



鳞翅目昆虫病原微孢子虫研究进展

梁喜丽, 鲁兴萌, 邵勇奇*

浙江大学动物科学学院, 家蚕病理学与病害控制研究室, 浙江 杭州 310058

摘要: 微孢子虫广泛存在于鳞翅目昆虫中, 是一类重要的病原微生物。微孢子虫病一方面影响野外昆虫种群的自然平衡, 另一方面对家蚕、柞蚕等经济和资源昆虫造成了严重的危害。微孢子虫分子生物学研究基础相对薄弱, 再加上微孢子虫表面坚厚的孢壁, 无疑增加了研究难度。随着核酸、蛋白质等生物大分子分离制备方法和高通量测序技术的不断更新发展, 基于各种组学(Omics)研究微孢子虫的工作方兴未艾, 并且有了一些重要的发现。本文综述了微孢子虫与鳞翅目昆虫寄主的相互作用及寄生于鳞翅目昆虫的病原微孢子虫基因组、转录组和蛋白质组进展情况, 以为微孢子虫的深入研究提供参考。这些昆虫微生物研究将为鳞翅目害虫生物防治提供新的思路, 并对家蚕等经济昆虫微孢子虫病的诊断、防控及治疗产生积极影响。

关键词: 微孢子虫, 鳞翅目, 生物大分子, 组学

昆虫是地球上数量最多的动物群体, 大量微生物与昆虫共生, 直接或间接对宿主发挥着重要的作用^[1]。有益共生菌对昆虫自身的生长发育发挥有益作用, 如为宿主合成重要的营养成分、参与代谢解毒、免疫健康等^[2-3]。反之, 病原菌、有害微生物可引起昆虫致病和死亡^[4]。微孢子虫(Microsporidia)是一类专性细胞内寄生的单细胞真核生物, 其寄主分布十分广泛, 能够感染昆虫、鱼类、哺乳动物甚至患有免疫缺陷疾病的人类。早期通过形态学分析曾把微孢子虫归类为原生动物门(Protozoa), 后来随着分子生物学的发展, 利用分子标记构建的系

统发育树等都表明微孢子虫是从真菌分化而来, 更接近于真菌^[5]。家蚕微孢子虫 *Nosema bombycis* 于 19 世纪中期在家蚕 *Bombyx mori* (鳞翅目蚕蛾科) 中分离并命名, 是第一个被人类认识的微孢子虫, 由此开启了对微孢子虫研究的大门。由于该病原能够经卵垂直传播和水平传播, 家蚕微孢子虫引起的家蚕微孢子虫病依然是对养蚕业最具威胁的毁灭性病害之一^[6-8]。

迄今, 已有超过 200 属的 1300-1500 种微孢子虫被发现, 可侵染以双翅目和鳞翅目为主的 400 种以上的昆虫^[9]。由于鳞翅目中既有严重危害

基金项目: 国家自然科学基金(31601906); 中央高校基本科研业务费专项资金(2017QNA6024); 浙江大学-百人计划

*通信作者。Tel: +86-571-88982757; E-mail: yshao@zju.edu.cn

收稿日期: 2017-10-08; 修回日期: 2017-12-06; 网络出版日期: 2018-01-24

农作物的害虫(如斜纹夜蛾、甜菜夜蛾等植食性害虫),又有能够授粉(如菜粉蝶、黄蛱蝶和柑橘凤蝶)和产生经济效益的益虫(如家蚕、柞蚕等绢丝昆虫),很多学者对寄生于鳞翅目昆虫的微孢子虫特别是家蚕微孢子虫,进行了大量的实验研究,取得了诸多重要成果,如发现了能够使极管束缚在孢子壁的具有支架作用的孢壁蛋白 NbSWP9^[10]。家蚕微孢子虫基因组的解析及相关分子生物学的发展也极大地促进了微孢子虫的研究^[11],目前对其他鳞翅目昆虫微孢子虫的组学研究还较少。包括家蚕微孢子虫在内的部分鳞翅目昆虫微孢子虫在交换寄主后对其他目的昆虫仍然具有较强的致病性^[12],而一些微孢子虫仅对鳞翅目昆虫具有致病性^[13]。虽然对昆虫微孢子虫的研究和报道已有不少^[14-16],但却鲜有仅针对鳞翅目该类寄生虫进行综述的文章。因此,本文将围绕这些鳞翅目昆虫病原微孢子虫介绍相关研究进展,包括微孢子虫对寄主的侵染及组学研究方法的应用,以期为进一步深入探究病原微孢子虫与寄主相互作用提供参考,以及转化这些知识来防治害虫(如利用微孢子虫生物防治斜纹夜蛾等)并保护益虫(如防控家蚕微孢子虫病等)。

1 微孢子虫与鳞翅目寄主之间的相互作用

1.1 微孢子虫的侵染过程

在鳞翅目中目前发现约有 39 种昆虫可被 37 种微孢子虫侵染,我们利用邻位相连法对其中 12 种主要微孢子虫构建了系统进化树(图 1)。进化分析表明,一些微孢子虫的寄主并不固定,如 *N. bombycis* 和变形孢虫属微孢子虫 *Vairimorpha necatrix* 具有相对较广的寄主范围;同样,同一寄主如小菜蛾

Plutella xylostella (鳞翅目菜蛾科)也可被几种不同的微孢子虫侵染。病原体-寄主相互作用是物种多样化的主要驱动力, Hu 等通过对绿僵菌属 (*Metarhizium*) 的 7 个物种的基因组分析表明,能够广泛寄生的真菌物种是通过具有中间宿主范围的过渡物种演化而来,这种转变与昆虫进化相平衡^[17]。微孢子虫作为一种能够广泛寄生的病原真菌从被发现(瑞士植物学家卡尔·威廉·内格里于 1857 年从家蚕中发现了家蚕微孢子虫 *N. bombycis*)至今已有 160 年^[7],但一直以来并未发现其过渡物种存在的证据。真菌的专一宿主寄生性与性别保留和现有蛋白质的快速进化有关,而其广泛寄生的特性则与蛋白质家族的扩张、基因组防御机制的缺失、基因组重组和水平基因转移有关^[17]。在野外环境中寄主尸体或粪便中的微孢子虫常随着食物链的延伸而变更寄主,微孢子虫本身的多样性和其寄主多样性使包括养蚕业和蜂业在内的经济产业在防治微孢子虫病方面面临巨大的威胁。

相比其他病毒性、细菌性疾病,微孢子虫的侵染和发病是一个相对缓慢的过程^[18]。鳞翅目昆虫取食混有微孢子虫的食物后,孢子在消化道内强碱性环境(pH>10)的刺激下发芽,发芽的孢子通过一种爆发性外翻的“注射针”(即极管、极丝或入侵管)等方式将孢原质注射到寄主细胞的细胞质中^[19-22]。这种入侵方式是通过微孢子虫后极泡和寄主细胞的质膜发生相互反应,引发极丝的弹出和肌动蛋白介导的孢原质的吞没造成^[23]。一些病原性真菌能够通过分泌蛋白酶作用于昆虫的表皮蛋白,以此增强其侵染力^[24]。因此有学者猜测,孢子的发芽及侵染也可能并不单纯依靠外界的环境,而是由适宜的外界条件激活具有蛋白酶活性的表面蛋白进行侵染^[25],尤其是以吞噬方式建立感染时尤为显著^[26]。吞噬方式在其他微孢子虫中

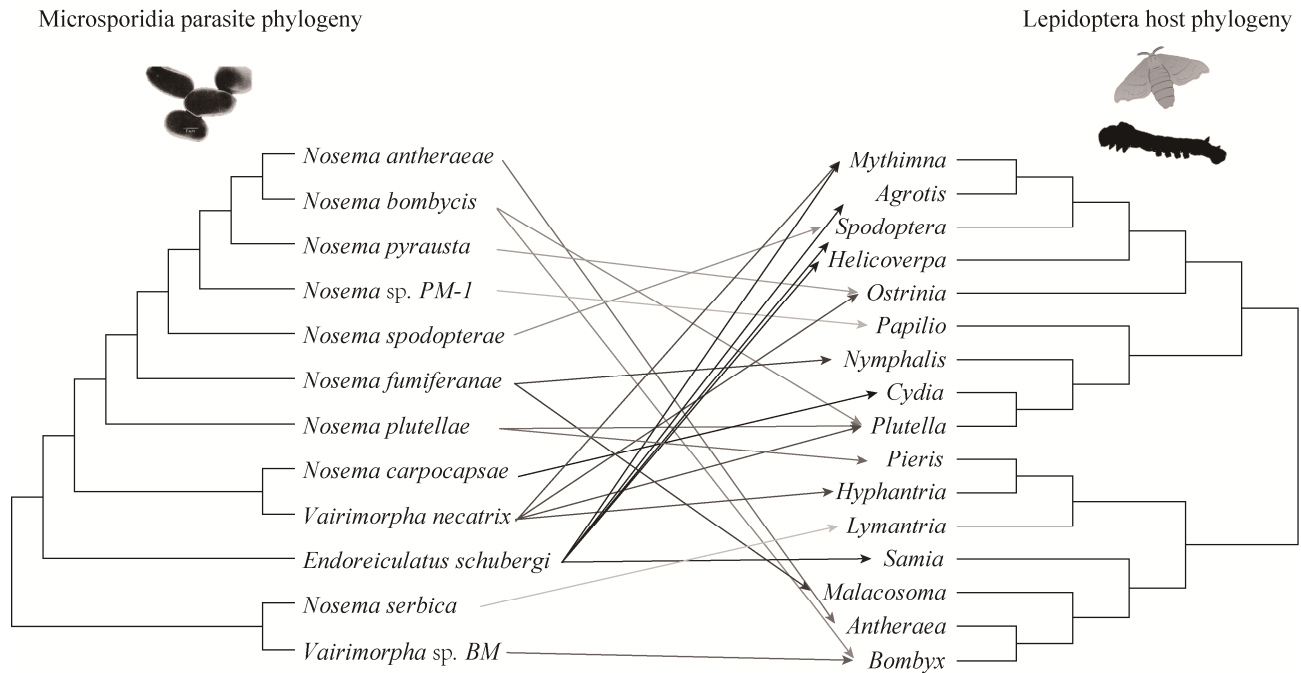


图 1. 微孢子虫与其鳞翅目昆虫寄主的系统发育比较

Figure 1. Comparison of phylogenies of Microsporidia and their Lepidoptera hosts. NJ tree based on the sequence of small subunit ribosomal RNA gene and dopa decarboxylase gene.

已有实证，家蚕微孢子虫传统上也有两种侵染方式，但吞噬方式的实验证据相对较少。

大多数微孢子虫在寄主细胞的细胞质中发育，或者在来源于寄主也可能来源于孢子囊的纳虫空泡内发育^[27]。在极少数情况下，它们侵入寄主细胞核^[28]，如寄生于槲黄粉蝶 *Eurema blanda arsakia* (鳞翅目粉蝶科)的微孢子虫(*Nosema* sp.)更倾向于在寄主细胞核中发育^[29]。

1.2 微孢子虫的侵染部位及症状

微孢子虫可以通过侵染昆虫的中肠、脂肪体、马氏管、卵巢甚至是神经引起昆虫的流行病^[30]。这种侵染主要体现在掠夺寄主的养分、分泌蛋白酶溶解细胞内容物、机械性破坏寄主细胞完整性等方面^[14]。例如，棉铃虫微孢子虫 *Nosema* sp.对棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (鳞翅目夜蛾科)的寄生能够导致寄主中肠微绒毛的脱落、线粒体的大

小和内脊的方向发生变化并最终瓦解^[31]。Kermani 等通过组织学观察发现 *Nosema* 属微孢子虫会优先侵染小菜蛾的脂肪组织和中肠上皮细胞^[32]，并在其细胞质中产生含有消化液的空泡，然后再将细胞器微绒毛和形成的空泡破坏^[33]。Johny 等从斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* (鳞翅目夜蛾科)中分离的微孢子虫能够系统性地侵染寄主，并在其中肠、神经组织、肌肉、下唇腺、性腺、气管、上皮、马氏管等组织中产生成熟的孢子，而在脂肪体中成熟的孢子数量最多^[13]。相对于 *N. bombycis* 在家蚕体内的全身性寄生，从甜菜夜蛾 *Laphygma exigua* (鳞翅目夜蛾科)幼虫分离到的一种微孢子虫在转染家蚕时主要寄生于气管^[34]。可见不同种的微孢子虫在不同寄主中显示出了一定组织倾向性，但是这种特异性产生的原因有待于进一步探明。

微孢子虫严重寄生还能导致寄主外观上的变

化,例如颜色和体型的改变。大黑点白蠹蛾 *Ocinara lida Moore* (鳞翅目蚕蛾科)在被 *Vairimorpha ocinarae* 感染的早期并不出现明显的症状,但在感染的末期幼虫身体从褐色变为浅黄褐色,腹部皮肤透明度增加,肠道肿胀变为浅黄褐色且内部充满液体,而马氏管变为浅粉色、脂肪体萎缩。寄主死亡后,伴随着软组织聚集到身体的后半部分,产生球状外观^[35]。斜纹夜蛾幼虫在感染严重时同样出现了体色变为粉色、外型肿胀的现象^[13]。

脂肪体是生物合成和储存能量的主要器官^[36],同时也是昆虫生长、发育、变态和生殖等代谢活动的中心组织^[37]。值得注意的是,几乎所有种类的微孢子虫都会不同程度地侵染脂肪体,甚至在其中成熟^[13]。微孢子虫对鳞翅目昆虫的感染大多是孢子储存于各组织中,脂肪体全部被侵染,不断充满孢子^[14]。由于脂肪体组织遍布于昆虫体腔,大部分脂肪体位于腹部与消化道紧密联系^[37],因此脂肪体的严重侵染可能是致使被侵染的寄主体型肿胀变大的重要原因。脂肪体同时也是保幼激素酯酶合成的主要位置^[38]。当幼虫的体重或体型达到某一界限时,保幼激素酯酶活性提高,促使其进入蜕皮阶段^[39-40]。Karlhofer 等利用舞毒蛾 *Lymantria dispar* (鳞翅目毒蛾科)幼虫发现,微孢子虫在脂肪体中侵染繁殖时大量消耗寄主的养分,使寄主处于一种类饥饿的状态,保幼激素酯酶合成活性降低,幼虫不能进行正常的发育蜕皮,从而导致蛹化失败^[41]。

2 鳞翅目昆虫病原微孢子虫组学研究

2.1 微孢子虫核酸、蛋白质生物大分子材料获取

任何深入细致的生物学研究都离不开实验对

象,实验材料的好坏甚至能够直接影响实验成功与否。微孢子虫胞内寄生的特点及寄主复杂的肠道菌群使获得相对纯净的微孢子虫变得尤为复杂。微孢子虫分离纯化步骤一般是先将携带微孢子虫的感病个体用研钵或组织匀浆器研磨,然后用棉花、纱布、尼龙滤网等过滤除掉大块的杂质,接着用差速离心法除掉相对较小的杂质,最后用超速或高速离心将孢子纯化^[42-44]。

核酸、蛋白质等生物大分子物质在生命活动中发挥着广泛而重要的作用,是各种生命现象的基础。同样,对微孢子虫生物大分子的研究是揭示其生命活动机理的核心内容。由于微孢子虫体积小、孢壁厚、专性细胞内寄生,因而对微孢子虫的分子生物学研究在第一步获取核酸、蛋白质等生物大分子材料时便受到了不同程度的限制^[7-8]。微孢子虫核酸提取主要包含两部分:破坏孢壁释放孢原质和抽提核酸。目前,破坏孢壁的常用方法有生物学方法(即发芽法)和物理学方法如研磨法、机械破碎法、反复冻融法等(表1)。发芽法与物理破碎相比,具有纯化条件温和、对微孢子虫DNA损伤小的优势,但是核酸提取效率不高。黄少康等对不同来源的家蚕微孢子虫的比较研究发现,新鲜孢子的发芽率一般在30%–50%,经过冷藏后的孢子发芽率则更低^[45]。液氮冻融研磨法对操作人员的技术要求较高,难以准确重复。机械破碎法的优点在于操作简单易行、速度快,把握好破碎的频率与时间是获得最佳破碎效果的关键,破碎过于剧烈使核酸遭到破坏,破碎不足则降低了破碎效率。蔡顺风等发现5500 r/min破碎6×20 s后用酚-氯仿法进行萃取的基因组数量和质量均优于发芽法和液氮研磨法,该方法相较于其他破壁方法具有简单快速的优势^[46]。抽提核酸时除传统的手提法,E.Z.N.A Stool DNA Kit (Omega Bio-tek Inc, GA,

表 1. 微孢子虫核酸制备方法
Table 1. DNA extraction protocol for Microsporidia

Method	Methods for breaking spore wall		Afterward treatment		DNA extraction method**	Reference
	Reagent*	Treatment & Time	Reagent	Treatment & Time		
Germination method	TEK buffer	27 °C for 60 min	–	–	PCI	[47]
	KOH (2.0 mol/L)	27 °C for more than 60 min	TEK buffer	27 °C for 120 min	PCI	[48]
	KOH (0.2 mol/L)	27 °C for 60 min	PBS buffer (pH 7.4)	25 °C for 30 min	PCI or kit	[49]
	KHCO ₃ +K ₂ CO ₃	27 °C for 60 min	PBS buffer (pH 7.4)	25 °C for 30 min	PCI	[50]
	K ₂ CO ₃ (0.2 mol/L)	25 °C for 60 min	PB buffer (pH 7.8)	25 °C for 40 min	PCI	[51]
	Na ₂ CO ₃ +NaCl	Ice bath for 15 min	NaAc (3 mol/L)	50 °C overnight	PCI	[48]
Freeze-Shaw method	ESS buffer	50 °C for 120 min	–	–	PCI	[52]
Microcentrifuge pestle	TECN buffer	Grind adequately	–	–	PCI	[53]
Glass beads homogenize	NSET buffer	Vortex vigorously	SDS-Proteinase K method		Potassium acetate precipitation method	[54]
	Cell lysis buffer	700 g homogenize for 30 s, repeat 3 times	MasterPure DNA purification kit			[55]
	H ₂ O	Homogenize at 5500 r/min for 20 s, repeat 6 times	Treat with Proteinase K by 240 min		PCI	[46]

*TEK buffer: 1 mmol/L Tris-HCl, 0.01 mol/L EDTA, 0.17 mol/L KCl, pH 8.0; KHCO₃+K₂CO₃ buffer: 0.1 mol/L KHCO₃, 0.1 mol/L K₂CO₃; Na₂CO₃+NaCl buffer: 0.1 mol/L Na₂CO₃, 0.15 mol/L NaCl; ESS buffer: 0.1 mol/L EDTA, 0.2% Sodium deoxycholate, 1% sodium N-lauroylsarcosinate, pH 8.0; TECN buffer: 0.1 mol/L Tris-HCl, 0.02 mol/L EDTA, 2% CTAB, 1.4 mol/L NaCl, pH 8.0; NSET buffer: 0.1 mol/L NaCl, 0.2 mol/L Sucrose, 0.01 mol/L EDTA, 0.03 mol/L Tris-HCl, pH 8.0; ** PCI: Phenol, chloroform and isoamyl alcohol (25:24:1).

USA)、MasterPure DNA purification Kit (Illumina , San Diego , CA)和 QIAamp DNA Stool Mini Kit (Qiagen , Hilden , Germany)等均是提取效果相对较好的试剂盒。目前第三代基因组测序如 Pacbio , 具有超长读长、运行时间短、无需模板扩增和边合成边测序等特点。但是对于基因组 DNA 的质量要求相对较高, 至少需要 15 μg、长度大于 50000 bp 的高质量核酸。传统的微孢子虫核酸制备方法均达不到此要求, 因此急需发展新的微孢子虫核酸获取方法。

微孢子虫蛋白质常用提取方法有 SDS 法、煮沸法、碱溶法和 Brosson 法。吴正理等分别用这些方法提取了家蚕微孢子虫孢壁蛋白, 并进行了比较研究和优化。在 Brosson 法中, 先将孢子用 TEK 缓冲液发芽处理, 然后将沉淀反复冻融进行

Percoll (30000 r/min , 30 min)密度梯度离心收集空壳层。结果表明, 4 种方法处理后的孢子形态均保持完整, 从而保证所提取蛋白的含量。SDS 处理后孢子为短杆状且明显变得粗壮, 煮沸处理后孢子变小呈梭形, 其他方法处理的孢子均有膨胀现象。SDS-PAGE 检测显示, Brosson 法提取的孢壁蛋白条带数明显多于其他方法, 表明在分析孢壁蛋白丰富度时该方法可能更具优势^[56]。此外, 结合发芽法与密度梯度离心法, 即 0.1 mol/L 碳酸钾 28 °C 水浴 1.5 h 后用 Percoll 梯度密度离心 (13000 r/min , 40 min), 能够收集到较高纯度的孢壳^[57]。蔡顺风等则用发芽法、液氮冻融研磨法和不同破碎频率、破碎时间的玻璃珠破碎法对家蚕微孢子虫的蛋白提取得率与丰度进行比较。分析显示玻璃珠破碎法(5500 r/min , 6×20 s)的蛋白得率

显著高于发芽法和液氮研磨法,且蛋白丰度也是3种方法中最好的。该方法操作简单、速度快、成本低,不需加入额外试剂,可最大程度地保持核酸和蛋白不被降解或污染^[46]。

2.2 微孢子虫基因组、转录组和蛋白质组相关研究

随着高通量测序技术和质谱技术的不断发展与完善,不同层次和类型的生物组学的研究方法也日趋成熟与完善。基于基因组学、转录组学和蛋白质组学研究微孢子虫的工作方兴未艾,对病原微生物自身特性、侵染过程和对寄主的影响等方面都进行了解析。

大部分微孢子虫的基因组高度简化,其中兔脑炎微孢子虫 *Encephalitozoon cuniculi* 的基因组仅有 2.9 Mb^[58]。这是第一个完成全基因组测序的微孢子虫,测序共获得 2000 个蛋白编码基因,其中 60%的基因为未知功能的基因。高度依赖于寄主的细胞内寄生生活方式使微孢子虫在进化过程中丢失了一些非生长繁殖所必需的基因,减少了内含子和非编码区域的数量,所以对微孢子虫基因组方面的研究主要集中在编码蛋白基因的鉴定及其在基因组中的分布情况、在染色体上的定位和不同微孢子虫间的基因组排布分析。潘国庆等利用全基因组霰弹法对 *N. Bombycis* CQ1 株进行全基因组测序,获得了家蚕微孢子虫全基因组的框架图。测序结果显示,*N. Bombycis* CQ1 基因组大小 15.7 Mb,蛋白质编码序列(coding sequence, CDS)占基因组全长的 21%,重复序列占基因组总长的 45.2%^[11]。与兔脑炎微孢子虫相比,家蚕微孢子虫的偏好性更强,偏向于使用第三位是 A/U 的最优密码子。这种基因组特征的差异性可能由于两者不同的寄生环境所导致^[59]。与柞蚕微孢子虫 *Nosema pernyi* 基因组(6.6 Mb)和蜜蜂 *Apis mellifera*

(膜翅目蜜蜂科)微孢子虫 *Nosema apis* 基因组(7.9 Mb)相比,家蚕微孢子虫基因组扩张程度更高,主要是因为寄主来源的转座子增殖、细菌来源的基因水平转移以及大量的基因复制。由于家蚕微孢子虫具有广泛的寄主范围,基因组的扩张可能有助于病原体提升在寄主内的适应性^[11]。例如,与细胞毒性代谢途径相关的几个复制基因受到正向选择,暗示这种适应性进化在提高寄生虫侵染力上的重要作用。Wiredu 等也发现 *Enterospora canceri* 能够通过转运蛋白家族的扩张增强对胞内寄生的适应性^[60]。因此可以考虑将家蚕微孢子虫基因组中被复制的基因作为抵抗微孢子病的靶标。Xu 等对菜粉蝶 *Pieris rapae* (鳞翅目粉蝶科)体内分离到的微孢子虫 *Nosema* sp. Isolate YNPr 基因组进行 Illumina 二代测序。该微孢子虫基因组大小为 3.36 Mb,GC 含量为 23.18%,具有 2075 个蛋白质编码序列。菜粉蝶微孢子虫大部分代谢相关基因数量与蜜蜂微孢子虫的相近,但是关于转录、一般功能和半胱氨酸蛋白酶基因的种类与转座子的数量少于蜜蜂微孢子虫。作者认为可能是自然选择导致了微孢子虫基因组小范围但活跃的改变^[61]。

转录组学是研究微孢子虫与寄主相互作用的有利手段,一般通过不同处理方法或不同处理时间分别对微孢子虫和寄主转录组数据进行比较,找出其中差异表达基因并分析其生物学功能。孢子萌发是微孢子虫生活史中向侵染期转变的关键步骤^[62]。Liu 等利用 RNA-Seq 分析发芽微孢子虫和未发芽微孢子虫,结果发现在两组不同微孢子虫中有 66 个差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs),这些差异表达基因涉及糖代谢、孢壁蛋白和蓖麻毒素 B 凝集素等。其中磷酸酶蛋

白相关基因的表达显著上调,表明脱磷酸化作用可能有助于孢子的发芽^[63]。Yue 等利用数字基因表达分析方法对经口感染家蚕微孢子虫的家蚕幼虫在感染后的 6、12、18、24、48、72、96 h 进行转录图谱分析,结果发现在这 7 个时间点内有 80 到 773 个 DEGs。KEGG 通路分析进一步发现这些差异表达基因主要与叶酸的生物合成、剪接体、烟酸和烟酰胺代谢、溶酶体的蛋白加工、核糖体的生物合成和 RNA 的降解有关^[64]。

病原体对寄主的影响主要体现在扰乱寄主自身基础代谢和产生强烈的免疫反应。比如被微孢子虫寄生的家蚕其嘧啶、氨基酸、辅因子、维生素的代谢以及遗传信息的转录和外源性生物转化等基因在感染过程中均出现了显著的表达上调^[65]。营养代谢的加速为寄主增强体质抵抗病原提供了保障,但无疑也被孢子利用进行繁殖。通常情况下,病原微生物的入侵能够刺激无脊椎动物模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs),触发细胞免疫信号通路引发下游的防御反应,产生抗菌肽(antimicrobial peptides, AMPs)或者与微生物结合通过吞噬或包被作用直接将其杀死^[66]。如柞蚕受到柞蚕微孢子虫感染时,通过 ApGNBP、ApSPZ、ApMyD88 和 ApCACT 等基因表达的上调,激活体内的 Toll 通路,启动先天免疫系统^[67]。而当家蚕受到 *N. bombycis* 感染时,寄主可以通过肽聚糖识别蛋白(peptidoglycan recognition proteins, PGRPs)和革兰氏阴性菌结合蛋白(Gram-negative binding proteins, GNBPs)等 PRRs 识别微孢子虫,并激活 Toll 通路和 JAK/STAT 通路,产生包括 gloverins、Ibocins 和 moricins 在内的 AMPs。Ma 等利用芯片技术对感染 *N. bombycis* 的家蚕在不同时间段取样进行全基因组表达谱测序。结果发现

感染 *N. bombycis* 的家蚕幼虫保幼激素合成相关基因表达量上调,而代谢相关的基因下调^[65]。保幼激素的积累有助于刺激寄主的免疫系统产生更多的抗菌肽^[68],因此提高保幼激素分泌水平可能是家蚕抵抗微孢子虫侵入的方法之一。但另一方面,保幼激素的产生延长了幼虫的发育周期,增强了寄主的能量代谢,为孢子的增殖提供了充足时间与能量。然而,在另外一些研究中发现,少数微孢子虫在侵染寄主后会造成其抗菌肽表达量的下调,例如,蜜蜂被东方蜜蜂微孢子虫 *Nosema ceranae* 感染时抗菌肽基因下调,寄主的免疫反应受到抑制^[69],使得孢子更容易侵入。这种相反的作用效果可能与微孢子虫及其寄主种属密切相关。家蚕还可以通过释放细胞免疫因子如溶菌酶和免疫相关蛋白等抵抗微孢子虫的入侵。针对寄主复杂而强烈的免疫反应,家蚕微孢子虫能够诱导几种细胞免疫因子,如参与孢子识别和免疫信号转导的 CTL11 上调、分泌丝氨酸蛋白酶抑制剂抑制家蚕血淋巴中丝氨酸蛋白酶级联黑化反应等^[65]。

基因是遗传信息的携带者,但是蛋白质却是生命活动的执行者,必须要了解其如何行使功能,才能深入探索生命活动的规律。蛋白质组学的发展加快了研究者对孢子虫生命活动的深入了解。微孢子虫的孢壁具有保护孢子抵抗外界环境刺激、参与孢子侵染传播等重要作用,因而吸引了大量研究者的目光。对孢壁蛋白的研究主要包括组分、分子量、抗原性以及黏附与感染的作用机制。黄少康等利用二维凝胶电泳(2D-PAGE)蛋白质组学,比较家蚕微孢子虫和转寄主连续侵染 24 次的微孢子虫孢壁蛋白,发现有 5 个差异蛋白可能与侵染变异有关^[70]。吴晓霞等利用激光共聚焦显微镜和一维聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)证实了

经 0.2 mol/L KOH 预处理的家蚕微孢子虫能够被粉纹夜蛾 *Trichoplusia ni* 培养细胞所吞噬,且孢壁蛋白条带出现了缺失和弱化,推测可能是 KOH 使孢壁蛋白被分解或构象改变^[71]。Li 等利用单抗 2B10 与孢壁蛋白 EOB13320 免疫共沉淀,发现纯化后的抗原在家蚕微孢子虫的整个生命周期中均被表达,尤其在孢子内壁形成时,表明该蛋白可能对孢子壳的形成和微孢子虫的修复具有重要作用^[72]。唐旭东等用二维凝胶电泳技术对家蚕微孢子虫和内网孢虫属 *Endoreiculatus* 微孢子虫镇江株的总蛋白进行分离,随后利用质谱鉴定差异蛋白。发现这些差异蛋白的功能主要涉及侵染、能量代谢、孢壁组成和遗传信息加工等方面^[73]。高永珍等对家蚕微孢子虫、蓝萤叶甲(鞘翅目叶甲科)微孢子虫、桑尺蠖(鳞翅目尺蛾科)微孢子虫、菜粉蝶(鳞翅目粉蝶科)微孢子虫、丝棉木金星尺蠖(鳞翅目尺蛾科)微孢子虫和从家蚕体内分离出的异型微孢子虫的总蛋白进行一维凝胶电泳和氨基酸组成分析,发现各种孢子总蛋白均含有 16 种氨基酸,但每种氨基酸的相对含量不同。蓝萤叶甲微孢子虫总蛋白中甘氨酸含量最高,其余微孢子虫谷氨酸含量最高,且谷氨酸、天冬氨酸和赖氨酸约占总蛋白中总氨基酸含量的 40%。在分子量约为 89 kDa 的蛋白条带中,蓝萤叶甲微孢子虫的脯氨酸含量最高,并且出现了其他微孢子虫所没有的组氨酸和牛磺酸^[74]。这些结果表明与寄生在鳞翅目昆虫的微孢子虫相比,蓝萤叶甲微孢子虫蛋白质化学性质差异较大,可能与微孢子虫的大小或对不同寄主的侵染力有关。

3 总结和展望

微孢子虫分子生物学研究基础相对薄弱,再

加上微孢子虫表面坚厚的孢壁,无疑增加了研究难度。然而,随着测序技术的不断更新发展使得越来越多的微孢子虫基因组被高质量地成功测序,这将大大推动微孢子虫转录组、蛋白质组等后基因组时代的深入研究。

此外,生命体是一个复杂的调控系统,利用单一组学数据分析病原体-寄主相互作用的局限性愈发显著。因此通过对多种层次和来源的高通量组学的整合分析,系统地研究微孢子虫的侵染机制,确定垂直传播的关键因子以及病害流行因素,已经成为昆虫病原微孢子研究的重要发展方向,将为鳞翅目害虫生物防治提供新的思路,并对家蚕等经济昆虫微孢子病的诊断、防控及治疗等提供新的理论依据。

参考文献

- [1] Chen BS, Lu XM, Shao YQ. Diversity of the gut microbiota in lepidopteran insects and their interaction with hosts. *Acta Entomologica Sinica*, 2017, 60(6): 710–722. (in Chinese)
陈勃生, 鲁兴萌, 邵勇奇. 鳞翅目昆虫肠道微生物的多样性及其与宿主的相互作用. *昆虫学报*, 2017, 60(6): 710–722.
- [2] Shao YQ, Chen BS, Sun C, Ishida K, Hertweck C, Boland W. Symbiont-derived antimicrobials contribute to the control of the lepidopteran gut microbiota. *Cell Chemical Biology*, 2017, 24(1): 66–75.
- [3] Vilanova C, Baixeras J, Latorre A, Porcar M. The generalist inside the specialist: gut bacterial communities of two insect species feeding on toxic plants are dominated by *Enterococcus* sp. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 1005.
- [4] Ormond EL, Thomas APM, Pugh PJA, Pell JK, Roy HE. A fungal pathogen in time and space: the population dynamics of *Beauveria bassiana* in a conifer forest. *FEMS Microbiology Ecology*, 2010, 74(1): 146–154.
- [5] Lu XM, Zhou HC. The relationship between *Nosema bombycis*, other microsporidia and fungi. *Science of Sericulture*, 2007, 33(2): 325–328. (in Chinese)
鲁兴萌, 周华初. 家蚕微孢子虫(*Nosema bombycis*)与其它微孢子虫及真菌的进化关系. *蚕业科学*, 2007, 33(2): 325–328.
- [6] 金伟. 家蚕病理学. 北京: 中国农业出版社, 2001.

- [7] Lu XM, Shao YQ. A review on current status and development trend of pebrine prevention and control technology. *Science of Sericulture*, 2016, 42(6): 945–952. (in Chinese)
鲁兴萌, 邵勇奇. 家蚕微孢子病防控技术研究的发展现状与趋势. *蚕业科学*, 2016, 42(6): 945–952.
- [8] Lu XM, Shao YQ. A review of inspection technology against silkworm pebrine disease. *Science of Sericulture*, 2016, 42(4): 717–721. (in Chinese)
鲁兴萌, 邵勇奇. 家蚕微孢子病检验技术综述. *蚕业科学*, 2016, 42(4): 717–721.
- [9] Stentiford GD, Becnel JJ, Weiss LM, Keeling PJ, Didier ES, Williams BA, Bjornson S, Kent ML, Freeman MA, Brown MJ, Troemel ER, Roesel K, Sokolova Y, Snowden KF, Solter L. Microsporidia-emergent pathogens in the global food chain. *Trends in parasitology*, 2016, 32(4): 336–348.
- [10] Yang DL, Pan LX, Peng P, Dang XQ, Li CF, Li T, Long MX, Chen J, Wu YJ, Du HH, Luo B, Song Y, Tian R, Luo J, Zhou ZY, Pan GQ. Interaction between SWP9 and polar tube proteins of the microsporidian *Nosema bombycis* and function of SWP9 as a scaffolding protein contribute to polar tube tethering to the spore wall. *Infection and Immunity*, 2017, 85(3): e00872–16.
- [11] Pan GQ, Xu JS, Li T, Xia QY, Liu SL, Zhang GJ, Li SG, Li CF, Liu HD, Yang L, Liu T, Zhang X, Wu ZL, Fan W, Dang XQ, Xiang H, Tao ML, Li YH, Hu JH, Li Z, Lin LP, Luo J, Geng L, Wang LL, Long MX, Wan YJ, He NJ, Zhang Z, Lu C, Keeling PJ, Wang J, Xiang ZH, Zhou ZY. Comparative genomics of parasitic silkworm microsporidia reveal an association between genome expansion and host adaptation. *BMC Genomics*, 2013, 14: 186.
- [12] Liu RH, Yang JN, Li YJ, Zhou DX. Controlling effect of *Nosema bombycis* against Locust. *Hubei Agricultural Sciences*, 2012, 51(9): 1797–1799. (in Chinese)
刘仁华, 杨俊年, 李彦杰, 周大祥. 家蚕微孢子虫(*Nosema bombycis*)对蝗虫的防治效果. *湖北农业科学*, 2012, 51(9): 1797–1799.
- [13] Johnny S, Kanginakudru S, Muralirangan MC, Nagaraju J. Morphological and molecular characterization of a new microsporidian (Protozoa: Microsporidia) isolated from *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae). *Parasitology*, 2006, 132(6): 803–814.
- [14] Wang FW, Lu XM. Microsporidiosis in insects. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2003, 40(1): 5–8. (in Chinese)
汪方炜, 鲁兴萌. 昆虫的微孢子虫病. *应用昆虫学报*, 2003, 40(1): 5–8.
- [15] Lu XM, Jin W. Recent advances in taxonomy of phylum microspora. *Bulletin of Science and Technology*, 1999, 15(2): 119–125. (in Chinese)
鲁兴萌, 金伟. 微孢子虫分类学研究进展. *科技通报*, 1999, 15(2): 119–125.
- [16] Shi WP, Ji R. Research and application of entomopathogenic microsporidium. *Chinese Journal of Biological Control*, 2017, 33(1): 11–17. (in Chinese).
石旺鹏, 季荣. 昆虫病原微孢子研究与应用. *中国生物防治学报*, 2017, 33(1): 11–17.
- [17] Hu X, Xiao GH, Zheng P, Shang YF, Su Y, Zhang XY, Liu XZ, Zhan S, St Leger RJ, Wang CS. Trajectory and genomic determinants of fungal-pathogen speciation and host adaptation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(47): 16796–16801.
- [18] Wittner M, Weiss LM. The microsporidia and microsporidiosis. Washington DC: ASM Press, 1999.
- [19] Delbac F, Polonais V. The microsporidian polar tube and its role in invasion/Burleigh BA, Soldati-Favre D. Molecular mechanisms of parasite invasion. *Subcellular Biochemistry*, vol 47. New York: Springer, 2008: 208–220.
- [20] Franzen C. Microsporidia: how can they invade other cells? *Trends in Parasitology*, 2004, 20(6): 275–279.
- [21] Franzen C. How do microsporidia invade cells? *Folia Parasitologica*, 2005, 52(1/2): 36–40.
- [22] Xu YJ, Weiss LM. The microsporidian polar tube: a highly specialised invasion organelle. *International Journal for Parasitology*, 2005, 35(9): 941–953.
- [23] Foucault C, Drancourt M. Actin mediates *Encephalitozoon intestinalis* entry into the human enterocyte-like cell line, Caco-2. *Microbial Pathogenesis*, 2000, 28(2): 51–58.
- [24] Tiago PV, Fungaro MHP, Furlaneto MC. Cuticle-degrading proteases from the entomopathogen *Metarhizium flavoviride* and their distribution in secreted and intracellular fractions. *Letters in Applied Microbiology*, 2002, 34(2): 91–94.
- [25] 鲁兴萌. 蚕桑高新技术研究与进展. 北京: 中国农业大学出版社, 2012.
- [26] Magaud A, Achbarou A, Desportes-Livage I. Cell invasion by the microsporidium *Encephalitozoon intestinalis*. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 2010, 44(S6): 81S.
- [27] Méténier G, Vivarès CP. Molecular characteristics and physiology of microsporidia. *Microbes and Infection*, 2001, 3(5): 407–415.

- [28] Maddox JV, Baker MD, Jeffords MR, Kuras M, Linde A, Solter LF, McManus ML, Vávra J, Vossbrinck CR. *Nosema portugal* n. sp., isolated from gypsy moths (*Lymantria dispar* L.) collected in Portugal. *Journal of Invertebrate Pathology*, 1999, 73(1): 1–14.
- [29] Tsai YC, Solter LF, Wang CY, Fan HS, Chang CC, Wang CH. Morphological and molecular studies of a microsporidium (*Nosema* sp.) isolated from the thee spot grass yellow butterfly, *Eurema blanda arsakia* (Lepidoptera: Pieridae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 2009, 100(2): 85–93.
- [30] Hu WL, Xu QY, Tang B, Wang SG. Advance of study of the pathogenicity and transmission of Microsporidia to insects' immune and reproduction. *Journal of Environmental Entomology*, 2014, 36(6): 1040–1045. (in Chinese)
胡微蕾, 徐青叶, 唐斌, 王世贵. 微孢子虫致病与传播及其对昆虫免疫繁殖作用的研究进展. *环境昆虫学报*, 2014, 36(6): 1040–1045.
- [31] Ran HF, Feng SL, Pan WL, Fan XH. Observations on histopathology of tissue infected by *Nosema* sp. (Microsporidia) in *Helicoverpa armigera* (Hubner) larvae. *Acta Entomologica Sinica*, 2003, 46(1): 118–120. (in Chinese)
冉红凡, 冯书亮, 潘文亮, 范秀华. 棉铃虫幼虫感染棉铃虫微孢子虫后的组织病理变化. *昆虫学报*, 2003, 46(1): 118–120.
- [32] Kermani N, Abu-Hassan ZA, Dieng H, Ismail NF, Attia M, Abd Ghani I. Pathogenicity of *Nosema* sp. (Microsporidia) in the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *PLoS One*, 2013, 8(5): e62884.
- [33] Salkeld EH. A toxicological and histophysiological study of certain new insecticides as "Stomach Poisons" to the honey bee *Apis mellifera* L. *The Canadian Entomologist*, 1951, 83(2): 39–52.
- [34] Yang Q, Li FT, Wu FQ, Tang CM, Luo GQ. Characterization of a microsporidium isolated from larvae of beet armyworm, *Laphygma exigua* H. *Science of Sericulture*, 2007, 33(1): 57–61. (in Chinese)
杨琼, 李夫涛, 吴福泉, 唐翠明, 罗国庆. 一种从甜菜夜蛾分离的微孢子虫的生物学特性研究. *蚕业科学*, 2007, 33(1): 57–61.
- [35] Wang CY, Solter LF, Huang WF, Tsai YC, Lo CF, Wang CH. A new microsporidian species, *Vairimorpha ocinarae* n. sp., isolated from *Ocinara lida* Moore (Lepidoptera: Bombycidae) in Taiwan. *Journal of Invertebrate Pathology*, 2009, 100(2): 68–78.
- [36] Arrese EL, Soulages JL. Insect fat body: energy, metabolism, and regulation. *Annual Review of Entomology*, 2010, 55(1): 207–225.
- [37] Wu QY. Body fat metabolism. *Chinese Bulletin of Entomology*, 1981, (2): 47–50. (in Chinese)
吴秋雁. 昆虫脂肪体的代谢作用. *应用昆虫学报*, 1981, (2): 47–50.
- [38] Wroblewski VJ, Harshman LG, Hanzlik TN, Hammock BD. Regulation of juvenile hormone esterase gene expression in the tobacco budworm (*Heliothis virescens*). *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1990, 278(2): 461–466.
- [39] Davidowitz G, Nijhout HF. The physiological basis of reaction norms: the interaction among growth rate, the duration of growth and body size. *Integrative and Comparative Biology*, 2004, 44(6): 443–449.
- [40] Callier V, Nijhout HF. Control of body size by oxygen supply reveals size-dependent and size-independent mechanisms of molting and metamorphosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(35): 14664–14669.
- [41] Karlhofer J, Schafellner C, Hoch G. Reduced activity of juvenile hormone esterase in microsporidia-infected *Lymantria dispar* larvae. *Journal of Invertebrate Pathology*, 2012, 110(1): 126–128.
- [42] Zhou C, Pan GQ, Wan YJ, Zhou ZY. Optimization of the procedures of isolation and purification of *Nosema bombycis* in silkworm. *Newsletter of Sericultural Science*, 2002, 22(1): 7–9. (in Chinese)
周成, 潘国庆, 万永继, 周泽扬. 家蚕微孢子虫 *N. bombycis* 分离纯化方法的优化. *蚕学通讯*, 2002, 22(1): 7–9.
- [43] Jiang YR, Deng ZH, Wang BY, Duan YX, Qin L. Study on the method of separation and purification in *Nosema pernyi*. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2011, 48(2): 452–456. (in Chinese)
姜义仁, 邓真华, 王伯阳, 段玉玺, 秦利. 柞蚕微孢子虫孢子分离纯化方法. *应用昆虫学报*, 2011, 48(2): 452–456.
- [44] Liu HD, Ding ST, Qin QZ, Tang J, Liu L, Peng HM. Morphological and phylogenetic analysis of *Nosema* sp. HR (Microsporidia, Nosematidae): a new microsporidian pathogen of *Hestia rhodope* Cramer (Lepidoptera, Zygaenidae). *Parasitology Research*, 2015, 114(3): 983–988.
- [45] Huang SK, Lu XM, Wang FW, Jin W, Chen SL. Comparative study on spore surface proteins of two microsporidia and their infectivity to silkworm *Bombyx mori*. *Science of Sericulture*,

- 2004, 30(2): 157–163. (in Chinese)
- 黄少康, 鲁兴萌, 汪方炜, 金伟, 陈盛祿. 两种微孢子虫孢子表面蛋白及对家蚕侵染性的比较研究. *蚕业科学*, 2004, 30(2): 157–163.
- [46] Cai SF, He XY, He XK, Qiu HH, Li GC, He YQ, Lu XM. A protocol for fast and efficient preparation of genomic DNA and total proteins of *Nosema bombycis*. *Science of Sericulture*, 2011, 37(6): 1019–1024. (in Chinese)
- 蔡顺风, 何欣怡, 何祥康, 邱海洪, 李光才, 何永强, 鲁兴萌. 一种快速高效制备家蚕微孢子虫基因组DNA和总蛋白的方法. *蚕业科学*, 2011, 37(6): 1019–1024.
- [47] Pan MH, Wan YJ, Lu C. Studies on the methods for preparing DNA and of different species of microsporidia. *Journal of Southwest Agricultural University*, 2001, 23(2): 111–112. (in Chinese)
- 潘敏慧, 万永继, 鲁成. 不同种类微孢子虫 DNA 制备方法的研究. *西南大学学报(自然科学版)*, 2001, 23(2): 111–112.
- [48] Li FT, Wang YW. The comparison of microsporidian DNA extraction method. *Guangdong Sericulture*, 2006, 40(3): 32–34. (in Chinese)
- 李夫涛, 王彦文. 微孢子虫 DNA 提取方法的比较. *广东蚕业*, 2006, 40(3): 32–34.
- [49] He YQ, Wu S, Lu XM, Qiu HH, Shuai JB, Zhang XF, Wang SH, Xu GQ, Li GC, Dong Q. Influence of DNA extraction methods on detection of *Nosema bombycis* by traditional PCR and real-time PCR methods. *Acta Entomologica Sinica*, 2011, 54(11): 1329–1334. (in Chinese)
- 何永强, 吴姍, 鲁兴萌, 邱海洪, 帅江冰, 张晓峰, 王素华, 徐国群, 李光才, 董强. 不同 DNA 抽提方法对普通 PCR 和实时荧光定量 PCR 方法检测家蚕微孢子虫的影响. *昆虫学报*, 2011, 54(11): 1329–1334.
- [50] Zhang HY, Wan M, Fei C, Qian YH, Lu XM. Clone and phylogenetic analysis of partial α -tubulin gene of *Nosema bombycis* (Zhejiang Strain). *Science of Sericulture*, 2007, 33(1): 49–56. (in Chinese)
- 张海燕, 万淼, 费晨, 钱永华, 鲁兴萌. 家蚕微孢子虫(浙江株) α -微管蛋白基因部分片段的克隆及系统发育分析. *蚕业科学*, 2007, 33(1): 49–56.
- [51] Chen X, Huang KW, Shen ZY, Wang HL, Huang JT, Zhuang M, Feng XL, Lu CD. Studies on PCR inspection technique of *Nosema bombycis*. *Canye Kexue*, 1996, 22(4): 229–234. (in Chinese)
- 陈秀, 黄可威, 沈中元, 王红林, 黄君霆, 庄敏, 冯晓黎, 陆长德. 家蚕微孢子虫病的 PCR 诊断技术研究. *蚕业科学*, 1996, 22(4): 229–234.
- [52] Akiyoshi DE, Morrison HG, Lei S, Feng XC, Zhang QS, Corradi N, Mayanja H, Tumwine JK, Keeling PJ, Weiss LM, Tzipori S. Genomic survey of the non-cultivable opportunistic human pathogen, *Enterocytozoon bieneusi*. *PLoS Pathogens*, 2009, 5(1): e1000261.
- [53] James TY, Pelin A, Bonen L, Ahrendt S, Sain D, Corradi N, Stajich JE. Shared signatures of parasitism and phylogenomics unite Cryptomycota and microsporidia. *Current Biology*, 2013, 23(16): 1548–1553.
- [54] Morsy K, Bashtar AR, Abdel-Ghaffar F, Al-Quraishy S. Morphological and phylogenetic description of a new xenoma-inducing microsporidian, *Microsporidium aurata* nov. sp., parasite of the gilthead seabream *Sparus aurata* from the Red Sea. *Parasitology Research*, 2013, 112(11): 3905–3915.
- [55] Ndikumana S, Pelin A, Williot A, Sanders JL, Kent M, Corradi N. Genome analysis of *Pseudoloma neurophilia*: A microsporidian parasite of zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 2017, 64(1): 18–30.
- [56] Wu ZL, Tan XH, Pan GQ, Li YH, Zhou ZY. Extraction of spore wall proteins of *Nosema bombycis* with improved methods. *Science of Sericulture*, 2007, 33(1): 62–66. (in Chinese)
- 吴正理, 谭小辉, 潘国庆, 李艳红, 周泽扬. 家蚕微孢子虫 (*Nosema bombycis*) 孢壁蛋白提取方法的优化研究. *蚕业科学*, 2007, 33(1): 62–66.
- [57] Tan XH, Pan GQ, Wu ZL, Li YH, Zhang RZ, Xu JS, Zhou ZY. Relationship between the germination and spore wall proteins in *Nosema bombycis*. *Acta Zoologica Sinica*, 2008, 54(6): 1068–1074. (in Chinese)
- 谭小辉, 潘国庆, 吴正理, 李艳红, 张瑞芝, 许金山, 周泽扬. 家蚕微孢子虫孢壁蛋白与其发芽的相关性. *动物学报*, 2008, 54(6): 1068–1074.
- [58] Rossi P, La Rosa G, Ludovisi A, Tamburrini A, Morales MAG, Pozio E. Identification of a human isolate of *Encephalitozoon cuniculi* type I from Italy. *International Journal for Parasitology*, 1998, 28(9): 1361–1366.
- [59] Zhang RZ, Xiang H, Pan GQ, Li T, Zhou ZY. Comparison of the codon bias between two microsporidian genomes. *Newsletter of Sericultural Science*, 2011, 31(1): 1–8. (in Chinese)
- 张瑞芝, 向恒, 潘国庆, 李田, 周泽扬. 两种微孢子虫全基因组中密码子偏好性比较. *蚕学通讯*, 2011, 31(1): 1–8.
- [60] Wiredu BD, Jaroenlak P, Prachumwat A, Williams TA, Bateman KS, Itsathitphaisarn O, Sritunyalucksana K,

- Paszkiewicz KH, Moore KA, Stentiford GD, Williams BAP. Decay of the glycolytic pathway and adaptation to intranuclear parasitism within *Enterocytozoonidae* microsporidia. *Environmental Microbiology*, 2017, 19(5): 2077–2089.
- [61] Xu JS, He Q, Ma ZG, Li T, Zhang XY, Debrunner-Vossbrinck BA, Zhou ZY, Vossbrinck CR. The genome of *Nosema* sp. Isolate YNPr: A comparative analysis of genome evolution within the *Nosema/Vairimorpha* clade. *PLoS One*, 2016, 11(9): e0162336.
- [62] Liu H, Chen BS, Hu SR, Liang XL, Lu XM, Shao YQ. Quantitative proteomic analysis of germination of *Nosema bombycis* spores under extremely alkaline conditions. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 1459.
- [63] Liu H, Li MQ, He XY, Cai SF, He XK, Lu XM. Transcriptome sequencing and characterization of ungerminated and germinated spores of *Nosema bombycis*. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica(Shanghai)*, 2016, 48(3): 246–256.
- [64] Yue YJ, Tang XD, Xu L, Yan W, Li QL, Xiao SY, Fu XL, Wang W, Li N, Shen ZY. Early responses of silkworm midgut to microsporidium infection—a digital gene expression analysis. *Journal of Invertebrate Pathology*, 2015, 124: 6–14.
- [65] Ma ZG, Li CF, Pan GQ, Li ZH, Han B, Xu JS, Lan XQ, Chen J, Yang DL, Chen QM, Sang Q, Ji XC, Li T, Long MX, Zhou ZY. Genome-wide transcriptional response of silkworm (*Bombyx mori*) to infection by the microsporidian *Nosema bombycis*. *PLoS One*, 2013, 8(12): e84137.
- [66] Zheng LP, Yu M, Zou XY, Hou L. Function of Gram-negative binding proteins and peptidoglycan-recognition proteins in invertebrate innate immune response. *Chinese Journal of Microecology*, 2010, 22(2): 171–174. (in Chinese)
郑路平, 于淼, 邹向阳, 侯林. 革兰阴性菌结合蛋白(Toll/GNBPs)和肽聚糖识别蛋白(PGRPs)在无脊椎动物先天免疫应答中的作用. *中国微生态学杂志*, 2010, 22(2): 171–174.
- [67] Sun Y, Jiang YR, Wang Y, Li XS, Yang RS, Yu ZG, Qin L. The toll signaling pathway in the chinese oak silkworm, *Antheraea pernyi*: Innate immune responses to different microorganisms. *PLoS One*, 2016, 11(8): e0160200.
- [68] Tian L, Guo EN, Diao YP, Zhou S, Peng Q, Cao Y, Ling EJ, Li S. Genome-wide regulation of innate immunity by juvenile hormone and 20-hydroxyecdysone in the *Bombyx* fat body. *BMC Genomics*, 2010, 11: 549.
- [69] Chaimanee V, Chantawannakul P, Chen YP, Evans JD, Pettis JS. Differential expression of immune genes of adult honey bee (*Apis mellifera*) after inoculated by *Nosema ceranae*. *Journal of Insect Physiology*, 2012, 58(8): 1090–1095.
- [70] Huang SK, Lu XM. Comparative study on the infectivity and spore surface protein of *Nosema bombycis* and its morphological variant strain. *Scientia Agricultura Sinica*, 2004, 37(11): 1682–1687. (in Chinese)
黄少康, 鲁兴萌. 家蚕微孢子虫(*Nosema bombycis*)与其形态变异株的侵染性及孢子表面蛋白的比较研究. *中国农业科学*, 2004, 37(11): 1682–1687.
- [71] Wu XX, Feng ZZ, Qiu HH, Cai SF, Li MQ, Lu XM. Phagocytosis of *Trichoplusia ni* cultured cells to *Nosema bombycis* and the relationship with spore wall proteins. *Science of Sericulture*, 2010, 36(3): 447–451. (in Chinese)
吴晓霞, 冯真珍, 邱海洪, 蔡顺风, 李明乾, 鲁兴萌. 粉纹夜蛾培养细胞对家蚕微孢子虫的吞噬及与孢壁蛋白的关系. *蚕业科学*, 2010, 36(3): 447–451.
- [72] Li YH, Tao ML, Ma FP, Pan GQ, Zhou ZY, Wu ZL. A monoclonal antibody that tracks endospore formation in the microsporidium *Nosema bombycis*. *PLoS One*, 2015, 10(3): e0121884.
- [73] Tang XD, Hou JG, Fu XL, Xu L, Shen ZY. Differential proteomic analysis of two pathogenic microsporidia, *Nosema bombycis* and *Endoreticulatus* sp. Zhenjiang isolated from silkworm, *Bombyx mori*. *Science of Sericulture*, 2014, 40(6): 1044–1054. (in Chinese)
唐旭东, 侯建革, 付绪亮, 徐莉, 沈中元. 2种家蚕病原性微孢子虫的蛋白质组差异研究. *蚕业科学*, 2014, 40(6): 1044–1054.
- [74] Gao YZ, Huang KW, Dai ZY, Zhang SQ. Studies on sporal protein chemical properties of microsporidias pathogenic to silkworm, *Bombyx mori*. *Science of Sericulture*, 1999, 25(2): 82–91. (in Chinese)
高永珍, 黄可威, 戴祝英, 张双全. 家蚕病原性微孢子虫的蛋白质化学性质的研究. *蚕业科学*, 1999, 25(2): 82–91.

Advances in studies on *Lepidoptera microsporidium* pathogen

Xili Liang, Xingmeng Lu, Yongqi Shao*

Laboratory of Invertebrate Pathology, College of Animal Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, Zhejiang Province, China

Abstract: As an important pathogenic microorganism, microsporidia are widely found in Lepidopteran insects. Microsporidia diseases not only affect the natural balance of wild insect populations, but also are detrimental to the economic and resource insects such as *Bombyx mori* and *Antheraea pernyi*. The molecular biology of microsporidia is relatively less studied and the microsporidian spore wall is fairly rigid. These disadvantages make the study of microsporidia more difficult. With the rapid development of the sequencing technique and the preparation method of nucleic acid, protein and other biomacromolecules, various microsporidia researches based on Omics are now reported, which have significantly contributed to this field. Our review focuses on interactions between microsporidian parasites and their Lepidopteran hosts, and recent progress in microsporidia genome, transcriptome and proteome studies. The further research of insect microsporidia will provide new insights on the biocontrol of lepidopteran pests and improve the diagnosis, prevention and treatment of the microsporidia diseases of economic insects as well.

Keywords: microsporidia, Lepidoptera, biomolecules, omics

(本文责编: 李磊)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31601906), by the Fundamental Research Funds for the Central Universities (2017QNA6024) and by the “Hundred Talents Program” from Zhejiang University

*Corresponding author. Tel: +86-571-88982757; E-mail: yshao@zju.edu.cn

Received: 8 October 2017; Revised: 6 December 2017; Published online: 24 January 2018



邵勇奇, 博士, 浙江大学动物科学学院研究员。主要以鳞翅目昆虫家蚕、斜纹夜蛾等为模型来进行农业昆虫与微生物相互作用的应用基础研究, 多学科交叉, 特别是在昆虫肠道菌群的分布及功能、生物防治、微生物资源利用等领域发展新的研究方法 (Pyro-SIP), 进行深入探索, 从分子、细胞和整体水平上系统揭示共生微生物与宿主昆虫相互作用的机理。这些工作先后在微生物学、昆虫学领域重要学术刊物 *ISME Journal*、*Cell Chemical Biology*、*Applied Microbiology and Biotechnology*、*Insect Biochemistry and Molecular Biology* 等发表。