

谢霖,史燕洪,刘宝生,等. 内共生菌 *Wolbachia* 在不同种群灰飞虱中的感染及对宿主生殖的影响[J]. 江苏农业科学,2015,43(10):145-148. doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.10.044

内共生菌 *Wolbachia* 在不同种群灰飞虱中的感染及对宿主生殖的影响

谢霖¹, 史燕洪², 刘宝生¹, 方继朝¹

(1. 江苏省农业科学院植物保护研究所, 江苏南京 210014; 2. 扬州大学园艺与植物保护学院, 江苏扬州 225009)

摘要:为明确实验室内饲养的3个灰飞虱地理种群(云南楚雄、江苏南京、江苏建湖)共生菌 *Wolbachia* 的感染情况以及 *Wolbachia* 对灰飞虱生殖的影响,首先利用 PCR 技术对这些种群的 *Wolbachia* 进行检测,发现所有种群均感染了 *Wolbachia*,楚雄、南京、建湖种群的感染率分别为 91.5%、66.1%、84.0%。接着用 *Wolbachia* 的 *wsp* 基因的特异性引物从3个地理种群中都扩增出1段599 bp的基因片段,通过测序发现这3个种群的 *Wolbachia* 具有完全相同的 *wsp* 基因序列,同属于 Con 株系。最后,在严格的试验条件下对建湖种群的灰飞虱进行了杂交试验,结果表明: *Wolbachia* 对灰飞虱生殖表现出高强度的单向胞质不亲和; *Wolbachia* 可能对宿主生殖具有负面影响;另外,研究还发现亲本双方全部感染 *Wolbachia* 时,其子代感染率仅为 82.14%, *Wolbachia* 的卵传率未达到 100%,这可能与 *Wolbachia* 在灰飞虱种内的垂直传播有关。

关键词:灰飞虱; *Wolbachia*; 感染率; 生殖力; 胞质不亲和; 地理种群

中图分类号: S435.112+.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)10-0145-04

沃尔巴克氏体 (*Wolbachia*) 是存在于节肢动物体内的一种立克次氏体共生菌,其分类地位属原核生物界、细菌门、变形菌纲的 α 亚纲、立克次氏体目、立克次氏体科、*Wolbachia* 属,在宿主中通过细胞质遗传给下一代。据统计,目前有 15%~20% 的昆虫感染了这类细菌,是迄今为止已知的最广泛存在的胞内共生菌之一,遍及昆虫纲的十多个目,灰飞虱 (*Laodelphax striatellus* Fallén) 体内也有这种立克次氏体细菌^[1]。这类细菌能够对宿主进行生殖调控,引发宿主多种生殖异常行为,导致细胞胞质不亲和 (cytoplasmic incompatibility, CI)^[2]、雌性化 (feminization)^[3-4] 和孤雌生殖 (parthenogenesis inducing, PI)^[5-6] 等现象,其中研究最多的是细胞胞质不亲和现象。细胞胞质不亲和现象通常出现在 2 种交配情况,即感染了 *Wolbachia* 雄性个体与非感染的雌性个体交配 (单向 CI),或与感染了不同品系的 *Wolbachia* 的雌性个体交配 (双向 CI),这 2 类交配产生的后代在胚胎发育的早期就全部或大部分死亡,而其他组合方式的交配则产生正常数目的子代。通过对宿主生殖和适合度的调控, *Wolbachia* 能够稳定地在种群间进行水平和垂直传播,这样 *Wolbachia* 就能有效侵入宿主群体并在宿主群体内扩散,在 *Wolbachia* 扩散的同时,还能带动与之相联系的其他细胞质因子在宿主群体间传播。

灰飞虱属同翅目 (Homoptera) 飞虱科 (Delphacidae),是目前影响我国水稻稳产、高产的主要害虫之一。其广泛分布于东亚、东南亚、欧洲和北非等地,几乎遍及我国所有的稻区,包括华南、华中、华北、东北以及西南稻区,其中以长江中下游和华北稻区发生较多^[7]。灰飞虱最具毁灭性的危害方式是传播水稻条纹叶枯病,该病自 20 世纪 60 年代被发现以来,已在 16 个省、市、区均有发生,成为我国分布最广、危害最严重的一种水稻病毒病,严重时可造成水稻大面积减产甚至绝收^[8]。

近年来,研究发现 *Wolbachia* 能引起灰飞虱的生殖异常现象^[9],为进一步明确实验室内饲养的不同灰飞虱地理种群共生菌 *Wolbachia* 的感染情况,了解 *Wolbachia* 对灰飞虱的生殖调控作用,本试验利用 PCR 技术对不同地理种群灰飞虱体内的 *Wolbachia* 进行检测,并对灰飞虱群体进行遗传杂交试验,为了解 *Wolbachia* 在宿主群体间的水平和垂直传播规律以及近几年发生的灰飞虱再猖獗现象提供一定依据。

1 材料与方 法

1.1 材料及饲养方法

供试灰飞虱成虫分别于 2001 年 5 月采自云南省楚雄市、2009 年 5 月采自江苏省南京市、江苏省建湖县,随后在人工气候室内用武育梗 3 号稻苗分别饲养至今,饲养条件为温度 (25±1) °C、相对湿度 60%、光照周期 16 h(日)/8 h(夜)。

1.2 灰飞虱总 DNA 的提取

在装有单头灰飞虱成虫的 1.5 mL 离心管内加入 200 μ L 研磨缓冲液 (100 mmol/L NaCl, 200 mmol/L 蔗糖, pH 值 9.1 的 100 mmol/L Tris-HCl, 50 mmol/L EDTA, 0.5% SDS, 100 μ g/mL 蛋白酶 K), 研磨匀浆后再加入 200 μ L 研磨缓冲液混匀, 65 °C 温育 1 h, 加入乙酸钾 (8 mol/L) 至终浓度

收稿日期: 2014-10-27

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项 (编号: nyeytx-001); 江苏省自然科学基金 (编号: BK2008349); 江苏省农业科技自主创新资金 [编号: CX(11)4017]。

作者简介: 谢霖 (1982—), 女, 江苏建湖人, 硕士, 助理研究员, 研究方向为水稻害虫及其防治。E-mail: susan_xie_l@sohu.com。

通信作者: 方继朝, 博士, 研究员, 研究方向为农业昆虫与害虫防治。

E-mail: fangjc@jaas.ac.cn。

1 mol/L,冰上静置 30 min,12 000 r/min 离心 15 min,吸出上清,加入 2 倍体积的无水乙醇,在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 放置过夜,充分沉淀 DNA,次日于 12 000 r/min 离心 15 min,干燥后溶解于 30 μL 超纯水中。

1.3 PCR 检测灰飞虱体内的共生菌 *Wolbachia*

参考 Zhou 等根据 *Wolbachia wsp* 基因序列设计的 1 对特异性引物来检测灰飞虱是否感染共生菌^[10],上游、下游引物分别是:5' - TGGTCCAATAAGTGATGAAGAAAC - 3'、5' - AAAAATTAACGCTACTCCA - 3'。25 μL PCR 反应体系组成为:15.3 μL ddH₂O,2.5 μL 10 × Buffer,2 μL 25 mmol/L MgCl₂,2 μL dNTPs(各 2.5 mmol/L),2 μL DNA 模板,0.2 μL Taq DNA 聚合酶(大连 TaKaRa 公司),上下游引物各 0.5 μL (各 10 $\mu\text{mol/L}$)。PCR 反应条件为:94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min;94 $^{\circ}\text{C}$ 1 min,55 $^{\circ}\text{C}$ 1 min,72 $^{\circ}\text{C}$ 1 min,共 35 个循环;72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。扩增产物用琼脂糖凝胶电泳检测,在凝胶成像系统下观察并记录结果。

1.4 序列测定

PCR 扩增产物经回收纯化后,送南京金斯瑞生物科技有限公司测定序列。每个地理种群随机抽取 5 个已感染 *Wolbachia* 的样本进行序列测定,以它们的一致序列为准。

1.5 筛选 100% 感染和 100% 不感染 *Wolbachia* 的灰飞虱品系

1.5.1 筛选 100% 感染 *Wolbachia* 的灰飞虱品系 随机挑选在建湖县田间采集的自然种群灰飞虱雌虫、雄虫各 1 头于一次性透明塑料杯中进行配对产卵,配对 20 对左右,1 周后将成虫挑出用 PCR 检测 *Wolbachia* 的感染情况。待卵全部孵化成若虫后,保留双亲都感染 *Wolbachia* 的后代继续饲养。待 F₁ 代长至成虫时重复上述步骤进行继代饲养,从而获得 100% 感染 *Wolbachia* 的纯系(用“W+”表示)。

1.5.2 筛选 100% 不感染 *Wolbachia* 的灰飞虱品系 随机挑选建湖县田间采集的自然种群灰飞虱,于 0.1% 四环素药液浸泡的稻苗上饲养,连续继代饲养 3 代后用 PCR 技术对灰飞虱进行 *Wolbachia* 检测,结果表明均不感染 *Wolbachia*,从而获得 100% 不感染 *Wolbachia* 的纯系(用“W-”表示)。

1.6 遗传杂交试验

为检验 *Wolbachia* 对灰飞虱生殖的影响,选用江苏建湖种群筛选出的 2 种灰飞虱品系进行遗传杂交试验,4 种杂交组合分别为:♀(W+) × ♂(W+)、♀(W-) × ♂(W-)、♀(W+) × ♂(W-)、♀(W-) × ♂(W+)。

试验具体方法为:在每根玻璃试管中套入 1 头 5 龄灰飞虱若虫,然后扎好试管口待其羽化,以确保用于杂交的雌虫、雄虫都是未交配过的。将刚羽化的雌虫、雄虫各 1 头配对于长有水稻苗的一次性透明塑料杯中,让其交配产卵 5 d,每天更换产卵稻苗,5 d 后移走雌虫、雄虫,每个杂交组合至少有 5 个重复,当卵孵化为若虫后,记录有效产卵量、卵孵化期、若虫的发育历期、雌雄性比、后代感染率等结果,最后解剖用于产卵的稻苗,记录产卵日期、未孵化卵量,从而得到不同组合灰飞虱的产卵前期、总产卵量和孵化率。

1.7 数据整理和分析

每组杂交试验均至少设置 5 个重复,所得数据均采用 DPS 软件(7.05 版)中的 Tukey 多重比较方法进行单因素试

验统计分析,每组数据取平均值进行不同组合的差异显著性比较。

2 结果与分析

2.1 *Wolbachia* 在灰飞虱种群中的感染情况及各种群 *wsp* 基因序列比较

对 3 个灰飞虱种群中 *Wolbachia* 的感染情况进行检测,结果显示,所有种群均感染 *Wolbachia*(表 1),楚雄、南京、建湖种群的感染率分别为 91.5%、66.1%、84.0%,3 个种群 *Wolbachia* 的感染率都较高。

表 1 不同地理种群灰飞虱的 *Wolbachia* 感染率

地理种群	总数(头)	Wol+(头)	感染率(%)
楚雄	47	43	91.5
建湖	50	42	84.0
南京	56	37	66.1

注:“Wol+”表示感染了 *Wolbachia* 的灰飞虱。

用 *Wolbachia* 的 *wsp* 基因特异性引物从 3 个地理种群中都扩增出 1 段 599 bp 的基因片段,测序后将各种群的基因片段序列上传至 NCBI 并获得 GenBank 登录号,分别为 JN104053(楚雄种群)、JN104054(建湖种群)、JN104055(南京种群)。使用 GeneDoc 对 3 个地理种群灰飞虱体内 *Wolbachia* 的 *wsp* 基因序列进行比较发现,这 3 个种群的 *Wolbachia* 具有完全相同的 *wsp* 基因序列,而且和 Con 品系 *Wolbachia* 的 *wsp* 基因序列(GenBank 登录号 AF020080)完全相同(图 1)^[10],说明这 3 个种群的灰飞虱感染的 *Wolbachia* 同属于 Con 株系。

2.2 *Wolbachia* 对灰飞虱生殖的影响

在江苏建湖灰飞虱种群的杂交试验中,感染 *Wolbachia* 的雌性灰飞虱与未感染 *Wolbachia* 的雌性灰飞虱交配后,每天观察产卵稻苗均未发现若虫孵出,将稻苗保湿培养 2 周后解剖,发现稻苗内有未孵化的卵;而其他 3 个杂交组合配对后 8~9 d 就会发现有若虫孵化,说明它们均能正常交配并产生后代。

从表 2 可以看出,是否感染 *Wolbachia* 对灰飞虱的产卵前期和卵孵化率没有显著影响,但对卵孵化期、有效产卵量、总产卵量有显著影响。未感染 *Wolbachia* 的雌虫所产的卵孵化期极显著长于感染 *Wolbachia* 的雌虫所产的卵;未感染 *Wolbachia* 的雄虫与未感染 *Wolbachia* 的雌虫交配产生的卵量显著多于与感染 *Wolbachia* 的雌虫交配产生的卵量。

2.3 不同杂交组合后代若虫 *Wolbachia* 感染率的比较

对 3 个杂交组合的所有后代进行 PCR 检测,以确定其后代若虫的 *Wolbachia* 感染率。为了保证 PCR 的准确性,每头灰飞虱若虫均经过 2~3 次 PCR 检测,每个批次 PCR 均有清水作为阴性对照,每次琼脂糖凝胶电泳均有 DNA marker 作为分子量标记。从表 2 看出,雌成虫、雄成虫均感染 *Wolbachia* 的后代,后代感染率仅为 82.14%;经过四环素处理后的雌成虫、雄成虫后代,经检测均未感染 *Wolbachia*;感染雌虫和未感染雄虫交配所产生的后代,感染率为 55.56%。

2.4 不同杂交组合后代若虫各龄期发育历期的比较

由表 3 看出,3 个杂交组合产生的后代,1、2、5 龄若虫期均没有显著差异,但由于 3、4 龄若虫期有极显著差异,因此整

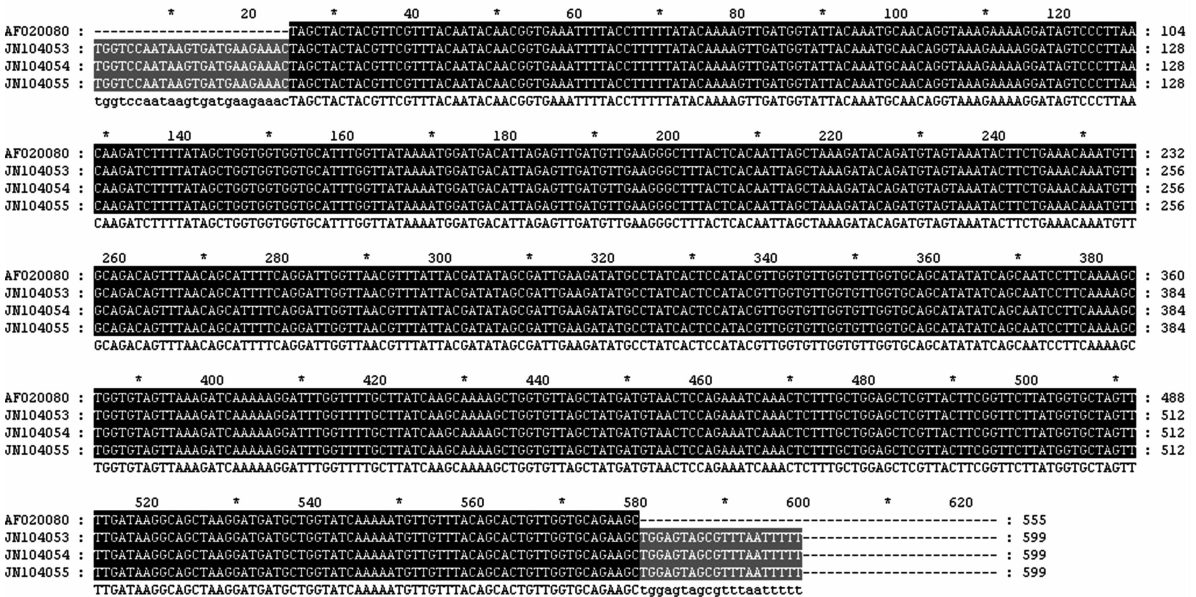


图1 不同灰飞虱种群感染 *Wolbachia* 的 *wsp* 基因序列同 Con 株系序列的比较

表2 不同杂交组合灰飞虱成虫繁殖力及后代 *Wolbachia* 感染率的比较

杂交组合	产卵前期 (d)	卵孵化期 (d)	有效产卵量 (枚)	总产卵量 (枚)	孵化率 (%)	后代感染率 (%)
♀ (W+) × ♂ (W+)	1.6 ± 0.31a	6.4 ± 0.30bB	42 ± 6.68ab	51 ± 5.62ab	80.06 ± 0.06a	82.14
♀ (W-) × ♂ (W-)	1.7 ± 0.14a	7.5 ± 0.16aA	61 ± 6.66a	65 ± 5.94a	91.95 ± 0.04a	0.00
♀ (W+) × ♂ (W-)	2.0 ± 0.15a	6.3 ± 0.18bB	35 ± 6.83b	42 ± 4.76b	79.59 ± 0.08a	55.56
♀ (W-) × ♂ (W+)	2.0 ± 0.00a			45 ± 4.73ab		

注:表中数据为平均值 ± 标准误;同列数据后标有不同小写、大写字母分别表示经 Tukey 多重比较后差异显著 ($P < 0.05$)、极显著 ($P < 0.01$)。表3同。

表3 不同杂交组合灰飞虱后代若虫各龄发育历期的比较

杂交组合	发育历期(d)					若虫历期(d)
	1龄	2龄	3龄	4龄	5龄	
♀ (W+) × ♂ (W+)	3.0 ± 0.10a	2.2 ± 0.12a	2.4 ± 0.11aA	2.5 ± 0.12bB	3.1 ± 0.15a	13.1 ± 0.17bB
♀ (W-) × ♂ (W-)	2.9 ± 0.07a	2.0 ± 0.10a	2.1 ± 0.06bAB	2.2 ± 0.09bB	3.4 ± 0.11a	12.7 ± 0.09bB
♀ (W+) × ♂ (W-)	3.1 ± 0.10a	2.4 ± 0.27a	1.8 ± 0.15bB	3.4 ± 0.41aA	3.6 ± 0.41a	14.3 ± 0.76aA

个若虫历期表现出显著差异;雌虫、雄虫全部感染和全部未感染 *Wolbachia* 的组合产生的后代,其若虫发育历期极显著短于感染雌虫和未感染雄虫的组合 ($P < 0.01$)。

3 讨论

本研究用 *Wolbachia* 的 *wsp* 基因特异性引物从3个灰飞虱地理种群中都扩增出1段599 bp的基因片段。对楚雄、南京、建湖3个地理种群灰飞虱体内 *Wolbachia* 的 *wsp* 基因序列进行比较发现,3个种群的 *Wolbachia* 具有完全相同的 *wsp* 基因序列,说明这3个种群感染的 *Wolbachia* 同属 Con 株系,并未表现地理隔绝现象;但在其他昆虫中,则报道过同种昆虫 *Wolbachia* 存在地理隔离的现象。Sun 等对中国的橘小实蝇 (*Bactrocera dorsalis*) 种群中的4个 *Wolbachia* 株系的 *wsp* 基因序列比对结果表明,它们分属于 Kue、Mel、Cuc 3个类群^[11],这说明中国的橘小实蝇种群中存在的 *Wolbachia* 有地理隔绝。在本研究中,灰飞虱体内的 *Wolbachia* 同源性非常高,未表现

地理隔离现象,分析其可能的原因有2个:(1)灰飞虱不同地理种群之间存在 *Wolbachia* 的横向水平传播;(2)灰飞虱不同地理种群间由于扩散而存在种群的交流, *Wolbachia* 也随之而扩散。

Wolbachia 作为节肢动物体内的一种内共生菌,研究得最多的就是它能引发宿主生殖异常行为,其中最普遍和常见的影响是诱导胞质不亲和(CI)。在本试验中,发现感染 *Wolbachia* 的雄性灰飞虱与未感染 *Wolbachia* 的雌性灰飞虱之间交配,所产的卵不能正常孵化,而感染 *Wolbachia* 的雌性灰飞虱与未感染 *Wolbachia* 的雄性灰飞虱之间进行交配,能够产生后代。这一现象证明了 *Wolbachia* 对灰飞虱生殖表现出高强度的单向胞质不亲和。崔建平等在室内饲养的灰飞虱群体中也发现了这种胞质不亲和现象^[12]。

近年来的资料表明, *Wolbachia* 除了具有调控节肢动物宿主生殖作用的作用外,对宿主的繁殖力、生长发育速度、成活率、寿命等存在不同程度的影响。在本杂交试验中,

Wolbachia 对产卵前期和卵孵化率没有显著影响,但对卵孵化期、有效产卵量、总产卵量有显著影响。未感染 *Wolbachia* 的雄虫与未感染 *Wolbachia* 的雌虫交配产生的卵显著多于与感染 *Wolbachia* 的雌虫交配产生的卵;未感染 *Wolbachia* 的雄虫与未感染 *Wolbachia* 的雌虫交配产生的后代发育历期极显著短于与感染 *Wolbachia* 的雌虫交配产生的后代历期。这些数据表明,未感染 *Wolbachia* 的灰飞虱个体具有生殖优势,*Wolbachia* 可能对宿主生殖具有负面影响。Fleury 等也曾发现,果蝇 (*Drosophila simulans*) 的寄生蜂 *Leptopilina heterotoma* 工蜂被 *Wolbachia* 感染后其生殖力降低 8%^[13]。因为 *Wolbachia* 广泛存在于宿主生殖细胞中,有可能它的存在危害了生殖细胞^[14],最终导致了感染 *Wolbachia* 的灰飞虱产卵量少于未感染的灰飞虱。

通过对 3 个杂交组合的后代若虫 *Wolbachia* 的感染率进行检测,发现了一个值得关注的现象:感染了 *Wolbachia* 的雌成虫、雄成虫的后代只有 82.14% 的感染率,并不是 100% 感染 *Wolbachia*,也就是说 *Wolbachia* 的卵传率未达到 100%,这一结论与史文琦等的结论^[15-16]一致,而与崔建平等提出的灰飞虱室内种群的 *Wolbachia* 经卵传播率为 100% 的结论^[12] 相矛盾。推测可能的原因有 3 点:(1)与所使用的灰飞虱种群差异有关,本试验采用的是江苏建湖灰飞虱种群,而崔建平等采用的是云南灰飞虱种群;(2)可能是崔建平等用于检测 *Wolbachia* 感染率的样本数量不够多,导致未检测到 *Wolbachia*;(3)与 *Wolbachia* 在宿主体内的分布部位有关,*Wolbachia* 除了分布于灰飞虱的生殖组织外,还广泛分布于头、胸部肌肉、中肠、唾液腺、消化道等非生殖组织中^[1]。因此笔者推测,分布于亲本生殖组织的 *Wolbachia* 能 100% 垂直传播给子代,而非生殖组织中的 *Wolbachia* 不能 100% 垂直传播给子代,这就导致本试验中子代灰飞虱 *Wolbachia* 的感染率低于 100%。

本试验中发现的胞质不亲和现象已经被研究得很普遍,它的群体生物学和细胞学研究也有了相当的积累^[17],且一些影响 CI 表达的因素也得到了证实,但是其生化机理与科学应用价值尤其是生物防治方面的应用前景还需要进一步探究;另外,“*Wolbachia* 的卵传率未达到 100% 可能与 *Wolbachia* 在灰飞虱种内的垂直传播有关”假说和“*Wolbachia* 可能危害宿主生殖细胞”假说也需要进一步验证,如先用荧光共聚焦显微镜对宿主体内的 *Wolbachia* 进行定位,确定是在生殖细胞中还是非生殖细胞中,再根据共生位置设计杂交试验,以确定 *Wolbachia* 在灰飞虱种内的垂直传播规律。这些问题的解决将会给 *Wolbachia* 在害虫综合治理中提供更为广阔的前景。

参考文献:

[1] 廖珊,康琳,陈小爱,等. *Wolbachia* 在灰飞虱体内的分布

- [J]. 复旦学报:自然科学版,2001,40(5):539-543.
- [2] Werren J H. Biology of *Wolbachia*[J]. Annual Review of Entomology,1997,42(1):587-609.
- [3] Kageyama D,Hoshizaki S,Ishikawa Y. Female biased sex ratio in the Asian corn borer, *Ostrinia furnacalis*: evidence for the occurrence of feminizing bacteria in an insect[J]. Heredity,1998,81(3):311-316.
- [4] Rigaud T,Juchault P,Mocquard J P. Experimental study of temperature effects on the sex ratio of broods in Terrestrial Crustacea *Armadillidium vulgare* Latr.: Possible implications in natural populations[J]. Journal of Evolution Biology,1991,4(4):603-617.
- [5] Stouthamer R,Breeuwer J A,Luck R F,et al. Molecular identification of microorganisms associated with parthenogenesis[J]. Nature,1993,361(647):66-68.
- [6] Stouthamer R,Werren J H. Microbes associated with parthenogenesis in wasps of the genus *Trichogramma*[J]. Journal of Invertebrate Pathology,1993,61(1):6-9.
- [7] 刘向东,翟保平,刘慈明. 灰飞虱种群暴发成灾原因剖析[J]. 昆虫知识,2006,43(2):141-146.
- [8] 刘海建,程兆榜,王跃,等. 灰飞虱传递水稻条纹病毒研究初报[J]. 江苏农业学报,2007,23(5):492-494.
- [9] 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,2002,45(1):14-17.
- [10] Zhou W G,Rousset F,O'Neil S. Phylogeny and PCR-based classification of *Wolbachia* strains using *usp* gene sequences[J]. Proceedings Biological Sciences,1998,265(1395):509-515.
- [11] Sun X,Cui L,Li Z. Diversity and phylogeny of *Wolbachia* infecting *Bactrocera dorsalis* (Diptera:Tephritidae) populations from China[J]. Environmental Entomology,2007,36(5):1283-1289.
- [12] 崔建平,仲泉,李文卓,等. 灰飞虱 *Wolbachia* 群体生物学的遗传特性研究[J]. 复旦学报:自然科学版,1998,37(4):542-546.
- [13] Fleury F,Vavre F,Ris N,et al. Physiological cost induced by the maternally-transmitted endosymbiont *Wolbachia* in the *Drosophila* parasitoid *Leptopilina heterotoma*[J]. Parasitology,2000,121(Pt 5):493-500.
- [14] 褚栋,张友军,毕玉平,等. *Wolbachia* 属共生菌及其对节肢动物宿主适合度的影响[J]. 微生物学报,2005,45(5):817-820.
- [15] 史文琦. 灰飞虱体内 *Wolbachia* 的感染特点及灰飞虱与 *Wolbachia* 的系统发育研究[D]. 扬州:扬州大学,2008.
- [16] 乐文静,史文琦,季英华,等. 灰飞虱体内 *Wolbachia* 的感染与其携带水稻条纹病毒的相关性分析[J]. 南京农业大学学报,2011,34(1):46-50.
- [17] 龚鹏,沈佐锐,李志红. *Wolbachia* 属共生细菌及其对节肢动物生殖活动的调控作用[J]. 昆虫学报,2002,45(2):241-252.