

## 一株感染杨尺蠖蛹的病原真菌的分离及鉴定

王妮<sup>1</sup> 姚红青<sup>1</sup> 谢映平<sup>1\*</sup> 刘卫敏<sup>2</sup> 张永杰<sup>1</sup>

(1. 山西大学生命科学学院 山西 太原 030006)

(2. 山西大学应用生物研究所 山西 太原 030006)

**摘要:**【目的】从山西省洪洞县的杨树丰产林中采集到几头自然染菌的杨尺蠖 *Apocheima cinerarius* 越冬蛹虫尸, 经分离纯化得到一株病原真菌, 定名为 YHT01, 确定该菌株的分类地位。【方法】用该菌株孢子悬浮液( $1.0 \times 10^8$  conidia/mL)感染杨尺蠖蛹进行回接杀虫实验, 扫描电镜观察菌株形态学特征, ITS 序列测定并构建系统发育树对 YHT01 菌株进行分子鉴定。【结果】经 YHT01 菌株感染之后, 杨尺蠖蛹节间处长出白色菌丝。该菌株在 PDA 培养基上的菌落呈椭圆形, 白色, 绒毛状, 菌落背面呈橙黄色; 扫描电镜观察结果显示, 该菌株孢梗束呈扫帚状, 分生孢子小, 卵形至椭圆形, 壁光滑, 大小为  $(2.1-3.4) \mu\text{m} \times (1.1-1.8) \mu\text{m}$ 。该菌株的 rDNA-ITS 序列与 GenBank 中粉棒束孢 *Isaria farinosa* (Holm: Fr.) Fr. (AB233337) 的序列相似性达 99%, 在系统发育树的同一分支上。【结论】YHT01 是杨尺蠖蛹的一株病原真菌, 粉棒束孢 *Isaria farinosa*。

**关键词:** 杨尺蠖蛹, 病原真菌, 拟青霉, 粉棒束孢, 菌种鉴定

## Isolation and identification of an entomopathogenic fungus isolated from the pupae of *Apocheima cinerarius*

WANG Ni<sup>1</sup> YAO Hong-Qing<sup>1</sup> XIE Ying-Ping<sup>1\*</sup> LIU Wei-Min<sup>2</sup> ZHANG Yong-Jie<sup>1</sup>

(1. College of Life Sciences, Shanxi University, Taiyuan, Shanxi 030006, China)

(2. Research Institute of Applied Biology, Shanxi University, Taiyuan, Shanxi 030006, China)

**Abstract:** [Objective] Some naturally diseased *Apocheima cinerarius* pupae were collected in poplar forests in Hongtong, Shanxi province, China. The strain of YHT01 was isolated and purified from these naturally diseased pupae, and its classification status was determined. [Methods] *A. cinerarius* inoculation was conducted with conidial suspension ( $1.0 \times 10^8$  conidia/mL) of strain YHT01. The morphological characteristic was observed using scanning electron microscopy and the molecular identification was conducted by ITS sequence determination and phylogenetic analysis. [Results] White mycelia emerged between body segments after inoculated by strain YHT01. The colonies of the strain in PDA culture medium showed oval shape, white and fluffy, while the back of the colonies showed orange yellow. The coremium of the strain were like brooms, and the conidium

**Foundation item:** National Natural Science Foundation of China (No. 30671693)

\*Corresponding author: Tel: 86-351-7018092; E-mail: xieyingping@eyou.com

Received: November 29, 2015; Accepted: February 04, 2016; Published online (www.cnki.net): March 07, 2016  
基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 30671693)

\*通讯作者: Tel: 86-351-7018092; E-mail: xieyingping@eyou.com

收稿日期: 2015-11-29; 接受日期: 2016-02-04; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2016-03-07

was small (2.1–3.4)  $\mu\text{m} \times (1.1–1.8) \mu\text{m}$ , oval to ellipsoid, smooth observed by scanning electron microscope. The comparability between the rDNA-ITS sequence of strain YHT01 and *Isaria farinosa* (Holm: Fr.) Fr. (AB233337) in GenBank is 99%, and these two strains are gathered in one branch in the phylogenetic tree. **[Conclusion]** Strain YHT01 is a pathogenic fungus of *A. cinerarius*, and identified as *I. farinosa*.

**Keywords:** *Apocheima cinerarius* pupae, Entomopathogenic fungi, *Paecilomyces*, *Isaria farinosa*, Strain identification

杨尺蠖 *Apocheima cinerarius* (Erschoff) 又名春尺蠖, 在分类上属鳞翅目 (Lepidoptera) 尺蛾科 (Geometridae), 主要分布在中亚地区和我国的新疆、宁夏、甘肃、内蒙、山西、陕西、河北、河南、山东等广大地区, 是危害我国三北地区防护林的一种暴食性食叶害虫, 主要危害杨、榆、沙枣、沙柳、胡杨等<sup>[1]</sup>。该虫一年发生一代, 以蛹在林冠下表土层中越冬, 早春成虫羽化, 交尾产卵, 春季树木发芽长叶, 幼虫开始上树取食, 直到 5 月下旬和 6 月上旬, 幼虫老熟下树入土化蛹, 越夏和越冬。蛹期在表土层内长达 9 个月。杨尺蠖幼虫取食期间的食量很大, 虫口密度大时短时间就可将大面积林木的叶片吃光, 造成树木长势衰弱和枯死。近年来, 该虫在山西临汾地区连续暴发, 使大面积的杨树丰产林在 4、5 月份叶片被全部吃光, 危害十分严重。

以往对杨尺蠖的防治主要是在幼虫期采用树冠喷洒化学杀虫剂的方法, 由于杨树等林木的树冠高大, 喷药困难且污染严重。在生物防治方面曾有人利用飞机低容量喷雾苏云金杆菌 (*Bacillus thuringiensis*, Bt) 制剂和杨尺蠖核型多角体病毒 (AciNPV) 制剂进行杨尺蠖防治<sup>[2-3]</sup>。但是, Bt 的伴孢晶体易被紫外线杀死, 加上北方地区春季空气干燥, 飞机喷洒的雾化液滴极易在短时间内挥发而使 Bt 失去附着与致病力。核型多角体病毒 AciNPV 制剂生产中的技术瓶颈是昆虫病毒的繁殖依赖活体幼虫, 而杨尺蠖一年繁殖一代的特性极大限制了 AciNPV 的工厂化生产和林间大面积应用<sup>[4]</sup>。

我们结合杨尺蠖幼虫老熟后下树入土化蛹, 蛹在土壤要经历漫长的越夏和越冬的生物学习性,

选择采自桃小食心虫 *Carposina niponensis* (Walsingham)、红松林帕克阿扁叶蜂 *Acantholyda parki* (Shinohara & Byun) 和松毛虫 *Dendrolimus kikuchii* (Matsumura) 幼虫的昆虫病原真菌球孢白僵菌 (*Beauveria bassiana*) 的 3 个菌株, 在杨尺蠖的蛹期的前期、中期、后期分别进行感染试验, 结果显示, 3 株白僵菌均能侵染杨尺蠖蛹, 并对处于前期和中期的杨尺蠖蛹感染快, 致死率高, 3 个菌株中以采自桃小食心虫的菌株 TST05 对杨尺蠖蛹的致死率最高, 校正死亡率在 70% 以上。这为我们利用昆虫病原真菌作为生物制剂防治杨尺蠖提供了依据。由于以蛹为防治对象, 在土壤中使用菌粉制剂, 不仅可以避免化学防治的弊端, 而且地下防治具有明显优势, 它可以为真菌提供较稳定的温度和湿度环境, 利于病原真菌在土壤中存活、萌发和持续感染<sup>[5]</sup>。

用昆虫病原真菌防治害虫, 不同的菌种和菌株对同一寄主昆虫的感染毒力常常不同, 一般来说, 来自原寄主的病原真菌比来自其他寄主的病原真菌对防治对象有更高的毒力。这不仅是病原真菌对昆虫进化的适应, 也是病原真菌对昆虫发生地区的生态适应的结果。因此, 收集林间自然感染的虫尸, 分离获得自然侵染杨尺蠖蛹的病原真菌, 是筛选高致病菌种, 进行杨尺蠖生物防治的基础。我们 2014 年在山西省临汾地区洪洞县杨树丰产林, 采集获得自然染病的杨尺蠖蛹, 培养分离和纯化出一株病原真菌——粉棒束孢 *Isaria farinosa* (Homskiold) Fries, 异名为粉质拟青霉 *Paecilomyces farinosus* (Holm. Ex Gray) Brown & Smith, 是一类重要的昆虫病原真菌。本文报道对该菌株分离、培养、形态

观察和分子鉴定的结果。希望为利用昆虫病原真菌进行杨尺蠖蛹的生物防治提供菌种资源和应用依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 虫体采集与病原真菌的分离纯化

杨尺蠖在山西洪洞县(N36°18', E117°42')杨树丰产林1年发生1代,老熟幼虫从5月中旬下树入土,在表土层内结土室化蛹越冬。在杨树丰产林树下表土层采集杨尺蠖虫蛹过程中,发现了自然染病的虫蛹,收集后带回实验室。

在实验室将有真菌感染的杨尺蠖蛹置于解剖镜下观察并拍照,然后在无菌工作台上用接种环挑取虫尸表面的分生孢子,划线接种于PDA固体培养基(g/L:马铃薯200,葡萄糖20,琼脂20)。25℃培养5d,将培养后的菌株进行二次划线分离。

### 1.2 回接实验

取培养7d的白色菌种分生孢子,配制成孢子悬浮液( $1 \times 10^8$  conidia/mL),并加0.1%的吐温80,用浸虫法对杨尺蠖蛹进行接种感染,然后置于25℃培养室培养,每天观察虫体染菌情况。

### 1.3 病原菌形态特征的扫描电镜观察

将纯化得到的菌株划线接种于PDA培养基平板中,在超净工作台将无菌的盖玻片45°角斜插于接种线上,每个平板3个盖玻片,25℃下培养。3d后,用镊子将盖玻片取出,将有菌的盖玻片经过50%PBS缓冲液漂洗,30%、50%、70%、90%、100%乙醇梯度脱水,其中100%乙醇脱水2次,最后经50%乙酸异戊酯加50%无水乙醇,100%乙酸异戊酯2遍脱去无水乙醇,每个梯度10min。EMS850临界点干燥器中干燥后,将样品摆好贴片,1.5kV、20mA下喷金,最后放入扫描电镜(JSM-840EX)下观察真菌形态结构并拍照记录。根据菌株形态特征,参考《山西虫生真菌》<sup>[6]</sup>和《Manual of Techniques in Insect Pathology》<sup>[7]</sup>对菌株物种的分类地位作初步鉴定。

### 1.4 病原真菌的分子鉴定

将纯化得到的菌株于PDA培养基上大量培

养,然后用真菌DNA抽提试剂盒提取出目的菌株基因组DNA。用真菌ITS通用引物ITS4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')和ITS5(5'-GGAAGTAAAGTCGTAACAAGG-3'),并以提取出的菌株YHT01基因组DNA为模板进行PCR扩增。PCR(50μL)反应体系:36.5μL去离子水,5μL 10×Dream Taq Green Buffer,4μL dNTP Mix(2.5mmol/L each),2μL DNA模板,1μL ITS4(10μmol/L),1μL ITS5(10μmol/L),0.5μL Easy Taq DNA Polymerase。PCR扩增条件:94℃5min;94℃30s,53℃1min,72℃1min,30个循环;65℃10min。扩增后的PCR产物用1.5%的琼脂糖凝胶电泳检测,以100bp DNA Marker指示分子量。扩增得到的ITS序列由上海生工公司进行序列测定。从GenBank中BLAST进行序列相似性搜索,并下载与该菌株序列相近的序列,使用MEGA 5.0选择邻接法Neighbor-Joining构建系统发育树,从而确定该菌株的分类地位。

## 2 结果与分析

### 2.1 自然罹病虫尸症状

从山西临汾洪洞丰产林中采集杨尺蠖蛹的自然染病虫体,在实验室解剖镜下观察发现,自然染菌的虫蛹(图1)有的蛹僵硬且被白色菌丝覆盖,菌丝在蛹的结间处更多(图1A、B),有的蛹体外有子座长出(图1B、C、D)。

### 2.2 菌株分离结果

经划线分离纯化,分离获得1株虫生真菌,经过回接,将与自然染病症状一致的虫生真菌命名为YHT01。

### 2.3 YHT01回接杀虫实验结果

将制备好的YHT01菌株孢子悬浮液(浓度为 $1 \times 10^8$  conidia/mL),对杨尺蠖蛹进行回接杀虫实验。接菌培养5d后,在蛹的节间处生出白色菌丝(图2A),7d后蛹的全身覆盖菌丝(图2C),与野外自然染菌的症状一致。说明分离得到的菌株是致死杨尺蠖蛹的致病菌。

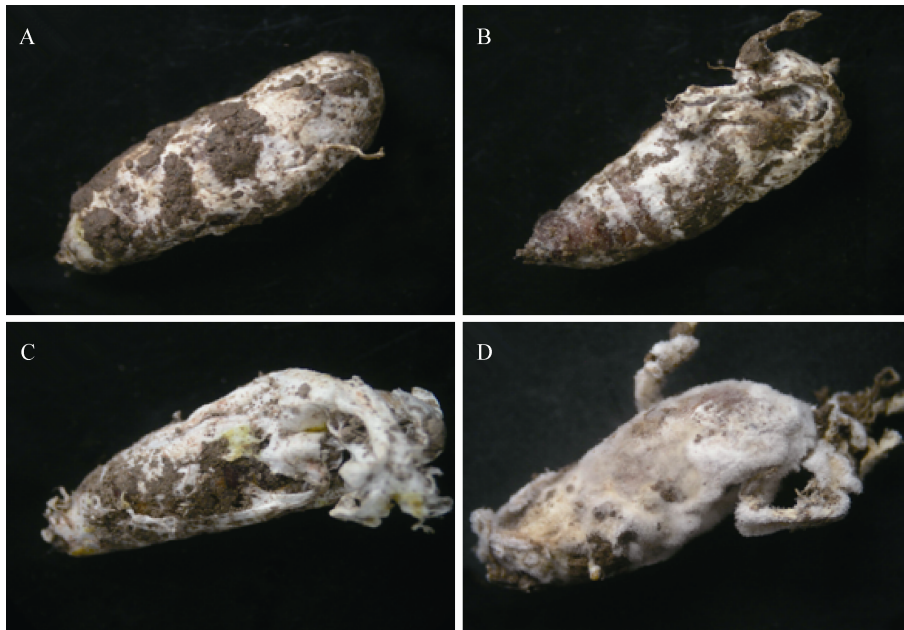


图 1 自然染菌的杨尺蠖蛹

Figure 1 The naturally diseased pupae of *Apocheima cinerarius*

注: A: 蛹尸被白色菌丝覆盖; B: 蛹尸外刚长出子座; C: 蛹尸外子座变大; D: 蛹尸干瘪.

Note: A: The pupa is covered by the mycelia; B: The stromata appear on the pupa; C: The stromata get bigger; D: The pupa becomes wizened.



图 2 菌株 YHT01 回接杀虫实验结果显示杨尺蠖蛹的染病症状

Figure 2 The symptoms of *Apocheima cinerarius* pupae infected with YHT01

注: A、B: 染菌 5 d 后, 蛹结间处出现菌丝; C: 菌丝覆盖整个蛹.

Note: A, B: The mycelia appear on inter-segments of pupa after infected 5 d; C: The pupa is covered by the mycelia.

## 2.4 菌种鉴定

2.4.1 菌株的培养性状及形态特征: 将菌株 YHT01 在 PDA 培养基上 25 °C 恒温培养 5 d 后, 发现菌落呈椭圆形, 白色, 絮状(图 3A)。菌落背面中央呈橙黄色(图 3B)。在扫描电镜下可以看出, 菌株生长 3 d 后, 已经开始大量产生分生孢子(Co), 孢

梗束(Cr)呈扫帚状(图 3C); 瓶状小梗(Ph)基部膨大, 上部逐渐变得细长, 轮生或单生于分生孢子梗上。瓶状小梗直径 0.4 μm–1.1 μm, 长 4.2 μm–13.1 μm (图 3D); 瓶状小梗出芽产生分生孢子, 形成分生孢子链。出芽产生的分生孢子小, 卵形至椭圆形, 壁光滑, 大小为(2.1–3.4) μm×(1.1–1.8) μm (图 E 和 F)。

根据以上形态观察结果,参考《山西虫生真菌》<sup>[6]</sup>和《Manual of Techniques in Insect Pathology》<sup>[7]</sup>,初步判断该菌株为棒束孢属 *Isaria* Persoon 的粉棒束孢 *I. farinosa*。

**2.4.2 DNA 提取及 ITS 序列 PCR 扩增结果:** 以 ITS4 和 ITS5 为引物进行 PCR 扩增,得到菌株 YHT01 的 ITS 序列并送交上海生工公司测序,得到

585 bp 的 DNA 序列。序列提交 GenBank, 并已开放, 序列编号为 KR973432。在 NCBI 上下载与 YHT01 的 ITS 序列有较高相似性的序列, 构建系统发育树。如图 4 所示, KR973432 与粉棒束孢 *Isaria farinosus* (AB233337) 在同一分支上, 相似性为 99%。这与该菌株形态鉴定的结果相同, 可知分离得到的 YHT01 菌株为粉棒束孢 *I. farinosus*。

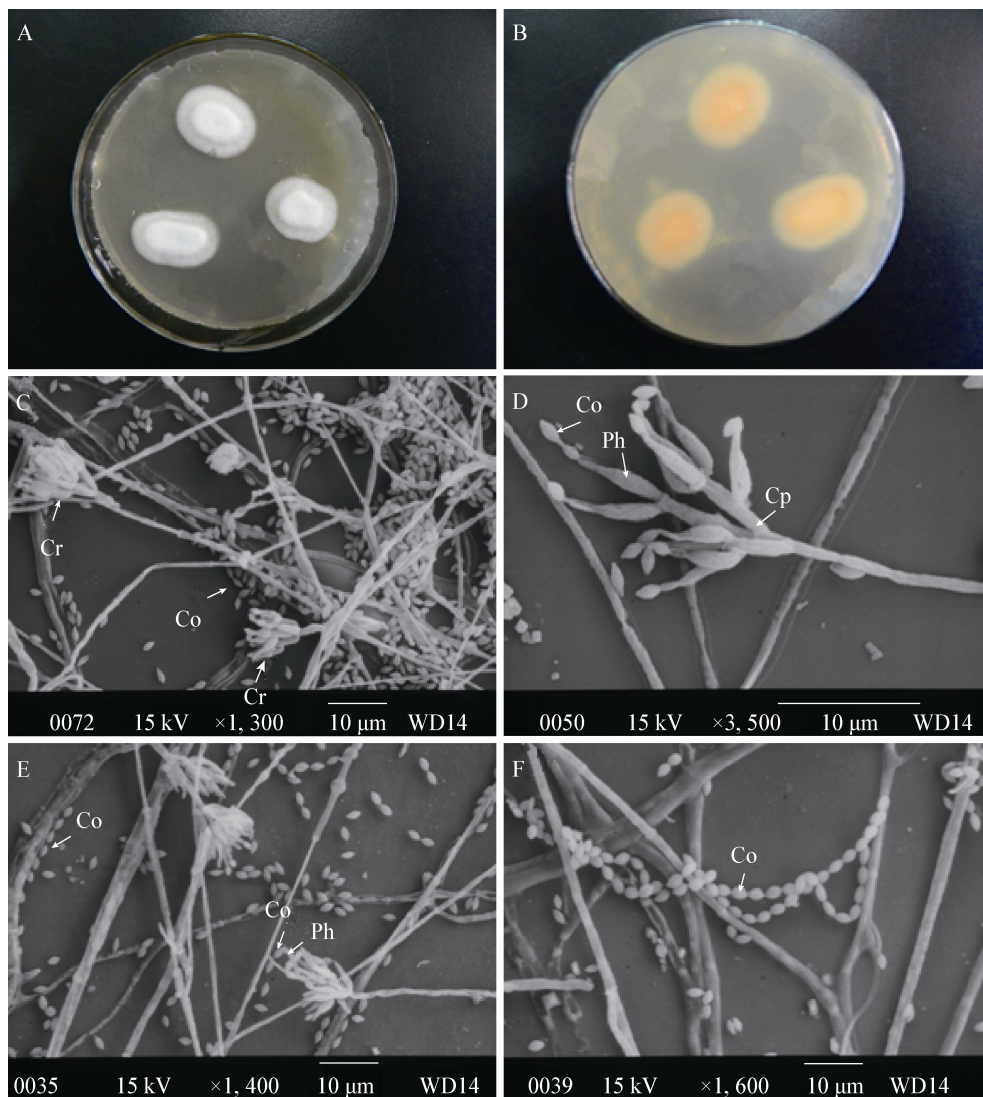


图 3 菌株 YHT01 的形态特征

Figure 3 The morphological characteristics of the fungal strain YHT01

注: A: 菌落正面观; B: 菌落背面观; C-F: 扫描电镜下观察到菌株的形态特征。Co: 分生孢子; Cr: 孢梗束; Ph: 瓶状小梗; Cp: 分生孢子梗。

Note: A: The front view of colony; B: The back view of colony; C-F: The morphological characteristics of the fungal strain YHT01 observed under scanning electron microscope. Co: Conidium; Cr: Coremium; Ph: Phialide; Cp: Conidiophore.

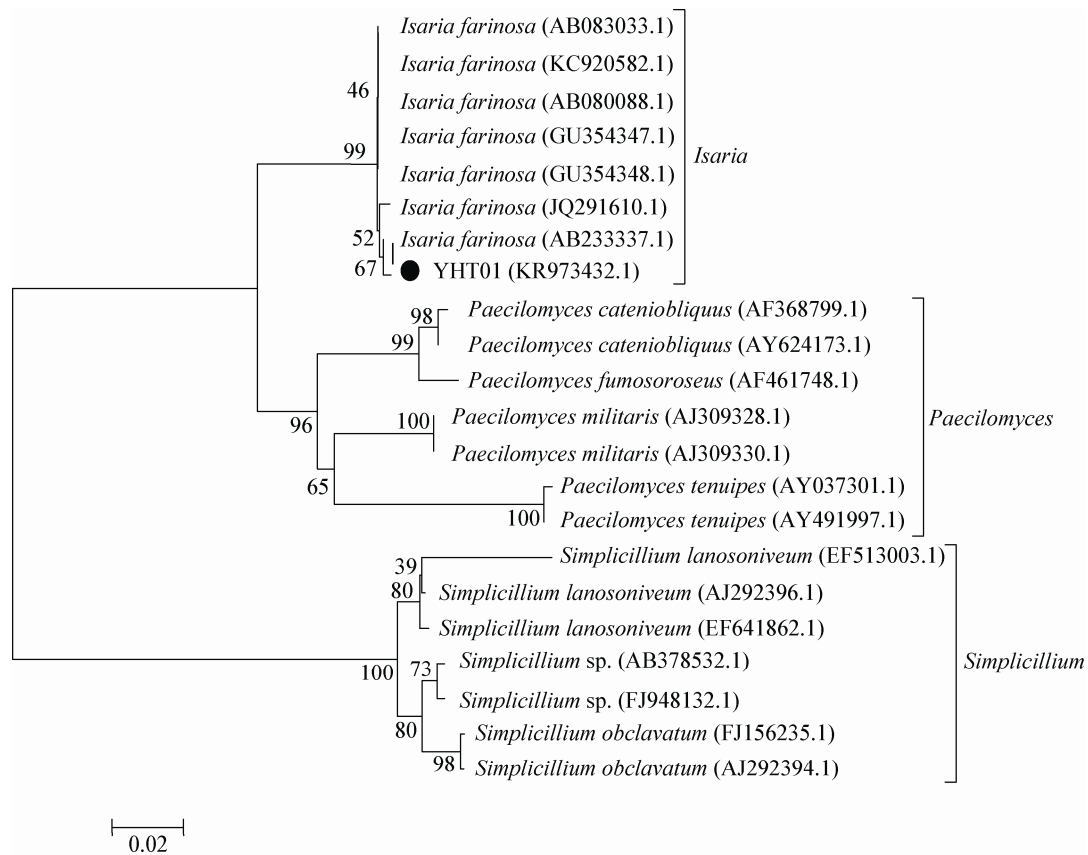


图4 YHT01菌株 rDNA-ITS 序列 N-J 系统发育树

Figure 4 Neighbor-Joining phylogenetic tree constructed from rDNA-ITS sequence of the strain YHT01

注: 括号内的序号为 GenBank 数据库的登录号; 发育树节点的数值表示 Bootstrap 值; 线段 0.02 表示序列差异的分支长度。

Note: Those in parentheses are the GenBank accession number; Number at notes present bootstrap percentages (based on 1000 sampling); Bar=2% represent sequences divergence.

### 3 讨论

本研究从自然染菌的杨尺蠖上分离得到一株病原真菌, 经形态学和分子鉴定, 为粉棒束孢。ITS 序列由于其易扩增、信息量丰富、研究广泛等诸多优势, 已经成为被子植物和真菌的通用核心 Barcoding<sup>[8-9]</sup>。利用 ITS 序列对粉棒束孢乃至整个棒束孢属的研究已有报道<sup>[10]</sup>。

Hodge 等认为棒束孢 *Isaria* Pers.:Fr. 是优先发表的属, 所以将粉棒束孢 *Isaria farinosa* (Holm: Fr) Fr. 作为其模式种, 并建议所有先前被归在拟青霉属 *Paecilomyces* 中拟棒束梗孢组 sect. *Isarioidea* 的种都应该用棒束孢作为属名。因此, 先前常用的粉拟青霉 *P. farinosus* (Holm. ex Gray) Brown & Smith 的名字被

当作粉棒束孢 *Isaria farinosa* 的异名来处理<sup>[11]</sup>。

拟青霉 *Paecilomyces* 是一类在土壤中广泛存在的虫生真菌。根据我们的统计, 从 1981 年—2015 年, 在我国发现的拟青霉主要有 12 种<sup>[12-23]</sup>, 如表 1 所示, 分别是斜链拟青霉 *P. cateniobliquus*、环链拟青霉 *P. cateniannulatus*、细脚拟青霉 *P. tenuipes*、粉质拟青霉 *P. farinosus*、玫烟色拟青霉 *P. fumosoroseus*、蝙蝠蛾拟青霉 *P. hepiali*、灰绿拟青霉 *P. griseiviridis*、淡紫拟青霉 *P. lilacinus*、黄拟青霉 *P. flavescens*、古尼拟青霉 *P. gunnii*、蛹草拟青霉 *P. militaris* 以及蒲同拟青霉 *P. puntonii*。这些拟青霉的主要寄主有: 鳞翅目昆虫 21 种, 如茶小卷叶蛾 *Adoxophycs privatana*、茶卷叶蛾 *Cacoecia ingentana*、云尺蛾

表 1 从 1981–2015 年我国发现的主要拟青霉  
Table 1 The main *Paecilomyces* found in China from 1981 to 2015

菌名 The names of fungus	主要寄主 The primary hosts	采集地 Collection places	报道年份 Reporting years
斜链拟青霉 <i>P. cateniobliquus</i>	茶小卷叶蛾 <i>Adoxophycs privatana</i> 蛹茧	贵州 湄潭	1981
环链拟青霉 <i>P. cateniannulatus</i>	茶卷叶蛾 <i>Cacoecia ingentana</i> 蛹茧	贵州 湄潭	1981
细脚拟青霉 <i>P. tenuipes</i>	云尺蛾 <i>Buzura thibetaria</i> 蛹; 小白尺蛾 <i>Scopula subkuntaria</i> 蛹; 茶毛虫 <i>Euproctis pseudoconsersa</i> 蛹; 茶小卷叶蛾 <i>A. privatana</i> 蛹; 茶茸毒蛾 <i>Dasychira baibarana</i> 蛹	贵州 湄潭	1981
粉质拟青霉 <i>P. farinosus</i>	褐刺蛾 <i>Setora suberecta</i> 幼虫和蛹; 茶刺蛾 <i>Iragoides fasciata</i> 蛹; 小白尺蛾 <i>S. subkuntaria</i> 蛹;	贵州 湄潭	1981
玫烟色拟青霉 <i>P. fumosoroseus</i>	云尺蛾 <i>B. thibetaria</i> 蛹、成虫; 茶刺蛾 <i>I. fasciata</i> 蛹; 云纹枝尺蛾 <i>Eulithis pyrapata</i> 蛹; 小白尺蛾 <i>S. subkuntaria</i> 蛹; 茶小卷叶蛾 <i>A. privatana</i> 蛹茧; 茶毛虫 <i>E. pseudoconsersa</i> 幼虫、蛹茧	贵州 湄潭	1981
粉质拟青霉 <i>P. farinosus</i>	芦毒蛾 <i>Laelia coenosa</i> 幼虫、蛹	湖南 沅江	1987
玫烟色拟青霉 <i>P. fumosoroseus</i>	家蚕 <i>Bombyx mori</i>	浙江 嘉兴	1988
蝙蝠蛾拟青霉 <i>P. hepiali</i>	蝙蝠蛾 <i>Phassus excrescens</i> 幼虫	云南 迪庆	1989
粉质拟青霉 <i>P. farinosus</i>	油松毛虫 <i>Dendrolimus tabulaeformis</i> 幼虫	北京 密云	1991
灰绿拟青霉 <i>P. griseiviridis</i>	棉蚜 <i>Aphis gossypii</i>	山东 平邑	1998
粉质拟青霉 <i>P. farinosus</i>	杨尺蠖 <i>Apocheima cinerarius</i> 蛹	新疆	1998
淡紫拟青霉 <i>P. lilacinus</i>	荔枝椿象 <i>Tessaratoma papillosa</i> 成虫	深圳	2002
粉质拟青霉 <i>P. farinosus</i>	纵坑切梢小蠹 <i>Tomicus piniperda</i> 成虫	云南	2002
玫烟色拟青霉 <i>P. fumosoroseus</i>	烟粉虱 <i>Bemisia tabaci</i> 若虫、成虫	广东 广州	2004
淡紫拟青霉 <i>P. lilacinus</i>	根结线虫 <i>Meloidogyne</i> 的雌虫、卵	福建	2006
粉质拟青霉 <i>P. farinosus</i>	粘虫 <i>Mythimna separata</i> 幼虫; 大青象甲 <i>Chlorophanus grandis</i> 成虫; 七星瓢虫 <i>Coccinella septempunctata</i> 成虫; 棉三点盲蝽 <i>Adelphocoris taeniophorus</i> 成虫	山西 蟒河 历山 庞泉沟	2006
黄拟青霉 <i>P. flavescens</i>	角蝉科 Membracidae 若虫; 桑梢角蝉 <i>Gargara genistae</i> 成虫	山西 云顶山	2006
玫烟色拟青霉 <i>P. fumosoroseus</i>	斑背安缘蝽 <i>Anoplocnemis binotata</i> 成虫; 银纹夜蛾 <i>Argyrogramma agnata</i> 成虫; 舞毒蛾 <i>Lymantria dispar</i> 成虫	山西 庞泉沟	2006
古尼拟青霉 <i>P. gunnii</i>	碧蝽 <i>Palomena angulosa</i> 成虫	山西 黄崖洞	2006
蛹草拟青霉 <i>P. militaris</i>	金喙真蝽 <i>Pentatoma metallifera</i> 成虫	山西 历山	2006
蒲同拟青霉 <i>P. puntonii</i>	鳞翅目 Lepidoptera 蛹	山西 黄崖洞	2006
环链拟青霉 <i>P. cateniannulatus</i>	菜粉蝶 <i>Pieris rapa</i> Linne	安徽 滁州	2013
粉拟青霉 <i>P. farinosus</i>	中华枯叶蛱蝶 <i>Kallima inachus</i>	安徽 滁州	2013
玫烟色拟青霉 <i>P. fumosoroseus</i>	鳞翅目 Lepidoptera 蛹	安徽 滁州	2013

*Buzura tibetaria*、银纹夜蛾 *Argyrogramma agnata* 等; 半翅目昆虫 9 种, 如棉蚜 *Aphis gossypii*、荔枝椿象 *Tessaratoma papillosa*、棉三点盲蝽 *Adelphocoris taeniophorus*、斑背安缘蝽 *Anoplocnemis binotata*、烟粉虱 *Bemisia tabaci* 和桑梢角蝉 *Gargara genistae*; 垫刃目 1 种, 根结线虫 *Meloidogyne* 等; 鞘翅目 3 种, 分别是纵坑切梢小蠹 *Tomicus piniperda*、大青象甲 *Chlorophanus grandis* 和七星瓢虫 *Coccinella septempunctata*。

粉棒束孢(粉质拟青霉)被广泛应用于害虫防治上。李捷等研究粉棒束孢对桃小食心虫的致病力, 桃小食心虫感染粉棒束孢初期行动缓慢, 死后虫体变软, 全身变成褐色, 1-2 d 后体表长出白色絮状菌丝, 菌丝逐渐布满全身, 并产生孢子, 第十天累积死亡率为 72.22%, 粉棒束孢的蛋白酶活性、几丁质酶活性和脂肪酶活性也相应的发生变化<sup>[24]</sup>。Demirci 等用粉棒束孢(悬浮液浓度为  $1 \times 10^8$  spores/mL)感染桔粉蚧 *Planococcus citri* 的各龄期, 一龄若虫的致死率达到 78.71%, 二龄若虫的致死率为 84.1%, 成虫的致死率为 84.5%, 改善温湿度之后, 致死率增大, 对各龄期的桔粉蚧起到了很好的防治效果<sup>[25]</sup>。Castineiras 等在一种粉蚧上分离出另外一种棒束孢属的真菌 *I. fumosorosea*<sup>[26]</sup>。Lacey 等研究了 *I. fumosorosea* 对 *Aphelinus asychis* 的致死率, 以及致死率与湿度间的关系<sup>[27]</sup>。Parker 等研究了粉棒束孢感染 *E. integriceps* 的致死率与孢子悬浮液浓度的关系<sup>[28]</sup>。粉棒束孢除了是昆虫的病原菌外, 还能防治蜘蛛<sup>[29]</sup>。

虽然粉棒束孢已广泛应用于农林害虫的防治, 但是有关杨尺蠖蛹病原真菌的报道还未多见。1990 年, 阿地力江等<sup>[19]</sup>在新疆野外调查中, 发现杨尺蠖蛹被真菌寄生的现象, 并分离得到一株粉质拟青霉(粉棒束孢)。他们用体表接种和土壤接种两种方法感染了幼虫和蛹, 结果表明两种方法对杨尺蠖幼虫和蛹发病都有较高的致病力。本研究得到的粉棒束孢活体菌株 YHT01 菌株分离自山西省临汾市洪洞县自然染病的杨尺蠖蛹虫尸, 是首次在山西发

现, 为今后在土壤中防治杨尺蠖蛹提供了菌种资源。

## 参 考 文 献

- [1] Zhang ZZ. Forest Entomology[M]. Beijing: China Forestry Publishing, 1997: 232-233 (in Chinese)  
张执中. 森林昆虫学[M]. 北京: 中国林业出版社, 1997: 232-233
- [2] Yang SJ. Low-volume aerial spray of Bt emulsion for the control of *Apocheima cinerarius*[J]. Biological Control Notification, 1985(4): 19 (in Chinese)  
杨升炯. 飞机低容量喷雾 Bt 乳剂防治杨尺蠖[J]. 生物防治通报, 1985(4): 19
- [3] Zhang YA, Wang GQ, Xu BM, et al. The test report of spring inchworm's control by AciNPV in Xinjiang's hotan region[J]. Forestry of Xinjiang, 2002(2): 20-21, 30 (in Chinese)  
张永安, 王贵全, 徐保泯, 等. 新疆和田地区利用 AciNPV 病毒防治春尺蠖试验报告[J]. 新疆林业, 2002(2): 20-21, 30
- [4] Qu LJ, Wang YZ, Tao J, et al. Biological characteristics and multiplication of *Apocheima cinerarius* Erschoff nucleopolyhedrovirus in lab[J]. Forest Pest and Disease, 2011, 30(6): 35-37 (in Chinese)  
曲良建, 王玉珠, 陶婧, 等. 春尺蠖 NPV 生物学特性及室内增殖研究[J]. 中国森林病虫, 2011, 30(6): 35-37
- [5] Yao HQ, Xie YP, Wang EH. Morphologic observation of *Apocheima cinerarius* Erschoff (Lepidoptera: Geometridae) pupae and comparison of virulence of *Beauveria bassiana* infected on them[J]. Journal of Environmental Entomology, 2015, 37(2): 348-354 (in Chinese)  
姚红青, 谢映平, 王二虎. 杨尺蠖蛹形态观察及球孢白僵菌菌株对其致病力的比较[J]. 环境昆虫学报, 2015, 37(2): 348-354
- [6] He YC, Zhang XH. The Entomogenous Fungi from Shanxi of China[M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2006: 30-34 (in Chinese)  
贺运春, 张仙红. 山西昆虫真菌[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2006: 30-34
- [7] Lacey LA. Manual of Techniques in Invertebrate Pathology[M]. New York: Academic Press, 2012: 177-178
- [8] Li DZ, Gao LM, Li TH, et al. Comparative analysis of a large dataset indicates that internal transcribed spacer (ITS) should be incorporated into the core barcode for seed plants[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2011, 108(49): 19641-19646
- [9] Schoch CL, Seifert KA, Huhndorf S, et al. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for *Fungi*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2012, 109(16): 6241-6246
- [10] Luangsa-Ard JJ, Hywel-Jones NL, Manoch L, et al. On the relationship of *Paecilomyces* sect. *Isarioidea* species[J]. Mycological Research, 2005, 109(5): 581-589
- [11] Hodge KT, Gams W, Samson RA, et al. Lectotypification and status of *Isaria* Pers.: Fr[J]. Taxon, 2005, 54(2): 485-489
- [12] Liang ZQ. The entomogenous fungus of *Tea* pests[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 1981, 11(4): 9-16 (in Chinese)  
梁宗琦. 茶树害虫的虫生真菌[J]. 植物病理学报, 1981, 11(4): 9-16
- [13] Li HK. An entomogenous fungus of *Laelia coenosa*, *Paecilomyces farinosus*[J]. Biological Control Notification, 1987(1): 10 (in Chinese)  
李宏科. 芦毒蛾的寄生菌——粉质拟青霉[J]. 生物防治通报, 1987(1): 10
- [14] Zhu ZL, Zhou QJ, Ge XC. The pathogenicity of *Paecilomyces fumosoroseus* and *Cephalosporium lecanii* to *Bombyx mori*[J].



- Acta Sericologica Sinica, 1988, 14(2): 78-82 (in Chinese)  
朱志立, 周奇迹, 葛秀春. 玫瑰色拟青霉与蜡蚧头孢霉对家蚕病原性的研究[J]. 蚕业科学, 1988, 14(2): 78-82
- [15] Xiao S. Resource of fungal parasites of root-knot nematode and study on *Paecilomyces lilacinus* strain PL89[D]. Fuzhou: Doctoral Dissertation of Fujian Agriculture and Forestry University, 2006 (in Chinese)  
肖顺. 根结线虫寄生真菌资源与淡紫拟青霉 PL89 的研究[D]. 福州: 福建农林大学博士学位论文, 2006
- [16] Dai RQ, Lan JL, Chen WH, et al. The study of new species of *Paecilomyces* on *Hepialus armoricanus*[J]. Acta Agriculturae Universitatis Pekinensis, 1989, 15(2): 221-224 (in Chinese)  
戴如琴, 兰江丽, 陈伟华, 等. 蝙蝠蛾拟青霉新种的研究[J]. 北京农业大学学报, 1989, 15(2): 221-224
- [17] Zhao RX, Wu JW. The study of controlling *Dendrolimus tabulaeformis* and *Dendrolimus spectabilis* by using *Paecilomyces farinosus*[J]. Forest Sciences, 1991, 27(3): 219-228 (in Chinese)  
赵瑞兴, 武觀文. 粉拟青霉防治油(赤)松毛虫流行病研究[J]. 林业科学, 1991, 27(3): 219-228
- [18] Dai MX. A new species of *Paecilomyces* and the pathogenicity against aphid[J]. Mycosystema, 1998, 17(3): 209-213 (in Chinese)  
戴美学. 拟青霉属一新种及其杀蚜活性[J]. 菌物系统, 1998, 17(3): 209-213
- [19] Shtaer A, Shi DM, Yusufu M. The discovery of *Paecilomyces farinosus* and its pathogenicity[J]. Xinjiang Agricultural Sciences, 1998(5): 212-214 (in Chinese)  
阿地力江·沙塔尔, 施登明, 买买提·玉素甫. 粉拟青霉的发现及致病性研究[J]. 新疆农业科学, 1998(5): 212-214
- [20] Xie QM, Liang GW, Lu YY. Field efficiency of *Paecilomyces lilacinus* against litchi stinkbug *Tessaratoma papillosa* drury[J]. Wuyi Science Journal, 2002, 18(12): 143-145 (in Chinese)  
谢钦铭, 梁广文, 陆永跃. 淡紫拟青霉对荔枝蜡象的田间防治试验[J]. 武夷科学, 2002, 18(12): 143-145
- [21] Wang HL, Li LS, Yang L. The study of controlling *Tomiscus piniperda* by using *Paecilomyces farinosus*[J]. Journal of Southwest Forestry College, 2002, 22(3): 39-41 (in Chinese)  
王海林, 李丽莎, 杨林. 利用粉拟青霉防治纵坑切梢小蠹的研究[J]. 西南林学院学报, 2002, 22(3): 39-41
- [22] Huang Z, Ren SX. Biology of *Paecilomyces fumosa-roseus* isolates and their pathogenicity against *Bemisia tabaci*[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2004, 20(4): 248-251 (in Chinese)  
黄振, 任顺祥. 玫瑰色拟青霉分离株的生物学特性及其对烟粉虱的致病力[J]. 中国生物防治, 2004, 20(4): 248-251
- [23] Zhang YB, Ling Q, Tao Y, et al. Study on the biological characteristics of three *paecilomyces*[J]. Journal of Biology, 2013, 30(1): 51-53 (in Chinese)  
张玉波, 凌琪, 陶勇, 等. 3种拟青霉生物学特性的分析研究[J]. 生物学杂志, 2013, 30(1): 51-53
- [24] Li J, Zhu YM, Xue JL, et al. Virulence of the five strains of entomopathogenic fungi infected on the larvae of *Carposina sasakii*[J]. Acta Phytophylacica Sinica, 2012, 36(6): 549-555 (in Chinese)  
李捷, 朱永敏, 薛皎亮, 等. 五株病原真菌对桃小食心虫的致病力[J]. 植物保护学报, 2012, 36(6): 549-555
- [25] Demirci F, Muştu M, Kaydan MB, et al. Laboratory evaluation of the effectiveness of the entomopathogen; *Isaria farinose*, on citrus mealybug, *Planococcus citri*[J]. Journal of Pest Science, 2011, 84(3): 337-342
- [26] Castineiras A, Peña JE, Duncan R, et al. Potential of *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) as biological control agents of *Thrips palmi* (Thysanoptera: Thripidae)[J]. The Florida Entomologist, 1996, 79(3): 458-461
- [27] Lacey LA, Mesquita ALM, Mercadier G, et al. Acute and sublethal activity of the entomopathogenic fungus *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) on adult *Aphelinus asychis* (Hymenoptera: Aphelinidae)[J]. Environmental Entomology, 1977, 26(6): 1452-1460
- [28] Parker BL, Skinner M, Costa SD, et al. Entomopathogenic fungi of *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae): collection and characterization for development[J]. Biological Control, 2003, 27(3): 260-272
- [29] Huang B, Wang TS, Fan MZ, et al. Five species of spider-pathogenic fungi[J]. Journal of Anhui Agricultural University, 1999, 26(3): 361-363