南方部分地区烟粉虱及其寄生蜂内共生菌 *Cardinium* 的检测及其系统发育关系*

尹祥杰** 孙秀新 Muhammad Z Ahmed 任顺祥 邱宝利***

（华南农业大学昆虫学系，生物防治教育部工程研究中心，广州 510640）

摘 要 **【目的】** 研究我国南方四个省份 6 个烟粉虱 *Bemisia tabaci* 种群和 2 个蚜小蜂种群内共生菌 *Cardinium* 的感染率及其系统发育关系。**【方法】** 利用 PCR 技术与 DNA 测序技术检测来自广州、肇庆、南宁、昆明、厦门烟粉虱种群以及广州 2 个蚜小蜂种群内 *Cardinium* 的感染情况，通过基于 mtCO Ⅰ DNA 序列和 16S rRNA 序列建立烟粉虱和 *Cardinium* 系统进化树，分析烟粉虱、寄生蜂和共生菌 *Cardinium* 的协同进化关系。**【结果】** 广州的 AsiaII1 与 AsiaII7 烟粉虱种群、肇庆与南宁的 MEAM1 烟粉虱种群、昆明与厦门的 Mediterranean 烟粉虱种群以及广州的丽蚜小蜂 *Encarsia formosa*、双斑蚜小蜂 *Encarsia bimaculata* 种群体内都有 *Cardinium* 的感染，且以 Mediterranean 与土著的 AsiaII1、AsiaII7 感染率较高（65.2%~92.5%），寄生蜂体内的感染率较低（16.7%~18.6%）。通过进化树对比分析发现，*Cardinium* 与烟粉虱寄主之间无协同进化现象，但是 *Cardinium* 在烟粉虱不同地理种群之间，烟粉虱与寄生蜂之间的同源性超过 98%。**【结论】** *Cardinium* 在两种寄主昆虫之间进行相互感染与传播的概率较大，寄生蜂可能是 *Cardinium* 在不同烟粉虱种群之间水平传播的桥梁之一。

关键词 烟粉虱，蚜小蜂，*Cardinium*，内共生菌，协同进化，水平传播

The phylogeny of south China populations of *Bemisia tabaci* and *Encarsia* parasitoid wasps in relation to infection with the *Cardinium* endosymbiont

YIN Xiang-Jie** SUN Xiu-Xin Muhammad Z Ahmed REN Shun-Xiang QIU Bao-Li***

(Department of Entomology, South China Agricultural University; Engineering Research Center of Biological Control, Ministry of Education, Guangzhou 510640, China)

Abstract **[Objectives]** To investigate the relationship between the phylogeny of four *Bemisia tabaci* cryptic species (six populations), two species of *Encarsia* parasitoid (two populations), and infection with the *Cardinium* endosymbiont. **[Methods]** Whitefly and parasitoid samples were collected from Guangzhou, Zhaoqing, Nanning, Kunming and Xiamen, respectively. The *Cardinium* endosymbiont was first detected by PCR with special primers. Its cophylogeny with whitefly and parasitoid hosts was analyzed based on its 16S rRNA sequences and hosts' mt CO Ⅰ sequences. **[Results]** Whitefly *B. tabaci* AsiaII1 and AsiaII7 from Guangzhou, MEAM1 from Nanning and Zhaoqing, Mediterranean from Xiamen and Kunming, as well as *Encarsia formosa* and *E. bimaculata*, were all infected with *Cardinium*. Infection rates of the *B. tabaci* Mediterranean, AsiaII1 and AsiaII7 strains were much higher (65.2%-92.5%) than in the *B. tabaci* MEAM1 and two *Encarsia* parasitoids (16.7%-18.6%). No copholygenetic relationships were found between *Cardinium* and the different whitefly and parasitoid hosts. However, the sequence homology of *Cardinium* from *B. tabaci* populations from China and seven other countries and the two *Encarsia* parasitoids was > 98.0%. **[Conclusion]** There is a high probability for *Cardinium* to be

* 资助项目 Supported projects：教育部新世纪优秀人才支持计划项目（NCET-11-0917）；国家公益性行业科技专项（201303019）

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

***通讯作者 Corresponding author，E-mail：baileyqiu@scau.edu.cn

收稿日期 Received：2014-09-10，接受日期 Accepted：2014-11-24

horizontally transmitted between different whitefly populations and parasitoids may be an intermediate host for the horizontal transmission of *Cardinium*.

Key words　*Bemisia tabaci*, aphelinid parasitoid, *Cardinium*, endosymbiont, coevolution, horizontal transmission

烟粉虱 *Bemisia tabaci*（Gennadius）属半翅目 Hemiptera, 粉虱科 Aleyrodidae，是一种广泛分布在热带、亚热带地区的重大农业害虫，除了直接刺吸植物汁液、分泌蜜露诱发煤污病之外，烟粉虱最为主要的危害方式是其可以传播 110 多种植物病毒并引发多种病毒病（De Barro，1995；Oliveira *et al.*，2001；Jones，2003）。目前，烟粉虱为害的寄主植物已经超过 600 种（变种）（Oliveira *et al.*，2001；Perring，2001；Gelman *et al.*，2005；Xu *et al.*，2011），随着国际之间花卉苗木的贸易运输，烟粉虱的传播扩散与寄主范围还将不断扩大（Li *et al.*，2011）。

在我国，烟粉虱始记载于 1949 年（周尧，1949），但由于其发生危害较轻，在当时并未引起人们的足够重视。自 20 世纪 90 年代中期以来，由于 B 生物型与 Q 生物型的外来入侵，烟粉虱早已遍及除西藏以外的国内所有的省，直辖市和自治区，成为我国蔬菜、花卉和棉花等作物上的重要入侵害虫，严重威胁到我国蔬菜和园林花卉作物等的生产（邱宝利等，2003；Zhang *et al.*，2005；Chu *et al.*，2006）。由于地理分布、寄主植物、危害能力的差异，烟粉虱曾被认为是由多个生物型组成的复合种，然而近年来，越来越多的研究表明，烟粉虱是一个由至少 24 个不同地理隐种组成的种的复合体（De Barro *et al.*，2011）。

共生菌是自然界中与包括昆虫在内的节肢动物存在共生关系的一类细菌，目前大约有 40% 的昆虫体内含有共生菌（Zug and Hammerstein，2012）。依照与寄主体内的进化关系，昆虫体内的共生菌可以分为原生共生菌（Primary endosymbiont）和次生共生菌（Secondary endosymbiont）。原生共生菌可以为寄主提供多种必要的氨基酸、维生素等物质（Buchner，1965；Akman *et al.*，2002；Wu *et al.*，2006），而次生共生菌则主要是参与寄主的生殖调控，包括诱导寄主在繁殖后代过程中孤雌生殖（Parthenogenesis）、杀雄（Male killing）及雌性化（Feminizing）等（Koga *et al.*，2003；Oliver *et al.*，2003；Scarborough *et al.*，2005；Leonardo and Mondor，2006；Gottlieb *et al.*，2010）；更有研究发现，次生共生菌的存在可以提高寄主的抗逆性、增强寄主防御天敌昆虫寄生及病原微生物侵染的能力等（Douglas，1998；Oliver *et al.*，2005；Siozios *et al.*，2008）。

作为以寄主植物韧皮部汁液为食的半翅目昆虫，烟粉虱体内的共生菌种类非常丰富。除原生共生菌 *Portiera aleyrodidarum* 之外，目前已知在烟粉虱不同种群体内存在有 *Rickettsia*、*Wolbachia*、*Hamiltonella*、*Fritchea*、*Cardinium*、*Arsenophonus* 及 *Hemipteriphilus* 7 种内共生菌（Zchori-Fein and Brown，2002；Weeks *et al.*，2003；Thao *et al.*，2004；Everett *et al.*，2005；Gottlieb *et al.*，2006；Bing *et al.*，2012）。目前，对烟粉虱内共生菌的研究主要集中在 *Wolbachia*、*Rickettsia* 和 *Hamiltonella* 等种类上（Mahadav *et al.*，2008；Ghanim and Kontsedalov，2009；Gottlieb *et al.*，2010；Ahmed *et al.*，2013；Su *et al.*，2013a，2013b），而对于烟粉虱体内另一种重要共生菌 *Cardinium* 却鲜有研究。已有研究证明 *Cardinium* 可以改变寄生蜂 *Encarsia hispida* 的生殖方式及生殖力（Zchori-Fein *et al.*，2004），但目前对于 *Cardinium* 在我国不同烟粉虱及其寄生蜂地理种群的感染情况及其生理功能等尚未有报道。

本文以内共生菌 *Cardinium* 为研究目标，利用 PCR 技术检测我国部分地区不同烟粉虱隐种体内 *Cardinium* 感染的情况，并比较其与世界上不同地理种群烟粉虱寄主及其体内 *Cardinium* 的系统发育关系，以期更好地了解我国烟粉虱-寄生蜂种群内 *Cardinium* 共生菌的来源及传播途径。研究结果将为如何利用 *Cardinium* 等共生菌

的生物学特性（如诱导寄生蜂的孤雌生殖等）开展烟粉虱害虫的有效防控等提供新思路。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 烟粉虱及寄生蜂采集 2012 年 4 月—2013 年 6 月期间，在广东广州与肇庆、福建厦门、广西南宁、云南昆明等地的蔬菜及花卉苗木上广泛采集烟粉虱及其寄生蜂标本，保存于 95%乙醇中供试验使用，具体烟粉虱标本采集信息见表 2。

1.1.2 主要试剂 DNA 提取试剂：SDS、Tris、EDTA、蛋白酶 K 均购自广州科昊生物科技有限公司。PCR 检测试剂：DNA Tap 聚合酶、$MgCl_2^{2+}$、dNTPs、10×buffer、PCR 引物、琼脂糖、核酸染料均购自深圳华大基因科技服务有限公司。

1.2 方法

1.2.1 烟粉虱和寄生蜂 DNA 的提取 挑取单头烟粉虱或寄生蜂置于含有 2 μL STE 裂解液（1% SDS，10 mmol/L Tris-HCL，pH 8.0 5 mmol/L EDTA，蛋白酶 K 200 μg/mL）的微量离心管中，用灭菌的牙签将烟粉虱或寄生蜂捣碎研磨成匀浆，补足 STE 裂解液至 15 μL，56℃水浴 2～3 h，再放入 95℃水浴锅中放置 10 min，置于－20℃冰箱保存备用。

1.2.2 烟粉虱 mt CO Ⅰ 序列的 PCR 扩增及隐种鉴定 烟粉虱 mt CO Ⅰ序列 PCR 扩增采用引物 C1-J-2195 (5′-TTGATTTTTTTTTTTGGTCATCCAGAAGT-3′)和 L2-N-3014 (5′-TCCAAT GCACTAATCTGCCATATTA-3′)，扩增产物大小在 850 bp 左右（Simon *et al.*，1994），基因扩增体系为 25 μL：ddH_2O 18 μL、10 mmol/L 10×buffer 1.5 μL、dNTPs 1.5 μL、20 μmol/L 上下游引物各 1 μL、DNA Tap 聚合酶 0.5 μL、$MgCl_2^{2+}$ 0.5μL、模板 DNA 1 μL。

PCR 反应参数为 94℃预变性 4 min，然后 94℃变性 1 min，50℃退火 1 min，72℃延伸 1 min，扩增 36 个循环后再在 72℃延伸 5 min。扩增完后取 5 μL PCR 扩增产物在含有 0.5 μg/mL EB 的 1%琼脂糖上进行电泳检测，发现有目标条带后将 PCR 产物送至深圳华大基因科技服务有限公司进行双向测序，为确保结果的准确性，将采集的不同地理种群烟粉虱的 mt CO Ⅰ DNA 序列在 GenBank 中进行 Blast 比对，进一步确定各烟粉虱种群的隐种类型。

1.2.3 内共生菌 *Cardinium* 16S rRNA PCR 扩增 *Cardinium* 16S rRNA 基因扩增体系为 25 μL：ddH_2O 18 μL、10 mmol/L 10×buffer 1.5 μL、dNTPs 1.5 μL、20 μmol/L 上下游引物各 1 μL、DNA Tap 聚合酶 0.5 μL、$MgCl_2^{2+}$ 0.5 μL，模板 DNA 1 μL。利用引物 CFB-F (5′-GCGGTGTAAAATGAGCGTG-3′)和 CFB-R (5′-ACCTMTTCTTAACTCAAGCCT-3′) (Weeks *et al.*，2003)。PCR 反应程序为 94℃预变性 4 min，然后 94℃变性 40 s，57℃退火 50 s，72℃延伸 45 s，扩增 36 个循环后再在 72℃延伸 10 min。发现有目标条带后将 PCR 产物送至深圳华大基因科技服务有限公司进行双向测序。

1.3 数据及序列分析

利用 SAS（9.0 SAS Institute）软件的 PROC MEANS 程序计算各烟粉虱各种群 *Cardinium* 感染率的平均值与标准误；利用 PROC ANOVA 程序对各组数值进行 Tukey 法多重分析。分别从 GenBank 中下载有地域代表性的参考序列或者外群序列（表 1），用 Clustal X（1.83）多序列对位排序程序进行比对，利用 Mega5.0 软件及 Kimura 2-parameter 距离模型，构建烟粉虱及 *Cardinium* 共生菌的 Maximum Likelihood 系统进化树，系统树各分支置信度均进行 1 000 次重复检验。

2 结果与分析

2.1 部分省份不同烟粉虱及蚜小蜂种群 *Cardinium* 的感染率

内共生菌 *Cardinium* 在烟粉虱及其寄生蜂体内的感染率因寄主种类及地理分布的不同而有明显的差异（表 2）。以烟粉虱种类而言，*Cardinium*

表 1　共生菌 ***Cardinium*** **16S rRNA** 系统发育关系分析参考序列

Table 1　16S rRNA reference sequence of *Cardinium* symbiont used for phylogenetic relationship analysis

序号 Code	寄主种类 Host species	地理分布 Geographical locations	GenBank 序列号 GenBank accession no.
1	*B. tabaci* AsiaII3	杭州 Hangzhou	JF795497
2	*B. tabaci* MEAM1	徐州 Xuzhou	JQ994285
3	*B. tabaci* Ma5	喀麦隆 Cameroon	FJ766340
4	*B. tabaci* NP1	法国 France	FJ766338
5	*B. tabaci* Sirsa	印度 India	JN204482
6	*B. tabaci* Re2	留尼旺岛 Reunion	FJ766342
7	*B. tabaci* MED	西班牙 Spain	HG421080
8	*B. tabaci* SS Africa	西班牙 Spain	HG421084
9	*B. tabaci* Su1	苏丹 Sudan	FJ766337
10	*B. tabaci* Ur1	乌拉圭 Uruguay	FJ766341

表 2　烟粉虱及寄生蜂的种群信息及 ***Cardinium*** 感染率

Table 2　The infection rates of *Cardinium* in *Bemisia tabaci* and parasitoid

序号 Code	烟粉虱/寄生蜂 Insect species	采集地点 Locations	标本检测数量 Detected samples	*Cardinium* 感染率 (%) Infection rate (%)
1	*B. tabaci* AsiaII1	广州 Guangzhou	21	71.4±3.6
2	*B. tabaci* AsiaII7	广州 Guangzhou	40	82.5±5.3
3	*B. tabaci* MEAM1	南宁 Nanning	20	20.0±2.7
4	*B. tabaci* MEAM1	肇庆 Zhaoqing	40	27.5±2.0
5	*B. tabaci* MED	昆明 Kunming	23	65.2±4.6
6	*B. tabaci* MED	厦门 Xiamen	40	92.5±6.4
7	*E. bimaculata*	广州 Guangzhou	16	18.6±2.5
8	*E. formosa*	广州 Guangzhou	30	16.7±3.2

的感染率以在厦门的 MED 隐种（即 Q 生物型）种群中最高，其次是广州土著的 AsiaII7 隐种体内的感染率；4 种烟粉虱隐种的 6 个地理种群中，以入侵型 MEAM1（即 B 生物型）体内 *Cardinium* 的感染率最低（20%~27.5%）。检测结果也表明，在丽蚜小蜂 *E. formosa* 及双斑蚜小蜂 *E. bimaculata* 体内均有 *Cardinium* 共生菌的存在，但相对比烟粉虱而言，*Cardinium* 在两种蚜小蜂体内的感染率最低（16.7%~18.6%）。

2.2　烟粉虱与其 *Cardinium* 共生菌的协同进化关系

基于 mt CO Ⅰ DNA 序列的烟粉虱种群系统进化树与基于 16S rRNA 序列的 *Cardinium* 内共生菌系统进化树如图 1 所示。在烟粉虱的系统进化树中，来自广西南宁、江苏徐州和广东肇庆的 3 个 MEAM1 种群首先聚在一枝，并与来自福建厦门、云南昆明的 MED 种群的聚类枝形成姐妹枝；而对于 3 个土著烟粉虱种群，首先是两个来自广东广州 AsiaII1 与 AsiaII7 种群聚在一枝，然后再与自浙江杭州的 AsiaII3 聚在一起。8 个烟粉虱种群因隐种不同而形成的进化树层次与规律明显。

在 *Cardinium* 内共生菌系统进化树中，首先是来自杭州 AsiaII3 烟粉虱与徐州 MEAM1 烟粉

虱体内的 *Cardinium* 共生菌聚在一枝，然后依次与昆明 MED、南宁 MEAM1 和肇庆 MEAM1 烟粉虱体内的 *Cardinium* 聚为一枝；而来自厦门 MED、广州 AsiaII7 和广州 AsiaII1 烟粉虱体内的 *Cardinium* 聚在另外一个姐妹枝。8 个 *Cardinium* 种群的进化树与其烟粉虱寄主种类、地理分布没有任何关联与规律。两个系统进化树的比较说明，*Cardinium* 与其烟粉虱寄主不存在协同进化的关系，其在不同烟粉虱寄主之间水平传播的可能性较大。

2.3 国内外不同烟粉虱及蚜小蜂 *Cardinium* 共生菌的系统发育关系

进一步比较了国内 8 个不同烟粉虱及 2 种蚜小蜂种群体内 *Cardinium* 共生菌与世界其他国家或地区烟粉虱体内 *Cardinium* 共生菌的系统发育关系（图 2）。研究结果发现，基于 16S rRNA 序列，来自杭州 AsiaII3 与徐州 MEMA1 烟粉虱体内 *Cardinium* 最为接近，然后二者与来自西班牙、乌拉圭、苏丹、喀麦隆、法国的不同烟粉虱种群体内的 *Cardinium*，以及来自南宁的 MEAM1 与昆明 MED 烟粉虱体内、来自广州丽蚜小蜂 *E. formosa* 与双斑蚜小蜂 *E. bimaculata* 体内的 *Cardinium* 聚在一枝；广州 AsiaII1 烟粉虱体内的 *Cardinium* 独成一枝，而广州 AsiaII7、厦门 MED 烟粉虱体内的 *Cardinium* 则与留尼汪岛土著种群烟粉虱体内的 *Cardinium* 聚在一枝。

3 结论与讨论

共生菌 *Cardinium* 最早于 2001 年在紫红短须螨 *Brevipalpus phoenicis* 宿主中被发现，能引起紫红短须螨的雌性化（Weeks *et al.*，2001；Weeks and Breeuwer，2001），此后又相继在蚜小蜂（Zchori-Fein *et al.*，2004）、介壳虫（Provencher *et al.*，2005）、蜱虫（Morimoto *et al.*，2006）、粉虱与叶蝉（Marzorati *et al.*，2006）、螨类（Gotoh *et al.*，2007；Ros and Breeuwer，2009）、蜘蛛（Pekár and Šbotník，2007；Duron *et al.*，2008；Martin and Goodacre，2009；Perlman *et al.*，2010；Chang *et al.*，2010）等多种节肢动物中发现有 *Cardinium* 的感染，也是继 *Wolbachia* 之后，第 2 种被发现可以调控寄主昆虫生殖的内共生菌（Zchori-Fein *et al.*，2001）。

前人研究表明，不同节肢动物体内 *Cardinium* 的感染率存在较大差异（Weeks

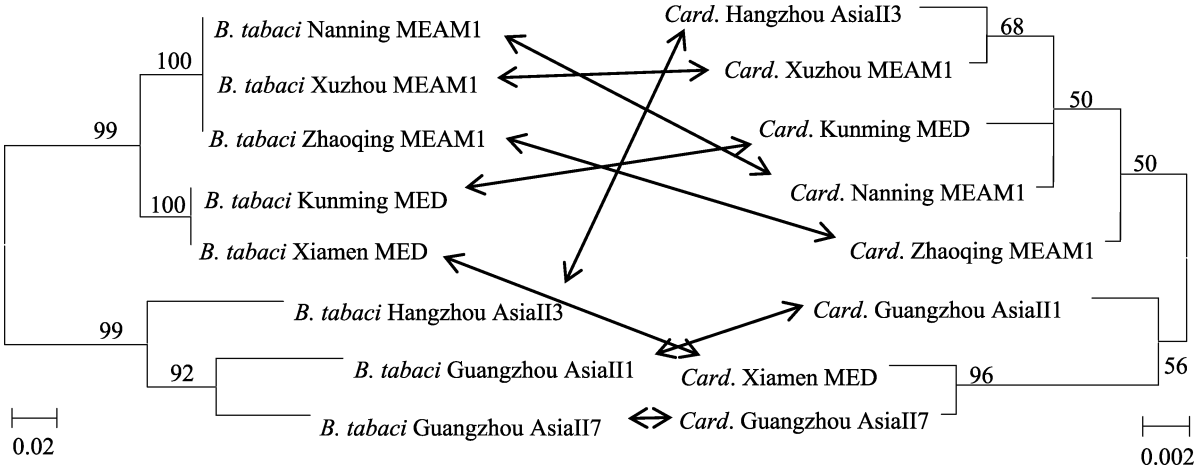

图 1 国内不同地区烟粉虱（左）及其 *Cardinium* 共生菌（右）系统发育关系比较

Fig. 1 Phylogeny comparison of different *Bemisia tabaci* populations (left) and their *Cardinium* (right)

参考序列烟粉虱 Hangzhou AsiaII3 种群（AJ867556）和 Xuzhou MEAM1 种群（AY686087）均引自 GenBank。图中 *Card.*为 *Cardinium* 的缩写。

The reference sequences of *B. tabaci* Hangzhou AsiaII3 (AJ867556) and Xuzhou MEAM1 (AY686087) are cited from GenBank. *Card.* is the abbreviation of *Cardinium*.

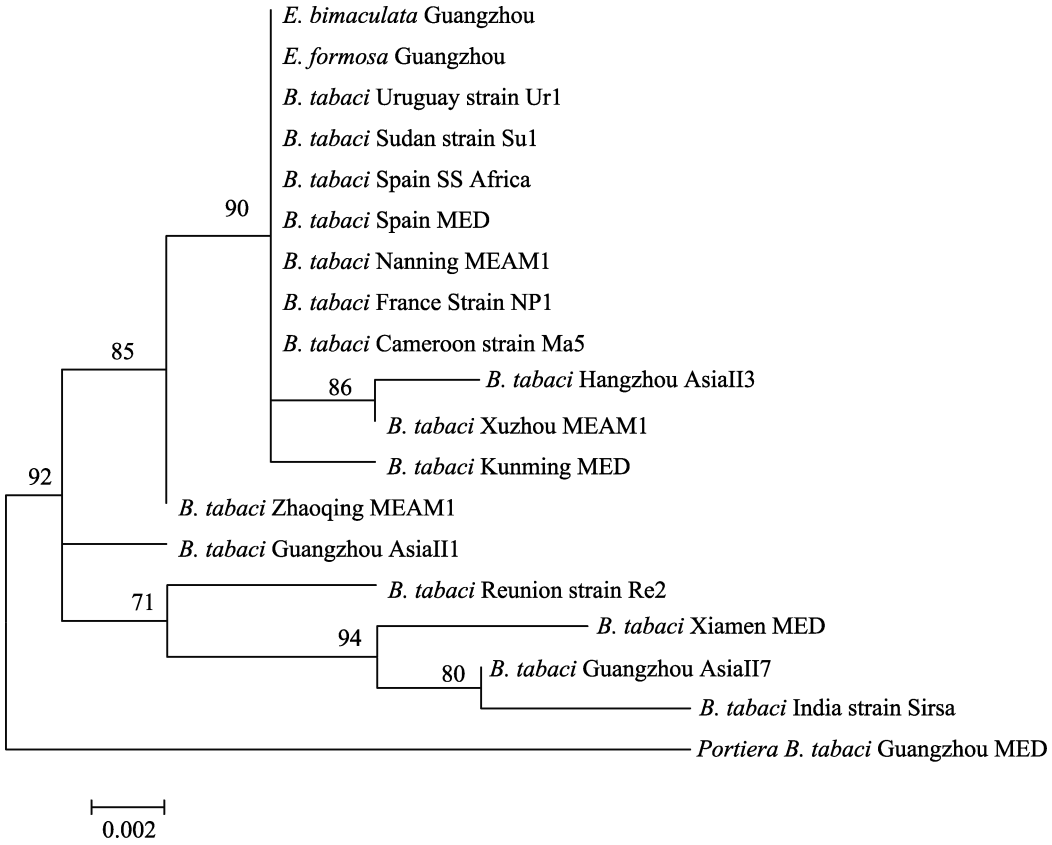

图 2　不同烟粉虱隐种及蚜小蜂体内 ***Cardinium*** 共生菌的系统发育关系比较

Fig. 2　Phylogeny analysis of *Cardinium* symbiont in different *Bemisia tabaci* and their *Encarsia* parasitoid

et al.，2003；Zchori-Fein and Perlman，2004；Liu *et al.*，2006，刘颖等，2010），而中国的研究发现，即使同一种寄主昆虫，*Cardinium* 的感染率也存在明显差异。以烟粉虱为例，Chu 等 (2011) 发现山东省内的 B 型与 Q 型烟粉虱（即 MEAM1 与 Mediterranean 隐种）体内，*Cardinium* 的感染率分别为 4.8%和 12.2%；潘慧鹏（2012）发现国内 Q 型烟粉虱体内 *Cardinium* 的感染率（44 个地理种群中 12 个为阳性）要远远高于 B 型的（17 个地理种群中 2 个为阳性），而在浙江 Bing 等 (2013) 研究发现，其采集的 B、Q 烟粉虱中未有 *Cardinium* 的感染。在本研究中，*Cardinium* 在 3 种烟粉虱隐种中的感染率总体趋势为 Mediterranean 与 AsiaII7 相近，两者显著高于 MEAM1 种群，说明不同烟粉虱隐种、同一隐种不同地理种群其体内的共生菌类型都可能存在较大的差异，研究结果与潘慧鹏（2012）的发现比较吻合。此外，本研究也首次报道了 2 种烟粉虱优势寄生蜂体内 *Cardinium* 的感染情况，其他寄生蜂种类有待进一步研究。

研究结果发现，国内的 10 个烟粉虱种群（包括引自 GenBank 的杭州 AsiaII3 与徐州 MEAM1 种群）与国外的 8 个代表性烟粉虱种群体内，*Cardinium* 共生菌的 16S rRNA 序列之间的同源性都在 98.0%以上，说明 *Cardinium* 16S rRNA 基因相对保守，尽管各个烟粉虱种群的地理分布差别很大，但该基因在不同烟粉虱种群之间变异却不大；其次，烟粉虱不同地理种群之间，烟粉虱与寄生蜂之间 *Cardinium* 16S rRNA 的同源性也超过 98%，意味着 *Cardinium* 在两种寄主昆虫之间进行相互感染与传播的概率较大，寄生蜂则可能是 *Cardinium* 在不同烟粉虱种群之间水平传播的桥梁之一。

总之，*Cardinium* 内共生菌是包括烟粉虱及

其寄生蜂在内的多种昆虫的重要内共生菌，本文对其在国内部分地区烟粉虱及蚜小蜂不同种群内的感染率情况进行了检测，对其在烟粉虱及蚜小蜂寄主种群内的系统进化及传播方式进行了推测与概括，下一步应深入研究其对其寄主昆虫的生物学、生态学特性的影响，包括寄主的发育存活与繁殖、寄主的抗逆性与抗药性等，为全面了解并利用该共生菌开展烟粉虱等农业重大害虫的可持续防控提供参考资料。

参考文献 (References)

Ahmed MZ, De Barro PJ, Ren SX, Greeff JM, Qiu BL, 2013. Evidence for horizontal transmission of secondary endosymbionts in the *Bemisia tabaci* cryptic species complex. *PLoS ONE*, 8(1): e53084.

Akman L, Yamashita A, Watanabe H, Oshima K, Shiba T, Hattori M, Aksoy S, 2002. Genome sequence of the endocellular obligate symbiont of tsetse flies, *Wigglesworthia glossinidia*. *Nat. Genet.*, 32(3): 402–407.

Bing XL, Yang J, Zchori-Fein, E, Wang XW, Liu SS, 2012. Characterization of a newly discovered symbiont in the whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Appl. Environ. Microbiol*., 79(2): 569–575.

Bing XL, Ruan YM, Rao Q, Wang XW, Liu SS, 2013. Diversity of secondary endosymbionts among different putative species of the whitefly *Bemisia tabaci*. *Insect Sci.*, 20(2): 194–206.

Buchner P, 1965. Endosymbiosis of Animals with Plant Microorganisms. New York: Interscience Publishers. 909.

Chang J, Masters A, Avery A, Werren JH, 2010. A divergent *Cardinium* found in daddy long-legs (Arachnida: Opiliones). *J. Invertebr. Pathol.*, 105(3): 220–227.

Chu D, Zhang YJ, Brown JK, Cong B, Xu BY, Wu QJ, Zhu GR, 2006. The introduction of the exotic Q biotype of *Bemisia tabaci* from the Mediterranean region into China on ornamental crops. *Florida. Entomol*., 89(2): 168–174.

Chu D, Gao CS, De Barro PJ, Zhang YJ, Wan FH, Khan IA, 2011. Further insights into the strange role of bacterial endosymbionts in whitefly, *Bemisia tabaci*: comparison of secondary symbionts from biotypes B and Q in China. *Bull. Entomol. Res*., 101(4): 477–486.

De Barro PJ, 1995. *Bemisia tabaci* biotype B: a review of its biology, distribution and control. Canberra: CSIRO Division of Entomology. 58

De Barro PJ, Liu SS, Boykin LM, Dinsdale AB, 2011. *Bemisia tabaci*: a statement of species status. *Annu. Rev. Entomol.*, 56: 1–19.

Douglas AE, 1998. Nutritional interactions in insect microbial symbioses: aphids and their symbiotic bacteria *Buchnera*. *Annu. Rev. Entomol.*, 43: 17–37.

Duron O, Hurst GDD, Hornett EA, Josling JA, Engelstädter JAN, 2008. High incidence of the maternally inherited bacterium *Cardinium* in spiders. *Microbiol. Ecol.*, 17(6): 1427–1437.

Everett KD, Thao M, Horn M, Dyszynski GE, Baumann P, 2005. Novel chlamydiae in whiteflies and scale insects: endosymbionts '*Candidatus* Fritschea bemisiae' strain Falk and '*Candidatus* Fritschea eriococci' strain Elm. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 55(4): 1581–1587.

Gelman DB, Blackburn MB, Hu JS, 2005. Identification of the molting hormone of the sweet potato (*Bemisia tabaci*) and greenhouse (*Trialeurodes vaporariorum*) whitefly. *J. Insect Physiol*., 51(1): 47–53.

Ghanim M, Kontsedalov S, 2009. Susceptibility to insecticides in the Q biotype of *Bemisia tabaci* is correlated with bacterial symbiont densities. *Pest Manag. Sci.*, 65(9): 939–942.

Gotoh T, Noda H, Ito S, 2007. *Cardinium* symbionts cause cytoplasmic incompatibility in spider mites. *Heredity*, 98(1): 13–20.

Gottlieb Y, Ghanim M, Chiel E, Gerling D, Portnoy V, Steinberg S, Tzuri G, Horowitz A, Belausov E, Mozes-Daube N, Kontsedalov S, Gerhon M, Gal S, Katzir N, Zchori-Fein E, 2006. Identification and localization of *Rickettsia* sp. in *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) *Appl. Environ. Microbiol*., 72(5): 3646–3652.

Gottlieb Y, Zchori-Fein E, Mozes-Daube N, Kontsedalov S, Skaljac M, Brumin M, Sobol I, Czosnek H, Vavre F, Fleury F, Ghanim M, 2010. The transmission efficiency of tomato yellow leaf curl virus by the whitefly *Bemisia tabaci* is correlated with the presence of a specific symbiotic bacterium species. *J. Virol.*, 84(18): 9310–9317.

Jones DR, 2003. Plant viruses transmitted by whiteflies. *Eur. J. Plant Pathol*., 109(3): 195–219.

Koga R, Tsuchida T, Fukatsu T, 2003. Changing partners in an obligate symbiosis: a facultative endosymbiont can compensate for loss of the essential endosymbiont *Buchnera* in an aphid. *Proc. Roy. Soc. Lond. B. Biol.*, 270(1533): 2543–2550.

Leonardo TE, Mondor EB, 2006. Symbiont modifies host life-history traits that affect gene flow. *Proc. Roy. Soc. Lond. B. Bio.*, 273(1590): 1079–1084.

Li M, Liu J, Liu SS, 2011. Tomato yellow leaf curl virus infection of tomato does not affect the performance of the Q and ZHJ2 biotypes of the viral vector *Bemisia tabaci*. *Insect Sci.*, 18(1): 40–49.

Liu Y, Miao H, Hong XY, 2006. Distribution of the endosymbiotic bacterium *Cardinium* in Chinese populations of the carmine spider mite *Tetranychus cinnabarinus* (Acari: Tetranychidae). *J. Appl. Entomol.*, 130(9/10): 523–529.

Liu Y, Xie RR, Hong XY, 2010. Manipulation of symbiont *Cardinium* on the reproduction of the carmine spider mite, *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) (Acari:Tetranychidae). *Acta Entomol. Sinica*, 53(11):1233-1240. [刘颖, 谢蓉蓉, 洪晓月, 2010. 共生菌 *Cardinium* 对朱砂叶螨的生殖调控作用. 昆虫学报, 53(11): 1233–1240.]

Mahadav A, Gerling D, Gottlieb Y, Czosnek H, Ghanim M, 2008. Parasitization by the wasp *Eretmocerus mundus* induces transcription of genes related to immune response and symbiotic bacteria proliferation in the whitefly *Bemisia tabaci*. *BMC Genomics*, 9(1): 342.

Martin OY, Goodacre SL, 2009. Wide spread infections by the bacterial endosymbiont *Cardinium* in Arachnids. *J. Arachnol.*, 37(1): 106–108.

Marzorati M, Alma A, Sacchi L, Pajoro M, Palermo S, Brusetti L, Daffonchio D, 2006. A novel bacteroidetes symbiont is localized in *Scaphoideus titanus*, the insect vector of flavescence dorée in *Vitis vinifera*. *Appl. Environ. Microb.*, 72(2): 1467–1475.

Morimoto S, Kurtti TJ, Noda H, 2006. In vitro cultivation and antibiotic susceptibility of a *cytophaga*-like intracellular symbiont isolated from the tick *Ixodes scapularis*. *Curr. Microbiol.*, 52(4): 324–329.

Oliveira MRV, Henneberry TJ, Anderson P, 2001. History, current status, and collaborative research projects for *Bemisia tabaci*. *Crop Prot.*, 20(9): 709–723.

Oliver KM, Moran NA, Hunter MS, 2005. Variation in resistance to parasitism in aphids is due to symbionts not host genotype. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 102(36): 12795–12800.

Oliver KM, Russell JA, Moran NA, Hunter MS, 2003. Facultative bacterial symbionts in aphids confer resistance to parasitic wasps. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100(4): 1803–1807.

Pan HP, 2012. Studies on the ecological mechanism of displacement of *Bemisia tabaci* B biotype by Q biotype. PH.D Thesis. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences. [潘慧鹏，2012. 烟粉虱 Q 型替代 B 型的生态学机制研究. 博士学位论文. 北京: 中国农业科学院.]

Pekár S, Šobotník J, 2007. Comparative study of the femoral organ in *Zodarion* spiders (Araneae: Zodariidae). *Arthropod Struct. Dev.*, 36(2): 105–112.

Perlman SJ, Magnus SA, Copley CR, 2010. Pervasive associations between *Cybaeus* spiders and the bacterial symbiont *Cardinium*. *J. Innvertebr. Pathol.*, 103(3): 150–155.

Perring TM, 2001. The *Bemisia tabaci* species complex. *Crop Prot.*, 20(9): 725–737.

Provencher LM, Morse GE, Weeks AR, Normark BB, 2005. Parthenogenesis in the *Aspidiotus nerii* complex (Hemiptera: Diaspididae): a single origin of a worldwide, polyphagous lineage associated with *Cardinium* bacteria. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 98(5): 629–635.

Qiu BL, Ren SX, Lin L, Musa PD, 2003. Effect of host plants on the development and reproduction of *Bemisia tabaci* (Homoptera Aleyrodidae). *Acta Ecologica Sinica*, 23(6):1206–1211. [邱宝利，任顺祥，林莉，Musa PD，2003. 不同寄主植物对烟粉虱发育和繁殖的影响. 生态学报, 23(6): 1206–1211.]

Ros VID, Breeuwer JAJ, 2009. The effects of, and interactions between, *Cardinium* and *Wolbachia* in the doubly infected spider mite *Bryobia sarothamni*. *Heredity*, 102(4): 413–422.

Simon C, Frati F, Beckenbach A, Crespi B, Liu H, Flook P, 1994. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 87(6): 651–701.

Scarborough CL, Ferrari J, Godfray HCJ, 2005. Aphid protected from pathogen by endosymbiont. *Science*, 310(5755): 1781.

Siozios S, Sapountzis P, Ioannidis P, Bourtzis K, 2008. *Wolbachia* symbiosis and insect immune response. *Insect Sci.*, 15(1): 89–100.

Su Q, Pan HP, Liu BM, Chu D, Xie W, Wu QJ, Wang SL, Xu BY, Zhang YJ, 2013a. Insect symbiont facilitates vector acquisition, retention, and transmission of plant virus. *Sci. Reports*, (3): 1367.

Su Q, Oliver KM, Pan HP, Jiao XG, Liu BM, Xie W, Wang SL, Wu QJ, Xu BY, White JA, Zhou XG, Zhang YJ, 2013b. Facultative symbiont *Hamiltonella* confers benefits to *Bemisia tabaci*, an invasive agricultural pest worldwide. *Environ. Entomol.*, 42(6):

1265–1271.

Thao ML, Baumann P, 2004. Evidence for multiple acquisition of *Arsenophonus* by whitefly species (Sternorrhyncha: Aleyrodidae). *Curr. Microbiol*., 48(2): 140–144.

Weeks AR, Breeuwer JAJ, 2001. *Wolbachia*-induced parthenogenesis in a genus of phytophagous mites. *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol.*, 268(1482): 2245–2251.

Weeks AR, Marec F, Breeuwer JAJ, 2001. A mite species that consists entirely of haploid females. *Science*, 292(5526): 2479–2482.

Weeks AR, Velten R, Stouthamer R, 2003. Incidence of a new sex-ratio-distorting endosymbiotic bacterium among arthropods. *Proc. Roy. Soc. Lond. B. Biol.*, 270(1526): 1857–1865.

Wu D, Daugherty SC, vanAken SE, Pai GH, Watkins KL, Khouri H, Tallon LJ, Zaborsky JM, Dunbar HE, Tran PL, Moran NA, Eisen JA, 2006. Metabolic complementarity and genomics of the dual bacterial symbiosis of sharpshooters. *PLoS Biol*., 4(6): e188.

Xu J, Lin KK, Liu SS, 2011. Performance on different host plants of an alien and an indigenous *Bemisia tabaci* from China. *J. Appl. Entomol*., 135(10): 771–779.

Zchori-Fein E, Gottlieb Y, Kelly SE, Brown JK, Wilson JM, Karr TL, Hunter MS, 2001. A newly discovered bacterium associated with parthenogenesis and a change in host selection behavior in parasitoid wasps. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 98(22): 12555–12560.

Zchori-Fein E, Brown JK, 2002. Diversity of prokaryotes associated with *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 95(6): 711–718.

Zchori-Fein E, Perlman SJ, 2004. Distribution of the bacterial symbiont *Cardinium* in arthropods. *Mol. Ecol*., 13(7): 2009–2016.

Zchori-Fein E, Perlman SJ, Kelly SE, Katzir N, Hunter MS, 2004. Characterization of a '*Bacteroidetes*' symbiont in *Encarsia* wasps (Hymenoptera: Aphelinidae): proposal of '*Candidatus* Cardinium hertigii'. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol*., 54(3): 961–968.

Zhang LP, Zhang YJ, Zhang WJ, Wu QJ, Xu BY, Chu D, 2005. Analysis of genetic diversity among different geographical populations and determination of biotypes of *Bemisia tabaci* in China. *J. Appl. Entomol.*, 129(3): 121–128.

Zhou Y, 1949. List of insects in China. *Chin. J. Entomol*., 3(4):1–18. [周尧, 1949. 中国粉虱名录. 中国昆虫学杂志, 3(4): 1–18.]

Zug R, Hammerstein P, 2012. Still a host of hosts for *Wolbachia*: analysis of recent data suggests that 40% of terrestrial arthropod species are infected. *PLoS ONE*, 7(6): e38544.