



张治军, 陈奇章, 李雪生, 李晓维, 章金明, 黄俊, 吕要斌. 昆虫内共生菌沃尔巴克氏体抗病毒研究进展 [J]. 环境昆虫学报, 2021, 43 (3): 576–583.

## 昆虫内共生菌沃尔巴克氏体抗病毒研究进展

张治军<sup>1\*\*</sup>, 陈奇章<sup>1,2\*</sup>, 李雪生<sup>2</sup>, 李晓维<sup>1</sup>, 章金明<sup>1</sup>, 黄俊<sup>1</sup>, 吕要斌<sup>1\*\*</sup>

(1. 浙江省农业科学植物保护与微生物研究所, 杭州 301021; 2. 广西大学农学院, 南宁 530004)

**摘要:** 植物病毒病是危害我国蔬菜生产的第一大病害, 而烟粉虱 *Bemisia tabaci* Gennadius、蓟马和蚜虫等小型昆虫是蔬菜病毒病的主要传播媒介。虫传病毒病的防控策略复杂且难度大, 目前生产上主要依赖化学农药防治介体昆虫, 预防与控制蔬菜病毒病。种植户化学杀虫药剂的不合理使用、甚至滥用, 导致媒介昆虫抗药性、杀虫剂污染与残留等问题, 严重威胁农产品安全与生态安全。发展高效控制媒介昆虫及其传播重大病毒病害防控技术是保障食品安全、蔬菜产业健康可持续发展的迫切需求。内共生菌沃尔巴克氏体 *Wolbachia* 是节肢动物体内广泛存在并经卵传播的革兰氏阴性胞内次生共生细菌, 约 65% 的昆虫天然携带沃尔巴克氏体。沃尔巴克氏体对宿主昆虫具有胞质不亲和、产雌孤雌生殖、雌性化或者杀雄作用等生殖调控作用, 同时抑制虫媒病毒病在昆虫体内的复制和传播。基于沃尔巴克氏体的蚊媒及蚊媒病毒病控制研究与应用取得了重大进展, 现就沃尔巴克氏体抗病毒及其应用的最新进展和未来发展进行综述, 为发展蔬菜害虫及其传播病毒病防控技术提供新思路。

**关键词:** 昆虫; 沃尔巴克氏体; 病毒; 抗病毒; 病毒传播媒介

中图分类号: Q968.1; S433

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858 (2021) 03-0576-08

### Advance in research on antiviral effect of *Wolbachia*, an endosymbiotic bacteria

ZHANG Zhi-Jun<sup>1\*\*</sup>, CHEN Qi-Zhang<sup>1,2\*</sup>, LI Xue-Sheng<sup>2</sup>, LI Xiao-Wei<sup>1</sup>, ZHANG Jin-Ming<sup>1</sup>, HUANG Jun<sup>1</sup>, LU Yao-Bin<sup>1\*\*</sup> (1. Institute of Plant Protection and Microbiology, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China; 2. College of Agricultural Sciences, University of Guangxi, Nanning 530004, China)

**Abstract:** Plant virus disease is the most serious disease of vegetable production in China, whiteflies, thrips, aphids and other small insects are the main vectors of vegetable virus disease. The prevention and control strategies of insect borne virus diseases are complex and difficult. To prevent and control the vegetable virus diseases, chemical control is the main strategy used by the farmers. In addition, the unreasonable use and abuse of chemical insecticides by growers result into the vector insect resistance, pesticide pollution and residues, which seriously threaten the safety of agricultural products and ecological security. To ensure food safety and sustainable development of vegetable industry, it is urgent to develop an effective technology for controlling vector insects and insect vectoring virus diseases. *Wolbachia*, an

基金项目: 国家自然科学基金 (31672031); 浙江省重点研发项目 (2021C02003); 国家重点研发计划 (2018YFD02012083); 2017 年中国国家留学基金

作者简介: 张治军, 男, 博士研究生, 副研究员, 研究方向农业害虫防治, E-mail: zhijunzhanglw@hotmail.com; 陈奇章, 男, 硕士研究生, 研究方向农业害虫防治, E-mail: 374329129@qq.com

\*\* 共同通讯作者 Author for correspondence: 张治军, E-mail: zhijunzhanglw@hotmail.com; 吕要斌, 男, 博士研究生, 研究员, 研究方向农业害虫防治, E-mail: luybcn@163.com

收稿日期 Received: 2021-04-12; 接受日期 Accepted: 2021-05-29

endosymbiotic bacterium, is a gram-negative intracellular secondary symbiotic bacterium that widely exists in arthropods and spreads through eggs. About 65% of insects naturally carry *Wolbachia*. *Wolbachia* regulates the reproduction of host insects, such as Cytoplasmic Incompatibility, parthenogenesis, feminization or emasculation, and inhibition of the replication and transmission of Arbovirus in insects. Great progress has been made in the research and application of control mosquito and mosquito borne virus disease based on *Wolbachia* application. In this paper, the recent progress and prospective of *Wolbachia* antiviral and its application are reviewed, which provides a new idea for the development of prevention and control technology of vegetable pests and their vectoring virus diseases.

**Key words:** Insect; *Wolbachia*; virus; anti-virus; virus vectors

植物病毒病害严重制约农作物产量与品质。植物病毒种类繁多,目前已报道的植物病毒 1 100 余种(叶健,2019)。其中 80% 的植物病毒依赖于介体昆虫传播,且寄主范围广泛,包括粮食作物、油料作物、蔬菜、果树、花卉、药材和林木等,年经济损失达 4 000 亿元(叶健等,2017)。我国蔬菜种植面积和产量均居世界第一(张友军等,2013),病毒病是危害我国蔬菜生产的第一大病害,年危害面积达 11 378.5 万亩次,造成经济损失超 100 亿元,而烟粉虱、蓟马、蚜虫等小型昆虫是蔬菜病毒病的主要传播媒介,其传毒危害严重威胁我国蔬菜生产(张友军等,2013)。虫传病毒病害的防控既要控制病毒本身,又要通过控制介体昆虫来控制病毒病害的蔓延与流行,防治策略复杂、难度大;而且缺乏高选择性、高有效性植物病毒病防治药剂和高抗病毒病优良作物种质资源与品种,因此目前生产上仍主要依赖通过对介体昆虫的化学防治来实现病毒的预防与控制,同时由于种植户化学杀虫药剂的不合理使用、甚至滥用,导致媒介昆虫抗药性、杀虫剂污染与残留等问题,严重威胁农产品安全与生态安全(叶健等,2017)。因此,发展高效控制媒介昆虫及其传播重大病毒病害防控技术是保障国家粮食安全、蔬菜产业健康可持续发展的迫切需求。

昆虫内共生菌沃尔巴克氏体 *Wolbachia* 是一种节肢动物体内广泛存在并经卵传播的革兰氏阴性胞内次生共生细菌,约 65% 的昆虫种类天然携带沃尔巴克氏体,广泛分布于昆虫体内卵、卵巢和精巢等生殖组织,以及头、肌肉、中肠、唾液腺、马氏管、血淋巴和脂肪体等非生殖组织(Werren and Windsor,2000)。沃尔巴克氏体对宿主昆虫具有重要作用,一是改变昆虫适应环境的能力;二

是通过胞质不亲和、产雌孤雌生殖、雌性化或者杀雄作用等多种方式调控昆虫生殖;三是沃尔巴克氏体可以调控媒介昆虫对一些病毒病的复制和传播能力,比如沃尔巴克氏体增强黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 抵抗 RNA 病毒的能力(Bourtzis *et al.*,2013; Rainey *et al.*,2014);沃尔巴克氏体通过调控病毒在蚊子体内的复制过程降低蚊子对登革热病毒 *Dengue virus* (DENV)、基孔肯雅病毒 *Chikungunya virus* (CHIKV)、黄热病毒 *Yellow Fever virus* (YFV)、寨卡病毒 *Zika virus* (ZIKV) 和西尼罗病毒 *West Nile virus* (WNV) 等人类病毒的传播能力(Moreira *et al.*,2009; van den Hurk *et al.*,2012; Hussain *et al.*,2013; Aliota *et al.*,2016);沃尔巴克氏体在农业昆虫褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 体内具有抗水稻齿叶矮缩病毒 *Rice ragged stunt virus* (RRSV) 能力(Gong *et al.*,2020)。根据上述进展,基于昆虫共生菌沃尔巴克氏体的蚊媒及蚊媒人类病毒病控制研究与应用取得了重大进展,现就沃尔巴克氏体抗病毒及其应用的最新进展和未来发展进行综述,为发展蔬菜害虫及其传播病毒病防控技术提供新思路。

## 1 沃尔巴克氏体在昆虫体内抗病毒的普遍性及其决定因素

自发现沃尔巴克氏体在果蝇和蚊子体内具有抗 RNA 病毒以来,利用沃尔巴克氏体防控虫媒疾病的潜力受到了广泛关注(Pan *et al.*,2012; Bian *et al.*,2013; Gomes and Barillas-Mury,2018)。很多研究调查了沃尔巴克氏体对虫媒传毒能力的影响,结果表明沃尔巴克氏体可降低媒介昆虫蚊子对登革热病毒、基孔肯雅病毒、黄热病毒、寨卡病毒和西尼罗病毒等疾病的感染、扩散和传播能

力 (Moreira *et al.*, 2009; van den Hurk, 2012; Aliota *et al.*, 2016)。而在果蝇体内, 沃尔巴克氏体可抵抗弗洛克豪斯病毒 *Flock House virus* (FHV) 和果蝇 C 病毒 *Drosophila C virus* (DCV) (Martinez *et al.*, 2014; 2017)。此外, 也有报道沃尔巴克氏体在昆虫体内对病毒无影响, 甚至促进病毒感染。另外, 到目前为止仅有三项研究评价了沃尔巴克氏体对 DNA 病毒的抗性 (Luís *et al.*, 2008; Graham *et al.*, 2012; Palmer *et al.*, 2018), 没有证据表明沃尔巴克氏体具有抗 DNA 病毒作用, 而沃尔巴克氏体在昆虫体内抗 RNA 病毒是常见现象 (Pimentel *et al.*, 2021)。

沃尔巴克氏体在昆虫体内抗病毒的能力取决于沃尔巴克氏体株系及其在寄主体内的密度 (Martinez *et al.*, 2014; 2015)。通常在自然寄主体内沃尔巴克氏体抗病毒能力时较弱, 但是将沃尔巴克氏体转染到新的寄主体内后, 抗病毒能力更强 (Zug and Hammerstein, 2015)。比如, 强致病力沃尔巴克氏体株系 *wMelPop*, 最初来源于黑腹果蝇, 转染到埃及伊蚊 *Aedes aegypti* 后, 复制能力更强, 蚊虫体内沃尔巴克氏体密度更大, 对不同病毒都表现出很强的抵抗能力, 同时携带沃尔巴克氏体株系 *wMelPop* 的蚊子寿命缩短, 竞争力较弱 (Min and Benzer, 1997; Carrington *et al.*, 2009); 同样来源于黑腹果蝇的沃尔巴克氏体株系 *wMel*、*wMelCS* 均具有广谱抗病毒能力, 而对转染后寄主蚊子适合度无明显影响 (Martinez *et al.*, 2014; 2017); 还有来源于拟果蝇 *D. simulans* 的 *wAu* 株系、白纹伊蚊 *A. albopictus* 的 *wAlbB* 株系和灰飞虱 *Laodelphax striatellus* 的 *wStri* 株系转染到新寄主都具有抗病毒能力 (Bian *et al.*, 2010; Martinez *et al.*, 2014; Gong *et al.*, 2020)。将不同果蝇体内的多种沃尔巴克氏体株系转染到相同遗传背景的拟果蝇体内, 研究发现沃尔巴克氏体的抗病毒能力与寄主遗传背景无关, 而与沃尔巴克氏体株系相关。到目前为止, 不同株系沃尔巴克氏体在不同寄主体内抗 RNA 病毒的研究除了在实验室内进行以外, 在自然界应用沃尔巴克氏体抗病毒的研究也逐步陆续报道 (Laven *et al.*, 1967; Jeffery *et al.*, 2009; Hoffmann *et al.*, 2011; McGraw and O'Neill, 2013; Mains *et al.*, 2019; Nazni *et al.*, 2019; Zheng *et al.*, 2019; Ryan *et al.*, 2020)。至

少有 65% 的昆虫天然携带沃尔巴克氏体 (Kirsten and Peter *et al.*, 2008), 但是有关沃尔巴克氏体的抗病毒作用研究主要集中在双翅目昆虫果蝇和蚊子, 目前仅各有一项相关研究分别在鳞翅目 (Graham *et al.*, 2012) 和半翅目昆虫寄主内 (Gong *et al.*, 2020), 据此推测沃尔巴克氏体在昆虫体内分布如此广泛的原因之一可能是沃尔巴克氏体在昆虫体内的抗病毒作用。因此需要在更多种类昆虫上展开相关研究, 以验证沃尔巴克氏体的抗病毒作用是否也存在于其它昆虫寄主内, 这样有助于解释沃尔巴克氏体的抗病毒作用可能是其本身在自然昆虫种群内广泛分布的主要原因之一。

## 2 沃尔巴克氏体在寄主体内抗病毒机理

现有研究表明, 沃尔巴克氏体可抑制多种病毒, 关于沃尔巴克氏体抗病毒机理主要有二种: 一是沃尔巴克氏体通过激活寄主先天免疫反应对抗病毒等病原物体 (Xi *et al.*, 2008; Zakaria *et al.*, 2010; Thomas *et al.*, 2011; Rainey *et al.*, 2014); 二是沃尔巴克氏体与病毒等病原体在寄主体内竞争营养物质 (Linand Yasuko, 2003; Wu *et al.*, 2004); 此外, 也有报道沃尔巴克氏体调控其它寄主因子, 比如上调甲基转移酶, 从而抑制 RNA 病毒复制 (Bhattacharya *et al.*, 2017)。

### 2.1 沃尔巴克氏体诱导寄主先天免疫反应

昆虫在长期抵御微生物入侵的过程中, 进化出强大的免疫系统以清除体内外来微生物。先天免疫是昆虫体内抵御外来病原体的第一道防线。昆虫的先天免疫系统通过多种模式识别受体 (pattern-recognition receptors, PRRs) 对外来微生物特定的组分进行识别, 从而激活免疫信号通路, 并介导效应物表达以抵御病原物感染。对病原微生物生存不可或缺、极为保守、区别于宿主的所有微生物组分, 均称为病原相关分子模式 (pathogen associated molecular patterns, PAMPs)。昆虫不同模式识别受体 PRRs 可准确识别特定病原相关分子模式 PAMPs, 模式识别受体通过识别不同病原相关分子模式, 然后调控下游相关基因表达, 激活特定信号通路, 诱导昆虫免疫反应

(Akira *et al.*, 2006)。昆虫先天免疫系统还可以通过 PRRs 区分有益微生物和有害微生物, 促进有益微生物在昆虫体内繁殖 (Nyholm and Graf, 2012)。昆虫先天免疫系统主要包括体液免疫反应、细胞免疫反应和黑化免疫反应 (Lemaitre and Hoffmann, 2007), 沃尔巴克氏体在昆虫寄主体内激活多种免疫信号通路, 诱导昆虫免疫反应, 通路之间相互作用, 介导产生一系列效应分子, 增强寄主对外来生物的抵抗能力 (Choe *et al.*, 2002; Pan *et al.*, 2012; Pan *et al.*, 2018)。最初对黑腹果蝇的研究表明, Toll 样受体和免疫缺陷 IMD 信号通路是调控昆虫免疫反应的两种主要识别模式通路, Toll 通路主要识别革兰氏阳性细菌, IMD 通路主要识别真菌和革兰氏阴性细菌, 并产生相应抗菌肽等效应因子 (Hoffman, 2003; Teixeira *et al.*, 2008; Hedges *et al.*, 2008)。随后在蚊子相关研究中也发现类似的信号机制, 沃尔巴克氏体 *wAlbB* 菌株侵入埃及伊蚊后, 激活 Toll 信号通路和 IMD 信号通路, 诱导蚊子体内相关基因表达上调并产生抗菌肽等效应因子, 抑制登革热病毒在蚊子中肠内复制以及向胸部和头部传播与扩散, 降低蚊子传播病毒能力 (Bian *et al.*, 2010)。沃尔巴克氏体菌株 *wAlbB* 感染埃及伊蚊, 促进宿主埃及伊蚊体内活性氧 (reactive oxygen species ROS) 产生, 宿主埃及伊蚊为了应对体内过量 ROS 产生, 于是激活免疫 Toll 通路, 产生抗氧化剂 (antioxidant) 以降低高活性氧给自身造成的危害, 而作为 Toll 通路下游的抗菌肽 (天蚕素、防御素) 等效应物亦随之激活, 从而对入侵的病毒产生抑制作用 (Pan *et al.*, 2012)。酚氧化酶级联反应可以促使细胞产生和分泌大量黑色素, 黑色素堆积在入侵病毒等病原物周围产生黑化作用, 阻碍入侵病原物增殖和营养物质获取, 从而抑制病毒 (Rodriguez-Andres *et al.*, 2012)。有关研究表明, 沃尔巴克氏体菌株 *wMelPop* 诱导黑腹果蝇体内酚氧化酶的级联反应提高酚氧化酶的活性, 增强黑化作用抵抗病毒 (Thomas *et al.*, 2011)。同一株系的沃尔巴克氏体在不同寄主中所引起的免疫途径可能不同, 同时不同株系沃尔巴克氏体在同一寄主中所引起的免疫途径可能不同, 因此抑制病毒能力也有所差别。

## 2.2 沃尔巴克氏体与病毒在寄主体内的营养竞争

研究发现沃尔巴克氏体可抑制病毒在昆虫体

内生长所需要的代谢分子 (如脂肪酸等), 或者沃尔巴克氏体在寄主体内与病毒竞争关键代谢产物, 使病毒失利而受到抑制, 因为寄主体内某些特定脂类物质的去除、减少或者修饰都会影响病毒的复制和增殖 (Molloy *et al.*, 2016; Geoghegan *et al.*, 2017)。在对果蝇的研究中发现, 沃尔巴克氏体干扰病毒复制, 但是不会影响免疫系统 (Bourtzis *et al.*, 2000; Rancès *et al.*, 2012), 这些现象表明沃尔巴克氏体可能通过免疫系统之外的其它途径影响病毒在寄主体内的复制。最合理的解释是沃尔巴克氏体在寄主体内与病毒处于相同位置, 并且两者增殖所需要的营养物质部分相同, 因此两者之间营养物质竞争而影响病毒复制。据相关研究报道, 沃尔巴克氏体和登革热病毒在蚊子体内增殖均严重依赖脂质及其他营养物质供给, 如胆固醇和铁等, 沃尔巴克氏体存在时, 可能对病毒复制产生影响, 从而抑制登革热病毒复制 (Caragata *et al.*, 2013; Molloy *et al.*, 2016; Geoghegan *et al.*, 2017)。寨卡病毒是以蚊子为主要传播媒介的虫媒病毒, 寨卡病毒与沃尔巴克氏体菌株共存于同一寄主时, 寨卡病毒的复制受到抑制, 而向寄主细胞提供胆固醇-脂质浓缩物后, 寨卡病毒复制能力得到部分恢复 (Schultz *et al.*, 2017)。这些证据表明营养物质竞争在抑制病毒复制中发挥重要作用。沃尔巴克氏体通过营养竞争途径抑制病毒可能是通过调控细胞自噬系统实现, 媒介昆虫体内存在细胞自噬系统, 即细胞自主清理或吞噬受损细胞、回收受损细胞内的营养物质 (Parzych and Klionsky, 2014)。沃尔巴克氏体具有调控媒介昆虫细胞自噬系统的能力, 而登革热病毒和基孔肯雅病毒则需要依靠自噬系统进行复制 (Krejchich-Trotot *et al.*, 2011)。因此推测沃尔巴克氏体可能通过调控媒介昆虫细胞自噬系统干扰病毒复制所必需的营养资源供应, 从而抑制病毒在寄主体内的复制。

## 3 基于沃尔巴克氏体防控病毒病的应用

应用沃尔巴克氏体控制虫媒及其虫媒病毒, 首先需建立靶标虫媒的沃尔巴克氏体感染种群。目前应用昆虫胚胎显微注射技术建立了果蝇 (Lin

and Yasuko, 2003; Rancès *et al.*, 2012)、白纹伊蚊 (Wu *et al.*, 2004; Zhang *et al.*, 2020)、埃及伊蚊 (Lobo *et al.*, 2002; Xi *et al.*, 2005; Jasinskiene *et al.*, 2007; McMeniman *et al.*, 2010; Moreira *et al.*, 2011)、斯氏按蚊 *Subgenus stephensi* Liston (Bian *et al.*, 2013) 和褐飞虱 *Nilaparvata lugens* (Stål) (Gong *et al.*, 2020) 等病媒昆虫单重、双重, 甚至三重沃尔巴克氏体感染实验室种群。利用沃尔巴克氏体感染种群与野生不携带或携带不同沃尔巴克氏体靶标虫媒交配产生胞质不亲和性, 通过多次连续释放沃尔巴克氏体感染种群雄虫导致靶标种群虫媒不育, 逐步减少靶标种群数量, 压制目标虫媒种群, 这样称之为种群压制策略 (Laven *et al.*, 1967); 有些沃尔巴克氏体感染种群与野生不携带或携带不同沃尔巴克氏体靶标虫媒交配产生胞质不亲和性不充分或者不产生胞质不亲和作用, 但是沃尔巴克氏体感染种群具有抗病毒能力, 加上沃尔巴克氏体母系遗传的特性, 当释放足量的沃尔巴克氏体感染种群雌蚊, 经历多代繁衍, 沃尔巴克氏体扩散到所有靶标虫媒种群中, 从而使新的抗病毒虫媒种群取代原有传病毒虫媒种群, 这样称之为种群替换策略 (McGraw and O'Neill, 2013)。对于上述两种策略经实验室小规模模拟实验, 积累了扎实的数据并建立数学模型, 为野外现场实际应用提供了基础。

基于沃尔巴克氏体应用的虫媒昆虫及其传播病毒控制现场实验取得了长足进展, 迄今最成功的是蚊虫及其蚊媒病毒的控制。科学家在澳大利亚东部约克斯诺波和戈登韦尔, 2011年1月至2012年3月, 连续10次释放携带 *wMel* 型沃尔巴克氏体埃及伊蚊, 通过种群替换控制当地主要媒介埃及伊蚊传播登革热, 当地埃及伊蚊中携带 *wMel* 型沃尔巴克氏体的比例达 100% (Hoffmann *et al.*, 2011)。研究人员 2013 年在越南中南海岸庆和省三阮岛释放感染沃尔巴克氏体的埃及伊蚊, 当地种群 80% 感染沃尔巴克氏体 (Jeffery *et al.*, 2009)。2013 年意大利科学家将新型沃尔巴克氏体 *wPip* 成功转入已清除双重感染沃尔巴克氏体的白纹伊蚊中, 建立了可引起双向胞质不亲和的新型沃尔巴克氏体感染白纹伊蚊种群, 野外试验结果表明沃尔巴克氏体新感染种群与野外种群交配可

引起胞质不亲和, 从而限制野外种群数量 (Dobson *et al.*, 2002; Calvitt *et al.*, 2010)。2018 年美国科学家在美国佛罗里达州迈阿密市南部连续释放携带 *WB1* 型沃尔巴克氏体的埃及伊蚊雄蚊压制野外种群增长, 结果表明与对照地区种群相比, 释放携带 *WB1* 型沃尔巴克氏体埃及伊蚊雄蚊区域的埃及伊蚊种群增长降低了 78% (Mains *et al.*, 2019)。2011–2019 年澳大利亚科学家在北昆士兰凯恩斯和汤斯维尔连续 9 年释放携带 *wMel* 型沃尔巴克氏体的埃及伊蚊, 携带 *wMel* 型沃尔巴克氏体的埃及伊蚊在当地建立稳定种群, 有效控制了当地蚊子对登革热病毒的传播, 释放携带沃尔巴克氏体埃及伊蚊的地区登革热发病率降低了 96% (Ryan *et al.*, 2020)。2017–2020 年在印度尼西亚释放该品系蚊子对当地登革热的防治效果达 77.1% (Utarini *et al.*, 2021)。2014–2018 年马来西亚科学家建立了适合于热带地区耐高温的沃尔巴克氏体 *wAlbB* 株感染埃及伊蚊种群, 并在马来西亚雪兰莪州连续释放, 沃尔巴克氏体 *wAlbB* 株感染埃及伊蚊种群成功替代了当地野生埃及伊蚊种群, 成功控制当地登革热病毒传播, 带沃尔巴克氏体埃及伊蚊种群释放地区的登革热发病率降低了 40% (Nazni *et al.*, 2019)。我国中山大学奚志勇教授团队 2012–2019 年建立了华南地区登革热和寨卡病毒主要传播媒介白纹伊蚊沃尔巴克氏体 *wPip*、*wAlbA* 和 *wAlbB* 株系三重感染品系, 该品系同时具有强胞质不亲和和抗病毒能力, 研究团队将沃尔巴克氏体胞质不亲和技术和昆虫不育技术有机结合, 进一步提高携带沃尔巴克氏体蚊虫种群的不育能力, 2014–2017 年于广东省广州市南沙区和番禺区 2 个独立岛屿上连续 4 年释放白纹伊蚊沃尔巴克氏体三重感染品系, 成功抑制了当地野外蚊子种群增长, 野外蚊子种群卵孵化率和成虫数量降低达 94%, 当地老百姓被蚊子叮咬的频率降低 88.7%~96.6% (Zheng *et al.*, 2019), 基于该试验的巨大成功, 该团队正在与广州市疾控中心合作逐步往广州市城中村和老城区试验推广该技术防控白纹伊蚊及其传播的登革热病毒, 同时该团队在美国国际开发署资助下 2018 年在墨西哥建立了第一个海外蚊子工厂以防寨卡在拉美地区流行。

## 4 基于沃尔巴克氏体抗病毒应用的机遇和挑战

基于沃尔巴克氏体在媒介昆虫体内对病毒等病害具有良好的抑制效果, 加上可以通过种群替换或者种群压制策略控制媒介昆虫, 因此应用沃尔巴克氏体能够稳定、持续、高效地阻断虫媒病毒传播。可在大尺度区域内防控传毒虫媒及其传播病毒, 一旦防治成功, 相应区域能够形成一个相对稳定的生态环境, 使得携带病毒的外来种群难以入侵, 从而实现对区域相应虫媒及其传播病毒长期有效控制。应用该技术具有经济、环保、有效期长的优势, 且可与其他防控措施整合应用, 彼此没有干扰, 有望在农业领域粮食、蔬菜和水果作物病媒及其传播病毒等病原菌防控中拓展应用。然而实施基于沃尔巴克氏体应用的虫媒及其传播病害防控, 与其它生物防控技术一样, 跟化学防治等技术相比, 见效慢, 但是其持效期长。该技术应用具有虫媒种特异性, 需要针对每一种虫媒单独设计和建立控制方法, 前期建立新型沃尔巴克氏体品系技术难度大, 耗时长, 尤其是蔬菜病毒病虫媒, 如蓟马、粉虱和蚜虫等害虫体型小, 建立沃尔巴克氏体感染品系难度更大, 但随着技术发展, 相关问题都会相继得到解决。

### 参考文献 (References)

- Aliota MT, Peinado SA, Velez ID, Osorio JE. The *wMel* strain of *Wolbachia* reduces transmission of Zika virus by *Aedes aegypti* [J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 28792.
- Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity [J]. *Cell*, 2006, 124 (4): 783–801.
- Bhattacharya T, Newton I, Hardy RW. *Wolbachia* elevates host methyltransferase expression to block an RNA virus early during infection [J]. *PLoS Pathogens*, 2017, 13 (6): e1006427.
- Bian GW, Xu Y, Lu P, et al. The endosymbiotic bacterium *Wolbachia* induces resistance to dengue virus in *Aedes aegypti* [J]. *PLoS Pathogen*, 2010, 6: e1000833.
- Bian GW, Joshi D, Dong Y, et al. *Wolbachia* invades *Anopheles stephensi* populations and induces refractoriness to *Plasmodium* infection [J]. *Science*, 2013, 340 (6133): 748–751.
- Bourtzis K, Pettigrew MM, O'Neill SL. *Wolbachia* neither induces nor suppresses transcripts encoding antimicrobial peptides [J]. *Insect Molecular Biology*, 2000, 9 (6): 635–639.
- Bourtzis K, Dobson SL, Xi ZY, et al. Harnessing mosquito-*Wolbachia* symbiosis for vector and disease control [J]. *Acta Tropica*, 2014, 132: S150–S163.
- Calvitti M, Moretti R, Lampazzi E, et al. Characterization of a new *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae)–*Wolbachia pipientis* (Rickettsiales: Rickettsiaceae) symbiotic association generated by artificial transfer of the *wPip* strain from *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) [J]. *Journal of Medical Entomology*, 2010, 47 (2): 179–187.
- Caragata EP, Rancès E, Hedges LM, et al. Dietary cholesterol modulates pathogen blocking by *wolbachia* [J]. *PLoS Pathogen*, 2013, 9: e1003459.
- Carrington LB, Leslie J, Weeks AR, et al. The popcorn *Wolbachia* infection of *Drosophila melanogaster*: Can selection alter *Wolbachia* longevity effects? [J]. *Evolution*, 2009, 63 (10): 2648–2657.
- Choe KM, Werner T, Stöven S, et al. Requirement for a peptidoglycan recognition protein (PCRP) in relish activation and antibacterial immune responses in *Drosophila* [J]. *Science*, 2002, 296 (5566): 359–362.
- Dobson SL, Marsland EJ, Rattanadechakul W. Mutualistic *Wolbachia* infection in *Aedes albopictus*: Accelerating cytoplasmic drive [J]. *Genetics*, 2002, 160 (3): 1087–1094.
- Glaser RL, Meola MA. The native *Wolbachia* endosymbionts of *Drosophila melanogaster* and *Culex quinquefasciatus* increase host resistance to west Nile virus infection [J]. *PLoS ONE*, 2010, 5 (8): e1197.
- Geoghegan V, Stainton K, Rainey SM, et al. Perturbed cholesterol and vesicular trafficking associated with dengue blocking in *Wolbachia*–infected *Aedes aegypti* cells [J]. *Nature Communications*, 2017, 8 (1): 526.
- Gomes F M, Barillas–Mury C. Infection of *Anopheline* mosquitoes with *Wolbachia*: Implications for malaria control [J]. *PLoS Pathogens*, 2018, 14 (11): e1007333.
- Gong JT, Li YJ, Li TP, et al. Stable introduction of plant–virus–inhibiting *Wolbachia* into Planthoppers for rice protection [J]. *Current Biology*, 2020, 30 (24): 4837–4845.
- Graham R I, Grzywacz D, Mushobozi W L, et al. *Wolbachia* in a major African crop pest increases susceptibility to viral disease rather than protects [J]. *Ecology Letters*, 2012, 15 (9): 993–1000.
- Hedges LM, Brownlie JC, O'Neill SL, et al. *Wolbachia* and virus protection in insects [J]. *Science*, 2008, 322 (5902): 702–702.
- Hoffmann JA. The immune response of *Drosophila* [J]. *Nature*, 2003, 426 (6962): 33–38.
- Hoffmann AA, Montgomery BL, Popovici J, et al. Successful establishment of *Wolbachia* in *Aedes* populations to suppress dengue transmission [J]. *Nature*, 2011, 476 (7361): 454–457.
- Hussain M, Lu G, Torres S, et al. Effect of *Wolbachia* on replication of West Nile virus in a mosquito cell line and adult mosquitoes [J]. *Journal of Virology*, 2013, 87 (2): 851–858.
- Jasinskiene N, Juhn J, James AA. Microinjection of *Aedes aegypti*

- embryos to obtain transgenic mosquitoes [J]. *of Visualized Experiments*, 2007, 5 (5): 219.
- Jeffery JA, Thi Yen N, Nam VS, et al. Characterizing the *Aedes aegypti* population in a Vietnamese village in preparation for a *Wolbachia* based mosquito control strategy to eliminate dengue [J]. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2009, 3 (11): 1–12.
- Kambris Z, Blagborough AM, Pinto SB, et al. *Wolbachia* stimulates immune gene expression and inhibits plasmodium development in *Anopheles gambiae* [J]. *PLoS Pathogens*, 2010, 4 (7): e1000098.
- Kirsten H, Peter H, Peter S, et al. How many species are infected with *Wolbachia*? – A statistical analysis of current data [J]. *Fems Microbiology Letters*, 2008, 281 (2): 215–220.
- Krejchich-Trotot P, Gay B, Li P, et al. Chikungunya triggers an autophagic process which promotes viral replication [J]. *Virology Journal*, 2011, 8 (1): 432–432.
- Laven H. Eradication of *Culex pipiens fatigans* through cytoplasmic incompatibility [J]. *Nature*, 1967, 216 (5113): 383–384.
- Lemaitre B, Hoffmann J. The host defense of *Drosophila melanogaster* [J]. *Annual Review of Immunology*, 2007, 25 (1): 697–743.
- Lin MQ, Rikihisa Y. *Ehrlichia chaffeensis* and *Anaplasma phagocytophilum* lack genes for lipid biosynthesis and incorporate cholesterol for their survival [J]. *Infection and Immunity*, 2003, 71 (9): 5324–5331.
- Lobo NF, Hua-Van A, Li X et al. Germ line transformation of the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*, mediated by transpositional insertion of a piggy Bac vector [J]. *Insect Molecular Biology*, 2002, 11 (2): 133–139.
- Luis T, Álvaro F, Michael A, et al. The bacterial symbiont *Wolbachia* induces resistance to RNA viral infections in *Drosophila melanogaster* [J]. *PLoS Biology*, 2008, 6 (12): e1000002.
- Mains JW, Kelly PH, Dobson KL, et al. Localized control of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Miami, FL, via inundative releases of *Wolbachia* – infected male mosquitoes [J]. *Journal of Medical Entomology*, 2019, 56 (5): 1296–1303.
- Martinez J, Longdon B, BaUer S, et al. Symbionts commonly provide broad spectrum resistance to viruses in insects: A comparative analysis of *Wolbachia* strains [J]. *PLoS Pathogen*, 2014, 10 (9): e1004369.
- Martinez J, Ok S, Smith S, et al. Should symbionts be nice or selfish? Antiviral effects of *Wolbachia* are costly but reproductive parasitism is not [J]. *PLoS Pathogen*, 2015, 11 (7): e1005021 –.
- Martinez J, Tolosana I, Ok S, et al. Symbiont strain is the main determinant of variation in *Wolbachia* – mediated protection against viruses across *Drosophila* species [J]. *Molecular Ecology*, 2017, 26: 4072–84.
- Min KT, Benzer S. *Wolbachia*, normally a symbiont of *Drosophila*, can be virulent, causing degeneration and early death [J]. *Proceeding of National Academy Science of United States of America*, 1997, 94 (20): 10972–10796.
- McMeniman CJ, O'Neill SL. A virulent *Wolbachia* infection decreases the viability of the dengue vector *Aedes aegypti* during periods of embryonic quiescence [J]. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2010, 4 (7): e748.
- Molloy JC, Sommer U, Viant MR, Sinkins SP. *Wolbachia* modulates lipid metabolism in *Aedes albopictus* mosquito cells [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2016, 82: 3109–20.
- Moreira LA, Iturbe-Ormaetxe I, Jeffery JA, et al. A *Wolbachia* symbiont in *Aedes aegypti* limits infection with Dengue, Chikungunya, and Plasmodium [J]. *Cell*, 2009, 139: 1268–1278.
- Moreira LA, Ye YH, Turner K, et al. The *wMelPop* strain of *Wolbachia* interferes with dopamine levels in *Aedes aegypti* [J]. *Parasit Vectors*, 2011, 4 (1): 28.
- Nazni WA, Hoffmann AA, Noorafzah A, et al. Establishment of *Wolbachia* strain *wAlbB* in Malaysian populations of *Aedes aegypti* for dengue control [J]. *Current Biology*, 2019, 29 (24): 4241–4248.
- Nyholm SV, Graf J. Knowing your friends: Invertebrate innate immunity fosters beneficial bacterial symbioses [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2012, 10 (12): 815–827.
- PalmerWH, Medd NC, Beard PM, et al. Isolation of a natural DNA virus of *Drosophila melanogaster*, and characterisation of host resistance and immune responses [J]. *PLoS Pathogens*, 2018, 14 (6): e1007050.
- Pan XL, Pike A, Joshi D, et al. The bacterium *Wolbachia* exploits host innate immunity to establish a symbiotic relationship with the dengue vector mosquito *Aedes aegypti* [J]. *The ISME Journal*, 2018, 12 (1): 277–288.
- Pan XL, Zhou GL, Wu JH, et al. *Wolbachia* induces reactive oxygen species (ROS) – dependent activation of the Toll pathway to control dengue virus in the mosquito *Aedes aegypti* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109 (1): 13–14.
- Parzych KR, Klionsky DJ. An overview of autophagy: Morphology, mechanism, and regulation [J]. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2014, 20 (3): 460–473.
- Pimentel AC, Cesar CS, Martins M, et al. The antiviral effects of the symbiont bacteria *Wolbachia* in insects [J]. *Frontiers in Immunology*, 2021, 11: 626329.
- Rodriguez-Andres J, Rani S, Varjak M, et al. Phenoloxidase activity acts as a mosquito innate immune response against infection with Semliki forest virus [J]. *PLoS Pathogens*, 2012, 8 (11): e1002977.
- Rainey SM, Shah P, Kohl A, Dietrich I. Understanding the *Wolbachia*–mediated inhibition of arboviruses in mosquitoes: Progress and challenges [J]. *The Journal of General Virology*, 2014, 95: 517–530.
- Rancès E, Ye YH, Woolfit M, et al. The relative importance of innate

- immune priming in *Wolbachia*-mediated dengue interference [J]. *PLoS Pathogens*, 2012, 8 (2): e1002548.
- Ryan PA, Turley AP, Wilson G, et al. Establishment of *wMel* *Wolbachia* in *Aedes aegypti* mosquitoes and reduction of local dengue transmission in Cairns and surrounding locations in northern Queensland, Australia [J]. *Gates Open Research*, 2020, 3: 1547.
- Schultz MJ, Isern S, Michael SF, et al. Variable inhibition of Zika virus replication by different *Wolbachia* strains in mosquito cell cultures [J]. *Journal of Virology*, 2017: JVI.00339-17.
- Thomas P, Kenny N, Eyles D, et al. Infection with the *wMel* and *wMelPop* strains of *Wolbachia* leads to higher levels of melanization in the hemolymph of *Drosophila melanogaster*, *Drosophila simulans* and *Aedes aegypti* [J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2011, 35 (3): 0-365.
- Utarini Q, Indriani C, Ahma RA, et al. Efficacy of *Wolbachia*-infected mosquito deployments for the control of dengue [J]. *The New England Journal of Medicine*, 2021, 384 (23): 2177-2186.
- van den Hurk AF, Hall - Mendelin S, Pyke AT, et al. Impact of *Wolbachia* on infection with Chikungunya and Yellow fever viruses in the mosquito vector *Aedes aegypti* [J]. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2012, 6: e1892.
- Werren JH, Windsor DM. *Wolbachia* infection frequencies in insects: Evidence of a global equilibrium? [J]. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2000, 267 (1450): 1277-1285.
- Wu M, Sun LV, Vamathevan J, et al. Phylogenomics of the reproductive parasite *Wolbachia pipiensis wMel*: A streamlined genome overrun by mobile genetic elements [J]. *PLoS Biology*, 2004, 2 (3): 327-341.
- Xi ZY, Khoo CC, Dobson SL. *Wolbachia* establishment and invasion in an *Aedes aegypti* laboratory population [J]. *Science*, 2005, 3109 (5746): 326-328.
- Xi ZY, Ramirez JL, Dimopoulos G. The *Aedes aegypti* Toll pathway controls dengue virus infection [J]. *PLoS Pathogens*, 2008, 6 (10): e1001143.
- Ye J, Gong YQ, Fang RX. Research progress and perspective of tripartite interaction of virus-vector-plant in vector-borne viral diseases [J]. *Bulletin of the Chinese Academy of Sciences*, 2017, 8: 845-855. [叶健, 龚雨晴, 方荣祥. 病毒-昆虫-植物三者互作研究进展及展望 [J]. 中国科学院院刊, 2017, 8: 845-855]
- Ye J. The innovation of green prevention and control technology for crop virus disease [J]. *Science & Technology for Development*, 2019, 119 (4): 362-368. [叶健. 农作物病毒病害绿色防控技术创新 [J]. 科技促进发展, 2019, 119 (4): 362-368]
- Zhang YJ, Wu QJ, Wang SL, et al. Current status and prospects of the important insect pests on the vegetable crops in China [J]. *Plant Protection*, 2013, 39 (5): 38-45. [张友军, 吴青君, 王少丽, 等. 我国蔬菜重要害虫研究现状与展望 [J]. 植物保护, 2013, 39 (5): 38-45]
- Zheng XY, Zhang DJ, Li YJ, et al. Incompatible and sterile insect techniques combined eliminate mosquitoes [J]. *Nature*, 2019, 572: 56-61.
- Zug R, Hammerstein P. Bad guys turned nice? A critical assessment of *Wolbachia* mutualisms in arthropod hosts [J]. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 2015, 90 (1): 89-111.