

地址:广州市新港西路105号 邮编:510260 电话:020-84192269 020-84456131 E-mail:insect1979@163.com 网址:hjkcxb.alljournals.net

# 酱香大曲中长头谷盗和谷蠹的肠道细菌多

### 样性分析

吕军<sup>1</sup>,滕<sup>1</sup>,徐<sup>3</sup>,王彩竹<sup>1</sup>,黄汝佳<sup>1</sup>,高岩松<sup>1</sup>,

范国梦1,程 琴2\*

(1. 茅台学院食品科学与工程系,贵州仁怀 564507; 2. 茅台学院质量监测与评估中心,贵州仁怀 564507) 摘要: 酱香大曲是一种多菌多酶制品,其生产过程中吸引了大量的昆虫取食。这些昆虫如何适应这种多菌 多酶环境,其肠道微生物群落的基础尚待深入研究。本研究利用 Illumina MiSeq 技术探究了酱香大曲中两 种重要昆虫——长头谷盗 Latheticus oryzae 和谷蠹 Rhizopertha dominica 的肠道菌群结构。通过对 16S rDNA 的 V3-V4 区序列进行测序。结果显示,长头谷盗和谷蠹的肠道中分别鉴定出 3 652 和 1 808 个扩增子序列 变体(Amplicon Sequence Variant, ASV),其中共有 ASV为 372个。这些 ASV 被注释到 27个门,以变 形菌门、厚壁菌门和拟杆菌门为优势菌门。长头谷盗的主要菌群为罗尔斯通菌属 Ralstonia、拟杆菌属 Bacteroides、乳杆菌属 Latilactobacillus、鞘氨醇单胞菌属 Sphingomonas 和艾克曼菌属 Akkermansia, 而谷蠹 则以 Candidatus Sulcia、罗尔斯通菌属 Ralstonia、苍白杆菌属 Ochrobactrum 和 unidentified Blattabacteriaceae 为主。Alpha 多样性分析表明两种昆虫的肠道细菌在 Chaol 和 Observed species 指数上存在显著差异,但 Simpson 和 Shannon 指数并无明显区别。此外, PICRUSt2(Phylogenetic Investigation of Communities by Reconstruction of Unobserved States)细菌功能预测分析表明,两种昆虫肠道细菌在萜类和聚酮类化合物代 谢(Metabolism of terpenoids and polyketides)、脂质代谢(Lipid metabolism)、多糖生物合成和代谢(Glycan biosynthesis and metabolism)、化学结构转化图谱(Chemical structure transformation maps)和细胞群落-原 核生物(Cellular community-prokaryotes)丰度上存在显著差异。本研究为理解酱香大曲中的昆虫如何适应 多菌多酶环境提供了新的视角,并为基于肠道微生物组的大曲害虫管理策略提供了理论依据。

关键词: 酱香大曲; 长头谷盗; 谷蠹; 16S rDNA; 肠道细菌

中图分类号: Q969.9; Q963

文献标识码:A

# Analysis of gut bacterial diversity in *Latheticus oryzae* and *Rhizopertha dominica* in sauce-flavored dagu production

LV Jun<sup>1</sup>, TENG Can<sup>1</sup>, XU Shan<sup>1</sup>, WANG Cai-Zhu<sup>1</sup>, HUANG Ru-Jia<sup>1</sup>, GAO Yan-Song<sup>1</sup>, FAN Guo-Meng<sup>1</sup>, CHENG Qin<sup>2\*</sup> (1. Department of Food Science and Engineering, Moutai institute, Renhuai 564507, Guizhou Province, China; 2. Quality Monitoring and Evaluation Center of

作者简介: 吕军, 男, 贵州遵义人, 博士, 讲师, 研究方向为农业昆虫与害虫防治, E-mail: lyuj123@yeah.net \*通讯作者 Author for correspondence: 程琴, 女, 硕士, 助教, 研究方向为食品科学与工程, E-mail: Chengq7@outlook.com 收稿日期 Received: 2024-10-21; 修回日期 Revision received: 2025-01-25; 接受日期 Accepted: 2025-01-27

基金项目: 遵义市科技计划项目(遵市科合 HZ 字(2023)118 号);茅台学院高层次人才启动经费(mygccrc [2023]010);茅 台学院高层次人才启动经费(mygccrc [2023]035)

#### Moutai institute, Renhuai 564507, Guizhou Province, China)

Abstract: Sauce-flavored Daqu is a complex product characterized by the presence of multiple microbes and enzymes, which attracts numerous insects during its production process. The mechanisms by which these insects adapt to such a diverse microbial and enzymatic environment, as well as the underlying structure of their gut microbial communities, warrant further comprehensive investigation. This study employed Illumina MiSeq sequencing technology to examine the gut microbiota composition of two key insect species associated with Daqu, namely Latheticus oryzae and Rhizopertha dominica. Specifically, the V3-V4 regions of the 16S rDNA were sequenced. The analysis revealed the presence of 3652 and 1808 Amplicon Sequence Variants (ASVs) in the gut microbiota of L. oryzae and R. dominica, respectively, with 372 ASVs shared between the two species. These ASVs were classified into 27 different phyla, with Proteobacteria, Firmicutes, and Bacteroidota being the predominant phyla. In L. oryzae, the principal bacterial genera identified were Ralstonia, Bacteroides, Latilactobacillus, Sphingomonas, and Akkermansia, whereas in R. dominica, the dominant genera included Candidatus Sulcia, Ralstonia, Ochrobactrum, and unidentified Blattabacteriaceae. Alpha diversity analysis revealed significant differences in the Chao1 and Observed species indices between the gut microbiota of the two insect species, while no significant differences were observed in the Simpson and Shannon indices. Moreover, functional prediction analysis of bacterial communities using PICRUSt2 (Phylogenetic Investigation of Communities by Reconstruction of Unobserved States) demonstrated significant differences in the metabolism of terpenoids and polyketides, lipid metabolism, glycan biosynthesis and metabolism, chemical structure transformation maps, and the abundance of cellular community - prokaryotes between the gut bacteria of the two insect species. This study offers a novel perspective on how insects in sauce-flavor Daqu adapt to a complex microbial and enzymatic environment and provides a theoretical foundation for Daqu pest management strategies informed by gut microbiome research.

# Key words: Sauce-flavored Daqu; Latheticus oryzae; Rhizopertha dominica; 16S rDNA; Gut bacteria

酱香大曲是由多种微生物和其产生的酶共同组成的一种糖化、发酵和生香剂,在酱香型 白酒的制作过程中具有非常重要的作用(李祖明等,2010)。酱香大曲制作过程中定殖大量 的仓储害虫,这些昆虫通常被称为"曲虫"(张百发等,2013)。曲虫具有种类多、存在范 围广、繁殖快的特点。曲仓中主要的曲虫包括长头谷盗 Latheticus oryzae、赤拟谷盗 Tribolium castaneum、谷蠹 Rhizopertha dominica、咖啡豆象 Araecerus fasciculatus 等鞘翅目昆虫(孟天 毅等,2014)。曲虫繁殖较快,一般2~3个月内繁殖3代左右。曲虫取食产卵于大曲,直接 造成大曲质量损耗,破坏曲块的微生物群落,造成大曲理化性质(水分含量、淀粉含量、酸 度、糖化力、液化力、发酵力等)的改变,影响大曲和酒的质量和产量(孟天毅等,2014; 姚翠萍和陈晔,2018)。此外大量的曲虫存在会影响厂区生产、生活环境。大曲中含有丰富 的、活跃的微生物种群,在进行大曲害虫防治时不能照搬粮食仓储害虫防治技术,应避免使 用会影响大曲微生物活性或种群分布的手段。昆虫微生物组是害虫防治的潜在靶位点。一种 基于通过在豌豆蚜虫中显微注射用特定基因型替换初级共生体 Buchnera 的方法可以改变昆 虫的耐热性(Moran and Yun, 2015)。深入了解曲虫肠道微生物组成是实施微生物组防治 策略的先决条件。否则,不仅防治效果可能达不到预期,还可能对酱香大曲的微生物生态造 成损害。目前关于曲虫肠道微生物的研究尚未见报道,这限制了基于曲虫肠道微生物组防治 策略制定和实施。

昆虫肠道微生物被认为起源于其环境和饮食(Engel and Moran, 2013; Garud, 2022; Hosokawa *et al.*, 2016)。宿主食物直接接触肠道微生物,构成微环境的一部分,因此可以 对微生物产生直接影响。动物体内的一些微生物类群,可在其食物或共享环境被追溯到。例 如,蜜蜂通过从花丛环境中觅食来获取微生物(Hannula *et al.*, 2019)。食物通常还可以快 速、重复改变许多昆虫的肠道微生物群(McFrederick *et al.*, 2012)。一些物种如植食性毛 毛虫,其肠道通常缺乏常驻微生物,它们从土壤而非寄主植物中获取微生物(Hammer *et al.*, 2017)。宿主物种也是塑造昆虫微生物群的主要驱动因素(Adair *et al.*, 2020; Huang *et al.*, 2021; Liu *et al.*, 2020)。有研究表明,宿主物种的影响力最为显著,其次是饮食习惯(Yang *et al.*, 2023)。

酱香大曲中富含丰富的微生物资源,曲虫在长期取食过程中,为了适应这一环境,必然 会形成其独特的肠道微生物群落。近年来,随着高通量测序技术的进步,许多昆虫的肠道微 生物结构及其适应宿主的机制得到了深入阐明。因此,本研究采用高通量测序技术对长头谷 盗和谷蠹的肠道菌群进行 16S 核糖体 DNA(16S rDNA)测序,旨在分析其多样性和组成, 探讨在相同饮食条件下,这两种曲虫肠道细菌群落组成和多样性的差异。

#### 材料与方法

1.1 试验材料

长头谷盗和谷蠹采集自仁怀市茅台镇庆华酒业有限公司干曲仓,并在培养箱(SHP-250,上海森信)中采用温度 30℃±1℃、相对湿度 RH 60%±10%、光照:黑暗=16 h:8 h 的条件,用酱香大曲成曲进行饲养。

1.2 试验方法

1.2.1 测序样品准备

长头谷盗和谷蠹成虫1日龄个体饥饿处理24h后,使用75%乙醇洗涤,然后用蒸馏水 清洗3次。在无菌条件下,将昆虫个体置于1×磷酸缓冲盐溶液(PBS)中,用灭菌的镊子 解剖整个肠道,整个肠道用无菌水洗涤3次,去除肠道内容物。在DNA提取之前,昆虫个 体的肠道置于装有40μL无菌H<sub>2</sub>O的1.5 mLEP管中,−20℃条件下储存。每组设置5个重 复,每个重复包括30头昆虫的肠道。

1.2.2 核酸提取

昆虫肠道 DNA 提取使用 HiPure Tissue DNA Mini Kit 试剂盒(迈跟,中国),按照试剂

盒说明书进行。使用 1%琼脂糖凝胶和 NanoDrop<sup>™</sup> 2000(Thermo Scientific,美国)检测样本 DNA 的浓度和纯度,要求浓度大于 100 ng/µL, A260/A280 介于 1.8~2.0 之间, A260/A230 小于 2.0。

#### 1.2.3 16S rDNA 扩增子测序

使用引物 341F (5'-CCTAYGGGRBGCASCAG-3') 和 806R (5'-GGACTACNNGGGTATCTAAT-3')对16S V3-V4 区进行扩增。扩增体系为2×Phusion<sup>®</sup> High-Fidelity PCR Master Mix (NEB,英国),0.2 µM 引物和10 ng 基因组 DNA 模板,在 98℃下进行1 min 的第一次变性,然后在98℃10 s、50℃ 30 s 和 72℃ 30 s 下进行 30 次循环,最后在72℃下保持5 min。扩增后按照 NEBNext<sup>®</sup> Ultra<sup>TM</sup> DNA Library Prep Kit (NEB, 英国)标准流程进行建库操作,构建好的文库经过 Qubit 和 Q-PCR 定量,文库合格后,使用 NovaSeq 6000 进行 PE250 上机测序。

#### 1.2.4 测序数据分析

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,随后通过 FLASH 软件(V1.2.11,http://ccb.jhu.edu/software/FLAS H/; Magoc *et al.*, 2011)对每个样 本的 reads 进行拼接,得到的拼接序列为原始 Tags 数据(Raw Tags)。对拼接的 Tags 进行 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(Effective Tags)。 对以上得到的 EffectiveTags,使用 QIIME2(V 202202,https://qiime2.org/)软件中的 DADA2 模块(Callahan BJ *et al.*, 2016)进行降噪,从而获得最终的扩增子序列变体(Amplicon Sequence Variants, ASVs)以及特征表(Wang *et al.*, 2021)。基于 silva138.1 数据库对物种 进行注释,并使用 QIIME2 的"taxa collapse"插件来计算物种丰度。

1.2.5 统计分析

LEfSe 分析通过 LEfSe V1.080(Segata N *et al.*, 2011)完成,LDA score 阈值为 4。α多 样性是使用 QIIME2 软件计算 Shannon、Simpson、Chao 1 和 Observed\_species 指数。采用 T 检验分析组间的差异显著性。β多样性是在 QIME2 中,基于 Bray-Curtis 和 Unweighted-unifrac 距离的非度量多维尺度(Non-metric multidimensional scaling, NMDS)分析来评估样品之间 群落组成的差异性,并使用 adonis 函数进行多元方差分析(PERMANOVA)评估样品间细 菌微生物群落组成的差异显著性。使用 PICRUSt2(V2.3.0, Douglas *et al.*, 2020)预测昆虫 肠道细菌的潜在功能。T 检验比较 2 种昆虫间不同 KEGG 途径的差异水平。

#### 2 结果与分析

#### 2.1 长头谷盗和谷蠹肠道细菌组成

经过质量控制后,总共获得了 1 255 569 个 clean data (平均每个样本有 139 507 个)。 随后的序列过滤得到 1 144 425 个 reads,每个样本平均有 127 158 个 reads。16S rDNA 基因 组装的配对序列平均长度为 423 个碱基对。这些高质量的 reads 被分为 5 088 个 ASV。长头 谷盗和谷蠹肠道细菌的 ASV 数分别为 3 652 和 1 808 个,二者共有 ASV 为 372 个(图 1)。



Fig. 1 ASV Venn diagram between Latheticus oryzae and Rhizopertha dominica

所有的 ASV 可归入 27 个门,按丰度排序的前 10 个门分布比例如图 2-A 所示,长头谷 盗肠道细菌的优势菌门依次为变形菌门 Proteobacteria(59.8%)、厚壁菌门 Firmicutes(20.5%)、 拟杆菌门 Bacteroidota (10.2%)和放线菌门 Actinobacteriota (3.6%)。谷蠹肠道细菌的优势 菌门则依次为拟杆菌门 Bacteroidota (35.4%)、变形菌门 Proteobacteria (31.1%)、厚壁菌 门 Firmicutes (7.7%)和放线菌门 Actinobacteriota (2.2%)。Kruskal-Wallis 检验结果表明, 丰度前 10 的菌门中仅疣微菌门 Verrucomicrobiota 存在明显差异 (*P*<0.05)。

在两组样品菌群已知属的 ASV 中,按丰度排序的前 10 个属分布比例如图 2-B 所示,长 头谷盗和谷蠹肠道细菌菌属组成差异明显。长头谷盗肠道细菌中相对丰度超过 1%的优势菌 属有 5 个,分别是罗尔斯通菌属 Ralstonia(10.2%)、拟杆菌属 Bacteroides(5.5%)、乳酸 杆菌属 Latilactobacillus(4.5%)、鞘氨醇单细胞菌属 Sphingomonas(4.4%)和艾克曼菌属 Akkermansia(2.7%)。谷蠹肠道细菌中相对丰度超过 1%的优势菌属有 6 个,Candidatus\_Sulcia (31.4%),罗尔斯通菌属 Ralstonia(10.2%),Escherichia Shigella(4.1%),苍白杆菌属 Ochrobactrum(3.3%)和 unidentified\_Blattabacteriaceae(3%)。显著性分析表明,两组昆 虫丰度前 10 的菌属中,有 6 个属存在显著差异,其中长头谷盗肠道中显著富集了乳酸杆菌 属、鞘氨醇单细胞菌属和艾克曼菌属,而谷蠹肠道中显著富集了 Candidatus\_Sulcia、苍白杆 菌属和 Stenotrophomonas。

此外,采用 LEfSe 分析检测细菌分类群组成的变化及鉴定相对丰度存在显著差异的分类 群(生物标记物)。LEfSe 分析结果表明(图 2-C),两组昆虫中差异显著的分类群主要属 于厚壁菌门、变形菌门、拟杆菌门和疣微菌门。根据 LDA > 4.0,在谷蠹组鉴定了 5 种丰度 差异显著的分类群。长头谷盗组鉴定了 22 中丰度差异显著的分类群。



图 2 长头谷盗和谷蠹的肠道细菌组成.

Fig. 2 The composition of gut microbiota in Latheticus oryzae and Rhizopertha dominica.

注: A, 门水平丰度及差异分析; B, 属水平丰度及差异分析; C, LEfSe 分析。图中\*表示差异显著(P< 0.05, Kruskal-Wallis 检验), \*\*表示差异极显著(P<0.01, Kruskal-Wallis 检验)。Note: A, Abundance and differential analysis at the phylum level; B, Abundance and differential analysis at the genus level; C, LEfSe analysis. \**P*<0.05, \*\**P*<0.01, Kruskal-Wallis test.

#### 2.2 多样性分析

使用 Alpha 多样性指数对每个样本的多样性和丰富度进行分析(图 3)。谷蠹和长头谷 盗肠道细菌群落的 Simpson 和 Shannon 指数在统计学上没有显著差异(*P*>0.05,图 3-A、B), 这表明两组样本间的细菌多样性水平相近。Chao1 和 Observed species 指数显示样本的物种 丰富度,指数越大丰富度越高。长头谷盗 Chao1 指数 Observed species 指数均显著高于谷蠹 (*P*<0.05,图 3-C、D),表明长头谷盗肠道微生物丰富度高于谷蠹。此外,通过基于 Bray-Curtis 相似性和 Unweighted-unifrac 距离的 NMDS 对细菌群落进行聚类。如图 4-A、B 所示,它们在 NMDS 图上分布在不同的象限,表明两组样品发生了聚类。PERMANOVA 方 法检验结果表明两组样品肠道细菌群落β多样性具有显著性差异(Bray-Curtis: *P*=0.016; Unweighted-unifrac: *P*=0.017)。



图 3 Alpha Diversity 指数的多样性和丰富度分析.

Fig. 3 Analysis of diversity and richness of alpha diversity index.

注: A, Shannon 多样性指数; B, Simpson 多样性指数; C, Chao1 多样性指数; D, Observed features 多样性指数。图中\*表示差异显著(P<0.05, t 检验)。Note: A, Shannon Diversity index; B, Simpson diversity index; C, Chao 1 diversity index; D, Observed features diversity index. \* indicated statistically significant differences (*P*<0.05, *t*-test).





Fig. 4 Non-metric multidimensional scaling analysis of bacterial communities.

注: A, 基于 Bray-Curtis 相似性进行聚类的 NMDS 分析; B, 基于 unweighted\_unifrac 相似性进行聚类的 NMDS 分析。Note: A, Bray-Curtis; B, unweighted\_unifrac.

#### 2.3 KEGG 功能分析

通过 KEGG 通路功能预测(图 5),分析了两组昆虫肠道细菌之间在功能上的差异。

KEGG 代谢通路一级水平通路主要富集在代谢、人类疾病、遗传信息处理和细胞过程。KEGG 代谢通路二级水平上,两组昆虫肠道细菌在萜类和聚酮类化合物代谢(Metabolism of terpenoids and polyketides)、脂质代谢(Lipid metabolism)、多糖生物合成和代谢(Glycan biosynthesis and metabolism)、化学结构转化图谱(Chemical structure transformation maps)和细胞群落-原核生物(Cellular community-prokaryotes)上存在显著差异,推测这些生物过程与长头谷盗和谷蠹对环境的响应差异有关。



图 5 KEGG 代谢通路富集分析.



注:\*和\*\*号分别表示在 P<0.05 和 P<0.01 下差异显著(*t* 检验)。Note: Asterisks indicated statistically significant differences (\*, P< 0.05; \*\*, P< 0.01; *t*-test).

#### 3 结论与讨论

长头谷盗和谷蠹通过酱香大曲直接获取必需的化合物,或者通过酱香大曲中的微生物代谢间接获得。为了深入探究酱香大曲对曲虫肠道细菌群落多样性的影响,本研究采用 Illumina MiSeq 高通量测序技术,首次对酱香大曲中两种主要昆虫(长头谷盗和谷蠹)的肠道细菌群落进行了分析。研究结果显示,长头谷盗和谷蠹共鉴定出5088个 ASVs,这些 ASVs 主要由厚壁菌门、变形菌门和拟杆菌门的细菌组成(图 2-A)。这与其他昆虫和哺乳动物肠道中的观察结果一致(Chen *et al.*, 2018)。厚壁菌门在复杂植物碳水化合物的降解中发挥关键

作用,而拟杆菌门物种能够分解多种植物多糖(Flint et al., 2012),增强宿主的消化能力。 变形菌门则有助于固氮和食物代谢,维持宿主健康(Yun et al., 2014)。因此,这些肠道微 生物的定殖有助于长头谷盗和谷蠹更有效地消化酱香大曲。

Ralstonia 细菌在两组曲虫中的丰度均为 10.2%(图 2-B)。Ralstonia 在昆虫和哺乳动物 肠道中普遍存在,在植物中多为病原体(Chen et al., 2019; Li et al., 2021; Lu et al., 2022; van Veelen et al., 2023)。Ralstonia 在松树蜂 Sirex noctilio 幼虫和成虫肠道中的优势细菌属, 其中雄性肠道丰度最高(Li et al., 2021)。Ralstonia 为家蚕 Bombyx mori 肠道的优势属, Ralstonia 的比例与其饮食有关,人工饲料喂养会提升 Ralstonia 的丰度,导致家蚕肠道菌群 失调,免疫力下降,当家蚕在感染治病细菌后,Ralstonia的优势地位会被肠球菌属 Enterococcus 取代(Qin et al., 2022)。此外,还有研究通过体外消化实验表明, Ralstonia 细菌可以分泌短链脂肪酸以减轻肠道的炎症反应(刘楚, 2020)。这些发现表明, Ralstonia 在长头谷盗和谷蠹肠道可能起到了免疫调节的作用,使其能更好抵御酱香大曲中致病性微生 物的侵袭。Lactobacillus 在昆虫肠道中普遍存在且具有重要意义,可帮助昆虫调节能量代谢 (Han et al., 2024)、增强学习记忆行为(Zhang et al., 2022)、增强抗药性(Zeng et al., 2024)。值得注意的是,Lactobacillus 是酱香大曲中的主要微生物(唐佳代等, 2022),推 测长头谷盗肠道中的 Lactobacillus 可能来源于大曲,两者在长头谷盗摄食过程中相互影响, 共同促进长头谷盗的生长和发育。此外, 麸皮饮食会导致肠道 Lactobacillus 的增加(Lou et al., 2021),而酱香大曲是由小麦发酵而成,因此饮食习惯可能也是导致 Lactobacillus 在长头谷 盗中大量定殖的原因。*Candidatus Sulcia* 是谷蠹肠道中占比最多的菌属(图 2-B)。 Candidatus Sulcia 是一种细胞内营养内共生细菌,与半翅目 Hemiptera 昆虫密切相关,特别 是在原喙亚目 Auchenorrhyncha 昆虫中,取食的植物汁液缺少含氮营养物质,需要体内的 Candidatus Sulcia muelleri 等共生菌为其提供必需氨基酸及核黄素等物 (Zhang et al., 2023)。 因此,一方面可以通过干扰这些微生物,降低长头谷盗和谷蠹的免疫功能,使其更易感染病 原体,从而减少其种群数量。另一方面,可以利用肠道微生物的 RNA 干扰技术对曲虫进行 防治。例如,Lactobacillus 在长头谷盗肠道和酱香大曲中均为主要微生物,可以将长头谷盗 特定基因的双链 RNA 表达载体导入到 Lactobacillus 中,该 Lactobacillus 可在酱香大曲中进 行富集,被长头谷盗摄食后,Lactobacillus 可在昆虫肠道内表达并释放双链 RNA,引发害 虫体内的 RNA 干扰现象,从而抑制长头谷盗的生长发育或繁殖。

食物是昆虫获取微生物群的主要途径(Kim et al., 2017)。例如,蜜蜂通过觅食从其花 卉环境中获取微生物群(McFrederick et al., 2012; Keller et al., 2021)。然而,本研究发 现,尽管长头谷盗和谷蠹均以酱香大曲为唯一食物来源,但两者的肠道细菌种类(图2)、 丰度(图 2)、Chao1(图 3-C)、Observed species 指数(图 3-D)和 Beta 多样性(图 4) 却有显著性差异。这与先前的研究结果一致,即同域内取食相同食物的昆虫,如拟果蝇 Drosophila simulans 和黄粉鹿花金龟 Dicronocephalus bowringi, 其肠道细菌的多样性、组成 和网络结构存在显著差异(Zhu et al., 2022)。此外, 9 种共享共同柑橘类水果饮食的同域 野生昆虫物种,尽管共享相同饮食,但细菌群落的多样性、组成和网络差异很大(Zhu et al., 2024)。这些发现表明,尽管食物是昆虫获取微生物群的主要途径,但宿主特异性的肠道微 生物群可能更多地受到宿主物种的影响,而非仅仅由环境因素决定(Adair and Douglas, 2017)。微生物在昆虫肠道的定殖受宿主的系统发育和生理特征、群落装配过程的差异、宿 主与微生物的协同进化,以及微生物间的相互作用等因素的共同影响。具体来说,昆虫的肠 道结构和生理条件(如 pH 值、氧气浓度等)构成了一个独特的环境,使得只有特定的微生 物能够在此定殖(马玲等,2023)。此外,群落装配过程中的随机性(如漂移和扩散限制) 和确定性(如选择)过程也在不同昆虫中表现出不同的相对贡献(Zhu et al., 2022)。宿主 与微生物之间的长期协同进化导致了特定的共生关系,这种关系具有物种特异性(俄广旭等, 2023)。本研究结果支持了宿主个体在塑造微生物多样性和组成中发挥核心作用的观点。这 种宿主特异性可能源于宿主与微生物群的共同进化过程中的功能需求和特定选择(Henry et al., 2021; Zhu et al., 2022) 。

综上所述,本研究详细描述了酱香大曲中两种害虫的肠道微生物组成,并发现同域内共 享食物的两种昆虫之间,其肠道微生物具有高度物种特异性。这一发现为理解宿主特异性肠 道微生物群的生态和进化机制提供了新的视角。此外本研究对两种常见曲虫的肠道细菌进行 了分析,为基于肠道微生物的酱香大曲害虫的管理策略提供了理论依据。

#### 参考文献(References)

- Adair KL, Bost A, Bueno E, *et al.* Host determinants of among-species variation in microbiome composition in drosophilid flies [J]. *The ISME Journal*, 2020, 14 (1): 217-229.
- Adair KL, Douglas AE. Making a microbiome: The many determinants of host-associated microbial community composition [J]. *Current Opinion In Microbiology*, 2017, 35: 23-29.
- Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ, et al. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data [J]. Nature Methods, 2016, 13 (7): 581-583.
- Chen B, Du K, Sun C, et al. Gut bacterial and fungal communities of the domesticated silkworm (Bombyx mori) and wild mulberry-feeding relatives [J]. The ISME Journal, 2018, 12 (9): 2252-2262.
- Chen X, Fang S, Wei L, et al. Systematic evaluation of the gut microbiome of swamp eel (Monopterus albus) by 16S rRNA gene sequencing [J]. PeerJ, 2019, 7: e8176.
- Douglas GM, Maffei VJ, Zaneveld JR, et al. PICRUSt2 for prediction of metagenome functions [J]. Nature Biotechnology, 2020, 38 (6): 685-688.
- E GX, Bai TT, Zhu ZY, et al. Advances in research on the relationship between microbial diversity in theanimal digestive tract and coevolution with the host [J]. Biodiversity, 2023, 31 (11): 206-225. [俄广旭, 白天天, 朱振宇, 等. 动物消化道微生物多样性与宿

主协同进化关系的研究进展 [J]. 生物多样性, 2023, 31 (11): 206-225]

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

Flint HJ, Scott KP, Duncan SH, *et al.* Microbial degradation of complex carbohydrates in the gut [J]. *Gut Microbes*, 2012, 3 (4): 289-306. Garud N. Microbial Evolution: An overlooked biomarker of host diet [J]. *Cell Host & Microbe*, 2022, 30 (2): 146-147.

- Hammer TJ, Janzen DH, Hallwachs W, et al. Caterpillars lack a resident gut microbiome [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2017, 114 (36): 9641-9646.
- Han B, Hu J, Yang C, et al. Lactobacillus Firm-5-derived succinate prevents honeybees from having diabetes-like symptoms [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2024, 121 (36): e2405410121.
- Hannula SE, Zhu F, Heinen R, et al. Foliar-feeding insects acquire microbiomes from the soil rather than the host plant [J]. Nature Communications, 2019, 10 (1): 1254.
- Henry LP, Bruijning M, Forsberg SKG, et al. The microbiome extends host evolutionary potential [J]. Nature Communications, 2021, 12 (1): 5141.
- Hosokawa T, Ishii Y, Nikoh N, et al. Obligate bacterial mutualists evolving from environmental bacteria in natural insect populations [J]. Nature Microbiology, 2016, 1: 15011.
- Huang K, Wang J, Huang J, et al. Host phylogeny and diet shape gut microbial communities within bamboo-feeding insects [J]. Frontiers In Microbiology, 2021, 12: 633075.
- Keller A, McFrederick QS, Dharampal P, et al. Hitchhikers through the network: the shared microbiome of bees and flowers [J]. Current Opinion In Insect Science, 2021, 44: 8-15.
- Kim JM, Choi MY, Kim JW, et al. Effects of diet type, developmental stage, and gut compartment in the gut bacterial communities of two Cerambycidae species (Coleoptera) [J]. Journal of Microbiology (Seoul, Korea), 2017, 55 (1): 21-30.
- Li J, Li C, Wang M, et al. Gut structure and microbial communities in *Sirex noctilio* (Hymenoptera: Siricidae) and their predicted contribution to larval nutrition [J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 641141.
- Li ZM, Zhang HY, Huang G, et al. Comparison of different sauce-flavor Jiuqu on chemical compositions and property [J]. China Brewing, 2010, 29 (2): 77-79. [李祖明, 张洪远, 黄淦, 等. 不同酱香型酒曲成分和性能的比较研究 [J]. 中国酿造, 2010, 29 (2): 77-79]
- Liu C. Study on Antioxidant Activity of Proanthocyanidins in Mangosteen Pericarp Digested in Vitro and Its Effect on Intestinal Microflora [D]. Hangzhou: Zhejiang University of Commerce and Industry Ph.D Thesis, 2020. [刘楚. 山竹果皮中原花青素经体外 消化后抗氧化性及对肠道菌群影响的研究 [D]. 杭州: 浙江工商大学博士论文, 2020]
- Liu Y, Shen Z, Yu J, et al. Comparison of gut bacterial communities and their associations with host diets in four fruit borers [J]. Pest Management Science, 2020, 76 (4): 1353-1362.
- Lou Y, Li Y, Lu B, et al. Response of the yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) gut microbiome to diet shifts during polystyrene and polyethylene biodegradation [J]. Journal of Hazardous Materials, 2021, 416: 126222.
- Lu Y, Li P, Bai S, *et al.* Effect of phenyllactic acid on silage fermentation and bacterial community of reed canary grass on the Qinghai Tibetan Plateau [J]. *BMC Microbiology*, 2022, 22 (1): 83.
- Ma L, Cao JY, Bai JY, et al. Research progress in insect gut microbes and the methods for studyingtheir functions [J]. Acta Entomologica Sinica, 2023, 66 (10): 1415-1424. [马玲, 曹靖瑜, 白建洋, 等. 昆虫肠道微生物及其功能研究方法进展 [J]. 昆虫学报, 2023, 66 (10): 1415-1424]
- Magoč T, Salzberg SL. FLASH: Fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies [J]. *Bioinformatics*, 2011, 27 (21): 2957-2963.
- McFrederick QS, Wcislo WT, Taylor DR, et al. Environment or kin: Whence do bees obtain acidophilic bacteria? [J]. Molecular Ecology, 2012, 21 (7): 1754-1768.
- Meng TY, Zhang BF, Lu HM, et al. Research on the harm of Daqu [J]. Breemaking Technology, 2014, 4: 35-37, 41. [孟天毅, 张百发, 卢 红梅, 等. 曲虫对大曲的危害研究 [J]. 酿酒科技, 2014, 4: 35-37, 41]
- Moran NA, Tran P, Gerardo NM. Symbiosis and insect diversification: An ancient symbiont of sap-feeding insects from the bacterial phylum Bacteroidetes [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71 (12): 8802-8810.
- Moran NA, Yun Y. Experimental replacement of an obligate insect symbiont [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2015, 112 (7): 2093-2096.
- Qin L, Qi J, Shen G, et al. Effects of microbial transfer during Food-Gut-Feces circulation on the health of Bombyx mori [J]. Microbiology Spectrum, 2022, 10 (6): e0235722.

Rajagopal R. Beneficial interactions between insects and gut bacteria [J]. *Indian Journal of Microbiology*, 2009, 49 (2): 114-119. Segata N, Izard J, Waldron L, *et al.* Metagenomic biomarker discovery and explanation [J]. *Genome Biology*, 2011, 12 (6): R60.

Tang JD, Liu LP, Long YF, et al. Study on bacterial community structure and physicochemical properties of different sensory characteristics of soy Daqu [J]. China Brewing, 2022, 41 (1): 138-142. [唐佳代, 刘力萍, 龙亚飞, 等. 不同感官特性酱香大曲细

菌群落结构与理化特性研究 [J]. 中国酿造, 2022, 41 (1): 138-142]

- van Veelen HPJ, Ibáñez-Álamo JD, Horrocks NPC, et al. Cloacal microbiota are biogeographically structured in larks from desert, tropical and temperate areas [J]. BMC Microbiology, 2023, 23 (1): 40.
- Wang Y, Guo H, Gao X, et al. The intratumor microbiota signatures associate with subtype, tumor stage, and survival status of esophageal carcinoma [J]. Frontiers in Oncology, 2021, 11: 754788.
- Yang ZW, Luo JY, Men Y, *et al.* Different roles of host and habitat in determining the microbial communities of plant-feeding true bugs [J]. *Microbiome*, 2023, 11 (1): 244.
- Yao CP, Chen Y. Effect of Daqu pests on key indexes of Daqu [J]. *Breemaking Technology*, 2018, 6: 80-84. [姚翠萍, 陈晔. 曲虫对大曲 关键指标的影响 [J]. 酿酒科技, 2018, 6: 80-84]
- 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.
- Zeng T, Fu Q, Luo F, *et al*. Lactic acid bacteria modulate the CncC pathway to enhance resistance to β-cypermethrin in the oriental fruit fly [J]. *The ISME Journal*, 2024, 18 (1): wrae058.
- Zhang BF, Lu HM, Long ZH, et al. Research and control analysis in Maotai Town [J]. Brewing Technology, 2013, 12: 53-56. [张百发, 卢 红梅, 龙则河, 等. 茅台镇大曲虫害调研与防治分析 [J]. 酿酒科技, 2013, 12: 53-56]
- Zhang Z, Mu X, Cao Q, et al. Honeybee gut Lactobacillus modulates host learning and memory behaviors via regulating tryptophan metabolism [J]. Nature Communications, 2022, 13 (1): 2037.
- Zhu YX, Yang R, Wang XY, et al. Gut microbiota composition in the sympatric and diet-sharing Drosophila simulans and Dicranocephalus wallichii bowringi shaped largely by community assembly processes rather than regional species pool [J]. iMeta, 2022, 1 (4): e57.
- Zhu YX, Yang TY, Deng JH, *et al.* Stochastic processes drive divergence of bacterial and fungal communities in sympatric wild insect species despite sharing a common diet [J]. *MSphere*, 2024, 9 (8): e0038624.