

昆虫内共生菌研究概况*

谭周进¹ 肖启明² 谢丙炎^{3**} 杨宇红³ 冯兰香³

(湖南农业大学食品科技学院 长沙 410128)¹

(湖南农业大学生物安全科技学院 长沙 410128)²

(中国农业科学院蔬菜花卉研究所 北京 100081)³

摘要: 内共生菌与昆虫形成互惠共生关系, 在宿主昆虫的生长、生殖、传播植物病害以及探讨生命起源与进化等方面都有很重要的意义。从昆虫内共生菌的特点、内共生菌在昆虫体内的分布、对昆虫的影响、获得少或缺内共生菌的方法及其研究内共生菌的潜在意义等方面进行了综述。

关键词: 内共生菌, 共生关系, 难培养菌, 昆虫

中图分类号: R387.992 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2005) 04-0140-04

A Review on Endosymbionts in Insects*

TAN Zhou-Jin¹ XIAO Qi-Ming² XIE Bing-Yan^{3**} YANG Yu-Hong³ FENG Lan-Xiang³

(College of Food Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128)¹

(College of Biosafety Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128)²

(Institute of Vegetable and Flower, China Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)³

Abstract: Endosymbionts accreted with insects and benefit from each other. Endosymbiont affected the growth, fertilizing and plant disease transmission of insect. At the same time, the symbiosis body was an excellent model for probing into life's origin and evolution. A review was given on the character, distributing in insects, effects on insects and eliminating methods of endosymbionts. The potential values were also discussed.

Key words: Endosymbiont, Accretion relation, Unculturable bacteria, Insect

内共生菌 (endosymbiont) 与昆虫形成互惠共生关系, 协同进化, 对宿主昆虫的生长、生殖以及传播植物病害等方面具有特殊的作用, 可以做为探讨生命起源与进化等生命现象的理想研究模式, 但还不能人工培养。昆虫内共生菌的研究主要集中在酵母类和真细菌类内共生菌。本文就昆虫内共生菌的特点、在昆虫体内的分布、对昆虫的影响、获得少或缺内共生菌的方法及其研究的潜在意义等方面进行综述。

1 内共生菌的特点

内共生菌是由一个自由体演变而来的。线粒体和叶绿体可能分别来自于 8 ~ 12 亿年以前的自由体, 而内共生菌也可能是由一个自由的有机体进化为一个类细胞器的。内共生菌的结构与功能与线粒体、叶绿体相似, 都有一层来自宿主的膜包裹, 存在于宿主的整个生活周期中, 在宿主胞外单独复制, 有不同于宿主的 DNA、RNA、蛋白质合成系统, 并且不受宿主防卫机制的干扰^[1]。许多内共生菌与线粒体一样, 由母体宿

* 国家重点基础研究发展规划项目 (No. 2002CB111400)

** 通讯作者 Tel: 010-62146130, E-mail: xieby@mail.caas.net.cn

收稿日期: 2004-09-29, 修回日期: 2004-11-06

主的卵或胚胎传递给后代,进行垂直传播,影响内共生菌的进化分支与种群结构。但是,内共生菌保留有真细菌细胞的许多性质。内共生菌与蚜虫大概在 2~2.5 亿年以前就已结合,成为相互依赖的整体,并且一起进化。

内共生菌的遗传物质不同于自由生活的真细菌。对编码与蚜虫内共生菌核酸复制、转录、翻译、氨基酸合成及能量代谢有关的酶的保守序列的分析表明,蚜虫的内共生菌保留了自由生活的真细菌的许多性质,但蚜虫内共生菌中没有发现 9 个核苷酸组成的 DnaA-box,这个 box 位于 dnaA 的上游。内共生菌还缺少真细菌该有的位于 ropD 后的 1~2 个插入重复序列,这是不依 rho 终止子的特征。这些现象表明,自由生活的真细菌与内共生菌的起始与终止是不同的,这决定了内共生菌对宿主细胞的依赖性。蚜虫的内共生菌只有一个单链 rRNA 操纵子,生长缓慢,而快速生长的 *E. coli* 和 *Bacillus subtilis* 分别有 7 个和 10 个 rRNA 启动子^[2]。内共生菌分为初生内共生菌 (Primary symbiont) 和次生内共生菌 (Secondary symbiont),烟粉虱初生内共生菌 16S rDNA 的 (A + T) mol% 含量达 52.3%,这对内共生菌与宿主在古老时期就已结合的推测是一个有利的证据。而烟粉虱的次生内共生菌 (G + C) mol% 平均有 53.4%,在自由生活的细菌的范围之内^[3]。

昆虫内共生菌与立克次氏体等专性细胞内病原体亲缘关系较近,对其鉴定主要依靠形态和 DNA 的 (G + C) mol%。1955 年以前报道了同翅目昆虫内共生菌的分离与培养,但最近的研究证明这是不对的,内共生菌和菌胞能够保存在昆虫组织培养基一段时间来合成蛋白质^[4],但未见菌体增加的报道。

2 内共生菌在昆虫中的分布

内共生菌广泛分布于昆虫体内,几乎所有的昆虫都有内共生菌。1887 年发现了蟑螂的内共生菌,为丘氏蟑螂杆菌 (*Blattabacterium cuenoti*),在象鼻虫中也发现此类内共生菌。最近研究表明,大约有 16% 的昆虫感染了 *Wolbachia*,是迄今为止已知的最广泛存在的内共生菌之一^[5]。

内共生菌广泛分布在昆虫的许多部位。*Wolbachia* 分布于头、胸、腹、唾液腺、消化道等非生殖组织和生殖组织中,其分布受许多因素的影响,其中胚胎发育过程是最主要因素^[6]。

昆虫内共生菌以“瓶颈”方式进行传递。从母体中获得少量菌体,然后在昆虫的不同生长发育期表现不同的增减。*Buchnera* 在 *Acyrtosiphon pisum* 若虫早期可能多于 119,000 个,但胚胎细胞中总数大概为 36,700 个,每个菌胞中胚胎时期约有 800 个内共生菌,若虫早期约 3,200 个。每一个 *Pediculus* 的后代从母体获得的内共生菌不到 200 个。刚孵化的蟑螂若虫卵中内共生菌只有 120,000 个,10d 以后可以达到 400,000 个以上。象岬 *Sitophilus* 若虫菌胞有 3,000,000 个内共生菌,而卵巢菌胞中只有 80,000 个。对不同宿主“瓶颈”效应的研究有可能帮助阐明不同内共生菌核苷酸替代的不同之处。这种“瓶颈”方式也影响着寄主遗传漂移、有益或有害突变的积累过程、种群结构、基于内共生菌基因的生殖选择效力、内共生菌与宿主之间的互选效果等。内共生菌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,增加发生在胚胎菌胞的形成过程,对不同发育阶段内共生菌数量的研究有利于其遗传特征的了解^[7]。

初生内共生菌是垂直传递的, 生活在菌胞中, 与宿主一起共同进化, 而次生内共生菌发生比较近, 在宿主中不稳定或者可以说是暂时的, 同时, 次生内共生菌不一定进入菌胞中, 对宿主的生存也不一定是必要的, 有些次生内共生菌垂直传给子代, 但在不同种之间是可以水平传递的。灰飞虱 (*Laodelphax striatellus*) 的初生内共生菌 *Wolbachia* 是类立克次氏体 (*Rickettsia bacteria*) 细菌, 在宿主中通过细胞质传给下一代^[6]。灰飞虱的成熟卵内含大量内共生菌, 而精子中则无内共生菌^[8], 说明内共生菌是经卵传递给后代的。

3 内共生菌与宿主的关系

内共生菌与宿主相互依赖、相互影响、协同进化。许多节肢动物依靠这些内共生菌供给必需物质来弥补其饮食营养的不平衡^[3]。Sasaki 等研究表明褐飞虱内共生菌含有高活性的尿酸酶, 能够利用寄主的代谢废弃物 (尿酸) 来合成昆虫的必需氨基酸供昆虫生长发育, 聚集在褐飞虱腹部脂肪体细胞的内共生菌能够合成胚胎和胚后发育所需的蛋白质, 促进胚胎腹节分化, 使褐飞虱的蜕皮受阻和卵不发育^[9], 褐飞虱缺乏共生菌时若虫的历期明显延长, 若虫存活率、雌成虫体重、生长速率和产卵量均低于正常褐飞虱, 内共生菌也影响褐飞虱对抗性品种的适应性^[10]。酵母类内共生菌为宿主提供脂肪酸、维生素 B、固醇等营养物质。蟑螂的内共生菌能够产生尿酸降解酶等来代谢蟑螂体内的氮素废弃物。研究表明, 内共生菌可能为蚜虫提供了分解植物细胞壁的酶、必需的营养物质或若虫发育所必须的共生素蛋白。初生内共生菌对宿主昆虫的生存和生育是必要的, 次生内共生菌对宿主的作用远远不如初生内共生菌重要, 但可能与宿主的适应性、竞争力及其它一些间接的方面有关。烟粉虱初生内共生菌为烟粉虱提供专门的营养物质, 是必要的; 次生内共生菌是暂时的或不必要的, 并且可能是有害的^[11]。地理环境、产卵力、扩散行为、杀虫剂抗性、天敌、侵染行为、传植物病毒的种类以及内共生菌等都是烟粉虱生物型划分的一个依据。所有的这些因素都直接或间接地影响烟粉虱的进化。内共生菌影响着烟粉虱的适应性、生物型、携毒的可能性, 甚至新 B 型生物型的形成。内共生菌的多样性与烟粉虱的地区多样性以及取食植物的多样性变化是一致的。另外, 内共生菌对昆虫传播植物病毒也是必要的, 其产生的 GroEL 蛋白保护着病毒在虫体内的运输。

4 消除内共生菌的方法

昆虫内共生菌的消除可以采用高温或抗生素等物理或化学方法进行。

昆虫经青霉素、链霉素等抗生素处理可以成为缺内共生菌的个体, 27℃ 生长的虫子放在 36℃ 下处理 2 周, 内共生菌数量将减少一半以上。饥饿与 39℃ 7 ~ 10d 高温的联合处理, 可以使 *Pseudococcus citri* 的内共生菌受到损害。蟑螂、叶蝉、蚜虫等的内共生菌对溶菌酶敏感, 表明它们有对溶菌酶敏感的肽聚糖细胞壁。用去除阳离子的全纯饲料饲喂蚜虫的某些种 1 ~ 2 代后, 内共生菌会被去除。尿素和不饱和脂肪酸能够除去蟑螂的内共生菌。X 射线处理某些虫子会去除内共生菌或使内共生菌的形态完全破坏^[4]。Chen 等^[12]用抗生素、高温等方法处理若虫可以明显降低褐飞虱 (*Nilaparvata lugens*) 腹部脂肪体内的酵母类共生菌。抗生素、高温、印肼素等能够明显减少褐飞虱体内共生菌的数量^[11]。吕仲贤等让褐飞虱取食抗虫品种和感虫品种的研究发现, 取食抗性品

种的褐飞虱酵母类共生菌的数量明显比取食感虫品种的少。

由此可以推测, 抗生素处理可以减少或消除昆虫中的内共生菌, 降低传毒的能力与效率, 同时, 也会影响昆虫的生活与繁殖, 减少虫口密度, 甚至杀死昆虫。

5 研究内共生菌的意义

昆虫菌胞及其内共生菌是研究单个细胞中原核基因组与真核基因组互作的最好系统, 这个系统对于研究 DNA 等细胞有机物质的起源问题是非常有价值的。同时, 昆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^[8]。

昆虫内共生菌的研究, 将为植物病害的检测与防治提供新的途径。*Phlomobacter fragariae* 是类 *Arsenophonus* 的成员, 引起草莓的边缘叶绿体坏死, 但它却是温室白粉虱的内共生菌, 这也就说明植物病原菌可能成为昆虫的内共生菌, 昆虫的内共生菌也可能成为植物病原菌。这也预示着可能将昆虫内共生菌的引物用于植物病原菌的检测, 实际上也可以将已有的探针通过位点杂交来检测细菌^[13]。

内共生菌的系统发育可以反应昆虫的起源与传播。对烟粉虱内共生菌 16S rDNA 的进化研究表明, 烟粉虱可能起源于北美, 然后借助一品红等经济植物进行传播^[14]。蚜虫内共生菌间的亲缘关系与对应宿主的亲缘进化是平行的^[21]。

内共生菌的研究还可以帮助解释昆虫的部分生物学特性, 辅助昆虫的分类^[15]。

昆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^[5], 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, Beard 等^[16]通过改造 *Wolbachia*, 利用其诱导的生殖异常行为可以提高转基因昆虫在自然界的竞争力, 有可能最终取代自然昆虫群体。

参考文献

- [1] Margulis L. Symbiosis in Cell Evolution. San Francisco: Freeman Co., 1981.
- [2] Baumann P, Munson A M, Lai C Y, et al. ASM News, 1993, 59 (1): 21 ~ 24.
- [3] Moran N A, Telang A. Biosci, 1998, 48: 295 ~ 304.
- [4] Houk E J, McLean D L, Criddle R S. J Invertebr Pathology, 1980, 35: 105 ~ 106.
- [5] 龚 鹏, 沈佐锐, 李志红. 昆虫学报, 2002, 45 (2): 241 ~ 252.
- [6] Stephen J H. Nature, 1999, 402 (2): 482.
- [7] Mira A, Moran N A. Microbial Ecol, 2002, 44: 137 ~ 143.
- [8] Sandstrom J P, Russel J A. Mol Ecol, 2001, 10: 217 ~ 228.
- [9] 吕仲贤, 俞晓平, 陈建明, 等. 植物保护学报, 2001, 28 (3): 193 ~ 197.
- [10] Lee Y H, Hou R F. J Insect Physio, 1987, 33 (11): 852 ~ 860.
- [11] Chen D Q, Purcell A H. Curr Microbiol, 1997, 34: 220 ~ 225.
- [12] 严 健, 邓可京, 曹清玉, 等. 遗传学报, 2000, 27 (3): 219 ~ 226.
- [13] Foissac X, Danet J L, Zreik L, et al. Appl Environ Microbiol, 2000, 66: 3474 ~ 3480.
- [14] 谭周进, 谢丙炎, 肖启明, 等. 微生物学报, 2004, 44 (4): 436 ~ 439.
- [15] 谭周进, 谢丙炎, 肖启明, 等. 核农学报, 2004, 18 (3): 237 ~ 240.
- [16] Beard C B, O' Neill S L, Tesh R B, et al. J Parasitology Today, 1993, 9: 179 ~ 183.