应用昆虫学报 *Chinese Journal of Applied Entomology* 2017, 54(2): 309−316. DOI: 10.7679/j.issn.2095−1353.2017.038

斑翅果蝇和黑腹果蝇侵害的葡萄微生物多样性的动态变化*

高欢欢[1**] 翟一凡[2] 陈 浩[2] 王咏梅[1]
覃冬云[2] 任凤山[1***] 于 毅[2***]

（1. 山东省葡萄研究院，济南 250100；2. 山东农业科学院植物保护研究所，济南 250100）

摘 要 **【目的】** 为了解斑翅果蝇 *Drosophila suzukii* 和黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 侵害葡萄微生物的动态变化，寻找与两种果蝇密切相关的微生物种类。**【方法】** 本研究利用自然腐烂和两种果蝇分别危害的方法处理葡萄，经过 2、4、6、8、10 d 的腐烂时间后，对葡萄进行微生物分离纯化，并对分离得到的细菌及真菌分别采用 16S rDNA 和 ITS 基因分析的方法进行鉴定。**【结果】** 总共分离鉴定出 25 种细菌和 7 种真菌。随着处理时间的延长，两种果蝇对微生物的动态也产生了影响。果蝇侵害后的葡萄中滋生的细菌和真菌种类明显多于自然条件下的葡萄，其中黑腹果蝇侵害第 4 天时微生物种类最为丰富，而斑翅果蝇侵害 8 d 后微生物种类最多。另外，果蝇的侵害导致葡萄中产生了大量白地霉 *Geotrichum candidum*，而只有黑腹果蝇侵害后的葡萄中培养出了 3 种醋酸菌 *Acetobacter* spp.。**【结论】** 果蝇加速了葡萄的腐烂和微生物的滋生，与两种果蝇均密切相关的微生物是白地霉，而相比斑翅果蝇而言，黑腹果蝇与醋酸菌的关系更为密切。本研究可为探索微生物、葡萄、果蝇三者之间的协同进化关系提供理论基础。

关键词 斑翅果蝇，黑腹果蝇，葡萄，微生物，动态

Dynamics of microbial diversity in red grapes infested by *Drosophila suzukii* and *Drosophila melanogaster*

GAO Huan-Huan[1**] ZHAI Yi-Fan[2] CHEN Hao[2] WANG Yong-Mei[1]
QIN Dong-Yun[2] Ren Feng-Shan[1***] YU Yi[2***]

(1. Shandong Academy of Grape, Jinan 250100, China;
2. Institute of Plant Protection, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100, China)

Abstract **[Objectives]** To understand the dynamics of microbial diversity in red grapes infested by *Drosophila suzukii* and *Drosophila melanogaster* and identify microorganisms associated with these two species. **[Methods]** Microorganisms in red grapes infested by *D. suzukii* and *D. melanogaster* for 2, 4, 6, 8, and 10, days were separated, purified, and identified with ITS and 16S rDNA genetic analysis. **[Results]** 25 species of bacteria and 7 species of fungi were identified. Microbial diversity was affected by infestation with either *D. suzukii* or *D. melanogaster*. The number of microorganism species in grapes infested by these species exceeded that in control grapes. Peak numbers of microorganism species were recorded after infestation by *D. melanogaster* for 4 days, and after infestation with *D. suzukii* for 8 days. Infestation with *D. suzukii* and *D. melanogaster* generated *Geotrichum candidum*. Three species of *Acetobacter* spp. were only cultivated from grapes infested by *D. melanogaster*. **[Conclusion]** Infestation by *D. suzukii* or *D. melanogaster* accelerated the decay of red grapes and the generation of microorganism species, including *G. candidum*. *Acetobacter* spp. was more strongly associated with *D. melanogaster* than with *D. suzukii*. This study provides a theoretical foundation for investigating coevolution between grapes, *Drosophila* spp. and microorganisms.

Key words *Drosophila suzukii*, *Drosophila melanogaster*, grape, microorganism, dynamics

---

*资助项目 Supported projects：山东省自然科学基金项目（ZR2014CQ014）；山东省农业科学院农业科技创新工程（CXGC2016D01）
**第一作者 First author，E-mail：gaohuanhuan368@126.com
***通讯作者 Corresponding author，E-mail：rensd65@163.com; robertyuyi@163.com
收稿日期 Received：2016-05-06，接受日期 Accepted：2016-06-28

斑翅果蝇 *Drosophila suzukii* 和黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 隶属双翅目（Diptera）、果蝇科（Drosophilidae）。斑翅果蝇又名铃木氏果蝇，寄主广泛，包括樱桃、草莓、蓝莓、黑莓、葡萄等 60 多种植物，在全世界各地有发现（林清彩等，2013）。雌果蝇的产卵管坚硬狭长，呈镰刀状，一侧有许多小锯齿（Parshad and Paika，1965），相对于未成熟的果实和腐烂的果实来说，斑翅果蝇偏好在刚开始成熟变色的水果上产卵，卵孵化后以幼虫蛀食为害，果实逐渐软化造成直至变褐腐烂，造成损失高达 40%~80%（Mitsui *et al.*，2006）。与斑翅果蝇不同，腐烂的果实对黑腹果蝇具有更强的吸引作用（Milan *et al.*，2012）。因此，黑腹果蝇和斑翅果蝇在取食和产卵习性方面存在差别，而后者对于农林业的危害则更为严重。

对于两种果蝇，腐烂的果实均对其幼虫的生长和发育具有促进作用，这与腐烂果实中滋生的大量微生物有很大的关系（David and Vanherrewege，1983）。目前研究较多的是酵母，研究证明酵母的存在为果蝇的生长和发育提供了营养物质和必需氨基酸（Milan *et al.*，2012）。但在植物的腐烂过程中，酵母以外的微生物数量也较多，腐烂的台湾青枣中共分离到 6 株细菌和 24 株霉菌（赵丹丹等，2016）。高欢欢等（2016）在腐烂的韭菜中分离出 25 种微生物，其中枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis* 可促进韭菜中主要害虫韭菜迟眼蕈蚊幼虫的生长和蛹的羽化。斑翅果蝇和黑腹果蝇的生长发育以及取食和产卵习性的差别是否与寄主中的其他微生物有关，均需要进行系统的研究。

本研究中，两种果蝇取食新鲜的葡萄，随着腐烂程度的增加，观察微生物种类的动态变化，初步分析微生物与两种果蝇的相关性，为研究果实、微生物和果蝇三者之间的关系奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

黑腹果蝇和斑翅果蝇，采自山东济南章丘香草园有限公司的有机葡萄园，饲养于人工气候箱中，温度（25 ± 0.5）℃，湿度为 70% ± 0.5%，光周期为 L∶D =16∶8，饲养 4~5 代后取羽化 3 d 的活体成虫以及在有机葡萄园中采摘的新鲜葡萄用于本次实验。

1.2 实验试剂与仪器

NB 培养基，孟加拉红培养基，PDA 培养基，PBS 缓冲液，DNA 提取试剂盒（Fungal DNA Kit D3390-01，OMEGA BIO-TEK 公司），2×Taq Plus PCR Master Mix（天根生化科技有限公司）。

超净工作台（SW-Cj-ZFD，苏净集团苏州安泰空气技术有限公司），人工气候箱（RXZ-328A 型，宁波江南仪器厂），离心机（D-78532，德国 Tuttlingen），PCR 仪（EPS301，美国 Pharmacia），电泳仪（JY3000，北京君意东方电泳设备有限公司），凝胶成像系统（JY04S-3C，北京君意东方电泳设备有限公司）。

1.3 不同腐烂程度的葡萄中微生物的分离

葡萄的致腐实验需要进行连续 9 d 的重复操作。在高压灭菌处理的组织培养瓶（直径 5.5 cm、高 9 cm）中放入新鲜的葡萄，分别接入 4 对斑翅果蝇和黑腹果蝇成虫，不接果蝇的葡萄处理为对照，每个处理 5 个重复，此为第 1 天。在第 3、5、7、9 天时重复第一天的操作。在第 11 天时，对不同时间段中不同处理的葡萄进行收集，并进行微生物的分离。至此，斑翅果蝇、黑腹果蝇以及自然腐烂的时间分别为 10、8、6、4、2 d。在无菌条件下将所取样品在 PBS 缓冲液中匀浆，吸取匀浆液稀释至 10^3、10^4 和 10^5 倍，即为葡萄中微生物的混合液。吸取 200 μL 各个处理中不同浓度的微生物混合液分别涂布于 NB 板和孟加拉红培养基平板上，每个浓度 3 个重复。涂板后放置 25℃培养箱中培养 48 h。

挑取孟加拉红培养基平板中表征典型的真菌，在 PDA 培养基中纯化 3 次，25℃培养箱中培养，纯化好的真菌保存到 1.5 mL 离心管孟加拉红培养基斜面上，放置在 4℃保存备用。

选择有代表性的细菌单菌落在 NB 培养基中进行划线纯化 3 次，25℃培养箱中培养，对纯化

好的菌落进行编号，挑取纯化好的各细菌菌落在 LB 液体培养基中过夜摇菌，一部分用于 16S rDNA 鉴定，一部分加等体积 60%的甘油保存于－20℃备用。

1.4　微生物基因鉴定

1.4.1　细菌的 16S rDNA 鉴定　对于分离纯化后的细菌采用 16S rDNA 鉴定法。过夜摇匀的菌液作为模板，按如下体系进行 PCR 扩增。PCR 反应体系如下：DNA 模板 2 μL，2×Taq Plus PCR Master Mix 12.5 μL，上下游引物各 1 μL，加入 ddH_2O 补充至 25 μL。

PCR 反应按照如下程序进行：94℃预热 3 min，94℃热变性 30 s，52℃退火 30 s，72℃延伸 1 min，共 30 个循环，72℃反应后延伸 5 min。

引物序列：16S rDNA-27F：5′-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3′；16S rDNA-1492R：5′-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3′。

1.4.2　真菌的 ITS 鉴定　对于分离纯化后的真菌采用 ITS 鉴定法。收集真菌的菌丝，按照 DNA 提取试剂盒（Fungal DNA Kit D3390-01）提取各个真菌的 DNA，提取的 DNA 样品取 5 μL 通过 1%琼脂糖凝胶电泳来检测质量，检测合格后保存于－20℃备用。PCR 反应体系及反应程序同 1.4.1。

引物序列：ITS1：5′-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3′；ITS4：5′-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3′。

1.4.3　测序分析　将 PCR 产物进行 1%琼脂糖凝胶电泳检测，观察 16S rDNA 和 ITS 的条带是否分别为 1 500 kb 左右和 500 kb 左右。切胶回收后送山东农业科学院测序中心测序，其中 16S rDNA 为双向测序，ITS 为单向测序。将测序结果在 NCBI 网站上进行 BLAST 分析，以确保是 16S rDNA 和 ITS 基因序列，并以此来判断微生物的分类地位。

2　结果与分析

2.1　葡萄中的细菌种类及系统发育树

由表 1 所示，经过分离和鉴定，在自然腐烂、斑翅果蝇以及黑腹果蝇侵害不同时间的葡萄中共分离到 25 株细菌，分别隶属于变形菌门（Proteobacteria）和厚壁菌门（Firmicutes），变形菌门 γ-变形菌纲包括 16 种细菌，分别是奥克西托克雷伯杆菌 *klebsiella oxytoca*、弗氏柠檬酸杆菌 *Citrobacter freundii*、奈氏西地西菌 *Cedecea neteri*、2 种普罗威登斯菌 *Providencia* spp.、土生拉乌尔菌 *Raoultella terrigena*、3 种醋酸菌 *Acetobacter* spp.、非脱羧莱克勒菌 *Leclercia adecarboxylata*、3 种肠杆菌属 *Enterobacter* spp.、泡囊短波单胞菌 *Brevundimonas vesicularis*、类黄色假单胞细菌 *Pseudomonas parafulva* 和鲁氏不动杆菌 *Acinetobacter lwoffii*，厚壁菌门芽孢杆菌纲的 6 种芽孢杆菌 *Bacillus* spp. 和沃氏葡萄球菌 *Staphylococcus warneri*、戊糖乳杆菌 *Lactobacillus pentosus*。另外，棒状杆菌属 *Corynebacterium* sp. 隶属于放线菌门（Actinobacteria）放线菌纲，其系统发育树见图 1。

2.2　葡萄中的真菌种类及系统发育树

在 3 种处理方式下的葡萄中分离鉴定得到 7 株真菌（表 2）。其中 2 种白地霉（*Geotrichum candidum* 和 *Galactomyces candidum*）隶属于半知菌亚门 Deuteromycotina；4 种青霉属真菌 *Penicillium* spp. 以及夏孢生枝孢 *Cladosporium uredinicola* 隶属于子囊菌亚门 Ascomycotina。其系统发育树见图 2。

2.3　葡萄中微生物多样性的动态变化

在不同处理方式下，葡萄中的细菌种类差异很大。自然腐烂条件下的葡萄中分离得到细菌 8 株，真菌 2 株；斑翅果蝇侵害后分离得到细菌 9 株，真菌 5 株；黑腹果蝇侵害后分离得到细菌 13 株，真菌 7 株（图 3），可见由黑腹果蝇侵害后的葡萄中细菌和真菌的种类最多。随着时间的变化，斑翅果蝇侵害第 8 天后微生物种类最多。自然条件下和黑腹果蝇侵害后的葡萄均在第 4 天时种类最多，过于腐烂的葡萄中微生物的种类反而有所减少，说明与斑翅果蝇相比，黑腹果蝇加速了葡萄的腐烂和微生物的滋生。

在微生物种类分布方面，自然条件下的葡萄中，厚壁菌门的芽孢杆菌为优势种群，而果蝇侵害后葡萄中的细菌优势种群变为变形菌门细菌，

表 1 不同处理葡萄中细菌的种类

Table 1 Bacteria in red grape vitis willsonae treated by three ways

门 Phylum	腐烂处理方式及时间（d）Methods and time (d)	自然腐烂 Natural decay					斑翅果蝇 *D. suzukii*					黑腹果蝇 *D. melanogaster*				
		2	4	6	8	10	2	4	6	8	10	2	4	6	8	10
变形菌门 Proteobacteria	产酸克雷伯菌 *Klebsiella oxytoca*	+					+					+				
	弗氏柠檬酸杆菌 *Citrobacter freundii*						+	+	+	+		+	+			
	奈氏西地西菌 *Cedecea neter*							+					+			
	雷氏普罗威登斯菌 *Providencia rettgeri*											+				
	产碱普罗威登斯菌 *Providencia alcalifaciens*								+							
	土生拉乌尔菌 *Raoultella terrigena*												+			+
	热带醋酸菌 *Acetobacter tropicalis*												+			
	醋酸菌 *Acetobacter indonesiensis*												+			
	醋酸菌 *Acetobacter sicerae*												+			
	非脱羧莱克勒菌 *Leclercia adecarboxylata*						+									
	肠杆菌属 *Enterobacter* sp.		+													
	肠杆菌属 *Enterobacter* sp.									+						
	阴沟肠杆菌 *Enterobacter cloacae*		+													
	泡囊短波单胞菌 *Brevundimonas vesicularis*													+		
	类黄色假单胞 *Pseudomonas parafulva*			+												
	鲁氏不动杆菌 *Acinetobacter lwoffii*													+		
厚壁菌门 Firmicutes	枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis*				+											
	炭疽芽孢杆菌 *Bacillus anthracis*					+										
	甲基营养型芽孢杆菌 *Bacillus methylotrophicus*		+													
	巨大芽孢杆菌 *Bacillus megaterium*			+	+											
	类芽孢杆菌 *Paenibacillus taichungensis*										+				+	
	缍形赖氨酸芽孢杆菌 *Lysinibacillus fusiformis*									+						
	沃氏葡萄球菌 *Staphylococcus warneri*											+				
	戊糖乳杆菌 *Lactobacillus pentosus*															+
放线菌门 Actinobacteria	棒状杆菌属 *Corynebacterium* sp.								+							

每种微生物后的符号+代表在相应的部分能够分离到此种微生物，符号-则代表没有分离到。表 2 同。

Symbol +indicates that the correspondent microorganism is separated in this position, -indicates no correspondent microorganism in this position. The same as Table 2.

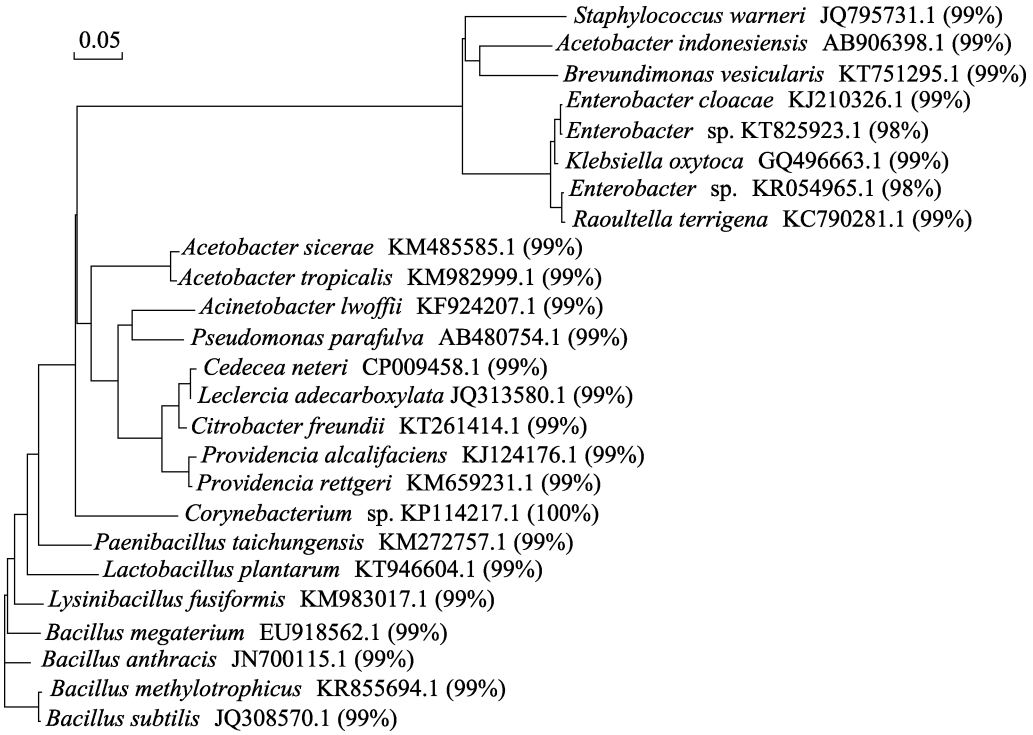

图 1　葡萄中细菌的系统发育树

Fig. 1　Phylogenetic tree of bacteria in red grape

表 2　不同处理葡萄中真菌的种类

Table 2　Fungus in red grape vitis willsonae treated by three ways

门 Phylum	腐烂处理方式及时间（d）Methods and time (d)	自然腐烂 Natural decay					斑翅果蝇 *D. suzukii*					黑腹果蝇 *D. melanogaster*				
		2	4	6	8	10	2	4	6	8	10	2	4	6	8	10
半知菌亚门 Deuteromycotina	白地霉 *Geotrichum candidum*						+	+	+	+		+	+	+		
	白地霉 *Galactomyces candidum*														+	
子囊菌亚门 Ascomycotina	普通青霉菌 *Penicillium commune*									+	+			+		
	扩展青霉 *Penicillium expansum*									+	+			+		
	展青霉 *Penicillium paneum*	+	+	+	+	+				+	+			+	+	+
	夏孢生枝孢 *Cladosporium uredinicola*			+							+				+	
	Penicillium crustosum 皮壳青霉														+	

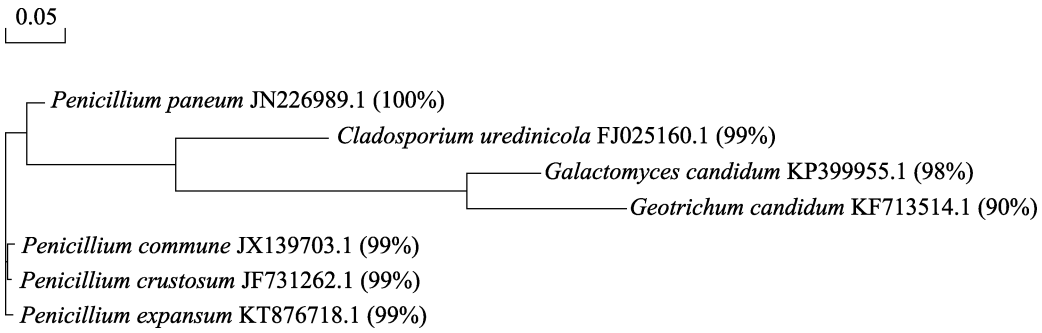

图 2　葡萄中真菌的系统发育树

Fig. 2　Phylogenetic tree of fungus in red grape

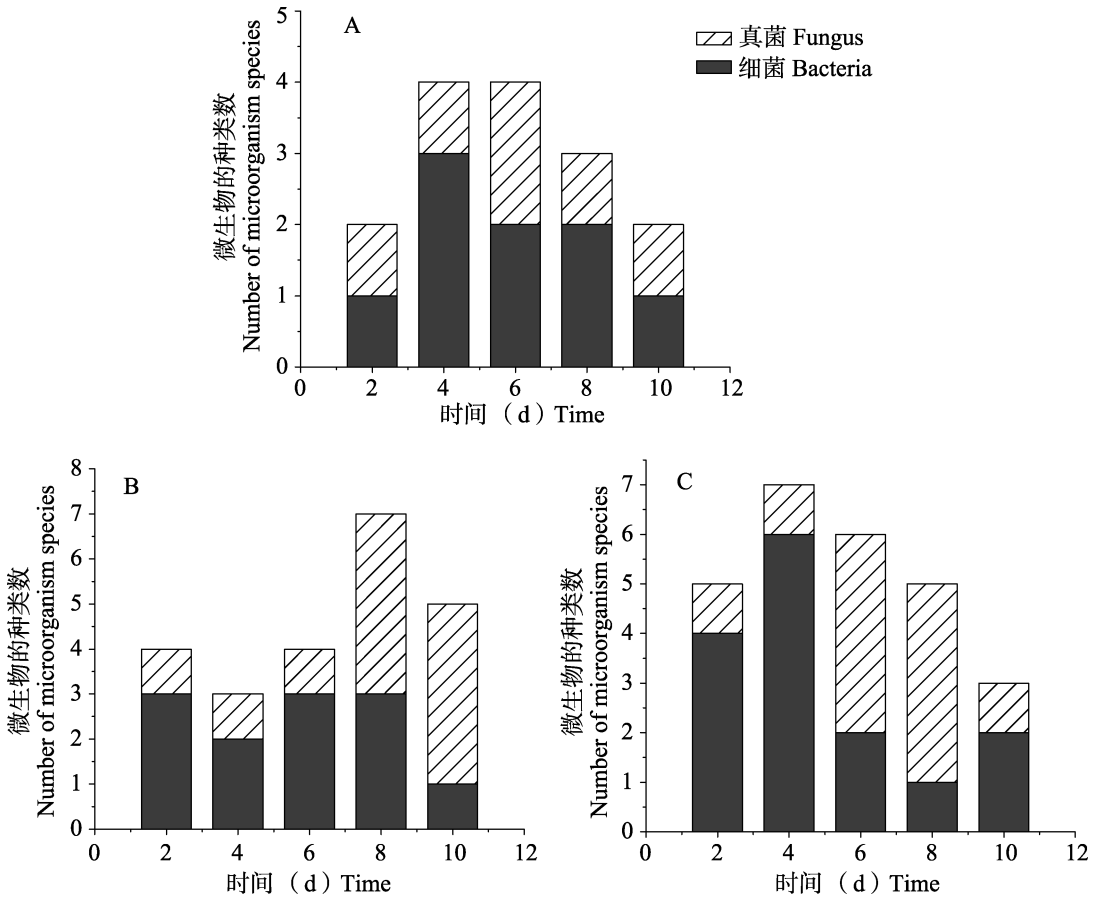

图 3　3 种处理方式下的葡萄中微生物种类的数量

Fig. 3　Number of microorganism species in red grape treated by three ways

A: 自然腐烂；B：斑翅果蝇侵害；C：黑腹果蝇侵害。

A: Natural decay; B: Treated by *Drosophila suzukii*; C: Treated by *Drosophila melanogaster.*

其中 3 种醋酸菌 *Acetobacter* spp.以及土著拉乌尔菌是黑腹果蝇侵害后所特有的细菌（表 1）。白地霉 *Geotrichum candidum* 在果蝇侵害前期成为葡萄中最主要的真菌种类，随着腐烂程度的增加，青霉属真菌 *Penicillium* sp. 成为主要的类别，两种果蝇侵害后的真菌菌群之间没有明显的差别（表 2）。

3　讨论

葡萄是斑翅果蝇和黑腹果蝇重要的寄主之一，本研究利用自然腐烂和两种果蝇侵害的方法处理葡萄，对不同腐烂程度的葡萄进行微生物的分离和鉴定，得到 25 种细菌和 7 种真菌。果蝇侵害后葡萄微生物种类增加，在动态变化方面，黑腹果蝇侵害前期微生物种类最多，而斑翅果蝇侵害后期微生物种类达到最多，但总体仍然低于黑腹果蝇，由此可见，黑腹果蝇加速了葡萄的腐烂和微生物的滋生，同时也证实了黑腹果蝇对腐烂环境的耐受力明显强于斑翅果蝇，这可能是黑腹果蝇更喜欢在腐烂的果实中产卵繁殖的原因之一。

在自然界中，芽孢杆菌属的细菌分布比较广泛，近些年来在昆虫的肠道中常被发现。例如半翅目昆虫日本龟蜡蚧（贝绍国等，2005；刘玉升等，2006；徐龙龙等，2014）体内已分离出大量的地衣芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌和巨大芽孢杆菌等厚壁菌门细菌，并且与昆虫的生长发育有密切的关系。本研究中发现，自然条件下的葡萄芽孢杆菌种类较多，而果蝇侵害后的葡萄中芽孢杆菌的种类则明显减少，可能是由于果蝇取食了葡萄中大量的芽孢杆菌，使寄主中的芽孢杆菌减少，这需要通过分离鉴定果蝇肠道的微生物来进行

验证。

本研究中，白地霉 *Geotrichum candidum* 在果蝇侵害前期成为葡萄中最主要的真菌种类，而自然腐烂的葡萄中并未发现。由此可见，白地霉在微生物、果实与果蝇三者之间的关系中具有重要的作用。*Geotrichum candidum* 是 *Galactomyces geotrichum* 的无性型真菌地霉属，是土壤以及柑橘类水果中常见的真菌（McKay *et al.*，2012），能够引起果实的腐烂（Butler *et al.*，1988），同时可以参与腐烂果实中产生的短碳链醇尤其是正己醇的代谢（令桢民等，2009），白地霉具有的特殊代谢作用是否与果蝇的生长发育有关，并且如何参与三者之间的关系需要进一步的研究和论证。

另外，与自然腐烂和斑翅果蝇侵害相比，黑腹果蝇的侵害使 3 种醋酸菌成为葡萄中特有的菌种。醋酸菌并不是致病菌，对人及动物均无致病性，可造成果实的细菌性腐败（东秀珠和蔡妙英，2001），醋酸菌的发酵机理是在乙醇脱氢酶（ADH）和乙醛脱氢酶（ALDH）将乙醇分解为乙酸，由于醋酸菌内也含有乙酰辅酶 A 合成酶（ACS）因此乙酸最终被氧化为二氧化碳和水（王博彦和金其荣，2000）。而 Fry 等（2014）证明黑腹果蝇分解短碳链醇的机理与醋酸菌相似，在 ADH、ALDH 以及 ACS 的作用下使醇类物质生成乙酰辅酶 A，随后则可进入脂肪酸代谢和 TCA 循环。因此，黑腹果蝇和醋酸菌均可能通过这种方式调节葡萄中醇、醛酸的含量，从而形成协同共存的局面。另外，工业中常用的醋酸菌（*Acetobacter aceti* 和 *Acetobacter pasteurianus*）可以耐受的醋酸含量为 6%（Trcek *et al.*，2007; Andres-Barrao *et al.*，2011），其耐酸性对于醋酸和分解和发酵有重要的意义（郑妍和隋勇，2014）。在本研究中，醋酸菌在自然腐烂以及斑翅果蝇侵害的葡萄中并没有发现，可以推测其乙酸含量并未达到醋酸菌生长所需要的浓度。但斑翅果蝇对于腐烂葡萄中乙酸采取什么样的代谢方式还未可知，这是否成为两种果蝇生态位分离的原因则需要通过检测两种果蝇体内代谢酶的活性进行验证。

同时也有研究证明，醇类物质和醋的发酵挥发物对斑翅果蝇的生长也发挥着重要作用（Lee *et al.*，2011），研究人员利用果蝇这一特性，将酒精和醋酸作为重要的成分诱集斑翅果蝇（伍苏然等，2007；Cini *et al.*，2012；Cha *et al.*，2013），与化学防治相比，更加安全的物理防治方法依然是科研工作者的首选，而高效、专一的新型诱剂是综合防治中不可缺少的部分，本研究中发现的果蝇共生菌株在新型诱剂的开发具有一定的应用价值。因此本研究发现的白地霉以及醋酸菌与葡萄和果蝇三者之间关系的研究则可为斑翅果蝇的物理防治提供指导作用。

参考文献 (References)

Andres-Barrao C, Falquet L, Calderon-Copete SP, Descombes P, Ortega Pérez R, Barja F, 2011. Genome sequences of the high-acetic acid-resistant bacteria *Gluconacetobacter europaeus* LMG 18890T and *Gluconacetobacter europaeus* LMG 18494 (reference strains), *G. europaeus* 5P3, and *Gluconacetobacter oboediens* 174Bp2 (isolated from vinegar). *Journal of Bacteriology,* 193(10): 2670–2671.

Bei SG, Liu YS, Cui JX, 2005. Isolation and identification of bacteria from gastrointestinal tract of ceroplastes japonicas green. *Journal of Shandong Agricultural University* (*Natural Science*), 36(2): 209–212. [贝绍国, 刘玉升, 崔俊霞, 2005. 日本龟蜡蚧肠道细菌分离及鉴定研究. 山东农业大学学报(自然科学版), 36(2): 209–212.]

Butler EE, Fogle D, Miranda M, 1988. *Galactomyces citri-aurantii* a newly found teleomorph of *Geotrichum citri-aurantii* the cause of sour rot of citrus fruit. *Mycotaxon*, 33(2): 197–212.

Cha DH, Hesler SP, Cowles RS, Vogt H, Loeb GM, Landolt PJ, 2013. Comparison of a synthetic chemical lure and standard fermented baits for trapping *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). *Environmental Entomology*, 42(5): 1052–1060.

Cini A, Ioriatti C, Anfora G, 2012. A review of the invasion of *Drosophila suzukii* in Europe and a draft research agenda for integrated pest management. *Bulletin of Insectology,* 65(1): 149–160.

David JR, Vanherrewege J, 1983. Adaptation to alcoholic fermentation in Drosophila species: Relationship between alcohol tolerance and larval habitat. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 74(2): 283–288.

Dong XZ, Cai MY, 2001. Common Bacteria Identification Manual.

Beijing: Science Press. 364–370. [东秀珠, 蔡妙英, 2001. 常见细菌鉴定手册. 北京: 科学出版社. 364–370.]

Fry JD, 2014. Mechanisms of naturally evolved ethanol resistance in Drosophila melanogaster. *Journal of Experimental Biology*, doi:10.1242/jeb.110510.

Gao HH, Ge WB, Qin DY, Yu Y, 2016. Effects of *Bacillus subtilis* on growth and development and metabolic activity of *Bradysia odoriphaga*. *Shandong Agricultural Sciences*, 48(2): 89–93. [高欢欢, 葛温伯, 覃冬云, 于毅, 2016. 枯草芽孢杆菌对韭菜迟眼蕈蚊生长发育及代谢活动的影响. 山东农业科学, 48(2): 89–93.]

Gao HH, Zhai YF, Wang HY, Yun L, Qin DY, Yu Y, 2015. Microbial diversity of *Bradysia odoriphaga* and the rhizosphere microbes of chives. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 52(4): 1006–1013. [高欢欢, 翟一凡, 王海艳, 云雷, 覃冬云, 于毅, 2015. 韭菜迟眼蕈蚊体内及韭菜根际微生物的多样性分析. 应用昆虫学报, 52(4): 1006–1013.]

Lee JC, Bruch DJ, Curry H, 2011. The susceptibility of small fruits and cherries to the spotted-wing drosophila, *Drosophila suzukii*. *Pest Management Science*, 67(11): 1358–1367.

Lin QC, Wang SY, Zhou CG, Yu Y, 2013. Research progress in *Drosophila suzukii*. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 25(6): 45–47. [林清彩, 王圣印, 周成刚, 于毅, 2013. 铃木氏果蝇研究进展. 江西农业学报, 25(6): 45–47.]

Ling ZM, Shi JL, Yang BW, 2009. Screeing and identification of hexanol-degrading fungi. *Mycosystema*, 2(6): 769–775. [令桢民, 师俊玲, 杨保伟, 2009. 正己醇降解菌的分离、筛选及分类鉴定. 菌物学报, 2(6): 769–775.]

Liu YS, Chen YX, Lv, F, He H, 2006. Study on the primary identification of intestinal bacteria in *Lycorma delicatula* (White). *Journal of Shandong Agricultural University* (*Natural Science*), 37(4): 495–498. [刘玉升, 陈艳霞, 吕飞, 何华, 2006. 斑衣蜡蝉成虫肠道细菌的鉴定研究. 山东农业大学学报(自然科学版), 37(4): 495–498.]

McKay AH, Förster H, Adaskaveg JE, 2012. Distinguishing *Galactomyces citri-aurantii* from *G. geotrichum* and characterizing population structure of the two postharvest sour rot pathogens of fruit crops in California. *Phytopathology*, 102(5): 528–538.

Milan NF, Kacsoh BZ, Schlenke TA, 2012. Alcohol consumption as self-medication against blood-borne parasites in the fruit fly. *Current Biology*, 22(6): 488–493.

Mitsui H, Takahashi HK, Kimura MT, 2006. Spatial distributions and clutch sizes of Drosophila species ovipositing on cherry fruits of different stages. *Population Ecology*, 48(3): 233–237.

Parshad R, Paika IJ, 1965. Drosophilid survey of India ii. Taxonomy and cytology of the subgenus *Sophophom* (Drosophila). *Research Bullin Panjab University Research Journal*, 15: 225.

Trcek J, Jernejc K, Matsushita K, 2007. The highly tolerant acetic acid bacterium *Gluconacetobacter europaeus* adapts to the presence of acetic acid by changes in lipid composition, morphological properties and PQQ-dependent ADH expression. *Extremophiles*, 11(4): 627–635.

Wang BY, Jin QR, 2000. Fermented organic acids production and application manual. Beijing: China Light Industry Press. 101–200. [王博彦, 金其荣, 2000. 发酵有机酸生产与应用手册. 北京: 中国轻工业出版社. 101–200.]

Wu SR, Tai HK, Li ZY, Wang X, Yang SS, Sun W, Xiao C, 2007. Field evaluation of different trapping methods of cherry fruit fly, *Drosophila suzukii*. *Journal of Yunnan Agricultural University*, 22(5): 776–778. [伍苏然, 太红坤, 李正跃, 王旭, 杨仕生, 孙文, 肖春, 2007. 樱桃果蝇田间诱捕方法比较. 云南农业大学学报, 22(5): 776–778.]

Xu LL, Wu J, Guo J, Li JL, 2014. Dynamic variation of symbionts in bumbees during hosts growth and development. *Scientia Agricultura Sinica*, 47(10): 2030–2037. [徐龙龙, 吴杰, 郭军, 李继莲, 2014. 共生菌群在熊蜂生长发育过程中的动态变化. 中国农业科学, 47(10): 2030–2037.]

Zhao DD, Wang Y, Fu XP, Tang QY, Li LF, 2016. Isolation, identification and inhibition of microorganisms causing mildew and rot of *Zizyphus mauritiana* Lam. *Southwest China Journal of Agricultural Science*, 29(2): 379–384. [赵丹丹, 王云, 付晓萍, 唐卿雁, 李凌飞, 2016. 台湾青枣致腐微生物的分离鉴定及其抑制研究. 西南农业学报, 29(2): 379–384.

Zheng Y, Sui Y, 2014. Progress of acid resistance mechanism of acetic acid bacteria. *China Brewing*, 33(7): 24–28. [郑妍, 隋勇, 2014. 醋酸菌耐酸机制研究进展. 中国酿造, 33(7): 24–28.]