

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2020.01.001

云南地区草地贪夜蛾肠道细菌的分离及鉴定

李青晏^{1,2,3,4}, 唐运林^{1,2,3}, 蒋睿轩^{1,2,3,4}, 张永红⁵,
朱峰⁵, 白兴荣⁵, 顾佑钺^{1,2,3}, 吴燕燕^{1,2,3},
吴玉娇^{1,2,3}, 陈洁^{1,2,3}, 李田^{1,2,3,4}, 李春峰^{1,2,3,4},
韦俊宏^{1,2,3,4}, 潘国庆^{1,2,3,4}, 周泽扬^{1,2,3,6}

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 微孢子虫感染与防控重庆市重点实验室, 重庆 400715;
3. 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;
4. 西南大学 生物技术学院, 重庆 400715;
5. 云南省农业科学院 蚕桑蜜蜂研究所, 云南 蒙自 661101;
6. 重庆师范大学 生命科学学院, 重庆 401331

摘要:草地贪夜蛾(*Spodoptera frugiperda*)自 2019 年 1 月入侵中国以来,现已蔓延至全国 25 个省份。为了解草地贪夜蛾的肠道微生物的组成,近期该课题组在云南蒙自地区的玉米地采集了草地贪夜蛾幼虫及成虫,通过分离培养结合 16S rDNA 测序鉴定其肠道细菌分离株的种属。在幼虫肠道中分离到 32 个细菌分离株,通过 16S rDNA 序列同源聚类可归为 4 个属,分别为克雷伯氏菌属(*Klebsiella*)、肠球菌属(*Enterococcus*)、沙雷氏菌属(*Serratia*)和摩根菌属(*Morganella*),其中克雷伯氏菌属(*Klebsiella*)丰度最高,为 53.1%;在成虫肠道中分离到 16 个细菌分离株归为 5 个属,分别为不动杆菌属(*Acinetobacter*)、克雷伯氏菌属(*Klebsiella*)、微球菌属(*Micrococcus*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)和肠杆菌属(*Enterobacter*),其中不动杆菌丰度最高,为 56.0%。该研究首次对入侵中国的草地贪夜蛾成虫肠道细菌进行分离鉴定,为后续研究草地贪夜蛾生物学适应性等重要问题奠定了基础。

关键词:草地贪夜蛾;肠道细菌;成虫;云南地区;生物适应性

中图分类号: Q969.436.5; Q93-331 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673-9868(2020)01-0001-08

草地贪夜蛾(*Spodoptera frugiperda*)是一种全球性迁飞的鳞翅目农业害虫,主要采食玉米、水稻、高粱、甘蔗、花生和大豆等多种农作物,危害巨大。该害虫自 2019 年 1 月入侵中国以来,已经蔓延至全国 25 个省份,对我国粮食生产造成了重大的威胁。

本课题组前期对入侵重庆地区的草地贪夜蛾肠道优势微生物进行了初步的分离鉴定,并对取食不同食物(高粱、玉米)的草地贪夜蛾肠道微生物群也进行了比较,对研究草地贪夜蛾核心肠道微生物提供了重要的数据支持^[1-5]。但前期实验对象均为幼虫样本,且都来自于重庆地区,采样的地域范围相对较小且样本的发育阶段单一,因此对全面认识草地贪夜蛾肠道微生物的组成有一定的局限性。有研究表明,肠道微生物与昆虫的生长、生殖系统及消化系统发育、运动能力、迁徙聚集等行为有着密切的关系^[6-8]。云南是草地贪

收稿日期: 2019-12-10

基金项目: 中央高校基本科研业务费团队项目(XDJK2018AA001);中央高校基本科研业务费面上项目(XDJK2019C010);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: 李青晏(1996—),硕士研究生,主要从事昆虫肠道微生物研究;唐运林(共同贡献者)(1993—),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,博士研究生导师。

夜蛾侵入我国的第一个受灾省份,部分地区全年气候温暖,是草地贪夜蛾的理想生存地区,因此云南部分地区可能成为草地贪夜蛾长期定殖和越冬的地区.所以充分了解入侵云南地区的草地贪夜蛾肠道微生物的组成以及丰度,有助于后续针对于草地贪夜蛾的生物学适应性的研究.

本研究在课题组前期研究的基础上,通过传统培养法结合 16S rDNA 测序对云南蒙自地区玉米地草地贪夜蛾幼虫和成虫的肠道优势菌进行了初步分离鉴定,并对不同地区草地贪夜蛾肠道优势细菌类型进行了比较,以期为草地贪夜蛾肠道微生物的后续研究奠定基础.

1 材料与方法

1.1 材 料

云南省蒙自县草坝镇玉米地的草地贪夜蛾成虫及幼虫.

1.2 实验用的培养基

牛肉膏蛋白胨培养基(NA):牛肉膏 5.0 g,蛋白胨 10.0 g,氯化钠 5.0 g,琼脂 20.0 g,蒸馏水定容至 1 000 mL;

2×YT 生长培养基:胰蛋白胨 16.0 g,酵母提取物 10.0 g,氯化钠 5.0 g,琼脂 20.0 g,蒸馏水定容至 1 000 mL;

脑心浸液培养基(BHI):蛋白胨 10.0 g,脑心浸粉 12.5 g,磷酸氢二钠 2.5 g,氯化钠 5.0 g,葡萄糖 2.0 g,琼脂 20.0 g,蒸馏水定容至 1 000 mL;

改良的 LB 培养基(LBG):胰蛋白胨 10.0 g,酵母提取物 5.0 g,氯化钠 5.0 g,琼脂 20.0 g,蒸馏水定容至 1 000 mL.

1.3 主要试剂

SDS, CTAB, NaCl, Tris, EDTA, 蛋白酶 K、蔗糖和溶菌酶均购自生工生物工程(上海)股份有限公司;苯酚、氯仿和异戊醇均购自重庆川东化工(集团)有限公司;PCR 扩增引物 27F: 5'-AGAGTTTGAT CCTGGCTCAG-3'; 1492R: 5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3', 由生工生物工程(上海)股份有限公司合成.

1.4 草地贪夜蛾幼虫和成虫中肠内容物的收集

采样自云南省蒙自县.将幼虫置于超净工作台中,用 75%乙醇对幼虫进行表面消毒后,剖取其中肠置于装有 0.7 mL 灭菌磷酸缓冲液(PBS)的 1.5 mL 离心管中,充分震荡混合制成肠道内容物悬液.

1.5 肠道细菌的分离培养

取 50 μ L 肠道内容物悬液加入 450 μ L 磷酸缓冲液(PBS),梯度稀释后得到 $10^{-1} \sim 10^{-9}$ 倍稀释的肠道内容物悬液,将 $10^{-1} \sim 10^{-9}$ 的稀释液各取 100 μ L 在 NA, 2×YT, LBG 以及 BHI 固体培养基上涂板, 30 $^{\circ}$ C 培养箱培养 24~72 h 后挑取不同形态特征的单菌落划线培养,通过多次单菌落划线以获得纯分离株.

1.6 细菌的分子鉴定

细菌的分子鉴定主要参考前期课题组发表的文章^[5]中的方法,得到的 PCR 产物送至生工生物工程(上海)股份有限公司测序.

1.7 数据分析

将测序结果在 NCBI(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>)中进行序列比对,下载同源性最高的序列,使用 MEGA 5.0 进行多重序列比对,并构建系统发育树进行分析.同时在 RDP 数据库中获得 16S rDNA 基因序列用 Classifier 程序(<https://rdp.cme.msu.edu/Classifier/Classifier.jsp>)进行比对,获得同源性较高序列的相关信息.

2 结果与分析

2.1 草地贪夜蛾幼虫肠道细菌分离鉴定

采用 NA, 2×YT, LBG 以及 BHI 培养基,从云南蒙自地区的玉米地采集的草地贪夜蛾幼虫肠道中分离获得 32 个分离株.通过细菌通用引物 27F/1492R 对 32 个分离株进行 PCR 扩增测序获得其 16S rDNA

序列. 将所有测序结果利用 Blastclustx 进行同源性聚类分析, 同源性大于 97% 的聚为同一操作分类单元 (operational taxonomic units, OTU), 共获得 4 个聚类单元 OTU-L1-L4(表 1).

将测序结果分别在 GenBank 和 RDP 两个数据库比对获得相关信息. 比对结果显示, 本次从云南蒙自地区的草地贪夜蛾幼虫肠道分离的 32 个分离株中, MZ-H1, MZ-H1-1, MZ-H1-2, MZ-H2, MZ-H2-2, MZ-H2-3, MZ-H3, MZ-H4, MZ-H5, MZ-H6, MZ-H8, MZ- NA-H11-1, MZ-H15, MZ-H16, MZ-H17, MZ-H18 和 MZ-B4 共 17 个分离株为克雷伯氏菌属(*Klebsiella*); MZ-B1, MZ-B6, MZ-B8 和 MZ-B9 共 4 个分离株为沙雷氏菌属(*Serratia*); MZ-H2-1, MZ-H9, MZ-H10, MZ-2XYT- H11-1, MZ-H11-2, MZ-H12, MZ-H14 和 MZ-B2 共 8 个分离株为肠球菌属(*Enterococcus*); MZ-B3, MZ-B5 和 MZ-B7 共 3 个分离株为摩根菌属(*Morganella*). 在所有分离株中, 克雷伯氏菌属(*Klebsiella*)的丰度最高, 为 53.1%, 沙雷氏菌属(*Serratia*)和摩根菌属(*Morganella*)是前期实验未在其他地区草地贪夜蛾中发现的新分离株(表 1).

为进一步了解云南地区草地贪夜蛾肠道优势菌的遗传多样性, 对 32 个肠道细菌分离株进行了系统发育分析. 对分离株 16S rDNA 序列进行 BLAST 比对分析, 采用 MEGA 5.0 软件邻接法构建系统发育树(图 1). 从图 1 可以看出, 同一 OTU 的细菌分离株在同源进化关系上存在一定的差异, 即种间多样性较大. 例如, 在分离到的 17 个克雷伯氏菌属分离株中, MZ-B4 和 MZ-H16 与其他 15 个分离株归为一个聚类单元, 但是存在较远的亲缘关系.

2.2 草地贪夜蛾成虫肠道细菌分离鉴定

采用多种培养基, 从云南蒙自地区采集的草地贪夜蛾成虫肠道中获得 16 个细菌分离株. 通过细菌通用引物 27F/1492R 对 16 个分离株进行 PCR 扩增测序获得其 16S rDNA 序列. 将所有测序结果利用 Blastclustx 进行同源性聚类分析, 同源性大于 97% 的聚为同一 OTU, 共获得 5 个聚类单元 OTU-A1-A5(表 2), 并将测序结果分别在 GenBank 和 RDP 两个数据库比对获得相关信息.

比对结果显示, 本次从云南蒙自地区的草地贪夜蛾成虫肠道分离的 16 个分离株中, MZ-A6,MZ-A8, MZ-A9,MZ-A11,MZ-A12,MZ-A13,MZ-A15,MZ-A16 以及 MZ-A17 共 9 个分离株聚类到 OUT-A1, 为不动杆菌属(*Acinetobacter*); MZ-A2,MZ-A4 和 MZ-A7 共 3 个分离株聚类到 OUT-A2, 为微球菌属(*Micrococcus*); MZ-A5 以及 MZ-A10 两个分离株聚类到 OUT-A3, 为克雷伯氏菌属(*Klebsiella*); MZ-A14 为肠杆菌属(*Enterobacter*), MZ-A1 为假单胞菌属(*Pseudomonas*), 其中不动杆菌属(*Acinetobacter*)的丰度最高, 为 56.0%. 为进一步了解云南地区草地贪夜蛾成虫肠道优势菌的遗传多样性, 将 16 个肠道微细菌分离株进行了系统发育分析. 对分离株 16S rDNA 序列进行 BLAST 比对分析, 采用 MEGA 5.0 软件邻接法构建系统发育树, 结果见图 2; 与同源性聚类分析的结果一致, 分离到的 16 个菌株在系统发育树上分为 5 个属, 分别为不动杆菌属(*Acinetobacter*)、克雷伯氏菌属(*Klebsiella*)、微球菌属(*Micrococcus*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)和肠杆菌属(*Enterobacter*); 其中不动杆菌属的分离株 MZ-A9 与其他不动杆菌属的分离株存在一定的遗传距离.

表 1 云南蒙自地区草地贪夜蛾幼虫肠道细菌分离株种属统计

OTU ID	样 品 名 称	NCBI ID	RDP ID
OTU-L1	MZ-H1, MZ-H1-1, MZ-H1-2, MZ-H2, MZ-H2-2, MZ-H2-3, MZ-H3, MZ-H4, MZ-H5, MZ-H6, MZ-H8, MZ- NA- H11-1, MZ-H15, MZ-H16, MZ-H17, MZ-H18, MZ-B4	<i>Klebsiella</i>	<i>Klebsiella</i>
OTU-L2	MZ-B1, MZ-B6, MZ-B8, MZ-B9	<i>Serratia</i>	<i>Serratia</i>
OTU-L3	MZ-H2-1, MZ-H9, MZ-H10, MZ-2XYT-H11-1, MZ-H11-2, MZ-H12, MZ-H14, MZ-B2	<i>Enterococcus</i>	<i>Enterococcus</i>
OTU-L4	MZ-B3, MZ-B5, MZ-B7	<i>Morganella</i>	<i>Morganella</i>

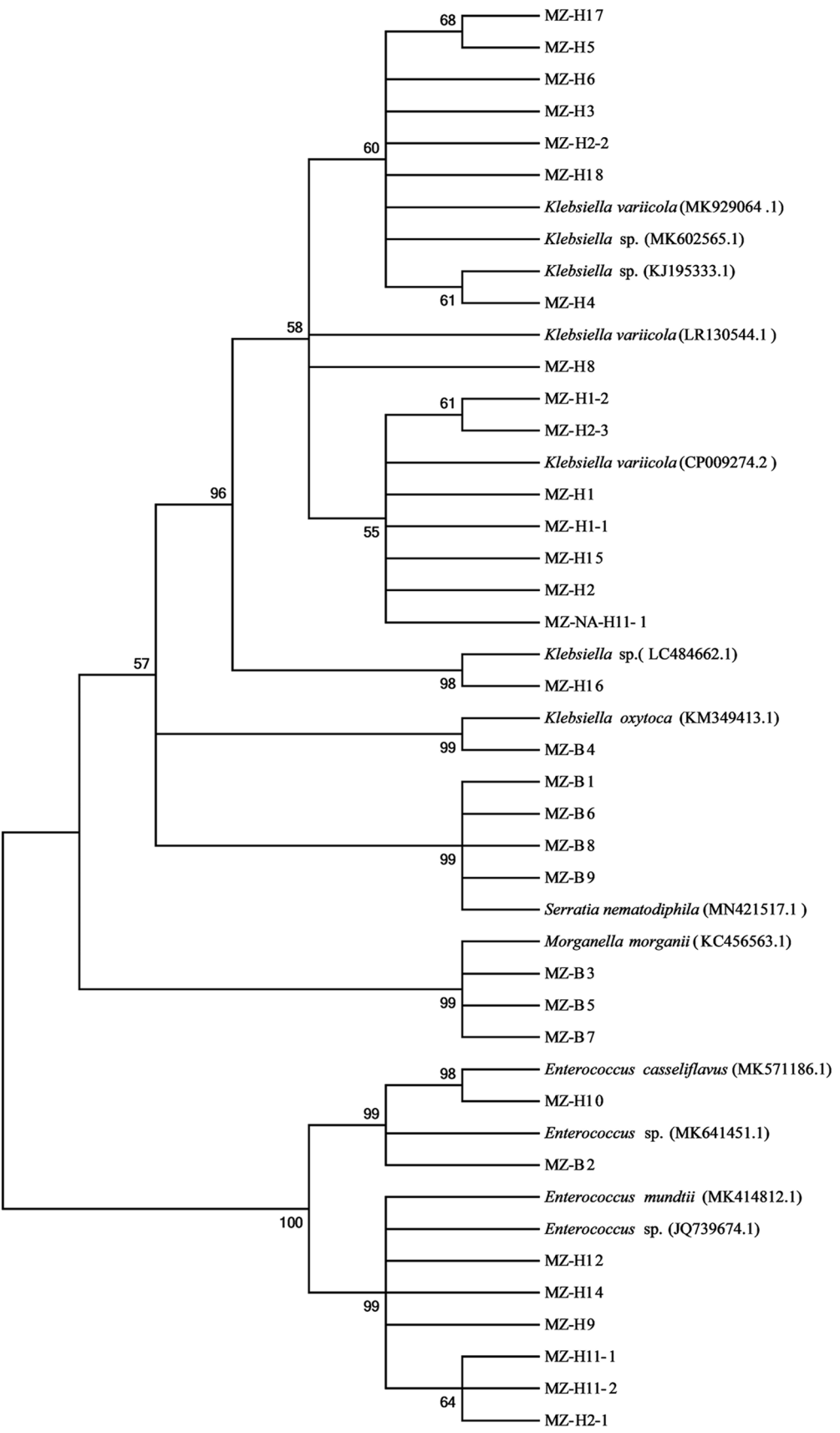


图 1 云南蒙自地区幼虫肠道细菌分离株基于邻接法构建的 16S rDNA 系统发育树分析

属(*Klebsiella*), Acevedo 等^[10]学者证明分离于草地贪夜蛾的克雷伯氏菌属(*Klebsiella*)细菌分离株能够显著抑制植物过氧化物酶并上调植物的胰蛋白酶抑制剂的表达,从而降低植物的防御反应提高草地贪夜蛾的存活率。推测草地贪夜蛾幼虫的肠道微环境适于克雷伯氏菌属(*Klebsiella*)的定殖,克雷伯氏菌属(*Klebsiella*)细菌通过抑制植物的防御反应促进草地贪夜蛾幼虫适应环境,从而达到互利的结果。本课题组的研究结果显示在云南与重庆地区玉米地的草地贪夜蛾幼虫肠道中都是以克雷伯氏菌属(*Klebsiella*)为主要优势菌。但是在云南草地贪夜蛾幼虫肠道中分离到的沙雷氏菌属(*Serratia*)和摩根菌属(*Morganella*),在重庆草地贪夜蛾幼虫肠道中未分离到,而在重庆草地贪夜蛾幼虫肠道中分离到的不动杆菌属(*Acinetobacter*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)和肠杆菌属(*Enterobacter*)等细菌的丰度都较高,但是在云南草地贪夜蛾幼虫肠道中未分离到。这表明云南和重庆地区的草地贪夜蛾幼虫肠道中的主要优势菌相似,但是优势菌种类以及丰度存在一定的差异。

在草地贪夜蛾成虫肠道中共鉴定到了 5 个属的细菌,分别为不动杆菌属(*Acinetobacter*)、克雷伯氏菌属(*Klebsiella*)、微球菌属(*Micrococcus*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)和肠杆菌属(*Enterobacter*),其中丰度最高的为不动杆菌属(*Acinetobacter*),丰度为 56.0%。有研究报道昆虫肠道微生物会因昆虫的发育阶段不同而出现不同组成结构^[11-13]。此前暂未见对入侵中国的草地贪夜蛾成虫肠道细菌分离鉴定相关研究的报道,因此草地贪夜蛾成虫与幼虫肠道微生物之间的相关性暂不明确。在本研究结果中成虫肠道中不动杆菌属(*Acinetobacter*)的丰度最高,而在幼虫肠道中丰度最高的是克雷伯氏菌属(*Klebsiella*);在云南的草地贪夜蛾幼虫与成虫肠道中都分离出克雷伯氏菌属(*Klebsiella*),但在成虫中暂未鉴定到不动杆菌属(*Acinetobacter*)、肠球菌属(*Enterococcus*)和摩根菌属(*Morganella*)。这些结果表明草地贪夜蛾幼虫与成虫肠道中主要的优势菌存在差异。Takashima^[14]的研究证明果蝇的肠道在蛹期时会发生巨大变化,其肠道微生物也会随之改变,因此推测草地贪夜蛾的肠道微环境在幼虫发育至成虫过程中发生了变化,从而影响了肠道微生物的组成结构。Schretter 等^[15]学者的研究表明,果蝇成虫肠道中的短乳杆菌(*Lactobacillus brevis*)表达的木糖异构酶可以降低果蝇海藻糖水平,从而降低生成神经递质章鱼胺的神经元活性,进而降低果蝇成虫运动过度活化的行为。草地贪夜蛾成虫与其肠道细菌是否存在相似作用的关系,待后续进一步探究。

草地贪夜蛾作为一种食性较广的昆虫,具有很强的迁飞和繁殖能力,对农业生产存在极大的危害,所以草地贪夜蛾是我国未来害虫防治的重点。草地贪夜蛾对有机磷类、有机氯类和拟除虫菊酯类等传统农药具有一定的抗性^[16],这必定会导致杀虫剂的持续使用,而对环境造成巨大的影响,这进一步增大了对草地贪夜蛾的防控难度。据 Almeida 等^[17-21]学者报道,在抗性较强的害虫肠道中分离出的某些细菌分离株对农药有降解作用,并且可以影响农药在体内的代谢,其中主要是假单胞杆菌属(*Pseudomonas*)以及肠杆菌属(*Enterobacter*)的细菌对某些农药具有抗性。Muhammad 等^[22]学者的研究表明,肠道微生物群会通过调节昆虫的免疫能力来提高其生存能力。Thakur 等^[23]学者在斜纹夜蛾中分离到的阴沟肠杆菌(*Enterobacter cloacae*)能显著影响其生长发育和免疫调节,并且对斜纹夜蛾有较大的致死能力。本课题组前期在草地贪夜蛾的幼虫肠道中鉴定到了肠杆菌属(*Enterobacter*)以及假单胞菌属(*Pseudomonas*)等细菌,草地贪夜蛾的抗药性与其肠道微生物之间是否存在关系,后续也需要进行进一步的探究。

参考文献:

- [1] 唐运林,顾偕铨,吴燕燕,等. 入侵重庆地区的草地贪夜蛾种群生物型鉴定 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2019, 41(7): 1-7.

- [2] 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.
- [3] 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.
- [4] 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粘虫肠道细菌比较 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2019, 41(8): 6-13.
- [5] 郭志斌,蒋睿轩,唐运林,等. 重庆地区取食高粱的草地贪夜蛾肠道细菌新分离株的鉴定 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2019, 41(9): 9-16.
- [6] 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.
- [7] 张振宇,圣 平,黄胜威,等. 昆虫肠道微生物的多样性、功能及应用 [J]. 生物资源, 2017, 39(4): 231-239.
- [8] 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.
- [9] JONES A G, MASON C J, FELTON G W, et al. Host Plant and Population Source Drive Diversity of Microbial Gut Communities in Two Polyphagous Insects [J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 2792-1-2791-11.
- [10] ACEVEDO F E, PEIFFER M, TAN C W, et al. Fall Armyworm-Associated Gut Bacteria Modulate Plant Defense Responses [J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2017, 30(2): 127-137.
- [11] CHEN B S, TEH B S, SUN C, et al. Biodiversity and Activity of the Gut Microbiota across the Life History of the Insect Herbivore *Spodoptera littoralis* [J]. Nature, 2016, 6: 29505-1-29505-14.
- [12] STAUDACHER H, KALTENPOTH M, BREEUWER J A J, et al. Variability of Bacterial Communities in the Moth *Heliothis virescens* Indicates Transient Association with the Host [J]. PLoS One, 2016, 11(5): e0154514-1-e0154514-21.
- [13] PANIAGUA VOIROL L R, FRAGO E, KALTENPOTH M, et al. Bacterial Symbionts in Lepidoptera: Their Diversity, Transmission, and Impact on the Host [J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 556-1-556-14.
- [14] TAKASHIMA S, YOUNOSSI-HARTENSTEIN A, ORTIZ P A, et al. A Novel Tissue in an Established Model System: The *Drosophila* Pupal Midgut [J]. Development Genes and Evolution, 2011, 221(2): 69-81.
- [15] SCHRETTER C E, VIELMETTER J, BARTOS I, et al. A Gut Microbial Factor Modulates Locomotor Behaviour in *Drosophila* [J]. Nature, 2018, 563(7731): 402-406.
- [16] CARVALHO R A, OMOTO C, FIELD L M, et al. Investigating the Molecular Mechanisms of Organophosphate and Pyrethroid Resistance in the Fall Armyworm *Spodoptera frugiperda* [J]. PLoS One, 2013, 8(4): e62268-1-e62268-11.
- [17] DE ALMEIDA L G, DE MORAES L A B, TRIGO J R, et al. The Gut Microbiota of Insecticide-resistant Insects Houses Insecticide-degrading Bacteria: A Potential Source for Biotechnological Exploitation [J]. PLoS One, 2017, 12(3): e0174754-1-e0174754-19.
- [18] CABRERA J A, KURTZ A, SIKORA R A, et al. Isolation and Characterization of Fenamiphos Degrading Bacteria [J]. Biodegradation, 2010, 21(6): 1017-1027.
- [19] MALLICK K, BHARATI K, BANERJI A, et al. Bacterial Degradation of Chlorpyrifos in Pure Cultures and in Soil [J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 1999, 62(1): 48-54.
- [20] SINGH B K, WALKER A, MORGAN J A W, et al. Biodegradation of Chlorpyrifos by *Enterobacter* Strain B-14 and Its Use in Bioremediation of Contaminated Soils [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2004, 70(8): 4855-4863.
- [21] KHALID S, HASHMI I, KHAN S J. Bacterial Assisted Degradation of Chlorpyrifos: The Key Role of Environmental Conditions, Trace Metals and Organic Solvents [J]. Journal of Environmental Management, 2016, 168: 1-9.
- [22] MUHAMMAD A, HABINEZA P, JI T L, et al. Intestinal Microbiota Confer Protection by Priming the Immune System of Red Palm Weevil *Rhynchophorus ferrugineus* Olivier (Coleoptera: Dryophthoridae) [J]. Frontiers in Physiology,

2019, 10: 01303-1-01303-13.

- [23] THAKUR A, DHAMMI P, SAINI H S, et al. Pathogenicity of Bacteria Isolated from Gut of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) and Fitness Costs of Insect Associated with Consumption of Bacteria [J]. Journal of Invertebrate Pathology, 2015, 127: 38-46.

Isolation and Identification of Gut Bacteria of *Spodoptera frugiperda* Feeding on Maize in Yunnan, China

LI Qing-yan^{1,2,3,4}, TANG Yun-lin^{1,2,3}, JIANG Rui-xuan^{1,2,3,4},
ZHANG Yong-hong⁵, ZHU Feng⁵, BAI Xing-rong⁵,
GU Ruo-cheng^{1,2,3}, WU Yan-yan^{1,2,3}, WU Yu-jiao^{1,2,3},
CHEN Jie^{1,2,3}, LI Tian^{1,2,3,4}, LI Chun-feng^{1,2,3,4},
WEI Jun-hong^{1,2,3,4}, PAN Guo-qing^{1,2,3,4}, ZHOU Ze-yang^{1,2,3,6}

1. State Key Laboratory of Silkworm Genome Biology, Southwest University, Chongqing 400715, China;
2. Chongqing Key Laboratory of Microsporidia Infection and Control, Southwest University, Chongqing 400715 China;
3. Key Laboratory of Sericultural Biology and Genetic Breeding, Ministry of Agriculture, Southwest University, Chongqing 400715, China;
4. School of Biotechnology, Southwest University, Chongqing 400715, China;
5. Institute of Sericulture and Apiculture, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Mengzi Yunnan 661101, China;
6. College of Life Sciences, Chongqing Normal University, Chongqing 401331, China

Abstract: *Spodoptera frugiperda* was first found to have invaded China in January, 2019, and has since spread to 25 provinces of China. In order to fully understand the intestinal microbiota of *S. frugiperda*, caterpillar and moth samples of this pest were recently collected in maize fields in Mengzi of Yunnan and their gut bacteria were isolated and cultured, and their composition was identified with 16s rDNA sequencing. A total of 32 strains were isolated from the caterpillar gut, and 16S rRNA sequence homology analysis clustered them into 4 genera, i. e. *Klebsiella*, *Enterococcus*, *Serratia* and *Morganella*. *Klebsiella* was the dominant genus, with an abundance ratio of 53.1%. Sixteen isolates were obtained from the moth gut, and were clustered into 5 genera, i. e. *Acinetobacter*, *Klebsiella*, *Micrococcus*, *Pseudomonas* and *Enterobacter*. *Acinetobacter* had the highest abundance (56.0%). This is the first time to isolate and report the gut bacteria of *S. frugiperda* moth invading China. It lays a foundation for the research on biological adaptation of *S. frugiperda* and other essential issues.

Key words: *Spodoptera frugiperda*; gut bacteria; moth; Yunnan; biological adaptation