

# 低等白蚁肠道共生微生物的多样性及其功能

杨 红 彭建新 刘凯于 洪华珠\*

(华中师范大学生命科学院昆虫学研究所 农药与化学生物学教育部重点实验室 武汉 430079)

**摘 要:** 低等白蚁肠道里存在着复杂的微生物区系,包括真核微生物鞭毛虫和原核生物,细菌及古细菌。低等白蚁的后肠以特别膨大的囊形胃及其氢氧浓度的明显梯度分布和丰富的微生物区系为特征,是白蚁进行木质纤维素消化的主要器官。后肠内的鞭毛虫能将纤维素水解并发酵为乙酸,二氧化碳和氢,为白蚁提供营养和能源。系统发育研究表明,低等白蚁肠道共生细菌的主要类群为白蚁菌群 1、螺旋体、拟杆菌,低 G+C mol% 含量的革兰氏阳性菌和紫细菌等。而古细菌主要为甲烷短杆菌属的产甲烷菌。共生原核生物与二氧化碳的还原和氮的循环等代谢有关。但肠道共生微生物的具体功能和作用机制还有待进一步的揭示。

**关键词:** 低等白蚁;共生;鞭毛虫;原核生物;多样性;功能

**中图分类号:** Q938 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209(2006)03-0496-04

在自然界广泛分布的 2600 多种白蚁中,有 15% 属于低等白蚁,其特点是在它们的肠道共生着多种多样的鞭毛虫和原核生物(细菌和古细菌)。低等白蚁共有 6 个科,其中绝大多数都是木食性的种类<sup>[1]</sup>。它们喜食不同来源的植物,如树皮、树干、朽木、干草等,对森林果园、农田作物、房屋建筑等的危害相当严重,是热带、亚热带森林的重要害虫之一。白蚁对植物源食物的消化与其肠道共生微生物的活动密不可分<sup>[2]</sup>。作为研究共栖生物间复杂的相互关系最重要的模型系统之一,低等白蚁肠道共生鞭毛虫和原核生物的多样性及其功能近年来成为这个领域的研究热点<sup>[3]</sup>。

## 1 低等白蚁肠道环境的生理状态

低等白蚁的肠道分为前肠,中肠和后肠。前肠和中肠为细管状,主要起摄食、储藏、磨碎食物及部分消化食物的作用。后肠由特别膨大的囊形胃(Paunch)、结肠、直肠等组成,是白蚁进行木质纤维素消化的主要器官,同时吸收食物和尿中的水分及无机盐类,并排除食物残渣和代谢废物。低等白蚁的前肠能够分泌一些生物活性物质。对栖北散白蚁(*Reticulitermes speratus*)的研究显示,其唾液腺分泌的溶菌酶<sup>[4]</sup>在前肠活性很高,可能参与裂解由白蚁相互交哺(Trophallaxis)进入前肠的细菌,而中肠里蛋白酶的活性也较高<sup>[5]</sup>,说明低等白蚁自身也有部分消化食物的能力。对黄胸散白蚁(*Reticulitermes flaviceps*)<sup>[6]</sup>的研究则显示,前肠和中肠纤维素酶的种类和活性与后肠是不同的。尽管纤维素酶如内葡聚糖酶、外葡聚糖酶及纤维二糖酶等可以由白蚁的唾液腺、前肠和中肠分泌,但木质纤维素的消化主要是在后肠进行<sup>[7]</sup>。后肠具有相对较低的氧化还原势能在(-50 到 -270mV 之间),pH 位于中性(6.2 到 7.6 之间)。

应用微电极技术(Microelectrodes),Brune<sup>[8]</sup>及其合作者发现在散白蚁 *Reticulitermes flavipes* 后肠囊形胃区, H<sub>2</sub> 及 O<sub>2</sub> 的浓

度是呈辐射状分布的,在肠腔中心 H<sub>2</sub> 浓度最高,从中心到肠壁 H<sub>2</sub> 浓度逐渐降低,而肠壁 O<sub>2</sub> 的浓度则最高,囊形胃区 H<sub>2</sub> 及 O<sub>2</sub> 浓度明显的梯度分布表明, O<sub>2</sub> 梯度驱使氧连续地流向肠壁周围,使得囊形胃大部分区域处于有氧状态,而严格厌氧区则集中在肠腔的中心。囊形胃区 H<sub>2</sub> 及 O<sub>2</sub> 浓度明显的梯度分布显著地影响着肠道内微生物的分布,既给严格厌氧的微生物提供了发酵的环境<sup>[9]</sup>,使其能产生乙酸等发酵产物作为白蚁的主要能源,也可很好地解释从肠道中分离出的一些兼性厌氧菌如乳酸菌<sup>[10]</sup>和氧依赖的芳香族单体降解菌的存在<sup>[2]</sup>。因此,白蚁肠道虽小,却高度结构化,为肠道内微生物提供了不同的生理化学微生态环境,而绝不仅仅是一个厌氧发酵器<sup>[8]</sup>。

## 2 低等白蚁肠道内共生鞭毛虫的多样性及其功能

低等白蚁的肠道内,尤其是后肠的囊形胃里含有高密度多种多样的微生物区系,直接的显微计数表明,每毫升肠液中微生物密度达 10<sup>9</sup> ~ 10<sup>11</sup> 个细胞<sup>[2]</sup>。对散白蚁 *R. flavipes* 肠道微生物的原位形态学观察发现,在其后肠存在着至少 12 种鞭毛虫和 20 到 30 多种不同形态的细菌或古细菌。低等白蚁后肠内共生的鞭毛虫可占白蚁总体重的 1/7 到 1/3<sup>[2]</sup>。第一个被描述的鞭毛虫为散白蚁 *R. flavipes* 肠道内的尖状火焰滴虫(*Pyrrsonympha vertens*)。此后,从许多低等白蚁消化道内发现了各种各样的鞭毛虫。至上世纪中后期,已从 205 种低等白蚁消化道内发现了 434 种不同的鞭毛虫<sup>[11]</sup>。所有白蚁共生鞭毛虫均属于原生动物动鞭毛纲(Zoomastigophorea)中的 3 个目,即毛滴虫目(Trichomonadida)、超鞭虫目(Hypermastigida)和锐滴虫目(Oxymonadida)<sup>[1]</sup>。它们都没有线粒体,但有一些典型的细胞器,如由微管组成的轴杆。毛滴虫目和超鞭虫目的鞭毛虫含有氢化酶体

基金项目:国家自然科学基金项目(30570034)

\* 通讯作者。Tel: 86-27-67862431; Fax: 86-27-67861497; E-mail: hzhong@mail.cnu.edu.cn

作者简介:杨 红(1966-),女,河南浙川人,副教授,博士,从事微生物分子生态学研究。E-mail: hyang0202@hotmail.com

收稿日期 2005-06-27,接受日期 2005-09-16,修回日期 2005-10-12

(Hydrogenosomes),以底物水平磷酸化的形式产生ATP并释放乙酸,供给白蚁代谢需要的能量。这2个目的鞭毛虫同属于副基体纲(Parabasalea),核糖体大小与细菌同为70S,是较原始的原生动物,在真核生物起源的研究中特别令人关注。锐滴虫目鞭毛虫没有氢化酶体,系统发育研究表明,它们不是早期分支的真核生物,与Trimastix属亲缘关系最近<sup>[12,13]</sup>。

研究表明,没有肠道内共生鞭毛虫的帮助,低等白蚁就不能消化含木质纤维素的植物组织。经处理使鞭毛虫消失后连续喂食白蚁,两周内白蚁即死亡<sup>[11]</sup>。从透射电镜图片<sup>[14]</sup>可以观察到台湾乳白蚁中鞭毛虫*Pseudotriconympha grassii*吞噬的木质片段和正被降解的纤维物质。对同种白蚁<sup>[15]</sup>肠道3种共生鞭毛虫的研究表明,不同鞭毛虫在木质纤维素的消化中分别起着不同的作用。最大的鞭毛虫(*P. grassii*)主要降解高度聚合的纤维素,而较小的鞭毛虫*Holomastigotoides hartmanni*和*Spirotrichonympha leidy*则消化低分子量的纤维素。低等白蚁肠道共生鞭毛虫能将纤维素水解并发酵为乙酸、二氧化碳和氢<sup>[16]</sup>,这已被分离培养鞭毛虫的研究所证实。在台湾乳白蚁(*Coptotermes formosanus*)中87%的外-纤维二糖水解酶活性来自后肠的鞭毛虫而非白蚁自身合成<sup>[17]</sup>。将纤维素水解为葡萄糖所需要的酶包括内葡聚糖酶、外葡聚糖酶及纤维二糖酶等。近年来,运用PCR技术分别从栖北散白蚁、澳白蚁(*Mastotermes darwiniensis*)和台湾乳白蚁肠道共生鞭毛虫中克隆出了不同的纤维素酶基因,如葡糖水解酶45家族<sup>[18,19]</sup>、水解酶GHF7<sup>[20]</sup>和 $\beta$ -1,4-葡聚糖酶<sup>[21,22]</sup>,并且原位杂交等技术也证实了这些基因的鞭毛虫来源。这些研究为鞭毛虫降解纤维素的作用提供了直接证据。

### 3 低等白蚁肠道内共生原核生物的多样性及功能

#### 3.1 低等白蚁肠道内共生原核生物的多样性

显微和超微结构观察揭示低等白蚁肠道内共生原核生物不仅多种多样而且密度很高,既有细菌也有古细菌。在肠道的各个部位,细菌一般占优势,但古细菌在某些部位如后肠肠壁和某些鞭毛虫中有分布。将散白蚁*R. santonensis*后肠解剖,以专用于观察产甲烷菌的F420表面荧光滤色镜观察后肠肠壁,发现肠壁内表面分布着数量众多的短杆型或略微弯曲的杆形产甲烷菌;以古细菌16S rRNA基因通用引物对肠壁DNA抽提物的PCR也证实了古细菌的存在(作者实验结果,未发表)。应用不依赖培养的分子生物学方法从低等白蚁肠道得到了很多产甲烷菌克隆,这些产甲烷菌克隆绝大多数属于甲烷短杆菌属(*Methanobrevibacter*)<sup>[3]</sup>。对栖北散白蚁和高山原白蚁(*Hodotermopsis sjoestedti*)的研究表明,在某些鞭毛虫内也有产甲烷菌共生,但与鞭毛虫相关的产甲烷菌和生活在后肠肠壁的产甲烷菌在系统发育上是不同的<sup>[23]</sup>。

近年来,对从多种白蚁得到的细菌克隆的系统发育分析表明,低等白蚁肠道内的共生细菌是多种多样的<sup>[3]</sup>。Ohkuma等<sup>[24]</sup>较早报道了对栖北散白蚁肠道共生细菌的系统发育研究结果,从该白蚁肠道得到的绝大多数克隆属于螺旋体(Spirochetes),滑行菌门(*Cytophaga-Flavobacter-Bacteroides* Phylum)的拟杆菌科(Bacteroides),低G+Cmol%含量的革兰氏阳性菌(梭状芽孢杆菌样的,*Clostridium-like*),和紫细菌(Proteobacteria)。此外,还有大量的克隆属于在系统发育上与其它物种十分不同的一类细菌,特称为“白蚁菌群1”(Termite

group 1)。Hongoh<sup>[25]</sup>进一步研究表明,螺旋体是栖北散白蚁肠道中最占优势的细菌,占有已分析克隆的近一半。拟杆菌、梭状芽孢杆菌和“白蚁菌群1”也为明显的优势细菌,分别占已分析克隆的5%~15%,其它克隆则属于紫细菌,不动细菌属(*Actinobacteria*),和支原体(*Mycoplasma*)等。采用种群特异性引物,从不同的低等白蚁肠道抽提物中得到了螺旋体<sup>[26]</sup>、拟杆菌<sup>[27]</sup>及“白蚁菌群1”<sup>[28]</sup>等的克隆。这些克隆在系统发育上呈现多样性,且均能形成明显的“白蚁簇”(Termite cluster),显示出低等白蚁肠道共生细菌与其它环境中的细菌显著不同。考虑到地球上总计有超过2600种的白蚁种类,白蚁肠道应该是一个巨大的微生物新种库。

原核生物在低等白蚁肠道中的分布是不均匀的,有的与鞭毛虫共生,有的游离生活于肠腔,还有的密布于后肠肠壁。原核生物的分布不仅受肠道环境生理因素(如pH值、氢氧浓度、氧化还原电位等)的影响,也与肠道内的物质循环和代谢有关<sup>[2]</sup>。荧光原位杂交技术清楚地显示出螺旋体<sup>[29]</sup>、拟杆菌<sup>[30]</sup>及“白蚁菌群1”<sup>[28]</sup>与鞭毛虫的内共生或表共生关系。以散白蚁*R. santonensis*为模型,作者新近报道了肠道环境的异质性对微生物区系结构的影响<sup>[31]</sup>。对该白蚁肠道中肠、后肠肠壁、后肠肠液和鞭毛虫四个部分的研究表明,在该白蚁肠道内最大的一个细菌类群为“白蚁菌群1”门的细菌,且绝大多数与鞭毛虫相关,并在系统发育树上形成两个不同的簇。此外,在该白蚁肠道不同微环境中占优势的细菌类群为革兰氏阳性菌、拟杆菌、螺旋体和一些紫细菌。其中,螺旋体主要分布于肠液,也有很多与鞭毛虫相关;低G+Cmol%含量的革兰氏阳性菌部分分布于中肠和后肠的肠壁,也有部分分布于肠液中,滑行菌门的细菌则主要分布于肠液和肠壁,少数与鞭毛虫相关。

#### 3.2 低等白蚁肠道内共生原核生物的功能

低等白蚁肠道内共生的原核生物与多种代谢活动有关,其中有许多可能参与了对鞭毛虫发酵产物的进一步代谢。对散白蚁*R. flavipes*的研究表明,在有氧条件下,耐氧乳酸菌可将由鞭毛虫分解产生的单糖发酵为乳酸<sup>[2]</sup>,而拟杆菌则能将乳酸发酵为乙酸、丙酸和CO<sub>2</sub>。由于鞭毛虫发酵纤维素产生大量的H<sub>2</sub>和CO<sub>2</sub>,因此,白蚁肠道中能够以H<sub>2</sub>还原CO<sub>2</sub>的微生物引起了人们的特别关注。推测至少有两大类原核生物参与氢的氧化和二氧化碳的还原,其一为产甲烷菌,它能将CO<sub>2</sub>还原为甲烷(4H<sub>2</sub>+CO<sub>2</sub>→CH<sub>4</sub>+2H<sub>2</sub>O);其二为同型产乙酸菌,它能将CO<sub>2</sub>还原为乙酸(4H<sub>2</sub>+2CO<sub>2</sub>→CH<sub>3</sub>COOH)<sup>[2]</sup>。从散白蚁*R. flavipes*肠道分离得到了3株产甲烷菌,它们均为甲烷短杆菌属的新种,其中*M. cuticularis*和*M. curvatus*为杆形<sup>[32]</sup>,而*M. filiformis*为长纤维状<sup>[33]</sup>。这3个纯培养均证实了产甲烷菌的代谢途径。近年来,从白蚁*Zootermopsis angusticollis*中获得了螺旋体的分离株<sup>[34]</sup>,进一步研究表明,从该白蚁分离的螺旋体既有同型乙酸菌也有非同型乙酸菌,同型乙酸菌的生长需要其它肠道菌分泌产生的叶酸<sup>[35,36]</sup>。由于螺旋体在白蚁肠道微生物中占很大的比例,很显然,低等白蚁肠道中产乙酸菌超过产甲烷菌为二氧化碳的主要还原者,同时表明,螺旋体在白蚁的营养代谢中起着重要的作用。

低等白蚁主要取食木质纤维素,从食物来源的氮十分缺乏。因此,肠道微生物很可能在氮的营养方面起重要的作用。运用乙炔还原作用分析法(Acetylene reduction assay, CA)

研究表明 20 多种白蚁肠道具有固氮活性。梅建凤等<sup>[37]</sup>报道台湾乳白蚁工蚁有较高的固氮活性。从澳白蚁, *Coptotermes lacteus* 和台湾乳白蚁等肠道均得到了具有固氮作用的分离株<sup>[2]</sup>。对散白蚁 *R. flavipes* 的系列研究表明, 肠道内 30% 的尿酸所含的氮可以被尿酸分解菌转化为可利用的氮源, 在该白蚁肠道内尿酸分解菌大约为  $6 \times 10^4$  cells/gut<sup>[38]</sup>。以固氮菌特有的固氮酶 *nifH* (Dinitrogenase reductase) 基因为标记的分子生物学研究表明, 在不同白蚁肠道内均存在着多种多样的 *nifH* 基因, 表明白蚁肠道潜在地存在着具有固氮作用的共生菌<sup>[3]</sup>。

除此之外, 从低等白蚁肠道内还分离得到一些具有半纤维素<sup>[39]</sup>水解作用和芳香化合物<sup>[40]</sup>分解作用的细菌, 说明某些细菌直接参与了白蚁对半纤维素等植物源食物的消化。

#### 4 展望

尽管在低等白蚁肠道共生微生物的多样性和功能的研究方面已取得了一些进展, 但迄今为止, 人们对这些共生微生物彼此复杂的相互关系及其在纤维素消化中所起的具体作用和机制尚知之甚少。对微生物功能的阐释有赖于分离培养技术的提高。最近的研究表明, 综合一些新的策略如培养基低营养化、相对长时间的培养、添加腐殖酸或类似物以及群体感应信号(Quorum-signaling compounds)如酰基高丝氨酸内酯类(Acyl-homoserine lactone)等物质可以提高纯培养的效率。应用这种新的策略从散白蚁 *R. flavipes* 的肠道首次分离出了不动细菌和 *Verrucomicrobia*<sup>[41]</sup>。此外, 稳定性同位素探针(Stable isotope probe)等新技术的应用也可以促进对肠道微生物可能的生理功能的研究<sup>[42]</sup>。总之, 低等白蚁肠道是一个十分丰富的微生物资源库, 对肠道共生菌重要类群如“白蚁菌群 1”的生理功能、共生菌与鞭毛虫的相互关系、鞭毛虫协助消化的机制等的进一步研究, 将有助于阐明肠道共生微生物之间的相互关系, 对有益微生物资源的开发与应用也具有实际的意义。

#### 参 考 文 献

- [ 1 ] Radek R. Flagellates, bacteria, and fungi associated with termites: diversity and function in nutrition—a review. *Ecotropica*, 1999, **5**: 183–196.
- [ 2 ] Abe T, Bignell DE, Higashi M. Termites: Evolution, Sociality, Symbiosis, Ecology. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2000, 209–231.
- [ 3 ] Ohkuma M. Termite symbiotic system: efficient bio-recycling of lignocellulose. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2003, **61**: 1–9.
- [ 4 ] Fujita A, Shimizu I, Abe T. Distribution of lysozyme and protease, and amino acid concentration in the guts of a wood-feeding termite, *Reticulitermes speratus* (Kolbe): Possible digestion of symbiont bacteria transferred by trophallaxis. *Physiological Entomology*, 2001, **26**: 116–123.
- [ 5 ] Watanabe H, Tokuda G. Animal cellulases. *Cell Mol Life Sci*, 2001, **58**: 1167–1178.
- [ 6 ] 杨天赐, 莫建初, 程家安, 等. 黄胸散白蚁纤维素酶的研究. 中国森林病虫, 2003 **2X**(6): 4–7.
- [ 7 ] Brune A. Symbionts aiding digestion. *Encyclopedia*, 2004, 1102–1107.
- [ 8 ] Brune A. Termite guts: the world's smallest bioreactor. *Trends Biotechnol*, 1998, **16**: 16–21.
- [ 9 ] Tholen A, Brune A. Impact of oxygen on metabolic fluxes and in situ rates of reductive acetogenesis in the hindgut of the wood-feeding termites *Reticulitermes flavipes*. *Environ Microbiol*, 2000, **2**: 436–449.
- [ 10 ] Tholen A, Schink B, Brune A. The gut microflora of *Reticulitermes flavipes*, its relation to oxygen, and evidence for oxygen-dependent acetogenesis by the most abundant *Enterococcus* sp. *FEMS Microbiology Ecology*, 1997, **24**: 137–149.
- [ 11 ] Yamin MA. Flagellates of the orders Trichomonadida Kirby, Oxymonadida Grasse, and Hypermastigida Grassi & Foa reported from lower termites (Isoptera families Mastotermitidae, Kalotermitidae, Hodotermitidae, Termopsidae, Rhinotermitidae, and Serritermitidae) and from the wood-feeding roach *Cryptocercus* (Dictyoptera: Cryptoceridae). *Sociobiology*, 1979, **4**: 1–120.
- [ 12 ] Moriya S, Dacks JB, Takagi A, et al. Molecular Phylogeny of three oxymonad genera: Pyronympha, Dinenympha and Oxymonas. *J Eukaryot Microbiol*, 2003, **50**(3): 190–197.
- [ 13 ] Stingl U, Brune A. Phylogenetic diversity and whole-cell hybridization of Oxymonad flagellates from the hindgut of the wood-feeding lower termite *Reticulitermes flavipes*. *Protist*, 2003, **154**: 147–155.
- [ 14 ] Yoshimura T. Ingestion and decomposition of wood and cellulose by the protozoa in the hindgut of *Coptotermes formosanus* Shiraki (Isoptera: Rhinotermitidae) as evidenced by polarizing and transmission electron microscopy. *Holzforschung*, 1996, **50**: 99–104.
- [ 15 ] Abe T, Bignell DE, Higashi M. Termites: Evolution, Sociality, Symbiosis, Ecology. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2000, 275–288.
- [ 16 ] Odelson DA, Breznak JA. Cellulase and other polymer-hydrolyzing activities of *Trichomitopsis termopsidis*, a symbiotic protozoa from termites. *Appl Environ Microbiol*, 1985b, **49**: 622–626.
- [ 17 ] Yoshimura T. Contribution of the protozoa fauna to nutritional physiology of the lower termite *Coptotermes formosanus* Shiraki (Isoptera: Rhinotermitidae). *Wood research*, 1995, **82**: 68–129.
- [ 18 ] Ohtoko K, Ohkuma M, Moriya S, et al. Diverse genes of cellulase homologues of glycosyl hydrolase family 45 from the symbiotic protists in the hindgut of the termite *Reticulitermes speratus*. *Extremophiles*, 2000, **4**: 343–349.
- [ 19 ] Li L, Froehlich J, Pfeiffer P, et al. Termite gut symbiotic Archaezoa are becoming living metabolic fossils. *Eukaryotic Cell*, 2003, **2**: 1091–1098.
- [ 20 ] Nakashima K, Watanabe H, Saitoh H, et al. Dual cellulose-digesting system of the wood-feeding termites, *Coptotermes formosanus* Shiraki. *Insect Biochem Mol Biol*, 2002, **32**: 777–784.
- [ 21 ] Watanabe H, Nakashima K, Saito H, et al. New endo-β-1,4-glucanases from the parabasalian symbionts, *Pseudotriconympha grassii* and *Holomastigotoides mirabile* of *Coptotermes* termites. *Cell Mol Life Sci*, 2002, **59**: 1983–1992.
- [ 22 ] Inoue T, Moriya S, Ohkuma M, et al. Molecular cloning and characterization of a cellulase gene from a symbiotic protist of the lower termite, *Coptotermes formosanus*. *Gene*, 2005, **349**: 67–75.
- [ 23 ] Tokura M, Ohkuma M, Kudo T. Molecular phylogeny of methanogens associated with flagellated protists in the gut and with the gut epithelium of termites. *FEMS Microbiol Ecol*, 2000, **33**: 233–240.
- [ 24 ] Ohkuma M, Kudo T. Phylogenetic diversity of the intestinal bacterial community in the termite *Reticulitermes speratus*. *Appl Environ Microbiol*, 1996, **62**: 461–468.

- [ 25 ] Hongoh Y , Ohkuma M , Kudo T . Molecular analysis of bacterial microbiota in the gut of the termite *Reticulitermes speratus* ( Isoptera : Rhinotermitidae ). *FEMS Microbiol Ecology* , 2003 , **44** : 231 – 242 .
- [ 26 ] Lilburn TG , Schmidt TM , Breznak JA . Phylogenetic diversity of termite gut spirochaetes . *Environ Microbiol* , 1999 , **1** : 331 – 345 .
- [ 27 ] Ohkuma M , Noda S , Hongoh Y , et al . Diverse bacteria related to the bacteroides subgroup of the CFB phylum within the gut symbiotic communities of various termites . *Biosci Biotechnol Biochem* , 2002 , **66** ( 1 ) : 78 – 84 .
- [ 28 ] Stingl U , Radek R , Yang H , et al . “ Endomicrobia ” : Cytoplasmic symbionts of termite gut protozoa form a separate phylum of prokaryotes . *Appl Environ Microbiol* , 2005 , **71** ( 3 ) : 1473 – 1479 .
- [ 29 ] Noda S , Ohkuma M , Yamada A , et al . Phylogenetic position and in situ identification of ectosymbiotic spirochetes on protists in the termite gut . *Appl Environ Microbiol* , 2003 , **69** ( 1 ) : 625 – 633 .
- [ 30 ] Stingl U , Maass A , Radek R , et al . Symbionts of the gut flagellate *Staurojoenia* sp. from *Neotermes cubanus* represent a novel , termite-associated lineage of *Bacteroidales* : description of ‘ *Candidatus Vestibaculum illigatum* ’ . *Microbiology* , 2004 , **150** : 2229 – 2235 .
- [ 31 ] Yang H , Schmitt-Wagner D , Stingl U , et al . Niche heterogeneity determines bacterial community structure in the termite gut ( *Reticulitermes santonensis* ) . *Environ Microbiol* , 2005 , **7** ( 7 ) : 916 – 932 .
- [ 32 ] Leadbetter JR , Breznak JA . Physiological ecology of *Methanobrevibacter cuticularis* sp. nov. and *Methanobrevibacter curvatus* sp. nov. , isolated from the hindgut of the termite *Reticulitermes flavipes* . *Appl Environ Microbiol* , 1996 , **62** : 3620 – 3631 .
- [ 33 ] Leadbetter JR , Crosby LD , Breznak JA . *Methanobrevibacter filiformis* sp. nov. , a filamentous methanogen from termite hindguts . *Archives of Microbiology* , 1998 , **169** : 287 – 292 .
- [ 34 ] Leadbetter JR , Schmidt TM , Breznak JA . Acetogenesis from H<sub>2</sub> plus CO<sub>2</sub> by spirochetes from termite guts . *Science* , 1999 , **283** : 686 – 689 .
- [ 35 ] Graber JR , Breznak JA . Physiology and nutrition of *Treponema promitia* , an H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>-acetogenic spirochete from termite hindguts . *Appl Environ Microbiol* , 2004 , **70** ( 3 ) : 1307 – 1314 .
- [ 36 ] Graber JR , Breznak JA . Folate cross-feeding supports symbiotic homoacetogenic spirochetes . *Appl Environ Microbiol* , 2005 , **71** ( 4 ) : 1883 – 1889 .
- [ 37 ] 梅建凤 , 吕琴 , 闵航 , 等 . 白蚁及其肠道细菌的固氮作用研究 . 浙江大学学报( 农业与生命科学版 ) , 2002 , **28** ( 6 ) : 625 – 628 .
- [ 38 ] Potrikus CJ , Breznak JA . Gut bacteria recycle uric acid nitrogen in termites : a strategy for nutrient conservation . *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* , 1981 , **78** : 4601 – 4605 .
- [ 39 ] Schaefer A . Hemicellulose-degrading bacteria and yeasts from the termite gut . *J of Applied Bacteriology* , 1996 , **80** : 471 – 478 .
- [ 40 ] Harazono K , Yamashita N , Shinzato N , et al . Isolation and characterization of aromatics-degrading microorganisms from the gut of the lower termites *Coptotermes formosanus* . *Biosci Biotechnol Biochem* , 2003 , **67** ( 4 ) : 889 – 892 .
- [ 41 ] Stevenson BS , Eichorst SA , Wertz JT , et al . New strategies for cultivation and detection of previously uncultured microbes . *Appl Environ Microbiol* , 2004 , **70** ( 8 ) : 4748 – 4755 .
- [ 42 ] Dumont MG , Murrell JC . Stable isotope probing—linking microbial identity to function . *Nat Rev Microbiol* , 2005 , **3** ( 6 ) : 499 – 504 .

## Diversity and function of symbiotic microbes in the gut of lower termites

YANG Hong , PENG Jian-xin , LIU Kai-yu , HONG Hua-zhu \*

( Key Laboratory of Pesticide & Chemical Biology , Ministry of Education ; Institute of Entomology , College of Life Sciences , Central China Normal University , Wuhan 430079 , China )

**Abstract** : The gut of lower termites harbor a complex microbial community , including eukaryotic flagellates and prokaryotic bacteria and archaea , which play important roles in the wood-cellulose digestion of these termites . The hindguts of lower termites are characterized with an enlarged paunch with steep oxygen and hydrogen gradient and not randomly distributed abundant microorganisms . The symbiotic flagellates in the gut of lower termites , which are normally associated with epibionts or endobionts , are phylogenetically affiliated with Trichomonadida , Hypermastigida and Oxymonadida . They endocytose wood particles and ferment the polysaccharide components to acetate , CO<sub>2</sub> and H<sub>2</sub> , which are further metabolized by symbiotic prokaryotes as energy and nutrition sources in the termites . Cellulose genes such as glycosyl hydrolase family 45 have been identified in gut protists with molecular approach . Phylogenetic analysis have revealed that in the gut of lower termites , such as several Reticulitermites species , most of the dominant bacteria belong to phyla like “ Termite group 1 ” , Spirochaetes , Firmicutes , Bacteroidetes , and Proteobacteria . These bacteria clones normally form distinct termite clusters in phylogenetic trees , which show the existence of specific microbial diversity in the termite guts . Most of the symbiotic archaea in the gut of lower termites are methanogens and affiliated with the genus *Methanobrevibacter* by phylogenetic analysis and pure culture . The symbiotic bacteria and archaea may involve in the reduction of CO<sub>2</sub> and the metabolism of N<sub>2</sub> in these termite guts . However , the functions and metabolic mechanisms of the symbiotic flagellates and prokaryotes in the gut of lower termites are still remaining to be further elucidated .

**Keywords** : Lower termites ; Mutualism ; Flagellates ; Prokaryotes ; Diversity ; Function