

基于性别二分类的斑须蝽成虫肠道微生物群落异性

刘栋杰¹, 李昊¹, 丘明艳¹, 张颖昕¹, 黄孙滨¹, 刘浩宇¹, 肖艳松², 刘婷², 金丰良¹, 许小霞^{1*}

1 华南农业大学 植物保护学院, 绿色农药全国重点实验室, 广东 广州

2 湖南省烟草公司郴州市公司, 湖南 郴州

刘栋杰, 李昊, 丘明艳, 张颖昕, 黄孙滨, 刘浩宇, 肖艳松, 刘婷, 金丰良, 许小霞. 基于性别二分类的斑须蝽成虫肠道微生物群落异性[J]. 微生物学报, 2025, 65(5): 2091-2110.

LIU Dongjie, LI Hao, QIU Mingyan, ZHANG Yingxin, HUANG Sunbin, LIU Haoyu, XIAO Yansong, LIU Ting, JIN Fengliang, XU Xiaoxia. Gut microbiota differences between female and male adults of *Dolycoris baccarum*[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2025, 65(5): 2091-2110.

摘要: 昆虫肠道微生物与宿主之间存在相互依赖的共生关系, 这对宿主昆虫的代谢、免疫、发育及农药抗性等功能发挥着重要作用。肠道微生物受到食物、性别和饲养环境等因素的影响, 目前尚未见针对植食性昆虫斑须蝽(*Dolycoris baccarum*)雌雄之间群落结构的相关报道。【目的】探究性别对斑须蝽微生物组成及丰度的影响, 以挖掘性别相关的微生物, 为利用不同性别的微生物防治斑须蝽提供依据。【方法】基于 PacBio 平台, 采用第三代 16S rRNA 基因扩增子测序技术和生物信息学分析, 研究斑须蝽雌性和雄性肠道内细菌的多样性及组成。使用传统细菌分离培养法获取斑须蝽的肠道菌, 并结合形态学及 16S rRNA 基因序列分析进行鉴定。【结果】斑须蝽共生菌种类丰富, 共注释到 14 门 29 纲 60 目 109 科 165 属。从门(phylum)、纲(class)、目(order)、科(family)、属(genus)、种(species) 6 个微生物分类水平分析可知, 只有奇异球菌门(*Deinococcota*)和奇异球菌纲(*Deinococci*)是雄性特有的; 而绿屈挠菌门(*Chloroflexi*)、脱硫杆菌门(*Desulfobacterota*)、蓝菌门(*Cyanobacteria*)、色球藻纲(*Cyanobacteriia*)、乳杆菌属(*Lacticaseibacillus*)、肌氨酸酐水解谷氨酸杆菌 (*Glutamicibacter creatinolyticus*)、不动杆菌 (*Acinetobacter*) 和类干酪乳杆菌 (*Lacticaseibacillus paracasei*)则是雌性特有的。研究发现, 在不同分类阶元中, 雄性在黏质沙雷氏菌(*Serratia marcescens*)中的数量显著高于雌性。在雌雄肠道中, γ -变形菌纲(*Gammaproteobacteria*)的含量分别为 51.223% 和 95.512%; 肠杆菌目(*Enterobacterales*)的占比分别为 49.784% 和 95.492%; 耶尔辛氏菌科(*Yersiniaceae*)的占比分别为 2.385% 和 10.377%; 沙雷氏菌属在雌性和雄性中的占比分别为 2.383% 和 10.372%; 黏质沙雷氏菌在雌性和雄性中的占比分别为 2.310% 和 10.375%。经过形态学和 16S rRNA 基因鉴定的 28 株体外分离的菌均属于沙雷氏菌属(*Serratia*)。

资助项目: 中国烟草总公司湖南省科技项目(HN2024KJ06, CZYC2023JS06)

This work was supported by the Science and Technology Project of Hunan Province, China Tobacco Corporation (HN2024KJ06, CZYC2023JS06).

*Corresponding author. E-mail: xuxiaoxia111@scau.edu.cn

Received: 2024-12-12; Accepted: 2025-01-07; Published online: 2025-03-10

【结论】斑须蝽雌雄成虫的肠道微生物组成存在显著差异。雄性成虫的肠道微生物多样性显著高于雌性成虫，并且表现出性别二态性。通过体外分离的菌株均属于沙雷氏菌属。这为研究斑须蝽雌雄成虫的肠道微生物潜在功能及斑须蝽的生物防治提供了理论支持。

关键词：斑须蝽；16S rRNA 基因；肠道微生物；雌虫；雄虫

Gut microbiota differences between female and male adults of *Dolycoris baccarum*

LIU Dongjie¹, LI Hao¹, QIU Mingyan¹, ZHANG Yingxin¹, HUANG Sunbin¹, LIU Haoyu¹,
XIAO Yansong², LIU Ting², JIN Fengliang¹, XU Xiaoxia^{1*}

1 State Key Laboratory of Green Pesticide, College of Plant Protection, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong, China

2 Hunan Tobacco Company Chenzhou City Company, Chenzhou, Hunan, China

Abstract: Insects have a mutually dependent symbiotic relationship with their gut microbiota, which plays an important role in the insect metabolism, immunity, development, and pesticide resistance. Gut microbiota is influenced by factors such as diet, sex, and rearing environment. Currently, little is known about the gut microbiota differences between males and females of the phytophagous insect *Dolycoris baccarum*. **[Objective]** To study the effects of sex on the composition and abundance of gut microbiota in *D. baccarum*, explore sex-related microorganisms, and provide a basis for utilizing different sex-associated strains in the biocontrol of *D. baccarum*. **[Methods]** The PacBio platform was used for third-generation 16S rRNA gene amplicon sequencing and the bioinformatics analysis was performed to reveal the diversity and composition of gut microbiota in male and female *D. baccarum*. The bacterial isolation and culture method was employed to obtain gut microbiota strains from *D. baccarum*, which were then identified by morphological analysis and 16S rRNA gene sequencing. **[Results]** The gut microbiota of *D. baccarum* was diverse, including a total of 165 genera belonging to 109 families, 60 orders, 29 classes of 14 phyla. The gut microbiota was analyzed at six taxonomic levels (phylum, class, order, family, genus, and species). Only the phylum *Deinococcota* and the class *Deinococci* were specific to males, while the phyla *Chloroflexi*, *Desulfobacterota*, and *Cyanobacteria*, the class *Cyanobacteriia*, the genus *Lacticaseibacillus*, and the species *Glutamicibacter creatinolyticus*, *Acinetobacter*, and *Lacticaseibacillus paracasei* were specific to females. The relative abundance of *Serratia marcescens* was significantly higher in males than in females. In the guts of females and males, the relative abundance of *Gammaproteobacteria*, *Enterobacterales*, *Yersiniaceae*, *Serratia*, and *S. marcescens* was 51.223% and 95.512%, 49.784% and 95.492%, 2.385% and 10.377%, 2.383% and 10.372%, and 2.310% and 10.375%, respectively. All 28 strains isolated *in vitro* and identified based on morphological characteristics and 16S rRNA sequences belonged to *Serratia*. **[Conclusion]** There are significant differences in the gut microbiota composition between male and

female *D. baccarum*. The diversity of gut microbiota in male adults of *D. baccarum* is significantly higher than that in female adults. All strains isolated belong to *Serratia*. This study provides theoretical support for investigating the potential functions of gut microbiota in male and female *D. baccarum* as well as for the biocontrol of *D. baccarum*.

Keywords: *Dolycoris baccarum*; 16S rRNA gene; gut microbiota; female insect; male insect

斑须蝽(*Dolycoris baccarum*), 属于半翅目(Hemiptera) 蝽科(Pentatomidae) 蝽亚科(Pentatominae), 也被称为花大姐, 广泛分布于亚洲和欧洲各国^[1]。斑须蝽对多种农作物造成危害, 包括大豆、棉花、芝麻、胡萝卜、小麦、烟草和水稻^[2]。成虫和若虫均以刺吸式口器在茎叶上刺吸植物汁液, 导致被刺部位出现黄褐色小斑。特别是其唾液对植物组织具有破坏作用, 阻碍糖类的正常代谢和同化, 进而导致叶片凋萎下垂, 影响农作物的产量和质量。近年来, 研究者们集中研究温度^[3]、光周期^[4]等外部环境因素对斑须蝽生理状况的影响, 以及化学防治效果^[5]。截至目前, 国内外仅有王琪等报道了一篇关于斑须蝽肠道菌的分离鉴定产纤维素酶菌株的筛选与酶活力测定的研究^[6]。然而, 关于斑须蝽雌雄个体肠道菌群多样性的研究尚未见报道。

昆虫消化道内的所有微生物统称为昆虫肠道菌群。关于昆虫肠道菌的研究在环境科学^[7]和农业等领域的经济开发中具有重要意义^[8]。肠道菌主要通过促进宿主必要营养的代谢、分解和中和毒素、提高免疫力、抵御病原体、抵抗不良环境和调节宿主激素信号等方式, 促进宿主的生长与发育^[9]。同时, 肠道共生菌可能对宿主产生一些负面影响。例如, 果蝇的共生菌醋酸杆菌(*Acetobacter*)、植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)会抑制果蝇的产卵^[10]。生物防治技术可以靶向清除昆虫体内必需的微生物群, 从而净化害虫种群^[11]。因此, 清楚了解害虫肠道微生物的种类和丰度尤为重要。

研究发现, 在大多数生物中, 性别是影响宿主体内微生物的重要因素。例如, 不同性别的桔小实蝇(*Bactrocera dorsalis*)肠道内微生物含

量显著不同。肠杆菌科(*Enterobacteriaceae*)细菌在雌性肠道中的含量高于雄性, 但总体而言, 雌性桔小实蝇的肠道内菌群多样性低于雄性^[12]。在门水平上, 大鼠肠道微生物以厚壁菌门(*Firmicutes*)和拟杆菌门(*Bacteroidota*)为主, 雄性大鼠肠道内厚壁菌门的相对丰度高于雌性, 而拟杆菌门的相对丰度则低于雌性^[13]。雌雄飞蛾生殖系统内乳酸杆菌属(*Lactobacillus*)存在显著差异, 在雌性生殖系统中含量显著高于雄性, 研究表明乳酸杆菌属在生殖过程中具有较大作用^[14]。雌性家蚕(*Bombyx mori*)与雄性相比, 雌性肠道内肠杆菌科(*Enterobacteriaceae*)丰度较低, 而葡萄球菌科(*Staphylococcaceae*)的丰度则显著高于雄性^[15]。不同性别的大熊猫(*Ailuropoda melanoleuca*)肠道中存在不同的微生物, 这导致雌雄大熊猫的抵抗力有所不同^[16]。海灰翅夜蛾(*Agrotis ipsilon*)的雌雄体内细菌存在显著差异。雌性成虫中肠球菌(*Enterococcus*)、克雷伯菌(*Klebsiella*)和泛氏菌(*Pantoea*)的比例较高, 这些细菌在能量代谢中发挥重要作用。相比之下, 雄性成虫体内克雷伯菌的含量较高, 该菌在细胞复制和修复过程中也具有重要作用^[17]。雌性凹唇壁蜂(*Osmia rufa*)在各个发育时期的肠道微生物与雄性可能存在差异^[18]。然而, 至今尚未有研究报道斑须蝽雌雄成虫肠道微生物的差异。基于此, 本研究采用第三代 16S rRNA 基因扩增子测序技术, 获得了斑须蝽雌雄肠道中的细菌多样性数据。我们探究其菌群结构, 并进行对比分析, 以期为研究不同性别斑须蝽的肠道微生物功能、性别特异性微生物组以及斑须蝽的生物防治提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫和培养基的配制

供试昆虫采自在湖南郴州的烟草种植基地。

LB 液体培养基(g/L): 胰蛋白胨 20.0, 酵母粉 10.0, 氯化钠 20.0; EB 液体培养基(g/L): 胰蛋白胨 20.0, 酵母粉 30.0, 氯化钠 10.0, 葡萄糖 20.0, 牛肉浸粉 6.0; NA 液体培养基(g/L): 胰蛋白胨 20.0, 牛肉浸粉 6.0, 氯化钠 10.0。LB、EB 和 NA 固体培养基分别添加 1.5% 的琼脂。

1.2 肠道菌的体外培养

为排空其体内食物和粪便, 首先将供试昆虫饥饿 24 h。随后, 随机选取 3 只身体健康、大小一致的斑须蝽, 放入 4 °C 的冰箱中冷冻 10 min, 取出后用 75% 乙醇洗涤 3 次, 以去除表面杂质。接着, 用磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)洗涤 3 次, 确保虫体表面清洁。之后, 对昆虫进行解剖, 获取肠道, 并将其置于 1.5 mL 离心管中, 使用电动研磨棒对肠道组织进行充分研磨, 直至无法看见组织结构。将研磨后的组织液 3 000 r/min 离心 5 min 后, 吸取上清液并转移至新的 1.5 mL 离心管中, 备用。

分别吸取 5 mL 的 LB、EB 和 NA 液体培养基到已灭菌的 15 mL 离心管中, 随后, 各取 200 μ L 原液分别转移至 3 种液体培养基中。待溶液充分混匀后, 将其置于恒温振荡培养箱中, 分别在 30 °C 和 37 °C 下 200 r/min 培养 12 h。分别取 100 μ L 过夜培养的菌液, 加入装有 900 μ L 相应液体培养基或磷酸盐缓冲液(PBS)的 2 mL 离心管中, 混匀后再吸取 100 μ L 菌液至下一个装有 900 μ L 相应液体培养基或 PBS 的 2 mL 离心管中, 重复上述步骤, 直至获得倍比稀释 10^1 – 10^9 的菌液。接着, 分别取 100 μ L 倍比稀释至 10^5 – 10^9 倍的菌液接种于 LB、EB 和 NA 固体培养基上, 每个浓度涂布 3 个平板, 并做好标记。将平板置于 37 °C 的细菌专用恒温培养箱中培养 48 h。使用接种环挑取形态特征不一致的单菌落, 采用平板划线法进行纯化培养, 从而

分离得到细菌。每 48 h 进行 1 次纯化, 总共纯化 5 代。取最后一次纯化培养的菌板进行观察, 并拍照记录各菌板的菌落形态。

1.3 肠道菌的测定

从斑须蝽的雄性成虫和雌性成虫各取 8 头个体。首先, 将这些昆虫置于饥饿状态 24 h, 随后将其放入 4 °C 冰箱中冷冻 10 min。取出后, 使用 75% 乙醇溶液对虫体进行 3 次洗涤, 以去除表面杂质。接着, 用磷酸盐缓冲液(PBS)再洗涤 3 次, 彻底去除虫体表面残留的乙醇。完成洗涤后, 对昆虫进行解剖, 分离并收集肠道组织, 解剖过程中使用的组织匀浆缓冲液为磷酸盐缓冲液(PBS)。解剖得到的雄性和雌性肠道分别进行标记并保存备用。每组选取 5 个样本用于后续检测, 另外 3 个样本作为备用。所有样本在处理过程中迅速用液氮进行冷冻处理, 并贴上标签后存入–80 °C 冰箱中, 以确保样本的稳定性和完整性。在进行样本处理的同时, 按照粪便/土壤基因组 DNA 提取试剂盒(南京诺唯赞生物科技股份有限公司)的说明提取斑须蝽肠道内的细菌总 DNA。将得到的总 DNA 样本置于–80 °C 冰箱中保存, 以备后续实验使用。

1.4 建库测序

以提取的 DNA 为模板, 根据全长引物序列合成带有 barcode 的特异性引物。雌雄斑须蝽肠道微生物采用 16S rRNA 基因扩增子测序前引物(中间为 barcode)(5'-CTACACGACGCTCTTCCGATCTGATCGAGTCAAGRGTTYGATYMTGGCTCAG-3')和后引物(中间为 barcode)(5'-AAGCAGTGGTATCAACCAGAGTCATCGACGTRGYTACCTTGTTACGACTT-3')进行 PCR 扩增。PCR 反应体系(25 μ L): 2 $\times$ KAPA HiFi HotStart ReadyMix 12.5 μ L, 上、下游引物(10 μ mol/L)各 1.0 μ L, DNA 模板 0.5 μ L, ddH₂O 10 μ L, 4 °C、1 000 r/min 离心 30 s 后进行 PCR 反应。PCR 反应条件: 95 °C 预变性 3 min; 95 °C 变性 20 s, 57 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 75 s, 30 个循环; 72 °C 终

延伸 5 min。反应完成后对产物进行纯化、定量和均一化,以形成测序文库(SMRT bell)。建好的文库首先进行质检,质检合格的文库使用 PacBio 进行测序。下机数据为 bam 格式,通过 smrtlink 分析软件导出 CCS 文件,根据 barcode 序列识别不同样品的数据,并转换为 fastq 格式。以上工作委托康圣序源生物科技(武汉)有限公司完成。

1.5 生物多样性分析

在对样品进行全长微生物多样性扩增测序后,获得了高质量的 HiFi 数据。首先对原始测序序列进行质量控制,包括低质量过滤和长度过滤,以确保数据的准确性和可靠性,从而得到高质量的测序序列。随后,对 HiFi 序列进行聚类与去噪处理,并划分 OTUs/ASVs (以下统称为 Feature)。基于 Feature 的序列组成,进行物种分类分析。

基于特征分析结果,对样品在各个分类水平上进行了全面的分类学分析,包括门、纲、目、科、属、种等分类学水平。通过这一分析,获得了各样品在不同分类水平上的群落结构图、物种聚类热图、分类学水平系统发育树及分类学树状图,为后续研究提供了丰富的基础数据。

在物种多样性分析方面,通过 α 多样性分析,研究单个样品内部的物种多样性。具体而言,统计了各样品的 ACE、Chao1、Shannon 及 Simpson 指数,并绘制了样品稀释曲线及丰度等级曲线,以直观展示样品的物种丰富度和多样性。此外,通过 β 多样性分析,比较不同样品在物种多样性(包括群落组成及结构)方面存在的差异,进一步揭示样品间的生态学关系。

1.6 主坐标分析法和非度量多维标定法

主坐标分析法(principal coordinates analysis, PCoA)是一种降维排序方法,用于分析各个样品之间的差异。该方法将不同样品表示为不同的点,使这些点之间的欧氏距离的平方正好等于原始的差异数据,从而实现定性数据的定量转换。通过主坐标分析,可以对多个样品进行分类,并进一步展示样品间的物种多样性差异。

非度量多维标定法(non-metric multidimensional scaling, NMDS)是一种适用于生态学研究的排序方法。该方法主要通过将多维空间的研究对象(样本或变量)简化到低维空间进行定位、分析和归类,同时保留对象间原始关系的数据分析方法。与 PCoA 类似, NMDS 通过样本的分布可以展示组间或组内的差异。点与点之间的距离表示差异程度,当 stress 值小于 0.2 时,表明 NMDS 分析具有一定的可靠性。在坐标图上,距离越近的样品,相似性越高。

1.7 多响应置换过程分析法

多响应置换过程分析法(multi-response permutation procedures, MRPP)也称为相似性分析。MRPP 通过比较组内和组间的距离来评估组之间的差异。该方法计算每个组内样本之间的平均距离,并将其与组间样本距离进行比较。使用置换方法生成在 0 假设下的距离分布,计算 A 值及相应的 P 值。MRPP 主要用于分析多维数据组间相似性的统计方法,基于 Bray-Curtis 距离的参数检验,旨在分析组间微生物群落结构差异的显著性。

2 结果与分析

2.1 测序数据质控结果

按雌雄性别分为 2 个实验组(F/M),每个实验组分别进行 5 次重复实验(F1-F5/M1-M5),共完成 10 个样品的多样性测序。测序结果表明,共获得 359 541 条全长序列。每个样品至少产生 32 995 条全长序列,平均产生 35 954 条全长序列。样品测序数据经过质控和去噪处理后,得到的 clean reads 数据统计结果如表 1 所示。

2.2 稀疏性曲线及等级丰度曲线分析

稀疏性曲线(rarefaction curve)作为判断各样本测序量是否充分的依据。雌雄两组及各个样本的稀疏曲线均随着抽取序列数量的增加而逐渐趋于平缓,说明样本测序量充足,可以进行数据分析(图 1A、1B)。等级丰度曲线(rank

表1 样品测序数据评估统计

Table 1 Sample sequencing data assessment statistics

Sample ID	Raw reads	Clean reads	Effective reads	Effective rate (%)	Average length	G+C (%)	Q20 (%)	Q30 (%)
M	36 382	36 382	35 817	98.45	1 472	54.26	96.66	91.95
F	35 526	35 526	35 190	99.05	1 463	55.40	96.58	91.82

Average length: 有效读长平均长度; G+C (%): 有效读长G+C含量; Q20 (%): 质量值高于Q20的有效读长比例; Q30 (%): 质量值高于Q30的有效读长比例。

Average length: Average length of effective reads; G+C (%): G+C content of effective reads; Q20 (%): Proportion of effective reads with a quality score above Q20; Q30 (%): Proportion of effective reads with a quality score above Q30.

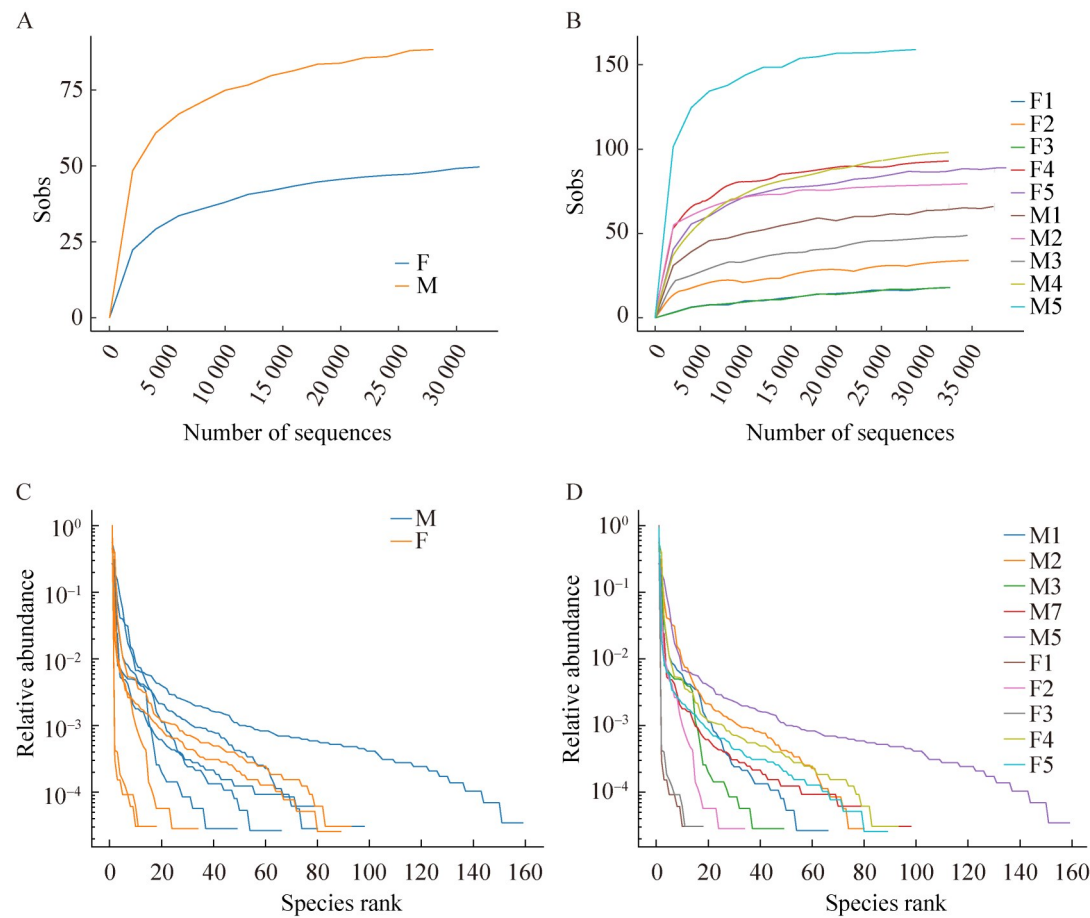


图1 稀疏性曲线及等级丰度曲线。A: 雌雄组稀释性曲线; B: 各试验个体稀释性曲线; C: 雌雄组等级丰度曲线; D: 各试验个体等级丰度曲线(F: 雌性; M: 雄性; F1-F5: 雌性重复个体; M1-M5: 雄性重复个体)。

Figure 1 Rarefaction curve and rank abundance curves. A: Dilution curves of male and female groups; B: Dilution curves of individual test subjects; C: Rank abundance curves of male and female groups; D: Rank abundance curves of individual test subjects (F: Female; M: Male; F1-F5: Female replicate individuals; M1-M5: Male replicate individuals).

abundance curve)的物种丰富度由曲线在横轴上的长度来反映, 曲线越宽, 表示物种组成越丰富; 物种组成的均匀度由曲线的形状来反映, 曲线越平坦表示物种组成的均匀程度越高。雄性组在横轴的长度高于雌性组, 表明雄虫体内微生物的丰富度高于雌虫(图 1C、1D)。

2.3 韦恩图分析

通过韦恩图分析对斑须蝽雌雄成虫的肠道微生物种类进行了比较。结果显示, 雌性成虫和雄性成虫的肠道微生物种类总数为 280。两性成虫共有的肠道微生物种类数为 86, 雌性成虫的肠道微生物种类数为 125, 占两性成虫肠道微生物总数的 44.6%。雄性成虫的肠道微生物种类数为 241, 占两性成虫肠道微生物总数的 86.1%。可观察到, 雌雄成虫肠道微生物种类的差异性大于相似性, 雄性成虫的肠道微生物种类较雌

性成虫更为丰富(图 2A、2B)。

2.4 两性成虫的肠道菌群 α 多样性分析

样本 α 多样性指数统计结果如表 2 所示。ACE 指数(图 3A)和 Chao1 指数(图 3B)用于衡量物种丰富度, 即物种数量的多少。数值越大说明物种丰富度越高。Shannon 指数(图 3C)和 Simpson 指数(图 3D)用于衡量物种多样性, 其数值越大表示物种多样性越高。本研究中, 样品的覆盖率(coverage)均在 0.996 以上(雌性为 0.998, 雄性为 0.997), 这表明测序结果具有较高的可靠性和完整性, 能够较好地反映样本的

表2 样本 α 多样性指数统计表

Table 2 Sample alpha diversity index statistics

Gender	Shannon	Simpson	ACE	Chao1	Coverage
F	0.504	0.196	60.073	60.371	0.998
M	1.479	0.547	98.599	100.134	0.997

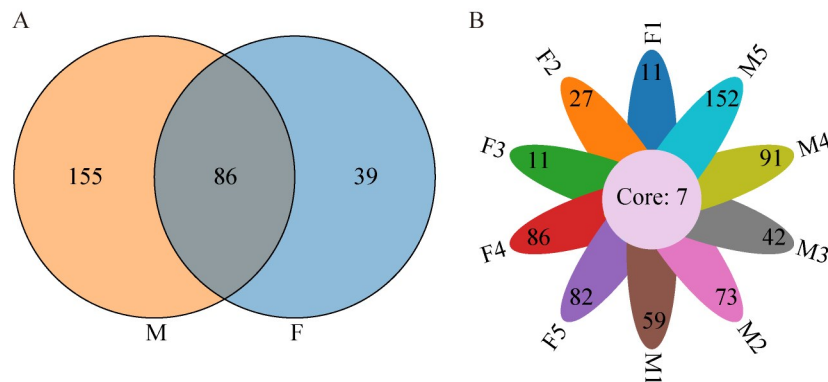


图2 雌雄两组肠道微生物群落图。A: 雌雄两组微生物群落的韦恩图(橙色区域表示雄性特有的菌群数量, 蓝色区域表示雌性特有的菌群数量, 阴影区域表示雌雄共有的菌群数量); B: 各个样本微生物群落的花瓣图(不同椭圆的颜色代表不同的分组, 重叠部分表示分组共有的菌群数量, 而非重叠部分则表示分组特有的菌群数量)。F: 雌性; M: 雄性; F1-F5: 雌性个体; M1-M5: 雄性个体。

Figure 2 The gut microbiota community profiles of male and female groups. A: Venn diagram depicting the microbial communities between male and female groups (The orange section denotes the number of microbial species that are unique to males; The blue section indicates the number of microbial species unique to females; The shaded section represents the microbial species that are shared by both sexes); B: A petal diagram of the microbial community composition for each sample, with the colors of the various ellipses corresponding to different groups (The overlapping sections highlight the number of microbial species shared among the groups; The non-overlapping sections signify the microbial species unique to each group). F: Females; M: Males; F1-F5 and M1-M5 denote individual female and male subjects, respectively.

真实情况。在比较雌雄成虫肠道微生物的 α 多样性指数时, 结果显示雄性的 ACE 指数和 Chao1 指数显著高于雌性, 这表明雄性成虫肠道微生物的丰富度高于雌性。同时, 雄性的 Shannon 指数和 Simpson 指数也显著高于雌性成虫, 这进一步表明雄性成虫肠道微生物的多样性高于雌性成虫(图 3)。这一发现揭示了斑须蝽雌雄成虫肠道微生物在物种丰富度和多样性方面的显著差异, 为后续研究提供了重要的基础数据。

2.5 主坐标分析(PCoA)和非度量多维标度(NMDS)

在对斑须蝽雌雄成虫肠道微生物进行分析时, PCoA 分析图显示, 第一主成分的贡献率为 79.03%, 第二主成分的贡献率为 9.45%。图 4 中蓝色各点与橙色各点间距离较远, 表明斑须蝽雌雄成虫的肠道微生物存在差异。此外, 物种丰度聚类热图结果也进一步证实了这一

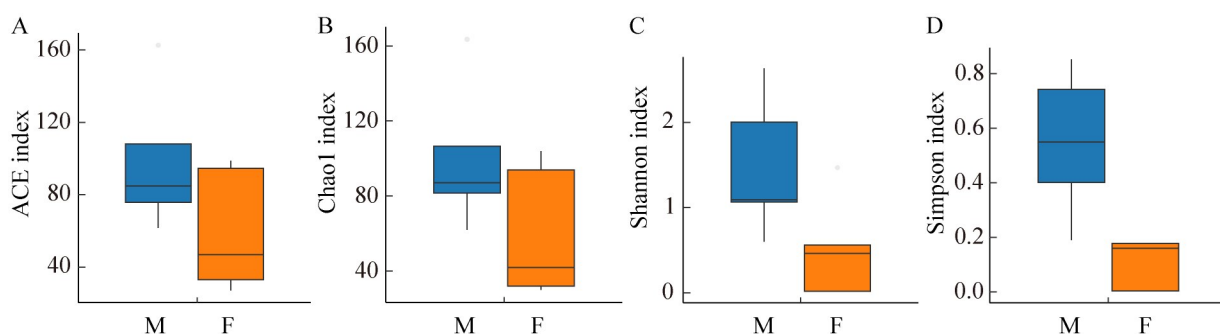


图3 α 多样性指数箱线图。 A: ACE指数箱线图; B: Chao1指数箱线图; C: Shannon指数箱线图; D: Simpson指数箱线图。箱的上下端线: 上下四分位数; 中位线: 中位数; 上下边缘: 最大最小内围值。
Figure 3 Boxplot of alpha diversity indices. A: ACE index boxplot; B: Chao1 index boxplot; C: Shannon index boxplot; D: Simpson index boxplot. The upper and lower ends of the box: Upper and lower quartiles; Median line: Median; Upper and lower edges: Maximum and minimum inner values.

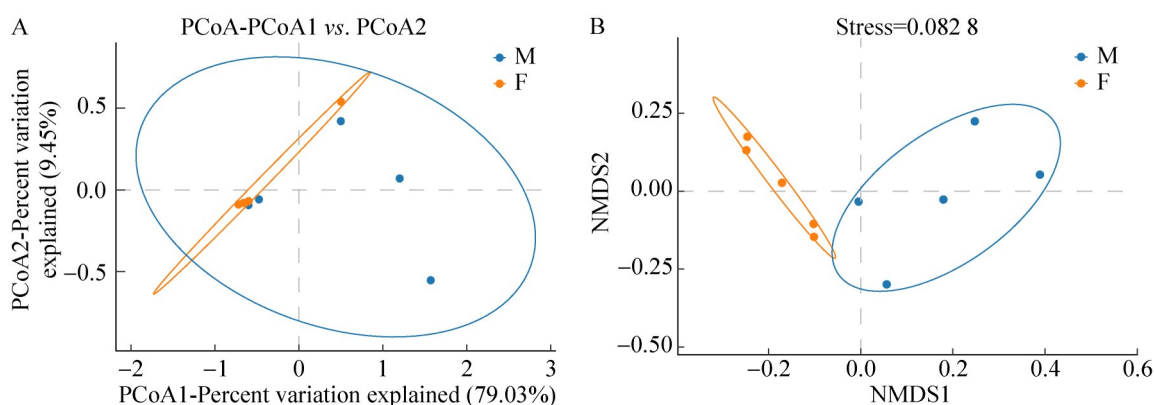


图4 雌雄肠道微生物PCoA和NMDS分析图。 A: PCoA分析图; B: NMDS分析图。椭圆形圈: 95%置信椭圆(即该样本组假如有100个样本会有95个落在其中)。

Figure 4 PCoA and NMDS analysis plots of gut microbiota in males and females. A: PCoA analysis plot; B: NMDS analysis plot. Elliptical circles: 95% confidence ellipses (indicating that if there were 100 samples in this group, 95 would fall within the ellipse).

点。在热图中, 雄虫 M1-M5 位于横轴的左半部分, 雌虫 F1-F5 位于横轴右半部分, M1-M5 所在纵轴中红色比例高于 F1-F5, 表明雄虫体内菌群丰富度高于雌虫(图 5)。这些结果共同揭示了斑须蝽雌雄成虫肠道微生物组成的差异性。

2.6 多响应置换过程(MRPP)分析

MRPP 分析结果显示 A 值为 0.068, 大于 0, 且实际观测到的组内平均相异度(observed delta)值为 0.592, 小于预期的组内平均相异度(expected delta)值 0.636, 表明组间差异大于组内差异。 P 值为 0.046, 小于 0.05, 表明雌雄两组

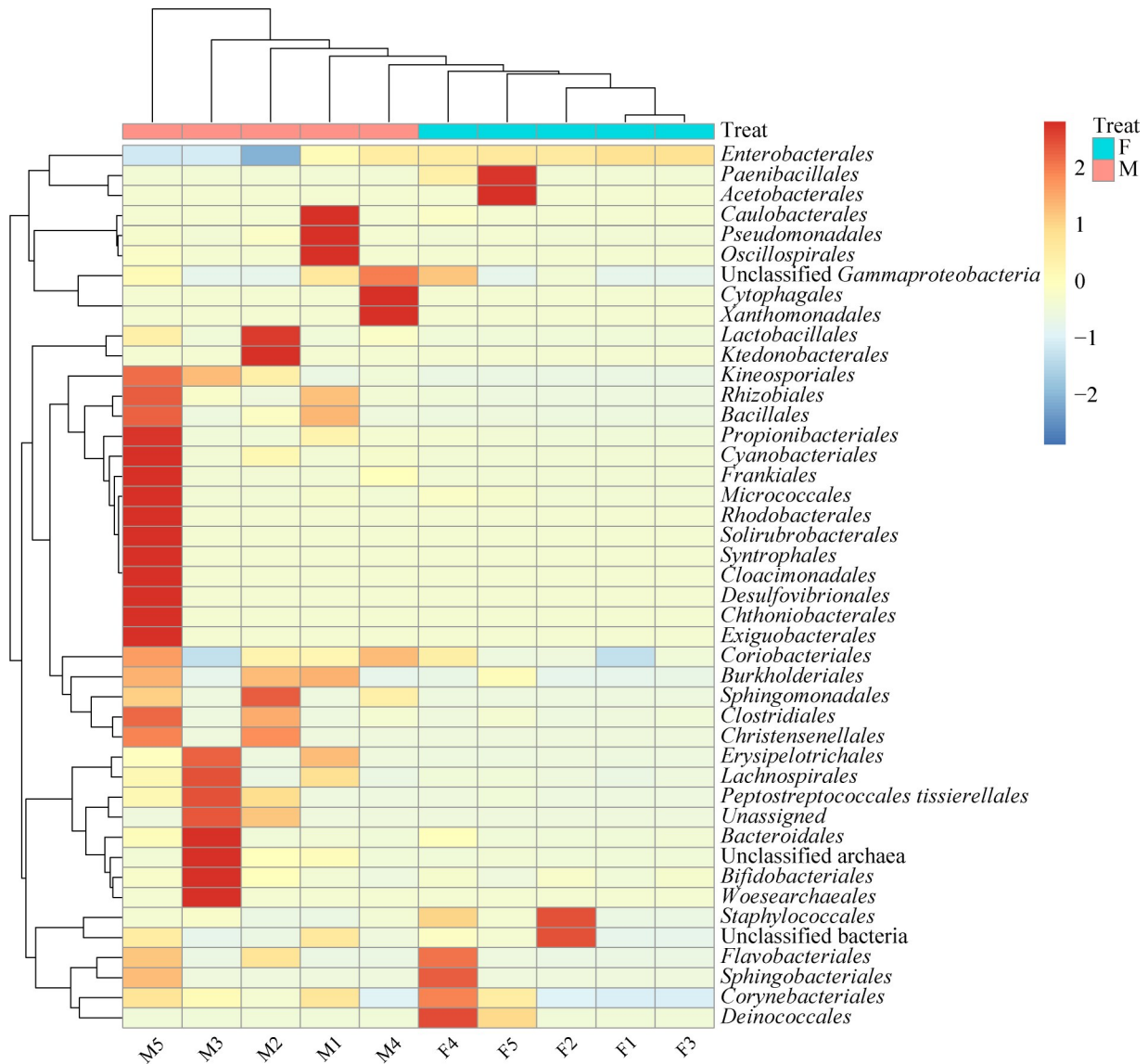


图5 雌雄成虫肠道菌物种丰度聚类热图。左侧的聚类树: 物种聚类树; 上方的聚类树: 样品聚类树; 热图颜色梯度从蓝色到红色: 某个物种在不同样品间相对比例由低到高。

Figure 5 Cluster heatmap of gut microbial species abundance in male and female adults. Left clustering tree: Species clustering tree; Upper clustering tree: Sample clustering tree; Color gradient of the heatmap from blue to red: The relative abundance of a particular species across different samples ranging from low to high.

间肠道微生物组成具有显著差异。

2.7 两性成虫肠道微生物的物种组成分析

通过对样本进行高通量测序分析, 从门(phylum)、纲(class)、目(order)、科(family)、属(genus)、种(species) 6 个微生物分类水平进行分

析。结果如图 6 所示, 两性成虫肠道微生物组成存在显著差异, 且雄性成虫的物种丰度高于雌性成虫。

在门水平上, 丰度前 10 的微生物包括变形菌门(*Proteobacteria*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)、未分类的古细菌门(*Candidatus archaea incertae*

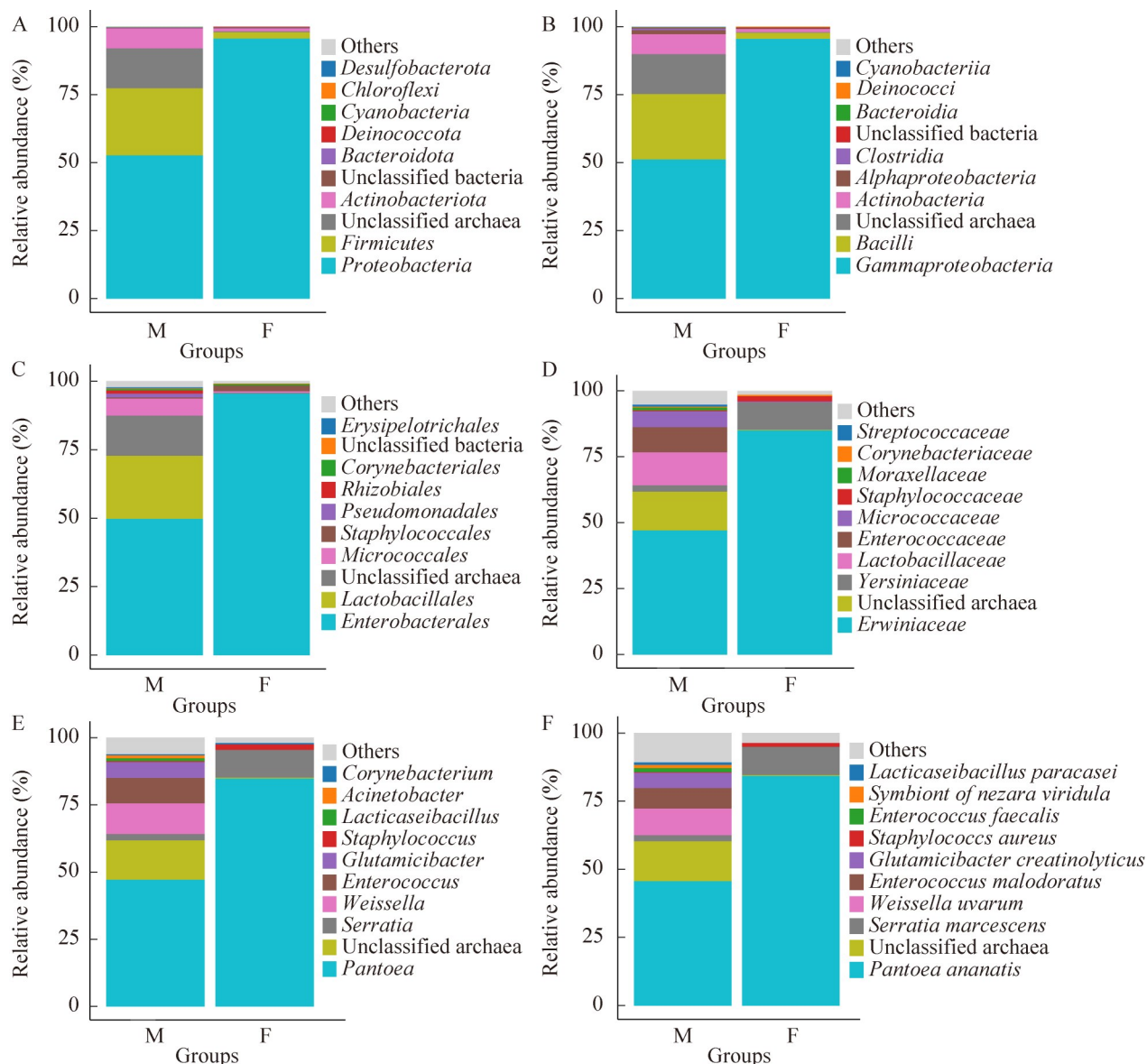


图6 不同分类元水平菌群含量图。A: 门水平; B: 纲水平; C: 目水平; D: 科水平; E: 属水平; F: 种水平。

Figure 6 Abundance plots of microbial communities across various taxonomic levels. A: Phylum level; B: Class level; C: Order level; D: Family level; E: Genus level; F: Species level.

sedis)、放线菌门(*Actinobacteriota*)、未分类菌门(*Candidatus bacteria incertae sedis*)、拟杆菌门(*Bacteroidota*)、奇异球菌门(*Deinococcota*)、蓝菌门(*Cyanobacteria*)、绿屈挠菌门(*Chloroflexi*)和脱硫杆菌门(*Desulfobacterota*)。尽管二者的肠道菌群均包含变形菌门、厚壁菌门、未分类的古菌门、放线菌门、未分类菌门和拟杆菌门,但它们在组成和相对丰度上存在差异。雌性和雄性的第一优势种群均为变形菌门,然而雄性中该门的含量(95.681%)远高于雌性(52.704%)。第二优势种群均属厚壁菌门,雄性中的含量(2.324%)低于雌性(24.639%)。其他菌门物种的丰度较小,但雌雄之间仍存在差异。值得注意的是,雄性成虫的肠道内含有少量奇异球菌门(0.141%),而雌性成虫的肠道内则未检测到。此外,在雌性成虫的肠道内检测到少量蓝菌门(0.054%)、绿屈挠菌门(0.041%)和脱硫杆菌门(0.021%),而雄性肠道内则未检测到(表 3)。

在纲水平上,物种丰度前 10 的包括 γ -变形菌纲(*Gammaproteobacteria*)、杆菌纲(*Bacilli*)、未分类古细菌纲(*Unclassified archaea*)、放线菌纲(*Actinobacteria*)、 α -变形杆菌纲(*Alphaproteobacteria*)、梭菌纲(*Clostridia*)、未分类纲(*Candidatus classis incertae sedis*)、拟杆菌纲(*Bacteroidia*)、奇异球菌纲(*Deinococci*)和色球藻纲(*Cyanobacteriia*)。除雄性独有的奇异球菌纲

外,二者在纲水平上的优势种群相同,但相对丰度不同。 γ -变形菌纲在雌雄肠道中的含量分别为 51.223% 和 95.512%,雄性显著高于雌性。杆菌纲在雌性肠道中含量为 23.981%,雄性为 2.264%。未分类古细菌纲在雌雄肠道微生物的占比分别为 14.665% 和 0.262%,雌性显著高于雄性。放线菌纲、 α -变形杆菌纲、梭菌纲、拟杆菌纲在雌性成虫肠道中的相对含量分别为 7.373%、1.471%、0.657% 和 0.242%,而雄性肠道中的含量则分别为 1.156%、0.162%、0.064% 和 0.141%,均低于雌性。未分类纲在雄性肠道中的相对含量为 0.282%,略高于雌性的 0.214%(表 4)。

两性成虫目水平丰度前 10 的种群包括:肠杆菌目(*Enterobacterales*)在雌雄成虫肠道微生物中的占比分别为 49.784% 和 95.492%,雄性显著高于雌性;乳杆菌目(*Lactobacillales*)在雌雄成虫肠道微生物中的占比分别为 23.017% 和 0.021%,雌性显著高于雄性;未分类古细菌目(*Candidatus Ordo incertae sedis archaea*)、微球菌目(*Micrococcales*)、假单胞菌目(*Pseudomonadales*)、根瘤菌目(*Rhizobiales*)、棒状菌目(*Corynebacterales*)和丹毒丝菌目(*Erysipelotrichales*)在雌性肠道微生物中的占比分别为 14.661%、6.295%、1.350%、1.175%、0.596% 和 0.417%,均高于雄性的 0.263%、

表3 雌雄成虫肠道内门水平样本物种含量

Table 3 Phylum-level species abundance in the intestines of male and female adults

Phylum name	Proportion in females (%)	Proportion in males (%)
<i>Proteobacteria</i>	52.704	95.681
<i>Firmicutes</i>	24.639	2.324
Unclassified archaea	14.634	0.232
<i>Actinobacteriota</i>	7.309	1.135
<i>Candidatus bacteria incertae sedis</i>	0.210	0.289
<i>Bacteroidota</i>	0.245	0.145
<i>Deinococcota</i>	0.000	0.141
<i>Cyanobacteria</i>	0.054	0.000
<i>Chloroflexi</i>	0.041	0.000
<i>Desulfobacterota</i>	0.021	0.000

表4 雌雄成虫肠道内纲水平样本物种含量

Table 4 Class-level species abundance in the intestines of male and female adults

Class name	Proportion in females (%)	Proportion in males (%)
<i>Gammaproteobacteria</i>	51.223	95.512
<i>Bacilli</i>	23.981	2.264
Unclassified archaea	14.665	0.262
<i>Actinobacteria</i>	7.373	1.156
<i>Alphaproteobacteria</i>	1.471	0.162
<i>Clostridia</i>	0.657	0.064
<i>Candidatus classis incertae sedis</i>	0.214	0.282
<i>Bacteroidia</i>	0.242	0.141
<i>Deinococci</i>	0.000	0.142
<i>Cyanobacteriia</i>	0.053	0.000

0.206%、0.009%、0.046%、0.492% 和 0.002%；葡萄球菌目(*Staphylococcales*)在雌性中的占比为 0.341%，低于雄性的 2.035%；未分类细菌目(*Candidatus Ordo incertae sedis bacteria*)在雌性肠道微生物中的占比为 0.217%，低于雄性的 0.283% (表 5)。

雌雄成虫肠道微生物在科水平上含量最多的 10 类包括：欧文菌科(*Erwiniaceae*)，在雌性肠道微生物中占比为 47.151%，远低于雄性的 85.028%；未分类古细菌科(*Candidatus Familia incertae sedis archaea*)在雌性肠道微生物中的占比为 14.660%，显著高于雄性的 0.265%；耶尔辛氏菌科(*Yersiniaceae*)在雌性肠道微生物中的占比为 2.385%，显著低于雄性的 10.377%；乳酸菌科(*Lactobacillaceae*)、肠球菌科(*Enterococcaceae*)和微球菌科(*Micrococcaceae*)在雌性肠道微生物中的占比分别为 12.520%、9.482% 和 6.063%，均显著高于雄性的 0.017%、0.005% 和 0.310%；葡萄球菌科(*Staphylococcaceae*)在雌性肠道微生物中的占比为 0.341%，低于雄性的 2.035%；莫拉氏菌科(*Moraxellaceae*)在雄性肠道微生物中的占比仅为 0.006%，而在雌性中的占比为 1.041%；棒状杆菌科(*Corynebacteriaceae*)在雌雄肠道微生物中的占比差异较小，分别为 0.415% 和 0.495%；链球菌科(*Streptococcaceae*)在雌性肠道微生物中的占

比为 0.767%，而在雄性中的占比仅为 0.009%。总体来看，尽管雌雄肠道微生物的优势种群相同，但在丰度上存在较大差异(表 6)。

雌雄肠道微生物属的丰度前 10 种分别为：泛菌属(*Pantoea*)在雌性中的含量为 47.534%，远小于雄性的 84.911%；未分类古细菌属(*Candidatus uncultured archaeon*)在雌性和雄性中的占比分别为 14.663% 和 0.622%；沙雷氏菌属(*Serratia*)在雌性和雄性中的占比分别为 2.383% 和 10.372%；魏斯氏菌属(*Weissella*)在雌性和雄性中的占比分别为 11.440% 和 0.009%；肠球菌属(*Enterococcus*)在雌性和雄性中的占比分别为 9.480% 和 0.005%；谷氨酸杆菌属(*Glutamicibacter*)在雌性和雄性中的占比分别为 5.891% 和 0.001%；葡萄球菌属(*Staphylococcus*)在雌性和雄性中的占比分别为 0.342% 和 2.031%；乳杆菌属(*Lactocaseibacillus*)在雌性和雄性中的占比分别为 1.072% 和 0；不动杆菌属(*Acinetobacter*)在雌性和雄性中的占比分别为 1.030% 和 0.006%；棒状杆菌属(*Corynebacterium*)在雌性和雄性中的占比分别为 0.419% 和 0.491%。除乳杆菌属为雌性肠道独有外，其余 9 种为雌雄共有，但丰度水平差异显著(表 7)。

雌雄肠道微生物种水平丰度前 10 种分别为：菠萝泛菌(*Pantoea ananatis*)在雌性和雄性中

表5 雌雄成虫肠道内目水平样本物种含量

Table 5 Order-level species abundance in the intestines of male and female adults

Order name	Proportion in females (%)	Proportion in males (%)
<i>Enterobacterales</i>	49.784	95.492
<i>Lactobacillales</i>	23.017	0.021
<i>Candidatus</i> Ordo incertae sedis archaea	14.661	0.263
<i>Micrococcales</i>	6.295	0.206
<i>Staphylococcales</i>	0.341	2.035
<i>Pseudomonadales</i>	1.350	0.009
<i>Rhizobiales</i>	1.175	0.046
<i>Corynebacteriales</i>	0.596	0.492
<i>Candidatus</i> Ordo incertae sedis bacteria	0.217	0.283
<i>Erysipelotrichales</i>	0.417	0.002

表6 雌雄成虫肠道内科水平样本物种含量

Table 6 Family-level species abundance in the intestines of male and female adults

Family name	Proportion in females (%)	Proportion in males (%)
<i>Erwiniaceae</i>	47.151	85.028
<i>Candidatus</i> Familia incertae sedis archaea	14.660	0.265
<i>Yersiniaceae</i>	2.385	10.377
<i>Lactobacillaceae</i>	12.520	0.017
<i>Enterococcaceae</i>	9.482	0.005
<i>Micrococcaceae</i>	6.063	0.310
<i>Staphylococcaceae</i>	0.341	2.035
<i>Moraxellaceae</i>	1.041	0.006
<i>Corynebacteriaceae</i>	0.415	0.495
<i>Streptococcaceae</i>	0.767	0.009

表7 雌雄成虫肠道内属水平样本物种含量

Table 7 Genus-level species abundance in the intestines of male and female adults

Genus name	Proportion in females (%)	Proportion in males (%)
<i>Pantoea</i>	47.534	84.911
<i>Candidatus</i> uncultured archaeon	14.663	0.622
<i>Serratia</i>	2.383	10.372
<i>Weissella</i>	11.440	0.009
<i>Enterococcus</i>	9.480	0.005
<i>Glutamicibacter</i>	5.891	0.001
<i>Staphylococcus</i>	0.342	2.031
<i>Lactocaseibacillus</i>	1.072	0.000
<i>Acinetobacter</i>	1.030	0.006
<i>Corynebacterium</i>	0.419	0.491

的占比分别为 45.632% 和 84.341%；未分类古细菌(*Candidatus* uncultured archaeon)在雌性和雄性中的占比分别为 14.669% 和 0.265%；黏质沙雷

氏菌(*Serratia marcescens*)在雌性和雄性中的占比分别为 2.310% 和 10.375%；魏斯氏菌(*Weissella uvarum*), 在雌性和雄性中的占比分别为 9.715%

和 0.001%; 病 臭 肠 球 菌 (*Enterococcus malodoratus*) 在雌性和雄性中的占比分别为 7.520% 和 0.003%; 金 黄 色 葡 萄 球 菌 (*Staphylococcus aureus*) 在雌性和雄性中的占比分别为 0.291% 和 1.429%; 粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*) 在雌性和雄性中的占比分别为 1.473% 和 0.001%; 溶肌氨酸酞水解谷氨酸杆菌 (*Glutamicibacter creatinolyticus*)、不动杆菌 (*Acinetobacter baumannii*) 和类干酪乳杆菌 (*Lacticaseibacillus paracasei*) 均为雌性特有。雌性肠道微生物在种水平上既有独特微生物, 也有重叠微生物, 但在丰度水平上存在显著差异(表 8)。

2.8 细菌的体外分离

通过 EB、LB、NA 这 3 种培养基进行体外分离雌雄斑须蝽肠道菌, 分别提取菌株的 DNA, 并对其 16S rRNA 基因进行 PCR 扩增和测序。测序结果拼接后, 序列在 NCBI 网站的 BLAST 服务器上与 GenBank 进行同源比对。结果显示, 在 3 种培养基上分离到 28 株菌株。具体为: LB 培养基上雌性 5 株, 雄性 6 株; EB 培养基上雌性 3 株, 雄性 3 株; NA 培养基上雌性 6 株, 雄性 5 株。这些菌株均属于沙雷氏菌属(*Serratia*) (图 7)。此外, 基于斑须蝽肠道菌的 16S rRNA 基因序列构建了系统发育树(图 8)。

表8 雌雄成虫肠道内种水平样本物种含量

Table 8 Species-level abundance in the intestines of male and female adults

Order name	Proportion in females (%)	Proportion in males (%)
<i>P. ananatis</i>	45.632	84.341
<i>Candidatus uncultured archaeon</i>	14.669	0.265
<i>S. marcescens</i>	2.310	10.375
<i>W. uvarum</i>	9.715	0.001
<i>E. malodoratus</i>	7.520	0.003
<i>G. creatinolyticus</i>	5.582	0.000
<i>S. aureus</i>	0.291	1.429
<i>E. faecalis</i>	1.473	0.001
<i>A. baumannii</i>	1.146	0.000
<i>L. paracasei</i>	0.922	0.000

3 讨论与结论

研究表明, 不同性别的昆虫体内微生物种类和丰度存在显著差异。例如, 雌雄蚱蜢体内的变形菌门(*Proteobacteria*)、放线菌门(*Actinobacteriota*)和厚壁菌门(*Firmicutes*)的丰度存在显著差异^[19]。此外, 雌性隐翅虫体腔内的梭形芽孢杆菌(*B. fusiformis*)含量显著高于雌性隐翅虫的体腔含量^[20]。这种差异间接导致雌性隐翅虫的免疫能力高于雄性。在本研究中, 斑须蝽雌雄成虫肠道微生物的第一优势种菠萝泛菌(*P. ananatis*)表现出显著的性别差异, 雄性的丰度远高于雌性, 分别占比 45.632% 和 84.341% (表 8)。De Maayer 等^[21]研究表明, 该细菌含有大量编码蛋白基因, 能够适应不同环境, 从而广泛定居于各种宿主体内。菠萝泛菌(*P. ananatis*)能够产生多种酶, 如纤维素酶和淀粉酶, 这些酶有助于昆虫分解植物材料, 促进营养物质的消化和吸收, 对以植物为食的昆虫, 尤其是斑须蝽, 具有重要意义^[22]。此外, 菠萝泛菌(*P. ananatis*)作为益生菌, 在改善昆虫健康和生长方面具有很大潜力^[23]。然而, 菠萝泛菌(*P. ananatis*)对以植物为食物的生物, 尤其是粮食作物则并不友好。有报道称, 菠萝泛菌(*P. ananatis*)会感染玉米和水稻等粮食作物造成经济损失^[24]。斑须蝽可以作为传播病毒的媒介, 而

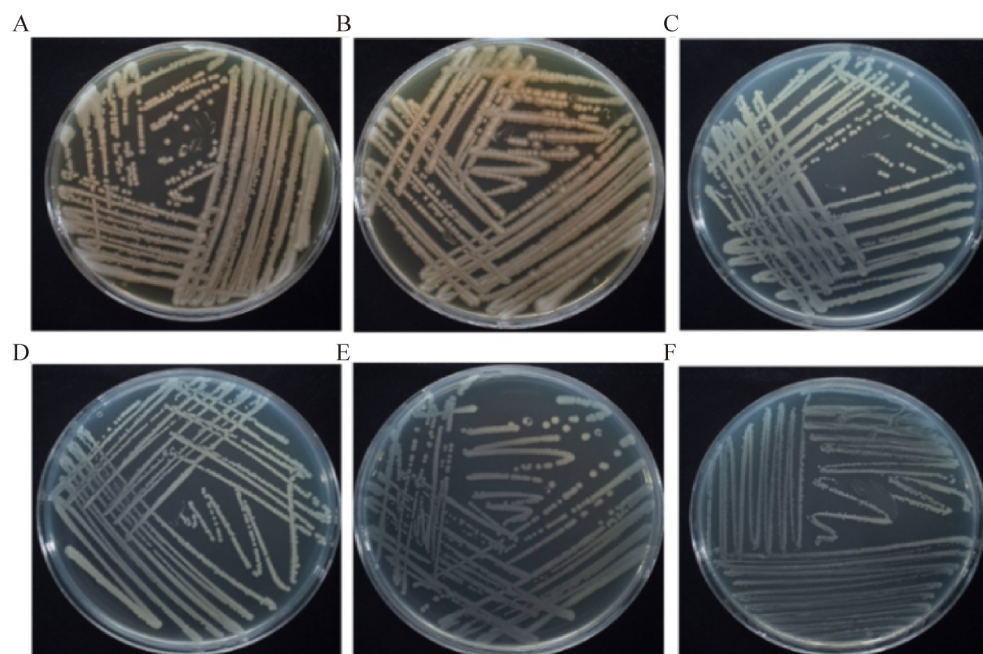


图7 离体培养斑须蟥成虫肠道菌生长图。A: EB培养基培养的雄虫肠道菌; B: EB培养基培养的雌虫肠道菌; C: LB培养基培养的雄虫肠道菌; D: LB培养基培养的雌虫肠道菌; E: NA培养基培养的雄虫肠道菌; F: NA培养基培养的雌虫肠道菌。

Figure 7 Growth of intestinal bacteria *in ex vivo* culture. A: Intestinal bacteria from male insects cultured on EB medium; B: Intestinal bacteria from female insects cultured on EB medium; C: Intestinal bacteria from male insects cultured on LB medium; D: Intestinal bacteria from female insects cultured on LB medium; E: Intestinal bacteria from male insects cultured on NA medium; F: Intestinal bacteria from female insects cultured on NA medium.

雄性传播病毒的危害大于雌性。

两性蚊子体内微生物的多样性和丰度存在较大差异。在雄性中检测到芽孢杆菌属(*Paenibacillus*)和葡萄球菌属(*Staphylococcus*)的细菌,而晶杆菌属(*Corynebacterium*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)以及沙雷氏菌属(*Serratia*)的细菌仅存在于雌性中^[25]。本研究中,斑须蟥雄性和雌性成虫的肠道微生物多样性分析结果显示,从样本的 α 多样性指数分析可以看出,雄性成虫肠道微生物的多样性显著高于雌性成虫(图3)。PCoA和NMDS分析(图4)也表明,雌雄成虫的肠道微生物存在差异。研究发现,雄性特有的乳杆菌属(*Lactacaseibacillus*)存在于样本中(表8)。同时,雌性特有的细菌在种水平上也被发现(表

8),例如,溶肌氨酸酞水解谷氨酸杆菌(*G. creatinolyticus*)仅存在于雌性体内。Pérez-García等^[26]研究表明,溶肌氨酸酞水解谷氨酸杆菌(*G. creatinolyticus*)能够帮助昆虫生产多种化合物,包括有机酸、维生素、萜类化合物和蛋白质。此外,该菌被认为是一种病原菌,可能与哺乳动物的排泄道感染和菌血症有关^[27]。值得注意的是,雌性斑须蟥作为该菌的携带者,可能通过食物链将病原菌传播给哺乳动物。不动杆菌(*A. baumannii*)是雌性特有的细菌(表8)。不动杆菌(*A. baumannii*)具有多重耐药性,同时也是一种侵袭性病原菌^[28]。不动杆菌(*A. baumannii*)感染的发病机制是由多种毒力因子引起的,包括孔蛋白、胶囊、细胞壁脂多糖、酶和生物膜的

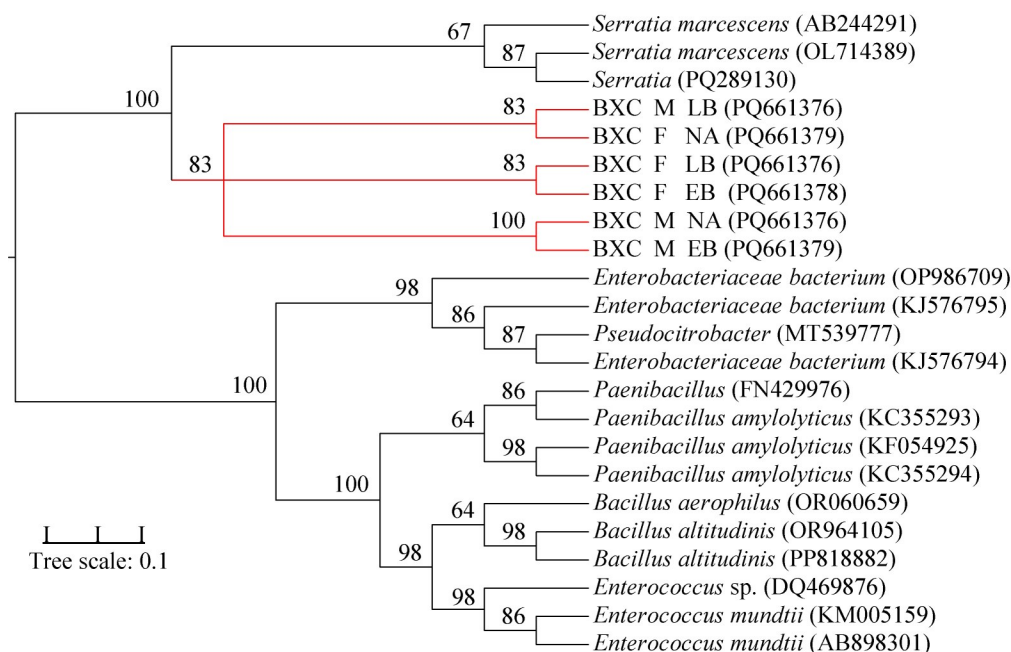


图8 斑须蝽肠道菌系统发育树。括号内的编号：序列的GenBank登录号；0.1：树的比例尺表示分支长度；BXC：斑须蝽；F：雌虫；M：雄虫；EB、NA、LB：培养基种类；标红：实验分离出的菌株。

Figure 8 Phylogenetic tree of intestinal bacteria in *Dolycoris baccarum*. The numbers in parentheses are the GenBank accession numbers; The scale of the tree is 0.1 indicating branch length; BXC: *Dolycoris baccarum*; F: Female; M: Male; EB, NA, LB: Types of culture media; Marked in red: Isolated strains of bacteria.

产生等。这些毒力因子有助于细菌抵抗不利的环境条件，并可能导致严重感染的发展^[29]。该菌可能对雌性斑须蝽产生负面影响。研究报道表明，不动杆菌(*A. baumannii*)会引发哺乳动物的呼吸道炎症和血液感染，且其发病具有较高的死亡率^[30]。类干酪乳杆菌(*L. paracasei*)为雌性特有(表 8)。研究表明，该菌作为益生菌对胃液和肠液具有较高的适应能力，能够在昆虫肠道中稳定定居^[31]，并提高昆虫的代谢能力^[32]，从而有利于斑须蝽的生长和发育。

在种水平上，存在显著的雌雄间含量差异的 2 种菌。病臭肠球菌(*E. malodoratus*)在雌性和雄性中的占比分别为 7.520% 和 0.003% (图 6、表 8)，雌性显著高于雄性。Mubarak 等研究表明，肠球菌(*E. malodoratus*)是免疫功能低下患者常见的获得性感染病原体^[33]。此外，肠球菌(*E. malodoratus*)引发的疾病可能通过动物传播给人

类^[34]。主要传播方式是通过食用受污染的食物^[35]。这意味着携带肠球菌(*E. malodoratus*)的斑须蝽通过取食作物可能间接传播给人类。魏斯氏菌(*W. uvarum*)在雌性和雄性中的占比分别为 9.715% 和 0.001% (图 7、表 8)，同样地，雌性显著高于雄性。Kim 等^[36]研究表明，魏斯氏菌(*W. uvarum*)具有良好的耐酸性、耐溶菌酶性和抗氧化性，这种菌的存在可能提高斑须蝽的抗药性。魏斯氏菌(*W. uvarum*)可能对肠道健康有益，能够维持肠道微生物平衡。肠道微生物组中存在该菌，可能对宿主健康产生积极影响，包括增强免疫功能和抑制病原体生长^[37]。

为获得斑须蝽的肠道菌种资源，本研究对斑须蝽肠道菌进行了离体培养^[38]。通过体外分离培养获得了斑须蝽雌雄肠道菌群。测序发现，所有 28 种菌均属于沙雷氏菌属(*Serratia*)的黏质沙雷氏菌(*S. marcescens*) (图 7、图 8)。黏质沙雷

氏菌是一种革兰氏阴性菌，能够通过土壤、水和空气传播^[39]。其分类阶元为 γ -变形菌纲 (*Gammaproteobacteria*) 肠杆菌目 (*Enterobacterales*) 耶尔辛氏菌科 (*Yersiniaceae*) 沙雷氏菌属 (*Serratia*) 黏质沙雷氏菌 (*S. marcescens*)。研究表明，该菌具有多种外排系统^[40]，使其对多种抗生素药物产生抗性。此外，黏质沙雷氏菌具有广谱杀虫特性，可感染小菜蛾 (*Plutella xylostella*)、桔小实蝇 (*Bactrocera dorsalis*) 和埃及伊蚊 (*Aedes aegypti*)^[41]。作为伊蚊的肠道共生菌，黏质沙雷氏菌会分泌 *Sm Enhancin* 蛋白降解蚊虫肠道细胞表面的黏蛋白层，从而提高肠细胞对登革热病毒的易感性^[42-43]。在家蝇 (*Musca domestica*) 幼虫肠道共生菌研究中，黏质沙雷氏菌会破坏其他肠道共生菌的平衡，从而对宿主的生长发育造成威胁^[44]。作为斑须蝽肠道的共生菌，黏质沙雷氏菌可能对斑须蝽的生长发育造成负面影响，因此可作为靶向微生物用于斑须蝽的防治。

王琪等^[6]报道的斑须蝽肠道检测结果显示，斑须蝽肠道微生物在属水平上检测到的优势菌群包括肠球菌属 (*Enterococcus*)、芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、乳球菌属 (*Lactococcus*)、沙雷氏菌属 (*Serratia*) 和泛菌属 (*Pantoea*)。其检测结果与本研究的检测结果存在差异，这些差异可能是由于斑须蝽的生活环境不同^[45]。此外，未选择一些特定的培养基 (如纤维素刚果红培养基) 进行体外培养，也是造成菠萝泛菌等菌未分离到的主要因素。目前，体外培养仍在进行中。

本研究对斑须蝽的雌雄个体进行了三代 16S rRNA 基因扩增子测序，详细分析了它们在肠道细菌的多样性和丰度方面的差异。研究发现，雄性成虫的肠道微生物多样性显著高于雌性。雌雄成虫的微生物表现出性别二态性 (表 9)。本研究丰富了昆虫肠道菌资源库，为生物防治斑须蝽奠定了基础。

表9 肠道菌群的性别二态性

Table 9 Sexual dimorphism of gut microbiota

Bacteria name	Proportion in females (%)	Proportion in males (%)
<i>Deinococcota</i>	0.000	0.141
<i>Cyanobacteria</i>	0.054	0.000
<i>Chloroflex</i>	0.041	0.000
<i>Desulfobacterota</i>	0.021	0.000
<i>Deinococci</i>	0.000	0.142
<i>Cyanobacteriia</i>	0.053	0.000
<i>Lactiseibacillus</i>	1.072	0.000
<i>G. creatinolyticus</i>	5.582	0.000
<i>A. baumannii</i>	1.146	0.000
<i>L. paracasei</i>	0.922	0.000

作者贡献声明

刘栋杰：设计实验、参与实验并记录数据、文章撰写、查阅文献、文章修改；李昊：参与实验、审改文章；丘明艳：参与实验、审改文章；张颖昕：参与实验、审改文章；黄孙滨：审改文章；刘浩宇：参与实验、文章作图；肖艳松：提供实验材料；刘婷：提供实验材料、设计实验、提供实验思路；金丰良：设计实验、提供实验思路、审改文章；许小霞：设计实验、提供实验思路、审改文章。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

[1] 萨初如拉, 巴都木才茨克, 田睿林, 侯占铭, 王振兴. 花生、大豆及胡萝卜对斑须蝽生长发育和成虫成活率的影响[J]. 中国油料作物学报, 2022, 44(6): 1337-1340.
Sachurula, Badumucaicike, TIAN RL, HOU ZM, WANG ZX. Effects of peanut, soybean and carrot as feed on development and adult survival of *Dolycoris baccarum*[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2022, 44(6): 1337-1340 (in Chinese).

[2] 崔新仪, 李宁, 李向永, 胡奇, 卜文俊. 9种农林有害蝽类昆虫高龄若虫龄期的区分[J]. 植物保护, 2017, 43(1): 83-88.

- CUI XY, LI N, LI XY, HU Q, BU WJ. Recognition of late instars of nymphs among nine stinkbug species injuring crops and trees[J]. *Plant Protection*, 2017, 43(1): 83-88 (in Chinese).
- [3] 胡日敦胡. 低温对斑须蝽滞育成虫脂质含量的影响[D]. 呼和浩特: 内蒙古师范大学硕士学位论文, 2024. Huriguohu. Effect of low temperature on lipid content of diapause adults in stinkbug[D]. Hohhot: Master's Thesis of Inner Mongolia Normal University, 2024 (in Chinese).
- [4] TIAN RL, HOU ZM, LI S, CHAI H. Effects of photoperiod and temperature on the developmental duration and diapause in *Dolycoris baccarum* (Heteroptera: Pentatomidae) from Hohhot, Inner Mongolia, China[J]. *Journal of Insect Science*, 2024, 24(2): 2.
- [5] 李丽, 赵文. 斑须蝽的发生与防治技术[J]. 黑龙江科技信息, 2010(11): 178. LI L, ZHAO W. Scientific and Technological Innovation, 2010(11): 178 (in Chinese).
- [6] 王琪, 陈芳敏, 陈广青, 夏琬婷, 刘宁, 游博, 朱海. 斑须蝽肠道菌的分离鉴定及产纤维素酶菌株的筛选与酶活力测定[J]. 微生物学通报, 2024, 51(9): 3497-3509. WANG Q, CHEN FM, CHEN GQ, XIA WT, LIU N, YOU B, ZHU H. Screening and enzyme activity determination of cellulase-producing strains from the gut bacteria of *Dolycoris baccarum* L.[J]. *Microbiology China*, 2024, 51(9): 3497-3509 (in Chinese).
- [7] 胡佳辰, 刘光玲, 黄石涛, 李子俊, 张洪波, 冯俊娜, 熊德玉, 张瑜瑜, 莫丽玲, 孔云虹, 夏云. 饲喂塑料对4种昆虫幼虫生长与肠道微生物的影响[J]. 微生物学报, 2024, 64(11): 4319-4337. HU JC, LIU GL, HUANG ST, LI ZJ, ZHANG HB, FENG JN, XIONG DY, ZHANG YY, MO LL, KONG YH, XIA Y. Effects of feeding plastics on the growth and gut microbiota of the larvae of four insect species[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2024, 64(11): 4319-4337 (in Chinese).
- [8] 张亦瑶, 王俊豪, 郝海红. 肠道微生物群与药物相互作用的研究进展[J]. 微生物学报, 2023, 63(12): 4536-4554. ZHANG YY, WANG JH, HAO HH. Research progress on the interaction between intestinal microflora and drugs[J]. *China Industrial Economics*, 2023, 63(12): 4536-4554 (in Chinese).
- [9] ZHANG XC, ZHANG F, LU XM. Diversity and functional roles of the gut microbiota in lepidopteran insects[J]. *Microorganisms*, 2022, 10(6): 1234.
- [10] MORIMOTO J, SIMPSON SJ, PONTON F. Direct and trans-generational effects of male and female gut microbiota in *Drosophila melanogaster*[J]. *Biology Letters*, 2017, 13(7): 20160966.
- [11] 张娜, 赵曼, 王关红. 昆虫共生微生物在病虫害防治的研究进展[J]. 植物保护学报, 2022, 49(1): 220-230. ZHANG N, ZHAO M, WANG GH. Research progress on microbial symbionts against pest and disease[J]. *Journal of Plant Protection*, 2022, 49(1): 220-230 (in Chinese).
- [12] LIU SH, CHEN Y, LI W, TANG GH, YANG Y, JIANG HB, DOU W, WANG JJ. Diversity of bacterial communities in the intestinal tracts of two geographically distant populations of *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae)[J]. *Journal of Economic Entomology*, 2018, 111(6): 2861-2868.
- [13] ABURAHMA A, STEWART EL, RANA S, LARSEN R, WARD CS, SPRAGUE JE. Influence of fecal microbial transplant (FMT) between male and female rats on methamphetamine-induced hyperthermia[J]. *International Journal of Hyperthermia*, 2023, 40(1): 2159072.
- [14] ZHAO QY, ZHANG LY, FU DY, XU J, CHEN P, YE H. *Lactobacillus* spp. in the reproductive system of female moths and mating induced changes and possible transmission[J]. *BMC Microbiology*, 2022, 22(1): 308.
- [15] SUN ZL, LU YH, ZHANG H, KUMAR D, LIU B, GONG YC, ZHU M, ZHU LY, LIANG Z, KUANG SL, CHEN F, HU XL, CAO GL, XUE RY, GONG CL. Effects of BmCPV infection on silkworm *Bombyx mori* intestinal bacteria[J]. *PLoS One*, 2016, 11(1): e0146313.
- [16] ZHU D, LU L, ZHANG ZJ, QI DW, ZHANG MC, O'CONNOR P, WEI FW, ZHU YG. Insights into the roles of fungi and protist in the giant *Panda* gut microbiome and antibiotic resistome[J]. *Environment International*, 2021, 155: 106703.
- [17] CHEN BS, TEH BS, SUN C, HU SR, LU XM, BOLAND W, SHAO YQ. Biodiversity and activity of the gut microbiota across the life history of the insect herbivore *Spodoptera littoralis*[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 29505.
- [18] 王光召, 马艺翔, 秦敬泽, 游银伟, 马朋涛, 李丽莉, 门兴元, 宋莹莹, 张凯, 李霞, 王桂萍, 于毅. 凹唇壁蜂雌成虫滞育期、休眠期和破茧期肠道菌群多样性分析[J]. 植物保护学报, 2024, 51(3): 556-567. WANG GZ, MA YX, QIN JZ, YOU YW, MA PT, LI LL, MEN XY, SONG YY, ZHANG K, LI X, WANG GP, YU Y. Analysis of intestinal microbiota diversity in female adult diapause, post-diapause and cocoon-breaking stages of mason bee *Osmia excavata*[J]. *China Industrial Economics*, 2024, 51(3): 556-567 (in Chinese).
- [19] MURATORE M, PRATHER C, SUN Y. The gut bacterial communities across six grasshopper species from a coastal tallgrass prairie[J]. *PLoS One*, 2020, 15(1): e0228406.
- [20] SONG XH, YANG TB, ZHOU C, LUO SK, DONG MX, YAN XH, LV WX, ZHENG FK, ZHOU CQ, WEI Y. Differences in microbiome composition and transcriptome profiles between male and female *Paederus fuscipes* harbouring pederin-producing bacteria[J]. *Insect*

- Molecular Biology, 2022, 31(4): 457-470.
- [21] De MAAYER P, CHAN WY, RUBAGOTTI E, VENTER SN, TOTH IK, BIRCH PRJ, COUTINHO TA. Analysis of the *Pantoea ananatis* pan-genome reveals factors underlying its ability to colonize and interact with plant, insect and vertebrate hosts[J]. BMC Genomics, 2014, 15(1): 404.
- [22] ZHANG YX, ZHANG SK, XU LT. The pivotal roles of gut microbiota in insect plant interactions for sustainable pest management[J]. npj Biofilms and Microbiomes, 2023, 9(1): 66.
- [23] SAVIO C, MUGO-KAMIRI L, UPFOLD JK. Bugs in bugs: the role of probiotics and prebiotics in maintenance of health in mass-reared insects[J]. Insects, 2022, 13(4): 376.
- [24] WELLER-STUART T, de MAAYER P, COUTINHO T. *Pantoea ananatis*: genomic insights into a versatile pathogen[J]. Molecular Plant Pathology, 2017, 18(9): 1191-1198.
- [25] MINARD G, MAVINGUI P, MORO CV. Diversity and function of bacterial microbiota in the mosquito holobiont[J]. Parasites & Vectors, 2013, 6(1): 146.
- [26] PÉREZ-GARCÍA F, WENDISCH VF. Transport and metabolic engineering of the cell factory *Corynebacterium glutamicum*[J]. FEMS Microbiology Letters, 2018, 365(16). DOI:10.1093/femsle/fny166.
- [27] SANTOS RG, HURTADO R, GOMES LGR, PROFETA R, RIFICI C, ATTILI AR, SPIER SJ, MAZZULLO G, MORAIS-RODRIGUES F, GOMIDE ACP, BRENIG B, GALA-GARCÍA A, CUTERI V, de PAULA CASTRO TL, GHOSH P, SEYFFERT N, AZEVEDO V. Complete genome analysis of *Glutamicibacter creatinolyticus* from mare abscess and comparative genomics provide insight of diversity and adaptation for *Glutamicibacter*[J]. Gene, 2020, 741: 144566.
- [28] RAMIREZ MS, BONOMO RA, TOLMASKY ME. Carbapenemases: transforming *Acinetobacter baumannii* into a yet more dangerous menace[J]. Biomolecules, 2020, 10(5): 720.
- [29] AYOUB MOUBARECK C, HAMMOUDI HALAT D. Insights into *Acinetobacter baumannii*: a review of microbiological, virulence, and resistance traits in a threatening nosocomial pathogen[J]. Antibiotics, 2020, 9(3): 119.
- [30] ANTUNES LCS, VISCA P, TOWNER KJ. *Acinetobacter baumannii*: evolution of a global pathogen[J]. Pathogens and Disease, 2014, 71(3): 292-301.
- [31] DEGHANI CHAMPIRI I, BAMZADEH Z, RAHIMI E, ROUHI L. *Lactocaseibacillus paracasei* LB12, a potential probiotic isolated from traditional Iranian fermented milk (Doogh)[J]. Current Microbiology, 2023, 80(10): 333.
- [32] BENGGOA AA, DARDIS C, GARROTE GL, ABRAHAM AG. Health-promoting properties of *Lactocaseibacillus paracasei*: a focus on kefir isolates and exopolysaccharide-producing strains[J]. Foods, 2021, 10(10): 2239.
- [33] MUBARAK AG, EL-ZAMKAN MA, YOUNIS W, SALEH SO, ABD-ELHAFEEZ HH, YOSEEF AG. Phenotypic and genotypic characterization of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* isolated from fish, vegetables, and humans[J]. Scientific Reports, 2024, 14(1): 21741.
- [34] SOODMAND J, ZEINALI T, KALIDARI G, HASHEMITABAR G, RAZMYAR J. Antimicrobial susceptibility profile of *Enterococcus* species isolated from companion birds and poultry in the northeast of Iran[J]. Archives of Razi Institute, 2018, 73(3): 207-213.
- [35] BORTOLAIA V, ESPINOSA-GONGORA C, GUARDABASSI L. Human health risks associated with antimicrobial-resistant enterococci and *Staphylococcus aureus* on poultry meat[J]. Clinical Microbiology and Infection, 2016, 22(2): 130-140.
- [36] KIM E, YANG SM, JUNG DH, KIM HY. Differentiation between *Weissella cibaria* and *Weissella confusa* using machine-learning-combined MALDI-TOF MS[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(13): 11009.
- [37] KIM E, YANG SM, KIM HY. *Weissella* and the two Janus faces of the genus[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2023, 107(4): 1119-1127.
- [38] 刘莎, 陈从英. 肠道微生物培养的研究进展及应用[J]. 微生物学报, 2023, 63(3): 881-899.
- LIU S, CHEN CY. Research progress and application of gut microorganism culture[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2023, 63(3): 881-899 (in Chinese).
- [39] 赵雅贤, 王桂兴, 郝耀彤, 宫春光, 王玉芬, 李洪彬, 徐子雄, 刘佳奇, 何忠伟, 刘玉峰, 张伟桐, 张晓彦, 程波, 侯吉伦. 一株牙鲆源黏质沙雷氏菌 YP1 的分离鉴定及致病性分析[J]. 微生物学报, 2022, 62(12): 4854-4867.
- ZHAO YX, WANG GX, HAO YT, GONG CG, WANG YF, LI HB, XU ZX, LIU JQ, HE ZW, LIU YF, ZHANG YT, ZHANG XY, CHENG B, HOU JL. Identification and pathogenicity characterization of a *Serratia marcescens* strain YP1 isolated from *Paralichthys olivaceus*[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2022, 62(12): 4854-4867 (in Chinese).
- [40] LIM S, BHAK J, JEON S, MUN W, BHAK J, CHOI SY, MITCHELL RJ. The kiss of death: *Serratia marcescens* antibacterial activities against *Staphylococcus aureus* requires both *de novo* prodigiosin synthesis and direct contact[J]. Microbiology Spectrum, 2022, 10(3): e0060722.
- [41] WANG ZQ, WANG MY, ZHOU Y, FENG K, TANG F. A comprehensive analysis of the defense responses of

- Odontotermes formosanus* (Shiraki) provides insights into the changes during *Serratia marcescens* infection[J]. BMC Genomics, 2024, 25(1): 1044.
- [42] 高涵, 胡文倩, 王四宝. 一种天然共生细菌通过酸化伊蚊肠道抑制蚊媒病毒感染传播[J]. 科学通报, 2024, 69(21): 3070-3072.
- GAO H, HU WQ, WANG SB. A natural symbiotic bacterium acidifies *Aedes* mosquito gut to suppresses flavivirus transmission[J]. Chinese Science Bulletin, 2024, 69(21): 3070-3072 (in Chinese).
- [43] ZHANG LM, WANG DX, SHI PB, LI JZ, NIU JC, CHEN JL, WANG G, WU LJ, CHEN L, YANG ZX, LI SS, MENG JX, RUAN FC, HE YW, ZHAO HL, REN ZR, WANG Y, LIU Y, SHI XL, WANG YF, et al. A naturally isolated symbiotic bacterium suppresses flavivirus transmission by *Aedes* mosquitoes[J]. Science, 2024, 384(6693): eadn9524.
- [44] LI Y, WANG SM, ZHANG KX, YIN YS, ZHANG XY, ZHANG Q, KONG XX, TANG LY, ZHANG RL, ZHANG Z. *Serratia marcescens* in the intestine of housefly larvae inhibits host growth by interfering with gut microbiota[J]. Parasites & Vectors, 2023, 16(1): 196.
- [45] 刘莹, 赵雪晴, 尹艳琼, 李向永, 陈福寿, 张红梅, 王燕, 湛爱东. 云南省四个草地贪夜蛾种群肠道细菌群落多样性及差异分析[J]. 植物保护学报, 2021, 48(6): 1244-1253.
- LIU Y, ZHAO XQ, YIN YQ, LI XY, CHEN FS, ZHANG HM, WANG Y, CHEN AD. Differences in the diversity and community structure of intestinal bacteria in four geographic populations of fall armyworm *Spodoptera frugiperda* in Yunnan Province[J]. Journal of Plant Protection, 2021, 48(6): 1244-1253 (in Chinese).