

广粪蚊不同发育阶段体内细菌多样性研究

王丹丹, 王剑峰*

(沈阳大学 生命科学与工程学院/辽宁省城市有害生物治理与生态安全重点实验室, 中国辽宁 沈阳 110044)

摘要: 利用 Illumina MiSeq 高通量测序技术, 对广粪蚊不同发育阶段体内细菌 16S rDNA 的 V3~V4 变异区进行分析, 探究其细菌的群落多样性。7 个样本共获得 548 058 条有效序列, 它们聚类为 870 个操作分类单元 (operational taxonomic unit, OTU), 注释到 24 门、51 纲、92 目、175 科、346 属。广粪蚊体内细菌的赵氏指数 (Chao index)、艾斯指数 (Ace index) 和香农指数 (Shannon index) 分别为 485.00~885.03、485.09~877.55 和 2.90~4.31。其中, 优势菌门为变形菌门 (Proteobacteria) 和放线菌门 (Actinobacteria), 优势菌目为根瘤菌目 (Rhizobiales) 和放线菌目 (Actinomycetales), 优势菌属为黄色杆菌科未知属 (unclassified Xanthobacteraceae)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 和无色杆菌属 (*Leucobacter*)。但各样本的优势菌属有所不同, 如假单胞菌属在卵中的占比最高, 黄色杆菌科未知属在 1~3 龄幼虫和成虫中的相对丰度最高, 棒状杆菌属 (*Corynebacterium*) 在 4 龄幼虫中的占比最高, 普罗威登斯菌属 (*Providencia*) 在蛹中的占比最高。主成分分析 (principle component analysis, PCA) 表明, 广粪蚊体内细菌的群落组成在不同发育阶段存在一定的差异。研究结果为广粪蚊体内微生物资源的开发提供了相关信息, 也为广粪蚊的生物防治工作提供了参考依据。

关键词: 广粪蚊; 高通量测序; 体内细菌; 多样性

中图分类号: Q938.1

文献标志码: A

文章编号: 1007-7847(2023)03-0229-08

Diversity Analysis of Bacteria in *Cobolidia fuscipes* (Meigen) at Different Development Stages (Diptera: Scastopsidae)

WANG Dandan, WANG Jianfeng*

(Liaoning Key Laboratory of Urban Integrated Pest Management and Ecological Security/College of Life Science and Bioengineering, Shenyang University, Shenyang 110044, Liaoning, China)

Abstract: To explore the diversity of bacterial community in *Cobolidia fuscipes* (Meigen), the V3~V4 regions of bacterial 16S rDNA in this insect species at different development stages were sequenced using Illumina MiSeq high-throughput sequencing platform. A total of 548 058 reads and 870 operational taxonomic units (OTUs) were obtained and annotated into 24 phyla, 51 classes, 92 orders, 175 families and 346 genera. The Chao, Ace and Shannon indices were 485.00~885.03, 485.09~877.55 and 2.90~4.31, respectively. The dominant bacterial phyla were Proteobacteria and Actinobacteria, dominant orders were Rhizobiales and Actinomycetales, and dominant genera were unclassified Xanthobacteraceae, *Pseudomonas* and *Leucobacter*. However, the dominant genus in each sample was different. *Pseudomonas* occupied the highest proportion in eggs, unclassified Xanthobacteraceae had the highest relative abundance in the 1st to 3rd instar larvae and adults, *Corynebacterium* had the highest relative abundance in the 4th instar larvae, and *Providencia* had the highest relative abundance in pupae. Principle component analysis (PCA) demonstrated that the composition of bacterial community in *C. fuscipes* (Meigen) was different at different development stages. This study provides a theoretical basis for exploitation of microbial resources in *C. fuscipes* (Meigen) and also for biocontrol of the pest species.

Key words: *Cobolidia fuscipes* (Meigen); high-throughput sequencing; bacterium; diversity

(Life Science Research, 2023, 27(3): 229-236)

收稿日期: 2022-08-12; 修回日期: 2022-11-12; 网络首发日期: 2023-02-10

基金项目: 辽宁省自然科学基金项目(2019-ZD-0539); 国家自然科学基金资助项目(31672332)

作者简介: 王丹丹(1996—), 女, 山东济宁人, 硕士研究生; *通信作者: 王剑峰(1980—), 男, 河北张家口人, 博士, 教授, 主要从事昆虫分子系统学研究, Tel: 024-62268625, E-mail: wangjf80@126.com。

广粪蚊[*Cobolidia fuscipes* (Meigen)]隶属于昆虫纲(Insecta)、双翅目(Diptera)、粪蚊科(Scatopsidae), 是食用菌的主要害虫之一, 寄主为平菇、金针菇、香菇和灰树花等, 它主要以幼虫为害培养料, 影响子实体的产量, 致使食用菌减产甚至绝收^[1]。广粪蚊的防治措施包括化学防治、物理防治、农业防治和生物防治等, 其中化学防治仍为主要的手段, 但化学药剂难以降解且容易残留^[2], 因此, 绿色无害措施的研究与应用成为了广粪蚊防治工作的重心。

昆虫体内含有多种微生物, 它们在昆虫的生命活动中发挥着不可替代的作用, 例如: 协助宿主进行营养代谢、促进生长发育^[3], 提高昆虫的免疫代谢^[4]、降解有毒物质^[5-7], 影响宿主的交配能力^[8-9], 等等。近些年来, 利用昆虫微生物防治害虫的新策略得到了广泛的关注, 并且已有部分成功应用于害虫防治实践^[10], 例如: 苏云金芽孢杆菌制剂是最常见的生物防治药剂, 可用于防治眼蕈蚊的幼虫^[11]; 从柑橘大实蝇[*Bactrocera minax* (Enderlein)]中获取的异常汉逊酵母菌(*Hansenula anomala*), 其发酵产物对宿主具有强烈的引诱活性, 能用作新型的引诱剂^[12]。此外, 有研究将在灰飞虱(*Laodelphax striatellus*)体内提取到的异常毕赤酵母(*Pichia anomala*)用于不同杀菌剂的敏感性试验, 证实了杀菌剂能显著降低灰飞虱体内细菌活力, 可研发为杀菌剂与杀虫剂的混合剂型生物农药^[13]。

现阶段, 很多微生物难以实现体外培养, 但是仅依靠传统的分离培养技术不能完全揭示昆虫微生物的真实状况, 高通量测序技术的发展为昆虫微生物多样性的探究提供了便利, 其具有可操作性强、快速准确等优势^[14]。当前, 国内对广粪蚊的研究集中于生物学特性和防治方面^[15-16], 其体内蕴藏的丰富微生物资源亟待开发, 但相关研究尚未见报道。鉴于此, 本研究利用 Illumina MiSeq 高通量测序技术, 分析了广粪蚊不同发育阶段体内细菌的结构和多样性, 为探究体内细菌与广粪蚊的关系提供了理论基础, 也为利用细菌防治广粪蚊提供了新思路和新方向。

1 材料与方法

1.1 试验材料

受试昆虫采集于沈阳市铁西区彰驿平菇基地。实验室内, 温度为(25±3)℃, 相对湿度为(75±5)%, 光照周期为 14 h : 10 h (光照 : 黑暗)。用高压灭

菌锅将质量分数为 2% 的琼脂液铺于广口瓶内, 冷却后使用, 并以薄纱封住瓶口, 每 5~7 d 添加新鲜平菇饲料。

选取广粪蚊的不同发育阶段为研究对象, 即卵 40 枚, 1 龄幼虫 100 头, 2~4 龄幼虫、蛹及成虫各 50 头, 并将样本依次命名为 CMA~CMG。使用 75% 乙醇对样本体表消毒 90 s, 再用无菌水漂洗 3 次, 以去除体表的杂质。

1.2 主要试剂和仪器

E.Z.N.A™ Mag-Bind Soil DNA Kit (Omega 公司, 美国); Qubit 3.0 DNA 检测试剂盒(Life 公司, 美国); 2× Hieff® Robust PCR Master Mix、Hieff NGS™ DNA Selection Beads (上海翌圣生物科技股份有限公司)。

台式离心机(Thermo Fisher 公司, 美国); 漩涡混合器(海门市其林贝尔仪器制造有限公司); 混匀型干式恒温器(深圳拓能达科技有限公司); 电泳仪电源、电泳槽(北京市六一仪器厂); 凝胶成像系统(上海复日科技有限公司); Qubit® 3.0 荧光计(In-vitrogen 公司, 美国); PCR 仪(北京东胜创新生物科技有限公司)。

1.3 DNA 提取和 PCR 扩增

按照 E.Z.N.A™ Mag-Bind Soil DNA Kit 说明书提取样本的 DNA。以此 DNA 作为模板, 采用上游引物 341F (5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3')和下游引物 805R (5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3')对 16S rDNA 的 V3~V4 区域进行 PCR 扩增。采取两轮 PCR 扩增反应。第一轮 PCR 反应体系(30 μL): 2× Hieff® Robust PCR Master Mix 15 μL, 上游引物 1 μL, 下游引物 1 μL, 模板 DNA 10~20 ng, H₂O 9~12 μL。反应条件: 94℃ 3 min; 94℃ 30 s, 45℃ 20 s, 65℃ 30 s, 5 个循环; 94℃ 20 s, 55℃ 20 s, 72℃ 30 s, 20 个循环; 72℃ 5 min。第二轮 PCR 反应体系(30 μL): 2× Hieff® Robust PCR Master Mix 15 μL, 上游引物 1 μL, 下游引物 1 μL, 模板 DNA 20~30 ng, H₂O 9~12 μL。反应条件: 95℃ 3 min; 94℃ 20 s, 55℃ 20 s, 72℃ 30 s, 5 个循环; 72℃ 5 min。

1.4 高通量测序与数据处理

通过 2% 琼脂糖凝胶电泳检测文库大小, 使用 Hieff NGS™ DNA Selection Beads 对 PCR 产物进行纯化, 利用 Illumina MiSeq 测序平台进行双末端测序。

使用 Cutadapt 1.18^[17]、PEAR 0.9.8^[18]等软件对

测序后的数据进行质控拼接, 获得有效序列。利用 Usearch 11.0.667 软件^[19]对样本的非重复序列进行聚类, 按 97% 的相似性将序列聚类为操作分类单元(operational taxonomic unit, OTU)。使用 mothur 1.43.0 软件^[20]进行赵氏指数(Chao index)、艾斯指数(Ace index)和香农指数(Shannon index)等 α 多样性指数分析。利用 R 3.6.0 软件绘制等级聚类曲线图、热图, 并通过绘制 Circos 图来分析各样本优势细菌间的组成及分布比例。利用 RDP classifier 2.12 软件^[21]对物种进行分类, 统计样本在属水平的菌群组成。通过主成分分析(principle component analysis, PCA)对不同样本的数据进行可视化操作。

2 结果与分析

2.1 序列拼接与 OTU 聚类分析

利用 Illumina MiSeq 高通量测序平台对广粪蚊不同发育阶段体内细菌 16S rDNA 的 V3~V4 区进行测序, 7 个样本共获得原始序列 559 723 条, 经优化及拼接处理后, 有效序列共 548 058 条(表 1)。从表 1 可知, 不同发育阶段体内细菌注释的条带数存在差异, 其中, 1 龄幼虫的有效序列数目最多, 为 112 376 条; 2 龄幼虫的有效序列数目最少, 为 46 041 条。聚类所得的 OTU 数目共计 870 个,

按照分类阶元可分为 24 门、51 纲、92 目、175 科、346 属(表 1)。

2.2 广粪蚊不同发育阶段体内细菌的 α 多样性分析

α 多样性指数可用于分析样本菌群的多样性。从表 2 可知, 广粪蚊不同发育阶段体内细菌的多样性有所不同, 其中 1 龄幼虫的各项指数均高于其他样本, 赵氏指数、艾斯指数、香农指数依次为 885.03、877.55、4.31, 表明 1 龄幼虫体内细菌的丰富度和多样性最高; 赵氏和艾斯指数最小的为 4 龄幼虫, 分别为 485.00、485.09, 其香农指数相对较小, 为 3.03, 综合来看 4 龄幼虫体内细菌的丰富度和多样性是最低的。此外, 各样本的覆盖率(coverage)均大于 99%, 证明了本次研究数据的可靠性。等级聚类曲线可用于分析物种的丰富度和均匀度, 如图 1 所示, 曲线在水平方向上的跨度都较大, 而垂直方向上 1 龄幼虫的曲线较为平坦, 表明该样本的均匀度较高。

2.3 广粪蚊体内细菌的群落结构分析

Circos 图不仅可反映每个样本的优势物种组成比例, 还能反映各样本间优势物种的分布比例关系。本研究共注释了变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、厚壁菌门(Firmicutes)、未分类细菌(unclassified Bac-

表 1 广粪蚊不同发育阶段体内细菌的测序信息
Table 1 Sequencing information of bacteria in *C. fuscipes* (Meigen) at different development stages

Sample	Raw read	Valid read	OTU number	Number of different taxonomic categories				
				Phylum	Class	Order	Family	Genus
CMA	85 138	83 826	411	13	31	48	101	190
CMB	117 649	112 376	870	22	49	87	161	310
CMC	47 701	46 041	507	17	39	65	121	215
CMD	64 391	63 929	418	18	37	60	116	198
CME	66 349	65 825	384	16	33	56	105	179
CMF	75 276	74 787	456	17	36	58	114	199
CMG	103 219	101 274	515	17	37	64	119	223
Total	559 723	548 058	870	24	51	92	175	346

表 2 广粪蚊不同发育阶段体内细菌的 α 多样性指数
Table 2 Alpha diversity index of bacteria in *C. fuscipes* (Meigen)

Sample	Chao index	Ace index	Shannon index	Coverage/(%)
CMA	510.60	492.17	3.92	99.56
CMB	885.03	877.55	4.31	99.63
CMC	707.48	667.70	3.12	99.80
CMD	524.05	505.29	2.90	99.80
CME	485.00	485.09	3.03	99.66
CMF	575.40	563.40	2.99	99.69
CMG	602.55	601.15	4.04	99.81

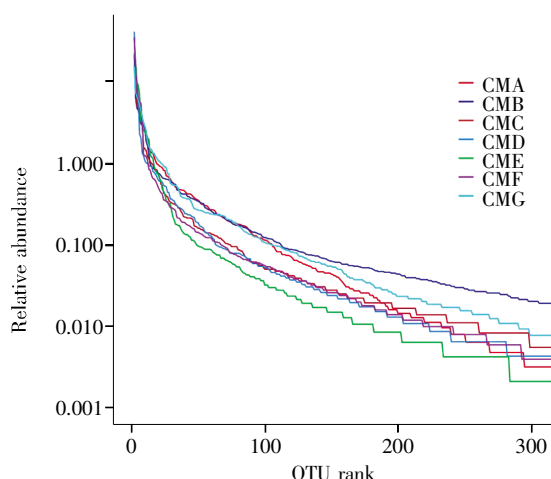


图 1 等级聚类曲线

Fig.1 The rank-abundance curves

tertia)、疣微菌门(Verrucomicrobia)、绿弯菌门(Chloroflexi)、浮霉菌门(Planctomycetes)、Ignavibacteriae等 24 个门, 它们与各样本的关系如图 2 所示。其中, 2 龄幼虫在门水平上的群落结构最丰富, 物种

组成最多; 变形菌门在卵中占明显优势, 在 4 龄幼虫中则表现出劣势; 放线菌门在 4 龄幼虫中占据绝对优势; 拟杆菌门在 4 龄幼虫和成虫中的含量略高于其他样本。总体来看, 变形菌门为优势菌门, 各个样本比例均在 30.00%以上, 且卵中的比例高达 79.83%; 放线菌门、拟杆菌门和厚壁菌门作为样本的次优势菌门, 其平均占比分别为 19.17%、17.39%、3.25%; 其他样本的平均比例均小于 1.00%。

本研究共注释了根瘤菌目(Rhizobiales)、放线菌目(Actinomycetales)、假单胞菌目(Pseudomonadales)、鞘脂杆菌目(Sphingobacteriales)、伯克氏菌目(Burkholderiales)、肠杆菌目(Enterobacteriales)、红细菌目(Rhodobacterales)、黄杆菌目(Flavobacteriales)、拟杆菌目(Bacteroidales)、乳杆菌目(Lactobacillales)等 92 个目, 它们与各样本的关系如图 3 所示。优势菌目和丰度随样本发育阶段的变化而不同。其中, 卵以假单胞菌目和伯克氏菌目为主; 1

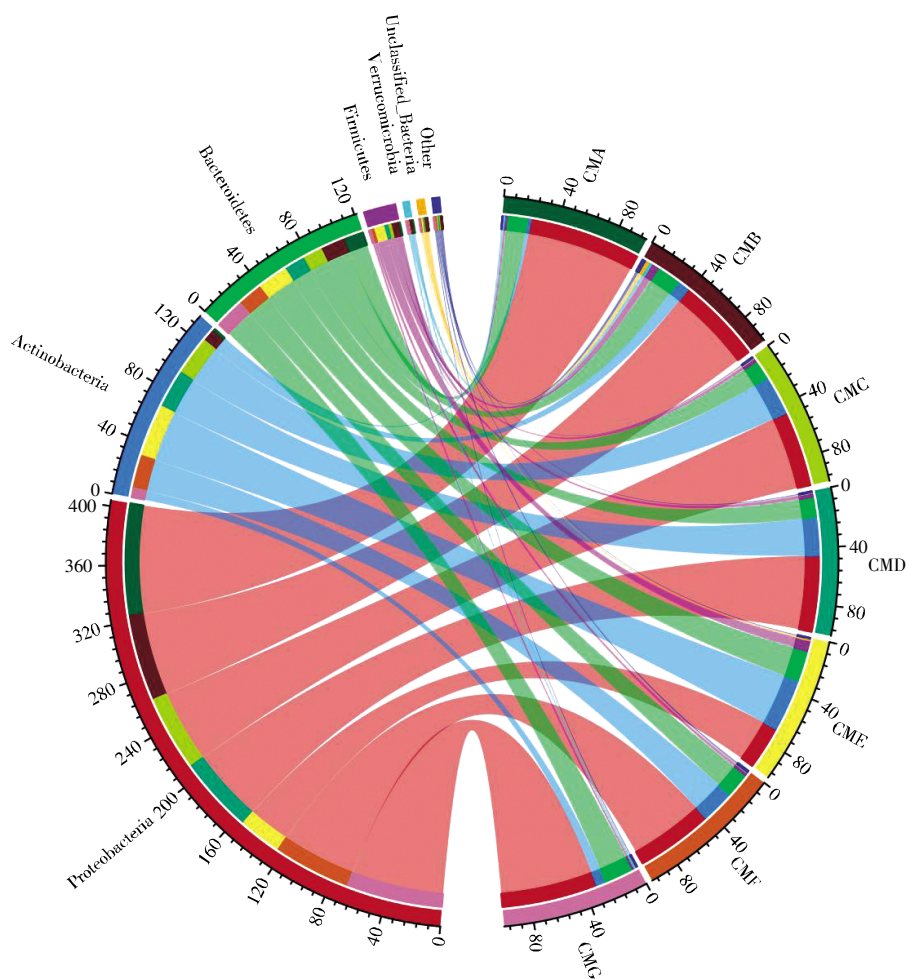


图 2 在门水平上细菌物种丰度与样本的关系(Circos 图)

Fig.2 The relationship between bacterial species abundance and samples at the phylum level (Circos)

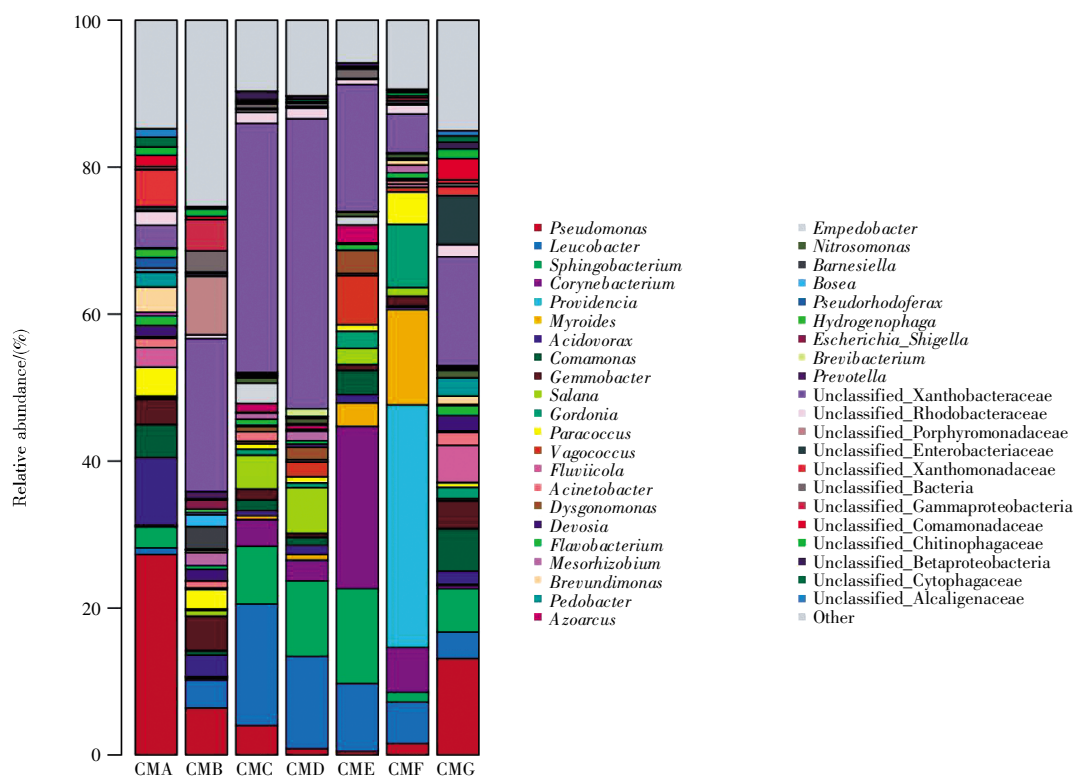


图 4 广粪蚊不同发育阶段体内细菌在属水平上的相对丰度

Fig.4 Relative abundances of bacteria at the genus level in *C. fuscipes* (Meigen) at different development stages

源。此外,图6的结果显示,2龄幼虫和3龄幼虫的细菌群落组成最相似,而1龄幼虫和蛹的细菌群落组成差异最明显。

3 讨论

本文利用 Illumina MiSeq 平台对 16S rDNA 的 V3~V4 可变区进行测序,初步探究了广粪蚊不同发育阶段体内细菌的组成和多样性,共注释到 24 门、51 纲、92 目、175 科、346 属(表 1)。 α 多样性的分析结果(表 2)显示,在不同发育阶段广粪蚊体内细菌的多样性存在差异,特别体现在幼虫阶段,多样性指数会随龄期的增加而降低,其中 1 龄幼虫的细菌丰富度和多样性最高,4 龄幼虫的最低,推测与其发育阶段和取食有关。有研究显示,昆虫在生长发育的过程中,其体内的微生物会随着发育阶段、食物及环境等因素的改变而有所差异^[22-23]。Wang 等^[24]研究表明,冈比亚按蚊(*Anopheles gambiae*)的幼虫、蛹及成虫的体内微生物会随饮食而发生变化,且多样性随着年龄的增长呈现降低的趋势。寇若玫等^[25]对大分舌蜂(*Colletes gigas*)不同龄期幼虫肠道微生物的 α 多样性分析也表明,随着幼虫龄期的增加,其肠道微生物的多样性呈现降低的趋势。此外,翟小战^[26]对中华按蚊(*Anophe-*

les sinensis)的研究显示,随着按蚊取食量和龄期的增加,其体内细菌的多样性指数呈上升趋势。

从广粪蚊体内细菌的分类学鉴定可知,在门水平上(图 2),样本共有的主要优势菌门为变形菌门,此结果与某些昆虫的优势菌相同,如白纹伊蚊(*Aedes albopictus*)^[27]、泽兰实蝇(*Procecidochares utilis*)^[28]、小贯小绿叶蝉(*Empoasca onukii* Matsuda)^[29]、茶尺蠖(*Ectropis obliqua* Prout)^[30]和白蜡虫(*Ericerus pela* Chavannes)^[31]等。在属水平上(图 4),样本的体内细菌主要由黄色杆菌科未知属、假单胞菌属和无色杆菌属组成,且不同发育阶段的优势菌属存在差异,其中,卵的优势菌属为假单胞菌属,1~3 龄幼虫和成虫的优势菌属为黄色杆菌科未知属,4 龄幼虫的优势菌属为棒状杆菌属,蛹的优势菌属为普罗威登斯菌属。研究表明,假单胞菌属具有极强分解有机物的能力,可协助家蝇分解有机物使其成为能量来源^[32];部分假单胞菌株具有杀虫作用,例如:类产碱假单胞菌(*Pseudomonas pseudoalcaligenes*)通过产生杀虫蛋白,对草地蝗虫和竹蝗等具有致死作用^[33];绿针假单胞菌(*Pseudomonas chlororaphis*)的代谢产物对病原菌、昆虫等有拮抗作用,可用于病虫害的生物防治^[34];假单胞菌(*Pseudomonadaceae*)抗生素具有抑菌活性,可被研发为

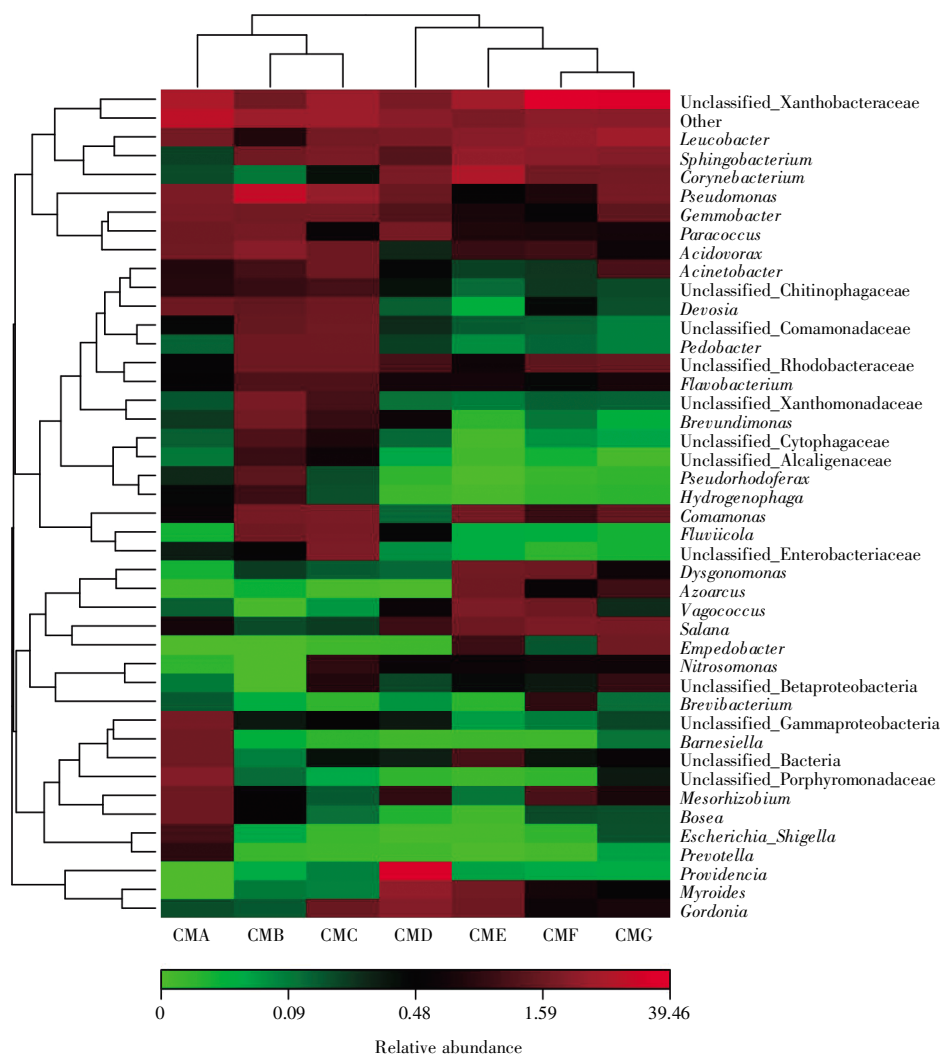


图 5 广粪蚊体内细菌群落的热图分析(属水平)
Fig.5 Heatmap analysis of bacterial community in *C. fuscipes* (Meigen) (at the genus level)

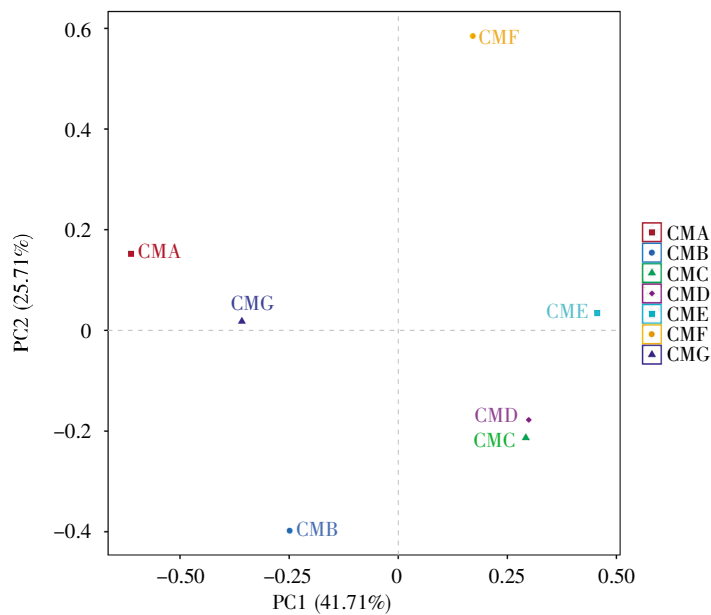


图 6 不同样本细菌群落组成的主成分分析
Fig.6 Bacterial community composition of different samples analyzed by PCA

农用杀菌剂^[35]。另外, 无色杆菌属细菌常与昆虫病原线虫结合使用, 人们通过制成线虫制剂防治农林害虫^[36]; 在家蝇体内分离得到的普罗威登斯菌属产生的木聚糖酶能分解木聚糖, 可能为其生长发育供给能量^[37]。

在长期协同进化的过程中, 昆虫与其体内细菌形成了紧密的共生关系, 体内细菌不仅可为宿主提供必需的营养物质, 还能协助宿主消化食物, 抵抗外界物质侵扰, 以及调控宿主的生殖代谢等。本文对广粪蚊不同发育阶段体内细菌的群落组成和多样性差异进行了研究, 在丰富广粪蚊体内细菌基础资料的同时, 也为探究广粪蚊体内细菌资源以开发新型生物防治药剂提供了相关的理论依据。

参考文献(References):

- [1] 李光强. 食用菌害虫优势种生物学、种群动态和群落特征的研究[D]. 泰安: 山东农业大学(LI Guangqiang. Researches on Bionomics and Population Dynamics of the Dominant Edible Fungus Insect Pests and Characteristics of the Insect Communities on Main Edible Fungi[D]. Taian: Shandong Agricultural University), 2009.
- [2] 穆洪雁. 食用菌害虫优势种物理防治和生物防治技术的研究[D]. 泰安: 山东农业大学(MU Hongyan. Researches on Biological Control and Physical Control of Main Edible Fungus Insect Pests[D]. Taian: Shandong Agricultural University), 2012.
- [3] FRANKS K, KOOIENGA E, SANDERS M, *et al.* The effect of *Rhodococcus rhodochrous* supplementation on black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) development, nutrition, and waste conversion[J]. *Journal of Insects as Food and Feed*, 2021, 7(4): 397–408.
- [4] BAI L, WANG L L, VEGA-RODRÍGUEZ J, *et al.* A gut symbiotic bacterium *Serratia marcescens* renders mosquito resistance to *Plasmodium* infection through activation of mosquito immune responses[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 1580.
- [5] KIKUCHI Y, HAYATSU M, HOSOKAWA T, *et al.* Symbiont-mediated insecticide resistance[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, 2012, 109(22): 8618–8622.
- [6] TAGO K, OKUBO T, ITOH H, *et al.* Insecticide degrading *Burkholderia* symbionts of the stinkbug naturally occupy various environments of sugarcane fields in a Southeast island of Japan[J]. *Microbes and Environments*, 2015, 30(1): 29–36.
- [7] PAVLIDI N, GIOTI A, WYBOUW N, *et al.* Transcriptomic responses of the olive fruit fly *Bactrocera oleae* and its symbiont *Candidatus Erwinia dacicola* to olive feeding[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 42633.
- [8] GAVRIEL S, JURKEVITCH E, GAZIT Y, *et al.* Bacterially enriched diet improves sexual performance of sterile male Mediterranean fruit flies[J]. *Journal of Applied Entomology*, 2011, 135(7): 564–573.
- [9] LAUZON C R, POTTER S E. Description of the irradiated and nonirradiated midgut of *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae) and *Anastrepha ludens* Loew (Diptera: Tephritidae) used for sterile insect technique[J]. *Journal of Pest Science*, 2012, 85(2): 217–226.
- [10] 王四宝, 曲爽. 昆虫共生菌及其在病虫害防控中的应用前景[J]. 中国科学院院刊(WANG Sibao, QU Shuang. Insect symbionts and their potential application in pest and vector-borne disease control[J]. *Bulletin of Chinese Academy of Sciences*), 2017, 32(8): 863–872.
- [11] 师迎春, 杨秀芬, 张涛, 等. 苏云金芽孢杆菌制剂对双孢蘑菇栽培房眼蕈蚊的控制作用[J]. 食用菌学报(SHI Yingchun, YANG Xiufen, ZHANG Tao, *et al.* Effectiveness of *Bacillus thuringiensis* microbial agents in controlling sciarid fly infestation in *Agaricus bisporus* cultivation rooms[J]. *Acta Edulis Fungi*), 2014, 21(4): 76–80.
- [12] 张宏宇, 李仗黎, 郑薇薇. 异常汉逊酵母菌在制备柑橘实蝇类引诱剂中的应用(ZHANG Hongyu, LI Zhangli, ZHENG Weiwei. Application of *Hansenula anomala* in attracting citrus fruit flypests): CN201210245822.7[P]. 2012–10–31.
- [13] 曹伟, 马正, 俞晓平. 灰飞虱体内类酵母共生菌异常毕赤酵母的分离培养及其对杀菌剂的敏感性[J]. 昆虫学报(CAO Wei, MA Zheng, YU Xiaoping. Isolation and sensitivity to fungicides of the yeast-like symbiont *Pichia anomala* (Hemiascomycetes: Saccharomycetaceae) from *Laodelphax striatellus* (Hemiptera: Delphacidae)[J]. *Acta Entomologica Sinica*), 2015, 58(3): 271–280.
- [14] 王渭霞, 朱廷恒, 赖凤香. 昆虫共生微生物及其功能研究进展[J]. 昆虫学报(WANG Weixia, ZHU Tingheng, LAI Fengxiang. Research advances in symbiotic microorganisms in insects and their functions[J]. *Acta Entomologica Sinica*), 2021, 64(1): 121–140.
- [15] 罗佳, 庄秋林. 福建食用菌双翅目害虫的种类、为害及防治[J]. 福建农林大学学报(自然科学版)(LUO Jia, ZHUANG Qiulin. The species, damage and control of Diptera pests in edible fungi in Fujian Province[J]. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition)*), 2007, 36(3): 237–240.
- [16] 李建波, 何璞. 我国食用菌双翅目害虫种类和防治研究现状[J]. 中国植保导刊(LI Jianbo, HE Pu. Research progress on Diptera pest species of mushroom and its controlling in China[J]. *China Plant Protection*), 2017, 37(11): 19–25, 37.
- [17] MARTIN M. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads[J]. *EMBnet.journal*, 2011, 17(1): 10–12.
- [18] ZHANG J J, KOBERT K, FLOURI T, *et al.* PEAR: a fast and accurate Illumina paired-end reAd mergeR[J]. *Bioinformatics*, 2014, 30(5): 614–620.
- [19] EDGAR R C. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads[J]. *Nature Methods*, 2013, 10(10): 996–998.
- [20] SCHLOSS P D, WESTCOTT S L, RYABIN T, *et al.* Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(23): 7537–7541.
- [21] WANG Q, GARRITY G M, TIEDJE J M, *et al.* Naïve Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(16): 5261–5267.
- [22] DILLON R J, DILLON V M. The gut bacteria of insects: non-pathogenic interactions[J]. *Annual Review of Entomology*, 2004, 49: 71–92.
- [23] 王晓明, 吴焜, 陈晓光, 等. 蚊虫共生微生物群多样性及功能的研究进展[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志(WANG Xiaoming, WU Kun, CHEN Xiaoguang, *et al.* Research advances on diversity and function of mosquito-bacteria symbiosis[J]. *Chinese Journal of Parasitology and Parasitic Diseases*), 2017, 35(3): 305–312.

- [21] 董亮, 何永志, 王远亮, 等. 超氧化物歧化酶(SOD)的应用研究进展[J]. 中国农业科技导报(DONG Liang, HE Yongzhi, WANG Yuanliang, *et al.* Research progress on application of superoxide dismutase (SOD)[J]. Journal of Agricultural Science and Technology), 2013, 15(5): 53–58.
- [22] HIEU V N, THUY L T T, HAI H, *et al.* Capacity of extracellular globins to reduce liver fibrosis via scavenging reactive oxygen species and promoting MMP-1 secretion[J]. Redox Biology, 2022, 52: 102286.
- [23] 徐国恒. 细胞骨架——肌动蛋白纤维[J]. 生物学通报(XU Guoheng. Cytoskeleton-actin filament[J]. Bulletin of Biology), 2005, 40(2): 43.
- [24] 李庆伟, 张撼, 逢越. 钙调蛋白结构、性质及其细胞生物学功能的研究进展[J]. 辽宁师范大学学报(自然科学版) (LI Qingwei, ZHANG Han, PANG Yue. The structure, properties and cellular biological functions of CaM[J]. Journal of Liaoning Normal University (Natural Science Edition)), 2017, 40(1): 74–82.
- [25] 戴琳玉, 闫宇, 王路广, 等. 下调钙网蛋白基因表达可促进肝星状细胞凋亡[J]. 第三军医大学学报(DAI Linyu, YAN Yu, WANG Luguang, *et al.* Down-regulation of calreticulin promotes apoptosis in hepatic stellate cells[J]. Journal of Army Medical University), 2021, 43(10): 908–914.
- [26] 邱琳, 李静燕, 王建浩, 等. 细丝蛋白与其蛋白配体的相互作用[J]. 常州大学学报(自然科学版) (QIU Lin, LI Jingyan, WANG Jianhao, *et al.* Filamins and their protein ligands[J]. Journal of Changzhou University (Natural Science Edition)), 2015, 27(2): 81–87.
- [27] 黄琳. 牙鲆免疫相关基因及热休克蛋白基因的转录表达[D]. 青岛: 中国科学院海洋研究所(HUANG Lin. Transcriptional Expression of Immune-related Genes and Heat Shock Protein Genes of Japanese Flounder (*Paralichthys olivaceus*)[D]. Qingdao: Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences), 2015: 19.
- [28] 王志强, 周智敏, 郭占云. 蛋白质二硫键异构酶家族的结构与功能[J]. 生命科学研究(WANG Zhiqiang, ZHOU Zhimin, GUO Zhanyun. The structure and function of the protein disulfide isomerase family[J]. Life Science Research), 2009, 13(6): 548–553.
- [29] 周冰, 曹诚, 刘传暄. 翻译延伸因子 1A 的研究进展[J]. 生物技术通讯(ZHOU Bing, CAO Cheng, LIU Chuanxuan. Advances in research on translation elongation factor 1 alpha[J]. Letters in Biotechnology), 2007, 18(2): 281–284.

(上接第 236 页)

- [24] WANG Y, GILBREATH T M, KUKUTLA P, *et al.* Dynamic gut microbiome across life history of the malaria mosquito *Anopheles gambiae* in Kenya[J]. PLoS One, 2011, 6(9): e24767.
- [25] 寇若玫, 李月, 窦飞越, 等. 大分舌蜂不同龄期幼虫及滞育预蛹肠道细菌群落多样性及其差异[J]. 昆虫学报(KOU Ruomei, LI Yue, DOU Feiyue, *et al.* Diversity and differences of gut bacterial communities in different instar larvae and diapause prepupae of *Colletes gigas* (Hymenoptera: Colletidae)[J]. Acta Entomologica Sinica), 2021, 64(6): 682–693.
- [26] 翟小战. 中华按蚊肠道细菌群落研究[D]. 武汉: 华中农业大学(ZHAI Xiaozhan. The Intestinal Bacterial Flora Community Structure of *Anopheles sinensis* Mosquitoes (Diptera: Culicidae)[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University), 2014.
- [27] 王晓明. 白纹伊蚊细菌微生物群落多样性及功能研究[D]. 广州: 南方医科大学(WANG Xiaoming. Diversity and Function of Bacterial Microbiota in *Aedes albopictus*[D]. Guangzhou: Southern Medical University), 2017.
- [28] 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(ZHANG Mou, YANG Pu, ZHU Jiaying, *et al.* Analysis of the bacterial diversity in the intestine of larval *Procecidochares utilis* (Diptera: Trypetidae) based on 16S rDNA gene sequence[J]. Acta Entomologica Sinica), 2016, 59(2): 200–208.
- [29] 毛迎新, 谭荣荣, 王友平, 等. 基于 16S rDNA 序列的小贯小绿叶蝉共生细菌多样性研究[J]. 植物保护(MAO Yingxin, TAN Rongrong, WANG Youping, *et al.* Analysis of the bacterial diversity in adults of *Empoasca (Matsumurasca) onukii* based on 16S rDNA sequences[J]. Plant Protection), 2018, 44(3): 17–23, 48.
- [30] 靳亮, 王金昌, 王洪秀, 等. 16S rRNA 基因的 PCR-DGGE 技术分析茶尺蠖幼虫肠道细菌种群结构及多样性[J]. 江西科学(JIN Liang, WANG Jinchang, WANG Hongxiu, *et al.* Bacterial community in midguts of *Ectropis oblique* larvae by PCR-DGGE and 16S rRNA gene library analysis[J]. Jiangxi Science), 2013, 31(6): 759–763, 829.
- [31] 吕品, 元倩, 杨璞, 等. 基于 16S 测序分析白蜡虫二龄雌雄若虫共生菌的多样性分析[J]. 林业科学研究(LÜ Pin, QI Qian, YANG Pu, *et al.* Analysis on structure and diversity of bacterial community of the second-instar *Ericerus pela* nymph based on 16S rRNA high-throughput sequencing[J]. Forest Research), 2019, 32(5): 34–41.
- [32] 刘婧, 陈丹, 庄桂芬, 等. 家蝇发育过程中肠道可培养共生细菌的分离与鉴定[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志(LIU Jing, CHEN Dan, ZHUANG Guifen, *et al.* Isolation and identification of cultivable symbiotic bacteria from the intestinal tract of *Musca domestica* during development[J]. Chinese Journal of Parasitology and Parasitic Diseases), 2017, 35(2): 120–124.
- [33] 杨海君, 谭周进, 肖启明, 等. 假单胞菌的生物防治作用研究[J]. 中国生态农业学报(YANG Haijun, TAN Zhoujin, XIAO Qiming, *et al.* Biocontrol functions of pseudomonad[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture), 2004, 12(3): 158–161.
- [34] 张春媚, 徐明洁, 李雪威, 等. 绿针假单胞菌的研究进展及农业应用潜力[J]. 微生物学报(ZHANG Chunmei, XU Mingjie, LI Xuewei, *et al.* Recent research advances and application potential in agriculture of *Pseudomonas chlororaphis*[J]. Acta Microbiologica Sinica), 2022, 62(2): 391–402.
- [35] 张力群, 张俊威. 假单胞菌产生的抗生素[J]. 中国生物防治学报(ZHANG Liqun, ZHANG Junwei. Antibiotics produced by *Pseudomonas* spp.[J]. Chinese Journal of Biological Control), 2015, 31(5): 750–756.
- [36] 廖美德, 梁世中. 昆虫病原线虫共生菌无色杆菌的研究概况[J]. 湖北农学院学报(LIAO Meide, LIANG Shizhong. A survey of researches on *Xenorhabdus* spp., bacteria symbiotically associated with insect pathogenic nematodes[J]. Journal of Hubei Agricultural College), 2001, 21(3): 285–288.
- [37] RAJ A, KUMAR S, SINGH S K, *et al.* Characterization of a new *Providencia* sp. strain X1 producing multiple xylanases on wheat bran[J]. The Scientific World Journal, 2013, 2013: 386769.