

内共生菌 *Buchnera* 对桃蚜生长发育的影响

严 硕^{1, 2} 张战泓³ 刘 勇² 史晓斌^{2*} 张德咏^{1, 2*}

(¹ 湖南农业大学植物保护学院, 湖南长沙 410128; ² 湖南省农业科学院植物保护研究所, 湖南长沙 410128; ³ 湖南省农业科学院蔬菜研究所, 湖南长沙 410128)

摘 要: 为明确桃蚜内共生菌 *Buchnera aphidicola* 对桃蚜生长发育和繁殖的影响, 为有效控制桃蚜提供新的思路, 本试验以十字花科(萝卜)、茄科(辣椒)和葫芦科(黄瓜)蔬菜为试材, 比较健康桃蚜和利福平处理后的桃蚜在3种蔬菜上的生长发育和繁殖情况。结果表明, 不同浓度利福平处理后桃蚜 *Buchnera* 的 *DNAK* 基因表达量均显著降低; 200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 利福平处理后的桃蚜产蚜量、寿命和体重都显著低于健康桃蚜。说明桃蚜的内共生菌 *Buchnera* 在其生长发育过程中起着非常重要的作用, 降低内共生菌的量对桃蚜可产生不利影响。

关键词: 桃蚜; 内共生菌; 利福平; 蔬菜; 生长发育

蚜虫是蔬菜生产中的重要害虫, 种类多、繁殖快。蚜虫通常密集为害, 刺吸植物汁液, 造成植物严重失去水分和营养, 叶面皱缩、发黄。蚜虫取食时还可分泌蜜露, 引发煤污病。此外, 蚜虫还可以传播多种病毒病, 造成更大的损失。

大多数蚜虫体内都含有初生内共生菌——*Buchnera aphidicola* (Baumann et al., 1995)。蚜虫与

Buchnera 之间存在着互利共生的关系, 这种关系是长期协同进化的结果 (Hansen & Moran, 2014)。蚜虫为内共生菌提供生存环境和营养来源, 内共生菌为蚜虫的生长发育提供多种必需的营养物质, 帮助蚜虫抵御天敌 (Hunter et al., 2003; Oliver et al., 2003), 在蚜虫的新陈代谢中发挥着重要的作用 (Douglas, 1998; McLean et al., 2011)。抑制蚜虫体内的共生菌不但可以直接或间接地控制蚜虫, 而且还可有效提高杀虫剂的防治效果, 最终实现“抑菌防虫”, 对蚜虫防治具有非常重要的意义。

利福平为利福霉素类半合成广谱抗菌药, 对多种病原微生物均具有抗菌活性, 本试验采用利福平处理桃蚜来达到抑制桃蚜内共生菌的效果, 并比较了健康桃蚜和抗生素处理的桃蚜在3种蔬菜上的生

严硕, 女, 硕士研究生, 专业方向: 蔬菜害虫与内共生菌互作, E-mail: 334049858@qq.com

* 通讯作者 (Corresponding authors): 张德咏, 男, 研究员, 博士生导师, 专业方向: 植物病理学, E-mail: dyzhang78@163.com; 史晓斌, 女, 助理研究员, 硕士生导师, 专业方向: 媒介昆虫与植物病毒互作, E-mail: xiaobin.s@163.com

收稿日期: 2016-12-19; 接受日期: 2017-03-14

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31571981, 31672003, 31501643)

型, 鼓励农业龙头企业产品上网, 加快现有专业市场、大型商场、购物中心的整合提升, 形成线上产业带, 线上线下融合, 实现蔬菜电商产业健康可持续发展。

2.7 科学定位目标人群, 正确选择销售品类

目前, 生鲜电商的消费人群应以追求高品质生活、购物时间成本高的年轻都市白领为主, 因此, 在定位农产品品类时, 要突出特色, 走小而精的路子, 以产品的高质量和高品质拉动消费需求, 避免

品类繁多、大而全的供应模式。

2.8 逐步提升客单价

电商要实现盈利, 必须要在农产品供给侧和中间端进行改革创新, 通过完善标准化、冷链配送等环节, 优化资源配置, 不断降低边际成本和运营成本, 提高生鲜产品的质量, 以形成价格优势, 以优质优价的生鲜产品逐步提升客单价。随着线上市场信用度的提高, 持续增强对顾客的吸引力, 达到规模化、集约化发展, 从而实现盈利的良性循环。

长发育情况,以明确内共生菌对不同蔬菜上的桃蚜生长发育的影响,从而为蚜虫的综合防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验于2016年6月开始进行,试验地点为湖南省农业科学院植物保护研究所。以十字花科蔬菜萝卜、茄科蔬菜辣椒、葫芦科蔬菜黄瓜为试材,萝卜(*Raphanus sativus* Linn.)品种为中蔬红樱桃、辣椒(*Capsicum annuum* L.)品种为中椒5号、黄瓜(*Cucumis sativus* L.)品种为中农8号,均购自中蔬种业科技(北京)有限公司。

供试虫源为湖南农业科学院植物保护研究所在室内烟草上饲养的桃蚜种群,试验前分别在3种蔬菜上饲养了60 d,进行适应性锻炼,并建立了3种蔬菜上的桃蚜种群。

1.2 利福平处理对桃蚜内共生菌的影响

用30%(*m*:*V*)蔗糖溶液将利福平(Rifampicin,优级纯GR, Sigma公司)配置成10、50、100、200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 4个浓度水平;对照为相同浓度的蔗糖溶液。在玻璃管上端以双层Parafilm膜覆盖,中间分别加入200 μL 含利福平和不含利福平的蔗糖溶液。每个玻璃管放入50头经过饥饿处理6 h、发育一致的成蚜,玻璃管下端用单层Parafilm膜覆盖。将玻璃管四周用锡箔纸包好,放入光照培养箱中,控制条件为温度(25 ± 1) $^{\circ}\text{C}$,光周期14 L:10 D, RH=60%。处理48 h后将存活的蚜虫取出,用qPCR测定内共生菌表达量,每个处理进行8次生物学重复,每个生物学重复包含4次技术重复。qPCR引物根据内共生菌的*DNAK*基因设计(F:5'-ATGGGTAATAATTATTGGTATTG-3', R:5'-ATAGCTTGACGTTTAGCAGG-3')(Wilson et al., 2006),根据表达量测定结果,选取200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 处理桃蚜并在3种蔬菜上观察其生长发育情况。

1.3 桃蚜生长发育观察

利福平处理对桃蚜产蚜量和寿命的影响:取同期播种的苗龄30 d的萝卜、辣椒和黄瓜幼苗,分别单株置于洁净的养虫笼内,将刚完成蜕皮的健康成蚜和经200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 利福平处理后的成蚜接种

到植物上,每株幼苗上放1头成蚜,在主茎秆上涂1圈凡士林防止蚜虫逃逸。每天观察蚜虫的存活情况和产蚜量,用毛笔轻轻除去若蚜,直至所有蚜虫死亡。每种蔬菜作物10次重复。

利福平处理对桃蚜发育历期的影响:将健康初生若蚜和200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 利福平处理后的若蚜每10头1组,分别放在上述不同无虫笼内的3种蔬菜作物上,每隔8 h调查若蚜数量和蜕皮数,直至成蚜,记录发育历期,并计算平均值。每种蔬菜作物10次重复。

利福平处理对桃蚜体重的影响:每株幼苗上分别放置50头健康的和200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 利福平处理后的发育时间相同的成蚜,饲养5 d后,在每株幼苗上随机选取健康的和200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 利福平处理后的成蚜20头称体重。每种蔬菜作物10次重复。

1.4 数据处理

采用Microsoft Excel 2010软件记录和处理试验数据,采用IBM SPSS Statistics 19软件进行数据分析,利福平处理对桃蚜内共生菌的表达量分析采用单因素方差分析,用Tukey检验方法进行差异比较;采用独立样本*t*检验比较健康桃蚜和抗生素处理的桃蚜的生长发育情况。

2 结果与分析

2.1 利福平处理对桃蚜内共生菌的影响

由图1可以看出,随着抗生素利福平浓度的增大,桃蚜内共生菌*Buchnera*的*DNAK*基因表达量逐渐降低,与对照差异极显著。其中200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$

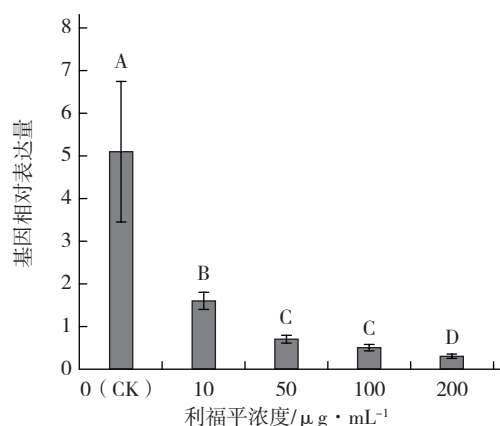


图1 利福平处理对桃蚜内共生菌的影响

图柱上不同大写字母表示差异极显著($P < 0.01$)。

利福平处理后, 内共生菌 *Buchnera* 的 *DNAK* 基因表达量最低。

2.2 利福平处理对桃蚜生长发育的影响

由图 2 可以看出, 萝卜、辣椒和黄瓜上健康桃蚜的平均产蚜量依次为 48、35、23 头·株⁻¹; 用 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 利福平处理后, 产蚜量均显著降低, 萝卜、辣椒和黄瓜上桃蚜的平均产蚜量依次为 39、26、16 头·株⁻¹。

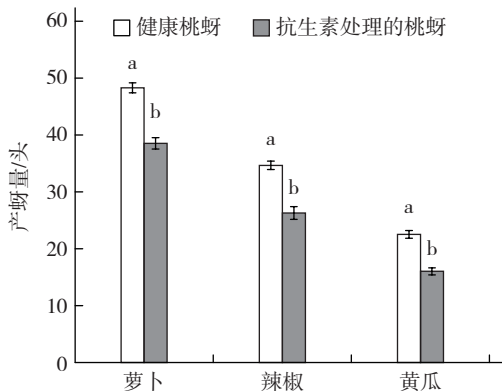


图 2 利福平处理对桃蚜产蚜量的影响

同种蔬菜图柱上不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$), 下图同。

由图 3 可以看出, 萝卜、辣椒和黄瓜上健康桃蚜的平均寿命依次为 15、13、10 d; 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 利福平处理显著降低了桃蚜的平均寿命, 萝卜、辣椒和黄瓜上桃蚜的平均寿命分别为 10、8、5 d。

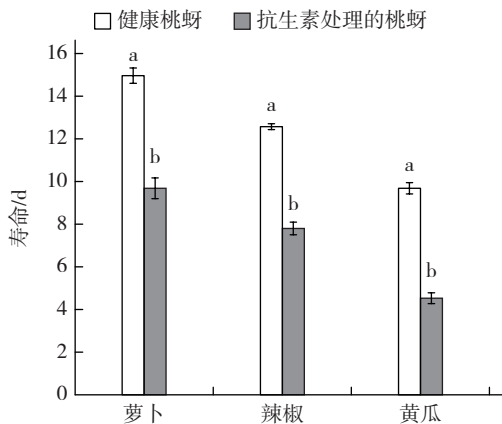


图 3 利福平处理对桃蚜寿命的影响

由图 4 可以看出, 桃蚜在黄瓜、辣椒和萝卜上的平均发育历期依次为 8、7、6 d。用 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 利福平处理后, 3 种蔬菜上桃蚜的平均发育历期与健康桃蚜相比无显著差异。

由图 5 可以看出, 萝卜、辣椒和黄瓜上桃蚜的平均体重依次为 0.14、0.12、0.11 g; 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$

利福平处理显著降低了桃蚜的体重, 萝卜、辣椒和黄瓜上桃蚜的平均体重依次为 0.10、0.07、0.06 g。

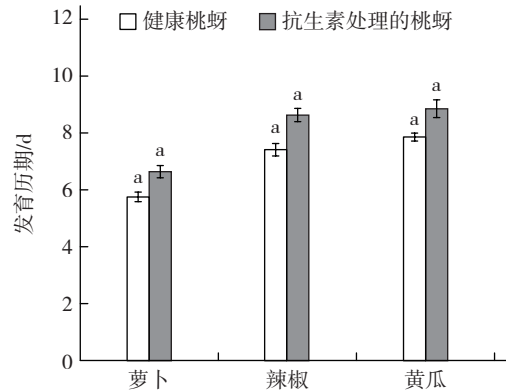


图 4 利福平处理对桃蚜发育历期的影响

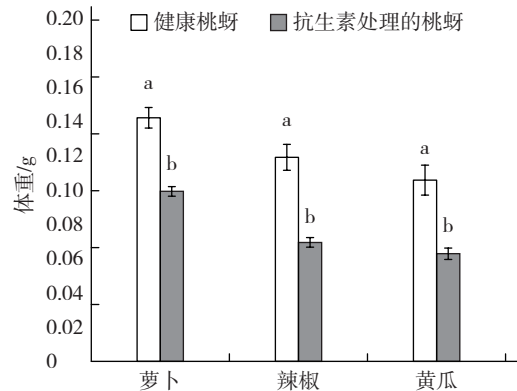


图 5 利福平处理对桃蚜体重的影响

3 结论与讨论

内共生菌与昆虫在长期的进化过程中形成了非常密切的共生关系, 在昆虫的生长、发育以及进化等方面都有着非常重要的意义。研究二者之间的互动关系不仅可以揭示不同物种的进化方式及机制, 而且可以为今后的害虫防治提供参考 (李正西和李定旭, 2005; 谭周进等, 2005; 冯利等, 2008)。

研究表明, 利福平处理可以去除蚜虫体内的共生菌 (Prosser & Douglas, 1991; Miao & Ding, 2003)。本试验发现, 不同浓度的利福平处理后, 桃蚜内共生菌 *Buchnera* 的 *DNAK* 基因表达量极显著低于健康桃蚜, 然而在浓度达到 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时仍未将 *Buchnera* 全部去除。可能是由于 *Buchnera* 属于初生内共生菌, 与蚜虫一起共同进化, 且能够为蚜虫提供营养物质, 因而蚜虫对其有一定的保护作用。

本试验发现, 利福平处理后的桃蚜在 3 种蔬菜上的生物学特性均显著降低, 具体表现为产蚜量下降、寿命缩短、体重降低, 说明桃蚜的内共生菌 *Buchnera* 在其生长发育过程中起着非常重要的作用。目前蚜虫的防治主要靠化学防治, 大量使用农药引起了蚜虫抗药性的产生以及环境污染等一系列问题 (高亮, 2002; 刘奎 等, 2010)。未来可以尝试通过“抑菌防虫”的手段来控制蚜虫, 即通过外源物质抑制蚜虫的内共生菌来达到防治目的。随着现代微生物和生物技术的不断发展和应用, “抑菌防虫”将在蚜虫及其他害虫防治中发挥重要的作用。

参考文献

- 冯利, 孙玉诚, 戈峰, 马骏. 2008. 蚜虫—内共生菌的互利共生研究综述. 江西农业学报, 20 (6): 65–68.
- 高亮. 2002. 百部·楝·烟乳油防治桃蚜及其在莴苣上的残留试验. 中国蔬菜, (4): 12–14.
- 李正西, 李定旭. 2005. 桃蚜自然种群初级和次级胞内共生菌的分子鉴定. 昆虫学报, 48 (5): 810–814.
- 刘奎, 许江, 林上统, 关义甫, 卢辉, 钟义海. 2010. 防治豇豆蚜虫和美洲斑潜蝇的田间药效试验. 中国蔬菜, (6): 63–66.
- 谭周进, 肖启明, 谢丙炎. 2005. 昆虫内胞内共生菌研究概况. 微生物学通报, 32 (4): 140–143.
- Baumann P, Baumann L, Lai C Y, Rouhbaksh D, Moran N A, Clark M A. 1995. Genetics, physiology, and evolutionary relationships of the genus *Buchnera*: intracellular symbionts of aphids. *Annu Rev Microbiol*, 49: 55–94.
- Douglas A E. 1998. Nutritional interactions in insect–microbial symbioses: aphids and their symbiotic bacteria *Buchnera*. *Annu Rev Entomol*, 43: 17–37.
- Hansen A K, Moran N A. 2014. The impact of microbial symbionts on host plant utilization by herbivorous insects. *Mol Ecol*, 23 (6): 1473–1496.
- Hunter M S, Perlman S J, Kelly S E. 2003. A bacterial symbiont in the *Bacteroidetes* induces cytoplasmic incompatibility in the parasitoid wasp *Encarsia pergandiella*. *Proc R Soc B*, 270: 2185–2190.
- McLean A H C, van Asch M, Ferrari J, Godfray H C J. 2011. Effects of bacterial secondary symbionts on host plant use in pea aphids. *Proc R Soc B*, 278: 760–766.
- Miao X X, Ding D C. 2003. Interaction between aphids and its intracellular bacterial symbionts *Buchnera*. *Entomol Sin*, 10 (3): 167–171.
- Oliver K M, Russell J A, Moran N A, Hunter M S. 2003. Facultative bacterial symbionts in aphids confer resistance to parasitic wasps. *PNAS*, 100 (4): 1803–1807.
- Prosser W A, Douglas A E. 1991. The aposymbiotic aphid: an analysis of chlortetracycline-treated pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *Insect Physiol*, 37: 713–719.
- Wilson A C, Dunbar H E, Davis G K, Hunter W B, Stern D L, Moran N A. 2006. A dual-genome microarray for the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*, and its obligate bacterial symbiont, *Buchnera aphidicola*. *BMC Genomics*, 7 (1): 50.

Effects of *Buchnera* on *Myzus persicae* Growth and Development

YAN Shuo^{1, 2}, ZHANG Zhan-hong³, LIU Yong², SHI Xiao-bin^{2*}, ZHANG De-yong^{1, 2*}

(¹Plant Protection College of Hunan Agricultural University, Changsha 410128, Hunan, China; ²Plant Protection Institute, Hunan Provincial Academy of Agricultural Sciences, Changsha 410128, Hunan, China; ³Vegetable Institute, Hunan Provincial Academy of Agricultural Sciences, Changsha 410128, Hunan, China)

Abstract: In order to clarify the effects of *Buchnera aphidicola* on growth and development of *M. persicae* in different vegetables, we took vegetables of 3 different families (radish of *Raphanus sativus* L., pepper of *Capsicum annuum* L., and cucumber of *Cucumis sativus* L.) as experimental material, and compared the growth and reproduction situation of *M. persicae* untreated and treated with Rifampicin. The results showed that the *DNAK* gene expression quantity of *Buchnera* in aphids treated with different concentrations of rifampicin was significantly decreased. After treated with 200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ rifampicin, the reproduction quantity, life span and body weight of aphids were significantly lower than that of the healthy aphids, indicating that endosymbiont *Buchnera* played a very important role in the growth and development of *M. persicae*, and the reduction of endosymbiont could have negative effect on *M. persicae*.

Key words: *Myzus persicae*; Endosymbiosis; Rifampicin; Vegetable; Growth and development