

一种含特异性侵染内共生菌 *Rickettsia massilia* 的烟粉虱种群建立方法

杨义婷** 张 焱 郭建洋 郭建英*** 万方浩***

(中国农业科学院植物保护研究所, 植物病虫害生物学国家重点实验室, 北京 100193)

摘 要 【目的】烟粉虱 *Bemisia tabaci* (Gennadius) 广泛分布于全球除南极洲外各大洲的 90 多个国家和地区, 其寄主范围广, 危害严重, 属于农业上的重要害虫。烟粉虱体内的内共生菌有助于其扩散传播, 提高其寄主适合度, 但其体内的内共生菌大都为次生内共生菌, 很难进行体外培养, 因此, 加大了其内共生菌研究的难度。【方法】采集我国部分地区的烟粉虱种群, 然后利用基于 mtDNA CO_{II} 基因的种特异性引物进行种群生物型鉴定, 再用内共生菌的特异性引物来鉴定含有特异性侵染内共生菌种群, 确定个体含内生菌类型后, 采取继代饲养方法建立种群。【结果】经鉴定烟粉虱的生物型为 Q 型 (MED 隐种), 经过 5 代种群筛选后, 可以建立稳定遗传的含特异性侵染内共生菌 *Rickettsia massilia* 菌的烟粉虱种群。【结论】通过本方法可以获得稳定的含有特异性侵染内共生菌 *Rickettsia massilia* 菌的烟粉虱种群。该方法对研究烟粉虱与体内内共生菌、植物三者之间以及烟粉虱体内某几种内共生菌之间的互作有重要意义, 同时也为明确烟粉虱体内 *Rickettsia* 菌的作用研究打下基础。

关键词 烟粉虱, 内共生菌, *Rickettsia massilia*, 种群建立

A method for establishing a *Bemisia tabaci* population infected with *Rickettsia massilia*

YANG Yi-Ting** ZHANG Yan GUO Jian-Yang GUO Jian-Ying*** WAN Fang-Hao***

(State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract 【Objectives】The whitefly, *Bemisia tabaci* (Gennadius), is widely distributed in over more than 90 countries and all the world's regions except Antarctica. Because of its wide host range and capacity to cause serious damage to agricultural crops this species is a particularly destructive pest. The endosymbionts of *B. tabaci* contribute both to its distribution and host fitness. However, most of these endosymbionts are secondary ones that are very difficult to culture *in vitro*. 【Methods】Whiteflies were collected and reared in a laboratory. One pair of species-specific PCR primers based on a fragment of the known mitochondrial DNA cytochrome oxidase (mtDNA CO_{II}) sequence was used to diagnose the biotype of the collected specimens. Next, a specific primer was designed to detect whitefly endosymbionts. 【Results】The biotype of the *B. tabaci* specimens collected was MED (previously called the Q biotype). After five generations of population screening, a stable whitefly population carrying and transmitting the endosymbiont *Rickettsia* to subsequent generations was established. 【Conclusion】The method can produce a stable *Rickettsia*-infected whitefly population, which is useful for studying the interactions between whiteflies, their endosymbionts, and host plants. This method lays a foundation for investigating the role of *Rickettsia* in the biology of *B. tabaci*.

Key words *Bemisia tabaci*, endosymbionts, *Rickettsia*, population establishment

* 资助项目 Supported projects: 公益性行业(农业)科研专项(201303019-02); 国家自然科学基金青年科学基金项目(31101674)

**第一作者 First author, E-mail: yitingyang12@163.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: guojy406@163.com; wanfanghao@caas.cn

收稿日期 Received: 2015-01-05, 接受日期 Accepted: 2015-01-15

烟粉虱 *Bemisia tabaci* (Gennadauius) 属半翅目 Hmioptera, 粉虱科 Aleyrodidae, 小粉虱属 *Bamisia* (刘银泉和刘树生, 2012)。田间危害主要含三个方面, 一是取食植物汁液, 引起其生理异常, 二是分泌蜜露诱发煤污病, 三是传播植物病毒, 由其造成的危害已经对我国的农业经济造成了重大的影响。研究表明, 烟粉虱体内的内共生菌在其扩散与危害过程中起了重要作用 (Himler *et al.*, 2011)。

在自然界中内生菌侵染范围广泛, 几乎所有的昆虫都含有内共生菌。在长期进化的过程中, 内共生菌与其昆虫宿主已经形成互利共生的关系。研究表明, 昆虫内共生菌可以协助宿主取食、消化与解毒 (Cardoza *et al.*, 2006; Adams *et al.*, 2009; 杨义婷等, 2014), 进而扩大宿主取食谱。昆虫内生菌可以增强昆虫自身防御病原微生物和寄生物的能力 (Currie *et al.*, 2003; Oliver *et al.*, 2003, 2010; Teixeira *et al.*, 2008; Kaltenpoth *et al.*, 2009), 也可以帮助宿主逃避天敌寄生或捕食 (Currie *et al.*, 1999, 2003; Kaltenpoth *et al.*, 2005, 2009), 调节宿主的耐热性 (Dunbar *et al.*, 2007) 和增强宿主抗药性 (Tsuchida *et al.*, 2010), 促使昆虫宿主对环境适应的能力增强。

在烟粉虱中, *Rickettsia* 菌可以提高其产卵量以及子代存活率 (Himler *et al.*, 2011)。体内含有 *Rickettsia* 菌的烟粉虱产卵量是不含 *Rickettsia* 菌的 2 倍。同时, 含有 *Rickettsia* 菌的烟粉虱具有更强的耐热性 (Brumin *et al.*, 2011)。对 MEAM1 隐种 (以往我们称之为 B 型) 而言, 含有 *Rickettsia* 菌的个体对啉虫脒、噻虫嗪、蚊蝇醚、螺甲螨酯比不含有 *Rickettsia* 菌的个体更加敏感, 但对吡虫啉和丁醚脲这两种农药的敏感性却不存在显著性差 (Kontsedalov *et al.*, 2008)。在蚜虫 *Acyrtosiphon pisum* 中, *Rickettsia* 菌可以改变其体表的颜色 (Oliver *et al.*, 2010; Tsuchida *et al.*, 2010), 增加其对瓢虫的抗性, 减少寄生蜂对其寄生 (Oliver *et al.*, 2003; von Burg *et al.*, 2008; Vorburger *et al.*, 2010), Sakurai 等 (2005) 的研究却发现 *Rickettsia*

菌可以降低蚜虫的适合度, 使得体重减轻、产卵量下降。在其他昆虫中, *Rickettsia* 菌可以诱导寄生蜂 *Pnigalio soemius* 的孤雌生殖。目前, 内共生菌在模式昆虫的相关研究比较多, 针对烟粉虱这类具有较多复合种、遗传进化复杂的昆虫的研究还不成熟, 只涉及与其生殖和体内分布有关的研究 (褚栋等, 2006; Adams *et al.*, 2009; Himler *et al.*, 2011; 杨义婷等, 2014)。在内共生菌中, *Wolbachia* 是研究的相对成熟一些, 而 *Rickettsia* 与 *Wolbachia* 的 16S rDNA 有 86% 的相似性 (Perlman *et al.*, 2006)。以上研究为继续研究烟粉虱 *Rickettsia* 菌的功能提供了借鉴。

昆虫体内的初生内共生菌一般只通过垂直传播, 而次生内共生菌既可以通过垂直传播又可以通过水平传播 (Russell *et al.*, 2003; Dale and Moran, 2006)。其中, 烟粉虱 *Bemisia tabaci* 体内的 *Rickettsia* 可以通过取食植物水平传播到其它不含有此类共生菌的昆虫体内, 但这种通过取食植物传播共生菌的方式只发生在棉花为寄主的研究中 (Frago *et al.*, 2012)。此外, 昆虫内共生菌一般存在于一个特殊的组织——菌胞中, 但在肠腔和其他组织中也有存在 (Gottlieb *et al.*, 2008)。有些肠道菌只是暂时存在肠道中, 有些却是永久的存在肠道中。通过原位杂交 (Fluorescence in situ hybridization, FISH) 技术可以了解烟粉虱体内的内共生菌分布区域 (Sakurai *et al.*, 2005; Bing *et al.*, 2014)。同时, 还发现 *Rickettsia* 菌在烟粉虱的各发育阶段都存在, 这类共生细菌分布在烟粉虱的全身并随着卵、菌胞、粪便等遗传给下一代 (Kaltenpoth *et al.*, 2009; Kikuchi *et al.*, 2009; Ohkuma and Brune, 2011)。因此, 很难从烟粉虱体内分离出来。此外, 这类内共生菌被发现不能进行体外培养, 对于这类共生菌的研究只能以烟粉虱为载体, 这就加大对这类共生菌研究的难度。

面对这一瓶颈问题, 有些学者用显微注射抗生素的方法消除烟粉虱体内的内共生菌 (张向菲等, 2012), 其原理是将抗生素注射到昆虫血腔内, 使其后代不带有内共生菌的技术手段。但烟

粉虱体型微小,注射导致烟粉虱死亡率高,同时对其会造成一定程度的物理性伤害。而大部分研究则是通过抗生素饲喂烟粉虱来消除体内内共生菌,这样会使烟粉虱体内的内共生菌 *Portiera* 和 *Hamiltonella* 消除 (Costa et al., 1997; Su et al., 2014),但其结果并不理想,而且不能建立相对稳定的无菌种群。Ruan 等 (2006) 研究发现,用抗生素福利平 Rifampicin 处理烟粉虱后,会导致烟粉虱发育迟缓,后代存活率降低。而引起这些不利于烟粉虱的生长发育的原因究竟是烟粉虱内共生菌被消除的结果还是抗生素的副作用,目前的研究尚未给出定论。

本研究是从遗传学的角度来建立稳定的含有 *Rickettsia* 菌的烟粉虱种群,通过特异性引物来检测烟粉虱种群是否含有 *Rickettsia* 菌,然后单对饲养多代以获得稳定的含有 *Rickettsia* 菌的烟粉虱种群,为日后 *Rickettsia* 菌的功能研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试虫源与寄主植物

从天津宝坻区采集野外烟粉虱种群,其植物寄主为黄瓜。在实验室的温室中进行饲养,其中光照条件为 L:D=14:10,相对湿度为 75%~85%。因前人研究发现,烟粉虱体内的 *Rickettsia* 菌可以通过取食植物水平传播到其它不含有此类共生菌的个体里,但这种通过取食植物传播共生菌的方式只发生在棉花为寄主的研究中 (Frago et al., 2012),因此,我们实验室的寄主植物选择甜瓜 (伊丽莎白),培养条件与烟粉虱的饲养条件相同。

1.2 引物设计

从我们测得烟粉虱宏基因组中找取 *Rickettsia massiliae* 的序列。然后根据此片段,运用软件 Premier5 设计出上游引物碱基序列为 5'-CGCTTCAGCAATTACCGT3'和下游引物碱基序列为 5'-GAACTACTACACCTCCAA3' (上海生工生物工程技术有限公司协助合成),引物

扩增片段大小为 254 bp。

1.3 烟粉虱种群的筛选

待种群量相对较大时,选取出若干烟粉虱于显微镜下观察辨别雌雄。取已长出两片真叶的甜瓜苗 *Cucumis melo*,用微型养虫笼夹在甜瓜苗的叶片上,用吸虫管吸取雌雄烟粉虱各一头,接于微型养虫笼的下养虫室,即甜瓜叶片的背面。

3~4 d 过后,用自制吸虫器将微型养虫笼的烟粉虱取出。将甜瓜放在大型养虫笼生长,其中光照条件为 L:D=14:10,相对湿度为 75%~85%。取出微型养虫笼的烟粉虱,单头提取 DNA,然后利用 PCR 方法对其 DNA 进行分子鉴定,利用烟粉虱生物型和内共生菌鉴定引物,鉴定生物型和种群内共生菌情况。待烟粉虱羽化后,取同一养虫笼里的雌雄烟粉虱,重复上述步骤。连续重复上述单头饲养方法并纯化烟粉虱种群 5 代。

1.4 烟粉虱 DNA 的提取

吸取 10 μ L 加 Proteinase K 的裂解液,滴于封口膜上,用灭菌 0.2 mL PCR 管管底将从微型养虫笼吸出的烟粉虱单头在裂解液中充分匀浆,将匀浆液吸入 1.5 mL 进口离心管中。再吸取 15 μ L 裂解液清洗封口膜研磨烟粉虱处清洗 1 次,吸取清洗液与匀浆液合并。提取液金属浴 65 $^{\circ}$ C (PCR 仪) 30 min 以上,简易离心机短暂离心;金属浴 96 $^{\circ}$ C 10 min 以灭活蛋白酶 K,短暂离心,该提取液即为烟粉虱的 DNA。其中裂解液的配方:先配备 0.05 mol/L Tris-HCL (pH8.4),配好后灭菌后,加入 KCl:0.3782 g,0.45% Tween 20:450 μ L,0.45% NP 40:450 μ L,0.2% gelatin (明胶):0.2 g。全部加好后置于 4 $^{\circ}$ C 冰箱过夜,用于提取时再按比例加入 Proteinase K 8 mg (按浓度换算成 80 μ g/mL),配置完成。

1.5 烟粉虱生物型和其体内 *Rickettsia* 菌的 PCR 检测

烟粉虱生物型的检测,以烟粉虱的 DNA 为模板,进行 PCR 扩增,其中,反应体系:2 $\times$ Trans

PCR Mix 为 12.5 μL , MED 上游引物为 0.5 μL , MED 下游引物为 0.5 μL , MEAM1 上游引物为 0.5 μL , MEAM1 下游引物为 0.5 μL , DNA 模板为 2 μL , 无菌纯水为 8.5 μL 。扩增程序: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 2 min, 35 个循环: 94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 64 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 72 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。其中 MED 隐种的上游引物 5'CTTGTAACCTCTTCTGTAGATGTGTGTT 3'和 5'CCTTCCCGCAGAAGAAATTTTGTTTC 3'; MAEM1 隐种 mtDNA CO I 基因片段 PCR 扩增特异性引物分别为 5'CTAGG GTTTATTGTTTGAGGT CATCATATATTC3'和 5'AATATCGACGAGGCAT TCCCCCT 3' (潘慧鹏等, 2010)。

对于 *Rickettsia* 菌的检测, 用得到的烟粉虱 DNA 为模板, 进行 PCR 扩增, 其中, 反应体系: 2 $\times$ Trans PCR Mix 为 12.5 μL 、上游引物为 0.5 μL 、下游引物为 0.5 μL 、DNA 模板为 2.0 μL 、无菌纯水为 9.5 μL 。扩增程序: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min, 35 个循环: 94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 52 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。扩增反应在 ABI-9700 PCR 基因扩增仪上运行。每次 PCR 都设置阳性对照和阴性对照, 避免错误。取 5 μL PCR 扩增产物在 1.0% (质量) 琼脂糖 (amresco) 凝胶上, 110 V 电泳 (Bio-Rad-PowerPac Basic) 分离 30 min, 然后以 GelDoc Universal Hood II 型凝胶成像系统 (Bio-Rad Laboratories) 分析电泳结果。

2 结果与分析

2.1 烟粉虱 *Rickettsia massiliae* 引物的特异性

以烟粉虱宏基因组的序列为模板, 设计出的特异性引物 *R. massiliae* 进行 PCR 扩增。得到 PCR 产物在上海生工进行测序, 得到的序列在 NCBI 库里比对, 比对结果显示是属于 *Rickettsia* 属。其中, 测序得到的序列片段如下: TCCCAGTCCAGAGGTCATTATATTTTCTTATTTACAGCAAATCGCCTTAACAATAGGAAATATAAGTTTAGAAACGACTTTTATAGAGTTAGTTAATGATGGTCTTATGACTTTCTTCTTCCTATTAATAGGTTTAGAAATGAAATTTTCATTTAGTAGAAGGTGAATACAAAATAAAAGAAAATTAGTATTACCTATGGCGGCAGCACTTGGAGGTGTAGTAGTTCAAAC。

2.2 烟粉虱生物型检测结果

对于野外采集的烟粉虱种群经 PCR 鉴定, 其生物型为 Q 型 (MED 隐种), 检测结果如图 1。

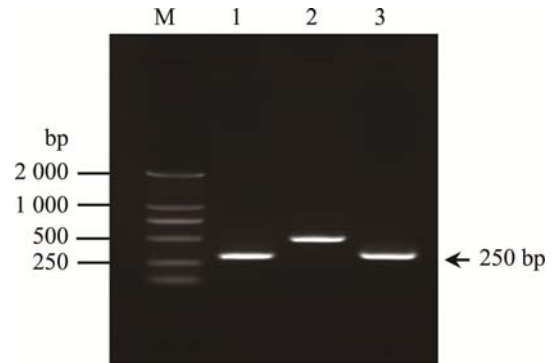


图 1 烟粉虱生物型分子检测

Fig. 1 PCR detection of biotype in *Bemisia tabaci*

M: DNA marker; 1, 2: 烟粉虱生物型 Q 型和 B 型的阳性

对照; 3: 烟粉虱种群生物型检测结果为 Q 型。

M: Marker; Lanes 1-2: Positive control of the 16S rDNA gene of Q and B biotypes, respectively; Lanes 3: Detection of the 16S rDNA gene of *B. tabaci* of biotype Q.

2.3 种群建立鉴定结果

对每代烟粉虱的 DNA 进行 PCR 检测, 检测结果如图 2, 结果表明, 连续 5 代饲养获得的种群分别为含有 *R. massiliae* 和不含 *R. massiliae* 的种群。

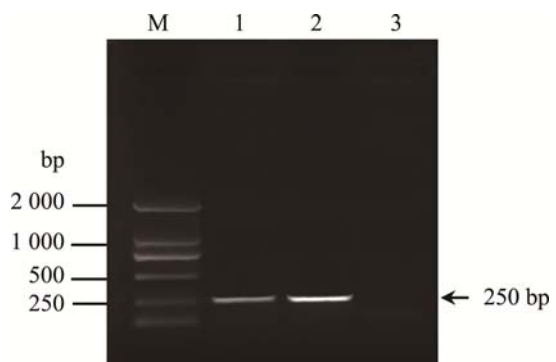


图 2 烟粉虱次生内共生菌 *Rickettsia massiliae* 的分子检测
Fig. 2 PCR detection of *Rickettsia massiliae* in *Bemisia tabaci*

M: DNA marker; 1: 烟粉虱 *R. massiliae* 的阳性对照; 2, 3: 含有 *R. massiliae* 和不含 *Ri. massiliae* 的烟粉虱。

M: Marker; Lanes 1: Positive control of the 16S rDNA gene of *R. massiliae* in *Bemisia tabaci*; Lanes 2-3: Detection of the 16S rDNA gene of *R. massiliae* in *B. tabaci*, respectively.

3 讨论

研究烟粉虱与其内生菌互作关系,必须建立含有特异性侵染内共生菌的种群。而烟粉虱体内的次生内共生菌在全部的细胞内都有分布,使得它不容易从烟粉虱体内分离出来,同时,这类内共生菌又不能进行体外培养,也加大了对烟粉虱内共生菌功能研究的难度。目前,对烟粉虱内共生菌功能的研究都是借助于饲喂或是显微注射抗生素的方法。抗生素处理有可能本身就对烟粉虱虫体有伤害,显微注射的操作难度高,容易对昆虫造成物理损伤。这些不定因素会影响次内共生菌功能研究结果。以浅黄恩蚜小蜂 *Encarsia pergandiella* 为例, Hunter 等(2003)研究表明 *Cardinium* 菌可以引起其细胞质不亲和(Cytoplasmic incompatibility, CI);而 White 等(2009)用抗生素处理后获得的无菌浅黄恩蚜小蜂种群进行实验,发现 *Cardinium* 菌不能引起其细胞质不亲和(CI),引起细胞质不亲和是由于 *Wolbachia* 菌的存在。因此,急需稳定的建立特异性侵染某一种内共生菌的昆虫种群的方法。

烟粉虱体内的 *Rickettsia* 菌既可以发生垂直传播又可以进行水平传播(Russell *et al.*, 2003; Dale and Moran, 2006; Oliver *et al.*, 2010)。本实验通过 *Rickettsia* 菌可以通过垂直传播这一遗传特性来展开。通过这种种群筛选的方法筛选出来的含有 *Rickettsia* 菌的烟粉虱种群和不含 *Rickettsia* 菌的烟粉虱种群,其体内内共生菌稳定,这种方法实施起来也比较简单,不像抗生素饲喂处理,对剂量要求严格;也不像显微注射对技术要求高。这种方法有利于我们对 *Rickettsia* 进行更加深入的研究。同时,这种种群筛选的方法也可以为其他不能体外培养的内共生菌的功能研究提供借鉴。

参考文献 (References)

Adams AS, Currie CR, Cardoza Y, Klepzig KD, Raffa KF, 2009. Effects of symbiotic bacteria and tree chemistry on the growth and reproduction of bark beetle fungal symbionts. *Can. J. Forest Res.*, 39(6): 1133–1147.

Bing XL, Xia WQ, Gui JD, Yan GH, Wang XW, Liu SS, 2014. Diversity and evolution of the *Wolbachia* endosymbionts of *Bemisia* (Hemiptera: Aleyrodidae) whiteflies. *Ecol. Evol.*, 4(13): 2714–2737.

Brumin M, Kontsedalov S, Ghanim M, 2011. *Rickettsia* influences thermotolerance in the whitefly *Bemisia tabaci* B biotype. *Insect Sci.*, 18(1): 57–66.

Cardoza YJ, Klepzig KD, Raffa KF, 2006. Bacteria in oral secretions of an endophytic insect inhibit antagonistic fungi. *Ecol. Entomol.*, 31(6): 636–645.

Costa HS, Henneberry TJ, Toscano NC, 1997. Effects of antibacterial materials on *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) oviposition, growth, survival, and sex ratio. *J. Econ. Entomol.*, 90(2): 333–339.

Currie CR, Bot ANM, Boomsma JJ, 2003. Experimental evidence of a tripartite mutualism: bacteria protect ant fungus gardens from specialized parasites. *Oikos*, 101(1): 91–102.

Currie CR, Scott JA, Summerbell RC, Malloch D, 1999. Fungus-growing ants use antibiotic-producing bacteria to control garden parasites. *Nature*, 398: 701–704.

Dale C, Moran NA, 2006. Molecular interactions between bacterial symbionts and their hosts. *Cell*, 126(3): 453–465.

Dunbar HE, Wilson ACC, Ferguson NR, Moran NA, 2007. Aphid thermal tolerance is governed by a point mutation in bacterial symbionts. *PLoS Biol.*, 5(5): e96.

Frago E, Dicke M, Godfray HJ, 2012. Insect symbionts as hidden players in insect-plant interactions. *Tren. Ecol. Evol.*, 27(12): 705–711.

Gottlieb Y, Ghanim M, Gueguen G, Kontsedalov S, Vavre F, Fleury F, Zchori-Fein E, 2008. Inherited intracellular ecosystem: symbiotic bacteria share bacteriocytes in whiteflies. *FASEB J.*, 22(7): 2591–2599.

Himler AG, Adachi-Hagimori T, Bergen JE, Kozuch A, Kelly SE, Tabashnik BE, Chiel E, Duckworth VE, Dennehy TJ, Zchori-Fein E, Hunter MS, 2011. Rapid spread of a bacterial symbiont in an invasive whitefly is driven by fitness benefits and female bias. *Science*, 332(6026): 254–256.

Hunter MS, Perlman SJ, Kelly SE, 2003. A bacterial symbiont in the Bacteroidetes induces cytoplasmic incompatibility in the parasitoid wasp *Encarsia pergandiella*. *Proc. R. Soc. Lond. B.*, 270(1529): 2185–2190.

Kaltenpoth M, Gottler W, Herzner G, Strohm E, 2005. Symbiotic bacteria protect wasp larvae from fungal infestation. *Curr. Biol.*, 15(5): 475–479.

Kaltenpoth M, Winter SA, Kleinhammer A, 2009. Localization and transmission route of *coriobacterium glomerans*, the

- endosymbiont of *pyrrhocorid* bugs. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 69(3): 373–383.
- Kontsedalov S, Zchori-Fein E, Gottlieb Y, Inbar M, 2008. The presence of *Rickettsia* is associated with increased susceptibility of *Bemisia tabaci* (Homoptera:Aleyrodidae) to insecticides. *Pest Manag. Sci.*, 64(8): 789–792.
- Kikuchi Y, Hosokawa T, Nikoh N, Meng XY, Kamagata Y, Fukatsu T, 2009. Host-symbiont co-speciation and reductive genome evolution in gut symbiotic bacteria of acanthosomatid stinkbugs. *Bmc Biol.*, 7:2.
- Liu YQ, Liu SS, 2012. Species status of *Bemisia tabaci* complex and their distributions in China. *Journal of Biosafety.*, 21(4) : 247–255.[刘银泉, 刘树生, 2012. 烟粉虱的分类地位及在中国的分布. 生物安全学报. 21(4) : 247–255.]
- Ohkuma M, Brune A, 2011. Diversity, Structure, and evolution of the termite gut microbial community. *Biology of Termites: A Modern Synthesis*. Springer Netherlands. 413–438.
- Oliver KM, Degan PH, Burke GR, Moran NA, 2010. Facultative symbionts in aphids and the horizontal transfer of ecologically important traits. *Annu. Rev. Entomol.*, 55: 247–266.
- 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: 18031807.
- Pan HP, Ge DQ, Wang SL, Wu QJ, Xu BY, Xie W, Zhang YJ, 2010. Replacement of B biotype *Bemisia tabaci* by Q biotype *B. tabaci* in some areas of Beijing and Hebei. *Plant Protection.*, 36(6): 40–44. [潘慧鹏, 戈大庆, 王少丽, 吴青君, 徐宝云, 谢文, 张友军, 2010. 在北京和河北局部地区 Q 型烟粉虱取代了 B 型烟粉虱. 植物保护, 36(6): 40–44.]
- Perlman SJ, Hunter MS, Zchori-fein E, 2006. The emerging diversity of *Rickettsia*. *Proc. R. Soc. Lond. B.*, 273(1598): 2097–2106.
- Ruan YM, Xu J, Liu SS, 2006. Effects of antibiotics on fitness of the B biotype and a non-B biotype of the whitefly *Bemisia tabaci*. *Entomol. Exp. Appl.*, 121(2): 159–166.
- Russell JA, Latorre A, Sabater-Munoz B, Moya A, Moran NA, 2003. Side-stepping secondary symbionts: widespread horizontal transfer across and beyond the *Aphidoidea*. *Mol. Ecol.*, 12(4): 10611075.
- Sakurai M, Koga R, Tsuchida T, Meng XY, Fukatsu T, 2005. *Rickettsia* symbiont in the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*: novel cellular tropism, effect on host fitness, and interaction with the essential symbiont *Buchnera*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71(7): 4069–4075.
- Su Q, Xie W, Wang SL, Wu QJ, Liu BM, Fang Y, Xu BY, Zhang YJ, 2014. The endosymbiont *hamiltonella* increases the growth rate of its host *Bemisia tabaci* during periods of nutritional stress. *PLoS ONE*, 9(2): e89002.
- Teixeira L, Ferreira A, Ashburner M, 2008. The bacterial symbiont *Wolbachia* induces resistance to RNA viral infections in *Drosophila melanogaster*. *PLoS Biol.*, 6(12): 2753–2763.
- Tsuchida T, Koga R, Horikawa M, Tsunoda T, Maoka T, Matsumoto S, Simon JC, Fukatsu T, 2010. Symbiotic bacterium modifies aphid body color. *Science*, 330(6007): 11021104.
- Von Burg S, Ferrari J, Muller CB, Vorburger C, 2008. Genetic variation and covariation of susceptibility to parasitoids in the aphid *Myzus persicae*: no evidence for trade-offs. *Proc. R. Soc. B. Sci.*, 275(1802): 10891094.
- Vorburger C, Gehrler L, Rodriguez P, 2010. A strain of the bacterial symbiont *Regiella insecticola* protects aphids against parasitoids. *Biol. Lett.*, 6(1): 109–111.
- White JA, Kelly SE, Perlman SJ, Hunter MS, 2009. Cytoplasmic incompatibility in the parasitic wasp *Encarsia inaron*: disentangling the roles of *Cardinium* and *Wolbachia* symbionts. *Heredity*, 102: 483–489 .
- Yang YT, Guo JY, Long CY, Liu H, Wan FH, 2014. Advances in endosymbionts and their functions in insects. *Acta Entomologica Sinica*, 57(1): 111–122. [杨义婷, 郭建洋, 龙楚云, 刘怀, 万方浩, 2014. 昆虫内共生菌及其功能研究进展. 昆虫学报, 57(1): 111–122.]
- Zhang XF, Zhao DX, Hong XY, 2012 . Establishment of singly *Wolbachia* and singly *Cardinium*-infected whitebacked planthopper (*Sogatella furcifera*) lines by microinjecting penicillin G. *Acta Entomologica Sinica*, 55 (7): 782–789. [张向菲, 赵冬晓, 洪晓月, 2012. 显微注射青霉素 G 获得单感染 *Wolbachia* 和单感染 *Cardinium* 白背飞虱品系. 昆虫学报, 55 (7) : 782–789.]