环境昆虫学报 2022，44（5）：1240－1251
Journal of Environmental Entomology
http：//hjkcxb. alljournals. net
doi：10. 3969/j. issn. 1674－0858. 2022. 05. 18

常吕恕，王文倩，杨韵，杨航，杨进波，杜广祖，张庭发，易小光，肖关丽，陈斌. 番茄潜叶蛾幼虫肠道可培养细菌结构组成及对大分子化合物的降解作用研究［J］. 环境昆虫学报，2022，44（5）：1240－1251.

番茄潜叶蛾幼虫肠道可培养细菌结构组成及对大分子化合物的降解作用研究

常吕恕[1*]，王文倩[1*]，杨　韵[1]，杨　航[3]，杨进波[3]，杜广祖[1]，张庭发[3]，易小光[3]，肖关丽[2**]，陈　斌[1**]

（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. 云南农业大学农学与生物技术学院，昆明 650201；3. 云南格瑞生物科技有限公司，云南弥渡 675600）

摘要：番茄潜叶蛾 *Tuta absoluta* 是一种世界毁灭性番茄害虫。为明确其幼虫肠道可培养细菌的多样性及功能，本研究采用 LB 和 NA 两种培养基分别对番茄潜叶蛾幼虫肠道细菌组成进行了分离培养，根据细菌菌落形态和 16S rDNA 序列分析对细菌进行种属鉴定，采用比浊法测定了优势种的生长曲线，并采用透明圈法测定了肠道各可培养细菌对大分子化合物淀粉和纤维素的降解能力。结果表明，从番茄潜叶蛾 3 龄幼虫肠道中共分离到 27 株细菌，分属于 3 门 10 科 17 属 24 种，优势门、科、属、种分别是变形菌门 Proteobacteria、欧文氏菌科 Erwiniaceae、欧文氏菌属 *Erwinia*、*Erwinia iniecta*，其相对多度分别达到 90. 68%、89. 41%、89. 41% 和 89. 41%。优势种 *Erwinia iniecta* 在 25℃，180 r/min 的条件下培养无迟缓期，0～14 h 为对数生长期，14～28 h 为稳定期，28 h 以后为衰亡期。*Glutamicibacter* 属的 L7 和 L9、考克氏菌属 *Kocuria* 的 L14 和短状杆菌属 *Brachybacterium* 的 L20 能同时降解淀粉和纤维素，考克氏菌属 *Kocuria* 的 L15 和 L17 只能降解淀粉，欧文氏菌属 *Erwinia* 的 L、动性球菌属 *Planococcus* 的 L11、微杆菌属 *Microbacterium* 的 L18 和 *Prolinoborus* 属的 L22 只能降解纤维素，其他菌株无淀粉和纤维素降解能力。综上所述，番茄潜叶蛾幼虫含有 24 种肠道可培养细菌，种类较为丰富，且部分细菌对淀粉和纤维素大分子化合物具有较强的降解作用，该结果将为番茄潜叶蛾肠道细菌多样性及其功能的深入研究提供依据，同时还为功能细菌的开发利用提供菌株。

关键词：番茄潜叶蛾；肠道可培养细菌；生长曲线；降解能力
中图分类号：Q965；S433　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：1674－0858（2022）05－1240－12

Study on the composition of culturable gut bacteria in the larvae of Yunnan population of *Tuta absoluta* and the degradation for macromolecular compounds

CHANG Lv-Shu[1*], WANG Wen-Qian[1*], YANG Yun[1], YANG Hang[3], YANG Jin-Bo[3], DU Guang-Zu[1], ZHANG Ting-Fa[3], YI Xiao-Guang[3], XIAO Guan-Li[2**], CHEN Bin[1**] (1. College of Plant Protection, Yunnan Agricultural University, State Key Laboratory for Conservation and Utilization of Bio-Resources in Yunnan, Kunming 650201, China; 2. College of Agriculture & Biology Technology,

基金项目：国家自然科学基金（32060616，31760519）；云南省大理州陈斌专家工作站项目；云南植通车农业服务有限公司技术服务项目；云南省教育厅科技创新团队项目（2022［69］）
共同作者简介：常吕恕，女，硕士研究生，主要研究方向为昆虫生理，E－mail：1504616946@ qq. com；王文倩，女，博士研究生，主要研究方向为昆虫生理，E－mail：wqwangts@ 163. com
*共同通讯作者 Author for correspondence：陈斌，男，教授，博士，主要研究方向为害虫综合治理研究，E－mail：chbins@ 163. com；肖关丽，女，教授，博士，主要从事作物生理研究，E－mail：glxiao9@ 163. com
收稿日期 Received：2021－06－27；接受日期 Accepted：2022－03－21

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

Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China; 3. Yunnan Green Biotechnology Science and Technology Co. LTD, Midu 675600, Yunnan Province, China)

Abstract: *Tuta absoluta* is a world-destructive tomato pest. In order to clarify the composition of culturable gut bacteria in the larvae, Luria-Bertani and Nutrient Agar media were used to isolate and culture the gut bacteria of *T. absoluta* larvae in this study, and culturable bacteria were identified according to colony morphology and 16S rDNA sequence analysis. Turbidimetric method was used to determine the growth curve of dominant species, and transparent circle method was used to determine the degradation ability of starch and cellulose by culturable gut bacteria. The results showed that there were 27 strains were isolated from the gut of the 3th instar larvae of *T. absoluta*, which belonging to 24 species, 17 genuses, 10 families and 3 phyla, among which dominant phylum, family, genus and species were Proteobacteria, Erwiniaceae, *Erwinia* and *Erwinia iniecta* with relative abundances of 90.68%, 89.41%, 89.41% and 89.41%, respectively. The dominant species, *E. iniecta*, had no lag period at 25℃ and 180 r/min, it's logarithmic growth period was 0 ~ 14 h, the stable period was 14 ~ 28 h, and the decline period was after 28 h. Starch and cellulose could be degraded by L7 and L9 of *Glutamicibacter*, L14 of *Kocuria* and L20 of *Brachybacterium*, while L15 and L17 of *Kocuria* could only degrade starch. L of *Erwinia*, L11 of *Planococcus*, L18 of *Microbacterium* and L22 of *Prolinoborus* could only degrade cellulose, while other strains had no ability of starch and cellulose degradation. These results indicated that 24 kinds of gut culturable bacteria which were contained by *T. absoluta* larvae and it's abundant in species, starch and cellulose could be degraded by several bacteria. Collectively, the results will provide evidence for the further study of gut bacterial diversity and function of *T. absoluta*, and also culturable strains for the development and utilization of functional bacteria can be provided.

Key words: *Tuta absoluta*; culturable gut bacteria; growth curve; degrading ability

番茄潜叶蛾 *Tuta absoluta* 又名番茄潜麦蛾、番茄麦蛾，隶属于鳞翅目 Lepidoptera 麦蛾科 Gelechiidae（马菲等，2011；张桂芬等，2018）。截至 2021 年 2 月 11 日，在全球范围内 105 个国家已有分布（其中，南美洲 10 个，北美洲 3 个，欧洲 31 个，非洲 35 个，亚洲 26 个）（CABI，2021）。2017 年 8 月，我国新疆伊犁首次发现番茄潜叶蛾危害番茄（张桂芬等，2019），随后在云南、贵州、四川、重庆、广西、湖南和江西等地也相继发现（陆永跃等，2021）。番茄潜叶蛾可以危害包括茄科、豆科和锦葵科等 9 科近 40 种植物，对番茄和马铃薯的危害最为严重（张桂芬等，2018；CABI，2019）。若防治不及时或未防治，将造成番茄产量损失 80% ~ 100%（Desneux *et al.*，2010）。

昆虫肠道微生物可能影响寄主的生物学和生态学特性（Mehrkhou *et al.*，2021），在昆虫的生命活动中参与调节了许多重要的生理生化反应，如协助消化食物中的大分子物质，为宿主昆虫的生长发育提供营养物质（Hu *et al.*，2018；Santos-Garcia *et al.*，2020）、提高宿主昆虫的防御和解毒能力（Shukla *et al.*，2018；Moran *et al.*，2019）、影响宿主昆虫寿命及繁殖能力和对杀虫剂的抗性（王四宝和曲爽，2017）等。微生物的生长一般可分为迟缓期、对数生长期、稳定期和衰亡期 4 个阶段（沈萍和陈向东，2006）。测定昆虫肠道微生物的生长曲线对功能细菌的开发以及对寄主昆虫的防治具有重要意义。昆虫肠道微生物的研究方法主要有传统分离培养法、培养组学法、16S rDNA 序列分析、宏基因组测序和转录组测序等（Goodrich *et al.*，2014；Lagier *et al.*，2018）。

目前，国内外对番茄潜叶蛾的研究主要集中在生态学及其防治方面，关于其肠道细菌多样性和功能的研究还鲜有报道。因此，本研究采用传统分离培养法和 16S rDNA 序列分析，对番茄潜叶蛾云南种群 3 龄幼虫肠道细菌多样性及对淀粉和纤维素的降解能力进行了测定分析，并测定了优势种的生长曲线，为番茄潜叶蛾肠道细菌多样性及其功能的深入研究提供依据，同时还为功能细菌的开发利用提供菌株资源。

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

1 材料与方法

1.1 供试虫源

番茄潜叶蛾种群采集于云南省昆明市北郊云南农业大学温室种植的番茄植株（25°7′54″N，102°44′56″E，海拔 1 937 m）。

1.2 主要仪器及试剂

恒温光照培养箱 RG-300（恒立仪器有限公司）；台式常温离心机（湖南恒诺仪器设备有限公司，2-16R）；T100™ ThermalCycler 型 PCR 仪（美国伯乐公司）；PowerPac™ Basic 型电泳仪（美国伯乐公司）；摇床（上海知楚仪器有限公司，ZQLY-180F）；分光光度计（岛津企业管理（中国）有限公司）；2 × Taq PCR Master mix（北京全式金生物技术有限公司）；引物 Prime1，27f：AGAGTTTGATCCTGGCTCAG；Prime2，1492r：CGGTTACCTTGTTACGTTACGACTT（由 Sangon Biotech 合成）；Goldview 核酸染料（上海赛百盛基因技术有限公司）；琼脂糖（基因科技（上海）有限公司）。

LB（Luria-Bertani）培养基：胰蛋白胨 10.0 g、NaCl 10.0 g、酵母浸粉 5.0 g、琼脂 20.0 g，无菌水 1 000.0 mL，调至 pH7.0（昌艳萍等，2017）。

NA（Nutrient Agar）培养基：牛肉膏 3.0 g、蛋白胨 10.0 g、NaCl 15.0 g、琼脂 20.0 g，无菌水 1 000.0 mL，调至 pH7.0（王蕊蕊等，2018）。

淀粉降解菌筛选培养基：可溶性淀粉 10.0 g，蛋白胨 10.0 g，酵母浸粉 5.0 g，NaCl 10.0 g，琼脂 20.0 g，无菌水 1 000.0 mL，调至 pH7.2（宁婷婷，2016）。

羧甲基纤维素钠培养基：CMC-Na 15.0 g，NaCl 5.0 g，KH_2PO_4 1.0 g，$MgSO_4$ 0.2 g，蛋白胨 10.0 g，酵母浸粉 5.0 g，琼脂 18.0 g，无菌水 1 000.0 mL，调至 pH7.2（吴文韬等，2013）。

1.3 番茄潜叶蛾 3 龄幼虫肠道细菌的分离与培养

取健康的番茄潜叶蛾 3 龄幼虫 50 头，饥饿处理 8 h，在超净工作台中进行操作。将待试番茄潜叶蛾 3 龄幼虫用无菌水冲洗 2 次，再用 75% 酒精消毒 20 s，最后用无菌水冲洗 2 次。用镊子将番茄潜叶蛾肠道取出，放入盛有 100 μL PBS 缓冲液的 2 mL 离心管中，匀浆，再加入 900 μL PBS 缓冲液，用漩涡振荡仪震荡混匀（郑亚强等，2017；吴晓露等，2019）。

将上述制备好的匀浆液按照梯度稀释至 1.0×10^{-3}、1.0×10^{-4}、1.0×10^{-5}、1.0×10^{-6}，分别吸取 100 μL 稀释液在 LB 固体培养基和 NA 固体培养基上涂布，每个浓度设置 3 次重复。在温度为 25℃，相对湿度为 70 ± 5% 的培养箱中培养 7 d。统计各平板上菌落颜色、形态和大小各异的细菌菌落数量，并挑取不同形态的单菌落在新配制的 LB 固体培养基上纯化 2 ~ 3 次，纯化后在 4℃冰箱中保存。记录各种细菌株数，计算每种菌株的相对多度，相对多度（%）= 某个种的株数/全部种的总株数 × 100（樊清艳等，2020）。

1.4 细菌种属鉴定

1.4.1 形态鉴定

观察记录上述分离到的细菌单菌落的菌落大小、形态、颜色、光泽度、透明度、边缘特征和隆起状态等特征，参照《伯杰细菌鉴定手册》鉴定细菌的细胞形态，记录细菌的菌落颜色和菌体形状。采用革兰氏染色法对分离到的细菌进行染色，在显微镜下观察细胞形态和革兰氏阴阳性，其中紫色为革兰氏阳性菌，红色为革兰氏阴性菌，采集并保存图片（樊清艳等，2020）。

1.4.2 分子鉴定

采用冻溶法提取细菌基因组 DNA（冯广达等，2013），将菌株分别接种于 LB 液体培养基中，然后放置于 25℃、150 r/min 的摇床上振荡培养 24 h。每个菌株分别取 2 mL 菌液于离心管中，12 000 r/min 离心 2 min，弃上清液。在上述沉淀中加入 500 μL 无菌水，涡旋振荡 1 min，使其菌体完全悬浮于水中。放入液氮中冷冻裂解 10 min 后，沸水浴 5 min，4℃，12 000 r/min 离心 2 min，取上清液作为 PCR 模板备用。运用细菌通用引物 27 f 和 1 492 r 扩增 16S rRNA 基因，反应体系为 25 μL：引物各 1 μL，模板 DNA 1 μL，PCR mix 12.5 μL，dd H_2O 9.5 μL。反应条件：94℃热变性 5 min，94℃变性 1 min，53℃退火 1 min，72℃延伸 2 min，32 个循环，72℃延伸 10 min。取 3 μL PCR 产物凝胶电泳检测。收集 PCR 产物送至上海生工公司进行测序。运用 Contigexpress 软件对测序结果进行拼接，将拼接好的 16S rDNA 序列提交到 NCBI（http：//blast. Ncbi. Nlm. Nih. Gov /Blast. Cgi）系统中查找相似性最高的典型菌株并下载序列。运用 MEGA 7 软件，采用国际通用的邻接法（Neighbour-Joining）

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

和 Kimura 双参数矫正模型构建系统发育树。以重复抽样 1 000 次进行 Bootstrap 验证，分析评估系统进化树拓扑结构的稳定性。

1.5　优势种生长曲线测定

将番茄潜叶蛾肠道可培养细菌的优势种接种于 LB 液体培养基中，25℃，180 r/min 振荡培养 12 h 作为种子液。将种子液以 5% 的接种量接入装有 100 mL LB 液体培养基的 250 mL 三角瓶中，25℃，180 r/min 震荡培养 48 h，每隔 2 h 取样 1 mL，以 LB 液体培养基作空白对照，测定 OD_{600} 值，以时间为横坐标，OD_{600} 值为纵坐标，绘制生长曲线（曾议霆等，2015；朱艳蕾，2016）。

1.6　可培养细菌对淀粉和纤维素的降解作用测定

采用透明圈法测定可培养细菌对淀粉和纤维素的降解能力。淀粉降解能力测定参照张晓瑞等（2021）的方法；纤维素降解能力参照吴文韬等（2013）的方法。

2　结果与分析

2.1　番茄潜叶蛾肠道细菌的菌落形态及培养性状

采用 LB 固体培养基，从番茄潜叶蛾云南种群 3 龄幼虫肠道内共分离得到 26 株 24 种细菌。革兰氏染色结果表明革兰氏阳性菌 20 株，革兰氏阴性菌 6 株，9 株细胞形态为短杆状，6 株为杆状，11 株为球状。采用 NA 固体培养基，从番茄潜叶蛾 3 龄幼虫肠道内共分离得到 1 株 1 种细菌，为革兰氏阴性菌，细胞形态为短杆状。

综合 LB 和 NA 两种固体培养基上分离培养获得的细菌种类，番茄潜叶蛾云南种群 3 龄幼虫肠道细菌共计 27 株 24 种细菌，编号为 L、L1 ~ L26，各菌株特征详见表 1。通过革兰氏染色，发现革兰氏阳性菌 20 株，革兰氏阴性菌 7 株。10 株细胞形态为短杆状，6 株为杆状，11 株为球状（图 1）。

表 1　番茄潜叶蛾 3 龄幼虫肠道细菌菌落形态及培养性状

Table 1　Colonial morphology and cultural characteristics of bacteria from gut of the 3th instar larvae of *Tuta absoluta*

菌株编号 Strain No.	培养特征 Cultural characteristics	细胞形态 Cellular morphology	革兰氏染色 Gram stain
L	菌落较大，圆形，乳白色，有光泽，光滑，透明，扁平，规则 Large colony, roundness, creamy white, glossy, smooth, transparent, flat, regular	短杆状 Short rhabditiform	G^-
L1	圆形，黄色，无光泽，粗糙，不透明，中部凸起，规则 Roundness, yellow, matt, rough, non-transparent, central bulge, regular	短杆状 Short rhabditiform	G^+
L2	卵圆形，黄色，有光泽，光滑，不透明，球状凸起，规则 Oval, yellow, glossy, smooth, non-transparent, spherical bulge, regular	球状 Sphericity	G^+
L3	圆形，黄色，有光泽，光滑，不透明，球状凸起，规则 Roundness, yellow, glossy, smooth, non-transparent, spherical bulge, regular	球状 Sphericity	G^+
L4	圆形，淡黄色，有光泽，光滑，不透明，球状凸起，规则 Roundness, pale yellow, glossy, smooth, non-transparent, spherical bulge, regular	球状 Sphericity	G^+
L5	圆形，淡黄色，有光泽，光滑，不透明，中部凸起，规则 Roundness, pale yellow, glossy, smooth, non-transparent, central bulge, regular	短杆状 Short rhabditiform	G^+
L6	菌落较小，卵圆形，乳白色，有光泽，光滑，透明，扁平，规则 Small colony, oval, creamy white, glossy, smooth, transparent, flat, regular	球状 Sphericity	G^+
L7	菌落较大，卵圆形，黄色，有光泽，光滑，不透明，中部凸起，规则 Large colony, oval, yellow, glossy, smooth, non-transparent, central bulge, regular	杆状 Rhabditiform	G^+
L8	菌落较小，圆形，乳白色，有光泽，光滑，半透明，球状凸起，规则 Small colony, roundness, creamy white, glossy, smooth, semitransparent, spherical bulge, regular	球状 Sphericity	G^+

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

续表 1 Continued table 1

菌株编号 Strain No.	培养特征 Cultural characteristics	细胞形态 Cellular morphology	革兰氏染色 Gram stain
L9	菌落较大，卵圆形，黄色，有光泽，光滑，不透明，中部凸起，规则 Large colony, oval, yellow, glossy, smooth, non-transparent, central bulge, regular	杆状 Rhabditiform	G^-
L10	圆形，橙色，有光泽，光滑，不透明，中部凸起，规则 Roundness, orange, glossy, smooth, non-transparent, central bulge, regular	杆状 Rhabditiform	G^+
L11	圆形，粉红色，有光泽，光滑，不透明，扁平，规则 Roundness, pink, glossy, smooth, non-transparent, flat, regular	杆状 Rhabditiform	G^+
L12	圆形，黄色，有光泽，光滑，不透明，球状凸起，规则 Roundness, yellow, glossy, smooth, non-transparent, spherical bulge, regular	球状 Sphericity	G^+
L13	菌落较小，圆形，黄色，有光泽，光滑，不透明，球状凸起，规则 Small colony, roundness, yellow, glossy, smooth, non-transparent, spherical bulge, regular	短杆状 Short rhabditiform	G^+
L14	圆形，红色，无光泽，粗糙，不透明，边缘凸起，规则 Roundness, red, matt, rough, non-transparent, edge of bulge, regular	球状 Sphericity	G^+
L15	圆形，橙红色，有光泽，光滑，不透明，球状凸起，规则 Roundness, orange red, glossy, smooth, non-transparent, spherical bulge, regular	球状 Sphericity	G^+
L16	圆形，浅橙色，有光泽，光滑，不透明，球状凸起，规则 Roundness, light orange, glossy, smooth, non-transparent, spherical bulge, regular	短杆状 Short rhabditiform	G^-
L17	圆形，橙红色，有光泽，光滑，不透明，球状凸起，规则 Roundness, orange red, glossy, smooth, non-transparent, spherical bulge, regular	球状 Sphericity	G^+
L18	圆形，黄色，有光泽，光滑，半透明，球状凸起，规则 Roundness, yellow, glossy, smooth, semitransparent, spherical bulge, regular	杆状 Rhabditiform	G^-
L19	菌落较小，圆形，乳白色，有光泽，光滑，透明，中部凸起，规则 Small colony, roundness, creamy white, glossy, smooth, transparent, central bulge, regular	球状 Sphericity	G^+
L20	菌落较小，圆形，黄色，有光泽，光滑，不透明，球状凸起，规则 Small colony, roundness, yellow, glossy, smooth, non-transparent, spherical bulge, regular	球状 Sphericity	G^+
L21	菌落较大，圆形，乳白色，无光泽，粗糙，不透明，扁平，不规则 Large colony, roundness, creamy white, matt, rough, non-transparent, flat, irregular	短杆状 Short rhabditiform	G^+
L22	卵圆形，乳白色，有光泽，光滑，透明，扁平，不规则 Oval, creamy white, glossy, smooth, transparent, flat, irregular	短杆状 Short rhabditiform	G^-
L23	菌落较大，卵圆形，灰黄色，有光泽，光滑，不透明，扁平，不规则 Large colony, oval, grayish yellow, glossy, smooth, non-transparent, flat, irregular	杆状 Rhabditiform	G^+
L24	圆形，橙黄色，有光泽，光滑，不透明，中部凸起，不规则 Roundness, orange yellow, glossy, smooth, non-transparent, central bulge, irregular	短杆状 Short rhabditiform	G^+
L25	圆形，乳白色，有光泽，光滑，不透明，中部凸起，规则 Roundness, creamy white, glossy, smooth, non-transparent, central bulge, regular	短杆状 Short rhabditiform	G^-
L26	圆形，淡黄色，有光泽，光滑，半透明，球状凸起，规则 Roundness, pale yellow, glossy, smooth, semitransparent, spherical bulge, regular	短杆状 Short rhabditiform	G^-

注：G^+表示革兰氏阳性菌，G^-表示革兰氏阴性菌。Note: G^+ means gram-positive bacteria, G^- means gram-negative bacteria.

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

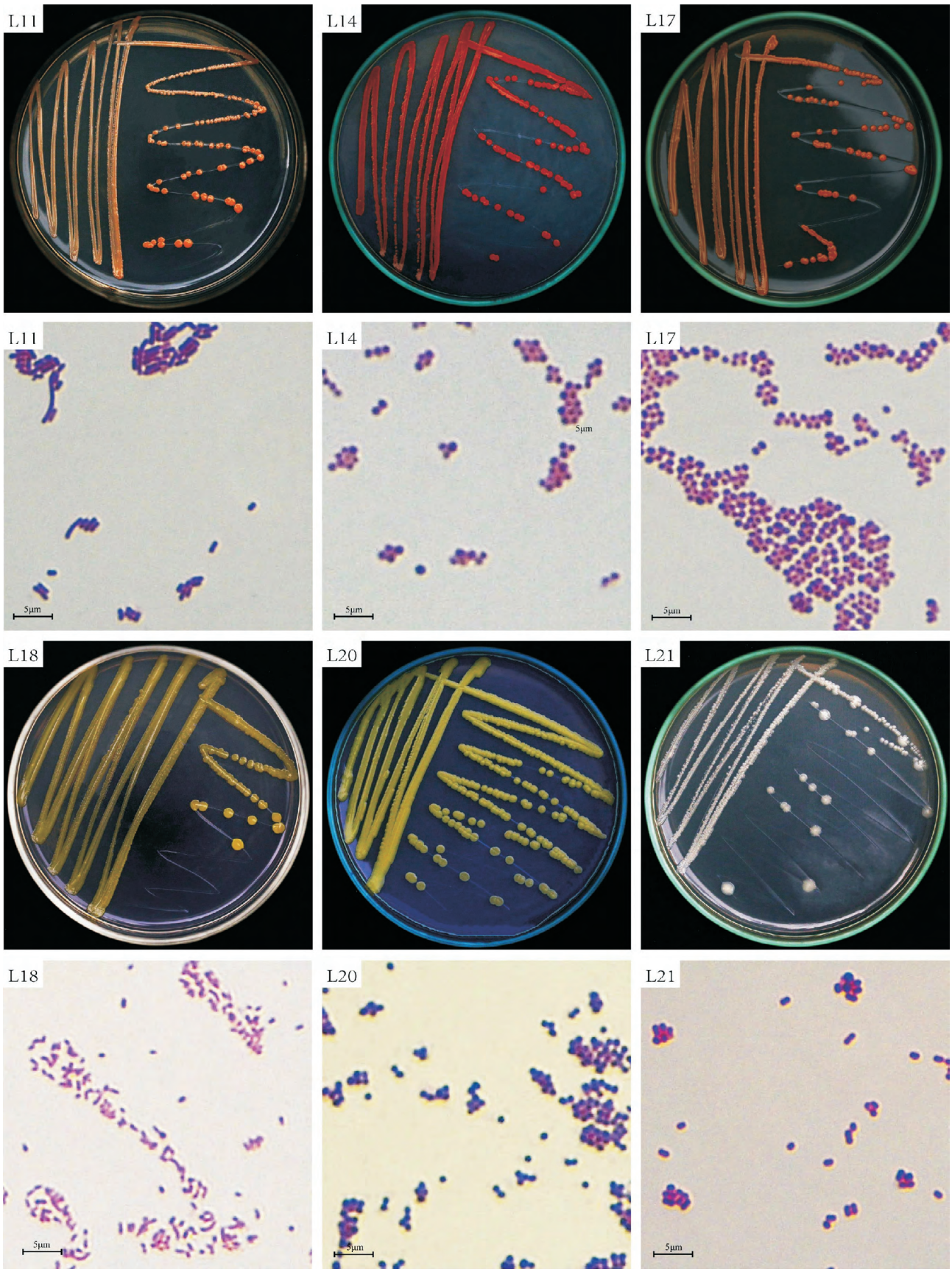


图 1　番茄潜叶蛾 3 龄幼虫肠道细菌部分菌株的菌落形态和细胞形态

Fig. 1　Colonial and cell morphology of several bacterial strains from the gut of the 3th instar larvae of *Tuta absoluta*

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

2.2 细菌分子鉴定及系统发育分析

通过 16S rDNA 序列比对分析，发现在番茄潜叶蛾 3 龄幼虫肠道中分离得到的 27 株细菌，分属于 3 门 10 科 17 属 24 种（表 2）。其中，变形菌门 Proteobacteria 有 3 科 3 属，分别是欧文氏菌科 Erwiniaceae 的欧文氏菌属 *Erwinia*、奈瑟氏球菌科 Neisseriaceae 的 *Prolinoborus* 属、红杆菌科 Rhodobacteraceae 的副球菌属 *Paracoccus*；放线菌门

表 2 番茄潜叶蛾 3 龄幼虫肠道中分离的菌株与数据库典型菌株比对结果

Table 2 The results of bacteria strains from the 3th instar larvae gut of *Tuta absoluta* between the database of typical strains

菌株编号 Stain No.	门 Fhylum	科 Family	最相似菌株名称 The most similar strain	相似度（%） Identity	登录号 Accession No.
L13	放线菌门 Actinobacteria	Ornithinimicrobiaceae	*Ornithinimicrobium pekingense* strain LW6	99.22	NR_043886.1
L4		皮杆菌科 Dermabacteraceae	*Brachybacterium tyrofermentans* strain CNRZ 926	98.93	NR_026272.1
L20			*Brachybacterium paraconglomeratum* strain JCM 17781	98.44	NR_113401.1
L6		微杆菌科 Microbacteriaceae	*Agrococcus baldri* strain IAM 15147	99.21	NR_041543.1
L10			*Microbacterium proteolyticum* strain RZ36	98.64	NR_135869.1
L18			*Microbacterium esteraromaticum* strain DSM 8609	99.72	NR_026468.1
L26			*Microbacterium diaminobutyricum* strain RZ63	98.07	NR_152648.1
L1		微球菌科 Micrococcaceae	*Micrococcus antarcticus* strain T2	99.14	NR_025285.1
L2			*Kocuria gwangalliensis* strain SJ2	98.06	NR_116266.1
L3			*Micrococcus flavus* strain CGMCC 1.5361	99.63	MT759861.1
L5			*Paeniglutamicibacter sulfureus* strain JCM 1338	99.78	MT760351.1
L7			*Glutamicibacter arilaitensis* strain Re117（T）	99.22	MK424282.1
L9			*Glutamicibacter arilaitensis* strain Re117（T）	98.99	MK424282.1
L12			*Nesterenkonia lutea* s train YIM 70081	99.21	NR_029120.1
L14			*Kocuria oceani* strain FXJ8.095	99.00	NR_156033.1
L15			*Kocuria rosea* strain DSM 20447	99.15	NR_044871.1
L17			*Kocuria rosea* strain DSM 20447	99.57	NR_044871.1
L25			*Pseudarthrobacter oxydans* strain DSM 20119	99.71	NR_026236.1
L11	厚壁菌门 Firmicutes	动性球菌科 Planococcaceae	*Planococcus donghaensis* strain JH1	97.35	NR_044073.1
L23			*Brevibacillus borstelensis* strain NBRC 15714	99.58	NR_113799.1
L8		葡萄球菌科 Staphylococcaceae	*Staphylococcus warneri* strain AW 25	99.37	NR_025922.1
L19		气球菌科 Aerococcaceae	*Aerococcus viridans* strain：JCM 20461	98.77	LC258156.1
L16	变形菌门 Proteobacteria	红杆菌科 Rhodobacteraceae	*Paracoccus angustae* strain E6	97.59	NR_137359.1
L22		奈瑟氏球菌 Neisseriaceae	*Prolinoborus fasciculus* strain CIP 103579	99.64	NR_104948.1
L24			*Prolinoborus fasciculus* strain CIP 103579	99.80	NR_104948.1
L		欧文氏菌科 Erwiniaceae	*Erwinia iniecta* strain B120	98.63	NR_137333.1
L21			*Erwinia iniecta* strain B120	98.88	NR_137333.1

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

Actinobacteria 有 4 科 10 属，分别属于微球菌科 Micrococcaceae 的微球菌属 *Micrococcus*、考克氏菌属 *Kocuria*、*Glutamicibacter* 属、*Paeniglutamicibacter* 属、*Pseudarthrobacter* 属和涅斯捷连科氏菌属 *Nesterenkonia*，微杆菌科 Microbacteriaceae 的微杆菌属 *Microbacterium* 和 *Agrococcus* 属，皮杆菌科 Dermabacteraceae 的短状杆菌属 *Brachybacterium* 和 Ornithinimicrobiaceae 科的 *Ornithinimicrobium* 属；厚壁菌门 Firmicutes 有 3 科 4 属，分别是动性球菌科 Planococcaceae 的动性球菌属 *Planococcus* 和短芽孢杆菌属 *Brevibacillus*，葡萄球菌科 Staphylococcaceae 的葡萄球菌属 *Staphylococcus* 和气球菌科 Aerococcaceae 的气球菌属 *Aerococcus*。

从系统发育树（图 2）可以看出，番茄潜叶蛾肠道可培养细菌分为 3 支。第一分支由放线菌门的 *Glutamicibacter* 属、*Paeniglutamicibacter* 属、

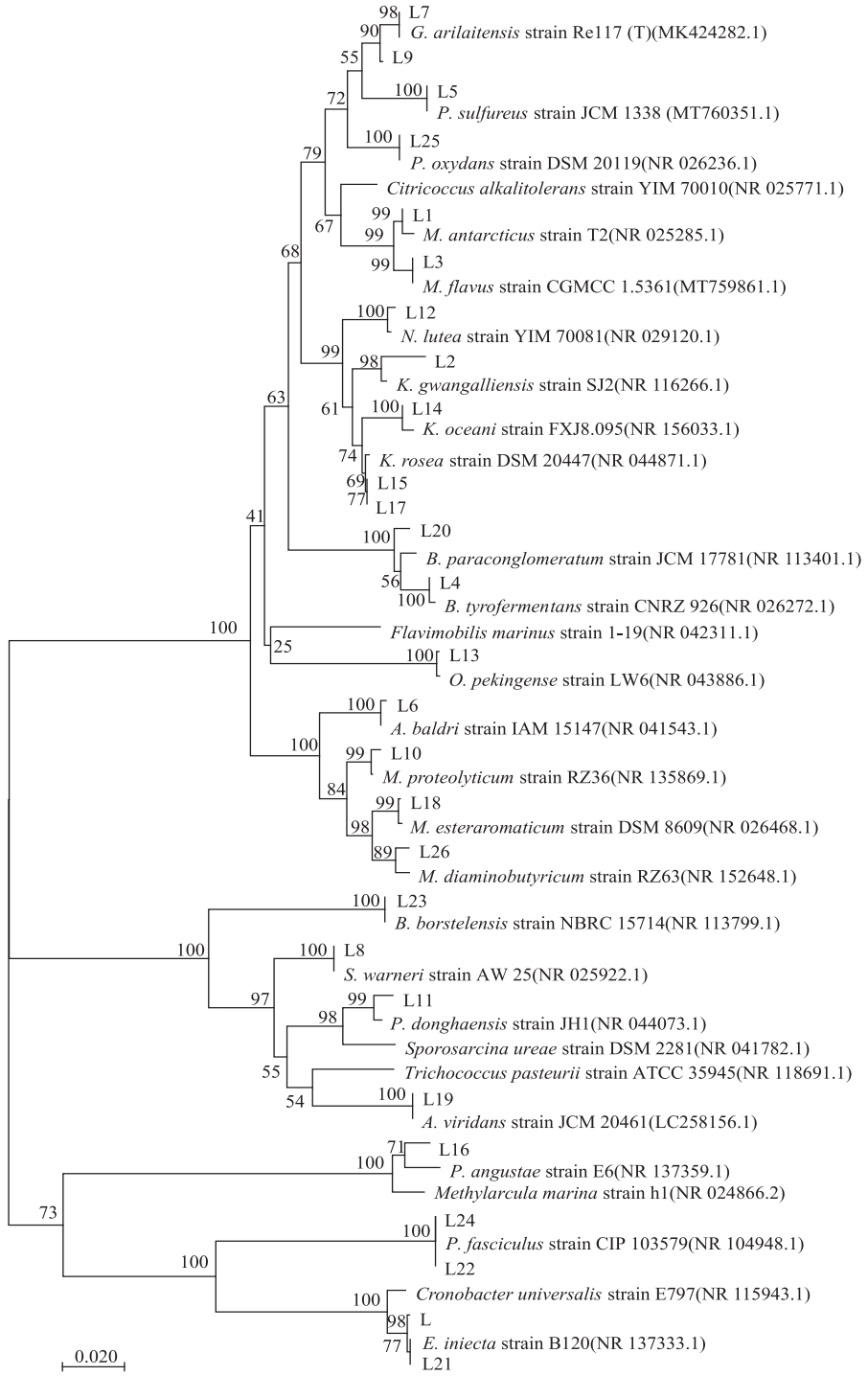


图 2　基于 16S rDNA 序列的番茄潜叶蛾 3 龄幼虫肠道可培养细菌的系统发育分析

Fig. 2　Phylogenetic tree based on the 16S rDNA sequences of gut bacterial strains from the 3th larvae of *Tuta absoluta*

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

Pseudarthrobacter 属、微球菌属、涅斯捷连科氏菌属、考克氏菌属、短状杆菌属、*Ornithinimicrobium* 属、*Agrococcus* 属和微杆菌属共 10 属的细菌组成；第二分支由厚壁菌门的短芽孢杆菌属、葡萄球菌属、气球菌属和动性球菌属共 4 属的细菌组成；第三分支由变形菌门的副球菌属、*Prolinoborus* 属和欧文氏菌属共三属的细菌组成。

根据系统发育树结果，考克氏菌属的菌株 L15 和 L17，*Prolinoborus* 属的菌株 L22 和 L24 可能是同一种菌株；*Glutamicibacter* 属的菌株 L7 和 L9，微球菌属的菌株 L1 和 L3，欧文氏菌属的 L 和 L21 先分别与其他同属已公布的菌株聚为一支，后再聚为一支，说明它们各自的亲缘关系较近；考克氏菌属的菌株 L15 和 L17 未直接与考克氏菌属菌株 L2 和 L14 聚为一支，说明菌株 L14、L2 与 L15 和 L17 虽然都属于考克氏菌属，但也存在一定的差异。

2.3 番茄潜叶蛾幼虫肠道可培养细菌的组成

在门级水平上，番茄潜叶蛾 3 龄幼虫肠道中共分离到 3 门细菌，分别属于变形菌门、放线菌门和厚壁菌门，各门细菌的相对多度分别为 90.68%、7.63% 和 1.69%，变形菌门为优势菌门；在科级水平上，番茄潜叶蛾 3 龄幼虫肠道中共分离到 10 科细菌，分别属于欧文氏菌科、微球菌科和微杆菌科等，各科的相对多度分别为 89.41%、4.66% 和 4.66% 等，欧文氏菌科为优势菌科；在属级水平上，番茄潜叶蛾 3 龄幼虫肠道中共分离到 17 属细菌，分别属于欧文氏菌属、考克氏菌属和微杆菌属等，各属的相对多度分别为 89.41%、1.69% 和 1.27% 等，欧文氏菌属为优势菌属；在种级水平上，番茄潜叶蛾 3 龄幼虫肠道中共分离到 24 种细菌，分别属于 *Erwinia iniecta*、玫瑰色考克氏菌和 *Glutamicibacter arilaitensis* 等，各种细菌的相对多度分别为 89.41%、0.85% 和 0.85% 等，*Erwinia iniecta* 为优势种。

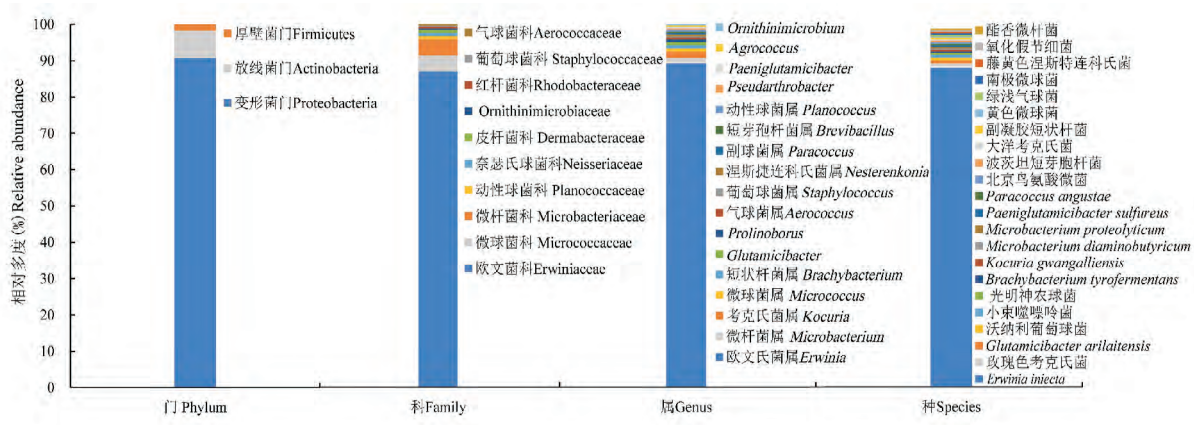


图 3 番茄潜叶蛾 3 龄幼虫肠道可培养细菌在门、科、属和种水平上的相对多度

Fig. 3 Relative abundances at the phylum, family, genera and species levels from the 3th instar larvae gut of *Tuta absoluta*

2.4 优势种生长曲线测定

番茄潜叶蛾 3 龄幼虫肠道细菌优势种 *Erwinia iniecta* 的生长曲线如图 4 所示。从图 4 可以看出，该菌生长期中无迟缓期，0 ~ 14 h 为对数生长期，14 ~ 28 h 为稳定期，28 h 以后进入衰亡期。

2.5 可培养细菌对淀粉和纤维素的降解作用

采用透明圈法测定了番茄潜叶蛾幼虫肠道中可培养细菌对淀粉和纤维素的降解作用（图 5、图 6）。结果显示，*Glutamicibacter* 属的 L7 和 L9、考克氏菌属的 L14、L15 和 L17、短状杆菌属的 L20 对淀粉具有降解作用；欧文氏菌属的 L、*Glutamicibacter* 属的 L7 和 L9、动性球菌属的 L11、

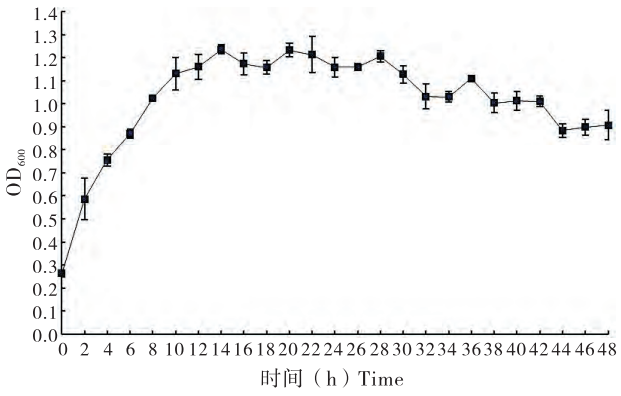


图 4 *Erwinia iniecta* 的生长曲线

Fig. 4 Growth curve of *Erwinia iniecta*

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

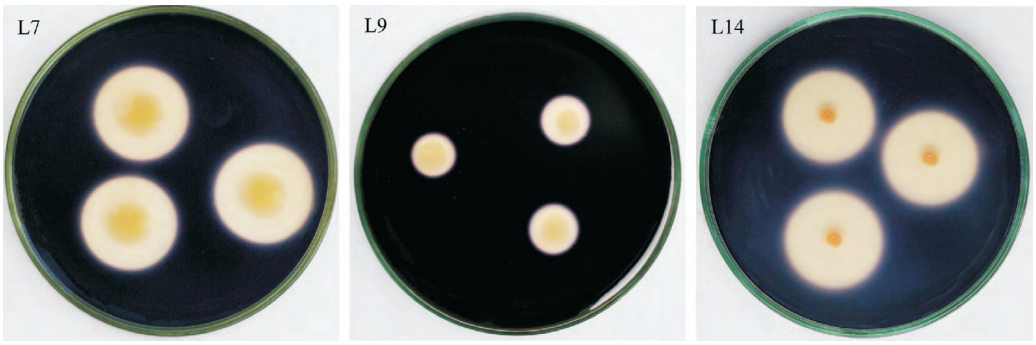


图 5　番茄潜叶蛾肠道中部分具有淀粉降解能力的菌株

Fig. 5　Starch degrading ability of several strains from the gut of *Tuta absoluta*

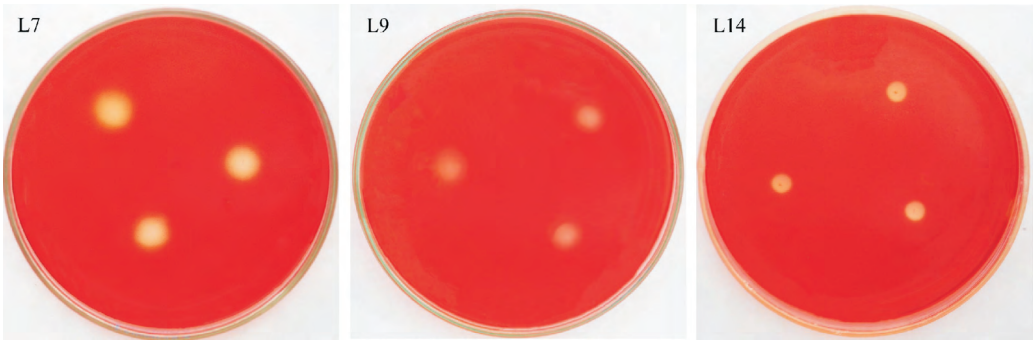


图 6　番茄潜叶蛾肠道中部分具有纤维素降解能力的菌株

Fig. 6　Cellulose degrading ability of several strains from the gut of *Tuta absoluta*

考克氏菌属的 L14、微杆菌属的 L18、短状杆菌属的 L20、*Prolinoborus* 属的 L22 对纤维素具有降解作用；其中，*Glutamicibacter* 属的 L7 和 L9、考克氏菌属的 L14 和短状杆菌属的 L20 能同时降解淀粉和纤维素；L1、L2、L3、L4、L5、L6、L8、L10、L12、L13、L16、L19、L21、L23、L24、L25 和 L26 对淀粉和纤维素均无降解作用。

3　结论与讨论

本研究采用传统分离培养法，利用两种常用昆虫肠道细菌分离培养的 LB 培养基和 NA 培养基，结合形态鉴定和 16S rDNA 序列分析对番茄潜叶蛾幼虫肠道细菌种类组成进行了研究，该结果基本能反映番茄潜叶蛾幼虫肠道细菌的组成结构。然而不同培养基培养得到的肠道细菌种类不尽一致，且对于一些具有特殊功能的细菌种类，还需要采用专化性培养基进行培养（Lagier *et al.*，2018），从而获得更多的专化性种类细菌。

本研究从番茄潜叶蛾云南种群 3 龄幼虫肠道中分离得到 3 门 10 科 17 属 24 种 27 株细菌，表明该虫肠道内细菌种类丰富。在门级水平上，番茄潜叶蛾云南种群 3 龄幼虫肠道细菌优势菌门为变形菌门，其相对多度达到 90.68%。该结果与番茄潜叶蛾同科的马铃薯块茎蛾 *Phthorimaea operculella* 幼虫肠道中优势菌门相同（郑亚强等，2017；樊清艳等，2020），也与其他鳞翅目昆虫如草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda*（徐天梅等，2020）、棉铃虫 *Helicoverpa armigera*（姜笑维等，2020）和小菜蛾 *Plutella xylostella*（吴晓露等，2019）等的肠道优势菌门相同。另外，厚壁菌门细菌是小菜蛾（吴晓露等，2019）和家蚕 *Bombyx mori*（郝长富等，2019）等鳞翅目昆虫的肠道内除变形菌门细菌之外的优势菌门，但厚壁菌门细菌并非是番茄潜叶蛾幼虫肠道内的优势菌，本研究结果与这些文献报道不同，具体原因还值得进一步探究。

此外，本研究发现番茄潜叶蛾 3 龄幼虫肠道细菌的优势种 *Erwinia iniecta* 具有降解纤维素的作用。*Erwinia iniecta* 可以利用蔗糖、蜜二糖、苦杏仁苷、d-木糖、d-甘露糖、熊果苷、纤维二糖、麦芽糖、棉子糖和乳糖等多种碳源（Campillo *et al.*，2015），本研究发现 *E. iniecta* 具有降解纤维素的作用，由此丰富了 *E. iniecta* 的生理功能。本研究发现菌株 *Glutamicibacter arilaitensis* 具有降解淀粉和

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

纤维素的作用，与 Borker *et al.* （Borker *et al.*，2021）研究结果相同，表明菌株 *G. arilaitensis* 在昆虫肠道中能够消化降解食物中的淀粉和纤维素，从而为宿主昆虫提供营养物质。

不同龄期的鳞翅目昆虫幼虫其肠道细菌多样性有会有所差异（Yang *et al.*，2020），家蚕幼虫肠道细菌随着龄期的增长，其肠道细菌数量会逐渐增加，但进入蛹期后会急剧下降（陈勃生，2020）。番茄潜叶蛾 3 龄幼虫处于暴食期，其肠道细菌最为丰富，4 龄后逐渐清空肠道为化蛹作准备，因此本研究选择番茄潜叶蛾 3 龄幼虫作为研究对象。昆虫的肠道分为前肠、中肠和后肠，不同部位其肠道细菌的组成结构也会存在差异，部分直翅目昆虫在取食时其中肠的消化液会倒入前肠的嗉囊中，导致前肠的细菌种类较多，而白蚁和蟋蟀肠道内细菌却主要存在于后肠（王亚召等，2016；杨云秋等，2018）。因此，本研究以番茄潜叶蛾完整肠道为试验材料从而确保分离到了其肠道的大部分细菌。

据报道，昆虫肠道细菌组成结构随其宿主昆虫地理分布的不同而存在差异（吴晓露等，2019），番茄潜叶蛾于 2017 年 8 月进入我国（张桂芬等，2019），现已在我国云南、贵州、四川等地发生危害（陆永跃等，2021），因此番茄潜叶蛾云南种群肠道细菌与其他地区以及进入我国前的虫源地种群的肠道细菌组成结构的差异，是值得进行研究比较的内容。寄主植物种类是影响昆虫肠道细菌组成结构的重要因素（Strano *et al.*，2018），本研究仅是分离培养了取食番茄叶片的番茄潜叶蛾幼虫肠道细菌，而取食马铃薯 *Solanum tuberosum* L. 、茄子 *Solanum melongena* L. 和豆类等植物的番茄潜叶蛾幼虫肠道中的差异性细菌，有可能对番茄潜叶蛾的寄主适应性具有重要影响。研究取食不同寄主植物的番茄潜叶蛾肠道细菌组成的差异，可为探明番茄潜叶蛾肠道细菌对寄主的适应性机制提供一定理论依据，对番茄潜叶蛾的综合防治具有重要意义。

参考文献（References）

Borker SS, Thakur A, Sanjeet K, *et al.* Comparative genomics and physiological investigation supported safety, cold adaptation, efficient hydrolytic and plant growth-promoting potential of psychrotrophic *Glutamicibacter arilaitensis* LJH19, isolated from night-soil compost [J]. *BMC Genomics*, 2021, 22 (1): 307 – 324.

CABI. Invasive species sompendium, *Tuta absoluta* (tomato leafminer) datasheet [EB/OL]. (2019 – 01 – 11) [2021 – 05 – 25]. https://www.cabi.org/isc/datasheet/49260#toPictures.

CABI. *Tuta absoluta* (South American tomato pinworm) [EB/OL]. (2021 – 02 – 12) [2021 – 05 – 17]. https://www.cabi.org/isc/datasheet/49260.

Campillo T, Luna E, Portier P, *et al.* *Erwinia iniecta* sp. nov., isolated from Russian wheat aphid (*Diuraphis noxia*) [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2015, 65 (10): 3625 – 3633.

Chang YP, Tian QF, Guo X, *et al.* Composition of the intestinal bacteria and their cellulase characterization in *Cathaica fasciola* [J]. *Journal of Hebei University* (Natural Science Edition), 2017, 37 (4): 400 – 404. [昌艳萍, 田其凡, 郭欣, 等. 蜗牛肠道细菌及其纤维素酶性质 [J]. 河北大学学报 (自然科学版), 2017, 37 (4): 400 – 404]

Chen BS. Biodiversity and metabolic functions of gut microbiota in silkworm *Bombyx mori* [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2020. [陈勃生. 家蚕肠道微生物的多样性及其代谢功能探究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2020]

Desneux N, Wajnberg E, Wyckhuys K, *et al.* Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta*: Ecology, geographic expansion and prospects for biological control [J]. *Journal of Pest Science*, 2010, 83 (3): 197 – 215.

Fan QY, Zheng YQ, Chen B, *et al.* Diversity of intestine cultivable bacteria in potato tuber moth *Phthorimaea operculella* feeding on potato tubers and leaves [J]. *Journal of Plant Protection*, 2020, 47 (3): 497 – 507. [樊清艳, 郑亚强, 陈斌, 等. 取食马铃薯块茎和叶片的马铃薯块茎蛾肠道内可培养细菌的多样性 [J]. 植物保护学报, 2020, 47 (3): 497 – 507]

Feng GD, Chen MB, Yang SZ, *et al.* A comparative study on bacteria DNA extraction methods used for PCR amplification [J]. *Journal of South China Agricultural University*, 2013, 34 (3): 439 – 442. [冯广达, 陈美标, 羊宋贞, 等. 用于 PCR 扩增的细菌 DNA 提取方法比较 [J]. 华南农业大学学报, 2013, 34 (3): 439 – 442]

Goodrich JK, Dirienzis C, Poolea C, *et al.* Conducting a microbiome study [J]. *Cell*, 2014, 158 (2): 250 – 262.

Hao CF, Li G, Sun X, *et al.* Analysis of intestinal bacterial diversity in *Bombyx mori* larvae reared on different feeds [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2019, 62 (1): 61 – 72. [郝长富, 李刚, 孙熙, 等. 不同饲料饲育的家蚕幼虫肠道细菌的多样性分析 [J]. 昆虫学报, 2019, 62 (1): 61 – 72]

Hu Y, Sanders JG, Lukasik P, *et al.* Herbivorous turtle ants obtain essential nutrients from a conserved nitrogen-recycling gut microbiome [J]. *Nature Communications*, 2018, 9 (1): 964.

Jiang XW, Guan DY, Li QY, *et al.* Effects of tefluthrin and deltamethrin on gut microbiota in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2020, 63 (10): 1183 – 1193. [姜笑维, 关丹阳, 李清亚, 等. 七氟菊酯和溴氰菊酯对棉铃虫肠道菌群的影响 [J]. 昆虫学报, 2020, 63 (10): 1183 – 1193]

Lagier GC, Gregory G, Matthieu M, *et al.* Culturing the human microbiota and culturomics [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2018, 16 (9): 540 – 550.

Lu YY. Beware of *Tuta absoluta* (Meyrick) continued proliferation and

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

invasion in our country [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2021, 43 (2): 526 – 528. [陆永跃. 警惕番茄潜叶蛾 *Tuta absoluta* (Meyrick) 在我国持续扩散入侵 [J]. 环境昆虫学报, 2021, 43 (2): 526 – 528]

Ma F, Zhang JH, Yu XY, *et al.* *Tuta absoluta* (Meyrick) [J]. *Plant Quarantine*, 2011, 25 (5): 55 – 58. [马菲, 张俊华, 于艳雪, 等. 番茄麦蛾 [J]. 植物检疫, 2011, 25 (5): 55 – 58]

Mehrkhou F, Nurper G, Korkmaz EM, *et al.* Analysis of genetic variation in an important pest, *Tuta absoluta*, and its microbiota with a new bacterial endosymbiont [J]. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 2021, 45: 111 – 123.

Moran NA, Ochman H, Hammer TJ. Evolutionary and ecological consequences of gut microbial communities [J]. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 2019, 50 (1): 451 – 475.

Ning TT. Mechanisms Underlying Starch and Hemicellulose Degradation by Microbial Enzymes in Total Mixed Ration Silage [D]. Beijing: China Agricultural University, 2016. [宁婷婷. TMR 发酵过程中微生物及其酶对淀粉及半纤维素降解的作用机理研究 [D]. 北京: 中国农业大学, 2016]

Santos-Garcia D, Mestre-Rincon N, Zchori-Fein E, *et al.* Inside out: microbiota dynamics during host-plant adaptation of whiteflies [J]. *Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology*, 2020, 14 (3): 847 – 856.

Shen P, Chen XD. Microbiology [M]. Beijing: Higher Education Press, 2006: 135 – 136. [沈萍, 陈向东. 微生物学 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2006: 135 – 136]

Shukla SP, Plata C, Reichelt M, *et al.* Microbiome – assisted carrion preservation aids larval development in a burying beetle [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2018, 115 (44): 11274 – 11279.

Strano CP, Malacrinò A, Campolo O, *et al.* Influence of host plant on *Thaumetopoea pityocampa* gut bacterial community [J]. *Microbial Ecology*, 2018, 75 (2): 487 – 494.

Wang RR, Hu Y, Yang ZD, *et al.* Isolation, identification and diversity of culturable bacteria in female adults of *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle [J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2018, 49 (12): 2432 – 2439. [王蕊蕊, 胡颖, 杨振德, 等. 桉树枝瘿姬小蜂雌成虫体内可培养细菌分离鉴定及多样性分析 [J]. 南方农业学报, 2018, 49 (12): 2432 – 2439]

Wang SB, Qu S. Insect symbionts and their potential application in pest and vector – borne disease control [J]. *Bulletin of Chinese Academy of Sciences*, 2017, 32 (8): 863 – 872. [王四宝, 曲爽. 昆虫共生菌及其在病虫害防控中的应用前景 [J]. 中国科学院院刊, 2017, 32 (8): 863 – 872]

Wang YZ, Ji BZ, Liu SW, *et al.* Research progress of nitrogen fixation of symbiotic bacteria in termites [J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental*, 2016, 22 (2): 342 – 349. [王亚召, 嵇保中, 刘曙雯, 等. 白蚁共生菌固氮研究进展 [J]. 应用与环境生物学报, 2016, 22 (2): 342 – 349]

Wu WT, Ju MT, Liu JP, *et al.* Isolation, identification and corn stalk degradation characteristics of cellulose – degrading bacterial strain NH11 [J]. *Microbiology China tongbao*, 2013, 40 (4): 712 – 719. [吴文韬, 鞠美庭, 刘金鹏, 等. 一株纤维素降解菌的分离、鉴定及对玉米秸秆的降解特性 [J]. 微生物学通报, 2013, 40 (4): 712 – 719]

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]

Xu TM, Fu CY, Su ZT, *et al.* Composition and diversity of gut bactiria community of *Spodoptera frugiperda* from the first invasion site and the dispersal area in Yunnan province [J]. *Plant Protection*, 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]

Yang YJ, Liu XG, Xu HX, *et al.* The abundance and diversity of gut bacteria of rice leaffolder *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenée) across life stages [J]. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 2020, 23 (2): 430 – 438.

Yang YQ, Zhang Y, Chen YR, *et al.* Function and research methods of insect intestinal bacteria [J]. *Journal of Anhui Agricultural University*, 2018, 45 (3): 512 – 518. [杨云秋, 张勇, 陈亦然, 等. 昆虫肠道细菌的功能和研究方法 [J]. 安徽农业大学学报, 2018, 45 (3): 512 – 518]

Zeng YT, Guo XL, Zhou K, *et al.* Screening and identification of Se – enriching lactic acid bacteria [J]. *Food Science*, 2015, 36 (3): 178 – 182. [曾议霆, 郭溪浪, 周康, 等. 富硒乳酸菌的筛选及鉴定 [J]. 食品科学, 2015, 36 (3): 178 – 182]

Zhang GF, Liu WX, Wan FH, *et al.* Bioecology, damage and management of the tomato leafminer *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae), a worldwide quarantine pest [J]. *Journal of Biosafety*, 2018, 27 (3): 155 – 163. [张桂芬, 刘万学, 万方浩, 等. 世界毁灭性检疫害虫番茄潜叶蛾的生物生态学及危害与控制 [J]. 生物安全学报, 2018, 27 (3): 155 – 163]

Zhang GF, Ma DY, Liu WX, *et al.* The arrival of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae), in China [J]. *Journal of Biosafety*, 2019, 28 (3): 200 – 203. [张桂芬, 马德英, 刘万学, 等. 中国新发现外来入侵害虫—南美番茄潜叶蛾 (鳞翅目: 麦蛾科) [J]. 生物安全学报, 2019, 28 (3): 200 – 203]

Zhang XR, Liu XH, Fu B, *et al.* Screening, identification and fermentation process optimization of starch degrading bacteria in tobacco [J]. *Food & Machinery*, 2021, 37 (2): 34 – 41. [张晓瑞, 刘晓晖, 付博, 等. 烟草中淀粉降解菌的筛选、鉴定及发酵工艺优化 [J]. 食品与机械, 2021, 37 (2): 34 – 41]

Zheng YQ, Du GZ, Li YF, *et al.* Isolation and identification of bacteria from larval gut of the potato tuber worm, *Phthorimaea operculella* (Zeller) and the degradation for plant – based macromolecular compounds [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2017, 39 (3): 525 – 532. [郑亚强, 杜广祖, 李亦菲, 等. 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 [J]. 环境昆虫学报, 2017, 39 (3): 525 – 532]

Zhu YL. Experimental method of bacteria growth curve determination [J]. *Journal of Microbiology*, 2016, 36 (5): 108 – 112. [朱艳蕾. 细菌生长曲线测定实验方法的研究 [J]. 微生物学杂志, 2016, 36 (5): 108 – 112]

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