

Biolog-Eco 解析小菜蛾溴氰菊酯抗感品系肠道微生物群落功能多样性特征*

李文红** 李凤良*** 周宇航 程 英 金剑雪

(贵州省农业科学院植物保护研究所, 贵阳 550006)

摘 要 【目的】昆虫肠道微生物对于其食物消化、生长发育以及环境适应性等方面都具有重要作用, 本研究旨在探究小菜蛾 *Plutella xylostella* (L.) 溴氰菊酯敏感和抗性品系幼虫肠道微生物群落的功能多样性。【方法】采用 Biolog-ECO 技术对两品系小菜蛾 1-4 龄幼虫的肠道样品进行分析。【结果】小菜蛾溴氰菊酯敏感和抗性品系的低龄幼虫肠道微生物的代谢活性 (AWCD) 均高于高龄幼虫, 两品系同龄幼虫肠道样品代谢活性类似。两品系样品均能代谢 30 种供试碳源, 均不能代谢羧酸类的 2-羟基苯甲酸。敏感品系样品的 Shannon 指数和 McIntosh 指数均高于抗性品系。敏感品系 1-3 龄幼虫肠道样品的 Shannon 指数类似, 且均高于该品系 4 龄样品; 抗性品系 1-4 龄幼虫肠道样品的 Shannon 指数逐渐减小。两品系 McIntosh 指数均为 1 龄幼虫的最高, 2-4 龄的相当。【结论】小菜蛾低龄幼虫肠道微生物的生理活性均高于高龄幼虫, 同时小菜蛾溴氰菊酯敏感和抗性品系幼虫的肠道微生物在功能多样性上存在差异。

关键词 小菜蛾, 肠道微生物, Biolog-Eco, 代谢多样性

Biolog-ECO analysis of the functional diversity of the gut microbial community of deltamethrin-resistant and -sensitive diamondback moth *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) larvae

LI Wen-Hong** LI Feng-Liang*** ZHOU Yu-Hang CHENG Ying JIN Jian-Xue

(Guizhou Academy of Agricultural Sciences, Institute of Plant Protection, Guiyang 550006, China)

Abstract 【Objectives】The gut microbiota of insect play an important role in food digestion, development and environmental adaptation. This study aims to compare the functional diversity of the gut microbial communities of deltamethrin-resistant and -sensitive diamondback moth larvae. 【Methods】Gut samples from 1st to 4th instar larvae of deltamethrin-resistant and -sensitive diamondback moths were analyzed with Biolog-ECO. 【Results】AWCD values from younger instar larvae were all higher than those of older larvae and AWCD values for larvae of the same age were nearly identical. Thirty tested carbon substrates were metabolized by all gut samples with the exception of the carboxylic acid substrate 2-Hydroxy benzoic acid. The Shannon and McIntosh indices of sensitive larvae were higher than those of the resistant larvae. The Shannon indices of 1st to 3rd instar sensitive larvae were nearly the same, and were higher than that of 4th instar larvae. Resistant larvae could be ranked in terms of the Shannon index as follows: 1st instar > 2nd instar > 3rd instar > 4th instar. In both sensitive and resistant larvae, the gut microbial McIntosh index was highest in the 1st instar, with 2nd to 4th instars having similar McIntosh index values. 【Conclusion】The physiological activity of larval gut microorganisms in younger larval instars was higher than that in older instars. The functional diversity of the gut microbial community differed between deltamethrin-resistant and -sensitive diamondback moth larvae.

*资助项目 Supported projects: 贵州省农科院院专项 (黔农科院院专项[2014]025 号); 贵州省科技基金项目 ([2015]2102); 贵州省科技支撑计划 ([2016]2532 号); 国家自然科学基金 (31460482)

**第一作者 First author, E-mail: liwh2015@126.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: leefengliang@126.com

收稿日期 Received: 2017-02-22, 接受日期 Accepted: 2017-12-22

Key words *Plutella xylostella*, gut microorganism, Biolog-Eco, metabolic diversity

小菜蛾 *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) 是危害十字花科蔬菜最为严重的虫害之一,通常造成甘蓝、西兰花和花菜等多种重要蔬菜严重的经济损失 (Talekar and Shelton, 1993)。小菜蛾对防治鳞翅目害虫的所有杀虫剂及苏云金芽孢杆菌 *Bacillus thuringiensis* 均产生了严重的抗药性,其防治越来越困难 (Talekar and Shelton, 1993; Baxter *et al.*, 2005, 2008)。

昆虫体内微生物与其生命活动密切相关,影响着昆虫的交配 (Sharon *et al.*, 2010)。对寄主植物的选择 (Tsuchida *et al.*, 2004; McLean *et al.*, 2011)、昆虫寿命 (Behar *et al.*, 2008) 以及对病原菌的抵抗力 (Dillon *et al.*, 2005) 等多个方面。已研究发现昆虫共生微生物与抗药性间存在着联系。点蜂缘蝽 *Riptortus pedestris* 等蝽类通过从土壤中获取伯克霍尔德氏菌而对杀螟松表现出抗药性 (Kikuchi *et al.*, 2012)。甜菜夜蛾的肠道中存在较丰富的微生物而对 Bt 表现出抗性 (Hernández-Martínez *et al.*, 2010)。Indiragandhi 等 (2007) 报道了小菜蛾丙硫磷敏感、抗性及其田间种群幼虫肠道细菌的差异。夏晓峰等 (2013) 报道了小菜蛾毒死蜱抗、感品系肠道细菌的群落结构。

目前,小菜蛾对溴氰菊酯也存在广泛的抗药性,然而,小菜蛾溴氰菊酯抗感品系在肠道细菌上是否存在差异,目前还不清楚。对小菜蛾溴氰菊酯抗、感品系的肠道微生物的研究还未见报道。高通量测序虽能全面了解肠道微生物的多样性和菌群组成,但却不能获得微生物菌株,不利于开展关于肠道微生物功能方面的研究。微生物纯培养方法是传统研究技术,仅能用于研究少量可以人工培养的微生物。微生物群落功能多样性 (Biolog) 是描述微生物群落状态与功能的指标,可以反映环境微生物的生态特征 (Choi and Dobbs, 1999; 高秀云等, 2008)。目前,还未见将其用于小菜蛾肠道微生物方面的研究报道。本研究以小菜蛾溴氰菊酯抗、感品系幼虫为材料,采用 Biolog-Eco 方法研究两品系幼虫肠道微生

物的功能多样性,目的在于探明小菜蛾肠道微生物的动态变化规律,为小菜蛾对溴氰菊酯的抗药性治理提供信息参考。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

小菜蛾溴氰菊酯敏感与抗性品系均由贵州省植物保护研究所昆虫实验室提供,抗、感品系对溴氰菊酯的 MIC 分别为 $>1\ 000\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $3\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (Liu *et al.*, 1995)。两品系小菜蛾均用洁净甘蓝叶饲养,饲养条件为:(18-25)、光周期(明:暗)16:8、光强度1500-3000 lx、相对湿度50%-60%。收集两品系小菜蛾1-4龄幼虫。

1.2 肠道样品采集与 Biolog 检测

取两品系小菜蛾不同龄期的幼虫50头,置于-20℃迅速冻死,75%酒精体表消毒3min,再用0.8%生理盐水清洗3次。无菌条件下取出幼虫肠道,以0.8%生理盐水清洗,收集至2.0 mL 无菌 Eppendorf 离心管中,加0.8%生理盐水200 μL 研磨匀浆,定容至3 mL。最后,无菌条件下将肠道样品悬浮液加样到 Biolog-Eco 微孔板 (Biolog Inc., Hayward, CA, USA) 中,每孔120 μL 。将加样后的 Biolog 板置于30℃恒温箱中培养,1 h 后用 Biolog 读数仪 (Biolog, Inc., Hayward, CA, USA) 读数,此次读数设为初始值,之后每隔24 h 读数1次,连续7次。具体参考 Classen 等 (2003) 的方法。

1.3 数据统计分析

小菜蛾肠道微生物代谢活性用每孔平均颜色变化率 (Average well color development, AWCD) 表示,按照以下公式 (Grove *et al.*, 2004) 进行计算:

$$\text{AWCD} = [\sum (A_i - A_{\text{CK}})] / 31$$

其中, A_i 为 i 孔碳源 590 nm 下的吸光度值

减去 750 nm 下的吸光度值; A_{CK} 为对照孔的吸光度值。

利用各样品培养 96 h 的数据, 参照 Magurran (1988) 的方法计算小菜蛾两品系样品微生物群落多样性的 Shannon 指数 (H') 和 McIntosh 指数 (U)。

$$H' = -\sum P_i \cdot \ln P_i; U = \sqrt{\sum n_i^2}。$$

其中, P_i 为第 i 孔的相对吸光值与整个平板相对吸光值总和的比值; n_i 是第 i 孔的相对吸光值; N 是相对吸光值总和。采用 Microsoft Excel 2010 软件和 DPS (7.05) 软件进行数据处理与分析。

2 结果与分析

2.1 小菜蛾幼虫肠道微生物代谢活性的变化

AWCD 是反映环境微生物代谢活性, 即利用单一碳源的能力重要指标。根据 AWCD 计算公式, 本研究中小菜蛾溴氰菊酯抗、感品系各龄幼虫肠道样品中微生物利用 31 种碳源的 AWCD 变化曲线如图 1 所示。随着培养时间的延长, 微生物利用碳源量呈逐渐增加的趋势, 在测定时间内的 AWCD 持续升高。AWCD 的最大值及变化速度 (曲线斜率) 均呈现低龄幼虫高于高龄幼虫的趋势 ($M1 > M2 > M3 > M4$, $X1 > X2 > X3 > X4$)。小菜蛾溴氰菊酯敏感与抗性品系同龄幼虫肠道

样品的 AWCD 值较为接近。

2.2 小菜蛾幼虫肠道微生物利用的碳源种类特征

Biolog ECO 板的碳源按照化学基团的性质分成 6 类, 即胺/氨基化合物、氨基酸类、糖类、羧酸类、双亲化合物类和聚合物。为考察小菜蛾肠道微生物对不同类碳源的利用情况, 调查 24-144 h 各肠道样品在 ECO 板上的读数, 结果表明, 小菜蛾溴氰菊酯敏感和抗性品系的肠道样品均能代谢 30 种供试碳源, 唯一不能代谢的碳源为羧酸类的 2-羟基苯甲酸 (表 1)。

2.3 小菜蛾幼虫肠道微生物多样性指数分析

由表 2 可知, 小菜蛾敏感品系幼虫肠道样品的 Shannon 指数和 McIntosh 指数均较溴氰菊酯抗性品系幼虫肠道样品的大, 且存在显著性差异 ($P < 0.05$), 可见, 小菜蛾敏感品系肠道微生物的功能多样性、丰富度具有明显的优势。敏感品系 1-3 龄幼虫肠道样品的 Shannon 指数类似, 且均高于该品系 4 龄幼虫样品指数; McIntosh 指数 1 龄幼虫的肠道样品最高, 2-4 龄幼虫的肠道样品指数相当。相比而言, 小菜蛾溴氰菊酯抗性品系 1 龄幼虫肠道样品的 Shannon 指数最高, 2-4 龄幼虫肠道样品的 Shannon 指数逐渐减小; McIntosh 指数 1 龄幼虫的肠道样品最高, 2-4 龄幼虫肠道样品指数相当。

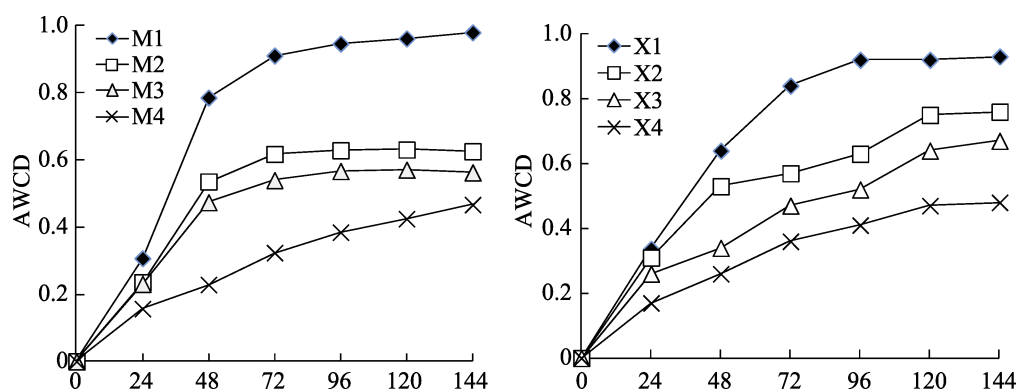


图 1 小菜蛾溴氰菊酯抗、感品系幼虫肠道微生物样品 AWCD 随时间的变化

Fig. 1 Changes in AWCD of the larval gut samples from both deltamethrin-resistant and sensitive diamondback moth

M1/X1、M2/X2、M3/X3、M4/X4 分别为小菜蛾溴氰菊酯敏感/抗性品系的 1、2、3、4 龄幼虫肠道样品。M1/X1, M2/X2, M3/X3 and M4/X4 are the larval gut samples from deltamethrin-resistant and sensitive diamondback moth, respectively.

表 1 小菜蛾溴氰菊酯敏感和抗性品系幼虫肠道样品对 ECO 板上碳源的利用情况

Table 1 Carbon substrates utilization of the larval gut samples from deltamethrin-sensitive and resistant diamondback moth

碳源化学类别 Chemical group	底物 Substrates	小菜蛾溴氰菊酯敏感品系 Resistant population				小菜蛾溴氰菊酯敏感品系 Sensitive population			
		1	2	3	4	1	2	3	4
双亲化合物 Miscellaneous	丙酮酸甲酯 Pyruvic acid methyl ester	+	+	+	+	+	+	+	+
	磷酸葡萄糖 Glucose-1-phosphate	+	+	+	+	+	+	+	+
	D, L- α -磷酸甘油 D, L- α -Glycerol phosphate	+	+	+	+	+	+	+	+
聚合物 Polymers	吐温 40 Tween-40	+	+	+	+	+	+	+	+
	吐温 80 Tween-80	+	+	+	+	+	+	+	+
	α -环式糊精 α -D-Cyclodextrin	+	+	+	+	+	+	+	+
糖类 Carbohydrates	肝糖 Glycogen	+	+	+	+	+	+	+	+
	D-纤维二糖 D-Cellobiose	+	+	+	+	+	+	+	+
	α -D-乳糖 α -D-Lactose	+	+	+	+	+	+	+	+
	甲基-D-葡萄糖苷 Methyl-D-glucoside	+	+	+	+	+	+	+	+
	D-木糖 D-Xylose	+	+	+	+	+	+	+	+
	赤藓糖醇 i-Erythritol	+	+	+	+	+	+	+	+
	D-甘露醇 D-Mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+
	N-乙酰-D-葡萄糖胺 N-Acetyl-D-glucosamine	+	+	+	+	+	+	+	+
羧酸类 Carboxylic acids	D-葡萄糖胺酸 D-Glucosaminic acid	+	+	+	+	+	+	+	+
	D-半乳糖酸内酯 D-Galactonic acid latone	+	+	+	+	+	+	+	+
	D-半乳糖醛酸 D-Galacturonic acid	+	+	+	+	+	+	+	+
	2-羟基苯甲酸 2-Hydroxy benzoic acid	-	-	-	-	-	-	-	-
	4-羟基苯甲酸 4-Hydroxy benzoic acid	+	+	+	+	+	+	+	+
	γ -羟基丁酸 γ -Hydroxy butyric acid	+	+	+	+	+	+	+	+
	衣康酸 Itaconic acid	+	+	+	+	+	+	+	+
	α -丁酮酸 α -Keto butyric acid	+	+	+	+	+	+	+	+
氨基酸 Amino acids	D-苹果酸 D-Malic acid	+	+	+	+	+	+	+	+
	L-精氨酸 L-Arginine	+	+	+	+	+	+	+	+
	L-天门冬氨酸 L-Asparagine	+	+	+	+	+	+	+	+
	L-苯丙氨酸 L-Phenylalanine	+	+	+	+	+	+	+	+
	L-丝氨酸 L-Serine	+	+	+	+	+	+	+	+
	L-苏氨酸 L-Threonine	+	+	+	+	+	+	+	+
胺/氨基化合物 Amines/amides	甘氨酸-L- 谷氨酸 Glycyl-L-glutamic acid	+	+	+	+	+	+	+	+
	苯乙胺 Phenylethylamine	+	+	+	+	+	+	+	+
	腐胺 Putrescine	+	+	+	+	+	+	+	+

+ 与 - 分别表示碳源能够被利用与不能被利用。+ and - means that the tested carbon substrate could be utilized and not be utilized, respectively.

表 2 小菜蛾溴氰菊酯敏感和抗性品系幼虫肠道微生物群落的多样性指数分析
Table 2 Diversity indices of the larval gut microbial community from the deltamethrin-sensitive and -resistant diamondback moth

小菜蛾品系 Diamondback moth group	龄期 Instars	多样性指数 Diversity indices	
		Shannon index	McIntosh index
溴氰菊酯敏感 Deltamethrin-sensitive	1	3.351±0.165 a	5.571±0.843 a
	2	3.332±0.248 a	3.262±0.653 b
	3	3.324±0.132 a	3.418±0.548 b
	4	2.962±0.387 b	3.093±0.346 b
溴氰菊酯抗性 Deltamethrin-resistant	1	3.233±0.346 a	1.861±0.218 c
	2	2.635±0.458 b	1.397±0.126 d
	3	2.580±0.354 b	1.401±0.134 d
	4	2.089±0.563 c	1.396±0.189 d

表中数据为平均值±标准差。同列数据后标有相同小写字母的数据间差异未达到显著 ($P<0.05$) 水平 (Duncan's 新复极差多重比较)。
The data are mean ± standard deviation and followed by the same lowercase letters in the same column are not significantly different at $P<0.05$ level by Duncan's multiple rang test.

3 讨论

小菜蛾是危害十字花科蔬菜的重要害虫,其体内微生物与小菜蛾的取食、生长发育及环境适应性密切相关(夏晓峰等,2013)。因此,评价小菜蛾溴氰菊酯抗、感品系幼虫肠道微生物在 Biolog ECO 板上代谢的差异,在一定程度上也有助于探寻小菜蛾对溴氰菊酯的抗药性机理。本研究选择的小菜蛾抗、感品系均为室内饲养的品系从 AWCD 动力学特征来看,低龄幼虫肠道微生物的生理活性均高于高龄幼虫。这可能与低龄幼虫的生命代谢活力要高于高龄幼虫有关,进而影响了肠道微生物群落的生理活动,这种解释待验证。

微生物 Shannon 指数表征整个生态系统微生物群落功能多样性,即相同情况下利用碳源种类的多与少,微生物 Shannon 指数越大,则表明该生态系统的微生物群落功能多样性越高,反之则越低(张华玲等,2014)。McIntosh 指数是评估某些最常见种的优势度和均匀度的指数(张华玲等,2014)。本研究小菜蛾肠道微生物的 Shannon 和 McIntosh 指数综合分析可知,小菜蛾敏感品系各龄幼虫肠道微生物群落功能多样性要高于其溴氰菊酯抗性品系。此外,本文小菜蛾

溴氰菊酯抗、感品系幼虫肠道微生物群落结构和优势微生物的种类,还有待通过高通量测序和分离培养等方法来进一步研究。

昆虫肠道体内微生物通过与寄主互惠共生,相互依存,促进和丰富了昆虫生命活动(黄媛媛等,2014)。小菜蛾肠道属于碱性环境,这种环境下形成了特殊的微生物群落(相辉和黄勇平,2008)。碳源是微生物生存的物质基础,本研究测定了小菜蛾肠道微生物菌群对 ECO 板上的糖类、氨基酸类、聚合物类、羧酸类、胺类等碳源的代谢利用情况。微生物在生长过程中会产生多种酶,如纤维素酶、淀粉酶、酯酶等。不同的酶影响着小菜蛾肠道食物的消化,同时也影响着小菜蛾的生长发育。小菜蛾肠道微生物对碳源利用情况也进一步反映了其代谢酶系的活性。此外,明确肠道微生物的碳源代谢情况,对指导小菜蛾室内饲养也具有重要意义,同时对开展肠道微生物的功能研究有重要参考价值。研究结果为对通过改变肠道微生物菌群结构进行溴氰菊酯抗性治理提供了信息参考。

参考文献 (References)

Baxter SW, Zhao JZ, Gahan LJ, Shelton AM, Tabashnik BE, Heckel DG, 2005. Novel genetic basis of field-evolved resistance to Bt

- toxins in *Plutella xylostella*. *Insect Mol. Biol.*, 14(3): 327–334.
- Baxter SW, Zhao JZ, Shelton AM, Vogel H, Heckel DG, 2008. Genetic mapping of Bt-toxin binding proteins in a Cry1A-toxin resistant strain of diamondback moth *Plutella xylostella*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 38(2): 125–135.
- Behar A, Yuval B, Jurkevitch E, 2008. Gut bacterial communities in the Mediterranean fruit fly (*Ceratitis capitata*) and their impact on host longevity. *J. Insect Physiol.*, 54(9): 1377–1383.
- Choi KH, Dobbs FC, 1999. Comparison of two kinds of Biolog micro-plates (GN and ECO) in their ability to distinguish among aquatic microbial communities. *J. Microbiol. Methods*, (36): 203–213.
- Classen AT, Boyle SI, Haskins KE, Overby ST, Hart SC, 2003. Community-level physiological profiles of bacteria and fungi: plate type and incubation temperature influences on contrasting soils. *FEMS Microbiology Ecology*, 44(3): 319–328.
- Dillon RJ, Vennard CT, Buckling A, Charnley AK, 2005. Diversity of locust gut bacteria protects against pathogen invasion. *Ecological Letters*, 8(12): 1291–1298.
- Gao XY, Tian JC, Chen Y, Hu C, Peng YF, Ye GY, 2008. Impact evaluation of transgenic cry1Ab japonica rice on the diversity of intestinal microbial community in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* using Biolog-Eco method. *Acta Phytophylacica Sinica*, 35(4): 327–331. [高秀云, 田俊策, 陈洋, 胡萃, 彭于发, 叶恭银, 2008. Biolog-Eco 方法检测转 cry1Ab 粳稻对褐飞虱肠道微生物多样性的影响. 植物保护学报, 35(4): 327–331.]
- Grove JA, Kautola H, Javadpour S, Moo-Young M, Anderson WA, 2004. Assessment of changes in the microorganism community in a biofilter. *Biochem. Engin. J.*, 18(2): 111–114.
- Hernández-Martínez P, Naseri B, Navarro-Cerrillo G, Escriche B, Ferré J, Herrero S, 2010. Increase in midgut microbiota load induces an apparent immune priming and increases tolerance to *Bacillus thuringiensis*. *Environm. Microbiol.*, 12(10): 2730–2737.
- Huang YY, Ma H, Jia ZH, Huang YL, Song SS, Zhang X, 2014. Isolation and identification of accumulation of quorum signal molecules strains from the *Trichoplusia ni* midgut. *Biotechnology Bulletin*, 7: 196–200. [黄媛媛, 马宏, 贾振华, 黄亚丽, 宋水山, 张霞, 2014. 粉纹夜蛾中肠微生物中产 AHLs 群体感应信号分子菌株的分离鉴定. 生物技术通报, 7: 196–200.]
- Indiragandhi P, Anandham R, Madhaiyan M, Poonguzhali S, Kim GH, Saravanan VS, Sa TM, 2007. 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. Appl. Microbiol.*, 103(6): 2664–2675.
- Kikuchi Y, Hayatsu M, Hosokawa T, Nagayama A, Tago K, Fukatsu T, 2012. Symbiont-mediated insecticide resistance. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 109(22): 8618–8622.
- Liu CX, Li FL, Han ZJ, Chen ZB, 1995. Studies on deltamethrin resistance breeding and its resistant mechanism of diamond back moth. *Acta Phytophylactca Sinica*, 22(1): 367–372.
- Magurran AE, 1988. Ecological Ddiversity and Its Mmeasurement. New Jersey: Princeton University Press. 43–47.
- McLean AHC, van Asch M, Ferrari J, Godfray HCJ, 2011. Effects of bacterial secondary symbionts on host plant use in pea aphids. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.*, 278(1706): 760–766.
- Sharon G, Segal D, Ringo JM, Hefetz A, Zilber-Rosenberg I, Rosenberg E, 2010. Commensal bacteria play a role in mating preference of *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 107(46): 20051–20056.
- Talekar NS, Shelton AM, 1993. Biology, ecology, and management of the diamondback moth. *Annu. Rev. Entomol.*, 38: 275–301.
- Tsuchida T, Koga R, Fukatsu T, 2004. Host plant specialization governed by facultative symbiont. *Science*, 303(5666): 1989.
- Xia XF, Zheng DD, Lin HL, You MS, 2013. Isolation and identification of bacteria from the larval midgut of the diamondback moth, *Plutella xylostella*. *Chinese Bulletin of Entomology*, 50(3): 770–776. [夏晓峰, 郑丹丹, 林海兰, 尤民生, 2013. 小菜蛾幼虫中肠细菌的分离鉴定. 应用昆虫学报, 50(3): 770–776.]
- Xia XF, Zheng DD, Zhong HZ, Qin BC, Gurr GM, Vasseur L, Lin HL, Bai JL, He WY, You MS, 2013. DNA sequencing reveals the midgut microbiota of diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) and a possible relationship with insecticide resistance. *PLoS ONE*, 8(7): 1–8.
- Xiang H, Huang YP, 2008. Symbiosis between gut microbiota and insects. *Chinese Bulletin of Entomology*, 45(5): 687–693. [相辉, 黄勇平, 2008. 肠道微生物与昆虫的共生关系. 昆虫知识, 45(5): 687–693.]
- Zhang HL, Cai Y, Tan ZJ, Zhou SN, Guo KX, She Y, Cai GX, 2014. Effects of ultra-micro powder Qiweibaizhusan on metabolism diversity of intestinal microflora in diarrhea mice with dysbacteriosis. *Chinese Journal of Applied Environment Biology*, 20(1): 93–100. [张华玲, 蔡莹, 谭周进, 周赛男, 郭抗萧, 余颜, 蔡光先, 2014. 超微七味白术散对菌群失调腹泻小鼠肠道微生物代谢多样性的影响. 应用与环境生物学报, 20(1): 93–100.]