



三株球孢白僵菌对草地贪夜蛾的毒力比较

徐毓笛¹ 魏红爽¹ 石嘉伟¹ 陈宏灏^{1,2} 石旺鹏¹ 谭树乾^{1*}

(1. 中国农业大学植物保护学院昆虫学系, 农村农业部作物有害生物监测与绿色防控重点实验室, 北京 100193;

2. 宁夏农林科学院植物保护研究所, 银川 750002)

摘要: 为筛选有效防治草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* 的微生物制剂, 采用室内生物测定法测定从北京市、浙江省和海南省土壤样品中分离获得的3株球孢白僵菌 *Beauveria bassiana* 菌株 bbbj、bbzj 和 bbhn 对草地贪夜蛾3龄幼虫的毒力, 并比较这3株菌株的产孢情况和合成白僵菌素的能力。结果显示, 分离自北京市的菌株 bbbj 对草地贪夜蛾3龄幼虫的毒力最强, LC_{50} 为 3.37×10^5 个孢子/mL; 其次为浙江省的菌株 bbzj, 毒力略逊于菌株 bbbj; 海南省的菌株 bbhn 毒力最弱, 其在试验最高浓度 10^8 个孢子/mL 处理7 d后对草地贪夜蛾3龄幼虫的致死率低于50%。菌株 bbbj 的产孢量远高于另外2株菌株, 并且其菌丝结构上着生大量芽生孢子簇, 而且菌株 bbbj 菌体中的白僵菌素含量最高, 培养5 d后, 分别为菌株 bbzj 和 bbhn 的40.08倍和65.85倍。虽然补充白僵菌素可以提高菌株 bbhn 的毒力, 但是草地贪夜蛾幼虫对白僵菌素敏感度不高。表明球孢白僵菌菌株 bbbj 对草地贪夜蛾幼虫有较高的毒杀活性, 具有作为草地贪夜蛾生防菌株的潜力。

关键词: 草地贪夜蛾; 球孢白僵菌; 杀虫活性; 白僵菌素

Comparison of virulence of three *Beauveria bassiana* strains against fall armyworm *Spodoptera frugiperda*

XU Yudi¹ WEI Hongshuang¹ SHI Jiawei¹ CHEN Honghao^{1,2} SHI Wangpeng¹ TAN Shuqian^{1*}

(1. Department of Entomology and MOA Key Lab of Pest Monitoring and Green Management, College of Plant Protection, China Agricultural University, Beijing 100193, China; 2. Institution of Plant Protection, Academy of Ningxia Agricultural and Forestry Science, Yinchuan 750002, Ningxia Hui Autonomous Region, China)

Abstract: In order to screen microbial preparations for the effective control of fall armyworm *Spodoptera frugiperda*, the virulence of different *Beauveria bassiana* strains (bbbj, bbzj and bbhn) obtained respectively from soil samples from Beijing, Zhejiang and Hainan to the third-instar larvae was measured. The capacities of spore production and synthesis of beauvericin of three strains were compared. The results showed that the strain bbbj isolated from Beijing had the highest virulence with a LC_{50} value of 3.37×10^5 spores/mL, followed by the strain bbzj from Zhejiang, which was slightly less effective than bbbj. The mortality of the third-instar larvae of *S. frugiperda* treated with high concentration (10^8 spores/mL) of bbhn strain from Hainan was lower than 50% in seven days. The spore production of bbbj was much higher than that of the other two strains. In addition, the content of beauvericin in strain bbbj was the highest, which was 40.08 times and 65.85 times of bbzj and bbhn, respectively, after five days of culture. However, although the supplement of beauvericin could improve the virulence of the strain bbhn, the sensitivity of *S. frugiperda* larvae to beauvericin was not high. The results indicated that the *B. bassiana* strain bbbj had high toxicity activity against the larvae of *S. frugiperda* and it had the potential to be used as a biological control strain.

基金项目: 国家重点研发计划(2019YFD0300101)

* 通信作者 (Author for correspondence), E-mail: SQTan@cau.edu.cn

收稿日期: 2020-04-16

Key words: *Spodoptera frugiperda*; *Beauveria bassiana*; insecticidal activity; beauveric

草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* 源于美洲热带和亚热带地区,近几年迅速从美洲散播至非洲、亚洲(Goergen et al., 2016; FAO, 2018),因其极强的环境适应性和迁飞能力,已成为世界性的农业害虫。2019年1月,在我国云南省首次发现后(杨学礼等, 2019),仅1年时间就由南向北扩散至除黑、吉、辽、青、新之外的26个省份(自治区、直辖市)(姜玉英等, 2019)。草地贪夜蛾食性杂,可广泛取食玉米、水稻等粮食作物和花生、甘蔗等经济作物(Montezano et al., 2018),严重威胁我国农业的生产安全。

自监测到草地贪夜蛾入侵我国后,国内研究人员已提出多种防治措施应对草地贪夜蛾的入侵和扩散。为达到快速控制草地贪夜蛾的目的,测定了甲维盐、氯虫苯甲酰胺、阿维菌素和高效氯氰菊酯等多种杀虫剂对草地贪夜蛾的幼虫以及卵的毒杀活性(林玉英等, 2020),并提出了有效杀虫剂田间应用策略(刘好玲等, 2019)。但有国外报道称草地贪夜蛾对多种化学农药产生了抗性(Yu, 1991; Gutiérrez-Moreno et al., 2018)。除此之外,国内植保工作者也提出多种生物防治相关方法,如发掘和利用捕食性天敌(赵雪晴等, 2019)和昆虫病原真菌(郑亚强等, 2019)等生物资源防治草地贪夜蛾。

球孢白僵菌 *Beauveria bassiana* 是一种有效的昆虫病原真菌,被广泛应用于田间害虫防治(Mascarín & Jaronski et al., 2016; Mascarín et al., 2019),但不同株系对同一宿主的毒力存在差异(Mweke et al., 2018; Akutse et al., 2019)。选用高毒力菌株是保证防效的先决条件,而研究造成毒力差异的原因可为菌株筛选提供理论基础。本课题组从北京市、浙江省和海南省3地土壤样品中获得不同球孢白僵菌菌株 bbbj、bbzj 和 bbhn,本研究将测定3株菌株对草地贪夜蛾幼虫的毒杀能力,并通过比较3株白僵菌的产孢能力和白僵菌素含量等指标,分析造成毒力差异的部分原因,筛选出更适用于草地贪夜蛾防治的球孢白僵菌,以期为该虫的生物防治提供备选资源。

1 材料与方法

1.1 材料

供试虫源及菌株:草地贪夜蛾幼虫采集自云南省昆明市富民县玉米田,在光周期 14 L:10 D、温度 27℃、相对湿度 75% 的人工气候箱饲养至第3代,选取3龄幼虫备用。供试菌株分离自北京、浙江和海

南的土壤样本中,命名为 bbbj、bbzj 和 bbhn,均由中国农业大学昆虫行为与绿色防控实验室提供。

供试培养基及人工饲料:马铃薯葡萄糖琼脂(potato dextrose agar, PDA)培养基:马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g、琼脂粉 15 g,蒸馏水定容至 1 000 mL;SDY 液体培养基:蛋白胨 10 g、葡萄糖 10 g、酵母提取物 10 g,用蒸馏水定容至 1 000 mL,121℃高温灭菌 15 min。参考李子园等(2019)方法配制草地贪夜蛾人工饲料备用。

试剂及仪器:白僵菌素,美国 Sigma 公司,其余试剂为国产分析纯。24孔饲养板,美国 Corning Costar 公司;0.45 μm 滤膜,天津市科亿隆实验设备有限公司;SB3200DT 超声波清洗机,宁波新芝生物科技股份有限公司;RXZ-436B 人工气候箱,宁波江南仪器厂;BK6000 光学显微镜,重庆奥特光学仪器有限公司;高压液相 Agilent 1100 系统,美国 Agilent 公司。

1.2 方法

1.2.1 球孢白僵菌的毒力测定

参考 Kaaya et al. (1996) 方法将 100 μL 浓度为 10^7 个/mL 的孢子悬浮液储藏液均匀涂抹在 PDA 培养基上,27℃培养 15 d,将菌体刮下溶于 0.05% Tween 80 中,用无菌脱脂棉滤掉菌丝后,将过滤后的孢子液浓度梯度稀释为 10^8 、 10^7 、 10^6 、 10^5 和 10^4 个/mL,用于毒力测定试验。选取草地贪夜蛾 3 龄幼虫,将虫体逐头浸入不同浓度的球孢白僵菌孢子悬浮液中 20 s,在 24 孔饲养板中饲养,饲养条件为光周期 14 L:10 D、温度 27℃、相对湿度 75%,7 d 后观察死亡情况,用解剖针碰触虫体,虫体无任何反应即为死。每 20 头虫 1 个重复,每浓度重复 3 次,以无菌 0.05% Tween 80 为对照。采用 Polo 统计分析软件进行毒力回归计算,得到毒力回归方程斜率,对草地贪夜蛾的致死中浓度 LC_{50} 及 95% 置信区间。

将 3 株球孢白僵菌菌株接种至 SDY 液体培养基中培养 5、10 和 15 d 后,于 4℃、4 000 r/min 条件下离心 15 min,使用 0.45 μm 滤膜过滤球孢白僵菌培养基上清液,除去上清液中的菌体。将 100 μL 过滤后的菌液均匀涂抹在 PDA 培养基上,27℃培养并观察是否有菌落生长,进一步确认过滤后的菌液有无菌体存在。向人工饲料中添加混匀过滤后的上清液,每克饲料添加 100 μL,常温干燥 2 h,饲喂草地贪夜蛾 3 龄幼虫,每天观察其死亡情况,判断标准同

上,计算死亡率,测定上清液对草地贪夜蛾幼虫的毒力。每10头1个重复,每处理重复3次。以无菌SDY培养基为对照。

1.2.2 球孢白僵菌的显微结构观察及产孢能力测定

分别将3株菌株浓度为 10^5 个/mL的孢子悬浮液均匀涂抹至PDA培养基上,27℃培养3 d,用无菌牙签挑取菌体,溶于适量无菌水中,在光学显微镜下观察产孢结构,观察50个视野,并照相记录。

参考程子路等(2008)方法将3株菌株浓度为 10^5 个/mL的孢子悬浮液均匀涂抹至PDA培养基上,27℃培养15 d,用直径为7 mm的打孔器在培养基上随机打取3个菌饼,溶于0.05% Tween 80中,用超声波破碎附着菌体的培养基,使用血球计数板统计溶液中的孢子数量,每株菌株观察5个视野。重复3次。

将草地贪夜蛾3龄幼虫浸泡于 10^7 个/mL的孢子悬浮液中,20 s后取出,在光周期14 L:10 D、温度27℃、相对湿度75%的条件下饲养15 d后,取未死的虫体称重。用同等体积的无菌水研磨虫体,双层纱布过滤,使用血球计数板统计溶液中的孢子数量,重复3次。

1.2.3 菌体及其上清液中的白僵菌素含量测定

参考龙同(2009)的方法将3株菌株浓度为 10^8 个/mL的孢子悬浮液接种于100 mL SDY培养基中,27℃、150 r/min转速培养,于第5、10和15天分别取样。于4℃下以8 000 r/min离心5 min,分离菌体与上清液。菌体用适量蒸馏水漂洗,于4℃下以8 000 r/min离心5 min,重复2次。将得到的菌体置于55℃烘箱内烘干1 d,称量菌体干重。

向得到的菌体中加入20 mL分析纯甲醇,萃取6 d,萃取液体经过0.45 μm滤膜过滤,使用高压液相Agilent 1100系统检测菌体的白僵菌素含量。用0.45 μm滤膜过滤SDY培养基上清液,除去上清液中的菌体。吸取10 mL上清液,冷冻干燥获得干燥固体。向干燥固体中加入2 mL分析纯甲醇,萃取6 d,萃取液体经过0.45 μm滤膜过滤,使用高压液相Agilent 1100系统检测上清液中的白僵

菌素含量。白僵菌素含量测定色谱条件:流动相为CH₃OH:H₂O=90:10(*V*:*V*),流速为1.0 mL/min,检测器为DAD,检测波长为210 nm,柱温为25℃,C18色谱柱(250 mm×4.6 mm;0.5 μm)。

使用甲醇将白僵菌素稀释为0.62、3.1、6.2、12.4和31 μg/mL。每次进样25 μL,每浓度重复3次。将浓度(*X*)与峰面积(*Y*)进行回归分析,求出回归方程 $Y=aX+b$ 。制得标准曲线,使用标准曲线计算实际样品中的白僵菌素含量。

1.2.4 测定白僵菌素对低毒菌株bbhn毒力的影响

根据1.2.1结果获得低毒力菌株bbhn和高毒力菌株bbbj,以无菌的0.05% Tween 80为对照,设置4个处理:分别为接种菌株bbbj,接种菌株bbhn,饲喂白僵菌素,以及接种菌株bbhn并同时补充白僵菌素。其中补充白僵菌素方法为:对草地贪夜蛾3龄幼虫接种菌株bbhn,方法同1.2.1,接种同时向人工饲料中加入浓度为300 μg/g的白僵菌素。每天记录死亡虫数,记录8 d,测定白僵菌素对低毒菌株毒力的影响。每15头虫1个重复,每处理重复3次。使用GraphPad 5中的Log-rank (Mantel-Cox) test方法分析生存曲线间的差异(Tan et al., 2018)。

1.3 数据分析

使用SPSS 16.0软进行one-way ANOVA分析,采用Turkey法对不同菌株间的产孢量和白僵菌素含量进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 3株球孢白僵菌菌株对草地贪夜蛾的毒杀活性

测定了3株菌株对草地贪夜蛾3龄幼虫的毒力,结果显示,菌株bbbj的毒力最高,LC₅₀最低,为 3.37×10^5 个孢子/mL(表1)。其次为bbzj菌株,毒力略逊于菌株bbbj,LC₅₀为 7.13×10^5 个孢子/mL(表1)。而bbhn菌株在7 d内对3龄草地贪夜蛾幼虫的LC₅₀无法计算(表1),表明3龄幼虫在高浓度(10^8 个孢子/mL)的菌株bbhn处理下,第7天的死亡率没有达到50%。

表1 3株球孢白僵菌菌株对草地贪夜蛾3龄幼虫的毒力

Table 1 The toxicity of three *Beauveria bassiana* strains on the third-instar larvae of *Spodoptera frugiperda*

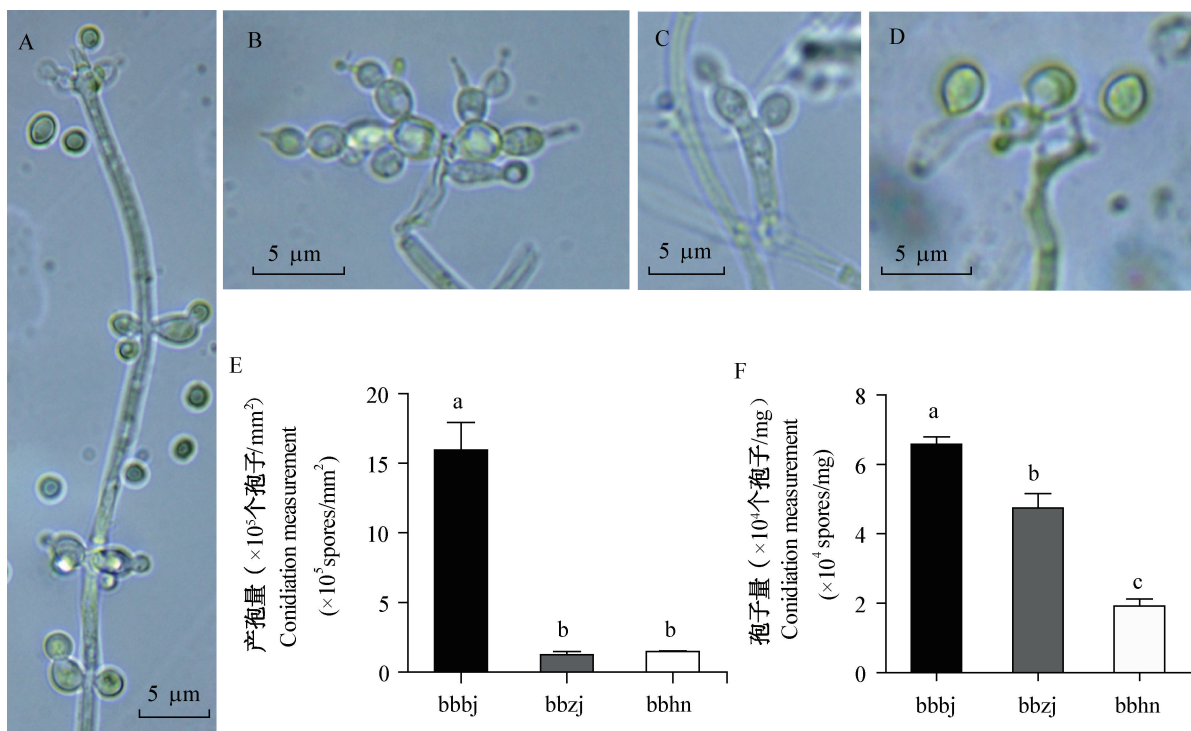
菌株 Strain	时间 Time/d	<i>N</i>	斜率±标准误 Slope±SE	卡方值χ ² Chi-square test χ ²	LC ₅₀ (95% CL) (×10 ⁵ 个孢子/mL)	<i>df</i>
bbbj	7	20	0.61±0.07	14.37	3.37(1.56–6.86)	13
bbzj	7	20	0.53±0.06	16.66	7.13(2.90–0.17)	13
bbhn	7	20	0.36±0.07	10.12	–	13

*N*表示毒力测定所用的虫数。*N* represents the number of tested fall armyworms.

2.2 3株球孢白僵菌菌株的产孢能力

菌株 bbbj 的芽生孢子非常发达,一条菌丝上可着生成多个芽生孢子簇(图 1-A),其余 2 株菌株均未发现此类现象。菌株 bbbj 的产孢结构上着生多条孢子束(图 1-B),相比而言,菌株 bbzj 只有 2 条孢子束(图 1-C)。bbhn 菌株产孢结构与前 2 株菌株有所不同,其孢子都单独着生在一条较长的孢子柄上图(图 1- D)。单位面积产孢量结果显示,

菌株 bbbj 在 PDA 培养基上培养 15 d 时的产孢量远远高于其余 2 株菌株,产孢量达到 1.60×10^6 个孢子/ mm^2 (图 1-E)。接种 15 d 后,草地贪夜蛾 3 龄幼虫体内孢子量测定结果显示,菌株 bbbj 的产孢量最高,为 6.59×10^4 个孢子/mg 虫体;其次为菌株 bbzj,达 4.74×10^4 个孢子/mg 虫体;最低的是菌株 bbhn,为 1.92×10^4 个孢子/mg 虫体(图 1-F),且 3 株菌株的产孢量差异显著(图 1-F)。



A: 菌株 bbbj 芽生孢子着生情况; B~D: 分别为菌株 bbbj、bbzj 和 bbhn 的产孢器; E: 3 株菌株在 PDA 培养基上 15 d 的单位面积产孢量; F: 接种 15 d 后草地贪夜蛾幼虫体内的孢子量。A: The blastospore of bbbj strain; B~D: the conidiophores of bbbj, bbzj and bbhn strains; E: the sporulation quantity of three strains in a unit area of PDA on the 15th day; F: the conidiation measurement in *S. frugiperda* infected post 15 days.

图 1 3株球孢白僵菌的产孢结构和产孢量

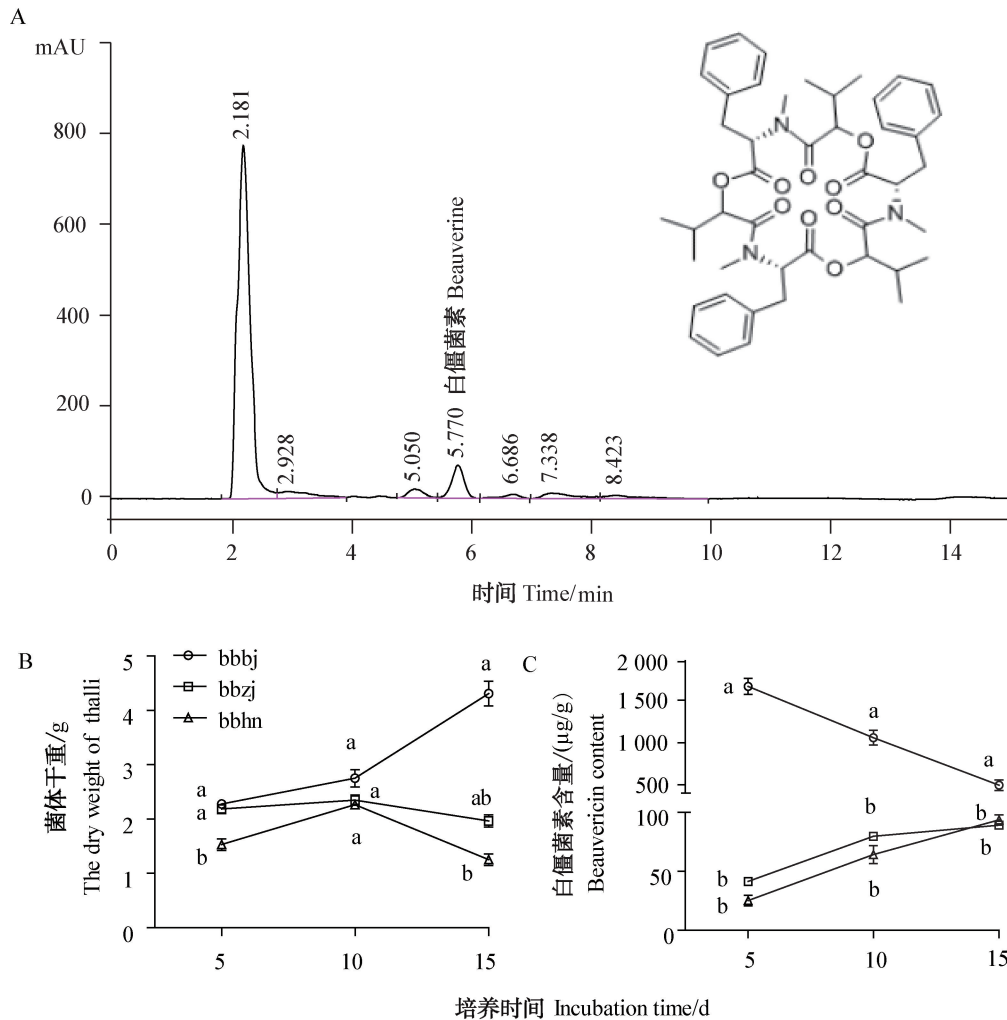
Fig. 1 Conidiation and sporogenous structure of three *Beauveria bassiana* strains

图中数据为平均数 $\pm$ 标准误。柱上不同小写字母表示经 Turkey 法检验在 $P < 0.05$ 水平差异显著。Data are mean $\pm$ SE. Different letters on the bars indicate significant difference at $P < 0.05$ level by Turkey test.

2.3 3株球孢白僵菌菌体的白僵菌素含量

经甲醇萃取 12 h 之后,利用高压液相 Agilent 1100 系统检测甲醇中溶解的白僵菌素,结果显示,白僵菌素的保留时间为 5.77 min(图 2-A)。3 株球孢白僵菌菌体增长量不同,随着培养时间的延长菌株 bbbj 的干重呈上升趋势,菌株 bbzj 和 bbhn 的菌体干重先升后降(图 2-B)。在第 15 天时,菌株 bbbj 的菌体干重达到 4.32 g,分别是菌株 bbzj 和 bbhn 的 2.20 倍和 3.45 倍(图 2-B)。经过计算分析,结果发现

菌株 bbbj 的白僵菌素含量随着培养时间的延长而降低,第 5 天最高,达 1 663.93 $\mu\text{g/g}$ 菌体,第 15 天最低,为 493.44 $\mu\text{g/g}$ 菌体(图 2-C)。而且菌株 bbbj 菌体中白僵菌素的含量在第 5、10 和 15 天均显著高于菌株 bbzj 和 bbhn,其中在第 5 天菌株 bbbj 的白僵菌素含量分别是菌株 bbzj 和 bbhn 的 40.08 倍和 65.85 倍(图 2-C);第 15 天分别是菌株 bbzj 和 bbhn 的 5.54 倍和 5.27 倍(图 2-C)。



A: 甲醇萃取菌体中白僵菌素高效液相色谱图; B: 3株球孢白僵菌在SDY培养基中菌体增长量; C: 3株球孢白僵菌菌体中白僵菌素含量。A: Profiles of HPLC of dry thalli extracted by methanol; B: the weight of dry thalli of three *B. bassiana* strains; C: the beauvericin content in thalli of three *B. bassiana* strains.

图2 3株球孢白僵菌菌株菌体中白僵菌素含量

Fig. 2 Beauvericin contents in the thalli of three *Beauveria bassiana* strains

图中数据为平均值±标准误。不同小写字母表示同时间下不同菌株间经Turkey法检验在 $P<0.05$ 水平差异显著。Data are means±SE. Different letters indicate significant difference among different strains at the same time at $P<0.05$ level by Turkey test.

2.4 菌株培养基上清液对草地贪夜蛾的毒杀活性

菌株bbbj的上清液略显红色,菌株bbzj的上清液次之,菌株bbhn的上清液红色程度最淡(图3-A)。3株菌株上清液中的白僵菌素含量基本处于相近水平,在0.2~0.6 μg/mL范围之内,其中菌株bbbj培养第10天的上清液中白僵菌素含量最低,为0.24 μg/mL(图3-B)。菌株bbzj培养第5天的上清液中白僵菌素含量极低,无法检测到(图3-B)。经3株菌株的上清液处理后,草地贪夜蛾3龄幼虫的死亡率较低,仅为3.33%~16.67%,且不同菌株上清液间的毒力无显著差异(图3-C),说明上清液对草地贪夜蛾的毒力较差。

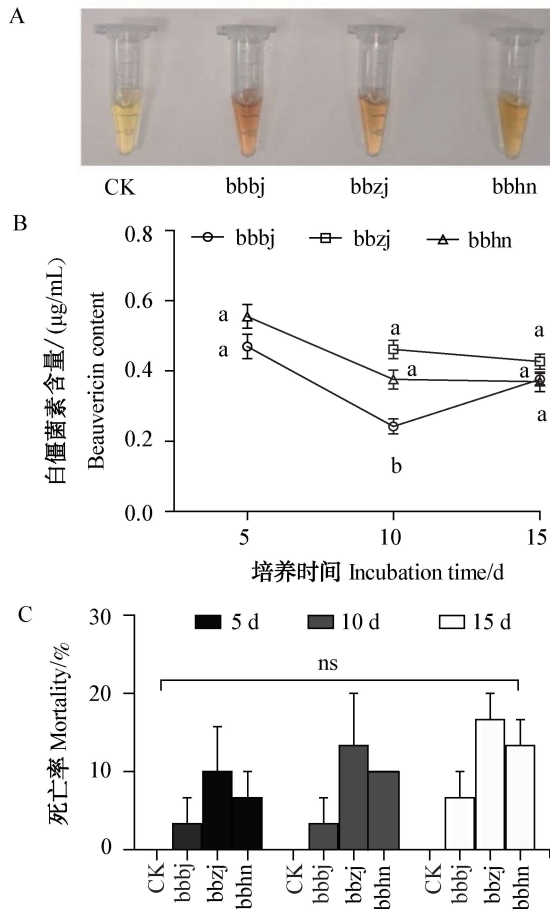
2.5 白僵菌素对低毒菌株bbhn毒力的影响

菌株bbbj在7 d时对3龄草地贪夜蛾幼虫的毒力显著高于菌株bbhn(图4)。白僵菌素对草地贪夜蛾3龄幼虫的毒力较差,处理7 d后死亡率仅为13.33%(图4)。但是,向接种菌株bbhn的草地贪夜蛾幼虫饲喂白僵菌素,显著提升了菌株bbhn的毒力,但其毒力仍依然显著低于菌株bbbj的毒力(图4)。

3 讨论

球孢白僵菌是一种广泛存在于自然界中的昆虫病原真菌,已广泛应用于害虫防治中,在草地贪夜蛾的防治中也有相关报道(Akutse et al., 2019; Cruz-Avalos

et al., 2019)。其中不乏对草地贪夜蛾具有高毒力的球孢白僵菌菌株, Cruz-Avalos et al. (2019)报道菌株Bb9对草地贪夜蛾初孵幼虫的 LC_{50} 为 1.6×10^4 个孢子/mL, 本研究中测定了分离自不同地区的3株球孢白僵菌对3龄草地贪夜蛾幼虫的毒杀效果, 效果最好的是由北京市土壤中分离得到的菌株bbbj, LC_{50} 为 3.37×10^5 个孢子/mL; 分离自浙江省的菌株bbzj次之; 而分离自海南省的菌株bbhn在高浓度处理下, 处理7 d后死亡率仍没有达到50%。以上结果证明菌株之间存在明显的毒力差异。



A: 3株球孢白僵菌培养液上清液; B: 3株球孢白僵菌培养液上清液中的白僵菌素含量; C: 饲喂上清液后草地贪夜蛾3龄幼虫死亡率。A: The supernatant of SDY of three *B. bassiana* strains; B: the beauvericin content in the supernatant of three *B. bassiana* strains; C: the mortality of the 3rd-instar *S. frugiperda* fed with the supernatant.

图3 3株球孢白僵菌代谢物对草地贪夜蛾的毒杀活性

Fig. 3 The lethality of the metabolites of three *Beauveria bassiana* strains on *Spodoptera frugiperda*

图中数据为平均数±标准误。不同字母表示经Turkey法检验在 $P < 0.05$ 水平差异显著。Data are mean±SE. Different letters indicate significant difference at $P < 0.05$ level by Turkey test.

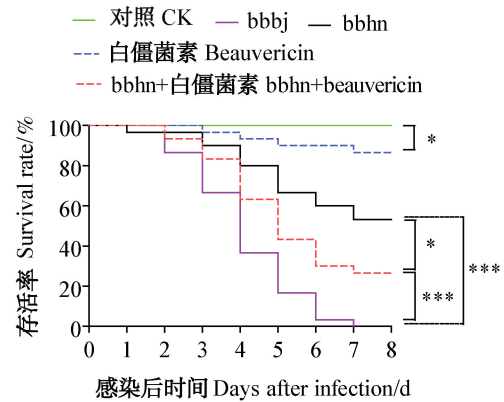


图4 草地贪夜蛾在白僵菌素与球孢白僵菌处理下的生存曲线

Fig. 4 Survival curves of *Spodoptera frugiperda* treated with beauvericin and *Beauveria bassiana*

*和***表示处理之间经Log-rank法检验在 $P < 0.05$ 和 $P < 0.001$ 水平差异显著。* and *** indicate significant difference at $P < 0.05$ and $P < 0.001$ level by Log-rank test.

影响球孢白僵菌杀虫毒力的因素很多, 包括菌株自身结构(Corrêa et al., 2020), 对宿主生物的适应性(Lovera et al., 2020), 以及次生代谢产物的种类和毒性等(Kim & Sung, 2018)。本试验主要从孢子产量和白僵菌素含量2个方面研究造成3株菌株对草地贪夜蛾毒性差异的原因。通过比较3株球孢白僵菌菌株的产孢能力, 发现菌株bbbj单位面积产孢量远远高于其余2株菌株, 并且其在亚致死状态的草地贪夜蛾幼虫体内的孢子数量最多。菌株bbbj产孢量较大, 可能与其结构相关。本研究发现, 菌株bbbj的菌丝上着生大量的芽生孢子簇, 增加了其孢子产量。有报道指出, 芽生孢子对昆虫的毒杀作用优于分生孢子(Corrêa et al., 2020), 这有可能是菌株bbbj对草地贪夜蛾幼虫毒杀效果强于其余2株菌株的重要原因。

球孢白僵菌的次生代谢物质可有效提高其对宿主的毒性, 其中高浓度的白僵菌素可直接导致二班叶螨 *Tetranychus urticae* 死亡, 除此之外白僵菌素可有效抑制二班叶螨卵的孵化率(Khoury et al., 2019)。有研究报道, 白僵菌甲醇提取物中的类白僵菌素、白僵菌素和卵孢霉素等, 均可有效控制草地贪夜蛾虫口数量(Villegas-Mendoza et al., 2019)。本研究结果显示, 在供试的3株菌株中, 菌株bbbj菌体的白僵菌素含量最高, 其次为菌株bbzj, 最低为菌株bbhn, 该顺序与3株菌株对草地贪夜蛾幼虫的毒杀活性顺序相近。进一步的毒力试验证明, 饲喂含有浓度为 $300 \mu\text{g/g}$ 白僵菌素的饲

料,可以致死草地贪夜蛾幼虫,但是效果不佳。可能与试验中观察到的草地贪夜蛾幼虫拒食含有白僵菌素的饲料现象有关,需要从行为学角度进行深入的研究。

球孢白僵菌在培养过程中会形成多种色素如红色、黄色和绿色(Basyouni et al., 1968),并且有些色素已经被证明对烟粉虱 *Bemisia tabaci* 有毒杀活性(Amin et al., 2010)。本研究发现,3株球孢白僵菌在SDY液体培养基中培养时有红色出现,并且程度为bbbj>bbzj>bbhn,其顺序与菌株对草地贪夜蛾幼虫的毒力变化相似。但是,毒力试验结果证明,3株球孢白僵菌的无菌上清液对草地贪夜蛾幼虫的毒力不高,且并无差异,产生这种现象可能与色素或者它他次生物质的浓度相关。下一步工作可以纯化和富集色素等次生物质后,再开展进一步研究。

参 考 文 献 (References)

- AKUTSE KS, KIMEMIA JW, EKESI S, KHAMIS FM, OMBURA OL, SUBRAMANIAN S. 2019. Ovicidal effects of entomopathogenic fungal isolates on the invasive fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Applied Entomology*, 143(6): 626–634
- AMIN GA, YOUSSEF NA, BAZAID S, SALEH WD. 2010. Assessment of insecticidal activity of red pigment produced by the fungus *Beauveria bassiana*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26: 2263–2268
- BASYOUNI SHE, BREWER D, VINING LC. 1968. Pigments of the genus *Beauveria*. *Canadian Journal of Botany*, 46(4): 441–448
- CHENG ZL, GUO LJ, HUANG JS. 2008. The dynamic of population and sporulation of *Metarhizium anisopliae* survived in soil. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 24(7): 365–368 (in Chinese) [程子路, 郭立佳, 黄俊生. 2008. 绿僵菌在土壤中宿存的数量及产孢量变化研究. *中国农学通报*, 24(7): 365–368]
- CORRÊA B, DA SILVEIRA DUARTE V, SILVA DM, MASCARIN GM, JÚNIOR ID. 2020. Comparative analysis of blastospore production and virulence of *Beauveria bassiana* and *Cordyceps fumosorosea* against soybean pests. *BioControl*, 65(7): 323–337
- CRUZ-AVALOS AM, BIVIÁN-HERNÁNDEZ MDLA, IBARRA JE, RINCÓN-CASTRO MCD. 2019. High virulence of Mexican entomopathogenic fungi against fall armyworm, (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology*, 112(1): 99–106
- FAO. 2018. Fall armyworm likely to spread from India to other parts of Asia with South East Asia and South China most at risk. Rome: Food and Agriculture Organization of United Nations
- GOERGEN G, KUMAR PL, SANKUNG L, TOGOLA A, TAMÒ M. 2016. First report of outbreaks of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J E Smith) (Lepidoptera, Noctuidae), a new alien invasive pest in west and central Africa. *PLoS ONE*, 11(10): e0165632
- GUTIÉRREZ-MORENO R, MOTA-SANCHEZ D, BLANCO CA, WHALON ME, TERÁN-SANTOFIMIO H, RODRIGUEZ-MACIEL JC, DIFONZO C. 2018. Field-evolved resistance of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) to synthetic insecticides in Puerto Rico and Mexico. *Journal of Economic Entomology*, 112(2): 792–802
- JIANG YY, LIU J, XIE MC, LI YH, YANG JJ, ZHANG ML, QIU K. 2019. Observation on law of diffusion damage of *Spodoptera frugiperda* in China in 2019. *Plant Protection*, 45(6): 10–19 (in Chinese) [姜玉英, 刘杰, 谢茂昌, 李亚红, 杨俊杰, 张曼丽, 邱坤. 2019. 2019年我国草地贪夜蛾扩散为害规律观测. *植物保护*, 45(6): 10–19]
- KAAYA GP, MWANGI EN, OUNA EA. 1996. Prospects for biological control of livestock ticks, *Rhipicephalus appendiculatus* and *Amblyomma variegatum*, using the entomogenous fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 67(1): 15–20
- KHOURY CA, GUILLOT J, NEMER N. 2019. Lethal activity of beauvericin, a *Beauveria bassiana* mycotoxin, against the two-spotted spider mites, *Tetranychus urticae* Koch. *Journal of Applied Entomology*, 143(9): 974–983
- KIM J, SUNG GH. 2018. Beauvericin synthetase contains a calmodulin binding motif in the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Journal of General & Applied Microbiology*, 64(3): 145–147
- LI ZY, DAI QX, KUANG ZL, LIANG MR, WANG L, LU YY, CHEN KW. 2019. Effects of three artificial diets on development and reproduction of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J. E Smith). *Journal of Environmental Entomology*, 41(6): 1147–1154 (in Chinese) [李子园, 戴钊莹, 邝昭琅, 梁铭荣, 王磊, 陆永跃, 陈科伟. 2019. 3种人工饲料对草地贪夜蛾生长发育及繁殖力的影响. *环境昆虫学报*, 41(6): 1147–1154]
- LIN YY, JIN T, MA GC, WEN HB, XIANG KP, PENG ZQ, YI KX. 2020. Toxicity of 15 insecticides against eggs of fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*). *Plant Protection*, 46(1): 82–86 (in Chinese) [林玉英, 金涛, 马光昌, 温海波, 向凯萍, 彭正强, 易克贤. 2020. 15种杀虫剂对草地贪夜蛾卵的毒力测定. *植物保护*, 46(1): 82–86]
- LIU YL, ZHANG YS, ZHANG S, WANG QQ, RUI CH. 2019. Control efficacy of five ultra-low volume liquid insecticides against *Spodoptera frugiperda* in corn field. *Plant Protection*, 45(5): 102–105 (in Chinese) [刘好玲, 张永生, 张生, 王芹芹, 芮昌辉. 2019. 5种杀虫剂超低容量液剂对玉米田草地贪夜蛾的防治效果. *植物保护*, 45(5): 102–105]
- LONG T. 2009. Study on strains screen, preparation and insecticidal activities of beauvericin on *Spodoptera litura* and *Plutella xylostella*. Ph. D Thesis. Guangzhou: South China Agricultural University

- (in Chinese) [龙同. 2009. 白僵菌素高含量菌株的筛选及其杀虫活性研究. 博士学位论文. 广州: 华南农业大学]
- LOVERA A, BELAICH M, VILLAMIZAR L, PATARROYO MA, BARRERA G. 2020. Enhanced virulence of *Beauveria bassiana* against *Diatraea saccharalis* using a soluble recombinant enzyme with endo- and exochitinase activity. *Biological Control*, 144: 104211
- MASCARIN GM, JARONSKI ST. 2016. The production and uses of *Beauveria bassiana* as a microbial insecticide. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 32: 1–26
- MASCARIN GM, LOPESB RB, DELALIBERA Jr. Í, FERNANDES DE ÉKK, LUZD C, FARIAB M. 2019. Current status and perspectives of fungal entomopathogens used for microbial control of arthropod pests in Brazil. *Journal of Invertebrate Pathology*, 165: 46–53
- MONTEZANO DG, SPECHT A, SOSA-GÓMEZ DR, ROQUE-SPECHT VF, SOUSA-SILVA JC, PAULA-MORAES SV, PETERSON JA, HUNT T. 2018. Host plants of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas. *African Entomology*, 26 (2): 286–300
- MWEKE A, ULRICHS C, NAN P, AKUTSE KS, FIABOE KKM, MANIANIA NK, et al. 2018. Evaluation of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* and *Isaria sp.* for the management of *Aphis craccivora* (Hemiptera: Aphididae). *Journal of Economic Entomology*, 111(4): 1587–1594
- TAN SQ, WANG Y, LIU PP, GE Y, LI AM, XING YJ, HUNTER DM, SHI WP. 2018. Increase of albinistic hosts caused by gut parasites promotes self-transmission. *Frontiers in Microbiology*, 9: 1525
- VILLEGAS-MENDOZA JM, MIRELES-MARTÍNEZ M, RODRÍGUEZCASTILLEJOS G, SANTIAGO-ADAME R, NINFA M. 2019. Evaluación de la toxicidad de un extracto metanólico de *Beauveria bassiana* en larvas de *Spodoptera exigua* y *Spodoptera frugiperda*. *Southwestern Entomologist*, 44(3): 715–722
- YANG XL, LIU YC, LUO MZ, LI Y, WANG WH, WAN F, JIANG H. 2019. The first time that the *Spodoptera frugiperda* was found in Jiangcheng County of Yunnan Province. *Yunnan Agriculture*, 46 (1): 72 (in Chinese) [杨学礼, 刘永昌, 罗茗钟, 李依, 王文辉, 万飞, 姜虹. 2019. 云南省江城首次发现迁入我国西南地区的草地贪夜蛾. 云南农业, 46(1): 72]
- YU SJ. 1991. Insecticide resistance in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 39(1): 84–91
- ZHAO XQ, LIUY, SHI WP, LI XY, WANG Y, YIN YQ, ZHANG HM, CHEN FS, ZHANG HY, LIU XG, et al. 2019. Predatory effect of *Orius sauteri* on *Spodoptera frugiperda* larvae. *Plant Protection*, 45(5): 79–83 (in Chinese) [赵雪晴, 刘莹, 石旺鹏, 李向永, 王燕, 尹艳琼, 张红梅, 陈福寿, 张红艳, 刘小钢, 等. 2019. 东亚小花蝽对草地贪夜蛾幼虫的捕食效应. 植物保护, 45(5): 79–83]
- ZHENG YQ, HU HF, FU YF, JIN XH, ZHANG X, YANG BY, ZHANG ZH, HUANG ML, LI YC, CHEN B, et al. 2019. Isolation and identification of entomopathogenic fungi *Metarhizium rileyi* isolated from *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). *Plant Protection*, 45(5): 65–70 (in Chinese) [郑亚强, 胡惠芬, 付玉飞, 金新华, 张栩, 杨宝云, 张志红, 黄明亮, 李永川, 陈斌, 等. 2019. 草地贪夜蛾莱氏绿僵菌的分离鉴定. 植物保护, 45(5): 65–70]

(责任编辑: 王 璇)