

科技前沿

昆虫与生物质能源利用: 一个新的交叉学科前沿

孙建中* 陈春润

(江苏大学环境学院, 江苏大学生物质能源研究所, 镇江 212013)

Cellulolytic insects and their potentials for viable biofuels: a new frontier discipline in Entomology and Bioengineering. SUN Jian-Zhong*, CHEN Chun-Run (*Biofuels Institute, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China*)

Abstract Most insects are unable to use plant cell walls as their main food sources, but some insects subsist on lignocellulosic biomass from agricultural crops to forest woody substrates as their only foods, such as in the case of termites (all seven families), wood-feeding roaches (Blattidae, Cryptoceridae), beetles (Anobiidae, Buprestidae, Cerambycidae, Scarabaeidae), wood wasps (Siricidae), leaf-shredding aquatic insects (Pteronarcidae, Limnephilidae, Tipulidae), silver fish (Lepismatidae), leaf-cutting ants (Formicidae), etc. The ability of these insects to feed on wood, foliage and detritus has recently stimulated extensive investigations into the mechanisms of how these insects digest the structural and recalcitrant lignocellulose in their foods. With these studies, scientists would possibly advance biofuel technologies with the discovery of novel lignocellulolytic enzymes and a better understanding of the bioconversion mechanisms that breakdown plant cell walls inside the insect's gut. Producing monomeric sugars from cellulose or hemicellulose with high yields and low cost is far more difficult than deriving them from sugar- or starch-containing crops. This difficulty is primarily due to a lack of efficient and economic lignocellulolytic enzymes that convert rigid plant cell walls to their monomeric pentose and hexose sugar subunits. However, cellulolytic insects, especially wood-feeding termites, are a unique group of lignocellulose-feeding animals exhibiting incredible wood degradation capabilities, which accomplish lignocellulose digestion using specialized gut physiology, endogenously produced digestive enzymes, and via their specialized association with prokaryotic and eukaryotic gut symbionts. It is believed that the guts of these lignocellulose-feeding insects harbor diverse symbiotic microbes and endogenous enzymes that could be used as a rich source of lignocellulases as well as functional gene resources for improving the conversion of wood or waste plant biomass to valuable biofuels. Thus, as a frontier and emerged discipline crossing entomology and bioengineering science, utilization of lignocellulose-feeding insects would be very valuable for viable biofuels production made from lignocellulosic biomass. Clearly, understanding the mechanisms of the biomass digestion in these insect guts could potentially shed light on efficient, low cost, lignocellulose-based biofuel production systems. This mini-review addresses various lignocellulolytic systems, the potential values, various challenges, and opportunities that exist for investigating lignocellulose-feeding insects in biofuels production, as well as possible future research directions.

Key words lignocellulose-feeding insects, biomass, biofuels, biocatalysis and biodegradation, wood-feeding termites

* 通讯作者, E-mail: jzsun1002@ujs.edu.cn

收稿日期: 2010-11-08, 修回日期: 2010-11-15

摘 要 昆虫与生物质能源利用密切相关。这些昆虫包括白蚁类、甲虫类、树蜂类、食叶类水生昆虫、衣鱼类、大蚊类等。它们能在树木、枯枝以及落叶上生活,并具有了相当可观的降解和转化木质纤维素的能力,是自然界中协助进行碳循环的一类重要节肢动物。近几年来,这些昆虫独特的肠道消化能力以及它们的生物质催化转化系统已引起了科学家和研究人员的极大兴趣,希望能通过发现新的降解木质纤维素的酶及酶系统、掌握相关的这些酶的表达和其功能控制基因、并能解开昆虫肠道的消化及其相关机制的谜;更高效的降解和转化植物细胞壁中的碳水化合物并用来生产不同种类的生物能源或生物基材料。目前,对这类昆虫高效降解木质纤维素能力的认识和相关降解机制的研究已发展成为一个与生物质能源应用密切相关的新兴研究领域,成为新的交叉学科前沿。本文将简要讨论这类昆虫消化木质纤维素的几种不同作用机制、共生微生物与昆虫所产生的不同木质纤维素酶以及相互间的协同作用的基础上,还探讨了当前第二代生物质能源研究与开发中所面临的主要挑战、消化木质纤维素类昆虫,特别是白蚁所处的独特地位、潜在的科学和应用价值,以及今后的主要研究方向。

关键词 利用木质纤维素的昆虫,生物质,生物质能源,生物催化与生物降解,食木白蚁

昆虫是地球上最大的一类生物群体,具有一百多万种食性各异的不同种类。虽然它们中的大多数是以植物为食,但是,多数种类的昆虫却不能有效地消化和利用植物中的主要成分——木质纤维素,而是以取食新鲜植物中细胞质内含物为主要食物来源(Cytoplasm-eaters)。然而,一些昆虫种类,如食木白蚁、食木天牛等,参与了地球上植物木质纤维素碳循环和大量的生物质降解的过程(Plant cell wall-eaters)。这些消化木质纤维素类昆虫,在生态学、生物学、生物工程等许多学科领域均具有极其重要的科学意义和应用价值^[1]。

目前,能源短缺和环境污染是当前人类面临的重大挑战,解决这两大问题是我国实现可持续发展、提高生活质量、保障国家能源安全的迫切需要。以植物木质纤维素为代表的生物质资源在解决能源和环境问题方面有着巨大的潜力,在地球上储量丰富,而且可持续再生,与环境相容性好,是人类未来理想的资源和能源^[2]。因此,生物质利用的研究与开发已成为我国经济可持续发展的重大战略选择,而攻克生物质利用中高效、经济性转化的科学难题,亦是当前国际生物质利用领域的重大前沿科学探索之一,在科学和应用层面上均具有重大意义和深远的影响。

生物质利用的关键是将木质纤维素聚合大分子降解成可用来发酵的单糖。在地球上的各类生命系统中,尽管多种微生物(如真菌和细

菌)可以对生物质原料进行缓慢的生物降解,但能高效转化和利用木质纤维素的自然生物系统却非常少见。而食木昆虫在长期的进化和演变过程中,其独特的生物系统显示了高效转化纤维素的超凡能力。通过采用多种现代生物技术并结合工程科学和信息科学,研究以白蚁为代表的高效生物转化系统的作用机制、相应的理化条件及生物质转化的物态演变规律,可以突破当前生物质转化的研究思路与技术途径的局限,最终实现我国生物质高效转化的核心理论与关键技术的重大突破^[3,4]。毫无疑问,研究这类昆虫的生物质能源利用涉及到诸如昆虫学、现代分子生物学、酶学、生物信息学、生物工程、生物仿生等一系列重要学科,并逐步形成了一个新的交叉学科前沿^[5],本文将简要讨论这方面的研究进展、目前存在的问题和今后的研究方向。

1 植物木质纤维素的化学构成及其生物降解

植物木质纤维素是地球上最为丰富的可再生性生物质资源,并可以用来替代传统的石油原料生产不同的生物燃料和生物基材料。生物质利用的关键是要将木质纤维素聚合大分子经济有效地降解成可用来发酵和利用的单糖。

木质纤维素是地球上各种植物的主要组成成分,据估计每年的产量可达到 $2 \times 10^{12} \sim 5 \times 10^{12}$ 吨^[6]。木质纤维素主要由纤维素

(Cellulose)、半纤维素(Hemicellulose)和木质素(Lignin)三部分组成^[6]。这三种成分通过共价键和非共价键紧密的结合在一起形成一种复合结构,占到了植物细胞壁干重的90%以上。通常来说,软木中的木质素含量(25%~35%)要比硬木中(18%~25%)的高一些,与之相比农作物特别是禾本科植物中的木质素含量则要低一些。与木本科植物(23%~38%)相比,禾本科植物(25%~50%)的半纤维素含量要高一些^[2,6~9]。纤维素是葡萄糖分子通过 β -1,4-糖苷键连接而成的大分子多糖类物质^[10]。与纤维素不同,半纤维素是两种或两种以上单糖组成的不均一聚糖,是一群复合聚糖的总称^[11,12]。木质素是一类由苯丙烷单元通过醚键和碳-碳键连接的无定形高聚物,通常和纤维素伴生,并与半纤维素一起构成植物骨架的主要成分^[11]。

通常认为将纤维素分解为葡萄糖至少需要三种酶的协同作用,这三种酶分别是外切- β -1,4-葡聚糖酶(exo- β -1,4-glucanase, CBHs, EC 3.2.1.91),其主要功能是从纤维素多聚糖链的非还原端释放出纤维二糖;内切- β -1,4-葡聚糖酶(endo- β -1,4-glucanase, EG, EC 3.2.1.4),主要作用于非结晶态纤维素和水溶性纤维素衍生物,随机水解糖苷键,将其分解成葡萄糖或纤维二糖、纤维三糖和其他寡聚糖; β -葡萄糖苷酶(β -glucosidase, BG, EC 3.2.1.21)主要作用是将纤维二糖水解释成葡萄糖^[10]。而目前对半纤维素酶水解的认识,则主要集中在木腐真菌对木聚糖(Xylose)降解过程的研究方面。木聚糖是含量最丰富的半纤维素,木聚糖的水解主要是依靠内切和外切- β -1,4-木聚糖酶,其过程是将木聚糖切割成短链结构,然后再通过 β -木糖苷酶将其水解成单个木糖^[13]。对于木质素的生物降解,主要是通过几种主要白腐真菌为模型的系统研究。这些属于担子菌类的真菌主要是通过分泌一系列的胞外木质素酶达到木质素的逐步生物降解;其中,普遍认为有两类酶在降解过程中起到关键作用,分别为酚氧化酶(漆酶)和过氧化物酶(木质素过氧化物酶, LiP 和

锰过氧化物酶, MnP)^[14]。

2 消化和利用木质纤维素的昆虫

尽管有许多微生物可以降解木质纤维素,但是很少有微生物可以分泌完整的木质纤维素酶来降解晶体纤维素和木质素^[15],并且其降解效率比较低,通常需要花费较长的时间。因此能高效降解和利用木质纤维素的昆虫及它们具有转化与催化功能的消化系统得到重视^[16]。

2.1 消化木质纤维素的主要昆虫种类

尽管大多数植食性昆虫不能利用植物组织中的细胞壁(相对于细胞质),但是人们发现许多典型的昆虫具有消化木质纤维素的能力。这些昆虫包括:取食木材的昆虫(食木蟑螂—网翅目、低等和高等白蚁—等翅目、甲虫—鞘翅目和木蜂—膜翅目)、取食枯枝、落叶以及垃圾的昆虫(水生昆虫的幼虫—毛翅目、双翅目和襁翅目、蠹虫—缨尾亚目和蟋蟀—直翅目)和取食粮食的昆虫(甲虫—鞘翅目),据估计有超过100多种不同的昆虫被证实具有明显的消化木质纤维素的能力^[16~19]。

2.2 昆虫消化木质纤维素的效率、规模及其对碳循环的作用

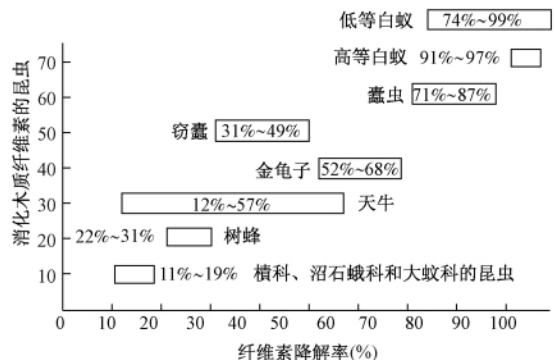


图1 几种代表性昆虫纤维素的降解效率比较

(通过比较食物和排泄物的纤维素含量确定)

大致的降解率^[6,17~19])

不同种类的昆虫对于木质纤维素的消化能力差别很大(11%~99%),取食新鲜叶子的昆虫消化木质纤维素的能力通常很低^[20]。到目

前为止,白蚁被认为是消化木质纤维素最有效率的昆虫。这不仅仅因为它们消化木质纤维素的效率,更是因为它们每年消化的木质纤维素的总量巨大。白蚁在地球上分布广泛,在超过68%的陆地面积上都有白蚁的活动。白蚁的个体总数据估计为 2.4×10^{17} ,其巨大种群的总重量超过人类群体总和的3~4倍^[1],在地球陆生生物质的碳循环过程中起到了非常巨大而关键的作用^[2]。据报道,白蚁每年可消化掉>130亿吨植物木质纤维素,约占全球生物质年产量的10%^[3, 18, 23]。与白蚁相比,石蝇 *Pteronarcy proteus*、石蛾 *Pycnopsyche luculenta* 和大蚊 *Tipula abdominalis* 的幼虫对于木质纤维素的消化效率比较低,分别为11%、12%和19%。树蜂、窃蠹、吉丁虫和天牛的幼虫对于木质纤维素的消化效率相对来说要高一些,约为12%~68%。蠹虫 *Ctenolepisma lineate*、美洲大蠊 *Periplaneta americana* 和蟋蟀 *Acheta demosticus* 的消化木质纤维素效率要更高一些,达到了41%~87%^[24](图1)。

已有的研究表明,大多数消化木质纤维素的昆虫不能完全分解木本和草本植物中的木质素,尽管人们从白蚁和甲虫体内观察到了木质素化学结构上的一些断裂和变形^[25, 26]。通常情况下,对木质素结构的氧化分解过程,是昆虫进一步分解纤维素和半纤维素成分的重要步骤,因为木质素覆盖在半纤维素和纤维素表面,将它们紧密的包裹起来,阻碍了纤维素酶与纤维素底物的结合。已有的研究表明,低等和高等白蚁的消化系统均能对木质素成分进行不同程度的氧化降解处理,如台湾乳白蚁 *Coptotermes formosanus* 的前肠和中肠部分能有效分解20%~25%的木质素^[9, 27]。而令人吃惊的是,一些培养真菌的高等白蚁,如 *Odontotermes* spp., *Macrotermes* spp. 等,通过与其巢内真菌 *Termitomyces* sp. 的复杂专一的共生关系,可以完全分解和利用木质素成分,达到对植物细胞壁中碳水化合物的完全转化与利用^[21, 28]。进一步的研究表明,这类培养和取食真菌的高等白蚁可大量有效的降解自然界中落

叶类或木质类生物质,如在非洲的尼日利亚高等白蚁消化落叶生物质的能力可占该国年落叶总量的25%^[29]。因此,白蚁与其它消化木质纤维素的昆虫在全球植物碳循环的过程中起到了极其重要的、不可忽略的作用,是一类非常重要的高效利用植物木质纤维素的自然生物转化系统。

3 昆虫的木质纤维素酶系统及其转化过程特征

在自然界中,每种消化木质纤维素的昆虫都进化出一套独特的消化系统。在大多数情况下,这些消化系统均需要昆虫本身和共生微生物的共同合作,无论其共生微生物是来自肠道内(内共生)还是生活栖境中(外共生)。目前还没有关于一种昆虫具有完全独立的、仅仅来自昆虫自身组织和细胞的具有完整木质纤维素消化能力的报道。

3.1 昆虫组织与细胞分泌的内源性木质纤维素酶

昆虫自身组织和细胞是否能够产生木质纤维素酶曾一度引起质疑,直到1998年Watanabe等人^[30]首次从栖北散白蚁 *Reticulitermes speratus* 中克隆到了来自白蚁的纤维素酶基因,昆虫自身组织和细胞能够产生木质纤维素酶的假说才得到肯定。1998年,Watanabe等首次从栖北散白蚁体内克隆到了内切- β -1,4-葡聚糖酶编码基因RsEG的全长cDNA,经鉴定该酶属于糖基水解酶第九家族(GHF9)。采用Southern blot进行验证发现,该酶由白蚁自身组织分泌产生^[30]。之后,人们陆续从蜚蠊目(蟑螂和白蚁)、鞘翅目(谷盗和天牛)和直翅目(蟋蟀)等昆虫的组织 and 细胞内克隆到了纤维素酶基因^[31~41]。此外,随着昆虫基因组测序的进行,人们从虱目(虱子)、同翅目(蚜虫)和膜翅目(蜜蜂和黄蜂)的昆虫体内也相继发现了内源性纤维素酶基因^[42]。在所有的这些昆虫体内都有来自糖基水解酶GHF9的纤维素酶的分布。除了GHF9以外,人们还在鞘翅目的昆虫体内发现了来自GHF5和GHF45家族的纤维

素酶基因^[36-40, 43]。

3.2 昆虫肠道及栖境共生微生物的功能与特征

在消化木质纤维素的昆虫肠道内,共生微生物是普遍存在的,多数情况下集中分布在昆虫的后肠部位。这些共生微生物包括细菌、原生虫、真菌、酵母菌及放线菌等。到目前为止,人们从昆虫肠道内分离出的可培养的细菌,主要属于革兰氏阳性菌(Gram positive bacteria)、变形菌属(Proteobacteria)、拟杆菌属(Bacteroides)和梭杆菌属(Fusobacterium)。这些细菌都或多或少的与木质纤维素的降解有关。Cazemier (2003)等从蔷薇鳃角金龟 *Pachnoda marginata* 体内分离到一种细菌 *Promicromonospora pachnodae* sp. nov., 并发现其同时具有降解纤维素和木糖的能力^[44]。目前,人们只分离到三种可培养的具有纤维素酶活性的原生动物,分别为 *Zootermopsis* sp. 体内的 *Trichomitopsis termopsidis* 与 *Trichonympha sphaerica*, 以及 *R. santonensis* 体内的 *Trichomitus trypanoides*^[45-48]。在低等白蚁 *Mastotermes darwinensis*、*Z. angusticollis*、*Z. nevadensis*、*R. santonensis*、*Heterotermes indicola* 和一种蟑螂 *Cryptocercus punctulatus* 的体内存在着大量的酵母菌^[49]。这些酵母菌主要属于念珠菌属(*Candida*)、隐性菌属(*Cryptococcus*)、隐球菌属(*Debaryomyces*)、毕赤酵母属(*Pichia*)和孢子丝菌属(*Sporothrix*)^[51]。另外,人们还从甲虫、草蜻蛉、鱼蛉、大蚊以及蟑螂的体内分离到了14种酵母菌,这些酵母菌被鉴定为 *Candida membranifaciens*、*C. tenuis*、*Pichia nakazawae* 和酵母菌亚门的9种未知的种类^[50]。

在昆虫的体外或栖境也存在着许多专一性的共生微生物。研究发现,很多昆虫中都具有与之共生的、并有着特定功能的真菌,这些例子包括:白蚁(等翅目)、介壳虫(半翅目)、瘿蚊(双翅目)、树蜂(膜翅目)、甲虫(鞘翅目)、蚜虫(同翅目)和蚂蚁(膜翅目)^[51]。在这些昆虫中,蚂蚁、树蜂和白蚁的共生真菌被认为在木质纤维素的降解过程中起着非常重要的作用,这

些真菌大多数是属于担子菌类^[49, 52]。在自然界中,大多数的微生物种类目前还不能人工培养,能培养的大约只有全部微生物家族中的1%,这对研究昆虫共生微生物的功能与生物学方面的特征等带来了极大的挑战^[53]。然而,近年来,随着分子生物学和基因组学的快速发展以及逐步走向成熟,如元基因组学技术,已经初步为这些研究提供了必要的条件和可能。因此,通过采用这些现代生物技术,科学家们有可能进一步对整个微生物混合群体进行基因组测序、鉴定,并进行初步的功能分析。到目前为止,科学家们已经对低等白蚁种 *R. speratus* 和 *R. flavipes* 以及一种高等白蚁 *Nasutitermes* sp. 的后肠共生微生物进行了较大规模的基因组测序^[54-56]。其中,值得一提的是,美国科学家通过研究一种高等白蚁肠道系统的后肠部分的共生细菌菌群,发现了巨大的共生细菌基因信息,获得了细菌群落的元基因序列数据,这些基因组数据包含7 100万个遗传密码,主要有密螺旋体与丝状杆菌两类微生物菌群。这两类微生物都与木质纤维素的降解有着直接的联系。密螺旋体似乎专门从事木质纤维素的分解,而丝状杆菌则参与糖分的发酵过程。该研究从获得的基因序列数据中鉴别出至少700个与纤维素和半纤维素降解有关的酶基因。这些研究表明,白蚁肠道的共生微生物菌群参与了木质纤维素的生物转化^[56]。因此,昆虫肠道系统内以及生活栖境中的各类共生微生物是其高效降解木质纤维素系统的一个重要组成部分。

3.3 昆虫生物质高效转化和利用的主要生物机制与特征

昆虫之所以能消化和利用大量的植物木质纤维素,是因为具备了完整和复杂的高效木质纤维素的生物催化系统,这一催化系统通过各类木质纤维素酶、非催化性蛋白以及特定肠道的理化环境条件的保证,可以高效率并连续地降解和转化纤维素、半纤维素、甚至木质素这类高聚合度的大分子结构。根据木质纤维素酶的来源以及昆虫的肠道系统和共生微生物的关系,将昆虫的木质纤维素消化系统分为三种主

要不同类型:内共生型(与肠道共生微生物相关联,比如大量肠道共生细菌)、外共生型(与体外共生微生物相关联,比如栖境内或体外的共生真菌或细菌)以及内源型(源自昆虫自身组织或分泌细胞,如唾腺)。正是通过这几种消化系统的完美协同作用(可以是其中两种或三种催化系统的结合),昆虫才能够有效地在较短时间内降解木质纤维素(如低等白蚁一般在24~26 h),将其转化为自身新陈代谢所需的小分子碳水化合物,如乙酸等^[6]。目前,研究人员用食木白蚁为模型,对它们的消化系统进行了较为细致的研究和观察,结果表明,白蚁通过下颚将木质纤维素原料磨成细小颗粒(以台湾乳白蚁 *C. formosanus* 为例,经过咀嚼后木质纤维素原料成为直径20~200 μm的细小颗粒)^[7],这一磨碎的过程,能够明显增大木质颗粒的比表面积,使其更易被木质纤维素酶分解^[8];其颗粒形态在前肠基本上还看不到明显的变化;然后这些颗粒继续来到了中肠,在这里,木质颗粒经过了来自白蚁消化系统组织(如唾腺)和细胞(如中肠上皮细胞)分泌的木质纤维素酶的分解,发生了一些明显的形态上的变化,特别是木质素的氧化分解过程亦主要发生在中肠部分^[7];约4~5 h后,这些经过了生物酶解预处理的木质颗粒来到了消化系统的后肠,迅速被后肠的大量原生虫所吞噬,并最终降解成白蚁新陈代谢所需的物质(如乙酸)。通过对低等白蚁排泄物的分析,只有少量木质素被降解(20%~30%),而大部分的纤维素(74%~99%)以及半纤维素(60%~90%)已经被白蚁所转化和利用^[6, 19, 59-61]。针对低等白蚁的进一步研究还发现,木质素的降解过程主要发生在昆虫的前肠和中肠,并且在木质素酶及其它氧化酶的共同作用下,木质素的分子结构经过了支链氧化、环甲氧基团以及环羟基的反甲基化的修饰^[7]。正是对木质素结构的这些修饰和降解作用(20%~30%),使得白蚁的肠道消化系统能够大量转化和有效降解食料中的纤维素和半纤维素成分。这些新发现,对我们更好地认识和理解白蚁的木质纤维素的催

化与转化系统具有非常重要的价值,同时,这一研究也为生物质原料的工业化预处理技术的突破提供了新的理论基础^[5]。

4 昆虫在生物质高效转化与利用中的发展方向

4.1 实现生物质高效转化面临的挑战与亟待解决的问题

生物质转化利用的实质,就是将木质纤维素按特定目的,有效、有控制地转化成可以作为燃料或化学品中间体的小分子,以便有选择地高效全值利用。目前生物质转化利用主要有两个技术平台:热化学转化平台和生物转化平台。热化学转化研究主要包括热解气化和热裂解液化技术,虽然已有几十年的历史,但由于其固有的高耗能、工艺与技术的成熟,离经济性的规模化应用仍有相当大的距离。生物转化平台具有条件温和、环境友好以及能量投入低等优点,在国际上,被普遍认为更具有竞争力和广阔的发展前景^[62]。但是,目前的酶解法技术也存在酶水解速度慢、单糖浓度低、木质纤维素酶活性低、成本高等问题。

目前,在生物质能源领域,实现植物木质纤维素的高效转化面临三大挑战:一是木质纤维素成分的多样性;二是生物质结构的复杂性;三是对木质纤维素酶降解的坚固抵抗性^[62, 63]。现有的技术由于能量投入高、环境友好性差、生成抑制性副产物多、转化效率低等原因,导致生产成本太高,大规模产业化应用仍然在全世界范围内无法实现,这一现状已成为国际性的难题和重大科学技术的挑战。所以,亟待解决的生物质产业化利用的关键问题是:提高生物质的转化效率,降低整个工艺的生产成本。而食木昆虫在长期的进化和演变过程中,显示了高效转化木质纤维素的超凡能力。在常温常压下,白蚁能够于24 h内转化生物质中90%以上的纤维素,这是目前任何工业生物技术都达不到的。通过采用多种现代生物技术并结合工程科学和信息科学,研究以白蚁为代表的木质纤维素高效生物转化系统的机制及其生物工程过

程的仿生理论,将具有极其重要的科学价值和广泛的应用意义。

4.2 研究和利用昆虫木质纤维素催化转化系统的问题及今后的研究方向

众所周知,生物质的规模化开发利用必须基于理论和方法在高效生物转化这一核心过程上实现重大突破。虽然到目前为止,在利用自然生物转化系统方面有不少的研究和探索,但大多数研究者仅希望从某些消化木质纤维素的昆虫肠道系统中获得一些催化资源或一些微生物菌系,很少有一个研究项目是基于系统仿生的原理,再现一个生物转化过程或机制以及该系统相应的理化环境条件与物态演变规律。仅靠追逐单一酶或酶系的高活性,或几个微生物基因的各项改造,很难获得类似白蚁为代表的自然生物系统木质纤维素高效生物转化的能力。因为在很多情况下,昆虫的自然生物转化系统的协调整合机制和特定的理化微环境往往起着重要,甚至决定性的影响。因此,需要全面研究和解析昆虫生物质的完整降解和转化机制及其相关的各项理化因素与影响^[1]。

以白蚁为代表的肠道消化系统被很多科学家称之为世界上最小的,但又非常高效的生物反应器^[64, 65]。其特定的肠道微生态环境与理化条件对肠道内的各种木质纤维素酶系、共生微生物菌群,以及生物质的转化过程有着极其重要的影响和作用。系统解析它的理化环境与生物质转化过程中物态演变的规律,将为白蚁仿生系统的设计及构建提供最重要的理论依据。因此,探索构建高效生物质转化的实验生物反应器,应该基于理化环境条件、物态变化规律以及生物质自然高效转化系统的生物作用机制的多方面综合研究,并通过人工系统和实体生物系统的相互比较和有机结合来实现。这一生物质高效转化系统仿生目标的成功实现(即高效生物质糖化平台的建立),将为突破生物质利用中的主要技术障碍作出重大贡献,并通过形成一套创新的仿生原理与构建的技术途径,帮助解决困扰我们多年的生物质高效转化的相关基础理论和核心技术问题。

白蚁木质纤维素高效生物转化系统的研究与利用是一个非常复杂的系统工程,需要众多不同学科的全面协作、相互交叉。令人欣慰的是,现代生物技术及相关学科的不断突破和发展,使得在分子水平和系统水平上研究生命现象和生物活动规律成为了可能。系统生物学、分子酶学与酶工程、基因工程、生物催化工程及其他相关工程科学和技术的交叉、渗透和融合,为复杂生物系统的研究打开了一个全新视角。系统地整合基因组数据、基因表达谱、蛋白质组,将使我们对复杂生物系统的研究更加深入,从而指导我们进行对昆虫生物系统的系统模拟和设计,实现复杂系统的全部或部分功能。此外,材料科学、微机械加工技术、纳米技术等学科的发展,不断推动着超微电极技术的发展与应用领域的拓宽。利用微电极技术可以测量昆虫肠道内部微环境,如氧气、pH、还原电位以及相关生物化学反应成为可能。相关理化和生化反应条件解析可以了解微生物菌群的分布和作用,揭示酶系或菌系的作用条件和过程,以及对仿生设计和工程化实现具有关键性的帮助。

可以预期的是,作为一个新兴的交叉学科,通过采用系统生物学以及各种现代生物技术手段,研究昆虫木质纤维素高效催化转化的完整消化系统,创建全新的生物质高效转化的实验生物反应器,必将在一系列关键科学理论、研究方法和技术途径上实现一次新的突破,具有重大的科学和应用价值。同时,探索自然生物系统中木质纤维素高效催化转化资源的工程化利用,将为生物质高效生物转化的规模化应用提供重要的资源与产业化应用的物质基础。

参 考 文 献

- 1 Sun J. Z., Scharf M. E. Exploring and integrating cellulolytic systems of insects to advance biofuel technology. *Insect Sci.*, 2010, 17 (3): 163 ~ 165.
- 2 Glazer A. N., Nikaido H. *Microbial Biotechnology, Fundamentals of Applied Microbiology*. 2nd ed., New York: Cambridge University Press, 2007.
- 3 孙建中. 白蚁生物系统在实现生物质高效转化中的独特科学价值及应用前景. 工业生物技术发展报告, 科学出版社, 2010. 205 ~ 218.

- 4 Sun J. Z. , Scharf M. E. Insect and biofuels. *Insect Sci.* , 2010, **17** (3): 163 ~ 312.
- 5 Baeza J. , Freer J. Wood and Cellulosic Chemistry, 2nd ed. New York, Marcel Dekker Inc, 2001.
- 6 Wiselogle A. , Tyson S. , Johnson D. Biomass feedstock resources and composition. In: Wyman C. (ed.). Handbook on Bioethanol: Production and Utilization (Applied Energy Technology Series). Washington DC: Taylor and Francis, 1996. 105 ~ 118.
- 7 Ragauskas A. , Nagy M. , Kim D. H. , et al. From wood to fuels: integrating biofuels and pulp production. *Ind. Biotechnol.* , 2006, **2** (1): 55 ~ 66.
- 8 Worldwatch Institute. Biofuels for Transport: Global Potential and Implications for Sustainable Agriculture and Energy in the 21st Century. London: Earthscan Publications Ltd. , 2007.
- 9 Jorgensen H. , Kristensen J. B. , Felby C. Enzymatic conversion of lignocellulose into fermentable sugars: challenges and opportunities. *Biofuels, Bioprod. Bioref.* , 2007, **1** (2): 119 ~ 134.
- 10 Béguin P. , Aubert J. P. The biological degradation of cellulose. *FEMS Microbiol. Rev.* , 1994, **13** (1): 25 ~ 58.
- 11 高振华, 邱明伟. 生物质材料及应用. 北京: 化学工业出版社, 2008.
- 12 Pauly M. , Keegstra K. Cell-wall carbohydrates and their modification as a resource for biofuels. *Plant J.* , 2008, **54** (4): 559 ~ 568.
- 13 Shallom D. , Shoham Y. Microbial hemicellulases. *Curr. Opin. Microbiol.* , 2003, **6** (3): 219 ~ 228.
- 14 Kirk T. K. Enzymatic “combustion”: the microbial degradation of lignin. *Ann. Rev. Microbiol.* , 1987, **41**: 465 ~ 501.
- 15 Rabinovich M. L. , Melnik M. S. , Bolobova A. V. Microbial cellulases. *Appl. Biochem. Microbiol.* , 2002, **38** (4): 305 ~ 321.
- 16 Sun J. Z. , Zhou X. G. Utilization of lignocellulose-feeding insects for viable biofuels: an emerging and promising area of entomological science. In: Liu T. X. , Kang L. (eds.). Recent Advances in Entomological Research, Berlin: Springer. 2010. 441 ~ 498.
- 17 Martin M. M. Cellulose digestion in insects. *Comp. Biochem. Physiol.* , 1983, **75** (3): 313 ~ 324.
- 18 Prins R. A. , Kreulen D. A. Comparative aspects of plant cell wall digestion in insects. *Anim. Feed Sci. Technol.* , 1991, **32**: 101 ~ 118.
- 19 Itakura S. , Ueshima K. , Tanaka H. , et al. Degradation of wood components by subterranean termite, *Coptotermes formosanus* Shiraki. *Mokuzai* 296 *Recent Advances in Entomological Research Gakkaishi*, 1995, **41** (6): 580 ~ 586.
- 20 Martin M. M. The evolution of cellulose digestion in insects. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* , 1991, **333** (1 267): 281 ~ 288.
- 21 König H. , Frohlich J. , Hertel H. Diversity and lignocellulolytic activities of cultured microorganisms. In: König H. , Varma A. (eds.). Intestinal Microorganisms of Termites and Other Invertebrates. Berlin: Springer, 2006. 271 ~ 301.
- 22 Zimmerman P. R. , Greenberg J. P. , Wandiga S. O. , et al. Termites: a potentially large source of atmospheric methane, carbon dioxide, and molecular hydrogen. *Science* , 1982, **218** (4 572): 563 ~ 565.
- 23 Collins N. M. , Wood T. G. Termites and atmospheric gas production. *Science* , 1984, **224** (4 644): 84 ~ 86.
- 24 Martin M. M. Invertebrate-microbial Interactions: Ingested Fungal Enzymes in Arthropod Biology. Ithaca and London: Cornell University Press, 1987.
- 25 Katsumata K. S. , Jin Z. , Hori K. , et al. Structural changes in lignin of tropical woods during digestion by termite, *Cryptotermes. Brevis. J. Wood Sci.* , 2007, **53** (5): 419 ~ 426.
- 26 Geib S. M. , Filley T. R. , Hatcher P. G. , et al. Lignin degradation in wood feeding insects. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* , 2008, **105** (35): 12 932 ~ 12 937.
- 27 Ke J. , Sun J. Z. , Nguyen H. D. , et al. In situ oxygen profiling and lignin modification in guts of wood-feeding termites. *Insect Sci.* , 2010, **17** (3): 277 ~ 290.
- 28 Ohkuma M. , Maeda Y. , Johjima T. , et al. Lignin degradation and roles of white rot fungi: study on an efficient symbiotic system in fungus-growing termites and its application to bioremediation. *Riken Rev.* , 2001, **42**: 39 ~ 42.
- 29 Rouland-Lefèvre C. Symbiosis with fungi. In: Abe T. , Bignell D. , Higashi M. (eds.). Termites: Evolution, Sociality, Symbiosis, Ecology. London: Kluwer Academic Publishers, 2000. 289 ~ 306.
- 30 Watanabe H. , Noda H. , Tokuda G. , et al. A cellulase gene of termite origin. *Nature* , 1998, **394** (6 691): 330 ~ 331.
- 31 Lo N. , Tokuda G. , Watanabe H. , et al. Evidence from multiple gene sequences indicates that termites evolved from wood-feeding cockroaches. *Curr. Biol.* , 2000, **10** (13): 801 ~ 804.
- 32 Nakashima K. , Watanabe H. , Saitoh H. , et al. Dual cellulose-digesting system of the wood-feeding termite, *Coptotermes formosanus* Shiraki. *Insect Biochem. Mol. Biol.* ,

- 2002, **32**: 777 ~ 784.
- 33 Scharf M. E. , Wu-Scharf D. , Pittendrigh B. R. , *et al.* Caste- and development-associated gene expression in a lower termite. *Genome Biol.* , 2003, **4** (10) : R62.
 - 34 Tokuda G. , Lo N. , Watanabe H. , *et al.* Major alteration of the expression site of endogenous cellulases in members of an apical termite lineage. *Mol. Ecol.* , 2004, **13** (10) : 3 219 ~ 3 228.
 - 35 Tokuda G. , Lo N. , Watanabe H. , *et al.* Metazoan cellulase genes from termites: intron/exon structures and sites of expression. *Biochim. Biophys. Acta*, 1999, **1** **447**: 146 ~ 159.
 - 36 Lee S. J. , Kim S. R. , Yoon H. J. , *et al.* cDNA cloning, expression, and enzymatic activity of a cellulase from the mulberry longicorn beetle, *Apriona germari*. *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* , 2004, **139** (1) : 107 ~ 116.
 - 37 Sugimura M. , Watanabe H. , Lo N. , *et al.* Purification, characterization, cDNA cloning and nucleotide sequencing of a cellulase from the yellow-spotted longicorn beetle, *Psacotheta hilaris*. *Eur. J. Biochem.* , 2003, **270** (16) : 3 455 ~ 3 460.
 - 38 Wei Y. D. , Lee K. S. , Gui Z. Z. , *et al.* Molecular cloning, expression, and enzymatic activity of a novel endogenous cellulase from the mulberry longicorn beetle, *Apriona germari*. *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* , 2006, **145** (2) : 220 ~ 229.
 - 39 Wei Y. D. , Lee K. S. , Gui Z. Z. , *et al.* N-linked glycosylation of a beetle (*Apriona germari*) cellulase Ag-EGase II is necessary for enzymatic activity. *Insect Biochem. Mol. Biol.* , 2006, **36** (6) : 435 ~ 441.
 - 40 Wei Y. D. , Lee S. J. , Lee K. S. , *et al.* N-glycosylation is necessary for enzymatic activity of a beetle (*Apriona germari*) cellulase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* , 2005, **329** (1) : 331 ~ 336.
 - 41 Kim N. , Choo Y. M. , Lee K. S. , *et al.* Molecular cloning and characterization of a glycosyl hydrolase family 9 cellulase distributed throughout the digestive tract of the cricket *Teleogryllus emma*. *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* , 2008, **150** (4) : 368 ~ 376.
 - 42 Kunieda T. , Fujiyuki T. , Kucharski R. , *et al.* Carbohydrate metabolism genes and pathways in insects: insights from the honey bee genome. *Insect Mol. Biol.* , 2006, **15** (5) : 563 ~ 576.
 - 43 Watanabe H. , Tokuda G. Cellulolytic systems in insects. *Annu. Rev. Entomol.* , 2010, **55**: 609 ~ 632.
 - 44 Cazemier A. E. , Verdoes J. C. , Rubsaet F. A. G. , *et al.* *Promicromonospora pachnodae* sp. nov. , a member of the (hemi) cellulolytic hindgut flora of larvae of the scarab beetle *Pachnoda marginata*. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2003, **83** (2) : 135 ~ 148.
 - 45 Yamin M. A. Axenic cultivation of the cellulolytic flagellate *Trichomitopsis termopsidis* (Cleveland) from the termite. *Zootermopsis. J. Protozool.* , 1978, **25** (4) : 535 ~ 538.
 - 46 Yamin M. A. Cellulose metabolism by the termite flagellate *Trichomitopsis termopsides*. *Appl. Environ. Microbiol.* , 1980, **39**: 859 ~ 863.
 - 47 Yamin M. A. Cellulose metabolism by the flagellate *Trichonympha* from the termite is independent of endosymbiotic bacteria. *Science*, 1981, **211** (4 477) : 58 ~ 59.
 - 48 Berchtold M. , Breunig A. , König H. Culture and phylogenetic characterization of *Trichomitus trypanoides* Duboscque & Grasse 1924, n. comb. : a trichomond flagellate isolated from the hindgut of the termite *Reticulitermes santonensis* Feytaud. *J. Eukar. Microbiol.* , 1995, **42**: 388 ~ 391.
 - 49 Prillinger H. , Messner R. , König H. , *et al.* Yeast associated with termites: a phenotypic and genotypic characterization and use of coevolution for dating evolutionary radiations in asco- and basidiomycetes. *System. Appl. Microbiol.* , 1996, **19**: 265 ~ 283.
 - 50 Suh S. O. , Nguyen N. H. , Blackwell M. Nine new *Candida* species near *C. membranifaciens* isolated from insects. *Mycol. Res.* , 2005, **109**: 1 045 ~ 1 056.
 - 51 Kendrick B. Fungal symbioses and evolutionary innovations. In: Margulis L. , Fester R. (eds.). *Symbiosis as Source of Evolutionary Innovation*. Cambridge: MIT Press, 1991. 249 ~ 261.
 - 52 Wood T. G. , Thomas R. J. The mutualistic association between Macrotermitinae and Termitomyces. In: Wilding N. , Collins N. M. , Hammond P. M. (eds.). *Insect-fungus Interactions*. New York: Academic Press, 1989. 69 ~ 92.
 - 53 Aman R. I. , Ludwig W. , Schleifer K. H. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol. Rev.* , 1995, **59** (1) : 143 ~ 169.
 - 54 Todaka N. , Moriya S. , Saita K. , *et al.* Environmental cDNA analysis of the genes involved in lignocellulose digestion in the symbiotic protest community of *Reticulitermes speratus*. *FEMS Microbiol. Ecol.* , 2007, **59** (3) : 592 ~ 599.
 - 55 Zhou X. , Smith J. A. , Oi F. M. , *et al.* Correlation of cellulase gene expression and cellulolytic activity throughout

- the gut of the termite. *R. flavipes*. *Gene*, 2007, **395**: 29 ~ 39.
- 56 Warneche F., Luginbuhl P., Ivanova N., *et al.* Metagenomic and functional analysis of hindgut microbiota of a wood-feeding higher termite. *Nature*, 2007, **450** (7 169): 560 ~ 565.
- 57 Yoshimura T. Contribution of the protozoa fauna to nutritional physiology of the lower termite, *Coptotermes formosanus* Shiraki (Isoptera: Rhinotermitidae). *Wood Res.*, 1995, **82**: 68 ~ 129.
- 58 Watanabe H., Tokuda G. Animal cellulases. *Cell Mol. Life Sci.*, 2001, **58** (9): 1 167 ~ 1 178.
- 59 Ohkuma M. Termite symbiotic systems: efficient bio-recycling of cellulose. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2003, **61** (1): 1 ~ 9.
- 60 Hopkins D. W., Chudek J. A., Bignell D. E., *et al.* Application of ¹³C NMR to investigate the transformations and biodegradation of organic materials by some soil and litter-dwelling insects. *Biodegradation*, 1998, **9** (6): 423 ~ 431.
- 61 Geib S. M., Filley T. R., Hatcher P. G., *et al.* Lignin degradation in wood-feeding insects. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2008, **105** (35): 12 932 ~ 12 937.
- 62 Campbell J. E., Lobell D. B., Field C. B. Greater transportation energy and GHG offsets from bioelectricity than ethanol. *Science*, 2009, **324** (5 930): 1 055 ~ 1 057.
- 63 Jeoh T., Ishizawa C. I., Davis M. F., *et al.* Cellulase digestibility of pretreated biomass is limited by cellulose accessibility. *Biotechnol Bioeng.*, 2007, **98** (1): 112 ~ 122.
- 64 Chen S., Zhang X., Singh D., *et al.* Biological pretreatment of lignocellulosics: potential, progress and challenges. *Biofuels*, 2010, **1** (1): 177 ~ 199.
- 65 Brune A. Termite guts: the world's smallest bioreactors. *Trends Biotechnol.*, 1998, **16** (1): 16 ~ 21.