

昆虫体外共生菌研究进展

林勇文, 侯有明*

(福建农林大学闽台作物有害生物生态防控国家重点实验室, 福建省昆虫生态重点实验室, 福州 350002)

摘要: 昆虫体外共生菌是指能在体外与宿主发生互利共生关系的微生物。体外共生菌虽然不如肠道微生物那样普遍存在于昆虫中,但也在宿主生长发育过程中扮演着重要的角色。昆虫体外共生菌一般寄生于昆虫体表或体内特异器官(如储菌器),在特定时期转移到植物组织中。体外共生菌产生的挥发物能作为宿主定位寄主植物的信号物质,能为宿主提供生长发育所需的营养物质,还参与了宿主体外免疫。对昆虫体外共生菌的研究,不仅能进一步揭示昆虫与微生物之间的互作关系,丰富昆虫共生菌的研究,还能从共生菌的角度探索害虫引诱剂和昆虫免疫豁免机制。本文对昆虫体外共生菌寄生方式、传播途径、对宿主的影响等研究成果进行了综述,旨在为害虫综合防控提供新思路。

关键词: 体外共生菌; 体外免疫; 共生酵母菌; 挥发性有机物; 植菌昆虫; 抗菌物质

中图分类号: Q965.8 **文献标识码:** A **文章编号:** 0454-6296(2018)12-1488-09

Progresses in entomic ectosymbiotic microorganisms

LIN Yong-Wen, HOU You-Ming* (State Key Laboratory of Ecological Pest Control for Fujian-Taiwan Crops, Key Laboratory of Insect Ecology in Fujian, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Abstract: Entomic ectosymbiotic microorganisms refer to the microorganisms that interact with host mutually *in vitro*. Although ectosymbiotic microorganisms are not as popular as gut microbes in insects, they also play important roles in the growth and development of their hosts. Commonly, entomic ectosymbiotic microorganisms are carried by host via the surface of skin or other organs like mycangi, and move into plant tissues in the specific developmental stage of host. Ectosymbiotic microorganisms emit volatile organic compounds to indicate the location of plants and provide nutrients for their symbiotic host, and even affect *in vitro* immunity of host insects. The studies on entomic ectosymbiotic microorganisms will advance the knowledge on the interactions between insects and microorganisms, diversify the research of insect symbionts, and uncover the mechanisms of ectosymbiotic microorganisms-mediated immune privilege in insects. In this article, we reviewed the studies of parasitic modes and transmission routes of ectosymbiotic microorganisms and their effects on insect hosts, aiming to provide new insights for integrated pest management.

Key words: Ectosymbiotic microorganisms; *in vitro* immunity; mutual yeast; volatile organic compound; fungus-growing insect; antibacterial substance

在自然界,昆虫与微生物之间关系密切,一部分微生物与宿主昆虫存在互利共生关系(Kikuchi *et*

al., 2007; Janson *et al.*, 2008; Henry *et al.*, 2015),即共生微生物为昆虫提供生长和环境适应方面的协

基金项目: 国家自然科学基金海峡联合基金重点项目(U1705232); 国家重点研发计划(2017YFC1200605); 福建省科技重大专项(2017NZ0003-1-6)

作者简介: 林勇文,男,1981年6月生,福建漳州人,博士,助理研究员,主要从事昆虫病原真菌、昆虫共生真菌和化学生态学研究, E-mail: 18605062536@126.com

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: ymhou@fafu.edu.cn

收稿日期 Received: 2018-03-28; 接受日期 Accepted: 2018-07-28

助,而昆虫则是微生物的栖息场所和传播载体,因此有学者提出了昆虫共生体(holobiont)的概念,把昆虫及其共生微生物视为一个整体(Feldhaar, 2011)。根据共生菌所在的位置可分为体内共生菌和体外共生菌。体内共生菌生活在昆虫细胞或器官内(Latorre and Manzano-Marín, 2017),体外共生菌则生活于昆虫体表(Konrad *et al.*, 2015),也有部分体外共生菌寄生于昆虫储菌器中,例如 *Raffaelea* 属、虫道真菌属 *Ambrosiella*、长喙壳属 *Ceratocystis*、*Meredithiella* 属和瓶状霉属 *Phialophoropsis* 真菌,以及结核杆菌 *Mycobacterium tuberculosis* 和克雷白氏杆菌属 *Klebsiella* 细菌等(Miyashita *et al.*, 2015; Campbell *et al.*, 2016; Brace *et al.*, 2017; Ito and Kajimura, 2017),在昆虫生长发育的特定阶段被释放到体外(Ito and Kajimura, 2017)。

体内共生菌在无脊椎动物和脊椎动物都普遍存在(Engel and Moran, 2013; Yamashiro, 2017),对宿主具有至关重要的作用,如肠道微生物甚至可与其他器官相提并论。与体内共生菌不同的是,本文主要探讨共生菌在昆虫体外展现出的生物学特性,然而体外共生菌在昆虫中的存在是否具有普遍性虽尚未得到证实,但综述了现有的研究后发现,体外共生菌对宿主或共生对象具有提供食物、协助定位寄主、协助提升适应性等作用,还有一类体外共生菌能保护作为食物源的共生菌免受污染(王琳等, 2015),

而且体外共生菌与宿主发生互利共生关系时并不消耗宿主能量,而体内共生菌则不然(Freitag *et al.*, 2007)。此外,昆虫携带体外共生菌的部位和方式多种多样,包括肠道、储菌器、口器和表皮等(Gomes *et al.*, 2003; Scott *et al.*, 2008; Christiaens *et al.*, 2014; Marshall, 2015; Wang *et al.*, 2015; Kooij *et al.*, 2016; Piper *et al.*, 2017),然而,昆虫携带和传播体外共生菌的机制,以及体外共生菌进出昆虫体内的通路仍有待进一步研究,这将为最终发现昆虫与体外共生菌共生关系的起源和潜在机制奠定基础。

目前报道昆虫与体外微生物共生关系的案例主要集中在果蝇与酵母菌、植菌昆虫(通过培养真菌作为食物的昆虫,也培养真菌昆虫)与其培植的微生物、鞘翅目昆虫与其储菌器中的真菌等。本文从昆虫的角度,综述了体外共生菌对昆虫的寄主定位、生长发育及适应性的影响。

1 昆虫体外共生菌及其类别

微生物在昆虫体外生长繁殖,并通过其代谢活动协助昆虫生长发育和抵御病原物或寄生物等,我们将这一类微生物称为昆虫体外共生菌。根据体外共生菌在宿主昆虫的寄生部位,将其分为体表寄生(居)型和体内寄生(居)型(表1)。

表 1 昆虫体外共生菌类型
Table 1 Types of ectosymbionts in insects

寄生类型 Parasitism types	共生体系 Mutualism system	寄生部位 Parasitism position	参考文献 References
体表寄生 Epiphytic	<i>Laboulbenia formicarum</i> -花园蚁 <i>Lasius neglectus</i>	头部 Head	Kooij <i>et al.</i> , 2016
	<i>Penicillium herque</i> -卷叶象甲 <i>Euops chinensis</i>	肠道末端储菌器 Mycangi at the end of gut	Wang <i>et al.</i> , 2015
	<i>Ceratocystiopsis ranaculosus</i> -南部松小蠹 <i>Dendroctonus frontalis</i>	肠道末端储菌器 Mycangi at the end of gut	Scott <i>et al.</i> , 2008
体内寄生 Endosymbiotic	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> -黑腹果蝇 <i>Drosophila melanogaster</i>	肠道 Gut	Christiaens <i>et al.</i> , 2014
	热带假丝酵母 <i>Candida tropicalis</i> - <i>Zapionus indianus</i>	肠道 Gut	Gomes <i>et al.</i> , 2003
	<i>Pichia kluyveri</i> -昆士兰实蝇 <i>Bactrocera tryoni</i>	肠道 Gut	Piper <i>et al.</i> , 2017
	<i>Leucocoprinus gongylophorus</i> -切叶蚁 <i>Atta</i>	下颚 Mandible	Kooij <i>et al.</i> , 2016
其他 Others	蓝变菌 <i>Sporothrix</i> sp.-松墨天牛 <i>Monochamus alternatus</i>	寄主植物 Host plant	Viiri <i>et al.</i> , 2001

体表寄生型依附在昆虫体表,随宿主迁移传播,例如花园蚁 *Lasius neglectus* 工蚁体表携带共生真菌 *Laboulbenia formicarum*(Konrad *et al.*, 2015);体内寄生型则寄生(居)在宿主口器或肠道,在特定的时期被宿主释放出来,协助宿主克服生长发育过程中的

各种胁迫,如 *Atta* 属植菌切叶蚁蚁后将体外共生菌 *Leucocoprinus gongylophorus* 储藏于下颚,建巢时接种于菌圃,为幼虫提供食物(Van *et al.*, 2012),而寄生于宿主肠道的体外共生菌由于能在体外为宿主提供帮助,因此也认为是一种体外共生菌,但这并不否定

其在宿主肠道内的作用,例如黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 肠道内的共生酵母菌酿酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae* 能在体外协助果蝇生长发育 (Marshall, 2015)。此外还有一种特殊的共生方式——松墨天牛 *Monochamus alternatus*-蓝变菌 *Ceratocystis polonica*,蓝变菌在未受松墨天牛取食为害的松木上也可检出 (Viiri *et al.*, 2001),可能是随气流或土壤传播,一旦有松墨天牛取食为害,该菌附在宿主体表传播(张伟等, 2017),而蓝变菌的存在显著提升了松墨天牛的发育速度和存活率(Zhao *et al.*, 2013)。体外共生菌在其生长繁殖过程中产生

了大量的子实体以及代谢产物(如抗生素和挥发性有机物),对宿主昆虫的生长发育以及适应性等产生重要的影响。

2 体外共生菌功能

昆虫体外共生菌对宿主的作用包括化学通讯、养分供给和体外免疫等,目前对于昆虫-微生物体外共生菌作用机制研究比较深入的是切叶蚁-体外共生菌,已明确了体外共生菌的寄居部位、接种方式和共生菌的功能等(表2)。

表 2 已报道的昆虫与体外微生物共生菌体系
Table 2 Reported mutualism systems of ectosymbionts and insect hosts

昆虫 Insects	体外共生菌 Ectosymbionts	寄居(寄生)部位 Living (parasitism) position	接种方式 Methods of incubation	共生菌功能 Function of ectosymbionts	参考文献 References
植菌切叶蚁(包括 <i>Atta</i> 和 <i>Acromyrmex</i> 属) Attine ants (including genera <i>Atta</i> and <i>Acromyrmex</i>)	<i>Leucocoprinus gongylophorus</i>	蚁巢 Nest	蚁后携菌于下颚 Incubated by mandible of queen ant	向幼虫提供食物 Supply food for larvae	Kooij <i>et al.</i> , 2016; Nygaard <i>et al.</i> , 2011
卷叶象甲 <i>Euops chinensis</i> (鞘翅目 Coleoptera; 卷象科 Attelabidae)	<i>Penicillium herque</i>	储菌器 Mycongi	雌虫通过特化器官接种 Incubated by differentiated organ of female	提供食物,保护菌圃 Supply food, protect fungus garden	Kobayashi <i>et al.</i> , 2008; Wang <i>et al.</i> , 2015
黑腹果蝇 <i>Drosophila melanogaster</i> (双翅目 Diptera; 果蝇科 Drosophilidae)	酿酒酵母 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	寄主植物,幼虫肠道 Host plants and larval gut		产生吸引成虫的挥发物 Emit volatiles to induce adults	Becher <i>et al.</i> , 2012; Christiaens <i>et al.</i> , 2014
<i>Zaprionus indianus</i> (双翅目 Diptera; 果蝇科 Drosophilidae)	热带假丝酵母 <i>Candida tropicalis</i>	寄主植物,幼虫肠道 Host plants and larval gut			Gomes <i>et al.</i> , 2003
昆士兰实蝇 <i>Bactrocera tryoni</i> (双翅目 Diptera; 实蝇科 Tephritidae)	<i>Pichia kluyveri</i>	寄主植物,幼虫肠道 Host plants and larval gut		产生吸引成虫的挥发物 Emit volatiles to induce adults	Piper <i>et al.</i> , 2017
	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	寄主植物,幼虫肠道 Host plants and larval gut		促进幼虫发育 Accelerate growth of larvae	Piper <i>et al.</i> , 2017
樱桃实蝇 <i>D. suzukii</i> (双翅目 Diptera; 实蝇科 Tephritidae)	<i>Candida zemplinina</i>	寄主植物,幼虫肠道 Host plants and larval gut		产生吸引成虫的挥发物 Emit volatiles to induce adults	Scheidler <i>et al.</i> , 2015
	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	寄主植物,幼虫肠道 Host plants and larval gut		产生吸引成虫的挥发物 Emit volatiles to induce adults	Scheidler <i>et al.</i> , 2015

续表 2 Table 2 continued

昆虫 Insects	体外共生菌 Ectosymbionts	寄居(寄生)部位 Living (parasitism) position	接种方式 Methods of incubation	共生菌功能 Function of ectosymbionts	参考文献 References
黑翅土白蚁 <i>Odontotermes formosanus</i> (白蚁目 Isoptera: 白蚁科 Termitidae)	蚁伞菌 (鸡枞菌属) <i>Termitomyces</i>	蚁巢 Ant net	蚁后携带,接种于蚁巢 Carried and inoculated in the nest by queen ant	向幼虫提供食物 Supply food for larvae	Aanen <i>et al.</i> , 2007
南部松小蠹 <i>Dendroctonus frontalis</i> (鞘翅目 Coleoptera: 小蠹科 Scolytidae)	<i>Entomocorticium</i> sp. A	雌成虫储菌器 Mycongi in female adult	通过雌成虫接种于产卵孔 Inoculated in the oviporus by female adult	向幼虫提供食物 Supply food for larvae	Scott <i>et al.</i> , 2008
	<i>Ceratocystiopsis ranaculosus</i>	雌成虫储菌器 Mycongi in female adult	通过雌成虫接种于产卵孔 Carried and inoculated in the oviporus by female adult	向幼虫提供食物 Supply food for larvae	Scott <i>et al.</i> , 2008
	<i>Streptomyces thermosacchari</i>	雌成虫储菌器 Mycongi in female adult		保护菌圃 Protect fungal garden	Scott <i>et al.</i> , 2008
食菌甲虫 <i>Bolitophagus reticulatus</i> (鞘翅目 Coleoptera: 拟步甲科 Tenebrionidae)	木蹄层孔菌 <i>Fomes fomentarius</i>			判断食物的成熟期 Evaluate mature period of food	Holighaus <i>et al.</i> , 2014
拟步甲 <i>Lagria villosa</i> ((鞘翅目 Coleoptera: 拟步甲科 Tenebrionidae)	唐昌蒲伯克霍德菌 <i>Burkholderia gladioli</i>			保护宿主卵 Protect eggs of hosts	Flórez <i>et al.</i> , 2017
红棕象甲 <i>Rhynchophorus ferrugineus</i> (鞘翅目 Coleoptera: 象甲科 Curculionidae)	热带假丝酵母 <i>Candida tropicalis</i>			提供热量 Supply heat	Abe <i>et al.</i> , 2010
欧洲狼蜂 <i>Philanthus triangulum</i> (膜翅目 Hymenoptera: 泥蜂科 Sphecidae)	链霉菌 <i>Streptomyces coelicolor</i>			抑制昆虫病原菌 Inhibit entomopathogen	Kaltenpoth <i>et al.</i> , 2005
山松大小蠹 <i>Dendroctonus ponderosae</i> (鞘翅目 Coleoptera: 小蠹科 Scolytidae)	假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i> , 拉恩氏菌属 <i>Rahnella</i> , 沙雷氏菌属 <i>Serratia</i> , 伯克霍尔德菌属 <i>Berkholderia</i>			降低植物防御对宿主的危害 Reduce the harm of plant resistance against hosts	Adams <i>et al.</i> , 2013
花园蚁 <i>Lasius neglectus</i> (膜翅目 Hymenoptera: 蚁科 Formicidae)	<i>Laboulbenia formicarum</i>		工蚁体壁携带 Carried on the cuticle of worker	调节宿主免疫投资 Regulate investment of immunity for hosts	Konrad <i>et al.</i> , 2015

2.1 体外共生菌对昆虫搜索行为的影响

植食性昆虫对寄主的搜索与成功定位是其生存的必要条件。研究表明,多数植食性昆虫是通过触角感知寄主植物散发出的挥发性有机物(volatile organic compounds, VOCs),进而定位寄主(Bruce *et*

al., 2005; Rharrabe *et al.*, 2014)。食菌昆虫以体外共生菌为食,后者与植物相同,能产生吸引宿主昆虫的 VOCs,食菌甲虫 *Bolitophagus reticulatus* 甚至能够通过共生菌木蹄层孔菌 *Fomes fomentarius* 不同生长阶段释放出的 8 种碳氧化脂类挥发物,如 1-辛烯-3-

醇(1-octen-3-ol), 3 辛酮(3-octanone)和 3 辛醇(3-octanol), 定位食物, 并判断真菌的成熟期(Holighaus *et al.*, 2014)。

多数实蝇和果蝇科昆虫的幼虫伴生酵母菌, 酵母菌一方面成为宿主昆虫的食物, 另一方面也产生影响宿主选择行为的 VOCs。例如黑腹果蝇的幼虫取食水果之后, 也会将携带的多种酵母菌接种在果实内, 酵母菌离体后侵染果实使其腐烂, 腐烂的气味引诱其他果蝇产卵(Becher *et al.*, 2012; Marshall, 2015), 这可能是由于腐烂的果实更容易被果蝇消化吸收, 而对酵母菌来说, 吸引来的果蝇又可以成为其传播的载体。樱桃实蝇 *Drosophila suzukii* 幼虫肠道内分离出 6 株共生酵母菌, 其中假丝酵母 *Candida zemplinina* 和抱汉逊酵母 *Hanseniaspora uvarum* 产生的挥发物乙酸异戊酯(isoamyl acetate)和乙酸异丁酯(isobutyl acetate)对宿主昆虫具有极强的引诱作用(Scheidler *et al.*, 2015)。当用敲除合成乙酸乙酯基因(*ATF1*)的酿酒酵母 *S. cerevisiae* 侵染草莓时, 发现草莓发酵过程中产生的 VOCs 并不能吸引黑腹果蝇, 反之正常酵母菌侵染草莓后产生的 VOCs 却对果蝇有极强的吸引力(Christiaens *et al.*, 2014)。这说明共生酵母菌产生的挥发性物质成为果蝇定位寄主的信号, 且将吸引来的果蝇变成自己的传播媒介。在昆士兰实蝇 *Bactrocera tryoni* 幼虫肠道内也发现两株酵母菌即克鲁维毕赤酵母 *Pichia kluyveri* 和葡萄汁有抱汉逊酵母 *H. uvarum*, 其中葡萄汁有抱汉逊酵母在体外培养时, 产生驱避成虫的 VOCs, 其活性物质可能是正己醇(1-hexanol)和丙酸乙酯(ethyl propionate), 但同时也测得克鲁维毕赤酵母产生的 VOCs 对成虫取食有极强的吸引力(Piper *et al.*, 2017)。昆士兰实蝇为什么会携带两种功能迥异的酵母菌呢? 可能是通过不同活性菌株判断果实的成熟度或食用性, 例如扩展青霉 *Penicillium expansum* 产生的 VOCs 中含有异戊醇(3-methyl-1-butanol)和异丁醇(2-methyl-1-propanol), 黑腹果蝇的幼虫能依靠此挥发物判断扩展青霉为非共生菌而产生驱避效应(Stötefeld *et al.*, 2015)。

共生菌还可能通过调节寄主植物的 VOCs 而影响宿主昆虫的选择行为。丛枝菌根真菌 *Golmus intraradices* 能使寄主植物减少萜类物质的挥发量(Babikova *et al.*, 2014), 萜类挥发物是昆虫取食诱导的植物挥发物中重要的驱虫活性物质(Dicke and Baldwin, 2010), 而黄龙病菌 *Candidatus Liberibacter asiaticus* 则能提高寄主植物水杨酸甲酯的挥发量

(Lin *et al.*, 2016), 使植食性昆虫或宿主昆虫更容易定位到寄主植物上。虽然上述微生物与昆虫之间并非严格意义上的共生关系, 但至少能说明微生物具备改变寄主植物挥发物, 以吸引更多宿主协助其传播的能力。

2.2 体外共生菌对昆虫生长发育的影响

大量的研究证实, 昆虫体内共生菌能为宿主提供必需的营养物质(Kikuchi, 2009; 杨义婷等, 2014; Skidmore and Hansen, 2017), 而体外共生菌也具有类似的功能, 甚至直接成为共生昆虫的食物(图 1)。植菌切叶蚁(包括 *Atta* 和 *Acromyrmex* 属)被誉为地球上最早的农夫, 蚁后婚飞之前将母巢中的共生菌携带于下颚中, 建巢的同时将共生菌 *L. gongylophorus* 培植于菌圃中(Farji-Brener and Illes, 2000; Van *et al.*, 2012), 利用新鲜的植物组织(叶片、花瓣等)培植共生菌, 而 *L. gongylophorus* 则产生富含维生素、蛋白质和氨基酸的子座供切叶蚁食用(Nygaard *et al.*, 2011), 进一步观察发现, 不同属的切叶蚁培植的共生菌种类差异较大, *Atta* 属切叶蚁培植的共生菌为多倍体, 产菌量大(Kooij *et al.*, 2016), 且共生菌产生的分解酶活性高(Kooij *et al.*, 2014), 因此培育的食物数量远大于其他属, 这可能是该属蚁巢规模庞大的原因。黑翅土白蚁 *Odontotermes formosanus* 也有植菌习性, 但与切叶蚁不同的是它们更喜欢直接采用富含植物纤维的木质部培育鸡枞菌 *Termitomyces* (Aanen *et al.*, 2007)。

除了提供营养物质, 体外共生菌还能影响宿主昆虫的发育。果实在成熟之后, 由于细胞壁溶解酶的作用而自行腐烂。然而, 在遭受果蝇幼虫取食危害后, 许多果实在未成熟之前就腐烂, 并在腐烂的果实内发现了多种酵母菌(Gomes *et al.*, 2003)。早在 20 世纪 70 年代 Janzen(1977)就提出这些酵母菌是由果蝇携带, 为宿主提供大量的营养物质, 包括蛋白质、氨基酸、外源磷等。进一步研究还发现酵母菌产生的次生代谢产物羟苯基丁酮(frambinone)能促进雄虫提早性成熟, 从而提升不育系昆士兰果蝇雄虫的交配竞争力(Pérez-Staples *et al.*, 2010; Akter *et al.*, 2017)。虽然, 引起受害果实腐烂的酵母菌必然是由宿主实蝇或果蝇携带, 且很可能是通过雌成虫传递, 雌成虫产卵时将酵母菌孢子附在卵表面, 幼虫孵化后将酵母菌摄入体内, 但具体传代机制和接种方式有待进一步研究。

卷叶象甲 *Euops chinens* 在后肠特化出一个存储共生真菌孢子的器官——储菌器(Kobayashi *et al.*,



图1 体外共生菌对宿主昆虫生长发育的影响

Fig. 1 Effects of ectosymbionts on the growth and development of insect hosts

昆虫携带并接种体外共生菌于寄主植物, 体外共生菌的繁殖为宿主后代提供食物, 还产生热量协助宿主后代发育。Insects carry and inoculate ectosymbiotic microorganisms to host plants. The reproduction of ectosymbiotic microorganisms provides food for the host offspring, and produces heat to help the development of host offspring.

2008), 雌成虫将寄主植物叶片卷包成为菌圃, 后将储菌器内共生菌接种于菌圃, 共生菌不仅是卷叶象甲的食物, 其中的青霉菌 *P. herquei* 还能产生抗生素, 保护菌圃免受杂菌污染 (Wang *et al.*, 2015)。Tanahashi 和 Hawes (2016) 则利用微成像技术, 比较了欧洲锹甲 *Sinodendron cylindricum* 成虫和幼虫的肠道和生殖器官, 只在雌成虫后肠末端发现储菌器, 并通过 18S rRNA 技术发现幼虫和成虫体内有 5 株酵母菌, 且酵母菌在幼虫体内的浓度远高于成虫。还有一类小蠹亚科的食菌小蠹 *Premnobius cavipennis*, 雌成虫体内具有储菌器, 存储了包括酵母菌、担子菌、长喙壳属在内的多种共生真菌, 雌虫在产卵的同时将共生菌接种于寄主, 共生菌在幼虫虫道中生长繁殖, 同时为宿主提供子座, 其中含有大量营养物质 (Kinuura, 1995; Bateman *et al.*, 2017)。红脂大小蠹 *Dendroctonus valens* 是松树上的重要害虫, 本地的杂菌会与幼虫抢夺碳水化合物, *Leptographium procerum* 是红脂大小蠹的携播共生真菌, 这种真菌则可以通过降解植物纤维的方式为幼虫提供稳定的碳水化合物 (Lu *et al.*, 2016)。

此外, 有些共生菌还通过其他方式协助昆虫发育。红棕象甲 *Rhynchophorus ferrugineus* 在低于 13℃ 时活性极差, 理论上在 0℃ 以下地区无法越冬, 然而事实并非如此, 红棕象甲幼虫向虫道的植物组织接种酵母菌, 包括热带假丝酵母 *Candida tropicalis* 和酿酒酵母, 酵母菌发酵时产生热量可使虫道内温度达到 30℃ 以上, 最终宿主在共生酵母菌的协助下完成越冬 (Abe *et al.*, 2010)。种种证据表明, 昆虫体外共生微生物 (包括相关酵母菌) 为宿主提供了生长发育所需的重要营养物质以及发育所需热量, 二者之间显然存在着紧密的互利共生关系。

2.3 体外共生菌对昆虫适应性的影响

昆虫体外共生菌不仅为宿主提供营养物质, 还能产生抗菌物质 (Willing *et al.*, 2011; Bills *et al.*, 2013)。Wang 等 (2015) 发现卷叶象甲共生菌青霉菌能产生抗生素, 协助宿主保护食物免受其他微生物的侵染。唐昌蒲伯克霍德菌 *Burkholderia gladioli* 是拟步甲 *Lagria villosa* 的互利共生菌, 能在宿主卵表面产生抗菌物质以保护其免受病原菌侵染, 更有意思的是, 这一类共生菌还可通过宿主的寄主植物

传播 (Flórez *et al.*, 2017)。南部松小蠹和 *Entomocorticium* sp. A 之间的互利共生关系一旦受到小长喙霉 *Ophiostoma minus* 的破坏,即小长喙霉妨碍 *Entomocorticium* sp. A 生长,南部松小蠹储菌器内的共生放线菌 *Streptomyces thermosacchari* 就释放出抵御小长喙霉的抑菌物质——多烯过氧化物 (Scott *et al.*, 2008),但报道中并未提到抑菌物质对 *Entomocorticium* sp. 的影响。这说明,共生菌产生抗菌物质被宿主昆虫用于保护食物。事实上,共生菌产生抗菌物质的目的在于保护自身的菌落免受污染,而这种自我防卫机制对昆虫则是一把双刃剑,例如欧洲狼蜂 *Philanthus triangulum* 将链霉菌属细菌培植于触角腺体中,产卵后将链霉菌涂抹于卵表面,链霉菌产生的代谢产物对病原真菌具有显著的抑制作用,能有效提高卵的孵化率 (Kaltenpoth *et al.*, 2005);另一方面抗菌物质协助昆虫进行体外免疫,或者也有可能威胁到昆虫的其他共生微生物,例如植菌蚁的共生真菌黑酵母能合成抗生素,用以保护宿主的食物免受污染,但同时也对食物 *Apterostigma* spp. 和其他共生细菌的生长产生了一定的抑制作用 (Little and Currie, 2008)。有些体外共生菌还能像肠道微生物那样调节宿主免疫投资,例如入侵害虫花园蚁 *Lasius neglectus* 的体外共生菌 *Laboulbenia formicarum*,转录组测试表明,花园蚁遭受绿僵菌 *Metarhizium brunneum* 侵染时,免疫相关基因的表达量与体表 *L. formicarum* 菌体量成正比 (Konrad *et al.*, 2015)。

此外,共生菌还能侵染宿主的寄主植物,调节植物对害虫的天然免疫。山松大小蠹 *Dendroctonus ponderosae* 在其共生细菌假单胞菌属 *Pseudomonadaceae*、拉恩氏菌属 *Rahnella*、沙雷氏菌属 *Serratia* 和伯克霍尔德菌属 *Burkholderia* 的帮助下,克服了寄主松树产生的毒性萜类物质,成功在新入侵地的松树上定殖 (Adams *et al.*, 2013)。

3 小结与展望

对于某些昆虫来说,体外共生菌发挥着体内共生菌无可取代的作用,但若系统性地掌握昆虫-体外共生菌的共生关系,需从根本上了解这种共生关系的起源及共生机制,而基因组测序、宏基因组测序等生物技术的发展,能为我们提供探索二者协同进化过程的分子生物学证据。目前关于昆虫体外共生菌的研究主要集中在对共生关系的探索,而体外共生

菌对昆虫宿主体外免疫、抗逆性以及食性影响的研究,将害虫综合防控和经济昆虫保护提供新思路和新途径。从实际应用的角度来看,体外共生菌具备体外繁殖这个先决条件,对体外共生菌与昆虫共生机制的研究,能为害虫综合防控提供新思路,而对体外共生菌与昆虫之间化学通讯的研究,则能为昆虫引诱剂的开发提供化学生态学依据,利用酵母菌为主要配方的果蝇引诱剂就是这方面成果案例。合格的昆虫人工饲料配方一直是困扰科研工作者的难题,尤其是针对鞘翅目昆虫、酵母菌和其他共生微生物可能就是其中的关键配方,而鸡枞菌圃的预先建立则可能是成功地在室内建立白蚁巢的先决条件。体外共生菌产生的抗菌物质一定程度上参与了宿主的体外免疫,并且是无需投资能量的一种免疫方式。此外,张伟等 (2017) 对蓝变菌和球孢白僵菌 *Beauveria bassiana* 在宿(寄)主诱导的体液免疫做了比较,发现松墨天牛对蓝变菌孢子不产生免疫反应,这说明体外共生菌很可能是我们研究昆虫免疫豁免机制(昆虫保护自身的组织尤其是那些重要器官不会因局部免疫应答反应而损伤的机制)的理想材料。

参考文献 (References)

- Aanen DK, Ros VID, de Fine Licht H, Mitchell J, de Beer ZW, Slippers B, Rouland-Lefèvre C, Boomsma JJ, 2007. Patterns of interaction specificity of fungus-growing termites and *Termitomyces* symbionts in South Africa. *BMC Evol. Biol.*, 7(1): 115.
- Abe F, Ohkusu M, Kawamoto S, Kubo T, Sone K, Hata K, 2010. Isolation of yeasts from palm tissues damaged by the red palm weevil and their possible effect on the weevil overwintering. *Mycoscience*, 51(3): 215–223.
- Adams AS, Aylward FO, Adams SM, Erbilgin N, Aukema BH, Currie CR, Suen G, Raffa KF, 2013. Mountain pine beetles colonizing historical and naive host trees are associated with a bacterial community highly enriched in genes contributing to terpene metabolism. *Appl. Environ. Microbiol.*, 79(11): 3468–3475.
- Akter H, Mendez V, Morelli R, Pérez J, Taylor PW, 2017. Raspberry ketone supplements promotes early sexual maturation in male Queensland fruit fly, *Bactrocera tryoni* (Diptera: Tephritidae). *Pest Manag. Sci.*, 73(8): 1764–1770.
- Babikova Z, Gilbert L, Bruce T, Dewhurst SY, Pickett JA, Johnson D, 2014. Arbuscular mycorrhizal fungi and aphids interact by changing host plant quality and volatile emission. *Funct. Ecol.*, 28(2): 375–385.
- Bateman C, Huang YT, Simmons DR, Kasson MT, Stanley EL, Huler J, 2017. Ambrosia beetle *Premnobius caviipennis* (Scolytinae: Ipini) carries highly divergent ascomycotan ambrosia fungus, *Afroraffaelea ambrosiae* gen. nov. et sp. nov. (Ophiostomatales). *Fungal Ecol.*, 25(1): 41–49.

- Becher PG, Flick G, Rozpedowska E, Schmidt A, Hagman A, Lebreton S, Larsson MC, Hansson BS, Piškur J, Witzgall P, Bengtsson M, 2012. Yeast, not fruit volatiles mediate *Drosophila melanogaster* attraction, oviposition and development. *Funct. Ecol.*, 26 (4): 822 – 828.
- Bills GF, Gloer JB, An ZQ, 2013. Coprophilous fungi: antibiotic discovery and functions in an underexplored arena of microbial defensive mutualism. *Curr. Opin. Microbiol.*, 16(5): 549 – 565.
- Brace PT, Tezera LB, Bielecka MK, Mellows T, Garay D, Tian S, Rand L, Green J, Jogai S, Steele AJ, Millar TM, Sanchez-Elsner T, Friedland JS, Proud CG, Elkington PT, 2017. *Mycobacterium tuberculosis* subverts negative regulatory pathways in human macrophages to drive immunopathology. *PLoS Pathog.*, 13 (6): e1006367.
- Bruce TJA, Wadhams LJ, Woodcock CM, 2005. Insect host location: a volatile situation. *Trends Plant Sci.*, 10(6): 269 – 274.
- Campbell AS, Poletz RC, Dreaden TJ, Kendra PE, Montgomery WS, 2016. Geographic variation in mycangial communities of *Xyleborus glabratus*. *Mycologia*, 108(4): 657 – 667.
- Christiaens JF, Franco LM, Cools TL, Meester LD, Michiels J, Wenseleers T, Hassan BA, Yaksi E, Verstrepen KJ, 2014. The fungal aroma gene *ATF1* promotes dispersal of yeast cells through insect vectors. *Cell Rep.*, 9(2): 425 – 432.
- Dick M, Baldwin IT, 2010. The evolutionary context for herbivore-induced plant volatiles: beyond the ‘cry for help’. *Trend. Plant Sci.*, 15(3): 167 – 175.
- Engel P, Moran NA, 2013. The gut microbiota of insects – diversity in structure and function. *FEMS Microbiol. Rev.*, 37(5): 699 – 735.
- Farji-Brener AG, Illes, 2000. Do leaf-cutting ant nests make “bottom-up” gaps in neotropical rain forests?: a critical review of the evidence. *Ecol. Lett.*, 3(3): 219 – 227.
- Feldhaar H, 2011. Bacterial symbionts as mediators of ecologically important traits of insect hosts. *Ecol. Entomol.*, 36(5): 533 – 543.
- Flórez LV, Scherlach K, Gaube P, Ross C, Sitt E, Hermes C, Rodrigues A, Hertweck C, Kaltenpoth M, 2017. Antibiotic-producing symbionts dynamically transition between plant pathogenicity and insect-defensive mutualism. *Nat. Commun.*, 8: 15172.
- Freitag D, Wheat CW, Heckel DG, Vogel H, 2007. Immune system responses and fitness costs associated with consumption of bacteria in larvae of *Trichoplusia ni*. *BMC Biol.*, 5: 56.
- Gomes LH, Echeverrigaray S, Conti JH, Lourenço MVM, Duarte KMR, 2003. Presence of the yeast *Candida tropicalis* in figs infected by the fruit fly *Zaprionus indianus* (Dip.: Drosophilidae). *Braz. J. Microbiol.*, 34(1): 5 – 7.
- Henry LM, Maiden MCJ, Ferrari J, Godfray HC, 2015. Insect life history and the evolution of bacterial mutualism. *Ecol. Lett.*, 18 (6): 516 – 525.
- Holighaus G, Weißbecker B, Fragstein MV, Schütz S, 2014. Ubiquitous eight-carbon volatiles of fungi are infochemicals for a specialist fungivore. *Chemoecology*, 24(2): 57 – 66.
- Ito M, Kajimura H, 2017. Landscape-scale genetic differentiation of a mycangial fungus associated with the ambrosia beetle, *Xylosandrus germanus* (Blandford) (Curculionidae: Scolytinae) in Japan. *Ecol. Evol.*, 7(22): 9203 – 9221.
- Janson EM, Stireman JO, Singer MS, Abbot P, 2008. Phytophagous insect-microbe mutualisms and adaptive evolutionary diversification. *Evolution*, 62(5): 997 – 1012.
- Janzen DH, 1977. Why fruits rot, seeds mold, and meat spoils. *Am. Nat.*, 111(980): 691 – 713.
- Kaltenpoth M, Göttinger W, Herzner G, Strohm E, 2005. Symbiotic bacteria protect wasp larvae from fungal infestation. *Curr. Biol.*, 15 (5): 475 – 479.
- Kikuchi Y, 2009. Endosymbiotic bacteria in insects: their diversity and culturability. *Microbes Environ.*, 24(3): 195 – 204.
- Kikuchi Y, Hosokawa T, Fukatsu T, 2007. Insect-microbe mutualism without vertical transmission: a stinkbug acquires a beneficial gut symbiont from the environment every generation. *Appl. Environ. Microbiol.*, 73(13): 4308 – 4316.
- Kinuura H, 1995. Symbiotic fungi associated with ambrosia beetles. *Jarq-Jpn. Agr. Res. Q.*, 29(1): 57 – 63.
- Kobayashi C, Yu F, Dai H, Kato M, 2008. Contribution of symbiotic mycangial fungi to larval nutrition of a leaf-rolling weevil. *Evol. Ecol.*, 22(6): 711 – 722.
- Konrad M, Grasse AV, Tragust S, Cremer S, 2015. Anti-pathogen protection versus survival costs mediated by an ectosymbiont in an ant host. *Proc. Biol. Sci.*, 282(1799): 20141976.
- Kooij PW, Liberti J, Giampoudakis K, Schiøtt M, Boomsma JJ, 2014. Differences in forage-acquisition and fungal enzyme activity contribute to niche segregation in Panamanian leaf-cutting ants. *PLoS ONE*, 9(4): e94284.
- Kooij PW, Pullens JWM, Boomsma JJ, Schiøtt M, 2016. Ant mediated redistribution of a xyloglucanase enzyme in fungus gardens of *Acromyrmex echinator*. *BMC Microbiol.*, 16(1): 81.
- Latorre A, Manzano-Marín A, 2017. Dissecting genome reduction and trait loss in insect endosymbionts. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1389 (1): 52 – 75.
- Lin YW, Lin S, Akutse KS, Hussain M, Wang LD, 2016. *Diaphorina citri* induces Huanglongbing-infected citrus plant volatiles to repel and reduce the performance of *Propylaea japonica*. *Front. Plant Sci.*, 7: e1969.
- Little AEF, Currie CR, 2008. Black yeast symbionts compromise the efficiency of antibiotic defenses in fungus-growing ants. *Ecology*, 89 (5): 1216 – 1222.
- Lu M, Hulcr J, Sun JH, 2016. The role of symbiotic microbes in insect invasions. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 47: 487 – 505.
- Marshall K, 2015. Yeast’s beery smell attracts fruit flies. *J. Exp. Biol.*, 218(2): 164.
- Miyashita A, Hirai Y, Sekimizu K, Kaito C, 2015. Antibiotic-producing bacteria from stag beetle mycangia. *Drug Discov. Ther.*, 9 (1): 33 – 37.
- Nygaard S, Zhang GJ, Schiøtt M, Li C, Wurm Y, Hu HF, Zhou JJ, Ji L, Qiu F, Rasmussen M, Pan HL, Hauser F, Krogh A, Grimmelikhuijzen CJP, Wang J, Boomsma JJ, 2011. The genome of

- the leaf-cutting ant *Acromyrmex echinator* suggests key adaptations to advanced social life and fungus farming. *Genome Res.*, 21(8): 1339–1348.
- Pérez-Staples D, Weldon CW, Smallridge C, Taylor PW, 2010. Pre-release feeding on yeast hydrolysate enhances sexual competitiveness of sterile male Queensland fruit flies in field cages. *Entomol. Exp. Appl.*, 131(2): 159–166.
- Piper AM, Farnier K, Linder T, Speight R, Cunningham JP, 2017. Two gut-associated yeasts in a tephritid fruit fly have contrasting effects on adult attraction and larval survival. *J. Chem. Ecol.*, 43(9): 891–901.
- Rharrabe K, Jacquin-Joly E, Marion-Poll F, 2014. Electrophysiological and behavioral responses of *Spodoptera littoralis* caterpillars to attractive and repellent plant volatiles. *Front. Ecol. Evol.*, 2: e0005.
- Scheidler NH, Liu C, Hamby KA, Zalom FG, Syed Z, 2015. Volatile codes: correlation of olfactory signals and reception in *Drosophila*-yeast chemical communication. *Sci. Rep.*, 5: e14059.
- Scott JJ, Oh DC, Yuceer MC, Klepzig KD, Clardy J, Currie CR, 2008. Bacterial protection of beetle-fungus mutualism. *Science*, 322(5898): 63.
- Skidmore IH, Hansen AK, 2017. The evolutionary development of plant-feeding insects and their nutritional endosymbionts. *Insect Sci.*, 24(6): 910–928.
- Stötefeld L, Holighaus G, Schütz S, Rohlf M, 2015. Volatile-mediated location of mutualist host and toxic non-host microfungi by *Drosophila* larvae. *Chemoecology*, 25(5): 271–283.
- Tanahashi M, Hawes CJ, 2016. The presence of a mycangium in European *Sinodendron cylindricum* (Coleoptera: Lucanidae) and the associated yeast symbionts. *J. Insect Sci.*, 16(1): 76.
- Van BSA, Catalina E, Rehner SA, Fabiola SJ, Weislo WT, 2012. Leaf endophyte load influences fungal garden development in leaf-cutting ants. *BMC Ecol.*, 12: 23.
- Viiri H, Annala E, Kitunen V, Niemelä P, 2001. Induced responses in stilbenes and terpenes in fertilized Norway spruce after inoculation with blue-stain fungus, *Ceratocystis polonica*. *Trees*, 15(2): 112–122.
- Wang L, Feng Y, Tian JQ, Xiang MC, Sun JZ, Ding JQ, Yin WB, Stadler M, Che YS, Lin XZ, 2015. Farming of a defensive fungal mutualist by an attelabid weevil. *ISME J.*, 9(8): 1793–1801.
- Wang L, Xiang MC, Liu XZ, 2015. Mutualistic mechanism between fungus-growing insects and symbiotic fungi. *Mycosystema*, 34(5): 849–862. [王琳, 向梅春, 刘杏忠, 2015. 植菌昆虫及共生真菌共生机制. 菌物学报, 34(5): 849–862]
- Willing BP, Russell SL, Finlay BB, 2011. Shifting the balance: antibiotic effects on host-microbiota mutualism. *Nat. Rev. Microbiol.*, 9(4): 233–243.
- Yamashiro Y, 2017. Gut microbiota in health and disease. *Ann. Nutr. Metab.*, 71(3–4): 242–246.
- Yang YT, Guo JY, Long CY, Liu H, Wan FH, 2014. Advances in endosymbionts and their functions in insects. *Acta Entomol. Sin.*, 57(1): 111–112. [杨义婷, 郭建洋, 龙楚云, 刘怀, 万方浩, 2014. 昆虫内共生菌及其功能研究进展. 昆虫学报, 57(1): 111–122]
- Zhang W, Meng J, Ning J, Qin PJ, Zhou J, Zou Z, Wang YH, Jiang H, Ahmad F, Zhao LL, Sun JH, 2017. Differential immune responses of *Monochamus alternatus* against symbiotic and entomopathogenic fungi. *Sci. China Life Sci.*, 60(8): 902–910. [张伟, 孟洁, 宁静, 秦培君, 周娇, 邹振, 王燕红, 江红, Ahmad F, 赵莉茵, 孙江华, 2017. 松墨天牛对共生真菌和病原真菌的差异化免疫响应. 中国科学: 生命科学, 47(9): 988–996]
- Zhao L, Lu M, Niu H, Fang G, Zhang S, Sun J, 2013. A native fungal symbiont facilitates the prevalence and development of an invasive pathogen-native vector symbiosis. *Ecology*, 94(12): 2817–2826.

(责任编辑: 马丽萍)