不同培养基继代培养蜡蚧轮枝菌对产孢量和烟粉虱毒力的影响

景亮亮， 姜 灵， 谢 婷， 张晓霞， 洪 波， 贾彦霞*

（宁夏大学农学院，银川 750021）

摘要 为了探究不同培养基继代培养的蜡蚧轮枝菌对烟粉虱的作用效果，通过继代培养方法测定 JMC-01、JMC-02 菌株的产孢量、对烟粉虱的毒力及其几丁质酶活性。结果表明，JMC-01、JMC-02 菌株在添加蝉蜕和烟粉虱的 PDA 培养基中连续培养 5 代的产孢量、对烟粉虱的毒力、几丁质酶活性均高于无添加的 PDA 培养基，且 JMC-01 菌株的各项参数均高于 JMC-02 菌株。JMC-01 菌株在添加蝉蜕的 PDA 培养基中 T_1 和 T_3 代的产孢量最大，均为 1.279×10^7 个/mL，T_3 代对烟粉虱的毒力最大，为 88.33%，T_5 代的几丁质酶活最高，为 0.268 3 U/mL；在添加烟粉虱的 PDA 培养基中，JMC-01 菌株的最大产孢量、对烟粉虱的最高毒力和最高几丁质酶活分别出现在 S_2、S_4 和 S_5 代，分别为 1.270×10^7 个/mL、88.33%和 0.325 4 U/mL。回归分析结果显示，JMC-01、JMC-02 菌株几丁质酶活性与烟粉虱校正死亡率呈显著的正相关，且拟合优度较好。本试验表明 JMC-01、JMC-02 菌株均对烟粉虱具有较强的毒力，添加蝉蜕和烟粉虱的培养基可以维持菌株生长特性、增加产孢量、延缓菌株退化、增强菌株的几丁质酶活性，为烟粉虱的生物防治提供了新的菌种资源。

关键词 烟粉虱； 蜡蚧轮枝菌； 继代培养； 毒力； 产孢量

中图分类号： S 476 **文献标识码**： A **DOI**： 10.16688/j.zwbh.2019343

Influences of subculture on the virulence to *Bemisia tabaci* and conidial production of the entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii*

JING Liangliang， JIANG Ling， XIE Ting， ZHANG Xiaoxia， HONG Bo， JIA Yanxia*

（*College of Agronomy*, *Ningxia University*, *Yinchuan* 750021, *China*）

Abstract In order to explore the effects of *Verticillium lecanii* subculture on different culture media on *Bemisia tabaci*, the sporulation of JMC-01 and JMC-02 strains, their virulence to *B. tabaci* and the chitinase activity were determined by using subculture method. The results showed that the conidial production, the virulence to *B. tabaci* and chitinase activity of JMC-01 and JMC-02 strains subcultured for 5 generations in the PDA medium supplemented with cicada slough and *B. tabaci* corpses were higher than those without supplements. The various parameters of JMC-01 strain were higher than those of JMC-02 strain. The JMC-01 strain had the maximum sporulation in the PDA medium supplemented with cicada slough in T_1 and T_3 generations, both of which were 1.279×10^7 spores/mL. The T_3 generation had the highest virulence to *B. tabaci*, which was 88.33%. The highest chitinase activity was 0.268 3 U/mL in T_5 generation. The maximum sporulation, the highest virulence to *B. tabaci* and the highest chitinase activity of JMC-01 strain in the PDA medium supplemented with *B. tabaci* corpses were observed in S_2, S_4 and S_5 generations, which were 1.270×10^7 spores/mL, 88.33% and 0.325 4 U/mL, respectively. The results of regression analysis showed that the chitinase activity of the two strains was significantly positively correlated with the corrected mortality of *B. tabaci* with a high goodness of fit. This study showed that both JMC-01 and JMC-02 strains had strong virulence to *B. tabaci*, and the media containing cicada slough and *B. tabaci* corpses could maintain the growth characteristics of the strains, increased the sporulation, delayed the degradation of the strains, and enhanced the chitinase activity of the strains, which provides new fungal resources for the biological control of *B. tabaci*.

Key words *Bemisia tabaci*； *Verticillium lecanii*； subculture； virulence； conidial production

收稿日期： 2019-07-05 **修订日期**： 2019-09-18

基金项目： 宁夏“十三五”重点研发计划重大项目(2018BBF02021-02)；宁夏自然科学基金(2018AAC03038)

* 通信作者 E-mail：helenjia_2006@126.com

烟粉虱 *Bemisia tabaci* 寄主范围广,个体微小,繁殖力强,体被蜡粉,通过取食植物汁液、分泌蜜露、传播病毒等引起植物生理异常。该虫广泛分布于热带与亚热带地区,是一种世界范围内的重要入侵害虫,主要为害棉花、烟草、蔬菜和花卉等经济作物以及木薯、甘薯等粮食作物,在世界范围内造成重大的经济损失[1]。Sseruwagi 研究发现,美国每年由于烟粉虱为害所造成的经济损失达到数十亿美元[2]。烟粉虱现已成为世界上最具破坏性的农业害虫之一,并入侵欧洲、非洲、亚洲和美洲的一些国家,给粮食、蔬菜、花卉等产业造成严重影响[3]。20 世纪 80 年代末期,烟粉虱入侵我国,随后迅速在全国范围内扩散,目前该虫在我国大部分地区均有发生,造成了严重的经济和生态损失[4]。罗晨等研究发现,在北京地区,烟粉虱已成为蔬菜、花卉及一些经济作物上的重要害虫,为害严重时损失可达 7 成以上[5]。褚栋等研究表明,近 10 年我国烟粉虱的发生为害呈现出新的特点:多数地区烟粉虱的优势生物型由 B 型更替为 Q 型,抗药性问题逐渐凸显[6]。作为媒介昆虫,烟粉虱还能传播多种植物病毒,引发病毒病害,重者导致植株枯死,造成不可估量的经济损失[7-8]。目前防治烟粉虱仍以化学药剂为主,但因其高毒性、高残留,对人畜健康存在潜在威胁[9],还增强害虫的抗药性。农药对环境的污染越来越重,亟须找到环境友好的替代防治方法,生物防治作为一种安全有效的防治手段在烟粉虱的防治中得到了广泛的研究和应用。

虫生真菌是自然界中分布最广泛的昆虫致病菌类群之一,对于昆虫的生物防治具有极高的应用价值和开发潜力。生物防治中应用最广的虫生真菌是白僵菌 *Beauveria*、绿僵菌 *Metarhizium*、蜡蚧轮枝菌 *Verticillium lecanii*、虫瘟霉 *Zoophthora* 等[10]。其中,蜡蚧轮枝菌是一类防治烟粉虱的重要微生物资源,该类菌主要是通过菌丝在昆虫体内迅速生长,并分泌蛋白酶、几丁质酶、脂酶、酯酶和淀粉酶等多种胞外水解酶类,这些酶类一方面促进菌丝生长,另一方面其分解昆虫体表后的产物也有利于菌丝生长[11-14]。因此,蜡蚧轮枝菌作为一类重要的生防菌种,应用前景广阔,具有巨大的开发潜力。

本试验以蜡蚧轮枝菌 *V. lecanii* JMC-01、JMC-02 菌株为试验材料,以烟粉虱为试验对象,研究了不同培养基上继代培养蜡蚧轮枝菌 JMC-01、JMC-02 菌株的产孢量和对烟粉虱的毒力,测定了不同培养基上继代培养的蜡蚧轮枝菌几丁质酶活性,分析了菌株几丁质酶活性与烟粉虱校正死亡率间的关系,旨在为利用虫生真菌防治烟粉虱提供一定的理论基础。

1　材料与方法

1.1　试验材料

供试菌株:蜡蚧轮枝菌 *V. lecanii* JMC-01 菌株由宁夏大学植物保护实验室分离,保存于中国典型培养物菌种保藏中心(用于专利程序的菌种保存号 CCTCC NO. M 218303)、JMC-02 菌株由宁夏大学植物保护实验室分离保存。

供试培养基:PDA 培养基:马铃薯 200 g,葡萄糖 20 g,琼脂 18 g,蒸馏水 1 000 mL;在 PDA 培养基中添加 5 g/L 的蝉蜕粉末,配制带有蝉蜕成分的产孢培养基;在 PDA 培养基中添加 5 g/L 新鲜烟粉虱尸粉,制成含烟粉虱的 PDA 培养基。

供试虫源:烟粉虱采于宁夏银川市军马场温室黄瓜植株,带回实验室置于养虫盒内,以黄瓜叶片为食料,在智能人工气候箱中饲养 3 代以上进行纯化备用。

试剂及仪器:几丁质酶试剂盒,索莱宝北京生物科技有限公司;智能人工气候箱,上海跃进医疗器械有限公司;紫外可见分光光度计,德国 Eppendorf 公司等。

1.2　试验方法

1.2.1　*不同培养基上继代培养蜡蚧轮枝菌的产孢量*

在 3 种培养基上分别用原始菌株连续培养 5 代,PDA 培养基上获得 F_1～F_5,相同方法,添加蝉蜕的 PDA 培养基上获得 T_1～T_5,添加烟粉虱的 PDA 培养基上获得 S_1～S_5,将每代菌株培养 10 d 后在菌落中心至边缘 1/2 处,用 5 mm 的打孔器制出两块已产孢的菌饼,将其放入 20 mL 含 0.05%吐温 80 的无菌水中,用磁力搅拌器搅拌混匀,并用 4 层纱布过滤,混匀后用血球计数板计数,计算产孢量。

1.2.2　*不同培养基上继代培养的蜡蚧轮枝菌对烟粉虱的毒力测定*

利用浸叶法[15]测定每代菌株对烟粉虱的毒力。将每代菌株培养 7 d 后,分别配制成浓度为 1×10^8 个/mL 的孢子悬浮液,选用每片叶保留 30 头 2～3 龄烟粉虱若虫的黄瓜叶片。将黄瓜叶片浸入孢子悬浮液中,10 s 后取出,取出后在室温下晾干,然后置于直径为 9 cm、垫有湿润滤纸的培养皿中,(25±1)℃,相对湿度 80%,L//D=14 h//10 h 条件下保湿培养,每个处理设 3 次重复。每天分别检查试虫死亡状况,累计观察 6 d。判断试虫死亡的标准为:用细毛笔触及虫体,无反应记为死亡,计算校正死亡率。并用含 0.05%吐温 80 的无菌水为对照。

1.2.3 不同培养基上继代培养的蜡蚧轮枝菌几丁质酶活性测定

参考几丁质酶酶活试剂盒制备粗酶液，按菌丝(g)∶提取液(mL)为1∶10的比例混合，准确称量0.1 g菌丝，加入1 mL提取液，用研钵于冰盒中充分研磨，然后在4℃、12 000 r/min条件下离心20 min，取上清液，置于冰上待测。按照试剂盒说明书步骤测定酶活，酶活性定义：37℃条件下，每毫升粗酶液每小时分解几丁质产生1 mg *N*-乙酰氨基葡萄糖的酶量为一个酶活性单位。

1.3 数据分析

试验数据利用SPSS 21.0软件进行t检验和Duncan氏新复极差法($P<0.05$)统计分析，并利用OriginPro 8软件作图，用Abbott公式计算烟粉虱的校正死亡率[16]。

校正死亡率＝(处理组死亡率－对照组死亡率)/(1－对照组死亡率)×100%；

几丁质酶活性(U/mL)＝$(A_{585}+0.014\ 3)/2.357\ 5\times V_{反总}\div V_{样}=1.91\times(A_{585}+0.014\ 3)$；

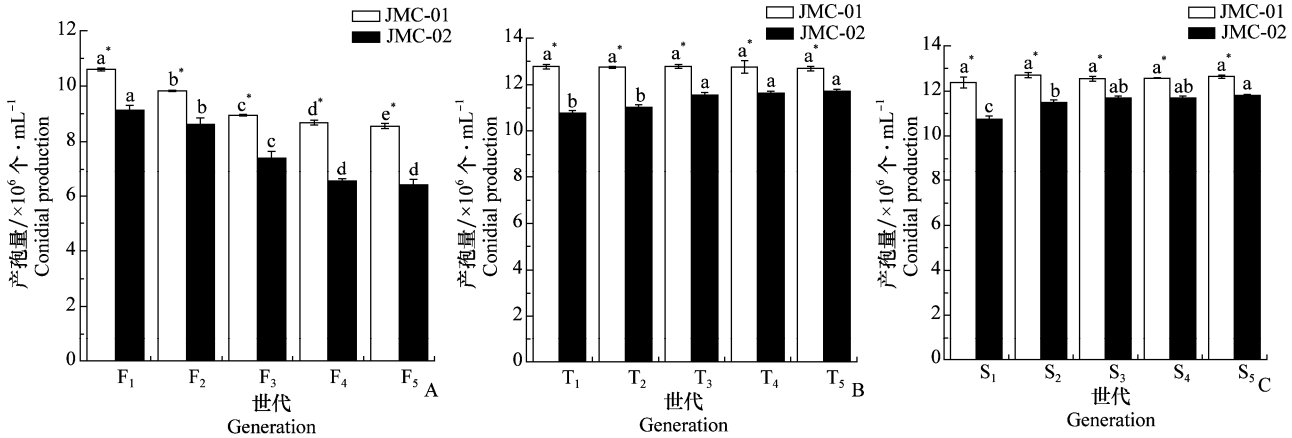
其中，$V_{反总}$：反应总体积，1.8 mL；$V_{样}$：反应体系中样本体积，0.4 mL。

2 结果与分析

2.1 不同培养基上继代培养蜡蚧轮枝菌JMC-01、JMC-02的产孢量

经过不同培养基继代培养后，蜡蚧轮枝菌JMC-01、JMC-02菌株在添加蝉蜕和烟粉虱的PDA培养基中的产孢量明显高于不添加任何物质的PDA培养基，并且JMC-01菌株每代的产孢量均显著高于JMC-02菌株。JMC-01菌株在不添加任何物质的PDA培养基、添加蝉蜕和烟粉虱的PDA培养基中F_1、T_1和S_1代的产孢量分别为1.060×10^7、1.279×10^7、1.238×10^7个/mL，添加蝉蜕和烟粉虱的PDA培养基中的产孢量高于无添加任何物质的PDA培养基。JMC-01菌株在添加蝉蜕的PDA培养基中T_3代的产孢量高达1.279×10^7个/mL，而JMC-02菌株T_3代的产孢量仅有1.156×10^7个/mL，二者之间存在显著性差异($t=9.51$，$P<0.05$)，表明JMC-01菌株比JMC-02菌株具有较强的生长能力(图1A，B，C)。

JMC-01、JMC-02菌株在不添加任何物质的PDA培养基中的产孢量随着培养代数的增加逐渐降低，与其他两种培养基中的产孢量存在差异。JMC-01菌株在不添加任何物质的PDA培养基中F_1～F_5代的产孢量分别为1.060×10^7、9.81×10^6、8.94×10^6、8.68×10^6、8.55×10^6个/mL，5代之间均存在显著性差异。JMC-01、JMC-02菌株在添加蝉蜕的PDA培养基中T_5代的产孢量保持在1.270×10^7、1.171×10^7个/mL。JMC-01、JMC-02菌株在添加烟粉虱的PDA培养基中S_5代的产孢量保持在1.265×10^7、1.181×10^7个/mL，二者之间存在显著性差异($t=9.32$，$P<0.05$)，表明JMC-01、JMC-02菌株各代在添加蝉蜕和烟粉虱的PDA培养基中的产孢量较好(图1A，B，C)。



图中数据为平均值±标准误。A: PDA培养基; B: 添加蝉蜕的PDA培养基; C: 添加烟粉虱的PDA培养基;不同的小写字母表示同一菌株培养不同代次的差异显著性($P<0.05$); *表示相同培养代次的两菌株之间的差异显著性($P<0.05$); 下同

Data are mean±SE. A: PDA medium; B: PDA medium with cicada exuviae; C: PDA medium with *Bemisia tabaci* powder. Different small letters indicate significant difference among the five generations in the same strain ($P<0.05$). * indicates significant difference between JMC-01 and JMC-02 strains subcultured in the same generation ($P<0.05$). The same applies below

图1 不同培养基上继代培养蜡蚧轮枝菌JMC-01、JMC-02的产孢量

Fig. 1 Conidial production of JMC-01 and JMC-02 growing in different media

2.2　不同培养基上继代培养的蜡蚧轮枝菌对烟粉虱的毒力

不同培养基上继代培养的蜡蚧轮枝菌对烟粉虱的毒力结果显示,蜡蚧轮枝菌 JMC-01、JMC-02 菌株在不添加任何物质的 PDA 培养基中对烟粉虱的毒力逐渐降低。接种 6 d 后,JMC-01 菌株的 F_1～F_5 代菌株侵染烟粉虱的校正死亡率从 77.33%降低到 62.67%。JMC-02 菌株的 F_1～F_5 代菌株侵染烟粉虱的校正死亡率从 76.67%降低到 53.33%(图 2A),表明蜡蚧轮枝菌 JMC-01 菌株对烟粉虱具有较好的毒力。

在添加蝉蜕和烟粉虱的 PDA 培养基中,JMC-01、JMC-02 菌株的各代菌株对烟粉虱的毒力逐渐增强。在添加蝉蜕的 PDA 培养基中,JMC-01 菌株的 T_1～T_5 代菌株对烟粉虱的校正死亡率从 81.67%上升到 86.67%,T_3 代达到最高,为 88.33%,5 代之间的校正死亡率均无显著性差异。而 JMC-02 菌株的 T_1～T_5 代菌株对烟粉虱的校正死亡率从 80.0%上升到 86.67%,T_4 代达到最高,为 88.33%,T_1 和 T_2 代的校正死亡率与 T_3～T_5 代之间存在显著性差异(图 2B)。在添加烟粉虱的 PDA 培养基中,JMC-01、JMC-02 菌株的 S_1～S_5 代菌株对烟粉虱的死亡率均保持在 81.67%以上(图 2C)。

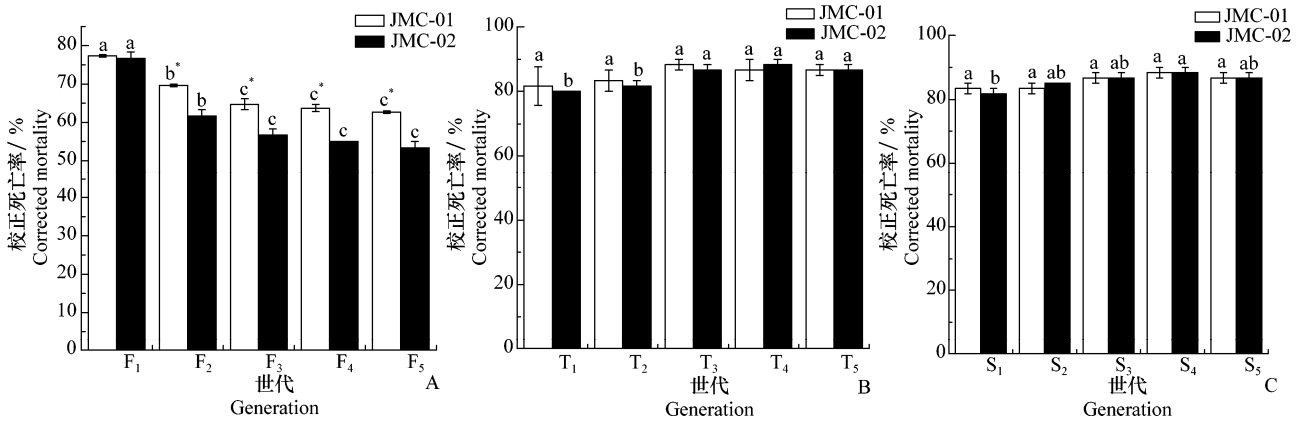


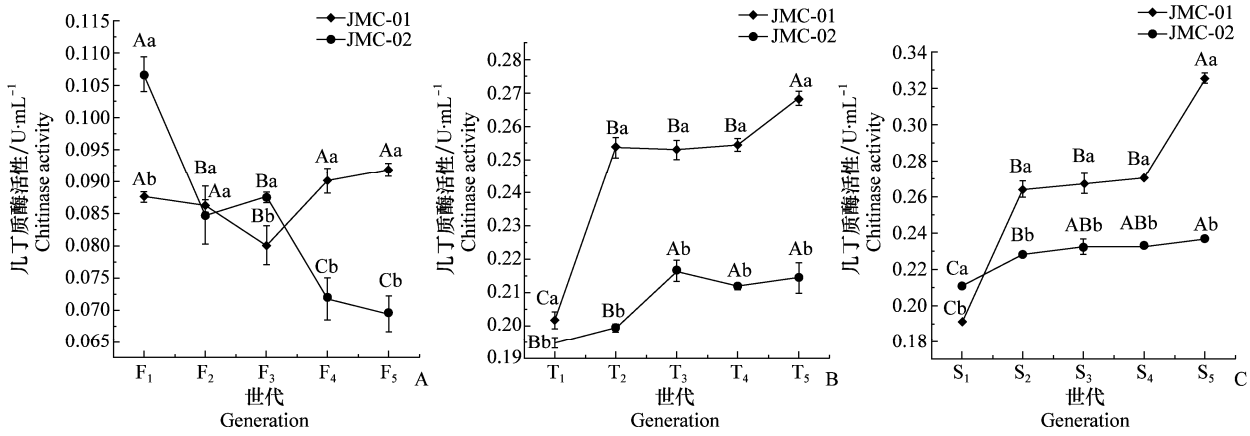
图 2　不同培养基上继代培养的蜡蚧轮枝菌对烟粉虱的毒力

Fig. 2　The virulence of JMC-01 and JMC-02 growing in different media to *Bemisia tabaci*

2.3　不同培养基上继代培养蜡蚧轮枝菌菌株几丁质酶活性的变化

不同培养基对菌株几丁质酶活性的影响存在显著差异,JMC-01、JMC-02 菌株在不添加任何物质的 PDA 培养基中的几丁质酶活性呈下降趋势。JMC-01 菌株的 F_1～F_3 代菌株的几丁质酶活性从 0.087 5 U/mL下降到 0.080 1 U/mL,但 F_4、F_5 代又有所回升,表明 JMC-01 菌株稳定性好,经过多代培养后,几丁质酶活性仍保持在 0.091 8 U/mL。JMC-02 菌株的 F_1～F_5 代菌株的几丁质酶活性从 0.106 7 U/mL下降到 0.069 5 U/mL(图 3A)。这说明菌种在多代培养过程中,适应了 PDA 培养基,出现了退化现象,因为几丁质酶活性是菌种侵染昆虫的毒力指标。

在添加蝉蜕和烟粉虱的 PDA 培养基中,JMC-01、JMC-02 菌株的 T_1～T_5 代菌株的几丁质酶活性逐渐升高。在添加蝉蜕的 PDA 培养基中,JMC-01 菌株的 T_1～T_5 代菌株的几丁质酶活性从 0.201 7 U/mL 上升到 0.268 3 U/mL;JMC-02 菌株的 T_1～T_5 代菌株的几丁质酶活性从 0.195 0 U/mL 上升到 0.214 4 U/mL。在添加烟粉虱的 PDA 培养基中,JMC-01 菌株的 S_1～S_5 代菌株的几丁质酶活性从 0.191 1 U/mL 上升到 0.325 4 U/mL;JMC-02 菌株的 S_1～S_5 代菌株的几丁质酶活性从 0.210 7 U/mL 上升到 0.236 3 U/mL。而不添加任何物质的 PDA 培养基中 JMC-01、JMC-02 菌株的几丁质酶活性只有 F_1 代最高,为 0.087 5 和 0.106 7 U/mL,这表明添加蝉蜕和烟粉虱的 PDA 培养基中两株菌的几丁质酶活性高于不添加任何物质的 PDA 培养基中两株菌的几丁质酶活性(图 3A,B,C)。



图中标不同大写字母表示世代间数据在0.05水平上差异显著，不同小写字母表示同一世代不同菌株之间数据在0.05水平上差异显著
Different capital letters on the line represent significant difference among the data of different generations (P<0.05). Different small letters represent significant difference between the two strains of the same generation (P<0.05)

图 3 不同继代培养蜡蚧轮枝菌菌株几丁质酶活性的变化

Fig. 3 Changes in the chitinase activity of *Verticillium lecanii* strains in different subcultures

2.4 菌株几丁质酶活性与毒力间的关系

将不同培养基培养得到的不同培养代数蜡蚧轮枝菌的几丁质酶活性与烟粉虱校正死亡率进行回归分析，结果显示 JMC-01 菌株几丁质酶活性(x)与烟粉虱校正死亡率(y)的回归方程为 $y=59.956+98.385x$，R 为 0.902，JMC-02 菌株的几丁质酶活性与烟粉虱校正死亡率的回归方程为 $y=44.436+188.019x$，R 为 0.950，菌株几丁质酶活性与烟粉虱校正死亡率呈显著的正相关关系，从残差分布图可以看出，观测的累积概率值接近期望的累积概率值(图 4)，说明几丁质酶活性在菌株致死烟粉虱过程中发挥重要作用，是一个重要的毒力因子。

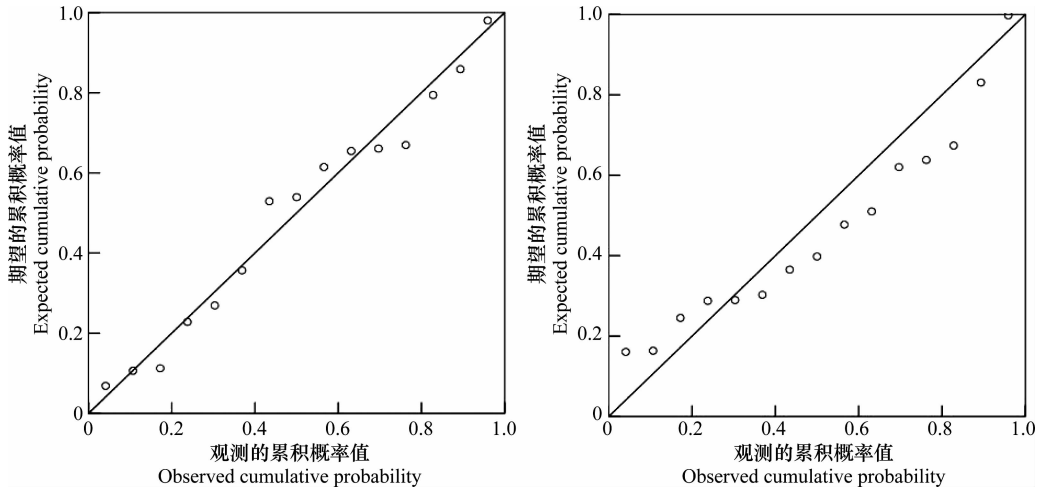


图 4 JMC-01(左)和 JMC-02(右)菌株回归标准化残差的标准 P-P 图

Fig. 4 Normal P-P of regression standardization residual of JMC-01 (left) and JMC-02 (right) strains

3 讨论

蜡蚧轮枝菌作为一种生防真菌，在农业害虫防治中具有重要的地位，在继代培养中会出现菌株变异和退化现象，高毒力菌种选育和毒力稳定性保持是蜡蚧轮枝菌生物防治应用的前提，但如何能够长久地维持其毒力和产孢能力则是蜡蚧轮枝菌在应用中需要解决的关键技术问题[17]。已有报道表明，蝉蜕等可以诱导白僵菌产孢相关蛋白的表达[18]，从而提高白僵菌菌株的产孢量。蔡春霞等研究发现从烟蚜僵虫体上分离纯化出的 8 株蜡蚧轮枝菌菌株对烟蚜毒力强，第 7 天的校正死亡率高达 84.99%[16]；方大琳从 4 株蜡蚧轮枝菌菌株中筛选 V20 菌株，对扶桑绵粉蚧 *Phenacoccus solenopsis* 的毒力比其他 3

株更强,对雌成虫的致病率达到 70.0%[19]。张慧等研究了不同培养基继代培养球孢白僵菌 *Beauveria bassiana* 对西花蓟马 *Frankliniella occidentalis* 毒力和产孢量的影响,研究发现连续使用 CMA 培养基培养得到的白僵菌分生孢子对西花蓟马的毒力和产孢量均呈下降趋势,而当在 CMA 培养基中添加适量的蝉蜕或者西花蓟马虫尸粉时能增加产孢量,稳定白僵菌菌株毒力,本文的结果与之相似[17]。

本研究表明,蜡蚧轮枝菌 JMC-01、JMC-02 菌株在添加蝉蜕和烟粉虱的 PDA 培养基中连续培养 5 代的产孢量、对烟粉虱的毒力、几丁质酶活性均高于无添加的 PDA 培养基,这与韩珍珍等的报道一致[20],且 JMC-01 菌株不同继代培养的产孢量、对烟粉虱的毒力、几丁质酶活性均显著高于 JMC-02 菌株,表明 JMC-01 菌株对烟粉虱具有更好的侵染能力。JMC-01 菌株在添加蝉蜕的 PDA 培养基中的产孢量高达 1.279×10^7 个/mL。采用添加蝉蜕和烟粉虱的 PDA 培养基继代培养的 JMC-01、JMC-02 菌株均对烟粉虱的致死率高达 88.33%,且第 5 代菌株对烟粉虱的致死率均保持在 86.67%,高于黄鹏等用 4 株蜡蚧轮枝菌对榕母管蓟马 *Gynaikothrips ficorum* 成虫的毒力[21]。经添加蝉蜕和烟粉虱的 PDA 培养基继代培养的两株菌各代的几丁质酶活性逐渐升高,均高于不添加任何物质的 PDA 培养基。这些都说明加入这两种物质能够提高菌种的产孢量和几丁质酶活性,有利于菌株的复壮。

目前防治烟粉虱主要以化学农药为主,但其毒性高、环境污染大、对人畜不安全、害虫易产生抗药性。虫生真菌对寄主的致死作用是一个复杂的过程,是菌株生物学特性和生化特征等多方面因子共同作用的结果[22-24]。通过菌株几丁质酶活性与毒力间回归分析发现,菌株几丁质酶活性与毒力显著相关,菌株几丁质酶活性越高,对烟粉虱的毒力就越大。而菌株毒力与产孢量间未呈显著相关,这与黄鹏等的报道一致[21]。当虫生真菌分生孢子在寄主昆虫体壁表面附着萌发,形成芽管和菌丝,其端部形成侵入钉,依靠侵入钉的机械压力和菌体自身分泌的胞外酶分解体壁的化学物质,其中最主要的是胞外蛋白酶和几丁质酶,是重要的毒力因子[25-26]。而本文只研究了菌株的几丁质酶活性,因此,胞外蛋白酶和脂肪酶等生化特征与菌株对烟粉虱毒力的相关性还有待进一步研究,从而为利用虫生真菌防治烟粉虱等害虫提供更多的理论支持。

参考文献

[1] 单红伟. 烟粉虱共生菌 *Hamiltonella* 的功能及垂直传播机制[D]. 杭州:浙江大学,2018.

[2] SSERUWAGI P, WAINAINA J, NDUNGURU J, et al. The first transcriptomes from field-collected individual whiteflies (*Bemisia tabaci*, Hemiptera: Aleyrodidae): a case study of the endosymbiont composition [J]. Gates Open Research, 2018 (1): 16-40.

[3] ELFEKIH S, ETTER P, TAY W T, et al. Genome-wide analyses of the *Bemisia tabaci* species complex reveal contrasting patterns of admixture and complex demographic histories [J/OL]. PLoS ONE, 2018, 13(1): e0190555. DOI: 10.1371.journal.pone.0190555.

[4] 张晓明,徐海云,杨念婉,等. 两种蚜小蜂对烟粉虱 MED 隐种的田间笼罩控效评价[J]. 植物保护学报,2018,45(6):1281-1288.

[5] 罗晨,张君明,石宝才,等. 北京地区烟粉虱 *Bemisia tabaci* (Gennadius)调查初报[J]. 北京农业科学,2000(S1):42-47.

[6] 褚栋,张友军. 近 10 年我国烟粉虱发生为害及防治研究进展[J]. 植物保护,2018,44(5):51-55.

[7] 杨悦俭,周国治,王荣青,等. 抗番茄黄化曲叶病毒病品种种植中的问题与对策[J]. 中国蔬菜,2011(21):1-4.

[8] 吴篆芳,曹坳程,郑建秋,等. 番茄黄化曲叶病毒病研究进展[J]. 作物杂志,2013(1):18-26.

[9] YANG Lingling, HUANG Ying, LIU Jie, et al. *Lysinibacillus mangiferahumi* sp. nov, a new bacterium producing nematicidal volatiles [J]. Antonie van Leeuwenhoek, 2012, 102(1): 53-59.

[10] 余垚颖,郭应菊,杨雪,等. 我国虫生真菌的研究现状[J]. 四川农业科技,2018(12):27-29.

[11] WANG Chengshu, HU Gang, ST LEGER R J. Differential gene expression by *Metarhizium anisopliae* growing in root exudate and host (*Manduca sexta*) cuticle or hemolymph reveals mechanisms of physiological adaptation [J]. Fungal Genetics and Biology, 2005, 42(8): 704-718.

[12] SMITH R J, PEKRUL S, GRULA E A. Requirement for sequential enzymatic activities for penetration of the integument of the corn earworm (*Heliothis zea*) [J]. Journal of Invertebrate Pathology, 1981, 38(3): 335-344.

[13] ST LEGER R J, CHARNLEY A K, COOPER R M. Cuticle-degrading enzymes of entomopathogenic fungi: Synthesis in culture on cuticle [J]. Journal of Invertebrate Pathology, 1986, 48(1): 85-95.

[14] BIDOCHKA M J, KHACHATOURIANS G G. *N*-acetyl-d-glucosamine-mediated regulation of extracellular protease in the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1988, 54(11): 2699-2704.

[15] 吴益东,沈晋良,陈进,等. 用点滴法和浸叶法监测棉铃虫抗

药性的比较[J]. 植物保护，1996，22(5)：3－6.
[16] 蔡春霞，李茂业，陈德鑫，等. 八株蜡蚧轮枝菌的生物学特性及其对烟蚜致病性的影响[J]. 中国烟草科学，2018，39(5)：86－93.
[17] 张慧，吴圣勇，李娟，等. 不同培养基继代培养球孢白僵菌对西花蓟马毒力和产孢量的影响[J]. 中国农业科学，2016，49(15)：2977－2987.
[18] 张璐璐，吴圣勇，王帅宇，等. 防治蓟马的球孢白僵菌 SDDZ-9 菌株液体发酵工艺优化[J]. 中国农业科学，2015，48(15)：2985－2994.
[19] 方大琳. 4 株蜡蚧轮枝菌对扶桑绵粉蚧的毒力测定[J]. 福建林业，2018(1)：42－45.
[20] 韩珍珍，谢映平，薛皎亮，等. 不同基质多代培养对蚧虫病原真菌蜡蚧霉毒力的影响[J]. 微生物学报，2010，50(2)：211－221.
[21] 黄鹏，余德亿，姚锦爱，等. 蜡蚧轮枝菌生物学特性及其与榕母管蓟马毒力的相关性[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版)，2016，44(11)：172－177.
[22] 黄大庆，姚剑. 球孢白僵菌菌株产孢量及其与毒力关系的研究[J]. 宿州师专学报，2004(2)：106－108.
[23] 刘智辉，陈守文，郭志红，等. 球孢白僵菌胞外蛋白酶和几丁质酶活性与对亚洲玉米螟毒力的相关性分析[J]. 华中农业大学学报，2005，24(4)：364－368.
[24] 林海萍，魏锦瑜，毛胜凤，等. 球孢白僵菌蛋白酶、几丁质酶、脂肪酶活性与其毒力相关性[J]. 中国生物防治，2008(3)：290－292.
[25] 蒲蛰龙，李增智. 昆虫真菌学[M]. 合肥：安徽科学技术出版社，1996：76－111.
[26] 彭国雄，张永军，杨星勇，等. 球孢白僵菌不同世代菌株胞外蛋白酶与毒力的关系[J]. 中国生物防治，2000(2)：61－64.

(责任编辑：田 喆)

(上接 59 页)

[13] 张乃芹，于凌春，王明友，等. 小麦蚜虫抗药性现状及综合治理策略[J]. 江西农业学报，2007，19(8)：50－52.
[14] 韩启虎. 大通县春小麦主要病虫害的发生特点及防治措施[J]. 现代农业科技，2013(14)：149－150.
[15] 孟克. 柴达木盆地春小麦病虫害防治措施和技术[J]. 青海农技推广，2017(4)：39－40.
[16] 孙向春，贾玉娟. 酒泉市春小麦复种冬油菜套种饲用甜高粱高效栽培技术[J]. 中国糖料，2018，40(3)：63－64.
[17] 马麟，侯生英，张贵. 青海春小麦主要病虫害的发生与综合防治[J]. 青海农林科技，2004(2)：14－16.
[18] 武予清，赵文新，蒋月丽，等. 小麦红吸浆虫成虫的黄色粘板监测[J]. 植物保护学报，2009，36(4)：381－382.
[19] 曹雅忠，李克斌，尹姣. 浅析我国地下害虫的发生与防治现状[M]. 北京：中国农业出版社，2005：389.
[20] 谢水仙，陈万权，陈扬林，等. 天水市小麦有害生物综合防治技术体系[J]. 植物保护学报，1995，22(3)：251－255.
[21] 曹世勤，何理，陈杰新，等. 平凉市崆峒区小麦条锈菌越冬调查初报[J]. 中国植保导刊，2018，38(1)：34－36.
[22] 王万军，曹世勤，王晓明，等. 小麦已知抗白粉病基因在甘肃省的有效性及其在抗病育种中的利用价值[J]. 江苏农业科学，2016，44(6)：187－190.
[23] 曹世勤，何理，陈杰新，等. 2016 年平凉市崆峒区小麦白粉病发生特点及防控策略[J]. 甘肃农业科技，2017(7)：64－66.
[24] 邵振润，周明国，仇剑波，等. 2010 年小麦赤霉病发生与抗性调查研究及防控对策[J]. 农药，2011，50(5)：385－389.
[25] 钱兰娟，李宝，许永进，等. 防治小麦赤霉病的杀菌剂应用情况分析[J]. 农药科学与管理，2019，40(5)：18－22.
[26] 侯生英. 24%福·醇悬浮种衣剂包衣防治春小麦根腐病[J]. 青海大学学报(自然科学版)，2007，25(4)：52－54.
[27] 陈志国，郜和臣，张怀刚，等. 青海柴达木盆地都兰地区农田杂草的综合防治[J]. 安徽农业科学，2003，31(3)：363－364.
[28] FAN Yinjun，SHI Xueyan. Characterization of the metabolic transformation of thiamethoxam to clothianidin in *Helicoverpa armigera* larvae by SPE combined UPLC-MS/MS and its relationship with the toxicity of thiamethoxam to *Helicoverpa armigera* larvae [J]. Journal of Chromatography B，2017，1061-1062：349－355.
[29] 刘丰茂. 农药质量与残留实用检测技术[M]. 北京：化学工业出版社，2011.

(责任编辑：田 喆)

(上接 63 页)

[4] 金怡，石利利，单正军，等. 代森锰锌及其代谢产物在荔枝与土壤中的残留动态[J]. 农村生态环境，2005，21(2)：58－61.
[5] 秦冬梅，徐应明，黄永春，等. 代森锰锌及其代谢物乙撑硫脲在马铃薯和土壤中的残留动态[J]. 环境化学，2008，27(3)：305－309.
[6] 冯秀琼，李琥，赵秋霞，等. 代森锰锌及其代谢物乙撑硫脲在苹果及土壤中的残留研究[J]. 农药，1997，36(5)：31－33.
[7] 简韬，杨仁斌，杨周宁，等. 代森锰锌在辣椒和土壤中的残留动态[J]. 安徽农业科学，2011，39(23)：14167－14169.
[8] JIAN Tao，YANG Renbin，ZHOU Yang，et al. Residue dynamics of mancozeb in *Capsicum annuum* Linn and soil [J]. Plant Diseases and Pests，2011，2(3)：45－48.
[9] 方楠，侯志广，张中北，等. 代森锰锌在芦笋和豇豆中的残留消解动态[J]. 农药，2018，57(2)：127－129.
[10] 吴振旺，余宏傲，黄金生. 代森锰锌在杨梅果实中的残留动态及安全使用技术研究[J]. 现代农业科技，2009(24)：169.

(责任编辑：田 喆)