

中国虫生真菌

研究与应用

第五卷

2003

主 编

刘杏忠

中国科学院微生物研究所

真菌、地衣系统学重点实验室

殷幼平

重庆大学生物工程学院基因工程研究中心

黄 勃

安徽农业大学



中国农业科学技术出版社

中国虫生真菌

研究与应用

第五卷

2003

殷幼平

重庆大学生物工程学院基因工程研究中心

黄勃

安徽农业大学



中国农业科学技术出版社

图书在版编目(CIP)数据

中国虫生真菌研究与应用. 第5卷 / 刘杏忠, 殷幼平, 黄勃主编. —北京: 中国农业科学技术出版社, 2003.8

ISBN 7-80167-509-6

I. 中 …

II. ①刘 … ②殷 … ③黄 …

III. ①昆虫—真菌学—研究—中国 ②昆虫—真菌学—应用—中国

IV. Q949.32

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2003) 第 021221 号

责任编辑	沈银书
责任校对	李 刚
出版发行	中国农业科学技术出版社
	邮编: 100081
	电话: (010) 68919708; 68975144 传真: 62189014
经 销	新华书店北京发行所
印 刷	北京奥隆印刷厂
开 本	787mm×1 092mm 1/16
印 数	1~1 000 册
版 次	2003 年 8 月第 1 版
定 价	40.00 元
	印张: 11.5
	字数: 280 千字
	2003 年 8 月第 1 次印刷

Research and Application of Entomogenous Fungi in China

Vol. 5

Edited by

X. Z. Liu

Systematic Mycology & Lichenology Laboratory
Institute of Microbiology
Chinese Academy of Science
Beijing 100080
P. R. China

Y. P. Yin

Center of Genetic Engineering
Chongqing University
Chongqing 400030
P. R. China

B. Huang

Institute of Entomogenous Fungi
Anhui Agricultural University
Hefei 230036
P. R. China

**Chinese Agricultural Science & Technology Press
2003**

编者的话

随着我国加入 WTO, 人们对真菌生物农药的关注和重视, 近年来在虫生真菌基础理论研究及真菌生防制剂的研发工作取得了一些显著的进展, 中国菌物学会虫生真菌专业委员会先后在安徽和重庆两地召开了全国第六届、第七届虫生真菌学术讨论会, 在两次会议交流论文的基础上, 针对我国虫生真菌研究进展特邀并组织了一部分论文, 编辑成《中国虫生真菌研究与应用》第五卷出版。本卷收集综述、研究论文和简报共 30 篇, 反映了近年来这一领域的研究现状与动态、最新研究成果和发展趋势, 可供从事农、林和卫生害虫防治、微生物学、真菌学、医学及药物学科技工作者及有关院校师生与相关企业科研人员参考。

本书的出版得到中国菌物学会虫生真菌专业委员会、重庆大学、安徽农业大学、中国科学院微生物研究所、浙江大学等单位的大力支持, 在此表示衷心的感谢。

刘杏忠

殷幼平

黄 勃

2003 年 4 月

目 录

昆虫病原真菌研究现状、问题及展望	刘杏忠 (1)
影响我国真菌杀虫剂产业化进程的技术	
与社会因素	冯明光 (9)
杀虫真菌功能基因克隆和菌株改良研究进展	
.....	王中康, 殷幼平, 彭国雄 等 (18)
营养和环境条件对生防真菌的影响	高利, 孙漫红, 刘杏忠 等 (29)
WTO 对中国植物线虫学的挑战及虫生真菌	
发展的机会	潘沧桑 (38)
近十年虫草无性型研究进展	李春如 (45)
虫生真菌附着胞研究进展	李文华, 王中康, 殷幼平 (54)
广西应用白僵菌防治森林害虫现状与展望	罗基同, 李孝忠 (60)
丝孢类害虫生防真菌制剂研制的技术瓶颈	
与改进途径	应盛华, 冯明光 (64)
中国虫囊菌新记录属和种	沈亚恒, 李泰辉, 宋斌 等 (75)
球孢白僵菌菌株的随机扩增多态 DNA 标记	
.....	农向群, 金正俊, 张泽华 (80)
座壳孢属 RAPD 多态性分析	邱君志, 黄天培, 潘黎 等 (86)
鹞落坪国家级自然保护区虫生真菌群落结构	
及物种多样性	王四宝, 鲍丙芳, 樊美珍 等 (91)
灭蝗生物农药田间药效试验技术探讨	殷幼平, 李洪海, 彭国雄 等 (97)
影响金龟子绿僵菌附着胞形成的理化因子研究	
.....	王中康, 李文华, 夏玉先 等 (101)
金龟子绿僵菌在不同制剂中的耐热性测定	
.....	李向英, 彭国雄, 王中康 等 (109)
绿僵菌防治不同种蝗虫的效果试验	殷凤鸣, 秦长生, 何雪香 等 (113)
杀蝗绿僵菌油剂防治东亚飞蝗田间试验	
.....	彭国雄, 李洪海, 王中康 等 (119)
两株侵染东亚飞蝗的金龟子绿僵菌菌株	
的生物学特性比较	李向英, 李文华, 彭国雄 等 (124)
球孢白僵菌油剂超低量喷雾研究初探	王滨, 李农昌 (130)
不同球孢白僵菌菌株对天牛致病力的测定	
.....	何学友, 黄金水, 蔡福水 等 (136)

寄生真菌在松纵坑切梢小蠹综合防治中 的应用	李丽莎, 王海林, 雪玲 等 (142)
莱氏野村菌对甜菜夜蛾及斜纹夜蛾的毒力测定	谢明, 万方浩, 李锋 等 (148)
蜡蚧轮枝菌耐药菌株防治蔬菜烟粉虱的效果研究	范晓莉, 谢明, 万方浩 等 (153)
小核菌发酵粗提液的杀线活性测定	肖顺, 关雄, 章淑玲 等 (157)
飞机超低量喷洒“绿得宝”胶悬剂防治马尾松毛虫	叶燕华, 张亨能 (163)
真菌和细菌混合制剂贮存一年后对棉铃虫的毒力	林华峰, 李世广, 张磊 等 (167)
布氏白僵菌防治蛴螬及其问题的商榷	徐庆丰 (172)
绿僵菌蝗虫菌株蛋白酶 Pr1 基因的克隆 及序列分析	农向群, 张泽华, 高松 等 (173)

Contents

Entomopathogenic fungi-progress, problems and prospects	Liu Xing-zhong (1)
Technical and social factors to determine the development and application of mycoinsecticides in China	Feng Ming-guang (9)
Advances and prospects of cloning virulent genes and genetic improving of entomopathogenic fungi	Wang Zhong-kang, Yin You-ping, Peng Guo-xiong, <i>et al</i> (18)
Effect of nutrition and invironmental factors on the growth and reproduction of the fungi in biocontrol system	Gao Li, Sun Man-Hong, Liu Xing-Zhong, <i>et al</i> (29)
The challenge of WTO to plant nematology of china and the opportunity for nematocidal fungi	Pan Cang-sang (38)
Approach to anamorph of <i>Cordyceps</i> during the past ten years	Li Chun-ru (45)
Morphology and function of appressoria of entomogenous fungi	Li Wen-hua, Wang Zhong-kang, Yin You-ping (54)
Application of <i>Beauveria bassiana</i> in management of forestry pests in guangxi province	Luo Tong-ji, Li Xiao-zhong (60)
Technical limits and improvable approaches to development of hyphomycetes-based mycoinsecticides against insect pests	Ying Shen-hua, Feng Ming-guang (64)
Genus and species of laboulbeniales newly recorded in China	Shen Ya-heng, Li Tai-hui, Song Bin, <i>et al</i> (75)
Genetic polymorphism of <i>Beauveria bassiana</i> isolates revealed by rapd markers	Nong Xiang-qun, Kim Jeong-jun, Zhang Ze-hua (80)
Polymorphism in <i>Aschersonia</i> by analysis of RAPD	Qiu Jun-zhi, Huang Tian-pei, Pan Li, <i>et al</i> (86)
Community structure and species diversity of entomogenous fungi in the National Yaoluoping Nature Conservation	Wang Si-bao, Bao Bing-fang, Fan Mei-zhen, <i>et al</i> (91)
Discussion of field and cage trial of fungus insecticide for controlling locust and grasshopper	Yin You-ping, Li Hong-hai, Peng Guo-xiong, <i>et al</i> (97)
Effect of physical and chemical factors on appressorium formation of metarhizium anisopliae	Wang Zhong-kang, Li Wen-hua, Xia Yu-xian, <i>et al</i> (101)

Thermo-tolerance of <i>Metarizium</i> CQMA102 in varied formulars	Li Xiang-yin, Peng Guo-xiong, Wang Zhong-kang, <i>et al</i> (109)
The control trial on different species of locusts with <i>Metarhizium anisopliae</i> strain FI-985	Yin Feng-ming, Qin Chang-sheng, He Xue-xiang, <i>et al</i> (113)
Field trial of <i>Metarhizium anisopliae</i> in oil formulation against <i>Locusta migratoria manilesis</i> (MEYEN)	Peng Guo-xiong, Li Hong-hai, Wang Zhong-kang, <i>et al</i> (119)
Comparison of biological characteristic among strains of <i>Metarhizium anisopliae</i>	Li Xiang-yin, Li Wen-hua, Peng Guo-xiong, <i>et al</i> (124)
Ultra-low-volume spraying technique of oil formulation of <i>Beauveria bassiana</i>	Wang Bin, Li Nong-chang (130)
Assay of the pathogenic against longhorn beetle by different <i>Beauveria bassiana</i> isolates	He Xue-you, Huang Jin-shui, Cai Fu-shui, <i>et al</i> (136)
Survey of fungi parasitized on <i>Tomicus piniperda</i> and their application in biocontrol in Yunnan province	Li Li-sa, Wang Hai-lin, Xue Lin, <i>et al</i> (142)
The virulence of <i>nomuraea rileyi</i> on the larvae of noctuid pests, <i>Laphygma exigua</i> and <i>Spodoptera litura</i>	Xie Ming, Wan Fang-hao, Li Feng, <i>et al</i> (148)
The control effect of the tolerance- carbendazim strain of <i>Verticillium lecanii</i> on vegetable pest, <i>Bemisia tabaci</i>	Fan Xiao-li, Xie Ming, Wan Fang-hao, <i>et al</i> (153)
Nematicidal activity of the extract of the fermentation liquid of <i>Sclerotium</i> sp.	Xiao Shun, Guan Xiong, Zhang Shu-ling, <i>et al</i> (157)
The appliaton of "ludobao" emulsion to control pine caterpillars — <i>Dendrolimus punctatus</i> by aerial spraying at the ultra low volume	Ye Yan-hua, Zhang Heng-neng, <i>et al</i> (163)
Virulence of liquid and powder mixture of fungi and Bt to <i>Helilorepa armigera</i>	Lin Hua-feng, Li Shi-guang, Zhang Lei, <i>et al</i> (167)
The discussion on the prolem of using <i>Beauveria brongniartii</i> (sacc.) Petch to control white grubs	Xu Qing-feng (172)
Cloning and sequence of pr1 gene from a isolate of <i>Metarhizium anisopliae</i> against locusts	Nong Xiang-qun, Zhang Ze-hua, Gao Song, <i>et al</i> (173)
Survey of beetle pests of Yunnan chestnut and their natural enemies	Lu Mei-rong, Li Zhen-yue, Sun Yue-xian (175)

昆虫病原真菌研究现状、问题及展望

刘杏忠

中国科学院微生物研究所, 北京 100080

摘要 昆虫病原真菌的研究与应用包括资源与分类、病理学、生态学、遗传学、生理学、大量生产技术、制剂及应用策略等方面, 本文结合国外的研究进展简要论述了我国昆虫病原真菌近年来的研究进展、存在的问题及其对策。

关键词 虫生真菌, 生物防治, 生物学

近年来随着人们环境意识的加强, 微生物农药(活体)的研发受到了极大的重视, 每年登记的数量不断增加。在“The Biopesticide Manual”中^[1], 登记注册的微生物农药组分达 96 个。美国环保局登记的微生物(病毒、细菌、放线菌、真菌)种、变种及专化型达 42 种。据统计, 全球已有 50 多个杀虫真菌农药产品登记注册, 我国近年也有 3 个杀虫真菌农药登记。中国农科院生物防治研究所研发的防治蟑螂的绿僵菌制剂由桑柏公司以“百奥克”的商品名登记注册, 重庆大学研发的防治蝗虫的绿僵菌制剂由重庆重大生物技术有限公司以“20%杀蝗绿僵菌油剂”的商品名注册。云南大学也以 *Verticillium chlamydosporium* 研发了一个防治根结线虫的产品。近年来昆虫病原真菌的研究与应用无论在基础研究还是应用研究方面均取得了重要的进展, 但仍然存在着制约真菌生物农药产业化的理论、技术和社会障碍^[2]。

1 资源与分类

昆虫病原真菌已报道 750 种之多^[3], 新的分类单元在不断被发现。在经典分离方法(从僵虫分离)的基础上, 应用一些其他方法如诱集法从更广的环境中调查昆虫病原真菌的种类。同时建立科学的分类体系和准确鉴定是研发真菌生物农药的基础。通过分子系统学研究, 包括重要害虫生防真菌的轮枝菌属(*Verticillium*)的 *Prostrata* 组被分为多个属, 蜡蚧轮枝菌(*V. lecanii*)转入 *Lecanicillium* 属, 并被分为 3 种, 即 *L. lecanii*、*L. muscarium* 和 *L. longisporum*^[4], 这一观点已为不少学者接受, 但 Sugimoto 等的研究并不支持这一观点^[5]。同时厚垣孢轮枝菌(*V. chlamydosporium*)也被转入了 *Pochania* 属^[6]。

2 病理学

2.1 真菌与昆虫相互关系

真菌与昆虫相互关系包括了致病(内寄生)、寄生(外寄生)、互惠共生、偏利

共生（共栖）、携播、噬菌、竞争和捕食^[7]，尽管昆虫病原真菌发展已经有 1 000 多年的历史，但对真菌与昆虫相互关系机制的认识仍然有限，近年来有关真菌感染昆虫的组织学及分子机制取得了一些进展。

2.1.1 组织学研究

真菌感染昆虫体壁的一般过程为：分生孢子附着于寄主体表、孢子萌发、产生芽管、附着胞、感染钉、感染菌丝、入侵菌丝进入血淋巴。附着胞是感染的前提和关键，在感染过程中附着胞和入侵菌丝会分泌一系列胞外酶参与感染，安徽农业大学及重庆大学等单位先后开展了这方面的研究，李文华等（本卷）对这方面的研究进展进行了详细论述^[8]。

2.2.2 致病机制

人们对昆虫病原真菌的利用一直是野生菌株，由于野生菌株毒力低（致死时间 5~15 d）的缺陷，近 10 多年来对真菌感染昆虫的分子机制进行了深入研究，通过基因文库（基因组、cDNA、EST）构建和遗传转化等基因功能研究，分离鉴定了一些病原真菌毒性相关酶基因（如 *prla*、*prlb*）^[9]、几丁质合成/降解相关基因（如 *chit1*）^[10]，建立了一个仅包括 1 682 个表达序列标签（EST）数据库^[11]。证明了蛋白酶和几丁酶等水解酶类在真菌穿透寄主表皮过程中的作用，其中类枯草杆菌蛋白酶（Subtilisin-Like Protease, Pr1）能降解昆虫表皮蛋白，是毒力决定因子。St. Leger 等将类枯草杆菌蛋白酶的基因 *Pr1* 基因转化金龟子绿僵菌（*Metarhizium anisopliae*）可以提高致病性，与野生菌株相比，工程菌株感染虫体的取食量下降 40%，死亡时间缩短 20%^[12]。另外开展了其他性状相关的基因如抗逆相关海藻糖基因（如 *nth1*）等的研究^[13]。国内多家单位都开展了昆虫病原真菌致病相关的丝氨酸蛋白酶的研究，如克隆了天蚊真菌 *Pythium carolinianum* 的 Pr1 和 Pr2 类蛋白酶编码基因；分离了植物寄生线虫内寄生真菌被毛孢（*Hirsutella rhossiliensis*）丝氨酸蛋白酶及其基因 *hr*。通过细胞学及分子生物学手段改良自然优良菌株的性状，是微生物农药产业化的一个关键环节。王中康等（本卷）对这方面国内外研究进展进行了很好的总结^[14]。

2.2 昆虫病原真菌的杀卵活性

昆虫病原真菌在害虫防治中的应用主要是针对幼虫和成虫的，对杀卵活性的研究较少。Ekesi 等^[15]证明白僵菌和绿僵菌对大豆食心虫（*Maruca vitrata*）和蓟吸虫（*Clavigralla tomentosicollis*）的卵具有强致病性。浙江大学冯明光博士研究组的最近研究发现球孢白僵菌（*Beauveria bassiana*）SG8702 菌株和玫烟色拟青霉（*Paecilomyces fumosoroseus*）Pfr153 菌株能有效感染朱砂叶螨（*Tetranychus cinnabarinus*）的卵，感染卵变形变瘪，在保湿条件下卵表长出菌物并产生大量分生孢子^[16]。昆虫病原真菌对害虫卵的防治可能开辟害虫有效防治的新方法。

3 生态学

生物防治的理论基础是寄生物与寄主群体水平的相互关系，尽管对一些真菌生防制剂的群体动力学有零星的研究，但缺乏系统的研究，昆虫病原真菌与寄主关系

的群体动力学研究不仅可以明确害虫的易感期,使真菌最大可能发挥作用,而且可以明确真菌在环境中的动态、真菌使用后的命运以及由于准性及有性生殖导致的遗传变异^[17,18]。这方面的研究亟待加强。分子生物学技术的发展为定性定量检测昆虫病原真菌提供了技术保证,Castrillo 等^[19]利用 SCAR 技术结合半选择性培养基平板稀释法研究了白僵菌菌株 GHA 在田间的动态。绿色荧光蛋白基因(*gfp*)标记和实时荧光定量 PCR(RT-PCR)技术正在应用于真菌定性定量研究,将在研究昆虫病原真菌群体动力学中广泛应用。

4 生理学

昆虫病原真菌的生长和产孢是其生活史的两个阶段,同时也是侵染循环和产业化大量生产的两个关键时期,营养和环境条件是调控生长和产孢的关键因子。我们最近对防治植物寄生线虫的重要真菌 *Hirsutella rhossiliensis*、*Pochonia chlamydospora*、ARF908 的营养要求进行了系统研究^[20,21]。谢明^[22]对 *Lecanicillium lecanii*(=*Verticillium lecanii*)的营养要求进行了研究,一些金属元素显著促进 *L.lecanii*^[22]和绿僵菌(*Metarhizium anisopliae*)的产孢(孙漫红,未发表资料)。深入细致的研究营养和环境因子对昆虫病原真菌生长和产孢(尤其是对产孢的影响),对研发真菌生物农药具有重要的参考价值。

5 生物防治

5.1 防治效果

无论是化学防治还是生物防治,都是通过死亡率来评价防治效果。真菌与昆虫的相互关系是长期进化形成的,是群体水平的现象,单靠死亡率很难科学地反映出两者间的真实关系。浙江大学冯明光博士研究组建立了以时间—剂量—死亡率为指标评价防治效果^[23]的方法,值得提倡和推广。

5.2 菌株筛选和评价

优良菌株的筛选需要建立一个简便、可行的筛选模型或方法^[24],一般的步骤是室内筛选、温室盆栽试验和田间小区试验。室内筛选是利用竞争和颉颃或寄生(寄生率)的原理,这样往往使很多好的菌株未能被筛选出来,或导致温室与田间的评价效果与平板结果不一致^[24],这种室内筛选模式常常导致多于 50% 的筛选物被漏掉^[25]。温室直接筛选更接近于自然条件下的实际情况,但巨大的工作量是不实际的。我们对寄生大豆胞囊线虫的被毛包进行了平板、试管土及温室筛选,结果发现平板和试管土法均不能够筛选出优良菌株,温室是有效的筛选方法^[26],同时我们发现优良菌株 OWVT-1 在多次温室自然土防治试验中均表现出与大豆胞囊线虫密度显著相关,而其他菌株尽管在个别试验或处理中表现出了较好的防治效果,但在其他试验或处理中防治效果不稳定,分析表明其与大豆胞囊线虫密度不具有相关性^[26,27]。生物防治的理论基础是群体水平的密度依赖制约作用(Density dependent

limitation)。基于密度依赖制约作用可能建立较为理想的优良菌株筛选模式及评介系统。

6 产业化关键技术

6.1 真菌孢子生产技术

真菌生物农药的生产目前主要采用液固两相发酵技术^[28],这一技术体系中,液体发酵水平较高,固相基质包括了大米、大麦等谷物及稻壳、谷糠、麦麸等副产物^[29],甚至某些植物废弃物如树叶、种子等^[30]。最近浙江大学用黏黄米培养真菌,取得较好的效果。但固相发酵采用浅盘法或塑料袋法,需要很大的空间,发酵周期长,而产孢率为3%~12%。应用惰性载体作为真菌产孢的载体可以进行真菌孢子的密集型规模化生产,Jenkins和Lomer^[31]将用蔗糖液培养的2~3 d的绿僵菌接种到布料上,垂直悬挂在无菌纲盒中,9 d后布料两面长满分生孢子,产量达 3×10^8 孢子/cm²。通过固相无载体或特种载体的发酵工艺改进是生产真菌孢子的一条有效途径。另外,Jackson等^[32]优化液体培养条件,培养48 h获得了高产量($1.3 \times 10^9 \sim 1.8 \times 10^9$ /ml)的*Paecilomyces fumosoroseus*抗性芽生孢子。

6.2 真菌制剂剂型

昆虫病原菌剂主要是孢子制剂,孢子油剂的应用使真菌制剂的货架期大大延长,这种剂型在蝗虫防治中广泛应用^[33]。另一种剂型乳悬剂也是目前研究的主要剂型,应盛华和冯明光研制的球孢白僵菌乳悬剂能够有效防治蚜虫3~4周。Batta^[34]研制的绿僵菌孢子乳悬剂在20℃下孢子的半衰期(50%的孢子存活)达30.8个月。微胶囊制剂不仅可以用于孢子制剂,而且可以用于菌丝制剂,常用的海藻酸钠-CaCl₂制备出来的胶囊较大(2~5 mm),一般只能用于土壤处理^[35,36,37]。Winder等^[37]利用除草真菌*Fusarium avenaceum*的孢子建立了一个制备0.1~0.2 mm的微胶囊的体系,在叶部使用取得了较好的效果。微胶囊制剂是今后研制杀虫真菌农药的主要剂型之一。

7 真菌应用策略

尽管1978年Ignoffo就提出昆虫病原应用的策略,包括自动扩散、诱发流行病、引种订殖和环境调控^[38],人们习惯像应用化学农药一样淹没式放菌,让病原体以非密度制约的方式控制害虫,过量释放病原菌不仅造成浪费,而且可能降低防治效果。李增智等提出在利用白僵菌防治松毛虫时采用接种时防菌的方法,这样可以达到保护生物多样性和持续控制松毛虫的目的^[39]。王滨^[40]应用球孢白僵菌接种式放菌方式在森林中对持续控制松毛虫的生物多样性和生态学进行了系统研究,连续4年观察结果表明对松毛虫的防治效果非常理想,最高虫口密度和虫口率为0.3条/株和30%,并保护了天敌昆虫和增加了林间白僵菌的遗传多样性。杀虫真菌农药的应用策略在害虫控制中具有重要的作用。

8 产品的质量控制

质量控制是生物农药的一个根本特征,质量标准不仅关系到产品的效果,而且关系到产品的安全、限定生产费用、减少风险和建立使用者的信心^[41]。尽管人们已经认识到质量标准的重要性,但目前我国还没有统一的真菌生物农药的质量标准以及质量检测中心。Jenkins & Grzywacz 提出了真菌生物农药 6 条最低质量标准:(1)菌株的保藏(包括有知名的分类学家的准确鉴定、长期保藏方法及生产菌株);(2)生产过程的污染监控;(3)总杂菌量(确保没有人类病原菌);(4)存活率(有效期内 85% 以上存活率);(5)毒力;(6)其他(包括含水量、单位总量中的活菌数以及粒度大小等)^[41]。国内对一些真菌制剂制定了一些质量标准,但大都没有涉及菌株的保藏,生产厂家对这一方面也没有足够的重视,国家相关的管理部门应该与研究单位合作制定出相应产品详细的质量标准。

9 结束语

昆虫病原真菌是生物农药的重要组成部分,在害虫治理中具有重要的地位,近 10 年来昆虫病原真菌的研究与应用取得了不少的进展,为今后的研究打下了坚实的基础,预计在今后 10 年中在以下几个方面将取得重要进展。

(1) 在 700 多种昆虫病原真菌中,用于害虫防治和真菌生物农药研发真菌将由目前的 10 来种^[42]增加到 20 种以上。

(2) 建立科学实用的菌株筛选和评价体系。

(3) 新型的密集型真菌孢子生产工艺将在生产中应用。

(4) 微胶囊制剂将作为真菌制剂的主要剂型之一。

(5) 针对不同真菌和防治对象,建立科学经济的应用策略和使用方法。

(6) 建立国家统一的产品质量标准。

(7) 建立全国质量检测中心。

参考文献

- 1 Capping L G. The Biopesticide Manual. UK: British Crop Protection Council. 2001
- 2 冯明光. 影响我国真菌杀虫剂产业化进程的技术与社会因素. 见: 中国虫生真菌研究与应用, 第 5 卷, 2003. 9~17
- 3 Kirk P M, Cannon P F, David J C, et al. Dictionary of the Fungi. CABI Publishing. 2001
- 4 Zare R, Gams W. A revision of *Verticillium* section Prostata IV. The genera *Lecanicillium* and *Simplicillium* gen. nov. Nova Hedwigia, 2001, 73: 1~50
- 5 Sugimoto M, Koike M, Hiyama N, et al. Genetic, morphology, and virulence characterization of the entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii*. J. Invertebr. Pathol., 2003, 82: 176~187
- 6 Zare R, Gams W, Evans H C. A revision of *Verticillium* section Prostata IV. The genus *Pochonia*, with notes on *Rotiferophthora*. Nova Hedwigia, 2001, 73: 1~50

- 7 李增智. 昆虫真菌学的发展. 见: 中国虫生真菌研究与应用. 第4卷. 1997. 1~5
- 8 李文华, 王中康, 殷幼平. 虫生真菌附着胞研究进展. 见: 中国虫生真菌研究与应用. 第5卷. 2003. 54~59
- 9 Joshi L, St. Leger R J, Roverts D W. Isolation of a cDNA encoding a novel subtilisin-like protease (Pr1B) from the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* using differential display-RT-PCR. *Gene*, 1997, 197: 1~8
- 10 Nam J S, Lee D H, Lee K H, et al. Cloning and phylogenetic analysis of chitin synthase genes from the insect pathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*. *FEMS Microbiol. Lett.*, 1998, 159: 77~84
- 11 Freimoser F M, Screen S, Bagga S, et al. Expressed sequence tag (EST) analysis of two subspecies of *Metarhizium anisopliae* reveals a plethora of secreted proteins with potential activity in insect hosts. *Microbiology*, 2003, 149: 239~247
- 12 St. Leger R J, Joshi L, Bidochka M J, et al. Construction of an improved mycoinsecticide overexpressing a toxic protease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996, 93: 6349~6354
- 13 Xia Y, Gao M, Clarkson J, et al. Molecular cloning, characterisation, and expression of a neutral trehalase from the insect pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *J. Invertebr. Pathol.*, 2002, 80: 127~137
- 14 王中康, 殷幼平, 彭国雄等. 杀虫真菌功能基因克隆和菌株改良研究进展. 见: 中国虫生真菌研究与应用. 第5卷. 2003. 18~28
- 15 Ekesi S, Adamu R S, Maniania N K. Ovicidal activity of entomopathogenic hyphomycetes to the legume pod borer, *Maruca vitrata* and the pod sucking bug, *Clavigralla tomentosicollis*. *Crop Protection*, 2002, 21: 589~595
- 16 施卫兵, 冯明光. 两种丝孢类昆虫病原真菌对朱砂叶螨卵的侵染及杀灭活性. 科学通报(出版中)
- 17 Leal-Bertioli S C M, Peberdy J F, Bertioli D J, et al. Genetic exchange in *Metarhizium anisopliae* strains co-infecting *Phaedon cocchleriae* as revealed by molecular markers. *Mycol. Res.*, 2000, 104: 409~414
- 18 Butt T M, Jackson C, Magan N. Fungal biological control agents—appraisal and recommendations. In: Butt T M, Jackson C & Magan N (eds.). *Fungi as Biocontrol Agents*. CAB International. 2001. 377~384.
- 19 Castrillo L A, Vandenberg J D, Wraight S P. Strain-specific detection of introduced *Beauveria bassiana* in agricultural fields by use of sequence-characterized amplified region markers. *J. Invertebr. Pathol.*, 2003, 82: 75~83
- 20 Liu X Z, Chen S Y. Nutritional Requirements of the *Pochonia chlamydospora* and ARF18, Fungal Parasites of Nematode Eggs. *J. Invertebr. Pathol.*, 2003, 83: 10~15
- 21 Liu X Z, Chen S Y. Nutritional requirements of nematophagous fungus *Hirsutella rhossiliensis*. *Biocontrol Sci. Techn.*, 2002, 12: 381~393
- 22 谢明. 蜡蚧轮枝菌发酵生物学及发酵条件研究: [博士学位论文]. 北京: 中国农业科学院. 2003
- 23 Feng M G, Liu C L, Xu J H, et al. Modeling and biological implication of the time-dose-mortality data for the Entomophthoralean fungus, *Zoophthora anhuensis* on the green peach aphid, *Myzus persicae*. *J. Invertebr. Pathol.*, 1998, 72: 246~251
- 24 Campbell R. Biological control of soil-borne diseases: some present problems and different approaches. *Crop Protection*. 1994, 13: 4~13
- 25 Renwick A, Campbell R, Coe S. Assessment of in vivo screening systems for potential biocontrol agents of *Gaeumannomyces graminis*. *Plant Pathology*, 1991, 40: 524~532
- 26 Liu X Z, Chen S Y. Screening isolates of *Hirsutella* species for biocontrol of *Heterodera glycines*. *Biocontrol Sci. Techn.*, 2001, 11: 151~160

- 27 Chen S Y, Liu X Z, Liu S F. Biological control effectiveness of *Hirsutella rhossiliensis* and *Hirsutella minnesotensis* against *Heterodera glycines* in greenhouse studies. J. Nematol., 2003, 35: (in press)
- 28 Feng M G, Poprawski T J, Lhachaturians G G. Production, formulation and application of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insect control: current status. Biocontrol Sci. Techn., 1994, 4: 3~34
- 29 张丽靖. 球孢白僵菌孢子粉生产、制剂和贮存技术改进及其淀粉酶特性测定: [硕士学位论文]. 杭州: 浙江大学, 2003
- 30 Lopez-Llorca L V, Carbonell T, Salinas J. Colonization of plant waste substrates by entomopathogenic and mycoparasitic fungi—a SEM study. Micron, 1999, 30: 325~333
- 31 Jenkins N E, Lomer C J. Development of a new procedure for the mass production of conidia of *Metarhizium flavoviride*. IOBC/WPRS, 1994, 17(3): 181~184
- 32 Jackson M A, Cliquet S, Iten L B. Media and fermentation processes for the rapid production of high concentrations of stable blastospores of the bioinsecticidal fungus *Paecilomyces fumosoroseus*. Biocontrol Sci. Techn., 2003, 23~33
- 33 Bateman R P. Methods of application of microbial pesticide formulations for the control of grasshoppers and locusts. Memoirs Entom. Soc. Canada, 1997, 171: 67~79
- 34 Batta Y A. Production and testing of novel formulations of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin (Deuteromycotina: Hyphomycetes). Crop Protection, 2003, 22: 415~422
- 35 Lackey B A, Muldoon A E, Jaffee B A. Alginate pellet formulation of *Hirsutella rhossiliensis* for biological control of plant-parasitic nematodes. Biological Control, 1993, 3: 155~160
- 36 Park J K, Chang H N. Microencapsulation of microbial cells. Biotechn. Advances, 2000, 18: 303~319
- 37 Winder R S, Wheeler J J, Conder N, et al. Microencapsulation: a strategy for formulation of inoculum. Biocontrol Sci. Techn., 2003, 13: 155~169
- 38 Ignoffo C M. Strategies to increase the use of entomopathogens. J. Invertebr. Pathol., 1978, 31: 1~3
- 39 李增智. 昆虫真菌学的发展. 见: 中国虫生真菌研究与应用. 第4卷. 1997. 1~5
- 40 王滨. 白僵菌持续控制马尾松毛虫的生物多样性和生态学基础: [博士学位论文]. 杭州: 浙江大学, 2003
- 41 Jenkins N E, Grzywacz D. Quality control of fungal and viral biocontrol agents-- Assurance of products performance. Biocontrol Sci. Techn., 2000, 10: 753~777
- 42 Lachy L A, Frutos R, Kaya H K, et al. Insect pathogens as biological control agents: Do they have a future? Biological Control, 2001, 21: 230~248

ENTOMOPATHOGENIC FUNGI—PROGRESS, PROBLEMS AND PROSPECTS

Liu Xing-zhong

Systematic Mycology & Lichenology Laboratory, Institute of Microbiology,
Chinese Academy of Science, Beijing 100080

Abstract Entomopathogenic fungi are important resources for pest biocontrol and biopesticide development. There are significant achievements in the past decade, such as identification and

characterization of virulence related genes, long shelf-life formulation basis on the oil emulsion and a number of products registered and commercialized. Fungal insecticides can be effective and serve as alternatives to broad-spectrum chemicals. However, their increased utilization will require i) more potential candidates for developing commercial products; ii) more effective and economic mass-production techniques; iii) better understanding their population dynamics in field; iv) higher virulent strains; v) effective screening and evaluating methods for potential strains; vi) establishing quality control systems; and vii) better application measures and fitting into IPM program. The research and development of entopathogenic fungi in China in the future decade are discussed in present article.

Key words entomopathogenic fungi, progress, problems, prospects