

综述与进展

昆虫病原线虫共生细菌共生性的分子生物学研究进展^{*}

丘雪红 曹 莉 韩日畴^{**}

(广东省昆虫研究所 广州 510260)

Advances in molecular biology of mutualism in symbiotic bacteria associated with entomopathogenic nematode. QIU Xue-Hong, CAO Li, HAN Ri-Chou^{**} (Guangdong Entomological Institute, Guangzhou 510260, China)

Abstract Current knowledge of mutualism between entomopathogenic nematodes, *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* bacteria, and the molecular mechanisms involved in this, are reviewed. *Xenorhabdus* and *Photorhabdus*, members of the bacterial family Enterobacteriaceae, are highly virulent to a wide range of insect pests but have a mutualistic association with the entomopathogenic nematodes *Steinernema* and *Heterorhabditis*. These bacteria therefore engage in both pathogenic interaction with insect hosts and mutualistic interaction with nematode hosts during their life cycle. The bacteria provide four essential functions for their nematode hosts: (1) production of food signals to induce development of arrested, non-feeding infective nematode juveniles (IJs), (2) production of nutrients to facilitate nematode growth and development, (3) colonization and growth within IJ nematodes, (4) production of nematocidal toxin capable of killing non-symbiotic nematodes.

Key words symbiotic bacteria, *Xenorhabdus* and *Photorhabdus*, *Steinernema* and *Heterorhabditis*, mutualism

摘 要 嗜线虫致病杆菌属 *Xenorhabdus* 和发光杆菌属 *Photorhabdus* 细菌隶属肠杆菌科 Enterobacteriaceae, 对多种害虫致病能力强, 分别与斯氏属 *Steinernema* 和异小杆属 *Heterorhabditis* 昆虫病原线虫互惠共生。该两属共生细菌既存在对昆虫寄主的病原性, 又存在与线虫寄主的共生性。共生细菌与其线虫寄主的共生性主要表现以下 4 方面: (1) 细菌产生食物信号诱导滞育不取食的感染期线虫恢复; (2) 细菌为线虫生长与繁殖提供营养; (3) 细菌能于感染期线虫的肠道定殖与生长; (4) 细菌产生杀线虫毒素杀死非共生线虫。本文综述了共生菌以上 4 方面的共生性及其相关的分子机制。

关键词 共生细菌, 嗜线虫致病杆菌和发光杆菌, 斯氏属和异小杆属线虫, 共生性

微生物与动物、植物共生是自然界中普遍存在的一种生物学现象, 大量的动物和植物与微生物间有共生关系。斯氏属 *Steinernema* 和异小杆属 *Heterorhabditis* 昆虫病原线虫分别与肠杆菌科 Enterobacteriaceae 的嗜线虫致病杆菌属 *Xenorhabdus* 和发光杆菌属 *Photorhabdus* 细菌互惠共生^[1,2]。这类线虫作为昆虫的“蛔虫”是与其体内专化性携带的共生菌一起致死寄主昆虫的。目前这种线虫—细菌共生体作为商业化生物杀虫剂已应用于害虫的防治^[3]。

在自然界中, 昆虫病原线虫以肠道携带共生菌的感染期幼虫 (infective juvenile, IJ; infective juveniles, IJs) 存在于土壤中, 能主动寻找寄主, 遇到合适的昆虫寄主后便可通过害虫

^{*} 资助项目: 国家自然科学基金 (31010103912 和 31000879)、广东省自然科学基金项目 (10151026001000010)、广东省科学院分析测试基金项目 (sf200908)、广东省科技计划项目 (2009B050700033)。

^{**} 通讯作者, E-mail: richou-han@163.net

收稿日期: 2010-01-17, 修回日期: 2010-07-15

的一些自然开口(如口腔、肛门等)或节间膜进入昆虫血腔并释放出共生菌,共生菌在昆虫体内快速增殖,分泌毒素使昆虫在 48 h 内死亡,并能产生抗菌素、胞外酶等物质,分解昆虫尸体,为线虫的生长与繁殖发育提供营养和理想的环境;线虫则取食共生菌和分解的寄主组织并发育繁殖,在昆虫体内可繁殖几代,最后又释放出大量肠道携菌的 IJs,重新回到土壤中寻找新的寄主^[6-61]。因此,嗜线虫致病杆菌和发光杆菌既存在对昆虫寄主的病原性,又存在与线虫寄主的共生性,为人们提供了一个研究细菌共生性和病原性的系统模型。从线虫载体到昆虫寄主的过程中,共生菌由与线虫的共生状态转变为对昆虫的致病状态,昆虫的死亡又标志着致病期的结束和共生期的开始^[6,7]。在昆虫病原线虫的商业化生产过程中,线虫与共生菌组成单菌培养体系^[8-10],共生菌为线虫的发育繁殖建立理想环境并提供营养^[11,12]。因此,共生菌与昆虫病原线虫之间的共生关系对这类生物杀虫剂的致病力和产业化生产都极为重要^[7,13,14]。本文从食物信号、营养作用、线虫肠腔中的定殖能力、杀线虫毒素四方面综述了共生菌的共生性及相关的分子机制,为深入研究线虫与共生菌的共生机理和优化线虫产业化培养技术提供重要依据。

1 食物信号

昆虫病原线虫的感染期幼虫是其一生中唯一具有侵染能力并可自由生活于寄主体外的虫态,也是其整个生活史中的最重要虫态。IJ 的恢复(IJ recovery),即不取食的 3 龄感染期幼虫向取食虫态发育的过程,是昆虫病原线虫发育的关键第一步,在线虫生产中具有极其重要的地位。在昆虫体内,IJs 的恢复是昆虫血淋巴中发育化学信息物质诱导的结果^[5,16]。共生菌也产生化学信息物质诱导 IJs 恢复,这种诱导 IJs 恢复的化学信息物质被称为食物信号(food signal)^[5]。在昆虫病原线虫与共生菌的组合培养中,共生菌产生的食物信号可控制 IJs 发育的速度、同步性,进而影响线虫的繁殖代数、

最后产量^[7,18],这是线虫产业化培养过程中的关键技术问题。目前,已有关于 IJs 恢复发育的食物信号、影响因素、检测手段以及恢复过程中差异表达基因的报道^[5-20]。烟草天蛾 *Manduca sexta* 幼虫血淋巴中的食物信号是一种非蛋白、非核酸、热稳定且分子量比较小的一种物质,但其具体成分和作用方式仍未清楚^[6]。最近的研究表明,来自发光杆菌的食物信号的主要成分是抑制酚氧化酶活性的芪类化合物(stilbenes, ST 分子)^[21]。发光杆菌可产生两种 ST 分子:2-异丙基-5-【E】-2-苯基乙烯基]苯-1,3-二醇(ST1)和 2-乙基-5-【E】-2-苯基乙烯基]苯-1,3-二醇(ST2)^[22,23]。ST1 具有抗微生物活性,是昆虫毒力因子,可抑制昆虫先天性免疫反应主要成分酚氧化酶的活性^[24]。研究表明,ST1 是 IJs 恢复的必需条件,由 *stlA* 基因编码,不能产生 ST 分子的 *stlA* 突变菌株菌苔上的 IJs 恢复率很低,只有野生型菌的 5%~15%,当往平板上加入纯 ST 分子,IJs 恢复率又回升;但当只有 ST 分子而没有共生菌存在时,IJs 不能恢复发育,说明 ST 分子不是 IJs 恢复的充足条件^[21]。因此,对于诱导 IJs 恢复的食物信号的具体成分和作用方式仍有待进一步的研究。

ASJ 感化性神经元参与了秀丽线虫 *Caenorhabditis elegans* 和人类寄生虫 *Strongyloides stercoralis* 的 IJs 恢复^[25,26]。激光消融研究也证实了 ASJ 感化性神经元在异小杆线虫 *H. downseii* IJs 恢复中的作用,ST 分子可能是这些神经元的一个配体。然而,IJs 的恢复过程也有 cGMP 信号系统和毒蕈碱乙酰胆碱受体的参与,因此 ST 分子的确切作用方式需要进一步测定^[27]。但明确的是,ST 是一个在共生菌病原性和共生性方面都具有重要作用的多功能分子。

2 营养作用

昆虫病原线虫依赖共生菌提供营养,这是线虫与共生菌共生关系中的一个重要特征。共生菌能将昆虫、培养基组分转化为适宜线虫的

营养物质,支持线虫的生长、繁殖。目前,两者的营养关系、相关的营养基因及调控机制等方面的研究已取得了新的进展。

已有研究证明,共生菌与线虫之间具有不完全的营养专化性,线虫一般从自身携带的共生菌中获得最佳营养^[5,28],但若共生菌对线虫不存在毒性,共生菌对一些非特异共生线虫也具有重要的营养作用^[8],甚至能支持其它类线虫的生长繁殖^[29,30]。不同的共生菌株支持非特异共生寄主线虫的能力不同。没有一线虫品系能在所有共生菌株中生长,也无一共生菌株支持所有试验线虫品系^[5,18,28,31-34]。异小杆线虫的生长繁殖对其共生菌具有严格的依赖性和特异性;而斯氏线虫则取决于其对共生菌的依赖程度,一般从嗜线虫致病杆菌都可以得到理想的繁殖率^[5,11,35-38]。斯氏线虫可以无菌条件下离体培养,而异小杆线虫则必须在共生菌存在的情况下才可以进行离体培养。两者的专化性是线虫大量培养、线虫应用和细菌—线虫共生机理研究的热点,对这类生物杀虫剂的产业化意义重大。

在昆虫尸体内,线虫繁殖受共生菌提供营养和抑制竞争性微生物能力的影响。活体内线虫寄主的营养需求仍未清楚,但已知括脂类^[9,39]。调节子 Lrp、CpxR、LrhA、FlhD 调控范围内的活性(如脂肪酶、蛋白酶、溶血素)有利于共生菌分解昆虫组织为线虫所利用。共生菌 *X. nematophila* 的 *lrp* 突变体^[40]和 *lrhA* 突变体^[41]只能支持少量后代线虫的繁殖;Lrp -、CpxR -、LrhA -、FlhD - 依赖性脂酶 XlpA 是昆虫寄主内后代线虫产生的必要条件^[41],是分解昆虫脂类为线虫所用所必需的。

发光杆菌和嗜线虫致病杆菌在生长稳定期分别产生胞内蛋白晶体 CipA、CipB 和 IP1、IP2^[42-44]。发光杆菌的晶体蛋白对线虫发育具有支持作用,*cipA* 或 *cipB* 基因的失活导致发光杆菌不能支持线虫生长^[42],当表达于大肠杆菌时,CipA 和 CipB 能促进线虫的发育^[45]。嗜线虫致病杆菌中只有编码 IP1 蛋白的 *pixA* 基因被鉴定,研究发现 *X. nematophila* 的 *pixA* 突变

体仍能正常支持线虫的生长与发育^[44]。因此,异小杆线虫对发光杆菌的严格依赖性可能与线虫依靠晶体蛋白作为营养源有关。有趣的是,*pixA* 突变体定殖 IJs 肠道的能力优于野生型菌,这说明晶体蛋白 IP1 的表达可能是个代谢负担,降低了共生菌在线虫环境中的适应能力^[44]。

共生菌支持线虫生长发育的能力取决于活细菌的存在,这意味着有活性成分伴随着它们之间的营养关系^[6]。共生菌可产生线虫正常发育所需要的信号^[5,46]。发光杆菌^[47]和嗜线虫致病杆菌(<http://www.xenorhabdus.org>)的基因组里大量基因预测编码聚酮合成酶(PKSs)和非核糖体多肽合成酶(NRPSs)。这些蛋白常参与生物活性小分子的产生,是产生信号的良好物质来源。PKSs 的活性依赖细胞内 4'-P'pant 转移酶的活性,发光杆菌内编码 4'-P'pant 转移酶的 *ngrA* 基因是线虫生长与发育所必需的^[48,49],*ngrA* 突变体不能支持线虫生长与发育。

发光杆菌支持线虫生长发育的能力由 LysR 类转录抑制蛋白 HexA (LrhA) 所调节。HexA 蛋白是共生关系的抑制蛋白,与野生型菌相比,*hexA* 突变体能支持更多线虫的生长发育,晶体蛋白合成等多个活性^[50]及 *cipA*、*cipB* 等 100 多个基因的表达均受 HexA 蛋白的抑制^[6],其中的许多基因对共生菌稳定时期的存活力十分重要,这进一步说明共生菌的存活力是与线虫共生的必需条件。研究也表明 *hexA* 突变体显著减弱了对昆虫的毒力,HexA 蛋白在病原与共生的转换调节上起着关键作用,这说明病原性和共生性之间具有权衡关系^[50,51]。

铁是线虫生长与发育的基本营养,发光杆菌吸收铁离子对线虫生长与发育具有重要作用。研究表明,*exbD* 基因的突变,使发光杆菌 *P. temperata* K122 失去了支持异小杆线虫生长发育的能力^[52]。TonB 复合体是给铁载体外膜受体供能和促进周质摄取铁-铁载体复合体所必需的^[53]。在 *exbD* 突变体生长的琼脂培养基上添加高水平铁使其恢复了对线虫生长发育的

支持作用,显示了共生菌的铁水平对共生关系的重要性^[52]。然而,*P. luminescens* TT01 的 *exbD* 突变体并不影响其线虫 *H. bacteriophora* 的生长发育;然线虫 *H. downsei* 在 *P. luminescens* TT01 菌中生长良好,但却不能在 TT01 的 *exbD* 突变体中生长;说明铁在发光杆菌与线虫之间的营养关系中的重要性是因种类而异的,不同的线虫种类对铁的需求不同^[54]。

3 线虫肠道中的定殖能力

昆虫病原线虫-共生菌关系中的一个关键时期是共生菌重新定殖于 IJs 肠道,由 IJs 携带进入新的昆虫寄主。这种定殖关系具有特异性,从自然界分离的每个线虫种类都被特定的细菌寄生,将线虫培养于非特异共生细菌一般可以获得肠道不带菌的 IJs^[5,16,18,55,56]。发光杆菌与嗜线虫致病杆菌在其 IJs 肠道的定殖位置有所不同,前者主要定殖于异小杆线虫肠道的前端部分,然后以不同程度延伸至肠道其它部分甚至布满整条肠道^[16],后者则位于斯氏线虫肠道前端部分的一个称为菌囊的特异结构内^[57,58]。细菌与线虫共生性的特异性程度受发生在定殖过程中线虫寄主与细菌之间分子和细胞界面的活动控制。

一般认为,发光杆菌是通过环境(如昆虫尸体)传递至后代 IJs 的,在 IJs 形成过程中保留一些细菌于线虫肠道中但不消化细菌。然而最近研究表明,共生菌的传递实际上是来源于母体^[59]。雌雄同体的成虫取食细菌,这些细菌不被咽压碎而进入肠道,特异结合于末梢的 INT9 肠细胞,然后迁移并感染邻近的直肠腺细胞并在此液泡中繁殖。所有 IJs 都在雌雄同体的成虫体内发育而形成,进行着噬母过程。卵在母体内孵化,IJs 形成之前幼虫以母体为食。在 IJs 的形成过程中,受感染的母体直肠腺破裂,释放发光杆菌至母体的体腔中。形成的每条 IJs 被单个细菌寄生,该细菌粘附在前肠瓣膜细胞(pre-intestinal valve cell, PIVC)上,并繁殖至 100 CFU/IJs 的种群密度^[59]。因此,共生菌于异小杆线虫肠道的定殖可分三个阶段:

母体直肠腺的定殖,IJs 肠道的定殖,IJs 的产出。发光杆菌的基因组中包含了中 11 个编码伞毛或菌毛的基因座,适应于附着参与传递的不同细胞^[67]。该传递机制也可用于解释线虫一般只被其特异共生或亲缘关系密切的共生菌寄生的现象。一些编码菌毛的基因座在不同发光杆菌株中发生变异,这意味着这些基因座在细菌与线虫的特异性进化中发挥了作用^[60]。

发光杆菌复杂的传递机制在分子水平上仍未明了,目前为止已报道为传递必需的基因座只有 *pbgPE* 操纵子一个^[61]。*pbgPE* 操纵子是发光杆菌病原性和共生性所必需的,突出显示了共生性与病原性在遗传上的相似性。*pbgPE* 操纵子能抵抗抗菌肽,这种抵抗能力促进了鼠伤寒沙门菌 *Salmonella typhimurium* 对秀丽线虫的持续感染^[62]。发光杆菌在定殖过程可能也必须克服线虫寄主的体液天然免疫反应。*pbgPE* 突变体的寄生缺陷可能是该突变体不能抵抗在感染母体直肠腺过程中线虫所产生的抗菌活性所造成。这种抗菌活性可能担任着对共生菌的正向选择。异小杆线虫-发光杆菌共生的特异性在一定程度上受母体直肠腺定殖的选择过程控制。

相比之下,人们对嗜线虫致病杆菌于斯氏线虫肠道定殖的细胞与分子生物学的研究多些,而 *S. carpocapsae* 线虫的特异共生菌 *X. nematophila* 是该属细菌中共生分子机制研究得最多的一个种类。与异小杆线虫-发光杆菌共生关系相似,斯氏线虫肠道定殖着约 1~2 个 *X. nematophila* 细胞,这些细菌在线虫肠道内腔繁殖并形成 50~100 CFU/IJs 的成熟种群^[58]。因此嗜线虫致病杆菌于斯氏属线虫 IJs 的定殖也包括起始与产出阶段。但定殖细菌的来源仍未清楚,可能也来自母体。与异小杆线虫不同,斯氏属线虫的定殖位点是肠道前端部分的特化结构菌囊^[57]。在菌囊内,*X. nematophila* 细菌附着在统称为内囊结构(intravesicular structures, IVS)的球状体无核簇^[53]。球状体间的细胞间隙包含着与麦胚凝集素起反应的粘液类物质。粘液或球状体可能

代表共生菌的特异附着位点^[63]。*X. nematophila* 细菌定殖 *S. carpocapsae* 线虫必需的三个基因 *nilA*、*nilB*、*nilC* 预测或已知编码在粘着方面起作用的膜蛋白^[64,65]。这些蛋白可能直接作用于线虫环境而促进定殖,通过发信号或粘附在线虫表面参与了定殖过程^[65-67]。*nilABC* 基因为 *X. nematophila* 细菌所特有,赋予了嗜线虫致病杆菌定殖于 *S. carpocapsae* 线虫的能力;将 *nilABC* 基因引入其他的嗜线虫致病杆菌后,这些菌也能够与 *X. nematophila* 相同的 *S. carpocapsa* 线虫寄主组织中定殖。以上结果表明,一个单独的遗传基因座能够决定细菌-动物共生关系中的寄主特异性,而且寄主范围的扩大可以通过遗传小元件的获得而发生^[67]。

X. nematophila 与线虫寄主间共生关系必需的多个调节子已被鉴定与研究。RpoS、NilR、Lrp、CpxR 调节子被证明是 *X. nematophila* 细菌定殖 *S. carpocapsae* 线虫肠道的必需因子。 σ 因子缺陷的 *rpoS* 突变体不能起始定殖^[64,68]。NilR 为包含 α 螺旋-转角- α 螺旋结构的 DNA 结合蛋白,抑制着定殖必需基因 *nilA*、*nilB*、*nilC* 的表达^[66]。全局性调节子 CpxR、Lrp 也是通过调节 *nil* 基因座的表达而影响其定殖能力的^[69,70],且都是与小转录因子 NilR 协同作用的^[65,66]。在 *X. nematophila* 感染和生长早期不需要定殖因子时,*nil* 基因的表达受 Lrp 调节子的抑制,而在寄主环境营养消耗后需要传递到新寄主时的繁殖后期又受 CpxR 的诱导而表达。

CpxRA 和 Lrp 调节子具有多效性,它们对 *X. nematophila* 细菌的病原性及共生性都具有重要的作用。CpxRA 正向影响 *X. nematophila* 细菌的运动性、脂肪酶活性及共生相关基因的转录;反向影响溶血素、蛋白酶、抗菌素活性及编码伞毛蛋白基因 *mrxA* 的表达;CpxRA 控制包膜定位和分泌产物的表达,它的活性是共生和病原功能所必需的^[69,70]。Lrp 调节子正向调节 *X. nematophila* 中由 *xaxAB* 和 *xhIA* 编码的多种溶血素,反向调节线虫肠道定殖基因 *nilA*、

nilB、*nilC* 的表达^[65,71,72],其在寄主相互关系中的作用是根据适应性而变动营养可用性,Lrp 调节子还能作为细胞内起代谢作用的传感器^[71,73]。感应和响应外界环境变化在寄主-微生物之间关系中极为重要。

定殖因子受到抑制的事实表明定殖因子在生活周期的其他阶段(如昆虫感染期)对细菌是不利的,也暗示了在共生与病原之间存在着权衡关系,需要通过控制表达每个相互作用的相关因子来调节。共生菌能在 IJs 体内生长表明它们已获得营养,但是无菌 *S. carpocapsae* IJs 的存活时间要比携菌的长,这表明线虫的适应性是要付出代价的,它们必须为肠道中共生菌的生长提供营养^[67,74]。然而,线虫菌囊并没有足够的代谢产物支持细菌生长^[64,75,76],IJs 肠道是个营养有限且具有压力的环境^[71,77]。当从线虫肠道释放到昆虫血腔中时,共生菌面对的则是营养相对丰富但同样要克服昆虫免疫反应的环境^[71,78-81]。共生菌能感应到环境哪些特征及这些信息如何转换仍未清楚。与这个转换过程相关的 CpxRA 二元信号系统是细菌与线虫及与昆虫寄主相互关系中所必需的,有助于细菌从线虫向昆虫环境转换的调节^[69]。

4 种间特异的杀线虫毒素

当昆虫病原线虫与非特异共生的共生菌组合培养时,一些共生菌可以产生对非特异性共生线虫(非适合线虫寄主)具有致死作用的杀线虫毒素杀死线虫^[64,82]。共生菌对非特异共生线虫产生的种间杀线虫作用影响多种线虫共感染昆虫寄主的竞争效果,对线虫之间的营养竞争也十分重要。研究表明,尽管共生菌 *P. luminescens* LN2 (与 *H. indica* LN2 线虫特异共生)能产生信息物质诱导 *H. bacteriophora* H06 的 IJs 恢复,但 LN2 细菌对 H06 线虫具有毒性作用使其不能利用 LN2 细菌进行繁殖^[8]。将两种线虫的共生菌上清过滤液混合后对无菌的 H06 IJs 具有毒性作用,而在 80℃ 处理任一种滤液都会破坏这种作用,次生型菌也不具备这种毒性^[82]。这种种间特异的杀线虫作用同样

存在嗜线虫致病杆菌和斯氏属线虫之间,研究发现,*X. bovienii* SN 细菌(从 *S. feltiae* SN 线虫分离)对非特异共生线虫 *S. carpocapsae* A24 具有致死作用^[83],研究结果还显示,两属共生细菌对非特异共生线虫的致死能力可以通过利福平诱变而改变^[83,84]。最近,共生菌 *P. luminescens* LN2 与杀线虫毒性相关的基因 *namA* 已被分离和鉴定,大小为 1 095 bp 的 *namA* 基因编码 364 个氨基酸。*namA* 的插入突变使 LN2 细菌失去了对 H06 线虫的致死作用,并能支持 H06 线虫的生长与繁殖。功能互补实验进一步证实了 *namA* 基因参与了共生细菌 LN2 对 H06 线虫的杀线虫活性^[85]。但当表达于大肠杆菌时,*NamA* 重组蛋白对 H06 IJs 无直接的毒性作用,*NamA* 蛋白的生物学功能仍有待进一步研究^[84]。另外,*namA* 基因为 LN2 细菌所特有,说明每个共生菌菌株对不适线虫的杀线虫活性可能由不同的因子控制,这种杀线虫活性可能是多个因子协同作用的结果,共生菌种间特异的杀线虫机理仍有待深入研究。

5 结语与展望

随着研究的不断深入,近年来昆虫病原线虫共生细菌的多种生物学功能被发现,其共生性和病原性的遗传机制也日趋明了。病原性是研究较早、成果较多的领域,但在具体代谢机制上仍存在大量未知的问题。研究共生性有助于阐明病原性,反之亦然。近年来共生性方面的研究成果,如食物信号主要成分 ST 分子的鉴定,IJs 肠道细菌来源的明确、肠道定殖基因的分离与鉴定、多效调节子功能的确定等促进了人们对细菌-线虫共生系统及共生性与病原性关系的了解。虽然嗜线虫致病杆菌和发光杆菌的生活史存在高度的相似性,但它们的共生性和病原性在分子水平上存在着一些明显差异。如发光杆菌中的 HexA 蛋白是其病原性和共生性的关键调节子^[60],而在嗜线虫致病杆菌中,则由 Lrp 蛋白来执行该功能^[60]。实际上,共生性和病原性并无严格的界限,具有一定程度的重叠性,很多与病原相关的基因常常也在共生

关系中扮演重要角色。共生性和病原性之间存在权衡关系,它们之间的转换是受到精密调控的。全局性调节子 Lrp、CpxR、LrhA 能感知昆虫寄主环境中的营养状况,在调控病原性和共生性之间的转换发挥了重要作用^[61]。

然而,该两属细菌的共生性和病原性仍存在大量有待研究的领域。如:诱导 IJs 恢复的食物信号的具体成分除了 ST 分子外还有哪些,其作用机制又是怎样的? 共生性和病原性的遗传重叠程度多大? 诱导调控共生性与病原性转换的特异代谢信号是什么? 何种压力导致了调控共生性和病原性的不同调控网络的进化? 调控网络的差异是否反映了两属细菌在与线虫或昆虫寄主相互作用的根本差别? 发光杆菌(<http://www.sanger.ac.uk>; <http://genolist.pasteur.fr/PhotoList>) 和嗜线虫致死杆菌(<http://www.xenorhabdus.org>) 基因组序列的公布或测定以及后基因组分析工具如功能基因组学、转录组学、蛋白质组学的应用将会为以上问题的解答提供数据与研究途径,控制细菌与不同线虫或昆虫寄主之间相互作用及相互作用的结果的基本机制也将会得以阐明。

参 考 文 献

- 1 Poinar. G. O. Biology and taxonomy of Steinernematidae and Heterorhabditidae. In: Gaugler R., Kaya H. K. (eds.). Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. Boca Raton, FL: CRC Press, 1990. 23 ~ 62.
- 2 Forst S., Clarke D. J. Bacteria-Nematode symbiosis. In: Gaugler R. (ed.). Entomopathogenic Nematology. Wallingford: CABI Publishing, 2002. 57 ~ 77.
- 3 Georgis R., Koppenhofer A. M., Lacey L. A., et al. Successes and failures in the use of parasitic nematodes for pest control. *Biol. Control*, 2006, **38** (1): 103 ~ 123.
- 4 Akhurst R. J. Morphological and functional dimorphisms in *Xenorhabdus* spp., bacteria symbiotically associated with the insect pathogenic nematodes *Neoplectana* and *Heterorhabditis*. *J. Gen. Microbiol.*, 1980, **121** (2): 303 ~ 309.
- 5 Akhurst R. J. *Neoplectana* species: Specificity of the association with bacteria of the genus *Xenorhabdus*. *Exp. Parasitol.*, 1983, **55** (2): 258 ~ 263.
- 6 Goodrich-Blair H., Clarke D. J. Mutualism and pathogenesis in *Xenorhabdus* and *Photorhabdus*: two roads to the same destination. *Mol. Microbiol.*, 2007, **64** (2): 260 ~ 268.

- 7 Ffrench-Constant R. , Waterfield N. , Daborn P. , *et al.* *Photorhabdus*: towards a functional genomic analysis of a symbiont and pathogen. *FEMS Microbiol. Rev.* , 2003, **26** (5): 433 ~ 456.
- 8 Bedding R. A. Low cost *in vitro* mass production of *Neoaplectana* and *Heterorhabditis* species (Nematoda) for field control of insect pests. *Nematologica* , 1981, **27** (1): 109 ~ 114.
- 9 Wouts W. M. Mass production of the entomogenous nematode *Heterorhabditis heliothidis* (Nematoda: Heterorhabditidae) on artificial media. *J. Nematol.* , 1981, **13** (3): 467 ~ 469.
- 10 Lunau S. , Stoessel S. , Schmidt-Peisker A. J. , *et al.* Establishment of monoxenic inocula for scaling up *in vitro* cultures of the entomopathogenic nematodes *Steinernema* spp. and *Heterorhabditis* spp. *Nematologica* , 1993, **39** (1/4): 385 ~ 399.
- 11 Poinar G. O. , Thomas G. M. Significance of *Achromobacter nematophilus* Poinar and Thomas (Achromobacteriaceae: Eubacteriales) in the development of the nematode DD-436 (*Neoplectana* sp. , Steinernematidae). *Parasitology* , 1966, **56** (2): 385 ~ 390.
- 12 Poinar G. O. , Thomas G. M. , Hess R. Characteristics of the specific bacterium associated with *Heterorhabditis bacteriophora* (Heterorhabditis: Rhabditida). *Nematologica* , 1977, **23** (1): 97 ~ 102.
- 13 Ehlers R-U. , Shapiro-Ilan D. I. Mass production. In: Grewal P. S. , Ehlers R-U. , Shapiro-Ilan D. I. (eds.). Nematodes as Biocontrol Agents. Wallingford, UK: CABI Publishing, 2004. 65 ~ 78.
- 14 Ciche T. A. , Darby C. , Ehlers R-U. , *et al.* Dangerous liaisons: The symbiosis of entomopathogenic nematodes and bacteria. *Biol. Control.* , 2006, **38** (1): 22 ~ 46.
- 15 Strauch O. , Ehlers R-U. Food signal production of *Photorhabdus luminescens* inducing the recovery of entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis* spp. in liquid culture. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* , 1998, **50** (3): 369 ~ 374.
- 16 Ciche T. A. , Ensign J. C. For the insect pathogen *Photorhabdus luminescens*, which end of a nematode is out? *Appl. Microbiol. Biotechnol.* , 2003, **69** (4): 1 890 ~ 1 897.
- 17 Ehlers R-U. , Lunau S. , Krasomil-Osterfeld K. , *et al.* Liquid culture of the entomopathogenic nematode bacterium complex *Heterorhabditis megidis* / *Photorhabdus luminescens*. *BioControl* , 1998, **43** (1): 77 ~ 86.
- 18 Han R. , Ehlers R-U. Cultivation of axenic *Heterorhabditis* spp. dauer juveniles and their response to non-specific *Photorhabdus luminescens* food signals. *Nematologica* , 1998, **44** (4): 425 ~ 435.
- 19 刘明星, 丘雪红, 韩日晴. 昆虫病原线虫感染期幼虫恢复发育的研究进展. *昆虫学报* , 2008, **51** (2): 197 ~ 203.
- 20 夏颖伟, 丘雪红, 韩日晴. 昆虫病原线虫发育相关基因的差异表达. *中国生物防治* , 2008, **24** (1): 22 ~ 29.
- 21 Joyce S. A. , Brachmann A. O. , Glazer I. , *et al.* Bacterial biosynthesis of a multipotent stilbene. *Angew. Chem. Int. Ed.* , 2008, **47** (10): 1 942 ~ 1 945.
- 22 Hu K. J. , Li J. X. , Wang W. J. , *et al.* Comparison of metabolites produced *in vitro* and *in vivo* by *Photorhabdus luminescens*, a bacterial symbiont of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis megidis*. *Can. J. Microbiol.* , 1998, **44** (11): 1 072 ~ 1 077.
- 23 Hu K. , Webster J. M. Antibiotic production in relation to bacterial growth and nematode development in *Photorhabdus-Heterorhabditis* infected *Galleria mellonella* larvae. *FEMS Microbiol. Lett.* , 2000, **189** (2): 219 ~ 223.
- 24 Eleftherianos I. , Boundy S. , Joyce S. A. , *et al.* An antibiotic produced by an insect-pathogenic bacterium suppresses host defenses through phenoloxidase inhibition. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* , 2007, **104** (7): 2 419 ~ 2 424.
- 25 Bargmann C. I. , Horvitz H. R. Control of larval development by chemosensory neurons in *Caenorhabditis elegans*. *Science* , 1991, **251** (4 998): 1 243 ~ 1 246.
- 26 Ashton F. T. , Zhu X. , Boston R. , *et al.* *Strongyloides stercoralis*: amphidial neuron pair ASJ triggers significant resumption of development by infective larvae under host-mimicking conditions. *Exp. Parasitol.* , 2007, **115** (1): 92 ~ 97.
- 27 Hallem E. A. , Rengarajan M. , Ciche T. A. , *et al.* Nematodes, bacteria, and flies: a tripartite model for nematode parasitism. *Curr. Biol.* , 2007, **17** (10): 898 ~ 904.
- 28 Han R. , Wouts W. M. , Li L. Development of *Heterorhabditis* spp. strains as characteristics of possible *Xenorhabdus luminescens* subspecies. *Rev. Nematol.* , 1990, **13** (4): 411 ~ 415.
- 29 韩日晴, 丘雪红, 曹莉, 等. 用于培养饵料线虫的细菌菌株(X-7 品系)及其线虫培养方法. 国家发明专利. 授权号: ZL200610122801.0, 2006.
- 30 Cao L. , Qiu X. H. , Liu X. F. , *et al.* Nutrient potential of various *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* bacteria for a free-living nematode *Panagrellus redivivus*. *Nematology* , 2008, **10** (1): 79 ~ 85.
- 31 Han R. , Wouts W. M. , Li L. Development and virulence of

- Heterorhabditis* spp. strains associated with different *Xenorhabdus luminescens* isolates. *J. Invertebr. Pathol.*, 1991, **58** (1): 27 ~ 32.
- 32 Gerritsen L. J. M., Smits P. H. Variation in pathogenicity of recombinations of *Heterorhabditis* and *Xenorhabdus luminescens* strains. *Fundam. Appl. Nematol.*, 1993, **16** (4): 367 ~ 373.
 - 33 Gerritsen L. J. M., Smits P. H. The influence of *Photorhabdus luminescens* strains and form variants on the reproduction and bacterial retention of *Heterorhabditis megidis*. *Fundam. Appl. Nematol.*, 1997, **20** (4): 317 ~ 322.
 - 34 Han R., Ehlers R-U. Effect of *Photorhabdus luminescens* phase variants on the *in vivo* and *in vitro* development and reproduction of the entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema carpocapsae*. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 2001, **35** (3): 239 ~ 247.
 - 35 Han R., Ehlers R-U. Pathogenicity, development, and reproduction of *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema carpocapsae* under axenic *in vivo* conditions. *J. Invertebr. Pathol.*, 2000, **75** (1): 55 ~ 58.
 - 36 Sicard M., Le Brun N., Pages S., et al. Effect of native *Xenorhabdus* on the fitness of their *Steinernema* hosts: contrasting types of interactions. *Parasitol. Res.*, 2003, **91** (6): 520 ~ 524.
 - 37 Mitani D. K., Kaya H. K., Goodrich-Blair H. Comparative study of the entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae*, reared on mutant and wild-type *Xenorhabdus nematophila*. *Biol. Control*, 2004, **29** (3): 382 ~ 391.
 - 38 Adams B. J., Fodor A., Koppenhöfer H. S., et al. Biodiversity and systematics of nematode-bacterium entomopathogens. *Biol. Control*, 2006, **37** (1): 32 ~ 49.
 - 39 Qiu L., Lacey M. J., Bedding R. A. Using deuterium as an isotopic tracer to study the energy metabolism of infective juveniles of *Steinernema carpocapsae* under aerobic conditions. *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.*, 2000, **127** (3): 279 ~ 288.
 - 40 Cowles K. N., Cowles C. E., Richards G. R., et al. The global regulator Lrp contributes to mutualism, pathogenesis and phenotypic variation in the bacterium *Xenorhabdus nematophila*. *Cell Microbiol.*, 2007, **9** (5): 1 311 ~ 1 323.
 - 41 Richards G. R., Goodrich-Blair H. Masters of conquest and pillage: *Xenorhabdus nematophila* global regulators control transitions from virulence to nutrient acquisition. *Cell Microbiol.*, 2009, **11** (7): 1 025 ~ 1 033.
 - 42 Bintrim S. B., Ensign J. C. Insertional inactivation of genes encoding the crystalline inclusion proteins of *Photorhabdus luminescens* results in mutants with pleiotropic phenotypes. *J. Bacteriol.*, 1998, **180** (5): 1 261 ~ 1 269.
 - 43 Bowen D. J., Ensign J. C. Purification and characterization of a high-molecular-weight insecticidal protein complex produced by the entomopathogenic bacterium *Photorhabdus luminescens*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1998, **64** (8): 3 029 ~ 3 035.
 - 44 Goetsch M., Owen H., Goldman B., et al. Analysis of the PixA inclusion body protein of *Xenorhabdus nematophila*. *J. Bacteriol.*, 2006, **188** (7): 2 706 ~ 2 710.
 - 45 You J., Liang S., Cao L., et al. Nutritive significance of crystalline inclusion proteins of *Photorhabdus luminescens* in *Steinernema* nematodes. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 2006, **55** (2): 178 ~ 185.
 - 46 Aumann J., Ehlers R-U. Physico-chemical properties and mode of action of a signal from the symbiotic bacterium *Photorhabdus luminescens* inducing dauer juvenile recovery in the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora*. *Nematology*, 2001, **3** (8): 849 ~ 853.
 - 47 Duchaud E., Rusniok C., Frangeul L., et al. The genome sequence of the entomopathogenic bacterium *Photorhabdus luminescens*. *Nat. Biotechnol.*, 2003, **21** (11): 1 307 ~ 1 313.
 - 48 Lambalot R. H., Gehring A. M., Flugel R. S., et al. A new enzyme superfamily - the phosphopantetheinyl transferases. *Chem. Biol.*, 1996, **3** (11): 923 ~ 936.
 - 49 Ciche T. A., Bintrim S. B., Horswill A. R., et al. A phosphopantetheinyl transferase homolog is essential for *Photorhabdus luminescens* to support growth and reproduction of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora*. *J. Bacteriol.*, 2001, **183** (10): 3 117 ~ 3 126.
 - 50 Joyce S. A., Clarke D. J. A *hexA* homologue from *Photorhabdus* regulates pathogenicity, symbiosis and phenotypic variation. *Mol. Microbiol.*, 2003, **47** (5): 1 445 ~ 1 457.
 - 51 Joyce S. A., Watson R. J., Clarke D. J. The regulation of pathogenicity and mutualism in *Photorhabdus*. *Curr. Opin. Microbiol.*, 2006, **9** (2): 127 ~ 132.
 - 52 Watson R. J., Joyce S. A., Spencer G. V., et al. The *exbD* gene of *Photorhabdus temperata* is required for full virulence in insects and symbiosis with the nematode *Heterorhabditis*. *Mol. Microbiol.*, 2005, **56** (3): 763 ~ 773.
 - 53 Postle K., Larsen R. A. TonB-dependent energy transduction between outer and cytoplasmic membranes. *Biometals*, 2007, **20** (3/4): 453 ~ 465.

- 54 Clarke D. J. *Photorhabdus*: a model for the analysis of pathogenicity and mutualism. *Cell Microbiol.*, 2008, **10** (11): 2 159 ~ 2 167.
- 55 Fischer-Le Saux M., Mauleon H., Constant P., et al. PCR-ribotyping of *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* isolates from the Caribbean region in relation to the taxonomy and geographic distribution of their nematode hosts. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1998, **64** (11): 4 246 ~ 4 254.
- 56 Sicard M., Ferdy J. B., Pagès S., et al. When mutualists are pathogens: an experimental study of the symbioses between *Steinernema* (entomopathogenic nematodes) and *Xenorhabdus* (bacteria). *J. Evol. Biol.*, 2004, **17** (5): 985 ~ 993.
- 57 Bird A. F., Akhurst R. J. The nature of the intestinal vesicle in nematodes of the family Steinernematidae. *Int. J. Parasitol.*, 1983, **13** (6): 599 ~ 606.
- 58 Martens E. C., Heungens K., Goodrich-Blair H. Early colonization events in the mutualistic association between *Steinernema carpocapsae* nematodes and *Xenorhabdus nematophila* bacteria. *J. Bacteriol.*, 2003, **185** (10): 3 147 ~ 3 154.
- 59 Ciche T. A., Kim K. S., Kaufmann-Daszczuk B., et al. Cell Invasion and matricide during *Photorhabdus luminescens* transmission by *Heterorhabditis bacteriophora* nematodes. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2008, **74** (8): 2 275 ~ 2 287.
- 60 Gaudriault S., Duchaud E., Lanois A., et al. Whole-genome comparison between *Photorhabdus* strains to identify genomic regions involved in the specificity of nematode interaction. *J. Bacteriol.*, 2006, **188** (2): 809 ~ 814.
- 61 Bennett H. P. J., Clarke D. J. The *pbgPE* operon in *Photorhabdus luminescens* is required for pathogenicity and symbiosis. *J. Bacteriol.*, 2005, **187** (1): 77 ~ 84.
- 62 Alegado R. A., Tan M-W. Resistance to antimicrobial peptides contributes to persistence of *Salmonella typhimurium* in the *C. elegans* intestine. *Cell Microbiol.*, 2008, **10** (6): 1 259 ~ 1 273.
- 63 Martens E., Goodrich-Blair H. The *Steinernema carpocapsae* intestinal vesicle contains a subcellular structure with which *Xenorhabdus nematophila* associates during colonization initiation. *Cell Microbiol.*, 2005, **7** (12): 1 723 ~ 1 735.
- 64 Heungens K., Cowles C. E., Goodrich-Blair H. Identification of *Xenorhabdus nematophila* genes required for mutualistic colonization of *Steinernema carpocapsae* nematodes. *Mol. Microbiol.*, 2002, **45** (5): 1 337 ~ 1 353.
- 65 Cowles C. E., Goodrich-Blair H. Characterization of a lipoprotein, NilC, required by *Xenorhabdus nematophila* for mutualism with its nematode host. *Mol. Microbiol.*, 2004, **54** (2): 464 ~ 477.
- 66 Cowles C. E., Goodrich-Blair H. *nilR* is necessary for co-ordinate repression of *Xenorhabdus nematophila* mutualism genes. *Mol. Microbiol.*, 2006, **62** (3): 760 ~ 771.
- 67 Cowles C. E., Goodrich-Blair H. The *Xenorhabdus nematophila* *nilABC* genes confer the ability of *Xenorhabdus* spp. to colonize *Steinernema carpocapsae* nematodes. *J. Bacteriol.*, 2008, **190** (12): 4 121 ~ 4 128.
- 68 Vivas E. I., Goodrich-Blair H. *Xenorhabdus nematophilus* as a model for host-bacterium interactions: *rpoS* is necessary for mutualism with nematodes. *J. Bacteriol.*, 2001, **183** (16): 4 687 ~ 4 693.
- 69 Herbert E. E., Cowles K. N., Goodrich-Blair H. CpxRA regulates mutualism and pathogenesis in *Xenorhabdus nematophila*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2007, **73** (24): 7 826 ~ 7 836.
- 70 Herbert Tran E. E., Andersen A. W., Goodrich-Blair H. CpxRA influences *Xenorhabdus nematophila* colonization initiation and outgrowth in *Steinernema carpocapsae* nematodes through regulation of the *nil* Locus. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2009, **75** (12): 4 007 ~ 4 014.
- 71 Cowles K. N., Cowles C. E., Richards G. R., et al. The global regulator Lrp contributes to mutualism, pathogenesis and phenotypic variation in the bacterium *Xenorhabdus nematophila*. *Cell Microbiol.*, 2007, **9** (5): 1 311 ~ 1 323.
- 72 Cowles K. N., Goodrich-Blair H. Expression and activity of a *Xenorhabdus nematophila* haemolysin required for full virulence towards *Manduca sexta* insects. *Cell Microbiol.*, 2005, **2** (2): 209 ~ 219.
- 73 Herbert E. E., Goodrich-Blair H. Friend and foe: the two faces of *Xenorhabdus nematophila*. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2007, **5** (8): 634 ~ 646.
- 74 Emelianoff V., Sicard M., Le Brun N., et al. Effect of bacterial symbionts *Xenorhabdus* on mortality of infective juveniles of two *Steinernema* species. *Parasitol. Res.*, 2007, **100** (3): 657 ~ 659.
- 75 Martens E. C., Russell F. M., Goodrich-Blair H. Analysis of *Xenorhabdus nematophila* metabolic mutants yields insight into stages of *Steinernema carpocapsae* nematode intestinal colonization. *Mol. Microbiol.*, 2005, **58** (1): 28 ~ 45.
- 76 Flores-Lara Y., Renneckar D., Forst S., et al. Influence of nematode age and culture conditions on morphological and physiological parameters in the bacterial vesicle of *Steinernema carpocapsae* (Nematoda: Steinernematidae). *J. Invert. Pathol.*, 2007, **95** (2): 110 ~ 118.
- 77 Goodrich-Blair H. They've got a ticket to ride: *Xenorhabdus nematophila*-*Steinernema carpocapsae* symbiosis. *Curr. Opin.*

- Microbiol.* , 2007, **10** (3): 225 ~ 230.
- 78 Haunerland N. H. Insect storage proteins: gene families and receptors. *Insect Biochem. Mol. Biol.* , 1996, **26** (8/9): 755 ~ 765.
- 79 Phalaraksh C. , Lenz E. M. , Lindon J. C. , *et al.* NMR spectroscopic studies on the haemolymph of the tobacco hornworm, *Manduca sexta*: assignment of ¹H and ¹³C NMR spectra. *Insect Biochem. Mol. Biol.* , 1999, **29** (9): 795 ~ 805.
- 80 Orchard S. S. , Goodrich-Blair H. Identification and functional characterization of a *Xenorhabdus nematophila* oligopeptide permease. *Appl. Environ. Microbiol.* , 2004, **70** (9): 5 621 ~ 5 627.
- 81 Furusawa T. , Rakwal R. , Nam H. W. , *et al.* Systematic investigation of the hemolymph proteome of *Manduca sexta* at the fifth instar larvae stage using one-and two-dimensional proteomics platforms. *J. Proteome. Res.* , 2008, **7** (3): 938 ~ 959.
- 82 Han R. C. , Ehlers R-U. Trans-specific nematocidal activity of *Photorhabdus luminescens*. *Nematology* , 1999, **1** (7/8): 687 ~ 693.
- 83 刘明星. 抗利福平共生细菌与昆虫病原线虫的组合培养以及其 *rpoB* 基因的分析. 硕士学位论文. 广州: 中国科学院华南植物园, 2008.
- 84 丘雪红. 发光杆菌 *Photorhabdus luminescens* LN2 种间特异杀线虫活性的分子机制. 博士学位论文. 广州: 中山大学, 2009.
- 85 Qiu X. H. , Han R. C. , Yan X. , *et al.* Identification and characterization of a novel gene involved in the trans-specific nematocidal activity of *Photorhabdus luminescens* LN2. *Appl. Environ. Microbiol.* , 2009, **75** (12): 4 221 ~ 4 223.