

牛营超,崔立星,丁 露,等. 柑橘潜叶甲幼虫中肠细菌的多样性及功能分析[J]. 江苏农业科学,2022,50(23):110-115.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.23.016

柑橘潜叶甲幼虫中肠细菌的多样性及功能分析

牛营超¹,崔立星¹,丁 露¹,戴小华^{1,2},郭青云^{1,2}

(1. 赣南师范大学生命科学学院潜叶昆虫研究组,江西赣州 341000; 2. 国家脐橙工程技术研究中心,江西赣州 341000)

摘要:基于 16S rRNA、Illumina MiSeq 高通量测序技术研究柑橘潜叶甲幼虫中肠细菌组成的多样性,探索中肠细菌的潜在功能。通过 16S rRNA 宏基因测序分析,共获得 203 864 条高质量序列,通过聚类分析获得 550 个操作分类单元 (operational taxonomic unit, OTU),总共注释到 11 门、21 纲、42 目、71 科、99 属。在门分类水平上,变形菌门 (Proteobacteria) 细菌占比为 90.83%,为优势门;在属分类水平上,沙雷氏菌属 (*Serratia*) 细菌占比为 45.52%,为优势属。在柑橘潜叶甲幼虫中肠细菌的潜在功能中,代谢通路的丰度最高 (80.67%),主要执行糖类代谢、氨基酸代谢。利用传统微生物分离纯化培养方法从柑橘潜叶甲幼虫中肠中共分离鉴定得到 5 株细菌,分别属于沙雷氏菌属 (2 株)、不动杆菌属 (3 株)。结果显示,柑橘潜叶甲幼虫中肠细菌组成多样性丰富,研究结果有利于了解肉食性潜叶昆虫的生命活动过程,可为今后开发该类害虫的新型防控技术提供基础。

关键词:柑橘潜叶甲;肠道细菌多样性;16S rRNA;高通量测序

中图分类号:S433.5;S186 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2022)23-0110-06

昆虫中肠是昆虫进行食物消化吸收的重要场所,栖息于中肠的微生物与寄主昆虫协同进化、互惠共生,对昆虫的生命活动具有重要的影响^[1-2]。中肠微生物的群落结构和代谢活动不仅受到宿主昆虫中肠微环境的影响,还在宿主的生长发育、免疫反应、营养代谢、抵御病害和农药抗性等方面发挥着重要作用^[1,3-5]。16S rRNA 基因文库技术和 Illumina MiSeq 测序技术极大地推动了昆虫肠道微生物领域的研究。目前,昆虫中肠细菌多样性的研究主要集中在鳞翅目、鞘翅目、等翅目和膜翅目等昆虫中,已经取得不少进展,其优势细菌的种类因昆虫种类而异^[6]。

柑橘潜叶甲 (*Podagricomela nigricollis* Chen) 隶属于鞘翅目 (Coleoptera) 叶甲科 (Chrysomelidae),是潜食性柑橘害虫,主要分布在我国南部柑橘产地^[7]。柑橘潜叶甲于每年 4 月上中旬孵化成幼虫

潜入柑橘类植物叶片中,取食叶片的幼嫩组织,仅留下叶片的上下表皮细胞,且具有转潜道行为,大量暴发时会严重降低叶片的光合作用,进而影响柑橘的产量,造成经济损失^[8]。柑橘潜叶甲幼虫,因其潜食在叶片内,药物很难直接接触虫体,防治较为困难。近年来有大量报道显示,肠道微生物可能作为防治害虫的新型靶标,研究者已在此基础上开发出新的防控技术。目前,柑橘潜叶甲的研究主要集中在形态、生理生化和防治上,有关肠道微生物的研究未见报道。本研究选择枳叶片上的柑橘潜叶甲幼虫为研究对象,基于 16S rRNA 基因的高通量测序技术研究柑橘潜叶甲幼虫中肠细菌的种类组成及多样性,以期为该害虫的防治提供新策略。同时,本研究利用传统微生物培养方法从柑橘潜叶甲幼虫中肠中分离细菌,以期为未来利用生物学试验验证柑橘潜叶甲幼虫中肠微生物的功能提供菌株材料。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试昆虫为 2021 年 4 月在江西省龙南市柑橘园采集的柑橘潜叶甲幼虫,寄主为枳 [*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.]。

1.2 柑橘潜叶甲幼虫中肠的分离及总基因组 DNA 的提取

取 40 头柑橘潜叶甲幼虫,饥饿处理 48 h 后在

收稿日期:2021-11-18

基金项目:国家自然科学基金(编号:32160314、41971059、31760173);

江西省柑橘产业技术体系岗位专家项目(编号:JXARS-07-病虫害防控);赣州市创新领军人才计划(编号:[2020]60)。

作者简介:牛营超(1996—),女,河南焦作人,硕士研究生,主要从事潜叶昆虫肠道微生物相关的研究。E-mail:2607185068@qq.com。

通信作者:郭青云,博士,副教授,研究方向为微生物组学、昆虫-微生物互作。E-mail:qingyun612@163.com。

无菌环境下用 75% 乙醇对幼虫体表进行 3 min 的消毒,用无菌水清洗幼虫体表的乙醇 3 次,使用无菌镊子和眼剪将幼虫中肠取出,置于无菌的 1.5 mL EP 管内,10 头虫的中肠为 1 个重复,共设 3 个重复^[9]。用 Mag - Bind Soil DNA extraction kit (Omega) 试剂盒提取柑橘潜叶甲幼虫肠道细菌总 DNA,将检测合格的样品于 -80 ℃ 保存备用。

1.3 柑橘潜叶甲幼虫中肠细菌 16S rRNA 基因的高通量测序

以提取的肠道总基因组为模板,采用通用引物 338F(5' - ACTCCTACGGGAGGCAGCA - 3')、806R(5' - GGACTACHVGGGTWTCTAAT - 3')扩增细菌 16S rRNA V3 ~ V4 区^[10]。50 μL PCR 扩增体系如下:2 μL 基因组 DNA 模板,0.5 μL TaKaRa LA Taq DNA Polymerase,5 μL 10 × Buffer,上、下游引物(10 mmol/L)各 1 μL,4 μL dNTPs(各 2.5 mmol/L),36.5 μL ddH₂O。PCR 扩增条件:94 ℃ 5 min;94 ℃ 30 s,55 ℃ 30 s,72 ℃ 45 s,35 个循环;72 ℃ 10 min。PCR 扩增反应重复 3 次。将扩增产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测,浓度和特异性合格后送至上海派森诺生物科技股份有限公司进行双端测序(使用 Illumina HiSeq 2500 平台)。

1.4 生物信息学分析

将测序得到的原始数据用 QIIME2(2019 年 4 月)的 qiime cutadapt trim - paired 切除序列的引物片段,弃去未匹配引物的序列^[11-12];通过调用 DADA2 进行质控、去噪、拼接、去嵌合体,得到有效序列^[13]。用 USEARCH(v 7.0.1090)软件在 97% 的相似度下进行操作分类单元(OTU)聚类,并用 Silva 数据库对扩增获得的柑橘潜叶甲幼虫中肠细菌 16S rRNA 序列进行物种注释^[14]。用 PICRUST2 KEGG 数据库分析柑橘潜叶甲幼虫中肠菌群在第 1、2 级功能通路水平上的丰度,预测菌群对宿主的潜在功能^[15]。

1.5 柑橘潜叶甲幼虫中肠可培养细菌的分离培养

取 10 头柑橘潜叶甲幼虫,参照“1.2”节的方法取出中肠,置于灭菌的 1.5 mL EP 管内,加入 100 μL 无菌磷酸缓冲盐溶液(PBS),用灭过菌的研磨棒将中肠研磨至匀浆状,将研磨好的匀浆用无菌水稀释至 10⁻¹ ~ 10⁻⁶。取稀释度为 10⁻⁴、10⁻⁵、10⁻⁶ 的 3 个匀浆溶液均匀涂抹至 LB 培养基(分别称取 10 g 蛋白胨、5 g 酵母提取物、10 g NaCl、20 g 琼脂,用蒸馏水定容至 1 L,pH 值为 7.0)上进行分

离培养,各稀释度重复 3 次。将平板于 37 ℃ 培养箱内培养 3 d。通过观察菌落的颜色、大小和形态分离纯化单菌落,经多次纯化,得到纯单克隆菌株,保存于 -80 ℃ 备用。

1.6 柑橘潜叶甲幼虫中肠可培养细菌的 16S rRNA 基因扩增及系统发育分析

用 TIANamp Bacteria DNA Kit(DP - 302)提取细菌总 DNA。采用细菌通用引物 27F(AGAGTTTGA TCCTGGCTCAG)、1492 R(CGCTTACCTTGTACGA C)扩增 16S rRNA 基因^[16]。50 μL PCR 反应体系:1 μL 基因组 DNA,上、下游引物(10 mmol/L)各 2 μL,25 μL PrimeSTAR MAX DNA 聚合酶,20 μL ddH₂O。扩增程序:95 ℃ 3 min;95 ℃ 15 s,55 ℃ 30 s,72 ℃ 1 min,30 个循环;72 ℃ 10 min。扩增结束后用 1.0% 琼脂糖凝胶进行检测,切取目标 DNA 条带,用 Omega D2500 - 02 Gel Extraction Kit 琼脂糖凝胶回收试剂盒纯化后测序。将所获序列在 NCBI GenBank 数据库中进行 BLAST 同源比对^[17],选取各个菌株的近缘序列,采用最大似然(ML)算法,用 MEGA 7.0 软件构建系统发育树,用 bootstrap 验证进化树的可靠性^[18]。

2 结果与分析

2.1 高通量测序结果和 OTU 聚类分析

通过 16S rRNA 高通量测序,共得到 219 003 条柑橘潜叶甲幼虫中肠细菌的原始序列,通过质控拼接,共得到 203 864 条优质序列,序列的平均长度为 425 bp。基于 97% 的相似水平,柑橘潜叶甲幼虫中肠细菌通过聚类分析共获得 550 个 OTU,隶属于 11 门、21 纲、42 目、71 科、99 属。

2.2 柑橘潜叶甲幼虫中肠细菌的种类组成与丰度

基于 OTU 的分类结果,分别从门、纲、目、科、属 5 种不同分类等级上对柑橘潜叶甲幼虫中肠菌群种类和相对丰度进行分析。由图 1 可以看出,在门分类水平上,注释到的优势菌有变形菌门(Proteobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)、放线菌门(Actinobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、异常球菌 - 栖热菌门(Deinococcus - Thermus)、绿弯菌门(Chloroflexi)、疣微菌门(Verrucomicrobia)、埃普西隆杆菌门(Epsilonbacteraeota)、蓝细菌门(Cyanobacteria)、Patescibacteria 等,其中以变形菌门、厚壁菌门、放线菌门和拟杆菌门为优势菌门,相对丰度占比分别为 90.83%、4.80%、2.30% 和 1.04%。

在纲分类水平上,柑橘潜叶甲幼虫中肠菌群由 γ -变形菌纲 (Gammaproteobacteria)、 α -变形菌纲 (Alphaproteobacteria)、梭菌纲 (Clostridia)、放线菌纲 (Actinobacteria)、芽孢杆菌纲 (Bacilli)、拟杆菌纲 (Bacteroidia)、丹毒丝菌纲 (Erysipelotrichia)、异常球菌纲 (Deinococci)、 β -变形菌纲 (Deltaproteobacteria)、OLB14 等 21 个纲组成。其中 γ -变形菌纲、 α -变形菌纲是优势菌,占比分别为 73.71%、16.97%。

在目分类水平上,柑橘潜叶甲幼虫中肠菌群由肠杆菌目 (Enterobacteriales)、根瘤菌目 (Rhizobiales)、海螺菌目 (Oceanospirillales)、假单胞菌目 (Pseudomonadales)、伯克氏菌目 (Betaproteobacteriales)、梭菌目 (Clostridiales)、黄色单胞菌目 (Xanthomonadales)、微球菌目 (Micrococcales)、柄杆菌目 (Caulobacteriales)、丹毒

丝菌目 (Erysipelotrichales) 等 42 个目组成。其中主要的优势菌群是肠杆菌目,相对丰度占比为 53.59%,而根瘤菌目、海螺菌目和假单胞菌目次之,相对丰度占比分别为 15.52%、9.28% 和 5.49%。

在科分类水平上,柑橘潜叶甲幼虫中肠菌群隶属于肠杆菌科 (Enterobacteriaceae)、德沃斯氏菌科 (Devosiaceae)、盐单胞菌科 (Halomonadaceae)、根瘤菌科 (Rhizobiaceae)、假单胞菌科 (Pseudomonadaceae)、伯克氏菌科 (Burkholderiaceae)、单胞菌科 (Xanthomonadaceae)、丹毒丝菌科 (Erysipelotrichaceae)、生丝单胞菌科 (Hyphomonadaceae)、消化链球菌科 (Peptostreptococcaceae) 等 71 个科。其中主要的优势菌是肠杆菌科,相对丰度占比为 53.59%,其次是德沃斯氏菌科、盐单胞菌科、根瘤菌科、假单胞菌科,相对丰度分别为 9.73%、9.28%、5.52%、5.14%。

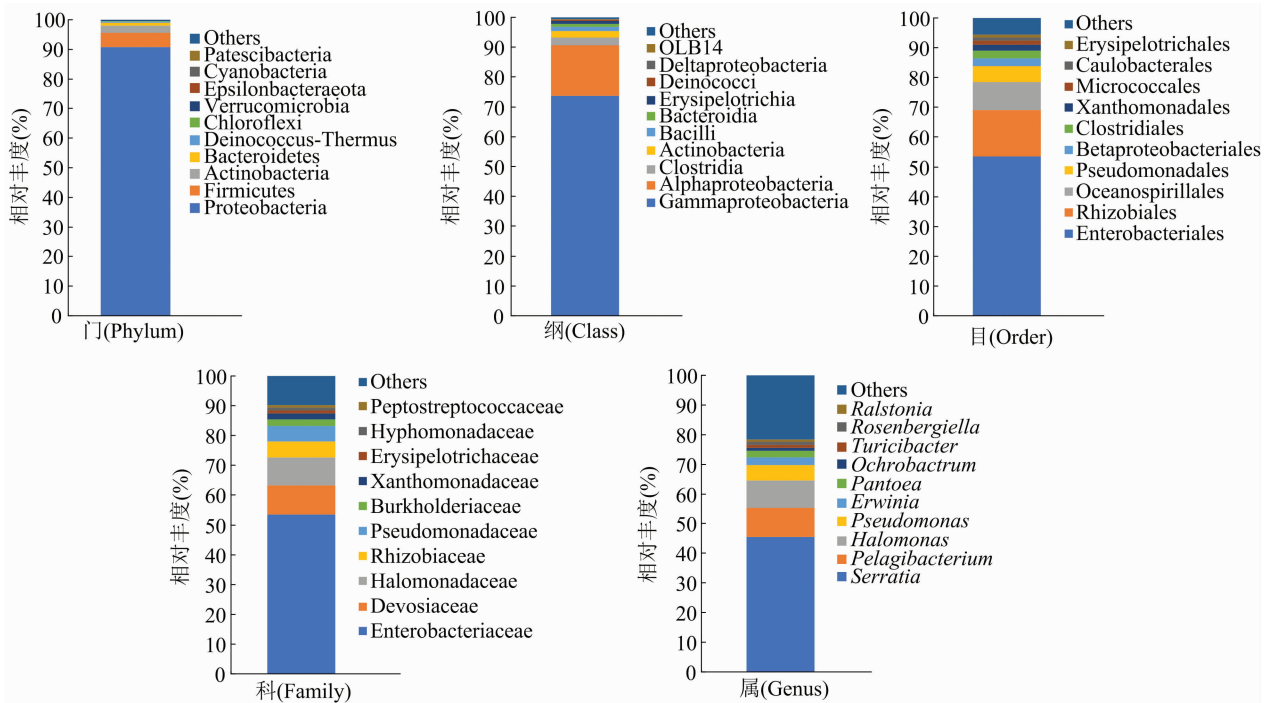


图1 柑橘潜叶甲幼虫中肠细菌在不同分类等级上的物种相对丰度

在属分类水平上,柑橘潜叶甲幼虫中肠菌群主要由沙雷氏菌属 (*Serratia*)、*Pelagibacterium*、嗜盐单胞菌属 (*Halomonas*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、欧文氏菌属 (*Erwinia*)、泛菌属 (*Pantoea*)、苍白杆菌属 (*Ochrobactrum*)、苏黎世杆菌属 (*Turicibacter*)、*Rosenbergiella*、*Ralstonia* 等 99 个属组成。其中优势菌群为沙雷氏菌属、*Pelagibacterium*、嗜盐单胞菌属、假单胞菌属,相对丰度占比分别为 45.52%、

9.73%、9.28%、5.14%。

2.3 柑橘潜叶甲幼虫中肠细菌功能分析

利用 PICRUST2 预测柑橘潜叶甲幼虫中肠细菌在 KEGG 第 1、2 分类层次功能通路的丰度,其中第 1 分类层次功能通路有 6 种,分别为代谢 (80.67%)、遗传信息处理 (10.03%)、细胞过程 (4.98%)、环境信息处理 (3.8%)、生物体系统 (0.33%) 和人类疾病 (0.19%) (图 2)。由于代谢

功能通路对应的丰度占比是一级通路丰度占比的 4 倍,因此预测柑橘潜叶甲幼虫中肠细菌的主要功能是代谢。柑橘潜叶甲幼虫中肠细菌代谢功能的二级通路共有 28 种(图 2)。各二级通路在全部样本中的占比如下:糖类代谢占 14.36%,氨基酸代谢占 12.85%,辅助因子和维生素代谢占 11.76%,萜类和多酮代谢占 8.10%,生物降解和代谢占 7.70%,

其他氨基酸代谢占 7.68%,脂质代谢占 6.58%,能量代谢占 5.13%,细胞活性占 3.21%,糖类生物合成和代谢占 2.84%,其他次生代谢产物的生物合成占 2.06%。预测柑橘潜叶甲幼虫中肠细菌的功能是代谢体内各种物质,主要参与糖类、氨基酸和维生素的代谢,同时次要参与外源化学物质、萜类和多酮类化合物的降解。

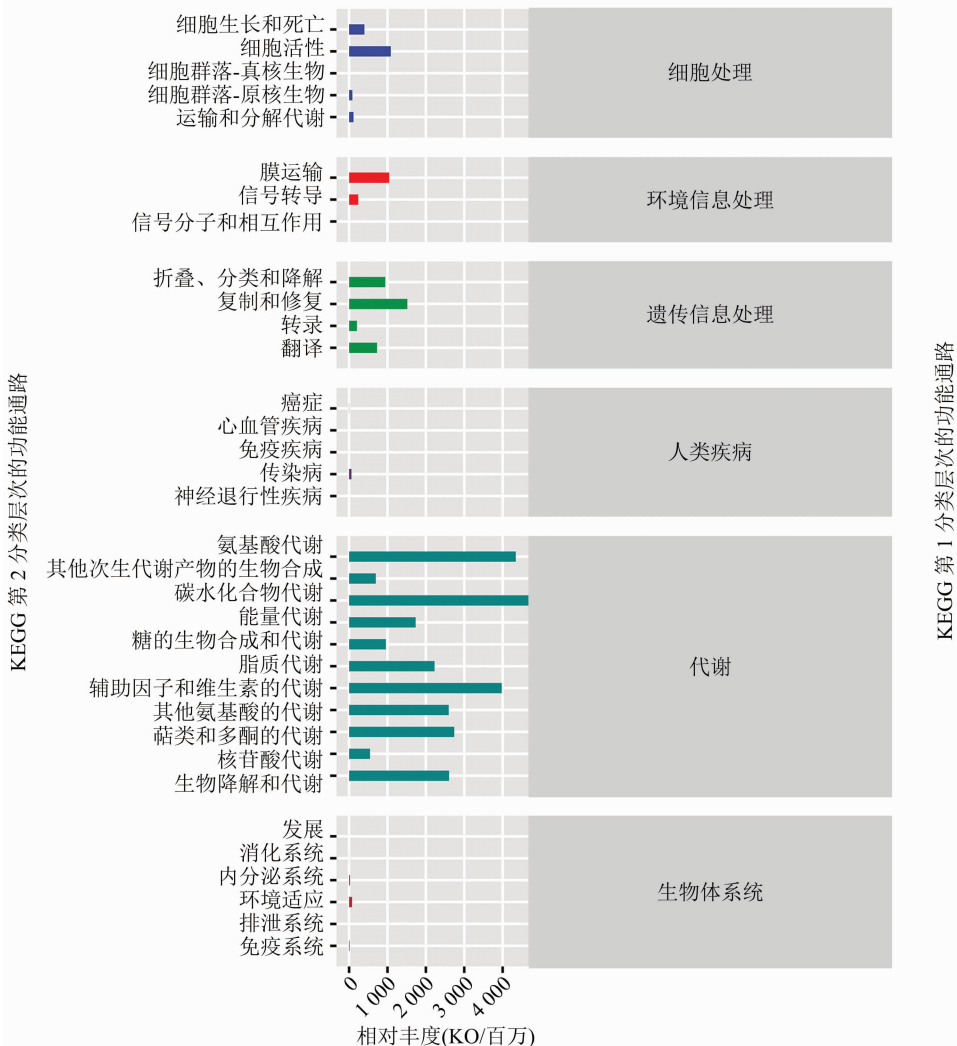


图2 基于 KEGG 代谢通路数据库分析的柑橘潜叶甲幼虫中肠细菌二级功能通路

2.4 柑橘潜叶甲幼虫中肠可培养细菌的分离和鉴定

从 LB 固体培养基中共分离得到 5 株形状有差异的细菌菌落,分别编号为 PN1、PN2、PN3、PN4、PN5。菌落形态均为圆形且边缘整齐,其中 PN2、PN4 为湿润光滑的乳白色菌落,PN1、PN3、PN5 为小的白色菌落。将从柑橘潜叶甲幼虫中肠中分离的 5 株可培养细菌用通用引物进行 16S rRNA 扩增,测

序后将序列上传至 GenBank。将得到的 16S rDNA 序列在 NCBI 数据库进行 BLAST 比对,分析序列的同源性,并构建 ML 系统发育树(图 3)。结果表明,PN2、PN4 菌株与沙雷氏菌(*Serratia*)的亲缘关系最近,聚为 1 支,鉴定为沙雷氏菌(图 3 - A)。PN1、PN3 和 PN5 菌株与不动杆菌(*Acinetobacter*)的亲缘关系最近,聚为 1 支,鉴定为不动杆菌。从可培养微生物数量来看,以沙雷氏菌为优势菌(图 3 - B)。

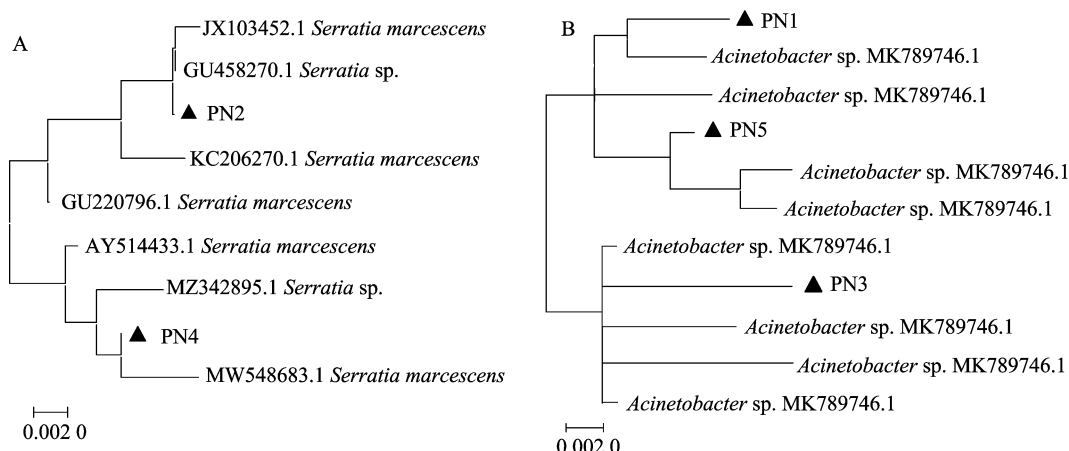


图3 柑橘潜叶甲幼虫中肠可培养细菌的16S rDNA 系统发育树

3 讨论与结论

本研究基于 16S rRNA 和 Illumina MiSeq 开展了潜食性害虫柑橘潜叶甲幼虫中肠细菌多样性组成分析,共注释到 11 门、21 纲、42 目、71 科、99 属。柑橘潜叶甲幼虫中肠细菌主要以变形菌门(91%)、厚壁菌门(5%)、放线菌门(2%)和拟杆菌门(1%)为主。研究发现,昆虫的肠道共生细菌的优势门虽然存在各式差异,但是变形菌门细菌是肠道的主要菌群之一^[19]。如 Cui 等发现,潜食性昆虫黄黑趾铁甲(*Dactylispa xanthospila*)成虫肠道细菌主要分为 30 门、64 纲、135 目、207 科、369 属,其中以变形菌门(92%)、拟杆菌门(3.4%)和厚壁菌门(2.5%)为优势菌群^[9]。张某等研究发现,专性寄生肉食性昆虫泽兰实蝇(*Procecidochares utilis*)幼虫肠道细菌注释到 13 门、4 纲、6 目、7 科、10 属,其中变形菌门细菌为优势菌群(99%)^[20]。陈宏健等研究发现,鞘翅目昆虫松墨天牛(*Monochamus alternatus*)成虫中肠细菌主要分为 22 门、48 纲、112 目、172 科、285 属,其中变形菌门为主要优势菌群(93%)^[21]。

在属分类水平上,柑橘潜叶甲幼虫中肠细菌以沙雷氏菌属为优势属(45.52%),该属细菌在许多昆虫肠道中作为优势菌存在,能够帮助宿主昆虫高效降解纤维素、单萜或双萜等物质^[22-23]。在已有的其他鞘翅目昆虫研究中,昆虫肠道优势菌属存在物种、虫态差异,如黄黑趾铁甲成虫肠道细菌以肠杆菌属为优势属^[9];国内室内饲养的松墨天牛的成虫中肠细菌以沙雷氏菌属为优势属,室外成虫肠道细菌以肠杆菌属为优势属^[21];寄生于柞属的象甲肠道细菌以假单胞菌属为主^[24]。肠杆菌属、沙雷氏菌属

属于肠杆菌科变形菌门细菌,普遍存在于动物肠道中,主要在纤维素、碳水化合物等代谢中起作用^[25]。

本研究利用传统微生物学分离法对柑橘潜叶甲幼虫中肠细菌进行离体培养时,发现沙雷氏菌为优势菌,其次是不动杆菌,与 16S rRNA 高通量测序结果一致。沙雷氏菌作为条件致病菌,在很多昆虫如小菜蛾、黄粉虫、椰心叶甲等肠道中被离体培养分离出来^[26-28],该类细菌可能长期参与昆虫的共进化并对昆虫的生命活动有重要作用。不动杆菌具有协助宿主消化食物和转化氮素的功能,该类菌也在蜜蜂、斜纹夜蛾和褐飞虱肠道中分离培养出来^[29-31]。柑橘潜叶甲幼虫主要潜食在柑橘类植物叶片里,以叶肉为食,肠道菌群可能受到柑橘植物与土壤微生物的影响,其影响程度和相关性还需进一步通过其他试验进行验证。这些优势肠道细菌的功能值得我们关注和研究,以期能发掘出与柑橘潜叶甲潜食性相关的肠道细菌或特定基因,用于该类害虫的综合防控。

昆虫肠道菌群多样性丰富,许多菌群与宿主昆虫之间相互依赖、协同进化^[2],影响着昆虫的生命活动。本研究还利用 PICRUSt2 预测柑橘潜叶甲幼虫中肠细菌的潜在功能,结果显示,柑橘潜叶甲幼虫中肠细菌有 80% 执行代谢功能,主要通过代谢碳水化合物和氨基酸等为寄主提供营养物质,也有参与对外源化学物质、萜类和多酮类化合物及其他次生代谢物质的降解功能,同时肠道菌群也参与宿主遗传信息处理过程。研究结果表明,柑橘潜叶甲肠道细菌多样性丰富,多数菌群不仅参与了营养代谢,还可能帮助宿主昆虫解毒。该研究结果有利于了解肉食性潜叶昆虫的生命活动过程,为今后进一

步研究和利用肠道微生物开发新型防控技术提供基础。

参考文献:

- [1] Engel P, Moran N A. The gut microbiota of insects – diversity in structure and function [J]. FEMS Microbiology Reviews, 2013, 37 (5): 699 – 735.
- [2] Duarte S, Nunes L, Borges P A V, et al. Living inside termites; an overview of symbiotic interactions, with emphasis on flagellate protists [J]. Life and Marine Sciences, 2017, 34: 21 – 43.
- [3] Watanabe H, Tokuda G. Cellulolytic systems in insects [J]. Annual Review of Entomology, 2010, 55 (1): 609 – 632.
- [4] Dillon R, Charnley K. Mutualism between the desert locust *Schistocerca gregaria* and its gut microbiota [J]. Research in Microbiology, 2002, 153 (8): 503 – 509.
- [5] Cheng D F, Guo Z J, Riegler M, et al. Gut symbiont enhances insecticide resistance in a significant pest, the oriental fruit fly *Bactrocera dorsalis* (Hendel) [J]. Microbiome, 2017, 5 (1): 13.
- [6] 相 辉, 黄勇平. 肠道微生物与昆虫的共生关系 [J]. 昆虫知识, 2008, 45 (5): 687 – 693.
- [7] Jiang X L, Guo Q Y, Xu J S, et al. Complete mitochondrial genome of a leaf – mining beetle, *Podagricomela nigricollis* (Coleoptera: Chrysomelidae) [J]. Mitochondrial DNA Part B, 2018, 3 (2): 721 – 722.
- [8] 刘婉华. 潜叶害虫对柑橘属植物叶片形态和生理生化的影响 [D]. 赣州: 赣南师范大学, 2016: 9.
- [9] Cui L X, Guo Q Y, Wang X X, et al. Midgut bacterial diversity of a leaf – mining beetle, *Dactylispa xanthospila* (Gestro) (Coleoptera: Chrysomelidae: Cassidinae) [J]. Biodiversity Data Journal, 2021, 9: e62843.
- [10] Mizrahi – Man O, Davenport E R, Gilad Y. Taxonomic classification of bacterial 16S rRNA genes using short sequencing reads: evaluation of effective study designs [J]. PLoS One, 2013, 8 (1): e53608.
- [11] Bolyen E, Rideout J R, Dillon M R, et al. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2 [J]. Nature Biotechnology, 2019, 37 (8): 852 – 857.
- [12] Martin M. Cutadapt removes adapter sequences from high – throughput sequencing reads [J]. EMBnet Journal, 2011, 17 (1): 10 – 12.
- [13] Callahan B J, Mcmurdie P J, Rosen M J, et al. DADA2: high – resolution sample inference from Illumina amplicon data [J]. Nature Methods, 2016, 13 (7): 581 – 583.
- [14] Rognes T, Flouri T, Nichols B, et al. VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics [J]. Peer J, 2016, 4: e2584.
- [15] Douglas G M, Maffei V J, Zaneveld J R, et al. PICRUSt2 for prediction of metagenome functions [J]. Nature Biotechnology, 2020, 38: 685 – 688.
- [16] 王洪秀, 靳 亮, 陈庆隆, 等. 橘小实蝇成虫肠道可培养细菌群落结构分析 [J]. 微生物学通报, 2015, 42 (12): 2351 – 2365.
- [17] Altschul S F, Madden T L, Schäffer A A, et al. Gapped BLAST and PSI – BLAST: a new generation of protein database search programs [J]. Nucleic Acids Research, 1997, 25 (17): 3389 – 3402.
- [18] Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7. 0 for bigger datasets [J]. Molecular Biology & Evolution, 2016, 33 (7): 1870 – 1874.
- [19] Yun J H, Roh S W, Whon T W, et al. Insect gut bacterial diversity determined by environmental habitat, diet, developmental stage, and phylogeny of host [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2014, 80 (17): 5254 – 5264.
- [20] 张 某, 杨 璞, 朱家颖, 等. 基于 16S rDNA 基因序列的泽兰实蝇幼虫肠道细菌多样性分析 [J]. 昆虫学报, 2016, 59 (2): 200 – 208.
- [21] 陈宏健, 周 杨, 夏小洪, 等. 松墨天牛成虫室内外种群肠道细菌的多样性及功能分析 [J]. 微生物学报, 2021, 61 (3): 683 – 694.
- [22] Berasategui A, Salem H, Paetz C, et al. Gut microbiota of the pine weevil degrades conifer diterpenes and increases insect fitness [J]. Molecular Ecology, 2017, 26 (15): 4099 – 4110.
- [23] Howe M, Keefover – Ring K, Raffa K F. Pine engravers carry bacterial communities whose members reduce concentrations of host monoterpenes with variable degrees of redundancy, specificity, and capability [J]. Environmental Entomology, 2018, 47 (3): 638 – 645.
- [24] 郭淑华, 易现峰. 两种象甲幼虫肠道微生物组成及对高单宁食物的适应 [J]. 微生物学报, 2019, 59 (4): 657 – 667.
- [25] Xia X F, Gurr G M, Vasseur L, et al. Metagenomic sequencing of diamondback moth gut microbiome unveils key holobiont adaptations for herbivory [J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 663.
- [26] 夏晓峰, 郑丹丹, 林海兰, 等. 小菜蛾幼虫中肠细菌的分离鉴定 [J]. 应用昆虫学报, 2013, 50 (3): 770 – 776.
- [27] 刘玉升, 叶保华, 张 丽, 等. 黄粉虫不同虫态肠道细菌分离及鉴定 [J]. 中国微生态学杂志, 2011, 23 (10): 894 – 896.
- [28] 章雨璐, 吕宝乾, 杨 帆, 等. 椰心叶甲肠道微生物的分离鉴定及功能分析 [J]. 热带作物学报, 2021, 42 (4): 1066 – 1070.
- [29] Kwong W, Moran N. Gut microbial communities of social bees [J]. Nature Reviews Microbiology, 2016, 14 (6): 374 – 384.
- [30] 孙博通, 蓝波妙, 王 倩, 等. 斜纹夜蛾幼虫肠道细菌分离鉴定及其功能初步分析 [J]. 生物资源, 2017, 39 (4): 264 – 271.
- [31] 王天召, 王正亮, 朱杭锋, 等. 基于高通量测序的褐飞虱肠道微生物多样性分析 [J]. 昆虫学报, 2019, 62 (3): 323 – 333.