



陈健鑫, 魏金龙, 钱昱含, 马焕成, 伍建榕. 云南香格里拉叉襁科昆虫病原菌的鉴定 [J]. 环境昆虫学报, 2021, 43 (1): 122–129.

云南香格里拉叉襁科昆虫病原菌的鉴定

陈健鑫^{1*}, 魏金龙^{1*}, 钱昱含^{1**}, 马焕成², 伍建榕^{1 2**}

(1. 云南省高校森林灾害预警控制重点实验室, 西南林业大学生物多样性保护学院, 昆明 650224;

2. 西南地区生物多样性保育国家林业局重点实验室, 西南林业大学林学院, 昆明 650224)

摘要: 叉襁科 Nemouroidea 是襁翅目中数量最多的一个科, 叉襁科昆虫也是水生生态系统环境监测的重要指示生物。为明确云南香格里拉叉襁科稚虫自然病死虫体上的病原菌并研究该病原菌对叉襁科稚虫的致病性, 本研究利用常规组织分离法分离云南香格里拉叉襁科稚虫病原菌, 结合形态学与分子生物学方法对两株病原菌进行鉴定, 利用柯赫法则及二项式回归模型分析病原菌致病性。结果表明, 菌株 PN1 为细囊霉菌 *Leptolegnia* sp., 菌株 PN2 为冻土毛霉 *Mucor hiemalis*; PN1 及 PN2 处理组对叉襁科稚虫的致病性稍弱, 其中 PN1 处理组的致病性低于 PN2 处理组, PN2 处理组的致病性与对照组无明显差异。综上所述, 本研究首次在襁翅目昆虫中报道了细囊霉菌 *Leptolegnia* sp. 和冻土毛霉 *M. hiemalis*, 两株病原真菌均属于水生弱寄生菌, 在稚虫处于亚健康状态及抵抗力降低时易感, 病原菌加速寄生过程使稚虫死亡。

关键词: 香格里拉; 叉襁科昆虫; 病原菌鉴定; 细囊霉菌; 冻土毛霉

中图分类号: Q968.1; S476

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858 (2021) 01-0122-08

Identification of Nemouroidea (Plecoptera) pathogen in Shangri-La, Yunnan

CHEN Jian-Xin^{1*}, WEI Jin-Long^{1*}, QIAN Yu-Han^{1**}, MA Huan-Cheng², WU Jian-Rong^{1 2**}

(1. Key Laboratory of Forest Disaster Warning and Control in Universities of Yunnan Province, College of Biodiversity Conservation, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China; 2. Key Laboratory of Biodiversity Conservation in Southwest China, State Forestry Administration, College of Biodiversity Forestry, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China)

Abstract: Nemouroidea is the largest family in the order Plecoptera, and insects of Nemouroidea can be useful for aquatic ecosystem environmental monitoring as indicators. In order to identify the pathogenic in the natural dead insects of larvae of Nemouroidea from Shangri-la in Yunnan Province, we studied the pathogenicity of the pathogen to larvae of Nemouroidea. The pathogenic of larvae were separated by conventional tissue separation, and identified by morphological and molecular biology methods. And the pathogenicity of pathogenic was analyzed by Koch's law and regression model. The results showed that PN1 was *Leptolegnia* sp. and PN2 was *Mucor hiemalis*. The pathogenicity of PN1 and PN2 treated groups to larvae was slightly weaker. The pathogenicity of PN1 treated group was lower than that of PN2 treated

基金项目: 国家自然科学基金 (31460575, 31860208, 31560207); 云南省高校干热河谷植被恢复创新团队 (218033); 西南林业大学木棉纤维人工林产业化培育省级创新团队项目 (2018HC014)

* 共同作者简介: 陈健鑫, 男, 在读硕士, 研究方向为森林病理学, E-mail: 535975299@qq.com; 魏金龙, 男, 在读硕士, 研究方向为森林病理学

** 通信作者 Author for correspondence: 伍建榕, 女, 博士, 教授, 主要研究方向为森林病理学及资源微生物利用, E-mail: 1176279044@qq.com; 钱昱含, 博士, 副教授, 主要研究方向为森林昆虫学, E-mail: 277922291@qq.com

收稿日期 Received: 2020-02-13; 接受日期 Accepted: 2020-09-29

group. The pathogenicity of PN2 treated group was not significantly different from that of control group. In conclusion, the *Leptolegnia* sp. and *M. hiemalis* reported in Plecoptera for the first time, both pathogenic fungi were aquatic weak parasites, which were susceptible when the larvae were in a sub-health state and their resistance was reduced, accelerating the parasitic process of the pathogen and causing the larvae to die.

Key words: Shangri-La; Nemouroidea; pathogen identification; *Leptolegnia* sp.; *Mucor hiemalis*

昆虫纲包含近一百多万种描述物种, 昆虫在生态系统中扮演着重要的角色。叉襁科 Nemouroidea 属襁翅目 Plecoptera, 是襁翅目中数量最多的一个科, 叉襁科昆虫是一类重要的水生昆虫 (颜忠诚和 Zhong, 2004), 稚虫生活在水质优良的溪流中, 主要取食植物碎片, 藻类、苔藓及水中小型动物, 对水环境的变化较为敏感, 因此常作为指示生物评估淡水环境的污染情况; 其中少数种类的成虫在大量发生时, 水域两边的果树也会受到一定程度的危害 (Banks, 1947; 祝芳, 2002; 李卫海, 2007; 王洪建等, 2009)。

由于外界不良环境因素的影响, 昆虫种群在自然界中经常发生疾病流行, 且 60% 以上的病原物是真菌, 病原真菌长期以来一直被研究用于生物控制和综合害虫管理 (IPM) 策略 (张维等, 2020)。水霉病通常在淡水鱼类上发生, 鱼类受伤后又处于恶劣的养殖环境中, 容易受到丝状真菌的侵染而发生皮肤病, 当病菌深入真皮及肌肉等组织, 会造成鱼类组织坏死甚至死亡, 魏冬梅等 (2019) 报道了新疆地区造成鱼类水霉病的病原菌种类有根霉属、毛霉属、水霉属、青霉属和镰刀菌属等, 并通过致病性研究证实了大多数病原真菌属于机会性致病菌, 与淡水鱼类的健康情况及外界环境条件有着密切的关联。

目前, 对叉襁科昆虫的研究仅在分类研究阶段, 对其病原菌的种类及其致病性的研究尚未见文献报道。本研究旨在通过从云南香格里拉采集的叉襁科稚虫自然病死虫体上分离病原菌, 研究病原菌对叉襁科稚虫的致病性, 为水生生态系统的环境监测及虫害控制提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料与供试培养基

于 2018 年 7 月 16 日 - 22 日在迪庆州和丽江老君山采集襁翅目稚虫及成虫。采用马铃薯琼脂固体培养基 (PDA) 分离病原真菌。待 PDA 培养基灭菌冷却至 50℃ 时, 补充 30 mg/L 的链霉素溶液 (生工, 上海) 以抑制细菌的快速生长。

1.2 病原真菌分离培养

采用略改进的组织分离法分离病原真菌。方法如下: 将感病叉襁科稚虫浸入 75% 乙醇中浸泡 5 s, 0.1% 升汞溶液浸泡 1 min, 最后用无菌水漂洗 5 次。用无菌解剖剪将体壁剪为 5 mm × 5 mm 的组织块并接种于 PDA 培养基平板, 置于 25℃ 恒温培养箱培养 2 ~ 3 d。将长出的菌丝挑入新的 PDA 平板重复纯化 3 次。纯菌落接种于 PDA 试管斜面, 菌丝长满斜面后于 4℃ 保存。

1.3 病原真菌致病性测定

根据柯赫氏法则验证病原真菌致病性。供试病原真菌接种于 PDA 平板, 25℃ 活化培养 3 d, 用 6 mm 无菌打孔器在菌落边缘打孔, 挑取 10 个菌丝块放入无菌锥形瓶中, 加入 20 mL 无菌水, 置于摇床 200 r/min 震荡 30 min 制成孢子悬浮液, 用血球计数板调节孢子液终浓度为 1×10^5 个/mL。叉襁科稚虫用无菌水漂洗 5 次后分别用无菌塑料杯分装 (10 头/组), 试验处理组分别使用 30 mL 孢子悬浮液培养, 空白对照组使用 30 mL 无菌水培养。控制适宜叉襁科稚虫所需的氧气、温度、营养等条件进行饲养。每个菌株设置 3 个重复 (细囊霉菌处理组为 PN1-1、PN1-2 和 PN1-3; 毛霉菌处理组为 PN2-1、PN2-2 和 PN2-3 以及空白对照组为 CK1、CK2 和 CK3), 每天定时观察并记录虫体存活死亡情况。

根据饲养 123 h 内每日虫口死亡情况和剩余活虫数计算出累计死亡率 LR_{123h} , 利用生存曲线图展现各时间段内的虫口死亡情况并通过二项式回归计算致死中时以分析菌株的致病性。

1.4 病原真菌形态学鉴定

采用玻片培养检视法观察病原菌的形态特征。方法如下: 将无菌盖玻片斜插入 PDA 平板, 在培养基上接种病原真菌, 置于 25℃ 培养 7 d。将盖玻片取出后使用光学显微镜 (尼康, 上海) 观察病原真菌营养体和繁殖体形态特征。

1.5 病原真菌分子生物学鉴定

采用真菌基因组 DNA 抽提试剂盒 OMEGA Fungal DNA Kit (硕阳科技有公司, 昆明) 抽提病原真菌总 DNA, 提取后保存于 -20℃ 备用。分别

以两株病原真菌总 DNA 为模板, 采用真菌 18S rDNA 通用引物对 (ITS1: 5'-TCCGTAGGTGAA CCTGCGG-3' 和 ITS4: 5'-TCCTCCGCTTATTGATA TGC-3') 扩增其 ITS 序列。PCR 反应采用 50 μ L 体系, 包括 2 $\times$ Power Taq PCR MasterMix (百泰克, 北京) 25 μ L, 引物 (10 μ mol/L) 各 1.5 μ L, 模板 DNA 2 μ L, ddH₂O 20 μ L。反应条件为 94 $^{\circ}$ C 预变性 3 min 后, 进行以下循环: 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 56 $^{\circ}$ C 退火 40 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 50 s, 共循环 35 次, 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min, 4 $^{\circ}$ C 保存。PCR 扩增产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测, 切胶纯化后送华大基因测序。

利用 DNAMAN 8 (Wang, 2015) 将双向测通的序列拼接并提交到 NCBI 数据库进行 BLAST 比对。利用 Clustalx 1.83 对序列进行多重对比, 使用 BioEdit 调整保守区序列。分别以 *Achlya catenulate* 和 *Rhizopus oryzae* 作为菌株 PN1 和 PN2 的外类群, 通过 PAUP* 4.0b10 最大简约法 (Maximum-Parsimony, MP) 以 1 000 进行 Bootstrap 校验, 构建系统发育树分析菌株的亲缘关系。

2 结果与分析

2.1 病原真菌分离培养

从云南香格里拉采集到的自然病死叉襁科稚虫上分离得到两株真菌 PN1 (图 1-A) 和 PN2 (图 1-B)。

2.2 病原真菌致病性分析

根据柯赫氏法则验证病原真菌对叉襁科稚虫致病性, 结果显示: 细囊霉菌 PN1 处理的实验组 27 h 后有虫体死亡, 72 h 后可见死亡虫体长出菌

丝, 96 h 后菌丝布满全部虫体 (图 2-A); 毛霉菌 PN2 处理的实验组 3 h 后有虫体死亡, 24 h 后开始长出菌丝, 48 h 后菌丝布满死亡虫体 (图 2-B); 对照组在 3 h 后有虫体死亡, 123 h 后虫体全部死亡, 在实验进程中死亡虫体未长出任何菌丝。

细囊霉菌 PN1 处理组 27 h 后初见死亡虫体, 在 27~39 h 死亡率突增达到 46.67%, 123 h 后 PN1-1 组虫体全部死亡, 7 d 后 PN1-2 组虫体全部死亡, 10 d 后 PN1-3 组虫体全部死亡, 123 h 平均死亡率为 93.33%; 毛霉菌 PN2 处理组 3 h 后初见死亡虫体, 在 15~39 h 死亡率突增, 达到 43.33%, 之后死亡速率减缓, 75 h 后 PN2-2 组虫体全部死亡, 99 h 后 PN2-3 组虫体全部死亡, 11 d 后 PN2-1 组虫体才全部死亡, 123 h 平均死亡率为 96.67%; 对照组 3 h 后初见死亡虫体, 123 h 平均死亡率达到 100.00% (表 1, 图 3)。

通过二项式回归模型及致死中时分析比较病原真菌处理组与对照组之间的致病性差异, 得出 PN1 及 PN2 处理组的死亡数量在 90 h 前均低于对照组, 其中毛霉菌处理组 PN2 的死亡情况与对照组无明显差异, 而细囊霉菌处理组 PN1 却表现出明显差异, 死亡数量趋势几乎接近于线性增长。在 1×10^5 个/mL 接种浓度下, 细囊霉菌处理组 52 h 后死亡率达到 50%, LT_{50} 为 52.28 h, 毛霉菌处理组在 30 h 之内死亡率达到 50%, LT_{50} 为 29.15 h (表 2, 图 4)。结果表明, PN1 及 PN2 处理组对叉襁科稚虫的致病性稍弱, 其中细囊霉菌处理组 PN1 的致病性低于毛霉菌处理组, 毛霉菌处理组 PN2 的致病性与对照组无明显差异。

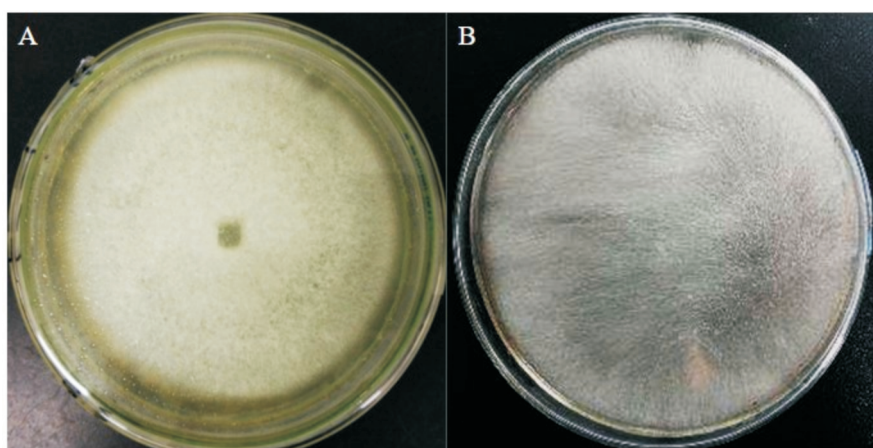


图 1 病原真菌在 PDA 培养基上的培养特征

Fig. 1 Morphological characteristics of pathogenic fungi on PDA media

注: A, 菌株 PN1; B, 菌株 PN2. Note: A, strain PN1; B, strain PN2.

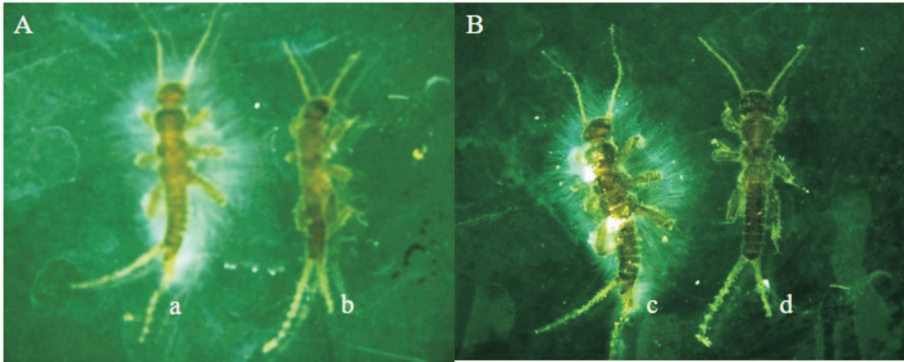


图 2 病原真菌致病性验证

Fig. 2 Pathogenicity assay on isolated pathogenic fungi

注：A ,PN1 处理组；B ,PN2 处理组；a ,菌株 PN1；b ,CK；c ,菌株 PN2；d ,CK。Note: A ,treatment group of PN1；B ,treatment group of PN2；a ,strain PN1；b ,CK；c ,strain PN2；d ,CK

表 1 病原真菌孢子悬浮液处理 123 小时内稚虫的平均死虫数及平均死亡率

Table 1 Mean number of dead larvea and mean percentage mortality of larvae exposed to pathogenic conidia in 123 h

时间 间隔 (h) Period	PN1 处理组 PN1 treatment group		PN2 处理组 PN2 treatment group		对照组 Control group	
	平均死虫数 (头) Mean number of dead larvea	平均死亡率 (%) Mean mortality	平均死虫数 (头) Mean number of dead insects	平均死亡率 (%) Mean mortality	平均死虫数 (头) Mean number of dead insects	平均死亡率 (%) Mean mortality
0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0.33	3.33	1.00	10.00
15	0	0	0.33	3.33	1.00	10.00
27	0.33	3.33	4.33	43.33	5.50	55.00
39	4.67	46.67	8.33	83.33	8.00	80.00
51	5.67	56.67	8.33	83.33	8.50	85.00
75	7.33	73.33	8.33	83.33	9.00	90.00
99	9.00	90.00	9.67	96.67	9.50	95.00
123	9.33	93.33	9.67	96.67	10.00	100.00

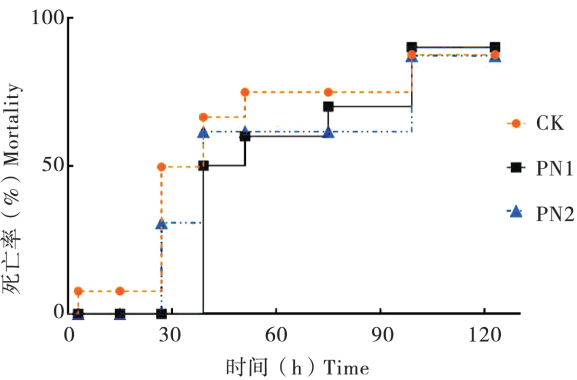


图 3 病原真菌孢子悬浮液处理 123 小时内稚虫的生存曲线
Fig. 3 Survival curve of larvae exposed to pathogenic conidia in 123 h

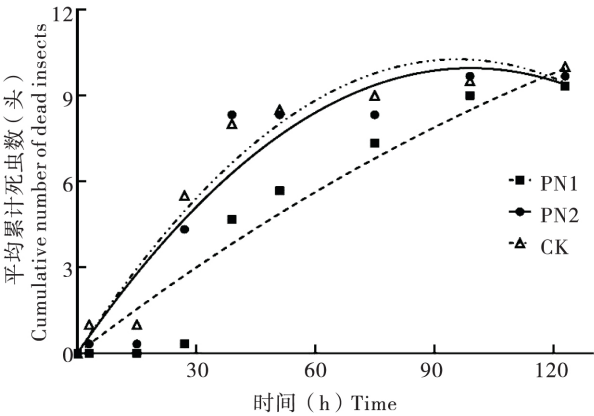


图 4 病原真菌致病性的回归模型分析
Fig. 4 Regression model of pathogenicity of pathogenic conidia

表 2 病原真菌对叉襴科稚虫致病性回归模型分析

Table 2 Regression model of pathogenicity of pathogenic conidia to larvae

供试菌株 Isolate	LR _{123h}	LT ₅₀	回归模型 (y =) Regression model	相关系数 (r) Correlation coefficient
PN1	4.0367 ± 1.33953	52.28	-0.0002x ² + 0.1061x	0.9193
PN2	5.4800 ± 1.41361	29.15	-0.001x ² + 0.2007x	0.9157
对照 CK	5.8333 ± 1.36168	27.15	-0.0011x ² + 0.214x	0.9416

注: LR_{123h} 为 3 次重复的平均值和标准误; LT₅₀ 为 50% 虫体死亡所需的时间。Note: Data of LR_{123h} were the means ± SE of three replicates; LT₅₀ was the time causing 50% mortality of larvae.

2.3 病原真菌形态学鉴定

菌株 PN1 营养体为分枝发达的丝状体, 无隔膜, 分体产果式。无性阶段产生游动孢子, 常具有两游现象, 孢子囊可由孢囊层出方式或分枝方式产生, 菌丝中常形成厚垣孢子, 即芽孢子, 有性阶段产生卵孢子 (魏景超, 1990) (图 5-A)。

菌株 PN2 菌丝生长迅速, 且无假根; 孢囊梗不成束, 单生, 繁密成层, 直立, 单轴分枝或假单轴分枝, 全部顶生孢子囊; 孢子囊大, 球形, 含孢子甚多; 孢囊孢子球形、椭圆形、卵圆形或不规则, 壁薄, 平滑; 无附属丝 (魏景超, 1990) (图 5-B)。

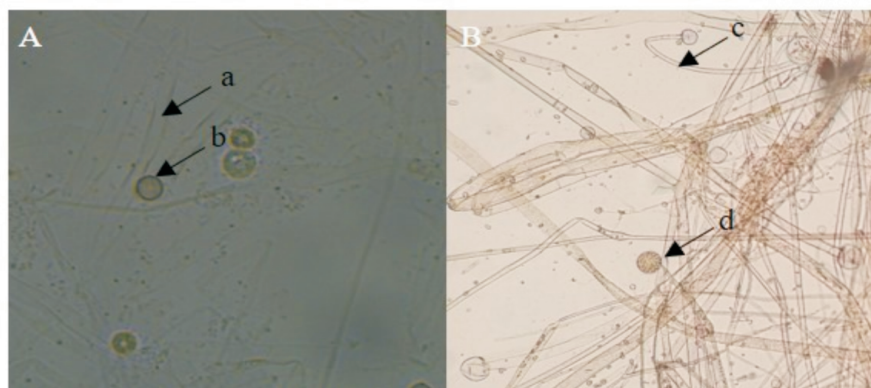


图 5 PDA 培养基上病原真菌形态学特征

Fig. 5 Morphological characteristics of pathogenic fungi on PDA media

注: A, 菌株 PN1; B, 菌株 PN2; a, 无隔菌丝; b, 卵孢子; c, 孢囊梗; d, 孢子囊。Note: A, strain PN1; B, strain PN2; a, non-septate hyphae; b, oospore; c, sporangioophore; d, sporangium.

2.4 病原真菌分子生物学鉴定

通过 PCR 扩增得到大小约为 500 ~ 750 bp 特异性片段 (图 6), 菌株 PN1 和 PN2 的序列提交到 NCBI 基因库分别获得 GenBank 登录号: MT950235 和 MT950271, 通过与 NCBI 数据库中序列比对, 结果表明菌株 PN1 与 GenBank 中的细囊霉菌 *Leptolegnia* sp. 同源性达到 100%; 菌株 PN2 与冻土毛霉 *Mucor hiemalis* 同源性达到 99.83%, 系统发育树 (图 7, 图 8) 结果显示, 菌株 PN1 与 *Leptolegnia* sp. 聚为一类, 支持率为 100%; 菌株 PN2 与 *M. hiemalis* 处于同一进化支, 支持率为 98%, 从而确定了 2 株病原真菌的亲缘关系。

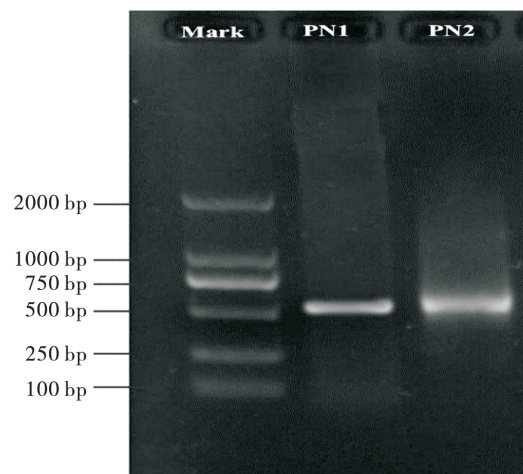


图 6 病原真菌 ITS 序列 PCR 电泳结果

Fig. 6 PCR products of ITS sequences from pathogenic fungi

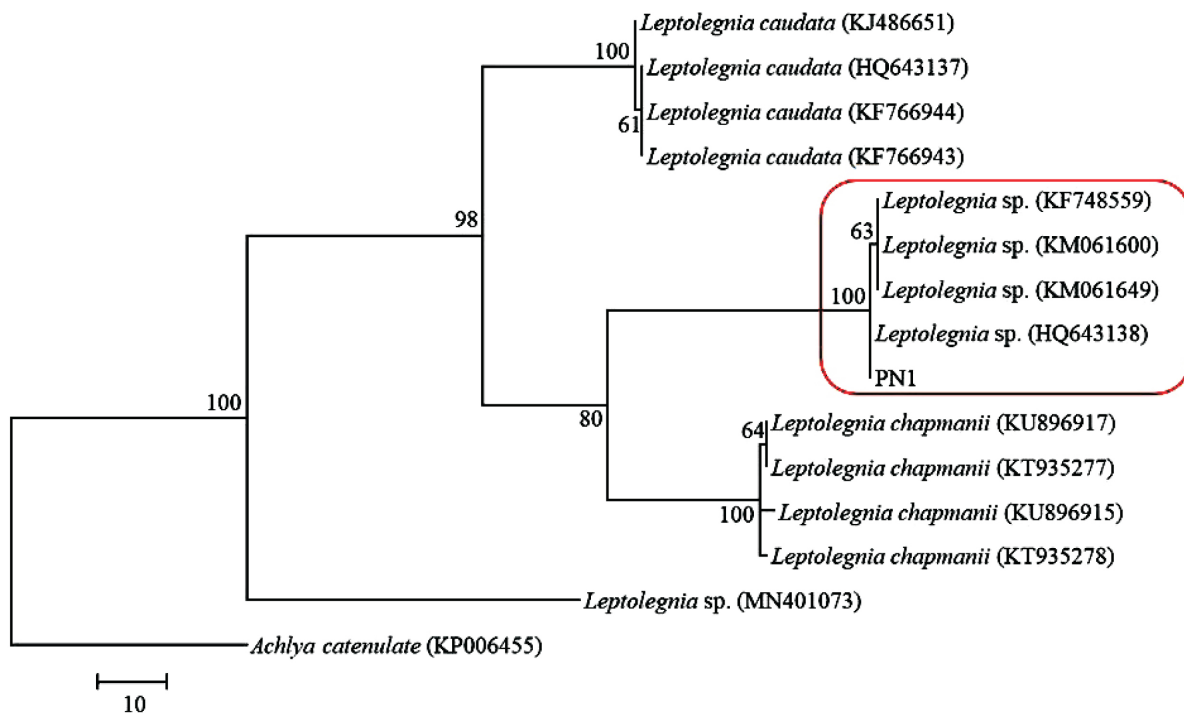


图 7 菌株 PN1 基于 ITS 序列采用最大简约法构建的系统发育树

Fig. 7 Phylogenetic tree of PN1 based on ITS sequences by the MP method

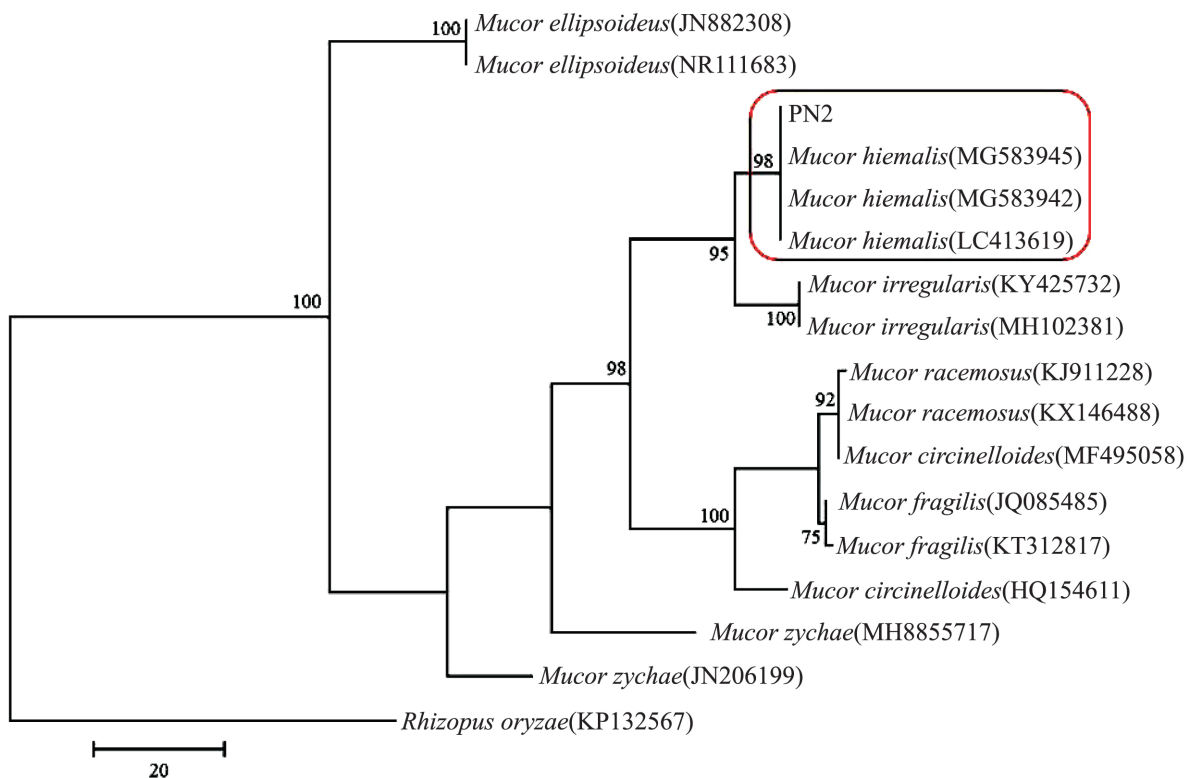


图 8 菌株 PN2 基于 ITS 序列利用最大简约法构建的系统发育树

Fig. 8 Phylogenetic tree of PN2 based on ITS sequences by the MP method

3 结论与讨论

本研究从云南香格里拉叉襱科稚虫自然死亡虫体上分离到两株病原真菌 PN1 和 PN2; 通过形态学鉴定同时结合 ITS 序列进行分子生物学鉴定, 确定菌株 PN1 为 *Leptolegnia* sp.; PN2 为 *Mucor hiemalis*; 通过柯赫氏法则验证病原真菌的致病性, 结果显示两株真菌对叉襱科稚虫的致病性较弱, 无较强的杀虫效果。

本研究分离得到的细囊霉菌和冻土毛霉为水生弱寄生菌, 属于条件致病菌, 通常情况下不感染健康的叉襱科稚虫, 当外界水环境改变或被污染, 不再适宜叉襱科稚虫生活, 使得叉襱科稚虫处于亚健康或体壁出现伤口时, 病原菌开始侵入虫体。菌丝侵入虫体的早期无明显的症状, 随着病程的发展, 菌丝向内穿过体壁进入肌肉组织, 向外则长出絮状菌丝, 最终造成稚虫死亡并加速侵染其余虫体。

Leptolegnia sp. 是水霉科 Saprolegniaceae 一种水生真菌 (梁枝荣和余永年, 1985; 宋镇庆等, 1994), Huneycutt 于 1952 年将该属新增至水霉科 (魏景超, 1990)。前人在研究中发现细囊霉属真菌对蚊科幼虫有较强的致病性, 金立中 (1986) 年报道细囊霉属 *Leptolegnia* sp. 对库蚊亚科和按蚊亚科的 9 种幼虫有致病作用; Andrade 和 Fernando (1993) 曾列出一种细囊霉菌 *Leptolegnia* sp. 对三带喙库蚊 *Culex tritaeniorhynchus*、致倦库蚊 *Culex fatigans*、库蚊属 *Culex* 和曼蚊属 *Mansonia* 有寄生关系; Gutierrez 团队 (2017) 研究发现细囊霉菌 *Leptolegnia* sp. 具有很高的宿主特异性, 能感染蚊科幼虫, 并对非目标水生生物造成伤害非常低; 倪达书 (1982) 研究中发现当鱼类皮肤或鳃受到机械损伤及其他病原体的伤害时, 鱼体抵抗力降低, 水霉孢子侵入伤口并开始萌发, 使鱼类发生水霉病。Bly 等人 (1992) 通过研究沟鲈水霉病表明, 当鲈鱼免疫力迅速下降才会被水霉菌感染, 而健康鱼体不会感染水霉。毛霉目 Mucorales 是接合菌纲 Zygomycetes 最大的目 (李钟庆, 1981)。毛霉目中某些类群通常会引发动植物的病害, 如甘薯在贮藏过程中受到黑根霉侵染发生软腐病; 李克犁头霉和微小毛霉能侵染人类的内脏器官 (陈腊梅和李春阳, 2007)。毛霉目感染昆虫及利用毛霉作为生防制剂防控水生害虫的研究鲜有文

献报道。

叉襱科昆虫是一类重要的水生昆虫, 本研究首次在叉襱科昆虫中报道了细囊霉菌和毛霉菌并分析了两株真菌对稚虫的致病性, 为水生生态系统的环境监测及农林有害昆虫生物防治提供了理论依据。今后, 对叉襱科昆虫病原菌种类多样性, 病原菌致病条件多样性以及病原菌侵染和致病机理开展深入研究具有重大的意义。

参考文献 (References)

- Andrade, Fernando C. Mosquito entomopathogenic fungi – an overview regarding a possible integration in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* control programs in Brazil [J]. *Post Doctoral Report*, 1993, 5: 1 – 25.
- Banks N. Some neuropterous insects from Szechwan, China [J]. *Fieldiana: Zool.*, 1947, 31: 97 – 107.
- Bly JE, Lawson LA, Dale DJ, et al. Winter saprolegniosis in channel catfish [J]. *Diseases of Aquatic Organisms*, 1992, 13 (3): 155 – 164.
- Chen LM, Li CY. Research progress of mucormycosis [J]. *Chinese Journal of Mycology*, 2007, 4: 243 – 246. [陈腊梅, 李春阳. 毛霉菌病研究进展 [J]. 中国真菌学杂志, 2007, 4: 243 – 246]
- Gutierrez AC, Rueda Páramo ME, Falvo ML, et al. *Leptolegnia chapmanii* (Straminipila: Peronosporomycetes) as a future biorational tool for the control of *Aedes aegypti* (L.) [J]. *Acta Tropica*, 2017, 169: 112 – 118.
- Jin LZ. Host range of *Leptolegnia* [J]. *Parasitic Diseases Foreign Medical Sciences*, 1986, 4: 191. [金立中. 细囊霉菌的宿主范围 [J]. 国外医学 (寄生虫病分册), 1986, 4: 191]
- Li WH. The Study of Chinese Nemourioidea System Classification (Plecoptera) [D]. Beijing: China Agricultural University, 2007. [李卫海. 中国叉 (虫蜚) 总科的系统分类研究 (襱翅目) [D]. 北京: 中国农业大学, 2007]
- Li ZQ. Mucorales and its important genera and species [J]. *Liquor – making Science & Technology*, 1981, 4: 29 – 32. [李钟庆. 毛霉目及其重要的属、种 [J]. 酿酒科技, 1981, 4: 29 – 32]
- Liang ZR, Yu YN. The distribution and quantity of Saprolegniaceae in different polluted water bodies in Beijing [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 1985, 3: 366 – 371. [梁枝荣, 余永年. 水霉科真菌在北京地区不同污染水体中的分布和数量变化 [J]. 环境科学学报, 1985, 3: 366 – 371]
- Ni DS. The Study of Control of Saprolegnias Pathogens in Fishes [M]. Beijing: Agricultural Press, 1982: 1 – 70. [倪达书. 鱼类水霉病的防治研究 [M]. 北京: 农业出版社, 1982: 1 – 70]
- Song ZQ, Liang JY, Liu WC. The taxonomy of Saprolegniaceous fungi in Liaoning Province [J]. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 1994, 3: 250 – 253. [宋镇庆, 梁景颐, 刘伟成. 辽宁省水霉的分类研究 [J]. 沈阳农业大学学报, 1994, 3: 250 – 253]
- Wang HJ, Xu HX, Wang XZ, et al. Preliminary report on the study of

- Plecoptera in the south Gansu Province [J]. *Journal of Gansu Forestry Science and Technology*, 2009, 34 (1): 6–9. [王洪建, 徐红霞, 王香枝, 等. 甘肃南部襁翅目昆虫研究初报 [J]. 甘肃林业科技, 2009, 34 (1): 6–9]
- Wang WQ. The molecular detection of *Corynespora cassicola* on cucumber by PCR assay using DNAMAN software and NCBI. In: International Conference on Computer and Computing Technologies in Agriculture [C], 2015: 248–258.
- Wei DM, Duan WW, Chen Z, et al. Phylogenetic analysis of 18S rDNA sequence of saqrolegniasis pathogens in fishes in Wujiaqu, Xinjiang [J]. *Jiangsu Agricultural Sciences* 2019, 47 (15): 194–199. [魏冬梅, 段魏魏, 陈真, 等. 新疆五家渠地区鱼类水霉病病原菌 18S rDNA 序列系统分类分析 [J]. 江苏农业科学, 2019, 47 (15): 194–199]
- Wei JC. The Fungal Identification Manual [M]. Shanghai: Fudan University Press, 1990: 20–90. [魏景超. 真菌鉴定手册 [M]. 上海: 复旦大学出版社, 1990: 20–90]
- Yan ZC, Zhong H. Aquatic insects [J]. *Bulletin of Biology*, 2004, 1: 15–18. [颜忠诚, Zhong H. 水生昆虫 [J]. 生物学通报, 2004, 1: 15–18]
- Zhang W, Peng GX, Xia YX. Current status, problems and prospects of entomopathogenic fungi in controlling fall armyworm *Spodoptera frugiperda* [J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2019, 35 (5): 674–681. [张维, 彭国雄, 夏玉先. 昆虫病原真菌防控草地贪夜蛾的现状、问题与展望 [J]. 中国生物防治学报, 2019, 35 (5): 674–681]
- Zhu F. The Study of Nemouroidea System Classification (Plecoptera) in the North of China [D]. Beijing: China Agricultural University, 2002. [祝芳. 中国北方叉 (虫责) 科的分类学研究 (襁翅目: 叉 (虫责) 总科) [D]. 北京: 中国农业大学, 2002]