

许氏平鲷网箱养殖系统菌群结构及其多样性的周年变化规律

孙心如^{1,2}, 王印度², 王凯¹, 于永祥², 张正^{2*}

(1.大连海洋大学水产与生命学院, 辽宁大连 116023; 2.中国水产科学研究院黄海水产研究所, 山东青岛 226071)

摘要 [目的]研究深海网箱养殖系统许氏平鲷(*Sebastes schlegeli*)肠道与环境菌群结构的周年变化规律及其与疾病发生的相关性。[方法]采用高通量测序技术在2016—2017年一个年度内对同一网箱中不同月份许氏平鲷的肠道(Int)、海水(W)、冰鲜饵料(F)及网衣附着物(N)中的细菌多样性及群落结构进行比较分析。[结果]不同月份深海网箱养殖系统中菌群多样性为W>N>F>Int。温度和季节变化可影响养殖系统中前20种优势菌种丰度的排名次序,其中肠道与冰鲜饵料样品中发光杆菌属(*Photobacterium*)在2016年7、11月出现较大比重,对应的OTU数量占该样品全部OTU数量的28.07%、19.25%和8.99%、38.75%。同时,肠道与冰鲜饵料样品中弧菌属(*Vibrio*)在2016年8、9月,2017年6、8月样品中相对丰度显著上升,分别为5.72%、5.94%、8.40%和8.34%、6.08%、30.73%。PCoA图表明,加权与未加权条件下水样和网衣附着物样品菌群相关性较低,而肠道样品与冰鲜饵料菌样品群相关性较高。[结论]许氏平鲷深海网箱养殖系统周年内在温度较高的月份致病菌比例明显增加,冰鲜饵料作为病原菌主要载体,是影响肠道菌群结构的主要因素,成为网箱养殖系统鱼类发病的潜在隐患。

关键词 许氏平鲷;细菌多样性;群落结构;高通量测序

中图分类号 S965 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2020)08-0110-04

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2020.08.027

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Annual Variation of Flora Structure and Diversity of *Sebastes schlegeli* Cage Culture System

SUN Xin-ru^{1,2}, WANG Yin-geng², WANG Kai¹ et al (1. College of Fisheries and Life Science, Dalian Ocean University, Dalian, Liaoning 116023; 2. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao, Shandong 266071)

Abstract [Objective] To study the annual change of intestinal and environmental flora structure of *Sebastes schlegeli* in the deep-sea cage culture system and its correlation with disease occurrence. [Method] The high-throughput sequencing technology was used to compare and analyze the bacterial diversity and community structure in the intestine (Int), culture water (W), chilled bait (F) and net attachment (N) of *S. schlegeli* in the same cage in different months from 2016 to 2017. [Result] The flora diversity in deep-sea cage culture system in different months was W>N>F>Int. As the temperature and season changes, the order of the top 20 dominant species abundance in the survival system can be affected. Among the Int and F samples, the *Photobacterium* in the July and November 2016 samples had a large proportion. The corresponding number of OTUs accounted for 28.07%, 19.25% and 8.99%, 38.75% of the total OTU of the sample. At the same time, the relative abundance ratio of *Vibrio* in the Int and F samples in August, September, 2016 and June, August 2017 were significantly increased, which was 5.72%, 5.94%, 8.40% and 8.34%, 6.08%, 30.73%, respectively. PCoA showed that under the weighted and unweighted conditions, the correlation between W and N was relatively small, while the correlation between Int and F was relatively large. [Conclusion] The percentage of pathogenic bacteria increased significantly in the month of higher temperature during the anniversary of *S. schlegeli* deep-sea cage culture system. As a main carrier of pathogenic bacteria, chilled bait was the main factor affecting the structure of intestinal flora and became potential risk of fish disease in cage culture system.

Key words *Sebastes schlegeli*; Bacterial diversity; Community structure; High-throughput sequencing

许氏平鲷(*Sebastes schlegeli*),隶属于辐鳍亚纲(Actinopterygi)、鲷形目(Scorpaeniformes)、鲷科(Scorpaenidae)、平鲷属(*Sebastes*),又称“黑鲷”或“黑石鲷”^[1],主要分布于太平洋西北部,鄂霍次克海南部,日本北海道以南,朝鲜东西两岸以及我国的渤海、黄海和东海沿岸水域等^[2-3]。因其具有经济价值高,抗低温能力较强^[4],能够在我国北方海域自然越冬和度夏等优良性状,逐渐成为黄、渤海区域大型海水网箱养殖的主要鱼类品种之一。近年来,随着我国深海网箱养殖产业的发展,许氏平鲷的养殖规模和产量也在逐年增加,但病害发生率也逐年上升。近年来,以皮肤溃疡为代表的细菌性疾病^[5],在我国黄渤海海域大型深海网箱养殖的许氏平鲷中普遍发生,给许氏平鲷养殖业造成了较大的经济损失^[6]。

疾病发生的三圈理论认为,养殖动物机体健康、环境和

病原是疾病发生过程中的3个核心要素。在水产养殖环境中,微生物群落则承担着重要的微生态功能,菌群结构的变化可以全面或者部分反映养殖环境的变化情况^[7],进而作为疾病可能发生的预判指标之一。如养殖环境条件恶化时,病原菌可以大量增殖,打破原有的微生态平衡,改变稳定的微生物群落结构,最终导致养殖生物感染发病^[8-9]。相比于传统的池塘或工厂化等养殖模式,深海网箱是一个开放的养殖系统,关于其微生物群落结构和功能的研究相对较少。

该研究在山东长岛地区许氏平鲷深海网箱养殖聚集区挑选其中的一口网箱作为研究对象,利用高通量测序技术,对养殖过程中的鱼体肠道、海水、投喂的饵料和网箱网衣附着物的细菌群落进行一个周年的跟踪监测研究,并分析其结构变化与养殖许氏平鲷皮肤溃疡症发生的相关性,以期进一步认识深海网箱养殖系统菌群结构的变化规律,为网箱养殖鱼类疾病发生的有效预警和科学防控提供借鉴。

1 材料与方法

1.1 样品采集 所有样品均采集于山东省长岛县大钦岛周边的许氏平鲷深海网箱养殖区固定的一口网箱,采样时间为

基金项目 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(20603022017004);长岛县科技计划项目。

作者简介 孙心如(1995—),女,新疆昌吉人,硕士研究生,研究方向:水产养殖。*通信作者,副研究员,硕士生导师,从事水产病害研究。

收稿日期 2019-12-10

2016年7月—2017年8月,共进行9次采样。每次采集的样品包括鱼、冰鲜饵料、海水和网衣附着物。其中,鱼样品为随机从网箱中钓取的许氏平鲉活鱼3尾(体重100~200 g),采用打包充氧的方式活运至实验室做进一步分析;饵料为投喂的冰鲜杂鱼,随机称取50 g放入采样袋中;用采水器采集2 L网箱中心点中层深度的海水样品装入无菌瓶中;采集一定量附着在网衣上生长的动植物样本放入采样袋中。上述所有现场采集的样本,均放入加有冰袋的低温采样箱中,带回实验室进行后续处理,样品明细及采集时间见表1。

表1 样品采集信息
Table 1 Sampling information

时间 Time	肠道(Int) Intestine	海水(W) Seawater	饵料(F) Feed	网衣附着物(N) Cage-net attachments
2016-07	+	+	+	-
2016-08	+	+	+	+
2016-09	+	+	+	+
2016-11	+	+	+	+
2017-01	+	+	+	+
2017-03	-	+	-	+
2017-05	+	+	+	+
2017-06	+	+	+	+
2017-08	+	+	-	+

注:“+”此次样品已采集;“-”此次样品未采集

Note:“+” this sample has been collected,“-” this sample has not been collected

1.2 样品处理 将带回实验室的许氏平鲉活鱼先放置于冰水中浸泡至休克状态,然后置于解剖盘中用70%乙醇棉球擦拭体表并用无菌海水冲洗,解剖剪取3 cm左右长度的肠道中段,放置于无菌培养皿中,用灭菌后的镊子轻轻挤出肠道内容物,再用注射器从肠道一端缓慢注射1 mL无菌海水进行冲洗,之后从中段剪取1 cm长度的肠道样品放入无菌试管中,匀浆后备用。饵料和网衣附着物样品用无菌海水冲洗2次后,各称取1 g,分别放入无菌试管中,匀浆后备用。采集的2 L海水水样经0.22 μm孔径的无菌纤维素滤膜抽滤,将滤膜放入无菌试管中剪碎,并滴加2~3滴无菌海水使其保持湿润备用。

1.3 细菌总DNA提取 经“1.2”处理的备用样品用美国OMEGA公司的Soil DNA Kit试剂盒提取细菌总DNA,将提取后的DNA放入液氮罐中保存。其中鱼肠道样品分为3个平行样,海水水样、饵料样品和网衣附着物样品各设1个样品。

1.4 高通量测序分析 待上述所有样品的细菌总DNA全部提取完毕后,扩增16S rDNA序列的v3~v4可变区,引物序列为341F: CCTACGGGNGGCWGCAG; 806R: GGACTACHVG GG-TATCTAAT。PCR反应体系为15 mmol/L MgCl₂的10×Buffer缓冲液10.0 μL,2.5 mmol/L dNTP 2.0 μL,10 μmol/L引物各5 μL,5 U/μL Taq酶1.0 μL,DNA模板4.0 μL,灭菌去离子水73 μL,总体积100 μL。PCR反应条件为94℃预变性5 min;94℃变性30 s,56℃退火30 s,72℃延伸50 s,连续30个循

环;最后72℃延伸10 min。每个PCR样本设置3个平行,所得产物混合后经20 g/L琼脂糖凝胶电泳检测,使用AXY-GEN公司的AxyPrepDNA凝胶回收试剂盒回收PCR产物,用Quanti Fluor™荧光定量系统进行定量,之后按照每个样本的测序量要求,进行相应比例的混合,送商业测序公司用HiSeq2500 PE250测序平台进行测序。

1.5 数据分析 测序得到的原始数据,经过拼接、过滤获得有效数据,用Mothur软件结合Excel进行数据统计和分析。以97%相似性为标准划分操作分类单元OTU (operational taxonomic unit)作为分类和计算的依据。基于OTU结果计算样本的ACE指数,用Excel分析并绘制属水平的相对丰度图,使用R语言的gmodels制作主成分分析图。

2 结果与分析

2.1 菌群α多样性分析 ACE指数是微生物多样性分析中常用的α多样性指数,以97%相似性水平为标准划分可操作分类单元(OTU),主要体现物种的丰富度信息,ACE指数大说明养殖环境菌群的丰富度高^[10-11]。将9个时间点的样品数据进行统计,许氏平鲉肠道(Int)、海水(W)、饵料(F)及网衣附着物(N)的菌群ACE指数如图1所示。在一年9个时期的样品中,水样的ACE指数平均为1 847,是同期样品的最高值;其次是网衣附着物,ACE指数平均为1 395;而饵料与肠道的细菌种类丰富度较低,ACE指数平均为1 049和969。菌群多样性顺序为海水、网衣附着物、饵料肠道。菌落多样性也存在显著的季节性变化,海水样品的ACE指数表现为3月最高,8月最低,最高值为2 374,最低值为990;肠道样品的ACE指数随季节变化较稳定,在8月达到最高值1 195,11月为最低值757;饵料样品在5、6月ACE指数较高,分别为1 303、1 357;网衣附着物样品在9月ACE指数出现最高值1 735,11月最低818。

2.2 菌群结构组成及丰度分析 不同月份的肠道、海水、饵料及网衣附着物属水平细菌群落组成如图2所示。Int样品中柠檬酸杆菌属(*Citrobacter*)占有绝对优势,相对丰度为37.0%~49.8%;其次是不动杆菌属(*Acinetobacter*)和假单胞菌属(*Pseudomonas*)。其中2016年7、11月样品中出现较大比重发光杆菌属(*Photobacterium*),对应的OTU数量占该样品全部OTU数量的28.07%和19.25%。同时,在2016年8、9月和2017年8月样品中弧菌属(*Vibrio*)相对丰度明显增加,占比分别为5.72%、5.94%和8.40%。饵料样品与肠道样品的优势菌群结构组成非常相似,柠檬酸杆菌属仍为优势菌属,相对丰度为9.86%~22.85%。发光杆菌属和弧菌属在多个月份中也具有一定的优势,2016年7、11月发光杆菌属相对丰度分别为8.99%和38.75%,2016年8、9月和2017年6月弧菌属相对丰度分别为8.34%、6.08%和30.73%。同肠道样品和饵料样品菌群结构相比,海水水样与网衣附着物样品在属水平上无明显优势菌群,在分类上更加多样化,包括柠檬酸杆菌属、不动杆菌属、假单胞菌属、发光杆菌属、弧菌属、*Actinomarina*属和浮霉菌属(*Planctomyces*)。

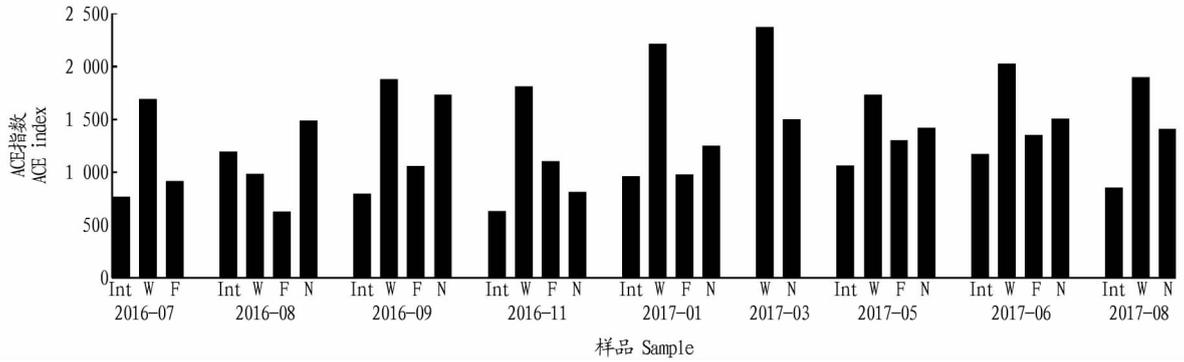


图1 不同样品 ACE 指数

Fig.1 ACE index of different samples

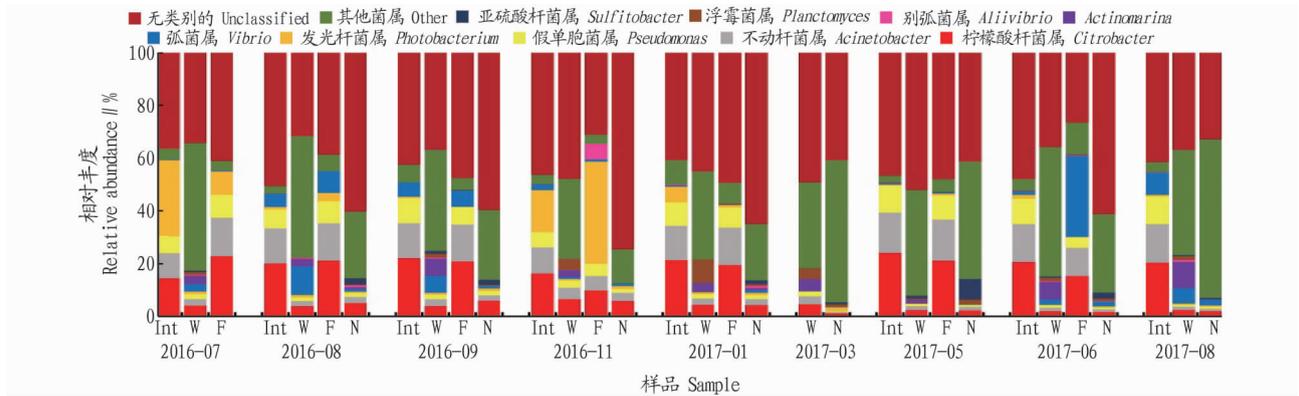


图2 不同时期网箱养殖系统属水平细菌群落组成

Fig.2 Bacterial community in cage culture system in different periods at genus level

2.3 不同样品菌群相关性分析 Unifrac 距离是用于比较生物群落的距离度量,其主要原理是利用各样品序列间的进化信息来比较样品在特定的进化谱系中是否有显著的微生物群落差异^[12]。Unifrac 包括 weighted Unifrac (加权,定量)和 unweighted Unifrac (未加权,定性),weighted Unifrac 考虑生物群落的存在和丰度,而 unweighted Unifrac 仅考虑群落的存在^[13]。为进一步研究肠道、饵料、海水及网衣附着物各样品之间的菌群相关性,在 2 种计算模式下对各样品进行 PCoA 分析(图 3、4),图中的每一个点代表一个样本,两点之间距离越近表明两者的群落构成差异越小,可以通过 PCoA 图观察到各样本之间的相关性。图 3 为未加权条件下的 PCoA 图,表示在不考虑丰度的条件下饵料样品与肠道样品各样本之间距离比较接近,而网衣附着物样本与养殖水体样本各自聚集。表明肠道样品与饵料样品相关性很高,而与网衣附着物和养殖水体相关性较低。此时,2 个主成分 PCo1 和 PCo2 贡献值分别为 14.94%和 7.30%。图 4 为加权条件下主成分图,在考虑微生物群落丰度的基础上,仍然是肠道样品与饵料样品相聚在一起,且聚合度比在未加权条件下更高。此时,2 个主坐标共同解释了 72.40%的群落差异。通过对肠道、饵料、海水及网衣附着物样品的定量与定性分析,证明饵料与肠道样品的相关性较高,与海水和网衣附着物相关性较小,饵料是影响肠道菌群的主要因素。

3 讨论

网箱养殖是一个开放的系统,水体温度、盐度、溶解氧等

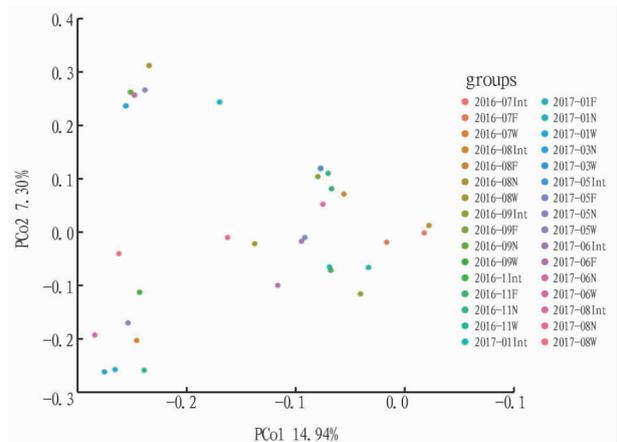


图3 基于 unweighted Unifrac 距离的 PCoA 分析

Fig.3 The PCoA analysis based on unweighted Unifrac distance

环境因子的变化均牵动养殖环境菌群多样性的组成^[14-15],相同条件下网箱养殖区内海水的菌群丰富度显著高于非养殖区,且同一养殖区在不同月份的微生物群落结构和多样性也存在显著差异^[16]。该研究发现,长岛地区网箱样品菌群的 ACE 指数从大到小依次为海水、网衣附着物、饵料、肠道,研究结果与许燕等^[17]对斑石鲷肠道、饵料与养殖环境菌群结构的多样性研究结论相似。吴建平^[18]和涂志刚^[16]对大亚湾和海南后水湾深水网箱养殖区的细菌丰度和微生物多样性研究发现,海水 ACE 指数高峰期分别在 5、11 月,与该研究结果海水细菌多样性在 3 月最高(2 374)不同,这可能与温

度有关,该研究采样地渤海海域的海水温度呈现明显的季节性波动,而处于热带地区的海南海域的全年海水温度总体上波动幅度不大,更适宜细菌的繁殖生长。

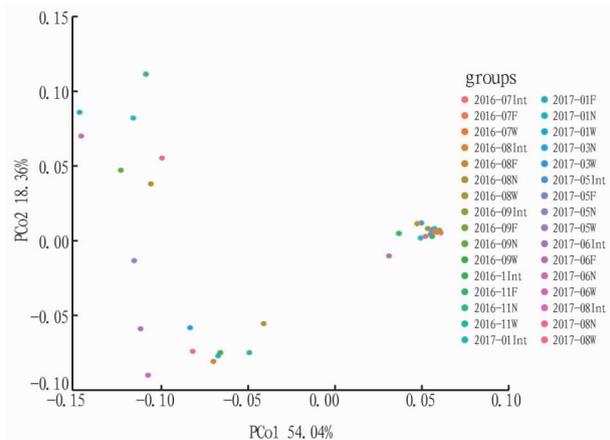


图4 基于 weighted Unifrac 距离的 PCoA 分析

Fig.4 The PCoA analysis based on weighted Unifrac distance

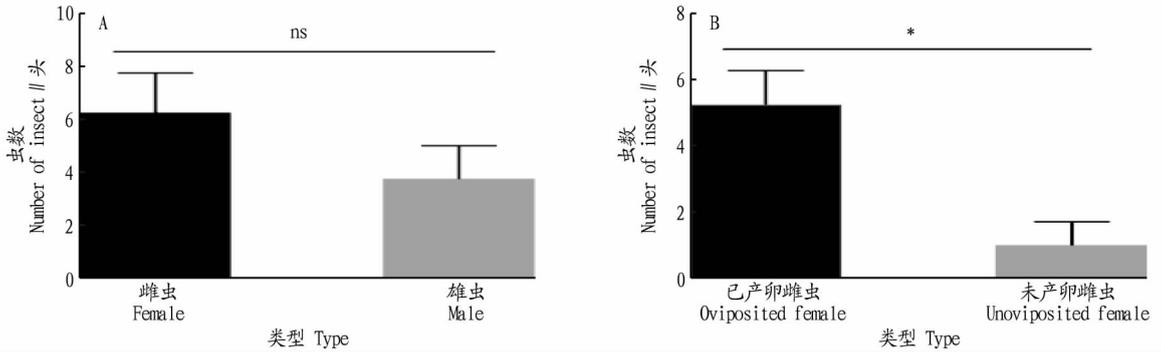
养殖区微生物群落的结构变化与鱼类病害的发生也有一定的相关性。金珊等^[19]对浙江象山和奉化海水网箱养殖区域细菌动态进行了研究,发现温度高峰期是鱼病的频繁发生期。王凯^[20]研究的长岛地区许氏平鲷的大规模死亡主要集中在6—11月,分离鉴定病原为轮虫弧菌(*Vibrio rotiferianus*)^[21]和美人鱼发光杆菌美人鱼亚种(*Photobacterium damsela* subsp. *Damsela*)^[5]。该研究发现,弧菌属在8、9月海水、肠道及饵料样品中含量较高,且相对丰度达5.39%~10.80%,发光杆菌属在7、11月肠道和饵料样品中的相对丰度达到最高值,为8.99%~38.75%,与疾病暴发期相吻合。同时研究结果显示,在2016—2017年一个年度内冰鲜饵料菌群结构变化比较显著,致病菌呈现夏、秋季高,而冬、春季低的特点,说明在夏、秋季节冰鲜饵料作为许氏平鲷食物来源,极有可能携带大量致病菌,是病原菌导入养殖鱼体和养殖系统的主要来源渠道。肠道样品的菌群变化比较显著且与饵料相关性较高,作为鱼体的消化器官,肠道是致病菌的首要入侵部位,菌群平衡一旦遭到破坏,宿主就会因肠道菌群紊乱而发生各种疾病,导致鱼体死亡^[22-23]。海水菌群结构变化比较稳定,仅在夏季出现较高的弧菌属,说明开放性海域水体的菌群结构并不稳定,海水的流动性和季节性的温度变化很有可能对其中菌群结构的稳定性造成了较大的影响。

水产动物肠道菌群结构与日常投喂的饵料关联紧密,饵料中携带的病原菌,添加益生菌、抗生素、微生态制剂^[24-26]等都可以造成肠道菌群的结构发生明显变化。而肠道菌群对养殖动物的生长代谢、营养吸收、疾病发生^[27-30]都有极其重要的作用。该研究发现疾病频发的夏季高温期,饵料和肠道样品中均出现较大比例的发光杆菌属细菌。PCoA图显示饵料样品与肠道样品相靠拢,表明肠道菌群与饵料菌群结构相关性较高,与海水和网衣附着物样品相似度较低,饵料成为影响肠道菌群结构的主要因素。该研究所采饵料样品均为冰鲜鱼虾,由于来源不稳定及长期存放易变质等客观原因,

其中往往携带大量的病原微生物,成为导致该地区网箱养殖许氏平鲷发病的主要原因之一。国外学者在进行网箱养殖鱼类疾病发生原因的调查后,也认为冰鲜杂鱼是疾病发生的主要诱因之一^[31-32]。对于网箱养殖系统而言,选择使用人工配合饲料,杜绝病原菌导入,是防控疾病发生的有效方式之一。

参考文献

- [1] 席丹.许氏平鲷 *Sebastes schlegelii* 早期发育生长模式与自残行为研究[D].青岛:中国海洋大学,2014.
- [2] 成庆泰,郑葆珊.中国鱼类系统检索[M].北京:科学出版社,1987.
- [3] 朱龙,隋风美.许氏平鲷的生物学特征及其人工养殖[J].现代渔业信息,1999(4):21-25.
- [4] 徐国成,李建军,李信书,等.许氏平鲷近海网箱养殖技术[J].水产养殖,2018(6):23-26.
- [5] ZHANG Z, YU Y X, WANG K, et al. First report of skin ulceration caused by *Photobacterium damsela* subsp. *damsela* in net-cage cultured black rockfish (*Sebastes schlegelii*) [J]. *Aquaculture*, 2019, 503: 1-7.
- [6] 金珊,王国良,赵青松,等.海水网箱养殖大黄鱼弧菌病的流行病学研究[J].水产科学,2005,24(1):17-19.
- [7] ZHANG D M, WANG X, XIONG J B, et al. Bacterioplankton assemblages as biological indicators of shrimp health status [J]. *Ecological indicators*, 2014, 38: 218-224.
- [8] HJELM M, RIAZA A, FORMOSO F, et al. Seasonal incidence of autochthonous antagonistic *Roseobacter* spp. and *Vibrionaceae* strains in a turbot larva (*Scophthalmus maximus*) rearing system [J]. *Applied and environmental microbiology*, 2004, 70(12): 7288-7294.
- [9] KORSNES K, NICOLAISEN O, SKÅR C K, et al. Bacteria in the gut of juvenile cod *Gadus morhua* fed live feed enriched with four different commercial diets [J]. *ICES Journal of Marine Science*, 2006, 63(2): 296-301.
- [10] LI H, YE D D, WANG X G, et al. Soil bacterial communities of different natural forest types in Northeast China [J]. *Plant and soil*, 2014, 383(1/2): 203-216.
- [11] SENGUPTA A, DICK W A. Bacterial community diversity in soil under two tillage practices as determined by pyrosequencing [J]. *Microbial ecology*, 2015, 70(3): 853-859.
- [12] 李莎莎.圈养马来熊日粮表观消化率及肠道菌群结构研究[D].哈尔滨:东北林业大学,2014.
- [13] 华蔚颖.应用454测序技术分析菌群结构的方法学研究[D].上海:上海交通大学,2010.
- [14] 靳祖雷.大亚湾海水网箱养殖区真菌的生态特征[D].广州:暨南大学,2011.
- [15] 邝英朋.湛江港网箱养殖海区水质因子与细菌数量的关系及弧菌属细菌的分布[D].湛江:广东海洋大学,2011.
- [16] 涂志刚.海南后水湾深水网箱养殖区微生物多样性及其养殖卵形鲳鲆“烂身病”研究[D].海口:海南大学,2017.
- [17] 许燕,王印庚,张正,等.不同健康程度和抗生素氟苯尼考干预下斑叶鲷肠道菌群的结构差异[J].水产学报,2018,42(3):388-398.
- [18] 吴建平,蔡创华,周毅频,等.大亚湾网箱养殖区异养细菌和弧菌的数量动态[J].湛江海洋大学学报,2006,26(3):21-25.
- [19] 金珊,王国良,薛良义,等.海水网箱养殖水域异养细菌和弧菌的数量动态[J].海洋渔业,1999(4):154-156.
- [20] 王凯.长岛地区深水网箱养殖许氏平鲷主要疾病的流行病学调查与病原病理学研究[D].上海:上海海洋大学,2018.
- [21] 王凯,王印庚,姜勇,等.一株感染深水网箱养殖许氏平鲷的病原菌分离与鉴定[J].渔业科学进展,2019,40(1):119-126.
- [22] ROUND J L, MAZMANIAN S K. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease [J]. *Nature reviews immunology*, 2009, 9(5): 313-323.
- [23] RING E, OLSEN R E, MAYHEW T M, et al. Electron microscopy of the intestinal microflora of fish [J]. *Aquaculture*, 2003, 227(1/2/3/4): 395-415.
- [24] 李卫芬,沈涛,陈南南,等.饲料中添加枯草芽孢杆菌对草鱼消化酶活性和肠道菌群的影响[J].大连海洋大学学报,2012,27(3):221-225.
- [25] 何敏,汪开毓,张宇,等.复合微生物制剂对重口裂腹鱼生长、消化酶活性、肠道菌群及水质指标的影响[J].动物营养学报,2008,20(5):534-539.



注: A 为诱虫灯单灯每晚诱捕雌、雄蛾数, B 为诱虫灯单灯每晚捕获已产卵雌虫与未产卵雌虫数。图中柱子代表平均值±标准误, ns 表示无显著差异, * 表示差异显著 ($P < 0.05$)

Note: A represents the number of female and male captured by light trap per night, B represents the number of oviposited female and unoviposited female captured by light trap per night. The column in the figure indicated Mean with SEM, ns means no significant difference at 0.05 level, * means significant differences at 0.05 level

图5 灯诱草地贪夜蛾性别及交配状态

Fig.5 The sex and mating status of *S. frugiperda* captured by light trap

- [6] 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, 56.
- [7] 陆道训, 张玉美, 席春虎, 等. 不同药剂对草地贪夜蛾的防治效果[J]. 安徽农业科学, 2019, 47(17): 132-134.
- [8] MITCHELL E R. Monitoring adult populations of the fall armyworm [J]. Florida entomologist, 1979, 62, 91.
- [9] 杨普云, 朱晓明, 郭井菲, 等. 我国草地贪夜蛾的防控对策与建议[J]. 植物保护, 2019, 45(4): 1-6.
- [10] 桑文, 蔡夫业, 王小平, 等. 农用诱虫灯田间应用现状与展望[J]. 中国植保导刊, 2018, 38(10): 26-30, 68.
- [11] 赵胜园, 罗倩明, 孙小旭, 等. 草地贪夜蛾与斜纹夜蛾的形态特征和生物学学习性比较[J]. 中国植保导刊, 2019, 39(5): 26-35.
- [12] 郭井菲, 静大鹏, 太红坤, 等. 草地贪夜蛾形态特征及与3种玉米田为害特征和形态相近鳞翅目昆虫的比较[J]. 植物保护, 2019, 45(2): 7-12.
- [13] 赵胜园, 杨现明, 和伟, 等. 草地贪夜蛾卵巢发育分级与繁殖潜力预测方法[J]. 植物保护, 2019, 45(6): 28-34.
- [14] MEAGHER R L, Jr, GALLO-MEAGHER M. Identifying host strains of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) in Florida using mitochondrial markers [J]. Florida entomologist, 2003, 86(4): 450-455.
- [15] NAGOSHI R N. The fall armyworm triose phosphate isomerase (*Tpi*) gene as a marker of strain identity and interstrain mating [J]. Annals of the entomological society of america, 2010, 103(2): 283-292.
- [16] NAGOSHI R N, KOFFI D, AGBOKA K, et al. Comparative molecular analyses of invasive fall armyworm in Togo reveal strong similarities to populations from the eastern United States and the Greater Antilles [J]. PLoS One, 2017, 12(7): e0181982.
- [17] NAGOSHI R N. Improvements in the identification of strains facilitate population studies of fall armyworm subgroups [J]. Annals of the entomological society of America, 2012, 105(2): 351-358.
- [18] JOHNSON S J. Migration and the life history strategy of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* in the Western Hemisphere [J]. International journal of tropical insect science, 1987, 8(4/5/6): 543-549.
- [19] VILARINHO E C, FERNANDES O A, CAIXETA H D F. Movement of *Spodoptera frugiperda* adults (Lepidoptera: Noctuidae) in maize in Brazil [J]. The Florida entomologist, 2011, 94(3): 480-488.
- [20] 程文杰, 郑霞林, 王攀, 等. 昆虫趋光的性别差异及其影响因素[J]. 应用生态学报, 2011, 22(12): 3351-3357.
- [26] 许燕, 王印庚, 张正, 等. 不同健康程度和抗生素氟苯尼考干预下斑石鲷肠道菌群的结构差异[J]. 水产学报, 2018, 42(3): 388-398.
- [27] NICHOLSON J K, HOLMES E, KINROSS J, et al. Host-gut microbiota metabolic interactions [J]. Science, 2012, 336(6086): 1262-1267.
- [28] 郑艺, 张家超, 郭壮, 等. 基于高通量测序技术分析肠道菌群及其影响因素的研究进展[J]. 中国食品学报, 2014, 14(11): 157-164.
- [29] LI X M, YU Y H, FENG W S, et al. Host species as a strong determinant of the intestinal microbiota of fish larvae [J]. The journal of microbiology, 2012, 50(1): 29-37.
- [30] BAILEY M T, DOWD S E, PARRY N M A, et al. Stressor exposure disrupts commensal microbial populations in the intestines and leads to increased colonization by *Citrobacter rodentium* [J]. Infection and immunity, 2010, 78(4): 1509-1519.
- [31] KIM D H, CHOI S Y, KIM C S, et al. Low-value fish used as feed in aquaculture were a source of furunculosis caused by atypical *Aeromonas salmonicida* [J]. Aquaculture, 2013, 408/409: 113-117.
- [32] KIM D H. Low-value fish used as feed is a source of disease in farmed fish [J]. Fisheries Aquatic Sci, 2015, 18(2): 203-209.

(上接第 113 页)