美洲大蠊野生组与饲养组细菌多样性差异分析*

陈浩宇[1, 2, 3**] 马 涛[1, 3**] 王成业[1, 3***] 冯 颖[1, 3] 赵 敏[1, 3***]

（1. 中国林业科学研究院高原林业研究所，昆明 650224；2. 南京林业大学林学院，南京 210037；
3. 国家林业和草原局资源昆虫培育与利用重点实验室，昆明 650224）

摘 要 【**目的**】探索美洲大蠊 *Periplaneta americana* 的细菌群落结构，以揭示其如何获得和携带致病菌。同时，了解这些菌群对宿主的潜在益处，为解析微生物如何促进美洲大蠊的生长发育提供数据支持，并为人工养殖提供指导，降低疾病传播风险。【**方法**】采用 16S rRNA 扩增子的高通量测序技术，对野外种群和饲养种群美洲大蠊体表和体内细菌群落多样性进行分析，并使用 PICRUSt2 基于 16S 丰度数据预测群落功能。【**结果**】美洲大蠊体表样本的菌群丰度低于体内样本，野生种群的体表样本在 α 和 β 多样性上显著高于饲养种群（$P<0.05$），但在体内样本中野生种群与饲养种群差异不明显（$P>0.05$）。在门分类水平上，美洲大蠊体表与体内样本的菌群主要集中在拟杆菌门 Bacteroidetes（平均丰度：体表 22.91%，体内 64.07%）、变形菌门 Proteobacteria（体表 48.49%，体内 12.83%）和厚壁菌门 Firmicutes（体表 20.26%，体内 15.79%）上。线性判别分析（Linear discriminant analysis effect size，LEfSe）显示，野生种群的体表样本具有大量致病细菌，如沙雷氏菌属 *Serratia*、不动杆菌属 *Acinetobacter* 和肠球菌属 *Enterococcus* 等。PICRUSt2 功能预测发现，美洲大蠊体内菌群中与环境适应、氨基酸代谢、能量代谢、糖类生物合成和代谢、核苷酸代谢、以及复制与修复等功能相关的组分比例显著高于体表样本（$P<0.05$）。【**结论**】美洲大蠊体内细菌群落组成相对稳定，但其丰度会受环境影响，这些菌群在代谢营养物质、适应环境和提高免疫力方面具有重要作用；美洲大蠊的致病菌主要从环境中获取，并附着于体表进行传播。因此，在养殖过程中应提供多样化的饮食以维护肠道菌群结构，并保持良好的卫生条件，减少致病菌的滋生和传播的风险。

关键词 美洲大蠊；16S rRNA；致病细菌；传播途径

Analysis of wild and farmed populations of *Periplaneta americana*: Diversity of external and internal bacterial community

CHEN Hao-Yu[1, 2, 3**] MA Tao[1, 3**] WANG Cheng-Ye[1, 3***]
FENG Ying[1, 3] ZHAO Min[1, 3***]

(1. Chinese Academy Forestry, Institute of Highland Forest, Kunming 650224, China; 2. College of Forestry, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China; 3. National Forestry and Grassland Administration, Key Laboratory of Cultivation and Utilization of Resource Insects, Kunming 650224, China)

Abstract **[Aim]** To explore the bacterial community structure of the *Periplaneta americana* and investigate how it acquires and carries pathogenic bacteria. Additionally, to determine the potential benefits of these bacterial communities to the host, to gain a greater understanding of how microorganisms promote the growth and development of *P. americana*. The findings of this study may offer valuable guidance for the artificial breeding of *P. americana*, and insight into reducing the risk of disease transmission. **[Methods]** High throughput 16S rRNA amplicon sequencing was used to analyze the bacterial community

*资助项目 Supported project：澜沧江-湄公河合作专项基金“澜沧江-湄公河地区食用昆虫资源评价及合作开发”（教外司亚〔2020〕619 号）

**共同第一作者 Co-first authors，E-mail：chenhy202106@163.com；matao_1121@163.com

***共同通讯作者 Co-corresponding authors，E-mail：wangcy@caf.ac.cn；mzhao@caf.ac.cn

收稿日期 Received：2023-06-30；接受日期 Accepted：2023-10-18

diversity in surface and internal samples of wild and artificially reared *P. americana*. Additionally, PICRUSt2 was used to predict community functions based on the composition and abundance of 16S rRNA. **[Results]** The abundance of the bacterial communities in the surface samples were lower compared to the internal samples. Moreover, the surface samples from the wild populations had significantly higher α and β diversity compared to the artificially reared populations ($P<0.05$). However, there was no significant difference in the internal samples between the wild and artificially reared populations ($P>0.05$). At the phylum level, both the surface and internal samples of *P. americana* were primarily dominated by Bacteroidetes (average abundance: 22.91% on the surface and 64.07% internally), Proteobacteria (48.49% on the surface and 12.83% internally), and Firmicutes (20.26% on the surface and 15.79% internally). Significant differential features between different treatments were identified through linear discriminant analysis effect size (LEfSe). Notably, in both the wild population and cutaneous samples, we observed a significant presence of pathogenic bacteria from the genus *Serratia*, *Acinetobacter*, and *Enterococcus*. Functional predictions using PICRUSt2 revealed that the bacterial community in the internal samples of *P. americana* has a higher proportion of functional categories related to environmental adaptation, amino acid metabolism, energy metabolism, carbohydrate biosynthesis and metabolism, nucleotide metabolism, replication, and repair. Additionally, the proportions of these functional categories associated with the microbial community were significantly higher in the internal samples compared to the surface samples ($P<0.05$). **[Conclusion]** The internal bacterial community of *P. americana* is relatively conservative and resistant to change, and plays a crucial role in nutrient metabolism, environmental adaptation, and immune enhancement. The pathogenic bacteria in *P. americana* are primarily acquired from the environment and mainly adhere to the surface for transmission. Therefore, a diversified diet should be offered to artificially farmed *P. americana* to prevent disrupting its gut microbiota structure, which could impact its normal growth and development. Additionally, it is crucial to maintain hygienic conditions in *P. americana* breeding facilities to reduce the risks of proliferation and transmission of pathogenic bacteria.

Key words *Periplaneta americana*; 16S rRNA; pathogenic bacteria; transmission pathways

蟑螂是动物界中最为多样化和丰富的类群之一，具有强大的生命力、繁殖能力和适应性，在世界各地广泛分布（Schal *et al.*，1984；Legendre *et al.*，2015）。其中一些蟑螂种类，例如美洲大蠊 *Periplaneta americana*，活动在人类的起居、工作和活动场所（Nasirian，2017），会对人类的生活造成影响。蟑螂可携带多种致病细菌，包括鼠疫杆菌 *Yersinia pestis*、大肠杆菌 *Escherichia coli* 和金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* 等（Baumholtz *et al.*，1997；Lemos *et al.*，2006；Vicente *et al.*，2016，2018）。研究表明，蟑螂能够引发人类过敏和哮喘反应，一些学者认为家庭中蟑螂发生率与哮喘患病率呈正相关（Baumholtz *et al.*，1997；Valles *et al.*，1999；Nasirian，2017）。然而，并非所有蟑螂都对人类有害，在全球已知的 4 000 多种蟑螂中，只有不到 1%的种类对人类构成威胁（Chung *et al.*，2005）。在中国，蟑螂是一类传统中药材，最早被记载于《神农本草经》，具有破瘀、化积、消肿、解毒等疗效（马涛等，2019）。研究证实美洲大蠊体内的活性成分在皮肤（Li *et al.*，2019）、肠胃（Zeng *et al.*，2019；Liao *et al.*，2022）、肝脏（Zhou *et al.*，2022）等器官中具有抗氧化和抗炎等作用。美洲大蠊的有效成分在中国被开发为多种临床药物，例如消症益肝片、康复新液、肝龙胶囊和心脉隆注射液（Zhao *et al.*，2017；马涛等，2019）。

昆虫的外骨骼、肠道、血腔及细胞内部都有细菌分布，尤其是昆虫肠道，在营养和水分方面更是为细菌提供了良好的栖息和繁衍场所（Douglas and Beard，1996），因而拥有丰富的细菌多样性。尽管各种细菌都能在昆虫体内定殖但其组成、丰度和稳定性在不同昆虫种类间存在差异（Engel and Moran，2013）。影响昆虫携带细菌群落差异的因素主要有饮食、系统发育、环境、肠道形态和行为等（Colman *et al.*，2012；Raymann and Moran，2018；Kolasa *et al.*，2019；Lee *et al.*，2020；Yuan *et al.*，2021）。已知细菌在昆虫的生长与发育过程中扮演着重要角色，对昆虫的消化、营养吸收、免疫防御、生殖调节、

生长发育和行为调节等方面都有重要影响（Raymann and Moran，2018；Parker *et al.*，2019；Suárez-Moo *et al.*，2020；Basic *et al.*，2022）。因此，识别和理解宿主与细菌群落之间的相互作用是当前研究的重要领域。

蟑螂因其丰富的后肠微生物群、杂食性以及与人类胃相似的肠道结构，成为研究肠道微生物群的常见模式生物（Jahnes *et al.*，2021；Tinker and Ottesen，2021）。美洲大蠊更是因其对人类造成的危害较大而备受关注（Nasirian，2017）。与人类粪便样品相比，美洲大蠊的肠道细菌群落显示出更高的 α 多样性和显著更低的 β 多样性（Tinker and Ottesen，2016）。这表明，美洲大蠊虽然拥有种类更加丰富和多样的微生物群，但不同个体之间的菌群结构却高度一致，体现出其菌群结构的稳定性和保守性。研究表明，美洲大蠊的体表和体内能够携带多种致病细菌，但这些细菌并未对其自身的生长和发育产生不利影响。这种现象被认为是美洲大蠊与其共生菌群共同进化的结果，使其具备应对复杂环境的生存能力。有学者提出，美洲大蠊已进化出独特的机制，能够有效地建立和维持一个多样化且稳定的核心菌群（Mullins，2015；Tinker and Ottesen，2016）。

鉴于大量研究已证实美洲大蠊体内和体外细菌的丰富性和多样性，以及其携带潜在致病细菌的能力，本研究旨在探讨其体内和体表细菌的差异，阐明美洲大蠊致病细菌获取及主要携带方式。通过 16S rRNA 基因扩增子测序技术，对野生和饲养美洲大蠊体内与体表的细菌群落结构进行分析，并对肠道菌群的潜在功能及美洲大蠊携带病原体的可能途径进行了探讨。研究结果不仅有助于理解美洲大蠊的细菌携带机制，还可为其养殖提供参考。

1　材料与方法

1.1　样本采集和 DNA 提取

样品采自云南美洲大蠊人工养殖场及野生条件下城乡居住地。于不同养殖空间或位点随机选取美洲大蠊成虫或高龄若虫至少 4 头，混合为一个样品。共从 3 个野外地点（云南省双柏县、云南省腾冲市芒棒镇和云南省腾冲市滇滩镇）和 2 个饲养地点（云南省腾冲市北海乡两个不同的养殖厂）获得 48 个样品，分别对其体表和体内细菌进行分离。详细采样及分组信息见表 1。

表 1　样品信息表

Table 1　Sampling and grouping table

样品名 Sample ID	处理 Treatment	龄期 Instar	组别 Group	采集地 Source	样品名 Sample ID	处理 Treatment	龄期 Instar	组别 Group	采集地 Source
PE1	T2	A	PE1-3	W1	PI1	T1	N	PI1-3	W1
PE2	T2	A	PE1-3	W1	PI2	T1	N	PI1-3	W1
PE3	T2	A	PE1-3	W1	PI3	T1	N	PI1-3	W1
PE4	T2	NA	PE4-6	F2	PI4	T1	A	PI4-6	W1
PE5	T2	NA	PE4-6	F2	PI5	T1	A	PI4-6	W1
PE6	T2	NA	PE4-6	F2	PI6	T1	A	PI4-6	W1
PE7	T2	N	PE7-9	W1	PI7	T1	NA	PI7-9	F2
PE8	T2	N	PE7-9	W1	PI8	T1	NA	PI7-9	F2
PE9	T2	N	PE7-9	W1	PI9	T1	NA	PI7-9	F2
PE10	T2	A	PE10-12	F1	PI10	T1	A	PI10-11	W2
PE11	T2	A	PE10-12	F1	PI11	T1	A	PI10-11	W2
PE12	T2	A	PE10-12	F1	PI12	T1	A	PI12	W3

续表 1 (Table 1 continued)

样品名 Sample ID	处理 Treatment	龄期 Instar	组别 Group	采集地 Source	样品名 Sample ID	处理 Treatment	龄期 Instar	组别 Group	采集地 Source
PE13	T2	A	PE13-15	F2	PI13	T1	A	PI13-15	F1
PE14	T2	A	PE13-15	F2	PI14	T1	A	PI13-15	F1
PE15	T2	A	PE13-15	F2	PI15	T1	A	PI13-15	F1
PE16	T2	N	PE16-18	F1	PI16	T1	A	PI16-18	F2
PE17	T2	N	PE16-18	F1	PI17	T1	A	PI16-18	F2
PE18	T2	N	PE16-18	F1	PI18	T1	A	P I16-18	F2
PE19	T2	N	PE19-21	F2	PI19	T1	N	PI19-21	F1
PE20	T2	N	PE19-21	F2	PI20	T1	N	PI19-21	F1
PE21	T2	N	PE19-21	F2	PI21	T1	N	PI19-21	F1
PE22	T2	A	PE22-23	W2	PI22	T1	N	PI22-24	F2
PE23	T2	A	PE22-23	W2	PI23	T1	N	PI22-24	F2
PE24	T2	A	PE24	W3	PI24	T1	N	PI22-24	F2

T1 和 T2 分别表示体内样本和体表样本。A 表示成虫阶段，N 表示高龄若虫，NA 表示高龄蜕皮若虫。W 表示野生种群，W1 位于云南省双柏县，W2 位于云南省腾冲市芒棒镇，W3 位于云南省腾冲市滇滩镇。F 表示人工养殖种群，其中 F1 和 F2 是采自位于云南省腾冲市北海乡两个不同的养殖厂。下表及下图同。

T1 and T2 represent internal samples and external samples, respectively. A represents the adult stage, N represents the late-stage nymph, and NA represents the late-stage molting nymph. W represents the wild population, W1 is located in Shuangbai County, Yunnan Province; W2 is situated in Mangbang Town, Tengchong City, Yunnan Province; W3 is in Diantan Town, Tengchong City, Yunnan Province. F represents the farmed population, where both F1 and F2 are from two different pharmaceutical factories in Beihai Township, Tengchong City, Yunnan Province. The same for the following tables and figures.

体表样品采样步骤：a. 将美洲大蠊活体放于黑暗中饥饿处理 24 h；b. 将美洲大蠊置于灭菌的三角瓶中，瓶内装有 10 g 玻璃珠，放于 - 20 ℃冷冻 15-20 min，降低昆虫活性；c. 待美洲大蠊足够迟钝后，向三角瓶中倒入灭菌的 PBS 缓冲液（2 mL/虫），轻轻摇晃三角瓶，使 PBS 缓冲液充分洗涤美洲大蠊体表；d. 将洗涤液倒入无菌管中。

体内样品采样步骤：a. 将用 PBS 洗脱的美洲大蠊用无菌水清洗后，浸泡于 75%的酒精中消毒 5 min，浸泡后用无菌水清洗两遍；b. 在无菌条件下解剖虫体，将取出的内脏组织放入无菌管中。将所有样品放于 - 80 ℃冰箱冻存备用。

将保存在 - 80 ℃冰箱的样品于冰上解冻，称取 0.5 g 提取 DNA。美洲大蠊体表和体内样本 DNA 使用 EZNA 细菌试剂盒（Omega Bio-Tek）提取。利用分光光度计（Thermo Scientific，Wilmington，De，USA）和 1%琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的丰度与质量。提取好的 DNA 保存在 - 80 ℃冰箱备用。

1.2 文库制备和测序

参照 Quince 等（2011）和 Parada 等（2016），利用引物 515F-Y（5′-GTGYCAGCMGCCGCGGTAA）和 926R（5′-CCGYCAATTYMTTTRAGTTT）对样本 16S rDNA 的 V4-V5 区进行扩增，并使用 Illumina Miseq 配对末端测序平台进行测序。

1.3 数据分析

参照文献（Hall and Beiko, 2018）的方法，采用 QIIME2（Version：2022.11）对测序获得的原始序列进行处理，从而获得每个样本的有效序列。使用 QIIME2 软件中的 UCLUST 序列比对工具（Edgar，2010），对高质量序列按 97%的相似度进行归并和 OTU（Operational taxonomic units）划分，并选择每个 OTU 中丰度最高的序

列作为该 OTU 的代表序列。随后，根据每个 OTU 在各样本中所包含的序列数构建 OTU 丰度矩阵（OTU table）。对于每个 OTU 的代表序列，利用 QIIME2 软件中的默认参数，通过与 RDP 16S 数据库（Release 11.5）的模板序列进行比对，获取每个 OTU 所对应的分类学信息。依据（Hall and Beiko, 2018）的方法，进一步对 16S 数据进行分析及可视化。对于线性判别分析（Linear discriminant analysis effect size, LEfSe），使用在线分析平台（https://huttenhower.sph.harvard.edu/galaxy/）对差异物种进行可视化。采用 PICRUSt（Phylogenetic investigation of communities by reconstruction of unobserved states）软件并结合 KEGG（Kyoto encyclopedia of genes and genomes）数据库中微生物代谢功能的类别对群落样本的功能进行预测（Langille *et al.*，2013）。功能差异分析采用 STAMP（Version：2.1.3），并将结果可视化（Parks *et al.*，2014）。

2　结果与分析

2.1　多样性分析

对序列进行质量过滤和去除嵌合体后，从 48 个样本中共获得 2 755 433 条高质量 16S rRNA 基因序列，这些优质序列被分类到 61 374 个操作分类单元（OTUs）。稀释曲线（图 1）显示，随着测序深度的增加（即选定的 OTUs 比例增加），OTU 数目逐渐增多并趋于平坦。这表明数据量是合理的，因为继续增加测序深度只会带来少量新的 OTUs。去除丰度较低的 OTUs 后，剩余 21 691 个 OTUs，其中体表样本含 16 656 个 OTUs，肠道样本含 14 843 个 OTUs，体表样本和体内样本共有的 OTUs 为 9 808 个。

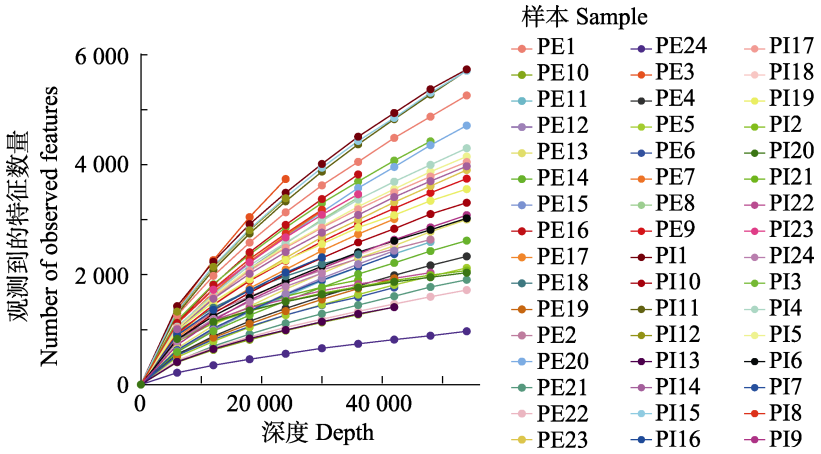

图 1　美洲大蠊测序数据稀疏曲线图

Fig. 1　The rarefaction curve of *Periplaneta americana* sequencing data

样品名同表 1。下图同。Sample is the same as Table1. The same below.

在 α 多样性指数上，体表样本的 Faith_PD 指数显著高于体内样本（$P<0.05$）（图 2：A）。而体内样本的 Shannon 指数显著高于体表样本（$P<0.05$）（图 2：C）。这表明体表菌群虽然系统发育多样性较高，但主要是由少数具有显著进化差异的物种主导，而不是种类数量多且分布均匀的缘故。美洲大蠊的 Faith_PD 多样性在大多数组别之间没有显著差异（$P>0.05$）（图 2：B），但在 Shannon 多样性上，野生型和饲养型美洲大蠊的体表菌群表现出显著差异（$P<0.05$），体内菌群也呈现出类似的显著差异（$P<0.05$）（图 2：D）。这一现象表明，虽然系统发育多样性（Faith_PD）在不同组别中没有显著变化，但体表和体内菌群的物种丰富度和均匀度（Shannon 多样性）在野生型和饲养型之间都存在显著差异，野生条件下的美洲大蠊菌群丰度普遍高于饲养条件（$P<0.05$）。这可能反映了野生和饲养环境的不同对美洲大蠊微生物群落的选择性压力

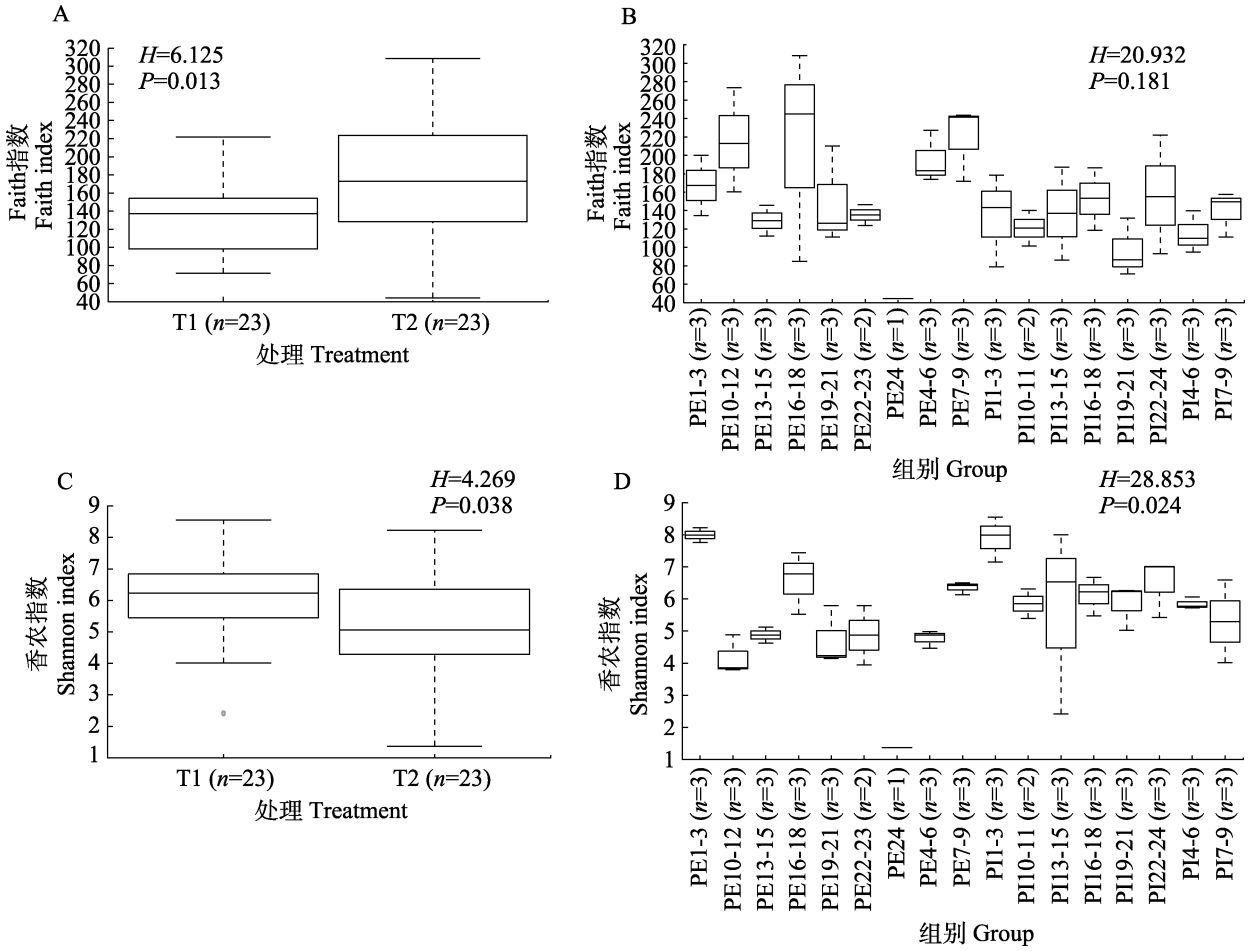

图 2 美洲大蠊各组别 α 多样性指数箱线图

Fig.2 The box plot of alpha diversity indices for different groups of *Periplaneta americana*

A. 美洲大蠊体表和体内 Faith_PD 多样性；B. 美洲大蠊野生组与饲养组体表与体内 Faith_PD 多样性指数；C.美洲大蠊体表和体内 Shannon 多样性；D. 美洲大蠊野生组与饲养组体表与体内 Shannon 多样性指数。

A. Faith_PD diversity for the surface and internal microbiota of *P. americana*; B. Faith_PD diversity for different group of surface and internal microbiota in wild and farmed *P. americana*; C. Shannon diversity for the surface and internal microbiota of *P. americana*; D. Shannon diversity for different group of surface and internal microbiota in wild and farmed *P. americana*.

不同，从而影响了菌群的组成和分布。

根据未加权的 UniFrac 距离所绘制的箱型图可以看出，体表样本和体内样本间存在极显著差异（P=0.001，Pseudo-F=5.374）（图 3）。这一结果表明，美洲大蠊体表样本和体内样本的细菌群落结构存在显著差异。这可能由于生态位的不同而表现出明显的分化。体表样本受到外部环境的影响，如气候、湿度和微生物来源等，而体内样本则受到宿主的生理条件和免疫系统的影响。基于 UniFrac 距离的分析显示，不同环境条件下（野生和饲养）美洲大蠊的体内菌群结构差异不显著（P>0.05）（例如，T1F1 与 T1F2 的差异 P=0.422，T1F1 与 T1W1 的差异 P=0.114）（表 2）。虽然在分组时考虑了不同虫龄的影响，例如成虫、若虫、以及蜕皮后对体表菌群的影响，但数据分析表明，虫龄和蜕皮因素并没有带来体表菌群之间的显著差异。然而，在体表菌群方面，不同环境条件下的菌群结构存在显著差异（P<0.05）（例如，T2F1 与 T2F2 的差异 P=0.016，T2F1 与 T2W1 的差异 P=0.012）（表 2）。这也表明美洲大蠊的体表菌群更容易受到环境条件（如饲养方式）的影响，从而表现出显著的结构差异，

而体内菌群的变化则较不明显。这种差异可能反映了宿主生理因素在调控体内菌群结构中所起的更大作用，使其体内菌群结构相对保守，不易受环境的影响，而体表菌群对外界环境变化更为敏感，受环境影响较大。

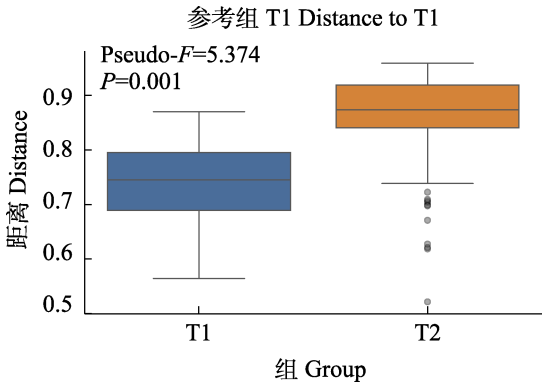

图 3　依据未加权的 UniFrac 距离的箱线图

Fig. 3　Boxplot based on unweighted UniFrac distances

2.2　美洲大蠊不同组间的菌群组成与差异

通过使用 OTU 代表序列与 RDP 16S rRNA 数据库进行比对，并依据主要分类等级进行分类，发现美洲大蠊所携带的细菌分别属于 33 个门和 585 个属。所有处理中，主要以拟杆菌门 Bacteroidetes、变形菌门 Proteobacteria 和厚壁菌门 Firmicutes 为主，这 3 个门在体表样本中占据相对丰度的 64.799%-99.417%（图 4：A）。其中，变形菌门在所有体表样本中拥有最高丰度，平均为 48.487%，中位数为 48.887%，最高可达 96.051%。在体内样本中，这 3 个门的丰度范围为 78.036%-99.281%。其中，拟杆菌门丰度最高，平均为 64.068%，中位数为 67.858%，最高可达 83.988%。

在体表中观察到的主要菌属分别为沙雷氏菌属 *Serratia*（平均丰度为 12.274%）、不动杆菌属 *Acinetobacter*（平均丰度为 10.603%）、类香味菌属 *Myroides*（平均丰度为 9.210%）、肠球菌属 *Enterococcus*（平均丰度为 7.123%）和变形杆菌属 *Proteus*（平均丰度为 5.506%）（图 4：B），这些属大多属于变形菌门。此外，在少数样本中观察到较高丰度的气单胞菌属 *Aeromonas*，最高可达 87.131%。在美洲大蠊的体内样本中，观察到的主要菌属分别为威克斯氏菌科 Weeksellaceae（平均丰度为 29.205%）、副拟杆菌属 *Parabacteroides*（平均丰度为 13.912%）、拟杆菌属 *Bacteroides*

表 2　UniFrac 距离差异表

Table 2　UniFrac distance difference

组别 1 Group 1	组别 2 Group 2	样品量 Sample size	排列 Permutations	伪 *F* 值 Pseudo-*F*	*P* 值 *P*-value	*Q* 值 *Q*-value
T1F1	T1F2	15	999	1.007	0.422	0.434
	T1W1	12	999	1.257	0.114	0.164
	T1W2	8	999	1.011	0.44	0.44
	T2F1	12	999	2.379	0.007	0.022
	T2F2	14	999	3.273	0.001	0.007
	T2W1	11	999	2.104	0.004	0.016
	T2W2	8	999	2.288	0.043	0.077
	T2W3	7	999	1.791	0.183	0.227
T1F2	T1W1	15	999	1.665	0.005	0.018
	T1W2	11	999	1.099	0.207	0.248
	T2F1	15	999	2.217	0.001	0.007
	T2F2	17	999	2.910	0.001	0.007
	T2W1	14	999	1.958	0.001	0.007
	T2W2	11	999	1.900	0.016	0.038
	T2W3	10	999	1.579	0.099	0.155

续表 2 (Table 2 continued)

组别 1 Group 1	组别 2 Group 2	样品量 Sample size	排列 Permutations	伪 *F* 值 Pseudo-*F*	*P* 值 *P*-value	*Q* 值 *Q*-value
T1W1	T1W2	8	999	1.047	0.343	0.363
	T2F1	12	999	3.300	0.004	0.016
	T2F2	14	999	4.301	0.002	0.012
	T2W1	11	999	2.484	0.003	0.015
	T2W2	8	999	3.082	0.036	0.072
	T2W3	7	999	2.503	0.135	0.185
T1W2	T2F1	8	999	1.842	0.03	0.068
	T2F2	10	999	2.172	0.015	0.038
	T2W1	7	999	1.748	0.048	0.079
	T2W2	4	999	2.24	0.341	0.363
	T2W3	3	999	2.541	0.335	0.363
T2F1	T2F2	14	999	1.438	0.016	0.038
	T2W1	11	999	1.729	0.012	0.036
	T2W2	8	999	1.550	0.036	0.072
	T2W3	7	999	1.294	0.139	0.185
T2F2	T2W1	13	999	2.406	0.001	0.007
	T2W2	10	999	1.452	0.043	0.077
	T2W3	9	999	1.182	0.111	0.164
T2W1	T2W2	7	999	1.786	0.048	0.078
	T2W3	6	999	1.668	0.175	0.225
T2W2	T2W3	3	999	1.556	0.337	0.363

该表显示各处理间未加权的 UniFrac 距离的差异。计算未加权的 UniFrac 距离是以 30 326 的深度对样本进行重采样。采用成对比较和 999 个排列组合的方式进行计算。

This table displayed the differences in unweighted UniFrac distances between treatments. The calculation of unweighted UniFrac distances involved resampling the samples at a depth of 30 326. The distances were calculated using pairwise comparisons and 999 permutations.

（平均丰度为 5.100%）、脱硫弧菌属 *Desulfovibrio*（平均丰度为 2.117%）和脱硫微菌属 *Desulfomicrobium*（平均丰度为 1.784%）。美洲大蠊所属环境不同，其体表所携带的菌群种类和丰度也存在差异。例如，在同一野生采样点中，不同虫态的 PE1-2 与 PE8-9 样本中变形菌门的占比少于其他样本，但拥有更高比例的拟杆菌门，且 PE8-9 样本中还有较高比例的螺旋体门 Spirochaetes（图 4：A）。来自同一饲养场的 PE11-12 和 PE16-18 样本中蓝菌门 Cyanobacteria 比例较高，而在其他处理中的比例较小或几乎没有。在属水平上，不同种群美洲大蠊体表菌群的组成和丰度也存在较大差异。另外，虽然美洲大蠊体表普遍具有较高丰度的沙雷氏菌属，但野生点 1 的美洲大蠊所携带的沙雷氏菌属少于其他地区（图 4：B）。相较于其他地区的美洲大蠊，来自饲养点 2 的美洲大蠊，其体表拥有较高丰度的不动杆菌属、乳酸球菌属 *Lactococcus* 和类香味菌属，而来自饲养点 1 的美洲大蠊则拥有高丰度的肠球菌属。在 PE24 样本中观察到了超高比例的气单胞菌属（占比 87.131%）。

通过 LEfSe 分析共在体表和肠道样本中分

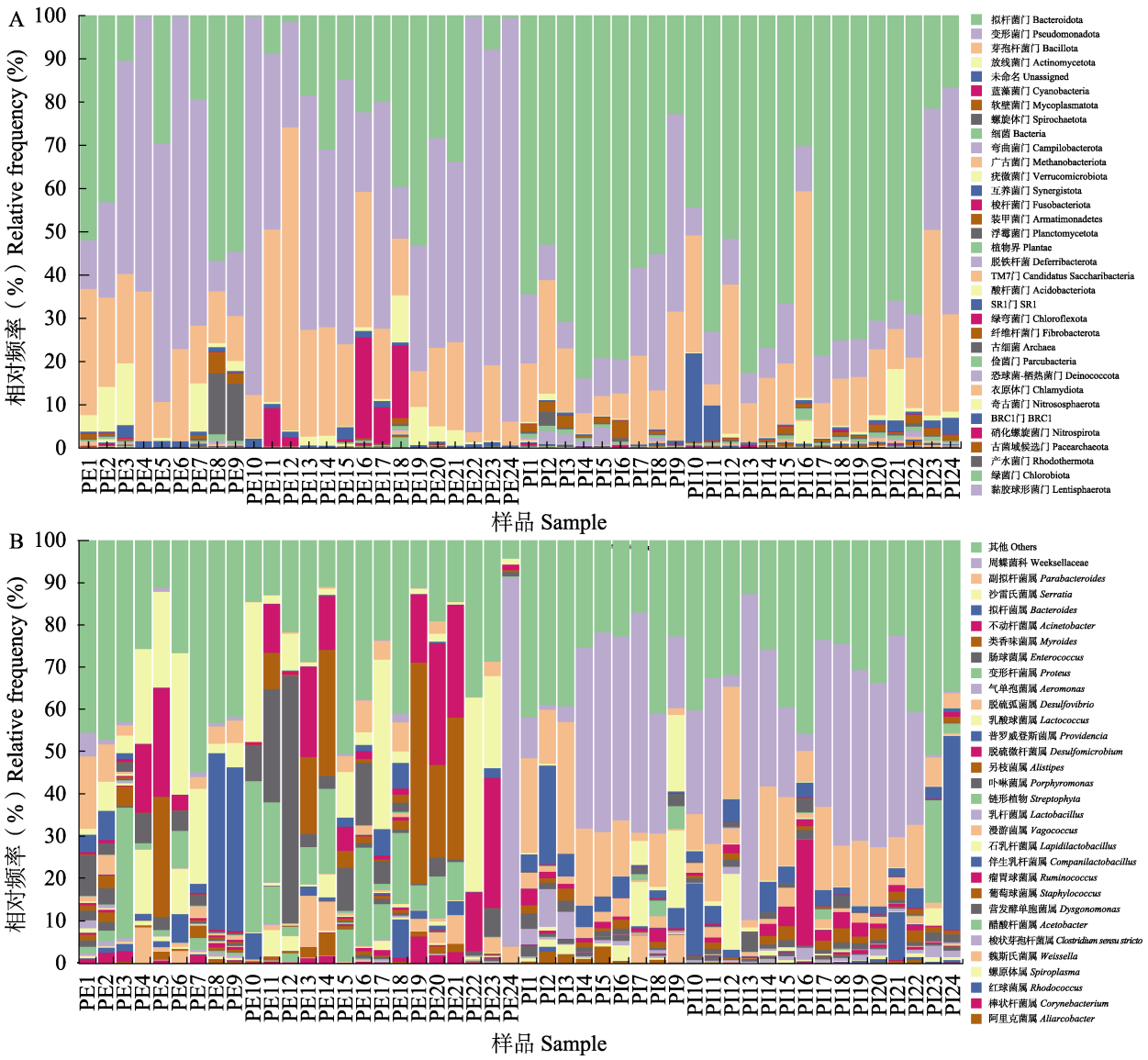

图 4　不同样本美洲大蠊菌群丰度的柱状堆叠图

Fig. 4　Column stacking chart of the abundance of *Periplaneta* ame*ricana* colonies in different samples

A. 在门水平上的柱状堆叠图；B. 菌属丰度前 30 的柱状堆叠图。

A. Column stacking diagram at the phylum level; B. Column stacking diagram of the top 30 bacterial genera in terms of abundance.

别发现了 126 和 150 个差异物种(图 5：A)(LDA>2，$P<0.05$)。在体表样本中沙雷氏菌属、不动杆菌属、类香味菌属等致病菌显著高于体内样本（LDA>2，$P<0.05$）。这可能表明致病菌主要寄居在美洲大蠊体表，并通过其行为进行传播。而在体内样本中我们发现厚壁菌门菌群的丰度显著高于体表样本（图 5：A）。对野生和饲养条件下的美洲大蠊携带菌群进行比较发现，饲养点 1 的美洲大蠊携带的乳酸球菌属显著高于其他地区（LDA>3，$P<0.05$）。饲养点 2 的类香味菌属极显著高于其他地区（LDA>3，$P<0.01$）(图 5：B)。这一结果表明饲养点 2 的环境条件可能有利于类香味菌属的生长，从而导致类香味菌属的富集。这些差异反映了饲养方式对美洲大蠊细菌群落的影响。

2.3　体表及体内样本菌群代谢功能预测

通过将现有的群落组成数据与已知的参考

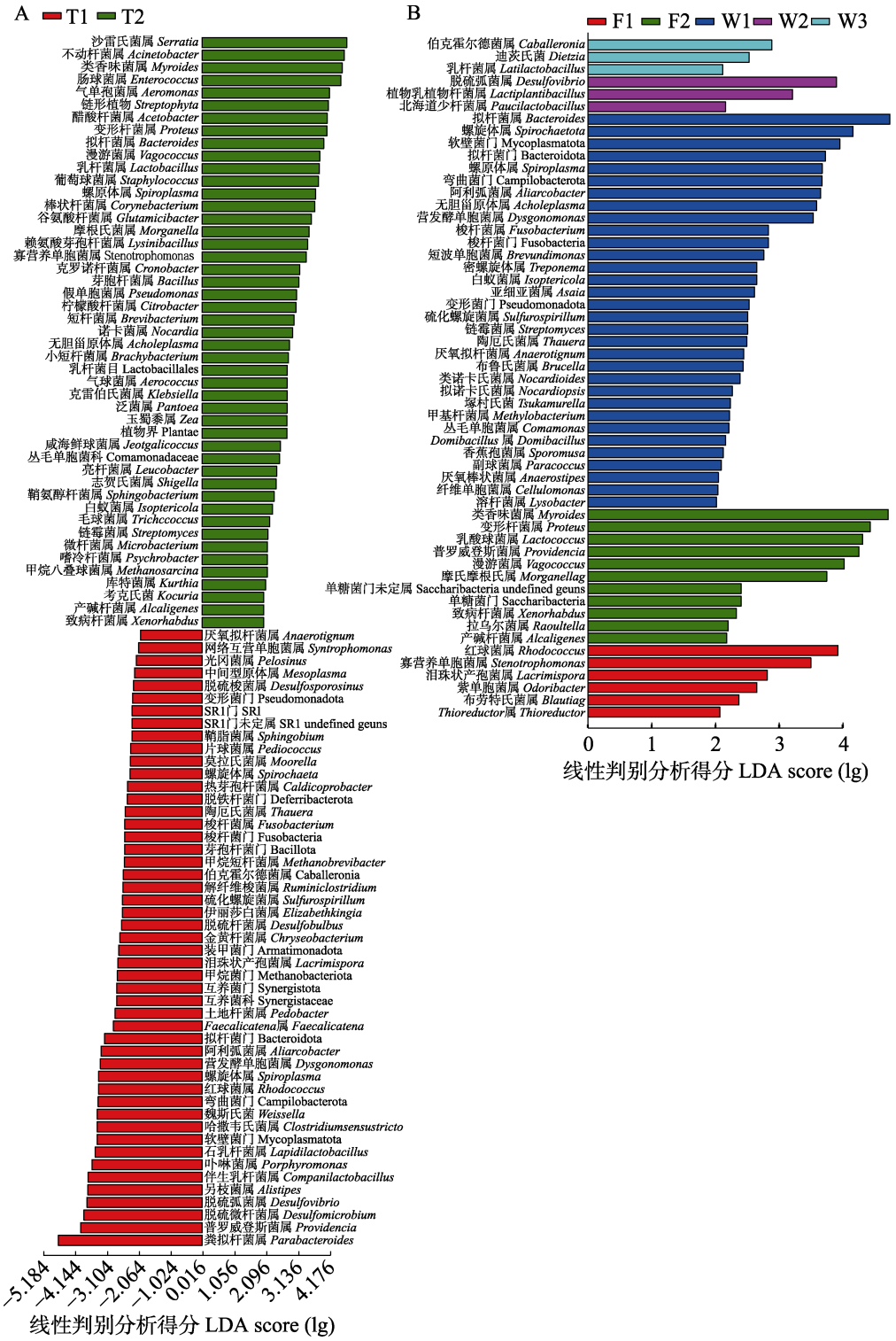

图 5　美洲大蠊肠道细菌 LDA 条形图

Fig. 5　LDA bar chart of gut bacteria in *Periplaneta americana*

A. 美洲大蠊体表与体内菌群的 LEfSe 分析；B. 不同地区美洲大蠊菌群的 LEfSe 分析。LEfSe 分析筛选条件为 LDA>2 和 $P<0.05$。

A. LEfSe analysis of the surface and internal microbiota of *P. americana*; B. LEfSe analysis of *P. americana* microbiota across different regions. The LEfSe analysis was performed with selection criteria of LDA> 2 and $P<0.05$.

基因组数据库相比较，并对原始数据中的微生物丰度数据进行校正（Langille *et al.*，2013），共预测了 41 个 PathwayL2（KO）和 338 个 PathwayL3（KO）。使用 STAMP 软件寻找美洲大蠊体表与体内微生物群落在 PathwayL2 中的差异功能，并将其可视化。从图 6（A）中可以看出，体表和体内的代谢通路存在较大差异。差异主要集中在代谢和有机体系统两个大类中（图 6：B）。从图 6（B）扩展条形图中可以看出，体内微生物群落在复制和修复、环境适应、核苷酸代谢和转录等功能的平均比例明显高于体表微生物群落。相反，体表微生物群落在膜运输、异生素生物降解和代谢、细胞过程和信号传导、以及信号转导等功能上具有较高的比例。

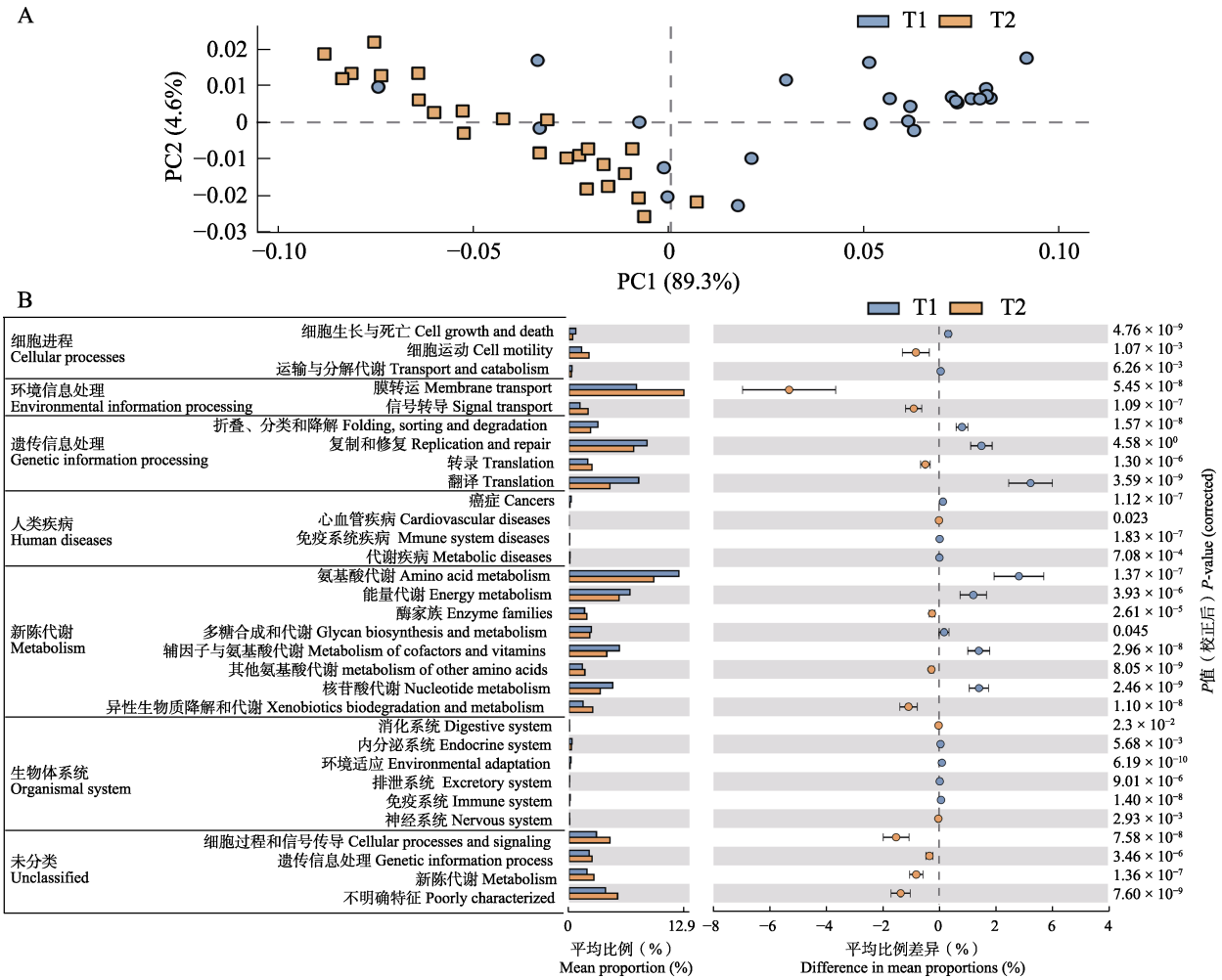

图 6　美洲大蠊体表和体内细菌群落功能差异的 PICRUSt2 预测

Fig. 6　PICRUSt2 prediction of functional differences in surface and internal bacterial communities of *Periplaneta americana*

A. 美洲大蠊体内和体表 Pathway L2 的差异性功能的 PCA 图；B. PathwayL2 中美洲大蠊体表和体内差异功能的扩展直方图。左边代谢通路表示各 Pathway L2 所属的 Pathway L1。直方图表示由 PICRUSt2 预测的代谢通路的平均比例。组间差异以 95%的置信区间显示。

A. PCA plot showing the differential functional pathways (Pathway L2) between the internal and surface microbiota of *P. americana*; B. Extended histogram displaying the differential functional pathways (Pathway L2) between the surface and internal microbiota of *P. americana*. The metabolic pathway on the left indicates the Pathway L1 to which each Pathway L2 belongs. The histogram represents the average proportion of predicted metabolic pathways by PICRUSt2. Group differences are presented with 95% confidence intervals.

3 结论与讨论

昆虫携带着大量的微生物群落，微生物（特别是细菌菌群）与宿主的相互作用影响着昆虫的生长发育和生理状态（Estes *et al.*，2013；Parker *et al.*，2021）。微生物能帮助宿主消化食物（Vilcinskas *et al.*，2020）、产生抗菌肽参与免疫反应（Singh *et al.*，2021）以及为宿主提供营养（Shukla *et al.*，2016）。本研究通过 16S rRNA 测序对不同种群和不同虫态美洲大蠊的细菌群落结构进行分析，有助于深化对美洲大蠊与其共生菌群相互作用的理解，有利于美洲大蠊的深度开发和利用。

研究发现体内样本的细菌群落在丰富度和均匀性方面显著高于体表样本，这与我们的研究预期一致。这种差异部分可能是由于体内提供了相对稳定和舒适的生存环境，而体表细菌群落容易受到环境湿度、酸碱度、温度等外部因素及昆虫行为活动的影响。此外，有研究表明美洲大蠊若虫会蜕皮 9-13 次（孙耘芹等，2004），这导致细菌难以在体表稳定定植，进而使体表细菌在丰度和均匀性上低于体内。

各虫态间的体内样品在 α 多样性指数上无显著差异，这可能是因为美洲大蠊存在较多的水平与垂直传播方式，以及美洲大蠊会取食同种粪便从而获得自己所需微生物（Jahnes *et al.*，2021）。然而，在 β 多样性方面，各虫态之间存在显著差异。这种差异可能与美洲大蠊在不同生活阶段的营养偏好和摄食行为有关，因为这些因素可以影响其肠道微生物的多样性。例如，德国小蠊 *Blattella germanica* 在自然环境中倾向于选择低蛋白质和高脂肪含量的食物，而随着食物蛋白质含量增加，其肠道微生物多样性减少（Pérez-Cobas *et al.*，2015）。此外，不同生活阶段的美洲大蠊可能具有不同的生理特性，如肠道酸度和温度，这些特性可能导致其对不同类型微生物的选择，进而导致 β 多样性的显著差异。这些因素综合起来，有助于解释肠道微生物多样性在不同虫态之间存在变化。未来的研究可以通过扩大样本量，并收集美洲大蠊完整生命周期的数据，以更深入地探讨不同虫态之间的菌群传递和差异。

野生种群的美洲大蠊在细菌菌群的 α 和 β 多样性上普遍高于饲养种群，这与前人的研究结果一致，室内养殖会降低美洲大蠊的微生物多样性（Tinker and Ottesen，2021）。在体表样本的 α 和 β 多样性指数中，野外种群显著高于室内饲养种群。但在体内样本中，除了 T1W1（T1 代表体内样本，W1 代表野外采样点 1）组的多样性显著高于饲养种群之外，其余采样组并未表现出显著差异，这可能与该组所处环境拥有丰富的食物或环境较为复杂有关。蟑螂的肠道微生物会受到不同饮食条件的影响，而其杂食性会导致肠道微生物数量庞大且多样化（Bertino-Grimaldi *et al.*，2013；房伟等，2013）。例如，下水道与家庭厨房等环境能为美洲大蠊提供丰度多样的饮食，而饲养条件下美洲大蠊能获得的食物较为卫生且单一。并且，野生环境中的美洲大蠊可能与其他蟑螂种类或其他生物共存在同一地区，微生物不仅能在同物种间水平传播还能跨物种传播。相比之下，饲养环境中由于人为控制，通常仅有同种个体间的水平传播，跨物种传播的机会较少。

在物种组成上，肠道样本与体表样本都主要以拟杆菌门、变形菌门和厚壁菌门为主，但体内样本与体表样本在菌群丰度上存在差异。美洲大蠊体表主要以变形菌门为主，而在其体内则主要以拟杆菌门为主，其次是厚壁菌门和变形菌门。这与前人研究结果一致（Tinker and Ottesen，2016；Geng *et al.*，2022）。但在房伟等（2013）研究中，美洲大蠊的肠道菌群主要以变形菌门（66.4%）为主，拟杆菌门只占 17.8%。这种差异可能是由于该研究所用的美洲大蠊样本来自合肥疾病控制中心，样本中含有较高丰度的不动杆菌或沙雷氏菌等致病菌。

在属水平上，我们观察到美洲大蠊在不同处理条件下的菌群间存在显著差异，特别是在致病菌群的分布上有明显不同。这些致病菌群包括沙雷氏菌属、不动杆菌属、类香味菌属、肠球菌属和变形杆菌属（平均丰度为 5.506%）。其中沙雷氏菌属（Lancaster，1962）和不动杆菌属

（Harding *et al.*，2017）对人类危害较大，会引发一系列炎症及败血病等，严重时可导致死亡。肠球菌属是一重要的致病菌，具有多种抗生素抗性，能分泌具有抗菌作用的肠菌素，因此在恶劣的环境中也能生存（Pangallo *et al.*，2008；ErgİnkayaEt *al.*，2019）。气单胞菌属常见于污水中，通常由水作为媒介进入人的眼睛和肠胃中，引发眼内炎和肠胃炎等症状（Ryan *et al.*，2017）。

值得注意的是，这些致病菌在野生种群中的丰度普遍高于饲养种群（不存在显著差异），但在体表样本中，其丰度明显高于体内样本。这表明美洲大蠊主要通过环境获取致病菌，这些致病菌主要附着在其体表上。通过线性判别分析，观察到这些致病菌在美洲大蠊体表上的丰度明显高于体内。这一发现证实了最初的假设，即美洲大蠊主要通过其体表携带致病菌。这也意味着美洲大蠊的日常活动可能会将这些致病菌传播到外部环境，对人类健康产生潜在影响。并且在饲养点 2 中我们发现较高丰度的致病菌，且类香味菌属显著高于其他地区。这暗示该养殖场环境较差，存在大量致病菌。因此，保持室内干燥、定期杀菌和良好卫生措施对降低美洲大蠊的危害至关重要。这些研究结果为预防措施的制定提供了科学依据。在美洲大蠊体内发现脱硫弧菌属、乳酸球菌属和拟杆菌属等益生菌，具有帮助美洲大蠊分解复杂多糖，保证其生长发育等功能（Vera-Ponce *et al.*，2021）。研究表明脱硫弧菌属的丰度与饮食中的蛋白质含量呈正相关，且细菌群落多样性随着蛋白质含量的增加而降低（Elena *et al.*，2015；Vicente *et al.*，2016）。这表明美洲大蠊可能主要以多糖与脂质为主要食物，且脱硫弧菌属有助于美洲大蠊分解蛋白质食物，为寄主提供所需的氮元素。说明美洲大蠊杂食性的确是建立在有一套专属的共生细菌群之上。因此，饲养美洲大蠊应提供丰富多样化的食物，单一饮食可能会破坏其肠道细菌群结构，导致生长发育受阻。

美洲大蠊体内细菌群落在复制与修复、环境适应、核苷酸代谢和转录等功能的比例显著高于体表微生物群落，且体内菌群中含有较高比例的膜转运、氨基酸代谢、能量代谢以及糖类生物合成和代谢等功能。这些结果说明美洲大蠊体内的细菌可能具有协助宿主代谢物质、帮助适应环境、提高免疫力和帮助生产对人类有益的活性成分等功能。这些细菌的潜在功能可能解释了为何美洲大蠊能够携带大量致病菌，却不受其影响。

研究已证实，肠道微生物能作为美洲大蠊在不同饮食条件下的能量消耗调节剂。在高纤维素的饮食条件下，标准代谢率随着细菌丰度的减少（通过在饮食中投入不同剂量抗生素）而呈线性减少，但在蛋白和碳水饮食条件下无线性变化（Ayayee *et al.*，2018）。这可能是因为高纤维的饮食造成了类似饥饿或食物匮乏的反应，从而使美洲大蠊的代谢速率降低，表明美洲大蠊依赖共生细菌来有效代谢纤维素。通过对美洲大蠊进行无菌培养，发现其体型与肠道大小显著减小，但在无菌培养一段时间后接入微生物可恢复宿主表型（Vera-Ponce *et al.*，2021）。此外，分离培养美洲大蠊体内的菌群，发现含有多种放线菌，这些放线菌对病原性细菌具有抑制作用（蒋诗林等，2021；殷鹏凯等，2022）。这些研究都说明微生物在宿主的生长发育过程中具有重要作用。但深入解析微生物与美洲大蠊的相互作用机制仍需大量系统性的研究，以更全面地了解这些复杂的生物互作过程及其潜在的应用价值。

4　总结

本研究基于 16S rRNA 测序技术，对美洲大蠊的 3 个野生种群与 2 个饲养种群不同虫态的体表和体内细菌菌群进行了比较。主要对野生环境和饲养环境下美洲大蠊体内和体表的菌群多样性、组成及功能差异进行了分析。研究结果显示美洲大蠊体内细菌相对于体表更为丰富和多样化，在体表中致病细菌的丰度显著高于体内；野外种群和饲养种群的细菌组成方面无显著差异，但致病细菌的丰度差异显著。该结果表明美洲大蠊的致病菌主要从环境中获得，并主要依附在体表进行传播。

由于美洲大蠊偏爱阴暗潮湿的环境，极易滋生病菌，建议定期对养殖场进行消菌杀毒、清洗

水容器、清理食物残渣和粪便等，保证饮用水安全和养殖环境健康，以减少致病细菌的传播，保证养殖安全。在家庭中注重环境卫生、保持室内干燥和定期清扫即能减少美洲大蠊对人类健康的可能危害。本研究数据也支持美洲大蠊体内存在一套核心菌群，可能具有帮助美洲大蠊代谢食物、增强环境适应能力和提高宿主免疫力的功能。通过研究美洲大蠊与微生物之间的相互作用，我们可以深入了解其出色的环境适应能力，并有助于揭示其体内产生药用活性物质的潜在机制。

参考文献 (References)

Ayayee PA, Ondrejech A, Keeney G, Muñoz-Garica A, 2018. The role of gut microbiota in the regulation of standard metabolic rate in female *Periplaneta americana*. *PeerJ*, 6: e4717.

Basic M, Dardevet D, Abuja PM, Bolsega S, Bornes S, Caesar R, Calabrese FM, Collino M, De Angelis M, Gérard P, Gueimonde M, Leulier F, Untersmayr E, Van Rymenant E, De Vos P, Savary-Auzeloux I, 2022. Approaches to discern if microbiome associations reflect causation in metabolic and immune disorders. *Gut Microbes*, 14(1): 2107386.

Baumholtz MA, Parish LC, Witkowski JA, Nutting WB, 1997. The medical importance of cockroaches. *International Journal of Dermatology*, 36(2): 90–96.

Bertino-Grimaldi D, Medeiros MN, Vieira RP, Cardoso AM, Turque AS, Silveira CB, Albano RM, Bressan-Nascimento S, Garcia ES, de Souza W, Martins OB, Machado EA, 2013. Bacterial community composition shifts in the gut of *Periplaneta americana* fed on different lignocellulosic materials. *SpringerPlus*, 2(1): 609.

Chung HS, Yu TH, Kim BJ, Kim SM, Kim JY, Yu HS, Jeong HJ, Ock MS, 2005. Expressed sequence tags analysis of *Blattella germanica*. *Korean Journal of Parasitology*, 43(4): 149–156.

Colman DR, Toolson EC, Takacs-Vesbach CD, 2012. Do diet and taxonomy influence insect gut bacterial communities? *Molecular Ecology*, 21(20): 5124–5137.

Douglas AE, Beard CB, 1996. Microbial Symbioses in the Midgut of Insects. Dordrecht: Springer Netherlands: Biology of the Insect Midgut. 419–431.

Edgar RC, 2010. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics*, 26(19): 2460–2461.

Engel P, Moran NA, 2013. The gut microbiota of insects-diversity in structure and function. *FEMS Microbiology Reviews*, 37(5): 699–735.

Ergİnkaya Z, Uludağ H, Ünal Turhan E, 2019. Antibacterial activity of partially purified enterocins from foodborne and clinical enterococci against some pathogenic bacteria. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 66(4): 373–378.

Estes AM, Hearn DJ, Snell-Rood EC, Feindler M, Feeser K, Abebe T, Dunning Hotopp JC, Moczek AP, 2013. Brood ball-mediated transmission of microbiome members in the dung beetle, *Onthophagus taurus* (Coleoptera: Scarabaeidae). *PLoS ONE*, 8(11): e79061.

Fang W, Fang ZM, Liu ZM, Yuan J, Zhang XC, Peng H, Hong YZ, Xiao YZ, 2013. Phylogenetic analysis of bacterial community in the gut of American cockroach (*Periplaneta americana*). *Acta Microbiologica Sinica*, 53(9): 984–994. [房伟, 方泽民, 刘智苗, 袁璟, 张学成, 彭惠, 洪宇植, 肖亚中, 2013. 美洲大蠊(*Periplaneta americana*)肠道微生物多样性分析. 微生物学报, 53(9): 984–994.

Geng J, Sui ZX, Dou WH, Miao YH, Wang T, Wei XF, Chen SC, Zhang ZQ, Xiao JH, Huang DW, 2022. 16S rRNA gene sequencing reveals specific gut microbes common to medicinal insects. *Frontiers in Microbiology*, 13: 892767.

Hall M, Beiko RG, 2018. 16S rRNA gene analysis with QIIME2. *Methods in Molecular Biology* 1849: 113–129.

Harding CM, Pulido MR, Di Venanzio G, Kinsella RL, Webb AI, Scott NE, Pachón J, Feldman MF, 2017. Pathogenic Acinetobacter species have a functional type I secretion system and contact-dependent inhibition systems. *Journal of Biological Chemistry*, 292(22): 9075–9087.

Jahnes BC, Poudel K, Staats AM, Sabree ZL, 2021. Microbial colonization promotes model cockroach gut tissue growth and development. *Journal of Insect Physiology*, 133: 104274.

Jiang SL, Ye YX, Shen J, Zhu JY, Jin XB, 2021. Anti-*Staphylococcus aureus* and Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* activity analysis of actinomycetes from the guts of *Periplaneta americana*. *Journal of Environmental Entomology*, 43(2): 453–461. [蒋诗林, 叶宇歆, 沈娟, 朱家勇, 金小宝, 2021. 美洲大蠊肠道内生放线菌抗金黄色葡萄球菌和耐甲氧西林金黄色葡萄球菌活性分析. 环境昆虫学报, 43(2): 453–461.

Kolasa M, Ścibior R, Mazur MA, Kubisz D, Dudek K, Kajtoch Ł, 2019. How hosts taxonomy, trophy, and endosymbionts shape microbiome diversity in beetles. *Microbial Ecology*, 78(4): 995–1013.

Lancaster LJ, 1962. Role of Serratia species in urinary tract infections. *Archives of Internal Medicine*, 109(5): 536–539.

Langille MGI, Zaneveld J, Caporaso JG, McDonald D, Knights D, Reyes JA, Clemente JC, Burkepile DE, Vega Thurber RL, Knight R, Beiko RG, Huttenhower C, 2013. Predictive functional profiling of microbial communities using 16S rRNA marker gene sequences. *Nature Biotechnology*, 31(9): 814–821.

Lee S, Kim JY, Yi MH, Lee IY, Lee WJ, Moon HS, Yong D, Yong TS, 2020. Comparative microbiome analysis of three species of laboratory-reared *Periplaneta* cockroaches. *Korean Journal of Parasitology*, 58(5): 537–542.

Legendre F, Nel A, Svenson GJ, Robillard T, Pellens R, Grandcolas P, 2015. Phylogeny of *Dictyoptera*: Dating the origin of cockroaches, praying mantises and termites with molecular data and controlled fossil evidence. *PLoS ONE*, 10(7): e0130127.

Lemos AA, Lemos JA, Prado MA, Pimenta FC, Gir E, Silva HM, Silva MRR, 2006. Cockroaches as carriers of fungi of medical importance. *Mycoses*, 49(1): 23–25.

Li LJ, Wang MZ, Yuan TJ, Xu XH, Dad HA, Yu CL, Hou J, Peng LH, 2019. The crude ethanol extract of *Periplaneta americana* L. stimulates wound healing in vitro & in vivo. *Chinese Medicine*, 14: 33.

Liao Q, Pang L, Li JJ, Zhang C, Li JX, Zhang X, Mao T, Wu DT, Ma XY, Geng FN, Zhang JM, 2022. Characterization and diabetic wound healing benefits of protein-polysaccharide complexes isolated from an animal ethno-medicine *Periplaneta americana* L. *International Journal of Biological Macromolecules*, 195: 466–474.

Ma T, Zhao M, Wang CY, Feng Y, 2019. Diversity of cultivable fungi isolated from *Periplaneta americana*. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*, 25(5): 1145–1153. [马涛, 赵敏, 王成业, 冯颖, 2019. 美洲大蠊可培养真菌多样性. 应用与环境生物学报, 25(5): 1145–1153.]

Mullins DE, 2015. Physiology of environmental adaptations and resource acquisition in cockroaches. *Annual Review of Entomology*, 60: 473–492.

Nasirian H, 2017. Infestation of cockroaches (Insecta: Blattaria) in the human dwelling environments: A systematic review and meta-analysis. *Acta Tropica*, 167: 86–98.

Pangallo D, Drahovská H, Harichová J, Karelová E, Chovanová K, Ferianc P, Turna J, Timko J, 2008. Assessment of environmental enterococci: Bacterial antagonism, pathogenic capacity and antibiotic resistance. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 94(4): 555–562.

Parada AE, Needham DM, Fuhrman JA, 2016. Every base matters: Assessing small subunit rRNA primers for marine microbiomes with mock communities, time series and global field samples. *Environmental Microbiology*, 18(5): 1403–1414.

Parker ES, Dury GJ, Moczek AP, 2019. Transgenerational developmental effects of species-specific, maternally transmitted microbiota in *Onthophagus* dung beetles. *Ecological Entomology*, 44(2): 274–282.

Parker ES, Moczek AP, Macagno ALM, 2021. Reciprocal microbiome transplants differentially rescue fitness in two syntopic dung beetle sister species (Scarabaeidae: Onthophagus). *Ecological Entomology*, 46(4): 946–954.

Parks DH, Tyson GW, Hugenholtz P, Beiko RG, 2014. STAMP: Statistical analysis of taxonomic and functional profiles. *Bioinformatics*, 30(21): 3123–3124.

Pérez-Cobas AE, Maiques E, Angelova A, Carrasco P, Moya A, Latorre A, 2015. Diet shapes the gut microbiota of the omnivorous cockroach *Blattella germanica*. *FEMS Microbiology Ecology*, 91(4): fiv022.

Quince C, Lanzen A, Davenport RJ, Turnbaugh PJ, 2011. Removing noise from pyrosequenced amplicons. *BMC Bioinformatics*, 12: 38.

Raymann K, Moran NA, 2018. The role of the gut microbiome in health and disease of adult honey bee workers. *Current Opinion in Insect Science*, 26: 97–104.

Ryan L, Higgins G, Doyle M, 2017. Aeromonas species endogenous endophthalmitis. *JMM Case Reports*, 4(5): e005094.

Schal C, Gautier JY, Bell WJ, 1984. Behavioural ecology of cockroaches. *Biological Reviews*, 59(2): 209–254.

Shukla SP, Sanders JG, Byrne MJ, Pierce NE, 2016. Gut microbiota of dung beetles correspond to dietary specializations of adults and larvae. *Molecular Ecology*, 25(24): 6092–6106.

Singh S, Singh A, Baweja V, Roy A, Chakraborty A, Singh IK, 2021. Molecular rationale of insect-microbes symbiosis-from insect behaviour to mechanism. *Microorganisms*, 9(12): 2422.

Suárez-Moo P, Cruz-Rosales M, Ibarra-Laclette E, Desgarennes D, Huerta C, Lamelas A, 2020. Diversity and composition of the gut microbiota in the developmental stages of the dung beetle *Copris incertus* Say (Coleoptera, Scarabaeidae). *Frontiers in Microbiology*, 11: 1698.

Sun YQ, Li M, He FQ, Qi X, 2004. Bionomics and intergrated management of five species of cockroaches. *Chinese Bulletin of Entomology*, 41(3): 216–222. [孙耘芹, 李梅, 何凤琴, 齐欣, 2004. 五种蜚蠊的生物学特性和综合治理. 昆虫知识, 41(3):

216–222.]

Tinker KA, Ottesen EA, 2016. The core gut microbiome of the American cockroach, *Periplaneta americana*, is stable and resilient to dietary shifts. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(22): 6603–6610.

Tinker KA, Ottesen EA, 2021. Differences in gut microbiome composition between sympatric wild and allopatric laboratory populations of omnivorous cockroaches. *Frontiers in Microbiology*, 12: 703785.

Valles SM, Koehler PG, Brenner RJ, 1999. Comparative insecticide susceptibility and detoxification enzyme activities among pestiferous Blattodea. *Comparative Biochemistry and Physiology C-Pharmacology Toxicology & Endocrinology*, 124(3): 227–232.

Vera-Ponce de León A, Jahnes BC, Otero-Bravo A, Sabree ZL, 2021. Microbiota perturbation or elimination can inhibit normal development and elicit a starvation-like response in an omnivorous model invertebrate. *mSystems*, 6(4): e0080221.

Vicente CSL, Ozawa S, Hasegawa K, 2016. Composition of the cockroach gut microbiome in the presence of parasitic nematodes. *Microbes and Environments*, 31(3): 314–320.

Vicente CSL, Ozawa S, Hasegawa K, 2018. The composition of hindgut microbiota of *Periplaneta japonica* in the presence of thelastomatid parasitic nematodes. *Nematological Research*, 48(1): 19–26.

Vilcinskas A, Schwabe M, Brinkrolf K, Plarre R, Wielsch N, Vogel H, 2020. Larvae of the clothing moth *Tineola bisselliella* maintain gut bacteria that secrete enzyme cocktails to facilitate the digestion of keratin. *Microorganisms*, 8(9): 1415.

Yin PK, Wang MM, Yang ZZ, Yang DS, Yang YH, 2022. Screening and identification of symbiotic actinomycetes with antibacterial activity from the gut of adult *Periplaneta americana* (Blattodea: Blattidae). *Acta Entomologica Sinica*, 65(11): 1444–1451. [殷鹏凯, 王明明, 杨自忠, 杨大松, 杨银河, 2022. 美洲大蠊成虫肠道抗细菌共生放线菌的筛选及鉴定. 昆虫学报, 65(11): 1444–1451.]

Yuan XQ, Zhang X, Liu XY, Dong YL, Yan ZZ, Lü DB, Wang P, Li YP, 2021. Comparison of gut bacterial communities of *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae) reared on different host plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(13): 6843.

Zeng CJ, Liao Q, Hu Y, Shen YM, Geng FN, Chen LJ, 2019. The role of *Periplaneta americana* (Blattodea: Blattidae) in modern versus traditional Chinese medicine. *Journal of Medical Entomology*, 56(6): 1522–1526.

Zhao YN, Yang AL, Tu PF, Hu ZD, 2017. Anti-tumor effects of the American cockroach, *Periplaneta americana*. *Chinese Medicine*, 12: 26.

Zhou X, Yang M, Jin J, Chen J, Li Z, 2022. *Periplaneta americana* (Insecta: Blattodea) and organ fibrosis: A mini review. *Medicine*, 101(51): e32039.