

黄绿绿僵菌 Mf82 悬乳剂对褐飞虱作用的时间-剂量-死亡率模型分析

林华峰* 张松影 李茂业 李世广 冯明峰

安徽农业大学植物保护学院 安徽 合肥 230036

摘要: 为了寻找褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 生物防治的新途径, 用新分离出的黄绿绿僵菌 *Metarhizium flavoviride* (Mf82) 菌株与实验室保存的黄绿绿僵菌、金龟子绿僵菌和球孢白僵菌 3 种菌种 9 个菌株作对比, 测定了它们对褐飞虱成虫的毒力。结果表明: Mf82 菌株对褐飞虱成虫的毒力最高, 以 1.0×10^8 个孢子/mL 的孢子液喷雾接种到褐飞虱成虫体表上, 累积死亡率高达 81.7%, LT_{50} 为 4.6d, 致病效果显著高于其他受测菌株。在此基础上研制了黄绿绿僵菌悬乳剂, 并研究了其对褐飞虱的致病力。结果表明: 随着黄绿绿僵菌浓度的增加, 褐飞虱的累计死亡率增加, 在浓度为 1,048 个孢子/ mm^2 时, 累计死亡率达到 85.0%。利用时间-剂量-死亡率模型对数据进行处理, 所建模型均顺利通过 Hosmer-Lemeshow 拟合异质性检验, 表明模型拟合良好, 并由模型估计出了该剂型对褐飞虱的致死剂量与致死时间。在接种后第 7 天和第 9 天, LC_{50} 值分别为 2.1×10^3 、 9.9×10^2 个孢子/ mm^2 , LC_{90} 分别为 7.8×10^4 、 3.7×10^4 个孢子/ mm^2 。黄绿绿僵菌悬乳剂对褐飞虱的致死时间与对数剂量相关, 供试菌剂 LT_{50} 值随着对数剂量的增加而递减, 对数剂量由 7.0 增加到 8.0 时, LT_{50} 由 8.9d 降为 5.7d。可见该黄绿绿僵菌悬乳剂对褐飞虱具有较强的毒力, 在褐飞虱生物防治中具有广阔的应用前景。

关键词: 黄绿绿僵菌, 孢子悬乳剂, 毒力测定, 时间-剂量-死亡率模型, 生物防治

Analyses of time-dose-mortality model of the emulsifiable formulation of *Metarhizium flavoviride* Mf82 against *Nilaparvata lugens*

LIN Hua-Feng* ZHANG Song-Ying LI Mao-Ye LI Shi-Guang FENG Ming-Feng

College of Plant Protection, Anhui Agricultural University, Hefei, Anhui 230036, China

Abstract: In order to effectively control *Nilaparvata lugens*, ten strains of entomogenous fungi including a new strain of *Metarhizium flavoviride*, Mf82, isolated from *N. lugens* and six strains of *Beauveria bassiana* and four different species of

基金项目: 国家高技术研究发展计划 (863 计划) “农业药物分子设计与产品创制” (No. 2011AA10A205); 863 计划 “高效虫生真菌杀虫剂的创制及控害关键技术研究” (No. 2011AA10A204-5)

*Corresponding author. E-mail: hf.lin@163.com

收稿日期: 2012-03-14, 接受日期: 2012-06-07

Metarhizium were bioassayed for its virulence against the adults of *N. lugens*. The results showed that cumulative mortality (81.7%) of strain Mf82 was the highest among all tested strains, and the median lethal time (LT_{50}) value was 4.6d at a concentration of 1.0×10^8 conidia/mL. Thus, an emulsifiable formulation of Mf82 was processed in the laboratory, and the bioassay of virulence of Mf82 against *N. lugens* was carried out. The results showed that the daily cumulative mortality of *N. lugens* increased with the concentration of conidial suspension, and the highest concentration ($1,048$ conidia/mm²) treatment caused 85.0% mortality. A time-dose-mortality model was used to analyze the bioassay data and the model fitted the data well, resulting in parameters for estimating the time and dose effects. The estimated LC_{50} values on day 7 and 9 post treatment were 2.1×10^3 , 9.9×10^2 conidia/mm², respectively; while LC_{90} were 7.8×10^4 , 3.7×10^4 conidia/mm², respectively. The LT_{50} of the emulsifiable formulation of *M. flavoviride* against the *N. lugens* differed at various logarithmic dose, and values of LT_{50} of tested agents were shortened with logarithmic dose. While logarithmic dose increased from 7.0 to 8.0, the LT_{50} values reduced from 8.9d to 5.7d. It is thus clear that the emulsifiable formulation of *M. flavoviride* has high virulence to *N. lugens*, and this new formulation could be used for biocontrol of *N. lugens*.

Key words: *Metarhizium flavoviride*, emulsifiable formulation, bioassay of virulence, time-dose-mortality model, biocontrol

褐飞虱是为害水稻的主要害虫之一，近年来频频暴发，发生面积愈来愈大，各稻区防控压力剧增 (Jin *et al.* 2008; Backus 2005)。当前，化学防治一直是控制褐飞虱的基本手段 (Endo & Tsurumachi 2001; Wang *et al.* 2008)，但长期大量不合理使用化学杀虫剂导致褐飞虱产生了明显的抗药性 (Hirai 1993; 林华峰等 2007)，应该从生物杀虫剂方面，寻找有效的防治方法 (Feng & Pu 2005; 李茂业等 2012a)。褐飞虱是刺吸式口器害虫，病毒、细菌类需要通过消化道才能进入虫体的生物杀虫剂很难达到防治褐飞虱的目的 (林华峰等 2011)。而昆虫病原真菌可以像化学农药那样直接穿透昆虫表皮，从体表进入害虫体内发挥作用，是防治褐飞虱这类刺吸式口器害虫比较理想的生防武器 (Milner 1997; Faria & Wraight 2001)。

黄绿绿僵菌是一类重要的昆虫病原真菌，对人、畜、害虫天敌安全，已被广泛研究并开发为商品 (林华峰等 2006; 李茂业等 2012b)，

目前主要用于蝗虫的防治，用于防治稻飞虱的研究却较少 (Rombach *et al.* 1986; Xu *et al.* 1999; 耿博闻 2004)。近年来，在分子系统学研究、基因遗传育种、剂型的改进和扩大防治对象等方面，对绿僵菌的研究已不断深入并取得了较大的进展，但是与苏云金芽孢杆菌 *Bacillus thuringiensis* 等杀虫微生物的研究相比还有一定的差距。国外应用绿僵菌防治害虫的面积超过了白僵菌，防治效果可与白僵菌媲美。国内在绿僵菌防治地下害虫和蝗虫方面已进行了一些农药剂型的研制，并取得了一些应用成果 (潘永胜 2008)。

真菌孢子悬乳剂是继油剂之后一种新的液体剂型，可实现孢子分散在油-水雾滴中沉降于虫体或叶面，获得一定程度的保护，且能降低孢子萌发对环境高湿度的依赖，同时在高温下还能延长孢子的寿命。由于这些优点，分生孢子悬乳剂将是绿僵菌制剂研发的一种主流趋势 (Feng 2003)。

本实验室在对褐飞虱高毒力真菌菌株的筛选过程中,发现了1株黄绿绿僵菌 Mf82 对褐飞虱毒力较强,随后研制了一种黄绿绿僵菌悬乳剂,并对褐飞虱进行了室内毒力测定,利用时间-剂量-死亡率模型对数据进行模拟分析,获得了该剂型对褐飞虱的时间效应和剂量效应,进一步评价该菌株防治褐飞虱的潜力,为黄绿绿僵菌悬乳剂的田间应用提供技术支撑。

1 材料与方 法

1.1 供试菌株

供试菌种及来源见表 1。其中黄绿绿僵菌 Mf82 菌株由本实验室在安徽滁州田间感染的褐飞虱虫体上分离纯化培养获得。将 10 种供试菌株接种到萨氏培养基 (SDAY),并在恒温光照培养箱内 (25±1) °C 培养至其大量产孢,获得各菌株孢子粉。

1.2 供试昆虫

供试褐飞虱由 2010 年霍邱县植物保护站提供虫种,并在安徽农业大学植物保护学院智能人工气候培养室内繁殖 10 代以上,为实验提

供褐飞虱成虫。

1.3 室内毒力测定

将适量各菌株孢子粉分别刮到盛有 10mL 0.05% Tween-80 的三角瓶中,在涡旋混合器 (SZ-1 型,江苏金坛国胜仪器厂)上振荡 30min,然后进行稀释,并用血球计数板计数,配制成 1.0×10^8 个孢子/mL 浓度的悬浮液。在直径为 15cm 的培养皿中放置没有虫病的新鲜水稻,把用吸尘器捕捉的褐飞虱成虫释放在水稻上,用手塔式喷雾器将不同菌株的悬浮液 10mL 均匀喷施在虫体上,每处理 30 头成虫,每处理重复 3 次,以 0.05% Tween-80 的水溶液作为空白对照。喷施时在培养皿中放置 3 块盖玻片 (15mm×15mm) 收集孢子,镜检 5 个视野 (0.785mm²/视野,5 点取样) 并计录孢子数,以确定褐飞虱实际接收的剂量 (孢子/mm²)。将处理的褐飞虱置于 25°C、RH 85% 和光照 L:D=14:10 的恒温培养箱中饲养。每天记录褐飞虱死亡虫数,并对死亡虫体进行保湿培养,分别从其体表和血腔进行真菌分离,并进行真菌学鉴别。

表 1 10 株供试菌株的来源

Table 1 Origin of the ten tested strains

菌株 Strains	寄主 Hosts	原始采集地 Original localities
<i>Metarhizium flavoviride</i> 82 (Mf 82)	褐飞虱 <i>Nilaparvata lugens</i>	安徽 滁州 Chuzhou, Anhui
<i>M. anisopliae</i> 28 (Ma 28)	白背飞虱 <i>Sogota furcifera</i>	安徽 合肥 Hefei, Anhui
<i>M. flavoviride</i> 19 (Mf 19)	椰心叶甲 <i>Brontispa longissima</i>	海南 海口 Haikou, Hainan
<i>Beauveria bassiana</i> 1108 (Bb 1108)	斑衣蜡蝉 <i>Lycorma delicatula</i>	安徽 琅琊山 Langyashan, Anhui
<i>B. bassiana</i> 81 (Bb 81)	象甲 <i>Curculionidae</i>	安徽 牯牛降 Guniujiang, Anhui
<i>M. flavoviride</i> 03 (Mf 03)	土壤 Soil	安徽 合肥 Hefei, Anhui
<i>B. bassiana</i> 33 (Bb 33)	马尾松毛虫 <i>Dendrolimus punctatus</i>	安徽 潜山 Qianshan, Anhui
<i>B. bassiana</i> 84 (Bb 84)	铜绿金龟子 <i>Anomala corpulenta</i>	安徽 牯牛降 Guniujiang, Anhui
<i>B. bassiana</i> 552 (Bb 552)	叶蝉 <i>Paraphlepsius</i>	安徽 琅琊山 Langyashan, Anhui
<i>B. bassiana</i> 1185 (Bb 1185)	叶蝉 <i>Paraphlepsius</i>	安徽 琅琊山 Langyashan, Anhui

按照应盛华和冯明光(2001)的方法,筛选出黄绿绿僵菌分生孢子悬乳剂的主要配方。称取一定量孢子粉加入到适量载体油中,加入乳化剂,混匀,再加入等体积的无菌水,在涡旋混合器上振荡 30min,使油在水相中均匀分散,最后加入紫外线保护剂,制成孢子悬乳剂。将配制好的孢子悬乳剂稀释,用血球计数板计数,逐步稀释为 1.0×10^8 、 5.0×10^7 、 1.0×10^7 、 5.0×10^6 、 1.0×10^6 个孢子/mL 5 个浓度的悬液。保存于 4°C 冰箱备用。用不同浓度的黄绿绿僵菌悬乳剂对褐飞虱成虫进行处理,以悬乳剂基础配方为空白对照,每处理 30 头成虫,重复 3 次,喷施、记录、培养及鉴别方法同上。

1.4 数据分析

用各处理每天观察的平均活虫与死虫数计算各处理的死亡率,并以 Abbott 公式计算校正死亡率。

$$\text{校正死亡率}(\%) = \left[\frac{\text{处理组死亡率} - \text{对照组死亡率}}{1 - \text{对照组死亡率}} \right] \times 100$$

致死中时 (LT_{50}) 等处理间各统计量通过方差分析和邓肯式新复极差检测。

采用冯明光的时间-剂量-死亡率模型对(简称 TDM 模型) Mf82 菌株悬乳剂的毒力测定数据进行模拟分析。该分析方法将时间和剂量的效应统一到一个模型中,可考察时间、剂量效应的交互,能够体现出毒力测定数据的完整性和客观性。该模型表述如下:

$$p_{ij} = 1 - \exp[-\exp(\tau_j + \beta \lg(d_i))] \quad (1)$$

式(1)中 β 是描述剂量效应的斜率, τ_j 是至时间 t_j 的时间效应参数。 P_{ij} 是剂量 d_i 在第 j 个时间单位内产生的累计死亡概率,由于累计死亡概率在时间上是连续的,若直接拟合则不

符合模型模拟变量的独立性假设,因此考虑剂量 d_i 使试虫在时间区间 $[t_{j-1}, t_j]$ 内可能遭受的死亡率即条件死亡概率,可表示为:

$$q_{ij} = 1 - \exp[-\exp(\gamma_j + \beta \lg(d_i))] \quad (2)$$

式(2)中 β 的含义与式(1)中相同, γ_j 为描述时间区间 $[t_{j-1}, t_j]$ 内时间效应的待估参数。式(2)可通过两项分布变量的最大似然函数逼近法求得参数 γ_j 和 β 的最大似然估计,进而估计出所有参数。

所有计算与模拟过程均使用 DPS 数据处理系统软件完成(唐启义和冯明光 2007)。

2 结果与分析

2.1 不同菌株对褐飞虱成虫的毒力

从表 2 可以看出,10 个菌株喷施后,褐飞虱实际接收的剂量在 981-1,429 个孢子/ mm^2 之间,所有供试菌株平均接收的剂量为 1,134 个孢子/ mm^2 。所有菌株喷施的浓度都为 1.0×10^8 个孢子/mL, Mf82 菌株所接收的孢子数与 Ma28、Mf19、Bb81、Bb84、Bb1185 5 个菌株间差异不显著,与 Bb1108、Mf03、Bb33、Bb552 4 个菌株间差异显著 ($F_{9,20}=7.16, P<0.01$)。Mf82 菌株与其他 9 个菌株之间校正死亡率均差异显著 ($F_{9,20}=37.09, P<0.01$), Mf82 菌株校正死亡率最高,达到 81.7%,致死速度最快, LT_{50} 最短为 4.6d,致病力明显高于其他 9 株受测菌株。

2.2 黄绿绿僵菌 Mf82 悬乳剂对褐飞虱作用的时间-剂量-死亡率模型分析

图 1 显示了不同浓度黄绿绿僵菌 Mf82 悬乳剂处理后,褐飞虱逐日累计死亡率。在接种后第 3 天褐飞虱均开始出现发病死亡,第 9、10 天才达到死亡高峰,表现出了真菌杀虫剂的滞后性。感病死亡的褐飞虱虫尸在保湿培养后,

表 2 不同菌株对褐飞虱成虫的毒力

Table 2 Pathogenicity of the tested fungal strains against *Nilaparvata lugens* adults

菌株号	孢子浓度	校正死亡率	LT ₅₀
Isolate	Conidial spray (conidial/mm ²)	Corrected mortality (%)	(d)
Mf82	1025 ± 40 a	81.7 ± 2.8 a	4.6 ± 0.4
Ma28	982 ± 100 a	60.7 ± 7.8 b	6.9 ± 0.9
Mf19	1143 ± 162 ab	48.2 ± 11.7 c	8.8 ± 2.3
Bb1108	1250 ± 80 b	42.8 ± 4.6 c	8.9 ± 1.4
Bb81	1046 ± 62 a	23.2 ± 2.2 d	>14.0 (--)
Mf03	1230 ± 58 b	23.2 ± 7.3 d	>14.0 (--)
Bb33	1429 ± 147 c	19.6 ± 7.7 de	>14.0 (--)
Bb84	981 ± 46 a	16.0 ± 10.1 def	>14.0 (--)
Bb552	1232 ± 69 b	8.9 ± 5.8 ef	>14.0 (--)
Bb1185	1024 ± 111 a	5.3 ± 3.6 f	>14.0 (--)
对照 CK	0	--	0.0

注: 表中给出结果加减标准偏差; 根据邓肯氏新复极差检测法, 表中相同小写字母表示 0.05 水平上差异不显著。

Note: Data are given in mean ± standard error; values followed by the same letters do not differ significantly according to Duncan's multiple range test ($P \leq 0.05$).

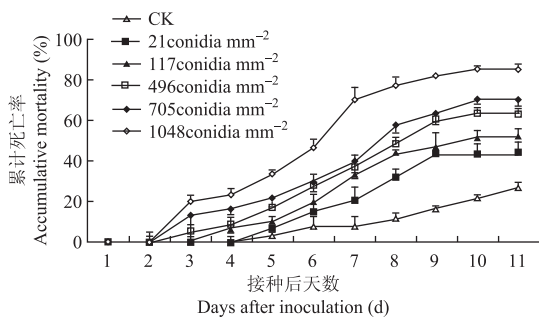


图 1 接种黄绿绿僵菌 Mf82 悬乳剂后褐飞虱逐日累计死亡率

Fig. 1 The daily accumulative mortality of *Nilaparvata lugens* after treatment with the emulsifiable formulation of *Metarhizium flavoviride* Mf82.

体表长出菌丝, 之后产生大量孢子, 为典型的真菌杀虫剂致死症状。随着浓度的增加, 累计死亡率显著提高, 浓度为 1,048 个孢子/mm² 时, 累计死亡率达到 85.0%; 浓度为 705 个孢子/mm²

时, 累计死亡率达到 70.0%; 浓度为 496 个孢子/mm² 时, 累计死亡率达到 63.3%; 浓度为 117 个孢子/mm² 时, 累计死亡率只达到 51.7%; 浓度为 21 个孢子/mm² 时, 累计死亡率仅为 43.3%, 各浓度间致死率差异显著。褐飞虱累计死亡率曲线变化平缓, 适合用时间-剂量-死亡率模型分析 (刘苏等 2010)。

图 2 所示为褐飞虱接种黄绿绿僵菌 Mf82 悬乳剂后不同时间的剂量效应, 随着时间的增加, 所需侵染的孢子浓度降低, LC₅₀ 和 LC₉₀ 也随着降低。在接种后第 3 天至第 10 天的 LC₅₀ 分别为 3.6×10^5 、 1.4×10^5 、 3.8×10^4 、 6.5×10^3 、 2.1×10^3 、 1.2×10^3 、 9.9×10^2 、 9.9×10^2 个孢子/mm², 褐飞虱在接种后第 3 天到第 5 天并没有大量死亡, 第 3 天到第 5 天的 LC₅₀ 值估计值偏大。褐飞虱在接种后第 7 天和第 9 天 LC₉₀ 分别为 4.6×10^4 、 3.7×10^4 个孢子/mm², 而实验中实际浓

度没有达到 3.7×10^4 个孢子/ mm^2 , 所以死亡率没有达到 90%。

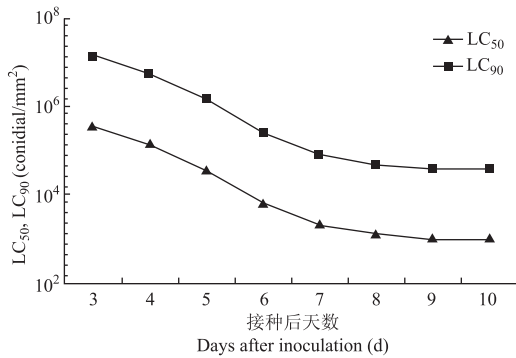


图2 黄绿绿僵菌 Mf82 悬乳剂对褐飞虱的致死剂量

Fig. 2 LC_{50} and LC_{90} values of *Metarhizium flavoviride* Mf82 against *Nilaparvata lugens*.

从图3可以看出黄绿绿僵菌 Mf82 悬乳剂对褐飞虱的致死时间, 随着真菌制剂对数剂量的增加, LT_{50} 值减小。在对数剂量为 7.0 时, LT_{50} 为 8.9d; 当对数剂量增加到 8.0 时, LT_{50} 降为 5.7d。

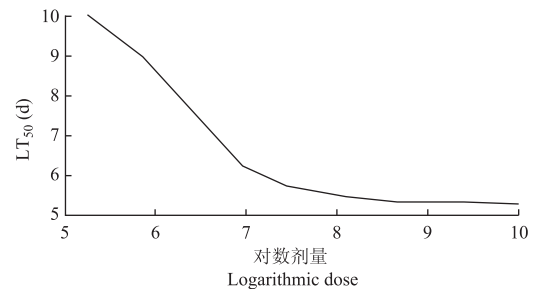


图3 黄绿绿僵菌 Mf82 悬乳剂对褐飞虱的 LT_{50}

Fig. 3 The values of LT_{50} for *Metarhizium flavoviride* Mf82 against *Nilaparvata lugens*.

2.3 黄绿绿僵菌 Mf82 悬乳剂对褐飞虱的时间-剂量-死亡率模型模拟

褐飞虱在接种黄绿绿僵菌悬乳剂后, 第 3 天才开始死亡, 第 10 天后累计死亡率不再增加, 因此选取第 3 天到第 10 天的累计死亡率数据, 并与对照组死亡率进行校正后, 进行时间-剂量-死亡率模型分析和参数估计, 模拟结果见表 3。

表3 黄绿绿僵菌 Mf82 悬乳剂对褐飞虱的 TDM 模型模拟与参数估计

Table 3 Parameters estimated by fitting the time-dose-mortality (TDM) model to analyze the data of emulsifiable formulation of *Metarhizium flavoviride* Mf82 against *Nilaparvata lugens*

条件死亡概率模型					累计死亡概率模型			
Conditional mortality model					Cumulative mortality model			
参数	估计值	标准误	<i>t</i> 测验	<i>P</i> 值	参数	估计值	var(τ)	cov(τ, β)
Parameter	Value	SE	<i>t</i> test	<i>P</i>	Parameter	Value		
β	0.7633	0.0113	67.7801	0.0001	β	0.7633	0.0001	0.0001
γ_3	-8.0509	4.2983	1.8731	0.0686	τ_3	-8.0509	11.8960	0.0136
γ_4	-8.8016	3.0038	2.9301	0.0056	τ_4	-7.6643	5.6673	0.0111
γ_5	-8.6157	3.2069	2.6866	0.0106	τ_5	-7.3377	3.0984	0.0099
γ_6	-7.9909	4.0733	1.9618	0.0570	τ_6	-6.9188	1.9730	0.0104
γ_7	-7.1410	5.1849	1.3773	0.1763	τ_7	-6.3306	2.7056	0.0152
γ_8	-7.1108	4.8627	1.4623	0.1517	τ_8	-5.9533	1.3997	0.0158
γ_9	-7.6141	3.5490	2.1454	0.0382	τ_9	-5.7794	0.7774	0.0146
γ_{10}	-8.3483	2.3660	3.5285	0.0011	τ_{10}	-5.7055	0.6067	0.0138

各处理剂量与时间效应参数的 t 测验值均达到显著水平 ($P < 0.05$), 即标准误差相对于参数估计值极小, 说明此真菌杀虫剂的剂量效应与时间效应极显著。该真菌剂型对褐飞虱剂量效应的斜率 β 为 0.7633。时间效应参数在褐飞虱接种后第 8 天 (γ_8) 达到最大。

时间-剂量-死亡率模型的 $\chi^2=4.18$ ($df=8$, $P=0.8407$), 小于 $\chi^2=15.51$, 说明该数据通过 Hosmer-Lemeshow 拟合度测验, 拟合模型的异质性不显著, 即它们能够无偏描述不同浓度处理下黄绿绿僵菌悬乳剂与褐飞虱间的互作关系 (吕利华等 2007)。

3 讨论

近期研究表明, 本实验中所用黄绿绿僵菌 Mf82 菌株分生孢子悬浮液对褐飞虱具有很高的毒力 (张松影等 2011; Li *et al.* 2012), 对其侵染途径与侵染进程已作过细致观察, 侵染褐飞虱后, 分生孢子多分布在褐飞虱节间膜、体表的褶皱凹陷等部位, 主要以芽管或产生附着胞入侵, 使寄主致死, 然后在体表长出菌丝和产孢 (李茂业等 2011)。将该菌株配成悬乳剂后, 对其毒力进行评价, 对其进一步开发利用更有参考价值。

从本实验中 Mf82 菌株悬乳剂对褐飞虱的累计死亡率可以看出, 浓度为 1,048 个孢子/ mm^2 时, 施药后第 8 天累计死亡率达到 81.7%, 第 9 天高达 85.0%。由时间-剂量-死亡率模型估计的剂量效应与时间效应参数为: 接种后第 7 天和第 9 天 LC_{50} 值分别为 2.1×10^3 、 9.9×10^2 个孢子/ mm^2 , 接种后第 7 天和第 9 天 LC_{90} 分别为 7.8×10^4 、 3.7×10^4 个孢子/ mm^2 ; 对数剂量由 7.0 增加到 8.0 时, LT_{50} 由 8.9d 降为 5.7d。可见, 在浓度为 10^3 个孢子/ mm^2 时, 虽有一定的致死率, 但致死过程比较缓慢, 而浓度为 10^4 个孢子/ mm^2 时,

致死率最高, 死亡时间最短, 是较理想的施用浓度。

在黄绿绿僵菌 Mf82 菌株对褐飞虱成虫的毒力评估中, 所用 TDM 模型分析数据比常规机值分析更加可靠, 不仅提供了真菌制剂喷施后的时间效应, 还反映了时间和剂量的交互作用, 因此, LC_{50} 值随时间的下降趋势和 LT_{50} 随剂量的下降趋势可以更加可靠的评价该菌株的应用潜力。

黄绿绿僵菌作为一种生防真菌, 对环境、人畜、天敌安全, 在人们呼唤绿色食品的今天具有广阔的应用前景, 可以克服化学农药所产生的害虫 3R (resistance、resurgence、residue) 问题。实验中的黄绿绿僵菌 Mf82 菌株悬乳剂和单纯的分生孢子悬浮液相比, 对褐飞虱的毒力不但没有下降, 反而有些许增强, 此结果与有关油品能增强生防真菌效果的研究报道一致 (Langewald *et al.* 1997; Bateman & Alves 2000; Malsam *et al.* 2002)。该黄绿绿僵菌悬乳剂, 与其他类型的孢子制剂相比, 具有杀虫效果显著、粘着力强、渗透性好、易于喷洒、在保证防治效果的前提下节省载体油的用量、降低载体油对作物的药害等优点, 因此, 该悬乳剂配方在生产上具有应用价值, 可作为该菌生产的主要制剂类型。

[REFERENCES]

- Backus EA, Serrano MS, Ranger CM, 2005. Mechanisms of hopperburn: an overview of insect taxonomy, behavior, and physiology. *Annual Review Entomology*, 50: 125-151
- Bateman RP, Alves RT, 2000. Delivery systems for mycoinsecticides using oil-based formulations. *Aspects of Applied Biology*, 57: 163-170
- Endo S, Tsurumachi M, 2001. Insecticide susceptibility of the brown planthopper and the white-backed planthopper

- collected from Southeast Asia. *Journal of Pesticide Science*, 26(1): 82-86
- Faria M, Wraight SP, 2001. Biological control of *Bemisia tabaci* with fungi. *Crop Protection*, 20: 767-778
- Feng MG, 2003. Microbial control of insect pests with entomopathogenic fungi in China: a decade's progress in research and utilization. In: Upadhyay RK (ed.) *Advances in microbial control of insect pests*. Kluwer Academic/Plenum Publishers Dordrecht, New York. 213-234
- Feng MG, Pu XY, 2005. Time-concentration-mortality modeling of the synergistic interaction of *Beauveria bassiana* and imidacloprid against *Nilaparvata lugens*. *Pest Management Science*, 61: 363-370
- Geng BW, 2004. Studies on biological control of rice planthopper with *Metarhizium anisopliae* var. *acridum*. PhD Dissertation, Sun Yat-sen University. 1-5 (in Chinese)
- Hirai K, 1993. Recent trends of insecticide susceptibility in the brown planthopper *Nilaparvata lugens*. *Applied Entomology Zoology*, 28(3): 339-346
- Jin SF, Feng MG, Chen JQ, 2008. Selection of global *Metarhizium* isolates for the control of the rice pest *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae). *Pest Management Science*, 64: 1008-1014
- Langewald J, Kooyman C, Douro-Kpindou O, 1997. Field treatment of desert locust (*Schistocerca gregaria* Forskal) hoppers in Mauritania using an oil formulation of the entomopathogenic fungus *Metarhizium flavoviride*. *Biocontrol Science Technology*, 7: 603-611
- Li MY, Lin HF, Jin L, Zhang SY, 2011. Observations on infection of *Nilaparvata lugens* by *Metarhizium flavoviride* using a scanning electron microscope. *Journal of Applied Entomology*, 48(5): 1412-1416 (in Chinese)
- Li MY, Lin HF, Li SG, Chen PR, Jin L, Yang J, 2012. Virulence of entomopathogenic fungi to adults and eggs of *Nilaparvata lugens* Stål (Homoptera: Delphacidae). *African Journal of Agricultural Research*, 7(14): 2183-2190
- Li MY, Lin HF, Li SG, Jin L, 2012a. Virulence of *Metarhizium flavoviride* 82 to different developmental stages of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Hemiptera: Delphacidae). *Acta Entomologica Sinica*, 55(3): 316-323 (in Chinese)
- Li MY, Lin HF, Li SG, Zhang SY, 2012b. Screening of high virulent strain of *Metarhizium* spp. against the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. *Mycosystema*, 31(3): 331-340 (in Chinese)
- Lin HF, Li MY, Zhang SY, Li SG, Zhang CQ, 2011. Molecular biological identification of entomogenous fungi isolated from the brown planthopper. *Journal of Applied Entomology*, 48(5): 1401-1406 (in Chinese)
- Lin HF, Li SG, Zhang L, Wang PL, Zhou YW, 2006. Biological characteristics of *Metarhizium anisopliae* var. *major* and its virulence to white grubs. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 17(2): 351-353 (in Chinese)
- Lin HF, Yang XJ, Gao YB, Li SG, 2007. Pathogenicity of several fungal species on *Spodoptera litura*. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 18(4): 937-940 (in Chinese)
- Liu S, Lin HF, Li MY, Li SG, Wang J, 2010. Pathogenicity of a *Metarhizium anisopliae* isolate against the nymphs of brown planthopper. *Agrochemicals*, 49(7): 527-529 (in Chinese)
- Lü LH, He YR, Wu YJ, Feng X, Chen HY, 2007. The time-dose-mortality model of a *Paecilomyces fumosoroseus* isolate on the diamondback moth, *Plutella xylostella*. *Acta Entomologica Sinica*, 50(6): 567-573 (in Chinese)
- Malsam O, Kilian M, Oerke EC, 2002. Oils for increased efficacy of *Metarhizium anisopliae* to control whiteflies. *Biocontrol Science Technology*, 12: 337-348
- Milner RJ, 1997. Prospects for biopesticides for aphid control. *Entomophaga*, 42: 227-239
- Pan YS, 2008. Studies on the screening and culture condition of high virulent strains of *Metarhizium anisopliae*. Master Thesis, Nanjing Forestry University. 3-4 (in Chinese)

- Rombach MC, Aguda RM, Shepard BM, Roberts DW, 1986. Infection of rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae), by field application of entomopathogenic hyphomycetes (Deuteromycotina). *Environmental Entomology*, 15: 1070-1073
- Tang QY, Feng MG, 2007. DPS data processing system: experimental design, statistical analysis and data mining. Science Press, Beijing. 1-1100 (in Chinese)
- Wang YH, Gao CF, Zhu YC, Chen J, Zhuang YL, Dai DJ, Zhou WJ, Ma CY, Shen JL, 2008. Imidacloprid susceptibility survey and selection risk assessment in field populations of *Nilaparvata lugens* (Homoptera; Delphacidae). *Journal of Economic Entomology*, 101(2): 515-522
- Xu JH, Feng MG, Xu L, 1999. The virulence of the entomophthorean fungus *Pandora delphacis* to the brown planthopper *Nilaparvata lugens*. *Entomologia Sinica*, 6(3): 233-241
- Ying SH, Feng MG, 2001. Optional components for emulsifiable suspensions of *Beauveria bassiana* conidia. *Acta Phytomycol Sinica*, 28(4): 345-350 (in Chinese)
- Zhang SY, Lin HF, Li MY, Jin L, 2011. Culturing characteristics of entomogenous fungi strains and their virulence to *Nilaparvata lugens* (Stål). *Journal of Applied Entomology*, 48(5): 1407-1411 (in Chinese)
- [附中文参考文献]
- 耿博闻, 2004. 黄绿绿僵菌防治稻飞虱的研究. 中山大学博士学位论文. 1-5
- 李茂业, 林华峰, 金立, 张松影, 2011. 黄绿绿僵菌对褐飞虱侵染过程的扫描电镜观察. *应用昆虫学报*, 48(5): 1412-1416
- 李茂业, 林华峰, 李世广, 金立, 2012a. 黄绿绿僵菌 Mf82 菌株对不同虫态褐飞虱的毒力. *昆虫学报*, 55(3): 316-323
- 李茂业, 林华峰, 李世广, 张松影, 2012b. 褐飞虱高毒力绿僵菌菌株的筛选. *菌物学报*, 31(3): 331-340
- 林华峰, 李茂业, 张松影, 李世广, 张承启, 2011. 一种褐飞虱病原真菌的分子生物学鉴定. *应用昆虫学报*, 48(5): 1401-1406
- 林华峰, 李世广, 张磊, 王萍莉, 周义文, 2006. 绿僵菌大孢变种的生物学特征及其对蛴螬的毒力研究. *应用生态学报*, 17(2): 351-353
- 林华峰, 杨新军, 高亿波, 李世广, 2007. 几种虫生真菌对斜纹夜蛾的致病性. *应用生态学报*, 18(4): 937-940
- 刘苏, 林华峰, 李茂业, 李世广, 王君, 2010. 金龟子绿僵菌对褐飞虱若虫的毒力测定. *农药*, 49(7): 527-529
- 吕利华, 何余容, 武亚敬, 冯夏, 陈焕瑜, 2007. 玫瑰色拟青霉对小菜蛾致病力的时间-剂量-死亡率模型模拟. *昆虫学报*, 50(6): 567-573
- 潘永胜, 2008. 优良杀虫绿僵菌菌株的筛选及其培养研究. 南京林业大学硕士学位论文. 3-4
- 唐启义, 冯明光, 2007. DPS 数据处理系统: 实验设计、统计分析 & 数据挖掘. 北京: 科学出版社. 1-1100
- 应盛华, 冯明光, 2001. 球孢白僵菌分生孢子乳悬剂的配方筛选. *植物保护学报*, 28(4): 345-350
- 张松影, 林华峰, 李茂业, 金立, 2011. 几种虫生真菌菌株的培养性状及其对褐飞虱的毒力. *应用昆虫学报*, 48(5): 1407-1411