

调查研究

Investigations

湖南省马铃薯病毒病发生情况调查

崔红红¹, 张幸媛¹, 田宇豪¹, 甘斌¹, 尹燕¹,
胡新喜¹, 熊兴耀², 秦玉芝^{1*}

(1. 湖南农业大学园艺学院, 园艺作物种质创新与品种选育教育部工程研究中心, 长沙 410128;

2. 中国农业科学院深圳农业基因组研究所, 深圳 518120)

摘要 为了解湖南省马铃薯种薯质量和主要病毒病发生情况, 2019年—2020年马铃薯秋作和冬作期间, 对长沙、益阳、湘潭、澧临等马铃薯生产区的155个马铃薯样品, 运用反转录-聚合酶链式反应(RT-PCR)和双抗体夹心酶联免疫吸附检测(DAS-ELISA)技术, 筛查6种主要马铃薯病毒, 包括马铃薯X病毒 *Potato virus X* (PVX)、马铃薯Y病毒 *Potato virus Y* (PVY)、马铃薯M病毒 *Potato virus M* (PVM)、马铃薯S病毒 *Potato virus S* (PVS)、马铃薯A病毒 *Potato virus A* (PVA)、马铃薯卷叶病毒 *Potato leaf roll virus* (PLRV)。检测结果表明: 6种马铃薯病毒病在湖南均有不同程度的发生, 单一和两种病毒复合感染植株占比最高, 其次是3种病毒复合感染, 存在极少数植株复合感染4~5种病毒病情况。在秋作马铃薯中, PVY检出率达到29.41%; PVS和PVA检出率均为27.94%; PVM、PVX、PLRV的检出率分别为20.59%、19.12%、17.65%。在冬作马铃薯中, PVX检出率最高, 达到31.03%; 其次是PLRV, 检出率为25.29%; PVS、PVM、PVA、PVY的检出率依次为19.54%、16.09%、10.34%、5.75%。综上所述, 近年来湖南地区马铃薯病毒病发生有抬头之势, 其中PVX和PVY最为严重, 复合感染增加, 受天气和种源影响, 秋作马铃薯比冬作马铃薯情况严重。

关键词 马铃薯; 病毒病; 调查鉴定; RT-PCR; DAS-ELISA

中图分类号: S435.32 文献标识码: A DOI: 10.16688/j.zwbh.2020541

Investigation on occurrence of potato virus disease in Hunan province

CUI Honghong¹, ZHANG Xingyuan¹, TIAN Yuhao¹, GAN Bin¹, YIN Yan¹,
HU Xinxi¹, XIONG Xingyao², QIN Yuzhi^{1*}

(1. College of Horticulture, Hunan Agricultural University, ERC for Horticultural Crop Germplasm Creation and New Variety Breeding, Ministry of Education, Changsha 410128, China; 2. Agricultural Genomics Institute at Shenzhen, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Shenzhen 518120, China)

Abstract To clear the quality of seed potato tubers and the occurrence of major virus diseases in Hunan province, 155 potato samples from Changsha, Yiyang, Xiangtan and Lilin potato production areas from 2019 to 2020 were screened for six major potato viruses, including *Potato virus X* (PVX), *Potato virus Y* (PVY), *Potato virus M* (PVM), *Potato virus S* (PVS), *Potato virus A* (PVA), *Potato leaf roll virus* (PLRV) by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) and double antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (DAS-ELISA). The results showed that six potato virus occurred in different degrees in Hunan province. The proportion of single and two kinds of virus infection was the highest, followed by three kinds of virus infection, while there were very few plants infected with 4—5 kinds of virus diseases. In autumn potatoes, the detection rate of PVY reached 29.41%, those rates of PVS and PVA were 27.94%, while those of PVM, PVX and PLRV were 20.59%, 19.12% and 17.65%, respectively. In winter potatoes, the detection rate of PVX was the highest (31.03%), followed by PLRV (25.29%), while those of PVS, PVM, PVA and PVY were 19.54%, 16.09%, 10.34% and 5.75%, respectively. In conclusion, in recent years, the occurrence of potato virus diseases in Hunan province has been on the rise, especially PVX and PVY

收稿日期: 2020-10-15

修订日期: 2020-11-25

基金项目: 国家重点研发计划(2017YFD0101905); 湖南省旱粮产业技术体系育种与良种繁殖岗位科学家项目

* 通信作者 E-mail: qyuz@163.com

are the most serious, and the mixed infection is increasing. Affected by weather and provenance, the situation of virus infection in autumn potato is more serious than that in winter potato.

Key words potato; viral disease; investigation; RT-PCR; DAS-ELISA

马铃薯 *Solanum tuberosum* 是一种分布广泛、适应性强、产量高且具有较高的营养价值和经济价值的作物。中国是世界上最大的马铃薯生产国之一,随着马铃薯种植面积的不断扩大,马铃薯受病毒病害也越来越严重。病毒病导致的马铃薯植株退化,严重影响马铃薯的产量和质量,可使马铃薯减产 20%~50%不等^[1-3]。

已报道的马铃薯病毒病多达 40 种以上^[4-6],危害比较严重的主要有马铃薯 X 病毒 *Potato virus X* (PVX)、马铃薯 Y 病毒 *Potato virus Y* (PVY)、马铃薯 M 病毒 *Potato virus M* (PVM)、马铃薯 S 病毒 *Potato virus S* (PVS)、马铃薯 A 病毒 *Potato virus A* (PVA)、马铃薯卷叶病毒 *Potato leaf roll virus* (PLRV)。其中,PVY 是侵染马铃薯最严重的病毒,在中国各地区的检出率均较高。感染 PVY 的植株通常表现出重花叶或不同程度的坏死斑,危害严重时可导致马铃薯减产 80%^[7];PLRV 引起马铃薯卷叶,对马铃薯的侵染仅次于 PVY,尤其是在内蒙古自治区^[8-12];其他 4 种病毒(PVX、PVS、PVM、PVA)单独侵染马铃薯时,表现症状不明显或不表现症状,复合侵染时会因病毒的数量、种类、侵染的程度等不同而表现出不同程度的花叶、卷叶或坏死症状^[13]。目前湖南地区马铃薯脱毒种薯应用比例偏低,冬作马铃薯仅 30%左右,薯农在马铃薯秋作时则习惯自留种薯。本文通过对湖南马铃薯主产区进行病毒发生情况调查,以了解近年马铃薯病毒病发生情况和病毒种类,为湖南地区马铃薯病毒病害防治提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

分别于 2019 年 11 月马铃薯秋作和 2020 年 4 月马铃薯冬作成熟期,从长沙、益阳、湘潭、澧临等马铃薯生产地区进行病毒田间调查。采集有花叶、斑驳、卷叶、坏死等病毒症状的样品,症状不明显的地块采取五点取样法随机取样,样品茎叶-80℃保存备用。秋作采集样品 68 个,冬作中采集样品 87 个,共 155 个样品。样品包括‘湘马铃薯 1 号’‘费乌瑞它’‘兴佳 2 号’‘华薯 1 号’‘华薯 2 号’‘金湘’‘紫玉’等共 42 个品种(系)。

1.2 检测方法

1.2.1 DAS-ELISA 法

对所采集的 155 个样品进行 DAS-ELISA 法检测 6 种病毒:向预先包被马铃薯病毒捕获抗体的微孔中,依次加入标本、阴性和阳性对照、HRP 标记的检测抗体,经过温育并彻底洗涤,用底物 TMB 显色,TMB 在过氧化物酶的催化下转化成蓝色,并在酸的作用下转化成最终的黄色。颜色的深浅和样品中的马铃薯病毒含量呈正相关。用酶标仪在 450 nm 波长下测定吸光度(OD 值),判定阴阳性。DAS-ELISA 检测试剂盒购自上海茁彩生物科技有限公司,具体步骤参照使用说明书。

1.2.2 RT-PCR 法

抽取部分样品提取植物总 RNA,采用北京天根生化技术有限公司的总 RNA 提取试剂盒,以不含 6 种病毒的马铃薯为阴性对照,分别含 6 种病毒的马铃薯为阳性对照。将提取的 RNA 反转录成 cDNA,反转录试剂盒购自擎科生物技术有限公司,具体步骤参照 GoldenstarTMRT6 cDNA Synthesis Kit Ver. 2 说明书操作。以反转录合成的 cDNA 为模板利用金牌 Mix(购自擎科生物技术有限公司)进行 RT-PCR 扩增,反应条件为:预变性 94℃ 3 min;变性 94℃ 30 s,退火 58℃ 30 s,延伸 72℃ 30 s,30 个循环;延伸 72℃ 10 min;4℃ 保存。PCR 产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测。参考文献^[14]中的引物并结合 Primer premier 5 软件设计引物,由擎科生物技术有限公司合成。引物见表 1。

表 1 6 种马铃薯病毒的特异性引物

Table 1 Specific primers for six potato virus diseases

引物名称 Primer	引物序列(5'-3') Primer sequence	扩增长度/bp Length
PVX-F	CGCGAAGTTAGTCAAAGCAGTTGAT	779
PVX-R	CTTCCGGGAAGTCTCTTTTTTCCAA	
PVY-F	GAGCAACTCAATCACAGTTTGATAC	550
PVY-R	TGTTCTTGACTCCAAGTAGAGTATG	
PVM-F	CGCATAAATATCTGGACTTACAC	630
PVM-R	CTACTCCAGTAATGCAACTCATC	
PVA-F	CGCTCGCAAATGGGAGTGTT	300
PVA-R	GCTCACTATAGGGGATCCAC	
PVS-F	TTCCAGAGGACGCCCTTTGCAATC	435
PVS-R	GTCTAACTGGCATCAGGGCACAATA	
PLRV-F	TCATGCTCGGTTGTATAACCTGCT	850
PLRV-R	GACCTCATCGGAGTCATAATCATCA	

2 结果与分析

2.1 马铃薯感染病毒病表型分析

本次调查过程中采集到的具有典型症状的样品如图 1 所示,表现为轻花叶,叶片褪绿,叶片颜色深浅不一,发生形变(b);叶片出现坏死斑点,颜色较暗(c);叶片褪绿,出现斑点,叶边缘以主脉为中心向上

卷曲(d);叶面粗糙,没有光泽,叶片出现黄绿相间的斑点(e);叶片出现坏死斑点,叶边缘以主脉为中心向上卷曲(f);叶片中出现不规则的灼烧斑点,叶面粗糙,皱缩,叶片卷曲(g);叶片颜色深浅不一,叶片中有不规则的灼烧斑点和青铜色枯斑,卷叶,植株下部叶片干枯(h);叶片下垂,褪绿,出现青铜色枯斑,叶边缘以主脉为中心向上卷曲(i)。



图 1 湖南省马铃薯病毒病的典型症状

Fig. 1 Typical symptoms of potato viral diseases in Hunan province

经检测,a 无所检测的 6 种病毒;b 含 PVX;c 含 PVY;d 含 PLRV;e 含 PVM;f 含 PLRV 和 PVY;g 含 PVA 和 PVM;h 含 PVS、PVX 和 PVY;i 含 PVS、PVA。

2.2 DAS-ELISA 法检测分析

采用 DAS-ELISA 法对 155 个样品(秋作中采集样品 68 个,冬作中采集样品 87 个),分别进行 6 种病毒检测。由表 2 可见,秋作马铃薯样品中,不同病毒复合感染情况高发。其中单一病毒感染样品占

总样品数量的 33.82%;其次是 2 种马铃薯病毒复合感染的样品占总样品数量的 30.88%;感染 3 种和 4 种马铃薯病毒的样品较少,分别占总样品数量的 7.35%和 4.41%;本次调查发现有 1.47%的样本为 5 种马铃薯病毒复合感染。

冬作马铃薯样品中,41.38%为单一病毒感染样品,3 种马铃薯病毒复合感染的样品最少,占总样品数量的 5.75%;2 种马铃薯病毒复合感染的样品较多,占总样品数量的 21.84%。

表 2 湖南省秋作和冬作马铃薯病毒复合感染情况
Table 2 Mixed potato virus infection in autumn and winter potatoes in Hunan province

病毒种数/种 Number of virus	占比/% Ratio	
	秋作 Autumn crop	冬作 Winter crop
0	22.06	31.03
1	33.82	41.38
2	30.88	21.84
3	7.35	5.75
4	4.41	0
5	1.47	0

由表 3 可见,在秋作马铃薯中,所检测的 6 种主要马铃薯病毒均有涉及。感染 PVY 病毒的马铃薯样品最多,占总样品数量的 29.41%;感染 PLRV 病毒的马铃薯样品最少,占总样品数量的 17.65%;感染 PVA 和 PVS 病毒的马铃薯样品较多,均占总样品数量的 27.94%;感染 PVX 和 PVM 病毒的马铃薯样品较少,分别占总样品数量的 19.12%和 20.59%。在冬作马铃薯中,所检测的 6 种主要马铃薯病毒均有涉及。感染 PVX 病毒的马铃薯样品最多,占总样品数量的 31.03%;感染 PVY 病毒的马铃薯样品最少,占总样品数量的 5.75%;感染 PLRV 病毒的马

铃薯样品较多,占总样品数量的 25.29%;感染 PVM 和 PVS 病毒的马铃薯样品较少,分别占总样品数量的 16.09%和 19.54%;感染 PVA 病毒的马铃薯样品占总样品数量的 10.34%。

表 3 湖南省秋作和冬作马铃薯对 6 种病毒的感染情况比较
Table 3 Comparison of six potato virus infections in autumn and winter potatoes in Hunan province

病毒种类 Virus type	占比/% Ratio	
	秋作 Autumn crop	冬作 Winter crop
PVX	19.12	31.03
PVY	29.41	5.75
PVM	20.59	16.09
PVA	27.94	10.34
PVS	27.94	19.54
PLRV	17.65	25.29

2.3 RT-PCR 法抽样分析

在所采集的 155 个样品中抽取 8 个样品进行 RT-PCR 验证,结果见图 2。

将 8 个样品 DAS-ELISA 法和 RT-PCR 法两种方法检测的结果整理见表 4。由表 4 可知:除 PVX 之外,其他病毒两种方法检测的结果一致。

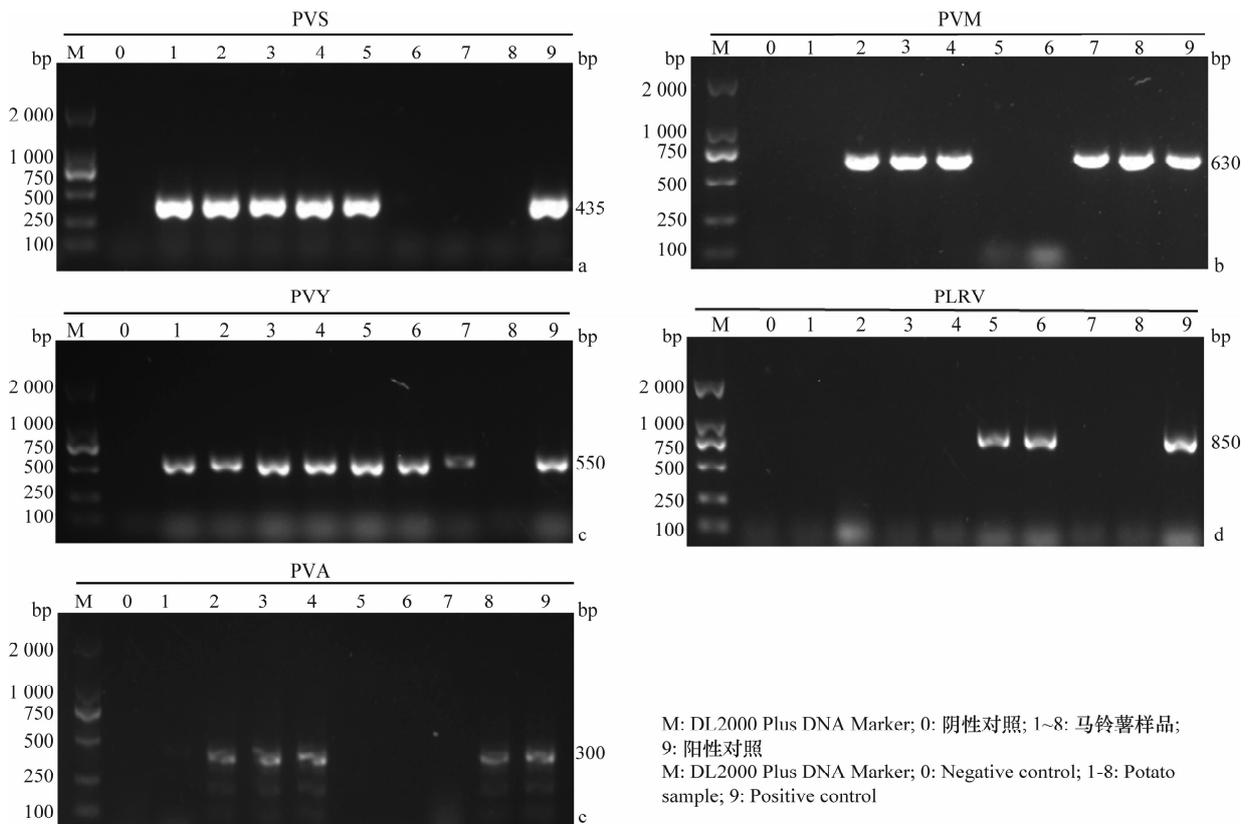


图 2 湖南省部分马铃薯样品 RT-PCR 检测分析

Fig. 2 RT-PCR detection results of partial potato samples in Hunan province

表 4 DAS-ELISA 法和 RT-PCR 法两种方法检测结果对比¹⁾
Table 4 Test results of eight samples by DAS-ELISA and RT-PCR

样品编号 Sample no.	PVX		PVY		PVM		PVA		PVS		PLRV	
	RT-PCR	DAS-ELISA										
1	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-
2	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
3	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
4	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
5	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
6	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+
7	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-

1) “+”表示检测出该病毒,“-”表示未检测出该种病毒。

“+” indicates that the virus has been detected, and “-” indicates that the virus has not been detected.

3 讨论

马铃薯病毒病是我国马铃薯产业持续、健康、高效发展的主要障碍之一^[15-19]。田间植株表型分析是病毒病发生调查最为便捷的方法,感染病毒的植株会随感染病毒种类、数量和程度等的不同而表现不同的症状(花叶、卷叶、皱缩、黄化、坏死),中等和重度单一病毒感染植株表现出典型的症状,田间调查易于辨识。调查发现,轻度感染和复合感染的植株,由于病毒种类和感染程度的变化很难根据田间植株症状进行准确判断。如植株表现重度花叶症状,通常是 PVY 病毒感染引起的,但 PVA 与其他病毒混合感染时也会表现出花叶的症状。ELISA 和 RT-PCR 技术的应用大大提高了马铃薯病毒病检测的准确性,其中,RT-PCR 技术由于其检测成本较低和灵敏度好应用日益广泛。

2013 年吴兴泉等^[20]和范国权等^[21]分别对我国黑龙江、内蒙古、甘肃、云南等地马铃薯病毒病发生情况进行调查,结果均表明 PVY 和 PVS 为我国主要流行马铃薯病毒。2010 年胡新喜等^[22]对湖南省马铃薯主产区冬作马铃薯病毒种类及流行分析时发现,PVS 检出率最高,其次是 PVX 和 PVY。本次调查发现,湖南秋作马铃薯中,PVY 检出率最高,其次是 PVS 和 PVA,复合感染高发;在湖南冬作马铃薯中,检出率最高的是 PVX,其次是 PLRV,该调查结果与 10 年前相比,PVS 的检出率降低,PVX 的检出率升高。湖南地区秋作马铃薯与冬作马铃薯相比较,前者病毒病发生种类多,程度更严重,原因有二,一是种薯质量的差异,秋作种薯大多是薯农自留种甚至购买商品薯做种,种薯带毒普遍,蚜虫传播病毒的毒源更多,冬作脱毒种薯使用率相对较高,种薯携带病毒较少,蚜虫传播病毒的毒源较少;二是气候的差异,2019

年秋作遭遇连续 40 d 以上的高温干旱天气,干旱会加快病毒传播媒介对病毒的传播,高温抑制植物生长同时有利于蚜虫的活动,减弱马铃薯自身的抗病性,冬作生长季气候冷凉,病毒媒介昆虫活动减弱。

马铃薯病毒病的防治要从脱毒种薯的推广入手,生产中以预防为主,通过减少蚜虫等传毒媒介对病毒的传播来减少病毒对马铃薯的危害。就湖南省目前情况,必须重视种薯的质量,提高脱毒种薯的普及率,湖南马铃薯秋作播种时节由于北方种薯还未进入收获期,脱毒种薯引入受限,如果本地选择适宜区域,运用网棚进行控制规模的良种繁育生产,实现秋作马铃薯种薯自供应,可以有效改善湖南秋作脱毒种薯种源不足的现状。

参考文献

- [1] 杨小龙,陈细红,蔡伟,等.福建省福清地区马铃薯病毒病原的分子检测[J].植物保护,2019,45(3):201-205.
- [2] 齐恩芳,刘石,贾小霞,等.甘肃省马铃薯主要病毒病发生情况调查[J].植物保护,2018,44(4):171-176.
- [3] 秦亚南.呼和浩特周边地区马铃薯病毒病的田间调查及分子鉴定[D].呼和浩特:内蒙古大学,2018.
- [4] 汤亚飞,何自福,余小漫,等.为害广东冬种马铃薯主要病毒种类的初步鉴定[C]//陈万权.植保科技创新与农业精准扶贫.北京:中国农业科学技术出版社,2016:363.
- [5] 黄冲,刘万才.近年我国马铃薯病虫害发生特点与监控对策[J].中国植保导刊,2016,36(6):48-52.
- [6] 姜立慧.四川省 6 种主要马铃薯病毒的发生及其多重 RT-PCR 检测体系的建立[D].雅安:四川农业大学,2016.
- [7] OZKAYNAK E, DEVRAN Z, KAHVECI E. Development of Turkish potato varieties tolerance to *Potato virus Y* and *Potato virus X* [J]. Ekin Journal of Crop Breeding and Genetics, 2018,1:55-59.
- [8] 苑智华.乌兰察布市马铃薯病毒病调查分析[J].江苏农业科学,2015,43(11):189-191.
- [9] 吴畏.重庆马铃薯病毒病病害调查及病原鉴定[D].重庆:西南大学,2015.

- [10] 罗文彬,李华伟,汤浩,等. 马铃薯 5 种病毒多重 PCR 检测技术的建立及应用[J]. 园艺学报, 2015, 42(2): 280 - 288.
- [11] SOLOMON-BLACKBURN R M, BARKER H. Breeding virus resistant potatoes (*Solanum tuberosum*): a review of traditional and molecular approaches [J]. Heredity, 2001, 86(3): 17 - 35.
- [12] 刘卫平. 黑龙江省马铃薯脱毒种薯繁育发展现状与对策研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2013.
- [13] 邹雪玉. 长乐市马铃薯病毒病流行原因与防治技术[J]. 福建农业科技, 2013(9): 52 - 54.
- [14] 代廷非. 多重 RT-PCR 技术检测马铃薯病毒的研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2011.
- [15] 高艳玲,张威,白艳菊,等. 马铃薯主产区病毒病发生情况调查分析[J]. 植物保护, 2011, 37(3): 149 - 151.
- [16] 谢长炜. 福建马铃薯病毒病的快速检测技术[D]. 福州: 福建农林大学, 2013.
- [17] CARNEIRO O L G, RIBEIRO S R R P, MOREIRA C M, et al. Introgression of the Rl adg allele of resistance to potato leafroll virus in *Solanum tuberosum* L. [J]. Crop Breeding and Applied Biotechnology, 2017, 17(3): 242 - 249.
- [18] 吴兴泉,时妍,杨庆东. 我国马铃薯病毒的种类及脱毒种薯生产过程中病毒的检测[J]. 中国马铃薯, 2011, 25(6): 363 - 366.
- [19] 宋静静,邹承武,蔡琦,等. 玉林市马铃薯病毒病发病情况调查及马铃薯 Y 病毒株系的鉴定[C]// 郭泽建,侯明生. 中国植物病理学会 2011 年学术年会论文集. 北京: 中国农业科技出版社, 2011: 353.
- [20] 吴兴泉,张慧聪,时妍,等. 我国部分马铃薯产区主要病毒病发生情况调查[J]. 河南农业科学, 2013, 42(7): 84 - 87.
- [21] 范国权,白艳菊,高艳玲,等. 中国马铃薯主要病毒病发生情况调查与分析[J]. 东北农业大学学报, 2013, 44(7): 74 - 79.
- [22] 胡新喜,雷艳,何长征,等. 湖南省马铃薯主产区马铃薯病毒种类及流行分析[J]. 中国马铃薯, 2012, 26(6): 358 - 361.
- [23] 颜谦,黄萍,宋吉轩,等. 贵州不同海拔地区马铃薯病毒病初步调查及检测鉴定[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(29): 14262 - 14263.
- [24] 田永蕾,张永江,刘冬梅,等. 马铃薯病毒疫情调查及马铃薯 S 病毒的检测鉴定[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(3): 1001 - 1002.
- [25] 颜谦,黄萍,丁映,等. 贵州马铃薯主要病毒及防治技术探讨[J]. 农技服务, 2010, 27(4): 480 - 481.
- [26] 董代幸. 乌鲁木齐地区马铃薯病毒和类病毒的分子鉴定及检测技术研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2010.

(责任编辑: 田 喆)

(上接 184 页)

- [28] CHUN J, KO Y H, KIM D H. Transcriptome analysis of *Cryphonectria parasitica* infected with *Cryphonectria hypovirus 1* (CHV1) reveals distinct genes related to fungal metabolites, virulence, antiviral RNA-silencing, and their regulation [J/OL]. Frontiers in Microbiology, 2020, 11: 1711. DOI: 10.3389/fmicb. 2020. 01711.
- [29] 张友玉,陈良碧. 烟草叶片组织结构的扫描电镜观察方法[J]. 电子显微学报, 2000, 19(2): 154 - 157.
- [30] 王新花,潘若良,王会永,等. 板栗疫病的侵染循环规律[J]. 山东林业科技, 1998(1): 22 - 24.
- [31] HEBARD F V. Developmental histopathology of cankers incited by hypovirulent and virulent isolates of *Endothia parasitica* on susceptible and resistant chestnut trees [J]. Phytopathology, 1984, 74(2): 433 - 445.
- [32] 杨民和,郑重,LEACH J E. 水稻受稻瘟菌侵染后发病初期的细胞学反应[J]. 实验生物学报, 2004, 37(5): 344 - 350.

(责任编辑: 田 喆)

(上接 190 页)

- [25] 朱晓敏,张强,李锋,等. 球孢白僵菌与苦参碱联合作用对稻水象甲成虫毒力测定[J]. 东北农业科学, 2020, 45(2): 41 - 43.
- [26] 王义勋,王星冉,陈京元,等. 马尾松毛虫高毒力白僵菌菌株筛选[J]. 南方农业学报, 2016, 47(5): 662 - 666.
- [27] 吴志鹏,童应华. 球孢白僵菌和金龟子绿僵菌对红火蚁工蚁的致病力测定[J]. 森林与环境学报, 2020, 40(1): 99 - 105.
- [28] 蒲蛰龙,李增智. 昆虫真菌学[M]. 合肥: 安徽科学技术出版社, 1996: 553 - 554.
- [29] 雷妍圆,章玉苹,薛志洪,等. 一株球孢白僵菌的分离鉴定及其对草地贪夜蛾的致病性[J]. 环境昆虫学报, 2020, 42(3): 593 - 601.
- [30] 李焕宇,付婷婷,张云,等. 5 种方法提取真菌基因组 DNA 作为 PCR 模板效果的比较[J]. 中国农学通报, 2017, 33(16): 28 - 35.
- [31] KUMAR S, TAMTRA K, NEI M. MEGA3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment [J]. Briefings in Bioinformatics, 2004, 5(2): 150 - 163.
- [32] 童应华,马淑娟,李万里,等. 白僵菌与绿僵菌对甜菜夜蛾幼虫的致病力[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2014, 43(4): 350 - 354.
- [33] 代园凤,张承,喻会平,等. 一株寄生曲霉 SF-2 对甘蔗绵蚜的感染作用及其生物学特性初步研究[J]. 云南农业大学学报: 自然科学版, 2017, 32(6): 1006 - 1011.
- [34] CARNEIRO A A, GOMES E A, GUIMARÃES C T, et al. Molecular characterization and pathogenicity of isolates of *Beauveria* spp. to fall armyworm [J]. Pesquisa Agropecuaria Brasileira, 2008, 43(4): 513 - 520.
- [35] GARCIA G C, GONZALEZ M B, BAUTISTA M N. Pathogenicity of isolates of entomopathogenic fungi against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Epilachna varivestis* (Coleoptera: Coccinellidae) [J]. Revista Colombiana de Entomologia, 2011, 37(2): 217 - 222.
- [36] THOMAZONI D, FORMENTINI M A, ALVESL F A. Patogenicidadedeisoladosde fungos entomopatogênicos a *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) [J]. Arquivos do Instituto Biológico, 2014, 81(2): 126 - 133.

(责任编辑: 田 喆)