

铃木氏果蝇不同地理种群中 *Wolbachia* 的检测和系统发育分析

于毅¹, 王静¹, 陶云荔², 国栋², 褚栋^{2,*}

(1. 山东省农业科学院植物保护研究所, 山东省植物病毒学重点实验室, 济南 250100;

2. 青岛农业大学农学与植物保护学院, 山东省植物病虫害综合防控重点实验室, 山东青岛 266109)

摘要: 铃木氏果蝇 *Drosophila suzukii* 是原产于东南亚地区的重要果树害虫, 近年来传入北美和欧洲等地区造成严重的危害。本研究利用 *Wolbachia* 的 16S rDNA 和 *wsp* 基因特异引物(分别为 16S-F/16S-R 和 81F/691R)对铃木氏果蝇 7 个地理种群(中国的 5 个种群、韩国的 1 个种群和美国的 1 个种群)的 *Wolbachia* 进行了 PCR 检测并对检测结果进行了比较;对感染个体体内 *Wolbachia* 的 16S rDNA 基因片段进行测序, 确定了我国铃木氏果蝇体内 *Wolbachia* 的分类地位。基于 *Wolbachia* 的 16S rDNA 基因特异引物检测结果发现, 我国 5 个铃木氏果蝇种群广泛感染 *Wolbachia*(感染率 36.7%~80.0%), 而韩国和美国 2 个种群均未检测到该菌的感染。而利用 *wsp* 基因特异引物无法检测到该菌。基于 *Wolbachia* 的 16S rDNA 基因构建系统发育树表明, 我国铃木氏果蝇种群感染的 *Wolbachia* 全部属于 A 组。这些结果为研究 *Wolbachia* 感染对铃木氏果蝇生物学及生态学的影响奠定了基础。

关键词: 铃木氏果蝇; 地理种群; 内共生菌; *Wolbachia*; 16S rDNA; *wsp*; 系统发育分析

中图分类号: Q965.8 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2013)03-0323-06

Detection and phylogenetic analysis of *Wolbachia* in different geographical populations of *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae)

YU Yi¹, WANG Jing¹, TAO Yun-Li², GUO Dong², CHU Dong^{2,*} (1. Key Laboratory for Plant Virology of Shandong, Institute of Plant Protection, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100, China; 2. Key Laboratory of Integrated Crop Pest Management of Shandong Province, College of Agronomy and Plant Protection, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109, China)

Abstract: *Drosophila suzukii* is an important fruit pest native to Southeast Asia. During the past several years, it has been introduced in North America and Europe where it has caused severe damages. In this study, the infection of *Wolbachia* in seven geographical populations of *D. suzukii* (five Chinese populations, one Korean population, and one American population) was detected using the 16S rDNA and *wsp* specific primers (16S-F/16S-R and 81F/691R, respectively), the infection characteristics of *Wolbachia* within the seven populations were compared, and the 16S rDNA gene fragments within the populations were sequenced and then used to determine the classification of *Wolbachia*. Based on the 16S rDNA primers, we found that all five Chinese populations were infected with *Wolbachia* with a high infection rate (ranged from 36.7% to 80.0%), while the population from Korea and the United States was not infected with this symbiont. However, the infection of *Wolbachia* was not detectable using the *wsp* specific primers. The phylogenetic tree constructed with 16S rDNA gene shows that all of *Wolbachia* within Chinese populations belong to group A. The results lay a foundation for revealing the biological and ecological effects of *Wolbachia* on the host *D. suzukii*.

Key words: *Drosophila suzukii*; geographical population; endosymbiont; *Wolbachia*; 16S rDNA; *wsp*; phylogenetic analysis

Wolbachia 是一类广泛存在于节肢动物体内呈母系细胞质遗传的胞内共生菌 (Werren *et al.*, 2008)。 *Wolbachia* 检测常用的基因有 16S rDNA, *ftsZ* 和 *wsp* (Machtelinckx *et al.*, 2012)。根据不同

基金项目: 山东省现代农业产业技术体系水果团队; 农业部农业科研杰出人才项目; “泰山学者”建设工程专项经费资助

作者简介: 于毅, 男, 1965 年 3 月生, 山东宁津人, 研究员, 主要从事农业害虫防治, E-mail: robertyuyi@163.com

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: chinachudong@sina.com

收稿日期 Received: 2012-12-25; 接受日期 Accepted: 2013-02-15

的基因,在系统进化上将 *Wolbachia* 分成 A~H 组,其中侵染昆虫纲的主要是 A 组和 B 组(O'Neill *et al.*, 1992; Zhou *et al.*, 1998)。*Wolbachia* 可调控宿主生殖方式,直接影响宿主生物学(Serbus *et al.*, 2008)。*Wolbachia* 的感染还可能影响宿主种群适合度或宿主种群生态学,如研究发现外来种入侵种群的 *Wolbachia* 感染率远远低于原产地种群的感染率,入侵种群的成功入侵可能与逃避 *Wolbachia* 的负面影响有关(Shoemaker *et al.*, 2000; Tsutsui *et al.*, 2003; 褚栋等, 2005a, 2005b)。

铃木氏果蝇 *Drosophila suzukii* Matsumura(又称斑翅果蝇)属双翅目(Diptera)果蝇科(Drosophilidae)果蝇属 *Drosophila*, 该虫最早于 1916 年在日本发现(孙鹏等, 2011)。在中国的已报道的黑腹果蝇 *D. melanogaster* 种组 67 种果蝇中,铃木氏果蝇是分布面积最广泛的种类之一,它分布于中国东部和南部 22 个省市自治区(钱远槐等, 2006)。该虫主要危害草莓、樱桃、葡萄等水果,与其他果蝇为害腐熟果实或落果不同,铃木氏果蝇可取食收获之前未成熟的果实(Lee *et al.*, 2011)。铃木氏果蝇雌性成虫在樱桃等水果有损伤的部位产卵,孵化后的幼虫迅速污染整个果实,使果肉变软松散,还容易导致产卵部位的再次污染,造成烂果,严重影响了樱桃等水果的产量(Lee *et al.*, 2011)。近年来,铃木氏果蝇传入到北美和欧洲等地区造成严重的经济损失,成为这些地区破坏性极大的入侵害虫(Bolda *et al.*, 2010)。据报道该虫对美国经济水果造成的损失率高达 80%(Dreves *et al.*, 2009),欧洲和地中海植物保护组织以及美国、澳大利亚、新西兰等先后对该虫发布预警或将其列入检疫性有害生物名单中(孙鹏等, 2011)。在 2012 年 8 月韩国大邱召开的第 24 届国际昆虫学大会上(XXIV International Conference of Entomology),“铃木氏果蝇生物学与控制”(Biology and control of spotted wing drosophila, *Drosophila suzukii*)被单独作为一个学术专题进行讨论,可见铃木氏果蝇的危害已引起了许多昆虫学家与植物保护学家的广泛关注。

鉴于 *Wolbachia* 对宿主的生物学与生态学影响,我们的初步研究发现铃木氏果蝇国内种群感染该菌。为了进一步揭示铃木氏果蝇体内 *Wolbachia* 感染特点,本研究利用 *Wolbachia* 的 16S rDNA 和 *wsp* 基因特异引物(分别为 16S-F/16S-R 和 81F/691R)对铃木氏果蝇 7 个地理种群(中国的 5 个种群、韩国的 1 个种群和美国的 1 个种群)的 *Wolbachia* 进行

了 PCR 检测并对检测结果进行了比较;对感染个体体内 *Wolbachia* 的 16S rDNA 基因片段进行测序,确定了我国铃木氏果蝇体内 *Wolbachia* 的分类地位。这些结果为研究 *Wolbachia* 感染对铃木氏果蝇生物学及生态学的影响奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

本研究中果蝇成虫分别采自中国山东泰安、山东威海、浙江温州、陕西西安、云南红河的 5 个种群,韩国首尔的 1 个种群以及美国加利福尼亚州的 1 个种群(表 1)。样品采回后,参照 Steck 等(2009)方法先进行室内形态鉴定并在 -20℃ 条件下低温保存。

1.2 果蝇基因组 DNA 的提取

单头果蝇是在 1 × TE (Tris-EDTA, pH 8.0)缓冲液中冰浴匀浆,应用组织/细胞基因组 DNA 快速提取试剂盒(北京博迈德生物技术有限公司)提取基因组 DNA(具体提取过程按照试剂盒说明书步骤进行操作)。提取的 DNA 样品取 3~4 μL 通过 1.0% 琼脂糖凝胶电泳来检测质量,检测合格后保存于 -20℃ 备用。

1.3 利用 16S rDNA 和 *wsp* 特异引物检测 *Wolbachia*

本研究采用 *Wolbachia* 的 16S rDNA 和 *wsp* 基因特异引物(分别是 16S-F/16S-R、81F/691R)标记来检测果蝇是否被 *Wolbachia* 感染,以超纯水代替模板 DNA 为阴性对照。引物序列(Heddi *et al.*, 1999)如下: 16S-F: 5'-CGGGGAAAAATTTATTGCT-3', 16S-R: 5'-AGCTGTAATACAGAAAGTAAA-3'; *wsp*-81F: 5'-TGGTCCAATAAGTGATGAAGAAAC-3', *wsp*-691R: 5'-AAAAATTAAACGCTACTCCA-3'; PCR 扩增总体积是 25 μL,其中包含 2.5 μL PCR buffer, 0.5 μL dNTPs, 上下游引物各 0.5 μL (10 μmol/L), Taq 酶 0.25 μL(北京全式金生物技术有限公司), DNA 模板 3 μL, ddH₂O 17.75 μL。PCR 反应程序为: 95℃ 预变性 3 min, 35 个循环(94℃ 变性 30 s, 55℃ 退火 1 min, 72℃ 延伸 1 min), 72℃ 延伸 10 min。扩增产物每个样品各取 5 μL,用 1.0% 的琼脂糖凝胶电泳检测其大小、纯度及亮度,并用凝胶成像系统拍照记录,2 个基因产物的目的片段长度均为 600 bp 左右。如有目的带,将 PCR 产物进行双向测序。

1.4 利用 16S rDNA 序列进行系统发育树分析

感染 *Wolbachia* 的所有种群中，每个种群挑选 3 头被感染个体 DNA 进行 PCR 产物测序，得到 15 条 16S rDNA 序列。将测序结果拼接后在 NCBI 网站上进行 BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 搜索，以确保获得的序列片段为 16S rDNA 基因的序列片段。从 GenBank 基因数据库中检索所有果蝇的共生菌 *Wolbachia* 的 16S rDNA 序列并下载。同时，用 DNAMAN 软件对同源基因进行比对得到相似性分析，寻找不同的 *Wolbachia* 感染品系。使用 MEGA5.0 (Tamura *et al.*, 2011) 基于 Kimura's-2-parameter 模型计算序列间的遗传距离，构建系统发育树，系统树各分支的置信度 (bootstrap) 均进行 1 000 次重复检验。

2 结果分析

2.1 铃木氏果蝇不同地理种群中 *Wolbachia* 感染率分析

本研究分别用 16S rDNA 和 *wsp* 两个基因检测了我国 5 个种群以及美国 and 韩国 2 个种群的果蝇共计 188 头个体 (表 1)。我们发现所有个体都没有检

测到 *wsp* 基因，而有 78 头个体检测到 16S rDNA 基因目的片段，除浙江温州与山东泰安种群外，其他地区的雌虫中 *Wolbachia* 的感染率都比雄虫中的感染率低，平均感染率为 41.5% (雌、雄个体感染率分别为 38.8% 和 44.4%)。在我国铃木氏果蝇种群中个体感染率为 54.6%，其中我国山东泰安和浙江温州果蝇体内的 *Wolbachia* 感染率超过 50% (分别是 74.1% 和 80.0%)，但在美国 and 韩国 2 个种群中并没有检测到 *Wolbachia* 感染。

2.2 *Wolbachia* 的 16S rDNA 序列分析

将所有 16S rDNA 序列进行 BLAST 搜索，以确保所测序列是 *Wolbachia* 的 16S rDNA 基因序列。通过 DNAMAN 人工校对截取 569 bp 长度的序列，比对分析发现，这 15 条序列碱基组成是相同的，即没有发现变异位点，也就是仅有 1 种单倍型，将该序列提交 GenBank (登录号为 KC287134)。用于系统发育分析的 *Wolbachia* 16S rDNA 序列是来自本研究自测序列和从 GenBank 数据库中下载的相关物种感染的 *Wolbachia* 的 16S rDNA 基因序列 (表 2)，通过 MEGA5.0 软件采用 NJ 邻接法对这些序列构建系统进化树发现 (图 1)，来自中国的这 15 条相同的序列 (GenBank 登录号：KC287134) 被聚类在

表 1 *Wolbachia* 在铃木氏果蝇不同地理种群中的感染情况
Table 1 *Wolbachia* infection in different geographical populations of *Drosophila suzukii*

采集地点 Sampling location	经纬度 Longitude/Latitude	样本量 Sample size	感染量 Number of infected individuals	感染率 (%) Infection rate
山东泰安 Tai'an, Shandong	37.20°E, 117.09°N	27 (12 ♀ + 15 ♂)	20 (9 ♀ + 11 ♂)	74.1 (♀ 75.0, ♂ 73.3)
山东威海 Weihai, Shandong	37.51°E, 122.12°N	30 (15 ♀ + 15 ♂)	12 (4 ♀ + 8 ♂)	40.0 (♀ 26.7, ♂ 53.3)
浙江温州 Wenzhou, Zhejiang	20.99°E, 120.70°N	30 (15 ♀ + 15 ♂)	24 (14 ♀ + 10 ♂)	80.0 (♀ 93.3, ♂ 66.7)
陕西西安 Xi'an, Shaanxi	34.34°E, 108.94°N,	26 (18 ♀ + 8 ♂)	11 (7 ♀ + 4 ♂)	42.3 (♀ 38.9, ♂ 50.0)
云南红河 Honghe, Yunnan	23.36°E, 102.42°N	30 (15 ♀ + 15 ♂)	11 (4 ♀ + 7 ♂)	36.7 (♀ 26.7, ♂ 46.7)
美国加州 California, America	36.78°E, 119.42°N	30 (15 ♀ + 15 ♂)	0 (0 ♀ + 0 ♂)	0 (0 ♀, 0 ♂)
韩国 Korea	127.77°N, 35.91°E	15 (8 ♀ + 7 ♂)	0 (0 ♀ + 0 ♂)	0 (0 ♀, 0 ♂)
总值 Total		188 (98 ♀ + 90 ♂)	78 (38 ♀ + 40 ♂)	41.5 (♀ 38.8, ♂ 44.4)

表中铃木氏果蝇雌、雄感染率是雌雄分别占样本中雌、雄个体数的感染率。The infection rate of females or males means the proportion of the infected female or male individuals in the total samples of females or males, respectively.

表 2 本研究中使用的 *Wolbachia* 16S rDNA 参考序列
Table 2 Sequences of *Wolbachia* 16S rDNA used in this study

种群代码 Population code	来源地 Origin	<i>Wolbachia</i> 宿主 <i>Wolbachia</i> -infected host	GenBank 登录号 GenBank accession no.
Mexico-Tcor	墨西哥 Mexico	科尔多瓦赤眼蜂 <i>Trichogramma cordubensis</i>	X65675 **
Netherlands-BSI	荷兰 Netherlands	苔螨 <i>Bryobia</i> sp. I	EU499318
Japan-Kres	日本 Japan	桦实长螨 <i>Kleidocerys resedae</i>	JQ726770
USA-Dali	美国 USA	柑橘木虱红腹跳小蜂 <i>Diaphorencyrtus aligarhensis</i>	EF433794
Mauritius-Dmau	毛里求斯 Mauritius	果蝇 <i>Drosophila mauritiana</i>	U17060 **
India-Klac	印度 India	紫胶蚧 <i>Kerria lacca</i>	JX669531
Netherlands-Nvit	荷兰 Netherlands	丽蝇蝇集金小蜂 <i>Nasonia vitripennis</i>	M84686
USA-Pean	美国 USA	卡内里虱蝇 <i>Pseudolynchia canariensis</i>	DQ115538
USA-Gpen	美国 USA	蟋蟀 <i>Gryllus pennsylvanicus</i>	U83090
USA-Gint	美国 USA	蟋蟀 <i>Gryllus integer</i>	U83095
France-Cpip	法国 France	尖音库蚊 <i>Culex pipiens</i>	X65670 **
USA-Mocc	美国 USA	西方盲走螨 <i>Metaseiulus occidentalis</i>	AY754820
USA-Turt	美国 USA	二斑叶螨 <i>Tetranychus urticae</i>	AY753174
India-Btab	印度 India	烟粉虱 <i>Bemisia tabaci</i>	JN204502
USA-Grub	美国 USA	蟋蟀 <i>Gryllus rubens</i>	U83092
France-Sory	法国 France	米象 <i>Sitophilus oryzae</i>	AF035160 **
USA-Dsec	美国 USA	果蝇 <i>Drosophila sechellia</i>	U17059 *
Hawaii-Dsim	美国夏威夷 Hawaii, USA	拟果蝇 <i>Drosophila simulans</i>	X64265 *
USA-Dsim	美国 USA	拟果蝇 <i>Drosophila simulans</i>	X64264 *
France-Vcan	法国 France	仓蛾姬蜂 <i>Venturia canescens</i>	JX399793
Africa-Rsae	非洲 Africa	准蜂 <i>Rediviva saetigera</i>	HM111618
Greece-Dmel	希腊 Greece	黑腹果蝇 <i>Drosophila melanogaster</i>	Z28983 *
USA-Oana	美国 USA	环腹瘦蜂 <i>Odontosema anastrephae</i>	JX182384
China-Dsuz	中国 China	铃木氏果蝇 <i>Drosophila suzukii</i>	KC287134

* 属于 *Wolbachia* A 组 Belonging to *Wolbachia* A group (Heddi *et al.*, 1999); ** 属于 *Wolbachia* B 组 Belonging to *Wolbachia* B group (Heddi *et al.*, 1999).

Wolbachia A 组里 (bootstrap score = 100%), 并且与感染黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 株系 (Greece-Dmel)、果蝇 *Drosophila sechellia* 株系 (USA-Dsec)、拟果蝇 *Drosophila simulans* 株系 (USA-Dsim; Hawaii-Dsim) (GenBank 登录号分别为 Z28983, U17059, X64264 和 X64265), 以及感染寄生蜂仓蛾姬蜂 *Venturia canescens* (France-Vcan)、*Rediviva saetigera* (Africa-Rsae) 和 *Odontosema anastrephae* (USA-Oana) 的 *Wolbachia* 菌 (GenBank 登录号分别为 JX399793, HM111618 和 JX182384) 聚在一个分支上。其中, 值得一提的是, 本研究所得到的 *Wolbachia* 菌的 16S rDNA 的序列与来自美国洛杉矶的拟果蝇 *D. simulans* 感染株系 (GenBank 登录号为

X64264) 和夏威夷拟果蝇 *D. simulans* 感染株系 (GenBank 登录号为 X64265) (Rousset *et al.*, 1992) 的 16S rDNA 序列完全一致。使用最大相似度法 (maximum-likelihood tree, ML) 和最小进化法 (minimum-evolution, ME) 构建系统发育树结果相似。

3 结论与讨论

资料表明, *Wolbachia* 在许多果蝇如黑腹果蝇 *D. melanogaster*、拟果蝇 *D. simulans* 中均有感染 (Veneti *et al.*, 2012), 而铃木氏果蝇体内检测到 *Wolbachia* 则是首次报道。研究中我们发现 *Wolbachia*

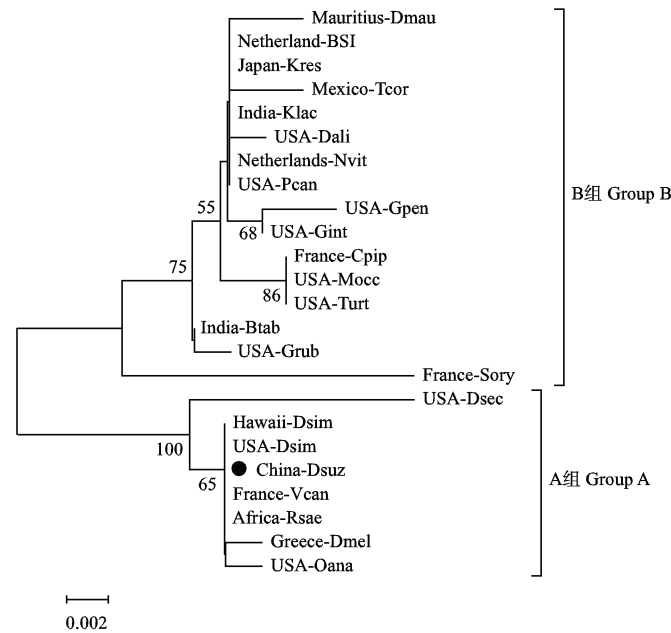


图 1 基于 16S rDNA 基因对 *Wolbachia* 系统发育树分析(NJ 法)
Fig. 1 Phylogenetic tree of *Wolbachia* based on 16S rDNA sequences with NJ method
种群代码同表 2。Population codes are the same as in Table 2.

在中国 5 个种群的平均感染率为 54.6%，而在美国、韩国的 2 个种群未检测到该菌。据我们分析，造成美国入侵种群 *Wolbachia* 感染率低的原因可能有以下几点：检测样本的数量有限(30 个)；入侵种群的瓶颈效应或奠基者效应，美国种群可能来自于未感染或感染率低的种群。韩国种群 *Wolbachia* 感染率低的原因可能是采集种群有限或者种群确实没有感染该共生菌所致。如果美国入侵种群没有(或具有较低) *Wolbachia* 的感染率，那么美国铃木氏果蝇可能逃避了 *Wolbachia* 的感染，这种逃避 *Wolbachia* 感染后种群适合度及其生态学效应如何，是否逃避 *Wolbachia* 的负面影响有利于种群密度的上升或种群的入侵(Shoemaker *et al.*, 2000; Tsutsui *et al.*, 2003; 褚栋等, 2005a, 2005b)，这些问题尚需进一步的研究。

Wolbachia 的传递方式主要为垂直的母系传播(Hoffmann *et al.*, 1990)，该菌在节肢动物不同宿主间也能够借助宿主拟寄生生物的寄生作用进行水平传播(Jiggins, 2002; Baldo *et al.*, 2006)。目前，已知的水平传播的途径有 3 条，分别是：(1)在同种宿主不同个体间的水平传播；(2)在亲缘关系较远的昆虫间的水平传播；(3)昆虫与其他节肢动物之间的水平传播(董鹏和王进军, 2006)。 *Wolbachia* 在我国 5 个铃木氏果蝇种群内的感染率比较高，感染种类比较单一(均属于 A 组)，与来自美国夏威夷

和洛杉矶的拟果蝇 *D. simulans* 的 *Wolbachia* 16S rDNA 序列碱基一样，和感染其他果蝇的 *Wolbachia* 菌也有较高的核苷酸相似性。铃木氏果蝇的 *Wolbachia* 菌与其他果蝇的 *Wolbachia* 菌的 16S rDNA 有如此高的相似性，与其他物种 *Venturia canescens*, *Rediviva saetigera* 和 *Odontosema anastrephae* 在进化树上共享一个支系的现象，推测可能是与该菌的第 2 种水平传播方式有关：即 *Wolbachia* 在一种宿主体内感染之后，可能通过拟寄生物做纽带，被携带到另一种宿主体内传播扩散。这就产生了宿主间的谱系与其体内共生菌的品系在系统分类上不一致的现象(Rigaud and Juchault, 1995)。同样道理，毛里求斯果蝇感染的 *Wolbachia*(Mauritius-Dmau)与其他果蝇感染的该菌不在同一支的现象，可能是由于毛里求斯果蝇感染的 *Wolbachia*(Mauritius-Dmau)与其他物种存在水平传播所导致。

此外，与 *Wolbachia wsp* 基因的引物 81F/691R 相比，16S rDNA 的引物似乎在检测共生菌 *Wolbachia* 方面更灵敏。前人研究表明，本研究使用的 *Wolbachia wsp* 基因特异引物 81F/691R 具有偏向于扩增 B 组 *Wolbachia* 的特性(林煌真和李正西, 2008; 郭晓鹏和李正西, 2008)。本研究在果蝇体内检测到的所有 *Wolbachia* 均属于 A 组，而 *wsp* 基因引物并没有检测到该菌的感染。本研究结果支持

了前人的研究结论, 即 *wsp* 基因特异引物 81F/691R 不能有效扩增 A 组 *Wolbachia* 或其中某些品系。

参考文献 (References)

- Baldo L, Bordenstein S, Wernegreen JJ, Werren JH, 2006. Widespread recombination throughout *Wolbachia* genomes. *Molecular Biology and Evolution*, 23: 437–449.
- Bolda MP, Goodhue RE, Zalom FG, 2010. Spotted wing drosophila: potential economic impact of a newly established pest. *Giannini Foundation of Agricultural Economics*, 13: 5–8.
- Chu D, Cong B, Zhang YJ, Xu BY, Wu QJ, Zhu GR, 2005a. Detection and phylogenetic analysis of *Wolbachia* in different *Bemisia tabaci* biotypes. *Acta Entomologica Sinica*, 48(4): 518–525. [褚栋, 丛斌, 张友军, 徐宝云, 吴青君, 朱国仁, 2005. 不同生物型烟粉虱体内的 *Wolbachia* 共生菌的检测及其系统树分析. 昆虫学报, 48(4): 518–525]
- Chu D, Zhang YJ, Bi YP, Fu HB, 2005b. *Wolbachia* endosymbionts and their effects on the fitness of the arthropod hosts. *Acta Microbiologica Sinica*, 45(5): 817–820. [褚栋, 张友军, 毕玉平, 付海滨, 2005b. *Wolbachia* 属共生菌及其对节肢动物宿主适合度的影响. 微生物学报, 45(5): 817–820]
- Dong P, Wang JJ, 2006. Reproductive manipulation of *Wolbachia* to its hosts. *Chinese Bulletin of Entomology*, 43(3): 288–294. [董鹏, 王进军, 2006. 沃尔巴克氏体 *Wolbachia* 对宿主的生殖调控作用及其研究进展. 昆虫知识, 43(3): 288–294]
- Dreves AJ, Walton V, Fisher G, 2009. A new pest attacking healthy ripening fruit in Oregon. Oregon State University Extension Service, EM8991.
- Guo XP, Li ZX, 2008. *Wolbachia* extensively harbored by *Bemisia tabaci* in China. *Acta Microbiologica Sinica*, 48(1): 63–67. [郭晓鹏, 李正西, 2008. 我国烟粉虱自然种群中存在广泛的 *Wolbachia* 感染现象. 微生物学报, 48(1): 63–67]
- Heddi A, Grenier AM, Khatchadourian C, Charles H, Nardon P, 1999. Four intracellular genomes direct weevil biology: nuclear, mitochondrial, principal endosymbiont, and *Wolbachia*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96: 6814–6819.
- Hoffmann AA, Turelli M, Harshman LG, 1990. Factors affecting the distribution of cytoplasmic incompatibility in *Drosophila simulans*. *Genetics*, 126: 933–948.
- Jiggins FM, 2002. The rate of recombination in *Wolbachia* bacteria. *Molecular Biology Evolution*, 19: 1640–1643.
- Lee JC, Bruck DJ, Curry H, Edwards D, Haviland DR, Steenwyk RAV, Yorgey BM, 2011. The susceptibility of small fruits and cherries to the spotted-wing drosophila, *Drosophila suzukii*. *Pest Management Science*, 67(11): 1358–1367.
- Lin HZ, Li ZX, 2008. Characteristics of *Wolbachia* infection in natural populations of *Bemisia tabaci* in Fujian province. *Acta Entomologica Sinica*, 51(1): 14–19. [林煌真, 李正西, 2008. 福建省烟粉虱自然种群 *Wolbachia* 感染特点. 昆虫学报, 51(1): 14–19]
- Machtelinckx T, Leeuwen TV, Wiele TVD, Boon N, De Vos WH, Sanchez JA, Nannini M, Gheysen G, Clercq D, 2012. Microbial community of predatory bugs of the genus *Macrolophus* (Hemiptera: Miridae). *BMC Microbiology*, 1471–2198.
- O'Neill SL, Giordano R, Colbert AME, Karr TL, Robertson HM, 1992. 16S rRNA phylogenetic analysis of the bacterial endosymbionts associated with cytoplasmic incompatibility in insects. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89: 2699–2702.
- Qian YK, Liu YL, Li ST, Yang Y, Zeng QT, 2006. Compact and distribution of the *Drosophila melanogaster* species group from China. *Journal of Hubei University*, 28(4): 397–402. [钱远槐, 刘艳玲, 李守涛, 杨勇, 曾庆韬, 2005. 中国黑腹果蝇种组的组成与分布. 湖北大学学报, 28(4): 397–402]
- Rigaud T, Juchault P, 1995. Success and failure of horizontal transfers of feminizing *Wolbachia* endosymbionts in woodlice. *Journal of Evolutionary Biology*, 8: 249–255.
- Rousset F, Vautrin D, Solignac M, 1992. Molecular identification of *Wolbachia*, the agent of cytoplasmic incompatibility in *Drosophila simulans*, and variability in relation with host mitochondrial types. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 247(1320):163–168.
- Serbus LR, Casper-Lindley C, Landmann F, Sullivan W, 2008. The genetics and cell biology of *Wolbachia*-host interactions. *Annual Review of Genetics*, 42: 683–707.
- Shoemaker DD, Ross KG, Keller L, Vargo EL, Werren JH, 2000. *Wolbachia* infections in native and introduced populations of fire ants (*Solenopsis* spp.). *Insect Molecular Biology*, 9(6): 661–673.
- Steck GJ, Dixon W, Dean D, 2009. Spotted wing drosophila, *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae), a fruit pest new to North America. Pest Alert, DACS-P-01674.
- Sun P, Liao TL, Yuan K, Shi ZH, Ji R, Chen JH, Wu J, 2011. A fruit pest – spot wing *Drosophila*. *Plant Quarantine*, 25(6): 45–47. [孙鹏, 廖太林, 袁克, 师振华, 纪睿, 陈集翰, 吴军, 2011. 水果害虫——斑翅果蝇. 植物检疫, 25(6): 45–47]
- Tamura K, Peterson D, Stecher G, Nei M, Kumar S, 2011. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28: 2731–2739.
- Tsutsui ND, Kauppinen SN, Oyafuso AF, Grosberg RK, 2003. The distribution and evolutionary history of *Wolbachia* infection in native and introduced populations of the invasive argentine ant (*Lineiothema humile*). *Molecular Ecology*, 12(11): 3057–3068.
- Veneti Z, Zabalou S, Papafiotou G, Paraskevopoulos C, Pattas S, Livadaras I, Markakis G, Herren JK, Jaenike J, Bourtzis K, 2012. Loss of reproductive parasitism following transfer of male-killing *Wolbachia* to *Drosophila melanogaster* and *Drosophila simulans*. *Heredity*, 109: 306–312.
- Werren JH, Baldo L, Clark ME, 2008. *Wolbachia*: master manipulators of invertebrate biology. *Nature Reviews Microbiology*, 6: 741–751.
- Zhou WG, Rousset F, O'Neill S, 1998. Phylogeny and PCR-based classification of *Wolbachia* strains using *wsp* gene sequences. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 265: 509–515.

(责任编辑: 袁德成)