

程超, 沈加飞, 明庆磊. 赤拟谷盗和杂拟谷盗体内 *Wolbachia* 的感染状况和种间传播[J]. 江苏农业学报, 2015, 31(2): 272-278.
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2015.02.008

赤拟谷盗和杂拟谷盗体内 *Wolbachia* 的感染状况和种间传播

程超, 沈加飞, 明庆磊

(江苏师范大学生命科学学院, 江苏 徐州 221116)

摘要: 为明确沃尔巴克氏体(*Wolbachia*) 在赤拟谷盗和杂拟谷盗体内的感染状况及种间水平和垂直传播情况, 首先通过 PCR 扩增分离细胞分裂蛋白基因(*ftsZ*) 目的片段方法检测这 2 个近缘种拟谷盗体内是否存在 *Wolbachia*, 并将同性别或异性别的赤拟谷盗和杂拟谷盗混合饲养 40 d, 然后测定赤拟谷盗及其与杂拟谷盗的正反杂交种后代体内 *Wolbachia* 的感染状况。结果显示, 杂拟谷盗体内存在 *Wolbachia*, 而赤拟谷盗体内不存在该菌; 混合饲养后, 赤拟谷盗及其与杂拟谷盗的正反杂交后代体内也均没有检测到 *Wolbachia* 的存在, 未发现 *Wolbachia* 在杂拟谷盗和赤拟谷盗种间的水平和垂直传播。

关键词: 赤拟谷盗; 杂拟谷盗; 沃尔巴克氏体; 水平传播; 垂直传播

中图分类号: S186 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2015)02-0272-07

Infection and interspecific transmission of *Wolbachia* in *Tribolium castaneum* and *T. confusum*

CHENG Chao, SHEN Jia-fei, MING Qing-lei

(School of Life Sciences, Jiangsu Normal University, Xuzhou 221116, China)

Abstract: To define the infection and interspecifically horizontal and vertical transmission of *Wolbachia* in two closely related flour beetles *Tribolium castaneum* (Herbst) and *T. confusum* (Jac. du Val.), *Wolbachia* was detected in both beetle species by PCR amplification of *ftsZ* target gene fragment. After same-sex or opposite-sex mixed feeding, the infection of *Wolbachia* in the red flour beetles *T. castaneum* and the reciprocal hybrids of *T. castaneum* and *T. confusum* was examined. The *wolbachia* infected confused flour beetles *T. confusum* exclusively. The red flour beetles *T. castaneum* and the reciprocal hybrids were *Wolbachia*-free. These suggests that interspecifically horizontal and vertical transmissions of *Wolbachia* did not occur in the two closely related flour beetles *T. castaneum* and *T. confusum*, and *T. castaneum* may have an internal mechanism inhibiting the reproduction and survival of *Wolbachia*.

Key words: *Tribolium castaneum*; *T. confusum*; *Wolbachia*; horizontal transmission; vertical transmission

收稿日期: 2014-10-28

基金项目: 国家自然科学基金项目(31172159); 教育部留学回国人员科研启动基金项目[教外司(2012)1707号]; 江苏师范大学自然科学基金重点项目(13XLA06)

作者简介: 程超(1973-), 女, 江苏徐州人, 硕士, 副教授, 研究方向为昆虫遗传与进化生物学。(Tel) 0516-83403171; (E-mail) chengchao@jnsu.edu.cn

通讯作者: 明庆磊, (Tel) 0516-83403171; (E-mail) mingqinglei@jnsu.edu.cn

沃尔巴克氏体(*Wolbachia*) 是一类呈母性遗传的革兰氏阴性细胞内共生菌, 广泛存在于昆虫、蜘蛛和螨等节肢动物体内, 是昆虫体内分布最广的细胞内共生菌, 超过 65% 的昆虫体内都存在^[1]。*Wolbachia* 之所以引起众多学者的关注, 最重要的原因就是其对寄主生殖的调控作用, 包括诱导胞

质不亲和、孤雌生殖、雌性化和雄性致死等^[2]。胞质不亲和是 *Wolbachia* 共生引起的一种最普遍的生殖改变,表现为 *Wolbachia* 感染的雄性寄主与未感染或感染了不同品系 *Wolbachia* 的雌性寄主交配后,子代死亡或仅有部分能够存活,但感染相同 *Wolbachia* 的雌雄寄主交配后能够产生正常的后代。此外, *Wolbachia* 也影响某些寄主的交配选择和交配能力^[3-8]。鉴于 *Wolbachia* 在寄主体内的广泛存在和对寄主交配和生殖的影响, *Wolbachia* 不仅在昆虫进化和物种形成中具有重要的意义,而且也利用其对害虫进行生物防治提供了的新思路和新途径^[9]。

Wolbachia 在寄主体内各代之间以垂直传递为基本传播模式,称之为垂直传播^[10]。如果仅存在垂直传播,寄主与共生菌的进化和系统发生应表现为对应关系,但事实并非如此,原因可能是 *Wolbachia* 在某些寄主种间也存在着水平传播。Werren 等^[11]报道了 *Wolbachia* 在不同种间的水平传递:金小蜂 *Nasonia giraulti* 和它的寄主丽蝇 *Calliphora vicina* 都含有 *Wolbachia*,且其系统发育关系非常近,但金小蜂和丽蝇的亲缘关系较远,表明 *Wolbachia* 可水平传播。Huigens 等^[12]证实蝇蝶赤眼蜂 (*Trichogramma kaykai*) 的 *Wolbachia* 感染个体和未感染个体共享同一食物源时可由感染个体水平传播给未感染个体,并且水平传播来的 *Wolbachia* 在新寄主中能垂直传递给其后代。未感染 *Wolbachia* 的拟澳洲赤眼蜂 (*Trichogramma confusum*) 和感染 *Wolbachia* 的短管赤眼蜂 (*Trichogramma pretiosum*) 在同一米蛾卵体内共同发育时, *Wolbachia* 能从供体短管赤眼蜂成功地水平传递到新寄主拟澳洲赤眼蜂体内,且能在新宿主体内垂直传递^[13]。另外,研究结果表明,将 *Wolbachia* 从粉斑螟 *Cadra cautella* 转染到地中海粉螟 *Ephestias kuehniella* 体内后,粉斑螟原供体表现为胞质不亲和,而地中海粉螟被转染携带 *Wolbachia* 后表现为雄性致死,这表明 *Wolbachia* 在不同的寄主体内对寄主造成的生殖改变可能不同^[14]。

目前尚未在体外建立培养 *Wolbachia* 的技术,所以用传统的微生物学方法无法对其进行研究。早期的 *Wolbachia* 研究中,曾用 DAPI 染色后在荧光显微镜下观察^[15] 和电镜观察^[16] 对其进行检测。随着分子生物学技术的不断发展和广泛应用,尤其是 PCR 技术的发展和分子系统学方法的应用,目前对寄主

体内 *Wolbachia* 的检测,一般是通过 PCR 扩增和分析其基因来确定,常用的检测基因有细胞分裂蛋白基因 (*ftsZ*) 和细菌表面蛋白基因 (*wsp*) 等。

赤拟谷盗 (*Tribolium castaneum* Herbst) 和杂拟谷盗 (*Tribolium confusum* Jac. du Val.) 均属鞘翅目拟步行虫科拟谷盗属,是 2 种重要的世界性储粮近缘种害虫,在中国大部分地区都有分布^[17]。它们形态和习性相似,且常混合发生,给农业生产造成巨大的经济损失^[18]。目前,使用化学农药是防治赤拟谷盗和杂拟谷盗的重要手段,但由于化学杀虫剂的大量使用,它们的耐药性逐渐提高,防治更加困难,同时也存在农药残留问题,因此探寻绿色、安全、高效的生物防治方法将是今后害虫综合防治的主要策略^[19]。已有研究结果表明杂拟谷盗体内存在 *Wolbachia*^[20],迄今为止尚未见赤拟谷盗体内感染 *Wolbachia* 的报道。在实验室内,赤拟谷盗与杂拟谷盗不仅在同种雌雄个体之间有性行为发生,而且在异种雌雄个体之间也有性行为发生^[21]。明庆磊等的研究表明,赤拟谷盗与杂拟谷盗的种间生殖隔离不完全,如果把异种雌雄放在一起进行强制性杂交,正反交均能产生杂种后代^[22]; *Wolbachia* 对杂拟谷盗生殖有调控作用,可引起胞质不亲和^[23],这表明利用 *Wolbachia* 对拟谷盗进行生物防治具有潜在的应用价值。鉴于此,本研究首先利用 PCR 技术检测所用赤拟谷盗和杂拟谷盗种群体内是否存在 *Wolbachia*,并对寄主体内的 *Wolbachia* 进行系统发生分析;然后将同性别或异性别的赤拟谷盗和杂拟谷盗混合饲养,测定赤拟谷盗和正反交杂种后代体内 *Wolbachia* 的感染状况,旨在探究其种间是否能发生水平和垂直传播,以期为今后利用 *Wolbachia* 对拟谷盗进行生物防治奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

所用赤拟谷盗 (CS) 和杂拟谷盗 (CF) 为实验室种群,置于温度 29 °C、相对湿度 70% 的恒温恒湿培养箱中,饲以小麦全麦面粉 (山东潍坊风筝面粉厂生产)。两种试虫均在蛹期鉴别雌雄并分开饲养,羽化后待用。

1.2 赤拟谷盗和杂拟谷盗体内 *Wolbachia* 的 PCR 检测

1.2.1 DNA 提取 将赤拟谷盗和杂拟谷盗单头试

虫放在研钵中,加入液氮冷冻后研磨成细末,用异硫氰酸胍法^[24]提取总 DNA,室温晾干后悬浮于 20 μ l 灭菌双蒸水中,4 $^{\circ}$ C 保存备用。

1.2.2 PCR 扩增与测序 *ftsZ* 基因的扩增引物为: *ftsZ*-F (5'-TACTGACTGTTGGAGTTGTAAGCCGT-3') 和 *ftsZ*-R (5'-TGCCAGTTGCAAGAACAGAACTCTAACTC-3')^[25]。PCR 反应在 BIO-ER 扩增仪上进行:94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min;94 $^{\circ}$ C 变性 50 s,62 $^{\circ}$ C 退火 45 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 60 s,33 个循环;72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。PCR 反应体系总体积是 30.00 μ l,其中包括 2 \times PCR Reaction Mix (TIANGEN) 15.00 μ l, *Taq* DNA 聚合酶 0.24 μ l, DNA 模板 1.20 μ l,上游/下游引物(10 mol/L)各 1.20 μ l,用灭菌双蒸水补足体积。取 PCR 扩增产物 2 μ l 在 0.75% 的琼脂糖凝胶中电泳检测,然后送至上海英骏生物技术公司测序。扩增引物和测序引物均由上海捷瑞生物工程技术有限公司合成。对赤拟谷盗和杂拟谷盗各 20 头体内的 *Wolbachia* 进行了 PCR 扩增和测序。将测得的 *ftsZ* 序列向 GenBank 进行提交,并将测得的 *Wolbachia ftsZ* 基因序列与 GenBank 中杂拟谷盗 *Wolbachia* 的基因序列进行比对。

1.3 系统发生树的构建

用 NCBI 上的 BLAST 工具搜索 GenBank 中昆虫寄主体内 *Wolbachia* 的 *ftsZ* 基因序列,通过 ClustalX 2.1 软件对搜索到的基因序列进行比对并截取相同的序列长度,并用 MEGA5 软件采用邻接法对 *ftsZ* 基因进行聚类分析,构建系统发生树。各分支的置信度通过 1 000 次自助法重复抽样估计。

1.4 *Wolbachia* 在赤拟谷盗与杂拟谷盗种间的水平传播

Wolbachia 的种间水平传播试验分为同性别间和异性别间水平传播处理组。同性别处理组为 CS δ 和 CF δ 、CS η 和 CF η ,异性别处理组为 CS δ 和 CF η 、CF δ 和 CS η (CS 表示赤拟谷盗,CF 表示杂拟谷盗)。所用两种试虫均为羽化后 7 d 的成虫,为区分它们,对赤拟谷盗进行标记(用 Marker 银笔在一侧鞘翅上点一个小点)。每个组两种试虫各 30 只置于同一塑料杯中用小麦面粉共同饲养,40 d 后每个组分别随机选取 20 只赤拟谷盗对 *ftsZ* 基因进行 PCR 扩增和电泳分离,以检测 *Wolbachia* 是否存在。

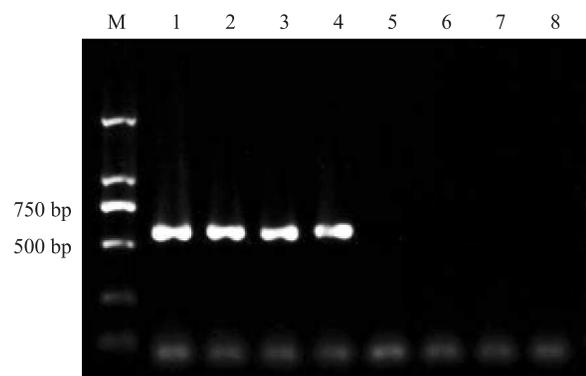
1.5 *Wolbachia* 在赤拟谷盗与杂拟谷盗种间的垂直传播

Wolbachia 的种间垂直传播实验分为 2 个杂交处理组:CS δ 和 CF η 、CF δ 和 CS η 。所用两种试虫均为羽化后 7 d 的成虫,每个组两种试虫各 30 只置于同一塑料杯中用小麦面粉共同饲养,将在杂交过程中产生的 F₁ 代幼虫挑选出来饲养,直到羽化为成虫。每个组分别随机选取 20 只 F₁ 代成虫对 *ftsZ* 基因进行 PCR 扩增和电泳分离,以检测 *Wolbachia* 是否存在。

2 结果

2.1 赤拟谷盗和杂拟谷盗体内 *Wolbachia* 的检测和基因序列比对

利用 *ftsZ* 基因的特异性引物从杂拟谷盗总 DNA 中 PCR 扩增出一段大约 550 bp 的目的基因片段(图 1),测序结果(GenBank 登录号:KC305361)与他人已提交的杂拟谷盗 *ftsZ* 基因序列完全一致,表明所用杂拟谷盗种群体内存在 *Wolbachia*,该菌感染率为 100%;但利用 *ftsZ* 基因的特异性引物没有从赤拟谷盗体内扩增出目的基因片段(图 1),表明所用赤拟谷盗种群体内不存在 *Wolbachia*。



M: DNA 分子量标准;1~4:杂拟谷盗;5~8:赤拟谷盗。

图 1 赤拟谷盗和杂拟谷盗体内 *Wolbachia ftsZ* 基因 PCR 产物电泳检测

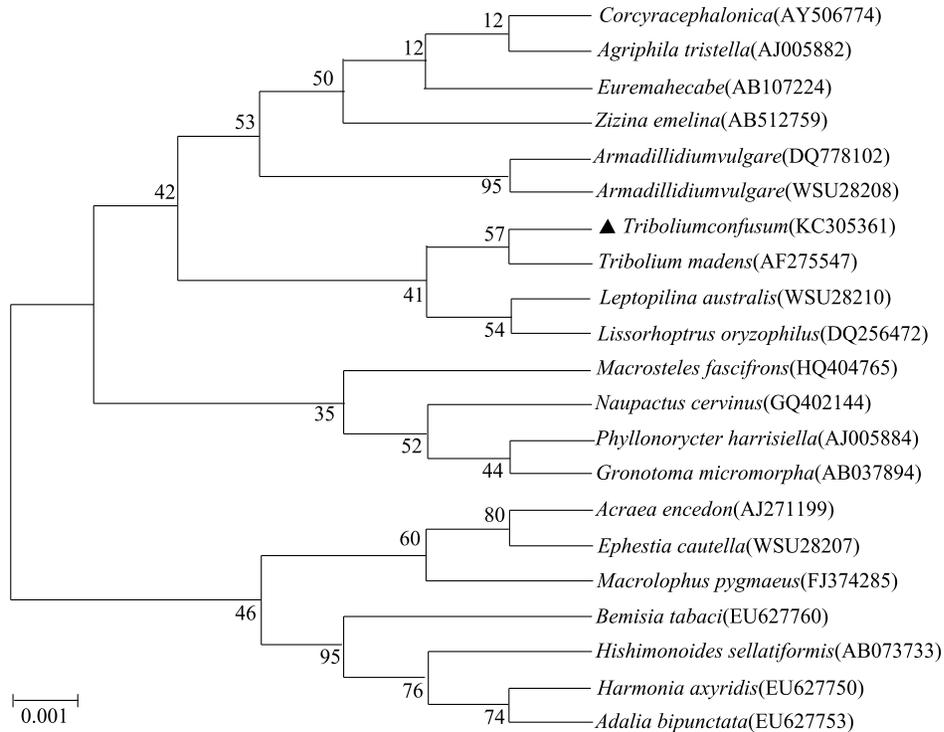
Fig. 1 PCR products of *Wolbachia ftsZ* gene from *Tribolium castaneum* and *T. confusum*

2.2 寄主体内 *Wolbachia* 的系统发生树

根据 *ftsZ* 基因序列构建的寄主体内 *Wolbachia*

系统发生树显示,杂拟谷盗与黑拟谷盗 (*Tribolium madens* Charpentier) 体内的 *Wolbachia* 亲缘关系最

近(图2)。



▲ 表示本研究所用试虫。

图2 基于 *ftsZ* 基因序列的寄主体内 *Wolbachia* 系统发生树

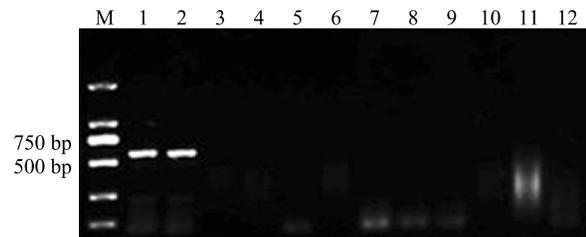
Fig.2 Phylogenetic tree of *Wolbachia* inside hosts based on *ftsZ* gene sequences

2.3 *Wolbachia* 在赤拟谷盗与杂拟谷盗种间的水平传播

赤拟谷盗与杂拟谷盗混合饲养一段时间后提取赤拟谷盗 DNA 进行 *ftsZ* 基因的 PCR 扩增。结果显示,赤拟谷盗和杂拟谷盗同性别和异性别混合饲养组的赤拟谷盗体内均没有检测到 *Wolbachia* 存在(图3和图4),表明 *Wolbachia* 没有从杂拟谷盗体内水平转移到赤拟谷盗体内。

2.4 *Wolbachia* 在赤拟谷盗与杂拟谷盗种间的垂直传播

赤拟谷盗和杂拟谷盗正交(CS ♂ × CF ♀)和反交(CF ♂ × CS ♀)产生的杂种后代体内都没有检测到 *Wolbachia* 的存在(图5)。鉴于 *Wolbachia* 的母性垂直传递,由于杂拟谷盗体内存在 *Wolbachia*,正交组合杂种后代体内应该存在 *Wolbachia*,但是正交组合杂种后代体内未检测到,理论推测与检测结果不符;由于赤拟谷盗体内不存在 *Wolbachia*,反交组合

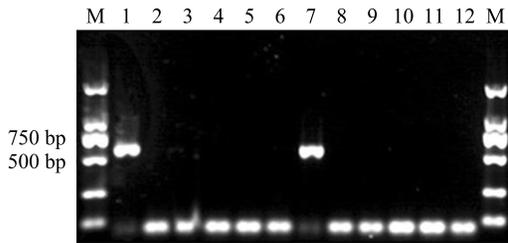


M: DNA 分子量标准;1:对照(CF ♂);2:对照(CF ♀);3~7:CS ♂ CF ♂ 组 CS ♂;8~12:CS ♀ CF ♀ 组 CS ♀。

图3 赤拟谷盗(CS)与杂拟谷盗(CF)同性别混合饲养试验组 *Wolbachia* 种间水平传播的 *ftsZ* 基因 PCR 检测

Fig.3 Detection of *Wolbachia* by PCR amplification of *ftsZ* gene in horizontal transmission between same-sex *T. castaneum* (CS) and *T. confusum* (CF)

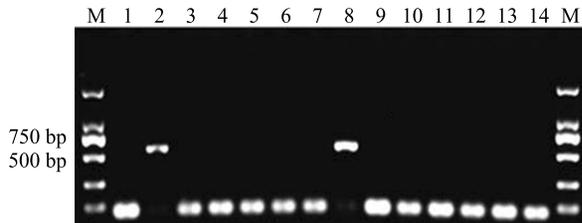
杂种后代中体内应该不存在 *Wolbachia*,在反交组合杂种后代体内也未检测到 *Wolbachia* 存在,理论推测与检测结果相符。



M: DNA 分子量标准;1:对照 (CF ♀);2~6:CS ♂ CF ♀ 组 CS ♂ ;7:对照 (CF ♂);8~12:CF ♂ CS ♀ 组 CS ♀。

图4 赤拟谷盗 (CS) 与杂拟谷盗 (CF) 异性别混合饲养试验组 *Wolbachia* 种间水平传播的 *ftsZ* 基因 PCR 检测

Fig. 4 Detection of *Wolbachia* by PCR amplification of *ftsZ* gene in horizontal transmission between opposite-sex *T. castaneum* (CS) and *T. confusum* (CF)



M: DNA 分子量标准;1:亲本对照 (CS ♂);2:亲本对照 (CF ♀);3~7:CS ♂ × CF ♀ 组杂交 F1 代;8:亲本对照 (CF ♂);9:亲本对照 (CS ♀);10~14:CF ♂ × CS ♀ 组杂交 F1 代。

图5 赤拟谷盗 (CS) 与杂拟谷盗 (CF) 杂交试验组 *Wolbachia* 种间垂直传播的 *ftsZ* 基因 PCR 检测

Fig. 5 Detection of *Wolbachia* by PCR amplification of *ftsZ* gene in vertical transmission between *T. castaneum* (CS) and *T. confusum* (CF) crosses

3 讨论

本研究中,PCR 扩增检测 *Wolbachia* 选用的目的基因是 *ftsZ* 基因,与 *wsp* 基因相比,*ftsZ* 基因比较保守,更适合用来鉴定物种体内是否存在 *Wolbachia*。用 *ftsZ* 基因的特异性引物从杂拟谷盗体内都扩增出了目的条带,并经测序比对,证明了所用杂拟谷盗种群体内存在 *Wolbachia*,其他报道^[17]也证实杂拟谷盗体内存在 *Wolbachia*。但是,在所用赤拟谷盗种群体内并没有检测到 *Wolbachia*,目前尚未有赤拟谷盗体内存在 *Wolbachia* 的报道。赤拟谷盗和杂拟谷盗是亲缘关系很近的两个近缘种,杂拟谷盗体内存在 *Wolbachia*,而赤拟谷盗体内不存在 *Wolba-*

chia,鉴于 *Wolbachia* 在昆虫体内的广泛存在,这提示赤拟谷盗体内可能含有抑制 *Wolbachia* 正常生长繁殖和存活的某种因子。

关于 *Wolbachia* 的起源和传播,即哪种寄主最先被感染、*Wolbachia* 又是如何在各个寄主间传播的等,目前还不是很清楚,因此通过对寄主 *Wolbachia* 进行系统发生分析对于理解 *Wolbachia* 在不同寄主体内的进化途径和过程非常重要^[26]。基于 *ftsZ* 基因的 *Wolbachia* 系统发生分析结果显示杂拟谷盗体内的 *Wolbachia* 与黑拟谷盗体内的 *Wolbachia* 亲缘关系最近,其同源率为 100%,这表明杂拟谷盗与黑拟谷盗体内的 *Wolbachia* 属于同一菌组。

本研究中,同性别和异性别的杂拟谷盗和赤拟谷盗种间混合饲养后 *Wolbachia* 均没有发生水平传播。相比于同性别的杂拟谷盗和赤拟谷盗种间混合饲养,异性别的杂拟谷盗和赤拟谷盗种间混合饲养能产生杂交后代,说明种间有交配行为发生,这样应该更有利于 *Wolbachia* 的水平传播。但是,异性别混合饲养组赤拟谷盗的检测结果表明,*Wolbachia* 水平传递没有成功,其原因可能是 *Wolbachia* 水平传播的成功与否主要决定于 *Wolbachia* 与寄主之间的适合度,即使 *Wolbachia* 发生了种间水平转移,但由于赤拟谷盗体内存在某种抑制因子使得 *Wolbachia* 无法在其体内正常生长繁殖和存活;也可能是尽管种间有交配发生,但 *Wolbachia* 并没有从杂拟谷盗体内水平转移到赤拟谷盗体内。

Wolbachia 在寄主间的水平传播比较复杂,主要有 3 种途径^[27]:一是 *Wolbachia* 在同种寄主的不同个体间的水平传播。如感染和未感染 *Wolbachia* 的蜚蠊赤眼蜂 (*T. kaykai*) 共同分享同一个寄主 *Apodemus mormo deserti* 的卵时,存在 *Wolbachia* 在寄主个体间的水平传播^[12];二是 *Wolbachia* 在昆虫种间的水平传播。如:寄生蜂 (*Leptopilina boulardi*) 和其寄主拟果蝇 (*Drosophila simulans*) 间存在水平传播^[28];甘波谊等^[29]发现灰飞虱 (*Laodelphax striatellus*)、白背飞虱 (*Sogatella furcifera*)、褐飞虱 (*Nilaparvata lugens*) 等 3 种飞虱感染的 *wsp* 基因序列完全一致,并且它们共同寄生的稻虱红螯蜂 (*Haplogonotopus japonicus*) 感染的 *Wolbachia* 和它们感染的 *Wolbachia* 是同一种。三是 *Wolbachia* 在昆虫与其他节肢动物之间的水平传播。如库蚊 (*Culex pipiens*) 和甲壳纲等足目鼠妇 (*Armadillidium vulgare*) 的 *Wolba-*

chia 关系密切,表明 *Wolbachia* 在这 2 个种间存在水平传播^[30]。

鉴于 *Wolbachia* 的母性垂直传递特点,由于赤拟谷盗体内不存在 *Wolbachia*,雄性杂拟谷盗和雌性赤拟谷盗杂交组合的 F₁ 代杂种体内应该不存在 *Wolbachia*,本研究中雄性杂拟谷盗和雌性赤拟谷盗杂交组合的 F₁ 代体内也未检测到 *Wolbachia*,理论与事实相符。同样,由于杂拟谷盗体内存在 *Wolbachia*,雄性赤拟谷盗和雌性杂拟谷盗杂交组合 F₁ 代杂种体内应该存在 *Wolbachia*,但本研究中没有检测到 *Wolbachia* 的存在,理论与事实不符,产生这种现象的一个可能原因是雄性赤拟谷盗和雌性杂拟谷盗的杂种后代遗传了赤拟谷盗体内对 *Wolbachia* 的抑制因子,使垂直传递到杂种后代体内的 *Wolbachia* 无法生长繁殖和存活,导致 *Wolbachia* 的垂直传播失败。此解释与前面对赤拟谷盗体内不存在 *Wolbachia* 和种间没有水平传播发生的解释是一致的。

综上所述,杂拟谷盗体内存在 *Wolbachia*,而赤拟谷盗体内不存在;尽管杂拟谷盗和赤拟谷盗存在种间杂交,但 *Wolbachia* 没有发生种间水平和垂直传播。本研究初步明确了赤拟谷盗与杂拟谷盗体内 *Wolbachia* 的感染状况和种间传播情况,其具体形成机制非常值得进一步研究。

参考文献:

- [1] HILGENBOECKER K, HAMMERSTEIN P, SCHLATTMANN P, et al. How many species are infected with *Wolbachia*? - A statistical analysis of current data [J]. FEMS Microbiological Letters, 2008, 281(2):215-220.
- [2] WERREN J H, BAIDO L, CLARK M E. *Wolbachia*: master manipulators of invertebrate biology [J]. Nature Reviews Microbiology, 2008, 6(10):741-751.
- [3] VALA F, EGAS M, BREEUWER J A J, et al. *Wolbachia* affects oviposition and mating behavior of its spider mite host [J]. Journal of Evolutionary Biology, 2004, 17(3):692-700.
- [4] KOUKOU K, PAVLIKAKI H, KILIAS G, et al. Influence of antibiotic treatment and *Wolbachia* curing on sexual isolation among *Drosophila melanogaster* cage populations [J]. Evolution, 2006, 60(1):87-96.
- [5] CHAMPION D E, CRESPIGNY F E, WEDELL N. Mate preferences in *Drosophila* infected with *Wolbachia* [J]. Behavioral Ecology and Sociobiology, 2007, 61(8):1229-1235.
- [6] CHAMPION D E, CRESPIGNY F E, PITT T D, et al. Increased male mating rate in *Drosophila* is associated with *Wolbachia* infection [J]. Journal of Evolutionary Biology, 2006, 19(6):1964-1972.
- [7] GAZLA I N, CARRACEDO M C. *Wolbachia* induces sexual isolation in *Drosophila melanogaster* and *Drosophila simulans* [J]. Open Journal of Genetics, 2011, 1:18-26.
- [8] MILLER W J, EHRMAN L, SCHEIDER D. Infectious speciation revisited; impact of symbiont-depletion on female fitness and mating behavior of *Drosophila paulistorum* [J]. PLoS Pathogens, 2010, 6(12):e1001214.
- [9] BOURTZIS K. *Wolbachia*-based technologies for insect pest population control [J]. Advances in Experimental Medicine and Biology, 2008, 627:104-113.
- [10] HOFFMANN A A, TURELLI M, HARSHMAN L G. Factors affecting the distribution of cytoplasmic incompatibility in *Drosophila simulans* [J]. Genetics, 1990, 126(4):933-948.
- [11] WERREN J H, WINDSOR D, GUO L. Distribution of *Wolbachia* among neotropical arthropods [J]. Proceedings of the Royal Society of London Series B, 1995, 262:197-204.
- [12] HUIGENS M E, DE ALMEIDA R P, BOONS P, et al. Natural interspecific and intraspecific horizontal transfer of parthenogenesis-inducing *Wolbachia* in *Trichogramma* wasps [J]. Proceedings of the Royal Society of London Series B, 2004, 271:509-515.
- [13] 潘雪红,何余容. *Wolbachia* 在短管赤眼蜂和拟澳洲赤眼蜂种间的水平传递[J]. 西北农业学报, 2011, 20(4):186-188.
- [14] SASAKI T, ISHIKAWA H. Transinfection of *Wolbachia* in the Mediterranean flour moth, *Ephesia kuehniella*, by embryonic microinjection [J]. Heredity, 2000, 85:130-135.
- [15] O'NEILL, S L, KARR T L. Bidirectional incompatibility between conspecific populations of *Drosophila simulans* [J]. Nature, 1990, 348:178-180.
- [16] LOUIS C, NIGRO L. Ultrastructural evidence of *Wolbachia* Rickettsiales in *Drosophila simulans* and their relationships with unidirectional cross-incompatibility [J]. Journal of Invertebrate Pathology, 1989, 54:39-44.
- [17] 张生芳,周玉香. 拟谷盗属重要种的分布,寄主及鉴别[J]. 植物检疫, 2002(6):349-351.
- [18] CAMPBELL J F, ARTHUR F H, MULLEN M A. Insect management in food processing facilities [J]. Advances in Food and Nutrition Research, 2004, 48:240-295.
- [19] CAMPBELL J F. Attraction of walking *Tribolium castaneum* adults to traps [J]. Journal of Stored Products Research, 2012, 51:11-22.
- [20] FIALHO R F, STEVENS L. Molecular evidence for single *Wolbachia* infections among geographic strains of the flour beetle *Tribolium confusum* [J]. Proceedings of the Royal Society of London Series B, 1997, 264(1384):1065-1068.
- [21] SERRANO J M, CASTRO L, TORO M A, et al. Inter- and intraspecific sexual discrimination in the flour beetles *Tribolium castaneum* and *Tribolium confusum* [J]. Heredity, 2000, 85:142-146.
- [22] 明庆磊,王阿旻,程超. 基于 28S rRNA 和 COI 基因探讨赤拟

- 谷盗与杂拟谷盗的遗传分化和系统发育[J]. 江苏农业学报, 2013, 29(5):992-998.
- [23] 王阿旻,程超,潘沈元,等. 体内沃尔巴克氏体(*Wolbachia*)对寄主杂拟谷盗生殖的调控作用[J]. 江苏农业学报, 2014, 30(1):47-52.
- [24] MING Q L, WANG C Z. Genetic differentiation between *Helicoverpa armigera* (Hübner) and *Helicoverpa assulta* (Guenée) (Lepidoptera; Noctuidae) based on AFLP markers [J]. *Insect Science*, 2006, 13(6):437-444.
- [25] WERREN J H, ZHANG W, GUO L R. Evolution and phylogeny of *Wolbachia*: reproductive parasites of arthropods [J]. *Proceedings of the Royal Society of London Series B*, 1995, 261(1360):55-63.
- [26] ZHOU W G, ROUSSET F, O'NEILL S L. Phylogeny and PCR-based classification of *Wolbachia* strains using *wsp* gene sequences [J]. *Proceedings of the Royal Society of London Series B*, 1998, 265(1395):509-515.
- [27] 董鹏,王进军. 沃尔巴克氏体 *Wolbachia* 对宿主的生殖调控作用及其研究进展[J]. 昆虫知识, 2006, 43(3):288-294.
- [28] HEATH B D, BUTCHER R D, WITFIELD W G. Horizontal transfer of *Wolbachia* between phylogenetically distant insect species by a naturally occurring mechanism [J]. *Current Biology*, 1999, 9(6):313-316.
- [29] 甘波谊,周伟国,冯丽冰,等. 沃尔巴克氏体在中国三种稻飞虱中的感染[J]. 昆虫学报, 2002, 4(1):14-17.
- [30] BORDENSTEIN S, ROSENGAUS R B. Discovery of a novel *Wolbachia* supergroup in Isoptera [J]. *Current Microbiology*, 2005, 51(2):393-398.

(责任编辑:张震林)