

# 7种内共生病毒对柑橘木虱生殖力的影响

张岳乐, 李智强, 陈倩\*

福建农林大学植物保护学院/媒介病毒研究中心/福建省植物病毒学重点实验室, 福建 福州 350002

**摘要:**【目的】柑橘木虱吸食柑橘和九里香等芸香科植物,更是柑橘黄龙病的主要传播媒介。了解柑橘木虱共生微生物对虫体产卵量的影响,可为该虫的生态调控提供理论依据。【材料】应用 Illumina HiSeq 技术对柑橘木虱进行转录组和小 RNA (siRNA) 高通量测序,对拼接的序列进行功能注释。通过单雌单苗的饲养方法,分析通过测序揭晓的 7 种内共生病毒对柑橘木虱的影响,包括单雌总产卵量、单雌日产卵量和单雌寿命的变化。【结果】通过高通量测序共获得 unigenes 序列 22429 条,共有 17673 条 unigenes 注释至 NR、NT、Pfam 等数据库。根据 siRNA 分析数据,获得了多条柑橘木虱内共生病毒的序列。生物学验证试验发现,柑橘木虱呼肠孤病毒、Hubei tick virus 2、褐飞虱呼肠孤病毒、Mal de Rio Cuarto virus、Synechococcus phage S-RSM4、Tokyovirus A1 DNA 和 Diaphorina citri picorna-like virus isolate BR1 7 种内共生病毒显著降低了雌虫群体总产卵量,但是对单雌日产卵量和单雌寿命无显著影响。【结论】研究结果为柑橘木虱的共生微生物多样性提供证据,也为进一步探索内共生病毒对宿主昆虫的意义提供了思路和理论基础,为后续柑橘木虱-内共生微生物的互作研究提供数据支持。

**关键词:** 柑橘木虱; 转录组测序; 内共生病毒; 产卵量; 寿命



开放科学标识码  
(OSID 码)

## Effect of seven viral endosymbionts on the fecundity of *Diaphorina citri*

ZHANG Yuele, LI Zhiqiang, CHEN Qian\*

Vector-borne Virus Research Center/Fujian Province Key Laboratory of Plant Virology/College of Plant Protection,  
Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China

**Abstract:**【Aim】*Diaphorina citri* is a pest of rutaceous plants, such as tangerine and jasmine, and the main vector of the Huanglongbing pathogen. Understanding the effects of *D. citri* endosymbionts on female fecundity can provide a theoretical basis for ecological regulation of *D. citri*.【Method】The Illumina HiSeq technique was used for high-throughput sequencing of the transcriptome and small interfering RNAs. The assembled sequences were analyzed to determine their functional annotations. Females were individually reared to analyze the effect of seven viral endosymbionts on the development of *D. citri*, including their fecundity, and lifespan.【Result】A total of 22429 unigene sequences were obtained, with an average length of 1304 base pairs, and 17673 unigenes were annotated using the NR, NT, Pfam, Swiss-Prot, GO, KOG, and KEGG databases by homologous sequence alignment. Several assembled sequences of viral endosymbionts were obtained based on small interfering RNA sequences. In biological assays, seven viral endosymbionts including *D. citri reovirus*, *Hubei tick virus 2*, *Nilaparvata lugens reovirus*, *Mal de Rio Cuarto virus*, *Synechococcus phage S-RSM4*, *Tokyovirus A1 DNA*, and *Diaphorina citri picorna-like virus isolate BR1* caused significant decreases in the total number of eggs laid, whereas the immediate fecundity (no. of eggs laid every 3 days) and female lifespan were unaffected.【Conclusion】These results improve the understanding of symbiont diversity in *D. citri*. The findings also provide a basis for the studies on the function of viral symbionts in insect hosts and interaction of *D. citri*.

**Key words:** *Diaphorina citri*; transcriptomic sequencing; viral symbiont; fecundity; life span

随着分子生物学和测序技术的发展,一些隐藏于昆虫体内但不引起宿主昆虫明显病症的微生物逐渐被熟知,这些微生物被称为共生微生物(Cowl-

ing *et al.*, 2013; Hong, 2009)。共生微生物与昆虫的共生关系并不单单指互利共生,也包括对抗关系以及相互并无明显影响的共生关系。但在大多数

收稿日期(Received): 2021-06-21 接受日期(Accepted): 2021-09-26

基金项目: 福建农林大学科技创新专项基金项目(CXZX2020012A)

作者简介: 张岳乐, 女, 硕士研究生。研究方向: 植物病理学。E-mail: zhangyuele62@163.com

\* 通信作者(Author for correspondence): 陈倩, E-mail: chenqian@fafu.edu.cn

情况下,共生关系不能严格地划分为仅属于这 3 类中的一类,它可以随环境或其他情况而变化。通常认为,共生微生物与宿主最多的是互惠互利关系(Hurst & Hutchence, 2010)。近年来研究发现,某些共生菌与昆虫的生物学特性相关,如内共生菌不仅能合成昆虫宿主所需的营养成分,还可通过解毒昆虫宿主所摄取的植物次生物质,提高其对寄主植物的利用能力,以调节昆虫宿主的种群适应性(褚栋等, 2006; 徐红星等, 2009; Himler *et al.*, 2011; Zabalou *et al.*, 2004)。昆虫体内的细菌还与昆虫存在协同进化关系(Thao & Baumann, 2004)。

柑橘木虱 *Diaphorina citri* Kuwayama 属半翅目 Hemiptera 木虱科 Liviidae (Percy *et al.*, 2018), 主要危害芸香科植物,以柑橘属受害最重,黄皮 *Clausena lansium* (Lour.) Skeels、九里香 *Murraya paniculata* (L.) Jack. 和枸橼 *Citrus medica* L. 次之,是传播黄龙病最主要的昆虫媒介,也是世界柑橘生产中最严重的害虫之一(叶志勇等, 2006)。柑橘木虱的高龄若虫和成虫都能携带柑橘黄龙病的病原,一旦获毒就具有终生传病的能力(陈循渊, 1986)。随着宏基因组学的发展,越来越多的研究发现,除了能携带黄龙病病原菌之外,柑橘木虱体内还存在很多其他微生物,如内共生病毒(Nouri *et al.*, 2015; Saha *et al.*, 2012; Stackebrandt & Goodfellow, 1991)。Nouri *et al.* (2015) 分析了世界范围内的柑橘木虱种群,发现柑橘木虱体内存在多种多样的类似于病毒的序列。Reese *et al.* (2014) 利用生物信息学,并采用桑格测序法(sanger sequencing)、RT-PCR 和 PCR 验证,最终鉴定了很多新的病毒序列。随后,柑橘木虱呼肠孤病毒序列(*Diaphorina citri reovirus*, DcRV) (Chen *et al.*, 2019)、类小核糖核酸病毒(Picorna-like viruses, DcPLV) (Koonin *et al.*, 2008)、类布尼亚病毒序列(*Diaphorina citri* Bunyavirus, DcBV) 以及类浓核病毒序列(Densovirus-like sequences, DcDENV) (Nouri *et al.*, 2015)、柑橘木虱相关的 C 病毒(*Diaphorina citri*-associated C virus, DcACV) (Nouri *et al.*, 2016)、柑橘木虱类黄病毒(*Diaphorina citri* flavi-like virus, Dc-FLV) (Matsumura *et al.*, 2016) 相继被发现。同时, Nouri *et al.* (2015) 在柑橘木虱体内也识别到了沃尔巴克噬菌体的序列(*Wolbachia* prophage WO)。柑橘木虱体内还有合胞体共生菌(*Syncytium endosymbiont*)、里奥夸尔托病毒(Mal de Rio Cuarto virus,

MRCV)、褐飞虱呼肠孤病毒(*Nilaparvata lugens reovirus*, NLRV)、噬菌体 S-RSM4 (*Synechococcus* phage S-RSM4) 和 AI DNA (Tokyo virus AI DNA) (Hert, 2008)。但这些共生微生物,特别是内共生病毒对柑橘木虱的影响尚不清楚。

新一代测序技术(next generation sequencing, NGS) 具有快速、高灵敏度、高通量等特点,大大推动了病毒研究的进程。NGS 可以在不知道病毒生物学、血清学特性和基因组信息的情况下快速检测未知病毒。通过大量的 NGS 数据分析,可以获得病毒基因组变异、准种重建、进化和宿主内起源(Ho & Tzanetakis, 2014; Hou *et al.*, 2011)。高通量测序技术不仅能够检测到生物体内绝大部分含量低的病毒基因,而且不需要对病毒进行分离富集,避免了不可培养病毒信息的丢失。该技术的出现突破了传统病毒诊断技术对新病毒鉴定的局限性,创新了发现和鉴定未知病毒的方法,促进了病毒检测鉴定领域的发展(Nouri *et al.*, 2018)。高通量测序技术已在病毒种类多样性和发现新病毒等方面被广泛应用,对系统研究样本所携带病毒的多样性和遗传进化有重要意义(Liu *et al.*, 2011; Nachappa *et al.*, 2012)。

为探索柑橘木虱共生微生物的多样性,本研究利用转录组测序技术和小 RNA 深度测序技术,对福建省田间自然种群所携带的共生微生物进行分析鉴定,获得了若干个柑橘木虱共生微生物序列。根据序列的差异,区分出携带不同共生微生物的柑橘木虱种群。为了解释内共生病毒对柑橘木虱的影响,本研究进一步测定了柑橘木虱在不同共生微生物影响下的单雌总产卵量、单雌日产卵量、单雌寿命和单雌存活率,以揭示柑橘木虱内共生病毒对宿主昆虫种群的综合影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试昆虫

柑橘木虱采自福建农林大学校园和福州市晋安区日溪柑橘园,于实验室人工气候箱内用九里香 *Murraya exotica* L. 分别培养,建立种群。培养条件为温度 25 °C、光周期 L : D = 16 : 8、相对湿度 60% ~ 70 %。

### 1.2 总 RNA 提取与质检

从 2 个种群中分别选取 20 头柑橘木虱成虫,用液氮冷冻研磨后,用 Trizol 法提取总 RNA。分别

用琼脂糖凝胶电泳和 Nano Photometer spectrophotometer 检测 RNA 的纯度,检测合格后送至北京诺禾致源生物信息科技有限公司进行转录组和 siRNA 文库构建和测序。

### 1.3 转录组拼接和功能基因注释

测序得到的原始数据去除序列接头、poly-N 和低质量序列,获得高质量的 clean data,同时计算 Q20、Q30 和 GC 含量。再利用 Trinity 软件进行组装。使用 BLAST 软件将组装得到的 unigenes 在七大数据库中进行比对,获得功能基因的注释信息。

### 1.4 含和不含 7 种内共生病毒的柑橘木虱种群的人工建立

由于 2 个种群的内共生微生物种类存在差异,为了建立只在内共生病毒上存在差异的 2 个种群,参照 Chen *et al.* (2015, 2019) 的方法,将源于福建农林大学校园的柑橘木虱冷冻麻痹,用  $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  His-MgCl<sub>2</sub> (pH 6.2) 缓冲液研磨,用  $0.22 \mu\text{m}$  滤头过滤上清液中的杂质、细菌和真菌,制备病毒粗提液。

应用显微注射技术,按  $64 \text{ nL} \cdot \text{头}^{-1}$  的剂量,将病毒粗提液注射于采自晋安区日溪柑橘园的柑橘木虱,并饲养至下一代。用 RT-PCR 方法确定注射种群中 7 种内共生病毒的稳定存在,确认注射种群与未注射的种群在内共生微生物上只存在 7 种内共生病毒的差别。将注射的种群命名为“注射组”,将未被注射的种群命名为“未注射组”,用于下一步试验。

### 1.5 成虫产卵量和寿命的测定

分别收集注射组与未注射组的 40 头新羽化的雌虫,用单雌单苗法测试 2 个种群的产卵能力和寿命。具体方法如下:

采集九里香嫩梢,单株插入盛满水的 EP 管中,用 Parafilm membrane 封口,制备单苗食源。将每个食源放入 50 mL 的玻璃试管中,并放入 1 头雌虫和 1 头雄虫。用捕虫纱网封口离心管。每头雌虫编号。

每隔 3 d 观察雌虫的存活情况,做好记录,并回收取食过的食源。对存活的雌虫,更换新鲜食源,并及时补充雄虫。显微镜下统计回收食源上的卵粒数,并记录。重复上述操作,直至雌虫死亡。

### 1.6 数据处理

数据采用 Excel 软件处理分析。用 Graphpad

6.0 软件中双尾 *t* 检验分析所有重复数据的平均值和标准差值。

## 2 结果与分析

### 2.1 转录组序列分析和组装

利用 Illumina 测序平台对柑橘木虱转录组进行测序,组装获得的 clean reads,共有 57441 个转录本 (transcripts),序列信息达到 107700364 bp,平均长度 1205 bp, N50 长度为 3123 bp。在转录本基础上进一步组装获得 22742 条功能基因 (unigenes),长度为 39029359 bp, N50 长度为 2838 bp。其中,长度超过 1 kb 的 unigenes 有 11612 条,占 51.06%。

### 2.2 基因功能注释

在组装获得的 22742 条 unigenes 中,成功注释 17673 条,注释率为 77.71%。其中, NR 注释到的 unigenes 基因中,相似性在 95% 以上的基因占 26.8%。从匹配的物种来源分析,柑橘木虱转录组测序拼接的 unigenes 与 Genbank 数据库的柑橘木虱 unigenes 相似性最高,达到 67.7%;其次与烟粉虱 *Bemisia tabaci* Gennadius、褐飞虱 *Nilaparvata lugens* Stål 和湿木白蚁 *Zootermopsis nevadensis* Hagen 等的相似性分别为 5.9%、3.2% 和 2.5%;另外与其他物种同源的基因占 17.0%。

### 2.3 基因功能分类

柑橘木虱转录组中,有 29893 条 (48.19%) unigenes 被 GO 注释至生物学过程 (biological process) 的 26 个功能亚类;13076 条 (21.08%) unigenes 注释至分子功能 (molecular function);19066 条 (30.73%) unigenes 归属于细胞组分 (cellular component) 的 10 个功能亚类 (图 1)。

在生物学过程中,注释至细胞过程 (cellular process, GO: 0009987) 的 unigenes 数量最多,为 6214 条 (20.78%);注释到代谢过程 (metabolic process, GO: 0008152) 的 unigenes 数量较多,为 5322 条 (17.80%);注释到单生物过程 (single-organism process, GO: 0044699) 的 unigenes 为 4870 条 (16.29%);其余均在 4000 条以下,其中注释至行为 (behavior, GO: 0007610)、节律性过程 (rhythmic process, GO: 0048511) 和解毒过程 (detoxification, GO: 0098754) 的 unigenes 仅有 17 (0.06%)、13 (0.04%) 和 7 条 (0.02%)。

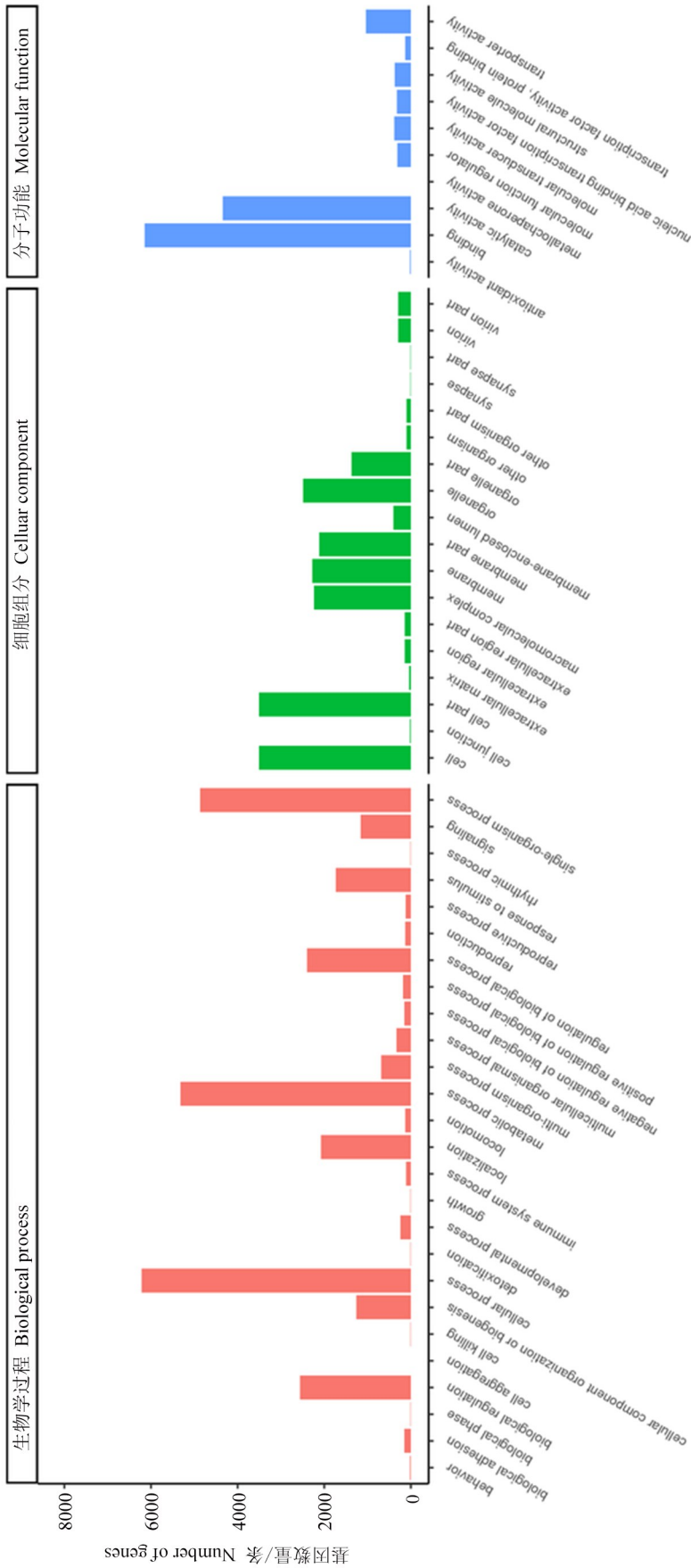


图1 柑橘木虱unigenes的GO分类 Fig. 1 Gene ontology (GO) classification of assembled *D. citri*

分子功能类型中,注释至蛋白结合活性(binding, GO: 0005488)和催化活性(catalytic activity, GO: 0003824)的 unigenes 分别有 6148 (47.02%) 和 4344 条(33.22%);注释至转运活性(transporter activity, GO: 0005215)的 unigenes 达 1041 条(7.96%);其余功能亚类均在 400 条以下,其中,被注释至金属伴侣蛋白活性(metallochaperone activity, GO: 0016530)的 unigenes 仅有 5 条(0.04%)。

细胞组分功能类型中,注释至细胞(cell, GO: 0005623)和细胞部分(cell part, GO: 0044464)的 unigenes 均为 4507 条(23.63%);注释至细胞器(organelle, GO: 0043226)、大分子复合物(macromolecular complex, GO: 0032991)、细胞膜(membrane, GO: 0016020)、细胞膜部分(membrane part, GO: 0044425)和细胞器部分(organelle part, GO: 0044422)的 unigenes 分别为 2493 (13.08%)、2240 (11.75%)、2279 (11.95%)、2119 (11.11%)和 1370 条(7.19%);其余被注释的功能亚类均在 1000 条以下。

## 2.4 内共生病毒的分析

根据转录组和 siRNA 拼接序列的基因注释进行分析,发现在福建农林大学种群中,共有 15 种病毒的核酸序列,福州晋安区日溪柑橘园种群中,共有 11 种病毒的核酸序列,并且这些序列可以在柑橘木虱体内复制。其中,2 个种群有相同的病毒 8 种,包括 Canarypox virus、Choristoneura occidentalis granulovirus、Diaphorina citri densovirus、Lactococcus phage bIL312、Diaphorina citri retrovirus、Shamonda virus、Synechococcus phage S-CBS1 和 Wolbachia phage WO;福建农林大学种群有 7 种单独的病毒 Hubei tick virus 2、NLRV、MRCV、Synechococcus phage S-RSM4、Tokyovirus A1 DNA、DeRV、DePLV isolate BR1,福州晋安区日溪柑橘园种群有 3 种单独的病毒 Pandoravirus dulcis、Diaphorina citri bunyavirus 和 Prochlorococcus phage P-SSM3。

用 RT-PCR 方法扩增了福建农林大学种群 7 种单独的病毒的序列(图 2),并测序,确认序列的存在和正确性。

## 2.5 7 种内共生病毒对柑橘木虱产卵能力的影响

为分析福建农林大学校园柑橘木虱种群 7 种内共生病毒对柑橘木虱繁殖力和存活力的影响,将提自该种群的病毒粗提液注射到福州晋安区日溪柑橘园的柑橘木虱体内。待下一代成虫羽化后,应

用 PCR 或 RT-PCR 确认这 7 种内共生病毒可在柑橘木虱种群内稳定地垂直传播,从而确立种群,并命名为“注射组”。将未注射的福州晋安区日溪柑橘园的柑橘木虱种群命名为“未注射组”。

用单雌单苗法统计注射组和未注射组柑橘木虱的产卵量。研究发现,注射组产卵量总体低于未注射组的产卵量。在产卵第 12、18、21、24 和 27 天,注射组的 3 日平均产卵量显著低于未注射组(图 3A);注射组的单雌总产卵量显著低于未注射组,说明 7 种内共生病毒可显著降低单雌总产卵量(图 3B);注射组的单雌日产卵量、单雌寿命与未注射组的无显著差异(图 3C、D),说明 7 种内共生病毒对单雌日产卵量及雌虫寿命无显著影响。

## 3 讨论

本研究初步明确了柑橘木虱体内基因功能的种类。将全部 unigenes 序列与七大数据库进行功能注释,获得的 17673 条 unigenes (77.71%) 成功被注释,仍有 50696 条(22.29%)未被注释,其原因可能是由于 unigenes 较短,未与公共数据库中的序列比对上(孟翔等,2016),也有可能是存在很多功能未知的新基因(Ho & Tzanetakis, 2014)。与 NR 数据库进行比对,结果表明,与柑橘木虱同源序列最多。

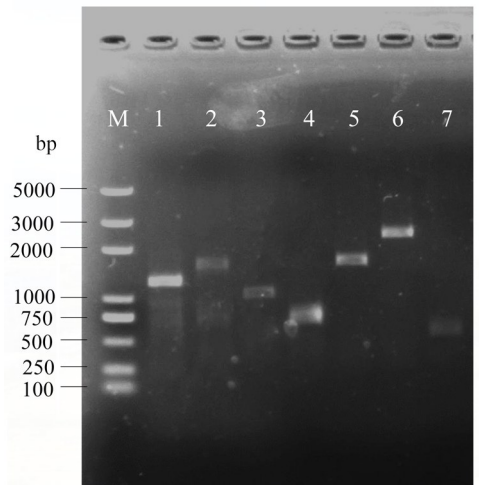


图 2 扩增 7 种内共生病毒基因组序列片段的琼脂糖凝胶电泳结果

Fig.2 Agarose gel electrophoresis of partly genomic sequences of 7 viral endosymbionts

M: Marker; 1: DeRV; 2: NLRV; 3: MRCV; 4: Hubei tick virus 2; 5: Synechococcus phage S-RSM4; 6: DePLV isolate BR1; 7: Tokyovirus A1 DNA.

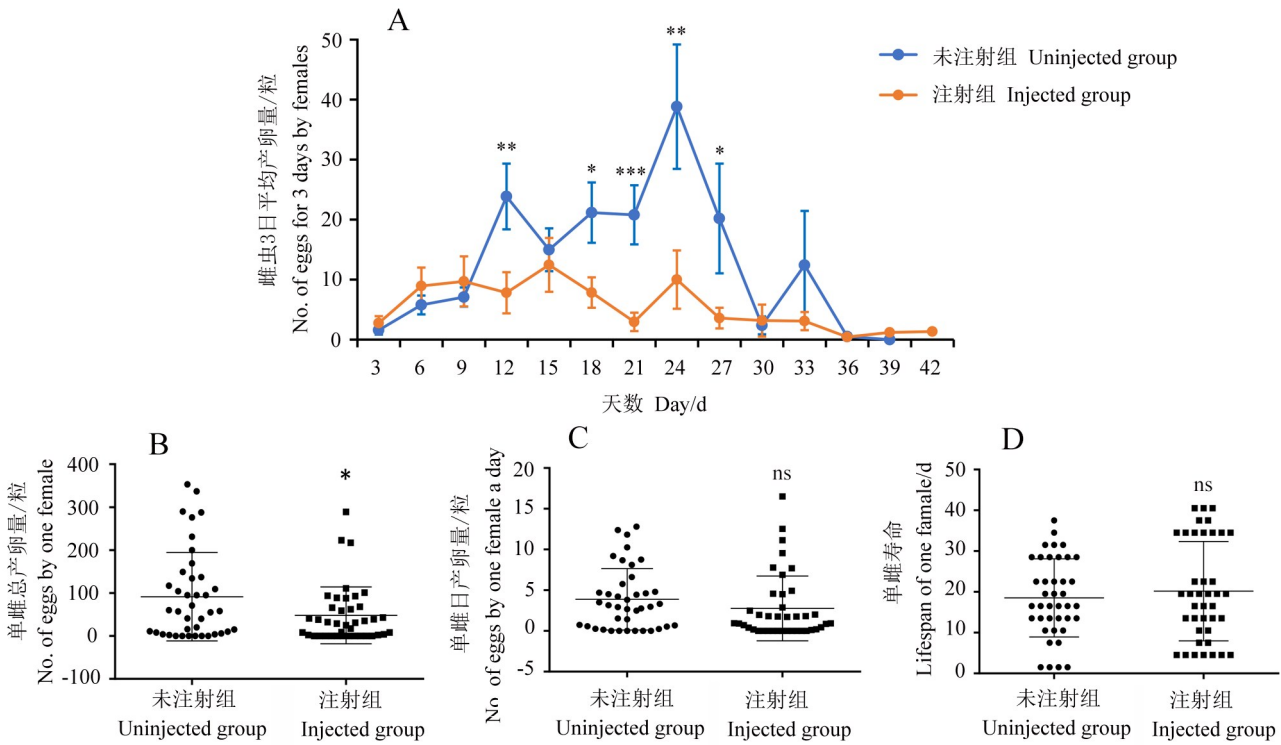


图 3 注射组和未注射组的雌虫产卵量和单雌寿命统计分析

Fig.3 Analysis of female fecundity and lifespan of injected group and uninjected group

A: 3 日平均产卵量; B: 单雌总产卵量; C: 单雌日产卵量; D: 单雌寿命分析。\*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ ; ns: 差异不显著。  
 A: Average number of eggs laid every 3 days; B: Total number of eggs laid by per female; C: Average number of eggs laid per day;  
 D: Average lifespan of female. \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ ; ns: The indicators are not significantly different ( $p > 0.05$ ).

GO 功能富集结果显示,柑橘木虱参与生物进程的 unigenes 最多,其中前 3 个类别分别是细胞、代谢和单生物进程。在分子功能中,unigenes 数量最多的 3 个类别是结合、催化和转运活性。与白背飞虱 *Sogatella furcifera* Hovarth (邓瑶等, 2018) 和烟粉虱 (邵若玄, 2017) 的研究结果较一致,与携带马铃薯斑马病菌 *Candidatus Liberibacter solanacearum* 和未携带病菌的马铃薯木虱 *Bactericera cockerelli* Sulc 转录组的聚类结果一致 (Hurst & Hutchence, 2010)。

对 siRNA 序列分析和拼接发现,采集自福建农林大学和福州日溪柑橘园的 2 个种群中含有 8 种相同和 10 种不同的内共生病毒种类。且 siRNA 的存在证明这些病毒在柑橘木虱体内是可以增殖的活病毒,并且能引起柑橘木虱 RNA 沉默的抗病毒反应。根据传统的病原物过滤方法,用 0.22  $\mu\text{m}$  的滤头过滤上清液中的细菌、真菌和杂质,可以获得活病毒 (Chen *et al.*, 2015, 2019)。用显微注射法将病毒接种柑橘木虱,是遵循病理学的柯赫氏法则:将提自带病宿主的病原物回接至无病宿主。虽然

显微注射过程会导致当代少部分柑橘木虱的机械死亡,但是用于研究成虫产卵量和寿命的是被注射虫的下一代,因此,应用显微注射的方法对本研究的数据影响较小。而接种的病毒与原病毒是否有拮抗作用或相互促进作用的可能性,还有待分子生物学层面的进一步研究。

病毒与昆虫的共生关系十分普遍,它们对宿主的生长发育不产生明显的负面影响,还能提高宿主昆虫免疫、繁殖能力 (Roossinck, 2008)。这种关系是它们长期共同进化、相互作用的结果。认识昆虫的内共生病毒,有助于了解宿主的免疫耐受机制,或是病毒逃避宿主免疫的机制。内共生病毒在进化上具有重要意义,它们改变和塑造宿主的基因组,对物种的形成分化至关重要。寄生蜂 *Leptopilina bouvardi* Barbotin, Carton and Kelner-Pillault 体内的内源病毒 Lpopli 系组 Bouvardi filamentous virus (LbFV) 能影响雌性果蝇的行为,感染 LbFV 病毒的雌虫更容易被诱发超寄生现象,受病毒感染的雌性产下的后代明显比无毒雌虫多 (Varaldi *et al.*, 2015)。携带内共生病毒 *Pteromalus puparum* nega-

tive strand RNA virus 1 (PpNSRV-1) 的寄生蜂, 成虫寿命明显长于不携带该病毒的昆虫, 并且该病毒能够改变后代的性别比例, 使雄性后代比例增多 (Wang *et al.*, 2017)。棉铃虫被 densovirus (HaD-NV-1) 侵染后幼虫生长速率加快, 幼虫孵化率、雌虫生长发育和寿命提高, 说明该共生微生物有利于宿主昆虫的自然繁殖 (Xu *et al.*, 2014)。果蝇种群被果蝇 C 病毒 Drosophila C virus (DCV)、Cricket paralysis virus (CrPV) 和 Flock house virus (FHV) 侵染后, 携带共生微生物 Wolbachia 的果蝇寿命明显长于没有携带共生微生物的果蝇 (Hedges *et al.*, 2008)。本研究发现, 7 种内共生病毒 DcRV、Hubei tick virus 2、NLRV、MRCV、Synchococcus phage S-RSM4、Tokyovirus A1 DNA 和 DcPLV isolate BR1 可显著降低柑橘木虱雌虫群体总产卵量, 但是对单雌日产卵量以及单雌寿命无影响, 说明柑橘木虱的内共生病毒影响了宿主的繁殖力。但是这种影响机制和途径目前尚不清楚, 亟待进一步研究。

### 参考文献

陈循渊, 1986. 柑桔木虱传递柑桔黄龙病的初步研究. 植物保护学报, 13(4): 241-244.

褚栋, 刘国霞, 陶云荔, 张友军, 2006. 烟粉虱复合种内共生菌多样性及其生物学意义. 昆虫学报, 49(4): 687-694.

邓瑶, 刘玉娣, 王香萍, 侯茂林, 2018. 感染和未感染南方水稻黑条矮缩病毒的白背飞虱成虫唾液腺转录组比较分析. 昆虫学报, 61(4): 61-69.

孟翔, 胡俊杰, 刘慧, 欧阳革成, 郭明昉, 2016. 荔枝蒂蛀虫转录组及嗅觉相关基因分析. 昆虫学报, 59(8): 823-830.

邵若玄, 2017. MED 烟粉虱唾液腺转录组分析与唾液蛋白的质谱鉴定. 硕士学位论文. 杭州: 浙江大学.

叶志勇, 於一敏, 余继华, 2006. 柑橘木虱的发生及综合防治技术. 浙江柑桔 (3): 28-30.

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. 粮食安全与植保科技创新——中国植物保护学会 2009 年学术年会论文集. 北京: 中国植物保护学会: 523-526.

CHEN Q, GODFREY L, LIU J, MAO Q, FALK B W, 2019. A nonstructural protein responsible for viral spread of a novel insect reovirus provides a safe channel for biparental virus transmission to progeny. *Journal of Virology*, 93: e00702.

CHEN Q, WANG H, REN T, XIE L, WEI T, 2015. Interaction between nonstructural protein Pns10 of Rice dwarf virus and cytoplasmic actin of leafhoppers is correlated with insect vec-

tor specificity. *Journal of General Virology*, 96: 933-938.

COWLING B J, JIN L, LAU H Y, LIAO Q, WU P, JIANG H, TSANG K L, ZHANG J, FANG J, CHANG Z, 2013. Comparative epidemiology of human infections with avian influenza A (H7N9) and A (H5N1) viruses in China. *Lancet*, 382: 129.

HERT M, 2008. Endosymbiotic microbiota of Asian Citrus Psyllid (*Diaphorina citri*) // International Research Conference on Huanglongbing. *Proceedings of International Research Conference on Huanglongbing*. Fort Pierce, Florida: 224-227.

HEDGES L M, BROWNLIE J C, O'NEILL S L, JOHNSON K N, 2008. Wolbachia and virus protection in insects. *Science*, 322: 702-702.

HIMLER A G, ADACHI-HAGIMORI T, BERGEN J E, KOZUCH A, KELLY S E, TABASHNIK B E, CHIEL E, DUCKWORTH V E, DENNEHY T J, ZCHORI-FEINE, HUNTER M S, 2011. Rapid spread of a bacterial symbiont in an invasive white fly is driven by fitness benefits and female bias. *Science*, 332: 254-256.

HONG-HUI S, 2009. The challenge of discovering beneficial viruses. *Journal of Medical Microbiology*, 58(4): 531-532.

HO T, TZANETAKIS I E, 2014. Development of a virus detection and discovery pipeline using next generation sequencing. *Virology*, 471/472/473: 54-60.

HOU R, BAO Z, WANG S, SU H, LI Y, DU H, HU J, WANG S, HU X, DIRK S, 2011. Transcriptome sequencing and de novo analysis for Yesso scallop (*Patinopecten yessoensis*) using 454 GS FLX. *PLoS ONE*, 6: e21560.

HURST G, HUTCHENCE K, 2010. Host defence: getting by with a little help from our friends. *Current Biology*, 20(18): 806-808.

KOONIN E, WOLF Y, NAGASAKI K, DOLJA V V, 2008. The big bang of picorna-like virus evolution antedates the radiation of eukaryotic supergroups. *Nature Reviews Microbiology*, 6(12): 925-939.

LIU S, VIJAYENDRAN D, BONNING B C, 2011. Next generation sequencing technologies for insect virus discovery. *Viruses*, 3(10): 1849-1869.

MATSUMURA E E, NERVA L, NIGG J C, FALK B W, NOURI S, 2016. Complete genome sequence of the largest known flavi-like virus, *Diaphorina citri flavi-like virus*, a novel virus of the Asian Citrus Psyllid, *Diaphorina citri*. *Genome Announcements*, 4(5): e00946.

NACHAPPA P, LEVY J, TAMBORINDEGUY C, 2012. Transcriptome analyses of *Bactericera cockerelli* adults in response

- to "Candidatus Liberibacter solanacearum" infection. *Molecular Genetics and Genomics*, 287(10): 803–817.
- NOURI S, MATSUMURA E E, KUO Y W, FALK B W, 2018. Insect-specific viruses: from discovery to potential translational applications. *Current Opinion in Virology*, 33: 33–41.
- NOURI S, SALEM N, NIGG J C, FALK B W, 2015. Diverse array of new viral sequences identified in worldwide populations of the Asian Citrus Psyllid (*Diaphorina citri*) using viral metagenomics. *Journal of Virology*, 90(5): 2434–2445.
- NOURI S, SALEM N, FALK B W, 2016. Complete genome sequence of *Diaphorina citri*-associated *C virus*, a novel putative RNA virus of the Asian Citrus Psyllid, *Diaphorina citri*. *Genome Announcements*, 4(4): e00639.
- PERCY D, CRAMPTON-PLATT A, SVEINSSON S, LEMMON A, LEMMON E, OUVRARD D, BURCKHARDT D, 2018. Resolving the psyllid tree of life: phylogenomic analyses of the superfamily Psylloidea (Hemiptera). *Systematic Entomology*, 43: 762–776.
- REESE J, CHRISTENSON M K, LENG N, SAHA S, HUNTER W B, 2014. Characterization of the Asian Citrus Psyllid transcriptome. *Journal of Genomics*, 2(5/6/7): 54–58.
- ROOSSINCK M J, 2008. *Symbiosis, mutualism and symbiogenesis*. Berlin: Springer.
- SURYA S, HUNTER W B, JUSTIN R, KENT M J, MIZURI M H, HUANG H, MAGDALEN L, DAN Z, 2012. Survey of endosymbionts in the *Diaphorina citri* metagenome and assembly of a *Wolbachia* wdi draft genome. *PLoS ONE*, 7(11): e50067.
- STACKEBRANDT E, GOODFELLOW M, 1991. *Nucleic acid techniques in bacterial systematics*. New York: John Wiley and Sons Ltd.
- THAO M L, BAUMANN P, 2004. Evolutionary relationships of primary prokaryotic endosymbionts of white flies and their hosts. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(6): 3401–3406.
- VARALDI J, MARTINEZ J, PATOT S, 2012. An inherited virus manipulating the behavior of its parasitoid host: epidemiology and evolutionary consequences. *Parasitoid Viruses: Symbionts and Pathogens*, 10: 203–214.
- WANG F, FANG Q, WANG B, YAN Z, JIAN H, BAO Y, KUHN J H, WERREN J H, SONG Q, YE G, 2017. A novel negative-stranded RNA virus mediates sex ratio in its parasitoid host. *PLoS Pathogens*, 13(3): e1006201.
- XU P, LIU Y, GRAHAM R I, WILSON K, WU K, 2014. Densovirus is a mutualistic symbiont of a global crop pest (*Helicoverpa armigera*) and protects against a baculovirus and Bt biopesticide. *PLoS Pathogens*, 10: e1004490.
- ZABALOU S, RIEGLER M, THEODORAKOPOULOU M, STÄUFFER C, SAVAKIS C, BOURTZIS K, 2004. *Wolbachia*-induced cytoplasmic incompatibility as a means for insect pest population control. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101: 15042–15045.

(责任编辑:郭莹)