

雌性截形叶螨中 *Wolbachia* 抑制 *Spiroplasma**

谢康** 杨坤 霍诗梅 邴孝利 夏雪 洪晓月***

(南京农业大学昆虫学系, 南京 210095)

摘要 【目的】探究截形叶螨中 *Wolbachia* 与 *Spiroplasma* 这两种共生菌之间的竞争关系, 评估叶螨交配类型对其寿命的影响。【方法】对不同共生菌感染类型的雌螨在不同交配类型以及不同日龄的情况下其体内共生菌滴度进行定量 PCR 检测, 对不同交配类型的雌螨寿命进行记录, 利用 SPSS 19.00 (IBM) 分析交配类型、成螨日龄对共生菌滴度的影响, 以及叶螨交配类型对寿命的影响。【结果】不同交配类型以及不同日龄的雌螨, 其体内共生菌滴度存在显著差异; 对于 *Wolbachia* 滴度, 单感染 *Wolbachia* 雌螨与双感染在 4 日龄、10 日龄有差异; 对于 *Spiroplasma* 滴度, 单感染 *Spiroplasma* 雌螨均显著高于双感染; 双感染中 *Wolbachia* 滴度显著高于 *Spiroplasma*; 双感染雌螨与同一感染或不感染品系雄螨交配后的存活时间长于与单感染 *Spiroplasma* 雄螨交配, 单感染 *Spiroplasma* 雌螨与同一感染或不感染品系雄螨交配后的存活时间长于与双感染雄螨交配。【结论】交配类型和成螨日龄影响共生菌滴度; *Wolbachia* 的存在抑制 *Spiroplasma*; 交配类型会对雌螨寿命产生影响。

关键词 *Wolbachia*; *Spiroplasma*; 双感染; 截形叶螨; 滴度; 交配类型

Wolbachia suppresses *Spiroplasma* in female *Tetranychus truncatus*

XIE Kang** YANG Kun HUO Shi-Mei BING Xiao-Li XIA Xue HONG Xiao-Yue***

(Department of Entomology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract [Objectives] To investigate the competitive relationship between *Wolbachia* and *Spiroplasma* in *Tetranychus truncatus* and the effect of mating preferences on longevity in these mites. [Methods] qPCR was used to measure symbiont titers in adult mites of different ages and mating preferences and the effects of mate choice on the longevity of female mites recorded. [Results] Symbiont titers were significantly different in mites with different mating preferences and ages. *Wolbachia* titers were significantly different between singly and doubly *Wolbachia*-infected lines at 4 and 10 days of age. The *Spiroplasma* titers of singly *Spiroplasma*-infected lines were significantly higher than those of doubly-infected lines. *Wolbachia* titers were significantly higher than *Spiroplasma* titers in doubly-infected lines. Doubly-infected female mites that mated with doubly *Spiroplasma*-infected, or uninfected, male mites, lived longer than those that mated with singly infected males. Singly *Spiroplasma*-infected female mites that mated with singly infected male mites, or uninfected male mites, lived longer than those that mated with doubly infected male mites. [Conclusion] Mating preference and age affected symbiont titer and the presence of *Wolbachia* greatly reduced *Spiroplasma* titer. Mating preferences affected the longevity of female mites.

Key words *Wolbachia*; *Spiroplasma*; co-infection; *Tetranychus truncatus*; titer; mating type

Wolbachia 是一类广泛存在于节肢动物体内的母系遗传的革兰氏阴性胞内共生菌, 其能对宿主的生殖产生多种调控作用, 包括胞质不亲和、

孤雌生殖、雌性化和杀雄 (Werren *et al.*, 2008)。 *Spiroplasma* 是一类无细胞壁、螺旋状、母系遗传的革兰氏阳性细菌, 其在果蝇、瓢虫、

*资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金项目 (31672035, 31871976)

**第一作者 First author, E-mail: 2016102064@njau.edu.cn

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: xyhong@njau.edu.cn

收稿日期 Received: 2019-04-13; 接受日期 Accepted: 2019-06-16

褐飞虱以及蝴蝶等宿主中能引起杀雄作用,造成感染 *Spiroplasma* 的雌螨的雄性后代在胚胎期死亡 (Williamson *et al.*, 1999; Jiggins *et al.*, 2000; Gasparich *et al.*, 2004; Tinsley and Majerus, 2006; Sanada-Morimura *et al.*, 2013)。此外,有研究表明 *Spiroplasma* 能为宿主提供防御作用,帮助宿主抵御寄生蜂、线虫以及病原菌的攻击 (Scarborough *et al.*, 2005; Jaenike *et al.*, 2010; Xie *et al.*, 2010; Jaenike & Brekke, 2011)。

截形叶螨 *Tetranychus truncatus* Ehara 是重要的农业害虫,能够取食超过 60 种植物,近几年在中国已上升为主要害虫 (Bolland *et al.*, 1998)。之前的研究表明,截形叶螨中 *Wolbachia* 与 *Spiroplasma* 双感染的发生频率比较高 (Zhang *et al.*, 2018)。在自然界中,同一宿主感染两种或两种以上共生菌的现象十分常见 (Duron *et al.*, 2008),科学家们对于这些共生菌如何在宿主中共存,共生菌之间的竞争关系等问题也做了许多研究。例如,在感染 *Wolbachia* 和 *Cardinium* 的二斑叶螨 *Tetranychus urticae* 中,不论单感染还是双感染, *Wolbachia* 的滴度都要显著高于 *Cardinium* (Xie *et al.*, 2016)。在双感染 *Wolbachia* 和 *Cardinium* 的蓟马中, *Wolbachia* 的滴度大约是 *Cardinium* 的 20 倍 (Nguyen *et al.*, 2017)。在双感染 *Cardinium* 和 *Wolbachia* 的白背飞虱 *Sogatella furcifera* 中, *Cardinium* 的滴度要显著高于 *Wolbachia*, 雌性中 *Cardinium* 在全身以及卵巢中的滴度都要比 *Wolbachia* 高出 10 倍,而在雄性的全身以及精巢中, *Cardinium* 的滴度要分别高出 *Wolbachia* 5.6 倍和 57.1 倍,而 *Cardinium* 的滴度在单感染和双感染的宿主中没有显著差异 (Nakamura *et al.*, 2012)。然而,在截形叶螨中, *Wolbachia* 与 *Spiroplasma* 的竞争关系仍然未知。

本研究应用实时荧光定量 PCR 技术对 3 种不同共生菌感染品系 (双感染 *Wolbachia-Spiroplasma* 品系 Iws、单感染 *Wolbachia* 品系 Iw 以及单感染 *Spiroplasma* 品系 Is) 的雌性截形叶螨在不同交配类型 (与同一感染类型雄螨交配、未交配) 不同成螨日龄情况下体内共生菌的滴

度进行了检测,初步探究交配类型、成螨日龄对共生菌的影响以及截形叶螨中 *Wolbachia* 与 *Spiroplasma* 的竞争关系,此外,我们还对不同交配类型的雌螨寿命进行了评估。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

本研究所用的 4 种截形叶螨品系均采自辽宁沈阳,通过孤雌回交的方法筛选到了 100% 双感染 *Wolbachia-Spiroplasma* (Iws)、100% 单感染 *Wolbachia* (Iw) 和 100% 单感染 *Spiroplasma* (Is) 3 个品系,然后用 0.1% (w/v) 的四环素处理单感染 *Spiroplasma* 品系得到 100% 不感染 (U) 品系。之后利用遗传杂交将 4 个品系的截形叶螨的遗传背景调为一致。所有叶螨均利用隔水法在菜豆叶片上饲养,饲养条件为温度 (25±1), 湿度 60%, 光照周期 16L:8D。

1.2 *Wolbachia* 与 *Spiroplasma* 滴度的测定

首先使用 DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN) 试剂盒提取叶螨总 DNA。之后,设计特异性的定量引物对 *Wolbachia* 中的 *wsp* 基因 (WQ-F1, 5'-GAGCAGCGAATGTAAGCAATC-3'; WQ-R1, 5'-AATAACGAGCACCAGCATAAAG-3')、*Spiroplasma* 中的 16S rRNA 基因 (SQ-F1, 5'-TG TAGTTCTCAGGGATTGTTTTCTC-3'; SQ-R1, 5'-GGCTTCCACCATACGCTCTT-3') 以及截形叶螨单拷贝的内参基因 *RPS18* (RPS18-F, 5'-ACGTGCTGGTGA ACTTACCGAAGA-3'; RPS18-R, 5'-TGCCTATTCAAGAACCAAAGTGGG-3') 的片段进行了扩增,然后 AxyPrep™ DNA Gel Extraction kit (AXYGEN) 试剂盒对产物纯化,再将产物连接到 pEASY-T1 载体 (TransGen Biotech),之后转化反应,最后提取得到质粒 DNA,利用紫外分光光度计对质粒 DNA 的浓度进行测量之后计算得到质粒 DNA 拷贝数浓度。将质粒用 ddH₂O 按 10 倍的梯度稀释 5 个浓度梯度,使用 TaKaRa 公司的 SYBR 荧光定量试剂盒进行荧光定量 PCR 扩增 (20 μL 反应体系为:10 μL

SYBR Premix EX Taq, 0.4 μL 上游引物, 0.4 μL 下游引物, 0.4 μL ROX Reference Dye, 2 μL 模板 DNA, 6.8 μL ddH₂O), 反应程序为: 95 预变性 3 min, 40 个循环 (95 5 s, 60 34 s), 1 个循环 (95 15 s, 60 1 min, 95 15 s)。根据每个浓度梯度的质粒得到的 Ct 值, 在 ABI7500 上绘制得到标准曲线。

检测不同交配类型的雌性截形叶螨体内的共生菌滴度。交配类型包括 5 种 (1) 与双感染雄螨交配, (2) 与不感染雄螨交配, (3) 与单感染 *Wolbachia* 雄螨, (4) 与单感染 *Spiroplasma* 雄螨交配, (5) 未交配。对于 (1)(2)(3)(4) 交配类型, 为保证交配次数、时间一致, 在雌雄螨混养 24 h 后, 挑走雄螨。对 2、4、6、8 和 10 日龄的不同交配类型的雌成螨体内共生菌的滴度进行检测, 探究不同交配类型对叶螨体内共生菌滴度的影响以及两种共生菌之间的竞争关系。

1.3 寿命评估

通过比较不同交配类型的雌螨之间的寿命的长短来评估共生菌感染对叶螨生存的影响。对于雌螨寿命, 将初羽化的雌螨与不同感染品系的初羽化雄螨进行交配, 交配 24 h 后挑走雄螨, 每种交配类型挑 12 头雌螨进行观察。每天上午 8:00、下午 8:00 观察并记录叶螨的存活情况, 淹水死亡的叶螨不计入死亡数。

1.4 数据分析

数据的分析使用 SPSS 19.00 (IBM)。使用 General linear model 中的 Univariate 探究交配类型、成螨日龄对共生菌滴度的影响。在比较滴度之间的差异时, 对于两组样本之间的差异分析, 采用 *t*-检验。对于生存曲线, 使用 Kaplan-Meier 方法和 log-rank test 进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 截形叶螨交配类型、成螨日龄对 *Wolbachia*、*Spiroplasma* 滴度的影响

利用 SPSS 19.00 对得到的数据进行分析(表 1), 探究交配类型、成螨日龄对雌螨中共生菌滴

度的影响。数据统计结果如表 2, 结果表明, 对于 Iw 中的 *Wolbachia* 滴度, 交配类型 ($P=0.028$) 和日龄 ($P<0.001$) 均对其产生显著影响; 对于 Iws 中的 *Wolbachia* 滴度, 交配类型 ($P<0.001$) 和日龄 ($P<0.001$) 均对其产生显著影响; 对于 Is 中的 *Spiroplasma* 滴度, 交配类型 ($P<0.001$) 和日龄 ($P<0.001$) 均对其产生显著影响; 对于 Iws 中的 *Spiroplasma* 滴度, 交配类型 ($P=0.454$) 对其无显著影响, 日龄 ($P<0.001$) 对其产生显著影响, 而交配类型与日龄之间存在交互作用 ($P<0.001$)。这说明共生菌的滴度随成螨日龄的增加而动态变化, 并且 Iw 和 Iws 中的 *Wolbachia* 以及 Is 中的 *Spiroplasma* 滴度会因交配类型的不同而改变, Iws 中的 *Spiroplasma* 滴度在某些特定日龄会受交配类型影响。

对于 Iw 和 Iws, 除了 Iws(Iw) 之外, 其他交配类型的 *Wolbachia* 滴度在 1 日龄到 6 日龄都处于低水平状态, 而在 6 日龄到 8 日龄阶段, *Wolbachia* 滴度出现显著上升并达到最高值, 而在 8 日龄之后, 部分交配类型的 *Wolbachia* 滴度有下降。而 Iws(Iw) 中的 *Wolbachia* 滴度则是在 6 日龄达到最高值, 之后出现回落 (表 1)。

对于 Is 和 Iws, *Spiroplasma* 的滴度变化与 *Wolbachia* 类似, 在前 6 日龄处于低水平状态, 之后滴度显著上升, 在 8 日龄或 10 日龄滴度达到最高值 (表 1)。

2.2 截形叶螨中 *Wolbachia* 与 *Spiroplasma* 的竞争关系

综合考虑所有交配类型, 发现在 Iw 和 Iws 中 (图 1), Iw 中 *Wolbachia* 滴度在 4 日龄时低于 Iws (Iw: 0.282 ± 0.0354 , Iws: 0.417 ± 0.0137) ($P=0.002$), 在 10 日龄时显著高于 Iws (Iw: 1.568 ± 0.1427 , Iws: 0.918 ± 0.0281) ($P<0.001$)。这说明 *Spiroplasma* 的存在对 *Wolbachia* 的滴度会产生影响, 但影响程度不大。

综合考虑所有交配类型, 发现对于 *Spiroplasma* 滴度 (图 2) 总是 Is 要显著高于 Iws。这说明 *Wolbachia* 的存在对 *Spiroplasma* 的滴度产生了显著抑制作用, 其抑制的程度远大于

表 1 截形叶螨中的共生菌滴度
Table 1 Symbiont titer in *Tetranychus truncatus*

共生菌 Symbiont	交配类型 (♂) Mating type	成螨日龄 Days after adult emergence (days)				
		2	4	6	8	10
<i>Wolbachia</i>	Iw(×)	0.372±0.052 2b	0.260±0.069 7bc	0.148±0.043 4c	1.272±0.093 8a	1.316±0.290 5a
	Iw(Iw)	0.185±0.045 8c	0.484±0.067 6b	0.185±0.038 9c	1.502±0.081 6a	1.349±0.149 8a
	Iw(U)	0.243±0.047 1c	0.280±0.065 7c	0.627±0.060 8b	1.148±0.339 0abc	1.662±0.102 9a
	Iw(Iws)	0.245±0.016 0bc	0.185±0.025 6c	0.347±0.037 7b	1.494±0.176 8a	1.191±0.103 4a
	Iw(Is)	0.258±0.062 0c	0.202±0.038 2c	0.516±0.041 2b	1.452±0.149 7a	2.323±0.409 1a
	Iws(×)	0.242±0.017 4d	0.420±0.041 7c	0.160±0.007 8e	2.484±0.293 8a	1.002±0.025 7b
	Iws(Iws)	0.285±0.004 2c	0.413±0.036 6c	0.131±0.011 0d	1.435±0.153 3a	0.958±0.071 3b
	Iws(U)	0.484±0.155 6bc	0.425±0.010 4b	0.241±0.024 2c	1.283±0.106 1a	0.930±0.079 3ab
	Iws(Iw)	0.301±0.009 8c	0.421±0.051 7c	1.522±0.053 4b	1.371±0.164 2a	0.807±0.061 8a
	Iws(Is)	0.396±0.036 7c	0.406±0.041 2c	0.215±0.031 1d	1.302±0.054 1a	0.892±0.030 2b
<i>Spiroplasma</i>	Is(×)	0.205±0.007 9b	0.128±0.014 3c	0.256±0.034 2b	0.744±0.055 7a	1.129±0.172 5a
	Is(Is)	0.186±0.020 1b	0.161±0.005 6b	0.352±0.100 4b	1.800±0.247 1a	1.188±0.053 8a
	Is(U)	0.181±0.018 7c	0.468±0.012 9b	0.902±0.183 1ab	0.621±0.066 6b	1.312±0.094 0a
	Is(Iws)	0.163±0.001 7c	0.344±0.028 4b	0.245±0.033 2bc	0.789±0.102 7a	1.067±0.082 9a
	Is(Iw)	0.146±0.003 6b	0.519±0.024 8a	0.887±0.046 9a	0.537±0.096 7ab	0.944±0.157 2a
	Iws(×)	0.081±0.0131 b	0.118±0.010 9b	0.103±0.026 0b	0.438±0.011 0a	0.442±0.054 4a
	Iws(Iws)	0.099±0.008 6c	0.179±0.018 0b	0.070±0.009 2c	0.523±0.014 4a	0.450±0.078 1ab
	Iws(U)	0.080±0.011 6c	0.089±0.011 9c	0.024±0.003 5d	0.732±0.023 0a	0.367±0.046 9b
	Iws(Iw)	0.083±0.005 5b	0.108±0.016 8b	0.306±0.062 2ab	0.359±0.001 6a	0.456±0.046 5a
	Iws(Is)	0.083±0.018 5b	0.060±0.001 3b	0.077±0.014 1b	0.568±0.016 6a	0.396±0.070 2a

“ (♂) ”代表不同的雌雄螨交配类型,结果显示平均值±标准误,数据后标有不同字母表示差异显著 ($P<0.05$)。Iws: 双感染品系; Iw: 单感染 *Wolbachia* 品系; Is: 单感染 *Spiroplasma* 品系; U: 不感染品系; ×: 未交配。

Use “ (♂) ” to represent different mating types between female and male mites. Data are presented as mean ± SE, and followed by different letters indicate significant difference at 0.05 level. Iws: Doubly infected line; Iw: Singly *Wolbachia*-infected line; Is: Singly *Spiroplasma*-infected line; U: Uninfected line; ×: Unmated.

Spiroplasma 对 *Wolbachia* 的影响程度。

此外,综合考虑所有交配类型,发现在 Iws 中, *Wolbachia* 的滴度均是显著高于 *Spiroplasma* (图 3)。结合上述结果,我们推断在双感染品系的雌性截形叶螨中, *Wolbachia* 在与 *Spiroplasma* 的竞争过程中占据着绝对优势的竞争地位。

2.3 截形叶螨交配类型对寿命的影响

我们对双感染品系 Iws、单感染 *Wolbachia* 品系 Iw 以及单感染 *Spiroplasma* 品系 Is 的不同

交配类型的雌螨寿命进行了比较。

结果显示,对于双感染品系 Iws 的雌螨(图 4: A),与 Iws 雄螨交配后的存活时间 (17.33 ± 0.972) d 显著长于与 Is 雄螨交配 (12.57 ± 1.212) d ($P=0.13$),且与 U 雄螨交配后的存活时间 (17.11 ± 1.438) d 也显著长于与 Is 雄螨交配 ($P=0.045$)。而 Iws 雄螨的其他交配组合之间没有发现显著差异 (Iws(×): (17.13 ± 2.175) d, Iws(Iw): 15.27 ± 1.214) d。

对于单感染 *Wolbachia* 品系 Iw 的雌螨(图 4: B),与所有感染品系的雄螨交配都没有显著差异

表 2 交配类型、成螨日龄对共生菌滴度影响的双因素方差分析
Table 2 Two-way ANOVA of effect of mating types and days after adult emergence on symbiont titer

差异倍数 (共生菌拷贝数 /RPS18 拷贝数) Fold change (symbiont copies/RPS18 copies)	Iw 中的 <i>wsp/RPS18</i> 拷贝数 <i>Wsp</i> copies/RPS18 copies in Iw			Iws 中的 <i>wsp/RPS18</i> 拷贝数 <i>Wsp</i> copies/RPS18 copies in Iws			Is 中的 <i>Spits/RPS18</i> 拷贝数 <i>Spits</i> copies/RPS18 copies in Is			Iws 中的 <i>Spits/RPS18</i> 拷贝数 <i>Spits</i> copies/RPS18 copies in Iws		
	<i>df</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>df</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>df</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>df</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
	交配类型 Mating type	4	2.972	0.028	4	9.006	<0.001		6.684	<0.001	4	0.930
成螨日龄 Days after adult emergence	4	100.660	<0.001	4	163.892	<0.001		92.432	<0.001	4	204.160	<0.001
交配类型×成螨日龄 Mating type×Days after adult emergence	16	2.822	0.003	16	17.152	<0.001		10.922	<0.001	16	8.338	<0.001
误差 Error	50			50						50		
总计 Total	75			75						75		

交配类型为：未交配、与同一感染类型雄螨交配；成螨日龄为：2、4、6、8、10 d (Iws：双感染品系；Iw：单感染 *Wolbachia* 品系；Is：单感染 *Spiroplasma* 品系)。

Mating types includes unmated, mate with the male mite of the same symbiont-infected type, mate with uninfected male mite; Days after adult emergence includes 2, 4, 6, 8, 10 days (Iws: Doubly infected line; Iw: Singly *Wolbachia*-infected line; Is: Singly *Spiroplasma*-infected line).

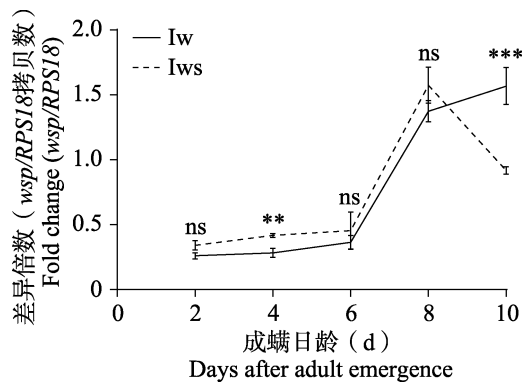


图 1 单感染 *Wolbachia* 品系 Iw 和双感染品系 Iws 雌螨中 *Wolbachia* 滴度比较

Fig. 1 Comparisons of *Wolbachia* titer between singly *Wolbachia*-infected female mites and doubly infected female mites

ns : $P > 0.05$, * : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$.

下图同。The same below.

Iws : 双感染品系 ; Iw : 单感染 *Wolbachia* 品系。

Iws: Doubly infected line; Iw: Singly *Wolbachia*-infected line.

(Iw(Iw): 21.63 ± 2.884 , Iw(\times): 22.00 ± 1.955 , Iw (Iws): 18.71 ± 2.222 , Iw(Is): (17.33 ± 1.863) d, Iw (U): (17.50 ± 2.220) d。

而对于单感染 *Spiroplasma* 品系 Is 的雌螨 (图 4 : C), 与 Iws 雄螨交配后的存活时间

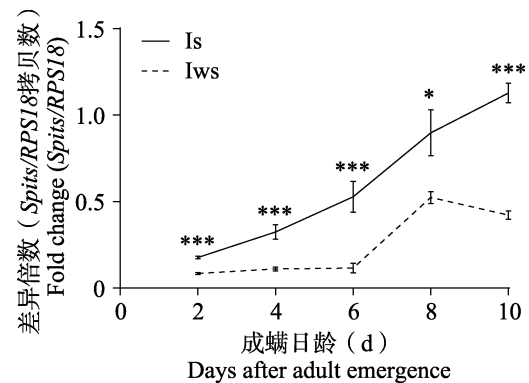


图 2 单感染 *Spiroplasma* 品系 Is 和双感染品系 Iws 雌螨中 *Spiroplasma* 滴度比较

Fig. 2 Comparisons of *Spiroplasma* titer between singly *Spiroplasma*-infected female mites and doubly infected female mites

Iws : 双感染品系 ; Is : 单感染 *Spiroplasma* 品系。

Iws: Doubly infected line;

Is: Singly *Spiroplasma*-infected line.

(15.25 ± 1.114)d 要显著短于与 Is (21.38 ± 2.383) d ($P = 0.024$) 以及 U (18.50 ± 1.379) d ($P = 0.04$) 交配。Is 雌螨与其他感染类型雄螨交配的组合之间未发现统计学差异 (Is(\times): (17.70 ± 0.667)d, Is (Iw): (16.333 ± 3.296) d。

综上所述，对于双感染品系 Iws，与同一感染类型或未感染的雄螨交配后的雌螨寿命显著

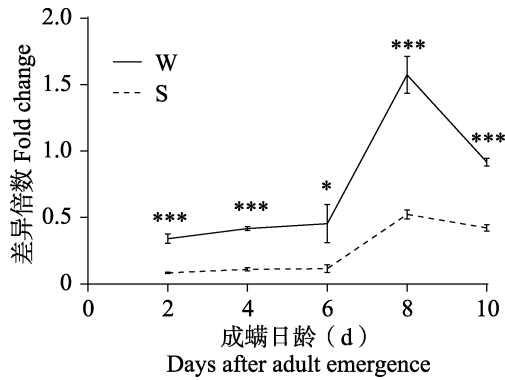


图 3 双感染品系 Iws 中, *Wolbachia* 与 *Spiroplasma* 滴度比较

Fig. 3 Comparisons of *Wolbachia* and *Spiroplasma* titer in doubly infected female mites
W: *Wolbachia*; S: *Spiroplasma*.

长于与 Is 雄螨交配。而对于单感染 *Spiroplasma* 品系 Is, 与同一感染类型或未感染的雄螨交配后的雌螨寿命显著长于与 Iws 雄螨交配。

3 讨论

本研究中, 我们运用定量 PCR 的方法对不同交配类型的雌螨体内的共生菌滴度进行了检测, 结果显示雌螨体内共生菌滴度受到交配类型和成螨日龄的影响。在某些日龄, 共生菌滴度因交配类型的不同而产生差异。大体上共生菌滴度在前 6 日龄处于低水平状态, 6 日龄之后会出现一个突然的上升, 在 8-10 日龄滴度处于高水平的状态。之前有大量研究证明共生菌的滴度与其赋予宿主的生殖及适合度影响有关, 通常滴度越高, 其影响越强烈, 例如, 在朱砂叶螨 *Tetranychus cinnabarinus* 中, *Cardinium* 诱导的 CI 强度随雄螨日龄的增加而减弱, 而定量发现 *Cardinium* 滴度也随着日龄而下降 (Xie *et al.*, 2010); 在埃及伊蚊中, *Wolbachia* 滴度降低, 其诱导的胞质不亲和的强度也下降 (Ross *et al.*, 2017)。之前, Zhang 等 (2018) 发现在截形叶螨中, 双感染 *Wolbachia-Spiroplasma* 能对宿主产生一系列生物学影响, 包括诱导胞质不亲和、增加产卵量、缩短宿主发育历期, 而这些生物学影响的强度与共生菌滴度之间的关系尚不清楚, 结果为截形叶螨以后的研究提供了一个参考。

我们还探究了截形叶螨雌螨中 *Wolbachia* 与 *Spiroplasma* 之间的竞争关系。之前 Goto 等 (2006) 人发现, 在诱导弱 CI 和强杀雄表型的双感染 *Wolbachia-Spiroplasma* 黑腹果蝇中,

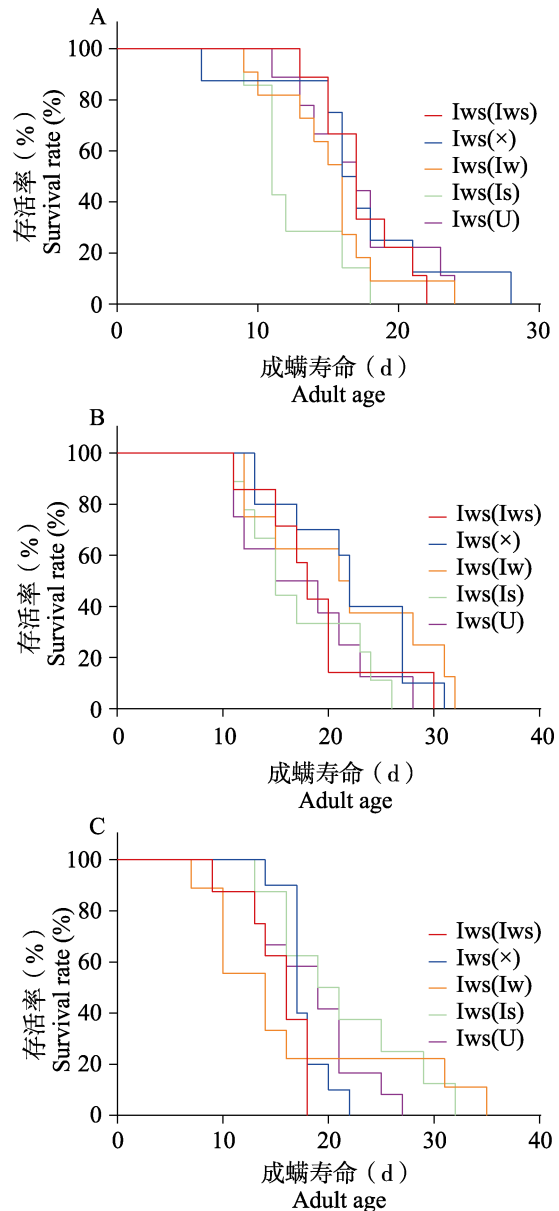


图 4 不同交配类型的雌螨寿命
Fig. 4 Longevities of female mites with different mating types

A. 双感染雌螨; B. 单感染 *Wolbachia* 雌螨; C. 单感染 *Spiroplasma* 雌螨。红线: 与 Iws 交配; 蓝线: 未交配; 橙线: 与 Iw 交配; 绿线: 与 Is 交配; 紫线: 与 U 交配。

A. Doubly infected female mites; B. Singly *Wolbachia*-infected female mites; C. Singly *Spiroplasma*-infected female mites. Red: Mated with Iws; Blue: Unmated; Orange: Mated

with Iw; green: Mated with Is; Purple: Mated with U. *Spiroplasma* 的滴度显著高于 *Wolbachia*。而在本研究中,原本在单感染 *Spiroplasma* 中处于较高水平的 *Spiroplasma* 在双感染 *Wolbachia-Spiroplasma* 品系中受到了强烈的压制,而 *Wolbachia* 的滴度似乎未受 *Spiroplasma* 存在的影响。我们推测这种在双感染 *Wolbachia-Spiroplasma* 的黑腹果蝇和截形叶螨中分别是 *Spiroplasma* 和 *Wolbachia* 占竞争优势地位的现象与宿主的遗传背景有关。对共生菌来说,宿主中的不同组织构成不同的微环境,而不同的微环境提供的营养、可能引起免疫等情况都是不同的(Goto *et al.*, 2006),因此,共生菌在宿主中的存在被限定在某些具体的微环境,*Wolbachia* 是胞内共生菌,仅存在于细胞内,而 *Spiroplasma* 既能存在于细胞内,也能存在于细胞外,比如血淋巴中(Sakaguchi and Poulson, 1961)。*Wolbachia* 为了自身的繁殖需要从细胞中获取资源与空间,竞争的优势使得 *Wolbachia* 将细胞内的那部分 *Spiroplasma* 挤出到细胞外,而细胞外有限的空间和资源限制了 *Spiroplasma* 的繁殖,使得 *Spiroplasma* 菌群维持在低密度状态。此外,我们尚不确定 *Spiroplasma* 的存在对截形叶螨产生何种影响,但我们推测在双感染 *Wolbachia-Spiroplasma* 的截形叶螨中,*Wolbachia* 的存在会减弱 *Spiroplasma* 的效应。

目前关于共生菌感染对宿主寿命的影响有大量报导,并且影响多种多样,有的延长寿命,有的缩短寿命,有的无影响(Min and Benzer, 1997; Bian *et al.*, 2010; Zhao *et al.*, 2013)。我们研究发现在雌螨中 Iws 与同一感染类型或未感染的雄螨交配后的寿命显著长于与 Is 雄螨交配,Is 与同一感染类型或未感染的雄螨交配后的寿命显著长于与 Iws 雄螨交配。这种一种交配类型的雌螨相对于另一种交配类型的雌螨寿命的延长,似乎像是共生菌之间的竞争,寿命延长的一方能产生更多的卵,这有利于该共生菌在宿主种群中的传播。

通过明确共生菌之间的竞争关系,能帮助我们更好地了解两种或多种共生菌是如何在同一宿主中共存的,而将共生菌竞争关系与所引起的

宿主表型联系起来,更能有助于我们了解共生菌与宿主之间复杂的互作关系,为以后的害虫防治工作提供策略。

参考文献 (References)

- Bian G, Xu Y, Lu P, Xie Y, Xi Z, 2010. The endosymbiotic bacterium *Wolbachia* induces resistance to dengue virus in *Aedes aegypti*. *PLoS Pathogens*, 6(4): e1000833.
- Bolland HR, Gutierrez J, Flechtmann CHW, 1998. World Catalogue of the Spider Mite Family (Acari: Tetranychidae), with References to Taxonomy, Synonymy, Host Plants and Distribution. Leiden: Brill Academic Press. 392–392.
- Duron O, Bouchon D, Boutin S, Bellamy L, Zhou L, Engelstädter J, Hurst GD, 2008. The diversity of reproductive parasites among arthropods: *Wolbachia* do not walk alone. *BMC Biology*, 6(1): 27.
- Gasparich GE, Whitcomb RF, Dodge D, French FE, Glass J, Williamson DL, 2004. The genus *Spiroplasma* and its non-helical descendants: phylogenetic classification, correlation with phenotype and roots of the *Mycoplasma mycoides* clade. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54(3): 893–918.
- Goto S, Anbutsu H, Fukatsu T, 2006. Asymmetrical interactions between *Wolbachia* and *Spiroplasma* endosymbionts coexisting in the same insect host. *Appl. Environ. Microbiol.*, 72(7): 4805–4810.
- Jiggins FM, Hurst GDD, Jiggins CD, vd Schulenburg JHG, Majerus MEN, 2000. The butterfly *Danaus chrysippus* is infected by a male-killing *Spiroplasma* bacterium. *Parasitology*, 120(5): 439–446.
- Min KT, Benzer S, 1997. *Wolbachia*, normally a symbiont of *Drosophila*, can be virulent, causing degeneration and early death. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(20): 10792–10796.
- Nakamura Y, Yukuhiro F, Matsumura M, Noda H, 2012. Cytoplasmic incompatibility involving *Cardinium* and *Wolbachia* in the white-backed planthopper *Sogatella furcifera* (Hemiptera: Delphacidae). *Applied Entomology and Zoology*, 47(3): 273–283.
- Nguyen DT, Morrow JL, Spooner-Hart RN, Riegler M, 2017. Independent cytoplasmic incompatibility induced by *Cardinium* and *Wolbachia* maintains endosymbiont coinfections in haplodiploid thrips populations. *Evolution*, 71(4): 995–1008.
- Ross PA, Wiwatanaratanaabutr I, Axford JK, White VL, Endersby-Harshman NM, Hoffmann AA, 2017. *Wolbachia* infections in *Aedes aegypti* differ markedly in their response to cyclical heat stress. *PLoS Pathogens*, 13(1): e1006006.

- Sakaguchi B, Poulson DF, 1961. Distribution of "sex-ratio" agent in tissues of *Drosophila willistoni*. *Genetics*, 46(12): 1665.
- Sanada-Morimura S, Matsumura M, Noda H, 2013. Male killing caused by a *Spiroplasma* symbiont in the small brown planthopper, *Laodelphax striatellus*. *Journal of Heredity*, 104(6): 821–829.
- Tinsley MC, Majerus MEN, 2006. A new male-killing parasitism: *Spiroplasma* bacteria infect the ladybird beetle *Anisosticta novemdecimpunctata* (Coleoptera: Coccinellidae). *Parasitology*, 132(6): 757–765.
- Werren JH, Baldo L, Clark ME, 2008. *Wolbachia*: master manipulators of invertebrate biology. *Nature Reviews Microbiology*, 6(10): 741.
- Williamson DL, Sakaguchi B, Hackett K.J, Whitcomb RF, Tully JG, Carle P, Bové JM, Adams JR, Konai M, Henegar RB, 1999. *Spiroplasma poulsonii* sp. nov., a new species associated with male-lethality in *Drosophila willistoni*, a neotropical species of fruit fly. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 49(2): 611–618.
- Xie RR, Sun JT, Xue XF, Hong XY, 2016. Cytoplasmic incompatibility and fitness benefits in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* (red form) doubly infected with *Wolbachia* and *Cardinium*. *Systematic and Applied Acarology*, 21(9): 1161–1174.
- Xie RR, Zhou LL, Zhao ZJ, Hong XY, 2010. Male age influences the strength of *Cardinium*-induced cytoplasmic incompatibility expression in the carmine spider mite *Tetranychus cinnabarinus*. *Applied Entomology and Zoology*, 45(3): 417–423.
- Zhang YK, Yang K, Zhu YX, Hong XY, 2018. Symbiont-conferred reproduction and fitness benefits can favour their host occurrence. *Ecology and Evolution*, 8(3): 1626–1633.
- Zhao DX, Zhang XF, Hong XY, 2013. Host-symbiont interactions in spider mite *Tetranychus truncatus* doubly infected with *Wolbachia* and *Cardinium*. *Environmental Entomology*, 42(3): 445–452.



番茄潜麦蛾 *Tuta absoluta* (Povolny) 蛹

番茄潜麦蛾隶属于鳞翅目 (Lepidoptera) 麦蛾科 (Gelechiidae), 原产南美洲。该虫 2006 年入侵西班牙, 随后迅速扩散到北非和欧洲许多国家。番茄潜叶蛾严重危害温室和露天的番茄, 受害的番茄果实会丧失经济价值, 经济损失可达 50%-100%, 国际马铃薯中心认为番茄潜叶蛾是威胁全球番茄生产的最严重害虫之一。

番茄潜麦蛾在叶子表面、土壤中或者虫道内化蛹, 可以以蛹或者成虫越冬。

(张润志, 中国科学院动物研究所)