

感染松墨天牛的金龟子绿僵菌菌株的初步筛选

何学友^{1,2}, 陈顺立^{1*}, 黄金水²

(1. 福建农林大学林学院, 福州 350002; 2. 福建省林业科学研究院, 福州 350012)

摘要: 松墨天牛是松材线虫病的主要媒介昆虫。本文对分离自松墨天牛的 6 株金龟子绿僵菌, 以及从光肩星天牛、大蜡螟、伊藤厚丝角叶蜂和土蜡上分离的各 1 个菌株, 共 10 个菌株的产孢情况、孢子萌发率进行研究; 在此基础上选出金龟子绿僵菌 1291、1349 和 2049 三个菌株及球孢白僵菌 F-263 菌株, 采用成虫附节接种法和幼虫浸渍法进行室内松墨天牛及大蜡螟的毒力测定比较。结果表明, 供试绿僵菌菌株对松墨天牛幼虫在接种 15 天后的感染僵虫率为 76.9% ~ 93.1% (1×10^7 孢子/mL); 成虫在接种 20 天后的僵虫率亦达 57.9% ~ 75.0% (6.5×10^5 ~ 3.4×10^6 孢子/成虫); 2049 菌株表现尤其突出; 对应的球孢白僵菌 F-263 对幼虫和成虫的僵虫率分别是 96.3% (1×10^7 孢子/mL) 和 55% (9.7×10^5 孢子/成虫)。但这 3 个金龟子绿僵菌菌株对大蜡螟的毒力较低, 存在较明显的寄主专化性。这 3 个菌株今后在防治松墨天牛方面具有较大开发应用价值。

关键词: 松墨天牛; 金龟子绿僵菌; 菌株筛选; 产孢量; 发芽率; 致病力

中图分类号: Q965 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2005)06-0975-07

Preliminary screening of virulent strains of *Metarhizium anisopliae* against *Monochamus alternatus*

HE Xue-You^{1,2}, CHEN Shun-Li^{1*}, HUANG Jin-Shui² (1. Forestry College of Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 2. Fujian Academy of Forestry, Fuzhou 350012, China)

Abstract: *Monochamus alternatus* is the major vector of pinewood nematode disease, *Bursaphelenchus xylophilus*. Ten strains of *Metarhizium anisopliae*, of which six isolated from *M. alternatus*, and four from *Anoplophora glabripennis*, *Pachynematus itoi*, *Galleria mellonella* and a burrower bug (Cydnidae) at different locations, were tested for the sporogenous ability and spore germination rate. Three strains of *M. anisopliae* (1291, 1349, and 2049) were selected, and their virulences to *M. alternatus* and *G. mellonella* larvae were assayed using the adult-conidial attaching method (attaching all tarsi of adult with dry conidial) and larva dip method with *Beauveria bassiana* strain F-263 as the control. The results indicated that the three strains of *M. anisopliae*, especially the strain 2049, were highly virulent to *M. alternatus*, with the cadaver rates as high as 76.9% - 93.1% (1×10^7 conidia/mL) and 57.9% - 75.0% (6.5×10^5 - 3.4×10^6 conidia/individual) for larvae 15 d after inoculation and adults 20 d after inoculation respectively; as contrast, the cadaver rates by the *B. bassiana* strain F-263 was 96.3% (1×10^7 conidia/mL) and 55.0% (9.7×10^5 conidia/individual) for adults and larvae, respectively. However, the virulence of the three strains of *M. anisopliae* to *G. mellonella* larvae was rather low, and this suggested that they were strong host specific. The three strains may serve as a potential source of biocontrol agents for *M. alternatus*.

Key words: *Monochamus alternatus*; *Metarhizium anisopliae*; strain selection; sporogenous ability; spore germination rate; pathogenicity

松墨天牛 *Monochamus alternatus* Hope 是松材线虫 *Bursaphelenchus xylophilus* 病的主要媒介昆虫, 也是松林的重要害虫 (杨宝君等, 2003)。防治松墨天

牛, 切断松材线虫病的侵染循环是松材线虫病综合治理中的主要方法, 而利用天敌微生物防治又是其有效手段之一。调查表明, 松墨天牛的病原真菌有

基金项目: 福建省自然科学基金重点项目 (B0220002); 福建省森林培育与林产品加工利用重点实验室资助项目

作者简介: 何学友, 男, 1963 年生, 四川大竹人, 在职博士生, 教授级高级工程师, 主要研究方向为森林害虫生物防治, E-mail: hexueyou@public.fz.fj.cn

* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail: csl-fjau@sina.com.cn

收稿日期 Received: 2005-03-10; 接受日期 Accepted: 2005-09-15

球孢白僵菌 *Beauveria bassiana*、卵孢白僵菌 *B. brongniartii*、金龟子绿僵菌 *Metarhizium anisopliae*、轮枝孢 *Verticillium* spp.、拟青霉 *Paecilomyces* spp.、头孢霉 *Cephalosporium* spp.、青霉 *Penicillium* spp.、镰孢 *Fusarium* spp.、枝顶孢霉 *Acremonium* spp.、木霉菌 *Trichoderma* spp 等 (Katagiri and Shimazu, 1980; 周性恒等, 1995; 来燕学等, 2003)。

绿僵菌和白僵菌是当今世界应用于防治农林害虫最为广泛的两类病原真菌 (蒲蜚龙和李增智, 1995; Donald and Raymond, 2004)。前人在利用白僵菌防治松墨天牛方面取得较多进展 (Ochi *et al.*, 1982; 孙继美等, 1997; 徐福元等, 2000; 张立钦等, 2000; 何学友等, 2003; Shimazu, 2004a), 但利用绿僵菌防治松墨天牛的研究报道甚少 (王四宝等, 2004)。与白僵菌相比, 绿僵菌菌株具有较强的耐高温和耐旱特性 (江英成, 2000; 宋漳等, 2003)。为了开发松墨天牛新的天敌微生物资源, 作者在对 10 株分离自松墨天牛、光肩星天牛 *Anoplophora*

glabripennis、大蜡螟 *Galleria mellonella*、伊藤厚丝角叶蜂 *Pachynematus itoi* 和一种土蠃 (Cydniidae) 的金龟子绿僵菌的产孢量、发芽率研究的基础上, 测定其对松墨天牛的致病性, 以期筛选出优良菌株, 为生产应用提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 菌株来源

10 株供试金龟子绿僵菌和对照球孢白僵菌 F-263 由日本森林综合研究所昆虫病理实验室提供, 其寄主种类和来源见表 1。实验前将各菌株转入 SDAY 液体培养基中 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 振荡培养 72 h, 再转入 SDAY 平板上培养。

1.2 培养基

试验采用 SDAY 培养基。蛋白胨 10 g, 酵母粉 10 g, 葡萄糖 20 g, 琼脂 15 g, 蒸馏水 1 000 mL。灭菌后每 100 mL 加青霉素 1 万单位, 链霉素 10 mg。

表 1 供试菌株来源

Table 1 Origin of *M. anisopliae* and *B. bassiana* strains used in this study

菌株号 Strain no.	寄主 Hosts	采集地 Geographic origins	分离日期 Isolation time
795	松墨天牛幼虫 <i>M. alternatus</i> larva	日本北海道虻天郡喜茂别町 Kimobetu, Abuta, Hokkaido, Japan	1990.1
797	松墨天牛幼虫 <i>M. alternatus</i> larva	日本森林综合研究所 FFPRI of Japan	1989.12
798	松墨天牛幼虫 <i>M. alternatus</i> larva	日本森林综合研究所 FFPRI of Japan	1989.12
1180	光肩星天牛幼虫 <i>Anoplophora glabripennis</i> larva	中国宁夏三营 Sanying, Ningxia, China	2000.9
1291	松墨天牛幼虫 <i>M. alternatus</i> larva	中国台北市阳明山 Yangming mountain, Taipei, China	1996.12
1349	松墨天牛成虫 <i>M. alternatus</i> adult	日本森林综合研究所 FFPRI of Japan	1997.10
1524	伊藤厚丝角叶蜂预蛹 <i>Pachynematus itoi</i> prepupa	日本岩手县 Iwate, Japan	1999.12
1775	松墨天牛成虫 <i>M. alternatus</i> adult	日本森林综合研究所 FFPRI of Japan	2002.5
2049	一种土蠃成虫 Cydnid bug adult	日本冲绳县那霸市 Naha, Okinawa, Japan	2003.12
2115	大蜡螟 <i>Galleria mellonella</i> larva	日本冲绳县国头郡国头村 Kunigami, Kunigami, Okinawa, Japan	2004.7
F-263	松墨天牛幼虫 <i>M. alternatus</i> larva	日本熊本县 Kumamoto, Japan	1980.9

除 F-263 为球孢白僵菌, 其余菌株均为金龟子绿僵菌。All the strains are *M. anisopliae* except that F-263 is *B. bassiana* .

1.3 试虫来源

供试松墨天牛成虫为室外养虫笼饲养羽化的成虫, 幼虫为解剖松树枯死木获得的 3~4 龄健康幼虫。大蜡螟为养虫室饲养的 2~3 龄健康幼虫。

1.4 产孢量测定

以每培养皿 6.0×10^4 、 6.0×10^6 和 6.0×10^8 个孢子的菌悬液接种, 培养条件为 $25 \pm 1^\circ\text{C}$, 30W 日光灯。待培养 15 天充分产孢后, 用定量的 300 ppm 吐温 80 无菌水, 小心仔细洗下平板培养基上的孢子于

三角瓶中,振荡 3 min 后在超声波洗净器中震动 15 ~ 20 s,使孢子充分分散。血球计数板测定孢子浓度并换算成每平方厘米的产孢量。各处理测定 3 个培养皿,每皿计数 2 次。

1.5 发芽率测定

在培养 6 天、15 天的平板上沾取少量孢子于 SDAY 平板上,用灭菌的三角形玻棒在平板上涂抹均匀,25 ± 1℃ 培养 24 h 后,显微镜目镜方格测微尺下计数孢子发芽率。各处理 3 次重复,每皿按三角形 3 点取样,每点计数孢子总数 200 个以上。

1.6 致病性测定

1.6.1 供试菌株对松墨天牛成虫致病力的测定:参照 Shimazu (2004b) 跗节接种法加以改进。用镊子轻夹住虫体,六足悬空,仅让跗节接触孢子粉,然后放入有松枝的养虫盒中任其自由活动 3 min 后,移入有 1 年生新鲜松枝的养虫盒中分别单头饲养,养虫室条件为 25 ± 1℃,相对湿度 70% ± 10%,光周期 10L:14D。3 天更换一次松枝,每天观察记载发病情况,虫死后保湿培养观察菌丝生长及产孢情况,并挑片在显微镜下观察是否为绿僵菌感染致死,统计死亡率及感染僵虫率。对照接种热杀死的纯孢子粉。

1.6.2 松墨天牛成虫接种量测定:从接种后的成虫腿节中部剪下六足,分别放入盛有 1 mL 75% 乙醇的试管中,再加入 4 mL 的 300 ppm 吐温-80,充分振荡洗下跗节上的孢子并使其分散,血球计数板测定孢子浓度(3 次重复),并换算成每头成虫的接种量。每处理测定 5 头成虫。

1.6.3 供试菌株对松墨天牛和大蜡螟幼虫致病力测定:用 300 ppm 的吐温-80 无菌水,配制不同浓

度的菌悬液。浸渍法接种后将松墨天牛幼虫放入装有适量松木屑的试管中饲养,每试管一头虫,蜡螟幼虫(多为 3 龄)放入有蜂蜡做饲料的透明塑料盒中饲养。死虫在培养皿中保湿培养观察菌丝生长及产孢情况,统计死亡率及感染僵虫率。24 h 内死亡的试虫不计算死亡率。对照用 300 ppm 吐温-80 无菌水处理。每处理测 30 头左右幼虫。

1.7 数据处理

数据应用 DPS 数据处理系统进行统计分析(唐启义和冯明光,2002)。

2 结果与分析

2.1 不同接种量下各菌株产孢量

产孢量是衡量一个优良菌株的主要指标。10 个菌株产孢量结果见图 1。虽然孢子的接种量相差 $10^2 \sim 10^4$ 倍,但同一菌株产孢量都相差不多,且产孢量大的 795、798、1291、1349、1775 都超过 10^8 孢子/cm²。而 797、1524、2049、2115 都较低。方差分析表明,不同菌株间产孢量差异显著($F(9,18) = 7.689, P < 0.001$),而同一菌株不同接种量间差异不显著($F(2,18) = 0.3110, P = 0.7364$)。Duncan 新复极差法进行多重比较表明,1291、798、795、1775 和 1349 菌株产孢量与 797、2115、1524 菌株达极显著差异。

接种量对于微生物培养是一个重要的参数,如接种量过大,细胞容易老化;接种量过低,则微生物生长缓慢,容易被其他微生物污染。因此,在菌剂大量生产时,适当的接种量可以提高生产效率。

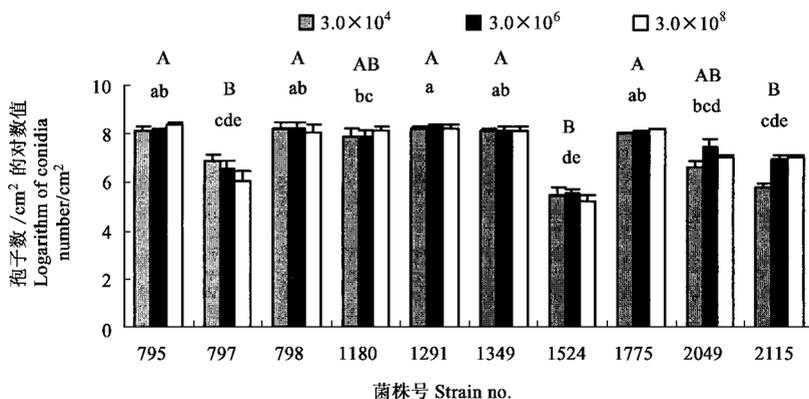


图 1 不同接种量的产孢量

Fig. 1 The effect of inoculum amount on the spore yields

图中数据为平均值 ± 标准差,下同。柱上方不同大写字母表示不同菌株的平均产孢量间经 Duncan 新复极差检验差异极显著($P < 0.01$),小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。Data are mean ± SD, and the same below. Different small and capital letters above columns indicate significant difference between mean spore yields of different strains by Duncan's multiple range test.

2.2 孢子发芽率

不同菌株孢子发芽率见图 2。在培养 6 天后各菌株发芽率均接近 100%。至第 15 天,1291、1349、1524、1775 和 2049 等 5 个菌株发芽率仍达到 93% 以上,与第 6 天差异不显著。其余 5 个菌株孢子失活

较快,差异显著;尤其是 797 菌株,发芽率降至 55.2%。在相同环境条件下,15 天后不同菌株发芽率差异很大,说明孢子的发芽率与菌株本身的抗逆性有关。

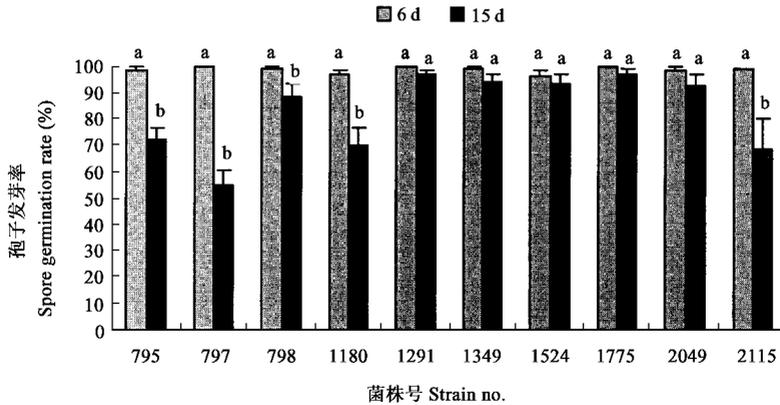


图 2 菌株培养不同天数后孢子发芽率

Fig. 2 Spore germination rate after culturing for different time

柱顶部字母相同表示同一菌株内差异不显著(*t*-检验, $P > 0.05$)

Same letter shows no significant difference within the same strain (*t*-test, $P > 0.05$).

2.3 致病性测定

综合考虑菌株产孢量、发芽率,选出 1291、1349、2049 共 3 个菌株,测定其对松墨天牛、大蜡螟的致病力,并与球孢白僵菌 F-263 菌株进行比较。

2.3.1 对松墨天牛成虫致病力: 3 个绿僵菌菌株在接种量 $6.5 \times 10^5 \sim 3.4 \times 10^6$ 孢子/成虫时,致病力结果见表 2。第 7 天成虫开始死亡,第 2~5 天开始产生绿色孢子,7 天内结成团粒状的孢子稀疏覆盖虫

体表面,以节间处居多。尤其是 2049 菌株,在接种后 20 天校正死亡率达 94.4%,感染僵虫率为 75.0%。白僵菌接种量与绿僵菌接种量基本相当,但接种后 20 天校正死亡率只有 61.1%,僵虫率为 55%。绿僵菌在致死速度上略快于白僵菌,而僵虫率要比白僵菌平均高出 9.3%,说明供试菌株对松墨天牛成虫具有较强的致病力。

表 2 4 个菌株对松墨天牛成虫的毒性

Table 2 The virulence of 4 strains to *M. alternatus* adults

菌株号 Strain no.	试虫数(头) Number of insects tested	接种量(活孢子/成虫) Amount of inoculum (conidia/individual)	最短死亡天数 Shortest time for death (d)	接种后 20 天 20 days after inoculation		
				死亡率 Mortality (%)	校正死亡率 Adjusted mortality (%)	感染僵虫率 Cadaver rate (%)
CK	20	0	9	10.0	-	0
1291	20	$9.4 \times 10^5 \pm 1.99 \times 10^5$	8	80.0	77.8	60.0
1349	19	$6.5 \times 10^5 \pm 3.53 \times 10^4$	8	84.2	82.4	57.9
2049	20	$3.4 \times 10^6 \pm 3.24 \times 10^5$	7	95.0	94.4	75.0
F-263	20	$9.7 \times 10^5 \pm 1.75 \times 10^5$	9	65.0	61.1	55.0

2.3.2 对松墨天牛幼虫的致病力: 试验结果见表 3, 3 个绿僵菌菌株对幼虫的僵虫率在 76.9%~93.1% 之间, LT_{50} 为 7 天左右。绿僵菌致死速度略快于白僵菌,但僵虫率比白僵菌低。

2.3.3 对大蜡螟幼虫的致病力: 结果见表 4。在接

种浓度为 10^7 孢子/mL 时,导致大蜡螟死亡率最高的 1291 菌株也只有 40%,僵虫率仅 33.3%;而同样浓度的球孢白僵菌菌株,接种 15 天后大蜡螟幼虫全部死亡,且僵虫率达 100%。说明供试的 3 个绿僵菌菌株对蜡螟的致病力均较低。

表 3 不同菌株对松墨天牛幼虫致病力试验结果(接种后 15 天)

Table 3 The virulence of 4 strains to *M. alternatus* larvae (15 days after inoculation)

菌株号 Strain no.	试虫数 Tested larvae	死虫数 Died larvae	校正死亡率 Adjusted mortality (%)	感染僵虫率 Cadaver rate (%)	毒力回归方程 Toxicity regressive equation	致死中时 LT ₅₀ (d)
CK	20	1	-	0	-	-
1291	26	22	83.8	76.9	$y = 2.9828 + 2.4300x$	6.76 ± 1.25
1349	30	23	75.5	76.7	$y = 3.7084 + 1.6680x$	5.95 ± 1.37
2049	29	27	92.7	93.1	$y = 2.8083 + 2.8191x$	5.99 ± 1.23
F-263	27	26	96.1	96.3	$y = 2.5127 + 3.1629x$	6.12 ± 1.21

接种浓度为 1×10^7 孢子/mL。Inoculating concentration was 1×10^7 /mL.

表 4 不同菌株对大蜡螟幼虫的致病力

Table 4 The virulence of 4 strains to *G. mellonella* larvae

菌株号 Strain no.	接种浓度 Inoculating concentration (conidia/mL)	接种虫数(头) Number of insects inoculated	接种后 15 天 15 days after inoculation	
			死亡率 Mortality (%)	感染僵虫率 Cadaver rate (%)
CK	300 ppm Tween-80	30	0	0
1291	10^5	30	13.3	3.3
	10^6	30	16.7	13.3
	10^7	30	40.0	33.3
	10^7	30	40.0	33.3
1349	10^5	31	29.2	9.7
	10^6	30	12.9	9.7
	10^7	30	25.8	19.4
2049	10^5	31	12.9	6.5
	10^6	31	10.0	6.7
	10^7	31	16.7	16.7
F-263	10^5	30	23.3	20.0
	10^6	30	40.0	40.0
	10^7	30	100	100

3 讨论

松墨天牛成虫在补充营养期间将携带的松材线虫传播到健康的松树,并导致其迅速枯萎死亡。线虫脱出的最高峰在成虫羽化后 2~3 周(Enda, 1972; Hosoda and Kobayashi, 1978; Mineo, 1983)。蒋平等(2002)研究表明,线虫的脱出数量在成虫羽化后 20~30 天最多,前 10 天传播的数量不到总量的 10%。只要能在成虫羽化后 2 周内杀死松墨天牛,对控制松材线虫病就是有效的。金龟子绿僵菌感染的松墨天牛成虫在第 7 天就开始死亡,10~15 天为死亡高峰期,且由于感病天牛在死亡前 2~3 天就基本停止取食,也就不能传播松材线虫。王四宝等(2004)用 2 株金龟子绿僵菌和 5 株白僵菌接种松墨天牛成虫,供试的绿僵菌毒力略强于白僵菌,与本文结果研究一致。因此,利用金龟子绿僵菌防治松墨天牛,具有较好应用前景。本文初筛出的 1291、1349 两个菌株,对松墨天牛成虫在接种 15 天内均表现出较强的致病力,具有较大实际应用价值。2049 菌株虽然致

病力最强,但产孢量较低,有待通过物理或生物等技术手段提高其产孢量。本研究由于受试虫数量的限制,林间防治效果以及施菌方法等有待进一步试验。

前人应用病原真菌防治松墨天牛主要针对幼虫,但幼虫在树干内危害,很难接触到菌体,这也是目前天敌微生物防治蛀干害虫的一大难题。而成虫在林间活动,即使常规的施菌方法成虫也较容易接触到菌体,从而使感染机会大大提高,目前利用无纺布施菌技术在这方面取得了可喜进展(Kashio and Tsutsumi, 1990; Tsutsumi and Yamanaka, 1997; Okitsu *et al.*, 2000; Okabe *et al.*, 2002; 王滨等, 2003)。因此,针对成虫开展致病力强的优良菌株选育并开发相应的施菌技术,在天牛等蛀干类害虫防治中更具有应用价值。

金龟子绿僵菌对大蜡螟多表现出较强致病力。因此,目前多采用大蜡螟作为饵虫从土壤中分离这类虫生真菌(Bruck, 2004)。本研究毒力测定的 3 个金龟子绿僵菌菌株,对松墨天牛表现出强的致病力,但对大蜡螟的致病力均较低,其原因有待探讨。虫生真菌虽然具有较广的寄主谱,但也有一定专化性

(樊美珍等, 1986; 蔡国贵, 2003)。今后有必要继续开展对其他昆虫致病性的测定, 在不同环境下定向使用目标菌株, 有效保护天敌, 维护生态平衡。

菌剂的活孢率是产品质量的主要指标。本研究部分供试菌株在培养至第 15 天时发芽率大大降低, 说明这些菌株在前期产生的孢子逐渐死亡。吴振强等(2004)研究表明 27℃条件下, 培养时间在 7 天以内为宜。因此, 在大量生产时, 孢子充分产生后应尽早收获, 提高产品活孢率, 具体培养时间应根据不同菌株而定。

致谢 部分研究内容得到福建“富闽留学基金”资助, 于 2004 年 7~12 月在日本森林综合研究所昆虫病理实验室完成, 研究室室长岛津光明博士提供多方面帮助, 在此表示衷心感谢。

参考文献 (References)

- Bruck, DJ, 2004. Natural occurrence of entomopathogens in Pacific Northwest nursery soils and their virulence to the black vine weevil, *Otiorynchus sulcatus* (F.) (Coleoptera: Curculionidae). *Environmental Entomology*, 33(5): 1335–1343.
- Cai GG, 2003. Screening of the superior strains of *Beauveria bassiana* of *Pantana phyllostachysae* and practical application. *Scientia Silvae Sinicae*, 39(2): 102–108. [蔡国贵, 2003. 刚竹毒蛾白僵菌优良菌株筛选及生产应用研究. *林业科学*, 39(2): 102–108]
- Donald WR, Raymond JSL, 2004. *Metarhizium* spp., cosmopolitan insect-pathogenic fungi: mycological aspects. *Advances in Applied Microbiology*, 54: 1–70.
- Enda N, 1972. Removing dauer larvae of *Bursaphelenchus lignicolus* from the body of *Monochamus alternatus*. In: Trans. 24th Meet Kanto Branch Jpn. For. Soc. 32. (in Japanese)
- Fan MZ, Guo C, Zhang B, 1986. Comparison of the infectivity of *Beauveria bassiana* to four species of stem boring insects. *Chinese Journal of Biological Control*, 2(3): 126–128. [樊美珍, 郭超, 张波, 1986. 四株球孢白僵菌菌系的初步研究. *生物防治通报*, 2(3): 126–128]
- He XY, Huang JS, Cai FS, Yang X, Cheng DL, Kang WT, 2003. Virulence test of 7 *Beauveria bassiana* strains on the longicorn beetle. *Study and Application of Entomogenous Fungi in China*, 5: 136–141. [何学友, 黄金水, 蔡福水, 杨希, 陈德兰, 康文通, 2003. 不同球孢白僵菌菌株对天牛致病力的测定. *中国虫生真菌研究与应用*, 5: 136–141]
- Hosoda R, Kobayashi K, 1978. Drop-off procedures of the pine wood nematode from the pine sawyer (II). In: Trans. 29th Meet Kansai Branch Jpn. For. Soc. 131–133. (in Japanese)
- Jiang P, Wu ZL, Chai XM, He ZH, Lin FP, 2002. Transmission characteristic of *Bursaphelenchus xylophilus* through *Monochamus alternatus*. *Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition)*, 26(3): 69–71. [将平, 吾中良, 柴希民, 何志华, 林福平. 松褐天牛传递松材线虫数量的研究. *南京林业大学学报 (自然科学版)*, 26(3): 69–71]
- Jiang YC, 2000. Comparison on infection of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* to *Dendrolimus punctatus*. *Journal of Zhejiang Forestry College*, 17(4): 410–413. [江英成, 2000. 绿僵菌和白僵菌侵染马尾松毛虫试验比较. *浙江林学院学报*, 17(4): 410–413]
- Kashio T, Tsutsumi T, 1990. Studies on biological control of the whitespotted longicorn beetle, *Anoplophora malasiaca*, by an entomogenous fungus, *Beauveria brongniartii*. III. *Proc. Assoc. Pl. Prot. Kyushu*, 36: 169–172. (in Japanese)
- Katagiri K, Shimazu M, 1980. Natural microbial enemies of *Monochamus alternatus*. *Trans. Forest Pests*, 29(2): 9–14. (in Japanese)
- Lai YX, Liu JD, Xu QY, Wang YH, Zhou CM, 2003. Trials on the parasitism of *Beauveria bassiana* or *Verticillium lecanii* on larvae of *Monochamus alternatus* Hope. *Journal of Jiangsu Forestry Science & Technology*, 30(4): 7–9. [来燕学, 柳建定, 徐企尧, 王亚红, 周成枚, 2003. 球孢白僵菌×蜡轮枝菌(BV制剂)对松墨天牛寄生试验初报. *江苏林业科技*, 30(4): 7–9]
- Mineo K, 1983. Exit of *Bursaphelenchus xylophilus* from the pine sawyer and invasion into pine branches. In: Trans. 34th Meet Kansai Branch Jpn. For. Soc. 295–261. (in Japanese)
- Ochi K, Igarashi Y, Shimazu M, 1982. Natural microbial enemies to control *Monochamus alternatus*. In: Trans. 93rd Ann. Meet. Jap. For. Soc. 401–402.
- Okabe T, Takai K, Suzuki T, Higuchi T, 2002. Biological control of the Japanese pine sawyer, *Monochamus alternatus* by *Beauveria bassiana* (II). *Kyushu J. For. Res.*, 55: 73–74. (in Japanese)
- Okitsu M, Kishi Y, Takagi Y, 2000. Control of adults of *Monochamus alternatus* Hope (Coleoptera: Cerambycidae) by application of non-woven fabric strips containing *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) on infested tree trunks. *J. Jpn. For. Soc.*, 82: 276–280. (in Japanese with English summary)
- Pu ZL, Li ZZ, 1996. *Insect Mycology*. Hefei: Anhui Science & Technology Publishing House. 26, 714. [蒲蜚龙, 李增智. 1996. *昆虫真菌学*. 合肥: 安徽科学技术出版社. 26, 714]
- Shimazu M, 2004a. Effects of temperature on growth of *Beauveria bassiana* F-263, a strain highly virulent to the Japanese pine sawyer, *Monochamus alternatus*, especially its tolerance to high temperatures. *Appl. Entomol. Zool.*, 39(3): 469–475.
- Shimazu M, 2004b. A novel technique to inoculate conidia of entomopathogenic fungi and its application for investigation of susceptibility of the Japanese pine sawyer, *Monochamus alternatus*, to *Beauveria bassiana*. *Appl. Entomol. Zool.*, 39(3): 485–490.
- Song Z, Lu FM, Chen H, 2003. Comparison on infection of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* to *Pantana phyllostachysae*. *Journal of Northwest Forestry University*, 18(3): 43–46. [宋漳, 卢凤美, 陈辉, 2003. 绿僵菌和白僵菌对刚竹毒蛾的毒力比较. *西北林学院学报*, 18(3): 43–46]
- Sun JM, Ding S, Xiao H, Cai CX, 1997. Study on the control of *Monochamus alternatus* with *Beauveria bassiana*. *Forest Pest and Disease*, (3): 16–18. [孙继美, 丁珊, 肖华, 蔡臣兴, 1997. 球

- 孢白僵菌防治松褐天牛的研究. 森林病虫通讯, (3): 16-18]
- Tang QY, Feng MG, 2002. DPS[®] Data Processing System for Practical Statistics. Beijing: Science Publishing House. 647 pp. [唐启义, 冯明光, 2002. 实用统计分析及其 DPS 数据处理系统. 北京: 科学出版社. 647 页]
- Tsutsumi T, Yamanaka M, 1997. Infection by entomogenous fungus, *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch GSES, of adults of yellow spotted longicorn beetle, *Psacotha hilaris* by dispersing conidia from non-woven fabric sheet containing fungus. *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology*, 41(1): 45-49.
- Wang B, Fan MZ, Li ZZ, 2003. Control forest beetles with *Beauveria nonwoven* fabric sheet in combination with beetle attractants. *Chinese Journal of Biological Control*, 19(2): 91-92. [王滨, 樊美珍, 李增智, 2003. 白僵菌无纺布结合引诱剂防治鞘翅目林业害虫研究初报. 中国生物防治, 19(2): 91-92]
- Wang SB, Huang YP, Zhang XT, Liu YP, Fan MZ, Li ZZ, 2004. Screening and biological control of high virulent strains against *Monochamus alternatus* adults. *Forest Pest and Disease*, 23(6): 13-16. [王四宝, 黄勇平, 张心团, 刘云鹏, 樊美珍, 李增智, 2004. 松褐天牛成虫高毒力病原菌筛选及林间感染试验. 中国森林病虫, 23(6): 13-16]
- Wu ZQ, Peng JL, Li YN, Zhang GX, 2004. Study on optimizing environmental parameters for solid-state fermentation of *Metarhizium anisopliae*. *Chinese Journal of Pesticides*, 43(3): 123-126. [吴振强, 彭景龙, 李运南, 张高贤, 2004. 金龟子绿僵菌固态发酵环境变量优化研究. 农药, 43(3): 123-126]
- Xu FY, Zhang P, Zhao JL, Wang MM, Xu KQ, Jia SH, 2000. Studies on controlling pine wood nematodes by the techniques of *Beauveria bassiana* released by boring beetle. *Forest Research*, 13(Mem.): 63-68. [徐福元, 张培, 赵菊林, 王敏敏, 徐克勤, 贾生华, 2000. 利用小蠹释传白僵菌技术防治松材线虫病的研究. 林业科学研究, 13(专): 63-68]
- Yang BJ, Pan HY, Tang J, Wang YY, Wang LF, 2003. *Bursaphelenchus xylophilus*. Beijing: China Forestry Publishing House. 1-9. [杨宝君, 潘宏阳, 汤坚, 王玉嫵, 汪来发. 2003. 松材线虫病. 北京: 中国林业出版社. 1-9.]
- Zhang LQ, Liu J, Wu H, 2000. The screening virulent strain of *Beauveria bassiana* to *Monochamus alternatus*. *Journal of Nanjing Forestry University*, 24(2): 33-37. [张立钦, 刘军, 吴鸿, 2000. 松墨天牛优良白僵菌菌株筛选. 南京林业大学学报, 24(2): 33-37]
- Zhou XH, Zhu HB, Xiao WZ, 1995. Research on entomogenous fungi from *Monochamus alternatus* in Nanjing areas. In: Yang BJ, Zhu KG, Zhou YS, Zhu ZC, Yan AJ eds. The Epidemic and Integrated Management of *Bursaphelenchus xylophilus* In China. Beijing: China Forestry Publishing House. 188-191. [周性恒, 朱洪兵, 肖文忠, 1995. 南京地区松墨天牛病原真菌的调查研究. 见: 杨宝君, 朱克恭, 周元生, 朱正昌, 严敖金 主编. 中国松材线虫病的流行与治理. 北京: 中国林业出版社. 188-191]

(责任编辑: 吴明宇)