

杀虫真菌与苏云金芽胞杆菌对草地贪夜蛾的联合室内杀虫活性研究

彭国雄¹, 张淑玲², 张维¹, 夏玉先^{1*}

(1. 重庆大学生命科学学院/重庆大学基因工程研究中心/重庆市杀虫真菌农药工程技术研究中心, 重庆 400030; 2. 重庆谷百奥生物研究院有限公司, 重庆 4041000)

摘要: 草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) 是一种迁飞性重大害虫。为了弄清不同微生物联合使用对草地贪夜蛾的生防潜力, 在室内条件下采用直接喷雾方法, 测定了金龟子绿僵菌 *Metarhizium anisopliae* CQMa421、球孢白僵菌 *Beauveria bassiana* ZJU435 和苏云金芽胞杆菌 (*Bacillus thuringiensis*, Bt) G033A 两两之间对草地贪夜蛾幼虫的室内联合杀虫活性。结果表明: 金龟子绿僵菌 CQMa421 与球孢白僵菌 ZJU435 悬浮液联合接种 10 d 后, 1~3 龄草地贪夜蛾幼虫校正死亡率分别为 65.6%、58.8% 和 35.4%, 都显著高于 CQMa421 和 ZJU435 单剂处理组。CQMa421 与 Bt 联合接种 5 d 后, 2 龄草地贪夜蛾幼虫校正死亡率为 82.6%, 显著高于 CQMa421 (21.1%) 和 Bt (65.5%) 单剂处理; ZJU435 与 Bt 联合接种 5 d 后, 2 龄和 4 龄草地贪夜蛾幼虫校正死亡率为 80.4% 和 68.6%, 显著高于 Bt 和 ZJU435 单剂处理组。上述试验结果表明: 不同杀虫真菌联合使用、杀虫真菌与 Bt 联合使用能有效提高对草地贪夜蛾幼虫的杀虫活性, 为田间利用不同微生物农药有效防控草地贪夜蛾提供了依据。

关键词: 草地贪夜蛾; 金龟子绿僵菌; 球孢白僵菌; 苏云金芽胞杆菌; 杀虫活性

中图分类号: S486; S476.1 文献标识码: A 文章编号: 1005-9261(2019)05-0735-06

Synergistic Effects of Fungal Insecticides and *Bacillus thuringiensis* against *Spodoptera frugiperda* in Laboratory

PENG Guoxiong¹, ZHANG Shuling², ZHANG Wei¹, XIA Yuxian^{1*}

(1. Genetic Engineering Research Center/College of Life Sciences, Chongqing University/Chongqing Engineering Research Center for Fungal Insecticides, Chongqing 400030, China; 2. Chongqing Green-Bio Institute Co., Ltd., Chongqing 404100, China)

Abstract: *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) is a global migratory pest. To evaluate the potential of combined microbial insecticides for control of *S. frugiperda*, the combinations of two microbial pesticides among *Metarhizium anisopliae* CQMa421, *Beauveria bassiana* ZJU435 and *Bacillus thuringiensis* (Bt) G033A were investigated under laboratory conditions. The results showed that the combination of CQMa421-ZJU435 achieved the corrected mortality of 65.6%, 58.8% and 35.4% against the 1st, 2nd and 3rd instar larvae, respectively, significantly higher than that in the treatments with CQMa421 or ZJU435 alone at 10 days post inoculation. Five days post inoculation of CQMa421-Bt, the corrected mortality of the 4th instar larvae was 82.6%, significantly higher than that in the treatment with CQMa421 (21.1%) or G033A (65.5%) alone. Five days post inoculation of ZJU435-Bt, the corrected mortality of the 2nd and 4th instar larvae were 80.4% and 68.6%, significantly higher than that in the treatment with ZJU435 or G033A alone. This indicates that combination of different fungal insecticides with Bt could effectively improve the insecticidal activity against *S. frugiperda* larvae. These results

收稿日期: 2019-09-06

基金项目: 国家重点研发计划 (2017YFD0201208); 重庆市高校创新研究群体 (CXQT19004)

作者简介: 彭国雄, 教授, 博士, E-mail: gxpeng@cqu.edu.cn; *通信作者, 教授, 博士, E-mail: yuxianxiag@cqu.edu.cn.

DOI: 10.16409/j.cnki.2095-039x.2019.05.033

have paved the way for mixed application microbial pesticides for control of *S. frugiperda* in field.

Key words: *Spodoptera frugiperda*; *Metarhizium anisopliae*; *Beauveria bassiana*; *Bacillus thuringiensis*; insecticidal activity

草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) 属鳞翅目夜蛾科, 是联合国粮农组织全球预警的迁飞性农业重大害虫^[1], 可为害玉米、甘蔗、高粱、大豆在内的 186 种重要农作物^[2,3]。草地贪夜蛾原分布于美洲大陆, 存在玉米偏好型和水稻偏好型两个品系^[4]。2019 年 1 月首次在我国云南发现并将其确定为玉米偏好型^[5], 目前已蔓延至我国 20 个省市, 为害玉米^[6], 已严重威胁我国农业及粮食生产安全。

草地贪夜蛾的化学防治历史悠久, 在美洲原生地, 化学农药已有 40 多年的应用历史, 目前仍是防治草地贪夜蛾的主要手段^[7,8]。但由于长期的选择压力, 草地贪夜蛾产生了不同的抗药性种群, 对氨基甲酸酯类、有机磷类、除虫菊酯类农药产生了不同程度抗药性^[9-11]。研究发现, 巴西草地贪夜蛾种群对高效氯氟氰菊酯、毒死蜱、虱螨脲和多杀霉素等均产生了抗性^[12]。为了减少农药使用, 减缓抗药性产生, 寻找安全、高效的可持续控制微生物农药成为草地贪夜蛾防治的重要发展方向。

杀虫真菌是唯一能直接穿透寄主体壁侵染昆虫的病原微生物, 具有资源丰富、安全、可持续控制、害虫不易产生抗药性等优点, 防治农林害虫极具潜力^[13]。其中, 绿僵菌 *Metarhizium* spp. 和白僵菌 *Beauveria* spp. 是目前世界上防治害虫应用较广的杀虫真菌^[14]。苏云金芽胞杆菌 (*Bacillus thuringiensis*, Bt) 是国际市场上用量最高的微生物农药, 目前广泛种植能表达 Bt 的转基因作物防治害虫。研究发现, 多种鳞翅目害虫对 Bt 杀虫蛋白产生抗药性^[15-18]。赵胜园等^[19]测试绿僵菌、白僵菌和 Bt 对草地贪夜蛾的杀虫活性, 表明真菌和 Bt 等昆虫病原微生物对草地贪夜蛾具有防治潜力, 但是它们对草地贪夜蛾幼虫室内杀虫活性仍然较低, 在害虫暴发期难以在田间单独使用。金龟子绿僵菌 *M. anisopliae* CQMa421 可分散油悬浮剂、球孢白僵菌 *B. bassiana* ZJU435 可分散油悬浮剂由重庆聚立信生物工程有限公司生产的广谱杀虫真菌新农药, 其中金龟子绿僵菌 CQMa421 可分散油悬浮剂已在 10 多个作物上登记用于防治鳞翅目等 5 个目的重要害虫 (PD20171744)^[20]。苏云金芽胞杆菌 G033A 粉剂由中国农业科学院植物保护研究所开发, 是我国唯一一个已登记防治鳞翅目、鞘翅目害虫的广谱杀虫工程微生物农药 (PD20171726)^[20-22], 本研究测试了这 3 种微生物农药两两组合后对草地贪夜蛾幼虫的室内联合活性, 为田间利用微生物防治草地贪夜蛾提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

2019 年 6 月在云南省江城宝藏乡玉米地采集草地贪夜蛾幼虫, 并在实验室用玉米叶人工饲养至 F1 代进行试验。饲养温度为 26 °C、相对湿度为 60%~70%、光周期 16L:8D。

1.2 供试药剂

80 亿孢子/g 金龟子绿僵菌 CQMa421 可分散油悬浮剂 (重庆聚立信生物工程有限公司), 100 亿孢子/g 球孢白僵菌可分散油悬浮剂 (重庆聚立信生物工程有限公司); 32000 IU/mg 苏云金杆菌 G033A (武汉科诺生物科技股份有限公司)。

1.3 杀虫真菌对草地贪夜蛾联合杀虫活性

将 80 亿孢子/mL 金龟子绿僵菌 CQMa421 可分散油悬浮剂、100 亿孢子/mL 球孢白僵菌 ZJU435 可分散油悬浮剂分别用无菌水分散, 配制为 2×10^7 孢子/mL 金龟子绿僵菌 CQMa421 悬浮液、 2×10^7 孢子/mL 球孢白僵菌 ZJU435 悬浮液; 将上述两种悬浮液等比例混合配制的混合孢子悬浮液, 浓度均为 1×10^7 孢子/mL。

将草地贪夜蛾 1~4 龄幼虫放入直径为 9 cm 玻璃培养皿中, 在 4~6 °C 冰箱中放置 5 min, 使其活动力降低, 再采用喷雾塔 (Potter, 英国 BURKARD) 将 500 μ L CQMa421、ZJU435 和两者等比例混合的孢子悬浮液分别接种幼虫和新鲜嫩玉米叶; 为防止其相互残杀, 将接种的草地贪夜蛾放入透明带盖的直径为 3 cm, 高为 3 cm 的塑料盒中 (1 只虫/盒), 放置于 26 °C 的房间饲养, 喂食充足的喷药的玉米叶 (3 cm

×3 cm)，每天定时更换新鲜叶片。每处理设 3 次重复，每个重复 15 条幼虫，以清水处理组作为空白对照。连续观察 10 d，记录死亡情况。

1.4 杀虫真菌联合 Bt 对草地贪夜蛾联合杀虫活性

将 32000 IU/mg Bt G033A 用 400 倍无菌水分散，配成 Bt 悬浮液。将上述配制的 2×10^7 孢子/mL 金龟子绿僵菌 CQMa421 悬浮液、 2×10^7 孢子/mL 球孢白僵菌悬浮液分别与 Bt G033A 悬浮液两两等比例混合，配置成杀虫真菌+Bt 悬浮液。

同上准备草地贪夜蛾 2 和 4 龄幼虫、喷雾接种和饲养。每天定时更换新鲜叶片。每处理设 3 次重复，每个重复 15 条幼虫，以清水处理组作为空白对照。连续观察 10 d，记录死亡情况。

1.5 数据统计与分析

试验数据通过方差分析和 Duncan’s 新复极差法检验进行比较，用 DPS 软件进行统计分析^[23]。

2 结果与分析

2.1 杀虫真菌对草地贪夜蛾联合杀虫活性

金龟子绿僵菌 CQMa421 和球孢白僵菌 ZJU435 对草地贪夜蛾低龄幼虫具有杀虫活性，但随着虫龄的增加，杀虫活性逐渐下降。CQMa421 对 3 龄幼虫仍具有杀虫活性，对 4 龄幼虫几乎没有杀虫活性，ZJU435 对 4 龄幼虫仍具有杀虫活性。将 CQMa421 和 ZJU435 等量混合（浓度各减量 50%）后接种 1~3 龄草地贪夜蛾幼虫，杀虫活性也随虫龄增加而减弱，但都具有显著增效作用。接种 10 d 后，1~3 龄草地贪夜蛾幼虫校正死亡率分别为 65.6%、58.8%、35.4%，都显著高于 CQMa421 处理组的 37.9%、26.5%、3.9%和 ZJU435 处理组的 52.9%、43.4%、21.7%。但联合使用对 4 龄幼虫的杀虫活性没有增效作用。可见，金龟子绿僵菌 CQMa421 和球孢白僵菌 ZJU435 联合使用能够显著提高杀虫活性（表 1）。

表 1 金龟子绿僵菌 CQMa421 和球孢白僵菌 ZJU435 对草地贪夜不同龄期幼虫室内联合控制效果
Table 1 Laboratory efficacy of the combined fungal insecticides of *M. anisopliae* CQMa421 and *B. bassiana* ZJU435 against the 1st to 4th instar larva of *S. frugiperda*

龄期 Instar	处理 Treatment	控制效果 Control efficacy (%)			
		3 d	5 d	7 d	10 d
1 龄 1 st instar larvae	CQMa421	10.0±2.0 c	16.7±2.3 c	26.7±3.4 c	37.9±3.6 c
	ZJU435	19.5±2.1 b	37.5±2.7 b	41.5±3.6 b	52.9±4.3 b
	CQMa421+ZJU435	25.5±1.5 a	45.5±2.8 a	50.5±4.3 a	65.6±5.1 a
2 龄 2 nd instar larvae	CQMa421	4.5±0.5 b	15.4±2.1 c	20.3±2.5 c	26.5±2.4 c
	ZJU435	9.2±0.8 a	27.5±1.9 b	37.5±2.7 b	43.4±2.7 b
	CQMa421+ZJU435	7.7±0.9 a	30.5±2.4 a	44.5±2.3 a	58.8±2.8 a
3 龄 3 rd instar larvae	CQMa421	0.0 b	0.0 c	0.0 c	3.9±1.9 c
	ZJU435	4.5±1.2 a	13.9±1.5 b	16.3±3.0 b	21.7±2.2 b
	CQMa421+ZJU435	5.3±1.6 a	19.9±3.3 a	24.3±3.1 a	35.4±2.5 a
4 龄 4 th instar larvae	CQMa421	0.0	0.0	0.0	0.0 b
	ZJU435	0.0	0.0	0.0	7.4±3.8 a
	CQMa421+ZJU435	0.0	0.0	0.0	4.9±5.5 a

注：表中数据为平均值±标准差，相同龄期内的数据后的小写字母表示在 0.05 水平差异显著。
Notes: Data were presented as mean±SD, different lowercase letters between the same instar treatment indicated significant difference at 0.05 level.

2.2 杀虫真菌联合 Bt 对草地贪夜蛾联合杀虫活性

金龟子绿僵菌 CQMa421 与 Bt 等量混合后形成的 CQMa421+Bt 悬浮液（浓度都较单剂降低 50%），喷施接种后，对草地贪夜蛾 2 龄幼虫具有增效作用。其中，接种 5 d 后，CQMa421+Bt 处理组校正死亡率为 82.6%，显著高于 CQMa421 单剂的 21.1%和 Bt 单剂的 65.5%；接种 10 d 后，CQMa421+Bt 处理组校正死亡率分别为 92.3%，显著高于 CQMa421 单剂的 35.2%和 Bt 单剂的 70.3%。但是，CQMa421+Bt 对 4 龄

没有增效作用, 接种 5、10 d 后, CQMa421+Bt 处理组校正死亡率分别为 25.4%和 37.7%, 显著低于 Bt 单剂的 45.7%和 55.5% (表 2)。球孢白僵菌 ZJU435+Bt 悬浮液对草地贪夜蛾 2、4 龄幼虫都具有增效作用。接种 5 d 后, ZJU435+Bt 处理组 2、4 龄幼虫校正死亡率为 80.4%和 68.6%, 分别显著高于 ZJU435 单剂的 27.7%和 0.0%, 也分别显著高于 Bt 单剂的 65.5%和 45.7%; 接种 10 d 后, ZJU435+Bt 处理组校正死亡率为 86.5%和 78.8%, 分别显著高于 ZJU435 单剂的 57.2%和 12.8%, 也分别显著高于 Bt 单剂的 70.3%和 55.5%(表 3)。上述结果表明: 金龟子绿僵菌 CQMa421、球孢白僵菌 ZJU435+Bt 与 Bt 联合使用具有显著的增效作用, 其中, 对于 4 龄幼虫, 球孢白僵菌 ZJU435 与 Bt 联用优于金龟子绿僵菌 CQMa421 与 Bt 联用。

表 2 金龟子绿僵菌 CQMa421 和 Bt 对草地贪夜不同龄期幼虫室内联合控制效果
Table 2 Laboratory efficacy of the combined fungal insecticides of *M. anisopliae* CQMa421 and Bt against the 2nd and 4th instar larva of *S. frugiperda*

龄期 Instar	处理 Treatment	控制效果 Control efficacy (%)			
		3 d	5 d	7 d	10 d
2 龄 2 nd instar larvae	CQMa421	10.7±2.2 c	21.1±6.3 c	22.9±8.1 c	35.2±5.2 c
	Bt	54.7±4.8 b	65.5±5.0 b	66.8±6.1 b	70.3±4.5 b
	CQMa421+Bt	70.9±5.1 a	82.6±6.1 a	88.1±3.7 a	92.3±3.1 a
4 龄 4 th instar larvae	CQMa421	0.0 b	0.0 c	0.0 c	0.0 b
	Bt	20.8±5.3 a	45.7±6.3 a	47.7±6.7 a	55.5±6.6 a
	CQMa421+Bt	13.2±4.8 a	25.5±4.9 b	32.8±7.8 b	37.9±7.1 a

注: 表中数据为平均值±标准差, 相同龄期内的数据后的小写字母表示在 0.05 水平差异显著。
Notes: Data were presented as mean±SD, different lowercase letters between the same instar treatment indicated significant difference at 0.05 level.

表 3 球孢白僵菌 ZJU435 和 Bt 对草地贪夜不同龄期幼虫室内联合控制效果
Table 3 Laboratory efficacy of the combined fungal insecticides of *B. bassiana* ZJU435 and Bt against the 2nd and 4th instar larva of *S. frugiperda*

龄期 Instar	处理 Treatment	控制效果 Control efficacy (%)			
		3 d	5 d	7 d	10 d
2 龄 2 nd instar larvae	ZJU435	14.3±3.9 c	27.0±6.1 c	32.4±6.9 c	57.7±5.3 c
	Bt	54.7±5.8 b	65.5±5.0 b	66.8±6.1 b	70.3±4.5 b
	ZJU435+Bt	68.9±5.2 a	80.4±5.6 a	85.4±4.4 a	86.5±4.6 a
4 龄 4 th instar larvae	ZJU435	0.0 c	0.0 c	0.0 c	12.8±5.0 c
	Bt	20.8±8.3 b	45.7±6.3 b	4.7±6.7 b	55.5±6.6 a
	ZJU435+Bt	60.2±7.8 a	68.6±7.2 a	72.5±5.5 a	78.8±6.2 a

注: 表中数据为平均值±标准差, 相同龄期内的数据后的小写字母表示在 0.05 水平差异显著。
Notes: Data were presented as mean±SD, different lowercase letters between the same instar treatment indicated significant difference at 0.05 level.

3 讨论

减药控害是当今害虫防控的主要方向, 在草地贪夜蛾防治中面临着减少化学杀虫剂使用和克服抗药性的双重压力。为了发掘微生物杀虫剂的潜力, 探索它们在减药控害中的作用, 我们在实验室条件下测定了不同真菌杀虫剂和苏云金芽胞杆菌制剂两两联用的增效作用, 研究结果为充分利用微生物杀虫剂控制害虫奠定了良好基础。

本研究中, 供试的金龟子绿僵菌 CQMa421 和球孢白僵菌 ZJU435 联合接种后, 对草地贪夜蛾 1~3 龄幼虫的杀虫活性具有明显的增效作用, 但其增效机制尚未清楚。杀虫真菌主要通过穿透寄主体壁进入体内, 克服昆虫免疫反应后利用寄主体内的营养、分泌毒素破坏寄主的组织结构, 最终导致了昆虫死亡^[13]。因此, 不同真菌杀虫剂联用增效的原因可能与这两种真菌在寄主体内分泌毒素有关: 白僵菌可以产生白僵菌素、白僵菌交酯、有机酸等^[24], 而绿僵菌产生腐败菌素、去甲基败菌素、破坏菌素^[25]。当多种毒素同时分泌在寄主

昆虫体内时,可能存在一定的协同作用,加快昆虫的致死进程。在实际的应用中,真菌杀虫剂受田间温度的影响,表现出不同杀虫活性。研究表明,球孢白僵菌在 26 °C 条件的各项生物学指标均会达到最高^[26],而汪敏捷等^[27]测定了不同温度条件下绿僵菌对红缘天牛 *Asias halodendri* 幼虫致病力,发现温度为 28 °C 时是绿僵菌感染红缘天牛幼虫的最佳温度,这说明杀虫真菌不同菌株侵染昆虫最适温度存在差异。ZJU435 与 CQMa421 混合后在田间侵染草地贪夜蛾的最适温度范围变宽,可提高田间防效稳定性,这样进一步增加联合增效的作用。

Bt 产生内毒素(即伴孢晶体),使肠道麻痹、内膜破坏,以胃毒作用为主^[28];真菌杀虫剂通过体壁侵入昆虫体内,通过剥夺寄主营养和分泌毒素而致昆虫死亡^[13]。已有研究表明 Bt 联合白僵菌或绿僵菌对家蝇 *Musca domestica*^[29]、棉铃虫 *Helicoverpa armigera*^[30]和翠纹钻夜蛾 *Earias vittella*^[31]等具有显著增效作用,说明 Bt 的胃毒作用和杀虫真菌触杀作用能协同增效。其增效机制研究发现, Bt 能降低昆虫免疫,提高杀虫真菌在昆虫体表的萌发^[32]。本研究中表明,金龟子绿僵菌 CQMa421 与 Bt (G033A) 联合接种,显著增加对草地贪夜蛾幼虫的杀虫活性,进一步证明了之前的结果。本项研究获得的不同微生物杀虫剂增效组合经田间验证后,为草地贪夜蛾防控中减药控害提供了新方法;不同杀虫真菌之间以及它们与 Bt 之间具有明显的联用增效作用,为微生物杀虫剂的研制与应用提供了新的方向。今后需要进一步阐明不同微生物杀虫剂联用增效的分子机制,为微生物杀虫剂的开发与应用提供理论依据。

参 考 文 献

- [1] Sparks A N. A review of the biology of the fall armyworm[J]. Florida Entomology, 1979, 62(2): 82-87.
- [2] Montezano D G, Specht A, Sosa-Gómez D R, *et al.* Host plants of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas[J]. African Entomology, 2018, 26(2): 286-300.
- [3] 姜玉英, 刘杰, 朱晓明. 草地夜蛾我国的发生动态和未来趋势分析[J]. 中国植物保护杂志, 2019, 39(2): 33-35.
- [4] Dumas P, Legeai F, Lemaitre C, *et al.* *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) host-plant variants: two host strains or two distinct species?[J]. Genetica, 2015, 143(3): 305-316.
- [5] 张磊, 靳明辉, 张丹丹, 等. 入侵云南草地贪夜蛾的分子鉴定[J]. 植物保护, 2019, 45(2): 19-24.
- [6] 王磊, 陈科伟, 陆永跃. 我国草地贪夜蛾入侵扩张动态与发生趋势预测[J]. 环境昆虫学报, 2019, 41(4): 683-694.
- [7] Burtet L M, Bernardi O, Melo A A. Managing fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), with Bt maize and insecticides in south Brazil[J]. Pest Management Science, 2017, 73(12): 2569-2577.
- [8] Food and Agriculture Organization of the United Nations. Integrated management of the fall armyworm on maize. A guide for farmer field schools in Africa[R]. 2018. Http://www.Fao.Org/3/i8741en/i8741EN.pdf.
- [9] Yu S J. Insecticide resistance in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith)[J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 1991, 39(1): 84-91.
- [10] Yu S J. Detection and biochemical characterization of insecticide Resistance in fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae)[J]. Journal of Economic Entomology, 1992, 85(3): 675-682.
- [11] Rios-diez J D, Saldamando-benjumea C I. Susceptibility of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) strains from central Colombia to two insecticides, methomyl and lambda-cyhalothrin: a study of the genetic basis of resistance[J]. Journal of Economic Entomology, 2011, 104(5): 1698-1705.
- [12] Zhu Y, Blanco C A, Portilla M, *et al.* Evidence of multiple/cross resistance to Bt and organophosphate insecticides in Puerto Rico population of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*[J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2015, 122: 15-21.
- [13] Clarkson J M, Charnley A K. New insights into them mechanisms of fungal pathogenesis in insects[J]. Trends Microbiology, 1996, 4(5): 197-203.
- [14] de Faria, M R, Wraight, S P. Wraight mycoinsecticides and mycoacaricides: A comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types[J]. Biological Control 2007, 43(3): 237-256.
- [15] McGaughey W H, Whalon M E. Managing insect resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins[J]. Science; 1992, 258(5087): 1451-1455.
- [16] Huang F, Qureshi J A, Head G P, *et al.* Frequency of *Bacillus thuringiensis* Cry1A.105 resistance alleles in field populations of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*, in Louisiana and Florida[J]. Crop Protection, 2016, 83: 83-89
- [17] Li G, Reisig D, Miao J, *et al.* Frequency of Cry1F non-recessive resistance alleles in North Carolina field populations of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)[J]. PLoS ONE, 2016, 11(4): e0154492.

- [18] Chandrasena D I, Signorini A M, Abratti G, *et al.* Characterization of field-evolved resistance to *Bacillus thuringiensis*-derived Cry1F δ -endotoxin in *Spodoptera frugiperda* populations from Argentina[J]. *Pest Management Science*, 2018, 74(3): 746-754.
- [19] 赵胜园, 杨现明, 孙小旭, 等. 常用生物农药对草地夜宵的室内防效[J]. *植物保护*, 2019, 45(3): 21-26.
- [20] 中国农药信息网 (<http://www.chinapesticide.org.cn/hysj/index.jhtml>) 2019.
- [21] Wang G, Zhang J, Song F, *et al.* Engineered *Bacillus thuringiensis* G033A with road insecticidal activity against *Lepidopteran* and *Coleopteran* pests[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2006, 72: 924-930.
- [22] 王广君, 张杰, 宋福平, 等. 苏云金芽胞杆菌工程菌 G033A 及其制备方法[P]. 中国发明专利. (ZL200310100197.8).
- [23] 唐启义, 冯明光. 实用统计分析及其 DPS 数据处理系统[M]. 北京: 科学出版社, 2002.
- [24] 胡丰林, 樊美珍, 李增智. 一种白僵菌代谢产物中生物活性物质的研究 I: 具有清除自由基的活性物质的分离和制备菌物系统[J]. *菌物系统*, 2000, 19(4): 522-528.
- [25] Kershaw M J, Moorhouse E R, Bateman R, *et al.* The role of destruxins in the pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* for three species of insects[J]. *Journal of Invertebrate Pathology*, 1999, 74: 213-223.
- [26] 邝灼彬, 吕利华, 冯夏, 等. 温度及常见农药对球孢白僵菌生物学特性的影响[J]. *华南农业大学学报*, 2005, 26(3): 26-29.
- [27] 汪敏捷, 刘强. 不同温湿度下绿僵菌对红缘天牛幼虫致病力的影响[J]. *环境昆虫学报*, 2014, 36(2): 151-156.
- [28] Faust G M, Abe K, Held G A, *et al.* Evidence for plasmid-associated crystal toxin production in *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*[J]. *Plasmid*, 1983, 9(1): 98-103.
- [29] Mwamburi L A, Laing M D, Miller R. Interaction between *Beauveria bassiana* and *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* for the control of house fly larvae and adults in poultry houses[J]. *Poultry Science*, 2009, 88(4): 2307-2314.
- [30] Wakil W, Ghazanfar M U, Riasat T, *et al.* Effects of interactions among *Metarhizium anisopliae*, *Bacillus thuringiensis* and chlorantraniliprole on the mortality and pupation of six geographically distinct *Helicoverpa armigera* field populations[J]. *Phytoparasitica*, 2013, 41(2): 221-234.
- [31] Ali K, Wakil W, Zia K, *et al.* Control of *Earias vittella* (Lepidoptera: Noctuidae) by *Beauveria bassiana* along with *Bacillus thuringiensis*[J]. *International Journal of Agriculture and Biology*, 2015, 17: 773-778.
- [32] Yaroslavtseva O N, Dubovskiy I M, Khodyrev V P, *et al.* Immunological mechanisms of synergy between fungus *Metarhizium robertsii* and bacteria *Bacillus thuringiensis* ssp. *morrisoni* on Colorado potato beetle larvae[J]. *Journal of Insect Physiology*, 2017, 96(1): 14-20.