南方根结线虫侵染下罗汉果 WRKY 转录因子的鉴定分析

李惠敏[1,2*]， 李佳慧[2]， 程 颖[2]， 韦文琼[2]， 李璐璐[2]， 陈玉梅[2]

（1. 广西师范大学珍稀濒危动植物生态与环境保护教育部重点实验室，桂林 541006；
2. 广西师范大学生命科学学院，桂林 541006）

摘要 为了确定南方根结线虫侵染早期罗汉果植株中与侵染相关的 WRKY 基因，以接种南方根结线虫 7 d 后的罗汉果侧根为材料进行转录组测序分析。基于测序序列的 Nr、SwissProt 注释结果，共鉴定到 21 个 WRKY 基因，其中有 4 个转录因子含有 2 个 WRKY 结构域，其余 17 个转录因子只有 1 个 WRKY 结构域。系统发育分析表明，5 个WRKY 转录因子为第一家族成员，2 个为第三家族成员，其余 14 个为第二家族成员。有 8 个 WRKY 转录因子与已报道的根结线虫诱导相关 WRKY 转录因子同源性较高，初步推测下调表达的 *SgWRKY*2、*SgWRKY*3 和 *SgWRKY*17可能与南方根结线虫的早期侵染有关，它们很可能参与了线虫取食位点与巨细胞形成的复杂调控作用。本研究将为今后阐明根结线虫与罗汉果互作的分子机制提供参考依据。

关键词 罗汉果； 南方根结线虫； 转录组测序； WRKY 转录因子

中图分类号： S 435.79 **文献标识码：** A **DOI：** 10.16688/j.zwbh.2019007

Identification and analysis of WRKY transcription factors in *Siraitia grosvenorii* under infection of *Meloidogyne incognita*

LI Huimin[1,2*]， LI Jiahui[2]， CHENG Ying[2]， WEI Wenqiong[2]， LI Lulu[2]， CHEN Yumei[2]

（1. *Key Laboratory of Ecology of Rare and Endangered Species and Environmental Protection*, *Ministry of Education*, *Guangxi Normal University*, *Guilin* 541006, *China*; 2. *College of Life Sciences*, *Guangxi Normal University*, *Guilin* 541006, *China*）

Abstract In order to identify the WRKY genes associated with the formation of gall from the lateral roots of *Siraitia grosvenorii*, RNA-seq was performed to investigate the molecular interaction between *S. grosvenorii* and *Meloidogyne incognita* at 7 day post-inoculation. A total of 21 genes which were annotated as coding for WRKY domains in the databases of Nr and SwissProt were identified. Among them, 4 transcription factors contained two WRKY domains and zinc-fingers structure, and the other 17 transcription factors contained only one WRKY domain and zinc-finger. Phylogenetic analysis showed that five SgWRKYs belonged to Group I, two SgWRKYs belonged to Group Ⅲ, and the others belonged to Group Ⅱ. Among them, eight WRKYs shared high homology with previously reported WRKY proteins induced by root-knot nematodes. The expressions of *SgWRKY*2, *SgWRKY*3 and *SgWRKY*17 were down-regulated in this study, indicating that they might play a role in the feeding site establishment of *M. incognita* and the formation of gall in the roots of *S. grosvenorii*. Our study helps to elucidate the molecular mechanism of the interaction between *S. grosvenorii and M. incognita* in the future.

Key words *Siraitia grosvenorii*; *Meloidogyne incognita*; RNA-seq; WRKY transcription factor

转录因子在真核生物基因表达调控中具有重要的生物学意义，WRKY 转录因子作为植物所特有的一类转录因子，是植物转录调控基因中最大的家族之一，WRKY 基因家族成员共有特征为具有 WRKY 保守结构域（WRKYGQK 七肽序列）以及 C2H2 型锌指（$CX_{4-5}CX_{22-23}HXH$）或 C2HC 型锌指（CX_7CX_{23}

收稿日期： 2019-01-03 **修订日期：** 2019-03-15
基金项目： 广西自然科学基金青年基金（2016GXNSFBA380061）；广西高校中青年教师基础能力提升项目（2018KY0084）；广西师范大学青年骨干教师成长支撑计划项目（2013）
* 通信作者 E-mail：huiminli@mailbox.gxnu.edu.cn

HXC)，通过其 WRKY 结构域与靶基因启动子中的 W-box(TGAC)结合，从而调控靶基因的表达[1-3]。

大量研究表明 WRKY 转录因子不但在植物应对不同病原微生物胁迫的响应机制中具有重要生物学功能[1-3]，而且在寄主植物-根结线虫互作的分子机制中也起着重要作用，与根结线虫取食位点形成、根结发育及植物的抗线虫反应密切相关[4-9]。张雅涵等[4]以根结线虫侵染早期的黄瓜根为材料，鉴定到 8 个可能与黄瓜根结线虫侵染早期线虫取食位点形成相关的 WRKY 基因；Eulgem[5]的研究结果表明，在线虫感染的拟南芥组织中，21 个 WRKY 基因中有 17 个被鉴定为下调表达，认为 WRKY 转录物的积累似乎是植物防御响应病原体的一般特征。Grunewald 等[6]的研究结果表明，拟南芥 *AtWRKY*23 基因在根结线虫取食位点建立早期显著性上调表达与根结中巨型细胞形成紧密相关。Jammes 等[7]的研究结果表明，拟南芥在接种根结线虫 7 d 后，包括 3 个 WRKY 转录因子在内的 23 个编码转录因子基因出现显著性差异表达；李淑敏等[8]的研究表明，辣椒的 *CaWRKY*2 基因受根结线虫诱导表达，与辣椒根结线虫抗性基因密切相关；而郑井元[9]通过对克隆到的辣椒 WRKY 转录因子 *CaWRKY*6 和 *CaWRKY*30 基因进行功能验证，发现 *CaWRKY*6 基因的沉默降低了辣椒对根结线虫的抗性，而 *CaWRKY*30 基因超表达番茄植株则对南方根结线虫入侵的敏感性增加。

罗汉果 *Siraitia grosvenorii* 为广西特有经济植物，其主栽品种容易感染根结线虫病[10]。根结线虫引起寄主植物形成根结是其共有的特征，植物根结的形成过程既是根结线虫对寄主植物的一个有序调控过程[11]，同时也与寄主植物应答线虫胁迫而诱导表达的基因密切相关[4,6]。

鉴于对根结线虫诱导下的罗汉果根结内基因表达研究情况知之甚少，本研究基于罗汉果转录组测序结果预测 WRKY 基因并对其编码的蛋白质序列进行理化特性及系统发育分析，为鉴定与根结形成密切相关的罗汉果基因奠定基础，为进一步研究根结线虫与罗汉果互作的分子机制提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

罗汉果为广西当地栽培品种‘青皮果’，属于南方根结线虫 *Meloidogyne incognita* 易感品种，试验用罗汉果组培苗和南方根结线虫 2 龄幼虫均为广西师范大学珍稀濒危动植物生态与环境保护教育部重点实验室提供。

1.2 方法

1.2.1 植物材料处理与转录组测序

本研究以盆栽空心菜来繁殖根结线虫，然后人工挑取空心菜根结上的新鲜卵块放在盛有无菌水的培养皿里，置于 25℃恒温培养箱，孵化后 2 d 内收集得到的即为 2 龄幼虫，并配成约 100 条/mL 的线虫液。参照刘纪霜[12]和焦春伟等[13]的方法，待盆栽罗汉果组培苗已长出 5～6 片功能叶时，在根部接种南方根结线虫，2 龄幼虫接种量为 1 000 条/株。接种 7 d 后对出现根结的部位进行取材：选取生长状态一致的罗汉果植株，剪掉植株的地上部分后倒扣种植盘，用自来水小心清洗掉根部沙土，蒸馏水清洗干净后用吸水纸吸干表面水分，接着用解剖刀将带有小根结的侧根切下，同时收集未接种线虫的对照组植株相同部位的侧根，按 1 g/份进行分装，标记后迅速用液氮处理后置于－80℃暂存。处理组和对照组各收集 3 个生物学重复样本，送往上海派森诺生物科技有限公司进行 RNA 提取、cDNA 文库构建和 Illumina HiSeq 2500 平台测序。

1.2.2 罗汉果 WRKY 转录因子的预测及其理化特性分析

从罗汉果转录组测序报告中搜索注释为 WRKY 转录因子的每一条 Unigene，然后登录 NCBI 网站 https://www.ncbi.nlm.nih.gov/home/analyze/依次用 ORF finder 和 CD-Search Tool(cdd v3.16)进一步确认，如果具有完整 WRKY 保守结构域和 C2H2 型或 C2HC 型锌指结构的 Unigene 则判定为罗汉果 WRKY 基因。WRKY 基因家族分组采用 DNAMAN9.0 多序列比对的方法进行，其理化特性则利用 ExPASy 网站上的 ProtParam Tool 进行预测分析。

1.2.3 罗汉果 WRKY 转录因子亚细胞定位

利用在线软件 CELLO v2.5[14]和 Plant-mPLoc v2.0[15]对筛选到的罗汉果 WRKY 转录因子预测亚细胞定位情况。

1.2.4 WRKY 序列系统进化树构建及根结线虫诱导表达相关 WRKY 预测

将预测到的罗汉果 WRKY 转录因子以及从 NCBI 下载到的分别来源于黄瓜、拟南芥、辣椒的

8 个可能与根结线虫侵染诱导表达相关的 WRKY 转录因子(表 1),采用软件 MEGA4.0 的邻接法(neighbor-joining,NJ)构建其氨基酸保守结构域的系统进化树。基于黄瓜、拟南芥和辣椒 WRKY 结构域的系统发育树用于参照罗汉果 WRKY 转录因子同源分组以及推测与根结线虫诱导表达的罗汉果 WRKY 转录因子。

表 1　构建系统发育树的其他物种 WRKY 转录因子序列信息

Table 1　Information of the reference WRKY sequences retrieved from NCBI for phylogenetic analysis

物种 Species	名称 Name	序列号 Accession number
黄瓜 *Cucumis sativus*	*CsWRKY46*[4]	GU984032
	CsWRKY54[4]	GU984039
拟南芥 *Arabidopsis thaliana*	*AtWRKY23*[6]	At2g47260
	AtWRKY35[7]	At2g34830
	AtWRKY75[7]	At3g01970
辣椒 *Capsicum annuum*	*CaWRKY2*[8]	DQ402421
	CaWRKY6[9]	GQ253367
	CaWRKY30[9]	FJ360844

2　结果与分析

2.1　罗汉果 WRKY 转录因子的鉴定及理化性质

基于南方根结线虫诱导下的罗汉果根系转录组测序结果,搜索到注释为 WRKY 基因家族转录因子的 Unigene 共有 62 条,其中 23 条 Unigene 通过 ORF finder 没有找到其起始密码子,因此不再对这些序列进行下一步分析。39 条 Unigene 的预测 CDS 中虽然均具有 WRKY 保守结构,但有 18 条为缺失了锌指结构的不完整序列,因此最后共鉴定到 21 个罗汉果候选 WRKY 转录因子,命名为 *SgWRKY*1～*SgWRKY*21(表 2)。对 WRKY 基因表达进行差异分析,结果表明接种根结线虫 7 d,10 个 SgWRKY 基因出现下调表达,8 个 SgWRKY 上调表达,3 个 SgWRKY 基因的表达无差异(差异倍数小于 1.2 倍)。DNAMAN9.0 多序列比对结果(图 1)显示 21 个 SgWRKY 转录因子均具有保守结构域为 WRKYGQK,不同的是 C2H2 型锌指或者 C2HC 型锌指结构。利用 ExPASy 对 SgWRKY 理化性质预测结果见表 2。SgWRKY 转录因子多肽链一级结构氨基酸数变化较大,最少的为 SgWRKY4 (123 个),最大的为 SgWRKY19(584 个);理论等电点的范围从 4.79 (SgWRKY5) 到 9.78 (SgWRKY4);不稳定系数显示 SgWRKY4、SgWRKY5 和 SgWRKY14 为稳定蛋白,其余均属于不稳定蛋白;总平均亲水性显示 21 个 SgWRKY 转录因子均属于亲水性蛋白。

表 2　罗汉果 WRKY 转录因子[1)]

Table 2　WRKY transcription factors in *Siraitia grosvenorii*

名称 Name	表达模式 Pattern of expression	ORF 长度/bp ORF length	氨基酸数 No. of amino acids	理化特性 Physical and chemical properties			
				分子量 Molecular weight	等电点(pI) Isoelectric point	不稳定系数 Instability index	总平均亲水性 Grand average of hydropathicity
*SgWRKY*1	down	1 389	462	51 141	9.38	47.46	−0.838
*SgWRKY*6	down	1 209	402	44 502	7.17	56.73	−1.080
*SgWRKY*8	no	1 152	383	42 871	8.72	52.87	−1.058
*SgWRKY*16	up	1 365	454	49 207	6.23	51.20	−0.874
*SgWRKY*2	down	918	305	34 392	6.76	73.01	−0.918
*SgWRKY*3	down	588	195	21 398	6.58	45.30	−0.554
*SgWRKY*4	up	372	123	13 599	9.78	38.38	−0.712
*SgWRKY*5	no	996	331	36 686	4.79	39.16	−0.524
*SgWRKY*7	up	1 086	361	40 276	5.33	68.48	−0.961
*SgWRKY*9	up	873	290	31 846	6.53	65.74	−0.711
*SgWRKY*10	down	477	158	17 448	9.71	40.17	−0.489
*SgWRKY*11	up	>1 329	>443	46 099	6.12	48.14	−0.426
*SgWRKY*12	up	>873	>291	13 706	8.52	57.27	−0.781
*SgWRKY*14	down	1 002	333	36 917	6.48	36.86	−0.538
*SgWRKY*15	down	843	280	29 289	9.00	42.67	−0.325
*SgWRKY*17	down	924	307	34 061	6.71	61.48	−0.687
*SgWRKY*18	no	>372	124	13 706	8.52	57.27	−0.781
*SgWRKY*19	up	1 755	584	62 761	6.41	60.75	−0.716
*SgWRKY*21	up[a]	1 101	366	39 756	5.94	66.03	−0.727
*SgWRKY*13	down[a]	1 113	370	40 584	5.62	53.85	−0.617
*SgWRKY*20	down	1 026	341	37 357	7.10	53.43	−0.648

1) up/down 表示相比于对照组上调/下调表达;no 表示处理组与对照组表达无差异。字母 a 表示该数值与对照在 $P<0.05$ 水平上差异显著。up/down indicates up/down-regulated expression compared with the control group; no indicates no significant difference between groups; letter a represents significant difference between treatment and CK ($P<0.05$).

2.2 罗汉果 WRKY 转录因子亚细胞定位结果

利用在线软件 CELLO v2.5 对 SgWRKY 转录因子进行亚细胞定位，结果显示 21 个 SgWRKY 转录因子均定位在细胞核内；再用 Plant-mPLoc v2.0 进行验证，结果也显示全部定位在细胞核内，这符合转录因子对下游靶基因的表达调控规律。

2.3 罗汉果 WRKY 转录因子系统进化分析

根据 WRKY 保守结构域的数目和锌指蛋白基序的模式，罗汉果 WRKY 转录因子分为三组（图 1）。SgWRKY1、SgWRKY6、SgWRKY8 和 SgWRKY16 的 N 端和 C 端均有 1 个 WRKYGQK 保守结构域和 1 个 C2H2 型锌指，为 Group Ⅰ的结构特征；仅有 1 个 WRKYGQK 结构域与 1 个 C2HC 型锌指结构的 SgWRKY13 和 SgWRKY20 归为 Group Ⅲ的成员；其余仅有 1 个 WRKYGQK 结构域和 1 个 C2H2 型锌指的转录因子属于 Group Ⅱ成员的结构特征。

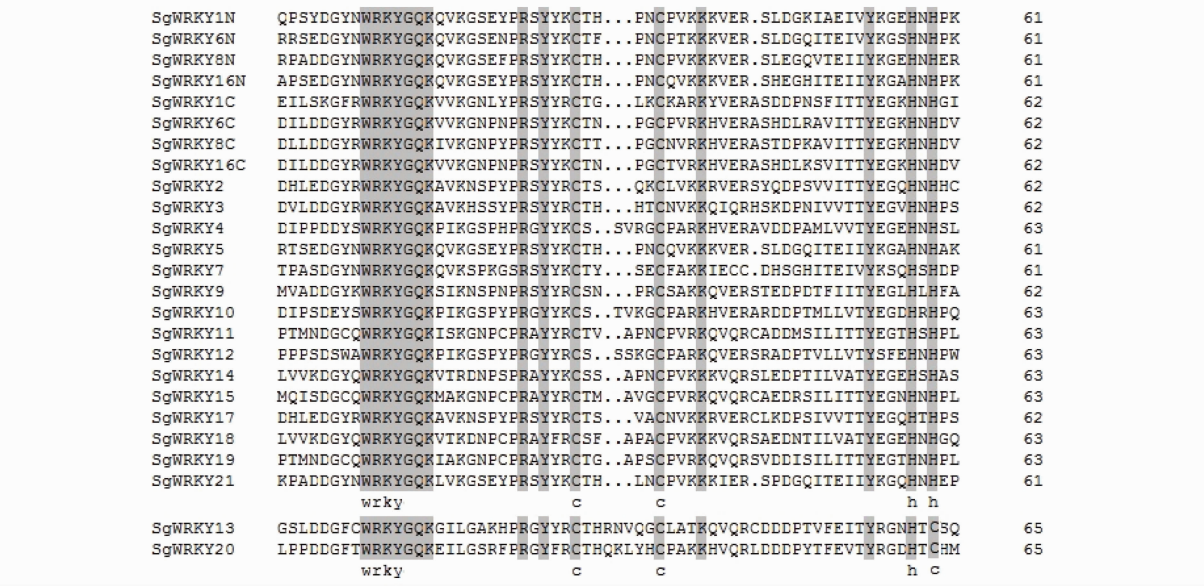


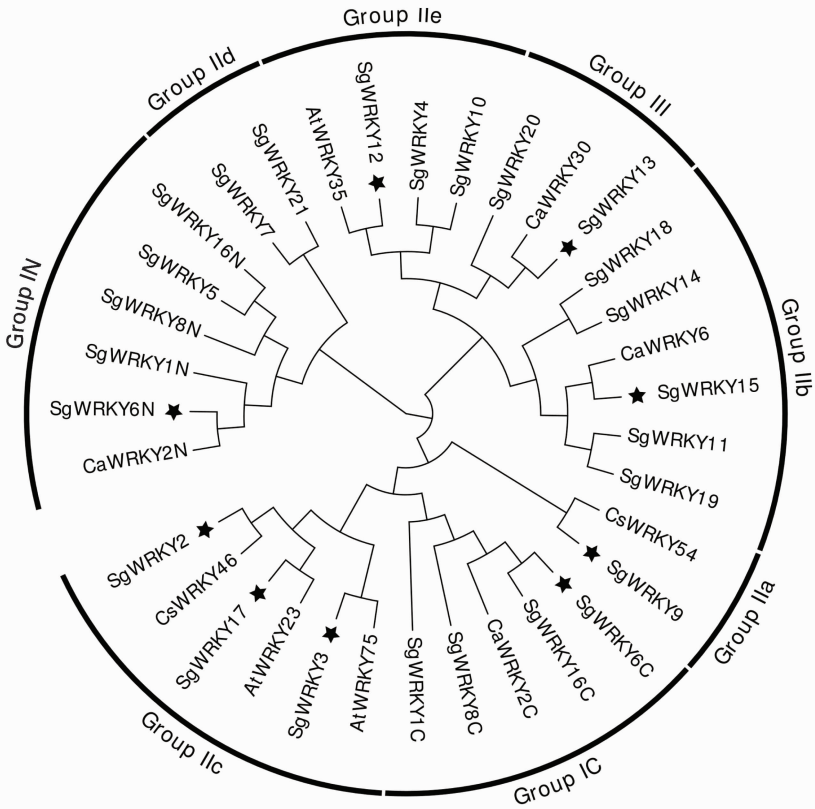
图 1 WRKY 转录因子保守结构域氨基酸序列比对结果

Fig. 1 Multiple alignment of the amino acid sequences of SgWRKY domains

基于氨基酸序列构建的罗汉果 WRKY 转录因子的系统进化树（图 2），聚类分析结果表明，只有 1 个 WRKY 结构域的 SgWRKY5 在系统树上与含有 2 个 WRKY 保守结构和 2 个 C2H2 型锌指结构的 Group Ⅰ成员聚在一起，在黄瓜[4,16]和棉花[17] WRKY 转录因子的系统发育分析中也出现类似的现象，推测 WRKY 结构域的丢失和复制可能是导致 WRKY 基因在不同物种的基因组中进化的主要原因之一[18]。基于来源于黄瓜[4]、拟南芥[6-7]、辣椒[8-9]的 8 个可能与根结线虫侵染诱导表达相关的 WRKY 转录因子作为分类参考，Group Ⅱ的 14 个 SgWRKY 还可进一步分为 a、b、c、d 和 e 这 5 个亚类（图 2）。通过进化分析还发现有 8 个 SgWRKY（图 2 标★所示）与已报道的黄瓜、拟南芥和辣椒中根结线虫诱导表达的 WRKY 转录因子同源性较高，其中 SgWRKY2、SgWRKY3、SgWRKY17 这三个转录因子属于 Group Ⅱc 亚家族，而相关文献报道 Group Ⅱc 成员与根结线虫在寄主植物中取食位点的形成紧密相关[4,6-7]，由此初步推测本研究中 3 个下调表达的 WRKY 基因（*SgWRKY*2、3、17，GenBank 登录号分别为 MK419119、MK419118 和 MK419117）与南方根结线虫侵染有关，可能参与了调控线虫取食位点的建立与巨细胞的形成等等。

3 讨论

植物在受到病原体等生物胁迫过程中由于缺乏趋利避害的机制，只能通过一系列复杂的基因表达调控体系抵御病原物的侵染。作为植物中最大的转录因子家族之一，WRKY 转录因子家族成员在转录水平调控植物基因的表达以及应对生物和非生物胁迫反应中起着重要作用。已有研究表明，在根结线虫与寄主植物的不亲和与亲和的互作中，WRKY 转录因子与抗线虫基因的表达联系紧密[7-9]。李淑敏等[8]研究抗根结线虫的辣椒与根结线虫的不亲和互作结果表明接种线虫 36 h 后分离到的 6 个 WRKY



★ 表示与已报道的根结线虫诱导相关WRKY转录因子同源性较高的SgWRKY转录因子
★ indicates high homology of SgWRKY with known WRKY transcription factors related to root-knot nematode infection

图 2　罗汉果 WRKY 转录因子序列进化树分析

Fig. 2　Phylogenetic analysis of WRKY transcription factors in *Siraitia grosvenorii*

基因在根组织中出现大量表达的情况与根结线虫的侵染转移紧密相关。由于线虫侵染抑制了寄主的防御反应,受根结线虫侵染负调控的基因多是病原防御基因。郑井元[9]通过对转基因超表达 *CaWRKY*30 的番茄植株进行南方根结线虫抗性鉴定,发现 *CaWRKY*30 基因超表达导致植株对线虫的敏感性增大。本研究基于南方根结线虫侵染 7 d 的罗汉果根结转录组测序结果分析,鉴定到 21 个具有 WRKY 保守结构域和锌指(C2H2 或 C2HC)WRKY 转录因子,进化分析结果显示有 8 个 SgWRKY 转录因子与已报道的根结线虫诱导表达 WRKY 同源性较高,其中只有 *SgWRKY*9、*SgWRKY*12 基因在接种南方根结线虫 7 d 的罗汉果根结中出现上调表达,其余 6 个 *SgWRKY* 基因均出现下调表达,Eulgem[5]也发现被根结线虫侵染的拟南芥中 WRKY 转录因子主要是出现下调表达模式;再者,相关文献[4,6-7]报道 Group Ⅱc 成员在根结线虫与寄主植物早期互作并形成其取食位点过程中起着重要调控作用,本研究初步推测罗汉果 Group Ⅱc 家族成员 SgWRKY2、SgWRKY3、SgWRKY17 这 3 个转录因子的下调表达很可能与罗汉果受到南方根结线虫的侵染有关;同样值得关注的是本研究中鉴定到的第三家族成员 *SgWRKY*13(GenBank 登录号为 MK419116)在根结线虫侵染的早期出现显著性下调表达,而且在本研究系统发育树上(图 2)与介导植物根结线虫应答反应中起负调控作用的 *CaWRKY*30[9]具有较高同源性。然而,这些转录因子在罗汉果与南方根结线虫不亲和互作中是否具有重要作用有待今后的进一步研究证实。本研究基于南方根结线虫侵染早期罗汉果根系转录组数据,对罗汉果应答根结线虫胁迫相关的 WRKY 基因进行鉴定与分析,为 WRKY 基因的克隆和功能分析提供基因序列来源,也为将来能更好地利用 WRKY 基因的调控作用于罗汉果根结线虫抗性分子育种提供参考。

参考文献

[1]　张凡,尹俊龙,郭瑛琪,等. WRKY 转录因子的研究进展[J].

生物技术通报,2018,34 (1): 40 - 48.

[2] 禹阳,贾赵东,马佩勇,等. WRKY 转录因子在植物抗病反应中的功能研究进展[J]. 分子植物育种,2018,16(21):7009 - 7020.

[3] JIANG Jingjing, MA Shenghui, YE Nenghui, et al. WRKY transcription factors in plant responses to stresses [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2017, 59(2):86 - 101.

[4] 张雅涵,茆振川,凌键,等. 黄瓜根结发育早期 WRKY 基因的分离[J]. 植物保护,2012,38(3):13 - 17.

[5] EULGEM T. Regulation of the *Arabidopsis* defense transcriptome [J]. Trends in Plant Science, 2005,10(2):71 - 78.

[6] GRUNEWALD W, KARIMI M, WIECZOREK K, et al. A role for 23 in feeding site establishment of plant-parasitic nematodes AtWRKY [J]. Plant Physiology,2008,141(1):358 - 368.

[7] JAMMES F, LECOMTE P, DE ALMEIDA-ENGLER J, et al. Genome-wide expression profiling of the host response to root-knot nematode infection in *Arabidopsis* [J]. The Plant Journal,2005, 44(3): 447 - 458.

[8] 李淑敏,茆振川,李蕾,等. 辣椒抗根结线虫相关 WRKY 基因的分离[J]. 园艺学报,2008, 35 (10): 1467 - 1472.

[9] 郑井元. 辣椒 WRKY 转录因子 *CaWRKY*6 和 *CaWRKY*30 基因的克隆、表达及功能分析[D]. 长沙:中南大学, 2012.

[10] 刘纪霜,黄金玲,张正淳,等. 罗汉果根结线虫病田间发病情况调查及病原鉴定[J]. 广东农业科学,2011,38(24):66 - 68.

[11] 王新荣,马超,任璐璐,等. 根结线虫引起的植物根结形态与形成机理研究进展[J]. 华中农业大学学报,2010,29(2):251 - 256.

[12] 刘纪霜. 罗汉果抗南方根结线虫的品种筛选及抗病机制初探[D]. 南宁:广西大学,2007.

[13] 焦春伟,徐春玲,谢辉,等. 用沙培空心菜繁殖根结线虫效果的研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2012,40(3): 126 - 130.

[14] YU Chinsheng, CHEN Yuching, LU Chihao, et al. Prediction of protein subcellular localization [J]. Proteins, 2006, 64(3): 643 - 651.

[15] CHOU Kuochen, SHEN Hongbin. Plant-mPLoc: a top-down strategy to augment the power for predicting plant protein subcellular localization [J/OL]. PLoS ONE, 2010, 5(6): e11335.

[16] LING Jian, JIANG Weijie, ZHANG Ying, et al. Genome-wide analysis of WRKY gene family in *Cucumis sativus* [J/OL]. BMC Genomics, 2011, 12:471.

[17] 张书玲,刘莹,张惠敏,等. 棉花 WRKY 转录因子家族成员的鉴定和生物信息学分析[J]. 中国农业科技导报,2017,19(8): 9 - 15.

[18] ZHANG Yuanji, WANG Liangjiang. The WRKY transcription factor superfamily: its origin in eukaryotes and expansion in plants [J/OL]. BMC Evolutionary Biology, 2005, 5:1.

(责任编辑: 田 喆)

(上接 161 页)

[17] 柏亚罗. 陶氏杜邦氟啶虫胺腈已在 40 余国登记年峰值销售将超 4 亿美元[J]. 农药市场信息,2018(2): 48 - 49.

[18] 刘芳慧,丁新华,马继元,等. 50%氟啶虫胺腈水分散粒剂防治棉蚜药效试验[J]. 农村科技, 2016(6): 41 - 42.

[19] 水清. 氟啶虫胺腈:防治稻飞虱高效适用药[J]. 农药市场信息, 2015(23): 52.

[20] 王彭,曲春鹤,黄大益,等. 氟啶虫胺腈对桃蚜和瓜蚜室内杀虫活性及田间防治效果[J]. 现代农药,2017(5): 45 - 49.

[21] 肖春霞,张佩文,谭煜婷,等. 氟啶虫胺腈对红火蚁毒杀活性及活动能力的影响[J]. 贵州农业科学,2018(4): 48 - 51.

[22] 周艺凡,卢彦蓉,马千里,等. 溴氰虫酰胺对红火蚁工蚁的毒杀活性及行为影响[J]. 广东农业科学,2018(1): 75 - 79.

[23] NEFF R, PUCKETT R T, GOLD R E. Particle size and bait preference of the red imported fire ant, *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae) [J]. Sociobiology, 2011, 58(2): 473 - 487.

[24] 黄俊,陆永跃,梁广文,等. 四种毒饵对红火蚁的田间防治效果评价[J]. 环境昆虫学报,2008(2): 135 - 140.

[25] LI Weisheng, ZHOU You, LI Hong, et al. Insecticidal effect of volatile compounds from fresh plant materials of *Tephrosia vogelii* against *Solenopsis invicta* workers [J]. Sociobiology, 2014, 61(1): 28 - 34.

[26] 李梓豪,付建涛,张志祥. 雷公藤乙醇提取物及其饵剂对红火蚁的毒杀活性[J]. 华南农业大学学报, 2015(5): 75 - 79.

[27] 刘娜,程东美,徐汉虹,等. 光活化成分 α-三联噻吩对红火蚁的致死作用及对其行为的影响[J]. 中国农业科学,2011(23): 4815 - 4822.

[28] QI Yixiang, ZENG Tian, WANG Lei, et al. Biogenic amine signaling systems in the red imported fire ant, *Solenopsis invicta*-possible contributors to worker division of labor[J]. General and Comparative Endocrinology, 2018, 262: 59 - 70.

[29] 莫让瑜,黄求应,雷朝亮. 挖巢、水灌巢和杀虫剂灌巢对红火蚁迁巢的影响[J]. 华中农业大学学报,2009(1): 20 - 22.

[30] WANG Lei, ZENG Ling, CHEN Jian. Impact of imidacloprid on new queens of imported fire ants, *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae) [J]. Scientific Reports,2015, 5(17938):1 - 8.

[31] 朱亚娟,顾林玲. 作用于烟碱乙酰胆碱受体的杀虫剂新品种的应用开发进展[J]. 现代农药,2018(4): 1 - 7.

(责任编辑: 田 喆)