

动物共生放线菌研究展望

曹理想

(中山大学生命科学学院 广东 广州 510275)

摘要: 近年来利用分子生态学技术已在多种动物肠道检测到放线菌的存在, 对这些动物特别是昆虫共生放线菌的研究已在新型放线菌资源中发现新型天然产物, 阐明了生物共生系统的进化, 并在控制虫媒传染病等方面显示出诱人前景。结合本实验室研究成果, 主要对陆生动物共生放线菌的研究进展进行综述, 并对其研究前景进行介绍。

关键词: 放线菌, 昆虫, 动物, 共生系统

The Perspectives of Animal Symbiotic Actinobacteria

CAO Li-Xiang

(School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou, Guangdong 510275, China)

Abstract: The actinobacteria have been detected in guts of many animals including insects by molecular methods. Finding novel actinobacterial species, screening novel natural products, reevaluation of coevolution between attine ants and actinomycete bacteria, and eliminating the parasites of disease vectors have been done based on the studies on animal symbiotic actinobacteria. The present results for terrestrial animal symbiotic actinobacteria were reviewed and the perspectives were outlined.

Keywords: Actinobacteria, Insects, Animal, Symbiotic systems

放线菌通常指在生活史中具有分支菌丝形态的细菌。但随着 16S rRNA 基因序列分析技术用于放线菌的系统进化研究, 放线菌的定义逐渐演变为一群革兰氏阳性、高 G + C 含量(> 55%)的细菌。无论从过去的抗生素筛选还是从近年来微生物基因组学的研究成果, 放线菌在天然产物的产生与筛选中都占有重要位置。为获得新型放线菌资源, 除对以前研究较少的海洋与陆地极端生态环境(高温、高压、厌氧、低温、酸碱等)中的放线菌进行研究外, 对陆地动植物共生放线菌也进行了研究。相对于植物内生放线菌, 对动物特别是昆虫共生放线菌的研究

发展较快, 有必要对目前的研究结果进行综述。由于有关海洋动物特别是海绵共生放线菌的研究已有综述, 且国内已开展相关研究^[1-4], 所以本文主要介绍陆地动物共生放线菌的研究进展。

1 无脊椎动物共生放线菌的种类及对宿主的影响

1946年, Hungate在研究食木白蚁肠道中具有降解纤维素能力的微生物时分离到一种具有降解纤维素能力的放线菌 *Micromonospora propionici*。随后利用扫描电子显微镜在土食性低等白蚁后肠发现大量

的丝状细菌附着在角质突起上^[5]。推测这些丝状细菌有利于白蚁消化纤维素、木质素等物质。利用¹⁴C木质素与¹⁴C纤维素标记的白蚁韧皮部证实白蚁肠道分离的11株链霉菌具有较强的降解木质素的能力^[6]。证实了白蚁肠道共生放线菌对宿主消化能力的影响。

现在认为低等白蚁消化纤维素的能力由共生的鞭毛虫完成;高等白蚁与白蚁伞菌(*Termitomyces*)具有共生关系,可利用白蚁伞菌产生的酶消化木聚糖等物质;其他白蚁则依靠共生细菌消化纤维素类物质,其中放线菌所占比例较大^[7]。通过比较土食性白蚁肠道、蚁巢及周围土壤中分离的放线菌的44项生理特征,发现白蚁肠道中放线菌生理特征与蚁巢及周围土壤中的放线菌生理特征有较大差别,更适应白蚁肠道高碱性及厌氧环境,一些厌氧放线菌在白蚁消化中起到重要作用,因此白蚁肠道中还有多种稀有放线菌没有分离出来^[8]。采用DGGE(Denaturing gradient gel electrophoresis)技术比较土食性白蚁肠道、蚁巢及周围土壤中细菌的类群发现:白蚁蚁巢主要细菌类群为放线菌(其中类诺卡氏科(Nocardioideae)为主要放线菌类群,其他还包括原小单孢菌科(Promicromonosporaceae)、链孢囊菌科(Streptosporangineae)、链霉菌科(Streptomycetaceae)、微杆菌科(Microbacteriaceae)、微球菌科(Micrococcaceae)、皮杆菌科(Dermabacteraceae)、酸微菌科(Acidimicrobiaceae)、红色杆菌科(Rubrobacteraceae)、Coriobacteriaceae等,这与周围土壤及白蚁肠道中的细菌类群组成有较大差异,大多数白蚁肠道中的放线菌种类均可以在蚁巢中找到。由于蚁巢是白蚁粪便与唾液混合其他材料建成,因此推测蚁巢中的放线菌有可能来源于白蚁肠道^[9]。

相对于白蚁共生放线菌的研究,切叶蚁共生放线菌的发现则引起了人们广泛的研究兴趣。切叶蚁可利用采集的树叶栽培供其食用的环柄菇菌(*Lepiotaceae*)菌丝,一直是研究生物共生关系的重要模型。但对于切叶蚁如何保护种植的环柄菇菌免受其他寄生真菌*Escovopsis*的危害了解不多。1999年,Currie等在切叶蚁腹部表面(前腿下与前胸侧板)发现存在丝状细菌结构,这种细菌在平板上对环柄菇菌的寄生真菌*Escovopsis*有较强的抑制作用,但对环柄菇菌无抑制活性,表明这种细菌对于维持切叶

蚁——环柄菇菌共生体的存在起到重要作用^[10]。这种丝状细菌后来被鉴定为假诺卡氏菌(*Pseudonocardia*),随后又从种植真菌的切叶蚁体表分离到链霉菌属(*Streptomyces*)、皮生球菌属(*Dermacoccus*)、拟无枝菌酸菌属(*Amycolatopsis*)、分枝杆菌属(*Mycobacterium*)、微杆菌属(*Microbacterium*)^[11-13]。从两种非真菌种植蚂蚁的工蚁体表也可分离到放线菌,其中来源于种植真菌蚂蚁的放线菌菌株中有62%对环柄菇菌的寄生真菌*Escovopsis*有抑制活性,而来源于非种植真菌蚂蚁的放线菌菌株中有80%对寄生真菌*Escovopsis*有抑制活性^[14]。切叶蚁体表的共生放线菌受切叶蚁特殊的外分泌腺及表皮小囊的调控,保持在体表与切叶蚁的共生关系^[15]。初生切叶蚁可从周围土壤、其他同伴以及孵化的卵获得共生放线菌^[14]。切叶蚁共生链霉菌可产生杀假丝菌素(Candicidin)抑制寄生真菌*Escovopsis*的生长,但对共生真菌的生长影响不大^[12]。但也有研究表明切叶蚁的共生假诺卡氏菌与拟无枝菌酸菌的代谢物对种植的真菌以及寄生真菌*Escovopsis*均有抑制活性^[13],这可能与不同菌株的不同特性有关^[16]。

在欧洲土蜂(European beewolf)的触角腺中发现一种链霉菌与宿主形成专一的共生关系,这种链霉菌可在宿主产卵前进入宿主血细胞,被幼虫吸收后存在于茧壁上,可以保护蜂茧免受病原真菌的感染,从而提高幼虫的存活率^[17]。最近在南美土蜂的触角腺中也发现有类似的链霉菌存在,通过产生多种抗生素保护幼虫免受病原真菌的感染^[18],表明这是一种广泛存在的极其古老的共生关系。在红火甲虫(Red fire bug)肠道中发现的放线菌*Coriobacterium glomerans*可进入雌性昆虫的血淋巴,在产卵时由雌性昆虫将放线菌分泌至虫卵表面,在虫卵孵化时进入稚虫肠道。如果消除放线菌,幼虫生长缓慢并且死亡率上升,表明这种放线菌与宿主的营养供应有关。在另一种棉花染色甲虫(Cotton stainer bug)也检测到这种放线菌的存在,因此*Coriobacterium glomerans*可能普遍存在于这类甲虫的肠道中^[19]。采用放线菌特异性引物检测金龟子幼虫肠道中的放线菌,发现与其他种类金龟子幼虫及白蚁肠道放线菌有较高的相似性,但与金龟子幼虫食物中的放线菌则没有相似性^[20]。美国南部松树甲壳虫(Southern pine beetles)可种植真菌*Entomocorticium* sp.供其幼虫取

食, 从而形成共生关系。在甲壳虫的贮菌器中发现存在链霉菌, 其产生的抗生素对影响共生关系的拮抗真菌 *Ophiostoma minus* 有较强的抑制活性, 而对 *Entomocorticium sp.* 的抑制活性较弱, 表现出与切叶蚁—环柄菇菌共生系统的相似性^[21]。

在土壤节肢动物千足虫的肠道及粪便中也分离到原小单孢菌属 (*Promicromonospora*) 与厄氏菌属 (*Oerskovia*) 以及不同于以上两种放线菌的诺卡氏菌形状的放线菌, 同时也发现不同的千足虫可能含有不同的共生放线菌种类^[22]。在多种蚯蚓的消化管 (Cast) 中也发现存在不同的放线菌类群, 其数目明显高于其取食的土壤中的放线菌, 但放线菌的种类与取食土壤中的放线菌种类相似, 由于经过蚯蚓肠道后放线菌的数目没有明显增加, 所以蚯蚓可能在土壤中起到带动土壤放线菌传播的作用^[23]。

2 脊椎动物共生放线菌的种类及对宿主的影响

在高等脊椎动物消化道中也分离到多种放线菌。从犬粪、绵羊瘤胃以及人类口腔都分离到厌氧 *Slackia* 属放线菌, 已发现的该属 3 个种均与动物有密切关系^[24]。在牛瘤胃中分离到的厌氧放线菌 *Denitrobacterium detoxificans* 可降解饲料中的 3-硝基-1-丙醇及 3-硝基-1-丙酸毒素, 推测在瘤胃中具有解毒作用^[25]。从大熊猫、斑马与竹鼠粪便中分离获得罕见的放线菌 *Williamsia*、*Sanguibacter* 和 *Labeledella*^[26]。我们对山羊粪便可培养放线菌类群与功能研究表明: 主要放线菌种类为厄氏菌属与纤维微菌属 (*Cellulosimicrobium*), 其他包括类诺卡氏菌属 (*Nocardioides*)、链霉菌属及拟无枝菌酸菌属。链霉菌的主要种类与 *Streptomyces fungicidicus* 有较高的相似性, 具有较强的抗真菌能力^[27], 有些链霉菌与阿维链霉菌 (*Streptomyces avermitilis*) 有较高的相似性。这与山羊接触到的土壤、水、植物中的放线菌类群有明显差别, 因此这些放线菌应该是山羊肠道的固有放线菌, 并且可以在山羊肠道生长与代谢。已经发现 *Streptomyces fungicidicus* ATCC20013 产生的 Enduracidin 对耐万古霉素粪肠球菌与耐甲氧西林金黄色葡萄球菌均有较好的抑制作用^[28], 阿维链霉菌可产生抗虫活性的阿维菌素, 这些链霉菌在羊肠道中的作用有待进一步研究。在厄氏菌属与类诺

卡氏菌属中也发现拮抗活性菌株, 不仅如此, 多数菌株都产生有利于宿主消化的水解酶并对部分重金属有解毒活性, 这些放线菌对山羊的影响有待深入研究。

3 动物共生放线菌产生的生物活性物质

切叶蚁 *Apterostigma dentigerum* 共生假诺卡氏菌可产生一种新的环状缩酚酸肽抗生素 dentigerumycin, 其中含有哌嗪酸, γ -羟基哌嗪酸, β -羟基亮氨酸等不常见氨基酸, 不仅对寄生真菌 *Escovopsis* 有抑制活性 (MIC = 2.8 $\mu\text{mol/L}$), 而且对野生型白色念珠菌 ATCC10231, 耐两性霉素白色念珠菌 ATCC200955 具有较强抑制活性 (MIC = 1.1 $\mu\text{mol/L}$)^[29]。南部松树甲壳虫共生系统中的共生放线菌 *Streptomyces sp.* SPB74 产生的多烯过氧化物抗生素 mycangimycin 对白色念珠菌的抑制活性与两性霉素 B 相当, 并且具有抗疟原虫活性, 但其活性比临床应用的抗疟药物青蒿素略低^[30]。欧洲土蜂共生放线菌 *Streptomyces spp.* 可产生 9 种抗生素保护幼虫免受病原真菌与细菌的感染, 这些抗生素主要分布在蜂巢的外表面, 内表面所含抗生素浓度较低。单独一种抗生素或几种抗生素存在时, 抑菌活性均较 9 种抗生素同时存在时的抑菌活性低, 表明这 9 种抗生素具有较好的互补作用^[31], 可能对人类联合使用抗生素有参考意义。

4 动物共生放线菌研究意义

4.1 发现新型放线菌资源

获得新型放线菌资源一直是放线菌研究的重要内容。目前采用分子生态学技术对黑猩猩粪便与人胃内部细菌类群的分析表明: 均存在较多的放线菌种类, 但目前仅对少数动物中的部分放线菌进行了较为详细的研究。地球上查明的动物种类约 150 万种, 其中昆虫约 100 万种, 因此可以看出还有大量的动物共生放线菌没有被发现。可以预见这些放线菌在种类及功能上具有丰富的多样性, 有望从中发现新型放线菌资源。

4.2 生态学上有利于深入研究共生现象

发现切叶蚁共生放线菌具有抑制寄生真菌 *Escovopsis* 的活性后, 切叶蚁—真菌共生系统由两方共生关系扩展为三方共生关系。而切叶蚁—

共生放线菌在共生系统进化中可能具有更重要的作用。在切叶蚁种植的真菌中也分离到分枝杆菌属与微杆菌属放线菌,反映出这些共生系统的复杂性有待进一步深入研究^[11]。

4.3 产生新型代谢产物

昆虫的免疫系统相对简单,但其生活环境十分多样,具备较强的适应能力。甲壳虫 *Dendroctonus rufipennis* 的口腔分泌物中存在多种抑制病原真菌的细菌,其中抑制活性最强的细菌属于藤黄微球菌 (*Micrococcus luteus*)^[32]。从昆虫共生放线菌也已经分离到几种新型抗真菌抗生素,这些昆虫体内的放线菌对于寻找新型抗真菌药物有重要意义^[33]。由于昆虫与共生放线菌的共生关系已存在上百万年,对这些抗生素抗菌机制的研究有望揭示新型药物作用的靶位点,开发出副作用较低的新型抗菌药物。

4.4 对动物生产的影响

由于对抗生素耐药性的担忧,在动物生产中已加强了对饲料中添加促生长抗生素的限制。我们已在山羊粪便中发现了与促生长抗生素及抗寄生虫抗生素产生菌具有较高相似性的放线菌种类。虽然放线菌的数目明显低于其他细菌,但丝状放线菌较大的生物量可在一定程度上弥补数量较少的缺点。因此放线菌对宿主生长的影响也应引起相应的重视。如果能了解放线菌在宿主体内产生抗生素的种类与数量,无疑对动物生产中合理使用抗生素有指导意义。

4.5 改造共生放线菌,控制媒介昆虫中寄生虫数量

南美锥虫病(Chagas disease)是通过锥蝽传播的一种寄生虫病。在媒介昆虫骚扰锥蝽(*Triatoma infestans*)的中肠分离到诺卡氏菌及棒状杆菌。已有研究成功利用棒状杆菌表达针对枯氏锥虫(*Trypanosoma cruzi*)的短链抗体。在利用另一种媒介昆虫长红锥蝽(*Rhodnius prolixus*)共生蝽象红球菌(*Rhodococcus rhodnii*)表达的多肽 cecropin A 可消除长红锥蝽肠道内的枯氏锥虫^[34]。对控制虫媒寄生虫的传播提供了新的思路。

目前对于动物共生放线菌的研究尚处于起步阶段,已显示出诱人的研究前景。不难看出,进一步的研究需要微生物学、药理学、生态学和昆虫学等多学科领域研究人员的共同努力。

参 考 文 献

- [1] Haygood MG, Schmidt EW, Davidson SK, *et al.* Microbial symbionts of marine invertebrates: opportunities for microbial biotechnology. *J Mol Microbiol Biotenol*, 1999(1): 33-43.
- [2] Kim TK, Garson MJ, Fuerst JA. Marine actinomycetes related to the 'Salinospora' group from the Great Barrier Reef sponge *Pseudoceratina clavata*. *Environ Microbiol*, 2005(7): 509-518.
- [3] Ward AC, Bora N. Diversity and biogeography of marine actinobacteria. *Curr Opin Microbiol*, 2006(9): 279-286.
- [4] Zhang H, Lee YK, Zhang W, *et al.* Culturable actinobacteria from the marine sponge *Hymeniacidon perleve*: isolation and phylogenetic diversity by 16S rRNA gene-RFLP analysis. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2006(90): 159-169.
- [5] Bignell DE, Oskarsson H, Anderson JM. Association of actinomycete-like bacteria with soil-feeding termites (Termitidae, Termitinae). *Appl Environ Microbiol*, 1979(37): 339-342.
- [6] Pasti MB, Pometto AL, Nuti MP. Lignin-solubilizing ability of actinomycetes isolated from termite (Termitidae) gut. *Appl Environ Microbiol*, 1990(56): 2213-2218.
- [7] Schäfer A, Konrad R, Kuhnigk T, *et al.* Hemicellulose-degrading bacteria and yeasts from termite gut. *J Appl Bacteriol*, 1996(80): 471-478.
- [8] Bignell DE, Anderson JM, Chosse R. Isolation of facultatively aerobic actinomycetes from the gut, parent soil and mound materials of the termites *Procupitermes buriensis* and *Cubitermes severus*. *FEMS Microbiol Lett*, 1991(85): 151-159.
- [9] Fall S, Hamelin J, Ndiaye F, *et al.* Differences between bacterial communities in the gut of a soil-feeding termite (*Cubitermes niokoloensis*) and its mounds. *Appl Environ Microbiol*, 2007(73): 5199-5208.
- [10] Currie CR, Scott JA, Summerbell RC, *et al.* Fungus-growing ants use antibiotic-producing bacteria to control garden parasites. *Nature*, 1999(398): 701-704.
- [11] Mueller UG, Dash D, Rabeling C, *et al.* Coevolution between attine ants and actinomycete bacteria: a reevaluation. *Evolution*, 2008(62): 2894-2912.
- [12] Haeder S, Wirth R, Herz H, *et al.* Candidicin-producing *Streptomyces* support leaf-cutting ants to protect their fungus garden against the pathogenic fungus *Escovopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009(106): 4742-4746.
- [13] Sen R, Ishak HD, Estrada D, *et al.* Generalized antifungal activity and 454-screening of *Pseudonocardia* and *Amycolatopsis* bacteria in nests of fungus-growing ants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009(106): 17805-17810.
- [14] Kost C, Lakatos T, Böttcher I, *et al.* Non-specific association between filamentous bacteria and fungus-growing ants. *Naturwissenschaften*, 2007(94): 821-828.

- [15] Currie CR, Poulsen M, Mendenhall J, *et al.* Coevolved crypts and exocrine glands support mutualistic bacteria in fungus-growing ants. *Science*, 2006(311): 81–83.
- [16] Poulsen M, Cafaro MJ, Erhardt DP, *et al.* Variation in *Pseudonocardia* antibiotic defence helps govern parasite-induced morbidity in *Acromyrmex* leaf-cutting ants. *Environ Microbiol Rep*, 2009. DOI:10.1111/j.1758-2229.2009.00098.x.
- [17] Kaltenpoth M, Göttler W, Herzner G, *et al.* Symbiotic bacteria protect wasp larvae from fungal infestation. *Curr Biol*, 2005(15): 475–479.
- [18] Kaltenpoth M, Schmitt T, Polidori C, *et al.* Symbiotic streptomycetes in antennal glands of the South American digger wasp genus *Trachypus* (Hymenoptera, Crabronidae). *Physiol Entomol*, 2010(35): 196–200.
- [19] Kaltenpoth M, Winter SA, Kleinhsmmer A. Localization and transmission route of *Coriobacterium glomerrans*, the endosymbiont of pyrrochocid bugs. *FEMS Microbiol Ecol*, 2009(69): 373–383.
- [20] Pittman GM, Brumbley SM, Allsopp PG. “Endomicrobia” and other bacteria associated with the hindgut of *Deromolepida albohirtum* larvae. *Appl Environ Microbiol*, 2008(74): 762–767.
- [21] Scott JJ, Oh DC, Yuceer MC, *et al.* Bacterial protection of beetle-fungus mutualism. *Science*, 2008(322): 63–63.
- [22] Chu TL, Szabó IM, Szabó I. Nocardioform gut actinomycetes of *Glomeris hexasticha* Brandt (Diplopoda). *Biol Fertil Soils*, 1987, 3(1/2): 113–116.
- [23] Jayasinghe BATD, Parkinson D. Earthworms as the vectors of actinomycetes antagonistic to litter decomposer fungi. *Appl Soil Ecol*, 2009(43): 1–10.
- [24] Lawson PA, Greethan HL, Gibson GR, *et al.* *Slackia faecicanis* sp. nov., isolated from canine faeces. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2005(55): 1243–1246.
- [25] Anderson RC, Rasmussen MA, Jensen NS, *et al.* *Denitrobacterium detoxificans* gen. nov., sp. nov., a ruminal bacterium that respire on nitrocompounds. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2000(50): 633–638.
- [26] 姜怡, 曹艳茹, 蔡祥凤, 等. 三种动物粪便及一种虫体可培养放线菌多样性及其生物活性. *微生物学报*, 2009(49): 1152–1157.
- [27] Tan H, Deng Z, Cao L. Isolation and characterization of actinomycetes from healthy goat feces. *Lett Appl Microbiol*, 2009(49): 248–253.
- [28] Yin X, Zabriskie TM. The enduracidin biosynthetic gene cluster from *Streptomyces fungicidicus*. *Microbiology*, 2006(152): 2969–2983.
- [29] Oh D-C, Poulsen M, Currie CR, *et al.* Dentigerumycin: a bacterial mediator of an ant-fungus symbiosis. *Nat Chem Biol*, 2009(5): 391–393.
- [30] Oh D-C, Scott JJ, Currie CR, *et al.* Mycangimycin, a polyene peroxide from a mutualist *Streptomyces* sp.. *Org Lett*, 2009(11): 633–636.
- [31] Kroiss J, Kaltenpoth M, Schneider B, *et al.* Symbiotic streptomycetes provide antibiotic combination prophylaxis for wasp offspring. *Nat Chem Biol*, 2010(6): 261–263.
- [32] Kaltenpoth M. Actinobacteria as mutualists: general healthcare for insects? *Trends Microbiol*, 2009(17): 529–535.
- [33] Bode HB. Insects: true pioneers in anti-infective therapy and what we can learn from them. *Angew Chem Int Ed*, 2009(48): 6394–6396.
- [34] Durvasula RV, Sundaram RK, Kirsch P, *et al.* Genetic transformation of a corynebacterial symbiont from the chagas disease vector *Triatoma infestans*. *Exp Parasitol*, 2008(119): 94–98.

栏目介绍

显微世界

“显微世界”栏目将刊出一些精美清晰的显微照片,带您走进显微镜下的微生物世界,希望在阅读期刊相关科学新进展的同时,给您带来一种愉悦的科学艺术视觉享受。同时欢迎广大作者、读者朋友积极为我们推荐或提供高质量、高清晰的显微照片(提供者保证该图片无任何知识产权问题)。