

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2019.09.001

草地贪夜蛾研究专栏

草地贪夜蛾是一种联合国粮农组织全球预警的跨国迁飞性农业重大害虫, 主要危害玉米、甘蔗、高粱等作物, 危害巨大, 自今年 1 月份从东南亚飞入我国云南、广西, 截至 7 月底已扩散至 22 个省市(自治区), 危害面积超 55 万 hm^2 。草地贪夜蛾侵入我国后, 我校家蚕基因组生物学国家重点实验室迅速跟进研究, 陆续取得一批研究结果, 并已在本刊 7 期、8 期连续刊出了 5 篇研究报告。本期我们继续刊出该团队 3 篇肠道菌群的研究报告以及该团队与西南大学电子信息学院陈通教授团队联合开展的研究工作。前 3 篇文章主要集中于研究内容主要集中在草地贪夜蛾肠道真菌、肠道细菌及其与玉米内生菌之间的关系, 其中草地贪夜蛾肠道真菌研究以前在国内外均未见报道。最后 1 篇报告是基于深度学习开展的草地贪夜蛾的自动图像识别研究。这些研究为阐明草地贪夜蛾强大的环境适应能力提供了基础数据, 也为草地贪夜蛾的识别、防控提供了先进的技术支撑。

重庆地区草地贪夜蛾幼虫肠道真菌的分离鉴定^①

吴燕燕^{1,2,3,4}, 耿敬可⁴, 徐思⁴, 唐运林^{1,2,3},
顾佑铖^{1,2,3}, 韦俊宏^{1,2,3}, 潘国庆^{1,2,3}, 周泽扬^{1,2,3,5}

1. 西南大学 家蚕基因组生物学国家重点实验室, 重庆 400715;
2. 西南大学 农业部蚕桑生物学与遗传育种重点实验室, 重庆 400715;
3. 西南大学 微孢子虫感染与防控重庆市重点实验室, 重庆 400715;
4. 西南大学 生物技术学院, 重庆 400715;
5. 重庆师范大学 生命科学学院, 重庆 401331

摘要: 草地贪夜蛾(*Spodoptera frugiperda*)是一种洲际迁飞性农业害虫, 食谱广泛。2019 年 5 月已迁飞至重庆地区, 对农作物造成严重危害。为了解入侵重庆地区草地贪夜蛾(*Spodoptera frugiperda*)肠道真菌菌群的组成, 本研究以采集自重庆巫山玉米田及重庆江津高粱田中的草地贪夜蛾幼虫为材料, 运用传统培养方法分离其粪便中的肠道优势真菌, 并对其进行形态学观察和分子生物学鉴定。实验通过分离培养不同地区、不同食物的草地贪夜蛾肠道真菌, 结合形态学观察及 rDNA ITS 测序完成了属水平的鉴定, 共分离得到了 5 个属 10 个真菌分离株, 其中分离自重庆巫山玉米田的草地贪夜蛾肠道真菌归为 3 个属, 分别为念珠菌属(*Candida*)、掷孢酵母属(*Sporobolomyces*)和帚枝霉属(*Sarocladium*); 分离自重庆江津高粱田的草地贪夜蛾肠道真菌归为 3 个属, 分别为念珠菌属(*Candida*)、莫氏黑粉菌属(*Moesziomyces*)和毛霉属(*Mucor*)。初步分离获得入侵重庆地区的草地贪夜蛾肠道真菌, 丰富了对入侵草地贪夜蛾肠道微生物的认识。

关键词: 重庆地区; 草地贪夜蛾; 肠道真菌; 鉴定

中图分类号: Q969.436.5; Q93-331

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2019)09-0001-08

① 收稿日期: 2019-08-18

基金项目: 中央高校基本科研业务费团队项目(XDJK2018AA001); 家蚕基因组生物学国家重点实验室自设课题(2019-03)。

作者简介: 吴燕燕(1997-), 女, 硕士研究生, 主要从事昆虫肠道微生物研究。

通信作者: 韦俊宏, 博士, 讲师; 潘国庆, 博士, 研究员, 博士生导师。

草地贪夜蛾(*Spodoptera frugiperda*), 别名伪黏虫、秋行军虫、秋黏虫, 隶属鳞翅目 Lepidoptera, 夜蛾科 Noctuidae, 灰翅夜蛾属 *Spodoptera*, 是一种原产于美洲热带和亚热带地区的重要农业入侵害虫, 具有迁飞性、杂食性和暴发性等特点^[1-4]. 草地贪夜蛾飞行能力强, 迁移扩散速度快, 能快速、大范围扩散蔓延, 造成粮食作物的严重损害^[5-6]. 2019 年 1 月 11 日, 我国云南省普洱市江城首次发现草地贪夜蛾入侵, 而后其迅速向邻近省份扩散, 快速迁飞到长江中下游、黄淮、华东、东北和西北等地^[7]. 截至 2019 年 5 月 10 日, 草地贪夜蛾已扩散至全国 13 个省 261 个县(市、区), 而截至 2019 年 7 月 5 日, 草地贪夜蛾已蔓延至全国 20 个省市(自治区)1 128 个县(市、区)^[8], 造成了我国农业生产的巨大经济损失^[9].

昆虫肠道作为昆虫的一个重要器官, 多种复杂的微生物定殖于此, 构成了一个相对稳定的肠道微生态系统, 该系统在宿主的营养消化、免疫防御、信息素合成等多个方面起着重要的作用^[10-12]. 目前, 在常见昆虫中已经发现的肠道微生物包括细菌、真菌和古细菌, 其中昆虫肠道细菌菌群研究报道较多, 而对肠道真菌的研究报道较少. 本课题组在前期对草地贪夜蛾肠道优势细菌研究的基础上^[13-15], 以重庆巫山地区玉米田及重庆江津地区高粱田中的草地贪夜蛾幼虫为样本, 通过传统培养法以及 rDNA ITS 测序对草地贪夜蛾肠道真菌进行初步分离鉴定, 以期为后续深入研究草地贪夜蛾肠道微生态与宿主间关系奠定基础.

1 材料及方法

1.1 供试昆虫

草地贪夜蛾幼虫采自重庆巫山玉米田及重庆江津高粱田中.

1.2 供试培养基与主要试剂

马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA); ITS1, ITS4 引物, r Taq PCR 酶(上海生工生物工程股份有限公司).

1.3 草地贪夜蛾幼虫肠道真菌的分离

选取不同来源地的草地贪夜蛾幼虫新鲜粪便样品作为实验材料, 在超净工作台上进行分离操作. 取草地贪夜蛾幼虫粪便置于无菌 1.5 mL EP 管中, 向离心管中加入 1 mL 灭菌 PBS 缓冲液, 高速涡旋震荡, 混匀备用.

取 20 μ L 氨苄青霉素及卡那抗生素均匀涂布于 PDA 平板上, 晾干. 再分别取 20 μ L 上述粪便悬浊液涂布于处理后的 PDA 平板上, 放置于 30 $^{\circ}$ C 恒温培养箱中倒置培养. 待菌落长出后, 初步根据菌落形态、大小和颜色等特征选取单菌落, 从菌落边缘挑取少量, 再次转接至 PDA 培养基平板上, 多次纯化, 由此获得菌株纯培养物.

1.4 肠道真菌的形态学鉴定

将分离纯化的菌株接种到 PDA 平板中央, 置于 30 $^{\circ}$ C 恒温条件下培养, 定期观察菌落生长情况, 记录其颜色及形态, 并在光学显微镜下观察菌株形态, 参照《酵母菌的特征与鉴定手册》^[16]、《真菌鉴定手册》^[17] 等对分离到的菌株进行初步鉴定.

1.5 肠道真菌的分子学鉴定

使用 CTAB 法^[18]提取菌株的基因组 DNA, DNA 用 NanoDrop ND-2000 仪器测定浓度, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 储存用于后续实验。

采用真菌通用引物 ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') 和 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') 进行 ITS 序列扩增. 反应体系: 模板 DNA 2.5 μL , 引物 ITS1/ITS4 各 1 μL , r Taq 酶 12.5 μL , 无菌水补足至 25 μL . 反应程序为: $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预变性 10 min; $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, $51\text{ }^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s, $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min, 35 个循环; $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min. 将扩增产物送往上海生工生物工程股份有限公司测序. 将所得基因序列与 GenBank 数据库中保存的基因序列进行比对, 得到与目的菌株具有同源性的多株菌株相应序列. 从中选择下载同源性较高的序列, 使用 MEGA5.2 软件, 运用 NJ 法进行 1 000 次步长计算, 构建系统发育进化树.

2 结果与分析

2.1 草地贪夜蛾肠道真菌的分离纯化

将来自重庆巫山玉米田及重庆江津高粱田的不同草地贪夜蛾幼虫粪便匀浆, 均匀涂布于 PDA 平板上, 分离获得草地贪夜蛾幼虫肠道菌株. 从重庆巫山玉米地草地贪夜蛾幼虫粪便样品中分离纯化得到 7 株真菌, 分别编号 WSF-1 到 WSF-7. 从重庆江津高粱地草地贪夜蛾幼虫粪便样品中分离纯化得到 3 株真菌, 编号为 JSF-1 到 JSF-3.

2.2 肠道真菌的形态学鉴定

通过菌株形态学观察, 从来自重庆巫山玉米田及重庆江津高粱地的不同草地贪夜蛾幼虫粪便样品中共得到 5 个属的肠道真菌菌株, 其中菌株 WSF-1, WSF-4 和 JSF-3 归类于念珠菌属(*Candida*), 菌株 WSF-2, WSF-3, WSF-5 和 WSF-6 归类于帚枝霉属(*Sarocladium*), 菌株 WSF-7 属于掷孢酵母属(*Sporobolomyces*), 菌株 JSF-1 属于莫氏黑粉菌属(*Moesziomyces*), 菌株 JSF-2 属于毛霉属(*Mucor*). 各属的菌落与细胞形态观察如图 1 所示.

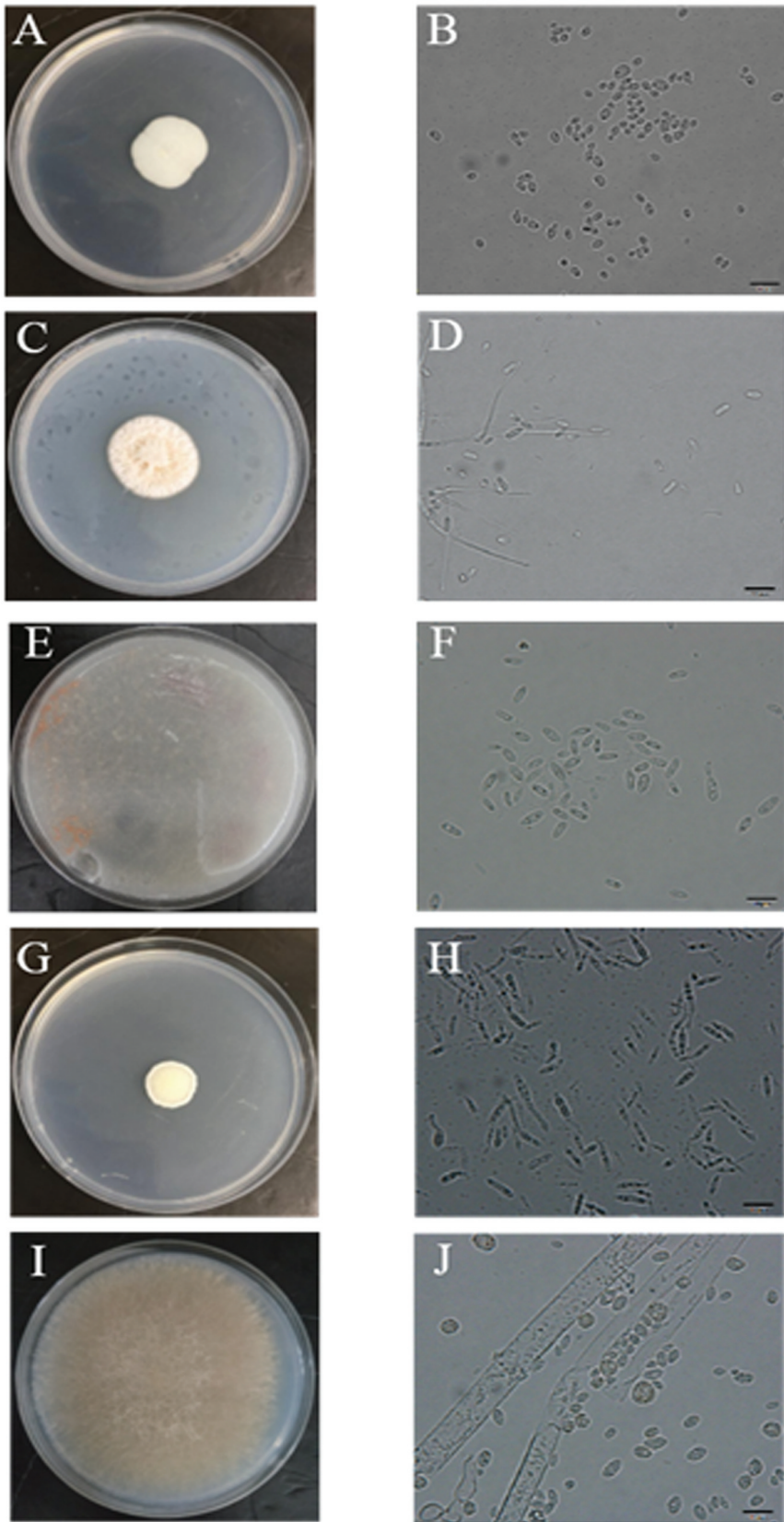
1) 念珠菌属(*Candida*): 图 1(A), 菌落较小, 生长速度慢, 呈乳白色奶油状, 不透明, 边缘不整齐, 中间有凸起. 图 1(B), 单细胞, 出芽生殖, 可形成假菌丝, 营养细胞呈球形或卵形.

2) 帚枝霉属(*Sarocladium*): 图 1(C), 菌落生长迅速, 呈橙红色. 图 1(D), 分生孢子梗简单, 偶尔分枝. 分生孢子分为黏性头, 圆柱形或椭圆形, 透明.

3) 掷孢酵母属(*Sporobolomyces*): 图 1(E), 菌落呈圆形凸起、表面光滑、湿润黏稠、边缘齐整, 粉红色. 图 1(F), 菌体细胞呈现大小不等的椭圆形, 形成肾形的掷孢子, 有明显的出芽生殖特征, 与普通酵母相似.

4) 莫氏黑粉菌属(*Moesziomyces*): 图 1(G), 菌落较小, 正面呈淡黄色不透明状, 背面呈鹅黄色, 酵母样形态. 图 1(H), 菌落干燥, 有明显的皱褶, 边缘不整齐. 双核菌丝, 冬孢子球呈球形、卵形.

5) 毛霉属(*Mucor*): 图 1(I), 菌落形态较大, 质地疏松, 外观干燥, 不透明, 疏松绒毛状, 菌落与培养基间的连接紧密. 图 1(J), 其具有发达的菌丝体, 菌丝无隔多核. 菌丝初期白色, 后变为灰白色. 无假根和匍匐枝形成, 孢子囊球形, 成熟后易破裂, 散发出大量的孢子囊孢子.



A: 菌落形态, B: 真菌纤维形态(WSF-1, WSF-4 和 JSF-3, 念珠菌属); C: 菌落形态, D: 真菌纤维形态(WSF-2, WSF-3, WSF-5 和 WSF-6, 帚枝霉属); E: 菌落形态, F: 真菌纤维形态(WSF-7, 掷孢酵母属); G: 菌落形态, H: 真菌纤维形态(JSF-1, 莫氏黑粉菌属); I: 菌落形态, J: 真菌纤维形态(JSF-2, 毛霉属).

图 1 菌落与细菌形态

2.3 肠道真菌的分子生物学鉴定

将分离纯化得到的菌株采用 CTAB 法提取 DNA 进行 PCR 扩增, 扩增产物测序后在 GenBank 中进行 BLAST 同源性检索, 选取相关序列通过 Mega 5.2, 使用 N-J 进行 1 000 次步长计算, 构建系统发育树(图 2). 结果表明, 草地贪夜蛾肠道分离的可培养真菌在进化树上形成不同的分支, 物种丰富度较低. 在基于 ITS rDNA 序列片段构建的系统发育进化树中, 菌株 WSF-1, JSF-3 与 KT876709.1 *Candida intermedia* 聚为同一分支; 菌株 WSF-4 与 KP131721.1 *Candida intermedia* 聚为同一分支; 菌株 WSF-2, WSF-3, WSF-5 和 WSF-6 与 GQ167229.1 *Sarocladium zae*, KT878336.1 *Sarocladium zae* 聚为同一分支; WSF-7 与 MK592826.1 *Sporobolomyces carnicolor*, LC191346.1 *Sporobolomyces carnicolor* 聚为同一分支; JSF-1 与 LC368626.1 *Moesziomyces antarcticus* 聚为同一分支; JSF-2 与 MG583964.1 *Mucor irregularis* 聚为同一分支. 与形态学鉴定结果相结合, 将菌株 WSF-1, WSF-4 和 JSF-3 归类于念珠菌属(*Candida*), 菌株 WSF-2, WSF-3, WSF-5 和 WSF-6 归类于帚枝霉属(*Sarocladium*), 菌株 WSF-7 归类于掷孢酵母属(*Sporobolomyces*), 菌株 JSF-1 归类于莫氏黑粉菌属(*Moesziomyces*), 菌株 JSF-2 归类于毛霉属(*Mucor*).

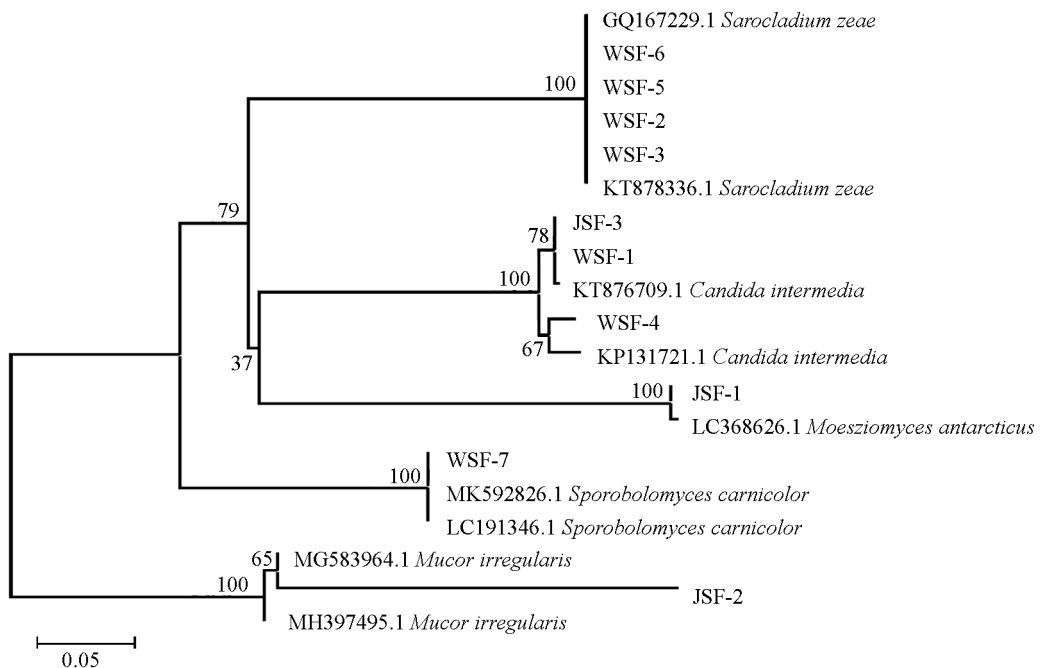


图 2 重庆地区草地贪夜蛾幼虫肠道真菌系统发育分析

3 讨 论

本实验通过分离培养重庆不同地区、不同食物的草地贪夜蛾肠道真菌, 结合形态学观察及 rDNA ITS 测序完成属水平的鉴定, 共分离得到 10 个真菌分离株, 其中分离自重庆巫山玉米田草地贪夜蛾肠道真菌归为 3 个属, 分别为念珠菌属(*Candida*)、掷孢酵母属(*Sporobolomyces*)和帚枝霉属(*Sarocladium*); 分离自重庆江津高粱地草地贪夜蛾肠道真菌归为 3 个属, 分别为念珠菌属(*Candida*)、莫氏黑粉菌属(*Moesziomyces*)和毛霉属(*Mucor*). 将测序得到的草地贪夜蛾肠道真菌 ITS 序列进行系统进化分析, 草地贪夜蛾肠道分离的可培养真菌在进化树上形成了不同的分支, 物种丰富度较低. 念珠菌属在两地草地贪夜蛾幼虫粪便样品中均分离得到, 可以推测念珠菌属可能是定殖于草地贪夜蛾肠道的菌群. 同时, 课题组发现同种昆虫的肠道微生物种类和丰度出现了差异, 可能是由于食物和地域的不同所致^[19-20].

昆虫肠道内环境里存在着真菌菌群,在漫长的进化过程中两者逐渐形成了复杂而密切的关系,进一步探究两者间的进化关系,有利于防治昆虫病害,也有利于从昆虫肠道这一特殊环境中获得特殊功能的菌种资源^[13, 21]。例如,念珠菌属作为重要的昆虫肠道共生菌,从甲虫等昆虫的肠道中常分离到新种^[22-23], *Candida intermedia* 可以产生抑制灰霉菌菌丝生长和分生孢子萌发的挥发性物质,具有抗菌活性成分,可作为生防因子防治草莓灰霉病、番茄灰霉病等植物病害^[24];帚枝霉属曾从白蚁肠道中分离得到,能水解纤维素和木聚糖^[25],也是一种植物病原菌,会引起水稻叶鞘腐败病、茎节腐烂病等病害,造成严重的损失^[26-27];掷孢酵母属在自然环境中分布广泛,常见于空气、植物的叶片等处,且适应能力较强,应用广泛,是真菌中最普遍的石油烃降解菌之一,有利于污水治理^[28]; *Moesziomyces antarcticus* 最初从南极洲 Vanda 湖中沉积物样品中分离得到,研究表明其可降解部分塑料,是一种重要的糖脂表面活性剂甘露糖赤藓糖醇脂质(MELs)的重要生产者^[29];毛霉属在土壤、粪便及空气等环境中广泛存在,菌丝致密、柔软,有利于腐乳形成皮膜,同时能产生高活力蛋白酶,能保证大豆蛋白质的适度分解等,在腐乳生产中占据重要的地位^[30]。

研究发现,邵明伟^[31]从蜻蜓目蜻蜓肠道内分离出曲霉属(*Aspergillus* sp.),弯孢霉属(*Curvularia* sp.),芽枝霉属(*Cladosporium* sp.),刺孢壳属(*Chaetomella* sp.),镰刀菌属(*Fusarium* sp.),青霉属(*Peucillium* sp.)和茎点霉属(*Phoma* sp.);陈君芝等^[32]从直翅目中华剑角蝗中分离出青霉属(*Peucillium* sp.),曲霉属(*Aspergillus* sp.),镰刀菌属(*Fusarium* sp.),从赤壳属(*Nectria* sp.),茎点霉属(*Phoma* sp.),刺盘孢属(*Colletotrichum* sp.),节菱孢属(*Arthrinium* sp.)和隔孢伏革属(*Peuiophora* sp.);俞和韦等^[33]从鳞翅目贡嘎蝠蛾幼虫肠道分离出隐球酵母(*Cryptococcus magnus*),丝孢酵母(*Trichosporon porosum*)和地丝霉属(*Geomyces* sp.)。这些肠道真菌菌株未从本次研究中分离获得,且不同物种的昆虫肠道真菌分离鉴定情况也有所不同,表明不同昆虫的肠道真菌群落组成具有特异性。

本课题组首次在国内报道了重庆地区玉米田及高粱田中草地贪夜蛾的肠道真菌分离株,初步探究了地域、食物对草地贪夜蛾肠道真菌菌群组成的影响,实验证明草地贪夜蛾肠道真菌组成会受到环境因素的影响,为后续研究奠定了基础。目前,对于肠道真菌与昆虫相互作用的研究还较少。本实验中分离到的真菌对草地贪夜蛾肠道内微生态的作用以及是否与草地贪夜蛾幼虫的生长发育有关,还有待进一步分析。近几年来,随着宏基因组等非培养法的应用,更加有利于深入了解肠道微生物的结构组成,探究肠道微生物的种群结构及多样性特征,将传统培养技术与新技术相结合,为实现草地贪夜蛾生物防治提供了更好的方法。

参考文献:

- [1] MCMICHAEL M, PROWELL D P. Differences in Amplified Fragment-Length Polymorphisms in Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) Host Strains [J]. *Annals of the Entomological Society of America*, 1999, 92(2): 175-181.
- [2] TODD E L, POOLE R W. Keys and Illustrations for the Armyworm Moths of the Noctuid Genus *Spodoptera Guenee* from the Western Hemisphere [J]. *Annals of the Entomological Society of America*, 1980, 73(6): 722-738.
- [3] 陈冬平, 陈志廷, 徐汉虹, 等. 不同分子标记对入侵广州草地贪夜蛾的寄主型鉴别能力比较 [J/OL]. *华南农业大学学报*: 1-5[2019-07-12]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1110.S.20190617.1027.002.html>.
- [4] 张磊, 靳明辉, 张丹丹, 等. 入侵云南草地贪夜蛾的分子鉴定 [J]. *植物保护*, 2019, 45(2): 19-24.
- [5] 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.
- [6] 秦誉嘉, 蓝帅, 赵紫华, 等. 迁飞性害虫草地贪夜蛾在我国的潜在地理分布 [J/OL]. *植物保护*: 1-8[2019-07-12]. <https://doi.org/10.16688/j.zwbh.2019269>.
- [7] 全国农业技术推广服务中心. 重大害虫草地贪夜蛾已侵入云南, 各地要立即开展调查监测 [EB/OL]. (2019-02-11)

- [2019-08-10] <http://www.nzdb.com.cn/hy/259999.jhtml>.
- [8] 央视网. 全国20个省区市1128个县发现草地贪夜蛾 [EB/OL]. (2019-07-08)[2019-07-24]. <http://sannong.cctv.com/2019/07/08/ARTIE1FvtrkkcSVZQuHjtOC0190708.shtml>.
- [9] 常亚军, 廖永林, 蒋兴川, 等. 草地贪夜蛾及其功能基因组学的研究进展 [J/OL]. 植物保护: 1-9[2019-08-09]. <https://doi.org/10.16688/j.zwbh.2019380>.
- [10] 相辉, 黄勇平. 肠道微生物与昆虫的共生关系 [J]. 昆虫知识, 2008, 45(5): 687-693.
- [11] 张振宇, 圣平, 黄胜威. 昆虫肠道微生物的多样性、功能及应用 [J]. 生物资源, 2017, 39(4): 231.
- [12] 陈勃生, 鲁兴萌, 邵勇奇. 鳞翅目昆虫肠道微生物的多样性及其与宿主的相互作用 [J]. 昆虫学报, 2017, 60(6): 710-722.
- [13] 唐运林, 吴燕燕, 顾偕铨, 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.
- [14] 顾偕铨, 唐运林, 吴燕燕, 等. 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 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2019, 41(8): 1-5.
- [15] 顾偕铨, 唐运林, 吴燕燕, 等. 重庆地区取食高粱的草地贪夜蛾与玉米黏虫肠道细菌比较 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2019, 41(8): 6-13.
- [16] 巴尼特, 佩恩, 亚罗. 酵母菌的特征与鉴定手册 [M]. 胡瑞卿, 译. 青岛: 青岛海洋大学出版社, 1991.
- [17] 魏景超. 真菌鉴定手册 [M]. 上海: 科学技术出版社, 1979.
- [18] ARSENEAU J R, STEEVES R, LAFLAMME M. Modified Low-Salt CTAB Extraction of High-Quality DNA from Contaminant Rich Tissues [J]. Molecular Ecology Resources, 2017, 17(4): 686-693.
- [19] ZHANG Z, JIAO S, LI X, et al. Bacterial and Fungal Gut Communities of *Agrilus mali* at Different Developmental Stages and Fed Different Diets [J]. Scientific Reports, 2018, 8(1): 15634.
- [20] 向芸庆, 王晓强, 冯伟, 等. 不同饲料饲养家蚕其肠道微生态优势菌群类型的组成及差异性 [J]. 生态学报, 2009, 30(14): 3875-3882.
- [21] 张珊, 熊忠平, 张俊, 等. 思茅松毛虫肠道真菌分离鉴定及水解酶活性初步研究 [J]. 环境昆虫学报, 2019, 41(2): 413-419.
- [22] NGUYEN N H, BLACKWELL S M. Five Novel *Candida* Species in Insect-Associated Yeast Clades Isolated from Neuroptera and Other Insects [J]. Mycologia, 2007, 99(6): 842-858.
- [23] SUH S O, MCHUGH J V, POLLOCK D D, et al. The Beetle Gut: a Hyperdiverse Source of Novel Yeasts [J]. Mycol Res, 2005, 109(3): 261-265.
- [24] 李若晨. 间型假丝酵母 C410 防治保护地番茄灰霉病研究 [C] //中国植物病理学会 2014 年学术年会论文集. 北京: 中国植物病理学会, 2014.
- [25] TARAYRE C, BAUWENS J, BRASSEUR, C, et al. Isolation and Cultivation of Xylanolytic and Cellulolytic *Sarocladium kiliense*, and *Trichoderma virens*, from the Gut of the Termite *Reticulitermes santonensis* [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2015, 22(6): 4369-4382.
- [26] 诸葛根樟, LAPIS, D. B. 水稻叶鞘腐败病的研究——I. 病原菌的致病性及发病的影响因子 [J]. 植物病理学报, 1985, 15(1): 1-8.
- [27] 王姝玮. 水稻新病害茎节腐烂病的病原学研究 [D]. 长沙: 湖南农业大学, 2014.
- [28] 赵东宇. 微生物降解石油烃类污染物的研究进展 [J]. 环境保护与循环经济, 2012, 32(4): 48-51.
- [29] TANAKA E, KOITABASHI M, KITAMOTO H. A Teleomorph of the Ustilaginalean Yeast *Moesziomyces antarcticus* on Barnyardgrass in Japan Provides Bioresources That Degrade Biodegradable Plastics [J]. Antonie Van Leeuwenhoek, 2019, 112(4): 599-614.
- [30] 王丽英. 雅致放射毛霉液体深层培养及工业应用研究 [D]. 保定: 河北大学, 2002.

- [31] 邵明伟. 两种蜻蜓肠道菌的分离鉴定及其代谢产物研究 [D]. 金华: 浙江师范大学, 2015.
- [32] 陈君芝, 涂 璇, 程 凡, 等. 中华剑角蝗肠道共生真菌的分离鉴定及抑菌活性筛选 [J]. 三峡大学学报(自然科学版), 2014, 36(3): 108-112.
- [33] 俞和韦, 王中康, 刘 莉, 等. 贡嘎蝠蛾幼虫肠道真菌多样性分析 [J]. 微生物学报, 2008, 48(4): 439-445.

Isolation and Identification of Intestinal Fungi in *Spodoptera frugiperda* Larvae of Chongqing Area

WU Yan-yan^{1,2,3,4}, GENG Jing-ke⁴, XU Si⁴,
TANG Yun-lin^{1,2,3}, GU Ruo-cheng^{1,2,3}, WEI Jun-hong^{1,2,3},
PAN Guo-qing^{1,2,3}, ZHOU Ze-yang^{1,2,3,5}

1. State Key Laboratory of Silkworm Genome Biology, Southwest University, Chongqing 400715, China;
2. Key Laboratory of Sericultural Biology and Genetic Breeding, Ministry of Agriculture, Chongqing 400715, China;
3. Chongqing Key Laboratory of Microsporidia Infection and Control, Chongqing 400715, China;
4. School of Biotechnology, Southwest University, Chongqing 400715, China;
5. College of Life Sciences, Chongqing Normal University, Chongqing 401331, China

Abstract: *Spodoptera frugiperda* is a migratory agricultural pest with a wide range of recipes. It migrated to Chongqing in May of 2019, causing serious damages to crops. In order to explore the structural composition of the intestinal fungal flora of *S. frugiperda* larvae in Chongqing, we used the larvae of *S. frugiperda* collected from the corn field in Wushan and the sorghum field in Jiangjin. The dominant intestinal fungi in the feces were isolated by traditional culture method and identified with morphological observation and ITS sequencing. In the experiments, ten fungal isolates were obtained and classified into five genera. The intestinal fungi isolated from the larvae in the Wushan corn field were classified into three genera, *Candida*, *Sporobolomyces* and *Sarocladium*. The intestinal fungi isolated from *S. frugiperda* of the Jiangjin sorghum field were classified into three genera, *Candida*, *Moesziomyces* and *Mucor*. This experiment initially isolated the intestinal fungi of *S. frugiperda*, thus enriching our understanding of the intestinal microbes of this pest.

Key words: Chongqing area; *Spodoptera frugiperda*; intestinal fungus; identification

责任编辑 夏 娟