

DOI: 10.3969/j.issn.2095-1787.2017.02.001

# 实蝇肠杆菌科共生菌的研究进展

姚明燕, 季清娥\*, 陈家骅  
福建农林大学植物保护学院, 福建 福州 350002

**摘要:** 实蝇与体内微生物的共生关系是目前较受关注的研究课题。其中, 肠杆菌科细菌是这些内共生微生物中的重要一类, 广泛存在于实蝇肠道和生殖系统中。研究证明, 共生肠杆菌科细菌在参与实蝇的碳氮循环、营养代谢、生殖免疫及生物防治等方面都发挥着极大的作用。近年来, 人们利用分子生物学技术已鉴定出部分实蝇内共生肠杆菌科细菌的类群, 发现许多优势的益生肠杆菌种和代谢产物, 它们能增强实蝇的健康, 提高昆虫不育技术的应用高效性。本文对实蝇共生肠杆菌科细菌的种类、分布和作用, 以及它们在不育昆虫技术中的应用进展作一综述, 这不仅有助于人们更深入地了解宿主与共生菌群落间的互作关系, 而且对人类开发新型实蝇防治饵剂以及将此类共生益生菌应用于实蝇不育技术有重要意义。

**关键词:** 肠杆菌科; 实蝇; 共生系统; 功能; 不育昆虫技术

## Advance on the study of symbiotic enterobacteria in fruit flies

YAO Mingyan, JI Qing'e\*, CHEN Jiahua  
*College of Plant Protection, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China*

**Abstract:** The symbiotic relationship between fruit flies and microorganisms has been a research focus at present. The Enterobacteriaceae are an especially important family of these symbiotic microorganisms, widely found in the gut and reproductive system of fruit flies. They play important roles in the carbon-nitrogen cycle, nutrition, metabolism, and reproductive immunity of their fruit fly hosts. Numerous enterobacteria have been identified by molecular techniques, and several metabolic products of enterobacteria enhance fitness. These findings can improve the efficiency of sterile insect technique (SIT). So, research on symbiotic enterobacteria is helpful not only to understand the interaction between fruit flies and symbionts, but also to exploit new control techniques of tephritid pests.

**Key words:** Enterobacteriaceae; fruit fly; symbiotic system; function; sterile insect technique

肠杆菌科 Enterobacteriaceae 细菌是一群革兰氏阴性、具有高 G+C 含量 (39% ~ 59%) 的细菌, 分布广, 寄生于人、动物和植物, 甚至在土壤或水中也能存活。肠杆菌科细菌在自然界中易于培养, 繁殖快 (20~30 min 一代), 大部分能在无机氮培养基上生长。植食性实蝇类昆虫 (双翅目: 实蝇科) 是重要的农业害虫, 危害作物种类多, 严重影响农业生产和果蔬贸易, 已被列为国家重要的经济类检疫性有害生物 (柳丽君等, 2011)。肠杆菌科细菌作为益生菌寄居在实蝇肠道内, 能提高宿主对贫瘠食物的摄取, 帮助消化食物成分, 增强实蝇的健康体质, 并能调控交配和生殖系统 (柳丽君等, 2011; 相辉和黄勇平, 2008; 周洪英等, 2015)。在实蝇的肠道中寄居着多样性丰富的共生菌, 其中, 肠杆菌科细菌不但种类多, 而且菌种的相对丰度高, 是实蝇肠道中最重要的菌群 (骆米娟等, 2016; 柳丽君等, 2011; 王洪秀等, 2015; 张某等, 2016; Aharon *et al.*, 2013)。近年来, 对实蝇共生肠杆菌科细菌的研究进展快, 对其功能性的研究热度更是不断增加 (王洪秀, 2011; 王莉莉, 2011; Augustinos *et al.*, 2015; Behar *et al.*, 2005; Hamden *et al.*, 2013; Kikuchi *et al.*, 2011)。本文综述近年来有关实蝇体内的肠杆菌科细菌的研究, 阐述了肠杆菌科细菌与实蝇间的互作以及在不育技术中的应用, 以期今后开发新型实蝇防治饵剂及研究实蝇不育技术提供参考。

### 1 实蝇共生肠杆菌科细菌的分布

肠杆菌科是实蝇类害虫体内最重要的优势菌群, 人们从各类实蝇的肠道或生殖系统内发现了大

收稿日期 (Received): 2016-06-16      接受日期 (Accepted): 2016-08-03  
基金项目: FAO/ IAEA CRP (16035)  
作者简介: 姚明燕, 女, 硕士研究生。研究方向: 农业昆虫与害虫防治。E-mail: 15705911594@163.com  
\* 通讯作者 (Author for correspondence), E-mail: jiqing@yeah.net

量的肠杆菌(表 1)。Aharon *et al.* (2013)应用 454 焦磷酸测序技术对地中海实蝇 *Ceratitis capitata* (Wiedemann) 的卵、幼虫、蛹、1 日龄实验室成虫、未知龄段的野生成虫以及 30 日龄实验室成虫的整个体躯或肠道组织进行测序后,发现肠杆菌科细菌是各个样品虫源中丰度最高、多样性最丰富的菌群,其中,肠杆菌属 *Enterobacter*、克雷伯氏菌属 *Klebsiella*、果胶杆菌属 *Pectobacterium* 是最优势的代表菌属。Wang *et al.* (2014)用 16S rRNA 基因的 PCR-DGGE 分析技术在 3 种橘小实蝇肠道中测得肠杆菌属、克雷伯氏菌属、柠檬酸杆菌属 *Citobacter*、肠球菌属 *Enterococcus* 是可培养的优势属种类。其他几种实蝇消化道中肠杆菌科中的 *Klebsiella* 和 *Enterobacter* 也是优势菌群 (Behar *et al.*, 2008a; Boye & Hansen, 2003; Drew & Lloyd, 1991)。骆米娟等 (2016)采用传统的微生物培养和 16S rDNA (V6-V8) 分子测序技术相结合的方法从南亚实蝇 *Bactrocera tau* (Walker) 雌雄成虫肠道中分离到肠杆菌科细菌群。研究显示,实蝇肠道微生物群落多样性及结构的改变受到多种因素的影响,如环境和食物条件的差异 (王洪秀等, 2015)、实蝇个体发育阶段的不同 (Aharon *et al.*, 2013)、实蝇所处的地理条件和季节气候也会引起肠道微生物的变化 (Behar *et al.*, 2013),甚至实蝇的某些分子机制,如抗菌肽和活性氧这种天然免疫系统的存在都能直接或间接地调控肠道微生物群落,使菌种数量增加、减少或保持在一个相对稳定的水平,以满足宿主机体的健康需求 (Douglas, 2014)。尽管实蝇肠道微生物受到外在或内在因素的影响,其多样性也发生变化,但是肠杆菌科细菌仍然是其肠道中最稳定的菌群,即使是昆虫不育技术 (sterile insect technique, SIT) 中使用的辐照条件也不会破坏肠杆菌科细菌寄居的优势地位,其中的聚团肠杆菌 *Enterobacter* (*Pantoea*) *agglomerans* 和肺炎克雷伯氏菌 *Klebsiella pneumoniae* 能在地中海实蝇的整个生活史中垂直传递 2 代 (Lauzon *et al.*, 2009)。

## 2 实蝇共生肠杆菌科细菌的作用

### 2.1 参与代谢,提供营养物质

氮素大量存在于自然界,在动物体内的含量有限却又必不可少。共生肠杆菌科细菌补足宿主不能从瓜果、蔬菜等农作物中摄取必要氨基酸和矿物质。这些共生菌可能扮演着氮源、氨基酸以及维生

素的角色。肺炎克雷伯氏菌、弗氏柠檬酸杆菌 *Citrobacter freundii*、胡萝卜果胶杆菌 *Pectobacterium carotovora* 和杓兰果胶杆菌 *Pectobacterium cypripedii* 经过微生物的可培养和不可培养技术,从野生的地中海实蝇肠道中分离并成为相对丰度最高的潜在固氮微生物菌种,能够在活体实蝇体内表达双氮还原酶基因,并参与宿主固氮,增加氮元素含量 (Behar *et al.*, 2005),参与碳、氮代谢,影响宿主健康 (Behar *et al.*, 2008a)。共生肠杆菌科细菌——欧文氏菌 *Candidatus Erwinia dacicola* 在油橄榄实蝇 *B. oleae* 肠道内处于优势地位,能够将非必要氨基酸通过相关的代谢机制转变为宿主所需的氨基酸或蛋白,从而提高雌虫产卵量 (Ben-Yosef *et al.*, 2010, 2014)。欧文氏菌在油橄榄实蝇幼虫肠道中不仅作为营养资源寄居,而且能参与寄主水果油橄榄的二次代谢,与未成熟油橄榄中的橄榄苦苷 (oleuropein) (一种存在寄主果实中,能削弱入侵实蝇体内主要氨基酸——赖氨酸的含量,此外可能作为不活跃的酶降低实蝇对饮食中蛋白的消化能力) 发生中和作用,使油橄榄幼虫克服寄主水果的化学阻力,更易寄生在未成熟的油橄榄果实中,完成正常的生长发育 (Ben-Yosef *et al.*, 2015)。还有研究表明,从苹果绕实蝇 *Rhagoletis pomonella* (Walsh) 肠道内分离出来的聚团肠杆菌,能将寄主植物含有的致死有毒物质根皮苷降解,使苹果绕实蝇更易安全地寄生 (Robacker & Lauzon, 2002)。

### 2.2 具有潜在的引诱活性

共生肠杆菌科细菌能产生一些特殊的具有引诱活性的化学物质,将其作为引诱剂可完善甲基丁香酚、诱捕器和蛋白饵剂作用于实蝇的局限。研究表明,从苹果绕实蝇 (apple maggot fly, AMF) 的肠道中分离出来的聚团肠杆菌能产生更多的吡嗪、3-甲基丁醇、2,5-二甲基吡嗪,从墨西哥实蝇 (Mexican fruit fly, MFF) 分离的菌株能产生 3-羟基丁酮,但只有吡嗪对实蝇成虫产生引诱活性,其他的化学物质则抑制吡嗪的引诱活性 (Robacker *et al.*, 2004)。Shi *et al.* (2012) 利用从雌性橘小实蝇生殖系统中分离鉴定出对雌成虫具有引诱活性的几种肠杆菌科细菌:产酸克雷伯氏菌 *Klebsiella oxytoca*、肺炎克雷伯氏菌和土生拉乌尔菌 *Raoultella terrigena*。野外大笼实验中,产酸克雷伯氏菌能引诱最多的雌成虫。Wang *et al.* (2014) 从 3 种不同途径采集的橘

小实蝇肠道中分离出具有引诱活性的肠杆菌科细菌,其中,加入阴沟肠杆菌 *Enterobacter cloacae* 和弗氏柠檬酸杆菌 *Citrobacter freundii* 的 LB 液体培养基比不加菌的 LB 液体培养基能引诱更多的橘小实蝇成虫,且经过高压灭菌的这 2 种菌株的菌悬液也比无菌对照引诱力强。Robacker *et al.* (2009) 指出,氨基化学成分的存在可能是造成菌挥发产物具有强引诱力的原因。桃实蝇 *B. zonata* 的肠道中也能分离出具有引诱活性的阴沟肠杆菌和肺炎克雷伯氏菌 (Reddy *et al.*, 2014)。

2.3 协助宿主防御有害微生物

地中海实蝇肠道中不仅寄居着大量且优势的肠杆菌科细菌,而且存在着常见而稳定的假单胞菌属 *Pseudomonas*, 采用新型的自杀式聚合酶限制 PCR (SuPER-PCR) 技术能检测到致病菌绿脓假单胞菌 *Pseudomonas aeruginosa* 的存在。当实蝇食用、接种含有大量 *P. aeruginosa* 的饲料时,其寿命明显缩短。但是当在饲料中加入杓兰果胶杆菌、弗氏柠檬酸杆菌、肠杆菌属、产酸克雷伯氏菌、成团泛菌属 *Pantoea* 任一种肠杆菌科细菌时,其寿命明显延长。这说明肠杆菌科细菌的存在能够抑制病原菌的生长发育,避免它们威胁宿主的健康 (Behar *et al.*, 2008b)。

3 实蝇内共生肠杆菌科细菌与昆虫不育技术的联系

3.1 实蝇防治技术

传统防治实蝇的方法包括化学农药、害虫的综合治理和生物防治。其中,化学农药防治产生的 3R 问题给生态环境、天敌及人类健康带来严重的威胁,为减少对生态系统的消极影响,开发新型害虫防治技术已迫在眉睫。昆虫不育技术 (sterile insect technique, SIT) 通过基因消除——RIDL (向田间释放携带有显性致死基因昆虫)、生殖干扰和 RNA 干扰等不育技术手段,抑制害虫虫口的扩增或害虫种群更替 (Lsftwich *et al.*, 2015), 因其对生态安全 and 环境友好, SIT 越来越受到国内外农业部门和研究学者的重视,已成为防治实蝇的热点。

3.2 SIT 对实蝇肠道共生肠杆菌科细菌的影响

大量饲养高质量的不育雄虫是保证 SIT 高效性的基础 (Dyck *et al.*, 2005)。但有研究表明,实验室大量饲养的不育雄虫在存活率、体质健康和竞争

交配力方面都不及野生雄虫,从而造成 SIT 应用的缺陷和低效性,这可能与实蝇人工饲料、实验室饲养条件、SIT 的辐照过程、运输和释放过程有关 (Behar *et al.*, 2008a; Ben-Yosef *et al.*, 2010)。另外, SIT 的辐照不育过程能破坏靶标地中海实蝇和墨西哥按实蝇的中肠组织、肠道微生物以及中肠蛋白酶等营养成分 (Lauzon & Potter, 2012), 降低地中海实蝇肠道中优势肠杆菌属和克雷伯氏菌属的相对丰度, 增加致病菌属的相对丰度, 如绿脓假单胞菌 (Behar *et al.*, 2008b; Ben-Ami *et al.*, 2010), 这种不平衡可能会削弱不育雄虫在田间的竞争交配力。

3.3 实蝇肠道共生肠杆菌科益生菌能提高 SIT 的高效性

实蝇肠道中益生菌能增强宿主健康和交配能力,聚团肠杆菌、成团泛菌 *Pantoea agglomerans* 和肺炎克雷伯氏菌,能提高地中海实蝇的性表现力 (Lauzon & Potter, 2012), 而食用接种有产酸克雷伯氏菌饲料的地中海实蝇,不但性表现力提高,而且当寄主处于饥饿压力下时,其寿命也明显延长 (Gavriel *et al.*, 2011)。更多关于肠杆菌科细菌应用于 SIT 实蝇的案例见表 2。

大部分肠杆菌科细菌既是实蝇肠道中的优势菌也是益生菌,其中,肠杆菌属和克雷伯氏菌属的开发应用研究最多,但在油橄榄实蝇的益生菌饲料的开发应用实验中,在不加入酵母的人工饲料里接种假单胞菌科细菌——恶臭假单胞菌 *Pseudomonas putida*,能显著提高实验室喂养的油橄榄实蝇雌虫的产卵率。此研究表明,除欧文氏菌属、肠杆菌属能作为增强 SIT 油橄榄实蝇的益生菌资源,恶臭假单胞菌也可被定义为益生菌中的一员 (Estes *et al.*, 2012; Sacchetti *et al.*, 2014)。

实蝇内生肠杆菌科细菌作为益生菌影响 SIT 实蝇的体质健康或生殖表现力时,实蝇种类、实验室饲养的条件以及人工饲料的选择都会影响益生菌的应用效果。将产酸克雷伯氏菌作为益生菌被接种富含蛋白的人工饲料中,用这种饲料喂养南亚实蝇 *B. Tau*, 南亚实蝇雌虫的产卵率提高不明显 (Khan *et al.*, 2014)。而在昆士兰实蝇 *B. tryoni* 的成虫饲料中接种产酸克雷伯氏菌和肺炎克雷伯氏菌,实蝇产生成熟的卵母细胞和卵粒的数量与不加入益生菌的对照饲料比较,测定的指标数量并未增加 (Meats *et al.*, 2009)。

表 1 实蝇生殖系统及肠道内已鉴定的共生肠杆菌科细菌

Table 1 The identified symbiotic enterobacteriaceae in the reproductive system and gut of fruit flies

| 实蝇种名 Host species        | 分离部位 Host organ             | 菌属或菌种 Symbiont genus or species      | 参考文献 References                                          |
|--------------------------|-----------------------------|--------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| 地中海实蝇 <i>C. capitata</i> | 肠道 Intestine                | 肠杆菌属 <i>Enterobacter</i>             | Aharon <i>et al.</i> ,2013; Lauzon <i>et al.</i> ,2009   |
|                          |                             | 成团泛菌属 <i>Pantoea</i>                 | Behar <i>et al.</i> ,2005                                |
|                          |                             | 克雷伯氏菌属 <i>Klebsiella</i>             | Behar <i>et al.</i> ,2008b                               |
|                          |                             | 肺炎克雷伯氏菌 <i>K. Pneumonia</i>          |                                                          |
|                          |                             | 产酸克雷伯氏菌 <i>K. Oxytoca</i>            | Behar <i>et al.</i> ,2013                                |
|                          |                             | 果胶杆菌属 <i>Pectobacterium</i>          |                                                          |
|                          |                             | 佛氏柠檬酸杆菌 <i>Citrobacter freundii</i>  |                                                          |
|                          |                             | 斯氏普罗维登斯菌 <i>Providencia stuartii</i> |                                                          |
| 油橄榄果实蝇 <i>B. oleae</i>   | 肠道 Intestine                | 欧文氏菌属 <i>Erwinia</i>                 | Estes <i>et al.</i> ,2012                                |
|                          |                             | 柠檬酸杆菌属 <i>Citrobater</i>             | Estes <i>et al.</i> ,2009; Savio <i>et al.</i> ,2012     |
|                          |                             | 变形杆菌属 <i>Proteus</i>                 |                                                          |
|                          |                             | 普罗威登斯菌属 <i>Providencia</i>           |                                                          |
|                          |                             | 肠杆菌属 <i>Enterobacter</i> sp.         | Kounatidis <i>et al.</i> ,2009                           |
|                          |                             | 克雷伯氏菌属 <i>Klebsiella</i>             | Capuzzo,2005; Sacchetti <i>et al.</i> ,2008              |
|                          |                             | 沙雷氏菌属 <i>Serratia</i>                |                                                          |
| 橘小实蝇 <i>B. dorsalis</i>  | 肠道 Intestine                | 阴沟肠杆菌 <i>Enterobacter cloacae</i>    | Wang <i>et al.</i> ,2014                                 |
|                          |                             | 佛氏柠檬酸杆菌 <i>Citrobacter freundii</i>  |                                                          |
|                          |                             | 肺炎克雷伯氏菌 <i>Klebsiella pneumonia</i>  |                                                          |
|                          |                             | 分散泛菌 <i>Pantoea dispersa</i>         |                                                          |
|                          |                             | 霍氏肠杆菌 <i>Enterobacter hormaechei</i> |                                                          |
|                          |                             | 阿氏肠杆菌 <i>Enterobacter asburia</i>    |                                                          |
|                          | 生殖系统<br>Reproductive system | 产气肠杆菌 <i>Enterobacter aerogenes</i>  | 王莉莉,2011                                                 |
|                          |                             | 肠杆菌属 <i>Enterobacter</i>             |                                                          |
|                          |                             | 柠檬酸杆菌属 <i>Citrobacter</i>            | Shi <i>et al.</i> ,2012                                  |
|                          |                             | 拉乌尔菌属 <i>Raoultella</i>              |                                                          |
|                          |                             | 摩根氏菌属 <i>Morganella</i>              |                                                          |
|                          |                             | 产酸克雷伯氏菌 <i>Klebsiella oxytoca</i>    |                                                          |
| 南亚实蝇 <i>B. tau</i>       | 肠道 Intestine                | 栖水肠杆菌 <i>Enterobacter amnigenus</i>  |                                                          |
|                          |                             | 苍白杆菌属 <i>Ochrobactrum</i>            | Prabhakar <i>et al.</i> ,2012                            |
|                          |                             | 肠杆菌属 <i>Enterobacter</i>             |                                                          |
|                          |                             | 克雷伯氏菌属 <i>Klebsiella</i>             | 王洪秀等,2015                                                |
|                          |                             | 泛菌属 <i>Pantoea</i>                   |                                                          |
|                          |                             | 果胶杆菌属 <i>Pectobacterium</i>          | 骆米娟等,2016                                                |
|                          |                             | 普罗威登斯菌属 <i>Providencia</i>           |                                                          |
| 瓜实蝇 <i>B. cucurbitae</i> | 肠道 Intestine                | 摩根氏菌属 <i>Morganella</i>              |                                                          |
|                          |                             | 肠杆菌属 <i>Enterobacter</i>             | Sood & Nath,2002                                         |
|                          |                             | 肠杆菌属 <i>Enterobacter</i>             |                                                          |
|                          |                             | 克雷伯氏菌属 <i>Klebsiella</i>             | 王洪秀等,2015                                                |
|                          |                             | 泛菌属 <i>Pantoea</i>                   |                                                          |
|                          |                             | 果胶杆菌属 <i>Pectobacterium</i>          | 骆米娟等,2016                                                |
|                          |                             | 普罗威登斯菌属 <i>Providencia</i>           |                                                          |
| 柑橘大实蝇 <i>B. minax</i>    | 生殖系统<br>Reproductive system | 摩根氏菌属 <i>Morganella</i>              |                                                          |
|                          |                             | 肠杆菌属 <i>Enterobacter</i>             | Wang <i>et al.</i> ,2014                                 |
|                          |                             | 克雷伯氏菌属 <i>Klebsiella</i>             |                                                          |
|                          |                             | 柠檬酸杆菌属 <i>Citrobacter</i>            |                                                          |
| 番石榴实蝇 <i>B. correcta</i> | 肠道 Intestine                | 沙雷氏菌属 <i>Serratia</i>                |                                                          |
|                          |                             | 肠杆菌属 <i>Enterobacter</i>             | 戴阳等,2012                                                 |
|                          |                             | 柠檬酸杆菌属 <i>Citrobacter</i>            |                                                          |
|                          |                             | 肠杆菌属 <i>Enterobacter</i>             |                                                          |
| 桃实蝇 <i>B. zonata</i>     | 中肠 Midgut                   | 阴沟肠杆菌 <i>Enterobacter cloacae</i>    | Reddy <i>et al.</i> ,2014                                |
|                          |                             | 肺炎克雷伯氏菌 <i>Klebsiella pneumoniae</i> |                                                          |
| 绕实蝇属 <i>Rhagoletis</i>   | 肠道 Intestine                | 肠杆菌属 <i>Enterobacter</i>             | Howard <i>et al.</i> ,1985; Peloquin <i>et al.</i> ,2000 |
| 寡毛实蝇属 <i>Dacus</i>       | 肠道 Intestine                | 克雷伯氏菌属 <i>Klebsiella</i>             | Fitt & O'Brien,1985; Peloquin <i>et al.</i> ,2002        |
|                          |                             | 泛菌属 <i>Pantoea</i>                   | Drew & Lloyd,1991                                        |
| 按实蝇属 <i>Anastrepha</i>   | 肠道 Intestine                | 果胶杆菌属 <i>Pectobacterium</i>          | Kuzina <i>et al.</i> ,2001                               |
|                          |                             | 佛氏柠檬酸杆菌 <i>Citrobacter freundii</i>  |                                                          |
|                          |                             | 普罗威登斯菌属 <i>Providencia</i>           |                                                          |
|                          |                             | 沙雷氏菌属 <i>Serratia</i>                |                                                          |

表 2 肠杆菌科细菌应用于增强 SIT 实蝇的健康或性表现力

Table 2 Enterobacteriaceae applied for enhancing fitness or sexual performance of fruit flies mass-reared for use in sterile insect releases

| 实蝇种名<br>Host species                             | 肠杆菌科细菌<br>Symbiont                                                                                               | 益生菌应用形式<br>Probiotics applied forms | 健康(生殖)表现<br>Fitness (reproduction) behavior                                                                | 参考文献<br>References                                          |
|--------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|
| 油橄榄实蝇<br><i>B. oleae</i>                         | 普罗威登斯菌属<br><i>Providencia</i>                                                                                    | 成虫饲料<br>Adult food                  | 实验室喂养雌虫产卵率提高<br>Increased egg laying rate of female in the laboratory                                      | Rempoulakis & Dimou, 2014                                   |
| 地中海实蝇<br><i>C. capitata</i><br>(Vienna 8 strain) | 肠杆菌属<br><i>Enterobacter</i>                                                                                      | 幼虫饲料<br>Larval food                 | 幼虫—蛹—成虫 3 个阶段发育期缩短<br>Shorter development time from larva to adult                                         | Augustinos <i>et al.</i> , 2015                             |
| 地中海实蝇<br><i>C. capitata</i>                      | 聚团肠杆菌<br><i>Enterobacter agglomerans</i><br>肺炎克雷伯氏菌<br><i>Klebsiella pneumoniae</i>                              | 成虫饲料<br>Adult food                  | 实验室喂养的雄虫交配竞争力和存活率提高<br>Enhanced survival and mating competition success in males                           | Niyazi <i>et al.</i> , 2004                                 |
| 地中海实蝇<br><i>C. capitata</i><br>(Vienna 8 strain) | 肠杆菌属<br><i>Enterobacter</i><br>肺炎克雷伯氏菌<br><i>Klebsiella pneumoniae</i><br>弗氏柠檬酸杆菌<br><i>Citrobacter freundii</i> | 幼虫饲料<br>Larval food                 | 不育雄虫交配竞争力、存活率提高, 体格变大<br>Improved the mating competition and survival rates, stronger body of sterile male | Hamden <i>et al.</i> , 2013                                 |
| 地中海实蝇<br><i>C. capitata</i><br>(Vienna 8 strain) | 产酸克雷伯氏菌<br><i>Klebsiella oxytoca</i>                                                                             | 幼虫饲料<br>Larval food                 | 实验室饲养的不育雄虫交配竞争力提高<br>Enhanced the mating competition success rate of sterile males in the laboratory       | Yuval <i>et al.</i> , 2013;<br>Ben-Ami <i>et al.</i> , 2010 |

3.4 实蝇内共生的肠杆菌科细菌与沃尔巴克氏菌体 *Wolbachia pipentis* 在 SIT 中的不同应用形式

实蝇科害虫体内寄居着广泛而大量的共生肠杆菌科细菌,与沃尔巴克氏菌体相比,它们在实蝇种类的分布范围、相对丰度的高低以及体外分离培养的难易程度方面都占有绝对优势。肠杆菌科细菌在寄主的营养消化、生长发育、生殖代谢方面发挥着积极的作用,通过调控它们在 SIT 实蝇体内相对丰度的不平衡,可以增强宿主的体质健康,提高性表现力。而沃尔巴克氏菌体属于  $\alpha$ -变形菌纲,既是兼性好氧型,也是一种母系遗传的细胞内共生细菌。相关研究指出,沃尔巴克氏菌体并不是在所有实蝇科物种体内都存在,而是以较低的盛行率存在于热带和温带地区的实蝇科物种体内 (Martinez *et al.*, 2012; Raphaelet *et al.*, 2014)。澳大利亚实蝇科体内沃尔巴克氏菌体的水平传递机制受到本地实蝇物种的差异、实蝇与生态系统的相互作用、实蝇共享的寄主植物和寄生蜂种类等因素影响 (Morrow *et al.*, 2014)。沃尔巴克氏菌体一般通过诱导宿主细胞质不亲和 (cytoplasmic incompatibility, CI) 调控寄主的生殖活动,当感染了沃尔巴克氏菌体的樱桃实蝇 *Rhagoletis cerasi* L. 雄虫与未被感染的雌虫或被非同种沃尔巴克氏菌体感染的雌虫交配时,会发生细胞质不亲和现象,这种现象会致死杂交产生的胚胎,导致不育 (Riegler & Stauffer,

2002)。利用从樱桃实蝇体内分离出的沃尔巴克氏菌体感染地中海实蝇,并建立感染沃尔巴克氏菌体品系,该菌体能诱导寄主产生细胞质不亲和现象。释放这些浸染 *Wolbachia* 的虫源,与实验室饲养的正常虫源交配,能完全成功地抑制其种群的发展 (Zabalou *et al.*, 2004)。SIT 的辐照过程对靶标实蝇体内共生的微生物造成不同程度的伤害,大部分肠杆菌科作为益生菌被 SIT 实蝇食用后,可以通过补足宿主体内肠杆菌群的相对丰度,打破它们寄居的不平衡性,积极调控寄主的健康和在田间性交配的表现力,从而提高 SIT 的高效性。而沃尔巴克氏菌体可以通过显微注射技术注入到 SIT 靶标实蝇体内,诱导寄主不育,调控宿主的生殖,最后释放感染了沃尔巴克氏菌体的实验种群到田间,从而抑制目标种群发展。沃尔巴克氏菌体与肠杆菌科细菌都为 SIT 实蝇防治技术做出贡献,其防治机制各有千秋,但都达到绿色、环保和生态防治害虫实蝇的目的。

4 小结与展望

肠杆菌科细菌广泛分布在不同的实蝇种群体内,是实蝇体内共生微生物种群中相对丰度最高、物种多样性最多的菌群。无论是从实蝇肠道还是生殖系统内分离出来的肠杆菌科细菌,其物种组成没有明显差异。肠杆菌科细菌在长期进化过程中

不断完善与宿主的共生互作关系,近年来对此类共生菌的开发应用更是受到国内外相关学者的关注。

肠杆菌科细菌在寄主的营养、生殖、代谢、免疫以及抵抗外来病原菌入侵方面都发挥了重要的作用,特别是益生菌被开发应用于实蝇的生物防治,完善并提高了 SIT 的高效和经济性。

虽然实蝇内共生肠杆菌科细菌在现阶段的研究已扩展到具体菌种的功能性验证方面,但还有几方面问题将成为此类共生菌科的研究热点。实蝇内共生肠杆菌科细菌是否还有其他益生菌菌种可开发用于提高 SIT? 不同的实蝇种类、生长环境、饲喂条件以及寄主植物如何影响肠杆菌科益生菌的选择? 肠杆菌科细菌和沃尔巴克氏菌体能否同时作用于 SIT 靶标实蝇以提高防治效率,其作用机制又是什么? 肠杆菌科细菌对实蝇种群遗传的影响及机制又是什么? 肠杆菌科特定益生菌菌种的基因改造,以及将改造的基因导入宿主体内,其与宿主的互作及生物学或生态学方面的表现有待进一步深入的研究。

## 参考文献

戴阳,李志红,柳丽君,吴佳教,邓裕亮,2012. 16S rDNA 文库法分析番石榴果实蝇共生菌组成. *植物保护*, 38(2): 60-65.

柳丽君,李志红,戴阳,2011. 实蝇共生菌研究进展. *生物安全学报*, 20(2): 91-99.

骆米娟,张贺贺,陈家骅,杜迎刚,何龙艳,季清娥,2016. 南亚实蝇成虫肠道细菌的分离与鉴定. *福建农林大学学报(自然科学版)*, 45(1): 8-13.

相辉,黄勇平,2008. 肠道微生物与昆虫的共生关系. *昆虫知识*, 45(5): 687-693.

张某,杨璞,朱家颖,袁远,桂富荣,高熹,吴国星,2016. 基于 16S rDNA 基因序列的泽兰实蝇幼虫肠道细菌多样性分析. *昆虫学报*, 59(2): 200-208.

王洪秀,2011. 橘小实蝇 (*Bactrocera dorsalis*) 成虫肠道细菌分子多态性分析及其功能研究. 博士学位论文. 武汉:华中农业大学.

王洪秀,靳亮,陈庆隆,魏云辉,马吉平,姚健,陈柳萌,钟国祥,2015. 橘小实蝇成虫肠道可培养细菌群落结构分析. *微生物学通报*, 42(12): 2351-2365.

王莉莉,2011. 橘小实蝇生殖系统细菌分子多态性及引诱性研究. 硕士学位论文. 武汉:华中农业大学.

周洪英,孙波,吴洪丽,胡兴明,郝瑜,叶建美,2015. 昆虫

肠道微生物功能及家蚕肠道微生物研究进展. *北方蚕业*, 36(4): 1-4.

AHARON Y, PASTERNAK Z, BEN Y M, BEHAR A, LAUZON C, YUVAL N, JURKEVITCH E, 2013. Phylogenetic, metabolic, and taxonomic diversities shape Mediterranean fruit fly microbiotas during ontogeny. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(1): 303-313.

AUGUSTIONS A A, KYRITSIS G A, PAPADOPOULOS N T, ABD-ALLA A M M, CÁCERES C, BOURTZIS K, 2015. Exploitation of the medfly gut microbiota for the enhancement of sterile insect technique: Use of *Enterobacter* sp. in larval diet-based probiotic applications. *PLoS ONE*, 10(9): e0136459.

BEHAR A, JURKEVITCH E, YUVAL B, 2008a. Bringing back the fruit into fruit fly-bacteria interactions. *Molecular Ecology*, 17(5): 1375-1386.

BEHAR A, YUVAL B, JURKEVITCH E, 2013. Community structure of the mediterranean fruit fly microbiota: seasonal and spatial sources of variation. *Israel Journal of Ecology & Evolution*, 54(2): 181-191.

BEHAR A, YUVAL B, JURKEVITCH E, 2005. Enterobacteria-mediated nitrogen fixation in natural populations of the fruit fly *Ceratitis capitata*. *Molecular Ecology*, 14(9): 2637-2643.

BEHAR A, YUVAL B, JURKEVITCH E, 2008b. Gut bacterial communities in the Mediterranean fruit fly (*Ceratitis capitata*) and their impact on host longevity. *Journal of Insect Physiology*, 54(9): 1377-1383.

BEN-AMI E, YUVAL B, JURKEVITCH E, 2010. Manipulation of the microbiota of mass-reared Mediterranean fruit flies *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) improves sterile male sexual performance. *ISME Journal*, 4(1): 28-37.

BEN-YOESF M, AHARON Y, JURKEVITCH E, YUVAL B, 2010. Give us the tools and we will do the job: symbiotic bacteria affect olive fly fitness in a diet-dependent fashion. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 277: 1545-1552.

BEN-YOESF M, PASTERNAK Z, JURKEVITCH E, YUVAL B, 2014. Symbiotic bacteria enable olive flies (*Bactrocera oleae*) to exploit intractable sources of nitrogen. *Journal of Evolutionary Biology*, 27(12): 2695-2705.

BEN-YOESF M, PASTERNAK Z, JURKEVITCH E, YUVAL B, 2015. Symbiotic bacteria enable olive fly larvae to overcome host defences. *Royal Society Open Science*, 2: 150170. <http://dx.doi.org/10.1098/rsos.150170>.

BOYE K, HANSEN D S, 2003. Sequencing of 16S rDNA of *Klebsiella*: taxonomic relations within the genus and to other

- Enterobacteriaceae. *International Journal of Medical Microbiology*, 292(7/8): 495–503.
- CAPUZZO C, 2005. "*Candidatus Erwinia dacicola*", a co-evolved symbiotic bacterium of the olive fly *Bactrocera oleae* (Gmelin). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55(4): 1641–1647.
- DOUGLAS A E, 2014. The molecular basis of bacterial-insect symbiosis. *Journal of Molecular Biology*, 426(23): 3830–3837.
- DREW R A I, LLOYD A C, 1991. Bacteria in the life cycle of tephritid fruit flies // BARBOSA P, KRISHCHIK V A, JONES C G. *Microbial mediation of plant-herbivore interactions*. New York: John Wiley & Sons: 441–465.
- DYCK V A, HENDRICH S J, ROBINSON A S, 2005. *Sterile insect technique: principles and practice in area-wide integrated pest management*. Dordrecht, The Netherlands: Springer.
- ESTES A M, HEARN D J, BRINSTEIN J L, PIERSON E A, 2009. The olive fly endosymbiont, "*Candidatus Erwinia dacicola*", switches from an intracellular existence to an extracellular existence during host insect development. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(22): 7097–106.
- ESTES A M, HEARN D J, BURRACK H J, REMPOULAKIS P, PIERSON E A, 2012. Prevalence of *Candidatus Erwinia dacicola* in wild and laboratory olive fruit fly populations and across developmental stages. *Environmental Entomology*, 41(3): 265–274.
- ESTES A M, NEATEL D, BELCARI A, JESSUP A, REMPOULAKIS P, ECONOMOPOULOS A P, 2012. A basis for the renewal of sterile insect technique for the olive fly, *Bactrocera oleae* (Rossi). *Journal of Applied Entomology*, 136(1): 1–16.
- FITT G P, O'BRIEN R W, 1985. Bacteria associated with four species of *Dacus* (Diptera: Tephritidae) and their role in the nutrition of larvae. *Oecologia*, 67(3): 447–454.
- GAVRIEL S, JURKEVITCH E, GAZIT Y, YUVAL B, 2011. Bacterially enriched diet improves sexual performance of sterile male Mediterranean fruit flies. *Journal of Applied Entomology*, 135(7): 564–573.
- HAMDEN H, GUERFALI M M, FADHL S, SAIDI M, CHEVRIER C, 2013. Fitness improvement of mass-reared sterile males of *Ceratitidis capitata* (Vienna 8 strain) (Diptera: Tephritidae) after gut enrichment with probiotics. *Journal of Economic Entomology*, 106(2): 641–647.
- HOWARD D J, BUSH G L, BREZNAK J A, 1985. The evolutionary significance of bacteria associated with *Rhagoletis*. *Evolution*, 39(2): 405–417.
- KHAN M, MAHIN A A, PRAMANIK M K, AKTER H, 2014. Identification of gut bacterial community and their effect on the fecundity of pumpkin fly, *Bactrocera tau* (Walker). *Journal of Entomology*, 11(2): 68–77.
- KIKUCHI Y, HOSOKAWA T, FUKATSU T, 2011. Specific developmental window for establishment of an insect-microbe gut symbiosis. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(12): 4075–4081.
- KOUNATIDIS I, CROTTI E, SAPOUNTZIS P, SACCHI L, RIZZI A, CHOUAIA B, BANDI C, ALMA A, DAFFONCHIO D, MAVRAGANI T P, BOURTZIS K, 2009. Acetobacter tropicalis is a major symbiont of the olive fruit fly (*Bactrocera oleae*). *Applied and Environmental Microbiology*, 75(10): 3281–3288.
- KUZINA L V, PELOQUIN J J, VACEK D C, MILLER T A, 2001. Isolation and identification of bacteria associated with adult laboratory Mexican fruit flies, *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae). *Current Microbiology*, 42: 290–294.
- LAUZON C R, MCCOMBS S D, POTTER S E, PEABODY N C, 2009. Establishment and vertical passage of *Enterobacter (Pantoea) agglomerans* and *Klebsiella pneumoniae* through all life stages of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 102(1): 85–95.
- LAUZON C R, POTTER S E, 2012. Description of the irradiated and nonirradiated midgut of *Ceratitidis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae) and *Anastrepha ludens* Loew (Diptera: Tephritidae) used for sterile insect technique. *Journal of Pest Science*, 85(2): 217–226.
- LSFTWICH P T, BOLTON M, CHAPMAN T, 2015. Evolutionary biology and genetic techniques for insect control. *Evolutionary Applications*, 9(1): 212–230.
- MARTÍNEZ H, TOLEDO J, LIEDO P, MATEOS M, 2012. Survey of heritable endosymbionts in southern Mexico populations of the fruit fly species *Anastrepha striata* and *A. Ludens*. *Current Microbiology*, 65: 711–718.
- MEATS A, STREARNER K, GILCHRIST A S, 2009. Bacteria as food had no effect on fecundity during domestication of the fruit fly, *Bactrocera tryoni*. *Journal of Applied Entomology*, 133(8): 633–639.
- MORROW J L, FROMMER M, SHEARNMAN D C A, RIEGLER M, 2014. Tropical tephritid fruit fly community with high incidence of shared *Wolbachia* strains as platform for horizontal transmission of endosymbionts. *Environmental Microbiology*, 16(12): 3622–3637.
- NIYAZI N, LAUZON C R, SHELLY T E, 2004. Effect of probiotic adult diets on fitness components of sterile male Medi-

- terranean fruit flies (Diptera: Tephritidae) under laboratory and field cage conditions. *Journal of Economic Entomology*, 97(5): 1570–1580.
- PELOQUIN J J, KUZINA L, LAUZON C R, MILLER T A, 2000. Transformation of internal extracellular bacteria isolated from *Rhagoletis completa* Cresson gut with enhanced green fluorescent protein. *Current Microbiology*, 40(6): 367–371.
- PELOQUIN J J, LAUZON C R, POTTER S, MILLER T A, 2002. Transformed bacterial symbionts re-introduced to and detected in host gut. *Current Microbiology*, 45(1): 41–45.
- PRABHAKAR, SOOD C S, MEHTA P S, SHARMA P K, NATH P, 2012. *Bactrocera tau* sp. a (Diptera: Tephritidae) is predominant species infesting cucurbits in Himachal Pradesh (India). <http://www.teamfly2012.com/index.php/conf/index1/paper/view/24>.
- RAPHAEL K A, SHEARMAN D C, GILCHRIST A S, SVED J A, MORROW J L, SHERWIN W B, RIEGLER M, FROMMER M, 2014. Australian endemic pest tephritids: genetic, molecular and microbial tools for improved sterile insect technique. *BMC Genetics*, 15(2): 1–13.
- REDDY K, SHARMA K, SINGH S, 2014. Attractancy potential of culturable bacteria from the gut of peach fruit fly, *Bactrocera zonata* (Saunders). *Phytoparasitica*, 42(5): 691–698.
- REMPOULAKIS P, DIMOU I, 2014. Improving olive fruit fly *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae) adult and larval artificial diets, microflora associated with the fly and evaluation of a transgenic olive fruit fly strain. *International Journal of Tropical Insect Science*, 34(S1): 114–122.
- RIEGLER M, STAUFFER C. 2002. Wolbachia infections and superinfections in cytoplasmically incompatible populations of the European cherry fruit fly *Rhagoletis cerasi* (Diptera: Tephritidae). *Molecular Ecology*, 11(11): 2425–2434.
- ROBACKER D C, LAUZON C R, 2002. Purine metabolizing capability of (*Enterobacter agglomerans*) affects volatiles production and attractiveness to Mexican fruit fly. *Journal of Chemical Ecology*, 28(8): 1549–1563.
- ROBACKER D C, LAUZON C R, HE X, 2004. Volatiles production and attractiveness to the Mexican fruit fly of *Enterobacter agglomerans* isolated from apple maggot and Mexican fruit flies. *Journal of Chemical Ecology*, 30(7): 1329–1347.
- ROBACKER D C, LAUZON C R, PATT J, MARGARA F, SACCHETTI P, 2009. Attraction of Mexican fruit flies (Diptera: Tephritidae) to bacteria: effects of culturing medium on odour volatiles. *Journal of Applied Entomology*, 133(3): 155–163.
- SACCHETTI P, GRANCHIETTI A, LANDINI S, VITI C, GIOVANNETTI L, BELCARI A, 2008. Relationships between the olive fly and bacteria. *Journal of Applied Entomology*, 132(9/10): 682–689.
- SACCHETTI P, GHIARDI B, GRANCHIETTI A, STEFANINI F M, BELCARI A, 2014. Development of probiotic diets for the olive fly: evaluation of their effects on fly longevity and fecundity. *Annals of Applied Biology*, 164(1): 138–150.
- SAVIO C, MAZZON L, MARTINEZ-SANUDO I, SIMONATO M, SQUARTINI A, GIROLAMI V, 2012. Evidence of two lineages of the symbiont "*Candidatus Erwinia dacicola*" in Italian populations of *Bactrocera oleae* (Rossi) based on 16S rRNA gene sequences. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62(1): 179–187.
- SHI Z H, WANG L L, ZHANG H Y, 2012. Low diversity bacterial community and the trapping activity of metabolites from cultivable bacteria species in the female reproductive system of the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* Hendel (Diptera: Tephritidae). *International Journal of Molecular Sciences*, 13(5): 6266–6278.
- SOOD P, NATH A, 2002. Bacteria associated with *Bactrocera* sp. (Diptera: Tephritidae) -isolation and identification. *Pest Management and Economic Zoology*, 10(1): 1–9.
- WANG H X, JIN L, PENG T, ZHANG H Y, CHEN Q L, HUA Y J, 2014. Identification of cultivable bacteria in the intestinal tract of *Bactrocera dorsalis* from three different populations and determination of their attractive potential. *Pest Management Science*, 70(1): 80–87.
- YUVAL B, BEN-AMI E, BEHAR A, BEN-YOESF M, JURKEVITCH E, 2013. The Mediterranean fruit fly and its bacteria-potential for improving sterile insect technique operations. *Journal of Applied Entomology*, 137(S1): 39–42.
- ZABALOU S, RIEGLER M, THEODORAKOPOULOU M, STAUFFER C, SAVAKIS C, BOURTZIS K, 2004. Wolbachia-induced cytoplasmic incompatibility as a means for insect pest population control. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101: 15042–15045.

(责任编辑:郭莹)