

山西虫生真菌

贺运春 张仙红 著



中国农业科学技术出版社

山西虫生真菌

贺运春 张仙红 著



中国农业科学技术出版社

图书在版编目(CIP)数据

山西虫生真菌/贺运春,张仙红著. —北京:中国农业
科学技术出版社,2006

ISBN 7-80167-965-2

I. 山… II. ①贺…②张… III. 昆虫寄生真菌—
研究—山西省 IV. Q949.32

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2006)第 051465 号

责任编辑

鲁卫泉

责任校对

贾晓红

出版发行

中国农业科学技术出版社

(北京市海淀区中关村南大街 12 号 邮编:100081 电话:010-62189012)

经 销

新华书店北京发行所

印 刷

太原市今天西马彩色印刷有限公司

开 本

787mm×1092mm 1/16 印张:7

印 数

1~600 册字数:179.2 千字

版 次

2006 年 6 月第 1 版2006 年 6 月第 1 次印刷

定 价

26.00 元

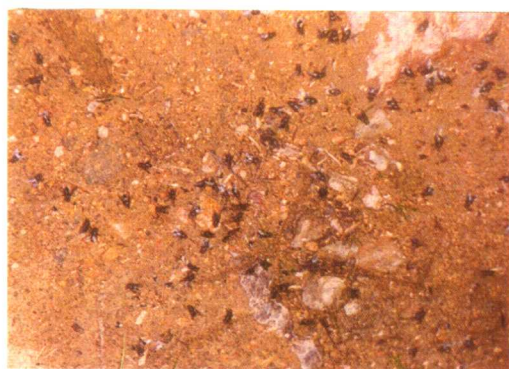
前 言

目前,随着人类环保意识的不断提高,化学农药造成的环境污染引起了世人的广泛关注。我国是一个农业大国,作物种类多,病虫为害严重,用于防治病虫害的化学农药用量很大,而且在今后较长一段时期内,农药用量仍趋于上升,由此造成的污染也将日趋严重。因此这就要求我们对病虫害的防治要改变以传统的有机合成杀虫剂为主的防治模式,寻求可持续的害虫防治新途径。生物农药以其无残毒、害虫不易产生抗药性等特点,成为世界各发达国家竞相发展的高科技之一,同时也是绿色减灾的最重要途径之一。

昆虫病原真菌作为病原微生物的一大类群,在害虫的生物防治中起着重要作用。山西地处华北,南北狭长,山川纵横,地形、地貌和气候复杂多变,温降雨量同期,适于各类昆虫及虫生真菌的繁衍与栖息。因此蕴藏着丰富的虫生真菌资源,为此,研究、开发和利用山西的虫生真菌资源具有重要的学术和经济价值。

本书是作者多年来科学研究成果的结晶。全书共分四章,第二章六~十七由贺运春完成,其余部分由张仙红完成。本书记述了采自山西省四大自然保护区、六大林区和山西省部分县、市的虫生真菌 17 属 72 种,对其培养形状、形态特征、寄主、分布进行了记述,并对重要种蜡蚧轮枝菌、粉质拟青霉和玫烟色拟青霉的生物学特性、对害虫的侵染途径和致病机制等方面进行了研究。

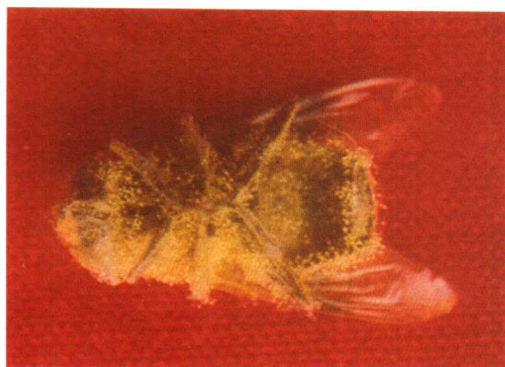
山西虫生真菌的研究得到了山西省科技攻关项目(011012, 041016)的资助,研究过程中李文英博士、宋东辉博士、安建梅博士、徐祥彬博士、袁海生博士、刘振华、郭明霞等研究生在虫生真菌的调查、标本采集与鉴定等方面做了大量工作,在此一并致以诚挚的谢意。限于作者水平,书中难免有错漏之处,望读者批评指正。



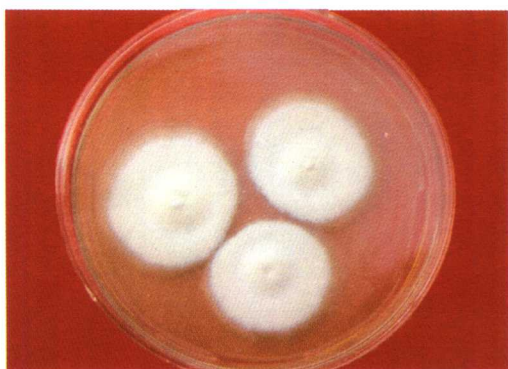
被刺孢虫霉寄生后大量群集死亡的丽蝇（自然生境）



白曲霉培养性状及白条菌瓢虫病死尸



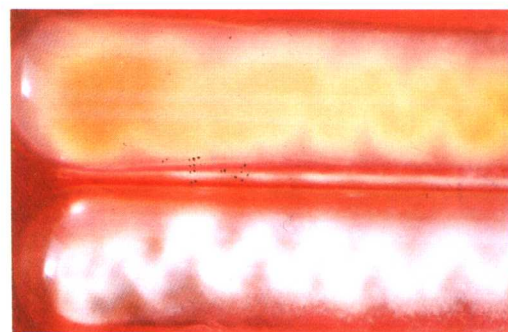
黄曲霉培养性状及双斑黄虻病死尸



布氏白僵菌培养性状及黄褐天幕毛虫幼虫病死尸



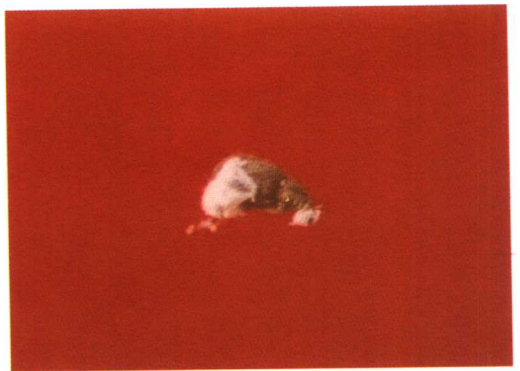
粉拟青霉培养性状及桑梢角蝉成虫病死尸



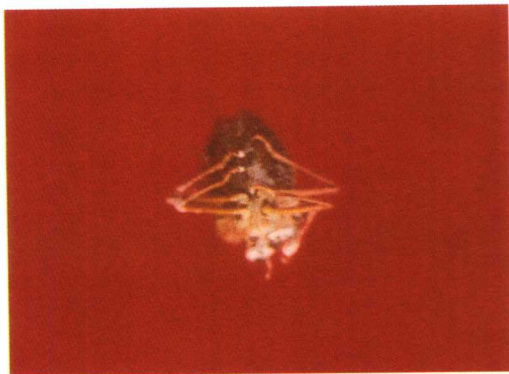
玫烟色拟青霉培养性状及斑背安缘蟪成虫病死尸



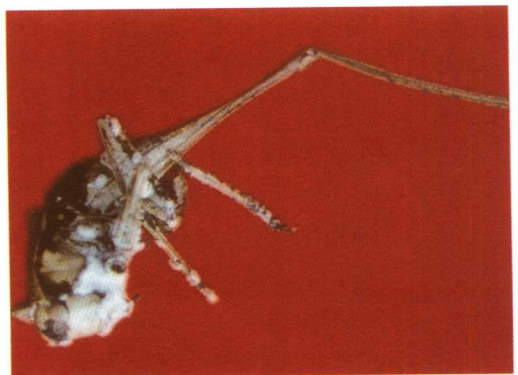
感染灰绿曲霉后死亡的蝉若虫



感染蜘蛛白僵菌死亡的大灰象甲成虫



感染多形白僵菌后死亡的红长椿若虫



感染球孢白僵菌后死亡的笨蝗若虫



感染金龟子绿僵菌后的小地老虎幼虫



感染蒲同拟青霉后死亡的鳞翅目蛹



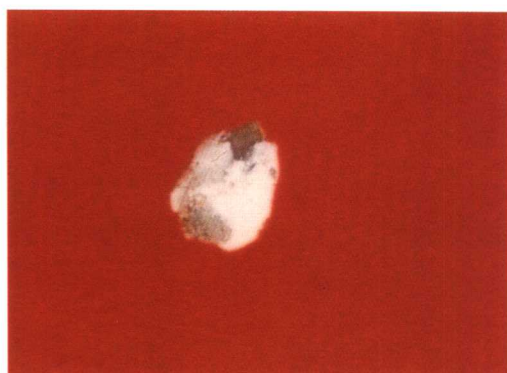
感染白酪青霉后的异红点唇瓢虫成虫



感染短柄帚霉后的菱斑巧瓢虫成虫



感染多形白僵菌后死亡的红长蝽若虫



感染球孢白僵菌后死亡的笨蝗若虫



感染束梗镰孢后死亡的叶蝉若虫



香棒虫草

目 录

第一章 概述	(1)
一、山西省自然概况	(1)
二、虫生真菌研究进展	(1)
(一) 资源与分类	(1)
(二) 侵染过程	(3)
(三) 毒素	(6)
(四) 菌株改良	(10)
三、虫生真菌应用前景	(11)
第二章 虫生真菌	(13)
一、白僵菌属 <i>Beauveria</i> Vuillenmin	(13)
1. 球孢白僵菌 <i>B. bassiana</i> (Bals.) Vuill.	(13)
2. 蜘蛛白僵菌 <i>B. araneorum</i> (Petch) von Arx	(14)
3. 多形白僵菌 <i>B. amorpha</i> (Hohn.) von Arx	(14)
4. 布氏白僵菌 <i>B. brongniartii</i> (Sace.) Petch	(15)
二、绿僵菌属 <i>Metarhizium</i> Sorokin	(16)
5. 黄绿绿僵菌小孢变种 <i>M. flavoviride</i> var. <i>minus</i>	(16)
6. 金龟子绿僵菌 <i>M. anisopliae</i> (Metsch.) Sorokin	(17)
7. 戴氏绿僵菌 <i>M. taii</i> Liang & Liu	(17)
8. <i>Metarhizium</i> sp.	(18)
三、野村菌属 <i>Nomuraea</i> Maublanc	(18)
9. 紫色野村菌 <i>N. atypicola</i>	(18)
10. 莱氏野村菌 <i>N. rileyi</i> (Farlow) Samson	(19)
四、曲霉属 <i>Aspergillus</i> Micheli ex Fries	(20)
11. 黄曲霉 <i>A. flavus</i> Link	(20)
12. 黑曲霉 <i>A. niger</i> van Tieghem	(21)
13. 亮白曲霉 <i>A. candidus</i> Link	(22)
14. 帚状曲霉 <i>A. penicillionides</i> Speg	(22)
15. 灰绿曲霉 <i>A. glaucus</i> Link	(23)
16. <i>Aspergillus</i> sp.	(24)
17. <i>Aspergillus</i> sp.	(24)
18. <i>Aspergillus</i> sp.	(24)
19. <i>Aspergillus</i> sp.	(24)
五、青霉属 <i>Penicillium</i> Link ex Fries	(24)
20. 指状青霉 <i>P. digitatum</i> Sacc.	(24)

21. 紫变青霉 <i>P. purpurogenum</i> Stoll	(25)
22. 匍枝青霉 <i>P. stoloniferum</i> Thom.	(25)
23. 常现青霉 <i>P. frequentans</i> Westling	(27)
24. 扩张青霉 <i>P. expansum</i> (Lk.) Thom	(27)
25. 白酪青霉 <i>P. caseicolum</i> Bainier	(28)
26. 黄绿青霉 <i>P. citreo-viride</i> Biourge	(28)
27. <i>Penicillium</i> sp.	(29)
28. <i>Penicillium</i> sp.	(30)
六、拟青霉属 <i>Paecilomyces</i> Bainier	(30)
29. 粉质拟青霉 <i>P. farinosus</i> (Holm. Ex Gray) Brown ex smith	(30)
30. 黄拟青霉 <i>P. flavescens</i> Brown et Smith	(31)
31. 玫瑰色拟青霉 <i>P. fumoso-roseus</i> (Wize) Brown et Smith	(31)
32. 古尼拟青霉 <i>P. gunnii</i> Liang	(32)
33. 蛹草拟青霉 <i>P. militaris</i> (Kob.) Brown et Smith ex Liang	(33)
34. 蒲同拟青霉 <i>P. puntonii</i> (Vuill.) Nann	(33)
35. <i>Paecilomyces</i> sp.	(34)
36. <i>Paecilomyces</i> sp.	(34)
七、头孢霉属 <i>Cephalosporium</i> Corda	(34)
37. 蚧头孢霉 <i>C. coccorum</i> Petch	(34)
38. <i>Cephalosporium</i> sp.	(35)
八、轮枝菌属 <i>Verticillium</i> Nees ex Link	(35)
39. 蜡蚧轮枝菌 <i>V. lecanii</i> (Zimmermann) Viegas	(35)
40. <i>Verticillium</i> sp.	(36)
九、聚端孢属 <i>Trichothecium</i> Link ex Fries	(36)
41. 粉红聚端孢 <i>T. roseum</i> Lk. ex Fr.	(36)
十、链格孢属 <i>Alternaria</i> Nees ex Wallr.	(37)
42. 细链格孢 <i>A. tenuis</i> Nees	(37)
十一、镰孢属 <i>Fusarium</i> Link ex Fries	(38)
43. 节状镰孢 <i>F. merismoides</i> Corda	(38)
44. 弯角镰孢 <i>F. camptoceras</i> Wollenw. ex Reink	(39)
45. 镰状镰孢 <i>F. fusarioides</i> (Frag. ex Cif.) Booth	(39)
46. 拟枝孢镰孢 <i>F. sporotrichioides</i> Sherb.	(39)
47. 半裸镰孢 <i>F. semitectum</i> Brek. Ex. Rav	(41)
48. 砖红镰孢 <i>F. lateritium</i> Nees	(41)
49. 串珠镰孢 <i>F. moniliforme</i> Sheldon	(42)
50. 尖孢镰孢 <i>F. oxysporum</i> Schlecht	(43)
51. 束梗镰孢 <i>F. stilboides</i> Wollenew	(43)
52. 黄色镰孢 <i>F. culmorum</i> (W. G. Smith) Sacc	(44)
53. 雪腐镰孢 <i>F. nivale</i> (Fr.) Ces	(45)
54. 茄病镰孢 <i>F. solani</i> (Mart.) Sacc	(45)

55. 拟丝孢镰孢 <i>F. trichothecioides</i> Wollenw	(46)
56. <i>Fusarium</i> sp.	(47)
57. <i>Fusarium</i> sp.	(47)
58. <i>Fusarium</i> sp.	(47)
59. <i>Fusarium</i> sp.	(47)
十二、毛霉属 <i>Mucor</i> Micheil ex Fries	(47)
60. 易脆毛霉 <i>M. fragilis</i>	(47)
61. <i>Mucor</i> sp.	(47)
十三、虫霉属 <i>Entomophthora</i> Fresenius	(48)
62. 刺孢虫霉 <i>E. echinospora</i> (Thaxter) Gustafsson	(48)
63. 蝇虫霉 <i>E. muscae</i> (Cohn) Fres	(49)
十四、帚霉属 <i>Scopulariopsis</i> Bainier	(49)
64. 短柄帚霉 <i>S. frevicaulis</i> (Sacc.) Bainier	(49)
65. <i>Scopulariopsis</i> sp.	(50)
66. <i>Scopulariopsis</i> sp.	(50)
十五、侧孢霉属 <i>Sporotrichum</i> Line	(50)
67. 塞氏侧孢霉 <i>S. cejpai</i> Fassatova	(50)
68. 马丁内克侧孢霉 <i>S. martinekii</i> Prihoda	(51)
69. <i>Sporotrichum</i> sp.	(52)
70. <i>Sporotrichum</i> sp.	(52)
十六、虫疔霉属 <i>Pandora</i> Humber	(52)
71. 新蚜虫疔霉 <i>P. neophidis</i> (Rem & Henn.) Humber	(52)
十七、虫草属 <i>Cordyceps</i> Fr.	(53)
72. 香棒虫草 <i>C. barnesii</i> Thwaites	(53)
第三章 重要虫生真菌的研究概况	(54)
一、粉质拟青霉	(54)
(一) 粉质拟青霉的生物学特性	(54)
(二) 粉质拟青霉的毒力	(55)
(三) 粉质拟青霉对昆虫的感染致病作用	(56)
二、蜡蚧轮枝菌	(57)
(一) 生物学特性研究	(58)
(二) 蜡蚧轮枝菌的毒力	(59)
(三) 毒素	(60)
(四) 蜡蚧轮枝菌对昆虫的感染致病作用	(61)
三、玫烟色拟青霉	(63)
(一) 环境条件对玫烟色拟青霉生长发育的影响	(64)
(二) 环境条件对玫烟色拟青霉孢子萌发的影响	(65)
(三) 玫烟色拟青霉液体培养特性	(69)
(四) 玫烟色拟青霉毒力的影响因素	(73)

(五) 玫烟色拟青霉侵染对菜青虫营养生理的影响	(75)
(六) 玫烟色拟青霉对昆虫的感染致病作用	(78)
第四章 山西省部分虫生真菌资源与地域分布	(85)
一、部分虫生真菌采集地的自然概况	(85)
二、山西省部分虫生真菌的种类	(87)
三、山西省部分虫生真菌的地域分布特点	(90)
四、山西省部分虫生真菌小生境分布特点	(92)
五、山西省部分虫生真菌的优势类群	(93)
参考文献	(94)

第一章 概 述

一、山西省自然概况

山西省是我国内陆省份之一。地处太行山与黄河北干流峡谷之间，位于我国三大阶梯状地形上第二阶梯中部的前缘地带，巍然屹立于华北大平原西侧。省境轮廓大体呈南北向的平行四边形。介于东经 $110^{\circ}14'42'' \sim 114^{\circ}33'17''$ ，北纬 $34^{\circ}34'58'' \sim 40^{\circ}44'30''$ 。南北长 682km，东西宽 385km，总面积 456 579km²。

山西省通常被认为是黄土高原的一部分，而实质上它的主体是一个有黄土覆盖、起伏较大的山地型高原，称为“山西高原”。总的地势轮廓是“两山夹一川”，东西两侧为山地和丘陵的隆起，中部为一列串珠式盆地沉陷，平原分布其间。境内地势西北高、东南低，最高海拔 3 058m，最低海拔 250m。全境地貌为东部土石山区，西部黄土丘陵区。境内地势山地、丘陵多，平原少，山地、丘陵、平原三大类地形大体成 4 : 4 : 2；且地势高差悬殊，挺拔高耸，自然景观垂直变化突出。

山西省位于中纬度地域，大体以内长城为界，南北跨暖温带和中温带两个气候亚带。东距海洋 400~500km，属大陆性季风气候区，是我国东部湿润、半湿润和西北半干旱、干旱地区之间的过渡地区。

山西省处在季风气候控制范围内，大气环流的季节性变化明显。大体以北纬 39° 的恒山山脉为界，省境雁北和晋西北地区属中温带，恒山以南大部地区属暖温带；按干湿程度，省境大部是半干旱气候，一些中、高山区和晋东南地区是半湿润气候。全省主要的气候特征是冬季寒冷干燥，夏季高温多雨，春秋短暂，冬春风沙，春旱频繁，十年九旱，雨热同期，昼夜温差大，日照充足。省境大部年平均气温介于 $4 \sim 14^{\circ}\text{C}$ ，其分布趋势是由北向南升高，由盆地向中、高山地降低。全省年降水量 400~650mm，其分布是东南部较多，西北部较少，山区较多，盆地较少，少数高山区降水可达 700mm 以上。各地均以冬季各月雨量最少，一般在 10mm 以内；大部 7、8 两月雨量最多，月均降水量 100~170mm。由于受大气环流和低纬度气候的影响，导致了山西省气候类型的复杂多样，同时由于受地形、气候、水文等因素的支配，形成了山西境内独有的南、北植物分界线。南部、东南部是以次生落叶灌木丛和落叶阔叶林为主的夏绿阔叶混交林地区，中部以中旱生的落叶灌木丛和针叶林为主，北部和西部是暖温带及温带灌木丛和半干旱草原。

二、虫生真菌研究进展

(一) 资源与分类

1. 资源

虫生真菌作为一类宝贵的生物资源，被开发应用于农林害虫、卫生害虫、农田杂草的生

物防治及医疗卫生事业。据不完全统计,全世界已知的虫生真菌约 100 属 800 多种。我国的杀虫真菌资源极为丰富,目前已记载的虫生真菌涉及 40 多个属的 430 多种,其中虫草属 *Cordyceps* 80 种,捕食和寄生线虫真菌 10 种,寄生昆虫真菌 215 种,报道的新种达 24 种。他们分属于接合菌亚门、子囊菌亚门和半知菌亚门,其中 2/3 的种类属半知菌亚门,且目前研究和应用较多的也为半知菌亚门的虫生真菌。我国自 19 世纪 50 年代以来,开发利用的虫生真菌共有 20 多种(张克勤,1996;李增智,1999),包括球孢白僵菌 *Beauveria bassiana*、卵孢白僵菌 *B. bassiana*、金龟子绿僵菌 *Metarhizium anisopliae*、蜡蚧轮枝菌 *Verticillium lecanii*、粉质拟青霉 *Paecilomyces farinosus*、绿僵菌 *Metarhizium* sp. 等,其中以白僵菌应用最多,防治面积最大,广泛用于防治玉米螟、大豆食心虫及松毛虫等农林害虫;其次为绿僵菌 *Metarhizium* sp.、蜡蚧轮枝 *V. lecanii* 等。对以绿僵菌、白僵菌为代表的真菌制剂的研究、开发,已有近 20 年的历史(Laget, et al. 1982; Miller, et al. 1995; Hall F R et al. 1998),而且曾有 40 多种登记注册,进行了商品化的生产(王成树等,2001)。近年来,真菌杀虫剂发展极为迅速,已成为微生物杀虫剂的重要组成部分。

除农业、林业上的虫生真菌外,我国具有药用价值的虫生真菌资源也很丰富。其中拟青霉属真菌是中医药学和保健品的重要来源之一,这类虫生真菌含有抗菌、钙离子拮抗和免疫调节等多种功能的活性物质。据报道,来自不同寄主的 3 株拟青霉属虫生真菌的代谢物具有很强的清除自由基及抑制单胺氧化酶 B 的活性,这些活性代谢物可望用来制备一种高效、安全的治疗帕金森病的新药,而且不少虫生真菌还可以产生具有抗癌作用的物质,因而成为目前医用药物界的一个研究热点(沈玲玲,1997)。此外以昆虫为主要寄主的虫草属真菌也是一类重要的生物资源,它可作为药用资源、食用资源和生防资源。目前全世界报道的虫草属真菌已达 400 多种,我国记载的有 90 多种。其中著名的冬虫夏草具有抗炎症、调节内分泌、抗心律失常、降低血糖浓度、镇静、镇痛、延长睡眠时间、延缓衰老、耐缺氧等方面的作用。近年来,国外将冬虫夏草和蛹虫草作为功能食品开发,备受人们青睐,现已有数十种产品投放市场。因此,虫生真菌作为酶、毒素及其它生物活性物质的制造者,无论是对农业生产还是对医疗卫生都是一类非常宝贵的生物资源。

2. 分类

目前,依据分生孢子梗及分生孢子的部分传统真菌分类方法,在虫生真菌的分类中仍然占有重要地位。但由于真菌的形态特征复杂,而且少数种类的形态特征随环境的变化而不稳定,因此近几十年来,生理生化技术、遗传变异特点、血清学反应、酶学、分子生物学技术及计算机技术被不断地引入到真菌分类中。特别是自 20 世纪 90 年代以来,真菌分类由形态学走向多学科的综合发展,从而弥补了传统形态分类法的不足,也给种下菌株的分类提供了依据。

自 20 世纪 70 年代以来,可溶性蛋白电泳图谱已经广泛应用于真菌分类(刘刚,周与良,1995)。蛋白质电泳对于解决疑难种的鉴定、异名的处理等分类学问题是较为简单易行的一种方法,它在解决什么是种内形态变异和什么是种间性状交叉问题时成为一个很重要的依据(马国忠,余永年,1991)。此外同工酶作为一类蛋白质,酶的电泳图谱是在分子水平反应细胞中各种酶的结构,同工酶结构的相似性能够反应生物间的亲缘关系,因此酶谱分析被应用于种和种下的分类(林华峰,1996)。聚丙烯酰胺凝胶电泳技术被用于测定不同菌株的酯酶同工酶并用于种下分类,从而提高了种类鉴定的准确性,并有助于进行菌株的划分与

并归。因为酯酶同工酶是基因表达的产物，是生物种群和个体的重要生化指标，因此对虫生真菌分类具有非常重要的意义（林华峰，1996）。

近年来，随着分子生物学技术的快速发展，分子生物学技术也运用到真菌分类中，如真菌 DNA 碱基组成的分类鉴定方法和核酸分析技术等。其中核酸分析技术中应用较多的有核糖脱氧核糖核酸（rDNA）序列测定、DNA 分子杂交技术、线粒体 DNA 限制性片段长度多态性（RFLP）分析、随机扩增多态性（RPAD）技术等。目前核酸分子杂交技术已成为研究真菌分类和系统发育及进化的有力工具和较有说服力的手段之一。

（二）侵染过程

虫生真菌像大多数植物和动物的真菌病原体一样，通过表皮侵染其寄主。这个侵染过程可人为地分为四个阶段：分生孢子附着于寄主体壁；侵染结构的形成；穿透寄主体壁进入血腔；菌丝体在寄主体内生长或产生毒素，战胜昆虫的免疫系统。

1. 分生孢子在寄主体壁上的吸附和萌发

分生孢子吸附在寄主体壁并萌发，是虫生真菌成功侵染寄主的先决条件。虫生真菌不同种类的孢子以各种不同的方式主动或被动地寻找寄主。鞭毛菌亚门的游动孢子可在水中游动与寄主相遇；虫霉的分生孢子可主动弹射到寄主体壁，尖端有黏液的毛管孢子很容易碰到运动中的昆虫而黏附上去；而占虫生真菌 2/3 的半知菌的分生孢子，则主要靠气流和水流的运动而被动地与寄主相遇（蒲蜚龙等，1996）。

真菌孢子在昆虫体壁的吸附包括特异性吸附和非特异性吸附两种。一般地，特异性吸附对孢子入侵昆虫体壁起主要作用，而非特异性吸附若能持续足够长时间，也可使特异性吸附发生（洪华珠和杨红明，1997）。目前对特异性吸附的解释有静电学说、主体化学反应学说和黏液学说等几种假说。其中黏液学说是最让人感兴趣的学说，即寄主表皮的一些化学物质能被动地刺激分生孢子活化，使其产生一些酶和分泌一些黏性物质而附着在寄主表皮。这些酶和黏性物质有助于孢子和寄主之间结合（王海川，尤民生，1999）。樊美珍等（1999）用荧光显微和扫描电镜对几种虫生真菌附着胞进行观察，发现附着胞上常会有黏液层，有时也可见附着胞上产生入侵钉的情况。黏液层主要作用是帮助芽管黏附在孢子所附着的寄主上，这样即使芽管不产生附着胞，也会黏附在寄主上；其次黏液在维持胞外酶的稳定性方面也有重要作用，从而有助于对寄主的侵染。

分生孢子附着在寄主体上后，在适宜的湿度条件下即开始萌发。孢子在寄主体壁上的萌发主要受三个因素的影响：第一，要求有较高的湿度孢子才能萌发；第二，因为只有在特异性寄主的体壁上才有刺激孢子萌发的物质（Gillespie et al. 2000），因此虫生真菌只有遇到适合的寄主体壁才能萌发；第三，分生孢子必须克服昆虫体壁上一些物质的抑菌作用，这些抑菌物质包括真菌肽、脂肪酸和其他一些物质（Latge et al. 1987）。

2. 侵染结构的形成

附着在昆虫体壁上的大多数真菌孢子会在萌发的芽管顶端分化成特殊的侵染结构即附着胞、侵入钉、入侵丝和入侵盘等。其中首先形成且有重要作用的结构是附着胞（appressorium），它是芽管为附着在寄主表皮上而在端部形成的膨大体。从附着胞上会朝着表皮再发育出尖细的穿透钉（penetration peg）用来挤破昆虫的表皮，一旦表皮被突破，穿透钉将在表

皮中继续伸入,并形成一段穿透菌丝 (penetration hypha),直向血腔伸展;否则穿透结构将向两侧膨大,形成穿透板 (penetration plate),或称穿透菌丝段 (penetration hyphal body) (St. Leger et al. 1989)。很多种虫生真菌都会产生附着胞,例如金龟子绿僵菌 *Metarhizium anisopli-Zacharuk*、粉拟青霉 *Paecilomyces farinosus*、寄生曲霉 *Aspergillus parasiticus* (Berisford & Tsao, 1975)、骚蚊雕蚀菌 *Coelomomyces psorophorae* (Travland, 1979),暗孢耳霉 *Conidiobolus obscurus* 和弗雷生新接霉 *Neozygites fresenii* (Butt, 1987)。

其实附着胞的功能就是提供机械压力和分泌体壁水解酶,帮助其下形成的侵染钉穿透昆虫体壁。目前有关虫生真菌附着胞形成机理的研究主要集中在两个方面:第一,昆虫体表的拓扑结构和体表氮源对附着胞形成的影响;第二,附着胞形成的信号传递途径。孢子在昆虫体表萌发后,水平生长的芽管需在具有特定拓扑结构的昆虫体表上才能分化形成附着胞,在合适的拓扑结构处萌发的孢子很快分化形成附着胞,否则的话,需水平生长一段时间后到达合适部位才能分化形成附着胞。

3. 穿透寄主体壁

虫生真菌侵入寄主昆虫的第一道防线是昆虫体壁,即昆虫体壁表皮的非细胞的片层状结构构成了寄主对病原物的主要防御屏障。真菌需克服这些障碍才能成功进入血腔,这个过程一般认为是在酶的降解和芽管的机械压力的共同作用下完成的 (洪华珠和杨红明, 1997; St. Leger et al. 1986; Goettel et al. 1989)。由于昆虫体壁外表皮对水解酶的降解存在抵抗作用,因此虫生真菌首先依靠附着胞所产生的膨压推动侵染钉穿过外表皮,将菌丝送入到坚硬的体壁内层,然后通过水解酶的降解作用穿透昆虫体壁。虫生真菌在穿透寄主体壁时主要产生的水解酶有蛋白酶、几丁质酶和脂酶等。

(1) 蛋白质降解酶

据徐均焕 (1996) 报道,虫生真菌蛋白质降解酶降解昆虫表皮主要经过以下三个步骤:第一,酶分泌后被吸附到表皮上,该吸附过程主要依靠表皮中羧基的作用;第二,蛋白酶作用位点与表皮蛋白质的专一性肽链序列对接;第三,表皮肽片段被降解成氨基酸。这个过程的完成,需虫生真菌产生多种蛋白质降解酶共同作用。根据所分泌的蛋白质降解酶的底物,可将这些蛋白酶分为两大类:第一类是丝氨酸弹性凝乳蛋白酶 Pr1,另一类是丝氨酸类胰蛋白酶 (St. leger et al. 1987)

Pr1 即类枯草杆菌蛋白酶在真菌穿透昆虫体壁的过程中起重要作用,它不但能降解昆虫蛋白质,而且 Pr1 还是昆虫重要的致病因子 (王滨等, 2001)。目前,已发现存在有 Pr1 类蛋白酶的虫生真菌有球孢白僵菌 *B. bassiana*、金龟子绿僵菌 *M. anisopliae*、蜡蚧轮枝菌 *V. lecanii*、黄曲霉 *Aspergillus flarus*、粉虱座壳孢 *Aschersonia aleyrodinis*、虫疫霉 *Erynia sp.*、大链壶菌 *Lagenidium giganteum*、莱氏野村菌 *Nomuraea rileyi* 等。其中金龟子绿僵菌 *M. anisopliae* 的 Pr1A 基因是虫生真菌中最先克隆的表皮降解蛋白基因,此外黄曲霉 *A. flarus*、蜡蚧轮枝菌 *V. lecanii* 及白僵菌 *B. bassiana* 中同样存在与金龟子绿僵菌 pr1 基因显著同源的基因,该基因在昆虫血淋巴中的表达产物会引起昆虫酚氧化酶的过度表达,引起体壁黑化反应,同时发现在血腔中的 Pr1 可击败寄主的免疫反应。

(2) 几丁质降解酶

昆虫体表的几丁质是虫生真菌入侵昆虫的主要屏障之一,它需要虫生真菌分泌的几丁质

降解酶分解体壁几丁质才能成功入侵，如不产生几丁质酶和脂酶的布氏白僵菌，不能感染西方五月鳃角金龟 *Melontha melolontha* (Daris et al. 1979)。目前认为：虫生真菌降解体壁的几丁质酶包括两类：一类是几丁质酶；另一类是 N-乙酰葡萄糖胺酶 (N-Acetylglucosaminidase)。Hassan (1983) 和 Charnley (1989) 用昆虫几丁质合成的抑制素 Dimilin 和绿僵菌处理烟草天蛾 *Manduca sexta* 幼虫，结果表明，Dimilin 处理过的表皮更有利于绿僵菌的入侵，可见几丁质酶对真菌入侵昆虫的重要作用。

此外研究发现，虫生真菌产生的几丁质酶是一种诱导酶 (Smith R J et al. 1983; St leger R J et al. 1986)。它受到本身的酶解产物 N-乙酰葡萄糖胺的诱导—抑制作用。在真菌穿透烟草天蛾体壁的起始阶段，由附着在表皮的侵染结构分泌的几丁质酶含量很低，但在蛋白水解位点却具有较高水平的几丁质酶 (St. leger et al. 1996b)。到目前为止，有关虫生真菌产生几丁质降解酶的研究报道较多，但关于几个质酶对寄主体壁的降解过程或作用机制却报道很少，因此有关这方面的研究需进一步加强。

4. 菌丝在寄主血腔内的生长

据方卫国 (2003) 报道，虫生真菌穿透体壁进入血腔之后，为了能在寄主体内生存，首先必须战胜寄主的免疫系统，其次要干扰寄主的生理代谢活动，才能在寄主体中生长繁殖。

昆虫体腔的免疫系统主要是细胞防御，通过各种血细胞对病原物的吞噬作用、形成小结和被囊化作用等方式进行。进入昆虫体腔内的病原真菌，为逃避细胞壁多糖引起的寄主免疫反应，虫生真菌在寄主血腔内主要以原生质体、类原生质体细胞和囊孢子等形式存在。这类细胞没有或很少有细胞壁，能最大限度地避免虫生真菌细胞壁多糖引起的免疫反应 (方卫国, 2003)。为了有效地克服寄主的抵抗，半知菌亚门的虫生真菌形成了几种针对昆虫防御反应的机制，其中之一就是菌丝在血腔中的大量繁殖 (蒲蜚龙, 李增智, 1996)。研究发现，当注入昆虫血腔中的繁殖体超过一定的量，昆虫就不能抵抗。许多半知菌菌丝断裂后形成酵母状的虫菌体，这些虫菌体迅速分散到血液中，使数目有限的血细胞很难吞噬掉所有的虫菌体。此外大多数虫生真菌在侵染昆虫后还能分泌毒素。毒素的产生一方面会抑制昆虫的细胞免疫反应，具体表现：①降低吞噬性血细胞的数量。Mazet (1994) 曾用被白僵菌感染的甜菜夜蛾的血清处理甜菜夜蛾幼虫，从而导致昆虫体内循环性血细胞出现永久性减少；②改变浆细胞的形态和结构、降低浆细胞的吞噬活性，抑制胞囊化形成。如白僵菌在昆虫体内生长时可以明显降低浆细胞活性，使得白僵菌不易被浆细胞吞噬。另一方面毒素的产生会引起昆虫体液中酚氧化酶的活性的改变。Huxham (1986) 等用离体生物测定证实，金龟子绿僵菌的代谢产物能可逆地遏止沙漠蝗 *Schistocerca gregaria* 和美洲大蠊 *Periplaneta americana* 的酚氧化酶活性。

虫生真菌在寄主体内的生长繁殖除破坏了昆虫的免疫体系外，还干扰了寄主体内的生理代谢活动。海藻糖是昆虫体内主要的能量储存物质，在正常情况下，昆虫体内海藻糖的含量保持一定的浓变，然而当虫生真菌侵染后，造成昆虫体内海藻糖酶活性的改变，从而影响昆虫体内正常的生理代谢活动。

综上所述，由于虫生真菌战胜了昆虫的免疫体系并干扰了寄主正常的生理代谢活动而成功地建立感染，因而使昆虫体组织成为病原真菌生长繁殖所需要的能量物质，最终导致昆虫感病死亡。