

球孢白僵菌侵染对红火蚁蚁巢内土壤微生物群落结构的影响

孟倩倩¹, 马连杰¹, 于永浩², 郭 箫¹, 皇甫佳一¹, 郭璐璐¹, 龙秀珍^{2*}

1. 重庆市农业科学院油料作物研究所, 重庆 401329; 2. 广西壮族自治区农业科学院植物保护研究所/农业农村部华南果蔬绿色防控重点实验室/广西作物病虫害生物学重点实验室, 广西南宁 530007

摘 要: 生防真菌的介入会影响土壤中微生物的群落结构, 而土壤微生物群落结构的改变反过来可能会影响其控制效果。本研究以最具危害性的重大入侵害虫红火蚁 (*Solenopsis invicta* Buren) 为对象, 通过对蚁巢施用较强致病性的球孢白僵菌菌株 HHY-B, 揭示病原菌侵染前后对红火蚁蚁巢土壤微生物群落结构的影响。采用高通量测序技术对球孢白僵菌侵染蚁巢后 48、96 h 及未侵染蚁巢的土壤样品进行微生物组学分析, 共获得细菌 648 708 条有效序列, 隶属 38 门、127 纲、274 目、451 科、897 属; 真菌 898 443 条序列, 隶属 12 门、38 纲、88 目、197 科、377 属。变形菌门和放线菌门在蚁巢土壤细菌群落中占据主导地位, 球孢白僵菌处理蚁巢显著提高了变形菌门的相对丰度 ($P<0.05$), 而对放线菌门的相对丰度无显著影响。子囊菌门在蚁巢土壤真菌群落中占据主导地位, 球孢白僵菌处理蚁巢显著提高了子囊菌门的相对丰度 ($P<0.05$)。从属水平相对丰度来看, 处理组中增加了白僵菌属, 且为优势菌群, 对照组真菌群落中未发现白僵菌属。差异细菌 KEGG 通路分析主要聚集在代谢通路、次级代谢产物的生物合成、多种环境中的微生物代谢、氨基酸的生物合成、碳代谢、双组分系统和核糖体等代谢途径中, 对照组的富集程度高于处理组。本研究揭示了球孢白僵菌处理红火蚁蚁巢后巢内土壤微生物群落结构的变化, 有助于深入了解球孢白僵菌对红火蚁及其生存环境的作用机制, 为红火蚁的生物防治提供理论依据。

关键词: 红火蚁; 球孢白僵菌; 蚁巢; 土壤微生物群落; 代谢调控

中图分类号: S433; S476

文献标志码: A

Impact of *Beauveria bassiana* Infection on the Structure of Soil Microbial Community in Nests of *Solenopsis invicta*

MENG Qianqian¹, MA Lianjie¹, YU Yonghao², GUO Xiao¹, HUANGFU Jiayi¹, GUO Lulu¹, LONG Xiuzhen^{2*}

1. Institute of Oil Crops, Chongqing Academy of Agricultural Sciences, Chongqing 401329, China; 2. Institute of Plant Protection, Guangxi Academy of Agricultural Sciences / Key Laboratory of Green Prevention and Control on Fruits and Vegetables in South China, Ministry of Agriculture and Rural Affairs / Guangxi Key Laboratory of Biology for Crop Diseases and Insect Pests, Nanning, Guangxi 530007, China

Abstract: The inoculation of biocontrol fungi may affect the community structure of microorganisms in the soil, and changes in soil microbial community structure may in turn affect the control effectiveness. This study focused on the most harmful invasive pest, the red imported fire ant *Solenopsis invicta* Buren. The highly pathogenic *Beauveria bassiana* strain HHY-B was applied to its nest to reveal the impact of pathogen infection on the nest microbial community structure of the red imported fire ant. The microbiome analysis was conducted on soil samples of *B. bassiana* infected ant nests after 48 and 96 hours, as well as uninfected ant nests using high-throughput sequencing technology. A total of 648 708 valid bacterial sequences were obtained, belonging to 38 phylum, 127 classes, 274 orders, 451 families and 897 genus. 898 443 fungal sequences were also obtained, belonging to 12 phylum, 38 classes, 88 orders, 197 families, 377

收稿日期 2025-10-26; 接受日期 2025-11-20

基金项目 重庆市市级财政科技创新类项目青年专项基金项目 (No. KYLX20240500083); 广西重点研发计划项目 (桂科 AB230-26073)。

作者简介 孟倩倩 (1985—), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 害虫绿色防控。*通信作者 (corresponding author): 龙秀珍 (LONG Xiuzhen), E-mail: longxiuzhen2006@163.com。

genus. The Proteobacteria and Actinobacteria dominated the soil bacterial community in ant nests. Treatment with *B. bassiana* significantly increased the relative abundance of Proteobacteria in ant nests ($P < 0.05$), but had no significant effect on the relative abundance of Actinobacteria. Ascomycota dominated the fungal community in the nest soil, and its relative abundance treated with *B. bassiana* was significantly increased in ant nests ($P < 0.05$). In terms of relative abundance at the genus level, the genus of *Beauveria* showed an dominate fungi in the two treatment groups, which was not found in the control group. The KEGG pathway analysis showed that the differential bacteria were mainly focused on metabolic pathways, biosynthesis of secondary metabolites, microbial metabolism in various environments, biosynthesis of amino acids, carbon metabolism, two-component systems, ribosomes and other metabolic pathways. The enrichment level of the pathways in the control group was higher than that in the treatment group. This study revealed the changes in the microbial community structure of the red imported fire ant nests after treatment with *B. bassiana*, which helps to the further understanding of the mechanism of *B. bassiana* on the red imported fire ants and the living environment, and provides theoretical basis for the biological control for the red imported fire ants.

Keywords: *Solenopsis invicta*; *Beauveria bassiana*; ant nest; soil microbial community; metabolic regulation

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2026.02.022

红火蚁 (*Solenopsis invicta* Buren) 属于膜翅目 (Hymenoptera) 蚁科 (Formicidae) 火蚁属, 原产于南美洲的热带、亚热带地区, 是世界上最具危害性的 100 种入侵生物之一, 由于缺乏天敌、繁殖力强, 加上气候适宜、物流频繁等因素, 红火蚁种群急剧扩张, 对农业生产、生态环境和人类健康造成了严重威胁^[1-2]。真菌杀虫剂由于种类多、致病力强, 在杀死害虫的同时起到保护环境和有益昆虫的作用, 已被开发用于农业、林业、卫生、仓储和畜禽等有害昆虫和螨类防控的微生物农药。目前, 已被证实能够成功侵染红火蚁的病原微生物资源主要包括球孢白僵菌 (*Beauveria bassiana*)、金龟子绿僵菌 (*Metarhizium anisopliae*) 和病原线虫 (entomopathogenic nematode) 等, 这些病原真菌在控制红火蚁种群数量方面具有潜在的应用价值, 然而其防效往往受其定殖能力的影响。

球孢白僵菌作为病原侵染蚂蚁等社会性昆虫已被作为研究真菌与社会性昆虫互作关系的一种模式, 若想成功侵染, 除了要突破昆虫表皮微生物抵抗的屏障外, 还需与巢穴土壤中的微生物进行竞争以获得长期定殖的可能性。生防菌的介入有可能影响土壤中微生物的群落结构, 土壤微生物群落结构的改变反过来可能会影响其控制效果。例如, 球孢白僵菌和绿僵菌等真菌的应用对土壤微生物群落有短暂的影响。利用高通量测序技术研究绿僵菌 ART2825 不同配方对盆栽和田间马铃薯植株土壤中真菌和原核生物的潜在影响时发现, 在盆栽试验中, 只有施用菌株时引起真菌群落的小幅变化, 而且是暂时的; 在田间试验中, 只有空间差异影响真菌和原核生物群落, 与绿僵菌的施用无关^[3-4]。另外, 病原线虫斯氏线虫

(*Steinernema carpocapsae*) 感染红火蚁蚁巢对巢内红火蚁种群及微生物群落影响的研究发现, 病原线虫的应用有效抑制了巢内红火蚁工蚁群体的增长, 减少了新蚁丘的形成。然而, 病原线虫并未影响蚁巢中真菌和细菌的多样性, 但它略微改变了分类学细菌群落的组成, 但在门、科和属水平上显著改变了真菌群落的分类组成, 病原线虫处理后, 链霉菌数量减少, 而动植物病原菌和真菌数量急剧增加^[5]。在白蚁共生菌的研究中发现, 白蚁共生放线菌的代谢产物可以控制病原真菌, 放线菌可以分解多糖 (纤维素、几丁质、木聚糖和琼脂)^[6-7], 并对微生物代谢产物进行解毒, 这些代谢能力很可能有助于白蚁的生长。

社会性昆虫在很大程度上依赖它们的细菌共生体来实现重要的生物功能, 包括繁殖力、适应性和生存^[8]。细菌共生体能够支持宿主昆虫的免疫反应和异生物质解毒, 这些生理功能反过来直接影响昆虫生物控制机制或旨在维持昆虫种群阈值的其他策略^[9-10]。土壤微生物是陆地生态系统重要的组成部分。土壤微生物在土壤昆虫群落中发挥着重要作用, 它们或作为害虫病原菌存在, 或与害虫以互利共生形式存在。土壤生境变化意味着土壤中微生物群落的改变, 昆虫为适应不同生境, 通过改变自身行为来适应环境的改变^[11]。有研究表明, 蚁巢土中细菌和真菌群落种类相对低于非蚁巢土, 但在丰度上却高于非蚁巢土, 这些细菌和真菌群落的变化可能对土壤条件产生持久的影响^[12]。另外, 蚁巢中细菌群落结构与原生土壤群落显著不同, 蚁巢土壤中放线菌丰度显著增加^[13]。通过对红火蚁筑巢偏好的研究发现, 新交配的蚁后优先在含有更多链霉菌和放线菌的土

壤中筑巢, 富含放线菌的土壤含有更少的昆虫病原真菌, 表明它们的存在可以降低红火蚁真菌感染的风险, 行为试验进一步证明土壤中的放线菌对红火蚁工蚁有吸引作用^[14-16]。社会性昆虫与土壤中微生物的互作关系不仅反映了宿主对环境的适应性, 同时这种共生关系的建立在应对环境变化, 如化肥、农药及病原微生物的使用及环境污染等方面同样发挥着重要的作用。本研究通过分析球孢白僵菌处理红火蚁蚁巢后巢内土壤微生物群落结构的变化, 有助于深入了解该生防菌对红火蚁及其生存环境的作用与适应机制, 以期利用生防菌防控红火蚁提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

球孢白僵菌菌株 HHY-B 由广西壮族自治区农业科学院植物保护研究所提供, 经过培养和扩繁, 制备成孢子浓度为 1×10^8 个/mL 的孢子悬浮液, 备用。红火蚁蚁巢采自重庆市九龙坡区白市驿自然环境中, 采集时确保蚁巢内红火蚁数量和活性基本一致。

1.2 方法

1.2.1 菌株的培养及样品准备 处理组蚁巢使用上述球孢白僵菌孢子悬浮液进行处理, 对照组用清水处理, 每个蚁巢为 1 个重复, 设置 3 次重复。分别在处理后 48 h (48 h) 和 96 h (96 h), 取处理组和对照组 (CK) 土壤样品, 将土壤取芯器 (长为 50 cm, 直径为 3.8 cm) 垂直插入蚁巢高度的一半, 分别从蚁巢的 3 个不同方向进行采集, 使用无菌抹刀在 15 cm 深处取 5 g 土壤, 转移到 50 mL 无菌试管中, 随后立即置于干冰中。每次取样前, 取芯器和抹刀用乙醇洗涤, 然后用无菌蒸馏水漂洗。土壤样品用液氮冷冻后存放于 -80°C 冰箱, 用于微生物组测序。

1.2.2 样品 DNA 抽提 根据 E.Z.N.A.[®] soil DNA kit (Omega Bio-tek, Norcross, GA, U.S.) 说明书抽提微生物群落总基因组 DNA, 提取完成后使用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测基因组 DNA 的质量, 使用 Nanodrop 2000 (美国 Thermo Scientific 公司) 测定 DNA 浓度和纯度。

1.2.3 PCR 扩增和测序文库构建 以上述提取的 DNA 为模板, 土壤细菌使用 338F-806R^[17] 引物对 16S rRNA 基因 V3~V4 可变区进行 PCR 扩增, 土壤真菌使用引物 ITS1F-ITS2R 对 18S rRNA 中的

非编码区域进行扩增。扩增完成后, 使用 2% 琼脂糖凝胶回收 PCR 产物, 随后使用 DNA 凝胶回收纯化试剂盒 (PCR Clean-Up Kit, 中国逾华) 进行回收产物, 纯化, 并用 Qubit 4.0 (Thermo Fisher Scientific, USA) 对回收产物进行检测, 定量。使用 NEXTFLEX[®] Rapid DNA-Seq Kit 对纯化后的 PCR 产物进行建库, 并利用 Illumina Nextseq 2000 平台进行测序 (上海美吉生物医药科技有限公司)。

1.2.4 高通量测序数据分析 使用 fastp^[18] (<https://github.com/OpenGene/fastp>, version 0.19.6) 和 FLASH^[19] (<http://www.cbcb.umd.edu/software/flash>, version 1.2.11) 软件对双端原始测序序列进行质控和拼接, 使用 Qiime2 流程^[20]中的 DADA2^[21] 插件 (或 Deblur^[22] 插件) 对质控拼接之后的优化序列进行降噪处理, 得到 ASVs (即扩增子序列变体) 序列。基于 SILVA 16S rRNA 基因数据库 (v 138.2) 和真菌 18S rRNA 数据库, 使用 Qiime2 中的 Naive bayes (或 Vsearch, 或 Blast) 分类器对 ASVs 进行物种分类学分析。使用 PICRUST2^[23] (version 2.2.0) 软件进行 16S 功能预测分析。

1.3 数据处理

所有的数据分析均在美吉生物云平台 (<https://cloud.majorbio.com>) 上进行, 采用 mothur^[24] 软件 (<http://www.mothur.org/wiki/Calculators>) 计算 Chao、Shannon 等 Alpha 多样性指数, 并采用 Wilcoxon 秩和检验进行 Alpha 多样性的组间差异分析。使用基于 bray-curtis 距离算法的 PCoA 分析 (主坐标分析) 检验样本间微生物群落结构的相似性, 并结合 PERMANOVA 非参数检验分析样本组间微生物群落结构的差异显著性; 采用 LEfSe 分析 (Linear discriminant analysis effect size)^[25] (<http://huttenhower.sph.harvard.edu/LEfSe>) (LDA>2, $P<0.05$) 确定不同组间从门到属水平丰度显著差异的微生物类群^[26]。

2 结果与分析

2.1 球孢白僵菌处理蚁巢后微生物种类组成

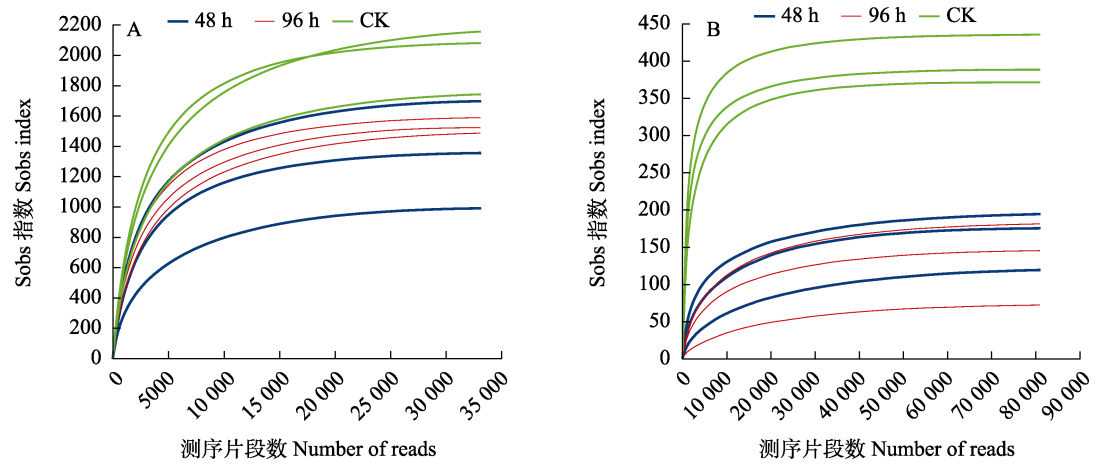
经球孢白僵菌处理红火蚁蚁巢后, 对不同处理时间的土壤样品进行细菌 16S rRNA 和真菌 ITS 基因全长测序。结果表明, 细菌共获得 648 708 条有效序列, 隶属 38 门、127 纲、274 目、451 科、897 属; 真菌共获得 898 443 条序列, 隶属 12 门、38 纲、88 目、197 科、377 属; 所有样本细菌优化序列数在 62 887~79 083 之间, 降噪后序

列数在 33 120~42 560 之间;真菌优化序列数在 82 633~106 190 之间,降噪后序列数在 80 968~105 610 之间,表明蚁巢中细菌和真菌群落组成较为复杂(表 1)。

通过稀释曲线结合 Alpha 多样性指数评估测序结果表明,所有样本曲线趋向平坦,说明测序数据量渐进合理,更多的数据量只会产生少量新的物种,足够覆盖样本中的所有微生物(图 1)。

表 1 球孢白僵菌处理蚁巢后不同处理时间土壤样品测序结果
Tab. 1 Sequencing results of soil samples treated with *B. bassiana* at different treatment times on ant nests

样品 Sample	细菌 Bacteria		真菌 Fungi	
	优化序列数	降噪后序列数	优化序列数	降噪后序列数
	Optimization sequence number	Denoising sequence number	Optimization sequence number	Denoising sequence number
48 h_1	69 584	36 735	98 710	98 182
48 h_2	63 228	38 011	106 190	105 610
48 h_3	76 452	35 759	101 772	100 376
96 h_1	62 887	33 120	101 617	100 220
96 h_2	63 241	36 395	101 946	101 538
96 h_3	74 937	40 690	101 358	100 913
CK_1	65 031	39 165	97 590	95 186
CK_2	79 083	42 560	83 814	83 013
CK_3	73 195	40 539	82 633	80 968



A: 细菌群落; B: 真菌群落。
A: Bacterial community; B: Fungi community.

图 1 土壤样品稀释曲线

Fig. 1 Dilution curves of soil samples

2.2 球孢白僵菌处理蚁巢后微生物多样性指数
2.2.1 细菌群落 不同处理蚁巢中细菌群落的 ACE、Chao、Sobs、Shannon、Coverage 和 Simpson 多样性指数存在显著差异 ($P<0.05$)。其中, CK 的 ACE、Chao 和 Sobs 指数显著高于处理 48 h, 而与处理 96 h 无显著差异, 表明 CK 的细菌群落物种丰富度较处理 48 h 高。处理组的 Shannon 和 Simpson 指数与 CK 无显著差异, 说明 3 组之间细菌群落丰富度和多样性均维持在较高水平。Coverage 指数表明所有样本测序深度足以反映群落真实组成, Coverage 指数在 3 组处理间无显著差异(图 2)。

2.2.2 真菌群落 蚁巢中真菌群落的 ACE、Chao、Sobs、Shannon、Coverage 和 Simpson 多样性指数在不同处理组间也存在显著差异 ($P<0.05$)。其中, CK 的 ACE、Chao、Sobs 指数均显著高于球孢白僵菌处理组, 表明 CK 的真菌群落物种丰富度显著高于处理组。另外, 2 个球孢白僵菌处理组的 Shannon 指数显著低于 CK, 而 Simpson 指数显著高于 CK, 表明处理组的真菌群落丰富度和多样性低于 CK。Coverage 指数表明样本测序深度足以反映群落真实组成。其中, 处理 48 h 与 CK 差异显著, 处理 96 h 与 CK 无显著差异(图 3)。

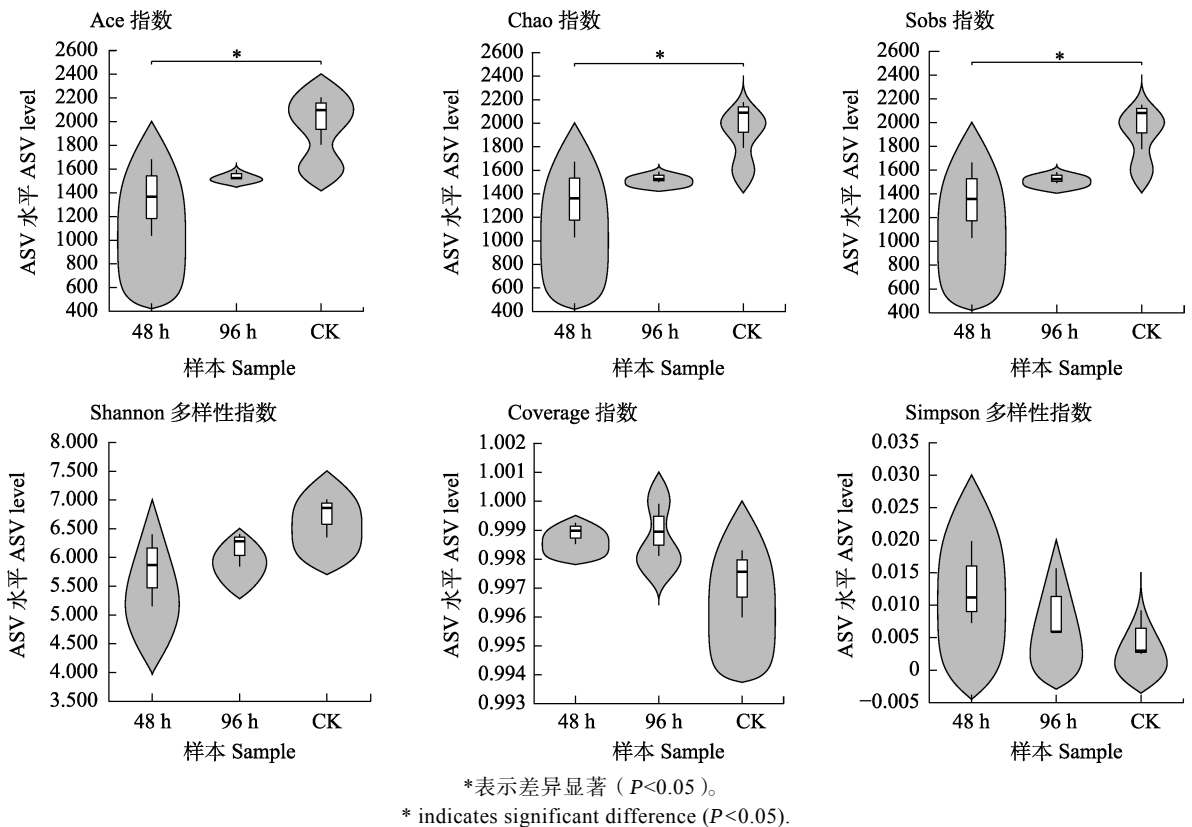


图 2 球孢白僵菌处理蚁巢后细菌群落多样性指数变化

Fig. 2 Changes in bacterial community diversity index after treatment of ant nests with *B. bassiana*

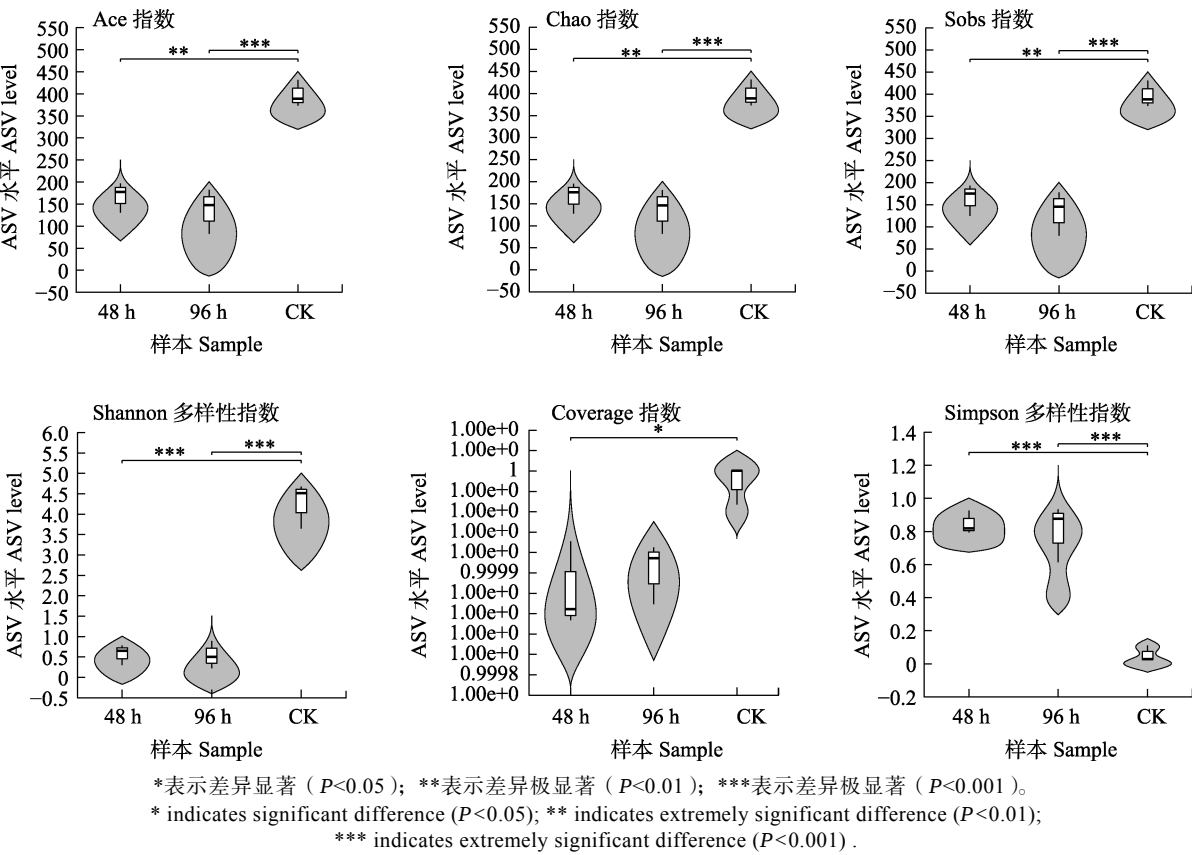


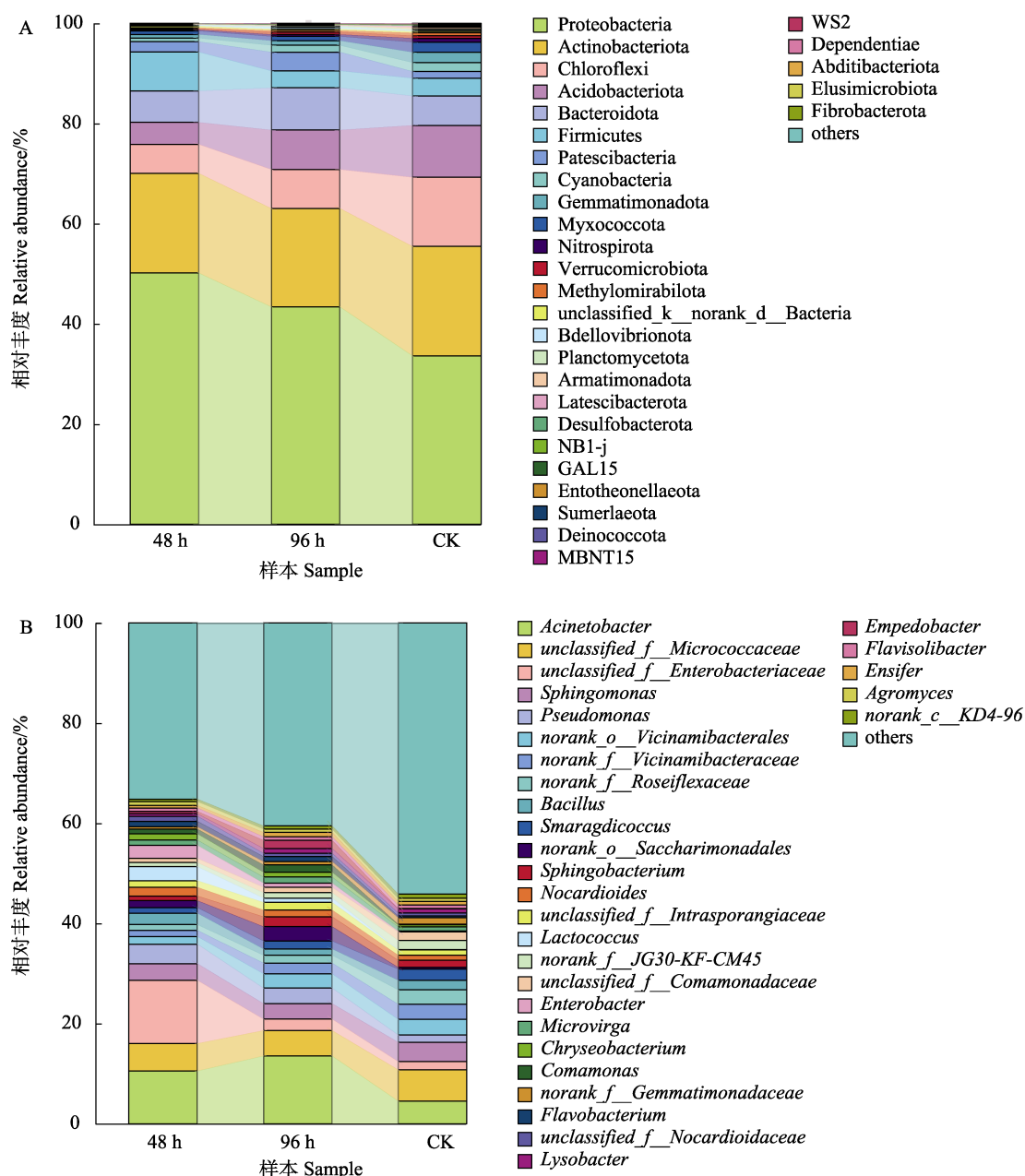
图 3 球孢白僵菌处理蚁巢后真菌群落多样性指数变化

Fig. 3 Changes in fungi community diversity index after treatment of ant nests with *B. bassiana*

2.3 球孢白僵菌侵染蚁巢不同时间后微生物群落组成变化

2.3.1 细菌群落 通过对各处理细菌门水平相对丰度进行分析发现, 变形菌门 (Proteobacteria) 和放线菌门 (Actinobacteria) 在蚁巢土壤细菌群落中占据主导地位, 其次是绿弯菌门 (Chloroflexi) 和酸杆菌门 (Acidobacteria)。球孢白僵菌处理蚁巢后显著提高了变形菌门的相对丰度 ($P<0.05$), 降低了绿弯菌门和酸杆菌门的丰度,

而对放线菌门的相对丰度无显著影响 (图 4A)。从属水平相对丰度来看, 不动杆菌属 (*Acinetobacter*) 在蚁巢土壤细菌群落中为优势菌群, 其次为 *unclassified_f_Micrococcaceae* 和 *unclassified_f_Enterobacteriaceae*。球孢白僵菌处理蚁巢后显著提高了不动杆菌属的丰度, 降低了 *unclassified_f_Micrococcaceae* 和 *unclassified_f_Enterobacteriaceae* 的丰度, *unclassified_f_Enterobacteriaceae* 的丰度在处理 48 h 后显著升高, 处



A: 门水平; B: 属水平。

A: Phylum level; B: Genus level.

图 4 球孢白僵菌侵染蚁巢不同时间后细菌群落组成变化

Fig. 4 Changes in bacterial community composition after infection of ant nests by *B. bassiana* at different times

理 96 h 后丰度下降，但仍高于 CK（图 4B）。
2.3.2 真菌群落 真菌群落门水平的相对丰度中，子囊菌门（Ascomycota）在蚁巢土壤真菌群落中占据主导地位，其次为 unclassified_k_Fungi、霉菌门（Mortierellomycota）和担子菌门（Basidiomycota）。球孢白僵菌处理蚁巢显著提高了子囊菌门的相对丰度（ $P<0.05$ ），降低了霉菌门（Mortierellomycota）和担子菌门的丰度（图 5A）。从属水平来看，处理组和 CK 之间的菌群组成差异较大，球孢白僵菌处理组中增加了白僵菌属

（*Beauveria*），且为优势菌群，CK 中未发现有白僵菌属。其他优势菌为镰刀菌属（*Fusarium*）、枝孢属（*Cladosporium*）和阿泽拉霉属（*Arxiella*），球孢白僵菌处理蚁巢后显著降低了这 3 种优势菌群的丰度（图 5B）。
2.4 球孢白僵菌侵染蚁巢后细菌群落不同处理间的分布

为便于统计多组或多个样本中所共有和独有的物种数目，通过 Venn 图从属水平上比较直观地表现不同处理土壤中细菌组成的相似性及重叠

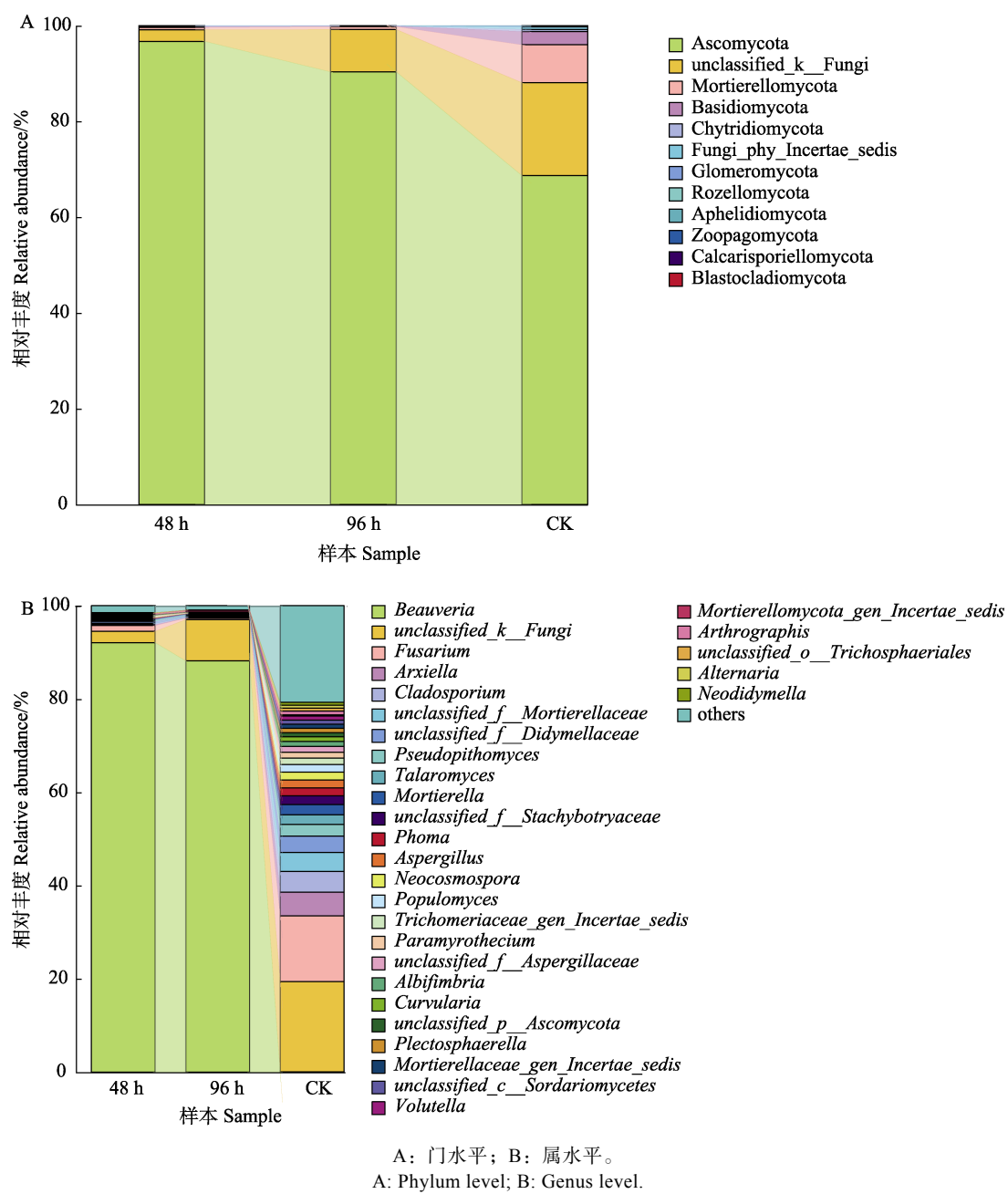


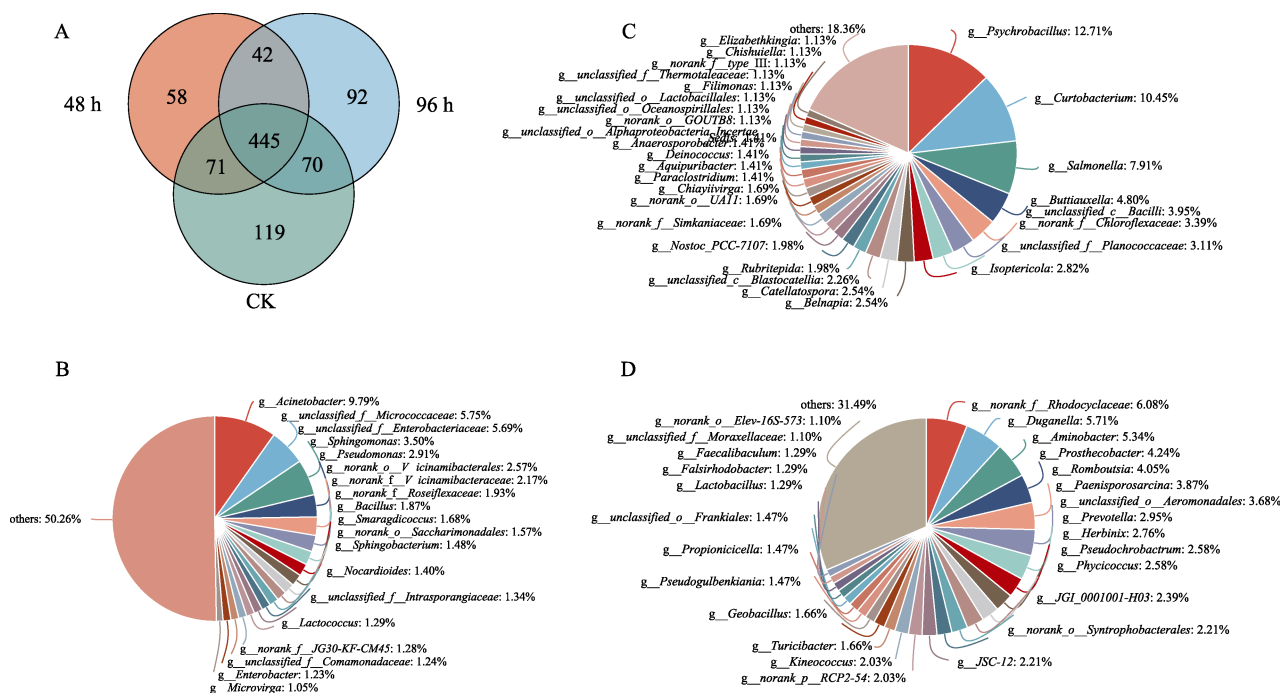
图 5 球孢白僵菌侵染蚁巢不同时间后真菌群落组成变化
Fig. 5 Changes in fungi community composition after infection of ant nests by *B. bassiana* at different times

情况。结果表明,不同处理共有的细菌种类有 445 种(图 6A),除了未注释的物种外,主要优势菌群为不动杆菌属,占比为 9.79%,其次为 *unclassified_f_Micrococcaceae* 和 *unclassified_f_Enterobacteriaceae*,占比分别为 5.75%和 5.69%(图 6B)。处理 48 h 中独有的细菌种类有 58 种,主要优势菌株为厚壁菌门(Firmicutes)的芽孢杆菌属(*Psychrobacillus*)和放线菌门的短小杆菌属(*Curtobacterium*),占比分别为 12.71%和 10.45%;其次为沙门氏菌属(*Salmonella*)和布丘氏菌属(*Buttiauxella*)(图 6C)。处理 96 h 中独有的细菌种类有 92 种,主要优势菌属为红环菌属(*Rhodocyclaceae*),其次为杜擗氏菌属(*Duganella*)、氨基杆菌属(*Aminobacter*)和突柄杆菌属(*Prosthecobacte*)(图 6D)。

2.5 差异细菌功能预测

对不同处理的差异细菌代谢通路进行分析表明,这些差异细菌主要聚集在代谢通路(metabolic

pathways)、次级代谢产物的生物合成(biosynthesis of secondary metabolites)、多种环境中的微生物代谢(microbial metabolism in diverse environments)、氨基酸的生物合成(biosynthesis of amino acids)、碳代谢(carbon metabolism)、双组分系统(two-component system)和核糖体(ribosome)等代谢途径中,CK 中的富集程度高于球孢白僵菌处理组(图 7A)。3 组处理共有的细菌主要富集在代谢通路、次级代谢产物的生物合成、多种环境中的微生物代谢、氨基酸的生物合成和碳代谢等途径中,且 CK 的富集程度高于球孢白僵菌处理组(图 7B)。处理 48 h 独有的细菌主要富集在代谢通路、次级代谢产物的生物合成、多种环境中的微生物代谢和氨基酸的生物合成途径中(图 7C)。处理 96 h 独有的细菌主要富集在代谢通路、次级代谢产物的生物合成、多种环境中的微生物代谢等途径中(图 7D)。



A: 不同处理间物种数量分布 Venn 图; B: 3 组处理共有细菌种类; C: 处理 48 h 特有细菌种类; D: 处理 96 h 特有细菌种类。
A: Venn diagram of species distribution between different treatments; B: The same bacterial species in three treatments; C: Unique bacterial species of 48 h treatment; D: Unique bacterial species of 96 h treatment.

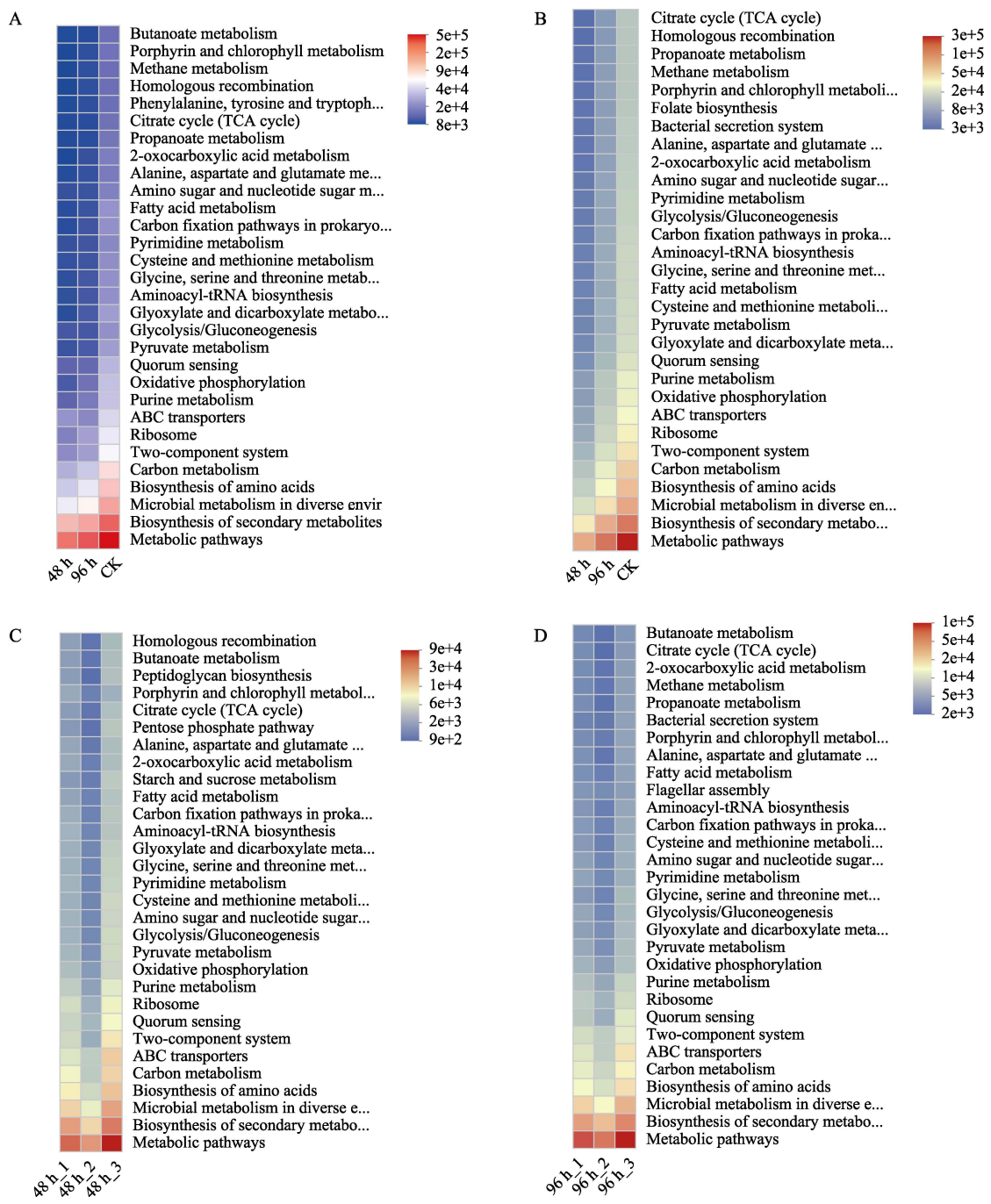
图 6 球孢白僵菌侵染蚁巢后细菌群落在不同处理组间的分布

Fig. 6 Distribution of bacterial communities among different treatment groups after infection of ant nests by *B. bassiana*

3 讨论

在自然条件下,蚁巢中白僵菌和绿僵菌的浓度维持在较低水平,大多数蚂蚁巢穴及其周围的

土壤中均有绿僵菌。土壤中绿僵菌的浓度不受蚂蚁巢穴的影响,而白僵菌很少在蚁巢中发现^[27],这表明绿僵菌与蚂蚁可以共存,但白僵菌可能被



A: 处理间差异细菌；B: 3 个处理共有细菌；C: 处理 48 h 特有细菌；D: 处理 96 h 特有细菌。
A: Bacterial differences between treatments; B: The same bacteria in the three treatments; C: Unique bacterial species of 48 h treatment; D: Unique bacterial species of 96 h treatment.

图 7 差异细菌 KEGG 通路功能预测

Fig. 7 Function prediction of KEGG pathway in differential bacteria

蚂蚁当作病原菌与土壤中其他微生物互动清除出蚁巢。本研究结果显示，经球孢白僵菌处理的蚁巢中球孢白僵菌能够得到大量富集，而未处理的蚁巢中未发现球孢白僵菌，表明自然状态下球孢白僵菌与红火蚁蚁巢很难共存。因此，球孢白僵菌侵染红火蚁感病的关键是如何能够在蚁巢中成

功定殖。值得注意的是，球孢白僵菌作为蚁巢外来接种物，在自然界中并不存在于蚁巢中，因此球孢白僵菌施用时间、土壤采样方式和蚁巢的土壤特征可能影响其与天然微生物组的相互作用效果^[3]。本研究中球孢白僵菌不同处理时长的土壤细菌群落结构差异显著，处理 96 h 的细菌群落结

构则逐渐趋于 CK,说明球孢白僵菌对蚁巢中细菌群落的作用效果随着时间的推移而逐渐削弱,其对蚁巢微生物群落的影响是短暂的,需要补充球孢白僵菌菌群数量才能达到对蚁巢的主动控制。

土壤中含有的微生物可以保护社会性昆虫免受病原菌的入侵,土壤中的细菌群落具有降低生物控制系统有效性的能力,并影响生物入侵的成败。蚁巢中的微生物群落包含芽孢杆菌和放线菌。尽管芽孢杆菌普遍具备抗菌活性,但在该群体中,其主要功能可能更侧重于营养循环与环境调控;而放线菌则在适宜条件下可产生抑制体外革兰氏阳性菌的抗生素,包括其群落中的分离株,这些放线菌被蚂蚁利用,以维护群体健康^[28]。本研究通过对球孢白僵菌处理前后蚁巢中细菌群落进行分析,发现球孢白僵菌的施用明显改变了土壤细菌群落组成,显著提高了变形菌门的相对丰度,降低了绿弯菌门和酸杆菌门的丰度,而对放线菌门的相对丰度无显著影响。虽然放线菌门在球孢白僵菌处理组和 CK 丰度上无差异,但仍是蚁巢土壤的优势菌,也有可能球孢白僵菌在土壤中的应用是通过改变放线菌门群落组成或特定的分类群,而不是改变整体菌群的多样性。进一步的差异微生物功能分析表明,差异细菌主要聚集在代谢通路、次级代谢产物的生物合成、多种环境中的微生物代谢等通路中,球孢白僵菌可以直接与蚁巢内的土壤微生物竞争营养物质和生存空间,其产生的次生代谢产物(如抗生素、酶等)可能对其他微生物具有抑制或杀灭作用,从而改变土壤微生物群落的结构和组成^[29]。因此,这些差异细菌类群可能是球孢白僵菌成功定殖蚁巢的关键,其功能有待进一步研究。

由于昆虫的活动会改变土壤的理化性质,从而改变微生物的群落结构^[30-31]。例如,黄墩蚁(*Lasius flavus*)通过改变生物和非生物土壤特性,增加了草根丛枝菌根(arbuscular mycorrhizal)定殖,造成生长在蚁丘上的草地上部长度较短,氮和磷浓度较高^[32]。当环境改变时,如土壤被重金属污染时,虽然蚂蚁群体的大小和生存会因为重金属的存在而削弱,但是蚂蚁会增强对重金属的抵抗力从而降低蚁巢内部金属含量,改善土壤环境^[33]。研究表明,不同生境条件下,红火蚁的筑巢行为会改变土壤的性质和细菌群落结构,红火蚁定殖巢穴的 pH 和氮含量显著增加,而重金属(如 Cr、Pb、Cu 和 Ni)含量显著降低^[16-17]。从细菌种类

来看,处理 48 h 中独有的优势菌为厚壁菌门的芽孢杆菌属和放线菌门的短小杆菌属。非共生固氮菌如芽孢杆菌属通过固氮酶的作用将大气中的氮转化为铵态氮,是土壤氮素的重要来源。微球菌科通过提升磷的有效性及加速有机物分解可促进植物生长^[34]。SONG 等^[35]通过研究指出,微球菌科可能通过调控土壤胶体电荷或离子通道活性增强钾素的有效性。球孢白僵菌对蚁巢的侵染同样改变了真菌群落结构,最明显的就是球孢白僵菌处理组的白僵菌丰度明显增加。这可能是因为真菌细胞启动了对土壤环境中渗透压和基质电位变化的适应机制^[36],从而刺激真菌类群生长;另一方面,在微生物和酶的作用下,有机物料分解释放低分子量有机酸,促进土壤中盐基离子的释放^[37],进一步刺激真菌活性,提高真菌群落多样性。因此,未来可进一步对球孢白僵菌侵染前后土壤理化性质进行评估,分析土壤理化性质与微生物群落结构的相关性及研究次生代谢产物在球孢白僵菌侵染蚁巢中发挥的重要作用。

本研究存在一些局限性,高通量测序虽然能够检测到更广泛的微生物,但对于微生物功能的研究还不够深入。未来的研究可以结合宏基因组学、转录组学等技术,进一步深入研究蚁巢微生物群落的功能和代谢途径,以及球孢白僵菌与微生物群落之间的相互作用机制,为红火蚁的生物防治提供更有利的策略。

参考文献

- [1] VINSON S B. Invasion of the red imported fire ant (Hymenoptera: Formicidae): spread, biology, and impact[J]. American Entomologist, 1997, 43: 23-39.
- [2] 曾玲, 陆永跃, 何晓芳, 张维球, 梁广文. 入侵中国大陆的红火蚁的鉴定及发生为害调查[J]. 昆虫知识, 2005(2): 144-148, 230-231.
ZENG L, LU Y Y, HE X F, ZHANG W Q, LIANG G W. Identification of red imported fire ant *Solenopsis invicta* to invade Chinese mainland and infestation in Wuchuan, Guangdong[J]. Chinese Bulletin of Entomology, 2005(2): 144-148, 230-231. (in Chinese)
- [3] CANFORA L, TARTANUS M, MANFREDINI A, TKACZUK C, MAJCHROWSKA-SAFARYAN A, MALUSÁ E. The impact of *Beauveria* species bioinocula on the soil microbial community structure in organic strawberry plantations[J]. Frontiers in Microbiology, 2023, 13: 1073386.
- [4] JOHANNA M, SONJA E, MARTIN H, GISELHER G,

- FRANCO W, ADRIAN L, JÜRG E. Assessing effects of the entomopathogenic fungus *Metarhizium brunneum* on soil microbial communities in *Agriotes* spp. biological pest control[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2017, 93(10): fix117.
- [5] LI X W, YI S W, CHEN L M, HAFEEZ M, ZHANG Z J, ZHANG J M, ZHOU S X, DONG W Y, HUANG J, LV Y B. The application of entomopathogenic nematode modified microbial communities within nesting mounds of the red imported fire ants, *Solenopsis invicta*[J]. Science of the Total Environment, 2024, 912: 168748.
- [6] GAO B, GUPTA R S. Phylogenetic framework and molecular signatures for the main clades of the phylum Actinobacteria[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2012, 76: 66-112.
- [7] BARKA E A, VATSA P, SANCHEZ L, GAVEAU-VAILLANT N, WEZEL G. Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2016, 80: 1-43.
- [8] WERREN J H. Symbionts provide pesticide detoxification[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2012, 109: 8364-8365.
- [9] ARP A P, CHAPMAN R, CROSSLIN J M, BLAKE B. Low-level detection of *Candidatus Liberibacter solanacearum* in *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Trioziidae) by 16S rRNA pyrosequencing[J]. Environmental Entomology, 2013, 42: 868-873.
- [10] POWELL C M, HANSON J D, BEXTINE B R. Bacterial community survey of *Solenopsis invicta* Buren (red imported fire ant) colonies in the presence and absence of *Solenopsis invicta* virus (SINV)[J]. Current Microbiology, 2014, 69: 580-585.
- [11] VOULGARI-KOKOTA A, GRIMMER G, STEFFAN-DEWENTER I, KELLER A. Bacterial community structure and succession in nests of two megachilid bee genera[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2019, 95(1): fly218.
- [12] DELGADO-BAUERIZO M, ELDRIDGE D J, HAMONTS K, SINGH B K. Ant colonies promote the diversity of soil microbial communities[J]. ISME Journal, 2019, 13: 1114-1118.
- [13] SHI L Q, LIU F H, PENG L. Impact of red imported fire ant nest-building on soil properties and bacterial communities in different habitats[J]. Animals, 2023, 13: 2026.
- [14] HUANG H M, REN L, LI H J, SCHMIDI A, GERSHENZON J, LU Y Y, CHENG D F. The nesting preference of an invasive ant is associated with the cues produced by Actinobacteria in soil[J]. PLoS Pathogens, 2020, 16: e1008800.
- [15] TRAVANTY N V, VARGO E L, APPERSON C S, PONNUSAMY L. Colonization by the red imported fire ant, *Solenopsis invicta*, modifies soil bacterial communities[J]. Microbial Ecology, 2022, 84: 240-256.
- [16] TRAVANTY N V, VARGO E L, SCHAL C, APPERSON C S, PONNUSAMY L. Bacterial isolates derived from nest soil affect the attraction and digging behavior of workers of the red imported fire ant, *Solenopsis invicta* Buren[J]. Insects, 2022, 13: 444.
- [17] LIU C S, ZHAO D F, MA W J, GUO Y D, WANG A J, WANG Q L, LEE D J. Denitrifying sulfide removal process on high-salinity wastewaters in the presence of *Halomonas* sp[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2016, 100(3): 1421-1426.
- [18] CHEN S F, ZHOU Y Q, CHEN Y R, GU J. Fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor[J]. Bioinformatics, 2018, 34(17): i884-i890.
- [19] MAGO T, SALZBERG S L. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies[J]. Bioinformatics, 2011, 27(21): 2957-2963.
- [20] BOLYEN E, RIDEOUT J R, DILLON M R, BOKULICH N A, ABNET C C, AL-GHALITH G A, ALEXANDER H, ALM E J, ARUMUGAM M, ASNICAR F. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2[J]. Nature Biotechnology, 2019, 37: 852-857.
- [21] CALLAHAN B J, MCMURDIE P J, ROSEN M J, HAN A W, JOHNSON A J A, HOLMES S P. DADA2: high-resolution sample inference from Illumina amplicon data[J]. Nature Methods, 2016, 13(7): 581-583.
- [22] AMIR A, MCDONALD D, NAVAS-MOLINA J A, KOPYLOVA E, MORTON J T, ZECH XU Z, KIGHTHEY E, THOMPSON L R, HYDE E R, GONZALEZ A, KNIGHT R. Deblur rapidly resolves single-nucleotide community sequence patterns[J]. mSystems, 2017, 2(2): e00191-16.
- [23] DOUGLAS G M, MAFFEI V J, ZANEVELD J R, YURGEL S N, BROWN J R, TAYLOR C M, HUTTENHOWER C, LANGILLE M G I. PICRUSt2 for prediction of metagenome functions[J]. Nature Biotechnology, 2020, 38: 685-688.
- [24] SCHLOSS P D, WESTCOTT S L, RYABIN T, HALL J R, HARTMANN M, HOLLISTER E B, LESNIEWSKI R A, OAKLEY B B, PARKS D H, ROBINSON C J. Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities[J]. Applied & Environmental Microbiology, 2009, 75: 7537.
- [25] SEGATAN N, IZARD J, WALDRON L, GEVERS D, MIROPOLSKY L, GARRETT W S, HUTTENHOWER C. Metagenomic biomarker discovery and explanation[J]. Genome Biology, 2011, 12: R60.
- [26] BARBERAN A, BATES S T, CASAMAYOR E O, FIERER

- N. Using network analysis to explore co-occurrence patterns in soil microbial communities[J]. ISME Journal, 2012, 6: 343-351.
- [27] ANGELONE S, BIDOCHKA M J. Diversity and abundance of entomopathogenic fungi at ant colonies[J]. Journal of Invertebrate Pathology, 2018, 156: 73-76.
- [28] EFIMENKO T A, GLUKHOVA A A, DEMIANKOVA M V, BOYKOVA Y V, MALKINA N D, SUMARUKOVA I G, VASILIEVA B F, ROGOZHIN E A, IVANOV I A, KRASILNIKOV V A. Antimicrobial activity of microorganisms isolated from ant nests of *Lasius niger*[J]. Life, 2020, 10: 91.
- [29] GONZÁLEZ-GUZMÁN A, SACRISTÁN D, SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ A R, BARRÓN V, CAMPILLO M C D. Soil nutrients effects on the performance of durum wheat inoculated with entomopathogenic fungi[J]. Agronomy, 2020, 10: 89.
- [30] HASTINGS A, BYERS J E, CROOKS J A, CUDDINGTON K, JONES C G, LAMBRINOS J G, TALLEY T S, WILSON W G. Ecosystem engineering in space and time[J]. Ecology Letters, 2007, 10: 153-164.
- [31] JÍLKOVÁ V, PECH P, MIHALJEVIČ M, FROUZ J. Effects of the ants *Formica sanguinea*, *Lasius niger*, and *Tetramorium* cf. *caespitum* on soil properties in an ore-washery sedimentation basin[J]. Journal of Soils and Sediments, 2017, 17: 2127-2135.
- [32] DAUBER J, NIECHOJ R, BALTRUSCHAT H, WOLTERS V. Soil engineering ants increase grass root arbuscular mycorrhizal colonization[J]. Biology and Fertility of Soils, 2008, 44: 791-796.
- [33] GRZEŚ I M, OKRUTNIAK M, GORZAŁCZANY M, PISZCZEK P. Body size variation of the ant *Lasius niger* along a metal pollution gradient [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2019, 26: 17858-17864.
- [34] WANG S J, DUAN S L, GEORGE T S, FENG G, ZHANG L. Adding plant metabolites improve plant phosphorus uptake by altering the rhizosphere bacterial community structure[J]. Plant Soil, 2024, 497(1): 503-522.
- [35] SONG X M, CHEN Z Y, ZHANG Q, ZHANG Z, WEN Y J. Control mechanism of short-term fertilization with cattle manure on the release characteristics of soil colloids in farmland: grain size and physicochemical properties[J]. Environmental Sciences Europe, 2024, 36(1): 136.
- [36] WICHERN J, WICHERN F, JOERGENSEN R G. Impact of salinity on soil microbial communities and the decomposition of maize in acidic soils[J]. Geoderma, 2006, 137(1/2): 100-108.
- [37] SINGH H, NORTHUP B K, RICE C W, PRASAD P V V. Biochar applications influence soil physical and chemical properties, microbial diversity, and crop productivity: a meta-analysis[J]. Biochar, 2022, 4(1): 8.