植物保护学报 Journal of Plant Protection, 2016, 43(6): 881 - 891 DOI: 10.13802/j.cnki.zwbhxb.2016.06.001

昆虫内共生菌 - 昆虫 - 植物互作关系研究进展

李 迁[1,2] 范 佳[1] 孙京瑞[1] 王满囷[2] Frederic Francis[3] 陈巨莲[1*]

(1. 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; 2. 华中农业大学植物科技学院, 武汉 430070; 3. 比利时列日大学让布鲁农业生物技术学院, Gembloux 25030)

摘要: 在长期的协同进化过程中,昆虫与其体内的共生菌建立了密切的互利共生关系。昆虫内共生菌不仅能调控宿主昆虫的营养代谢和生殖代谢,还能协助昆虫抵御生物、非生物胁迫,提高昆虫对化学农药的抗性及对寄主植物的适应性等。因此,内共生菌是宿主昆虫生长发育及适应性的重要调控因子。目前,随着组学技术的不断发展,内共生菌在宿主昆虫和寄主植物中的原位功能不断被挖掘,通过对内共生菌 - 昆虫 - 植物互作模型的研究,将进一步揭示昆虫内共生菌与昆虫、植物的互作机理,加深对昆虫适应性机制的理解并推进新型害虫防控和靶标技术的研发。本文就昆虫内共生菌的起源、特点、分布和传递,昆虫内共生菌在昆虫 - 植物 - 环境互作中的作用,以及昆虫内共生菌研究的方法和新技术等方面进行了综述,并对未来昆虫内共生菌介导的防御效应及昆虫适应性机理等热点问题进行了展望。

关键词: 昆虫内共生菌; 共生关系; 功能; 互作机理

Research progress in the interactions among the plants, insects and endosymbionts

Li Qian[1,2] Fan Jia[1] Sun Jingrui[1] Wang Manqun[2] Frederic Francis[3] Chen Julian[1*]

(1. State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China; 2. College of Plant Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, Hubei Province, China; 3. Functional and Evolutionary Entomology, Gembloux Agricultural-Biotechnology, University of Liege, Gembloux 25030, Belgium)

Abstract: With the long-term co-evolutionary process, insects and their endosymbionts established a close mutualistic relationship. The resident endosymbionts could facilitate their host to regulate nutrition and reproductive metabolism, defense the pressure from biotic and abiotic factors, and enhance their insecticide resistance and adaptation to plants. Thus, the endosymbionts are the essential regulator of insect development and adaptation. At present, with the development of "-omics" technology, some *in-situ* function of symbionts between host insects and plants have been excavated gradually. The interaction model study of endosymbiont-insect-plant will further reveal the mutualistic mechanisms between symbionts, insects and plants. It not only deepens our understanding of insect adaptive mechanism but also promotes new control methods and target technology against insect pests. A review was given on the characters, distribution and transmission, function of symbionts and related new methods and techniques. Finally, a comprehensive summary of the research and future research directions including anti-host plant resistance and insect adaptability mechanism were made.

基金项目: 国家中比国际科技合作专项(2014DFG32270),国家自然科学基金(31371946),中国农业科技创新工程项目

* 通讯作者(Author for correspondence), E-mail: jlchen@ippcaas.cn

收稿日期: 2015 - 12 - 22

Key words: endosymbiont; symbiosis; function; interaction mechanism

昆虫与内共生菌的互作关系在自然界普遍存在(Douglas,1998),几乎所有昆虫都含有内共生菌。1850 年,Leydig 首次在蚜虫体内发现了一种生活在体腔内的特殊巨型细胞(Leydig,1850),从此开启了研究共生菌与昆虫相互关系的大门(彩万志,1990)。在长期的协同进化过程中,昆虫与其体内共生菌形成了密切的互利共生关系(吕仲贤等,2001)。昆虫为共生菌提供稳定的小生境并共享某些代谢途径,而内共生菌不仅能为宿主昆虫提供多种必需营养物质(Birkle et al.,2002;Douglas,2006),保护病毒在昆虫体内免遭降解,促进循环性病毒传播(van den Heuvel et al.,1994),抵御病原微生物侵染(Su et al.,2015),降低宿主被寄生性天敌寄生的风险(Cayetano & Vorburger,2013;Vorburger,2014),还通过调节宿主耐热性和抗药性、改变体色等途径提高昆虫对环境的适合度(Chen et al.,2000;Oliver et al.,2010;Tsutomu et al.,2010)。因此内共生菌被认为是调控宿主昆虫新陈代谢及生物学性状的重要因子之一。

近年来,昆虫内共生菌的研究逐渐成为热点。清除内共生菌前后昆虫表型宏观现象的改变成为研究昆虫内共生菌的主要切入点,同时随着组学技术的不断进步,极大地促进了内共生菌与宿主昆虫共生机制研究的发展。然而,当前关于昆虫内共生菌-昆虫-植物三者互作模型的研究较少,昆虫在抵御寄主植物防御反应所带来的选择压时,内共生菌是否参与介导或协助宿主昆虫反寄主植物防御效应依旧未知。因此,对昆虫内共生菌、昆虫与植物三者之间互作关系进行综述,不仅有利于明确昆虫内共生菌的原位生态功能,加深昆虫对寄主植物适应性的理解,同时也为提高植物抗虫新思路及防治害虫新策略——"抑菌防虫"提供一定的理论支撑。

1 昆虫内共生菌的概况

1.1 内共生菌的起源、种类和特点

内共生菌是由一个自由的有机体演变而来,其结构及功能与线粒体、叶绿体相似,与昆虫的共生关系可追溯到 2~2.5 亿年前,在宿主昆虫体内逐渐进化成一个类细胞器的结构,含有与宿主完全不同的核酸、蛋白质合成系统,且不受宿主免疫系统的抵御,正是因为这种长期的协同进化过程,才最终形成了稳定的、可遗传的共生系统。

昆虫内共生菌主要包括酵母类、真菌和细菌类,多属于变形菌门 Proteobacteria 变形菌纲和厚壁菌门 Firmicutes 柔膜菌纲等。昆虫内共生菌种类的多样性是影响其对寄主植物和环境条件适应性的重要因素。目前已报道的蚜虫内共生菌的种类主要有初级共生菌布赫纳氏菌 *Buchnera aphidicola* 和若干次级共生菌,如沙雷氏菌 *Serratia symbiotica*、立克次氏体 *Rickettsia* spp.、沃尔巴氏菌 *Wolbachia* spp.、U 型共生肠杆菌 *Regiella insecticola*、T 型共生肠杆菌 *Hamiltonella defensa* 等;褐飞虱 *Nilaparvata lugens* (Stål)体内的初级共生菌主要属于类酵母菌(yeast-like symbiont,YLS)的 *Candida* 属(吕仲贤等,2001),而烟粉虱 *Bemisia tabaci* (Gennadius)体内除了含有初级共生菌 *Portiera aleyrodidarum* 之外也检测到立克次氏体、沃尔巴氏菌、T 型共生肠杆菌 *H. defensa*(Jiang et al.,2012),因此昆虫内共生菌的种类具有特殊性及普遍性。而相对于自由生活的真菌和细菌,昆虫内共生菌具有独特的遗传性状,如较小的基因组和较高的(A+T)含量(Clark et al.,2000)。由于其部分生物进程的基因高度缺失,因此决定了内共生菌对宿主细胞的依赖性,导致大部分内共生菌无法在宿主昆虫体外进行离体培养。研究昆虫与内共生菌的关系不仅能揭示内共生菌的功能,同时对于理解生物间关系的演化及细胞器起源与进化等都有重要意义。

1.2 内共生菌的分布和传递

根据其生物学和进化史,昆虫内共生菌可分为初级共生菌和次级共生菌(Dale & Moran,2006)。不同昆虫其体内共生菌的分布不同,在所有蚜虫体内,初级共生菌布赫纳氏菌因其独特性被局限于血腔中特化的含菌细胞里(Baumann et al.,2006),菌胞体积随着蚜虫的发育不断增大。豌豆蚜 *Acyrthosiphon pisum* 经过若蚜阶段后,含菌细胞的体积增长了 8 倍,细胞质体积的 60% 被共生菌占据(Smith & Douglas,1987)。而次级共生菌因其发生概率低很难寄生在宿主专一组织中,可以感染或随宿主昆虫的发育转移到细胞外的其它组织,例如蚜虫次级共生菌分布于菌胞周围的鞘细胞中,或分散或聚集于血腔中,在脂肪体细胞和缺失布赫纳氏菌的含菌细胞中也偶有发现(Fukatsu et al.,2000);寄生蜂体内存在大量的内共生菌,被公认为是共生菌传播的带菌者(Werren et al.,1995),其中沃尔巴氏菌分布最

广，在寄生蜂中的感染率高于其它昆虫类群，主要存在于生殖组织的细胞质中；大量电子显微镜及荧光原位杂交观察结果表明，褐飞虱内共生菌主要分布于腹部脂肪体的含菌细胞内，表皮上也有少量的分布，但在头部和胸部没有发现共生菌（陈法军等，2005）；烟粉虱体内的次级共生菌立克次氏体分布于宿主的体腔中，而实蝇的次级共生菌在幼虫阶段主要分布于中肠外的突囊中，羽化出成虫后，则转移到头部的食道球内（柳丽君等，2011）；还有些共生菌分布在昆虫的肠道里，成为昆虫肠道系统中重要的一部分，如舞毒蛾 *Lamantria dispar*、棉铃虫 *Helicoverpa armigera*、家蚕 *Bombyx mori* 等的中肠内的门肠球菌 *Proteobacteria*（Broderick et al.，2004；相辉等，2007）。

共生菌在昆虫体内的传播方式主要分为垂直传播和水平传播。在蚜虫体内局限于含菌细胞中的初级共生菌布赫纳氏菌通过雌蚜的卵细胞或细胞质垂直传递给后代（Baumann，2005；Gruwell et al.，2012）；褐飞虱体内共生菌利用肌动纤维蛋白介导的卵巢传递方式，随血淋巴流经卵巢管柄的上皮鞘时其被含菌细胞包被，并通过细胞包吞作用进入卵原母细胞传递给后代（Yukuhiro et al.，2014）。而次级共生菌既能通过受精卵或胚胎进行垂直传递，也能通过个体间的接触侵染甚至寄生性天敌的间接作用进行水平传递，相关研究表明烟粉虱体内的次级共生菌沃尔巴氏菌和蚜虫体内的次级共生菌 U 型共生肠杆菌 *R. insecticola* 可通过寄生蜂的产卵管在不同个体之间进行转染（Gehrer & Vorburger，2012；Ahmed et al.，2015）。但考虑到次级共生菌其特殊的分布方式和感染概率低的事实，水平传递可能是其主要传播途径（Haynes et al.，2003）。

2 昆虫内共生菌的作用

de Bary 在 1879 年首次定义了共生关系（symbiosis），用来描述 2 种或更多不同物种彼此互利的生活在一起的紧密关系（de Bary，1879），在自然界中存在大量的共生案例（Sapp，2002）。在长期的协同进化过程中，昆虫与内共生菌形成了稳定的互惠共生关系，也许正是这些共生关系推动了多细胞生物的进化（Taylor，1979）。昆虫内共生菌在昆虫、植物与环境的互作关系中具有重要的作用。

2.1 调控宿主昆虫的营养物质代谢

植食性昆虫仅通过取食植物汁液很难满足其自身生长发育的需求，而内共生菌的存在能弥补其饮食营养的不平衡。大量研究表明蚜虫体内的初级共生菌布赫纳氏菌能为宿主提供多种必需氨基酸（Douglas，1998；苗雪霞和丁德诚，2003）。早期研究人员通过营养缺失试验发现豌豆蚜能够在缺失必需氨基酸色氨酸的人工饲料中正常生长超过 2 代，但利用抗生素清除内共生菌后的豌豆蚜在子一代幼虫即出现死亡现象；同时，收集饲养在不含色氨酸的正常豌豆蚜蜜露后发现蜜露中含有 0.32 mmol/L 的色氨酸（Douglas & Prosser，1992），意味着内共生菌能够为蚜虫合成所缺失的必需氨基酸。随着分子生物学技术的不断发展，豌豆蚜全基因组序列的测定也揭示了布赫纳氏菌作为某些必需氨基酸的“捐赠者”与蚜虫共享某些代谢途径（Morgan et al.，2010）。Wilkinson & Ishikawa（2001）对褐飞虱体内共生菌的功能进行研究，发现脱共生后的褐飞虱体内总蛋白含量降低了 10%，游离氨基酸水平增加了 1.4 倍，说明共生菌能利用昆虫体内游离氨基酸为其合成蛋白质。大量研究还表明，内共生菌不仅为昆虫提供必需氨基酸，还能通过一系列的生化作用为昆虫提供脂类和维生素（Dadd，1985；Kerkut & Gilbert，1985；Douglas，1998）。因此，内共生菌在昆虫营养物质调控中扮演着重要的角色。

2.2 调控宿主昆虫的生殖代谢

共生菌作为生殖调控因子在自然界广泛存在。如沃尔巴氏菌，全球大约 65% 的昆虫种群受其感染（Duron et al.，2008；Hilgenboecker et al.，2008）。该类共生菌通过调控宿主生殖来增加自己在种群中的母系垂直传播效率，主要通过诱导胞质不亲和使感染与未感染的雌虫产生生殖差异，改变后代性比；还可通过孤雌生殖或杀雄作用来提高后代雌虫比例，影响种群动态（Clark et al.，2008）。Bian et al.（2013）在全球范围内首次使传播疟疾的主要媒介斯氏按蚊 *Anopheles stephensi*（Liston）与沃尔巴氏菌形成稳定的共生关系，利用沃尔巴氏菌诱导胞质不亲和的能力，通过胚胎注射技术人工诱导出绝育雄蚊，与野生雌蚊交配产的卵难以正常孵化，从而显著降低其传播人类疟疾病原体的能力。在日本，三叶斑潜蝇 *Liriomyza trifoliiji* 及二星大丽瓢虫 *Adalia bipunctata* 体内的立克次氏体能诱导雄虫的死亡（Werren et al.，1994）。此外，近年来其它几种生殖调控型共生菌的发现也引起了广泛的关注，如屈挠杆菌 *Cardinium*、肠杆菌 *Arsenophonus*、拟杆菌 *Flavobacterium* 和柔膜菌 *Spiroplasma*，这些共生菌在宿主昆虫体内发挥着和沃尔巴氏菌、立克次氏体相似的生

殖调控作用(徐超,2013)。这类共生菌的传播能够快速削弱昆虫种群的遗传多样性,因此利用共生菌对宿主的生殖调控可以作为害虫防治的新思路。

2.3 调节宿主昆虫对环境的适应性

昆虫在自然界中通过物质交换和能量代谢的方式与环境紧密联系,并在长期进化过程中形成了对环境的适应性。昆虫的生长发育等一系列生命活动均受环境条件的影响,其中以温度对昆虫的影响最大。目前,关于昆虫内源微生物影响宿主环境适应性的研究很多,其中以内共生菌对昆虫耐热性的影响研究最多。如蚜虫的最适生长温度为 20℃,其耐高温能力很差(Dean,1974;宫亚军等,2006),通过选择性热处理,如夏季高温时期及沙漠等高温地点,蚜虫体内共生菌感染率提高(Harmon et al.,2009);标准条件下,体内被注射次级共生菌沙雷氏菌后的蚜虫生长温度阈值范围变大(Chen et al.,2000),39℃热激 2 h 处理后,感染沙雷氏菌的蚜虫繁殖力虽下降到 50% 左右但仍显著高于未受感染蚜虫的 7%(Montllor et al.,2002;Oliver et al.,2010)。Brumin et al.(2011)发现烟粉虱在受到 25、32、37、40℃处理后,体内次级共生菌立克次氏体数量逐渐增加,且未感染立克次氏体的种群死亡率随着温度升高而显著高于感染立克次氏体的种群,同时立克次氏体能诱导烟粉虱体内耐热基因产物的大量表达。而在高温季节,家蚕追寄蝇 *Exorista sorbillans* 经过高温处理清除体内共生菌沃尔巴氏菌后,雌蝇产卵量与孵化率都显著下降,推测沃尔巴氏菌能提高宿主昆虫对不良环境的适应性(Guruprasad et al.,2011)。因此,对于处于不利温度等环境选择压力下的昆虫种类,可能共生菌作为一种“调节者”与宿主昆虫形成的共生体具有在逆境条件下的进化优势(单红伟等,2016),从而提高了昆虫对不良环境的适应性。

2.4 调节宿主昆虫对生物胁迫的抵御能力

昆虫在自然界会受到捕食者的捕食、寄生性天敌的寄生及病原微生物的侵染,而内共生菌在昆虫防御生物胁迫方面具有重要作用。自从 Oliver et al.(2005)根据次生共生菌能导致蚜虫寄主防御寄生蜂的攻击而首先提出了“共生菌介导抗性(symbiont-mediated resistance)”的概念以来,在共生菌对宿主昆虫表型性状的影响方面已有大量研究报道,主要表现在为宿主抵御天敌危害等方面,包括抵御病原物(Su et al.,2015)、寄生蜂(Cayetano & Vorburger,2013;Vorburger,2014)、捕食性瓢虫(Ferrari et al.,2004;Gerardo & Parker,2014)等。Oliver et al.(2003)首次描述了蚜虫体内 2 种次级共生菌 T 型共生肠杆菌 *H. defensa* 和沙雷氏菌能够提高宿主对蚜茧蜂的抵御能力,随后研究人员又发现 U 型共生肠杆菌 *R. insecticola* 也具有相同的功能(Oliver et al.,2010;Vorburger et al.,2010),在这十几年里,大量研究证实共生菌介导的宿主昆虫抵御生物胁迫的抗性是一种非常重要和普遍的现象(Duron & Hurst,2013)。虽然次级共生菌并不能显著降低蚜虫的寄生率,但 *H. defensa* 却能编码一种毒蛋白基因(Degnan & Moran,2005;Moran et al.,2008),通过提高幼虫的死亡率从而间接提高蚜虫对寄生蜂的抗性,降低了被寄生的风险(Oliver et al.,2009)。然而病原菌的侵染也是造成昆虫死亡的重要因素之一。最新研究发现,沃尔巴氏菌增强了果蝇及其它双翅目昆虫抵御 RNA 病毒的能力(Hedges et al.,2008),通过给果蝇显微注射沃尔巴氏菌后能够减少因果蝇 C 病毒(*Drosophila C virus*, DCV)造成的死亡数(Brownlie & Johnson,2009),同时感染沃尔巴氏菌的果蝇后代携带病毒的概率显著降低(Glaser & Meola,2010)。含有 U 型共生肠杆菌 *R. insecticola* 的蚜虫能够降低被真菌孢子寄生的概率,从而提高其存活率(Scarborough et al.,2005)。自然条件下,体色作为生物的第一道视觉屏障是重要的生态适应性特征,涉及到生物种类识别、性别选择、拟态、警戒色等(Ruxton et al.,2004;Gilburn,2011)。生态学研究表明瓢虫等捕食性天敌倾向于取食绿色植物上的红色蚜虫(Losey et al.,1997),而蚜茧蜂等寄生性天敌却倾向于寄生绿色蚜虫(Libbrecht et al.,2007)。早期的研究发现蚜虫体色的变化是由遗传决定的(Takada,1981),然而最近研究却表明蚜虫体内次级共生菌立克次氏体能影响幼蚜的体色,在若蚜期表现为红色,发育至成蚜后变为绿色,因此能保护幼蚜免受捕食(Tsutomu et al.,2010)。同时,立克次氏体常与其它能够提高蚜虫对寄生性天敌的抗性的 T 型共生肠杆菌 *H. defensa* 或沙雷氏菌共存(Oliver et al.,2003),因此缓和了因体色改变导致寄生概率增高的风险。尽管共生菌介导的抗性机理仍不是很清楚,但可以推测共生菌可能通过在昆虫体内占据一种生态位阻止其它病原物的入侵,同时还可以作为一种“免疫启动子”激发昆虫免疫系统来达到保护宿主的目的(Toenshoff et al.,2012)。

2.5 提高宿主昆虫对化学农药的抗性

内共生微生物在宿主对杀虫剂解毒方面也有着极其重要的作用。相关研究表明,受到高浓度药剂

胁迫后，昆虫内共生菌含量迅速增加（Singh et al.，2005；Tago et al.，2006），感染伯克氏菌 *Burkholderia* 的点蜂缘蝽 *Riptortus pedestris* 三龄幼虫取食有机磷农药包裹的大豆种子后存活率显著高于未感染的对照组，该内共生菌可将有机磷农药水解成具有低杀虫活性的物质，并将产物作为供其生长所需的碳源（Kikuchi et al.，2012）。虽然对于其它昆虫内共生菌是否存在类似的解毒机制，尚待进一步研究明确（Douglas，2015），但为理解昆虫抗药性产生的机理提供了新思路。

2.6 影响宿主昆虫对植物病毒的传播

昆虫作为病毒的载体可以传播多种植物病毒，而内共生菌具有保护病毒并促进传播的功能。如马铃薯卷叶病毒（*Potato leaf-roll virus*，PLRV）的传播依赖于蚜虫体内布赫纳氏菌所合成的 GroEL 蛋白（崔晓峰等，2004），该蛋白能够保护病毒在进入血腔的过程中免遭降解，同时该蛋白与大麦黄矮病毒（*Barley yellow dwarf virus*，BYDVs）的结合能力影响其在蚜虫种间的传毒效率（于文娟等，2013）。白背飞虱 *Sogatella furcifera*（Horváth）可携带南方水稻黑条矮缩病毒（*Southern rice black-streaked dwarf virus*，SRBSDV），内共生菌群落的变化会影响其对该病毒的传播能力，相反，白背飞虱感染 SRBSDV 病毒后又可引起体内共生细菌的变化（康小影，2014）。

2.7 调节宿主昆虫的行为及对寄主植物的适应性

内共生菌作为昆虫－植物互作关系中的“经纪人”不仅能改变昆虫的行为，还能调节宿主昆虫对寄主植物的适应性（Campbell，1990）。Francis 研究团队发现共生菌通过蚜虫蜜露提供的信息来提高天敌对寄主的定位效率（Leroy et al.，2011）；果蝇偏好与拥有相同肠道共生菌的个体交配，这种偏好可能与共生菌决定的表皮烃类物质组成变化有关（Sharon et al.，2010）。遗传学认为昆虫对寄主植物的选择受自身基因组信息的调控，然而最新研究表明，内共生菌也能够影响昆虫对寄主植物的选择（瞿钰峰等，2015）。在日本，Tsuchida et al.（2004）发现豌豆蚜主要以野豌豆 *Vicia sativa* 和白三叶草 *Trifolium repens* 为食，去除 U 型共生肠杆菌 *R. insecticola* 前后的蚜虫在野豌豆上的种群数量无显著差异，但在白三叶草上的种群数量却显著降低，重新感染 *R. insecticola* 后种群数量恢复。而褐飞虱在适应抗性水稻品种过程中其体内的共生菌不仅在数量上发生变化，而且随着褐飞虱对抗性品种适应程度的提高，共生菌的遗传物质也发生了改变（吕仲贤等，2001）。同样，感染次级共生菌立克次氏体的粉虱在豇豆 *Vigna unguiculata* 叶片上的产卵量及后代的存活率显著高于未感染的粉虱，因此共生菌能够影响昆虫利用特定寄主植物的能力，从而扩大其对寄主植物的适应性范围，虽然这种适应性机理仍然未知，但推测可能与共生菌介导反寄主植物防御效应或调节宿主昆虫营养代谢有关（Himelr et al.，2011）。

3 昆虫内共生菌的研究方法和技术

离体共生菌和无菌宿主是研究昆虫和内共生菌之间共生机理必不可少的试验材料，但是由于大部分昆虫内部生理环境难以模拟且在分离培养过程中易受杂菌污染等原因，导致这 2 种必需试验材料的缺少是延缓“抑菌防虫”新策略发展的关键因素。共生菌的研究首先需要对昆虫内共生菌的种类进行检测与鉴定，通过清除的方式研究宿主感染共生菌前后性状的变化是研究内共生菌功能的主要思路。

3.1 内共生菌的检测与鉴定

由于大部分内共生菌无法脱离宿主进行体外纯培养，所以很难用传统的微生物学方法对其进行鉴定和研究。早期研究人员利用 DNA 荧光染色和电镜分析法对昆虫内共生菌进行鉴定（O’Neill & Karr，1990），但花费时间长、成本高，且鉴定结果的不稳定性也会对后续的试验研究造成一定影响。随着分子生物学技术的不断发展，尤其是 PCR 技术和分子系统学方法的不断应用，使这些细胞内微生物的检测和鉴定有了重大突破。李正西和李定旭（2005）采用细菌 16S rDNA 通用引物从桃蚜 *Myzus persicae*（Silzer）北京烟草种群体内扩增出 1.5 kb 的共迁移片段，经过同源性分析发现桃蚜北京烟草种群中至少含有 2 种共生菌，一种为专性共生菌 *Buchnera aphidicola*，另一种属于泛菌类。该发现是迄今为止有关蚜虫体内存在泛菌类共生菌的首次报道。龚鹏等（2002）利用编码沃尔巴氏菌表面蛋白的 *wsp* 基因通用引物在北京麦田中的麦长管蚜 *Sitobion avenae*（Fabricius）体内检测出沃尔巴氏菌。而罗晨等（2015）对我国 6 个不同地理种群的麦长管蚜体内 3 种次级共生菌进行检测后发现，次级共生菌沙雷氏菌和 U 型共生肠杆菌 *R. insecticola* 在 6 个不同地理种群体内的感染率为 100%，显著高于日本种群的 38.7% 和 16.0%，但均没有发现沃尔巴氏菌感染的个体。同样，Tsuchida et al.（2002）检测了 119 个地理种群的豌豆蚜也没有发现沃尔巴氏菌的侵

染。由于通过 PCR 方法可能无法检测到蚜虫体内丰度过低的内共生菌,因此也不排除沃尔巴氏菌在其它蚜虫体内存在的可能。昆虫内共生菌的种类因不同的环境条件具有差异性,所以对昆虫不同地理种群内共生菌种类的检测和鉴定是研究内共生菌重要的前期工作基础。

3.2 内共生菌的清除方法

在明确昆虫内共生菌种类后,通过清除内共生菌来观察宿主感染共生菌前后性状的变化是研究内共生菌功能的主要思路之一。从昆虫体内去除内共生菌的常用方法有热处理、溶菌酶注射和抗生素处理。只有当共生菌的耐热能力高于宿主昆虫时,热处理才适用;同时已有证据表明注射溶菌酶对昆虫的生长发育具有潜在的威胁(Daniel & Brooks, 1972),因此,抗生素处理是目前最常用的清除内共生菌的方法,利用抗生素处理获得脱共生昆虫已有大量的报道(Oliver et al. ,2010;于文娟等,2013;Vorburger,2014)。通过对抗生素处理给昆虫带来的潜在风险进行评估后发现,脱共生后的昆虫所产生的一般生理不适性,特别是低生长速率和低生育率并不是抗生素直接导致的,但是去除共生菌后的次要影响的累积是否会对利用脱共生昆虫所做的试验研究产生影响尚难以解释清楚(Wilkinson,1998)。因此进行共生作用的所有试验中,所用昆虫的虫龄和抗生素处理的时间都需具有严格的一致性,研究脱共生昆虫的相关生物学特征时要使用刚经过抗生素处理后的幼(若)虫进行研究(苗雪霞,2002)。目前抗生素处理最常见的是添加到人工饲料中口服或利用显微注射,同时不同种类和浓度的抗生素能选择性地去除不同的共生菌。

3.3 内共生菌研究的新技术

对昆虫体内共生微生物群落的研究一直受限于纯培养技术,随着分子生物学技术和 2 代测序技术的不断发展,针对难以体外培养微生物的研究的一门新型学科——宏基因组(metagenome)学技术应运而生并迅速发展起来。

宏基因组是指某一生境中全部微小生物遗传物质的总和,主要指细菌和真菌的基因组总和。宏基因组学技术是对于一些不可以培养微生物的群落结构和功能进行研究时,受限制于获取样本高纯度 DNA 和 RNA,对样品进行整体水平分析获得包括蛋白质和代谢物水平信息的一种新技术。通过高通量测序与分析,对微生物群落的 DNA 片段进行拼接重组,并与公布数据库中其它菌类的信息比对,可用来揭示生境中微生物的多样性、种群结构、进化关系、功能活性、相互协作关系及这些微生物与环境之间的关系(Mou et al. ,2008)。随着研究技术的发展和研究领域的扩大,宏基因组学研究的微生物对象已经从细菌和真菌延伸到古菌、病毒甚至噬菌体(Schloss & Handelsman,2005)。

宏基因组学技术为解决昆虫内共生菌研究中的问题提供了捷径。利用宏基因组测序技术对不同生物型的豌豆蚜进行研究,鉴定出了 21 种共生菌,其中 8 种占主导地位,共生菌之间的复杂联系是导致寄主植物专化性的重要因素(Gauthier et al. , 2015)。杨义婷(2015)通过宏基因组数据的分析,揭示了烟粉虱 MED 隐种比 MEAM1 隐种具有更高的细菌多样性。de Clerck et al. (2015)通过宏基因组测序分析首次揭示了初级共生菌布赫纳氏菌与次级共生菌沃尔巴氏菌之间关于营养物质调控的互补协作过程;同时 Hedges et al. (2008)也报道沃尔巴氏菌能够提高宿主对病毒的抵抗能力,因此该研究结果还为以香蕉交脉蚜 *Pentalonia nigronervosa* 为载体的香蕉束顶病毒(*Banana bunchy top disease*, BBTD)的传播与疾病的预防和控制提供了新的防治思路(Robson et al. ,2013)。随着宏基因组学技术的不断应用,越来越多的共生细菌完成了全基因组序列测定(Moran et al. ,2008),目前已完成13 类昆虫的 15 种专性共生细菌基因组测序,大多数来源于半翅目刺吸式口器昆虫,如蚜虫的布赫纳氏菌 *Buchnera aphidicola*(0.64 Mb)、凹斑豆龟蝽 *Megacopta punctatissima* 的 *Ishikawaella capsulate* (0.75 Mb)、烟粉虱的 *Portiera aleyrodidarum*(0.35 Mb)、柑橘粉蚧 *Planococcus citri* 的 *Tremblaya princeps*(0.14 Mb)、草翅叶蝉 *Homalodisca coagulata* 的 *Sulcia muelleri* (0.24 Mb)和 *Baumannia cicadellinicola*(0.68 Mb)、灌木榆蝉 *Diceroprocta semicincta* 的 *Hodgkinia cicadicola*(0.14 Mb)、亚长胸沫蝉 *Clastoptera arizonana* 的 *Zinderia insecticola*(0.21 Mb)、澳洲梳木虱 *Ctenarytaina eucalypti* 的 *Carsonella ruddii*(0.17 Mb)、夹竹桃圆盾蚧 *Aspidiotus nerii* 的 *Uzinura diaspidicola* (0.26 Mb)、吸血昆虫如刺舌蝇 *Glossina morsitans* 的 *Wigglesworthia glossinidia* (0.71 Mb)、体虱 *Pediculus humanus* 的 *Riesia pediculicola*(0.57 Mb)和 *Rickettsia felis*(1.49 Mb),以及一些杂食性昆虫如弓背蚁 *Camponotus chromaiodes* 的 *Blochmannia* spp(0.72 Mb)、点刻隐尾蠊 *Cryptocercus punctulatus* 的 *Blattabacterium* spp(0.63 Mb)(饶琼和吴慧明,2014)。这些昆虫内

共生菌的基因组信息为今后研究其与宿主昆虫的互作和进化关系提供了重要的数据支撑。

4 展望

共生菌与昆虫在长期的进化过程中形成了互惠共生的关系，在昆虫的生命周期以及昆虫与植物互作关系中具有特殊的作用。从进化角度来看，内共生菌与昆虫的共生模型丰富了物种进化史，昆虫内共生菌的研究可以作为理解共生关系格局演化、探讨生命起源与进化、揭示物质和生殖代谢等生命现象的理想模型。从适应性角度来看，植物为了抵御昆虫的取食会形成一系列的防御效应，从而导致增强昆虫抵御植物防御反应能力即昆虫反寄主防御现象普遍存在，包括昆虫逃避寄主植物的防御、克服植物的生化防御 2 个方面，正是这种互相克制却又相互推动的“防御军备竞赛”才推动了昆虫与植物的协同进化过程。在昆虫－植物互作关系中，昆虫体内的共生菌可能扮演着隐蔽的“执行者”角色（Frago et al.，2012）。大量研究表明昆虫体内共生菌在抑制植物抗虫防御反应（直接防御或间接防御）中起着非常重要的作用（Barr et al.，2010；Gerardo & Parker，2014；Su et al.，2015），同时昆虫内共生菌能通过增加寄生性天敌幼虫的死亡率和改变捕食性天敌的行为来降低宿主昆虫被寄生和捕食的风险（Kellner & Dettner，1996；Duron et al.，2008），表明以清除内共生菌为目标的防治手段能提高昆虫对寄主植物防御效应的敏感性和对自然天敌的寄生和捕食效率，从而抑制其种群暴发和流行。因此，以昆虫内共生菌为靶标在害虫防治、天敌繁殖等研究中具有重要的理论和实际应用价值（徐红星等，2009），将成为害虫综合防治的新思路。

由于内共生菌难以在体外纯培养从而限制了其功能及互作机理的研究，但随着分子生物学技术的发展和宏基因组学技术的普及，打破了大部分内共生菌无法体外培养、抗生素清除不稳定的技术瓶颈，不仅可以明确昆虫内共生菌的种类，还可以预测单个共生菌、共生菌间以及共生菌种群的相应功能（杨义婷，2015），为更加深入研究内共生菌提供了新契机。同时，随着显微注射仪器的不断更新升级，将抽取含某种共生菌的昆虫组织液注射到未感染的昆虫体内进行人工重感染成为验证共生菌功能的新方法。目前，关于内共生菌的研究主要集中在其生态适应性功能上，但是在昆虫与寄主植物互作关系中，内共生菌的原位生态功能、内共生菌帮助宿主克服植物防御及调控机制的研究报道仍较少。因此，深度挖掘内共生菌在昆虫－植物－环境互作关系中的潜在功能，对合理解释昆虫对生物、非生物因素的适应性机理及揭示内共生菌介导的宿主昆虫反寄主植物防御效应的分子机理具有极为重要的理论和现实意义。

参 考 文 献（References）

Ahmed MZ, Li SJ, Xue X, Yin XJ, Ren SX, Jiggins FM, Greeff JM, Qiu BL. 2015. The intracellular bacterium *Wolbachia* uses parasitoid wasps as phoretic vectors for efficient horizontal transmission. PLoS Pathogens, 10(2): e1004672

Barr KL, Hearne LB, Briesacher S, Clark TL, Davis GE. 2010. Microbial symbionts in insects influence down-regulation of defense genes in maize. PLoS ONE, 5(6): e11339

Baumann P. 2005. Biology bacteriocyte-associated endosymbionts of plant sap-sucking insects. Annual Review of Microbiology, 59: 155－189

Baumann P, Moran NA, Baumann LC. 2006. Bacteriocyte-associated endosymbionts of insect. //Rosenberg E, DeLong EF, Lory S, Stackebrandt E, Thompson F. The prokaryotes: prokaryotic biology and symbiotic associations. Berlin Heidelberg: Springer, pp. 465－496

Bian GW, Joshi D, Dong YM, Lu P, Zhou GL, Pan XL, Xu Y, Dimopoulos G, Xi ZY. 2013. *Wolbachia* invades *Anopheles stephensi* populations and induces refractoriness to *Plasmodium* infection. Science, 340(6133): 748－751

Birkle LM, Minto LB, Douglas AE. 2002. Relating genotype and phenotype for tryptophan synthesis in an aphid-bacterial symbiosis. Physiological Entomology, 27(4): 302－306

Broderick NA, Raffa KF, Goodman RM, Handelsman J. 2004. Census of the bacterial community of the gypsy moth larval midgut by using culturing and culture-independent methods. Applied & Environmental Microbiology, 70(1): 293－300

Brownlie JC, Johnson KN. 2009. Symbiont-mediated protection in insect hosts. Trends in Microbiology, 17(8): 348－354

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

Cai WZ. 1990. Function and evolutionary of endosymbiont in insects. Entomological Knowledge, 27(1): 55－58 (in Chinese) [彩万志. 1990. 昆虫体内共生物的功能及进化. 昆虫知识, 27(1): 55－58]

Campbell BC. 1990. On the role of microbial symbiotes in herbivorous insects. //Bernays EA. Insect-plant interactions. Boca Raton, FL: CRC Press, pp. 1－44

Cayetano L, Vorburger C. 2013. Genotype-by-genotype specificity remains robust to average temperature variation in an aphid/endosymbiont/parasitoid system. Journal of Evolutionary Biology,

26(7): 1603 – 1610

Chen DQ, Montllor CB, Purcell AH. 2000. Fitness effects of two facultative endosymbiotic bacteria on the pea aphid, *Acyrthosiphon pisum*, and the blue alfalfa aphid, *A. kondoi*. Entomologia Experimentalis et Applicata, 95(3): 315 – 323

Chen FJ, Zhang JF, Yu XP. 2005. Progress in the histological studies of the intracellular yeast-like symbiotes in rice planthoppers. Chinese Bulletin of Entomology, 42(6): 607 – 611 (in Chinese)[陈法军, 张珏锋, 俞晓平. 2005. 稻飞虱酵母类胞内共生菌的组织学研究进展. 昆虫知识, 42(6): 607 – 611]

Clark MA, Moran NA, Baumann P, Wernegreen JJ. 2000. Cospeciation between bacterial endosymbionts (*Buchnera*) and a recent radiation of aphids (*Uroleucon*) and pitfalls of testing for phylogenetic congruence. Evolution, 54(2): 517 – 525

Clark ME, Bailey-Jourdain C, Ferree PM, England SJ, Sullivan W, Windsor DM, Werren JH. 2008. *Wolbachia* modification of sperm does not always require residence within developing sperm. Heredity, 101(5): 420 – 428

Cui XF, Wu YF, Lin L, Liang XB, Zhang JX, Zhou GH. 2004. Cloning and sequence analysis of *Buchnera* groEL gene from endosymbiotic bacterium of *Myzus persicae*. Virologica Sinica, 17(1): 65 – 72 (in Chinese)[崔晓峰, 吴云锋, 林林, 梁小波, 张建新, 周广和. 2004. 桃蚜体内与病毒结合的共生菌 *Buchnera* groEL 基因的克隆和序列分析. 中国病毒学, 17(1): 65 – 72]

Dadd RH. 1985. Nutrition: organisms.//Kerkut GA, Gilbert LI. Comprehensive insect physiology biochemistry and pharmacology. Vol. 4: regulation: digestion, nutrition, excretion. New York: Elsevier, pp. 313 – 390

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

Daniel RS, Brooks MA. 1972. Intracellular bacteroids: electron microscopy of *Periplaneta americana* infected with lysozyme. Journal of Experimental Parasitology, 31(2): 232 – 246

de Bary A. 1879. De la symbiose. Revue Internationale des Sciences, 3: 301 – 309

de Clerck C, Fujiwara A, Joncour P, Léonard S, Félix ML, Francis F, Jijakli MH, Tsuchida T, Massart S. 2015. A metagenomic approach from aphid's hemolymph sheds light on the potential roles of co-existing endosymbionts. Microbiome, 3: 63

Dean GJ. 1974. Effect of temperature on the cereal aphids *Metopolophium dirhodum* (Wlk.), *Rhopalosiphum padi* (L.) and *Macrosiphum avenae* (F.) (Hem., Aphididae). Bulletin of Entomological Research, 63(3): 401 – 409

Degnan PH, Moran NA. 2008. Evolutionary genetics of a defensive facultative symbiont of insects: exchange of toxin-encoding bacteriophage. Molecular Ecology, 17(3): 916 – 929

Douglas AE. 1998. Nutritional interactions in insect-microbial symbioses: aphids and their symbiotic bacteria *Buchnera*. Annual Review of Entomology, 43: 17 – 37

Douglas AE. 2006. Phloem-sap feeding by animals: problems and solutions. Journal of Experimental Botany, 57(4): 747 – 754

Douglas AE. 2015. Multiorganismal insects: diversity and function of resident microorganisms. Annual Review of Entomology, 60: 17 – 34

Douglas AE, Prosser WA. 1992. Synthesis of the essential amino acid tryptophan in the pea aphid (*Acyrthosiphon pisum*) symbiosis. Journal of Insect Physiology, 38(8): 565 – 568

Duron O, Bouchon D, Boutin S, Bellamy L, Zhou LQ, Engelstädter J, Hurst GD. 2008. The diversity of reproductive parasites among arthropods: *Wolbachia* do not walk alone. BMC Biology, 6: 27

Duron O, Hurst GDD. 2013. Arthropods and inherited bacteria: from counting the symbionts to understanding how symbionts count. BMC Biology, 11: 45

Ferrari J, Darby AC, Daniell TJ, Godfray HCJ, Douglas AE. 2004. Linking the bacterial community in pea aphids with host-plant use and natural enemy resistance. Ecological Entomology, 29(1): 60 – 65

Frago E, Dicke M, Godfray HC. 2012. Insect symbionts as hidden players in insect-plant interactions. Trends in Ecology & Evolution, 27(12): 705 – 711

Fukatsu T, Nikoh N, Kawai R, Koga R. 2000. The secondary endosymbiotic bacterium of the pea aphid *Acyrthosiphon pisum* (Insecta: Homoptera). Applied & Environmental Microbiology, 66(7): 2748 – 2758

Gauthier JP, Outreman Y, Mieuzet L, Simon JC. 2015. Bacterial communities associated with host-adapted populations of pea aphids revealed by deep sequencing of 16s ribosomal DNA. PLoS ONE, 10(3): e0120664

Gehrer L, Vorburger C. 2012. Parasitoids as vectors of facultative bacterial endosymbionts in aphids. Biology Letters, 8(4): 613 – 615

Gerardo NM, Parker BJ. 2014. Mechanisms of symbiont-conferred protection against natural enemies: an ecological and evolutionary framework. Current Opinion in Insect Science, 4: 8 – 14

Gilburn A. 2011. The evolution of primary sexual characters in animals. Animal Behaviour, 81(4): 885

Glaser RL, Meola MA. 2010. The native *Wolbachia* endosymbionts of *Drosophila melanogaster* and *Culex quinquefasciatus* increase host resistance to West Nile virus infection. PLoS ONE, 5(8): e11977

Gong P, Shen ZR, Li ZH. 2002. PCR-based detection of *Wolbachia* infected in natural populations of wheat aphids in China. Entomological Knowledge, 39(3): 188 – 190 (in Chinese)[龚鹏, 沈佐锐, 李志红. 2002. 我国麦蚜体内的沃尔巴克氏体(*Wolbachia*)的检测. 昆虫知识, 39(3): 188 – 190]

Gong YJ, Shi BC, Lu H, Zhang SL, Wei L. 2006. Effect of temperature on the development and fecundity of three species of aphids. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 21(5): 96 – 98 (in

Chinese）［宫亚军，石宝才，路虹，张胜利，魏蕾. 2006. 温度对 3 种蚜虫生长发育及繁殖的影响. 华北农学报，21（5）：96－98］

Gruwell ME，Flarhety M，Dittmar K. 2012. Distribution of the primary endosymbiont（*Candidatus uzinura* Diaspidicola）within host insects from the scale insect family Diaspididae. Insects，3（1）：262－269

Guruprasad NM，Mouton L，Puttaraju HP. 2011. Effect of *Wolbachia* infection and temperature variations on the fecundity of the uzifly *Exorista sorbillans*（Diptera：Tachinidae）. Symbiosis，54（3）：151－158

Harmon JP，Moran NA，Ives AR. 2009. Species response to environmental change：impacts of food web interactions and evolution. Science，323（5919）：1347－1350

Haynes S，Darby AC，Daniell TJ，Webster G，van Veen FJF，Godfray HCJ，Prosser JI，Douglas AW. 2003. Diversity of bacteria associated with natural aphid populations. Applied & Environmental Microbiology，69（12）：7216－7223

Hedges LM，Brownlie JC，O'Neill SL，Johnson KN. 2008. *Wolbachia* and virus protection in insects. Science，322（5902）：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 Microbiology Letters，281（2）：215－220

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

Jiang ZF，Xia FF，Johnson KW，Bartom E，Tuteja JH，Stevens R，Grossman RL，Brumin M，White KP，Ghanim M. 2012. Genome sequences of the primary endosymbiont "*Candidatus* Portiera aleyrodidarum" in the whitefly *Bemisia tabaci* B and Q biotypes. Journal of Bacteriology，194（23）：6678－6679

Kang XY. 2014. Bacterial diversity in white-backed planthopper and its relationship with the acquisition of *Southern rice black-streaked dwarf virus*. Ph. D Thesis. Hangzhou：Zhejiang University（in Chinese）［康小影. 2014. 白背飞虱体内细菌多样性及其与携带南方水稻黑条矮缩病毒能力的关系研究. 博士学位论文. 杭州：浙江大学］

Kellner RLL，Dettner K. 1996. Differential efficacy of toxic pederin in deterring potential arthropod predators of *Paederus*（Coleoptera：Staphylinidae）offspring. Oecologia，107（3）：293－300

Kerkut GA，Gilbert LI. 1985. Comprehensive insect physiology biochemistry and pharmacology. Vol. 3：integument，respiration and circulation. New York：Pergamon Press，pp. 137－177

Kikuchi Y，Hayatsu M，Hosokawa T，Nagayama A，Tago K，Fukatsu T. 2012. Symbiont-mediated insecticide resistance. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America，109（22）：8618－8622

Leroy PD，Sabri A，Heuskin S，Thonart P，Lognay G，Verheggen FJ，Francis F，Brostaux Y，Felton GW，Haubruge E. 2011. Microorganisms from aphid honeydew attract and enhance the efficacy of natural enemies. Nature Communications，2：348

Leydig F. 1850. Ueber *Argulus foliaceus*. Zeitschrift für Wissenschaftliche Zoologie，2：323－349

Li ZX，Li DX. 2005. Molecular identification of the primary and secondary symbionts of the green peach aphid，*Myzus persicae*（Sulzer）. Acta Entomologica Sinica，48（5）：810－814（in Chinese）［李正西，李定旭. 2005. 桃蚜自然种群初级和次级共生菌的分子鉴定. 昆虫学报，48（5）：810－814］

Libbrecht R，Gwynn DM，Fellowes MDE. 2007. *Aphidius ervi* preferentially attacks the green morph of the pea aphid，*Acyrthosiphon pisum*. Journal of Insect Behavior，20（1）：25－32

Liu LJ，Li ZH，Dai Y. 2011. Research progress on the bacterial and fungal symbionts in fruit flies（Diptera：Tephritidae）. Journal of Biosafety，20（2）：91－99（in Chinese）［柳丽君，李志红，戴阳. 2011. 实蝇共生菌研究进展. 生物安全学报，20（2）：91－99］

Losey JE，Ives AR，Harmon J，Ballantyne F，Brown C. 1997. A polymorphism maintained by opposite patterns of parasitism and predation. Nature，388（6639）：269－272

Luo C，Hu ZQ，Yu YA，Yang J，Zhang GS，Zhao HY. 2015. Detection and phylogenetic and analysis of three facultative endosymbionts in grain aphid，*Sitobion avenae* form different geographical regions. Journal of Northwest A&F University（Natural Science Edition），43（1）：141－146（in Chinese）［罗晨，胡祖庆，于永昂，杨杰，张改生，赵惠燕. 2015. 不同地理种群麦长管蚜 3 种次级共生菌检测与系统发育分析. 西北农林科技大学学报（自然科学版），43（1）：141－146］

Lü ZX，Yu XP，Chen JM，Zheng XS，Xu HX，Tao LY. 2001. Role of endosymbionts in virulence change of the brown planthopper to rice resistant varieties. Acta Entomologica Sinica，44（2）：197－204（in Chinese）［吕仲贤，俞晓平，陈建明，郑许松，徐红星，陶林勇. 2001. 共生菌在褐飞虱致害性变化中的作用. 昆虫学报，44（2）：197－204］

Miao XX. 2002. Studies on the intracellular bacterial symbionts of black bean aphid，*Aphis craccivora* Koch. Ph. D Thesis. Shanghai：Shanghai Institutes for Biological Sciences，Chinese Academy of Sciences（in Chinese）［苗雪霞. 2002. 黑豆蚜（*Aphis craccivora*）胞内共生菌的研究. 博士学位论文. 上海：中国科学院上海生命科学研究院］

Miao XX，Ding DC. 2003. Interaction between aphids and its intracellular bacterial symbionts *Buchnera*. Chinese Bulletin of Life Sciences，15（4）：242－247（in Chinese）［苗雪霞，丁德诚. 2003. 蚜虫与其胞内共生细菌的相互作用. 生命科学，15（4）：242－247］

Montllor CB，Maxmen A，Purcell AH. 2002. Facultative endosymbionts benefit pea aphid *Acythosiphon pisum* under heat stress. Ecological Entomology，27（2）：189－195

Moran NA, McCutcheon JP, Nakabachi A. 2008. Genomics and evolution of heritable bacterial symbionts. Annual Review of Genetics, 42: 165 – 190

Morgan JL, Darling AE, Eisen JA. 2010. Metagenomic sequencing of an *in vitro*-simulated microbial community. PLoS ONE, 5 (4): e10209

Mou X, Sun S, Edwards RA, Hodson RE, Moran MA. 2008. Bacterial carbon processing by generalist species in the coastal ocean. Nature, 451(7179): 708 – 711

Oliver KM, Degnan PH, Burke GR, Moran NA. 2010. Facultative symbionts in aphids and the horizontal transfer of ecologically important traits. Annual Review of Entomology, 55: 247 – 266

Oliver KM, Degnan PH, Hunter MS, Moran NA. 2009. Bacteriophages encode factors required for protection in a symbiotic mutualism. Science, 325(5943): 992 – 994

Oliver KM, Moran NA, Hunter MS. 2005. Variation in resistance to parasitism in aphids is due to symbionts not host genotype. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 102(36): 12795 – 12800

Oliver KM, Russell JA, Moran NA, Hunter MS. 2003. Facultative bacterial symbionts in aphids confer resistance to parasitic wasp. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 100(4): 1803 – 1807

O'Neill SL, Karr TL. 1990. Bidirectional incompatibility between conspecific populations of *Drosophila simulans*. Nature, 348 (6297): 178 – 180

Qu YF, Li YT, Liu XD, Fang JC, Guo HF. 2015. Relationships between infection with facultative symbionts and sex ratio of *Bemisia tabaci* on different host plants. Chinese Journal of Applied Entomology, 52(1): 89 – 95 (in Chinese) [瞿钰峰, 李永腾, 刘向东, 方继朝, 郭慧芳. 2015. 不同寄主植物上烟粉虱次生共生菌感染与性比相关性. 应用昆虫学报, 52(1): 89 – 95]

Rao Q, Wu HM. 2014. Advances in insect obligate endosymbionts and their genomes: a review. Acta Microbiologica Sinica, 54 (7): 728 – 736 (in Chinese) [饶琼, 吴慧明. 2014. 昆虫专性内共生细菌及其基因组研究进展. 微生物学报, 54(7): 728 – 736]

Robson JD, Wright MG, Almeida RP. 2013. Within-plant distribution and binomial sampling of *Pentalonia nigronervosa* (Hemiptera: Aphididae) on banana. Journal of Economic Entomology, 99(6): 2185 – 2190

Ruxton GD, Sherratt TN, Speed MP. 2004. Avoiding attack: the evolutionary ecology of crypsis, warning signals and mimicry. Oxford: Oxford University Press

Sapp J. 2002. Paul Buchner (1886 – 1978) and hereditary symbiosis in insects. International Microbiology, 5(3): 145 – 150

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

Schloss PD, Handelsman J. 2005. Metagenomics for studying unculturable microorganisms: cutting the Gordian knot. Genome Biology, 6(8): 229

Shan HW, Liu SS, Liu YQ. 2016. Responses of insect holobionts to unfavorable temperatures. Journal of Plant Protection, 43(1): 24 – 31 (in Chinese) [单红伟, 刘树生, 刘银泉. 2016. 昆虫共生体对不利温度的响应. 植物保护学报, 43(1): 24 – 31]

Sharon G, Segal D, Ringo JM, Hefetz A, Zilber-Rosenberg I, Rosenberg E. 2010. Commensal bacteria play a role in mating preference of *Drosophila melanogaster*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 107(46): 20051 – 20056

Singh BK, Walker A, Wright DJ. 2005. Cross-enhancement of accelerated biodegradation of organophosphorus compounds in soils: dependence on structural similarity of compounds. Soil Biology and Biochemistry, 37(9): 1675 – 1682

Smith DC, Douglas AE. 1987. The biology of symbiosis. London: Edward Arnold

Su Q, Oliver KM, Xie W, Wu QJ, Wang SL, Zhang YJ. 2015. The whitefly-associated facultative symbiont *Hamiltonella defensa* suppresses induced plant defences in tomato. Functional Ecology, 29(8): 1007 – 1018

Tago K, Yonezawa S, Ohkouchi T, Hashimoto M, Hayatsu M. 2006. Purification and characterization of fenitrothion hydrolase from *Burkholderia* sp. NF100. Journal of Bioscience Bioengineering, 101(1): 80 – 82

Takada H. 1981. Inheritance of body colors in *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae). Applied Entomology & Zoology, 16(3): 242 – 246

Taylor FJ. 1979. Symbionticism revisited: a discussion of the evolutionary impact of intracellular symbioses. Proceedings of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences, 204 (1155): 267 – 286

Toenshoff ER, Penz T, Narzt T, Collingro A, Schmitz-Esser S, Pfeiffer S, Klepal W, Wagner M, Weinmaier T, Rattei T, et al. 2012. Bacteriocyte-associated gammaproteobacterial symbionts of the *Adelges nordmannianae/piceae* complex (Hemiptera: Adelgidae). ISME Journal, 6(2): 384 – 396

Tsuchida T, Koga R, Fukatsu T. 2004. Host plant specialization governed by facultative symbiont. Science, 303(5666): 1989

Tsutomu T, Koga R, Horikawa M, Tsunoda T, Maoka T, Matsumoto S, Simon JC, Fakatsu T. 2010. Symbiotic bacterium modifies aphid body color. Science, 330(6007): 1102 – 1104

Tsuchida T, Koga R, Shibao H, Matsumoto T, Fukatsu T. 2002. Diversity and geographic distribution of secondary endosymbiotic bacteria in natural populations of the pea aphid, *Acyrthosiphon pisum*. Molecular Ecology, 11(10): 2123 – 2135

van den Heuvel JF, Verbeek M, van der Wilk F. 1994. Endosymbiotic bacteria associated with circulative transmission of potato leaf roll virus by *Myzus persieae*. Journal of General Virology,

75(10)：2559－2565

Vorburger C. 2014. The evolutionary ecology of symbiont-conferred resistance to parasitoids in aphids. Insect Science, 21(3)：251－264

Vorburger C, Gehrer L, Rodriguez P. 2010. A strain of the bacterial symbiont *Regiella insecticola* protects aphids against parasitoids. Biology Letters, 6(1)：109－111

Werren JH, Hurst GDD, Zhang W, Breeuwer JAJ, Stouthamer R, Majerus MEN. 1994. *Rickettsia* relative associated with male killing in the ladybird beetle (*Adalia bipunctata*). Journal of Bacteriology, 176(2)：388－394

Werren JH, Zhang W, Guo LR. 1995. Evolution and phylogeny of *Wolbachia*：reproductive parasites of arthropods. Proceedings of the Royal Society B：Biological Sciences, 261(1360)：55－63

Wilkinson TL. 1998. The elimination of intracellular microorganisms from insects：an analysis of antibiotic-treatment in the pea aphid (*Acyrthosiphon pisum*). Comparative Biochemistry and Physiology Part A：Molecular & Integrative Physiology, 119(4)：871－881

Wilkinson TL, Ishikawa H. 2001. On the functional significance of symbiotic microorganisms in the Homoptera：a comparative study of *Acyrthosiphon pisum* and *Nilaparvata lugens*. Physiological Entomology, 26(1)：86－93

Xiang H, Li MW, Zhao Y, Zhao LP, Zhang YH, Huang YP. 2007. Bacterial community in midguts of the silkworm larvae estimated by PCR/DGGE and 16S rDNA gene library analysis. Acta Entomologica Sinica, 50(3)：222－233 (in Chinese)［相辉，李木旺，赵勇，赵立平，张月华，黄勇平. 2007. 家蚕幼虫中肠细菌群落多样性的 PCR-DGGE 和 16S rDNA 文库序列分析. 昆虫学报，50(3)：222－233］

Xu C. 2013. Study of seven kinds of heritable germ infection-control type symbiotic bacteria in wasps. Master Thesis. Tai'an：Shandong Agricultural University (in Chinese)［徐超. 2013. 7 种可遗传生殖调控型共生菌在榕小蜂中的感染情况研究. 硕士学位论文. 泰安：山东农业大学］

Xu HX, Zheng XS, Lü ZX. 2009. The function of the insect symbionts to the host plant adaptation. Academic Annual Conference of Botanical China Society of Plant Protection in 2009, pp. 523－526 (in Chinese)［徐红星，郑许松，吕仲贤. 2009. 昆虫体内共生菌在其适应寄主植物过程中的作用. 中国植物保护学会 2009 年学术年会，pp. 523－526］

Yang YT. 2015. The diversity analysis of endosymbiont and the dominant bacteria impact on development of *Bemisia tabaci* in cryptic species. Master Thesis. Chongqing：Southwest University (in Chinese)［杨义婷. 2015. 烟粉虱隐种内共生菌种类多样性分析及其优势共生菌对烟粉虱生长发育的影响. 硕士学位论文. 重庆：西南大学］

Yu WJ, Chen JL, Frederic F, Liu Y, Cheng DF, Sun JR. 2013. Antibiotics on aphid affect virus transmission efficiency.//Wu KM. Innovation driven and modern plant protection－The 11th National Member Representative Conference and Academic annual Conference of Botanical China Society of Plant Protection in 2013. Beijing：China Agricultural Science and Technology Press (in Chinese)［于文娟，陈巨莲，Frederic Francis，刘勇，程登发，孙京瑞. 2013. 抗生素对麦长管蚜传毒效率的影响.//吴孔明. "创新驱动与现代植保"——中国植物保护学会第十一次全国会员代表大会暨 2013 年学术年会论文集. 北京：中国农业科学技术出版社］

Yukuhiro F, Miyoshi T, Noda H. 2014. Actin-mediated transovarial transmission of a yeastlike symbiont in the brown planthopper. Journal of Insect Physiology, 60(1)：111－117

(责任编辑：李美娟)