



张胜兰, 邹晓, 商胜华, 于晓飞, 杨茂发. 响应面法优化蝉棒束孢 SLGY-2 产孢条件 [J]. 环境昆虫学报, 2020, 42 (4): 1019–1027.

响应面法优化蝉棒束孢 SLGY-2 产孢条件

张胜兰¹, 邹晓², 商胜华³, 于晓飞⁴, 杨茂发^{1,4*}

(1. 贵州大学昆虫研究所, 贵州省山地农业病虫害重点实验室, 贵阳 550025; 2. 贵州大学真菌资源研究所, 贵阳 550025;

3. 贵州省烟草科学研究院, 贵阳 550081; 4. 贵州大学烟草学院, 贵阳 550025)

摘要: 棒束孢菌 *Cordyceps* sp. 是一类重要的昆虫病原真菌, 具有开发潜能。前期 (通过生物毒力测定) 筛选一株对斜纹夜蛾具有较高毒力棒束孢 SLGY-2 菌株, 为进一步提高其产孢活力, 分别利用单因素方差法和中心组合设计配合响应面分析两种方法开展了本次研究。本研究以产孢量为指标, 选择培养基营养成分含量、pH 值、温度以及光照条件等进行单因素试验, 通过响应曲面法优化最佳产孢条件。结果表明: SLGY-2 菌株在实际和模拟较为吻合, 模型中最佳产孢条件为培养基营养成分含量为 38.3 g、pH 6.55、温度 25.21℃、光照 18.04 h。在该培养条件下, 产孢量达到 5.70×10^8 个/mL, 可用于孢子批量生产。

关键词: 斜纹夜蛾; 棒束孢; 培养基优化; 产孢量; 响应面

中图分类号: Q965, S433.4

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858 (2020) 04-1019-09

Optimization sporulation condition for *Cordyceps cicadae* SLGY-2 by response surface method

ZHANG Sheng-Lan¹, ZOU Xiao², SHANG Sheng-Hua³, YU Xiao-Fei⁴, YANG Mao-Fa^{1,4*}

(1. Institute of Entomology, Guizhou Provincial Key Laboratory for Agricultural Pest Management of the Mountainous Region, Guizhou University, Guiyang 550025, China; 2. Institute of Fungus Resource, College of Life Science, Guizhou University, Guiyang 550025, China; 3. Guizhou Academy of Tobacco Sciences, Guiyang 550081, China; 4. College of Tobacco Science, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract: As an important entomogenous fungus, the *Cordyceps* sp. has the potential to implement. *Cordyceps cicadae* SLGY-2 with high virulence on *Spodoptera litura* was acquired from previous work. Two study: 1) one-way variance method and 2) central combination design and response surface analysis, were carried out to improve spore yield. Factors included nutrient content, pH value, temperature and illumination conditions of the medium. The optimal sporulation conditions were generated by response surface method with spore yield as the index. Results showed that SLGY-2 was correlated with model. In the model, the optimal sporulation conditions were: Nutrient content of the medium was 38.3 g, pH 6.55, 25.21℃ and 18.04 h light. This can be implemented in future study in biocontrol industry.

Key words: *Spodoptera litura*; *Cordyceps*; optimization of medium; spore yield; response surface

基金项目: 中国烟草总公司贵州省公司重大科技专项“贵州烟草主要病虫害绿色防控技术的研究与应用”(201603; 201752010040001); 中国烟草总公司贵州省公司科技项目: 黔烟科合[2017]12号; 贵州省高层次创新型人才(“百”层次)培养项目(黔科合人才[2016]4022号)
作者简介: 张胜兰, 女, 1994年生, 贵州毕节人, 在读硕士研究生, 研究方向为农业昆虫与害虫防治, E-mail: 249226713@qq.com

* 通讯作者 Author for correspondence: 杨茂发, 博士, 教授, E-mail: gdgdly@126.com

收稿日期 Received: 2019-08-13; 接受日期 Accepted: 2019-12-05

昆虫病原真菌是最早用于害虫生物防治的病原微生物,在害虫持续控制、环境保护以及药品开发等方面具有独特优势。

蝉棒束孢菌 *Cordyceps cicadae* (Kepler *et al.*, 2017) 又被称为蝉拟青霉 (卫亚丽等, 2014), 是一种重要的具有生防潜力的药用资源菌 (李忠等, 2013), 可寄生膜翅目和鳞翅目中的许多昆虫 (邓淑群, 1963; 陈祝安, 1991)。该菌易培养, 产孢量大, 侵染力强, 在害虫防治上有很大的优势 (李忠等, 2013)。

Yaginuma 等 (2002) 研究蝉拟青霉对桃蛀果蛾 *Carposina sasakii* 的毒力影响时, 发现此菌对桃蛀果蛾有很强的致病性, 有望成为桃蛀果蛾微生物防治的制剂。刘又高等 (2007) 采用蝉拟青霉孢子粉处理小菜蛾 *Plutella xylostella* 幼虫发现, 蝉拟青霉可以在小菜蛾的幼虫和蛹上寄生, 并导致其死亡。欧翔 (2008) 以蝉拟青霉的孢子悬液处理蚕豆蚜虫 *Aphis craccivora* 和小菜蛾的致死率都较高, 可达 88.7%。陈官菊等 (2008) 研究发现蝉拟青霉 APC20 对小菜蛾具有致病力。谭艾娟等 (2009) 研究发现, 4 株蝉拟青霉的分生孢子和菌丝对小菜蛾的致病性有一定差异。

此外, 有报道表明这类真菌在黄酮类糖苷、类固醇等的生物转化中具有潜在用途 (Dymarska *et al.*, 2017; Ewa *et al.*, 2018; Monika *et al.*, 2018), 应用前景广阔 (Qun *et al.*, 2019)。

斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 属鳞翅目夜蛾科, 其具有食性杂、世代重叠、抗性强的特点, 防治难度大 (罗凯等, 2015; 唐二平和张传根, 2017)。在各类绿色防控技术中, 诸如性诱剂及使用药剂防治害虫均有研究报道 (罗凯等, 2015; 唐二平和张传根, 2017), 天敌 (Luo *et al.*, 2007)、斜纹夜蛾核型多角体病毒 *Spodoptera litura nucleopolyhedrovirus* (Thomas *et al.*, 2006)、莱氏野村菌 *Nomuraea rileyi* 和斯氏线虫 *Steinernema feltiae* 等 (宗瑞英, 2016) 均有成功应用报道。

据报道, 棒束孢对菜青虫 *Pieris rapae* (代永东等, 2013)、茶卷夜蛾 *Homona coffearia* 和茶小卷夜蛾 *Adoxophyes honmai* (王定锋等, 2014)、小菜蛾 (何劲等, 2010)、埃及伊蚊 *Aedes aegypti* (Ramirez *et al.*, 2018)、蚜虫 *Aphid* (Liang *et al.*, 2006)、二斑叶螨 *Tetranychus urticae* (Zhang *et al.*, 2016) 等都有一定的致病性。鉴于斜纹夜蛾危害的严重性, 蝉棒束孢属菌株对鳞翅目等害虫有致病性报

道, 本文选用一株对斜纹夜蛾相对毒力较好的蝉棒束孢菌株 SLGY-2 探究其固体培养条件, 为今后深入研究昆虫病原真菌棒束孢的孢子扩繁和生物防治应用做些基础工作。

1 材料与方法

1.1 材料

菌株: 蝉棒束孢 SLGY-2。由贵州大学生命科学学院真菌资源研究所 (GZAC) 提供, 用 PDA 斜面培养基于冰箱 (4℃) 保存。

材料: 可溶性淀粉、甘油、蔗糖、麦麸、黄豆粉、酵母粉等。

仪器: 人工气候箱, 恒温培养箱, 超净工作台, 立式灭菌锅等。

1.2 方法

1.2.1 培养基配置和产孢量测定

参照沈萍和陈向东 (2007) 方法配置以下培养基, PDA 基础培养基: 马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g、琼脂 15~20 g、水 1 000 mL; 改良 PDA 培养基 1: (加入碳源、氮源: 可溶性淀粉、甘油、蔗糖、麦麸、黄豆粉、酵母粉各 2.5 g, 共 15 g); 改良 PDA 培养基 2: (加入碳源、氮源: 可溶性淀粉、甘油、蔗糖、麦麸、黄豆粉、酵母粉各 5 g, 共 30 g); 改良 PDA 培养基 3: (加入碳源、氮源: 可溶性淀粉、甘油、蔗糖、麦麸、黄豆粉、酵母粉各 7.5 g, 共 45 g); 改良 PDA 培养基 4: (加入碳源、氮源: 可溶性淀粉、甘油、蔗糖、麦麸、黄豆粉、酵母粉各 10 g, 共 60 g); pH 值均为自然, 1×10^5 Pa 灭菌 30 min。

在超净工作台用无菌接种环挑取培养 7 d 的菌种, 在培养基上分别接 3 个点, 约 5 mm 大小; 同样方法分别接入 5 种改良直径 90 mm 培养基上, 每个处理 3 个重复; 接菌后在培养箱进行培养观察 (25℃), 48 h 后第 1 次观察记录, 之后每 24 h 观察 1 次。第 7 天用十字交叉法测量菌落直径, 然后用 0.05% 吐温-80 无菌水洗脱培养基中的菌丝和孢子粉, 刮取孢子液装入离心管充分震荡摇匀 30 min, 离心管中装入研磨珠以充分打散孢子粉。待分生孢子完全被打散均匀后, 用无菌脱脂纱布过滤, 弃去杂物和培养基残留物, 配成 5 mL 孢子悬浮液, 同样 3 次重复。最后用血球计数板 (25×16 型) 进行孢子数计数, 计算产孢量。

孢子浓度计算方法: 计数血球计数板 4 个角

和中央共 5 个中方格（80 个小方格）的孢子数，重复 3 次求得平均值，血球计数板（25 × 16 型）公式：酵母细胞个数/mL = 80 个小方格细胞总数/80 × 400 × 10 000 × 稀释倍数。

1.2.2 不同 pH 值条件下产孢量测定

同 1.2.1 在超净工作台将菌株接种在 PDA 培养基，置于 pH 值分别为 5.5、6.5、7.5、8.5、9.5 条件的生化培养箱（T = 25 ± 1℃，RH = 75% ± 5%，L:D = 18:6）培养。每个处理 3 个重复，同上观察记录计数。

1.2.3 不同温度条件下产孢量测定

同 1.2.1 在超净工作台将菌株接种在 PDA 培养基，置于温度分别为 10、15、20、25、30℃ 的生化培养箱（RH 75% ± 5%，L:D = 18:6）培养，

每个处理 3 个重复，同上观察记录计数。

1.2.4 不同光照时间产孢量测定

同 1.2.1 在超净工作台将菌株接种在 PDA 培养基，置于光照时间分别为 0 h、6 h、12 h、18 h、24 h 生化培养箱（25 ± 1℃，RH 75% ± 5%）培养，每个处理 3 个重复，同上观察记录计数。

1.2.5 响应面分析及验证实验

在单因素试验条件的基础上，选择培养基营养成分含量、温度、pH 值、光照时间 4 个因素作为响应变量，按照 Box-Behnken 中心组合设计建立四因素三水平数学模型，以产孢量为响应值，因素与水平编码（表 1）。以 Design-Expert 8.0 的响应曲面法分析得出一个优化条件，重复以上培养基的制备和试验方法，验证试验结果。

表 1 因素与水平编码
Table 1 Coding of factors and levels

水平 Level	A 培养基营养成分含量 (g) Nutrient content of medium	B pH 值 pH value	C 温度 (℃) Temperature	D 光照时间 (h) Light
-1	15	5.5	20	12
0	30	6.5	25	18
1	45	7.5	30	24

1.3 数据处理

数据采用 SPSS 17.0 软件进行系统分析，Design-Expert 8.0.6.1 软件对数据进行响应面组合及方差分析。

2 结果与分析

2.1 单因素产孢量试验结果

2.1.1 不同培养基营养成分含量的产孢量

蝉棒束孢 SLGY-2（PDA 和改良培养基 1）的培养基营养成分含量在 0 ~ 15 g 时，产孢量呈增加趋势，当添加营养成分含量为 30 g 时，即改良培养基 2 中的产孢量最多，达到了 5.38×10^8 个/mL，显著多于其他配方组，之后在营养成分含量为 45 ~ 60 g 时，产孢量逐渐减少（图 1）。

2.1.2 不同 pH 值产孢量的测定

在 pH 值为 6.5 时，蝉棒束孢 SLGY-2 的产孢量达到最大，为 8.72×10^7 个/mL，显著高于其他 pH 值试验组。在 pH 值 7.5 ~ 9.5 范围内产孢量呈现梯度递减，最低仅 2.59×10^7 个/mL，各 pH 值处理间差异显著。pH 过酸或过碱都不利于产孢，

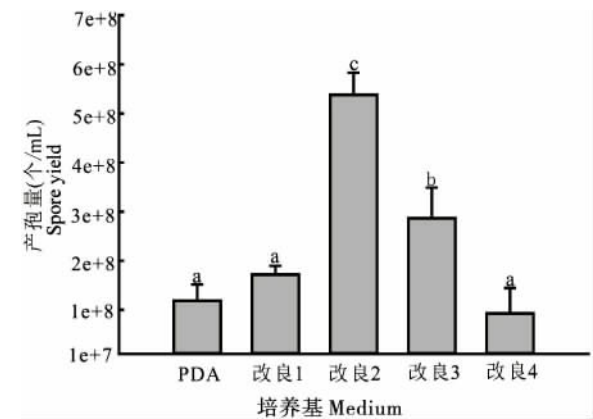


图 1 不同培养基营养成分含量的产孢量
Fig. 1 Spore yield of strain SLGY-2 of media of different nutrient components

显著低于其他试验组；在中性值为 7.5 时的产孢量也未能达到最高。因此，选择 pH 值为 6.5 较为适宜（图 2）。

2.1.3 不同温度产孢量的测定

菌株 SLGY-2 产孢量在 25℃ 条件下最高，达到 3.86×10^7 个/mL，显著高于其他温度条件下的产孢量。在 10℃ 条件下的产孢量最低，但与 15℃、20℃、30℃ 下的产孢量无显著差异（图 3）。

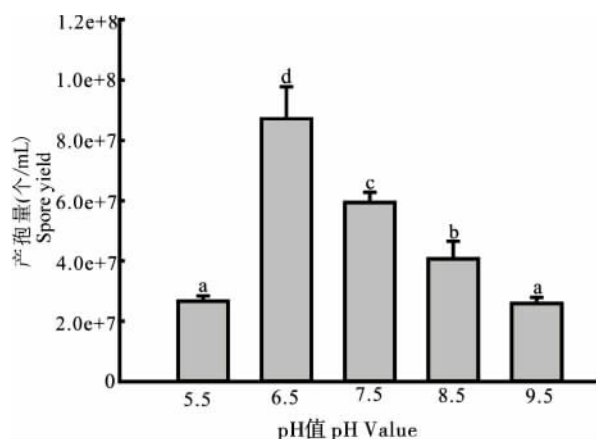


图2 不同pH值的产孢量

Fig. 2 Spore yield of strain SLGY-2 at different pH values

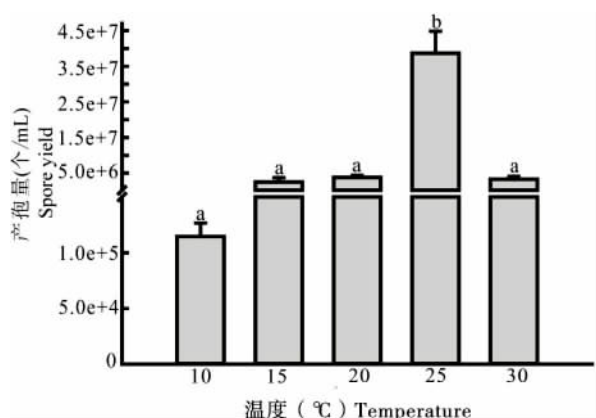


图3 不同温度的产孢量

Fig. 3 Spore yield of strain SLGY-2 in different constant temperatures

2.1.4 不同光照时间产孢量的测定

在全黑暗环境下不利于蝉棒束孢 SLGY-2 产孢。光照时长在每天 6~18 h 时,产孢量随着光照时间的延长而增加;光照 18 h 时,产孢量达到最大值 3.87×10^8 个/mL,显著高于其他光照时长处理。至光照 24 h 产孢量又稍有下降(图 4)。

2.2 Box-Behnken 响应面试验设计及曲面分析结果

2.2.1 响应面试验分析

响应面试验设计结果(表 2)。利用 Design-Expert 8.0 软件对表 2 中的蝉棒束孢 SLGY-2 产孢量以及 4 个因素进行统计分析,得到各单因子的显著性,结果如表 3 所示;并得到了产孢量(Y)对自变量培养基营养成分含量(A)、pH 值(B)、温度(C)以及光照时间(D)的多元二次回归方

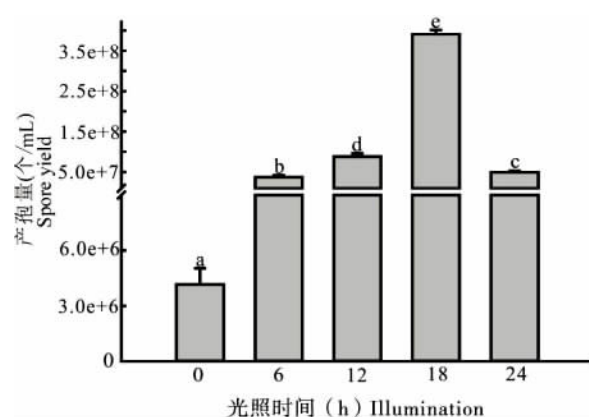


图4 不同光照时间的产孢量

Fig. 4 Spore yield of strain SLGY-2 in different light: dark cycle

程为: $Y = 6.72 \times 10^8 - 1.05 \times 10^7 A + 2.18 \times 10^7 B + 1.63 \times 10^7 C - 2.66 \times 10^6 D + 1.50 \times 10^7 AB + 1.86 \times 10^7 AC + 1.07 \times 10^7 AD - 7.20 \times 10^6 BC + 9.39 \times 10^7 BD - 9.84 \times 10^7 CD - 3.18 \times 10^8 A^2 - 3.05 \times 10^8 B^2 - 3.12 \times 10^8 C^2 - 2.64 \times 10^8 D^2$ 。

响应面试验方差分析(表 3)结果可以看出,方程模型的 $P < 0.0001 < 0.01$,表明该方程模型极显著,方程能很好地拟合试验结果。失拟项 $P = 0.9752 > 0.05$,差异不显著,说明该回归模型的预测值与实测值有较好的拟合水平,该模型适用于对蝉棒束孢 SLGY-2 产孢条件优化分析和预测。由方差分析可知,二次项培养基营养成分含量(A^2)、pH 值(B^2)、温度(C^2)、光照时间(D^2)的 P 值均小于 0.0001,达到极显著水平。两两因素交互, pH 值与光照时长(BD)和温度和光照时长(CD)的交互作用显著, P 值都小于 0.05,差异显著。

2.2.2 响应面曲面分析

从响应面曲线及等高线图进行分析,可以直观看出优化区域;两两因素交互作用的强弱主要由响应面图的形状呈现出来,响应面图形状陡峭,表示两因素交互作用显著。

从响应面分析图可以直观看出,4 个因素两两之间的交互作用对蝉棒束孢 SLGY-2 产孢量有影响,开始随着两因素的增加而增加,当产孢量达到极值后,逐渐减小。图中的优化区域可以直观看出,从而得到较高的产孢量。(光照时间-pH 值)模型和(光照时间-温度)模型的交互作用显著($P < 0.05$),随着光照时长的增加和 pH 值

表 2 Box-Behnken 响应面试验设计结果

Table 2 The results of Box-Behnken response surface design

试验号	A 培养基营养成分含量 (g)	B pH 值	C 温度 (℃)	D 光照时长 (h)	Y 产孢量 (个/mL)
Test number	Media of nutrient components	pH values	Temperatures	Light	Spore yields
1	-1	-1	0	0	6.50E+07
2	-1	0	0	1	5.24E+07
3	0	-1	-1	0	1.32E+07
4	0	0	0	0	6.97E+08
5	1	1	0	0	9.10E+07
6	1	0	-1	0	1.87E+07
7	0	-1	1	0	3.16E+07
8	0	1	0	1	2.99E+08
9	0	1	1	0	1.02E+07
10	1	0	0	1	5.89E+07
11	-1	1	0	0	7.22E+07
12	0	0	1	1	1.17E+07
13	0	0	0	0	6.03E+08
14	1	0	0	-1	3.40E+07
15	-1	0	0	-1	7.06E+07
16	0	0	1	-1	2.89E+08
17	-1	0	-1	0	9.31E+07
18	-1	0	1	0	6.95E+07
19	1	0	1	0	6.97E+07
20	0	0	0	0	8.13E+08
21	0	0	-1	1	1.28E+08
22	0	0	0	0	4.95E+08
23	0	-1	0	-1	1.37E+08
24	0	1	0	-1	5.01E+07
25	1	-1	0	0	2.35E+07
26	0	-1	0	1	1.01E+07
27	0	0	-1	-1	1.14E+07
28	0	0	0	0	7.54E+08
29	0	1	-1	0	2.06E+07

增大, 蝉棒束孢 SLGY-2 的产孢量也随之增加, 增加到一定程度时, 产孢量有下降的趋势; pH 值和光照时长交互作用响应曲面图 (图 5A) 的坡度陡, 等高线图 (图 5B) 呈现椭圆形, 说明对该菌的产孢量亦呈现先增加后下降趋势。随着光照时

长和温度的增加, 产孢量也随之增加, 到一定值也下降; 光照时长和温度交互作用响应曲面图 (图 6A) 的坡度陡, 等高线图 (图 6B) 呈现椭圆形, 对该菌的产孢量影响显著。

表 3 Box-Behnken 响应面方差分析
Table 3 Variance analysis of Box-Behnken response surface design

方差来源 Source	平方和 Square sum	自由度 df	均方 Mean square	F 值 F-number	F < Pr
A	1.34E + 15	1	1.34E + 15	0.19	0.6689
B	5.75E + 15	1	5.75E + 15	0.82	0.3816
C	3.22E + 15	1	3.22E + 15	0.46	0.5098
D	8.53E + 13	1	8.53E + 13	0.01	0.9139
AB	9.09E + 14	1	9.09E + 14	0.13	0.7248
AC	1.39E + 15	1	1.39E + 15	0.20	0.6636
AD	4.64E + 14	1	4.64E + 14	0.07	0.8011
BC	2.07E + 14	1	2.07E + 14	0.03	0.8662
BD	3.53E + 16	1	3.53E + 16	5.01	0.0420
CD	3.88E + 16	1	3.88E + 16	5.51	0.0342
A ²	6.58E + 17	1	6.58E + 17	93.37	< 0.0001
B ²	6.05E + 17	1	6.05E + 17	85.84	< 0.0001
C ²	6.33E + 17	1	6.33E + 17	89.88	< 0.0001
D ²	4.53E + 17	1	4.53E + 17	64.30	< 0.0001
模型 Model	1.59E + 18	14	1.14E + 17	16.15	< 0.0001
残差 Residual	9.86E + 16	14	7.05E + 15		
失拟 Lack of fit	3.53E + 16	10	3.53E + 15	0.22	0.9752
误差 Pure error	6.33E + 16	4	1.58E + 16		
总和 Cor total	1.69E + 18	28			

注: ** 极显著水平 ($P < 0.01$); * 显著水平 ($P < 0.05$)。Note: ** Extremely significant level ($P < 0.01$); * Significance level ($P < 0.05$)。

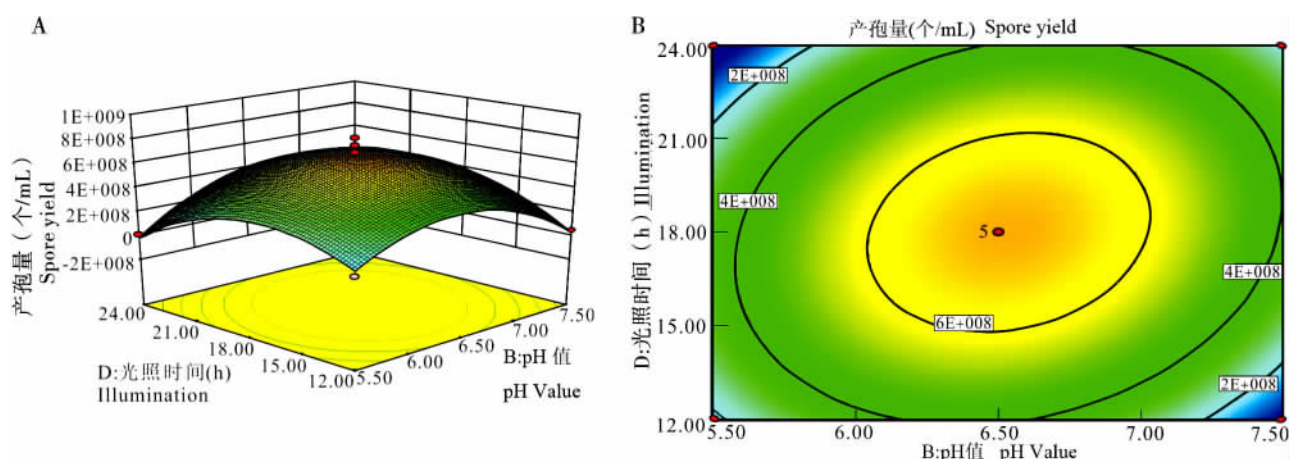


图 5 光照时间和 pH 值对产孢量影响的响应面图 (A) 和等高线图 (B)

Fig. 5 Response surface map (A) and contour map (B) of the influence of light and pH value on sporulation quantity

2.2.3 产孢条件确定及验证

结合 Design-Expert 8.0.6.1 软件对数据处理及响应值预测, 对响应曲面图和等高线分析, 为验

证模型预测的准确性及产孢条件的优化, 模型中产孢量优化条件为: 培养基营养成分含量 38.3 g、pH 6.55、25.21℃、光照 18.04 h, 在该培养条件

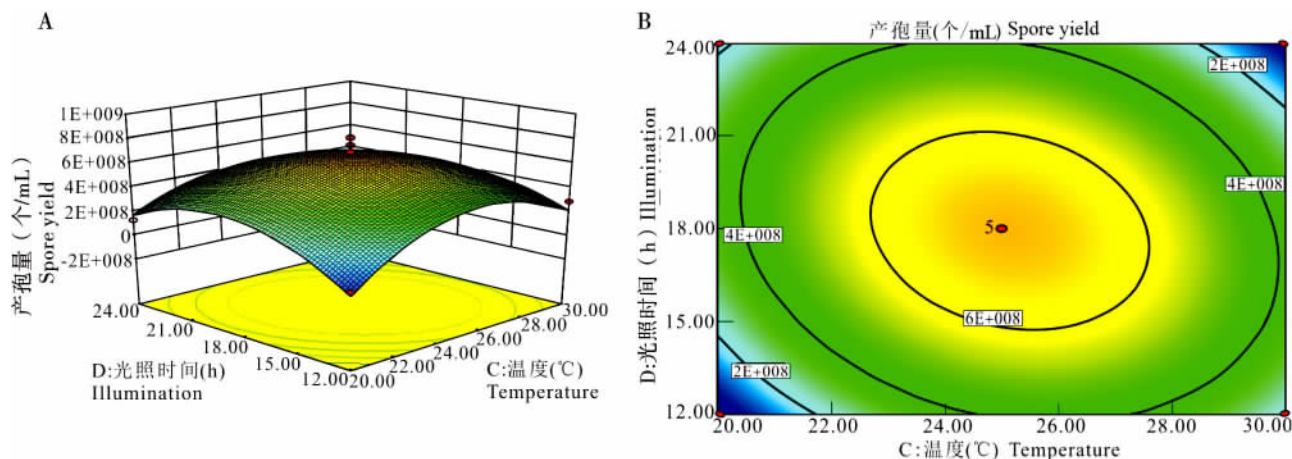


图6 光照时间和温度对产孢量影响的响应面图 (A) 和等高线图 (B)

Fig.6 Response surface map (A) and contour map (B) of the influence of light and temperature on sporulation quantity

下, 产孢量达到 5.70×10^8 个/mL。本研究实际试验测定设定培养基营养成分含量 38 g、pH 6.5、25℃、光照 18 h 验证, 重复 3 次, 产孢量的值为 $5.70 (\pm 0.49) \times 10^8$ 个/mL。实际测定结果与模型优化条件结果基本相符, 可以证明响应面法优化蝉棒束孢 SLGY-2 产孢条件具有可行性。

3 结论与讨论

微生物的生长需要碳源、氮源以及适宜其生长的环境条件 (张文芝和郭坚华, 2013)。从本研究结果来看, 不同培养基和生长条件对真菌产孢量有较大影响。本试验通过单因素试验和响应曲面分析法对目标菌株蝉棒束孢 SLGY-2 的培养条件优化。

陈祝安等 (1990) 采用煮熟的小麦、大麦以及玉米、豆饼、麸皮和谷壳等进行室温固体发酵发现, 培养基中的碳源、氮源影响蝉拟青霉的产孢量和孢梗束的生长。狄雪源 (2015) 等选用不同培养基配方, YS03 球孢白僵菌产孢量最大。本研究在单因素条件中不同培养基营养成分含量在 30 g 时, 可获得最高的产孢量 (5.38×10^8 个/mL)。单因素条件选用不同碳源和氮源按 1:1 的比例, 按不同添加量对培养基进行改良。但未对不同碳源和氮源按不同比例对产孢量的影响进行研究, 有待继续探索不同比例和不同用量对产孢量的影响。

李忠 (2013) 对蝉棒束孢 LB 菌株液体培养特性研究时发现, 培养液的 pH 值影响蝉棒束孢菌丝

生长。本实验也发现适宜产孢的最佳 pH 值为 6.5, pH 值在 4.5 时, 培养基不凝固, 不能进行接菌培养; 当 pH 值在 9.5 时培养基凝固, 但蝉棒束孢 SLGY-2 生长缓慢且产孢极少; 偏酸或偏碱性都不利于产孢。适宜温度为 25℃, 与许明敏 (2012) 以 Richard 液为培养基 25℃ 适宜产孢相近; 当温度低于 15℃ 或高于 30℃ 时菌株生长慢且未能见明显孢子粉, 不利于产孢。全黑暗时产孢也未见明显孢子粉, 最适光照时间为 18 h, 光照时长影响蝉棒束孢产孢量。结合响应曲面分析法对蝉棒束孢 SLGY-2 的培养条件进行探究, 产孢量较单因素的条件有所提高。

本文从固体培养条件的优化对其产孢量的影响进行探究, 运用响应曲面分析法探究培养基营养成分含量、pH 值、温度以及光照时间 4 个因素对蝉棒束孢 SLGY-2 产孢量的影响。经过响应曲面分析产孢量最优组合: 培养基营养成分含量 38.3 g、pH 6.55、25.21℃、光照 18.04 h。适宜于为进一步探究蝉棒束孢固体培养条件的优化。

参考文献 (References)

- Cantone FA, Vandenberg JD. Intraspecific diversity in *Paecilomyces fumosoroseus* [J]. *Mycological Research*, 1998, 102 (2): 209 - 215.
- Chen GJ, Chai YQ, Li XL, et al. Experiment on the indoor toxicity of *Paecilomyces cicadae* APC20 to *Plutella xylostella* [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2008, 36 (6): 2380 - 2381. [陈官菊, 柴一秋, 厉晓腊, 等. 蝉拟青霉 APC20 菌株对小菜蛾的室内毒力试验 [J]. 安徽农业科学, 2008, 36 (6): 2380 - 2381]
- Chen ZA, Huang JR, Xu YW, et al. Management on *Pieris rapae* by *Paecilomyces cicadae* [J]. *Chinese Journal of Biological Control*,

- 1990, 6 (3): 131–133. [陈祝安, 黄基荣, 许益伟, 等. 蝉拟青霉防治菜粉蝶幼虫试验 [J]. 中国生物防治学报, 1990, 6 (3): 131–133]
- Chen ZA. Study on the entomogenous fungus *Paecilomyces cicadae* [J]. *Mycosystema*, 1991, 10 (4): 280–287. [陈祝安. 虫生真菌蝉拟青霉的研究 [J]. 菌物学报, 1991, 10 (4): 280–287]
- Dai YD, Yu H, Yang K. Identifying a sporocarp – inhabiting fungus *Isaria farinose* and analyzing its molecular phylogeny of ITS sequence [J]. *Edible Fungi of China*, 2013, 32 (5): 46–52. [代永东, 虞泓, 杨坤. 1 株重寄生真菌棒束孢鉴定及系统发育分析 [J]. 中国食用菌, 2013, 32 (5): 46–52]
- Deng SQ. Chinese Fungi [M]. Beijing: Science Press, 1963. [邓淑群. 中国的真菌 [M]. 北京: 科学出版社, 1963]
- Di XY, Yang MF, Zou X. Optimization of sporulation medium of *Beauveria bassiana* YS03 controlling rice water weevil *Lissorhoptrus oryzophilus* [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2015, 37 (4): 800–806. [狄雪源, 杨茂发, 邹晓. 防治稻水象甲优效球孢白僵菌 YS03 菌株产孢培养基优化 [J]. 环境昆虫学报, 2015, 37 (4): 800–806]
- Dymarska M, Grzeszczuk J, Urbaniak M, et al. Glycosylation of 6-methylflavone by the strain *Isaria fumosorosea* KCHJ2 [J]. *PLoS ONE*, 2017, 12 (10): 1–14.
- Ewa K, Natalia H, Jordan S, et al. Biotransformation of steroids by entomopathogenic strains of *Isaria farinose* [J]. *Microbial Cell Factories*, 2018, 17 (1): 71–82.
- Han YF, Zhang YW, Liang JD, et al. Preliminary studies on the pathogenicity of some *Paecilomyces* isolates to *Plutella xylostella* [J]. *Plant Protection*, 2008, 34 (2): 46–49. [韩燕峰, 张延威, 梁建东, 等. 一些拟青霉菌株对小菜蛾致病性的初步研究 [J]. 植物保护, 2008, 34 (2): 46–49]
- He J, Kang JC, Lei BX, et al. Identification of four entomogenous fungi and preliminary evaluation on their insecticidal activities to *Plutella xylostella* [J]. *Journal of Plant Protection*, 2010, 37 (4): 341–346. [何劲, 康冀川, 雷帮星, 等. 四株虫生真菌的鉴定及其对小菜蛾的室内毒力 [J]. 植物保护学报, 2010, 37 (4): 341–346]
- Kepler RM, Luangsa-Are JJ, Hywel-jones NL, et al. A phylogenetically-based nomenclature for Cordycipitaceae (Hypocreales) [J]. *IMA Fungus*, 2017, 8 (2): 335–353.
- Li FB, Fang LJ, Guo LM. Solid culture conditions of a strain of *Paecilomyces* with high virulence to peach buds [J]. *Anhui Agricultural Science Bulletin*, 2008, 14 (23): 47, 14. [李丰伯, 方乐金, 郭丽敏. 一株对桃芽有较高毒力的环链拟青霉菌株的固体培养条件的研究 [J]. 安徽农学通报, 2008, 14 (23): 47, 14]
- Li Z, Jin DC, Zhao Z, et al. Research on characteristics of *Isaria cicadae* strain LB in submerged culture [J]. *China Plant Protection*, 2013, 33 (7): 13–16. [李忠, 金道超, 赵致, 等. 蝉棒束孢 LB 菌株液体培养特性研究 [J]. 中国植保导刊, 2013, 33 (7): 13–16]
- Liang ZQ, Han YF, Chu HL. Studies on the genus *Paecilomyces* in China. IV. Two new species of *Paecilomyces* with monophialides [J]. *Mycotaxon*, 2006, 97: 13–20.
- Liu AY, Hu HY, Liang ZQ, et al. A new record of *Isaria* in China [J]. *Mycosystema*, 2010, 29 (1): 128–131. [刘爱英, 胡海燕, 梁宗琦, 等. 我国棒束孢一新记录种—炭角棒束孢 *Isaria xylariiformis* [J]. 菌物学报, 2010, 29 (1): 128–131]
- Liu YG, Wang GY, Li XL, et al. The pathogenicity of the spores of *Paecilomyces cicadae* on *Plutella xylostella* [J]. *Chinese Bulletin of Entomology*, 2007 44 (2): 256–258. [刘又高, 王根镠, 厉晓腊, 等. 蝉拟青霉孢子粉对小菜蛾的致病性试验 [J]. 昆虫知识, 2007, 44 (2): 256–258]
- Luo K, Li ZS, Gao Y, et al. Advances in biological control research of *Spodoptera litura* [J]. *Journal of Anhui Agricultural Science*, 2015, 43 (10): 126–129. [罗凯, 李泽生, 高燕, 等. 斜纹夜蛾生物防治研究进展 [J]. 安徽农业科学, 2015, 43 (10): 126–129]
- Luo K, Trumble JT, Pang Y. Development of microplitis bicoloratus on *Spodoptera litura* and implications for biological control [J]. *Biological Control*, 2007, 52 (3): 309–321.
- Monika D, Tomasz J, Edyta KS. Biotransformations of flavones and an isoflavone (Daidzein) in cultures of entomopathogenic filamentous fungi [J]. *Molecules*, 2018, 23 (6): 1356–1371.
- Ou X. Study on Insecticidal Effect of *Paecilomyces cicadae* [D]. Guizhou: Guizhou University Master Thesis, 2008. [欧翔. 蝉拟青霉杀虫作用的研究 [D]. 贵州: 贵州大学硕士论文, 2008]
- Qun FW, Xiao FZ, Wei C, et al. Secondary metabolites and the risks of *Isaria fumosorosea* and *Isaria farinose* [J]. *Molecules*, 2019, 24 (4): 664–681.
- Rai JN, Tewari JP, Sinha AK. Effect of environmental conditions on sclerotia and cleistothecia production in aspergillus [J]. *Mycopathologia et Mycologia Applicata*, 1967, 31 (3–4): 209–224.
- Ramirez JL, Muturi EJ, Christopher D, et al. Strain – specific pathogenicity and subversion of phenoloxidase activity in the mosquito *Aedes aegypti* by members of the fungal entomopathogenic genus *Isaria* [J]. *Scientific Reports*, 2018, 8 (1): 9896.
- Shen P, Chen XD. Experiment of Microbiology. (4th edition) [M]. Beijing: Higher Education Press, 2007. [沈萍, 陈向东. 微生物学实验 (第4版) [M]. 北京: 高等教育出版社, 2007]
- Tan AJ, Ou X, Liu AY. Study on pathogenicity of *Paecilomyces cicadae* to *Plutella xylostella* [J]. *Modern Agricultural Sciences and Technology*, 2009, 15: 369, 373. [谭艾娟, 欧翔, 刘爱英. 蝉拟青霉对小菜蛾致病性的研究 [J]. 现代农业科技, 2009, 15: 369, 373]
- Tang EP, Zhang CG. Evaluation of the control effects of several biological pesticides on *Spodoptera litura* [J]. *Anhui Agricultural Science*, 2017, 23 (9): 87–96. [唐二平, 张传根. 几种生物农药对茶园斜纹夜蛾的控制效果评价 [J]. 安徽农学通报, 2017, 23 (9): 87–96]
- Thomas A, Elizabeth PM, Fei L. The miRNA – processing enzyme dicer is essential for the morphogenesis and maintenance of hair

- follicles [J]. *Current Biology*, 2006, 16 (10): 1041 – 1049.
- Wang DF, Yang G, Wang QS, *et al.* Identification of two *Isaria* isolates and bioassay of their pathogenicity against tea tortrix *Homona coffearia* and smaller tea tortrix *Adoxophyes honmai* [J]. *Journal of Plant Protection*, 2014, 41 (5): 531 – 539. [王定锋, 杨广, 王庆森, 等. 两株棒束孢菌的鉴定及其对茶卷叶蛾和茶小卷叶蛾的致病力 [J]. 植物保护学报, 2014, 41 (5): 531 – 539]
- Wang LD, You MS, Huang J, *et al.* Diversity of entomopathogenic fungi and their application in biological control [J]. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 2010, 32 (5): 920 – 927. [王联德, 尤民生, 黄建, 等. 虫生真菌多样性及其在害虫生物防治中的作用 [J]. 江西农业大学学报, 2010, 32 (5): 920 – 927]
- Wei YL, Yang MF, Zou X, *et al.* Review on bioactive components from *Isaria cicadae* [J]. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2014, 42 (12): 142 – 148. [卫亚丽, 杨茂发, 邹晓, 等. 蝉棒束孢菌的生物学活性研究进展 [J]. 贵州农业科学, 2014, 42 (12): 142 – 148]
- Xu MM, Yu WJ, Pan LH, *et al.* Study on culture conditions of strain of *Cordyceps cicadae* [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2012, 39 (16): 116 – 119. [许明敏, 余文娟, 潘丽辉, 等. 蝉花深层发酵培养条件优化的研究 [J]. 广东农业科学, 2012, 39 (16): 116 – 119]
- Yaginuma K. *Paecilomyces cicadae* Samson isolated from soil and cicada, and its virulence to the peachfruit moth, *Carposina sasakii* Matsumura [J]. *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology*, 2002, 46 (4): 225 – 232.
- Ze SZ, Zhou N, Liu HP, *et al.* Production process of *Paecilomyces farinosus*, an entomopathogenic fungus [J]. *Journal of West China Forestry Science*, 2006, 35 (1): 112 – 116. [泽桑梓, 周楠, 刘宏屏, 等. 虫生真菌粉拟青霉生产工艺 [J]. 西部林业科学, 2006, 35 (1): 112 – 116]
- Zhang WZ, Guo JH. Research advances in microbial fermentation process optimization [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2013, 40 (6): 114 – 117. [张文芝, 郭坚华. 微生物发酵工艺优化研究进展 [J]. 广东农业科学, 2013, 40 (6): 114 – 117]
- Zhang XN, Jin DC, Zou X, *et al.* Laboratory and field evaluation of an entomopathogenic fungus, *Isaria catenianulata* strain 08XS – 1, against *Tetranychus urticae* (Koch) [J]. *Pest Management Science*, 2016, 72 (5): 1059 – 1066.
- Zong RY. Study on the Sensitivity of Different Families of *Spodoptera litura* to Insecticidal Microorganisms [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural College Master Thesis, 2016. [宗瑞英. 斜纹夜蛾不同家系对杀虫微生物敏感性差异研究 [D]. 南京: 南京农业大学硕士论文, 2016]