叶螨专栏

柑桔全爪螨高致病力菌株芽枝状枝孢霉的生物学特性研究*

王 娟** 胡军华*** 龙艳玲 周 娜 彭凤格 姚廷山

（西南大学柑桔研究所/国家柑桔工程技术研究中心/西南果树科学观测实验站，重庆 400712）

摘 要 **【目的】** 明确柑桔全爪螨 *Panonychus citri*（McGregor）高致病力菌株芽枝状枝孢霉 *Cladosporium cladosporioides*（CQBBW3)的生物学特性。**【方法】** 通过单因素试验，测试了不同培养基、碳源、氮源、温度及 pH 对 CQBBW3 菌株生长和产孢的影响。**【结果】** CQBBW3 菌株的 LC_{50} 为 4.66×10^8 个孢子/mL，LT_{50} 为 6.2353 d。最佳生长培养基是淀粉琼脂培养基，最适产孢培养基为察氏培养基；菌丝生长最适碳源和氮源为甘露醇和甘氨酸，产孢最适碳源和氮源为乳糖和赖氨酸；最适生长温度为 25℃，最适产孢温度为 15℃和 30℃；最适生长 pH 值为 6.0～8.0，最适产孢 pH 值 7.0。**【结论】** CQBBW3 菌株对柑桔全爪螨有较好的杀虫活性，喜好 25℃、中性、富含有机营养的环境。本研究为菌株快速培养及其真菌杀虫制剂的开发与田间应用奠定基础。

关键词 芽枝状枝孢霉，柑桔全爪螨，生物学特性

Biological characteristics of a strain of *Cladosporium cladosporioides* that is highly pathogenic to *Panonychus citri* (McGregor)

WANG Juan** HU Jun-Hua*** LONG Yan-Ling ZHOU Na
PENG Feng-Ge YAO Ting-Shan

(Citrus Research Institute, Southwest University, National Engineering Research Center for Citrus, Scientific Observing and Experimental Station of Fruit Tree Science(Southwest Region), Ministry of Agriculture, Chongqing 400712, China)

Abstract **[Objectives]** To explore the biological characteristics of *Cladosporium cladosporioides*, a newly isolated fungal strain that is highly toxic to *Panonychus citri*. **[Methods]** The effects of different factors, such as culture medium, carbon sources, nitrogen sources, temperature, and pH, on the hyphal growth and sporulation of *C. cladosporioides*, were tested using single factor tests. **[Results]** The results indicate that the LC_{50} of the CQBBW3 strain was 4.66×10^8 spores/mL and the LT_{50} was 6.2353 d. The optimum culture medium for growing the CQBBW3 strain was Czapek's Medium. Mannitol and Glycine were the best carbon and nitrogen sources for hyphal growth, and Lactose and Lysine were the best carbon and nitrogen sources for sporulation. The most suitable culture temperature for hyphal growth was 25℃, and the most suitable temperatures for sporulation were 15℃and 30℃.The optimum pH for hyphal growth and sporulation were 6.0-8.0 and 7.0, respectively. Although pH had no significant effect on fungal growth rate it had a marked effect on sporulation. **[Conclusion]** The CQBBW3 strain was toxic to *P. citri*, and grew best under conditions of 25℃, neutral pH and high organic nutrition. This study provides a scientific basis for both the rapid large-scale culture of the CQBBW3 strain and its effective utilization in the field.

Key words *Cladosporium cladosporioides*, *Panonychus citri*, biological characteristic

* 资助项目 Supported projects：农业部公益性行业专项（201103020）；重庆市科技支撑示范工程（cstc2014fazktjcsf0075）；“十二五”农村领域国家科技计划课题（2014BAD16B0702-5）

**第一作者 First author，E-mail：wangnvkouyue@163.com

***通讯作者 Corresponding author，E-mail：hujunhua@cric.cn

收稿日期 Received：2016-01-04，接受日期 Accepted：2016-01-09

真菌杀虫剂具备寄主广泛，不易产生抗性，生产工艺简单，对环境友好等优点，已成为现代生物防治害虫（螨）的有效途径。柑桔全爪螨 *Panonychus citri*（McGregor）具有个体微小、发育历期短、种群密度大、繁殖能力强、适应力强等特点使其防治难度较大（何林等，2005；施卫兵，2007；陈秋双等，2012）。少数虫生真菌如汤姆森被毛孢、佛州新接霉等能自然感染害螨或在螨群中自然流行，但开发成具有商品意义的真菌制剂比较困难（施卫兵，2007）。白僵菌、绿僵菌、拟青霉及轮枝孢菌等常侵染昆虫的生防真菌具有侵染害螨的潜力，但鲜见自然发生（Chandler *et al.*，2000）。自 Fawcett（1948）首次在昆虫上分离到枝孢霉，梁子超和曾壮图（1980）于广州柑桔园发现芽枝枝孢霉 *Cladosporium cladosporioides* Fres de Vries 对柑桔全爪螨具有明显的侵染性和致病力，自然感染率为 10%～80%；Eken 和 Hayat（2009）在土耳其发现芽枝状枝孢霉对二斑叶螨 *Tetranychus urticae* 的致死率为 50.95%～74.76%。本实验室自重庆北碚柑桔园中采集的柑桔全爪螨螨尸上分离获得一株具有杀螨活性的芽枝状枝孢霉 *Cladosporium cladosporioides*（CQBBW3），笔者系统研究了不同培养基、碳源、氮源、温度、pH 对 CQBBW3 菌株生长和产孢的影响，明确其生长和产孢所需要的营养条件和环境条件，为该菌后期剂型研究和生产应用奠定基础。

1　材料与方法

1.1　材料

芽枝状枝孢霉 CQBBW3 菌株从重庆北碚柑桔园中采集的柑桔全爪螨螨尸上分离纯化、鉴定获得，保藏于西南大学柑桔研究所综防实验室。PDA 培养基上 25℃培养 7 d 备用。

柑桔全爪螨采集于重庆北碚柑桔园的健康螨群，采集时用枝剪将带有叶螨的枝条剪下，带回实验室温室饲养。

1.2　CQBBW3 菌株杀螨活性测定

CQBBW3 菌株于 PDA 平板上 28℃恒温培养 7～10 d (12L∶12D)，然后用 0.02%吐温–80 溶液洗脱分生孢子，在显微镜下以血球计数板检测分生孢子浓度，并将其配置成孢子浓度分别为 1.7×10^8、1.7×10^7、1.7×10^6、1.7×10^5、1.7×10^4、1.7×10^3 个孢子/mL 的悬液备用。

参考李一玉（2014）方法喷雾接种处理柑桔全爪螨雌成螨：采集新鲜健康的温州蜜柑叶片，75%酒精清洗后无菌水清洗 3 遍，自然晾干，置于铺有湿海绵和滤纸的托盘内，叶缘用湿棉条围绕保湿。每片叶子上接 50 头健康活泼的雌成螨，每 5 片叶子上均匀喷洒孢子悬液 10 mL，对照组喷洒 10 mL 含 0.02%吐温–80 的无菌水，自然晾干后用保鲜膜封口，28℃光照培养（12L∶12D，RH95%），连续 7 d 逐日统计死亡率。挑取死螨保湿培养，螨尸上长出 CQBBW3 菌丝的为有效处理。采用农药室内生物测定数据处理系统（PBT）计算累积死亡率、校正死亡率、LC_{50} 值和 LT_{50} 值。

1.3　不同培养基对 CQBBW3 菌株生长和产孢的影响

接种少量 CQBBW3 菌丝于下述培养平板表面，每处理 5 次重复，（28±1）℃恒温光照培养（12L∶12D，RH95%）。每天观察菌落的大小、形态、颜色及质地等情况，接种后 14 d 采用十字交叉法测量菌落的直径，计算其平均日增长量，测定每平方毫米菌落产孢量。数据采用 SPSS20 软件进行方差分析。

5 种供试培养基配方如下：

马铃薯葡萄糖琼脂培养基（PDA）：马铃薯块 200 g，葡萄糖 20 g，琼脂 20 g，水 1 000 mL。

淀粉琼脂培养基（SYA）：可溶性淀粉 40 g，酵母浸出粉 5 g，琼脂 20 g，水 1 000 mL。

察氏培养基（Czapek's）：硝酸钠 3 g，磷酸氢二钾 1 g，硫酸镁（无水）0.5 g，氯化钾 0.5 g，硫酸亚铁 0.01 g，蔗糖 30 g，琼脂 20 g，水 1 000 mL。

萨氏培养基（SDAY）：葡萄糖 40 g，酵母浸出粉 10 g，蛋白胨 10 g，琼脂 20 g，水 1 000 mL。

改良罗氏培养基（SEA）：葡萄糖 40 g，酵母浸出粉 10 g，蛋白胨 10 g，琼脂 20 g，鸡蛋 5

个，水 1 000 mL。

L-broth 培养基：蛋白胨 10 g，NaCl 5 g，酵母浸出物 3 g，蔗糖 20 g，琼脂 20 g，水 1 000 mL。

1.4 不同碳源、氮源对 CQBBW3 菌株生长及产孢的影响

以去掉碳源的察氏培养基作为无碳基础培养基，选取 7 种供试碳源：可溶性淀粉、甘露醇、蔗糖、麦芽糖、葡萄糖、乳糖、甘油，分别称取 30 g 加入到无碳基础培养基中制成不同碳源的供试培养基。每个处理 5 个重复，28℃培养 15 d，测量菌落直径和产孢量。

以去掉氮源的察氏培养基作为无氮基础培养基，选取 6 种供试氮源：硝酸钾、尿素、硫酸铵、硝酸铵、甘氨酸、赖氨酸，分别称取 3 g 加入到无氮基础培养基中制成不同氮源的供试培养基。每个处理 5 个重复，28℃培养 14 d，测定菌落直径和产孢量。

1.5 不同温度和 pH 值对 CQBBW3 菌株生长和产孢的影响

温度对 CQBBW3 菌株生长和产孢的影响：设置 10、15、20、25、30、35、40℃共 7 个温度处理，每处理 5 次重复，于 PDA 培养基上培养 14 d。测定菌落直径和产孢量。

pH 值对 CQBBW3 菌株生长和产孢的影响：用 1 mol·L^{-1} HCl 和 1 mol·L^{-1} NaOH 调节 PDA 培养基的 pH 值，设置 pH 5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0、11.0 共 7 个处理，每处理 5 次重复，28℃培养 10 d。测定菌落直径和产孢量。

1.6 环境相容性农药的筛选

选取 11 种田间常用的杀菌剂作为供试杀菌剂：86.2%氧化亚铜 WP、40%氟硅唑 EC（美国杜邦公司）、80%代森锰锌 WP、10%苯醚甲环唑 DP（海南博士威农用化学有限公司）、43%戊唑醇 SC[拜尔作物科学(中国)有限公司]、20%甲基硫菌灵 SC（深圳诺普信农化股份有限公司）、50%喹啉铜 WP（浙江海正化工股份有限公司）、70%丙森锌 WP（拜尔作物科学(中国)有限公司）、25%嘧菌酯 SC（英国先正达有限公司）、80%代森锌 WP（四川国光农化股份有限公司）、50%醚菌酯 WDG（江苏龙威药物化工有限公司），分别制成所设定的农药浓度的培养基，并利用生长速率法测定杀菌剂的毒力。培养基配置：取 1 g（1 mL）原农药用无菌水配制成 100 mL 的农药母液，取对应浓度所需体积的农药母液（无菌水作为对照）与 100 mL 已融化好的 PDA 培养基混合均匀制成不同浓度的培养平板，用接种针挑取少量 CQBBW3 菌丝接种于上述培养平板表面，每处理设置 5 次重复。接种培养皿 28℃恒温培养 7 d 后用十字交叉法测量菌落直径。运用 PBT 数据处理系统对各药剂试验结果进行统计分析，获得各药剂对菌株的毒力回归方程、抑制中浓度（EC_{50}）和相关系数（r）。

2 结果与分析

2.1 CQBBW3 菌株的杀螨活性

研究了 CQBBW3 菌株不同孢子浓度对柑桔全爪螨雌成螨的逐日致死率，当孢子浓度为 1.7×10^8 个孢子/mL 时，第 7 天的累积死亡率为 50%，校正死亡率为 48%，死亡率随着孢子浓度的增大而升高。数据分析显示，第 7 天时 LC_{50} 为 4.66×10^8 个孢子/mL（95%置信区间：1.0510×10^8-2.0640×10^9），毒力回归方程为 Y=3.1183+0.2171X，相关系数（r）为 0.9366；1.7×10^8 个孢子/mL 的 LT_{50} 为 6.2353 d（95%置信区间：5.6024-6.9397），毒力回归方程为 Y=3.5374+1.8401X，相关系数（r）为 0.9606。

2.2 不同培养基对 CQBBW3 菌株生长和产孢的影响

从表 1 可知，CQBBW3 菌株在 SEA 和淀粉琼脂培养基上生长速率分别为 4.36 和 4.37 mm/d，方差分析显示二者之间无显著差异，均为最适生长培养基；其次是 PDA 和 L-broth 以及察氏培养基，在 SDAY 培养基上生长最慢，仅为 1.32 mm/d。在察氏培养基上产孢量最高，达 2.39×10^5 个孢子/mm^2，显著高于其他培养基上的产孢量。PDA 和淀粉琼脂培养基次之，在 SEA 培养基上的产孢量为 0.13×10^4 个孢子/mm^2，方差分析显示其

表 1　CQBBW3 菌株在不同培养基上的生长速率和产孢量
Table 1　The growth rates and spore production of CQBBW3 strain on different medium

培养基 Medium	生长速率（mm/d） Growth rate（mm/d）	产孢量（10^4 个孢子/mm^2） Spore production（10^4 spores/mm^2）
萨氏培养基 SDAY	1.32±0.09d	1.61±0.07c
L-broth	3.71±0.24b	0.33±0.00cd
改良罗氏培养基 SEA	4.36±0.08a	0.13±0.00d
察氏培养基 Czapek's	2.32±0.38c	23.88±0.08a
马铃薯葡萄糖琼脂培养基 PDA	3.98±0.16b	14.83±0.11b
淀粉琼脂培养基 SYA	4.37±0.07a	14.64±0.13b

表中数值为平均值±标准误。同列数值后标有相同小写英文字母者表示在 0.05 水平差异不显著（Duncan's 多重比较法）。下表同。

Data are means±SE, and followed by same letters in the same column mean no significant difference at 0.05 levels by Duncan's multiple range test. The same below.

为最差产孢培养基。

2.3　不同碳源、氮源对 CQBBW3 菌株生长及产孢的影响

CQBBW3 菌株在以可溶性淀粉、甘露醇、蔗糖、麦芽糖、葡萄糖、乳糖、甘油为碳源的培养基上均能正常生长（表 2）。方差分析显示在以甘露醇、麦芽糖和淀粉为碳源的培养基上菌株生长较快，生长速率分别为 2.92、2.80 和 2.73 mm/d；其次为甘油、乳糖和淀粉，而葡萄糖最差。在以乳糖和葡萄糖为碳源的培养基上的产孢量分别为 3.65×10^5 和 3.41×10^5 个孢子/mm^2，显著高于其他处理；其次为蔗糖和甘油，麦芽糖和甘露醇再次，在淀粉培养基上的产孢量为 5.47×10^4 个孢子/mm^2，方差分析显示其为产孢最差碳源。

CQBBW3 菌株在以硝酸钾、尿素、硫酸铵、硝酸铵、甘氨酸、赖氨酸为氮源的培养基上均能生长（表 3），方差分析显示在以甘氨酸为氮源的培养基生长速率最快，为 2.73 mm/d；其次为赖氨酸和硝酸钾，二者之间无显著差异，在以尿素为氮源的培养基上生长最慢，为 0.96 mm/d；在以赖氨酸为氮源的培养基上产孢量为 1.72×10^5 个孢子/mm^2，方差分析显示其为产孢最适氮源；以硫酸铵为氮源的产孢量其次，为 1.28×10^5 个孢子/mm^2，硝酸钾最差，仅为 2.46×10^4 个孢子/mm^2。

2.4　温度和 pH 对 CQBBW3 菌株生长和产孢的影响

不同温度条件下 CQBBW3 菌株菌落生长情

表 2　不同碳源对 CQBBW3 菌株生长和产孢的影响
Table 2　Effects of carbon sources on growth rates and spore production of CQBBW3 strain

碳源 Carbon source	生长速率（mm/d） Growth rate (mm/d)	产孢量（10^4 个孢子/mm^2） Spore production（10^4 spores/mm^2）
蔗糖 Sucrose	2.30±0.26de	23.80±0.25b
甘露醇 Mannite	2.92±0.10a	9.96±0.38d
麦芽糖 Maltose	2.80±0.06ab	10.71±0.06d
甘油 Glycerol	2.61±0.02bc	16.31±0.05c
乳糖 Lactose	2.51±0.13cd	36.48±0.25a
葡萄糖 Glucose	2.21±0.05e	34.12±0.07a
淀粉 Starch	2.73±0.15abc	5.47±0.06e

表 3 不同氮源对 **CQBBW3** 菌株生长和产孢的影响

Table 3 Effects of nitrogen sources on growth rates and spore production of CQBBW3 strain

氮源 Nitrogen source	生长速率（mm/d） Growth rate (mm/d)	产孢量（10^4 个孢子/mm^2） Spore production (10^4 spores/mm^2)
硫酸铵 Ammonium sulphate	1.45±0.14c	12.84±0.02b
硝酸铵 Ammonium nitrate	1.46±0.08c	12.46±0.01c
甘氨酸 Glycine	2.73±0.18a	4.23±0.04e
尿素 Urea	0.96±0.12d	7.22±0.07d
赖氨酸 Lysine	2.24±0.09b	17.20±0.01a
硝酸钾 Potassium nitrate	2.23±0.21b	2.46±0.02f

况和产孢量见表 4。从表 4 中可以看出，在 35℃和 40℃菌株不能生长，在 10～30℃，CQBBW3 菌株均可生长，在 25℃条件下菌丝生长速率为 4.30 mm/d，方差分析显示其为最适生长温度；其次是 20℃，在 10℃生长最慢，为 1.90 mm/d。从产孢结果来看，15℃条件下产孢量最高，为 4.56×10^5 个孢子/mm^2，其次在 30℃产孢量为 4.31×10^5 个孢子/mm^2，方差分析显示二者之间无显著差异；接来下是 25℃、10℃和 20℃。

从表 5 的结果可以看出，CQBBW3 菌株在 pH 值为 5.0～11.0 均能生长，在 pH 值为 5.0～8.0 生长速率较快，在 pH 值为 6.0 时生长速率为 3.88 mm/d，方差分析显示其为生长最适 pH 值。在 pH 值为 7.0 的培养基中产孢量最大，为 1.74×10^5 个孢子/mm^2；在 pH 值为 8.0 和 10.0 时产孢量其次，且二者之间无显著差异，最差为 pH 9.0 和 11.0。

2.5 CQBBW3 菌株与杀菌剂的相容性筛选

研究了 CQBBW3 菌株与 11 种杀菌剂的相容性（表 6），结果显示 86.2%氧化亚铜 WP 与 CQBBW3 的相容性最好，EC_{50} 值为 143.4369 mg/mL，其次为 50%醚菌酯 WDG，EC_{50} 值为 85.0544 mg/mL。10%苯醚甲环唑 DP 有最小的 EC_{50} 值为 0.0186 mg/mL，故其与芽枝状枝孢霉的相容性最差。

3 结论与讨论

有关芽枝状枝孢霉侵染叶螨的研究报道较少。Eken 和 Hayat（2008）研究发现当枝孢霉孢子浓度为 8×10^6 个孢子/mL 时对二斑叶螨的致死

表 4 温度对 **CQBBW3** 菌株生长和产孢的影响

Table 4 Effects of temperature on growth rates and spore production of CQBBW3 strain

温度（℃） Temperature (℃)	生长速率（mm/d） Growth rate (mm/d)	产孢量（10^5 个孢子/mm^2） Spore production (10^5 spores/mm^2)
10	1.90±0.20d	2.04±0.12bc
15	2.15±0.40cd	4.56±0.35a
20	3.50±0.35b	1.78±0.09c
25	4.30±0.22a	2.22±0.06b
30	2.58±0.05c	4.31±0.13a
35	0.00±0.00e	0.00±0.00d
40	0.00±0.00e	0.00±0.00d

表 5　pH 值对 CQBBW3 菌株生长和产孢的影响
Table 5　Effects of pH value on the growth rate and spore production of CQBBW3 strain

pH 值 pH value	生长速率（mm/d） Growth rate (mm/d)	产孢量（10^4 个孢子/mm^2） Spore production (10^5 spores/mm^2)
5.0	3.63±0.03ab	7.98±0.50c
6.0	3.88±0.12a	7.83±0.47c
7.0	3.77±0.20a	17.39±0.12a
8.0	3.81±0.05a	14.79±0.05b
9.0	3.43±0.27b	2.21±0.37d
10.0	3.48±0.21b	14.22±0.14b
11.0	3.39±0.20b	3.40±0.38d

表 6　11 种杀菌剂与 CQBBW3 菌株的相容性
Table 6　Compatibility of 11 fungicides with CQBBW3 strain

药剂 Fungicide	毒力回归方程 Toxic regression equation	EC_{50}(mg/mL)	相关系数（*r*） Correlation coefficient
10%苯醚甲环唑 DP　Difenoconazole	Y=5.7014+0.4052X	0.0186	0.9639
40%氟硅唑 EC　Flusilazole	Y=5.4475+0.3552X	0.055	0.9385
43%戊唑醇 SC　Tebuconazole	Y=5.1610+0.5511X	0.5103	0.9135
50%喹啉铜 WP　Oxine-copper	Y=4.3416+2.0923X	2.0639	0.9727
80%代森锰锌 WP　Mancozeb	Y=4.1020+1.1172X	6.3643	0.9777
80%代森锌 WP　Zineb	Y=3.6495+1.4829X	8.1414	0.9883
20%甲基硫菌灵 SC　Thiophonate-methyl	Y=3.3583+1.5128X	12.1677	0.9462
70%丙森锌 WP　Propineb	Y=3.2804+1.3024X	20.9087	0.9898
25%嘧菌酯 SC　Azoxystrobin	Y=4.5948+0.2424X	46.9470	0.9433
50%醚菌酯 WDG　Kresoxim-methyl	Y=1.9375+1.5870X	85.0544	0.9297
86.2%氧化亚铜 WP　Cuprous oxide	Y=0.9218+1.8910X	143.4369	0.9753

WP：可湿性粉剂为；WDG：水分散粒剂；EW：水乳剂；SC：悬浮剂；EC：乳油；DP：粉剂；AS：水剂。
WP: Wettable powder; WDG: Water dispersible granules; EW: Emulsion in water; SC: Suspending concentrate; EC: Emulsifiable concentrate; DP: Powder; AS: Aqua.

率从 50.95%到 74.76%，LT_{50} 值变化范围从 2.34 到 3.90 d；Jeyarani 等（2011）在印度首次发现芽枝状枝孢霉比白僵菌对二斑叶螨的杀虫效果更好，LC_{50} 为 4.30×10^6 个孢子/mL，LT_{50} 为 2.66 d。本实验室所得到的芽枝状枝孢霉对柑桔全爪螨的致死率最高为 50.8%，LC_{50} 和 LT_{50} 分别为 4.66×10^8 个孢子/mL 和 6.2353 d，相较而言 CQBBW3 的杀虫效率较低。菌株不同，叶螨种类不同，杀螨评价技术体系不一致等因素导致杀螨结果的差异性。下一步需要采用施卫兵(2007)建立的既保证生防真菌侵入又不影响成螨正常活动的毒力测定体系，系统评价芽枝状枝孢霉对柑桔全爪螨、二斑叶螨各个螨态的毒力，并与其他杀螨真菌毒力进行比较。

在实验过程中发现柑桔全爪螨死后 1 周左右螨尸体表有菌丝长出，推测其杀虫机理可能是孢子在寄主体表萌发时产生的机械压力穿透寄主体壁并在寄主体内繁殖，降低和破坏螨的免疫系统，造成螨体死亡（王婧，2013）；菌株可能产生了某种有毒物质致使螨体死亡，谢卿楣和黄建河（1988）报道芽枝状枝孢霉产生的次生代谢产物芽枝孢霉素对柑桔全爪螨有较高的毒杀作

用。进一步研究枝孢霉对柑桔全爪螨的侵染致死机理，对后期菌剂的研发和应用具有重要的参考价值。

从不同环境中分离到的芽枝状枝孢霉对营养的需求和对环境的适应性不尽相同。谢卿楣和林锦仪（1986）、谢卿楣和黄建河（1988）报道添加 2%酵母膏的 Czapek's 培养液和添加 2%酵母膏的 15%蔗糖液最适宜芽枝状枝孢霉生长，菌丝生长的温度范围为 10~31℃，最适生长温度为 24~25℃，在 35℃不生长，菌丝生长最适 pH 值为 5.0~7.0；马晓平等（2013）报道芽枝状枝孢霉的最适生长培养基是马铃薯葡萄糖琼脂培养基和沙氏琼脂培养基，最适生长温度是 25℃，30℃和 35℃中几乎不能生长，最适生长 pH 值为５和６，不同碳源对生长无显著差异，最适生长的氮源为硝酸钠，在尿素中不能生长；杨永利等（2015）研究表明枝状枝孢霉菌丝在杧果葡萄糖琼胶培养基和 PDA 培养基上生长最佳，最适生长温度 20℃，最适 pH 值 7.0～8.0，菌丝对乳糖和氨基乙酸利用最好，产孢量以 25℃、pH 6.0、光暗交替、麦芽糖为碳源、L-胱氨酸为氮源时最大；李戌清等（2015）研究也显示芽枝状枝孢菌菌丝在 20～30℃温度下均能正常生长，最适生长温度为 25℃，35℃停止生长，培养基 pH 为 5.0 有利于菌丝生长，以蔗糖和酵母膏培养基上菌丝生长较快，以半乳糖和硫酸铵培养基上生长较慢养。本试验结果显示，芽枝状枝孢霉的最佳生长培养基是淀粉琼脂培养基，最适产孢培养基为察氏培养基；菌丝生长最适碳源和氮源为甘露醇和甘氨酸，在尿素中生长最慢，产孢最适碳源和氮源为乳糖和赖氨酸，最适生长温度为 25℃，最适产孢温度为 15℃和 30℃，最适生长 pH 值为 6.0~8.0，最适产孢 pH 值 7.0。通过比较，芽枝状枝孢霉菌株的最适生长温度为 25℃，在 30℃以上不能生长。当培养基初始 pH 值在 6.0～8.0 时对菌丝生长有利，但产孢量仅在 pH 值为 7.0 时最大，因此，该菌株的发酵培养最佳条件为中性环境，而且有机碳、氮源比无机碳、氮源更有利于菌丝生长和产孢，CQBBW3 在各种培养基上均能正常生长和产孢，但最适培养基的差异可能因菌株生理小种不一样有关。

同时，笔者研究了 11 种杀菌剂与芽枝状枝孢霉的相容性，结果显示铜制剂与 CQBBW3 菌株的相容性最好，其次为醚菌酯，而苯醚甲环唑与 CQBBW3 的相容性最差，在田间应用时应注意二者不能同时使用。

芽枝状枝孢霉能够自然感染柑桔全爪螨（梁子超和曾壮图，1980），对松突圆蚧 *Hemiberiesia pitysophila* 有较强致病力(潘务耀和陈世兰，1991），对湿地松粉蚧 *Oracella acuta* 有较好的控制作用（赵玉梅，2007）；在黑刺粉虱 *Aleurocanthus spiniferus* 种群流行 (韩宝瑜和李增智，1992；韩宝瑜等，1997)。本实验对侵染柑桔全爪螨的一株芽枝状枝孢霉的生物学特性进行研究，为后期 CQBBW3 菌株快速培养及其真菌杀虫制剂的开发与田间应用奠定了基础。

参考文献 (References)

Chandler D, Davidson G, Pell JK, Ball BV, Shaw K, Sunderland KD, 2000. Fungal biocontrol of acari. *Biocontrol Science & Technology*, 10(4): 357–384.

Chen QS, Zhao S, Zou J, Shi L, He L, 2012. Monitoring of acaricide resistance in *Tetranychus cinnabarinus*. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 49(2): 364–369. [陈秋双, 赵舒, 邹晶, 石力, 何林, 2012. 朱砂叶螨抗药性监测. 应用昆虫学报, 49(2): 364–369.]

Eken C, Hayat R, 2008. Preliminary evaluation of *Cladosporium cladosporioides* (Fresen.) de Vries in laboratory conditions, as a potential candidate for biocontrol of *Tetranychus urticae* Koch. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 25(3): 489–492.

Fawcett HS, 1948. Biological control of citrus insects by parasitic fungi and bacteria. *Citrus Industry*, 2: 627–664.

Han BY, Li ZZ, 1992. Studies on infectivity of *Pleurodesmospora coccorum* to *Aleurocanthus spiniferus*. *Journal of Anhui Agricultural University*, 19(4): 303–307. [韩宝瑜, 李增智, 1992. 蚧侧链孢对黑刺粉虱致病力的研究. 安徽农学院学报, 19(4): 303–307.]

Han BY, Zhang HH, Cui L, 1997. Epizootic infection and spatial pattern within epizootic peak period of *Cladosporium* sp. to the population of *Aleurocanthus spiniferus*. *Entomological Journal of East China*, 40(1): 66–70. [韩宝瑜, 张汉鹊, 崔林, 1997. 枝孢霉在黑刺粉虱种群中侵染、流行及流行盛期时的空间格局. 生物安全学报, 40(1): 66–70.]

He L, Yang Y, Fu JZ, Wang JJ, Zhao ZM, 2005. Resistance selection and relative fitness of *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) to abamectin. *Journal of Plant Protection*, 31(4): 395–400. [何林, 杨羽, 符建章, 王进军, 赵志模, 2005. 朱砂叶螨阿维菌素抗性品系选育及适合度研究. 植物保护学报, 31(4): 395–400.]

Jeyarani S, Banu JG, Ramaraju K, 2011. First record of natural occurrence of *Cladosporium cladosporioides* (Fresenius) de Vries and *Beauveria bassiana* (Bals. -Criv.) Vuill on two spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch from India. *Journal of Entomology*, 8(3): 274–279.

Liang ZC, Zeng ZT, 1980. Parasitization of *Cladospirium cladosporioides* (Fres) de Vries on citrus red mites. *Journal of Microbiology*, 20(1): 72–75. [梁子超, 曾壮图, 1980. 芽枝枝孢霉对柑桔红蜘蛛的寄生性. 微生物学报, 20(1): 72–75.]

Li SQ, Zheng JR, Zhang Y, 2015. Identification and biological characterisation of a *Cladosporium cladosporioides* strain. *Hangzhou Agricultural Science and Technology*, (4): 23–27. [李戌清, 郑积荣, 张雅, 2015. 一株芽枝状枝孢菌的鉴定及生物学特性. 杭州农业与科技, (4): 23–27.]

Li YY, 2014. Research on control of *Tetranychus cinnabarinus* experimental population with *Beauveria bassiana* Bb025. Master Dissertation. Chongqing: Southwest University. [李一玉, 2014. 球孢白僵菌 Bb025 对朱砂叶螨实验种群的控制作用研究. 硕士学位论文. 重庆: 西南大学.]

MA XP, Gu Y, Liu L, Liu XM, Ling SS, Hou JF, Wang CD, 2013. Biological characterisation of *Cladosporium cladosporioides* isolated from Giant Panda. *Chinese Veterinary Science*, 43(1): 1–8. [马晓平, 古玉, 刘玲, 刘小敏, 凌珊珊, 侯加法, 王承东, 2013. 大熊猫源枝孢样枝孢霉的生物学特性. 中国兽医科学, 43(1): 1–8.]

Pan WY, Chen SL, 1991. Application of *Cladosprium cladosporioides* against Chinese chestnut red scale, *Kermococcus nawae*. *Chinese Entomogenous Research and Application*, (3): 189–192. [潘务耀, 陈世兰, 1991. 应用枝孢霉防治松突圆蚧的研究. 中国虫生真菌研究与应用, (3): 189–192.]

Shi WB, 2007. Microbial control of spider mites based on fungal biocontrol agents. Doctoral Dissertation. Hangzhou: Zhejiang University. [施卫兵, 2007. 生防真菌对叶螨类植物害螨的微生物防治研究. 博士学位论文. 杭州: 浙江大学.]

Wang J, 2013. Influence of *Acremonium hansfordii* infecting *Tetranychus urticae* Koch and related enzymes activity of its epidermis. Master Dissertation. Lanzhou: Gansu Agricultural University. [王婧, 2013. 顶孢霉对二斑叶螨的侵染及对表皮相关酶活性的影响. 硕士学位论文. 兰州: 甘肃农业大学.]

Xie QM, Liu JY, 1986. A preliminary study on the mildew shellac (*Laccifer lacca*). *Journal of Fujian College of Forestry*, 6(1): 19–24. [谢卿楣, 林锦仪, 1986. 紫胶霉病的初步研究. 福建林学院学报, 6(1): 19–24.]

Xie QM, Huang JH, 1988. A preliminary study on the *Cladosporin*. *Journal of Fujian College of Forestry*, 8(1): 29–36. [谢卿楣, 黄建河, 1988. 芽枝孢霉素的初步研究. 福建林学院学报, 8(1): 29–36.]

Yang YL, Pu JJ, Zhang H, Wei YX, Li ZP, Liu XM, 2015. Biological characteristics of *Cladosporium cladosporioides* causing mango sooty blotch disease. *Journal of Fruit Science*, 32(2): 285–290. [杨永利, 蒲金基, 张贺, 韦运谢, 李增平, 刘晓妹, 2015. 杧果露水斑病病原菌生物学特性测定. 果树学报, 32(2): 285–290.]

Zhao YM, 2007. Research on control of wetland pine mealybug with *Cladosporium cladosporioides*. Plant Protection and Modern Agriculture-China Society of Plant Protection 2007 Annual Conference Proceedings. Guilin. 625–629. [赵玉梅, 2007. 芽枝状枝孢霉对湿地松粉蚧的控制作用研究. 植物保护与现代农业—中国植物保护学会 2007 年学术年会论文集. 桂林. 625–629.]