



杨红, 理学博士, 华中师范大学生命科学学院教授, 中国微生物学会环境微生物专业委员会委员, 湖北省微生物学会常务理事, 湖北省昆虫学会理事。2001–2003 年在德国康斯坦茨大学生物系联合培养, 做博士论文工作, 2004 年获华中师范大学理学博士学位。2006–2008 年在加拿大生物技术研究所从事博士后研究。主要研究领域为木食性白蚁与其肠道微生物的共生机制和纤维素资源的生物转化与利用等。主持和参与国家及省部级项目多项, 相关成果发表在 EM、AEM、IJSEM 等学术期刊。课题组将分子生态学技术、分离培养技术与组学技术结合起来深入研究重要共生微生物的生物学特性及其与白蚁的共生关系, 发掘了一批纤维素降解菌和高效实用的木质纤维素酶, 以期阐明木食性白蚁与肠道微生物共生的分子机制, 开发生物质能源转化的新技术。

## 高效降解木质纤维素的白蚁肠道微生物组

李丹红, 王誉, 杨红\*

华中师范大学生命科学学院昆虫所, 遗传调控与整合生物学湖北省重点实验室, 湖北 武汉 430079

**摘要:** 木食性白蚁是自然界木质纤维素的高效降解者, 在长期进化过程中白蚁与其肠道微生物组协同作用发展出不同的纤维素降解机制。木食性白蚁具有分别来源于白蚁和共生微生物的两套纤维素酶系统。在低等白蚁中, 木质颗粒经过白蚁前、中肠分泌的内源性酶初步消化后, 在后肠共生鞭毛虫中被降解为乙酸、二氧化碳和氢。高等木食性白蚁在进化中丢失了鞭毛虫, 木质颗粒经白蚁自身分泌的酶初步消化后, 在后肠大量共生细菌的帮助下被有效降解。培菌类白蚁利用其菌圃中的蚁巢伞菌和肠道微生物协同作用降解木质纤维素。共生微生物在白蚁的氮素固定与循环、中间产物代谢及纤维素降解等过程中发挥了重要作用。学习和模拟白蚁高效降解木质纤维素的体系, 对生物质能源的产业化发展具有积极的意义。

**关键词:** 白蚁, 肠道, 微生物组, 纤维素降解, 共生

白蚁是自然界为数不多的木质纤维素高效降解者。已知的 3000 多种白蚁中, 近一半是木食性白蚁, 其余的是土食性白蚁。尽管有些白蚁危害林木及木质建筑, 在森林生态系统中, 白蚁的生物量巨大, 它们促进了腐木及腐殖质的降解, 增强了土壤的肥力, 在物质循环的过程中发挥着重要作用。根据进化特点, 白蚁可以分为两大类: 低等白蚁与高等白蚁。大约在侏罗纪中期, 低等白蚁与木食性蟑螂从共同的木食性祖先分化为两支, 两者消化道里均含有能降解

基金项目: 国家自然科学基金(31370055, 31670004)

\*通信作者。Tel/Fax: +86-27-67868198; E-mail: hyang@mail.ccnu.edu.cn

收稿日期: 2017-02-18; 修回日期: 2017-04-07; 网络出版日期: 2017-04-11

木质纤维素的鞭毛虫<sup>[1]</sup>。经过约一千万年的演变,到始新世的某个阶段,部分低等白蚁彻底丢失了鞭毛虫而进化出另一个分支,高等白蚁<sup>[2]</sup>。与低等白蚁相比,高等白蚁具有更为细致的解剖学特征和更复杂的社会组织性。这两类白蚁肠道共生微生物组的组成与结构也有差别。除了鞭毛虫,低等白蚁肠道内还有大量的原核生物(包括细菌和古菌);而高等白蚁肠道内则只有原核生物。此外,高等白蚁中的培菌类白蚁菌圃中还有特殊的共生真菌。在共生微生物的帮助下,木食性白蚁能降解食物来源中74%–99%的纤维素和65%–87%的半纤维素,比瘤胃降解木质纤维素的效率高很多<sup>[3]</sup>。尽管近年来有关白蚁肠道微生物组的研究报道不少,迄今为止,木食性白蚁与其共生微生物协同、高效降解木质纤维素的机制尚不十分明确。就这些问题进行深入探讨和研究,对模拟白蚁高效降解体系,利用广泛分布于自然界的生物质资源大规模生产生物质能源和生物基材料具有重要的意义。

## 1 木食性白蚁及其肠道微生物组

### 1.1 低等木食性白蚁及其肠道微生物组

低等木食性白蚁包含6个科的白蚁,即澳白蚁科(Mastotermitidae)、原白蚁科(Termopsidae)、木白蚁科(Kalotermitidae)、草白蚁科(Hodotermitidae)、鼻白蚁科(Rhinotermitidae)和齿白蚁科(Serritermitidae),这类白蚁大约占白蚁种类的15%,主要以湿木、干木、朽木和干草等植物性原料为食。它们的消化道结构比较简单,前肠与中肠为细管状,后肠由特别膨大的囊形胃、结肠和直肠等组成。后肠分布着大量的共生微生物,是进行食物消化即木质纤维素降解的主要器官。

#### 1.1.1 鞭毛虫:低等白蚁后肠囊形胃里充满了种

类各异的鞭毛虫,它们的质量为白蚁总体重的1/7到1/3,占据着后肠90%以上的空间<sup>[4]</sup>。与低等白蚁共生的鞭毛虫均属于真核生物副基体门(Parabasalia)和Preaxostyla门。截止到2011年,已经描述的白蚁肠道鞭毛虫有400多种属于副基体门,70多种为Preaxostyla门的锐滴虫<sup>[5]</sup>。副基体门鞭毛虫都有氢化酶体,氢化酶体是很多厌氧鞭毛虫的一种能产氢的细胞器,因此,氢是这些鞭毛虫主要的发酵中间产物。Preaxostyla门包括锐滴虫目(Oxymonadida)和Trimastigida目,它们没有氢化酶体。不同白蚁共生鞭毛虫的种类和数量差异较大。台湾乳白蚁(*Coptotermes formosanus*)肠道内有3种鞭毛虫,分别是伪披发虫*Pseudotrichonympha grassii*、全鞭毛虫*Holomastigotoides mirabile*和旋披发虫*Spirotrichonympha leidy*<sup>[6]</sup>。湿木白蚁*Zootermopsis angusticollis*肠道内有7种鞭毛虫,而栖北散白蚁肠道内至少有11种鞭毛虫<sup>[3]</sup>。作者对黑胸散白蚁(*Reticulitermes chinensis*)的研究发现,其肠道内有8种以上鞭毛虫,包括副基体纲的*Trichonympha agilis*、*Trichomonas* sp.、锐滴虫目的尖状火焰滴虫(*Pyrronympha vertens*)、*Pyrronympha* sp.、*Dinenympha parva*、*D. exilis*等<sup>[7]</sup>。鞭毛虫主要在后肠肠液中捕捉来自前中肠初步消化的木质纤维素颗粒,将其降解生成乙酸、二氧化碳和氢<sup>[8]</sup>。在作者所研究的桑特散白蚁(*Reticulitermes santonensis*)后肠,大量的尖状火焰滴虫紧紧附着于囊形胃肠壁上皮,显示其与宿主之间的密切联系。在鞭毛虫的胞内和体表往往分布着很多内共生菌和表共生菌,鞭毛虫、共生细菌或古菌与低等白蚁三者之间形成了复杂的三重共生关系<sup>[9]</sup>。

1.1.2 共生细菌:应用显微观察和经典的分离培养技术,1977年美国学者Breznak最早对黄肢散

白蚁(*Reticulitermes flavipes*)共生细菌进行了系列研究,从该白蚁肠道内分离出了链球菌、肠球菌、肠杆菌、拟杆菌等细菌,但是由于分离培养技术的局限,绝大多数细菌没有得到描述<sup>[4]</sup>。1996年日本学者 Ohkuma 首次报道了用基于核糖体小亚基(16S rRNA)基因的分子系统学方法对低等木食性白蚁和栖北散白蚁(*Reticulitermes speratus*)肠道微生物区系中细菌多样性进行研究的结果<sup>[10]</sup>。此后,应用多种分子生态学技术,人们研究了台湾乳白蚁、桑特散白蚁、黑胸散白蚁等低等木食性白蚁共生细菌的多样性。综合分析发现,同一属不同种类的白蚁尽管分布的地域不同,其肠道共生细菌群落却具有很高的相似性。如分布于日本的栖北散白蚁肠道优势共生细菌为螺旋体、迷踪菌、拟杆菌、梭菌和紫细菌等<sup>[10]</sup>。分布于欧洲的桑特散白蚁<sup>[11]</sup>、北美洲的黄肢散白蚁<sup>[4]</sup>和中国的黑胸散白蚁<sup>[12]</sup>具有相似的共生细菌群落组成,只是优势菌所占的比例有所不同。螺旋体是散白蚁属白蚁最具优势的共生细菌,占细菌总数的40%–70%;迷踪菌所占比例也较高,达15%以上。与散白蚁相比,乳白蚁属白蚁肠道共生细菌的组成与结构明显不同。在台湾乳白蚁肠道内,螺旋体、梭菌等所占比例较小,而拟杆菌占到肠道细菌总量的70%<sup>[13]</sup>。这是因为在台湾乳白蚁体内,拟杆菌为其体型最大、数量最多的鞭毛虫、伪披发虫的共生菌。

低等木食性白蚁全肠 pH 接近中性,囊形胃区 pH 略偏酸性。在后肠囊形胃, H<sub>2</sub> 和 O<sub>2</sub> 的浓度呈辐射状分布,肠腔中心 H<sub>2</sub> 浓度最高,而肠壁 O<sub>2</sub> 的浓度则最高<sup>[14]</sup>。肠道微生态环境的异质性(pH、氧化还原电位、氢分压、氧分压等)对共生微生物的种类和空间分布产生了明显的影响。以作者对桑特散白蚁工蚁的研究为例,其前中肠、后肠肠

壁、后肠肠液和鞭毛虫 4 个不同微生态环境中共生细菌的种群结构明显不同<sup>[11]</sup>,中肠最主要的细菌类群为梭菌和拟杆菌;鞭毛虫共生细菌的优势类群为迷踪菌和螺旋体;后肠肠液的优势细菌类群除迷踪菌、螺旋体和梭菌外,还有支原体及紫细菌等;而后肠肠壁的主要共生细菌为迷踪菌、梭菌和拟杆菌等。

**1.1.3 共生古菌:**迄今为止,从不同种类低等木食性白蚁如栖北散白蚁、达尔文澳白蚁(*Mastotermes Darwiniensis*)和黑胸散白蚁等的肠道内发现的古菌大都为甲烷短杆菌(*Methanobrevibacter*)偶尔发现有极少数其他古菌<sup>[15]</sup>。甲烷短杆菌或分布于肠壁上皮细胞表面,或与鞭毛虫共生,或自由生活于肠腔。对栖北散白蚁和山林原白蚁(*Hodotermopsis sjoestedti*)的研究表明,与鞭毛虫共生的甲烷短杆菌和分布于后肠肠壁的甲烷短杆菌在系统发育上是不同的<sup>[5]</sup>。

## 1.2 高等木食性白蚁及其肠道微生物组

高等白蚁只含有一个科,即白蚁科(Termitidae)。白蚁科又分为大白蚁亚科(Macrotermitinae)、象白蚁亚科(Nasutitermitinae)、顶白蚁亚科(Apicotermatinae)和白蚁亚科(Termitinae) 4 个亚科,白蚁科包含 85% 的白蚁种类,是等翅目最大的 1 个科。其中大白蚁亚科和象白蚁亚科为木食性白蚁,白蚁亚科部分种类也是木食性白蚁,而顶白蚁亚科所有种类和白蚁亚科部分种类为土食性白蚁。除大白蚁亚科以外,其他高等白蚁消化道结构与理化特性比低等白蚁复杂。

象白蚁亚科的白蚁能高效降解多种来源的植物纤维,是研究最多的一类高等木食性白蚁。根据形态可以将象白蚁后肠囊形胃分为 P1、P2、P3、P4 和 P5 区。前、中肠和后肠 P3、P4 和 P5 区为中性,而 P1 区为碱性<sup>[16]</sup>。最为膨大的后肠 P3 区

氧化还原电位为负值,表明大量的厌氧微生物在象白蚁的食物消化过程中发挥着重要的作用。

日本学者对高山象白蚁 (*Nasutitermes takasagoensis*)的研究发现,该白蚁肠道内的优势共生细菌为螺旋体、纤维杆菌、TG3 和拟杆菌等,分别占细菌总数的 57.1%、14.1%、9.4%和 4.7%<sup>[17]</sup>。作者对海南一种象白蚁 *Nasutitermes* sp.的研究也发现,螺旋体、纤维杆菌和拟杆菌为其肠道优势菌群,分别占细菌总数的 65.8%、16.5%和 4.5%<sup>[12]</sup>。利用元基因组技术,美国学者对哥斯达黎加热带雨林的一种象白蚁 *Nasutitermes* sp.后肠 P3 区研究发现,其 68%的细菌为螺旋体,13%的细菌为纤维杆菌,除此以外,梭菌和拟杆菌等也占有较高比例<sup>[18]</sup>。德国学者对象白蚁 *N. corniger* 的研究发现,其肠道菌群结构随微生态环境的差异而不同。前、中肠厚壁菌占绝对优势,中肠 80%的细菌为厚壁菌;后肠 P1 区除厚壁菌占优势外,放线菌和螺旋体也为优势菌,约占该部分菌群总数的 25%和 20%;而严格厌氧的后肠 P3 区,超过 60%的细菌为螺旋体,其他优势菌为纤维杆菌、TG3 和厚壁菌等;P4 区和 P5 区氧分压较高,这两个区段细菌菌群结构比较相似,主要优势菌群为螺旋体、纤维杆菌、厚壁菌和放线菌等<sup>[16]</sup>。

对高山象白蚁和象白蚁 *N. corniger* 的研究发现,它们的共生古菌种类比较多,除了有甲烷短杆菌,还有甲烷微菌、热原体等<sup>[5]</sup>。作者对海南一种象白蚁 *Nasutitermes* sp.研究发现,该白蚁体内除了有产甲烷菌甲烷短杆菌、甲烷微菌和甲烷原体,还有 37%的古菌为非甲烷菌奇古菌。这类古菌在白蚁体内的功能尚待阐明<sup>[19]</sup>。

### 1.3 培菌类白蚁的肠道微生物组

培菌类白蚁属于大白蚁亚科。这类白蚁在其菌圃内培养真菌帮助其消化木质纤维素。其中最

主要的为蚁巢伞菌(*Termitomyces*)属的真菌。对土白蚁属和大白蚁属白蚁的研究发现,培菌类白蚁肠道菌群与其他木食性白蚁肠道菌群结构有所不同。早期日本学者研究发现黑翅土白蚁(*Odontotermes formosanus*)肠道内共生细菌的主要类群为梭菌、拟杆菌和紫细菌,分别占肠道细菌总数的 54.3%、30.7%和 13.9%<sup>[20]</sup>。近年来中德学者联合研究发现黑翅土白蚁不同龄期工蚁肠道不同部位肠道菌群明显不同。初孵幼虫菌群少密度低,幼龄幼虫和老龄幼虫菌群多而密度高。最占优势的共生细菌为互营菌、梭菌、拟杆菌和紫细菌,螺旋体所占比例很小。对工蚁代谢产物的分析发现,培菌类白蚁的肠道也是木质纤维素降解的重要场所。肠道菌群结构与菌圃中菌群结构明显不同,提示两者在木质纤维素降解过程中发挥不同的作用<sup>[21]</sup>。对云南土白蚁(*Odontotermes yunanensis*)的研究发现,无论是用元基因组测序还是通过构建 16S rRNA 基因文库的方法进行分析,该白蚁肠道最大的细菌类群均为拟杆菌,大约占细菌总数的 48.5%。此外,梭菌、紫细菌和螺旋体也为主要的共生细菌,分别占细菌总数的 26.5%、7.9%和 6.3%<sup>[22]</sup>。浅黄大白蚁(*Macrotermes gilvus*)肠道内优势共生细菌也是拟杆菌和梭菌,这两类细菌在不同龄期工蚁中所占的比例有所不同。拟杆菌约占老龄工蚁细菌总数的 45%,而梭菌在老龄白蚁所占的比例比初孵白蚁减少,约占总数的 25%。螺旋体在各龄期均只占较小比例<sup>[23]</sup>。

## 2 木食性白蚁肠道共生微生物的作用与功能

### 2.1 木质纤维素降解

鞭毛虫在低等木食性白蚁木质纤维素降解过

程中的关键作用已被多种实验所证实。以饥饿或高氧处理低等白蚁使其鞭毛虫丢失, 喂食木质纤维素几周以后白蚁还是会因饥饿而死亡。如果喂食淀粉食物或回补鞭毛虫至肠腔则白蚁会重新恢复活力<sup>[2,24]</sup>。元基因组和转录组研究显示, 来源于低等白蚁共生鞭毛虫的木质纤维素酶属于 GH3、5、7、8、10、11、26、43、45 和 62 等家族, 来源于共生细菌的木质纤维素酶属于 GH2、3、8、18、20、26、30、42、53、77 和 92 等家族。这些酶不仅包括纤维素降解酶系中的内切葡聚糖酶、外切葡聚糖酶和  $\beta$ -葡萄糖苷酶, 还包括降解半纤维素的木聚糖酶、阿拉伯糖苷酶等<sup>[7, 25-26]</sup>。尽管很多纤维素酶来源于共生细菌如螺旋体、梭菌等, 在低等白蚁中很少分离到能高效降解纤维素的共生细菌。

对哥斯达黎加象白蚁 *Nasutitermes* sp. 肠道 P3 区细菌的元基因组研究表明, 肠道共生菌来源的糖基水解酶包括 GH1-5、9、10、11 和 13 等 45 个家族, 绝大多数与螺旋体和纤维杆菌相关, 少数来源于古菌<sup>[18]</sup>。膨大的后肠是象白蚁降解木质纤维素的主要部位, 而纤维杆菌和螺旋体主要集中在象白蚁 *N. corniger* 后肠的 P3、P4 和 P5 区<sup>[16]</sup>, 可见共生细菌在象白蚁木质纤维素降解过程中发挥了重要作用。

尽管培菌类白蚁利用菌圃内的真菌帮助其高效降解木质纤维素, 人们从土垅大白蚁 (*Macrotermes annandalei*)、云南土白蚁和黄翅大白蚁 (*Macrotermes barneyi*) 等培菌类白蚁肠道微生物中也检测到很多木质纤维素酶基因<sup>[25]</sup>。从大白蚁 *Macrotermes natalensis* 共生微生物中能检测到 128 个糖基水解酶家族的 111 个 GH 家族的基因<sup>[27]</sup>。除了含有纤维素降解酶系的酶, 培菌类白蚁还含有几丁质酶及与真菌细胞壁降解相关的酶。培菌类

白蚁肠道微生物是否直接参与了纤维素降解值得进一步研究。

## 2.2 氢的消耗与利用

氢是白蚁主要的代谢中间产物, 其消耗与移除对维持肠道正常生理状态是必需的。在白蚁的肠道微生物菌群中同型产乙酸菌和甲烷菌均可以有效利用氢, 前者将氢和二氧化碳转化为乙酸, 后者利用氢将二氧化碳还原为甲烷。从湿木白蚁 *Zootermopsis angusticollis* 中分离到 3 株螺旋体, 其中 ZAS1 和 ZAS2 均可以消耗氢和二氧化碳产生乙酸, 为白蚁提供营养<sup>[28]</sup>。对同型产乙酸作用的关键酶甲基四氢叶酸还原酶基因 (FTHFS) 的研究发现, 螺旋体、厚壁菌等肠道优势共生菌均有可能利用氢和二氧化碳产生乙酸。作者对不同木食性白蚁的研究发现, 低等白蚁黑胸散白蚁和高等白蚁象白蚁产生甲烷的速率高于培菌类白蚁。在这些白蚁肠道内的甲烷菌也能有效利用氢, 促进纤维素的降解<sup>[19]</sup>。

## 2.3 固氮和氮素循环

木食性白蚁主要取食木质纤维素, 从食物来源的氮十分缺乏。因此, 肠道共生细菌在氮的代谢方面起着重要的作用。据推测, 通过固氮作用白蚁获得约 30%–60% 的氮源<sup>[2]</sup>。对多种白蚁的研究发现, *nifH* 基因来源于很多共生细菌, 尤其是螺旋体、梭菌和拟杆菌<sup>[29]</sup>, 但在 4 种干木白蚁体内, 只有与螺旋体和拟杆菌相关的 *nifH* 基因得到了表达<sup>[30]</sup>。迄今为止, 从木食性白蚁获得的固氮菌纯培养并不多, 如分离自湿木白蚁 *Z. Angusticollis* 的两株螺旋体。利用寡营养培养基, 作者从黑胸散白蚁分离到的一株疣微菌和从象白蚁分离到的几株梭菌显示出固氮活性。据推测目前未知功能的非培养菌中还可能有很多固氮菌。近年的研究

显示,与鞭毛虫共生的细菌如迷踪菌和硫酸盐还原菌也具有固氮活性<sup>[31]</sup>。考虑到螺旋体和迷踪菌在低等白蚁肠道所占的比例,共生细菌的固氮作用对低等白蚁的正常代谢是必不可少的。

除了固氮作用,肠道共生细菌还可以通过对尿酸的水解重新吸收利用氮源。在黄肢散白蚁肠道内,30%尿酸所含的氮可以被尿酸分解菌转化为可利用的氮源,这些尿酸分解菌包括乳球菌、白蚁塞巴鲁德氏菌和柠檬酸杆菌等。作者对从黑胸散白蚁肠道分离的细菌研究发现,肠杆菌、乳球菌、柠檬酸杆菌、约克氏菌和 *Trabulsiella* 等细菌也都具有尿酸水解的活性<sup>[32]</sup>。

### 3 木食性白蚁及其肠道微生物组高效降解木质纤维素的机制

不同类型的木食性白蚁及其肠道微生物组在进化过程中均发展出高效的纤维素降解策略,这得益于他们所具有的分别来源于白蚁及共生微生物的两套纤维素酶系统。日本学者最早提出低等木食性白蚁有两套纤维素酶系统<sup>[33]</sup>。研究发现,台湾乳白蚁及栖北散白蚁等的唾液腺和中肠能分泌内切葡聚糖酶和 $\beta$ -葡萄糖苷酶,木质纤维素颗粒在前、中肠得到初步的消化转变为更小的纤维素颗粒,被鞭毛虫吞噬后在其纤维素酶系的作用下被降解为乙酸、二氧化碳和氢<sup>[34]</sup>。螺旋体和甲烷菌等将氢和二氧化碳转化成乙酸和甲烷,消耗了代谢中间产物,促进了纤维素的高效降解。而螺旋体、迷踪菌等共生菌的固氮作用和尿酸水解菌的存在保证了氮源的供应和白蚁代谢活动的正常进行。

在高等白蚁唾液腺及中肠有内源性的内切葡聚糖及葡萄糖苷酶,象白蚁等木食性高等白蚁取

食木材后,在前、中肠经磨碎将木质颗粒进行初步消化,在后肠 P1 区碱性条件下进行预处理,在后肠 P3、P4 和 P5 区大量的纤维素降解细菌如纤维杆菌和白蚁分泌的酶相互作用,将木质纤维素降解为乙酸、丙酸等短链脂肪酸和二氧化碳及氢<sup>[16,18]</sup>。这些代谢中间产物被其他共生细菌和古菌进一步利用。

培菌类白蚁对木质纤维素的高效降解依赖于白蚁-肠道菌群-菌圃真菌三者之间的相互作用。木质纤维素颗粒在培菌类白蚁肠道里被部分消化后随粪便排出到菌圃,作为营养培育菌圃里的蚁巢伞菌<sup>[35]</sup>。白蚁吞食蚁巢伞菌和部分消化的木质纤维素后,在肠道内蚁巢伞菌的木质纤维素酶帮助白蚁降解了木质颗粒。最近的研究显示,培菌类白蚁蚁巢中不同年龄的工蚁在木质纤维素降解过程中发挥了不同的作用。老龄工蚁将木质颗粒搬运进菌圃贮藏起来,幼龄工蚁取食木质颗粒和蚁巢伞菌 3.5 h 后,即能有效打开木质素上的侧链而彻底解除纤维素和半纤维素的外部屏障。菌圃内的真菌和细菌则可以将多糖剪切至更容易消化的寡糖。老龄工蚁取食菌圃中已经部分消化的寡糖,在肠道微生物的帮助下将其降解<sup>[36]</sup>。由此可见,培菌类白蚁群落中不同年龄工蚁的分工协作也是其高效降解木质纤维素的重要保障。

### 4 展望

作为自然界最高效的木质纤维素降解体系,深入解析白蚁与其共生微生物组协同降解木质纤维素的机制,并对其进行仿生具有重要的意义<sup>[37]</sup>。已有的研究虽然揭示肠道共生微生物在协助白蚁进行纤维素降解、中间产物转化利用和氮的代谢等方面发挥了重要作用,但人们对木食性白蚁尤

其是高等木食性白蚁和培菌类白蚁高效降解木质纤维素的机制尚不是十分了解。很多白蚁肠道优势共生菌如绝大多数螺旋体、拟杆菌、纤维杆菌和 TG3 等都还是未培养微生物，对其生理作用与功能的阐明依赖于分离培养技术的不断创新。利用微流控技术，人们可以大大提高环境样品中可培养微生物的比率<sup>[38]</sup>。针对白蚁肠道特殊的理化特性创新分离培养技术和策略将是未来的发展方向。木食性白蚁与其肠道微生物组形成了复杂的代谢网络。应用各种组学技术从整体水平深入解析宿主昆虫与肠道微生物的相互作用、认识影响代谢过程的核心菌群、发掘调控代谢的关键基因与酶也是未来研究的必然趋势<sup>[39]</sup>。建立木食性白蚁肠道微生物组数据库，利用生物信息学方法和技术综合分析海量数据，将有助于最终阐明白蚁与其肠道微生物组复杂的共生机制，为模拟白蚁高效降解木质纤维素的生物学过程并开发生物质能源转化的新技术与新工艺奠定基础，在生物质能源和生物基材料的产业化发展上将具有光明的前景。

## 参 考 文 献

- [1] Lo N, Eggleton P. Termite phylogenetics and co-cladogenesis with symbionts//Bignell DE, Roisin Y, Lo N. *Biology of Termites: A Modern Synthesis*. Dordrecht, Netherlands: Springer, 2011: 27–50.
- [2] Brune A. Symbiotic digestion of lignocellulose in termite guts. *Nature Reviews Microbiology*, 2014, 12(3): 168–180.
- [3] Watanabe H, Tokuda G. Cellulolytic systems in insects. *Annual Review of Entomology*, 2010, 55: 609–632.
- [4] Breznak JA. Ecology of prokaryotic microbes in the guts of wood- and litter-feeding termites//Abe T, Bignell DE, Higashi M. *Termites: Evolution, Sociality, Symbioses, Ecology*. Dordrecht, Netherlands: Springer, 2000: 209–231.
- [5] Ohkuma M, Brune A. Diversity, structure, and evolution of the termite gut microbial community//Bignell DE, Roisin Y, Lo N. *Biology of Termites: A Modern Synthesis*. Dordrecht, Netherlands: Springer, 2011: 413–438.
- [6] Xie L, Liu N, Huang YP, Wang Q. Flagellate community structure in *Coptotermes formosanus* (Isoptera: Rhinotermitidae) and a comparison of three study methods. *Acta Entomologica Sinica*, 2011, 54(10): 1140–1146. (in Chinese)  
谢磊, 刘宁, 黄勇平, 王倩. 台湾乳白蚁肠道鞭毛虫群落结构及三种研究方法的比较. *昆虫学报*, 2011, 54(10): 1140–1146.
- [7] Chen W, Shi Y, Peng JX, Hong HZ, Yang H. Phylogenetic diversity analysis and *in situ* hybridization of symbiotic Oxymonad flagellates in the hindgut of *Reticulitermes chinensis* Snyder. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, 31(18): 5332–5340. (in Chinese)  
陈文, 石玉, 彭建新, 洪华珠, 杨红. 黑胸散白蚁肠道共生锐滴虫目鞭毛虫的多样性分析与原位杂交鉴定. *生态学报*, 2011, 31(18): 5332–5340.
- [8] Brune A, Dietrich C. The gut microbiota of termites: digesting the diversity in the light of ecology and evolution. *Annual Review of Microbiology*, 2015, 69: 145–166.
- [9] Brune A, Ohkuma M. Role of the termite gut microbiota in symbiotic digestion//Bignell DE, Roisin Y, Lo N. *Biology of Termites: A Modern Synthesis*. Dordrecht, Netherlands: Springer, 2011: 439–475.
- [10] Ohkuma M, Kudo T. Phylogenetic diversity of the intestinal bacterial community in the termite *Reticulitermes speratus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 1996, 62(2): 461–468.
- [11] Yang H, Schmitt-Wagner D, Stingl U, Brune A. Niche heterogeneity determines bacterial community structure in the termite gut (*Reticulitermes santonensis*). *Environmental Microbiology*, 2005, 7(7): 916–932.
- [12] 陈娟. 两种木食性白蚁肠道内共生细菌多样性的比较研究. 华中师范大学硕士学位论文, 2011.
- [13] Shinzato N, Muramatsu M, Matsui T, Watanabe Y. Molecular phylogenetic diversity of the bacterial community in the gut of the termite *Coptotermes formosanus*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2005, 69(4): 1145–1155.
- [14] Brune A. Termite guts: the world's smallest bioreactors. *Trends in Biotechnology*, 1998, 16(1): 16–21.
- [15] Shi Y, Zhang YH, Yang H. Phylogenetic analysis of symbiotic archaea in the gut of *Reticulitermes chinensis*. *Acta Microbiologica Sinica*, 2009, 49(12): 1655–1659. (in Chinese)  
石玉, 张燕鸿, 杨红. 黑胸散白蚁(*Reticulitermes chinensis*

- Snyder)肠道共生古菌的系统发育分析. 微生物学报, 2009, 49(12): 1655–1659.
- [16] Köhler T, Dietrich C, Scheffrahn RH, Brune A. High-resolution analysis of gut environment and bacterial microbiota reveals functional compartmentation of the gut in wood-feeding higher termites (*Nasutitermes* spp.). *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(13): 4691–4701.
- [17] Hongoh Y, Deevong P, Hattori S, Inoue T, Noda S, Noparatnaraporn N, Kudo T, Ohkuma M. Phylogenetic diversity, localization, and cell morphologies of members of the candidate phylum TG3 and a subphylum in the phylum Fibrobacteres, recently discovered bacterial groups dominant in termite guts. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(10): 6780–6788.
- [18] Warnecke F, Luginbühl P, Ivanova N, Ghassemian M, Richardson TH, Stege JT, Cayouette M, McHardy AC, Djordjevic G, Aboushadi N, Sorek R, Tringe SG, Podar M, Martin HG, Kunin V, Dalevi D, Madejska J, Kirton E, Platt D, Szeto E, Salamov A, Barry K, Mikhailova N, Kyrpides NC, Matson EG, Ottesen EA, Zhang XN, Hernández M, Murillo C, Acosta LG, Rigoutsos I, Tamayo G, Green BD, Chang C, Rubin EM, Mathur EJ, Robertson DE, Hugenholtz P, Leadbetter JR. Metagenomic and functional analysis of hindgut microbiota of a wood-feeding higher termite. *Nature*, 2007, 450(7169): 560–565.
- [19] Shi Y, Huang Z, Han S, Fan S, Yang H. Phylogenetic diversity of Archaea in the intestinal tract of termites from different lineages. *Journal of Basic Microbiology*, 2015, 55(8): 1021–1028.
- [20] Shinzato N, Muramatsu M, Matsui T, Watanabe Y. Phylogenetic analysis of the gut bacterial microflora of the fungus-growing termite *Odontotermes formosanus*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2007, 71(4): 906–915.
- [21] Li HJ, Dietrich C, Zhu N, Mikaelyan A, Ma B, Pi RX, Liu Y, Yang MY, Brune A, Mo JC. Age polyethism drives community structure of the bacterial gut microbiota in the fungus-cultivating termite *Odontotermes formosanus*. *Environmental Microbiology*, 2016, 18(5): 1440–1451.
- [22] Long YH, Xie L, Liu N, Yan X, Li MH, Fan MZ, Wang Q. Comparison of gut-associated and nest-associated microbial communities of a fungus-growing termite (*Odontotermes yunnanensis*). *Insect Science*, 2010, 17(3): 265–276.
- [23] Hongoh Y, Ekpornprasit L, Inoue T, Moriya S, Trakulnaleamsai S, Ohkuma M, Noparatnaraporn N, Kudo T. Intracolony variation of bacterial gut microbiota among castes and ages in the fungus-growing termite *Macrotermes gilvus*. *Molecular Ecology*, 2006, 15(2): 505–516.
- [24] Ebert A, Brune A. Hydrogen concentration profiles at the oxic–anoxic interface: a microsensors study of the hindgut of the wood-feeding lower termite *Reticulitermes flavipes* (Kollar). *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, 63(10): 4039–4046.
- [25] Ni JF, Tokuda G. Lignocellulose-degrading enzymes from termites and their symbiotic microbiota. *Biotechnology Advances*, 2013, 31(6): 838–850.
- [26] Peterson BF, Scharf ME. Lower termite associations with microbes: synergy, protection, and interplay. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 422.
- [27] Poulsen M, Hu HF, Li C, Chen ZS, Xu LH, Otani S, Nygaard S, Nobre T, Klaubauf S, Schindler PM, Hauser F, Pan HL, Yang ZK, Sonnenberg ASM, de Beer ZW, Zhang Y, Wingfield MJ, Grimmelikhuijzen CJP, de Vries RP, Korb J, Aanen DK, Wang J, Boomsma JJ, Zhang GJ. Complementary symbiont contributions to plant decomposition in a fungus-farming termite. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(40): 14500–14505.
- [28] Leadbetter JR, Schmidt TM, Graber JR, Breznak JA. Acetogenesis from H<sub>2</sub> plus CO<sub>2</sub> by spirochetes from termite guts. *Science*, 1999, 283(5402): 686–689.
- [29] Du X, Li XJ, Wang Y, Peng JX, Hong HZ, Yang H. Phylogenetic diversity of nitrogen fixation genes in the intestinal tract of *Reticulitermes chinensis* Snyder. *Current Microbiology*, 2012, 65(5): 547–551.
- [30] Desai MS, Brune A. *Bacteroidales* ectosymbionts of gut flagellates shape the nitrogen-fixing community in dry-wood termites. *The ISME Journal*, 2012, 6(7): 1302–1313.
- [31] Zheng H, Dietrich C, Radek R, Brune A. *Endomicrobium proavitum*, the first isolate of *Endomicrobia* class. nov. (phylum *Elusimicrobia*)—an ultramicrobacterium with an unusual cell cycle that fixes nitrogen with a Group IV nitrogenase. *Environmental Microbiology*, 2016, 18(1): 191–204.
- [32] Fang H, Chen W, Wang BJ, Li XJ, Liu SJ, Yang H. Cultivation and characterization of symbiotic bacteria from the gut of *Reticulitermes chinensis*. *Applied Environmental Microbiology*, 2016, 1(1): 3–12.
- [33] Nakashima K, Watanabe H, Saitoh H, Tokuda G, Azuma JJ. Dual cellulose-digesting system of the wood-feeding termite,



- Coptotermes formosanus* Shiraki. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2002, 32(7): 777–784.
- [34] Breznak JA. Ecology of prokaryotic microbes in the guts of wood-and litter-feeding termites//Abe T, Bignell DE, Higashi M. *Termites: Evolution, Sociality, Symbioses, Ecology*. Dordrecht, Netherlands: Springer, 2000: 209–301.
- [35] Liu N, Zhang L, Zhou HK, Zhang ML, Yan X, Wang Q, Long YH, Xie L, Wang SY, Huang YP, Zhou ZH. Metagenomic insights into metabolic capacities of the gut microbiota in a fungus-cultivating termite (*Odontotermes yunnanensis*). *PLoS ONE*, 2013, 8(7): e69184.
- [36] Li H, Yelle DJ, Li C, Yang M, Ke J, Zhang R, Liu Y, Zhu N, Liang S, Mo X, Ralph J, Currie CR, Mo J. Lignocellulose pretreatment in a fungus-cultivating termite. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2017, doi: 10.1073/pnas.1618360114.
- [37] Sun JZ, Scharf ME. Exploring and integrating cellulolytic systems of insects to advance biofuel technology. *Insect Science*, 2010, 17(3): 163–165.
- [38] Jiang CY, Dong L, Zhao JK, Hu X, Shen C, Qiao Y, Zhang X, Wang Y, Ismagilov RF, Liu SJ, Du W. High-throughput Single-cell cultivation on microfluidic streak plates. *Applied and Environmental Microbiology*, 2016, 82(7): 2210–2218.
- [39] Krishnan M, Bharathiraja C, Pandiarajan J, Prasanna VA, Rajendhran J, Gunasekaran P. Insect gut microbiome-an unexploited reserve for biotechnological application. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2014, 4(S1): S16–S21.

## Gut microbiome of wood-feeding termites

Danhong Li, Yu Wang, Hong Yang\*

Hubei Key Laboratory of Genetic Regulation and Integrative Biology, Institute of Entomology, School of Life Sciences, Central China Normal University, Wuhan 430079, Hubei Province, China

**Abstract:** Termites are efficient lignocellulose degraders in the natural ecosystem. During the long-time evolution, termites have developed different strategies to decompose lignocellulose efficiently with the help of their gut microbiome. Wood-feeding termites have dual-cellulolytic systems that originated from termites and their microbiota. In lower termites, wood particles are digested primarily by endogenous cellulase secreted from the host foregut and midgut and then decomposed almost completely by numerous flagellates in the hindgut of termites. The fermentation products are acetate, carbon dioxide and hydrogen. Wood-feeding higher termites lost flagellates during the evolution. Wood particles are digested primarily by endogenous cellulase secreted from the host and are subsequently degraded by symbiotic bacteria in the hindgut of the termites. Fungus-cultivating termites degrade wood particles with the help of *Termitomyces* they cultivated in the fungus combs and their intestinal microbiota. The symbiotic microbiota in termite guts may involve in bioprocess like nitrogen fixation and uric acid hydrolyzation, utilization and transformation of metabolic intermediates, and degradation of lignocellulose. It is meaningful to study and imitate the highly efficient lignocellulose-degrading system of termites for biofuel industry development.

**Keywords:** termites, gut, microbiome, lignocellulose-degradation, symbiosis

(本文责编: 张晓丽)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31370055, 31670004)

\*Corresponding author. Tel/Fax: +86-27-67868198; E-mail: hyang@mail.ccnu.edu.cn

Received: 18 February 2017; Revised: 7 April 2017; Published online: 11 April 2017