

内共生菌 *Wolbachia* 在蓖麻粉虱内的分布*

宋 月^{1**} 樊永亮¹ 武丽娟¹ 张战凤¹ 刘小凤¹
曹京阳² 刘淑敏² 刘同先^{1***}

(1. 西北农林科技大学, 西北旱区作物逆境生物学国家重点实验室, 农业部西北黄土高原作物有害生物综合治理重点实验室, 杨凌 712100; 2. 陕西省杨陵区农业技术推广服务中心, 杨凌 712100)

摘 要 【目的】在粉虱类害虫生物防治的载体植物系统中, 蓖麻粉虱 *Trialeurodes ricini* 是较好的替代寄主。*Wolbachia* 是节肢动物中分布最广的细胞内共生菌, 对昆虫的生殖和发育具有重要影响, 明确蓖麻粉虱中 *Wolbachia* 的分布可为蓖麻粉虱 *Wolbachia* 的深入研究奠定基础, 为粉虱类害虫的生物防治提供新的理论依据和思路。【方法】通过内共生菌 *Wolbachia* 的 *wsp* 基因 A 大组和 B 大组特异性引物对蓖麻粉虱的室内饲养种群及蓖麻粉虱与丽蚜小蜂同笼饲养 20 代的种群逐代进行 PCR 检测, 对扩增到的基因进行测序并构建系统发育树, 进行相关分析。【结果】蓖麻粉虱种群中只有 A 大组 *Wolbachia* 分布, 感染率为 40%, 系统发育分析表明该类群的 *Wolbachia* 属于 A 大组中的 *Dro* 亚组, 与报道的其他寄生蜂种群感染的 *Wolbachia* 同属一组。丽蚜小蜂种群中的 *Wolbachia* 属 B 大组, 蓖麻粉虱与丽蚜小蜂混合饲养 20 代, 逐代检测发现 *Wolbachia* 并未在蓖麻粉虱与丽蚜小蜂种群间发生水平传播。【结论】蓖麻粉虱的室内饲养种群中 *Wolbachia* 的感染率仅为 40%, 说明 *Wolbachia* 能够在蓖麻粉虱种群中稳定遗传, 但在蓖麻粉虱个体间水平传播的能力较弱。短时间内 *Wolbachia* 无法在蓖麻粉虱与丽蚜小蜂种群间水平传播。

关键词 *Wolbachia*; 蓖麻粉虱; 内共生菌; 感染率

Distribution of *Wolbachia* in *Trialeurodes ricini* Misra

SONG Yue^{1**} FAN Yong-Liang¹ WU Li-Juan¹ ZHANG Zhan-Feng¹ LIU Xiao-Feng¹
CAO Jing-Yang² LIU Shu-Min² LIU Tong-Xian^{1***}

(1. State Key Laboratory of Crop Stress Biology for Arid Areas, and Key Laboratory of Northwest Loess Plateau Crop Pest Management of Ministry of Agriculture, Northwest A&F University, Yangling 712100, China;
2. Yangling Agricultural Technology Extension Service Center, Yangling 712100, China)

Abstract [Objectives] The whitefly, *Trialeurodes ricini* is an important crop pest in China. *Wolbachia* is the most abundant intracellular bacterial endosymbiont widely distributed in arthropods, including *T. ricini* and the parasitic wasp *Encarsia formosa*. *Wolbachia* has an important influence on the reproduction and development of insects so knowing its distribution in *T. ricini* and *E. formosa* can lay a foundation both for the in-depth study of *Wolbachia*, and novel ideas for the biocontrol of whiteflies. [Methods] The distribution of *Wolbachia* in indoor populations of *T. ricini* and *E. formosa* were detected by PCR. Specific primers of the *Wolbachia wsp* gene within groups A and B were designed. The amplified genes were sequenced and a phylogenetic tree was constructed. [Results] Only group A was detected in the *T. ricini* population with an infection rate of 40%. Phylogenetic analysis indicated that this group of *Wolbachia*, together with the *Wolbachia* reported in parasitic wasps, belongs to the *Dro* subgroup of group A. The *Wolbachia* detected in the *E. formosa* population belonged to group B. These two strains of *Wolbachia* did not horizontally transfer between the *T. ricini* and *E. formosa*. [Conclusion] The infection rate of *Wolbachia* in an indoor breeding population of the *T. ricini* was only 40%, which indicates that although *Wolbachia* can be inherited in *T. ricini*, its ability to spread horizontally through the population is weak. We conclude that *Wolbachia* doesn't

*资助项目 Supported projects: 国家现代农业产业技术体系 (CARS-23-D-06)

**第一作者 First author, E-mail: songyue409@126.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: txliu@nwsuaf.edu.cn

收稿日期 Received: 2019-04-08; 接受日期 Accepted: 2019-11-12

spread horizontally between *T. ricini* and *E. formosa* populations over a short time period.

Key words *Wolbachia*; *Trialeurodes ricini*; endosymbiont; infection rate

Wolbachia 是最丰富的细胞内细菌, 隶属于细菌门、变形菌纲的 α 亚纲、立克次氏体目、立克次氏体科、*Wolbachia* 属, 是一类能够引起节肢动物生殖行为改变的细胞质遗传的共生菌 (O'Neill *et al.*, 1992)。据报道约 52% 的节肢动物和线虫种类中都有 *Wolbachia* 分布 (Weinert *et al.*, 2015)。*Wolbachia* 参与调控寄主的多种生殖活动 (龚鹏等, 2002), 如诱导细胞质不亲和 (Cytoplasmic incompatibility, CI)、孤雌生殖 (Parthenogenesis inducing, PI)、遗传雄性的雌性化 (Feminization of genetic males)、雄性致死 (Male killing) 及增强雌性繁殖力和雄性生育力 (Fecundity and fertility-modifying) 等, 从而引起寄主的生殖行为异常, 对种群分化及物种形成都有一定作用。此外, 近年来随着对 *Wolbachia* 的深入研究, *Wolbachia* 对寄主昆虫新的影响陆续被报道, 如 *Wolbachia* 可能与寄主昆虫的免疫力和抵抗力有关 (Pierzynowska *et al.*, 2019), *Wolbachia* 影响寄主昆虫线粒体 DNA 多样性等 (Jiang *et al.*, 2018)。

wsp 基因是编码 *Wolbachia* 表面蛋白 (Surface protein) 的基因, 它的进化速度比其他已报道的基因 (如 16S, *ftsZ* 等) 更快 (Zhou *et al.*, 1998)。Zhou 等 (1998) 根据 *wsp* 基因建立的系统进化树, 在将 *Wolbachia* 分为 A、B、C、D 四个组的基础上, 又将主要感染昆虫、螨及甲壳类动物的 A、B 两组细分为 12 个亚组。近年来, 随着对 *Wolbachia* 研究的增多和深入, 不断有新的亚组被发现 (Glowska *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2016)。

蓖麻粉虱 *Trialeurodes ricini* Misra 是一种多食性昆虫, 主要分布在东洋区、撒哈拉以南非洲部分地区、中东地区、埃及加那利群岛及西班牙等地 (Malumphy *et al.*, 2007; Huang *et al.*, 2014)。蓖麻粉虱主要危害番荔枝科、漆树科、豆科、大戟科、锦葵科、旋花科和葫芦科的植物, 常见的植物寄主有蓖麻、棉花、南瓜、菜豆、马铃薯等

(Mound and Halsey, 1978; Shishehbor and Brennan, 1995)。虽然为多食性昆虫, 但是研究发现当蓖麻与蔬菜同时存在时, 蓖麻粉虱不会选择蔬菜取食产卵 (Huang *et al.*, 2014; 王秀爽, 2016), 不会对常见的温室蔬菜种类造成严重危害。因此, 在利用丽蚜小蜂 *Encarsia formosa* Gahan 对烟粉虱 *Bemisia tabaci*、温室白粉虱 *Trialeurodes vaporariorum* Westwood 等重要害虫进行生物防治时, 在载体植物系统中以蓖麻粉虱为替代寄主, 以蓖麻为载体植物是较好的选择。研究发现, 烟粉虱、温室白粉虱及丽蚜小蜂种群内均有内共生菌 *Wolbachia* 分布, 且对寄主昆虫的生殖力及性比等具有一定影响 (周淑香等, 2009; 瞿钰峰等, 2015)。蓖麻粉虱中是否有 *Wolbachia* 分布, 尚未见报道。本研究利用特异性 PCR 扩增技术, 对蓖麻粉虱种群内共生菌 *Wolbachia* 的分布情况及种类等进行了检测, 并对其系统发育关系进行分析。此外, 将感染有 B 大组 *Wolbachia* 的丽蚜小蜂与感染有 A 大组 *Wolbachia* 的蓖麻粉虱在同一养虫笼内共同饲养多代, 并逐代检测丽蚜小蜂和蓖麻粉虱的 *Wolbachia* 感染状况, 以初步探明 *Wolbachia* 在丽蚜小蜂和蓖麻粉虱种群间是否存在水平传播。本研究拟为蓖麻粉虱内共生菌 *Wolbachia* 的深入研究及生物防治提供理论依据及参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

蓖麻粉虱于 2011 年 7 月采自海南儋州的蓖麻植株上, 并连续饲养于蓖麻上。蓖麻 *Ricinus communis* L. 为山西太谷县绿宝种业生产的绿宝品种。蓖麻植株和蓖麻粉虱均饲养于养虫笼 (60 cm×60 cm×60 cm) 内, 置于温度为 (25±2) °C, 湿度 60%-70% RH, L:D=16:8 的室内饲养多代以后, 随机收取蓖麻粉虱成虫约 100 头用于 *Wolbachia* 的分子检测。

丽蚜小蜂采自陕西杨凌温室内,且在室内建立番茄-烟粉虱-丽蚜小蜂种群,于养虫室内饲养(饲养条件为 $(25\pm 2)^{\circ}\text{C}$, 60%-70% RH, L:D=16:8)。适时补充带有粉虱若虫的番茄植株,以保证丽蚜小蜂种群延续。同时建立蓖麻-蓖麻粉虱-丽蚜小蜂种群,于上述相同饲养条件下饲养。适时补充有粉虱若虫的蓖麻植株,保证丽蚜小蜂种群延续。逐代收取与丽蚜小蜂共同饲养的蓖麻粉虱成虫 50-60 头,丽蚜小蜂 50-60 头,分别于无水乙醇内冰箱 -20°C 保存,用于 *Wolbachia* 的分子检测,连续收取 20 代。

1.2 DNA 的提取

提取单头蓖麻粉虱的总 DNA 用于检测 *Wolbachia* 感染率,共检测 100 头蓖麻粉虱。蓖麻粉虱与丽蚜小蜂混合饲养检测 *Wolbachia* 水平传播的试验中,每代随机取约 30 头蓖麻粉虱及 30 头丽蚜小蜂分别提取总 DNA 用于 *Wolbachia* 检测。

参考宋月等(2014)的方法,稍作改进。具体步骤如下:单头或多头蓖麻粉虱(丽蚜小蜂)于 1.5 mL 离心管内,加 100 μL SDS 缓冲液(根据研磨昆虫数量的多少调整加入缓冲液的体积,以便于研磨充分),匀浆,再加 100 μL 缓冲液,65 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 30 min,加 3 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 醋酸钾溶液 100 μL ,置冰上 1 h,12 000 r/min 离心 12 min,吸取上清液移入新的 1.5 mL 离心管,加等体积异丙醇,混匀后室温放置 10 min,12 000 r/min 离心 15 min,沉淀用 70%乙醇洗两次,37 $^{\circ}\text{C}$ 干燥,加入 20-40 μL pH 8.0 的 TE 溶解 DNA。

1.3 *Wolbachia* 的 PCR 检测

通过内共生菌 *Wolbachia* 的 *wsp* 基因 A 大组和 B 大组特异性引物对蓖麻粉虱/丽蚜小蜂进行 PCR 检测。A 大组特异性引物为:136F 5'TGA AAT TTT ACC TCT TTT C; 691r 5'AAA AAT TAA ACG CTA CTC CA; B 大组特异性引物为:81f 5'TGG TCC AAT AAG TGA TGA AGA AAC; 522Br 5'ACC AGC TTT TGC TTG ATA (Zhou

et al., 1998)。PCR 扩增体系(25 μL)包括:2 $\times$ Premix rTaq (RR901A, TaKaRa) 12.5 μL , ddH₂O 9.5 μL , 上下游引物(20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ each)共 1 μL , 蓖麻粉虱总 DNA 溶解液 2 μL 。PCR 程序为 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min, 38 个循环(94 $^{\circ}\text{C}$, 30 s; 55 $^{\circ}\text{C}$, 45 s; 72 $^{\circ}\text{C}$, 90 s)后, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。用昆虫线粒体 28S rDNA 引物(28s F3633 5'TAC CGT GAG GGA AAG TTG AAA; 28s R4067 5'AGA CTC CTT GGT CCG TGT TT)进行 PCR 扩增,以检测试验中提取的昆虫 DNA 的质量,28S rDNA 扩增结果为阴性的样品不包括在本研究的统计范围内。含有 A、B 两组 *Wolbachia* 的烟粉虱(本实验室的饲养种群)的 DNA 作为 PCR 的阳性对照,阴性对照中只加双蒸水。

1.4 PCR 产物的回收与测序

PCR 产物经 1%琼脂糖凝胶电泳后,若条带大小与预期一致,紫外灯下切胶,用 AxyPre DNA 凝胶回收试剂盒(AP-GX-50, 康宁生命科学(吴江)有限公司)回收纯化目的 PCR 产物。将纯化的 PCR 产物连接到 pMD19-T (TaKaRa) 载体,然后转入 DH5 α 感受态细胞(TaKaRa)。转化子于含 60 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的氨苄抗性的 LB 培养基上 37 $^{\circ}\text{C}$ 倒置培养 16 h, 筛选阳性克隆,将阳性菌液交上海英俊公司测序。每个 *Wolbachia* 品系至少选择 3 个独立克隆进行测序以校正聚合酶错误。

1.5 序列分析及系统进化树的构建

通过 Clustal X2.1 和 MEGA 6.0 等软件分析所得到的序列。并将所得到的序列在美国国家生物技术信息中心(NCBI)网站上进行序列比对,以确定所得到的是否为 *Wolbachia* 序列。

通过 BLAST 方法从 GenBank 中下载 *Wolbachia* A、B 大组及外群 F 大组的 *Wolbachia* *wsp* 基因序列(表 1),结合本研究得到的序列,通过 MEGA 6.0 软件,采用距离法,在 Kimura-2 Parameter 模型下,建立 NJ 树,各分支的 bootstrap 置信度用 1 000 次自导复制来评价。

表 1 用于构建系统树的 *Wolbachia* 的 *wsp* 基因序列信息
Table 1 The information of *wsp* gene, for the phylogenic tree of *Wolbachia* strains based

组 Group	亚组 Subgroup	寄主 Host	登录号 GenBank accession number
A	AlbA	白纹伊蚊 <i>Aedes albopictus</i>	AF020058
	Mel	黑腹果蝇 <i>Drosophila melanogaster</i>	AF020063
	Mel	拟果蝇 <i>Drosophila simulans</i>	AF020067
	Ri	拟果蝇 <i>Drosophila simulans</i>	AF020070
	Uni	掠蝇金小蜂 <i>Muscidifurax uniraptor</i>	AF020071
	Aus	奥斯汀舌蝇 <i>Glossina austeni</i>	AF020077
	Cen	刺舌蝇 <i>Glossina centralis</i>	AF020078
	Mors	刺舌采采蝇 <i>Glossina morsitans</i>	AF020079
	Pap	静食白蛉 <i>Phlebotomus papatasi</i>	AF020082
	Kue	地中海粉虱 <i>Ephesttia kuehniella</i>	AF071911
	Dro	锤角细蜂 <i>Trichopria drosophilae</i>	AF071910
	Dro	卡麦蝇蛹蛹小蜂 <i>Spalangia cameroni</i>	DQ380874
B	Pip	白纹伊蚊 <i>Aedes albopictus</i>	AF020059
	Pip	尖音库蚊 <i>Culex pipiens</i>	AF020061
	Con	杂拟谷盗 <i>Tribolium confusum</i>	AF020083
	Dei	赤眼蜂 <i>Trichogramma deion</i>	AF020084
	Div	离跳小蜂 <i>Apoanagyrus diversicornis</i>	AF071916
	Kay	蛱蝶赤眼蜂 <i>Trichogramma kaykai</i>	AF071924
F	—	马来丝虫 <i>Brugia malayi</i>	AJ252061

2 结果与分析

2.1 蓖麻粉虱种群内 *Wolbachia* 的感染率

利用 *Wolbachia* 的 *wsp* A 特异性引物, 成功地从蓖麻粉虱总 DNA 中扩增到了一条 563 bp 的片段, 通过 *wsp* B 特异性引物扩增未能得到目的条带, 在所有检测的 100 头蓖麻粉虱个体内感染了 A 大组 *Wolbachia* 的有 40 头, 证实了在蓖麻粉虱种群内仅有 A 大组 *Wolbachia* 分布, 感染率约为 40%。

2.2 *Wolbachia* 的水平传播

蓖麻粉虱与丽蚜小蜂混合饲养, 连续检测了 20 代, 发现蓖麻粉虱种群内只能检测到 A 大组 *Wolbachia*, 而丽蚜小蜂种群中只检测到了 B 大组 *Wolbachia*。在短时间内, *Wolbachia* 并未在蓖麻粉虱与丽蚜小蜂种群内发生水平传播。

2.3 *wsp* 基因序列分析

将测得的序列在 NCBI 网站上进行 BLAST, 发现本实验测得的序列与 GenBank 中注册的

Wolbachia 的 *wsp* 基因序列的同源性达 95% 以上, 可以确定本实验得到的序列为 *Wolbachia* 的 *wsp* 基因序列。将得到的蓖麻粉虱 *Wolbachia* 的 *wsp* 基因序列在 GenBank 中进行了注册, 并命名为 wRicA (登录号为 KY952901)。丽蚜小蜂感染的 *Wolbachia* 与其他文献 (Baldo *et al.*, 2006) 报道的 *Wolbachia* 序列 100% 一致, 未在 GenBank 进行注册。

2.4 系统树的建立

将本研所得到的序列与引自 GenBank 的 19 条序列 (表 1) 一起输入 MEGA6.0, 采用距离法, 在 Kimura-2 Parameter 模型下, 建立 NJ 树 (图 1), 各分支的 bootstrap 置信度用 1 000 次自导复制来评价。从系统树的拓扑结构可以看出, 依据 *wsp* 基因将 *Wolbachia* 分成了 A, B 两个大组, wRicA 属于 A 大组中的 Dro 亚组。

3 讨论

3.1 *Wolbachia* 在蓖麻粉虱内的分布

本研究检测的蓖麻粉虱为室内饲养种群, 该

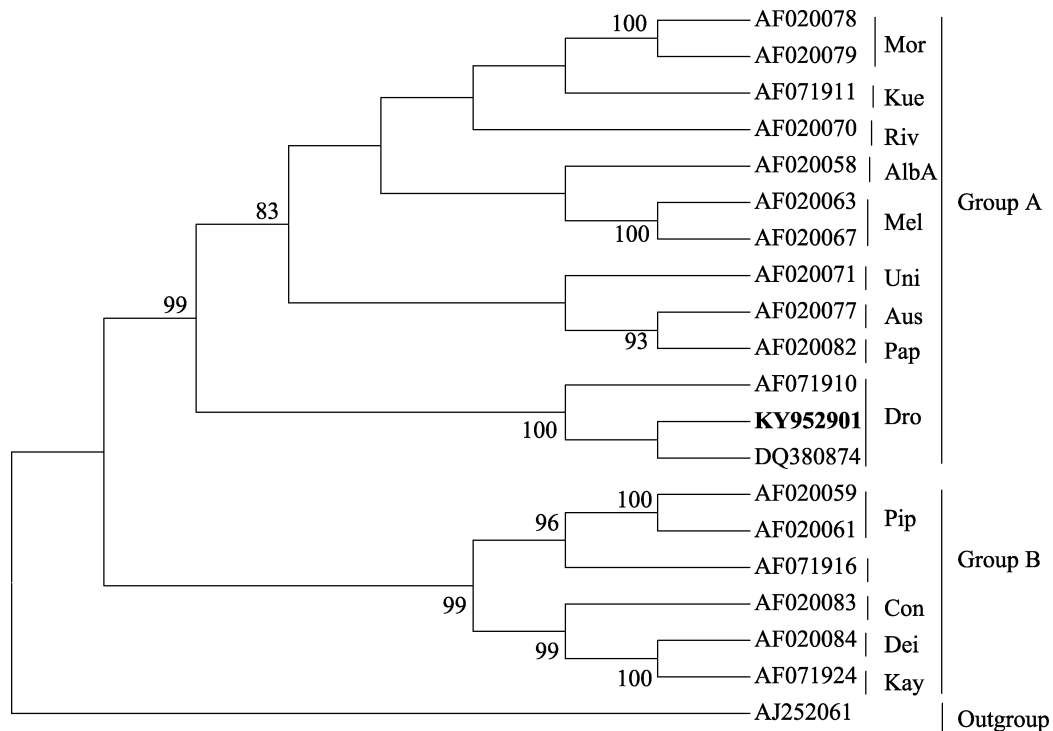


图 1 基于 *wsp* 基因序列的蓖麻粉虱体内共生菌 *Wolbachia* 的系统进化关系示意图

Fig. 1 Phylogenetic tree of *Wolbachia* strains in *Trialeurodes ricini* based on *wsp* gene

种群为两性生殖,随机收取的 100 头蓖麻粉虱成虫包含了雌虫和雄虫,检测发现不管是雌虫还是雄虫体内都有 *Wolbachia* 分布,但是由于试验条件等客观原因,未能分别检测雌雄虫体内 *Wolbachia* 的感染率,可能会存在差异,希望能在后续的深入研究中开展此项工作。本研究选用的蓖麻粉虱种群已在室内饲养 3 年以上,而该种群中 *Wolbachia* 的感染率仅为 40%,预试验中随机检测的不同代数的蓖麻粉虱 *Wolbachia* 感染率与此结果相似,差异不显著,由此推断 *Wolbachia* 在蓖麻粉虱个体间横向传播的能力可能较弱,虽然共同取食同一叶片,但是 *Wolbachia* 可能未成功通过寄主植物稳定传播至其他蓖麻粉虱个体。

3.2 *Wolbachia* 的水平传播

本研究结果证明 *Wolbachia* 未在蓖麻粉虱与丽蚜小蜂种群间发生水平传播,经过连续 20 代的检测,发现蓖麻粉虱种群内依然只有 A 大组 *Wolbachia*,而丽蚜小蜂种群内只有 B 大组 *Wolbachia*。Ahmed 等 (2015) 报道古桥桉角蚜小蜂 *Eretmocerus furuhashii* 在寄生感染

Wolbachia 的烟粉虱过程中通过口针和产卵针携带而获得 *Wolbachia*,从而将 *Wolbachia* 水平传播至其他未被 *Wolbachia* 感染的烟粉虱个体,但 *Wolbachia* 只是在丽蚜小蜂体内短暂停留,未能稳定遗传,在 DNA 提取前将丽蚜小蜂样品用无水乙醇浸泡即可将 *Wolbachia* 去掉。本研究在 DNA 提取时,样品研磨前均用无水乙醇浸泡过,然后用无菌水冲洗,由此避免了上述丽蚜小蜂口针和产卵针携带 *Wolbachia* 被检出的现象。由此可见,在较短时间内 *Wolbachia* 水平传播的几率不是很高,说明 *Wolbachia* 对寄主体内的微生态环境要求较高,对新环境的适应性较差,或可推测 A 大组和 B 大组 *Wolbachia* 的寄主体内微生态环境具有一定差异,寄主昆虫细胞内的具体组成结构、酸碱环境、寄主体内营养元素含量等对于其内共生菌来说构成了独特的微生态环境,共生菌能否在昆虫体内存活并稳定遗传,受到了上述多种因素的影响和制约。

从构建的系统进化树来看,蓖麻粉虱种群内的 *Wolbachia* 属于 A 大组 *Dro* 亚组,与一种果蝇寄生蜂 *Trichopria drosophilae* 种群内的 *Wolbachia*

同属一个亚组, 在 NCBI 网站进行序列比对时, 也发现蓖麻粉虱种群内的 *Wolbachia* 与其他寄生蜂种群中分布的 *Wolbachia* 相似性达 99%。在长期进化过程中, *Wolbachia* 在不同寄主类群间存在着水平传播或基因重组, 现在发现的各种昆虫种群中 *Wolbachia* 的多样性是菌株重组和共生菌水平传播的最新产物 (Ilinsky and Kosterin, 2017; Shaikovich *et al.*, 2019)。具体机制有待进一步深入研究。

本研究首次报道了蓖麻粉虱种群内 *Wolbachia* 的分布情况, 为蓖麻粉虱 *Wolbachia* 的深入研究奠定基础, 以期对粉虱类害虫的生物防治提供新的理论依据和思路。

参考文献 (References)

- Ahmed MZ, Li SJ, Xue X, Yin XJ, Ren SX, Jiggins FM, Greeff JM, Qiu BL, 2015. The Intracellular bacterium *Wolbachia* uses parasitoid wasps as phoretic vectors for efficient horizontal transmission. *Plos Pathog*, doi: 10.1371/journal.ppat.1004672.
- Baldo L, Dunning Hotopp JC, Jolley KA, Bordenstein SR, Biber SA, Choudhury RR, Hayashi C, Maiden MCJ, Tettelin H, Werren JH, 2006. Multilocus sequence typing system for the endosymbiont *Wolbachia pipiensis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(11): 7098–7110.
- Glowska E, Dragun-Damian A, Dabert M, Gerth M, 2015. New *Wolbachia* supergroups detected in quill mites (Acari: Syringophilidae). *Infection, Genetics and Evolution*, 30: 140–146.
- Gong P, Shen ZR, Li ZH, 2002. *Wolbachia* endosymbionts and their manipulation of reproduction of arthropod hosts. *Acta Entomologica Sinica*, 45(2): 241–252. [龚鹏, 沈佐锐, 李志红, 2002. *Wolbachia* 属共生细菌及其对节肢动物生殖活动的调控作用. 昆虫学报, 45(2): 241–252.]
- Huang H, Zhao H, Zhang YM, Zhang SZ, Liu TX, 2014. Influence of selected host plants on biology of castor whitefly *Trialeurodes ricini* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 17(4): 745–751.
- Ilinsky Y, Kosterin OE, 2017. Molecular diversity of *Wolbachia* in Lepidoptera: Prevalent allelic content and high recombination of MLST genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 109: 164–179.
- Jiang WB, Zhu JQ, Wu YJ, Li LZ, Li YY, Ge C, Wang Y, Endersby NM, Hoffmann AA, Yu WD, 2018. Influence of *Wolbachia* infection on mitochondrial DNA variation in the genus *Polytremis* (Lepidoptera: Hesperidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 129: 158–170.
- Malumphy C, Suarez MB, Glover R, Boonham N, Collins DW, 2007. Morphological and molecular evidence supporting the validity of *Trialeurodes lauri* and *T. ricini* (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodidae). *European Journal of Entomology*, 104(2): 295–301.
- Mound LA, Halsey SH, 1978. Whitefly of the World. A Systematic Catalogue of the Aleyrodidae (Homoptera) with Host Plant and Natural Enemy Data. Chichester: British Museum (Natur. Hist.) and John Wiley and Sons. 224.
- 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 (7): 2699–2702.
- Pierzynowska K, Volponi MS, Węgrzyn G, 2019. Multiple factors correlating with wing malformations in the population of *Parnassius apollo* (Lepidoptera: Papilionidae) restituted from a low number of individuals: A mini review. *Insect Science*, 26(3): 380–387.
- Qu YF, Li YT, Liu XD, Fang JC, Guo HF, 2015. Relationships between infection with facultative symbionts and sex ratio of *Bemisia tabaci* on different host plants. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 52(1): 89–95. [瞿钰峰, 李永腾, 刘向东, 方继朝, 郭慧芳, 2015. 不同寄主植物上烟粉虱次生共生菌感染与性比相关性. 应用昆虫学报, 52(1): 89–95.]
- Shaikovich E, Bogacheva A, Rakova V, Ganushkina L, Ilinsky Y, 2019. *Wolbachia* symbionts in mosquitoes: Intra- and intersuper group recombinations horizontal transmission and evolution. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 134: 24–34.
- Shishchik P, Brennan PA, 1995. Environmental effects on pre-marginal development and survival of the castor whitefly *Trialeurodes ricini* Misra. *Insect Science and its Application*, 16(3/4): 325–331.
- Song Y, Fan YL, Wu LJ, Zhang ZF, Liu YH, Liu TX, 2014. Comparison and optimization of genomic DNA extraction from endosymbionts of aphids. *Acta Phytophylacica Sinica*, 41(6): 643–648. [宋月, 樊永亮, 武丽娟, 张战凤, 刘艳红, 刘同先, 2014. 蚜虫内共生菌基因组 DNA 提取方法的比较和优化. 植物保护学报, 41(6): 643–648.]
- Wang GH, Jia LY, Xiao JH, Huang DW, 2016. Discovery of a new *Wolbachia* supergroup in cave spider species and the lateral transfer of phage WO among distant hosts. *Infection, Genetics and Evolution*, 41: 1–7.
- Wang XS, 2016. Fitness evaluation of *Trialeurodes ricini* (Misra) as the alternative host in a banker plant system. Doctoral dissertation. Shaanxi: Northwest A & F University. [王秀爽, 2016. 蓖麻粉虱作为载体植物系统中替代寄主的适合度评价. 博士学位论文. 杨凌: 西北农林科技大学.]
- Weinert LA, Araujo-Jnr EV, Ahmed MZ, Weoch JJ, 2015. The incidence of bacterial endosymbionts in terrestrial arthropods. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 282(1807): 20150249.
- Zhou SX, Li Y, Zhang F, 2009. Influence of *Wolbachia* on reproduction and the fitness of the parasitoid wasp *Encarsia formosa*. *Acta Phytophylacica Sinica*, 36(1): 7–10. [周淑香, 李玉, 张帆, 2009. *Wolbachia* 共生对丽蚜小蜂生殖和适应性的影响. 植物保护学报, 36(1): 7–10.]
- Zhou WQ, Rousset F, O'Neill S, 1998. Phylogeny and PCR-based classification of *Wolbachia* strains using *wsp* gene sequences. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 265 (1395): 9–515.