

灰飞虱体内 WO 噬菌体和 *Wolbachia* 的侵染关系

周丽丽, 张开军, 宋子伟, 洪晓月*

(南京农业大学昆虫学系, 南京 210095)

摘要: WO 噬菌体是侵染节肢动物体内感染的 *Wolbachia* 的细菌病毒, 人们推测 WO 噬菌体可能参与了寄主遗传变异的过程。我们对采自中国境内 4 个地理种群(上海闵行、云南普洱、山东济宁和宁夏青铜峡)的灰飞虱 *Laodelphax striatellus* 1~2 龄若虫用抗生素 HCl-tetracycline 处理过的水稻饲养, 每隔 20 d 取样测定并比较其体内 *Wolbachia* 和 WO 噬菌体的感染率, 以此来初步研究灰飞虱体内 WO 噬菌体与 *Wolbachia* 的侵染关系, 结果表明: WO 噬菌体感染率的变化趋势与其宿主 *Wolbachia* 的基本一致, 都随着时间推移逐步下降。我们进一步对未经 HCl-tetracycline 处理的灰飞虱, 用实时定量 PCR 的方法对 WO 噬菌体和 *Wolbachia* 在不同日龄灰飞虱雌虫体内的菌量进行测定, 结果显示, 二者菌量都随着日龄的增长有所变化, 在第 8 天达到最大, 二者的变化趋势基本一致。由此我们推断 WO 噬菌体是侵染胞内共生菌 *Wolbachia* 的专性病毒, 并且感染 *Wolbachia* 的 WO 噬菌体很可能是溶原性的噬菌体。

关键词: *Wolbachia*; 灰飞虱; WO 噬菌体; 实时定量 PCR; 溶原性噬菌体

中图分类号: Q965.8 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2010)09-0978-07

Relationship of WO phage and *Wolbachia* infection in *Laodelphax striatellus* (Fallén) (Hemiptera: Delphacidae)

ZHOU Li-Li, ZHANG Kai-Jun, SONG Zi-Wei, HONG Xiao-Yue* (Department of Entomology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: WO phage is the bacterial virus infecting *Wolbachia* in arthropods. It is supposed that WO phage may participate in controlling genetic changes of the hosts. *Laodelphax striatellus* planthoppers from four geographic populations of China (Minhang, Shanghai; Puer, Yunnan; Jining, Shandong; Qingtongxia, Ningxia) were bred on rice treated with antibiotics. The infection rates of *Wolbachia* and WO phage were examined every twenty days, and the infection relationships between *Wolbachia* and WO phage were analyzed based on the data obtained. The results revealed that the infection rate of *Wolbachia* declined with time, and so was WO phage. By using Real-time quantitative PCR, we found that the copy numbers of *Wolbachia* and WO phage varied with the developmental stages of adult female, displaying the highest quantity at 8 d post infection, and WO phage density showed the same pattern as that of *Wolbachia*. From the results, we inferred that WO phage is the obligate virus infecting *Wolbachia*, and the WO phage infecting *Wolbachia* in *L. striatellus* may be lysogenic.

Key words: *Wolbachia*; *Laodelphax striatellus*; WO phage; Real-time quantitative PCR; lysogenic phage

Wolbachia 是在节肢动物体内发现的一种立克次氏体细菌(Rickettsia bacteria), 属于原核生物界, 细菌门, 变形菌纲的 α 亚纲, 立克次氏体目, 立克次氏体科, *Wolbachia* 族, *Wolbachia* 属, 通常在宿主中由细胞质遗传给下一代(Werren *et al.*, 1995)。*Wolbachia* 通过诱导宿主胞质不亲和(cytoplasmic incompatibility, CI)(Noda, 1984)、雌性化(feminization)(Rigaud *et al.*, 1991)、诱导孤雌生殖

(parthenogenesis inducing, PI)(Stouthamer *et al.*, 1993)和杀雄(male-killing)(Hurst, 1991)等来调控宿主的生殖方式, 被认为与性别决定和物种形成等重要生物学问题密切相关(Werren, 1997)。通过对宿主生殖系统的作用, *Wolbachia* 不需要通过感染或其他水平转移途径就能够有效地侵入宿主群体, 而且在其扩散的同时也能够带动与之相联系的其他因子(如线粒体、噬菌体等)在宿主群体中传播。

基金项目: 国家重点基础研究发展规划(“973”计划)项目(2006CB102001); 农业部行业科技项目(nyhyzx-200803003)

作者简介: 周丽丽, 女, 1983 年生, 硕士研究生, 研究方向为昆虫分子生态学, E-mail: 2007102072@njau.edu.cn

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: xyhong@njau.edu.cn

收稿日期 Received: 2010-03-23; 接受日期 Accepted: 2010-06-17

Masui 等(2000)在地中海粉斑螟 *Ephestia kuehniella* 的 *Wolbachia* 中最早发现了噬菌体的存在,并将其定名为 WO 噬菌体。Fujii 等(2004)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。并且 WO 噬菌体还可以在不同的 *Wolbachia* 之间频繁地转移(Bordenstein and Wernegreen, 2004),很可能携带重要的基因或介导 *Wolbachia* 基因组的进化,是目前知道的有希望促进 *Wolbachia* 遗传进化的可移动遗传因子之一。

灰飞虱 *Laodelphax striatellus* (Fallén) 属半翅目飞虱科,是中国华北及长江流域水稻、玉米、小麦等粮食作物的主要害虫(徐红星等, 2000; 孙黛珍等, 2006), 该虫不仅直接取食水稻汁液造成严重的水稻减产,而且经其传播的水稻条纹叶枯病毒(rice stripe virus, RSV)对世界上许多国家的水稻生产形成了巨大的威胁,现在该病已经成为江淮地区水稻生产上最主要的病害之一。对灰飞虱的防治,目前主要有农业防治(例如培育抗性品种等)、生物防治和化学防治等,这些方法虽然有一定的效果,但是也存在负面影响,如滥用农药造成环境污染等,而媒介昆虫-共生菌技术(Vector-Insect-Symbiont Technology, VIST)就是在此背景下提出的一个比较好的尝试(温建国等, 2003)。VIST 的原理是利用 *Wolbachia* 引起的生殖或者其他适合度方面的优势,使得另一个母系遗传因子,如应用基因工程方法改造过的共生菌,感染灰飞虱群体,让共生菌携带、表达和释放对病原微生物有专性的毒性蛋白(对昆虫和共生菌没有作用),从而在昆虫体内杀死病原微生物,终止病害的传播。WO 噬菌体作为侵染 *Wolbachia* 的一种病毒,因其在宿主中不同的存在形式对其宿主 *Wolbachia* 的菌量可以产生一定的影响,并可能携带基因促进 *Wolbachia* 的基因组进化,因此研究灰飞虱中 WO 噬菌体与 *Wolbachia* 的侵染关系是进一步探索灰飞虱防治策略的基础。

在本实验中,我们以 *Wolbachia* 的 *wsp* 基因和 WO 噬菌体的 *orf7* 基因作为检测对象,研究灰飞虱不同地理种群中 WO 噬菌体与 *Wolbachia* 的侵染关系,明确了 *Wolbachia* 和 WO 噬菌体在宿主不同发育阶段数量上的变化趋势,进而阐明了 *Wolbachia* 和 WO 噬菌体之间的相互关系。研究结果为深入探索 WO 噬菌体、*Wolbachia* 以及昆虫宿主三者之间相互作用的分子机制奠定良好基础。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

实验中所用灰飞虱是于 2008 年 6 月采自中国的 4 个地理种群,详细信息见表 1。灰飞虱被隔离饲养在种有水稻苗的大烧杯中,保持在 25℃,相对湿度 80%,光周期 16L:8D 的条件下。

表 1 实验中所用灰飞虱种群的采集信息

Table 1 Collection information from four populations of *Laodelphax striatellus* in our study

种群代码 Population code	地点 Locality	经纬度 Geographic coordinate
MS	上海闵行 Minhang, Shanghai	31.2°N, 121.4°E
PY	云南普洱 Puer, Yunnan	22.4°N, 100.5°E
JS	山东济宁 Jining, Shandong	35.2°N, 116.3°E
QN	宁夏青铜峡 Qingtongxia, Ningxia	37.6°N, 105.5°E

1.2 HCl-tetracycline 处理

在实验室条件下(温度 25℃,相对湿度 80%,光周期 16L:8D),以 0.1% 的 HCl-tetracycline 水溶液持续养育水稻苗,两个星期后放入 1~2 龄灰飞虱若虫,连续饲养 3~4 代。从放入若虫后开始,每隔 20 d 通过 PCR 方法检测灰飞虱体内的 *Wolbachia* 和 WO 噬菌体的感染率,共检测 3 次,每次检测 40 头灰飞虱,同时以未经 HCl-tetracycline 处理过的上海种群灰飞虱作为对照组。

1.3 DNA 模板的提取

每头虫为一个独立样本,放入装有 40 μL STE 缓冲液(100 mmol/L NaCl, 10 mmol/L Tris-HCl, 1 mmol/L EDTA, pH 8.0)的 1.5 mL 离心管中,用研磨棒捣碎,匀浆,加入 2.5 μL 蛋白酶 K(10 mg/mL),4 000 r/min 离心 1 min, 37℃ 孵育 30 min, 然后 95℃ 变性 5 min, 4 000 r/min 离心 1 min, 最后置于 -20℃ 保存或取 2 μL 直接做模板进行 PCR 扩增。

1.4 PCR 检测

引物用软件 Primer 5.0 设计,由上海生工生物技术有限公司合成。扩增 *Wolbachia* 的 *wsp* 基因引物序列是: *wsp81F*: 5'-TGGTCCAATAAGTGATGAAGAAAC-3', *wsp691R*: 5'-AAAAATTAACGCTACTCC A-3'(Zhou et al., 1998), 扩增片段长度为 599 bp, 反应体系为: 14.3 μL 水, 2.5 μL 10 × buffer,

2.5 μL dNTPs, 2.5 μL MgCl_2 (25 mmol/L), 0.2 μL Taq DNA polymerase (1 U), 2 μL 模板和上下游引物各 0.5 μL , 共 25 μL , PCR 程序: 94 $^\circ\text{C}$ 3 min; 94 $^\circ\text{C}$ 30 s, 55 $^\circ\text{C}$ 45 s, 72 $^\circ\text{C}$ 1 min, 35 个循环; 最后 72 $^\circ\text{C}$ 7 min。扩增 WO 噬菌体 *orf7* 基因(编码 WO 噬菌体的衣壳蛋白基因)的引物序列是: WOF: 5'-CCCACATGACCAATGACGTCTG-3', WOR: 5'-CGTTCGCTCTGCAAGTAACTCCATTAAAAC-3', 可扩增出长为 394 bp 的片段, 反应体系包括: 14.8 μL 水, 2.5 μL 10 \times buffer, 2 μL dNTPs, 2.5 μL MgCl_2 (25 mmol/L), 0.2 μL Taq DNA polymerase (1 U), 上下游引物各 0.5 μL 和 2 μL DNA 模板。PCR 反应程序: 94 $^\circ\text{C}$ 3 min; 94 $^\circ\text{C}$ 30 s, 66 $^\circ\text{C}$ 30 s, 72 $^\circ\text{C}$ 30 s, 30 个循环; 最后 72 $^\circ\text{C}$ 5 min。

扩增反应结束后, 将 PCR 特异性扩增产物在 1% 琼脂糖凝胶上进行电泳检测, 溴化乙锭(EB)染色, 在 Gel Doc EQ 凝胶成像系统 (Bio-Rad, Hercules, CA) 下观察并记录结果。

1.5 实时定量 PCR

取 2, 4, 6, 8, 10, 12 和 14 d 的未经 HCl-tetracycline 处理的云南种群灰飞虱雌虫, 利用制作好的 *Wolbachia* 和 WO 噬菌体的标准样品曲线分别对其虫体内的 *Wolbachia* 和 WO 噬菌体进行定量, 每个日龄至少取 15 头试虫, 将测得的值取平均数。标准曲线的制作方法如下: 取已提取好的含有靶标基因片段的重组 pGEM-T 质粒, 用紫外分光光度计测定质粒浓度, 按 10 倍浓度梯度逐级进行稀释, 用定量 PCR 的方法测其对应的 Ct 值, 制定标准曲线。

定量 PCR 设计的引物分别是: *wspF* (5'-

ATGTAACTCCAGAAATCAAACCTC) 和 *wspR* (5'-GATACCAGCATCATCCTTAGC-3'), 扩增片段长度是 94 bp; *orf7F* (5'-GTCTGGAAAGCTTACAAAAAG-3') 和 *orf7R* (5'-CTCGCCAAAATATAGCCCTGC-3'), 扩增产物片段的长度为 125 bp。

20 μL 的荧光定量 PCR 反应体系包括 10 μL 2 \times SYBR[®] Premix Ex Taq[™] (Applied Biosystems), 上下游引物各 0.4 μL , 50 \times ROX Reference Dye 0.4 μL , 1 μL DNA 模板和 7.8 μL 水。反应程序是: 95 $^\circ\text{C}$ 10 s; 95 $^\circ\text{C}$ 5 s, 60 $^\circ\text{C}$ 31 s, 40 个循环; 最后 95 $^\circ\text{C}$ 15 s, 60 $^\circ\text{C}$ 1 min, 95 $^\circ\text{C}$ 15 s。

1.6 数据统计与分析

定量试验结果用 SPSS 软件进行统计分析 (ANOVA, Independent-Samples *T* test analysis 方法)。

2 结果与分析

2.1 盐酸四环素处理后灰飞虱体内 *Wolbachia* 和 WO 噬菌体感染率的变化

表 2 所示在实验室的 4 个地理种群及 1 个对照组的灰飞虱中每隔 20 d 检测到的 *Wolbachia* 的感染率的变化情况。从结果中可以看出, 其中 3 个地理种群 (MS, PY 和 JS) 的 *Wolbachia* 初始感染率都很高 (QN 例外, 只有 5% 的感染率), 尤其在 MS 种群中可高达 100%。而 HCl-tetracycline 处理可以有效地去除灰飞虱体内的 *Wolbachia*, 并且随着时间的推移, *Wolbachia* 的感染率持续下降, 处理大约 3 个月, *Wolbachia* 感染率最低已经降至 0 (JS 和 QN 种群)。作为对照组的 CK 种群灰飞虱 *Wolbachia* 的感染率一直保持在 100%。

表 2 不同地理种群灰飞虱经盐酸四环素处理后不同时间 *Wolbachia* 感染率

Table 2 The infection rate of *Wolbachia* at different days after HCl-tetracycline treatment in different populations of *Laodelphax striatellus*

种群代码 Population code	检测个体数 Number of insects examined	<i>Wolbachia</i> 的感染率 (%) Infection rate of <i>Wolbachia</i>				
		20 d	<i>P</i> 1	40 d	<i>P</i> 2	60 d
MS	40	100.0	0.007	70.0	<0.001	7.5
PY	40	95.0	0.017	62.5	<0.001	2.5
JS	40	80.0	0.080	37.5	<0.001	0.0
QN	40	5.0	0.041	0.0	-	0.0
CK	40	100.0	-	100.0	-	100.0

*P*1 表示 20 d 与 40 d 处理后 *Wolbachia* 的感染率差异, *P*2 表示 40 d 与 60 d 处理后 *Wolbachia* 的感染率差异, “-”表示未计算两次处理前后的差异显著性。 *P*1 indicates the differences in infection rate of *Wolbachia* between 20 d and 40 d treatment with HCl-tetracycline, *P*2 indicates the differences in infection rate of *Wolbachia* between 40 d and 60 d treatment with HCl-tetracycline, “-” indicates the differences in infection rate of *Wolbachia* were not calculated. CK: 未经 HCl-tetracycline 处理的上海闵行灰飞虱种群 (MS) The MS population of *L. striatellus* without HCl-tetracycline treatment.

同样在这 4 个地理种群的灰飞虱中，随着时间的推移，侵染 *Wolbachia* 的 WO 噬菌体的感染率变化趋势与其宿主 *Wolbachia* 的基本一致；同时我们

发现，在对照组中 WO 噬菌体一直保持着高感染率的态势(表 3)。

表 3 不同地理种群灰飞虱经盐酸四环素处理后不同时间 WO 噬菌体感染率
Table 3 The infection rate of WO phage at different days after HCl-tetracycline treatment in different populations of *Laodelphax striatellus*

种群代码 Population code	检测个体数 Number of insects examined	WO 噬菌体的感染率(%) Infection rate of WO phage				
		20 d	<i>P1</i>	40 d	<i>P2</i>	60 d
MS	40	100.0	0.003	65.0	<0.001	7.5
PY	40	92.5	0.007	60.0	<0.001	5.0
JS	40	80.0	0.009	40.0	<0.001	0.0
QN	40	5.0	0.041	0.0	-	0.0
CK	40	100.0	-	100.0	-	100.0

P1 表示 20 d 与 40 d 处理后 WO 噬菌体感染率差异, *P2* 表示 40 d 与 60 d 处理后 WO 噬菌体感染率差异, “-”表示未计算两次处理前后的差异显著性。*P1* indicates the differences in infection rate of WO phage between 20 d and 40 d treatment with HCl-tetracycline, *P2* indicates the differences in infection rate of WO phage between 20 d and 60 d treatment with HCl-tetracycline, “-” indicates the differences in infection rate of WO phage were not calculated. CK: 未经 HCl-tetracycline 处理的上海闵行种群(MS)灰飞虱 The MS population of *L. striatellus* without HCl-tetracycline treatment.

2.2 *Wolbachia* 和 WO 噬菌体的菌量测定

我们在实验中发现，云南种群灰飞虱雌虫随着成虫体的不断发育，其体内感染的 *Wolbachia* 和 WO 噬菌体的菌量也随之发生变化。我们用实时定

量 PCR 方法对二者的菌量进行测定，发现它们呈现出一定的规律性。图 1(A 和 B) 中所示的是用实时定量 PCR 方法测定 *Wolbachia* 和 WO 噬菌体菌量时所用的标准曲线图。

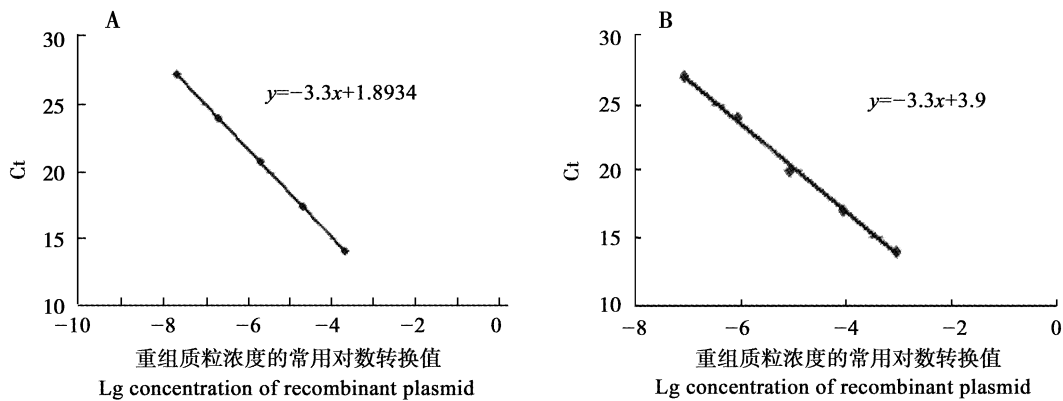


图 1 实时定量 PCR 中测定 *Wolbachia*(A) 和 WO 噬菌体(B) 菌量的标准曲线图
Fig. 1 Standard curve of *Wolbachia* (A) and WO phage (B) quantity in Real-time quantitative PCR

图 2(A, B) 分别表示的是对云南种群不同日龄灰飞虱雌虫体内 *Wolbachia* 和 WO 噬菌体菌量的测定结果。比较图中的菌量结果可以看出：随着成虫体的不断发育，其体内 *Wolbachia* 和 WO 噬菌体的菌量也出现明显的变化，而且二者的变化趋势大致相同，都是先呈上升趋势，然后在第 8 天之后菌

量开始逐渐下降。
实验结果的统计分析采用 Independent-Samples *T* test analysis 的方法。在图 2 中，每隔 2 d 的雌虫体内 *Wolbachia* 和 WO 噬菌体的菌量差异性标记如下，当 *P* 值小于 0.05 的时候表示二者之间存在显著性差异。

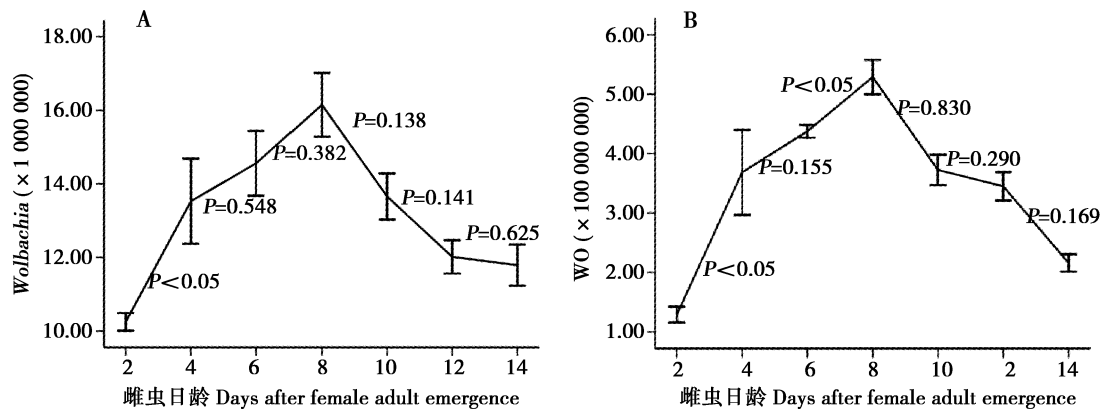


图2 云南种群不同日龄灰飞虱雌虫体内 *Wolbachia*(A) 和 WO 噬菌体(B) 菌量变化

Fig. 2 The changes of *Wolbachia* (A) and WO phage (B) quantity in females of *Laodelphax striatellus* from Yunnan Province

3 讨论

我们对不同地理种群灰飞虱体内 *Wolbachia* 的感染情况分别进行了检测, 结果显示 *Wolbachia* 是广泛存在的, 且 *Wolbachia* 的感染率在大多数种群中都比较高, 只有宁夏青铜峡种群例外, 其 *Wolbachia* 的感染率仅为 5%。这个检测结果与甘波谊等(2002)的实验结果有所不同: 他们发现上海、云南、北京等种群的灰飞虱 *Wolbachia* 感染率较高, 分别为 86%, 84% 和 98%, 宁夏种群不感染。对比我们的实验结果(表 2)来看, 现在上海、云南和宁夏种群灰飞虱体内 *Wolbachia* 的感染率都有所增长, 其中宁夏种群由不感染转变成低度感染。这也在一定程度上阐明了随着时间的推移, 同一地区 *Wolbachia* 感染率的变化趋势。宁夏种群 *Wolbachia* 由无到有有可能是由于感染 *Wolbachia* 的灰飞虱从相邻地区迁移所致。

对于生活在寄主细胞内的内共生菌来说, 由于它们本身没有 DNA 修复功能以及其所处的特殊环境限制了外来 DNA 的侵入, 所以在某种程度上 *Wolbachia* 限制了噬菌体的侵染, 而事实上, WO 噬菌体对其宿主 *Wolbachia* 侵染范围相当广泛。已有的调查结果表明, 在昆虫纲中感染了 *Wolbachia* 的 26 种昆虫中也检测到了 WO 噬菌体的存在(Masui *et al.*, 2000; Fujii *et al.*, 2004; Bordenstein and Wernegreen, 2004; Gavotte *et al.*, 2004; Sanogo and Dobson, 2004; Gavotte *et al.*, 2007), 这些昆虫涉及直翅目、鞘翅目、双翅目、鳞翅目及膜翅目。我们对不同地理种群灰飞虱体内 WO 噬菌体侵染 *Wolbachia* 的情况分别进行了检测, 结果显示 WO

噬菌体也是广泛存在的, 且 WO 噬菌体的感染率在大多数种群中都比较高, 只有宁夏青铜峡种群例外, 其 WO 噬菌体的感染率仅为 5%。

通过比较经抗生素处理的灰飞虱体内 *Wolbachia* 的 WO 噬菌体感染率的变化趋势可以帮助我们了解 WO 噬菌体和 *Wolbachia* 的侵染关系。抗生素处理后, *Wolbachia* 的感染率随着时间的推移而逐渐下降, 直至最后被完全消除, 与此同时侵染 *Wolbachia* 的 WO 噬菌体也随着其宿主的去除而消失, 其感染率变化趋势与其宿主 *Wolbachia* 的基本一致; 而在未经抗生素处理的对照组中(上海种群), *Wolbachia* 和 WO 噬菌体一直维持着 100% 的感染率状态(表 2, 3)。我们的研究表明, WO 噬菌体和 *Wolbachia* 之间存在着稳定的侵染关系, 这进一步说明了 WO 噬菌体不是自由存在于昆虫体内的寄生病毒, 而是侵染 *Wolbachia* 的专性病毒。由于 *Wolbachia* 存在着胞质不亲和、孤雌生殖、杀雄和雌性化等特点, 因而它在生物防治和一些虫媒传播疾病的基因工程防治方面具有很大的应用前景, 而 WO 噬菌体作为一种侵染 *Wolbachia* 的病毒性遗传因子, 推测可能与其宿主的生殖调控作用有一定关系, 所以对 WO 噬菌体和 *Wolbachia* 的关系的研究将会有利于进一步了解如何利用 *Wolbachia* 进行生物防治。

有研究证明稻飞虱体内类酵母共生菌的数量随寄主虫龄的增大而增加(Chen *et al.*, 1981b), 抗生素、高温和农药等影响因子能明显抑制稻飞虱体内类酵母共生菌的数量(Chen *et al.*, 1981a; Raguraman and Jayarai, 1983; 徐红星等, 2000), 这对定量研究 *Wolbachia* 有重要的参考价值。稻飞虱体内类酵母共生菌的菌量计算是采用血球计数法

(吕仲贤等, 2001; 张晓婕等, 2008), 现在随着分子生物学方法的快速发展, 更准确的计量方法可以更好地帮助我们了解昆虫体内共生菌的数量变化情况。Noda 等(2001)同时采用 Quantitative PCR(Q-PCR)和 Real-time quantitative PCR(RTQ-PCR)两种方法检测了 *Wolbachia* 在灰飞虱 *L. striatellus* 和白背飞虱 *Sogatella furcifera* 种群中的数量变化情况。在本研究中, 我们采用 RTQ-PCR 的方法对不同日龄灰飞虱雌虫体内的 WO 噬菌体与 *Wolbachia* 的数量进行定量检测, 为以后进一步地研究 *Wolbachia*、WO 噬菌体和昆虫宿主三者之间的关系奠定基础。

从定量实验中我们发现, 在不同日龄的灰飞虱雌虫体内 WO 噬菌体和 *Wolbachia* 的菌量有很大差异性, 但随着成虫虫体的不断发育, WO 噬菌体和 *Wolbachia* 菌量呈现出的变化趋势基本一致, 都是先在第 2~4 天显著升高, 在第 8 天达到最高值, 然后开始下降。由此, 我们推测: 侵染灰飞虱 *Wolbachia* 的 WO 噬菌体可能是溶原性的噬菌体, 即以原噬菌体的形式插入到 *Wolbachia* 的染色体中, 这种形式的噬菌体在未转化成裂解性噬菌体之前不会消化细菌导致细菌数量的减少。这也是国内首次对侵染灰飞虱体内 *Wolbachia* 的 WO 噬菌体菌量的报道, 这为 WO 噬菌体的后续研究奠定了基础, 有助于更好地深入了解 WO 噬菌体在 *Wolbachia* 与昆虫宿主共同进化的过程中所起的作用。

对 WO 噬菌体特性的研究可以帮助我们理解其宿主 *Wolbachia* 生殖调控作用的分子基础。许多细菌宿主从其噬菌体获得一系列有益的基因, 这些基因可能会帮助它们逃避宿主的免疫机制以及提高宿主寄生率。有研究表明, WO 噬菌体与其 *Wolbachia* 宿主系统发育关系缺少一致性, WO 噬菌体能够单独或与其细菌宿主共同在不同的昆虫体内进行水平转移, 但 WO 噬菌体是否参与到诱导昆虫宿主的生殖方式改变还未有定论, 并且 *Wolbachia* 也不易在昆虫细胞外培养, 所以使得对 WO 噬菌体的研究以及探讨 WO 噬菌体和 *Wolbachia* 之间的相互关系变得相对困难一些。在以后的工作中还需要大量关于 WO 侵染范围及其基因组的研究, 在 mRNA 表达水平上对 *Wolbachia* 和 WO 噬菌体之间的相互作用进行研究也有很重要的意义。

参 考 文 献 (References)

Bordenstein SR, Wernegreen JJ, 2004. Bacteriophage flux in endosymbionts (*Wolbachia*): infection frequency, lateral transfer,

and recombination rates. *Molecular Biology and Evolution*, 21: 1981–1991.

- Chen CC, Cheng LL, Hou RF, 1981a. Studies on the intracellular yeast-like symbiote in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stål. II. Effects of antibiotics and elevated temperature on the symbiotes and their host. *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*, 92: 440–449.
- Chen CC, Cheng LL, Hou RF, Kuan CC, 1981b. Studies on the intracellular yeast-like symbiote in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stål. I. Histological observations and population changes of the symbiote. *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*, 91: 321–327.
- Fujii Y, Kubo T, Ishikawa H, Sasaki T, 2004. Isolation and characterization of the bacteriophage WO from *Wolbachia*, an arthropod endosymbiont. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 317: 1183–1188.
- Gan BY, Zhou WG, Feng LB, Shen DL, Li CB, 2002. Infection of *Wolbachia* in three planthopper species in China. *Acta Entomologica Sinica*, 45(1): 14–17. [甘波谊, 周伟国, 冯丽冰, 沈大棣, 李昌本, 2002. 沃尔巴克氏体在中国三种稻飞虱中的感染. 昆虫学报, 45(1): 14–17]
- Gavotte L, Henri H, Stouthamer R, Charif D, Charlat S, Boulétreau M, Vavre F, 2007. A survey of the bacteriophage WO in the endosymbiotic bacteria *Wolbachia*. *Molecular Biology and Evolution*, 24(2): 427–435.
- Gavotte L, Vavre F, Henri H, Ravallec M, Stouthamer R, Boulétreau M, 2004. Diversity, distribution and specificity of WO phage infection in *Wolbachia* of four insect species. *Insect Molecular Biology*, 13(2): 147–153.
- Hurst LD, 1991. The incidences and evolution of cytoplasmic male killers. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B. Biological Sciences*, 244: 91–99.
- Lv ZX, Yu XP, Chen JM, Zheng XS, Xu HX, 2001. The population dynamics of symbiote in body of brown planthopper from different geographic fields and adapted to different resistant rice varieties. *Entomological Journal of East China*, 10(1): 44–49. [吕仲贤, 俞晓平, 陈建明, 郑许松, 徐红星, 2001. 不同虫源和致害性的褐飞虱体内共生菌的种群动态. 华东昆虫学报, 10(1): 44–49]
- Masui S, Kamoda S, Sasaki T, Ishikawa H, 2000. Distribution and evolution of bacteriophage WO in *Wolbachia*, the endosymbiont causing sexual alterations in arthropods. *Journal of Molecular Evolution*, 51: 491–497.
- Noda H, 1984. Cytoplasmic incompatibility in allopatric field populations of the small brown planthopper, *Laodelphax striatellus* in Japan. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 35: 263–267.
- Noda H, Koizumi Y, Zhang Q, Deng KJ, 2001. Infection density of *Wolbachia* and incompatibility level in two planthopper species *Laodelphax striatellus* and *Sogatella furcifera*. *Insect Biochemical and Molecular Biology*, 31: 727–737.
- Raguraman S, Jayarai S, 1983. Effect of neem on yeast-like symbionts harbored by brown planthopper. *International Rice Research Notes*, 13(5): 32–33.

- Rigaud T, Souty-Grosset C, Raimond R, Mocquard JP, Juchault P, 1991. Feminizing endocytobiosis in the terrestrial crustacean *Armadillidium vulgare* Latr. (Isopoda): recent acquisitions. *Endocytobiosis and Cell Research*, 7: 259–273.
- Sanogo YO, Dobson SL, 2004. Molecular discrimination of *Wolbachia* in the *Culex pipiens* complex: evidence for variable bacteriophage hyperparasitism. *Insect Molecular Biology*, 13(4): 265–369.
- Stouthamer R, Breeuwer JAJ, Luck RF, Werren JH, 1993. Molecular identification of microorganisms associated with parthenogenesis. *Nature*, 361: 66–68.
- Sun DZ, Jiang L, Zhang YX, Cheng XN, Wang CM, Zhai HQ, Wan JM, 2006. Resistance to rice stripe in eight rice varieties. *Chinese Journal of Rice Science*, 20(2): 219–222. [孙黛珍, 江玲, 张迎信, 程遐年, 王春明, 翟虎渠, 万建民, 2006. 8个水稻品种的条纹叶枯病的抗性特征. *中国水稻科学*, 20(2): 219–222]
- Wen JG, Hu YQ, Yan J, Pan CG, Shen DL, 2003. Infection of *Wolbachia pipientis* in the small brown planthopper (*Laodelphax striatellus*). *Journal of Shanghai Jiaotong University (Agricultural Science)*, 21: 35–37. [温建国, 胡铁清, 严健, 潘重光, 沈大棱, 2003. *Wolbachia* 在灰飞虱群体中的传染. *上海交通大学学报*, 21: 35–37]
- Werren JH, 1997. Biology of *Wolbachia*. *Annual Review of Entomology*, 42: 587–609.
- Werren JH, Zhang W, Guo LR, 1995. Evolution and phylogeny of *Wolbachia*: reproductive parasites of arthropods. *Proceedings of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences*, 261: 55–71.
- Xu HX, Zheng XS, Tong ZH, Lv ZX, Chen JM, Yu XP, Tao LY, 2000. Effects of insecticides on the symbiotes in brown planthopper. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 12(3): 126–128. [徐红星, 郑许松, 童中华, 吕仲贤, 陈建明, 俞晓平, 陶林勇, 2000. 杀虫剂对褐飞虱体内共生菌的影响. *浙江农业学报*, 12(3): 126–128]
- Zhang XJ, Yu XP, Chen JM, 2008. Influence of high temperature on yeast-like endosymbiotes and pesticide resistance of small brown planthopper, *Laodelphax striatellus*. *Chinese Journal of Rice Science*, 22(4): 416–420. [张晓婕, 俞晓平, 陈建明, 2008. 高温对灰飞虱体内类酵母共生菌和耐药性的影响. *中国水稻科学*, 22(4): 416–420]
- Zhou WG, Rousset F, O'Neill SL, 1998. Phylogeny and PCR-based classification of *Wolbachia* strains using *wsp* gene sequences. *Proceedings of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences*, 265: 509–515.

(责任编辑: 赵利辉)