

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*
54 (7) :728 - 736; 4 July 2014
ISSN 0001 - 6209; CN 11 - 1995/Q
http://journals.im.ac.cn/actamicroen
doi: 10.13343/j.cnki.wsxb.2014.07.002

昆虫专性内共生细菌及其基因组研究进展

饶琼, 吴慧明

浙江农林大学农业与食品科学学院, 浙江 临安 311300

摘要: 昆虫专性内共生细菌是一类与宿主昆虫长期协同进化的共生微生物, 在许多昆虫体内均有发现, 主要存在于昆虫特化的器官(含菌体)内, 以垂直传播的方式由母系遗传。专性内共生细菌与昆虫的生存、繁殖以及进化等方面息息相关, 其主要功能是为宿主提供必需氨基酸等营养物质。因其长期生活在宿主细胞内处于封闭的高营养的环境中, 其基因组的特征与普通细菌基因组有很大区别, 包括基因组大小、GC 含量、基因缺失等方面。通过对共生细菌基因水平上的深入研究, 有助于理解专性内共生细菌在宿主昆虫协同进化过程中的作用。目前, 昆虫内共生细菌基因的生物学术功能、内共生细菌之间以及内共生细菌与宿主之间的互作机制还不是很清楚, 有待进一步的研究和探索。

关键词: 共生细菌, 基因组, 协同进化, 营养互作

中图分类号: Q933 **文章编号:** 0001-6209(2014)07-0728-09

昆虫内共生细菌(endosymbiont)是一类生活在昆虫体内, 与昆虫相互依赖和影响, 并协同进化的微生物。在漫长的协同进化中, 共生细菌与宿主昆虫之间形成了密切的共生关系。一方面昆虫为共生细菌提供栖息生境和其生存必需的营养^[1], 另一方面共生细菌在昆虫的生存和繁殖中也发挥着重要作用^[2]。通常昆虫内共生细菌可分为2类, 专性内共生细菌(obligate endosymbiont 或 primary endosymbiont)和兼性内共生细菌(facultative endosymbiont 或 secondary endosymbiont)。专性内共生细菌主要分布于昆虫特化的器官——含菌体(bacteriomes or mycetomes)内, 这些含菌体通常由多个含菌细胞(bacteriocyte 或 mycetocytes)组成。专性内共生细菌与宿主昆虫具有长期协同进化关系,

经垂直传播从母代遗传至子代^[3], 且与宿主昆虫的生存繁殖有密切关系, 能为宿主昆虫提供氨基酸、胆固醇等营养物质。特别是一些刺吸式口器昆虫因其取食的单一, 无法从食物中获取一些必需营养, 只能依赖专性内共生细菌提供, 如蚜虫的专性内共生细菌 *Buchnera aphidicola*^[4-5]。此外, 专性内共生细菌还参与植物次生物质的解毒作用及宿主的氮素循环^[6]。与专性内共生细菌不同, 昆虫兼性内共生细菌的分布不局限于含菌细胞, 可分散于血淋巴中, 经垂直传播和水平传播。相对专性内共生细菌, 兼性内共生细菌和宿主昆虫的协同进化时间更为短暂, 而其功能主要与宿主昆虫的适应性有关, 包括宿主昆虫的存活率、繁殖量、竞争能力等, 一些兼性内共生细菌在宿主抵御天敌(如病毒、真菌、寄生蜂)、适

基金项目: 国家自然科学基金(31101437); 浙江省自然科学基金(LY14C140003)

作者简介: 饶琼(1980 -), 女, 湖北黄石人, 博士, 副教授, 主要从事入侵生物学及昆虫共生细菌学研究。Tel: +86-571-63742089;

E-mail: qiong.rao@163.com

收稿日期: 2013-10-09; 修回日期: 2014-01-24

应环境、抵抗杀虫剂时也发挥重要作用^[7-10]。

昆虫共生细菌的研究一直是国内外研究的前沿和热点。但是由于大多数昆虫个体微小, 加上共生细菌在昆虫体内含量很低且体外分离培养困难, 研究共生细菌的功能还很困难。随着分子生物学技术及高通量测序技术的迅速发展, 越来越多的共生细菌全基因组序列被测序^[11], 这为共生细菌与宿主昆虫协同进化的分子机制研究提供了大量的基因组信息。本文将国内外近些年昆虫专性内共生细菌的研究情况, 特别是与基因组相关的研究工作, 进行总结, 以供参考。

1 昆虫专性内共生细菌的形态与分布

专性内共生细菌在昆虫中分布较为普遍, 大多数为植食性吸汁昆虫(多为半翅目昆虫), 如: 蚜虫-*Buchnera aphidicola*、粉虱-*Portiera aleyrodidarum*、粉蚧-*Tremblaya princeps*、蝉或叶蝉-*Sulcia muelleri*、木虱-*Carsonella ruddii* 等, 吸血昆虫如舌蝇-*Wigglesworthia glossinidia*、虱-*Rickettsia felis*, 以及一些杂食性昆虫如蚂蚁-*Blochmannia* spp.、蟑螂-*Blattabacterium* spp. (表 1)。

表 1. 昆虫专性内共生细菌及其基因组研究

Table 1. Researches on obligate endosymbionts of insects and their genomes

insect type	insect specie	obligate endosymbiont
polyphagous insects	ants	<i>Blochmannia</i> spp. ^[12]
	cockroachs	<i>Blattabacterium</i> spp. ^[13]
sap feeding insects	aphids	<i>Buchnera aphidicola</i> ^[14]
	mealy bugs	<i>Tremblaya princeps</i> ^[15]
	whiteflies	<i>Portiera aleyrodidarum</i> ^[16]
	psyllids	<i>Carsonella ruddii</i> ^[17]
	scales	<i>Uzinura diaspidicola</i> ^[18]
	sharpshooters	<i>Sulcia muelleri</i> , <i>Baumannia cicadellinicola</i> ^[19]
	cicadas	<i>Sulcia muelleri</i> , <i>Hodgkinia cicadicola</i> ^[20]
	spittlebugs	<i>Sulcia muelleri</i> , <i>Zinderia insecticola</i> ^[21]
	stinkbugs	<i>Ishikawaella capsulate</i> ^[22]
blood sucking insects	tsetse flies	<i>Wigglesworthia glossinidia</i> ^[23]
	lice	<i>Riesia pediculicola</i> , <i>Rickettsia felis</i> ^[24] ,

通过荧光原位杂交分析 (fluorescence in situ hybridization, FISH) 和光学显微镜观察发现这些专性内共生细菌形态多样, 大多数为球形或不规则球形 (如: *Buchnera*、*Portiera*、*Baumannia*、*Tremblaya*、*Zinderia*) ^[25-27], 也有杆状 (如 *Moranella* ^[28])、线型或管型 (如: *Carsonella* ^[29], *Sulcia* ^[20]、*Hodgkinia* ^[20]) 等, 且绝大多数仅分布在昆虫特化的含菌细胞内等 (例如图 1-A, D)。不同昆虫的含菌细胞数目有显著差异, 如粉蚧、蚜虫等昆虫的含菌细胞数量能达到上百个^[28], 而烟粉虱若虫的含菌细胞不足 10 个 (图 1-F)。不同含菌细胞内的内共生细菌分布和数量也不尽相同, 有的含菌细胞内仅有 1 种专性内共生细菌, 如豌豆蚜 *Acyrtosiphon pisum* 单个含菌细胞内

至少有数十个圆球形 *Buchnera* 分布^[27]; 有的含菌细胞内有 2 种专性内共生细菌共同存在, 如某种蝉 *Diceroprocta semicincta* 的管型共生细菌 *Sulcia* 和 *Hodgkinia*, 其数量也在每个含菌细胞数十个左右^[20]; 还有一些含菌细胞同时分布有兼性内共生细菌和专性内共生细菌, 如烟粉虱 *Bemisia tabaci* 新发现的兼性内共生细菌 *Hemipteriphilus asiaticus* ^[25] 和专性内共生细菌 *Portiera* 同时分布在含菌细胞内 (图 1); 更为特殊的是, 一些专性内共生细菌细胞内还有兼性内共生细菌分布, 如粉蚧 *Pseudococcus calceolariae* 的每个含菌细胞都包含 8-10 个球形的专性内共生细菌 *Tremblaya*, 而每个 *Tremblaya* 细胞内又含有 10-20 个杆状的兼性内共生细菌^[28]。

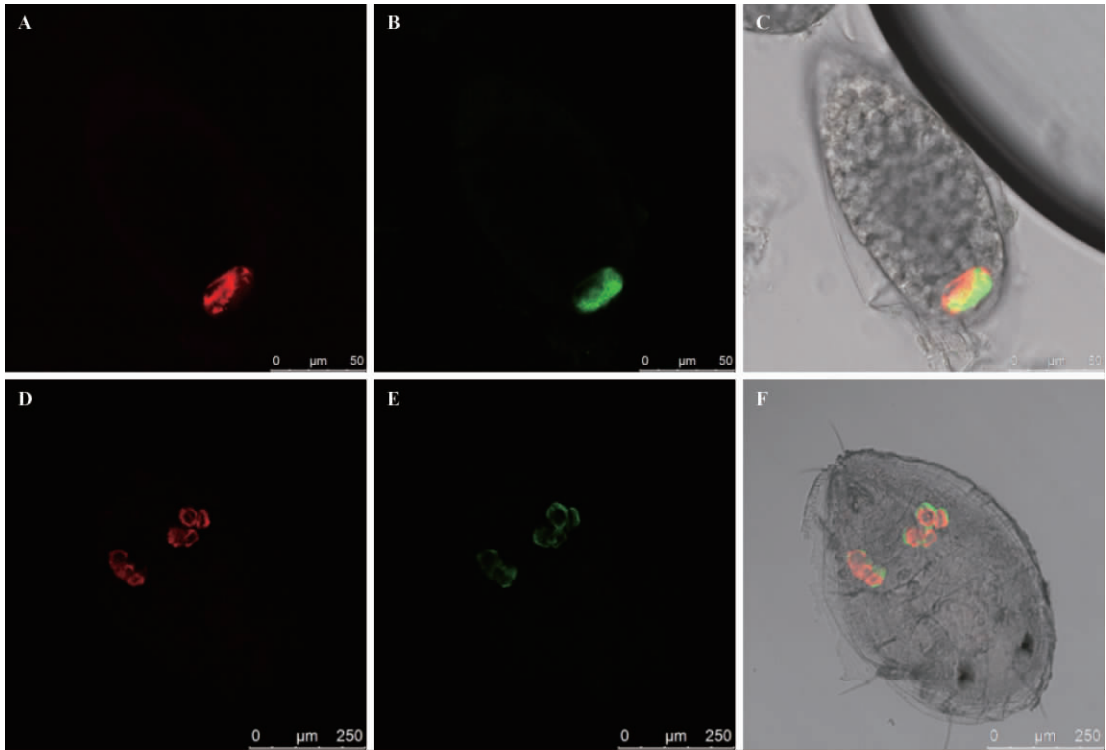


图 1. 内共生细菌在烟粉虱卵及若虫体内分布的原位杂交图(原图由邢孝利提供)

Figure 1. Fluorescent *in situ* hybridization (FISH) of *B. tabaci* egg and nymph using *Portiera*- (red) and *Hemipteriphilus*- (green) specific probes (From Xiao-Li Bing). A: *Portiera* channel of egg; B: *Hemipteriphilus* channel of egg; C: *Portiera* and *Hemipteriphilus* channels of egg on bright field channel, combined optical sections; D: *Portiera* channel of nymph; E: *Hemipteriphilus* channel of nymph; F: *Portiera* and *Hemipteriphilus* channels of nymph on bright field channel, combined optical sections.

2 昆虫专性内共生细菌基因组特征

现阶段对昆虫专性内共生细菌的基因组研究结果表明,所有的专性内共生细菌相对普通细菌,其基因组大小均显著降低,小于 1MB(表 2)。通过对这些完整的专性内共生细菌基因组序列进行进化分析,发现由于基因组极端的减少,专性内共生细菌仅保留了小部分的远古基因组(ancestral gene sets),参与细胞过程(cellular process)相关的 DNA 重组、修复和摄取基因几乎完全缺失,这使得专性内共生细菌基因组极其稳定,在数百万年的进化过程中,很少发生基因重组和新基因的插入^[14, 30-31]。昆虫专性内共生细菌基因组极端地减少与许多因素有密切的关系,特别是与其生活环境(宿主细胞质)密切相关,而这个环境是一个非常稳定的、代谢旺盛的生长环境。由于瓶颈效应,且为了应对其严格的胞质遗传(cytoplasmic inheritance),共生细菌种群数量受到了很大的限制,其基因组也缩小至极限^[21]。

目前已知的基因组中,最小的为一种叶蝉 *Macrosteles quadrilineatus* 的专性内共生细菌 *Nasuia deltocephalinicola*,基因组大小为 112091 bp,仅编码 137 个 CDS,其基因组大小仅为大肠杆菌 (*Escherichia coli*) (4.64 Mb) 的 1/41^[32-33]。另外,基因组大小极端减少至 300 kb 以内的专性内共生细菌还有 *Hodgkinia* (寄主-蝉)、*Carsonella* (寄主-木虱)、*Zinderia* (寄主-沫蝉)、*Uzinura* (寄主-介壳虫) 和 *Sulcia* (寄主-蝉)(表 2)。*Wigglesworthia* (寄主-舌蝇)、*Baumannia* (寄主-大叶蝉),以及 *Blattabacterium* (寄主-蟑螂) 和 *Buchnera* (寄主-蚜虫) 的部分种类,基因组大小超过了 600 kb,但没有超过 1 Mb(表 2)。同一种共生细菌在不同寄主体内基因组退化程度也不同,如已知的 13 种不同蚜虫体内的 *Buchnera*,基因组大小在 422-656 kb 之间。其中基因组最小的寄主为雪松长足大蚜 *Cinara cedri*,基因组最大的寄主为豌豆蚜 *A. pisum*(表 2)。这种现象在其它共生细菌,如 *Portiera*、*Sulcia*、*Carsonella* 等存在(表 2)。这说明专性内共生细菌与宿主昆虫的遗

表 2. 昆虫专性内共生细菌基因组特征

Table 2. Characteristics of sequenced genomes of insect obligate endosymbionts

obligate endosymbiont	<i>Nasua</i>	<i>Tremblaya</i>		<i>Hodgkinia</i>	<i>Carsonella</i>			<i>Zinderia</i>	<i>Uzinura</i>	<i>Sulcia</i>			
host insect	<i>Macrosteles quadrilineatus</i>	<i>Planococcus citri</i>		<i>Diceroprocta semicineta</i>	<i>Pachypsylla venusta</i>	<i>Heteropsylla cubana</i>	<i>Diaphorina citri</i>	<i>Clastoptera arizonana</i>	<i>Aspidiotus Nerii</i>	<i>Draecula-cephala minerva</i>	<i>Homalodisca vitripennis</i>		<i>Diceroprocta semicineta</i>
chromosome, bp	112091	138931	138927	143795	159662	166163	174014	208564	263431	243933	245530	276511	276984
GC content, %	17.1	58.8	58.8	58.4	16.6	14.2	17.6	13.5	30.2	22.5	22.4	21.1	22.6
total gene number	169	155	160	189	213	223	238	232	272	261	264	288	279
CDS	137	116	121	169	182	192	207	202	227	226	227	246	242
coding regions, %	91.9	64.7	66.1	91.3	94.1	95.1	95.7	89.7	86.5	94.3	92.1	90.0	90.3
average length CDS, bp	752	775	759	777	826	823	805	926	1004	1018	996	1022	1033
tRNAs	29	13	12	16	28	28	28	25	30	31	31	29	28
GenBank accession No.	CP006059	CP002918	CP002244	CP001226	AP009180	CP003543	CP003467	CP002161	CP003263	CP001981	CP000770	CP002163	CP001605

续表 2

obligate endosymbiont	<i>Portiera</i>					<i>Buchnera</i>							<i>Riesia</i>	
host insect	<i>Trialeurodes vaporariorum</i>	<i>B. tabaci</i>					<i>Cinara cedri</i>	<i>Ci. tujafilina</i>	<i>Baizongia pistaciae</i>	<i>Uroleucon ambrosiae</i>	<i>A. pisum</i>	<i>Schizaphis graminum</i>	<i>A. kondoi</i>	<i>Pediculus humanus</i>
chromosome, bp	280663	350928	351658	357472	358242	416380	444925	615980	615380	640681	641454	641794	574390	
GC content, %	24.7	26.2	26.2	26.1	26.2	20.1	23.0	25.3	24.1	26.3	25.3	25.7	28.5	
total gene number	307	314	307	292	296	402	405	553	591	618	619	625	598	
CDS	269	280	273	246	256	357	367	504	529	564	546	559	544	
coding regions, %	94.3	68.5	67.1	67.7	67.6	85.1	77.9	81.2	85.8	87.0	83.5	85.9	80.9	
average length CDS, bp	984	858	865	984	945	992	945	992	999	988	981	986	855	
tRNAs	34	31	31	33	33	31	31	32	32	32	32	32	33	
GenBank accession No.	CP004358	CP003867	CP003868	CP003835	CP003708	CP000263	CP001817	AE016826	CP002648	BA000003	AE013218	CP002645	CP001085	

续表 2

obligate endosymbiont	<i>Blattabacterium</i>					<i>Baumannia</i>	<i>Wigglesworthia</i>			<i>Blochmannia</i>			
host insect	<i>Mastotermes darwiniensis</i>	<i>Cryptocercus Punctulatus</i>	<i>Panesthia angustipennis</i>	<i>Blaberus giganteus</i>	<i>Blatta orientalis</i>	<i>Blattella germanica</i>	<i>Homalodisca coagulata</i>	<i>Glossina brevipalpis</i>	<i>Gl. morsitans</i>	<i>Camponotus floridanus</i>	<i>Ca. vafer</i>	<i>Ca. chromaiodes</i>	<i>Ca. pennsylvanicus</i>
chromosome, bp	587248	605745	632490	629165	634449	636850	686194	697724	719535	705557	722585	791219	791654
GC content, %	27.5	23.8	26.4	25.7	28.2	27.1	33.2	22.0	25.2	27.38	27.5	29.5	29.6
total gene number	590	589	624	614	627	631	651	657	679	631	631	658	658
CDS	537	545	575	572	572	586	595	611	618	583	587	609	610
coding regions, %	94.0	92.2	93.6	94.9	93.3	95.2	85.5	87.0	84.4	83.2	81.7	76.7	76.7
average length CDS, bp	1028	1025	1029	1044	1034	1035	986	993	983	1007	1006	996	995
tRNAs	34	32	34	33	33	34	39	34	35	37	37	40	40
GenBank accession No.	CP003000	CP003015	AP012548	CP003535	CP003605	CP001487	CP000238	BA000021	CP003315	BX248583	CP002189	CP003903	CP000016

传谱系有密切的关系。

基因组 GC 含量是基因组的重要特征之一,原核生物基因组 GC 含量一般都在 20% - 75% 之间,而 GC 含量的差异可能与生物所处的环境和习性有关。通常情况下,随着基因组的减小,细菌基因组 GC 含量也会相应减少^[34]。由于昆虫专性内共生细菌生活在寄主细胞内,长期处于封闭的高营养的环境中,其基因组极端减少现象非常普遍,因此其基因组 GC 含量大多数都在 15% - 35% 之间(表 2),远远低于自由生活细菌基因组的 GC 含量。一般我们认为,较高的 AT 含量是内共生关系下有害变异(deleterious mutations)累积的表现,且 GC 含量通常与基因组大小成正相关^[35]。如基因组极端减少的 *Carsonella* 和 *Zinderia*,它们的 GC 含量极低,均小于 20%,最低的甚至达到了 13.5% (表 2)。造成这一现象的机制可能为:(1) 环境适应机制,基于能量约束的选择性,GTP 和 CTP 的合成需要更多的代谢能量,而 ATP 在细胞中较多;(2) 突变压力机制,极端减少的基因组由于缺失了大量的修复基因而引起的自发化学变化^[36]。

然而近期的研究发现,除 *Nasuia* 外,基因组最小的两种专性内共生细菌——*Tremblaya* 和 *Hodgkinia* 的 GC 含量显著高于其它专性共生细菌,且与自由生活的细菌 GC 含量相当(如大肠杆菌 GC 含量为 50.8%),达到了 58%^[15, 36]。*Hodgkinia* 属于 α -变形菌纲(α -Proteobacteria)根瘤菌目(Rhizobiales),而大多数 α -变形菌细菌基因组(*Rickettsia* 除外) GC 含量均较高。*Tremblaya* 属于 β -变形菌纲(β -Proteobacteria),与同属 β -变形菌纲的 *Zinderia* 的 GC 含量是两个不同的极端(表 2)。造成这一现象的原因目前还不是很清楚,有待于进一步深入研究。

3 昆虫专性内共生细菌系统进化分析

昆虫专性内共生细菌主要属于变形菌门(proteobacteria)和拟杆菌门(bacteroidetes)。归于变形菌门中的专性共生细菌有一半属于 γ -变形菌亚门(Gammaproteobacteria),其中包括肠杆菌纲(Enterobacteriaceae)的 *Blochmannia*、*Baumannia*、*Riesia*、*Wigglesworthia*、*Ishikawaella* 和 *Buchnera* 等,盐单胞菌科(Halomonadaceae)的 *Portiera*。属于 α -变

形菌(Alphaproteobacteria)有 *Hodgkinia* 和 *Rickettsia*。属于 β -变形菌(Betaproteobacteria)有 *Tremblaya* 和 *Zinderia*。此外,拟杆菌门有 3 种,分别是 *Uzinura*、*Blattabacterium* 和 *Sulcia* (图 2)。

通过对化石标本的进化分析,专性内共生细菌与宿主昆虫有长期的进化关系(四千万年到几亿年),只能通过母系遗传,且与宿主昆虫的遗传谱系有密切的关系^[11]。虽然其进化分支不同,但专性内共生细菌都有相类似的基因组特征,如栖息于特殊的宿主器官中(含菌体)、不能水平传播、能为宿主提供必需营养、极端减少的基因组(小于 1 Mb)、缺少大量基因(噬菌体基因、摄取和修复重组基因)等。通过序列分析发现专性内共生细菌 16S rDNA 核酸序列每 5000 万年有 1% - 2% 的变化,这个进化速度是能独立生活细菌的两倍^[3]。不同分支的专性内共生细菌通过长期与宿主协同进化,在基因组特征及功能作用上都极为相似,昆虫专性内共生细菌表现出明显的趋同进化特性(convergent evolution)。

4 宿主与共生细菌的营养互补

由于昆虫的特殊取食习性,导致其营养的不均衡。特别是一些取食植物汁液的刺吸式口器昆虫,它们从食物中获取了过量的糖类物质,而获取的必需氨基酸非常少^[4]。通常这些昆虫体内都有与其协同进化的共生细菌种群,能够利用宿主提供的糖类和必需营养物质合成宿主缺乏的必需氨基酸以及维生素辅因子等营养物质。虽然专性内共生细菌缺失了大量的基因,但其仍有选择地保留了合成这些必需营养的关键基因。如豌豆蚜 *A. pisum* 专性内共生细菌 *Buchnera* 基因组保留了 54 个基因参与氨基酸合成,但参与非必需氨基酸合成途径的基因几乎完全缺失,需要由宿主豌豆蚜提供^[5]。*Tremblaya* 基因组是一个极端减少的例子,整个基因组仅有 121 个编码蛋白,但仍保留了部分基因参与 10 个必需氨基酸合成途径。虽然通过其基因组分析发现 *Tremblaya* 仍缺失一些必须的合成基因,但其宿主 *Planococcus citri* 可能提供一些酶类共同参与完成这些合成途径^[36]。

专性内共生细菌除了与宿主昆虫之间的营养互补外,共生细菌之间也存在一定的互补和协作,包

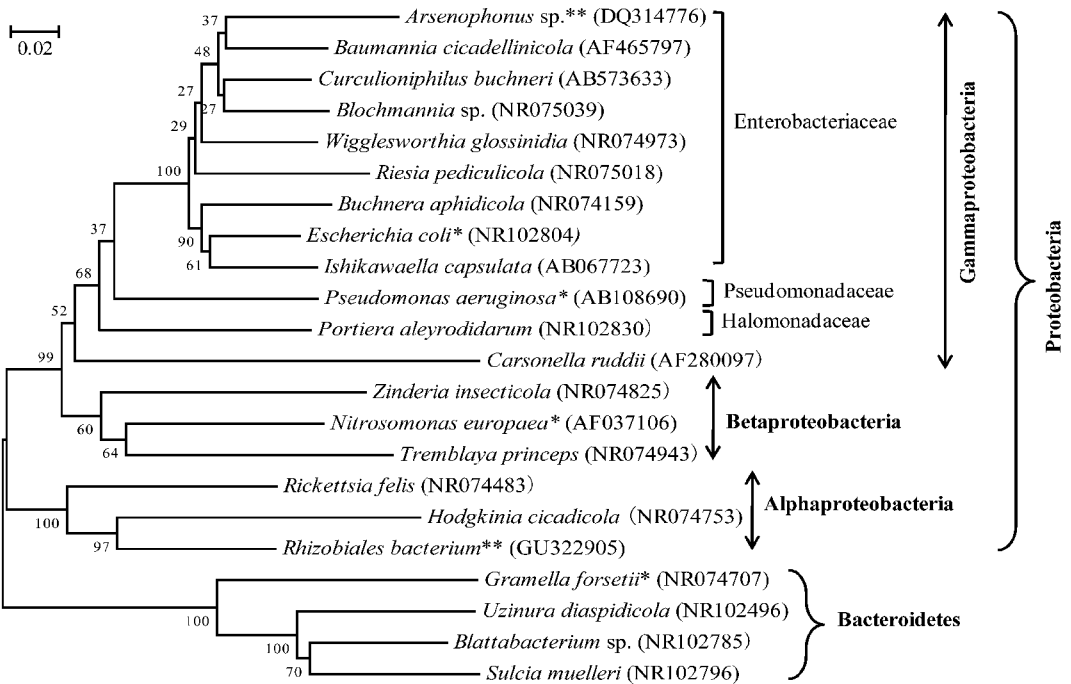


图 2. 昆虫专性内共生细菌 16S rDNA 基因序列 (1249 位点) 系统发育分析 (MEGA5.0)

Figure 2. Phylogenetic tree based on 16S ribosomal DNA sequences of obligate endosymbionts (1249 sites) using MEGA5.0. ‘*’ refers to Non-symbiont; ‘**’ refers to facultative endosymbionts in insects. Numbers at each branch points represent bootstrap values (1000 resampling). Numbers in parenthese represent the sequences’ accession number in GenBank. Bar represents 2% sequence divergence.

括双共生的专性内共生细菌之间、专性内共生细菌和兼性内共生细菌之间。如玻璃叶蝉 (*Homalodisca coagulata*) 含菌细胞内有双共生专性内共生细菌, 分别为拟杆菌门 (Bacteroidetes) 的 *Sulcia* 和 γ -变形菌门 (Gammaproteobacteria) 肠杆菌科 (Enterobacteriaceae) 的 *Baumannia* (图 2) [19]。从基因组角度分析, 这两种专性内共生细菌有明显的代谢互补作用。如 *Sulcia* 有完整的亮氨酸 (leucine)、缬氨酸 (valine)、苏氨酸 (threonine)、异亮氨酸 (isoleucine)、苯基丙氨酸 (phenylalanine) 和色氨酸 (tryptophan) 合成途径, 而这些途径 *Baumannia* 都缺失。与之互补, *Baumannia* 有完整的组氨酸 (histidine) 合成途径。此外, 这两种共生细菌可能共同完成一些必须营养的合成途径。如 *Sulcia* 提供高丝氨酸 (homoserine), 可能使 *Baumannia* 完成蛋氨酸 (methionine) 的合成途径; *Baumannia* 基因组内有一条几乎完整的脂肪酸合成途径, 仅缺失 *fabF* 基因, 而 *Sulcia* 编码的唯一的脂肪酸合成基因恰巧就是 *fabF* [37]。除了双共生专性内共生细菌外, 专性内共生细菌和兼性内共生细菌之间也存在一定的营养互补作用。如蚜虫体内的兼性内共生细菌

Hamiltonella 依靠专性内共生细菌 *Buchnera* 合成的 8 种必需氨基酸提供营养生存, 与此同时, *Hamiltonella* 能为宿主昆虫和 *Buchnera* 提供 2 种必需氨基酸、7 种非必需氨基酸和大多数必需维生素 [38]。同样, 烟粉虱体内的 *Hamiltonella* 与专性内共生细菌 *Portiera* 之间也存在相似的互补关系, 如: *Hamiltonella* 保留了大量非必需氨基酸 (包括甘氨酸、丝氨酸、丙氨酸、天冬酰胺、谷氨酸等) 以及维生素和辅因子 (包括叶酸、核黄素、生物素、血红素、吡哆醇等) 的合成基因, 这些基因 *Portiera* 几乎完全缺失。但 *Portiera* 保留了大量必需氨基酸和类胡萝卜素的合成基因, 为宿主和 *Hamiltonella* 提供必需营养, 同时也为 *Hamiltonella* 的代谢提供重要的前体或中间体 [16, 39]。宿主昆虫对专性内共生细菌营养上的依赖, 为人为调控其营养合成通路, 从而达到害虫防治目的提供了新思路。

5 结论和展望

昆虫专性内共生细菌在许多害虫 (特别是刺吸式口器害虫) 的生存、繁殖、进化等方面有着重要的

作用,其功能研究是近年国内外研究的前沿和热点。由于专性内共生细菌缺失了大量的基因,导致其不能在宿主体外生存而无法纯培养,不能通过常规生物学方法对其进行功能研究。利用新一代测序技术发展起来的高通量技术为上述问题提出了新的解决方案,通过宏基因组(metagenome)测序技术能够不依赖人工培养,直接获得昆虫体内共生细菌全部基因组的集合,为人类逐步深入了解内共生细菌的系统发育关系、群落功能、与宿主协同进化提供技术支持。

基因组学技术仍在不断发展、完善,目前昆虫内共生细菌方面的研究还存在一些亟待解决的问题。昆虫专性内共生细菌普遍存在基因组极端减少的现象,它们仅保留了少量可能参与宿主昆虫必需营养合成的基因,然而这些基因的生物学功能目前还不是很清楚。此外,专性内共生细菌和兼性内共生细菌之间的互作机制还有待于我们进一步研究。通过宏转录组学、基因芯片等技术可以对特定条件下的内共生细菌以及可能起关键作用的基因进行相关功能的研究,能够更加深入理解其生物学本质。另一方面,虽然基因组学已为内共生细菌与宿主昆虫协同进化、共生互作等方面提供了共生细菌层面的基因水平信息,但目前已知全基因组序列的昆虫种类还不多,制约了我们从宿主昆虫的角度理解宿主是如何调控内共生细菌以及宿主在这个共生系统中的作用。2011年美国昆虫学家 Gene Robinson 联合多位国际著名昆虫学家提出 5000 种昆虫全基因组测序计划,即 i5K 计划 <http://www.arthropodgenomes.org/wiki/i5K>,该计划的目标是五年内完成农业、食品安全、医药、能源生产等方面已知重要昆虫的全基因组测序及分析工作^[40],相信这个计划的完成也将为我们更深入的理解内共生细菌与宿主昆虫共生互作机制提供更全面的信息。综上所述,通过综合运用基因组学、转录组学、蛋白组学、细胞生物学及生化技术等高科技技术,将为我们深入了解这一共生互作机制并进行人为调控提供新的思路和方法。

致谢:感谢浙江大学博士研究生邴孝利提供烟粉虱内共生细菌的荧光原位杂交原始图片(图1)。

参考文献

[1] Douglas AE. Nutritional interactions in insect-microbial

symbioses: Aphids and their symbiotic bacteria *Buchnera*. *Annual Review of Entomology*, 1998, 43: 17-37.

- [2] Brownlie JC, Johnson KN. Symbiont-mediated protection in insect hosts. *Trends in Microbiology*, 2009, 17 (8): 348-354.
- [3] Baumann P. Biology of bacteriocyte-associated endosymbionts of plant sap-sucking insects. *Annual Review of Microbiology*, 2005, 59: 155-189.
- [4] Douglas AE. Phloem-sap feeding by animals: problems and solutions. *Journal of Experimental Botany*, 2006, 57 (4): 747-754.
- [5] Shigenobu S, Watanabe H, Hattori M, Sakaki Y, Ishikawa H. Genome sequence of the endocellular bacterial symbiont of aphids *Buchnera* sp. APS. *Nature*, 2000, 407(6800): 81-86.
- [6] Wilkinson TL, Koga R, Fukatsu T. Role of host nutrition in symbiont regulation: impact of dietary nitrogen on proliferation of obligate and facultative bacterial endosymbionts of the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73 (4): 1362-1366.
- [7] Ghanim M, Kontsedalov S. Susceptibility to insecticides in the Q biotype of *Bemisia tabaci* is correlated with bacterial symbiont densities. *Pest Management Science*, 2009, 65 (9): 939-942.
- [8] Hedges LM, Brownlie JC, O'Neill SL, Johnson KN. *Wolbachia* and virus protection in insects. *Science*, 2008, 322 (5902): 702-702.
- [9] Oliver KM, Noge K, Huang EM, Campos JM, Becerra JX, Hunter MS. Parasitic wasp responses to symbiont-based defense in aphids. *BMC Biology*, 2012, 10: 11.
- [10] Scarborough CL, Ferrari J, Godfray HCJ. Aphid protected from pathogen by endosymbiont. *Science*, 2005, 310(5755): 1781-1781.
- [11] Moran NA, McCutcheon JP, Nakabachi A. Genomics and evolution of heritable bacterial symbionts. *Annual Review of Genetics*, 2008, 42 (1): 165-190.
- [12] Williams LE, Wernegreen JJ. Sequence context of indel mutations and their effect on protein evolution in a bacterial endosymbiont. *Genome Biology and Evolution*, 2013, 5 (3): 599-605.
- [13] Tokuda G, Elbourne LD, Kinjo Y, Saitoh S, Sabree Z, Hojo M, Yamada A, Hayashi Y, Shigenobu S, Bandi C, Paulsen IT, Watanabe H, Lo N. Maintenance of essential amino acid synthesis pathways in the *Blattabacterium cuenoti* symbiont of a wood-feeding cockroach. *Biology*

- Letters*, 2013, 9 (3) : 20121153.
- [14] Degnan PH, Ochman H, Moran NA. Sequence conservation and functional constraint on intergenic spacers in reduced genomes of the obligate symbiont *Buchnera*. *PLoS Genetics*, 2011, 7 (9) : e1002252.
- [15] Lopez-Madrigal S, Latorre A, Porcar M, Moya A, Gil R. Complete genome sequence of “Candidatus Tremblaya princeps” strain PCVAL, an intriguing translational machine below the living-cell status. *Journal of Bacteriology*, 2011, 193 (19) : 5587-5588.
- [16] Sloan DB, Moran NA. Endosymbiotic bacteria as a source of carotenoids in whiteflies. *Biology Letters*, 2012, 8 (6) : 986-989.
- [17] Sloan DB, Moran NA. Genome Reduction and Co-evolution between the primary and secondary bacterial symbionts of psyllids. *Molecular Biology and Evolution*, 2012, 29 (12) : 3781-3792.
- [18] Sabree ZL, Huang CY, Okusu A, Moran NA, Normark BB. The nutrient supplying capabilities of *Uzinura*, an endosymbiont of armoured scale insects. *Environmental Microbiology*, 2013, 15 (7) : 1988-1999.
- [19] Wu D, Daugherty SC, Van Aken SE, Pai GH, Watkins KL, Khouri H, Tallon LJ, Zaborsky JM, Dunbar HE, Tran PL, Moran NA, Eisen JA. Metabolic complementarity and genomics of the dual bacterial symbiosis of sharpshooters. *PLoS Biology*, 2006, 4 (6) : 1079-1092.
- [20] McCutcheon JP, McDonald BR, Moran NA. Origin of an alternative genetic code in the extremely small and GC-rich genome of a bacterial symbiont. *PLoS Genetics*, 2009, 5 (7) : e1000565.
- [21] McCutcheon JP, Moran NA. Functional convergence in reduced genomes of bacterial symbionts spanning 200 My of evolution. *Genome Biology and Evolution*, 2010, 2 : 708-718.
- [22] Nikoh N, Hosokawa T, Oshima K, Hattori M, Fukatsu T. Reductive evolution of bacterial genome in insect gut environment. *Genome Biology and Evolution*, 2011, 3 : 702-714.
- [23] Rio RVM, Symula RE, Wang JW, Lohs C, Wu YN, Snyder AK, Bjornson RD, Oshima K, Biehl BS, Perna NT, Hattori M, Aksoy S. Insight into the transmission biology and species-specific functional capabilities of tsetse (Diptera: Glossinidae) obligate symbiont *Wigglesworthia*. *mBio*, 2012, 3 (1) : e00240-11.
- [24] Ogata H, Renesto P, Audic S, Robert C, Blanc G, Fournier PE, Parinello H, Claverie JM, Raoult D. The genome sequence of *Rickettsia felis* identifies the first putative conjugative plasmid in an obligate intracellular parasite. *PLoS Biology*, 2005, 3 (8) : e248.
- [25] Bing XL, Yang J, Zchori-Fein E, Wang XW, Liu SS. Characterization of a newly discovered symbiont of the whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Applied and Environmental Microbiology*, 2013, 79 (2) : 569-575.
- [26] Kono M, Koga R, Shimada M, Fukatsu T. Infection dynamics of coexisting beta- and gammaproteobacteria in the nested endosymbiotic system of mealybugs. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74 (13) : 4175-4184.
- [27] Munson MA, Baumann P, Kinsey MG. *Buchnera* gen. nov. and *Buchnera aphidicola* sp. nov., a taxon consisting of the mycetocyte-associated, primary endosymbionts of aphids. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1991, 41 (4) : 566-568.
- [28] Gatehouse LN, Sutherland P, Forgie SA, Kaji R, Christeller JT. Molecular and histological characterization of primary (betaproteobacteria) and secondary (gammaproteobacteria) endosymbionts of three mealybug species. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78 (4) : 1187-1197.
- [29] Nakabachi A, Yamashita A, Toh H, Ishikawa H, Dunbar HE, Moran NA, Hattori M. The 160-kilobase genome of the bacterial endosymbiont *Carsonella*. *Science*, 2006, 314 (5797) : 267.
- [30] Degnan PH, Lazarus AB, Wernegreen JJ. Genome sequence of *Blochmannia pennsylvanicus* indicates parallel evolutionary trends among bacterial mutualists of insects. *Genome Research*, 2005, 15 (8) : 1023-1033.
- [31] Tamas I, Klasson L, Canback B, Naslund AK, Eriksson AS, Wernegreen JJ, Sandstrom JP, Moran NA, Andersson SG. 50 million years of genomic stasis in endosymbiotic bacteria. *Science*, 2002, 296 (5577) : 2376-2379.
- [32] Blattner FR, Plunkett G, 3rd, Bloch CA, Perna NT, Burland V, Riley M, Collado-Vides J, Glasner JD, Rode CK, Mayhew GF, Gregor J, Davis NW, Kirkpatrick HA, Goeden MA, Rose DJ, Mau B, Shao Y. The complete genome sequence of *Escherichia coli* K-12. *Science*, 1997, 277 (5331) : 1453-1462.
- [33] Bennett GM, Moran NA. Small, smaller, smallest: the origins and evolution of ancient dual symbioses in a

- phloem-feeding insect. *Genome Biology and Evolution*, 2013, 5 (9) : 1675-1688.
- [34] Moran NA. Microbial minimalism: genome reduction in bacterial pathogens. *Cell*, 2002, 108 (5) : 583-586.
- [35] Rispe C, Moran NA. Accumulation of deleterious mutations in endosymbionts: Muller's ratchet with two levels of selection. *American Naturalist*, 2000, 156 (4) : 425-441.
- [36] McCutcheon JP, von Dohlen CD. An interdependent metabolic patchwork in the nested symbiosis of mealybugs. *Current Biology*, 2011, 21 (16) : 1366-1372.
- [37] McCutcheon JP, Moran NA. Parallel genomic evolution and metabolic interdependence in an ancient symbiosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104 (49) : 19392-19397.
- [38] Degnan PH, Yu Y, Sisneros N, Wing RA, Moran NA. *Hamiltonella defensa*, genome evolution of protective bacterial endosymbiont from pathogenic ancestors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106 (22) : 9063-9068.
- [39] Rao Q, Wang S, Su YL, Bing XL, Liu SS, Wang XW. Draft genome sequence of "*Candidatus* Hamiltonella defensa," an endosymbiont of the whitefly *Bemisia tabaci*. *Journal of Bacteriology*, 2012, 194 (13) : 3558.
- [40] Robinson GE, Hackett KJ, Purcell-Miramontes M, Brown SJ, Evans JD, Goldsmith MR, Lawson D, Okamuro J, Robertson HM, Schneider DJ. Creating a Buzz about insect genomes. *Science*, 2011, 331 (6023) : 1386-1386.

Advances in insect obligate endosymbionts and their genomes – A review

Qiong Rao^{*}, Huiming Wu

School of Agriculture and Food Science, Zhejiang A & F University, Lin'an 311300, Zhejiang Province, China

Abstract: In nature, many insects, especially sap-feeding insects, harbor nutritional bacterial symbionts, which are called obligate endosymbionts. These bacteria co-evolved with their hosts for millions of years. Obligate endosymbionts are commonly found in specialized organs, named bacteriomes or mycetomes that consist of a number of insect's cells (bacteriocytes or mycetocytes). Obligate endosymbionts strictly maternally inherited, providing essential amino acids to the hosts, and relating to survival, reproduction and evolution of the insects. Because of enriched nutritional environment, compared to those free-living bacteria, the genomes of obligate endosymbionts have different characteristics, such as genome size, GC content, and gene deletion. Although the genomes of many insect endosymbionts have been carefully analysis, the gene functions of endosymbionts and the interactions between endosymbionts/hosts and endosymbionts remain unknown. Thus, to provide an insight into the co-evolution of endosymbionts and their hosts, further studies of endosymbionts at genetic level are required.

Keywords: symbiont, genome, coevolution, nutritional interaction

(本文责编:王晋芳)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31101437) and by the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (LY14C140003)

^{*} Corresponding author. Tel: +86-571-63742089; E-mail: qiong.rao@163.com

Received: 9 October 2013 / Revised: 24 January 2014