

生防菌 FCA-1 的分离、鉴定及其对草地贪夜蛾肠道菌群多样性的影响

汪心雨[#], 孙明凯, 谢佳, 张洁, 张太宇, 郭雨昭, 范咏梅^{*}

(海南大学 热带农林学院, 海南海口 570228 中国)

摘要: 重大入侵害虫草地贪夜蛾(*Spodoptera frugiperda*)对多种作物危害显著,且其对多种化学农药已产生严重抗药性,因此,筛选合适的生物防治方法成为良好替代方案。本研究分离并鉴定了一株草地贪夜蛾致病细菌 FCA-1,经鉴定为粘质沙雷氏菌(*Serratia marcescens*)。试验表明, 10^9 cfu·mL⁻¹ 的 FCA-1 菌悬液对草地贪夜蛾 3 龄幼虫的致死中时间为 60.5 h,具有显著致病力。通过高通量测序技术分析,发现该菌株可显著影响草地贪夜蛾中肠细菌多样性,使沙雷氏菌属成为优势菌群。另外, FCA-1 改变了草地贪夜蛾肠道内微生物群落结构,进而影响了胞外结构、防御机制、碳水化合物代谢、核苷酸代谢等免疫及新陈代谢相关代谢通路。综上所述,粘质沙雷氏菌 FCA-1 对草地贪夜蛾具有高效致病性,且可通过改变其肠道微生物群落结构来增强自身毒力,具有作为生物防治剂的潜力。

关键词: 草地贪夜蛾;粘质沙雷氏菌;分离鉴定;微生物多样性

中图分类号: S433.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-7054(2026)04-0627-11

汪心雨,孙明凯,谢佳,等. 生防菌 FCA-1 的分离、鉴定及其对草地贪夜蛾肠道菌群多样性的影响

[J]. 热带生物学报(中英文), 2026, 17(4): 627–637. DOI: [10.15886/j.cnki.rdswwb.20250094](https://doi.org/10.15886/j.cnki.rdswwb.20250094)

CSTR: [32425.14/j.cnki.rdswwb.20250094](https://cstr.cn/32425.14/j.cnki.rdswwb.20250094)



草地贪夜蛾(*Spodoptera frugiperda*)属于鳞翅目夜蛾科灰翅夜蛾属,具有全年发生特性,主要危害玉米、小麦、马铃薯等多种主要粮食作物,对全球粮食安全造成严重威胁^[1-2]。该害虫自西非首次报道以来,借助气流和季风的作用扩散至全球各大洲^[3-4]。草地贪夜蛾自 2019 年 1 月由东南亚入侵中国云南后,在全国迅速蔓延^[5]。截至 2024 年 7 月,其已扩散至中国西南、华南、江南、长江中下游及西北等 17 个省份、577 个县(区),累计发生面积达 135.67 万 ha^[6]。中国热带及亚热带气候带为草地贪夜蛾的周年繁殖区,面临多种防控压力:既要控制本地危害、减少虫源迁出,又要拦截境外虫源,同时还需要遏制本地种群繁殖,以减轻迁飞过渡区的防控压力^[7]。根据农业农村部防控技术方案,目前防治草地贪夜蛾主要依赖化学农药,例如四氯虫酰胺、氯虫苯甲酰胺、四唑虫酰胺、虱螨脲、甲维盐、乙基多杀菌素等杀虫剂,以及其复配剂^[8]。

草地贪夜蛾的快速蔓延及对粮食作物的严重危害,导致了化学杀虫剂的滥用^[9],对环境和人体均产生不良影响,也导致草地贪夜蛾产生了耐药性。2024 年,中国农业农村部通过监测全国 16 个省(自治区、直辖市)的 30 个县(市、区)草地贪夜蛾的抗药性,发现其对氯虫苯甲酰胺、虱螨脲等药剂已表现为敏感至中等水平抗性;与 2023 年相比,其对氯虫苯甲酰胺的抗性倍数有所上升^[10]。研究表明,不同种群的草地贪夜蛾已经发生拟除虫菊酯靶蛋白、乙酰胆碱酯酶、鱼尼丁受体等多处靶点突变,从而使其对这些杀虫剂产生抗药性^[11-14]。近年来,生物农药和“以菌治虫”为代表的生物防治技术在草地贪夜蛾防控方面取得了一定的研究进展。柠檬(*Citrus limon* (L.) Osbeck)种子中的柠檬苦素对草地贪夜蛾五龄幼虫具有抗摄食作用^[15],烟草(*Nicotiana tabacum*)和爪哇过江藤(*Lippia javanica*)在对草地贪夜蛾幼虫的接触试验中表现出较高毒

© CC BY 4.0 收稿日期: 2025-07-06

修回日期: 2025-09-02

基金项目: 国家自然科学基金项目(31860514, 32360684)

[#]第一作者: 汪心雨(1997—),女,海南大学热带农林学院 2020 级硕士研究生。E-mail: wangxy970321@163.com;

^{*}通信作者: 范咏梅(1968—),女,教授,博士生导师。研究方向: 农药环境毒理学与害虫生物防治。E-mail: yongmeifan@126.com

力^[16]。多刺甘蔗多孢菌(*Saccharopolyspora spinosa*)通过好氧发酵产生的活性物质通过引起昆虫神经系统高度兴奋导致昆虫虚脱死亡,可作为控制草地贪夜蛾发生的策略^[17]。种植转苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*)的抗虫转基因玉米也是防治草地贪夜蛾的重要方式,但有研究表明草地贪夜蛾已对抗虫玉米产生了一定的抗性^[18]。因此,需要挖掘新的生防菌进行草地贪夜蛾的防治。

粘质沙雷氏菌(*Serratia marcescens*)是一种革兰氏阴性的 γ -变形菌纲细菌,对东方粘虫(*Mythimna separata*)、马铃薯块茎蛾幼虫(*Phthorimaea operculella*)、桃小食心虫(*Carposina sasakii*)、松材线虫(*Bursaphelenchus xylophilus*)等多种昆虫均有较好的毒杀作用^[19-23]。其对东方粘虫的经口感染及注射感染的死亡率分别为 47.06%、91.00%,且对东方粘虫的生长、发育及繁殖都有显著的负面影响^[19]。研究表明,粘质沙雷氏菌不仅能够有效抑制松材线虫的繁殖,还可通过影响云斑白条天牛(*Batocera lineolata*)的肠和血淋巴中的蛋白质含量及相关防御酶活性,从而对该天牛产生毒杀效果^[24]。另外,金融^[25]在粘质沙雷氏菌对稻纵卷叶螟(*Cnaphalocrocis medinalis*)的杀虫机理研究中发现,粘质沙雷氏菌感染稻纵卷叶螟后诱导其肠道中营养代谢、解毒代谢、神经传导、免疫应答等相关通路的响应。同样的肠道结构、功能改变的现象在感染粘质沙雷氏菌的桔小实蝇(*Bactrocera dorsalis*)和柑橘木虱(*Diaphorina citri*)中也有发现^[26-27]。在对草地贪夜蛾的毒力试验中,粘质沙雷氏菌 ZJ9 对草地贪夜蛾 3 龄幼虫 7 d 矫正死亡率为 80.21%^[28],具有较好的应用潜力,但目前尚未见粘质沙雷氏菌侵染后对草地贪夜蛾肠道影响的文献报道。本研究从室内饲养的自然感染致死的草地贪夜蛾中分离出一株粘质沙雷氏菌,通过测定其对草地贪夜蛾的致病力及肠道菌群多样性的影响,旨在探究其对草地贪夜蛾的致病原因,以期为其转化为防治草地贪夜蛾的生防菌提供数据支持。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试昆虫 草地贪夜蛾幼虫于海南省海口市(19.96° N, 110.32° E)玉米田中采集。采用新鲜

玉米叶饲喂幼虫,10% 的蜂蜜水饲喂成虫并诱其产卵,已进行多代稳定饲养。饲养温度为(27±0.5)℃,相对湿度 70%±5%,光周期 L:D=16 h:8 h。

1.1.2 试剂配制 Luria-Bertani(LB)固体培养基:胰蛋白胨 10 g,酵母提取物 5 g,氯化钠 10 g,琼脂 15 g,蒸馏水定容至 1 L。

LB 液体培养基:胰蛋白胨 10 g,酵母提取物 5 g,氯化钠 10 g,蒸馏水定容至 1 L。

Kovács 吡啶试剂:对二甲氨基甲醛 5 g,戊醇 75 mL,浓盐酸 25 mL。

甲基红指示剂:甲基红 0.02 g,95% 乙醇(体积分数)60 mL,水 40 mL。

1.2 草地贪夜蛾致病细菌分离、纯化与种类鉴定

1.2.1 草地贪夜蛾致病细菌的分离 致病细菌分离自室内饲养的自然感染致死的草地贪夜蛾幼虫。在无菌室内的超净工作台中,使用体积分数 75% 乙醇和体积分数 1% 氯化汞溶液对死亡的草地贪夜蛾幼虫虫体表面进行消毒灭菌处理,无菌水漂洗。用灭菌的剪刀剪开虫体放入 LB 培养基平板中,每皿四块已感染虫体,放在(25±1)℃ 的培养箱内培养,24 h 后对培养皿中的菌落形态进行观察并记录。在无菌操作间内,使用在酒精灯上烘烤过的接种针挑取细菌菌落置于新的 LB 固体培养基上划线培养。

1.2.2 菌株形态学及分子生物学鉴定

(1)对草地贪夜蛾致病细菌的形态鉴定

在 LB 培养基上对分离到的待测菌株,用平板划线方法进行单菌落分离与纯化,将划线的固体平板在(25±1)℃ 下恒温培养 24 h,形态学鉴定主要根据培养皿中菌落形态及对革兰氏染色结果。

(2)分子生物学鉴定

使用接种针将分离纯化后的待测菌株的单菌落接种在新的 LB 液体培养基中,振荡培养 24 h 之后,按照细菌 DNA 试剂盒说明书提取待测菌株的 DNA,使用通用引物(27F: 5'—3' AGAGTTT GATCCTGGCTCAG; 1492R: 5'—3' CGGCTACC TTGTTACGAC)进行 PCR 扩增后送测。

1.2.3 菌株的生理生化鉴定

(1)革兰氏反应^[29]

用竹签将待测菌落的单菌落放在 3% 的 KOH 溶液中缓慢搅动并提起。有粘丝产生则为阴

性细菌(记为“+”),反之为阳性细菌(记为“-”)。

(2) 过氧化氢反应

取体积分数 10% 过氧化氢溶液 500 μL 加入含菌 LB 液体培养基中。有大量气泡产生的为阳性(记为“+”),反之则为阴性(记为“-”)。

(3) 单糖发酵试验:

吸取 70 μL 含菌培养液($10^9 \text{ cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$)加入含有碳源葡萄糖、阿拉伯糖、鼠李糖、甘露醇和肌醇的微量西林瓶中。摇菌 1~2 d 观察瓶内颜色变化。如果液体变黄则为阳性(记为“+”),仍为紫色则为阴性(记为“-”)。

(4) 解脂活性

将待测菌株划线接种于油脂分解培养平板的两边。置 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h 后,观察是否有红色点状斑出现在固体平板长菌的区域。出现红色点状斑为阳性(记为“+”),反之为阴性(记为“-”)。

(5) 吡啶反应

取细菌单菌落于蛋白胨培养基中培养 48 h。向培养液中加入 2 mL Kovács 吡啶试剂并振荡。培养液变红表示为阳性(记为“+”),反之为阴性(记为“-”)。

(6) 甲基红试验

将 200 μL 甲基红指示剂加入含菌蛋白胨液体培养基中。颜色变红为阳性(记为“+”),黄则为阴性(记为“-”)。

(7) 溶血活性

将待测菌划线接种至血平板培养基上,30 $^{\circ}\text{C}$ 培养 48 h 后观察有无溶菌环出现,有为阳性,无则为阴性。

1.2.4 粘质沙雷氏菌对草地贪夜蛾的致死中时间 LT_{50} 的测定 取 $\text{OD}_{600}=1$ 的菌悬液,并稀释成 $10^9 \text{ cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的菌悬液,设置清水对照。每组 3 个重复,使用喷雾塔对玉米叶片(每片叶质量 3 g,用药量为 4 mL)喷雾,取出后自然晾干,每个重复 20 头草地贪夜蛾 3 龄幼虫,分别于 24、48、72、96、120 h 统计草地贪夜蛾的死亡率,并计算 LT_{50} 及置信区间。

1.3 草地贪夜蛾中肠微生物多样性测定

1.3.1 试验材料预处理 使用喷雾塔将对照组和处理组的玉米叶片(每片叶质量 3 g,用药量为 4 mL)分别预先用清水和浓度为 $10^9 \text{ cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的粘

质沙雷氏菌悬液喷雾,每组接入生长一致的草地贪夜蛾 3 龄幼虫。每组 3 个重复,每个重复 20 头虫,对照组标记为 CK-1、CK-2、CK-3,处理组标记为 A1-1、A1-2、A1-3。

24 h 后,分别选取对照组和处理组 10 头幼虫并解剖其中肠。解剖过程在超净工作台内进行,首先用 70% 乙醇将草地贪夜蛾幼虫浸泡 30 s,再依次用无菌水和无菌磷酸缓冲液冲洗 3 次,用无菌干净滤纸将试虫体表水分吸干。用无菌剪刀剪开虫体腹部,将肠道取出并用无菌磷酸缓冲溶液冲洗 3 次后放入装有 0.1 mL 无菌水的无菌培养皿中,将肠道内容物用镊子轻轻刮出后,液氮速冻,随后放入 -80°C 超低温冰箱中保存待测。

1.3.2 微生物多样性测定 将 1.3.1 节中处理储存的样品送至上海美吉医药科技有限公司进行微生物多样性的测定。使用 OMEGA Soil DNA kit 试剂盒提取消化道总 DNA,对 V3 + V4: 338F_806R 区域进行测序(引物: 338F: ACTCCTACGGGAGGCAGCAG; 806R: GGACTACHVGGGTWTCTAAT),测序结果首先根据 overlap 关系进行拼接,同时对序列质量进行质控和过滤,区分样本后进行 OTU 聚类分析和物种分类学分析,基于上述分析结果进行多样性指数分析,主要分析反映群落丰富度的 Sobs、Chao、Ace 指数,反映群落多样性的 Shannon、Simpson 指数以及反映群落覆盖度的 Coverage 指数;基于分类学信息,在各分类水平上进行群落结构的统计分析。根据样本之间共有的物种生成聚类,利用图论知识对建立的生物相关性网络进行分析,使用 NetworkX 复杂网络分析工具包,计算网络的节点度分布,生成 Network 网络分析图并计算度中心性(Degree Centrality)、紧密系数(Closeness Centrality)、介数中心性(Betweenness Centrality)等属性。使用 I-Sanger 云平台对试验数据进行整理与分析。

1.3.3 16S 功能预测 使用 PICRUSt2 v2.2.0 软件包针对 16S 扩增子测序结果进行功能预测。通过 PICRUSt 对 OTU 丰度表进行标准化,即去除 16S marker gene 在物种基因组中的 copy 数目的影响;随后通过每个 OTU 对应的 greengene id,获得 OTU 对应的 COG 家族信息和 KEGG Ortholog (KO)信息,并计算各 COG 丰度和 KO 丰度。根

据 COG 数据库的信息,从 eggNOG 数据库中解析各 COG 的描述信息及功能信息,从而得到功能丰度谱;根据 KEGG 数据库的信息,获得 KO、Pathway、EC 信息,并根据 OTU 丰度计算各功能类别的丰度。

2 结果与分析

2.1 草地贪夜蛾寄生细菌的分离与鉴定

2.1.1 菌株形态鉴定结果 该菌株的形态特征及革兰氏染色结果如下图 1 所示。该菌单菌落呈粉红色,表面光滑湿润,有金属光泽,打开培养皿有轻微异味飘散。革兰氏染色为红色,故初步判断为革兰氏阴性菌且属于肠杆菌科。

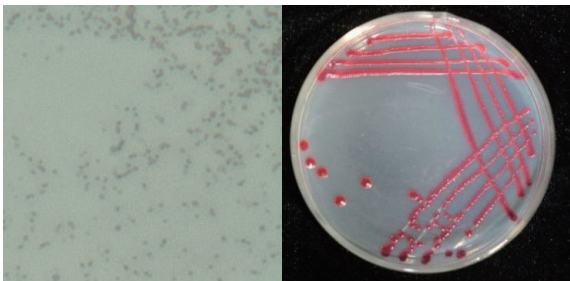


图 1 革兰氏染色图及菌落划线图
Fig. 1 Gram-stained micrograph and streak plate pattern

2.1.2 菌株分子鉴定结果 测序结果经 Genbank Blast 比对,该菌与 *Serratia marcescens* AR-0130 菌株、AR-0123 菌株、AR-0099 菌株、UMH2 菌株、UMH7 菌株和 SHR2-7 菌株等的遗传相似性均为 99%。本次分离的昆虫样本中只分离到粘质沙雷氏菌,并未分离到其他类型的细菌。

2.1.3 菌株生理生化测定结果 经生理生化试验验证,分离出的粘质沙雷氏菌菌株属于革兰氏阴性菌,葡萄糖、甘露醇和肌醇等碳源有利于粘质沙雷氏菌的生长,但鼠李糖和阿拉伯糖不会影响其生长(表 1)。该菌株无溶血现象发生,属 Y 溶血,因此应对人体无害,可继续开发使用。甲基红试验结果为阴性,且代谢过程中不会分解丙酮酸产酸。过氧化氢试验和吲哚试验结果表明,该菌株

具有过氧化氢酶和色氨酸酶,色氨酸酶可分解蛋白胨中的色氨酸;解脂活性试验中,有红色斑点出现在该菌生长处,说明该菌可以产生分解培养基中脂肪的胞外酶脂肪酸。

表 1 粘质沙雷氏菌的理化性质
Tab. 1 Physicochemical characteristics of *S. marcescens*

试验名称	Test name	FCA-1
革兰氏反应	Gram-reaction	-
过氧化氢酶反应	Hydrogen peroxide enzyme reaction	+
单糖发酵试验 Monosaccharide fermentation test	葡萄糖 glucose	+
	甘露醇 mannitol	+
	肌醇 inositol	-
	鼠李糖 rhamnose	-
	阿拉伯糖 arabinose	-
解脂活性	Lipid-dissolving activity	+
吲哚反应	Indole reaction	+
甲基红反应	Methyl red reaction	-
溶血反应	Hemolytic reaction	-

注:“+”表示阳性,“-”表示阴性。
Note: “+” indicates positive, “-” indicates negative.

2.1.4 粘质沙雷氏菌对草地贪夜蛾的致死中时间 LT₅₀ 使用 SPSS Statistics v19.0 计算 10⁹ cfu·mL⁻¹ 粘质沙雷氏菌菌悬液对草地贪夜蛾三龄幼虫的致死中时间(表 2),可知粘质沙雷氏菌 10⁹ cfu·mL⁻¹ 菌悬液对草地贪夜蛾 LT₅₀ 为 60.5 h。

2.2 草地贪夜蛾中肠细菌多样性检测结果

2.2.1 细菌 OUT 分布 由图 2 可知处理组 A1 与对照组 CK 含有的 OUT 数分别为 26、15,其中特有的 OUT 数分别为 13、2。由此可见,粘质沙雷氏菌侵染草地贪夜蛾后使其肠道内细菌菌群的多样性提高。

表 2 粘质沙雷氏菌对草地贪夜蛾的致死中时间
Tab. 2 The median lethal time (LT₅₀) of *S. marcescens* against *S. frugiperda*

致死中时间/h	95 % 置信区间/h	斜率±标准误	卡方值	相关系数
LT ₅₀	95 % CI	Slope ± standard error	χ ²	R
60.5	51.2–70.5	3.46±0.531	3.83	0.934

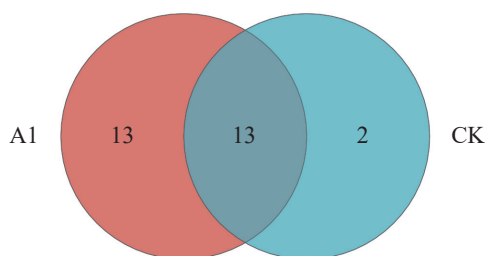


图 2 细菌 OUT 分布 Venn 图

Fig. 2 Venn diagram of bacterial OTU distribution

2.2.2 Alpha 多样性分析 Alpha 指数分析和指数组间差异检验(图 3)表明, 处理组 Shannon 指数显著高于对照组, Simpson 指数显著低于对照组, 进一步说明处理组肠道菌群的物种多样性高于对照组; 处理组 Ace 指数、Chao 指数、Sobs 指数相比对照组也发生变化但差异不显著; Coverage 指数的数值均为 1, 表明对照组和处理组的细菌多样性测序结果均可以反映样本中细菌多样性的真实情况。

2.2.3 物种组成分析

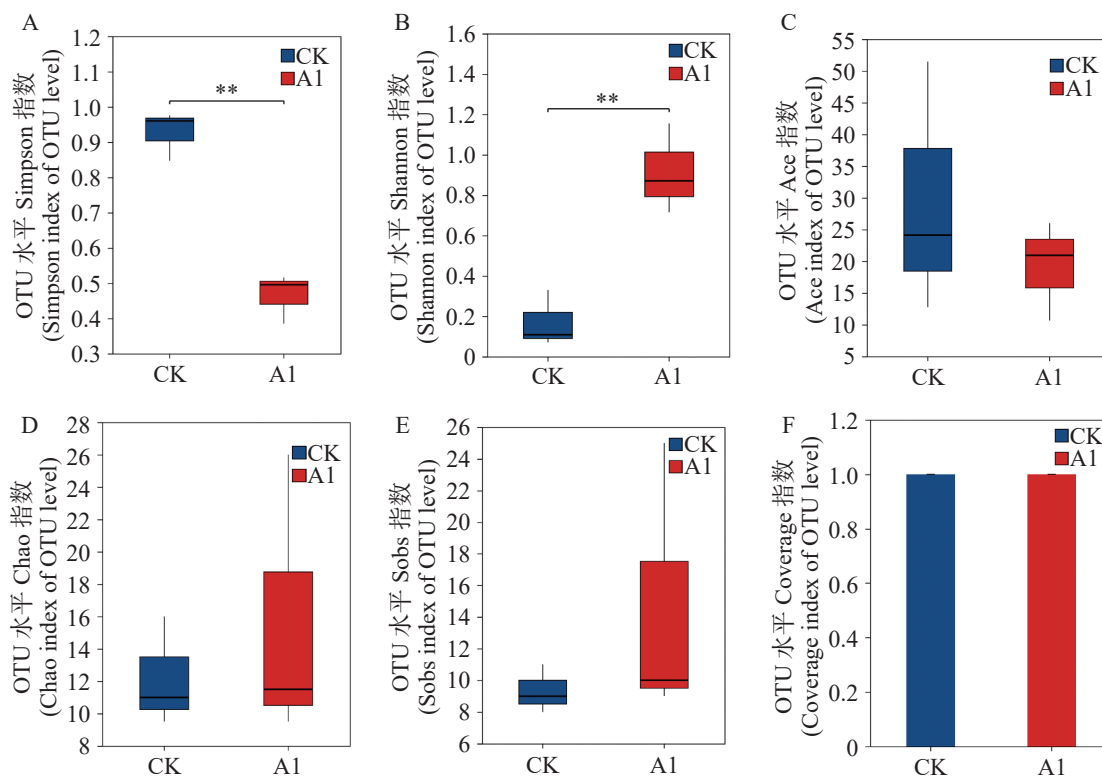
(1) 物种差异分析

将对照组与处理组的物种丰度进行组间差异分析, 由 LEfSe 多级物种层级树图(图 4)可知, 与

对照组相比, 处理组中变形菌门(Proteobacteria)变形菌纲(Gammaproteobacteria)肠杆菌目(Enterobacterales)耶尔森氏菌科(Yersiniaceae)沙雷氏菌属(*Serratia*)显著富集, 厚壁菌门(Firmicutes)芽孢杆菌纲(Bacilli)乳杆菌目(Lactobacillales)肠球菌科(Enterococcaceae)肠球菌属(*Enterococcus*)在对照组显著富集, 表明粘质沙雷氏菌侵染草地贪夜蛾 24 h 后直接影响了正常草地贪夜蛾中肠内富集菌群。另外, 对照组中蓝细菌门(Cyanobacteria)的 *g_norank_f_norank_o_Chloroplast* 也在图中单独标注, 表明此样本中可能混有未消化完全的玉米叶绿体 DNA。

(2) 物种组成分析

在属水平上绘制草地贪夜蛾细菌群落柱形图(图 5-A), 将各处理的所有样本物种丰度求和并合并相对丰度小于 1% 的物种。如图所示, 处理组中相对丰度较高的菌群为肠球菌属、沙雷氏菌属及肠杆菌属(*Enterobacter*), 对照组则主要是肠球菌属相对丰度占比高。可知, 粘质沙雷氏菌侵染草地贪夜蛾后对草地贪夜蛾肠道内肠球菌的丰度占比产生显著影响。



A ~ F 分别代表 Simpson、Shannon、Ace、Chao、Sobs 和 Coverage 指数分析。

A~F represent analysis of diversity indexes of Simpson, Shannon, Ace, Chao, Sobs and Coverage, respectively.

图 3 Alpha 指数分析

Fig. 3 Analysis of Alpha diversity index

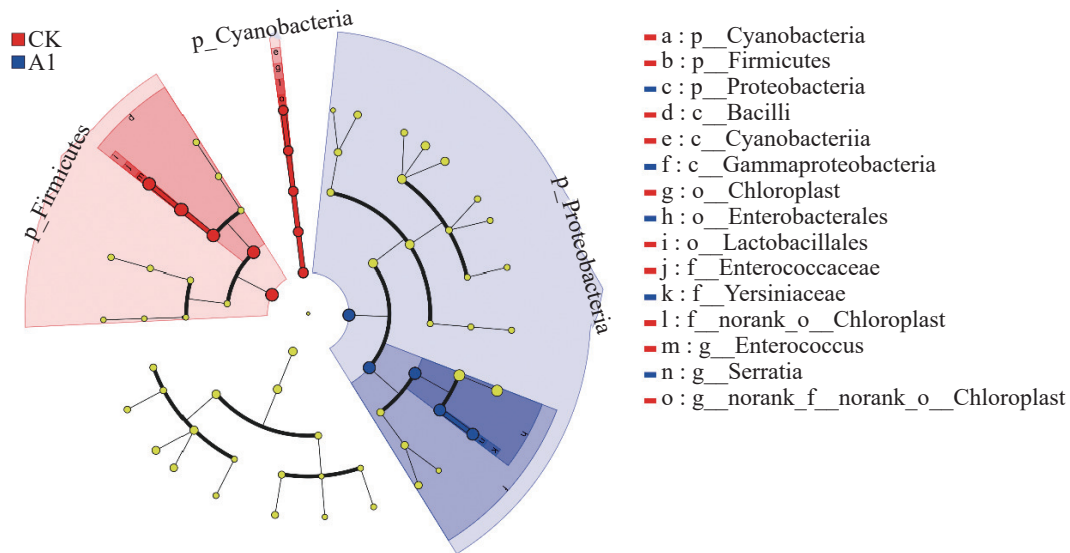


图 4 细菌 LefSe 物种差异层级图(从门到属)

Fig. 4 LefSe taxonomic cladogram of bacterial biomarkers (from phylum to genus)

注: 红色圆圈和蓝色圆圈分别代表对照组、处理组中差异显著的物种层级, 黄色代表差异不显著的物种层级。

Note: Red circles and blue circles indicate species-level taxa that are significantly different in the control and treatment groups, respectively; yellow indicates species-level taxa that are not significantly different.

Circos 样本与物种关系图(图 5-B)表明, 肠球菌属在处理组中占比 35%, 在对照组中占比 65%; 沙雷氏菌属(*Serratia*)在处理组中占比 100%, 在对照组中占比为 0%; 肠杆菌属在处理组中占比 80%, 在对照组中占比 20%。由此可知, 粘质沙雷氏菌侵染草地贪夜蛾后, 草地贪夜蛾肠道内肠球菌属细菌占比下降, 沙雷氏菌属及肠杆菌属细菌占比上升。

群落 Heatmap 图(图 5-C)表明, 除优势菌群外, 处理组在多种菌属均高于对照组, 例如苍白杆菌属(*Ochrobactrum*)、微杆菌属(*Microbacterium*)、亮杆菌属(*Leucobacter*)、芽殖杆菌属(*Gemmobacter*)等, 表明粘质沙雷氏菌侵染草地贪夜蛾后破坏了其肠道原有的微生物环境稳定, 使一些机会致病菌得到繁殖。

2.2.4 关联与预测模型分析 基于属水平上的 Network 网络显示连接物种权重值前 15 的样本与物种, 对处理组与对照组分别进行分析。结果显示, 处理组的细菌物种相关性网络的节点数明显高于对照组, 表明粘质沙雷氏菌处理的草地贪夜蛾幼虫中肠微生物物种丰富度高于对照组(图 6)。进一步对图中物种进行网络中心系数分析(表 3), 结果表明处理组的度中心性均低于对照组, 介数中心性也发生了较大的变化。由此可知, 尽管处理组肠道微生物物种丰富度增加, 但其相互之间

的作用关系可能受到抑制, 推测是粘质沙雷氏菌进入草地贪夜蛾肠道并且繁殖后, 破坏了肠道内原有的菌群系统, 影响了肠道正常功能。

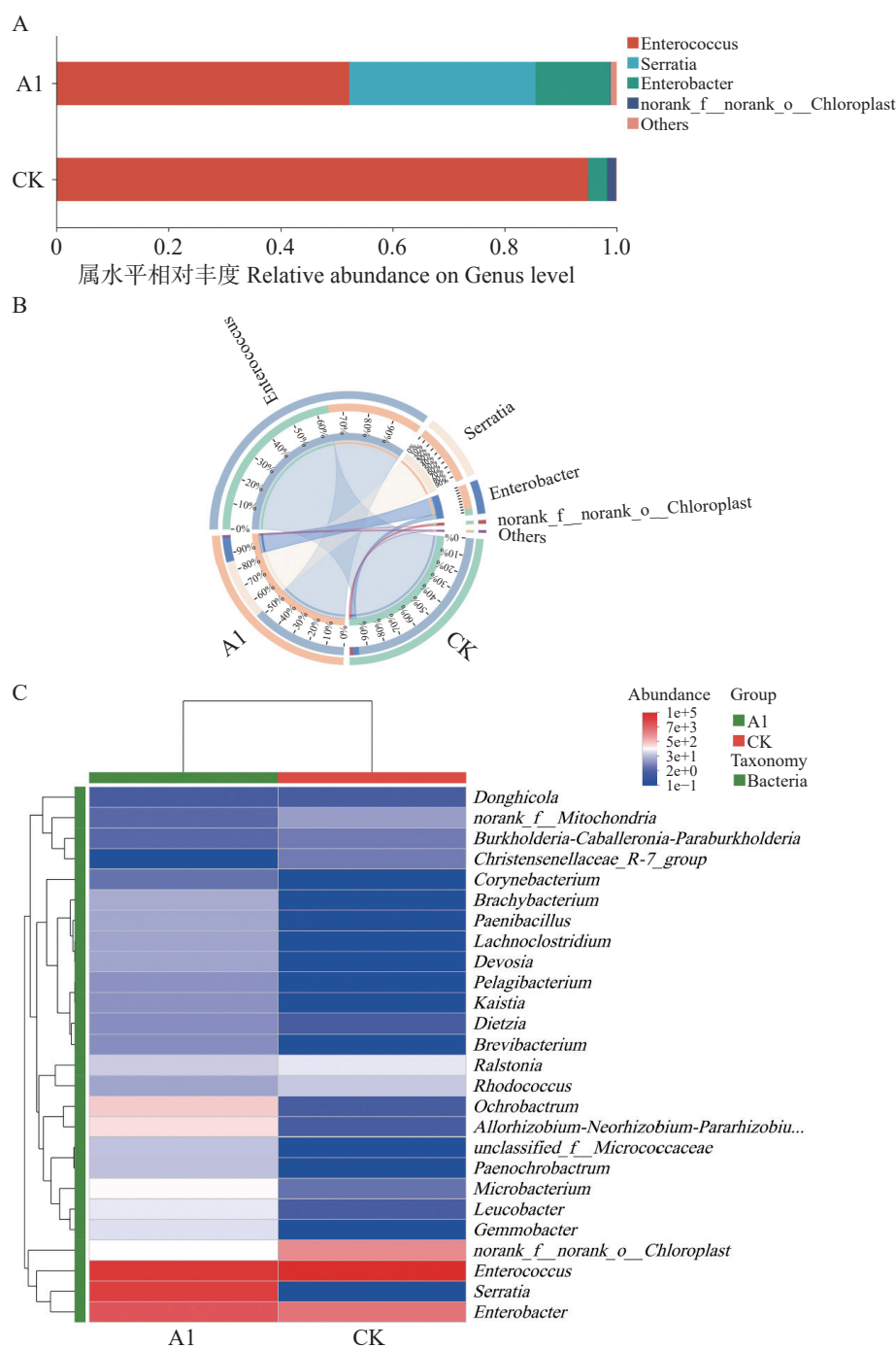
2.2.5 16S 功能预测分析

(1) COG 功能分类统计

对两组样本进行 COG 功能分类统计, 结果如图 7 所示。从图中可以看出, 在处理组中, 胞外结构(extracellular structures), 细胞骨架(cytoskeleton), RNA 的加工和修饰(RNA processing and modification), 细胞运动(cell motility), 次生代谢物的生物合成、转运与分解代谢(secondary metabolites biosynthesis, transport and catabolism)等功能方面的丰度远远高于对照组。而对照组在染色质结构与动力学(chromatin structure and dynamics), 防御机制(defense mechanisms), 翻译、核糖体结构域生物发生(translation, ribosomal structure and biogenesis), 核苷酸的转运和代谢(nucleotide transport and metabolism), 等功能方面的丰度远远高于处理组, 这说明该菌在昆虫肠道繁殖后在一定程度上影响了昆虫肠道的正常代谢及免疫相关过程。

(2) KEGG pathway

样本中丰度前 10 的代谢通路分析(表 4)表明, 细胞过程和信号转导、辅助因子和维生素代谢为处理组特有的高丰度代谢通路, 分别为对照组



A.群落柱状图(属); B.群落 Circos 图(属); C.群落 Heatmap 图(属)。
A. Bar chart of community (genus); B. Circos plot of community (genus); C. Heatmap of community (genus).

图 5 群落物种多样性分析图
Fig. 5 Community species diversity analysis chart

丰度的 1.6 倍和 1.2 倍; 转录、类脂化合物代谢则为对照组特有的丰度前 10 的通路, 但与对照组相差不大, 仅为对照组的 1.05 倍和 1.04 倍。其他共有的 8 个通路中, 有 6 个通路丰度在处理组中均低于对照组, 其中包含碳水化合物代谢、能量代谢、核苷酸代谢等新陈代谢直接相关通路, 表明粘质沙雷氏菌侵染草地贪夜蛾幼虫会引起中肠细菌

物种多样性发生明显改变, 降低中肠细菌菌群的新陈代谢。

3 讨论

目前, 粘质沙雷氏菌对于鳞翅目、直翅目、同翅目昆虫生理生化的影响均有报道^[30-32]。本研究结果表明, 粘质沙雷氏菌对草地贪夜蛾有显著致

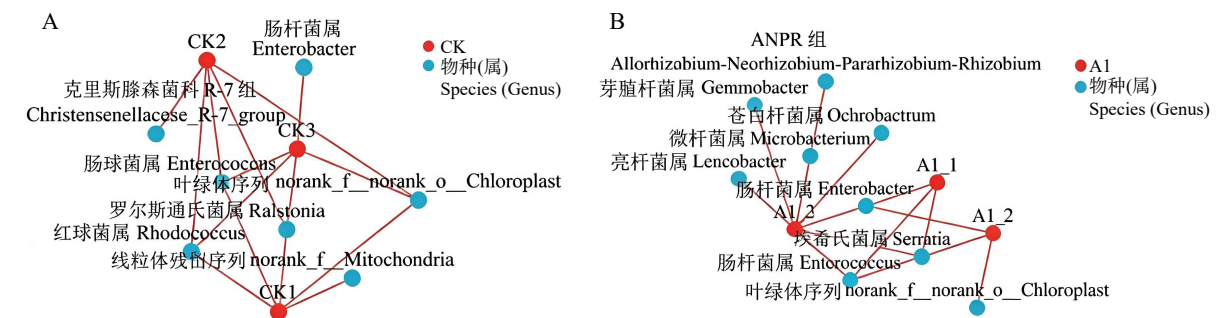


图 6 Network 网络分析图(属)
Fig. 6 Network analysis diagram (Genus)

表 3 网络中心系数表

Tab. 3 Network centrality coefficient table

属 Genus	度中心性 Degree centrality		紧密系数 Closeness centrality		介数中心性 Betweenness centrality	
	CK	A1	CK	A1	CK	A1
<i>Rhodococcus</i>	0.188	0.1110	0.552	0.529	0.0575	0.0165
<i>norank_f_norank_o_Chloroplast</i>	0.188	0.1110	0.552	0.529	0.0575	0.0165
<i>Enterococcus</i>	0.188	0.1110	0.552	0.529	0.0575	0.0165
<i>Serratia</i>	-	0.1110	-	0.529	-	0.0165
<i>Ralstonia</i>	0.188	0.1110	0.552	0.529	0.0575	0.0165
<i>Microbacterium</i>	0.125	0.0741	0.432	0.509	0.00417	0.00821
<i>Enterobacter</i>	0.125	0.1110	0.432	0.529	0.00417	0.0165
<i>norank_f_Mitochondria</i>	0.125	0.0741	0.432	0.509	0.00417	0.00743
<i>Leucobacter</i>	0.0625	0.0370	0.410	0.474	0	0
<i>Christensenellaceae_R-7_group</i>	0.0625	-	0.356	-	0	-
<i>Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium</i>	0.0625	0.0370	0.356	0.474	0	0
<i>Gemmobacter</i>	-	0.0370	-	0.474	-	0

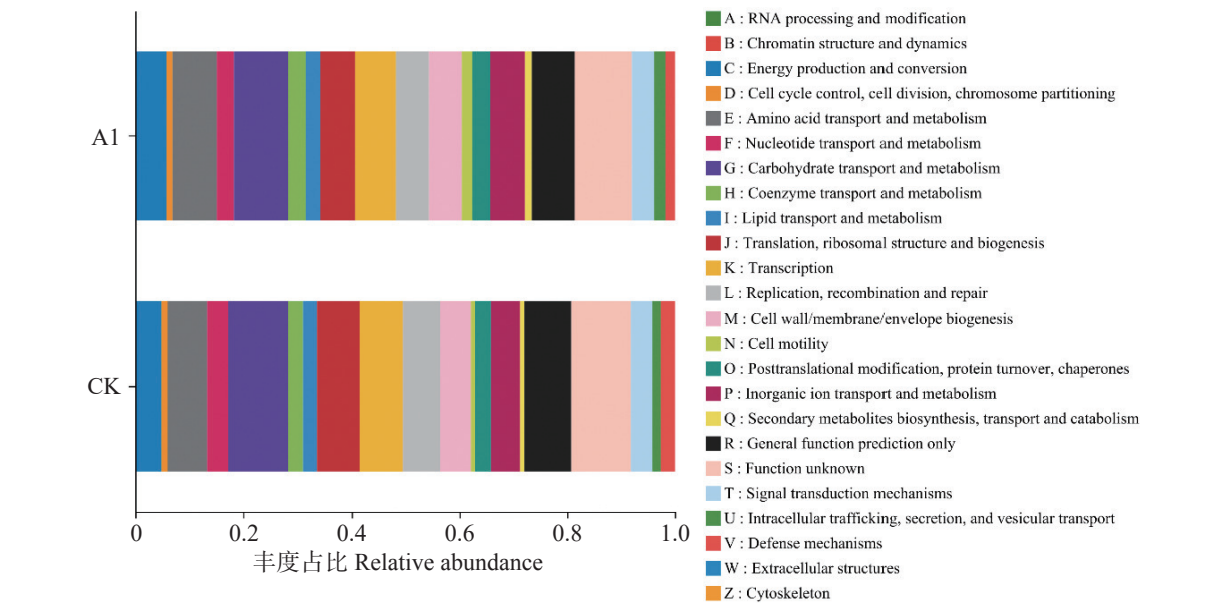


图 7 COG 功能分类柱状图
Fig. 7 COG functional classification bar chart

表 4 KEGG 代谢通路丰度
Tab. 4 KEGG metabolic pathway abundance

通路名称 Pathway name	CK	A1
跨膜转运 Membrane Transport	9 223 362(1)	8 893 502(1)
碳水化合物代谢 Carbohydrate Metabolism	7 230 355(2)	5 971 694(2)
复制与修复 Replication and Repair	4 637 216(3)	3 982 071(4)
氨基酸代谢 Amino Acid Metabolism	4 056 325(4)	4 164 775(3)
翻译 Translation	3 102 038(5)	2 429 396(7)
特征缺失 Poorly Characterized	2 786 866(6)	2 942 935(5)
能量代谢 Energy Metabolism	2 691 241(7)	2 500 881(6)
核苷酸代谢 Nucleotide Metabolism	2 381 045(8)	1 943 046(9)
转录 Transcription	1 670 556(9)	1 591 731(11)
类脂化合物代谢 Lipid Metabolism	1 583 364(10)	1 516 609(13)
辅助因子和维生素代谢 Metabolism of Cofactors and Vitamins	1 558 715(11)	1 853 740(10)
细胞过程和信号转导 Cellular Processes and Signaling	1 441 184(13)	2 299 337(8)

注: 括号内为A1组及CK组各组组长内KEGG代谢通路丰度降序排序序号。

Note: The numbers in parentheses indicate the descending rank order of KEGG metabolic pathway abundance within each of the A1 and CK groups.

病力,且呈现较好的毒力效应关系。自桃小食心虫中分离出的菌株 CS-1 的发酵液与悬浮液对桃小食心虫老熟幼虫的毒力与其浓度呈明显的剂量效应,菌株 CS-1 菌悬液对桃小食心虫老熟幼虫的 LC_{50} 为 1.80×10^8 cfu·mL⁻¹, 8.0×10^8 cfu·mL⁻¹ 菌悬液对其 LT_{50} 为 3.73 d,说明菌悬液对桃小食心虫具有很强的毒力^[21],这与本文研究类似。

粘质沙雷氏菌对昆虫致病机理的研究存在不同的报道,主要集中于对昆虫肠道的相关变化。郑荣坤^[33]研究证明了粘质沙雷氏菌 KH-001 菌在经口侵染亚洲柑橘木虱肠道后,可通过 ROS 的快速积累以及细菌大量繁殖引发肠道发生细胞凋亡,导致肠道组织结构发生严重病变,使得细菌可轻易透过肠道屏障保护,进入宿主体内,致使宿主败血症而死。林博达^[30]的研究明确粘质沙雷氏菌会影响甜菜夜蛾肠道微生物的组成进而影响生理代谢,受到影响最大为碳水化合物代谢,其次为辅助因子和维生素代谢,第三为氨基酸代谢,碳水化

合物代谢上升、后两者下降。本研究中,粘质沙雷氏菌侵染草地贪夜蛾后,同样出现了碳水化合物代谢、辅助因子和维生素代谢及氨基酸代谢的变化,但三者均下降,推测粘质沙雷氏菌侵染不同物种对肠道功能的影响比较相似但具体影响会有一定差别。

肠球菌属为昆虫以及其他很多生物消化道中的主要细菌,对维持肠道正常生理功能,提高生物体免疫力有重要作用。本研究中,粘质沙雷氏菌侵入草地贪夜蛾后会在其体内成为其肠道内的优势种群之一,肠球菌属占比降低。通过对粘质沙雷氏菌侵染后草地贪夜蛾幼虫中肠细菌种群的分析,可以判断粘质沙雷氏菌在侵染草地贪夜蛾的过程中,草地贪夜蛾幼虫中肠细菌多样性组成会发生改变,一些机会致病菌随之繁殖,影响草地贪夜蛾的健康。结合 COG 及 KEGG 代谢通路预测分析,粘质沙雷氏菌侵入草地贪夜蛾后,草地贪夜蛾中肠中胞外结构、细胞骨架以及细胞过程和信号传导通路丰度增加,可能是肠道进行了免疫反应和自我修复;RNA 的加工和修饰通路丰度增加,可能导致基因表达失调,结合细胞运动、次生代谢物的生物合成、转运与分解代谢等通路丰度增加,可能引发肠道功能紊乱;辅助因子和维生素代谢通路丰度升高,可能是由于粘质沙雷氏菌进入肠道后干扰了代谢,致使该通路富集。染色质结构与动力学、翻译、核糖体结构域生物发生、防御机制、核苷酸的转运和代谢、碳水化合物代谢、能量代谢、核苷酸代谢等通路丰度的降低,推测草地贪夜蛾肠道内基因表达下调、转录活性受到抑制,进而使得营养吸收受损、免疫功能减弱^[34]。因此,推测肠球菌属相对丰度占比降低,致病菌沙雷氏菌属相对丰度占比升高是草地贪夜蛾致死率提升的重要因素,感染菌后草地贪夜蛾肠道细菌多样性发生变化,并且影响相关新陈代谢、营养吸收及免疫功能,从而进一步影响了死亡率。

4 结 论

本研究结论如下:(1)通过对虫生细菌的分离鉴定,获得对草地贪夜蛾具有较高毒力的粘质沙雷氏菌菌株 FCA-1。(2)该菌株 10^9 cfu·mL⁻¹ 的菌悬液喷雾法处理草地贪夜蛾三龄幼虫的 LT_{50} 为 60.5 h。(3)粘质沙雷氏菌在侵染草地贪夜蛾后成

为草地贪夜蛾中肠细菌的优势物种,感菌后影响了草地贪夜蛾肠道内新陈代谢、营养吸收及免疫相关代谢通路丰度。本文初步明确了粘质沙雷氏菌感染草地贪夜蛾后肠道通路的变化,为后续进一步明确粘质沙雷氏菌对草地贪夜蛾的致病机理奠定基础。

参考文献:

- [1] He H Q, Qin X J, Dong F Y, et al. Synthesis, characterization of two matrine derivatives and their cytotoxic effect on *Sf9* cell of *Spodoptera frugiperda*[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 17999. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-75053-1>
- [2] 太红坤, 郭井菲, 张峰, 等. 六种杀虫剂对草地贪夜蛾的田间防控效果比较[J]. *应用昆虫学报*, 2025, 62(2): 473–483. <https://doi.org/10.7679/j.issn.2095-1353.2025.044>
- [3] dos Santos L F C, Ruiz-sánchez E, Andueza-noh R H, et al. Leaf damage by *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae) and its relation to leaf morphological traits in maize landraces and commercial cultivars[J]. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 2020, 127(1): 103–109. <https://doi.org/10.1007/s41348-019-00276-y>
- [4] Haenniger S, Goergen G, Akinbuluma M D, et al. Sexual communication of *Spodoptera frugiperda* from West Africa: adaptation of an invasive species and implications for pest management[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 2892. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59708-7>
- [5] 姜玉英, 刘杰, 朱晓明. 草地贪夜蛾侵入我国的发生动态和未来趋势分析[J]. *中国植保导刊*, 2019, 39(2): 33–35. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1672-6820.2019.02.006>
- [6] 全国农业技术推广服务中心. 2024 年玉米中后期病虫害趋势预报 | 草地贪夜蛾、棉铃虫、粘虫; 大斑病、南方锈病、褐斑病等局部偏重发生[EB/OL]. (2024-07-29). <http://w.icama.cn/zwb/detail/28872>.
- [7] 农业农村部. 农业农村部关于印发《全国草地贪夜蛾防控方案》的通知[EB/OL]. (2019-06-21)[2019-07-13]. https://zzys.moa.gov.cn/tzgg/201907/t20190731_6321853.htm.
- [8] 农业农村部. 2025 年粮食作物重大病虫害防控技术方案[EB/OL]. (2025-02-28)[2025-02-28]. https://www.moa.gov.cn/xw/zxfb/202502/t20250228_6470753.htm.
- [9] Paredes-sánchez F A, Rivera G, Bocanegra-garcía V, et al. Advances in control strategies against *Spodoptera frugiperda*. A review[J]. *Molecules*, 2021, 26(18): 5587. <https://doi.org/10.3390/molecules26185587>
- [10] 全国农业技术推广服务中心. 全国农技中心印发 2024 年粮食作物有害生物抗药性监测报告[EB/OL]. (2025-03-20)[2025-03-20]. https://www.agri.cn/zx/zxfb/202503/t20250320_8720156.htm.
- [11] Herrera-mayorga E V, Bello-ruiz D G, Paredes-sánchez F A, et al. Identification of Snp's in the *Ace-1* gene of *Spodoptera frugiperda* associated with resistance to organophosphorus insecticides[J]. *Southwestern Entomologist*, 2018, 43(4): 855–865. <https://doi.org/10.3958/059.043.0404>
- [12] Zhao Y X, Huang J M, Ni H, et al. Susceptibility of fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith), to eight insecticides in China, with special reference to lambda-cyhalothrin[J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2020, 168: 104623. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2020.104623>
- [13] Boaventura D, Ulrich J, Lueke B, et al. Molecular characterization of Cry1F resistance in fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* from Brazil[J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2020, 116: 103280. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2019.103280>
- [14] Guan F, Zhang J P, Shen H W, et al. Whole - genome sequencing to detect mutations associated with resistance to insecticides and Bt proteins in *Spodoptera frugiperda*[J]. *Insect Science*, 2021, 28(3): 627–638. <https://doi.org/10.1111/1744-7917.12838>
- [15] Braga T M, Rocha L, Chung T Y, et al. Biological activities of gedunin: a limonoid from the Meliaceae family[J]. *Molecules*, 2020, 25(3): 493. <https://doi.org/10.3390/molecules25030493>
- [16] Phambala K, Tembo Y, Kasambala T, et al. Bioactivity of common pesticidal plants on fall armyworm larvae (*Spodoptera frugiperda*)[J]. *Plants*, 2020, 9(1): 112. <https://doi.org/10.3390/plants9010112>
- [17] Williams T, Cisneros J, Penagos D I, et al. Ultralow rates of spinosad in phagostimulant granules provide control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in maize[J]. *Journal of Economic Entomology*, 2004, 97(2): 422–428. <https://doi.org/10.1603/0022-0493-97.2.422>
- [18] Zhang J F, Jin M H, Yang Y C, et al. The cadherin protein is not involved in susceptibility to *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab or Cry1Fa toxins in *Spodoptera frugiperda*[J]. *Toxins*, 2020, 12(6): 375. <https://doi.org/10.3390/toxins12060375>
- [19] Lin D J, Zhou J X, Ali A, et al. Biocontrol efficiency and characterization of insecticidal protein from sugarcane endophytic *Serratia marcescens* (SM) against oriental armyworm *Mythimna separata* (Walker)[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 262: 129978. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.129978>
- [20] 苏造堂, 张凌英, 徐天梅, 等. 马铃薯块茎蛾幼虫致病黏质沙雷氏菌的分离鉴定及杀虫活性[J]. *中国生物防治学报*, 2020, 36(3): 361–370. <https://doi.org/10.16409/j.cnki.2095-039x.2020.03.003>
- [21] 何佳美, 张怀江, 孙丽娜, 等. 黏质沙雷氏菌分离鉴定及对桃小食心虫的致病性[J]. *植物保护学报*, 2024, 51(6): 1466–1475. <https://doi.org/10.13802/j.cnki.zwbhxb.2024.2024029>
- [22] 朱宇铨, 胡昕然, 纪国茜, 等. 粘质沙雷氏菌 BRC-CXG2 对松材线虫的防治效果及全基因组分析[J]. *中国森林病虫*, 2024, 43(5): 1–10. <https://doi.org/10.19688/j.cnki.issn1671-0886.20240033>
- [23] 李晴, 吴建凯, 林志艺. 粘质沙雷氏菌在环境修复与农业虫害生物防治的研究概述[J]. *四川农业科技*, 2023(8): 40–43. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1004-1028.2023.08.013>
- [24] 杨奇龙, 李贝娜, 杨振德, 等. 粘质沙雷氏菌 BS-1 对云斑白条天牛幼虫体内蛋白质含量和防御类酶活性的影响[J]. *福建农林大学学报 (自然科学版)*, 2025, 54(06): 721–730. [https://doi.org/10.13323/j.cnki.j.fafu\(nat.sci.\).202412015](https://doi.org/10.13323/j.cnki.j.fafu(nat.sci.).202412015)
- [25] 金融. 粘质沙雷氏菌和假单胞菌对稻纵卷叶螟幼虫防

- 治效果研究及杀虫机理初探[D]. 扬州: 扬州大学, 2024. <https://doi.org/10.27441/d.cnki.gyzdu.2024.000597>
- [26] 曾甜. 桔小实蝇肠道抵抗粘质沙雷氏菌的分子机制初步研究[D]. 广州: 华南农业大学, 2020. <https://doi.org/10.27152/d.cnki.ghanu.2020.000227>
- [27] 赵崇飞. 柑橘木虱 Duox-Ros 系统响应粘质沙雷氏菌侵袭的作用机理研究[D]. 赣州: 赣南师范大学, 2024. <https://doi.org/10.27685/d.cnki.ggnsf.2024.000504>
- [28] 吴正伟, 刘始迎, 郑碧瑜, 等. 一株分离自红树林沙雷氏菌的鉴定及杀虫活性测定[J]. 广东海洋大学学报, 2021, 41(1): 33–38. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1673-9159.2021.01.005>
- [29] 赵晓峰. 粘质沙雷氏菌 PS-1 菌株对甜菜夜蛾幼虫杀虫机理的初步研究[D]. 广州: 华南农业大学, 2016. <https://doi.org/10.7666/d.D01037105>
- [30] 林博达. 粘质沙雷氏菌 PsSm-1 和 SfSm-1 对甜菜夜蛾肠道微生物组成和中肠免疫的影响[D]. 广州: 华南农业大学, 2021. <https://doi.org/10.27152/d.cnki.ghanu.2021.001367>
- [31] 傅仁杰, 祁雪连, 丰凯, 等. 一株分离自黑翅土白蚁的粘质沙雷氏菌的鉴定及特性[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2019, 43(1): 76–82. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1000-2006.201804003>
- [32] 牛洪涛, 肖李俊杰, 王娜, 等. 粘质沙雷氏菌 S-JS1 与 5 种杀虫剂对灰飞虱的联合作用及该菌对灰飞虱相关酶活性的影响[J]. 农药学报, 2018, 20(2): 185–191. <https://doi.org/10.16801/j.issn.1008-7303.2018.0024>
- [33] 郑荣坤. 粘质沙雷氏菌诱导 ROS 促进柑橘木虱肠道细胞凋亡的研究[D]. 赣州: 赣南师范大学, 2022. <https://doi.org/10.27685/d.cnki.ggnsf.2022.000345>
- [34] 孙文雯, 马微微, 徐海轩, 等. 利福平对红须摇蚊幼虫肠道微生物群落结构及功能的潜在影响[J]. 微生物学报, 2023, 63(7): 2848–2863. <https://doi.org/10.13343/j.cnki.wsxb.20220827>

Isolation and identification of the biocontrol bacterium FCA-1 and its effects on gut microbiota diversity of *Spodoptera frugiperda*

Wang Xinyu[#], Sun Mingkai, Xie Jia, Zhang Jie,
Zhang Taiyu, Guo Yuzhao, Fan Yongmei^{*}

(Hainan University, School of Tropical Agriculture and Forestry, Haikou, Hainan 570228, China)

Abstract: *Spodoptera frugiperda*, a highly invasive pest, causes significant damage to a variety of crops and has developed severe resistance to multiple chemical pesticides. Therefore, screening suitable biological control methods has become an excellent alternative solution. In this context a pathogenic bacterium FCA-1 was isolated from the naturally dead larvae of *S. frugiperda* reared indoor, and it was identified as *Serratia marcescens*. The experiments showed that the median lethal time of FCA-1 suspension at 10^9 cfu·mL⁻¹ to the 3rd instar larvae of *S. frugiperda* was 60.5 h, indicating significant pathogenicity. Analysis using high-throughput sequencing technology revealed that this strain significantly influenced the bacterial diversity in the midgut of *S. frugiperda*, with genus *Serratia* as the dominant bacterial group. Additionally, FCA-1 altered the microbial community structure in the gut of *S. frugiperda*, thereby affecting immune-related and metabolic pathways such as extracellular structures, defense mechanisms, carbohydrate metabolism and nucleotide metabolism. In summary, *Serratia marcescens* FCA-1 has high pathogenicity against *S. frugiperda* and can enhance its virulence by altering the gut microbial community structure, showing potential as a biological control agent.

Keywords: *Spodoptera frugiperda*; *Serratia marcescens*; isolation and identification; microbial diversity

(责任编辑: 张 瑁)