苹果蠹蛾体内 *wolbachia wsp* 基因克隆与序列分析*

冯宏祖[1, 3**] 王月萍[1] 曹 玉[1] 杨明禄[1] 刘慧敏[1] 许建军[2]

（1. 塔里木大学植物科学学院，阿拉尔市 843300；2. 新疆农业科学院植保所，乌鲁木齐市 830091；
3. 塔里木大学南疆有害生物综合治理重点实验室，阿拉尔市 843300）

摘 要 **【目的】** 对苹果蠹蛾 *Cydia pomonella* L.体内共生菌 *Wolbachia* 进行分子生物学鉴定，确定该虫体内 *Wolbachia* 的进化位置，为进一步探讨 *Wolbachia* 对其生殖作用的调控机制提供理论依据。**【方法】**应用 *Wolbachia* 的 *wsp* 基因特异引物，通过 PCR 扩增法检测了苹果蠹蛾 10 个地理种群（新疆伊犁、吐鲁番、和田、石河子、奎屯、哈密、库尔勒、阿拉尔、喀什、和甘肃张掖)感染 *Wolbachia* 的状况，并对阿拉尔种群体内的 *Wolbachia* 的 *wsp* 基因进行测序和序列分析。**【结果】** 苹果蠹蛾 10 个地理种群全部感染了 *Wolbachia*，利用 *wsp* 基因的特异性引物从阿拉尔种群体内扩增出了 617 bp 的 *Wolbachia* 的 *wsp* 基因片段（GenBank 登录号为 KC832324），系统发育分析结果表明，苹果蠹蛾体内感染的 *Wolbachia* 属于 A 群 Dor 亚群，与锤角细蜂亲缘关系较近。**【结论】** 苹果蠹蛾体内普遍感染了 *Wolbachia*，属于 A 群 Dor 亚群。

关键词 苹果蠹蛾，*Wolbachia*，*wsp*，序列分析，系统发育

Cloning and sequence analysis of the *Wolbachia wsp* gene to detect of *Wolbachia* in *Cydia pomonella*

FENG Hong-Zu[1, 3**] WANG Yue-Ping[1] CAO Yu[1] YANG Ming-Lu[1] LIU Hui-Ming[1] XU Jian-Jun[2]

(1. College of Plant Science, Tarim University, Alar 843300, China; 2. Institute of Plant Protection,Xinjiang Academy of Agricultural Sciences,Urumqi 830091,China; 3. Key Laboratory of Integrated Pest Management in NanJiang, Alar 843300, China)

Abstract **[Objectives]** The evolution position of *Wolbachia* in *Cydia pomonella* (Lepidoptera:Tortricidae) was identified by molecular biology in order to further provide theoretic basis for the regulatory mechanisms of reproductive role of *Wolbachia*. **[Methods]** *Wolbachia* infection in ten populations of *Cydia pomonella* were detected by using a specific primer for the *Wolbachia wsp* gene and PCR. These populations were from Yili, Tulufan, Hetian, Shihezi, Kuitun, Hami, Korla, Alar and Kashi in Xinjiang and Zhangye in Gansu. The *Wolbachia wsp* gene of from Alar populations of *C. pomonella* was amplified and sequenced. **[Results]** All populations were infected with *Wolbachia*. Using the specific primers, a 617 bp region of the *Wolbachia wsp* gene (GenBank accesstion number is KC832324) was amplified from Alar populations. Phylogenetic analysis showed that *Wolbachia* in *C. pomonella* belongs to the Dor subgroup of the A group, and had the closest genetic relationship to *Trichopria drosophilae*. **[Conclusion]** *Wolbachia* infection was more common in the *C. pomonella*, and belong to Dor subgroup in A group.

Key words *Cydia pomonella*, *Wolbachia*, *wsp*, sequence analysis, phylogeny

Wolbachia 是一类寄生在节肢动物体内，能够引起其寄主生殖行为改变的细胞质遗传的共

* 资助项目：国家自然科学基金（31060242）；公益性行业（农业）专项项目子课题（200903042-08-03）

**通讯作者，E-mail: fhzzky@163.com

收稿日期：2013-07-23，接受日期：2014-01-03

生菌，属于细菌门、变型菌纲的α亚纲、立克次氏体目、立克次氏体科、*Wolbachia* 属（宋月等，2009）。*Wolbachia* 主要感染昆虫、甲壳动物和丝虫等（Werren *et al.*，1995），感染率超过 65%，可通过宿主卵垂直传播，也可跨种属水平传播，包括操纵宿主的生殖行为，如雌性化、孤雌生殖、杀雄和精卵不相容通过诱导产雌孤雌生殖、引起细胞质不亲和、遗传雄性的雌性化、雄性致死和增强生殖力等作用方式引起其寄主生殖行为的改变（董鹏和王进军，2006），这在物种分化等研究上有着重要意义，而且可能在有害生物的防治上具有潜在的作用。如利用 *Wolbachia* 共生细菌干扰昆虫对病毒的传带而使某些植物病害得到控制，害虫生物防治中所用的寄生蜂被孤雌生殖 *Wolbachia* 共生后，可诱导孤雌生殖，使寄生蜂生殖率提高而使生防效能增强（付海滨等，2005）。*Wolbachia* 外膜蛋白（Wolbachia surface protein）基因 *wsp* 编码 *Wolbachia* 外膜蛋白，是进化速度较快的正向选择基因，适合用于研究 *Wolbachia* 与宿主间的相互作用（龚鹏和沈佐锐，2002）。目前，检测昆虫体内是否感染 *Wolbachia* 主要依赖于对其 *wsp* 基因进行 PCR 检测与序列分析，而且在 GenBank 中登录的 *wsp* 基因越来越多，为 *Wolbachia* 的研究提供了大量的资料。

苹果蠹蛾 *Cydia pomonella* L. 隶属鳞翅目 Lepidoptera 卷蛾科 Tortricidae。原产于欧洲，是世界上最严重的蛀果害虫之一，在我国也是一类重要的进境植物检疫性害虫。目前，苹果蠹蛾已在亚洲、非洲、美洲、大洋洲的部分地区有分布，与我国邻近的阿富汗、印度、巴基斯坦、独联体各国均有分布（曾大鹏，1998）。在我国发生在新疆全境，甘肃、内蒙古、宁夏、黑龙江部分地区，对我国东部苹果产区形成了东西夹击的趋势（张学祖, 1957；秦晓辉等，2006；秦占毅等，2007；许永锋，2008）。苹果蠹蛾主要危害苹果、梨、桃、核桃等仁果类、核果类果树，以幼虫蛀食果实，降低果品的产量和质量，在未经综合治理的果园，蛀果率可达 80%以上，落果率达 60%～100%，使水果大量减产甚至绝收，造成毁灭性危害（秦晓辉等，2006；张孝峰，2008）。苹果蠹蛾对果业生产危害巨大、防治难度高，可以说是世界上破坏力最惊人的害虫之一，也是我国重要的林业检疫性有害生物。围绕苹果蠹蛾疫情，我国加强了监测、检疫和除治等工作，取得了一定的成效，但其向东扩散蔓延的态势没有得到有效遏制，对我国林果业的发展构成严重威胁。

关于苹果蠹蛾体内共生菌 *Wolbachia* 方面的研究尚未见报道。因此，对苹果蠹蛾体内共生菌 *Wolbachia* 进行分子生物学鉴定，确定该虫体内 *Wolbachia* 的进化位置，这为进一步揭示 *Wolbachia* 对苹果蠹蛾的生殖调控作用具有重要的意义，也可为我国苹果蠹蛾的防治工作提供新的思路和方法。

1　材料与方法

1.1　供试虫源

苹果蠹蛾 *Cydia pomonella* L.，采集新疆伊犁、吐鲁番、和田、石河子、奎屯、哈密、库尔勒、阿拉尔、喀什和甘肃张掖 10 个地理种群老熟幼虫，浸泡于无水乙醇中并于－20℃保存备用。本研究中克隆测序所用的苹果蠹蛾采自塔里木大学苹果园（新疆阿拉尔地区）。

1.2　主要试剂

DNA 提取试剂盒、DNA 凝胶回收试剂盒、*Taq* DNA 聚合酶、TA 载体、DH5α感受态细胞等均购自北京全式金生物技术有限公司。PCR 扩增引物（81f：5′-TGGTCCAATAAGTGATGAAGAAAC-3′；91r：5′-AAAAATTAAACGCTACTCCA-3′）由上海生工生物工程有限公司引物合成。

1.3　苹果蠹蛾总 DNA 的提取

各地理种群随机选取老熟幼虫各 10 头（雌：雄=1：1），用 DNA 提取试剂盒提取苹果蠹蛾总 DNA。将试虫用蒸馏水冲洗 3 次，放在灭菌的载玻片上，用灭菌的手术刀切取 20~50 mg 的组织，按照 DNA 提取试剂盒说明书步骤提取总 DNA。用核酸浓度分析仪测定提取的苹果蠹蛾总 DNA 浓度、纯度。

1.4　苹果蠹蛾 *Wolbachia wsp* 基因片段 PCR 扩增

PCR 反应采用 25 μL 反应体系：DNA 模板 2 μL、10× buffer（Mg^{2+}）2.0 μL、10 μmol/L 引物各 1 μL、2 mmolL/L dNTPs 2.0 μL、*Taq* DNA 聚合酶（5 U/mL）0.5 μL。PCR 反应条件：95℃ 变性 3 min，94℃ 1 min，55℃ 1 min，72℃ 1 min 30 s，35 循环后 72℃延伸 10 min。PCR 产物经

琼脂糖电泳后置于紫外透射仪上观察照相。

用胶回收试剂盒纯化 PCR 产物后，在连接酶的作用下与载体连接，实现外源片段的克隆。将连接产物转化到感受态细胞中，涂布于含有 IPTG、Xgal、抗生素（Amp）的 LA 平板，37℃培养 12~16 h，经蓝白筛选，挑取白色菌落接种于含 Amp 的 LB 培养基中 37℃摇床培养过夜，用 81f、691r 特异性引物对菌液进行 PCR 检测，并将阳性菌液穿刺培养送上海生工生物有限公司进行顺反测序。

1.5　序列分析

将所测得的 DNA 序列在美国国家生物技术信息中心（NCBI）网站上进行 BLAST（http://blas.tncb.inlm.nih.gov/Blast cgi），以确定所得到的是否为 *Wolbachia* 序列，并将完整 *wsp* 序列提交到 GenBank 注册。参照 Zhou 等（l998）的方法，结合 GenBank 中已有的 *wsp* 序列对所测得的 *wsp* 序列进行系统分析，多序列比对采用 Clustal X1.83 软件，系统发育树的构建采用 MEGA4.0 软件中的邻接法（Neighbor-Joining NJ），系统树中分支的置信水平均用自引导检验（Bootstrap test）估计，重复 1 000 次对进化数进行检验。

2　结果与分析

2.1　总 DNA 提取

苹果蠹蛾全基因组提取后，经过 1%琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计测定，DNA 条带清晰，无拖尾降解现象，OD_{260}/OD_{280} 值界于 1.8～2.0，表明其纯度较高，可用于特定核酸序列的扩增试验。

2.2　苹果蠹蛾 *Wolbachia* 的感染情况

利用 *Wolbachia wsp* 基因的通用引物对苹果蠹蛾各地理种群老熟幼虫的腹部总 DNA 进行 PCR 扩增检测，结果发现实验的每个地理种群中都能扩增得到了 1 条 600 bp 左右的片段，证实了苹果蠹蛾体内普遍感染了 *Wolbachia*（表 1，图 1）。

表 1　苹果蠹蛾各种群 *Wolbachia* 的感染情况
Table 1　*Wolbachia* infection of ten populations of *Cydia pomonella*

地理种群 Geographical population	测试个体数 Number of detected	*Wolbachia* 感染数 Number of *Wolbachia* infection		感染率(%) Rate of infection
		♀	♂	
张掖种群 Zhangye population	10	1	0	10.0
库尔勒种群 Korla population	10	1	1	20.0
石河子种群 Shihezi population	10	1	0	10.0
阿拉尔种群 Alar population	10	5	5	100.0
吐鲁番种群 Turpan population	10	3	1	40.0
和田种群 Wada population	10	1	2	30.0
伊犁种群 Ili population	10	2	4	60.0
喀什种群 Kashi population	10	1	1	20.0
哈密种群 Hami population	10	2	2	40.0
奎屯种群 Kuitun population	10	3	2	50.0

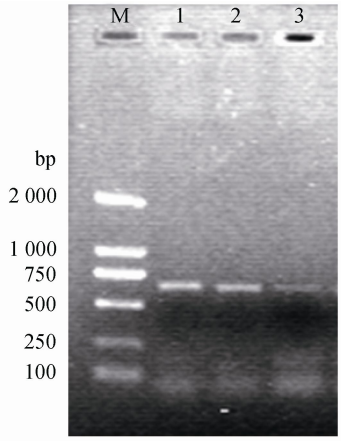

图 1 苹果蠹蛾体内 *Wolbachia* 的 *wsp* 基因 PCR 特异性扩增

Fig. 2 PCR amplification of the *wsp* gene from *Wolbachia* in *Cydia pomonella*

1～3. 阿拉尔种群；M: Marker.

1-3. Alar population; M: Marker.

2.3 苹果蠹蛾体内 *Wolbachia wsp* 基因的序列分析

根据测序结果得知，所扩增出的片段大小为 617 bp，各碱基的含量分别为：192A（31.1%），93C（15.1%），134G（21.7%），198T（32.1%）。获序列碱基组成有明显的 A+T 偏好性，A+T 含量分布在 63%上下，明显高于 G+C 含量 36%左右的值，这与其它大部分节肢动物尤其是和昆虫相似。将测得的序列在美国国家生物技术信息中心（NCBI）网站上进行 BLAST 比对，结果表明该片段与其他宿主体内的 *Wolbachia wsp* 基因的同源性很高，确定为 *wsp* 基因片段。该序列在 GenBank 中的登录号为 KC832324。

Wolbachia wsp 基因的核酸序列如下:

```
  1 TGGTCCAATA AGTGATGAAG AAATCAGCTA CTTCGTTTCG TTTGCATACA
 51 ATGGTGAATT TTTACCTCTT TTCACAAAAG TTGATGGTAT TACAAATGCA
101 AAAGGCAAAG AAAAGGATAG TCCCTTAAAA GCATCTTTTA TAGCTGGTGG
151 TGTTGCGTTT GGCTATAAAA TGGACGACAT TAGAGTTGAT GTTGAAGGGC
201 TTTACTCATG GTTGAATAAA GATGCAGATG TAGTAGATAA TACAGTTGCA
251 GATAATTTAA CAGCAATTTC AGGACTAGTT AACGTTTATT ACGATGTAGC
301 AATTGAAGAT ATGCCTATCA CTCCATACAT TGGTGTTGGT GTTGGTGCAG
351 CGTATATTAG CACTCCTTTC AAAACCCCTA TAAATGATCA AAAAAGTAAA
401 TTTGGTTTTG CTGGTCAAGT AAAAGCTGGT GTTAGCTATG ATGTAACTCC
451 AGAAATCAAG CTTTATGCTG GAGCTCGTTA TTTCGGTTCT TGTGGTGCTA
501 ATTTTGATGG GAAAAAAACA GATCCTAACA ATTCAGCCAA ACAGGTTACT
551 GATGCAGGCG CATACAAAGT TCTTTACAAC ACTGTTGGTG TAGAAGCTGG
601 AGTAGCGTTT AATTTTT
```

基于 *Wolbachia wsp* 基因核酸序列所转化的氨基酸序列为:

GPISDEEISYFVSFAYNGEFLPLFTKVDGI
TNAKGKEKDSPLKASFIAGGVAFGYKMDDIR
VDVEGLYSWLNKDADVVDNTVADNLTAISGL
VNVYYDVAIEDMPITPYIGVGVGAAYISTPFK
TPINDQKSKFGFAGQVKAGVSYDVTPEIKLYA
GARYFGSCGANFDGKKTDPNNSAKQVTDAG
AYKVLYNTVGVEAGVAFNF

2.4 苹果蠹蛾体内 *Wolbachia wsp* 基因序列同源性分析

将引自 GenBnak 的 29 条不同宿主体内的 *Wolbachia wsp* 基因片段条序列（表 2）与本实验所克隆的苹果蠹蛾内的 *Wolbachia wsp* 基因片段一起输入 MEGA4.0，采用距离法，在 Kimura-2Parameter 模型下，建立 NJ 系统发育树（图 2），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 A、B 两组，苹果蠹蛾和锤角细蜂体内的 *Wolbachia* 同属于 A

* 资助项目：国家自然科学基金（31060242）；公益性行业（农业）专项项目子课题（200903042-08-03）

**通讯作者，E-mail: fhzzky@163.com

收稿日期：2013-07-23，接受日期：2014-01-03

组 Dro 亚组。

3　讨论

Wolbachia 广泛分布于节肢动物体内，PCR 检测显示了 16% 新热带区昆虫受到 *Wolbachia*

表 2　用于构建系统树的 *Wolbachia* 的 *wsp* 基因序列信息

Table 2　The information of *wsp* gene for constructing the phylogenic tree of *Wolbachia* strains

组 Group	亚组 Subgroup	寄主 *Wolbachia* host species	*Wolbachia* 品系 Associated *Wolbachia* strain	对寄主的作用 Phenotype	GenBank 登录号 GenBank accession no.
A	Kue	欧洲麦粉蛾 *Ephestia kuehniella*	*w*Kue	CI	AF071911
	Mors	刺舌蝇 *Glossina morsitans*	*w*Mors	未知 Unknown	AF020097
	Riy	拟果蝇 *Drosophila simulans*	*w*Riy	CI	AF020070
	Mel	黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster*	*w*Mel	CI	AF020072
	AbA	白纹伊蚊 *Aedes albopictus*	*w*AbA	CI	AF020058
	Eva	广赤眼蜂 *Trichogramma evanescens*	*w*Eva	未知 Unknown	AY390279
	Uni	拉美掠蝇金小蜂 *Muscidifurax uniraptor*	*w*Uni	T	AF020071
	Aus	采采蝇 *Glossina austeni*	*w*Aus	未知 Unknown	AF020077
	Pap	静食白蛉 *Phlebotomus papatasi*	*w*Pap	未知 Unknown	AF020082
	Ha	*Drosophila sechellia*	*w*Ha	CI	AF020073
	Ha	拟果蝇 *Drosophila simulans*	*w*Ha	未知 Unknown	AF020068
	Dro	锤角细蜂 T*richopria drosophilae*	*w*Dro	CI	AF071910

B	Vul	球鼠妇 *Armadillidium vulgare*	*w*Vul	F	AF071917
	For	丽蚜小蜂 *Encarsia formosa*	*w*For	CI	AF071918

续表 2（Table 2 contiuned）

组 Group	亚组 Subgroup	寄主 *Wolbachia* host species	*Wolbachia* 品系 Associated *Wolbachia* strain	对寄主的作用 Phenotype	GenBank 登录号 GenBank accession no.
	CauB	粉斑螟 *Ephestia cautella*	*w*CauB	CI	AF020076
	Ori	*Tagosedes orizicolus*	*w*Ori	未知 Unknown	AF020085
	Rap	菜粉蝶 *Pieris rapae*	*w*Rap	未知 Unknown	AB094373
	Rap	菜粉蝶 *Pieris rapae*	*w*Rap	未知 Unknown	AB024372
	Rap	菜粉蝶 *Pieris rapae*	*w*Rap	未知 Unknown	AB024374
	Sib	*Trichogramma siberium*	*w*Sib	T	AF071923
	Kay	蚬蝶赤眼蜂 *Trichogramma kaykai*	*w*Kay	T	AF071924
	Div	*Trichogramma deion*	*w*Div	T	AF020084
	Con	亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis*	*w*Con	未知 Unknown	AB056664
	Con	拟谷盗 *Tribolium confusum*	ʷCon	CI	AF020083
	Div	*Apoanagyrus diversicornis*	*w*Div	T	AF071916
	Pip	白纹伊蚊 *Aedes albopictus*	*w*Pip	CI	AF020059
	Pip	甘蓝夜蛾 *Mamestra brassicae*	*w*Pip	未知 Unknown	AB094375

Pip	蓝灰蝶 *Everes argiades*	*w*Pip	未知 Unknown	AB094390
Pip	淡色库蚊 *Culex pipiens*	*w*Pip	CI	AF020061

CI: 细胞质不亲和作用 Cytoplasmic incompatibility; F: 雌性化 Feminization; T: 产雌孤雌生殖 Thelytoky.

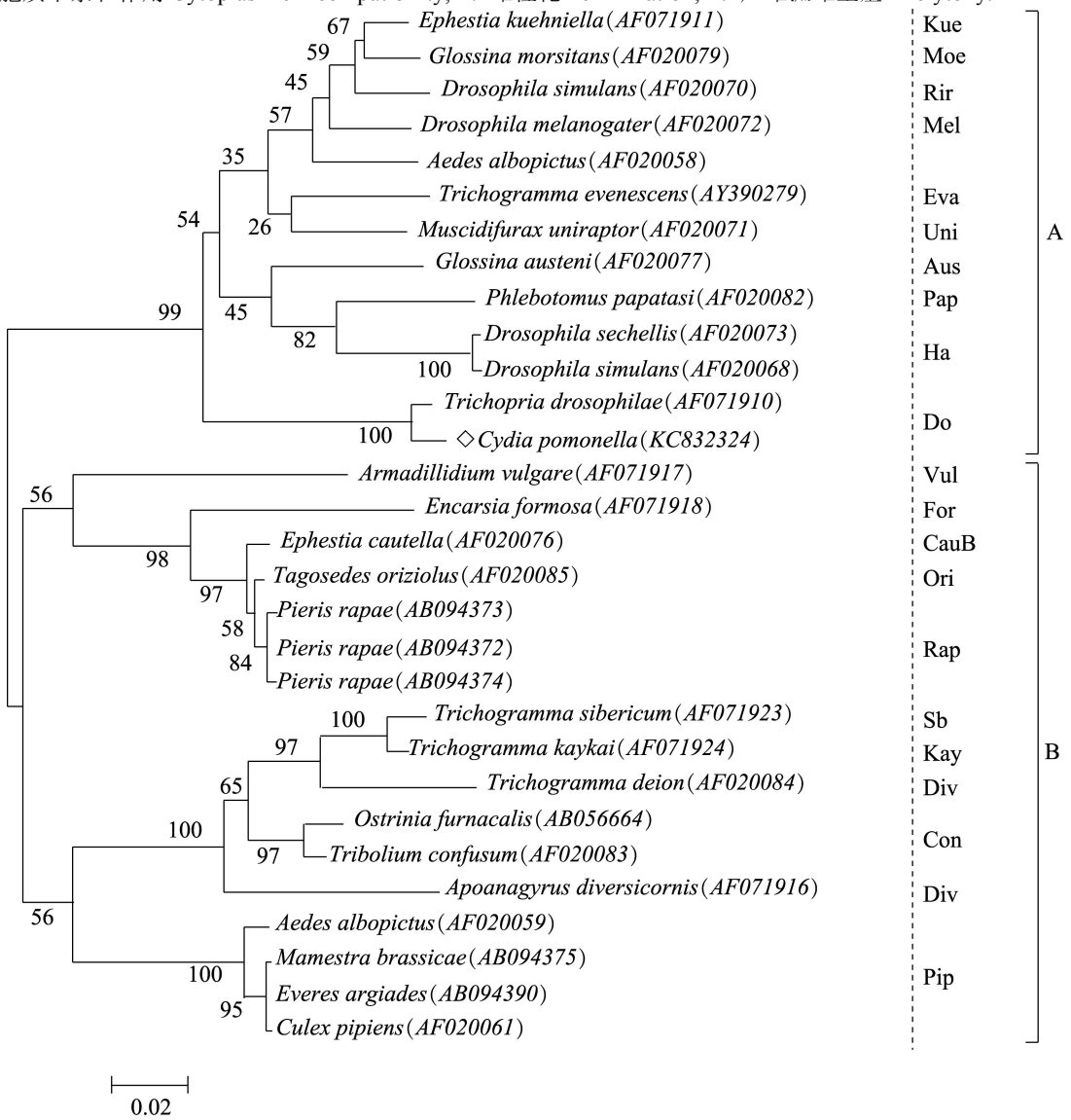

图 2　基于 *wsp* 基因序列的苹果蠹蛾体内共生菌 *Wolbachia* 的系统进化关系示意图

Fig. 2　Phylogenic tree of *Wolbachia* strains in *Cydia pomonella* based on *wsp* gene

的感染（Borm *et al.*，2003），并且同样的感染率也发生在古北区和新北区（Werren and Windsor，2000），已知受感染的节肢动物宿主种类正在急速增加。本文对来自我国 10 个地理种群的苹果蠹蛾进行随机抽样 PCR 检测，结果发现各地理种群均有 *Wolbachia* 的感染，其中阿拉尔种群感染率最高，达到 100%，张掖种群、石河子种群感染率最低，仅为 10%，说明 *Wolbachia* 在各感

染地理种群内的分布频率是不同的。由于采集的种群数和样本量有限，苹果蠹蛾不同地理种群中感染的 *Wolbachia* 是否具有地域性差异，还不能做出具体推论。

本文对来自新疆阿拉尔地理种群的苹果蠹蛾体内感染的 *Wolbachia* 的 *wsp* 基因进行系统发育分析，感染苹果蠹蛾的 *Wolbachia* 亚组与鳞翅目昆虫寄主中感染的 *Wolbachia* 亚组遗传距离均较远，与亲缘关系较远的膜翅目昆虫寄主中感染的 *Wolbachia* 亚组具有很高的核苷酸相似性，在聚类树上共享同一进化支系。这种昆虫寄主间亲缘关系与其体内共生菌 *Wolbachia* 所属的类群在系统发生上不一致的现象，推测可能是由于 *Wolbachia* 在寄主间的水平传播造成的（Ahrens and Shoemaker，2005），即通过寄主-拟寄生物的纽带，经过拟寄生物在寄主体内生长发育的过程，由此 *Wolbachia* 从拟寄生物向寄主进行横向传播（Cordaux *et al.*，2001）。苹果蠹蛾是否与其寄生性天敌之间发生过 *Wolbachia* 的水平传播，还需要今后研究其天敌中 *Wolbachia* 的感染情况来证实。

Wolbachia 是节肢动物体内最为丰富的共生微生物，不仅在自然界中分布广泛，而且种类品系繁多。由于它对宿主特殊的生殖调控作用，近年来对 *Wolbachia* 的研究已成为生命科学领域的热点之一。苹果蠹蛾体内的 *Wolbachia* 与膜翅目细蜂科的锤角细蜂 *Trichopria drosophilae*（李菁等，2010）感染的 *Wolbachia* 亲缘关系较近。已经证实锤角细蜂体内的共生菌 *Wolbachia* 属于具有诱导 CI 现象能力的 A 组中 Dor 亚组，因此我们推断苹果蠹蛾内的 *Wolbachia* 有可能同样具有类似的生殖调控作用，但这还需要进一步的研究验证。如果确实如此，则可通过分析 *Wolbachia* 与苹果蠹蛾的协同进化、相互关系，有可能开辟苹果蠹蛾防治的新途径。通过 *Wolbachia* 对宿主的特殊生殖调控如诱导细胞质不亲和等作用来控制苹果蠹蛾种群数量。

参考文献 (References)

Ahrens ME, Shoemaker D, 2005. Evolutionary history of *Wolbachia* infections in the fire ant *Solenopsis invicta*. *BMC Evol. Biol.*, 5(1): 35.

Borm SV, Wenseleers T, Billen J, Boomsma JJ, 2003. Clone and sequencing of wsp encoding gene fragments reveals a diversity of coinfecting *Wolbachia* strains in *Acromyrmex leafcutter* ants. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 26(1): 102–109.

Cordaux R, Michel-Salzat A, Bouchon D, 2001. *Wolbachia* infection in crustaceans: novel hosts and potential routes for horizontal transmission. *J. Evolution. Biol.*, 14(2): 237–243.

Werren JH, Windsor DM, 2000. *Wolbachia* infection frequencies in insects:Evidence of a global equilibrium. *Proc. R. Soc. Lond. B* , 267(1450): 1277–1285.

Werren JH, Zhang W, Guo LR, 1995. Evolution and phylogeny of *Wolbachia*: reproductive parasites of arthropods. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 261(1360): 55–63.

Zhou WG, Rousset FO, Neill S, 1998. Phylogeny and PCR-based classification of *Wolbachia* strains using *wsp* gene sequences. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 265(1395): 509–515.

董鹏, 王进军, 2006. *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.[DONG P,WANG JJ, 2006. Reproductive manipulation of *Wolbachiato* its hosts. *Chinese Bulletin of Entomology*, 43(3): 288–294.]

付海滨, 丛斌, 戴秋慧, 2005. 赤眼蜂内生菌沃尔巴克氏体及其对宿主影响. 中国生物防治, [FU HB,CONG B,DAI QH, 2005. *Wolbachia* endosymbionts in *Trichogramma* and their impacts on the hosts. *Chinese Journal of Biological Control*, 21(2): 70–73.]

龚鹏, 沈佐锐, 2002. PCR 为基础的分子技术检测沃尔巴克氏体的研究进展. 遗传, 24(2): 207–210. [GONG P, SHEN ZR, 2002. Molecular diagnostic techniques of *Wolbachia*. *Hereditas*, 24(2): 207–210.]

李菁, 张颖, 王振营, 何康来, 2010. 我国桃蛀螟四个地理种群感染 *Wolbachia* 的研究. 环境昆虫报, 32(3): 322–328.[LI Q, ZHANG Y, WANG ZY, HE KL, 2010. *Wolbachia* infection in four geographic populations of yellow peachmoth, *Conogethes punctiferalis* in china. *Joumal of Envirormental Entanology*, 32(3): 322–328.]

秦晓辉, 马德成, 张煜, 李广华, 王培, 2006. 苹果蠹蛾在我国西北发生危害情况. 植物检疫, 2(2): 95–96.[QIN XH, MA DC, ZHANG Y, LI GH, WANG P, 2006. The codling moth (*Cydia pomonella*) prevalence harm in the Northwest region. *Plant Quarantine*, 20(2): 95- 96.]

秦占毅, 刘生虎, 岳彩霞, 张家银, 2007. 苹果蠹蛾在甘肃敦煌的生物学特性及综合防治技术. 植物检疫, 21 (3): 170–171.[Qin ZY, Liu SH, Yue CX, ZHANG JY, 2007. Biological characteristics and integrated control technique of *Cydia pomonella* Dunhuang in Gansu province. *Plant Quarantine*, 21 (3): 170–171.]

宋月, 王哲, 刘宏岳, 沈佐锐, 2009. *Wolbachia* 在北京地区小菜蛾种群中的感染. 昆虫知识, 64(1): 46–50.[SONG Y, WANG Z, LIU HY, SHEN ZR, 2009. Infection of *Wolbachia* in *Plutella*

xylostellain Beijing area of China. *Chinese Bulletin of Entomology*, 21 (3): 170–171.]

许永锋, 2008. 苹果蠹蛾在张掖市发生与为害规律调查. 植物检疫, 22(4): 246－248.[Xu YF, 2008. The research on the occur and infestation of *Cydia pomonella* in Zhangye. *Plant Quarantine*, 22(4):246-248.]

曾大鹏, 1998. 中国进境森林植物检疫对象及危险性病虫. 北京: 中国林业出版社. 168－171.[ZENG DP, 1998. Chinese import forest plant quarantine objects and dangerous diseases and insect pests. BeiJing, *China Forestry Publishing House*, 168–171.]

张孝峰, 2008. 苹果蠹蛾在中国的风险性分析. 中国植保导刊, 28(4): 38 – 40.[ZHANG XF, 2008. Risk analysis of *Cydia pomonella* in China. *China Plant Protection*, 28(4): 38–40.]

张学祖, 1957. 苹果蠹蛾在我国的新发现. 昆虫学报, 7(4): 467－472.[ZHANG XZ, 1957. Taxonomic notes on the codling moth, *Cydia pomonella* L.in sinkiang. *Acta Entomologica Sinica*, 7(4): 467–472.]