



不同翅型豌豆修尾蚜细菌群落组成及多样性

陈冉^{1,2#}, 皇甫宁博^{1#}, 王利沙^{1,2}, 王丽¹, 李东阳¹, 姬继超¹, 雒珺瑜¹,
朱香镇^{1*}, 张开心^{1*}, 马德英², 崔金杰¹

1 中国农业科学院棉花研究所, 棉花生物育种与综合利用全国重点实验室, 河南 安阳 455000

2 新疆农业大学 农学院, 棉花教育部工程研究中心, 新疆 乌鲁木齐 830000

陈冉, 皇甫宁博, 王利沙, 王丽, 李东阳, 姬继超, 雒珺瑜, 朱香镇, 张开心, 马德英, 崔金杰. 不同翅型豌豆修尾蚜细菌群落组成及多样性[J]. 微生物学报, 2024, 64(11): 4190-4203.

CHEN Ran, HUANGFU Ningbo, WANG Lisha, WANG Li, LI Dongyang, JI Jichao, LUO Junyu, ZHU Xiangzhen, ZHANG Kaixin, MA Deying, CUI Jinjie. Community structure and diversity of bacteria in winged and wingless *Megoura crassicauda*[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2024, 64(11): 4190-4203.

摘要: 【目的】明确有翅和无翅豌豆修尾蚜 [*Megoura crassicauda* (Mordvilko)] 细菌种类与群落组成。【方法】采用 Illumina MiSeq 高通量测序技术对有翅和无翅豌豆修尾蚜细菌 16S rRNA 基因的 V3–V4 变异区进行测序。【结果】从总的样本中共测得 4 746 449 条序列, 注释到 25 门 46 纲 106 目 192 科 336 属 477 种 586 操作分类单元 (operational taxonomic unit, OTU)。在总样本中, 优势菌群包括厚壁菌门 (*Firmicutes*)、放线菌门 (*Actinobacteria*)、变形菌门 (*Proteobacteria*) 以及蓝藻细菌门 (*Cyanobacteria*)。葡萄球菌属 (*Staphylococcus*)、棒状杆菌属 (*Corynebacterium*) 和布赫纳氏菌属 (*Buchnera*) 作为优势菌属显著存在。相较于无翅组, 有翅组样本中变形菌门 (*Proteobacteria*) 与蓝藻细菌门 (*Cyanobacteria*) 的相对丰度呈显著提升, 有翅组中异常球菌-栖热菌属 (*Deinococcus-Thermus*) 的相对丰度极显著高于无翅组, 体现了明显的群落结构差异。在有翅组中布赫纳氏菌属 (*Buchnera*)、微小杆菌属 (*Exiguobacterium*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 的相对丰度显著高于无翅组, 有翅组中谷氨酸杆菌属 (*Glutamicibacter*)、假诺卡氏菌属 (*Pseudonocardia*) 的相对丰度极显著高于无翅组。【结论】本研究明确了有翅和无翅豌豆修尾蚜细菌多样性和群落组成, 可为探索共生细菌参与蚜虫翅型分化作用机制以及找到害虫防治的新方法提供参考。

关键词: 豌豆修尾蚜; 细菌; 翅型分化; 高通量测序; 生物多样性

资助项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项 (1610162023010)

This work was supported by the Central Public-interest Scientific Institution Basal Research Fund (1610162023010).

[#]These authors contributed equally to this work.

*Corresponding authors. E-mail: ZHANG Kaixin, zhangkaixin@caas.cn; ZHU Xiangzhen, zhuxiangzhen318@163.com

Received: 2024-04-12; Accepted: 2024-09-03; Published online: 2024-09-06

Community structure and diversity of bacteria in winged and wingless *Megoura crassicauda*

CHEN Ran^{1,2#}, HUANGFU Ningbo^{1#}, WANG Lisha^{1,2}, WANG Li¹, LI Dongyang¹, JI Jichao¹, LUO Junyu¹, ZHU Xiangzhen^{1*}, ZHANG Kaixin^{1*}, MA Deying², CUI Jinjie¹

¹ State Key Laboratory of Cotton Bio-breeding and Integrated Utilization, Institute of Cotton Research, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Anyang 455000, Henan, China

² Cotton Engineering Research Center, Ministry of Education, College of Agronomy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830000, Xinjiang, China

Abstract: [Objective] To study the species and community structure of bacteria in winged and wingless *Megoura crassicauda* (Mordvilko). **[Methods]** Illumina MiSeq high-throughput sequencing was carried out for the V3–V4 variable region of bacterial 16S rRNA gene. **[Results]** A total of 4 746 449 sequences were obtained and annotated to 586 operational taxonomic units (OTUs) belonging to 477 species, 336 genera, 192 families, 106 orders, 46 classes of 25 phyla. *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, and *Cyanobacteria* were the dominant phyla in all samples. The dominant genera included *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, and *Buchnera*. At the phylum level, the relative abundance of *Proteobacteria*, *Cyanobacteria*, and *Deinococcus-Thermus* in the winged morph was significantly higher than that in the wingless morph. At the genus level, the relative abundance of *Buchnera*, *Exiguobacterium*, *Pseudomonas*, *Glutamicibacter*, and *Pseudonocardia* in the winged morph was significantly higher than that in the wingless morph. **[Conclusion]** This study clarified the diversity and community structure of the bacteria in winged and wingless *M. crassicauda* and provided a reference for exploring the role of bacteria in the wing differentiation of aphids and developing new methods for pest control.

Keywords: *Megoura crassicauda* (Mordvilko); bacteria; wing differentiation; high-throughput sequencing; biodiversity

昆虫体内存在着各种各样的细菌，这些细菌历经漫长的进化历程，与昆虫建立起互利共生关系，参与并促进了宿主的生命活动^[1]。它们参与宿主的消化与营养吸收过程，为宿主提供食物中匮乏但昆虫本身无法合成的必需氨基酸^[2]。此外，这些共生细菌还间接地作用于宿主的繁殖策略，对交配行为与生殖能力产生显著影响^[3]，同时共生菌通过优化宿主的营养代谢机制及增强对病原体的防御能力，精准调控着昆虫宿主的生长与发育速率^[4]。昆虫细菌能

够直接参与有毒物质的代谢转化，或诱导宿主细胞表达与解毒相关的基因，从而有效减轻毒性负担^[5-7]，昆虫共生细菌影响植物化学物质和农药(杀虫剂和除草剂)的代谢^[8]，还能够促进昆虫宿主的内源性解毒能力^[9]。

细菌因其对宿主生理生化的关键调控作用，已经成为农业昆虫研究领域的热点之一。深入研究细菌与宿主昆虫之间的相互作用，有助于发现新的害虫防治策略。例如，研究微生物共生体对果蝇(*Drosophila melanogaster*)昆虫

信息素的影响,发现微生物能够干预其聚群、性通讯及配偶选择机制,进而可能削弱其吸引力和繁殖潜能^[10]。在埃及伊蚊(*Aedes aegypti*)携带沃尔巴克氏体(*Wolbachia*)的雄蚊与不携带沃尔巴克氏体或携带不同型的沃尔巴克氏体的雌蚊交配会产生不孵化的卵,这一机制通过操纵细菌类型实现了对蚊子种群的有效控制,从而阻碍了蚊媒疾病的传播路径^[11]。此外,感染沃尔巴克氏体的黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*)对控制登革热病媒传播有重要作用^[12]。在农业害虫褐飞虱(*Nilaparvata lugens*)体内,沃尔巴克氏体还具备抵抗水稻齿叶矮缩病毒(rice ragged stunt virus, RRSV)的能力,显示了其在生物防治中的多重价值^[13]。

综上所述,分析豌豆修尾蚜 [*Megoura crassicauda* (Mordvilko)] 细菌群落的多样性,探究其微生物群落结构的特征,并揭示细菌与宿主昆虫间的互作关系,有助于深入了解豌豆修尾蚜的细菌组成和多样性,可以为豌豆修尾蚜的防治工作提供全新策略。未来的研究可以在此基础上,持续发掘细菌与宿主昆虫之间的关系,为农业害虫防治提供更多可能性。

豌豆修尾蚜是豆科作物危害最大的农业害虫之一^[14-16],其分布范围遍及全球各地^[17]。为了深入理解豌豆修尾蚜的生态行为及其潜在的防控策略,研究了豌豆修尾蚜不同翅型间的细菌群落构成与多样性。利用高通量测序技术,针对豌豆修尾蚜不同翅型个体的细菌群落进行了基于 16S rRNA 基因 V3-V4 变异区的序列测定,详细分析了细菌群落的组成和多样性,发现豌豆修尾蚜的细菌群落构成丰富且复杂,各种细菌在其中发挥重要的作用,本研究丰富了对共生细菌如何参与蚜虫翅型分化的认识,也为探索绿色、可持续的蚜虫防控策略奠定了坚实的理论基础。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

在中国农业科学院棉花研究所的养虫室中,豌豆修尾蚜种群经过连续多代的纯化,并置于纱网笼中(25 cm×25 cm×25 cm)以蚕豆(*Vicia faba* L.)为寄主进行饲养,有翅豌豆修尾蚜和无翅豌豆修尾蚜均为自然产生,以模拟自然环境下的种群变化。豌豆修尾蚜的实验室饲养条件:光照(L)/黑暗(D)=14 h/10 h,温度(25±1) °C,相对湿度(60±5)%。

1.2 样品收集

使用 1.5 mL 无菌离心管分别收集有活力的 2 日龄有翅、无翅豌豆修尾蚜成蚜,将蚜虫置于冰上 3-5 min 等待其昏迷后,使用 75%乙醇擦拭昆虫表面 30 s 左右,并使用无菌水冲洗 3 次以去除外部污染,每个样品设置 8 个生物学重复,每个重复 50 头蚜虫,样品收集完成迅速放入液氮中冷冻后,放入-80 °C冰箱中贮存,以备提取 DNA。

1.3 样品基因组 DNA 的提取

在玻璃匀浆器中磨碎收集的豌豆修尾蚜样品,按照血液基因组 DNA 提取试剂盒[天根生化科技(北京)有限公司]说明书提取基因组 DNA。用微量分光光度计(ThermoFisher Scientific 公司)检测提取的 DNA 浓度和 OD 值,提取的 DNA 样品保存于-80 °C冰箱中。分别命名无翅豌豆修尾蚜样品为 MCWL1、MCWL2、MCWL3、MCWL4、MCWL5、MCWL6、MCWL7、MCWL8,有翅豌豆修尾蚜样品为 MCW1、MCW2、MCW3、MCW4、MCW5、MCW6、MCW7、MCW8。样品送至上海美吉生物医药科技有限公司,通过 Illumina MiSeq 平台进行共生细菌的检测和测序。

1.4 实时荧光定量 qPCR

使用 qPCR 对两个差异菌株进行检测, 引物见表 1。根据 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算差异菌株的相对含量: 记录 C_t 值, 然后通过 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算基因的相对表达水平, 并借助 GraphPad Prism 绘制柱状图呈现结果。

1.5 数据统计和分析

针对每个独立样本的成对末端 PE reads 读取数据, 进行质量控制、过滤与优化, 以便识别操作分类单元(operational taxonomic unit, OTU)。通过对 OTU 代表序列和丰度分布数据的分析, 进行了生态学和统计学研究。这些研究包括物种水平的分类鉴定、群落结构多样性的评估、物种间差异性的探索、生态相关性分析以及系统发育树的构建。这些步骤有助于深入地了解样本中微生物的组成和功能, 对微生物群落有了更全面的认识。

利用 UPARSE 软件(<http://drive5.com/uparse/>, version 7.1)对经过质控处理的所有有效数据进行聚类分析, 将序列按照 97% 的一致性聚类成 OTUs。然后, 可以利用 QIIME 软件(<http://qiime.org/install/index.html>)中的 blast 方法结合 SILVA 数据库(<https://www.arb-silva.de/>)进行物种注释

分析, 从而在不同的分类水平上注释群落的物种信息, 包括界(kingdom)、门(phylum)、纲(class)、目(order)、科(family)、属(genus)、种(species)等。同时, 采用 RDP Classifier 贝叶斯算法(<https://sourceforge.net/projects/rdp>)对 97% 相似度的 OTU 代表序列进行分析, 统计各样本在域(domain)、界、门、纲、目、科、属、种的群落物种组成。使用 MEGA X 软件进行系统发育分析, 根据 16S rRNA 基因序列构建系统发育树, 并设置 bootstrap 重复次数为 1 000 次, 以增强树状图的可靠性。通过系统发育分析, 揭示微生物群落之间的进化关系, 深入理解微生物在不同环境下的生态功能和演化历史。

2 结果与分析

2.1 豌豆修尾蚜体内细菌基因序列 OTU 聚类分析

经过测序数据质控, 对 16 个样本的数据进行了优化, 并进行了统一管理和结果展示, 如表 2 所示。每个样本平均包含 51 968 条序列, 碱基数约为 22 249 916, 序列长度在 427.47–428.58 bp 之间, 共获得 1 873 个 OTUs。通过对数据的分

表 1 qPCR 反应中使用的引物

Table 1 Primer sequences used for qPCR

物种 Species	引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequences (5'→3')
棒状杆菌属 <i>Corynebacterium</i>	DL-Cor-F	ACGGGCATAACTTGAGTGCTGTAG
	DL-Cor-R	TTCGCCATCGGTGTTTCCTCCT
布赫纳氏菌属 <i>Buchnera</i>	DL-Buc-F	GATGTGAAATCCCTGGGCTTAACCTA
	DL-Buc-R	TTCGCACCTCAGTGTCAGTATTCG
葡萄球菌属 <i>Staphylococcus</i>	DL-Sta-F	AGGGTCATTGGAAACTGGGAAACTTG
	DL-Sta-R	GCCACTGGTGTTTCCTCCATATCTCT
谷氨酸杆菌属 <i>Glutamicibacter</i>	DL-Glu-F	ACGGGCAGACTAGAGTGATGTAGG
	DL-Glu-R	TTCGCCATCGGTGTTTCCTCCT
微小杆菌属 <i>Exiguobacterium</i>	DL-Exi-F	GAAGGCTTGAGTACAGAAGAGAAGAGTG
	DL-Exi-R	CAGCGTCAGTTACAGACCAAAGAGT

表 2 各样本质控后的数据统计

Table 2 Statistical data of each sample after quality control

样本编号 Sample number	序列数 Sequences	碱基数 Bases (bp)	平均长度 Average length (bp)	OTUs
MCW1	42 667	18 269 407	428.19	85
MCW2	46 724	20 016 512	428.40	100
MCW3	51 518	22 079 652	428.58	89
MCW4	46 803	20 050 450	428.40	111
MCW5	50 990	21 810 215	427.74	140
MCW6	51 518	22 061 445	428.23	125
MCW7	45 853	19 615 764	427.80	132
MCW8	52 516	22 448 885	427.47	125
MCWL1	56 759	24 264 388	427.50	270
MCWL2	44 764	19 187 558	428.64	76
MCWL3	54 755	23 460 350	428.46	79
MCWL4	57 669	24 680 752	427.97	99
MCWL5	53 018	22 705 043	428.25	95
MCWL6	70 048	29 986 797	428.09	126
MCWL7	56 551	24 226 014	428.39	134
MCWL8	49 342	21 135 438	428.35	87

析和处理,为后续的实验研究奠定了基础,也为更深入地了解样品的微生物组成提供了参考。

通过不同测序深度下细菌 α 多样性指数构建曲线分析(图 1A),发现随着测序深度增加,稀释曲线逐渐平缓,数据趋于饱和,覆盖率超过 99%。这表明在本研究中采集的样本测序数据是充分而合理的,成功检测到豌豆修尾蚜体内绝大多数细菌。研究结果为进一步深入了解豌豆修尾蚜微生物组提供了重要依据,为未来相关研究奠定了基础。

2.2 豌豆修尾蚜细菌物种组成分析

Venn 分析结果表明,在科水平上,有翅蚜和无翅蚜分别注释到 128 个和 165 个科,其中有 30 个和 67 个科为特有(图 1B)。在属水平,有翅蚜注释到 218 个属,其中特有 71 个属,无翅蚜注释到 273 个属,其中特有 126 个属(图 1C)。进一步通过操作分类单元(OTU)群落聚类及相

关性分析发现,豌豆修尾蚜有翅蚜包含 346 个数目,其中特有为 143 个;无翅蚜拥有 472 个数目,其中特有为 269 个(图 1D)。对比之下,无翅和有翅豌豆修尾蚜在科、属、OTUs 共有数目分别为 98、147、203 个。豌豆修尾蚜的无翅形态展现出更广泛的科属分布,具有更为丰富的细菌多样性。在门水平上,厚壁菌门(*Firmicutes*, 92.26%)、放线菌门(*Actinobacteria*, 4.23%)、变形菌门(*Proteobacteria*, 3.18%)是豌豆修尾蚜细菌中的优势门类。总样本中,优势门类的分布与各样品一致,但不同重复样品之间存在一定差异,反映了不同昆虫个体之间的差异(图 2)。厚壁菌门(*Firmicutes*)在无翅蚜和有翅蚜中的比例分别为 94.34% 和 89.90%,放线菌门(*Actinobacteria*)在无翅蚜和有翅蚜中比例分别为 4.20% 和 4.27%,变形菌门(*Proteobacteria*)在无翅蚜和有翅蚜中比例分别为 1.29% 和 5.35% (图 3A、3B)。在有翅蚜中,变形菌门(*Proteobacteria*)和蓝藻细菌(*Cyanobacteria*)相对丰度显著高于无翅型,有翅型中异常球菌-栖热菌门(*Deinococcus-Thermus*)相对丰度极显著高于无翅组(图 3C)。

在属水平中,豌豆修尾蚜细菌共注释到了 344 个属。其中,葡萄球菌属(*Staphylococcus*, 92.06%)、棒状杆菌属(*Corynebacterium*, 3.22%)、布赫纳氏菌属(*Buchnera*, 2.84%)在总体样本和个体样本中均表现出相似的优势地位,揭示了这些细菌在豌豆修尾蚜中的重要性。通过比较不同重复样品之间的差异,观察到昆虫个体间细菌的相对丰度存在差异(图 4)。葡萄球菌属在有翅型和无翅型豌豆修尾蚜样品中占比分别为 89.66% 和 94.18%,棒状杆菌属占比分别为 2.97% 和 3.45%,布赫纳氏菌属占比分别为 4.86% 和 1.08% (图 5A、5B)。在所有的属中,有翅型中布赫纳氏菌属(*Buchnera*)、

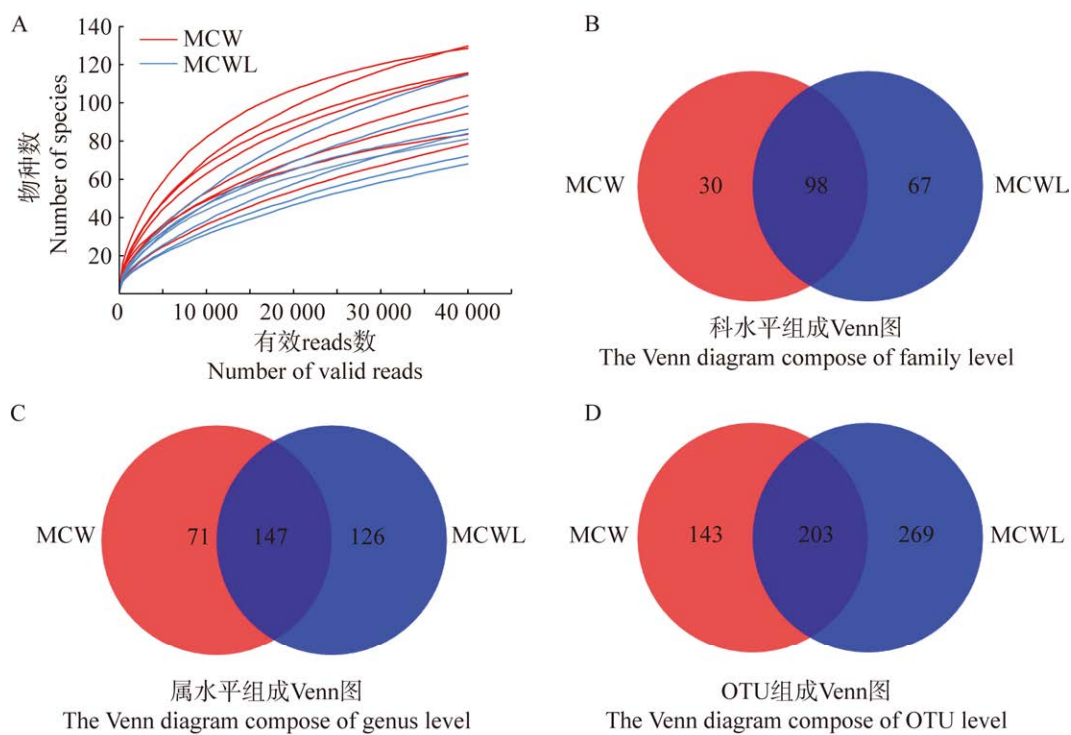


图 1 豌豆修尾蚜不同样本丰富度稀释曲线及物种组成维恩图
Figure 1 The rarefaction curves and species composition Venn diagrams of different samples of *Megoura crassicauda*. MCW: Winged *Megoura crassicauda*; MCWL: Wingless *M. crassicauda*. A: Dilution curves of endosymbiotic bacteria in aphids. B: Venn diagram showing differences in gut microbiota at the family level. C: Venn diagram showing differences in gut microbiota at the genus level. D: Venn diagram showing differences in gut microbiota at the OTU level.

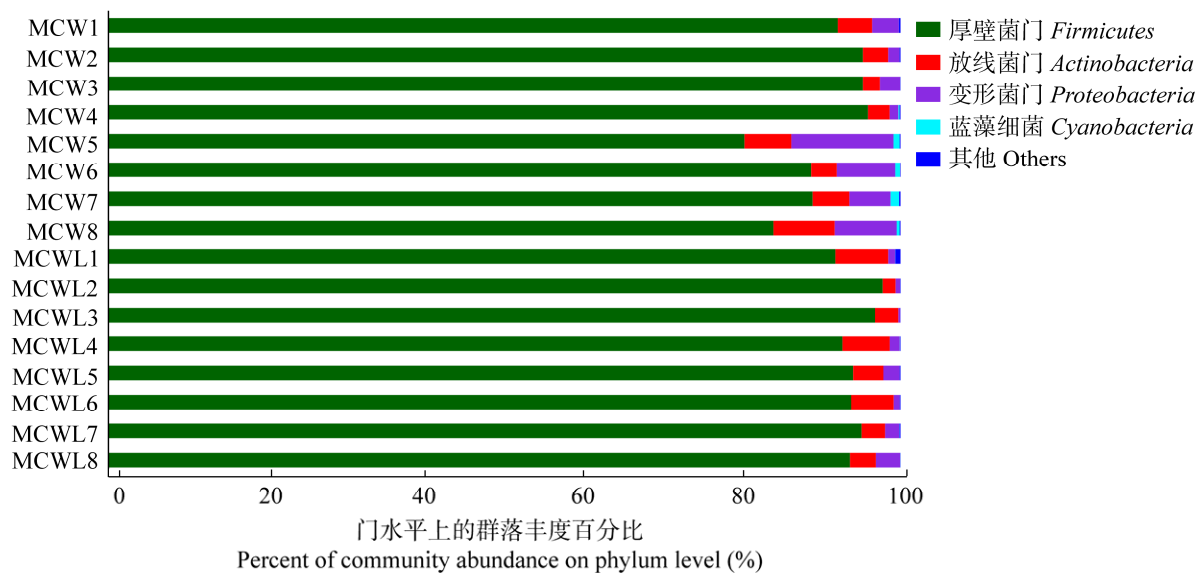


图 2 不同翅型豌豆修尾蚜体内细菌门水平组成
Figure 2 The composition of symbiotic bacteria at the phylum level.

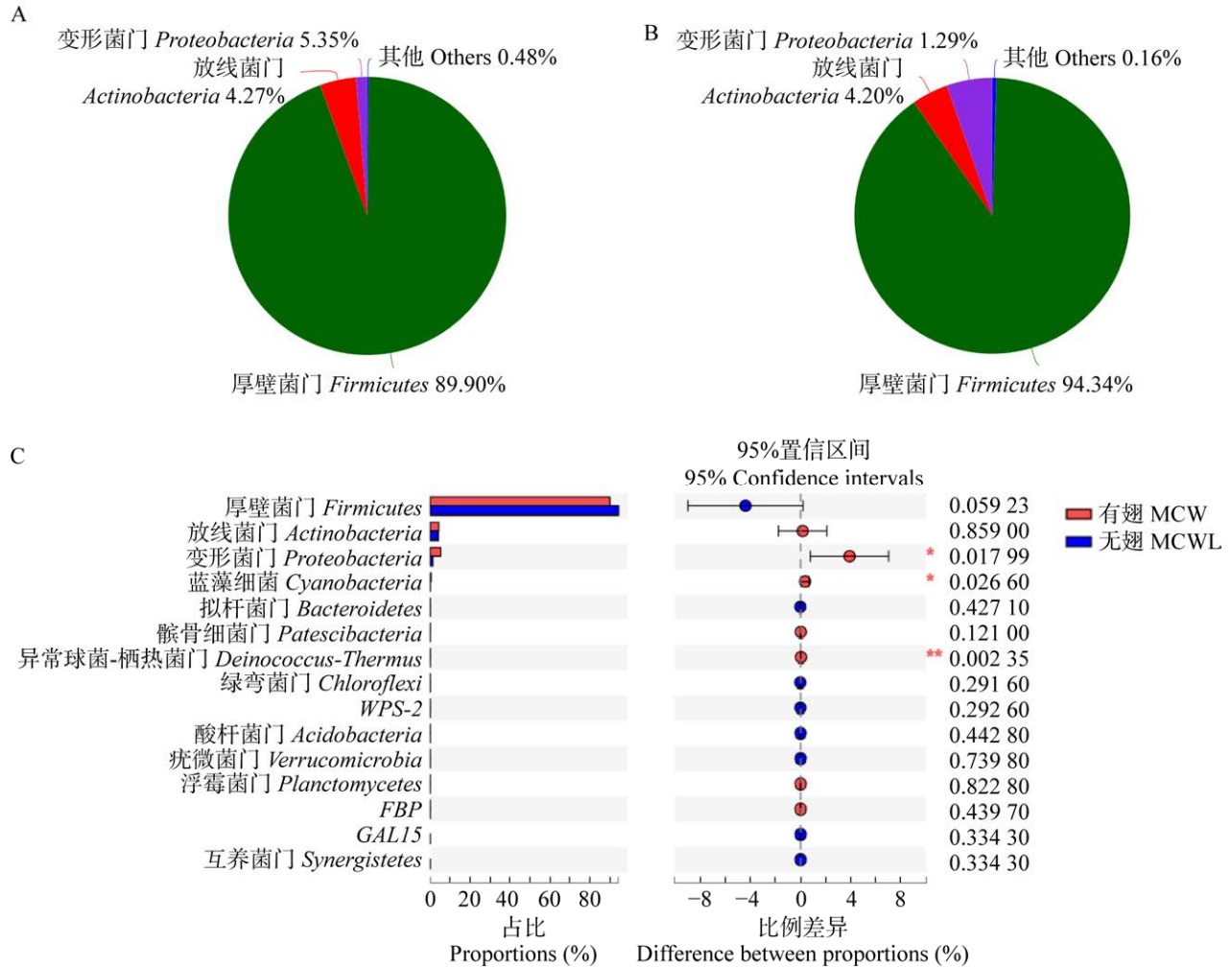


图 3 门水平上细菌群落的丰度百分比及多物种差异的显著性

Figure 3 The percentage abundance of bacterial communities at the phylum level and the significance of multi-species differences. A: Horizontal bacterial community distribution of winged aphids. B: Distribution of horizontal bacterial communities of wingless aphids. C: Multispecies differences tested at the gate level. * indicates a significant difference; ** represents a very significant difference.

norank_f_norank_o_*Chloroplast*、微小杆菌属 (*Exiguobacterium*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 的相对丰度显著高于无翅组, 谷氨酸杆菌属 (*Glutamicibacter*)、假诺卡氏菌属 (*Pseudonocardia*) 的相对丰度极显著高于无翅组(图 5C)。

2.3 豌豆修尾蚜体内主要细菌系统发育树

对分类水平总丰度排行前 30 的物种构建系统发育树, 进行了深入的生物进化分析。如

图 6 所示, 系统发育树清晰地划分为 5 个主要分支。葡萄球菌属 (*Staphylococcus*)、肠球菌属 (*Enterococcus*) 与微小杆菌属 (*Exiguobacterium*) 构成一个分支, 这些物种均隶属厚壁菌门。另一显著分支汇聚了棒状杆菌属 (*Corynebacterium*)、红球菌属 (*Rhodococcus*)、类诺卡氏属 (*Nocardioides*)、假诺卡氏菌属 (*Pseudonocardia*)、短杆菌属 (*Brevibacterium*)、谷氨酸杆菌属 (*Glutamicibacter*)、

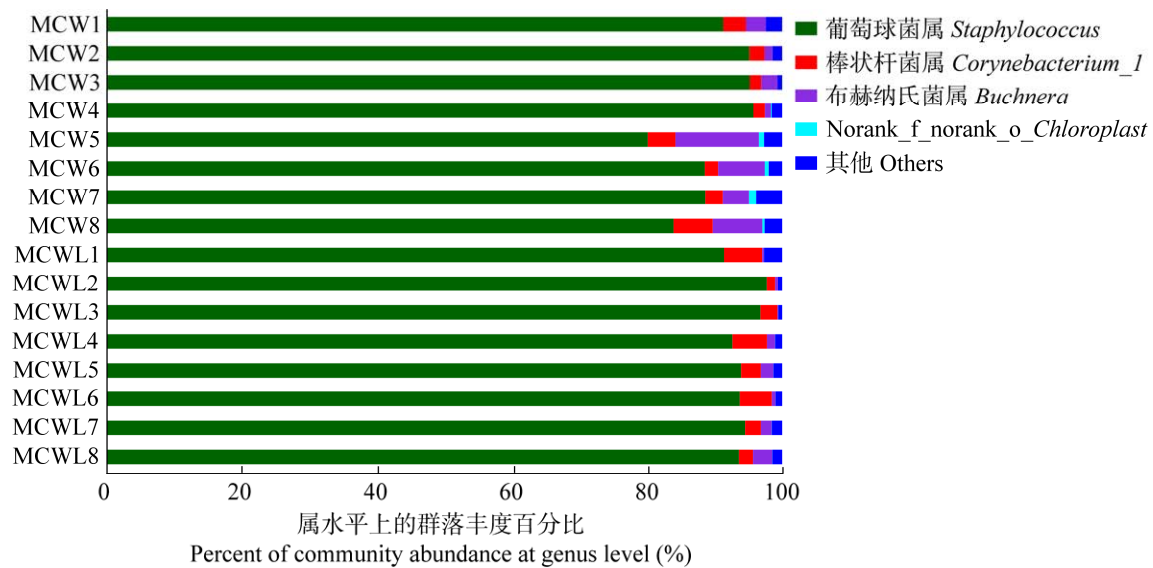


图 4 不同翅型豌豆修尾蚜体内细菌属水平组成

Figure 4 The pea aphid with different wing types composition of symbiotic bacteria at the genus level.

罗氏菌属(*Rothia*)、微杆菌属(*Microbacterium*)以及白色杆菌属(*Leucobacte*),它们共同归属于放线菌门(*Actinobacteria*),展现了该门内物种的多样性与紧密关联。

Unclassified_norank_norank_Chloroplast 1 个分支属于蓝藻细菌门(*Cyanobacteria*)。布赫纳氏菌属(*Buchnera*)、大肠杆菌埃希氏杆菌-志贺菌属(*Escherichia-Shigella*、*Mangrovibacter*)、肠杆菌属(*Enterobacter*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、水栖菌属(*Enhydrobacter*)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)、副球菌属(*Paracoccus*)、慢生根瘤菌属(*Bradyrhizobium*)、新鞘脂菌属(*Novosphingobium*)、鞘脂单胞菌属(*Sphingomonas*)、伯克氏菌科(*Burkholderiaceae*、*unclassified_Burkholderiaceae*)为 1 个分支,属于变形菌门(*Proteobacteria*)。Uncultured_bacterium_norank_Saccharimonadaceae 为 1 个分支,属于鬐骨细菌门(*Patescibacteria*)。

2.4 豌豆修尾蚜荧光定量 PCR 结果

使用 qPCR 技术测定豌豆修尾蚜体内不同细菌的相对含量,并计算它们的相对丰度^[18-19]。

根据菌的相对丰度,计算菌株在豌豆修尾蚜内的丰度差异。对筛选出丰度较高的菌属进行了 qPCR 验证,如图 7 所示,在豌豆修尾蚜体内这些筛选菌属的丰度情况与 16S rRNA 基因测序结果一致。

3 讨论与结论

本研究基于 16S rRNA 基因高通量测序技术,对不同翅型豌豆修尾蚜体内细菌多样性和群落组成进行分析,共测得 4 746 449 条序列,可注释到 25 门 46 纲 106 目 192 科 336 属 477 种细菌。根据测序结果分析可知,豌豆修尾蚜优势菌为厚壁菌门、放线菌门、变形菌门。

这些优势菌与其他昆虫如鳞翅目的小菜蛾 [*Plutella xylostella* (Linnaeus)]、半翅目的褐飞虱 [*Nilaparvata lugens* (Stal)]和鞘翅目的龟纹瓢虫 [*Propylea japonica* (Thunberg)],均展现出与特定优势菌相似的生态特征,中肠道内普遍富集了厚壁菌门、放线菌门及变形菌门等微生物类群^[20-23]。对中国 6 个省份荔枝蝽(*Tessaratoma*

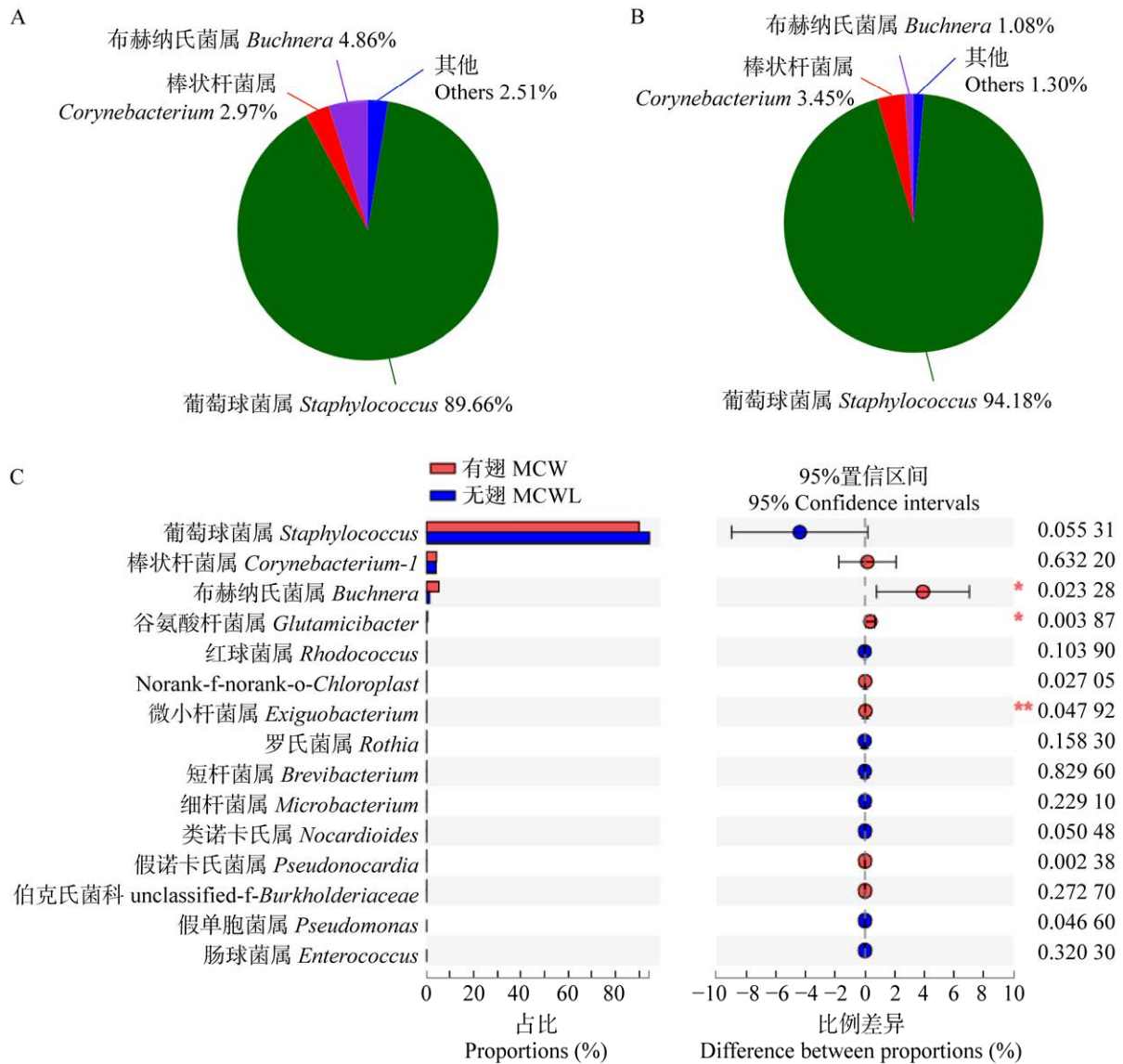


图 5 属水平群落丰度百分比和多物种差异检验

Figure 5 Abundance percentage of community in genus level and histogram of multi-species difference test. A: Community analysis piepiot in genus level (alatae). B: Community analysis piepiot in genus level (wingless aphid). C: Histogram of aphid multispecies diversity test at genus level. * indicates a significant difference; ** represents a very significant difference.

papillosa)体内细菌群落构成的对比分析揭示,地域差异对优势菌的种类有所影响:海南省1龄若虫体内,变形菌门的泛菌属(*Pantoea*)占据了主导地位;而在福建省、广东省及广西壮族自治区,同一发育阶段的若虫显著以放线菌门的

链霉菌属(*Streptomyces*)为优势菌群^[24]。这些细菌门类在与昆虫长期协同进化中被保留下来,并在昆虫的生命周期中发挥着重要作用,形成了一种完美的互利关系,这些研究结果为了解昆虫与细菌之间的相互作用提供了重要的参考。

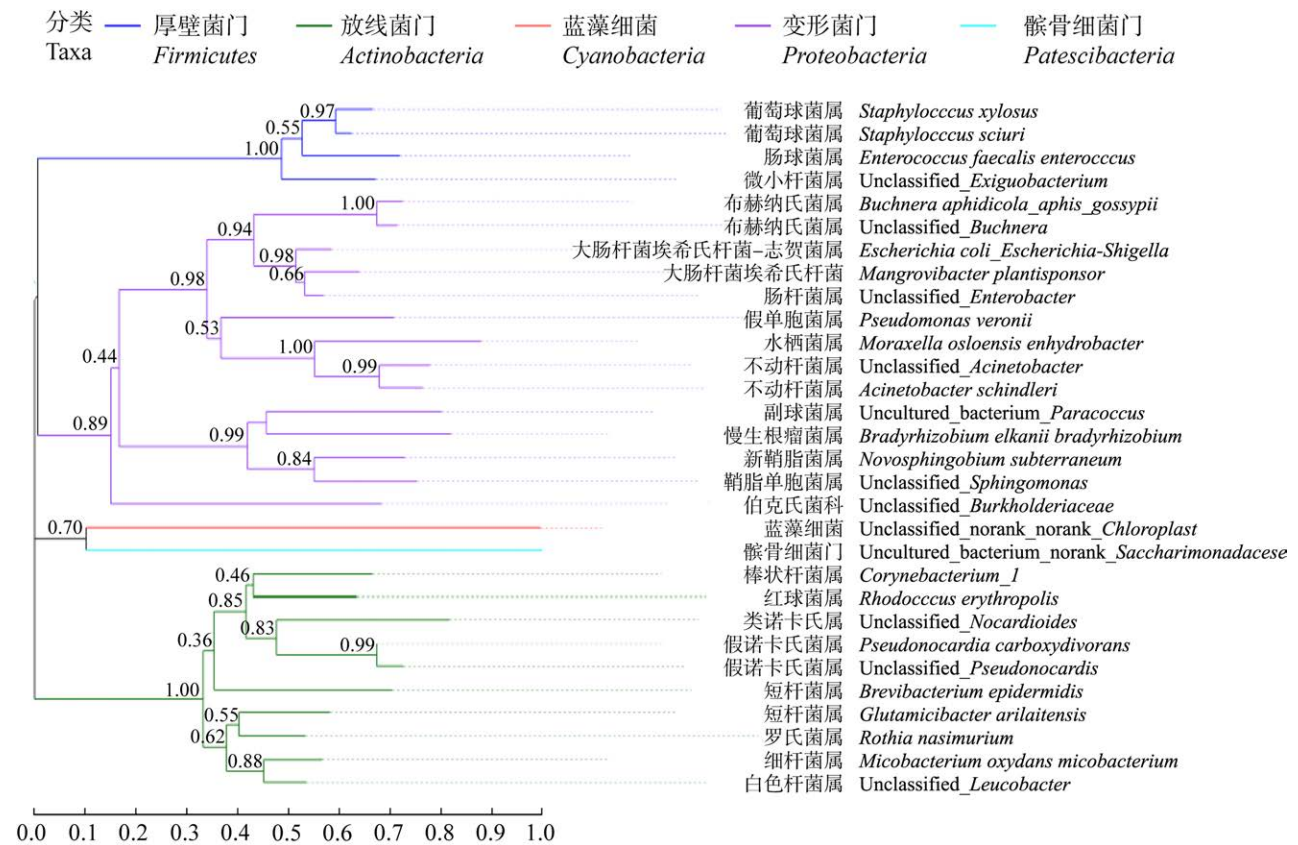


图 6 基于 16S rRNA 基因序列构建的豌豆修尾蚜主要细菌系统发育树

Figure 6 Bacterial phylogenetic tree of *Megoura crassicauda* symbiotic bacteria based on 16S rRNA gene sequences. Phylogenetic trees are constructed according to the neighbor-joining method. Each branch represents a species, and is colored according to the level of the phylum to which the species belongs. The length of the branch represents the evolutionary distance between species.

细菌在不同翅型昆虫体内的组成与结构分析显示,有翅型豌豆修尾蚜中变形菌门和蓝藻细菌门相对丰度显著高于无翅组,异常球菌-栖热菌门相对丰度极显著高于无翅组(图 3C)。而蓝藻细菌门在不同寄主的昆虫中也有报道,且不同寄主间蓝藻细菌门存在较大差异^[25]。在禾谷缢管蚜(*Rhopalosiphum padi*)体内的共生菌中,有翅型和无翅型禾谷缢管蚜的共生菌组成也存在明显差异,有翅蚜中变形菌门的丰度最高占比 97.29%,而无翅蚜中的共生菌多样性更为丰富,占比 74.94%。其余占比大于 1%的有放线菌门、厚壁菌门与单糖菌门在有翅蚜中的

丰度均低于无翅蚜。不同翅型昆虫体内细菌的丰度和多样性存在显著差异,这可能会影响昆虫的生长发育和行为。

不同翅型昆虫体内细菌群落展现出显著的丰度与多样性差异,这些差异可能显著影响昆虫的生长发育进程及其行为模式^[26]。在豌豆蚜(*Acyrtosiphon pisum*)中,不同翅型个体间共生细菌群落的密集程度与有翅蚜虫的飞行肌发育状况之间存在密切相关性,暗示了细菌群落可能参与调控飞行能力的发育过程^[27]。在有翅型豌豆修尾蚜中这些丰度水平显著高于无翅型豌豆修尾蚜的细菌门类到底扮演着什么样的角色,

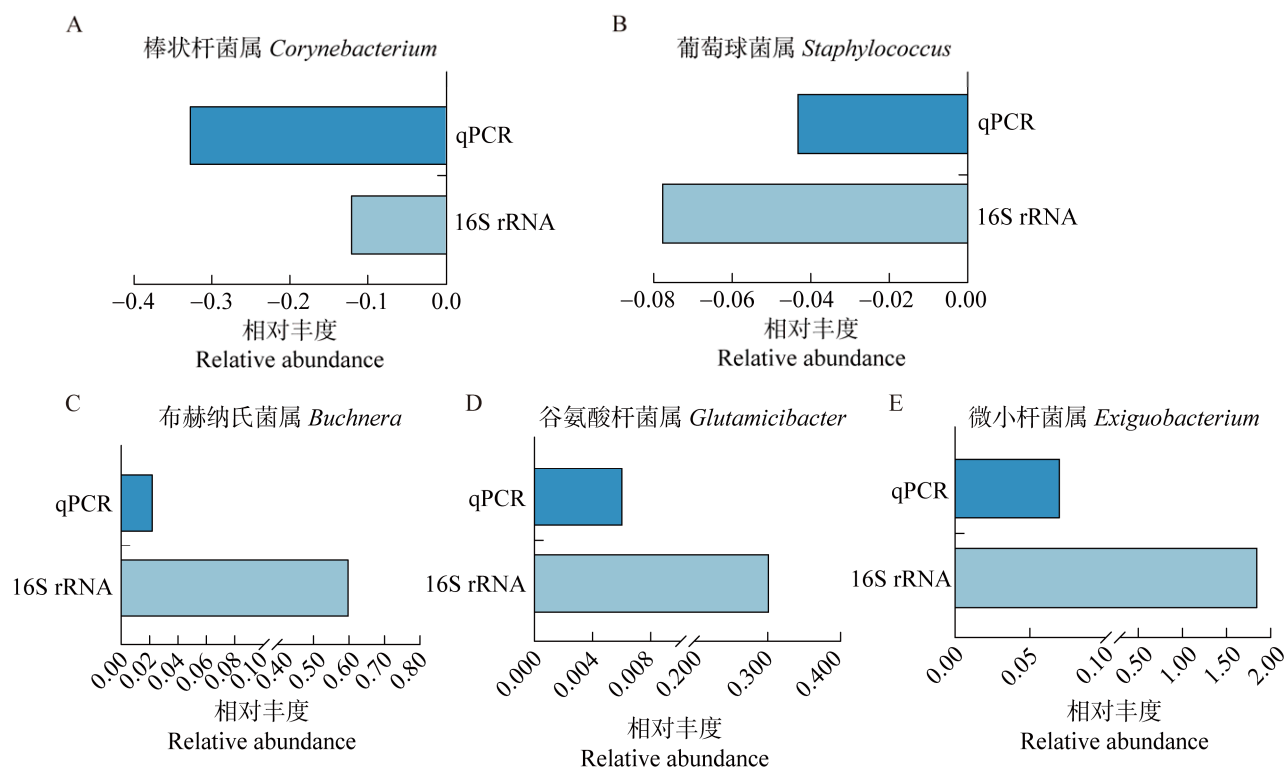


图 7 豌豆修尾蚜细菌相对丰度的荧光定量验证

Figure 7 Fluorescence quantitative verification of the relative abundance of bacteria in *Megoura crassicauda*. A: Relative abundance of *Corynebacterium*. B: Relative abundance of *Staphylococcus*. C: Relative abundance of *Buchnera*. D: Relative abundance of *Glutamicibacter*. E: Relative abundance of *Exiguobacterium*.

在昆虫体内究竟扮演着何种角色，还需要进一步的研究来揭示。深入了解这些细菌与宿主之间的关系，将有助于更好地理解昆虫的生态和生物学特征，为农业害虫的防治提供新的思路和方法。

在属水平，豌豆修尾蚜的细菌群落中，葡萄球菌属、棒状杆菌属及布赫纳氏菌属构成了主要的优势菌群。值得注意的是，葡萄球菌属不仅显著存在于豌豆修尾蚜中，还广泛分布于特定鳞翅目昆虫的体内，包括东方黏虫(*Mythimna separata*)幼虫肠道内和豆天蛾(*Clanis bilineata tingtauca*)幼虫与蛹阶段，被确认为优势菌属之一，显示了其跨物种分布的普遍性^[28-29]。关于昆虫细菌棒状杆菌属的研究还比较有限，研究

多集中在家畜动物和人类疾病相关领域。豌豆修尾蚜细菌在昆虫体内的存在和影响，需要进一步分析。

本研究对比了有翅型与无翅型昆虫体内微生物群落，发现布赫纳氏菌属、微小杆菌属及假单胞菌属在有翅型中的相对丰度显著高于其无翅对应组。假诺卡氏菌属在有翅组中的相对丰度展现出极显著的增加(图 5)。布赫纳氏菌属在宿主蚜虫体内提供必需的氨基酸^[30-31]。还研究表明，布赫纳氏菌属具备维生素合成的能力，从而成为低龄若蚜获取必需维生素的重要来源^[32-33]。在豌豆修尾蚜中，布赫纳氏菌属也可能通过调控营养影响翅型的分化。

本研究在分析豌豆修尾蚜细菌群落组成及

多样性的基础上进一步分析了豌豆修尾蚜有翅型、无翅型细菌组成差异, 期望从细菌的角度揭示蚜虫翅型分化机制。有报道表明, 蚜虫体内特定的细菌可能调控了有翅和无翅的分化过程^[34-36]。综上所述, 本研究为探究细菌参与蚜虫翅型分化作用机制以及寻找害虫防治新方法提供了新思路。

参考文献

- [1] RUEDENAUER FA, PARRENO MA, GRUNWALD KADOW IC, SPAETHE J, LEONHARDT SD. The ecology of nutrient sensation and perception in insects[J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2023, 38(10): 994-1004.
- [2] van ARNAM EB, CURRIE CR, CLARDY J. Defense contracts: molecular protection in insect-microbe symbioses[J]. *Chemical Society Reviews*, 2018, 47(5): 1638-1651.
- [3] 郑林宇, 伦才智, 柳丽君, 李志红. 昆虫共生菌调控宿主生长发育和生殖的研究进展[J]. *植物保护学报*, 2022, 49(1): 207-219.
ZHENG LY, LUN CZ, LIU LJ, LI ZH. Influences of insect symbionts on host growth, development and reproduction: a review[J]. *Journal of Plant Protection*, 2022, 49(1): 207-219 (in Chinese).
- [4] 朱玉溪, 王欣宇, 杨润, 潘龙其, 杜予州. 昆虫共生菌调控宿主温度适应性研究进展[J]. *植物保护学报*, 2022, 49(6): 1565-1575.
ZHU YX, WANG XY, YANG R, PAN LQ, DU YZ. Advances in researches on symbiont-mediated thermal adaption in insects[J]. *Journal of Plant Protection*, 2022, 49(6): 1565-1575 (in Chinese).
- [5] 张云骅, 李建洪, 万虎. 昆虫共生菌与宿主的解毒代谢关系研究进展[J]. *农药学报*, 2019, 21(5): 729-735.
ZHANG YH, LI JH, WAN H. Research progress on the relationship between host detoxification metabolism and insect microbial symbionts[J]. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 2019, 21(5): 729-735 (in Chinese).
- [6] 唐涛. 共生菌介导褐飞虱解毒代谢机制研究[D]. 武汉: 华中农业大学硕士学位论文, 2019.
TANG T. Study on metabolic mechanism of detoxification of *Nilaparvata lugens* mediated by symbiotic bacteria[D]. Wuhan: Master's Thesis of Huazhong Agricultural University, 2019 (in Chinese).
- [7] PANG R, CHEN M, YUE L, XING K, LI TC, KANG K, LIANG ZK, YUAN LY, ZHANG WQ. A distinct strain of *Arsenophonus symbiont* decreases insecticide resistance in its insect host[J]. *PLoS Genetics*, 2018, 14(10): e1007725.
- [8] ZHAO M, LIN XY, GUO XR. The role of insect symbiotic bacteria in metabolizing phytochemicals and agrochemicals[J]. *Insects*, 2022, 13(7): 583.
- [9] WU YQ, ZHENG YF, CHEN YN, WANG S, CHEN YP, HU FL, ZHENG HQ. Honey bee (*Apis mellifera*) gut microbiota promotes host endogenous detoxification capability via regulation of P450 gene expression in the digestive tract[J]. *Microbial Biotechnology*, 2020, 13(4): 1201-1212.
- [10] REN L, MA YG, XIE MX, LU YY, CHENG DF. Rectal bacteria produce sex pheromones in the male oriental fruit fly[J]. *Current Biology*, 2021, 31(10): 2220-2226.e4.
- [11] 潘晓玲, 刘起勇, 奚志勇. 基于昆虫共生菌沃尔巴克氏体的蚊媒和蚊媒病控制研究进展[J]. *中国媒介生物学及控制杂志*, 2014, 25(1): 1-7.
PAN XL, LIU QY, XI ZY. Advance in developing *Wolbachia* as a mean to control mosquito and mosquito-borne diseases[J]. *Chinese Journal of Vector Biology and Control*, 2014, 25(1): 1-7 (in Chinese).
- [12] BLAGROVE MSC, ARIAS-GOETA C, FAILLOUX AB, SINKINS SP. *Wolbachia* strain wMel induces cytoplasmic incompatibility and blocks dengue transmission in *Aedes albopictus*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(1): 255-260.
- [13] GONG JT, LI YJ, LI TP, LIANG YK, HU LC, ZHANG DJ, ZHOU CY, YANG C, ZHANG X, ZHANG SS, DUAN XZ, BATON LA, HONG XY, HOFFMANN AA, XI ZY. Stable introduction of plant-virus-inhibiting *Wolbachia* into planthoppers for rice protection[J]. *Current Biology*, 2020, 30(24): 4837-4845.e5.
- [14] 张欣欣. 野靛碱作用于豌豆修尾蚜神经系统的潜在靶标研究[D]. 保定: 河北农业大学硕士学位论文, 2023.
ZHANG XX. Study on the potential target of indirubine acting on the nervous system of pea aphid, *Aphis sativus*[D]. Baoding: Master's Thesis of Hebei Agricultural University, 2023 (in Chinese).
- [15] 李月明, 张永栋, 宫厚艳, 吕志强. 共生菌 *Serratia symbiotica* 对豌豆蚜发育和繁殖的影响[J]. *昆虫学报*, 2023, 66(10): 1311-1318.

- LI YM, ZHANG YD, GONG HY, LÜ ZQ. Effects of *Serratia symbiotica* on the development and reproduction of pea aphid[J]. Acta Entomologica Sinica, 2023, 66 (10): 1311-1318 (in Chinese).
- [16] 吴沐秀, 张晓媛, 咎庆安, 张宏瑞. 七星瓢虫对豌豆修尾蚜的捕食功能反应[J]. 南方农业学报, 2022, 53(11): 3128-3136.
- WU MX, ZHANG XY, ZAN QA, ZHANG HR. Predatory functional response of *Coccinella septempunctata* to *Megoura crassicauda*[J]. Journal of Southern Agriculture, 2022, 53(11): 3128-3136 (in Chinese).
- [17] TRINH DN, HA TKL, QIU DW. Biocontrol potential of some entomopathogenic fungal strains against bean aphid *Megoura japonica* (Matsumura)[J]. Agriculture, 2020, 10(4): 114.
- [18] 蔡世玉. 不同体色表型柑橘木虱发育繁殖与内共生菌的差异研究[D]. 南昌: 南昌大学硕士学位论文, 2022.
- CAI SY. Study on the difference of development and reproduction and endosymbiont of citrus psylla with different body color phenotypes[D]. Nanchang: Master's Thesis of Nanchang University, 2022 (in Chinese).
- [19] REN FR, SUN X, WANG TY, YAO YL, HUANG YZ, ZHANG X, LUAN JB. Biotin provisioning by horizontally transferred genes from bacteria confers animal fitness benefits[J]. The ISME Journal, 2020, 14(10): 2542-2553.
- [20] 戴楠晶. 小菜蛾肠道共生菌多态性及与 Bt 协同作用研究[D]. 武汉: 华中农业大学硕士学位论文, 2014.
- DAI NJ. Study on polymorphism of intestinal symbiotic bacteria of *Plutella xylostella* and its synergistic effect with Bt[D]. Wuhan: Master's Thesis of Huazhong Agricultural University, 2014 (in Chinese).
- [21] 张义强. 蜜蜂肠道共生菌的研究[D]. 福州: 福建农林大学硕士学位论文, 2013.
- ZHANG YQ. Study on symbiotic bacteria in bee intestine[D]. Fuzhou: Master's Thesis of Fujian Agriculture and Forestry University, 2013 (in Chinese).
- [22] 吴林珂, 张帅, 雒珺瑜, 张利娟, 吕丽敏, 朱香镇, 王丽, 崔金杰. 龟纹瓢虫幼虫体内主要共生菌种类分析[J]. 中国生物防治学报, 2018, 34(2): 317-323.
- WU LK, ZHANG S, LUO JY, ZHANG LJ, LÜ LM, ZHU XZ, WANG L, CUI JJ. Analysis of symbiotic bacteria of *Propylea japonica* larvae[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2018, 34(2): 317-323 (in Chinese).
- [23] 王天召, 王正亮, 朱杭锋, 王紫晔, 俞晓平. 基于高通量测序的褐飞虱肠道微生物多样性分析[J]. 昆虫学报, 2019, 62(3): 323-333.
- WANG TZ, WANG ZL, ZHU HF, WANG ZY, YU XP. Analysis of the gut microbial diversity of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Hemiptera: Delphacidae) by high-throughput sequencing[J]. Acta Entomologica Sinica, 2019, 62(3): 323-333 (in Chinese).
- [24] 韩顺财, 蒋敬涛, 程林, 刘家生, 李彤, 彭凌飞. 中国六省区荔枝蜡体内细菌组成及多样性分析[J]. 植物保护学报, 2022, 49(3): 749-757.
- HAN SC, JIANG JT, CHENG L, LIU JS, LI T, PENG LF. Bacterial composition and diversity in the litchi stink bug, *Tessaratoma papillosa* (Hemiptera: Tessaratomidae) from six provinces of China[J]. Journal of Plant Protection, 2022, 49(3): 749-757 (in Chinese).
- [25] 曾凌达. 橘二叉蚜共生细菌多样性研究[D]. 福州: 福建农林大学硕士学位论文, 2019.
- ZENG LD. Study on the diversity of symbiotic bacteria of *Dictyophora citri*[D]. Fuzhou: Master's Thesis of Fujian Agriculture and Forestry University, 2019 (in Chinese).
- [26] 徐超, 王利沙, 朱香镇, 王丽, 李东阳, 张开心, 姬继超, 雒珺瑜. 禾谷缢管蚜翅型分化与共生菌的关联[J]. 中国生物防治学报, 2022, 38(1): 205-214.
- XU C, WANG LS, ZHU XZ, WANG L, LI DY, ZHANG KX, JI JC, LUO JY. The relationship between symbiotic bacteria and wing dimorphism in *Rhopalosiphum padi*[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2022, 38(1): 205-214 (in Chinese).
- [27] YUICHI H, HAJIME I. Changes of mycetocyte symbiosis in response to flying behavior of alatifform aphid (*Acyrtosiphon pisum*)[J]. Zoological Science, 1994, 11(5): 731-735.
- [28] 谢洁微, 李雪玲, 施庆珊, 吴俊松, 朱剑锋, 李锐明, 胡文锋. 饲喂葛叶对豆天蛾幼虫生长性能及肠道菌群多样性的影响[J]. 北方农业学报, 2023, 51(1): 107-117.
- XIE JW, LI XL, SHI QS, WU JS, ZHU JF, LI RM, HU WF. Effects of *Pueraria lobata* leaf on growth performance and intestinal microflora diversity of *Clanis bilineata tingtauca* larvae[J]. Journal of Northern Agriculture, 2023, 51(1): 107-117 (in Chinese).

- [29] 刘钟琳. 粘虫肠道菌群多样性及其对高密度幼虫抗病能力的影响[D]. 扬州: 扬州大学硕士学位论文, 2023.
- LIU ZL. Diversity of intestinal flora of armyworm and its effect on disease resistance of high density larvae[D]. Yangzhou: Master's Thesis of Yangzhou University, 2023 (in Chinese).
- [30] GARCÍA PARISI PA, GRIMOLDI AA, OMACINI M. Endophytic fungi of grasses protect other plants from aphid herbivory[J]. Fungal Ecology, 2014, 9: 61-64.
- [31] 张硕. 布赫纳氏菌在麦长管蚜生物型分化中作用及机制的研究[D]. 保定: 河北农业大学硕士学位论文, 2023.
- ZHANG S. Study on the role and mechanism of Buchner in biotype differentiation of wheat aphid[D]. Baoding: Master's Thesis of Hebei Agricultural University, 2023 (in Chinese).
- [32] NAKABACHI A, ISHIKAWA H. Provision of riboflavin to the host aphid, *Acyrtosiphon pisum*, by endosymbiotic bacteria, *Buchnera*[J]. Journal of Insect Physiology, 1999, 45(1): 1-6.
- [33] MORAN NA, DEGNAN PH. Functional genomics of *Buchnera* and the ecology of aphid hosts[J]. Molecular Ecology, 2006, 15(5): 1251-1261.
- [34] SHANG F, NIU JZ, DING BY, ZHANG W, WEI DD, WEI D, JIANG HB, WANG JJ. The miR-9b microRNA mediates dimorphism and development of wing in aphids[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2020, 117(15): 8404-8409.
- [35] 王培磊. 禾谷缢管蚜翅型分化机制初步探究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学硕士学位论文, 2020.
- WANG PL. Preliminary study on the differentiation mechanism of wing type of *Rhopalosiphum graminis*[D]. Yangling: Master's Thesis of Northwest A&F University, 2020 (in Chinese).
- [36] KANG ZW, ZHANG M, CAO HH, GUO SS, LIU FH, LIU TX. Facultative endosymbiont *Serratia symbiotica* inhibits the apterization of pea aphid to enhance its spread[J]. Microbiology Spectrum, 2022, 10(6): e0406622.