



张博文, 邹春华, 董廷艳, 等. 烟粉虱病原真菌 IfB01 菌株的鉴定及产孢条件优化[J]. 华南农业大学学报, 2015, 36(5): 61-66.

烟粉虱病原真菌 IfB01 菌株的鉴定及产孢条件优化

张博文, 邹春华, 董廷艳, 胡琼波
(华南农业大学 农学院, 广东 广州 510642)

摘要:【目的】对从烟粉虱上分离的 IfB01 菌株进行分类学鉴定并优化其产孢条件。【方法】采用形态学、ITS1-5.8S-ITS2 rDNA 和 β -微管蛋白基因序列同源性分析方法鉴定该菌株;比较不同培养基、培养基含水量、pH、接种量与金属元素对分生孢子产量的影响,优化产孢条件。【结果和结论】该菌株菌落形态、分生孢子及产孢结构与玫烟色棒孢霉 *Isaria fumosorosea* 相似,其 ITS1-5.8S-ITS2 rDNA 和 β -微管蛋白 DNA 序列与玫烟色棒孢霉和爪哇拟青霉 *Paecilomyces javanicus* 相似性高于 97%,将该菌株鉴定为玫烟色棒孢霉。培养基配方对 IfB01 菌株分生孢子产量影响显著,玉米粉+麦麸混合培养基产孢量最多,1 g 培养基产孢量为 6.07×10^9 ;麦麸:玉米粉质量比为 5:5、培养基含水量(w)为 42%、接种量为 6 mL 菌液时,其产孢量最高;该菌株对 pH 的适应范围较广,pH 5~8 时,都有较好的产孢量;金属元素对产孢无促进作用,且镁、铁、钠和钙对 IfB01 产孢均有抑制作用。

关键词:IfB01 菌株;玫烟色棒孢霉;形态学鉴定;产孢条件
中图分类号:S476.12 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-411X(2015)05-0061-06

Identification of whitefly pathogenic fungal strain IfB01 and optimizat on of sporulation conditions

ZHANG Bowen, ZOU Chunhua, DONG Tingyan, HU Qiongbo
(College of Agriculture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract:【Objective】To identify the taxonomic of IfB01 strain, which was isolated from tobacco whitefly, and to optimize its sporulation conditions. 【Method】Identification of IfB01 strain was based on morphological analysis and genetic homology analysis of ITS1-5.8S-ITS2 rDNA sequence and β -tubulin DNA genes. The effects of culture medium, moisture content, pH, amount of inoculation and metallic element on conidial yield were studied. The sporulation conditions were optimized according to the above-mentioned effects. 【Result and conclusion】The morphological structure of IfB01 strain was similar to that of *Isaria fumosorosea*, including colony morphology, conidia and sporulation structure. Analysis of ITS1-5.8S-ITS2 rDNA sequence and β -tubulin DNA sequences indicated that IfB01 strain shared similarity over 97% with *Isaria fumosorosea* and *Paecilomyces javanica*. The strain was identified as *I. fumosorosea*. Basic media and their ratios, moisture content, pH, inoculum dosages and metallic elements could generate significant influences on the conidiospore production. The sporulation quantity of each gram of corn flour and wheat bran mixed medium was 6.07×10^9 , which was the most suitable medium for sporulation. When the ratio of corn flour and wheat bran was 5:5, the moisture content of the medium was 42%, the inoculation amount was 6 mL bacteria liquid of each 20 g medium, the highest spore quantity was achieved. A wide range of pH from 5 to 8 could be adapted. However, metallic elements did not seem to promote sporulation, on the contrary, magnesium, iron, sodium and calcium could inhibit conidia production.

收稿日期:2014-06-17 优先出版时间:2015-07-27
优先出版网址:<http://www.cnki.net/kcms/detail/44.1110.s.20150727.1455.025.html>
作者简介:张博文(1989—),男,硕士研究生,E-mail: 757510384@qq.com;通信作者:胡琼波(1963—),男,副教授,博士,E-mail: hqbscau@scau.edu.cn
基金项目:公益性行业(农业)科研专项(201003065)

Key words: IfB01 strain; *Isaria fumosorosea*; morphological identification; sporulation condition

玫烟色棒孢霉 *Isaria fumosorosea* 是一种常见的虫生真菌复合种,其寄主包括半翅目、鳞翅目、双翅目、鞘翅目、膜翅目等,广泛用于防治蚜虫、粉虱类害虫,同时其也是土壤分离物的常见菌种之一^[1-2]。该菌在分离鉴定、致病性、代谢产物活性、生产应用及安全性等方面均有研究^[3-9]。该菌不仅对蚜虫 *Aphis* spp.、小菜蛾 *Plutella xylostella*、菜青虫 *Pieris rapae* 等重要害虫有很强的致病性,对叶螨 *Tetranychidae* also 具有很好的杀卵效果^[9]。烟粉虱 *Bemisia tabaci* 是复合种,B 与 Q 生物型是世界公认的危险性入侵害虫,发展控制该虫的生物防治技术十分必要^[10]。笔者前期研究^[8]发现,从烟粉虱感病虫体上分离筛选的疑似玫烟色棒孢霉菌株 IfB01 对 B 型烟粉虱有较好的控制效果,该菌分生孢子在浓度为 $1.0 \times 10^7 \text{ mL}^{-1}$ 时对 2 龄若虫致死率超过 81%, $2.5 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ 与 $1.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 螺虫乙酯混合使用则防效达到 87% 以上。由于该菌株表现出较高的应用价值,笔者用形态学、分子生物学方法鉴定了该菌株,探索该菌株以廉价的农产品为培养基质的固体发酵产孢条件,为其生产上推广应用提供指导。

1 材料与方法

1.1 材料

IfB01 菌株斜面菌种,中国典型培养物保藏中心保藏,编号 CCTCC M 2012400。

麦麸、玉米粉和米糠 3 种培养基材料均购自广州市天河区长寿路市场;查氏培养基: NaNO_3 2 g, K_2HPO_4 1 g, KCl 0.5 g, MgSO_4 0.5 g, FeSO_4 0.01 g, 蔗糖 30 g, 琼脂 20 g, 水 1 L; PD 培养液: 马铃薯 20 g, 葡萄糖 10 g, 水 1 L。

1.2 方法

1.2.1 形态学观察 刮取 IfB01 菌株斜面菌种的分生孢子,接种于查氏培养基平板上,25℃条件下培养 7 d,观察、测定并记录菌落颜色、形状、大小,显微镜观测其分生孢子形态与产孢结构。

1.2.2 ITS1-5.8S-ITS2 rDNA 和 β -微管蛋白基因同源性分析 用 DNA 提取试剂盒 (DP3112, 北京百泰克生物技术有限公司) 提取供试菌株总 DNA, ITS1-5.8S-ITS2 rDNA 同源性分析 PCR 引物^[11]为: ITS1 (5'-TC-CGTAGGTGAACCTGCGG-3') 和 IST4 (5'-TCCTCCGCT-TATTGATATGC-3') (由广州英俊生物技术有限公司合成)。PCR 反应体系 (25 μL): $10 \times \text{Buffer}$ 2.5 μL , 25 mmol $\cdot \text{L}^{-1}$ MgCl_2 2.0 μL , dNTPs (10 mmol $\cdot \text{L}^{-1}$) 2.5 μL , 上、下游引物 (20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 各 1 μL , DNA 模板 1 μL , *Taq* 酶 0.5 μL , ddH₂O 补至 25 μL 。扩增条件: 94℃ 3 min; 94℃ 45 s, 50℃ 45 s, 72℃ 45 s,

35 个循环; 72℃ 延伸 10 min。纯化回收产物委托广州英俊生命技术公司进行测序。测序序列 BLAST 搜索相似性较高的相关序列, 使用 Cluster W 进行多重序列比对。在 MEGA 5.0 中构建 Neighbour-joining (NJ) 系统发育树, 并用 Bootstrap 分析进化树稳定性, 重复 1 000 次。

β -微管蛋白基因同源性分析 PCR 引物^[12]: Btl α (5'-TTCCCCCGTCTCCACTTCTTCATG-3') 和 Btl β (5'-GACGAGATCGTTCATGTTGAAGTC-3'), 扩增条件: 94℃ 3 min; 94℃ 1 min, 58℃ 1 min, 72℃ 2 min, 35 个循环; 72℃ 延伸 8 min。其他处理同上。

1.2.3 培养基对产孢量的影响 设 7 个处理: 麦麸、玉米粉、米糠、麦麸 + 玉米粉、麦麸 + 米糠、米糠 + 玉米粉、麦麸 + 米糠 + 玉米粉, 各称取 20 g 材料 (混合培养基中不同成分以等质量混合), 加 10 mL 蒸馏水, 充分混匀, 装入 250 mL 三角瓶中封口高压蒸汽灭菌备用。每处理重复 3 次。

接种、培养与孢子产量测定: 将 IfB01 菌株分生孢子接种至已灭菌的 PD 培养液中, 终浓度为 $1 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$, 25℃条件下、150 r $\cdot \text{min}^{-1}$ 培养 3 d, 将 5 mL 菌液接种至固体培养基, 移至培养箱中 25℃静置培养 10 d, 然后将培养物取出, 捣碎, 充分混匀, 再取 1 g 培养物, 加入 100 mL 0.05% (*w*) 吐温 80 溶液, 振荡混匀, 用血球计数板测定分生孢子浓度, 换算成 1 g 培养基的分生孢子产量。

1.2.4 培养基配比、含水量、接种量、金属元素和 pH 对产孢量的影响 根据“1.2.3”的试验结果选择麦麸 + 玉米粉培养基继续后续试验。

配置麦麸: 玉米粉质量比分别为 1:9、2:8、3:7、4:6、5:5、6:4、7:3、8:2、9:1 的培养基共 9 个处理, 每个处理重复 3 次, 后续处理为“1.2.3”的接种、培养与孢子产量测定。

根据培养基配比试验结果选择麦麸: 玉米粉为 5:5 的培养基继续后续试验。

分别设置含水量 (*w*) 为 32%、37%、42%、47%、52%、57% 的培养基, 每个处理重复 3 次, 后续处理为 1.2.3 的接种、培养与孢子产量测定。

在培养基中添加 3、4、5、6、7、8 mL 菌液, 每个处理重复 3 次, 后续处理按“1.2.3”接种、培养与孢子产量测定。

在 20 g 的麦麸 + 玉米粉 (5:5) 培养基中分别添加 0.2 g MgSO_4 、 FeSO_4 、 Na_2SO_4 、 K_2SO_4 、 CaSO_4 , 对照组不添加, 每个处理重复 3 次, 后续处理为“1.2.3”的接种、培养与孢子产量测定。

将培养基 pH 调节为 5、6、7、8 和 9 共 5 个处理。后续处理为“1.2.3”的接种、培养与孢子产量测定。

1.3 数据处理

采用 SPSS V17.0 处理数据,邓肯氏新复极差法比较平均数差异显著性.

2 结果与分析

2.1 菌株 IfB01 的分类学鉴定

2.1.1 形态学特征 在查氏培养基上,起初菌落呈白色,中央微隆起;延长培养,菌落呈不规则圆形,产孢后,表面呈灰色,背面淡黄色,培养 14 d 菌落直径(46.70±1.30) mm(图 1A). 菌丝及产孢结构见图 1B,菌丝分隔,无色透明,宽度(3.30±0.52) μm;分生孢子梗长(10.83±2.34) μm,宽(2.94±0.37) μm;产孢结构复杂,其上着生 3~6 个瓶梗,瓶梗基部球形或椭圆形膨大,向上细颈,瓶梗长(10.90±1.86) μm,宽(3.36±0.32) μm;分生孢子透明,光滑,梭形至柱状,长(5.61±0.76) μm,宽(2.01±0.23) μm,呈首尾相接的长链状.

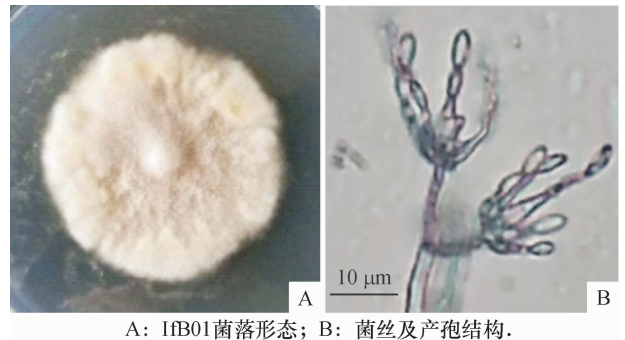


图 1 IfB01 菌株形态学鉴定

Fig.1 Morphological analysis of IfB01 strain

2.1.2 ITS1-5.8S-ITS2 rDNA 和 β-微管蛋白基因 同源性分析 ITS1-5.8S-ITS2 rDNA 基因和 β-微管蛋白基因扩增结果见图 2,产物分别约为 580 和 320 bp.

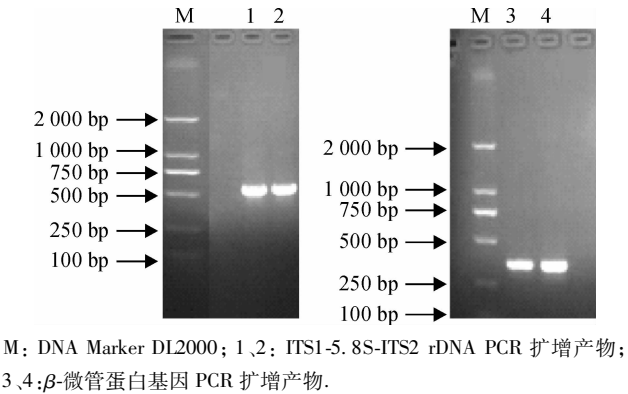


图 2 PCR 电泳图
Fig.2 PCR electrophoretogram

ITS1-5.8S-ITS2 rDNA 特异性扩增产物经测定,其序列共 576 bp. 将该段序列提交 GenBank, DNA 序列计算机排定结果表明,其与 1 株玫烟色棒孢霉 *Isaria fumosorosea* (登录号 FJ765015) 和 1 株爪哇拟青霉 *Paecilomyces javanicus* (登录号 AB263744) 高度相似. 以 IfB01 菌株与爪哇拟青霉、玫烟色拟青霉及一些近似菌株,及以弯孢玛利亚霉 *Mariannaea elegans* var. *elegans* (登录号 AY624244) 为外群,构建其系统发育进化树,IfB01 菌株与 1 株玫烟色棒孢霉及 1 株爪哇拟青霉在同一分支上,相似性达 100% (图 3).

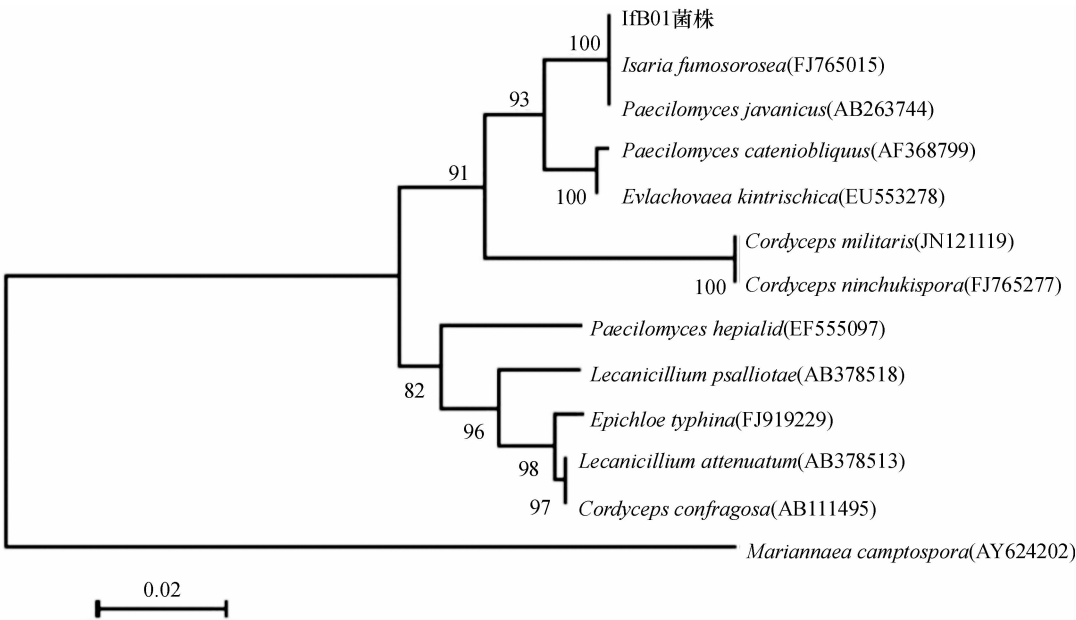


图 3 ITS1-5.8S-ITS2 rDNA 序列构建 IfB01 菌株的系统发育树

Fig.3 Phylogenetic tree of IfB01 strain based on ITS1-5.8S-ITS2 rDNA sequences

β -微管蛋白基因特异性扩增产物经测定,其序列为 319 bp. 在 GenBank 中输入该序列段,结果表明,该序列与 1 株玫烟色棒孢霉 *I. fumosorosea* (登录号 EF585300) 和 1 株爪哇拟青霉 *P. javanicus* (登录

号 FJ899913) 高度同源. 同样构建其系统发育树,该菌株与 1 株玫烟色棒孢霉 *I. fumosorosea* (登录号 EF585300) 和 1 株爪哇拟青霉 *P. javanicus* (登录号 FJ899913) 同属一支,相似性达 97% (图 4).

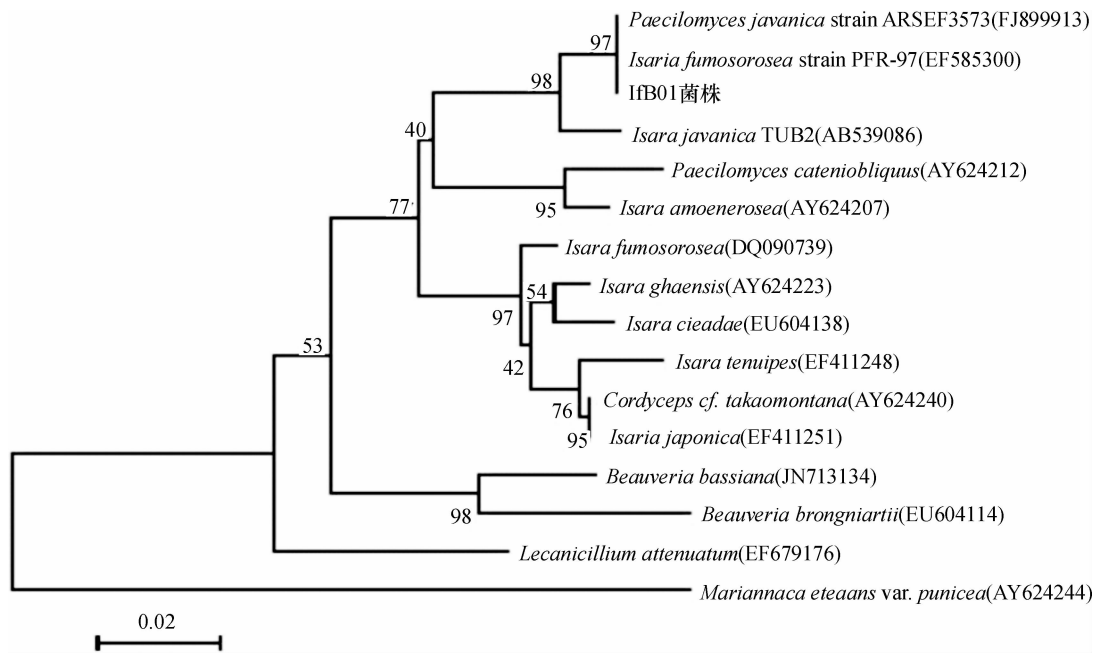


图 4 β -微管蛋白基因序列构建 IfB01 菌株的系统发育树
Fig. 4 Phylogenetic tree of IfB01 strain based on β -tubulin DNA sequences

ITS1-5. 8S-ITS2 rDNA 区域分支发育树和 β -微管蛋白 DNA 序列分支发育树分析均表明,IfB01 菌株与玫烟色棒孢霉和爪哇拟青霉高度同源. 将 IfB01 菌株

形态学特征与玫烟色棒孢霉、爪哇拟青霉形态学特性^[13] 进行比较分析 (表 1), 发现 IfB01 菌株更接近玫烟色棒孢霉, 因此, 将 IfB01 菌株确定为玫烟色棒孢霉.

表 1 IfB01 菌株、玫烟色棒孢霉及爪哇拟青霉形态学特性¹⁾
Tab. 1 Morphological characteristics of strain IfB01, *Isaria fumosorosea* and *Paecilomyces javanicus*

菌株	菌落颜色	菌落直径/mm	菌丝宽度/ μm	瓶梗数/个	瓶梗长/ μm	瓶梗宽/ μm	分生孢子长/ μm	分生孢子宽/ μm
IfB01	灰白色	44.12 ~ 51.08	2.58 ~ 3.88	3 ~ 6	8.88 ~ 13.26	2.68 ~ 3.78	4.65 ~ 7.04	1.75 ~ 2.30
玫烟色棒孢霉 ^[13]	白色	50.00 ~ 60.00	1.50 ~ 3.50	3 ~ 6	5.15 ~ 18.00	1.00 ~ 2.00	3.00 ~ 4.00	1.00 ~ 2.00
爪哇拟青霉 ^[13]	白色	20.00 ~ 30.00	0.30 ~ 1.20	2 ~ 4	8.00 ~ 14.00	2.00 ~ 2.80	5.00 ~ 8.00	1.40 ~ 3.00

1) IfB01 菌株和玫烟色棒孢霉分生孢子形状均为梭形至柱状长链; 爪哇拟青霉分生孢子形状为长梭形至近柱状.

2.2 产孢条件

2.2.1 培养基对产孢量的影响 结果表明, 麦麸 + 玉米粉等质量混合培养基最适产孢, 其产孢量每 1 g 培养基最高达到 6.07×10^9 , 其次为麦麸 + 玉米粉 + 米糠混合培养基和单一麦麸培养基, 而米糠培养基不产孢 (图 5A).

麦麸与玉米粉不同质量配比显著影响孢子产量 (图 5B), 当麦麸 : 玉米粉质量比为 5:5 时, 产孢量每 1 g 培养基最高达 6.17×10^9 , 配比 2:8 和 8:2 次之, 产孢量每 1 g 培养基分别为 4.80×10^9 和 5.13×10^9 .

2.2.2 培养基含水量和金属元素对产孢量的影响 培养基含水量对产孢量显著影响 (图 5C), 当含水量 (w) 为 42% 时, 该菌株产孢量每 1 g 培养基为

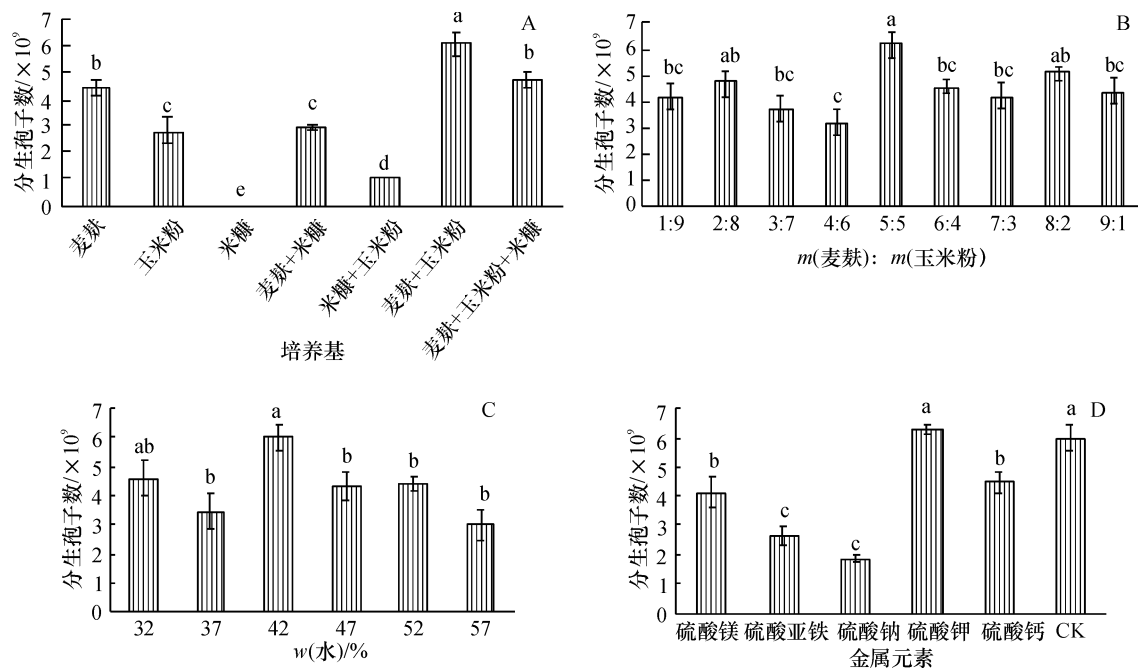
<http://xuebao.scau.edu.cn>

6.01×10^9 , 显著高于除含水量 32% 外的其他处理.

金属元素对产孢量的影响结果 (图 5D) 表明, 除钾元素外, 镁、铁、钠、钙元素都影响产孢, 其孢子产量每 1 g 培养基显著低于不添加金属盐的对照处理的产孢量 5.99×10^9 .

2.2.3 接种量和 pH 对产孢量的影响 接种量对产孢有较大影响, 当接种量为 20 g 培养基 6 mL 孢悬液时, 产孢量每 1 g 培养基为 5.75×10^9 个, 显著高于除 7 mL 孢悬液外的其他处理 (图 6A).

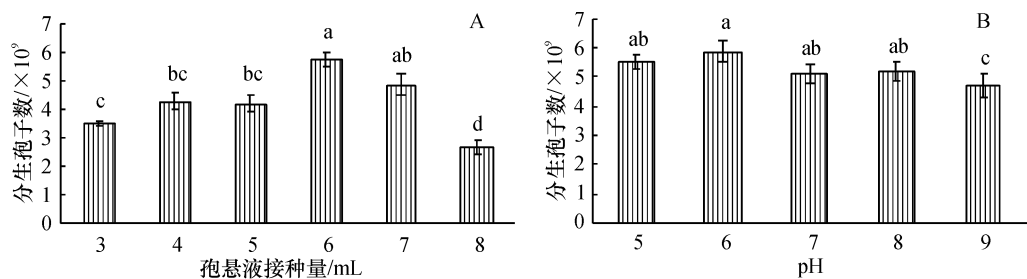
该菌株在 pH 5 ~ 8 都有较好的分生孢子产量, 且无显著性差异, 说明该菌株适应酸碱变化的范围较广 (图 6B).



各图中产孢量以每 1 g 培养基计,图柱上凡具有一个相同小写字母表示差异不显著 ($P>0.05$, Duncan's s)

图 5 培养基对产孢量的影响

Fig. 5 Effects of different media on conidiospore production



产孢量以每 g 培养基计,图柱上凡具有一个相同小写字母表示差异不显著 ($P>0.05$, Duncan's s 法)

图 6 接种量与 pH 对产孢量的影响

Fig. 6 Effects of inoculum dosages and pH on conidiospore production

3 讨论与结论

虫生真菌的分类比较复杂,仅凭形态学与分子生物学方法难以进行正确的分类. 玫烟色棒孢霉曾经长期被当作玫烟色拟青霉 *Paecilomyces fumosoroseus*, Luangsa-Ard 等^[14]研究了 rDNA-ITS 和 β -微管蛋白基因的同源性后,将玫烟色拟青霉属 *Paecilomyces* 的若干个种划归棒孢霉属 *Isaria*. 玫烟色棒孢霉又是一个复合种,其遗传多样性丰富和种群结构非常复杂. 根据 rDNA-ITS 及微卫星位点分析结果和不同寄主与地理区域,该菌种可分成 3 个品系,其中 1 个品系来自烟粉虱寄主^[2, 15-16]. 本试验采用形态学与 rDNA-ITS 和 β -微管蛋白基因分析相结合的方法,将 IfB01 菌株鉴定为玫烟色棒孢霉 *Isaria fumosorosea*,与上述文献描述是相符的.

丝孢类昆虫病原真菌的分生孢子生产一般采用两相发酵工艺,产孢不光对营养有要求,还要求温湿度、酸碱度及氧气等,且不同菌种和菌株的要求不同^[17]. 因此,在利用玫烟色棒孢霉防治害虫的研究中,有必要对其培养条件进行优化,探索分生孢子的最佳生产工艺. 已有研究表明,麦粉、麦麸皮、黄豆粉等培养基质可促进玫烟色棒孢霉产生分生孢子^[18-19]. 本试验中,以麦麸 + 玉米粉(5:5)为基质时,产孢量最高.

本菌株产孢对酸碱度的耐受性较好,我国南方地区酸雨污染较严重,环境酸化倾向明显,较好的耐酸性将有利于该菌株在自然条件下产孢,从而提高其控害能力. 矿质元素本来是真菌生长发育所必需的,但本试验表明几种金属元素都不利于该菌株产孢,这可能是由于所选用的培养基玉米和麦麸中已含有该菌所需的元素,添加这些金属盐后增加了盐

<http://xuebao.scau.edu.cn>

度或渗透压,不利于产孢,这需要进一步的研究.若能提高虫生真菌的耐盐性,对于改善其在盐碱地里的生存能力是有帮助的,进而可以提高虫生真菌在自然条件下的库存,改善其自然种群对害虫的控制作用.

本研究通过形态学与分子生物学结合的方法,鉴定了具有烟粉虱真菌杀虫剂潜力的 IfB01 菌株,明确其为玫烟色棒孢霉 *I. fumosorosea*,筛选了最适于该菌株产孢的玉米粉+麦麸混合培养基,明确麦麸:玉米粉质量配比 5:5,培养基含水量(w)为 42%,接种量为 20 g 培养基 6 mL 菌液,以及 pH 5~8 时,最适宜产孢.研究结果将为 IfB01 菌株的生产应用提供指导,有利于玫烟色棒孢霉在烟粉虱生物防治中发挥更重要的作用.

参考文献:

- [1] 武觀文,王德祥. 中国虫生真菌研究与应用[M]. 北京: 中国农业科技出版社,1993: 203-210.
- [2] ZIMMERMANN G. The entomopathogenic fungi *Isaria farinose* (formerly *Paecilomyces farinosus*) and the *Isaria fumosorosea* species complex (formerly *Paecilomyces fumosoroseus*): Biology, ecology and use in biological control[J]. *Biocontrol Sci Techn*, 2008, 18(9): 865-901.
- [3] 黄勃,樊美珍,李增智,等. 利用 RAPD 技术对拟青霉属菌株进行分类鉴定[J]. 菌物系统, 2000, 21(1): 33-38.
- [4] 黄振,任顺祥. 玫烟色拟青霉分离株的生物学特性及其对烟粉虱的致病力[J]. 中国生物防治, 2004, 20(4): 248-251.
- [5] 柴一秋,张乐人,张晖,等. 几种虫生真菌代谢产物生物活性的初步研究[J]. 南京农业大学学报, 2000, 23(3): 37-40.
- [6] ZHOU F C, ALI S, HUANG Z. Influence of the entomopathogenic fungus *Isaria fumosorosea* on *Axinoscymnus cardilobus* (Coleoptera: Coccinellidae) under laboratory conditions[J]. *Biocontrol Sci Techn*, 2010, 20(7): 709-722.
- [7] D' ALESSANDRO C P, PADIN S, URRUTIA M I, et al. Interaction of fungicides with the entomopathogenic fungus *Isaria fumosorosea* [J]. *Biocontrol Sci Techn*, 2011, 21(2): 189-197.
- [8] ZOU C H, LI L, DONG T Y, et al. Joint action of the entomopathogenic fungus *Isaria fumosorosea* and four chemical insecticides against the whitefly *Bemisia tabaci* [J]. *Biocontrol Sci Techn*, 2014, 24(3): 315-324.
- [9] ZHANG L, SHI W B, FENG M G. Histopathological and molecular insights into the ovicidal activities of two entomopathogenic fungi against two-spotted spider mite [J]. *J Invertebr Pathol*, 2014, 117: 73-78.
- [10] DE BARRO P J, LIU S S, BOYKIN L M. et al. *Bemisia tabaci*: A statement of species status [J]. *Annu Reventomol*, 2011, 56: 1-19.
- [11] 燕勇,李卫平,高雯洁,等. rDNA-ITS 序列分析在真菌鉴定中的应用[J]. 中国卫生检疫杂志, 2008, 18(10): 1958-1961.
- [12] GLASS N L, DONALDSON G C. Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes [J]. *Appl Environ Microb*, 1995, 61(4): 1323-1330.
- [13] LIANG Z Q, HAN Y F, CHU H L. et al. Studies on the genus *Paecilomyces* in China I [J]. *Fungal Divers*, 2005, 20: 83-101.
- [14] LUANGSA-ARD J J, HYWEL-JONES N L, MANOCH L. et al. On the relationships of *Paecilomyces* sect. *Isarioidea* species [J]. *Mycol Res*, 2005, 109(5): 581-589.
- [15] GAUTHIER N, DALLEAU-CLOUET C, FARGUES J. Microsatellite variability in the entomopathogenic fungus *Paecilomyces fumosoroseus*: Genetic diversity and population structure [J]. *Mycologia*, 2007, 99(5): 693-704.
- [16] FARGUES J, BON M C, MANGUIN S, et al. Genetic variability among *Paecilomyces fumosoroseus* isolates from various geographical and host insect origins based on the rDNA-ITS regions [J]. *Mycol Res*, 2002, 106(9): 1066-1074.
- [17] GANDARILLA-PACHECO F L, AREVALO-NIÑOK, GALÁN-NWONG L J, et al. Evaluation of conidia production and mycelial growth in solid culture media from native strains of entomopathogenic fungi isolated from citrus-growing areas of México [J]. *Afr J Biotechnol*, 2012, 11(79): 14453-14460.
- [18] 李忠,刘寿章,刘爱英,等. 玫烟色拟青霉营养需求及培养条件研究[J]. 贵州农业科学, 2004, 32(5): 15-17.
- [19] 李忠,刘爱英,梁宗琦. 玫烟色拟青霉的培养及固体培养基的筛选[J]. 贵州农业科学, 2002, 30(6): 27-28.

【责任编辑 霍 欢】