

# 褐飞虱内共生菌研究进展

李慕雨 程依情 王正亮\* 俞晓平\*

(中国计量大学生命科学学院, 浙江省生物计量及检验检疫技术重点实验室, 杭州 310018)

**摘要:** 褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 是我国及东南亚地区水稻上的主要害虫, 其体内存在的大量共生菌是褐飞虱生物防治中尚未开发的一类重要微生物资源。褐飞虱内共生菌种类丰富多样, 目前研究主要集中于其初级共生真菌——类酵母共生菌(yeast-like symbionts, YLS)和2类次级共生细菌——沃尔巴克氏体 *Wolbachia* 和杀雄菌 *Arsenophonus*。早期关于褐飞虱内共生菌的分离及种类鉴定主要采用体外离体培养、克隆文库构建以及 PCR-变性梯度凝胶电泳等传统技术。近年来, 宏基因组和高通量测序技术的应用极大拓展了褐飞虱内共生菌种类多样性研究的深度。内共生菌不仅参与褐飞虱的营养代谢, 为宿主提供氨基酸、维生素和甾醇等必需营养物质以满足宿主正常的生长发育和繁殖, 同时还可以介导宿主的致害性变异、抗药性产生和病原物防御等生理过程。鉴于内共生菌在褐飞虱生长发育及环境适应过程中的重要作用, 利用内共生菌对褐飞虱进行生物防控已成为目前研究的一大热点, 并展现出良好的应用前景。该文对褐飞虱内共生菌的主要种类及其生物学特性进行介绍, 对其分离鉴定技术和多样性分析技术进行总结, 并对褐飞虱内共生菌的生物学功能进行系统综述, 最后对内共生菌在褐飞虱生物防治过程中的应用潜能及存在问题进行探讨, 并对今后褐飞虱内共生菌相关研究进行展望。

**关键词:** 褐飞虱; 内共生菌; 多样性; 生物学功能; 生物防治

## Research progresses in endosymbionts of the brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Hemiptera: Delphacidae)

Li Muyu Cheng Yiqing Wang Zhengliang\* Yu Xiaoping\*

(Zhejiang Provincial Key Laboratory of Biometrology and Inspection and Quarantine, College of Life Sciences,  
China Jiliang University, Hangzhou 310018, Zhejiang Province, China)

**Abstract:** The brown planthopper (BPH), *Nilaparvata lugens*, a major pest of rice in China and South-east Asia, harbors a large number of endosymbionts, which are considered as important microbial resources that can be exploited and utilized in BPH biocontrol. The endosymbionts in BPH are rich in species. Among them, the primary fungal endosymbionts namely yeast-like symbionts and two groups of bacterial endosymbionts *Wolbachia* and *Arsenophonus* were focused at present. Traditional methods for isolation and identification of BPH endosymbionts mainly include *in vitro* culture technique, cloning library construction and PCR-denaturing gradient gel electrophoresis. Recently, the depth of research on BPH endosymbiont diversity was greatly expanded by the application of metagenomics and high-throughput sequencing technologies. Endosymbionts are not only involved in host nutritional metabolism and hence provide essential nutrients, such as amino acids, vitamins and sterols for host growth, development and reproduction, but also mediate many physiological processes including virulence variation, insecticide resistance and pathogen defense. In view of the key roles that endosymbionts play in

基金项目: 浙江省杰出青年基金项目(LR19C140001), 国家自然科学基金(31972347, 31601698)

\* 通信作者 (Authors for correspondence), E-mail: zhengliang.w0234@163.com, yuxiaoping19630306@163.com

收稿日期: 2021-07-08

host growth, development and environmental adaptation, the endosymbiont-based biocontrol strategies for BPH have drawn much attention in recent years and shown a promising prospect for application. This review first gave a brief description of the main species and their biological characteristics of BPH endosymbionts, and then summarized the techniques used for the isolation, identification and diversity analysis of endosymbionts. Next, the biological functions of endosymbionts performed in BPH were systematically reviewed. Finally, the application potentials of endosymbionts in the biocontrol of BPH as well as the existing problems and future prospects were discussed.

**Key words:** *Nilaparvata lugens*; endosymbiont; diversity; biological function; biocontrol

褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 隶属于半翅目飞虱科, 具有远距离迁飞习性, 是我国及东南亚国家水稻上的主要害虫。褐飞虱为单食性害虫, 只能在水稻和普通野生稻上取食和繁殖后代, 不仅直接吸食水稻汁液, 而且雌成虫产卵还会破坏水稻组织, 造成植株枯干倒伏, 即俗称“虱烧”, 而且还能传播草状丛矮病和齿叶矮缩病等水稻病毒病, 严重危害水稻安全生产(吕进等, 2013)。如何通过多种途径对褐飞虱进行安全有效的防治是当前褐飞虱防控工作中一个亟待解决的问题(徐红星等, 2017)。

昆虫体内含有大量共生菌, 这些共生菌主要存在于肠道、脂肪体或特殊器官(如菌胞)中, 参与宿主几乎所有的生命活动, 是害虫生物防治中尚未完全开发的一类重要资源(Crotti et al., 2012; Douglas, 2015; Masson & Lemaitre, 2020)。昆虫内共生菌可为宿主生存提供必需的营养, 介导宿主的取食性和抗药性, 赋予宿主对病原微生物、寄生性及捕食性天敌的抵御能力, 从而影响宿主的生长发育、交配繁殖、营养代谢和免疫防御等过程(Su et al., 2013; Skidmore & Hansen, 2017; Blanton & Peterson, 2020)。同蚜虫、粉虱和叶蝉等其他半翅目害虫一样, 褐飞虱体内亦存在大量共生菌, 它们在长期的协同进化过程中与宿主昆虫之间形成了互利共生的关系(Noda & Omura, 1992; Tang et al., 2010; Fan et al., 2015)。近年来, 褐飞虱与内共生菌的互作关系研究越来越受到重视, 并提出了应用内共生菌防控褐飞虱的“以菌治虫”新策略(陈列忠等, 2016; Gong et al., 2020)。而明确褐飞虱内共生菌的种类、分布和多样性, 分离和鉴定关键内共生菌, 并解析其生物学功能是实现“以菌治虫”的前提和关键环节。本文系统总结褐飞虱内共生菌的研究进展, 重点围绕褐飞虱内共生菌的种类多样性、分离鉴定技术及其生物学功能进行综述, 并对其在褐飞虱生物防控中的应用潜能和存在问题进行探讨和归纳, 以期为研究褐飞虱与内共生菌协同进化机制, 以及开发基于共

生菌的褐飞虱防治新技术提供参考。

## 1 褐飞虱内共生菌的主要种类及其生物学特性

### 1.1 褐飞虱内共生真菌

与多数半翅目昆虫以细菌类微生物为初级共生菌不同, 褐飞虱的初级共生菌为共生真菌, 即类酵母共生菌(yeast-like symbionts, YLS), 是褐飞虱体内共生菌的优势菌群(Noda & Omura, 1992)(表1)。Noda et al.(1995)首次通过核糖体小亚基18S rDNA基因测序及系统发育分析发现, 类酵母共生菌与隶属于子囊菌门核菌纲麦角菌目的金孢酵母菌 *Hypomyces chrysospermus* 有较高的亲缘关系。随后该研究团队在此基础上联合核糖体大亚基序列信息并与其它56种真菌相应基因序列进行比对, 认为该菌在分类上属于子囊菌门粪壳菌纲肉座菌目真菌(Suh et al., 2001)。因此, 为突显 Noda Hiroaki 在稻飞虱类酵母共生菌研究中的先驱作用, 后续很多研究亦将该菌简称为 Noda 菌。Fan et al.(2015)通过高通量测序技术获得了该菌的全基因组序列信息, 并将其学名正式命名为 *Entomomyces delphacidicola*, 并得到界内广泛认可。陈法军等(2006)通过冷冻切片和显微镜观察发现该菌主要分布于褐飞虱雌成虫腹部脂肪体内, 而在头部和胸部均未发现该菌, 且其菌体呈长梭形, 长度一般在10~15 μm之间, 宽度为3~6 μm。Wang XQ et al.(2021)通过大尺度三维电镜技术重构褐飞虱的纳米级分辨率三维结构时发现, 含类酵母共生菌的菌胞为单个细胞, 体积占据1龄若虫腹部的22%。侯云(2013)通过显微计数统计发现类酵母共生菌数量随褐飞虱龄期和性别的变化而波动, 其在褐飞虱卵期的数量相对较少, 在若虫期时次之, 褐飞虱羽化后其数量急剧增加; 且该菌在雌成虫体内的数量显著高于雄成虫, 且随着雌成虫的发育其数量继续增加, 于产卵前达到最高峰, 而雄成虫体内该菌的数量随发育时间呈现下降趋势。

类酵母共生菌在褐飞虱个体生长发育过程中的分布和传递模式不同。在卵期和若虫期,该菌以菌胞形式分别存在于卵的后部和若虫腹部的脂肪体中;在成虫期,该菌在脂肪体内首先通过胞吐作用释放到血腔中,之后血淋巴中游离的类酵母共生菌到达卵巢管附近,靠近包裹着原初卵母细胞的滤泡细胞,随后通过胞饮作用进入滤泡细胞并到达卵巢管的上皮栓细胞,最终进入卵细胞(Cheng & Hou, 2001; 何林懋, 2018)。可见,类酵母共生菌在虫体内是通过垂直卵传的方式由亲代传递给子代,没有在体外停留的机会。Nan et al.(2016)研究发现肌动蛋白和卵黄原蛋白在类酵母共生菌进入卵巢管的上皮栓细胞进而移动到卵细胞的过程中发挥着非常重要的作用。

除了类酵母共生菌外,目前通过体外离体培养、分子标记文库构建及扩增子高通量测序等技术在褐飞虱体内还检测到了嗜盐梗孢酵母 *Sterigmatomyces halophilus*(张珏峰等,2009)、解脂耶氏酵母 *Yarrowia lipolytica*(张珏峰等,2007)、假丝酵母 *Candida* sp.(Pang et al., 2012)、季也蒙毕赤酵母 *Pichia guilliermondii*、隐球酵母 *Cryptococcus* sp.以及诸多不可培养的真菌类共生微生物,其中季也蒙毕赤酵

母和隐球酵母已经通过荧光原位杂交技术被证实存在褐飞虱脂肪体中存在,但其数量显著低于类酵母共生菌(Dong et al., 2011; Hou et al., 2013)。总体而言,相较于类酵母共生菌,对褐飞虱体内其他共生真菌的生物学特性暂时还未开展深入研究。

## 1.2 褐飞虱内共生细菌

褐飞虱头部、胸部和腹部(包含肠道)均存在大量共生细菌。李香香(2010)通过平板培养法从褐飞虱肠道内分离到了包括不动杆菌属 *Acinetobacter*、芽孢杆菌属 *Bacillus*、金黄杆菌属 *Chryseobacterium*、肠杆菌属 *Enterobacter*、欧文氏菌属 *Erwinia* 和微杆菌属 *Microbacterium* 在内的 6 属细菌; Tang et al. (2010)通过 16S rDNA 文库分析发现褐飞虱体内隶属于变形菌门、厚壁菌门、放线菌门和拟杆菌门 4 个门的 18 种共生细菌。Zhang et al.(2019)通过高通量测序技术在褐飞虱脂肪体和卵巢中共鉴定到隶属于 11 门 105 属的共生细菌,且发现其中优势细菌种类来源于厚壁菌门和变形菌门,两者相对丰度之和超过 99%。目前,在褐飞虱诸多共生细菌中,研究较多的主要为沃尔巴克氏体 *Wolbachia* 和杀雄菌 *Arsenophonus* 两类细菌(Bing et al., 2019)(表 1)。

表 1 褐飞虱内共生菌主要种类及其生物学特性

Table 1 The main taxa and their biological characteristics of *Nilaparvata lugens* endosymbionts

类型 Type	种类 Species	组织部位 Tissue	传递方式 Transmission mode	参考文献 Reference
内共生真菌 Fungal endosymbiont	类酵母共生菌 <i>Yeast-like symbiontes</i>	腹部、脂肪体、血淋巴、卵巢 Abdomen, fat body, hemolymph, ovary	垂直传递 Vertical transmission	Noda & Omura, 1992; Cheng & Hou, 2001; 侯云, 2013 Hou, 2013; 陈法军等, 2006 Chen et al., 2006; 何林懋, 2018 He, 2018; Wang XQ et al., 2021
内共生细菌 Bacterial endosymbiont	沃尔巴克氏体 <i>Wolbachia</i>	头部、胸部、腹部、脂肪体、肠道、卵巢 Head, thorax, abdomen, fat body, intestine, ovary	垂直传递、水平传递 Vertical transmission, horizontal transmission	甘波谊等, 2000 Gan et al., 2000; Zhang et al., 2010; 屈吕宇, 2013 Qu, 2013; Qu et al., 2013; 姜建军等, 2017 Jiang et al., 2017
	杀雄菌 <i>Arsenophonus</i>	脂肪体、肠道、卵巢 Fat body, intestine, ovary	垂直传递 Vertical transmission	王渭霞等, 2010 Wang et al., 2010; Qu et al., 2013; 陈宇等, 2014 Chen et al., 2014; Vijayakumar et al., 2018; Zhang et al., 2019; Guo et al., 2021

沃尔巴克氏体是一类广泛存在于昆虫体内的次级共生细菌,既可在亲代与子代之间经卵垂直传播,也可通过寄主植物和寄生蜂的介导作用而在不同个体间进行水平传递(甘波谊等,2000; Landmann, 2019)。该菌可通过诱导胞质不亲和、孤雌生殖、雌性化或杀雄作用等机制调控宿主的生殖而使自身获得种群优势(Bi & Wang, 2020; Guo et al., 2020)。经分子诊断技术证实沃尔巴克氏体广泛存在于褐飞虱

不同种群体内,其数量和分布与宿主地理来源、代次、性别以及翅型密切相关(屈吕宇,2013; 姜建军等,2017)。屈吕宇等(2013)通过实时荧光定量 PCR 技术检测了我国 22 个不同地理种群褐飞虱体内沃尔巴克氏体的感染频次,结果表明 21 个种群中都有不同程度的沃尔巴克氏体感染,进一步对沃尔巴克氏体感染种群褐飞虱个体不同发育阶段和不同组织部位样品进行检测,发现雌成虫中肠内沃尔巴

克氏体的密度一般要高于雄成虫,短翅雌成虫中肠内沃尔巴克氏体的密度要显著高于长翅型雌成虫;且沃尔巴克氏体在宿主不同组织中的分布情况及含量亦差异显著,腹部的沃尔巴克氏体含量最高,在非生殖组织中,胸部的沃尔巴克氏体密度比头部和足部的都要高。Zhang et al.(2010)通过杂交试验证明沃尔巴克氏体可通过母系经卵垂直传递给子代,但对雌成虫产卵量和成虫寿命有一定影响。Ju et al.(2020)研究证实沃尔巴克氏体基因组中含有完整的生物素和核黄素合成操作单元,可通过为宿主补充维生素来促进褐飞虱生殖能力。除具有调节宿主生殖的功能外,最新研究还发现沃尔巴克氏体可以通过调控宿主解毒酶基因及其上游转录因子的表达进而介导宿主对吡虫啉等化学农药的抗性(唐涛,2019;Cai et al., 2021)。

杀雄菌亦是昆虫体内的一类常见共生细菌,褐飞虱体内的杀雄菌由王渭霞等(2010)首先发现,而后屈吕宇(2013)利用16S rRNA基因为指征在我国不同地理种群褐飞虱中均检测到杀雄菌的感染,系统发育分析结果显示其亲源关系与粉虱科和木虱科昆虫体内的杀雄菌较近;且分子诊断结果显示该菌主要位于褐飞虱脂肪体中,含量随着宿主龄期的增加而升高,且在褐飞虱同一个体中与沃尔巴克氏体存在竞争现象,同一个种群一般只含有2种菌中的1种。然而,最新研究发现沃尔巴克氏体和杀雄菌可以稳定共存于同一个地理种群中,尽管不同地理种群中2种共生细菌的感染频次存在一定差异(Guo et al., 2021)。大量研究显示地理分布和环境因子可显著影响昆虫内共生菌的种类(Yun et al., 2014; Liu et al., 2020)。因此,出现上述差异性结果极可能与研究中褐飞虱的取样种群不同有关。与沃尔巴克氏体传递方式类同,杀雄菌亦可通过宿主卵的细胞质进行母系遗传传递给后代(Qu et al., 2013;陈宇等,2014)。目前,通过第2代高通量测序技术已对杀雄菌全基因组完成测序,生物信息学分析表明其可为宿主提供维生素(Fan et al., 2016)。最新研究显示,该菌能够介导褐飞虱对病原真菌黄绿僵菌 *Metarrhizium flavoviride* 侵染的防御能力,并参与调控宿主对化学杀虫剂的抗性(朱欢欢等,2017;Pang et al., 2018)。

## 2 褐飞虱内共生菌的分离鉴定及多样性分析技术

开展褐飞虱与内共生菌互作机制的研究主要建

立在明确褐飞虱内共生菌种类、群落结构和多样性的基础上。早期主要是利用离体培养技术进行分析,然而褐飞虱体内的微环境很难进行人为模拟,且分离培养过程易受杂菌污染,试验重复性差。随后出现的DNA克隆文库技术和变性梯度凝胶电泳(denatured gradient gel electrophoresis, DGGE)技术主要基于特定分子标记基因的扩增、电泳和测序进行分析,可以避开微生物分离培养的过程,在研究昆虫体内微生物多样性方面具有一定优势,然而上述技术操作步骤繁琐,且严重低估了褐飞虱内共生菌的多样性。近年来,随着分子生物技术的发展,特别是宏基因组的应用,关于褐飞虱内共生菌的分离鉴定及多样性分析等方面的工作取得了很大进展(表2)。

### 2.1 离体培养技术

内共生菌的离体培养是研究昆虫内共生菌生物学特性最理想的模式,对明确其与宿主互作关系,以及开发基于共生菌的害虫防控技术具有重要意义。褐飞虱体内微环境与体外环境的差异导致褐飞虱内共生菌的分离、培养和鉴定工作非常困难,一直未取得较大进展。Nasu et al.(1981)利用平板涂布培养法从褐飞虱卵和脂肪体中分离出2株菌株,但仅从形态上初步认定为类酵母共生菌。Kagayama et al.(1993)在上述研究的基础上改进了离体培养方法,成功从褐飞虱卵中分离到7株形态不同的真菌菌株,经18S rDNA序列比对分析发现其均与酿酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae* 的亲缘关系较近。张玗锋等(2007;2009)采用类似的卵块培养法从褐飞虱体内分离了2株共生真菌,经鉴定分别为解脂耶氏酵母和嗜盐梗孢酵母,但并未对其定位进行验证。Pang et al.(2012)等通过脂肪体分离涂布法结合分子生物学技术从褐飞虱脂肪体内分离获得1株假丝酵母菌株。

### 2.2 DNA克隆文库技术

DNA克隆文库技术是以样品基因组总DNA为模板,利用通用引物对微生物标志基因(如细菌16S rDNA和真菌ITS)进行PCR扩增,并进行连接转化,构建相应的DNA克隆文库,最后通过测序将文库中每一个待检目标基因序列与公共核酸序列数据库进行比对,根据序列相似性对未知微生物进行分类和鉴定。目前,该技术已应用于褐飞虱内共生细菌的多样性分析,如李香香等(2011)综合运用平板培养法以及16S rDNA文库测序法研究了褐飞虱肠道内共生细菌的种类,检测到包括沃尔巴克氏体、不动杆菌 *Acinetobacter* sp. 和欧文氏菌 *Enwinia* sp. 在内的

10余种细菌。Tang et al.(2010)构建了3个不同褐飞虱致害性种群内共生细菌的16S rDNA文库,从中鉴定到了包括沃尔巴克氏体、阿氏肠杆菌 *Enterobacter asburiae* 和缺陷假单胞菌 *Brevundimonas*

*diminuta* 在内的10种共生细菌,并通过荧光原位杂交技术对其中2株菌进行了定位分析,发现它们主要定位于雌成虫的生殖组织中,如卵巢或产卵器及其附近组织。

表2 褐飞虱内共生菌分离鉴定及多样性分析技术

Table 2 Techniques used for isolation, identification and diversity analysis of *Nilaparvata lugens* endosymbionts

技术名称 Technique	主要优点 Main advantage	主要缺点 Main disadvantage	内共生菌种类 Endosymbiont species	参考文献 Reference
离体培养 <i>in vitro</i>	可获得离体培养菌株 Capable of obtaining culturable strains	耗时较长,重复性差,离体培养 Time consuming, poor repeatability; most endosymbionts cannot be cultured <i>in vitro</i>	解脂耶氏酵母、嗜盐梗孢酵母、假丝酵母、不动杆菌、欧文氏菌、芽孢杆菌和肠杆菌等及少量未鉴定种 <i>Yarrowia lipolytica</i> , <i>Sterigmatomyces halophilus</i> , <i>Candida</i> sp., <i>Acinetobacter</i> sp., <i>Envwinia</i> sp., <i>Bacillus</i> sp., <i>Enterobacter</i> sp., etc. and a few unclassified species	Nasu et al., 1981; Kagayama et al., 1993; 张珏峰等, 2007 Zhang et al., 2007; 李香香, 2010 Li, 2010; Pang et al., 2012
克隆文库 Clone library	无需体外培养,准确性高 Culture-independent, high cost	工作量大,成本较高 Heavy workload, high cost	沃尔巴克氏体、不动杆菌、苍白杆菌、草螺菌、白色杆菌、肠杆菌、缺陷假单胞菌等诸多共生细菌 <i>Wolbachia</i> , <i>Acinetobacter</i> sp., <i>Ochrobaclrum</i> sp., <i>Herbaspirillum</i> sp., <i>Leucobacter</i> sp., <i>Enterobacter</i> sp., <i>Brevundimonas</i> sp., etc. and numerous other bacterial endosymbionts	Tang et al., 2010; 李香香等, 2011 Li et al., 2011
PCR-变性梯度凝胶电泳 PCR-denatured gradient gel electrophoresis	无需体外培养,准确性高,重复性好 Culture-independent, high accuracy	操作较复杂,分辨率不足 Complicated operation, low resolution	类酵母共生菌、季也蒙毕赤酵母、隐球酵母、汉逊德巴利酵母、沃尔巴克氏体等及一些未鉴定种 <i>Yeast-like symbionts</i> , <i>Pichia guilliermondii</i> , <i>Cryptococcus</i> sp., <i>Debaryomyces hansenii</i> , <i>Wolbachia</i> , etc. and several unclassified species	Dong et al., 2011; Hou et al., 2013; Xu et al., 2014; 2015
宏基因组学 Metagenomics	无需体外培养,通量高,检测速度快 Culture-independent, high throughput, high-speed detection	成本较高 High cost	类酵母共生菌、酵母属、青霉属、节担菌属、沃尔巴克氏体、杀雄菌、菠萝泛菌、沙雷氏菌等及大量未鉴定种 <i>Yeast-like symbionts</i> , <i>Saccharomyctales</i> sp., <i>Penicillium</i> sp., <i>Wallemia</i> sp., <i>Wolbachia</i> , <i>Arenophonus</i> , <i>Pantoea ananatis</i> , <i>Serratia</i> sp., etc. and a large number of unclassified species	Vijayakumar et al., 2018; Zhang et al., 2018; 王天召等, 2019 Wang et al., 2019; Zhang et al., 2019; Wang ZL et al., 2020; 2021; Shentu et al., 2020

### 2.3 PCR-DGGE 技术

PCR-DGGE 技术是将 PCR 和 DGGE 技术相结合的一种 DNA 多态性检测技术,能够分辨长度相同而序列不同(可以是一个碱基差异)的 DNA 片段。该技术的基本原理是 DNA 双链因其内部核苷酸的排列顺序不同而具有不同的解链温度,这使其在含不同变性梯度变性剂(如尿素或甲酰胺)的聚丙烯酰胺凝胶中的解链行为不同,进而致使电泳迁移速度出现差异,最终在凝胶上呈现出差异性带型图谱。该技术早期被广泛用于土壤和水体等环境样品中微生物群落的多样性分析,并逐渐扩展用于昆虫体内共生微生物群落的组成分析。Hou et al.(2013)通过 18S rDNA 和 5.8S-ITS 序列测定结合 DGGE 技术证明了褐飞虱体内存在类酵母共生菌、季也蒙毕赤酵母和假丝酵母等共生真菌及一些不能培养的其他酵母,极大地丰富了褐飞虱共生真菌的种类多样性。

Xu et al.(2014;2015)利用该技术分析了不同发育阶段、不同地理种群以及不同致害性种群褐飞虱体内共生细菌群落的多样性,结果表明 1~5 龄若虫体内共生细菌群落的多样性差异显著,但成虫与 1 龄若虫的菌群结构具有较高的相似性。地理来源和宿主水稻品种亦是影响褐飞虱体内共生细菌群落结构的重要因子,如取食感虫水稻品种的褐飞虱种群体内共生细菌群落结构与取食抗性水稻品种的褐飞虱种群之间存在显著差异(Xu et al., 2015)。

### 2.4 宏基因组分析技术

宏基因组是生境中全部微生物遗传物质的总和,包含可培养和不可培养的微生物的基因组。宏基因组分析技术是以样品中微生物群体基因组为研究对象,以测序分析手段研究目的样品所包含的全部微生物的遗传组成及其群落功能。该技术可以避开微生物分离培养的过程,能够准确、快速和高通量

地解读微生物群体的多样性与丰度,已广泛应用于各类昆虫体内共生微生物的多样性研究。最近,国内外学者应用宏基因组测序技术已对褐飞虱不同发育历期、不同性别和不同组织部位的内共生菌群落结构进行了深入研究(Zhang et al., 2019; Wang et al., 2020),并评估了交配行为(Shentu et al., 2020)、地理来源(Zhang et al., 2018)、水稻品种(Wang ZL et al., 2021)以及农药抗性(Vijayakumar et al., 2018)等因素对褐飞虱内共生菌多样性的影响。如王天召等(2019)采用 Illumina Miseq 测序技术通过检测细菌 16S rRNA 和真菌 ITS 序列系统分析了褐飞虱成虫肠道内细菌和真菌的种类多样性和群落结构组成,共注释到了 7 个细菌门和 3 个真菌门,变形菌门和子囊菌门分别是肠道细菌和真菌的优势菌门,表明褐飞虱肠道微生物种类丰富多样。该团队利用相同的方法全面解析了褐飞虱不同发育阶段体内共生细菌和共生真菌的群落结构和多样性,发现褐飞虱内共生菌的种类组成和群落结构随宿主的发育历期和性别而变化(Wang et al., 2020)。Wang ZL et al. (2021)基于宏基因组技术比较了不同致害性种群褐飞虱肠道细菌的多样性,结果显示褐飞虱抗性种群肠道细菌的丰富度显著高于褐飞虱敏感种群。这些结果不仅为开发基于共生关系的“以菌治虫”褐飞虱防控技术提供了丰富的微生物数据信息,也为揭示褐飞虱与共生微生物的协同进化机制研究奠定了科学基础。

### 3 褐飞虱内共生菌的生物学功能

共生菌与宿主在长期的协同进化过程中形成了互惠互利、相互依存的关系。研究显示,内共生菌在褐飞虱生长发育和环境适应过程中发挥着重要作用,参与宿主的营养代谢(Wan et al., 2014; Fan et al., 2015)、致害性变异(Lü et al., 2004; 陈宇, 2013)、解毒代谢(李文浩, 2020; Cai et al., 2021)及病原物防御(朱欢欢等, 2017)等诸多生理生化过程(表3)。

#### 3.1 参与宿主的营养代谢过程

褐飞虱以吸取水稻韧皮部汁液为食,而水稻韧皮部汁液中的营养物质并不均衡,不足以满足褐飞虱生长发育过程所需的营养物质。有研究发现以韧皮部汁液为食的半翅目昆虫如蚜虫、飞虱和叶蝉等,其体内均含有大量共生菌,以维持自身正常的营养代谢(Blow et al., 2020)。褐飞虱体内的类酵母共生菌、沃尔巴克氏体和杀雄菌能合成并为宿主提供所缺乏的营养物质,包括必需氨基酸、甾醇和维生素等

(Wan et al., 2014; Fan et al., 2016; Ju et al., 2020)。傅强等(2001)发现缺(少)共生菌的褐飞虱取食缺失酪氨酸和甲硫氨酸的人工饲料后难以羽化,不能完成整个发育周期。王国超等(2005)发现必需氨基酸对缺(少)共生菌褐飞虱生长的影响明显大于非必需氨基酸,且必需氨基酸的缺少对褐飞虱内共生菌的数量有一定刺激作用,进而推测类酵母共生菌会对褐飞虱的氨基酸营养进行补偿。Xue et al.(2014)对褐飞虱及体内类酵母共生菌的基因组进行了测序,从代谢基因组水平上验证了上述推测,全基因组序列分析结果表明褐飞虱自身基因组缺失甲硫氨酸、苯丙氨酸和赖氨酸等 10 种必需氨基酸的合成基因,而在类酵母共生菌基因组中均可找到对应氨基酸的合成基因。节肢动物普遍缺乏合成甾醇的能力,类酵母共生菌可以为褐飞虱提供甾醇,该菌含有细胞色素 P450 基因和甾醇 C-22 去饱和酶基因,可以产生麦角固醇生物合成的中间产物,褐飞虱可利用该中间产物进一步合成胆固醇,形成完整的胆固醇合成途径(Noda & Koizumi, 2003)。此外,类酵母共生菌基因组可以编码褐飞虱基因组中缺失的大部分尿酸酶,从而利用宿主的代谢废弃物——尿酸来合成褐飞虱生长发育的必需物质(Sasaki et al., 1996; Hongoh & Ishikawa, 1997)。褐飞虱内共生细菌则可以弥补类酵母共生菌和褐飞虱在维生素生物合成途径上的缺陷,如沃尔巴克氏体能够产生维生素 B2 和 B7,而杀雄菌基因组中亦含有维生素 B2、B7 和 PP 等 B 族维生素合成基因簇(Fan et al., 2016; Ju et al., 2020)。

#### 3.2 参与宿主的致害性变异过程

培育和推广抗性水稻品种是当前防治褐飞虱的一种优选策略。然而,褐飞虱致害性的快速与高度变异往往造成抗虫品种使用年限缩短。褐飞虱致害性的变化给抗性水稻选育及褐飞虱防治带来了前所未有的挑战。有研究表明,内共生菌与褐飞虱的致害性变异密切相关(吕仲贤等, 2001a; Lü et al., 2004; 荆胜利等, 2013)。吕仲贤等(2001b)和 Xu et al.(2015)研究了不同致害性褐飞虱种群内共生菌数量的动态变化及其对褐飞虱在抗虫水稻品种上的取食选择、生长发育和繁殖等生理过程的影响,结果表明褐飞虱内共生菌数量的变化及其对氨基酸的吸收利用能力是制约其种群致害性变异的重要因子。侯云(2013)利用实时荧光定量 PCR 技术检测了类酵母共生菌、季也蒙毕赤酵母和假丝酵母 3 种内共生真菌在褐飞虱适应水稻不同抗性品种时的变化规

律,发现取食抗性水稻后褐飞虱3种内共生真菌的数量均急剧下降,特别是适应抗性品种过程中的第2代褐飞虱,而到第3代褐飞虱其内共生菌的数量开始回升。Chen et al.(2011)研究发现缺(少)共生菌的褐飞虱在取食抗性水稻品种ASD7和IR26后,其雌成虫的体重、生长速率和产卵量均显著低于正常含共生菌的褐飞虱。推测当食物中缺失褐飞虱自身不能合成的必需氨基酸营养物质时,其体内类酵母共生菌会出现数量增加的一种补偿平衡机制。Yu et al.(2014)测定了取食水稻不同抗性品种的褐飞虱脂肪体转录组,发现大量与褐飞虱致害性变异相关的共生菌关键基因,包括隶属12个不同属类酵母共生菌的317个基因和来源于沃尔巴克氏体的22个相

关基因。陈宇(2013)亦发现杀雄菌能够影响褐飞虱对抗性水稻品种Mudgo的致害能力,主要表现为不含杀雄菌的褐飞虱雌成虫在抗性水稻品种Mudgo上的产卵量显著下降。最近,基于扩增子的高通量测序结果表明,取食水稻抗、感品种的褐飞虱实验室种群的肠道细菌群落结构与田间种群均存在显著差异(Ojha & Zhang, 2019; Wang ZL et al., 2021)。褐飞虱可以在很短的时间内就适应抗性水稻品种并形成新的致害性种群,所以基本无法从褐飞虱本身的遗传变异角度进行解释,因此诸多学者推测内共生菌可能才是褐飞虱致害性变异的根本原因。然而,关于共生菌介导褐飞虱致害性变异的机制还知之甚少,相关研究亟待加强。

表3 褐飞虱内共生菌的生物学功能

Table 3 The biological functions of *Nilaparvata lugens* endosymbionts

生理过程 Physiological process	内共生菌 Endosymbiont	功能 Function	参考文献 Reference
营养代谢 Nutritional metabolism	类酵母共生菌 <i>Yeast-like symbionts</i>	提供必需氨基酸 Providing essential amino acids	傅强等,2001 Fu et al., 2001; 王国超等,2005 Wang et al., 2005; Wan et al., 2014; Xue et al., 2014; Fan et al., 2015
	类酵母共生菌 <i>Yeast-like symbionts</i>	提供类固醇 Providing steroids	Noda & Koizumi, 2003
	沃尔巴克氏体 <i>Wolbachia</i>	提供维生素B2和B7 Providing vitamin B2 and B7	Ju et al., 2020
	杀雄菌 <i>Arsenophonus</i>	提供维生素B2、B7和PP Providing vitamin B2, B7 and PP	Fan et al., 2016
	类酵母共生菌 <i>Yeast-like symbionts</i>	参与氮素循环 Involved in nitrogen cycling	Sasaki et al., 1996; Hongoh & Ishikawa, 1997
致害性变异 Virulence variation	类酵母共生菌 <i>Yeast-like symbionts</i>	与致害性变异相关 Related to virulence variation	吕仲贤等,2001a, b Lü et al., 2001a, b; Lü et al., 2004; 荆胜利等,2013 Jing et al., 2013; 侯云, 2013 Hou, 2013; Chen et al., 2011
	沃尔巴克氏体 <i>Wolbachia</i>	与致害性变异相关 Related to virulence variation	Yu et al., 2014
	杀雄菌 <i>Arsenophonus</i>	与致害性变异相关 Related to virulence variation	陈宇,2013 Chen, 2013
解毒代谢 Detoxification metabolism	沃尔巴克氏体 <i>Wolbachia</i>	提高宿主对吡虫啉的抗性 Enhanced host resistance to imidacloprid	唐涛,2019 Tang, 2019; 李文浩, 2020 Li, 2020; Cai et al., 2021
	杀雄菌 <i>Arsenophonus</i>	提高宿主对吡虫啉的抗性 Enhanced host resistance to imidacloprid	Pang et al., 2018
	解脂耶氏酵母 <i>Yarrowia lipolytica</i>	与宿主对吡虫啉的抗性有关 Related to host resistance to imidacloprid	李娜等,2010;2011 Li et al., 2010; 2011
病原菌防御 Pathogen defense	类酵母共生菌 <i>Yeast-like symbionts</i>	参与宿主与黄绿僵菌的互作过程 Involved in the interactions between host and <i>Metarhizium flavoviride</i>	张珏峰,2019 Zhang, 2019
	杀雄菌 <i>Arsenophonus</i>	提高宿主对黄绿僵菌侵染的防御能力 Enhanced host resistance to <i>Metarhizium flavoviride</i>	朱欢欢等,2017 Zhu et al., 2017

### 3.3 参与宿主的解毒代谢过程

当前,施用化学杀虫剂是防治褐飞虱的重要手

段,但是随着杀虫剂的持续大剂量施用导致了严重的“3R”问题,即抗药性、再猖獗和农药残留,严重威

胁人类健康和生态环境。近年来,诸多研究显示褐飞虱内共生菌在化学杀虫剂的代谢解毒过程中发挥着重要作用(唐涛,2019;李文浩,2020;Cai et al.,2021)。李娜等(2010;2011)通过比较褐飞虱吡虫啉敏感品系和抗性品系内共生菌的3种解毒酶活力,发现褐飞虱对吡虫啉产生抗性与其内共生菌的羧酸酯酶和多功能氧化酶活性增强显著相关。经杀虫剂甲胺磷处理后褐飞虱低龄若虫羽化后的短翅雌成虫内共生菌数量明显低于对照,推测类酵母共生菌在褐飞虱抗药性方面发挥着重要作用(徐红星等,2000)。Vijayakumar et al.(2018)比较分析了褐飞虱田间抗性种群和室内敏感种群的肠道共生菌,发现抗性群体肠道内共生菌的多样性和丰富度显著高于敏感群体,田间抗性群体肠道内共生菌中厚壁菌的丰度为46.06%,类杆菌和变形杆菌的丰度分别为30.08%和15.49%,而室内敏感种群中变形菌门占绝对优势,丰度达到了99.86%。Zhang et al.(2018)利用PICRUSt宏基因组技术对褐飞虱不同种群内共生菌的解毒代谢基因进行预测分析,结果显示不同种群间内共生菌的解毒代谢基因数量无显著差异,推测褐飞虱内共生菌并不直接参与宿主的解毒代谢过程。Cai et al.(2021)最新研究表明,沃尔巴克氏体可通过调控褐飞虱P450氧化酶系的表达而影响宿主对吡虫啉的抗性,其中,NICYP4CE1是褐飞虱体内响应吡虫啉胁迫的一个重要解毒酶基因,其表达量受吡虫啉显著诱导;而通过四环素消除褐飞虱体内沃尔巴克氏体后上述诱导效应显著减弱。杀雄菌亦被证实与褐飞虱抗药性直接相关。Pang et al.(2018)从褐飞虱中鉴定到S型和N型2种不同生物型的杀雄菌,若将S型杀雄菌代替褐飞虱体内常驻菌N型杀雄菌后可显著降低宿主对吡虫啉的抗性。

### 3.4 参与宿主对病原物的防御过程

昆虫病原微生物具有广谱高毒力、对环境友好以及不易使害虫产生抗药性等诸多优点,在害虫的生物防治中占据着重要地位。其中,昆虫病原真菌主要通过独特的体壁接触侵染模式而致死各类害虫,已被证实在褐飞虱防治中具有极大的应用潜力(Tang et al.,2019;Peng et al.,2020)。然而,昆虫病原真菌对褐飞虱的致病能力受诸多因素影响,包括菌株专化性、寄主龄期及环境因子等,极大程度上限制了相关真菌杀虫剂的开发及规模化应用。最近有研究发现病原真菌对昆虫的侵染效率与褐飞虱内共生菌的作用密切相关。如朱欢欢等(2017)研究发现褐飞虱内共生细菌杀雄菌能显著提高宿主抵御黄绿

绿僵菌侵染的能力,且该介导作用受温度的显著影响。生物测定试验表明,黄绿绿僵菌对褐飞虱含杀雄菌种群的侵染效率明显低于褐飞虱杀雄菌缺失种群,进一步的研究结果显示,杀雄菌可能通过影响褐飞虱血淋巴中浆细胞的数量而提高宿主对黄绿绿僵菌的抵御能力(朱欢欢,2017)。此外,张珏峰(2019)在研究褐飞虱与病原真菌互作过程中发现,黄绿绿僵菌侵染褐飞虱后能导致宿主体内尿酸积累,而褐飞虱的尿酸代谢与其共生真菌类酵母共生菌密切相关,由此推测可能褐飞虱在抵御病原真菌侵染早期存在营养和空间竞争而导致类酵母共生菌数量减少,但具体机制后续并未进一步深入研究。

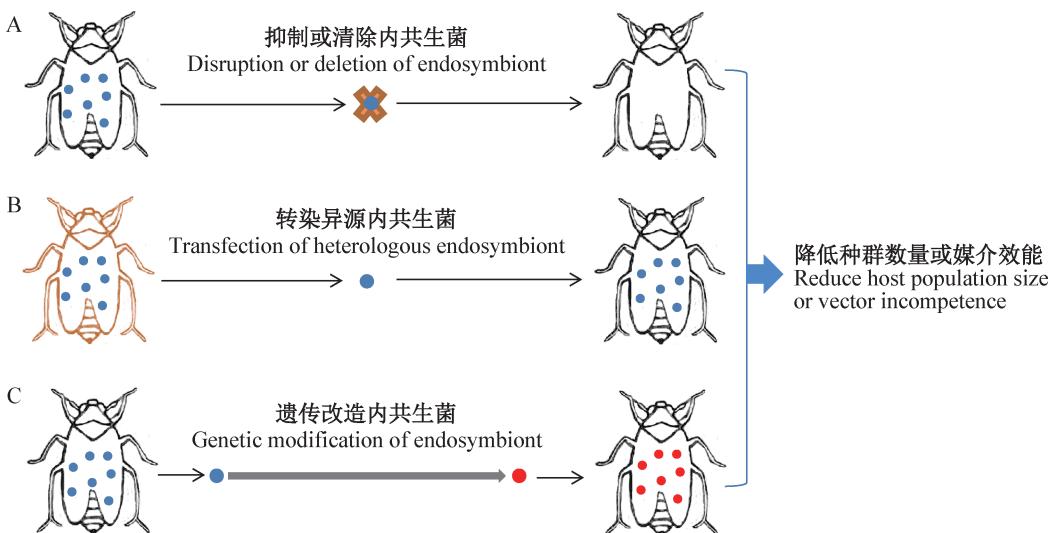
## 4 内共生菌在褐飞虱防治中的应用潜能

施用化学农药和培育水稻抗性品种是当前防治褐飞虱的2种重要策略。然而,褐飞虱抗药性的剧增和致害性的快速变异严重限制了化学农药的防治效果。内共生菌是昆虫生物防治中一类重要资源,在褐飞虱生长、发育、繁殖及环境适应过程中发挥着重要作用,近年来利用内共生菌控制褐飞虱的“以菌治虫”新理论和新策略不断被提出,且其中部分工作已付诸实践。

基于内共生菌的“以菌治虫”防控策略主要有以下3种实现途径(图1)。第1种途径是通过添加内共生菌的外源抑制剂降低其在宿主体内的数量和活力,进而直接降低宿主昆虫的适合度。第2种途径是通过自然释放或人工转染的方式将调控宿主重要生理行为如生殖行为的内共生菌导入昆虫宿主,导致后代生长生殖缺陷,达到种群压制或种群替换的目的。第3种途径是通过基因工程手段对内共生菌进行遗传改造,并以其作为中间载体将外源效应因子如毒素导入昆虫宿主,最终达到抑制宿主种群数量或其媒介效能的防控效果。其中前2种“以菌治虫”途径目前已在褐飞虱防控应用研究中得到验证。如Shentu et al.(2016)通过将杀菌剂与杀虫剂配伍喷施褐飞虱,结果表明该方法可极大地降低褐飞虱内共生菌的数量,从而显著提高杀虫剂对褐飞虱的防控效果。Gong et al.(2020)通过胚胎显微注射方式将诱导高强度细胞质不亲和的沃尔巴克氏体菌株(灰飞虱 *Laodelphax striatellus* wStri 沃尔巴克氏体株系)人工转染至褐飞虱卵内,成功建立了可100%稳定遗传的褐飞虱 wStri 转染品系,该品系在不显著影响宿主适合度的情况下可诱导高强度的细胞质不亲和,从而令其后代不育,且能显著阻断水稻

齿叶矮缩病毒(rice ragged stunt virus, RRSV)的传播。第3种“以菌治虫”途径目前在防蚊抗疟过程中获得较大进展。如Wang et al.(2012; 2017)将过表达抗疟效应分子的肠道共生细菌沙雷氏菌 *Serratia* AS1和成团泛菌 *Pantoea agglomerans*引入按蚊中肠后,其能够在宿主体内高效、特异地抑制或杀灭恶性疟原虫,从而达到降低蚊虫传播疟疾的媒介效能。最近,该条途径亦成功应用于部分农业害虫的防控研究。如Whitten et al.(2016)将西花蓟马 *Frankliniella occidentalis* 内共生细菌——欧文氏菌通过基因工程手段改造造成双链RNA(double-stranded RNA,

dsRNA)的递送载体,经遗传改造后的欧文氏菌可将外源dsRNA高效表达并传递给靶标宿主,并通过dsRNA介导的特异性高效抑制基因表达途径(即RNA干扰)来发挥治虫功效。然而,目前暂没有利用第3种“以菌治虫”途径进行褐飞虱防控的研究报道。由于褐飞虱全基因组序列的测定,使得通过功能基因组学手段筛选和挖掘可高效应用于褐飞虱防控的RNA干扰靶标基因变得切实可行。因此,未来有必要充分整合内共生菌和RNA干扰2种防虫策略的优势,设计开发出绿色高效的褐飞虱防控新技术。



A图中的×表示抑制或消除特定内共生菌; B图中的黑色和橙色轮廓昆虫分别代表褐飞虱和另一种类昆虫; C图中的蓝点代表一种特定内共生菌,红点代表遗传改造后的内共生菌。The cross symbol indicates disruption or deletion of a specific endosymbiont in Fig. A; the insects with dark and orange outline represent *Nilaparvata lugens* and a second insect species, respectively, in Fig. B; the blue dot represents a specific endosymbiont, with red dot as a genetically modified endosymbiont in Fig. C.

图1 褐飞虱“以菌治虫”防控策略

Fig. 1 Strategies for the biocontrol of *Nilaparvata lugens* based on the manipulation of endosymbionts

## 5 问题与展望

“以菌治虫”策略为褐飞虱的防治指明了新方向,尤其在减少杀虫剂使用、减缓褐飞虱抗药性产生、延长水稻抗性品种使用年限和保障水稻安全生产等方面具有重大意义。尽管目前在该领域的研究已取得部分进展,但仍存在一些问题尚未完全解决。

首先,难以获得离体培养的内共生菌菌株。离体共生菌是研究内共生菌在褐飞虱致害性变异、抗药性产生和天敌防御等过程中的作用及其机制的前提和基础。尽管目前已有部分内共生菌成功离体培养,但褐飞虱初级共生菌类酵母共生菌始终难以体外培养,而该菌正是“以菌治虫”最理想的靶标。其

次,难以获得无菌宿主昆虫。无菌宿主亦是研究褐飞虱与内共生菌互作机制的关键试验材料。目前,主要通过采用高温或抗生素处理的方式来获取缺菌或减菌种群。然而,高温或抗生素处理虽然可以达到缺菌或减菌的目的,但会给虫体带来副作用,一定程度上干扰了试验结果的准确性。再次,内共生菌介导宿主环境适应性机制仍不清楚。虽然目前已明确内共生菌在褐飞虱抗药性产生、致害性变异和抵御病原物入侵等环境适应过程中发挥着重要调控作用,但当前研究大多仅停留在现象层面,而由现象入本质,即解析内共生菌介导的宿主抗性机制的研究严重匮乏。如在内共生菌介导褐飞虱抵御病原真菌侵染过程中,内共生菌究竟是以产生抗菌物质或与

病原真菌竞争营养的方式直接抑制了病原真菌的持续增殖,还是以诱导宿主对外来病原真菌产生免疫反应从而使防御通路表达上调的方式间接降低了宿主对病原真菌的敏感性?这些问题的解决对于开发具有强针对性的“以菌治虫”农药产品十分重要。最后,内共生菌的传递机制不明。目前,褐飞虱内共生菌的相关研究主要集中于类酵母共生菌,探明其垂直传递过程的每一个环节及分子调控机制是以该菌为靶标防治褐飞虱的重要前提条件。但截至目前,关于褐飞虱类酵母共生菌垂直传递的分子机制还不清楚,相关研究工作有待进一步加强。

随着生物学技术手段的不断革新,褐飞虱内共生菌的研究将更加深入,一些新型技术手段的应用或将“以菌治虫”策略进一步拓展和付诸实践。如借助宏基因组学、转录组学、蛋白组学和代谢组学等多组学手段可以明确褐飞虱内共生菌的种类和生物学功能,挖掘更多的“以菌治虫”共生微生物标靶;利用单细胞测序技术可以解析单个内共生菌菌株的全基因组,进而可以依据组学分析结果来设计适宜的培养基对其进行体外离体培养;通过显微注射技术可以将特定内共生菌人工转染进入褐飞虱体内,以建立遗传背景一致的含菌和缺菌种群,从而为褐飞虱与内共生菌互作机制的研究奠定坚实基础。坚信在不久的将来,“以菌治虫”策略将在褐飞虱防治工作中占据重要地位。

## 参 考 文 献 (References)

- Bi J, Wang YF. 2020. The effect of the endosymbiont *Wolbachia* on the behavior of insect hosts. *Insect Science*, 27(5): 846–858
- Bing XL, Zhao DS, Hong XY. 2019. Bacterial reproductive manipulators in rice planthoppers. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 101(2): e21548
- Blanton AG, Peterson BF. 2020. Symbiont-mediated insecticide detoxification as an emerging problem in insect pests. *Frontiers in Microbiology*, 11: 547108
- Blow F, Ankrah NYD, Clark N, Koo I, Allman EL, Liu Q, Anitha M, Patterson AD, Douglas AE. 2020. Impact of facultative bacteria on the metabolic function of an obligate insect-bacterial symbiosis. *mBio*, 11(4): e00402-20
- Cai T, Zhang Y, Liu Y, Deng X, He S, Li J, Wan H. 2021. *Wolbachia* enhances expression of NICYP4CE1 in *Nilaparvata lugens* in response to imidacloprid stress. *Insect Science*, 28(2): 355–362
- Chen FJ, Zeng M, Zhang JF, Chen LZ, Lü ZX, Ye GY, Yu XP. 2006. Morphological difference of the yeast-like endosymbionts in adult planthoppers of *Nilaparvata lugens* (Stål), *Laodelphax striatellus* (Fallén) and *Sogatella furcifera* (Horvath). *Acta Zootaxonomica Sinica*, 31(4): 728–735 (in Chinese) [陈法军, 曾敏, 张珏, 陈列忠, 吕仲贤, 叶恭银, 俞晓平. 2006. 三种稻飞虱成虫体内外酵母类共生菌的形态差异. 动物分类学报, 31(4): 728–735]
- Chen LZ, Yu XP, Chen JM, Lu ZX, Zheng XS, Zhang JF. 2006. Advance in research on the application of symbionts in the management of the brown planthoppers, *Nilaparvata lugens* Stål. *Agrochemicals*, 45(11): 726–729 (in Chinese) [陈列忠, 俞晓平, 陈建明, 吕仲贤, 郑许松, 张珏峰. 2006. 共生菌在褐飞虱防治中的应用. 农药, 45(11): 726–729]
- Chen Y. 2013. The biological function of symbiotic bacteria *Arsenophonus* for the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål). Master thesis. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences (in Chinese) [陈宇. 2013. 共生菌 *Arsenophonus* 对褐飞虱的生物学意义. 硕士学位论文. 北京: 中国农业科学院]
- Chen Y, Chen Y, Wang WX, Lai FX, Fu Q. 2014. A preliminary study on the transfer mode and biological significance of endosymbiont *Arsenophonus* in *Nilaparvata lugens*. *Chinese Journal of Rice Science*, 28(1): 92–96 (in Chinese) [陈宇, 陈洋, 王渭霞, 赖凤香, 傅强. 2014. 褐飞虱杀雄菌属共生菌 *Arsenophonus* 的传递方式与生物学意义初探. 中国水稻科学, 28(1): 92–96]
- Chen YH, Bernal CC, Tan J, Horgan FG, Fitzgerald MA. 2011. Planthopper “adaptation” to resistant rice varieties: changes in amino acid composition over time. *Journal of Insect Physiology*, 57(10): 1375–1384
- Cheng DJ, Hou RF. 2001. Histological observations on transovarial transmission of a yeast-like symbiont in *Nilaparvata lugens* Stål (Homoptera, Delphacidae). *Tissue and Cell*, 33(3): 273–279
- Crotti E, Ballo A, Hamdi C, Sansonno L, Marzorati M, Gonella E, Favio G, Cherif A, Bandi C, Alma A, et al. 2012. Microbial symbionts: a resource for the management of insect-related problems. *Microbial Biotechnology*, 5(3): 307–317
- Dong SZ, Pang K, Bai X, Yu XP, Hao PY. 2011. Identification of two species of yeast-like symbionts in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. *Current Microbiology*, 62(4): 1133–1138
- Douglas AE. 2015. Multiorganismal insects: diversity and function of resident microorganisms. *Annual Review of Entomology*, 60: 17–34
- Fan HW, Lu JB, Ye YX, Yu XP, Zhang CX. 2016. Characteristics of the draft genome of “*Candidatus Arsenophonus nilaparvatae*”, a facultative endosymbiont of *Nilaparvata lugens*. *Insect Science*, 23(3): 478–486
- Fan HW, Noda H, Xie HQ, Suetsugu Y, Zhu QH, Zhang CX. 2015. Genomic analysis of an ascomycete fungus from the rice planthopper reveals how it adapts to an endosymbiotic lifestyle. *Genome Biology and Evolution*, 7(9): 2623–2634
- Fu Q, Zhang ZT, Hu C, Lai FX. 2001. The effects of high temperature on both yeast-like symbionts and amino acid requirements of *Nilaparvata lugens*. *Acta Entomologica Sinica*, 44(4): 534–540 (in Chinese) [傅强, 张志涛, 胡萃, 赖凤香. 2001. 高温处理后褐飞虱体内共生酵母菌和氨基酸需求的变化. 昆虫学报, 44(4): 534–540]
- Gan BY, Zhou WG, Zhao XY, Feng LB, Li CB. 2000. Infection and transmission of *Wolbachia* in Chinese planthopper species. *Journal of Fudan University (Natural Science)*, 39(3): 331–333, 337 (in Chinese) [甘波谊, 周伟国, 赵新燕, 冯丽冰, 李昌本. 2000. *Wolbachia* 在中国稻田飞虱中的感染和传播. 复旦学报(自然

- 科学版), 39(3): 331–333, 337]
- Gong JT, Li YJ, Li TP, Liang YK, Hu LC, Zhang DJ, Zhou CY, Yang C, Zhang X, Zha SS, et al. 2020. Stable introduction of plant-virus-inhibiting *Wolbachia* into planthoppers for rice protection. *Current Biology*, 30(24): 4837–4845
- Guo H, Wang N, Niu H, Zhao D, Zhang Z. 2021. Interaction of *Arsenophonus* with *Wolbachia* in *Nilaparvata lugens*. *BMC Ecology and Evolution*, 21(1): 31
- Guo Y, Khan J, Zheng XY, Wu Y. 2020. *Wolbachia* increase germ cell mitosis to enhance the fecundity of *Laodelphax striatellus*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 127: 103471
- He LM. 2018. Effect of mating behavior on the exocytosis of yeast-like symbionts in the abdomen fat body of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stål. Master thesis. Hangzhou: China Jiliang University (in Chinese) [何林懋. 2018. 交配行为对褐飞虱腹部脂肪体胞吐类酵母共生菌的影响. 硕士学位论文. 杭州: 中国计量大学]
- Hongoh Y, Ishikawa H. 1997. Uric acid as a nitrogen resource for the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*: studies with synthetic diets and aposymbiotic insects. *Zoological Science*, 14(4): 581–586
- Hou Y. 2013. Diversity of yeast-like symbiontes (YLS) in brown planthopper and its variation in different nymph periods and on different resistant rice. Master thesis. Hangzhou: China Jiliang University (in Chinese) [侯云. 2013. 褐飞虱体内类酵母共生菌的多样性及其在不同虫龄和不同抗性水稻上的变化规律. 硕士学位论文. 杭州: 中国计量学院]
- Hou Y, Ma Z, Dong SZ, Chen YH, Yu XP. 2013. Analysis of yeast-like symbionte diversity in the brown planthopper (BPH), *Nilaparvata lugens* Stål, using a novel nested PCR-DGGE protocol. *Current Microbiology*, 67(3): 263–270
- Jiang JJ, Wang FY, Huang LF, Chen HS, Yang L. 2017. Detection and analysis of four secondary endosymbiotic bacteria (*Arsenophonus*, *Wolbachia*, *Spiroplasma* and *Cardinium*) in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae). *Chinese Journal of Applied Entomology*, 54(4): 583–593 (in Chinese) [姜建军, 王凤英, 黄立飞, 陈红松, 杨朗. 2017. 褐飞虱体内 *Arsenophonus*、*Wolbachia*、*Spiroplasma* 和 *Cardinium* 四种次生共生菌感染分析. 应用昆虫学报, 54(4): 583–593]
- Jing SL, He GC, Jiang L, Li G, Liu H, Chen Y, Qin R. 2013. Advancement in studies on the virulent of brown planthopper. *Botanical Research*, 2(1): 6–12 (in Chinese) [荆胜利, 何光存, 江磊, 李刚, 刘虹, 陈雁, 覃瑞. 2013. 褐飞虱致害性研究进展. 植物学研究, 2(1): 6–12]
- Ju JF, Bing XL, Zhao DS, Guo Y, Xi ZY, Hoffmann AA, Zhang KJ, Huang HJ, Gong JT, Zhang X, et al. 2020. *Wolbachia* supplement biotin and riboflavin to enhance reproduction in planthoppers. *The ISME Journal*, 14(3): 676–687
- Kagayama KI, Shiragami N, Nagamine T, Umehara T, Mitsui T. 1993. Isolation and classification of intracellular symbionts from the rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens*, based on analysis of 18S-ribosomal DNA. *Journal of Pesticide Science*, 18(3): 231–237
- Landmann F. 2019. The *Wolbachia* endosymbionts. *Microbiology Spectrum*, 7(2), DOI: 10.1128/microbiolspec.BAI-0018-2019
- Li N, Chen JM, Zhang JF, He YP, Chen LZ. 2010. Comparison for activities of detoxifying enzymes in resistant- and susceptible-imidacloprid endosymbiotic strains of rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stål. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 22(5): 653–659 (in Chinese) [李娜, 陈建明, 张珏峰, 何月平, 陈列忠. 2010. 褐飞虱共生菌抗吡虫啉菌株和敏感菌株解毒酶活性的比较. 浙江农业学报, 22(5): 653–659]
- Li N, Chen JM, Zhang JF, He YP, Chen LZ. 2011. Comparison for activities of antioxidant enzymes in imidacloprid resistant- and susceptible symbiotic strains in rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål). *Journal of Plant Protection*, 38(3): 258–264 (in Chinese) [李娜, 陈建明, 张珏峰, 何月平, 陈列忠. 2011. 褐飞虱共生菌抗感吡虫啉菌株体内抗氧化酶活性的比较. 植物保护学报, 38(3): 258–264]
- Li WH. 2020. Mechanism of resistance to nitenpyram mediated by symbionts in *Nilaparvata lugens*. Master thesis. Wuhan: Huazhong Agricultural University (in Chinese) [李文浩. 2020. 共生菌介导褐飞虱对烯啶虫胺抗性机制研究. 硕士学位论文. 武汉: 华中农业大学]
- Li XX. 2010. Analysis of gut bacteria diversity from rice planthoppers. Master thesis. Nanjing: Nanjing Agricultural University (in Chinese) [李香香. 2010. 稻飞虱肠道细菌多样性分析. 硕士学位论文. 南京: 南京农业大学]
- Li XX, Yang H, Wang ZW, Su JY. 2011. Diversity analysis of intestinal bacteria in brown planthopper. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 39(1): 126–129 (in Chinese) [李香香, 杨焊, 王志伟, 苏建亚. 2011. 褐飞虱肠道细菌多样性分析. 江苏农业科学, 39(1): 126–129]
- Liu W, Zhang X, Wu N, Ren Y, Wang X. 2020. High diversity and functional complementation of alimentary canal microbiota ensure small brown planthopper to adapt different biogeographic environments. *Frontiers in Microbiology*, 10: 2953
- Lü J, Zhu ZR, Lou YG, Cheng JA. 2013. Review of research into outbreaks and management of rice planthoppers. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 50(3): 565–574 (in Chinese) [吕进, 祝增荣, 娄永根, 程家安. 2013. 稻飞虱灾变和治理研究透析. 应用昆虫学报, 50(3): 565–574]
- Lü ZX, Yu XP, Chen JM, Zheng XS, Xu HX. 2001a. The effect of endosymbiont on the development and reproduction of brown planthopper *Nilaparvata lugens* Stål. *Journal of Plant Protection*, 28(3): 193–197 (in Chinese) [吕仲贤, 俞晓平, 陈建明, 郑许松, 徐红星. 2001a. 共生菌对褐飞虱生长发育和生殖的影响. 植物保护学报, 28(3): 193–197]
- Lü ZX, Yu XP, Chen JM, Zheng XS, Xu HX, Tao LY. 2001b. Role of endosymbiont in virulence change of the brown planthopper to rice resistant varieties. *Acta Entomologica Sinica*, 44(2): 197–204 (in Chinese) [吕仲贤, 俞晓平, 陈建明, 郑许松, 徐红星, 陶林勇. 2001b. 共生菌在褐飞虱致害性变化中的作用. 昆虫学报, 44(2): 197–204]
- Lü ZX, Yu XP, Chen JM, Zheng XS, Xu HX, Zhang JF, Chen LZ. 2004. Dynamics of yeast-like symbionte and its relationship with the virulence of brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stål, to resistant rice varieties. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 7(3): 317–323
- Masson F, Lemaitre B. 2020. Growing ungrowable bacteria: overview and perspectives on insect symbiont culturability. *Microbiology*

- and Molecular Biology Reviews, 84(4): e00089-20
- Nan GH, Xu YP, Yu YW, Zhao CX, Zhang CX, Yu XP. 2016. Oocyte vitellogenesis triggers the entry of yeast-like symbionts into the oocyte of brown planthopper (Hemiptera: Delphacidae). Annals of the Entomological Society of America, 109(5): 753-758
- Nasu S, Kusumi T, Suwa Y, Kita H. 1981. Symbiotes of planthoppers: II, isolation of intracellular symbiotic microorganisms from the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stål, and immunological comparison of the symbiotes associated with rice planthoppers (Hemiptera: Delphacidae). Applied Entomology and Zoology, 16(2): 88-93
- Noda H, Koizumi Y. 2003. Sterol biosynthesis by symbiotes: cytochrome P450 sterol C-22 desaturase genes from yeastlike symbiotes of rice planthoppers and anobiid beetles. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 33(6): 649-658
- Noda H, Nakashima N, Koizumi M. 1995. Phylogenetic position of yeast-like symbiotes of rice planthoppers based on partial 18S rDNA sequences. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 25(5): 639-646
- Noda H, Omura T. 1992. Purification of yeast-like symbiotes of planthoppers. Journal of Invertebrate Pathology, 59(1): 104-105
- Ojha A, Zhang W. 2019. A comparative study of microbial community and dynamics of *Asaia* in the brown planthopper from susceptible and resistant rice varieties. BMC Microbiology, 19(1): 139
- Pang K, Dong SZ, Hou YD, Bian YL, Yang K, Yu XP. 2012. Cultivation, identification and quantification of one species of yeast-like symbiotes, *Candida*, in the rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. Insect Science, (4): 477-484
- Pang R, Chen M, Yue L, Xing K, Li T, Kang K, Liang Z, Yuan L, Zhang W. 2018. A distinct strain of *Arsenophonus* symbiont decreases insecticide resistance in its insect host. PLoS Genetics, 14(10): e1007725
- Peng Y, Tang J, Hong M, Xie J. 2020. Suppression of rice planthopper populations by the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* without affecting the rice microbiota. Applied Environmental Microbiology, 86(21): e01337-20
- Qu LY. 2013. Competitive relationship analysis of endosymbiont *Wolbachia* and *Arsenophonus* in the brown planthopper *Nilaparvata lugens*. Master thesis. Hangzhou: Zhejiang University (in Chinese) [屈吕宇. 2013. 褐飞虱内共生细菌 *Wolbachia* 与 *Arsenophonus* 的竞争关系分析. 硕士学位论文. 杭州: 浙江大学]
- Qu LY, Lou YH, Fan HW, Ye YX, Huang HJ, Hu MQ, Zhu YN, Zhang CX. 2013. Two endosymbiotic bacteria, *Wolbachia* and *Arsenophonus*, in the brown planthopper *Nilaparvata lugens*. Symbiosis, 61(1): 47-53
- Qu LY, Lou YH, Huang HJ, Ding ZJ, Ye YX, Zhang CX. 2013. Molecular detection of the endosymbiont *Wolbachia* in different Asian populations of the brown planthopper. Chinese Journal of Applied Entomology, 50(5): 1320-1327 (in Chinese) [屈吕宇, 楼怡寒, 黄海剑, 丁张军, 叶雨轩, 张传溪. 2013. 亚洲不同地理种群褐飞虱内共生菌 *Wolbachia* 的分子检测. 应用昆虫学报, 50(5): 1320-1327]
- Sasaki T, Kawamura M, Ishikawa H. 1996. Nitrogen recycling in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*: involvement of yeast-like endosymbionts in uric acid metabolism. Journal of Insect Physiology, 42(2): 125-129
- Shentu XP, Li DT, Xu JF, She L, Yu XP. 2016. Effects of fungicides on the yeast-like symbiotes and their host, *Nilaparvata lugens* Stål (Hemiptera: Delphacidae). Pesticide Biochemistry and Physiology, 128: 16-21
- Shentu XP, Xiao Y, Song Y, Cao ZY, Fan JX, Yu XP. 2020. Comparative analysis of the diversity of the microbial communities between non-fertilized and fertilized eggs of brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stål. Insects, 11(1): e49
- Skidmore IH, Hansen AK. 2017. The evolutionary development of plant-feeding insects and their nutritional endosymbionts. Insect Science, 24(6): 910-928
- Su Q, Zhou XM, Zhang YJ. 2013. Symbiont-mediated functions in insect hosts. Communicative & Integrative Biology, 6(3): e23804
- Suh SO, Noda H, Blackwell M. 2001. Insect symbiosis: derivation of yeast-like endosymbionts within an entomopathogenic filamentous lineage. Molecular Biology and Evolution, 18(6): 995-1000
- Tang JF, Liu XY, Ding YC, Jiang WJ, Xie JQ. 2019. Evaluation of *Metarhizium anisopliae* for rice planthopper control and its synergy with selected insecticides. Crop Protection, 121: 132-138
- Tang M, Lv L, Jing S, Zhu L, He G. 2010. Bacterial symbionts of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae). Applied and Environmental Microbiology, 76(6): 1740-1745
- Tang T. 2019. The mechanism of detoxification metabolism mediated by symbionts in *Nilaparvata lugens*. Master thesis. Wuhan: Huazhong Agricultural University (in Chinese) [唐涛. 2019. 共生菌介导褐飞虱解毒代谢机制研究. 硕士学位论文. 武汉: 华中农业大学]
- Vijayakumar MM, More RP, Rangasamy A, Gandhi GR, Muthugounder M, Thiruvengadam V, Samaddar S, Jalali SK, Sa T. 2018. Gut bacterial diversity of insecticide-susceptible and -resistant nymphs of the brown planthopper *Nilaparvata lugens* Stål (Hemiptera: Delphacidae) and elucidation of their putative functional roles. Journal of Microbiology and Biotechnology, 28(6): 976-986
- Wan PJ, Yang L, Wang WX, Fan JM, Fu Q, Li GQ. 2014. Constructing the major biosynthesis pathways for amino acids in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stål (Hemiptera: Delphacidae), based on the transcriptome data. Insect Molecular Biology, 23(2): 152-164
- Wang GC, Fu Q, Lai FX, Chen MX, Mou RX, Zhang ZT. 2005. Relationship between yeast-like symbionts and amino acid requirements in the rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stål (Homoptera: Delphacidae). Acta Entomologica Sinica, 48(4): 483-490 (in Chinese) [王国超, 傅强, 赖凤香, 陈铭学, 牟仁祥, 张志涛. 2005. 褐飞虱体内类酵母共生菌与氨基酸营养的关系. 昆虫学报, 48(4): 483-490]
- Wang SB, Dos-Santos ALA, Huang W, Liu KC, Oshaghi MA, Wei G, Agre P, Jacobs-Lorena M. 2017. Driving mosquito refractoriness to *Plasmodium falciparum* with engineered symbiotic bacteria. Science, 357(6358): 1399-1402
- Wang SB, Ghosh AK, Bongio N, Stebbings KA, Lampe DJ, Jacobs-Lorena M. 2012. Fighting malaria with engineered symbiotic

- bacteria from vector mosquitoes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(31): 12734–12739
- Wang TZ, Wang ZL, Zhu HF, Wang ZY, Yu XP. 2019. Analysis of the gut microbial diversity of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Hemiptera: Delphacidae) by high-throughput sequencing. *Acta Entomologica Sinica*, 62(3): 323–333 (in Chinese) [王天召, 王正亮, 朱杭峰, 王紫晔, 俞晓平. 2019. 基于高通量测序的褐飞虱肠道微生物多样性分析. 昆虫学报, 62(3): 323–333]
- Wang WX, Luo J, Lai FX, Fu Q. 2010. Identification and phylogenetic analysis of symbiotic bacteria *Arsenophonus* from the rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål) (Homoptera: Delphacidae). *Acta Entomologica Sinica*, 53(6): 647–654 (in Chinese) [王渭霞, 罗举, 赖凤香, 傅强. 2010. 水稻褐飞虱内生共生细菌 *Arsenophonus* 的鉴定和系统分析. 昆虫学报, 53(6): 647–654]
- Wang XQ, Guo JS, Li DT, Yu Y, Hagoort J, Moussian B, Zhang CX. 2021. Three-dimensional reconstruction of a whole insect reveals its phloem sap-sucking mechanism at nano-resolution. *eLife*, 10: e62875
- Wang ZL, Pan HB, Wu W, Li MY, Yu XP. 2021. The gut bacterial flora associated with brown planthopper is affected by host rice varieties. *Archives of Microbiology*, 203(1): 325–333
- Wang ZL, Wang TZ, Zhu HF, Pan HB, Yu XP. 2020. Diversity and dynamics of microbial communities in brown planthopper at different developmental stages revealed by high-throughput amplicon sequencing. *Insect Science*, 27(5): 883–894
- Whitten MM, Facey PD, Del Sol R, Fernández-Martínez LT, Evans MC, Mitchell JJ, Bodger OG, Dyson PJ. 2016. Symbiont-mediated RNA interference in insects. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 283(1825): 20160042
- Xu HX, Zheng XS, Tian JC, Lai FX, He JC, Lü ZX. 2017. Advances in the development and application of control technologies for insect pest management in paddy fields in China. *Journal of Plant Protection*, 44(6): 925–939 (in Chinese) [徐红星, 郑许松, 田俊策, 赖凤香, 何佳春, 吕仲贤. 2017. 我国水稻害虫绿色防控技术的研究进展与应用现状. 植物保护学报, 44(6): 925–939]
- Xu HX, Zheng XS, Tong ZH, Lü ZX, Chen JM, Yu XP, Tao LY. 2000. Effects of insecticides on the symbionts in brown planthopper. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 12(3): 126–128 (in Chinese) [徐红星, 郑许松, 童中华, 吕仲贤, 陈建明, 俞晓平, 陶林勇. 2000. 杀虫剂对褐飞虱体内共生菌的影响. 浙江农业学报, 12(3): 126–128]
- Xu HX, Zheng XS, Yang YJ, Tian JC, Fu Q, Ye GY, Lu ZX. 2015. Changes in endosymbiotic bacteria of brown planthoppers during the process of adaptation to different resistant rice varieties. *Environmental Entomology*, 44(3): 582–587
- Xu HX, Zheng XS, Yang YJ, Wang X, Ye GY, Lu ZX. 2014. Bacterial community in different populations of rice brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Stål). *Rice Science*, 21(1): 59–64
- Xue J, Zhou X, Zhang CX, Yu LL, Fan HW, Wang Z, Xu HJ, Xi Y, Zhu ZR, Zhou WW, et al. 2014. Genomes of the rice pest brown planthopper and its endosymbionts reveal complex complementary contributions for host adaptation. *Genome Biology*, 15(12): 521
- Yu H, Ji R, Ye W, Chen H, Lai W, Fu Q, Lou Y. 2014. Transcriptome analysis of fat bodies from two brown planthopper (*Nilaparvata lugens*) populations with different virulence levels in rice. *PLoS ONE*, 9(2): e88528
- Yun JH, Roh SW, Whon TW, Jung MJ, Kim MS, Park DS, Yoon C, Nam YD, Kim YJ, Choi JH, et al. 2014. Insect gut bacterial diversity determined by environmental habitat, diet, developmental stage, and phylogeny of host. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(17): 5254–5264
- Zhang H, Zhang KJ, Hong XY. 2010. Population dynamics of noncytoplasmic incompatibility-inducing *Wolbachia* in *Nilaparvata lugens* and its effects on host adult life span and female fitness. *Environmental Entomology*, 39(6): 1801–1809
- Zhang JF. 2019. Research on the defense mechanism of *Nilaparvata lugens* under the stress of *Metarhizium flavoviride*. PhD thesis. Beijing: Chinese Academy of Forestry (in Chinese) [张珏峰. 2019. 绿僵菌胁迫下的褐飞虱防御机制研究. 博士学位论文. 北京: 中国林业科学研究院]
- Zhang JF, Chen JM, Chen FJ, Zheng XS, Chen LZ, Yu XP. 2009. The isolation of yeast-like-symbionts in the brown planthopper and the sequences analysis of its 26S rDNA. *Scientia Agricultura Sinica*, 42(6): 2211–2216 (in Chinese) [张珏峰, 陈建明, 陈法军, 郑许松, 陈列忠, 俞晓平. 2009. 褐飞虱内共生菌的分离及其 26S rDNA 部分序列分析. 中国农业科学, 42(6): 2211–2216]
- Zhang JF, Wu H, Chen JM, Zheng XS, Chen LZ, Yu XP. 2007. A strain isolated from brown planthopper and its molecular identification. *Chinese Journal of Rice Science*, 21(5): 551–554 (in Chinese) [张珏峰, 吴鸿, 陈建明, 郑许松, 陈列忠, 俞晓平. 2007. 一株褐飞虱内共生菌的分离及分子鉴定. 中国水稻科学, 21(5): 551–554]
- Zhang JH, Yu N, Xu XX, Liu ZW. 2019. Community structure, dispersal ability and functional profiling of microbiome existing in fat body and ovary of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. *Insect Science*, 26(4): 683–694
- Zhang YH, Tang T, Li WH, Cai TW, Li JH, Wan H. 2018. Functional profiling of the gut microbiomes in two different populations of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 21(4): 1309–1314
- Zhu HH. 2017. The mechanism and effect of *Arsenophonus* on the virulence of *Metarhizium flavoviride* to *Nilaparvata lugens*. Master thesis. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences (in Chinese) [朱欢欢. 2017. 褐飞虱内共生菌 *Arsenophonus* 对黄绿绿僵菌毒力的影响及作用机制. 硕士学位论文. 北京: 中国农业科学院]
- Zhu HH, Chen Y, Wan PJ, Wang WX, Lai FX, Fu Q. 2017. Influence of symbiotic bacteria *Arsenophonus*, rice variety and temperature on the incidence rate of *Nilaparvata lugens* to *Metarhizium flavoviride*. *Chinese Journal of Rice Science*, 31(6): 643–651 (in Chinese) [朱欢欢, 陈洋, 万品俊, 王渭霞, 赖凤香, 傅强. 2017. 共生菌 *Arsenophonus*、水稻品种和温度对褐飞虱黄绿绿僵菌发病率的影响. 中国水稻科学, 31(6): 643–651]