

蚜虫 - 内共生菌的互利共生研究综述

冯利^{1,2}, 孙玉诚², 戈峰², 马骏^{1,3*}

(1 湖南农业大学 生物安全科技学院, 湖南 长沙 410128 2 农业虫害鼠害综合治理国家重点实验室、中国科学院 动物研究所, 北京 100101
3 广东出入境检验检疫局 检验检疫技术中心, 广东 广州 510623)

摘要: 综述了蚜虫体内共生菌的生物学特性、与宿主蚜虫的相互作用以及潜在的生物学、生态学意义等方面的研究。

关键词: 蚜虫; 内共生菌; 互利共生

中图分类号: Q143 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001- 8581(2008)06- 0065- 04

Mutualism between Aphids and Their Endosymbionts

FENG Li^{1,2}, SUN Yu-cheng², GE Feng², MA Jun^{1,3*}

(1. College of Bio-safety Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China 2. State Key Laboratory of Integrated Management of Pest Insects and Rodents, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China 3. Plant Quarantine Laboratory, Guangdong Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Guangzhou 510623, China)

Abstract The biological characteristics of aphid's endosymbionts and interaction with aphids were reviewed. And the potential values in biology and ecology were also discussed.

Key words Aphid; Endosymbionts; Mutualism

许多昆虫在长期的进化过程中与其体内的共生菌建立了互利共生的关系^[1], 蚜虫与其共生菌的关系是最典型的例子, 也是研究共生关系的模型。几乎所有蚜虫种类中都带有一种革兰氏阴性的球形胞内共生菌 (*Buchnera*)。这种共生菌存在于腹部的含菌细胞 (mycetocytes 或 bacteriocytes) 的胞质中, 它们占蚜虫内共生微生物的 90% 以上, 因此被称为初级内共生菌 (primary symbionts 或 P-symbionts)^[2]。它们是专性垂直传播的, 是蚜虫的正常生长和繁殖所必需的^[3]。

此外, 许多蚜虫还包含另外一种或多种其他细菌类群, 称为次级内共生菌 (secondary symbionts 或 S-symbionts)。它们大致可分 5 类, 即 R-type (PASS)、S-type (PAR)、T-type (PABS)、U-type (PAUS) 以及一种螺原体 (spiroplasma)^[4]。这些次级内共生菌类群在蚜虫体内分布广泛, 在蚜虫中既可以垂直传播, 也可以水平传播^[5]。

事实上, 蚜虫与其共生菌已建立了密切的互利共生关系。近年来, 随着分子生物学的不断发展和应用, 有关蚜虫与其体内共生菌相互关系的研究日趋深入, 现就蚜虫体内共生菌的生物学特性、与宿主蚜虫的相互作用以及其研究的潜在生物学、生态学意义等方面进行综述, 旨在为更好的应用这种共生关系提供理论依据。

1 共生菌的生物学特性

1.1 初级内共生菌 (*Buchnera*)

1.1.1 分布 在所有的蚜虫中, *Buchnera* 均存在于血腔的含菌细胞中, 含菌细胞呈两叶状结构, 这一结构被称为含菌体 (bacterium 或 mycetome)^[3], 一般包含有 60~ 80 个菌胞, 这些菌胞很少分裂, 但随着蚜虫的生长体积逐渐变大^[5]。例如, 野豌豆蚜出生后大约有 80 个菌胞, 经过若蚜阶段的发育后, 其细胞体积增长了 8 倍, 细胞质体积的 60% 被共生菌占据^[6-7]。

1.1.2 传递途径 *Buchnera* 通过卵巢在蚜虫亲代与后代间垂直传递, 有性生殖中传递给卵细胞, 而在孤雌生殖中传递给胚胎^[5]。Mira 和 Moran (2002) 利用电镜技术对豌豆蚜体内的 *Buchnera* 菌数量进行观察, 发现 1 龄若蚜中含 1.2×10^5 个 *Buchnera* 细胞, 而卵巢细胞中只有 1.9×10^3 个。这说明 *Buchnera* 在宿主中有一个数量减少和增加的过程, 数量减少发生在卵的形成过程中, 增加则发生在胚胎菌胞的形成过程, 因此, 对不同发育阶段内共生菌数量的研究有利于对其遗传特征的了解^[8]。

1.1.3 基因组 Shigenobu (2000) 率先获得了豌豆蚜 *Acyrtosiphon pisum* Harris 体内 *Buchnera* 的全基因序列, 发现 *Buchnera* 的基因组由一个环状染色体和两个环状质粒 - 亮氨酸质粒和色氨酸质粒组成, 大小在 450~ 642 kb 之间, 仅为与其亲缘关系很近的大肠杆菌 (4639 kb) 的 $1/7^{9-10}$ 。一般情况下, 一个隐蔽、营养丰富、细胞内的寄居者要选择降低基因组大小的策略。 *Buchnera* 基因组的 (G+C) 平均含量为 26.3%, AT 含量富集, 这是

收稿日期: 2008-03-14

基金项目: 国家科技支撑计划 (2006BAD08A07-3-2); 国家自然科学基金委面上项目 (30571253)。

作者简介: 冯利 (1981-), 女, 河北武安人, 在读硕士, 研究方向为昆虫生态学。* 通讯作者: 马骏。

Budnema 区别于立克次氏体等与其亲缘关系较近的特异性细胞内病原体的显著特征^[11]。

Buchnera 菌的 rRNA 基因由 *rrs* 和 rRNA^{G^{hi}} - *rrl* - *rrf* 两个转录单元构成, 每种转录单元只有一个拷贝^[12]。通过定量 PCR 技术确定 *rrs* 基因的数量, 就可对寄主从出生到成熟这一段时间内 *Buchnera* 的记数^[12]。每个 *Buchnera* 菌细胞中含有 100 个以上的基因组拷贝数, 并随着宿主蚜虫的龄期变化呈现出一定的变化规律, Komak 和 Ishikawa (2000) 对豌豆蚜的研究发现, 从胚胎后期到成虫期 *Buchnera* 基因组拷贝数增加, 但随着蚜虫的虫龄增大, 其增加量逐渐减少, 到生殖末期其功能不再需要时, 菌胞的数量就大大降低^[13]。

1.2 次级内共生菌 迄今为止, 仅对豌豆蚜体内次级共生细菌的研究较为深入, 尤其以 R - type 类型研究较多。Fukatsu 等 (2000) 利用电镜技术和分子生物学结合的方法对豌豆蚜体内次级共生细菌分析结果表明, 这类次级共生菌被局限在菌胞周围的鞘细胞中, 或分散或聚集于蚜虫血腔中。另外, 在脂肪体细胞和缺失 *Buchnera* 的含菌细胞中也偶有发现^[4]。与 *Buchnera* 相比, 这些次级内共生菌的种类可能因室内长期饲养而改变。李正西等 (2005) 通过对桃蚜的自然种群体内共生菌的研究, 发现了一种新类型的次级共生菌——泛菌类 (*Pantoe*), 这是迄今有关在蚜虫体内存在泛菌次级共生菌的首次报道^[14]。

次级内共生菌在多种蚜虫中以垂直传递方式传播^[4]。但考虑到次级内共生菌在蚜虫种内及种间的特殊分布方式, 垂直传递可能不是次级内共生菌的主要传播方式, 而个体间的水平传递可能是其主要传播途径^[15]。Moran 和 Dubar (2006) 有关豌豆蚜的最新研究表明, 次级共生菌的水平传递能够引起混合感染, 这种感染特性不仅为次级共生菌的竞争和再感染创造了更多的机会, 同时也为共生菌的系统进化研究提供了很好的借鉴依据^[16]。但有关这种水平传递的机制尚不清楚。

2 共生菌与宿主蚜虫的相互作用

2.1 初级内共生菌 (*Buchnera*) 的功能 大量相关研究已经从营养、生理等方面进行了论证, *Buchnera* 的主要功能是为宿主蚜虫提供多种必需氨基酸^[2, 17-18]。目前, 从基因水平也证实了 *Budnema* 的氨基酸合成能力。与大肠杆菌基因组相比, *Buchnera* 全序列基因组大大缩小, 但保留了大多数必需氨基酸生物合成的基因^[9, 19-20]。

此外, *Buchnera* 对宿主蚜虫还有一些非营养的功能。已有的研究证明 *Buchnera* 编码的 G₁₀EL 蛋白具有保护病毒在进入血腔的过程中免遭降解, 促进蚜虫传播循环性病毒的功能^[21]。崔晓峰等 (2002) 对桃蚜 *Myzus persicae* Sulz. 的研究表明, 初级共生菌的 *Buchnera* G₁₀EL 蛋白参与了宿主蚜虫传播多种植物病毒病, 如马铃薯卷叶病毒 PLRV 等^[22]。但这种促进作用的发生机制尚不清楚。最新的资料表明 *Buchnera* 对蚜虫的适合度有一定

影响。例如, 它能够通过营养效应间接影响宿主的翅型分化, 加快宿主的个体发育进度, 促进其繁殖^[23-24]; 通过其核苷酸序列中的一个特定突变来增强宿主蚜虫对热胁迫的耐受性, 从而进一步影响到蚜虫的生态学特性^[25]。

2.2 次级内共生菌的功能 一般认为, 与 *Buchnera* 相比, 次级共生菌对于蚜虫似乎不是非常重要, 因为不管缺少任何一种或几种次级内共生菌, 均不影响蚜虫的正常生长繁殖。但近年的研究发现了次级内共生菌的一些功能, 主要与宿主蚜虫的适合度、竞争力以及其他一些间接的方面相关。例如能够增强蚜虫对热胁迫的耐受性^[26]; 影响蚜虫利用特定寄主的能力, 扩大其寄主植物范围^[27]; 提高蚜虫对寄生性天敌抵御的能力^[28]以及减弱真菌病原物对蚜虫的侵染^[29]。尽管内在的机制还不清晰, 但田间和实验室的研究都证明, 次级内共生菌的感染可能在蚜虫生态学特性和适合度方面发挥重要的作用。

2.3 宿主蚜虫对体内共生菌的调控 通过对昆虫共生现象的广泛观察后发现, 寄主动物对共生菌的控制起主导作用, 也就是说共生菌的存在及其作用主要由寄主控制, 其中最具有说服力的证据是寄主控制共生菌的增殖^[1]。Wilkinson 等 (2007) 最新研究表明, 宿主蚜虫的营养水平对其体内共生菌的增殖起调控作用, *Buchnera* 菌的种群密度与寄主所摄取食物中的 N 含量呈正相关, 而次级内共生菌则与其呈负相关^[30]。目前, 对这种调控作用的解释还只是停留在生理生化层面, 而具体的调控作用方式以及内在的分子机制尚不清楚。

3 蚜虫内共生菌研究的意义

蚜虫内共生菌与宿主的进化关系, 对研究昆虫的系统进化及生物多样性是一个有利的工具。初生内共生菌与宿主进化关系的一致性, 次生内共生菌遗传多样性与可塑性及与宿主之间系统发育的不一致性, 对研究昆虫的系统进化及其生物多样性, 都是好的证据^[31]。内共生菌的研究还可以帮助解释蚜虫的部分生物学特性, 辅助蚜虫的分类^[32]。

蚜虫内共生菌研究有助于了解蚜虫对植物抗性的适应性。共生菌的垂直卵传递及其遗传基因的易变性等特性, 使蚜虫体内共生菌的遗传背景容易发生变化或突变, 导致蚜虫很快形成新的生物型, 以适应新的寄主植物^[33]。

蚜虫内共生菌的研究将有利于害虫的防治。 *Wolbachia* 可以改变宿主的生殖行为, 调节繁殖力, 以加强它到下一代的垂直传播, 使用抗生素去除 *Wolbachia* 导致宿主死亡已作为治疗丝虫病的新方案^[34]。此外, 根据蚜虫体内大量存在内共生菌的特性, 通过内共生菌的转基因研究, 可望建立起病虫防治的新的生物控制系统^[35]。

4 结论

随着分子生物学的不断发展和应用, 关于蚜虫与其体内共生菌相互关系的研究, 在近十多年间日趋深入。

虽然对蚜虫与其初级内共生体之间的互利关系已取得了很大的进展, 但控制该特定共生关系的生态学基础以及影响其动态的各种因素仍然需要进一步研究, 而对于次级共生, 其侵染的效应及其生态学相互作用要复杂得多, 因为各种次级共生菌类群的生态学各不相同, 对这些共生菌的深入研究将可能揭示非病原性微生物与动物(包括昆虫)进行联系的生态对策, 从而进一步推动生物间的共生关系由理论研究向实践应用的转变。

参考文献

- [1] Buehner P. Endosymbiosis of animals with plant microorganisms [M]. New York Wiley & Sons 1965 67~232
- [2] Baumann PL, Lai CY, Rouhbachsh D, et al Genetics, physiology and evolutionary relationships of the genus *Buchnera* intracellular symbionts of aphids [J]. *Annu. Rev. Microbiol.*, 1995, 49: 55~94
- [3] Douglas AE. Nutritional interactions in insect-microbial symbioses: aphids and their symbiotic bacteria *Buchnera* [J]. *Annu. Rev. Entomol.*, 1998 43: 17~37
- [4] Fukatsu T, Nishikubo N, Kawai R, et al The secondary endosymbiotic bacterium of the pea aphid *Acyrtosiphon pisum* (Insecta: Homoptera) [J]. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2000 66(7): 2748~2758.
- [5] Baumann PL. Biology of Bacteriocyte-Associated Endosymbionts of Plant Sap-Sucking Insects [J]. *Annu. Rev. Microbiol.*, 2005 59: 155~189
- [6] Douglas AE, Dixon AFG. The mycetocyte symbiosis in aphids: variation with age and morph in viviparous of *Megoura viciae* and *Acyrtosiphon pisum* [J]. *J. Insect Physiol.*, 1987, 33: 109~113
- [7] Whitehead LF, Douglas AE. A metabolic study of *Buchnera*, the intracellular bacterial symbionts of the pea aphid *Acyrtosiphon pisum* [J]. *J. Gen. Microbiol.*, 1993 139: 821~826
- [8] Miao A, Moran NA. Estimating population size and transmission bottlenecks in maternally transmitted endosymbiotic bacteria [J]. *Microb. Ecol.*, 2002 44: 137~143
- [9] Shigenobu S, Watanabe H, Hattori M, et al Genome sequence of the endocellular bacterial symbiont of aphids *Buchnera* sp. APS [J]. *Nature* 2000 407: 81~86
- [10] Silva F J, Latorre A, Moya A. Genome size reduction through multiple events of gene disintegration in *Buchnera* APS [J]. *Trends in Genetics* 2001, 17(11): 615~618
- [11] Moran N. A. . Accelerated evolution and Muller's ratchet in endosymbiotic bacteria [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93: 2873~2878
- [12] Baumann L, Baumann P. Growth Kinetics of the Endosymbiont *Buchnera aphidicola* in the Aphid *Schizaphis graminum* [J]. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1994, 60(9): 3440~3443
- [13] Kamaki K, Ishikawa H. Genomic copy number of intracellular bacterial symbionts of aphids varies in response to developmental stage and morph of their host [J]. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 2000, 30: 253~258.
- [14] 李正西, 李定旭. 桃蚜自然种群初级和次级共生菌的分子鉴定 [J]. *昆虫学报*, 2005 48(5): 810~814
- [15] Darby A. C., Douglas A. E. . Elucidation of the transmission patterns of an insect-borne bacterium [J]. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2003 69: 4403~4407
- [16] Moran N. A., Dubar H. E. . Sexual acquisition of beneficial symbionts in aphids [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006 103(34): 12803~12806
- [17] Douglas AE. Phloem-sap feeding by animals: problems and solutions [J]. *J. Experimental Botany* 2006 57(4): 747~754.
- [18] Birkle LM, Minto LB, Douglas AE. Relating genotype and phenotype for tryptophan synthesis in an aphid-bacterial symbiosis [J]. *Physiological Entomology*, 2002, 27: 1~5
- [19] Tanas J, Karlsson L, Canback B, et al. 50 million years of genomic stasis in endosymbiotic Bacteria [J]. *Science* 2002 296: 2376~2379.
- [20] VanH an RCH, J Kanerbeck J, Palacios C, et al Reductive genome evolution in *Buchnera aphidicola* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003 100: 581~586
- [21] Van den Heuvel JFM, Verbeek M, Van der Wilk F. Endosymbiotic bacteria associated with circulative transmission of potato leafroll virus by *Myzus persicae* [J]. *J. Gen. Virol.* 1994 75: 2559~2565
- [22] 崔晓峰, 吴云锋, 林林, 等. 桃蚜体内与病毒结合的共生菌 *Buchnera* GroEL 基因的克隆和序列分析 [J]. *中国病毒学*, 2002, 17(1): 69~72
- [23] Hardie J, Leckstein P. Antibiotics, primary symbionts and wing polyphenism in three aphid species [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2007 37: 886~890
- [24] 胡祖庆, 赵惠燕, 胡想顺, 等. 共生菌对麦长管蚜生长发育和繁殖的影响 [J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2007, 35(6): 163~166
- [25] Dunbar H. E., Wilson A. C. C., Ferguson N. R., et al Aphid Thermal Tolerance Is Governed by a Point Mutation in Bacterial Symbionts [J]. *PLoS Biology*, 2007 5(5): 1006~1015
- [26] Montllor C. B., Moxem A., Purcell A. H. . Facultative bacterial endosymbionts benefit pea aphids *Acyrtosiphon pisum* under heat stress [J]. *Ecol. Entomol.*, 2002 27: 189~195
- [27] Tsuchida T., Koga R., Fukatsu T. . Host plant specialization governed by facultative symbiont [J]. *Science* 2004 303: 1989
- [28] Oliver K. M., Moran N. A., Hunter M. S. . Variation in resistance to parasitism in aphids is due to symbionts not host genotype [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 12795~12800
- [29] Scarborough C. L., Ferrari J., Godfray H. C. J. Aphid Protected from Pathogen by Endosymbiont [J]. *Science* 2005 310(16): 1781
- [30] Wilkinson T. L., Koga R., Fukatsu T. . Role of Host Nutrition in Symbiont Regulation: Impact of Dietary Nitrogen on Proliferation of Obligate and Facultative Bacterial Endosymbionts of the

Pea Aphid *Acyrtosiphon pisum* [J]. Appl Environ Microbiol, 2007, 73(4): 1362~ 1366

[31] Sandstöm J P, Russell J A, White J P, et al Independent origins and horizontal transfer of bacterial symbionts of aphids [J]. Mol Ecol, 2001, 10 217~ 228

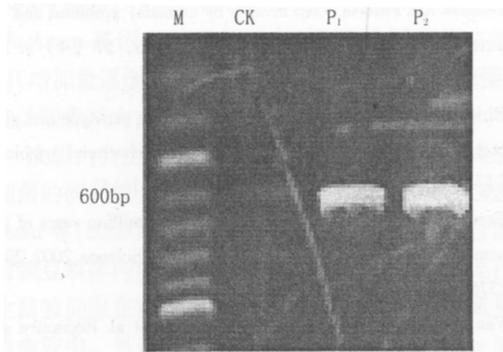
[32] 谭周进, 肖启明, 谢丙炎, 等. 昆虫内共生菌研究概况 [J]. 微生物学通, 2005 32(4): 140~ 143

[33] 吕仲贤, 俞晓平, 陈建明, 等. 共生菌在褐飞虱致害性变化中的作用 [J]. 昆虫学报, 2001, 44(2): 197~ 204

[34] 褚栋, 张友军, 毕玉平, 等. *Wolbachia* 属共生菌及其对节肢动物宿主适合度的影响 [J]. 微生物学报, 2005 45(5): 817~ 820

[35] 严健, 邓可京, 曹清玉, 等. 灰飞虱类酵母型共生菌 18S rDNA 序列变异及系统发生 [J]. 遗传学报, 2000, 27(3): 219~ 226

(上接第 35 页)



M: DNA Marker; CK: 阴性对照; P₁、P₂: 转基因植株
M: DNA Marker CK: 阴性对照; P₁、P₂: 转基因植株
图 2 转基因植株 *LFY* 基因 RT-PCR 检测

3 讨论

在苹果的再生中影响最大的是细胞生长素和细胞分裂素。苹果再生中常用的生长素是 NAA, 细胞分裂素是 BA^[5,6], 但是在难再生的品种上, 一般用 TDZ 代替 BA。TDZ 可在低浓度下诱导对 BA 反应效果小的植物进行芽的增殖, 高浓度的 TDZ 容易出现玻璃化现象并且使再生效率降低^[7]。在本实验中, 用苹果上常用的 NAA 0.4 mg/L 和不同浓度的 BA 组合, 得到的再生效果就不很明显, 再生率偏低。NAA 0.4 mg/L 和 TDZ 组合, 其中 TDZ 2.0 mg/L 的再生率最高, 但高浓度的 TDZ 抑制了再生芽的分化且使得再生芽玻璃化。

组织培养中基因型的依赖性是一种普遍现象, 它表现为种间、品种间再生能力的不同。长富 2 号在 BA 的作用下再生率达到 85% 以上^[8], 新红星在 BA 作用下再

生率低, 在 TDZ 作用下再生率达到 75% 以上^[7]。本实验中, 杂交种整合了长富 2 号和新红星的基因组, 在 BA 的作用下, 它的再生率比其亲本长富 2 号低很多, 使用了再生效果较强的 TDZ 后再生率得以提高并且明显高于其亲本新红星。可见, 基因型对苹果叶片再生能力的影响较大。

对转基因植株进行了 PCR 和 RT-PCR 检测, 表明目的基因已经整合到苹果基因组中, 并且能够正常表达, 为下一步试验奠定了基础。但转化率偏低, 转化体系有待于进一步改进。

参考文献:

- [1] 曹上银, 张秋明, 吴顺. 果树花芽分化机理研究进展 [J]. 果树学报, 2003, 20(5): 345~ 350
- [2] 杨传平, 刘桂丰, 魏志刚. 高等植物成花基因的研究 [J]. 遗传, 2002, 24(3): 379~ 384
- [3] 李克贵, 潘大仁, 许莉萍. 基因枪法将 *LEAFY* 基因导入甘蔗的研究 [J]. 作物学报, 2003, 29(4): 541~ 544
- [4] 刘静, 邵建柱, 徐继忠, 等. 农杆菌介导法将 *LFY* 基因导入苹果的研究 [J]. 河北农业大学学报, 2006, 29(3): 6~ 9
- [5] 刘庆忠, 赵红军, HAMM ERSCHLAG F A. 培育苹果转基因植株的研究 [J]. 落叶果树, 2000, (1): 5~ 9
- [6] 邵建柱, 马宝焜. 转基因苹果研究进展 [J]. 果树学报, 2003, 20(1): 49~ 53
- [7] 刘莉莉, 蔡斌华, 刘丹, 等. 新红星苹果离体高效再生体系的建立 [J]. 果树学报, 2007, 24(5): 679~ 681
- [8] 王贵章, 徐凌飞, 马锋旺, 等. 富士苹果黄化茎段再生不定芽的研究 [J]. 西北农林科技大学学报 (自然科学版), 2006, 34(6): 79~ 81