植物保护学报 Journal of Plant Protection，2024，51(1)：69-77 DOI：10.13802/j.cnki.zwbhxb.2024.2023056

内共生菌*Buchnera*协助蚜虫抑制寄主植物的防御反应

卢盈希 杨青兰 康涵韦 冯婧婧 宁干喜 王永模*

（华中农业大学植物科学技术学院，武汉 430070）

摘要：为明确蚜虫内共生细菌*Buchnera*能否协助蚜虫抑制植物的防御反应，采用混合抗生素除去瓜蚜*Aphis gossypii*体内的*Buchnera*，采用刺吸电位技术和生命表方法比较除菌瓜蚜和正常瓜蚜在黄瓜上的适合度，并测定被除菌瓜蚜和正常瓜蚜预侵染黄瓜叶片中H_2O_2、茉莉酸和水杨酸的含量变化以及抗蚜特性变化。结果表明，除菌瓜蚜体重较正常瓜蚜极显著下降了71.15%，净增殖率极显著下降了95.60%，但寿命延长了2.34倍；刺吸电位图谱显示除菌瓜蚜几乎不产生代表唾液分泌的E1波和韧皮部被动吸食的E2波。在黄瓜叶片中，除菌瓜蚜比正常瓜蚜能激发产生更高水平的H_2O_2；在为期14 d的侵染中，除菌瓜蚜侵染诱发总茉莉酸含量持续升高、总水杨酸含量持续下降，而正常瓜蚜侵染诱发总茉莉酸含量先升高后降低、总水杨酸含量先降低后升高。在被除菌瓜蚜预侵染黄瓜上，瓜蚜进入稳定取食的时间显著滞后于正常瓜蚜预侵染处理，且前3 d的产蚜量显著低于正常瓜蚜预侵染处理。表明*Buchnera*除了可为蚜虫提供必需的营养外，还有调控和抑制寄主植物防御反应的功能。

关键词：瓜蚜；*Buchnera*；黄瓜；防御反应；茉莉酸；水杨酸；适合度

Aphid endosymbiont *Buchnera* assists the aphid in inhibiting plant defenses

Lu Yingxi Yang Qinglan Kang Hanwei Feng Jingjing Ning Ganxi Wang Yongmo*

（College of Plant Science & Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, Hubei Province, China）

Abstract: To investigate whether the aphid endosymbiont *Buchnera* assists aphids in inhibiting plant defenses, a mixture of antibiotics was used to remove *Buchnera* of cucurbit-specialized biotype of *Aphis gossypii*, assessed the fitness of antibiotic-treated aphids on cucumbers, as well as the defensive substances and susceptibility of cucumbers infested by these antibiotic-treated aphids. The results revealed a 71.15% decrease in body weight and a 95.60% decrease in fecundity in the antibiotic-treated aphids compared to normal aphids, but their lifespan increased by 2.34 folds. The electrical penetration graph showed that the antibiotic-treated aphids produced nearly no E1 and E2 waveforms, reflecting phloem salivation and phloem sap ingestion, respectively. Furthermore, the antibiotic-treated aphids stimulated higher levels of H_2O_2 compared to untreated aphids. Over a 14-d infestation, the antibiotic-treated aphids exhibited a continuous increase in total jasmonic acid and a continuous decrease in total salicylic acid, while untreated aphids showed an initial rise in total jasmonic acid followed by a decrease and an initial decrease in total salicylic acid followed by an increase. The duration from contacting to stable feeding significantly prolonged, and fecundity in the first three days significantly decreased for aphids on cucumbers that were previously infested by antibiotic-treated aphids. These results indicate that, in addition to providing necessary nutrients for aphids, *Buchnera* also play a role in assisting aphids in suppressing host plant defenses.

Key words: *Aphis gossypii*; *Buchnera*; cucumber; defense response; jasmonic acid; salicylic acid; fitness

---

基金项目：湖北省重点研发计划（2022BBA0063）

* 通信作者（Author for correspondence），E-mail：ymwang@mail.hzau.edu.cn

收稿日期：2023-07-06

蚜虫是一类以吸食植物韧皮部汁液为生的昆虫。目前已经鉴定的蚜虫有4 400余种，其中约有250种对农林业造成严重危害（Blackman & Eastop，2000）。蚜虫体内包含初级共生菌和次级共生菌，初级共生菌为*Buchnera aphidicola*，存在于绝大多数蚜虫种类中（Baumann，2005），*Buchnera*寄居在蚜虫腹部特化的含菌细胞中，其生物量占蚜虫总体重的10%左右（Douglas，1998）；次级共生菌有*Serratic symbiotica*、*Hamiltonella defensa*和*Regiella insecticola*等，具有抵御寄生蜂、增加耐热能力和改变蚜虫体色等功能（刘艳红等，2019；朱玉溪等，2022）。*Buchnera*可通过亲代垂直传递给后代，蚜虫与*Buchnera*在长期的协同进化过程中形成了稳定的共生关系（Hansen & Moran，2011），*Buchnera*为蚜虫合成韧皮部汁液中缺乏的营养物质，如一些氨基酸和维生素等，蚜虫为*Buchnera*提供生存场所和基本碳源（李迁等，2016）。近年来，昆虫学家发现*Buchnera*基因组大大缩小，仅保留了一些合成必需氨基酸的基因（Chong et al.，2019）。而且*Buchnera*在蚜虫-植物互作中可能扮演着重要角色（李迁等，2016），*Buchnera*来源的蛋白可以随蚜虫唾液分泌进入植物组织内，植物的免疫系统会识别这类蛋白，从而诱发植物的免疫反应来抵御蚜虫取食（Chaudhary et al.，2014）。因此，*Buchnera*除了为蚜虫提供必需的营养外，可能还有其他功能未被发现。

瓜蚜*Aphis gossypii*是黄瓜和甜瓜等瓜类作物上的重要害虫，在热带、亚热带和温带均有分布，尤其在我国北方春秋两季的瓜类作物上发生严重（徐丹丹等，2018；张妍等，2021）。瓜蚜大量吸食瓜类作物的韧皮部汁液，使叶片蜷曲变形，植株畸形、矮化，同时它还能传播多种病毒病害，造成更严重的间接损失（毛晓红等，2018）。瓜蚜与棉蚜是同一个生物学种下的不同寄主专化型，即葫芦科型和锦葵科型，前者为害葫芦科植物，而后者为害锦葵科植物（刘向东等，2004；Ali et al.，2021），除此之外还存在其他寄主专化型，综合起来该蚜虫可为害数百种农业和园艺作物（Blackman & Eastop，2000），被列为世界十大害虫之一（Willis，2017）。

为明确*Buchnera*是否能协助瓜蚜抑制黄瓜的防御反应，本研究用混合抗生素除去瓜蚜体内的*Buchnera*，观察除菌瓜蚜的体长、体重、生长繁殖和取食行为变化，对比经除菌瓜蚜和正常瓜蚜侵染后黄瓜叶片中H_2O_2以及3种形式的茉莉酸和2种形式的水杨酸的含量变化，由此来反映*Buchnera*能否引起寄主植物防御物质的变化，并对比被除菌瓜蚜和正常瓜蚜预侵染的黄瓜对瓜蚜的抗性，确认*Buchnera*是否具有激发或抑制寄主植物防御的功能，以期为瓜蚜的寄主专化机制和防治技术研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

供试虫源和植物：瓜蚜于2015年采自河北省保定市的黄瓜大棚，带回室内用黄瓜苗保种饲养，形成稳定的克隆品系，为避免过渡拥挤产生有翅蚜和小型个体，每2个星期更换一次寄主植物，取成蚜供试。蚜虫培养室温度为（22±2）℃、光周期为16 L∶8 D。测序检测表明该瓜蚜品系的初级共生菌*Buchnera*占内生细菌总量的95%以上，不含蚜虫中常感染的*S. symbiotica*、*H. defensa*和*R. insecticola*等次级共生菌（Guo et al.，2022）。供试黄瓜品种为春喜集团福禧012，由武汉市农业科学院蔬菜研究所提供，用市售营养土在边长10 cm的方形营养钵中培养至3叶期供试，培养室温度为（25±2）℃、光周期为16 L∶8 D。

试剂：利福平、盐酸土霉素、硫酸新霉素和强力霉素，上海麦克林生化科技股份有限公司；H_2O_2含量检测试剂盒，北京索莱宝科技有限公司；导电银胶和金丝，荷兰Wageningen大学；MiniBEST通用型DNA提取试剂盒、SYBR® Premix Ex *Taq*™ II定量PCR试剂盒，宝生物工程（大连）有限公司；其余试剂均为国产分析纯。

仪器：8通道刺吸电位仪，荷兰Wageningen大学；CFX96荧光定量PCR仪，美国Bio-Rad公司；DYCP-31E水平核酸电泳仪，北京六一仪器厂；OLB-V1000G分光光度计，济南欧莱博科学仪器；HP300GS-LED型智能人工气候箱，武汉瑞华仪器设备有限责任公司，SMZ745T体视显微镜，日本尼康公司；AB Sciex QTRAP 6500超高效液相色谱和串联质谱平台，美国SCIEX公司。

1.2 方法

1.2.1 瓜蚜的除菌处理及*Buchnera*丰度检测

首先配制混合抗生素溶液，分别称取利福平、盐酸土霉素、硫酸新霉素和强力霉素各50 mg溶于蒸馏水中，充分搅拌后定量至总体积为1 L，4 ℃保存备用。取3叶期的健康黄瓜苗，用喷壶将混合抗生素溶液均匀喷洒在第2片真叶表面，直至正反两面全部覆盖液膜，待液膜晾干后剪下叶片，叶柄用无菌水湿润的脱脂棉包裹，将叶片放置在装有30 mL 2%琼脂的直径15 cm培养皿中，叶脉面朝上。每个皿

中接10头成蚜，24 h后去掉成蚜，留下初生若蚜，6 d后作为除菌瓜蚜用于试验。

用体重和体长反映除菌后蚜虫形态特征的变化。取10头6日龄除菌瓜蚜在天平上称量体重，计算平均单头体重，共测6组；同时测量6日龄除菌瓜蚜的体长（触角基部至尾片基部），共测6头；以6日龄正常瓜蚜成蚜作为对照。取6日龄除菌瓜蚜和正常瓜蚜成蚜各30头，参照Guo et al.（2022）方法用MiniBEST通用型DNA提取试剂盒提取总DNA，经定量检测和稀释后获得浓度相等的模板DNA。为评估除菌效果，以蚜虫*EF1-α*作为内参基因对*Buchnera*的16S rRNA基因进行qPCR检测，以16S rRNA基因的相对拷贝量表征*Buchnera*含量。16S rRNA基因和*EF1-α*基因扩增引物序列参考Tsuchida et al.（2010）设计，并委托生工生物工程（上海）股份有限公司合成。利用SYBR® Premix Ex *Taq*™ II定量PCR试剂盒参照说明书进行qPCR扩增，25 μL反应体系：2×SYBR Premix Ex *Taq* 12.5 μL、DNA模板2 μL、上下游引物各1 μL、ddH_2O 8.5 μL。反应程序：95 ℃预变性3 min；95 ℃变性30 s，55 ℃复性30 s，72 ℃延伸30 s，进行34个循环；72 ℃再延伸10 min。根据C_t值计算16S rRNA基因的相对表达量，评估*Buchnera*的丰度。每个处理9个生物学重复。

1.2.2　除菌瓜蚜的刺吸行为监测

利用刺吸电位记录仪（van Helden & Tjallingii，1993）监测除菌瓜蚜和正常瓜蚜在黄瓜植株上的刺吸行为，获得刺吸电位图谱（electrical penetration graph，EPG）。首先用银胶将直径18 μm的金丝粘在6日龄除菌瓜蚜成蚜的前胸背板上，之后将植物端电极插入盆栽3叶期健康黄瓜幼苗的土壤中，昆虫端电极插入相应的接口，并将蚜虫放置在黄瓜植株的第2片真叶上，确保蚜虫能自由活动和取食。为避免外界电磁波的干扰，整个试验在金属屏蔽罩内进行。监测时间为10 h，以正常瓜蚜成蚜作为对照，每组处理重复数15次。使用Stylet+a软件对瓜蚜的刺吸波形进行标记和分析，共统计np波（无刺探行为）、C波（细胞外刺探）、pd波（细胞内刺探）、G波（木质部吸食水分）、E1波（韧皮部分泌唾液）和E2波（韧皮部取食）6种波形和12种EPG参数。

1.2.3　除菌瓜蚜适合度的测定

采用生命表方法（Ali et al.，2021）测定除菌瓜蚜在健康黄瓜上的适合度，以正常瓜蚜成蚜为对照。将新鲜黄瓜叶片放入含2%琼脂的直径为15 cm的培养皿中，叶柄用吸满去离子水的脱脂棉包裹。每个培养皿中接入5头成蚜，24 h后除去成蚜，每片叶子上留10头若蚜，培养皿用0.154 mm孔径的透光网袋包好，放入温度（20±2）℃、光周期16 L∶8 D的人工气候箱内培养。每日观察记录蚜虫的存活情况，进入繁殖期后在体式显微镜下测量蚜虫的体长和体宽，之后每日计数每头蚜虫的产蚜数量，计数后除掉新生若蚜，直到起始蚜虫全部死亡为止，记录蚜虫寿命并绘制存活曲线。每个处理4个培养皿，共40头蚜虫。基于观测数据，采用Twosex-MSChart软件（Chi，2017）计算生命表各项参数，包括平均世代周期T、净增殖率R_0、内禀增长率r_m和周限增长率λ。

1.2.4　除菌瓜蚜引起的黄瓜防御反应检测

活性氧、茉莉酸和水杨酸是生物或非生物胁迫下植物产生的重要信号物质，以多种形式或多种衍生物存在于植物体内，在植物抵御病虫害侵袭中起到重要作用（刘晓丽和刘永根，2018）。为评估*Buchnera*对黄瓜防御反应的影响，对除菌瓜蚜与正常瓜蚜侵染不同时间的黄瓜叶片中活性氧、3种形式的茉莉酸（茉莉酸、茉莉酸异亮氨酸和二氢茉莉酸）和2种形式的水杨酸（水杨酸和糖基水杨酸）的含量进行测定，以未接种接蚜虫的健康黄瓜叶片为对照。将6日龄正常瓜蚜和除菌瓜蚜成蚜分别接到3叶期黄瓜苗的第2片真叶上，并用0.154 mm孔径的透光网袋包住叶片以防止蚜虫逃逸，在分别侵染2、7和14 d后剪下叶片，去掉瓜蚜后进行防御物质的检测。除菌瓜蚜几乎不繁殖，为保证2个处理之间的蚜虫数量大致一致，侵染2、7和14 d的除菌瓜蚜处理中每片叶子分别接20、50和100头成蚜，正常瓜蚜处理中每片叶子接10头成蚜。

H_2O_2是活性氧的一种，用H_2O_2含量来反映活性氧水平，利用H_2O_2含量检测试剂盒进行测定，每个处理在每个时间点设8次生物学重复。3种形式的茉莉酸和2种形式的水杨酸含量测定委托武汉迈特维尔生物科技有限公司采用超高效液相色谱和串联质谱平台完成；液相色谱和质谱条件参考Hu et al.（2023）；基于Metware数据库对质谱数据进行定性分析，根据样品峰面积与内标峰面积的比值计算样品中各激素的含量；每个处理每个时间点设3次生物学重复。

1.2.5　瓜蚜在除菌瓜蚜预侵染黄瓜上的适应性表现测定

将6日龄除菌瓜蚜和正常瓜蚜成蚜（对照）分别接到3叶期黄瓜苗的第2片真叶上，并用0.154 mm孔径的透光网袋包住叶片以防止蚜虫逃逸。除菌瓜蚜每片叶接150头，正常瓜蚜每片叶接3头。侵染

14 d后剪下叶片，用自制微型水枪清除叶片上的蚜虫，在体视显微镜下反复检查后获得无虫的预侵染叶片。在预侵染叶片上接健康的6日龄瓜蚜成蚜，参照1.2.2和1.2.3方法进行刺吸行为监测和适合度测定。

1.3 数据分析

除菌瓜蚜与正常瓜蚜之间的*Buchnera*相对丰度、个体大小以及被除菌瓜蚜与正常瓜蚜侵染不同时间黄瓜叶片中H_2O_2、不同形式的茉莉酸和水杨酸的含量均采用独立样本*t*测验法进行差异显著性检验。采用Mann-Whitney *U*检验法对除菌瓜蚜和正常瓜蚜的EPG参数进行差异显著性检验；应用Mantel-cox检验法对除菌瓜蚜和正常瓜蚜的存活曲线进行差异显著性检验；利用Bootstrap法进行生命表参数的差异显著性检验。所有数据的统计分析均采用SPSS 19.0软件完成。

2 结果与分析

2.1 瓜蚜除菌后的形态、刺吸行为和适合度

2.1.1 混合抗性素的除菌效果及除菌瓜蚜的形态变化

将正常瓜蚜*Buchnera*的相对丰度设为1.00，使用混合抗生素处理的瓜蚜的*Buchnera*相对丰度为0.30，除菌后*Buchnera*的丰度极显著下降（$P<0.001$；图1-A）。6日龄正常瓜蚜形态光亮饱满，呈墨绿色，相同日龄的除菌瓜蚜体型较小，体表覆盖白色蜡粉（图1-B）。相对于正常瓜蚜，除菌瓜蚜体重极显著下降了71.15%（$P<0.001$；图1-C），体长也极显著下降了58.45%（$P<0.001$；图1-D），表明混合抗生素去除*Buchnera*效果很好，除菌瓜蚜发育成小型个体。

2.1.2 除菌瓜蚜的刺吸行为变化

在健康黄瓜上，相对于正常瓜蚜，除菌瓜蚜的np波总时长显著延长（$P<0.001$），C波总次数显著增多（$P=0.002$），C波总时长显著延长（$P=0.012$）；除菌瓜蚜的pd波总时长显著延长（$P=0.032$）；E1和E2波是蚜虫韧皮部取食的关键波形，除菌瓜蚜首次出现E1和E2波的时间分别为208.69 min和432.57 min，显著滞后于正常瓜蚜首次出现E1和E2波的时间140.06 min和231.49 min（E1波，$P=0.005$；E2波，$P=0.012$）；除菌瓜蚜和正常瓜蚜E1波总时长分别为1.81 min和40.46 min，两者之间差异极显著（$P<0.001$），除菌瓜蚜和正常瓜蚜E2波总时长分别为0.18 min和185.14 min，两者之间差异也极显著（$P<0.001$）；G波表示木质部吸食水分的波形，除菌瓜蚜相对于正常瓜蚜首次出现G波的时间无显著差异（$P=0.381$），但G波总时长显著降低（$P=0.041$）（表1），表明除菌瓜蚜要么处于刺探过程要么处于无刺探行为状态，很少处于稳定取食的状态，除菌瓜蚜几乎没有E2波，表示其未从寄主中获得营养物质，而出现了一定时长的G波，表示其从寄主中获得了水分和无机盐。

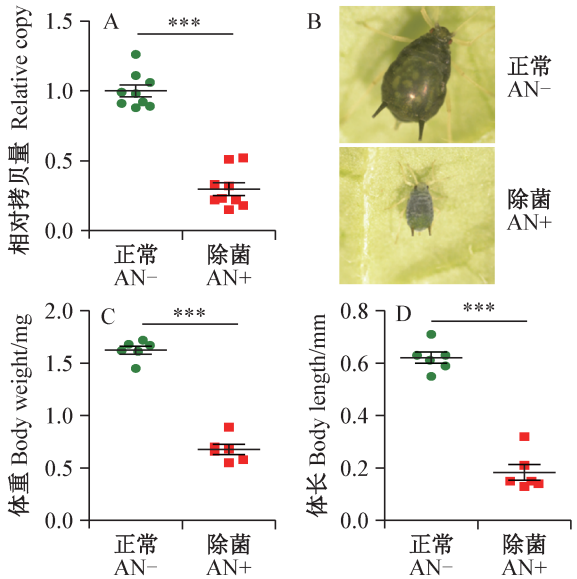


图1 除菌瓜蚜和正常瓜蚜的*Buchnera*含量（A）及体形特征（B~D）

Fig. 1 *Buchnera* quantification (A) and aphid morphology (B–D) of antibiotic-treated (AN+) and untreated (AN−) cucurbit-specialized biotype of *Aphis gossypii*

图中数据为平均数±标准误。***表示除菌瓜蚜和正常瓜蚜之间经独立样本*t*测验法检验差异极显著（$P<0.001$）。Data are mean±SE. *** indicates significant difference between antibiotic-treated and untreated cucurbit-specialized biotypes of *Aphis gossypii* by independent sample *t* test ($P<0.001$).

2.1.3 除菌瓜蚜的适合度变化

在健康黄瓜上，除菌瓜蚜和正常瓜蚜之间的存活曲线存在极显著差异（$P<0.001$；图2），中位寿命分别为16.01 d和53.50 d，除菌后瓜蚜寿命延长了2.34倍；除菌瓜蚜平均世代周期为19.25 d，极显著长于正常瓜蚜的平均世代周期9.68 d（$P<0.001$）；相对于正常瓜蚜，除菌瓜蚜的净增殖率、内禀增长率和周限增长率均极显著下降（$P<0.001$），下降幅度分别为95.60%、93.02%和98.72%（表2）。

2.2 黄瓜对正常瓜蚜和除菌瓜蚜侵染的防御响应

被正常瓜蚜侵染的黄瓜叶片中H_2O_2含量在第2天升高，至第7天又下降，之后略有上升；第2天和第7天时被除菌瓜蚜侵染的叶片中H_2O_2含量显著高于被正常瓜蚜侵染叶片（$P<0.05$）（图3-A），说明黄

瓜对除菌瓜蚜和正常瓜蚜的H_2O_2响应趋势存在明显差异。

表1 除菌瓜蚜和正常瓜蚜在健康黄瓜及预侵染黄瓜上的刺吸行为参数

Table 1 Piercing and sucking activities of antibiotic-treated (AN+) and untreated (AN−) cucurbit-specialized biotypes of *Aphis gossypii* on healthy and pre-infested cucumbers

EPG参数 EPG parameter	在健康黄瓜上 On healthy cucumber		在预侵染黄瓜上 On pre-infested cucumber by aphids	
	正常瓜蚜AN−	除菌瓜蚜AN+	正常瓜蚜AN−	除菌瓜蚜AN+
np波总次数Times of np	17.33±3.25 a	14.27±3.07 a	22.73±4.61 a	20.11±2.41 a
np波总时长Duration of np/min	41.99±14.30 b	136.38±41.69 a	50.31±17.64 a	42.11±2.79 a
C波总次数Times of C	156.73±13.14 b	363.27±26.47 a	234.78±3.34 a	251.77±5.61 a
C波总时长Duration of C/min	322.73±35.52 b	506.88±25.80 a	277.36±28.83 a	249.43±11.16 a
pd波总次数Times of pd	279.8±19.33 a	230.73±13.27 a	318.60±34.37 a	294.79±21.69 a
pd波总时长Duration of pd/min	31.30±8.23 b	61.70±5.83 a	24.22±0.74 a	31.98±3.17 a
首次E1波时间Time to first E1/min	140.06±32.03 b	208.69±25.61 a	150.77±11.90 b	269.23±16.18 a
E1波总时长Duration of E1/min	40.46±6.45 a	1.81±0.01 b	48.64±12.76 a	30.43±2.06 b
首次E2波时间Time to first E2/min	231.49±26.61 b	432.57±33.21 a	186.57±24.79 b	337.99±19.56 a
E2波总时长Duration of E2/min	185.14±60.59 a	0.18±0.11 b	189.47±26.51 a	194.18±12.33 a
首次G波时间Time to first G/min	60.34±14.20 a	72.96±34.24 a	80.67±0.55 a	93.66±5.99 a
G波总时长Duration of G/min	81.02±25.58 a	35.32±13.56 b	64.74±7.26 a	37.37±4.35 b

表中数据为平均数±标准误。同行不同字母表示除菌瓜蚜和正常瓜蚜之间经Mann-Whitney *U*检验法检验差异显著（$P<0.05$）。Data in the table are mean±SE. Different letters in the same row indicate significant difference between antibiotic-treated and untreated cucurbit-specialized biotypes of *Aphis gossypii* by Mann-Whitney *U* test ($P<0.05$).

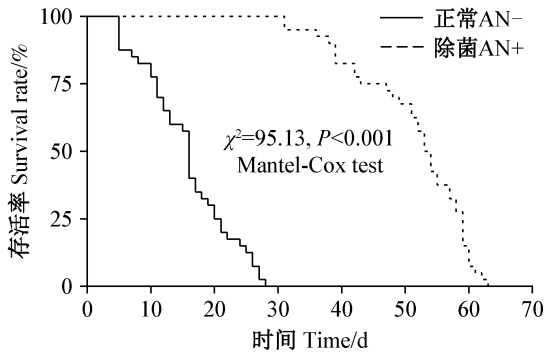


图2 除菌瓜蚜和正常瓜蚜在健康黄瓜上的存活曲线

Fig. 2 Survival curves of antibiotic-treated (AN+) and untreated (AN−) cucurbit-specialized biotypes of *Aphis gossypii* on healthy cucumbers

在侵染的第2天，正常瓜蚜侵染的黄瓜叶片中茉莉酸异亮氨酸含量显著高于除菌瓜蚜侵染黄瓜叶片（$P<0.05$）；在侵染的第7天，除菌瓜蚜侵染的黄瓜叶片中二氢茉莉酸含量显著高于正常瓜蚜侵染黄瓜叶片（$P<0.05$）；在侵染的第14天，除菌瓜蚜侵染的黄瓜叶片中茉莉酸、茉莉酸异亮氨酸和二氢茉莉酸含量均显著高于正常瓜蚜侵染的黄瓜叶片（$P<0.05$；图3-B~D）。在侵染的第7天和第14天，正常瓜蚜侵染的黄瓜叶片中水杨酸含量显著高于除菌瓜蚜侵染的黄瓜叶片（$P<0.01$和$P<0.05$），正常瓜蚜侵染的黄瓜叶片中糖基水杨酸含量也显著高于除菌瓜蚜侵染的黄瓜叶片（$P<0.05$和$P<0.01$；图3-E~F）。总体上看，在3种形式的茉莉酸中，茉莉酸含量最高，茉莉酸异亮氨酸含量次之，二氢茉莉酸含量最少；在2种形式的水杨酸中，糖基水杨酸含量最高，水杨酸含量次之。在被除菌瓜蚜侵染的黄瓜叶片中，总茉莉酸含量随着侵染进程呈现上升趋势，而总水杨酸含量呈现下降趋势；在被正常瓜蚜侵染的黄瓜叶片中，总茉莉酸含量呈现先升高后下降的趋势，而总水杨酸含量呈现先下降后上升的趋势，符合这2类激素相互拮抗的规律。以上结果表明黄瓜对除菌瓜蚜和正常瓜蚜的激素响应有明显差异。

2.3 瓜蚜在被正常和除菌瓜蚜预侵染黄瓜上的表现

2.3.1 刺吸行为变化

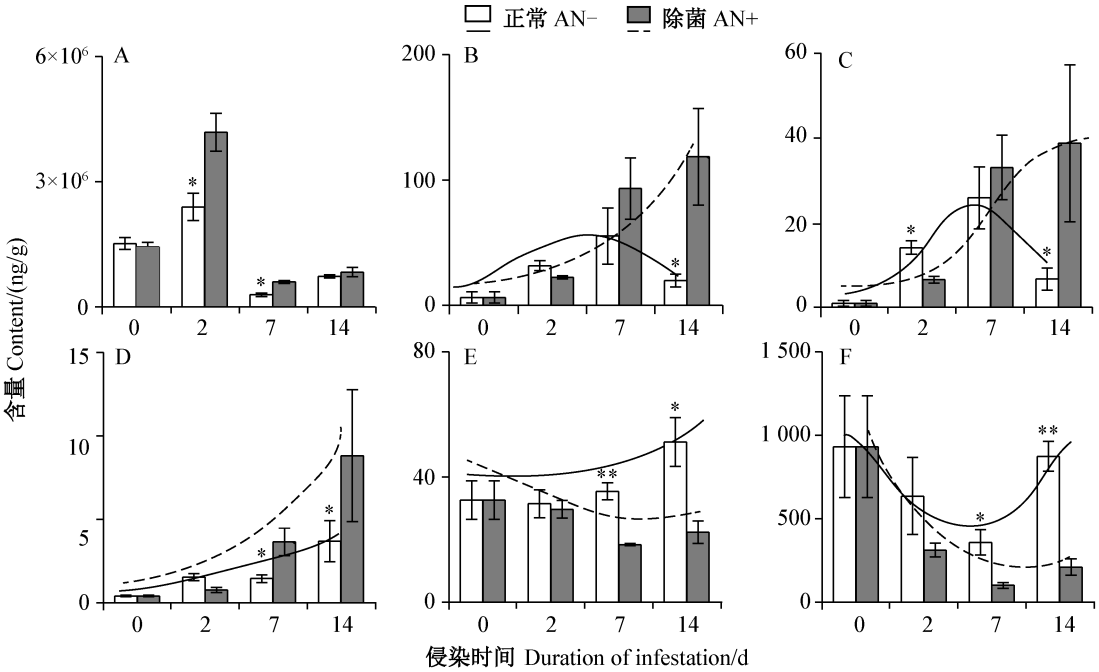
瓜蚜在被正常瓜蚜和除菌瓜蚜预侵染黄瓜叶片上的np波、C波和pd波的总次数和总时长均无显著差异（表1）。瓜蚜在被除菌瓜蚜预侵染黄瓜叶片上首次出现E1波的时间显著滞后于在正常瓜蚜预侵染黄瓜叶片上的（$P<0.05$），平均滞后118.46 min，E1波总时长显著缩短（$P<0.05$），平均缩短18.21 min；首次出现韧皮部取食的E2波时间也显著滞后（$P<0.05$），平均滞后151.42 min，但E2波总时长无显著差异（表1）。瓜蚜在被除菌瓜蚜预侵染黄瓜叶片上的木质部取食的G波总时长显著缩短（$P<0.05$），平均缩短27.37 min（表1）。

表2 除菌瓜蚜和正常瓜蚜在健康黄瓜及预侵染黄瓜上的适合度

Table 2 Fitness of antibiotic-treated (AN+) and untreated (AN−) *Aphis gossypii* on healthy and pre-infested cucumbers

生命表参数 Life table parameter	在健康黄瓜上 On healthy cucumber		在预侵染黄瓜上 On pre-infested cucumbers by aphids	
	正常瓜蚜AN−	除菌瓜蚜AN+	正常瓜蚜AN−	除菌瓜蚜AN+
净增殖率Net growth rate	72.58±5.92 aA	3.19±1.17 bB	92.89±3.12 aA	83.45±5.92 aA
平均世代周期Average generation time/(d)	9.68±0.14 bB	19.25±0.22 aA	9.77±0.17 aA	9.91±0.10 aA
内禀增长率Intrinsic growth rate	0.43±0.01 aA	0.03±0.01 bB	0.47±0.01 aA	0.45±0.01 aA
周限增长率Finite rate of increase	1.56±0.07 aA	0.02±0.01 bB	1.59±0.01 aA	1.47±0.08 aA

表中数据为平均数±标准误。不同小写和大写字母分别表示除菌瓜蚜和正常瓜蚜之间经Bootstrap法检验差异显著和极显著（$P<0.05$和$P<0.01$）。Data in the table are mean±SE. Different lowercase or uppercase letters in the same row indicate significant difference between antibiotic-treated and untreated cucurbit-specialized biotype of *Aphis gossypii* by bootstrap test ($P<0.05$ or $P<0.01$).



A：H_2O_2；B：茉莉酸；C：茉莉酸异亮氨酸；D：二氢茉莉酸；E：水杨酸；F：糖基水杨酸。A: H_2O_2; B: jasmonic acid; C: jasmonoyl-L-isoleucine; D: dihydrojasmonic acid; E: salicylic acid; F: salicylic acid-2-O-*β*-glucoside.

图3 除菌瓜蚜和正常瓜蚜激发的黄瓜防御物质响应

Fig. 3 Defense substances in cucumbers induced by antibiotic-treated (AN+) and untreated (AN−) cucurbit-specialized biotypes of *Aphis gossypii*

图中数据为平均数±标准误。*和**分别表示除菌瓜蚜和正常瓜蚜之间经独立样本*t*测验法检验差异显著和极显著（$P<0.05$和$P<0.01$）。Data in the figure are mean±SE. * or ** indicates significant difference between antibiotic-treated and untreated cucurbit-specialized biotypes of *Aphis gossypii* by independent sample *t* test ($P<0.05$ or $P<0.01$).

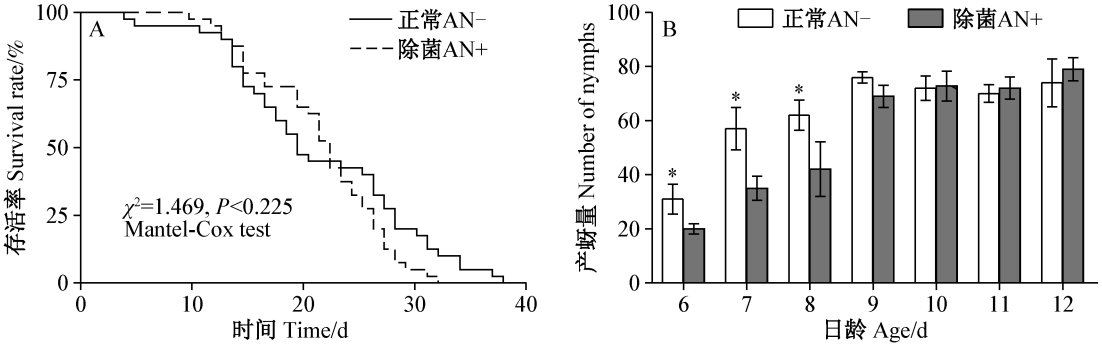
2.3.2 适合度变化

瓜蚜在被除菌瓜蚜和正常瓜蚜预侵染黄瓜上的存活曲线无显著差异（$P=0.225$；图4-A），两者之间的净增殖率、内禀增长率、周限增长率和平均世代周期也均无差异显著（表2）。而瓜蚜在被除菌瓜蚜预侵染黄瓜上前3 d的产蚜量显著少于对照（$P<0.05$；图4-B）。综合刺吸行为和适合度的变化，表明除菌瓜蚜侵染激发了植物更高水平的防御，致使瓜蚜在被除菌瓜蚜预侵染黄瓜上取食受阻，适合度降低。

3 讨论

蚜虫与*Buchnera*之间形成了稳定的共生关系，不能离开对方独立生存。通常认为*Buchnera*可为蚜虫提供必需的营养物质。本研究发现除菌瓜蚜体型变小，几乎不繁殖，且取食时刺探次数增多，不能像正常瓜蚜一样在韧皮部取食植物同化物，仅能在木质部取食水分和无机盐，因此*Buchnera*不仅有为蚜虫提供营养的功能，还有促进蚜虫正常取食的作用。被除菌瓜蚜和正常瓜蚜侵染过的黄瓜叶片中

H_2O_2、茉莉酸和水杨酸含量差异明显，表明除菌瓜蚜和正常瓜蚜在激发或抑制植物防御物质响应方面存在明显差异。相对于被正常瓜蚜预侵染的黄瓜，被除菌瓜蚜预侵染的黄瓜对瓜蚜显示出更强的短期抗性。以上结果表明*Buchnera*促进蚜虫正常取食是通过协助瓜蚜克服寄主植物的防御反应来实现的。



产蚜量为10头蚜虫每日的产蚜量之和。Number of nymphs is the sum of the daily reproduction of ten aphids.

图4　瓜蚜在被除菌瓜蚜和正常瓜蚜预侵染黄瓜上的存活曲线（A）和前7 d产蚜量（B）

Fig. 4　Survival curves (A) and reproduction of the first 7 d (B) of aphids on cucumbers pre-infested by antibiotic-treated (AN+) and untreated (AN−) cucurbit-specialized biotypes of *Aphis gossypii*

图中数据为平均数±标准误。*表示除菌瓜蚜和正常瓜蚜之间经独立样本*t*测验法检验差异显著（P<0.05）。Data are mean±SE. * indicates significant difference between antibiotic-treated and untreated cucurbit-specialized biotypes of *Aphis gossypii* by independent sample *t* test (P<0.05).

本研究中瓜蚜被除去内共生菌后，最显著的变化是寿命延长（延长2.34倍），死亡率降低，个体缩小（缩少50%以上），产蚜量极度减少。杨颖等（2021）研究发现，四环素处理后桃蚜*Myzus persicae*的若虫期和寿命延长，产蚜量降低，经利福平处理后产蚜量也降低，但对若虫期和寿命影响不显著；杜军利等（2018）研究结果表明盐酸土霉素、利福平和四环素处理延长了高粱蚜*Melanaphis sacchari*的若蚜期，缩短了生殖期，降低了生殖力；吕宁和刘长仲（2014）研究发现土霉素处理豌豆蚜*Acyrthosiphon pisum*后若虫期延长1.63 d，世代历期延长3.38 d，体重减轻50.28%。综上所述，不同抗生素对蚜虫适合度的影响也不同，并且不同处理浓度和处理方法的影响也可能不同。本研究用混合抗生素（利福平、盐酸土霉素、硫酸新霉素和强力霉素）溶液喷洒叶片的方法来处理瓜蚜，该方法比饲喂法操作简单，对蚜虫*Buchnera*的清除效率可达70%以上，并且可以保持*Buchnera*丰度在20 d内不复升（Guo et al.，2022）。另外，本研究前期对供试瓜蚜进行了微生物组测序，发现供试瓜蚜内生菌组成单一，95%以上为*Buchnera*，不含已报道有功能的次级共生菌，保证了抗生素清除的只有*Buchnera*，而排除了其他次级共生菌对试验结果的影响。

植物为适应环境存在天然的抗氧化系统，在正常情况下活性氧维持在较低水平，当植物受到病虫害侵袭或非生物胁迫时，诱发超氧化物、H_2O_2和羟自由基等活性氧分子的迸发反应（Sachdev et al.，2021），活性氧既可作为毒性分子直接杀死病原菌或抑制昆虫取食，同时也可以作为信号分子参与激活免疫信号通路（Mai et al.，2013；Sytykiewicz，2016；Guo et al.，2020）。本研究发现瓜蚜侵染黄瓜2 d时，H_2O_2含量大幅升高，其中除菌瓜蚜预侵染的叶片中H_2O_2含量上升幅度更高，而正常瓜蚜预侵染叶片中H_2O_2含量上升幅度较低。除菌瓜蚜能刺激产生更高含量的H_2O_2可能与其刺探行为增加为关（除菌瓜蚜在黄瓜上的刺探次数明显增加）；另一方面，可能是*Buchnera*具有协助蚜虫清除植物细胞中H_2O_2的功能，Chaudhary et al.（2014）研究已证明*Buchnera*产生的蛋白可以随着昆虫唾液进入植物细胞。

茉莉酸和水杨酸是植物体内重要的信号分子，当植物受到病虫害侵袭后，体内会积累水杨酸、茉莉酸和乙烯等信号分子，引起一系列的抗病虫信号传导，最终激活病程相关基因的表达（胡宁宁等，2018）。通常认为，植物利用水杨酸信号来启动对活体、半活体营养型病原菌或刺吸式昆虫的防御反应，而利用茉莉酸信号来启动对死体营养型病原菌或咀嚼式昆虫的防御反应（Sanchez et al.，2012）。茉莉酸和水杨酸两者相互拮抗，使植物能够灵活防御不同类型的有害生物（Glazebrook，2005；Robert-Seilaniantz et al.，2011；Costarelli et al.，2020），如Gao et al.（2022）研究揭示死体营养型植物病原细菌丁香假单胞菌*Pseudomonas syringae*通过激活植物茉莉酸信号来

抑制水杨酸信号，从而克服植物免疫，促进丁香假单胞菌侵染。本研究测定了2种形式的水杨酸（水杨酸及糖基水杨酸）和3种形式的茉莉酸（茉莉酸、茉莉酸异亮氨酸及二氢茉莉酸），随着侵染时间延长，正常瓜蚜激发的总水杨酸含量先降低后升高，总茉莉酸含量则先升高后降低，而除菌瓜蚜诱发总水杨酸含量持续降低，总茉莉酸含量则持续升高，印证了茉莉酸和水杨酸两者相互拮抗的规律。除菌瓜蚜和正常瓜蚜侵染诱发的黄瓜激素波动存在明显差异，反映了*Buchnera*与蚜虫激发（或抑制）寄主植物的防御反应有关。

为了确定*Buchnera*诱发H_2O_2和植物激素的变化对黄瓜抗蚜性的影响，本研究测定了瓜蚜在被正常瓜蚜和除菌瓜蚜侵染14 d的黄瓜上的适应性表现，发现瓜蚜在2种预侵染黄瓜上的存活率和寿命均无显著差异，总繁殖力（净增殖率R_0和内禀增长率r_m）也没有显著差异，但是瓜蚜在被除菌瓜蚜预侵染的黄瓜上进入稳定取食的时间要滞后。基于此，进一步对总繁殖力进行逐日比较，发现瓜蚜在被除菌瓜蚜预侵染的黄瓜上前3 d的产蚜量要显著低于在被正常瓜蚜预侵染的黄瓜上的产蚜量。因此可以推断，相对于正常瓜蚜，除菌瓜蚜预侵染诱导黄瓜产生了抗性，即产生了防御反应。综合被除菌瓜蚜和正常瓜蚜侵染后黄瓜的H_2O_2和激素含量变化以及2类预侵染黄瓜的抗蚜性测定结果，发现黄瓜叶片中茉莉酸含量的升高与抗蚜性呈正相关，水杨酸含量的升高与抗蚜性呈负相关，这与茉莉酸与抵御咀嚼式昆虫、水杨酸与抵御刺吸式昆虫的认识不一致（Sanchez et al.，2012）。最新的研究发现水稻对褐飞虱*Nilaparvata lugens*的抗性是由茉莉酸介导的（Jin et al.，2023；Liu et al.，2023），说明水杨酸介导对刺吸式昆虫的抗性并不一定适用于所有植物。

综上所述，*Buchnera*在促进瓜蚜正常取食中发挥着重要作用，更重要的是*Buchnera*能调控瓜蚜对黄瓜H_2O_2和植物激素的响应，从而降低了瓜蚜对黄瓜抗性的诱导，这加深了对共生菌*Buchnera*功能的认识。蚜虫与植物互作的媒介是取食过程中分泌的唾液蛋白和其他小分子化合物（都慧和王晓伟，2022），蚜虫唾液中有哪些成分是来自于*Buchnera*、它们在蚜虫与植物互作中起到何种作用值得深入研究。棉蚜与瓜蚜是同一个物种的不同生物型，它们之间有明显的寄主利用差异，而蚜虫能否利用某种寄主植物取决于激发植物防御和抑制植物防御的平衡。根据本研究结果，推测瓜蚜和棉蚜的*Buchnera*在菌株或基因表达上可能存在差异，其中的某些差异是蚜虫能利用何种寄主植物的关键，这可能是未来蚜虫寄主适应机制研究的新方向。

参 考 文 献（References）

Ali F, Hu XY, Wang DQ, Yang FY, Guo H, Wang YM. 2021. Plant pathogen-mediated rapid acclimation of a host-specialized aphid to a non-host plant. Ecology and Evolution, 11(21): 15261−15272

Baumann P. 2005. Biology bacteriocyte-associated endosymbionts of plant sap-sucking insects. Annual Review of Microbiology, 59: 155−189

Blackman RL, Eastop VF. 2000. Aphids on the world's crops: an identification and information guide. 2nd edition. Chichester: John Wiley and Sons Ltd.

Chaudhary R, Atamian HS, Shen ZX, Briggs SP, Kaloshian I. 2014. GroEL from the endosymbiont *Buchnera aphidicola* betrays the aphid by triggering plant defense. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 111(24): 8919−8924

Chi H. 2017. TWOSEX-MSChart: a computer program for the age-stage, two-sex life table analysis. Taichung, Taiwan: Chung Hsing University

Chong RA, Park H, Moran NA. 2019. Genome evolution of the obligate endosymbiont *Buchnera aphidicola*. Molecular Biology and Evolution, 36(7): 1481−1489

Costarelli A, Bianchet C, Ederli L, Salerno G, Piersanti S, Rebora M, Pasqualini S. 2020. Salicylic acid induced by herbivore feeding antagonizes jasmonic acid mediated plant defenses against insect attack. Plant Signaling & Behavior, 15(1): 1704517

Douglas AE. 1998. Nutritional interactions in insect-microbial symbioses: aphids and their symbiotic bacteria *Buchnera*. Annual Review of Entomology, 43: 17−37

Du H, Wang XW. 2022. Regulation of insect-plant interactions by herbivorous insect saliva. Journal of Plant Protection, 49(1): 184−197 (in Chinese) [都慧, 王晓伟. 2022. 植食性昆虫唾液调控昆虫−植物互作的研究进展. 植物保护学报, 49(1): 184−197]

Du JL, Wu DG, Wang Y, Lyu L. 2018. Effect of different antibiotics on the growth and development of sorghum aphid *Melanaphis sacchari*. Pratacultural Science, 35(8): 1994−1999 (in Chinese) [杜军利, 武德功, 王银, 吕丽. 2018. 不同抗生素对高粱蚜生长发育的影响. 草业科学, 35(8): 1994−1999]

Gao YH, Li Z, Yang CY, Li GY, Zeng HM, Li ZH, Zhang Y, Yang XF. 2022. *Pseudomonas syringae* activates ZAT18 to inhibit salicylic acid accumulation by repressing EDS1 transcription for bacterial infection. New Phytologist, 233(3): 1274−1288

Glazebrook J. 2005. Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. Annual Review of Phytopathology, 43: 205−227

Guo H, Yang FY, Meng M, Feng JJ, Yang QL, Wang YM. 2022. No evidence of bacterial symbionts influencing host specificity in *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae). Insects, 13(5): 462

Guo HJ, Zhang YJ, Tong JH, Ge PP, Wang QY, Zhao ZH, Zhu-Salzman K, Hogenhout SA, Ge F, Sun YC. 2020. An aphid-secreted salivary protease activates plant defense in phloem. Current Biol-

ogy, 30(24): 4826−4836

Hansen AK, Moran NA. 2011. Aphid genome expression reveals host-symbiont cooperation in the production of amino acids. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 108(7): 2849−2854

Hu NN, Ye MF, Lou YG. 2018. The use of chemical elicitors to regulate pests in crops: a review. Journal of Plant Protection, 45(5): 937−945 (in Chinese) [胡宁宁, 叶苗芬, 娄永根. 2018. 利用化学激发子防控作物害虫研究进展. 植物保护学报, 45(5): 937−945]

Hu XY, Hereward JP, Wang DQ, Yang QL, Wang YM. 2023. A host-specialized aphid lineage helps another conspecific lineage utilize a new host by disrupting the plant defenses. Journal of Pest Science, https://doi.org/10.1007/s10340-023-01717-2

Jin GC, Qi JF, Zu HY, Liu ST, Gershenzon J, Lou YG, Baldwin IT, Li R. 2023. Jasmonate-mediated gibberellin catabolism constrains growth during herbivore attack in rice. The Plant Cell, 35(10): 3828−3844

Li Q, Fan J, Sun JR, Wang MQ, Francis F, Chen JL. 2016. Research progress in the interactions among the plants, insects and endosymbionts. Journal of Plant Protection, 43(6): 881−891 (in Chinese) [李迁, 范佳, 孙京瑞, 王满囷, Frederic F, 陈巨莲. 2016. 昆虫内共生菌−昆虫−植物互作关系研究进展. 植物保护学报, 43(6): 881−891]

Liu MY, Hong GJ, Li HJ, Bing XL, Chen YM, Jing XF, Gershenzon J, Lou YG, Baldwin IT, Li R. 2023. Sakuranetin protects rice from brown planthopper attack by depleting its beneficial endosymbionts. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 120(23): e2305007120

Liu XD, Zhai BP, Zhang XX, Fang J. 2004. The fitness of the host biotype of cotton aphid, *Aphis gossypii*, to summer host plants. Acta Ecologica Sinica, 24(6): 1199−1204 (in Chinese) [刘向东, 翟保平, 张孝羲, 方军. 2004. 棉花型和黄瓜型棉蚜对寄主植物的适合度. 生态学报, 24(6): 1199−1204]

Liu XL, Lou YG. 2018. Comparison of the defense responses in rice induced by brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Stål) and white-backed planthopper *Sogatella furcifera* (Horváth). Journal of Plant Protection, 45(5): 971−978 (in Chinese) [刘晓丽, 娄永根. 2018. 褐飞虱与白背飞虱为害诱导水稻防御反应的比较. 植物保护学报, 45(5): 971−978]

Liu YH, Yan Y, Wang SY, Song Y, Liu TX. 2019. Effects of the secondary endosymbiont *Serratia symbiotica* in *Myzus persicae* on host defense against parasitoids and heat stress. Journal of Plant Protection, 46(4): 840−848 (in Chinese) [刘艳红, 闫裕, 王圣印, 宋月, 刘同先. 2019. 桃蚜体内次生共生菌沙雷氏菌对宿主抵御寄生蜂和高温胁迫的影响. 植物保护学报, 46(4): 840−848]

Lyu N, Liu CZ. 2014. Effect of different antibiotics on the biological characteristics of pea aphid. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 22(2): 208−216 (in Chinese) [吕宁, 刘长仲. 2014. 不同抗生素对豌豆蚜生物学特性的影响. 中国生态农业学报, 22(2): 208−216]

Mai VC, Bednarski W, Borowiak-Sobkowiak B, Wilkaniec B, Samardakiewicz S, Morkunas I. 2013. Oxidative stress in pea seedling leaves in response to *Acyrthosiphon pisum* infestation. Phytochemistry, 93: 49−62

Mao XH, Liu GX, Zhang XX, Li JJ, Zhang AS. 2018. Transmission and acquisition rate of watermelon mosaic virus (WMV) by *Aphis gossypii* on the zucchini plant and its relations with the occurrence of WMV. Journal of Plant Protection, 45(6): 1274−1280 (in Chinese) [毛晓红, 刘国霞, 张秀霞, 李娇娇, 张安盛. 2018. 瓜蚜在西葫芦植株上传播获取西瓜花叶病毒的效率及西瓜花叶病毒病的发生规律. 植物保护学报, 45(6): 1274−1280]

Robert-Seilaniantz A, Grant M, Jones JDG. 2011. Hormone crosstalk in plant disease and defense: more than just jasmonate-salicylate antagonism. Annual Review of Phytopathology, 49: 317−343

Sachdev S, Ansari SA, Ansari MI, Fujita M, Hasanuzzaman M. 2021. Abiotic stress and reactive oxygen species: generation, signaling, and defense mechanisms. Antioxidants, 10(2): 277

Sanchez L, Courteaux B, Hubert J, Kauffmann S, Renault JH, Clément C, Baillieul F, Dorey S. 2012. Rhamnolipids elicit defense responses and induce disease resistance against biotrophic, hemibiotrophic, and necrotrophic pathogens that require different signaling pathways in *Arabidopsis* and highlight a central role for salicylic acid. Plant Physiology, 160(3): 1630−1641

Sytykiewicz H. 2016. Deciphering the role of NADPH oxidase in complex interactions between maize (*Zea mays* L.) genotypes and cereal aphids. Biochemical and Biophysical Research Communications, 476(2): 90−95

Tsuchida T, Koga R, Horikawa M, Tsunoda T, Maoka T, Matsumoto S, Simon JC, Fukatsu T. 2010. Symbiotic bacterium modifies aphid body color. Science, 330(6007): 1102−1104

van Helden M, Tjallingii WF. 1993. Tissue localisation of lettuce resistance to the aphid *Nasonovia ribisnigri* using electrical penetration graphs. Entomologia Experimentalis et Applicata, 68(3): 269−278

Willis KJ. 2017. State of the world's plants 2017. London: Royal Botanic Gardens

Xu DD, Zhang YJ, Wang HS, Wang SL. 2018. Feeding preference of *Aphis gossypii* Glover on different melon varieties. China Vegetables, (7): 60−63 (in Chinese) [徐丹丹, 张友军, 王怀松, 王少丽. 2018. 瓜蚜对不同甜瓜品种的取食选择性. 中国蔬菜, (7): 60−63]

Yang Y, Li HX, Pan XY, Jiao T, Xu ZH. 2021. Effects of different antibiotics on the growth, development and reproduction of the green peach aphid, *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). Biological Disaster Science, 44(3): 255−258 (in Chinese) [杨颖, 李合霞, 潘新毅, 焦婷, 徐昭焕. 2021. 不同抗生素对桃蚜生长发育和繁殖的影响. 生物灾害科学, 44(3): 255−258]

Zhang Y, Wang P, Zhang YJ, Xu BY, Wang SL. 2021. Suppressing effects for piercing pests on protected watermelon by thiamethoxam drenching and predatory mites. China Vegetables, (3): 78−82 (in Chinese) [张妍, 王培, 张友军, 徐宝云, 王少丽. 2021. 噻虫嗪灌根和捕食螨释放对设施西瓜刺吸类害虫的种群抑制作用. 中国蔬菜, (3): 78−82]

Zhu YX, Wang XY, Yang R, Pan LQ, Du YZ. 2022. Advances in researches on symbiont-mediated thermal adaption in insects. Journal of Plant Protection, 49(6): 1565−1575 (in Chinese) [朱玉溪, 王欣宇, 杨润, 潘龙其, 杜予州. 2022. 昆虫共生菌调控宿主温度适应性研究进展. 植物保护学报, 49(6): 1565−1575]

（责任编辑：李美娟）