



# 蚂蚁共生微生物研究进展

马明洁, 朱璧如, 胡仪\*

北京师范大学生命科学院, 生物多样性与生态工程教育部重点实验室, 北京 100875

\* 联系人, E-mail: [yi.hu@bnu.edu.cn](mailto:yi.hu@bnu.edu.cn)

收稿日期: 2022-06-30; 接受日期: 2022-07-10; 网络版发表日期: 2022-08-11

国家自然科学基金(批准号: 32070401)和北京师范大学仲英青年学者人才培养计划资助

**摘要** 蚂蚁是陆地生态系统中数量和种类最为丰富的昆虫类群之一. 随着显微镜和测序技术的发展, 人们逐渐发现一部分蚂蚁类群与微生物建立了长期稳定的共生关系. 这些拥有稳定且特异共生微生物的蚂蚁类群被视为进化谱系中的共生热点. 为了理解共生微生物对蚂蚁多样性在生态和进化上的影响, 本文总结了处于共生热点的蚂蚁类群中不同的微生物类型, 分别描述这些类群中共生微生物的多样性、生物学功能、与宿主互惠共生关系维持的机制. 这些处于共生热点的蚂蚁类群通常生活在特化的营养生态位, 推测蚂蚁可能利用共生微生物多样的代谢功能来应对营养失衡的挑战, 未来的研究需要扩大研究物种的范围并囊括不同社会等级的个体, 还需要在共生微生物基因组测序和功能预测的基础上, 补充功能验证实验, 不断拓展人们对蚂蚁共生微生物功能的认识. 同时, 还需要借助已经开展的蚂蚁类群高分辨率的系统发育分析, 进一步探究共生微生物最初定殖蚂蚁类群的时间、与宿主互作的进化历史, 从而更好地理解微生物在整个蚁科的进化过程中所扮演的角色.

**关键词** 蚂蚁, 微生物, 共生热点, 协同进化

近些年来, 人们逐渐认识到共生微生物是真核生物进化及多样性形成的主要推动力<sup>[1,2]</sup>. 很多动植物, 特别是生活在极端环境下的物种, 会通过微生物建立“联盟”的方式扩充它们在新陈代谢上的功能<sup>[1]</sup>. 昆虫是全球陆地生态系统中种类最为丰富、生态上最占优势的动物类群<sup>[3]</sup>, 越来越多的证据表明昆虫多样性的形成和进化上的成功在很大程度上依赖与它们有密切联系的共生微生物. 这些共生微生物参与了昆虫绝大多数的生命活动, 在营养、代谢、免疫、繁殖和种间种内交流等诸多方面发挥重要作用<sup>[4]</sup>. 然而人们对于昆虫微生物组的认识还非常有限, 研究主要集中在与医学、农业和经济相关的物种<sup>[5-8]</sup>. 鉴于共生微生物

在昆虫进化和多样性形成中的重要作用, 近些年来各国学者已经在其他昆虫类群中广泛开展了昆虫共生微生物的相关研究. 其中蚂蚁作为大多数陆地生态系统的关键参与者<sup>[9,10]</sup>, 其共生微生物也受到了研究者的广泛关注.

蚂蚁是地球上物种最为丰富、进化非常成功的古老动物类群之一. 据估计, 目前有约12000种已描述的蚂蚁物种, 它们种类繁多、丰富度高、生态习性各异<sup>[11,12]</sup>. Wilson<sup>[13]</sup>这样总结它们的生态重要性: “蚂蚁是世界上最主要的昆虫类群, 它们显著影响着地球上大部分陆地表面的栖息地长达上亿年.” 在蚂蚁近1.4亿年向全世界陆地生态系统扩张的进化历史中, 多种

引用格式: 马明洁, 朱璧如, 胡仪. 蚂蚁共生微生物研究进展. 中国科学: 生命科学, 2022, 52: 1212-1225

Ma M J, Zhu B R, Hu Y. Research progress on ant symbiotic microorganisms (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2022, 52: 1212-1225, doi: [10.1360/SSV-2022-0126](https://doi.org/10.1360/SSV-2022-0126)

蚂蚁物种借助共生伙伴, 包括半翅目昆虫和植物等, 拓展到之前难以生存的生态位<sup>[14,15]</sup>. 近些年随着测序技术的高速发展, 人们逐渐认识到共生微生物也参与了蚂蚁很多重要的生命活动, 包括取食习性、化学防御等<sup>[16,17]</sup>, 它们在蚂蚁的生态和进化过程中同样扮演着重要的角色. 因此, 对蚂蚁共生微生物的深入研究有助于人们理解蚂蚁物种多样性形成的过程和模式.

本综述对近年来蚂蚁共生微生物的研究进行了总结. 目前发表的工作已在蚁总科超过2/3的亚科中开展共生微生物的调查, 人们发现很多蚂蚁物种体内微生物数量很少, 并且不具有宿主特异性, 仅有少数蚂蚁物种拥有数量多且稳定特异的共生微生物, 这些类群被视为共生热点(symbiotic hotspots). 本文总结了处于共生热点的蚂蚁类群, 并进一步探讨这些类群中共生微生物的多样性、生物学功能、与宿主共生关系维持的机制. 尽管已有的工作已经逐步揭示了蚂蚁与微生物间的互作机制, 但是对共生微生物定殖蚂蚁类群的时间、与宿主互作的进化历史, 以及如何影响蚂蚁宿主的进化和物种多样性等方面的了解还非常有限, 这些都将是本领域未来研究的主要挑战.

## 1 处于共生热点的蚂蚁类群

蚂蚁生物学家很早就发现共生微生物的存在<sup>[18]</sup>, 后续研究发现与微生物建立紧密共生关系的蚂蚁物种大都具有特定的行为习惯、膨大的肠道结构并拥有大量的微生物<sup>[19~22]</sup>. 随后随着广泛的取样以及分子生物学、系统发育学方法的发展, 人们发现整个蚁科中许多蚂蚁类群体内含有极少数的微生物<sup>[23,24]</sup>, 仅有小部分蚂蚁类群与微生物建立了长久稳定的共生联盟<sup>[23,24]</sup>, 并且这种紧密的共生关系可以追溯到4000~5500万年前<sup>[23]</sup>. 这些拥有稳定存在且具有高度宿主特异性共生微生物的蚂蚁类群被视为进化谱系中的共生热点.

根据所处位置不同, 处于共生热点蚂蚁类群的共生微生物被分为内共生微生物和外共生微生物. 内共生微生物通常定殖在蚂蚁体细胞内或体腔内, 目前仅在蚁亚科(Formicinae)中的弓背蚁族(Camponotini)和切叶蚁亚科(Myrmicinae)的心结蚁属(*Cardiocondyla*)中发现其体内的含菌胞中有特化的专性内共生菌. 另外一种在昆虫体腔中常见的内共生微生物沃尔巴克氏

体也感染了蚁总科超过1/3的物种. 外共生微生物包括环境共生微生物和肠道共生微生物, 前者是目前研究比较深入的艾特蚁族(Attini)的“真菌养殖农业”, 它们所养殖的真菌是蚁后和幼虫的唯一食物来源, 后者在蚂蚁肠道内生存在, 一些植食性蚂蚁物种的肠道内有大量宿主特异的微生物, 包括切叶蚁亚科中的龟蚁属(*Cephalotes*)、原龟蚁属(*Procryptocerus*)、沟切叶蚁属(*Cataulacus*)、伪切叶蚁亚科(Pseudomyrmecinae)的细长蚁属(*Tetraponera*)以及臭蚁亚科(Dolichoderinae)的臭蚁属(*Dolichoderus*)<sup>[23]</sup>. 近期也发现一些肉食性蚂蚁物种, 主要是行军蚁亚科(Dorylinae)的双节行军蚁属(*Aenictus*)、行军蚁属(*Dorylus*)、游蚁属(*Eciton*), 猛蚁亚科(Ponerinae)的齿猛蚁属(*Odontomachus*)的肠道也有大量特化的微生物<sup>[24~28]</sup>. 图1中总结了蚁总科目前已知的处于共生热点的蚂蚁类群, 这些蚂蚁类群(约2800种)占已知蚂蚁总科中物种数量的22%. 下面的内容将系统探讨这些类群中共生微生物的多样性、对宿主提供的贡献、互惠共生关系维持的机制<sup>[29]</sup>.

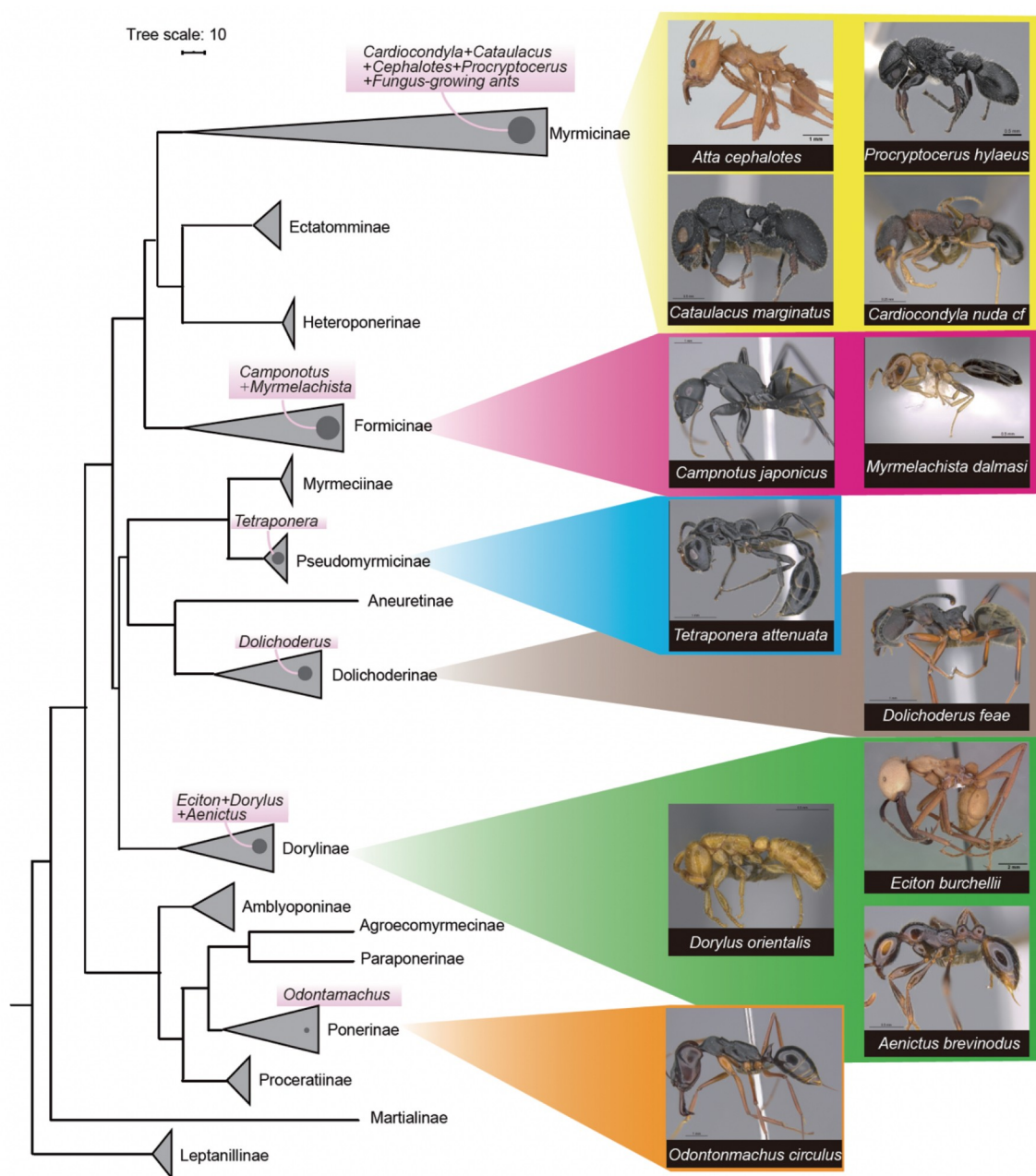
## 2 蚂蚁共生微生物的类型及特征

### 2.1 蚂蚁的内共生微生物

内共生微生物主要分为专性内共生微生物(obligatory endosymbionts)和兼性内共生微生物(facultative endosymbionts)两类. 其中专性内共生微生物生活在宿主特化的细胞中, 为宿主提供必需的营养元素, 并通过严格的母系遗传传递到下一代, 目前仅在弓背蚁族蚂蚁和黑灰心结蚁(*Cardiocondyla obscurior*)中发现其含菌胞内具有专性内共生微生物<sup>[24]</sup>. 这两类蚂蚁的专性内共生微生物都通过宿主的生殖系统进行垂直传播, 并在其宿主发育早期发挥重要作用. 兼性内共生微生物生活在宿主的细胞和体液中, 通过宿主的繁殖系统进行垂直传递, 同时也可以通过水平传播传递到其他物种体内. 它们对宿主来说并不是必需的, 却可以影响宿主的多种生命活动, 如繁殖、抵御天敌、响应非生物胁迫等<sup>[30,31]</sup>. 在蚁总科超过1/3的物种中发现一种其他昆虫体内常见的兼性内共生微生物沃尔巴克氏体, 这类微生物的数量和多样性在不同蚂蚁物种间存在很大的差异, 其生物学功能还有待于进一步研究.

#### (1) 专性内共生微生物

##### (i) 弓背蚁族(Camponotini)蚂蚁类群的内共生微



**图 1** 蚁总科系统发育树中位于共生热点谱系的蚂蚁类群。系统发育树中的浅灰色等腰三角形表示每个亚科中蚂蚁类群的数量，深色圆形的大小仅粗略代表该分支谱系中具有共生微生物的蚂蚁属的数量。蚂蚁多样化分支信息参照Russell等人<sup>[23]</sup>对文献<sup>[29]</sup>蚂蚁系统发育的修改

**Figure 1** Distribution of symbiotic hotspots in the Formicidae phylogenetic tree. The light gray isosceles triangles represent the number of ant lineages in each subfamily, and the size of the dark circle represents the number of ant genera with symbiotic microorganisms in that clade lineage. Information on the diverse ant clades is modified from Russell et al. <sup>[23]</sup>, and the ant tree was modified from the ant phylogeny of ref. <sup>[29]</sup>

生物Blochmannia。早在1882年, Blochmann首次在毁木弓背蚁(*Camponotus ligniperdus*)体内发现一种内共生细菌, 将其命名为*Candidatus Blochmannia*。此后发现

弓背蚁族中几乎所有物种(>1850物种)都携带*Blochmannia*属的内共生细菌, 它们存在蚂蚁宿主上皮细胞之间的含菌胞及雌性宿主的卵巢中<sup>[32,33]</sup>, 通过卵胞细

胞到卵母细胞的迁移实现垂直传递<sup>[34]</sup>。系统发育分析表明, *Blochmannia*属与蚂蚁宿主至少具有四千万年的协同进化历史<sup>[32,35,36]</sup>, 与半翅目昆虫蚜虫、粉虱的内共生菌和双翅目昆虫舌蝇的内共生菌具有相近的亲缘关系, 猜测弓背蚁族蚂蚁的祖先是吸食半翅目昆虫生产的蜜露而从这些昆虫那里获得了*Blochmannia*<sup>[37]</sup>。

基因组测序分析表明, *Blochmannia*基因组明显缩减, 仅保留了多条与宿主营养代谢相关的代谢通路, 包括必需氨基酸合成、氮循环、硫代谢通路以及宿主羽化期间表皮硬化的原材料——酪氨酸的合成途径<sup>[38-41]</sup>。与这些代谢通路相关的基因表达量在宿主蛹化和羽化阶段明显升高<sup>[42]</sup>, 同时升高的还有*Blochmannia*和含菌胞的数量<sup>[33,43,44]</sup>。这些结果表明, *Blochmannia*在宿主发育早期为满足个体发育需求提供了重要帮助。此外, 对不同谱系*Blochmannia*基因组的比较研究表明, 在其进化历史中这些与营养代谢相关的代谢通路并非都被保留下来<sup>[40]</sup>, 进一步研究不同谱系*Blochmannia*中基因缺失与宿主饮食之间的相关性, 将为深入了解专性共生微生物基因组差异形成的原因提供可能。

(ii) 黑灰心结蚁的专性内共生微生物-*Westerberhardia*。Klein等人<sup>[45]</sup>在心结蚁属(*Cardiocondyla*)中发现了另一个专性内共生微生物, 被命名为“*Candidatus Westerberhardia cardiocondylae*”(下文称为*Westerberhardia*)。*Westerberhardia*定殖在宿主中肠含菌胞和蚁后卵巢中的哺育细胞(nurse cells)中, 通过哺育细胞向卵母细胞迁移的方式垂直传递到下一代。*Westerberhardia*的基因组极度缩减, 缺乏全部必需氨基酸和维生素的合成基因, 仅保留了完整的莽草酸途径(shikimate pathway), 这一途径能够为宿主提供合成芳香族氨基酸的代谢底物, 为宿主羽化期间的表皮形成提供足够的原料。宿主体内*Westerberhardia*的数量在蛹期上升并随着工蚁的年龄逐渐退化, 表明宿主在羽化的阶段需要*Westerberhardia*的协助来完成宿主的正常发育<sup>[45]</sup>。

## (2) 兼性内共生微生物-沃尔巴克氏体(*Wolbachia*)

沃尔巴克氏体隶属于Alpha-变形菌纲(Alpha-Proteobacteria)立克次氏体科(Rickettsiaceae), 是一类感染节肢动物, 包括大部分昆虫以及线虫的兼性内共生微生物。据估计全部昆虫物种中的25%~70%是沃尔巴克氏体的潜在宿主<sup>[46]</sup>, 其中蚂蚁总科中的感染率约为

34%~36%<sup>[47]</sup>。有趣的是, 沃尔巴克氏体在不同蚂蚁属中具有不同的感染率<sup>[23,47,48]</sup>, 例如, 在顶切叶蚁属(*Acromyrmex*)、蚁属(*Formica*)、火蚁属(*Solenopsis*)、细长蚁属感染率相对较高, 而在臭蚁属和行军蚁属沃尔巴克氏体的感染非常罕见, 在大头蚁属(*Pheidole*)的感染率属于中等水平<sup>[23,47]</sup>。在种水平发现一个有趣规律, 那些经过远距离飞行后独立建立新巢的蚂蚁物种中沃尔巴克氏体的感染率较低, 而在母巢旁分巢而建立新巢的蚂蚁物种中沃尔巴克氏体的感染率较高, 这一现象表明蚂蚁蚁后的行动能力可能与沃尔巴克氏体的感染率有关<sup>[47,49]</sup>。在同一个物种不同蚁穴间甚至蚁穴内部不同等级蚂蚁中也存在沃尔巴克氏体的感染差异, 如不同红火蚁(*Solenopsis invicta*)蚁穴中沃尔巴克氏体的感染率在2%~93%之间<sup>[50,51]</sup>。在红头蚁(*Formica truncorum*)蚁穴中, 工蚁、蛹、蚁后和雄蚁体内沃尔巴克氏体的感染率分别为45%, 87%, 94%和95%<sup>[52]</sup>。在蚂蚁个体内存在沃尔巴克氏体的多重感染, Supergroups A(Sg-A)是在大多数蚂蚁体内最常见的菌株类型, Supergroups B(Sg-B)也在少数蚂蚁体内检测到, 而且常常与Sg-A菌株共同感染宿主。对于沃尔巴克氏体在蚂蚁个体的多重感染以及在不同蚂蚁等级间感染率存在差异的现象, 有待于研究者进一步深入研究宿主与沃尔巴克氏体如何相互作用, 并影响其在蚂蚁类群中的分布格局。

沃尔巴克氏体与蚂蚁之间相互作用关系是如何进化的呢? 蚂蚁体内大多数沃尔巴克氏体通常在系统发生树上形成蚂蚁特异的演化支, 与蚂蚁宿主呈现出扩散式协同演化关系(diffuse coevolution), 可能是由于沃尔巴克氏体在亲缘关系较近的蚂蚁之间, 因具有相似的生理条件或共享传播媒介(如寄生虫等), 更容易发生水平转移<sup>[47,53]</sup>。而沃尔巴克氏体与蚂蚁宿主之间特异性在新大陆类群中更为显著, Russell等人<sup>[23]</sup>在2012年发表的结果表明, 新大陆地区蚂蚁体内的沃尔巴克氏体大多来自蚂蚁特异的演化支, 而旧大陆地区蚂蚁体内的菌株仅少部分来自于蚂蚁特异的演化支。这种在地理上的差异在其他昆虫类群中并没有看到, 何种原因驱使新旧大陆上蚂蚁与沃尔巴克氏体具有不同的相互作用成为亟待解决的问题。

尽管对蚂蚁体内沃尔巴克氏体的功能了解还非常有限, 但是在几个蚂蚁物种中开展的工作探讨了沃尔巴克氏体对蚂蚁宿主生命活动可能的影响。然而由于

在实验室条件下很难建立可传代的蚂蚁种群, 长期以来还没有获得任何相关方面的直接证据. 直到2021年在入侵物种灰黑心结蚁中发现了沃尔巴克氏体能够通过细胞质不相容的方式操控宿主生殖<sup>[54]</sup>. 除此之外, 人们还发现蚂蚁感染沃尔巴克氏体后会增加在具有繁殖能力的个体中的感染率, 同时减少在工蚁中的感染率. 例如, 红头蚁(*Formica truncorum*)蚁穴中, 相比没有生殖能力的工蚁, 具有生殖能力的蚁后和雄蚁有更高的沃尔巴克氏体感染率<sup>[52]</sup>. 其中可能的原因是工蚁作为无生殖能力者, 成为沃尔巴克氏体传播的“死胡同”, 使得蚁后成为其传播的唯一途径. 除了发现沃尔巴克氏体在某些蚂蚁物种中具有生殖操纵的能力外, 一项研究发现在黑头酸臭蚁(*Tapinoma melanocephalum*)中沃尔巴克氏体具有补充维生素B的作用<sup>[55]</sup>, 类似的营养作用是否在其他蚂蚁谱系中也存在, 还需进一步研究.

## 2.2 蚂蚁的外共生微生物

相比于内共生微生物稳定的生活环境和严格的垂直传递方式, 外共生微生物易受环境中各种因素的影响, 其宿主还面临着避免获取有害微生物或防止共生微生物种群中欺骗者扩散的挑战. 在漫长的共同进化过程中, 许多动植物进化出保证外共生微生物忠诚性(partner fidelity)和筛选共生伙伴(partner choice)的机制, 保证了与胞外共生微生物建立长期稳定的共生关系<sup>[56-58]</sup>. 在蚁科中, 研究最多的胞外共生微生物是养菌蚁养殖的真菌和表皮微生物, 以及一些蚂蚁的肠道微生物, 这些微生物已经被证明与蚂蚁有相同的进化历史, 并且对蚂蚁的生命活动起着至关重要的作用.

### (1) 蚂蚁的真菌农业

#### (i) “养殖农业”的参与者

很少有动物能够自己耕种食物, 在切叶蚁亚科中已知超过两百种蚂蚁专门依靠种植真菌生存, 它们收集动植物组织为真菌提供基质, 并照顾真菌生长, 作为回报, 真菌帮助蚂蚁降解植物复杂碳水化合物, 并作为养菌蚁(fungus-growing ants)主要的食物来源<sup>[59,60]</sup>. 这些养菌蚁主要分布在新世界(New World)和新热带地区(Neotropical region)<sup>[61]</sup>, 其农业文明起源于大约5500万年前<sup>[62]</sup>. 养菌蚁“农业模式”可根据共生关系特征分为“低等农业”和“高等农业”两类<sup>[17,62]</sup>. “低等农业”养菌蚁收集无活性的动植物组织种植“农作物”,

除翼切叶蚁属(*Apterostigma*)的养菌蚁种植羽瑚菌科(Pterulaceae)真菌外, 其余所种植的真菌绝大多数来自伞菌科(Agaricaceae)<sup>[62,63]</sup>, 这些被养菌蚁驯化的低等真菌与自由生活的真菌有较近的亲缘关系<sup>[64,65]</sup>. 大约2000万年前, 养菌蚁的农业模式发生了一次重大转变, 进化出更高等、更专性的农业模式<sup>[62]</sup>. 高等养菌蚁种植的真菌具有专门的菌丝结构, 称为gongyliidia, 其中含有丰富的脂质和糖, 能够被蚂蚁宿主收获作为食物<sup>[62,66]</sup>, 同时还能生产必需氨基酸和多种酶, 包括纤维素酶、蛋白酶、果胶酶、漆酶<sup>[66-68]</sup>. 这些酶储存在蚂蚁粪便中并随之在整个菌园中扩散, 从而加快整个菌园的物质转化效率<sup>[69]</sup>. 研究发现, 高等菌园中还存在具有固氮功能的克雷伯氏菌(*Klebsiella*)和泛菌属(*Pantoea*)细菌<sup>[70]</sup>, 以及变形菌目细菌<sup>[59]</sup>, 这些细菌可能和真菌协同工作为养菌蚁提供营养物质.

“养殖农业”能够长期稳定地维持主要依靠养菌蚁的社会性行为 and 共生伙伴间的选择作用. 处女蚁后利用婚飞时携带的原蚁穴真菌建立新蚁穴和真菌园, 实现真菌在新旧蚁穴间的传递<sup>[71]</sup>, 随后工蚁在经营菌园过程中会定期清理其中的非共生真菌<sup>[72]</sup>, 同时共生真菌也会排斥外来真菌和外来蚂蚁的粪便液滴<sup>[73]</sup>. 在这种长期稳定的共生关系中, 养菌蚁逐渐丧失精氨酸生物合成的编码基因, 只能完全依赖栽培真菌供给<sup>[74,75]</sup>, 精氨酸代谢依赖使得这种共生关系更加坚固. 然而事实上养菌蚁和真菌之间并不具有严格类群特异性<sup>[16,65,76]</sup>, 如低等养菌蚁*Apterostigma megacephala*种植高等真菌*Leucoagaricus gongylophorus*<sup>[63]</sup>, 高等养菌蚁皱切叶蚁属(*Trachymyrmex*)种植低等养菌农业中才有的真菌品种<sup>[65]</sup>. Mueller等人指出不同等级养菌蚁培养真菌的类群特异性概念应该被重新修订, 更大尺度的调查研究会发现越来越多的养菌蚁物种并不具有之前人们一直认为的类群特异的真菌农业.

#### (ii) “养殖农业”的破坏者

与养菌蚁-真菌共生系统共同进化的是来自子囊菌门(Ascomycota) *Escovopsis*属的病原菌. *Escovopsis*感染菌园后迅速增殖, 抑制真菌生长<sup>[77-79]</sup>的同时上调抑制养菌蚁表皮防御细菌和工蚁防御行为的生物碱<sup>[80,81]</sup>, 导致菌园全面崩溃. 尽管*Escovopsis*在养菌蚁的菌园中普遍出现<sup>[77]</sup>, 但目前仅在切叶蚁属的酵母农业菌园中尚未发现<sup>[82]</sup>. 早期研究表明, 养菌蚁、*Escovopsis*和栽培真菌在系统发育上具有很强的致

性<sup>[83,84]</sup>, 然而随后广泛取样发现*Escovopsis*会在切叶蚁属内发生频繁的宿主转移<sup>[85,86]</sup>. 此外, 在一些养菌蚁的菌园中发现了多种与菌园衰败相关的其他真菌<sup>[87]</sup>, 表明*Escovopsis*不是菌园中唯一的寄生真菌, 其他真菌与养菌蚁共生体系的进化联系还有待研究.

### (iii) “养殖农业”的保护者

共生真菌作为养菌蚁的唯一食物来源, 对于整个蚁穴的生存发展至关重要, 然而由于*Escovopsis*病原真菌的存在, 养菌蚁不得不采取“除草”和喷洒“除草剂”的措施防御和清除病原真菌. 养菌蚁会定期梳理菌园中的真菌<sup>[88]</sup>, 同时利用表皮放线菌产生针对*Esvocopsis*的抗生素来保护菌园不受病原菌侵害<sup>[89,90]</sup>. 放线菌作为养菌蚁-真菌共生系统的第三个共生群体, 存在于养菌蚁表皮的隐窝中, 养菌蚁通过与隐窝相连的腺体向放线菌提供营养<sup>[22]</sup>. 假诺卡氏菌属(*Pseudonocardia*)细菌是养菌蚁表皮防御细菌中的优势细菌<sup>[91,92]</sup>, 起源于养菌蚁-真菌共生进化的早期<sup>[93]</sup>, 实验发现这些细菌产生的抗生素能够有效抑制*Escovopsis*病原真菌<sup>[94,95]</sup>, 表明假诺卡氏菌属细菌在养菌蚁进化过程中起着重要作用.

### (iv) 两者协同进化

养菌蚁在进化过程中驯化第一个高等真菌后, 逐渐切断共生真菌与自由生活真菌之间的基因流<sup>[62]</sup>, 最大程度地促进和维持了互惠共生关系, 并通过双方共同进化开启新的适应性辐射. 然而, 这种生存方式在数百万年来始终受到*Escovopsis*致病菌的威胁. 为了保护菌园不受病原菌的侵害, 养菌蚁在其表皮上聚集了能够产生抗菌物质的放线菌. 在漫长的进化历史中, 养菌蚁-栽培真菌-放线菌-病原真菌通过一系列化学信号组成了共生-拮抗的复杂网络, 并上演着残酷的军备竞赛.

近些年来更加深入的研究打破了人们之前认为的一对一军备竞赛式的共同进化模式, 其他一些辅助抗菌微生物也参与其中<sup>[59,70,96]</sup>, 某些蚂蚁物种丢失了表皮防御细菌而是利用后胸侧板腺体分泌抑制病原真菌的化合物, *Escovopsis*真菌也不是唯一的病原真菌, 这使得共生-拮抗网络比已知的更加复杂. 可以肯定的是, 假诺卡氏菌属细菌确实是许多养菌蚁主要利用的防御武器, 他们是否独立作战或者与其他微生物合攻? 养菌蚁共生系统的动态变化是否与其生活习性的转变有关? 这些问题还有待于进一步的探究.

### (2) 蚂蚁肠道微生物

研究者近期在蚁总科超过1/3的类群中采样调查<sup>[23,24,56]</sup>, 发现尽管大部分的蚂蚁类群含有极少数的肠道微生物, 部分蚂蚁物种的肠道中却存在着大量的微生物. 分子生物学和系统发育分析揭示了这些微生物与其蚂蚁宿主形成了古老特异的共生关系<sup>[27,97-99]</sup>, 并进一步揭示了蚂蚁宿主如何通过特殊的社会行为和肠道结构保证共生微生物在宿主中稳定存在并传递到下一代<sup>[100,101]</sup>. 有趣的是, 这些宿主特异的肠道共生菌通常存在于食物链两端(即植食性和肉食性)多个独立起源的蚂蚁物种体内<sup>[21,23,102]</sup>, 这种现象是不是揭示了共生微生物帮助宿主利用营养不均衡饮食的重要性? 这些问题还有待于进一步的深入研究. 下文将分别探讨植食性和肉食性蚂蚁肠道微生物的种类、生物学功能、共生关系维持的机制以及对蚂蚁宿主食性进化的潜在影响.

#### (i) 食物链底端: 植食性蚂蚁

蚂蚁在近1.4亿年的进化过程中, 从肉食性的祖先进化出多个植食性的分支, 这些植食性蚂蚁主要以取食植物的花外蜜腺和半翅目昆虫的蜜露为食. 与所有的植食性昆虫面临的困境一样, 植食性蚂蚁的食物中缺乏生命必需的氮元素. 因而, 科学家们提出共生微生物很可能帮助蚂蚁弥补食物中缺乏的氮元素, 对宿主植食性的进化有重要的影响<sup>[10]</sup>.

最初人们通过显微观察, 发现一些植食性蚂蚁具有特殊膨大的肠道结构, 来容纳和维持大量的微生物<sup>[21,103-105]</sup>. 例如, 一些细长蚁属蚂蚁的中后肠交界处有一个被马氏管包围的细菌袋(bacteria pouch, 图2), 其中充满椭圆状细菌<sup>[100]</sup>, 推测这些肠道微生物可能参与了马氏管回收废物的氮元素循环再利用. 在龟蚁属蚂蚁的中肠和后肠内发现存在大量微生物, 人们推测可能与蚂蚁宿主的营养代谢相关<sup>[103]</sup>.

然而由于当时测序技术的限制, 人们对植食性蚂蚁肠道微生物群落组成和功能的认识非常有限. 第一个基于测序的研究发现两个独立起源的蚂蚁类群, 臭蚁属和细长蚁属的*nigra*组的蚂蚁肠道中都有根瘤菌目的*Bartonella*属细菌, 这些肠道微生物在系统发育上具有高度的宿主特异性, 表明肠道共生微生物与宿主形成稳定特殊的共生关系<sup>[97,106]</sup>. 随后, Russell等人<sup>[56]</sup>利用传统的桑戈尔测序技术调查了蚂蚁总科近百种蚂蚁中*Bartonella*-like细菌的分布, 发现其他一些植食性

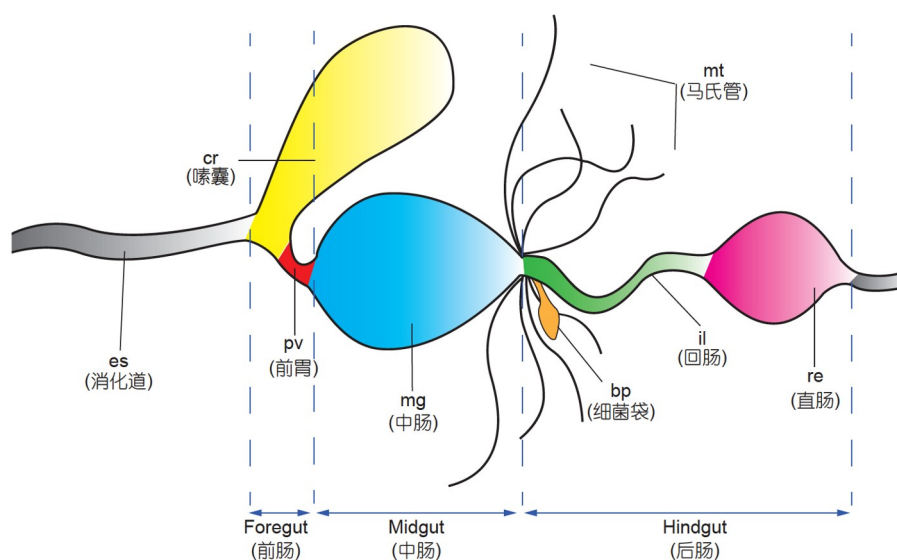


图2 蚂蚁的肠道结构

Figure 2 Generalized gut structure of ants

蚂蚁, 包括龟蚁属、沟切叶蚁属、原龟蚁属也都存在这类细菌。系统发育分析表明, 这些来自不同独立起源植食性蚂蚁体内的*Bartonella*-like细菌共同形成了蚂蚁宿主特异的单系群<sup>[56]</sup>, 表明这类共生菌与其植食性蚂蚁宿主建立了紧密的共生关系。尽管还不太清楚这些蚂蚁的祖先进化出植食性还是先与微生物建立共生关系, 但这些基于测序的结果表明, 共生微生物对蚂蚁占据植食性生态位起到重要的作用。随后Russell课题组<sup>[56,99,101,107]</sup>利用高通量16S rRNA扩增子测序技术分析龟蚁属和原龟蚁属肠道微生物群落的组成, 发现其具有多个核心共生微生物, 分别来自根瘤菌目(Rhizobiales)、伯克霍尔德氏菌目(Burkholderiales)、黄单胞菌目(Xanthomonadales)、假单胞菌目(Pseudomonadales)、丰佑菌目(Opitutales)。这些共生细菌具有高度宿主特异性, 推测与宿主具有近4600万年的共同进化历史<sup>[99,101,108]</sup>, 这些结果表明它们在宿主的生命活动中发挥着重要的作用。研究者还发现龟蚁属、原龟蚁属蚂蚁具有与白蚁相似的交哺行为, 这些蚂蚁在化蛹过程中丢失几乎全部肠道微生物, 羽化后幼虫通过舔舐成年工蚁的肛门分泌物来接种肠道共生细菌<sup>[101]</sup>。交哺行为实现了肠道微生物的垂直传递<sup>[56]</sup>, 为二者长期共同分化提供了解释<sup>[23]</sup>。

为了进一步探究植食性蚂蚁肠道微生物的生物

学功能, 近期几项研究利用宏基因组分析和操控实验在少数几种植食性蚂蚁类群, 包括龟蚁属、臭蚁属中开始探究其核心共生微生物的基因代谢功能。Hu等人<sup>[109]</sup>首次通过宏基因组测序和同位素标记喂养实验证实了龟蚁属蚂蚁肠道共生微生物为宿主供给营养的功能, 这些微生物具有循环再利用尿酸和尿素中的氮元素(N-recycling), 用于合成氨基酸的代谢通路。随后, Duplais等人<sup>[110]</sup>进一步研究发现龟蚁属肠道微生物还可以把含氮代谢废物中获取的氮元素用于几丁质、表皮蛋白等表皮性状相关物质的合成, 影响蚂蚁生长中表皮的发育。另外, 对臭蚁属蚂蚁肠道微生物进行宏基因组测序发现巴尔通体科(Bartonellaceae)细菌具有回收含氮废物、合成所有必需氨基酸以及几种维生素的能力<sup>[111]</sup>。这些证据表明, 肠道微生物在宿主占据氮元素缺乏的植食性生态位过程中起着重要的作用。

目前已经开展的工作发现一些植食性蚂蚁中肠道微生物组成的稳定性和补给氮元素的代谢机制, 为研究共生微生物如何影响蚂蚁植食性进化提供了一些实验证据, 仍然需要扩大调查范围, 探究植食性蚂蚁是否普遍具有宿主特异的核心共生微生物, 共生微生物为宿主弥补食物中缺乏的氮元素是否存在功能上的趋同性。

### (ii) 食物链顶端: 肉食性蚂蚁

研究者最初认为仅在占据特殊饮食生态位的植食性蚂蚁中具有特异的肠道微生物, 之后更大规模的调查发现某些肉食性蚂蚁也具有大量宿主特异的肠道微生物<sup>[26,112]</sup>。最早利用细菌通用引物筛查时发现来自行军蚁亚科(Dorylinae)的蚂蚁样品中普遍存在虫原体目(Entomoplasmatales)的螺原体属(*Spiroplasma*)细菌, 系统发育分析发现这种微生物与蚂蚁宿主形成了古老的共生关系。Lukasik等人<sup>[27]</sup>利用高通量16S rRNA测序对行军蚁亚科更多的物种进行调查, 发现这些蚂蚁物种肠道微生物群落组成简单, 通常仅由来自虫原体目(Entomoplasmatales)细菌和厚壁菌门(Firmicutes)的优势细菌组成(图1), 系统发育分析表明这两类共生细菌也具有高度的宿主特异性<sup>[25,27,98]</sup>, 表明部分行军蚁亚科蚂蚁物种与肠道微生物建立了紧密的共生关系。也有研究组发现, 行军蚁并不是唯一具有这类共生微生物的类群, 来自猛蚁亚科(Ponerinae)蚂蚁中也发现了与行军蚁体内虫原体目细菌亲缘关系非常相近的共生微生物<sup>[113]</sup>。

一般认为当食物变得更加特化时, 食物中营养不均衡的程度就更大。相对于植食性蚂蚁食物中缺乏氮元素, 肉食性蚂蚁取食高蛋白的食物, 那么在行军蚁亚科和猛蚁亚科这些典型的肉食性蚂蚁中共生微生物普遍存在, 且与宿主形成高度特异的共生关系, 是否表明它们对宿主取食营养不均衡的食物具有重要作用呢? 目前仅对猛蚁亚科的跳镰猛蚁(*Harpegnathos saltator*)中肠道细菌*Candidatus Toppelaia holldoblerii* (巴尔通体科: Bartonellaceae)的基因组进行测序分析, 发现其共生菌含有蛋白质降解、氨基酸转运以及核黄素合成相关基因<sup>[111,114]</sup>, 表明肉食性蚂蚁的肠道细菌可能具有帮助宿主降解高蛋白质含量的食物以及提供维生素的潜在功能。目前人们对肉食性蚂蚁肠道微生物的组成和生物学功能的了解还非常有限, 未来需要通过结合系统发育分析、宏基因组测序和功能验证实验来揭示肉食性蚂蚁体内共生微生物的稳定性、定殖位置、传递方式及与宿主共同进化的历史和互惠关系维持的机制等。

## 3 总结与展望

在过去20~25年研究者已经在蚂蚁共生微生物研

究领域得到一些重要的发现。许多调查的蚂蚁物种体内含有极少量的细菌, 仅有少数蚂蚁类群具有高度宿主特异的共生微生物, 这些处于共生热点的蚂蚁类群与共生微生物互作关系具有以下特征: (i) 共生微生物在蚂蚁宿主世代之间有稳定的传递方式; (ii) 宿主和共生微生物有着长期的共同进化历史; (iii) 共生微生物影响宿主的适合度, 在宿主营养供给、生长发育等生命活动中发挥重要作用。

现有的研究结果发现, 处于共生热点的蚂蚁类群通常生活在特化的营养生态位, 即食物中缺乏氮元素的植食性生态位和富含蛋白质的肉食性生态位。面对饮食中营养失衡的挑战, 蚂蚁是否利用共生微生物多样的代谢功能来应对这些挑战呢? 研究者利用基因组测序和实验验证的方法, 陆续在一些植食性蚂蚁或肉食性蚂蚁共生微生物的研究中, 得到了一系列的证据。然而现有研究调查的蚂蚁种类还比较少, 主要集中在龟蚁属、原龟蚁属、臭蚁属以及弓背蚁族; 同时, 研究深度仍然不足, 大多仅停留在基因测序分析的功能预测上。因此, 未来的研究需要扩大研究对象和范围, 拓展人们对蚂蚁共生微生物功能的认识。另外, 相比于其他昆虫类群, 研究者已经开展了蚂蚁类群高分辨率的系统发育分析<sup>[13]</sup>, 这提供了一个很好的系统发育框架来研究共生微生物最初定殖蚂蚁类群的时间、与宿主互作的进化历史, 从而理解共生微生物在整个蚁科的进化过程中所扮演的角色。因此, 蚂蚁是研究共生微生物如何影响宿主进化的理想模型。

尽管目前的研究发现, 很多蚂蚁都含有微量的细菌, 这些蚂蚁是否真的不具有共生微生物还有待商榷。首先, 现有的调查范围还比较小, 目前所调查的物种还未超过蚂蚁总科有记录物种数量的2/3。其次, 当前的研究主要针对细菌, 并不能确定蚂蚁体内是否含有古细菌、病毒、真菌等。近几年测序技术迅速发展, 生物数据迅猛增长, 我们很快将会对微生物有一个更全面的了解。因此, 未来也应将处于共生热点谱系的蚂蚁列入研究重点, 确定这些蚂蚁类群是否与之前未被深入研究的微生物建立共生关系。

蚂蚁作为一种真社会性昆虫, 不同等级的成员负责不同的工作, 承担着繁殖任务的蚁后和处理固体食物的幼虫<sup>[21,101]</sup>是整个蚁穴的关键组成部分, 但由于采样的限制和实验室条件下很难建立连续传代的种群而鲜有研究, 导致大部分蚂蚁-微生物共生系统方面的研

究集中在工蚁上。最近一项研究表明, *Diacamma cf. indicum* 工蚁后肠中稳定存在一种未分类的厚壁菌门细菌, 但这种细菌几乎不存在于蚁后体内<sup>[115]</sup>, 表明蚁后-微生物共生系统可能存在一种新模式, 未来的研究需要将蚁穴内不同等级的蚂蚁成员纳入研究范围。另外, 其他昆虫的研究工作证明了肠道共生细菌不仅具

有营养作用, 还在免疫、繁殖和种间种内交流等诸多方面发挥重要作用<sup>[4,6,116,117]</sup>, 那么蚂蚁肠道微生物是否也具有这些功能? 这也是未来需要解决的问题。高速发展的测序技术以及不断深入的采样调查将帮助我们更好地了解蚂蚁这一庞大的昆虫类群中隐藏的微生物世界。

**致谢** 感谢哈佛大学刘聪博士为本文提供蚂蚁照片, 这些标本照片全部拍摄于哈佛大学比较动物学博物馆。感谢北京师范大学马璐瑶同学在文章撰写过程中提供的宝贵建议。

---

## 参考文献

- 1 Moran N A. Symbiosis as an adaptive process and source of phenotypic complexity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 8627–8633
- 2 McFall-Ngai M, Hadfield M G, Bosch T C G, et al. Animals in a bacterial world, a new imperative for the life sciences. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 3229–3236
- 3 Buchner P. Endosymbiosis of animals with plant microorganisms. New York: Interscience Publishers, Inc., 1965
- 4 Engel P, Moran N A. The gut microbiota of insects – diversity in structure and function. *FEMS Microbiol Rev*, 2013, 37: 699–735
- 5 Chu C C, Spencer J L, Curzi M J, et al. Gut bacteria facilitate adaptation to crop rotation in the western corn rootworm. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 11917–11922
- 6 Wang J, Weiss B L, Aksoy S. Tsetse fly microbiota: form and function. *Front Cell Infect Microbiol*, 2013, 3: 69
- 7 Bennett G M, Moran N A. Heritable symbiosis: the advantages and perils of an evolutionary rabbit hole. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112: 10169–10176
- 8 Moran N A. Genomics of the honey bee microbiome. *Curr Opin Insect Sci*, 2015, 10: 22–28
- 9 Davidson D W, Patrell-Kim L. Tropical arboreal ants: why so abundant? *Neotrop Biodiv Conserv*, 1996, 127–140
- 10 Davidson D W, Cook S C, Snelling R R, et al. Explaining the abundance of ants in lowland tropical rainforest canopies. *Science*, 2003, 300: 969–972
- 11 Brady S G, Schultz T R, Fisher B L, et al. Evaluating alternative hypotheses for the early evolution and diversification of ants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 18172–18177
- 12 Moreau C S, Bell C D, Vila R, et al. Phylogeny of the ants: diversification in the age of angiosperms. *Science*, 2006, 312: 101–104
- 13 Wilson E O. The nature of the taxon cycle in the Melanesian ant fauna. *Am Natist*, 1961, 95: 169–193
- 14 Heil M, McKey D. Protective ant-plant interactions as model systems in ecological and evolutionary research. *Annu Rev Ecol Evol Syst*, 2003, 34: 425–553
- 15 Stadler B, Dixon A F G. Ecology and evolution of aphid-ant interactions. *Annu Rev Ecol Evol Syst*, 2005, 36: 345–372
- 16 Mueller U G, Rehner S A, Schultz T R. The evolution of agriculture in ants. *Science*, 1998, 281: 2034–2038
- 17 Zientz E, Feldhaar H, Stoll S, et al. Insights into the microbial world associated with ants. *Arch Microbiol*, 2005, 184: 199–206
- 18 Blochmann F. Ueber das regelmässige vorkommen von bakterienähnlichen gebilden in den gewebe und eiern verschiedener insecten. *Zeitschrift Biologie*, 1888, 24: 1–16
- 19 Holldobler B, Wilson E O. The Ants. Cambridge: Belknap Press of Harvard University Press, 1990
- 20 Blüthgen N, Gebauer G, Fiedler K. Disentangling a rainforest food web using stable isotopes: dietary diversity in a species-rich ant community. *Oecologia*, 2003, 137: 426–435
- 21 Cook S C, Davidson D W. Nutritional and functional biology of exudate-feeding ants. *Entomol Expis Appl*, 2006, 118: 1–10
- 22 Currie C R, Poulsen M, Mendenhall J, et al. Coevolved crypts and exocrine glands support mutualistic bacteria in fungus-growing ants. *Science*, 2006, 311: 81–83

- 23 Russell J A, Sanders J G, Moreau C S. Hotspots for symbiosis: function, evolution, and specificity of ant-microbe associations from trunk to tips of the ant phylogeny (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecological News*, 2017, 24: 43–69
- 24 Sanders J G, Lukasik P, Frederickson M E, et al. Dramatic differences in gut bacterial densities correlate with diet and habitat in rainforest ants. *Integrative Comp Biol*, 2017, 57: 705–722
- 25 Funaro C F, Kronauer D J C, Moreau C S, et al. Army ants harbor a host-specific clade of *Entomoplasmatales* bacteria. *Appl Environ Microbiol*, 2011, 77: 346–350
- 26 Poulsen M, Sapountzis P. Behind every great ant, there is a great gut. *Mol Ecol*, 2012, 21: 2054–2057
- 27 Łukasik P, Newton J A, Sanders J G, et al. The structured diversity of specialized gut symbionts of the New World army ants. *Mol Ecol*, 2017, 26: 3808–3825
- 28 Zheng Z, Hu X, Xu Y, et al. Bacterial composition and diversity of the digestive tract of *Odontomachus monticola* emery and *Ectomyrmex javanus* Mayr. *Insects*, 2021, 12: 176
- 29 Moreau C S, Bell C D. Testing the museum versus cradle tropical biological diversity hypothesis: phylogeny, diversification, and ancestral biogeographic range evolution of the ants. *Evolution*, 2013, 67: 2240–2257
- 30 Werren J H, Baldo L, Clark M E. *Wolbachia*: master manipulators of invertebrate biology. *Nat Rev Microbiol*, 2008, 6: 741–751
- 31 Feldhaar H. Bacterial symbionts as mediators of ecologically important traits of insect hosts. *Ecol Entomol*, 2011, 36: 533–543
- 32 Schröder D, Deppisch H, Obermayer M, et al. Intracellular endosymbiotic bacteria of *Camponotus* species (carpenter ants): systematics, evolution and ultrastructural characterization. *Mol Microbiol*, 1996, 21: 479–489
- 33 Sauer C, Dudaczek D, Holldobler B, et al. Tissue localization of the endosymbiotic bacterium “*Candidatus Blochmannia floridanus*” in adults and larvae of the carpenter ant *Camponotus floridanus*. *Appl Environ Microbiol*, 2002, 68: 4187–4193
- 34 Ramalho M O, Vieira A S, Pereira M C, et al. Transovarian transmission of *Blochmannia* and *Wolbachia* endosymbionts in the neotropical weaver ant *Camponotus textor* (Hymenoptera, Formicidae). *Curr Microbiol*, 2018, 75: 866–873
- 35 Sauer C, Stackebrandt E, Gadau J, et al. Systematic relationships and cospeciation of bacterial endosymbionts and their carpenter ant host species: proposal of the new taxon *Candidatus Blochmannia* gen. nov. *Int J Systematic Evolary Microbiol*, 2000, 50: 1877–1886
- 36 Degnan P H, Lazarus A B, Brock C D, et al. Host-symbiont stability and fast evolutionary rates in an ant-bacterium association: cospeciation of camponotus species and their endosymbionts, *Candidatus Blochmannia*. *Systatic Biol*, 2004, 53: 95–110
- 37 Wernegreen J J, Kauppinen S N, Brady S G, et al. One nutritional symbiosis begat another: phylogenetic evidence that the ant tribe Camponotini acquired *Blochmannia* by tending sap-feeding insects. *BMC Evol Biol*, 2009, 9: 292
- 38 Degnan P H, Lazarus A B, Wernegreen J J. Genome sequence of *Blochmannia pennsylvanicus* indicates parallel evolutionary trends among bacterial mutualists of insects. *Genome Res*, 2005, 15: 1023–1033
- 39 Gil R, Silva F J, Zientz E, et al. The genome sequence of *Blochmannia floridanus*: comparative analysis of reduced genomes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 9388–9393
- 40 Williams L E, Wernegreen J J. Genome evolution in an ancient bacteria-ant symbiosis: parallel gene loss among *Blochmannia* spanning the origin of the ant tribe Camponotini. *PeerJ*, 2015, 3: e881
- 41 Zientz E, Dandekar T, Gross R. Metabolic interdependence of obligate intracellular bacteria and their insect hosts. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2004, 68: 745–770
- 42 Zientz E, Beyaert I, Gross R, et al. Relevance of the Endosymbiosis of *Blochmannia floridanus* and carpenter ants at different stages of the life cycle of the host. *Appl Environ Microbiol*, 2006, 72: 6027–6033
- 43 Wolschin F, Holldobler B, Gross R, et al. Replication of the endosymbiotic Bacterium *Blochmannia floridanus* is correlated with the developmental and reproductive stages of its ant host. *Appl Environ Microbiol*, 2004, 70: 4096–4102
- 44 Stoll S, Feldhaar H, Gross R. Transcriptional profiling of the endosymbiont *Blochmannia floridanus* during different developmental stages of its holometabolous ant host. *Environ Microbiol*, 2009, 11: 877–888
- 45 Klein A, Schrader L, Gil R, et al. A novel intracellular mutualistic bacterium in the invasive ant *Cardiocondyla obscurior*. *ISME J*, 2016, 10: 376–388
- 46 Kozek W J, Rao R U. The discovery of *Wolbachia* in arthropods and nematodes—a historical perspective. *Issues Infect Diseases*, 2007, 5: 1–14
- 47 Russell J A. The ants (Hymenoptera: Formicidae) are unique and enigmatic hosts of prevalent *Wolbachia* (Alphaproteobacteria) symbionts. *Myrmecological News*, 2012, 16: 7–23

- 48 Frost C L, Fernández-Marín H, Smith J E, et al. Multiple gains and losses of *Wolbachia* symbionts across a tribe of fungus-growing ants. *Mol Ecol*, 2010, 19: 4077–4085
- 49 Wenseleers T, Ito F, Van Borm S, et al. Widespread occurrence of the microorganism *Wolbachia* in ants. *Proc R Soc Lond B*, 1998, 265: 1447–1452
- 50 Shoemaker D D, Ahrens M, Sheill L, et al. Distribution and prevalence of *Wolbachia* infections in native populations of the fire ant *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae). *Environ Entomol*, 2003, 32: 1329–1336
- 51 Ahrens M E, Shoemaker D. Evolutionary history of *Wolbachia* infections in the fire ant *Solenopsis invicta*. *BMC Evol Biol*, 2005, 5: 35
- 52 Wenseleers T, Sundström L, Billen J. Deleterious *Wolbachia* in the ant *Formica truncorum*. *Proc R Soc Lond B*, 2002, 269: 623–629
- 53 Russell J A, Goldman-Huertas B, Moreau C S, et al. Specialization and geographic isolation among *Wolbachia* symbionts from ants and lycaenid butterflies. *Evolution*, 2009, 63: 624–640
- 54 Ün Ç, Schultner E, Manzano-Marín A, et al. Cytoplasmic incompatibility between Old and New World populations of a tramp ant. *Evolution*, 2021, 75: 1775–1791
- 55 Cheng D, Chen S, Huang Y, et al. Symbiotic microbiota may reflect host adaptation by resident to invasive ant species. *PLoS Pathog*, 2019, 15: e1007942
- 56 Russell J A, Moreau C S, Goldman-Huertas B, et al. Bacterial gut symbionts are tightly linked with the evolution of herbivory in ants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 21236–21241
- 57 Itoh H, Jang S, Takeshita K, et al. Host-symbiont specificity determined by microbe-microbe competition in an insect gut. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116: 22673–22682
- 58 Kwong W K, Moran N A. Gut microbial communities of social bees. *Nat Rev Microbiol*, 2016, 14: 374–384
- 59 Suen G, Scott J J, Aylward F O, et al. An insect herbivore microbiome with high plant biomass-degrading capacity. *PLoS Genet*, 2010, 6: e1001129
- 60 Silva A, Bacci Jr M, Pagnocca F C, et al. Starch metabolism in *Leucoagaricus gongylophorus*, the symbiotic fungus of leaf-cutting ants. *Microbiol Res*, 2006, 161: 299–303
- 61 Mayhé-Nunes A J, Jaffé K. On the biogeography of Attini (Hymenoptera: Formicidae). *Ecotropicos*, 1998, 11: 45–54
- 62 Schultz T R, Brady S G. Major evolutionary transitions in ant agriculture. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 5435–5440
- 63 Schultz T R, Sosa-Calvo J, Brady S G, et al. The most relictual fungus-farming ant species cultivates the most recently evolved and highly domesticated fungal symbiont species. *Am Natist*, 2015, 185: 693–703
- 64 Vo T L, Mueller U G, Mikheyev A S. Free-living fungal symbionts (Lepiotaceae) of fungus-growing ants (Attini: Formicidae). *Mycologia*, 2009, 101: 206–210
- 65 Mueller U G, Kardish M R, Ishak H D, et al. Phylogenetic patterns of ant-fungus associations indicate that farming strategies, not only a superior fungal cultivar, explain the ecological success of leafcutter ants. *Mol Ecol*, 2018, 27: 2414–2434
- 66 De Fine Licht H H, Boomsma J J, Tunlid A. Symbiotic adaptations in the fungal cultivar of leaf-cutting ants. *Nat Commun*, 2014, 5: 5675
- 67 Rønheide S, Boomsma J J, Rosendahl S. Fungal enzymes transferred by leaf-cutting ants in their fungus gardens. *Mycol Res*, 2004, 108: 101–106
- 68 De Fine Licht H H, Schiøtt M, Rogowska-Wrzesinska A, et al. Laccase detoxification mediates the nutritional alliance between leaf-cutting ants and fungus-garden symbionts. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 583–587
- 69 Kooij P W, Rogowska-Wrzesinska A, Hoffmann D, et al. *Leucoagaricus gongylophorus* uses leaf-cutting ants to vector proteolytic enzymes towards new plant substrate. *ISME J*, 2014, 8: 1032–1040
- 70 Pinto-Tomás A A, Anderson M A, Suen G, et al. Symbiotic nitrogen fixation in the fungus gardens of leaf-cutter ants. *Science*, 2009, 326: 1120–1123
- 71 Mueller U G. Ant versus fungus versus mutualism: ant-cultivar conflict and the deconstruction of the attine ant-fungus symbiosis. *Am Natist*, 2002, 160: S67–S98
- 72 Ivens A B F, Nash D R, Poulsen M, et al. Caste-specific symbiont policing by workers of *Acromyrmex* fungus-growing ants. *Behav Ecol*, 2009, 20: 378–384
- 73 Poulsen M, Boomsma J J. Mutualistic fungi control crop diversity in fungus-growing ants. *Science*, 2005, 307: 741–744
- 74 Nygaard S, Zhang G, Schiøtt M, et al. The genome of the leaf-cutting ant *Acromyrmex echinator* suggests key adaptations to advanced social

- life and fungus farming. *Genome Res*, 2011, 21: 1339–1348
- 75 Nygaard S, Hu H, Li C, et al. Reciprocal genomic evolution in the ant-fungus agricultural symbiosis. *Nat Commun*, 2016, 7: 12233
  - 76 Mikheyev A S, Mueller U G, Boomsma J J. Population genetic signatures of diffuse co-evolution between leaf-cutting ants and their cultivar fungi. *Mol Ecol*, 2007, 16: 209–216
  - 77 Currie C R, Mueller U G, Malloch D. The agricultural pathology of ant fungus gardens. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 7998–8002
  - 78 Varanda-Haifig S S, Albarici T R, Nunes P H, et al. Nature of the interactions between hypocrealean fungi and the mutualistic fungus of leaf-cutter ants. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2017, 110: 593–605
  - 79 Marfátán J A, Romero A I, Folgarait P J. Pathogenic interaction between *Escovopsis weberi* and *Leucoagaricus* sp.: mechanisms involved and virulence levels. *Fungal Ecol*, 2015, 17: 52–61
  - 80 Heine D, Holmes N A, Worsley S F, et al. Chemical warfare between leafcutter ant symbionts and a co-evolved pathogen. *Nat Commun*, 2018, 9: 2208
  - 81 Batey S F D, Greco C, Hutchings M I, et al. Chemical warfare between fungus-growing ants and their pathogens. *Curr Opin Chem Biol*, 2020, 59: 172–181
  - 82 Mehdiabadi N J, Schultz T R. Natural history and phylogeny of the fungus-farming ants (Hymenoptera: Formicidae: Myrmicinae: Attini). *Myrmecol News*, 2009, 13: 37–55
  - 83 Gerardo N M, Mueller U G, Price S L, et al. Exploiting a mutualism: parasite specialization on cultivars within the fungus-growing ant symbiosis. *Proc R Soc Lond B*, 2004, 271: 1791–1798
  - 84 Currie C R, Wong B, Stuart A E, et al. Ancient tripartite coevolution in the attine ant-microbe symbiosis. *Science*, 2003, 299: 386–388
  - 85 Taerum S J, Cafaro M J, Little A E F, et al. Low host-pathogen specificity in the leaf-cutting ant-microbe symbiosis. *Proc R Soc B*, 2007, 274: 1971–1978
  - 86 Meirelles L A, Solomon S E, Bacci Mauricio J, et al. Shared *Escovopsis* parasites between leaf-cutting and non-leaf-cutting ants in the higher attine fungus-growing ant symbiosis. *R Soc Open Sci*, 2015, 2: 150257
  - 87 Seal J N, Schiött M, Mueller U G. Ant-fungal species combinations engineer physiological activity of fungus gardens. *J Exp Biol*, 2014, 217: 2540–2547
  - 88 Currie C R, Stuart A E. Weeding and grooming of pathogens in agriculture by ants. *Proc R Soc Lond B*, 2001, 268: 1033–1039
  - 89 Caldera E J, Poulsen M, Suen G, et al. Insect symbioses: a case study of past, present, and future fungus-growing ant research. *Environ Entomol*, 2009, 38: 78–92
  - 90 Currie C R, Scott J A, Summerbell R C, et al. Fungus-growing ants use antibiotic-producing bacteria to control garden parasites. *Nature*, 1999, 398: 701–704
  - 91 Andersen S B, Hansen L H, Sapountzis P, et al. Specificity and stability of the *Acromyrmex-Pseudonocardia* symbiosis. *Mol Ecol*, 2013, 22: 4307–4321
  - 92 Cafaro M J, Currie C R. Phylogenetic analysis of mutualistic filamentous bacteria associated with fungus-growing ants. *Can J Microbiol*, 2005, 51: 441–446
  - 93 Li H, Sosa-Calvo J, Horn H A, et al. Convergent evolution of complex structures for ant-bacterial defensive symbiosis in fungus-farming ants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115: 10720–10725
  - 94 Currie C R, Bot A N M, Boomsma J J. Experimental evidence of a tripartite mutualism: bacteria protect ant fungus gardens from specialized parasites. *Oikos*, 2003, 101: 91–102
  - 95 Poulsen M, Cafaro M J, Erhardt D P, et al. Variation in *Pseudonocardia* antibiotic defence helps govern parasite-induced morbidity in *Acromyrmex* leaf-cutting ants. *Environ Microbiol Rep*, 2010, 2: 534–540
  - 96 Zucchi T D, Guidolin A S, Cônsoli F L. Isolation and characterization of actinobacteria ectosymbionts from *Acromyrmex subterraneus brunneus* (Hymenoptera, Formicidae). *Microbiol Res*, 2011, 166: 68–76
  - 97 Stoll S, Gadau J, Gross R, et al. Bacterial microbiota associated with ants of the genus *Tetraponera*. *Biol J Linnean Soc*, 2007, 90: 399–412
  - 98 Anderson K E, Russell J A, Moreau C S, et al. Highly similar microbial communities are shared among related and trophically similar ant species. *Mol Ecol*, 2012, 21: 2282–2296
  - 99 Hu Y, Łukasik P, Moreau C S, et al. Correlates of gut community composition across an ant species (*Cephalotes varians*) elucidate causes and consequences of symbiotic variability. *Mol Ecol*, 2014, 23: 1284–1300

- 100 Billen J, Buschinger A. Morphology and ultrastructure of a specialized bacterial pouch in the digestive tract of *Tetraponera* ants (Formicidae, Pseudomyrmecinae). [Arthropod Structure Dev](#), 2000, 29: 259–266
- 101 Lanan M C, Rodrigues P A P, Agellon A, et al. A bacterial filter protects and structures the gut microbiome of an insect. [ISME J](#), 2016, 10: 1866–1876
- 102 Pringle E G. Convergence, constraint and the potential for mutualism between ants and gut microbes. [Mol Ecol](#), 2019, 28: 699–702
- 103 Roche R K, Wheeler D E. Morphological specializations of the digestive tract of *Zacryptocerus rohweri* (Hymenoptera: Formicidae). [J Morphol](#), 1997, 234: 253–262
- 104 Bution M L, Caetano F H. The midgut of *Cephalotes* ants (Formicidae: Myrmicinae): ultrastructure of the epithelium and symbiotic bacteria. [Micron](#), 2010, 41: 448–454
- 105 Bution M L, Caetano F H. Symbiotic bacteria and the structural specializations in the ileum of *Cephalotes* ants. [Micron](#), 2010, 41: 373–381
- 106 van Borm S, Buschinger A, Boomsma J J, et al. *Tetraponera* ants have gut symbionts related to nitrogen-fixing root-nodule bacteria. [Proc R Soc Lond B](#), 2002, 269: 2023–2027
- 107 Flynn P J, D'Amelio C L, Sanders J G, et al. Localization of bacterial communities within gut compartments across *Cephalotes* turtle ants. [Appl Environ Microbiol](#), 2021, 87: e02803
- 108 Sanders J G, Powell S, Kronauer D J C, et al. Stability and phylogenetic correlation in gut microbiota: lessons from ants and apes. [Mol Ecol](#), 2014, 23: 1268–1283
- 109 Hu Y, Sanders J G, Lukasik P, et al. Herbivorous turtle ants obtain essential nutrients from a conserved nitrogen-recycling gut microbiome. [Nat Commun](#), 2018, 9: 964
- 110 Duplais C, Sarou-Kanian V, Massiot D, et al. Gut bacteria are essential for normal cuticle development in herbivorous turtle ants. [Nat Commun](#), 2021, 12: 676
- 111 Bisch G, Neuvonen M M, Pierce N E, et al. Genome evolution of Bartonellaceae symbionts of ants at the opposite ends of the trophic scale. [Genome Biol Evol](#), 2018, 10: 1687–1704
- 112 Moreau C S. Symbioses among ants and microbes. [Curr Opin Insect Sci](#), 2020, 39: 1–5
- 113 Kautz S, Rubin B E R, Moreau C S. Bacterial infections across the ants: frequency and prevalence of *Wolbachia*, *Spiroplasma*, and *Asaia*. [Psyche-J Entomol](#), 2013, 2013: 1–11
- 114 Neuvonen M M, Tamarit D, Näslund K, et al. The genome of Rhizobiales bacteria in predatory ants reveals urease gene functions but no genes for nitrogen fixation. [Sci Rep](#), 2016, 6: 39197
- 115 Shimoji H, Itoh H, Matsuura Y, et al. Worker-dependent gut symbiosis in an ant. [ISME Commun](#), 2021, 1: 60
- 116 Kaltenpoth M, Engl T. Defensive microbial symbionts in Hymenoptera. [Function Ecol](#), 2014, 28: 315–327
- 117 Jing T Z, Qi F H, Wang Z Y. Most dominant roles of insect gut bacteria: digestion, detoxification, or essential nutrient provision? [Microbiome](#), 2020, 8: 38

## Research progress on ant symbiotic microorganisms

MA MingJie, ZHU BiRu & HU Yi

*MOE Key Laboratory for Biodiversity Science and Ecological Engineering, College of Life Sciences, Beijing Normal University, Beijing 100875, China*

Ants are one of the most abundant groups of terrestrial insects. The development of microscopy and sequencing technologies has gradually revealed that some ant groups have established long-term and stable symbiotic relationships with microorganisms. These ant groups are regarded as “symbiotic hotspots”. To understand the ecological and evolutionary effects of symbiotic microorganisms on ant diversity, this study summarizes the different microbial types of ant taxa in symbiotic hotspots and describes the diversity of symbiotic microorganisms in these taxa, the symbiont-mediated functions, and the mechanism of maintaining a mutually beneficial symbiotic relationship. The ant taxa in symbiotic hotspots usually live in specialized trophic niches, and these ants may use the diverse metabolic functions of symbiotic microorganisms to cope with the challenges of nutrient imbalance. Future research should expand the scope of the study species and include individuals from different castes. Functional verification experiments must be supplemented with genome sequencing and functional prediction of symbiotic microorganisms to continuously expand our understanding of the functions of ant symbiotic microorganisms. It is also necessary to investigate the timing of initial symbiont acquisition. The shared evolutionary history of ants and their diverse symbionts should be investigated with the aid of a high-resolution ant phylogenetic analysis to better understand the role of microorganisms in the evolution of Formicidae.

**ants, microorganisms, symbiotic hotspots, co-evolution**

**doi:** [10.1360/SSV-2022-0126](https://doi.org/10.1360/SSV-2022-0126)