



安哲, 薛汇, 高雪珂, 朱香镇, 雒珺瑜, 崔金杰, 马德英. 棉田绿盲蝽微生物多样性研究 [J]. 环境昆虫学报, 2022, 44 (5): 1063 – 1070.

棉田绿盲蝽微生物多样性研究

安哲^{1,2}, 薛汇², 高雪珂², 朱香镇², 雒珺瑜², 崔金杰^{2*}, 马德英^{1*}

(1. 新疆农业大学农学院/农林有害生物监测与安全防护重点实验室, 乌鲁木齐 830052;

2. 中国农业科学院棉花研究所/棉花生物学国家重点实验室, 河南安阳 455000)

摘要: 昆虫在长期的进化过程中与其体内微生物形成了互利共生的关系, 共生微生物参与调节寄主的多种生命活动, 例如生殖、代谢等。在黄河流域棉区绿盲蝽 *Apolygus lucorum* 是棉花的主要害虫之一。为明确绿盲蝽体内共生菌的种类与群落结构, 通过 HiSeq 平台对棉田绿盲蝽体内共生菌的 16S rRNA 基因 V3 ~ V4 区进行高通量测序, 分析绿盲蝽体内共生菌的种类与多样性。结果显示, 变形菌门 Proteobacteria (89.18%)、放线菌门 Actinobacteria (2.99%)、厚壁菌门 Firmicutes (2.48%) 为绿盲蝽的 3 个优势菌门。在属水平上立克次氏体 *Rickettsia* (32.86%)、欧文氏菌属 *Erwinia* (20.21%) 为优势菌群。本文初步明确了绿盲蝽体内微生物群落的组成和动态变化, 为进一步研究绿盲蝽与共生菌的相互作用提供了基础, 为今后从共生菌出发防治绿盲蝽提供新思路。

关键词: 绿盲蝽; 共生微生物; 高通量测序; 优势菌群

中图分类号: Q968.1; S433

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858 (2022) 05-1063-08

Microbial diversity of *Apolygus lucorum* in cotton field

AN Zhe^{1,2}, XUE Hui², GAO Xue-Ke², ZHU Xiang-Zhen², LUO Jun-Yu², CUI Jin-Jie^{2*}, MA De-Ying^{1*} (1. Key Laboratory of Monitoring and Safety Prevention and Control of Agriculture and Forest Pests / College of Agronomy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China; 2. Institute of Cotton Research of Chinese Academy of Agricultural Sciences / State Key Laboratory of Cotton Biology, Anyang 455000, Henan Province, China)

Abstract: Insects have formed a mutually-beneficial symbiotic relationship with their microorganisms in the long evolutionary process, and the symbiotic microorganisms participate in the various vital movements of the host, such as reproduction, metabolism, etc. *Apolygus lucorum* is one of the main pests of cotton in the cotton area of north Shandong. In order to identify the species and community structure of symbiotic bacteria in *A. lucorum*, high-throughput sequencing of V3 ~ V4 regions of 16S rRNA genes of *A. lucorum* in cotton field was conducted by HiSeq platform, and the species and diversity of symbiotic bacteria in *A. lucorum* were analyzed. The results showed that Proteobacteria (89.18%), Actinobacteria (2.99%) and Firmicutes (2.48%) were the three most dominant phyla of *A. lucorum*. At the genus level, *Rickettsia* (32.86%) and *Erwinia* (20.21%) were the most dominant bacteria. In this study, the composition and dynamic changes of microbial community in *A. lucorum* were preliminarily described,

基金项目: 中国农业科学院科技创新工程

作者简介: 安哲, 女, 硕士研究生, 研究方向为农业昆虫与害虫防治, E-mail: 244540261@qq.com

* 通讯作者 Author for correspondence: 马德英, 女, 博士, 教授, 主要研究方向为有害生物绿色防控, E-mail: mdyxnd@163.com;

崔金杰, 男, 博士, 研究员, 研究方向为农业昆虫与害虫防治, E-mail: Cuijinjie@126.com

收稿日期 Received: 2021-08-10; 接受日期 Accepted: 2021-11-16

which provided a basis for further study on the interaction between *A. lucorum* and symbiotic bacteria, and provided a new idea for the control of *A. lucorum* with symbiotic bacteria.

Key words: *Apolygus lucorum*; symbiotic microorganisms; high-throughput sequencing; dominant bacteria

昆虫的种类与数量庞大,且绝大部分昆虫都会携带不同的共生微生物,其携带的微生物参与着昆虫的各种生命活动 (Angela, 2015)。研究表明,昆虫肠道中含有大量的共生微生物群落,昆虫的肠道为共生微生物的定殖提供了独特的环境,肠道中的共生微生物为宿主提供许多有益的帮助 (Philipp, 2013)。例如,部分昆虫会缺少某些必需氨基酸、维生素的合成能力或者缺乏必要的肠道消化酶,而共生微生物可以为宿主提供必需的营养物质与所需的消化酶来帮助寄主适应外界环境,同时共生微生物可以通过寄主获得自身所需要的营养物质 (Nancy *et al.*, 2003; Zientz *et al.*, 2004)。此外,昆虫体内的共生菌可以影响昆虫的生长发育,例如小菜蛾 *Plutella xylostella* 的肠道内有抗真菌和抗杀虫剂的 *Pseudomonas* 和 *Stenotrophomonas* 等菌群,这两种菌群提高了宿主的抗性,进而提高了宿主的生长发育速率 (Indiragandhi *et al.*, 2007)。昆虫的行为也与共生菌的存在密不可分,研究发现,豌豆蚜蜜露中分离到一种细菌,即葡萄球菌 *Staphylococcus*, 它可以提高蚜虫趋避天敌的利它素的分泌,改变天敌的产卵偏好 (Pascal *et al.*, 2011)。

绿盲蝽 *Apolygus lucorum* 属于半翅目盲蝽科,是对我国棉花危害较为严重的农业害虫之一。绿盲蝽寄生植物范围广泛,可危害棉花、枣树等多种植物,体积小,外表呈绿色,以吸食植物叶片的汁液为食,最终导致植物凋落 (邢茂德等, 2013; 汤银来等, 2014)。随着我国转基因棉花的种植面积逐年上升,棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 的数量逐渐减少,绿盲蝽数量逐年递增 (Men *et al.*, 2004), 给我国黄河流域等地的棉区带来了严重的损失。

目前关于绿盲蝽的研究有很多,包括其发生规律、防治技术等都有较为系统的研究 (门兴元等, 2008; 陆宴辉和吴孔明, 2008; Lu *et al.*, 2010; 李林懋等, 2014), 但是关于棉田绿盲蝽不同发育时期微生物群落的组成和细菌多样性的研究较为匮乏。关于共生微生物的研究方法一般分为两种,第一种是通过分离纯化的方法将微生物

群落逐个分离出来进行培养,另一种是本文所采用的高通量测序法,能够较为全面地检测寄主体内微生物群落的组成和结构,准确挖掘绿盲蝽体内的优势菌群。本实验通过分析比较绿盲蝽不同发育阶段微生物多样性及动态变化,补充绿盲蝽体内微生物组成的基本信息,为今后研究绿盲蝽与体内微生物种群的互利共生变化打下基础,也为绿盲蝽的防治提供了新的思路。

1 材料与方法

1.1 绿盲蝽样品的采集

绿盲蝽采集于中国农业科学院棉花研究所试验农场东场 (36°5'34.8''N, 114°31'47.19''E)。将采集到的绿盲蝽鉴定分离为若虫 (TLL)、雌性成虫 (TLF) 和雄性成虫 (TLM) 3 组样本,每个样本设置 4 个生物学重复,每个重复包含 10 头昆虫,生物学重复之间保证昆虫生长状态一致。

1.2 DNA 提取和 16S rRNA 基因测序

为了去除昆虫表面的微生物污染物,每个样品先用 70% 乙醇浸泡 5 min,然后用 10% 的漂白剂浸泡 30 s,再用无菌超纯水冲洗。使用 MagPure Stool DNA KF Kit B (Magen, China),按照说明书从全虫中提取 DNA。使用量子位荧光计和量子位 dsDNA BR 分析试剂盒 (Invitrogen, USA) 对 DNA 进行定量,并通过 1% 琼脂糖凝胶进行质量评估。微生物 16S rRNA 基因的 V3 ~ V4 可变区域使用 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') 引物进行扩增。取质量合格的基因组 DNA 样品 30 ng 及对应的融合引物配置 PCR 反应体系,设置 PCR 反应参数进行 PCR 扩增,使用 Agencourt AMPure XP 磁珠对 PCR 扩增产物进行纯化并溶于 Elution Buffer,贴上标签,完成建库。使用 Agilent 2100 Bioanalyzer 对文库的片段范围及浓度进行检测。检测合格的文库根据插入片段大小,选择 HiSeq 平台进行测序。

1.3 数据统计与分析

采取按窗口去低质量的方法,设置 25 bp 的窗

口，如果窗口平均质量值低于 20，从窗口开始截去后端碱基；截短后 read 长度低于原始 read 长度 75% 的，去掉整条序列。去除接头污染 reads，去除低复杂度 reads，根据 barcode 和引物区分样本，barcode 序列与测序 reads 比对允许的错配个数为 0 bp。序列拼接使用软件 FLASH，利用重叠关系将双末端测序得到的成对 reads 组装成一条序列，得到高变区的 Tags。拼接条件为最小匹配长度 15 bp；重叠区域允许错配率为 0.1。

使用软件：FLASH (Fast Length Adjustment of Shortreads, v1.2.11) 通过归类操作，将序列按照彼此的相似性归为许多小组，每个小组为一个 OTU。利用软件 USEARCH (v7.0.1090) 将拼接好的相似度在 97% 以上的 Tags 聚类为 OTU。利用 UPARSE 在 97% 相似度下进行聚类，得到 OTU 的代表序列。利用 UCHIME (v4.2.40) 将 PCR 扩增产生的嵌合体从 OTU 代表序列中去除。使用 usearch_global 方法将所有 Tags 比对回 OTU 代表序列，得到每个样品的 OTU 的丰度统计表。OTU 聚类结果统计使用软件：USEARCH (v7.0.1090)。得到 OTU 代表序列后，通过 RDP classifier (v2.2) 软件将 OTU 代表序列与数据库有比对进行物种注释。为了得到每个 OTU 对应的物种分类信息，采用 RDP classifier 贝叶斯算法对 OTU 代表序列进行分类学分析，并在界门纲目科属种水平统计各样本的群落组成。使用 USEARCH_global (Edgar, 2010) 比较所有标签，获得每个样本的 OTU 统计

丰度表，并由 MOTHUR 在 OTU 水平进行 α 多样性分析。用 R 语言包的 “ade4” 绘制了 OTUs 的主成分分析 (PCA)。在减少数据集的维数的同时，保持数据集对方差贡献的最大特征，使数据直观的呈现在二维坐标系。

2 结果与分析

2.1 测序质量概况

对绿盲蝽 16S rRNA 基因 V3 ~ V4 区扩增子的 Illumina HiSeq 测序共获得 771 355 条过滤数据读数条目。经过质量过滤和嵌合去除和 Tags 拼接，共获得 730 748 条 Tags。序列中测序错误率小于 1% 的碱基所占的百分比均在 98% 以上。根据物种注释情况，统计每个样品注释到各分类水平上的序列数目，发现绝大部分的序列都能注释到属的水平上 (表 1)。

Alpha 多样性 (Alpha diversity) 是对单个样品中物种多样性的分析，其中 Chao 指数和 ace 指数反映样品中群落的丰富度，即简单指群落中物种的数量，而不考虑群落中每个物种的丰度情况。被测样品中，成虫的物种数量与物种丰富度都明显高于若虫，其中 TLM 样本的 ace 平均值为 528.173，TLL 样本的平均值为 324.753，这与 Chao 指数的结果一致。而 Shannon 指数以及 Simpson 指数反映群落的多样性。Shannon 指数表明，成虫时期的指数明显高于若虫，最高达到 4.493，

表 1 各样本不同水平的序列数 (条)

Table 1 Sequence number in the different levels of every sample

样品名称 Sample ID	Clean-reads	Clean-tags	Ace Rarefaction 指数	Chao Rarefaction 指数	覆盖率 (%) Coverage	Shannon 指数	Simpson 指数
TLF1	64 305	63 389	227.360	196.390	99.73	0.973	0.685
TLF2	64 272	60 832	257.788	259.181	99.75	0.286	0.916
TLF3	64 294	58 676	308.384	305.982	99.51	0.914	0.591
TLF4	64 340	59 054	505.478	491.000	98.99	0.486	0.828
TLL1	64 201	62 304	193.133	169.742	99.79	0.268	0.937
TLL2	64 157	62 956	129.065	114.174	99.87	2.026	0.326
TLL3	64 214	63 843	116.956	95.936	99.89	3.657	0.066
TLL4	64 189	63 665	140.526	106.990	99.88	3.683	0.072
TLM1	64 366	56 397	590.344	578.651	98.99	3.865	0.064
TLM2	64 347	60 118	444.447	438.418	99.37	3.383	0.095
TLM3	64 365	55 935	759.773	719.55	98.69	4.493	0.027
TLM4	64 305	63 579	318.126	239.297	99.72	0.555	0.774

与其相反 Simpson 指数为 0.027。稀释曲线则反映了样品测序量足够,且 4 个指数的稀释曲线最终均趋于平缓,表明测序深度已经基本覆盖到样品中所有的物种,不存在未被测序检测到的物种

(图 1、图 2)。Good-coverage 反映了样品文库的覆盖率,该数值越高,样品中序列没有被测出来的概率越低,样品组间平均测序覆盖率为 99% 以上,因此被测样品完全真实(表 1)。

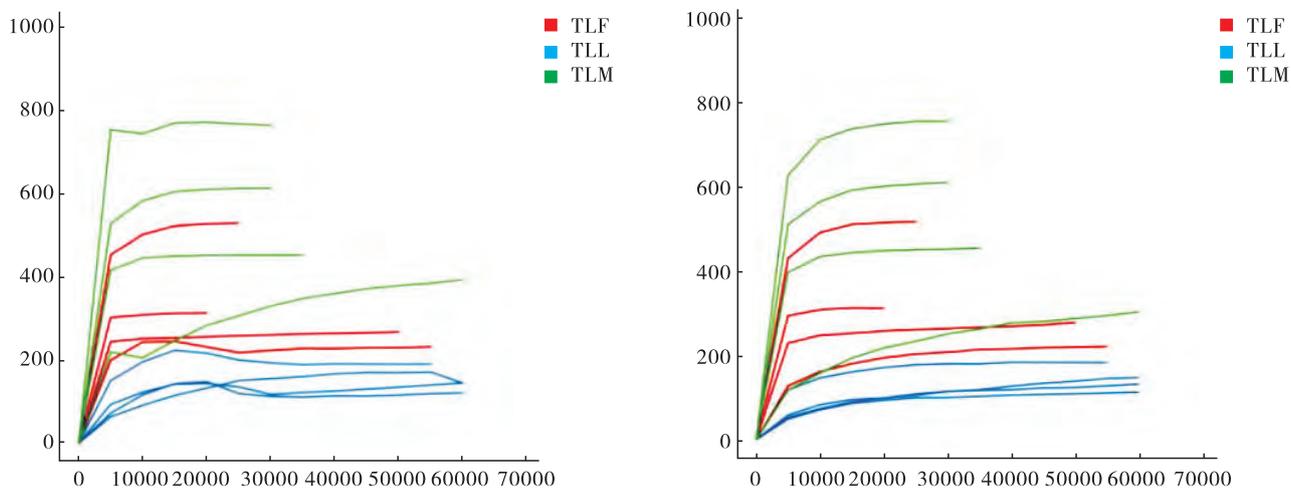


图 1 Chao 指数与 ace 指数稀释曲线

Fig. 1 Chao and ace exponent dilution curve

注: TLL, 若虫; TLF, 雌性成虫; TLM, 雄性成虫。Note: TLL, Nymph; TLF, Female adult; TLM, Male adult.

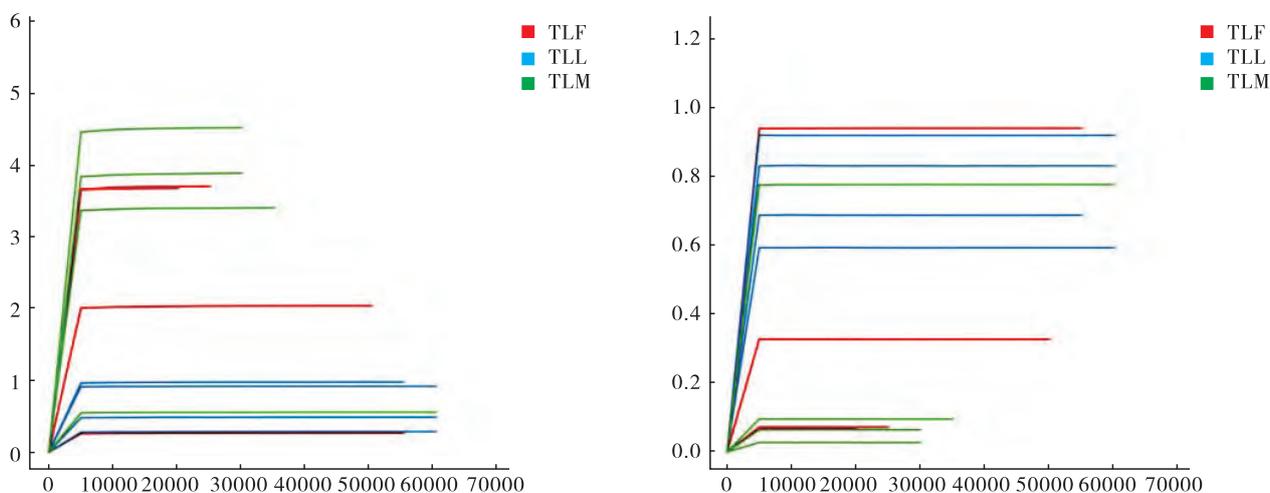


图 2 Shannon 指数与 Simpson 指数稀释曲线

Fig. 2 Shannon and Simpson exponent dilution curve

注: TLL, 若虫; TLF, 雌性成虫; TLM, 雄性成虫。Note: TLL, Nymph; TLF, Female adult; TLM, Male adult.

2.2 样本在门水平上主要共生菌的组成与结构

通过高通量测序在门水平上分析,各个样本中,优势门是相同的,都为变形菌门 Proteobacteria,变形菌门具有绝对优势,但在不同样本中,其相对丰度又有所差异,TLL 中占比 97.53%; TLF 占比 86.38%; TLM 占比 83.64% (图 3)。

2.3 样本在科水平上主要共生菌的组成与结构

三组测序样本中,科水平上的优势菌群各不相同,差异明显,其中 TLL 样本中,优势菌群为立克次氏体科 Rickettsiaceae,占比 87.51%。TLF 和 TLM 的微生物种群结构相似,其优势菌群都为肠杆菌科 Enterobacteriaceae,分别占比 62.43%、46.03% (图 4)。

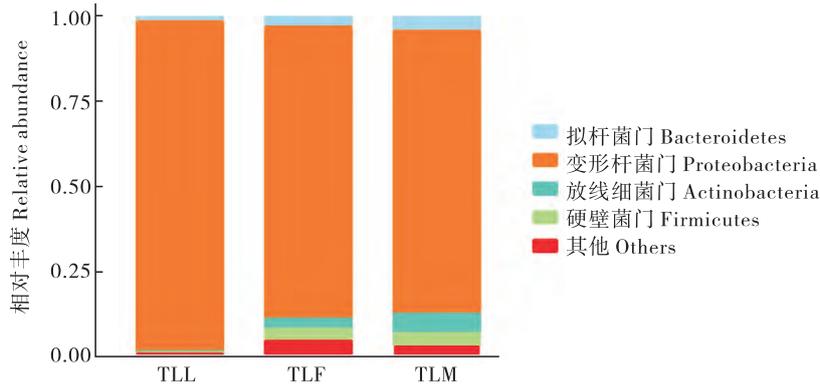


图 3 样本中的主要菌门

Fig. 3 Main bacteria in samples

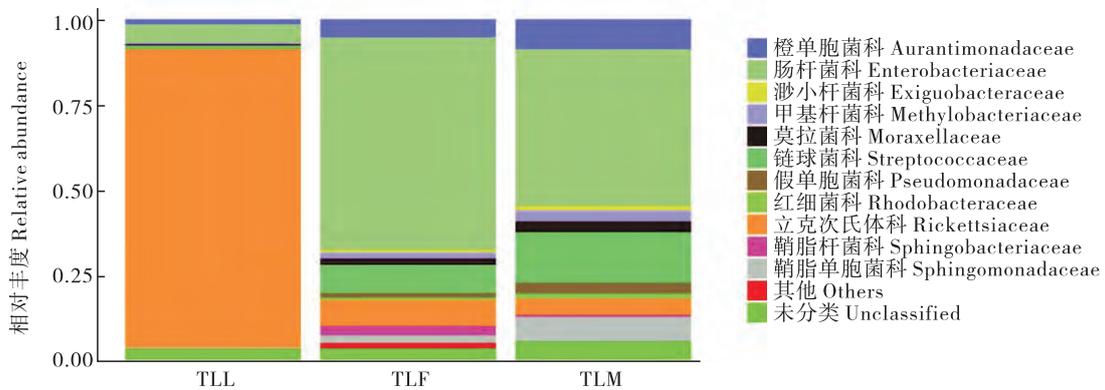


图 4 样本中的主要菌科

Fig. 4 Mainbacteriaceae in samples

2.4 样本在属水平上主要共生菌的组成与结构

测序的 3 个样本在属水平上，优势共生菌主要有两种，分别是立克次体 *Rickettsia*、欧文氏菌 *Erwinia*。不同样品中，优势属不同，TLL 样品中优势属为 *Rickettsia* (86.17%)；TLF、TLM 样品中，优势属均为 *Erwinia*，占比分别为 20.46%，36.52% (图 5)。

2.5 不同发育阶段微生物多样性的比较分析

本文总结归纳了关于绿盲蝽不同时期体内微生物属水平的数目与种类，并绘制了 OTU Venn 图，通过 Venn 图可更加清晰地观察到绿盲蝽在不同时期体内共有的和特有的微生物种类数量。分析属水平注释到的细菌种类可知，TLL、TLF、TLM 注释到的 OTU 种类数目分别是：263、685、986，由此可见，TLF、TLM 属水平的微生物种类

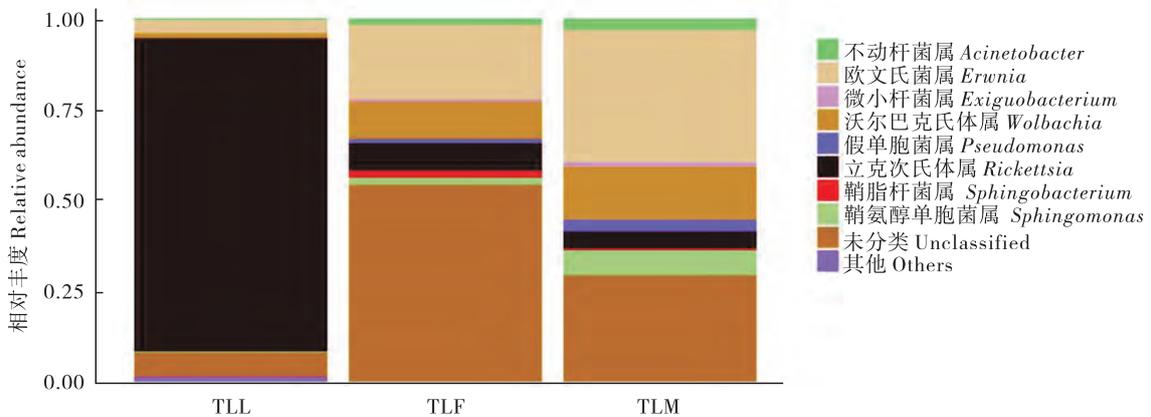


图 5 样本中的主要菌属

Fig. 5 Major genera in samples

数目远超过 TLL，尤其是 TLM。TLL 和 TLF 样品中共有的 OTU 数量为 182，TLF 和 TLM 样品中共有的 OTU 数量为 508，TLM 和 TLL 样品中共有的 OTU 数量为 208。3 个样本中，共同拥有的 OTU 数量为 175。TLL 样品中特有的 OTU 数量最少，为 48，其次是 TLF，为 170，TLM 样品所特有的 OTU 总量最多，为 445（图 6）。总体来说，属水平的分类注释中，绿盲蝽成虫不论雌雄，其体内微生物种群种类都远多于绿盲蝽若虫，尤其是 TLM，其体内微生物种群种类为 TLL 的 3 倍还多。

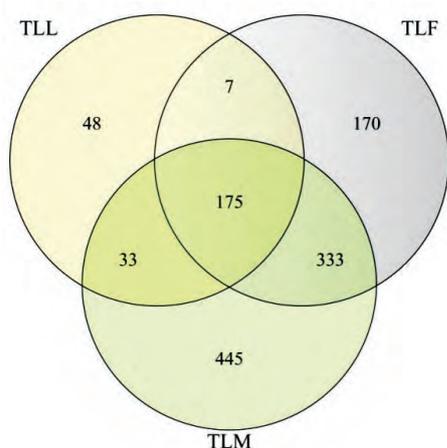


图 6 OTU 韦恩图

Fig. 6 Venn diagram of OTU

对比不同时期绿盲蝽体内的微生物组成结构差异，结果如（图 7）显示，对所有微生物群落进行 PCA 分析。样品中，微生物群落越相似，在坐标中距离越近，PC1 所占比例为 53.09%，PC2 所占的比例为 20.49%，两者总占比 73.58%，由此可知 PC1 和 PC2 可以说明总微生物群落差异的 73.58%。从坐标中可直观地观察到 TLF 和 TLM 两组样品中的微生物群落相似度高，和 TLL 的微生物群落距离较远，存在显著差异。绿盲蝽雌雄成虫微生物群落组成相似，其微生物群落结构和绿盲蝽若虫所构成的差异明显，两性成虫的微生物群落结构复杂程度大于其若虫。

对于不同时期的绿盲蝽样本，根据微生物的注释分析可得到微生物群约有 8 个属，不同时期绿盲蝽样本的微生物组成不同，成虫的物种组成基本一致，但是物种所占比例不尽相同，而若虫的物种组成和成虫有较大差异。

由高通量测序分析可知，本实验中，微生物主要分成 8 个属，包括立克次氏体属 *Rickettsia*，沃尔巴克（氏）体属 *Wolbachia*，微杆菌属

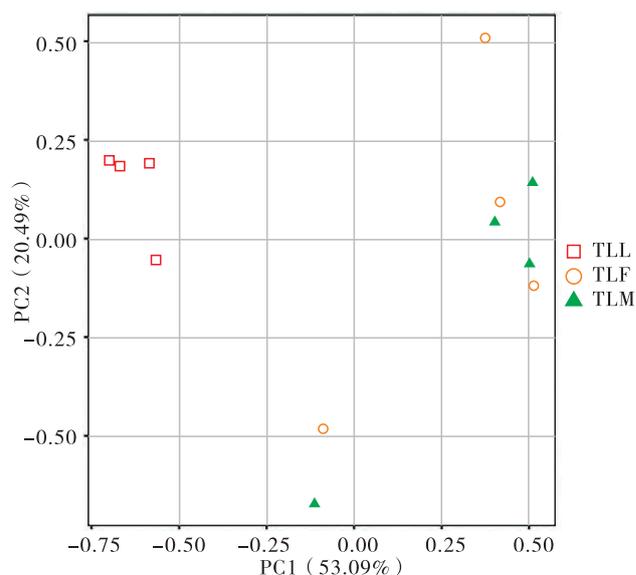


图 7 物种 PCA 分析

Fig. 7 PCA species analysis

Exiguobacterium，鞘氨醇杆菌属 *Sphingobacterium*，假单胞细菌属 *Pseudomonas*，不动细菌属 *Acinetobacter*，鞘氨醇单胞菌属 *Sphingomonas*，欧文氏菌属 *Erwinia* 等。处在不同时期的绿盲蝽样本中，TLF、TLM 两个样品中的微生物群落在属水平上，*Erwinia* 共生菌成为其优势微生物菌属。TLL 样本中 *Rickettsia* 为其优势菌属（图 8）。

3 结论与讨论

昆虫体内微生物种类丰富，有些昆虫体内的微生物量占到昆虫总生物量最高能达到 10%（王渭霞等，2021）。共生菌可以影响寄主的对营养的吸收功能，部分共生微生物还能增强寄主的抗药性和对天敌的抵御能力（Kerry *et al.*，2005）。目前，有研究表明，微生物能和宿主的基因组共同决定宿主本身的表型（Ilana *et al.*，2008）。

在本研究中，绿盲蝽在不同的发育阶段，微生物的相对丰度和多样性指数随发育阶段的不同而不同。在若虫时期，微生物的物种丰富度远小于成虫时期。群落多样性也表现为成虫时期大于若虫时期。在门水平上，以变形菌门为主，变形菌门在寄主植物次生代谢物的代谢过程中是维持昆虫生长发育的关键，在 3 个样本中均可明显观察到，变形菌门是绿盲蝽的优势菌门，这与鞘翅目的天牛 *Saperda vestita* Say 的肠道菌优势菌门相同（Schloss *et al.*，2006），与其他蝽类对比，如荔枝

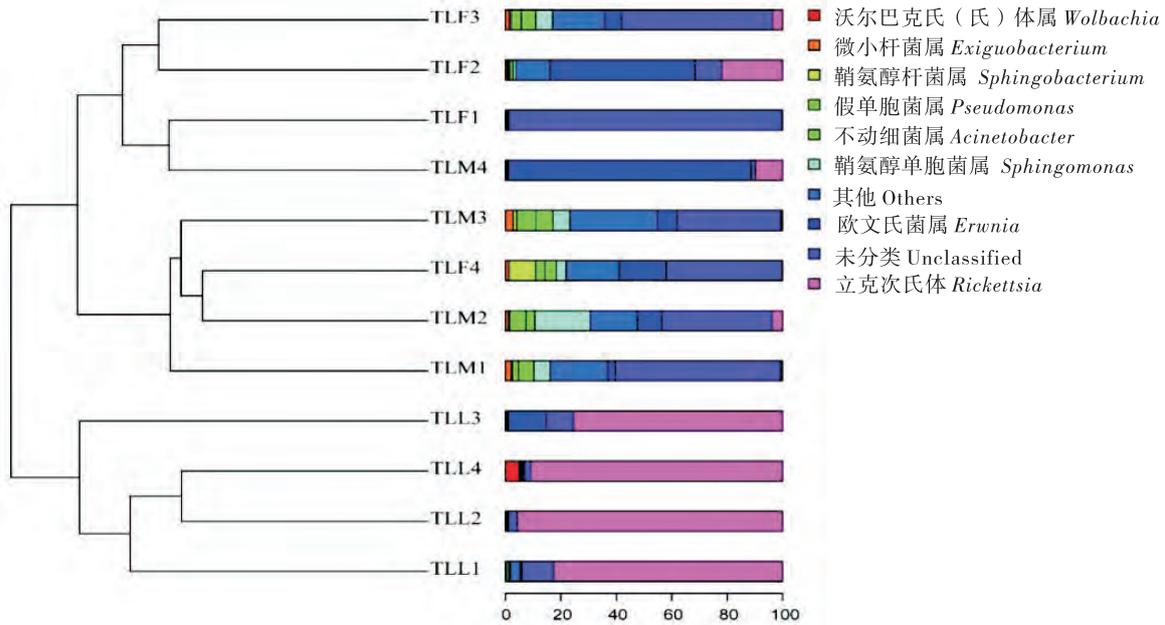


图 8 基于 unweighted unifrac 距离构建的聚类树

Fig. 8 Clustering tree based on unweighted unifrac distance

蝽 *Tessaratoma papillosa* (Drury), 在不同地区所采集的样本, 其成虫优势菌门, 均为变形菌门 (刘家生, 2018)。在科和属水平上, TLL 样本中的优势菌属为 *Rickettsia*, 在 TLF 和 TLM 样本中相对丰度显著减少。

在绿盲蝽属水平上, 成虫样本中出现了沃尔巴克氏(氏)体属, 沃尔巴克氏(氏)体属最初发现在昆虫的生殖组织中 (Hertig and Wolbach, 1924), 通过抗生素消除处理后, 该菌与宿主的胞质不亲和的发生有直接联系 (Yen and Barr, 1971)。随后, 陆续有研究表明沃尔巴克氏(氏)体属具有一定的生殖调控的功能, 例如杀雄, 孤雌生殖等功能, 其对生殖的调控作用, 引起越来越多人的关注, 成为研究热点 (Shahid and Curtis, 1987)。沃尔巴克氏(氏)体属在绿盲蝽体内分布较为广泛, 对其产生调控作用在生物防治的应用方面具有良好的前景。

Erwinia 属变形菌门, 革兰氏阴性肠杆菌科 (Basset *et al.*, 2000)。作为一种肠道细菌, 是一种病原菌, 能够造成植物软烂、腐败。很多昆虫携带并且可以传播此病菌, 对植物造成伤害。例如, 甘薯 *oscorea esculenta* 菌性根茎病于 1977 年在美国首次被完全证实是由 *Erwinia* 引起的 (Clark *et al.*, 1998)。绿盲蝽以植物的叶肉为食, 刺吸植物组织细胞中的细胞质和细胞核 (Zhang *et al.*, 2013)。绿盲蝽通过浸渍和冲洗进行觅食, 这种进

食方式对植物破坏非常严重 (Sharma *et al.*, 2014)。在觅食过程中, 绿盲蝽所携带的 *Erwinia* 是否会通过唾液传递到植物中造成植物腐败还有待进一步研究。

从总体结果可知, 若虫与成虫体内微生物多样性差别很大, 其根本为若虫和成虫体内微生物在组织间的分布存在差异。例如, 陈玲玲等人通过采用实时荧光定量 PCR 测定沃尔巴克氏体在 WB 株埃及伊蚊 *Aedes aegypti* 体内的分布状况。结果显示, 沃尔巴克氏体随昆虫日龄升高密度显著升高; 同一日龄雌蚊体内的沃尔巴克氏体密度大于雄蚊; 雌蚊卵巢中沃尔巴克氏体密度显著高于脂肪体和中肠 (陈玲玲等, 2021)。可以对昆虫的共生菌进行深入研究, 明确昆虫共生菌的分布规律, 根据其动态变化采取相应的防治措施, 以期达到最佳的害虫防治效果。

昆虫与微生物的共生现象伴随着昆虫的各种生理生命活动, 了解昆虫体内微生物, 确定其体内优势菌属能够为我们提供更多基础去了解昆虫本身。对于农业害虫绿盲蝽来说, 了解其体内微生物种群结构与优势菌属能够为我们防治绿盲蝽提供新思路。

参考文献 (References)

- Angela E. Douglas. Multiorganismal insects: Diversity and function of resident microorganisms [J]. *Annual Review of Entomology*, 2015,

- 60: 17–34.
- Basset A, Khush RS, Braun A, *et al.* The phytopathogenic bacteria *Erwinia carotovora* infects *Drosophila* and activates an immune response [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2000, 97 (7): 3376–3381.
- Chen LL, Wang ZY, Hu R, *et al.* The temporal and spatial distribution of the density of infection with the *Wolbachia* strain wAlbB in *Aedes aegypti* [J]. *Journal of Pathogen Biology*, 2021, 16 (1): 71–75. [陈玲玲, 王政艳, 胡蓉, 等. 埃及伊蚊体内 wAlbB 株沃尔巴克氏体感染的时空分布 [J]. 中国病原生物学杂志, 2021, 16 (1): 71–75]
- Clark CA, Hoy MW, Bond JP, *et al.* First report of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* causing bacterial root rot of Sweetpotato (*Ipomoea batatas*) in Louisiana [J]. *Plant Disease*, 1998, 82 (1): 129.
- Hertig M, Wolbach SB. Studies on *Rickettsia-Like* micro-organisms in insects [J]. *The Journal of Medical Research*, 1924, 44 (3): 329–374.
- Indiragandhi P, Anandham R, Madhaiyan M, *et al.* Cultivable bacteria associated with larval gut of prothiofos-resistant, prothiofos-susceptible and field-caught populations of diamondback moth, *Plutella xylostella* and their potential for, antagonism towards entomopathogenic fungi and host insect nutrition [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2007, 103 (6): 2664–2675.
- Kerry MO, Nancy AM, Martha SH. Variation in resistance to parasitism in aphids is due to symbionts not host genotype [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, 102 (36): 12795–12800.
- Li LM, Men XY, Ye BH, *et al.* Feeding damage characteristics of *Apolygus lucorum* (Hemiptera: Miridae) to different growth stages of cotton [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2014, 57 (4): 449–459. [李林懋, 门兴元, 叶保华, 等. 绿盲蝽对不同生长期棉花的刺吸危害特性 [J]. 昆虫学报, 2014, 57 (4): 449–459]
- Liu JS. The Diversity and Difference of Symbionts Associated with *Tessaratoma papillosa* in Five Provinces of China [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2018. [刘家生. 中国五省荔枝蝽共生菌多样性及差异性研究 [D]. 福州: 福建农林大学, 2018]
- Lu YH, Wu KM. Advances in Integrated Management of Cotton Mirids [M]. Beijing: Jindun Press, 2008: 29–31. [陆宴辉, 吴孔明. 棉花盲蝽象综合防治 [M]. 北京: 金盾出版社, 2008: 29–31]
- Lu YH, Wu KM, Jiang YY, *et al.* Mirid bug outbreaks in multiple crops correlated with wide-scale adoption of Bt cotton in China [J]. *Science*, 2010, 328 (5982): 1151–1154.
- Men XY, Ge F, Clive A. Edwards, *et al.* The influence of pesticide applications on *Helicoverpa armigera* Hübner and sucking pests in transgenic Bt cotton and non-transgenic cotton in China [J]. *Crop Protection*, 2004, 24 (4): 319–324.
- Men XY, Yu Y, Zhang AS, *et al.* Life table of the laboratory population of *Lygus lucorum* Meyer-Dür (Hemiptera: Miridae) at different temperatures [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2008, 51 (11): 1216–1219. [门兴元, 于毅, 张安盛, 等. 不同温度下绿盲蝽实验种群生命表研究 [J]. 昆虫学报, 2008, 51 (11): 1216–1219]
- Nancy AM, Gordon RP, Jonas PS, *et al.* A genomic perspective on nutrient provisioning by bacterial symbionts of Insects [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2003, (100): 14543–14548.
- Pascal DL, Ahmed S, Stéphanie H, *et al.* Microorganisms from aphid honeydew attract and enhance the efficacy of natural enemies [J]. *Nature Communications*, 2011, 2 (1): 348.
- Philipp E, Nancy AM. The gut microbiota of insects-diversity in structure and function [J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2013, 37 (5): 699–735.
- Robert CE. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST [J]. *Bioinformatics*, 2010, 26 (19): 2460–2461.
- Schloss PD, Delalibera I, Handelsman J, *et al.* Bacteria associated with the guts of two wood-boring beetles: *Anoplophora glabripennis* and *Saperda vestita* (Cerambycidae) [J]. *Narnia*, 2006, 35 (3): 625–629.
- Shahid MA, Curtis CF. Radiation sterilization and cytoplasmic incompatibility in a “tropicalized” strain of the *Culex pipiens* complex (Diptera: Culicidae) [J]. *Journal of Medical Entomology*, 1987, 24 (2): 273–274.
- Sharma A, Khan AN, Subrahmanyam S, *et al.* Salivary proteins of plant-feeding hemipteroids-implication in phytophagy [J]. *Bulletin of Entomological Research*, 2014, 104 (2): 117–136.
- Tang YL, Ruan SL, Zheng ZY, *et al.* Investigation results and analysis of pests in cotton in Anhui Province [J]. *Anhui Agricultural Science Bulletin*, 2014, 20 (5): 74–78, 98. [汤银来, 阮双林, 郑兆阳, 等. 安徽省棉花有害生物调查结果与分析 [J]. 安徽农学通报, 2014, 20 (5): 74–78, 98]
- Wang WX, Zhu TH, Lai FX. Research advances in symbiotic microorganisms in insects and their functions [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2021, 64 (1): 121–140. [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, 2021, 64 (1): 121–140]
- Xing MD, Geng J, Liu X. Advances in research on *Apolygus lucorum* of cotton in China [J]. *China Cotton*, 2013, 40 (8): 5–9. [邢茂德, 耿军, 刘晓. 我国棉花绿盲蝽的研究进展 [J]. 中国棉花, 2013, 40 (8): 5–9]
- Yen JH, Barr AR. New hypothesis of the cause of cytoplasmic incompatibility in *Culex pipiens* L. [J]. *Nature*, 1971, 232 (5313): 657–658.
- Zhang LL, Lu YH, Liang GM. A method for field assessment of plant injury elicited by the salivary proteins of *Apolygus lucorum* [J]. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 2013, 149 (3): 292–297.
- Zientz E, Dandekar T, Gross R. Metabolic interdependence of obligate intracellular bacteria and their insect hosts [J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR*, 2004, 68 (4): 745–770.
- Zilber-Rosenberg I, Rosenberg E. Role of Microorganisms in the Evolution of Animals and Plants; The Hologenome Theory of Evolution [M]. New York: John Wiley & Sons, Ltd, 2008, 32 (5): 723–35.