



Wolbachia 在蚊虫中的防控应用研究进展*

郑荣儿^{1,2**} 姜 鹤¹ 王关红^{1***}

(1. 中国科学院动物研究所, 农业虫害鼠害综合治理研究国家重点实验室, 北京 100101; 2. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘 要 蚊媒传播的疾病在世界范围内造成巨大的经济损失和健康负担。传统化学杀虫剂的不规范和过度使用导致抗药性在蚊虫种群的扩散, 加剧了蚊媒传播疾病的发生, 因此, 研发经济安全的新型蚊媒防控方法至关重要。*Wolbachia* 是一种专性感染节肢动物的细胞内共生菌, 可以操纵蚊虫的生殖能力并具有病原体阻断作用。释放 *Wolbachia* 感染的蚊虫品系来抑制或修饰蚊虫种群的防控策略具有巨大的发展潜力。本文主要介绍了 *Wolbachia* 诱导的胞质不相容作用和 *Wolbachia* 介导的病原体阻断作用, 并阐述了以这两种技术为基础的蚊虫防控策略的研究进展, 包括种群抑制和种群修饰策略。

关键词 *Wolbachia*; 胞质不相容; 病原体阻断; 种群抑制; 种群修饰

The research progress of *Wolbachia*-based mosquito control

ZHENG Rong-Er^{1,2**} JIANG He¹ WANG Guan-Hong^{1***}

(1. State Key Laboratory of Integrated Management of Pest Insects and Rodents, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract Mosquito-borne diseases are responsible for significant economic losses and health burdens worldwide. The misuse of traditional chemical pesticide strategies for mosquito control has resulted in pesticide resistance, exacerbating the prevalence of mosquito-borne diseases. Thus, the development of novel safe and effective mosquito control strategies is essential for controlling mosquito-borne diseases. *Wolbachia* is an obligatory arthropod-infecting endosymbiont that can manipulate mosquito reproduction and block virus transmission. Releasing *Wolbachia*-infected mosquito lines to suppress or modify the mosquito population is a promising mosquito control method. In this review, we discussed the effects of *Wolbachia*-induced cytoplasmic incompatibility and virus blocking and reviewed two mosquito control strategies based on these effects.

Key words *Wolbachia*; cytoplasmic incompatibility; pathogens blocking; population suppression; population modification

世界范围内, 大约存在 3 500 种蚊虫, 其中大多数已被鉴定为伊蚊属 *Aedes*, 按蚊属 *Anopheles* 和库蚊属 *Culex*。蚊虫媒介传播多种人类疾病, 如登革热 (Dengue)、疟疾 (Malaria)、

寨卡 (Zika) 等, 这些蚊传疾病由于缺少有效的疫苗预防, 造成了严重的公共卫生和健康负担 (Sukhralia *et al.*, 2019)。例如, 主要由埃及伊蚊 *Aedes aegypti* 传播的登革热, 每年预估造成 3.9

*资助项目 Supported projects: 吉林省与中国科学院科技合作高技术产业化专项项目 (2023SYHZ0051); 北京市自然科学基金项目 (6222046); 中国科学院与澳大利亚联邦科学与工业研究组织合作研究项目 (152111KYSB20210011); 国家自然科学基金项目 (32270538); 国家重点研发计划 (2022YFF0710603); 国家重点研发计划 (2022YFC2602603)

**第一作者 First author, E-mail: zhengronger@ioz.ac.cn

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: ghwang@ioz.ac.cn

收稿日期 Received: 2022-12-26; 接受日期 Accepted: 2023-12-28

亿人感染, 其中大约有 9 600 万人需要进行临床治疗 (Bhatt *et al.*, 2013)。

目前, 蚊虫的防控仍以传统的化学防控手段为主, 包括使用化学杀虫剂和药物处理的蚊帐等方法, 但这些方法难以达到安全高效防控蚊媒疾病的目的。例如, 化学杀虫剂的过度使用造成环境中的农药残留, 提高了蚊虫对杀虫剂的抗性, 引发高抗性蚊虫品系的出现, 进一步加大了蚊虫防控的难度, 并对非靶标物种产生不利影响。

近年来, 随着人们对蚊虫微生物研究的不断深入, 基于微生物的蚊虫防控方法逐渐被开发和应用。沃尔巴克氏体 *Wolbachia* 通过母系传播在蚊虫种群内传递, 并通过操纵蚊虫生殖抑制蚊虫种群数量, 或是通过抑制病毒复制、组装和释放来降低蚊传病毒的传播效率, 已被证明是一种颇具潜力的蚊虫防控手段。本文介绍了 *Wolbachia* 对蚊虫宿主的影响, 总结了 *Wolbachia* 胞质不相容 (Cytoplasmic incompatibility, CI) 和病原体阻断效应 (Pathogens blocking, PB) 在蚊虫种群防控中的应用。

1 *Wolbachia* 及其对宿主的影响

Wolbachia 是一种属于立克次氏体目 Rickettsiales 的革兰氏阴性菌 (Gram-negative bacteria), 通过母体传播 (Maternal transmission) 和垂直传播 (Vertical transmission) 在种群中传播扩散 (Kaur *et al.*, 2021)。大约在一个世纪以前, 人们首次在尖音库蚊 *Culex pipiens* 的生殖组织中发现 *Wolbachia* (Hertig and Wolbach, 1924)。据估计, 65% 以上的节肢动物物种感染 *Wolbachia*, 是迄今为止发现的共生菌属中数量最多的一种 (Hilgenboecker *et al.*, 2008)。

Wolbachia 通常在特定的宿主细胞中感染和繁殖, 并通过改变宿主的生理和结构来促进它本身的感染和传播, 主要包括对宿主的生殖操纵和为宿主提供其他益处 (Lindsey *et al.*, 2018)。生殖操纵主要通过 CI、杀雄作用 (Male killing)、雌性化 (Feminization) 和孤雌生殖 (Parthenogenesis) (Bourtzis *et al.*, 2014) 4 种机制来发挥作用。杀雄作用、雌性化和孤雌生殖使

Wolbachia 感染的种群后代雌性比例增加, 即感染 *Wolbachia* 的雌性比未感染 *Wolbachia* 的雌性具有更多的生殖优势 (Riehle and Jacobs-Lorena, 2005); 而 CI 不会改变后代的性别比率, 而是产生不育后代合子 (Yen and Barr, 1971)。

Wolbachia 在蚊虫中还能正向影响宿主适应性。*Wolbachia* 被发现具有缩短蚊虫寿命的能力, 当它们被人工引入至登革热病媒埃及伊蚊种群中, 其成虫寿命将会减半 (Cook *et al.*, 2008; McMeniman *et al.*, 2009)。因此, 直接将 *Wolbachia* 缩短寿命的菌株引入至蚊虫种群中进行蚊媒疾病防控也是一种有效的策略。因为寿命缩短的蚊虫, 尤其是雌虫, 减少了吸血次数, 意味着减少了蚊虫在早期吸血过程中获得致病病原体的机会。

迄今为止, 已经研究了 *Wolbachia* 对宿主的其他影响, 如雌成虫的吸血成功率、繁殖力、生育力和卵存活率等, 以证明 *Wolbachia* 在蚊虫控制方面的潜在能力 (Allman *et al.*, 2020)。除此以外, *Wolbachia* 还可以与蚊传病毒相互作用, 以控制虫媒疾病的传播。

2 *Wolbachia* 诱导的 CI

Wolbachia 诱导的 CI 是一种独特的条件不育和种群隔离机制, 其具体表现为: 感染 *Wolbachia* 的雄性产生的精子与来自未感染 *Wolbachia* 的雌性或携带不同且不兼容的 *Wolbachia* 株系的雌性卵子间存在不相容性, 诱导后代合子不育; 相比之下, 若这些雌性感染了同一 *Wolbachia* 株系, 所产生的后代的生存能力将得到恢复, 后代可以正常存活 (Serbus *et al.*, 2008) (图 1 : A)。感染 *Wolbachia* 的父系染色质凝聚发生缺陷, 这些缺陷阻碍了不相容的杂交组合胚胎在第一次有丝分裂期间的染色体分离, 从而导致二倍体物种的胚胎死亡。进一步的研究表明, 父系染色体进入第一个核周期的延迟或异常导致染色体的复制缺陷或是在中期的异常压缩, 由于同一有丝分裂时期的母系染色体进入分裂后期, 父系染色体被留下或在两个子核之间形成染色质桥 (Tram

and Sullivan, 2002; Horard *et al.*, 2022)。因此, 父系染色体有可能在第一次有丝分裂时丢失, 或

是进行额外的分裂, 分别导致单倍体或非整倍体胚胎的形成 (Tram *et al.*, 2006)。

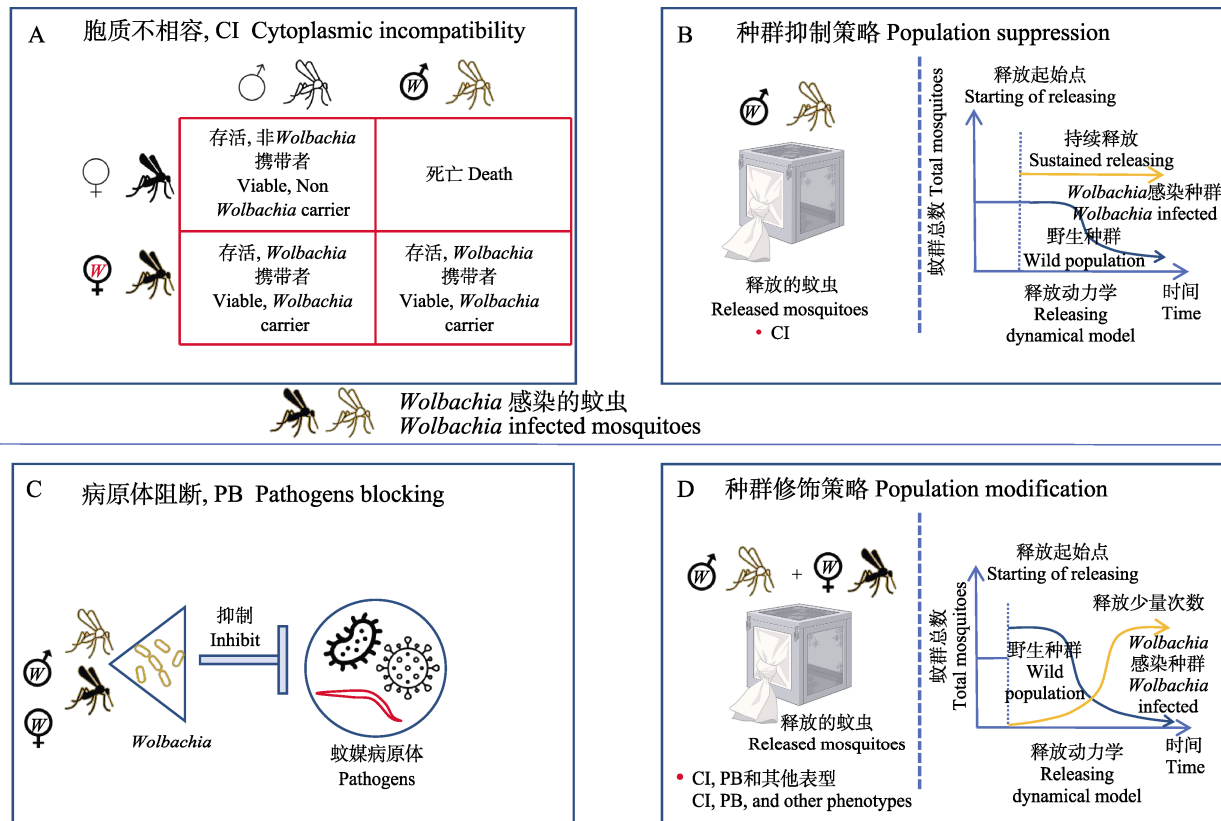


图 1 *Wolbachia* 对蚊虫的两种效应及防控策略

Fig. 1 Two effects and control strategies of *Wolbachia* on mosquitoes

A. *Wolbachia* CI 的发生以及后代的不同情况; B. 以 *Wolbachia* CI 为基础的种群抑制策略和蚊虫释放动力学模型;

C. *Wolbachia* 介导的 PB 机制; D. 以 CI, PB 为基础的种群修饰策略和蚊虫释放动力学模型。

A. Occurrence of *Wolbachia* CI and differential outcomes in offspring; B. Population suppression strategy and mosquito release dynamics model based on *Wolbachia* CI; C. *Wolbachia*-mediated PB mechanism; D. Population modification strategy and mosquito release dynamics model based on CI, PB and other phenotypes.

这些缺陷对父系胚胎的发育是致命的, 但当 *Wolbachia* 感染的卵子与之形成合子时, CI 的感染和挽救作用存在不同的差异, 由此人们提出了几种 *Wolbachia* CI 作用模型: 毒素-解毒模型 (Toxin-antidote, TA model) 和修饰-挽救模型 (Modification-rescue, mod/resc model)。TA 模型认为 *Wolbachia* 在未成熟的精子中产生一种毒素和解毒剂, 解毒剂不够稳定并且比毒素分解更快, 因此当其与未感染 *Wolbachia* 的卵子受精时, 由于毒素的存在, 通过与染色质或 DNA 的作用阻碍父系染色体的发育从而导致胚胎死亡; 而 *Wolbachia* 感染的卵子中存在解毒剂, 这样的合

子中和了毒素作用, 因此胚胎能够存活 (Beckmann *et al.*, 2019)。Mod/resc 模型则认为 *Wolbachia* 可以通过 mod 因子的潜在分泌来修饰精子, 导致 CI 的发生; 而 *Wolbachia* 感染的卵子中的 resc 因子可以中和或者逆转这种修饰, 从而挽救 CI 的发生 (Landmann, 2019)。

近年来, CI 诱导和挽救的因子已被鉴定为 CI 诱导的 *Wolbachia* 菌株特有的成对效应基因, 分别被称为胞质不相容因子 A (CI factor A, *CifA*) 和 B (CI factor B, *CifB*), 它们以一种类似操纵子的结构发挥作用 (LePage *et al.*, 2017)。例如来自黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster*

Wolbachia 菌株 wMel 的 CI 基因 *CifA* 和 *CifB*, 以及尖音库蚊 *C. pipiens* *Wolbachia* 菌株 wPip 中与之同源的 *CidA* 和 *CidB* 基因 (Beckmann *et al.*, 2017; LePage *et al.*, 2017)。作为一种去泛素化酶 (Deubiquitylase, DUB), *CidB* 是 CI 诱导的关键基因, 它可以直接诱导 CI 表型或与 *CidA* 间接作用, *CidA* 则是 CI 的挽救因子 (Chen *et al.*, 2019; Beckmann *et al.*, 2021)。在转基因黑腹果蝇中的一些研究揭示了 CI 的分子机制: 在未感染 *Wolbachia* 的 *CidB* 雄性转基因果蝇中诱导 CI 类似的合子不育表型, 且这些雄性与 *CidA* 转基因雌性交配后可以挽救 CI 性状 (Beckmann *et al.*, 2017; LePage *et al.*, 2017; Chen *et al.*, 2019)。最近, Xiao 等 (2021) 对两种主要类型的 CI 模型进行了全面的结构、生化和功能研究, 结果发现两对主要的 CI 基因, *CinA* 和 *CinB*, 以及 *CidA* 和 *CidB* 通过相同的结合模式发挥 CI 的诱导和挽救功能, 并且其作用模式支持 TA 模型。

3 基于 *Wolbachia* CI 机制的蚊虫防控策略: 种群抑制

种群抑制 (Population suppression) 策略主要包括不育昆虫技术 (Sterile insect technique, SIT), 不相容昆虫技术 (Incompatible insect technique, IIT) 和基于转基因的技术, 其目的旨在减少或消灭蚊虫种群的数量 (Wang *et al.*, 2022)。*Wolbachia* 诱导的 CI 通过降低雌性蚊虫的生育力导致目标种群数量的急剧下降, 降低传播疾病的蚊虫种群数量。因此, 种群抑制包括大规模释放 *Wolbachia* 感染的雄性蚊子至野外并与野生雌性交配 (Caragata *et al.*, 2021) (图 1: B)。最近几年, 在意大利罗马 (Caputo *et al.*, 2020)、美国加利福尼亚 (Crawford *et al.*, 2020)、澳大利亚昆士兰北部城镇 (Beebe *et al.*, 2021) 和中国广州 (Zheng *et al.*, 2019) 成功释放了感染 *Wolbachia* 的雄性蚊虫, 野外释放数据表明多地的蚊虫种群抑制率和疾病防控率都大于 70% (Ryan *et al.*, 2019; Indriani *et al.*, 2020; Hugo *et al.*, 2022), 暗示 *Wolbachia* 的种群抑制策略作为蚊虫防控工具具有巨大的应用潜力。

种群抑制因其需要持续不断地释放 *Wolbachia* 感染的雄虫, 因此其对蚊虫种群的影响具有自我限制的特性, 叮咬的雌虫也未被释放, 因此被人们所广泛接受。*Wolbachia* 感染的雌虫不会被释放, 但它们仍然可能被意外地释放到目标种群中, 这可能导致种群抑制效果降低, 因为这些雌虫不会和被释放的雄虫之间发生 CI 效应。因此, 精确的性别筛选技术对于种群抑制策略的发展是极有必要的。例如, 利用机器学习驱动一种自动化的性别分类通道, 或是结合不育昆虫技术使意外释放的雌性不育 (Crawford *et al.*, 2020)。此外, 大量释放 *Wolbachia* 感染的雄蚊通常能够使目标种群大量死亡, 但因其存活时间短, 且不能使 *Wolbachia* 在种群内传播, 导致防控效果持续时间短且需要多次释放干预。因此, 进行蚊虫饲养设备的高效优化是极有必要的 (Zhang *et al.*, 2018)。

4 *Wolbachia* 介导的病原体阻断

Wolbachia 能够保护蚊虫免受病原体的侵害, 并诱导对关键病原体的感染、传播和复制的抑制, 尤其是虫媒病毒, 称为病原体阻断 (Pathogens blocking, PB) (Bando *et al.*, 2013) (图 1: C)。这种效应最先在感染 *Wolbachia* 的果蝇中被观察到, 并被描述为 *Wolbachia* 增强了宿主对病原体的非特异性抵抗力 (Yoshida *et al.*, 2001)。与不含 *Wolbachia* 的果蝇相比, 感染 *Wolbachia* 的果蝇在受到病毒感染时具有更长的存活时间和更低的病毒滴度 (Teixeira *et al.*, 2008)。这一事实也直接证明了 *Wolbachia* 为宿主提供了诸多益处。研究表明, *Wolbachia* 介导的 PB 效应作用于许多不同的虫媒病原体, 如登革热病毒 (Dengue virus, DENV), 基孔肯雅病毒 (Chikungunya virus, CHIKV), 黄热病病毒 (Yellow fever virus, YFV), 寨卡病毒 (Zika virus, ZIKV), 西尼罗河病毒 (West Nile virus, WNV), 马雅罗病毒 (Mayaro virus, MAYV), 辛德比斯病毒 (Sindbis virus, SINV) 等虫媒病毒, 以及疟原虫和丝虫等病原体 (Bhattacharya *et al.*, 2017; Caragata *et al.*, 2021)。有趣的是, 与 DNA 病毒

相比, RNA 病毒似乎更容易被 *Wolbachia* 阻断。wMel 使其宿主黑腹果蝇对 3 种 RNA 病毒: 果蝇 C 病毒 (*Drosophila C virus*)、果蝇 Nora 病毒和弗洛克豪斯病毒 (*Flock House virus*) 更具抵抗力, 但对 DNA 病毒-昆虫彩虹病毒 6 (*Insect iridescent virus 6*) 没有阻断作用 (Teixeira *et al.*, 2008)。除昆虫的天然 *Wolbachia* 菌株外, 人工转染至蚊虫种群的 *Wolbachia* 也被证明具有病原体阻断效应。如人工转染的 wMel 可以防止 CHIKV、DENV 和 ZIKV 在埃及伊蚊中的感染 (Aliota *et al.*, 2016)。

PB 的发生机制极其复杂, 涉及到不同的 *Wolbachia* 菌株-蚊虫宿主-病原体组合 (Caragata *et al.*, 2016), 其确切的机制目前仍不清楚。然而, 一些研究表明, *Wolbachia* 可能通过调节免疫反应, 或者与病毒竞争营养素或减少病毒必须营养物的产生, 例如干扰宿主细胞内胆固醇运输、扰乱内质网并干扰囊泡运输和脂质代谢, 来影响病毒的复制和增殖, 或者直接与病毒 RNA 相互作用以限制病原体的感染、增殖和传播 (Molloy *et al.*, 2016; Geoghegan *et al.*, 2017)。

5 基于 *Wolbachia* 病原体阻断的蚊虫防控策略: 种群修饰

种群修饰 (Population modification) 策略旨在使用 *Wolbachia* 感染的种群取代未感染 *Wolbachia* 的蚊虫种群, 因此该策略也被称为种群替代 (Population replacement) 策略。对于种群修饰, 无需性别筛选, *Wolbachia* 感染的雄虫和雌虫都被无差别释放, 因为雄虫可以通过 CI 作用抑制目标种群, 而雌虫则同时负责传播 *Wolbachia* 和阻断病原体传播 (O'Neill *et al.*, 2018) (图 1: D)。因此, 一旦 *Wolbachia* 在种群中稳定传播, 种群修饰策略可以在一个实施周期内实现防控系统整体的自我维持和稳定。

一些蚊虫天然携带 *Wolbachia*, 然而一些重要的蚊虫媒介并不是 *Wolbachia* 的天然宿主, 如 DENV 的主要载体埃及伊蚊。*Wolbachia* 转染的埃及伊蚊同样能够诱导 PB 的发生, 但更高密度 *Wolbachia* 通常诱导更强的 PB, 例如 wAlbB 和

wMelPop, 能够诱导比低密度的 wMel 更强的阻断表型 (Caragata *et al.*, 2016)。目前, 几个国家正在开展使用 *Wolbachia* 转染埃及伊蚊进行种群替代策略。在印度尼西亚进行的 wMel 感染的埃及伊蚊释放试验表明, wMel 成功引入至埃及伊蚊种群后, 可以有效降低登革热的发病率, 并减少患病者的住院率 (Utarini *et al.*, 2021)。在马来西亚, 当 wAlbB 被引入至埃及伊蚊种群后, 当地登革热的发病率减少 40%, 且 *Wolbachia* 持续维持较高丰度 (Nazni *et al.*, 2019)。

种群修饰策略要求 *Wolbachia* 感染的蚊虫种群在野外环境中传播和长期维持较高感染率或种群密度。*Wolbachia* 菌株 wMelPop 被发现对蚊虫宿主有严重的负面作用, 如成虫寿命、卵子活力和生殖力等, 并且被证明不会在野外蚊虫种群中传播 (Nguyen *et al.*, 2015; Walker *et al.*, 2011), 然而, 一些别的 *Wolbachia* 株系, 如 wMel 和 wAlbB 被证明不会对宿主有显著的适应性危害 (Axford *et al.*, 2016)。因此, 相较于本地的野生蚊虫种群, 这些 *Wolbachia* 转染后对蚊虫宿主具有较高适应危害的株系可能并不适合用于种群修饰策略。除此以外, 环境因素特别是温度显著影响 *Wolbachia* 的滴度 (Lau *et al.*, 2020), 高温导致 *Wolbachia* 菌株 wMel 和 wAlbB 的载量降低。这可能影响蚊虫释放策略的实施, 例如直接影响雄虫诱导的 CI, *Wolbachia* 的母系传播和 PB 效应的发生 (Mancini *et al.*, 2021)。最近的一项研究表明, 相较于恒定的 27 °C, 27-37 °C 的变温处理导致 wAlbA 和 wAlbB 在埃及伊蚊中的感染率分别下降至 56 % 和 66 %, 而 wAu 依然具有 82 % 的感染率, 体现出较高的热稳定性, 且能够有效阻断登革热和寨卡病毒的传播 (Ant *et al.*, 2018)。因此, 提高对 PB 机制的理解, 并确定 PB 的影响因素, 对于种群修饰策略的实施具有显著影响。

6 总结和展望

基于 *Wolbachia* 的蚊虫防控策略一般遵循两种方法: 种群抑制或种群修饰。两者均具有一定的优势, 但同时也存在着潜在的风险和巨大的挑

战: (1) 不仅需要人工建立稳定的 *Wolbachia* 感染的蚊虫种群, 也需要 *Wolbachia* 在蚊虫种群中具有较高的 CI 或病原体阻断效率。(2) 许多环境因素会影响 *Wolbachia* 在野外种群中的表现, 如温度和宿主饮食 (Yen and Failloux, 2020), 或是 *Wolbachia* 的适应性等。因此, 基于 *Wolbachia* 的蚊虫防控策略的成功实施, 必须优化合适的条件。(3) 对于种群抑制策略而言, 需要一种精准的性别鉴定方法, 因为意外释放 *Wolbachia* 感染的雌虫会导致该方法在蚊虫种群中失效; 与此同时, 虽然种群修饰无需进行性别筛选, 但二者都需要多代、广泛和大规模的集中释放, 特别是后者无差别地同时释放两性蚊虫, 将会面临潜在的公共卫生问题。结合这两种策略不同的优缺点, 以及不同释放地点、疾病类型、蚊媒类型, 应当在确切实施时综合考虑不同背景对释放效果的影响。此外, 种群抑制和种群修饰的配合使用, 或与其他防控策略交替或结合使用, 在未来也有可能成为蚊虫或蚊媒疾病防控策略的一部分。

尽管如此, 以 *Wolbachia* 为基础的 DENV 防控应用的显著成功, 表明 *Wolbachia* 在减少蚊传疾病方面具有更强大潜力。*Wolbachia* 和其宿主之间的共生关系是密切且复杂的, 它们之间通过多种生理和生化途径互相影响。理解 *Wolbachia* 和宿主之间的相互作用对于蚊虫防控策略的实施至关重要。更值得指出, 在未来, 将 CI 及其分子作用机制作为一种新型基因驱动系统的基础, 是一种颇具潜力的蚊虫或其他病媒和农业害虫的防控应用方法。

参考文献 (References)

- Aliota, MT, Peinado SA, Velez ID, Osorio JE, 2016. The wMel strain of *Wolbachia* reduces transmission of Zika virus by *Aedes aegypti*. *Scientific Reports*, 6: 28792.
- Allman MJ, Fraser JE, Ritchie SA, Joubert DA, Simmons CP, Flores HA, 2020. *Wolbachia*'s deleterious impact on *Aedes aegypti* egg development: The potential role of nutritional parasitism. *Insects*, 11(11): 735.
- Ant TH, Herd CS, Geoghegan V, Hoffmann AA, Sinkins SP, 2018. The *Wolbachia* strain wAu provides highly efficient virus transmission blocking in *Aedes aegypti*. *PLoS Pathogens*, 14(1): e1006815.
- Axford JK, Ross PA, Yeap HL, Callahan AG, Hoffmann A, 2016. Fitness of wAlbB *Wolbachia* infection in *Aedes aegypti*: Parameter estimates in an outcrossed background and potential for population invasion. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 94(3): 507–516.
- Bando H, Okado K, Guelbeogo WM, Badolo A, Aonuma H, Nelson B, Fukumoto S, Xuan X, Sagnon N, Kanuka H, 2013. Intra-specific diversity of *Serratia marcescens* in *Anopheles* mosquito midgut defines *Plasmodium* transmission capacity. *Scientific Reports*, 3: 1641.
- Beckmann, JF, Ronau JA, Hochstrasser M, 2017. A *Wolbachia* deubiquitylating enzyme induces cytoplasmic incompatibility. *Nature Microbiology*, 2: 17007.
- Beckmann JF, Van Vaerenberghe K, Akwa DE, Cooper BS, 2021. A single mutation weakens symbiont-induced reproductive manipulation through reductions in deubiquitylation efficiency. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118(39): e2113271118.
- Beckmann JF, Bonneau M, Chen H, Hochstrasser M, Poinot D, Merçot H, Weill M, Sicard M, Charlat S, 2019. The toxin-antidote model of cytoplasmic incompatibility: Genetics and evolutionary implications. *Trends in Genetics*, 35(3): 175–185.
- Beebe NW, Pagendam D, Trewin BJ, Boomer A, Bradford M, Ford A, Liddington C, Bondarencu A, De Barro PJ, Gilchrist J, Paton C, Staunton KM, Johnson B, Maynard AJ, Devine GJ, Hugo LE, Rasic G, Cook H, Massaro P, Snodad N, Crawford JE, White BJ, Xi Z, Ritchie SA, 2021. Releasing incompatible males drives strong suppression across populations of wild and *Wolbachia*-carrying *Aedes aegypti* in Australia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118(41): e2106828118.
- Bhatt S, Gething PW, Brady OJ, Messina JP, Farlow AW, Moyes CL, Drake JM, Brownstein JS, Hoen AG, Sankoh O, Myers MF, George DB, Jaenisch T, Wint GR, Simmons CP, Scott TW, Farrar JJ, Hay SI, 2013. The global distribution and burden of dengue. *Nature*, 496(7446): 504–507.
- Bhattacharya T, Newton ILG, Hardy RW, 2017. *Wolbachia* elevates host methyltransferase expression to block an RNA virus early during infection. *PLoS Pathogens*, 13(6): e1006427.
- Bourtzis K, Dobson SL, Xi Z, Rasgon JL, Calvitti M, Moreira LA, Bossin HC, Moretti R, Baton LA, Hughes GL, Mavingui P, Gilles JR, 2014. Harnessing mosquito-*Wolbachia* symbiosis for vector and disease control. *Acta Tropica*, 132 (Suppl.): S150–163.
- Caputo B, Moretti R, Manica M, Serini P, Lampazzi E, Bonanni M, Fabbri G, Pichler V, Della Torre A, Calvitti M, 2020. A bacterium against the tiger: Preliminary evidence of fertility reduction after

- release of *Aedes albopictus* males with manipulated *Wolbachia* infection in an Italian urban area. *Pest Management Science*, 76(4): 1324–1332.
- Caragata EP, Dutra HLC, Moreira LA, 2016. Exploiting intimate relationships: Controlling mosquito-transmitted disease with *Wolbachia*. *Trends in Parasitology*, 32(3): 207–218.
- Caragata EP, Dutra HLC, Sucupira PHF, Ferreira AGA, Moreira LA, 2021. *Wolbachia* as translational science: Controlling mosquito-borne pathogens. *Trends in Parasitology*, 37(12): 1050–1067.
- Chen H, Ronau JA, Beckmann JF, Hochstrasser M, 2019. A *Wolbachia* nuclease and its binding partner provide a distinct mechanism for cytoplasmic incompatibility. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(44): 22314–22321.
- Cook PE, McMeniman CJ, O'Neill SL, 2008. Modifying insect population age structure to control vector-borne disease. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 627: 126–140.
- Crawford JE, Clarke DW, Criswell V, Desnoyer M, Cornel D, Deegan B, Gong K, Hopkins KC, Howell P, Hyde JS, Livni J, Behling C, Benza R, Chen W, Dobson KL, Eldershaw C, Greeley D, Han Y, Hughes B, Kakani E, Karbowski J, Kitchell A, Lee E, Lin T, Liu J, Lozano M, MacDonald W, Mains JW, Metlitz M, Mitchell SN, Moore D, Ohm JR, Parkes K, Porshnikoff A, Robuck C, Sheridan M, Sobecki R, Smith P, Stevenson J, Sullivan J, Wasson B, Weakley AM, Wilhelm M, Won J, Yasunaga A, Chan WC, Holeman J, Snoad N, Upson L, Zha T, Dobson SL, Mulligan FS, Massaro P, White BJ, 2020. Efficient production of male *Wolbachia*-infected *Aedes aegypti* mosquitoes enables large-scale suppression of wild populations. *Nature Biotechnology*, 38(4): 482–492.
- Geoghegan V, Stainton K, Rainey SM, Ant TH, Dowle AA, Larson T, Hester S, Charles PD, Thomas B, Sinkins SP, 2017. Perturbed cholesterol and vesicular trafficking associated with dengue blocking in *Wolbachia*-infected *Aedes aegypti* cells. *Nature Communications*, 8(1): 526.
- Hertig M, Wolbach SB, 1924. Studies on Rickettsia-like micro-organisms in insects. *The Journal of Medical Research*, 44(3): 329–374, 327.
- Hilgenboecker K, Hammerstein P, Schlattmann P, Telschow A, Werren JH, 2008. How many species are infected with *Wolbachia*?--A statistical analysis of current data. *FEMS Microbiology Letters*, 281(2): 215–220.
- Horard B, Terretaz K, Gosselin-Grenet AS, Sobry H, Sicard M, Landmann F, Loppin B, 2022. Paternal transmission of the *Wolbachia* CidB toxin underlies cytoplasmic incompatibility. *Current Biology : CB*, 32(6): 1319–1331.e1315.
- Hugo L, Rašić G, Maynard AJ, Ambrose L, Liddington C, Thomas CJ, Nath NS, Graham M, Winterford C, Wimalasiri-Yapa B, Xi Z, Beebe N, Devine G, 2022. *Wolbachia* wAlbB inhibit dengue and Zika infection in the mosquito *Aedes aegypti* with an Australian background. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 16(10): e0010786.
- Indriani C, Tantowijoyo W, Rancès E, Andari B, Prabowo E, Yusdi D, Ansari MR, Wardana DS, Supriyati E, Nurhayati I, Ernesia I, Setyawan S, Fitriana I, Arguni E, Amelia Y, Ahmad R, Jewell N, Dufault S, Ryan P, Green BR, McAdam TF, O'Neill S, Tanamas S, Simmons C, Anders K, Utarini A, 2020. Reduced dengue incidence following deployments of *Wolbachia*-infected *Aedes aegypti* in Yogyakarta, Indonesia: A quasi-experimental trial using controlled interrupted time series analysis. *Gates Open Research*, 4: 50.
- Kaur R, Shropshire JD, Cross KL, Leigh B, Mansueto AJ, Stewart V, Bordenstein SR, Bordenstein SR, 2021. Living in the endosymbiotic world of *Wolbachia*: A centennial review. *Cell Host & Microbe*, 29(6): 879–893.
- Landmann F, 2019. The *Wolbachia* endosymbionts. *Microbiology Spectrum*, 7(2): BAI-0018-2019.
- Lau MJ, Ross PA, Endersby-Harshman NM, Hoffmann AA, 2020. Impacts of low temperatures on *Wolbachia* (Rickettsiales: Rickettsiaceae)-infected *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 57(5): 1567–1574.
- LePage DP, Metcalf JA, Bordenstein SR, On J, Perlmutter JJ, Shropshire JD, Layton EM, Funkhouser-Jones LJ, Beckmann JF, Bordenstein SR, 2017. Prophage WO genes recapitulate and enhance *Wolbachia*-induced cytoplasmic incompatibility. *Nature*, 543(7644): 243–247.
- Lindsey, ARI, Bhattacharya T, Newton ILG, Hardy RW, 2018. Conflict in the intracellular lives of endosymbionts and viruses: A mechanistic look at *Wolbachia*-mediated pathogen-blocking. *Viruses*, 10(4): 141.
- Mancini MV, Ant TH, Herd CS, Martinez J, Murdochy SM, Gingell DD, Mararo E, Johnson PCD, Sinkins SP, 2021. High temperature cycles result in maternal transmission and dengue infection differences between *Wolbachia* strains in *Aedes aegypti*. *mBio*, 12(6): e0025021.
- McMeniman, CJ, Lane RV, Cass BN, Fong AW, Sidhu M, Wang YF, O'Neill SL, 2009. Stable introduction of a life-shortening *Wolbachia* infection into the mosquito *Aedes aegypti*. *Science*, 323(5910): 141–144.
- Molloy JC, Sommer U, Viant MR, Sinkins SP, 2016. *Wolbachia* modulates lipid metabolism in *Aedes albopictus* mosquito cells. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(10): 3109–3120.
- Nazni WA, Hoffmann AA, NoorAfizah A, Cheong YL, Mancini MV, Golding N, Kamarul GMR, Arif MAK, Thohir H, NurSyamimi H, ZatilAqmar MZ, NurRuqqayah M, NorSyazwani A, Faiz A,

- Irfan FMN, Rubaaini S, Nuradila N, Nizam NMN, Irwan SM, Endersby-Harshman NM, White VL, Ant TH, Herd CS, Hasnor AH, AbuBakar R, Hapsah DM, Khadijah K, Kamilan D, Lee SC, Paid YM, Fadzilah K, Topek O, Gill BS, Lee HL, Sinkins SP, 2019. Establishment of *Wolbachia* strain wAlBb in Malaysian populations of *Aedes aegypti* for dengue control. *Current Biology : CB*, 29(24): 4241–4248.e4245.
- Nguyen TH, Nguyen HL, Nguyen TY, Vu SN, Tran ND, Le TN, Vien QM, Bui TC, Le HT, Kutcher S, Hurst TP, Duong TT, Jeffery JA, Darbro JM, Kay BH, Iturbe-Ormaetxe I, Popovici J, Montgomery BL, Turley AP, Zieglerman F, Cook H, Cook PE, Johnson PH, Ryan PA, Paton CJ, Ritchie SA, Simmons CP, O'Neill SL, Hoffmann AA, 2015. Field evaluation of the establishment potential of wMelPop *Wolbachia* in Australia and Vietnam for dengue control. *Parasites & Vectors*, 8: 563.
- O'Neill SL, Ryan PA, Turley AP, Wilson G, Retzki K, Iturbe-Ormaetxe I, Dong Y, Kenny N, Paton CJ, Ritchie SA, Brown-Kenyon J, Stanford D, Wittmeier N, Jewell NP, Tanamas SK, Anders KL, Simmons CP, 2018. Scaled deployment of *Wolbachia* to protect the community from dengue and other *Aedes* transmitted arboviruses. *Gates Open Research*, 2(13): 36.
- Riehle MA, Jacobs-Lorena M, 2005. Using bacteria to express and display anti-parasite molecules in mosquitoes: Current and future strategies. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 35(7): 699–707.
- Ryan P, Turley AP, Wilson G, Hurst T, Retzki K, Brown-Kenyon J, Hodgson L, Kenny N, Cook H, Montgomery B, Paton C, Ritchie S, Hoffmann A, Jewell N, Tanamas S, Anders K, Simmons C, O'Neill S, 2019. Establishment of wMel *Wolbachia* in *Aedes aegypti* mosquitoes and reduction of local dengue transmission in Cairns and surrounding locations in northern Queensland, Australia. *Gates Open Research*, 3: 1547.
- 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.
- Sukhralia S, Verma M, Gopirajan S, Dhanaraj PS, Lal R, Mehla N, Kant CR, 2019. From dengue to Zika: The wide spread of mosquito-borne arboviruses. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases : Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 38(1): 3–14.
- Teixeira L, Ferreira A, Ashburner M, 2008. The bacterial symbiont *Wolbachia* induces resistance to RNA viral infections in *Drosophila melanogaster*. *PLoS Biology*, 6(12): e2.
- Tram U, Sullivan W, 2002. Role of delayed nuclear envelope breakdown and mitosis in *Wolbachia*-induced cytoplasmic incompatibility. *Science*, 296(5570): 1124–1126.
- Tram U, Fredrick K, Werren JH, Sullivan W, 2006. Paternal chromosome segregation during the first mitotic division determines *Wolbachia*-induced cytoplasmic incompatibility phenotype. *Journal of Cell Science*, 119(Pt 17): 3655–3663.
- Utarini A, Indriani C, Ahmad RA, Tantowijoyo W, Arguni E, Ansari MR, Supriyati E, Wardana DS, Meitika Y, Ernesia I, Nurhayati I, Prabowo E, Andari B, Green BR, Hodgson L, Cutcher Z, Rancès E, Ryan PA, O'Neill SL, Dufault SM, Tanamas SK, Jewell NP, Anders KL, Simmons CP, 2021. Efficacy of *Wolbachia*-infected mosquito deployments for the control of dengue. *The New England Journal of Medicine*, 384(23): 2177–2186.
- Walker T, Johnson PH, Moreira LA, Iturbe-Ormaetxe I, Frentiu FD, McMeniman CJ, Leong YS, Dong Y, Axford J, Kriesner P, Lloyd AL, Ritchie SA, O'Neill SL, Hoffmann AA, 2011. The wMel *Wolbachia* strain blocks dengue and invades caged *Aedes aegypti* populations. *Nature*, 476(7361): 450–453.
- Wang G, Du J, Chu CY, Madhav M, Hughes GL, Champer J, 2022. Symbionts and gene drive: Two strategies to combat vector-borne disease. *Trends in Genetics*, 38(7): 708–723.
- Xiao Y, Chen H, Wang H, Zhang M, Chen X, Berk JM, Zhang L, Wei Y, Li W, Cui W, Wang F, Wang Q, Cui C, Li T, Chen C, Ye S, Zhang L, Ji X, Huang J, Wang W, Wang Z, Hochstrasser M, Yang H, 2021. Structural and mechanistic insights into the complexes formed by *Wolbachia* cytoplasmic incompatibility factors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118(41): e2107699118.
- Yen JH, Barr AR, 1971. New hypothesis of the cause of cytoplasmic incompatibility in *Culex pipiens* L. *Nature*, 232(5313): 657–658.
- Yen PS, Failloux AB, 2020. A review: *Wolbachia*-based population replacement for mosquito control shares common points with genetically modified control approaches. *Pathogens*, 9(5).
- Yoshida S, Ioka D, Matsuoka H, Endo H, Ishii A, 2001. Bacteria expressing single-chain immunotoxin inhibit malaria parasite development in mosquitoes. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 113(1): 89–96.
- Zhang D, Li Y, Sun Q, Zheng X, Gilles JRL, Yamada H, Wu Z, Xi Z, Wu Y, 2018. Establishment of a medium-scale mosquito facility: Tests on mass production cages for *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Parasites & Vectors*, 11(1): 189.
- Zheng X, Zhang D, Li Y, Yang C, Wu Y, Liang X, Liang Y, Pan X, Hu L, Sun Q, Wang X, Wei Y, Zhu J, Qian W, Yan Z, Parker AG, Gilles JRL, Bourtzis K, Bouyer J, Tang M, Zheng B, Yu J, Liu J, Zhuang J, Hu Z, Zhang M, Gong JT, Hong XY, Zhang Z, Lin L, Liu Q, Hu Z, Wu Z, Baton LA, Hoffmann AA, Xi Z, 2019. Incompatible and sterile insect techniques combined eliminate mosquitoes. *Nature*, 572(7767): 56–61.