

球孢白僵菌侵染中黑盲蝽致病过程的电镜观察

张 啸* 刘 佳 杨亦桦 武淑文**

(南京农业大学植物保护学院, 南京 210095)

摘 要 【目的】为揭示白僵菌 *Beauveria bassiana* 对中黑盲蝽 *Adelphocoris suturalis* 的致病机制, 并探索盲蝽生物防治的有效方法。【方法】本文利用扫描电子显微镜和透射电子显微镜观察白僵菌菌株 Bb-VIII 对中黑盲蝽成虫的侵染过程。【结果】接种白僵菌后, 其分生孢子在中黑盲蝽的体壁褶皱、凹陷处或虫体连接部位附着; 接种 16 h 后分生孢子萌发产生芽管, 并借助机械压力和酶的作用侵入中黑盲蝽体壁; 36-72 h 时, 菌丝体相继侵入中黑盲蝽的肌肉组织、脂肪体和肠体绒毛内, 并在昆虫血腔内进行出芽或分隔生殖; 接种 48 h 后中黑盲蝽死亡, 虫体内的菌丝体伸到体外并萌发成气生菌丝和分生孢子, 继而布满虫体。【结论】白僵菌的附着受中黑盲蝽体表物理结构的影响, 其分生孢子在接种 48 h 内完成对中黑盲蝽的寄生并最终导致虫体发病死亡, 表现出较强的致病力。菌丝入侵的机械破坏力和酶类的水解作用是白僵菌对中黑盲蝽的重要致病因子。

关键词 白僵菌; 中黑盲蝽; 透射电子显微镜; 扫描电子显微镜; 侵染过程

Electron microscopic observation of infection of *Adelphocoris suturalis* by *Beauveria bassiana*

ZHANG Xiao* LIU Jia YANG Yi-Hua WU Shu-Wen**

(College of Plant Protection, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract 【Objectives】To reveal the pathogenic mechanism of infection of *Beauveria bassiana* and investigate the effectiveness of *B. bassiana* as a biological control for mirid bugs. 【Methods】The process of infection of *Adelphocoris suturalis* by the Bb-VIII strain of *B. bassiana* was observed with both scanning and transmission electron microscopy. 【Results】At the beginning of inoculation, *B. bassiana* adhered to epidermal folds, depressions and body joints of *A. suturalis*. After 16 h germinated conidia formed germ tubes that invaded the cuticle of *A. suturalis* with the aid of extracellular hydrolyzing enzymes and mechanical stress. After 36-72 h hyphal bodies had invaded muscle tissue, the fat body, intestinal villi, proliferating in the body cavity by both septation and budding. Finally, after 48 h hyphae emerged from the cuticle and developed into aerial hyphae and conidia. The cuticle of dead *A. suturalis* was completely covered by hyphae. 【Conclusion】Attachment of *B. bassiana* conidia is affected by structural features of the body wall of *A. suturalis*. The infection process was completed within 48 h of inoculation, which shows that *B. bassiana* is highly pathogenic to *A. suturalis*. The mechanism by which hyphae invade the host cuticle involves not only mechanical pressure but also extracellular hydrolase.

Key words *Beauveria bassiana*; *Adelphocoris suturalis*; scanning electron microscopy; transmission electron microscopy; infection process

白僵菌 *Beauveria bassiana* 作为一类虫生病原真菌, 可侵染多种昆虫, 同时对人、畜和作物友好, 在农林害虫的生物防治领域得到了应用广

泛(李增智, 2015)。白僵菌用于防治林业害虫的典型案例是马尾松毛虫 *Dendrolimus punctatus* 规模化治理, 杀虫率超过 90%; 在农业害虫上则

*第一作者 First author, E-mail: 332624918@qq.com

**通讯作者 Corresponding author, E-mail: swwu@njau.edu.cn

收稿日期 Received: 2020-10-26; 接受日期 Accepted: 2021-01-31

以防治亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis* 最为成功, 控制效果达 79%-87% (陈佳广, 2014; 雷文雪等, 2018; 杨芷等, 2020)。此外, 白僵菌还用于防治蛴螬、烟草甲 *Lasioderma serricorne*、烟粉虱 *Bemisia tabaci*、棉蚜 *Aphis gossypii*、小菜蛾 *Plutella xylostella*、杨尺蠖 *Apocheima cinerarius*、栗实象 *Curculio davidi* 等农林害虫 (刘爱英等, 2009; 魏萍和王恒玺, 2014; 王音等, 2004; 王登杰等, 2015; 姚红青等, 2015; 陈春艳等, 2017; 刘琪等, 2020), 对 2019 年首次入侵我国的世界性迁飞害虫草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* 也有较高的致病力 (彭国雄等, 2019; 雷妍圆等, 2020)。

盲蝽是世界范围内为害棉花生产的重要害虫, 种类多达 50 余种 (陆宴辉等, 2007)。盲蝽的成虫和若虫均可刺吸为害寄主植物, 而且盲蝽成虫的寿命与产卵期长, 田间危害严重 (姜玉英等, 2015)。我国盲蝽主要有绿盲蝽 *Apolygus lucorum*、牧草盲蝽 *Lygus pratensis*、中黑盲蝽 *Adelphocoris suturalis*、苜蓿盲蝽 *Adelphocoris lineolatus* 和三点苜蓿盲蝽 *Adelphocoris fasciaticollis* 等几种, 国外则以美洲牧草盲蝽 *Lygus lineolaris*、豆荚草盲蝽 *Lygus hesperus*、长毛草盲蝽 *Lygus rugulipennis* 等种类为害最为严重 (陆宴辉等, 2007)。近些年来盲蝽在棉田的发生日趋严重, 使得周边的多种农作物, 如桃、枣、葡萄、茶树、蔬菜等受到了不同程度的波及 (陆宴辉等, 2010)。因此, 如何利用生防途径防治盲蝽成为生产上的重要问题, 特别是果树、蔬菜等经济作物上的盲蝽为害。国外就如何利用白僵菌进行盲蝽的防治进行了广泛研究, 球孢白僵菌影响长毛草盲蝽的取食, 并最终影响其繁殖和存活 (Fitzgerald, 2004); 白僵菌用于美洲牧草盲蝽的田间防治效果显著 (Liu et al., 2003; Leland and Behle, 2005)。而国内有关白僵菌对盲蝽的防治报道并不多见 (仝亚娟等, 2010)。

本文在已测定球孢白僵菌菌株Ⅷ对中黑盲蝽成虫有较高毒力的基础上, 进一步对球孢白僵菌的致病性进行研究, 利用扫描电子显微镜和透射电子显微镜记录球孢白僵菌对中黑盲蝽的侵染过程, 旨在探索白僵菌对中黑盲蝽的致病机

制, 并为白僵菌有效防治盲蝽提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 供试菌株与昆虫

球孢白僵菌菌株 Bb-Ⅷ: 1 000 亿孢子/g, 购自重庆重大生物技术有限公司。Bb-Ⅷ对中黑盲蝽成虫的 LC_{50} 为 2.44×10^5 孢子/mL, LT_{50} 为 2.37 d; 对若虫的 LC_{50} 为 0.42×10^5 孢子/mL, LT_{50} 为 1.86 d (刘佳, 2015)。

中黑盲蝽: 2009 年采自江苏省盐城地区棉田及豇豆田, 于室内不接触药剂继代饲养。饲养条件参照陆宴辉等 (2008) 的方法: 温度 (26 ± 1) °C, 相对湿度 70%-80%, 光周期 15L: 9D, 以四季豆饲喂中黑盲蝽成、若虫, 成虫期辅以 5%糖水补充营养。

1.2 接种

吸取 150 头羽化 10 d 的中黑盲蝽成虫, 浸入以无菌水配制的 1×10^8 孢子/mL 球孢白僵菌孢子悬浮液中, 10 s 后迅速取出, 用滤纸吸干虫体表面的水分后将试虫转入已灭菌的玻璃试管内, 并以棉塞封口防逃逸。每管 5 头试虫, 管内加入 2-3 小段洁净的四季豆作为饲料, 然后置于光照培养箱中饲养, 饲养条件为温度 (26 ± 1) °C, 光周期 15L: 9D。以无菌水浸过的试虫作为对照。

1.3 取样时间点

用于扫描电子显微镜观察的取样时间点分别为接种后 12、16、20、24、36、48、60 和 72 h; 用于透射电子显微镜观察的取样时间点分别为接种后 24、30、36、42、48、54、60、66、72、84 和 96 h。

1.4 样品制备与电镜观察

1.4.1 扫描电子显微镜样品的制备与观察 参照刘佳 (2015) 的方法进行样品制备与观察。在每个取样时间点随机吸取 6-8 头试虫, 接入小离心管内, 以 1.0 mL 2.5% 的戊二醛溶液进行固定。固定 24 h 后的试虫用 0.1 mol/L、pH 7.0 的磷酸缓冲液连续冲洗 3 次, 每次 10 min。然后依次用

50%、70%、80%及 90%的乙醇对试虫进行脱水干燥,每浓度处理 15 min,再用 100%乙醇脱水 3 次,每次 30 min。叔丁醇置换 3 次,每次 30 min。将脱水后的试虫放入叔丁醇中并置于 - 20 °C 冷冻保存。

取出冻存的试虫,在日立 ES-2030 冷冻干燥器中干燥 24 h,然后用双面胶带将单头试虫固定在日立-1010 离子溅射仪的操作台上,于试虫表面喷镀 10 nm 金膜,最后在日立 S-3000N 可变压力扫描电子显微镜下观察白僵菌分生孢子和菌丝体在中黑盲蝽体表的附着、萌发及生长情况,并拍照记录。

1.4.2 透射电子显微镜样品的制备与观察 参照卢辉等(2005)的方法进行样品的制备与观察。在每个取样时间点随机吸取 6-8 头试虫,戊二醛溶液固定及磷酸缓冲液清洗过程同 1.4.1。清洗之后用 1% 锇酸溶液固定试虫 1 h,再用

0.1 mol/L、pH 7.0 的磷酸缓冲液冲洗 3 次,每次 15 min。然后用不同浓度的乙醇进行脱水干燥,方法同 1.4.1。取干燥好的试虫用环氧树脂进行浸透、包埋和聚合,用 LKB-3 型切片机对包埋好的单头试虫进行切片,并用醋酸铀、柠檬酸铅染色,最后在日立 H-7500 透射电子显微镜下观察白僵菌在中黑盲蝽体内的侵染及增殖情况,并拍照记录。

2 结果与分析

2.1 白僵菌在中黑盲蝽体表附着

白僵菌接种后 0-16 h 是接触期,白僵菌分生孢子开始在中黑盲蝽成虫体表附着。受中黑盲蝽体壁物理结构的影响,白僵菌的附着表现出选择性。分生孢子倾向于附着在凹陷处如触角窝(图 1: A)、小眼之间(图 1: B)、刚毛窝(图 1: C),

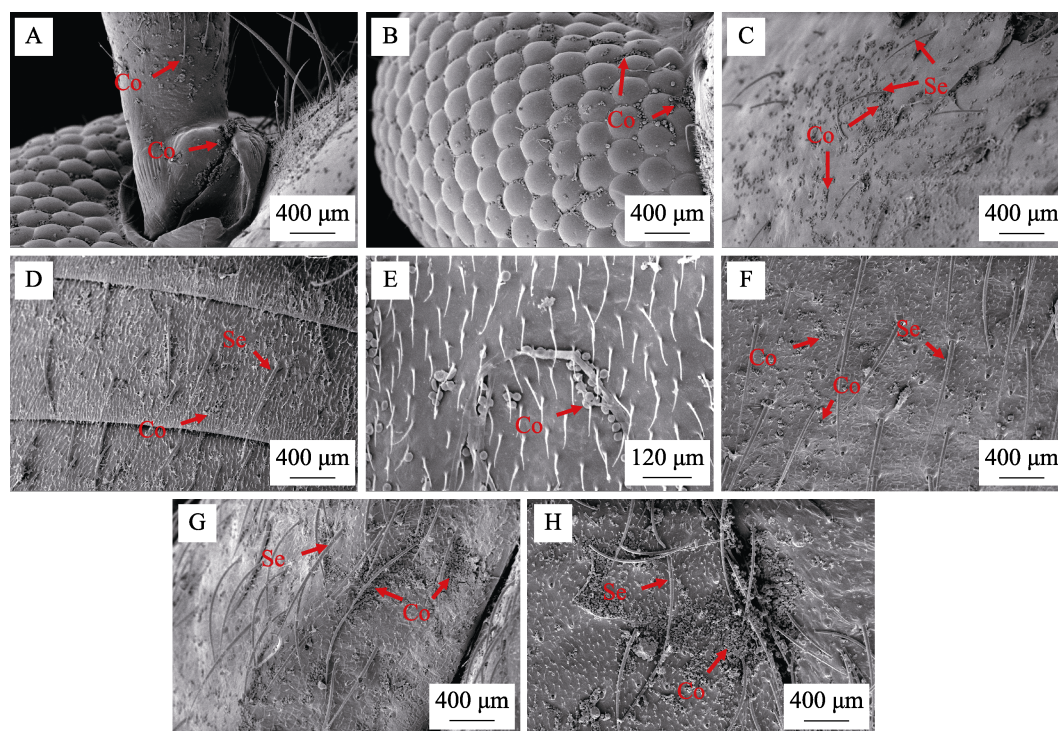


图 1 白僵菌在中黑盲蝽体表的附着

Fig. 1 Adhesion of *Beauveria bassiana* conidia to body wall of *Adelphocoris suturalis*

A. 触角; B. 复眼; C. 前胸背板; D. 腹部; E. 前翅; F. 足; G. 头胸连接处;

H. 前胸中胸连接处。Co: 分生孢子; Se: 刚毛。

A. Antenna; B. Compound eyes; C. Pronotum; D. Abdomen; E. Proala; F. Leg; G. The joint of head and thorax;

H. The joint of thorax and metathorax. Co: Conidia; Se: Setae.

或虫体的连接部位如体节连接处(图 1: G-H),但在光滑或平坦区域则孢子数量较少,如小眼面(图 1: B)、前胸背板平坦区(图 1: C)、腹板(图 1: D)、前翅革区(图 1: E)、足(图 1: F)等部位。

2.2 白僵菌穿透中黑盲蝽体壁

接种 16-20 h 后,白僵菌对中黑盲蝽的感染进入侵入期。初期附着于中黑盲蝽体壁的分生孢子开始生长,萌发生成芽管(图 2: A)或进一步形成附着孢(本文未观察到),并借助感染结构的机械压力侵入体壁。白僵菌分生孢子和菌丝同时会分泌酶类物质溶解寄主表皮,以减少入侵阻力(图 2: B)。后期穿透菌丝进一步穿透表皮层,破坏表皮层的片层结构(图 2: B)或导致表皮层发生变形(图 2: C)。穿透菌丝周围的表皮层电子密度较低,形成了光晕现象(图 2:

B),表明穿透菌丝会分泌化学物质如酶等分解寄主的表皮层。

2.3 白僵菌在中黑盲蝽体内的寄生与繁殖

接种 36 h 后,白僵菌穿透菌丝穿透中黑盲蝽体壁侵入寄主血腔,与寄主建立寄生关系,进入潜育期。初期中黑盲蝽已被破坏的皮细胞层与表皮层分离并产生空腔,大量菌丝经由空腔结构侵入虫体并进而形成短棒状的菌丝体(图 3: A,接种后 42 h);侵入血腔的菌丝体分解虫体组织结构,周围开始出现絮状溶解物(图 3: B,接种后 42 h)。中期菌丝体向中黑盲蝽体内扩展入脂肪体,分解脂肪并形成空洞(图 3: C,接种后 48 h);因菌丝入侵肌肉组织,并破坏肌肉结构,造成虫体无法正常活动(图 3: D,接种后 60 h);入侵肠体绒毛,获取消化系统的营养物质,导致盲蝽营养缺乏而加速死亡(图 3: E,

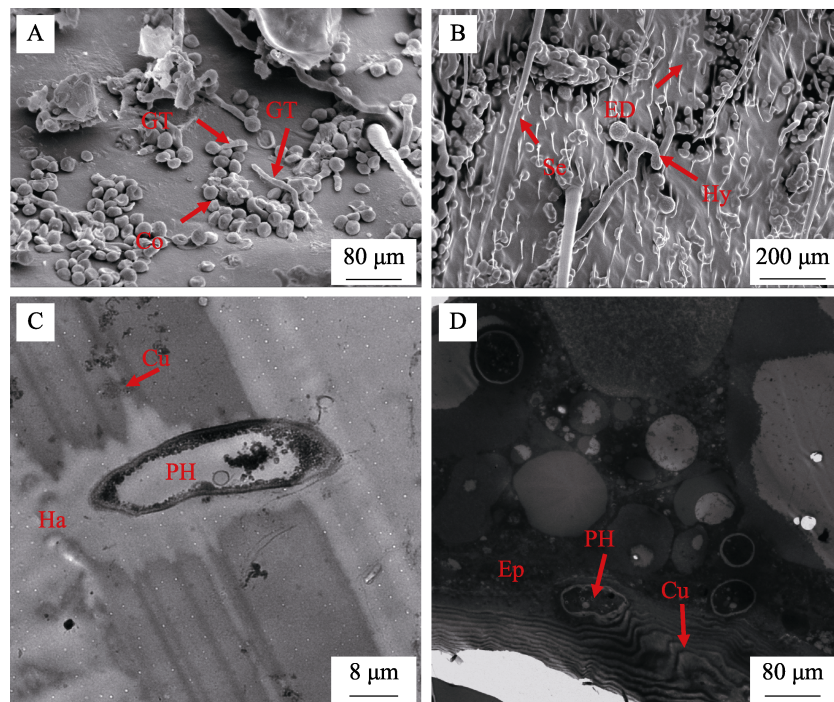


图 2 白僵菌侵入中黑盲蝽体壁

Fig. 2 Penetration process of *Beauveria bassiana* to *Adelphocoris suturalis*

A. 孢子萌发形成芽管; B. 胞外酶溶解表皮; C. 穿透菌丝前端出现光晕;

D. 穿透菌丝侵入表皮层引起片层结构变形。Co: 分生孢子; GT: 芽管; Se: 刚毛;

Hy: 菌丝; ED: 酶的降解; PH: 穿透菌丝; Ha: 光晕; Cu: 表皮; Ep: 皮细胞层。

A. Germinated conidia gave rise to germ tube; B. Extracellular hydrolase dissolved body wall; C. The penetrant hypha invaded in cuticle with halation appearing; D. Cuticle deformed by invasion of a penetrant hypha. Co: Conidia; GT: Germ tube; Se: Setae; Hy: Hyphae; ED: Enzymatic degradation; PH: Penetrant hyphae; Ha: Halation; Cu: Cuticle; Ep: Epidermis.

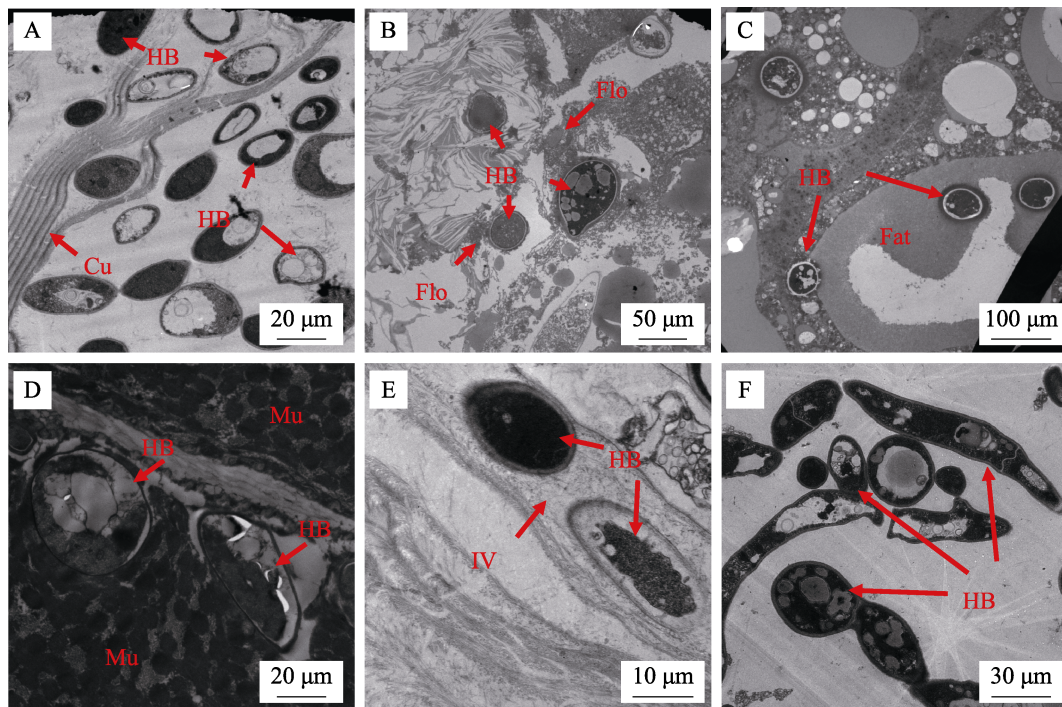


图3 白僵菌在中黑盲蝽体内的潜育及繁殖

Fig. 3 Incubation and proliferation of *Beauveria bassiana* in *Adelphocoris suturalis*

A. 皮细胞层与表皮层分离; B. 菌丝体周围的絮状物质; C. 菌丝体入侵肌肉组织;

D. 菌丝体入侵脂肪体; E. 菌丝体入侵小肠绒毛; F. 菌丝体在体腔内增殖。Cu: 表皮;

HB: 菌丝体; Flo: 絮状物质; Fat: 脂肪体; Mu: 肌肉; IV: 肠体绒毛。

A. Cuticle separated from epidermis; B. Flocculent material around hyphal body; C. Hyphal body invaded in muscle tissue; D. Hyphal body invaded in fat body; E. Hyphal body invaded in intestinal villi; F. Hyphal body proliferated in body cavity.

Cu: Cuticle; HB: Hyphal body; Flo: Flocculent material; Fat: Fat body; Mu: Muscle; IV: Intestinal villi.

接种后 66 h)。接种 72 h 后, 白僵菌菌丝体在中黑盲蝽体内开始以出芽及菌丝段直接分隔的方式进行生殖, 扩大种群 (图 3: F)。

2.4 白僵菌入侵导致中黑盲蝽发病死亡

接种 48 h 后, 白僵菌的成功寄生及致病因子的作用导致中黑盲蝽发病并死亡。寄主死亡后, 白僵菌菌丝从中黑盲蝽体壁内伸出 (图 4: A)。伸出体壁的菌丝进一步形成气生菌丝并分化成分生孢子梗和分生孢子 (图 4: B)。分生孢子散落在中黑盲蝽体表可再次萌发 (图 4: C), 最终导致虫体表面被大量菌丝所覆盖形成僵虫 (图 4: D)。

侵染后期寄主组织结构被严重破坏且营养不足导致白僵菌菌丝活力衰退及死亡。接种后 96 h, 体腔内的菌丝体发生细胞凋亡形成空腔 (图 4: E), 虫体表面的菌丝也出现萎缩现象

(图 4: F)。

3 讨论

病原真菌对寄主昆虫的致病机制涉及多种因素, 一般包括对寄主的识别与附着、分解寄主表皮、机械穿透表皮、干扰寄主生理代谢、掠夺寄主营养、分泌毒素及破坏寄主的组织结构等 (Charnley, 1984; Clarkson and Charnley, 1996; Leemon and Jonsson, 2002)。本文利用扫描电镜观察了接触期、侵入期和发病期白僵菌在中黑盲蝽体表的侵染过程, 同时利用透射电镜记录了潜育期白僵菌在中黑盲蝽体内的寄生过程。研究结果为阐明白僵菌的致病机理提供了最直接的证据, 并为利用白僵菌生物防治盲蝽的为害提供了数据参考。

病原真菌在寄主体表的附着是影响其致病

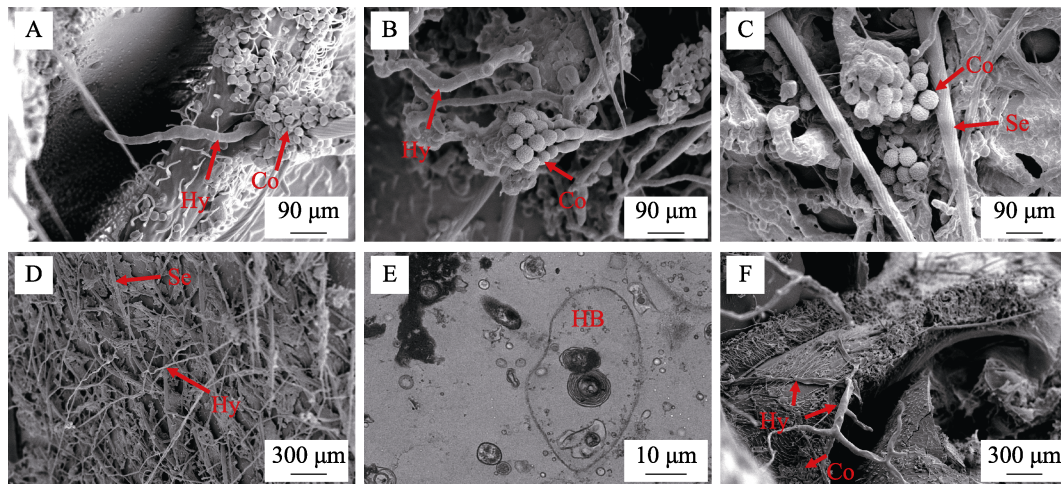


图 4 中黑盲蝽的发病期

Fig. 4 Symptom appearance period of *Beauveria bassiana* to *Adelphocoris suturalis*

- A. 菌丝伸出体外; B. 气生菌丝及分生孢子梗; C. 分生孢子脱落; D. 虫体体壁布满菌丝;
E. 体腔中的菌丝体凋亡; F. 体壁上的菌丝死亡。Se: 刚毛; Co: 分生孢子; Hy: 菌丝; HB: 菌丝体。
A. Hyphae out of the cuticle; B. Aerial hyphae and conidium terrier; C. Conidia fell off on the cuticle;
D. Cuticle covered by hyphae; E. Cell apoptosis of hyphae occurred in body cavity; F. Hyphae on cuticle died.
Se: Setae; Co: Conidia; Hy: Hyphae; HB: Hyphal body.

力的因素之一。本研究结果表明白僵菌可在中黑盲蝽体表进行大量附着, 且附着点具有选择性。白僵菌分生孢子更倾向于附着在中黑盲蝽成虫体壁的凹陷处、体节连接处, 而光滑平坦的区域则不易粘附。球孢白僵菌附着在桑天牛 *Apriona germari* 幼虫表皮时也表现出对结构的选择性 (王晓红等, 2009), 但在西花蓟马 *Frankliniella occidentalis* 体壁附着时没有选择倾向 (张志建等, 2017)。分生孢子附着位点的选择差异与寄主种类及寄主体表的物理结构有关, 虫体连接处的体壁有助于孢子的附着和萌发 (张爱文等, 1994)。

病原真菌分泌胞外酶分解破坏寄主的组织结构是其重要的致病机理之一 (Charnley, 1984; Clarkson and Charnley, 1996)。本研究除直观记录了白僵菌对中黑盲蝽的机械破坏作用外, 同时观察到酶类物质对致病进程的影响。在侵入初期白僵菌分生孢子和菌丝分泌酶类物质帮助溶解表皮; 在穿透昆虫表皮层时胞外酶溶解体壁片层结构, 减小物理阻力; 进入潜育期, 菌丝体分泌酶类物质, 将昆虫组织裂解为大量絮状物质。由此说明, 胞外酶类的水解作用是白僵菌感染中黑

盲蝽并导致其死亡的重要原因之一, 在致死过程中是否涉及菌丝体产生的其他代谢产物如毒素等的破坏作用尚需进一步研究。

应用白僵菌对田间害虫幼虫或若虫进行生物防治时, 虫龄越小越容易感病 (季香云和杨长举, 2003; 仝亚娟等, 2010; 贺然等, 2020)。而盲蝽成虫的寿命与产卵期长, 田间世代重叠严重 (姜玉英等, 2015)。这是利用白僵菌进行盲蝽生物防治所面临的挑战, 微生物活体或微生物产物仅对盲蝽若虫有效, 这就使得利用白僵菌进行盲蝽生物防治时存在困难。前期已测定球孢白僵菌菌株Ⅷ虽对中黑盲蝽若虫毒力较高, 但对中黑盲蝽成虫也有较高的致病力, LC_{50} 为 2.44×10^5 孢子/mL (刘佳, 2015)。国外也有研究发现白僵菌对麦扁盾蝽 *Eurygaster integriceps* 的若虫和成虫均有较高的毒力作用 (Zibae et al., 2009)。由此表明白僵菌在防治盲蝽方面存在巨大的潜能和开发前景。

本研究中, 接种 16 h 后白僵菌萌发侵入中黑盲蝽; 36 h 后与中黑盲蝽建立寄生关系, 吸取寄主营养; 48 h 后破坏寄主组织, 导致中黑盲蝽行动缓慢并最终死亡。白僵菌对中黑盲蝽的致

病进程与测定的致死中时间相符,即在 1×10^8 孢子/mL 浓度下的 LT_{50} 为 2.37 d。病原真菌感染寄主昆虫时间越短,表明其毒力越高(曹伟平等, 2011; 何学友等, 2011)。接种球孢白僵菌 8 h 后,分生孢子在西花蓟马的体表开始萌发并侵入体壁(张志建等, 2017);而接种 72 h 后,球孢白僵菌的分生孢子才在菲岛玉米蜡蝉 *Peregrinus maidis* 体壁附着处大量萌发(Toledo *et al.*, 2010);与绿僵菌 LD65 菌株相比,LF68 菌株感染速度快是其致死速度快的原因之一(王音等, 2005)。白僵菌接种后可快速完成感染过程,展现出其对中黑盲蝽成虫较高的致病力和较好的应用前景。本研究结果为深入挖掘白僵菌作为高效能生物杀虫剂的应用潜力提供了理论支持。

参考文献 (References)

- Cao WP, Wang G, Zhen W, Wang RY, Du LX, Song J, Wang JY, Feng SL, 2011. Comparison of toxicity of *Beauveria bassiana* and histopathological changes of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) larvae infected in different inoculation ways. *Acta Entomologica Sinica*, 54(4): 409–415. [曹伟平, 王刚, 甄伟, 王容燕, 杜立新, 宋健, 王金耀, 冯书亮, 2011. 球孢白僵菌不同感染方式感染棉铃虫幼虫的毒性比较及组织病理变化. 昆虫学报, 54(4): 409–415.]
- Chamley AK, 1984. Physiological aspects of destructive pathogenesis in insects by fungi: A speculative review//Anderson JM, Rayner ADM, Walton DWH (eds.). *Invertebrate-Microbial Interactions*. London: Cambridge University Press. 229–270.
- Chen CY, Xie YP, Zhou XB, Wang X, Wang Y, 2017. Virulence of three strains of *Beauveria bassiana* infected *Curculio davidi* Fairmaire. *Journal of Environmental Entomology*, 39(1): 198–206. [陈春艳, 谢映平, 周西贝, 王旭, 王云, 2017. 三株球孢白僵菌对栗实象甲幼虫的感染和致病力研究. 环境昆虫学报, 39(1): 198–206.]
- Chen JG, 2014. Research on corn borer prevention by using *Beauveria Bassiana* sealing method. *Agricultural Science & Technology and Equipment*, (12): 9–10. [陈佳广, 2014. 白僵菌封垛防治玉米螟研究. 农业科技与装备, (12): 9–10.]
- Clarkson JM, Chamley AK, 1996. New insights into the mechanisms of fungal pathogenesis in insects. *Trends Microbiology*, 4(5): 197–203.
- Fitzgerald J, 2004. Laboratory bioassays and field evaluation of insecticides for the control of *Anthonomus rubi*, *Lygus rugulipennis* and *Chaetosiphon fragaefolii*, and effects on beneficial species, in UK strawberry production. *Crop Protection*, 23(9): 801–809.
- He R, Cui X, Ying Y, Qu LJ, Wang RZ, Zhang YA, 2020. Screening and identification of *Beauveria bassiana* strains for biocontrol of *Monochamus alternatus* adults (Coleoptera: Cerambycidae). *Scientia Silvae Sinicae*, 56(10): 129–134. [贺然, 崔夏, 应玥, 曲良建, 王瑞珍, 张永安, 2020. 防治松褐天牛成虫的白僵菌菌株室内筛选和鉴定. 林业科学, 56(10): 129–134.]
- He XY, Cai SP, Tong YH, Xiong Y, Huang Y, Xie JD, Chen SL, 2011. Pathogenicity evaluation of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* against adults of *Basilepta melanopus* (Coleoptera: Eumolpidae). *Acta Entomologica Sinica*, 54(11): 1281–1287. [何学友, 蔡守平, 童应华, 熊瑜, 黄勇, 谢家冬, 陈顺立, 2011. 球孢白僵菌和金龟子绿僵菌不同菌株对黑足角胸叶甲成虫的致病力评价. 昆虫学报, 54(11): 1281–1287.]
- Jiang YY, Lu YH, Zeng J, 2015. Forecast and Management of Mirid Bugs in Multiple Agroecosystems of China. Beijing: China Agriculture Publishing House Press. 43. [姜玉英, 陆宴辉, 曾娟, 2015. 盲蝽分区监测与治理. 北京: 中国农业出版社. 43.]
- Ji XY, Yang CJ, 2003. Infection and application of *Beauveria* spp. *Chinese Journal of Biological Control*, 19(2): 82–85. [季香云, 杨长举, 2003. 白僵菌的致病性与应用. 中国生物防治, 19(2): 82–85.]
- Leemon DM, Jonsson NN, 2008. Laboratory studies on Australian isolates of *Metarhizium anisopliae* as a bioinsecticides for the cattle tick *Boophilus microplus*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 97(1): 40–49.
- Lei WX, Huang J, Gou SY, Pan Y, Zhang HL, 2018. Study on the toxicity of different microbial insecticides on corn borer. *Biological Chemical Engineering*, 4(4): 97–99. [雷文雪, 黄娟, 苟思源, 潘艳, 张海玲, 2018. 不同微生物杀虫剂对玉米螟的致毒作用研究. 生物化工, 4(4): 97–99.]
- Lei YY, Zhang YP, Xue ZH, Wang YH, Wang SH, Lü LH, 2020. Isolation and identification of a *Beauveria bassiana* isolate and its pathogenicity to *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Environmental Entomology*, 42(3): 593–601. [雷妍圆, 章玉苹, 薛志洪, 王裕华, 黄少华, 吕利华, 2020. 一株球孢白僵菌的分离鉴定及其对草地贪夜蛾的致病性. 环境昆虫学报, 42(3): 593–601.]
- Leland J, Behle R, 2005. Coating *Beauveria bassiana* with lignin for protection from solar radiation and effects on pathogenicity to *Lygus lineolaris* (Heteroptera: Miridae). *Biocontrol Science*

- Technology, 15(3): 309–320.
- Li ZZ, 2015. History, progress and current status of the application of fungi against pest insects in China. *Chinese Journal of Biological Control*, 31(5): 699–711. [李增智, 2015. 我国利用真菌防治害虫的历史、进展及现状. 中国生物防治学报, 31(5): 699–711.]
- Liu AY, Luo L, Zou X, Hu HY, Zhang XM, Yang H, Wu RX, 2009. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* to *Ephesia elutella* and *Lasioderma serricornis*. *Guizhou Agricultural Sciences*, 37(9): 84–85. [刘爱英, 罗力, 邹晓, 胡海燕, 张晓敏, 杨辉, 吴让新, 2009. 白僵菌对烟草粉蛾及烟草甲的致病性研究. 贵州农业科学, 37(9): 84–85.]
- Liu H, Skinner M, Brownbridge M, Parker BL, 2003. Characterization of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates or management of tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Hemiptera: Miridae). *Invertebrate Pathology*, 82(3): 139–147.
- Liu J, 2015. Resistance monitoring of mirid bugs and pathogenicity of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* to mirid bugs. Master dissertation. Nanjing: Nanjing Agricultural University. [刘佳, 2015. 棉盲蝽抗药性监测及白僵菌和绿僵菌对其的毒杀作用. 硕士学位论文. 南京: 南京农业大学]
- Liu Q, Geng LL, Liu CQ, Wang QL, Zhang J, Bai X, Shu CL, 2020. Study on the granular carrier to enhance the control effect of *Bacillus thuringiensis* and *Beauveria bassiana* on grubs. *Chinese Journal of Biological Control*, doi: 10.16409/j.cnki.2095-039x. 2020.05.003. [刘琪, 耿丽丽, 刘春琴, 王庆雷, 张杰, 柏锡, 束长龙, 2020. 提升 Bt 和球孢白僵菌防治蛴螬效果的颗粒载体研究. 中国生物防治学报, doi: 10.16409/j.cnki.2095-039x. 2020.05.003.]
- Lu H, Zhang LS, Zhang ZH, Shen YX, Wu KH, Long RJ, 2005. Observation on the infected position and process of *Metarhizium anisopliae* on *Brontispa longissima* (Gestro) using scanning microscope. *Plant Quarantine*, 19(4): 201–204. [卢辉, 张礼生, 张泽华, 沈有孝, 吴坤宏, 龙瑞军, 2005. 绿僵菌侵染椰心叶甲的部位及侵染过程的电镜观察. 植物检疫, 19(4): 201–204.]
- Lu YH, Liang GM, Wu KM, 2007. Advances in integrated management of cotton mirids. *Plant Protection*, 33(6): 10–15. [陆宴辉, 梁革梅, 吴孔明, 2007. 棉盲蝽综合治理研究进展. 植物保护, 33(6): 10–15.]
- Lu YH, Wu KM, Cai XM, Liu YQ, 2008. A rearing method for mirids using the green bean, *Phaseolus vulgaris* in the laboratory. *Acta Phytomycol Sinica*, 35(3): 215–219. [陆宴辉, 吴孔明, 蔡小明, 刘仰青, 2008. 利用四季豆饲养盲蝽的方法. 植物保护学报, 35(3): 215–219.]
- Lu YH, Wu KM, Jiang YY, Xia B, 2010. Occurrence trend and control strategy of cotton mirids in China. *Plant Protection*, 36(2): 150–153. [陆宴辉, 吴孔明, 姜玉英, 夏冰, 2010. 棉花盲蝽的发生趋势与防控对策. 植物保护, 36(2): 150–153.]
- Peng GX, Zhang SL, Zhang W, Xia YX, 2019. Synergistic effects of fungal insecticides and *Bacillus thuringiensis* against *Spodoptera frugiperda* in laboratory. *Chinese Journal of Biological Control*, 35(5): 735–740. [彭国雄, 张淑玲, 张维, 夏玉先, 2019. 杀虫真菌与苏云金芽孢杆菌对草地贪夜蛾的联合室内杀虫活性研究. 中国生物防治学报, 35(5): 735–740.]
- Toledo AV, de Remes Lenicov AMM, López Lastra CC, 2010. Histopathology caused by the entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*, in the adult planthopper, *Peregrinus maidis*, a maize virus vector. *Journal of Insect Science*, 10(35): 1–10.
- Tong YJ, Wu KM, Lu YH, Gao XW, 2010. Pathogenicity of *Beauveria* spp. strains to three species of mirids, *Apolygus lucorum*, *Adelphocoris suturalis* and *Adelphocoris lineolatus*. *Acta Phytomycol Sinica*, 37(2): 172–176. [仝亚娟, 吴孔明, 陆宴辉, 高希武, 2010. 白僵菌对盲蝽的致病性. 植物保护学报, 37(2): 172–176.]
- Wang DJ, Lei ZR, Wang SY, Wang HH, 2015. A new fluorescent microscopy method for identifying *Beauveria bassiana* infected *Bemisia tabaci* nymphs. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 52(1): 267–271. [王登杰, 雷仲仁, 王帅宇, 2015. 观察球孢白僵菌侵染烟粉虱若虫过程的新方法-荧光显微法. 应用昆虫学报, 52(1): 267–271.]
- Wang XH, Huang DZ, Yang ZQ, Li HP, Zheng JW, 2009. Microscopic observations of infection process of *Beauveria bassiana* on the cuticle of *Apriona germari* larvae. *Science of Sericulture*, 35(2): 374–378. [王晓红, 黄大庄, 杨忠岐, 李会平, 郑建伟, 2009. 白僵菌感染桑天牛幼虫致病过程的显微观察. 蚕业科学, 35(2): 374–378.]
- Wang Y, Lei ZR, Zhang QW, Wen JZ, 2005. Microscopic observations of infection process of *Metarhizium anisopliae* on the cuticle of the diamondback moth, *Plutella xylostella*. *Acta Entomologica Sinica*, 48(2): 188–193. [王音, 雷仲仁, 张青文, 问锦曾, 2005. 绿僵菌侵染小菜蛾体表过程的显微观察. 昆虫学报, 48(2): 188–193.]
- Wang Y, Lei ZR, Zhang QW, Wen JZ, Huang H, 2004. The symptom and histopathological changes of *Plutella xylostella* infected by *Metarhizium anisopliae*. *Chinese Journal of Biological Control*, 20(3): 156–160. [王音, 雷仲仁, 张青文, 问锦曾, 黄虹, 2004. 小菜蛾感染绿僵菌后的病征及组织病理

- 变化. 中国生物防治, 20(3): 156–160]
- Wei P, Wang HX, 2014. Toxicity determination of *Beauveria bassiana* to different instars of cotton aphids. *Shandong Agricultural Science*, 46(3): 86–87, 92. [魏萍, 王恒玺, 2014. 球孢白僵菌对不同龄期棉蚜的毒力测定. 山东农业科学, 46(3): 86–87, 92.]
- Yang Z, Lu Y, Mao G, Zhao Y, Zhang QH, Sui L, Zhao Y, Li QY, Zhang ZK, 2020. Use of *Trichogramma phoretic Beauveria bassiana* in control of Asian corn borer in field. *Chinese Journal of Biological Control*, 36(1): 52–57. [杨芷, 路杨, 毛刚, 赵宇, 张庆贺, 隋丽, 赵誉, 李启云, 张正坤, 2020. 松毛虫赤眼蜂携带球孢白僵菌防治亚洲玉米螟技术研究与应用. 中国生物防治学报, 36(1): 52–57.]
- Yao HQ, Xie YP, Wang EH, 2015. Morphologic observation of *Apocheima cinerarius* Erschoff (Lepidoptera: Geometridae) pupae and comparison of virulence of *Beauveria bassiana* infected on them. *Journal of Environmental Entomology*, 37(2): 348–354. [姚红青, 谢映平, 王二虎, 2015. 杨尺蠖蛹形态观察及球孢白僵菌菌株对其致病力的比较. 环境昆虫学报, 37(2): 348–354.]
- Zhang AW, Deng CS, Nong XQ, Ren SX, Xu CR, 1994. Study on pathology of *Ostrinia furnacalis* after infection with *Beauveria bassiana*. *Chinese Journal of Biological Control*, 10(4): 151–156. [张爱文, 邓春生, 农向群, 任淑仙, 徐崇仁, 1994. 亚洲玉米螟感染白僵菌后组织病理学研究. 生物学通报, 10(4): 151–156.]
- Zhang ZJ, Zheng CY, Zhao CD, Wan FH, Wang JP, 2017. Microscopic observations of the process of *Beauveria bassiana* infecting *Frankliniella occidentalis* through frozen sections. *Journal of Environmental Entomology*, 39(1): 181–186. [张志建, 郑长英, 赵川德, 万方浩, 王俊平, 2017. 利用冷冻切片对球孢白僵菌侵染西花蓟马过程的观察. 环境昆虫学报, 39(1): 181–186.]
- Zibae A, Bandani AR, Tork M, 2009. Effect of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*, and its secondary metabolite on detoxifying enzyme activities and acetylcholinesterase (AChE) of the Sunn pest, *Eurygaster integriceps* (Heteroptera: Scutellaridae). *Biocontrol Science and Technology*, 19(5): 485–498.