



杨丽君, 李红卫, 李向永, 谌爱东, 于艳雪. 黄脊竹蝗种群肠道微生物的多样性分析 [J]. 环境昆虫学报, 2023, 45 (4): 952–964.

黄脊竹蝗种群肠道微生物的多样性分析

杨丽君^{1,2}, 李红卫¹, 李向永³, 谌爱东³, 于艳雪^{1*}

(1. 中国检验检疫科学研究院植物检验与检疫研究所, 北京 100176; 2. 中国农业大学植物保护学院, 北京 100193;
3. 云南省农业科学院农业环境资源研究所, 昆明 650205)

摘要: 昆虫肠道微生物是昆虫与自然环境互作的直接反应者。为探究不同地区黄脊竹蝗 *Ceracris kiangsu* Tsai 肠道微生物多样性和性别及环境因子的关系, 本研究利用 Illumina NovaSeq 测序平台对新入侵地区和国内常发地区的黄脊竹蝗肠道微生物进行 16S rDNA 基因测序和分析。结果表明, 地理位置和性别对黄脊竹蝗肠道菌群均存在影响, 其中地理位置影响最为显著, 其次为性别因素。通过 Beta 多样性分析发现来自湖南省邵阳市新宁县和云南省普洱市江城县的黄脊竹蝗肠道微生物差异性最大, 3 个地区不同性别样品的肠道菌群只有属水平组成和丰富具有显著差异。其中, 湖南省益阳市桃江县的雌、雄样品优势菌属分别为乳球菌属 *Lactococcus* (9.0%) 和肠杆菌属 *Enterobacter* (5.9%), 云南省普洱市江城县的雌、雄样品优势菌属均为肠杆菌属 (27.9%、27.0%), 湖南省邵阳市新宁县的雌、雄样品优势菌属分别为肠杆菌属 (29.9%) 和乳球菌 (12.0%)。所选取的 8 个环境因素中蒸发量、相对湿度和平均气压可能会影响黄脊竹蝗的肠道菌群多样性。研究结果从共生微生物和环境因子角度解析了黄脊竹蝗的环境适应性, 为研制地理溯源技术和开发微生物制剂提供了科学依据。

关键词: 黄脊竹蝗; 16S rDNA; 肠道细菌

中图分类号: Q968.1; S433

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858 (2023) 04-0952-13

Diversity analysis of gut microbes of yellow spined bamboo locust *Ceracris kiangsu* Tsai

YANG Li-Jun^{1,2}, LI Hong-Wei¹, LI Xiang-Yong³, SHEN Ai-Dong³, YU Yan-Xue^{1*} (1. Institute of Plant Inspection and Quarantine, Chinese Academy of Inspection and Quarantine, Beijing 100176, China; 2. College of Plant Protection, China Agricultural University, Beijing 100193, China; 3. Institute of Agricultural Environment and Resources, Yunnan Provincial Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650205, China)

Abstract: Insect gut microbes are the direct responders of the interaction between insects and the natural environment. To explore the relationship between diversity of gut microbes and sex and environmental factors of *C. kiangsu* in different regions, the Illumina NovaSeq platform was used to sequence and analyze the 16S rDNA gene of *C. kiangsu* collected from newly invaded areas and frequently occupied areas in China. The results showed that geographical location and gender had effects on the diversity and composition of gut microbes, among which geographical location had the most significant effect, followed by developmental stage. The Beta-diversity analysis found that the gut microbes varied most in the diversity between Xinning County, Hunan Province, and Jiangcheng County, Yunnan Province. Samples with

基金项目: 中国检验检疫科学研究院基本科研业务费专项 (2020JK005)

作者简介: 杨丽君, 女, 硕士研究生, 研究方向为资源利用与植物保护, E-mail: 2805180201@qq.com

*** 通讯作者** Author for correspondence: 于艳雪, 博士, 研究员, 主要研究方向为植物检疫, E-mail: yuyx@caiq.org.cn

收稿日期 Received: 2022-04-15; **接受日期** Accepted: 2022-06-21

different genders showed significant differences in the composition and abundance of gut microbes only at the genus level in the three regions. Specifically, *Lactococcus* (9.0%) and *Enterobacter* (5.9%) was the most dominant genus in female and male samples of Taojiang County, Hunan Province; while the dominant counterparts in female and male samples of Jiangcheng county, Yunnan Province were both *Enterobacter* (27.9%, 27.0%). *Enterobacter* (29.9%) and *Lactococcus* (12%) was the most dominant genus in female and male samples of Xinning County, Hunan Province. Among the eight selected environmental factors, the evaporation, relative humidity, and barometric pressure may influence the gut microbes' diversity. This study analyzed the environmental adaptability of *C. kiangsu* from the perspective of symbiotic microorganism and environmental factors, which will provide the basis for the development of geographical origin traceability technology and microbial-based locust management reagents.

Key words: *Ceracris kiangsu* Tsai; 16S rDNA; gut bacteria

蝗虫灾害是国际性的自然生物灾害, 涉及多个国家和地区, 对全球经济和环境造成严重影响(涂雄兵等, 2021)。

昆虫肠道是昆虫存储食物、消化和排泄的场所, 其中定殖着大量的微生物, 与宿主在长期协同进化过程中形成了紧密的互利共生关系(Engel and Moran, 2013)。一方面, 肠道微生物不仅影响昆虫对植物组织的消化吸收和信息的合成, 而且还会为宿主提供重要的营养物质、提高宿主防御和解毒能力, 进而影响宿主昆虫的选择、繁殖和发育周期等行为(Fischer *et al.*, 2017; 周帆等, 2020)。另一方面, 肠道微生物种群结构的多样性与昆虫种类、龄期、生存环境、食物的喂养条件和消化道形态等因素息息相关(鲁迎新等, 2016; 程代凤等, 2021)。近年来, 随着高通量测序技术的发展, 对昆虫肠道微生物的研究逐步加深, 利用肠道微生物控制害虫的新理论和新策略也越来越受到广泛关注, 并且其中部分研究已成功付诸于实践(王四宝和曲爽, 2017; 侯璐文等, 2019)。

鉴于昆虫肠道微生物的重要性, 相关研究已越来越受国内外学者重视。叶国浚等人通过对草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* 肠道微生物宏基因组初步分析, 鉴定出其优势菌属(叶国浚等, 2021); 章雨璐等人通过对椰心叶甲 *Brontispa longissima* Gestro 肠道共生菌进行分离培养, 鉴定其相关功能并探究肠道共生菌对椰心叶甲环境适应性作用(章雨璐等, 2021); 罗曼等人采用纯培养法对云南地区的思茅松毛虫 *Dendrolimu kikuchii* Matsumura 3 龄幼虫进行肠道细菌多样性的研究, 发现芽孢杆菌属为该虫的优势菌群(罗曼等, 2021); 魏博帆等人通过研究不同肠道微生物对无

菌果蝇和正常果蝇交配行为的影响, 证明植物乳杆菌可通过延长交配潜伏期影响果蝇的交配行为(魏博帆等, 2021)。

黄脊竹蝗 *Ceracris kiangsu* Tsai 是竹蝗属昆虫中分布广泛及危害严重的林业害虫之一, 其食性杂、分布广、迁飞性强, 食物不足或大发生时也可有害农田粮食作物(程佳等, 2010; 仓晓燕等, 2020)。其防治技术多为利用人尿进行诱集和大量使用化学药剂, 但随着可持续防治理念逐渐深化, 生物防治方法的研究与应用越来越广泛(李红梅等, 2021)。

根据现有文献记载, 气温、降水量、日照时数、光照和风速对黄脊竹蝗的生长、产卵和迁飞具有显著影响(李建江, 1998; 张贤开和左玉香, 2005; 张卫东等, 2012), 较少报道关于揭示性别和非生物因子对黄脊竹蝗肠道微生物的作用机制。因此, 本文通过利用 Illumina NovaSeq 测序平台对新入侵地区和国内常发地区的黄脊竹蝗肠道微生物多样性进行研究, 分析不同地理分布、性别及环境因子对黄脊竹蝗肠道微生物的影响, 探寻蝗虫地理溯源, 为开发微生物制剂和提高综合防治技术提供新思路, 以保障世界粮食生产安全。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试昆虫

采集了 3 个地区的黄脊竹蝗, 其中云南省普洱市江城是 2020 年新入侵地区, 湖南省益阳市桃江县和湖南省邵阳市新宁县是国内常发地区。具体信息见表 1。

表 1 黄脊竹蝗采集信息表
Table 1 Sample collection information table of *Ceracris kiangsu*

样品 Sample	采集地 Collection sites	龄期 Stadium	性别 Sex	代码 Code
黄脊竹蝗 <i>C. kiangsu</i>	湖南省益阳市桃江县 Taojiang County, Hunan Province	成虫 Imago	雌性 Female	HYTA-F
			雄性 Male	HYTA-M
	湖南省邵阳市新宁县 Xinning County, Hunan Province	成虫 Imago	雌性 Female	HSXA-F
			雄性 Male	HSXA-M
	云南省普洱市江城 Jiangcheng County, Yunnan Province	成虫 Imago	雌性 Female	YPJA-F
			雄性 Male	YPJA-M

1.1.2 地理环境因子数据

在国家气象数据中心下载黄脊竹蝗采集地的 5 年平均气相数据并进行分析 (表 2)。其中, 平均气温的代号为 T; 降水量的代号为 P; 相对湿度

的代号为 RH; 日照时数的代号为 SUN; 风速的代号为 WVEL; 蒸发量的代号为 EVA; 平均气压的代号为 Pa; 地面温度的代号为 GND。

表 2 不同地理位置 2017 – 2020 年平均气象条件数据统计
Table 2 Statistics on the average meteorological conditions from 2017 to 2020 for different geographical locations

样品 Sample	平均气温 (℃) Mean temperature	降水量 (mm) Precipitation	相对湿度 (%) Relative humidity	日照时数 (h) Sunshine duration	风速 (m/s) Wind velocity	蒸发量 (mm) Evaporation	平均气压 (hPa) Pressure	地面温度 (℃) Ground temperature
	T	P	RH	SUN	WVEL	EVA	Pa	GND
HYTA	18.32	1 640.26	80	1 432.52	1.62	32 766	1 009.42	20.06
HSXA	17.54	1 373.08	80.6	1 300.64	1.74	19 667.22	978.04	19.98
YPJA	19.04	2 076.58	83	1 875.06	1.12	19 668.32	878.96	22.70

1.2 方法

1.2.1 黄脊竹蝗样品收集

随机选取不同地理位置的黄脊竹蝗做 6 个重复处理, 其中每头为一个处理。每个地理位置蝗虫雌雄虫各 3 头, 用酒精和 PBS 溶液分别冲洗两遍, 每次 1 min; 将清洗后的虫体放在蜡盘上进行解剖, 取出后肠放入离心管中, 每头放入一个 2 mL 离心管中, 然后在研磨机上研磨, 研磨结束放入冰箱。

1.2.2 肠道微生物基因组提取及检测

按照试剂盒的步骤提取样本组织 DNA:

(1) 将研磨结束放置冰箱的样品取出置于冰上。

(2) 向每个样品中加入 1 mL Inhibit EX Buffer, 涡旋持续 1 min, 直至样品混匀。

(3) 将混合液放入 70℃ 的水浴锅中加热 5 min, 涡旋 15 s, 室温下 20 000 xg 离心样品 1 min。

(4) 向一个新的 1.5 mL 离心管中加入 15 μL Proteinase K, 然后从步骤 3 中转移 200 μL 上清液加入。

(5) 在混合液中加入 200 μL Buffer AL, 涡旋混匀, 将混合液放入 70℃ 的水浴锅中孵育 10 min。

(6) 向混合液中加入 200 μL (96% ~ 100%) 酒精, 涡旋充分混合。

(7) 将步骤 6 中的全部混合液滴到新 QIAamp 离心柱的中央, 离心 1 min, 丢弃沉淀物。

(8) 加入 500 μL Buffer AW1, 离心 1 min, 丢弃含滤液的管。

(9) 加入 500 μL Buffer AW2, 离心 3 min, 丢弃含滤液的管。

(10) 将离心柱转移到一个新的 1.5 mL 微量离心管中, 将 200 μ L Buffer ATE 滴到 QIAamp 膜中央位置。室温孵育 1 min, 然后 20 000 $\times g$ 离心 1 min 洗脱 DNA。

(11) 对提取的 DNA 进行凝胶电泳检测。

1.2.3 PCR 扩增和纯化

将提取的黄脊竹蝗肠道基因组 DNA 作为 PCR 的模板, 采用 16S V3-V4 扩增引物 (341 F: 5'-CCTAYGGGRBGCASCAG-3'和 806 R: 5'-GGACTACNNGGTATCTAAT-3') 进行 PCR 扩增。使用 2% 琼脂糖凝胶进行电泳检测。然后根据 PCR 产物浓度进行等浓度混样, 充分混匀后使用 1 $\times$ TAE 浓度为 2% 琼脂糖胶电泳纯化 PCR 产物, 割胶回收目标条带。

1.2.4 文库构建和上机测序

使用 Illumina 公司 TruSeq DNA PCR-Free Library Preparation Kit 建库试剂盒进行文库的构建, 构建好的文库经过 Qubit 定量和文库检测, 合格后进行上机测序。测序得到的原始数据存在一定的干扰数据, 为了使信息分析的结果更加准确可靠, 首先根据 barcode 进行拆分获得每个样品的原始数据, 并去除 barcode 和引物, 使用 FLASH 软件数据进行拼接。随后通过质控得到 Clean Tags, 再进行嵌合体过滤, 得到可用于后续分析的有效数据。最后基于有效数据通过 DADA2 进行降噪, 并过滤掉丰度小于 5 的序列, 从而获得最终的 ASVs (Li *et al.*, 2020)。

对于得到的 ASVs (Callahan *et al.*, 2017), 一方面对每个 ASV 的代表序列做物种注释, 得到对应的物种信息和基于物种的丰度分布情况, 进行

Alpha 多样性分析, 以得到样本内物种丰富度和均匀度信息等。另一方面, 可以对 ASVs 进行多序列比对并构建系统发育树, 通过无度量多维标度法 (NMDS), 探究不同样本或组别间群落结构的差异。最后, 进一步挖掘分组样本间的群落结构差异, 选用 LEfSe 统计分析方法对分组样本的物种组成和群落结构进行差异显著性检验, 用 Spearman 秩相关来研究环境因子与微生物种丰富度之间的相互变化关系, 得到两两之间的相关性。

2 结果与分析

2.1 序列拼接组装与 OTU 聚类分析

通过 Illumina NovaSeq 测序平台对不同地理分布的黄脊竹蝗肠道微生物 16S 的 V3 ~ V4 区域进行测序, 发现不同地理分布和性别的黄脊竹蝗肠道菌群测序所得的条带数都有所差异 (表 3)。其中来自湖南省邵阳市新宁县的雌成虫 (HSXA-F) 样品得到的优化序列数最多 (104 993 条), 湖南省邵阳市新宁县的雄成虫 (HSXA-M) 样品优化序列数量最少 (95 742 条)。6 个样品通过测序平均得到 103 136 对 Reads, 经拼接、过滤后共平均产生 100 824 条 Clean Tags, 有效序列所占比例为 97.7%, 样品的测序准确度较好, 满足分析标准。每个样品分别获得的 OTU 数目如表 3 所示: 对比不同地理位置的成虫, OTU 数目最多的是湖南省益阳市桃江县的成虫, 最少的是湖南省邵阳市新宁县的成虫; 对比不同性别的成虫, 3 个地区的黄脊竹蝗雌雄虫肠道 OTU 个数没有显著差异。各个地理分布的黄脊竹蝗肠道微生物在不同的分类阶

表 3 黄脊竹蝗肠道细菌 16S rDNA 高通量测序基本信息
Table 3 Basic information of high-throughput sequencing of 16S rDNA in the gut of *Ceracris kiangsu*

样品 Sample	原始标签数 Number of raw tags	有效标签数 Number of valid tags	OTU 数 Number of OTUs	不同分类阶元分类单元数目 (个) Number of taxa of different taxonomic categories					
				门	纲	目	科	属	种
				Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species
HSXA-F	107 739	104 993	485	17	29	73	126	230	273
HSXA-M	98 270	95 742	450	19	28	67	119	220	258
YPJA-F	103 625	101 515	731	21	31	79	138	254	312
YPJA-M	102 209	99 848	865	22	34	82	145	282	362
HYTA-F	101 587	99 379	887	22	34	79	142	268	342
HYT-M	105 386	103 469	911	21	34	86	148	281	352

元注释出的物种数目如表 3 所示: 其中云南省普洱市江城县雄虫 (YPJA-M) 样品在各个分类阶元所得到的注释数均略高于其他样品, 有 22 个门, 34 个纲, 82 个目, 145 个科, 282 个属, 362 个种。湖南省邵阳市新宁县雄虫 (HSXA-M) 样品在各个分类阶元的注释数均略低于其他样品。

2.2 黄脊竹蝗肠道微生物的组成分析

黄脊竹蝗肠道样本在门分类阶元水平上的微生物群落组成如图 1 所示。主要有绿弯菌门 *Chloroflexi*、酸杆菌门 *Acidobacteriota*、Planctomycetota、粘球菌门 *Mvxcoccota*、梭杆菌门 *Fusobacteriota*、蓝细菌门 *Cyanobacteria*、拟杆菌门 *Bacteroidota*、放线菌门 *Actinobacteriota*、厚壁菌门 *Firmicutes*、变形菌门 *Proteobacteria* 等。湖南省益阳市桃江县 (HYT)、湖南省邵阳市新宁县 (HSX) 和云南省普洱市江城县 (YPJ) 3 个地理位置样品的优势菌门均为变形菌门 (46.7%、77.0%、64.3%)。其中湖南省邵阳市新宁县 (HSX) 的次优势菌门为放线菌门 (19.0%) 和厚壁菌门 (18.5%), 云南省普洱市江城县 (YPJ) 的次优势菌门为厚壁菌门 (20.2%), 湖南省益阳市桃江县 (HYT) 的次优势菌门为厚壁菌门 (11.4%) 和放线菌门 (11.3%)。3 个地区不同性别样品的肠道菌群门水平组成差异不显著。

在纲分类阶元水平上, 黄脊竹蝗肠道微生物主要有嗜热油菌纲 *Thermoleophilia*、梭杆菌纲 *Fusobacteria*、*Myxococcia*、梭菌纲 *Clostridia*、蓝藻纲 *Cyanobacteriia*、拟杆菌纲 *Bacteroidia*、 α -变形菌纲 *Alphaproteobacteria*、放线菌纲 *Actinobacteria*、芽孢杆菌纲 *Bacilli*、 γ -变形菌纲 *Gammaproteobacteria* 等。湖南省益阳市桃江县 (HYT)、湖南省邵阳市新宁县 (HSX) 和云南省普洱市江城县 (YPJ) 3 个地理位置样品的优势菌纲均为 γ -变形菌纲 (31.4%、75.9%、55.1%)。其中湖南省邵阳市新宁县 (HSX) 的次优势菌纲为芽孢杆菌纲 (17.0%), 云南省普洱市江城县 (YPJ) 的次优势菌纲为放线菌纲 (10.8%), 湖南省益阳市桃江县 (HYT) 的次优势菌纲为放线菌纲 (17.5%)、芽孢杆菌纲 (15.3%) 和 α -变形菌纲 (15.3%)。3 个地区不同性别样品的肠道菌群纲水平组成没有显著差异。

在目分类阶元水平上, 黄脊竹蝗肠道微生物主要有伯克氏菌目 *Burkholderiales*、小单胞菌目 *Micromonosporales*、黄杆菌目 *Flavobacteriales*、虫

原体目 *Entomoplasmatales*、微球菌目 *Micrococcales*、根瘤菌目 *Rhizobiales*、乳杆菌目 *Lactobacillales*、假单胞菌目 *Pseudomonadales*、肠杆菌目 *Enterobacterales* 等。湖南省益阳市桃江县 (HYT)、湖南省邵阳市新宁县 (HSX) 和云南省普洱市江城县 (YPJ) 3 个地理位置样品的优势菌目均为肠杆菌目 (25.7%、60.4%、50.2%)。其中湖南省邵阳市新宁县 (HSX) 的次优势菌目为乳杆菌目 (16.3%) 和假单胞菌目 (14.3%), 云南省普洱市江城县 (YPJ) 的次优势菌目为其他 (10%), 湖南省益阳市桃江县 (HYT) 的次优势菌目为乳杆菌目 (12.6%) 和根瘤菌目 (11.2%)。3 个地区不同性别样品的肠道菌群目水平组成没有显著差异。

在科分类阶元水平上, 黄脊竹蝗肠道微生物主要有黄色杆菌科 *Xanthobacteraceae*、周螺菌科 *Weeksellaceae*、微杆菌科 *Microbacteriaceae*、螺原体科 *Spiroplasmataceae*、欧文菌科 *Erwiniaceae*、链球菌科 *Streptococcaceae*、肠球菌科 *Enterococcaceae*、莫拉氏菌科 *Moraxellaceae*、肠杆菌科 *Enterobacteriaceae* 等。其中湖南省益阳市桃江县 (HYT)、湖南省邵阳市新宁县 (HSX) 和云南省普洱市江城县 (YPJ) 3 个地理位置样品的优势菌科均为肠杆菌科 (24.3%、53.6%、39.5%)。其中湖南省邵阳市新宁县 (HSX) 的次优势菌科为莫拉氏菌科 (12.1%) 和肠球菌科 (9.7%), 云南省普洱市江城县 (YPJ) 的次优势菌科为其他 (5%), 湖南省益阳市桃江县 (HYT) 的次优势菌科为链球菌科 (6.1%)、梭菌科 (5.3%) 和肠球菌科 (4.6%)。3 个地区不同性别样品的肠道菌群科水平组成没有显著差异。

在属分类阶元水平上, 黄脊竹蝗肠道微生物主要有 *Pseudocitrobacter*、李长文氏赤水河菌属 *Chishuiella*、短小杆菌属 *Curtobacterium*、螺原体属 *Spiroplasma*、泛菌属 *Pantoea*、乳球菌属 *Lactococcus*、肠球菌属 *Enterococcus*、不动杆菌属 *Acinetobacter*、肠杆菌属 *Enterobacter* 等。湖南省益阳市桃江县 (HYT) 样品的次优势菌属有乳球菌属 (6.0%)、肠杆菌属 (4.8%) 和肠球菌属 (4.6%)。云南省普洱市江城县 (YPJ) 样品的优势菌属为肠杆菌属 (27.5%), 次优势菌属为其他 (5%)。湖南省邵阳市新宁县 (HSX) 样品的优势菌属为肠杆菌属 (16.8%), 次优势菌属为不动杆菌属 (12.1%) 和肠球菌属 (9.7%)。3 个地区

不同性别样品的肠道菌群属水平组成和丰度具有显著差异。其中, 湖南省益阳市桃江县 (HYT) 的雌、雄样品优势菌属分别为乳球菌属 (9.0%、2.9%) 和肠杆菌属 (3.7%、5.9%), 云南省普

洱市江城县 (YPJ) 的雌、雄样品优势菌属均为肠杆菌属 (27.9%、27.0%), 湖南省邵阳市新宁县 (HSX) 的雌、雄样品优势菌属分别为肠杆菌属 (29.9%、3.5%) 和乳球菌属 (0.4%、12.0%)。

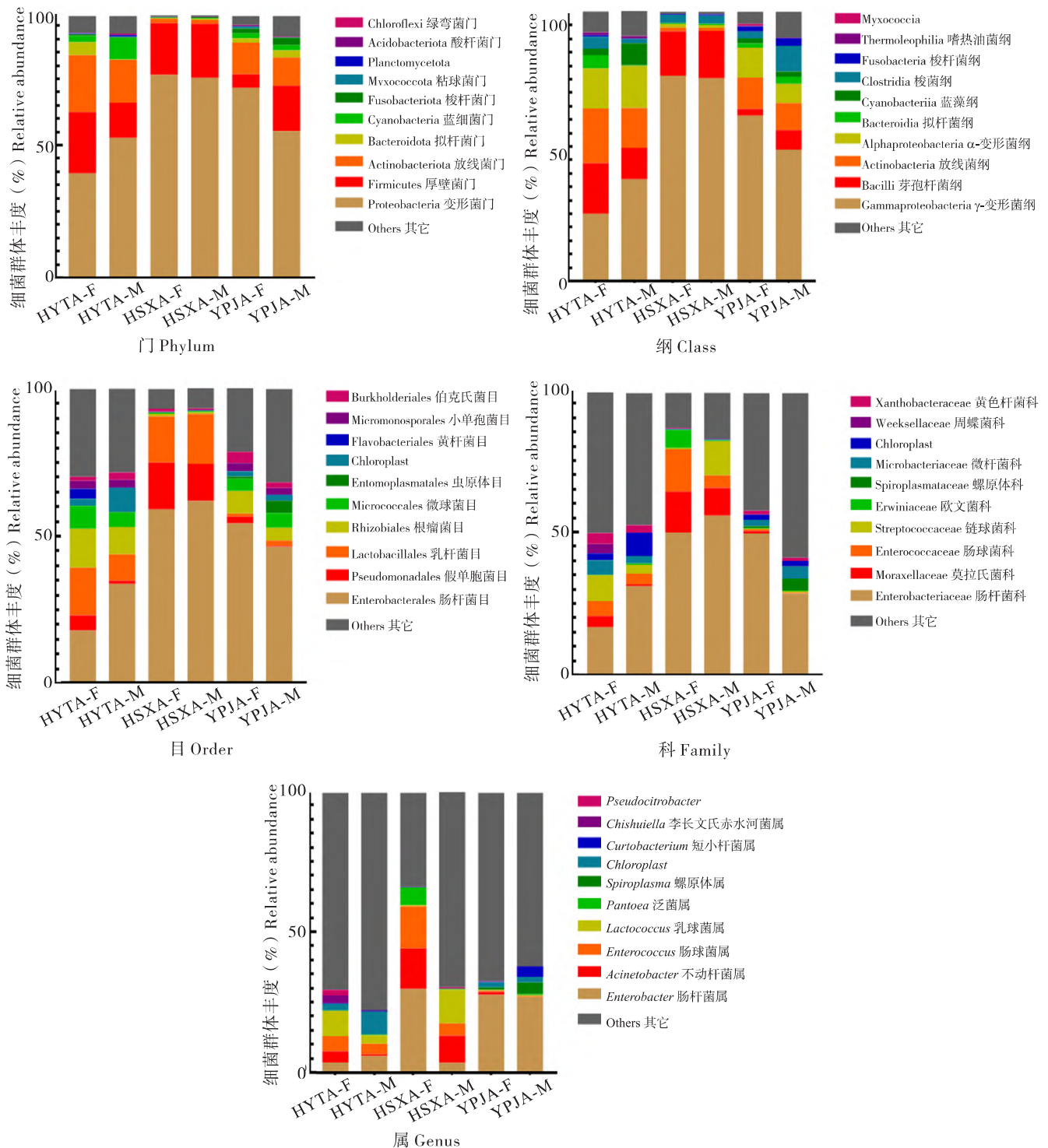


图1 不同地理种群的黄脊竹蝗前十个肠道菌群组成

Fig. 1 Composition of the top ten gut microbiota of *Ceracris kiangsu* in different geographical populations

2.3 黄脊竹蝗肠道微生物 Alpha 多样性分析

Alpha 多样性指数评估可以反映样本内菌群的多样性。本研究选用的 Alpha 多样性指数为 Chao 1、Goods _ coverage、Shannon 和 Simpson 指数 (表 4)。其中, Chao 1 值越大, 表示样品群落中低丰度物种最多; Shannon 和 Simpson 指数值越大, 表示样品中群落丰富度和均匀度越高。结果显示: 不同地理分布和性别的黄脊竹蝗肠道微生物多样性各不相同。其中 Chao 1 值最大的为湖南省益阳市桃江县的雄虫 (HYTA-M), 样品群落中低丰度物种最多, 最小的为湖南省邵阳市新宁县的雄虫 (HSXA-M), 样品群落中低丰度物种最少。从 Shannon 和 Simpson 指数可以看出, 湖南省益阳市桃江县雌虫 (HYTA-F) 的物种丰富度和均匀度最高, 而湖南省邵阳市新宁县雌虫 (HSXA-F) 的物种丰富度和均匀度最低。从 Goods_coverage 来看, 所有地理种群样品的 Goods_coverage 指数均接近于 1, 说明样品中序列检测率很高, 该测序结果基本符合样品中肠道微生物的真实情况。

表 4 黄脊竹蝗不同地理种群肠道微生物 Alpha 多样性分析

Table 4 Alpha diversity of gut microorganisms of *Ceracris kiansu* in different geographical populations

样品 Sample	Chao 1	Goods_ coverage	Shannon 指数	Simpson 指数
HSXA-F	500	0.999	3.750	0.752
HSXA-M	473	0.999	4.184	0.766
YPJA-F	756	0.998	5.060	0.760
YPJA-M	876	0.999	5.022	0.713
HYTA-F	900	0.999	7.072	0.963
HYTA-M	919	0.999	6.978	0.971

2.4 黄脊竹蝗肠道微生物 Beta 多样性分析

为探究不同地理分布的黄脊竹蝗肠道微生物组成差别, 本研究根据所有样本在属水平的物种注释及丰度信息, 选取丰度排名前 35 的属, 绘制了物种丰度聚类热图。结果如图 2 所示: 从性别来看, 3 个地区雌雄样品的菌群组成都具有显著差异; 从不同地理位置来看, 几乎没有 3 个地理品种共有且丰度较高的菌属, 这说明不同地理种群的黄脊竹蝗肠道微生物组成具有明显差异。

为了更直观的对不同地理分布黄脊竹蝗肠道微生物的差异进行聚类分析, 本研究采用了 NMDS

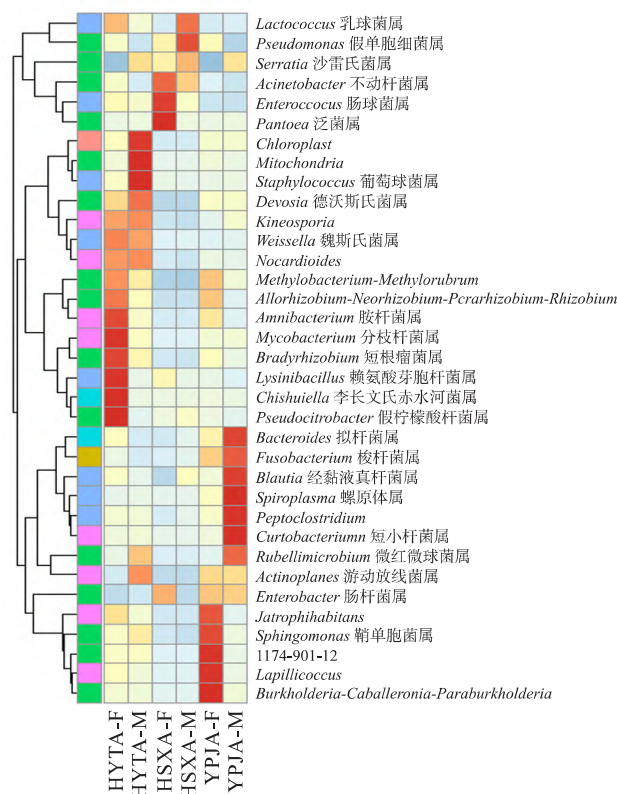


图 2 不同地理种群黄脊竹蝗肠道微生物组成热图 (属水平)

Fig. 2 Heat map of gut microbial composition of *Ceracris kiansu* in different geographical populations (Genus level)

方法。该方法根据样本中包含的物种信息, 以点的形式反映在多维空间上, 反映样本的组间和组内差异, 有效克服线性模型的缺点, 更好地反映生态学数据的非线性结构 (Rivas *et al.*, 2013)。结果显示 (图 3-A), 不同地理种群的黄脊竹蝗肠道微生物差异较大, 其中差异最大的两组为湖南省邵阳市新宁县雌虫 (HSXA-F) 和云南省普洱市江城县雌虫 (YPJA-F)。

进一步深入分析, 采用 LEfSe 分析法 (图 3-B)。该分析方法可用于进行两个或多个分组的比较, 强调统计意义和生物相关性, 能够在组与组之间寻找具有统计学差异的 Biomarker。结果显示湖南省邵阳市新宁县雌虫 (HSXA-F) 组中的 *o_Pseudomonadales*、*g_Acinetobacter*、*f_Moraxellaceae* 等细菌的丰度显著高于云南省普洱市江城县雌虫 (YPJA-F), 而云南省普洱市江城县雌虫 (YPJA-F) 中的 *g_Fusobacterium* 丰度显著高于湖南省邵阳市新宁县雌虫 (HSXA-F)。

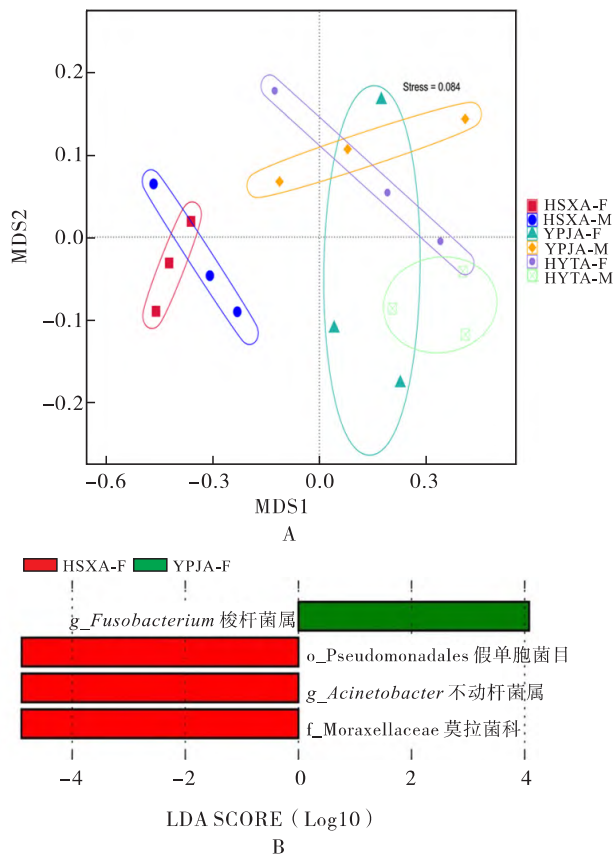


图3 不同地理种群黄脊竹蝗的 NMDS 聚类分析 (A) 及 LEfSe 分析图 (B)

Fig. 3 NMDS analysis (A) and LEfSe analysis (B) plots of *Ceracris kiansu* in different geographical populations

Note: The sample information on the NMDS analysis plot only reflects the distance of the data information between samples, but does not reflect the real numerical difference, and the horizontal and vertical axes have no meaning. When the stress is less than 0.2, that can accurately reflect the degree of difference between samples.

2.5 地理环境因子与黄脊竹蝗肠道微生物结构的相关性分析

地理位置的差异会导致环境因子不同, 环境因子与蝗虫的生长发育息息相关。为研究不同地理位置的环境因素与黄脊竹蝗肠道菌群之间的关系, 采用 Spearman 相关性分析方法对其进行研究。结果如图 4, α 多样性中的 Chao 1、Dominance、Observed_otus、Pielou_e、Shannon、Simpson 指数都与环境因子的蒸发量显著相关, 且 Dominance 和 Simpson 指数与相对湿度和平均气压显著相关, 说明这 3 个环境因子都影响了黄脊竹蝗肠道菌群多样性。

在分类阶元门水平上 (图 5), 平均气温、降

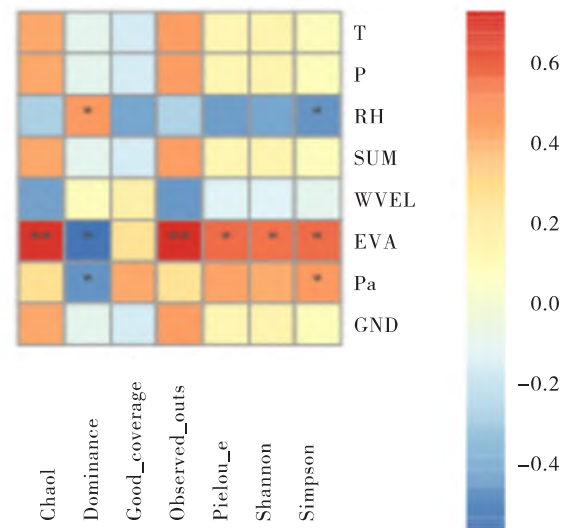


图4 不同地理种群黄脊竹蝗的环境因子分析

Fig. 4 Analysis of environmental factors of *Ceracris kiansu* in different geographical populations

水量、日照时数、风速、蒸发量和地面温度与黄脊竹蝗肠道微生物中的梭杆菌门、蓝细菌门、放线菌门、谜古菌门 Aenigmarchaeota、变形菌门、Desulfobacterota、广古菌门 Euryarchaeota、蛭弧菌门 Bdellovibrionota、膜骨细菌门 Patescibacteria 显著相关。此外, 蒸发量还与变形菌门、绿弯菌门、疣微菌门 Verrucomicrobiota 和芽单胞菌门 Gemmatimonadota 显著相关。

在分类阶元纲水平上 (图 6), 平均气温、降水量、日照时数、风速、蒸发量和地面温度与黄脊竹蝗肠道微生物中的放线菌纲、蓝藻纲、酸杆菌纲 Acidimicrobiia、甲烷杆菌纲 Methanobacteria、Desulfobacterota、脱硫单胞菌纲 Desulfuromonadia 显著相关。平均气温、降水量、日照时数、风速和地面温度与芽孢杆菌纲、厚壁菌纲 Negativicutes、Oligoflexia 显著相关。此外, 蒸发量还与 γ -变形菌纲、疣微菌纲 Verrucomicrobiae、Saccharimonadia、芽单胞菌纲 Gemmatimonadetes 显著相关。

在分类阶元目水平上 (图 7), 平均气温、降水量、日照时数、风速和地面温度与黄脊竹蝗肠道微生物中的假单胞菌目、乳杆菌目、虫原体目、鞘脂单胞菌目 Sphingomonadales、Peptostreptococcales、Tissierellales、梭杆菌目 Fusobacteriales、梭菌目 Clostridiales、Veillonellales、Selenomonadales、假诺卡氏菌目 Pseudonocardiales 显著相关。相对湿度与乳杆菌目、Solirubrobacterales 和梭杆菌目显著相关。而蒸发量与假单胞菌目、肠杆菌目、微球菌

目、根瘤菌目、弗兰克氏菌目 Frankiales、立克次体目 Rickettsiales、丙酸杆菌目 Propionibacteriales、醋杆菌目 Acetobacterales、Solirubrobacterales、假诺

卡氏菌目 Pseudonocardiales 显著相关。平均气压与乳杆菌目、Solirubrobacterales、梭杆菌目显著相关。

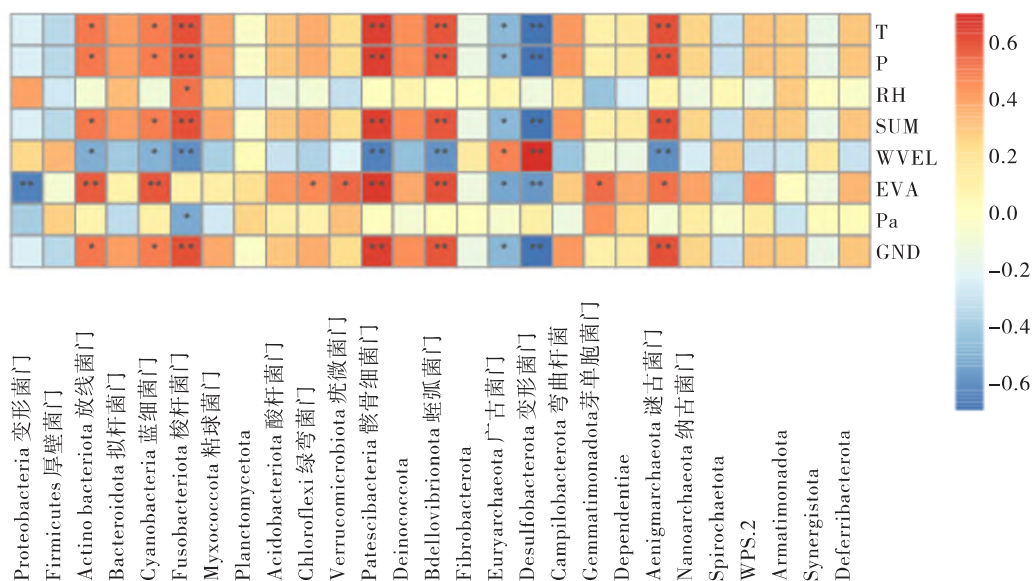


图5 不同地理种群黄脊竹蝗的环境因子分析 (门水平)

Fig. 5 Analysis of environmental factors of *Ceracris kiangsu* in different geographical populations (Phylum level)

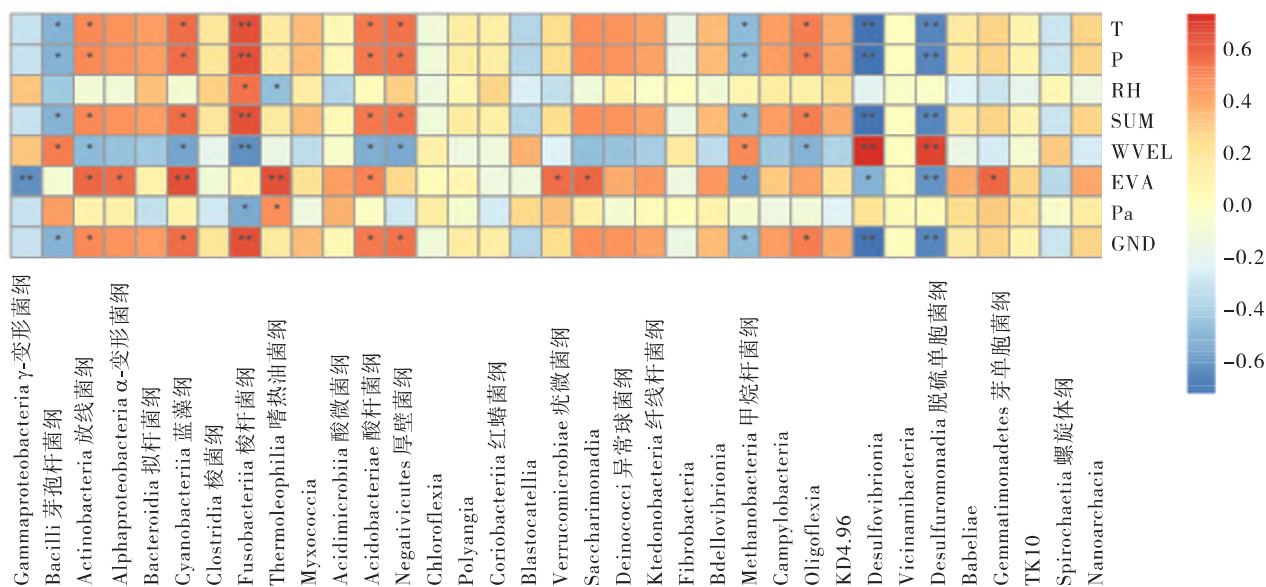


图6 不同地理种群黄脊竹蝗的环境因子分析 (纲水平)

Fig. 6 Analysis of environmental factors of *Ceracris kiangsu* in different geographical populations (Class level)

在分类阶元科水平上 (图8), 平均气温、降水量、日照时数、风速和地面温度与黄脊竹蝗肠道微生物中的肠球菌科、Streptococcaceae、螺原体科、拜叶林克氏菌科 Beijerinckiaceae、鞘脂单胞菌科 Sphingomonadaceae、分支杆菌科 Mycobacteriaceae、消化链球菌科 Peptostreptococcaceae、梭杆菌科

Fusobacteriaceae、假单胞菌科 Pseudomonadaceae 显著相关。相对湿度与梭杆菌科 Fusobacteriaceae、链球菌科、肠球菌科显著相关。蒸发量与根瘤菌科 Rhizobiaceae、Microbacteriaceae、拜叶林克氏菌科 Beijerinckiaceae、分支杆菌科 Mycobacteriaceae、Mitochondria、德沃氏菌科 Devosiaceae、假单胞菌

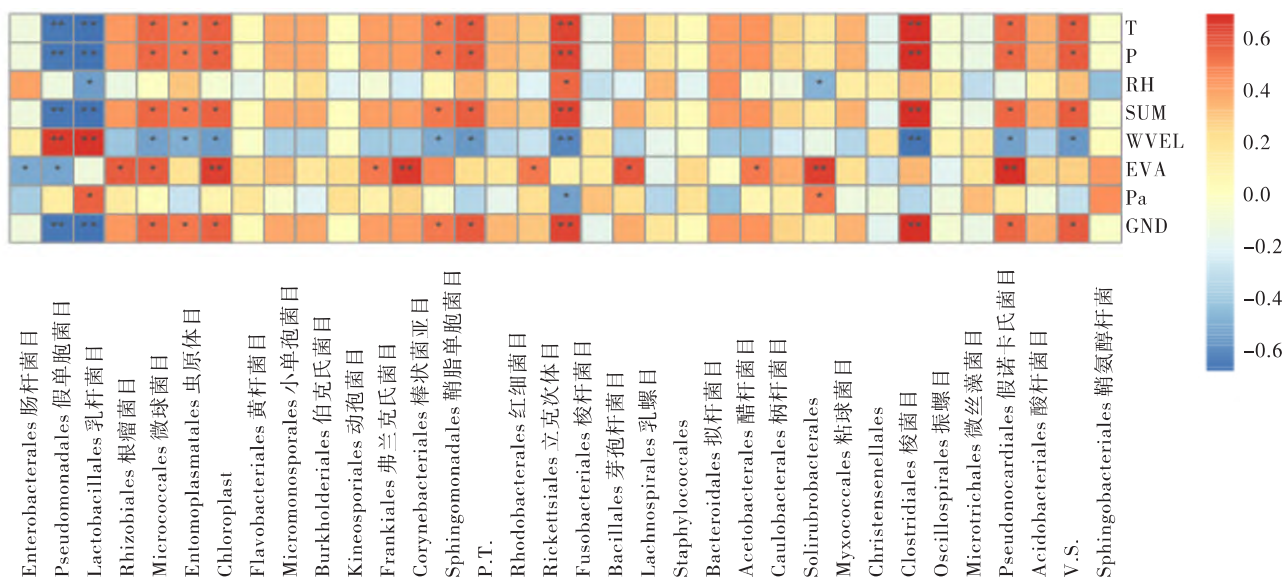


图7 不同地理种群黄脊竹蝗的环境因子分析 (目水平)

Fig. 7 Analysis of environmental factors of *Ceracris kiangsu* in different geographical populations (Order level)

Note: V. S. , Veillonellales. Selenomonadales; R. T. , Peptostreptococcale. Tissierellales.

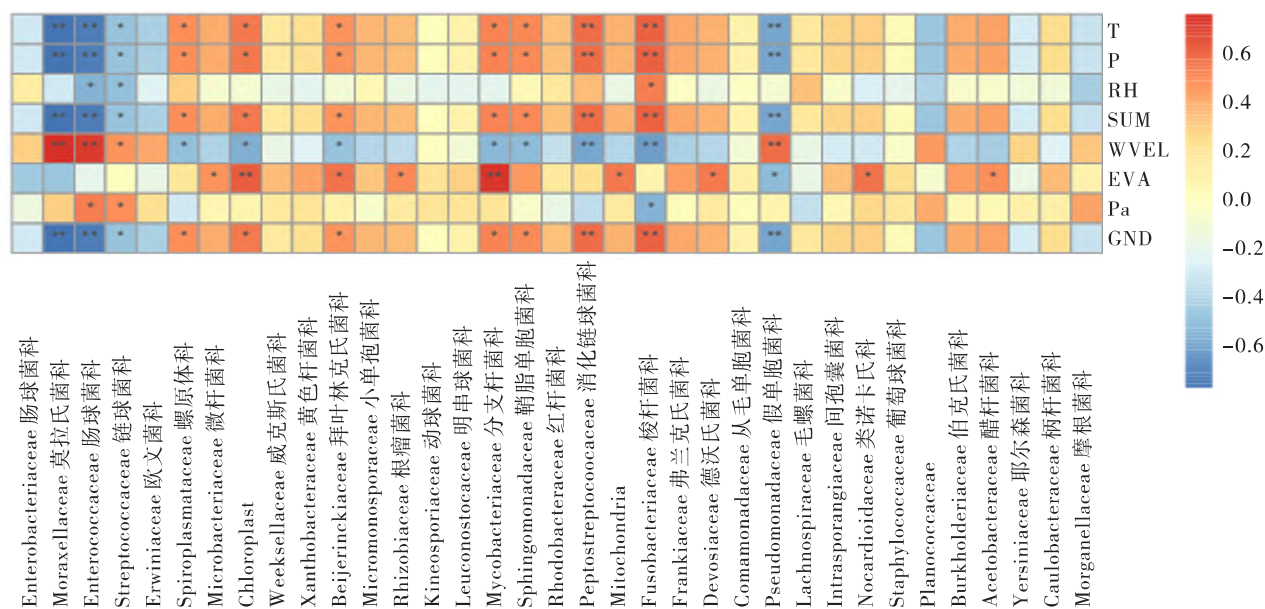


图8 不同地理种群黄脊竹蝗的环境因子分析 (科水平)

Fig. 8 Analysis of environmental factors of *Ceracris kiangsu* in different geographical populations (Family level)

科、类诺卡氏科 *Nocardiodaceae* 和醋杆菌科 *Acetobacteraceae* 显著相关。平均气压与肠球菌科、链球菌科和梭杆菌科显著相关。

在分类阶元属水平上 (图9), 平均气温、降水量、日照时数、风速和地面温度与黄脊竹蝗肠道微生物中的乳球菌属、肠球菌属、螺原体属、短小杆菌属、*Peptoclostridium*、*Allorhizobium*、*Neorhizobium*、*Pararhizobium*、*Rhizobium*、不动杆菌属、*Mycobacterium*、慢生根瘤菌属 *Bradyrhizobium*、假单胞菌属

Pseudomonas、*Methylobacterium*、*Methylobacterium*、*Burkholderia*、*Caballeronia*、*Paraburkholderia*、*Lysinibacillus*、梭杆菌属 *Fusobacterium* 显著相关。相对湿度和平均气压与乳球菌属、肠球菌属和梭杆菌属显著相关。蒸发量与短小杆菌属、类诺卡氏属 *Nocardioide*、亮杆菌属 *Leucobacter*、慢生根瘤菌属 *Bradyrhizobium*、*Allorhizobium*、*Neorhizobium*、*Pararhizobium*、*Rhizobium*、假单胞菌属、*Methylobacterium*、*Methylobacterium*、*Mitochondria*、德沃斯氏菌属 *Devosia* 显著相关。

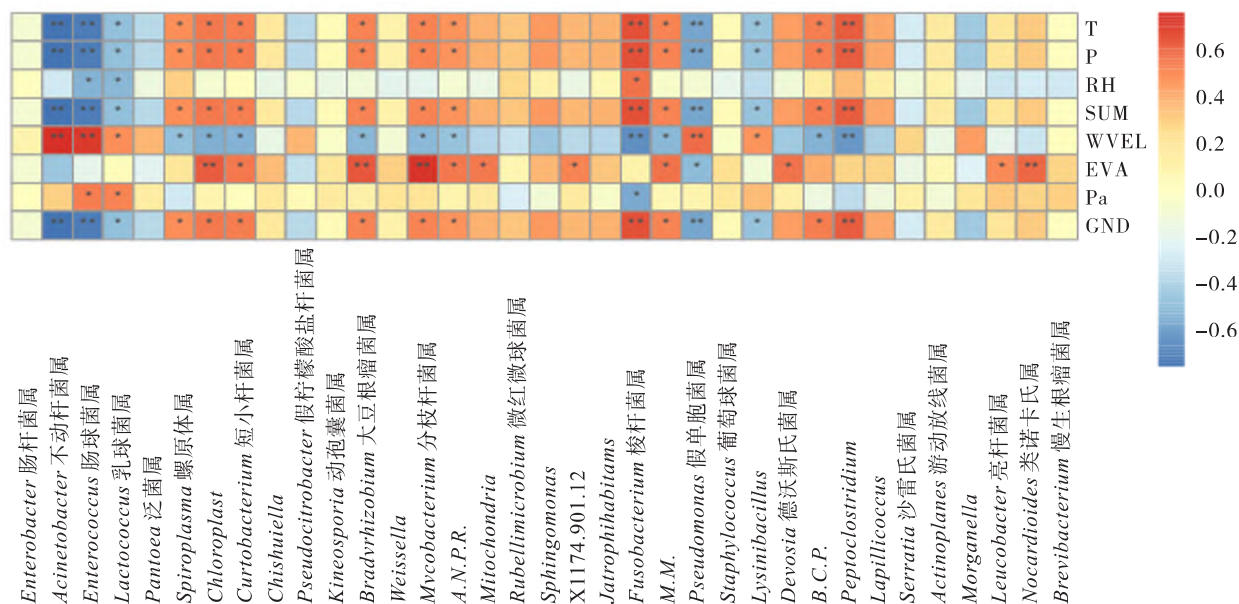


图9 不同地理种群黄脊竹蝗的环境因子分析 (属水平)

Fig. 9 Analysis of environmental factors of *Ceracris kiangsu* in different geographical populations (Genus level)

Note: B. C. P., *Burkholderia*, *Caballeronia*, *Paraburkholderia*; M. M., *Methylobacterium*, *Methylorubrum*; A. N. P. R., *Allorhizobium*, *Neorhizobium*, *Pararhizobium*, *Rhizobium*.

3 结论与讨论

2020年6月黄脊竹蝗从老挝和越南等地迁飞进入我国云南边境地区,由于种群数量激增,取食范围扩展至大田作物,波及范围9 000 ha,其中农田约2 133 ha,林地约6 866 ha,对云南边境地区农业生产造成严重危害,引起社会广泛关注(李永华和刘勇波, 2021; 赵紫华等, 2021; 卓富彦等, 2021)。

蝗虫的群居型特征是造成蝗虫数量暴发成灾的特征之一,蝗虫肠道微生物与聚集信息素的合成与释放密切相关。通过分析昆虫肠道微生物的多样性及外在条件刺激下的菌群结构及动态变化,可以进一步了解宿主昆虫和肠道微生物间的关系(杭苏琴, 2007),对于昆虫的生命活动和生理代谢具有重要意义。关于蝗虫肠道微生物多样性的研究,近年来也可见一些报道。Dillon对沙漠蝗 *Schistocerca gregaria* Forskal 肠道微生物在饥饿和虫龄两个影响因子作用下的多样性进行分析,结果显示细菌多样性与蝗虫年龄成正比,而受饥饿的蝗虫通常容易发生疾病(Dillon *et al.*, 2010); Su等人通过研究16种蝗虫的肠道共生菌,发现纤维素分解酶和肠道微生物群落可能反映了不同种类

的蝗虫与其摄食方式的联系(Su *et al.*, 2014); 徐冲等人从东亚飞蝗 *Locusta migratoria manilensis* Meyen 肠道内分离出12株产纤维素酶细菌,并对其中一株酶活性较高的菌株进行一系列实验,鉴定为蜡芽芽孢杆菌(徐冲等, 2016)。

本研究通过分析我国新入侵地区和国内常发地区的黄脊竹蝗肠道微生物多样性,为研发微生物制剂和综合防控提供理论依据。研究发现,对于黄脊竹蝗来说,不同地理分布和性别的肠道内微生物多样性与丰富度不同。其中,地理位置影响最为显著,其次为性别因素。对比不同分布区域的黄脊竹蝗肠道微生物多样性,结果显示湖南省邵阳市新宁县和云南省普洱市江城县的差异最大。2020年黄脊竹蝗从境外迁入我国云南境内,由于该地气候环境适宜且食物充足,造成该虫大量繁殖危害(卓富彦等, 2020)。推测此次在云南省普洱市江城县采集到的黄脊竹蝗应该来自于境外迁入,因而两地的黄脊竹蝗肠道微生物多样性差异最大。通过对比不同性别的黄脊竹蝗,结果显示雌雄蝗虫的肠道菌群在属水平组成上具有显著差异。有研究表明不同性别的昆虫体内微生物多样性与丰度存在差异,例如中华通草蛉 *Chrysopa sinica* Tjeder 雌雄群体间的肠道微生物在属水平组成存在差异,该研究推测差异原因是由于雄雌成

虫生理代谢的不同引起微生物菌群的差异 (赵辉等, 2017)。目前仅有研究表明黄脊竹蝗食叶量随虫龄的增长而增加, 雌蝗的食叶量远远大于雄蝗 (练佑明等, 1995), 有关黄脊竹蝗雌雄个体肠道微生物差异性机理还少有研究。

研究表明, 不同的环境条件会影响栖居于昆虫肠道内的共生微生物与其宿主之间的相互作用, 进而微生物的种类及分布也会受到影响 (Schmid *et al.*, 2015; Donkersley *et al.*, 2017)。本研究选取的 8 个环境因子中对黄脊竹蝗肠道微生物影响最大的为蒸发量、相对湿度和平均气压。以往研究发现, 尽管不同种类的昆虫肠道菌优势门存在差异, 但变形菌门均是最主要的肠道细菌群体之一 (Yun *et al.*, 2014), 本研究中关于黄脊竹蝗优势菌门的分析也支持上述结果。

近年来, 由于环境气候不断变化, 黄脊竹蝗入侵频率逐年增加, 防控形势依然严峻 (卓富彦等, 2020)。蝗虫的群居觅食活动给农业生产带来巨大的破坏, 有研究表明蝗虫粪球中所含的芳香族化合物聚集信息素是维持昆虫群体聚集的关键因素之一, 而肠道微生物的次生代谢产物愈创木酚和少量苯酚是合成聚集信息素的必要组分 (Dillon *et al.*, 2010)。因此, 通过进行蝗虫肠道微生物的相关性研究, 可为害虫生物防治提供理论指导。作为生态系统中的因素, 蝗虫还将长期存在, 人类与蝗虫争夺粮食和牧草等斗争也将是长期的。因此, 未来仍不能放松警惕, 要彻底贯彻“改治并举”的治蝗工作方针, 将治蝗准则牢记于心, 努力实现“虫口夺粮”。

参考文献 (References)

- Callahan BJ, McMurdie PJ, Holmes SP. Exact sequence variants should replace operational taxonomic units in marker-gene data analysis [J]. *The ISME Journal*, 2017, 11 (12): 2639–2643.
- Cang XY, Li WF, Yin J, *et al.* The prevention and control measures of the occurrence of *Ceracris kiangsu* Tsai in sugarcane areas of Yunnan [J]. *Sugarcane and Canesugar*, 2020, 49 (6): 33–36. [陈晓燕, 李文凤, 尹炯, 等. 云南蔗区黄脊竹蝗发生为害与防控措施 [J]. *甘蔗糖业*, 2020, 49 (6): 33–36]
- Cheng DF, Li HJ, Lu YY. Research progress of the influence of microorganisms on insect behavior [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2021, 64 (6): 743–756. [程代凤, 李慧静, 陆永跃. 微生物对昆虫行为的影响研究进展 [J]. *昆虫学报*, 2021, 64 (6): 743–756]
- Cheng J, Pan YZ, Shu JP. The research and development of the *Ceracris kiangsu* Tsai [J]. *Shandong Forestry Science and Technology*, 2010, 40 (2): 116–119. [程佳, 潘涌智, 舒金平. 黄脊竹蝗研究现状及进展 [J]. *山东林业科技*, 2010, 40 (2): 116–119]
- Dillon RJ, Webster G, Weightman AJ, *et al.* Diversity of gut microbiota increases with aging and starvation in the desert locust [J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2010, 97 (1): 69–77.
- Dillon RJ, Vennard CT, Charnley AK. A note: Gut bacteria produce components of a locust cohesion pheromone [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2010, 92 (4): 759–763.
- Donkersley P, Rhodes G, Pickup RW, *et al.* Nutritional composition of honey bee food stores vary with floral composition [J]. *Oecologia*, 2017, 185 (4): 749–761.
- Engel P, Moran NA. The gut microbiota of insects – diversity in structure and function [J]. *Fems Microbiology Reviews*, 2013, 37 (5): 699–735.
- Fischer CN, Trautman EP, Crawford JM, *et al.* Metabolite exchange between microbiome members produces compounds that influence *Drosophila* behavior [J]. *Elife*, 2017, 6: e18855.
- Hou LW, Wu CX, Qin XM, *et al.* 2019. Progress in the association analysis methods of gut microbial functional metagenomics and metabolomics [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2019, 59 (9): 1813–1822. [侯璐文, 吴长新, 秦雪梅, 等. 肠道微生物功能宏基因组学与代谢组学关联分析方法研究进展 [J]. *微生物学报*, 2019, 59 (9): 1813–1822]
- Lian YM, Li JG, Wu DY, *et al.* Observation of leaf in feeding and harmful of *Ceracris kiangsu* Tsai in Hunan [J]. *Hunan Forestry Science*, 1995, 22 (1): 29–31. [练佑明, 李建江, 吴迪云, 等. 湖南桃江黄脊竹蝗食叶量与危害叶量观察 [J]. *湖南林业科技*, 1995, 22 (1): 29–31]
- Li HM, Wang JY, Zhuo FY, *et al.* Review on the occurrence and management technology of *Ceracris kiangsu* in China [J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2022, 38 (2): 531–536. [李红梅, 王珺雅, 卓富彦, 等. 黄脊竹蝗在中国的发生及防控技术 [J]. *中国生物防治学报*, 2022, 38 (2): 531–536]
- Li MJ, Shao DT, Zhou JC, *et al.* Signatures within esophageal microbiota with progression of esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Chinese Journal of Cancer Research*, 2020, 32 (6): 755–767.
- Li JJ. Study on the relationship between yellow back bamboo locusts *Ceracris kiangsu* occurred and meteorological factors [J]. *Wuyi Science Journal*, 1998, 14: 173–176. [李建江. 黄脊竹蝗 *Ceracris kiangsu* 发生与气象因子的相关性研究 [J]. *武夷科学*, 1998, 14: 173–176]
- Li YH, Liu YB. The causes and control methods for the plague of *Ceracris kiangsu* in China [J]. *Plant Quarantine*, 2021, 35 (1): 20–23. [李永华, 刘勇波. 黄脊竹蝗在我国暴发成灾的原因与防治措施 [J]. *植物检疫*, 2021, 35 (1): 20–23]
- Luo X, Xiong ZP, Xing Z, *et al.* The diversity of bacteria in the gut of 3rd instar larvae of *Dendrolimus kikuchii* Matsumura [J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2021, 49 (21): 128–133. [罗曼, 熊忠平, 熊智, 等. 思茅松毛虫 3 龄幼虫肠道可培养细菌的多样性 [J]. *江苏农业科学*, 2021, 49 (21): 128–133]

- Lu YX, Liu YQ, Li Q, *et al.* Research progress on intestinal microbial diversity of insects [J]. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2016, 45 (11): 1–7. [鲁迎新, 刘彦群, 李群, 等. 昆虫肠道微生物多样性研究进展 [J]. 河南农业科学, 2016, 45 (11): 1–7]
- Rivas MN, Burton OT, Wise P, *et al.* A microbota signature associated with experimental food allergy promotes allergic sensitization and anaphylaxis [J]. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2013, 131 (1): 201–212.
- Schmid RB, Lehama RM, Brozel VS, *et al.* Gut bacterial symbiont diversity within beneficial insects linked to reductions in local biodiversity [J]. *Annals of the Entomological Society of America*, 2015, 108 (6): 993–999.
- Su HQ. Effects of Mannan – Oligosaccharide on the Gastro – Intestinal Bacteria of Weaning Piglets [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University Doctoral Thesis, 2007. [苏苏琴. 甘露寡糖对断奶仔猪肠道微生物的影响 [D]. 南京: 南京农业大学博士论文, 2007]
- Su LJ, Liu H, Li Y, *et al.* Cellulolytic activity and structure of symbiotic bacteria in locust guts [J]. *Genetics and Molecular Research*, 2014, 13 (3): 7926–7936.
- Tu XB, Du GL, Chai SQ, *et al.* Migration dynamics of important locust species in China and adjacent countries [J]. *Journal of Plant Protection*, 2022, 49 (1): 125–130. [涂雄兵, 杜桂林, 柴守权, 等. 我国及毗邻国家重要蝗虫迁飞规律概述 [J]. 植物保护学报, 2022, 49 (1): 125–130]
- Wang SB, Qu S. 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. [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, 2017, 32 (8): 863–872]
- Xu C, Zhong LJ, Chen LY, *et al.* Screening and identification of high-yielding cellulase strain from enteric duct in east asian locust (*Locusta migratoria manilensis*) [J]. *Journal of Microbiology*, 2016, 36 (3): 69–72. [徐冲, 钟丽娟, 陈丽媛, 等. 东亚飞蝗肠道内高产纤维素酶菌株筛选及鉴定 [J]. 微生物学杂志, 2016, 36 (3): 69–72]
- Yun JH, Roh SW, Whon TW, *et al.* Insect gut bacterial diversity determined by environmental habitat, diet, developmental stage, and phylogeny of host [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, 80 (17): 5254–5264.
- Zhang WD, Liu W, Wu XA, *et al.* Factors affecting the migration and dispersion of *Ceracris kiangsu* [J]. *Hunan Forestry Science*, 2012, 39 (4): 57–59. [张卫东, 刘伟, 吴习安, 等. 影响黄脊竹蝗迁飞扩散因素调查分析 [J]. 湖南林业科技, 2012, 39 (4): 57–59]
- Zhang XK, Zuo YX. Investigation on the relationship between the oviposition site and its ecological factors of *Ceracris kiangsu* Tsai [J]. *Hunan Forestry Science*, 2005, 32 (5): 16–18. [张贤开, 左玉香. 黄脊竹蝗产卵地与其生态因素关系的调查研究 [J]. 湖南林业科技, 2005, 32 (5): 16–18]
- Zhang YL, Lu BQ, Yang F, *et al.* Isolation, identification and functional analysis of intestinal microorganisms of *Brontispa longissimi* Gestro [J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2021, 42 (4): 1066–1070. [章雨璐, 吕宝乾, 杨帆, 等. 椰心叶甲肠道微生物的分离鉴定及功能分析 [J]. 热带作物学报, 2021, 42 (4): 1066–1070]
- Zhao H, Zhang S, Luo JY, *et al.* Analysis of endophytic symbiotic bacterial composition in *Chrysoperla sinica* (Tjeder) adults with 16S rDNA clone library [J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2017, 33 (6): 849–856. [赵辉, 张帅, 雒瑶瑜, 等. 16S rDNA 克隆文库方法分析中华通草蛉共生细菌组成 [J]. 中国生物防治学报, 2017, 33 (6): 849–856]
- Zhao ZH, Tu XB, Zhang ZH, *et al.* The alert of population expansion of the desert locust *Schistocerca gregaria* and its risk to enter China [J]. *Journal of Plant Protection*, 2021, 48 (1): 5–12. [赵紫华, 涂雄兵, 张泽华, 等. 警惕沙漠蝗种群持续增加和入侵我国边境地区的风险 [J]. 植物保护学报, 2021, 48 (1): 5–12]
- Zhou F, Pang ZC, Yu XQ, *et al.* Insect gut microbiota research: Progress and applications [J]. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2020, 57 (3): 600–607. [周帆, 庞志倡, 余小强, 等. 昆虫肠道微生物的研究进展和应用前景 [J]. 应用昆虫学报, 2020, 57 (3): 600–607]
- Zhuo FL, Li HM, Lv JP, *et al.* Emergency prevention strategy and Prospect of *Ceracris kiangsu* Tsai of Yunnan Province in 2020 [J]. *China Plant Protection*, 2021, 41 (5): 99–101. [卓富彦, 李红梅, 吕建平, 等. 2020 年云南农区黄脊竹蝗应急防控策略及展望 [J]. 中国植保导刊, 2021, 41 (5): 99–101]
- Zhuo FY, Zhu JQ, Ren BY, *et al.* Preliminary report on the prevention and control of *Ceracris kiangsu* Tsai in Yunnan Province in 2020 [J]. *China Plant Protection*, 2020, 40 (8): 60–62. [卓富彦, 朱景全, 任彬元, 等. 2020 年云南省黄脊竹蝗发生防控初报 [J]. 中国植保导刊, 2020, 40 (8): 60–62]