



徐昭焕, 李婷, 廖嵩, 王建国. 基于高通量测序分析桃蚜体内微生物群落结构及多样性 [J]. 环境昆虫学报, 2022, 44 (4): 978–985.

基于高通量测序分析桃蚜体内微生物群落结构及多样性

徐昭焕*, 李婷, 廖嵩, 王建国

(江西农业大学农学院, 南昌 330045)

摘要: 为探明桃蚜 *Myzus persicae* 体内微生物群落结构及其种类多样性, 采用 Illumina HiSeq 二代测序技术检测桃蚜体内细菌 16S rRNA 基因和真菌 ITS 基因序列的方法, 分析取食白菜 *Brassica pekinensis* 和甘蓝 *Brassica oleracea* 的无翅孤雌桃蚜成虫体内微生物群落结构及多样性。研究结果获得桃蚜体内细菌 16S rDNA 和真菌 ITS1 优质序列分别为 473 750 条和 472 980 条, 并根据序列相似性对其进行聚类分析, 分别获得 959 个和 1 424 个 OTUs。基于 OTUs 分类结果, 共注释鉴定细菌类群 26 个门、55 个纲、128 个目、227 个科、419 属、451 种, 真菌类群 10 个门、31 个纲、77 个目、172 个科、343 属、441 种。其中, 在门级水平上, 取食白菜和甘蓝的桃蚜体内细菌类群均以变形菌门 Proteobacteria 内的细菌 (占 73.11%, 80.10%) 为优势菌; 真菌类群均以子囊菌门 Ascomycota 真菌 (占 51.91%, 50.98%) 为优势菌。在属级水平上, 取食白菜和甘蓝的桃蚜体内细菌均以布赫纳氏菌属 *Buchnera* (占 60.82%, 56.11%) 为优势属, 而其次优势细菌属则分别为未培养的叶绿体菌 *Chloroplas* (占 2.84%) 和立克次氏小体属 *Rickettsiella* (占 10.04%); 取食白菜的桃蚜体内真菌优势属为青霉属 *Penicillium* (占 5.15%), 次优势菌属为被孢霉属 *Mortierella* (占 3.83%), 而取食甘蓝的桃蚜体内真菌优势属为曲霉属 *Aspergillus* (占 3.93%), 次优势菌属为被孢霉属 *Mortierella* (占 3.86%)。以上研究结果表明取食不同植物的桃蚜体内微生物群落结构和种类多样性存在一定差异。 α 多样性指数表明桃蚜体内微生物群落结构具有较高的丰富度和多样性。研究结果为进一步挖掘桃蚜体内关键微生物, 并解析其生物学功能及其利用等方面奠定了重要基础。

关键词: 桃蚜; 微生物多样性; 16S rRNA 基因; ITS 基因; 高通量测序

中图分类号: Q968.1; S433

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858 (2022) 04-0978-08

Analysis of the microbial community structure and diversity of *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) by high-throughput sequencing

XU Zhao-Huan*, LI Ting, LIAO Song, WANG Jian-Guo (College of Agronomy, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China)

Abstract: To clarify the microbial diversity and differences in adults of *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) fed on different diets, microbial community structures, predominant microbia on each taxonomic level and alpha diversity of the microbia of apterous adults fed on *Brassica pekinensis* and *Brassica oleracea* were analyzed on the basis of 16S rDNA and ITS1 fragments sequences which were obtained through Illumina HiSeq techniques. A total of 473 750 valid tags and 959 OTUs were obtained for bacteria of adult BPH, while the numbers of valid tags and OTUs for fungi were 472 980 and 1 424, respectively. The total OTUs of gut bacteria were annotated into 26 phyla, 55 classes, 128 orders,

基金项目: 国家自然科学基金 (31760513)

作者简介: 徐昭焕, 女, 博士, 副教授, 研究方向为媒介昆虫与植物病毒互作, E-mail: hzhaohuan@163.com

* 通讯作者 Author for correspondence: 徐昭焕, 女, 博士, 副教授, 研究方向为媒介昆虫与植物病毒互作, E-mail: hzhaohuan@163.com

收稿日期 Received: 2021-05-19; 接受日期 Accepted: 2021-06-24

227 families, 419 genera and 451 species, while the fungal OTUs were annotated into 10 phyla, 31 classes, 77 orders, 172 families, 343 genera and 441 species. At the phylum levels, the dominant bacteria was Proteobacteria (73.11%, 80.10%), while the dominant fungi with the highest abundance belonged to Ascomycota (51.91%, 50.98%). At the genus levels, the dominant bacteria with the highest abundance in aphid fed on *B. pekinensis* and *B. oleracea* were belonged to *Buchnera* (60.82%, 56.11%), and the second dominant genus of both diets were *Chloroplast* (2.84%) and *Rickettsiella* (10.04%), respectively. The dominant fungi with the highest abundance in aphid fed on *B. pekinensis* and *B. oleracea* were belonged to *Penicillium* (5.15%) and *Aspergillus* (3.93%), respectively. The second dominant genus of both diets was *Mortierella* (3.83%, 3.86%). The results indicated that the microbial community composition and diversity of *M. persicae* adults fed on different diets were different. The alpha diversity index showed that the microbial community in *M. persicae* adults had higher richness and diversity. This study provided an important foundation for further studies on the excavation and utilization of microbial resources for the biocontrol of *M. persicae*.

Key words: *Myzus persicae*; microbial diversity; 16S rRNA gene; ITS gene; high-throughput sequencing

昆虫体内栖息着大量的微生物, 并形成复杂的群落结构, 对昆虫生长发育、代谢繁殖等生命活动发挥着重要作用, 如能为宿主昆虫提供食物缺乏且自身无法合成的必需氨基酸 (Frago *et al.*, 2012), 参与宿主昆虫的物质代谢 (Gaio *et al.*, 2011), 影响宿主昆虫的生长发育和繁殖 (Mitraka *et al.*, 2013)、解毒作用 (Adams *et al.*, 2013; Mason *et al.*, 2014)、防御能力 (Tsuchida *et al.*, 2010) 及信息素合成 (Dillon *et al.*, 2000) 等。昆虫体内微生物主要为细菌、古细菌、原生动物、真菌和病毒等 (魏舸等, 2018), 且食物对其多样性具有重要影响 (魏晓莹等, 2019)。研究发现刺吸式口器昆虫烟粉虱取食相同植物后, 其体内微生物组成具有高度相似性, 但取食不同植物后, 其体内微生物组成存在显著差异 (Su *et al.*, 2016)。食物对咀嚼式口器昆虫体内微生物多样性的影响研究主要针对肠道微生物, 如以地中海松 *Pinus halepensis* Mill. 为食的松异舟蛾 *Thaumetopoea pityocampa* 肠道中变形菌门 Proteobacteria 细菌的丰度低于以欧洲黑松 *Pinus nigra* Arn.、落叶松 *Larix gmelinii* (Ruprecht) Kuzeneva 或海岸松 *Pinus pinaster* Aiton 为食的松异舟蛾 (Strano *et al.*, 2018); 取食人工饲料和不同寄主植物的小菜蛾 *Plutella xylostella* 幼虫肠道细菌多样性及其群落结构也存在显著差异 (吴晓露等, 2019)。

桃蚜 *Myzus persicae* Sulzer, 属半翅目 Hemiptera 蚜科 Aphididae, 食性广泛, 主要取食十字花科植物、茄果类蔬菜、芝麻 *Sesamum indicum* L. 及桃 *Prunus persica* L.、李 *Prunus salicina* Lindl.、烟草

Nicotiana tabacum L. 等经济类植物, 并传播植物病毒, 导致植物营养恶化, 影响农作物的产量和品质, 造成重大经济损失。刘艳红等 (2018) 研究发现孤雌桃蚜体内次生共生菌在不同寄主植物间, 尤其是冬寄主和夏寄主间的差异很大。目前, 对桃蚜体内微生物多样性及群落结构与食物之间的关系以及桃蚜体内微生物对寄主适应性的影响作用研究资料积累较少。鉴于此, 本研究采用 Illumina HiSeq 二代高通量测序方法, 分析桃蚜取食不同寄主植物后体内微生物 (细菌和真菌) 群落的多样性及差异性, 以为后续深入研究桃蚜体内微生物与寄主植物间的互作关系提供理论基础和思路借鉴。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

研究所需供试昆虫为 2020 年 1 月采集自江西农业大学科技园白菜和甘蓝上的无翅孤雌桃蚜成虫。

1.2 桃蚜体内微生物总基因组 DNA 的提取

分别取白菜和甘蓝上的无翅孤雌桃蚜成虫各 50 头, 每组设置 3 个重复。桃蚜饥饿处理 2 h 后, 用 75% 酒精对其虫体表面消毒 3 次, 每次 3 min, 然后用无菌蒸馏水清洗 3 遍, 晾干虫体。用 Trelief™ Animal Genomic DNA Kit 试剂盒参照说明书分别提取白菜和甘蓝上的桃蚜体内微生物总基因组 DNA。使用微量蛋白核酸测定仪 (NanoDrop 2000, 美国) 测定 DNA 浓度及 OD₂₆₀/OD₂₈₀ 值, 并

用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测提取的总 DNA。

1.3 细菌 16S rRNA 基因和真菌 ITS 基因的 PCR 扩增和高通量测序

使用 F 引物: 5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3' 和 R 引物: 5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3' 扩增细菌 V3-V4 区域。使用 F 引物: 5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3' 和 R 引物: 5'-GCTGCGTCTTCATCGATGC-3' 扩增真菌 ITS1 区。PCR 扩增体系总体积均为 50 μ L: 基因组 DNA 模板 60 ng、Q5 High-Fidelity DNA Polymerase 0.2 μ L、10 \times Buffer 10 μ L、正反向引物各 10 μ M、dNTPs 1 μ L、High GC Enhancer 10 μ L。PCR 扩增条件: 95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min、95 $^{\circ}$ C 变性 1 min、50 $^{\circ}$ C 退火 1 min、72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min、25 个循环, 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 7 min。PCR 扩增产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳检测后, 利用 Illumina HiSeq 2500 测序平台进行测序 (北京擎科生物科技有限公司)。

1.4 序列数据分析

测序获得的原始序列 (Raw reads) 经过滤后进行引物序列的识别与去除, 获得不包含引物序列的高质量序列。利用 overlap 对每个样品高质量的序列进行拼接, 获得优质序列 (Clean reads), 鉴定并去除嵌合体序列, 得到最终有效数据 (Effective reads)。

借助 Usearch 软件对相似度水平低于 97.0% 的 Reads 进行聚类分析, 获得分类操作单元 (OTU)。以 SILVA 和 UNITE 为参考数据库分别对扩增获得的细菌 16S rRNA 基因和真菌 ITS 基因序列进行物种注释。利用 QIIME 2 软件对样品 Alpha 多样性指

数进行评估, 包括 ACE、Chao1、Simpson 及 Shannon 指数。

2 结果与分析

2.1 桃蚜微生物基因组测序结果分析

6 个桃蚜样品经微生物基因组测序, 对其细菌 16S rRNA 基因序列文库分析共获得 480 400 对 Reads, 双端 Reads 经质控、拼接后共产生 473 750 条 Clean reads, 每个样品至少产生 78 474 条 Clean reads, 平均产生 78 958 条 Clean reads。在 97% 相似性水平上进行聚类分析, 共获得 959 个 OTUs (图 1-A)。结果分析发现取食白菜的桃蚜中细菌 OTUs 数量平均为 898 个, 其中特有 OTUs 为 69 个; 取食甘蓝的桃蚜中细菌 OTUs 数量平均为 890 个, 其中特有 OTUs 为 61 个。真菌 ITS 基因序列文库经分析共获得 480 263 条 Reads, 双端 Reads 经质控、拼接后共产生 472 980 条 Clean reads, 每个样品至少产生 78 575 条 Clean reads, 平均产生 78 830 条 Clean reads, 在 97% 相似性水平上进行聚类分析, 共得到 1 424 个 OTUs (图 1-B)。取食白菜的桃蚜中真菌 OTUs 数量平均为 1 251 个, 其中特有 OTUs 为 219 个; 取食甘蓝的桃蚜中真菌 OTUs 数量平均为 1 205 个, 其中特有 OTUs 为 173 个。样品稀释曲线显示, 随着抽样序列数量的增加, 曲线由陡然上升趋向平缓, 随后进入平台期 (图 2), 说明更多的测序量不会引起物种多样性的显著增长, 基于现有数据量的分析结果是准确可靠的。

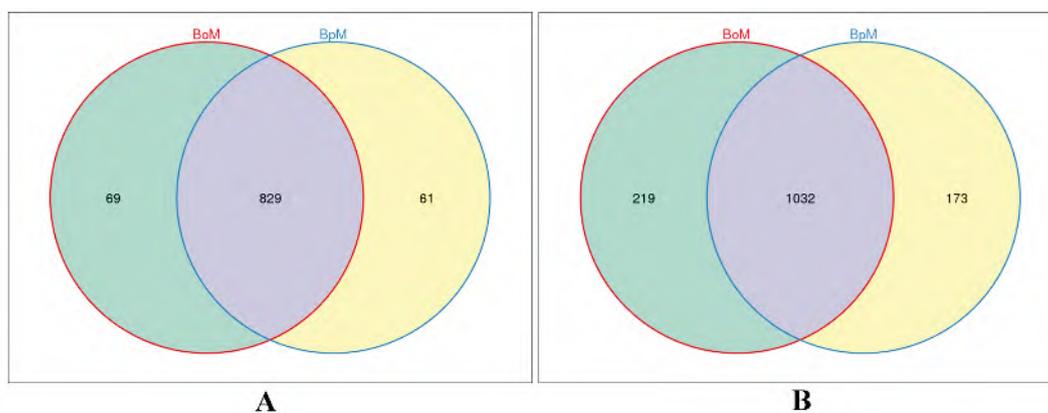


图 1 取食两种食物的桃蚜体内细菌 (A) 和真菌 (B) OTUs 的韦恩分析

Fig. 1 Venn analysis of OTUs of bacteria (A) and fungi (B) of *Myzus persicae* fed on two diets

注: BoM, 取食白菜的桃蚜; BpM, 取食甘蓝的桃蚜, 下同。Note: BoM, *M. persicae* fed on *Brassica pekinensis*; BpM, *M. persicae* fed on *Brassica oleracea*. The same below.

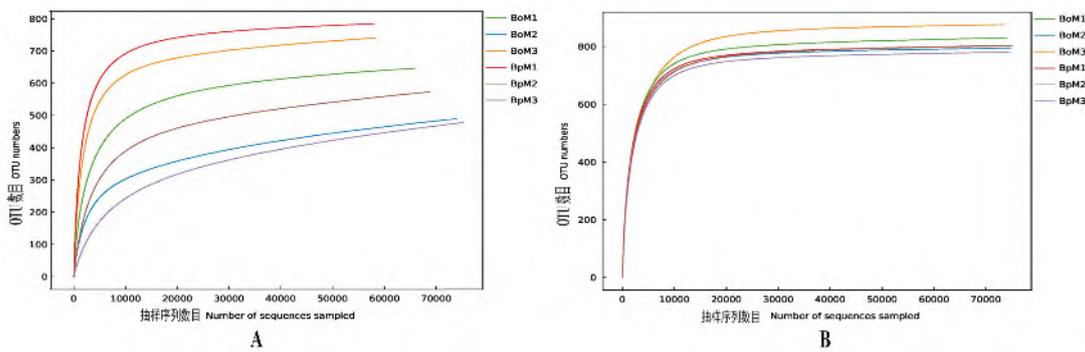


图2 取食两种食物的桃蚜体内细菌 (A) 和真菌 (B) 组成稀释曲线

Fig. 2 Rarefaction curves of the observed species of bacteria (A) and fungi (B) of *Myzus persicae* fed on two diets

2.2 桃蚜体内微生物种类组成及其丰度分析

基于 OTUs 分类结果, 共注释鉴定细菌类群 26 个门、55 个纲、128 个目、227 个科、419 属、451 种, 真菌类群 10 个门、31 个纲、77 个目、172 个科、343 属、441 种。

在细菌门级水平上, 取食白菜的桃蚜 16S rRNA 基因序列共注释了变形菌门 Proteobacteria (占 73.11%)、厚壁菌门 Firmicutes (占 9.74%)、拟杆菌门 Bacteroidetes (占 5.98%)、蓝细菌门 Cyanobacteria (占 2.91%)、酸杆菌门 Acidobacteria (占 2.18%)、放线菌门 Actinobacteria (占 2.5%)、绿弯菌门 Chloroflexi (占 1.34%)、芽单胞菌门 Gemmatimonadetes (占 0.54)、髌骨细菌门 Patescibacteria (占 0.32%)、 ϵ -变形菌 Epsilonbacteraeota (占 0.23%) 等 (图 3-A)。取食甘蓝的桃蚜 16S rRNA 基因序列共注释了变形菌门 Proteobacteria (占 80.10%)、蓝细菌门 Cyanobacteria (占 4.91%)、厚壁菌门 Firmicutes (占 3.71%)、酸杆菌门 Acidobacteria (占 3.42%)、放线菌门 Actinobacteria (占 2.07%)、拟杆菌门 Bacteroidetes (占 1.71%)、绿弯菌门 Chloroflexi (占 1.09%)、芽单胞菌门 Gemmatimonadetes (占 0.50%)、髌骨细菌门 Patescibacteria (占 0.43%)、 ϵ -变形菌 Epsilonbacteraeota (占 0.25%) 等 (图 3-A)。取食白菜和甘蓝的桃蚜体内细菌优势门种类相似, 但不同种类样品细菌的优势门相对丰度存在差异。两者的优势菌群为变形菌门 Proteobacteria、厚壁菌门 Firmicutes、拟杆菌门 Bacteroidetes 和蓝细菌门 Cyanobacteria 等。其中取食白菜和甘蓝的桃蚜体内变形菌门 Proteobacteria 含量均最为丰富, 分别占 73.11% 和 80.10%; 其次为厚壁菌门 Firmicutes, 分别占 9.74% 和 3.71%; 拟杆菌门 Bacteroidetes, 分别占 5.98% 和 1.71%。由此分析发现, 取食白

菜的桃蚜中变形菌门 Proteobacteria 含量高于取食甘蓝的桃蚜, 而厚壁菌门 Firmicutes 和拟杆菌门 Bacteroidetes, 前者含量则明显高于后者, 说明二者具明显差异性。

在真菌门级水平上, 取食白菜的桃蚜 ITS 基因序列共注释了子囊菌门 Ascomycota (占 51.91%)、担子菌门 Basidiomycota (占 10.89%)、被孢霉门 Mortierellomycota (占 2.22%)、毛霉菌门 Mucoromycota (占 1.79%)、罗兹菌门 Rozellomycota (占 1.68%)、壶菌门 Chytridiomycota (占 1.60%)、油壶菌门 Olpidiomycota (占 0.33%)、球囊菌门 Glomeromycota (占 0.06%)、捕虫霉门 Zoopagomycota (占 0.05%) 等 (图 3-B)。取食甘蓝的桃蚜 ITS 基因序列共注释了子囊菌门 Ascomycota (占 50.98%)、担子菌门 Basidiomycota (占 11.40%)、被孢霉门 Mortierellomycota (占 2.24%)、毛霉菌门 Mucoromycota (占 1.78%)、罗兹菌门 Rozellomycota (占 1.64%)、壶菌门 Chytridiomycota (占 1.68%)、油壶菌门 Olpidiomycota (占 0.30%)、球囊菌门 Glomeromycota (占 0.07%)、捕虫霉门 Zoopagomycota (占 0.01%) 等 (图 3-B)。取食白菜和甘蓝的桃蚜体内真菌优势门种类相似, 两者的优势菌群均为子囊菌门 Ascomycota, 次优势菌群为担子菌门 Basidiomycota。

在细菌属级水平上, 取食白菜的桃蚜 16S rRNA 基因序列注释到的平均相对丰度前十位的细菌属分别为布赫纳氏菌属 *Buchnera* (占 60.82%)、未培养的叶绿体菌 *Chloroplast* (占 2.84%)、拟杆菌属 *Bacteroides* (占 2.18)、不动杆菌属 *Acinetobacter* (占 1.79%)、乳杆菌属 *Lactobacillus* (占 1.28%)、未培养的毛螺旋菌属 *Lachnospiraceae* (占 1.13%)、未培养细菌 c. 6 亚群 Subgroup_6 (占 0.77%)、立克次氏小体属 *Rickettsiella* (占

0.45%)、鞘氨醇单胞菌属 *Sphingomonas* (占 0.45%) 和泛菌属 *Pantoea* (占 0.43%) (图 4-A)。在属级分类水平上,取食甘蓝的桃蚜 16S rRNA 基因序列注释到的相对丰度前十位的细菌属分别为布赫纳氏菌属 *Buchnera* (占 56.11%)、立克次氏小体属 *Rickettsiella* (占 10.04%)、未培养的毛螺旋菌 *Lachnospiraceae* (占 6.96%)、叶绿体菌 *Chloroplast* (占 4.88%)、泛菌属 *Pantoea* (占 2.51%)、鞘氨醇单胞菌属 *Sphingomonas* (占 1.68%)、未培养细菌 c. 6 亚群 Subgroup_6 (占

1.47%)、不动杆菌属 *Acinetobacter* (占 1.43%)、乳杆菌属 *Lactobacillus* (占 0.42%) 和拟杆菌属 *Bacteroides* (占 0.34%) (图 4A)。取食白菜和甘蓝的桃蚜体内细菌优势属种类相似,但不同种类样品细菌的优势属相对丰度存在一定差异。取食白菜和甘蓝的桃蚜体内的布赫纳氏菌属 *Buchnera* 均最为丰富,分别占 73.11% 和 80.10%; 而取食白菜的桃蚜中立克次氏小体属 *Rickettsiella* 含量比取食甘蓝的桃蚜低 9.59%, 两者具有明显差异性。

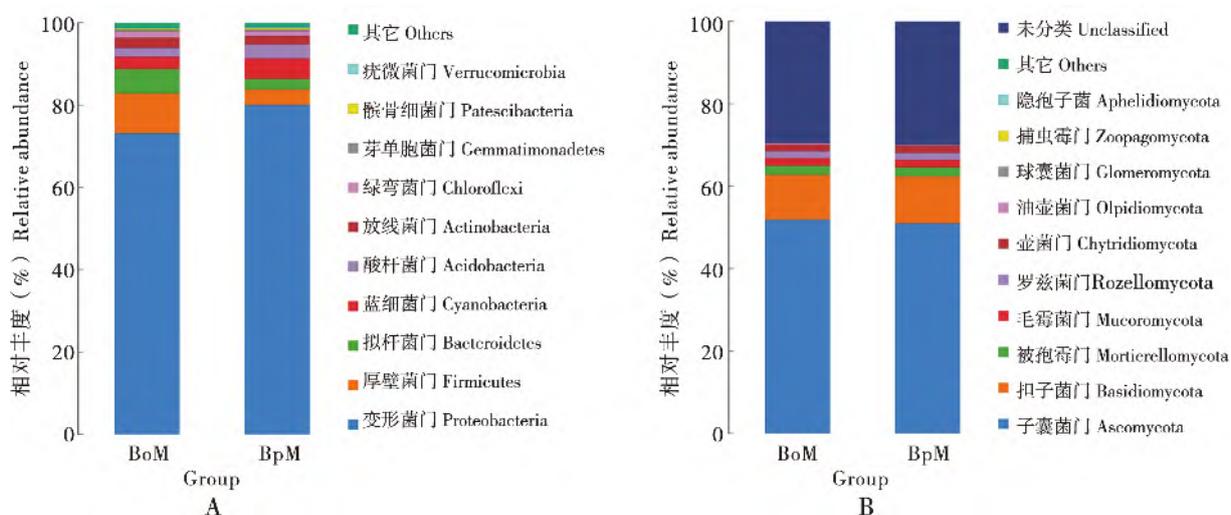


图 3 桃蚜体内细菌 (A) 和真菌 (B) 在门水平的组成

Fig. 3 Proportional composition of bacteria (A) and fungi (B) of *Myzus persicae* at the phylum level

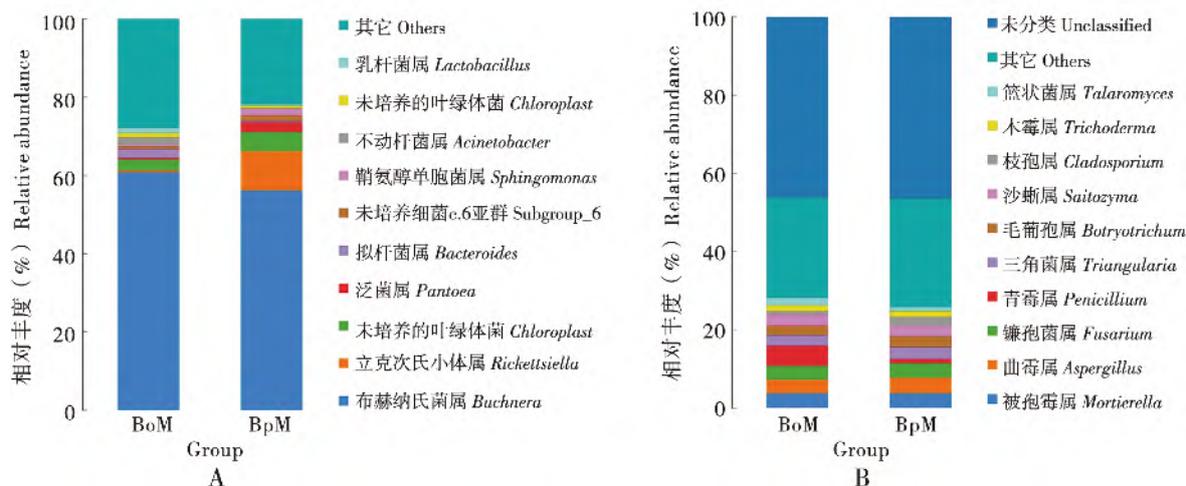


图 4 桃蚜体内细菌 (A) 和真菌 (B) 在属水平的组成

Fig. 4 Proportional composition of bacteria (A) and fungi (B) of *Myzus persicae* at the genus level

在真菌属级水平上,大量真菌属未能确定,优势真菌属不明显。取食白菜的桃蚜 ITS 基因序列注释到的平均相对丰度前十位的真菌属分别为青霉属 *Penicillium* (占 5.15%)、被孢霉属 *Mortierella*

(占 3.83%)、镰孢菌属 *Fusarium* (占 3.51%)、曲霉属 *Aspergillus* (占 3.46%)、三角菌属 *Triangularia* (占 2.69%)、沙蜥属 *Saitozyma* (占 2.68%)、毛葡孢属 *Botryotrichum* (占 2.50%)、

木霉属 *Trichoderma* (占 1.57%)、篮状菌属 *Talaromyces* (占 1.94%) 和枝孢属 *Cladosporium* (占 0.90%) (图 4B)。取食甘蓝的桃蚜 ITS 基因序列注释到的相对丰度前十位的真菌属分别为被孢霉属 *Mortierella* (占 3.86%)、曲霉属 *Aspergillus* (占 3.93%)、镰孢菌属 *Fusarium* (占 3.59%)、三角菌属 *Triangularia* (占 2.96%)、毛葡孢属 *Botryotrichum* (占 2.82%)、沙蜥属 *Saitozyma* (占 2.60%)、枝孢属 *Cladosporium* (占 2.35%)、木霉属 *Trichoderma* (占 1.50%)、青霉属 *Penicillium* (占 1.23%) 和篮状菌属 *Talaromyces* (占 1.04%) (图 4B)。取食白菜的桃蚜体内真菌优势属为青霉属 *Penicillium* (占 5.15%)，次优势菌属为 *Mortierella* (占 3.83%)；取食甘蓝的桃蚜体内真菌优势属为曲霉属 *Aspergillus* (占 3.93%)，次优

势菌属为 *Mortierella* (占 3.86%)；取食白菜的桃蚜中青霉属 *Penicillium* 的丰度比取食甘蓝的桃蚜低 3.92%，两者具有明显差异性。

2.3 桃蚜细菌 Alpha 多样性分析

桃蚜细菌种类具有较高的丰富度和多样性。取食白菜的桃蚜体内细菌 Shannon、Simpson、Chao1 和 Ace 等的指数分别为 3.99、0.61、744 和 731 (表 1)。取食甘蓝的桃蚜体内细菌 Shannon、Simpson、Chao1 和 Ace 等的指数分别为 3.70、0.59、764 和 729 (表 1)。二者对应指数比较发现，桃蚜体内细菌的 Shannon、Simpson、Chao1 和 Ace 等指数虽略有波动，但无显著性差异，说明取食白菜和甘蓝的桃蚜体内细菌多样性和丰富度无显著变化，其体内菌群多样性和丰富度呈现相对稳定的状态。

表 1 桃蚜体内微生物 α 多样性指数

Table 1 Alpha diversity indices of microbia of *Myzus persicae*

样本 Sample	微生物类型 Microbial group	Chao 指数 Chao index	Ace 指数 Ace index	香农指数 Shannon index	辛普森指数 Simpson index
BoM	细菌 Bacteria	744	731	3.99	0.61
	真菌 Fungi	854.04	839.16	7.65	0.98
BpM	细菌 Bacteria	764	729	3.70	0.59
	真菌 Fungi	830.42	803.12	7.66	0.06

桃蚜真菌种类具有较高的丰富度和多样性。取食白菜的桃蚜体内真菌 Shannon、Simpson、Chao1 和 Ace 等的指数分别为 7.65、0.98、854.04 和 839.16 (表 1)。取食甘蓝的桃蚜体内真菌 Shannon、Simpson、Chao1 和 Ace 等的指数分别为 7.66、0.06、830.42 和 803.12 (表 1)。Shannon、Ace 和 Chao1 指数越大，Simpson 指数越小，表明样品中的物种多样性越丰富。因此，取食甘蓝的桃蚜体内真菌物种多样性明显高于取食白菜的桃蚜。

3 结论与讨论

昆虫体内栖息着大量的共生菌，这些共生菌在长期进化过程中与昆虫形成了稳定密切的协作共生关系，对昆虫适应寄主植物过程具有重要作用。共生菌除能合成宿主所需的氨基酸、维生素和和其它营养物质以弥补宿主取食中相关营养缺失的不足，还能对宿主所摄取的植物次生物质进行解毒

作用，提高其对寄主植物的利用能力，甚至扩大寄主植物范围 (刘艳红, 2016)。为探明桃蚜体内微生物与食物之间的关系，本研究采用 Illumina HiSeq 二代测序技术检测桃蚜体内细菌 16S rRNA 基因和真菌 ITS 基因序列的方法，分析了取食白菜和甘蓝的桃蚜体内细菌和真菌的多样性和丰富度。基于 OTUs 注释结果分析，桃蚜体内细菌型微生物注释鉴定获得 26 个门、55 个纲、128 个目、227 个科、419 属、451 种；真菌型微生物注释鉴定获得 10 个门、31 个纲、77 个目、172 个科、343 属、441 种。

对桃蚜体内细菌和真菌组成和丰度进行比较分析发现，在门级水平上，鉴定的 26 个细菌门中，以变形菌门 Proteobacteria (73.11%) 内细菌含量最多。该门内细菌在一些常见昆虫体内也为主要优势菌，如豌豆蚜 *Acyrtosiphon pisum* (Haynes *et al.*, 2003)、美国白蛾 *Hyphantria cunea* (魏丹峰等, 2017)、灰飞虱 *Laodelphax striatellus* (杨晓晴等, 2018) 和褐飞虱 *Nilaparvata lugens*

(王天召等, 2019) 等昆虫。目前, 针对昆虫体内真菌多样性的研究相对滞后 (蔡决莲等, 2020)。本研究鉴定的桃蚜体内 10 个真菌门中, 以子囊菌门 Ascomycota 为主, 其次为担子菌门 Basidiomycota, 此结果与光肩星天牛 *Anoplophora glabripennis* (Mason *et al.*, 2019)、褐飞虱 (王天召等, 2019)、克里角梢小蠹 *Trypophloeus klimeschi* (高冠群, 2018)、黄翅大白蚁 *Macrotermes barneyi* (孙新新, 2017)、竹虫 *Omphisa fuscidentalis* (刘松, 2017)、桑天牛 *Apriona germari* 和锈色粒肩天牛 *Apriona swainsoni* (蔡决莲等, 2020) 等昆虫肠道真菌优势菌群相同。

在属级水平上, 鉴定的桃蚜体内 419 个细菌属中, 以布赫纳氏菌属 *Buchnera* 最为丰富, 在取食白菜和甘蓝的桃蚜体内分别占 73.11% 和 80.10%。此属为蚜虫的主要初生共生菌, 存在于蚜虫类腹部血腔的特化含菌胞内 (Douglas, 1998)。布赫纳氏菌属 *Buchnera* 对蚜虫而言是必需的, 能够为宿主蚜虫提供所缺少的多种必需营养物质, 对于维持蚜虫营养代谢和正常发育重要的作用 (刘琳等, 2013)。立克次氏小体属 *Rickettsiella* 为取食甘蓝的桃蚜体内次优势属 (10.04%), 而取食白菜的桃蚜中立克次氏小体属 *Rickettsiella* 的含量较低, 仅占 0.45%。立克次氏小体属 *Rickettsiella* 是蚜虫的次共生菌, 能改变蚜虫体色, 提高蚜虫对寄生蜂的敏感性及对瓢虫和病原性真菌的抗性 (Tsuchida *et al.*, 2010; Łukasik *et al.*, 2013), 但目前对该属细菌是否参与桃蚜的营养代谢等方面还需进一步研究。本研究发现桃蚜体内大量真菌未能注释鉴定到属, 已鉴定的 343 个真菌属中, 优势属不明显, 且有的属在取食不同食物的桃蚜体内含量存在差异, 如取食白菜的桃蚜中青霉属 *Penicillium* 的丰度比取食甘蓝的桃蚜低 3.92%, 可能与青霉属 *Penicillium* 具有产生抑菌活性物质的能力有关 (王天召, 2019)。

此外, 对桃蚜体内细菌和真菌的多样性和丰富度比较显示, 取食白菜的桃蚜中细菌 OTU 数量与取食甘蓝的桃蚜基本相等 (分别为 898 个和 890 个), 这些 OTU 中有 829 个是相同的。将这些 OTUs 均一化处理后进行 Alpha 多样性分析发现, 取食白菜和甘蓝的桃蚜体内细菌 Shannon、Simpson、Chao1 和 Ace 等对应指数虽略有波动, 但无显著性差异, 说明二者桃蚜体内细菌多样性和丰富度无显著变化, 桃蚜体内的菌群多样性和

丰富度呈现相对稳定的状态。取食白菜的桃蚜体内真菌 Simpson 指数高于取食甘蓝的桃蚜, 说明取食甘蓝的桃蚜体内真菌物种多样性明显高于取食白菜的桃蚜, 可能是因为食物的营养成分不同所致。

研究发现昆虫体内微生物多样性与食物、性别、品种及环境因素有关 (Su *et al.*, 2016)。不同寄主植物会引起昆虫肠道微环境的变化 (Lee *et al.*, 2017), 进而导致肠道微生物多样性的差异。本研究发现取食白菜和甘蓝的桃蚜体内微生物菌群存在差异, 但差异不显著。桃蚜营转寄生生活, 存在冬寄主 (桃、梨 *Pyrus* spp.、李等) 和夏寄主 (甘蓝、白菜、萝卜 *Raphanus sativus* L.、油菜 *Brassica chinensis* L.、茄子 *Solanum melongena* L.、烟草、菠菜 *Spinacia oleracea* L. 等)。研究选用的白菜和甘蓝均属于夏寄主, 桃蚜可能在夏寄主间迁飞, 进行稳定的孤雌生殖, 使种群趋于一致, 导致桃蚜体内微生物差异不显著。此结果与刘艳红等 (2018) 对桃蚜共生菌研究结果一致, 其研究发现冬寄主和夏寄主上孤雌桃蚜体内共生菌差异较大, 但不同夏寄主间桃蚜体内次生共生菌相似。本研究初步分析了两种十字花科蔬菜对桃蚜体内微生物群落结构的影响, 为进一步探明桃蚜体内微生物的功能及其与寄主植物的关系, 后续研究将增加寄主植物种类并借助宏基因组技术, 探究肠道微生物在桃蚜消化吸收中的功能和作用, 以期为深入研究桃蚜食性及其对不同寄主植物的适应性提供有力依据。

参考文献 (References)

- Adams AS, Aylward FO, Adams SM, *et al.* Mountain pine beetles colonizing historical and naive host trees are associated with a bacterial community highly enriched in genes contributing to terpene metabolism [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2013, 79 (11): 3468–3475.
- Cai YL, Qiu F, Huang KG, *et al.* Microbiological safety evaluation of edible bucket worms [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2020, 28 (9): 1675–1687. [蔡决莲, 邱凡, 黄宽官, 等. 食用昆虫斗米虫的微生物安全性评价 [J]. *农业生物技术学报*, 2020, 28 (9): 1675–1687]
- Dillon RJ, Vennard CT, Charnley AK. Pheromones – exploitation of gut bacteria in the locust [J]. *Nature*, 2000, 403 (6772): 851.
- Douglas AE. Nutritional interactions in insect – microbial symbioses: Aphids and their symbiotic bacteria *Buchnera* [J]. *Annual Review of Entomology*, 1998, 43 (1): 17–37.
- Frago E, Dicke M, Godfray H. Insect symbionts as hidden players in

- insect – plant interactions [J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2012, 27 (12): 705 – 711.
- Gaio Ade O, Gusmão DS, Santos AV, et al. Contribution of midgut bacteria to blood digestion and egg production in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) (L) [J]. *Parasites & Vectors*, 2011, 4 (1): 105.
- Gao GQ. Occurrence and Host Selection Mechanism of *Trypophloeus klimeschi* Eggers [D]. Xi'an: Northwest A & F University Doctoral Dissertation, 2018. [高冠群. 克里角梢小蠹发生规律与寄主选择机制的研究 [D]. 西安: 西北农林科技大学博士论文, 2018]
- Haynes S, Darby AC, Daniell TJ, et al. Diversity of bacteria associated with natural aphid populations [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69 (12): 7216 – 7223.
- Lee JH, Lee KA, Lee WJ. Microbiota, gut physiology, and insect immunity [J]. *Advances in Insect Physiology*, 2017, 52: 111 – 138.
- Liu L, Huang XL, Qiao GX. Trends in research on the primary endosymbiont of aphids, *Buchnera aphidicola* [J]. *Chinese Bulletin of Entomology*, 2013, 50 (5): 1419 – 1427. [刘琳, 黄晓磊, 乔格侠. 蚜虫初级内共生菌 *Buchnera aphidicola* 研究进展 [J]. 应用昆虫学报, 2013, 50 (5): 1419 – 1427]
- Liu S. Study on the Microbial Diversity and Enzymatic Activity of *Omphisa fuscidentalis* Hampson [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences Master Thesis, 2017. [刘松. 竹虫 *Omphisa fuscidentalis* 肠道微生物多样性及纤维素酶学特性研究 [D]. 北京: 中国农业科学院硕士论文, 2017]
- Liu YH, Ma RY, Liu TX. Diversity of endosymbionts in viviparous females of *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) collected on different host plants from distinct regions in China and in different morphs collected on peach trees [J]. *Acta Phytophylacica Sinica*, 2018, 45 (4): 679 – 688. [刘艳红, 马瑞燕, 刘同先. 不同地区不同寄主植物上孤雌桃蚜及不同蚜型桃蚜共生菌的多样性 [J]. 植物保护学报, 2018, 45 (4): 679 – 688]
- Liu YH. Role of Symbionts in Using Nitrogen Nutrition of Host Plants and Defensing Against Stresses: A Case Study for *Myzus persicae* [D]. Xi'an: Northwest A & F University Doctoral Dissertation, 2016. [刘艳红. 共生菌在提高桃蚜利用寄主植物氮营养及防御能力中的作用 [D]. 西安: 西北农林科技大学博士论文, 2016]
- Łukasik P, van Asch M, Guo H, et al. Unrelated facultative endosymbionts protect aphids against a fungal pathogen [J]. *Ecology Letters*, 2013, 16 (2): 214 – 218.
- Mason CJ, Campbell AM, Scully ED, et al. Bacterial and fungal midgut community dynamics and transfer between mother and brood in the asian longhorned beetle (*Anoplophora glabripennis*), an invasive xylophage [J]. *Microbial Ecology*, 2019, 77 (1): 230 – 242.
- Mason CJ, Couture JJ, Raffa KF. Plant – associated bacteria degrade defense chemicals and reduce their adverse effects on an insect defoliator [J]. *Oecologia*, 175 (3): 901 – 910.
- Mitraka E, Stathopoulos S, Siden – Kiamos I, et al. Asia accelerates larval development of *Anopheles gambiae* [J]. *Pathogens and Global Health*, 2013, 107 (6): 305 – 311.
- Strano CP, Malacrino A, Campolo O, et al. Influence of host plant on *Thaumetopoea pityocampa* gut bacterial community [J]. *Microbial Ecology*, 2018, 75 (2): 487 – 494.
- Su MM, Guo L, Tao YL, et al. Effects of host plant factors on the bacterial communities associated with two whitefly sibling species [J]. *PLoS ONE*, 2016, 11 (3): e0152183.
- Sun XX. Studies on the Gut Microbial Diversity and Isolation, Identification of Chitin – degrading Bacteria from the Hindgut of *Macrotermes barneyi* [D]. Ji'nan: Shandong University Master Thesis, 2017. [孙新新. 黄翅大白蚁肠道微生物多样性及几丁质降解微生物的分离与鉴定 [D]. 济南: 山东大学硕士论文, 2017]
- Tsuchida T, Koga R, Horikawa M, et al. Symbiotic bacterium modifies aphid body color [J]. *Science*, 2010, 330 (6007): 1102 – 1104.
- Wang TZ, Wang ZL, Zhu HF, et al. 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. [王天召, 王正亮, 朱杭锋, 等. 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]
- Wei DF, Wang XJ, Yang J, et al. Analysis of the diversity and difference of intestinal bacteria in larvae *Hyphantria cunea* Drury (Lepidoptera: Arctiidae) on different diets [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2017, 39 (3): 515 – 524. [魏丹峰, 王秀吉, 杨锦, 等. 取食不同食料的美国白蛾幼虫肠道细菌多样性及差异性研究 [J]. 环境昆虫学报, 2017, 39 (3): 515 – 524]
- Wei G, Bai L, Qu S, et al. Insect microbiome and their potential application in the insect pest and vector-borne disease control [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2018, 58 (6): 1090 – 1102. [魏舸, 白亮, 曲爽, 等. 昆虫共生微生物在病虫害和疾病控制上的应用前景 [J]. 微生物学报, 2018, 58 (6): 1090 – 1102]
- Wei XY, Guo CL, Chu D. Research progress on the factors influencing microbiota diversity in insect [J]. *Journal of Biosafety*, 2019, 28 (3): 170 – 176. [魏晓莹, 郭晨亮, 褚栋. 昆虫体内微生物多样性的影响因素研究进展 [J]. 生物安全学报, 2019, 28 (3): 170 – 176]
- Wu XL, Xia XF, Chen JH, et al. Effects of different diets on the diversity of larval gut bacteria of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2019, 62 (10): 1172 – 1185. [吴晓露, 夏晓峰, 陈俊晖, 等. 取食不同食物对小菜蛾幼虫肠道细菌多样性的影响 [J]. 昆虫学报, 2019, 62 (10): 1172 – 1185]
- Yang XQ, Wang ZL, Wang TZ, et al. Analysis of the bacterial community structure and diversity in the small brown planthopper, *Laodelphax striatellus* (Hemiptera: Delphacidae) by 16S rRNA high-throughput sequencing [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2018, 61 (2): 200 – 208. [杨晓晴, 王正亮, 王天召, 等. 基于 16S rRNA 高通量测序的灰飞虱体内细菌群落结构及多样性分析 [J]. 昆虫学报, 2018, 61 (2): 200 – 208]