

一株寄生油松毛虫的白僵菌毒素化学成分

樊金华, 谢映平*, 薛皎亮, 李保珍

(山西大学生命科学与技术学院, 太原 030006)

摘要: 【目的】从一株寄生于油松毛虫 (*Dendrolimus tabulaeformis* Tsai et Liu) 越冬幼虫上的高毒力卵孢白僵菌 (*Beauveria tenella*) 的发酵液中, 分离纯化出对油松毛虫幼虫具有杀虫活性的毒素物质。

【方法】对这株白僵菌进行了液体培养, 用乙酸乙酯对发酵液进行萃取, 然后对粗提物进行了硅胶色谱分离, 利用 GC/MS 对第 6 组物质进行化学成分分析。【结果】其发酵液的乙酸乙酯粗提物对油松毛虫具有杀虫活性 (校正死亡率 42.52%) 对粗提物进行了硅胶色谱分离, 共得到 6 组物质, 其中第 6 组物质对油松毛虫的校正致死率达 80.26%。利用 GC/MS 对第 6 组物质进行化学成分分析, 得知其包括 17 个组分, 其中相对含量大于 10% 的有: 2-哌啶酮占 14.02%, 2-香豆满酮占 47.10%, 六氢化-吡咯环[1,2-a] 吡嗪 -1, 4- 二酮占 21.05%。用其中的 2-哌啶酮和 2-香豆满酮分别作杀虫试验, 油松毛虫的校正死亡率分别为 83.32% 和 91.61%。【结论】2-哌啶酮和 2-香豆满酮是该白僵菌菌株的代谢毒素物质。

关键词: 油松毛虫; 卵孢白僵菌; 毒素; 2-哌啶酮; 2-香豆满酮

中图分类号: Q935 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2008) 05-0596-06

白僵菌是一种重要的病原虫生真菌, 在害虫的生物防治中起重要作用。已成功地应用于防治松毛虫 (*Dendrolimus* spp.), 亚洲玉米螟 (*Ostrinia furnacalis* Guenee), 金龟子 (*Holotrichia* spp.) 等农林害虫。我国用白僵菌在 50 多种农林害虫上进行过防治试验, 取得了一定的效果^[1]。然而, 白僵菌的应用还主要局限在南方, 在北方效果不稳定^[2,3]。这是因为白僵菌在侵染和寄生昆虫时, 要求湿热环境条件, 菌丝才能穿出虫体长成气生菌丝, 形成分生孢子。因此在低温干燥的北方, 白僵菌的应用受到很大限制。已有的研究表明, 昆虫病原真菌分泌的毒素物质在致死寄主的过程中起关键作用^[4-8], 那么, 如果利用白僵菌可以人工大量培养的特点, 收集主要的代谢毒素物质, 用于害虫生物防治, 就可以摆脱其在防治过程中直接应用孢子产品对气候环境的依赖, 因此, 寻找高杀虫活

性的真菌毒素, 对开辟高效的害虫生物防治具有重要意义和广阔应用前景。

以前国内外在这一方面已作了一些有益的探索。1952 年, Aoki 和 Shimodara^[4]报道, 培养过白僵菌 1 个月的培养基对家蚕 (*Bombyx mori* L.) 幼虫有毒, 首次证明白僵菌产生了有杀虫活性的代谢产物。近年来已发现一些白僵菌毒素, 如白僵菌素 (beauverin)、卵孢素 (oosporein) 等^[9,10]。但对白僵菌毒素方面的研究主要集中在大分子蛋白毒素方面, Mollier 等^[11]发现从白僵菌的发酵液中提出的大分子物质对甘蓝夜蛾 (*Mamestra brassicae*)、蜡螟 (*Galleria mellonella*) 等鳞翅目昆虫幼虫有杀虫活性; Rosa Fuguet 等^[12]从球孢白僵菌发酵液中纯化出可使昆虫蜡螟 (*Galleria mellonella*) 的细胞和表皮发生病变的大分子毒力蛋白 Bclp。本研究以我们自己采集的在北方油松毛虫寄

基金项目: 山西省科技攻关项目 (021041)

*通讯作者: Tel: +86-351-7018092; E-mail: xieyingping@eyou.com

作者简介: 樊金华 (1979-), 女, 河北唐山人, 硕士研究生, 主要从事昆虫病原真菌方面的研究。E-mail: fjhlbz@yahoo.com.cn

收稿日期: 2007-09-10; 修回日期: 2008-01-30

生的一株高致病性卵孢白僵菌(*Beauveria tenella*)作为材料,经液体发酵,发酵液萃取,粗提物经硅胶色谱柱分离等试验步骤,获得了该菌种的代谢毒素物质,用分离组分对油松毛虫进行毒力试验,利用GC/MS进行了化学成分的研究。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌种: 本项研究采用我们2006年3月,在河北承德油松林内采集的油松毛虫幼虫死亡虫体上分离得到的一株卵孢白僵菌(*Beauveria tenella*)作为菌种^[13]。

1.1.2 培养基: 固体斜面培养基(g/L): 蛋白胨10, 酵母浸出膏10, 葡萄糖40, 琼脂20, 蒸馏水定容。液体培养基(g/L): 蛋白胨10, 酵母浸出膏10, 葡萄糖40, 蒸馏水定容。

1.1.3 主要仪器和试剂: OLYMPUS BX51 显微镜(日本奥林巴斯光学工业株式会社); DHG-9075A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海益恒实验仪器有限公司); ZDX-35BI 座式自动电热压力蒸汽灭菌器(上海申安医疗器械厂); CJ-C 系列洁净工作台(上海上净实业有限公司); 2002-11 型恒温光照培养箱(常州国华电器有限公司); SHZ-B 恒温水浴振荡器(苏州市大隆仪器仪表有限公司); 上海申生旋转蒸发器; 海尔真空干燥箱(青岛海尔电器有限公司); Anke 高速离心机(上海安亭科学仪器厂); 20 mm×500 mm 层析柱(太原兴盛玻璃仪器厂); 岛津 GC/MS-QP2010(日本岛津)。高效薄层硅胶 G 和高效薄层硅胶板 G 由青岛海洋化工分厂生产; 色谱纯甲醇, 分析纯乙酸乙酯和分析纯 95%乙醇都由天津市天新化工生产; 2-嘧啶酮(99%)由上海速博化学科技有限公司生产; 2-香豆满酮(99%)由阿法埃沙(天津)化学有限公司生产。

1.2 菌种的培养

1.2.1 斜面培养: 将菌种接于斜面培养基上, 在 25℃, 相对湿度为 75% 下培养 7 d。

1.2.2 液体培养: 将培养好的斜面菌种按 1 管/L 的量接入液体培养基中, 在 25℃ 120 r/min 下培养 7 d^[14]。

1.3 毒素的提取

毒素的提取采用文献^[15]方法。

1.4 白僵菌粗提液杀虫试验

白僵菌粗提液杀虫试验参照文献^[12]、^[16] 和

^[17]的方法, 将从菌株发酵液中粗提物 10 mg 溶于 10 mL 的乙醇中, 将油松毛虫 5 龄幼虫置于冰上麻醉, 用微量注射器从幼虫腹部第 7 腹节处注入粗提物的溶液 10 μL/头, 对照注入相等体积的乙醇, 注射处用低熔点石蜡封闭。然后放入玻璃缸中养虫用新鲜油松针叶饲养, 温度 25℃, 湿度为 75%。试验用油松毛虫 5 龄幼虫 30 头, 对照 30 头。设 3 个重复。

1.5 毒素的分离和化学成分鉴定

采用高效硅胶薄层色谱法探索最佳柱色谱洗脱条件。由于薄板的固定相和柱色谱的固定相均为硅胶, 因此薄层色谱试验出的条件在柱色谱上有着较强的可操作性。按照乙酸乙酯、甲醇、水以不同的比例混合, 对所得到的白僵菌的粗提物进行薄层层析, 选择展开效果好, 无拖尾现象, 且展开斑点 R_f 值都在 0 到 0.5 之间的展开剂作为柱层析的流动相^[15]。

将液体培养好的菌株发酵液经离心, 去除菌丝, 上清液浓缩, 醇沉, 乙酸乙酯萃取等步骤后, 用常压硅胶色谱对前面的乙酸乙酯萃取物进行初步分离, 首先将选出的流动相加入到层析柱中, 然后用自然沉降法将硅胶装入 20 mm×300 mm 玻璃柱中; 同时将 0.2 g 试样溶于乙酸乙酯中, 然后加入样品质量 5 倍硅胶搅拌均匀, 浓缩成干粉, 用自然沉降法加到硅胶柱的上部。用优选的流动相进行洗脱; 自动分步收集; 逐管点样进行薄层分析, 合并组成相似的组分。

对毒素物质化学成分的分析采用气/质联用技术, 色谱柱长 30 m、直径 0.25 mm。测试的工作条件为: 先将温度升到 120℃, 保持 2 min, 然后以 20℃/min 的速度升到 250℃ 保持 20 min。分流比为 10:1, 进样口温度为 250℃。质谱条件: 离子源温度为 250℃, 电子能量是 70 eV, 扫描范围为 20~650 m/z。

1.6 白僵菌毒素杀虫试验

将从粗提物中层析分离得到的相对含量较大的部分溶于乙醇中, 制成浓度为 55 μg/mL 的溶液。然后按 1.4 的方法注入油松毛虫体内作毒力试验, 对照幼虫注入相等体积的乙醇, 每组 30 头, 设 3 个重复。

1.7 已鉴定出的毒素纯品的杀虫试验

将用 GC/MS 联用仪鉴定出的毒素物质的纯品溶于乙醇中, 制成浓度为 55 μg/mL 的溶液。然后按 1.4 的方法注入油松毛虫体内作毒力试验, 对照幼虫注入相等体积的乙醇, 每组 30 头, 设 3 个重复。

2 结果和分析

2.1 毒素粗提物及其对油松毛虫的杀虫活性

用分离得到的卵孢白僵菌菌株^[13]25 下培养 7 d, 发酵液经离心、浓缩、醇沉、萃取后, 得到了白僵菌代谢毒素粗提物, 经浓缩干燥后, 得到粗提物干粉为深红色。

用粗提物溶液注入油松毛虫幼虫 5 龄幼虫作杀虫试验, 对感染组和空白对照组进行观察。结果显示, 感染组: 在第 2 天体重较前 1 天有所增加, 经观察取食量与对照比变化不大; 从第 3 天开始, 大部分幼虫取食量下降, 个别幼虫停止取食, 不能正常爬行, 体重开始下降; 从第 5 天开始, 被感染组幼虫体重下降加快; 第 6 天开始有幼虫相继死亡; 每组死亡虫数分别为 14 头、15 头、15 头, 平均死亡虫数为 14.7 头。对照组: 幼虫没有变化, 正常取食, 体重有所上升, 每组死亡虫数分别为 3 头、4 头、3 头, 平均死亡虫数为 3.3 头。毒素粗提物对油松毛虫的校正死亡率达到 42.52%, 用 t-检验对数据进行统计分析, $P < 0.05$, 由此可知, 粗提物对油松毛虫幼虫有显著的杀虫活性。

2.2 毒素粗提物的初步分离及对松毛虫的杀虫活性

根据乙酸乙酯萃取物组极性中等偏下的特点, 试验后, 选择分离流动相。发现用乙酸乙酯: 甲醇: 水=170: 10: 5 的展开剂的展开效果好, 无拖尾现象, 且展开斑点 R_f 值都在 0 到 0.5 之间。

将白僵菌粗提物用柱层析分离, 自动分步收集洗脱液。逐管点样进行薄层分析, 根据在薄层板上移动的距离, 合并组成相似的组分, 共得到 6 组物质。其中第 6 组物质的相对含量最大。

用第 6 组毒素物质注入油松毛虫幼虫 5 龄幼虫作杀虫试验, 对感染组和空白对照组进行观察。结果显示, 感染组: 在第 2 天, 大部分被感染的幼虫取食量下降, 个别幼虫停止取食, 不能正常爬行, 体重开始下降; 第 3 天开始有幼虫相继死亡; 每组死亡虫数分别为 24 头、27 头、23 头, 平均死亡虫数为 24.7 头。对照组: 幼虫没有变化, 正常取食, 体重有所上升, 每组死亡虫数分别为 3 头、2 头、4 头, 平均死亡虫数为 3.0 头。第六组物质对油松毛虫的校正死亡率达到 80.26%, 用 t-检验对数据进行统计分析, $P < 0.05$, 由此可知, 第六组物质对油松毛虫幼虫有显著的杀虫活性。

2.3 毒素物质的化学成分及其对油松毛虫的杀虫活性

毒素物质的化学成分: 应用 GC/MS 对第 6 组毒素物质进行化学成分测试, 得到色谱图(图 1), 从色谱图看出, 第 6 组物质进样后出峰主要集中在保留时间 3.625~19.117 min 范围内, 共 17 个峰, 对质谱图检索和解析后得知其包括 17 个组分, 其中相对含量大于 2% 的有 6 种组分(表 1), 包括: 2-哌啶酮占 14.02%, 2-香豆满酮占 47.10%, 3-吡咯烷-2-基-丙酸占 6.16%, 六氢化-吡咯环[1,2-a] 吡嗪-1, 4-二酮占 21.05%, 5,10-二乙氧基-2,3,7,8-四氢化-1H, 6H-双吡咯[1,2-a;1',2'-d] 吡嗪占 2.782%, 1,2-苯二甲酸, 二异辛酯占 3.69%, 其余组分只占 5.21%。其中 2-哌啶酮占 14.02%, 2-香豆满酮占 47.10%, 六氢化-吡咯环[1,2-a] 吡嗪-1, 4-二酮占 21.05 这 3 种化合物共占第 6 组物质的 82.17%, 说明它们是第 6 组物质的主要成分。根据质谱图与数据库进行对照, 这 3 种组分与标准图谱的符合度都大于或等于 90% (图 2, 3, 4)。

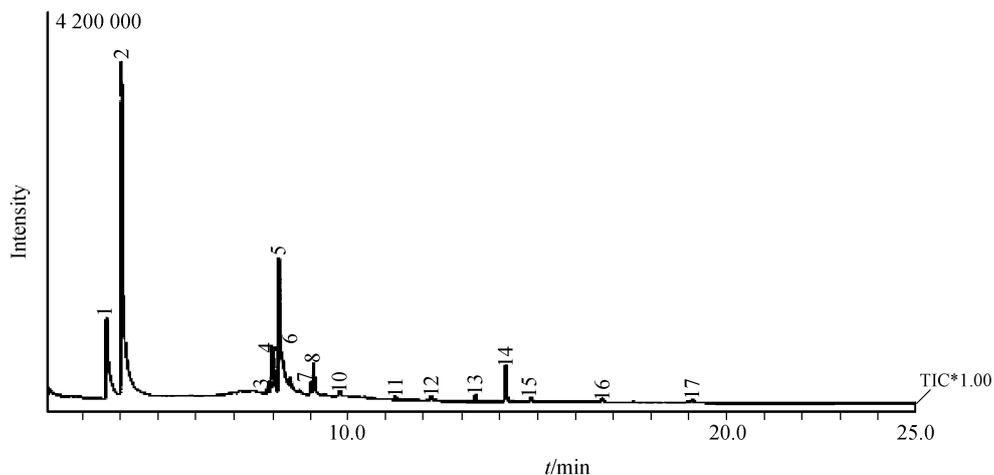


图 1 第 6 组物质 GC/MS 检测气相色谱图

Fig. 1 Gas chromatogram of the sixth group with GC/MS.

用 2-哌啶酮和 2-香豆满酮对油松毛虫幼虫 5 龄幼虫作杀虫试验, 对感染组和空白对照组进行观察。结果显示, 用 2-哌啶酮处理后, 感染组: 在第二天, 大部分被感染的幼虫停止取食, 不能正常爬行, 开始有幼虫相继死亡, 每组死亡虫数分别为 26 头、26 头、

24 头, 平均死亡虫数为 25.3 头。对照组: 幼虫没有变化, 正常取食, 体重有所上升, 每组死亡虫数分别为 3 头、1 头、2 头, 平均死亡虫数为 2.0 头。2-哌啶酮对油松毛虫的校正死亡率达到 83.32%, 用 t-检验对数据进行统计分析, $P < 0.05$, 由此可知, 2-哌啶酮对

表 1 第 6 组物质经 GC/MS 检测的化学组分
Table 1 Composition of the sixth group detected with GC/MS

Peak#	R.Time/min	Molecular formula	Molecular weight	Compound name	Relative content/%	Probability/%
1	3.625	C ₅ H ₉ NO	99	2-Piperidinone	14.02	97
2	4.033	C ₈ H ₆ O ₂	134	2-coumaranone	47.10	98
4	7.975	C ₇ H ₁₃ NO ₂	143	3-Pyrrolidin-2-yl-propionic acid	6.16	80
5	8.175	C ₇ H ₁₀ N ₂ O ₂	154	Pyrolo[1,2-a] Pyrazine-1,4-dione, hexahydro	21.05	90
8	9.100	C ₁₄ H ₂₂ N ₂ O ₂	250	5,10-Diethoxy-2,3,7,8-tetrahydro-1H,6H-dipyrolo[1,2-a;1,2-d]pyrazine	2.782	93
14	14.192	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	390	1,2-Benzenedicarboxylic acid, diisooctyl ester	3.69	97

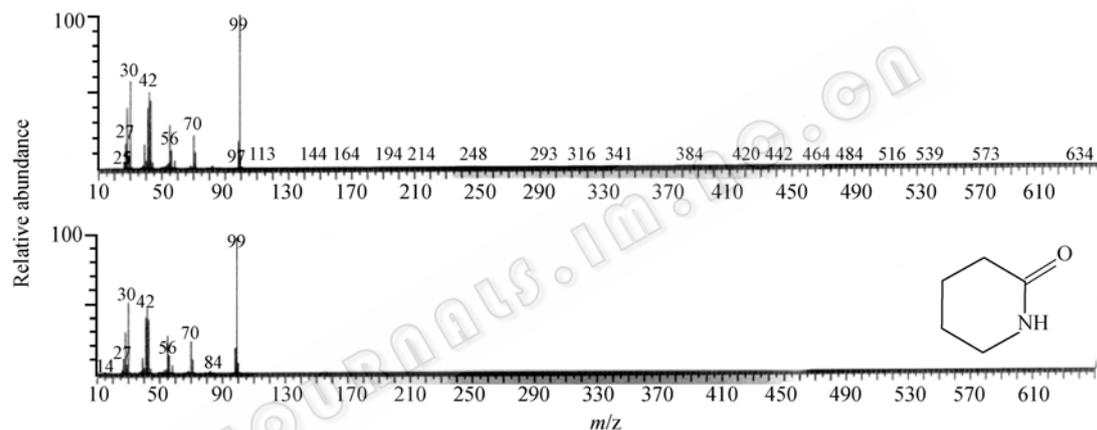


图 2 峰 1 与 2-哌啶酮的质谱图比较
Fig. 2 Comparison of mass spectra of the first peak and 2-Piperidinone.

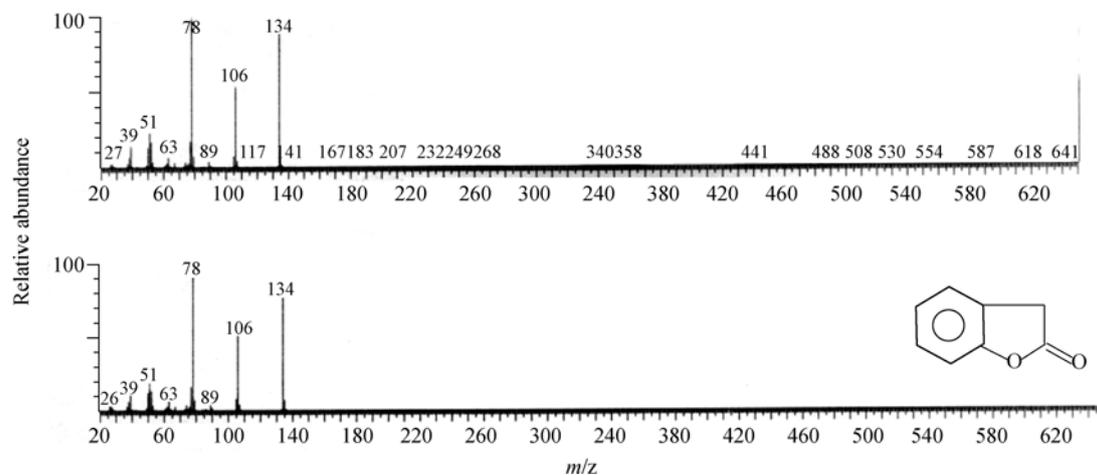


图 3 峰 2 与 2-香豆满酮的质谱图比较
Fig. 3 Comparison of mass spectra of the second peak and 2-coumaranone.

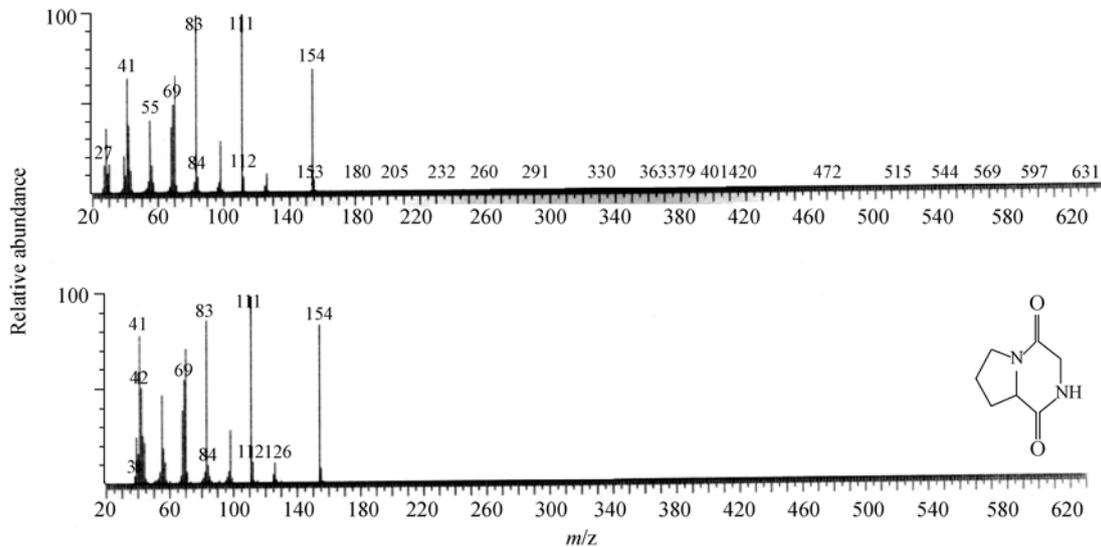


图 4 峰 5 与六氢化-吡咯环[1,2-a]吡嗪-1,4-酮的质谱图比较

Fig. 4 comparison of mass spectra of the first peak and Pyrrolo[1,2-a] Pyrazine-1,4-dione, hexahydro.

油松毛虫幼虫有显著的杀虫活性。用 2-香豆满酮对油松毛虫 5 龄幼虫进行毒力试验。感染组：在第 2 天，大部分被感染的幼虫停止取食，行动缓慢；第 3 天被感染幼虫不能正常爬行，并且有幼虫死亡，每组死亡虫数分别为 25 头、30 头、28 头，平均死亡虫数为 27.7 头。对照组：幼虫没有变化，正常取食，体重有所上升，每组死亡虫数分别为 4 头、1 头、2 头，平均死亡虫数为 2.3 头。2-香豆满酮对油松毛虫的校正死亡率达到 91.61%，用 t-检验对数据进行统计分析， $P < 0.05$ ，由此可知，2-香豆满酮对油松毛虫幼虫有显著的杀虫活性。

3 讨论

近年来国内外在白僵菌毒素方面已作了一些探索。1994 年 Eyal 等^[18]报道，从一株白僵菌菌株发酵液中分离纯化出卵孢霉素(oosporein)。1999 年武艺等^[19]用草地夜蛾试验表明，从球孢白僵菌代谢产物中提取到的毒素能破坏细胞的细胞膜、细胞核、线粒体和核糖体，导致昆虫致病。

本研究对卵孢白僵菌的发酵液中代谢毒素物质的化学成分进行了分析和杀虫试验，确定 2-哌啶酮和 2-香豆满酮是白僵菌的代谢毒素物质。以往关于这些毒素物质对昆虫的致病作用很少报道，经过查阅化学品毒性数据库(www.chemdrug.com)的资料表明，2-哌啶酮对老鼠和青蛙都有毒力作用，它能引起老鼠抽搐、苍白病，并且使他们想睡觉，运动神经活性变化，大大降低活动能力。参考化学专业数据库(www.organchem.

csdb.cn)中的生物活性数据库可知，2-香豆满酮可以诱导有机体突变和弱化抗诱变剂的作用，具有抑制香豆素 7-羟化酶的活性。而且，根据美国专利局 1998 年 6 月 30 日颁布的有关生产 2-香豆满酮的专利^[20]可知，2-香豆满酮也是一种有机合成中的基础物质，至今还主要是通过化学合成才能得到，本研究从白僵菌代谢物质中分离出此种成分，提供了 2-香豆满酮作为生物合成产物的新资料。综上所述，以往对于这两种物质的毒性研究主要集中在对老鼠等动物和对动物细胞的生物活性影响方面，而对油松毛虫等昆虫的杀虫活性方面的研究还没有涉及，本研究发现它们对油松毛虫的毒力作用，这在开发生物毒素物质，进行害虫生物防治方面具有重要意义。

参 考 文 献

- [1] 李增智. 森林害虫的微生物防治. 见: 中国植物学会虫生真菌专业组. 中国虫生真菌的研究与应用, 第三卷. 第一版. 北京: 中国农业科技出版社, 1993.
- [2] Ferron P. Fungal control in comprehensive insect physiology. In: Kerkut GA, Gilbert LI. Biochemistry and Pharmacology. Great Britain: Pergamon Press. 1997.
- [3] Horton D R. Behavioral effects of parasites and pathogens in Insect hosts. In: Beckage N E, Thompson S N, Federici B A. Parasites and Pathogens of Insects. New York: Academic Press Inc. 1993.
- [4] 蒲蛰龙, 李增智. 昆虫真菌学. 第一版. 合肥: 安徽科学技术出版社, 1996.
- [5] Bagga S, Hu G, Screen SE, et al. Reconstructing the diversification of subtilisins in the pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*.

- sopliae. *Gene*, 2004, 324: 159–169.
- [6] Dutra V, Nakazato L, Broetto L, *et al.* Application of representational difference analysis to identify sequence tags expressed by *Metarhizium anisopliae* during the infection process of the tick *Boophilus microplus* cuticle. *Res Microbiol*, 2004, 155: 245–251.
- [7] Freimoser FM, Screen S, Bagga S, *et al.* Expressed sequence tag (EST) analysis of two subspecies of *Metarhizium anisopliae* reveals a plethora of secreted proteins with potential activity in insect hosts. *Microbiology*, 2003, 149: 239–247.
- [8] Freimoser F M, Hu G, St. Leger R J. Variation in gene expression patterns as the insect pathogen *Metarhizium anisopliae* adapts to different host cuticle or nutrient deprivation in vitro. *Microbiology*, 2005, 151: 361–371.
- [9] 林雅兰, 黄秀梨. 现代微生物学与实验技术. 北京: 科学出版社, 2000.
- [10] Freimoser FM, Hu G, St. Leger RJ. Variation in gene expression patterns as the insect pathogen *Metarhizium anisopliae* adapts to different host cuticle or nutrient deprivation in vitro. *Microbiology*, 2005, 151: 361–371.
- [11] Mollier P, Lagnel J, Quiot JM. Cytotoxic activity in culture filtrates from the entomopathogenic fungus *Beauveria sulfurescens*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 1994, 64: 208–213.
- [12] Fuguet R, Theraud M, Vey A. Production in vitro of toxic macromolecules by strains of *Beauveria bassiana*, and purification of a chitosanase-like protein secreted by a melanizing isolate. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 2004, 138: 149–161.
- [13] 樊金华, 谢映平, 薛皎亮, 等. 一株油松毛虫病原真菌—卵孢白僵菌的分离鉴定及其生物学特性的研究. 山西大学学报(自然科学版)(*Journal of Shanxi University Natural Science Edition*), 2007, 30(S₁): 107–110.
- [14] Fargues J, Luz C. Effects of Fluctuating Moisture and Temperature Regimes on Sporulation of *Beauveria bassiana* on Cadavers of *Rhodnius Prolixus*. *Biocontrol Science and Technology*, 1998, 8(3): 323–334.
- [15] 胡丰林, 丁晓娟, 杨成, 等. 一种白僵菌中 MAO 抑制剂的分离纯化和结构鉴定. 菌物学报(*Mycosystema*), 2006, 25(2): 273–277.
- [16] 赵海珍, 张志祥, 廖美德, 等. 杀菌剂丙环唑对斜纹夜蛾的毒性. 昆虫学报(*Acta Entomologica Sinica*), 2006, 49(2): 265–270.
- [17] 宋肖玲, 李国霞. 蜡蚧轮枝孢杀虫毒素对菜粉蝶生长发育的影响及其毒力. 中国生物防治(*Chinese Journal of Biological Control*), 2005, 21(2): 91–94.
- [18] Eyal J, Mda.mabud MA, Fischbein KL, *et al.* Assessment of *Beauveria bassiana* NOV.EO-1 Strain, Which Produces a Red Pigment for Microbial control. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 1994, 44(1): 65–80.
- [19] 武艺, 黄秀梨, 邓继先. 球孢白僵菌毒素对昆虫体外培养细胞的超微结构和细胞内总蛋白的影响. 北京师范大学学报(自然科学版)(*Journal of Beijing Normal University(Natural Science)*), 1999, 35(1): 114–118.
- [20] Perrard A. Process for the preparation of the enollactone of 2-oxocyclohexidene acetic acid and application to the preparation of 2-coumaranone. United States Patent: 5773632. US patent issued on June 30, 1998.

Isolation and identification of toxins inhibiting *Dentrolimus tabulaeformis* from an antagonistic strain of *Beauveria*

Jinhua Fan, Yingping Xie*, Jiaoliang Xue, Baozhen Li

(School of Life Science and Technology, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

Abstract: [Objective] We used submerged fermentation to cultivate a strain of the entomopathogenic fungus *Beauveria tenella* isolated from the infected larvae of *Dentrolimus tabulaeformis* in *Pinus tabulaeformis* forest in Chengde of Hebei Province in China. [Methods] We used ethyl acetate to extract antagonistic components from the fermentation broth and used silica gel column chromatography and GC/MS to separate and identify the components. [Results] Six compounds were obtained by silica gel column chromatography. The sixth compound had higher activity to kill the larvae of *Dentrolimus tabulaeformis* with a corrected mortality rate of 80%. Seventeen compounds were separated and identified by GC/MS in the 6th group, of which 3 compounds were more than 10%, 2-Piperidinone(14.02%), 2-coumaranone(47.10%), and Pyrrolo[1,2-a]Pyrazine-1,4-dione, hexahydro (21.05%). [Conclusion] 2-Piperidinone and 2-coumaranone had insecticidal activity (corrected mortality rate reached 83.32% and 91.61% respectively) and were the most important toxic substances to control pests.

Keywords: *Dentrolimus tabulaeformis*; *Beauveria tenella*; toxin; 2-Piperidinone; 2-coumaranone

Supported by the Shanxi Provincial Key Technologies Research and Development Program(021041)

*Corresponding author. Tel: +86-351-7018092; E-mail: xieyingping@eyou.com

Received: 10 September 2007/ Revised: 30 January 2008