

DOI: 10.3969/j.issn.2095-1787.2024.03.006

Bdfor 对橘小实蝇联系性颜色学习的影响

杨浩存, 魏冰冰, 张桂健, 邱辰旭, 郭 彤, 牛长缨*

华中农业大学植物科学技术学院, 湖北 武汉 430070

摘要:【目的】从橘小实蝇中鉴定 *Bdfor* 基因, 研究其对橘小实蝇联系性颜色学习的影响, 解析昆虫联系性颜色学习的内在机制。【方法】根据黑腹果蝇 *Dmfor* 基因, 结合橘小实蝇基因组和 NCBI 数据库, 筛选出橘小实蝇 *Bdfor* 基因序列, 并进行生物信息学分析和克隆测序验证; 同时, 对橘小实蝇进行联系性颜色学习试验, 利用 RNAi 技术靶向沉默 *Bdfor* 基因后, 观察其对橘小实蝇联系性颜色学习的影响。【结果】成功筛选出橘小实蝇 *Bdfor*, 其编码的 for 蛋白与 3 种实蝇科昆虫辣椒实蝇、橄榄实蝇、地中海实蝇的 for 蛋白聚为一族, 含有 1 个 STKs 结构域和 2 个 CAP-ED 结构域。此外, 橘小实蝇具备一定的联系性学习能力, 当以绿色或蓝色为条件刺激和蔗糖配对, 进行奖励学习时, 橘小实蝇可将绿色或蓝色和蔗糖相联系, 进行颜色学习, 改变自身趋性。当以黄色为条件刺激和奎宁配对, 进行惩罚学习时, 橘小实蝇也可将黄色和奎宁相联系, 同样进行颜色学习并改变趋性。然而, 在靶向沉默 *Bdfor* 后, 这种学习能力便消失或减弱。【结论】*Bdfor* 影响橘小实蝇联系性颜色学习行为, 这一结果为进一步开发害虫防治新技术提供了依据。

关键词: 橘小实蝇; *Bdfor* 基因; 联系性颜色学习; RNA 干扰



开放科学标识码
(OSID 码)

Effects of *Bdfor* on associative color learning of *Bactrocera dorsalis*

YANG Haocun, WEI Bingbing, ZHANG Guijian, QIU Chenxu, GUO Tong, NIU Changying*

College of Plant Science & Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan, Hubei 430070, China

Abstract:【Aim】In this study, the *Bdfor* was identified to further explore the effects on associative color learning of *Bactrocera dorsalis*.【Method】Based on *Drosophila melanogaster* gene *Dmfor*, the *Bdfor* was screened out from *B. dorsalis* genomics and transcriptomics database in NCBI and then performed bioinformatics analysis. Meantime, the behavioral bioassay on associative color learning of *B. dorsalis* adults as well as RNAi silence experiments were carried out.【Result】The *B. dorsalis* *Bdfor*, which contains a STKs protein domain and two CAP-ED protein domains, was screened out successfully and the amino acid sequence of this gene was similar with that of *B. latifrons*, *B. oleae*, and *Ceratitis capitata*. In addition, the results showed that *B. dorsalis* has the ability of associative color learning. After pairing green or blue with sucrose, and yellow with water in petri dishes for reward learning, the tendency of *B. dorsalis* to green or blue was significantly increased. Meanwhile, pairing yellow with quinine and green or blue with water in petri dishes for punitive learning, the yellow preference of *B. dorsalis* decreased significantly. However, this ability of associative color learning in *B. dorsalis* was significantly reduced or disappeared by RNAi experiments.【Conclusion】Silencing *Bdfor* impaired the color learning in the flies which offers evidence for developing new management against insect pests.

Key words: *Bactrocera dorsalis*; *Bdfor* gene; associative color learning; RNAi

昆虫在应对复杂多变的环境条件时,可根据之前的取食和寄生经历改变之后的行为,即表现出学习行为(Nielsen *et al.*, 2018)。昆虫的学习行为主要包括习惯性反应、厌恶性学习、敏感性反应、嗜好性诱导和联系性学习 5 种(Papaj & Prokopy, 1989)。其中,联系性学习行为是昆虫最高等、最复杂的行为,即通过同时持续给予昆虫一种条件刺激(conditioned stimulus)和一种非条件刺激(unconditioned stimulus)后,在只感受到条件刺激后不需要非条件刺激就可以引发非条件反射的行为(Pearce

收稿日期(Received): 2023-12-03 接受日期(Accepted): 2024-05-29

基金项目: 国家自然科学基金项目(32272529、31661143045、31972270); 云南省果蔬花入侵害虫防控国际联合实验室专项(202303AP140018)

作者简介: 杨浩存,男,硕士研究生。研究方向: 昆虫生理生化及分子生物学。E-mail: yhc707@163.com

* 通信作者(Author for correspondence), 牛长缨, E-mail: niuchangying@mail.hzau.edu.cn

& Bouton, 2001; Wasserman & Miller, 1997)。

Foraging (简称 *for*) 基因最早在黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* (Meigen) 中被发现 (Belle *et al.*, 1989), 具有功能多效性, 包括调控觅食行为、社会行为、睡眠、营养吸收及学习和记忆等 (Anreiter & Sokolowski, 2019)。其中, *for* 通过编码昆虫大脑神经通路 NO-cGMP-PKG 信号级联中的 cGMP 依赖性蛋白激酶 (PKG), 调控昆虫的学习行为 (Mery *et al.*, 2007)。如黑腹果蝇成虫将电击刺激与气味相耦合后, 可将辛醇和甲基环己醇与电击相联系, 进而在 T 型迷宫中选择正确的方向以避免电击, 而果蝇成虫中嗅觉学习能力较差的个体可通过过表达 *for* 提高学习能力 (Mery *et al.*, 2007)。

橘小实蝇 *Bactrocera dorsalis* (Hendel), 又名东方果实蝇, 属双翅目 Diptera 实蝇科 Tephritidae 果实蝇属 *Bactrocera*, 是一种多食性害虫, 危害 250 余种果蔬 (Jayanthi & Verghese, 2011)。其在寄主果实内产卵, 幼虫孵化后于果实内取食为害 (刘奎等, 2016)。橘小实蝇分布范围广泛, 起源于南亚, 已入侵扩散到非洲、欧洲和太平洋等地区, 据报道, 目前橘小实蝇已入侵我国 22 个省 (王雁楠等, 2020)。其世代周期短、寄主范围广、扩散能力强、防治困难, 给全球果蔬市场造成了严重损失 (Clarke *et al.*, 2005)。Wang *et al.* (2022) 在研究实蝇类昆虫颜色偏好中发现, 在非偏好颜色区域中加入最适寄主植物的气味能影响偏好颜色对橘小实蝇的吸引。但目前对橘小实蝇颜色学习调控机制的研究甚少, 本研究通过筛选橘小实蝇 *Bdfor* 基因序列, 对其进行生物信息学分析; 同时通过橘小实蝇行为学试验, 探究橘小实蝇的联系性颜色学习行为及 *Bdfor* 基因在其中的作用, 以期丰富昆虫联系性颜色学习的内在机制, 为探索橘小实蝇新的防治方法提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

橘小实蝇由华中农业大学植物科技学院昆虫生理生化实验室提供, 为已连续稳定饲养 50 代左右的室内种群。成虫饲养于纱制昆虫笼 (30 cm × 30 cm × 40 cm) 中, 使用人工饲料喂养 (酵母粉: 胰蛋白胨: 蔗糖质量比为 1.0 : 1.5 : 6.0), 饲养温度 25~27 °C, 相对湿度 60%~80%, 光周期 12L : 12D。

1.2 橘小实蝇 *Bdfor* 的筛选与生物信息学分析

利用实验室已建立的橘小实蝇基因组数据库,

结合 NCBI 数据库, 比对模式昆虫黑腹果蝇的 *for* 基因 *Dmfor*, 筛选相似度最高的 mRNA 序列, 记为 “*Bdfor*”。同时, 利用 NCBI 数据库, 根据氨基酸序列相似度筛选出适宜物种的 *Dmfor* 基因的同源序列, 分析它们与 *Bdfor* 基因表达蛋白之间的亲缘关系。采用 MEGA 7.0 软件进行建树分析, 首先使用 ClustalW 法对原始蛋白序列进行比对分析, 删除含空位较多的序列, 然后使用邻域连接法构建系统发育树, Bootstrap 取样值为 1000。并将相对亲缘关系近的物种以及 *Dmfor* 蛋白序列和 *Bdfor* 蛋白序列进行多重比对分析。

1.3 橘小实蝇 *Bdfor* 的克隆与 dsRNA 的合成

分别对橘小实蝇雌雄成虫进行总 RNA 提取, 具体操作见 TaKaRa 公司的总 RNA 提取说明书, 核酸蛋白分析仪 NanoDrop 2000 测定其浓度和质量。依照反转录试剂盒 (ReverAid First Stand cDNA Synthesis Kit, Thermo) 说明书进行反转录合成 cDNA。

通过 Primer 5 软件设计引物, 以 cDNA 为模板, 进行 PCR 扩增, 反应程序为 98 °C 5 min, 98 °C 10 s, 55 °C 30 s, 72 °C 40 s, 30 个循环, 72 °C 10 min。扩增产物用 TaKaRa 公司的 pMD 18-Tvector 进行连接-转化试验。对菌液进行测序 (北京擎科生物科技公司), 并返还质粒, 使用 BioEdit 软件将测序结果和预选目的基因 *Bdfor* 进行比对, 若无差异或个别碱基有差异则进行下一步试验。

以测序正确的菌液作为 DNA 模板进行 PCR 扩增, 合成 T7-DNA, 使用 T7 Polymerase (Thermo Scientific) RNA 聚合酶合成 dsRNA 并纯化, 然后用核酸蛋白分析仪 NanoDrop 2000 测定其浓度, 最终定容至 1000 ng · μL⁻¹。

1.4 橘小实蝇联系性颜色学习

黄色是橘小实蝇趋向性最强的颜色, 而绿色和蓝色趋向性较次 (Li *et al.*, 2017)。参照 Wu *et al.* (2007), 使用直径 15 cm、高 2 cm, 并打有小孔的圆形培养皿为试验装置, 在培养皿底部分别贴上黄色与绿色、黄色与蓝色的纸 (图 1), 彩纸使用 Adolbe 红-绿-蓝 (red-green-blue, RGB) 色彩模式数值和青-洋红-黄-黑 (cyan-magenta-yellow-black, CMYK) 印刷色彩模式数值 (表 1)。在橘小实蝇羽化 4 d 取食量最大的时候进行试验。先进行奖励性颜色训练, 分别取 15 头橘小实蝇雌性和雄性成虫放入 50 mL 离心管中, 并在盖子上打 1 小孔, 用橡胶管连接装有

CO₂的气体钢瓶。气体钢瓶释放少量 CO₂进入离心管中,并将橘小实蝇成虫眩晕 5 s 后放入圆形培养皿中,15 min 后观察其停在不同颜色区域内的比例并统计结果,记为“训练前”。

试验组分别以绿色和蓝色为条件刺激,以蔗糖奖励为非条件刺激,黄色为对照颜色。分别吸取 100 μL 的 1 mol · L⁻¹ 的蔗糖溶液滴在试验装置蓝色/绿色的部分并用细毛刷涂匀,在黄色部分滴入 100 μL 无菌水并涂匀;对照组在绿色/蓝色部分以及黄色部分分别滴入 100 μL 无菌水并涂匀。将橘小实蝇聚集在培养皿中绿色/蓝色部分,取食蔗糖,训练 5 min 后用 CO₂将其眩晕,并重复奖励试验,连续进行 5 次训练。最后将橘小实蝇眩晕并转移到一个不添加水和蔗糖的试验装置正中央,15 min 后

统计橘小实蝇位于不同颜色区域内的数量,记为“训练后”。2 种条件刺激各重复 10 次。

奎宁 (CAS 登录号:130-95-0) 为苦味物质。以 2.16×10⁻² mol · L⁻¹ 奎宁溶液为非条件刺激验证橘小实蝇惩罚学习,具体试验步骤同上述奖励试验,将其中试验组的非条件刺激更改为奎宁溶液,非黄色部分喷水,对照组处理与奖励试验对照组相同 (Zrelec *et al.*,2013)。

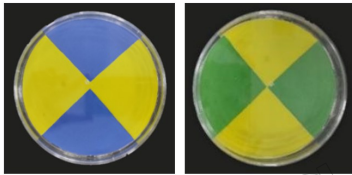


图1 试验所用装置
Fig.1 Experimental setup

表1 试验装置所用颜色参数
Table 1 Color parameters for experimental apparatus

颜色 Colour	虚拟波长 Virtual wavelength/nm	红-绿-蓝色彩模式数值 RGB color model figure	青-洋红-黄-黑印刷色彩模式数值 CMYK color model figure
黄色 Yellow	580	255, 255, 0	10, 0, 83, 0
绿色 Green	520	54, 255, 0	59, 0, 100, 0
蓝色 Blue	440	0, 0, 255	92, 75, 0, 0

1.5 RNA 干扰 *for* 对橘小实蝇联系性颜色学习的影响

取橘小实蝇雌雄成虫分别用显微注射仪 (WPI USA, Nanoliter2010) 注射 dsRNA (单头注射量 1 μL) 于成虫前翅基部,以注射 1 μL dsGFP 为对照组。2 d 后在试验组和对照组中各取 10 头,提取头部 RNA 进行 RT-qPCR 检验沉默效率,每个处理 3 个重复,反应程序为 95 ℃ 30 s,95 ℃ 5 s,55 ℃ 30 s,72 ℃ 31 s,40 个循环。以 α -tub (登录号:CP115864.1) 作为内参基因,利用文献所列引物序列进行引物合成 (表 2) (Shen *et al.*,2010)。

在橘小实蝇 *Bdfor* 被沉默后第 2 天,再次进行与沉默前相同的奖励学习和惩罚学习试验。试验

组使用靶向沉默 *Bdfor* 的橘小实蝇雌雄虫进行试验。对照组试验装置处理同试验组一致,使用注射 dsGFP 的橘小实蝇雌雄虫进行试验。分别统计各组橘小实蝇停在不同颜色区域内的比例。

1.6 数据处理与分析

RT-qPCR 试验采用 CT 值相对定量法,使用 2^{- $\Delta\Delta C_t$} 法进行数据处理得出 dsRNA 沉默效率。使用 IBM SPSS 20.0 软件进行显著性分析,试验数据使用独立样本 *t* 检验。使用 Tukey HSD 法进行多重比较。使用 GraphPad Prism 8 软件绘图,显示数据为平均值±标准误,显著水平 *P*<0.05。

表2 试验所用引物及其序列
Table 2 Sequence of primers in this experiment

引物用途 Primer application	引物名称 Primer name	引物序列 (5'–3') Sequence of primers (5'–3')
基因克隆 Gene cloning	Bdfor-F	GTGTAGCAACCGCAGATTC
	Bdfor-R	TTGTTCAACCACTCCCAGAT
实时荧光定量 PCR Quantitative real-time PCR	q-Bdfor-F	CACCAACTTCGATGCCTAT
	q-Bdfor-R	ACTCCCACTTGTAGAACTCC
	q- α -tub-F	CGCATTTCATGGTTGATAACG
	q- α tub-R	GGGCACCAAGTTAGTCTGGA
dsRNA 合成 dsRNA synthesis	T7-GFP-F	TAATACGACTCACTATAGGGAGACAGTTCTTGTGTAATTAGATG
	T7-GFP-R	TAATACGACTCACTATAGGGAGATTTGGTTTGTCTCCCATGATG
	T7-Bdfor-F	TAATACGACTCACTATAGGGAGAGTGTAGCAACCGCAGATTC
	T7-Bdfor-R	TAATACGACTCACTATAGGGAGATTGTTCAACCACTCCCAGAT

2 结果与分析

2.1 Bdfor 筛选与同源性比对

利用生物信息学分析,PCR 克隆和测序验证,成功筛选出橘小实蝇 *Bdfor*, 通过对该基因和其他 13 个物种 *for* 表达的氨基酸序列进行建树分析(图 2),橘小实蝇 *Bdfor* 蛋白与其他 3 种实蝇科昆虫[辣椒实蝇 *B. latifrons* (Hendel)、橄榄实蝇 *B. oleae* (Gmelin)、地中海实蝇 *Ceratitis capitata* (Wiedemann)]的 *for* 蛋白聚类在一起,说明四者的亲缘关系更为接近,且与双翅目 6 个物种共同聚集在较大的分支上,而与其他物种亲缘关系较远。

2.2 橘小实蝇 Bdfor 蛋白保守性分析和功能预测

使用 *Bdfor* 蛋白序列与辣椒实蝇、地中海实蝇及黑腹果蝇 2 种剪接体编码的 *for* 蛋白序列(PKG)进行多重比对分析(图 3),橘小实蝇和辣椒实蝇、地中海实蝇以及黑腹果蝇的 *for* 蛋白高度保守,同源性分别为 96%,93% 和 87%,均含有 1 个 serine/threonine kinases (SKTs) 结构域和 2 个 effector domain of the catabolite activator protein (CAP-ED) 结构域。这 2 个结构域承担的作用是联系性学习的必要条件。以上结果表明,筛选出的橘小实蝇 *Bdfor* 是黑腹果蝇 *Dmfor* 的同源基因。

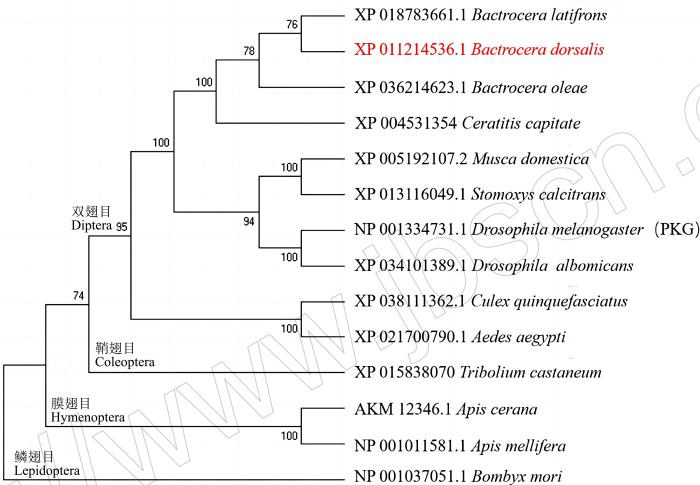


图 2 14 种昆虫的 *for* 蛋白进化关系

Fig.2 Evolutionary relationships of *for* protein in 14 insects

数字代表 bootstrap 1000 个循环的置信度 (只显示 70% 及以上)。

The numbers represent the percentage of 1000 bootstrap replications (above 70% showed).

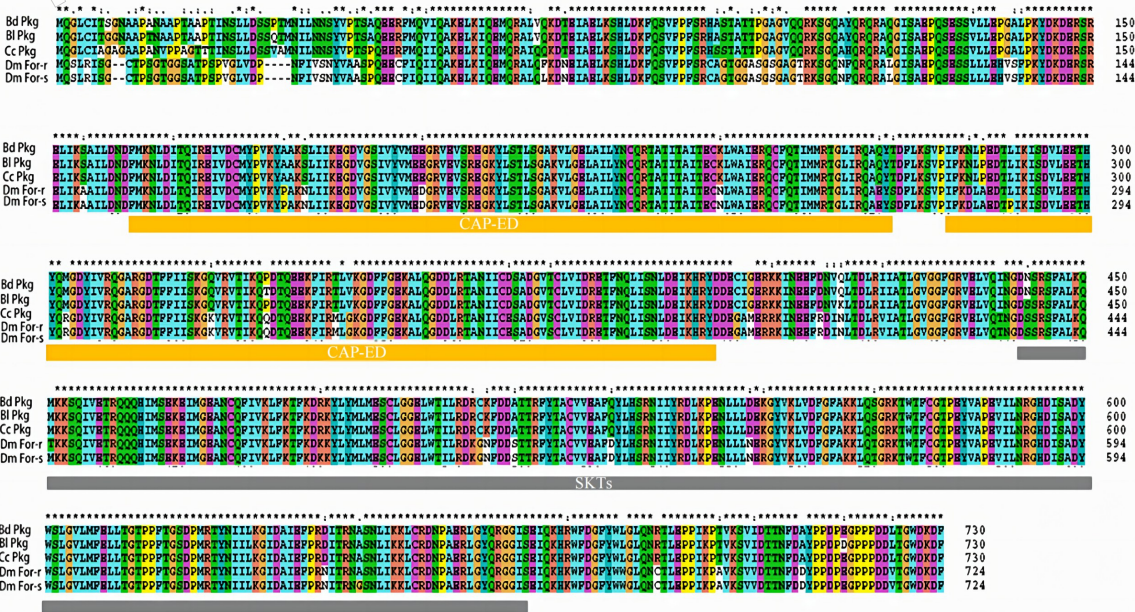


图 3 Bdfor 蛋白序列的多重比对

Fig.3 Multiple alignment of *Bdfor* protein sequences

2.3 橘小实蝇联系性颜色学习

以绿色为条件刺激,进行奖励性颜色学习的结果见图 4A。水训练组,无显著性差异;蔗糖组训练前,橘小实蝇对绿色的选择率为 34.00%,颜色学习训练后对绿色的趋性显著上升,达到 58.00%。

以橘小实蝇趋性较差的颜色(蓝色)为条件刺激,进行奖励性颜色学习的结果见图 4B。蔗糖训练组,橘小实蝇在训练后对蓝色表现出较高的趋性,达

到 53.00%,显著高于训练前的 37.00% ($P<0.05$);水训练组在训练前后对蓝色的选择率均无显著差异(训练前37.00%,训练后33.90%, $P>0.05$)。

以黄色为条件刺激,奎宁为非条件刺激,二者配对后进行惩罚性颜色学习试验,试验结果见图 4C。对照组训练前后无显著差异,5 次训练后试验组橘小实蝇对黄色的选择率为60.70%,显著低于训练前的 69.86% ($P<0.05$)。

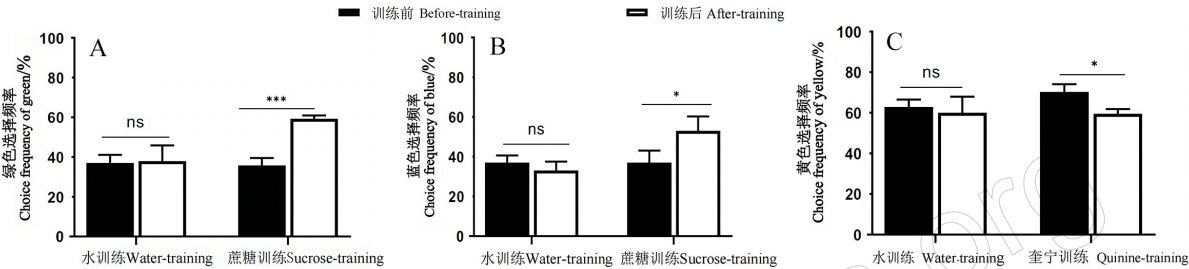


图 4 奖励学习中橘小实蝇对绿色 (A) 和蓝色 (B) 选择率以及惩罚学习中橘小实蝇对黄色 (C) 的选择率

Fig.4 Choice frequency of green (A) and blue (B) in *B. dorsalis* during reward learning, as well as Choice frequency of yellow (C) in *B. dorsalis* during punitive learning

ns: 无显著性差异; * : $P<0.05$; *** : $P<0.001$ 。

ns: No significant difference; * : $P<0.05$; *** : $P<0.001$ 。

2.4 *Bdfor* 对橘小实蝇联系性颜色行为影响

dsfor 注射 2 d 后利用 RT-qPCR 检测靶标基因 *Bdfor* 的相对表达量,结果表明,相比于注射 *dsGFP* 的对照组,注射 *dsfor* 的橘小实蝇雌雄虫 *Bdfor* 显著下调(图 5)。

注射 *dsRNA* 沉默 *Bdfor* 后,对橘小实蝇进行奖励性颜色学习试验,结果表明,对照组中,橘小实蝇在训练后对绿色的趋性显著上升,试验组中,橘小实蝇在训练前后对绿色的选择率无显著差异(图 6A)。在以蓝色为条件刺激的颜色学习试验中,与对照组相比,沉默 *Bdfor* 后橘小实蝇在训练前后对蓝色的选择率无显著差异(图 6B)。

沉默 *Bdfor* 后,对橘小实蝇进行惩罚性颜色学习试验,结果表明,在注射 *dsGFP* 的对照组中,橘小实蝇在训练后对黄色的选择率显著降低,而在沉默 *Bdfor* 的试验组训练前后,对黄色的选择率无显著差异(图 6C)。

3 讨论

针对昆虫颜色学习的研究多集中在蜜蜂、蝴蝶等传粉昆虫,目前,有关农林害虫是否具备联系性颜色学习行为尚不清楚 (Anreiter & Sokolowski, 2019)。昆虫的 NO-cGMP-PKG 信号级联是构成学

习行为的生理基础 (Hasebe & Yoshino, 2016)。for 蛋白中的 CAP-ED 结构域可作为信号分子 cGMP 受体,而 STKs 结构域则参与级联中磷酸化基团的转移 (Rout *et al.*, 2018; Werel *et al.*, 2023)。本文筛选出橘小实蝇的 *Bdfor* 基因,发现其编码蛋白含有 1 个 STKs 结构域和 2 个 CAP-ED 结构域,与前人的研究一致 (Osborne *et al.*, 1997)。且该蛋白序列与辣椒实蝇、地中海实蝇及黑腹果蝇 for 蛋白序列高度保守,同源性大于 87 %,说明该基因为橘小实蝇 *Bdfor*,其编码的 PKG 蛋白可能在橘小实蝇的学习行为中发挥作用。

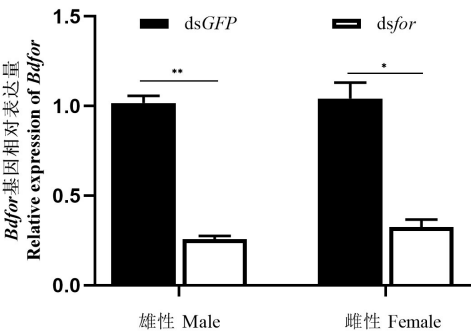


图 5 dsRNA 干扰后橘小实蝇 *Bdfor* 基因相对表达量

Fig.5 The relative expression of *Bdfor* after dsRNA treatment

* : $P<0.05$; ** : $P<0.01$ 。

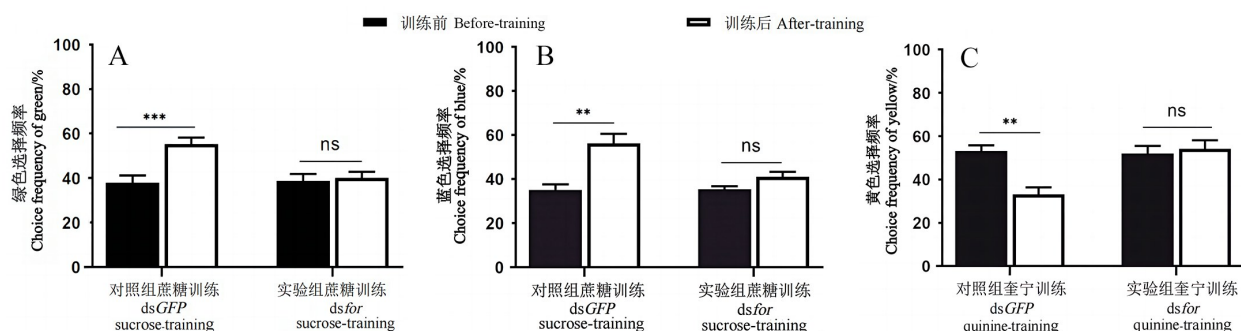


图 6 RNAi 处理后奖励学习中橘小实蝇对绿色 (A) 和蓝色 (B) 的选择率以及惩罚学习中橘小实蝇对黄色 (C) 的选择率

Fig.6 Choice frequency of green (A) and blue (B) in *B. dorsalis* during reward learning, as well as choice frequency of yellow (C) in *B. dorsalis* during punitive learning after RNAi

ns: 无显著性差异; *: $P < 0.01$; **: $P < 0.001$.

ns: No significant difference; *: $P < 0.01$; **: $P < 0.001$.

昆虫的视觉可以进行联系性学习, Dobrin *et al.* (2012) 通过将蓝光与蔗糖配对, 对西方蜜蜂 *Apis mellifera* (Linnaeus) 进行训练后, 可以显著增强其对颜色刺激的反应。本研究通过行为学试验表明, 橘小实蝇可以将颜色与蔗糖/奎宁进行配对, 从而改变自身趋性, 这与上述结果类似, 说明橘小实蝇具备联系性颜色学习的潜力。

此外, 昆虫的学习行为受到 *for* 基因的影响, 如调控黑腹果蝇成虫联系性嗅觉学习能力, 提高其对嗅觉线索醋酸丙酯的选择 (Kaun *et al.*, 2007)。而本文发现利用 RNAi 沉默 *Bdfor* 后, 可以使橘小实蝇联系性颜色学习能力显著减弱或消失, 表明 *Bdfor* 对橘小实蝇联系性颜色学习具有重要作用。

本研究发现, 橘小实蝇具有一定的颜色学习能力, 然而目前尚不清楚橘小实蝇能否在野外自然条件下进行联系性学习, 因此, 接下来还应探究橘小实蝇在野外自然生态栖境中的联系性学习行为。同时, 学习成效的保留时长, 即记忆时间也会影响颜色学习在害虫防治中的应用, 但目前对于橘小实蝇颜色学习的记忆保留时间并不清楚, 未来可对此进行进一步的探究。此外, 通过 RNAi 证明 *Bdfor* 可能和橘小实蝇的联系性颜色学习相关, 但 *Bdfor* 在颜色学习中的神经调控及相关通路尚不明确。对 *Bdfor* 在昆虫联系性颜色学习作用机制的探究以及如何用于害虫防治将是下一步的研究重点。

参考文献

刘奎, 唐良德, 邱海燕, 付步礼, 2016. 海南儋州地区橘小实蝇成虫数量动态. 生物安全学报, 25(1): 23-26.

王雁楠, 张玉, 赵紫华, 2020. 六种外来入侵昆虫在我国分布范围及自然越冬北界的预测. 植物保护学报, 47(5): 1155-1156.

ANREITER I, SOKOLOWSKI M B, 2019. The foraging gene and its behavioral effects: pleiotropy and plasticity. *Annual Review of Genetics*, 53(17): 373-392.

BELLE J S, HILLIKER A J, SOKOLOWSKI M B, 1989. Genetic localization of *foraging* (*for*): a major gene for larval behavior in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 123(1): 157-163.

CLARKE A R, ARMSTRONG K F, CARMICHAEL A E, MILNE J R, RAGHU S, RODERICK G K, YEATES D K, 2005. Invasive phytophagous pests arising through a recent tropical evolutionary radiation: the *Bactrocera dorsalis* complex of fruit flies. *Annual Review of Entomology*, 50(13): 293-319.

DOBRIN S E, FAHRBACH S E, 2012. Visual associative learning in restrained honey bees with intact antennae. *PLoS ONE*, 7(6): e37666.

HASEBE M, YOSHINO M, 2016. Nitric oxide/cGMP/PKG signaling pathway activated by M1-type muscarinic acetylcholine receptor cascade inhibits Na^+ -activated K^+ currents in Kenyon cells. *Journal of Neurophysiology*, 115(6): 3174-3185.

JAYANTHI P D K, VERGHESE A, 2011. Host-plant phenology and weather based forecasting models for population prediction of the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* Hendel. *Crop Protection*, 30(12): 1557-1562.

KAUN K R, HENDEL T, GERBER B, SOKOLOWSKI M B, 2007. Natural variation in *Drosophila* larval reward learning and memory due to a cGMP-dependent protein kinase. *Learning & Memory*, 14(5): 342-349.

LI L, MA H B, NIU L M, HAN D Y, ZHANG F P, CHEN J

Y, FU Y G, 2017. Evaluation of chromatic cues for trapping *Bactrocera tau*. *Pest Management Science*, 73(1): 217–222.

MERY F, BELAY A T, SO A KC, SOKOLOWSKI M B, KAWECKI T J, 2007. Natural polymorphism affecting learning and memory in *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 104 (32): 13051–13055.

NIELSEN M E, LEVIN E, DAVIDOWITZ G, PAPAJ D R, 2018. Colour plasticity alters thermoregulatory behaviour in *Battus philenor* caterpillars by modifying the cue received. *Science Direct*, 140(11): 93–95.

OSBORNE K A, ROBICHON A, BURGESS E, BUTLAND S, SHAW R A, COULTHARD A, PEREIRA H S, GREENSPAN R J, SOKOLOWSKI M B, 1997. Natural behavior polymorphism due to a cGMP-dependent protein kinase of *Drosophila*. *Science*, 277: 834–836.

PAPAJ D R, PROKOTY R J, 1989. Ecological and evolutionary aspects of learning in phytophagous insects. *Annual Review of Entomology*, 34(14): 315–350.

PEARCE J M, BOUTON M E, 2001. Theories of associative learning in animals. *Annual Review of Psychology*, 52(5): 111–139.

ROUT A K, DEHURY B, MAHARANA J, NAYAK C, BAISVAR V S, BEHERA B K, DAS B K, 2018. Deep insights into the mode of ATP-binding mechanism in Zebrafish cyclin-dependent protein kinase-like 1 (zCDKL1): a molecular dynamics approach. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 81: 175–183.

SHEN G M, JIANG H B, WANG X N, WANG J J, 2010. Evaluation of endogenous references for gene expression profiling in different tissues of the oriental fruit fly *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae). *BMC Molecular Biology*, 11(76): 1471–2199.

WANG Y, FANG G, XU P, GAO B, LIU X, QI X, ZHANG G, CAO S, LI Z, REN X, WANG H, CAO Y, PEREIRA R, HUANG Y, NIU C, ZHAN S, 2022. Behavioral and genomic divergence between a generalist and a specialist fly. *Cell Reports*, 41(7): 111654.

WASSERMAN E A, MILLER R R, 1997, What's elementary about associative learning? *Annual Review of Psychology*, 48(20): 573–607.

WEREL L, FARMANI N, KROL E, SERRANIA J, ESSEN L O, BECKER A, 2023. Structural basis of dual specificity of *Sinorhizobium meliloti* Clr, a cAMP and cGMP receptor protein. *Genetics and Molecular Biology*, 14(2): e0302822.

WU W Y, CHEN Y P, YANG E C, 2007. Chromatic cues to trap the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis*. *Journal of Insect Physiology*, 53(5): 509–516.

ZRELEC V, ZINI M, GUARINO S, MERMOUD J, OPPLIGER J, VALTAT A, ZEENDER V, KAWECKI T J, 2013. *Drosophila* rely on learning while foraging under semi-natural conditions. *Ecology and Evolution*, 3(12): 4139–4148.

(责任编辑:陈晓雯)



一个纸箱一棵树
倡导绿色包装 节约生态资源