



程露强, 靳雯怡, 郭琳, 方分分, 陈新中, 秦后联, 徐建祥, 张寰. 草地贪夜蛾核型多角体病毒对我国草地贪夜蛾不同地理种群毒力的比较分析 [J]. 环境昆虫学报, 2022, 44 (3): 538–547.

草地贪夜蛾核型多角体病毒对我国草地贪夜蛾不同地理种群毒力的比较分析

程露强^{1,2}, 靳雯怡^{2,4}, 郭琳², 方分分³, 陈新中³,
秦后联², 徐建祥¹, 张寰^{2*}

(1. 扬州大学园艺与植物保护学院, 江苏扬州 225009; 2. 中国科学院动物研究所农业虫害鼠害综合治理研究国家重点实验室, 北京 100101; 3. 河南济源白云实业有限公司, 河南济源 454652; 4. 河北大学生命科学学院, 河北保定 071002)

摘要: 草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) 入侵我国多个地区, 逐渐形成地理种群。在草地贪夜蛾核型多角体病毒 *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus (SfMNPV) 生物农药的生产过程中发现, 不同地理来源的宿主对 SfMNPV 的敏感性和产量存在明显差异, 显著影响了 SfMNPV 的生产效率。为解析其敏感性差异及其产生的原因, 本研究首先对云南德宏、广东广州、广西钦州、西藏林芝 4 个地区草地贪夜蛾种群基因型进行了鉴定, 采用生物测定法测试 SfMNPV 对 4 龄幼虫的口服毒力, 然后, 通过向幼虫体内注射草地贪夜蛾核型多角体病毒出芽型病毒粒子 (budded virions, BVs) 的方式, 越过口服感染中肠的过程, 分析敏感性差异发生的阶段。最后比较高敏感和低敏感种群中肠肠液 pH, 并基于 16S rDNA 测序测定了肠道菌群组成。结果表明, 广西种群属于纯合玉米型, 其余种群为带有水稻型 *COI* 标记的杂合玉米型。广西种群对 SfMNPV 的口服敏感性最低, 西藏种群的敏感性最高, 但两者注射 BV 后死亡率差异无统计学意义, 暗示病毒敏感性差异发生在口服感染阶段。广西种群中肠 pH 略低于西藏种群, 并且较于西藏种群, 广西种群相肠道乳杆菌 *Lactobacillus* 丰度高。本文结果表明, 肠道微环境的差异可能是不同地理种群草地贪夜蛾对 SfMNPV 口服敏感性产生差异的原因。

关键词: 草地贪夜蛾; 地理种群; 基因型; SfMNPV; 敏感性; 肠道微环境

中图分类号: Q965.9; S433

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858 (2022) 03-0538-10

Comparative analysis of virulence of *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus to different geographical populations of *Spodoptera frugiperda* in China

CHENG Lu-Qiang^{1,2}, JIN Wen-Yi^{2,4}, GUO Lin², FANG Fen-Fen³, CHEN Xin-Zhong³, QIN Qi-Lian², XU Jian-Xiang⁴, ZHANG Huan^{2*} (1. College of Horticulture and Plant Protection, Yangzhou University, Yangzhou 225009, Jiangsu Province, China; 2. State Key Laboratory of Integrated Management of Pests and Rodents, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China; 3. Henan Jiyuan Baiyun Industry Co. Ltd., Jiyuan 454652, Henan Province, China; 4. College of Life Sciences, Hebei University, Baoding 071002, Hebei Province, China)

Abstract: *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) has invaded many regions of China and gradually formed different geographical populations. In order to understand the sensitivity differences of *S. frugiperda* in

基金项目: 国家重点研发计划 (2017YFD0201700); 中国科学院重点部署项目 (KJZD-SW-L07)

作者简介: 程露强, 男, 1995 年生, 安徽合肥人, 硕士, E-mail: chenglq1995@gmail.com

* 通讯作者 Author for correspondence: 张寰, 女, 博士, 副研究员, 研究方向为昆虫细胞与昆虫病毒学, E-mail: zhanghuan@ioz.ac.cn

收稿日期 Received: 2021-09-26; 接受日期 Accepted: 2021-11-18

different geographical populations to *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus (SfMNPV), *COI* and *Tpi* molecular markers were used to determine the genotypes of *S. frugiperda* populations in Dehong in Yunnan, Guangzhou in Guangdong, Qinzhou in Guangxi, and Linzhi in Tibet. Then the oral toxicity of SfMNPV to the 4th instar larvae was tested by bioassay, and the occurrence stage of sensitivity difference was analyzed by injecting budded virus (BVs) into the larvae by passing the oral infection. Finally, the pH of intestinal fluid in highly sensitive and low sensitive populations was compared, and the composition intestinal flora was analyzed based on 16S rDNA sequencing. The results showed that Guangxi population belonged to the homozygous maize type, and the other populations were heterozygous maize types with rice-type *COI* markers. Guangxi population had the lowest oral sensitivity to SfMNPV, and Tibetan population had the highest oral sensitivity, but there was no significant difference in mortality between the two populations after injection. The midgut pH of Guangxi population was slightly lower than that of Tibet population. *Lactobacillus* was the dominant bacteria in Guangxi population of *S. frugiperda*, and *Enterococcus* was the dominant bacteria in Tibet population. The results of this study suggested that intestinal microenvironment may be the reason for the difference in the sensitivity of *S. frugiperda* to SfMNPV in different geographical populations.

Key words: *Spodoptera frugiperda*; geographical population; genotype; SfMNPV; sensitivity; intestinal microenvironment

草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) 原产美洲热带和亚热带地区, 在巴西造成玉米 *Zea mays* L. 减产 34%, 年损失 40 亿美元 (Jing *et al.*, 2020)。自 2018 年底至 2020 年 8 月 31 日, 在全国 27 个省 1 338 个县 (全国农技推广网, 2020) 发现草地贪夜蛾, 对我国玉米等农作物构成严重威胁。由于对寄主植物的偏好不同, 草地贪夜蛾在原发地分化为玉米型和水稻型。目前, 分子标记是鉴定草地贪夜蛾不同亚型的主要手段, 其中来自于线粒体的细胞色素 C 氧化酶亚基 I 基因 (cytochrome c oxidase subunit I, *COI*) 以及位于 Z 染色体上的磷酸丙糖异构酶基因 (triose-phosphate isomerase, *Tpi*) 是最常用且最成熟的标记基因 (张磊等, 2019)。

草地贪夜蛾核多角体病毒 *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus (SfMNPV) 专一性侵染草地贪夜蛾, 制成病毒杀虫剂后, 具有无污染、环境友好、持效性长等优点, 是化学防治的良好补充。迄今为止, 国内外已从不同地区的草地贪夜蛾中分离到多个 SfMNPV 毒株, 虽然这些毒株核苷酸序列相似性高达 99.35% (Arive, 2014), 但这些分离株对草地贪夜蛾的毒力和感染宿主后的表型往往存在较大差异。例如, SfMNPV-6nd 毒株不会引起宿主表皮液化, 与高毒力毒株 SfMNPV-49 相比, 两毒株的 LC_{50} 差异不显著, 但 SfMNPV-6nd 杀死 2 龄幼虫所需的时间长于

SfMNPV-49 (Vieira *et al.*, 2012)。此外, 不同种群草地贪夜蛾对同一 SfMNPV 毒株的敏感性也不同。例如, 生物测定法评价 SfMNPV 对玉米型和水稻型草地贪夜蛾幼虫毒力的结果表明, 玉米型和水稻型草地贪夜蛾对 SfMNPV 表现出不同的敏感性水平 (Popham *et al.*, 2021)。这一现象在家蚕 *Bombyx mori* 与家蚕核型多角体病毒 *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus (BmNPV) (张远能等, 1982; 陈克平等, 1991)、甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* 与甜菜夜蛾核型多角体病毒 *Spodoptera exigua* multiple nucleopolyhedrovirus (SeMNPV) (李广宏等, 2006)、茶尺蠖 *Ectropis obliqua* 与茶尺蠖核型多角体病毒 *Ectropis obliqua* nucleopolyhedrovirus (EoNPV) (席羽等, 2011) 等其它鳞翅目昆虫在与杆状病毒的互动中也有发现和报道。

昆虫消化道是一个复杂的微环境, 包括食物、肠液以及肠道微生物菌群。核型多角体病毒 (nucleopolyhedrovirus, NPV) 只有在鳞翅目昆虫中肠的碱性环境和蛋白酶的作用下, 才能解离和释放包涵体来源型病毒粒子 (occlusion-derived virion, ODV) (Slack *et al.*, 2006; Rohrmann, 2019)。因此, 肠道微环境对宿主感染 NPV 有一定影响。殷灿 (2014) 发现, 随着溶剂 pH 升高, 美国白蛾核型多角体病毒 *Hyphantria cunea* nucleopolyhedrovirus (HcNPV) 包涵体 (occlusion bodies, OBs) 杀死宿主的时间 (LT_{50}) 逐渐缩短,

提示 HcNPV 包涵体的解离对宿主美国白蛾 *Hyphantria cunea* 感染速度和致病力均有影响。另有研究发现, 沃尔巴克氏菌 *Wolbachia* 可以提高甜菜夜蛾对 SeMNPV 的敏感性 (Graham *et al.*, 2012)。SeMNPV 感染增加了甜菜夜蛾幼虫的肠道菌群负荷, 增强了病毒的毒力和致病性 (Jakubowska *et al.*, 2013), 提示宿主的中肠微生物种类可影响宿主对 NPV 感染的敏感性。本文首先测定了我国 4 个地理种群草地贪夜蛾的基因型, 随后探讨了不同地理种群草地贪夜蛾肠道微环境对其对 SfMNPV 的敏感性的影响。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 供试昆虫

云南德宏、广东广州种群由中国科学院动物研究所昆虫病毒组提供, 广西钦州、西藏林芝种群由中国农业大学昆虫生理生化与毒理实验室高希武教授提供, 上述 4 个种群在河南济源白云实业有限公司建立草地贪夜蛾种群, 使用人工饲料在 25℃ 饲养。

1.1.2 供试病毒

供试病毒毒株于 2019 年从云南德宏州玉米田采集的草地贪夜蛾幼虫病死虫尸中分离, 经纯化、测序, 鉴定为 SfMNPV, 命名为 SfMNPV-KYc01, 现保藏于中国科学院动物研究所昆虫病毒组, 在济源白云实业有限公司保种并用于生物测定。

1.2 实验方法

1.2.1 草地贪夜蛾种群遗传多样性鉴定

分别收集建立室内种群 4 个种群的草地贪夜蛾 6 龄幼虫各 3 头的血细胞, 分别提取 DNA 用于 PCR 反应, 使用 PrimeSTAR[®] Max DNA Polymerase (Takara, 货号: R45Q) 进行 PCR 扩增, 使用 *COI* 引物 (5'-TTCGAGCTGAATTAGGGACTC-3'; 5'-GATGTAAAATATGCTCGTGT-3') 和 *Tpi* 引物 (5'-GGTGAAATCTCCCCTGCTATG-3'; 5'-AATTTTATTA CCTGCTGTGG-3') (张磊等, 2019), 每个 PCR 使用 50 μL 反应体系, 含 PrimeSTAR Max (2 ×) 25 μL, 20 pmol 引物和 70 ng 细胞 DNA 模板。PCR 扩增反应条件为在 94℃ 初始变性 2 min 后, 98℃ 10 s, 55℃ 5 s, 72℃ 5 s 进行 35 个循环, 最后一个循环进行 68℃ 延伸 5 min。所得产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测, 将电泳呈阳性的 PCR 产物送至

华大基因公司测序。

1.2.2 生物测定

SfMNPV 多角体使用血球计数板计数后, 使用浓度梯度稀释为以下 5 个浓度: 1.28×10^7 、 2.56×10^7 、 5.12×10^7 、 1.024×10^8 、 2.048×10^8 OBs/mL。

15 孔板养虫盒提前倒入融化的饲料, 制作饲料平板, 加入 100 μL 稀释好的病毒液, 空白对照加等量无菌去离子水, 涂布均匀, 再用已消毒的镊子将草地贪夜蛾 4 龄幼虫转移至已加入病毒的饲料平板内。每个浓度 60 头, 共 360 头。然后转移至温度 $26^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$, 相对湿度 $65\% \pm 5\%$ 的条件下继续培养。6 d 开始检查试虫死亡情况, 直至第 10 天。

1.2.3 添加荧光增白剂 FB28 或链霉素进行生物测定

荧光增白剂处理: 实验分为 3 组进行, CK0: 在人工饲料中添加 100 μL 2% FB28; CK1: 人工饲料中添加 100 μL 3.6×10^7 PIB/mL SfMNPV; 实验组: 人工饲料中添加 100 μL 含 2% FB28 和 3.6×10^7 PIB/mL 的 SfMNPV。取长势一致的广西和西藏种群草地贪夜蛾 4 龄初期幼虫, 分别接入上述 3 组人工饲料中, 3 个重复, 每个重复 10 头虫。第 6 天开始每天检查试虫死亡情况, 直至第 10 天。

链霉素处理: 在人工饲料中添加 100 μL 含 200 mg/L 链霉素和 5×10^7 PIB/mL SfMNPV, 对照不含链霉素, 接入长势一致的广西和西藏种群草地贪夜蛾 4 龄初期幼虫, 第 6 天开始每天检查试虫死亡情况, 直至第 10 天。

1.2.4 幼虫体内注射草地贪夜蛾出芽型病毒

SfMNPV 的 BV 由 Sf9 细胞扩增, 使用空斑计数法计数 BV 浓度。

取大小一致的广西和西藏草地贪夜蛾 4 龄幼虫在双蒸水中浸泡麻醉, 在幼虫腹足位置用微量采血吸管注射 5 μL SfMNPV BVs (2 700 PFU, plaque forming unit), 阴性对照组注射等量的细胞培养液, 置于 15 孔养虫盒内饲养, 3 个重复, 每重复 30 头。10 d 后检查试虫死亡率。

1.2.5 中肠肠液 pH 测定

参考 Haas-Stapleton *et al.* (2003) 中肠 pH 测定方法并稍作改进, 取广西和西藏种群草地贪夜蛾 5 龄幼虫, 用剪刀、解剖针和尖嘴镊剖开虫体, 剥去中肠组织, 将围食膜包裹的肠道内容物转移

至 1 mL 无菌双蒸水中, 吹打震荡使肠道内容物全部溶解在水里, 挑去围食膜碎片, 2 000 g 离心 10 min, 用 pH 计测量上清液 pH, 每个种群测量 30 次, 每次 1 头草地贪夜蛾幼虫。

1.2.6 肠道菌群 16S rDNA 测序

草地贪夜蛾广西和西藏种群各选择健康的草地贪夜蛾 6 龄幼虫 12 头, 浸泡于 75% 乙醇中消毒, 蒸馏水漂洗 3 次。在超净工作台上解剖其肠道内容物。每个种群设置 3 个样本, 每个样本 2 头虫, 共 6 个样本。于在 -80℃ 冰箱中保存备用。根据 E. Z. N. A. [®] soil DNA kit (Omega Bio-tek, Norcross, GA, U. S.) 说明书进行微生物群落总 DNA 抽提, PCR 扩增和 Illumina HiSeq 测序。以 16S rDNA 的 V3-V4 区域作为扩增和测序的目的片段, 引物序列为: 515F: 5'-ACTCCTACGGGAG GCAGCA-3', 806R: 5'-GGACTACHVGGGTWTCTA AT-3' (徐天梅等, 2020), 扩增程序如下: 95℃ 预变性 3 min, 27 个循环 (95℃ 变性 30 s, 55℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 30 s), 然后 72℃ 稳定延伸 10 min, 最后在 4℃ 进行保存 (PCR 仪: ABI GeneAmp[®] 9700 型)。PCR 反应体系为: 5 × TransStart FastPfu 缓冲液 4 μL, 2.5 mM dNTPs 2 μL, 上游引物 (5 μM) 0.8 μL, 下游引物 (5 μM) 0.8 μL, TransStart FastPfu DNA 聚合酶 0.4 μL, 模板 DNA 10 ng, 无菌去离子水补足至 20 μL。每个样本 3 个重复。文库构建及数据处理基于 Illumina HiSeq 测序平台, 利用双末端测序 (paired-end) 的方法, 构建小片段文库并进行测序。对原始数据进行拼接, 将拼接得到的序列进行质量过滤, 并去除嵌合体, 得到高质量的 tags 序列 (上海美吉生物医

药科技有限公司)。

1.3 数据处理

PCR 测序结果用 DNAMAN 9.0 和 NCBI 数据库下载草地贪夜蛾玉米型和水稻型 *COI* 和 *Tpi* 序列进行比对。

校正死亡率 (%) = (病毒处理组死亡率 - 对照组死亡率) / (100% - 对照组死亡率) × 100, 用 SPSS 22.0 对生物测定结果死亡率与浓度基于 Probit 回归模型计算 LC_{50} , 同样方法 Probit 回归分析接种最高病毒浓度下草地贪夜蛾幼虫死亡率与时间并计算 LT_{50} 。对注射 SfMNPV 的 BVs 后死亡率、草地贪夜蛾肠道 pH 值采用单因素方差分析差异显著性。

肠道微生物鉴定和多样性分析使用 Flash (v1.2.11) 进行 pair-end 双端序列拼接, Qiime (v1.9.1) 生成各分类丰度表, Uparse (v7.0) 对序列在 97% 的相似度水平下进行聚类、获得运算的分类单元 (Operational Taxonomic Units, OTUs), Usearch (v7.0) 进行 OTU 统计, 通过 PICRUST 对 OTU 丰度表进行标准化并基于 Silva (细菌) 和 UNITE (真菌) 分类学数据库对 OTU 进行分类学注释, RDP Classifier (v2.11) 进行序列分类注释。

2 结果与分析

2.1 草地贪夜蛾不同地理种群遗传多样性分析

COI 基因序列长度约 780 bp, *Tpi* 基因序列长度约 380 bp, 凝胶电泳检测如图 1 所示, 条带大小正确无杂带, 可用于后续测序验证。

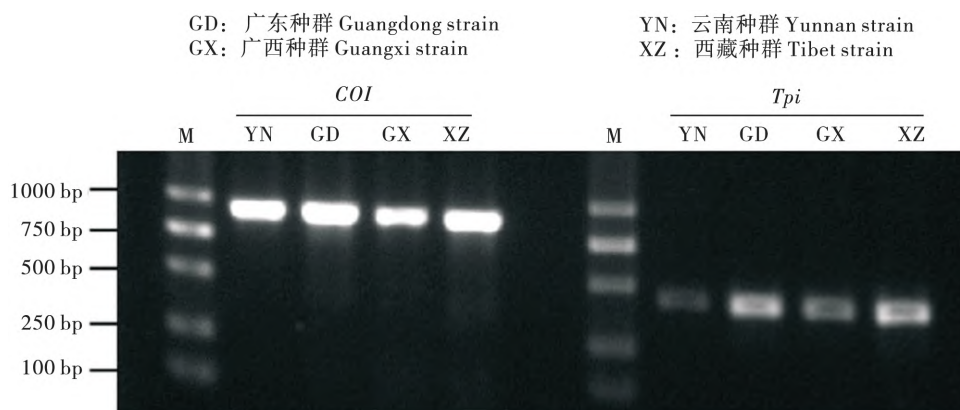


图 1 PCR 扩增草地贪夜蛾 *COI*、*Tpi* 部分序列

Fig. 1 PCR amplification of partial sequence of *COI* and *Tpi* of *Spodoptera frugiperda*

SfCOI_Rice	TTTATAACTACTATTGTAACAGCCCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTATAGTTATACCAATTATAAATTGGAGGATTGGGA	80
SfCOI_YN	TTTATAACTACTATTGTAACAGCCCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTATAGTTATACCAATTATAAATTGGAGGATTGGGA	80
SfCOI_GD	TTTATAACTACTATTGTAACAGCCCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTATAGTTATACCAATTATAAATTGGAGGATTGGGA	80
SfCOI_XZ	TTTATAACTACTATTGTAACAGCCCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTATAGTTATACCAATTATAAATTGGAGGATTGGGA	80
SfCOI_GX	TTTATAACTACTATTGTAACAGCCCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTATAGTTATACCAATTATAAATTGGAGGATTGGGA	80
SfCOI_Corn	TTTATAACTACTATTGTAACAGCCCATGCTTTTATTATAATTTTTTTTATAGTTATACCAATTATAAATTGGAGGATTGGGA	80
Consensus	tttataactactattgtaacagcccatgctttttattataatTTTTTTTATAGTTATACCAATTATAAATTGGAGGATTGGGA	
SfCOI_Rice	AATTGACTTGTACCTTTAATATTAGGAGCCTCTGATATAGCTTTCCACAGTATAAAATAATATAAGTTTTTGACTTTTACC	160
SfCOI_YN	AATTGACTTGTACCTTTAATATTAGGAGCCTCTGATATAGCTTTCCACAGTATAAAATAATATAAGTTTTTGACTTTTACC	160
SfCOI_GD	AATTGACTTGTACCTTTAATATTAGGAGCCTCTGATATAGCTTTCCACAGTATAAAATAATATAAGTTTTTGACTTTTACC	160
SfCOI_XZ	AATTGACTTGTACCTTTAATATTAGGAGCCTCTGATATAGCTTTCCACAGTATAAAATAATATAAGTTTTTGACTTTTACC	160
SfCOI_GX	AATTGACTTGTACCTTTAATATTAGGAGCCTCTGATATAGCTTTCCACAGTATAAAATAATATAAGTTTTTGACTTTTACC	160
SfCOI_Corn	AATTGACTTGTACCTTTAATATTAGGAGCCTCTGATATAGCTTTCCACAGTATAAAATAATATAAGTTTTTGACTTTTACC	160
Consensus	aattgacttgtaccttttaattattaggagccctgatatagctttccacagtataaataatataagtttttgacttttacc	
SfCOI_Rice	CCCATCTTTAACTTTTATTAATTTCTAGTAGCATTGTAGAAAATGGAGCAGGAACCTGGATGAACAGTTTACCCCCCCTCT	240
SfCOI_YN	CCCATCTTTAACTTTTATTAATTTCTAGTAGCATTGTAGAAAATGGAGCAGGAACCTGGATGAACAGTTTACCCCCCCTCT	240
SfCOI_GD	CCCATCTTTAACTTTTATTAATTTCTAGTAGCATTGTAGAAAATGGAGCAGGAACCTGGATGAACAGTTTACCCCCCCTCT	240
SfCOI_XZ	CCCATCTTTAACTTTTATTAATTTCTAGTAGCATTGTAGAAAATGGAGCAGGAACCTGGATGAACAGTTTACCCCCCCTCT	240
SfCOI_GX	CCCATCTTTAACTTTTATTAATTTCTAGTAGCATTGTAGAAAATGGAGCAGGAACCTGGATGAACAGTTTACCCCCCCTCT	240
SfCOI_Corn	CCCATCTTTAACTTTTATTAATTTCTAGTAGCATTGTAGAAAATGGAGCAGGAACCTGGATGAACAGTTTACCCCCCCTCT	240
Consensus	cccatcttttaacttttataatTTTCTAGTAGCATTGTAGAAAATGGAGCAGGAACCTGGATGAACAGTTTACCCCCCCTCT	
SfCOI_Rice	CCTCTAATATTGCTCATGGTGGTAGTTCAGTAGATTAGCTATTTTCTCACTTCATTTAGCTGGAATTTTCATCTATTTTA	320
SfCOI_YN	CCTCTAATATTGCTCATGGTGGTAGTTCAGTAGATTAGCTATTTTCTCACTTCATTTAGCTGGAATTTTCATCTATTTTA	320
SfCOI_GD	CCTCTAATATTGCTCATGGTGGTAGTTCAGTAGATTAGCTATTTTCTCACTTCATTTAGCTGGAATTTTCATCTATTTTA	320
SfCOI_XZ	CCTCTAATATTGCTCATGGTGGTAGTTCAGTAGATTAGCTATTTTCTCACTTCATTTAGCTGGAATTTTCATCTATTTTA	320
SfCOI_GX	CCTCTAATATTGCTCATGGTGGTAGTTCAGTAGATTAGCTATTTTCTCACTTCATTTAGCTGGAATTTTCATCTATTTTA	320
SfCOI_Corn	CCTCTAATATTGCTCATGGTGGTAGTTCAGTAGATTAGCTATTTTCTCACTTCATTTAGCTGGAATTTTCATCTATTTTA	320
Consensus	cctctaatattgctcatgggtggtagttcagtagatttagctatTTTCTCACTTCATTTAGCTGGAATTTTCATCTATTTTA	
SfCOI_Rice	GGAGCTATTAACCTTTATTACACTATTATTAATATACGATTAAATAATTTATCATTTGATCAAATACCTTTATTATTG	400
SfCOI_YN	GGAGCTATTAACCTTTATTACACTATTATTAATATACGATTAAATAATTTATCATTTGATCAAATACCTTTATTATTG	400
SfCOI_GD	GGAGCTATTAACCTTTATTACACTATTATTAATATACGATTAAATAATTTATCATTTGATCAAATACCTTTATTATTG	400
SfCOI_XZ	GGAGCTATTAACCTTTATTACACTATTATTAATATACGATTAAATAATTTATCATTTGATCAAATACCTTTATTATTG	400
SfCOI_GX	GGAGCTATTAACCTTTATTACACTATTATTAATATACGATTAAATAATTTATCATTTGATCAAATACCTTTATTATTG	400
SfCOI_Corn	GGAGCTATTAACCTTTATTACACTATTATTAATATACGATTAAATAATTTATCATTTGATCAAATACCTTTATTATTG	400
Consensus	ggagctattaaactttattacactattattaatatacagattaaataatTTATCATTTGATCAAATACCTTTATTATTG	
SfCOI_Rice	AGCTGTAGGTATTACGCATTTTATTATTATTATCTTTACCTGTTTTAGCTGGAGCTATTACTATATTACTTACTGATC	480
SfCOI_YN	AGCTGTAGGTATTACGCATTTTATTATTATTATCTTTACCTGTTTTAGCTGGAGCTATTACTATATTACTTACTGATC	480
SfCOI_GD	AGCTGTAGGTATTACGCATTTTATTATTATTATCTTTACCTGTTTTAGCTGGAGCTATTACTATATTACTTACTGATC	480
SfCOI_XZ	AGCTGTAGGTATTACGCATTTTATTATTATTATCTTTACCTGTTTTAGCTGGAGCTATTACTATATTACTTACTGATC	480
SfCOI_GX	AGCTGTAGGTATTACGCATTTTATTATTATTATCTTTACCTGTTTTAGCTGGAGCTATTACTATATTACTTACTGATC	480
SfCOI_Corn	AGCTGTAGGTATTACGCATTTTATTATTATTATCTTTACCTGTTTTAGCTGGAGCTATTACTATATTACTTACTGATC	480
Consensus	agctgtaggatttacgcattttattattattatctttacctgTTTTAGCTGGAGCTATTACTATATTACTTACTGATC	
SfCOI_Rice	GAAATCTAAATACATCATTTTTTCGATCCTGCAGGAGGAGGTGATCCTATTCTTTATCAACATTTATTTTGATTTTTTGGGA	560
SfCOI_YN	GAAATCTAAATACATCATTTTTTCGATCCTGCAGGAGGAGGTGATCCTATTCTTTATCAACATTTATTTTGATTTTTTGGGA	560
SfCOI_GD	GAAATCTAAATACATCATTTTTTCGATCCTGCAGGAGGAGGTGATCCTATTCTTTATCAACATTTATTTTGATTTTTTGGGA	560
SfCOI_XZ	GAAATCTAAATACATCATTTTTTCGATCCTGCAGGAGGAGGTGATCCTATTCTTTATCAACATTTATTTTGATTTTTTGGGA	560
SfCOI_GX	GAAATCTAAATACATCATTTTTTCGATCCTGCAGGAGGAGGTGATCCTATTCTTTATCAACATTTATTTTGATTTTTTGGGA	560
SfCOI_Corn	GAAATCTAAATACATCATTTTTTCGATCCTGCAGGAGGAGGTGATCCTATTCTTTATCAACATTTATTTTGATTTTTTGGGA	560
Consensus	gaaat taaat acat catttttc gat cct gcagg ggaggt gat cct att tctttat caacatttattttt gat tttttt gga	
SfCOI_Rice	CATCCTGAAGTATATATTTTAAATTTTACCGGATTGGTATAAATTTCTCAGATTATTTCCAAAGAAAGAGGTAAAAAGGA	640
SfCOI_YN	CATCCTGAAGTATATATTTTAAATTTTACCGGATTGGTATAAATTTCTCAGATTATTTCCAAAGAAAGAGGTAAAAAGGA	640
SfCOI_GD	CATCCTGAAGTATATATTTTAAATTTTACCGGATTGGTATAAATTTCTCAGATTATTTCCAAAGAAAGAGGTAAAAAGGA	640
SfCOI_XZ	CATCCTGAAGTATATATTTTAAATTTTACCGGATTGGTATAAATTTCTCAGATTATTTCCAAAGAAAGAGGTAAAAAGGA	640
SfCOI_GX	CATCCTGAAGTATATATTTTAAATTTTACCGGATTGGTATAAATTTCTCAGATTATTTCCAAAGAAAGAGGTAAAAAGGA	640
SfCOI_Corn	CATCCTGAAGTATATATTTTAAATTTTACCGGATTGGTATAAATTTCTCAGATTATTTCCAAAGAAAGAGGTAAAAAGGA	640
Consensus	catcctgaagtatatatttttaatttttaccggatttgggtataaatttctcaattattttccaaagaaagaggtaaaaagga	
SfCOI_Rice	AACATTTCGATGTTTAGGTATAATTTATGCTATATAGCAATTGGTTTATTAGGATTTATTGTTTGAGCTCATCATATAT	720
SfCOI_YN	AACATTTCGATGTTTAGGTATAATTTATGCTATATAGCAATTGGTTTATTAGGATTTATTGTTTGAGCTCATCATATAT	720
SfCOI_GD	AACATTTCGATGTTTAGGTATAATTTATGCTATATAGCAATTGGTTTATTAGGATTTATTGTTTGAGCTCATCATATAT	720
SfCOI_XZ	AACATTTCGATGTTTAGGTATAATTTATGCTATATAGCAATTGGTTTATTAGGATTTATTGTTTGAGCTCATCATATAT	720
SfCOI_GX	AACATTTCGATGTTTAGGTATAATTTATGCTATATAGCAATTGGTTTATTAGGATTTATTGTTTGAGCTCATCATATAT	720
SfCOI_Corn	AACATTTCGATGTTTAGGTATAATTTATGCTATATAGCAATTGGTTTATTAGGATTTATTGTTTGAGCTCATCATATAT	720
Consensus	aacatttgggtgttttaggtataattttacgctataatagcaattggtttattaggattttattgtttgagctcatcatatat	
SfCOI_Rice	TTACTGTAGGAATAGATATTGATACA	746
SfCOI_YN	TTACTGTAGGAATAGATATTGATACA	746
SfCOI_GD	TTACTGTAGGAATAGATATTGATACA	746
SfCOI_XZ	TTACTGTAGGAATAGATATTGATACA	746
SfCOI_GX	TTACTGTAGGAATAGATATTGATACA	746
SfCOI_Corn	TTACTGTAGGAATAGATATTGATACA	746
Consensus	ttactgtaggaatagatattgataca	

YN: 云南种群 Yunnan strain GX: 广西种群 Guangxi strain

XZ: 西藏种群 Tibet strain GD: 广东种群 Guangdong strain

图2 我国草地贪夜蛾4个地理种群COI部分序列比对

Fig. 2 Sequence alignment of COI partial sequence of four geographical populations of *Spodoptera frugiperda*

COI 部分序列比对结果表明, 草地贪夜蛾云南、广东和西藏种群与 NCBI 上 Rice strain (Sequence ID: HM136598.1) 序列完全一致, 属于水稻型; 而广西种群存在 16 个位点的差异 (图 2), 并与 NCBI 上 Corn strain (Sequence ID: HM136592.1) 序列一致, 属于玉米型。

Tpi 部分序列比对结果表明, 云南、广东、广西和西藏 4 个种群序列完全相同, 且与 NCBI 上 Corn Strain (Sequence ID: KT336238.1) 序列一致, 都属于玉米型。

2.2 草地贪夜蛾不同地理种群对草地贪夜蛾核型多角体病毒的敏感性

4 个不同种群 4 龄幼虫对 SfMNPV 存在敏感性差异。从 LC_{50} 值分析 (表 1), 广西种群显著高于西藏、云南和广东种群, 广西种群 LC_{50} 是西藏种群的 37 倍; LT_{50} 趋势与 LC_{50} 大致呈正相关 (表 2), 广西种群 LT_{50} 为 9.5 d, 西藏种群 LT_{50} 为 7.3 d, 表明广西种群敏感性最低, 西藏种群敏感性最高。

表 1 SfMNPV 对不同地理种群草地贪夜蛾 4 龄幼虫的半致死浓度
Table 1 Toxicity of SfMNPV to 4th instar larvae of *Spodoptera frugiperda* in different geographic populations

种群 Geographic population	毒力回归方差 Variance of virulence regression equation	LC_{50} (PIB/mL)	置信区间 Confidence interval (PIB/mL)	相关系数 Correlation coefficient	毒力倍数 Toxicity-multiple
云南 Yunnan	$y = -5.457 + 0.790x$	8.09×10^6	$2.77 \times 10^6 \sim 1.40 \times 10^7$	0.983	2.01
广东 Guangdong	$y = -6.745 + 0.883x$	4.35×10^7	$3.13 \times 10^7 \sim 5.85 \times 10^7$	0.979	10.79
广西 Guangxi	$y = -8.083 + 0.988x$	1.51×10^8	$1.09 \times 10^8 \sim 2.48 \times 10^8$	0.958	37.47
西藏 Tibet	$y = -5.080 + 0.769x$	4.03×10^6	—	0.811	1.00

表 2 SfMNPV 对不同地理种群草地贪夜蛾 4 龄幼虫的半致死时间
Table 2 Toxic effects of SfMNPV on 4th instar larvae of *Spodoptera frugiperda* in different geographic populations

种群 Geographic population	毒效回归方差 Variance of virulence regression equation	LT_{50} (d)	置信区间 (d) Confidence interval	相关系数 Correlation coefficient
云南 Yunnan	$y = -5.221 + 0.688x$	7.588	4.886 ~ 9.039	0.855
广东 Guangdong	$y = -4.661 + 0.530x$	8.794	7.354 ~ 13.841	0.797
广西 Guangxi	$y = -5.857 + 0.614x$	9.547	8.717 ~ 12.189	0.883
西藏 Tibet	$y = -4.312 + 0.592x$	7.283	5.894 ~ 8.112	0.906

2.3 荧光增白剂对草地贪夜蛾口服感染 SfMNPV 的影响

饲料中单独添加 2% 荧光增白剂 FB28 不会造成草地贪夜蛾 4 龄幼虫的死亡, 但添加 FB28 对草地贪夜蛾感染 SfMNPV 有一定影响。其中, FB28 对广西草地贪夜蛾感染 SfMNPV 有增效作用: 7 d 以后, 添加了 FB28 的实验组死亡率显著高于对照组 (图 3-A)。而西藏种群实验组的死亡率稍高于对照组, 但不具备统计学意义, 可能是由于病毒的接种浓度显著高于西藏种群的 LC_{50} , 导致

FB28 处理对病毒感染增效作用不明显 (图 3-B)。比较 FB28 对草地贪夜蛾不同种群感染 SfMNPV 的影响, 发现添加 FB28 并接种相同病毒浓度下, 广西种群因病毒感染的死亡率稍低于西藏种群, 但不存在统计学意义的显著性差异 (图 3-C), 说明添加了 FB28 抵消了草地贪夜蛾不同地理种群对 SfMNPV 的敏感性差异, 提示不同地理种群对 SfMNPV 的敏感性不同可能是宿主围食膜的差异导致的。

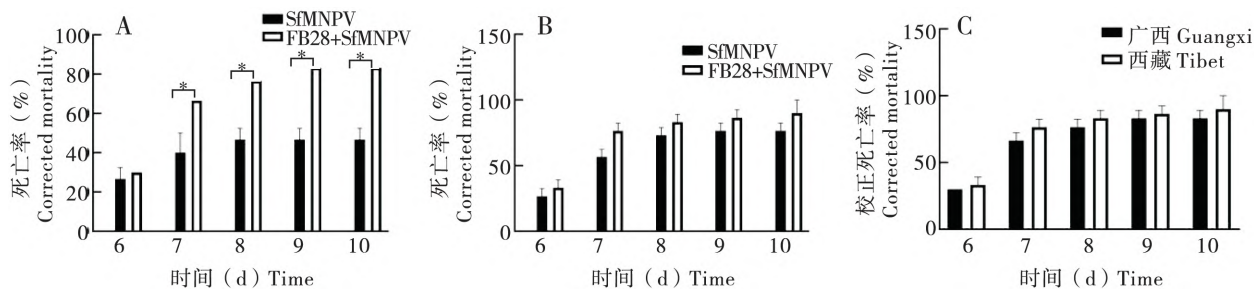


图3 FB28 处理对草地贪夜蛾广西种群和西藏种群感染 SfMNPV 的影响

Fig. 3 Effect of FB28 treatment on SfMNPV infection of *Spodoptera frugiperda* in Guangxi and Tibet

注: A, 添加 FB28 对草地贪夜蛾广西种群感染 SfMNPV 具有增效作用; B, 添加 FB28 对草地贪夜蛾西藏种群 SfMNPV 感染增效作用不显著; C, FB28 和 SfMNPV 共处理对草地贪夜蛾不同种群的影响不显著。Note: A, Addition of FB28 had a synergistic effect on the infection of SfMNPV by *S. frugiperda* Guangxi strain; B, Addition of FB28 to Tibetan population of *S. frugiperda* had no significant synergistic effect on SfMNPV infection; C, Effect of co-treatment of FB28 and SfMNPV on different populations of *S. frugiperda*.

2.4 添加链霉素对草地贪夜蛾口服感染 SfMNPV 的影响

在食物中添加链霉素能杀死甜菜夜蛾肠道中大部分细菌 (Jakubowska *et al.*, 2013)。因此, 本文中添加链霉素以消除宿主肠道细菌, 对比死亡率差异, 以描述肠道细菌对宿主感染 SfMNPV 的影

响。其中, 广西种群草地贪夜蛾在添加链霉素后 6 d 死亡率显著低于对照组, 7 ~ 10 d 死亡率与对照组无显著性差异 (图 4-A); 西藏种群实验组与对照组死亡率无显著性差异 (图 4-B)。这说明肠道细菌可能并非直接参与草地贪夜蛾宿主拮抗 SfMNPV 作用。

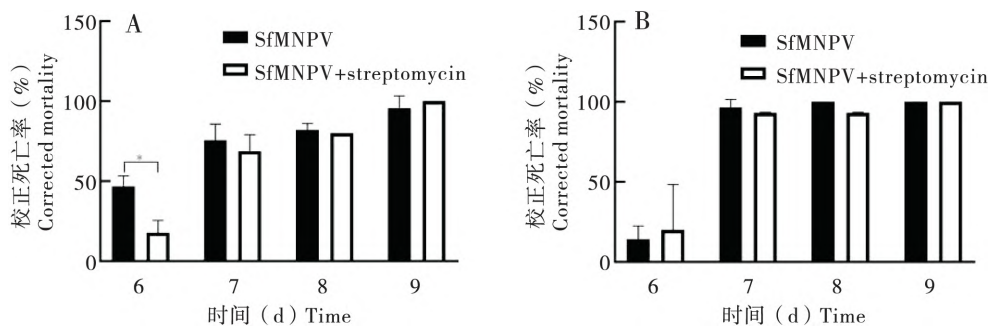


图4 链霉素处理对草地贪夜蛾广西种群和西藏种群感染 SfMNPV 的影响

Fig. 4 Effect of streptomycin treatment on SfMNPV infection of *Spodoptera frugiperda* in Guangxi and Tibet

注: A, 广西种群; B, 西藏种群。Note: A, Guangxi strain; B, Tibet strain.

2.5 出芽型病毒对草地贪夜蛾高敏感种群和低敏感种群的致死率

注射 SfMNPV BVs 后, 草地贪夜蛾广西种群和西藏种群 4 龄幼虫死亡率无显著性差异 (图 5), 说明跳过原发感染阶段, 两种种群对 BVs 的免疫能力相当, 表明两者对 SfMNPV 敏感性差异不在次级感染阶段, 而是可能发生在多角体进入草地贪夜蛾消化道引起的原发感染阶段。

2.6 草地贪夜蛾不同地理种群肠道 pH 及菌群种类分析

广西种群和西藏种群中肠液 pH 存在显著性差异 (图 6-A), 广西种群 pH 均值 8.999, 西藏种群 pH 均值 9.160。广西种群 pH 值低, 提示会抑制

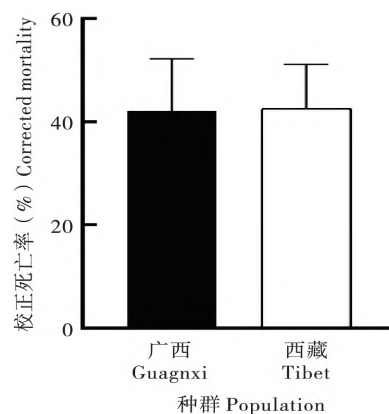


图5 草地贪夜蛾高敏感种群和低敏感种群 4 龄幼虫注射 SfMNPV BVs 死亡率

Fig. 5 Mortality rate of *Spodoptera frugiperda* after injection of SfMNPV BVs in different geographic populations

ODV 的释放效率, 进而导致广西种群对病毒的敏感性低。

广西和西藏种群在 97% 的相似度水平下聚类共获得 639 个 OTUs (Operational Taxonomic Units)。其中广西种群聚类共获得 488 个 OTUs; 西藏种群

聚类共获得 151 个 OTUs, 广西种群与西藏种群之间共有的 OTUs 数目为 132 个 (图 6-B)。广西种群肠道菌种类多于西藏种群。

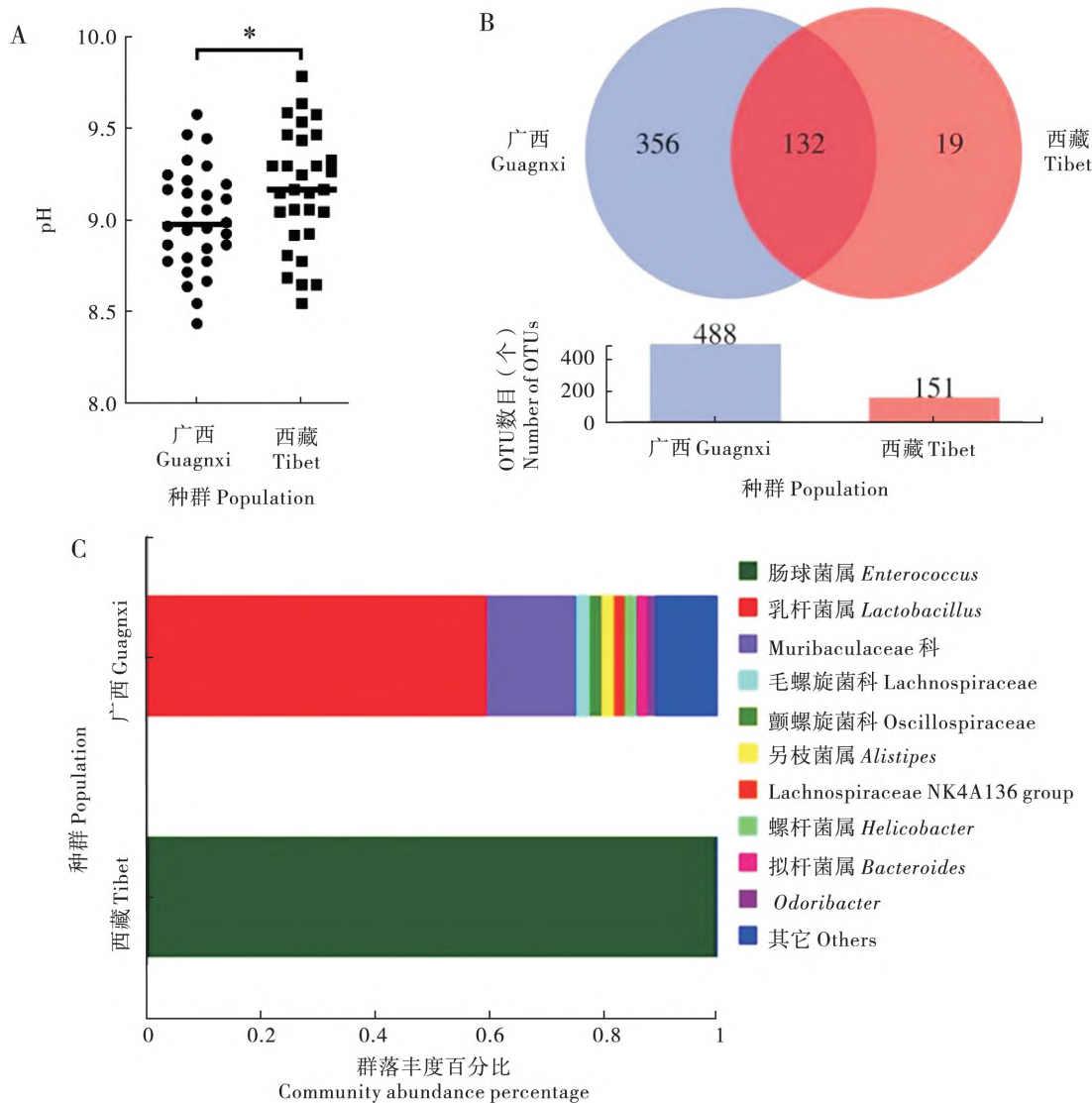


图6 草地贪夜蛾广西种群和西藏种群肠液 pH 及肠道细菌物种和菌落

Fig. 6 pH value, species and community of intestinal bacterial of *Spodoptera frugiperda* in Guangxi and Tibetan population

在科属水平上, 广西种群肠道菌主要为乳杆菌属 *Lactobacillus* (59.46%)、Muribaculaceae 科 (15.77%)、毛螺旋菌科 *Lachnospiraceae* (2.35%)、颤螺旋菌科 *Oscillospiraceae* (2.14%)、另枝菌属 *Alistipes* (2.07%)、*Lachnospiraceae* NK4A136 group (2.04%)、螺杆菌属 *Helicobacter* (1.93%)、拟杆菌属 *Bacteroides* (1.76%)、*Odoribacter* (1.57%) 和其它 (10.92%), 优势菌主要为乳酸

菌 *Streptococcus lactis*, 而西藏种群肠道菌主要为肠球菌 *Enterococcus* (99.71%) (图 6-C)。提示广西种群相较于西藏种群肠道乳酸菌丰度高, 导致肠液 pH 值低 (图 6-A), 从而影响草地贪夜蛾广西种群对 SfMNPV 的敏感性。鉴于两组群肠道菌群存在明显差异, 可能存在其它微生物影响宿主对病毒的敏感性, 有待进一步验证。

3 结论与讨论

据报道,不同宿主基因型导致对病毒敏感性存在差异,例如,席羽等(2011)发现,在浙江、湖南、湖北和江苏7个不同地理种群茶尺蠖对EoNPV敏感性存在显著差异,并基于线粒体*COI*和*COII*基因序列分析,茶尺蠖地理种群存在遗传分化(席羽,2011)。最近的研究通过生物测定评价了几种SfMNPV毒株对玉米型和水稻型草地贪夜蛾幼虫的毒力,结果表明,玉米型和水稻型草地贪夜蛾对SfMNPV的敏感性不同。玉米型草地贪夜蛾幼虫对SfMNPV不同毒株敏感性差异较大;而水稻型草地贪夜蛾幼虫对不同SfMNPV毒株的敏感性相对稳定(Popham *et al.*, 2021)。本研究发现广西种群*COI*和*Tpi*鉴定结果都为玉米型,另外的云南、广东、西藏种群*COI*为水稻型,*Tpi*为玉米型,属于杂合玉米型(图2),与目前国内各地对草地贪夜蛾基因型的鉴定结果一致(徐丽娜等,2019;张磊等,2019;王亚如等,2020)。生物测定结果表明,玉米型的广西种群的草地贪夜蛾对SfMNPV口服感染敏感性最低,而杂合玉米型的西藏种群的敏感性最高(表1和表2)。

虽然不同地理种群草地贪夜蛾对SfMNPV的敏感性存在差异,但是幼虫直接注射SfMNPV BVs后,广西种群(低敏感性)和西藏种群(高敏感性)感染SfMNPV的死亡率无显著差异(图3),表明敏感性差异并不发生在系统感染阶段,而是发生在SfMNPV经口进入中肠的原发感染阶段。

国内不同地区草地贪夜蛾肠道菌群差异已有相关报道,重庆种群分离的可培养肠道细菌为克雷伯氏菌属 *Klebsiella* Trevisan、不动杆菌属 *Acinetobacter*、假单胞菌属 *Pseudomonas* adaceae、肠杆菌属 *Enterobacter* Hormaeche and Edwards 和气单胞菌属 *Aeromonas* 5 属(唐运林等,2019),云南省蒙自地区的草地贪夜蛾幼虫肠道分离到的细菌为克雷伯氏菌属、肠球菌属、沙雷氏菌属 *Serratia* 和摩根菌属 *Morganella* 4 属(李青晏等,2020)。云南省宝藏镇的草地贪夜蛾肠道优势属菌为阿克曼菌属 *Akkermansia*, 丰度为 12.80%; 而云南省嵩明县的草地贪夜蛾肠道优势属菌为肠球菌属, 丰度为 46.99% (徐天梅等,2020)。本研究中对肠道

微环境研究发现,对SfMNPV低敏感的广西种群肠液pH显著低于高敏感的西藏种群(图6-A)。两者肠道菌群也存在显著差异,广西种群肠道菌种类和丰度显著高于西藏种群(图6-B),前者优势菌为乳酸菌,从而导致其肠液pH值低;后者主要为肠球菌(图6-C)。本试验的结果与上述报道产生差异的原因,可能是草地贪夜蛾材料来源不同,有野外采集、室内采用寄主植物饲养或人工饲料饲养,肠道菌群差异可能是不同地域环境条件及寄主植物和食料条件的不同造成,而本研究所用草地贪夜蛾全部使用人工饲料进行饲养,龄期和外部环境条件也完全相同,造成肠道菌群差异可能是由于不同草地贪夜蛾肠道环境差异造成细菌对其适应性不同。另外,在饲料中添加链霉素去除肠道菌群,对草地贪夜蛾感染SfMNPV的作用不明显(图4-C),说明肠道菌群可能并非直接参与宿主拮抗SfMNPV。但是添加荧光增白剂后,消除了广西种群和西藏种群口服SfMNPV的敏感性(图4-A, B),结合荧光增白剂对围食膜具有一定破坏作用,一定程度上表明造成草地贪夜蛾不同地理种群对SfMNPV的敏感性可能是由于宿主围食膜的差异导致的。

综上所述,根据草地贪夜蛾不同地理种群的基因型、肠道微环境和对病毒的敏感性规律来看,草地贪夜蛾广西种群属于纯合玉米型,其肠道菌群种类和丰度高,优势菌为乳酸菌,中肠肠液pH值较低,对SfMNPV的敏感性低;而云南、广东和西藏种群属于杂合玉米型,其中西藏种群对SfMNPV的敏感性最高,其肠道菌群种类和丰度低且主要为肠球菌,肠液pH较高。这是否是普遍规律以及这些条件是如何相互影响尚不清楚,有待进一步探索。

参考文献 (References)

- Arive IB. Regulation of Multiple Infection in *Alphabaculoviruses*: Critical Factors that Determine Success [D]. Pamplona: para optar al de Doctora por la Universidad Pública de Navarra (Spain), 2014.
- Chen KP, Lin CL, Wu DX, *et al.* Resistance of preserved silkworm species to nucleopolyhedrovirus [J]. *Acta Sericologica Sinica*, 1991, 1: 45–46. 陈克平, 林昌麒, 吴冬秀, 等. 家蚕保存种对核型多角体病的抗性 [J]. *蚕业科学*, 1991, 1: 45–46
- Disease and Pest Forecast Office. Occurrence trend of *Spodoptera frugiperda* in autumn maize [EB/OL]. National Agricultural Technology Promotion Network. (2020–09–03) [2021–09–

- 26]. <https://www.natesc.org.cn/news/des?id=b4ca3130-c5a2-4f0d-9762-f248e0b94985&Category=%E5%85%AC%E5%BC%80&CategoryId=d00be10c-6b4f-478b-be40-39fab99f9710>. 病虫害测报处. 秋玉米草地贪夜蛾发生趋势 [EB/OL]. 全国农技推广网. (2020-09-03) [2021-09-26].
- Graham RI, Grzywacz D, Mushobozi WL, *et al.* *Wolbachia* in a major African crop pest increases susceptibility to viral disease rather than protects [J]. *Ecology Letters*, 2012, 15 (9): 993-1000.
- Haas-Stapleton EJ, Washburn JO, Volkman LE. Pathogenesis of *Autographa californica multiple nucleopolyhedrovirus* in fifth instar *Spodoptera frugiperda* [J]. *Journal of General Virology*, 2003, 84 (8): 2033-2040.
- Jakubowska AK, Vogel H, Herrero S. Increase in gut microbiota after immune suppression in baculovirus-infected larvae [J]. *PLoS Pathogens*, 2013, 9 (5): e1003379.
- Jing DP, Guo JF, Jiang YY, *et al.* Initial detections and spread of invasive *Spodoptera frugiperda* in China and comparisons with other noctuid larvae in cornfields using molecular techniques [J]. *Insect Science*, 2020, 27 (4): 780-790.
- Li GL, Song SY, Li CB, *et al.* Susceptibility of different *Spodoptera exigua* strains to *Spodoptera exigua nucleopolyhedrovirus* [J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2006, 3: 250-252. [李广宏, 宋少云, 李充壁, 等. 甜菜夜蛾不同品系对甜菜夜蛾核多角体病毒的敏感性 [J]. 中国生物防治, 2006, 3: 250-252]
- Li QY, Tang YL, Jiang RX, *et al.* Isolation and identification of gut bacteria of *Spodoptera frugiperda* feeding on maize in Yunnan, China [J]. *Journal of Southwest University (Natural Science)*, 2020, 42 (1): 1-8. [李青晏, 唐运林, 蒋睿轩, 等. 云南地区草地贪夜蛾肠道细菌的分离及鉴定 [J]. 西南大学学报 (自然科学版), 2020, 42 (1): 1-8]
- Popham HJR, Rowley DL, Harrison RL. Differential insecticidal properties of *Spodoptera frugiperda multiple nucleopolyhedrovirus* isolates against corn-strain and rice-strain fall armyworm, and genomic analysis of three isolates [J]. *Journal of Invertebrate Pathology*, 2021, 183: 107561.
- Rohrmann GF. *Baculovirus Molecular Biology* [Internet]. 4th Edition [M]. Bethesda: National Center for Biotechnology Information (US), 2019.
- Slack J, Arif BM. The baculovirus occlusion-derived virus: Virion structure and function [J]. *Advances in Virus Research*, 2006, 69: 99-165.
- Tang YL, Wu YY, Gu RC, *et al.* Isolation and identification of gut bacteria of *Spodoptera frugiperda* that migrated to Chongqing Area [J]. *Journal of Southwest University (Natural Science)*, 2019, 41 (7): 8-14. [唐运林, 吴燕燕, 顾佑铨, 等. 重庆地区草地贪夜蛾肠道细菌的分离鉴定 [J]. 西南大学学报 (自然科学版), 2019, 41 (7): 8-14]
- Vieira CM, Tuelher ES, Valicente FH, *et al.* Characterization of a *Spodoptera frugiperda multiple nucleopolyhedrovirus* isolate that does not liquefy the integument of infected larvae [J]. *Journal of Invertebrate Pathology*, 2012, 111 (2): 189-192.
- Wang YR, Cai XY, Zhuang JX, *et al.* Molecular identification of *Spodoptera frugiperda* invaded in Fujian Province [J]. *Plant Protection*, 2020, 46 (4): 189-193, 209. [王亚如, 蔡香云, 庄家祥, 等. 入侵福建的草地贪夜蛾的分子鉴定 [J]. 植物保护, 2020, 46 (4): 189-193, 209]
- Xi Y, Yin KS, Xiao Q. The susceptibility difference against EoNPV in different geographical populations of tea geometrid (*Ectropis obliqua* Prout) [J]. *Journal of Tea Science*, 2011, 31 (2): 100-104. [席羽, 殷坤山, 肖强. 不同地理种群茶尺蠖对 EoNPV 的敏感性差异研究 [J]. 茶叶科学, 2011, 31 (2): 100-104]
- Xi Y. Susceptibility Variation Against *Ectropis obliqua nucleopolyhedrovirus* and Genetic Variation in Geographic Populations of Tea Geometrid, *Ectropis obliqua* Prout [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences Master Thesis, 2011. [席羽. 茶尺蠖地理种群对茶尺蠖核型多角体病毒的敏感性差异及遗传变异研究 [D]. 北京: 中国农业科学院硕士学位论文, 2011]
- Xu LN, Hu BJ, Su XY, *et al.* Genetic analysis of *Spodoptera frugiperda* invaded in Anhui Province [J]. *Plant Protection*, 2019, 45 (5): 47-53. [徐丽娜, 胡本进, 苏贤岩, 等. 入侵安徽省草地贪夜蛾的遗传分析 [J]. 植物保护, 2019, 45 (5): 47-53]
- Xu TM, Fu CZ, Su ZT, *et al.* Composition and diversity of gut bacteria community of *Spodoptera frugiperda* from the first invasion site and the dispersal area in Yunnan Province [J]. *Plant Protection*, 2020, 46 (4): 116-125. [徐天梅, 符成悦, 苏造堂, 等. 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 [J]. 植物保护, 2020, 46 (4): 116-125]
- Yin C. Study on the Stability of *Hyphantria cunea nuclear polyhedrosis virus* (HcNPV) [D]. Taian: Shandong Agricultural University Master Thesis, 2014. [殷灿. 美国白蛾核型多角体病毒的稳定性研究 [D]. 泰安: 山东农业大学硕士学位论文, 2014]
- Zhang L, Liu B, Jiang YY, Liu J, *et al.* Molecular characterization analysis of fall armyworm populations in China [J]. *Plant Protection*, 2019, 45 (4): 20-27. [张磊, 柳贝, 姜玉英, 刘杰, 等. 中国不同地区草地贪夜蛾种群生物型分子特征分析 [J]. 植物保护, 2019, 45 (4): 20-27]
- Zhang YN, Liu SX, Huo YM, *et al.* Identification of resistance of several *Bombyx mori* varieties to six major silkworm diseases [J]. *Acta Sericologica Sinica*, 1982, 2: 94-97. [张远能, 刘仕贤, 霍用梅, 等. 若干家蚕品种对六种主要蚕病的抗性鉴定 [J]. 蚕业科学, 1982, 2: 94-97]