

Wolbachia 与昆虫寄主关系研究进展*

王 哲** 乔格侠***

(中国科学院动物研究所动物进化与系统学院重点实验室 北京 100101)

摘 要 *Wolbachia pipientis* 是一种广泛存在于节肢动物和线虫生殖组织中的细胞内共生菌,通过母系生殖细胞在寄主种群内垂直传播。据分析,*Wolbachia* 在昆虫中的感染率大约为 66%,是昆虫中分布最广泛的胞内共生菌。*Wolbachia* 能够以多种方式调控寄主的生殖行为,包括诱导细胞质不亲和、诱导孤雌生殖、雌性化、杀雄作用等。近 10 年来,*Wolbachia* 的研究在多个领域都取得了长足进展。本文介绍了 *Wolbachia* 的多样性与分布、对寄主生殖行为的影响、基因组结构,以及其与寄主在基因组水平上的相互作用等领域的最新研究成果,并展望了 *Wolbachia* 研究的发展趋势。

关键词 *Wolbachia*, 多样性, 分布, 基因组, 生殖调控

Current research trends on the endosymbiont *Wolbachia* in insects

WANG Zhe** QIAO Ge-Xia***

(Key Laboratory of Zoological Systematics and Evolution, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract *Wolbachia pipientis* is a common and maternally inherited endosymbiont that resides in the reproductive tissues of many arthropods and nematodes. Recent surveys have found *Wolbachia* in over 66% of insect species. As a microbial manipulator, *Wolbachia* can cause a number of reproductive alterations in its hosts, such as cytoplasmic incompatibility (CI), inducing parthenogenesis (PI), feminization and male-killing. Considerable progress in research on *Wolbachia* has been made in the past 10 years. In this paper, the biology of *Wolbachia* is reviewed, including its distribution, diversity, genome, mitochondrial DNA polymorphism, horizontal gene transfer to hosts and phenotypic effects on host. Directions for future research are also discussed.

Key words *Wolbachia*, distribution, diversity, genome, manipulation of reproduction

Wolbachia pipientis 属于细菌门 Bacteriophyta, α 变形菌纲 alpha-Proteobacteria, 立克次氏体目 Rickettsiales, 无形体科 Anaplasmataceae, *Wolbachia* 属, 是该属中唯一的一个物种 (Riegler and O'Neill, 2006)。*Wolbachia* 是一种通过母系细胞质遗传的细胞内共生菌, 寄主范围十分广泛, 包括节肢动物门的六足总纲(昆虫纲、弹尾纲)、蛛形纲、甲壳纲和线虫动物门的尾管器纲。*Wolbachia* 种下分化明显, 与寄主关系丰富多样, 涉及寄生、共栖和互利共生等。在过去 10 年中, *Wolbachia* 因

其与寄主的复杂关系, 以及在生物防治和疾病控制等方面的作用, 吸引了研究者极大的关注, 取得了令人瞩目的研究成果。

1 *Wolbachia* 的多样性及分布

Wolbachia pipientis 由一系列的单系类群组成, 这些单系类群被分别命名为不同的“超组”(supergroup), 目前已确立了 11 个超组 (supergroups A-K) (Werren *et al.*, 2008; Ros *et al.*, 2009), 除了 A、B、F 超组是广泛分布的类

* 资助项目: 国家自然科学基金青年基金项目 (31101654)、国家自然科学基金重点项目 (30830017)、国家杰出青年科学基金项目 (31025024)、公益性行业(农业)科研专项 (201103022)、国家基础科学人才培养基金 (NSFC-J0930004) 和中国科学院动物进化与系统学重点实验室开放课题 (O529YX5105)。

**E-mail: wzhe1226@126.com

***通讯作者, E-mail: qiaogx@ioz.ac.cn

收稿日期: 2011-10-05, 接受日期: 2011-10-24

群外,其他 8 个超组的分布都局限在很小的范围内。A、B 2 个超组是最早被确立的,在节肢动物中的分布范围很广,包括蛛形纲的蜱螨目 (Hoy and Jeyaprakash, 2005; 苗慧等, 2006) 和蜘蛛目 (Rowley *et al.*, 2004), 甲壳纲的速足介目 (Vandekerckhove *et al.*, 1999)、端足目 (Cordaux *et al.*, 2001) 和等足目 (Nyiro *et al.*, 2002), 以及昆虫纲的鞘翅目、鳞翅目、双翅目等 12 个目 (Werren *et al.*, 2008)。F 超组是 2002 年确立的 (Lo *et al.*, 2002), 此后的研究发现 F 超组的寄主范围比 A、B 2 个超组更大, 不仅在蛛形纲 (蝎形目) (Baldo *et al.*, 2007) 和昆虫纲 (蜚蠊目、鞘翅目、半翅目、等翅等 9 个目) (Rasgon and Scott, 2004; Lo *et al.*, 2007; Panaram and Marshall, 2007) 中有分布, 在线虫纲 (旋尾目) 中也有分布 (Keiser *et al.*, 2008), 是目前发现的唯一一个在节肢动物和线虫中均有分布的超组。C 和 D 超组只在丝虫、线虫中有发现 (Bandi *et al.*, 1998; Keiser *et al.*, 2008; Ferri *et al.*, 2011)。E 超组只在弹尾纲中有分布 (Vandekerckhove *et al.*, 1999; Czarnetzki and Tebbe, 2004)。G 超组在部分蜘蛛种类中发现 (Rowley *et al.*, 2004), 但是 G 超组的确定一直存在争议, 主要原因在于用来确立 G 超组的 *wsp* 基因被发现具有很广泛的重组现象。分析表明, G 超组很可能是 A、B 2 个超组的重组体, 而不是一个独立的超组 (Baldo and Werren, 2007)。H 超组目前仅在等翅目的内华达古白蚁 *Zootermopsis nevadensis* 和细腰湿木白蚁 *Zootermopsis angusticollis* 2 种昆虫中有分布 (Bordenstein and Rosengaus, 2005)。I 超组在蚤目昆虫中有着广泛分布 (Gorham *et al.*, 2003; Dittmar and Whiting, 2004), J 超组目前仅在细薄双瓣线虫 *Dipetalonema gracile* 中发现 (Casiraghi *et al.*, 2004), 这 2 个超组虽然发现比较早, 但其地位直到最近才被确定 (Ros *et al.*, 2009)。K 超组是最新发现的一个类群, 其寄主是蜱螨目苔螨属的物种 (Ros *et al.*, 2009)。

通过对现有数据的统计分析, 研究者预测 *Wolbachia* 在所有种类昆虫中的感染率大约为 66%, 是昆虫中分布范围最广的共生菌 (Hilgenboecker *et al.*, 2008)。随着相关研究的不断深入, *Wolbachia* 的寄主范围也将不断扩大。

2 *Wolbachia* 对寄主的影响

作为一种胞内共生菌, *Wolbachia* 能够具有如此广泛的寄主, 很大程度上是由于它能够通过调控寄主的生殖行为, 或改变寄主种群的性别比例, 使寄主种群更倾向于产出感染的雌性个体, 或者通过诱导细胞质不亲和等方式阻止非感染的雌性个体产生, 以达到在寄主种群中迅速扩散的目的。*Wolbachia* 对寄主的影响主要有以下几个方面。

2.1 诱导细胞质不亲和

诱导细胞质不亲和 (cytoplasmic incompatibility, CI) 是 *Wolbachia* 对寄主生殖行为最为常见的一种影响, 是指被 *Wolbachia* 感染的雄性个体与未感染的雌性个体, 或者感染不同类型 *Wolbachia* 的雌性个体交配后不能或很少产生后代的现象。CI 作用使感染的雌性个体在种群中具有很大的繁殖优势, 凭借这种繁殖优势, *Wolbachia* 能够迅速在寄主种群中扩张 (Engelstadter and Telschow, 2009)。CI 作用在鞘翅目、膜翅目、同翅目、双翅目、鳞翅目、直翅目等昆虫 (Giordano *et al.*, 1997; Werren and O'Neill, 1997; 宋社吾等, 2002; Bordenstein *et al.*, 2003) 中均有发现。此外, 在一些螨类 (Gotoh *et al.*, 2007)、蜘蛛 (Breeuwer, 1997) 和等足目动物 (Rousset *et al.*, 1992) 中也有发现。

细胞学研究证明, 受精作用完成后, 来自父本和母本的生殖细胞原核在胚胎第一次有丝分裂过程中发育的不同步直接导致受精卵发育失败。有丝分裂前期, 来自父本感染 *Wolbachia* 的生殖细胞原核的核膜解体开始时间落后于来自母本的生殖细胞原核; 中期, 父本染色质不能正确地浓缩, 并排列在赤道板上; 后期, 父本染色单体不能分开, 导致胚胎发育终止。并发现驱动细胞进入有丝分裂的细胞周期蛋白依赖激酶 1 (Cdk1) 的激活被延迟, 很可能是导致父本生殖细胞周期落后的原因, 并据此推测, *Wolbachia* 可能与 Cdk1 的激活有关 (Reed and Werren, 1995; Callaini *et al.*, 1997; Tram and Sullivan, 2002; Tram *et al.*, 2006)。最近的研究发现, 细胞周期开始后, 与染色质浓缩有关的组蛋白 H3.3/H4 复合体的沉积也被推迟, 这很可能是造成染色体无法浓缩的原因, 因为组蛋白 H3.3/H4 复合体的沉积作用发生在 Cdk1 作用

之前(Landmann *et al.*, 2009)。

尽管相关研究很多,但是 CI 作用的分子机制至今仍不是很清楚(Serbus *et al.*, 2008)。有研究表明 *Wolbachia* 的感染会导致果蝇 *Hira* 基因的转录表达水平显著降低。*Hira* 基因是组蛋白基因表达的一种负调控因子,在果蝇中,*Hira* 基因的突变会导致进入卵细胞的精子细胞核不能完全去浓缩,进而导致受精卵发育失败。*Wolbachia* 很可能正是通过调节 *Hira* 基因的表达对果蝇的精子的细胞核产生影响,进而导致其与携带不同类型 *Wolbachia* 的卵子发生 CI 现象。而且,在 *Hira* 基因突变的胚胎发育的早期可以观察到“染色质桥”,这种“染色质桥”在 CI 现象受精卵第一次有丝分裂过程中也有出现,进一步说明,*Hira* 基因与 *Wolbachia* 导致的 CI 现象有关(陈丽娟等,2008; Zheng *et al.*, 2011)。但 *Hira* 基因表达水平降低与 *Wolbachia* 对果蝇精子的影响之间存在怎样的联系还有待进一步的研究。

对于 CI 作用的解释,目前被普遍接受的观点是 Werren 和 O' Neill (1997) 提出的“修饰(modification)—矫正(rescue)”模型。该模型认为存在于精巢内的 *Wolbachia* 对发育中的精子具有修饰作用,只有卵细胞中存在相同或相似类型的 *Wolbachia* 才能矫正这种修饰。研究分析认为“修饰”和“矫正”能力受多个遗传位点控制,并且可能独立进化(Charlat *et al.*, 2005)。最近的研究也证明了 *Wolbachia* 不同菌株“修饰”与“矫正”作用之间的关系十分复杂,受多种因子的影响,而且 *Wolbachia* 对父本遗传物质的影响能够持续很长时间,甚至将 *Wolbachia* 从成熟的精子中移除后,这种影响还能够持续(Duron and Weill, 2006; Zabalou *et al.*, 2008; Atyame *et al.*, 2011)。

2.2 诱导孤雌生殖

Wolbachia 能够诱导寄主进行孤雌生殖(parthenogenesis inducing, PI),但这种作用没有 CI 作用普遍,仅发现在一些寄生蜂(Zchori-Fein *et al.*, 1995, Stouthamer and Mak, 2002; Pannebakker *et al.*, 2004)、蓟马(Arakaki *et al.*, 2001)和一些螨类(Weeks and Breeuwer, 2001)中存在。

多种寄生蜂具有特殊的性别决定系统,即未受精的单倍体卵细胞发育成雄性(产雄孤雌生

殖),受精卵(双倍体)发育成雌性。而对于感染 PI-*Wolbachia* 的雌性寄生蜂来说,雌性后代的产出不再依赖于交配和卵细胞的受精。

与 CI 作用相似,*Wolbachia* 诱导孤雌生殖的调控作用也发生在胚胎发育的早期,在未受精的卵细胞进行第一次有丝分裂时,*Wolbachia* 通过某种调控机制干扰了正在进行的细胞周期,使得本来应该产生 2 个单倍体子代细胞的过程最终只产生了 1 个二倍体的子代细胞(Werren *et al.*, 2008),这种二倍体的子代细胞可以直接发育成雌性。但在不同的寄主昆虫中,调控机制有所不同。赤眼蜂 *Trichogramma* sp. 和瘿蜂 *Leptopilina clavipes* 在胚胎第 1 次分裂的过程中,细胞分裂后期过程异常中止,只产生了 1 个二倍体的细胞核,而不是正常的 2 个单倍体的细胞核(Pannebakker *et al.*, 2004),而金小蜂科寄生蜂 *Muscidifurax uniraptor* 则是胚胎的第 1 次有丝分裂正常完成,但之后 2 个单倍体细胞核发生了融合,形成 1 个二倍体的细胞核(Gottlieb *et al.*, 2002)。

在 PI-*Wolbachia* 感染稳定的寄生蜂种群中,经常伴随着雌性性功能部分丢失的现象。即使经过交配,卵细胞也不能与功能正常的雄性产生的精子进行受精形成受精卵(Jeong and Stouthamer, 2005; Kremer *et al.*, 2009; Russell and Stouthamer, 2011)。*Wolbachia* 诱导赤眼蜂产雌孤雌生殖在生物防治领域具有潜在优势:产雌孤雌生殖的赤眼蜂后代都是雌蜂,具有更高的种群增殖率和产卵能力,可以大大减少赤眼蜂放蜂数量,由于不需要与雄性个体交配就能产生雌性后代,因此更容易在低密度下进入新生境并建立种群,这对赤眼蜂在田间种群的建立和扩散具有重要的生态学意义(潘雪红等,2007a)。

2.3 雌性化

雌性化(feminization)作用指 *Wolbachia* 通过某种调控机制使基因型为雄性的个体表现出一些雌性的特征。雌性化作用最早在等足目动物中发现,而后在部分昆虫中也有发现,例如:亚洲玉米螟 *Ostrinia fumacalis*(Kageyama *et al.*, 1998)、豆秆野螟 *Ostrinia scapularis*(Kageyama *et al.*, 2000)、宽边黄粉蝶 *Eurema hecabe*(Hiroki *et al.*, 2002)和叶蝉 *Zyginidia pullula*(Negri *et al.*, 2006)。但是,在不同的寄主中,雌性化作用的机制有所不同。在

等足目动物中, *Wolbachia* 在雄性的促雄腺内的增殖导致促雄腺肥大, 功能受到抑制, 导致遗传上为雄性的个体发育成雌性 (Vandekerckhove *et al.*, 2003)。对于昆虫来说, *Wolbachia* 雌性化作用的机制还不清楚。

Negri 等 (2006) 研究发现, 感染 *Wolbachia* 的雌性叶蝉 *Z. pullula*, 有一部分实质上是被雌性化的雄性。在这些被雌性化的个体中, 为卵母细胞发育提供大分子物质和细胞器的卵巢管细胞和看护细胞发生了形态学改变, 这表明 *Wolbachia* 的感染会导致叶蝉卵巢功能的改变和卵母细胞质量的下降, 但这与 *Wolbachia* 雌性化作用之间的联系还有待进一步研究 (Negri *et al.*, 2008)。

2.4 杀雄作用

某些寄生在节肢动物中的微生物能够引起其寄主雄性胚胎或幼虫的死亡, 这种作用被称为杀雄作用 (male killing), 杀雄作用会导致寄主种群的雌雄性比偏高。*Wolbachia* 引起的杀雄作用被发现在鞘翅目 (Hurst *et al.*, 1999; Fialho and Stevens, 2000)、双翅目 (Dyer and Jaenike, 2004)、鳞翅目 (Hurst *et al.*, 1999; Jiggins *et al.*, 2000; Morimoto *et al.*, 2001; Mitsuhashi *et al.*, 2004) 昆虫中。杀雄作用有 2 种形式, 早期杀雄和晚期杀雄。早期杀雄指的是发生在胚胎发育阶段的杀雄作用, 晚期杀雄指的是发生在幼虫或者蛹期的杀雄作用。早期和晚期杀雄在 *Wolbachia* 引起的杀雄作用中都有发现 (Jaenike, 2007)。*Wolbachia* 引起的杀雄作用与寄主的性别决定系统有关, 但具体机制目前还不清楚。

2.5 *Wolbachia* 与寄主的营养代谢

一直以来的研究都表明 *Wolbachia* 与寄主的关系都与寄主的生殖活动有关。但最新的研究发现, *Wolbachia* 与寄主的营养代谢也有关系。例如, 在黄蜂 *Asobara tabida*、拟果蝇 *Drosophila simulans*、埃及伊蚊 *Aedes aegypti* 中, *Wolbachia* 参与了寄主的铁营养代谢过程 (Kremer *et al.*, 2009)。在发生铁营养胁迫的情况下, *Wolbachia* 能够帮助寄主黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 提高产卵力, 表明 *Wolbachia* 很可能在某些特定的环境条件下参与了寄主的铁营养代谢 (Brownlie *et al.*, 2009)。

2.6 *Wolbachia* 对寄主的保护作用

除了生殖调控作用之外, *Wolbachia* 也能为一

些双翅目寄主提供保护。

wMelCS 菌株和 *wMelPop* 菌株在寄主果蝇受到果蝇 C 病毒、兽棚病毒和蟋蟀麻痹病毒等 RNA 病毒侵袭时, 能够延缓寄主的死亡 (Hedges *et al.*, 2008; Teixeira *et al.*, 2008)。此外, 将 *wMelPop* 菌株人工转染到埃及伊蚊 *Aedes aegypti* 后, 能够降低登革热病毒和奇孔古尼亚热病毒, 以及疟原虫属寄生虫在蚊子体内建立可繁殖感染的能力 (McMeniman *et al.*, 2009; Moreira *et al.*, 2009)。尽管在感染了 *wMelPop* 菌株的 *Wolbachia* 的蚊子中发现了免疫效应基因功能上调的现象, 但是 *Wolbachia* 与这些昆虫病毒之间的影响机制还不清楚 (Moreira *et al.*, 2009)。而且, 目前只发现这 2 个菌株具有此类功能, 是否所有菌株 *Wolbachia* 都具有此功能, 以及能够影响的昆虫病毒的范围都还不清楚 (Osborne *et al.*, 2009)。

这些研究成果为蚊传疾病的防治提供了新的手段。自然界中约有 28% 的蚊子体内天然携带 *Wolbachia*, 但是在能够传播人类致病微生物的种类, 如登革热病毒传播载体埃及伊蚊 *Aedes aegypti* 却没有感染。实验证明, 将 *wAlb* 菌株 (自然寄主 *Aedes albopictus*) 人工转染到埃及伊蚊体内后, 限制了登革热病毒在埃及伊蚊体内的复制和传播, 与未感染的野生型埃及伊蚊相比, 感染了 *Wolbachia* 的埃及伊蚊传播病毒的潜力大大减弱 (Bian *et al.*, 2010)。将能够缩短寄主寿命的 *wMelPop* 菌株 (自然寄主 *Drosophila melanogaster*) 人工转染到埃及伊蚊后, 埃及伊蚊的寿命缩短了一半, *Wolbachia* 的存在也抑制了蚊子体内丝虫的发育 (Kambris *et al.*, 2009)。

2.7 *Wolbachia* 对寄主的其他影响

除了上述影响外, *Wolbachia* 还能够增强雌性生殖力和雄性生育力 (龚鹏等, 2002), 这有利于其在寄主种群内的传播和扩散。此外, 随着研究的不断扩展和深入, *Wolbachia* 对寄主多方面的影响也初步被揭示。如: *Wolbachia* 感染能够显著提高拟果蝇的嗅觉反应能力, 果蝇体内的 *Wolbachia* 密度越高, 嗅觉反应能力越强, *Wolbachia* 可能通过调节宿主嗅觉相关基因的表达, 提高宿主的嗅觉反应能力 (彭宇和王玉凤, 2009)。而对于拟澳洲赤眼蜂来说, *Wolbachia* 侵染的初期对寄主的嗅觉造成的影响是负面的, 但随着繁殖代数的增加, 这种

负面影响会逐渐消失(潘雪红等, 2007b)。

2.8 *Wolbachia* 与寄主关系的演化

在长期的进化过程中, *Wolbachia* 形成了两种生存策略: 在线虫寄主中的专性共生和在节肢动物寄主中的兼性共生。对于线虫寄主来说, 去除 *Wolbachia* 会导致其生长速度减缓, 胚胎发育异常甚至死亡, 基因组分析表明, *Wolbachia* 能够为线虫寄主提供核黄素、亚铁血红素、谷胱甘肽, 以及合成嘌呤和嘧啶所必需的一些化合物 (Foster *et al.*, 2005; Fenn and Blaxter, 2006)。而对包括昆虫在内的节肢动物寄主来说, *Wolbachia* 与其他一些能够改变寄主种群性别比例的共生菌一样, 是一种兼性内共生菌, 它们并不是寄主完成正常生活史所必需的, 去除寄主体内的 *Wolbachia*, 可以消除其对寄主生殖行为的影响。那么, 这两种策略中哪一种是从祖先策略呢? *Wolbachia* 与寄主关系的演化方向如何呢? Mercot 和 Poinot (2009) 通过对 *Wolbachia* 部分基因序列的分析认为, *Wolbachia* 的共同祖先可能是一种与生殖有关的细胞内共生菌。并认为 *Wolbachia* 与寄主关系的演化经历了 3 个阶段: 首先, 祖先共生菌入侵寄主成功以后, 通过其自身优势在种群内扩散; 而后, 经过长期的演化, 成为寄主的卵子发生和发育不可或缺的因子; 最后, 与寄主形成真正的互利共生关系。但是, 对于为何 *Wolbachia* 只与线虫寄主形成互利共生的关系, 目前仍然没有一种合理的解释。有研究发现, 对于弹尾纲的白符(虫兆) *Folsomia candida* 和膜翅目的 1 种黄蜂 *Asobara tabida* 来说, *Wolbachia* 是其产生可育后代的必要条件 (Dedeine *et al.*, 2001, 2005; Timmermans and Ellers, 2009), 这表明对于这 2 种寄主来说, *Wolbachia* 很可能正在演化成为一种专性共生菌, 这些研究为 Mercot 的假说提供了一定的佐证。然而, 由于系统发育分析过程中缺乏合适的外群, 目前 *Wolbachia* 种内超组间的系统演化关系仍未明确 (Lo *et al.*, 2002; 2007), 因此对 *Wolbachia* 与寄主之间的系统演化关系的解析还需大量的研究工作。

3 *Wolbachia* 基因组研究

2004 年, 研究人员完成了 *wMel* 菌株 *Wolbachia* 的全基因组序列的测定和注释 (Wu *et al.*, 2004), 标志着 *Wolbachia* 的基因组研究进

入了一个新阶段。目前已完成全基因组序列测序和注释的还有 *wBm* 菌株 (Foster *et al.*, 2005)、*wPip* 菌株 (Klasson *et al.*, 2008)、*wRi* 菌株 (Klasson *et al.*, 2009), 其基因组基本信息如表 1 所示。此外, 已经完成基因组草图的有 5 个菌株。从表 1 可以看出, 以昆虫为寄主的 *Wolbachia* 的基因组具有如下特点。

3.1 含丰富的锚蛋白编码区

锚蛋白是一种在真核生物中广泛存在的蛋白, 能够调控蛋白之间的相互作用, 但在细菌中并不多见。因此, 有学者认为 *Wolbachia* 基因组中锚蛋白编码区很可能在调控 *Wolbachia* 与寄主相互作用方面起作用 (Tram and Sullivan, 2002)。

3.2 含有一定数量的噬菌体片段区

Masui 等 (2000) 在 *wPip* 菌株 *Wolbachia* 中首次发现了噬菌体的存在, 并命名为 WO 噬菌体。研究表明 WO 噬菌体广泛分布于 *Wolbachia* 基因组中, 既可以溶原形式插入到 *Wolbachia* 染色体中, 又能以溶菌状态自由存在于细胞质中 (Fujii *et al.*, 2004)。在已有的 3 个 *Wolbachia* 菌株的基因组中, 都发现了不同数量的噬菌体片段区。在一些以昆虫为寄主的 *Wolbachia* 中也检测到了噬菌体的存在, 这些昆虫涉及直翅目、鞘翅目、双翅目、鳞翅目及膜翅目, 有些 WO 噬菌体可能是侵染 *Wolbachia* 的专性病毒 (周丽丽等, 2010)。噬菌体被认为很可能携带重要的基因或介导 *Wolbachia* 基因组的进化, 是促进 *Wolbachia* 遗传进化的可移动遗传因子之一。*Wolbachia* 超感染现象的存在使噬菌体在不同菌株间的传播成为可能。在鳞翅目昆虫中已经发现了感染同一寄主属于不同超组的 *Wolbachia* 菌株间的噬菌体传播现象 (Masui *et al.*, 2000)。

3.3 含有相当数量的插入序列

基因组中含有相当数量的插入序列 (insertion sequence, IS), *wMel* 菌株基因组中的 45 个 IS 分别属于 7 个 IS 家族; *wPip* 菌株基因组中的 116 个 IS 分别属于 8 个 IS 家族, *wRi* 菌株基因组中的 126 个 IS 分别属于 11 个 IS 家族。IS 在 *wMel* 菌株和 *wPip* 菌株基因组中的分布是不相重叠的, 大部分来自同一 IS 家族的 IS 因子之间存在很大差异, 表明这些 IS 因子是在较近的时间内入侵到基因组中的, 或者 IS 因子在扩张过程中的波动和丢失导致了这 2 个菌株中 IS 的不同 (Klasson *et al.* 2008)。

基于稻水象甲的研究发现这些 IS 很可能与 *Wolbachia* 诱导的孤雌生殖作用有关(陈淑娟等, 2010)。

3.4 存在着大量的重复序列

wMel 和 *wPip* 菌株基因组中存在一定比例的重复序列,其中很多是转座因子,这些转座因子在基因组中的扩散,很可能提供了大量的同源重组位点。这在进化上具有重要意义,因为基因重组增强了基因组的可塑性,同时提供了一种基因快速进化的机制(Foster *et al.*, 2005; Brownlie and O’Neill, 2006)。

3.5 显著的核苷酸多样性

Wolbachia 的基因组具有显著的核苷酸多样性。持家基因的多样性在 6% ~ 9% (Baldo *et al.*, 2006); 原噬菌体的多样性在 30% 以上 (Bordenstein and Wernegreen, 2004), *wsp* 基因多样性高达 43% 以上 (Baldo *et al.*, 2005)。

此外,通过与 D 超组 *wBm* 菌株的 *Wolbachia* 基因组的比较可以看出,在基因组大小、噬菌体片段数、锚蛋白编码区数、插入序列类型数以及重复序列含量的方面,以昆虫为寄主的 3 个菌株都与 *wBm* 菌株存在着很大的差异。这些差异很可能是与寄主互利共生关系的 *wBm* 菌株丢失了部分微生物与寄主相互作用的相关基因造成。

表 1 *Wolbachia pipientis* 基因组基本结构信息
Table 1 General features of the *Wolbachia pipientis* genomes

项目 Subjects	菌株 Strain			
	<i>wMel</i>	<i>wRi</i>	<i>wPip</i>	<i>wBm</i>
超组 Supergroup	A	A	B	D
寄主 Host	<i>Drosophila melanogaster</i>	<i>Drosophila simulans</i>	<i>Culex quinquefasciatus</i>	<i>Brugia malayi</i>
基因组大小 (bp) Genome size	1 267 782	1 445 873	1 482 355	1 080 084
GC 含量 (%) GC content	35.2	35	34.2	34.2
基因数 Coding sequences	1 270	1 150	1 386	903
假基因数 Pseudogenes	94	114	97	98
锚蛋白编码区 ANK genes	23	35	60	5
WO 噬菌体片段数 WO prophage	3	4	5	0
插入序列类型数 IS types	7	11	8	0
重复序列含量 (%) Repeat sequences	8.9	22.1	大量	5.4

4 *Wolbachia* 与寄主在基因组水平上的互作

Wolbachia 与寄主在基因组水平上的相互作用主要表现在以下 3 方面:对线粒体基因的影响, DNA 渐渗现象和横向基因转移。

4.1 对线粒体基因多态性的影响

Wolbachia 的侵染会引起线粒体的“搭乗作

用”(hitch-hiking effect)。当 *Wolbachia* 侵染一个寄主种群后,依赖自身的选择优势在寄主种群内迅速扩散,与其相关联的线粒体类型在种群中的比例也随之扩大,使寄主种群线粒体 DNA 多态性水平降低 (Jiggins, 2003; Shoemaker *et al.*, 2004; Hurst and Jiggins, 2005),这种现象被称为 *Wolbachia* 的“选择性清扫”(selective sweep)作用。这种作用已经在一些物种中得到了很好的证明,

包括:珍蝶属的 *Acraea encedana* 和 *Acraea encedon* (Jiggins, 2003), 果蝇属的 *Drosophila recens* (Shoemaker *et al.*, 2004)、*Drosophila innubila* (Dyer and Jaenike, 2004) 和 *Drosophila simulans* (Dean *et al.*, 2003), 白纹伊蚊 *Aedes albopictus* (Birungi and Munstermann, 2002; Armbruster *et al.*, 2003), 以及原丽蝇 *Protophormia sialia* (Baudry *et al.*, 2003) 等。

Rasgon 等(2006)的研究表明在广泛分布于北美和泰国的尖音库蚊 *Culex pipiens* 复合体种群中, *Wolbachia* 的传播导致了线粒体多样性的显著下降:所有感染种群中, 99% 的个体只有一个单倍型;未感染的北美种群中有 11 个单倍型。而核同种异型酶的多样性在感染和未感染的北美种群中很相似。据此推断, 北美种群很可能是一个隐藏种, *Wolbachia* 的侵染被生殖隔离作用所阻断, 因此保留了祖先的线粒体多样性水平。分子钟分析表明, *Wolbachia* 的清扫出现在 47 000 年前。

4.2 DNA 渐渗现象

此外, 在昆虫中, *Wolbachia* 的感染还会导致近缘种之间的线粒体 DNA 渐渗现象(introgression), 主要表现为:在核基因水平上关系非近缘的种类却具有非常相似的线粒体 DNA 单倍型和 *Wolbachia* 菌株。

目前, 有 5 例 *Wolbachia* 导致近缘种之间的线粒体 DNA 渐渗现象。分别发生在以下物种间: (1) 果蝇 *Drosophila simulans* 和 *Drosophila mauritiana* 之间 (Rousset and Solignac, 1995; Ballard, 2000a, 2000b); (2) 果蝇 *Drosophila santomea*, *Drosophila yakuba* 和 *Drosophila teissieri* 之间 (Monnerot *et al.*, 1990; Lachaise *et al.*, 2000); (3) 珍蝶属 *Acraea encedon* 和 *Acraea encedana* 之间 (Jiggins, 2003); (4) 宽边黄粉蝶 *Eurema hecabe* 的黄色型和褐色型之间 (Narita *et al.*, 2006); (5) 原丽蝇属 *Protophormia* 的一些近缘种之间 (Whitworth *et al.*, 2007)。

4.3 横向基因转移

横向基因转移 (horizontal gene transfer, HGT), 又称侧向基因转移 (lateral gene transfer, LGT), 指有机体将遗传物质传递给其他细胞而非其子代的过程。这种现象在原核生物中较为常见。近年来, 在真核生物中也发现了横向基因转

移现象, 植物的叶绿体和线粒体与细胞核之间的横向基因转移就是很好的例证。

Kondo 等(2002b)运用定量 PCR 和反向 PCR 等技术证实了 *Wolbachia* 的基因片段横向转移到了寄主绿豆象 *Callosobruchus chinensis* 的 X 染色体上。这是研究者首次证明 *Wolbachia* 基因组与寄主之间存在基因水平的转移。后续的研究发现, 这个转移片段大约占 *Wolbachia* 基因组 30% 左右。这种转移基因在日本和台湾的绿豆象种群中很常见, 但是不同的种群中转移基因的数量有所不同。在绿豆象的近缘种四纹豆象 *C. maculatus* 和罗得西亚豆象 *C. rhodesianus* 中却没有发现这种转移基因, 说明横向基因转移事件发生在绿豆象物种形成之后 (Nikoh *et al.*, 2008)。Dunning-Hotopp 等(2007)采用荧光原位杂交技术发现几乎整个 *Wolbachia* 基因组完全转移到寄主果蝇 *Drosophila ananassae* 的 2L 染色体上。

综合现有的无脊椎动物基因组数据, 研究者发现, 大约 1/3 已测序的无脊椎动物基因组包含 *Wolbachia* 横向基因转移, 转移片段大小从 < 500 bp 的小片段 (在 *Nasonia* 属中) 到 > 1Mb 的将近整个基因组序列 (在 *Drosophila ananassae* 中) 不等 (Dunning-Hotopp *et al.*, 2007)。

Wolbachia 与寄主之间的横向基因转移方向是双向的, 通过对埃及斑蚊 *Aedes aegypti*, 疟蚊 *Anopheles gambiae* 和致倦库蚊 *Culex quinquefasciatus* 的基因组与 *wMel* 和 *wPip* 菌株 *Wolbachia* 基因组的比较, 发现唾液腺表面蛋白基因在 *Wolbachia* 与蚊之间存在着横向基因转移现象, 分析表明横向基因转移是从真核寄主到 *Wolbachia*。这个基因在 *Wolbachia* 中已经发生了分化 (Woolfit *et al.*, 2009)。

横向基因转移不仅可能发生在亲缘关系很近的物种之间, 也可以发生在亲缘关系较远, 或没有亲缘关系的物种间, 有的甚至跨越了“界”, *Wolbachia* 与寄主间的横向基因转移就是一个很好的例证。横向基因转移在细菌进化中具有重要的意义, 那么这些从 *Wolbachia* 横向转移到寄主的基因是否在寄主的进化过程中具有一定的作用呢? 在埃及斑蚊 *Aedes aegypti* 中已经证实来自 *Wolbachia* 基因被转录和表达, 说明这些通过横向转移获得的基因是有功能的 (Klasson *et al.*, 2009)。

5 展望

Wolbachia 因其在节肢动物中的广泛分布以及和寄主的复杂关系引起了研究者的极大兴趣,各领域均取得了很大进展,并且向基因组学方向不断深入。但是,很多问题仍未得到解答,如:*Wolbachia* 与范围如此广泛的寄主间的寄生关系是如何建立和保持的?*Wolbachia* 对寄主生殖行为的不同调控作用是如何实现的?*Wolbachia* 在其寄主进化过程中是否具有推动作用?*Wolbachia* 与其寄主的基因横向转移是否加速了物种的分化和形成?对这些科学问题的解答是未来该领域研究的重点,也将有力推动 *Wolbachia* 与寄主之间相互作用以及相互关系形成与进化领域的研究。

参考文献 (References)

- Arakaki N, Miyoshi T, Noda H, 2011. *Wolbachia* mediated parthenogenesis in the predatory thrips *Frankliniopsis vespiformis* (Thysanoptera; Insecta). *Proc. R. Soc. Lond. B.*, 268:1011—1016.
- Armbruster P, Damsky WE, Giordano R, Birungi J, Munstermann LE, Conn JE, 2003. Infection of new and old-world *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) by the intracellular parasite *Wolbachia*: implications for host mitochondrial DNA evolution. *J. Med. Ent.*, 40:356—360.
- Atyame CM, Duron O, Tortosa P, Pasteur N, Fort P, Weill M, 2011. Multiple *Wolbachia* determinants control the evolution of cytoplasmic incompatibilities in *Culex pipiens* mosquito populations. *Mol. Ecol.*, 20:286—298.
- 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 pipientis*. *Appl. Environ. Microb.*, 72:7098—7110.
- Baldo L, Lo N, Werren JH, 2005. Mosaic nature of the *Wolbachia* surface protein. *J. Bacteriol.*, 187:5406—5418.
- Baldo L, Prendini L, Corthals A, Werren JH, 2007. *Wolbachia* are present in southern African scorpions and cluster with supergroup F. *Curr. Microbiol.*, 55:367—373.
- Baldo L, Werren JH, 2007. Revisiting *Wolbachia* supergroup typing based on WSP: spurious lineages and discordance with MLST. *Curr. Microbiol.*, 55:81—87.
- Ballard JW, 2000a. Comparative genomics of mitochondrial DNA in *Drosophila simulans*. *J. Mol. Evol.*, 51:64—75.
- Ballard JW, 2000b. When one is not enough: introgression of mitochondrial DNA in *Drosophila*. *Mol. Biol. Evol.*, 17:1126—1130.
- Bandi C, Anderson TJ, Genchi C, Blaxter ML, 1998. Phylogeny of *Wolbachia* in filarial nematodes. *Proc. R. Soc. B.*, 265:2407—2413.
- Baudry E, Bartos J, Emerson K, Whitworth T, Werren JH, 2003. *Wolbachia* and genetic variability in the bird nest blowfly *Protocalliphora sialia*. *Mol. Ecol.*, 12:1843—1854.
- Bian GW, Xu Y, Lu P, Xie Y, Xi ZY, 2010. The endosymbiotic bacterium *Wolbachia* induces resistance to dengue virus in *Aedes aegypti*. *PLoS Pathog.*, 6(4): e100833.
- Birungi J, Munstermann LE, 2002. Genetic structure of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) populations based on mitochondrial ND5 sequences: evidence for an independent invasion into Brazil and United States. *Ann. Ent. Soc. Am.*, 95:125—132.
- Bordenstein S, Rosengaus RB, 2005. Discovery of a novel *Wolbachia* supergroup in Isoptera. *Curr. Microbiol.*, 51:393—398.
- Bordenstein SR, Uy JJ, Werren JH, 2003. Host genotype determines cytoplasmic incompatibility type in the haplodiploid genus *Nasonia*. *Genetics*, 164:223—233.
- Bordenstein SR, Wernegreen JJ, 2004. Bacteriophage flux in endosymbionts (*Wolbachia*): infection frequency, lateral transfer, and recombination rates. *Mol. Biol. Evol.*, 21:1981—1991.
- Breeuwer JAJ, 1997. *Wolbachia* and cytoplasmic incompatibility in the spider mite *Tetranychus urticae* and *T. turkestanii*. *Heredity*, 79:41—47.
- Brownlie JC, Cass BN, Riegler M, Witsenburg JJ, Iturbe-Ormaetxe I, McGraw EA, O'Neill SL, 2009. Evidence for metabolic provisioning by a common invertebrate endosymbiont, *Wolbachia pipientis*, during periods of nutritional stress. *PLoS Pathog.*, 5(4): e1000368.
- Brownlie JC, O'Neill SL, 2006. *Wolbachia* genomics: accelerating our understanding of a pervasive symbiosis// Bourtzis K, Miller TA (eds.). *Insect Symbiosis*. Boca Raton (FL): CRC Press. 175—183.
- Callaini G, Dallai R, Riparbelli MG, 1997. *Wolbachia*-induced delay of paternal chromatin condensation does not prevent maternal chromosomes from entering anaphase in incompatible crosses of *Drosophila simulans*. *J. Cell Sci.*,

- 110(2):271—280.
- Casiraghi M, Bain O, Guerrero R, Martin C, Pocacqua V, Gardner SL, Franceschi A, Bandi C, 2004. Mapping the presence of *Wolbachia pipientis* on the phylogeny of filarial nematodes: evidence for symbiont loss during evolution. *Int. J. Parasitol.*, 34(2):191—203.
- Charlat S, Calmet C, Andrieu O, Mercot H, 2005. Exploring the evolution of *Wolbachia* compatibility types: a simulation approach. *Genetics*, 170:495—507.
- 陈丽娟, 郑雅, 王玉凤, 曾庆韬, 刘艳玲, 2008. *Wolbachia* 感染导致果蝇 *dHira* 基因表达下调. 动物学报, 54(4): 748—752.
- 陈淑娟, 贺艳, 蒋明星, 程家安, 2010. 感染稻水象甲的 *Wolbachia* 基因组中插入序列的鉴定与分析. 昆虫学报, 53(12):1410—1418.
- Cordaux R, Michel-Salzat A, Bouchon D, 2001. *Wolbachia* infection in crustaceans: novel hosts and potential routes for horizontal transmission. *J. Evol. Biol.*, 14:237—243.
- Czarnetzki AB, Tebbe CC, 2004. Detection and phylogenetic analysis of *Wolbachia* in Collembola. *Environ. Microbiol.*, 6(1):35—44.
- Dean MD, Ballard KJ, Glass A, Ballard JWO, 2003. Influence of two *Wolbachia* strains on population structure of East African *Drosophila simulans*. *Genetics*, 165:1959—1969.
- Dedeine F, Vavre F, Fleury F, Loppin B, Hochberg ME, Bouletreau M. 2001. Removing symbiotic *Wolbachia* bacteria specifically inhibits oogenesis in a parasitic wasp. *PNAS*, 98(11):6247—6252.
- Dedeine F, Boule' treau M, Vavre F, 2005. *Wolbachia* requirement for oogenesis: occurrence within the genus *Asobara* (Hymenoptera, Braconidae) and evidence for intraspecific variation in *A. tabida*. *Heredity*, 95:394—400.
- Dittmar K, Whiting MF, 2004. New *Wolbachia* endosymbionts from Nearctic and Neotropical fleas (Siphonaptera). *J. Parasitol.*, 90(5):953—957.
- Dunning-Hotopp JC, Clark ME, Oliveira DCSG, Foster JM, Fischer P, Torres MCM, Giebel JD, Kumar N, Ishmael N, Wang S, Ingram J, Nene RV, Shepard J, Tomkins J, Richards S, Spiro DJ, Ghedin E, Slatko BE, Tettelin H, Werren JH, 2007. Widespread lateral gene transfer from intracellular bacteria to multicellular eukaryotes. *Science*, 317:1753—1756.
- Duron O, Weill M, 2006. *Wolbachia* infection influences the development of *Culex pipiens* embryo in incompatible crosses. *Heredity*, 96:493—500.
- Dyer KA, Jaenike J, 2004. Evolutionarily stable infection by a male-killing endosymbiont in *Drosophila innubila*: molecular evidence from the host and parasite genomes. *Genetics*, 168:1443—1455.
- Engelstadter J, Telschow A, 2009. Cytoplasmic incompatibility and host population structure. *Heredity*, 103:196—207.
- Fenn K, Blaxter M, 2006. *Wolbachia* genomes: revealing the biology of parasitism and mutualism. *Trends Parasitol.*, 22(2):60—65.
- Ferri E, Bain O, Barbuto M, Martin C, Lo N, Uni S, Landmann F, Baccei SG, Guerrero R, Lima SS, Bandi C, Wanji S, Diagne M, Casiraghi M, 2011. New insights into the evolution of *Wolbachia* infections in filarial nematodes inferred from a large range of screened species. *PLoS ONE*, 6(6):e20843.
- Fialho RF, Stevens L, 2000. Male-killing *Wolbachia* in a flour beetle. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 267:1469—1473.
- Foster J, Ganatra M, Kamal I, Ware J, Makarova K, Ivanova N, Bhattacharyya A, Kapatral V, Kumar S, Posfai J, Vincze T, Ingram J, Moran L, Lapidus A, Omelchenko M, Kyrpides N, Ghedin E, Wang S, Goltsman E, Joukov V, Ostrovskaya O, Tsukerman K, Mazur M, Comb D, Koonin E, Slatko B, 2005. The *Wolbachia* genome of *Brugia malayi*: endosymbiont evolution within a human pathogenic nematode. *PLoS Biol.*, 3:599—614.
- Fujii Y, Kubo T, Ishikawa H, Sasaki T, 2004. Isolation and characterization of the bacteriophage WO from *Wolbachia*, an arthropod endosymbiont. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 317:1183—1188.
- Giordano R, O'Neill SL, Roberston HM, 1997. The role of *Wolbachia* bacteria in reproductive incompatibilities and hybrid zones of *Diabrotica* beetles and *Gryllus* crickets. *PNAS*, 94:11439—11444.
- 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.
- Gorham CH, Fang QQ, Durden LA, 2003. *Wolbachia* endosymbionts in fleas (Siphonaptera). *J. Parasitol.*, 89(2):283—289.
- Gotoh T, Sugawara J, Noda H, Kitashima Y, 2007. *Wolbachia*-induced cytoplasmic incompatibility in Japanese populations of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Exp. Appl. Acarol.*, 42:1—16.
- Gottlieb Y, Zchori-Fein E, Werren JH, Karr TL, 2002. Diploidy restoration in *Wolbachia*-infected *Muscidifurax uniraptor* (Hymenoptera: Pteromalidae). *J. Invertebr.*

- Pathol.*, 81(3):166—174.
- Hedges LM, Brownlie JC, O'Neill SL, Johnson KN. 2008. *Wolbachia* and virus protection in insects. *Science*, 322: 702.
- 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 Microbiol. Lett.*, 281(2):215—220.
- Hiroki M, Kato Y, Kamito T, Miura K. 2002. Feminization of genetic males by a symbiotic bacterium in a butterfly, *Eurema hecabe* (Lepidoptera: Pieridae). *Naturwissenschaften*, 89:167—170.
- Hoy MA, Jeyaprakash A. 2005. Microbial diversity in the predatory mite *Metaseiulus occidentalis* (Acari: Phytoseiidae) and its prey, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Biol. Control.*, 32(3):427—441.
- Hurst GD, Jiggins FM. 2005. Problems with mitochondrial DNA as a marker in population, phylogeographic and phylogenetic studies: the effects of inherited symbionts. *Proc. R. Soc. B*, 272:1525—1534.
- Hurst GDD, Jiggins FM, Van der Schulenburg JHG, Bertrand D, West SA. 1999. Male-killing *Wolbachia* in two species of insect. *Proc. R. Soc. B*, 266:735—740.
- Jaenike J. 2007. Spontaneous emergence of a new *Wolbachia* phenotype. *Evolution*, 61(9):2244—2252.
- Jeong G, Stouthamer R. 2005. Genetics of female functional virginity in the Parthenogenesis-*Wolbachia* infected parasitoid wasp *Telenomus nawai* (Hymenoptera: Scelionidae). *Heredity*, 94:402—407.
- Jiggins FM. 2003. Male-killing *Wolbachia* and mitochondrial DNA: selective sweeps, hybrid introgression and parasite population dynamics. *Genetics*, 164:5—12.
- Jiggins FM, Hurst GDD, Dolman CE, Majerus MEN. 2000. High-prevalence male-killing *Wolbachia* in the butterfly *Acraea encedana*. *J. Evol. Biol.*, 13:495—501.
- Kageyama D, Hoshizaki S, Ishikawa Y. 1998. Female biased sex ratio in the Asian corn borer, *Ostrinia furnacalis*: evidence for the occurrence of feminizing bacteria in an insect. *Heredity*, 81:311—316.
- Kageyama D, Nishimura G, Hoshizaki S, Ishikawa Y. 2000. *Wolbachia* infection causes feminization in two species of moths, *Ostrinia furnacalis* and *O. scapularis* (Lepidoptera: Crambidae). In the first international *Wolbachia* conference - *Wolbachia*: conference program and abstracts. International Symbiosis Society, Boston, Mass. 106—107.
- Kambris Z, Cook PE, Phuc HK, Sinkins SP. 2009. Immune activation by life-shortening *Wolbachia* and reduced filarial competence in mosquitoes. *Science*, 326:134—136.
- Keiser PB, Coulbalyb Y, Kubofcika J, Diallob AA, Kliona AD, Traoré SF, Nutmana TB. 2008. Molecular identification of *Wolbachia* from the filarial nematode *Mansonella perstans*. *Mol. Biochem. Parasit.*, 160:123—128.
- Klasson L, Kambris Z, Cook P, Walker T, Sinkins S. 2009. Horizontal gene transfer between *Wolbachia* and the mosquito *Aedes aegypti*. *BMC Genomics.*, 10:33.
- Klasson L, Walker T, Sevaihia M, Sanders MJ, Quail MA, Lord A, Sander S, Earl J, O'Neill SL, Thomson N, Sinkins SP, Parkhill J. 2008. Genome evolution of *Wolbachia* strain wPip from the *Culex pipiens* group. *Mol. Biol. Evol.*, 25(9):1877—1887.
- Kondo N, Nikoh N, Ijichi N, Shimada M, Fukatsu T. 2002b. Genome fragment of *Wolbachia* endosymbiont transferred to X chromosome of host insect. *PNAS*, 99(22):14280—14285.
- Kremer N, Voronin D, Charif D, Mavingui P, Mollereau B, Vavre F. 2009. *Wolbachia* interferes with ferritin expression and iron metabolism in insects. *PloS Pathog.*, 5(10): e1000630.
- Lachaise D, Harry M, Solignac M, Lemeunier F, Benassi V, Cariou ML. 2000. Evolutionary novelties in islands: *Drosophila santomea*, a new *melanogaster* sister species from São Tomé. *Proc. R. Soc. B*, 267:1487—1495.
- Landmann F, Orsi GA, Loppin B, Sullivan W. 2009. *Wolbachia*-mediated cytoplasmic incompatibility is associated with impaired histone deposition in the male pronucleus. *PLoS Pathogens*, 5(3): e1000343.
- Lo N, Casiraghi M, Salati E, Bazzocchi C, Bandi C. 2002. How many *Wolbachia* supergroups exist? *Mol. Biol. Evol.*, 19:341—346.
- Lo N, Paraskevopoulos C, Bourtzis K, O'Neill SL, Werren JH, Bordenstein SR, Bandi C. 2007. Taxonomic status of the intracellular bacterium *Wolbachia pipientis*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 57:654—657.
- Masui S, Kamoda S, Sasaki T, Ishikawa H. 2000. Distribution and evolution of bacteriophage WO in *Wolbachia*, the endosymbiont causing sexual alterations in arthropods. *J. Mol. Evol.*, 51:491—497.
- 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*, 323:141—144.
- Mercot H, Poinot D. 2009. Infection by *Wolbachia*: from passengers to residents. *C. R. Biologies.*, 332:284—297.

- 苗慧,洪晓月,谢霖,薛晓峰,张春玲,2006. 二斑叶螨体内感染的 *Wolbachia* 的 *wsp* 基因序列测定与分析. 昆虫学报, 49(1):146—153.
- Mitsuhashi W, Fukuda H, Nicho K, Murakami R, 2004. Male-killing *Wolbachia* in the butterfly *Hypolimnas bolina*. *Entomol. Exp. Appl.*, 112:57—64.
- Monnerot M, Solignac M, Wolstenholme DR, 1990. Discrepancy in divergence of the mitochondrial and nuclear genomes of *Drosophila teissieri* and *Drosophila yakuba*. *J. Mol. Evol.*, 30:500—508.
- Moreira LA, Iturbe-Ormaetxe I, Jeffery JA, Lu GJ, Pyke AT, Hedges LM, Rocha BC, Hall-Mendelin S, Day A, Riegler M, Hugo LE, Johnson KN, Kay BH, McGraw EA, van den Hurk AF, Ryan PA, O'Neill SL, 2009. A *Wolbachia* symbiont in *Aedes aegypti* limits infection with *Dengue*, *Chikungunya*, and *Plasmodium*. *Cell*, 139:1286—1278.
- Morimoto S, Nakai M, Ono A, Kunimi Y, 2001. Late male-killing phenomenon found in a Japanese population of the oriental tea tortrix, *Homona magnanima* (Lepidoptera: Tortricidae). *Heredity*, 87:435—440.
- Narita S, Nomura M, Kato Y, Fukatsu T, 2006. Genetic structure of sibling butterfly species affected by *Wolbachia* infection sweep: evolutionary and biogeographical implications. *Mol. Ecol.*, 15:1095—1108.
- Negri I, Franchini A, Mandrioli M, Mazzoglio PJ, Alma A, 2008. The gonads of *Zyginidia pullula* males feminized by *Wolbachia pipientis*. *Bull. Insectol.*, 61(1):213—214.
- Negri I, Pellecchia M, Mazzoglio PJ, Patetta A, Alma A, 2006. Feminizing *Wolbachia* in *Zyginidia pullula* (Insecta: Hemiptera), a leafhopper with an XX/X0 sex-determination system. *Proc. R. Soc. B*, 273:2409—2416.
- Nikoh N, Tanaka K, Shibata F, Kondo N, Hizume M, Shimada M, Fukatsu T, 2008. *Wolbachia* genome integrated in an insect chromosome: Evolution and fate of laterally transferred endosymbiont genes. *Genome Res.*, 18: 272—280.
- Nyiro G, Oravecz O, Marialigeti K, 2002. Detection of *Wolbachia pipientis* infection in arthropods in Hungary. *Eur. J. Soil. Biol.*, 38(1):63—66.
- Osborne SE, Leong YS, O'Neill SL, Johnson KN, 2009. Variation in antiviral protection mediated by different *Wolbachia* strains in *Drosophila simulans*. *PLoS Pathog.*, 5(11):e1000656.
- 潘雪红,陈科伟,吕燕青,何余容,2007a. *Wolbachia* 对赤眼蜂的性别调控机制及生理影响. 昆虫知识, 44(1):32—35.
- 潘雪红,何余容,陈科伟,潘飞,盘梅,2007b. *Wolbachia* 感染对拟澳洲赤眼蜂寿命、生殖力和嗅觉反应的影响. 昆虫学报, 50(3):207—214.
- Panaram K, Marshall JL, 2007. F supergroup *Wolbachia* in bush crickets: what do patterns of sequence variation reveal about this supergroup and horizontal transfer between nematodes and arthropods? *Genetica*, 130:53—60.
- Pannebakker BA, Pijnacker LP, Zwaan BJ, Beukeboom Leo W, 2004. Cytology of *Wolbachia*-induced parthenogenesis in *Leptopilina clavipes* (Hymenoptera: Figitidae). *Genome*, 47:299—303.
- 彭宇,王玉凤,2009. *Wolbachia* 感染显著提高果蝇的嗅觉反应. 科学通报, 54(5):596—602.
- Rasgon JL, Corne AJ, Scott W, 2006. Evolutionary history of a mosquito endosymbiont revealed through mitochondrial hitchhiking. *Proc. R. Soc. B*, 273:1603—1611.
- Rasgon JL, Scott TW, 2004. Phylogenetic characterization of *Wolbachia* symbionts infecting *Cimex lectularius* L. and *Oeciacus vicarius* Horvath (Hemiptera: Cimicidae). *J. Med. Entomol.*, 41(6):1175—1178.
- Reed KM, Werren JH, 1995. Induction of paternal genome loss by the paternalsex-ratio chromosome and cytoplasmic incompatibility bacteria (*Wolbachia*): a comparative study of early embryonic events. *Mol. Reprod. Dev.*, 40:408—418.
- Riegler M, O'Neill SL, 2006. The genus *Wolbachia*. *Prokaryotes*, 5:547—561.
- Ros VID, Fleming VM, Feil EJ, Breeuwer JAJ, 2009. How diverse is the genus *Wolbachia*? Multiple-gene sequencing reveals a putatively new *Wolbachia* supergroup recovered from spider mites (Acari: Tetranychidae). *Appl. Environ. Microbiol.*, 75(4):1036—1043.
- Rousset F, Bouchon D, Pintureau B, Juchault P, Solignac M, 1992. *Wolbachia* endosymbionts responsible for various sexual alterations of sexuality in arthropods. *Proc. R. Soc. B*, 250:91—98.
- Rousset F, Solignac M, 1995. Evolution of single and double *Wolbachia* symbioses during speciation in the *Drosophila simulans* complex. *PANS*, 92:6389—6393.
- Rowley SM, Raven RJ, McGraw EA, 2004. *Wolbachia pipientis* in Australian spiders. *Curr. Microbiol.*, 49:208—214.
- Russell JE, Stouthamer R, 2011. The genetics and evolution of obligate reproductive parasitism in *Trichogramma pretiosum* infected with parthenogenesis-inducing *Wolbachia*. *Heredity*, 106:58—67.
- Serbus LR, Casper-Lindley C, Landmann F, Sullivan W, 2008. The genetics and cell biology of *Wolbachia*-host

- interactions. *Annu. Rev. Genet.*, 42:683—707.
- Shoemaker DD, Dyer KA, Ahrens M, McAbee K, Jaenike J, 2004. Decreased diversity but increased substitution rate in host mtDNA as a consequence of *Wolbachia* endosymbiont infection. *Genetics*, 168:2049—2058.
- 宋社吾, 赵彤言, 董言德, 陆宝麟, 2002. 我国尖音库蚊复合组蚊虫的杂交及其与 *Wolbachia* 感染的关系. *昆虫学报*, 45(6):705—710.
- Stouthamer R, Mak F, 2002. Influence of antibiotics on the offspring production of the *Wolbachia*-infected parthenogenetic parasitoid *Encarsia formosa*. *J. Inverteb. Pathol.*, 80:41—45.
- Teixeira L, Ferreira A, Ashburner M, 2008. The bacterial symbiont *Wolbachia* induces resistance to RNA viral infections in *Drosophila melanogaster*. *PLoS Biol.*, 6(12): e1000002.
- Timmermans MJTN, Ellers J, 2009. *Wolbachia* endosymbiont is essential for egg hatching in a parthenogenetic arthropod. *Evol. Ecol.*, 23:931—942.
- Tram U, Fredrick K, Werren JH, Sullivan W, 2006. Paternal chromosome segregation during the first mitotic division determines *Wolbachia*-induced cytoplasmic incompatibility phenotype. *J. Cell. Sci.*, 119:3655—3663.
- Tram U, Sullivan W, 2002. Role of delayed nuclear envelope breakdown and mitosis in *Wolbachia*-introduced cytoplasmic incompatibility. *Science*, 296:1124—1126.
- Vandekerckhove T, Watteyne S, Willems A, Swing JG, Mertens J, Gillis M, 1999. Phylogenetic analysis of the 16S rDNA of the cytoplasmic bacterium *Wolbachia* from the novel host *Folsomia candida* (Hexapoda, Collembola) and its implications for wolbachial taxonomy. *FEMS Microbiol. Lett.*, 180:279—286.
- Vandekerckhove TTM, Watteyne S, Bonne W, Vanacker D, Devaere S, Rumes B, Maelfait J, Gillis M, Swings JG, Braig HR, Mertens J, 2003. Evolutionary trends in feminization and intersexuality in woodlice (Crustacea, Isopoda) infected with *Wolbachia pipientis* (a-Proteobacteria). *Belg. J. Zool.*, 133:61—69.
- Vandekerckhove TTM, Watteyne S, Willems A, Swing JG, Mertens J, Gillis M, 1999. Phylogenetic analysis of the 16S rDNA of the cytoplasmic bacterium *Wolbachia* from the novel host *Folsomia candida* (Hexapoda, Collembola) and its implications for *Wolbachial* taxonomy. *FEMS Microbiol. Lett.*, 180:279—286.
- Weeks AR, Breeuwer JA, 2001. *Wolbachia*-induced parthenogenesis in a genus of phytophagous mites. *Proc. R. Soc. Lond B*, 268:2245—2251.
- Werren JH, Baldo L, Clark ME, 2008. *Wolbachia*: master manipulators of invertebrate biology. *Nat. Rev. Microbiol.*, 6(10):741—751.
- Werren JH, O'Neill SL, 1997. The evolution of heritable symbionts// O'Neill SL, Hoffmann AA, Werren JH (eds.). *Influential Passengers: Inherited Microorganisms and Arthropod Reproduction*. Oxford University Press, Oxford, UK. 1—41.
- Whitworth TL, Dawson RD, Magalon H, Baudry E, 2007. DNA barcoding cannot reliably identify species of the blowfly genus *Protophthora* (Diptera: Calliphoridae). *Proc. R. Soc. B*, 274:1731—1739.
- Woolfit M, Iturbe-Ormaetxe I, McGraw EA, O'Neill SL, 2009. An ancient horizontal gene transfer between mosquito and the endosymbiotic bacterium *Wolbachia pipientis*. *Mol. Biol. Evol.*, 26(2):367—374.
- Wu M, Sun LV, Vamathevan J, Riegler M, Deboy R, Brownlie JC, McGraw EA, Martin W, Esser C, Ahmadijeh N, Wiegand C, Madupu R, Beanan MJ, Brinkac LM, Daugherty SC, Durkin AS, Kolonay JF, Nelson WC, Mohamoud Y, Lee P, Berry K, Young MB, Utterback T, Weidman J, Nierman WC, Paulsen IT, Nelson KE, Tettelin H, O'Neill SL, Eisen JA, 2004. Phylogenomics of the reproductive parasite *Wolbachia pipientis* wMel: A streamlined genome overrun by mobile genetic elements. *PLoS Biol.*, 2(3):327—341.
- Zabalou S, Apostolaki A, Pattas S, Veneti Z, Paraskevopoulos C, Livadaras I, Markakis G, Brissac T, Mercot H, Bourtzis K, 2008. Multiple rescue factors within a *Wolbachia* strain. *Genetics*, 178:2145—2160.
- Zchori-Fein E, Faktor O, Zeidan M, Gottlieb Y, Czosnek H, Rosen D, 1995. Parthenogenesis-inducing microorganisms in *Aphytis* (Hymenoptera: Aphelinidae). *Insect Mol. Biol.*, 4(3):173—178.
- Zheng Y, Ren PP, Wang JL, Wang YF, 2011. *Wolbachia*-Induced cytoplasmic incompatibility is associated with decreased *Hira* expression in male *Drosophila*. *PLoS ONE*, 6(4):e19512.
- 周丽丽, 张开军, 宋子伟, 洪晓月, 2010. 灰飞虱体内 WO 噬菌体和 *Wolbachia* 的侵染关系. *昆虫学报*, 53(9):978—984.