剂新领域等具有重要的理论和实践意义。

关键词: 昆虫;化学感受;化学感受蛋白;信息化学物质;昆虫行为

中图分类号:S492.39 文献标识码:A 文章编号:0454-6296(2005)03-0418-09

Recent advances in chemosensory proteins of insects

LIU Jin-Xiang, ZHONG Guo-Hua, XIE Jian-Jun, GUAN Shan, HU Mei-Ying* (Laboratory of Insect Toxicology and Key Laboratory of Pesticide and Chemical Biology, Ministry of Education of China, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: Chemosensory proteins (CSPs) are small soluble acidic proteins formed during long evolution and abundantly distributed in antennae, tarsi and other sensory appendages. Chemosensory proteins among insects are well conserved and the identity is generally 30%–90%. They are believed to be involved in chemical communication, including perception, identification, transport and transduction of semiochemicals from environment (including olfaction, taste and others) and may be associated with regulation of circadian rhythms and maturation of tissue or appendage. Recent advances in chemosensory proteins of insects are reviewed in this paper, including evolution significance, localization of distribution and expression, biochemical characteristics, molecular structure, physiological function and research methods. Clearly, further researches on chemosensory proteins are required, which are significant to elucidate the essence of insect behavior and semiochemicals, explore the new approach for pest management and utilization of beneficial insects, and develop new insect behavior regulators.

Key words: Insects; chemosensory; chemosensory proteins; semiochemicals; insect behavior

昆虫在长期进化过程中,发展演变了复杂的化学信息感受机制,在觅食、寻偶、产卵等行为中,通过敏锐的嗅觉、味觉、触觉等功能,感受各种环境化学因子的刺激,进行精巧的化学通讯,适应环境选择,保持种群繁衍(Pilpel and Lancet, 1999)。自20世纪80年代以来,深入研究昆虫对环境化学物质刺激的感受机理,揭示昆虫行为反应的本质,一直是国内外研究热点(Foster and Harris, 1997)。昆虫化学感受蛋白(chemosensory proteins, CSPs)或称为感受器官蛋

白(sensory appendage protein)是一类分子量小、水溶性大,能够结合运输脂溶性信息化合物的酸性可溶性蛋白,它广泛分布于昆虫各种化学感受器,感受传导外界化学因子刺激。近年来,昆虫化学感受蛋白研究颇受关注,在生态进化意义、分布表达部位、生化特性、分子结构、生理功能和研究方法等方面均取得了一系列重要进展,为阐明昆虫与环境的信息联系本质,开拓害虫防治和益虫利用新途径提供了重要基础。

基金项目:国家自然科学基金项目(30270886);广东省自然科学基金项目(010301)

作者简介:刘金香,女,1974年生,博士研究生,研究方向为天然源农药, E-mail: Ljinxiang2002.student@sina.com.cn

* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail: humy@scau.edu.cn

收稿日期 Received: 2004-05-13; 接受日期 Accepted: 2004-09-24

1 昆虫化学感受蛋白的生态进化意义

在研究昆虫对环境化学因子刺激感受机理的过程中,起初的研究重点是对气味的感受机理,昆虫化学感受蛋白的研究源于对昆虫气味结合蛋白(odorant-binding proteins, OBPs)的研究。Vogt 和 Riddiford (1981)用同位素标记方法证实了多音大蚕蛾 *Antheraea polyphemus* 触角感受器淋巴液存在可溶性气味结合蛋白。此后,陆续发现性信息素结合蛋白(pheromone binding proteins, PBPs)、普通气味结合蛋白 1(general odorant-binding protein 1, GOBP1)和普通气味结合蛋白 2(GOBP2)等昆虫气味结合蛋白,并对其做了深入研究,已有相关文献综述(Krieger and Breer, 1999; 王桂荣等, 2002)。

然而,人们发现昆虫对环境化学因子刺激的许多行为反应并不能用气味结合蛋白和气味感受机理阐明。McKenna 等(1994)首次报道了通过差减 cDNA(subtractive cDNA)方法在黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 触角表达的可溶性蛋白 OS-D(olfactory specific-D);同时, Pikielny 等(1994)也在黑腹果蝇触角发现了另一个可溶性蛋白 A-10。这 2 个蛋白与传统的气味结合蛋白无论在结构还是在功能上都有明显的差别。由于此类蛋白主要存在于昆虫各种化学感受器,与感受环境化学刺激有关,所以称之为昆虫化学感受蛋白。这些结果引起了人们极大的兴趣,随后相继从多种昆虫的化学感受器中发现了昆虫化学感受蛋白。

昆虫化学感受蛋白具有重要的生态进化适应意义。昆虫感受的环境化学因子众多,在有益化学刺激时,有利于昆虫寻找食物和生殖场所(如合适的产卵位置)、逃避天敌等;在有害化学刺激时,则产生相应的忌避行为,或启动降解机制等。作为化学刺激因子的物质种类多,结构多样,小分子量的挥发性物质只是其中一部分,更多的是分子量较大的非挥发性物质,如植物防御性次生代谢物、人为施加的农药分子等(Chiu, 1993)。在长期进化过程中,昆虫不仅形成拥有精巧的气味(包括性信息素和普通气味)感受器官和气味结合蛋白,而且形成了相应的化学感受器官和化学感受蛋白,使昆虫能够同样精巧地感受气味结合蛋白所不能感受的化学刺激,使受体神经启动相应控制机制,作出相应行为,避免受到长期持续的刺激或中毒死亡。昆虫化学感受蛋白就是长期进化选择的结果,它与气味结合蛋白优势互补,各

司其职,协同作用,共同维护昆虫种群对环境的适应。

近年来研究表明,线虫、昆虫及哺乳动物的化学感受蛋白在结构和功能上均有较高的分子进化保守性(Jovelin *et al.*, 2003)。昆虫化学感受蛋白的分子进化保守性似乎更明显,不仅同种昆虫不同化学感受蛋白保持较高的同源性,而且不同目、科昆虫之间的化学感受蛋白也有较高的同源性。烟芽夜蛾 *Heliothis virescens*、美洲大蠊 *Periplaneta americana*、沙漠蝗 *Schistocerca gregaria*、飞蝗 *Locusta migratoria*、竹节虫 *Eurycantha calcarata* 的化学感受蛋白同源性为 30% ~ 76%(Mameli *et al.*, 1996; Marchese *et al.*, 2000; Picimbon *et al.*, 2000a, 2001)。Wanner 等(2004)对双翅目、膜翅目、鳞翅目等 6 目 14 科 20 种昆虫 70 多个化学感受蛋白的遗传分析表明,这些化学感受蛋白具有明显相同的高度保守区域结构,包括 N-端的 YTTKYDN(V/I)(N/D)(L/V)DEIL,中心区的 DGKELKXX(I/L)PDAL 和 C-端的 KYDP。不同昆虫间的化学感受蛋白保守性,反映了昆虫在长期进化过程中对大量不同类型的环境化学因子刺激的适应和进化。

2 昆虫化学感受蛋白的表达分布部位

昆虫气味结合蛋白主要是特异性地表达在触角嗅觉神经元周围的淋巴液,极少数也可能在其他部位表达(李正西和 Zhou, 2004),其中,性信息素结合蛋白主要存在于雄虫触角毛形感受器(Vogt *et al.*, 2002),少数种类雌虫毛形感受器中性信息素结合蛋白也有很高的表达量(Callahan *et al.*, 2000);普通气味结合蛋白则在雌雄虫触角锥形感受器都有表达分布。目前尚未发现性信息素结合蛋白和普通气味结合蛋白存在于同一感受器(Shanbhag *et al.*, 2001)。

相对而言,昆虫化学感受蛋白的表达分布部位则是非常广泛。近年来发现的主要昆虫化学感受蛋白如表 1 和表 2 所示。从表中可知,昆虫化学感受蛋白不仅能在触角表达,而且能在身体其他部位,如喙、足、下唇须及性腺等各部的化学感受器中表达。黑腹果蝇化学感受蛋白 OS-D-dm 在触角中表达, Ejb-dm 则在射精管表达(Dyanov and Dzitoa, 1995)。Maleszka 和 Stange (1997)报道仙人掌螟 *Cactoblastis cactorum* 化学感受蛋白(CLP-1)在下唇须表达。Angeli 等(1999)应用免疫细胞化学法发现化学感受

蛋白在沙漠蝗雌雄虫跗节、下颚须和触角的接触性感受器淋巴液中表达 ,但未检测到在表皮、感受器树突和其他感受器中表达。甘蓝夜蛾化学感受蛋白能在喙表达(Nagnan-Le *et al.* , 2000) ,在触角毛形感受器和没有任何化学感受结构的性腺中也能表达 (Jacquin-Joly *et al.* , 2001) ,表明此类蛋白能运输疏水分子通过水介质 ,如感觉淋巴和性腺胞液。烟芽夜蛾和家蚕化学感受蛋白则在足中有很高的表达量 ,但在其他部位 ,如头部 ,胸部和腹部 ,表达水平均

很低(Picimbon *et al.* , 2000b , 2001)。美洲大蠊化学感受蛋白(p-10)首先是从足中分离获得 ,但也能在触角中表达(Kitabayashi *et al.* , 1998)。

总的来看 ,昆虫化学感受蛋白在身体各部分的表达分布具有全面性 ,蛋白种类具有多样性 ,种间种内分布具有普遍性 ,而且雌雄虫中都有表达 ,有别于昆虫性信息素结合蛋白主要存在于雄虫的现象 ,这些特点易于适应接受复杂的环境化学刺激信息 ,承担复杂的化学感受功能。

表 1 近年来发现的代表性鳞翅目昆虫化学感受蛋白

昆虫种类 Species of insects	感受蛋白名称 Name of proteins	GenBank 序列号 GenBank accession number	表达部位 Localization	参考文献 References
家蚕 <i>Bombyx mori</i>	BmorCSP1	AAM34276	A , Ab , H , L , Th	Picimbon <i>et al.</i> , 2000a
	BmorCSP2	AAM34275	A , Ab , H , L , Th	Picimbon <i>et al.</i> , 2000a
	BmorAV406169	AV406169	—	—
	Bmorce2366 *	ce2366	—	Wanner <i>et al.</i> , 2004
	BmorceN1900 *	ceN1900	—	Wanner <i>et al.</i> , 2004
	BmorAU004850	AU004850	—	—
	BmorAV406021	AV406021	—	—
	BmorAU000875	AU000875	—	—
烟草天蛾 <i>Manduca sexta</i>	MsexSAP1	AF117574	A	Robertson <i>et al.</i> , 1999
	MsexSAP2	AF117592	A	Robertson <i>et al.</i> , 1999
	MsexSAP3	AF117585	A	Robertson <i>et al.</i> , 1999
	MsexSAP4	AF117599	A	Robertson <i>et al.</i> , 1999
	MsexSAP5	AF117594	A	Robertson <i>et al.</i> , 1999
	MsexSAP6	BE015509	—	—
	MsexSAP7	CA798851	—	—
	MsexSAP8	CA798912	—	—
烟芽夜蛾 <i>Heliothis virescens</i>	HvirCSP1	AAM77040	A , L , Th	Picimbon <i>et al.</i> , 2001
	HvirCSP2	AAM77041	A , H , L , Th	Picimbon <i>et al.</i> , 2001
	HvirCSP3	AAM77042	A , L	Picimbon <i>et al.</i> , 2001
甘蓝夜蛾 <i>Mamestra brassicae</i>	MbraCSPA1	AAF19647	Pr	Nagnan-Le <i>et al.</i> , 2000
	MbraCSPA2	AAF19648	Pr	Nagnan-Le <i>et al.</i> , 2000
	MbraCSPA3	AAF19649	Pr	Nagnan-Le <i>et al.</i> , 2000
	MbraCSPA4	AAF19650	Pr	Nagnan-Le <i>et al.</i> , 2000
	MbraCSPA5	AAF19651	Pr	Nagnan-Le <i>et al.</i> , 2000
	MbraCSPA6	AAF71289	A , Pr , Pg	Jacquin-Joly <i>et al.</i> , 2001
	MbraCSPB1	AAF19652	Pr , Pg	Nagnan-Le <i>et al.</i> , 2000
	MbraCSPB2	AAF19653	Pr	Nagnan-Le <i>et al.</i> , 2000
	MbraCSPB3	AAF71290	A	Jacquin-Joly <i>et al.</i> , 2001
	MbraCSPB4	AAF71291	A	Jacquin-Joly <i>et al.</i> , 2001
云杉色卷蛾 <i>Choristoneura fumiferana</i>	CfumAY426538	AY426538	A , Pr , La , Tf	Wanner <i>et al.</i> , 2004
	CfumAY426539	AY426539	A , Pr , La , Tf	Wanner <i>et al.</i> , 2004
	CfumAY426540	AY426540	A , Pr , La , Tf	Wanner <i>et al.</i> , 2004
粉纹夜蛾 <i>Trichoplusia ni</i>	TniAY456191	AY456191	A , Pr , La , Tf	Wanner <i>et al.</i> , 2004
小地老虎 <i>Agrotis ipsilon</i>	AipsCSP	AAP57460	—	—
美洲棉铃虫 <i>Helicoverpa zea</i>	HzeaCSP	AAN63675	—	—
棉铃虫 <i>Helicoverpa armigera</i>	HarmCSP	AAK53762	—	—
仙人掌螟 <i>Cactoblastis cactorum</i>	CcacCLP1-cc	AAC47827	La	Maleszka and Stange , 1997

A :触角 Antennae ; Ab :腹部 Abdomen ; B :体躯 Body ; C :表皮 Cuticle ; E :胚胎 (芽) Embryo ; H :头部 Head ; L :足 Legs ; La :上唇须 Labrum or labial palp ; P :蛹 Pupae ; Pg :性腺 Pheromone gland ; Pr :喙 Proboscis ; T :跗节 Tarsi ; Tf :前跗节 Front tarsi ; Th :胸 Thorax ; W :翅 Wings. * 由 Wanner 等 (2004) 从序列数据库鉴定 Identified by Wanner *et al.* (2004) from sequence databases. 表 2 同 The same for Table 2.

表 2 近年来发现的代表性非鳞翅目昆虫化学感受蛋白
Table 2 Some chemosensory proteins of non-Lepidoptera

昆虫种类 Species of insects	感受蛋白名称 Name of proteins	GenBank 序列号 GenBank accession number	表达部位 Localization	参考文献 References
黑腹果蝇 <i>Drosophila melanogaster</i>	DmelPEBⅢ	AAF47140	L , La , P , W	Sabatier <i>et al.</i> , 2003
	DmelOS-D	AAA21358	A	McKenna <i>et al.</i> , 1994
	DmelAAM68292	AAM68292	A	McKenna <i>et al.</i> , 1994
	DmelPHK3	AAF47307	E , L , P	Sabatier <i>et al.</i> , 2003
	DmelPEBmeⅢ/Ejb-dm	AAA87058	Ej	Dyanov <i>et al.</i> , 1995
拟暗果蝇 <i>Drosophila pseudoobscura</i>	DmelA-10	Q27377	A	Pikielny <i>et al.</i> , 1994
	DpseCG1 - 4 *	-	-	Wanner <i>et al.</i> , 2004
冈比亚按蚊 <i>Anopheles gambiae</i>	AgamEAA12601	EAA12601	-	-
	AgamEAA12322	EAA12322	-	-
	AgamSAP1	EAA12353	A , B	Biessmann <i>et al.</i> , 2002
	AgmaIR7	EAA12338	B	Oduol <i>et al.</i> , 2000
	AgamEAA12591	EAA12591	-	-
	AgamEAA12703	EAA12703	-	-
	AgamEAA12702	EAA12702	-	-
	AmelCG1 - 2 A - 6 *	-	-	Wanner <i>et al.</i> , 2004
意大利蜜蜂 <i>Apis mellifera</i>	AmelASP3C	AAN59784	A	Briand <i>et al.</i> , 2002
阿根廷蚂蚁 <i>Linepithema humile</i>	LhumCSP	AAN01363	A	Ishida <i>et al.</i> , 2002
欧洲马蜂 <i>Polistes dominulus</i>	PdomCSP1	AAP55719	A	Calvello <i>et al.</i> , 2003
佛罗里达蟑螂 <i>Leucophaea maderae</i>	LmadCSP	AAM77025	-	-
美洲大蠊 <i>Periplaneta americana</i>	PameP10	AAB84283	A , H	Kitabayashi <i>et al.</i> , 1998
	LmigOS-D1	CAB65177	A , L	Picimbon <i>et al.</i> , 2000a
	LmigOS-D2	CAB65178	A , L	Picimbon <i>et al.</i> , 2000a
	LmigOS-D3	CAB65179	A , L	Picimbon <i>et al.</i> , 2000a
	LmigOS-D5	CAB65181	A , L	Picimbon <i>et al.</i> , 2000a
	LmigCSP I -1	AAO16783	A , W	Ban <i>et al.</i> , 2003
	LmigCSP I -5	AAO16787	A , W	Ban <i>et al.</i> , 2003
	LmigCSP II -10	AAO16793	A , W	Ban <i>et al.</i> , 2003
	SgreCSP1	AAC25399	A , T , La	Angeli <i>et al.</i> , 1999
沙漠蝗 <i>Schistocerca gregaria</i>	SgreCSP2	AAC25400	A , T , La	Angeli <i>et al.</i> , 1999
	SgreCSP3	AAC25401	A , T , La	Angeli <i>et al.</i> , 1999
	SgreCSP4	AAC25402	A , T , La	Angeli <i>et al.</i> , 1999
	SgreCSP5	AAC25403	A , T , La	Angeli <i>et al.</i> , 1999
	SgreAAP57461	AAP57461	-	Picone <i>et al.</i> , 2001
	GoriCSP	AAQ85057	-	Kim <i>et al.</i> , 2003
东方蝼蛄 <i>Gryllotalpa orientalis</i>	EcalCSP1	AAD30550	A , C , T	Marchese <i>et al.</i> , 2000
	EcalCSP2	AAD30551	A , T	Marchese <i>et al.</i> , 2000
	EcalCSP3	AAD30552	A , T	Marchese <i>et al.</i> , 2000

Ej：射精管 Ejaculation tube.

3 昆虫化学感受蛋白的生化特性

尽管昆虫化学感受蛋白和气味结合蛋白都是小分子可溶性酸性蛋白,但两者的生化特性差异较大。气味结合蛋白分子量一般为 15 ~ 17 kD,多肽链全长约 144 个氨基酸,有 6 个保守的半胱氨酸位点,形成 3 个二硫键(Krieger and Breer, 1999),亲水性比化学感受蛋白较小,化学感受蛋白相对分子量较小,平均 13 kD,多肽链全长约 100 ~ 115 个氨基酸,有 4 个保

守的半胱氨酸位点,形成 2 个二硫键。如甘蓝夜蛾触角化学感受蛋白 MbraA6 分子量为 13 072 D,多肽链全长 112 个氨基酸,等电点 pI 为 5.5(Campanacci *et al.* , 2001a)。沙漠蝗附节化学感受蛋白是包含 109 个氨基酸的多肽。
从目前的研究结果看,昆虫化学感受蛋白均为单体,都没有翻译后修饰(Angeli *et al.* , 1999; Marchese *et al.* , 2000; Campanacci *et al.* , 2001a, 2001b; Picone *et al.* , 2001)。但昆虫气味结合蛋白多数为二聚体,有翻译后修饰(Paolini *et al.* , 1998)。

凝胶过滤分析表明意大利蜜蜂 *Apis mellifera* 化学感受蛋白 ASP3c 在中性 pH 条件下为单体 (Briand *et al.* , 2002)。昆虫化学感受蛋白对 pH 和温度的适应范围较大,如沙漠蝗化学感受蛋白 SgreCSP4 在 pH 值 3.8 ~ 8.1 和温度 20℃ ~ 80℃ 的条件下结构相当稳定 (Picone *et al.* , 2001)。这些特性有利于应用原核生物表达昆虫化学感受蛋白以及获得大量的昆虫化学感受蛋白用于后续研究。

昆虫化学感受蛋白的表达时序性与气味结合蛋白也有明显差异。Picimbon 等 (2001) 利用 Northern 杂交比较研究了烟芽夜蛾后期蛹化学感受蛋白 HvirCSP1 与气味结合蛋白表达的时序性特点。在蛹羽化前第 5 天从足、触角和喙能够检测到 RNA 编码的 HvirCSP1, 羽化前第 4 天表达水平没有明显的变化, 羽化前第 3 天表达量急剧增长到成虫羽化时的水平, 但气味结合蛋白的合成在羽化前第 3 天才开始表达。烟草天蛾 *Manduca sexta*、舞毒蛾 *Lymantria dispar* 和多音大蚕蛾中, 翻译性信息素结合蛋白的 mRNA 在羽化前第 4 天表达水平仍非常低, 羽化前第 2 天急剧增长到成虫期的表达水平。这些结果也说明昆虫化学感受蛋白与气味结合蛋白的合成途径和控制机理各不相同 (Gyorgyi *et al.* , 1988 ; Vogt *et al.* , 1989)。

4 昆虫化学感受蛋白的分子结构

昆虫化学感受蛋白的拓扑结构、晶体结构和保守结构均有明显的特点。昆虫化学感受蛋白二级结构主要由 α -螺旋组成 (Picimbon *et al.* , 2000a , 2000b ; Lartigue *et al.* , 2002 ; Briand *et al.* , 2002)。这与昆虫气味结合蛋白, 特别是性信息素结合蛋白的二级结构相似 (Sandler *et al.* , 2000)。如家蚕性信息素结合蛋白也由 α -螺旋组成, 其中 6 个 α -螺旋形成容纳小分子关闭穴 (cavity), 性信息素呈弯曲状态容纳其中 (Sandler *et al.* , 2000)。Picone 等 (2001) 应用圆二色谱和核磁共振谱方法研究沙漠蝗附节化学感受蛋白 SgreCSP4 二级结构, 结果显示蛋白分子内由 4 个保守的半胱氨酸构成 2 个二硫键 (Cys29-Cys38 和 Cys57-Cys60), 蛋白分子内是典型的 α -螺旋, 整个分子呈球形状。对烟芽夜蛾化学感受蛋白 HvirCSP 与意大利蜜蜂 ASP3c 二级结构的研究也得到相似的结论 (Picimbon *et al.* , 2001 ; Briand *et al.* , 2002)。这说明, 二硫键和 α -螺旋在昆虫化学感受蛋白中是相当普遍和保守的。

尽管昆虫化学感受蛋白二级拓扑结构主要由 α -螺旋构成, 但不同化学感受蛋白中 α -螺旋的位置和数目有较大的差别。Wanner 等 (2004) 的研究表明, BmorCSPs、HvirCSP2 和 HvirCSP3 的 α -螺旋出现在 N-端保守区域 ¹⁵-EIL-N-RLL- -Y- -C- - -³², 但 HvirCSP1、EcalCSP1 和 EcalCSP3 是出现在 C-端 95 ~ 107 位点。HvirCSP1 和 EcalCSP2 的 N-端更可能是形成 α β -复合结构。HvirCSPs 整个分子呈现亲水性, 但位点 20 ~ 30 表现疏水性, 在 DmelOS-D 和 BmorCSP1 中这个区域也同样表现出明显的疏水性。LmigOS-Ds 则拥有 2 个疏水性区域 (Picimbon *et al.* , 2000a), 但 BmorCSP2 却没有明显的疏水结构 (Picimbon *et al.* , 2000b)。这或许可以解释为什么亲水性的化学感受蛋白还能与部分疏水性的气味分子或味觉分子结合 (Picimbon *et al.* , 2001)。

随着蛋白质组学研究技术的迅速发展, 昆虫化学感受蛋白分子晶体结构和构象变化研究得到深入发展, 其中以甘蓝夜蛾化学感受蛋白的研究最为深入。X-衍射和核磁共振谱表明, 触角 MbraCSPA6 是小分子量球形蛋白, 空间三维为 32Å × 28Å × 24Å, 是由通过 α - α 环连接的 6 个小 α -螺旋构成的非束状的 α -螺旋。MbraCSPA6 表面主要由极性氨基酸组成, 主要为赖氨酸和谷氨酸, 表面也有 2 个小的疏水区域, 一个在 C-端区域, 由甘氨酸-106, 异亮氨酸-107, 缬氨酸-108 和异亮氨酸-109 等 4 个氨基酸组成, 这个疏水区域从 C-端的分子表面通向另一个疏水核心 (channel); 另一个疏水区包括异亮氨酸-11, 亮氨酸-13, 异亮氨酸-16, 亮氨酸-22, 缬氨酸-24 和酪氨酸-26。由于蛋白质中所有 α -螺旋的疏水面位置相对固定, 并且都向着蛋白中心, 这样就形成一个疏水核心, 疏水核心大小为 3Å × 9Å × 21Å, 核心两端是两个高度保守的芳香族氨基酸 (酪氨酸-26 和色氨酸-94), 好象有较大的流动性, 起着疏水核心的大门作用, 可开可关 (Lartigue *et al.* , 2002 ; Campanacci *et al.* , 2003 ; Mosbah *et al.* , 2003)。可能由于蛋白有较大的伸展性, 这个疏水核心既可容纳线性分子, 又可容纳 N-苯基-1-萘胺这样的大分子 (Ban *et al.* , 2002)。如果是 AmelCSP3C, 蛋白质和配体相互作用可能与色氨酸-81 有关 (Briand *et al.* , 2002)。

昆虫化学感受蛋白表面的保守区域可能与其功能有关, 个别氨基酸取代对蛋白功能可能有一定影响, 但保守区域结构对化学感受蛋白共性功能的影响已经明确, 配体结合部位可能就是承担保守功能的结构所在 (Wanner *et al.* , 2004)。

5 昆虫化学感受蛋白的生理功能

昆虫气味结合蛋白的功能主要是结合包括性信息素在内的气味信息分子,在感受嗅觉、传导信息过程中发挥作用。相比之下,昆虫化学感受蛋白承担更多的生理功能。

5.1 溶解运输不同化学感受器亲脂性配体

这是昆虫化学感受蛋白最基本的功能。Briand 等(2002)应用 ASA((+/-)-12-(9-anthroyloxy) stearic acid) 荧光结合实验表明,意大利蜜蜂触角化学感受蛋白 ASP3c 可特异地结合大脂肪酸分子和酯类衍生物,但不能与供试的普通气味分子和其他供试的信息素(包括性信息素和非性信息素)结合。Ban 等(2002, 2003)应用荧光结合实验研究表明 SgreCSP4 和 LmigCSP II -10 结合的内源性配体主要是油酰胺,并且 SgreCSP4 能与 N-苯基-1-萘胺可逆结合,并且结合能力在 100℃ 保温 20 min 的情况下都不受影响。应用色氨酸荧光淬灭实验证明 MbraCSPA6 可结合脂肪酸和 C₁₄ ~ C₁₈ 烷基链化合物,可与一些次生化合物或类似物结合,与溴化十二烷醇结合时蛋白构象明显改变,形成一个能容纳三个配体分子的穴,说明 MbraCSPA6 与配体具有协同性。蛋白构象的改变以及 MbraCSPA6-配体的协同性现象可能与受体识别化合物和信号传导有关,可能起到将分散在磷脂膜的疏水性化合物运送到受体的作用(Lartigue *et al.*, 2002; Campanacci *et al.*, 2003)。

5.2 具有部分嗅觉功能

某些昆虫触角化学感受蛋白能感受性信息素成分,如甘蓝夜蛾化学感受蛋白能结合其性信息素顺 11-十六烯基乙酸酯(Z11-16:Ac)和顺 11-十八烯基乙酸酯(Z11-18:Ac),并且可与脂肪酸结合,但不结合黄体酮(Jacquín-Joly *et al.*, 2001)。免疫组织化学定位表明,甘蓝夜蛾 MbraCSPA6 和沙漠蝗 SgreCSP1 -5 能够在感觉器淋巴液表达,不少研究者认为这些昆虫化学感受蛋白可能同时兼具有部分嗅觉功能(Angeli *et al.*, 1999; Nagnan-Le *et al.*, 2000; Monteforti *et al.*, 2002)。

5.3 不参与昆虫感受 CO₂

Maleszka 和 Stange(1997)发现仙人掌螟 CLP-1 在下唇须表达,推测此类蛋白与昆虫感受 CO₂ 有关。但后来 Angel 等(1999)用免疫细胞化学实验未检测到用³H 葡萄糖和¹⁴C 标记的重碳酸盐与沙漠蝗化学感受蛋白结合。现在一般认为昆虫化学感受蛋

白至少不直接参与昆虫感受 CO₂。

5.4 调节昆虫生理节律

对黑腹果蝇化学感受蛋白不同表达特性的研究结果引起人们对此类蛋白功能的兴趣。人们推测昆虫化学感受蛋白可能参与昆虫调节生理节律和不同阶段特异性表达。DmelPEB III 和 DmelPHK3 被认为是“时钟转录因子”(clock transcription factor)的靶标(McDonald and Rosbash, 2001), DmelPEB III 也被推测认为导致果蝇发育成嗅觉削弱突变型(Anholt and Mackay, 2001)。

5.5 免疫作用

DmelPEB III 和 DmelPHK3 还被认为与细菌和病毒引起的免疫作用有关,其功能从组织修复到外界入侵物的识别等过程中均有体现(Sabatier *et al.*, 2003)。与此现象相似,在细菌脂多糖(lipopolysaccharide)处理 6 h,冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae* 成虫 AgamIR7 的转录大量增加。值得注意的是, DmelPEB III 和 AgamIR7 的同源性较高(Anholt and Mackay, 2001)。

5.6 调节昆虫发育

已经证明,烟草天蛾后期蛹蜕皮酮滴度的下降直接影响了气味结合蛋白的表达和嗅觉系统的发育(Vogt *et al.*, 2002),意大利蜜蜂性信息素结合蛋白具有调节发育的作用(Danty *et al.*, 1999)。Shyamala 和 Chopra(1999)发现黑腹果蝇化学感受器编码基因与神经肌肉组织发育有关。DmelPHK3 被认为是与胚胎和组织发育有关的“背部转录因子”(dorsal transcription factor)的靶标(Stathopoulos *et al.*, 2002)。从发育中的美洲大蠊胚胎足中分离获得 PameP10,其浓度是成虫足中 PameP10 浓度的 30 倍,被认为与表皮发育有关(Kitabayashi *et al.*, 1998)。

6 昆虫化学感受蛋白的研究方法和技术

经典的昆虫化学感受蛋白研究方法是直接从昆虫化学感受器官中分离纯化少量蛋白,测定其氨基酸序列,根据编码氨基酸的核苷酸序列设计简并引物,进行 PCR 扩增,获得编码化学感受蛋白的基因片段,将此片段作为探针,再筛选 cDNA 文库,得到目的基因全长序列,同时也可筛选到这个家族的其他基因序列,将这些序列克隆、表达,从而获得大量的昆虫化学感受蛋白并研究其生化特性和生理功能。随着研究的深入,昆虫多种化学感受蛋白的基

因序列不断被测定,利用其同源性较高的特点,设计简并引物,进行 PCR 扩增,获得编码昆虫化学感受蛋白基因片段,然后直接利用 cDNA 末端快速扩增技术(rapid amplification of cDNA end, RACE)获得 5' 端和 3' 端序列,去除重复序列得到基因的全长。

近年来日新月异的分子生物学技术、蛋白分离纯化技术以及分析仪器设备的更新换代,为昆虫化学感受蛋白的分离、鉴定和数据管理分析等提供了良好基础。大规模的基因测序和众多新开发的数据库为发现昆虫化学感受蛋白新基因创造了条件(Berman *et al.*, 2000)。Wanner 等(2004)根据昆虫化学感受蛋白的保守性从 GenBank 中确定了拟暗果蝇 *D. pseudoobscura* 的 DpseCG 1-4、意大利蜜蜂的 AmelCG1-2 A-6、家蚕 Bmorce2366 及 BmorceN1900 等 11 个新的化学感受蛋白。

在昆虫化学感受蛋白晶体制备方面,主要还是常用的蛋白晶体制备方法。Campanacci 等(2001a)通过水蒸汽扩散法(hanging-drop vapour-diffusion method)从甘蓝夜蛾喙分离制备 MbraCSP2 晶体。但在蛋白质二级结构、晶体结构鉴定技术方法则大有发展,现代光谱学方法特别是圆二色谱、质谱(MS)和核磁共振谱在昆虫化学感受蛋白结构鉴定中应用更加广泛。Picone 等(2001)、Campanacci 等(2001a)及 Lartigue 等(2002)应用 ^1H NMR、 ^{13}C NMR、 ^{15}N NMR、X-射线和圆二色谱晶体衍射等研究沙漠蝗、甘蓝夜蛾化学感受蛋白的晶体结构或构象变化。

传统上,蛋白(包括各种气味结合蛋白)定位和功能研究手段主要利用同位素结合实验,但同位素标记方法既昂贵又不安全,合成同位素化合物比较困难,限制了被测化合物的筛选。近期来,细胞免疫化学定位、荧光素结合等方法,特别是色氨酸荧光猝灭方法经常应用于昆虫化学感受蛋白研究。Angeli 等(1999)用细胞免疫化学方法确定了沙漠蝗化学感受蛋白的表达位点。Briand 等(2002)将荧光素 ASA 引入结合实验中,研究了意大利蜜蜂 ASP3c 与脂肪酸和酯类衍生物的结合实验。

7 结语

昆虫与环境之间的化学通讯对于昆虫生存和繁殖至关重要,昆虫化学感受蛋白遍布几乎所有感受器,起到感受、溶解、运输、传导环境化学刺激因子的作用。深入研究昆虫化学感受蛋白,有利于揭开昆虫与环境化学信息联系的规律,掌握昆虫对环境化

学刺激的分子感受机制,阐明昆虫行为反应的本质,有利于提高益虫利用和害虫治理效率。如传统上认为,昆虫忌避活性是昆虫嗅觉系统“感受”到植物次生物质或外界施用物质的“气味”而产生相应的忌避行为,作用机理属于典型的“气味结合型”(Foster and Harris, 1997)。这些理论可以圆满解释小分子挥发性物质作用特点。然而,国内外大量研究证实诸如许多非挥发性、分子量较大的植物次生物质具有明显的产卵忌避作用(Loon, 1996; 钟国华等, 2000),其作用机理用“气味结合型”理论很难解释。本文作者认为印楝素、闹羊花素等非挥发性物质的忌避作用(包括产卵忌避和行为忌避)属于“接触型”忌避作用,其作用靶标可能就是昆虫附节和/或触角化学感受器的化学感受蛋白。昆虫化学感受蛋白的研究为解释此类问题提供了新思路,对于研究开发基于昆虫化学感受分子作用机制的“昆虫行为调节剂”,开拓农药创制新领域亦具有重要的理论和实践意义。

相对于气味结合蛋白,昆虫化学感受蛋白的生化特性、生理功能、信息转换、信号传导过程等均还存在许多有待深入研究的问题,特别是信息转换、信号传导过程,目前直接相关的文献报道极少。但随着分子生物学技术以及先进的化学分析手段的引入,昆虫化学感受蛋白的深入研究将成为可能,也必将进一步阐明昆虫接受环境化学刺激因子分子机理,为防治害虫和利用益虫提供新思路和新途径。

参 考 文 献 (References)

- Angeli S, Ceron F, Scaloni A, Monti M, Monteforti G, Minnocci A, Petacchi R, Pelosi P, 1999. Purification, structural characterization, cloning and immunocytochemical localization of chemoreception proteins from *Schistocerca gregaria*. *Eur. J. Biochem.*, 262: 745-754.
- Anholt RR, Mackay TF, 2001. The genetic architecture of odor-guided behavior in *Drosophila melanogaster*. *Behav. Genet.*, 31: 17-27.
- Ban L, Scaloni A, Brandazza A, Angeli S, Zhang L, Yan Y, Pelosi P, 2003. Chemosensory proteins of *Locusta migratoria*. *Insect Mol. Biol.*, 12: 125-134.
- Ban L, Zhang L, Yan Y, Pelosi P, 2002. Binding properties of a locust's chemosensory protein. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 293(1): 50-54.
- Berman HM, Westbrook J, Feng Z, Gilliland G, Bhat TN, Weissig H, Shindyalov IN, Bourne PE, 2000. The protein data bank. *Nucleic Acids Res.*, 28: 35-242.
- Biessmann H, Walter MF, Dimitratos S, Woods D, 2002. Isolation of cDNA clones encoding putative odourant binding proteins from the antennae of the malaria-transmitting mosquito, *Anopheles gambiae*. *Insect Mol. Biol.*, 11: 123-132.
- Briand L, Swasdipan N, Nespoulous C, Bezirard V, Blon F, Huet JC, Ebert

- P, Pernollet JC, 2002. Characterization of a chemosensory protein (ASP3c) from honeybee (*Apis mellifera* L.) as a brood pheromone carrier. *Eur. J. Biochem.*, 269(18):4 586–4 596.
- Callahan FE, Vogt RG, Tucker ML, Dickens JC, Mattoo AK, 2000. High level expression of "male specific" pheromone binding proteins (PBP) in the antennae of female noctuid moths. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 30:507–514.
- Calvello M, Guerra N, Brandazza A, D'Ambrosio C, Scaloni A, Dani F, Turilazzi S, Pelosi P, 2003. Soluble proteins of chemical communication in the social wasp *Polistes dominulus*. *Cell Mol. Life Sci.*, 60(9):1 933–1 943.
- Campanacci V, Mosbah A, Bornet O, Wechselberger R, Jacquin-Joly E, Cambillau C, Darbon H, Tegoni M, 2001a. Chemosensory protein from the moth *Mamestra brassicae*: expression and secondary structure from 1H and 15N NMR. *Eur. J. Biochem.*, 268(17):4 731–4 739.
- Campanacci V, Spinelli S, Lartigue A, Lewandowsky C, Brown K, Tegoni M, Cambillau C, 2001b. Recombinant chemosensory protein (CSP2) from the moth *Mamestra brassicae*: crystallization and preliminary crystallographic study. *Acta Cryst.*, D57:137–139.
- Campanacci V, Krieger J, Bette S, Sturgis JN, Lartigue A, Cambillau C, Breer H, Tegoni M, 2001c. Revisiting the specificity of *Mamestra brassicae* and *Antheraea polyphemus* pheromone-binding proteins with a fluorescence binding assay. *J. Biol. Chem.*, 276:20 078–20 084.
- Campanacci V, Lartigue A, Haellberg BM, Jones TA, Giudici-Orticoni MT, Tegoni M, Cambillau C, 2003. Moth chemosensory protein exhibits drastic conformational changes and cooperativity on ligand binding. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100(9):5 069–5 074.
- Chiu SF, 1993. Principles of insect toxicology. Guangzhou: Guangdong Science and Technology Press. 1–5.
- Danty E, Briand L, Michard-Vanhée C, Perez V, Arnold G, Gaudemer O, Huet D, Huet JC, Ouali C, Masson C, Pernollet JC, 1999. Cloning and expression of a queen pheromone-binding protein in the honeybee: an olfactory-specific, developmentally regulated protein. *J. Neuroscience*, 19:7 468–7 475.
- Dyanov HM, Dzitoa SG, 1995. Method for attachment of microscopic preparations on glass for in situ hybridization, PRINS and in situ PCR studies. *BioTechniques*, 18(5):822–824.
- Foster SP, Harris MO, 1997. Behavioral manipulation methods for insect pest management. *Annu. Rev. Entomol.*, 42:123–126.
- Gyorgyi TK, Roby-Shemkovitz AJ, Lerner MR, 1988. Characterization and cDNA cloning of the pheromone binding protein from the tobacco hornworm, *Manduca sexta*: a tissue specific, developmentally regulated protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85:9 851–9 855.
- Ishida Y, Chiang V, Leal WS, 2002. Protein that makes sense in the Argentine ant. *Naturwissenschaften*, 89:505–507.
- Jacquin-Joly E, Vogt RG, Francois MC, Nagnan-Le MP, 2001. Functional and expression pattern analysis of chemosensory proteins expressed in antennae and pheromonal gland of *Mamestra brassicae*. *Chem. Senses*, 26:833–844.
- Jovelin R, Ajie BC, Phillips PC, 2003. Molecular evolution and quantitative variation for chemosensory behaviour in the nematode genus *Caenorhabditis*. *Molecular Ecology*, 12:1 325–1 337.
- Kim I, Lee KS, Ryu KS, Kim JW, Ahn MY, Lee HS, Sohn HD, Jin BR, 2003. Molecular cloning and expression of a cDNA encoding putative chemosensory protein from the mole cricket, *Gryllotalpa orientalis*. *Int. J. Indust. Entomol.*, 6(1):87–92.
- Kitabayashi AN, Arai T, Kubo T, Natori S, 1998. Molecular cloning of cDNA for p10, a novel protein that increases in the regenerating legs of *Periplaneta americana* (American cockroach). *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 28:785–790.
- Krieger J, Breer H, 1999. Olfactory reception in invertebrates. *Science*, 283:720–723.
- Lartigue A, Campanacci V, Roussel A, Larsson AM, Jones TA, Tegoni M, Cambillau C, 2002. X-ray structure and ligand binding study of a moth chemosensory protein. *J. Biol. Chem.*, 277(35):32 094–32 098.
- Li ZX, Zhou JJ, 2004. Cloning, identification and expression profiling of the cDNAs of odorant-binding proteins in the malaria mosquito, *Anopheles gambiae*. *Acta Entomol. Sin.*, 47(4):417–423.[李正西, Zhou JJ, 2004. 冈比亚按蚊嗅觉结合蛋白候选基因 cDNA 的克隆、鉴定及其表达型分析. *昆虫学报*, 47(4):417–423]
- Maleszka R, Stange G, 1997. Molecular cloning by a novel approach, of a cDNA encoding a putative olfactory protein in the labial palps of the moth *Cactoblastis cactorum*. *Gene*, 202:39–43.
- Mameli M, Tuccini A, Mazza M, Petacchi R, Pelosi P, 1996. Soluble proteins in chemosensory organs of phasmids. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 26:875–882.
- Marchese S, Angeli S, Andolfo A, Scaoni A, Brandazza A, Mazza M, Picimbon JF, Leal WS, Pelosi P, 2000. Soluble proteins from chemosensory organs of *Eurycantha calcarata* (Insects, Phasmatodea). *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 30:1 091–1 098.
- McDonald MJ, Rosbash M, 2001. Microarray analysis and organization of circadian gene expression in *Drosophila*. *Cell*, 107:567–578.
- McKenna MP, Hekmat-Scafe DS, Gaines P, Carlson JR, 1994. Putative *Drosophila* pheromone-binding proteins expressed in a subregion of the olfactory system. *J. Biol. Chem.*, 269(23):16 340–16 347.
- Monteforti G, Angeli S, Petacchi R, Minnocci A, 2002. Ultrastructural characterization of antennal sensilla and immunocytochemical localization of a chemosensory protein in *Carausius morosus* Brunner (Phasmida: Phasmatidae). *Arthropod Struct. Dev.*, 30:195–205.
- Mosbah A, Campanacci V, Lartigue A, Tegoni M, Cambillau C, Darbon H, 2003. Solution structure of a chemosensory protein from the moth *Mamestra brassicae*. *J. Biochem.*, 369(1):39–44.
- Nagnan-Le MP, Cain AH, Jacquin-Joly E, Francois MC, Ramachandran S, Maida R, Steinbrecht RA, 2000. Chemosensory proteins from the proboscis of *Mamestra brassicae*. *Chem. Senses*, 25:541–553.
- Oduol F, Xu J, Niare O, Natarajan R, Vernick KD, 2000. Genes identified by an expression screen of the vector mosquito *Anopheles gambiae* display differential molecular immune response to malaria parasites and bacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97:11 397–11 402.
- Paolini S, Marchese S, Scaloni A, Pelosi P, 1998. Amino acid sequence, post-translational modifications, binding and labelling of porcine odorant-binding protein. *Chem. Senses*, 23:689–698.
- Picimbon JF, Dietrich K, Angeli S, Scaloni A, Krieger J, Breer H, Pelosi P, 2000a. Purification and molecular cloning of chemosensory proteins

- from *Bombyx mori*. *Archives of Insect Biochem. Physiol.*, 44 : 120 – 129.
- Picimbon JF, Dietrich K, Breer H, Krieger J, 2000b. Chemosensory proteins of *Locusta migratoria* (Orthoptera: Acrididae). *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 30 : 233 – 241.
- Picimbon JF, Dietrich K, Krieger J, Breer H, 2001. Identity and expression pattern of chemosensory protein in *Heliothis virescens* (Lepidoptera, Noctuidae). *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 31(12) : 1 173 – 1 181.
- Picone D, Crescenzi O, Angeli S, Marchese S, Brandazza A, Ferrara L, Pelosi P, Scaloni A, 2001. Bacterial expression and conformational analysis of a chemosensory protein from *Schistocerca gregaria*. *Eur. J. Biochem.*, 268 : 4 794 – 4 801.
- Pikielny CW, Hasan G, Rouyer F, Rosbach M, 1994. Members of family of *Drosophila* putative odorant-binding proteins are expressed in different subsets of olfactory hairs. *Neuron*, 12 : 35 – 49.
- Pilpel Y, Lancet D, 1999. Olfaction : Good reception in fruitfly antennae. *Nature*, 398 : 285 – 287.
- Robertson HM, Martos R, Sears CR, Todres EZ, Walden KK, Nardi JB, 1999. Diversity of odourant binding proteins revealed by an expressed sequence tag project on male *Manduca sexta* moth antennae. *Insect Mol. Biol.*, 8 : 501 – 518.
- Sabatier L, Jouanguy E, Dostert C, Zachary D, Dimarcq JL, Bulet P, Imler JL, 2003. Pherokine-2 and -3. *Eur. J. Biochem.*, 270 : 3 398 – 3 407.
- Sandler BH, Nikonova L, Leal WS, Clardy J, 2000. Sexual attraction in the silkworm moth : structure of the pheromone-binding-protein-bombykol complex. *Chem. Biol.*, 7 : 143 – 151.
- Shanbhag SR, Hekmat-Scafe D, Kim MS, Park SK, Carlson JR, Pikielny C, Smith DP, Steinbrecht RA, 2001. Expression mosaic of odorant-binding proteins in *Drosophila* olfactory organs. *Microsc. Res. Tech.*, 55 : 297 – 306.
- Shyamala BV, Chopra A, 1999. *Drosophila melanogaster* chemosensory and muscle development : identification and properties of a novel allele of *scalloped* and of a new locus, SG18.1, in a Gal4 enhancer trap screen. *J. Genetics*, 78(2) : 87 – 97.
- Stathopoulos A, van Drenth M, Erives A, Markstein M, Levine M, 2002. Whole genome analysis of dorsal-ventral patterning in the *Drosophila* embryo. *Cell*, 111 : 687 – 701.
- van Loon JJA, 1996. Chemosensory basis of feeding and oviposition behaviour in herbivorous insects : a glance at the periphery. *Entomol. Exp. Appl.*, 80 : 7 – 13.
- Vogt RG, Riddiford LM, 1981. Pheromone binding and inactivation by moth antennae. *Nature*, 293 : 161 – 163.
- Vogt RG, Kohne AC, Dubnau JT, Prestwich GD, 1989. Expression of pheromone binding proteins during antennal development in the gypsy moth *Lymantria dispar*. *J. Neurosci.*, 9 : 3 332 – 3 346.
- Vogt RG, Rogers ME, Franco MD, Sun M, 2002. A comparative study of odorant binding protein genes : Differential expression of the PBP1-GOBP2 gene cluster in *Manduca sexta* (Lepidoptera) and the organization of OBP genes in *Drosophila melanogaster* (Diptera). *J. Exp. Biol.*, 205 : 719 – 744.
- Wang GR, Guo YY, Wu KM, 2002. Progress in the studies of antenna odorant binding proteins of insects. *Acta Entomologica Sinica*, 45(1) : 131 – 137. [王桂荣, 郭予元, 吴孔明, 2002. 昆虫触角气味结合蛋白的研究进展. *昆虫学报*, 45(1) : 131 – 137]
- Wanner KW, Willis LG, Theilmann DA, Isman MB, Feng QL, Plettner E, 2004. Analysis of the insect os-d-like gene family. *J. Chem. Ecol.*, 30(5) : 889 – 911.
- Zhong GH, Hu MY, Zhang YP, Zhou XM, 2000. Studies on extracts of rhododendron molle as oviposition deterrentants and ovicides against *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera : Plutellidae). *J. South China Agric. Univ.*, 21(3) : 40 – 44. [钟国华, 胡美英, 章玉苹, 周晓梅, 2000. 黄杜鹃提取物对小菜蛾的产卵忌避和杀卵作用. *华南农业大学学报*, 21(3) : 40 – 44]

(责任编辑:黄玲巧)