

一种具有杀线剂潜力的松墨天牛抗菌肽*

胡霞^{1*}, 余璐¹, 张飞萍¹

(1.福建农林大学林学院 福州 邮编 350002)

摘要:【目的】课题组前期从松墨天牛对病原菌的免疫响应途径中发现了一种极具杀线剂先导化合物潜力的效应子松墨天牛抗菌肽 MaltDef1, 为了明确其对松材线虫的抑制作用及机制。【方法】以 MaltDef1 序列为基础人工合成的抗菌肽 S-defensin 为研究对象, 通过显微观察和生物测定明确了抗菌肽 S-defensin 对松材线虫形态和生理生化功能的影响; 通过转录组学和 RNA 干扰技术明确了松材线虫对抗菌肽 S-defensin 的分子响应机制; 通过单细胞转录组学技术明确了松材线虫各细胞类群对抗菌肽 S-defensin 胁迫的响应。【结论】通过显微观察发现抗菌肽 S-defensin 严重破坏了松材线虫的体内外结构, 在体表观察到松材线虫出现皱缩、凹陷、孔洞等情况, 体内观察到水泡结构、肌肉萎缩、质壁分离和细胞膜溶解并伴随着体液外溢的情况。生物测定结果表明, 抗菌肽 S-defensin 的胁迫显著降低了松材线虫的存活、运动、产卵和种群繁殖数量, 而松材线虫体内的活性氧含量显著升高, 表明松材线虫产生了氧化应激反应。通过转录组学测序从抗菌肽 S-defensin 处理的松材线虫中共筛选到 1 369 个差异基因, 在这些差异基因所注释到的 KEGG 通路中, ERK/MAPK 信号通路在抗菌肽 S-defensin 对松材线虫的胁迫中发挥了重要作用。基于 RNA 干扰技术的基因功能验证表明: 随着 ERK/MAPK 信号通路关键基因 (*Let-23*、*Let-60*、*Mek-2*、*Lin-1*) 的沉默, 松材线虫的存活、产卵、种群繁殖数量和取食量都显著降低, 关键基因的干扰也导致了松材线虫体内的活性氧含量显著升高, 线虫产生氧化应激。通过单细胞转录组学测序比较抗菌肽 S-defensin 处理前后的松材线虫, 松材线虫细胞可分为 29 个细胞簇, 并首次识别出 11 个松材线虫细胞类型。各细胞类型在抗菌肽 S-defensin 胁迫下均出现异质性, 其中与神经系统相关的三种细胞类型, 包括 ASK 中间神经元细胞、URA 神经元细胞和神经干细胞显示出高度异质性。这三种细胞类型中的差异基因共同注释到与凋亡相关的“半胱氨酸型内肽酶抑制剂活性”功能, KEGG 通路也共同富集到“长寿调节途径-多物种”, 其中与神经损伤炎症有关的负调节因子“CRYAB”在神经干细胞中下调, 在 ASK 和 URA 两种功能性神经元细胞中上调, 表明抗菌肽 S-defensin 可能导致松材线虫的神经细胞凋亡, 促进了神经干细胞的炎症反应。拟时分析结果表明, 抗菌肽 S-defensin 处理后, 松材线虫的神经干细胞较对照组丰度更高, ASK 和 URA 两种功能性神经元细胞丰度降低。研究结果为松材线虫病的绿色高效防控提供了理论基础和新的思路。

关键词: 松墨天牛; 抗菌肽; 松材线虫