

柏大蚜 *Cinara tujaefilina* 蜜露中细菌组成及其多样性研究

王鸿艳, 南小宁, 贺虹*

(西北农林科技大学林学院, 陕西杨凌 712100)

以蜜露为纽带, 蚂蚁和同翅目昆虫之间复杂的相互关系成为昆虫生态研究的热点。同翅目昆虫体内部分营养的供给与其体内广泛存在的共生菌具有密切的联系, 而蚂蚁也具有相似的获取氮源方式, 其体内亦存在一些类似微生物, 为宿主合成和补充含氮物质。蚜虫体内存在着某一类或几类次生内共生菌, 这类微生物不仅通过蚜虫取食同类分泌的蜜露得以水平传播, 也有可能通过蚂蚁取食蜜露而传播到蚂蚁的消化道。基于前期在取食柏大蚜 *Cinara tujaefilina* 蜜露的日本弓背蚁 *Camponotus japonicus* 消化道中发现了蚜虫的次级内共生菌 *Candidatus Serratia symbiotica*, 课题组为了进一步研究确认此种内共生菌是否来源于蚜虫的蜜露, 继续研究明确柏大蚜蜜露中细菌组成和多样性水平, 以深入揭示蚂蚁—蜜露—蚜虫三者间微生物的相关性, 探讨蚜虫蜜露中微生物的组成及其内共生菌是否随着蜜露传播。

2011年7月, 于柏大蚜活动季节, 在西北农林科技大学校园剪取分布有柏大蚜的侧柏枝条, 带回实验室插于盛水的三角瓶中, 每天收集蜜露, 然后进行细菌的分离培养和菌落PCR鉴定。同时, 提取蜜露中微生物DNA, 采用细菌的通用引物27F和1492R进行扩增, 产物切胶回收后, 构建pMD-19T-16S rRNA基因克隆文库, 采用两种限制性内切酶Afa I和Hha I分别进行酶切反应, 获得7月份柏大蚜蜜露细菌200个克隆的酶切指纹图谱。

研究表明, 利用传统的分离培养方法共分离到20个不同的菌株, 序列分析表明它们分别属于拟杆菌门 Bacteroidetes 和变形菌门 Proteobacteria, 包括 *Acinetobacter*、*Pseudomonas*、*Pseudoxanthomonas*、*Sphingomonas*、*Erythrobacter*、*Agrobacterium* 和 *Brevundimonas* 7个属; 其中 *Agrobacterium* 和 *Acinetobacter* 为优势细菌, 分别占细菌总数的33.3%和30.6%。16S rRNA-RFLP分析结果表明: Afa I和Hha I联合酶切产生35种不同的限制性酶切类型, 文库的库容值为90.5%, 覆盖程度高, 足够反映蜜露细菌的多样性。不同酶切类型的序列分析共获得17种不同的细菌, 分别属于 *Schlegelella*、*Caldimonas*、*Cupriavidus*、*Achromobacter*、*Silanimonas*、*Pseudoxanthomonas*、*Acinetobacter*、*Pseudomonas*、*Anoxybacillus*、*Paenibacillus*、*Rhizobium* 11个属和5个未定种类; 其中 *Pseudomonas aeruginosa* 为优势种, 占有所有克隆子的54%, 其次为一种不可培养的细菌和一种 *Schlegelella* 属细菌,

分别占 16.5% 和 12%。

本研究采用两种方法检测到柏大蚜蜜露中含有丰富的细菌种类，多样性水平较高，大部分细菌属于变形菌门 **Proteobacteria**，但是目前还没有发现蚜虫的次生共生菌，这可能与蜜露的采集的时间或者其他因素有关，我们将进一步采集不同季节的蚜虫蜜露进行系统分析，以阐明蜜露中微生物的分布规律并确定蜜露中是否含有蚜虫的次生共生菌。此外，柏大蚜蜜露中丰富的细菌种类可能不仅来源于蚜虫本身，更多的可能来源于环境，包括空气和蚜虫寄主植物，这些微生物的具体来源及潜在功能将有待于进一步的研究。