主持人：缪卫国，吴少英　　Open Access

桉树油桐尺蠖致病细菌的初步分离与鉴定

杨胜基[1#]，刘伟莉[1]，林　婧[1]，邓　博[1]，苏振业[1]，孟丽华[2]，
罗　敦[1]，黄汉林[1*]
（1. 广西壮族自治区国有博白林场，广西 玉林 537600 中国；2. 广西大学 林学院，广西 南宁 530004 中国）

摘　要：为筛选对油桐尺蠖（*Biston suppressaria*）具有致病性的肠道细菌，以开发新型生物防治手段，本研究采用传统培养结合分子生物学方法，从自然感染致死的油桐尺蠖肠道中分离细菌。共获得 15 株形态特征差异明显的细菌，经 16S rDNA 序列分析鉴定为肠杆菌属（*Enterobacter*）、沙雷氏菌属（*Serratia*）、芽孢杆菌属（*Bacillus*）等 10 个属。其中，芽孢杆菌科菌株 B6 致死率最高。饲喂试验表明，B6 处理组油桐尺蠖在第 7 天的累计校正死亡率达 60.0%，死亡虫体表现出典型致病症状，且可再次分离获得与 B6 形态一致的菌落。此外，B6 对同科的大造桥虫（*Mugwort looper*）和小用克尺蛾（*Jankowskia fuscaria*）幼虫也具有一定致病性。研究表明，芽孢杆菌科菌株 B6 具有作为油桐尺蠖生防菌的潜力，为后续绿色防控技术的开发提供了理论依据。

关键词：油桐尺蛾；细菌分离；16S rDNA；芽孢杆菌科
中图分类号：S476.1　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1674 − 7054(2026)06 − 0981 − 08
杨胜基, 刘伟莉, 林婧, 等. 桉树油桐尺蠖致病细菌的初步分离与鉴定[J]. 热带生物学报 (中英文), 2026, 17(6): 981−988.　DOI: 10.15886/j.cnki.rdswxb.20250072　CSTR: 32425.14.j.cnki.rdswxb.20250072

油桐尺蛾（*Biston suppressaria*）幼虫通称为油桐尺蠖，主要以桉树（*Eucalyptus* spp.）等阔叶树种叶片为食[1]。油桐尺蠖因短世代、繁殖力强的特点成为种群数量难以控制的林业害虫之一[2]。桉树人工林油桐尺蠖大规模的暴发会极大地影响桉树生长，同时油桐尺蠖的聚集现象还会引起森林生态系统失衡[3]。2022 年 8 月油桐尺蠖在广西桉树人工林的发生面积高达 3 006.67 hm^2，约占所有虫害面积 93.6%[4]。传统的防治措施面对油桐尺蠖的快速繁殖和世代重叠的特点显得不足，过度使用化学农药还会对森林生态系统造成破坏。因此急需探索更高效、环保的治理策略，寻找针对油桐尺蠖有强大杀虫活性的菌株对制定科学合理的防控方案意义重大。

微生物对昆虫的致病作用包括了多种复杂的生理生化过程，对开发新型生物农药和制定有效的害虫管理策略具有重要意义[5]。因此，利用微生物控制鳞翅目的食叶害虫属于环保且可持续的策略。昆虫病原细菌的分离是致病菌的分离与鉴定的重要基础，也是生防菌开发中最重要的环节之一[6]。王海旭等[7]从罹病体的春尺蠖（*Apocheima cinerarius*）中分离了具有杀虫活性的短小芽孢杆菌（*B. pumilus*）菌株 CH-1，对多鳞翅目幼虫具有较好的致死效果。Janaki 等[8]通过实验发现了枯草芽孢杆菌（*B. subtilis*）菌株 EB01 对稻纵卷叶螟（*Cnaphalocrocis medinalis*）具有良好的杀虫潜力，可显著延缓稻纵卷叶螟发育周期。总的来说，可培养病原细菌的分离在获取具有潜在应用价值的菌株中具有不可替代的价值[9]。

昆虫病原菌的分离需通过传统微生物学方法与现代分子技术来确保菌株纯度与致病性，为后续杀虫活性测定奠定重要的基础。本研究利用传统培养结合分子生物学方法，分别通过 16s rDNA 技术与系统发育树确定致病细菌的分类与进化地

CC BY 4.0
收稿日期：2025−05−29　　**修回日期：**2025−07−01
基金项目：桉树尺蠖病毒及细菌杀虫剂研发项目（桂林科研 [2025KX] 第 13 号）；广西自筹经费林业科技项目（2023GXZCLK05）
#第一作者：杨胜基（1974—），男，本科，高级工程师。研究方向：森林培育。E-mail: 361543565@qq.com
***通信作者：**黄汉林（1973—），男，本科，高级工程师。研究方向：森林经营管理。E-mail: 3525652710@qq.com

位，并通过菌液回接纯化实验对细菌的致死率进行验证，最终确定致病菌对油桐尺蠖的杀虫活性，为将其作为备选生防菌提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫 供试昆虫样本采自广西壮族自治区玉林市博白林场范围内（21°38′ ~ 22°28′ N，109° 38′ ~ 110°17′ E），选取林间自然感染致死、体表完整无损伤的油桐尺蠖幼虫个体。采用梯度消毒法处理虫体表面，依次使用体积分数 75% 乙醇溶液漂洗 30 s、0.1% $HgCl_2$ 浸泡 2 min，最后以无菌去离子水冲洗 3 次。经表面灭菌处理的虫体分装于 1.5 mL 无菌离心管中，置于生物冰盒（4±1）℃内低温保存，样本采集后 12 h 内转移至实验室进行病原分离。

1.2 培养基及菌液的制作 改进刘玉升等[10]的方法，取适量死亡油桐尺蠖的完整肠道置于无菌研钵中，加入 1 mL 预冷的体积分数 0.85% 生理盐水（含 0.05% Tween-80），使用无菌匀浆器充分匀浆 5 min。将匀浆液转移至 1.5 mL 离心管，经 4 000 r·min^{-1}、4 ℃ 离心 3 min 后取上清液作为原代接种体备用。LB 液体培养基制作方法为胰蛋白胨 10 g、酵母提取物 5 g、氯化钠 10 g，加入 1 L 的蒸馏水后搅拌至完全溶解，后用 1.0 mol·L^{-1} 的氢氧化钠溶液将溶液的 pH 调至 7.2±0.2 后加水定容至 1 L。LB 固体培养基的制作需要在液体培养基的基础上加入琼脂粉 15 ~ 20 g，加热融化。融化后将液体培养基分装到三角瓶中，封膜后进行 121 ℃ 高压蒸汽灭菌 30 min。配制过程中保持环境清洁，避免杂菌污染。

1.3 细菌的分离与纯化 改进文献 [10−11] 的分离方法对死亡油桐尺蠖的肠道细菌进行分离纯化。取 10 μL 原代接种体接种于 100 mL LB 液体培养基上，于恒温振荡培养箱（28 ℃，180 r·min^{-1}）中富集培养 24 h。将增殖菌液离心（10 000 r·min^{-1}，4 ℃）10 min 后收集菌体，用无菌生理盐水重悬至 100 mL LB。采用梯度稀释法对菌悬液进行系列稀释（10^1、10^3、10^5、10^7），每个梯度设置 3 个生物学重复。取 100 μL 稀释液均匀涂布于 LB 固体培养基表面（直径为 9 cm 培养皿），使用酒精灯火焰灭菌的玻璃涂布器以旋转法（先顺时针后逆时针）涂布 3 次。涂布后的平板倒置于 30 ℃ 恒温培养箱中黑暗培养 48 h。通过菌落形态（形状、色泽、边缘特征）筛选目标菌落，采用三区划线法进行纯化。经 28 ℃ 培养 24 h 后，选取第三区单菌落转接至斜面培养基，4 ℃ 保藏备用。

1.4 病原菌的筛选与鉴定 基于《伯杰氏细菌鉴定手册》[12] 的形态学分类标准筛选形态学特征不一致的菌落，采用细菌基因组 DNA 纯化试剂盒 EasyPure® Bacteria Genomic DNA Kit（北京全式金生物有限公司），按照试剂盒提供的说明书方法提取油桐尺蠖肠道细菌基因组 DNA。提取完成后采用微量核酸蛋白浓度测定仪 NanoDrop One（赛默飞世尔科技有限公司）对提取质量和浓度进行测定。采用细菌 16S rRNA 通用引物 27F（5′-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3′）与 1492R（5′-GGTTACCTTGTTACGACT T-3′）对合格样品的基因组 DNA 进行 PCR 扩增[13]。PCR 反应体系为 2× Hotstart PCR Master Mix（上海生工生物工程股份有限公司）25 μL，338F 引物 1 μL，806R 引物 1 μL，模板 DNA 1 μL，ddH2O 补足至 50 μL。PCR 反应程序步骤：1）95 ℃ 预变性 3 min；2）95 ℃ 变性 15 s；3）55 ℃ 退火 15 s；4）72 ℃ 延伸 10 s；5）72 ℃ 终延伸 5 min；其中，步骤 2 ~ 4 循环 30 次。最终 PCR 产物送至上海生工生物工程股份有限公司进行双向的一代基因测序。

1.5 细菌系统发育树构建 将测序所得序列导入 MEGA v12，使用 ClustalW 对齐正反向 reads 的重叠区，对测序结果进行拼接。序列通过 NCBI 网站（www.ncbi.nlm.nih.gov）的 BLASTn 比对筛选同源性前 5 的菌株，下载基因序列 FASTA 格式文件。使用 MAFFT v7.505 进行多序列比对，参数采用 auto 模式，进行 1 000 次迭代检验。通过 Gblocks v0.91b 去除比对序列中的非保守区及低信息位点，参数保留允许缺口位置。采用 IQ-TREE v2.2.0 进行最大似然法（Maximum Likelihood，ML）构建系统发育树，自动筛选最优核苷酸/氨基酸替代模型，并依据贝叶斯信息准则（BIC）确定模型参数，基于 UltraFast Bootstrap 计算 1 000 次重复支持率；通过 iTOL v6.7.1 调整分支长度、着色及标签，自展支持率验证节点支持率≥90% 视为可信分支。

1.6 致病性验证

1.6.1 强致病菌的筛选 菌株接种于 LB 液体培养基，在无菌摇床内 30.0 ℃ 下 200 r·min^{-1} 扩增至

OD_{600}=0.8, 离心(8 000 ×g, 10 min)后重悬于无菌 PBS 溶液, 最终菌液浓度为 1.0×10^8 CFU·mL^{-1}。将菌液均匀喷施在使用纯水清洗后的桉树叶片表面, 选择健康的 3 龄幼虫(n=30)通过饲喂法饲喂含有细菌的桉树叶片, 对照组采用等量 PBS 处理, 待 7 d 后计算校正死亡率。培养条件(25.0±1.0) ℃, 湿度(60.0±2.0)%, 光周期 L∶D=14 h∶10 h。对独立样本 T 检验后呈现离散的样本进行二次验证, 死亡虫体采用体积分数 75% 乙醇溶液漂洗 30 s、体积分数 0.1% $HgCl_2$ 浸泡 2 min, 最后以无菌去离子水冲洗 3 次后, 取下完整肠道, 按照 1.2—1.4 的方法进行可培养细菌的分离纯化与鉴定, 观察是否分离出目标菌落。

1.6.2　致病菌对 3 种鳞翅目幼虫的致病性测定　选取健康 3 龄油桐尺蠖、大造桥虫(*Mugwort looper*)和小用克尺蛾(*Jankowskia fuscaria*)幼虫, 采用饲喂法进行处理。将 1.0×10^8 CFU·mL^{-1} 菌液喷施于桉树叶片, 待叶片自然晾干后供 3 种鳞翅目幼虫取食, 对照组采用等体积无菌 PBS 处理。每组处理设置 10 头油桐尺蠖样本, 同时设置 3 个生物学重复。每 24 h 观察 1 次幼虫存活率, 采用 Abbott 公式计算校正死亡率, 记录 7 d 时的累计校正死亡率。

2　结果与分析

2.1　肠道细菌的分离与鉴定　从死亡油桐尺蠖样本中共获得 15 株形态学特征存在显著差异的细菌分离株, 分别编号为 B1 ~ B15。通过试剂盒法提取细菌基因组 DNA 后, 采用通用引物对 16S rDNA 高变区进行 PCR 扩增, 电泳检测显示所有样本均呈现约 1 400 bp 的特异性扩增条带, 证实目标片段成功扩增。经 16S rDNA 序列比对后表明 B1、B2、B5、B9 及 B10 共 5 个菌株的比对相似度达 99.0% 以上, 具体结果见表 1。

表 1　染病油桐尺蠖肠道可培养细菌 16S rDNA 序列比对结果

Tab. 1　Comparison of 16S rDNA sequences of enteric culturable bacteria from infected *Biston suppressaria*

编号 Number	相似种 Similar species	登录号 Accession number	相似度 Similarity/%
B1	阴沟肠杆菌 *Enterobacter cloacae*	KC990807	99.21
B2	迈氏谷氨酸杆菌 *Glutamicibacter mysorens*	OP020885	99.55
B3	弗氏柠檬酸杆菌 *Citrobacter freundii*	OY324134	98.54
B4	变形假单胞菌 *Pseudomonas plecoglossicida*	GQ398824	97.85
B5	地衣芽孢杆菌 *Bacillus licheniformis*	LC814576	99.56
B6	芽孢杆菌属 *Bacillus* sp. SGE178	HM566702	92.23
B7	粪产碱菌 *Alcaligenes faecalis*	LN870277	94.23
B8	生癌肠杆菌 *Enterobacter cancerogenus*	LN890004	98.12
B9	鹑鸡肠球菌 *Enterococcus gallinarum*	LT223665	99.80
B10	短稳杆菌 *Empedobacter brevis*	AM177497	99.62
B11	粘质沙雷氏菌 *Serratia marcescens*	AB061685	98.43
B12	粘质沙雷氏菌 *Serratia marcescens*	AB270613	98.17
B13	奇异变形杆菌 *Proteus mirabilis*	LT745977	98.15
B14	路氏肠杆菌 *Enterobacter ludwigii*	AJ853891	98.07
B15	肠球菌属 *Enterococcus* sp. CY2W15	HQ231936	98.15

2.2　肠道细菌的系统发育分析　基于最大似然法构建的系统发育树显示, 15 株细菌分属于 10 个不同的属(图 1)。其中, 肠杆菌属(*Enterobacter*)包含 B1、B8、B14 和 B15 共 4 株菌株; 其次为沙雷氏菌属(*Serratia*)和芽孢杆菌属(*Bacillus*), 沙雷氏菌属包含 B11、B12 菌株和芽孢杆菌属 B5、B6 菌株; 其余 7 个属各检出 1 株菌株。

2.3　致病性验证　不同的菌株处理对幼虫死亡率

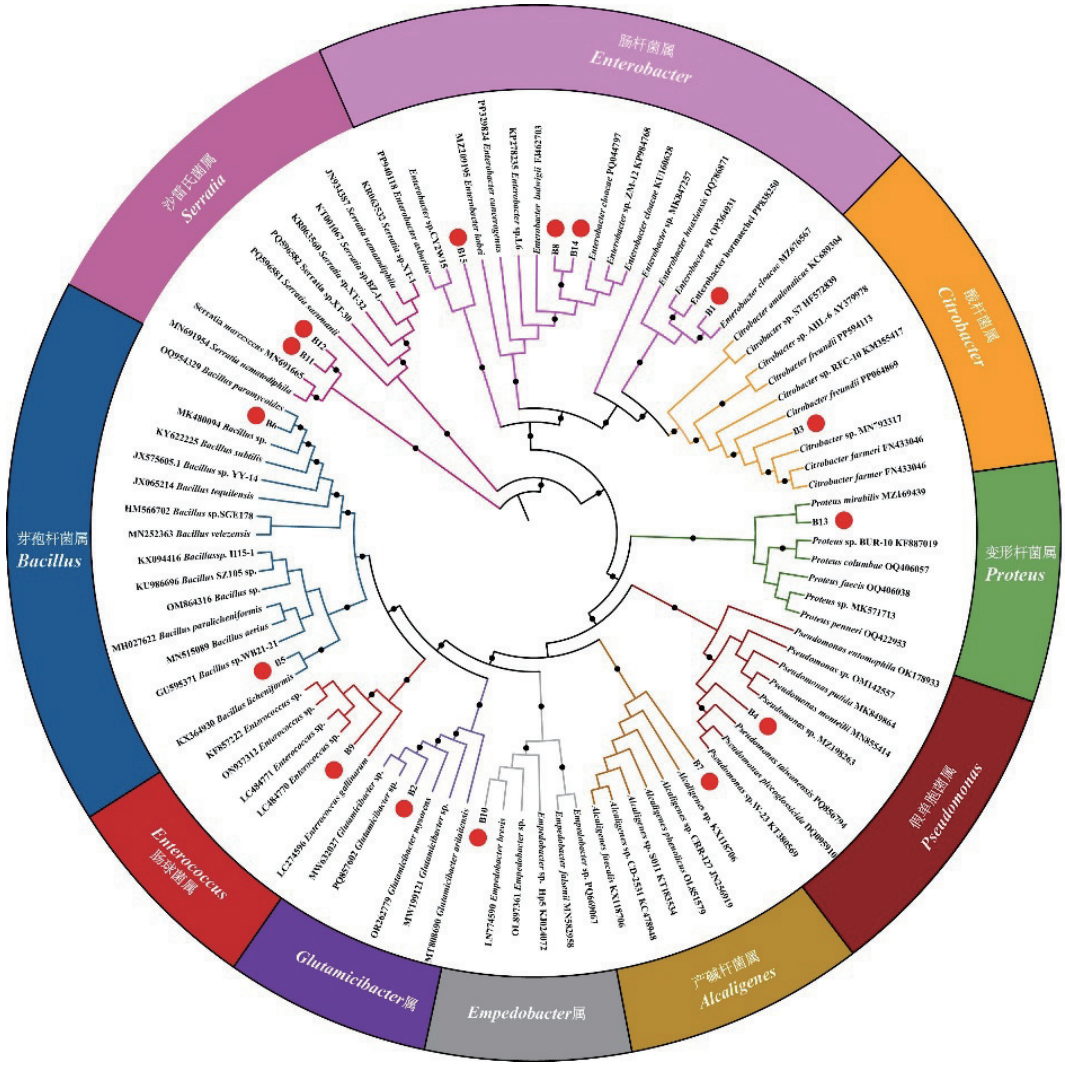


图 1　基于最大似然法构建的染病油桐尺蠖肠道可培养细菌 16S rDNA 系统发育树

Fig. 1　The 16S rDNA phylogenetic tree of enteric culturable bacteria from infected *Biston suppressaria* based on maximum likelihood method

注: 基于最大似然法构建的 16S rRNA 细菌基因系统发育树, 展示 15 株分离菌株(B1 ~ B15, 红色圆圈标记)与 NCBI 参考菌株的进化关系。各节点处黑色实心圆圈表示自展支持率≥90%(1 000 次重复), 未标注节点支持率均低于该阈值。进化枝外侧扇形色块颜色代表不同属级分类单元, 末端叶片标签格式为“属名+种名+GenBank 登录号”(示例: *Bacillus* sp. MK480094)。

Note: The phylogenetic tree of 16S rRNA bacteria based on the maximum likelihood method shows the evolutionary relationship between 15 isolated strains (B1−B15, marked with red circles) and NCBI reference strains. The black solid circle at each node indicates that the bootstrap value is ≥90% (1 000 repetitions), and that the bootstrap value of unmarked nodes is lower than the threshold. The outer fan-shaped colors of the clades represent different generic taxa, and the label format of the terminal leaves is "genus + species + GenBank entry number" (Example: *Bacillus* sp. MK480094).

存在一定程度的影响(图 2-A)。芽孢杆菌科菌株 B6 展现出最强的致病效应, 处理组第 7 天累计校正死亡率达 60.0%, 样本存在显著偏离(P<0.01); 其次是沙雷氏菌属菌株 B11 在饲喂法处理中表现出一定的致死率, 7 d 时的累计校正死亡率为 23.1%, 样本存在偏离。其他菌株的 7 d 累计校正死亡率为 0 ~ 13.3%, 相较于芽孢杆菌科菌株 B6 更低。感染芽孢杆菌科 B6 后死亡的油桐尺蠖的特征如图 3 所示, 使用 B6 感染后的幼虫于濒死期(死亡前 24 h)出现足部逐渐泛红的现象(图 3-D), 体表出现直径 0.5 ~ 1.2 mm 的黑色浸润性病斑(图 3-E), 且不摄食; 死亡 12 h 后虫体缩短至原长的 80%, 腹部肿胀, 病斑扩大至原来的 1.5 倍 ~ 2.0 倍; 虫体几丁质层崩解, 乳白色脓液从体内渗出(图 3-C); 虫体变得易破裂, 破裂后伴随着臭味的棕色脓液出现(图 3-F)。

取经过芽孢杆菌科 B6 处理致死且符合图 3 特征的油桐尺蠖完整肠道, 按照 1.2—1.4 的方法再次进行细菌的分离。成功分离出与芽孢杆菌科 B6 形态学上一致的优势菌落 B6-Ⅱ, 并将其纯化 3 代后经 16S rRNA 基因测序。测序结果表明 B6-Ⅱ

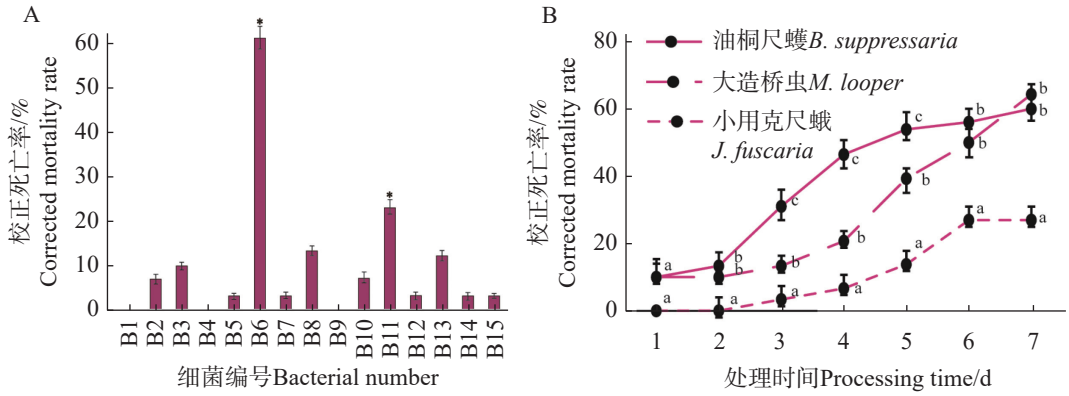
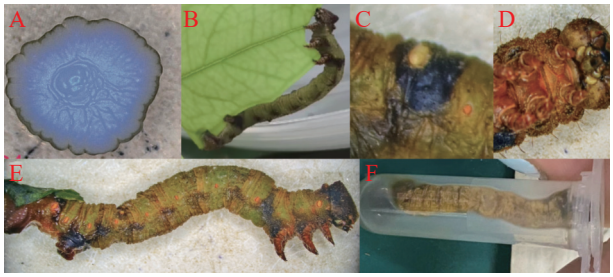


图 2　不同菌株在 7 天时对油桐尺蠖的累计校正死亡率(A)及 B6 菌株对 3 种尺蛾科幼虫的校正死亡率(B)

Fig. 2　The cumulative corrected mortality of the geometrid at day 7 (A) and pathogenicity against different Trichopteridae insects (B)

注: B1 ~ B15 为处理组, 数据符合正态分布, 经独立样本 T 检验分析验证显著性(P<0.01, T=4.03)。图中“*”表示经 Student's t 显著性检验后出现偏离的样本。相同时间下不同处理组的字母相同表示方差分析无显著差异, 字母不同表示存在显著差异。

Note: The data were consistent with normal distribution, and the significance was verified by independent sample t-test analysis (P < 0.01, T = 4.03). The "*" in the figure indicates the samples with deviations after the Student's t significance test. The same letters in different treatment groups at the same time indicate no significant difference in ANOVA, while different letters indicate significant difference.



A.芽孢杆菌科菌株 B6 在 LB 固体培养基上的单菌落形态; B.健康油桐尺蠖在取食桉树叶片; C.受到致病菌 B6 感染后的油桐尺蠖身体上所出现的病斑; D.油桐尺蠖受到致病菌 B6 感染后足部泛红的现象; E.受到致病菌 B6 感染后死亡油桐尺蠖全身图; F.受到致病菌 B6 感染死亡的油桐尺蠖破裂后出现的浓浆。

A. The striation form of *Bacillus* strain B6 on LB solid medium; B. Healthy *B. suppressaria* feeding on eucalyptus leaves; C. The lesions in *B. suppressaria* after infection with pathogen B6; D. *B. suppressaria* foot redness after infection by pathogen B6; E. *B. suppressaria* whole-body image after infection with pathogen B6; F. The concentrated pulp produced after the rupture of *B. suppressaria*, which died of infection with pathogen B6.

图 3　死亡 12 h 油桐尺蠖特征

Fig. 3　Characteristics of *Biston suppressaria* at 12 hours after death

的 16S rRNA 序列长度为 1 202 bp, 与原始病体分离株同源性达 99.80%, 确认死亡虫体内存在芽孢杆菌科 B6 细菌, 同时使用 B6-Ⅱ感染健康的油桐尺蠖后依然表现出图 3-C—F 所示的死亡特征, 且对油桐尺蠖再处理的 7 d 校正死亡率与 B6 一致。

2.4　致病菌对不同尺蠖的杀虫活性　为全面评估芽孢杆菌科 B6 细菌对尺蛾科昆虫的杀虫活性, 选取了油桐尺蠖、大造桥虫和小用克尺蛾幼虫作为实验对象进行实验。结果表明, 在 1.0×10^8 CFU·mL^{-1} B6 菌液感染下, 7 d 时大造桥虫的累计校正死亡率最高, 而在 1.0×10^8 CFU·mL^{-1}B6 菌液感染下, 7 d 时对小用克尺蛾的累计校正死亡率最低。致病菌 B6 对这 3 种尺蠖均展现出了不同程度的杀虫活性, 在感染后的 2 d 均能使 3 种尺蠖产生一定的死亡率(图 2-B)。其中, 在感染后的 2 ~ 6 d 这一时间段内, 油桐尺蠖的校正死亡率显著高于大造桥虫和小用克尺蛾, 这表明致病菌 B6 在这段时间内对油桐尺蠖的毒杀效果最为显著; 当实验进行到第 7 天以后, 致病菌 B6 对大造桥虫的毒杀作用略有增强, 其校正死亡率与油桐尺蠖相比虽略有优势, 但统计学上并未达到显著水平。

3　讨　论

通过对林间采集的死亡油桐尺蠖样本肠道细菌进行分离与鉴定, 揭示了油桐尺蠖肠道内细菌的种类和致病性, 为寻找高致死率的致病菌提供理论基础。研究结果表明, 死亡油桐尺蠖样本中共分离出 15 株形态学特征不同的细菌, 与部分鳞翅目昆虫肠道细菌的组成有相似之处。如肠杆菌属和芽孢杆菌属均在番茄潜夜蛾(*Tuta absoluta*)和草地贪夜蛾(*Spodoptera frugiperda*)中被培养出, 这类细菌并没有明显的致病现象[14−15]。肠杆菌属在昆虫肠道中通常扮演着重要的角色, 其与宿主代谢能力密切相关, 为宿主提供必需的营养物质[16−17]。沙雷氏菌属为常见的昆虫致病菌, 其模式种黏质沙雷氏菌能够产生灵菌红素, 对昆虫生长发育产生重大影响[18]。但本研究的致病性验证结果表明沙雷氏菌属 B11 与 B12 对油桐尺蠖致死率并不高, 这表明油桐尺蠖对该类细菌存在一定的抵御

作用，因此并不适宜作为生防菌开发。油桐尺蠖肠道中还分离到一些较少见的细菌，如酸杆菌属（*Citrobacter*）和产碱杆菌科（Alcaligenaceae）。酸杆菌属细菌通常具有较强的有机酸产生能力，可能参与调节肠道 pH，创造一个不利于病原菌生长的环境[19]。产碱杆菌科细菌则可能通过产生碱性物质，进一步为油桐尺蠖维持肠道的碱性环境[20]；这类细菌可能与油桐尺蠖的特定生态环境和食性有关，碱性环境的出现则可能导致耐碱性细菌群落数量增加。

在致病性筛选中，不同细菌株系对油桐尺蠖的致病机制存在差异。芽孢杆菌科菌株 B6 展现出最强的致病效应，饲喂法处理组第 7 天校正死亡率达 60.0%，略低于绿僵菌（*Metarhizium anisopliae*）与球孢白僵菌（*Beauveria bassiana*）[21−22]。芽孢杆菌科 B6 感染后，幼虫于濒死期体表出现黑色浸润性病斑，且不摄食；死亡后虫体缩短，腹部肿胀，病斑区几丁质层崩解，伴随着臭味的脓液出现，这些特征表明 B6 可能通过产生毒素或引发宿主免疫反应导致幼虫死亡。之前已提到，芽孢杆菌属细菌能够产生多种毒素和酶类，这些物质可能对宿主细胞造成直接损伤[23−24]；再结合 Turchi 等[25] 证实的芽孢杆菌属细菌产生的 β−外毒素能够抑制宿主细胞的蛋白质合成，可能会导致本研究中出现的尺蠖体表脓包现象。此外，研究人员还表明了芽孢杆菌属细菌能够产生溶血素和细胞壁降解酶，进一步破坏宿主的组织结构[26]，这可能与本研究中出现的油桐尺蠖表皮破损和臭味脓液渗出有关。因此，B6 感染后幼虫体表出现的一系列致病性特征可能是细菌产生的毒素和酶类导致的局部组织坏死和炎症反应，但由于校正死亡率略低于常用生防真菌绿僵菌与球孢白僵菌，需要进一步筛选更适合的应用条件。

本研究结果表明，B6 菌株对油桐尺蠖、大造桥虫和小用克尺蛾 3 种尺蛾科害虫均展现出一定的杀虫活性，但在感染初期，油桐尺蠖的校正死亡率显著高于另外两种害虫。结合 Chakrabarty[27] 研究的鳞翅目昆虫与芽孢杆菌的相关性机制，可以推测 B6 菌株与油桐尺蠖之间也可能存在类似的特异性相互作用机制，使得油桐尺蠖因其自身的生理特性而对 B6 菌株更为敏感。在长期的进化过程中，微生物与宿主昆虫之间形成了复杂的相互作用关系，这种特异性致病性是微生物适应特定宿主环境的结果[28]。随着感染时间的延长大造桥虫的校正死亡率虽有所上升，但与油桐尺蠖相比差异不显著，表明在持续感染下不同害虫的抗性表现趋于一致。这种对多种尺蛾科害虫的广谱致病性使得 B6 菌株在害虫防治中具有广阔的应用前景，能够有效应对单一害虫爆发及多种害虫混发的情况，减少化学农药的使用，降低对环境的污染和对非靶标生物的影响。总的来说，B6 菌株具有作为生防菌的潜力，但本研究仅采用了 1.0×10^7 CFU·mL^{-1} 浓度进行毒力检测，存在一定的局限性。后续研究将重点从芽孢杆菌科菌株 B6 出发，基于高通量测序技术进一步探究感染 B6 菌株后油桐尺蠖肠道微生物群落结构的变化，揭示微生物与宿主之间的复杂相互作用，为理解油桐尺蠖的致病机制、开发绿色防控策略提供更为详尽的数据支持。后续研究还将探究不同环境下菌株对油桐尺蠖的致死率，同时进行相应的林间应用试验。

4 结 论

本研究揭示了死亡油桐尺蠖肠道微生物群落的组成与多样性，并筛选出具有致病性的细菌菌株 B6。进一步的致病性筛选实验表明，芽孢杆菌科菌株 B6 对油桐尺蠖幼虫具有显著的致病效应，其校正死亡率明显高于其他细菌。

参考文献：

[1] 黄乃秀, 吴介放, 朱海波, 等. 广西桉树林中油桐尺蠖的发生为害特点及防治建议[J]. 广西植保, 2010, 23(2): 19−21. https://doi.org/10.3969/j.issn.1003-8779.2010.02.008

[2] 文盛兰. 油桐尺蠖核型多角体病毒增殖及其应用技术初步研究[D]. 南宁: 广西大学, 2013.

[3] 邹华南. 油桐尺蠖危害对桉树生物量和木材材积的影响[J]. 生物灾害科学, 2015, 38(1): 35−38. https://doi.org/10.3969/j.issn.2095-3704.2015.01.009

[4] 黄云. 广西桉树病虫害的发生现状与防治措施[J]. 南方农业, 2023, 17(12): 76−78. https://doi.org/10.19415/j.cnki.1673-890x.2023.12.024

[5] Deka B, Baruah C, Babu A. Entomopathogenic microorganisms: their role in insect pest management[J]. Egyptian Journal of Biological Pest Control, 2021, 31(1): 121. https://doi.org/10.1186/s41938-021-00466-7

[6] Kassiri H, Akbarzadeh K, Ghaderi A. Isolation of patho-

genic bacteria on the house fly, *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae), body surface in Ahwaz hospitals, Southwestern Iran[J]. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2012, 2(S2): S1116−S1119. https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60370-0

[7] 王海旭, 张婷婷, 王新谱. 春尺蠖幼虫生防细菌的分离鉴定及杀虫活性测定[J]. 农业科学研究, 2024, 45(2): 33−38. https://doi.org/10.3969/j.issn.1673-0747.2024.02.006

[8] Janaki M, Unni P K S, Stanley-raja V, et al. Biocontrol effect of *Bacillus subtilis* against *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenèe) (Lepidoptera: Pyralidae): a sustainable approach to rice pest management[J]. Agronomy, 2024, 14(2): 310. https://doi.org/10.3390/agronomy14020310

[9] 邱服斌. 培养方法与非培养方法对人参根内生细菌的研究[D]. 北京: 首都师范大学, 2007.

[10] 刘玉升, 叶保华, 吕飞, 等. 豆天蛾幼虫肠道细菌分离及初步鉴定研究[J]. 山东农业大学学报 (自然科学版), 2006, 37(3): 345−348. https://doi.org/10.3969/j.issn.1000-2324.2006.03.006

[11] 周定中, 曹露, 王茂淋, 等. 黑水虻肠道细菌抗菌筛选及其活性物质分子鉴定[J]. 微生物学通报, 2012, 39(11): 1614−1621. https://doi.org/10.13344/j.microbiol.china.2012.11.011

[12] R. E. 布坎南, N. E. 吉本斯. 伯杰细菌鉴定手册[M]. 中国科学院微生物研究所《伯杰细菌鉴定手册》翻译组, 译. 8 版. 北京: 科学出版社, 1984: 274 − 675.

[13] 张晓宇, 赵晓峰, 许益镌, 等. 红火蚁共生链霉菌 *Streptomyces* sp. DF-5 的分离培养及其发酵液对植物病原真菌的抑制活性研究 [J]. 环境昆虫学报, 2018, 40(4): 917−924.

[14] 李丹丹. 草地贪夜蛾肠道细菌多样性及其对毒死蜱敏感性的研究[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2023. https://doi.org/10.27409/d.cnki.gxbnu.2023.000111

[15] 曾娜, 桂富荣, 孙仲亨, 等. 番茄潜叶蛾唾液细菌分离鉴定及其对番茄的影响初探[J]. 环境昆虫学报, 2025, 47(1): 87−96. https://doi.org/10.3969/j.issn.1674-0858.2025.01.10

[16] 刘小改, 杨亚军, 廖秋菊, 等. 稻纵卷叶螟肠道细菌群落结构与多样性分析[J]. 昆虫学报, 2016, 59(9): 965−976. https://doi.org/10.16380/j.kcxb.2016.09.006

[17] 叶倩文. 阿勒泰断奶羔羊消化道不同部位菌群差异性及其与宿主消化功能的相关性研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2022. https://doi.org/10.27431/d.cnki.gxnyu.2022.000240

[18] 董晓慧, 师尚礼, 尹国丽, 等. 玉米器官组织内生细菌和真菌群落多样性[J]. 草业学报, 2025, 34(5): 130−145. https://doi.org/10.11686/cyxb2024253

[19] 曹兴圆, 艾雯妍, 文思颖, 等. 有机酸提高土壤植酸生物有效性的机制、影响因素及应用[J]. 植物营养与肥料学报, 2023, 29(11): 2150−2171. https://doi.org/10.11674/zwyf.2023134

[20] 陈宏健, 郝德君, 田敏, 等. 室内饲养松墨天牛幼虫不同肠段细菌的群落结构及功能分析[J]. 南京林业大学学报 (自然科学版), 2021, 45(3): 143−151. https://doi.org/10.12302/j.issn.1000-2006.202004009

[21] 王逸帆. 高致病力球孢白僵菌筛选及对灰茶尺蠖的生物学影响[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2020. https://doi.org/10.26919/d.cnki.gannu.2020.000661

[22] 蔡守平, 何学友, 林和再, 等. 不同来源绿僵菌对油桐鹰尺蠖幼虫的致病力比较[J]. 林业与环境科学, 2019, 35(6): 44−49. https://doi.org/10.3969/j.issn.1006-4427.2019.06.008

[23] Bravo A, Gómez I, Porta H, et al. Evolution of *Bacillus thuringiensis* Cry toxins insecticidal activity[J]. Microbial Biotechnology, 2013, 6(1): 17−26. https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2012.00342.x

[24] Ramarao N, Nielsen-leroux C, Lereclus D. The insect *Galleria mellonella* as a powerful infection model to investigate bacterial pathogenesis[J]. Journal of Visualized Experiments, 2012(70): e4392. https://doi.org/10.3791/4392

[25] Turchi B, Mancini S, Pedonese F, et al. Antibiotic resistance in enterococci and enterobacteriaceae from laboratory-reared fresh mealworm larvae (*Tenebrio molitor* L.) and their frass[J]. Pathogens, 2024, 13(6): 456. https://doi.org/10.3390/pathogens13060456

[26] 庄子慧, 何丽, 郭云昌, 等. 我国食源性蜡样芽孢杆菌毒力基因和药物敏感性研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2013, 25(3): 198−201. https://doi.org/10.13590/j.cjfh.2013.03.017

[27] Chakrabarty S. 几种重要鳞翅目害虫对苏云金芽孢杆菌的抗性机制[D]. 北京: 中国农业科学院, 2021. https://doi.org/10.27630/d.cnki.gznky.2021.000157

[28] Argôlo-filho R C, Loguercio L L. *Bacillus thuringiensis* is an environmental pathogen and host-specificity has developed as an adaptation to human-generated ecological niches[J]. Insects, 2014, 5(1): 62−91. https://doi.org/10.3390/insects5010062

Initial isolation and identification of pathogenic bacteria from *Biston suppressaria* on eucalyptus trees

Yang Shengji[1#], Liu Weili[1], Lin Jing[1], Deng Bo[1], Su Zhenye[1],
Meng Lihua[2], Luo Dun[1], Huang Hanlin[1*]
（1. Guangxi Zhuang Autonomous Region State-owned Bobai Tree Farm, Yulin, Guangxi 537600, China; 2. School of Forestry, Guangxi University, Nanning, Guangxi 530004, China）

Abstract: *Biston suppressaria* is a major defoliator in eucalyptus plantations. To identify pathogenic bacteria for its biocontrol, we isolated culturable bacteria from the intestines of naturally infected, dead larvae using traditional microbiology combined with 16S rDNA sequencing. Fifteen morphologically distinct bacterial strains were obtained and assigned to ten genera, including *Enterobacter*, *Serratia*, and *Bacillus*. Among them, the Bacillaceae strain B6 exhibited the highest pathogenicity. Feeding assays showed that B6 caused a cumulative corrected mortality of 60.0% at 7 days post-treatment, and dead larvae displayed typical signs of bacterial infection. Re-isolation from cadavers yielded colonies morphologically identical to B6, with 99.80% sequence similarity. Moreover, B6 also showed pathogenicity against two other Geometridae larvae, *Mugwort looper* and *Jankowskia fuscaria*. These findings indicate that Bacillaceae strain B6 is a promising biocontrol agent against *B. suppressaria* and provide a theoretical basis for developing eco-friendly management strategies.

Keywords: *B. suppressaria*; bacterial isolation; 16S rDNA; Bacillaceae

(责任编辑:叶　静)