doi：10.3969/j.issn.1674－0858.2016.04.10

棉花粉蚧化学感受蛋白基因 *PsCSP*10 的克隆及表达谱分析

赵　洁，程代凤，陆永跃*

（华南农业大学昆虫学系，广东广州，510642）

摘要： 本研究克隆出了棉花粉蚧 *Phenacoccus solenopsis* Tinsley 化学感受蛋白（CSPs）基因 *PsCSP*10 的全长 cDNA（GenBank 登录号：KT958555），其核苷酸序列长 640 bp，编码 128 个氨基酸，预测其成熟蛋白分子量 14.99 kD，等电点 6.61，且含有 4 个保守的半胱氨酸，符合昆虫 CSPs 的典型特征。该基因编码的氨基酸序列和其他昆虫化学感受蛋白基因编码的氨基酸序列相似性为 50%－56%。应用 Real-time PCR 测定的结果表明棉花粉蚧各发育阶段中 *PsCSP*10 均有表达，但在雄成虫中的相对表达量显著高于其他发育阶段。在分别用扶桑 *Hibiscus rosa－sinensis* L.、棉花 *Gossypium hirsutum* L.、马缨丹 *Lantana camara* L. 饲养获得的雄成虫中 *PsCSP*10 相对表达量不存在差异。研究结果为进一步明确棉花粉蚧中 *PsCSP*10 的功能奠定了基础。

关键词： 棉花粉蚧；化学感受蛋白基因；克隆；序列分析；表达谱

中图分类号： Q963；S433　　**文献标识码：** A　　**文章编号：** 1674－0858（2016）04－0728－08

Molecular cloning and expression analysis of chemosensory protein gene *PsCSP*10 in *Phenacoccus solenopsis* Tinsley (Hemiptera: Pseudococcidae)

ZHAO Jie, CHENG Dai-Feng, LU Yong-Yue (Department of Entomology, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: In this study, one CSP gene in cotton mealybug *Phenacoccus solenopsis* Tinsley was cloned and characterized, and was named *PsCSP*10 (GenBank accession no.: KT958555). The *PsCSP*10 cDNA was 640 bp in length, encoding 128 amino acid residues with the predicated molecular mass of approximately 14.99 kD and pI of 6.61, of which four conservative cysteines were included. The alignment of *PsCSP*10 showed moderate similarity (50% －56%) with the CSP genes of other insects analyzed with the deduced amino acid sequences. By Real－time PCR analysis, PsCSP10 was revealed to express across various development stages, and the expression level was more in the male adult. The expression of *PsCSP*10 in the mealybug male adults fed on Chinese rose (*Hibiscus rosa-sinensis* L.), cotton (*Gossypium hirsutum* L.) and common lantana (*Lantana camara* L.), respectively, had not significant difference. The results became the basis for further research on *PsCSP*10 gene functions in *P. solenopsis*.

Key word: *Phenacoccus solenopsis* Tinsley; chemosensory protein gene; molecular cloning; sequence analysis; expression profile

昆虫在长期进化过程中形成了一套高度精细、灵敏的化学信息感受系统，用以识别来自外界环境、种间、种内的化学信息物质，从而进一步调控其寄主定位、寻偶、躲避不利环境等行为

基金项目：广东省自然科学基金（S2013010013526）；广东省研究生教育创新计划（2013JDXM14）

作者简介：赵洁，女，1990 年生，山西人，硕士研究生，研究方向为昆虫分子生态学，E－mail：zhaojie129scau@163.com

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

收稿日期 Received：2016－05－13；接受日期 Accepted：2016－06－30

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

(Craddock and Boake，1992；Shaver *et al.*，1998；Saverschek and Roces，2011)。气味结合蛋白(Odorant binding proteins，OBPs)及化学感受蛋白(Chemosensory proteins，CSPs)在这种化学感受机制中起着重要作用。与气味结合蛋白主要结合挥发性的气味分子和性信息素分子不同，化学感受蛋主要结合和运载非挥发性气味分子(Steinbrecht *et al.*，1995)。CSPs 广泛分布于几乎所有昆虫类群各种化学感受器中，且具有广泛的功能(刘金香等，2005；柳晓磊等，2011)，其分子进化保守性非常明显，同种昆虫或者不同目、科昆虫间化学感受蛋白同源性在 30% －90%；化学感受蛋白相对分子量平均 13 kD，多肽链有 4 个保守的半胱氨酸位点，形成两个二硫键，目前发现的昆虫化学感受蛋白均为单体，未发现翻译后修饰(Krieger and Breer，1999；Briand *et al.*，2002；Lartigue *et al.*，2002；Campanacci *et al.*，2003)。

棉花粉蚧 *Phenacoccus solenopsis* Tinsley 在巴基斯坦、印度等国暴发成灾(Muhammad *et al.*，2009)，2008 年 8 月我国大陆在广东广州首次发现其入侵为害(武三安和张润志，2009)，成为了我国新的入侵害虫，且对我国园林、果蔬和多种大田作物等的安全生产存在潜在的严重威胁(陆永跃等，2008；马骏等，2009)。该虫寄主范围广，危害多种重要经济作物(孙峰等，2011；孙峰和陆永跃，2011；Huang *et al.*，2013；王飞飞等，2014)；繁殖能力强，年发生世代多，种群增长潜力大(陆永跃等，2008；Ghulam *et al.*，2009；王超等，2014)，适应环境能力强(Nikam *et al.*，2010；Wang *et al.*，2010；关鑫等，2011；陈芳和陆永跃，2014a)。目前关于棉花粉蚧的研究大多集中在生物学、生态学方面(王飞飞等，2014；关鑫和陆永跃，2012；Zhou *et al.*，2013)，关于该虫化学感受蛋白基因已鉴定出 12 个相关基因(*PsolCSP*1 －*PsolCSP*12)，并进行了进化分析(赵洁和陆永跃，2015)，但对各个基因的表达模式、功能等还未见研究。本文在已有研究基础克隆得到了一个棉花粉蚧的化学感受蛋白基因 *PsCSP*10，并对该虫不同发育阶段、不同寄主饲养获得的雄成虫中该基因的表达规律进行了研究，为进一步研究明确该基因的功能奠定基础。

1　材料与方法

1.1　供试样品与试剂

供试棉花粉蚧为本实验室用新鲜扶桑叶饲养，饲养条件为：温度 28℃ ±1℃、相对湿度 70% ±5%、光周期为(L:D) 16 h:8 h。分别取卵、一龄若虫、二龄若虫、三龄若虫、雄成虫、雌成虫样品及其混合样品，经液氮冷冻后置于 －80 ℃冰箱中保存备用。棉花粉蚧转录组由北京诺和致源生物信息科技有限公司测定，转录组样本为各龄期混合样提取的 RNA。Ttizol 试剂、反转录试剂盒、载体 pGM －T、DNA 纯化回收试剂盒及 SuperReal 荧光定量预混试剂等均购自天根生化科技(北京)有限公司；所用引物自行设计并由生工生物科技有限公司(广州)合成，试剂盒、克隆感受态菌株 DH5α 购自宝生物工程(大连)有限公司。

寄主植物扶桑 *Hibiscus rosa* －*sinensis* L.、棉花 *Gossypium hirsutum* L.、马缨丹 *Lantana camara* L. 种植于实验室阳台上，常规管理，不使用任何药剂防治病虫害。将粉蚧饲养于寄主上，3 代之后分别取雄成虫样品，经液氮冷冻后置于 －80 ℃冰箱中保存备用。

1.2　棉花粉蚧不同发育阶段总 RNA 的提取及 cDNA 的合成

按照 Trizol 试剂使用说明书分别提取棉花粉蚧各发育阶段、各阶段混合样及不同寄主植物饲养获得的雄成虫的总 RNA，用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 的完整性，经 Nanodrop2000 Spectrophotometer(Thermo，USA)核酸浓度测定仪测定其浓度和纯度。按照 Fast Quant cDNA 第一链合成试剂盒的操作说明反转录合成第一链 cDNA，并稀释 2 倍保存在 －20 ℃冰箱备用，以此为荧光定量 PCR 模板。

1.3　引物的设计与合成

根据测得的棉花粉蚧转录组，棉花粉蚧化学感受蛋白 *PsCSP*10 基因序列(GenBank 登录号：KT958555)，利用 NCBI 中 prime blast(http：//www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer －blast/index.cgi?LINK_ LOC = BlastHome)设计 *PsCSP*10 的 3′RACE(CSP3′outer 和 CSP3′inner)和 5′RACE(CSP5′outer 和 CSP5′inner)。用于 real －time 定量 PCR 反应的特异性引物(CSP10F 和 CSP10R)、内参基因为 *α-tubulin*(GenBank 登录号：KJ909508)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

(陈芳和陆永跃，2014b)。引物序列如下:

表 1 用于 PCR 的引物序列

Table 1 Primers for PCR

引物名称 Primers name	引物序列 (5′-3′) Primer sequence
CSP3′outer	5′-GTCAGCGTTGCTTATGCCGA-3′
CSP3′inner	5′-CTTGCCCGAAGCCATCAAAA-3′
CSP5′outer	5′-GTTCTGGGTCCCATTTGTCCA-3′
CSP5′inner	5′-GGAGCGCATTCGGTTTTGAT-3′
α-tubulin-F	5′-CTGGTAAACACGTTCCCCGAG-3′
α-tubulin-R	5′-TGTAATGACCGCGAGCGTAG-3′
CSP10-F	5′-CGTCAGCGTTGCTTATGCC-3′
CSP10-R	5′-GTTTTGATGGCTTCGGGCAA-3′′

1.4 RACE 克隆 *PsCSP* 10 基因全长序列

根据 RACE 试剂盒操作步骤进行 3′和 5′RACE PCR 扩增，以各发育阶段混合样 RNA 反转的第一链 cDNA 为模版。将 3′和 5′ RACE PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳并割胶纯化，克隆于 pMD-T 载体内，然后转化到大肠杆菌 DH5α，挑取白色菌落，放入含有 100 μg/L 氨苄青霉素 (Amp) 的 LB 培养液震荡过夜，经菌液 PCR 鉴定后，送样测序 (生工生物工程 (上海) 股份有限公司)。将获得的片段进行拼接获得 *PsCSP*10 的全长 cDNA 序列。

1.5 定量 PCR 检测 *PsCSP*10 的时空表达

荧光定量 PCR 采用 20 μL 体系: 2 × SuperReal PreMix Plus 10 μL，正向引物、反向引物 (10 μmol/L) 各 0.6 μL，cDNA 模板 1 μL，50 × ROX Reference Dye Δ 0.4 μL，加水至 20 μL，混匀，轻微离心，反应在 Stratagene Mx3005P 实时荧光定量 PCR 仪中进行，反应条件为: 95 ℃预变性 10 min; 之后 95 ℃变性 30 s，54 ℃退火 30 s，72 ℃延伸 30 s，进行 40 个循环; 最后跟随一个生成溶解曲线的程序。检测过程中每个样品重复 3 次。

1.6 定量 PCR 检测 *PsCSP*10 在不同寄主饲养下雄成虫中表达

荧光定量 PCR 采用 20 μL 体系: 2 × SuperReal PreMix Plus 10 μL，正向引物、反向引物 (10 μmol/L) 各 0.6 μL，以 1 μL 扶桑、棉花、马缨丹饲养下雄成虫的 cDNA 为模板，50 × ROX Reference Dye 0.4 μL，加水至 20 μL，混匀，轻微离心，反应在 Stratagene Mx3005P 实时荧光定量 PCR 仪中进行，反应条件为同 1.5。

1.7 分析方法

应用 BLAST 比对方法比较化学感受蛋白氨基酸序列的相似度 (http: //blast. ncbi. nlm. nih. gov/Blast. cgi); 基于沙漠蝗化学感受蛋白 CSP-sg4: A 三维结构 2gvs. 1. A 模板，利用在线网站 swiss-model (http: //www. swissmodel. expasy. org/) 预测基因编码蛋白三维结构; 利用 $2^{-\triangle\triangle Ct}$ 法相对定量的方法，以卵中表达量为标准，研究 *PsCSP*10 在棉花粉蚧卵、1 龄若虫、2 龄若虫、3 龄若虫、雄成虫、雌成虫中的相对表达量及不同寄主饲养获得的雄虫中的相对表达量。

2 结果与分析

2.1 棉花粉蚧 *PsCSP*10 基因克隆及序列分析

通过 3′和 5′RACE PCR 克隆得到棉花粉蚧化学感受蛋白 *PsCSP*10 的全长基因，序列分析表明 *PsCSP*10 cDNA 全长为 640 bp，包括 94 bp 的 5′非翻译区，158 bp 的 3′非翻译区，以及 387 bp 的开放阅读框，编码 128 个氨基酸残基 (包括 N 端 29 个氨基酸的信号肽) (图 1)。成熟蛋白预测分子量为 14.99 kD，等电点为 6.61。利用 BLAST 对 *PsCSP*10 的同源蛋白进行搜索、对氨基酸序列的多重比对结果表明该基因编码的成熟肽中含有 4 个保守的半胱氨酸位点，具昆虫化学感受蛋白的典型特征。

通过 BLAST 比对发现棉花粉蚧 *PsCSP*10 与半翅目昆虫烟粉虱 *Bemisia tabaci* (GenBank 登录号: AEY84055. 1)、绿盲蝽 *Apolygus locorum* (GenBank 登录号: AGD80085. 1)、褐飞虱 *Nilaparvata lugens* (GenBank 登录号: ACJ64054. 1) 化学感受蛋白氨基酸序列的相似度分别为 50%、51%、52%; 与鳞翅目昆虫棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (GenBank 登录号: AFR92095. 1)、甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* (GenBank 登录号: AKT26484. 1)、大螟 *Sesamia inferens* (GenBank 登录号: AGY49265. 1)、小地老虎 *Agrotis ipsilon* (GenBank 登录号: AGR39573. 1) 化学感受蛋白氨基酸序列的相似度分别为 50%、52%、52%、52%; 与双翅目昆虫致倦库蚊 *Culex quinquefasciatus* (GenBank 登录号: XP_001844696. 1)、厩螯蝇 *Stomoxys calcitrans* (GenBank 登录号: ADG96052. 1) 化学感受蛋白氨基酸序列的相似度分别为 56%、53%; 与鞘翅

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

目昆虫稻水象甲 *Lissorhoptrus oryzophilus*（GenBank 登录号：AHE13802.1）、暗黑鳃金龟 *Holotrichia parallela*（GenBank 登录号：AKI84394.1）化学感受蛋白氨基酸序列的相似度分别为 55%、50%（表 2、图 2）。

图 1　*PsCSP*10 cDNA 及其推导的氨基酸序列

Fig. 1.　cDNA and predicted amino acid sequences of *PsCSP*10

注：终止子以* 号表示，下划线表示 N 端推导的信号肽。Note: The stop codon is indicated by an asterisk. Putative signal peptides at the N-termini are underlined

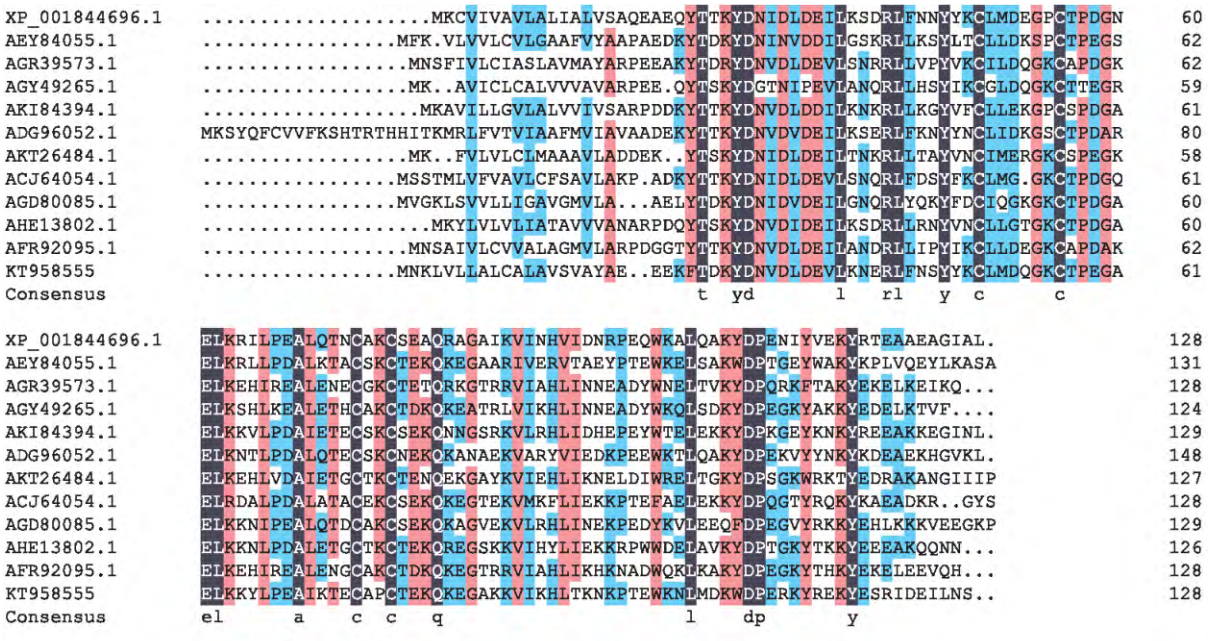

图 2　*PsCSP*10 和其他昆虫化学感受蛋白的全氨基酸序列比对

Fig. 2　Alignment of full amino acid sequences from *PsCSP*10 and chemosensory proteins of other insects

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

表 2 棉花粉蚧 *PsCSP*10 氨基酸序列与其他昆虫种类化学感受蛋白氨基酸序列的一致性

Table 2 Amino acid sequence identities of chemosensory proteins from *PsCSP*10 and other insects

基因 Gene	昆虫种类 Species	GenBank 登录号 GenBank accession no.	蛋白名称 Protein name	最高一致性（%） Maximal identity	E 值 E value
	致倦库蚊 *Culex quinquefasciatus*	XP_ 001844696. 1	*CquiCSP*	56	4e-43
	烟粉虱 *Bemisia tabaci*	AEY84055. 1	*BtabCSP*1	50	6e-39
	棉铃虫 *Helicoverpa armigera*	AFR92095. 1	*HarmCSP*11	50	9e-36
	稻水象甲 *Lissorhoptrus oryzophilus*	AHE13802. 1	*LoryCSP*6	55	9e-36
	绿盲蝽 *Apolygus lucorum*	AGD80085. 1	*AlucCSP*5	51	8e-36
*PsCSP*10	甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua*	AKT26484. 1	*SexiCSP*7	53	4e-36
	暗黑鳃金龟 *Holotrichia parallela*	AKI84394. 1	*HparCSP*11	50	3e-36
	大螟 *Sesamia inferens*	AGY49265. 1	*SinfCSP*	52	2e-36
	厩螯蝇 *Stomoxys calcitrans*	ADG96052. 1	*ScalCSP*	53	4e-36
	褐飞虱 *Nilaparvata lugens*	ACJ64054. 1	*NlugCSP*8	52	5e-36
	小地老虎 *Agrotis ipsilon*	AGR39573. 1	*AipsCSP*3	52	1e-38

2. 2 *PsCSP*10 蛋白三维结构预测

应用 Swiss-model 预测得到了 *PsCSP*10 编码蛋白三维结构，表明其三维结构与其他昆虫的 *PsCSP* 编码蛋白一样主要形成 α-螺旋（图 3）。

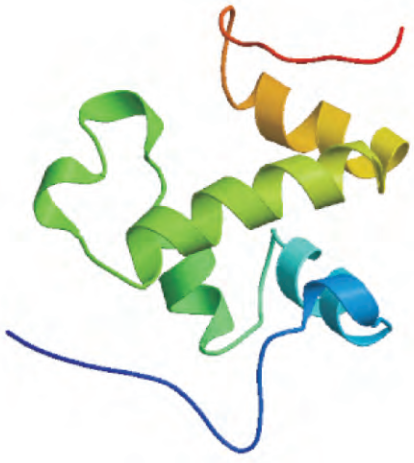

图 3 预测的 *PsCSP*10 编码蛋白的三维结构

Fig. 3 The predicted three – dimensional structure of *PsCSP*10

2. 3 *PsCSP*10 基因的表达特征

各个虫期中 *PsCSP*10 均有表达，在雄成虫中的相对表达量显著高于其他发育阶段（ANOVA，$F = 37.430$，$df = 17$，$P = 0.000$；图 4）。而在扶桑、棉花、马缨丹 3 种植物上分别饲养 3 代之后的雄成虫中 *PsCSP*10 的表达量无显著差异（ANOVA，$F = 0.472$，$df = 8$，$P = 0.645$；图 5）。

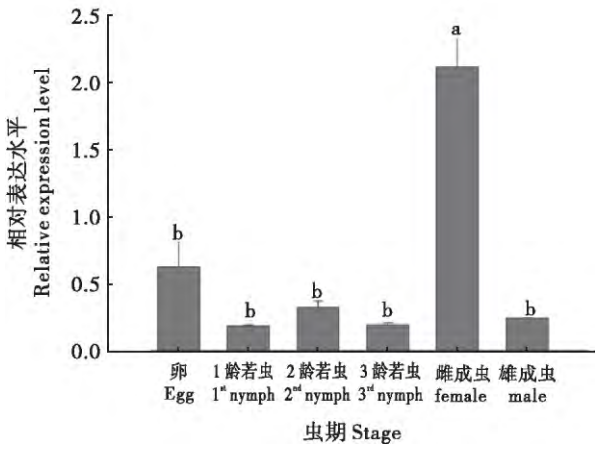

图 4 棉花粉蚧不同发育阶段 *PsCSP*10 的相对表达水平

Fig. 4 Relative mRNA expression levels of the *PsCSP*10 in different development stages

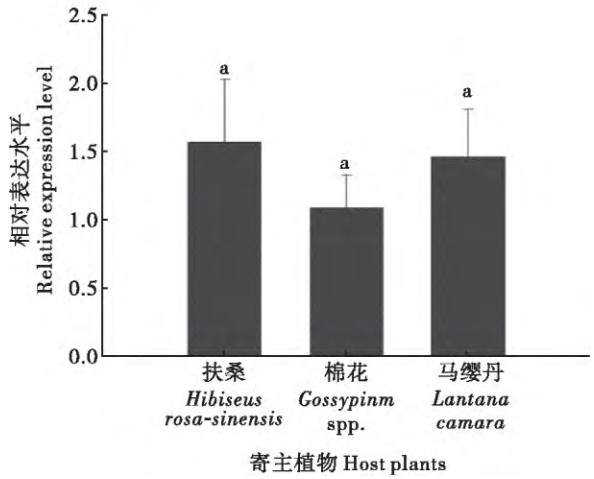

图 5 不同寄主饲养的棉花粉蚧雄成虫中 *PsCSP*10 的相对表达水平

Fig. 5 Relative mRNA expression levels of the *PsCSP*10 in male adults feed on different host plants

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

3　讨论

本研究应用 real time-PCR 和 RACE 技术克隆了编码棉花粉蚧化学感受蛋白 *PsCSP*10 的 cDNA 全长序列，经 BLASTX 分析结果显示该基因编码的氨基酸序列与其他半翅目、鳞翅目、双翅目、鞘翅目等多种昆虫化学感受蛋白的氨基酸序列一致性均在 50% －56%，可见在以上多个类群昆虫中化学感受蛋白结构相对保守。*PsCSP*10 与其他昆虫化学感受蛋白氨基酸序列中有 19 个氨基酸完全保守，推测这些氨基酸残基对维持化学感受蛋白的功能可能起着重要的作用，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（刘金香等，2005；柳晓磊等，2011）。

昆虫化学感受蛋白二级拓扑结构主要由 α-螺旋构成（Picimbon *et al.*，2000；Lartigue *et al.*，2002；Briand *et al.*，2002；刘金香等，2005）。本研究预测了 *PsCSP*10 编码蛋白空间结构，其建模模板为沙漠蝗跗节化学感受蛋白 CSP－sg4。其分子内 4 个保守的半胱氨酸两两相连构成两个二硫键，是典型的 α-螺旋，整个分子呈球形状（Picone *et al.*，2001）。*PsCSP*10 编码的蛋白三维结构与其他化学感受蛋白一样都主要是 α-螺旋。可见二硫键和 α-螺旋在昆虫化学感受蛋白中是相当普遍和保守的。

目前发现 CSPs 广泛存在于各种昆虫中，且在触角、喙、性腺、下唇须、跗节、复眼等多个组织部位中都有广泛的表达（Maleszka and Stange，1997；Angeli *et al.*，1999；Nagan－Le *et al.*，2000；Jacquin－Joly *et al.*，2001；Gong *et al.*，2007）。CSPs 不仅可以溶解运输不容化学感受器亲脂性配体，同时还可调节昆虫生长发育、生理节律，参与体内免疫、信号传导等多项生理功能（Mcdonaid and Rosbash，2001；Lartigue *et al.*，2002；Monteforti *et al.*，2002；Sandoz *et al.*，2003；Wanner*et al.*，2004；Ozaki*et al.*，2005；徐浩智等，2015）。多种昆虫中 CSPs 表达规律研究已完成，可根据 CSPs 表达情况初步推测 CSPs 所行使的功能。本研究表明棉花粉蚧不同发育阶段 *PsCSP*10 均能表达，尤以雄成虫中表达量最大，而扶桑、棉花、马缨丹等不同寄主上雄成虫中 *PsCSP*10 表达量无差异。棉花粉蚧雄成虫存活期较短，仅为 2－4 d，在与雌成虫交配后 1－2 d 便死亡；雄性棉花粉蚧在交配过程起着主导作用，通过飞行、爬动寻找雌性成虫交配（朱艺勇等，2011）。因此，推测 *PsCSP*10 与识别寄主挥发物质可能无关，而可能与雄虫接受雌虫化学信息、调节生长发育或者其他生理过程等有关。

参考文献（References）

Angeli S，Ceron F，Scaloni A，*et al.* Purification，structural characterization，cloning and immunocytochemical localization of chemoreception proteins from *Schistocerca gregaria* [J]. *European Journal of Biochemistry*，1999，262：745－754.

Briand L，Swasdipan N，Nespoulous C，*et al.* Characterization of a chemosensory protein（ASP3）from honeybee（*Apis mellifera* L.）as a brood pheromone cagier [J]. *European Journal of Biochemistry*，2002，269（18）：4586－4596.

Campanacci V，Lartigue A，Hallberg BM，*et al.* Moth chemosensory protein exhibits drastic conformational changes and cooperativity on ligand binding [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*，2003，100（9）：5069－5074.

Chen F，Lu YY. Expression analysis of heat shock protein genes in *Phenacoccus solenopsis*（Hemiptera：Pseudococcidae）under temperature stress [J]. *Acta Entomologica Sinica*，2014a，57（11）：1253－1264.［陈芳，陆永跃. 温度胁迫下棉花粉蚧热激蛋白基因的表达分析 [J]. 昆虫学报，2014a，57（11）：1253－1264］

Chen F，Lu YY. Selection of reference genes in *Phenacoccus solenopsis*（Hemiptera：Pseudococcidae）under heat stress [J]. *Acta Entomologica Sinica*，2014b，57（10）：1146－1154.［陈芳，陆永跃. 热胁迫下棉花粉蚧内参基因的筛选 [J]. 昆虫学报，2014b，57（10）：1146－1154］

Craddock EM，Boake CRB. Onset of vitellogenesis in female *Drosophila silvestris* is accelerated in the presence of sexually mature males [J]. *Journal of Insect Physiology*，2002，38（4）：387－397.

Ghulam MA，Zafarullah S，Muhammad S. Seasonal history and biology of cotton mealy bug，*Phenacoccus solenopsis* Tinsley [J]. *Journal of Agriculture Research*，2009，47（4）：423－431.

Gong DP，Zhang HJ，Zhao P，*et al.* Identification and expression pattern of the chemosensory protein gene family in the sileworm，*Bombyx mori* [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*，2007，37（3）：266－277.

Guan X，Lu YY. Study on body length，body width and morphological characteristics of *Phenacoccus solenopsis* Tinsley fed on cotton [J]. *Journal of Anhui Agriculture Sciences*，2012，40（1）：261－262.［关鑫，陆永跃. 棉花上扶桑绵粉蚧各虫态体长、体宽与形态特征研究 [J]. 安徽农业科学，2012，40（1）：261－262］

Huang J，Zhang PJ，Zhang J，*et al.* Chlorophyll content and chlorophyll fluorescence in tomato leaves infested with an invasive mealybug，*Phenacoccus solenopsis*（Hemiptera：Pseudococcidae）[J]. *Environmental Entomology*，2013，42（5）：973－979.

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

Jacquin – Joly E, Vogt RG, Francois MC, *et al*. Functional and expression pattern analysis of chemosensory proteins expressed in antennae and pheromonal gland of *Mamestra brassicae* [J]. *Chemical Senses*, 2001, 26: 833 – 844.

Krieger J, Breer H. Olfactory reception in invertebrates [J]. *Science*, 1999, 283: 720 – 723.

Lartigue A, Campanacci V, Roussel A, *et al*. X – ray structure and ligand binding study of a moth chemosensory protein [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2002, 277 (35): 32094 – 32098.

Li N, Zhang S, Luo LM, *et al*. Gene cloning, temporal expression analysis and binding characteristics of chemosensory protein AgosCSP2 in *Aphis gossypii* (Glover) [J]. *Cotton Science*, 2014, 26 (3): 228 – 236. [李娜, 张帅, 雒珺瑜, 等. 棉蚜化学感受蛋白 AgosCSP2 的基因克隆、时空表达动态及气味结合蛋白结合特征分析 [J]. 棉花学报, 2014, 26 (3): 228 – 236]

Liu JX, Zhong GH, Xie JJ, *et al*. Recent advances in chemosensory proteins of insects [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 48 (3): 418 – 426. [刘金香, 钟国华, 谢建军, 等. 昆虫化学感受蛋白研究进展 [J]. 昆虫学报, 2005, 48 (3): 418 – 426]

Liu XL, Weng QF, Hu MY, *et al*. Evolution analysis of the insect chemosensory protein gene family [J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2011, 30 (2): 177 – 181. [柳晓磊, 翁群芳, 胡美英, 等. 昆虫化学感受蛋白基因的进化分析 [J]. 华中农业大学学报, 2011, 30 (2): 177 – 181]

Lu YY, Zeng L, Wang L, *et al*. Precaution of solenopsis mealybug *Phenacoccus solenopsis* Tinsley [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2008, 30 (4): 386 – 387. [陆永跃, 曾玲, 王琳, 等. 警惕一种危险性绵粉蚧入侵中国 [J]. 环境昆虫学报, 2008, 30 (4): 386 – 387]

Ma J, Hu XN, Liu HJ, *et al*. *Phenacoccus solenopsis* Tinsley was discovered on the China rose in Guangzhou [J]. *Plant Quarantine*, 2009, 23 (2): 35 – 36. [马骏, 胡学难, 刘海军, 等. 广州扶桑上发现扶桑绵粉蚧 [J]. 植物检疫, 2009, 23 (2): 35 – 36]

Maleszka R, Stange G. Molecular cloning by a novel approach, of acDNA encoding a putative olfactory protein in the labial palps of the moth *Cactoblastis cactorum* [J]. *Gene*, 1997, 202: 39 – 43.

Mcdonaid MJ, Rosbash M. Microarray analysis and organization of circadian gene expression *Drosophila* [J]. *Cell*, 2001, 107 (5): 567 – 578.

Monteforti G, Angeli S, Petacchi R, *et al*. Ultrastructural characterization of antennal sensilla and immunocytochemical localization of a chemosensory protein in *Carausius morosus* Brünner (Phasmida: Phasmatidae) [J]. *Arthropod Structure & Development*, 2002, 30: 195 – 205.

Muhammad IA, Muhammad R, Abdul G. Host plants of cotton mealybug (*Phenacoccus solenopsis*): A new menace to cotton agroecosystem of Punjab, Pakistan [J]. *International Journal of Agriculture and Biology*, 2009, 11 (2): 163 – 167.

Nagnan – Le MP, Cain AH, Jacquin – Joly E, *et al*. Chemosensory proteins from the proboscis of *Mamestra brassicae* [J]. *Chemical Senses*, 2000, 25: 541 – 553.

Nikam ND, Patel BH, Korat DM. Biology of invasive mealy bug, *Phenacoccus solenopsis* Tinsley (Hemiptera: Pseudococcidae) on cotton [J]. *Karnataka Journal of Agricultrue Sciences*, 2010, 23 (4): 649 – 651.

Ozaki M, Wade KA, Fujikawa K, *et al*. Ant nestmate and non – nestmate discrimination by a chemosensory sensillum [J]. *Science*, 2005, 309 (5732): 311 – 314.

Picimbon JF, Dietrich K, Angeli S, *et al*. Purification andmolecular cloning of chemosensory proteinsfrom *Bombyxmori* [J]. *Archives of Insect Biochem Physiol*., 2000, 44: 120 – 129.

Sandoz JC, Galizia CG, Menzel R. Side – specific olfactory conditioning leads to more specific odor representation between sides but not within sides in the honeybee antennal lobes [J]. *Neuroscience*, 2003, 120 (4): 1137 – 1148.

Saverschek N, Roces F. Foraging learcutter ants: Olfactory memory underlies delayed avoidance of plants unsuitable for the symbiotic fungus [J]. *Animal Behaviour*, 2011, 82 (3): 453 – 458.

Shaver SA, Varnam CJ, Hilliker AJ, *et al*. The foraging gene affects adult but not larval olfactory – related behavior in *Drosophila melanogaster* [J]. *Behavioural Brain Research*, 1998, 95 (1): 23 – 29.

Steinbrecht RA, Laue M, Ziegelberger G. Immunolocalization of pheromone – binding protein and generalodorant binding protein in olfactory sensilla of the silk moths *Antheraea* and *Bombyx* [J]. *Cell Tissue Res*, 1995, 282: 203 – 217.

Sun F, Guan X, Lu YY. Research on individual equivalency of *Phenacoccus solenopsis* Tinsley based on biomass and its application [J]. *China Plant Protection*, 2011, 31 (8): 5 – 7. [孙峰, 关鑫, 陆永跃. 基于生物量的扶桑绵粉蚧虫口当量研究及应用 [J]. 中国植保导刊, 2011, 31 (8): 5 – 7]

Sun F, Lu YY. A new invasive mealybug, *Phenacoccus solenopsis*, could cause serious damage to cotton plants [J]. *China Cotton*, 2011, 38 (2): 1920. [孙峰, 陆永跃. 新入侵害虫扶桑绵粉蚧严重危害棉花 [J]. 中国棉花, 2011, 38 (2): 19 – 20]

Tinsley JD. Notes on *Coccidae*, with descriptions of new species [J]. *Canadian Entomologist*, 1898, 30: 317 – 320.

Wang C, Chen F, Lu YY. Study on the male fecundity of an alien invasive pest, cotton mealybug *Phenacoccus solenopsis* Tinsley (Hemiptera: Pseudococcidae) [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2014, 36 (5): 661 – 666. [王超, 陈芳, 陆永跃. 外来入侵害虫棉花粉蚧雄虫生殖能力研究 [J]. 环境昆虫学报, 2014, 36 (5): 661 – 666]

Wang FF, Zhu YY, Huang F, *et al*. Effects of temperature on the development and reproduction of *Phenacoccus solenopsis* (Hemiptera: Pseudococcidae) [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2014, 57 (4): 436 – 442. [王飞飞, 朱艺勇, 黄芳, 等. 温度对扶桑绵粉蚧生长发育的影响 [J]. 昆虫学报, 2014, 57 (4): 436 – 442]

Wang YP, Watson GW, Zhang RZ. The potential distribution of an invasive mealybug *Phenacoccus solenopsis* and its threat to cotton in Asia [J]. *Agricultural and Forest Entomology*, 2010, 12 (4): 403 – 416.

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

Wanner KW，Willis LG，Theilmann DA，*et al*. Analysis of the insect os-d like gene family [J]. *Journal of Chemical Ecology*，2004，30（5）：889－911.

Wu SA，Zhang RZ. A new invasive pest，*Phenacoccus solenopsis*，threatening seriously to cotton production [J]. *Chinese Bulletin of Entomology*，2009，46（1）：159－162. [武三安，张润志. 威胁棉花生产的外来入侵新害虫—扶桑绵粉蚧 [J]. 昆虫知识，2009，46（1）：159－162]

Xu HZ，You YW，Zhang L. A review on chemosensory protein and its functions in insects [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*，2015，23（1）：118－125. [徐浩智，游银伟，张龙. 昆虫化学感受蛋白及其功能研究进展 [J]. 农业生物技术学报，2015，23（1）：118－125]

Zhao J，Lu YY. Identification and analysis ofchemosensory protein gene in *Phenacoccus solenopsis* Tinsley（Hemiptera：Pseudococcidae）[J]. *Guangdong Agricultural* Sciences，2015，42（12）：121－127. [赵洁，陆永跃. 棉花粉蚧化学感受蛋白基因的鉴定与进化分析. 广东农业科学，2015，42（12）：121－127.]

Zhou AM，Lu YY，Zeng L，*et al*. Effect of host plant on honeydew production of an invasive mealybug，*Phenacoccus solenopsis*（Hemiptera：Pseudococcidae）[J]. J*ournal of Insect Behavior*，2013，26（2）：191－199.

Zhou JJ，Kan YM，Antoniw J，*et al*. Genome and EST analyses and expression of a gene family with putative functions in insect chemoreception [J]. *Chemical Senses*，2006，31（5）：453－465.

Zhu YY，Huang F，Lv YB. Bionomics of mealybug *Phenacoccus solenopsis* Tinsley（Hemiptera：Pseudococcidae）on cotton [J]. *Acta Entomologica Sinica*，2011，54（2）：246－252. [朱艺勇，黄芳，吕要斌. 扶桑绵粉蚧生物学特性研究 [J]. 昆虫学报，2011，54（2）：246－252]

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net