环境昆虫学报 2022，44（1）：44－51
Journal of Environmental Entomology
http：//hjkcxb. alljournals. net
doi：10. 3969/j. issn. 1674－0858. 2022. 01. 6

舒本水，戴静华，余竟成，杨仙妹，林进添. 喜树碱对草地贪夜蛾幼虫中肠细菌群落组成及多样性的影响［J］. 环境昆虫学报，2022，44（1）：44－51.

喜树碱对草地贪夜蛾幼虫中肠细菌群落组成及多样性的影响

舒本水，戴静华，余竟成，杨仙妹，林进添*
（仲恺农业工程学院，广州市亚热带果树重大疫情控制重点实验室，广州 510225）

摘要： 草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda*（J. E. Smith）是一种重要的入侵害虫，对多种作物生产造成严重的威胁。喜树碱是一种单萜类吲哚生物碱，对草地贪夜蛾幼虫生长发育具有显著抑制效果。本研究采用饲料混药法将喜树碱以 1 mg/kg 浓度处理草地贪夜蛾 4 龄幼虫 3 d，解剖幼虫收集中肠内容物后采用 16S rDNA 测序技术分析喜树碱处理对草地贪夜蛾幼虫中肠细菌群落的影响。研究结果表明，从草地贪夜蛾幼虫中肠内容物中共得到 295 028 条有效 reads，聚类为 262 个 OTUs，注释到 17 个门 35 个纲 80 个目 123 个科 191 个属 246 种细菌。其中优势细菌门为厚壁菌门 Firmicutes 和变形菌门 Proteobacteria。对幼虫中肠细菌群落组成分析发现喜树碱处理后厚壁菌门 Firmicutes 丰度显著下降，而变形菌门 Proteobacteria 丰度显著上升。进一步分析发现，有 79 种和 50 种细菌为对照组和喜树碱处理组幼虫中肠特有物种。Alpha 和 Beta 多样性分析表明，喜树碱显著改变了草地贪夜蛾幼虫中肠细菌群落多样性。本研究为丰富草地贪夜蛾幼虫肠道微生物群落数据信息及探究喜树碱对草地贪夜蛾的作用机制提供一定的理论依据。

关键词： 草地贪夜蛾；喜树碱；中肠；细菌群落；多样性
中图分类号： Q965；S433　　**文献标识码：** A　　**文章编号：** 1674－0858（2022）01－0044－08

Effects of camptothecin on the composition and diversity of the bacterial community in the midgut of *Spodoptera frugiperda* larvae

SHU Ben-Shui，DAI Jing-Hua，YU Jing-Cheng，YANG Xian-Mei，LIN Jin-Tian*（Guangzhou City Key Laboratory of Subtropical Fruit Tree Pest and Disease Outbreak Control，Zhongkai University of Agriculture and Engineering，Guangzhou 510225，China）

Abstract: *Spodoptera frugiperda*（J. E. Smith）is an important invasive pest that poses a serious threat to the production of many crops in China. Camptothecin is a monoterpene indole alkaloid that has a significant effect on the growth and development of *S. frugiperda* larvae. In this study，camptothecin was fed to the fourth instar larvae with a concentration of 1 mg/kg for 3 d，then the midgut contents were collected and 16S rDNA sequencing technology was used to analyze the effect of camptothecin treatment on the midgut bacterial community. Results showed that a total of 295 028 effective reads were obtained by sequencing，clustered into 262 OTUs，and annotated into 17 phyla，35 classes，80 orders，123 families，191 genera，and 246 species. The dominant bacterial phyla were Firmicutes and Proteobacteria in all the samples. Bacterial community composition analysis indicated that the abundance of Firmicutes and

基金项目： 广东省重点领域研发计划（2020B020223004）；广东省教育厅创新团队项目（2017KCXTD018）；大学生创新创业训练计划（202011347001）；仲恺农业工程学院本科教学质量与教学改革工程项目（KA200190261）
作者简介： 舒本水，男，1991 年生，博士，讲师，主要研究方向为昆虫毒理学，E－mail：shubenshui@126. com
* **通讯作者** Author for correspondence：林进添，博士，教授，主要研究方向为昆虫生理生化，E－mail：linjtian@163. com
收稿日期 Received：2021－06－17；**接受日期** Accepted：2021－08－26

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

Proteobacteria in the midgut changed significantly after camptothecin treatment. Further analysis revealed that 79 and 50 unique bacteria species were identified in the midguts of control and camptothecin-treated groups, respectively. Alpha and Beta diversity analysis showed that camptothecin significantly changed the bacterial community diversity of the larval midgut. This study provides a theoretical basis for enriching the data and information on the intestinal microbial community of *S. frugiperda* larvae and exploring the mechanism of camptothecin against *S. frugiperda*.

Key words: *Spodoptera frugiperda*; camptothecin; midgut; bacterial community; diversity

草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* 属鳞翅目 Lepidoptera 夜蛾科 Noctuidae 昆虫，原产于美洲热带和亚热带地区，是一种重大迁飞性害虫（王磊等，2019；郭井菲等，2019）。其食性杂，可为害包括玉米、花生、大豆、甘蔗等在内的 76 科 353 种植物，其中玉米等禾本科植物是其嗜好寄主（Montezano *et al.*，2018）。2015 年以前草地贪夜蛾主要分布于美洲地区，随后在 2016 年和 2018 年分别入侵非洲和亚洲（Wang *et al.*，2020；Zhou *et al.*，2020）。草地贪夜蛾于 2018 年 12 月至缅甸入侵我国云南，已扩散到我国 20 个省（自治区），对我国粮食生产安全造成严重威胁（廖永林等，2020）。化学杀虫剂的使用是防治草地贪夜蛾最为直接有效的方法，双酰胺类、乙基多杀菌素、甲维盐等药剂对草地贪夜蛾表现出很好的防治效果（鲁艳辉等，2019；赵胜园等，2019；吴正伟等，2019；郑群等，2019）。但由于繁殖速率快及大量的化学药剂防治，导致我国草地贪夜蛾对有机磷、氨基甲酸酯、拟除虫菊酯、双酰胺类杀虫剂的抗性问题已经产生，主要表现为作用靶标如乙酰胆碱酯酶、神经膜钠离子通道及鱼尼丁受体等发生抗性相关的突变（梁沛等，2020；Zhao *et al.*，2020；Guan *et al.*，2021）。因此，探究生物源化合物对草地贪夜蛾的防治效果可为缓解草地贪夜蛾抗药性的产生提供新思路。

喜树碱（Camptothecin，CPT）属单萜类吲哚生物碱，最初在我国特有树种喜树 *Camptotheca acuminata* 中分离鉴定（Lee *et al.*，2020）。喜树碱通过抑制 DNA 拓扑异构酶 I（TOPO I）活性导致 DNA 合成受阻，进而起到抗肿瘤活性（Wang *et al.*，2019）。此外，研究发现喜树碱对多种昆虫表现出一定的杀虫活性。例如：0.2% 喜树碱乳油对褐飞虱 *Nilaparvata lugens*，甘蓝蚜 *Brevicoryne brassicae* 及二化螟 *Chilo suppressalis* 表现出较高的毒杀活性（Ma *et al.*，2010）。喜树碱与苏云金芽孢杆菌 *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* 或核型多角体病毒混用可增强对粉纹夜蛾 *Trichoplusia ni* 及甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* 的毒杀及侵染活性（Sun *et al.*，2012）。目前喜树碱对草地贪夜蛾相关研究较少。研究发现喜树碱对草地贪夜蛾卵巢细胞系 Sf9 具有抑制生长及凋亡诱导作用（Huang *et al.*，2013；Jiang *et al.*，2018）。我们前期采用混有喜树碱的人工饲料饲喂草地贪夜蛾幼虫，结果发现幼虫的生长发育受到显著抑制，且中肠组织结构受到严重破坏（Shu *et al.*，2021）。

昆虫肠道微生物是宿主昆虫的重要组成部分，在宿主昆虫整个生命周期中具有重要作用（周帆等，2020）。昆虫肠道微生物不仅参与调控宿主昆虫消化食物及交配繁殖等多种生理活动，同时在调节宿主昆虫的免疫系统抵御外界病原入侵、诱导宿主昆虫产生抗性、加速有害物质降解及调控宿主昆虫的行为活动等方面发挥着重要作用（吴晓露等，2019；周帆等，2020）。当前已有研究关注于草地贪夜蛾肠道微生物。研究发现变形菌门 Proteobacteria 和厚壁菌门 Firmicutes 是草地贪夜蛾肠道微生物最主要的细菌门，而拟杆菌门 Bacteroidetes 和放线菌门 Actinobacteria 比例较低（Gichuhi *et al.*，2020）。草地贪夜蛾肠道微生物受多种因素影响。例如，草地贪夜蛾前肠和中肠微生物群落之间存在明显差异，表明不同肠道微生物在同一宿主的定殖位置不同（Jones *et al.*，2019）。草地贪夜蛾肠道微生物群落滴度与其发育阶段有关，幼虫虫体越大肠道微生物菌群越多；同时幼虫与成虫之间细菌微生物多样性同样存在差异，部分重要的幼虫细菌群在变态发育过程中发生丢失（Mason *et al.*，2020；Gichuhi *et al.*，2020）。此外，不同寄主植物对草地贪夜蛾中肠细菌群落具有显著影响，其中取食大豆的草地贪夜蛾幼虫肠道细菌群落比取食玉米的幼虫肠道菌群更多样化（Jones *et al.*，2019）。田间杀虫剂选择压力下的草地贪夜蛾幼虫肠道微生物群落比实验室筛选的抗性种群的幼虫肠道微生物更丰富，同

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

时存在多种能够代谢杀虫剂的肠道细菌（Gomes *et al.*，2020）。然而，目前关于植物次生代谢产物对草地贪夜蛾肠道微生物的影响少有报道。本研究采用 Illumina Miseq 高通量测序技术分析喜树碱处理对草地贪夜蛾幼虫中肠细菌群落组成和多样性的影响，为后续深入探究草地贪夜蛾肠道细菌与杀虫剂代谢和抗性提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

草地贪夜蛾实验室种群采自于广东省广州市从化区玉米种植田，于人工培养箱内以人工饲料连续饲养 15 代以上。饲养条件如下：温度 25℃ ± 1℃，相对湿度 70% ±5%，光周期 12 L∶12 D。选取 4 龄幼虫作为供试昆虫。

1.2 供试药剂

喜树碱（纯度为 99.79%）购于上海蓝木化工有限公司；二甲基亚砜（DMSO）购于北京索莱宝生物科技有限公司；土壤 DNA 提取试剂盒 E. Z. N. A.© soil DNA Kit 购于美国 Omega Biotek 公司；胶回收试剂盒 AxyPrep DNA Gel Extraction Kit 购于美国 Axygen Biosciences 公司；NEXTFLEX Rapid DNA-Seq Kit 购于美国 Bioo Scientific 公司。

1.3 喜树碱处理及幼虫中肠内容物收集

喜树碱溶于 DMSO 后制备为 5×10^3 μg/mL 母液。取适量母液加入人工饲料进行混匀，然后加入琼脂粉溶液进行定型，最终制备成终浓度为 1 mg/kg 的加药人工饲料。对照组人工饲料加入等量的 DMSO。随机选取生长一致的 4 龄幼虫进行不同饲料的饲喂。饲喂 3 天后用 75% 乙醇溶液对虫体进行消毒，然后无菌水清洗。在超净工作台中进行虫体解剖，同时用灭菌离心管收集中肠内容物。每个处理进行 3 次生物学重复，每 20 头虫的肠道内容物作为一个重复。

1.4 幼虫肠道内容物 DNA 提取及 PCR 扩增

采用 E. Z. N. A.© soil DNA Kit，参照操作说明书提取不同处理组幼虫肠道内容物 DNA。使用紫外超微量核酸蛋白仪 NanoDrop 2000（赛默飞公司，美国）检测 DNA 的浓度及纯度。以提取的 DNA 为模板进行细菌 16S rRNA V3-V4 区域 PCR 扩增。扩增所采用的通用引物为 338F（5′-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3′）及 806R（5′-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3′）。具体 20 μL PCR 反应体系如下：5 × *TransStart* Fast Pfu buffer 4 μL，2.5 mM dNTPs 2 μL，上下游引物各 0.8 μL，*TransStart* Fast Pfu DNA Polymerase 0.4 μL，模板 DNA 10 ng，最后加 ddH_2O 补足 20 μL。PCR 反应程序为：热启动 95℃，3 min；95℃ 30 s，55℃ 30 s，72℃ 45 s，27 个循环；然后 72℃ 延伸 10 min；最后 4℃ 保存。PCR 反应重复 3 次。最后 PCR 产物采用 2% 的琼脂糖凝胶进行电泳检测及 AxyPrep DNA Gel Extraction Kit 进行 DNA 条带的纯化回收。

1.5 Illumina 测序及序列分析

将回收的 PCR 产物送上海美吉生物医药科技有限公司 Illumina Miseq 平台进行双端测序。首先采用 NEXTFLEX Rapid DNA-Seq Kit 进行建库，然后将构建的文库于 Miseq PE300/NovaSeq PE250 平台进行测序。测序完成后，使用 fastp 软件（https://github.com/OpenGene/fastp，version 0.20.0）对原始测序序列进行质控，使用 FLASH（http://www.cbcb.umd.edu/software/flash，version 1.2.7）软件进行拼接。使用 UPARSE 软件（http://drive5.com/uparse/，version 7.1），在 97% 的相似度水平对序列进行 OTU 聚类并剔除嵌合体。利用 RDP classifier（http://rdp.cme.msu.edu/，version 2.2）及 Silva 16S rRNA 数据库（v138）对每条序列进行物种分类注释，设置比对阈值为 70%。

2 结果与分析

2.1 序列拼接组装及 OUT 聚类分析

对 6 个草地贪夜蛾幼虫中肠内容物样本进行 16S rDNA 高通量测序，共获得 295 028 条有效 reads，且序列平均长度为 424.70 bp，具体各个样本详细测序数据见表 1。在 97% 相似水平对 reads 进行聚类分析共得到 262 个 OUTs。进一步对 OUT 注释，结果表明草地贪夜蛾中肠细菌被分类为 17 个门 35 个纲 80 个目 123 个科 191 个属 246 种。从对照组的草地贪夜蛾中肠内容物样本中共得到 143 370 条 reads，聚类分析得到 207 个 OUTs。进一步注释分析发现细菌被注释到 14 个门 31 个纲 70 个目 101 个科 151 个属196 种。喜树碱处理的草地贪夜蛾幼虫中肠内容物样本经测序共得到 151 658 个 reads，聚类分析得到 172 个 OUTs，注释到 15 个门 26 个纲 54 个目 85 个科 133 个属 167 个种。

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 1　草地贪夜蛾幼虫中肠内容物 16S rDNA 测序原始数据

Table 1　16S rDNA sequencing raw data of the midgut contents of *Spodoptera frugiperda* larvae

样品	原始序列数目（条） Item	平均长度（bp） Average length	最小长度（bp） Minimum length	最大长度（bp） Maximal length
CK1	52 362	428.43	220	432
CK2	45 987	428.80	259	431
CK3	45 021	428.63	277	432
CPT1	55 166	423.62	392	432
CPT2	49 168	427.60	209	431
CPT3	47 324	424.36	401	432

注：CK，对照组；CPT，喜树碱处理组。Note：CK，Control group；CPT，Camptothecin treatment group.

2.2　喜树碱对草地贪夜蛾中肠细菌群落组成的影响

在草地贪夜蛾中肠内容物细菌注释的 18 个门中，厚壁菌门 Firmicutes 和变形菌门 Proteobacteria 为所有样品中的优势菌群。厚壁菌门 Firmicutes 在所有样品中丰度最高，对照组草地贪夜蛾中肠细菌群落中厚壁菌门 Firmicutes 占 95.35%，而喜树碱处理后厚壁菌门 Firmicutes 所占比例显著下降，为 80.54%。变形菌门 Proteobacteria 在对照组草地贪夜蛾中肠细菌群落中占 3.83%，而喜树碱处理后变形菌门 Proteobacteria 比例显著增加，为 18.34%（表 2）。

表 2　喜树碱对草地贪夜蛾中肠细菌群落优势菌门的影响

Table 2　Effect of camptothecin on the dominant phyla of the midgut bacterial community in *Spodoptera frugiperda* larvae

门 Phylum	相对丰度（%） Relative abundance	
	对照组（CK）	喜树碱处理组（CPT）
厚壁菌门 Firmicutes	95.35 ± 1.51**	80.54 ± 3.52
变形菌门 Proteobacteria	3.83 ± 1.17	18.34 ± 4.67**

从属水平分析，肠球菌属 *Enterococcus*、乳杆菌属 *Lactonacillus*、醋菌属 *Acetobacter*、不动细菌属 *Acinetobacter*、葡糖桿菌属 *Gluconobacter*、短波单胞菌属 *Brevundimonas*、嗜麦芽窄食单胞菌 *Stenotrophomonas* 为草地贪夜蛾中肠优势细菌属。统计分析结果表明肠球菌属 *Enterococcus*、乳杆菌属 *Lactonacillus* 占各样品微生物群落比例最高，但是喜树碱处理后两属细菌之间所占整个细菌群落比例无显著性差异。此外，统计分析结果表明其他属在两种处理之间也无显著性差异（图 1）。

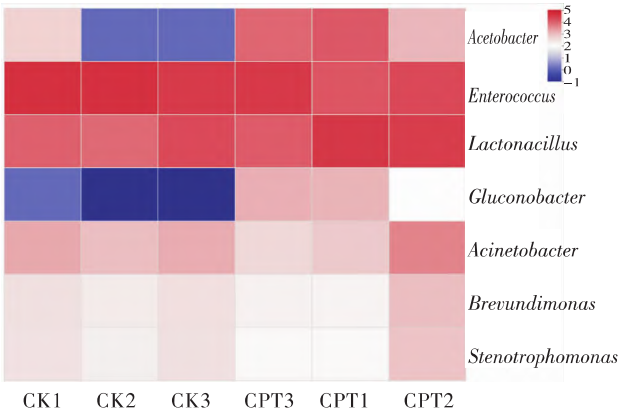

图 1　不同样品中属水平细菌群落热图

Fig. 1　Community heatmap analysis on genus level in different samples

注：CK，对照组；CPT，喜树碱处理组。Note：CK，control group；CPT，camptothecin treatment group. 肠球菌属，*Enterococcus*；乳杆菌属，*Lactonacillus*；醋菌属，*Acetobacter*；不动细菌属，*Acinetobacter*；葡糖桿菌属，*Gluconobacter*；短波单胞菌属，*Brevundimonas*；嗜麦芽窄食单胞菌，*Stenotrophomonas*.

从物种水平上分析发现正常人工饲料饲喂的草地贪夜蛾幼虫中肠细菌种数为 196 种，而喜树碱处理后中肠细菌物种数相对减少为 167 种。Veen 图分析发现 117 种细菌为两者共有的物种，而有 79 种细菌为正常人工饲料饲喂的草地贪夜蛾幼虫特有物种，另外有 50 种细菌为喜树碱处理后草地贪夜蛾幼虫特有物种（图 2）。

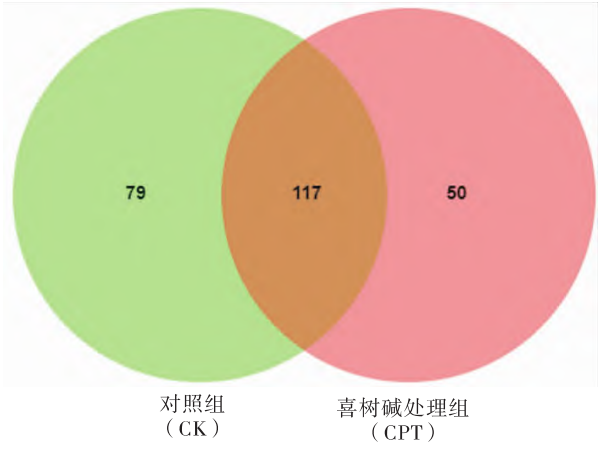

图 2　不同处理组间细菌物种 Veen 图分析

Fig. 2　Veen diagram analysis of bacterial species between control and CPT treatment groups

注：CK，对照组；CPT，喜树碱处理组。Note：CK，control group；CPT，camptothecin treatment group.

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

在对照组中丰度前 10 位的物种为：蒙氏肠球菌 *Enterococcus mundtii*（72.90%），短乳杆菌 *Lactobacillus brevis*（22.06%），不动杆菌 *Acinetobacter*（2.12%），寡养单胞菌 *Stenotrophomonas*（0.36%），植物乳酸杆菌 *Lactobacillus plantarum*（0.28%），巴氏醋杆菌 *Acetobacter pasteurianus*（0.24%），泡囊短波单胞菌 *Brevundimonas vesicularis*（0.24%），未知菌 Saccharimonadaceae（0.17%），红平红球菌 *Rhodococcus erythropolis*（0.15%），及缺陷假单胞菌 *Brevundimonas bullata*（0.13%）。而喜树碱处理组中蒙氏肠球菌 *E. mundtii* 丰度明显下降，仅占 26.80%；而短乳杆菌 *L. brevis*（36.08%），巴氏醋杆菌 *A. pasteurianus*（22.03%），不动杆菌 *Acinetobacter*（6.90%），弗拉脱氏葡糖杆菌 *Gluconobacter frateurii*（1.48%），寡养单胞菌 *Stenotrophomonas*（1.03%），泡囊短波单胞菌 *B. vesicularis*（0.77%），未知菌 *Saccharimonadaceae*（0.55%），缺陷假单胞菌 *B. bullata*（0.44%），红平红球菌 *R. erythropolis*（0.38%）丰度明显升高（图 3）。上述结果表明喜树碱显著改变草地贪夜蛾幼虫中肠细菌群落组成。

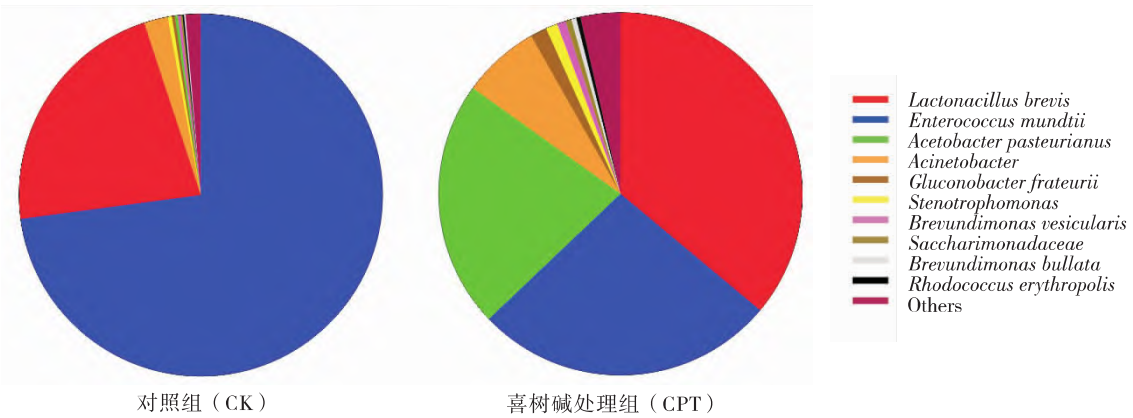

图 3 喜树碱处理后草地贪夜蛾幼虫肠道细菌主要物种丰度比例变化

Fig. 3 Proportions of the main bacteria species in the midgut of *Spodoptera frugiperda* fed on different diets

注：CK，对照组；CPT，喜树碱处理组。Note: CK, Control group; CPT, Camptothecin treatment group.

2.3 喜树碱对草地贪夜蛾幼虫肠道细菌多样性分析

2.3.1 Alpha 多样性分析

草地贪夜蛾中肠细菌组成 Alpha 多样性分析结果发现喜树碱处理组 Shannon 指数显著高于对照组，表明喜树碱处理组草地贪夜蛾幼虫中肠细菌群落多样性高于对照组。此外，喜树碱处理组 Simpson 指数显著低于对照组，表明喜树碱改变了幼虫中肠优势菌种的集中程度。同时喜树碱处理组 ACE 和 Chao 指数均低于对照组，但差异不显著，表明喜树碱处理组幼虫中肠群落丰富度略低于对照组（表 3）。

表 3 喜树碱对草地贪夜蛾幼虫肠道细菌 α 多样性指数的影响

Table 3 Alpha diversity indices of midgut bacteria in larvae of *Spodoptera frugiperda* affected by CPT

样品 Samples	Shannon 指数 Shannon index	Simpson 指数 Simpson index	ACE 指数 ACE index	Chao 指数 Chao index	覆盖度（%） Coverage
CK1	0.83	0.63	205.09	196.28	99.91
CK2	0.61	0.70	166.45	170.50	99.93
CK3	1.02	0.47	129.61	123.77	99.94
CPT1	1.18	0.39	81.68	77.47	99.98
CPT2	1.44	0.37	149.43	148.56	99.96
CPT3	1.141	0.43	127.36	114.62	99.93

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2.3.2　Beta 多样性分析

采用 Hierarchical clustering 算法对 6 个样品进行门水平层级聚类分析，结果表明 CK1、CK2 及 CK3 聚在一支，而喜树碱处理组样品 CPT1、CPT2 及 CPT3 也成功聚在另一支（图 4-A）。上述结果表明喜树碱处理改变了草地贪夜蛾中肠细菌群落，从而导致两组样品聚类在不同的分支。PCA 分析结果与表明 CK1、CK2 及 CK3 中细菌群落聚在一起，说明对照组 3 个生物学重复之间细菌群落一致性较高。而喜树碱处理组 3 个生物学重复与对照组完全分开，且相对较为分散（图 4-B）。上述说明喜树碱处理组细菌群落多样性与对照组之间存在差异，同时喜树碱处理组 3 个生物学重复之间也可能存在一定的细菌群落差异性。PCoA 分析结果与层级聚类和 PCA 分析结果一致（图 4-C）。上述结果表明喜树碱处理后草地贪夜蛾幼虫中肠细菌群落组成与对照组相比存在显著差异。

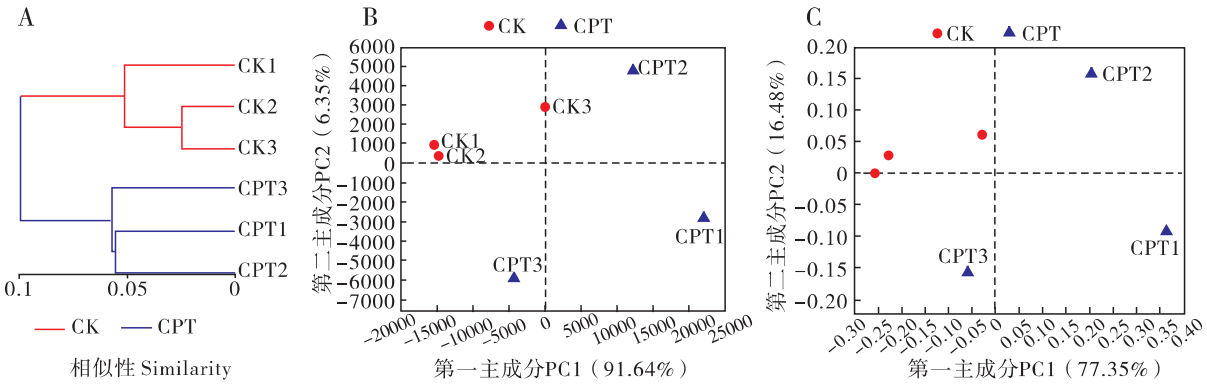

图 4　草地贪夜蛾幼虫中肠细菌群落 Beta 多样性分析

Fig. 4　Beta diversity analysis of the midgut bacterial community of *Spodoptera frugiperda* larvae

注：A，门水平层次聚类分析；B，所有样品 OUT 水平 PCA 分析；C，所有样品 OTU 水平 PCoA 分析。CK，对照组；CPT，喜树碱处理组。Note: A, Hierarchical clustering tree on Phylum level; B, Result of PCA analysis on OTU level in all the samples; C, Result of PCA analysis on OTU level in all the samples. CK, Control group; CPT, Camptothecin treatment group.

3　结论与讨论

昆虫的肠道微生物在昆虫整个生命历期的多种生命过程中具有重要的调控作用。作为一种高杂食性和重要粮食作物害虫，草地贪夜蛾肠道微生物也越来越受关注。本研究采用 16S rDNA 高通量测序技术对草地贪夜蛾幼虫中肠细菌群落组成进行了分析，通过聚类分析得到 262 个 OTUs，注释到 17 个门 35 个纲 80 个目 123 个科 191 个属 246 种细菌。而前期 Gichuhi 等（2020）通过 16S rDNA 高通量测序将原始序列聚类得到 1 796 个 OTUs，远超本研究得到的 OUT 数量。造成 OUT 数量差距的原因可能与草地贪夜蛾取食的材料不同有关。本研究采用的是人工饲料饲喂的草地贪夜蛾，而 Gichuhi 等则是取食大田玉米的草地贪夜蛾。本研究进一步证实取食的材料是影响昆虫肠道微生物组成的重要因素。通过对细菌群落组成进行分析发现厚壁菌门 Firmicutes 和变形菌门 Proteobacteria 为草地贪夜蛾中肠细菌群落中的主要优势菌门，与 Gichuhi 等（2020）分析结果一致。同时研究发现甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua*，落叶松毛虫 *Dendrolimus superans* 以及舞毒蛾 *Lymantria dispar* 中的优势菌门同样为厚壁菌门 Firmicutes 和变形菌门 Proteobacteria，推测两个门的细菌在夜蛾科昆虫肠道中发挥重要作用（Gao *et al.*，2019；Zeng *et al.*，2020a）。此外也有研究报道草地贪夜蛾肠道微生物中放线菌门 Actinobacteria 和未培养菌门 Uncultured bacteria 为优势菌门，两个门在肠道微生物中所占比例分别为 37.41% 和 19.80%，而厚壁菌门 Firmicutes 和变形菌门 Proteobacteria 仅占 1.68% 和 0.23%（Rozadilla *et al.*，2020）。推测产生这种差异的原因可能有两个：一是采集的草地贪夜蛾地理位置存在差异；二是测序方法不一致。本研究采用 16S rDNA 测序，而 Rozadilla 等（2020）则采用的是宏转录组测序。

同时研究发现植物防御物质和农药不仅调控鳞翅目昆虫肠道形态和消化酶活性，而且对昆虫

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

肠道微生物也有一定的调控作用（Zeng *et al.*，2020a）。例如，采用尼古丁或乌头碱处理后的落叶松 *Larix gmelinii* 和旱柳 *Salix matsudana* 后分别饲喂落叶松毛虫 *D. superans* 以及舞毒蛾 *L. dispar* 幼虫，结果表明尼古丁或乌头碱显著影响两种昆虫幼虫肠道中的优势菌群及丰度（Zeng *et al.*，2020a）。此外，辛硫磷处理的桑叶饲喂家蚕 *Bombyx mori* 幼虫不同时间，家蚕体重在 72 h 后显著降低，同时幼虫肠道细菌群落组成及结构均发生显著改变。其中辛硫磷处理组甲基杆菌属和金黄色葡萄球菌属比对照组显著降低，而一些非优势菌属葡萄状球菌显著增加（Li *et al.*，2020）。使用阿维菌素喷雾法处理舞毒蛾幼虫，24 h 后收集肠道内容物并测序。结果表明阿维菌素显著改变舞毒蛾幼虫肠道细菌群落组成及多样性，表现为 61.11% 的肠道细菌丰度在阿维菌素处理组和对照组之间表现出显著差异，且 9 个分别存在于阿维菌素处理组和对照组的细菌属导致幼虫肠道多样性发生改变（Zeng *et al.*，2020b）。作为一种植物源化合物，低浓度喜树碱对草地贪夜蛾具有显著的生长抑制作用（Shu *et al.*，2021）。在农业生产中可通过喜树碱与其它化学农药进行混配，增强化学药剂的防治效果及延缓草地贪夜蛾抗药性的发生与发展，具体的方案需要进一步研究。本研究采用混药法将喜树碱混合于草地贪夜蛾人工饲料并饲喂幼虫，收集肠道内容物进行 16S rDNA 测序。结果表明喜树碱显著改变草地贪夜蛾幼虫细菌群落组成和多样性。与对照组相比，喜树碱处理组厚壁菌门 Firmicutes 丰度显著降低，而变形菌门 Proteobacteria 显著升高。此外，种水平研究发现主要的细菌物种丰度受喜树碱影响较大。同时 Alpha 和 Beta 多样性分析结果表明喜树碱处理后显著改变草地贪夜蛾幼虫中肠细菌群落多样性。有研究表明植物防御物质通过与草地贪夜蛾肠道微生物相互作用改变肠道围食膜（peritrophic matrix，PM）的功能（Mason *et al.*，2019）。结合喜树碱处理抑制草地贪夜蛾幼虫生长发育及改变肠道结构等结果，推测喜树碱同样可能通过改变草地贪夜蛾幼虫中肠细菌群落来改变中肠结构，导致其对营养物质的消化吸收造成不利影响，但具体机制有待进一步探究。

本研究通过 16S rDNA 测序对草地贪夜蛾幼虫中肠内容物细菌群落进行分析。同时采用多种方法分析了喜树碱处理对草地贪夜蛾幼虫中肠细菌群落的组成和多样性的影响。本研究为进一步丰富草地贪夜蛾幼虫肠道微生物群落数据信息及探究喜树碱对草地贪夜蛾的作用机制提供一定的理论依据。

参考文献（References）

Gao X，Li W，Luo J，*et al.* Biodiversity of the microbiota in *Spodoptera exigua*（Lepidoptera：Noctuidae）[J]. *Journal of Applied Microbiology*，2019，126（4）：1199－1208.

Gichuhi J，Sevgan S，Khamis F，*et al.* Diversity of fall armyworm，*Spodoptera frugiperda* and their gut bacterial community in Kenya [J]. *PeerJ*，2020，8：e8701.

Gomes AFF，Omoto C，Consoli FL. Gut bacteria of field-collected larvae of *Spodoptera frugiperda* undergo selection and are more diverse and active in metabolizing multiple insecticides than laboratory-selected resistant strains [J]. *Journal of Pest Science*，2020，93（2）：833－851.

Guan F，Zhang J，Shen H，*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.

Guo JF，He KL，Wang ZY. Biological characteristics，trend of fall armyworm *Spodoptera frugiperda*，and the strategy for management of the pest [J]. *Chinese Journal of Applied Entomology*，2019，56（3）：361－369.［郭井菲，何康来，王振营. 草地贪夜蛾的生物学特性、发展趋势及防控对策 [J]. 应用昆虫学报，2019，56（3）：361－369］

Huang J，Lv C，Hu M，*et al.* The mitochondria-mediate apoptosis of lepidopteran cells induced by azadirachtin [J]. *PLoS ONE*，2013，8（3）：e58499.

Jiang Z，Zhang Z，Cui G，*et al.* DNA Topoisomerase 1 structure-based design，synthesis，activity evaluation and molecular simulations study of new 7-amide camptothecin derivatives against *Spodoptera frugiperda* [J]. *Frontiers in Chemistry*，2018，6：456.

Jones AG，Mason CJ，Felton GW，*et al.* Host plant and population source drive diversity of microbial gut communities in two polyphagous insects [J]. *Scientific Reports*，2019，9（1）：2792.

Lee JY，Hiyama M，Hikosaka S，*et al.* Effects of concentration and temperature of nutrient solution on growth and camptothecin accumulation of *Ophiorrhiza pumila* [J]. *Plants*，2020，9（6）：E793.

Li F，Li M，Mao T，*et al.* Effects of phoxim exposure on gut microbial composition in the silkworm，*Bombyx mori* [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*，2020，189：110011.

Liang P，Gu SH，Zhang L，*et al.* Research status and prospects of *Spodoptera frugiperda*（Lepidoptera：Noctuidae）in China [J]. *Acta Entomologica Sinica*，2020，63（5）：624－638.［梁沛，谷少华，张雷，等. 我国草地贪夜蛾的生物学、生态学和防治研究概况与展望 [J]. 昆虫学报，2020，63（5）：624－638］

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

Liao YL, Li YF, Yang B, *et al*. Comparative analysis of the transcriptomes of male adult and the 5th instar larva of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2020, 63 (5): 523 – 532. [廖永林, 李燕芳, 杨斌, 等. 草地贪夜蛾雄性成虫和5龄幼虫的转录组比较分析 [J]. 昆虫学报, 2020, 63 (5): 523 – 532]

Lu YH, Tian JC, Zheng XS, *et al*. Laboratory toxicity of 26 insecticides against different instar larvae of *Spodoptera frugiperda* [J]. *Acta Agriculturae Zhejianggensis*, 2019, 31 (12): 2049 – 2056. [鲁艳辉, 田俊策, 郑许松, 等. 二十六种杀虫剂对不同龄期草地贪夜蛾幼虫的室内毒力 [J]. 浙江农业学报, 2019, 31 (12): 2049 – 2056]

Ma J, Tong S, Wang P, *et al*. Insecticidal activity of camptothecin against *Nilaparvata lugens*, *Brevicoryne brassicae*, and *Chilo suppressalis* [J]. *Journal of Economic Entomology*, 2010, 103 (2): 492 – 496.

Mason CJ, Ray S, Shikano I, *et al*. Plant defenses interact with insect enteric bacteria by initiating a leaky gut syndrome [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2019, 116 (32): 15991 – 15996.

Mason CJ, St Clair A, Peiffer M, *et al*. Diet influences proliferation and stability of gut bacterial populations in herbivorous lepidopteran larvae [J]. *PLoS ONE*, 2020, 15 (3): e0229848.

Montezano DG, Specht A, Sosa-Gómez DR, *et al*. Host plants of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas [J]. *African Entomology*, 2018, 26 (2): 286 – 301.

Rozadilla G, Cabrera NA, Virla EG, *et al*. Gut microbiota of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) larvae as revealed by metatranscriptomic analysis [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2020, 144 (5): 351 – 363.

Shu B, Zou Y, Yu H, *et al*. Growth inhibition of *Spodoptera frugiperda* larvae by camptothecin correlates with alteration of the structures and gene expression profiles of the midgut [J]. *BMC Genomics*, 2021, 22: 391.

Sun S, Cheng Z, Fan J, *et al*. The utility of camptothecin as a synergist of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* and nucleopolyhedroviruses against *Trichoplusia ni* and *Spodoptera exigua* [J]. *Journal of Economic Entomology*, 2012, 105 (4): 1164 – 70.

Wang L, Chen KW, Zhong GH, *et al*. Progress for occurrence and management and the strategy of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (Smith) [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2019, 41 (3): 479 – 487. [王磊, 陈科伟, 钟国华, 等. 重大入侵害虫草地贪夜蛾发生危害、防控研究进展及防控策略探讨 [J]. 环境昆虫学报, 2019, 41 (3): 479 – 487]

Wang R, Jiang C, Guo X, *et al*. Potential distribution of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) in China and the major factors influencing distribution [J]. *Global Ecology and Conservation*, 2020, 21: e00865.

Wang XD, Bian SN, Chang PJ, *et al*. The effects of different nitrogen sources on camptothecin content and related gene expression in *Camptotheca acuminata* seedlings [J]. *Journal of Forest Research*, 2019, 31 (4): 1347 – 1357.

Wu XL, Xia XF, Chen JH, *et al*. Effects of different diets on the diversity of larval gut bacteria of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2019, 62 (10): 1172 – 1185. [吴晓露, 夏晓峰, 陈俊晖, 等. 取食不同食物对小菜蛾幼虫肠道细菌多样性的影响 [J]. 昆虫学报, 2019, 62 (10): 1172 – 1185]

Wu ZW, Li Y, Xu J, *et al*. Control efficacy of tebufenozide and emamectin benzoate against *Spodoptera frugiperda* both under the lab and crop field conditions [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2019, 41 (5): 968 – 973. [吴正伟, 李运, 徐进, 等. 虫酰肼和甲维盐对甜玉米草地贪夜蛾的生物活性及田间防效 [J]. 环境昆虫学报, 2019, 41 (5): 968 – 973]

Zeng JY, Wu DD, Shi ZB, *et al*. Influence of dietary aconitine and nicotine on the gut microbiota of two lepidopteran herbivores [J]. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 2020a, 104 (3): e21676.

Zeng JY, Vuong TM, Shi JH, *et al*. Avermectin stress varied structure and function of gut microbial community in *Lymantria dispar asiatica* (Lepidoptera: Lymantriidae) larvae [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2020b, 164: 196 – 202.

Zhao S, Sun X, Zhang H, *et al*. Laboratory test on the control efficacy of common chemical insecticides against *Spodoptera frugiperda* [J]. *Plant Protection*, 2019, 45 (3): 10 – 14. [赵胜园, 孙小旭, 张浩文, 等. 常用化学杀虫剂对草地贪夜蛾防效的室内测定 [J]. 植物保护, 2019, 45 (3): 10 – 14]

Zhao YX, Huang JM, Ni H, *et al*. Susceptibility of fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smmith), to eight insecticides in China, with special reference to lambda – cyhalothrin [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2020, 168: 104623.

Zheng Q, Wang YQ, Tan YT, *et al*. Bioactivity of spinetoram and its field efficiency against *Spodoptera frugiperda* [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2019, 41 (6): 1169 – 1174. [郑群, 王勇庆, 谭煜婷, 等. 乙基多杀菌素悬浮剂对草地贪夜蛾的生物活性及田间防效 [J]. 环境昆虫学报, 2019, 41 (6): 1169 – 1174]

Zhou C, Wang L, Price M, *et al*. Genomic features of the fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) (J. E. Smith) yield insights into its defense system and flight capability [J]. *Entomological Research*, 2020, 50 (2): 100 – 112.

Zhou F, Pang ZC, Yu XQ, *et al*. Insect gut microbiota research: Progress and applications [J]. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2020, 57 (3): 600 – 607. [周帆, 庞志倡, 余小强, 等. 昆虫肠道微生物的研究进展和应用前景 [J]. 应用昆虫学报, 2020, 57 (3): 600 – 607]

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net