

蓼蓝齿胫叶甲肠道微生物多样性研究*

王 毛^{1**} 贺 宏² 张云书² 肖 敏³ 魏真真¹ 郭静微¹
陈 松¹ 陈庆东¹ 肖金鑫⁴ 汪东宁⁵ 王光旭^{4, 5***}

(1. 四川省农业科学院植物保护研究所, 农业部西南作物有害生物综合治理重点实验室, 成都 610066;
2. 阿坝藏族羌族自治州农业科学技术研究所, 马尔康 624000; 3. 阿坝州生态保护与发展研究院, 汶川 623000;
4. 阿坝州农产品质量检验检测中心, 马尔康 624011; 5. 阿坝州植保植检站, 马尔康 624011)

摘 要 【目的】明确蓼蓝齿胫叶甲 *Gastrophysa atrocyanea* 取食酸模 *Rumex acetosa* 和唐古特大黄 *Rheum tanguticum* 后肠道微生物多样性的特点。【方法】通过高通量测序技术, 分析取食酸模和唐古特大黄的蓼蓝齿胫叶甲体内肠道微生物种类、丰度、优势度、多样性以及功能变化。【结果】蓼蓝齿胫叶甲取食酸模和唐古特大黄后肠道微生物共有 154 种, 其中取食酸模的独有种 548 种, 取食唐古特大黄的独有种 554 种; 变形菌门 *Proteobacteria* 是这两组蓼蓝齿胫叶甲肠道微生物的优势群; 取食唐古特大黄的第 3 个样本肠道微生物物种多样性最高; 代谢功能预测物种组成结果表明, 除沙雷氏菌 *Serratia*, 取食酸模的优势群为泛菌 *Pantoea*, 取食唐古特大黄的优势群为肠杆菌科 *Enterobacteriaceae*。【结论】本研究初步明确了蓼蓝齿胫叶甲取食酸模和唐古特大黄后的肠道微生物多样性特点, 为其寄主范围和种群暴发预测提供了一定的理论依据。

关键词 蓼蓝齿胫叶甲; 酸模; 唐古特大黄; 肠道微生物; 天敌

Diversity of the gut microbiota of *Gastrophysa atrocyanea*

WANG Mao^{1**} HE Hong² ZHANG Yun-Shu² XIAO Min³ WEI Zhen-Zhen¹ GUO Jing-Wei¹
CHEN Song¹ CHEN Qing-Dong¹ XIAO Jin-Xin⁴ WANG Dong-Ning⁵ WANG Guang-Xu^{4, 5***}

(1. Institute of Plant Protection, Sichuan Academy of Agricultural Sciences, MOA Key Laboratory of Integrated Management of Pests on Crops in Southwest China, Chengdu 610066, China; 2. Aba State Institute of Agricultural Sciences, Maerkang 624000, China;
3. Aba State Academy of Ecological Conservation and Development, Wenchuan 623000, China;
4. Agricultural Product Quality Inspection and Monitoring Center of Aba, Maerkang 624011, China;
5. Plant Protection and Inspection Station of Aba, Maerkang 624011, China)

Abstract 【Aim】 *Gastrophysa atrocyanea* is an insect that feeds on weeds of the family Polygonaceae. 【Methods】 High-throughput sequencing analysis was used to investigate the type, abundance, dominance and diversity of, and functional changes in, the gut microbiota in *G. atrocyanea* that fed on either *Rumex acetosa* or *Rheum tanguticum*. 【Results】 A total of 154 gut microbiota species were identified, of which 548 were unique to *G. atrocyanea* that fed on *R. acetosa* and 554 to those that fed on *R. tanguticum*. The *Proteobacteria* was the dominant gut microbiota in both treatment groups. Species diversity was highest in *G. atrocyanea* that had fed on *R. tanguticum*. The species composition predicted from the results of a metabolic function analysis indicate that, except for *Serratia*, the dominant group in the *R. acetosa* treatment group was *Pantobacterium*, and the dominant group in the *R. tanguticum* treatment group was *Enterobacterium*. 【Conclusion】 This study preliminarily clarified the diversity characteristics of gut microbiota of *G. atrocyanea* that feed on *R. acetosa* and *R. tanguticum*, providing a theoretical basis for its host range and population outbreak prediction.

Key words *Gastrophysa atrocyanea*; *Rumex acetosa*; *Rheum tanguticum*; intestinal microbiota; natural enemies

*资助项目 Supported projects: 四川省阿坝州应用技术与开发资金项目 (R22YYJSYJ0010); 2023 年四川省“三区”人才支持计划

**第一作者 First author, E-mail: 501812830@qq.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: 283657751@qq.com

收稿日期 Received: 2024-01-13; 接受日期 Accepted: 2024-05-28

蓼蓝齿胫叶甲 *Gastrophysa atrocyanea* 隶属鞘翅目 Coleoptera 叶甲科 Chrysomelidae, 是一种专食酸模 *Rumex acetosa* 等蓼科 Polygonaceae 蓼属 *Polygonum* 植物(李晓光等, 2002; 钟仕田, 2002)的天敌昆虫。蓼科植物多为常见杂草, 如齿果酸模 *Rumex dentatus*、绵毛酸模叶蓼 *Persicaria lapathifolia* 和卷茎蓼 *Fallopia convolvulus* 等, 是农业生产中重要的草害植物(林智慧等, 2003)。长期以来, 对蓼蓝齿胫叶甲的研究主要集中在寄主食性选择和生物学特性方面, 如温度、农药等对蓼蓝齿胫叶甲生长发育的影响, 以及其生活史的观察(潘洪玉等, 2001; Leleiwi *et al.*, 2023)。近年来, 宏基因组学在研究肠道微生物方面取得了丰硕成果, 为医学以及动物学研究做出了突出贡献, 如人类疾病、猕猴 *Macaca mulatta*、东北林蛙 *Rana dybowskii*、东方蜜蜂 *Apis cerana* 和椰心叶甲 *Brontispa longissima* 等(黄皓, 2019; Wu *et al.*, 2021; 章雨露等, 2021; Yang *et al.*, 2022; Leleiwi *et al.*, 2023), 然而对蓼蓝齿胫叶甲肠道微生物研究还很少。

唐古特大黄 *Rheum tanguticum* 是蓼科大黄属 *Rheum* 中药材, 分布于海拔 1 500-3 000 m 区域, 现已在我国青海、甘肃、西藏和四川推广种植, 成为当地的经济作物(李和平等, 2007)。在四川省马尔康市唐古特大黄种植区, 蓼蓝齿胫叶甲成为了虫害防治对象, 我们在马尔康市(31.913 0° N, 102.193 6° E)酸模上采集了一份蓼蓝齿胫叶甲卵块, 孵化后分别喂食酸模和唐古特大黄, 进行其肠道微生物种类及其丰度和优势度变化的研究, 以期反映其进食不同寄主植物后肠道内容物中的微生物种群及其变化, 为解释其寄主适应性提供依据。以期为蓼蓝齿胫叶甲寄主范围和预测预报提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试昆虫: 于 2023 年 4 月 15 日在四川省马尔康市(31.913 0° N, 102.193 6° E)酸模上采集了一份蓼蓝齿胫叶甲卵块, 带回实验室进行孵

化, 温度 25 °C, 湿度 60%-70%, 共孵化出幼虫 41 头, 将其按照不同饲喂方式分为两组, 分别以实验室种植的酸模和唐古特大黄叶片饲养, 养至 4 龄, 随机选取各组 5 头幼虫进行解剖和后续试验。

取样工具: 冻存管, PE 手套, 镊子, 无水乙醇, 记号笔, 自封袋, 脱脂棉。

1.2 方法

1.2.1 蓼蓝齿胫叶甲幼虫肠道解剖 将两组 4 龄蓼蓝齿胫叶甲幼虫置于冰上, 饥饿处理 24 h, 将幼虫用 75%酒精消毒, 浸泡 3 min, 无菌水冲洗 3 次, 于超净工作台内解剖。使用灭菌 PBS 缓冲液剥离附在肠道上的其他组织, 肠道样本置于 1.5 mL 离心管中, 液氮速冻后迅速置于 -80 °C 冰箱保存备用。每头幼虫为 1 个样本, 重复 5 次。收集取食酸模和唐古特大黄的蓼蓝齿胫叶甲肠道组织, 分别编号为 S1、S2、S3、S4、S5(取食酸模组)和 D1、D2、D3、D4、D5(取食唐古特大黄组)。

1.2.2 蓼蓝齿胫叶甲肠道微生物 DNA 提取及 PCR 扩增 肠道样本送至上海派森诺生物科技股份有限公司测序。肠道总细菌 DNA 提取使用 E.Z.N.A.® soil DNA Kit 试剂盒(MP Biomedicals, USA)。PCR 扩增引物为 16S rRNA 的通用引物: 338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCA-3')和 806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'), PCR 反应程序为: 95 °C 预变性 3 min; 27-35 个循环(95 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 45 s); 72 °C 延伸 10 min。PCR 扩增产物经 2%琼脂糖凝胶电泳检测后, 使用 AxyPrep 细菌基因组 DNA 凝胶回收试剂盒(Axygen)进行切胶回收, 提取纯化的 PCR 产物, 并使用 Quantus™ 荧光计(Promega, USA)对纯化后的 DNA 进行定量, 纯化的扩增子在 Illumina MiSeq PE300 平台上测序。

1.2.3 数据处理 利用 DADA2 方法对原始数据进行质控、过滤和拼接(Benjamin *et al.*, 2018)。使用 Uparse 对相似性为 97%的序列进行操作分类单元(Operational taxonomic units, OTUs)聚类, 并去除嵌合序列。运用 RDP classifier

(<http://rdp.cme.msu.edu/>) 贝叶斯算法对每条序列进行物种分类注释, 结合 SILVA、GreenGenes 和 UNITE 数据库进行比对, 比对阈值设置 70%。

数据处理基于派森诺基因云数据分析平台 (www.genesccloud.com) 进行。首先, 对数据进行抽平处理, 构建稀释曲线图。选择处理的 OTU 表后, 利用 QIIME2 软件进行 Alpha 多样性分析 (Chao, 1984)。基于 QIIME2 软件生成各分类学水平丰度表, 计算 Beta 多样性距离, 细菌和真菌分析分别利用 Unweighted-unifrac 算法 (Lozupone and Knight, 2005) 和 Binary-jaccard 算法 (Jaccard, 1908) 得到组间 Beta 间距。然后, 进行主坐标分析即 PCoA (Principal co-ordinates analysis) 分析降维并对结果可视化。各分类水平的物种组成图和物种组成相对丰度图利用 R 语言软件绘制, 阈值小于 1% 的物种进行合并不显示。对于 LEfSe 多级物种差异判别分析 (Segata *et al.*, 2011) 采用 all-against-all (More

strict) 策略, 揭示出差异常显著且最有可能解释细菌和真菌群落差异的分类特征 [线性判别分析 Linear discriminant analysis (LDA), LDA>4.0]。最后, 利用 R 语言的 igraph 包构建关联网络, 用 ggraph 包绘制关键网络图。使用 PICRUST2 软件对基因家族的功能进行预测, 并借助 R 语言的 pheatmap 包对各样本间的物种丰度的分布趋势和代谢通路进行进一步分析。

2 结果与分析

2.1 序列处理

对两组蓼蓝齿胫叶甲 4 龄幼虫肠道微生物的测序结果显示 (表 1): 测序量最大的是样本 D5, 为 127 373 reads, 最小的是样本 D3, 为 108 248 reads, 其中非单 OTU (Operational taxonomic units) 数量占比均在 75% 以上, 测序质量较好满足后续分析要求。

表 1 测序量统计表 (reads)
Table 1 Sequencing quantity statistics (reads)

样品编号 Sample ID	测序量 Input	过滤 Filter	去噪 Denoise	拼接 Merge	去嵌合体 Non-chimeric	非单 OTU Non-singleton OTU
D1	114 523	90 312	89 385	86 855	75 490	75 450
D2	128 040	103 778	103 493	103 318	98 879	98 877
D3	108 248	84 748	83 580	81 139	80 472	80 432
D4	129 419	103 864	103 503	103 257	93 799	93 797
D5	127 373	102 281	101 956	101 721	101 126	101 125
S1	120 754	93 788	92 828	90 913	89 083	89 040
S2	126 035	100 036	98 985	95 985	92 817	92 794
S3	113 664	91 283	91 014	90 808	90 740	90 735
S4	121 154	96 135	95 797	95 516	91 968	91 960
S5	115 245	92 767	92 474	92 255	88 057	88 049

D1-D5: 取食唐古特大黄的 4 龄蓼蓝齿胫叶甲幼虫的 5 个重复; S1-S5: 取食酸模的 4 龄蓼蓝齿胫叶甲幼虫的 5 个重复; OTU: 操作性分类单元。
D1-D5 represent 5 repeats of the 4th instar larvae of *G. atrocyanea* feeding on *R. anguticum*; S1-S5 represents 5 repeats of the 4th instar larvae of *G. atrocyanea* feeding on *R. acetosa*. OTU: Operational taxonomic units.

通过 NT 数据库和 NR 数据库对各个样本的测序结果进行注释 (图 1), 其中目水平上注释到最多的是 D1 样本为 11 个, 科水平上注释到

最多的是 S2 样本为 43, 属水平上注释到最多的是 D3 样本为 306, 整体水平上 S 组注释到的科和属平均数量分别为 (18.2, 124.6) 高于 D 组

(18, 110)。

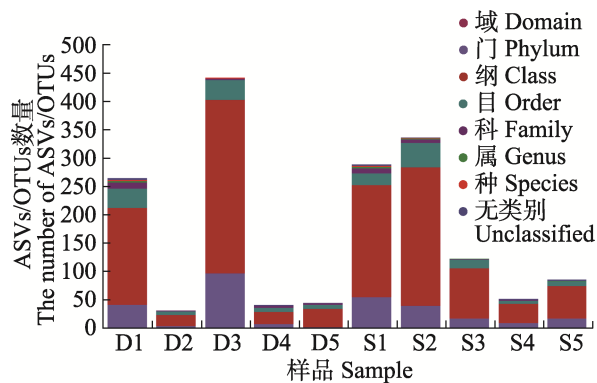


图 1 物种分类学注释

Fig. 1 Annotations on species taxonomy

2.2 物种组成分析

通过对抽平后的 ASV/OUT 数据进行统计, 我们获得了每个样本中的微生物群落在各分类水平的具体组成 (表 2), 其中门水平上最多的是 D3 为 18 种, 纲水平上最多的是 D3 为 11 种, 目水平上最多的是 D3 为 65, 科水平上最多的是 D3 为 106 科, 属水平上最多的是 D3 为 165 属。从整体来看, D 组和 S 组在门目属三个层次差异不大, 科水平上, S 组 (均值 54.8) 要比 D 组高 (均值 45.8)。

表 2 各样本中的微生物群落分类总况
Table 2 Overall classification of microbial communities in each sample

样本 编号 Sample ID	界 Kingdom	门 Phylum	纲 Class	目 Order	科 Family	属 Genus
D1	1	12	20	42	65	95
D2	1	11	12	16	21	19
D3	1	18	31	65	106	165
D4	1	6	7	9	13	19
D5	1	7	10	17	24	29
S1	1	15	26	52	84	114
S2	1	16	23	52	76	106
S3	1	9	13	31	49	58
S4	1	10	14	23	29	32
S5	1	7	10	27	36	48

各样本肠道微生物在门水平上的物种组成及相对丰度如图 2 所示, D1、D2、D3、D4、D5 和 S1、S3、S4、S5 的优势菌门均为变形菌门 Proteobacteria, 占比分别为 93.96%、99.86%、53.29%、99.66%、99.86%和 65.78%、95.64%、99.63%、97.92%。除了 S2 占比为 31.60%、S1 占比为 65.78%和 D3 占比为 53.29%, 其余样本肠道微生物中变形菌门占比都在 95%以上, 是绝对的优势菌门。S2 样本的优势菌门为拟杆菌门 Bacteroidota, 占比为 44.27%。整体来看, 变形菌门 Proteobacteria 和拟杆菌门 Bacteroidota 是蓼蓝齿胫叶甲的优势菌门。此外, 放线菌门 Actinobacteriota、装甲菌门 Armatimonadota、绿湾菌门 Chloroflexi、弯曲杆菌门 Campylobacterota、梭杆菌门 Fusobacteriota、疣微菌门 Verrucomicrobiota 和酸杆菌门 Acidobacteriota 在不同样本中也表现出较高的相对丰度。

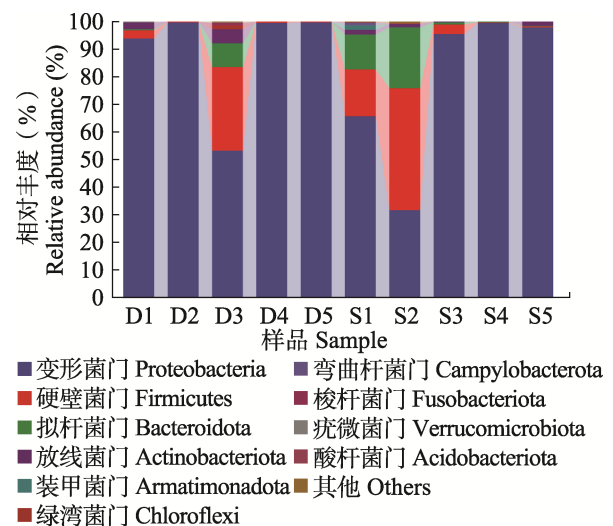


图 2 两组样本肠道微生物物种相对丰度

Fig. 2 Relative abundance of intestinal microbial species in two groups of samples

根据进化距离, 将具有相同分类单元注释的 tips 合并为一个 tip (选择其中一个 tip 作为代表), 并按照丰度对物种进行排序, 在进化树中保留排名前 10 的属, 分别是泛菌属 *Pantoea*、沙雷菌属 *Serratia*、哈夫尼菌属 *Hafnia* *Obesumbacterium*、鞘氨醇单胞菌属 *Sphingomonas*、乳酸杆菌属 *Ligilactobacillus*、单胞菌属 *Pelomonas*、*Muribaculaceae*、梭菌属 *Clostridia*_UCG-014、水

杆菌属 *Aquabacterium* 和另枝菌属 *Alistipes*(图 3)。

2.3 多样性分析

Alpha 多样性指数和 Beta 多样性指数分别表征物种在生境内和生境间的多样性,以综合评价

其总体多样性。Alpha 多样性指局部均匀生境下的物种在丰富度 (Richness)、多样性 (Diversity) 和均匀度 (Evenness) 等方面的指标,也被称为生境内多样性 (Within-habitat diversity)。分析结果 (表 3) 表明 D3 物种丰富度 (Chao1) 最高,

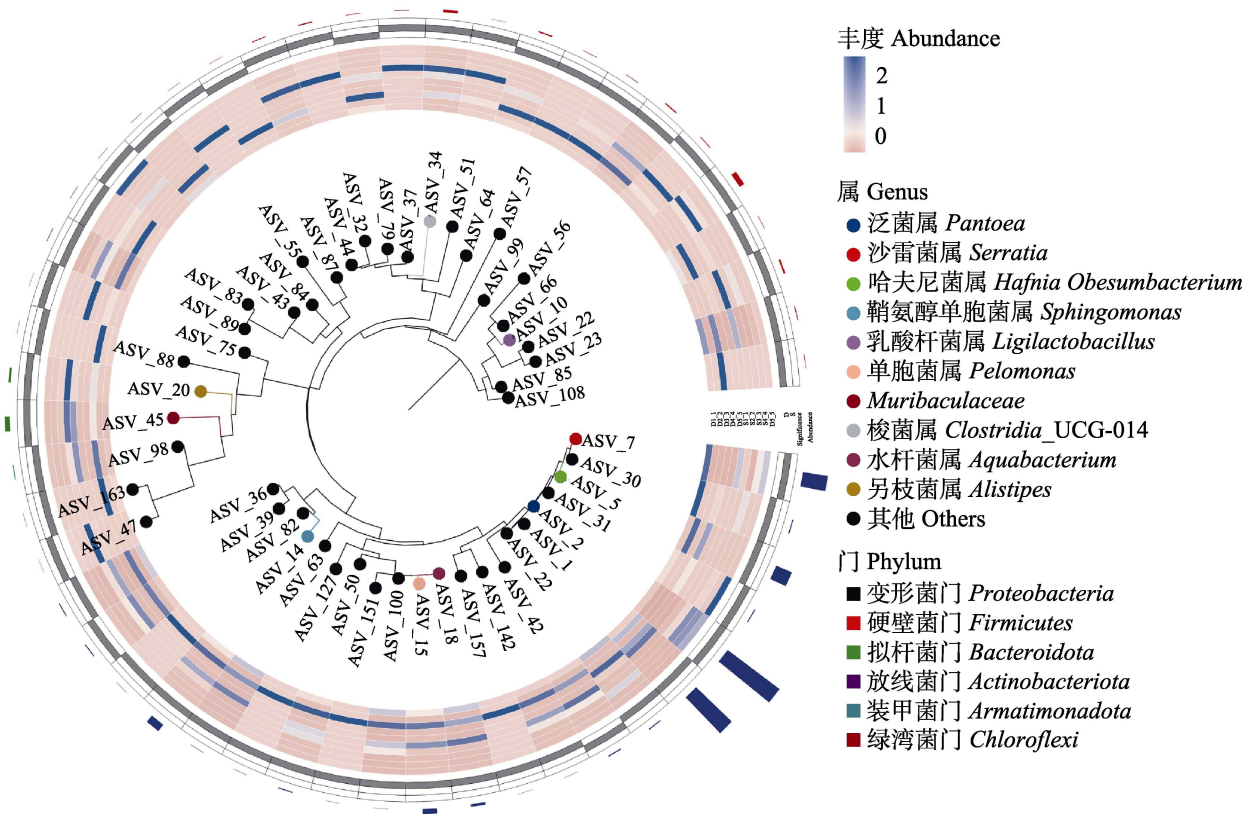


图 3 系统进化树
Fig. 3 System evolution tree

表 3 Alpha 多样性指数分析
Table 3 Alpha diversity index analysis

样本编号 Sample ID	Chao1 指数 Chao1 index	微生物覆盖率 Goods coverage	均匀度指数 Pieloue index	香农维纳指数 Shannon index	辛普森指数 Simpson index
D1	294.060 0	0.998 2	0.468 9	3.770 5	0.786 9
D2	38.545 4	0.999 7	0.437 3	2.172 4	0.713 5
D3	445.501 0	0.999 6	0.713 6	6.277 0	0.964 5
D4	43.120 0	0.999 7	0.410 5	2.152 3	0.637 9
D5	52.590 2	0.999 6	0.143 3	0.783 4	0.272 3
S1	295.783 0	0.998 9	0.665 2	5.434 3	0.955 9
S2	391.008 0	0.998 3	0.676 5	5.709 0	0.943 3
S3	135.107 0	0.999 5	0.226 1	1.585 3	0.546 1
S4	60.646 6	0.999 6	0.281 9	1.625 0	0.595 9
S5	94.684 1	0.999 5	0.390 9	2.513 9	0.724 9

为 445.501 0, 其次是 S2 样本, 为 391.008 0。同样, D3 样本的多样性 (Shannon) 也最高, 为 6.277 0, 其次是 S2, 为 5.709 0。

Beta 多样性指数用于比较不同生境间的多样性, 也就是样本间的差异。对样本间的差异进行降维处理, 采用主成分分析和层次聚类分析方法, 结果表明, S 组和 D 组样本明显分离 (图 4), 而且丰度排名前十的属在各个样本之间的分布存在差异 (图 5)。

2.4 物种差异分析与标志物种

通过韦恩图分析取食酸模和唐古拉大黄的蓼蓝齿胫叶甲肠道微生物群落, D 组独有物种为 554 种, S 组独有物种为 548 种, 两组共有物种为 154 种, 两组样本的肠道微生物物种差异较大。选取平均丰度前 20 的属进一步分析, 结果

见图 6, 样本 D3 物种丰度最高, D4 物种丰度最低。

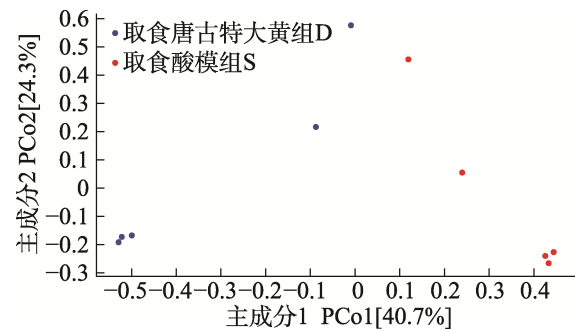


图 4 主成分分析

Fig. 4 Principal component analysis (PCA)

D: 取食唐古特大黄的蓼蓝齿胫叶甲组;

S: 取食酸模的蓼蓝齿胫叶甲组。下图同。

D: The group of *G. atrocyanea* feeding on *R. anguticum*;

S: The group of *G. atrocyanea* feeding on *R. acetosa*.

The same below.

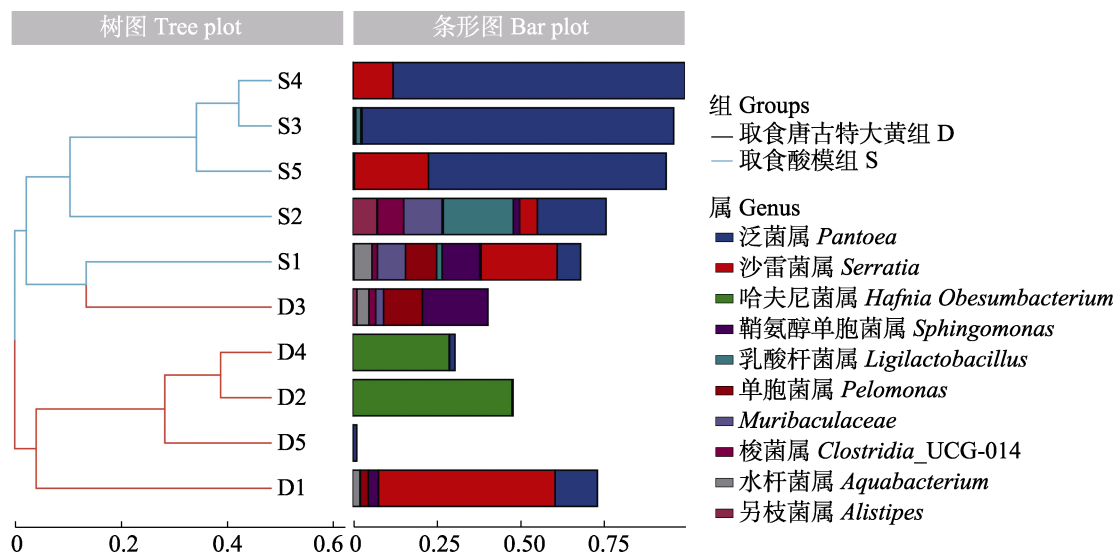


图 5 层次聚类分析

Fig. 5 Hierarchical clustering analysis

两个组别的 LEfSe 分析 (线性判别分析效应大小 Linear discriminant analysis effect size) 结果显示取食唐古特大黄的蓼蓝齿胫叶甲肠道微生物的标志物种是肠杆菌科 Enterobacteriaceae, 取食酸模的蓼蓝齿胫叶甲肠道微生物的标志物种是欧文菌科 Erwiniaceae。(图 7)。

2.5 功能潜能预测

对两组样本的肠道微生物功能单元

(EC/KO/COG) 进行预测, 分析得到的代谢通路有生物合成、退化/利用/同化、脱毒、前体代谢物和能量的产生、聚糖通路、大分子修饰和代谢集群 (图 8)。对编码这些功能潜能基因的物种进行分析, 用分层的样本代谢通路分度表进行物种组成分析 (图 9)。沙雷氏菌属 *Serratia* 在 D1、S1、S4 和 S5 样本中丰富度最高, 是取食酸模的优势群; 泛菌属 *Pantoea* 在 S3 样本中丰富度最高; 哈夫尼菌属 *Hafnia Obesumbacterium* 在

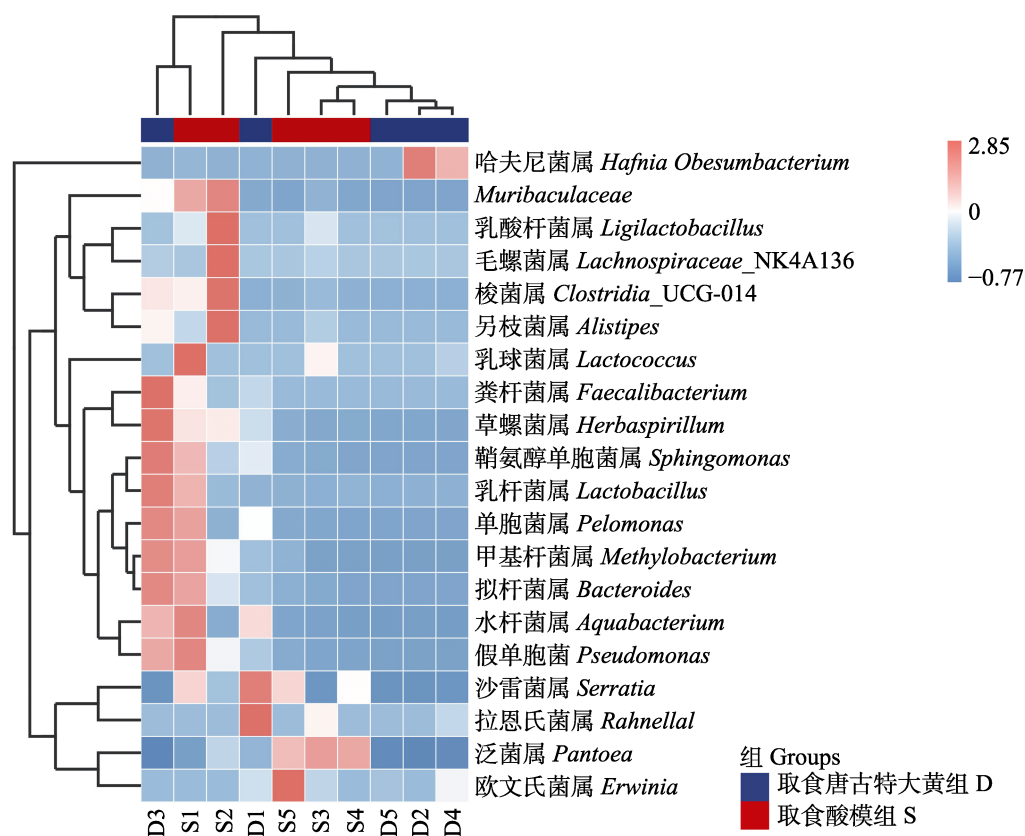


图 6 丰度前 20 的属热图
Fig. 6 Genus heat map with an abundance of top 20

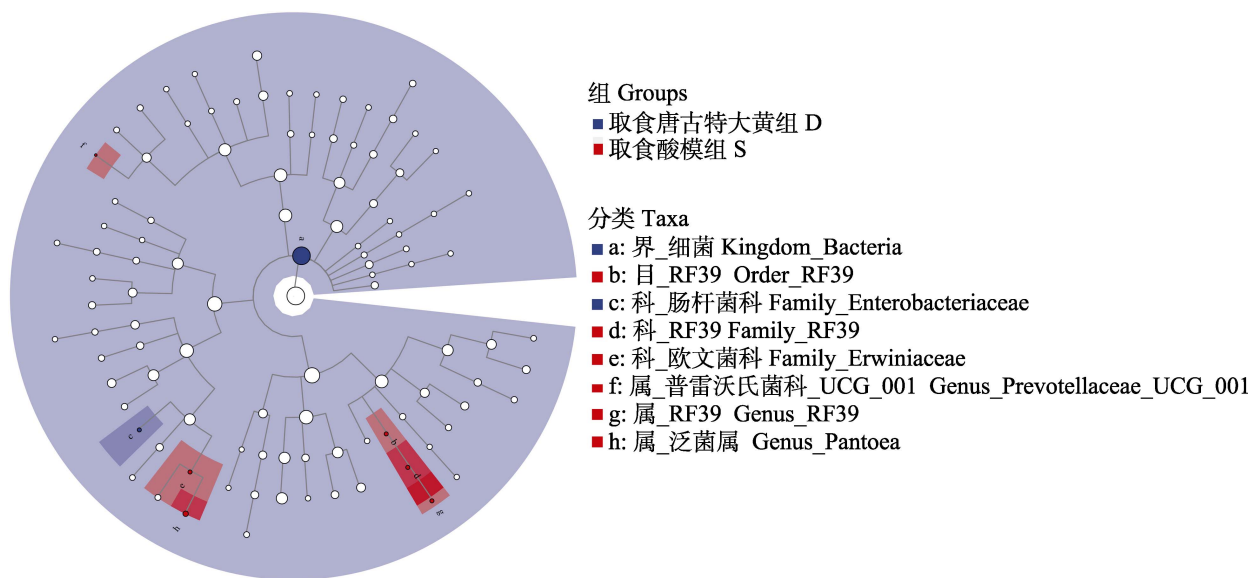


图 7 LEfSe 分析
Fig. 7 LEfSe analysis

D2 和 D4 样本中丰富度最高；肠杆菌科 Enterobacteriaceae 某属在 D5 中的丰度最高。取食酸模的蓼蓝齿胫叶甲体内的肠道微生物以沙雷氏菌属 *Serratia*、肠杆菌科 Enterobacteriaceae 某属、哈夫尼菌属 *Hafnia Obesumbacterium* 为优势群，而取食唐古拉大黄的蓼蓝齿胫叶甲体内的肠道微生物以沙雷氏菌属 *Serratia* 和泛菌属 *Pantoea* 为优势群。

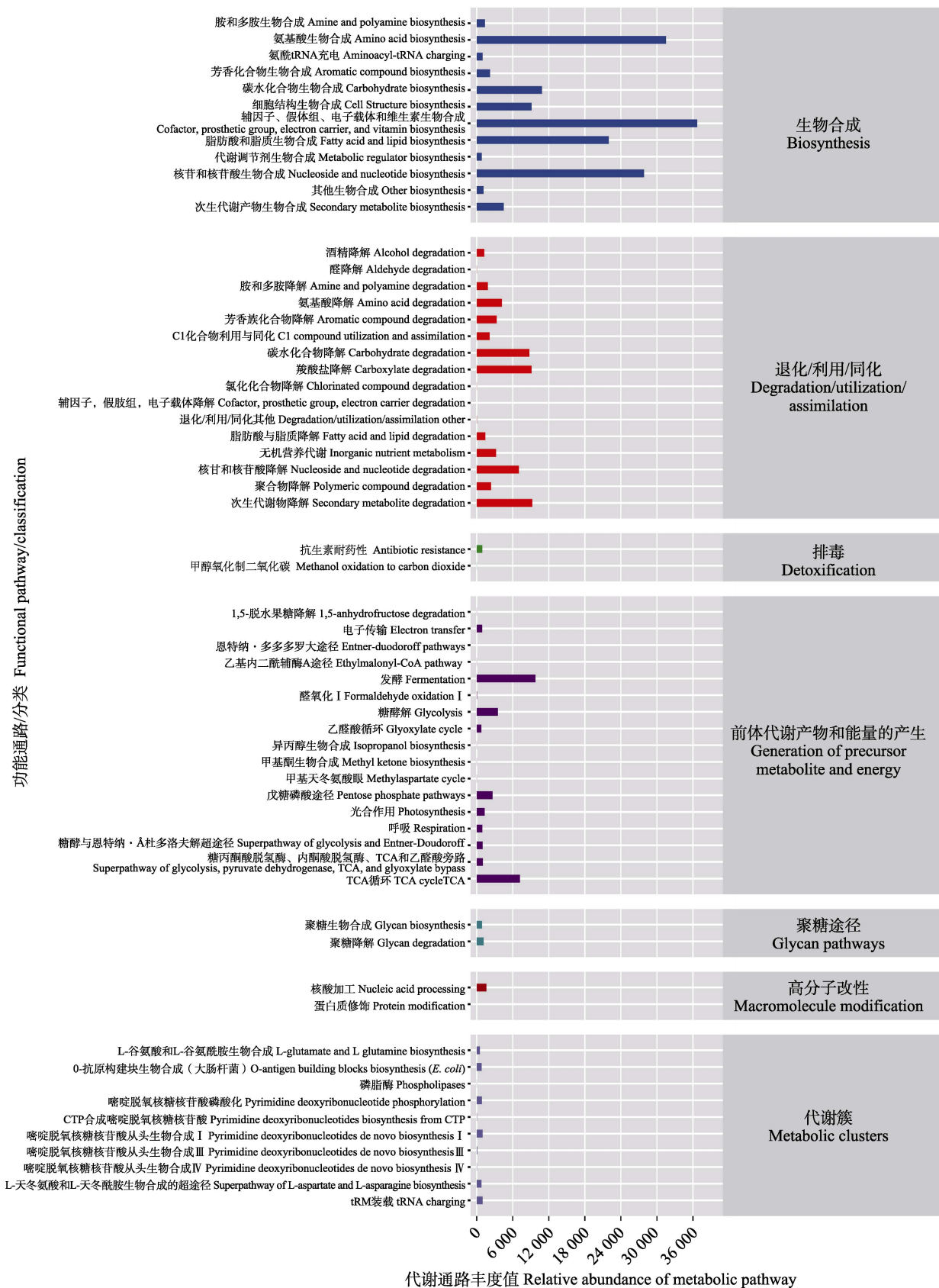


图 8 代谢通路分析

Fig. 8 Metabolic pathway analysis

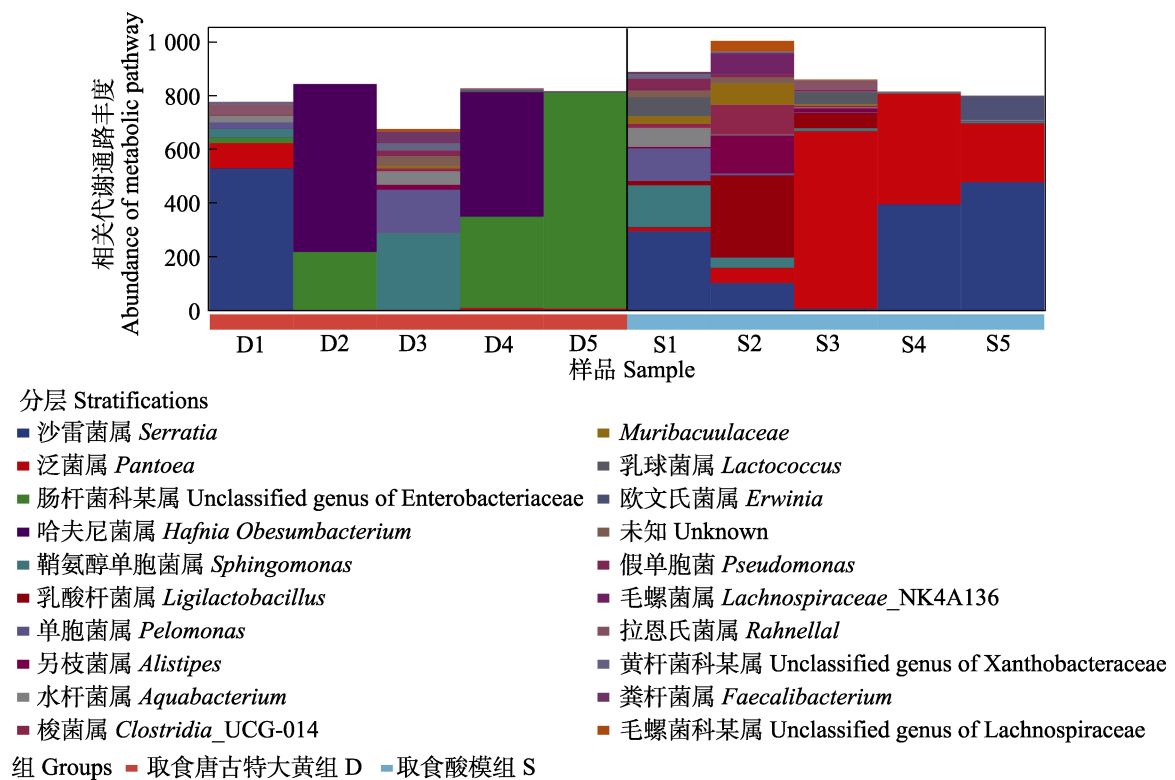


图 9 物种组成分析
Fig.9 Species composition analysis

3 讨论

长期以来, 蓼蓝齿胫叶甲都是作为一种天敌昆虫来控制蓼科植物杂草 (钟仕田, 2002), 但是对其专食性的机理研究较少, 肠道微生物对叶甲科昆虫食性研究具有很大的优势, 如绿樟肖叶甲 *Chalcolema cribrata* 肠道内生细菌隶属 15 门、24 纲、56 目、97 科和 140 属, 主要由变形菌门 (93.12%), 泛菌属 (71.21%) 组成 (胡连清等, 2023); 柑橘潜叶甲 *Podagricomela nigricollis* 肠道微生物隶属 11 门、21 纲、42 目、71 科和 99 属, 在门分类水平上, 变形菌门细菌占比为 90.83%, 为优势门; 在属分类水平上, 沙雷氏菌属细菌占比为 45.52%, 为优势属 (牛营超等, 2022)。本研究分别对取食酸模和唐古特大黄两种寄主植物的蓼蓝齿胫叶甲的肠道微生物种群进行了分析, 其肠道微生物 (D3) 隶属 18 门、31 纲、65 目、106 科和 165 属, 比绿樟肖叶甲和柑橘潜叶甲的肠道微生物丰富, 同时变形菌门也为优势门, 占比 90% 以上; 其中沙雷氏菌属是两

个蓼蓝齿胫叶甲种群的优势属, 与柑橘潜叶甲的肠道菌群相似。除此之外, 从整体看取食酸模和取食唐古特大黄的蓼蓝齿胫叶甲的 4 龄幼虫肠道微生物物种多样性差异不大, 这可能与酸模和唐古特大黄都是蓼科植物有关。

在已有鞘翅目昆虫肠道微生物的研究中, 肠道微生物种群有很大差异, 如黄黑趾铁甲 *Dactylispa (s. str.) xanthospila*、松墨天牛 *Monochamus alternatus*、象甲 *Curculionidae* 的肠道优势属分别为肠杆菌属、沙雷氏菌属、假单胞菌属, 对纤维素代谢起着重要作用 (牛营超等, 2022)。本研究两组蓼蓝齿胫叶甲的肠道微生物均以沙雷氏菌为优势群, 沙雷氏菌已被证明具有较好的杀虫作用, 如可以用来控制德国小蠊 *Blattella germanica* 的数量 (赵海政, 2023)。酸模和唐古特大黄是传统的中药材, 本身具有杀虫止痒的作用, 而肠道微生物中大量的沙雷氏菌与蓼蓝齿胫叶甲取食酸模和唐古特大黄后解毒有关。昆虫肠道菌群多样性丰富, 不仅参与了营养代谢, 还参与了解毒过程, 如脱毒

(Detoxification) (Jing *et al.*, 2020)。本研究从肠道微生物层面探讨了蓼蓝齿胫叶甲对蓼科两种植物的取食差异, 结果表明均以沙雷氏菌为优势群, 其可能还与寄主植物有关, 我们下一步将在实验室用多种蓼科寄主植物喂养蓼蓝齿胫叶甲, 进一步明确植于蓼蓝齿胫叶甲肠道的微生物种群和丰度, 以期探索其适应有毒寄主的肠道秘密。

参考文献 (References)

- Benjamin DJ, Berger JO, Johannesson M, 2018. Redefine statistical significance. *Nature Human Behaviour*, 2: 6–10.
- Chao A, 1984. Nonparametric estimation of the number of classes in a population. *Scandinavian Journal of Statistics*, 1: 265–270.
- Huang H, 2019. Comparison of gut microbiota and preliminary analysis of immune function between northeast forest frog and Heilongjiang forest frog. Master dissertation. Heilongjiang: Northeast Forestry University. [黄皓, 2019. 东北林蛙和黑龙江林蛙肠道菌群比较及免疫功能初步分析. 硕士学位论文. 黑龙江: 东北林业大学.]
- Hu LQ, Peng JQ, Chen L, Liu WW, Feng RZ, Zhou WH, Wei Q, Qin XH, Zha LP, 2023. Aalysis of intestinal bacterial diversity and screening of functional strains of chalcocoma cribrata chen from *Camphora longepaniculata* (Gamble) Y. Yang, Bing Liu & Zhi Yang. *Journal of Yibin University*, 24(6): 102–108. [胡连清, 彭俊琪, 陈露, 刘雯雯, 冯瑞章, 周万海, 魏琴, 秦晓红, 查黎萍, 2023. 绿樟肖叶甲肠道细菌多样性分析及功能菌株的筛选. 宜宾学院学报, 24(6): 102–108.]
- Jing TZ, Qi FH, Wang ZY, 2020. Most dominant roles of insect gut bacteria: Digestion, detoxification, or essential nutrient provision? *Microbiome*, 8: 38.
- Leleiwi I, Rodriguez-Ramos J, Shaffer M, 2023. Exposing new taxonomic variation with inflammation a murine model-specific genome database for gut microbiom researchers. *Microbiome*, 11: 114.
- Li XG, Zhang FM, Dong BC, Shi SS, 2002. Preliminary observation of the natural enemy insect of the acid mold grass, *Gastrophysa atrocyanea* Motsch. *Entomological Knowledge*, 39(3): 226–228. [李晓光, 张富满, 董本春, 史树森, 2002. 酸模草的天敌昆虫——蓼蓝齿胫叶甲的初步观察. 昆虫知识, 39(3): 226–228.]
- Lin ZH, Chen QJ, Zhang GS, Yang JQ, Ji CC, Zhang YZ, Chen JH, 2003. The effect of pesticides on the predatory natural enemy of Polygonaceae weeds in tobacco fields -*Gastrophysa atrocyanea* Motsch. *Journal of Jiangxi Agricultural University*, 25(1): 4. [林智慧, 陈乾锦, 张根顺, 杨建全, 纪成灿, 张玉珍, 陈家骅, 2003. 农药对烟田蓼科杂草专食性天敌——蓼蓝齿胫叶甲的影响. 江西农业大学学报, 25(1): 4.]
- Lozupone C, Knight R, 2005. UniFrac: A new phylogenetic method for comparing microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(12): 8228–8235.
- Niu YC, Cui LX, Ding L, 2022. Study on diversity and function of midgut bacteria in larvae of *Podagricomela nigricollis* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Jiangsu Agricultural Sciences*, 50(23): 110–115. [牛营超, 崔立星, 丁露, 2022. 柑橘潜叶甲幼虫中肠细菌的多样性及功能分析. 江苏农业科学, 50(23): 110–115.]
- Pan HY, Xi JH, Wang XM, Duan JT, 2001. Study on the host specific feeding habits of *Polygonum multiflorum*. *Chinese Journal of Biological Control*, 17(2): 60–62. [潘洪玉, 席景会, 王旭明, 段金太, 2001. 蓼蓝齿胫叶甲寄主专食性的研究. 中国生物防治学报, 17(2): 60–62.]
- Segata N, Izard J, Waldron L, 2011. Metagenomic biomarker discovery and *Genome Biology*, 12(6): R60.
- Shi SB, Li HP, Wang XY, Li HM, Han F, 2007. Utilization and dissipation of strong solar radiation in two alpine plants, *Anisodus tanguticus* and *Rheum tanguticum*. *Journal of Plant Ecology*, 31(1): 129–137. [师生波, 李和平, 王学英, 李惠梅, 韩发, 2007. 高山植物唐古特山莨苳和唐古特大黄对强太阳辐射光能的利用和耗散特性. 植物生态学报, 31(1): 129–137.]
- Webb CO, Ackerly DD, Kembel SW, 2008. Phylocom: Software for the analysis of phylogenetic community structure and trait evolution. *Bioinformatics*, 24(18): 2098–2100.
- Wu JQ, Lang H, Mu XH, Zhang ZJ, Su QZ, Hu XS, Hao Zheng H, 2021. Honey bee genetics shape the strain-level structure of gut microbiota in social transmission. *Microbiome*, 9(1): 225.
- Yang SZ, Liu Y, Yang N, 2022. The gut microbiome and antibiotic resistome of chronic diarrhea rhesus macaques (*Macaca mulatta*) and its similarity to the human gut microbiome. *Microbiome*, 10(1): 29.
- Zhang YL, Lu BQ, Yang F, 2021. Isolation, identification and functional analysis of intestinal microorganisms of *Brontispa longissimi* Gestro. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 42(4): 1066–1070. [章雨露, 吕宝乾, 杨帆, 2021. 椰心叶甲肠道微生物的分离鉴定及功能分析. 热带作物学报, 42(4): 1066–1070.]
- Zhao HZ, 2023. Study on the biological control of german cockroaches by the combination of *Salmonella* and *Metarhizium anisoplia*. Master dissertation. Jinan: Shandong Normal University. [赵海政, 2023. 沙雷氏菌与绿僵菌复配对德国小蠊生物防治的研究. 硕士学位论文. 济南: 山东师范大学.]
- Zhong ST, 2002. The important natural enemy of weeds in the Polygonaceae family-*Gastrophysa atrocyanea*. *Plant Protection*, 28(1): 52–53. [钟仕田, 2002. 蓼科杂草的重要天敌——蓼蓝齿胫叶甲. 植物保护, 28(1): 52–53.]