

DOI:10.13718/j.cnki.zwyx.2025.01.009

一株侵染白星花金龟幼虫的绿僵菌分离鉴定及培养条件初步研究

刘思雨^{1,2}, 陈斌²

1. 青海大学 农林科学院, 西宁 810016;

2. 云南农业大学 植物保护学院, 昆明 650201

摘要: 为弄清从昆明市云南农业大学后山马铃薯田自然罹病的白星花金龟 (*Potosia brevitarsis* Lewi) 幼虫虫体上获得的1株绿僵菌 (*Metarhizium* sp.) 的分类地位, 采用形态学特征和 ITS-rDNA 序列分析相结合的方法进行种类鉴定。通过测量该菌株在 SDAY、PDA 两种培养基上的菌落直径和产孢量, 初步明确了该菌株的培养条件。鉴定结果表明该病原真菌为罗伯茨绿僵菌 (*Metarhizium robertsii*), 编号为 Ma20191123 菌株。此菌株在 (25±1) °C、相对湿度 80%、光照 16L:8D 的条件下利用 SDAY、PDA 两种培养基接种后均能正常生长, 菌落直径分别为 (2.56±0.15)、(2.36±0.17) cm, 单位面积产孢量分别为 (1.66±0.25)×10⁷、(1.24±0.47)×10⁷ 孢子/cm²。该研究为蛴螬生物防治提供了候选菌种资源。

关键词: 白星花金龟; 罗伯茨绿僵菌;

分离鉴定; 培养条件

中图分类号: S435.32

文献标志码: A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



文章编号: 2097-1354(2025)01-0064-11

Isolation and Identification of a Strain of *Metarhizium* sp. from *Potosia brevitarsis* Lewi Larvae and Preliminary Study of Its Culture Condition

LIU Siyu^{1,2}, CHEN Bin²

1. Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Qinghai University, Xining 810016, China;

2. College of Plant Protection, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China

Abstract: To determine the taxonomic status for a strain of *Metarhizium* sp. isolated from infec-

收稿日期: 2024-09-07

基金项目: 国家重点研发计划子课题(2022YFD1401102-4)。

作者简介: 刘思雨, 博士, 助理研究员, 主要从事农业昆虫与害虫防治研究。

ted cadaver of *Potosia brevitarsis* Lewi larvae from potato fields nearby Yunnan Agricultural University in Kunming City, Yunnan Province, the species identification was conducted by using morphological characterization and ITS-rDNA sequence analysis, and culture condition was preliminarily studied through determination of colony diameter and sporulation on different media. The results indicated the fungus was identified to be *Metarhizium robertsii*, which was named as Ma20191123. This strain could be grown on both SDAY and PDA media under culture condition of $(25 \pm 1) ^\circ\text{C}$, relative humidity of 80% and photoperiod of 16 h light and 8 h darkness. The colony diameter and spore yield per area was (2.56 ± 0.15) and (2.36 ± 0.17) cm, $(1.66 \pm 0.25) \times 10^7$ and $(1.24 \pm 0.47) \times 10^7$ spores/cm², respectively, on these two medias. The results of this study provided promising candidate strain for use in microbial control of white grubs.

Key words: *Potosia brevitarsis* Lewi; *Metarhizium robertsii*; isolation and identification; culture condition

白星花金龟(*Potosia brevitarsis* Lewi)隶属于鞘翅目(Coleoptera),金龟总科(Scarabaeoidea),花金龟科(Cetoniidae),星花金龟属(*Protaetia*)。白星花金龟一年发生 1 代,幼虫具有趋腐性,适应力强,在畜牧业发展较好的省份发生较为严重^[1-2]。成虫可以取食为害粮食、蔬菜、水果等多达几百种寄主,尤其喜食葡萄、苹果、柑橘、玉米等作物的果实且常群集为害,能对取食部位造成酸腐现象,产生次生病害,而且成虫飞翔能力强,是农业、林业生产中的重要害虫^[3-4]。目前白星花金龟的防治方法主要有 3 种:一是农业防治,即深耕漫灌^[5]。二是基于成虫具有假死性,采用人工震落并捕捉的机械防治方式^[6];利用成虫的趋糖性和趋腐性,利用糖醋液或腐烂的水果进行诱捕^[7]。三是化学防治,有机磷杀虫剂、除虫菊酯类杀虫剂或植物源杀虫剂均可防治此虫^[8-9]。然而白星花金龟成虫常为害成熟果实,为保证产品的安全性,不宜采用化学农药进行防治,若长期、不合理使用化学农药,容易使害虫产生抗药性,并且残留药物还会极大威胁环境及人畜健康^[10],使得害虫发生与治理形成恶性循环。

昆虫病原真菌(Entomopathogenic Fungi, EPF)凭借资源丰富、杀虫广谱、致病性强、可在种群中自然流行、对环境友好、对人畜安全等特点^[11],而且一些菌株结合土壤宿存能力,可以长期控制虫害发生^[12],备受微生物领域学者以及植保科研工作者的青睐。目前国内外已有一些以 EPF 为主要成分而用于白星花金龟绿色防控的成功案例,其中以白僵菌(*Beauveria* sp.)^[13-14]、绿僵菌(*Metarhizium* sp.)^[15-16]较为普遍。然而,EPF 作为控制自然界昆虫种群数量的主要因子,目前已经发现有 750~1 000 种,分属于真菌界的 12 个纲^[17]。从现有研究来看,用于防治此类害虫的生防微生物资源仍然缺乏,因此,筛选新的 EPF 菌株能够丰富白星花金龟的防治资源,拓宽防治手段。本研究从一只罹病白星花金龟幼虫虫体上获得一株 EPF,通过形态学鉴定和 ITS-rDNA 序列分析确定菌株的种类,然后初步研究不同培养基组分对该菌株生长的影响,为白星花金龟绿色防控提供备选菌株。

1 材料与方 法

1.1 供试菌株

2019 年 10 月,在昆明市盘龙区云南农业大学后山马铃薯试验田进行地下害虫调查时,发现白星花金龟幼虫为害取食马铃薯地下部分。将采集的幼虫带回实验室进行人工饲养。饲养过程中发现 1 头幼虫尸体,体表布有白色菌丝,将其保湿培养后虫体表面布满墨绿色孢子,于

4 ℃条件下保存,并编号为 Ma20191123。

1.2 供试培养基

马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)培养基:将新鲜马铃薯去皮切块,然后称取 200 g 进行煮汁过滤,葡萄糖 20 g,琼脂 20 g,蒸馏水 1 000 mL;萨氏葡萄糖琼脂酵母浸膏(SDAY)培养基:葡萄糖 40 g,蛋白胨 10 g,酵母浸粉 10 g,琼脂 20 g,蒸馏水 1 000 mL^[18]。

1.3 试验方法

1.3.1 菌株分离与纯化

利用无菌针头轻轻挑取虫体表面的菌丝,采用点接的方式接种于 SDAY 培养基上,倒置于(25±1) ℃、光照条件 16L:8D 的恒温培养箱中培养。3~4 d 后待重新长出菌丝后,利用接种环,采用平板划线的方式将无污染菌丝接种于新的培养基上,倒置于相同的培养条件下恒温培养,直至平板上长出的菌落为同一形态。

1.3.2 培养性状及形态鉴定

挑取纯化后的 Ma20191123 菌株成熟分生孢子,接种于 SDAY 培养基中央,倒置于(25±1) ℃、光照 16L:8D 的条件下培养,每个菌株设置 5 个重复,其中 3 个用于培养特征观察,2 个用于形态学鉴定。每天观察菌落的形态特征及颜色。待菌落长至 3~4 d 后,挑取少量菌丝于载玻片上,滴加 0.05% Tween-80 水溶液 20 μL,慢慢盖上盖玻片,置于垫有湿润滤纸的培养皿中,然后置于相同条件下培养。定期观察菌丝生长情况。培养 8 d 后待菌落产生分生孢子时,挑取菌落中央的分生孢子制作玻片,并在光学显微镜下观察其形态并测量大小。

1.3.3 菌株分子鉴定

用 1 mL 无菌枪头刮取少量培养基表面的新鲜分生孢子置于无菌研钵中,用液氮快速研磨成粉末状,加入到 1.5 mL 的离心管中。DNA 提取的后续步骤参考真菌基因组 DNA 提取试剂盒(北京索莱宝科技有限公司),提取的 DNA 用分光光度计测量其浓度,OD₂₆₀/OD₂₈₀ = 1.82,之后保存在-20 ℃。

真菌通用引物 ITS1(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')和 ITS4(5'-TCCTCCGCTTAT-TGATATGC-3')由昆明硕擎生物科技有限公司合成。以提取的菌株 DNA 为模板进行 ITS-PCR 扩增反应,反应体系(25 μL):12.5 μL 2×PCRmix(北京康为世纪生物科技有限公司),1 μL ITS1,1 μL ITS4,1 μL 模板 DNA,9.5 μL ddH₂O。扩增程序:94 ℃预变性 4 min,94 ℃变性 1 min,57 ℃退火 1 min,72 ℃延伸 1.5 min,共 35 个循环;72 ℃延伸 8 min;4 ℃保存。PCR 产物采用 1.2% 的琼脂糖凝胶电泳进行检测,记录凝胶成像结果,并对 ITS-PCR 扩增产物进行测序,由昆明硕擎生物科技有限公司测序。

将菌株的 ITS 序列结果去除两端质量不好的序列,最终提交至 NCBI(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)网站,通过 BLAST 比对后,筛选并下载相似性最高的典型菌株序列。运用 MEGA 11 软件,通过邻接法(Neighbor-Joining, NJ)构建系统发育树^[19]。重复取样 1 000 次进行自展值(bootstrap)分析来评估系统进化树的拓扑结构的稳定性。

1.3.4 菌株生长速率及产孢量测定

采用点接的方法,将纯化后的菌株分别接种至 PDA 和 SDAY 培养基中央,每个处理重复 6 次。然后倒置放入(25±1) ℃、光照 16L:8D 的条件下恒温培养。从第 2 天开始利用交叉法测量菌落横、纵直径,直至 14 d。单个菌落的产孢量,利用直径为 6 mm 的打孔器从菌落的中心点至边缘距离的 1/2 处打孔截取小菌块,然后置于含有 10 mL、0.05% Tween-80 无菌

水的三角瓶中,磁力搅拌 10 min,打散孢子团,获孢子悬浮液。然后利用血球计数板计算孢子浓度,若孢子浓度过高,以 10 倍稀释至可数清为止。

1.4 数据处理

试验数据利用 Microsoft office 2019 软件进行整理后,再用 SPSS 20.0 软件进行数理统计分析,采用 Duncan's 新复极差法进行多重比较分析。

菌落直径(cm)=(菌落横径+菌落纵径)/2;

菌落直径日增长量(cm/d)=平均菌落直径/培养天数;

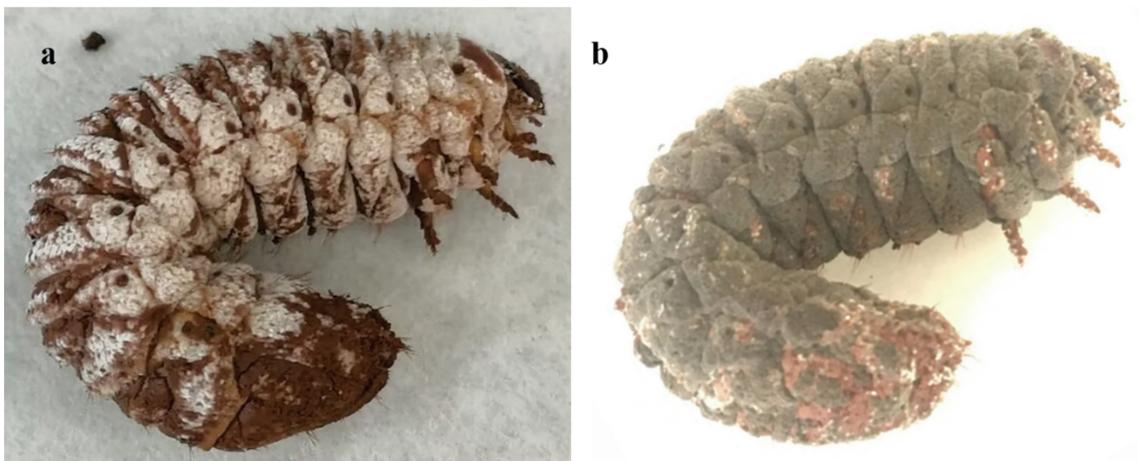
单位面积菌落含孢量(孢子/cm²)=平均每小格孢子数×400×10⁴×稀释倍数/菌饼面积。

2 结果与分析

2.1 菌株种类鉴定

2.1.1 白星花金龟幼虫被 Ma20191123 菌株侵染后的感病特征

白星花金龟幼虫被 Ma20191123 菌株感染后,初期行动呆滞,身体呈萎靡状态。待幼虫死亡后整个虫体变僵硬,2~3 d 后表面长出白色絮状菌丝,随着时间的延长菌丝布满整个虫体(图 1)。4~5 d 开始出现白色分生孢子,随后 2~3 d 孢子成熟,整个虫体布满墨绿色孢子。从幼虫感病、病变、死亡及产孢整个过程平均为 6~8 d。



a: 菌株 Ma20191123 在虫体上的初期形态

b: 后期形态

图 1 白星花金龟幼虫被菌株 Ma20191123 侵染后形成的僵虫

2.1.2 菌株形态特征

菌株 Ma20191123 在 SDAY 培养基上的菌落呈绒毛状或絮状,最初白色,中心部位形成一个菌丝密集小凸起。菌落边缘规则平整圆滑。产孢从中心位置开始,初期形成浅绿色分生孢子堆,随着培养时间的延长,菌落逐渐扩大,绿色面积变大且颜色加深,孢子由浅黄绿色变为墨绿色,菌落周围可见分散型的白色菌丝(图 2a、c)。培养基背面呈橙黄色(图 2b、d)。

菌丝具分枝有隔、透明、光滑,直径 1.46~2.17 μm(图 2f、g)。分生孢子梗上多为 2~3 个瓶梗,瓶梗柱形,(5.1~13.8) μm×(1.7~3.5) μm(图 2h)。分生孢子为无色单细胞,柱状,链状整齐排列,大小为(5.51~6.49) μm×(1.80~2.17) μm(图 2e)。菌落、产孢细胞和分生孢子等形态特征与蒲蛸龙和李增智(1996)描述的罗伯茨绿僵菌基本一致^[18]。

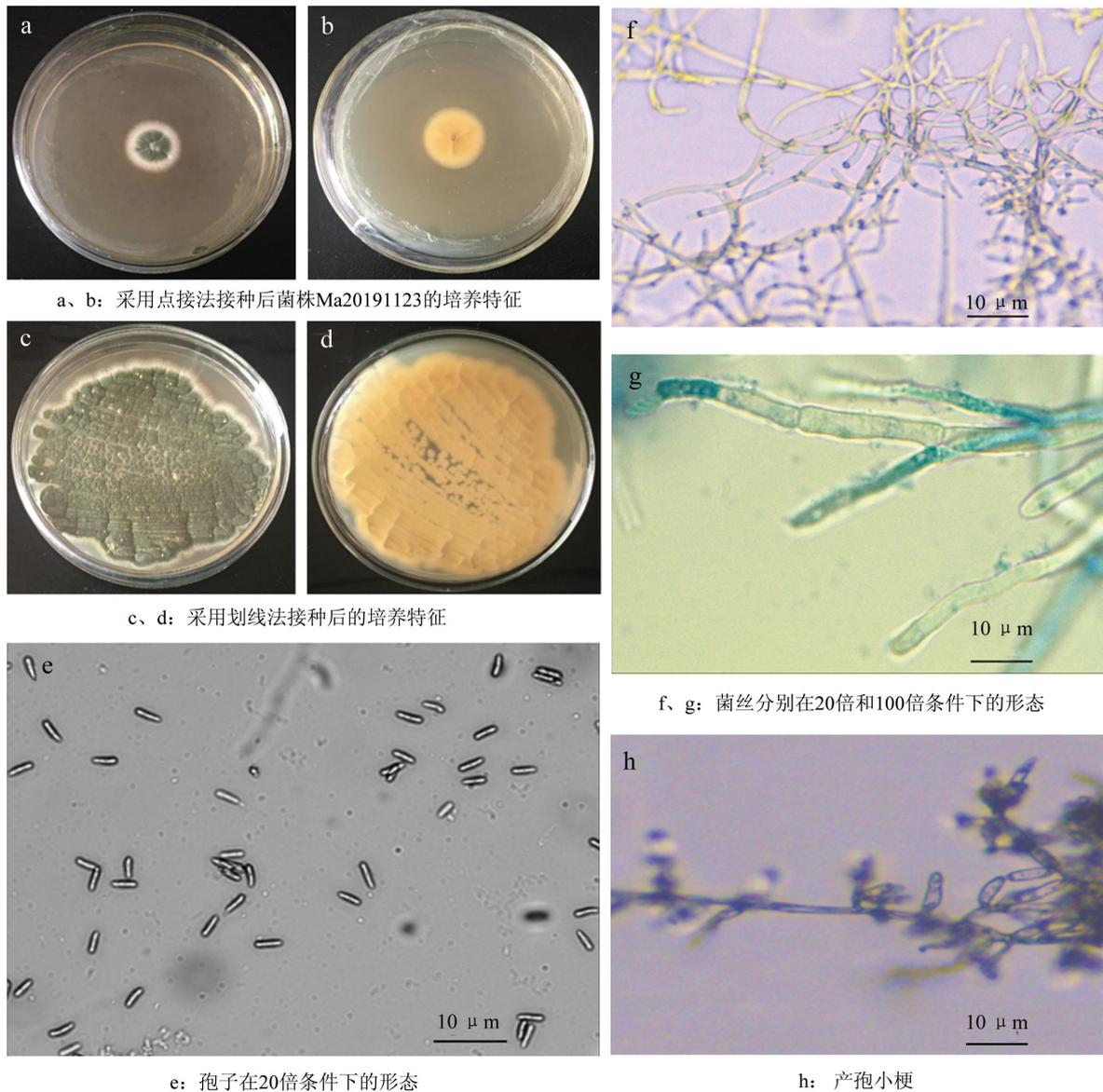
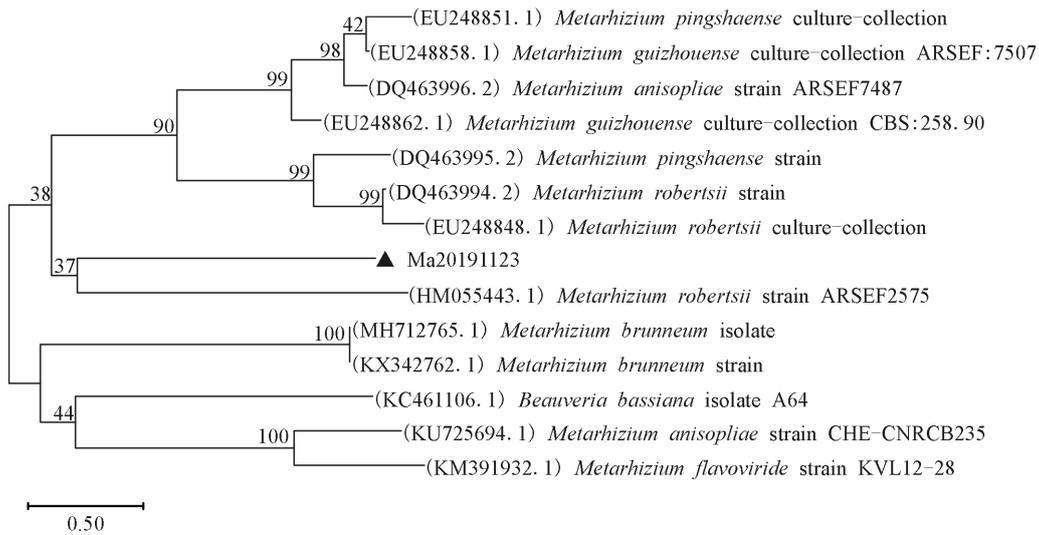


图2 菌株 Ma20191123 的菌落以及孢子、菌丝和产孢结构形态特征

2.1.3 系统发育分析

经测序后, 获得一段 498 bp 长的片段。经 BLAST 比对后, 该菌株的序列与数据库中大部分罗伯茨绿僵菌的相似性均能达到 96% 以上。为进一步明确该菌株与几种常见绿僵菌的亲缘关系, 分别选择已公布的罗伯茨绿僵菌、金龟子绿僵菌 (*M. anisopliae*)、平沙绿僵菌 (*M. pingshaense*)、贵州绿僵菌 (*M. guizhouense*)、棕色绿僵菌 (*M. brunneum*) 和黄绿绿僵菌 (*M. flavoviride*) 等的 ITS 序列构建系统发育树。结果发现, Ma20191123 菌株序列以较高的自展值与罗伯茨绿僵菌聚在进化树的同一个分枝上, 与其他种明显分开。序列比对结果与形态学鉴定结果相符。



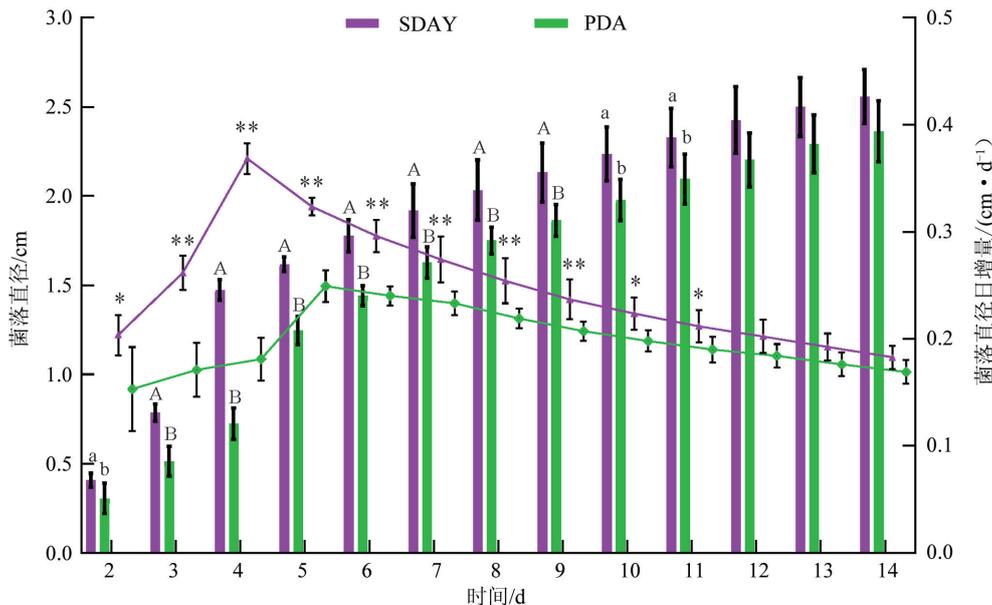
节点上标注的是大于 50% 经 1 000 次比对后所得的检验值, 以球孢白僵菌 (*Beauveria bassiana*) 为外群。

图 3 基于 Ma20191123 菌株 rDNA ITS 序列构建的系统发育树

因此, 结合形态学鉴定结果、菌株 ITS 序列与数据库中的相似性比对结果以及基于 ITS 序列的同源性分析, 最终确定 Ma20191123 菌株为罗伯茨绿僵菌。

2.2 罗伯茨绿僵菌 Ma20191123 在不同培养基上的生长情况

Ma20191123 菌株在 SDAY 和 PDA 等 2 种培养基上均可以生长(图 4)。从整个培养过程来看, 菌株在 SDAY 培养基上的长势优于 PDA 培养基: 在 SDAY 培养基上, 菌落直径从第 2 天的(0.41±0.04) cm 扩大到第 14 天的(2.56±0.15) cm; 在 PDA 培养基上, 菌落直径在相同时段内从(0.31±0.09) cm 扩大到(2.36±0.17) cm。从菌落直径日增量来看, 利用 SDAY 培养基, 2~4 d 内菌落生长迅速, 且第 4 天达到生长高峰(0.37±0.01) cm/d; 相比而言, 利用 PDA 培养基, 菌落在 2~5 d 内生长迅速, 第 5 天为生长高峰期(0.25±0.02) cm/d。随后菌落在两种培养基上的菌落直径日增量均随培养时间的延长呈下降趋势, 直到第 14 天, 菌落直径日增量分别降至(0.18±0.01) cm/d 和(0.17±0.01) cm/d。



数据为“平均数±标准误”, 小写字母表示菌株在 2 种培养基上的菌落直径差异达 5% 显著水平(Duncan’s 新复极差法), 大写字母表示差异达 1% 显著水平; * 表示菌株在 2 种培养基上的菌落直径日增量差异达 5% 显著水平, ** 表示差异达 1% 显著水平。

图 4 不同培养基对罗伯茨绿僵菌 Ma20191123 菌丝生长的影响

从产孢效果(初始产孢时间、第14天后的产孢量)来看(表1),该菌株在PDA和SDAY培养基上分别从第5天和第6天开始产孢;第14天后的产孢量分别为 $(1.24 \pm 0.47) \times 10^7$ 、 $(1.66 \pm 0.25) \times 10^7$ 孢子/cm²,两者差异不显著($F_{1,10} = 3.11$, $p = 0.11$)。

表1 罗伯茨绿僵菌 Ma20191123 在不同培养基上的初始产孢时间与产孢量

培养基	初始产孢时间/d	产孢量/($\times 10^7$ 孢子/cm ²)
SDAY	6	1.66 \pm 0.25 aA
PDA	5	1.24 \pm 0.47 aA
		$F_{1,10} = 3.11$, $p = 0.11$

数据为“平均数 \pm 标准误”,数据后标有小写字母表示差异达5%显著水平(Duncan's 新复极差法),大写字母表示差异达1%显著水平。

3 结论与讨论

EPF是一类寄生于昆虫体表和体内的真菌,而且其对环境友好,杀虫方式独特,且不易使害虫产生抗药性,在农林业害虫绿色防控中具明显优势^[20-21]。本研究从自然感染条件下的白星花金龟幼虫体表分离获得一株EPT,通过菌落颜色、形态学特征,初步确定Ma20191123菌株为罗伯茨绿僵菌。在此基础上,通过测序Blast比对和构建系统发育树,证实了该菌株为罗伯茨绿僵菌,将形态学和分子生物学结合^[22-23],使得鉴定结果更为准确可靠。

不同EPF对培养基的营养要求和其对化学物质的敏感度是不同的,同时,培养基的营养组分及其比例也影响菌种的生长和发育以及杀虫效果^[24-25]。碳作为生物合成的骨架,可以利用葡萄糖、蔗糖、马铃薯淀粉、甘油、乳糖、麦芽糖、D-果糖、D-山梨糖、D-甘露糖、i-肌醇、D-海藻糖等^[26-28];氮素主要用于合成氨基酸、蛋白质、核酸和细胞质等主要成分,可以利用无机氮如 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、 NH_4NO_3 、 KNO_3 、 NaNO_3 ,有机氮如蛋白胨、花生饼粉、酵母膏、玉米粉、黄豆粉、鱼粉、麦麸等,以及谷氨酸、色氨酸和组氨酸等其他氮源的作用^[29-30];矿物质元素的功能主要表现在作为菌株细胞构成的主要成分、酶的组成部分、维持酶的活性,调节细胞的渗透压、氢离子浓度以及氧化还原电位等,一般包括硫、磷、镁、钾、钠、钙、铁等^[18];铜、锰、锌等微量元素还可以刺激菌株的生命活动^[31]。目前PDA和SDAY培养基是用来分离真菌的常用培养基^[32-34],本研究将罗伯茨绿僵菌Ma20191123转接到上述2种培养基上,该菌株在PDA培养基上除产孢时间较早外,生长速率、产孢量均以SDAY培养基最好,此结果与张松影等(2011)分离出的黄绿绿僵菌Mf82菌株在SDAY培养基上的长势具有相似的结果(菌落增长量2.59 mm/d、产孢量 17.34×10^7 孢子/cm²)^[35];而刘思雨等(2017)从罹病暗黑鳃金龟幼虫上分离得到的黄绿绿僵菌Ma130821菌株在PDA培养基上生长最快(菌落直径日增量:0.21 cm/d),产孢时序最早(第6天开始产孢)、产孢量最大(1.49×10^6 孢子/cm²)^[36];李佳颖等(2013)研究发现分离自华南地区土壤的黄绿绿僵菌SM076菌株在淀粉作为碳源的PDA培养基上生长最快,15 d的菌落直径为60.2 mm、产孢量为 5.647×10^8 孢子/平板^[37]。造成这种差异的原因可能是EPF存在的地理来源特异性和寄主专化性,致使不同地理来源、不同寄主来源的绿僵菌菌株在菌落形态、生长速率、产孢量等生物学特性以及致病力等方面存在很大差异^[38-39],但具体原因还有待于进一步研究。

除了受营养物质影响之外,外界环境因素的变量对EPF的生长发育也有重要影响,只有在

适宜的环境条件范畴下才能促使菌落正常地生长和发育^[40-41]。目前国内外有不少学者针对温度、湿度、pH 值和光照等对绿僵菌生长的影响进行研究,确定绿僵菌生长的最适温度范围在 25~27 °C^[42-44],最适湿度范围在 >85%^[45-46],最适酸碱范围在 6~7^[29,47],最适光照条件为交替光照^[48-49]。本研究分离得到的罗伯茨绿僵菌 Ma20191123 对培养条件的要求不是很苛刻,在 (25±1) °C、光照 16 L:8 D、相对湿度 80% 的条件下即可正常生长产孢。但是该菌株培养条件研究是在室内恒定条件下进行的,不同于田间环境因子是复杂且随时变动的,往往造成 EPF 的田间防治效果不稳定;而且从 EPF 接触害虫体壁、孢子萌发、侵入昆虫体壁、体内繁殖,到引起昆虫死亡,每个过程均需要一定时间,致使在实际防虫应用中存在明显的时滞效应^[50]。化学防治的高效性与速效性^[51-52]正好弥补了 EPF 生防的缺陷,但大量且频繁使用化学农药引发了一系列负面影响^[53]。因此,为弥补双方的不足,即解决 EPF 致死缓慢问题和减少化学农药用量、降低害虫抗药性风险、保护环境,最有效的途径就是将 EPF 与化学农药联合使用。首先,在化学农药的胁迫下昆虫可能会减少其对体表的清理行为,从而增加 EPF 孢子附着在昆虫体表的概率^[54];其次,化学农药会降低昆虫的取食率,使昆虫更容易处于饥饿状态,从而降低其防御 EPF 的侵染能力^[55],同时化学农药还会降低昆虫的免疫力及对 EPF 的抵抗力^[56]。很多学者长期以来都在致力寻找能够与 EPF 配伍施用的化学农药。例如,常静等(2015)利用 3 种杀虫剂与绿僵菌混用后发现:茚虫威与绿僵菌混用增效作用最强,沙葱萤叶甲 3 龄幼虫的 LT₅₀ 较单施绿僵菌缩短了 8.12 d;阿维菌素与绿僵菌混用后 LT₅₀ 缩短了 7.60 d;鱼藤酮与绿僵菌混用后 LT₅₀ 缩短了 6.45 d^[57]。除此之外,将卵孢白僵菌 NEAU30503 与陶丝本(3000×)混用防治蛴螬^[58],球孢白僵菌 YB8 分别与辛硫磷、噻虫嗪、噻虫胺、高效氯氟氰菊酯和高效氯氰菊酯联合使用防治韭菜迟眼蕈蚊^[59],以及金龟子绿僵菌 CQMa421 与吡蚜酮联用防治白背飞虱^[60]等均能起到协同增效作用。然而并非所有化学农药与生防菌混用时均起到增效作用。例如,绿僵菌 MBJ2-2 与多菌灵、甲基硫菌灵、代森锰锌混用后,在高、中、低浓度下均完全抑制孢子萌发、菌丝生长与产孢^[61];球孢白僵菌 HFW-05 与 60% 啉醚代森联配伍施用后对小菜蛾 2 龄幼虫的校正死亡率降低了 49.9%^[62]。由此可见,EPF 不同菌株对化学农药的敏感性均存在差异,不能盲目混用,其相容性研究是保证菌株发挥高致病性、化学农药发挥速效性的前提^[63],选择相容性好的低毒化学农药与 EPF 配合使用,在提高 EPT 杀虫速度的同时,又可以有效降低因大量使用农药而带来的诸多负面影响,对害虫绿色防控具有双重意义。因此,为提高罗伯茨绿僵菌 Ma20191123 的杀虫速度,测定化学农药对其孢子萌发效果、菌丝生长以及产孢量的影响是后期研究的重点内容。

参考文献:

- [1] 嵇保中,刘曙雯,张凯.昆虫学基础与常见种类识别[M].北京:科学出版社,2011.
- [2] 吴学三,田翔,姜霖,等.紫茎泽兰不同部位提取物对白星花金龟的趋避及毒杀作用[J].山地农业生物学报,2021,40(4):87-92.
- [3] 张广杰,王倩,刘玉升.白星花金龟人为条件生物学与应用潜力[J].环境昆虫学报,2020,42(2):257-266.
- [4] 王光宇,张萌萌,陈立.白星花金龟对寄主植物挥发物的电生理反应[J].昆虫学报,2022,65(3):322-332.
- [5] 蔡欢欢.白星花金龟成虫的寄主转移规律和控制技术研究[D].石河子:石河子大学,2020.
- [6] 周智颖.葡萄园白星花金龟发生规律与诱杀技术研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2020.
- [7] 陈文静,冯丽凯,王祥兆,等.不同生境下两种引诱剂对白星花金龟的协同诱集效果评价[J].植物保护,2023,49(2):358-363,382.

- [8] 吐努合·哈密提, 潘卫平, 王惠卿, 等. 三种植物源杀虫剂对白星花金龟的毒力测定[J]. 新疆农业科学, 2011, 48(2): 348-351.
- [9] 杜晶, 张军, 洪伟. 奎屯垦区葡萄园白星花金龟发生规律与防治措施[J]. 农业科技通讯, 2018, (2): 220-221.
- [10] 郝双红, 李广泽, 张涛, 等. 白星花金龟行为学观察及其信息素的诱虫效果[J]. 中国生物防治, 2005, 21(2): 124-126.
- [11] ISLAM W, ADNAN M, SHABBIR A, et al. Insect-Fungal-Interactions: A Detailed Review on Entomopathogenic Fungi Pathogenicity to Combat Insect Pests[J]. Microbial Pathogenesis, 2021, 159: 105122.
- [12] 张亚波, 叶碧欢, 吴小双, 等. 一株虫生真菌的分离、鉴定及其对筛胸梳爪叩甲幼虫致病力测定[J]. 中国生物防治学报, 2015, 31(6): 868-875.
- [13] KWAK K W, HAN M S, NAM S H, et al. Effect of *Saccharomyces Cerevisiae* Consumption on the Pathogenicity of *Beauveria bassiana* in *Protaetia brevitarsis* [J]. International Journal of Industrial Entomology, 2016, 33(1): 1-5.
- [14] 王佳男. 基于白星花金龟幼虫活体筛选高致病力白僵菌菌株[D]. 泰安: 山东农业大学, 2019.
- [15] 蒋雯, 段晓东, 马德英, 等. 新疆白星花金龟绿僵菌分离鉴定及致病力测定[J]. 中国生物防治学报, 2014, 30(3): 342-347.
- [16] LIU S Y, LAI Y P, DU G Z, et al. Investigation on Tolerance of *Metarhizium flavoviride* Ma130821 to Environmental Stress Factors and Responses on Biological Control of Larvae of *Potosia brevitarsis* Lewis[J]. Entomological Research, 2022, 52: 459-475.
- [17] RAJULA J, RAHMAN A, KRUTMUANG P. Entomopathogenic Fungi in Southeast Asia and Africa and Their Possible Adoption in Biological Control [J]. Biological Control, 2020, 151: 104399.
- [18] 蒲蛭龙, 李增智. 昆虫真菌学[M]. 合肥: 安徽科学技术出版社, 1996.
- [19] KUMAR S. MEGA 3: Integrated Software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and Sequence Alignment [J]. Briefings in Bioinformatics, 2004, 5(2): 150-163.
- [20] CRUZ-AVALOS A M, BIVIÁN-HERNÁNDEZ M D L N, IBARRA J E, et al. High Virulence of Mexican Entomopathogenic Fungi against Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) [J]. Journal of Economic Entomology, 2019, 112(1): 99-107.
- [21] 威海迪, 张定海, 单立山, 等. 昆虫病原真菌感染昆虫宿主的机制和宿主昆虫的防御策略研究进展[J]. 生物多样性, 2023, 31(11): 222-235.
- [22] 胡飞, 徐婷婷, 彭辉, 等. 莱氏绿僵菌 Mr006 鉴定及对草地贪夜蛾致病[J]. 中国生物防治学报, 2024, 40(1): 44-51.
- [23] 任雪敏, 徐志文, 杨斌, 等. 一株侵染日本松干蚧的病原真菌的分离及鉴定[J]. 西南林业大学学报(自然科学), 2024, 44(1): 200-207.
- [24] ROSHANDEL S, ASKARY H, HASSANLOUEI R T, et al. The Effect of Natural Substrates on The Yield and Viability of Conidia and Blastospores of *Metarhizium anisopliae* [J]. Biocontrol in Plant Protection, 2016, 4(1): 94-104.
- [25] 王玉龙, 刘珍, 刘世红, 等. 虫尸表面罗伯茨绿僵菌产孢、致病力及其相关基因的表达特征[J]. 植物保护学报, 2022, 49(4): 1241-1251.
- [26] 陆晴, 曹伟平, 董建臻, 等. 不同碳、氮营养对球孢白僵菌 HFW-05 的生长及胞外蛋白酶产量的影响[J]. 华北农学报, 2008, 23(5): 142-146.
- [27] 齐永霞. 白僵菌和绿僵菌在植物根际的定殖及对几种土传植物病原真菌的抑制作用研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2011.
- [28] 王磊, 赵霞, 曹广春, 等. 不同碳源对金龟子绿僵菌 IMI330189 生长的影响[J]. 中国生物防治学报, 2014, 30(1): 58-64.

- [29] 侯颖,夏彦飞,徐建强,等. 一株绿僵菌的鉴定、生物学特性及对东亚飞蝗的致病力[J]. 中国生物防治学报, 2015, 31(3): 333-339.
- [30] 高峰,程志强,于晓斌. 木耳菌糠培养球孢白僵菌的条件筛选及优化[J]. 中国生物防治学报, 2022, 38(5): 1184-1192.
- [31] 郎加群. 蛋白粉与微量元素复合物对白僵菌菌株 KN 的产孢及药效影响[D]. 张家口: 河北北方学院, 2023.
- [32] 杜彩莲,张灿,袁芳,等. 温度、pH 和培养基对长毛拟青霉菌株 SP053 生长和繁殖的影响[J]. 南方农业学报, 2018, 49(12): 2447-2453.
- [33] 张挺峰,王睿,刘长仲. 一株侵染豌豆蚜的昆虫病原真菌的分离及鉴定[J]. 昆虫学报, 2020, 63(1): 22-28.
- [34] 闫建全,刘豪,陈逢浩,等. 一株淡紫拟青霉 GDIZM-2 的分离鉴定及其对柑橘木虱的毒力评价[J]. 环境昆虫学报, 2023, 45(6): 1718-1729.
- [35] 张松影,林华峰,李茂业,等. 几种虫生真菌菌株的培养性状及其对褐飞虱的毒力[J]. 应用昆虫学报, 2011, 48(5): 1407-1411.
- [36] 刘思雨,杜广祖,卢艳霞,等. 暗黑鳃金龟幼虫生防黄绿绿僵菌 Ma130821 菌株的室内培养条件的研究[J]. 环境昆虫学报, 2017, 39(5): 1007-1014.
- [37] 李佳颖,许齐爱,代晓彦,等. 黄绿绿僵菌 SM076 菌株生物学特性研究[J]. 广东农业科学, 2013, 40(9): 71-73.
- [38] 苏宇,农向群,张泽华. 绿僵菌菌株遗传多态性与地理来源及寄主种群分化的关联性[J]. 中国生物防治学报, 2010, 26(4): 428-435.
- [39] 蔡悦,聂勇,吴茜茜,等. 基于 SSR 标记的琅琊山球孢白僵菌寄主专化性[J]. 菌物学报, 2020, 39(7): 1328-1338.
- [40] FRONZA E, SPECHT A, HEINZEN H, et al. *Metarhizium (Nomuraea) rileyi* as Biological Control Agent [J]. Biocontrol Science and Technology, 2017, 27(11): 1-22.
- [41] 刘思雨,薛锐,肖美丽,等. 一株小阔胫绒金龟幼虫绿僵菌的分离鉴定及培养条件的优化研究[J]. 应用昆虫学报, 2019, 56(6): 1410-1421.
- [42] 林华峰,李世广,张磊,等. 绿僵菌大孢变种的生物学特征及其对蛴螬的毒力研究[J]. 应用生态学报, 2006, 17(2): 351-353.
- [43] 王宝辉,郑建伟,黄大庄,等. 绿僵菌 MS01 菌株的生物学特性及在不同温湿度下对光肩星天牛幼虫的致病力[J]. 林业科学, 2009, 45(9): 158-162.
- [44] 张建伟,王中康,申剑飞,等. 小菜蛾高致病力绿僵菌的筛选、鉴定及培养特性研究 [J]. 中国生物防治学报, 2012, 28(1): 53-61.
- [45] 杨敏芝,谭云峰,田志来. 不同温、湿度和光照对白僵菌孢子活力的影响 [J]. 吉林农业科学, 2005, (3): 60-61.
- [46] 汪敏捷,刘强. 不同温湿度下绿僵菌对红缘天牛幼虫致病力的影响[J]. 环境昆虫学报, 2014, 36(2): 151-156.
- [47] 张亚波,吴盼盼,王鹏,等. 一株绿僵菌的鉴定及其生物学特性[J]. 林业科学, 2012, 48(12): 134-140.
- [48] 涂增,翟逸,万永继. 环境因子对莱氏野村菌 cq 菌株生长发育的影响[J]. 西南农业大学学报(自然科学版), 2006, 28(1): 49-53, 57.
- [49] 李茂业,林华峰,李世广,等. 褐飞虱高毒力绿僵菌菌株的筛选[J]. 菌物学报, 2012, 31(3): 331-340.
- [50] 李敏,谢明,苏冬辉,等. 四种常用化学杀虫剂与三种虫生真菌的相容性[J]. 北方园艺, 2018, 418(19): 42-47.
- [51] 宋记明,陈青,卢芙蓉,等. 云南木薯蛴螬的药剂防治技术研究[J]. 热带作物学报, 2015, 36(3): 591-596.
- [52] 孙斌,张志刚,王素平,等. 14 种悬浮种衣剂对玉米地下害虫、蚜虫和茎基腐病的防效评价[J]. 中国农学通报, 2019, 35(24): 128-132.
- [53] 刘婷婷,刘尚可,李北兴,等. 农药在植物中的内吸和传导行为与施药技术研究进展[J]. 农药学学报, 2021,

- 23(4): 607-616.
- [54] SHAH F A, GAFFNEY M, ANSARI M A, et al. Neem Seed Cake Enhances the Efficacy of the Insect Pathogenic Fungus *Metarhizium anisopliae* for the Control of Black Vine Weevil, *Otiiorhynchus sulcatus* (Coleoptera: Curculionidae)[J]. *Biological Control*, 2008, 44(1): 111-115.
- [55] FURLONG M J, GRODEN E. Evaluation of Synergistic Interactions between the Colorado Potato Beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) Pathogen *Beauveria bassiana* and the Insecticides, Imidacloprid, and Cyromazine[J]. *Journal of Economic Entomology*, 2001, 94(2): 344-356.
- [56] SIMMONS W R, ANGELINI D R. Chronic Exposure to a Neonicotinoid Increases Expression of Antimicrobial Peptide Genes in the Bumblebee *Bombus impatiens*[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 44773.
- [57] 常静, 周晓榕, 李海平, 等. 绿僵菌与3种杀虫剂混用对沙葱萤叶甲的协同作用[J]. *农药学报*, 2015, 17(1): 54-59.
- [58] 宋龙腾, 于洪春, 王雨薇, 等. 卵孢白僵菌与农药混用对蛴螬防治效果研究[J]. *北方园艺*, 2013, (1): 131-134.
- [59] 范晓杰, 王琰, 李晓莉, 等. 球孢白僵菌与5种农药的相容性及其对韭菜迟眼蕈蚊的联合毒力[J]. *中国生物防治学报*, 2017, 33(4): 496-503.
- [60] 姚经武, 王蓓蓓, 李飞, 等. 金龟子绿僵菌与吡蚜酮减量联用防控水稻白背飞虱[J]. *中南农业科技*, 2022, 43(5): 10-13.
- [61] 张英财, 农向群, 张泽华, 等. 18种化学农药与绿僵菌相容性研究[J]. *中国生物防治学报*, 2012, 28(2): 186-191.
- [62] 曹伟平, 宋健, 赵建江, 等. 球孢白僵菌与11种新型化学杀菌剂的相容性评价[J]. *中国生物防治学报*, 2016, 32(6): 749-755.
- [63] 杨腊英, 刘磊, 谢玉萍, 等. 不同剂型草甘膦对金龟子绿僵菌 MA4 菌株生长发育的影响[J]. *热带作物学报*, 2012, 33(4): 681-684.

责任编辑 杨光明