

# 云南省不同海拔区草地贪夜蛾幼虫肠道与粪便细菌多样性



李永萍<sup>1</sup> 杜广祖<sup>1</sup> 徐天梅<sup>1</sup> 杨航<sup>2</sup> 杨进波<sup>2</sup> 张庭发<sup>2</sup>  
易小光<sup>2</sup> 陈斌<sup>1\*</sup>

(1. 云南农业大学植物保护学院, 云南生物资源保护与利用国家重点实验室, 昆明 650201;

2. 云南格瑞生物科技有限公司, 弥渡 675600)

**摘要:** 为探明草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* 不同海拔种群的幼虫肠道及粪便细菌组成, 采用分离培养法、形态特征及 16S rDNA 测序分析法对云南省 5 个海拔 22 个草地贪夜蛾种群的幼虫肠道及粪便细菌进行分离培养、鉴定。结果表明, 从不同海拔种群的幼虫肠道和粪便中分别获得可培养细菌 4 门 15 科 22 属 45 种和 4 门 13 科 18 属 36 种, 优势菌门均为变形菌门和厚壁菌门。不同海拔种群的幼虫肠道和粪便细菌组成均不同, 500 m 以下、1 001~1 500 m、1 501~2 000 m 和 2 000 m 以上 4 个海拔种群的幼虫肠道细菌优势属和优势种分别为肠球菌属 *Enterococcus* 和铅黄肠球菌 *Enterococcus casseliflavus*, 500~1 000 m 海拔种群的优势属和优势种分别为克雷伯氏菌属 *Klebsiella* 和变栖克雷伯氏菌 *Klebsiella variicola*; 500 m 以下、500~1 000 m、1 001 m 以上海拔种群的幼虫粪便细菌优势属分别为假单胞菌属 *Pseudomonas*、克雷伯氏菌属和肠球菌属, 优势种分别为韩国假单胞菌 *Pseudomonas koreensis*、变栖克雷伯氏菌和铅黄肠球菌。5 个海拔种群的幼虫肠道和粪便细菌的 Shannon-Weiner 指数、Simpson 指数和 Pielou 均匀度指数分别为 0.35~3.42 和 1.04~3.38、0.09~0.86 和 0.48~0.84、0.22~1.17 和 0.50~1.23, 其中 1 501~2 000 m 海拔种群的幼虫肠道和粪便细菌的 Shannon-Weiner 指数、Simpson 指数和 Pielou 均匀度指数均最高。表明不同海拔种群草地贪夜蛾幼虫肠道及粪便细菌群落组成差异显著。

**关键词:** 草地贪夜蛾; 肠道细菌; 粪便细菌; 海拔; 云南省

## Diversity of intestinal and fecal bacteria in fall armyworm *Spodoptera frugiperda* larvae from different altitudes of Yunnan Province

Li Yongping<sup>1</sup> Du Guangzu<sup>1</sup> Xu Tianmei<sup>1</sup> Yang Hang<sup>2</sup> Yang Jinbo<sup>2</sup> Zhang Tingfa<sup>2</sup>  
Yi Xiaoguang<sup>2</sup> Chen Bin<sup>1\*</sup>

(1. State Key Laboratory for Conservation and Utilization of Bioresources in Yunnan, College of Plant Protection, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, Yunnan Province, China; 2. Yunnan Green Biotechnology Science and Technology Co. Ltd., Midu 675600, Yunnan Province, China)

**Abstract:** To reveal the composition of intestinal and fecal bacteria of fall armyworm *Spodoptera frugiperda* from different geographical altitudes, the culturable bacteria in the intestines and faeces of *S. frugiperda* from 22 locations at different altitudes were isolated and cultured on media, and the species of bacteria were identified using the morphological characters and 16S rDNA sequences. The results showed that 45 species, 22 genera, 15 families in four phyla and 36 species, 18 genera, 13 families in four phyla were isolated from the intestines and faeces of larval *S. frugiperda*, respectively. The most

基金项目: 国家自然科学基金(32060616), 国家重点研发计划(2019YFD0300105)

\* 通信作者 (Author for correspondence), E-mail: chbins@163.com

收稿日期: 2021-01-02

common phyla were Proteobacteria and Firmicutes. The composition structures of intestinal and fecal bacteria of *S. frugiperda* larvae from different altitudes were different. The predominant bacterial genera and species were *Enterococcus* and *Enterococcus casseliflavus* in larvae from four altitudes, below 500 m, 1 001–1 500 m, 1 501–2 000 m and above 2 000 m; the most common genera and species of bacteria were *Klebsiella* and *Klebsiella variicola* in the larval intestines of *S. frugiperda* at the altitude of 500–1 000 m. The predominant fecal bacterial genera were *Pseudomonas*, *Klebsiella* and *Enterococcus*, and the predominant fecal bacterial species were *Pseudomonas koreensis*, *Klebsiella variicola* and *Enterococcus casseliflavus* in larvae from the altitudes of below 500 m, 500–1 000 m and above 1 001 m. The Shannon-Weiner, Simpson and Pielou evenness indexes of intestinal and fecal bacteria of *S. frugiperda* from five altitudes were 0.35–3.42 and 1.04–3.38, 0.09–0.86 and 0.48–0.84, 0.22–1.17 and 0.50–1.23, respectively. The results suggested that there were significant differences in the bacterial community composition in the intestines and faeces of *S. frugiperda* larvae at different altitudes.

**Key words:** *Spodoptera frugiperda*; intestinal bacteria; fecal bacteria; altitude; Yunnan Province

草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda*, 又名行军虫、秋黏虫, 隶属于鳞翅目夜蛾科灰翅夜蛾属 (Todd & Poole, 1980), 该虫源于美洲热带和亚热带地区, 因其食性广、食量大、繁殖和迁飞能力强, 已成为全球性玉米重大害虫 (Goergen et al., 2016), 2019年1月11日在云南省普洱市江城县首次发现草地贪夜蛾幼虫为害冬玉米 (杨学礼等, 2019), 随后在全国26个省份均监测到其为害 (姜玉英等, 2019)。草地贪夜蛾主要以玉米、甘蔗、小麦等禾本科作物为食, 对玉米的为害尤其严重, 现已成为影响玉米生产的重要害虫 (齐国君等, 2019)。

昆虫肠道内含有大量的共生菌, 这些共生菌在昆虫对寄主和环境的适应中起着重要作用 (Su et al., 2013; Schretter et al., 2018; 周帆等, 2020), 研究昆虫肠道微生物群落组成结构及多样性有助于了解昆虫与其肠道微生物的协同进化, 为害虫的防治提供理论依据 (鲁迎新等, 2016; 张振宇等, 2017)。粪便源自后肠, 因此粪便微生物能够全部代表或部分代表肠道微生物的组成 (Milinovich et al., 2007)。昆虫肠道共生菌组成结构除了受昆虫性别 (赵辉等, 2017)、发育龄期 (Huang & Zhang, 2013)、食物 (Priya et al., 2017)、抗药性 (向候君等, 2018)、温度 (杜贝贝, 2017)、CO<sub>2</sub>浓度和辐照 (魏晓莹等, 2019) 等的影响, 海拔也是影响昆虫体内微生物多样性的重要因素, Sudhagar et al. (2017) 研究发现中华蜜蜂 *Apis cerana* 高海拔种群肠道细菌的优势菌属为厚壁菌门中的芽孢杆菌属 *Bacillus*, 而平原和沿海种群肠道细菌的优势菌属为变形菌门中的沙雷氏菌属 *Serratia*、克雷伯氏菌属 *Klebsiella* 和肠杆菌属 *Enterobacter*。黄贤亮 (2019) 研究发现不同海拔麦长管蚜 *Sitobion*

*avenae* 体内共生菌的组成和含量存在明显差异, 显著影响了不同海拔麦长管蚜种群之间的遗传分化。杨兴卓 (2019) 发现门源草原毛虫 *Gynaephora menyuanensis* 和黄斑草原毛虫 *Gynaephora aipherakii* 的肠道菌在宿主适应高海拔环境及在低海拔暴发成灾上发挥着一定作用, 其中肉食杆菌在协助宿主适应高海拔极端环境中起着积极作用。因此, 研究海拔对昆虫肠道及粪便微生物多样性的影响, 对于系统研究昆虫肠道共生菌多样性及昆虫对环境的适应性机理研究方面具有重要意义。

目前有关草地贪夜蛾肠道细菌的研究中, 叶国浚等 (2021) 通过构建 16S rRNA 和宏基因组文库发现草地贪夜蛾幼虫的优势菌群主要来自于厚壁菌门和魏斯氏菌属 *Weissella*; Gichuhi et al. (2020) 通过 16S rRNA 测序法研究发现肯尼亚 4 个玉米区草地贪夜蛾肠道细菌优势菌群主要为假单胞菌属 *Pseudomonas*、柠檬酸杆菌属 *Citrobacter*、赖氨酸芽孢杆菌属 *Lysinibacillus* 和肠球菌属 *Enterococcus* 细菌; 李青晏等 (2020) 采用分离培养法发现云南蒙自地区草地贪夜蛾的幼虫和成虫肠道中优势菌群分别来自克雷伯氏菌属和不动杆菌属 *Acinetobacter*; 郭志斌等 (2019) 和顾偌铖等 (2019) 研究发现重庆市高粱和玉米上草地贪夜蛾肠道的优势菌群为不动杆菌属和克雷伯氏菌属; 徐天梅等 (2020) 采用分离培养法研究发现草地贪夜蛾首发地和扩散区优势菌门均为厚壁菌门, 但扩散区厚壁菌门丰度明显高于首发地; 刘莹等 (2021) 研究发现云南省滇中和滇南 4 个草地贪夜蛾种群肠道细菌组成有一定的相似性, 优势菌均来自苍白杆菌属 *Ochrobactrum*。由此表明, 草地贪夜蛾不同种群其肠道共生菌组成结构存在明显差异,

开展不同种群肠道共生菌多样性的研究可为全面系统掌握草贪夜蛾肠道共生菌多样性提供重要依据。草地贪夜蛾已在云南省全省扩散蔓延,并已成功定殖,其幼虫肠道细菌种类组成丰富(Acevedo et al., 2017; de Almeida et al., 2017)。然而,对于不同海拔草地贪夜蛾种群肠道细菌组成结构尚不清楚。因此,本研究对云南省5个海拔梯度下22个地区的草地贪夜蛾幼虫肠道细菌进行分离培养,采用形态学和分子测序技术对分离的菌株进行种属鉴定,以期探明不同海拔下草地贪夜蛾幼虫肠道细菌组成结构及其差异,对系统研究该害虫的生物学具有重要意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试虫源:2020年6月至8月在云南省内22个采样点采集草地贪夜蛾4龄幼虫,每500 m为梯度划分采样地的海拔,其中小于500 m海拔种群的幼虫采集自玉溪市元江县(海拔387.5 m);500~1 000 m海拔种群采集自景洪市嘎洒镇(海拔560 m)、德宏州瑞丽市(海拔800 m)、德宏州芒市(海拔910 m);1 001~1 500 m海拔种群的幼虫采集自保山市隆阳区(海拔1 370 m)和昌宁县(海拔1 010 m)、临沧市云县(海拔1 020 m)和凤庆县(海拔1 190)、普洱市镇沅县(海拔1 038 m)和景东县(海拔1 154 m)、景洪市勐腊县(海拔1 090 m)、红河州弥勒市(海拔1 160 m)和个旧市(海拔1 230 m)、曲靖市师宗县(海拔1 311 m);1 501~2 000 m海拔种群采集自玉溪市易门县(海拔1 580 m)和通海县(海拔1 790 m)、大理州弥渡县(海拔1 726 m)和南涧县(海拔1 780 m)、昆明市寻甸县(海拔1 843 m)、楚雄州南华县(海拔1 920 m)、曲靖市陆良县(海拔1 994 m);2 000 m以上海拔种群采自保山市隆阳区蒲缥镇(海拔2 340 m)。

培养基:LB(Luria-Bertani)固体培养基用氯化钠10 g、酵母浸粉5 g、胰蛋白胨10 g、琼脂20 g和无菌水1 000 mL进行配制,pH 7.0(耿海荣等,2019)。

试剂及仪器:试剂均为国产分析纯。SW-CJ-1FD无菌超净工作台,苏州安泰空气技术有限公司;2-16R高速冷冻离心机,湖南恒诺仪器设备有限公司;T100<sup>TM</sup> Thermal Cycler PCR仪和电泳仪,美国Bio-Rad公司;RXZ-260B-30恒温光照培养箱,宁波赛福实验仪器有限公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 草地贪夜蛾肠道和粪便菌液的制备

取各采集点采集的草地贪夜蛾4龄幼虫各15头,分为3组,每组5头。饥饿处理24 h待用,并收集经

饥饿处理24 h后排出的粪便(李文红等,2015)。将供试虫体在无菌水中漂洗1 min,再于75%乙醇溶液中消毒4 min,用无菌水清洗表面,在超净工作台上解剖。将解剖出的草地贪夜蛾肠道内容物置于装有0.85%生理盐水的无菌离心管中,研磨成匀浆状,继续加入0.85%生理盐水定容至1 mL,充分振荡;取0.1 g粪便加入至0.9 mL无菌水,在温度30℃、转速200 r/min下摇培30 min。12 000 r/min离心2 min,取上清液作为肠道和粪便原液备用,重复3次(李文红等,2015;郑亚强等,2017)。

#### 1.2.2 细菌的分离及纯化

将不同海拔种群的草地贪夜蛾幼虫肠道和粪便的原液用0.85%生理盐水稀释为10<sup>-1</sup>~10<sup>-7</sup>浓度,每个浓度分别取菌液100 μL均匀涂布在LB固体培养基平板(张志红等,2020),重复3次。将涂布好的培养基置于28℃恒温条件下培养48 h,统计菌落大小、颜色和单菌落数量,并在新配制的LB培养基上采用划线法培养,直到获得纯菌株,再对菌株进行编号。参照《微生物学试验教程》方法对纯化后的菌株进行革兰氏染色和显色观察。

#### 1.2.3 可培养细菌菌株分子鉴定

采用冻融法提取草地贪夜蛾肠道和粪便细菌的DNA(冯广达等,2013),选用细菌16S rDNA通用引物27 F(5'-AGAGTTGATCCTGGCTCAG-3')和1492R(5'-GGTTACCTTGTACGACTT-3')对DNA模板进行PCR扩增,引物均由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。25 μL PCR反应体系:上下游引物各1 μL、DNA模板1 μL、PCR mix 12.5 μL、ddH<sub>2</sub>O 9.5 μL。反应条件:94℃预变性5 min,94℃变性1 min,53℃退火30 s,72℃延伸2 min,32个循环,72℃再延伸10 min。取2 μL产物用浓度1%的琼脂糖凝胶电泳检测,将PCR产物送至生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。使用Express软件对测序结果进行拼接处理,将拼接好的16S rDNA上传至NCBI,与GenBank数据库已知序列进行比对分析,以BLAST比对结果最大相似度来确定不同海拔种群幼虫肠道和粪便细菌的种类。

#### 1.2.4 肠道细菌群落组成多样性分析

根据各菌菌株菌落数,计算各菌株的相对丰度(张凌英等,2020),相对丰度=某菌株菌落数/总菌落数×100%。采用Shannon-Weiner指数H'、Simpson指数D、和Pielou均匀度指数J对肠道细菌群落组成的多样性进行分析(戚珊珊等,2017),Shannon-Weiner指数越大,多样性越高;Simpson多样性指数则反映群落中优势种的集中程度。

$$H' = -\sum_{i=1}^s P_i (\log_2 P_i), D = 1 - \sum_{i=1}^s \frac{n_i(n_i - 1)}{N(N - 1)}, J = H'/\ln S。式$$

中,  $S$ 为物种总数;  $P_i$ 属于种  $i$  的个体  $n_i$  在全部个体  $N$  的比例  $P_i = n_i/N$ ;  $n_i$  为种  $i$  的个体数;  $N$  为群落中所有物种的个体总数。

### 1.3 数据分析

运用 Excel 2019 和 SPSS 24.0 软件进行数据整理分析, 采用单因素方差法进行统计分析, 用 Duncan 氏新复极差法对多样性指数进行差异显著性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 草地贪夜蛾幼虫肠道和粪便可培养细菌的物种数

云南省不同海拔草地贪夜蛾种群幼虫肠道和粪便可培养细菌物种数不同, 387.5~2 340 m 海拔的草地贪夜蛾幼虫肠道细菌有 4~10 种, 其中 387.5、560 和 800 m 海拔种群的幼虫肠道细菌分别有 8、6 和 10 种, 910~2 340 m 海拔区草地贪夜蛾幼虫肠道细菌有 4~6 种, 而 800 m 海拔的德宏州瑞丽市草地贪夜蛾幼虫肠道细菌有 10 种, 为所有采样区域内幼虫肠道中细菌种类最多的种群(图 1)。

不同海拔种群的草地贪夜蛾幼虫粪便细菌种类也不同, 其中 387.5~2 340 m 海拔区有 4~8 种, 且在 387.5、560 和 800 m 海拔处粪便细菌种类最多, 有 8 种, 而其他海拔种群仅 4~6 种。总体来看, 387.5 m 海拔处的玉溪市元江县和 910 m 海拔处的德宏芒市草地贪夜蛾 4 龄幼虫粪便细菌数最多, 为 8 种, 高于其他海拔种群。

表 1 可培养细菌菌株培养性状及其与数据库典型菌株的比对结果

Table 1 The culture characteristics of culturable bacterial strains and comparison with typical strains in the database

菌株编号 Strain no.	革兰氏 Gram's 染色 dyeing	菌株形态 Strain mor- phology	培养特征 Culture character	高相似性菌株 (相似性) Strain with highest similarity (similarity)	登录号 Accession no.
ZKF-F, BSC-B, MDC-D, LCC-B, HMLF-B	+	短杆状 Short rod	不规则, 乳白色, 褶皱微凸, 边缘叶状, 不透明, 干燥 Irregular, creamy white, slightly convex with fold, edge leaf, opaque, dry	枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i> (99.01%)	JQ669676.1
SZC-B, JHC-D, GDC-C, RLC-H	+	短杆状 Short rod	不规则, 粉黄色, 褶皱微凸, 边缘波浪状, 不透明, 干燥 Irregular, pink yellow, slightly convex with fold, edge wavy, opaque, dry	短小芽孢杆菌 <i>Bacillus pumilus</i> (99.58%)	MT072159.1
ZYC-C	-	短杆状 Short rod	圆形, 土黄色, 微凸, 边缘规则光滑, 半透明, 湿润 Round, khaki, slightly convex, regular and smooth edge, translucent, moist	<i>Pseudomonas azotofor-</i> <i>Pseudomonas mans</i> (94.62%)	KY643714.1
LCC-D	-	短杆状 Short rod	圆形, 粉白色, 微凸, 边缘规则光滑, 不透明, 湿润 Round, pink white, slightly convex, regular and smooth edge, opaque, moist	应变假单胞杆菌 <i>Pseudomonas reactans</i> (99.29%)	MK114600.1

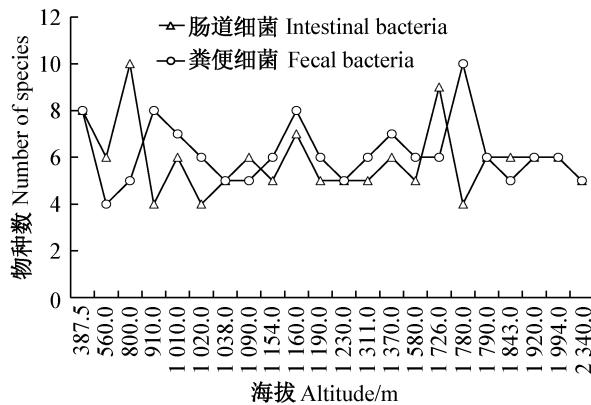


图 1 不同海拔下草地贪夜蛾幼虫肠道和粪便可培养细菌物种数

Fig. 1 Species numbers of the intestinal and fecal culturable bacteria in the gut of larval *Spodoptera frugiperda* at different altitudes

### 2.2 草地贪夜蛾肠道与粪便可培养细菌的形态特征

共获得细菌 268 株, 其中从草地贪夜蛾幼虫肠道和粪便中分别培养得到 136 株和 132 株。综合菌落颜色、形状和大小, 得到 63 个颜色、形状、大小各异的细菌菌落。从菌落形态来看, 有圆形和不规则形 2 种, 其中 55 株菌株的菌落呈圆形, 有 8 株呈不规则形; 从菌落颜色来看, 16 株颜色为白色、7 株为乳白色、25 株为黄色、9 株为橙色、4 株为粉色、2 株为紫红色; 从革兰氏染色表现来看, 有 21 株呈阳性, 42 株呈阴性; 从菌株细胞形态来看, 19 株为短杆状, 26 株为杆状, 18 株为球状(表 1)。

续表1 Continued

菌株编号 Strain no.	革兰氏 Gram's 染色 dyeing	菌株形态 Strain mor- phology	培养特征 Culture character	高相似性菌株 (相似性) Strain with highest similarity (similarity)	登录号 Accession no.
YMF-D, YJC-D	-	短杆状 Short rod	圆形, 明黄色, 微凸, 边缘规则光滑, 不透明, 湿润 Round, bright yellow, slightly convex, regular and smooth edge, opaque, moist	假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i> sp. (98.71%)	KF465828.1
MDC-H, LCF-B	-	短杆状 Short rod	圆形, 黄色, 凸起, 边缘规则光滑, 不透明, 湿润 Round, yellow, bulge, regular and smooth edge, opaque, moist	副黄假单胞菌 <i>Pseudomonas parafulva</i> (99.57%)	MN932292.1
GDC-E	-	短杆状 Short rod	圆形, 黄色, 凸起, 边缘规则光滑, 不透明, 湿润 Round, yellow, bulge, regular and smooth edge, opaque, moist	副黄假单胞菌 <i>Pseudomonas parafulva</i> (99.15%)	MK070150.1
THF-E, MDF-B, HMLF-F, NJF-D	+	短杆状 Short rod	圆形, 乳白色, 中心淡粉, 微凸, 边缘规则光滑, 不透明, 湿润 Round, creamy white, center light pink, slightly convex, regular and smooth edge, opaque, moist	豚鼠气单胞菌 <i>Aeromonas caviae</i> (99.93%)	MG737573.1
JMLF-D, CNC-D, MSF-G	+	短杆状 Short rod	圆形, 黄色, 凸起, 边缘规则光滑, 不透明, 湿润 Round, yellow, bulge, regular and smooth edge, opaque, moist	多食鞘氨醇杆菌 <i>Sphingobacterium multivorum</i> (99.93%)	AB100739.1
JHF-B, JMLF-A, THF-B, MDF-C, HMLC-E, THC- E, YJC-K, FQF-E, CNC-E, NJF-K, RLF-C, THC-G PPC-D, MSF-E, JMLF-P	-	短杆状 Short rod	圆形, 浅黄色, 微凸, 边缘规则光滑, 不透明, 湿润 Round, lightly yellow, slightly convex, regular and smooth edge, opaque, moist	肠杆菌属 <i>Enterobacter</i> sp. (99.58%)	GU272345.1
FQF-C, HMLC-B	-	短杆状 Short rod	圆形, 橙色, 微凸, 边缘规则光滑, 不透明, 湿润 Round, orange, slightly convex, regular and smooth edge, opaque, moist	产吲哚金黄杆菌 <i>Chryseobacterium</i> sp. (99.86%)	KC247671.1
FQC-D, MSF-F	-	短杆状 Short rod	圆形, 乳白色, 中心带黄, 微凸, 边缘规则光滑, 不透明, 湿润 Round, creamy white, center yellow, slightly convex, regular and smooth edge, opaque, moist	副黄假单胞菌 <i>Pseudomonas parafulva</i> (100.00%)	JQ753311.1
LCC-G	-	短杆状 Short rod	圆形, 橙色, 微凸, 边缘规则光滑, 不透明, 湿润 Round, orange, slightly convex, regular and smooth edge, opaque, moist	副黄假单胞菌 <i>Pseudomonas parafulva</i> (99.51%)	MK070150.1
NHC-F	-	短杆状 Short rod	圆形, 葡萄紫, 微凸, 边缘规则光滑, 不透明, 湿润 Round, dark purple, slightly convex, regular and smooth edge, opaque, moist	副黄假单胞菌 <i>Pseudomonas azotofor-</i> <i>mans</i> (99.65%)	MH079452.1
NJF-I	-	短杆状 Short rod	圆形, 土黄色, 微凸, 边缘规则光滑, 半透明, 湿润 Round, khaki, slightly convex, regular and smooth edge, translucent, moist	副球菌 <i>Paracoccus</i> sp. (99.93%)	KY770512.1
NJF-E, YMF-B, ZKC-P, YJC-G, YJF-E	-	短杆状 Short rod	同心圆, 浅黄色, 扁平, 边缘叶状, 不透明, 湿润 Concentric circles, lightly yellow, flat, edge leaf, opaque, moist	假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i> sp. (99.44%)	KF056821.1
ZKC-C, SZF-D, HMLC-G, RLC-F, ZYC-D	-	短杆状 Short rod	圆形, 橙色, 微凸, 边缘规则光滑, 半透明, 湿润 Round, orange, slightly convex, regular and smooth edge, translucent, moist	假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i> sp. (99.65%)	KR922057.1
ZKF-A	-	短杆状 Short rod	圆形, 嫩黄色, 凸起, 边缘规则光滑, 半透明, 湿润 Round, bright yellow, bulge, regular and smooth edge, translucent, moist	铅黄肠球菌 <i>Enterococcus casseli-</i> <i>flavus</i> (98.83%)	KC456574.1
MDC-F	+	杆状 Rod- shaped	圆形, 黄色, 褶皱中凸, 边缘不规则, 不透明, 干燥 Round, yellow, convex with center fold, irregular edge, opaque, dry	假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i> sp. (99.50%)	KR922057.1
YMC-B, YJC-F, YJF-F	+	杆状 Rod- shaped	圆形, 黄白色, 扁平, 边缘不规则开裂, 半透明, 湿润 Round, yellowish-white, flat, irregular edge with split, translucent, moist	坚强芽孢杆菌 <i>Cytobacillus firmus</i> (99.86%)	MT789058.1

续表1 Continued

菌株编号 Strain no.	革兰氏 染色 Gram's dyeing	菌株形态 Strain mor- phology	培养特征 Culture character	高相似性菌株 (相似性) Strain with highest similarity (similarity)	登录号 Accession no.
HMLF-E, THC-C, YMF-F, YJF-D, RLC-E GJC-E	+	杆状 Rod-shaped	圆形, 淡黄色, 凸起, 边缘规则光滑, 半透明, 湿润 Round, lightly yellow, bulge, regular and smooth edge, translucent, moist	微杆菌 <i>Microbacterium</i> sp. (99.64%)	KR906256.1
CNF-D, MSF-D, MSC-C	-	杆状 Rod-shaped	圆形, 黄绿色, 微凸, 边缘规则光滑, 半透明, 湿润 Round, yellow green, slightly convex, regular and smooth edge, translucent, moist	海水芽孢杆菌 <i>Bacillus aquimaris</i> (99.86%)	MG547952.1
GDF-C, CNF-G, NJF-H	-	杆状 Rod-shaped	圆形, 土黄色, 微凸, 边缘规则光滑, 半透明, 湿润 Round, khaki, slightly convex, regular and smooth edge, translucent, moist	鲸黄杆菌 <i>Flavobacterium ceti</i> (99.85%)	MT760264.1
ZYF-D, THF-D, GJF-D, THC-D, YXF-G, PPF-E, RLF-D, RLC-G JMLC-F, NHF-C, MSC-B, MSF-B, RLF-B	-	杆状 Rod-shaped	圆形, 黄白色, 凸起, 边缘规则光滑, 半透明, 湿润 Round, yellowish-white, bulge, regular and smooth edge, translucent, moist	恶臭假单胞菌 <i>Pseudomonas putida</i> (100.00%)	MN889396.1
GJF-E, JHC-F, HMLF-G, MDF-E, YJF-G(红)	-	杆状 Rod-shaped	圆形, 紫红色, 凸起, 边缘规则光滑, 不透明, 湿润 Round, purple, bulge, regular and smooth edge, opaque, moist	鞘氨醇杆菌 <i>Sphingobacterium</i> sp. (99.79%)	MT540252.1
YXF-D, NHF-F, NJF-C, RLF-F, RLC-I	-	杆状 Rod-shaped	不规则, 粉黄色, 微凸, 边缘锯齿状, 半透明, 湿润 Irregular, pink yellow, slightly convex, jagged edge, translucent, moist	正己烷降解菌 <i>Pseudomonas mendocina</i> (99.79%)	MK182883.1
HMLF-C, GDF-F, CNC-C, CNF-E, NHC-G, YXC-D, PPC-E	+	杆状 Rod-shaped	不规则, 白色, 扁平, 边缘叶状, 不透明, 干燥 Irregular, white, flat, edge leaf, opaque, dry	地衣芽孢杆菌 <i>Bacillus licheniformis</i> (99.93%)	CP045814.1
BSF-C, BSC-V, RLC-D	+	杆状 Rod-shaped	圆形, 黄色, 凸起, 边缘规则光滑, 半透明, 湿润 Round, yellow, bulge, regular and smooth edge, translucent edge, moist	黎巴嫩假单胞菌 <i>Pseudomonas libanensis</i> (99.51%)	MH304258.1
THC-H, HNC-D, NHF-D	-	杆状 Rod-shaped	圆形, 黄褐色, 有光泽, 微凸, 边缘规则光滑, 半透明, 湿润 Round, tawny, glossy, slightly convex, regular and smooth edge, translucent, moist	产吲哚金黄杆菌 <i>Chryseobacterium</i> sp. (99.65%)	AJ874979.1
YJC-B, RLC-C, MSF-C	-	杆状 Rod-shaped	圆形, 橙色, 扁平, 边缘锯齿状开裂, 半透明, 湿润 Round, orange, flat, irregular edge with split, translucent, moist	坚强芽孢杆菌 <i>Bacillus firmus</i> (99.58%)	KT719930.1
ZYF-E, YJF-B	-	杆状 Rod-shaped	圆形, 乳白色, 中心泛粉, 微凸, 边缘规则光滑, 不透明, 湿润 Round, creamy white, center light pink, slightly convex, regular and smooth edge, opaque, moist	韩国假单胞菌 <i>Pseudomonas koreensis</i> (100.00%)	GQ368179.1
GDF-E, NHC-G	+	杆状 Rod-shaped	不规则, 黄白色, 褶皱微凸, 边缘波浪状, 半透明, 半湿润 Irregular, yellowish-white, slightly convex with fold, edge wavy, translucent, semi humid	路西法芽孢杆菌 <i>Bacillus luciferensis</i> (99.72%)	MK302237.1
LCF-A	-	杆状 Rod-shaped	圆形, 明黄色, 微凸, 边缘规则光滑, 不透明, 湿润 Round, bright yellow, slightly convex, regular and smooth edge, opaque, moist	鞘氨醇杆菌 <i>Sphingobacterium</i> sp. (99.47%)	KC150858.1
GDC-F	-	杆状 Rod-shaped	圆形, 黄白色, 微凸, 边缘规则光滑, 半透明, 湿润 Round, yellowish-white, slightly convex, regular and smooth edge, translucent, moist	西伯利亚放线孢菌 <i>Actinomycetospora cibodasensis</i> (98.14%)	KP995131.1

续表1 Continued

菌株编号 Strain no.	革兰氏 染色 Gram's dyeing	菌株形态 Strain mor- phology	培养特征 Culture character	高相似性菌株 (相似性) Strain with highest similarity (similarity)	登录号 Accession no.
BSF-H, FQF-G	-	杆状 Rod-shaped	圆形, 黄褐色, 微凸, 边缘规则光滑, 半透明, 半湿润 Round, tawny, slightly convex, regular and smooth edge, translucent, semi humid	假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i> sp. (99.43%)	KX279661.1
LCF-D, ZKC-D, SZC-A, HMLC- A, GJC-D, MDF- F, YMC-E, YMFE	-	杆状 Rod-shaped	近圆形, 乳白色, 褶皱微凸似火山口, 不透明, 半湿润 Near round, creamy white, slightly convex like a crater, opaque, semi humid	<i>Pseudomonas</i> <i>gessardii</i> (99.37%)	MH685647.1
GDF-D, PPF-F	-	杆状 Rod-shaped	圆形, 明黄色, 凸起, 边缘规则光滑, 不透明, 湿润 Round, bright yellow, bulge, regular and smooth edge, opaque, moist	鞘氨醇杆菌 <i>Sphingobacterium</i> sp. (100.00%)	MT540252.1
YXF-E	-	杆状 Rod-shaped	圆形, 浅黄色, 微凸, 边缘规则光滑, 不透明, 湿润 Round, lightly yellow, slightly convex, regular and smooth edge, opaque, moist	鞘氨醇杆菌 <i>Sphingobacterium</i> sp. (98.39%)	JF772577.1
ZKF-G, JMLC-C, THF-F	+	杆状 Rod-shaped	不规则, 乳白色, 火山状凸起, 边缘波浪状, 不透明, 干燥 Irregular, creamy white, convex like a crater, edge wavy, opaque, dry	贝莱斯芽孢杆菌 <i>Bacillus velezensis</i> (99.51%)	MT081105.1
BSF-C, BSC-V, RLC-D	+	杆状 Rod-shaped	圆形, 黄色, 凸起, 边缘规则光滑, 半透明, 湿润 Round, yellow, bulge, regular and smooth edge, translucent, moist	黎巴嫩假单胞菌 <i>Pseudomonas libanensis</i> (99.51%)	MH304258.1
MDC-C, CNC-F	-	杆状 Rod-shaped	圆形, 浅柠檬色, 微凸, 边缘规则光滑, 不透明, 湿润 Round, pale lemon, slightly convex, regular and smooth edge, opaque, moist	氯酚假单胞菌 <i>Pseudarthrobacter chl-oophenolicus</i> (95.84%)	MK696975.2
GJC-C	-	杆状 Rod-shaped	圆形, 红橙色, 凸起, 边缘规则扁平, 不透明, 湿润 Round, reddish orange, bulge, regular and flat edge, opaque, moist	猴假单胞菌 <i>Pseudomonas simiae</i> (98.88%)	CP005975.1
CNF-F	-	球状 Spherical	圆形, 柠檬色, 扁平, 边缘规则光滑, 半透明, 湿润 Round, lemon, flat, regular and smooth edge, translucent, moist	微杆菌 <i>Microbacterium</i> sp. (99.86%)	MK414839.1
JHF-C, HMLF-D, MDC-E, JHC-B, YMC-D, NJF-M JMLC-D, YJF-H, YJC-I, FQF-D, NJF-G	-	球状 Spherical	圆形, 淡黄色, 微凸, 边缘不规则, 半透明, 湿润 Round, lightly yellow, slightly convex, irregular edge, translucent, moist	分散泛菌 <i>Pantoea dispersa</i> (99.86%)	MK027265.1
FQC-B, JHF-D, JMLF-C, GJF-C, THF-C, YMC-C, YMF-C, YJF-C, YJC-C, FQF-B, YXC-B, YXF-B, CNC-B, CNF-B, PPC-B, PPF-B, NJC-B, NJF-B, NHF-B, NHC-B ZYC-A, GDF-B, GDC-B, BSC-C, CNF-C, PPF-D, NJF-B, BSF-D	+	球状 Spherical	圆形, 浅黄绿色, 微凸, 边缘规则光滑, 半透明, 湿润 Round, oyster, slightly convex, regular and smooth edge, translucent, moist	铅黄肠球菌 <i>Enterococcus casseliflavus</i> (97.98%)	AB547326.1
ZKC-B	+	球状 Spherical	圆形, 白色, 微凸, 边缘规则光滑, 半透明, 湿润 Round, white, slightly convex, regular and smooth edge, translucent, moist	铅黄肠球菌 <i>Enterococcus casseli-flavus</i> (99.09%)	KX233850.1
			圆形, 橙色, 微凸, 边缘规则光滑, 不透明, 湿润 Round, orange, slightly convex, regular and smooth edge, opaque, moist	微小杆菌 <i>Exiguobacterium</i> sp. (98.77%)	KP340978.1

续表1 Continued

菌株编号 Strain no.	革兰氏 染色 Gram's dyeing	菌株形态 Strain mor- phology	培养特征 Culture character	高相似性菌株 (相似性) Strain with highest similarity (similarity)	登录号 Accession no.
ZKC-H, ZYF-C, GJC-B, LCC-C, SZC-C, BSC-D, BSC-C, HMLC- C, JHC-C, MDC- B, JMLC-B, BSF- A, BSC-D BSC-E, ZKC-K	+	球状 Spherical	圆形,白色,微凸,边缘规则光滑,半透明,湿润 Round, white, slightly convex, regular and smooth edge, translucent, moist	铅黄肠球菌 <i>Enterococcus casseliflavus</i> (99.10%)	KC456574.1
LCC-E, SZF-E, ZKF-B	-	球状 Spherical	圆形,橙色,凸起,边缘规则光滑,不透明,湿润 Round, orange, bulge, regular and smooth edge, opaque, moist	微小杆菌 <i>Exiguobacterium</i> sp. (99.10%)	KT962244.1
LCC-F	-	球状 Spherical	圆形,黄色,微凸,边缘规则光滑,不透明,湿润 Round, yellow, slightly convex, regular and smooth edge, opaque, moist	微杆菌 <i>Microbacterium</i> sp. (99.71%)	MF689016.1
SZF-C, GJF-B, HMLF-H, ZYF- B, ZKF-E, NHC- C, NJC-C ZKC-E, ZKF-C, SZF-A, FQC-C	-	球状 Spherical	圆形,橙色,微凸,边缘规则光滑,半透明,湿润 Round, orange, slightly convex, regular and smooth edge, translucent, moist	短波单胞菌 <i>Brevundimonas</i> sp. (99.04%)	KM349213.1
SZF-F, BSC-A, SZF-B, LCF-E, JHF-A, JHC-A, THC-A, JMLC-A, JMLF-B, HMLC- D, HMLF-A, GJC-A, GJF-A, MDC-A, MDF-A, THC-A, THF-A, ZYF-A, YMF-A, YMC-A, YJC-A, YJF-A, CNF-A, CNC-A, FQF-A, FQC-A, NJF-A, NJC-A, NHF-A, NHC-A, YXF-A, PPC-A, MSF-A, MSC-A, RLC-A, GDF-A, GDC-A ZKC-F, HMLC-F	-	球状 Spherical	圆形,淡黄色,凸起,边缘规则光滑,不透明,湿润 Round, pale yellow, bulge, regular and smooth edge, opaque, moist	不动杆菌 <i>Acinetobacter soli</i> (99.58%)	MK734323.1
NJC-D, MDC-G, BSF-B, ZKC-A, MDF-D SZC-D	+	球状 Spherical	圆形,橘黄色,凸起,边缘规则光滑,不透明,湿润 Round, orange, bulge, regular and smooth edge, opaque, moist	鞘氨醇单胞菌 <i>Sphingomonas leidyi</i> (99.40%)	MK318624.1
	-	球状 Spherical	圆形,乳白色,凸起,边缘规则光滑,不透明,湿润 Round, creamy white, bulge, regular and smooth edge, opaque, moist	克雷伯氏菌 <i>Klebsiella</i> sp. (99.16%)	MH767042.1
	+	球状 Spherical	圆形,淡黄色,凸起,边缘规则光滑,不透明,湿润 Round, pale yellow, bulge, regular and smooth edge, opaque, moist	微球菌 <i>Micrococcus</i> sp. (98.78%)	KJ191054.1
	-	球状 Spherical	圆形,明黄色,微凸,边缘规则光滑,不透明,湿润 Round, bright yellow, slightly convex, regular and smooth edge, opaque, moist	芽孢杆菌 <i>Bacillus</i> sp. (99.24%)	JF825998.1
	+	球状 Spherical	圆形,嫩黄色,凸起,边缘规则光滑,不透明,湿润 Round, bright yellow, bulge, regular and smooth edge, opaque, moist	变假单胞杆菌 <i>Pseudomonas reactans</i> (99.36%)	MK114600.1

续表1 Continued

菌株编号 Strain no.	革兰氏 染色 Gram's dyeing	菌株形态 Strain mor- phology	培养特征 Culture character	高相似性菌株 (相似性) Strain with highest similarity (similarity)	登录号 Accession no.
JHC-E, BSF-F, JMLC-E, FQC-E, YXC-C, ZYC-B, PPC-C, NHC-E, NHF-E, MSF-I, MSC-D, RLF-E, RLC-M	-	球状 Spherical	圆形, 柠檬黄, 凸起, 边缘规则光滑, 不透明, 湿润 Round, lemon, bulge, regular and smooth edge, opaque, moist	奥尔斯科维亚多汗菌 <i>Oerskovia paurometabola</i> (96.98%)	KT952310.1
MDC-I	+	球状 Spherical	圆形, 亮粉色, 凸起, 边缘规则光滑, 不透明, 湿润 Round, bright pink, bulge, regular and smooth edge, opaque, moist	紫金牛叶杆菌 <i>Phyllobacteriu myrsinacearum</i> (94.49%)	EU169173.1

### 2.3 可培养细菌 16S rDNA 鉴定结果

将 63 株典型菌株经 16S rDNA 基因分析, 并经 BLAST 比对, 结果如表 1。这 63 株细菌菌株分别隶属于拟杆菌门、厚壁菌门、放线菌门和变形菌门。

### 2.4 不同种群幼虫肠道与粪便可培养细菌的种类

#### 2.4.1 门水平上细菌的组成分析

5 个海拔种群的草地贪夜蛾幼虫肠道和粪便中可培养细菌共有 4 门, 分别为变形菌门、厚壁菌门、拟杆菌门和放线菌门, 5 个海拔种群均分离到变形菌门和厚壁菌门, 且有较高丰度。其中, 肠道细菌中, 由低到高 5 个海拔种群变形菌门的丰度依次为 25.33%、82.49%、37.22%、32.53% 和 2.07%, 厚壁菌门丰度依次为 74.67%、16.22%、62.01%、51.99% 和 97.06%, 500~1 000 m 海拔种群中变形菌门丰度明显高于其他种群, 2 000 m 以上海拔种群的厚壁菌门丰度明显高于其他种群(图 2)。

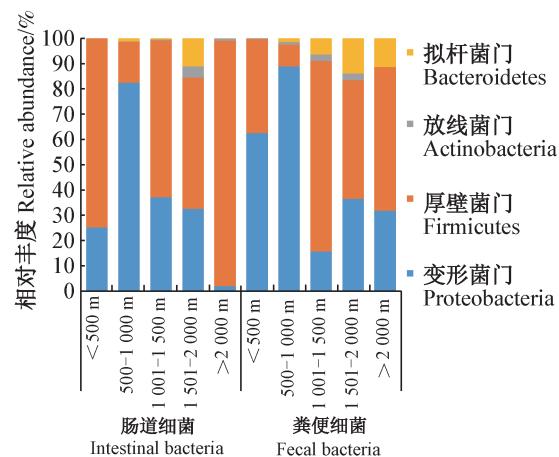


图 2 不同海拔草地贪夜蛾幼虫肠道和粪便可培养细菌  
门水平上的组成结构

Fig. 2 Phylum-based proportional composition of the intestinal and fecal culturable bacteria of larval *Spodoptera frugiperda* at different altitudes

粪便细菌中, 5 个种群海拔由低到高, 变形菌门丰度依次为 62.57%、88.99%、15.78%、36.48% 和 31.82%, 厚壁菌门丰度依次为 37.34%、8.64%、75.31%、46.98% 和 56.82%, 500~1 000 m 海拔种群草地贪夜蛾粪便中变形菌门丰度明显高于其他种群, 1 001~1 500 m 海拔种群的厚壁菌门丰度明显高于其他种群, 且以 1 000 m 为分界线, 低海拔种群粪便中变形菌门丰度较高, 高海拔种群厚壁菌门丰度较高(图 2)。

#### 2.4.2 科水平上细菌的组成分析

5 个海拔种群的草地贪夜蛾幼虫肠道和粪便中共分离到可培养细菌 17 科, 各种群中肠杆菌科、假单胞菌科、肠球菌科和芽孢杆菌科所占的比例较高。肠道细菌中, 5 个种群海拔由低到高, 肠杆菌科的丰度依次为 15.11%、82.38%、27.33%、4.85% 和 2.07%, 500~1 000 m 海拔种群中的丰度明显高于其他种群; 假单胞菌科的丰度依次为 10.22%、0.12%、5.80%、19.42% 和 0.00%, 大于 2 000 m 的海拔种群中没有假单胞菌科; 肠球菌科的丰度依次为 48.89%、5.50%、61.28%、30.08% 和 55.67%; 芽孢杆菌科的丰度依次为 17.78%、4.44%、0.36%、21.92% 和 41.39%, 1 001~1 500 m 海拔种群中的丰度明显低于其他种群(图 3)。

粪便细菌中, 5 个种群海拔由低到高, 肠杆菌科的丰度依次为 0.05%、67.96%、13.45%、27.61% 和 31.82%, 500~1 000 m 海拔种群中的丰度明显高于其他种群; 假单胞菌科的丰度依次为 62.52%、21.03%、2.13%、4.67% 和 0, 小于 500 m 海拔种群中的丰度明显高于其他种群, 而大于 2 000 m 的海拔种群中没有; 肠球菌科的丰度依次为 37.14%、4.18%、45.73%、31.98% 和 56.82%, 500~1 000 m 海

拔种群中的丰度明显低于其他种群;芽孢杆菌科的丰度依次为0.12%、4.46%、29.36%、14.32%和

0,1 001~1 500 m海拔种群中的丰度明显高于其他种群,大于2 000 m的海拔种群中没有(图3)。

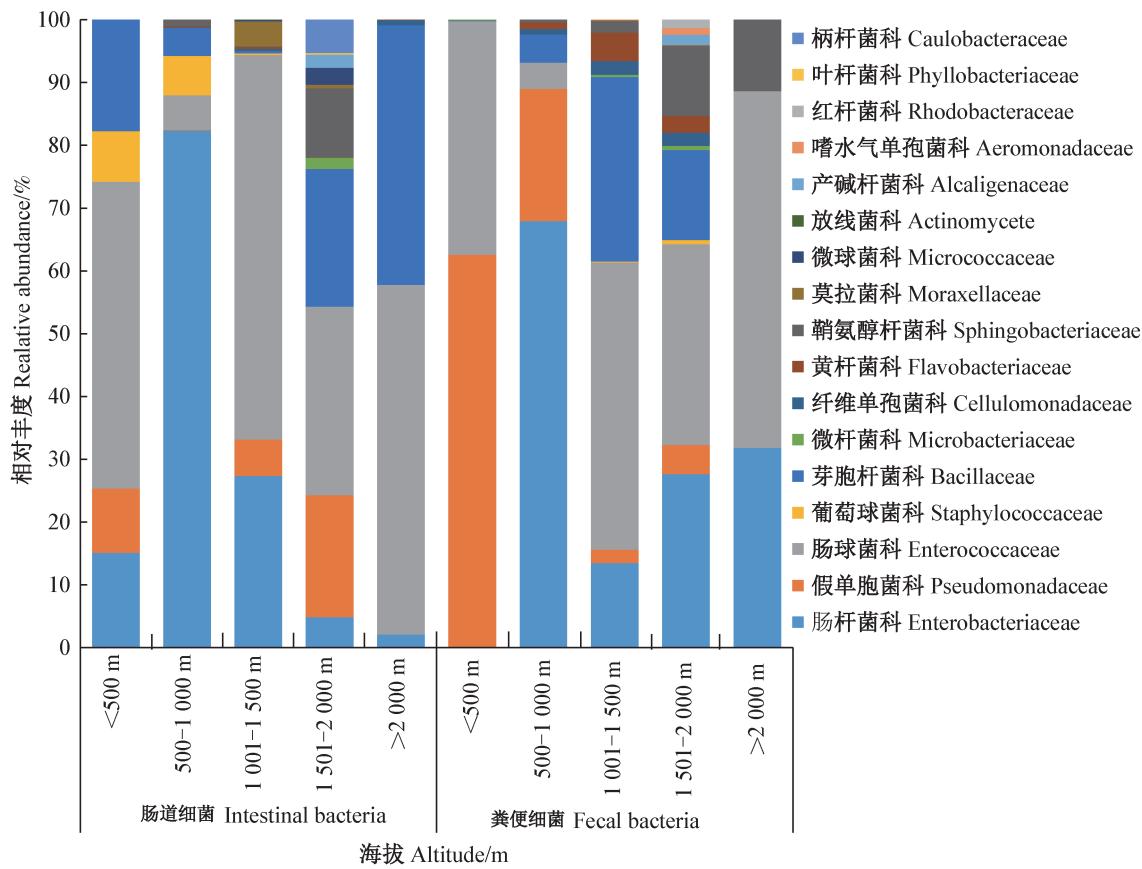


图3 不同海拔草地贪夜蛾幼虫肠道和粪便可培养细菌科水平上的组成结构

Fig. 3 Family-based proportional composition of the intestinal and fecal culturable bacteria of larval *Spodoptera frugiperda* at different altitudes

#### 2.4.3 属水平上细菌的组成分析

5个海拔种群的草地贪夜蛾幼虫肠道和粪便中共分离到可培养细菌23属,各种群中克雷伯氏菌属、肠杆菌属、肠球菌属、假单胞菌属和芽孢杆菌属所占比例相对较高。肠道细菌中,5个种群海拔由低到高,克雷伯氏菌属的丰度依次为6.22%、74.62%、26.72%、4.44%和2.07%,500~1 000 m海拔种群中的丰度明显高于其他种群;肠杆菌属的丰度依次为8.88%、13.82%、0.60%、0.41%和0,大于2 000 m海拔的种群中没有分离到;肠球菌属的丰度依次为48.89%、5.55%、61.28%、30.08%和55.67%,500~1 000 m海拔种群中的丰度明显低于其他种群;假单胞菌属的丰度依次为10.22%、0.12%、5.80%、19.42%和0,1 501~2 000 m的丰度相对较高,大于2 000 m海拔的种群中没有分离得到;芽孢杆菌属的丰度依次为17.78%、1.31%、0.36%、21.92%和41.39%,大于2 000 m海拔的种群中丰度明显较高(图4)。

粪便细菌中,克雷伯氏菌属的丰度依次为0.02%、44.56%、13.33%、11.93%和31.82%,500~1 000 m海拔种群中的丰度明显高于其他种群;肠杆菌属的丰度依次为0.00%、23.40%、0.13%、13.92%和0.00%,小于500 m和大于2 000 m海拔的种群中未分离到肠杆菌属;肠球菌属的丰度依次为37.14%、4.18%、45.73%、31.98%和56.82%,500~1 000 m海拔种群中的丰度明显低于其他种群;假单胞菌属的丰度依次为62.52%、21.03%、2.13%、4.67%和0.00%,小于500 m海拔的种群丰度明显高于其他种群,而2 000 m以上的海拔种群中没有分离得到;芽孢杆菌属的丰度依次为0.12%、0.00%、7%、29.33%、9.52%和0,1 001~1 500 m海拔种群中丰度明显较高,而大于2 000 m海拔的种群中未分离到(图4)。

#### 2.4.4 种水平上细菌的组成分析

从种水平上看,不同物种间丰度存在较大差异,图中仅比较了丰度前12的物种,可以看出肠道和粪便中可培养优势菌主要为变栖克雷伯氏菌 *Klebsiel-*

*la variicola*、铅黄肠球菌 *Enterococcus casseliflavus* 和 *Pseudomonas koreensis*。肠道细菌中, 500~1 000 m 海拔种群优势菌为变栖克雷伯氏菌, 相对丰度达 74.87%; 500 m 以下、1 001 m 以上海拔的种群优势菌均为铅黄肠球菌, 相对丰度依次为 48.89%、61.28%、30.08% 和 55.67%。粪便细菌中, 500 m 以

下海拔的种群优势菌为韩国假单胞菌, 相对丰度达 61.90%; 500~1 000 m 海拔种群优势菌为变栖克雷伯氏菌, 相对丰度达 44.56%; 1 001 m 以上海拔的种群优势菌均为铅黄肠球菌, 相对丰度依次为 46.99%、31.98% 和 56.82% (图 5)。

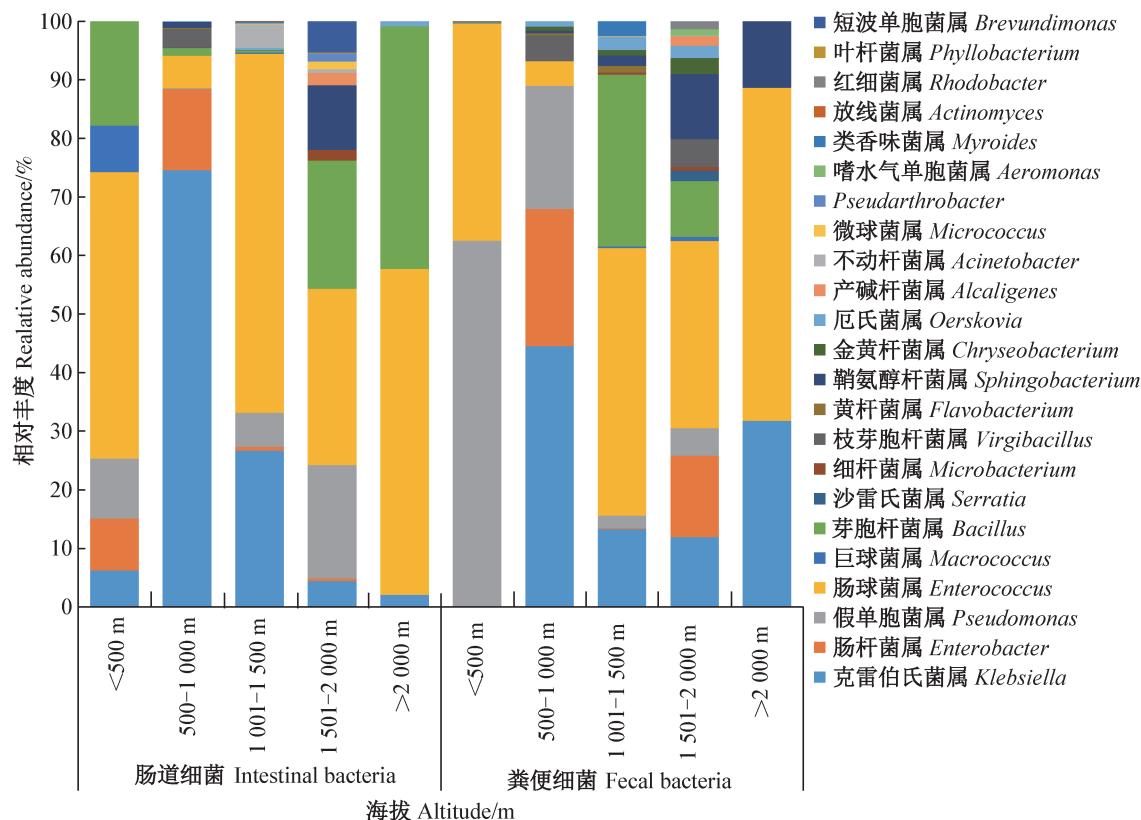


图4 不同海拔草地贪夜蛾幼虫肠道和粪便可培养细菌属水平上的组成结构

Fig. 4 Genus-based proportional composition of the intestinal and fecal culturable bacteria of larval *Spodoptera frugiperda* at different altitudes

## 2.5 可培养细菌多样性特征

5 个海拔种群的草地贪夜蛾肠道与粪便细菌中, 均以 1 501~2 000 m 海拔种群的多样性指数最高, 且均匀度指数也较高; 肠道中以大于 2 000 m 海拔的种群细菌多样性和均匀度最低, 粪便中以 500 m 以下海拔种群最低(图 6)。

肠道细菌中, 1 501~2 000 m 海拔种群的 Shannon-Weiner 指数达 3.42, 显著高于其他种群( $P<0.05$ ), 海拔 500 m 以下种群次之, 为 2.28, 大于 2 000 m 海拔的种群显著低于其他种群, 仅为 0.35; Simpson 指数变化趋势与 Shannon-Weiner 指数一致; 海拔 500 m 以下种群与 1 501~2 000 m 海拔种群的 Pielou 均匀度指数显著高于其他种群( $P<0.05$ ), 分别为 1.17 和 1.09, 而海拔 2 000 m 以上种群仅为 0.22, 显

著低于其他种群( $P<0.05$ )。

粪便细菌中, 不同海拔种群间 Shannon-Weiner 指数均存在显著差异( $P<0.05$ ), 从高到低依次为 1 501~2 000 m 种群(3.38)>1 001~1 500 m 种群(2.60)>500~1 000 m 种群(2.29)>大于 2 000 m 种群(1.29)>小于 500 m 种群(1.04)。Simpson 指数趋势总体一致, 但 500~1 000 m 和 1 001~1 500 m 间差异不显著( $P>0.05$ )。Pielou 均匀度指数间差异均显著( $P<0.05$ ), 从高到低依次为大于 2 000 m 种群(1.23)>1 501~2 000 m 种群(1.08)>500~1 000 m 种群(0.89)>1 001~1 500 m 种群(0.78)>小于 500 m 种群(0.50)。

## 3 讨论

昆虫肠道微生物在宿主生长发育和环境适应性

等生理和生物学过程中起着重要作用(杨晓晴等,2018),内生菌可帮助昆虫提高对环境的适应性(Engl et al., 2018; 谭清峰等,2021),目前已有很多关于不同种群草地贪夜蛾肠道细菌的报道,表明草地贪夜蛾肠道细菌组成丰富,但不同地理种群(徐天梅等,2020; 刘莹等,2021)、不同寄主种群(郭志斌等,2019; 顾偌铖等,2019)和不同虫态(李青晏等,2020)的草地贪夜蛾肠道内细菌组成与优势菌群各不相同。本研究从不同海拔角度,对云南省不同海拔玉米种植区的草地贪夜蛾肠道和粪便细菌进行分离培养和种类鉴定,共分离到细菌4门17科23属50种。5个海拔种群的优势菌门为变形菌门和厚壁菌门,变形菌门和厚壁菌门也是黏虫 *Mythimna separata* (He et al., 2013)、美国白蛾 *Hyphantria cunea* (魏丹峰等,2017) 和仁扇舟蛾 *Clostera restitura* (朱晗等,2021) 等鳞翅目幼虫的肠道中优势菌门。从细菌属组成来看,这5个海拔种群的肠道和粪便细菌优势属包括克雷伯氏菌属(2.07%~74.62%, 0.02%~44.56%)、肠球菌属(5.55%~61.28%, 4.18%~56.82%)和假单胞菌属(0.12~19.42%, 2.13%~62.52%),该结果也与其他文献报道的草地贪夜蛾肠道细菌优势属结果一致(顾偌铖等,2019; 张凌英等,2020; Gichuhi

et al., 2020)。然而,这5个海拔种群的优势种不同,其中500 m以下海拔种群幼虫肠道和粪便中优势细茵分别为铅黄肠球菌(48.89%)和韩国假单胞菌(61.90%),500~1 000 m海拔区均为变栖克雷伯氏菌(74.87%和44.56%),1 001米以上海拔区为铅黄肠球菌(30.08%~61.28%, 31.98%~56.82%),证实了环境可以影响昆虫肠道微生物群落的组成。此外,与Acedevo et al.(2017)和李青晏等(2020)报道结果不同的是,本研究从不同海拔草地贪夜蛾种群幼虫肠道和粪便中新分离获得了红细菌属、黄杆菌属、嗜水气单胞菌属、放线菌属、产碱杆菌属、污物假节杆菌属、厄氏菌属、枝芽孢杆菌属和叶杆菌属细菌,因而本研究进一步证明了草地贪夜蛾幼虫肠道微生物的多样性;刘莹等(2021)采用16S rDNA测序分析发现,草地贪夜蛾肠道内高丰度菌株主要为苍白杆菌属 *Ochrobactrum*、埃希氏菌属 *Escherichia* 和乳杆菌属 *Lactobacillus* 等细菌,但本研究通过分离培养法未分离得到,究其原因可能是由于研究方法的差异;其次,不同地理种群草地贪夜蛾肠道细菌组成不同(刘莹等,2021),本研究采用的草地贪夜蛾样本与刘莹等(2021)样本来源地间存在一定差异,因此这种差异也可能由于样本地理环境的差异引起。

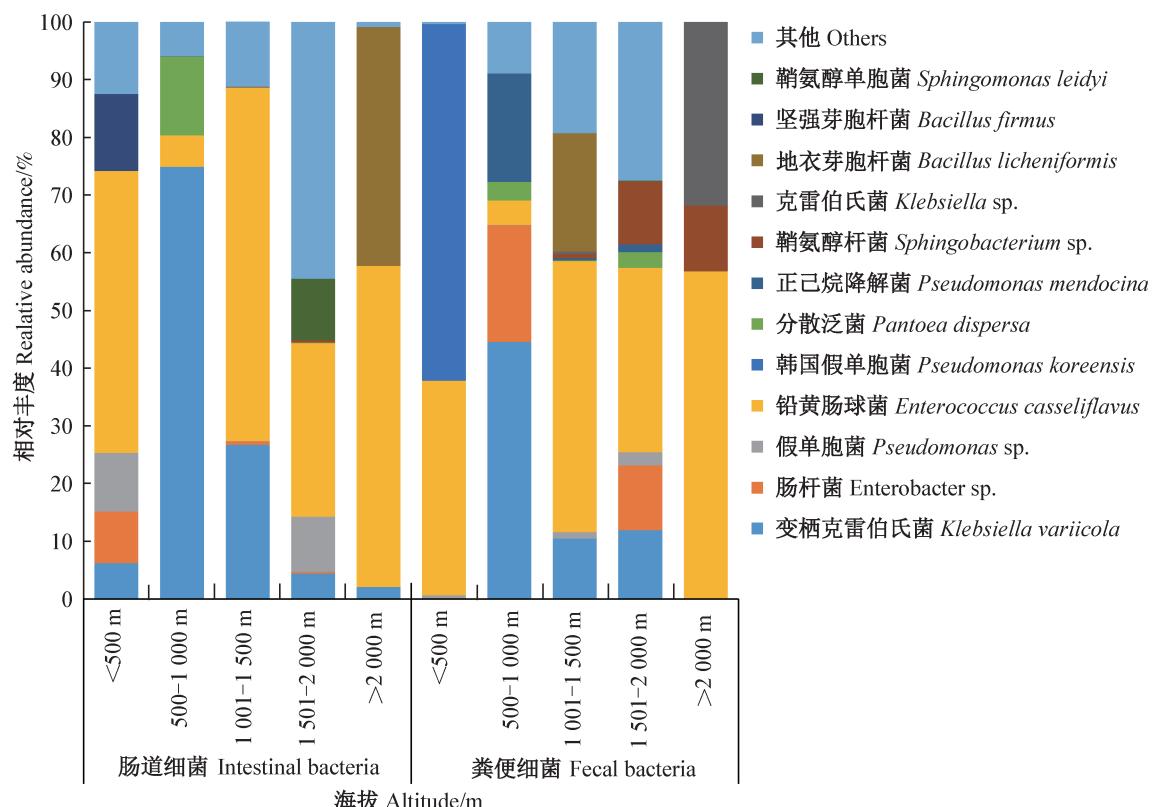


图5 不同海拔草地贪夜蛾幼虫肠道和粪便可培养细菌种水平上的组成结构

Fig. 5 Species-based proportional composition of the intestinal and fecal culturable bacteria of larval *Spodoptera frugiperda* at different altitudes

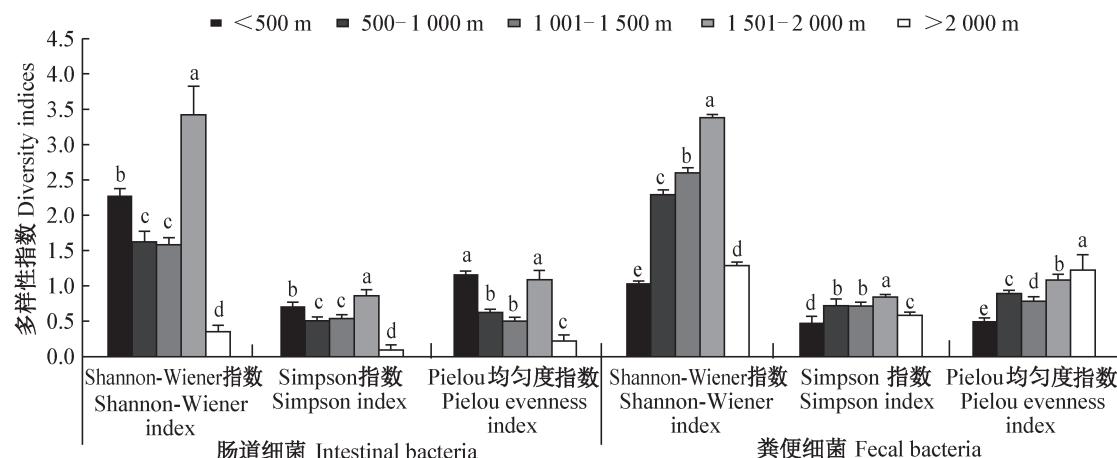


图6 不同海拔草地贪夜蛾幼虫肠道和粪便可培养细菌群落多样性指数

Fig. 6 Diversity indices of the intestinal and fecal culturable bacteria of larval *Spodoptera frugiperda* at different altitudes

图中数据为平均数±标准差。不同小写字母表示不同海拔下同指数经Duncan氏新复极差法检验在P<0.05水平差异显著。Data are mean±SD. Different lowercase letters indicate significant difference in the same index at different altitudes at P<0.05 level by Duncan's new multiple range test.

李德贤等(2022)研究表明昆虫的物种丰富度在海拔大于1500 m后开始降低,可能与高海拔的低温有关,本研究发现不同海拔种群的草地贪夜蛾幼虫肠道细菌多样性存在明显差异,1500~2000 m海拔范围内草地贪夜蛾肠道细菌多样性指数到达最高,海拔大于2000 m的种群肠道细菌多样性和均匀度均最低,可能是因为肠道菌与宿主一样对高海拔低温环境的适应能力较低。

尽管草地贪夜蛾在我国田间自然条件下除取食玉米外,还取食水稻、小麦等作物(李艳朋等,2020;邱良妙等,2020),但仍然以取食为害玉米为主,表现出强烈的玉米生物型。因此,还值得探究特定肠道菌在草地贪夜蛾寄主生物型分化中的作用,从而为解析草地贪夜蛾寄主适应机制、研发草地贪夜蛾防治技术的提供新的思路。

## 参 考 文 献 (References)

- Acevedo FE, Peiffer M, Tan CW, Stanley BA, Stanley A, Wang J, Jones AG, Hoover K, Rosa C, Luthe D, Felton G. 2017. Fall armyworm-associated gut bacteria modulate plant defense responses. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 30(2): 127–137
- de Almeida LG, de Moraes LA, Trigo JR, Omoto C, Consoli FL. 2017. The gut microbiota of insecticide-resistant insects houses insecticide-degrading bacteria: a potential source for biotechnological exploitation. *PLoS ONE*, 12(3): e0174754
- Du BB. 2017. Impacts of high temperature on composition and function of gut microbiota in *Bombyx mori*. Master thesis. Suzhou: Suzhou University (in Chinese) [杜贝贝. 2017. 高温对家蚕肠道微生物组成及功能的影响. 硕士学位论文. 苏州: 苏州大学]
- Engl T, Eberl N, Gorse C, Theresa K, Thorsten HPS, Rudy P, Cornel A, Martin K. 2018. Ancient symbiosis confers desiccation resistance to stored grain pest beetles. *Molecular Ecology*, 27(8): 2095–2108
- Feng GD, Chen MB, Yang SZ, Zhu HH. 2013. A comparative study on bacteria DNA extraction methods used for PCR amplification. *Journal of South China Agricultural University*, 34(3): 439–442 (in Chinese) [冯广达, 陈美标, 羊宋贞, 朱红惠. 2013. 用于PCR扩增的细菌DNA提取方法比较. 华南农业大学学报, 34(3): 439–442]
- Geng HR, Zhang CX, Zhao YJ, Liu Y. 2019. Study on heat resistant *Bacillus subtilis* with high degradation efficiency of zearalenone. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 33(7): 1399–1407 (in Chinese) [耿海荣, 张晨曦, 赵月菊, 刘阳. 2019. 一株高效降解玉米赤霉烯酮的耐酸耐高温枯草芽孢杆菌的研究. 核农学报, 33(7): 1399–1407]
- Gichuhi J, Subramanian S, Khamis F, van den Berg J, Du Plessis H, Ekesi S, Herren JK. 2020. Diversity of fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* and their gut bacterial community in Kenya. *PeerJ*, 8: e8701
- Goergen G, Kumar PL, Sankung SB, Togola A, Tamo M. 2016. First report of outbreaks of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera, Noctuidae), a new alien invasive pest in west and central Africa. *PLoS ONE*, 11(10): e0165632
- Gu RC, Tang YL, Wu YY, Zou XM, Zhang Z, Niu XH, Wang ZL, Chen J, Li T, Li CF, et al. 2019. Addendum of gut bacteria isolation and identification of *Spodoptera frugiperda* feeding on maize in Wushan, Chongqing. *Journal of Southwest University (Natural Science Edition)*, 41(8): 1–5 (in Chinese) [顾儒铖, 唐远林, 吴燕燕, 邹祥明, 张祯, 牛小慧, 王泽乐, 陈洁, 李田, 李春峰, 等. 2019. 重庆巫山地区采食玉米的草地贪夜蛾肠道细菌的分离鉴定补遗. 西南大学学报(自然科学版), 41(8): 1–5]
- Guo ZB, Jiang XR, Tang YL, Gu RC, Li QY, Xing T, Xiang L, Wu YY, Hu Y, Liu X, et al. 2019. Identification of new isolates of gut bacteria of *Spodoptera frugiperda* feeding on sorghum in Chongqing

- area. *Journal of Southwest University (Natural Science Edition)*, 41(9): 9–16 (in Chinese) [郭志斌, 蒋睿轩, 唐运林, 顾偌铖, 李青晏, 行甜, 向丽, 吴燕燕, 胡源, 刘秀, 等. 2019. 重庆地区取食高粱的草地贪夜蛾肠道细菌新分离株的鉴定. 西南大学学报(自然科学版), 41(9): 9–16]
- He C, Nan XN, Zhang ZQ, Li ML. 2013. Composition and diversity analysis of the gut bacterial community of the oriental armyworm, *Mythimna separata*, determined by culture-independent and culture-dependent techniques. *Journal of Insect Science*, 13: 165
- Huang SW, Zhang HY. 2013. The impact of environmental heterogeneity and life stage on the hindgut microbiota of *Holotrichia parallela* larvae (Coleoptera: Scarabaeidae). *PLoS ONE*, 8(2): e57169
- Huang XL. 2019. Responses to changes in temperatures and host plants for *Sitobion avenae* from different altitudes and the underlying genetic and molecular basis. PhD thesis. Yangling: Northwest A&F University (in Chinese) [黄贤亮. 2019. 不同海拔麦长管蚜对温度和寄主变化的响应及其遗传和分子基础. 博士学位论文. 杨凌: 西北农林科技大学]
- Jiang YY, Liu J, Xie MC, Li YH, Yang JJ, Zhang ML, Qiu K. 2019. Observation on law of diffusion damage of *Spodoptera frugiperda* in China in 2019. *Plant Protection*, 45(6): 10–19 (in Chinese) [姜玉英, 刘杰, 谢茂昌, 李亚红, 杨俊杰, 张曼丽, 邱坤. 2019. 2019年我国草地贪夜蛾扩散为害规律观测. 植物保护, 45(6): 10–19]
- Li DX, Shi JD, Li HJ, Wang D. 2022. Diversity and vertical distribution of Lepidoptera insect communities in the Hualong Mountain National Nature Reserve, Shanxi. *Journal of Northwest Forestry University*, (1): 1–7 (in Chinese) [李德贤, 施金铎, 李昊杰, 王敦. 2022. 陕西化龙山国家级自然保护区鳞翅目昆虫多样性与垂直分布研究. 西北林学院学报, (1): 1–7]
- Li QY, Tang YL, Jiang RX, Zhang YH, Zhu F, Bai XR, Gu RC, Wu YY, Wu YJ, Chen J, et al. 2020. Isolation and identification of gut bacteria of *Spodoptera frugiperda* feeding on maize in Yunnan, China. *Journal of Southwest University (Natural Science Edition)*, 42(1): 1–8 (in Chinese) [李青晏, 唐运林, 蒋睿轩, 张永红, 朱峰, 白兴荣, 顾偌铖, 吴燕燕, 吴玉娇, 陈洁, 等. 2020. 云南地区草地贪夜蛾肠道细菌的分离及鉴定. 西南大学学报(自然科学版), 42(1): 1–8]
- Li WH, Jin DC, Jin JX, Chen Y, Li FL. 2015. Isolation, identification and antibiotic susceptibility testing of gut bacteria from larval feces of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Acta Entomologica Sinica*, 58(5): 546–552 (in Chinese) [李文红, 金道超, 金剑雪, 程英, 李凤良. 2015. 基于幼虫粪便的小菜蛾肠道细菌分离鉴定及其抗生素敏感性分析. 昆虫学报, 58(5): 546–552]
- Li YP, Li M, Liu HH, Xiao Q, Li XJ. 2020. Occurrence and control of *Spodoptera frugiperda* in early sowing wheat field in northern Jiangsu province. *Plant Protection*, 46(2): 212–215 (in Chinese) [李艳朋, 李猛, 刘鸿恒, 肖琦, 李秀钰. 2020. 草地贪夜蛾在江苏北部早播麦田的发生与防治. 植物保护, 46(2): 212–215]
- Liu Y, Zhao XQ, Yin YQ, Li XY, Chen FS, Zhang HM, Wang Y, Chen AD. 2021. Differences in the diversity and community structure of intestinal bacteria in four geographic populations of fall armyworm *Spodoptera frugiperda* in Yunnan Province. *Journal of Plant Protection*, 48(6): 1244–1253 (in Chinese) [刘莹, 赵雪晴, 尹艳琼, 李向永, 陈福寿, 张红梅, 王燕, 谌爱东. 2021. 云南省四个草地贪夜蛾种群肠道细菌群落多样性及差异分析. 植物保护学报, 48(6): 1244–1253]
- Lu YX, Liu YQ, Li Q, Xia RX, Wang H. 2016. Research progress on intestinal microbial diversity of insects. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 45(11): 1–7 (in Chinese) [鲁迎新, 刘彦群, 李群, 夏润玺, 王欢. 2016. 昆虫肠道微生物多样性研究进展. 河南农业科学, 45(11): 1–7]
- Milinovich GJ, Trott DJ, Burrell PC, Croser EL, Jassim RA, Morton JM, Van EP, Pollitt CC. 2007. Fluorescence in situ hybridization analysis of hind gut bacteria associated with the development of equine laminitis. *Environmental Microbiology*, 9(8): 2090–2100
- Priya NG, Ojha A, Kajla MK, Raj A, Rajagopal R. 2017. Host plant induced variation in gut bacteria of *Helicoverpa armigera*. *PLoS ONE*, 7(1): e30768
- Qi GJ, Ma J, Hu G, Yu YH, Chen AD, Gao Y, Lü LH. 2019. Analysis of migratory routes and atmospheric features of the newly invaded fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) in Guangdong Province. *Journal of Environmental Entomology*, 41(3): 488–496 (in Chinese) [齐国君, 马健, 胡高, 于永浩, 谌爱东, 高燕, 吕利华. 2019. 首次入侵广东的草地贪夜蛾迁入路径及天气背景分析. 环境昆虫学报, 41(3): 488–496]
- Qi SS, Zhou LH, Hu JP, Liu M, Zhao H, Xiong Y. 2017. Isolation, identification and diversity of soil bacteria in multiple regions from Tibetan Plateau. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 30(7): 1629–1635 (in Chinese) [戚珊珊, 周礼红, 胡久平, 刘敏, 赵辉, 熊燕. 2017. 西藏多地区土壤可培养细菌的分离鉴定及多样性分析. 西南农业学报, 30(7): 1629–1635]
- Qiu ML, Liu QQ, Yang XJ, Huang XY, Guan RF, Liu BP, He YX, Zhan ZX. 2020. Feeding and oviposition preference and fitness of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), on rice and maize. *Acta Entomologica Sinica*, 63(5): 604–612 (in Chinese) [邱良妙, 刘其全, 杨秀娟, 黄晓燕, 关瑞峰, 刘必炮, 何玉仙, 占志雄. 2020. 草地贪夜蛾对水稻和玉米的取食和产卵选择性与适合度. 昆虫学报, 63(5): 604–612]
- Schretter CE, Vielmetter J, Bartos I, Marka Z, Marka S, Sulabha A, Mazmanian SK. 2018. A gut microbial factor modulates locomotor behavior *Drosophila*. *Nature*, 563(7731): 402–406
- Su Q, Zhou XM, Zhang YJ. 2013. Symbiont-mediated functions in insect hosts. *Communicative & Integrative Biology*, 6(3): e23804
- Sudhagar S, Reddy PVR, Nagalakshmi G. 2017. Influence of elevation in structuring the gut bacterial communities of *Apis cerana* Fab. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 5(3): 434–440
- Tan QF, Li J, Yang YX, Liu YY, Liu C. 2021. Intestinal flora of insects and its functions. *Technology Wind*, (26): 167–169 (in Chinese) [谭清峰, 李菁, 杨雨欣, 刘岳阳, 刘晨. 2021. 昆虫肠道菌群及其功能简述. 科技风, (26): 167–169]
- Todd EL, Poole RW. 1980. Keys and illustrations for the armyworm moths of the noctuid genus *Spodoptera* Guenée from the western hemisphere. *Annals of the Entomological Society of America*, (6):

- 722–738
- Wei DF, Wang XJ, Yang J, Geng YX, Chen M. 2017. Analysis of the diversity and difference of intestinal bacteria in larvae *Hyphantria cunea* Drury (Lepidoptera: Arctiidae) on different diets. *Journal of Environmental Entomology*, 39(3): 515–524 (in Chinese) [魏丹峰, 王秀吉, 杨锦, 耿涌鑫, 陈敏. 2017. 取食不同食料的美国白蛾幼虫肠道细菌多样性及差异性研究. 环境昆虫学报, 39(3): 515–524]
- Wei XY, Guo CL, Chu D. 2019. Research progress on the factors influencing microbiota diversity in insect. *Journal of Biosafety*, 28(3): 170–176 (in Chinese) [魏晓莹, 郭晨亮, 褚栋. 2019. 昆虫体内微生物多样性的影响因素研究进展. 生物安全学报, 28(3): 170–176]
- Xiang HJ, Cai PM, Ji QE, Yang YC, Wang B, Chen JH. 2018. A review on identification methods for symbiotic bacteria in insects. *Journal of Shandong Agricultural University (Natural Science Edition)*, 49(4): 689–696 (in Chinese) [向候君, 蔡普默, 季清娥, 杨燕川, 王波, 陈家骅. 2018. 昆虫体内共生菌鉴定方法的研究进展. 山东农业大学学报(自然科学版), 49(4): 689–696]
- Xu TM, Fu CY, Su ZT, Xiao GL, Li WW, Chen B. 2020. Composition and diversity of gut bacteria community of *Spodoptera frugiperda* from the first invasion site and the dispersal area in Yunnan Province. *Plant Protection*, 46(4): 116–125 (in Chinese) [徐天梅, 符成锐, 苏造堂, 肖关丽, 李维薇, 陈斌. 2020. 云南草地贪夜蛾扩散区与首发地种群肠道细菌群落组成结构及多样性的比较. 植物保护, 46(4): 116–125]
- Yang XL, Liu YC, Luo MZ, Li Y, Wang WH, Wan F, Jiang H. 2019. This is the first time the *Spodoptera frugiperda* has been found in Jiangcheng County, Yunnan Province. *Yunnan Agriculture*, (1): 72 (in Chinese) [杨学礼, 刘永昌, 罗茗钟, 李依, 王文辉, 万飞, 姜虹. 2019. 云南省江城县首次发现迁入我国西南地区的草地贪夜蛾. 云南农业, (1): 72]
- Yang XQ, Wang ZL, Wang TZ, Yu XP. 2018. Analysis of the bacterial community structure and diversity in the small brown planthopper, *Laodelphax striatellus* (Hemiptera: Delphacidae) by 16S rRNA high-throughput sequencing. *Acta Entomologica Sinica*, 61(2): 200–208 (in Chinese) [杨晓晴, 王正亮, 王天召, 俞晓平. 2018. 基于 16S rRNA 高通量测序的灰飞虱体内细菌群落结构及多样性分析. 昆虫学报, 61(2): 200–208]
- Yang XZ. 2019. Comparative analysis of the diversity of gut bacteria of two *Gynaephora* species. Master thesis. Lanzhou: Lanzhou University (in Chinese) [杨兴卓. 2019. 两种草原毛虫肠道菌多样性的比较分析. 硕士学位论文. 兰州: 兰州大学]
- Ye GJ, Xiang H, Feng QL, Cheng J. 2021. Preliminary metagenomic analysis of gut microorganisms in fall armyworm *Spodoptera frugiperda* larvae. *Journal of Plant Protection*, 48(6): 1254–1261 (in Chinese) [叶国浚, 相辉, 冯启理, 陈霁. 2021. 草地贪夜蛾肠道微生物宏基因组初步分析. 植物保护学报, 48(6): 1254–1261]
- Zhang LY, Su ZT, Xu TM, Zhang ZH, Zhen YQ, Gui FR, Chen B. 2020. Isolation and identification of culturable intestinal bacteria of *Spodoptera frugiperda* in Jiangcheng, Puer, Yunnan Province. *Journal of Environmental Entomology*, 42(1): 60–67 (in Chinese) [张凌英, 苏造堂, 徐天梅, 张志红, 郑亚强, 桂富荣, 陈斌. 2020. 云南普洱江城县草地贪夜蛾幼虫肠道中可培养细菌的分离及鉴定. 环境昆虫学报, 42(1): 60–67]
- Zhang ZH, Zhang LY, Zhao YJ, Su ZT, Chen SY, Xiao GL, Li WW, Chen B. 2020. Species and antibiotic sensitivity of culturable gut bacteria of *Spodoptera frugiperda* larvae from Mangshi, Yunnan. *Journal of Southern Agriculture*, 51(6): 1293–1299 (in Chinese) [张志红, 张凌英, 赵英杰, 苏造堂, 陈思颖, 肖美丽, 李维薇, 陈斌. 2020. 云南省芒市草地贪夜蛾幼虫肠道可培养细菌种类及对抗生素的敏感性. 南方农业学报, 51(6): 1293–1299]
- Zhang ZY, Sheng P, Huang SW, Zhao YS, Zhang HY. 2017. Diversity, function and application of insect gut microbiota. *Biotic Resources*, 39(4): 231–239 (in Chinese) [张振宇, 圣平, 黄胜威, 赵永顺, 张宏宇. 2017. 昆虫肠道微生物的多样性、功能及应用. 生物资源, 39(4): 231–239]
- Zhao H, Zhang S, Luo JY, Zhang LJ, Wang AY, Cui JJ. 2017. Analysis of endophytic symbiotic bacterial composition in *Chrysoperla sinica* (Tjeder) adults with 16S rDNA clone library. *Chinese Journal of Biological Control*, 33(6): 849–856 (in Chinese) [赵辉, 张帅, 雷珺瑜, 张利娟, 王爱英, 崔金杰. 2017. 16S rDNA 克隆文库方法分析中华通草蛉共生细菌组成. 中国生物防治学报, 33(6): 849–856]
- Zheng YQ, Du GZ, Li YF, Chen B, Li ZY, Xiao GL. 2017. Isolation and identification of bacteria from larval gut of the potato tuberworm, *Phthorimaea operculella* (Zeller) and the degradation for plant-based macromolecular compounds. *Journal of Environmental Entomology*, 39(3): 525–532 (in Chinese) [郑亚强, 杜广祖, 李亦菲, 陈斌, 李正跃, 肖美丽. 2017. 马铃薯块茎蛾肠道细菌分离鉴定及其对植物源大分子化合物的降解作用. 环境昆虫学报, 39(3): 525–532]
- Zhou F, Pang ZC, Yu XQ, Wang XY. 2020. Insect gut microbiota research: progress and applications. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 57(3): 600–607 (in Chinese) [周帆, 庞志倡, 余小强, 汪肖云. 2020. 昆虫肠道微生物的研究进展和应用前景. 应用昆虫学报, 57(3): 600–607]
- Zhu H, Han DJ, Wei YZ, Sun LX, Wen QM. 2021. Community structure analysis of the intestine cultivable bacteria of *Closterotomus restitura* larvae. *Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition)*, 45(2): 171–176 (in Chinese) [朱晗, 郝德君, 魏原芝, 孙丽昕, 文全民. 2021. 仁扇舟蛾幼虫肠道可培养细菌群落结构分析. 南京林业大学学报(自然科学版), 45(2): 171–176]

(责任编辑:王璇)