植物寄生线虫的化学感受系统研究进展

周沁莹, 朱曼, 黄辉, 黄晓玮*

云南大学省部共建生物资源保护与利用国家重点实验室&生命科学学院, 昆明 650091

* 联系人, E-mail: xwhuang@ynu.edu.cn

收稿日期: 2019-05-01; 接受日期: 2019-06-06; 网络版发表日期: 2019-07-08

摘要 植物寄生线虫(plant parasitic nematodes, PPNs)已上升为农业生产中仅次于真菌病害的第二大类病害, 在全球每年造成的作物损失高达1730亿美元. 这与PPNs具有复杂且高度敏感的化学感受系统密切相关, 化感系统能精确高效地参与PPNs在土壤中迁移、宿主识别、在植物内找到最合适的取食点等过程. 脂肪及其衍生物、神经肽、根系分泌物和植物激素等分子均能被PPNs的化感系统感知, 其化感系统的功能以及对PPNs寄生生活史的影响正逐渐被人们所了解. 本综述从多个方面对PPNs化感系统的研究进展进行了总结, 以期对PPNs的生物防治提供更多思路.

关键词 植物寄生线虫, 脂肪酸, 神经肽, 根系分泌物, 植物激素

植物寄生线虫(plant parasitic nematodes, PPNs)是指能寄生于植物的各种组织, 使植物发育不良, 并且在感染寄主的同时会传播其他植物病原, 造成植物出现疾病症状的一类线虫^[1]. PPNs因其寄主范围广、隐蔽性强、防控困难等特点, 已上升为农业生产中仅次于真菌病害的第二大类病害. 据估计, 在全球每年因PPNs造成的作物产量损失就高达1730亿美元^[2]. 根结线虫(*Meloidogyne* spp.)作为PPNs中最重要的一种类群, 在《分子植物病理学》(*Molecular Plant Pathology*)2013年公布的前10名植物寄生线虫名单中位居榜首^[3]. PPNs能侵染植物并对其造成损失, 很大程度归功于它们拥有一个复杂且高度敏感的化学感应系统, 该系统能帮助其完成对植物宿主、媒介昆虫的定殖等一系列重要的生物学行为.

1 植物寄生线虫的生活史

植物寄生线虫使用多种策略来寄生植物. 一些是外寄生线虫, 它们的虫体保留在根外, 仅头部刺入寄主组织取食, 它们与宿主的相互作用非常有限. 内寄生线虫侵入宿主并在宿主体内迁移或定殖以吸取养分, 从而对宿主造成破坏. 定居型内寄生线虫, 包括胞囊线虫(*Heterodera* spp.)和根结线虫(*Meloidogyne* spp.), 它们的二龄幼虫(J2)从土壤中的卵块中孵化出来, 并根据宿主根际发出的化学信号梯度来定位宿主植物的根^[4], 与其宿主具有高度复杂的生物营养相互作用. 南方根结线虫(*Meloidogyne incognita*)是一种典型的由有丝分裂孤雌生殖进行繁殖的定居型植物寄生线虫^[5]. 这里以*M. incognita*为例阐述植物寄生线虫的生活史. 根结线虫的二龄幼虫(J2)穿透宿主根部并在细胞之间迁移,

引用格式: 周沁莹, 朱曼, 黄辉, 等. 植物寄生线虫的化学感受系统研究进展. 中国科学: 生命科学, 2019, 49: 828–838
Zhou Q Y, Zhu M, Huang H, et al. Chemosensory system of plant parasitic nematodes (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2019, 49: 828–838, doi: 10.1360/SSV-2019-0092

到达植物维管柱后, 用与食道连接的口针刺穿植物细胞壁, 并释放食道分泌物, 分泌物中含有蛋白质可诱导5~7个根细胞分化为多核巨细胞或合胞体, 这些巨细胞为线虫的发育和繁殖提供营养^[6]. 线虫便定居在此处, 随后经历J3, J4和成年三个阶段. 梨形的成年雌性线虫在根表面产卵, 卵孵化为二龄幼虫(J2), 成年雄性偶尔会在根部发育和迁移, 但它们在繁殖中不起作用(图1, 路径参考文献^[7]).

2 化感神经元种类、结构与定位

化学感受器是PPNs非常重要的感觉器官, 它参与了PPNs在土壤中的迁移、响应宿主发出的化学信号以及在宿主中寻找合适的摄食点等多个过程^[8]. PPNs与模式线虫秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)共享保守的神经解剖学位置^[9], *C. elegans*通过化学感应神经元感知化学物质, 化学感应神经元主要包括头部感受器(amphid)、尾部感受器(phasmid)和内阴唇神经元. 它们穿透角质层以将其感觉纤毛暴露于环境中^[10].

化学感应神经元主要集中在线虫的前端, 通常呈双侧对称, 每一对形成一个类别, 可以基于纤毛形态、轴突形态和突触目标进行区分, 但每一类的左右成员在结构上是相似的^[11]. 解剖学和功能研究都揭示了对化学反应敏感的头感受器(amphid)和尾感受器(phasmid)神经元(图2), 其中头感受器通常呈六条

放射状排列在背下、腹下和侧位. 离口最近的是6个内唇感受器, 后面是6个外唇感受器, 4个头部感受器在同一水平或在它们的后面. 两个外侧感受器对前部感受器进行了补充^[12]. 化学感受器还包括尾巴上两个类似孔状结构的尾部感受神经元^[13]. 此外, 其他类别的神经元中也发现了额外的化学感受功能, 如雄性秀丽隐杆线虫具有许多有助于交配的化学感应神经元^[14,15].

3 化感神经元及其功能

与PPNs相比, *C. elegans*中许多化学感知神经元已经通过激光消融、神经元特异性坏死等研究方法, 探测了它们对线虫行为的影响, 从而揭示神经元和对应的感知信号之间的联系(表1), 包括感觉神经元ASE介导水溶性引诱剂 Na^+ , Cl^- , cAMP, 生物素、赖氨酸和血清素的趋化性; AWA, AWB和AWC嗅觉神经元感知挥发性气味^[16]; ASH化学感受神经元则参与了高渗透压、重金属(如铜)、洗涤剂、苦味生物碱(如奎宁)、酸性pH和一些有机气味^[13,17-20]所诱发的线虫快速回避反应; 对氧的正常趋气性反应最重要的感觉神经元是URX, AQR和PQR^[21-23]. 除此之外, *C. elegans*的许多化学感受作用是生理上的, 而不是行为上的. 例如, ADF, ASI和ASG头感受器感觉神经元的消融导致组成性进入dauer阶段^[24], 因为这些神经元被认为能够感知调节dauer形成的道尔酮和食物线索; 相反, ASJ amphid神经元的消融导致dauer阶段的永久性停滞^[25]. 同时也有一些实验证据表明, *C. elegans*的寿命长短也很可能受ASI以及其他头部神经元AWC, AWA和ASK活动的调控^[26-28].

在PPNs的研究中, 由于研究技术手段的限制, 尽管PPNs能够感知的信号分子种类有所揭示, 但是其信号通路所涉及的基因、神经元种类和回路相较于模式线虫*C. elegans*尚不清楚. 以下对近年来在PPNs中化感研究方面取得的进展进行详细地综述.

3.1 脂肪及其衍生物对PPNs化感系统的影响

内寄生植物线虫在土壤移动和向根部的迁移过程中不进食, 它们依靠体内储存的脂肪储备为运动提供能量. 植物信号对于线虫定位寄主和取食位点至关重要, 当线虫体内60%的脂肪储备被耗尽时, 它们就不能再进行定向运动^[29]. 松材线虫(*Bursaphelenchus xylo-*

图1 南方根结线虫(*M. incognita*)的生活史
Figure 1 Life history of *M. incognita*

图 2 化感神经元的结构与定位。两个头部化感器中的每一个包含12个相关的化学感应和热感觉神经元。两个尾部感受器中的每一个包含2个化学感应神经元, PHA和PHB。内唇器官有6个, 每个内唇器官含有1个IL2化学感觉神经元和1个IL1机械感觉神经元。其他还有2个URX神经元, 1个AQR神经元, 1个PQR神经元

Figure 2 Structure and localization of chemosensory neurons. Each of the two amphids contains 12 chemosensory or thermosensory neurons. Each of the two phasmids contains two chemosensory neurons, PHA and PHB. There are six inner labial sensilla, each containing an IL2 chemosensory neuron, an IL1 mechanosensory neuron. There are still 2 URX neurons, 1 AQR neuron and 1 PQR neuron

表 1 化学感应神经元的功能和分子特性

Table 1 Function and molecular properties of chemosensory neurons

神经元	功能	G蛋白编码基因	信号转导	受体
ASE	水溶性趋化性	<i>gpa-3</i>	<i>tax-4, tax-2, daf-11, cGMP</i>	受体鸟苷酸环化酶
AWA	挥发性趋化性, 寿命(次要)	<i>odr-3</i> (主要), <i>gpa-3, gpa-5, gpa-13, gpa-6</i>	<i>osm-9, ocr-2, fat-3, PUFA, odr-4, odr-8</i>	GPCRs(<i>odr-10</i>)
AWB	挥发性逃避	<i>odr-3</i>	<i>tax-4, tax-2, daf-11, odr-1, cGMP</i>	GPCRs
AWC	挥发性趋化性, 寿命, 导航	<i>odr-3</i> (主要), <i>gpa-3, gpa-2, gpa-5, gpa-13</i>	<i>tax-4, tax-2, daf-11, odr-1, odr-4, odr-8, cGMP</i>	GPCRs(<i>str-2</i>)
ASH	渗透压逃避, 鼻子触摸(nose touch), 化学逃避, 群体喂养	<i>odr-3</i> (主要), <i>gpa-3</i> (主要), <i>gpa-11, gpa-1, gpa-13, gpa-14, gpa-15</i>	<i>osm-9, ocr-2, fat-3, PUFA, qui-1</i> (化学), <i>osm-10</i> (渗透), <i>odr-4</i>	GPCRs
ADF	Dauer形成, 趋化性(次要)	<i>odr-3, gpa-3, gpa-10, gpa-13</i>	<i>osm-9, ocr-2, odr-4</i>	GPCRs
ASI	Dauer形成, 趋化性(次要), 导航	<i>gpa-1, gpa-3, gpa-4, gpa-5, gpa-6, gpa-10, gpa-14</i>	<i>tax-4, tax-2, daf-11, cGMP, odr-1, odr-4</i>	GPCRs
ASJ	Dauer形成和恢复, 趋化性(次要), 寿命	<i>gpa-1, gpa-3, gpa-9, gpa-10, gpa-14</i>	<i>tax-4, tax-2, daf-11, daf-21, cGMP, odr-1, odr-4</i>	GPCRs
ASG	Dauer形成(次要), 寿命, 趋化性(次要)	<i>gpa-3</i>	<i>tax-4, tax-2, cGMP, odr-4</i>	GPCRs
ASK	逃避(轻微), 趋化性(次要), 寿命, 导航	<i>gpa-2, gpa-3, gpa-14, gpa-15</i>	<i>tax-4, tax-2, cGMP, odr-1, daf-11, odr-4</i>	GPCRs
ADL	逃避(轻微), 群体喂养	<i>gpa-1, gpa-3, gpa-11, gpa-15</i>	<i>osm-9, ocr-2, odr-4</i>	GPCRs
PHA, PHB	逃避(对抗)	<i>gpa-1, gpa-2, gpa-3, gpa-6, gpa-9, gpa-13, gpa-14, gpa-15</i>	<i>osm-9, ocr-2, odr-4</i>	GPCRs
URX, AQR, PQR	氧气/趋氧性, 群体喂养	<i>gpa-8</i>	<i>tax-4, tax-2, cGMP</i>	可溶性鸟苷酸环化酶(<i>gcy-35, gcy-36</i>)

philus)对多种化学物质的趋化反应随线虫体内脂质含量的变化而变化。当体内脂类含量最低时, 松材线虫被松材中的挥发性物质 α -月桂烯(α -myrcene)所吸引; 当体内脂质含量最高时, 松材线虫被甲虫载体角质层的

甲苯烃所吸引^[30]。因此, 线虫的脂质含量可能是线虫对寄主信号响应的一个重要因素^[29]。

在植物防御信号级联的各个组成部分中, 脂肪酸(fatty acids, FA)通过脂质的氧化反应调控着多种防御和发育途径。这些FA代谢途径也提供了植物和脊椎动物共有的独特信号元件, 由脂氧合酶(LOX: 9-LOX或13-LOX)和 α -双加氧酶(α -dioxygenase)酶家庭催化其活性^[31,32], 脂质分子专门诱导病原体感染^[33,34]。茉莉酸(jasmonic acid, JA)是一种最具特征性的氧化脂类化合物, 它是一种酶解产物, 可在各种应激条件下积累, 尤其是在损伤和被病原体感染时^[35]。以往的研究表明, 维持激素水平的稳态很可能是由线虫分泌的效应蛋白介导的^[36,37]。分泌脂肪酸和视黄醇结合蛋白(FAR)是线虫特异性的脂质载体蛋白, 用于获取营养和抑制植物防御。动物寄生线虫的FAR作用已得到广泛研究^[38-40], FAR通过清除和运输脂肪酸来促进动物寄生线虫感染, 这是发酵过程和寄生虫细胞分化所必需的。FAR蛋白也可能在干扰与宿主防御相关的细胞内和细胞间脂质信号传导中发挥作用^[41,42]。但在植物寄生线虫中的研究还相对较少, 马铃薯白线虫(*Globodera pallida*)的FAR蛋白(Gp-FAR-1)是第一个为PPN提供的研究, Gp-FAR-1定位于该线虫寄生前J2的表皮表面, 通过与LOX底物和产物结合, 干扰植物LOX介导的防御信号^[43]。通过对*M. incognita*和*G. pallida*的研究表明, 该蛋白可能由皮下分泌, 并在线虫角质层表面相互作用^[43,44]。Iberkleid等人^[44]认为FAR蛋白可能通过调节脂质信号的传导, 在控制植物防御信号方面发挥关键作用, 从而促使线虫成功寄生在植物上。

3.2 根系分泌物对PPNs化感系统的影响

根系分泌物中有20%的碳源通过植物光合作用固定, 其成分包括糖、氨基酸、有机酸、蛋白质和碳水化合物, 其组成因植物种类而异^[45]。根系分泌物来源于完整或受损的根细胞, 或脱落的根边缘细胞^[46]。宿主植物通过根系分泌物的成分吸引线虫, 线虫根据其化学梯度(如单糖、二氧化碳、挥发性有机化合物和氨基酸)作出反应。根系分泌物在线虫和植物的互作关系中有双重作用, 线虫通常可以使用根系分泌物来定位宿主植物, 进而对宿主进行侵染^[8,47]。根系分泌物还会在某些植物寄生线虫物种中诱发卵的孵化, 在摄食过程中诱导口针刺穿植物细胞壁^[48-50]。但同时根系分

泌物也可以保护宿主根免受植物寄生线虫的侵害。例如, 从豆科植物和玉米(*Zea mays*)的根冠细胞中渗出的代谢物减缓甚至停止了植物寄生线虫的运动, 降低了线虫感染植物的能力^[51]。这种明显的防御机制已在几种植物中发现, 并且通常是可逆的^[52]。线虫J2通过使用他们的主要化学感应器官——头感化学神经元, 来识别土壤环境中的化学信号^[29,53]。根分泌物中的某些特定化合物, 如单宁酸、黄酮类化合物、糖苷和脂肪酸, 可能对J2期线虫有排斥或吸引的作用^[54-56]。来自冠菊花根分泌物的月桂酸似乎通过由*Mi-flp-18*基因编码的肽神经调节剂介导*M. incognita*的趋化作用, 有趣的是, 这种化合物在低浓度是引诱剂, 但是在高浓度时则成了驱避剂^[57]。

3.3 植物激素对PPNs化感系统的影响

植物激素不仅调节植物的生长发育, 而且在植物对包括生物和非生物胁迫在内的环境刺激进行响应时起关键作用。对植物寄生线虫侵染宿主根部之后的转录组和微阵列分析显示, 生长素、乙烯(ethylene, ET)、茉莉酸、水杨酸(salicylic acid, SA)、油菜素甾体(brassinosteroids, BR)、赤霉素(gibberellin, GA)和脱落酸(abscisic acid, ABA)等多种激素的基因表达存在差异^[58-60]。大量的研究表明, SA, JA, BR, ABA和ET的信号途径参与了宿主植物对线虫的防御反应^[36,61-65], 而生长素、ET和GA在线虫饲养细胞发育的早期阶段也发挥了积极的作用^[37,66,67]。在线虫侵染宿主的早期阶段, ET被认为在线虫的吸引、迁移、取食位点的形成和宿主防御等方面发挥作用, 但在植物与胞囊线虫和根结线虫的相互作用中, ET的作用可能有所不同^[37,68-70]。例如, 一个完整的ET途径是植物防御根结线虫的前提^[62,71], 但ET途径相反也会促进胞囊线虫的寄生, ET抑制剂处理后ET-不敏感的突变体或野生型植物的根部内的胞囊线虫显著减少^[66,70]。ET在大豆胞囊线虫(*Heterodera glycines*)的发育中也起着重要的作用^[72,73]。

3.4 外源性神经肽会干扰PPNs的化感

内源性神经肽是神经系统用于介导和微调神经元传导的重要信号分子, 它们可以作为神经回路中的神经递质或神经调节剂, 或者作为神经激素靶向释放到远处的细胞和组织^[74]。在线虫中, 神经肽高度富集并

且保守, 在协调生理和行为上有重要作用^[75,76]。但是PPNs还可以从环境中摄取外源性神经肽, 并通过突触逆向转运, 从而导致对PPNs化感系统的影响。

许多动物体内都会发生分子和复合物沿神经元树突逆向转运^[77,78], Winter等人^[79]在*H. glycines*和*G. pallida*中证明了线虫的感受器可以从环境中吸收神经肽类物质, 如涕灭威(aldicarb)、左旋咪唑肽类化合物和其他可溶性分子, 然后沿感受器神经元的树突向细胞体的突触逆行转运到作用部位。Wang等人^[80]也在甜菜胞囊线虫(*Heterodera schachtii*)中证明了外源肽通过线虫头感化学感受器上裸露的初级纤毛被转运到神经元的细胞体中, 再转移到相邻的其他神经元上, 这个过程可能是由高尔基体参与运输的。随后外源肽被一定数量的化感神经元吸收, 在中枢神经元细胞中积累并与烟碱型乙酰胆碱受体相互作用, 使得化感系统的协同反应被破坏, 这可能会导致线虫失去对宿主根的定向能力。目前的研究证明, 神经肽信号系统在宿主识别、迁移渗透、分泌活动、营养和繁殖等多种寄生生活中发挥着重要作用, 因此也被认为是植物寄生线虫防治的重要潜在靶点^[81]。

4 PPNs化学感知的分子基础

4.1 嗅觉感知功能基因

根据Shivakumara等人^[82]的研究, 在*M. incognita*中同源到了4个已知的嗅觉感受基因, 分别为*odr-1*, *odr-3*, *tax-2*, *tax-4*。在*C. elegans*中, *odr-1*是AWC和AWB感觉神经元的嗅觉功能所需的基因, 编码膜结合的鸟苷酰环化酶(GCY), 这是一种通过异三聚体G蛋白产生第二信使(cGMP)的效应酶, 在嗅觉识别中起着重要的作用, 参与嗅觉受体的下游信号传递^[83], *odr-3*调节环核苷酸(cGMP)的生成, *odr-3*的改变还可以减少或增加嗅觉纤毛的面积^[84]。*tax-2*和*tax-4*参与环鸟苷酸门控通道的活化, 是G蛋白介导的下游信号所必需的^[85]。现有的研究已经证实, 在*C. elegans*中TAX-4/TAX-2环鸟苷酸门控通道(TAX-4/TAX-2 cGMP-gated channel)参与调控本能逃避行为^[86]。Shivakumara等人^[82]通过RNAi对4个基因进行了功能验证, RNAi之后, *M. incognita*的J2幼虫的运动轨迹出现了异常, 侵染宿主根部J2幼虫的数量明显减少了, 而且对挥发物、来源于植物的非挥发性化合物和根系分泌物的趋化或驱避作用也都显著

降低了。以上现象表明, 这4个嗅觉基因在线虫寻找宿主、识别宿主和准备入侵宿主的过程中都起着重要作用。*M. incognita*可能是通过调节这4个基因的表达水平从而进一步对来自宿主的化学信号进行响应的。同时, *odr-1*和*odr-3*经过RNAi之后, *tax-2*和*tax-4*的转录水平明显受到了抑制, 说明*tax-2*和*tax-4*是在*odr-1*和*odr-3*的下游发生作用。

总之, *M. incognita*应该存在与*C. elegans*中AWC神经元类似的嗅觉感知通路, 即气味被跨膜G蛋白偶联受体(G protein-coupled receptors, GPCRs)所感知, 它在胞浆中触发Gα蛋白ODR-3。ODR-3通过调节受体样鸟苷酸环化酶(ODR-1, DAF-11)产生cGMP。cGMP打开由*Tax-2*和*Tax-4*编码的cGMP门控通道, 以使神经细胞去极化(图3, 路径参考文献^[87])。

4.2 神经肽基因

FMRF-amide样肽(FMRFamide-like peptides, FLPs)是已知的最大和多样性最丰富的神经肽家族^[81], 其FLPs也在根结线虫(*Meloidogyne* spp.)的神经系统中广泛表达, 在J2 *M. incognita*的咽喉神经环、咽神经和腹神经索中观察到了FLPs免疫反应性, *Mi-flp-12*在RIR样神经元中表达, *Mi-flp-14*在SMB样神经元中表达, FLP-12和FLP-14肽在*M. incognita*中的生理作用可能与运动和感觉有关^[88]。Dong等人^[57]通过RNAi证明沉默*flp*基因*M. incognita*与*G. pallida*^[76]一样会导致运动功能缺陷, 同时也证明*Mi-flp-18*是控制J2趋化的关键基因。根据生物信息学分析, 预测*flp-1*在神经肽信号通路和运动行为中发挥作用, 推测*flp-12*的功能与G蛋白偶联受体活性有关^[89]。

神经肽样蛋白(neuropeptide-like protein, NLP)代表研究最少的神经肽分组, 根据Warnock等人^[90]的研究, 在*M. incognita*中鉴定了7个*nlp*基因(*Mi-nlp-2*, *Mi-nlp-8*, *Mi-nlp-9*, *Mi-nlp-14*, *Mi-nlp-15*, *Mi-nlp-18*, *Mi-nlp-40*), 这些基因预测编码27种成熟的未酰胺化肽。在*G. pallida*中鉴定了4个*nlp*基因(*Gp-nlp-8*, *Gp-nlp-14*, *Gp-nlp-15*, *Gp-nlp-21*), 预测编码24种成熟的未酰胺化肽。*Mi-nlp-14a*降低口针的推进速度, 从而抑制寄生入侵, *Mi-NLP-14c*, *Mi-NLP-18b*和*Mi-NLP-18d*均可抑制血清素介导的口针插入, 对J2的化学感受能力无负面影响, 但也可降低宿主的侵袭率。外源性NLPs可以与内源性神经生理回路相互作用, 干扰

图 3 *C. elegans* 中 AWC 神经元中的嗅觉感知信号途径

Figure 3 Olfactory sensory-signaling pathways in the AWC neurons of *C. elegans*

M. incognita 和 *G. pallida* J2 时期寻找宿主、入侵和血清素介导的口针运动。Warnock 等人^[90]推测这可能是 PPNs 所特有的。

5 PPNs 化感研究中常用的策略

5.1 PF-127 培养基研究趋化性

观察和研究线虫行为的传统方法是在二维琼脂表面进行的,或在土壤或沙子模拟的自然环境进行的。这些方法不能直接观察到线虫的行为,但可通过分离和统计特定位点的线虫数量而分析其运动行为。近年来,一种无毒、热可逆的透明共聚物 PF-127 (Pluronic F-127) 被广泛用于线虫趋化性以及线虫-植物的互作研究,23% 的 PF-127 在 20°C 以上时呈半固体凝胶状,类似土壤的三维空间结构,线虫在其中可自由运动,而且凝胶的透明度足以在光学显微镜或解剖镜下直观地观察线虫行为^[69,91]。PF-127 已广泛应用于植物寄生线虫与植物的互作关系研究^[92]。

5.2 dsRNA 浸泡法进行 RNAi

在 *C. elegans* 中,利用遗传转化方法,如激光消融和显微注射等有助于鉴定神经回路的功能^[9]。然而,由于 PPNs 的体积较小且专性寄生,PPNs 不适用于这些方

法。PPNs 可以利用反向遗传学工具,如 RNAi,来进行一些候选基因的功能验证^[93,94]。植物寄生线虫具有非常典型的口针结构,其 J2 幼虫孵化出来后直接进入土壤,不能正常取食,所以无法像 *C. elegans* 一样以喂食方式表达 dsRNA 工程菌来研究植物寄生线虫基因。但近年来发现,神经刺激剂,如间苯二酚、章鱼胺等具有刺激胞囊线虫二龄幼虫进食的作用,通过诱导二龄幼虫吞食含有靶基因 dsRNA 的浸泡缓冲液,实现特异性的基因敲低。

5.3 FITC 标记神经元

异硫氰酸荧光素 (FITC) 是用于蛋白质标记的疏水化合物 (MW=389.38),它在 494 nm 激发并在 518 nm 发射荧光,被用于映射秀丽隐杆线虫的神经结构和功能^[95]。在秀丽隐杆线虫中, FITC 在活线虫体内稳定数小时,但任何游离的 FITC 都可以在短短 10 min 内从肠道冲洗。在前人的研究中证实, *C. elegans* 等腐生线虫和 *M. incognita* 的头部和尾部化感神经元都有吞食染料的能力,在没有添加神经刺激剂时也能在线虫的头部和尾部化感器位置看到 FITC 发出的绿色荧光^[82,93,96]。因此, FITC 已用于模拟 *G. pallida* 和 *H. glycines* 对杀虫剂的吸附摄取^[79]。研究人员还使用 FITC 证明了植物寄生线虫摄入 dsRNA 的原理证据。例如, Urwin 等人^[97]发现,将 *G. pallida* 和 *H. glycines* 个体暴露于

无脊椎动物神经递质章鱼胺中, 4 h内有10%~15%的个体摄入了FITC. 将该方法用在*M. incognita*上, 有95%的线虫摄入了FITC^[98].

6 总结与展望

防治植物寄生线虫重点在于预防侵染阶段, 一旦PPNs成功侵染植物就很难对其进行防治了. PPNs有强大的化感神经系统, 参与了迁移、宿主识别、侵染宿主和宿主中建立永久取食点等重要的侵染寄生过程.

在这个过程中有很多化学物质被揭示对PPNs的化感系统产生影响, 从而扰乱PPNs的生活史. 在昆虫防治中, 因信息化合物能影响昆虫个体及种群行为且对环境安全的优势, 科学家们已推出了一系列有效的化合物防治害虫. 随着基因组测序计划和分子生物学技术的进步, 使得能对PPNs化感神经元及其所涉及的基因进行功能鉴定, 从而对其趋化或逃避的作用机制进行深入研究, 为生物防治药物的开发提供潜在作用靶点. 这对于制定合理的线虫综合防治策略、保障农业生产安全具有重要作用.

参考文献

- 1 Lu X J, Liao X L, Cheng F X, et al. Research progress in bio-control of *Meloidogyne* (in Chinese). *Chin J Agri Sci Tech*, 2010, 12: 44–48 [路雪君, 廖晓兰, 成飞雪, 等. 根结线虫的生物防治研究进展. *中国农业科技导报*, 2010, 12: 44–48]
- 2 Elling A A. Major emerging problems with minor *Meloidogyne* species. *Phytopathology*, 2013, 103: 1092–1102
- 3 Jones J T, Haegeman A, Danchin E G J, et al. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. *Mol Plant Pathol*, 2013, 14: 946–961
- 4 Perry R N. An evaluation of types of attractants enabling plant-parasitic nematodes to locate plant roots. *Russ J Nematol*, 2005, 13: 83–88
- 5 Blaxter M L. Nematoda: Genes, genomes and the evolution of parasitism. *Adv Parasit*, 2003, 54: 101–195
- 6 Palomares-Rius J E, Escobar C, Cabrera J, et al. Anatomical alterations in plant tissues induced by plant-parasitic nematodes. *Front Plant Sci*, 2017, 8: 1987
- 7 Abad P, Gouzy J, Aury J M, et al. Genome sequence of the metazoan plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita*. *Nat Biotechnol*, 2008, 26: 909–915
- 8 Reynolds A M, Dutta T K, Curtis R H C, et al. Chemotaxis can take plant-parasitic nematodes to the source of a chemo-attractant via the shortest possible routes. *J R Soc Interface*, 2011, 8: 568–577
- 9 Rengarajan S, Hallem E A. Olfactory circuits and behaviors of nematodes. *Curr Opin Neurobiol*, 2016, 41: 136–148
- 10 Ward S, Thomson N, White J G, et al. Electron microscopical reconstruction of the anterior sensory anatomy of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *J Comp Neurol*, 1975, 160: 313–337
- 11 White J G, Southgate E, Thomson J N, et al. The structure of the nervous system of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Philos Trans R Soc B-Biol Sci*, 1986, 314: 1–340
- 12 Perry R N. Chemoreception in plant parasitic nematodes. *Annu Rev Phytopathol*, 1996, 34: 181–199
- 13 Hilliard M A, Bargmann C I, Bazzicalupo P. *C. elegans* responds to chemical repellents by integrating sensory inputs from the head and the tail. *Curr Biol*, 2002, 12: 730–734
- 14 Liu K S, Sternberg P W. Sensory regulation of male mating behavior in *Caenorhabditis elegans*. *Neuron*, 1995, 14: 79–89
- 15 Sulston J E, Albertson D G, Thomson J N. The *Caenorhabditis elegans* male: Postembryonic development of nongonadal structures. *Dev Biol*, 1980, 78: 542–576
- 16 Bargmann C I, Hartweg E, Horvitz H R. Odorant-selective genes and neurons mediate olfaction in *C. elegans*. *Cell*, 1993, 74: 515–527
- 17 Colbert H A, Bargmann C I. Environmental signals modulate olfactory acuity, discrimination, and memory in *Caenorhabditis elegans*. *Learning Memory*, 1997, 4: 179–191
- 18 Culotti J G, Russell R L. Osmotic avoidance defective mutants of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, 1978, 90: 243–256
- 19 Dusenbery D B. Analysis of chemotaxis in the nematode *Caenorhabditis elegans* by countercurrent separation. *J Exp Zool*, 1974, 188: 41–47
- 20 Hilliard M A, Bergamasco C, Arbucci S, et al. Worms taste bitter: ASH neurons, QUI-1, GPA-3 and ODR-3 mediate quinine avoidance in *Caenorhabditis elegans*. *EMBO J*, 2004, 23: 1101–1111

- 21 Chang A J, Chronis N, Karow D S, et al. A distributed chemosensory circuit for oxygen preference in *C. elegans*. *PLoS Biol*, 2006, 4: e274
- 22 Cheung B H H, Cohen M, Rogers C, et al. Experience-dependent modulation of *C. elegans* behavior by ambient oxygen. *Curr Biol*, 2005, 15: 905–917
- 23 Gray J M, Karow D S, Lu H, et al. Oxygen sensation and social feeding mediated by a *C. elegans* guanylate cyclase homologue. *Nature*, 2004, 430: 317–322
- 24 Bargmann C I, Horvitz H R. Chemosensory neurons with overlapping functions direct chemotaxis to multiple chemicals in *C. elegans*. *Neuron*, 1991, 7: 729–742
- 25 Bargmann C I, Horvitz H R. Control of larval development by chemosensory neurons in *Caenorhabditis elegans*. *Science*, 1991, 251: 1243–1246
- 26 Alcedo J, Kenyon C. Regulation of *C. elegans* longevity by specific gustatory and olfactory neurons. *Neuron*, 2004, 41: 45–55
- 27 Wolkow C A, Kimura K D, Lee M S, et al. Regulation of *C. elegans* life-span by insulinlike signaling in the nervous system. *Science*, 2000, 290: 147–150
- 28 Apfeld J, Kenyon C. Regulation of lifespan by sensory perception in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 1999, 402: 804–809
- 29 Okeke B C, Laymon J, Crenshaw S, et al. Environmental and kinetic parameters for Cr(VI) bioreduction by a bacterial monoculture purified from Cr(VI)-resistant consortium. *Biol Trace Elem Res*, 2008, 123: 229–241
- 30 Linit M, Stamps W T. Interaction of intrinsic and extrinsic chemical cues in the behaviour of *Bursaphelenchus xylophilus* (*Aphelenchida: Aphelenchoididae*) in relation to its beetle vectors. *Nematology*, 2001, 3: 295–301
- 31 Feussner I, Wasternack C. The lipoxygenase pathway. *Annu Rev Plant Biol*, 2002, 53: 275–297
- 32 Chen G, Hackett R, Walker D, et al. Identification of a specific isoform of tomato lipoxygenase (tomlox) involved in the generation of fatty acid-derived flavor compounds. *Plant Physiol*, 2004, 136: 2641–2651
- 33 Jalloul A, Montillet J L, Assigbetsé K, et al. Lipid peroxidation in cotton: *Xanthomonas* interactions and the role of lipoxygenases during the hypersensitive reaction. *Plant J*, 2002, 32: 1–12
- 34 Sanz A, Moreno J I, Castresana C. PIOX, a new pathogen-induced oxygenase with homology to animal cyclooxygenase. *Plant Cell*, 1998, 10: 1523–1538
- 35 Block A, Schmelz E, Jones J B, et al. Coronatine and salicylic acid: The battle between *Arabidopsis* and *Pseudomonas* for phytohormone control. *Mol Plant Pathol*, 2005, 6: 79–83
- 36 Bhattarai K K, Xie Q G, Mantelin S, et al. Tomato susceptibility to root-knot nematodes requires an intact jasmonic acid signaling pathway. *Mol Plant Microbe In*, 2008, 21: 1205–1214
- 37 Wubben M J E II, Su H, Rodermel S R, et al. Susceptibility to the sugar beet cyst nematode is modulated by ethylene signal transduction in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Plant Microbe In*, 2001, 14: 1206–1212
- 38 Basavaraju S, Zhan B, Kennedy M W, et al. Ac-FAR-1, a 20 kDa fatty acid- and retinol-binding protein secreted by adult *Ancylostoma caninum* hookworms: Gene transcription pattern, ligand binding properties and structural characterisation. *Mol Biochem Parasitol*, 2003, 126: 63–71
- 39 Fairfax K C, Vermeire J J, Harrison L M, et al. Characterisation of a fatty acid and retinol binding protein orthologue from the hookworm *Ancylostoma ceylanicum*. *Int J Parasitol*, 2009, 39: 1561–1571
- 40 Garofalo A, Kennedy M W, Bradley J E. The far proteins of parasitic nematodes: Their possible involvement in the pathogenesis of infection and the use of *Caenorhabditis elegans* as a model system to evaluate their function. *Med Microbiol Immun*, 2003, 192: 47–52
- 41 Garofalo A, Kläger S L, Rowlinson M C, et al. The far proteins of filarial nematodes: Secretion, glycosylation and lipid binding characteristics. *Mol Biochem Parasitol*, 2002, 122: 161–170
- 42 Kennedy M W, Garside L H, Goodrick L E, et al. The Ov20 protein of the parasitic nematode *Onchocerca volvulus*. *J Biol Chem*, 1997, 272: 29442–29448
- 43 Prior A, Jones J T, Blok V C, et al. A surface-associated retinol- and fatty acid-binding protein (Gp-FAR-1) from the potato cyst nematode *Globodera pallida*: Lipid binding activities, structural analysis and expression pattern. *Biochem J*, 2001, 356: 387–394
- 44 Iberkleid I, Vieira P, de Almeida Engler J, et al. Fatty acid-and retinol-binding protein, Mj-FAR-1 induces tomato host susceptibility to root-knot nematodes. *PLoS ONE*, 2013, 8: e64586
- 45 Bertin C, Yang X, Weston L A. The role of root exudates and allelochemicals in the rhizosphere. *Plant Soil*, 2003, 256: 67–83
- 46 Dakora F D, Phillips D A. Fatty acid-and retinol-binding protein, Mj-FAR-1 induces tomato host susceptibility to root-knot nematodes. *Plant Soil*, 2002, 245: 35–47

- 47 Rolfe R, Barrett J, Perry R. Analysis of chemosensory responses of second stage juveniles of *Globodera rostochiensis* using electrophysiological techniques. [Nematology](#), 2000, 2: 523–533
- 48 Gaur H, Beane J, Perry R. The influence of root diffusate, host age and water regimes on hatching of the root-knot nematode, *Meloidogyne triticroyzae*. [Nematology](#), 2000, 2: 191–199
- 49 Pudasaini M, Viaene N, Moens M. Hatching of the root-lesion nematode, *Pratylenchus penetrans*, under the influence of temperature and host. [Nematology](#), 2008, 10: 47–54
- 50 Nijs L J M F, Lock C A M. Differential hatching of the potato cyst nematodes *Globodera rostochiensis* and *G. pallida* in root diffusates and water of differing ionic composition. [Netherlands J Plant Pathol](#), 1992, 98: 117–128
- 51 Hawes M C, Gunawardena U, Miyasaka S, et al. The role of root border cells in plant defense. [Trends Plant Sci](#), 2000, 5: 128–133
- 52 Hawes M, Stock S P, Flores-Lara Y, et al. Increased penetration of host roots by nematodes after recovery from quiescence induced by root cap exudate. [Nematology](#), 2005, 7: 321–331
- 53 Bird D M K. Signaling between nematodes and plants. [Curr Opin Plant Biol](#), 2004, 7: 372–376
- 54 Chitwood D J. Phytochemical based strategies for nematode control. [Annu Rev Phytopathol](#), 2002, 40: 221–249
- 55 Ali J G, Alborn H T, Stelinski L L. Subterranean herbivore-induced volatiles released by citrus roots upon feeding by *Diaprepes abbreviatus* recruit entomopathogenic nematodes. [J Chem Ecol](#), 2010, 36: 361–368
- 56 Zhao L L, Wei W, Kang L, et al. Chemotaxis of the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, to volatiles associated with host pine, *Pinus massoniana*, and its vector *Monochamus alternatus*. [J Chem Ecol](#), 2007, 33: 1207–1216
- 57 Dong L, Li X, Huang L, et al. Lauric acid in crown daisy root exudate potently regulates root-knot nematode chemotaxis and disrupts *Mi-flp-18* expression to block infection. [J Exp Bot](#), 2014, 65: 131–141
- 58 Ithal N, Recknor J, Nettleton D, et al. Developmental transcript profiling of cyst nematode feeding cells in soybean roots. [Mol Plant Microbe In](#), 2007, 20: 510–525
- 59 Swiecicka M, Filipecki M, Lont D, et al. Dynamics in the tomato root transcriptome on infection with the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis*. [Mol Plant Pathol](#), 2009, 10: 487–500
- 60 Cabrera J, Barcala M, Fenoll C, et al. Transcriptomic signatures of transfer cells in early developing nematode feeding cells of *Arabidopsis* focused on auxin and ethylene signaling. [Front Plant Sci](#), 2014, 5: 107
- 61 Kyndt T, Denil S, Haegeman A, et al. Transcriptional reprogramming by root knot and migratory nematode infection in rice. [New Phytol](#), 2012, 196: 887–900
- 62 Nahar K, Kyndt T, Nzogela Y B, et al. Absciscic acid interacts antagonistically with classical defense pathways in rice-migratory nematode interaction. [New Phytol](#), 2012, 196: 901–913
- 63 Uehara T, Sugiyama S, Matsuura H, et al. Resistant and susceptible responses in tomato to cyst nematode are differentially regulated by salicylic acid. [Plant Cell Physiol](#), 2010, 51: 1524–1536
- 64 Matthews B F, Beard H, MacDonald M H, et al. Engineered resistance and hypersusceptibility through functional metabolic studies of 100 genes in soybean to its major pathogen, the soybean cyst nematode. [Planta](#), 2013, 237: 1337–1357
- 65 Li R, Rashotte A M, Singh N K, et al. Integrated signaling networks in plant responses to sedentary endoparasitic nematodes: A perspective. [Plant Cell Rep](#), 2015, 34: 5–22
- 66 Goverse A, Overmars H, Engelbertink J, et al. Both induction and morphogenesis of cyst nematode feeding cells are mediated by auxin. [Mol Plant Microbe In](#), 2000, 13: 1121–1129
- 67 Grunewald W, Cannoot B, Friml J, et al. Parasitic nematodes modulate pin-mediated auxin transport to facilitate infection. [PLoS Pathog](#), 2009, 5: e1000266
- 68 Wubben M J E II, Rodermeil S R, Baum T J. Mutation of a UDP-glucose-4-epimerase alters nematode susceptibility and ethylene responses in *Arabidopsis* roots. [Plant J](#), 2004, 40: 712–724
- 69 Fudali S L, Wang C, Williamson V M. Ethylene signaling pathway modulates attractiveness of host roots to the root-knot nematode *Meloidogyne hapla*. [Mol Plant Microbe In](#), 2013, 26: 75–86
- 70 Kammerhofer N, Radakovic Z, Regis J M A, et al. Role of stress-related hormones in plant defence during early infection of the cyst nematode *Heterodera schachtii* in *Arabidopsis*. [New Phytol](#), 2015, 207: 778–789
- 71 Huang W, Ji H, Gheysen G, et al. Biochar-amended potting medium reduces the susceptibility of rice to root-knot nematode infections. [BMC](#)

[Plant Biol](#), 2015, 15: 267

- 72 Bent A F, Hoffman T K, Schmidt J S, et al. Disease- and performance-related traits of ethylene-insensitive soybean. [Crop Sci](#), 2006, 46: 893–901
- 73 Tucker M L, Xue P, Yang R. 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) concentration and ACC synthase expression in soybean roots, root tips, and soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*)-infected roots. [J Exp Bot](#), 2010, 61: 463–472
- 74 Van Bael S, Zels S, Boonen K, et al. A *Caenorhabditis elegans* mass spectrometric resource for neuropeptidomics. [J Am Soc Mass Spectrom](#), 2018, 29: 879–889
- 75 Marks N J, Shaw C, Halton D W, et al. Isolation and preliminary biological assessment of AADGAPLIRFamide and SVPGVLRFamide from *Caenorhabditis elegans*. [Biochem Biophys Res Commun](#), 2001, 286: 1170–1176
- 76 Kimber M J, McKinney S, McMaster S, et al. *flp* gene disruption in a parasitic nematode reveals motor dysfunction and unusual neuronal sensitivity to RNA interference. [FASEB J](#), 2007, 21: 1233–1243
- 77 Maratou E, Theophilidis G, Arsenakis M. Axonal transport of herpes simplex virus-1 in an in vitro model based on the isolated sciatic nerve of the frog *Rana ridibunda*. [J Neurosci Methods](#), 1998, 79: 75–78
- 78 Henriksson J, Tjälve H. Uptake of inorganic mercury in the olfactory bulbs via olfactory pathways in rats. [Environ Res](#), 1998, 77: 130–140
- 79 Winter M D, McPherson M J, Atkinson H J. Neuronal uptake of pesticides disrupts chemosensory cells of nematodes. [Parasitology](#), 2002, 125: 561–565
- 80 Wang D, Jones L M, Urwin P E, et al. A synthetic peptide shows retro- and anterograde neuronal transport before disrupting the chemosensation of plant-pathogenic nematodes. [PLoS ONE](#), 2011, 6: e17475
- 81 Maule A, Mousley A, Marks N, et al. Neuropeptide signaling systems-potential drug targets for parasite and pest control. [Curr Top Med Chem](#), 2002, 2: 733–758
- 82 Shivakumara T N, Dutta T K, Chaudhary S, et al. Homologs of *Caenorhabditis elegans* chemosensory genes have roles in behavior and chemotaxis in the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. [Mol Plant Microbe In](#), 2019, doi:10.1094/MPMI-08-18-0226-R:MPMI-08-18-0226
- 83 L'Etoile N D, Bargmann C I. Olfaction and odor discrimination are mediated by the *C. elegans* guanylyl cyclase ODR-1. [Neuron](#), 2000, 25: 575–586
- 84 Roayaie K, Crump J G, Sagasti A, et al. The Ga protein ODR-3 mediates olfactory and nociceptive function and controls cilium morphogenesis in *C. elegans* olfactory neurons. [Neuron](#), 1998, 20: 55–67
- 85 Coburn C M, Bargmann C I. A putative cyclic nucleotide-gated channel is required for sensory development and function in *C. elegans*. [Neuron](#), 1996, 17: 695–706
- 86 Pradel E, Zhang Y, Pujol N, et al. Detection and avoidance of a natural product from the pathogenic bacterium *Serratia marcescens* by *Caenorhabditis elegans*. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2007, 104: 2295–2300
- 87 Bargmann C I. Chemosensation in *C. elegans*. In: Erik J, ed. WormBook: The Online Review of *C. elegans* Biology. Pasadena: WormBook 2006. 1–29
- 88 Johnston M J G, McVeigh P, McMaster S, et al. FMRFamide-like peptides in root knot nematodes and their potential role in nematode physiology. [J Helminthol](#), 2010, 84: 253–265
- 89 Rao U, Thakur P K, Prasad G N, et al. Identification of neuropeptides, *flp-1* and *flp-12* targeting neuromuscular system of rice root knot nematode (RRKN) *Meloidogyne graminicola*. [Bioinformation](#), 2013, 9: 182–186
- 90 Warnock N D, Wilson L, Patten C, et al. Nematode neuropeptides as transgenic nematocides. [PLoS Pathog](#), 2017, 13: e1006237
- 91 Li C, Zhou X, Lewis E E, et al. Study on host-seeking behavior and chemotaxis of entomopathogenic nematodes using Pluronic F-127 gel. [J Invertebrate Pathol](#), 2019, 161: 54–60
- 92 Tsai A Y L, Higaki T, Nguyen C N, et al. Regulation of root-knot nematode behavior by seed-coat mucilage-derived attractants. [Mol Plant](#), 2019, 12: 99–112
- 93 Lilley C J, Davies L J, Urwin P E. RNA interference in plant parasitic nematodes: A summary of the current status. [Parasitology](#), 2012, 139: 630–640
- 94 Dutta T K, Banakar P, Rao U. The status of RNAi-based transgenic research in plant nematology. [Front Microbiol](#), 2015, 5: 760
- 95 Shakir M A, Miwa J, Siddiqui S S. A role of ADF chemosensory neurons in dauer formation behavior in *C. elegans*. [Neuroreport](#), 1993, 4: 1151–1154

- 96 Hedgecock E M, Culotti J G, Thomson J N, et al. Axonal guidance mutants of *Caenorhabditis elegans* identified by filling sensory neurons with fluorescein dyes. *Dev Biol*, 1985, 111: 158–170
- 97 Urwin P E, Lilley C J, Atkinson H J. Ingestion of double-stranded RNA by preparasitic juvenile cyst nematodes leads to RNA interference. *Mol Plant Microbe In*, 2002, 15: 747–752
- 98 Bakhietia M, Charlton W, Atkinson H J, et al. RNA Interference of dual oxidase in the plant nematode *Meloidogyne incognita*. *Mol Plant Microbe In*, 2005, 18: 1099–1106

Chemosensory system of plant parasitic nematodes

ZHOU QinYing, ZHU Man, HUANG Hui & HUANG XiaoWei

State Key Lab for Conservation and Utilization of Bio-Resources in Yunnan & School of Life Sciences, Yunnan University, Kunming 650091, China

Plant parasitic nematodes (PPNs) have become the second major class of agricultural diseases behind the fungal diseases, causing annual crop losses of \$173 billion worldwide. This is due to the fact that PPNs have a complex and highly sensitive chemosensory system, which is involved in the whole process from their migration in the soil to establishment of a suitable feeding site in tissues of host plants. It has been shown that fat and its derivatives, neuropeptides, root exudates, plant hormone, and some other chemical molecules can be sensed by the chemosensory system of PPNs. The functions of the chemosensory system and its effects on PPNs' parasitic life have been investigated and become gradually known. This review summarizes the current research progress of PPNs' chemosensory system from multiple aspects, hoping to provide more ideas for biological control of PPNs.

plant-parasitic nematode, fatty acid, neuropeptides, root exudates, plant hormone

doi: [10.1360/SSV-2019-0092](https://engine.scichina.com/doi/10.1360/SSV-2019-0092)