

爪哇棒束孢侵染美国白蛾过程及 抗氧化酶活性变化*

葛喆昊^{1**} 王文秀¹ 董广平² 潘宏阳¹ 陈凤毛^{1***}

(1. 南京林业大学林学院, 南方现代林业协同创新中心, 南京 210037; 2. 安徽省林业科学研究院, 合肥 230088)

摘要 【目的】爪哇棒束孢 *Isaria javanica* 是一种重要的虫生真菌, 已广泛应用于多种害虫的防治。本研究从美国白蛾 *Hyphantria cunea* 僵虫尸体中分离出对美国白蛾具有致病作用的爪哇棒束孢 BE01 菌株, 为了解该菌株对美国白蛾的侵染过程, 并通过研究宿主体内抗氧化酶系对爪哇棒束孢 BE01 菌株入侵的响应, 评价该菌的杀虫作用, 为爪哇棒束孢 BE01 防治美国白蛾提供依据。【方法】采用扫描电镜技术, 观察爪哇棒束孢 BE01 分生孢子侵染的美国白蛾 3 龄幼虫, 并测定美国白蛾接菌后体内超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD) 和过氧化氢酶 (CAT) 含量的变化。【结果】爪哇棒束孢对美国白蛾侵染过程包括: 分生孢子粘附在美国白蛾的角质层上, 接种后 6 h 孢子开始萌发, 24 h 产生附着胞, 48 h 菌丝在体表继续生长, 96 h 菌丝从虫体内长出并产分身孢子, 120 h 菌丝覆盖整个虫体。在受到爪哇棒束孢 BE01 侵染后, 美国白蛾幼虫体内的 3 种抗氧化酶 SOD、POD、CAT 酶活性明显升高, 并在侵染 48 h 时达到峰值。随着侵染时间的增加, 48 h 后 3 种酶的活性开始下降, 60 h 后酶活性均低于对照组。【结论】爪哇棒束孢 BE01 孢子活力高、萌发速率快, 导致美国白蛾体内的保护酶系难以发挥保护作用。爪哇棒束孢 BE01 菌株能够快速侵染美国白蛾幼虫, 具有开发成新的高效生物防治菌株的潜能。

关键词 爪哇棒束孢; 美国白蛾; 侵染过程; 抗氧化酶

Infection of *Hyphantria cunea* with *Isaria javanica* and associated changes in antioxidant enzyme activity

GE Zhe-Hao^{1**} WANG Wen-Xiu¹ DONG Guang-Ping² PAN Hong-Yang¹ CHEN Feng-Mao^{1***}

(1. Co-Innovation Center for the Sustainable Forestry in Southern China, College of Forestry, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China; 2. Anhui Academy of Forestry Sciences, Hefei 230088, China)

Abstract 【Objectives】*Isaria javanica* is an important entomopathogenic fungi that has been widely used to control various insect pests. The BE01 strain of *I. javanica* that is pathogenic to *Hyphantria cunea* was isolated from the surfaces of a cadavers of *H. cunea* to better understand its insecticidal effect and improve its use as a biological control agent for *H. cunea*. The process of infection by this strain and the host's associated antioxidant enzyme response were investigated. 【Methods】Scanning electron microscopy was used to observe third-instar *H. cunea* larvae infected by *I. javanica* BE01 conidia. Changes in levels of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT) in the bodies of *H. cunea* after inoculation were measured. 【Results】The infection process had several stages, including adherence of the conidia to the host cuticle, germination of the conidia 6 h after inoculation, development of appressorium after 24 h, hyphal growth on the body surface after 48 h, emergence of mycelium from the body and production of conidia after 96 h, and the entire body being covered by mycelium after 120 h. Activity of three antioxidant enzymes, SOD, POD and CAT, in larvae significantly increased after infection with *I. javanica* BE01 and peaked 48 h after infection. The activity of all three enzymes began to decrease after 48 h, and were lower than in the control group after 60 h. 【Conclusion】Conidia of *I. javanica* BE01 have high virulence and a

*资助项目 Supported projects: 国家重点研发计划 (2017YFD0600104)

**第一作者 First author, E-mail: 770801686@qq.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: cfengmao@njfu.edu.cn

收稿日期 Received: 2020-09-10; 接受日期 Accepted: 2020-11-23

rapid germination rate, which makes it difficult for *H. cunea* to resist infection. The *I. javanica* BE01 strain can quickly infect *H. cunea* larvae, and has the potential to develop into a new, highly effective biological control agent.

Key words *Isaria javanica*; *Hyphantria cunea*; infection process; antioxidant enzyme

美国白蛾 *Hyphantria cunea* 属鳞翅目 Lepidoptera 灯蛾科 Arctiidae, 是重要的国际检疫性入侵害虫。该虫具有体型小、繁殖能力强、食量大、传播途径多等特点(张俊杰等, 2013; Schowalter and Ring, 2017; Ge *et al.*, 2018)。现已被国家环保总局列入中国首批 16 种外来入侵物种名单。国家林业局发布 2020 年第 3 号公告, 美国白蛾疫区涉及全国 13 个省市自治区, 全国范围内发生的县级行政区数量高达 598 个。在长期对美国白蛾的治理过程中, 化学农药一直是作为防治该虫的主要手段(邓静, 2017)。而大量化学农药的使用已经造成美国白蛾出现抗药性, 并且也已经带来了诸多环境问题(白鹏华等, 2017)。生物防治将是未来防治美国白蛾的重点研究方向(杨忠岐和张永安, 2007; 闫家河等, 2015; 罗立平等, 2018)。

与其它昆虫病原体(细菌或病毒)不同, 昆虫病原真菌的主要特征是能够通过穿透宿主体壁来感染宿主(Mannino *et al.*, 2019)。昆虫病原真菌侵染过程分为孢子附着在宿主体表、孢子萌发、形成附着胞穿透体壁和菌丝在宿主体内增殖四个阶段(Zheng *et al.*, 2011)。利用扫描电镜技术可观察分生孢子的侵染过程和侵染方式。而了解昆虫病原真菌的侵染过程对于进一步研究其致病机理具有重要意义。目前, 通过借助扫描电镜技术对多种昆虫病原真菌的侵染过程都有了明确的报道。邱君志等(2004)通过扫描电镜发现粉虱座壳孢 *Aschersonia aleyrodis* 的分生孢子能够在烟粉虱 *Bemisia tabaci* 体表萌发并形成芽管, 可产生附着胞或直接侵入表皮。李茂业等(2011)用扫描电镜观察黄绿僵菌 *Metarhizium flavoviride* 侵染褐飞虱 *Nilaparvata lugens*, 发现孢子萌发后成钉状结构, 通过穿透宿主表皮进入体内, 并感染卵母细胞。除此之外, 有学者报道利用扫描电镜观察到蜡蚧轮枝菌 *Lecanicillium lecani* 的分生孢子能够在黑刺粉虱 *Aleurocanthus*

spiniferus 体表萌发、芽管后直接刺入体表, 或形成附着胞后形成侵入钉侵入(曾君等, 2013)。本实验室前期从安徽省林间自然感病美国白蛾虫尸上分离、鉴定获得一株爪哇棒束孢 *Isaria javanica* BE01 菌株, 已证实该菌株对美国白蛾有良好的防治效果(Wang *et al.*, 2020)。但目前该菌对美国白蛾的侵染过程尚未见报道, 为了更有针对性的防治美国白蛾并进一步的研究其致病机理, 明确爪哇棒束孢对于美国白蛾的侵染过程是关键的一步。

在昆虫抵抗病原真菌侵染的过程中, 昆虫体内的抗氧化酶也起着重要的作用。这些抗氧化酶有助于减少由昆虫病原真菌毒素引起的氧化压力(Jayanthi *et al.*, 2015)。其中, 超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶(Peroxidase, POD)和过氧化氢酶(Catalase, CAT)起着重要作用。这 3 种酶被称为保护酶系统(Liochev and Fridovich, 2007)。昆虫体内保护酶活变化可能引起氧化剂与抗氧化剂之间失衡, 严重时将会导致细胞死亡和组织损伤, 从而导致昆虫死亡(吴青君等, 2011)。张仙红等(2006)测定了吊丝虫 *Plutella xylostella* 在感染玫烟色拟青霉 *Paecilomyces fumosoroseus* 后, 感病的吊丝虫血淋巴中蛋白含量低于正常幼虫, 体内的 SOD 酶活在接种后先表现为上升, 但随着时间的延长 SOD 酶活急剧下降, CAT 和 POD 酶活也表现出先升高后降低的趋势。除此之外, 唐维媛等(2015)检测了感染莱氏野村菌 *Nomuraea rileyi* 后斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 幼虫体内 SOD、CAT 及 POD 酶活的变化, 其中 SOD 和 CAT 活性呈先升后降趋势, 并未检测到 POD 酶的活性。观察抗氧化保护酶体系活力的变化趋势有助于探索真菌侵染昆虫时其抗氧化保护酶的响应机制和变化规律, 对于扰乱害虫抗氧化机制, 进而进行防治具有重要意义。但目前仍未有爪哇棒束孢对于美国白蛾抗氧化酶影响的研

究报道。因此,研究爪哇棒束孢对美国白蛾抗氧化酶的影响能够为丰富其抗氧化酶响应机制及其应用提供理论依据。

本文通过扫描电镜观察爪哇棒束孢 BE01 对美国白蛾侵染过程,并且量化了美国白蛾感染爪哇棒束孢后体内抗氧化酶活性变化。以期对美国白蛾的生物防治提供新的可能,为明确爪哇棒束孢侵染美国白蛾的生理生化反应机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试菌株:爪哇棒束孢 BE01,现保藏于南京林业大学森林保护实验室。试验时,用无菌接种环于斜面上刮下分生孢子,涂于 SDAY 培养基上,在恒温培养箱 (MLR-553), (25±1) °C 中培养。

培养基:马铃薯葡萄糖琼脂 (PDA) 培养基、萨氏葡萄糖琼脂酵母浸膏 (SDAY) 培养基 (蒲蛰龙和李增智, 1996)。

孢子悬浮液制备:将爪哇棒束孢接种于 SDAY 平板上, (25±1) °C 条件下培养 10 d 后,以灭菌水洗脱菌落上的分生孢子,制备成孢子悬浮液。向悬浮液中加入 0.1%吐温 80,用血球计数板在显微镜下计算浓度,以灭菌水进行稀释,获得浓度为 1.0×10^8 个/mL 的分生孢子悬浮液。

供试虫源:美国白蛾卵购买于中国林业科学研究院,置于人工气候箱内,设置温度 (25±1) °C,光周期 14L:10D, 75%RH。孵化后用美国白蛾专用饲料饲养 (购买于中国林业科学研究院)。

1.2 方法

1.2.1 美国白蛾的侵染和培养 参照鹿连明等 (2013) 的孢子悬浮液浸没接种方法,取大小一致、健康的美国白蛾 3 龄幼虫放入真菌孢子悬浮液浸渍后,晾干 5 min 后将试虫转移到 (25±1) °C,光周期 14L:10D, RH 75%的人工培养箱中。每天更换新鲜的饲料,死亡的美国白蛾放入垫有滤纸的培养皿 ($\varnothing = 9$ cm) 中保湿培养。

1.2.2 扫描电镜样品制备 为了观察爪哇棒束孢的感染过程,在接种爪哇棒束孢 6、12、24、

36、48、60、72、96、120 和 144 h 后,从饲养盒中取出爪哇棒束孢处理过的美国白蛾 3 龄幼虫。在每个观察期将 5 只幼虫浸入 2.5%戊二醛中固定 24 h,在 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸盐缓冲液中漂洗 3 次 (每次 15 min),然后通过 30%、50%、70%、80%、90%、95%和 100% (3 次) 乙醇脱水 (每阶段 10 min)。将样品浸入叔丁醇中 10 min 来置换乙醇。用冷冻干燥设备 (FD5-series freeze dryer) 干燥后进行粘台喷金,在扫描电镜 (Quanta 200) 下观察并拍照。

1.2.3 酶液的制备 按照 1.2.1 的方法处理美国白蛾 4 龄幼虫,接菌后每 12 h 从饲养盒中取一次样,直到侵染 84 h。取供试昆虫前需要先将试虫身上杂物弄干净,并且放入生理盐水涮洗 15 s。涮洗过后用滤纸吸干虫身上的水分并晾干 5 min,然后用称量天平准确称量试虫重量,精确到小数点后 3 位。按体积比 1:9 (w/v) 加入经过遇冷处理过的生理盐水,冰浴条件下研磨,配制成 10%的组织匀浆。将匀浆以 12 000 r/min 在 4 °C 下离心 20 min,取上清液用作酶源。由南京建成生物工程研究所提供的试剂盒测定试虫中的蛋白质含量、过氧化氢酶、过氧化物酶和超氧化物歧化酶的含量。试剂盒型号及名称见表 1。

表 1 试剂的名称和型号

Table 1 The model and name of the test kits

名称 Name	型号 Model
总超氧化物歧化酶 (T-SOD) 测试盒 Total superoxide dismutase (T-SOD) test kit	A001-1
过氧化物酶 (POD) 测定试剂盒 Peroxidase (POD) test kit	A084-1
过氧化氢酶 (CAT) 测定试剂盒 Catalase (CAT) test kit	A007-1
总蛋白 (TP) 测定试剂盒 Total protein (TP) test kit	A045-2

1.2.4 3 种保护酶活力的测定 CAT、POD 和 SOD 的活力测定均依据试剂盒 (南京建成生物工程研究所) 的使用方法进行活力测定。

1.2.5 数据分析 4 种代谢酶活力均以每分钟每毫升反应液的吸光度活力 (OD 值) 的变化值

换算表示; 3 种保护酶活力根据试剂盒参考公式计算。

2 结果与分析

2.1 爪哇棒束孢 BE01 对美国白蛾幼虫的侵染过程

在接种爪哇棒束孢 BE01 后 6 h 可以清楚地观察到爪哇棒束孢的分生孢子粘附在美国白蛾

体表, 有单个附着也有大量孢子聚集在一起的情况出现 (图 1: A); 接种后 12-24 h 可观察到大部分孢子开始萌发, 并在 24 h 观察到有附着胞产生 (图 1: B-D); 接种 36 h 后菌丝通过美国白蛾背毛毛孔侵入寄主 (图 1: E); 接种后 48 h, 萌发的菌丝在体表继续生长 (图 1: F); 接种后 96 h, 菌丝从虫体中长出并产生分生孢子, 此时宿主已经死亡 (图 1: G); 接种后 120 h, 美国白蛾虫体被白色菌丝包裹 (图 1: H)。

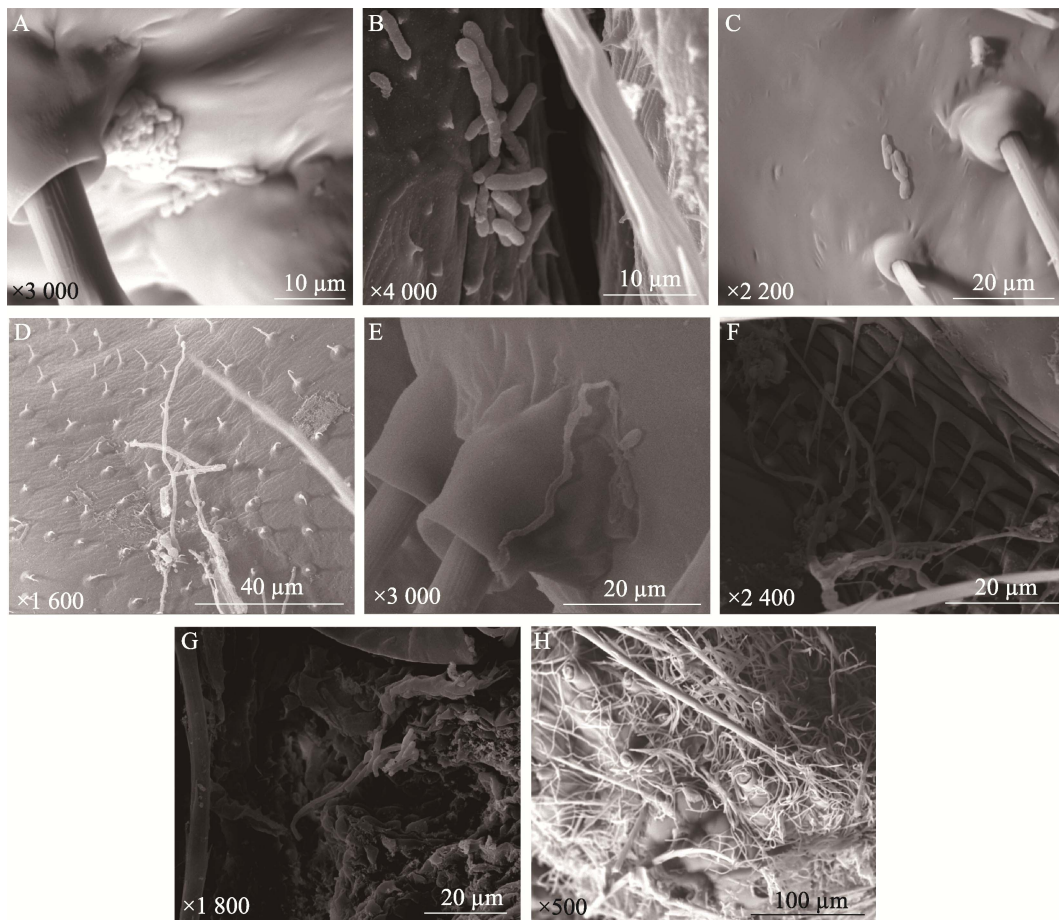


图 1 爪哇棒束孢 BE01 在美国白蛾体表侵染过程

Fig. 1 Infection process of *Isaria javanica* BE01 on the surface of *Hyphantria cunea*

A. 附着于寄主体壁的分生孢子; B,C. 孢子萌发; D. 芽管形成附着胞; E. 菌丝从背毛毛孔进入宿主; F. 菌丝在宿主表面生长; G. 菌丝从虫体内长出并产分身孢子; H. 整个虫体被菌丝包裹。

A. Conidia attached to the wall of the host body; B, C. Conidia germination; D. The germ tube formed appressorium; E. Mycelium entered the host from the back pores; F. Mycelium grew on the surface of the host;

G. Mycelium grew out of the body and produced conidia; H. The whole body was wrapped in mycelium.

2.2 美国白蛾体内抗氧化酶活变化

美国白蛾幼虫在接种爪哇棒束孢 BE01 后 84 h 内体内 SOD、POD 和 CAT 的酶活力变化如

图 2-图 4 所示。SOD、POD 和 CAT 酶活力在接种 48 h 都达到峰值, 分别为 256.7、9.29 和 40.9 U/mgprot, 之后酶活力开始下降, 并在 60 h 后,

3 种酶活力开始低于对照组。84 h 后, 3 种酶活力降到最低, 分别降低至 91.8、2.29 和 16.5 U/mgprot, 显著低于对照组 (图 2, 图 3, 图 4)。

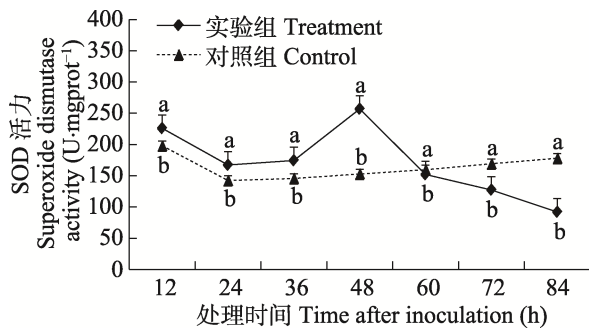


图 2 接种后美国白蛾幼虫的 SOD 酶活力变化

Fig. 2 Changes of superoxide dismutase activity in the larvae of *Hyphantria cunea* after inoculation

图中同一时间标有不同的小写字母表示实验组和对照组数据差异显著 ($P < 0.05$, t -检验法)。下图同。

Data at the same time in the picture are followed by different lowercase letters between the treatment and the control represent significant difference at the 0.05 level (Student's t -test). The same below.

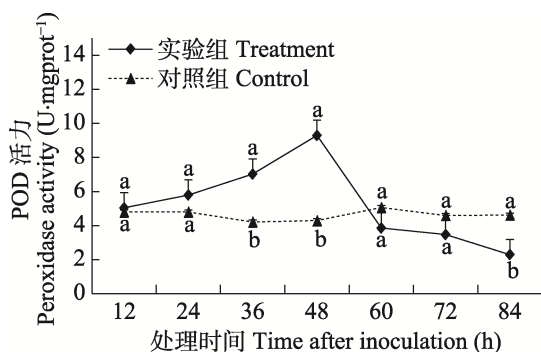


图 3 接种后美国白蛾幼虫的 POD 酶活力变化

Fig. 3 Changes of peroxidase activity in the larvae of *Hyphantria cunea* after inoculation

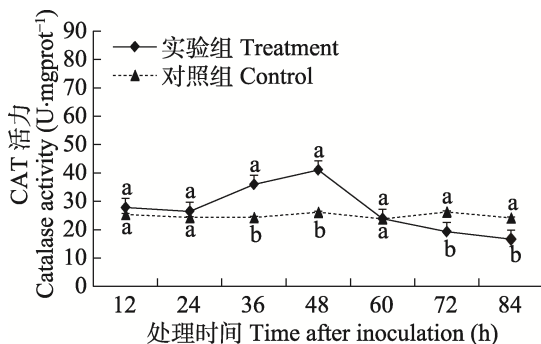


图 4 接种后美国白蛾幼虫的 CAT 酶活力变化

Fig. 4 Changes of catalase activity in the larvae of *Hyphantria cunea* after inoculation

3 结论与讨论

昆虫病原真菌的孢子有足够的活力萌发是成功侵染宿主的第一步, 且孢子萌发的速率与真菌的致病力成正相关 (Fargues *et al.*, 1988)。本研究利用前期分离鉴定的爪哇棒束孢 BE01 对美国白蛾致病侵染过程进行研究, 结果表明爪哇棒束孢 BE01 侵染美国白蛾 6 h 便开始萌发, 侵染 12 h 孢子萌发生长活跃。这与李英 (2018) 研究的球孢白僵菌 *Beauveria bassiana* 侵染美国白蛾的过程中孢子萌发的时间相比, BE01 孢子初始萌发时间提前 12 h, 进入生长活跃期提前 36 h。与同属的玫烟色棒束孢 *Isaria fumosorosea* 侵染吊丝虫的过程中孢子萌发时间相比, BE01 孢子初始萌发时间提前了 10 h, 进入生长活跃期提前了 8 h (王宏民等, 2009)。这些表明爪哇棒束孢 BE01 具有较快的萌发速度, 进而能够更快的进行下一步侵染, 这也是我们前期研究发现该菌株具有高致病力的一个重要佐证。BE01 整个侵染经历了孢子萌发、产生附着胞、菌丝通过美国白蛾背毛毛孔侵入、萌发的菌丝在体表继续生长、菌丝从虫体中长出并产生分生孢子 (虫已死亡) 和美国白蛾虫体被白色菌丝包裹等过程。整个侵染过程与蜡蚧轮枝菌、黄绿绿僵菌侵染害虫时相似 (郭艳琼和李友莲, 2010; 曾君等, 2013)。通过观察爪哇棒束孢 BE01 侵染方式, 能够为进一步研究其致病机理提供参考。

昆虫病原真菌侵染宿主后, 会引起虫体内保护酶活的变化 (张军等, 2003; 张仙红等, 2006; 李会平等, 2007; 王宏民等, 2013; 唐维媛等, 2015)。本研究结果表明, 美国白蛾体内的 SOD、POD 和 CAT 3 种保护酶在爪哇棒束孢 BE01 侵染后都受到了不同程度的影响, 酶活性均呈现先升高后降低趋势。这在一定程度上表明爪哇棒束孢 BE01 侵染美国白蛾幼虫后虫体内自由基增多, 进而激发了虫体内抗氧化酶系的活力, 并清除体内自由基的情况; 而后期 3 种保护酶酶活都低于对照组, 表明虫体内抗氧化酶和活性氧失衡, 这可能是幼虫死亡的重要原因 (唐维媛等, 2015)。张军等 (2003) 研究了家蚕 *Bombyx mori* 在感染蛹虫草 *Cordyceps militaris* 后, 感病家蚕体内的

POD、SOD 和 CAT 的活性在接种前期都表现出持续上升,但是在接种后期 POD 和 SOD 的活性有不同程度的下降,CAT 活性仍保持较高水平。张仙红等(2006)研究了吊丝虫 *Plutella xylostella* 在感染玫烟色拟青霉后虫体内 3 种保护酶活性变化,结果表明玫烟色拟青霉侵染吊丝虫后感病虫体内的 SOD、POD 和 CAT 的活力总体呈现出先升高后降低的趋势。这些研究结果和本研究结果一致,表明了昆虫病原真菌对寄主的侵染与昆虫保护酶系统存在着一定的相关性。另外,美国白蛾体内保护酶活变化与电镜观察到的爪哇棒束孢侵染过程相对应,也进一步证明真菌透过表皮进入血腔之后,和宿主体内免疫系统斗争表现出保护酶活性升高,之后宿主死亡表现出酶活下降。这些结果与电镜下观察基本一致,从不同角度共同阐明了爪哇棒束孢侵染美国白蛾的动态过程。

本研究通过观察爪哇棒束孢 BE01 侵染美国白蛾幼虫并检测美国白蛾受侵染后体内的酶活变化,基本阐明了爪哇棒束孢 BE01 侵染美国白蛾幼虫的表观过程和形态学特征以及美国白蛾受侵染后保护酶系酶活的变化规律。这有助于我们对于爪哇棒束孢 BE01 的致病机理进行更深层次的探讨,也为靶向扰乱美国白蛾体内保护机制,进而进行防治提供参考。

参考文献 (References)

- Bai PH, Liu BS, Jia AJ, Bai YC, Feng YR, Yu JP, 2017. Research advances on biological control of fall webworm in China. *China Fruits*, (6): 65–69. [白鹏华, 刘宝生, 贾爱军, 白义川, 冯友仁, 于金萍, 2017. 我国美国白蛾生物防治研究进展. 中国果树, (6): 65–69.]
- Deng J, 2017. Integrated control technology of *Hyphantria cunea*. *Agricultural Technology Service*, 34(13): 89. [邓静, 2017. 美国白蛾综合防治技术. 农技服务, 34(13): 89.]
- Fargues J, Rougier M, Goujet R, Itier B, 1988. Effet du rayonnement solaire sur la persistance des conidiospores de *L'hyphomycète* entomopathogène, *Nomuraea rileyi*, à la surface d'un couvert végétal. *Entomophaga*, 33(3): 357–370.
- Ge XZ, He SY, Zhu CY, Wang T, Xu ZC, Zong SX, 2018. Projecting the current and future potential global distribution of *Hyphantria cunea* (Lepidoptera: Arctiidae) using CLIMEX. *Pest Management Science*, 75(1): 160–169.
- Guo YQ, Li YL, 2010. Electron microscopic scanning observation of the survival and infection of *Metarhizium flavoviride* on *Henosepilachna vigintioctomaculata*. *Acta Agriculture Boreali-Sinica*, 25(5): 220–222. [郭艳琼, 李友莲, 2010. 黄绿绿僵菌在马铃薯瓢虫体上宿存侵染的扫描电镜观察. 华北农学报, 25(5): 220–222.]
- Jayanthi PK, Arthikirubha A, Vivek K, Ravindra MA, Selvakumar G, Abraham V, 2015. *Aspergillus flavus* impairs antioxidative enzymes of *Sternochetus mangiferae* during mycosis. *Journal of Invertebrate Pathology*, 124: 73–77.
- Li HP, Huang DZ, Su XY, Zheng JW, Wang XH, 2007. Change of activities of sod, cat and pod in *Apriona germari* larvae infected by *Beauveria bassiana*. *Acta Sericologica Sinica*, 33(4): 634–636. [李会平, 黄大庄, 苏筱雨, 郑建伟, 王晓红, 2007. 桑天牛幼虫感染白僵菌后体内主要保护酶活性的变化. 蚕业科学, 33(4): 634–636.]
- Li MY, Lin HF, Jin L, Zhang SY, 2011. Observations on infection of *Nilaparvata lugens* by *Metarhizium flavoviride* using a scanning electron microscope. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 48(5): 1412–1416. [李茂业, 林华峰, 金立, 张松影, 2011. 黄绿绿僵菌对褐飞虱侵染过程的扫描电镜观察. 应用昆虫学报, 48(5): 1412–1416.]
- Li Y, 2018. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* Bb09 on *Hyphantria cunea* and its survival dynamics. Master dissertation. Baoding: Hebei Agricultural University. [李英, 2018. 球孢白僵菌 Bb09 对美国白蛾致病性及其宿存动态研究. 硕士学位论文. 保定: 河北农业大学.]
- Liochev SI, Fridovich I, 2007. The effects of superoxide dismutase on H_2O_2 formation. *Free Radical Biology & Medicine*, 42(10): 1465–1469.
- Lu LM, Du DC, Hu XR, Pu ZX, Zhang XY, Chen GQ, 2013. Isolation and identification of insect-fungi infected *Diaphorina citri*. *Journal of Zhejiang Agricultural Sciences*, (10): 1319–1322. [鹿连明, 杜丹超, 胡秀荣, 蒲占涓, 张小亚, 陈国庆, 2013. 一株柑橘木虱虫生真菌的分离与鉴定. 浙江农业科学, (10): 1319–1322.]
- Luo LP, Wang XY, Yang ZQ, Cao LM, 2018. Research progress in the management of fall webworm, *Hyphantria cunea* (Drury) (Lepidoptera: Arctiidae). *Journal of Environmental Insects*, 40(4): 721–735. [罗立平, 王小艺, 杨忠岐, 曹亮明, 2018. 美国白蛾防控技术研究进展. 环境昆虫学报, 40(4): 721–735.]
- Mannino MC, Huarte-Bonnet C, Davyt-Colo B, Pedrini N, 2019. Is the insect cuticle the only entry gate for fungal infection? Insights into alternative modes of action of entomopathogenic fungi. *Journal of Fungi*, 5(2): 33.
- Pu ZL, Li ZZ, 1996. *Insect Mycology*. Hefei: Anhui Publishing

- House of Science and Technology. 245–264, 323–327, 553–554. [蒲蛰龙, 李增智, 1996. 昆虫真菌学. 合肥: 安徽科学技术出版社. 245–264, 323–327, 553–554.]
- Qiu JZ, Huang ZP, Pang JR, Xie XQ, Zhu YP, Zhang SS, Guang X, 2004. Infection behavior of entomopathogenic fungus *Aschersonia aleyrodis* on *Bemisia tabac*. *Mycosystema*, 23(1): 115–121. [邱君志, 黄志鹏, 潘洁茹, 谢雪钦, 朱炎平, 张绍升, 关雄, 2004. 昆虫病原真菌粉虱座壳孢对烟粉虱侵染行为的初步研究. 菌物学报, 23(1): 115–121.]
- Schowalter TD, Ring DR, 2017. Biology and management of the fall webworm, *Hyphantria cunea* (Lepidoptera: Erebidae). *Journal of Integrated Pest Management*, 8(1): 7.
- Tang WY, Xing CC, Dong YG, Wang X, Zhang YM, 2015. Changes in the activities of antioxidant enzymes in *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) larva infected by the fungus *Nomuraea rileyi*. *Acta Entomologica Sinica*, 58(5): 526–534. [唐维媛, 邢丛丛, 董永刚, 王啸, 张义明, 2015. 斜纹夜蛾幼虫感染莱氏野村菌后的抗氧化酶活性变化. 昆虫学报, 58(5): 526–534.]
- Wang HM, Zhang H, Hao C, Wang SG, Zhang XH, 2009. Infection and pathogenicity of *Paecilomyces fumosoroseus* on *Plutella xylostella*. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 17(4): 704–708. [王宏民, 张奂, 郝赤, 王曙光, 张仙红, 2009. 玫瑰色拟青霉对小菜蛾幼虫的侵染过程及接菌方法对其致病力的影响. 中国生态农业学报, 17(4): 704–708.]
- Wang HM, Zhang H, Hao C, Zhang XH, 2013. Effects of *Isaria fumosorosea* infection on different enzyme activities in the larvae of *Plutella xylostella*. *Mycosystema*, 32(2): 269–276. [王宏民, 张奂, 郝赤, 张仙红, 2013. 玫瑰色棒束孢侵染对小菜蛾幼虫体内不同酶活的影响. 菌物学报, 32(2): 269–276.]
- Wang WX, Zhou LF, Dong GP, Chen FM, 2020. Isolation and identification of entomopathogenic fungi and an evaluation of their actions against the larvae of the fall webworm, *Hyphantria cunea* (Drury) (Lepidoptera: Arctiidae). *BioControl*, 65(1): 101–111.
- Wu QJ, Zhang YJ, Xu BY, Zhang WJ, 2011. The defending enzymes in abamectin resistant *Plutella xylostella*. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 48(2): 291–295. [吴青君, 张友军, 徐宝云, 张文吉, 2011. 保护酶系在小菜蛾对阿维菌素抗性中的作用. 应用昆虫学报, 48(2): 291–295.]
- Yan JH, Liu Q, Wang WL, Xia MH, Zhao Y, Yang QM, 2015. Review on the occurrence and control of *Hyphantria cunea* (Drury). *Journal of Shandong Forestry Science and Technology*, 45(2): 93–106. [闫家河, 刘芹, 王文亮, 夏明辉, 赵燕, 杨启萌, 2015. 美国白蛾发生与防治研究综述. 山东林业科技, 45(2): 93–106.]
- Yang ZQ, Zhang YA, 2007. Researches on techniques for biocontrol of the fall webworm, *Hyphantria cunea*, a severe invasive insect pest to China. *Chinese Bulletin of Entomology*, 44(4): 465–471, 622. [杨忠岐, 张永安, 2007. 重大外来入侵害虫——美国白蛾生物防治技术研究. 昆虫知识, 44(4): 465–471, 622.]
- Zeng J, Tian L, Wang JM, Wang LD, 2013. Microscopic observations of infection process of *Lecanicillium lecanii* on the cuticle of *Aleurocanthus spiniferus*. *Wuyi Science Journal*, 29(1): 186–191. [曾君, 田麟, 王金明, 王联德, 2013. 蜡蚧轮枝菌侵染黑刺粉虱体表过程的显微观察. 武夷科学, 29(1): 186–191.]
- Zhang J, Song DL, Chen JX, 2003. Physiological and biochemical changes of the silkworm, *Bombyx mori* infected by *Cordyceps militaris*. *Acta Entomologica Sinica*, 46(6): 674–678. [张军, 宋敦伦, 陈建新, 2003. 家蚕感染蛹虫草后的生理生化变化. 昆虫学报, 46(6): 674–678.]
- Zhang JJ, Dong Q, Zhao HB, Peng HJ, Zhang WX, Li JJ, Zhang YP, Ren BZ, 2013. A summary of distribution, harm and control measures of *Hyphantria cunea* in mainland China. *Jilin Forestry Science and Technology*, 42(3): 27–30. [张俊杰, 董琴, 赵涵博, 彭海娇, 张文宜, 李君健, 张轶平, 任炳忠, 2013. 中国大陆美国白蛾的侵入分布、危害与防治概述. 吉林林业科技, 42(3): 27–30.]
- Zhang XH, Wang HM, Li WY, He YC, Hao C, 2006. Changes in the protein content in haemolymph and activities of protective enzymes of *Pieris rapae* infected by *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomyc). *Acta Entomologica Sinica*, 49(2): 230–234. [张仙红, 王宏民, 李文英, 贺运春, 郝赤, 2006. 菜青虫感染玫瑰色拟青霉后血淋巴蛋白质含量及几种保护酶活力的变化. 昆虫学报, 49(2): 230–234.]
- Zheng P, Xia Y, Xiao G, Xiong C, Hu X, Zhang S, Zheng H, Huang Y, Zhou Y, Wang S, 2011. Genome sequence of the insect pathogenic fungus *Cordyceps militaris*, a valued traditional Chinese medicine. *Genome Biology*, 12(11): 1–22.