

黏质沙雷氏菌分离鉴定及对桃小食心虫的致病性



何佳美 张怀江 孙丽娜 闫文涛 岳强 窦术英
赵毅渊 李汪辣子 仇贵生*

(中国农业科学院果树研究所, 辽宁 兴城 125100)

摘要: 为挖掘用于生物防治桃小食心虫 *Carposina sasakii* 的病原菌, 从感病死亡的桃小食心虫幼虫体内分离出 1 株菌株 CS-1, 采用形态特征观察、生理生化特性测定及分子生物学技术对其进行鉴定, 采用浸虫法测定菌株 CS-1 发酵液和菌悬液对桃小食心虫的生物活性, 运用特定时间生命表方法评估菌株 CS-1 发酵液对桃小食心虫生长发育、繁殖及种群的影响。结果显示: 经鉴定菌株 CS-1 为黏质沙雷氏菌 *Serratia marcescens*; 浓度 $3.12 \times 10^7 \sim 1.00 \times 10^9$ CFU/mL 菌株 CS-1 发酵液处理 7 d 后, 桃小食心虫幼虫的校正死亡率在 29.27%~80.49% 之间; 浓度 $2.5 \times 10^7 \sim 8.0 \times 10^8$ CFU/mL 菌株 CS-1 菌悬液处理 7 d 后, 桃小食心虫幼虫的校正死亡率为 28.05%~75.61%; 不同浓度菌株 CS-1 发酵液处理均对桃小食心虫卵和幼虫的发育历期、成虫寿命、各虫态存活率、产卵期、产卵量及桃小食心虫实验种群的内禀增长率、净生殖率、周限增长率和种群加倍时间等参数有影响, 而对蛹的发育历期、产卵前期和平均世代周期无显著影响。表明菌株 CS-1 对桃小食心虫有较强的致病力, 在桃小食心虫生物防治方面有良好的应用前景。

关键词: 桃小食心虫; 黏质沙雷氏菌; 杀虫活性; 生长; 发育

Isolation and identification of *Serratia marcescens* and analysis of pathogenicity against peach fruit moth *Carposina sasakii*

He Jiamei Zhang Huaijiang Sun Lina Yan Wentao Yue Qiang
Dou Shuying Zhao Yiyuan Li Wanglazi Qiu Guisheng*

(Institute of Pomology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Xingcheng 125100, Liaoning Province, China)

Abstract: To explore the pathogenic bacterium *Serratia marcescens* for biological control of peach fruit moth *Carposina sasakii*, one strain, CS-1, was isolated from the larvae of diseased and dead *C. sasakii*. The strain was identified through morphological observation, physiological and biochemical characterization, and molecular biology. The biological activity of strain CS-1 fermentation broth and bacterial suspension against *C. sasakii* was determined using the immersion method. The effects of strain CS-1 fermentation broth on the growth, development, reproduction and population of *C. sasakii* were evaluated using the age-stage life table method. The results showed that strain CS-1 was identified as *Serratia marcescens*. After seven days of treatment with fermentation broth at concentrations of $3.12 \times 10^7 \sim 1.00 \times 10^9$ CFU/mL, the corrected mortality rate of *C. sasakii* larvae was 29.27%–80.49%. After seven days of treatment with bacterial suspension at concentrations of $2.5 \times 10^7 \sim 8.0 \times 10^8$ CFU/mL, the corrected mortality rate was 28.05%–75.61%. Treatment with different concentrations of strain CS-1 fermentation broth significantly affected the developmental duration of eggs and larvae, adult lifespan, sur-

基金项目: 兴辽英才计划(XLYC2203086), 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(1610182024023)

* 通信作者 (Author for correspondence), E-mail: guoshu2008@163.com

收稿日期: 2024-03-21

vival rates at different stages, oviposition period, egg production, and the intrinsic rate of increase, net reproductive rate, finite rate time of increase, and population doubling time of the experimental population of *C. sasakii*, but had no significant effects on the pupal developmental duration, pre-oviposition duration, or mean generation time. These results indicate that strain CS-1 has strong pathogenicity against *C. sasakii* and holds promising potential for use in its.

Key words: *Carposina sasakii*; *Serratia marcescens*; insecticidal activity; growth; development

桃小食心虫 *Carposina sasakii* 属鳞翅目蛀果蛾科,是我国落叶果树生产中为害最严重的食心虫类害虫之一,可为害仁果类和核果类等多种果树(王鹏等,2011;李锐等,2014;孙丽娜等,2018)。长期以来桃小食心虫的防治主要以化学手段为主,目前常用药剂有有机磷类及拟除虫菊酯类,其中有机磷农药毒性大,残留量多,拟除虫菊酯类药剂杀虫广谱性强,对非靶标生物不安全,破坏生态环境(全林发等,2017),因此研发低毒、安全的杀虫剂对桃小食心虫的防治具有重要意义。

微生物杀虫剂是防治害虫的新型手段,是农业绿色可持续发展的主流方向之一(陈学新等,2023;张慧等,2023)。目前关于病原真菌防治桃小食心虫的研究报道较多,如朱艳婷等(2011)和李丽莉等研究(2013)发现球孢白僵菌 *Beauveria bassiana* 对桃小食心虫的致病性较高,在防治桃小食心虫方面有较大潜力;李捷等(2012)研究发现粉棒束孢菌 *Isaria farinosa* 对桃小食心虫的毒力较大,可用于防治桃小食心虫。但关于病原细菌防治桃小食心虫的研究报道甚少。黏质沙雷氏菌 *Serratia marcescens* 能侵染多种害虫(牛洪涛等,2015),且具有高致病力(Jeong et al.,2010)。如黏质沙雷氏菌对棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (Mohan et al.,2011)、烟草天蛾 *Manduca sexta* (Jensen et al.,2020)、草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* (Mason et al.,2022)、黄粉虫 *Tenebrio molitor* (Dupriez et al.,2022)和玉米螟 *Ostrinia furnacalis* (袁梓涵等,2024)均有致病作用,表明黏质沙雷氏菌杀虫谱广,可以用于多种害虫的防治;Tao et al.(2022)发现同一株黏质沙雷氏菌对甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua*、棉铃虫、家蚕 *Bombyx mori* 和斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 等几种鳞翅目昆虫的致病性不同,表明同一菌株虽能侵染多种昆虫;Li et al.(2023)研究发现黏质沙雷氏菌能抑制家蝇幼虫的生长发育,但未见关于黏质沙雷氏菌对桃小食心虫毒力的报道。

为研发防治桃小食心虫的细菌制剂,从感病死亡的桃小食心虫幼虫体内分离出1株菌株CS-1,采

用形态特征观察、生理生化特性测定及分子生物技术对其进行鉴定,采用浸虫法测定菌株CS-1发酵液和菌悬液对桃小食心虫的生物活性,运用特定时间生命表方法评估菌株CS-1发酵液对桃小食心虫生长发育、繁殖及种群的影响,以期为黏质沙雷氏菌制剂的研发和桃小食心虫的生物防治提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

供试菌株和虫源:于2022年7月在辽宁省兴城市中国农业科学院果树研究所砧子山试验基地采集疑似被黏质沙雷氏菌侵染致死的桃小食心虫老熟幼虫,对虫体进行分离纯化获得供试病原菌。桃小食心虫为辽宁省兴城市中国农业科学院果树研究所人工饲养的试验种群,在温度(25±1)℃、相对湿度(70±5)%、光周期15L:9D的人工气候箱中用未成熟且不接触任何杀虫剂的金冠苹果饲喂,每年6月底定期从田间采集试虫与室内种群杂交进行种群复壮,至今已连续饲养10年,取老熟幼虫供试。金冠苹果自中国农业科学院果树研究所温泉试验基地采集。

培养基:营养琼脂(nutrient agar,NA)培养基成分为蛋白胨10g、氯化钠5g、琼脂15g、牛肉膏粉3g;NA培养基种不添加琼脂即为营养肉汤(nutrient broth,NB)培养基。

试剂及仪器:革兰氏染色试剂盒,北京索莱宝科技有限公司;肠杆菌科细菌生化鉴定管,青岛高科技工业园海博生物技术有限公司;细菌DNA基因组试剂盒、MiniBEST Universal Genomic DNA Extraction Kit试剂盒,日本TaKaRa公司;ExTaq、10×ExTaq Buffer、dNTP Mixture,日本TaKaRa公司;其他试剂均为国产分析纯。SPX-250B-Z型生化培养箱,上海博迅实业有限公司;LDZM-40KCS-II立式压力蒸汽灭菌器,上海申安医疗器械厂;DYY-6C型电泳仪,北京六一仪器厂;Multifuge×1R高速冷冻离心机,北京诚茂兴业科技发展有限公司;Leica DM5000B显微系统、Leica HC PL物镜,德国Leica公司。

1.2 方法

1.2.1 病原菌的分离纯化及柯赫氏法则验证

选取虫体发红变软疑似被黏质沙雷氏菌侵染致死的桃小食心虫老熟幼虫,体表用70%酒精消毒后置于匀浆器中研磨,吸取适量液体置于1.5 mL无菌离心管中,加入少量生理盐水搅拌,并用生理盐水定容至1 mL;吸取100 μ L匀浆液体均匀接种到NA培养基中倒置培养,挑取红色菌落置于用NA平板上,采用划线法分离单菌落,于4 $^{\circ}$ C冰箱中保存备用(苏造堂等,2020)。取分离的单菌落接种至装有100 mL NB培养基的250 mL锥形瓶中,于30 $^{\circ}$ C、180 r/min条件下活化12 h,吸取1 mL菌液转移至另一个NB培养基中继续培养24 h(杨建云等,2014)。选取30头大小一致、体型健壮的桃小食心虫老熟幼虫置于菌液中浸泡8 s,取出后置于相对含水量为(50 \pm 5)%的灭菌锯末中饲养,48 h后挑取感病的桃小食心虫幼虫,按照上述步骤再进行分离,对分离菌株与原菌株进行形态特征观察,验证其致病性。

1.2.2 病原菌的形态特征和生理生化特性测定

形态特征观察:将菌株CS-1接种到NA培养基上,于30 $^{\circ}$ C恒温培养48 h,观察菌落的生长情况、形状和颜色,观察10个视野。

生理生化特性的鉴定:滴1滴无菌水于载玻片上,用接种环轻轻挑取菌株CS-1菌丝置于无菌水中,轻轻搅动均匀,按照革兰氏染色试剂盒说明书进行染色,脱色后于物镜下观察。采用肠杆菌科细菌生化鉴定管对鸟氨酸、赖氨酸、西蒙氏枸橼酸盐、硫化氢、尿素酶、甲基红试验、苯丙氨酸、甘露醇、肌醇、山梨醇、核糖醇、棉子糖和蜜二糖进行鉴定,将菌液依次接种到各个鉴定管内,根据反应颜色变化确定阳性和阴性(赵诗佳等,2022),试验重复3次。

1.2.3 病原菌的分子生物学技术鉴定

自培养48 h的NA培养基上挑取菌株CS-1的5个单菌落,分别接种至5个100 mL NB培养基中,恒温摇床培养24 h获得菌株发酵液。取1.5 mL菌株发酵液按照细菌DNA基因组试剂盒说明书提取菌株CS-1的DNA。采用通用引物27F(5'-AGAGTTG-ATCCTGGCTCAG-3')/1492R(5'-ACGGTTACCTGTTACGACTT-3')(赵雅贤等,2022)进行PCR扩增。20 μ L PCR体系:上下游引物各1 μ L、DNA 1 μ L、ExTaq 0.1 μ L、10 \times ExTaq Buffer 2 μ L、dNTP Mixture 1.6 μ L、ddH₂O 13.3 μ L。PCR扩增程序:98 $^{\circ}$ C预变性1 min;98 $^{\circ}$ C变性10 s,52 $^{\circ}$ C退火30 s,72 $^{\circ}$ C延伸1 min,循环30次;72 $^{\circ}$ C终延伸10 min。PCR产物经

1%琼脂糖凝胶电泳检测后条带符合预期大小,将PCR产物送至北京六合华大基因科技有限公司测序,将测序结果提交至NCBI上进行比对分析(李青晏等,2020)。利用Clustal W软件对自NCBI数据库中获得的相似度较高的序列和其他种属的序列与菌株CS-1序列进行多序列比对,采用MEGA 11软件以邻接法构建进化树,并通过自举法进行1 000次重复检验。

1.2.4 病原菌对桃小食心虫幼虫的生物活性测定

发酵液对桃小食心虫老熟幼虫的毒力测定:挑取1.2.1单菌落至NB培养基中,于30 $^{\circ}$ C、180 r/min条件下培养24 h,用无菌水配制浓度分别为 1.00×10^9 、 5.00×10^8 、 2.50×10^8 、 1.25×10^8 、 6.25×10^7 和 3.12×10^7 CFU/mL的发酵液。将桃小食心虫老熟幼虫置于不同浓度发酵液中浸泡8 s,以于无菌NB培养基中浸泡为对照,取出老熟幼虫置于装有相对含水量为(50 \pm 5)%锯末的上口直径5 cm、下口直径9 cm、高9 cm的透明塑料盒中化蛹、羽化,每个浓度30头试虫,设3个重复,连续多天观察老熟幼虫的死亡情况,虫体失去活动力且颜色明显变红或发黑即视为死亡,记录死亡数量,计算校正死亡率,校正死亡率=(处理死亡率-对照死亡率)/(1-对照死亡率) \times 100%。采用概率值分析法(Finney, 1952)计算毒力回归方程,根据毒力回归方程计算半致死浓度LC₅₀和半致死时间LT₅₀。

菌悬液对桃小食心虫老熟幼虫的毒力测定:挑取1.2.1单菌落至NB培养基中,于30 $^{\circ}$ C、180 r/min条件下培养24 h,于5 000 r/min条件下离心10 min,弃上清液,取沉淀经无菌水洗涤后加入20 mL无菌水,磁力涡旋振荡混匀后获得菌悬液,于显微镜下观察孢子数量,计算菌悬液浓度为 8.0×10^8 CFU/mL。取浓度为 8.0×10^8 CFU/mL的母液,用无菌水配制浓度分别为 8.0×10^8 、 4.0×10^8 、 2.0×10^8 、 1.0×10^8 、 5.0×10^7 和 2.5×10^7 CFU/mL的菌悬液,按照上述方法测定菌悬液对桃小食心虫老熟幼虫的毒力测定。

1.2.5 发酵液对桃小食心虫实验种群的影响

黏质沙雷氏菌能分泌多种毒素和蛋白酶、脂肪酶、磷脂酶和几丁质酶等胞外降解酶(de Assis Alforado Costa et al., 2019),这些降解酶能够完全降解宿主的围食膜,导致其肠道无法摄取营养物质而死亡,甚至能完全降解宿主的整个机体,而黏质沙雷氏菌发酵液中金属蛋白可以抑制鳞翅目幼虫伤口愈合,从而导致免疫细胞大量流失,进而降低宿主血液的免疫功能。为更加全面评估黏质沙雷氏菌对桃小

食心虫生命参数的影响(Variani et al., 2021),测定致死浓度及亚致死浓度的菌株CS-1发酵液对桃小食心虫老熟幼虫实验种群的影响。根据1.2.4毒力回归方程计算菌株CS-1发酵液对桃小食心虫老熟幼虫的致死浓度 LC_{80} 及亚致死浓度 LC_{30} 分别为 1.0×10^9 CFU/mL和 5.0×10^7 CFU/mL,按照1.2.4方法配制致死浓度及亚致死浓度的菌株CS-1发酵液,将桃小食心虫老熟幼虫置于致死浓度及亚致死浓度菌株CS-1发酵液中浸泡8 s,以于无菌NB培养基中浸泡为对照,取出后将试虫放入装有灭菌锯末(含水量50%左右)的长21 cm、宽14 cm、高8 cm的培养盒中化蛹及羽化,每天检查3次其化蛹和羽化情况,记录正常化蛹数量和羽化数量及蛹的发育历期,计算化蛹率和羽化率。将羽化后成虫置于直径14 cm、高20 cm的玻璃缸中进行配对饲养,每个玻璃缸各5对雌、雄成虫,用5%蜂蜜水饲喂,缸底平铺1张滤纸作为产卵纸,每天更换1次,每个浓度处理5对成虫,6个重复,每日记录产卵量及成虫存活数量,直至成虫全部死亡,记录成虫寿命。雌成虫从羽化到第1次产卵所经历的时间称为产卵前期,雌成虫第1次产卵至最后1次产卵所经历的时间称为产卵期,记录每头雌成虫的产卵前期及产卵期。准备好若干个金冠苹果,将5日龄卵置于苹果萼洼处,每个苹果接卵10~15粒,每个处理接果50个以上,保证接卵总数在500粒以上,每日08:00、14:00和20:00各观察1次卵的孵化情况,记录卵孵化数量,计算卵孵化率;卵不再孵化时,统计每个果实上的蛀孔数,计算蛀果率;老熟幼虫开始脱果时,每日08:00、14:00和20:00各检查1次幼虫的脱果情况,并记录幼虫发育历期和脱果数量;当苹果连续5 d内不再有幼虫脱出时,切开苹果确认其中是否有幼虫,统计其总存活率,总存活率=脱果幼虫数/总幼虫数 $\times 100\%$ 。

参照戈峰(2002)方法,利用亚致死浓度和致死浓度下测定的桃小食心虫各参数构建生命周期表,根据生命周期表计算各实验种群的净增殖率、内禀增长率、世代平均周期、周限增长率和种群加倍时间。净增殖率 $R_0 = \sum l_x m_x$,内禀增长率 $r_m = \ln R_0 / T$,世代平均周期 $T = \sum x l_x m_x / R_0$,周限增长率 $= e^{r_m}$,种群加倍时间 $= \ln 2 / r_m$,式中, l_x 是任意一个体在 x 期间的存活率, m_x 表示在 x 期间平均单雌成虫总产卵数。

1.3 数据分析

采用SPSS 21.0软件对试验数据进行分析,应用最小显著差数(least significant difference, LSD)法进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 菌株CS-1的形态特征

经验证再分离的菌株与原菌株相同。在NA培养基上培养24 h时,菌株CS-1四周出现红色菌落,产生的色素在培养基中不扩散(图1)。菌落不透明,表面光滑,呈球状突起,黏稠状。

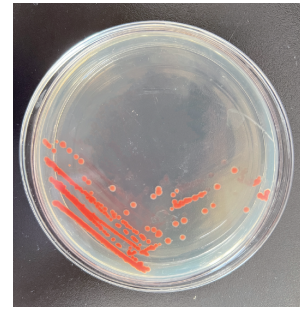


图1 菌株CS-1在NA培养基上的形态特征
Fig. 1 Morphological characterization of strain CS-1 on NA medium

2.2 菌株CS-1的生理生化特性

菌株CS-1能分解鸟氨酸和赖氨酸,可以利用甘露醇、肌醇、山梨醇、核糖醇,不能利用西蒙氏枸橼酸盐、苯丙氨酸、棉子糖和蜜二糖,尿素酶、硫化氢和甲基红试验结果均呈阴性(表1),革兰氏染色后呈红色,将菌株CS-1初步鉴定为黏质沙雷氏菌*S. marcescens*。

表1 菌株CS-1的生理生化特性

Table 1 Physiological and biochemical characteristics of strain CS-1

测试项目 Tested item	反应 Reaction
鸟氨酸 Ornithine	+
赖氨酸 Lysine	+
西蒙氏枸橼酸盐 Simmons citrate	-
硫化氢 Hydrogen sulfide	-
尿素酶 Urease	-
甲基红 Methyl red	-
苯丙氨酸 Phenylalanine	-
甘露醇 Mannitol	+
肌醇 Inositol	+
山梨醇 Sorbitol	+
核糖醇 Ribohydrin	+
棉子糖 Raffinose	-
蜜二糖 Meliobiose	-

+: 阳性; -: 阴性。+: Positive; -: negative.

2.3 菌株CS-1的分子生物学鉴定

PCR扩增产物片段的大小为1 500 bp。NCBI 比对分析结果显示,菌株CS-1与黏质沙雷氏菌相似

度高达100%。系统发育树结果显示,菌株CS-1与黏质沙雷氏菌聚为一支(图2)。综上所述,将菌株CS-1菌株鉴定为黏质沙雷氏菌*S. marcescens*。

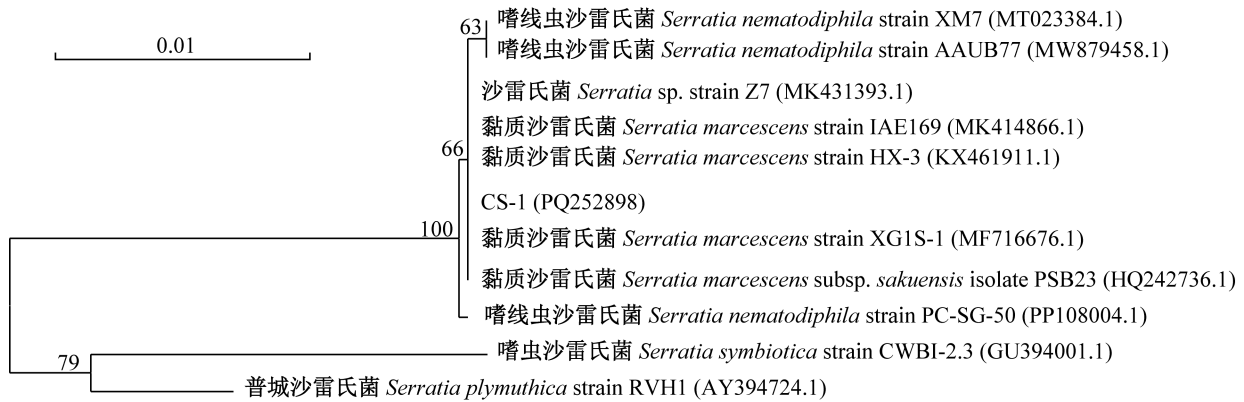


图2 基于16SrDNA基因序列构建菌株CS-1和其他沙雷氏菌属菌株的系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree of strain CS-1 and *Serratia* spp. strains based on 16S rDNA gene sequence

2.4 菌株CS-1对桃小食心虫老熟幼虫的生物活性

2.4.1 感染菌株CS-1后桃小食心虫老熟幼虫的症状

感染菌株CS-1初期,桃小食心虫老熟幼虫并未表现明显的感病症状,感染菌株CS-1 24 h后,与健康幼虫(图3-A)相比,老熟幼虫活动缓慢;感染菌株

CS-1 48 h后,老熟幼虫逐渐表现出反应迟钝、活动力减弱等症状,虫体伸直或是皱缩(图3-B),虫体开始变成红色或发黑(图3-C),腹部明显变红,轻微触碰虫体就会流出红色菌脓,最终死亡(图3-D)。



A: 健康幼虫; B: 幼虫虫体伸直或皱缩; C: 幼虫虫体变红或发黑; D: 死亡幼虫。A: Healthy larvae; B: larvae straightening or shrinking; C: larvae reddening or blackening; D: dead larvae.

图3 感染菌株CS-1后桃小食心虫老熟幼虫的症状

Fig. 3 Symptoms of mature larvae of *Carposina sasakii* after infection with strain CS-1

2.4.2 菌株CS-1发酵液对桃小食心虫幼虫的毒力

浓度 $3.12 \times 10^7 \sim 1.00 \times 10^9$ CFU/mL 菌株CS-1 发酵液处理7 d后,桃小食心虫老熟幼虫的校正死亡率为29.27%~80.49%,表明菌株CS-1发酵液对桃小食心虫老熟幼虫的毒力具有显著的剂量效应。浓度 3.12×10^7 、 6.25×10^7 和 1.25×10^8 CFU/mL 的菌株CS-1 发酵液处理1~4 d后,桃小食心虫老熟幼虫的校正死亡率大部分差异不显著,其他浓度处理1~4 d后的校正死亡率均有大幅度提升;所有浓度菌株CS-1 发酵液处理5~7 d后,桃小食心虫老熟幼虫的校正死亡率大部分差异显著($P < 0.05$),尤其是浓度为 5.00×10^8 CFU/mL 和 1.00×10^9 CFU/mL 的菌株CS-1 发酵液处理6~7 d后,桃小食心虫老熟幼虫的校正死

亡率介于59.04%~80.49%之间,显著高于其他浓度($P < 0.05$,表2)。菌株CS-1 发酵液处理桃小食心虫老熟幼虫的 LC_{50} 为 1.36×10^8 CFU/mL。浓度为 1.0×10^9 CFU/mL 菌株CS-1 发酵液对桃小食心虫老熟幼虫的 LT_{50} 仅为2.93 d,表明菌株CS-1 发酵液对桃小食心虫有很强的致病力。

2.4.3 菌株CS-1菌悬液对桃小食心虫老熟幼虫的毒力

随着菌株CS-1 菌悬液浓度增加,桃小食心虫老熟幼虫的校正死亡率均显著增加($P < 0.05$),浓度 $2.5 \times 10^7 \sim 8.0 \times 10^8$ CFU/m 处理7 d后,桃小食心虫老熟幼虫的校正死亡率为28.05%~75.61%,其中 4.0×10^8 CFU/mL 和 8.0×10^8 CFU/mL 处理第7天时,桃小食心虫老熟幼虫的校正死亡率分别达到了58.54%

和75.61%,显著高于其他浓度($P<0.05$,表3)。菌株CS-1浓度为 8.0×10^8 CFU/mL菌悬液对桃小食心虫的 LT_{50} 为3.73 d,说明菌悬液对桃小食心虫具有很强的毒力。

表2 菌株CS-1发酵液对桃小食心虫老熟幼虫的校正死亡率

Table 2 Corrected mortalities of strain CS-1 fermentation broth on mature larvae of *Carposina sasakii* %

浓度 Concentration/ (CFU/mL)	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d
3.12×10^7	8.89±1.92 a	13.33±3.33 a	20.00±0.00 a	25.56±3.85 a	25.00±0.00 a	25.30±2.08 a	29.27±4.22 a
6.25×10^7	8.89±1.92 a	16.67±5.77 ab	22.22±5.09 ab	28.89±1.92 a	29.76±5.46 ab	34.94±6.26 b	35.37±7.62 a
1.25×10^8	13.33±3.33 b	23.33±3.33 bc	26.67±3.33 bc	31.11±3.85 a	34.52±2.06 bc	44.58±2.09 c	52.44±3.66 b
2.50×10^8	17.78±1.92 c	23.33±3.33 bc	31.11±1.92 cd	38.89±1.92 b	40.48±5.46 c	48.19±4.17 c	56.10±7.32 b
5.00×10^8	18.89±1.92 c	30.00±0.00 cd	36.67±3.33 d	45.56±5.09 c	48.81±2.06 d	59.04±2.09 d	68.29±2.11 c
1.00×10^9	24.44±1.92 d	35.56±5.09 d	46.67±3.33 e	55.56±3.85 d	63.10±5.46 e	72.29±5.52 e	80.49±2.11 d

表中数据为平均数±标准差。同列不同小写字母表示经LSD法检验差异显著($P<0.05$)。Data in the table are mean±SD. Different lowercase letters in the same column indicate significant difference by LSD test ($P<0.05$).

表3 菌株CS-1菌悬液对桃小食心虫老熟幼虫的校正死亡率

Table 3 Corrected mortalities of strain CS-1 suspension on mature larvae of *Carposina sasakii* %

浓度 Concentration/ (CFU/mL)	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d
2.5×10^7	6.67±3.33 a	12.22±3.85 a	16.67±3.33 a	18.89±1.92 a	21.43±3.57 a	26.51±4.17 a	28.05±5.59 a
5.0×10^7	6.67±3.33 a	12.22±3.85 a	18.89±6.94 a	23.33±6.67 ab	27.38±2.06 a	28.92±2.09 a	31.71±4.22 ab
1.0×10^8	11.11±1.92 ab	14.44±5.09 a	18.89±3.85 a	27.78±3.85 abc	29.76±7.43 ab	31.33±7.23 ab	37.80±3.66 b
2.0×10^8	11.11±1.92 ab	13.33±0.00 a	22.22±3.85 ab	32.22±3.85 bc	36.90±4.12 bc	39.76±5.52 b	47.56±2.11 c
4.0×10^8	14.44±5.09 b	20.00±8.82 ab	31.11±5.09 bc	36.67±3.33 c	39.29±0.00 c	49.40±3.61 c	58.54±5.59 d
8.0×10^8	16.67±3.33 b	26.67±3.33 b	38.89±7.70 c	48.89±7.70 d	57.14±6.19 d	65.06±4.17 d	75.61±2.11 e

表中数据为平均数±标准差。同列不同小写字母表示经LSD法检验差异显著($P<0.05$)。Data in the table are mean±SD. Different lowercase letters in the same column indicate significant difference by LSD test ($P<0.05$).

2.5 菌株CS-1对桃小食心虫实验种群的影响

2.5.1 对桃小食心虫发育历期和寿命的影响

不同浓度菌株CS-1发酵液处理均对桃小食心虫卵和幼虫的发育历期及成虫寿命有影响,而对蛹的发育历期无显著影响(表4)。 5.0×10^7 CFU/mL和 1.0×10^9 CFU/mL菌株CS-1发酵液处理后,桃小食心虫雌成虫寿命分别较对照显著缩短2.04 d和2.54 d

($P<0.05$),而幼虫的发育历期分别较对照显著延长1.77 d和2.67 d($P<0.05$); 1.0×10^9 CFU/mL菌株CS-1发酵液处理后,卵发育历期和雄成虫寿命分别为7.17 d和4.33 d,均与对照差异显著($P<0.05$),而 5.0×10^7 CFU/mL浓度处理的卵发育历期和雄成虫寿命与对照差异不显著(表4)。

表4 菌株CS-1发酵液对桃小食心虫发育历期和寿命的影响

Table 4 Effects of strain CS-1 fermentation broth on the development duration and lifespan of *Carposina sasakii*

发酵液浓度 Concentration of fermentation broth/(CFU/mL)	发育历期 Developmental duration/d			寿命 Lifespan/d	
	卵 Egg	幼虫 Larvae	蛹 Pupa	雌成虫 Female adult	雄成虫 Male adult
对照 CK	6.30±0.30 a	13.63±0.35 a	10.40±0.72 a	7.17±0.63 b	6.90±0.62 b
5.0×10^7	6.07±0.50 ab	15.40±1.15 b	11.10±1.01 a	5.13±0.48 a	5.84±0.37 b
1.0×10^9	7.17±0.51 b	16.30±0.70 b	11.08±0.94 a	4.63±0.89 a	4.33±0.77 a

表中数据为平均数±标准差。同列不同小写字母表示经LSD法检验差异显著($P<0.05$)。Data in the table are mean±SD. Different lowercase letters in the same column indicate significant difference by LSD test ($P<0.05$).

2.5.2 对各虫态存活率的影响

不同浓度菌株 CS-1 发酵液处理对桃小食心虫的正常化蛹率、羽化率、卵孵化率、蛀果率、脱果率和总成活率均有影响(表 5)。1.0×10⁹ CFU/mL 菌株 CS-1 发酵液处理后,桃小食心虫的正常化蛹率和羽

化率均最低,仅为 71.67% 和 27.26%,且与其他处理差异显著($P<0.05$);2 个浓度菌株 CS-1 发酵液处理后,卵孵化率、蛀果率、脱果率和总成活率均差异不显著,但均显著低于对照($P<0.05$,表 5)。

表 5 菌株 CS-1 发酵液对桃小食心虫各虫态存活率的影响

Table 5 Effect of strain CS-1 fermentation broth concentration on the survival rates of different developmental stages of *Carposina sasakii*

发酵液浓度 Concentration of fermentation broth/(CFU/mL)	正常化蛹率 Pupation rate/%	羽化率 Emergence rate/%	卵孵化率 Egg hatch rate/%	蛀果率 Boring rate/%	脱果率 Exiting rate/%	总成活率 Survival rate/%
对照 CK	86.67±1.44 b	81.63±10.47 c	74.38±3.47 b	72.56±5.29 b	34.11±2.50 b	16.38±1.86 b
5.0×10 ⁷	81.90±2.97 b	61.29±10.00 b	62.76±5.66 a	60.61±3.28 a	28.22±1.40 a	10.19±2.01 a
1.0×10 ⁹	71.67±6.25 a	27.26±3.89 a	62.43±8.21 a	61.25±1.03 a	27.66±2.03 a	8.57±1.30 a

表中数据为平均数±标准差。同列不同小写字母表示经 LSD 法检验差异显著($P<0.05$)。Data in the table are mean±SD. Different lowercase letters in the same column indicate significant difference by LSD test ($P<0.05$).

2.5.3 对桃小食心虫繁殖力的影响

不同浓度菌株 CS-1 发酵液处理对桃小食心虫的产卵期、单雌日产卵量和单雌总产卵量均有影响,而对产卵前期无显著影响(表 6)。2 个浓度菌株 CS-1 发酵液处理后,桃小食心虫单雌总产卵量和单雌

日产卵量差异不显著,但均显著低于对照($P<0.05$);5.0×10⁷ CFU/mL 菌株 CS-1 发酵液处理后,桃小食心虫产卵期与对照无显著差异,而 1.0×10⁹ CFU/mL 菌株 CS-1 发酵液处理后,桃小食心虫产卵期较对照显著缩短($P<0.05$)。

表 6 菌株 CS-1 发酵液对桃小食心虫成虫生殖力的影响

Table 6 Effects of strain CS-1 fermentation broth on the fertility of *Carposina sasakii*

发酵液浓度 Concentration of fermenta- tion broth/(CFU/mL)	产卵前期 Preoviposition duration/d	单雌日产卵量 No. of eggs laid per day per female	产卵期 Oviposition period/d	单雌总产卵量 No. of eggs laid per female
对照 CK	1.20±0.17 a	25.07±4.64 b	6.87±0.51 b	170.61±18.42 b
5.0×10 ⁷	1.30±0.30 a	19.38±1.37 a	6.07±0.50 ab	117.72±14.30 a
1.0×10 ⁹	1.50±0.17 a	20.56±2.33 a	5.87±0.23 a	120.72±16.06 a

表中数据为平均数±标准差。同列不同小写字母表示经 LSD 法检验差异显著($P<0.05$)。Data in the table are mean±SD. Different lowercase letters in the same column indicate significant difference by LSD test ($P<0.05$).

2.5.4 对桃小食心虫生命周期表参数的影响

不同浓度菌株 CS-1 发酵液处理对桃小食心虫实验种群的内禀增长率、净生殖率、周限增长率和种群加倍时间均有影响,而对平均世代周期无显著影响(表 7)。5.0×10⁷ CFU/mL 和 1.0×10⁹ CFU/mL 菌株 CS-1 发酵液处理后,桃小食心虫实验种群内禀增长率(0.08 d⁻¹ 和 0.07 d⁻¹)和周限增长率(1.09 d⁻¹ 和 1.07 d⁻¹)均与对照差异显著($P<0.05$),但各浓度之间差异不显著;2 个浓度的菌株 CS-1 发酵液处理后,桃小食心虫实验种群的净增值率分别为 24.29 粒/个体和 15.50 粒/个体,种群加倍时间分别为 8.47 d 和 10.06 d,2 个浓度之间差异显著($P<0.05$),且与对照差异显著($P<0.05$)。

3 讨论

致病力是评价昆虫病原微生物能否用于生物防治的重要指标(Medzhitov et al., 2012)。本研究结果表明,菌株 CS-1 的发酵液与悬浮液对桃小食心虫老熟幼虫的毒力与其浓度呈明显的剂量效应。杨建云等(2014)研究表明,黏质沙雷氏菌 PS-1 菌液对黄曲条跳甲 *Phyllotreta striolata* 3 龄幼虫的毒力呈明显的剂量效应,与本研究结果类似。本研究结果显示菌株 CS-1 发酵液对桃小食心虫老熟幼虫的 LC₅₀ 为 1.36×10⁸ CFU/mL,浓度为 1.0×10⁹ CFU/mL 发酵液对其 LT₅₀ 为 2.93 d;菌株 CS-1 菌悬液对桃小食心虫老熟幼虫的 LC₅₀ 为 1.80×10⁸ CFU/mL,浓度 8.0×10⁸ CFU/mL

菌悬液对其 LT_{50} 为3.73 d,说明菌株CS-1对桃小食心虫老熟幼虫的致病力较强且效果持续,随着处理时间的推移,部分幼虫虽然能正常化蛹,但因无法羽化而陆续死亡。关于黏质沙雷氏菌致病机理有不同的报道,如吴正伟等(2021)研究结果显示黏质沙雷氏菌无菌上清液对草地贪夜蛾也有高致病性,表明除菌体本身外其他活性成分可能也有致病性,因此黏质沙雷氏菌可能有多种杀虫作用方式;Hu et al. (2024)研究发现黏质沙雷氏菌能促进柑橘木虱 *Diaphorina citri* 肠道中细胞色素 C、p53 蛋白和蛋白酶

的表达,并降低细胞凋亡抑制因子的水平,从而强烈诱导昆虫肠道细胞凋亡,最终导致昆虫死亡;Jupatanakul et al. (2020) 研究证明黏质沙雷氏菌中含有能降解昆虫体内蛋白酶和几丁质酶的物质,这是其具有毒性的原因之一。综上所述,黏质沙雷氏菌能分泌多种毒素和胞外降解酶,从而降解寄主体基质,导致寄主死亡。本研究结果中,菌株CS-1菌悬液处理后,桃小食心虫老熟幼虫的死亡率低于其发酵液,究其原因可能是菌悬液与发酵液中代谢产物不同。

表7 菌株CS-1发酵液对桃小食心虫生命周期表参数的影响

Table 7 Effects of strain CS-1 fermentation broth on life cycle table parameters of *Carposina sasakii*

发酵液浓度 Concentration of fermentation broth/(CFU/mL)	内禀增长率 Intrinsic rate of increase/(d ⁻¹)	净生殖率 Net production rate	平均世代周期 Mean generation rate/d	周限增长率 Finite rate time/(d ⁻¹)	种群加倍时间 Population double of increase time/d
对照CK	0.10±0.01 b	48.33±6.29 c	37.37±1.10 a	1.11±0.01 b	6.70±0.41 a
5.0×10 ⁷	0.08±0.01 a	24.29±3.78 b	38.72±3.20 a	1.09±0.01 a	8.47±1.07 b
1.0×10 ⁹	0.07±0.01 a	15.50±1.80 a	39.68±1.95 a	1.07±0.00 a	10.06±0.62 c

表中数据为平均数±标准差。同列不同小写字母表示经LSD法检验差异显著($P<0.05$)。Data in the table are mean±SD. Different lowercase letters in the same column indicate significant difference by LSD test ($P<0.05$).

生命周期表是研究和评价环境因子变化对昆虫种群影响的有效方法。Li et al. (2023) 研究表明黏质沙雷氏菌对昆虫有致死作用,能够影响其生长、发育及繁殖。本研究结果表明菌株CS-1对桃小食心虫幼虫存活率、蛹成活率、成虫寿命及单雌产卵量均有明显影响。Aggarwal et al. (2015) 发现亚致死剂量的黏质沙雷氏菌导致斜纹夜蛾的正常化蛹率、成虫羽化率及受精卵繁殖力下降,与本研究结果一致。本研究通过生命表参数分析表明,经菌株CS-1处理后桃小食心虫实验种群的内禀增长率、净生殖率和周限增长率均较对照显著降低,说明菌株CS-1对桃小食心虫实验种群的增长有抑制作用,不仅抑制了桃小食心虫幼虫的存活率,而且显著降低雌成虫的总产卵量,说明菌株CS-1可通过桃小食心虫幼虫-蛹-成虫-卵进行垂直传播,进而对桃小食心虫种群的世代繁殖产生影响。黏质沙雷氏菌PS-1处理后,甜菜夜蛾幼虫和成虫的存活率以及成虫生殖力均受到显著抑制,进而抑制甜菜夜蛾实验种群的增长(杨建云等,2015),与本研究结果一致,说明黏质沙雷氏菌对其他昆虫种群的世代也有影响。不同来源的黏质沙雷氏菌菌株对不同种类昆虫的致病力存在差异,因此菌株CS-1对其他害虫的生物活性还有待进一步探究。

生物防治是可持续农业的发展方向(Marchiori,

2023),细菌因感染力强、生长周期短、容易培养且生产成本较低而成为一种理想的生物防治资源(Kakade et al., 2023; Prasad & Singh, 2023)。本研究发现黏质沙雷氏菌CS-1菌株对桃小食心虫的致病性高且能影响种群的世代繁殖。苏翠翠(2017)报道黏质沙雷氏菌具有较强的几丁质酶(chitinase, Chi)活性,其基因组中至少含有 *ChiA*、*ChiB* 和 *ChiC* 三种基因,可以产生大量的几丁质酶,几丁质是昆虫外骨骼的主要组成成分,具有支撑身体、阻碍捕食者捕食和防御病原体侵入等功能,而几丁质酶能够降解几丁质,破坏昆虫体内结构,从而达到杀虫效果。因此,黏质沙雷氏菌所产的几丁质酶是否对桃小食心虫有重要的杀虫作用,需要在下一步工作中开展。

参 考 文 献 (References)

- Aggarwal C, Paul S, Tripathi V, Paul B, Khan MA. 2015. Chitinolytic activity in *Serratia marcescens* (strain SEN) and potency against different larval instars of *Spodoptera litura* with effect of sublethal doses on insect development. *BioControl*, 60(5): 631–640
- Chen XX, Du YJ, Huang JH, Li S, Jiang DH, Mo MH, Pang H, Sun XL, Wang Q, Wang S, et al. 2023. Recent progresses in biological control of crop pathogens and insect pests in China. *Plant Protection*, 49(5): 340–370 (in Chinese) [陈学新, 杜永均, 黄健华, 李姝, 姜道宏, 莫明和, 庞虹, 孙修炼, 王琦, 王甦, 等. 2023. 我国作物病虫害生物防治研究与应用最新进展. *植物保护*, 49

- (5): 340–370]
- de Assis Alcoforado Costa M, Owen RA, Tammsalu T, Buchanan G, Palmer T, Sargent F. 2019. Controlling and co-ordinating chitinase secretion in a *Serratia marcescens* population. *Microbiology*, 165(11): 1233–1244
- Dupriez F, Rejasse A, Rios A, Lefebvre T, Nielsen-LeRoux C. 2022. Impact and persistence of *Serratia marcescens* in *Tenebrio molitor* larvae and feed under optimal and stressed mass rearing conditions. *Insects*, 13(5): 458
- Finney DJ. 1952. Probit analysis: a statistical treatment of the sigmoid response curve. 2nd edition. Cambridge: University Press
- Ge F. 2002. Ecology of modern. Beijing: Science Press (in Chinese) [戈峰. 2002. 现代生态学. 北京: 科学出版社]
- Hu W, Zhao CF, Zheng RK, Duan S, Lu ZJ, Zhang ZX, Yi L, Zhang N. 2024. *Serratia marcescens* induces apoptosis in *Diaphorina citri* gut cells via reactive oxygen species-mediated oxidative stress. *Pest Management Science*, 80(2): 602–612
- Jensen EC, Amburn DSK, Schlegel AH, Nickerson KW. 2020. A collection of *Serratia marcescens* differing in their insect pathogenicity towards *Manduca sexta* larvae. bioRxiv, <https://doi.org/10.1101/2020.07.29.226613>
- Jeong HU, Mun HY, Oh HK, Kim SB, Yang KY, Kim I, Lee HB. 2010. Evaluation of insecticidal activity of a bacterial strain, *Serratia* sp. EML-SE1 against diamondback moth. *Journal of Microbiology*, 48(4): 541–545
- Jupatanakul N, Pengon J, Selisana SMG, Choksawangkam W, Jaito N, Saeung A, Bunyong R, Posayapisit N, Thammatinna K, Kalpongkukul N, et al. 2020. *Serratia marcescens* secretes proteases and chitinases with larvicidal activity against *Anopheles dirus*. *Acta Tropica*, 212: 105686
- Kakade K, Patwardhan R, Pathade G. 2023. Efficacy of *Photorhabdus* as a promising entomopathogenic bacteria in the eco-friendly biocontrol of white grub larvae. *International Journal of Experimental Research and Review*, 35: 149–159
- Li J, Zhu YM, Xue JL, Xiong Q, Zhao F, Xie YP. 2012. Virulence of the five strains of entomopathogenic fungi infected on the larvae of *Carposina sasakii*. *Journal of Plant Protection*, 39(6): 549–555 (in Chinese) [李捷, 朱永敏, 薛皎亮, 熊琦, 赵飞, 谢映平. 2012. 五株病原真菌对桃小食心虫的致病力. 植物保护学报, 39(6): 549–555]
- Li LL, Zhang SC, Zhang AS, Zhou XH, Men XY, Zhuang QY, Yu Y. 2013. Biological characteristics of *Beauveria bassiana* and its virulence to overwintering larvae of *Carposina niponensis* Walsingham. *Chinese Journal of Biological Control*, 29(2): 318–323 (in Chinese) [李丽莉, 张思聪, 张安盛, 周仙红, 门兴元, 庄乾营, 于毅. 2013. 球孢白僵菌筛选及其对桃小食心虫越冬幼虫致病力研究. 中国生物防治学报, 29(2): 318–323]
- Li QY, Tang YL, Jiang RX, Zhang YH, Zhu F, Bai XR, Gu RC, Wu YY, Wu YJ, Chen J, et al. 2020. Isolation and identification of gut bacteria of *Spodoptera frugiperda* feeding on maize in Yunnan, China. *Journal of Southwest University (Natural Science Edition)*, 42(1): 1–8 (in Chinese) [李青晏, 唐运林, 蒋睿轩, 张永红, 朱峰, 白兴荣, 顾偕铖, 吴燕燕, 吴玉娇, 陈洁, 等. 2020. 云南地区草地贪夜蛾肠道细菌的分离及鉴定. 西南大学学报(自然科学版), 42(1): 1–8]
- Li R, Zhao F, Peng Y, Liang LN, Zhang B, Han JC, Ma CS. 2014. Effects of diapause-inducing thermoperiod on the physiological indices of diapause larvae of *Carposina sasakii* (Lepidoptera: Carposinidae). *Acta Entomologica Sinica*, 57(6): 639–646 (in Chinese) [李锐, 赵飞, 彭宇, 梁丽娜, 张博, 韩巨才, 马春森. 2014. 滞育诱导温周期对桃小食心虫滞育幼虫生理指标的影响. 昆虫学报, 57(6): 639–646]
- Li Y, Wang SM, Zhang KX, Yin YS, Zhang XY, Zhang Q, Kong XX, Tang LY, Zhang RL, Zhang Z. 2023. *Serratia marcescens* in the intestine of housefly larvae inhibits host growth by interfering with gut microbiota. *Parasites & Vectors*, 16(1): 196
- Marchiori CH. 2023. Using biological control as a tool for sustainability. *Journal of Modern Agriculture and Biotechnology*, 2(4): 21
- Mason CJ, Peiffer M, St Clair A, Hoover K, Felton GW. 2022. Concerted impacts of antiherbivore defenses and opportunistic *Serratia* pathogens on the fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*). *Oecologia*, 198(1): 167–178
- Medzhitov R, Schneider DS, Soares MP. 2012. Disease tolerance as a defense strategy. *Science*, 335(6071): 936–941
- Mohan M, Selvakumar G, Sushil SN, Bhatt JC, Gupta HS. 2011. Entomopathogenicity of endophytic *Serratia marcescens* strain SRM against larvae of *Helicoverpa armigera* (Noctuidae: Lepidoptera). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(11): 2545–2551
- Niu HT, Li LY, Liu BS, Guo HF. 2015. Effect of temperature on pathogenicity of *Serratia marcescens* S-JS1 against *Spodoptera exigua* and *Spodoptera litura*. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 28(6): 2516–2520 (in Chinese) [牛洪涛, 李陆逸, 刘宝生, 郭慧芳. 2015. 粘质沙雷氏菌 S-JS1 对甜菜夜蛾和斜纹夜蛾致病力的温度效应. 西南农业学报, 28(6): 2516–2520]
- Prasad D, Singh RP. 2023. Management of insect-pests through entomopathogenic bacteria. *Food and Scientific Reports*, 4(9): 35–39
- Quan LF, Qiu GS, Sun LN, Li YY, Yan WT, Yue Q, Zhang HJ. 2017. Effect of sublethal concentration of beta-cypermethrin on activities of detoxifying enzymes in *Carposina sasakii* Matsumura (Lepidoptera: Carposinidae) adults. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 19(3): 316–323 (in Chinese) [全林发, 仇贵生, 孙丽娜, 李艳艳, 闫文涛, 岳强, 张怀江. 2017. 高效氯氰菊酯亚致死浓度对桃小食心虫成虫体内解毒酶活性的影响. 农药学报, 19(3): 316–323]
- Su CC. 2017. Analysis of chitinase gene family and chitin concentration in rice striped borer, *Chilo suppressalis*. Master thesis. Nanjing: Nanjing Agricultural University (in Chinese) [苏翠翠. 2017. 二化螟几丁质酶基因家族及几丁质含量的分析. 硕士学位论文. 南京: 南京农业大学]
- Su ZT, Zhang LY, Xu TM, Du GZ, Chen B, Xiao GL. 2020. Isolation, identification and insecticidal activity of pathogenic *Serratia marcescens* from potato tuber moth larvae. *Chinese Journal of Biological Control*, 36(3): 361–370 (in Chinese) [苏造堂, 张凌

- 英,徐天梅,杜广祖,陈斌,肖关丽. 2020. 马铃薯块茎蛾幼虫致病黏质沙雷氏菌的分离鉴定及杀虫活性. 中国生物防治学报, 36(3): 361-370]
- Sun LN, Zhang HJ, Yan WT, Yue Q, Li YY, Qiu GS. 2018. Research progress of *Carposina sasakii*. Journal of China Fruits, (1): 76-81 (in Chinese) [孙丽娜, 张怀江, 闫文涛, 岳强, 李艳艳, 仇贵生. 2018. 桃小食心虫研究进展. 中国果树, (1): 76-81]
- Tao AL, Wang T, Pang FH, Zheng XL, Ayra-Pardo C, Huang SL, Xu RX, Liu FQ, Li JK, Wei YB, et al. 2022. Characterization of a novel chitinolytic *Serratia marcescens* strain TC-1 with broad insecticidal spectrum. AMB Express, 12(1): 100
- Variyani YA, Setyaningrum E, Handayani K, Nukmal N, Arifiyanto A. 2021. Analisis senyawa bioaktif ekstrak metabolit sekunder *Serratia marcescens* strain MBC1. Indonesian Journal of Chemical Analysis, 4(2): 64-71
- Wang P, Yu Y, Men XY, Zhang SC, Zhang AS, Xu YY, Li LL. 2011. Dynamics of cold-resistant substances in overwintering cocooned and non-cocooned larvae of the peach fruit moth, *Carposina niponensis* Walsingham (Lepidoptera: Carposinidae). Acta Entomologica Sinica, 54(3): 279-285 (in Chinese) [王鹏, 于毅, 门兴元, 张思聪, 张安盛, 许永玉, 李丽莉. 2011. 越冬过程中桃小食心虫结茧和裸露幼虫体内耐寒性物质动态变化. 昆虫学报, 54(3): 279-285]
- Wu ZW, Liu SY, Zheng BY, Li Y, He H, Hu HQ, Lin QL. 2021. Identification and insecticidal activity of a new strain of *Serratia* isolated from mangrove forest. Journal of Guangdong Ocean University, 41(1): 33-38 (in Chinese) [吴正伟, 刘始迎, 郑碧瑜, 李亚, 何红, 胡汉桥, 林巧玲. 2021. 一株分离自红树林沙雷氏菌的鉴定及杀虫活性测定. 广东海洋大学学报, 41(1): 33-38]
- Yang JY, Cao X, Ji CY, Zhao XF, Zhang MX. 2015. Inhibitory effects of *Serratia marcescens* isolate PS-1 on the increase of experimental population of *Spodoptera exigua*. Chinese Journal of Biological Control, 31(4): 501-507 (in Chinese) [杨建云, 曹溪, 纪春艳, 赵晓峰, 张茂新. 2015. 粘质沙雷氏菌菌株 PS-1 对甜菜夜蛾种群增长的抑制作用. 中国生物防治学报, 31(4): 501-507]
- Yang JY, Ji CY, Ling B, Zhang MX. 2014. Isolation and identification of bacteria from *Phyllotreta striolata* (Fabricius) and determination of its insecticidal bioactivity. Chinese Journal of Biological Control, 30(3): 434-440 (in Chinese) [杨建云, 纪春艳, 凌冰, 张茂新. 2014. 黄曲条跳甲幼虫致病菌的鉴定及其对黄曲条跳甲的杀虫活性研究. 中国生物防治学报, 30(3): 434-440]
- Yuan ZH, Wang XW, Ding XH, Fu KX, Jiang XD, Gong XH, Jia ZZ, Ahmt T, Guo WC. 2024. Isolation, identification and evaluation of insecticidal activity of an entomopathogenic bacteria strain infecting post-overwintering *Ostrinia furnacalis* larvae. Chinese Journal of Biological Control, 40(2): 310-318 (in Chinese) [袁梓涵, 王小武, 丁新华, 付开赟, 蒋旭东, 巩雪花, 贾尊尊, 吐尔逊·阿合买提, 郭文超. 2024. 亚洲玉米螟越冬后幼虫致病细菌: 黏质沙雷氏菌的分离鉴定及杀虫活性评价. 中国生物防治学报, 40(2): 1-15]
- Zhang H, Xu N, Cao LR, Wang R, Zhang K. 2023. Review on research and utilization of microbial pesticides in China. Chinese Journal of Pesticide Science, 25(4): 769-778 (in Chinese) [张慧, 许宁, 曹丽茹, 王蕊, 张凯. 2023. 我国微生物农药的研发与应用研究进展. 农药学报, 25(4): 769-778]
- Zhao SJ, Guo XN, Wang YP, Ren Q, Song XC, Ma MC. 2022. Isolation and identification of microorganisms in *Nitraria tangutorum* Bobr. rhizosphere in Lanzhou. Acta Microbiologica Sinica, 62(7): 2582-2593 (in Chinese) [赵诗佳, 郭晓农, 王银平, 任琴, 宋晓琛, 马梦慈. 2022. 兰州唐古特白刺根际微生物分离鉴定. 微生物学报, 62(7): 2582-2593]
- Zhao YX, Wang GX, Hao YT, Gong CG, Wang YF, Li HB, Xu ZX, Liu JQ, He ZW, Liu YF, et al. 2022. Identification and pathogenicity characterization of a *Serratia marcescens* strain YP1 isolated from *Paralichthys olivaceus*. Acta Microbiologica Sinica, 62(12): 4854-4867 (in Chinese) [赵雅贤, 王桂兴, 郝耀彤, 宫春光, 王玉芬, 李洪彬, 徐子雄, 刘佳奇, 何忠伟, 刘玉峰, 等. 2022. 一株牙鲆源黏质沙雷氏菌 YP1 的分离鉴定及致病性分析. 微生物学报, 62(12): 4854-4867]
- Zhu YT, Li DX, Shi JY, Wang TT, Wang ZH. 2011. Screening of the isolates of *Beauveria bassiana* with high pathogenicity to *Carposina sasakii* larvae. Plant Protection, 37(5): 155-159 (in Chinese) [朱艳婷, 李定旭, 时景燕, 王涛涛, 王振辉. 2011. 桃小食心虫高致病力白僵菌菌株筛选. 植物保护, 37(5): 155-159]

(责任编辑:张俊芳)