



专论与综述

弓背蚁属蚂蚁初级内共生菌 *Blochmannia* 的研究进展

胡欣 贺虹*

西北农林科技大学林学院 西部森林生物灾害治理国家林业和草原局重点实验室 陕西 杨凌 712100

摘要: 昆虫与其体内细菌的互利共生关系是近十余年来生物学家关注的热点领域,也是研究物种间协同进化的理想模型。*Blochmannia* 是蚁科弓背蚁属 *Camponotus* 蚂蚁体内的初级内共生菌,作为最早被描述的动物与细菌之间的共生关系, *Blochmannia* 在帮助宿主蚂蚁合成食物中所缺少的必需营养物质、维持生长发育、繁殖和营养代谢等方面发挥重要作用。本文从 *Blochmannia* 的分布规律、母系传播、基因组特征及其功能等方面进行综述, 以期对相关研究提供参考和借鉴。

关键词: 蚂蚁, 弓背蚁, *Blochmannia*, 初级内共生菌, 互利共生

Primary endosymbiont *Blochmannia* in *Camponotus* ants: a review

HU Xin HE Hong*

Key Laboratory of National Forestry and Grassland Administration on Management of Forest Bio-Disaster, College of Forestry, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China

Abstract: The mutualism between insects and bacteria, which is an ideal model to study the co-evolution between species, is arousing strong interest from biologists in the recent decade. *Blochmannia* is the primary endosymbiont in *Camponotus* ants of *Formicidae*, and represents the earliest described endosymbiosis between animals and bacteria. *Blochmannia* is essential for supplementing the nutrients lacking in the host diet, and also plays a key role in maintaining the development and growth, reproduction and nutrition metabolism for the host ants. In our paper, the research progress of the localization, maternal transmission, genomics and functions of *Blochmannia* are reviewed, which hopefully will provide references for the related research.

Keywords: Ants, *Camponotus*, *Blochmannia*, Primary endosymbionts, Mutualism

蚂蚁是进化最为成功的社会性昆虫, 占据多样的生态位, 与其他动物、植物、微生物等建立了密切的联系, 对于维持生态系统的稳定性和物质能量流动发挥重要作用^[1-4]。弓背蚁属 (*Camponotus*) 是蚁科 (*Formicidae*) 的第二大属, 全

世界已知 1 496 种^[5], 通常在树洞、树干或地下筑巢, 可以取食蚜虫分泌的蜜露、小型节肢动物和一些森林害虫, 被认为是杂食性昆虫^[6]。在该类群蚂蚁的中肠肠壁细胞中普遍存在初级内共生菌 *Blochmannia*, 并以垂直传播的方式母系传播, 这

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (31070342, 31570388); Fundamental Research Funds for the Central University (2452019174)

*Corresponding author: E-mail: hehong@nwsuaf.edu.cn

Received: 06-01-2020; **Accepted:** 04-05-2020; **Published online:** 25-05-2020

基金项目: 国家自然科学基金(31070342, 31570388); 中央高校基本科研业务费专项资金(2452019174)

*通信作者: E-mail: hehong@nwsuaf.edu.cn

收稿日期: 2020-01-06; 接受日期: 2020-05-04; 网络首发日期: 2020-05-25

也是迄今发现与蚁科昆虫形成协同进化关系的唯一初级内共生菌^[7]。

Blochmannia 是最早被描述的细菌与动物之间的内共生关系, 自 1882 年首次发现至今, *Blochmannia* 和弓背蚁属蚂蚁之间的专性共生特征, 已成为研究微生物与昆虫互利共生关系的理想模型之一, 也是人们探索蚂蚁和微生物之间关系的典型范例^[8-9]。随着基因组学、蛋白质组学、代谢组学等技术的不断发展, 有关弓背蚁属蚂蚁初级内共生菌 *Blochmannia* 的研究日趋深入。本文将从 *Blochmannia* 的分布、传播、基因组学以及功能等方面进行综述, 旨在为了解其共生关系和研究进展提供借鉴。

目前由于大部分昆虫的内共生菌还不能在人工培养基上生长, 仅是通过分子生物学的手段发现存在于昆虫体内, 分类学家为了方便研究临时建立了一个新属“*Candidatus*”用来放置这些特殊的微生物类群^[10], 并对这类共生菌的命名进行了特殊规定。在此对文后出现的一些拉丁学名的特殊格式进行说明, 便于读者理解。如“*Candidatus Blochmannia*”表示内共生菌 *Blochmannia*; “*Candidatus Blochmannia ligniperdus*”或“*Blochmannia ligniperdus*”指毁木弓背蚁 *Camponotus ligniperdus* 的内共生菌 *Blochmannia*, 其他弓背蚁内共生菌的拉丁学名书写格式类似。

1 *Blochmannia* 的基本特征

1.1 *Blochmannia* 的分布

Blochman^[7]于 1882 年在 *Camponotus ligniperdus* 中首次报道了胞内共生菌 *Blochmannia*, 随后, 在弓背蚁属的其他已知种类中都发现了该种初级内共生菌的分布^[11], 其与宿主蚂蚁形成明显的协同进化关系, 具有至少四千万年的进化历史^[12-13]。

通过对 *Blochmannia* 的 16S rRNA 基因序列的分析, 确定其与蚜虫的初级内共生菌 *Buchnera* 及其他昆虫的内共生菌一样, 都隶属于变形菌门 (*Proteobacteria*) γ -变形菌纲 (*Gammaproteobacteria*)

的 $\gamma 3$ 亚群肠杆菌科 (*Enterobacteriaceae*), 为革兰氏阴性菌^[14-15]。Schröder 等^[12]对分布于不同地理区域的 4 种弓背蚁(德国的 *C. herculeanus* 和 *C. ligniperdus*, 北美的 *C. floridanus*, 南美的 *C. rufipes*)共生菌 *Blochmannia* 的 16S rRNA 基因序列进行分析比对, 系统发育树显示 4 种弓背蚁的 *Blochmannia* 形成两个小的分支(美洲的 *C. floridanus* 和 *C. rufipes*; 德国的 *C. herculeanus* 和 *C. ligniperdus*), 具有明显的地理分布特征。Sauer 等^[11]扩展了这一分析, 研究了欧洲和美洲的 13 种弓背蚁与其初级内共生菌 *Blochmannia* 的系统发育关系, 结果表明, 宿主蚂蚁和内共生菌协同进化的过程高度同步, 具有并行进化的趋势且支持母系传播途径, *Blochmannia* 的序列特征可以作为弓背蚁分类的一个重要依据。Wernegreen 等^[16]进一步研究确认 *Blochmannia* 广泛分布于弓背蚁族 (*Camponotini*) 3 个属 *Calomyrmex*、*Echinopla* 和 *Opisthopsis* 中; 系统发育关系显示 *Blochmannia* 和半翅目昆虫(如粉虱、蚜虫和木虱)的内共生菌聚在一个分支, 尤其与粉虱的次级内共生菌亲缘关系最近, 提出该类蚂蚁的祖先可能通过吸食半翅目昆虫的蜜露而获得 *Blochmannia*。

Blochman^[7]首次应用透射电镜技术, 发现 *Blochmannia* 存在于 *C. ligniperdus* 的中肠上皮细胞间的菌胞以及卵巢中, 为长杆状的革兰氏阴性菌。Sauer 等^[17]再次利用组织切片和电镜技术研究了 *C. floridanus* 不同发育阶段 *Blochmannia* 的分布, 发现 *Blochmannia* 分布于工蚁、带翅处女蚁后和雄蚁的中肠上皮细胞间的菌胞中, 这些菌胞自由分布在宿主蚂蚁细胞的细胞质中, 没有明显的膜结构; 在工蚁和蚁后的卵巢中, *Blochmannia* 仅分布于卵母细胞中, 与卵母细胞相连的其他细胞中未发现; 与处女蚁后相比, 生存几年以上的蚁后尽管卵巢中分布有大量的 *Blochmannia*, 但在其中肠肠壁细胞的菌胞中 *Blochmannia* 的含量已非常低或消失; 在雄蚁的输精管中偶然检测到

Blochmannia 的分布,但在刚交配蚁后的受精囊中却未发现,证明了 *Blochmannia* 的母系垂直传播;在卵中,*Blochmannia* 主要位于卵中部的一个环状结构,该结构在发育的后期形成中肠;在幼虫发育早期,菌胞通常出现在中肠肠壁细胞底膜外侧,而到成虫阶段菌胞分布比较多变,偶尔也会出现在中肠肠腔中。

Wolschin 等^[18]利用实时荧光定量 PCR 方法揭示了 *C. floridanus* 不同发育阶段 *Blochmannia* 相关基因(*dnaX* 和 *gyrB*)拷贝数的变化规律,结果发现从卵到 2 龄幼虫发育阶段 *dnaX* 基因拷贝数呈一个数量级的降低,从 10^7 减少到 10^6 个,而在化蛹后,其数量呈 10 倍快速增加,随后在即将羽化的蛹期基因拷贝数出现第二个高峰期,并在初羽化工蚁体内达到最高值;随着工蚁年龄的增加,细菌基因拷贝数开始减少,在年老工蚁体内减少至 10^6 个;在雄蚁中也观察到这种随着年龄增加,细菌数量出现衰退的现象;共生菌的 *gyrB* 基因研究也呈现类似规律。

Stoll 等^[19]利用激光共聚焦显微镜观察了 *C. floridanus* 从幼虫、蛹到成虫发育阶段 *Blochmannia* 的分布和动态变化规律,结果发现在低龄幼虫阶段(小于 2 mm),中肠肠壁细胞的外层含有大量的菌胞,而靠近肠腔的部分则无分布;到高龄幼虫(大小 2–4 mm)阶段,肠壁细胞外层的菌胞层消解,形成分散的菌胞群,镶嵌在中肠肠壁细胞间,在靠近肠腔的部分仍无分布,这种状态一直持续到化蛹初期;在化蛹中期,随着幼虫肠道脱落,胎便排出,此时 *Blochmannia* 充满菌胞,宿主中肠完全由菌胞组成,整个中肠成为一个共生器官;在蛹的后期,中肠仍然被菌胞占据,但也出现了不含菌胞的中肠细胞,至刚羽化的成虫阶段,不含菌胞的中肠细胞开始大量增加,菌胞的数量和分布开始减少。因此,在从幼虫经历蛹到成虫的变态过程中,尽管中肠组织发生解体和重

组,但含有 *Blochmannia* 的菌胞一直存在,其分布和数量具有明显的动态迁移变化,在寄主的变态发育中发挥重要作用。

1.2 *Blochmannia* 的垂直传播途径

Kupper 等^[20]利用荧光原位杂交和透射电镜技术观察了 *C. floridanus* 卵巢中 *Blochmannia* 的分布和传播模式,结果显示,卵巢管顶端生殖区的干细胞中未检测到 *Blochmannia*;当包囊细胞分裂 4–5 次时,在卵巢管周围基底膜的体壁细胞检测到 *Blochmannia*;随着包囊细胞分化,其中一个包囊细胞会比其他细胞生长更快而成为卵母细胞,其余发育为营养细胞,在这个过程中,干细胞、包囊细胞、营养细胞等都未检测到 *Blochmannia*,但所有卵泡细胞都被 *Blochmannia* 感染,随后迁移到卵母细胞周围形成紧密层,并不断向生长中的卵母细胞传递。因此卵母细胞是唯一被 *Blochmannia* 感染的细胞,随着卵母细胞生长的结束,*Blochmannia* 最终转移到卵母细胞的后极,该研究表明 *Blochmannia* 通过感染卵母细胞确保了其在宿主中的垂直传播。

2 *Blochmannia* 的基因组研究

截至目前已有 3 种弓背蚁的 *Blochmannia* 基因组完成测序,基因组的注释使人们能够清楚地了解其基因组特征并推测其功能。与其他昆虫的共生菌一样,*Blochmannia* 为了适应内共生活,其基因组向缩减方向进化。Wernegreen 等^[21]首次利用脉冲电场凝胶电泳(pulsed field gel electrophoresis, PFGE)方法估算了 *C. pennsylvanicus* 体内 *Blochmannia* 的基因组大小,约在 790–813 kb 之间,仅有维持其生命必需的最小基因组。Gil 等^[22]的测序中发现 *B. floridanus* 基因组由 705 557 bp 的环状染色体组成,而 *B. pennsylvanicus* 基因组中包含 791 654 bp^[11],但它们与大多数内共生菌相似,其体内未发现质粒,(G+C)mol% 平均含量为 27.4%,99.3% 的编码序列在大肠杆菌中具有

表 1 佛罗里达弓背蚁内共生菌 *Blochmannia* 与其他昆虫共生菌以及大肠杆菌基因组特征比较Table 1 Comparison of genome features among *Blochmannia floridanus*, other insect endosymbionts and *E. coli*

Features	<i>B. floridanus</i>	<i>Wigglesworthia glossinidia</i>	<i>Buchnera aphidicola</i>			<i>Escherichia coli</i> K12
			<i>Baizongia pistacea</i>	<i>Schizaphis graminum</i>	<i>Acyrtosiphon pisum</i>	
Chromosome size (bp)	705 557	697 724	615 980	641 454	640 681	4 639 221
Plasmids number	0	1	1	2	2	0
(G+C)mol% content total	27.4	22.0	25.3	26.3	26.2	50.8
Total gene number	625	661	553	629	621	4 550
ORFs	583	619	507	554	571	4 284
rRNAs	3	6	3	3	3	22
tRNAs	37	34	32	32	32	86
RNAs	2	2	2	2	2	8
Protein-coding region (%)	83.2	89.0	80.9	83.1	86.7	87.8
Average length CDS (bp)	1 007	988	996	979	984	950

注: 资料来源于 Gil 等^[22]和 Degnan 等^[13].

Note: Data from Gil et al^[22] and Degnan et al^[13].

同源性(表 1)。Williams 等^[23]对 *C. vafer* 体内的 *Blochmannia* 基因组进行测序, 发现 *B. vafer* 是除豚原体外迄今为止唯一能编码脲酶的细菌, 但其缺乏将氨同化为谷氨酰胺或谷氨酸的能力。3 种弓背蚁内共生菌 *Blochmannia* 基因组特征比较见表 2。

3 *Blochmannia* 的功能

3.1 *Blochmannia* 的营养功能

C. floridanus 的 *Blochmannia* 全基因组序列分析表明^[21], *B. floridanus* 参与了大多数对宿主生存必需氨基酸的生物合成途径, 其含有完整的脲酶

表 2 3 种弓背蚁内共生菌 *Blochmannia* 的基因组特征比较Table 2 Comparison of genome features among *Blochmannia* in three *Camponotus* species

Features	<i>B. floridanus</i>	<i>B. pennsylvanicus</i>	<i>B. vafer</i>
Chromosome size (bp)	705 557	791 654	722 593
(G+C)mol% content total	27.4	29.6	27.5
Total gene number	637	659	631
rRNAs	3	3	3
tRNAs	37	40	37
Protein-coding genes	590	610	587
Average length CDS (bp)	1 002	995	1 006
Percent protein-coding (%)	83.9	76.7	81.7
Percent coding (inc.RNA) (%)	85.0	77.8	82.9

注: 资料来源于 Williams 等^[23].

Note: Data from Williams et al^[23].

基因簇, 可以将宿主体内的尿素水解成 CO_2 和氨, 又通过编码谷氨酰胺合成酶使氨得到循环利用, 防止宿主体内有氨的积累; *B. floridanus* 缺失精氨酸生物合成途径的主要部分, 但包含鸟氨酸循环途径, 有助于精氨酸的生物合成和降解; *B. floridanus* 还保留了还原硫酸盐途径所需的酶, 含有 *cysUWA* 操纵子, 编码 ABC 型硫酸盐载体, 因此, 即使以低硫食物为食, *B. floridanus* 也能够有效吸收微量的硫酸盐, 供宿主蚂蚁利用。此外, *B. floridanus* 不仅能够合成宿主所需的嘌呤和必需氨基酸, 还拥有编码糖酵解酶的完整基因簇, 参与了糖酵解通路, 可以降解利用葡萄糖和甘露糖, 但其缺乏参与糖异生途径的必需基因 (*PckA*、*fbp*), 不能参与糖异生途径^[8]。

Feldhaar 等^[24]利用人工饲料添加抗生素饲喂 *C. floridanus* 工蚁, 结果显示, 在无抗生素处理组, 喂食缺乏所有宿主必需氨基酸的化学合成饲料, 其巢内化蛹数量与对照组一样多; 在抗生素处理组, 饲料中添加必需氨基酸后, 工蚁体内 *Blochmannia* 数量的减少并不影响幼虫化蛹数量; 相反, 当 *Blochmannia* 大量减少, 而且食物中必需氨基酸也缺乏时, 巢内幼虫几乎不能正常化蛹, 因此, *Blochmannia* 可以弥补食物来源中缺乏必需氨基酸的不足; 此外, 作者还利用含 ^{15}N 同位素标记的尿素饲喂蚂蚁, 从血淋巴中的非必需

氨基酸中检测到¹⁵N,也可以追踪到对宿主必需的甲硫氨酸和苯丙氨酸中,证明从尿素到血淋巴中的氨基酸发生了有效的氮转移,验证了 *B. floridanus* 能为其宿主提供必需氨基酸的假设。

Fan 等^[25]首次对 *C. chromaiodes* 弓背蚁体内的 *Blochmannia* 进行定量蛋白质组学分析,识别出 46 个氨基酸合成基因,10 个参与核苷酸(嘌呤和嘧啶)生物合成的基因,其中参与必需氨基酸、脂肪酸和核苷酸生物合成的基因以及硫酸盐同化的基因在该内共生菌的蛋白质组中具有较高的覆盖率,进一步支持了 *Blochmannia* 为宿主提供营养物质的功能。

3.2 *Blochmannia* 的其他功能

一些研究表明 *Blochmannia* 还具有增强宿主的免疫能力及促进种群生长的非营养代谢方面的功能。

Zientz 等^[26]采用实时荧光定量 PCR 技术研究了 *C. floridanus* 不同发育阶段内共生菌 *Blochmannia* 相关基因的表达,这些基因包括一组与氮代谢相关的基因(*UreC*、*UreF*、*GlnA*、*SpeB*)以及参与合成芳香族氨基酸(酪氨酸)的基因,研究表明:在发育的早期阶段,*Blochmannia* 整体含量较低,但随宿主蚂蚁年龄的增长而逐渐增加,与氮代谢相关的基因表达可以在整个化蛹过程中检测到,而与酪氨酸生物合成途径相关的基因表达仅在化蛹的短时间内升高,表明 *Blochmannia* 主要在化蛹阶段表现出重要的代谢功能;此外,通过对 *C. floridanus* 工蚁的饲养试验,以成功育成 1 龄幼虫作为指标,与对照组相比,抗生素处理组在繁殖后代方面的成功率显著降低,表明这种共生关系与整个蚂蚁群体的发育密切相关。

de Souza 等^[27]利用荧光原位杂交 FISH (fluorescence in situ hybridization)和实时荧光定量 PCR 技术研究喂食抗生素后 *C. fellah* 体内 *Blochmannia* 含量的变化及对蚁群发育的影响,结果表明,喂食利福平会降低宿主蚂蚁肠道内

Blochmannia 的数量,并对蚂蚁种群的发育产生显著的影响,导致幼虫和工蚁的数量减少;研究者们认为 *Blochmannia* 的存在可能意味着蚂蚁对可利用蛋白质食物波动变化的一种适应,即使在没有食物的情况下,也能保证蚁群的正常生长,在种间和种内竞争背景下,拥有更多的内共生菌可以使工蚁在维持种群生长、占领和垄断食物资源等方面具有特殊优势。

de Souza 等^[9]通过饲喂抗生素(利福平)消除 *C. fellah* 工蚁体内的 *Blochmannia* 后,在光学显微镜下测量蚂蚁角质层的平均灰度值,发现 *Blochmannia* 含量的减少会大大增加工蚁表皮黑色素的含量,提高表皮的黑化程度;这表明 *Blochmannia* 与宿主蚂蚁角质层的黑色素形成密切相关,蚂蚁可以通过增加角质层黑化的生理反应来弥补 *Blochmannia* 缺失造成的免疫力降低,从而减少宿主蚂蚁受到病原体侵染的几率。

Fan 等^[28]用热敏感实验测定了 *Blochmannia* 与两种弓背蚁(*C. pennsylvanicus* 和 *C. chromaiodes*)耐热性的关系,通过实时反转录 PCR (RT-qPCR)技术检测了高温处理后工蚁体内 *Blochmannia* 含量的变化,结果发现经过 4 周 37.7 °C 的高温处理,*Blochmannia* 在工蚁和带翅雌蚁体内的含量明显降低,揭示了其对高温的敏感性;热处理虽然没有增加它们的死亡率,但它们感受到了明显的生理压力,带翅雌蚁大量脱翅,工蚁聚集于潮湿区域;如果在实验过程中没有这些潮湿区域,工蚁在高温下的死亡率会明显增加,这意味着 *Blochmannia* 未表现出能适应温度变化的特性。

本课题组利用多种方法研究日本弓背蚁肠道菌群的结果也表明,*Blochmannia* 是工蚁中肠的优势菌群,占比达到 92%以上,其他细菌种类所占的比例较低^[29];不同季节的变化幅度为 67.1%–98.8%^[30],并且发现 *Blochmannia* 也分布于嗉囊和后肠^[31]。我们在对北美分布的纤弱弓背蚁 *C. fragilis* 肠道菌群的研究中也发现了类似的结果,野外种群工蚁的肠道菌群中 *Blochmannia* 的

占比达到 100%，尽管室内饲养对喙囊菌群组成产生一定影响，但对中肠的优势菌群 *Blochmannia* 无影响，占比依然高达 89.8%^[32]。近期，我们利用高通量测序的方法发现，*Blochmannia* 不仅分布于日本弓背蚁的中肠和喙囊，而且还分布于颊下囊、头部其他组织(摘除颊下囊)、胸部以及腹部不包括喙囊和中肠的其他组织中，这意味着 *Blochmannia* 可能存在某种迁移途径或者特殊的分布模式^[33]。总之，日本弓背蚁中肠以 *Blochmannia* 为主的简单菌群组成，似乎表明 *Blochmannia* 不仅完全占据了中肠的肠壁细胞，并且可阻止其他微生物在肠腔中的定殖，对于保护弓背蚁的肠道健康具有重要的作用，但这种维持机制还不清楚。

4 结语

总之，*Blochmannia* 不仅能为弓背蚁补充食物中缺乏的必需营养物质，而且影响蚂蚁个体发育、巢群繁殖、免疫及对环境的适应能力，并且 *Blochmannia* 通过自身基因组的缩减，降低自身代谢能力、信号转导和基因调控能力，只保留了与宿主共生相关的通路，与宿主蚂蚁形成密切的共生关系。

尽管随着 3 种弓背蚁内共生菌 *Blochmannia* 全基因组测序的完成，使得我们能够基于大量的序列数据来探讨 *Blochmannia* 的起源及其与宿主蚂蚁间的共生关系，并推测其相关功能。但是对于其他大部分弓背蚁的 *Blochmannia* 基因组数据还很缺乏，对于 *Blochmannia* 在不同弓背蚁种类中的传播方式及其与宿主体细胞相互作用的机制还需深入研究。此外，弓背蚁被认为是杂食性的蚂蚁种类，不同于饮食不均衡的半翅目昆虫，*Blochmannia* 和弓背蚁中的共生关系，应该也与该类群蚂蚁种类丰富、食性广泛、竞争力强具有密切联系。目前一些学者虽采用抗生素饲喂实验验证了 *Blochmannia* 的部分功能，但是其与弓背蚁共生关系中潜在的其他功能仍有待于进一步探索和挖掘。

REFERENCES

- [1] Davidson DW, Cook SC, Snelling RR, et al. Explaining the abundance of ants in lowland tropical rainforest canopies[J]. *Science*, 2003, 300(5621): 969-972
- [2] Eilmus S, Heil M. Bacterial associates of arboreal ants and their putative functions in an obligate ant-plant mutualism[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(13): 4324-4332
- [3] He H, Wang YG, Nan XN, et al. Progress in the study of relationship between ants and fungi[J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2009, 45(10): 141-147 (in Chinese)
贺虹, 王云果, 南小宁, 等. 蚂蚁和真菌关系的研究进展[J]. *林业科学*, 2009, 45(10): 141-147
- [4] Kautz S, Rubin BFR, Russel JA, et al. Surveying the microbiome of ants: comparing 454 pyrosequencing with traditional methods to uncover bacterial diversity[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2013, 79(2): 525-534
- [5] California Academy of Science. AntWeb. version 8.31[EB/OL]. San Francisco, CA: California Academy of Science, 2020-01-05. <https://www.antweb.org>
- [6] Wu J, Wang CL. The Ants of China[M]. Beijing: China Forestry Publishing House, 1995 (in Chinese)
吴坚, 王常禄. 中国蚂蚁[M]. 北京: 中国林业出版社, 1995
- [7] Blochmann F. Über das vorkommen von bakterienähnlichen gebilden in den gewebe und eiern verschiedener insekten[J]. *Zentbl Bakteriol*, 1882, 11: 234-240
- [8] Zientz E, Dandekar T, Gross R. Metabolic interdependence of obligate intracellular bacteria and their insect hosts[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2004, 68(4): 745-770
- [9] de Souza DJ, Devers S, Lenoir A. *Blochmannia* endosymbionts and their host, the ant *Camponotus fellah*: cuticular hydrocarbons and melanization[J]. *Comptes Rendus Biologies*, 2011, 334(10): 737-741
- [10] Konstantinidis KT, Rosselló-Móra R. Classifying the uncultivated microbial majority: a place for metagenomic data in the *Candidatus* proposal[J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 2015, 38(4): 223-230
- [11] 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.[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2000, 50(5): 1877-1886
- [12] Schröder D, Deppisch H, Obermayer M, et al. Intracellular endosymbiotic bacteria of *Camponotus* species (carpenter ants): systematics, evolution and ultrastructural characterization[J]. *Molecular Microbiology*, 1996, 21(3): 479-489

- [13] Degnan PH, Lazarus AB, Wernegreen JJ. Genome sequence of *Blochmannia pennsylvanicus* indicates parallel evolutionary trends among bacterial mutualists of insects[J]. *Genome Research*, 2005, 15(8): 1023-1033
- [14] Canbäck B, Tamas I, Andersson SGE. A phylogenomic study of endosymbiotic bacteria[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2004, 21(6): 1110-1122
- [15] Belda E, Moya A, Silva FJ. Genome rearrangement distances and gene order phylogeny in γ -*Proteobacteria*[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2005, 22(6): 1456-1467
- [16] Wernegreen JJ, Kauppinen SN, Brady SG, et al. One nutritional symbiosis begat another: Phylogenetic evidence that the ant tribe Camponotini acquired *Blochmannia* by tending sap-feeding insects[J]. *BMC Evolutionary Biology*, 2009, 9: 292
- [17] Sauer C, Dudaczek D, Hölldobler B, et al. Tissue localization of the endosymbiotic bacterium “*Candidatus Blochmannia floridanus*” in adults and larvae of the carpenter ant *Camponotus floridanus*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, 68(9): 4187-4193
- [18] Wolschin F, Hölldobler B, Gross R, et al. Replication of the endosymbiotic bacterium *Blochmannia floridanus* is correlated with the developmental and reproductive stages of its ant host[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(7): 4096-4102
- [19] Stoll S, Feldhaar H, Fraunholz MJ, et al. Bacteriocyte dynamics during development of a holometabolous insect, the carpenter ant *Camponotus floridanus*[J]. *BMC Microbiology*, 2010, 10: 308
- [20] Kupper M, Stigloher C, Feldhaar H, et al. Distribution of the obligate endosymbiont *Blochmannia floridanus* and expression analysis of putative immune genes in ovaries of the carpenter ant *Camponotus floridanus*[J]. *Arthropod Structure & Development*, 2016, 45(5): 475-487
- [21] Wernegreen JJ, Lazarus AB, Degnan PH. Small genome of *Candidatus Blochmannia*, the bacterial endosymbiont of *Camponotus*, implies irreversible specialization to an intracellular lifestyle[J]. *Microbiology*, 2002, 148(8): 2551-2556
- [22] Gil R, Silva FJ, Zientz E, et al. The genome sequence of *Blochmannia floridanus*: comparative analysis of reduced genomes[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2003, 100(16): 9388-9393
- [23] Williams LE, Wernegreen JJ. Unprecedented loss of ammonia assimilation capability in a urease-encoding bacterial mutualist[J]. *BMC Genomics*, 2010, 11: 687
- [24] Feldhaar H, Straka J, Krischke M, et al. Nutritional upgrading for omnivorous carpenter ants by the endosymbiont *Blochmannia*[J]. *BMC Biology*, 2007, 5: 48
- [25] Fan YL, Thompson JW, Dubois LG, et al. Proteomic analysis of an unculturable bacterial endosymbiont (*Blochmannia*) reveals high abundance of chaperonins and biosynthetic enzymes[J]. *Journal of Proteome Research*, 2013, 12(2): 704-718
- [26] 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[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(9): 6027-6033
- [27] de Souza DJ, Bézier A, Depoix D, et al. *Blochmannia* endosymbionts improve colony growth and immune defence in the ant *Camponotus fellah*[J]. *BMC Microbiology*, 2009, 9: 29
- [28] Fan YL, Wernegreen JJ. Can't take the heat: high temperature depletes bacterial endosymbionts of ants[J]. *Microbial Ecology*, 2013, 66(3): 727-733
- [29] He H, Chen YY, Zhang YL, et al. Bacteria associated with gut lumen of *Camponotus japonicus* Mayr[J]. *Environmental Entomology*, 2011, 40(6): 1405-1409
- [30] Xu Y, Nan XN, Wei C, et al. Seasonal characteristics of gut bacterial communities associated with carpenter ant *Camponotus japonicus* (Hymenoptera: Formicidae)[J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2016, 59(6): 632-640
- [31] Li XP, Nan XN, Wei C, et al. The gut bacteria associated with *Camponotus japonicus* Mayr with culture-dependent and DGGE methods[J]. *Current Microbiology*, 2012, 65(5): 610-616
- [32] He H, Wei C, Wheeler DE. The gut bacterial communities associated with lab-raised and field-collected ants of *Camponotus fragilis* (Formicidae: Formicinae)[J]. *Current Microbiology*, 2014, 69(3): 292-302
- [33] Zhang KX, Wei C, Nan XN, et al. Composition and diversity of microbes in the infrabuccal pocket of *Camponotus japonicus* (Hymenoptera: Formicidae)[J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2018, 61(6): 686-697 (in Chinese)
- 张凯旋, 魏琮, 南小宁, 等. 日本弓背蚁颊下囊微生物的组成及多样性[J]. *昆虫学报*, 2018, 61(6): 686-697