



# 莱氏绿僵菌 MDXZ200803 和 SLSY200714 对草地贪夜蛾幼虫致病性差异的研究

张 栩\*, 温瑞琦\*, 王 广, 陈 斌, 彭跃进\*\*

(云南农业大学植物保护学院, 云南生物资源保护与利用国家重点实验室, 昆明 650201)

**摘要:** 为了研究莱氏绿僵菌 *Metarhizium rileyi* 对草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* 幼虫的致病机制, 本研究在田间草地贪夜蛾幼虫罹病虫体上分离鉴定了两株莱氏绿僵菌 MDXZ200803 和 SLSY200714。采用浸渍法分别测定 5 个孢子浓度 ( $1 \times 10^4$ ~ $1 \times 10^8$  个/mL) 的莱氏绿僵菌对 3 龄和 5 龄草地贪夜蛾幼虫的毒力以及侵染后 3 龄草地贪夜蛾幼虫保护酶 (POD、CAT 和 SOD) 和解毒酶 (GST 和 CarE) 的变化。研究表明, 莱氏绿僵菌菌株 MDXZ200803 侵染草地贪夜蛾 3 龄幼虫 8 d 后,  $1 \times 10^7$  个/mL 和  $1 \times 10^8$  个/mL 孢子浓度的累计校正死亡率均达到 100%, 对 5 龄幼虫的累计死亡率都未达到 100%。莱氏绿僵菌菌株 SLSY200714 侵染草地贪夜蛾 3 龄幼虫 8 d 后, 只有  $1 \times 10^8$  个/mL 孢子浓度的累计死亡率达到 100%, 对 5 龄幼虫的累计死亡率均未达到 100%。莱氏绿僵菌  $1 \times 10^8$  个/mL 孢子悬浮液处理草地贪夜蛾 3 龄幼虫 36 h、48 h、60 h 和 72 h 后, CAT、SOD 和 CarE 的酶活性在处理 36 h 时最高, 随后逐渐下降, 而 POD 和 GST 酶活性在 48 h 时最高, 之后下降。本研究从宿主免疫酶活性变化角度出发, 为揭示莱氏绿僵菌的致病机制提供了一定的理论依据, 同时为草地贪夜蛾的绿色防控奠定了基础。

**关键词:** 莱氏绿僵菌; 草地贪夜蛾幼虫; 毒力; 保护酶; 解毒酶

中图分类号: Q965.9

文献标识码: A

## The pathogenicity difference of *Metarhizium rileyi* MDXZ200803 and SLSY200714 to the larvae of *Spodoptera frugiperda*

ZHANG Xu\*, WEN Rui-Qi\*, WANG Guang, CHEN Bin, PENG Yue-Jing\*\* (College of Plant

基金项目: 云南省自然科学基金面上项目 (202301AT070487); 云南省教育厅科研基金项目 (2023Y0902)

\*共同第一作者: 张栩, 女, 硕士研究生, 研究方向为草地贪夜蛾病原真菌多样性研究, E-mail: zhxv08@163.com; 温瑞琦, 女, 研究方向为草地贪夜蛾病原真菌多样性研究, E-mail: 3278395951@qq.com

\*\*通讯作者 Author for correspondence: 彭跃进, 男, 博士, 讲师, 主要研究方向为昆虫病原真菌学与害虫生物防治, E-mail: 2021053@ynau.edu.cn

收稿日期 Received: 2024-01-06; 修回日期 Revision received: 2024-09-22; 接受日期 Accepted: 2024-09-24

Protection, Yunnan Agricultural University, State Key Laboratory of Yunnan Biological Resources Protection and Utilization, Kunming 650201, China)

**Abstract:** In order to study the pathogenic mechanism of *Metarhizium rileyi* on *Spodoptera frugiperda* larvae, two strains of *M. rileyi* MDXZ200803 and SLSY200714 were isolated and identified from the diseased larvae of *S. frugiperda* in the field. The virulence of *M. rileyi* with five spore concentrations ( $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^8$  conidia/mL) to the 3<sup>rd</sup> and 5<sup>th</sup> instar larvae of *S. frugiperda* and the changes of protective enzymes (POD, CAT and SOD) and detoxification enzymes (GST and CarE) in 3<sup>rd</sup> instar larvae infected by two strains of *M. rileyi* were determined by the impregnation method. The results showed that the cumulative corrected mortality of the 3<sup>rd</sup> instar larvae of *S. frugiperda* was 100% at the concentration of  $1 \times 10^7$  conidia/mL and  $1 \times 10^8$  conidia/mL after 8 days of infection with the strain MDXZ200803, and the cumulative corrected mortality of the 5<sup>th</sup> instar larvae did not reach 100%. *M. rileyi* SLSY200714 infected the 3<sup>rd</sup> instar larvae of *S. frugiperda* for 8 days, only the cumulative corrected mortality at the concentration of  $1 \times 10^8$  conidia / mL reached 100%, and the cumulative corrected mortality for the 5<sup>th</sup> instar larvae did not reach 100%. After 3<sup>rd</sup> instar larvae of *S. frugiperda* were treated with  $1 \times 10^8$  conidia / mL for 36 h, 48 h, 60 h and 72 h, the activities of CAT, SOD and CarE were the highest at 36 h and then decreased gradually, while the activities of POD and GST were the highest at 48 h and then decreased. This study provided a theoretical basis for revealing the pathogenic mechanism of *M. rileyi* from the perspective of host immune enzyme activity changes, and provides ideas for the biological control against *S. frugiperda*.

**Key words:** *Metarhizium rileyi*; *Spodoptera frugiperda* larvae; virulence; protective enzymes; detoxifying enzymes

草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* 隶属于鳞翅目 Lepidoptera 夜蛾科 Noctuidae (Todd and Poole, 1980); 其寄主植物多达 76 科 353 种, 包括玉米 *Zea mays*、水稻 *Oryza sativa*、小麦 *Triticum aestivum* 等三大主粮作物, 目前该害虫已经严重威胁世界多个国家的农业发展 (Montezano *et al.*, 2018), 于 2019 年首次侵入中国云南省普洱市江城县 (杨学礼等, 2019)。

化学防治是草地贪夜蛾应急防控的主要措施, 但长时间使用会导致草地贪夜蛾抗药性增加, 防控难度加大。目前草地贪夜蛾已对有机磷类、氨基甲酸酯类和拟除虫菊酯类化学药剂产生了抗药性 (李强等, 2021; Gui *et al.*, 2022)。昆虫病原真菌的应用作为害虫生物防治的方法之一, 因其对环境友好、易流行、不易产生抗性等特点而被广泛使用 (Mahato and Paikaray, 2021)。研究调查发现, 白僵菌属 *Beauveria* spp. 和绿僵菌属 *Metarhizium* spp. 这两

类虫生真菌不仅对草地贪夜蛾有较好的防治效果，而且对人类健康和环境友好安全。莱氏绿僵菌 *Metarhizium rileyi* 又名莱氏野村菌 *Nomuraea rileyi*，主要侵染鳞翅目夜蛾科的害虫（Fronza *et al.*, 2017），但其对低龄幼虫和高龄幼虫的毒力有明显差异（Pang *et al.*, 2023a, 2023b）。莱氏绿僵菌不仅对草地贪夜蛾幼虫有较好的防治效果（郑亚强等，2019），也对甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua*、斜纹夜蛾 *Spodoptera litura*、棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 等多种农业害虫有较强的致病力（Grijalba *et al.*, 2018），并在适宜条件下可引起田间害虫种群流行病，是一种具有广阔应用前景的虫生真菌（魏雪菲等，2019）。

莱氏绿僵菌的侵染循环过程主要包括粘附、萌发、穿透体壁、体内增殖和分生孢子再传播。莱氏绿僵菌粘附在昆虫体壁后，分生孢子萌发分化形成附着胞穿透体壁侵入昆虫体内；菌丝进入昆虫血腔后大量增殖，导致虫体内生理和代谢紊乱，最终造成昆虫死亡；昆虫死亡后菌体继续增殖穿出体表，在虫体表面产生大量分生孢子，借助气流等外力作用，对其它害虫进行再次感染（Fronza *et al.*, 2017; Wang *et al.*, 2021）。

真菌侵染后，昆虫产生应激响应，体内相关免疫酶的活性会发生显著变化（尹飞等，2016）。这些酶主要包括保护酶类的过氧化物酶（POD）、超氧化物歧化酶（SOD）和过氧化氢酶（CAT）以及解毒酶类的羧酸酯酶（CarE）和谷胱甘肽-S-转移酶（GST）等（蒋晴等，2013）。真菌菌丝侵入昆虫后，会引起虫体内产生一系列包括体内酶活性变化的生理应激反应；之后，随着菌丝的大量繁殖，虫体内保护酶和解毒酶活性迅速下降，引起昆虫的一系列生理病理变化，导致昆虫感病死亡（尹飞等，2016；张珏锋等，2018，韩永强等，2023）。

本研究选用两株毒力相差较大的莱氏绿僵菌菌株，并测定其侵染后草地贪夜蛾 3 龄幼虫相关保护酶和解毒酶的活性变化，分析各处理组之间是否存在显著差异，以期为揭示莱氏绿僵菌的致病机制提供一定的理论依据，也为草地贪夜蛾幼虫的绿色防控提供新思路。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

#### 1.1.1 供试菌株和培养

供试菌株是从弥渡县西庄镇（100°58' N，100°19' E）和石林县蓑衣镇（100°30' N，24°81' E）的草地贪夜蛾罹病虫体中分离纯化得到，并命名为 MDXZ200803 和 SLSY200714。采用平板划线法分离纯化 1~2 次的 MDXZ200803 和 SLSY200714 菌株使用划线法将其接种在 SMAY 培养基（酵母菌粉 10 g，麦芽糖 40 g，蛋白胨 10 g，琼脂 20 g，水 1 000 mL）（庞

继鑫等, 2023)。放于恒温培养箱(温度  $25^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ , 光周期 L : D=16 h : 8 h, 光照强度 3 000 lx) 中进行培养。待充分产孢后, 将其放在  $4^{\circ}\text{C}$  冰箱中, 保存使用。

### 1.1.2 供试虫源

试验所用草地贪夜蛾是在云南农业大学人工气候室内以新鲜玉米叶片饲养 10 代以上得到纯化种群, 玉米叶片种植于人工气候室。初孵幼虫以新鲜玉米叶饲养至化蛹, 羽化后的成虫在养虫笼(长 0.5 m、宽 0.5 m、高 0.5 m, 纱网 120 目) 中饲喂 1% 的蜂蜜水, 并放入盆栽玉米供其产卵。饲养环境为: 在温度  $25^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ , 湿度 75%, L : D=16 h : 8 h 的人工气候饲养箱。

## 1.2 研究方法

### 1.2.1 参试菌株的鉴定及系统发育学研究

#### 1.2.1.1 参试菌株的形态学鉴定

将生长 10 d 莱氏绿僵菌分生孢子制成浓度为  $1\times 10^7$  个/mL 的孢子悬浮液, 取  $1\ \mu\text{L}$  点至 SMAY 和 PDA 培养基上, 7 d 后观察并记录其菌落的直径、颜色、形态、质地及边缘形状等(胡飞等, 2023)。第 5~6 天用针尖挑取菌丝于载玻片上, 滴加无菌水, 在光学显微镜下观察拍照; 第 10 天刮取孢子, 加入到适量无菌水中摇匀, 于光学显微镜下观察其孢子形态和质地(胡飞等, 2023)。

#### 1.2.1.2 参试菌株的分子生物学鉴定

采用 CTAB 法(庞继鑫等, 2023) 提取 MDXZ200803 和 SLSY200714 两株菌株 DNA, 以其 DNA 为模板进行 PCR 扩增, 引物采用 ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') 和 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC'), 引物均由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。取  $5\ \mu\text{L}$  的 PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳检测, 将 PCR 产物送至生工生物公司(上海)股份有限公司测序。25  $\mu\text{L}$  反应体系为: ITS1 和 ITS4 引物各  $1\ \mu\text{L}$ , PCR Mix  $12.5\ \mu\text{L}$ , DNA 模板  $1\ \mu\text{L}$ , ddH<sub>2</sub>O  $9.5\ \mu\text{L}$ 。反应条件为:  $95^{\circ}\text{C}$  预变性 3 min;  $94^{\circ}\text{C}$  变性 1 min;  $55^{\circ}\text{C}$  退火 1 min;  $72^{\circ}\text{C}$  延伸 1.5 min, 35 个循环;  $72^{\circ}\text{C}$  延伸 10 min。把所得序列片段在 Gen Bank 数据库中进行 Blast 比对, 筛选出与目的菌株具有较高同源性的多个菌株相应序列。

#### 1.2.1.3 系统发育分析

将 rDNA-ITS 测序得到的序列片段在 NCBI 网站(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), 通过 BLAST 程序进行比对, 得到了与目的菌株具有同源性的多个菌株相应序列。下载相似性序列的 ITS 区域, 使用 MEGA 7.0 软件, 通过邻接法(Neighbor-Joining method, NJ) 构建系统发育树, 进行系统发育分析(庞继鑫等, 2023)。

### 1.2.2 参试菌株对草地贪夜蛾幼虫的室内毒力测定

孢子悬浮液的配制：利用无菌解剖刀刮取充分产孢后的孢子，加入灭菌后的 0.05% Tween-80 配制成悬浮液。用血球计数板，并通过浓度公式计算确定孢子悬浮浓度，后将其稀释配制成浓度为  $1 \times 10^8$ 、 $1 \times 10^7$ 、 $1 \times 10^6$ 、 $1 \times 10^5$  和  $1 \times 10^4$  个/mL 孢子的悬浮液备用（Pang *et al.*, 2023）。

$$\text{孢子浓度 (个 / mL)} = \frac{n}{80} \times 400 \times 10000 \times \text{稀释倍数 (n 为 80 小格内孢子总数)}$$

采用浸渍法（Pang *et al.*, 2023）将草地贪夜蛾 3 龄和 5 龄幼虫分别浸泡在配制好的不同浓度的孢子悬浮液中 10 s 后取出，用无菌滤纸吸收试虫体表多余水分，放入 12 孔的养虫板中（每孔放入一头虫），放入适量的玉米叶供取食，之后将培养板放于光照培养箱（ $25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 75%、L : D=16 h : 8 h）饲养，每 24 h（每日的 14 点）观察 1 次，并记录死亡虫体数量和死亡时的虫体形态，初步根据死亡虫体的状态来判断死亡原因。发现死亡的虫体僵硬且弯曲呈“C”形或是表面覆盖有白色菌丝物质的死亡虫体，把死亡虫体取出，移至垫有湿润的无菌滤纸的灭菌培养皿中保湿培养，观察培养皿中死亡虫体表面是否有白色菌丝或绿色的分生孢子长出。挑取虫体表面的分生孢子，鉴定是否为莱氏绿僵菌。以无菌 0.05% Tween-80 处理为对照，每个处理 20 头，重复 3 次，观察 8 d。

### 1.2.3 参试菌株处理后草地贪夜蛾幼虫相关酶活测定

#### 1.2.3.1 粗酶液制备

分别用浓度为  $1 \times 10^8$  个/mL 的莱氏绿僵菌 MDXZ200803 和 SLSY200714 的孢子悬浮液处理草地贪夜蛾幼虫，将处理后的 3 龄幼虫加入 1 mL 的生理盐水溶液后研磨为组织匀浆，将组织匀浆于  $4^\circ\text{C}$  和 6 000 r/min 离心 8 min，取上清液作为粗酶液，以无菌 0.05% Tween-80 处理为对照，每个处理做 3 次重复（Pang *et al.*, 2023）。使用南京建成生物 BCA 蛋白浓度确定试剂盒测定总蛋白浓度，用于最后酶活酶活浓度计算。

#### 1.2.3.2 保护酶和解毒酶活性测定

粗酶液用于测定草地贪夜蛾幼虫保护酶和解毒酶的活性。过氧化氢酶（CAT）、过氧化物酶（POD）、超氧化物歧化酶（SOD）、谷胱甘肽-S-转移酶（GST）和羧酸酯酶（CarE）的酶活性采用南京建成生物研制的试剂盒进行测定；具体操作参照 Pang 等（2023）的方法，以无菌 0.05% Tween-80 处理为对照，每个处理做 3 次重复。

### 1.3 数据分析

根据公式计算累计死亡率，采用 SPSS 25.0 软件进行方差分析和回归分析，求出毒力回

归方程，计算致死中时间  $LT_{50}$  和致死中浓度  $LC_{50}$ ；SPSS 25.0 进行单因素方差分析，并采用 Duncan's 进行多重比较。 $P < 0.05$  表示两组之间有显著差异， $P < 0.01$  表示两组之间有极显著差异。采用 GraphPad Prism 7.0 软件作图。

$$\text{累计死亡率 (\%)} = \frac{\text{试虫死亡数}}{\text{试虫总数}} \times 100$$

## 2 结果与分析

### 2.1 两株莱氏绿僵菌的形态学鉴定和分子鉴定结果

#### 2.1.1 形态学鉴定结果

将 2 株菌分别接种至 SMAY 和 PDA 培养基上培养 7 d 后，菌落正面覆有浅绿色的分生孢子粉，质地为绒毛状（图 1-A、C、E、G），菌落背面为淡黄色（图 1-B、D、F、H）。在 SMAY 培养基上，两株菌菌落边缘不规则（图 1-A、B、E、F）；在 PDA 培养基上，两株菌菌落边缘规则呈圆形（图 1-C、D、G、H）。在光学显微镜下观察其分生孢子梗直立，呈穗状，其表面光滑（图 1-I、J、L、M）；分生孢子两端较尖，中间较粗，呈椭圆形，表面光滑无刺（图 1-K、N）。其形态初步鉴定符合绿僵菌的特征。

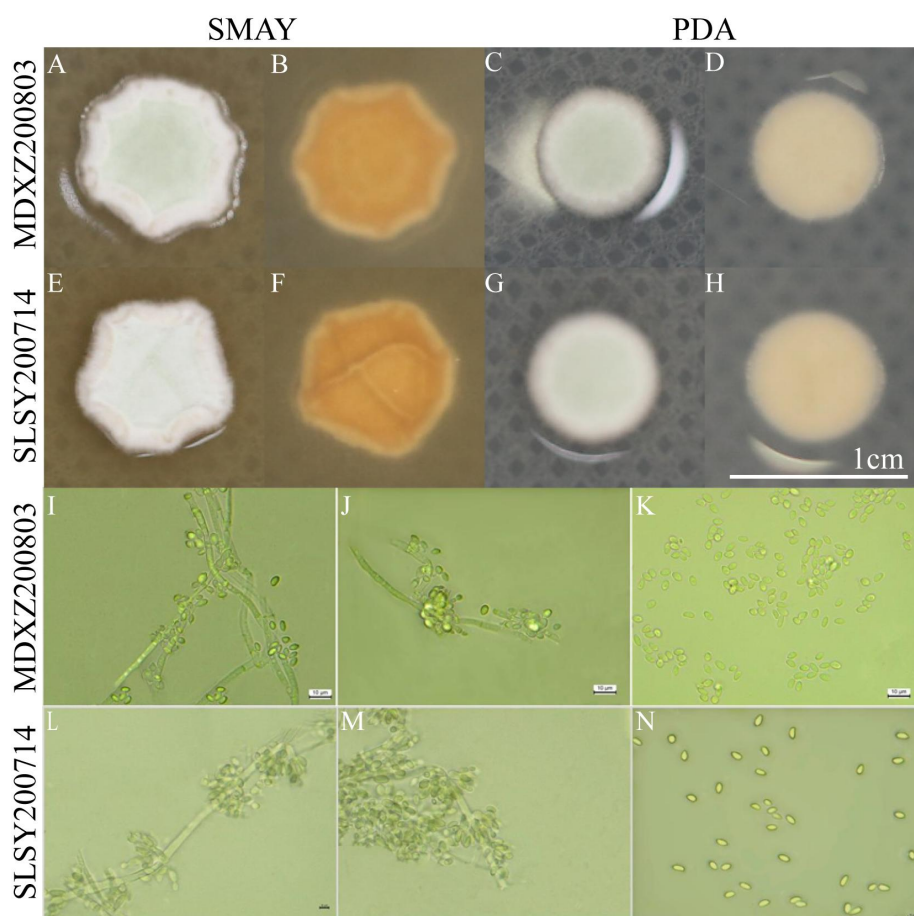


图 1 莱氏绿僵菌 MDXZ200803 和 SLSY200714 形态特征

Fig. 1 Morphological characteristics of *Metarhizium rileyi* MDXZ200803 and SLSY200714

注：A 和 B 为莱氏绿僵菌 MDXZ200803 在 SMAY 培养基正反面形态特征；C 和 D 为莱氏绿僵菌 MDXZ200803 在 PDA 培养基正反面形态特征；E 和 F 为莱氏绿僵菌 SLSY200714 在 SMAY 培养基正反面形态特征；G 和 H 为莱氏绿僵菌 SLSY200714 在 PDA 培养基正反面形态特征；I、J 和 k 为莱氏绿僵菌 MDXZ200803 产孢结构以及分生孢子形态；L、M 和 N 为莱氏绿僵菌 SLSY200714 产孢结构以及分生孢子形态。Note: A and B was the morphological characteristics of *Metarhizium rileyi* MDXZ200803 on the positive and negative sides of SMAY medium, respectively. C and D was the positive and negative morphological characteristics of *Metarhizium rileyi* MDXZ200803 in PDA medium, respectively. E and F was the morphological characteristics of *Metarhizium rileyi* SLSY200714 on the positive and negative sides of SMAY medium, respectively. G and H was the positive and negative morphological characteristics of *Metarhizium rileyi* MDXZ200803 in PDA medium, respectively. I, J and K were the sporulation structure and conidial morphology of *Metarhizium rileyi* SLSY200714; L, M and N were the sporulation structure and conidial morphology of *Metarhizium rileyi* SLSY200714.

### 2.1.2 分子生物学鉴定结果

使用 PCR 扩增目的菌株的 ITS-rDNA 序列片段，在 Gen Bank 数据库中进行 Blast 比对。供试菌株与数据库中莱氏绿僵菌的同源性在 99% 以上。结合形态学特征鉴定和分子生物学鉴定结果可知，这两株供试菌株均为莱氏绿僵菌。

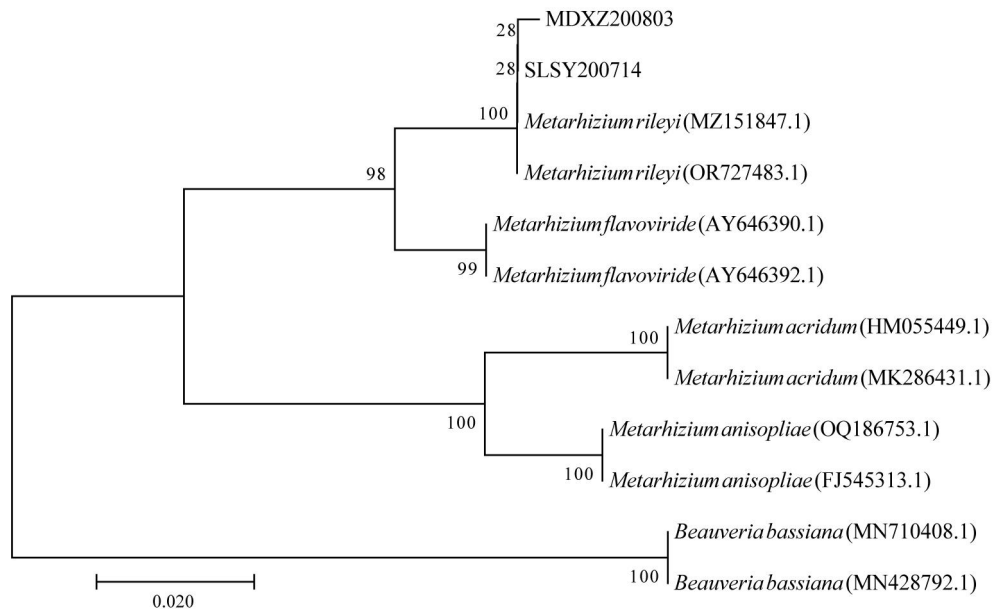


图 2 基于 ITS 基因序列构建目的菌株与其他绿僵菌的系统发育树 (NJ 法)

Fig. 2 Construction of phylogenetic tree of the isolated strain and other related *Metarhizium* strains based on ITS region sequence (Neighbour-Joining method)

### 2.2 两株莱氏绿僵菌对草地贪夜蛾幼虫室内毒力的比较

### 2.2.1 两株莱氏绿僵菌对草地贪夜蛾 3 龄幼虫的毒力测定

莱氏绿僵菌菌株 MDXZ200803 和 SLSY200714 处理的草地贪夜蛾 3 龄幼虫分别在第 2 天和第 3 天开始出现死亡现象，在第 4 天和第 5 天时死亡数量达到高峰。在第 8 天时，MDXZ200803 浓度为  $1.0 \times 10^7$  个/mL 和  $1.0 \times 10^8$  个/mL 处理组的所有供试幼虫均死亡，SLSY200714 仅  $1.0 \times 10^8$  个/mL 处理组的所有供试幼虫均死亡。死亡初期虫身僵硬，虫体弯曲呈“C”状。将僵虫保湿培养后，虫体长出短绒状菌丝，随后菌体在虫体表面产生橄榄绿的分生孢子。

根据莱氏绿僵菌菌株对草地贪夜蛾 3 龄幼虫的毒力随着孢子悬浮液浓度的增加， $LT_{50}$  逐渐缩短。所有浓度孢子悬浮液处理后的幼虫，从第 4 天开始，其累计死亡率增长速率 MDXZ200803 明显高于 SLSY200714。 $1.0 \times 10^7$  个/mL 的菌液处理时，MDXZ200803 的累计死亡率在第 8 天达到 100%，而 SLSY200714 未达到（图 3）。 $1.0 \times 10^7$  个/mL 和  $1.0 \times 10^8$  个/mL 的菌液处理时，MDXZ200803 的  $LT_{50}$  均显著少于 SLSY200714，分别少了 2.86 d 和 2.36 d。 $1.0 \times 10^6$  个/mL 的菌液处理时，MDXZ200803 的  $LT_{50}$  为 5.77 d；但 SLSY200714 的幼虫的死亡率低于 50.0%，无法进行  $LT_{50}$  的估算（表 1）。MDXZ200803 和 SLSY200714 的  $LC_{50}$  分别为  $2.17 \times 10^6$  和  $5.35 \times 10^6$ ，后者的  $LC_{50}$  约为前者的 2 倍（表 2）。经比较分析两株供试菌株对草地贪夜蛾 3 龄幼虫毒力的有关参数得出菌株 MDXZ200803 的毒力高于 SLSY200714 的毒力。

表 1 两株莱氏绿僵菌对 3 龄的草地贪夜蛾幼虫的毒力（8 d）

Table 1 Toxicity of two strains of *Metarhizium rileyi* to 3<sup>rd</sup> instar larvae of *Spodoptera frugiperda*

菌株 strain	孢子浓度 (conidia/mL) Conidia concentrations	毒力方程 Regression equation	相关系数 R Correlation coefficient	致死中时间 (d) $LT_{50}$
MDXZ200803	$1.0 \times 10^4$	$Y = -1.01 + 6.10X$	0.79	-
	$1.0 \times 10^5$	$Y = -1.05 + 6.24X$	0.80	-
	$1.0 \times 10^6$	$Y = -0.33 + 6.23X$	0.86	5.77
	$1.0 \times 10^7$	$Y = -1.17 + 9.97X$	0.92	4.37
	$1.0 \times 10^8$	$Y = 0.25 + 8.65X$	0.98	3.62
SLSY200714	$1.0 \times 10^4$	$Y = -1.27 + 5.54X$	0.67	-
	$1.0 \times 10^5$	$Y = -0.99 + 6.09X$	0.79	-
	$1.0 \times 10^6$	$Y = -0.31 + 5.85X$	0.86	-
	$1.0 \times 10^7$	$Y = -0.57 + 7.08X$	0.91	7.23
	$1.0 \times 10^8$	$Y = -1.06 + 9.41X$	0.92	5.98

注：式中的 Y 是几率值，X 是时间的对数。“-”表示处理后的草地贪夜蛾 3 龄幼虫的死亡率在 8 d 中低于 50.0%，无法对  $LT_{50}$

进行估算。Note: In the formula, Y was the probability value and X was the logarithm of time. The “-” indicated that the final mortality



of the 3<sup>rd</sup> instar larvae of *Spodoptera frugiperda* was less than 50.0 % in 8 d, and the LT<sub>50</sub> could not be estimated.

表 2 两株莱氏绿僵菌对 3 龄的草地贪夜蛾幼虫的 LC<sub>50</sub> (8 d)

Table 2 LC<sub>50</sub> of two strains of *Metarhizium rileyi* to 3<sup>rd</sup> instar larvae of *Spodoptera frugiperda*

菌株 strain	毒力方程 Regression equation	相关系数 R Correlation coefficient	致死中浓度(conidia / mL) LC <sub>50</sub>
MDXZ200803	$Y = 5.17 \times 10^{-7}X + 52.52$	0.45	$2.17 \times 10^6$
SLSY200714	$Y = 6.71 \times 10^{-7}X + 36.09$	0.71	$5.35 \times 10^6$

注：式中的 Y 是几率值，X 是浓度的对数。Note: In the formula, Y was the probability value and X was the logarithm of the concentration.

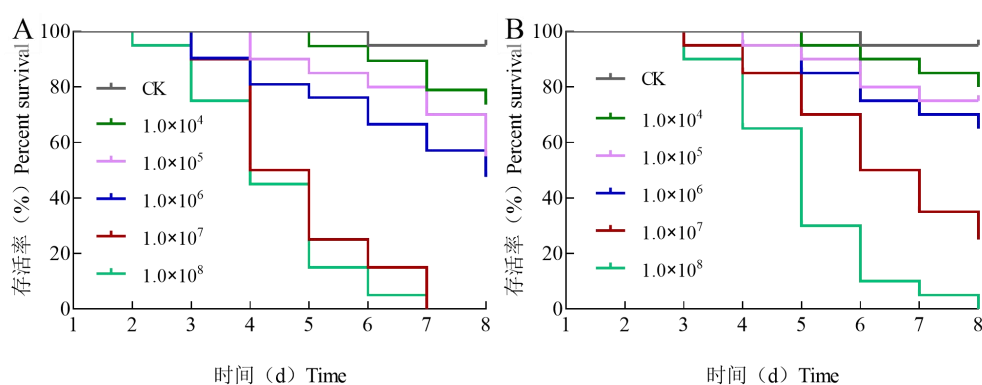


图 3 两株莱氏绿僵菌对的草地贪夜蛾 3 龄幼虫 8 d 累计死亡率

Fig. 3 The 8 days cumulative mortality of the 3<sup>rd</sup> instar larvae of *Spodoptera frugiperda* by two strains of

*Metarhizium rileyi*

注：A, MDXZ200803 菌株；B, SLSY200714 菌株；CK, 0.05% Tween-80。Note: A, MDXZ200803 strain; B, SLSY200714 strain; CK, 0.05% Tween-80.

### 2.2.2 两株莱氏绿僵菌对草地贪夜蛾 5 龄幼虫的毒力测定

莱氏绿僵菌菌株对草地贪夜蛾 5 龄幼虫的毒力结果表明浓度在  $1.0 \times 10^4 \sim 1.0 \times 10^6$  的防治效果较低或几乎没有防治效果。莱氏绿僵菌处理后，MDXZ200803 菌株的孢子悬浮液在浓度为  $1.0 \times 10^5 \sim 1.0 \times 10^8$  个/mL 的累计死亡率均高于 SLSY200714 菌株。MDXZ200803 的孢子悬浮液在浓度为  $1.0 \times 10^7$  个/mL 时累计死亡率超过 50%，而 SLSY200714 仅在浓度为  $1.0 \times 10^8$  个/mL 时，5 龄幼虫累计死亡率才超过 50%。两株菌在 8 d 内累计死亡率均未达到 100% (图 4)。  $1.0 \times 10^8$  个/mL 的菌液处理时，MDXZ200803 的 LT<sub>50</sub> 均明显低于 SLSY200714，低了 1.52 d。  $1.0 \times 10^7$  个/mL 的菌液处理时，MDXZ200803 的 LT<sub>50</sub> 为 4.83 d；但 SLSY200714 的幼虫的死亡率低于 50.0%，无法进行 LT<sub>50</sub> 的估算 (表 3)。MDXZ200803 和 SLSY200714 的 LC<sub>50</sub> 分别为  $1.61 \times 10^6$  和  $9.14 \times 10^6$ ，后者的 LC<sub>50</sub> 约为前者的 5.6 倍 (表 4)。根据 LC<sub>50</sub> 和 LT<sub>50</sub>

说明莱氏绿僵菌 MDXZ200803 的毒力强于 SLSY200714，这与对 3 龄幼虫毒力测定的分析结果相一致。

表 3 两株莱氏绿僵菌对对草地贪夜蛾 5 龄幼虫的毒力 (8 d)

Table 3 Toxicity of two strains of *Metarhizium rileyi* to 3<sup>rd</sup> instar larvae of *Spodoptera frugiperda*

菌株 strain	孢子浓度 (conidia / mL) Conidia concentrations	毒力方程 Regression equation	相关系数 R Correlation coefficient	致死中时间(d) LT <sub>50</sub>
MDXZ200803	1.0×10 <sup>4</sup>	Y=-1.11 + 5.02X	0.65	-
	1.0×10 <sup>5</sup>	Y=-1.17 + 5.22X	0.66	-
	1.0×10 <sup>6</sup>	Y=-1.05 + 6.34X	0.79	-
	1.0×10 <sup>7</sup>	Y=0.95 + 4.94X	0.86	4.83
	1.0×10 <sup>8</sup>	Y=0.83 + 5.52X	0.91	4.21
SLSY200714	1.0×10 <sup>4</sup>	Y=-1.22 + 4.50X	0.52	-
	1.0×10 <sup>5</sup>	Y=-1.27 + 5.54X	0.67	-
	1.0×10 <sup>6</sup>	Y=-0.96 + 5.96X	0.78	-
	1.0×10 <sup>7</sup>	Y=-0.33 + 5.94X	0.86	-
	1.0×10 <sup>8</sup>	Y=-0.49 + 6.48x	0.89	5.73

注：式中 Y 是几率值，X 则是时间的对数。“-” 是表示草地贪夜蛾 5 龄幼虫的最终死亡率在 8 d 中累计低于 50.0%，无法估算

LT<sub>50</sub>。Note: In the formula, Y was the probability value and X was the logarithm of time. The '-' indicated that the final mortality of the

5<sup>th</sup> instar larvae of *Spodoptera frugiperda* was less than 50.0 % in 8 days, and the LT<sub>50</sub> could not be estimated.

表 4 两株莱氏绿僵菌对 5 龄的草地贪夜蛾幼虫的 LC<sub>50</sub> (8 d)

Table 4 LC<sub>50</sub> of two strains of *Metarhizium rileyi* to 5<sup>th</sup> instar larvae of *Spodoptera frugiperda*

菌株 strain	毒力方程 Regression equation	相关系数 R Correlation coefficient	致死中浓度 (conidia / mL) LC <sub>50</sub>
MDXZ200803	Y = 5.43×10 <sup>-7</sup> X + 22.92	0.67	1.61×10 <sup>6</sup>
SLSY200714	Y = 4.85×10 <sup>-7</sup> X + 23.23	0.79	9.14×10 <sup>6</sup>

注：式中的 Y 是几率值，X 是浓度的对数。Note: In the formula, Y was the probability value and X was the logarithm of the

concentration.

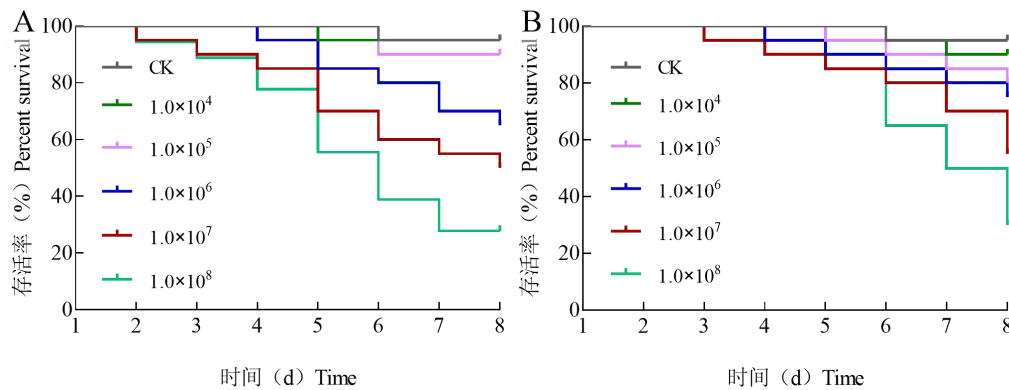


图 4 两株莱氏绿僵菌对草地贪夜蛾 5 龄幼虫 8 d 累计死亡率

Fig. 4 The 8 days cumulative mortality of the 5<sup>th</sup> instar larvae of *Spodoptera frugiperda* by two strains of *Metarhizium rileyi*

注: A, MDXZ200803 菌株; B, SLSY200714 菌株; CK, 0.05% Tween-80。Note: A, MDXZ200803 strain; B, SLSY200714 strain; CK, 0.05% Tween-80.

## 2.3 两株莱氏绿僵菌对草地贪夜蛾 3 龄幼虫的酶活性影响

### 2.3.1 两株莱氏绿僵菌对草地贪夜蛾 3 龄幼虫 3 种保护酶的活性影响

两株莱氏绿僵菌侵染草地贪夜蛾后, 虫体内的 POD 均呈先升后降的趋势, SOD 和 CAT 均呈逐渐下降的趋势。经莱氏绿僵菌 MDXZ200803 和 SLSY200714 处理的草地贪夜蛾 3 龄幼虫体内的 POD 活性在不同的时间段发生较大变化, 处理 60 h 时, 与对照组 POD 活性相比处理组变化不显著。处理 36 h、48 h 和 72 h 时, 两个处理组间差异不显著, 但两个处理组均与对照组 POD 活性差异极显著 ( $F_{2,6}=30.984, P=0.001; F_{2,6}=34.493, P=0.001; F_{2,6}=122.554, P=0.000$ )。在 48 h 达到最大值后, POD 活性开始逐渐下降, 在 72 h 降到最低值, 分别为 15.93 U/mg prot 和 17.37 U/mg prot, 分别为对照组的 0.60 倍和 0.66 倍; 均极显著低于对照组 ( $F_{2,6}=122.554, P=0.000$ ) (图 5-A)。

SOD 活性在 36 h 时酶活性最高, 分别为 14.49 U/mg prot 和 13.63 U/mg prot, 分别为对照组的 1.39 倍和 1.31 倍; 两个处理组间无显著差异, 但均极显著高于对照组 ( $F_{2,6}=42.72, P=0.000$ )。在 36~72 h 间, SOD 活性逐渐下降, 在 72 h 时酶活性最低, 分别为 8.27 U/mg prot 和 9.57 U/mg prot, 分别为对照组的 0.81 倍和 0.93 倍; 两个处理组间差异不显著 ( $F_{2,6}=3.667, P=0.091$ ) (图 5-B)。

莱氏绿僵菌处理后 36~72 h 的草地贪夜蛾幼虫体内的 CAT 活性呈逐渐下降的变化趋势。在 36 h 时, 两个处理组的幼虫体内的 CAT 活性均达到最大值, 分别为 22.57 U/mg prot 和 22.69 U/mg prot, 分别为对照组的 2.14 倍和 1.83 倍, 均极显著高于对照组 ( $F_{2,6}=221.771, P=0.000$ )。在 36~72 h 间两个处理组 CAT 活性逐渐下降, 均在 72 h 时达到最低值, 分别为 13.53 U/mg prot 和 14.51 U/mg prot, 分别为对照组幼虫体内 CAT 活性的 1.07 倍和 1.15 倍, SLSY200714 处理显著高于对照组 ( $F_{2,6}=7.336, P=0.024$ ) (图 5-C)。

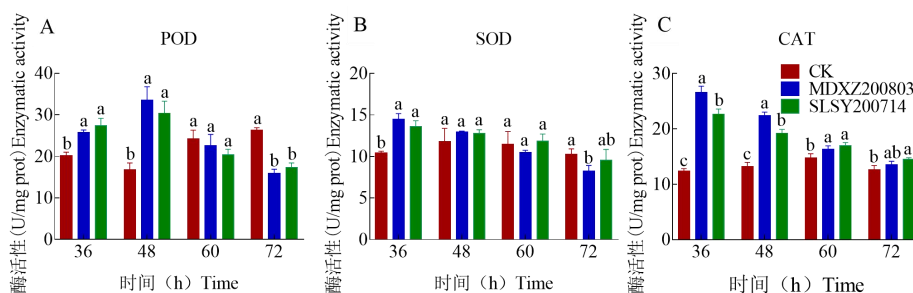


图 5 两株莱氏绿僵菌对草地贪夜蛾 3 龄幼虫保护酶活性的影响

Fig. 5 Effects of two strains of *Metarhizium rileyi* on protective enzyme activities of 3<sup>rd</sup> instar larvae of

*Spodoptera frugiperda*

注：A，POD 的活性变化；B，SOD 的活性变化；C，CAT 的活性变化。统计图的柱上标注的小写字母为不同莱氏绿僵菌处理与对照组的保护酶活性差异的显著性 ( $P < 0.05$ )。Note: A was the change of POD activity; B was the change of SOD activity. C was the change of CAT activity. The lowercase letters marked on the column of the statistical chart are the significance of the difference in detoxification enzyme activity between different *Metarhizium rileyi* treatments and the control group ( $P < 0.05$ ).

### 2.3.2 两株莱氏绿僵菌对草地贪夜蛾 3 龄幼虫 2 种解毒酶活性的影响

研究结果显示，莱氏绿僵菌 MDXZ200803 和 SLSY200714 处理的草地贪夜蛾 3 龄幼虫体内同一时间内的 GST 活性与对照组之间差异显著，且 GST 活性在处理 36-72 h 间呈现先升高后下降的趋势，对照组 GST 活性呈缓慢上升的趋势。GST 酶活在 48 h 时达到其最大值，分别为 65.95 U/mg prot 和 62.66 U/mg prot，分别为对照组的 1.55 倍和 1.47 倍；均极显著高于对照组 ( $F_{2,6}=319.285$ ,  $P=0.000$ )。之后处理组幼虫体内的 GST 活性开始逐渐下降，在 72 h 时达到最低值，最低值分别为 39.56 U/mg prot 和 33.18 U/mg prot，分别为对照组的 0.82 倍和 0.69 倍；极显著低于对照组 ( $F_{2,6}=155.221$ ,  $P=0.000$ ) (图 6-A)。

莱氏绿僵菌 MDXZ200803 和 SLSY200714 处理后的虫体内 CarE 活性均呈逐渐下降的趋势。处理后幼虫体内 CarE 的活性在 36 h 时达到最大值，分别为 2.27 U/mg prot 和 1.93 U/mg prot，分别为对照组的 1.24 倍和 1.05 倍；MDXZ200803 处理极显著高于对照组 ( $F_{2,6}=39.022$ ,  $P=0.000$ )。之后开始逐渐下降，在 72 h 时出现最低值，分别为 0.54 U/mg prot 和 0.61 U/mg prot，分别为对照组的 0.44 倍和 0.49 倍；均极显著低于对照组 ( $F_{2,6}=361.541$ ,  $P=0.000$ ) (图 6-B)。

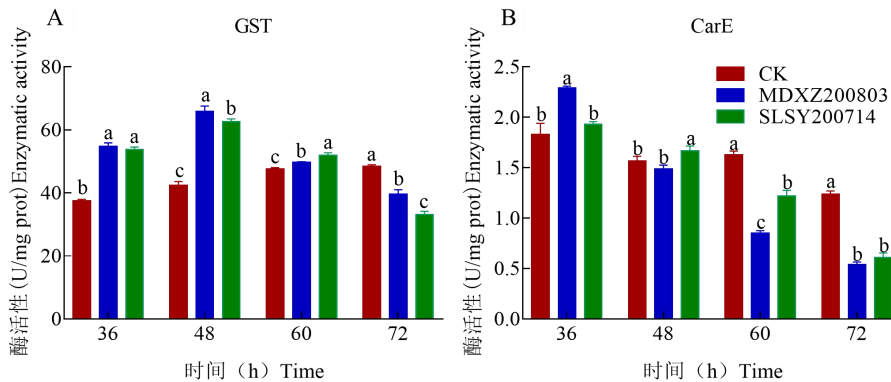


图 6 两株莱氏绿僵菌对草地贪夜蛾 3 龄幼虫解毒酶活性的影响

Fig. 6 Effects of two strains of *Metarhizium rileyi* on the activities of detoxification enzymes in the 3<sup>rd</sup> instar

## larvae of *Spodoptera frugiperda*

注：A，GST 活性变化；B，CarE 活性变化。统计图的柱上标注的小写字母为不同莱氏绿僵菌处理与对照组的解毒酶活性差异的显著性 ( $P<0.05$ )。Note: A was the change of GST activity; B was the change of CarE activity. The lowercase letters marked on the column of the statistical chart are the significance of the difference in detoxification enzyme activity between different *Metarhizium rileyi* treatments and the control group ( $P<0.05$ ).

### 3 结论与讨论

本研究中两株莱氏绿僵菌菌株 MDXZ200803 和 SLSY200714 在高浓度条件下对草地贪夜蛾 3 龄幼虫的累计死亡率在第 8 天时均达到 100%，对 5 龄幼虫的累计死亡率均未达到 100%。莱氏绿僵菌侵染草地贪夜蛾 3 龄幼虫 36 h 后，虫体内 CAT 和 CarE 的酶活性达到峰值，随后逐渐下降，而 POD 和 GST 酶活性在 48 h 后出现类似现象。莱氏绿僵菌在侵染草地贪夜蛾幼虫的过程中，其分生孢子会在 24 h 内萌发并产生侵入钉侵入昆虫体表，然后于 48 h 内在靶标昆虫体内以菌丝体的形式迅速进行增值，同时穿出体壁，再次进行生殖生长，致使其靶标昆虫死亡变为僵虫（雷妍圆，2021）。据研究表明，绿僵菌侵入昆虫体内之后，会激活昆虫的免疫系统，导致存在于昆虫体内的蛋白质、保护酶和解毒酶的分泌增多，浓度发生改变。在外界有毒物质如化学农药的影响下，昆虫的活性氧自由基失去动态平衡，对虫体产生毒害作用，但昆虫自身的保护酶 SOD、POD、CAT 在刺激之下会增加分泌量，增强活性，清除体内过多的活性氧自由基，维持体内自由基的动态平衡，减少外界对虫体的危害（Bashan *et al.*, 2009）。本研究对从罹病的草地贪夜蛾幼虫上分离纯化的两株莱氏绿僵菌对草地贪夜蛾 3 龄和 5 龄幼虫进行室内毒力测定的结果显示，莱氏绿僵菌菌株 MDXZ200803 毒力强于 SLSY200714 的毒力，主要表现在前者的  $LC_{50}$  和  $LT_{50}$  均小于后者（李茂业等，2015）。莱氏绿僵菌对草地贪夜蛾的毒力会随着其龄期的增长而下降与前人研究结果一致（苏锦尧等，2018；赵娅如，2023）。研究表明，该现象与高龄幼虫体内的解毒酶活性较高有关，同时也与幼虫体壁的结构密切相关。因为低龄幼虫的体壁相对于高龄幼虫的较薄，随着龄期的增加，虫体的生长，蜡质层也增厚，且幼虫体壁存在的蜡质层可抵御真菌的侵入，增加了莱氏绿僵菌孢子的侵入难度，导致其毒力降低（代晓彦等，2017）。然而大部分昆虫病原真菌仅对低龄幼虫防控效果好，而对高龄幼虫防效不佳；这不仅与昆虫自身所具备的防御机制有关，也与昆虫病原真菌的侵染机制有关（Pang *et al.*, 2023a, 2023b）。

本研究中 POD 活性是先升高后下降的趋势，可能是莱氏绿僵菌菌丝侵入幼虫体壁，其虫菌体在幼虫体内进行繁殖，分泌的毒素超过虫体防御系统的防御上限，使得幼虫体内的免

疫系统失调，POD 合成受阻（陈学敏等，2020；张琛等，2020）。莱氏绿僵菌处理草地贪夜蛾幼虫体内的 SOD 活性也发生显著变化，可能是幼虫体内虫菌体的大量增殖，导致 OH<sup>-</sup> 的浓度增大，虫体免疫系统合成大量的 SOD；随后大量的孢子在虫体内繁殖破坏防御系统，导致 SOD 活性逐渐下降（蒋晴等，2013；张珏锋等，2018；陈学敏等，2020）。在侵染过后，因为真菌在体内迅速繁殖和其产生的物质刺激了昆虫的免疫系统，所以虫体内合成大量的 CAT 以催化细胞内过氧化氢的分解，以防止其过氧化；在 CAT 活性达到最大值后，因后期虫体体内的活性氧平衡被打破，失去正常的生理机能，CAT 的合成逐渐减少；因此，CAT 的活性逐渐下降直到达到最低值，之后幼虫逐渐死亡（张琛等，2020；李浩等，2021；蔡霓等，2022）。

GST 和 CarE 作为两种昆虫体内重要的解毒酶，在昆虫对内外源有毒物质分解代谢的过程中发挥着不可代替的作用（李长春等，2019）。昆虫体内的 GST 可以通过与有毒物质发生反应，使得外源有毒物质毒性下降，并对外源有毒物质的可溶性有增强作用，从而帮助机体将有毒物质排出体外（Firidin *et al.*, 2009）。CarE 除了把外源有毒物质代谢出体外，还可作为结合蛋白与外源有毒物质结合，阻止其作用于靶标，从而消除或降低外源有毒物质对虫体的毒害作用（Hemingway, 2000）。本研究测定的 GST 酶活性，在 48 h 时酶活性达到最大值，说明莱氏绿僵菌在昆虫体内产生的毒素或次生代谢物质与 GST 发生反应，增加 GST 的分泌以排除和中和更多的有毒物质（张珏锋等，2018；张琛等，2020）。测定的 CarE 在 36 h 后酶活性开始逐渐下降，猜测草地贪夜蛾幼虫分泌的 CarE 作为一种结合蛋白与莱氏绿僵菌产生的有毒物质结合，机体也尽可能较多地分泌 CarE 来与有毒物质结合，从而表现为酶活性升高，36 h 后酶活性下降说明莱氏绿僵菌产生的有毒物质破坏了昆虫机体维持的动态平衡，生命活动受到影响，酶活性开始随着处理时间的延长而逐渐下降直到昆虫死亡（张琛等，2020），具体还需进一步研究证实。

本研究中，在用浓度为  $1 \times 10^8$  个/mL 的莱氏绿僵菌侵染草地贪夜蛾 3 龄幼虫后，SOD、CAT、CarE 的活性随着处理时间的增加呈逐渐下降的趋势，POD、GST 的酶活性呈先升高后降低的趋势，表明莱氏绿僵菌侵染初期草地贪夜蛾幼虫通过调节自身体内各种保护酶和解毒酶的活性来抵御外界真菌；侵染后期莱氏绿僵菌破坏了草地贪夜蛾防御系统，导致保护酶和解毒酶活性下降（张琛等，2020；李浩等，2021；李德伟等，2023）。在用莱氏绿僵菌菌株 MDXZ200803 和 SLSY200714 侵染草地贪夜蛾 3 龄幼虫并测定其体内保护酶和解毒酶的试验中，MDXZ200803 菌株侵染的 3 龄草地贪夜蛾体内的保护酶和解毒酶活性在酶活性上升和下降时的速率均高于毒力较低的 SLSY200714 菌株。这说明 MDXZ200803 菌株对草地

贪夜蛾幼虫体壁的穿透速度更快，对免疫系统的破坏能力更强，进而对虫体机能影响更大。因此，认为莱氏绿僵菌对昆虫的毒力越强，其对昆虫体内保护酶和解毒酶的影响越大。

本研究从毒力测定和免疫酶活性角度对莱氏绿僵菌对草地贪夜蛾幼虫的侵染机制展开分析，初步表征了草地贪夜蛾幼虫在不同毒力大小莱氏绿僵菌的侵染下，体内3种保护酶和2种解毒酶的活性变化趋势，揭示了莱氏绿僵菌致病力强弱可能与其侵染后草地贪夜蛾幼虫体内保护酶和解毒酶活变化相关；为探究莱氏绿僵菌的致病机制提供了一定的理论依据，同时为草地贪夜蛾幼虫的绿色防控提供更多的生防真菌资源。

### 参考文献 (References)

- Bashan N, Kovsan J, Kachko I, *et al.* Positive and negative regulation of insulin signaling by reactive oxygen and nitrogen species [J]. *Physiological Reviews*, 2009, 89 (1): 27-71.
- Cai N, Long XZ, Liu R, *et al.* Virulence and regulating immune-associated enzyme activity and gene expression of a *Beauveria bassiana* strain against red fire ants [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2022, 44 (6): 1517-1527. [蔡霓, 龙秀珍, 刘蓉, 等. 一株白僵菌对红火蚁的毒力及对免疫酶活性与基因表达的影响 [J]. 环境昆虫学报, 2022, 44 (6): 1517-1527]
- Chen XM. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* on *Phauda flammans* (Walker) (Lepidoptera: Phaudidae) [D]. NanNing: Guangxi University Master Thesis, 2021. [陈学敏. 球孢白僵菌 PFBb 对朱红毛斑蛾的致病性研究 [D]. 南宁: 广西大学硕士论文, 2021]
- Dai XY, Li YH, Shen ZL, *et al.* The biocontrol effects of *Beauveria bassiana* and *Isaria fumosorosea* on Asian citrus psyllid [J]. *Journal of South China Agricultural University*, 2017, 38 (1): 63-68. [代晓彦, 李翌菡, 沈祖乐, 等. 球孢白僵菌与玫烟色棒束孢制剂对柑橘木虱的防治 [J]. 华南农业大学学报, 2017, 38 (1): 63-68]
- Firidin B, Bilgener M, Yanar O, *et al.* The effect of nutritional quality of some plant's leaf on the feeding and development of *Hyphantria cunea* (Drury) (Lepidoptera: Arctiidae) [J]. *International Journal of Natural and Engineering Sciences*, 2008, 2 (3): 61-68.
- Fronza E, Specht A, Heinzen H, *et al.* *Metarhizium (Nomuraea) rileyi* as biological control agent [J]. *Biocontrol Science and Technology*, 2017, 27 (11): 1243-1264.
- Grijalba P, Espinel C, Cuartas E, *et al.* *Metarhizium rileyi* biopesticide to control *Spodoptera frugiperda*: Stability and insecticidal activity under glasshouse conditions [J]. *Fungal Biology*, 2018, 122 (11): 1069-1076.
- Gui FR, Lan TM, Zhao Y, *et al.* Genomic and transcriptomic analysis unveils population evolution and development of pesticide resistance in fall armyworm *Spodoptera frugiperda* [J]. *Protein & Cell*, 2022, 13 (7): 513-531.
- Han YQ, Xie MQ, Kou JT, *et al.* Changes in the activities of detoxifying and protective enzymes in *Sogatella furcifera* (Hemiptera: Delphacidae) adults fed on rice plants amended with silicon [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2023, 45 (6): 1625-1632. [韩永强, 谢梅琼, 寇江涛, 等. 取食施硅水稻后白背飞虱体内解毒酶和保护酶活性的变化 [J]. 环境昆虫学报, 2023, 45 (6): 1625-1632]

- Hemingway J. The molecular basis of two contrasting metabolic mechanisms of insecticide resistance [J]. *Insect Biochemistry And Molecular Biology*, 2000, 30 (11): 1009-1015.
- Hu F, Xu TT, Peng H, *et al.* Identification of *Metarhizium rileyi* Mr006 and its pathogenicity to *Spodoptera frugiperda* [J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2024, 40 (1): 44-51. [胡飞, 徐婷婷, 彭辉, 等. 莱氏绿僵菌 Mr006 鉴定及对草地贪夜蛾致病力 [J]. 中国生物防治学报, 2024, 40 (1): 44-51]
- Jiang Q, Su HH, Yang YZ, *et al.* Relationship between midgut proteinases, detoxification enzymes, protective enzymes in insect and the resistance to Bt [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2013, 35 (1): 95-101. [蒋晴, 苏宏华, 杨益众. 昆虫对 Bt 毒素的抗性 与中肠蛋白酶、解毒酶及保护酶系活性的关系 [J]. 环境昆虫学报, 2013, 35 (1): 95-101]
- Lei YY, Guan ZY, Freed S, *et al.* Mode of infection on the cuticle of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) by two entomopathogenic fungi species revealed by scanning electron microscopy [J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2021, 52 (3): 578-588. [雷妍圆, 官昭瑛, Freed S, 等. 2 种昆虫病原真菌对草地贪夜蛾体表侵染模式的扫描电镜观察 [J]. 南方农业学报, 2021, 52 (3): 578-588]
- Li CC, Ning Q, Dai YJ, *et al.* Cloning and expression analysis of glutathione S-transferase gene in *Pardosa pseudoannulata* [J]. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 2019, 35 (5): 1068-1074. [李长春, 宁青, 戴余军, 等. 拟环纹豹蛛谷胱甘肽 S-转移酶基因的克隆及表达分析 [J]. 江苏农业学报, 2019, 35 (5): 1068-1074]
- Li DW, Luo YW, Huang X, *et al.* Effects of high temperature stress on the activities of three enzymes of *Dysmicoccus neobrevipes* Beardsley (Hemiptera: Pseudococcidae) in different geographical populations [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2023, 45 (3): 659-665. [李德伟, 罗亚伟, 黄杏, 等. 高温胁迫对新菠萝灰粉蚧不同地理种群保护酶活性的影响 [J]. 环境昆虫学报, 2023, 45 (3): 659-665]
- Li H, Chen YP, Lu ZH, *et al.* Response comparison of protective and detoxification enzymes in *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) and *Spodoptera litura* (Fabricius) larvae to two insecticides [J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2021, 52 (3): 559-569. [李浩, 陈亚平, 鲁智慧, 等. 草地贪夜蛾和斜纹夜蛾幼虫体内保护酶及解毒酶对 2 种杀虫剂的响应比较 [J]. 南方农业学报, 2021, 52 (3): 559-569]
- Li MY, Chen DX, Li SG, *et al.* Cultural characteristics and virulence of *Metarhizium* spp. to the 2<sup>nd</sup> instar nymphs of *Bemisia tabaci* [J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2015, 31 (1): 71-77. [李茂业, 陈德鑫, 李世广, 等. 绿僵菌对“Q 型”烟粉虱 2 龄若虫的致病性及与毒力关联的培养性状研究 [J]. 中国生物防治学报, 2015, 31 (1): 71-77]
- Li Q, Men XY, Jing C, *et al.* Research progress in emergency prevention and control of *Spodoptera frugiperda* in China [J]. *Plant Protection*, 2021, 47 (6): 21-27. [李强, 门兴元, 景春, 等. 我国草地贪夜蛾应急防控研究进展 [J]. 植物保护, 2021, 47 (6): 21-27]
- Mahato D, Paikaray N. Entomopathogenic fungi: An efficient biological control agent for insects inhabitants management [J]. *Biotica*



- Research Today*, 2021, 3 (7): 595-597.
- Pang JX, Peng YJ, Di T, *et al.* Virulence of *Metarhizium rileyi* is determined by its growth and antioxidant stress and the protective and detoxifying enzymes of *Spodoptera frugiperda* [J]. *Insects*, 2023, 14 (3): 260.
- Pang JX, Xiao GL, Du GZ, *et al.* Isolation, identification and the virulence of *Metarhizium rileyi* from adult of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) [J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2023, 39 (2): 331-339. [庞继鑫, 肖关丽, 杜广祖, 等. 一株罹病草地贪夜蛾成虫莱氏绿僵菌的分离鉴定及其致病力 [J]. *中国生物防治学报*, 2023, 39 (2): 331-339]
- Peng YJ, Wen SH, Wang G, *et al.* Reconstruction of gut bacteria in *Spodoptera frugiperda* infected by *Beauveria bassiana* affects the survival of host pest [J]. *Journal of fungi (Basel, Switzerland)*, 2023, 9 (9): 906.
- Todd EL, Poole RW. Keys and illustrations for the armyworm moths of the noctuid genus *Spodoptera Guenée* from the western hemisphere [J]. *Annals of the Entomological Society of America*, 1980, 73 (6): 722-738.
- Wang L, Wang J, Zhang XF, *et al.* Pathogenicity of *Metarhizium rileyi* against *Spodoptera litura* larvae: Appressorium differentiation, proliferation in hemolymph, immune interaction, and reemergence of mycelium [J]. *Fungal Genetics and Biology*, 2021, 150: 103508.
- Wei XF, Zheng YQ, Chen B, *et al.* A preliminary study on the infection of *Metarhizium rileyi* by *Spodoptera frugiperda* in Kunming area [J]. *Yunnan Agricultural Science and Technology*, 2019, S01: 31-34. [魏雪菲, 郑亚强, 陈斌, 等. 昆明地区草地贪夜蛾感染莱氏绿僵菌研究初报 [J]. *云南农业科技*, 2019, S01: 31-34]
- Yang XL, Liu YC, Luo MZ, *et al.* First discovery of *Spodoptera frugiperda* in southwest China in Jiangcheng County, Yunnan Province [J]. *Yunnan Agriculture*, 2019, 1: 72. [杨学礼, 刘永昌, 罗茗钟, 等. 云南省江城县首次发现迁入我国西南地区的草地贪夜蛾 [J]. *云南农业*, 2019, 1: 72]
- Yin F, Chen HY, Feng X, *et al.* The role of detoxifying enzymes in the resistance of *Plutella xylostella* to spinetoram [J]. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2016, 53 (2): 314-319. [尹飞, 陈焕瑜, 冯夏, 等. 乙基多杀菌素抗性小菜蛾代谢解毒酶活性研究 [J]. *应用昆虫学报*, 2016, 53 (2): 314-319]
- Zhang C, Chen SB, Wu CY, *et al.* Screening of high-virulent *Beauveria bassiana* strains from *Mythimna separata* and its post-infection body [J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2020, 34 (12): 2701-2707. [张琛, 陈思博, 吴晨源, 等. 粘虫高毒力白僵菌菌株筛选及其感菌后虫体内保护酶活性的变化 [J]. *核农学报*, 2020, 34 (12): 2701-2707]
- Zhang JF, Chen JM, Shu JP, *et al.* Physiological effects of *Metarhizium flavoviride* on Brown Planthopper (*Nilaparvata lugens* Stål) [J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2018, 34 (5): 701-707. [张珏锋, 陈建明, 舒金平, 等. 黄绿绿僵菌侵染对褐飞虱部分生理生化指标的影响 [J]. *中国生物防治学报*, 2018, 34 (5): 701-707]
- Zhao YR. Analysis on the Difference of Pathogenicity of *Metarhizium rileyi* EFNL Strain Against *Spodoptera frugiperda* in Different Instars [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2023. [赵娅如. 莱氏绿僵菌 EFNL 菌株对不同龄期草地贪夜蛾致病力

差异分析 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2023]