

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

张琛¹ 陈思博¹ 吴晨源¹ 张步遥¹ 张瑛² 滕斌^{2,*} 胡本进^{3,*}

(¹安徽农业大学生命科学学院,安徽 合肥 230036;²安徽省农业科学院水稻研究所,安徽 合肥 230031;³安徽省农业科学院植物保护与农产品质量安全研究所,安徽 合肥 230031)

摘要:为获得生物学性状良好且对粘虫具有高毒力的球孢白僵菌菌株,本研究以8株球孢白僵菌(*Beauveria bassiana*)菌株为材料,根据菌株产孢量、萌发率和生长速率差异筛选优势菌株,然后测定优势菌株孢子悬浮液对粘虫3龄幼虫的致死率,以及3龄幼虫感染高毒力白僵菌后体内抗氧化酶和解毒酶活性的变化。结果表明,8株球孢白僵菌菌株生长特性各项指标均存在显著差异,菌株Bb314、Bb345、Bb412和Bb378的生长速率、产孢量和孢子萌发率高于其他4个菌株。菌株Bb314孢子悬浮液对粘虫3龄幼虫致死率最高,达69%。Bb314侵染粘虫后,感染前期虫体酚氧化酶(PO)和过氧化物酶(POD)活性显著提高,于36 h达峰值;过氧化氢酶(CAT)活性在感染初期(24 h)时低于对照,处理48 h后达到峰值,并显著高于对照;谷胱甘肽-S-转移酶(GSTs)和羧酸酯酶(CarE)活性分别在处理36 h和48 h后达到高峰,并显著高于对照。以上结果表明,菌株Bb314可能通过影响粘虫幼体内抗氧化酶和解毒酶活性的动态平衡,进而影响其生理代谢。本研究为开发粘虫生防菌的潜力菌株提供了参考。

关键词:粘虫;球孢白僵菌;抗氧化酶;解毒酶

DOI:10.11869/j.issn.100-8551.2020.12.2701

粘虫是一种严重威胁我国粮食生产安全的重大生物灾害,是我国玉米、小麦和水稻常见害虫之一,具有危害范围广、发生时间长、受害作物种类多等特点^[1-2]。自上世纪90年代,我国局部地区粘虫危害一直持续,直至2012年发生了全国性粘虫灾害大爆发^[3]。目前,利用毒死蜱、吡虫啉、溴氰菊酯等化学农药进行防治是最常用的粘虫治理方式,然而大量使用化学农药不仅会造成环境污染,增强害虫的抗药性,还会产生杀伤天敌等有益生物的负面效果^[4-5]。球孢白僵菌(*Beauveria bassiana*)属于昆虫病原真菌,对环境友好,已被广泛应用于防治森林害虫和农业害虫^[6]。目前在松毛虫(*Dendrolimus* spp.)、玉米螟(*Ostrinia palustralis*)和茶小绿叶蝉(*Empoasca flavescens*)等害虫

防治方面均取得了成功^[7],并且研究工作已从表观病理学、流行病学层次,逐步深入到真菌与害虫互作的细胞和分子水平,表明球孢白僵菌作为安全环保的新型绿色生物农药,具有巨大的发展潜力和实际应用价值^[8-9]。然而作为杀虫真菌,球孢白僵菌在生产实际应用中仍存在菌株防治效果不稳定,杀虫活性缓慢,以及自身抗逆性较差等缺点,因此在生产实践中选择高效菌株进行生物防治,是保证真菌农药大规模应用的关键因素之一。

昆虫的生命活动过程中,在遭遇如杀虫剂、微生物侵染、紫外线、重金属、热胁迫等自然界各种不良因素时,虫体会产生应激响应,体内保护性的抗氧化酶和解毒酶的活性会发生显著变化^[10]。这些保护性的抗氧

收稿日期:2020-03-18 接受日期:2020-05-26

基金项目:安徽省科技重大专项(18030701175),安徽省重点研究与开发计划项目(201904a06020016),安徽省大学生创新创业训练计划项目(201810364127)

作者简介:张琛,男,副教授,主要从事微生物酶学研究。E-mail:swzzc@126.com

* 通讯作者:滕斌,男,副研究员,主要从事水稻分子育种研究。E-mail:ricebreeder@163.com;

胡本进,男,副研究员,主要从事农业害虫防治研究。E-mail:hubenjin@163.com。同为通讯作者。

化酶主要包括应对活性氧损伤的过氧化物酶(peroxidase, POD)、过氧化氢酶(catalase, CAT) 以及参与昆虫免疫反应的酚氧化酶(phenoloxidase, PO), 解毒酶则主要包括分解有害物的羧酸酯酶(carboxylesterase, CarE) 和谷胱甘肽-S-转移酶(glutathione S-transferase, GSTs)^[11-12]。与大多数昆虫病原真菌一样, 球孢白僵菌菌丝入侵寄主后, 也会引起寄主细胞产生一系列的生理应激反应, 包括细胞代谢酶活性的变化。然而目前有关利用球孢白僵菌作为生防菌防治粘虫及其作用机制的研究鲜见报道。本研究拟通过评价不同球孢白僵菌菌株的生物学性状以及对粘虫的致死率, 筛选高效生防菌株, 并研究粘虫幼虫受球孢白僵菌感染后体内抗氧化酶和解毒酶的活力变化, 以期揭示酶活力变化在粘虫防御反应中的作用, 为合理利用球孢白僵菌防治粘虫提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

8 株球孢白僵菌菌株和粘虫 3 龄幼虫由安徽省农业科学院植物保护与农产品质量安全研究所提供。

1.2 不同菌株的生长速率、产孢量、孢子萌发率及致死率测定

参照张龙娃等^[13]的方法, 在培养 6 d 的球孢白僵菌菌落边缘, 采用直径为 0.5 cm 的打孔器, 取菌丝块接种于萨氏培养基(sabouraud medium, SDAY), 置于 25℃ 培养箱中培养, 重复处理 3 组, 培养 12 d, 交叉法测量菌落生长直径, 并计算菌落生长速率(mm·d⁻¹)。采用直径为 0.5 cm 的打孔器获取培养 12 d 的菌丝块, 加入到含有 0.05% 吐温-80 的无菌水中, 充分振荡使孢子分散均匀, 用血球计数板测定孢子数量。用无菌水收集白僵菌孢子, 制成 1×10⁷ 个·mL⁻¹ 孢子悬浮液, 25℃ 振荡培养 24 h 后, 显微观察孢子萌发数并统计萌发率。每菌株 3 次重复。

选择生物学性状表现良好的菌株, 于 25℃ 培养箱中培养, 采集孢子粉, 溶于含有 0.05% 吐温-80 的灭菌蒸馏水中, 制备浓度为 1×10⁸ 个·mL⁻¹ 的孢子悬浮液。在供试粘虫 3 龄幼虫上方喷撒菌株孢子悬浮液, 喷撒量为 1 mL, 对照组(CK) 则用含 0.05% 的吐温-80 无菌水处理。处理后立即将单头粘虫幼虫放入指形管中饲养, 粘虫饲料配方: 麦胚粉 20.00 g、玉米叶粉 20.00 g、白砂糖 2.50 g、琼脂 6.25 g、酵母粉 6.25 g、Vc 1.00 g 和水 100 mL。每菌株处理 12 头幼

虫, 重复 3 次。上述试验连续观察 10 d, 统计各处理组的死亡幼虫数。以 Abbott 公式计算校正死亡率, 校正死亡率= (处理死亡率-对照死亡率)/(1-对照死亡率)×100%。

1.3 粘虫幼虫保护酶及解毒酶的测定

球孢白僵菌孢子悬浮液的制备及幼虫感染处理同 1.2 方法, 共设 24、36、48、60 和 72 h 的感染时长处理。菌株感染处理后的 3 龄幼虫样品, 分别加入 0.05 mol·L⁻¹ pH 值 7.0 的磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffer saline, PBS), 经研磨后, 匀浆液于 4℃ 10 000 r·min⁻¹ 离心 15 min, 取上清液用于酶活测定。CAT、POD、PO 和 GSTs 活性采用南京建成生物研制的试剂盒测定。CarE 活性测定参照金剑雪等^[14]的方法, 反应液含 0.5 mL 酶液, 分别加入 0.2 mL 0.04 mol·L⁻¹ 的 PBS (pH 值 7.0)、0.83 mL 0.03 mmol·L⁻¹ 的 α-乙酸萘酯(含 0.000 1 mol·L⁻¹ 毒扁豆碱液 0.03 mL), 在 37℃ 水浴中震荡 30 min, 加入 0.5 mL 显色剂。室温下放置 30 min 于 600 nm 波长处测定 OD 值。重复 3 次, 根据 α-萘酚标准曲线方程求出酶促生成的萘酚量。

1.4 数据分析

采用 SPSS 18.0 统计软件对试验数据进行方差分析, 采用 Origin 17.0 软件作图。

2 结果与分析

2.1 不同菌株的生长速率、产孢量及孢子萌发率

由表 1 可知, 菌株 Bb345、Bb314、Bb378、Bb371 生长速率较快, 优于其他菌株, 其中菌株 Bb345 的生长速率最大, 达到 2.70 mm·d⁻¹, 菌株 Bb378、Bb371 和 Bb314 的生长速率分别为 2.58、2.56 和 2.53 mm·d⁻¹。产孢量最多的菌株是 Bb378, 孢子量为 20.44 ×10⁷ 个·mL⁻¹, 菌株 Bb314 的产孢量次之, 达 18.32 ×10⁷ 个·mL⁻¹。菌株 Bb314、Bb345、Bb378 和 Bb371 的孢子萌发率高于其他菌株, 其中菌株 Bb314 的萌发率最高, 达 96.12%。

2.2 不同菌株对粘虫幼虫的致死率

根据生长速率、产孢量、萌发率数据结果, 选用菌株 Bb314、Bb378、Bb371 和 Bb345 进行感染幼虫致死率试验。从校正死亡率结果可知, 菌株 Bb314 对粘虫幼虫表现出最强的致病力, 致死率高达 69.18% (图 1)。因此, 选用菌株 Bb314 做进一步侵染粘虫幼虫试验, 研究该菌株侵染对虫体内保护性酶和解毒酶活性的影响。

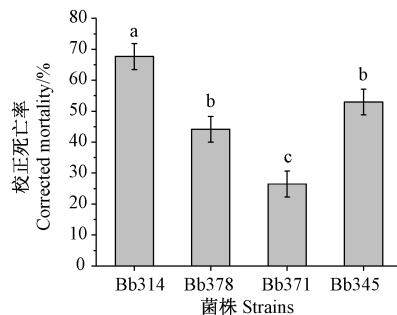
表 1 供试球孢白僵菌菌株的生长速率、产孢量及孢子萌发率

Table 1 Growth rates, sporulation quantity, and spore germination rates of tested *B. bassiana* strains

菌株 Strain	生长速率 Growth rate /(mm·d ⁻¹)	产孢量 Sporulation quantity /(1×10 ⁷ ·mL ⁻¹)	萌发率 Germination rate/%
Bb314	2.53±0.14abc	18.32±0.67b	96.12±4.70a
Bb327	2.33±0.10cd	5.66±0.71g	83.2±4.55c
Bb345	2.70±0.11a	15.23±0.43cd	94.67±5.19ab
Bb371	2.56±0.09abc	16.45±0.74c	91.18±6.44abc
Bb378	2.58±0.11ab	20.44±0.94a	87.71±7.87abc
Bb408	2.38±0.16cd	7.68±0.50f	82.36±5.51c
Bb410	2.29±0.14d	11.26±0.93e	84.55±6.18bc
Bb412	2.45±0.09bcd	15.05±0.65d	84.60±5.55bc

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

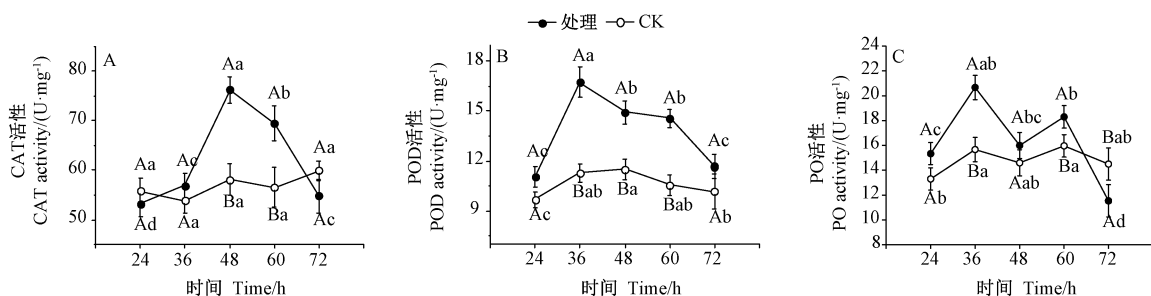
Note: Data in the same column followed by different lowercase letters represented significant difference at 0.05 level.



注:不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

Note: Different lowercase letters represent significant difference at 0.05 level.

图 1 不同球孢白僵菌菌株对粘虫 3 龄幼虫的致死率

Fig.1 Lethality rates of the 3rd larvae of armyworm infected with different strains of *B. bassiana*

注:不同大写字母表示同一时间下,对照与处理组间酶活性差异显著($P<0.01$)。

不同小写字母表示不同时间处理间酶活性差异显著($P<0.05$)。下同。

Note: Different capital letters indicates significant difference between the control and treatment group at the same time ($P<0.01$).

Different lowercase letters indicates significant differences between different treatments of infection time ($P<0.05$). The same as following.

图 2 球孢白僵菌 Bb314 对粘虫幼虫 CAT (A), POD (B) 和 PO (C) 活性的影响

Fig.2 Changes in enzyme activities of CAT (A), POD (B) and PO (C) in armyworm larvae infected with the *B. bassiana* strain Bb314

2.3 球孢白僵菌 Bb314 侵染对粘虫体内抗氧化酶活性的影响

菌株 Bb314 侵染粘虫后,虫体内 CAT 活性的变化如图 2-A 所示。结果表明,处理组 CAT 活性在侵染 24 h 时低于 CK,在侵染 36~48 h 时迅速升高, CAT 活性峰值出现在侵染 48 h,为同时间点 CK 的 1.3 倍,然后缓慢下降,至 72 h 低于 CK。由图 2-B 可知,3 龄幼虫受菌株 Bb314 侵染 24 h 后,虫体内 POD 活性开始迅速上升,于 36 h 达到最大值,为 CK 的 1.63 倍,之后 POD 活性仍保持较高直至 60 h;CK 的 POD 活性变化不明显。CAT 和 POD 是生物体内防止活性氧损伤的重要保护酶,在白僵菌侵染虫体后,POD 率先响应,迅速升高,而 CAT 随后发生作用。本研究中 CAT 和 POD 的活性在侵染后期(72 h)下降,可能是由于白僵菌菌丝大量繁殖产生了较多真菌毒素,引起粘虫幼虫生理功能失衡,导致 CAT 和 POD 的合成及活性受到影响。

PO 是昆虫参与免疫反应和伤口愈合反应的关键酶。由图 2-C 可知,菌株 Bb314 侵染幼虫后,虫体内 PO 活性迅速提高,呈现先上升后下降的趋势。侵染后 24 h,处理组幼虫体内 PO 活性与 CK 活无显著差异;侵染 36 h 时,虫体内 PO 活性最高,且显著高于 CK;侵染 72 h 后,处理组 PO 活性,显著低于 CK。以上结果表明,病原菌的入侵,会激活 PO 产生黑化反应并消灭入侵的病原菌,但随着侵染时间的延长,白僵菌在幼虫血腔中的大量繁殖,造成细胞代谢失衡,导致 PO 活性下降。

2.4 球孢白僵菌 Bb314 侵染对幼虫体内解毒酶活性的影响

菌株 Bb314 侵染粘虫后,虫体内解毒酶活性的变

化如图 3-A 所示。结果表明,菌株 Bb314 侵染 24 h 后 CarE 活性变化不明显,而随着侵染时间的延长,CarE 活性逐渐升高,于侵染 48 h 达到峰值,之后开始降低;其中侵染 36~60 h 时,侵染处理的幼虫体内 CarE 活性显著高于 CK。由图 3-B 可知,菌株 Bb314 侵染 24~36

h 期间,幼虫体内 GSTs 活性迅速提升,于侵染 36 h 达到最大值,且显著高于 CK;侵染 48 h 后,处理组幼虫体内的 GSTs 活性较 CK 开始下降,且在侵染 72 h 时显著低于 CK。

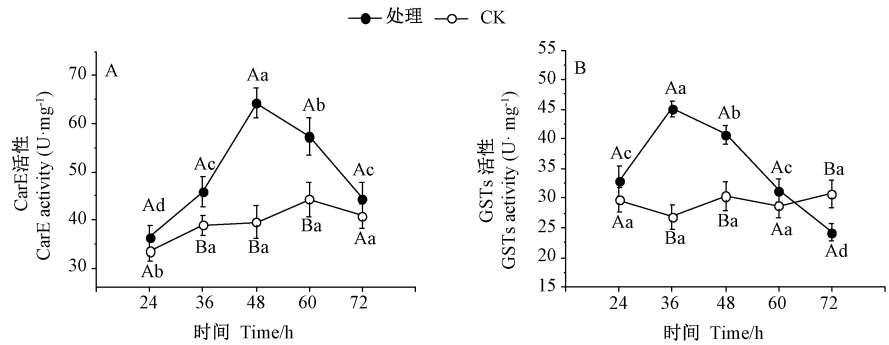


图 3 球孢白僵菌 Bb314 对粘虫幼虫羧酸酯酶 (A) 和谷胱甘肽-S-转移酶 (B) 活性的影响
Fig.3 Changes in enzyme activities of CarE (A) and GSTs (B) in armyworm larvae infected with the *Beauveria bassiana* strain Bb314

3 讨论

球孢白僵菌侵染多达 700 种以上的昆虫和螨类,是使用范围最广泛的一种昆虫病原真菌^[15]。球孢白僵菌虽已在国内外被广泛应用于防治农林害虫^[16],然而其在粘虫的生物防治方面还鲜见相关报道。昆虫与昆虫病原真菌互作的研究,主要集中在高致病性菌株筛选、真菌发酵生产工艺改进、真菌毒素直接利用和虫生真菌分子致病机制等方面^[17],其中高致病力菌株筛选是防治害虫的基础。研究表明,菌落生长速率、菌株产孢量和孢子萌发率等生物学性状可以作为评价菌株致病力的重要指标^[13-14,18]。孟祥坤等^[19]发现球孢白僵菌对甜菜夜蛾 3 龄幼虫具有较高毒力,其产孢量高,生长最快。代晓彦等^[20]通过研究球孢白僵菌的生长速率、产孢量以及对柑橘木虱若虫的侵染致死率,发现不同菌株在产孢量方面存在较大差异,而不同菌株的生长速率及对木虱低龄若虫的致死率则差异不显著。周今一等^[21]测试了不同地理来源的球孢白僵菌对甜菜夜蛾幼虫的致死效应,发现同一昆虫病原真菌不同菌株的毒力存在明显差异。上述研究说明,菌株的菌落生长速度、产孢量等在菌株筛选时不能作为唯一的评价指标,并且不同地理来源的菌株对目标害虫的致病性也存在一定差异。因此,要筛选到高致病力的球孢白僵菌,需要以具体的昆虫为研究对象,根据菌株的生长速率、产孢量、孢子萌发率及致死率等生物学性状

指标对菌株优劣进行综合评判。本研究以 8 株白僵菌菌株为研究材料,首先比较了这些菌株在生长速率、产孢量和孢子萌发率等指标方面的差异,结果显示,4 株白僵菌为优势菌株;进一步通过测定粘虫幼虫致死率,对不同球孢白僵菌菌株的害虫致死率进行区分,最终筛选出的菌株 Bb314 具有显著的粘虫幼虫致死效果,校正致死率达到 69.18%,且具有良好的生物学性状,其中孢子萌发率高达 96.12%。

球孢白僵菌在侵染寄主时,其致病力和毒力与所在寄主体内的生理状态及其环境存在密切关系^[22-23]。已有研究表明,白僵菌菌丝主要经表皮穿透体壁进入寄主血腔,与寄主免疫系统发生抗争。PO 是昆虫体液免疫的关键因子,在昆虫免疫反应中发挥着关键性作用^[12]。白僵菌入侵寄主后,寄主体内 PO 被激活可形成黑化反应,同时也造成寄主体内活性氧急剧升高^[24]。通常,虫体在感染初期,体内抗氧化酶如 POD、PO、CAT 等会产生应激响应^[25-26],但随着菌丝的大量繁殖,虫体内抗氧化酶的合成和活性会受到抑制,表现出体内保护酶活性迅速下降,寄主体内氧化还原平衡状态被打破,最终引起寄主的一系列生理病理变化,导致寄主感病死亡^[27-29]。

昆虫体内 CarE 和 GSTs 是 2 种重要的解毒酶,在细胞内许多重要代谢过程中起着重要作用^[30-31]。GSTs 广泛存在于动植物中^[32],是细胞内具有多种生物学功能的活性蛋白质,可以将谷胱甘肽和细胞内各种有害物结合,并转移出体外,从而降低细胞毒性,在

消除机体过氧化物的累积方面发挥着独特的作用^[33]。CarE 是专一性催化酯键水解酶,不仅参与正常脂类代谢,而且可作为解毒酶,对外源毒素进行降解代谢^[34-35]。本研究发现,球孢白僵菌 Bb314 侵染 3 龄粘虫幼虫后,虫体内 PO、POD 和 CAT 活性均呈先升高再下降的变化趋势,GSTs 和 CarE 也呈现出近似的变化规律(图 2、3)。其中,PO、POD 和 GSTs 是率先发生作用的酶系,CAT 和 CarE 是随后发生作用的酶系,表明粘虫体内不同类型保护性酶对白僵菌侵染的免疫响应存在时效差异。综合本研究结果认为,球孢白僵菌 Bb314 感染幼虫初期,幼虫可通过增强保护性酶和解毒酶的活性来维持虫体的正常生理功能。然而,随着侵染时间的延长,球孢白僵菌在幼虫体内大量增殖,幼虫自身的防卫能力迅速瓦解,表现为细胞内抗氧化酶和解毒酶等活性下降,机体内活性氧自由基和有毒代谢物不能及时清除,机能受到严重破坏,引起幼虫体内代谢紊乱,无法进行正常的生理生化活动,最终导致粘虫幼虫发病、死亡。

4 结论

本试验通过研究球孢白僵菌菌株在产孢量、萌发率及生长速率上的差异,并结合致死率,筛选获得了生物学性状良好且对粘虫具有高毒力的球孢白僵菌菌株 Bb314。球孢白僵菌侵染粘虫幼虫后,侵染初期由于应激响应虫体内抗氧化酶 CAT、GSTs 和 PO 和解毒酶 GSTs 和 CarE 活性有所上升;后期虫体内 CAT、GSTs 和 PO 活性下降,其中 GSTs 和 PO 活性显著低于 CK,同时 POD 和 CarE 活性也表现为先升高后下降的趋势,说明菌株 Bb314 可能通过影响幼虫体内抗氧化酶和解毒酶活性的动态平衡,进而对粘虫幼虫生理代谢造成影响。供试菌株中,菌株 Bb314 对粘虫的毒力最高,其具有作为粘虫生防菌的应用潜力。

参考文献:

- [1] 孙崑,程志加,赫思聪,李晓光,徐长虹,张静,文松,王晓蕾,时丰敏,李春雨,周佳春,高月波,王立昌. 吉林省粘虫种群发生规律研究[J]. 环境昆虫学报, 2019, 41(6): 1260-1267
- [2] 江幸福,张蕾,程云霞,罗礼智. 我国粘虫研究现状及发展趋势[J]. 应用昆虫学报, 2018, 51(4): 881-889
- [3] 张云慧,张智,姜玉英,曾娟,高月波,程登发. 2012 年三代黏虫大发生原因初步分析[J]. 植物保护, 2012, 38(5): 1-8
- [4] 董德臻,管利莎,童巧琼,吕梦园,王云佳,卢泳全. 吡虫啉对褐飞虱 DNA 多态性的影响[J]. 核农学报, 2013, 27(5): 584-590
- [5] 曹莹,张亚辉,闫振广,朱岩,刘征涛. 太湖水体中毒死蜱的污染特征及其生态风险评估[J]. 农业环境科学报, 2016, 35(12): 2413-2419
- [6] 陈学新,冯明光,姜永根,叶恭银,沈志成,刘树生. 农业害虫生物防治基础研究进展与展望[J]. 中国科学基金, 2017, 31(6): 577-585
- [7] Chantasingh D, Kitikhun S, Keyhani N O, Boonyapakron K, Thoetkiattikul H, Pootanakit K, Eurwilaichitr L. Identification of catalase as early up-regulated gene in *Beauveria bassiana* and its role in entomopathogenic fungal virulence[J]. Biological Control, 2013, 67: 85-93
- [8] Li Z Z, Alves S B, Roberts D W, Fan M Z, Delalibera I, Tang J, Lopes R B, Faria M, Rangel D E N. Biological control of insects in Brazil and China: History, current programs and reasons for their successes using entomopathogenic fungi[J]. Biocontrol Science and Technology, 2010, 20(2): 117
- [9] Zimmermann G. The entomopathogenic fungi (formerly) and the species complex (formerly): Biology, ecology and use in biological control[J]. Biocontrol Science and Technology, 2008, 18(9): 865
- [10] 尹飞,陈焕瑜,冯夏,胡珍娣,林庆胜,李振宇,包华理. 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
- [11] 唐维媛,邢丛丛,董永刚,王啸,张义明. 斜纹夜蛾幼虫感染莱氏野村菌后的抗氧化酶活性变化[J]. 昆虫学报, 2015, 58(5): 526-534
- [12] Tuncsoy B S, Ozalp P. Combined effects of pyriproxyfen and *Bacillus thuringiensis* on antioxidant activity of hemolymph, midgut and fat body of *Galleria mellonella* larvae [J]. Fresenius Environmental Bulletin, 2016, 25(5): 1661-1666
- [13] 张龙娃,康克,刘玉军,张晶,孙龙,詹成,黄长春,蒋丽雅,叶开云,丁德贵. 美国白蛾高毒力球孢白僵菌菌株筛选[J]. 昆虫学报, 2016, 59(1): 111-118
- [14] 金剑雪,李凤良,程英. 七星瓢虫抗药性与羧酸酯酶及乙酰胆碱酯酶的关系[J]. 西南农业学报, 2013, 26(4): 1490-1492
- [15] Meyers J M, Stephen F M, Haavik L J, Steinkraus D C. Laboratory and field bioassays on the effects of *Beauveria bassiana* Vuillemin (Hypocreales: Cordycipitaceae) on red oak borer, *Enaphalodes rufulus* (Haldeman) (Coleoptera: Cerambycidae) [J]. Biological Control, 2013, 65(2): 258-264
- [16] 赵东容,白僵菌在农林害虫防治中的应用[J]. 湖北植保, 2018, 166(1): 53-55
- [17] 罗梅,董章勇,林进添,林桂文. 球孢白僵菌基因组候选效应子的预测与分析[J]. 核农学报, 2019, 33(4): 680-686
- [18] 刘玉军,张龙娃,何亚琼,王滨,丁德贵,李增智. 栎旋木柄天牛高毒力球孢白僵菌菌株的筛选[J]. 昆虫学报, 2008, 51(2): 143-149
- [19] 孟祥坤,朱超,于新,刘元军,胡兆平,范玲. 超高毒力白僵菌的筛选及对花生甜菜夜蛾的致病力[J]. 中国生物防治学报, 2018, 34(2): 259-265
- [20] 代晓彦,李翌菡,许炜明,沈祖乐,黄振,吴建辉,任顺祥,邱宝利. 亚洲柑橘木虱 2 株高致病力病原真菌菌株的筛选[J]. 华南农业大学学报, 2016, 37(5): 62-65
- [21] 周一,杨俊华,蒋杰贤. 不同地理来源的球孢白僵菌对甜菜夜

- 蛾幼虫的致死效应[J]. 上海农学报, 2016, 32(2): 39-42
- [22] 田佳, 汝冰璐, 王颖, 成巨龙, 李晓宇, 安德荣. 一株对桃蚜有高致病性球孢白僵菌的分离、筛选与鉴定[J]. 植物保护学报, 2018, 45(3): 606-613
- [23] Tadeusz J P, Walker J J. Host plants effects on activity of the mitosporic fungi *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* against two populations of *Bemisia whiteflies* (Homopter; Aleyrodidae)[J]. Mycopathologic, 2000, 151: 11-20
- [24] Mahesh S K, Liu H Q, De W. The role of radical burst in plant defense responses to necrotrophic fungi[J]. Journal of Integrative Agriculture, 2012, 11(8): 1305-1312
- [25] 王宏民, 张奂, 郝赤, 张仙红. 玫烟色棒束孢侵染对小菜蛾幼虫体内不同酶活的影响[J]. 菌物学报, 2013, 32(2): 269-276
- [26] 周建云, 刘明科, 肖丽娜, 陈德鑫, 任春燕, 刁朝强, 张国超, 汪显群, 李茂业. 烟青虫高毒力白僵菌菌株筛选及其感菌后体内保护酶活性的变化[J]. 安徽农业大学学报, 2017, 44(6): 1119-1123
- [27] 张珏锋, 陈建明, 舒金平, 李芳, 钟海英, 吴鸿. 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
- [28] 王龙江, 吕利华, 谢梅琼, 何余容. 红火蚁感染白僵菌后体内保护酶和酯酶活性的变化[J]. 华中农业大学学报, 2010, 29(3): 282-286
- [29] 李会平, 黄大庄, 苏筱雨, 郑建伟, 王晓红. 桑天牛幼虫感染白僵菌后体内主要保护酶活性的变化[J]. 蚕业科学, 2007, 33(4): 634-636
- [30] 张红英, 赤国彤, 张金林. 昆虫解毒酶系与抗药性研究进展[J]. 河北农业大学学报, 2002, 2002(S1): 193-195
- [31] Zhou C, Wang L, Price M, Li J, Meng Y, Yue B S. Genomic features of the fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) (JE Smith) yield insights into its defense system and flight capability [J]. Entomological Research, 2020, 50(2): 100-112
- [32] 梁志乐, 尚珂含, 王立辉, 周瑾, 王广龙, 熊爱生. 大蒜谷胱甘肽硫转移酶基因 *AsGST* 的克隆及其盐胁迫的响应[J]. 核农学报, 2019, 33(6): 1088-1095
- [33] 张珏锋, 李芳, 钟海英, 陈建明. 制霉菌素对褐飞虱若虫解毒酶、尿酸酶含量的影响[J]. 中国水稻科学, 2019, 33(2): 186-190
- [34] 杨娟生, 丛林, 王翠伦, 侯栋元, 周浩楠, 于士将, 成禄艳, 雷双, 傅云梅, 程明明, 冉春. 亚致死浓度溴虫腈和毒死蜱对等铂蠨螋生长繁殖和解毒酶的影响[J]. 昆虫学报, 2020, 63(1): 36-45
- [35] 杨亚军, 王彩云, 徐红星, 鲁艳辉, 吕仲贤. 两种药剂亚致死浓度对稻纵卷叶螟生长发育及解毒酶活性的影响[J]. 中国水稻科学, 2018, 32(3): 304-310

Screening of *Beauveria bassiana* Strains With High Virulence Against Armyworm and Activities of Protective Enzymes in the Larvae Infected by Fungi

ZHANG Chen¹ CHEN Sibao¹ WU Chenyuan¹ ZHANG Buyao¹ ZHANG Ying²
TENG Bin^{2,*} HU Benjin^{3,*}

(¹College of Life Science, Anhui Agricultural University, Hefei, Anhui 230036; ²Institute of Rice Research,
Anhui Academy of Agricultural Sciences, Hefei, Anhui 230031; ³Institute for Plant Protection and Quality Safety of
Agricultural Products, Anhui Academy of Agricultural Sciences, Hefei, Anhui 230031)

Abstract: To obtain *Beauveria bassiana* strains with good biological characteristics and high virulence to armyworm, the dominant strains were selected by examining the spore production, germination rate and growth rate from eight *Beauveria bassiana* strains, which then were applied to test the lethality to the 3rd larvae of armyworm. The activities of antioxidant and detoxifying enzymes in the 3rd larvae of armyworm infected by the highest virulent isolate were also assayed. The results showed that the eight *Beauveria bassiana* strains showed significant differences in all the growth characteristics. Growth rate, spore production, and spore germination rate of strains Bb314, Bb345, Bb412 and Bb378 were higher than those of the other four strains. With regard to the lethality to larvae, the strain Bb314 showed the highest lethality (69%) to the 3rd larvae of armyworm. After infected by strain Bb314, activities of polyphenol oxidase and peroxidase in the 3rd larvae increased significantly at the early stage, and reached to their peaks at 36 h. The activity of catalase enzyme in the 3rd larvae infected by Bb314 were lower than that of control at the beginning of infection (24 h), but reached to the highest activities at 48 h after infection. The activities of glutathione-S-transferase and carboxylesterase reached their peak values at 36 h and 48 h respectively after Bb314 treatment, which were dramatically higher than those of the control without infection. These results indicated that the strain Bb314 might influence the activities of antioxidant and detoxifying enzymes in armyworm, which in return affected the physiological metabolism of armyworm. This study provides a reference for the development of potential strains for biological control of armyworm.

Keywords: armyworm, *Beauveria bassiana*, antioxidant enzyme, detoxifying enzyme