

李雕益,熊忠平,包书军,等. 饲喂抗生素前后 7 龄思茅松毛虫幼虫肠道细菌的变化[J]. 江苏农业科学,2022,50(7):112-118.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.07.017

饲喂抗生素前后 7 龄思茅松毛虫幼虫肠道细菌的变化

李雕益¹,熊忠平²,包书军¹,李选文¹,熊智³,罗曼⁴

(1. 西南林业大学生命科学学院,云南昆明 650224; 2. 西南林业大学生物多样性学院,云南昆明 650224;

3. 西南林业大学继续教育学院,云南昆明 650224; 4. 西南林业大学林学院,云南昆明 650224)

摘要:通过对饲喂抗生素前后 7 龄思茅松毛虫幼虫肠道细菌变化的研究,进一步探索肠道菌群变化对其生长发育的影响。采用传统的平板稀释涂布培养法从思茅松毛虫 7 龄幼虫肠道内分离纯化获得好氧细菌,对其进行多项生理生化测定,利用 16S rDNA 基因扩增技术对所得菌株进行多样性分析。结果显示,饲喂抗生素前获得 4 种不同的单菌落 A1、A2、A3、A4,饲喂抗生素后获得 5 种不同单菌落 B1(同 A2)、B2(同 A3)、B3、B4、B5,对获得的 9 株细菌进行基因序列测定,结果得到以芽孢杆菌属(*Bacillus*)、克雷伯菌属(*Klebsiella*)、赖氨酸芽孢杆菌属(*Lysinibacillus*)、微小杆菌属(*Exiguobacterium*)等为主的肠道细菌。其中,饲喂抗生素前所得菌为芽孢杆菌属(*Bacillus*)和克雷伯菌属(*Klebsiella*),饲喂抗生素后细菌种类多了赖氨酸芽孢杆菌属(*Lysinibacillus*)及微小杆菌属(*Exiguobacterium*)。说明饲喂抗生素对松毛虫肠道菌群有影响。

关键词:7 龄思茅松毛虫;抗生素;肠道细菌;16SrDNA;生长发育

中图分类号:S433.4;S763.42

文献标志码:A

文章编号:1002-1302(2022)07-0112-06

思茅松毛虫(*Dendrolimu kikuchii*),又称赭色松毛虫,隶属于鳞翅目(Lepidopera)枯叶蛾科(Lasiocampidae)松毛虫属(*Dendrolimus*),因最早是在云南思茅发现而命名^[1],主要分布于云南、四川、湖南、湖北、贵州等省^[2],在云南主要分布于安宁、临沧、昌宁等地。思茅松毛虫是我国危害最为严重的 6 种松毛虫之一,是我国分布最广、危害最重的针叶类植物食叶害虫^[3],具有繁殖潜能大、数量波动明显、迁移能力强、暴食性明显等特征^[4]。当其大面积暴发时,会使大量松科植物枯萎死亡,状如火烧,严重影响相关地区的生态环境和旅游业,给当地人们的生产生活带来极大不便^[5]。

目前,对于思茅松毛虫的防治方法主要为营林防治^[6]、物理防治^[7]、化学防治^[8-9]及生物防治^[10]。近年来,抗生素的使用,在昆虫体内产生了一定的抗药性,成为新型的防治方式。有研究表明,500 μg/mL 利福霉素、庆大霉素、氨苄青霉素、链霉素对家蚕的生长无显著影响^[11];喂食抗生素后,红

棕象甲的肠道菌群结构发生了明显的改变^[12];氯霉素、氨苄青霉素和四环素对小菜蛾肠道的除菌能力较差^[13];抗生素影响了斜纹夜蛾的消化能力^[14];四环素处理后稻水象甲成虫体内的沃尔巴克体属显著降低,而经四环素、庆大霉素处理对体内的细菌无显著影响^[15];杀蚜素对家白蚁具有致死作用,而井冈霉素和庆丰霉素对家白蚁无显著作用^[16]。可见不同种类的昆虫,其肠道群落组成和肠道微环境不同,因此对抗生素的抵御能力有所不同。由以上结果,本研究得出采用抗生素来饲喂思茅松毛虫,可能会改变其肠道中的优势菌,使其种类发生变化,因此研究饲喂抗生素前后思茅松毛虫幼虫肠道菌的变化具有重要意义。

肠道是昆虫体内重要的消化系统,昆虫肠道菌的种类会因宿主不同存在很大的差异^[17]。昆虫肠道菌的种类还会因取食食物不同而表现出不同肠道优势菌,不同昆虫肠道中的优势菌差别很大,这些差别不仅体现在种类上,同时体现在数量上,这些差异的存在对不同种类昆虫的生理、免疫等方面具有重要作用^[18]。林晓丽以小菜蛾为研究对象,采用传统纯培养法和 DGGE 电泳法研究其肠道微生物的多样性,发现幼虫肠道中分离得到的细菌最多,且沙雷氏菌属(*Serratia*)和假单胞菌属(*Pseudomonas*)占优势地位^[13]。思茅松毛虫为全变态昆虫,要经过蜕皮、化蛹、羽化,这些变化过程中

收稿日期:2021-07-01

基金项目:国家自然科学基金(编号:3166010405);云南省重大科技专项(编号:202002AA10007)。

作者简介:李雕益(1996—),女,云南大理人,硕士研究生,主要从事肠道微生物研究。E-mail:2697642932@qq.com。

通信作者:熊智,博士,教授,主要从事微生物学和分子生物学研究。E-mail:zhix-swfu@qq.com。

肠道的外骨骼内膜要随变态过程蜕出,因此在思茅松毛虫发育的每个阶段,其肠道需要重建。重建过程中,肠道微生物也必然随之重建,因此,思茅松毛虫幼虫肠道微生物的多样性具有很大的研究意义。

本研究从肠道细菌出发,探讨饲喂抗生素前后思茅松毛虫肠道菌的变化,初步揭示抗生素对思茅松毛虫肠道菌的改变和影响,为后续探讨菌群变化抑制思茅松毛虫宿主的生长发育,从而进一步利用抗生素开发新的杀虫剂提供依据和参考,最终达到对思茅松毛虫防治的目的。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验时间为 2018 年 7 月至 2019 年 3 月。试验地点为西南林业大学生命科学学院实验室。

思茅松毛虫 7 龄幼虫样本(图 1)采自云南省安宁市草铺镇森林地区($24^{\circ}31' \sim 25^{\circ}6'N$ 、 $102^{\circ}8' \sim 102^{\circ}37'E$),平均海拔 1 968 m。根据安宁市森林的情况在方圆 1 km^2 范围内随机挑选 10 个样品点,每个样品点采集 7 头健康 7 龄幼虫,共计 70 头,并连同 7 龄幼虫所在的树枝带回实验室饲养,为后续研究做准备。



图1 7 龄思茅松毛虫

1.2 分离培养基与试剂、容器

平板分离纯化培养基采用牛肉膏蛋白胨培养基(NA)^[19]:牛肉膏 3 g,蛋白胨 10 g,NaCl 5 g,琼脂 15 ~ 20 g,蒸馏水定容至 1 000 mL,pH 值 7.0 ~ 7.2,121 $^{\circ}\text{C}$ 灭菌 20 min。

培养基及生理生化鉴定所用分析纯、化学试剂,均购自西陇化工股份有限公司;Ezup 柱式细菌基因组 DNA 抽提试剂盒,购自天根生化科技(北京)有限公司;PCR 扩增体系试剂,购自硕擎生物科技有限公司。

1.3 肠道细菌的分离纯化

选取 50 头健康 7 龄幼虫,在恒温 22 ~ 24 $^{\circ}\text{C}$ 、恒湿 80% ~ 85% 条件下用无菌水喂养幼虫,40 h 后待

其排空体内食物残渣后进行试验。将思茅松毛虫幼虫置于冰上 3 ~ 5 min,待其昏迷;采用 70% 乙醇擦拭虫体表面 30 s,0.25% 次氯酸钠冲泡 1 min,无菌水冲洗 3 次;将体表消毒好的虫子固定于无菌蜡盘上,在无菌环境下操作,使用灭菌后的细尖钳将昆虫腹部剖开,取出整个肠道,并立即用 0.9% 无菌 NaCl 溶液冲洗表面 2 次,然后将肠道取出后置于无菌离心管中,向离心管中加入 1 mL PBS 缓冲液研磨成匀浆、备用。

将上述肠道匀浆吸取 1 mL 置于 9 mL PBS 缓冲液中,稀释成 10^{-1} ,按照 10 的倍数梯度稀释,制成 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 的稀释液,吸取每个浓度稀释液 100 μL 分别涂布于 NA 培养基中,每个梯度涂 3 个平板,作为试验组。取最后 1 次清洗的无菌水 100 μL 涂布于 NA 培养基上,作为空白对照。涂板均匀后将培养平板倒置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养,3 d 后观察空白对照是否有菌落形成,若无菌落长出,则选择单菌落数在 30 ~ 300 培养皿,根据涂有肠道内容物悬液培养皿上的单菌落的不同特征,挑取单菌落至新的 NA 培养基平板上,采用分区划线法进行纯化,直至菌株形态基本一致,得到纯菌株。将得到的菌种保藏于 NA 斜面培养基中,4 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。取利福霉素、氨苄青霉素、链霉素、庆大霉素各 0.5 g 溶解于 1 000 mL 无菌水中,配制成混合的抗生素溶液,置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱备用。将配制的抗生素溶液均匀喷洒于油杉叶片后放入培养皿中,待 7 龄松毛虫食用 1 周后再提取其肠道细菌,方法同上,设置 3 个重复。

1.4 7 龄幼虫肠道可培养菌株的形态观察

将经分离纯化得到的纯菌株用平板划线法接种于新的 NA 平板上,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下培养 24 ~ 48 h,待菌落长成后,参考《微生物学实验指导》^[20] 对菌落进行染色,并在显微镜下观察菌株的形态(图 2、图 3),依据《常见细菌系统鉴定手册》^[21] 对其特征进行描述鉴定。

1.5 7 龄幼虫肠道可培养菌株的生理生化鉴定

按照朱旭芬等的微生物生理生化鉴定方法^[22-23],对分离纯化后所有菌进行淀粉水解、油脂水解、明胶液化的生理生化测定及抗生素抗性测定,包括氨苄青霉素、红霉素、新霉素硫酸盐和链霉素的抗性测定。4 种抗生素分别取 5、50、100、300 $\mu\text{g/mL}$ 等 4 个浓度进行抗性测定。对 7 龄幼虫肠道细菌进行生理生化鉴定。

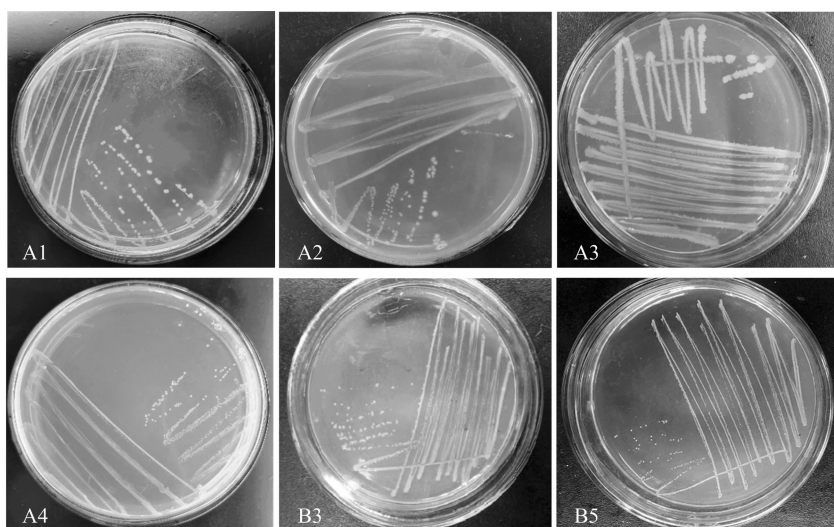


图2 7 龄幼虫部分肠道细菌菌落形态特征

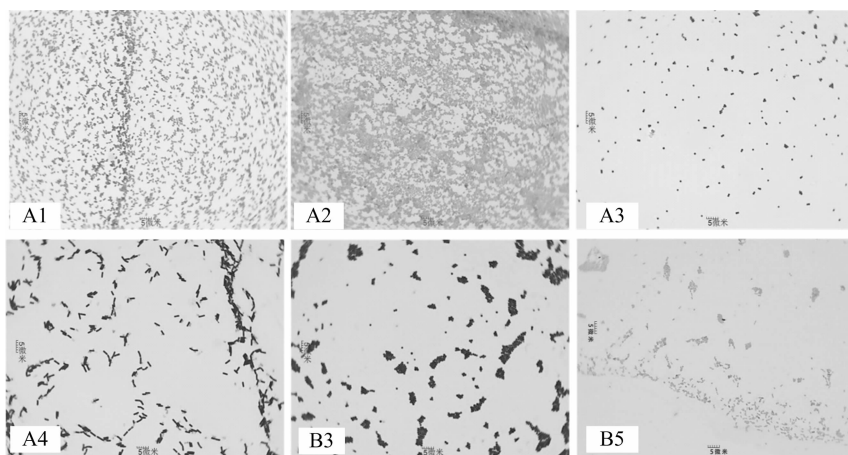


图3 7 龄幼虫部分肠道细菌显微形态

1.6 7 龄幼虫肠道细菌 16S rDNA 分子鉴定

1.6.1 肠道细菌基因组 DNA 提取及 PCR 扩增

将 1 mL 过夜培养的细菌菌液按照 Ezup 柱式细菌基因组 DNA 抽提试剂盒提取 7 龄幼虫肠道细菌基因组 DNA。提取出的细菌基因组 DNA 采用 1.0% 琼脂糖凝胶检测,得到片段符合细菌基因组 DNA 大小后,将检测合格的 DNA 产物作为 16S rDNA 序列扩增模板。扩增引物^[23]选择正向引物 27F(5′-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3′)和反向引物 1492R(5′-GGTTACCTTGTACGACTT-3′)。PCR 扩增体系: 25.0 μL 2 × Taq PCR MasterMix; 3.0 μL 模板 DNA; 10.0 μmol/L 正向引物 27F 和反向引物 1492R 各 1.0 μL; 双蒸水补充至 50.0 μL。PCR 扩增程序: 94 ℃ 预变性 5 min; 94 ℃ 变性 1 min, 56 ℃ 退火 1 min, 72 ℃ 延伸 3 min, 30 个循环; 72 ℃ 终延伸 5 min, -20 ℃ 保存。取 4.0 μL PCR 扩增后的产物用 1% 琼脂糖凝胶进行电泳检测,将检测合格的

PCR 扩增产物送至硕擎生物科技有限公司测序。

1.6.2 7 龄幼虫肠道细菌系统发育树构建 测得的序列通过 DNAMAN 6.0 软件进行矫正及拼接,拼接完成后的 16S rDNA 序列在 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> 中与 GenBank 数据库中的序列进行 BLAST 同源性比对,选出与菌株相似度最高的序列,运用软件 MEGA 7.0 构建 Neighbor - Joining 系统发育树,自检法检测 1 000 次判定其分类学关系。

2 结果与分析

2.1 7 龄松毛虫肠道好氧细菌的分离

7 龄松毛虫中肠道匀浆悬液经倍比稀释涂布培养后,松毛虫肠道细菌经 4 次划线纯培养后,饲喂抗生素前获得 4 种不同的单菌落 A1、A2、A3、A4,饲喂抗生素后获得 5 种不同的单菌落 B1(同 A2)、B2(同 A3)、B3、B4、B5,表明抗生素饲喂能有效改变松毛虫肠道菌群。

2.2 7 龄幼虫肠道细菌形态特征

由表 1 可知,9 株菌株中多数菌株的革兰氏染色结果呈阳性,仅有 3 株呈阴性。所有菌株均为杆

状;大部分菌株边缘整齐,A1 边缘呈锯齿状;所有菌株在固体培养基上不透明。

表 1 7 龄幼虫肠道细菌的菌落形态特征

菌株编号	菌体特征	形状	颜色	边缘	透明度	其他特征
A1	G ⁺ ,杆状	椭圆形扁平	灰白色	不整齐	不透明	表面粗糙,有褶皱
A2	G ⁻ ,杆状	圆形凸起	灰白色	整齐	不透明	表面光滑湿润,富有黏性
A3	G ⁺ ,杆状	圆形凸起	白色	整齐	不透明	表面光滑湿润
A4	G ⁺ ,杆状	圆形扁平	白色	整齐	不透明	表面光滑湿润
B1	G ⁻ ,杆状	圆形凸起	灰白色	整齐	不透明	表面光滑湿润,富有黏性
B2	G ⁺ ,杆状	圆形凸起	白色	整齐	不透明	表面光滑湿润
B3	G ⁺ ,杆状	圆形扁平	白色	整齐	不透明	表面光滑湿润
B4	G ⁺ ,杆状	圆形扁平	奶白色	整齐	不透明	表面光滑湿润
B5	G ⁻ ,杆状	圆形扁平	黄色	整齐	不透明	表面光滑湿润

2.3 松毛虫肠道细菌生理生化鉴定及多样性分析

经过聚类分析可知,在欧式距离 3 左右处,可将 9 个细菌类群划分为 2 个遗传聚类组,B4、B5 自成一类,其他 7 个细菌类群为一类。其中,A2、B1 属于一类,A1、A3、A4、B2、B3 属于一类(图 4)。

结合生理生化指标(表 2、图 4)、细菌的形态特征(图 2)、菌落(图 3)及显微形态特征(表 1),查询细菌鉴定手册后,将分离到的 9 种细菌初步鉴定为:A1、A3、A4、B2、B3 均属于芽孢杆菌属(*Bacillus*

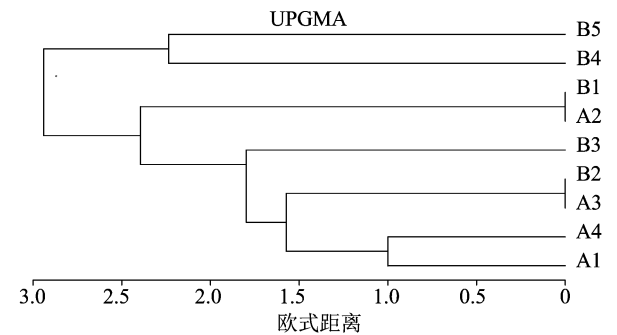


图4 菌株生理生化聚类

表 2 7 龄幼虫肠道可培养细菌的生理生化特征

菌株编号	A1	A2	A3	A4	B1	B2	B3	B4	B5
淀粉水解	+	+	+	+	+	+	+	-	-
油脂利用	-	-	-	-	-	-	-	+	+
明胶水解	+	+	-	+	+	-	+	-	+
5 μg/mL 红霉素	+	+	+	+	+	+	+	+	-
50 μg/mL 红霉素	+	+	+	+	+	+	+	+	+
100 μg/mL 红霉素	+	+	+	+	+	+	+	-	-
300 μg/mL 红霉素	+	+	+	+	+	+	-	-	-
5 μg/mL 链霉素	+	+	-	+	+	-	-	-	-
50 μg/mL 链霉素	-	+	-	+	+	-	-	-	-
100 μg/mL 链霉素	-	+	-	-	+	-	-	-	+
300 μg/mL 链霉素	-	+	-	-	+	-	+	-	-
5 μg/mL 氨苄青霉素	+	+	+	+	+	+	+	+	+
50 μg/mL 氨苄青霉素	+	+	+	+	+	+	+	+	-
100 μg/mL 氨苄青霉素	+	+	+	+	+	+	+	+	-
300 μg/mL 氨苄青霉素	+	-	+	+	-	+	+	-	-
5 μg/mL 新霉素硫酸盐	-	+	-	-	+	-	-	-	-
50 μg/mL 新霉素硫酸盐	-	-	-	-	-	-	-	-	-
100 μg/mL 新霉素硫酸盐	-	-	-	-	-	-	-	-	-
300 μg/mL 新霉素硫酸盐	-	-	-	-	-	-	-	-	-

注:“+”表示阳性,“-”表示阴性。

sp.), A2、B1 为克雷伯菌属 (*Klebsiella* sp.), B4 为赖氨酸芽孢杆菌属 (*Lysinibacillus* sp.), B5 为微小杆菌属 (*Exiguobacterium* sp.)。部分菌株因为菌种形态过于相似,需进行后续分子生物学鉴定。

2.4 7 龄幼虫肠道可培养细菌 16S rDNA PCR 扩增结果

分离纯化的思茅松毛虫肠道细菌的基因组 DNA 检测合格后,用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测,由图 5 可知,在凝胶成像系统中从左到右 10 个条带分别为 marker、A1、A2、A3、A4、B1、B2、B3、B4、B5,

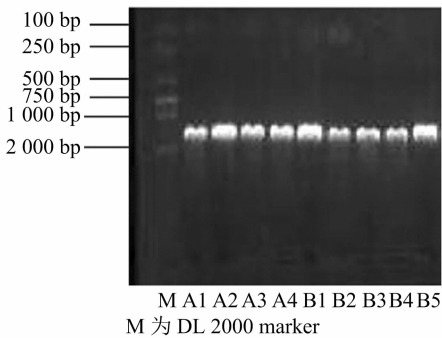


图5 7 龄幼虫肠道可培养细菌 16S rDNA PCR 电泳图示

PCR 扩增条带清晰,均在 1 500 bp 左右。将 PCR 产物送至硕擎生物科技有限公司进行测序。

2.5 7 龄幼虫肠道可培养细菌 16S rDNA 分析结果

将所获 9 种细菌形态 7 龄幼虫肠道细菌 16S rDNA 序列在 GenBank 中注册,获得 GenBank 登录号,由表 3 可知,分离到 7 龄幼虫肠道细菌与相应菌株的 16S rDNA 序列相似度在 97% ~ 100% 之间。隶属于 4 个属、7 个类群,初步鉴定结果如下:A1 为芽孢杆菌属的枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*); A2 (同 B1) 为克雷伯菌属的催产克雷伯氏菌 (*K. oxytoca*); A3 (同 B2) 为芽孢杆菌属的短小芽孢杆菌 (*B. pumilus*); A4 为芽孢杆菌属的空气芽孢杆菌 (*B. aerius*); B3 为芽孢杆菌属的高地芽孢杆菌 (*B. altitudinis*); B4 为赖氨酸芽孢杆菌属的木聚赖氨酸杆菌 (*L. xylanilyticus*); B5 为微小杆菌属的金橙黄微小杆菌 (*E. aurantiacum*),相似度均 >97%。这些思茅松毛虫 7 龄幼虫肠道细菌均不能够确定其真正的种属地位,需要做进一步研究以鉴定其分类学地位。

表 3 7 龄幼虫肠道细菌 GenBank 登录号及最大相似菌株

菌株	相似性最高的种	序列号	相似性 (%)
A1	枯草芽孢杆菌 (<i>B. subtilis</i>)	MK367790.1	98.72
A2 (B1)	克雷伯氏菌 (<i>K. oxytoca</i>)	MK282890.1	97.48
A3 (B2)	短小芽孢杆菌 (<i>B. pumilus</i>)	JQ773350.1	98.45
A4	空气芽孢杆菌 (<i>B. aerius</i>)	MH260934.1	97.63
B3	高地芽孢杆菌 (<i>B. altitudinis</i>)	MH497615.1	98.22
B4	木聚赖氨酸杆菌 (<i>L. xylanilyticus</i>)	KX832684.1	97.89
B5	金橙黄微小杆菌 (<i>E. aurantiacum</i>)	KF070075.1	97.31

2.6 系统发育树

将 7 龄幼虫肠道细菌的 16S rDNA 序列进行系统发育进化分析,构建系统发育树,由图 6 可知,思茅松毛虫 7 龄幼虫肠道可培养细菌归属于 2 个大类,第一大类为厚壁菌门,分别为芽孢杆菌属 (*Bacillus* sp.)、赖氨酸芽孢杆菌属 (*Lysinibacillus* sp.)、微小杆菌属 (*Exiguobacterium* sp.);第二大类为变形菌门,为克雷伯菌属 (*Klebsiella* sp.)。从系统发育树状观察,这 7 株菌属于 4 个属,其中芽孢杆菌属可能是 7 龄思茅松毛虫肠道细菌中的优势菌株。

4 结论与讨论

采用传统培养方法对松毛虫肠道菌进行分离培养,饲喂抗生素前后共得到 7 株细菌,经过测序后

结果属于芽孢杆菌属、克雷伯菌属、赖氨酸芽孢杆菌属和微小杆菌属。其中,6 株细菌 (A1、A3、A4、B3、B4、B5) 归类于厚壁菌门,另外 1 株 (A2) 归类于变形菌门,这与其他鳞翅目昆虫舞毒蛾、棉铃虫、家蚕等基本一致,说明厚壁菌门和变形菌门细菌在鳞翅目昆虫中普遍存在。

课题组前期已对采自普洱市宁洱县磨黑镇健康的思茅松毛虫 7 龄幼虫做了关于肠道细菌的研究^[24],研究表明,采自宁洱县的 7 龄幼虫肠道细菌共分离得到 14 种细菌,隶属于 3 个属,而采自安宁地区的 7 龄幼虫分离到 4 株肠道细菌,隶属于 2 个属、4 个类群。从宁洱县采集的 7 龄幼虫的优势菌属为肠杆菌属 (*Enterobacter* sp.),而从安宁地区采集的 7 龄幼虫的优势菌属为芽孢杆菌属 (*Bacillus*

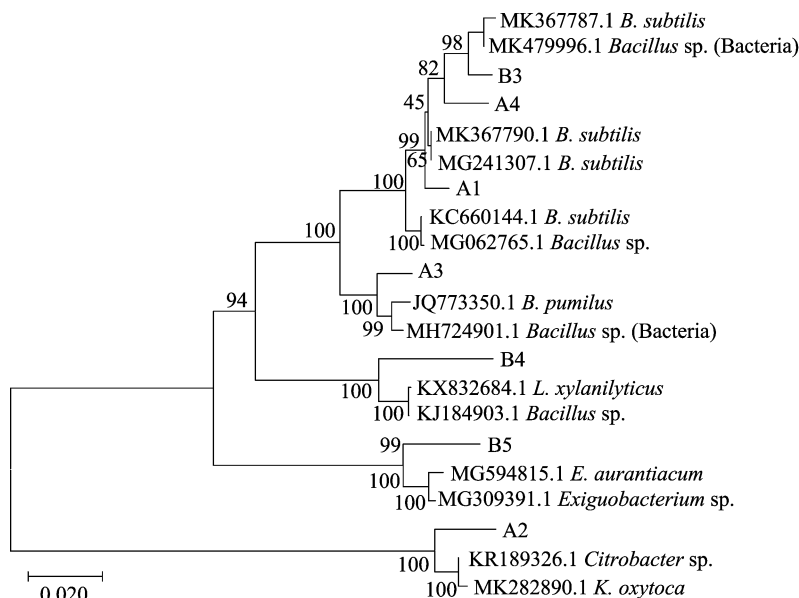


图6 基于 16S rDNA 序列构建 7 龄幼虫肠道细菌的系统发育树(邻接法)

sp.),说明不同地区的思茅松毛虫具有不同的优势菌属,也有不同的菌种。

在饲喂抗生素后,7 龄思茅松毛虫幼虫肠道细菌的菌种发生变化,从生态学方面分析其原因可能是抗生素影响了松毛虫肠道菌中生态位的优势菌种,使肠道菌中生态位的优势菌种发生了变化,而原来的优势菌种不再占据生态位,从而导致菌种的变化;或者是抗生素破坏了肠道中的一些竞争性菌,使肠道中产生了另外一些菌,从而使肠道菌的菌群结构发生了变化,进而导致菌种种类变多。

对 7 龄思茅松毛虫饲喂利福霉素、庆大霉素、氨苄青霉素、链霉素所配制成的混合抗生素溶液,其肠道群落细菌组成主要为变形菌门、厚壁菌门,而其他菌门未检出,说明 7 龄思茅松毛虫肠道中的其他菌门在其肠道环境中对抗生素较敏感。肠道中的部分优势菌群被抑制后,其他不受抗生素作用的菌群成为优势物种。而饲喂抗生素后芽孢杆菌属仍为优势物种,说明芽孢杆菌属在 7 龄思茅松毛虫幼虫肠道环境中对 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 利福霉素、庆大霉素、氨苄青霉素、链霉素的共同作用有很强抗性。

近年来,随着分子生物学技术的发展,可不依赖纯培养通过宏基因组学技术^[25-26]直接对肠道细菌的总 DNA 进行提取,进而分析出整个肠道的细菌种类,为研究昆虫的肠道资源库提供全面的研究基础。因此,通过纯培养技术分离得到的 7 龄幼虫肠道细菌只是其中很少的一部分,需要结合宏基因组技术,才能得到较为全面的细菌类群。

思茅松毛虫是林业重要的害虫,对其肠道微生物的研究,不仅可以补充昆虫肠道微生物资源库,还可以据此进一步分析肠道细菌对昆虫生长发育的影响,最终得到防治思茅松毛虫的生物制剂,从而减少林业害虫的危害。

参考文献:

- [1]侯陶谦. 中国松毛虫[M]. 北京:科学出版社,1987:32-34.
- [2]周传良,刘雄兰,董丽云,等. 为害雪松的思茅松毛虫生物学特性及其防治的研究[J]. 华东昆虫学报,2004,13(1):111-113.
- [3]马艳芳,陈升富,王金华,等. 思茅松毛虫 7 龄幼虫肠道好氧细菌的筛选及毒力测定[J]. 中国森林病虫,2012,31(1):1-4.
- [4]张红. 思茅松毛虫的危害与防治措施[J]. 林业调查规划,2006,31(增刊2):178-181.
- [5]张荣超. 思茅松毛虫的生物学特性及防治技术[J]. 现代园艺,2015(6):63.
- [6]万鹰,刘德波,徐晓丽,等. 四种杀虫剂林间防治思茅松毛虫试验[J]. 中国森林病虫,2018,37(2):46-48.
- [7]陈铁刚,李密. 思茅松毛虫湖南种群生物学特性及防治药剂筛选研究[J]. 湖南林业科技,2018,45(3):44-48.
- [8]张梅秀,蒲宏春,刘珩. 思茅松毛虫防治的试验[J]. 林业与生态,2012(1):34.
- [9]冯玉元. 白僵菌防治思茅松毛虫研究[J]. 林业科技,2018,43(4):26-29.
- [10]梅承,范硕,杨红. 昆虫肠道微生物分离培养策略及研究进展[J]. 微生物学报,2018,58(6):985-994.
- [11]王玉霞,张玉花,张志兰,等. 家蚕添食抗生素和营养素的对比试验[J]. 北方蚕业,2007,28(4):27-28.
- [12]Muhammad A. 红棕象甲的肠道菌群结构及其对宿主营养代谢的影响[D]. 福州:福建农林大学,2016:113-115.
- [13]林晓丽. 小菜蛾肠道细菌多样性分析及两株细菌的杀虫活性研

任向辉,赵庆杰,崔建新,等. 春芝麻娇驼跷蜻的发生与分布指标[J]. 江苏农业科学,2022,50(7):118-123.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.07.018

春芝麻娇驼跷蜻的发生与分布指标

任向辉¹, 赵庆杰^{1,2}, 崔建新¹, 余 昊¹, 时文举¹

(1. 河南科技学院资源与环境学院/新乡市农作物重大有害生物防控重点实验室,河南新乡 453003;

2. 陕西省农业广播电视学校富平县分校,陕西富平 711700)

摘要:对 3 块春芝麻地的娇驼跷蜻进行 2 年不同月份密度、终花期空间分布以及寄主植物的株高、穗长、蒴果数、叶片均长等生态因子的调查,对该害虫 6 月发生量数据进行分布型指标计算与序贯抽样研究,结合相关环境因子数据进行了对应分析(CA)、R 语言随机森林(RF)模型分析与发生因素的加权列联表分析。结果表明,此虫在春芝麻田为弱聚集分布型, $M-M^*$ 回归方程为 $M^*=4.71+1.52M(r=0.92)$,其密度与月平均气温、降水量的二元线性回归方程为 $y(\text{密度})=14.82x_1(\text{均温})+4.31x_2(\text{降水量})-227.66(R=0.99)$ 。对应分析与随机森林模型分析表明娇驼跷蜻在春芝麻植株上的个体数与植株株高负相关而与叶片长度呈正相关,借助软件绘出 CA 和 RF 分析的各因子二维效应图。此外加权列联表分析表明株高与叶长指标深度影响此虫发生水平,结合泡桐数据可看出此虫发生与环境关联度高,可借助其芝麻发生数据预测乔木发生密度。此虫食性杂、春季增长率惊人,特殊生境应警惕暴发性流行。

关键词:春芝麻;娇驼跷蜻;分布型;随机森林模型;加权列联表分析

中图分类号: S433.3;S435.653

文献标志码: A

文章编号: 1002-1302(2022)07-0118-06

娇驼跷蜻 [*Gampsocoris pulchellus* (Dallas)] 系危害兰考泡桐 (*Paulownia elongata* S. Y. Hu)、木槿 (*Hibiscus syriacus* Linn.)、蔷薇科 (Rosaceae) 果木、

芝麻 (*Sesamum indicum* Linn.) 与大豆 [*Glycine max* (Linn.) Merr.] 等寄主的全国广布性刺吸式害虫,其喜在芝麻果穗上聚集,木槿较多的蓉城成都春季它是随处可见的“城市害虫”^[1]。该虫生活史短、食性杂、春季增长率高且迁移距离远,体型细小、飞行快且天敌较多,种群年际动态规律复杂,所以它一般不被关注,近 20 年国内外研究文献几乎空白,笔者没查到它在寄主植物丰富且气候很适宜其生存的江苏地区的近期文献^[2-4]。该虫是多种植病传播的媒介,试验表明其携带泡桐丛枝病类菌体后侵

收稿日期:2021-06-27

基金项目:国家现代农业产业技术体系建设专项(编号:CARS-45-SYZ10);国家自然科学基金面上项目(编号:31272103);河南省大学生创新创业项目(编号:S201810467010);国家大学生创新创业项目(编号:20130515403)。

作者简介:任向辉(1967—),男,河南温县人,硕士,讲师,从事昆虫生理生态与害虫综合防治研究。E-mail:renxianghui@sina.com。

究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2014:71-73.

[14] 蓝波沙. 斜纹夜蛾肠道细菌多样性及其功能研究[D]. 福州:福建农林大学,2016:1-4.

[15] 陆 芳. 稻水象甲体内细菌多样性及其和生殖的关系[D]. 杭州:浙江大学,2014:43-44.

[16] 钟俊鸿,李丽英,戴自荣,等. 抗生素对家白蚁的毒效试验[J]. 昆虫天敌,1991,13(1):43-50.

[17] 张 静,张 博. 昆虫肠道微生物研究进展[J]. 科技创新与应用,2017(5):50.

[18] 黄 云,詹先进,蓝家祥,等. 昆虫肠道微生物的研究进展[J]. 湖北农业科学,2009,48(11):2888-2890.

[19] 王金华,李 彪,张武先,等. 五龄思茅松毛虫幼虫的肠道好氧细菌多样性分析[J]. 应用昆虫学报,2013,50(1):230-234.

[20] 黄秀梨,辛明秀. 微生物学实验指导[M]. 2 版. 北京:高等教育

出版社,2008:48-50.

[21] 东秀珠,蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京:科学出版社,2001:364-397.

[22] 朱旭芬. 现代微生物学实验技术[M]. 杭州:浙江大学出版社,2011:269-275.

[23] 周德庆,徐德强,胡宝龙. 微生物学实验教程[M]. 3 版. 北京:高等教育出版社,2013:350-352.

[24] 马艳芳,陈升富,王金华,等. 思茅松毛虫 7 龄幼虫肠道好氧细菌的筛选及毒力测定[J]. 中国森林病虫,2012,31(1):1-4.

[25] Wooley J C, Godzik A, Friedberg I A. A primer on metagenomics[J]. PLoS Computational Biology, 2010, 6(2): e1000667.

[26] Long L L, Guo J J, Li P, et al. Bacterial diversity in *Bercaea cruentata* gut described using high-throughput sequencing[J]. Forensic Science International (Genetics Supplement Series), 2015, 5: e479-e481.