

不同添加物对苏云金芽孢杆菌杀虫活性的增效作用研究进展

李超峰

盐城师范学院, 江苏省滩涂生物资源与环境保护重点实验室, 江苏 盐城 224007

摘要: 苏云金芽孢杆菌 (*Bacillus thuringiensis*, Bt) 制剂是当前应用最广、最有效的生物杀虫剂之一, 因其对多种昆虫具有特异性杀虫活性, 而被广泛用于农林业和公共卫生等领域的害虫防治, 但田间施用后, 其速效性差、持效期短和防效不稳定等弊端限制了其进一步的推广。将 Bt 制剂与增效物质 (剂)、因子混合使用以提高其杀虫活性和田间防效稳定性, 是最快速、有效的途径之一, 因而国内外对此开展了广泛而深入的研究。主要介绍了化学添加剂、化学杀虫剂和生物杀虫剂等添加物对 Bt 制剂杀虫活性的增效作用研究进展, 并探讨了增效物质 (剂)、因子的开发和应用前景, 以期开发安全、高效的 Bt 制剂的增效物质 (剂)、因子提供一定的参考。

关键词: 苏云金芽孢杆菌; 添加物; 杀虫活性; 增效作用

DOI: 10.19586/j.2095-2341.2017.0158

Progress on Synergistic Effects of Various Additives on the Insecticidal Activity of *Bacillus thuringiensis*

LI Chaofeng

Jiangsu Provincial Key Laboratory of Coastal Wetland Bioresources and Environmental Protection, Yancheng Teachers University, Jiangsu Yancheng 224007, China

Abstract: As one of the most widely used and the most effective biopesticides, *Bacillus thuringiensis* (Bt) preparations are widely employed for pest control in the fields of agriculture, forestry and public health because of the specific insecticidal activity. However, after field application, the further popularization of Bt preparations has been limited due to the disadvantages, such as poor readily availability, short-duration action and unstable control effect. It is the most fast and efficient way by mixing Bt preparations with all sorts of synergistic agents and synergistic factors to improve the insecticidal activity and field control effect stability. Extensive and in-depth researches on synergistic effects of various additives on Bt preparation have been carried out at home and abroad. In this paper, the progress on synergistic effects of chemical additives, chemical insecticides and biopesticides on Bt preparations were reviewed, and the development and application prospects of synergistic agents and synergistic factors were also discussed in order to provide references for developing safe and efficient synergistic agents and synergistic factors of Bt preparations.

Key words: *Bacillus thuringiensis*; additives; insecticidal activity; synergistic effect

苏云金芽孢杆菌 (*Bacillus thuringiensis*, Bt) 为革兰氏阳性昆虫病原细菌, 在 Bt 稳定期后期, 伴随芽孢的形成可产生伴胞晶体蛋白, 也可将其称为杀虫晶体蛋白 (insecticide crystal proteins, ICPs) 或 δ -内毒素。同时, 代谢产生的外毒素、营

养期杀虫蛋白 (vegetative insecticidal proteins, VIPs) 和芽孢等都具有一定的杀虫活性。其次, Bt 具有多样性, 不同亚种产生的毒素种类和性质不同, 而 Bt 毒素又可根据晶体状态的不同分为 Cry 毒素和 Cyt 毒素, 从而表现出不同的杀虫特异性。

收稿日期: 2017-12-15; 接受日期: 2018-01-25

基金项目: 江苏省自然科学基金项目 (BK20150422) 资助。

作者简介: 李超峰, 助理研究员, 博士, 研究方向为生物资源的发掘与利用。E-mail: lichao@yeah.net

因此,Bt 制剂已被广泛用于农林业、贮藏和公共卫生等领域的害虫防治^[1]。然而,在田间施用中,Bt 制剂存在速效性差、持效期短、防效不稳定、杀虫谱较窄等诸多缺陷。为了克服上述缺陷,人们提出了一系列提高 Bt 制剂毒力和防效稳定性的策略,如筛选高毒力、强特异性的菌株;改良现有高毒力菌株的遗传特征,以提高杀虫毒素的

活性、扩大杀虫谱;改进加工技术,增强 Bt 制剂的杀虫效果;开发各种增效物质(剂)、因子等,以提高现有 Bt 菌株的杀虫活性^[2,3]。然而,发掘新品系需要进行大规模的筛选,且极难获得高毒力菌株;其次,遗传改良菌株的稳定性较差,在实际生产中难以应用。因此,快速、稳定、有效的增效物质(剂)和因子等的开发和应用倍受关注。

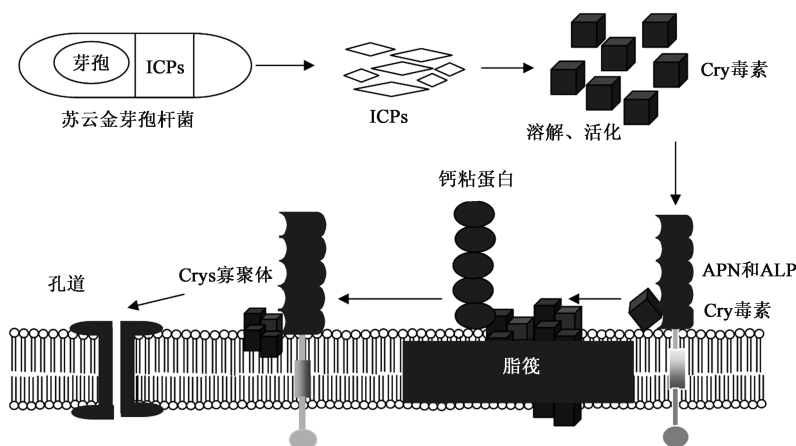


图 1 Cry 毒素作用的孔洞模式

Fig.1 Pore formation model of Cry toxin action.

为了开发安全、高效的 Bt 制剂,深入了解其作用机制显得尤为重要。目前,被广泛接受的 Bt 作用模型为孔洞/顺序结合模式^[4,5]。孔洞/顺序结合模式认为原毒素/杀虫晶体蛋白被摄食后,在昆虫肠道碱性环境和蛋白酶等的多重作用下,经溶解和水解,被激活为具有活性的杀虫毒素,可穿透围食膜(peritrophic membrane, PM),与中肠上皮细胞刷状缘膜囊泡(brush border membrane vesicles, BBMV)上的受体蛋白氨肽酶 N(aminopeptidase N, APN)及碱性磷酸酯酶(alkaline phosphatase, ALP)结合,进而在脂筏上大量聚集,并与钙粘蛋白(cadherin)受体结合,使其构象改变,寡聚化后与氨肽酶 N 及碱性磷酸酯酶再次结合,从而使寡聚化的毒素分子插入上皮细胞,细胞膜产生孔洞,随后细胞裂解,最终导致昆虫死亡(图 1)^[4,5]。即 ICPs 实现杀虫活性必须经过摄食、溶解、水解、透膜、与受体结合、脂筏聚集、构象改变、寡聚化、插入上皮细胞和孔洞形成等一系列过程,该过程的任何改变都将影响 Bt ICPs 的杀虫活性,同时,这一过程也可用于增效 Bt 制剂毒力的研究^[2,5-23]。因此,本文就目前国内外开展的关于不同添加物在不同作用过程中对 Bt 制剂

杀虫活性增效作用的研究进行综述,并对其应用和开发前景进行讨论,以期对开发安全、高效的 Bt 制剂的增效物质(剂)、因子提供一定的参考。

1 化学添加剂对苏云金芽孢杆菌杀虫活性的增效作用

在 Bt 制剂添加剂的探索中,无机化合物和有机化合物都曾被尝试用于提高 Bt 制剂的杀虫活性。 K_2CO_3 、 $CaCl_2$ 、 $MgSO_4$ 、 $Fe_2(SO_4)_3$ 、 $MgCl_2$ 、 $CaCl_2$ 、 $ZnCl_2$ 和硼酸等无机化合物可通过增强昆虫中肠碱性或激活、增强敏感昆虫中肠蛋白酶活性,加速 ICPs 的活化,进而实现对不同亚种 Bt 杀灭不同龄期的小菜蛾(*Plutella xylostella*)、印度谷斑螟(*Plodia interpunctella*)、铜绿丽金龟(*Anomala corpulenta*)、蓓带夜蛾(*Mamestra configurata*)、家蚕(*Bombyx mori*)、菜青虫(*Pieris rapae*)和棉叶夜蛾(*Spodoptera littoralis*)等的增效作用,但增效强弱程度不同。其中, $MgSO_4$ 可使 Bt *kurstaki* 对 4 龄蓓带夜蛾(*M. configurata*)的半数致死浓度(LC_{50})和 95%致死浓度(LC_{95})分别降低 3.5 倍和 3.9 倍,而 $CaCO_3$ 仅使 Bt *kurstaki* HD-1 对印度谷斑螟

(*P. interpunctella*) 的毒力提高 2.5 倍^[1,2,4,5,24~26]。此外, NaCl、KCl、CaCO₃、CuSO₄ 等无机化合物对 Bt 制剂的杀虫活性无改善作用^[1], 而 ZnSO₄ (浓度>1 g/L) 对 Bt 制剂防治 3 龄菜青虫 (*P. rapae*) 甚至表现出显著的拮抗作用^[26]。

甲酸、柠檬酸、马来酸、丹宁酸、巯基乙醇、巯基乙酸钠、硫代乙醇钠、乙酰胺、磷酸甘油二钠盐、乙二胺四乙酸 (ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA) 和尿素等有机化合物可通过增强敏感昆虫中肠液的还原性, 促进 ICPs 的溶解; 或通过改变血淋巴的组成, 影响昆虫的正常生理过程, 以提高昆虫对病原微生物的敏感性, 进而实现对不同亚种 Bt 杀灭不同龄期的小菜蛾 (*P. xylostella*)、印度谷斑螟 (*P. interpunctella*)、铜绿丽金龟 (*A. corporulenta*)、蓓带夜蛾 (*M. configurata*)、家蚕 (*B. mori*)、菜青虫 (*P. rapae*) 和棉叶夜蛾 (*S. littoralis*) 等不同程度的增效作用。如 EDTA 可使 Bt *kurstaki* HD-1 对印度谷斑螟 (*P. interpunctella*) 的毒力提高 100 倍; 丙氨酸仅使 Bt 制剂对印度谷斑螟 (*P. interpunctella*) 的毒力提高 1.3 倍; 二甲苯和甲醛反而使 Bt 制剂对 3 龄小菜蛾 (*P. xylostella*) 的毒力显著下降^[1,2,4,5,24~26]。

由上述可知, 不同化学添加剂 (包括种类和浓度的差异) 与 Bt 制剂混用对杀灭不同害虫 (包括敏感性和龄期的差异) 的增效作用不同。此外, 农乳 600 和二甲苯与 Bt 制剂混合后在室温下存放 5 个月, 其毒力呈现出不同程度的降低; 存放 1 年, 毒力均呈明显下降^[26]。这表明, Bt 制剂与化学添加剂混合使用时, 最好在使用前分开存放, 使用时再混合, 以减少化学添加剂对 Bt 毒素的影响^[26]。因此, 在选择 Bt 制剂的化学添加剂时, 除充分考虑化学添加剂对人畜、环境有无危害外, 混合使用的稳定性和保质期也需充分掌握。即在选择化学添加剂作为 Bt 制剂的增效剂时, 必须注意种类的选择、浓度的确定和配制方式的采用 (如现用现配或其他方式)。

2 化学杀虫剂对苏云金芽孢杆菌杀虫活性的增效作用

化学杀虫剂以其高效、经济、方便、适应性广等优点在病虫害防控、保障农林业丰收等方面曾有着不可替代的作用。相对于化学杀虫剂, Bt 制

剂速效性差、残效期短、杀虫谱窄, 但其与化学杀虫剂间无交互抗性, 且与低剂量的化学杀虫剂混用, 不仅能提高杀虫效果, 还能改善其速效性、延缓抗药性的产生, 进而实现增效作用^[27]。因此, Bt 制剂与化学杀虫剂混用、轮用等措施是一项切实可行的策略^[2], 且化学杀虫剂作为增效剂在国内外已有尝试。

辛硫磷、毒死蜱、敌敌畏、敌百虫、氧化氯果、三唑磷和乙酰甲胺磷等有机磷类化学杀虫剂与茚虫威和灭多威等氨基甲酸酯类杀虫剂可通过抑制昆虫胆碱酯酶、多功能氧化酶、羧酸酯酶 (carboxylesterase, CarE) 和谷胱甘肽 S-转移酶 (glutathione S-transferases, GSTs) 等解毒酯酶的活性, 阻断昆虫的神经传导等, 使其中毒, 进而实现对 Bt 制剂防治小菜蛾 (*P. xylostella*)、大袋蛾 (*Clania variegata*)、棉铃虫 (*Helicoverpa armigera*)、斜纹夜蛾 (*Prodenia litura*) 和菜青虫 (*P. rapae*) 等的增效作用, 但增效强弱程度不同^[28,29]。Bt 制剂与毒死蜱 (0.8% Bt 粉剂与 10.0% 毒死蜱混配, 即 10.8% 毒·苏可湿性粉剂) 混合对防治斜纹夜蛾 (*P. litura*) 有显著的增效作用, 且共毒系数高达 184^[28]; Bt WG-001 与茚虫威 (有效成分比为 100.10:0.72) 混合防治小菜蛾 (*P. xylostella*) 3 龄幼虫的共毒系数为 178.05, 且田间给药 7 d, 500 倍液的平均防效为 84.88%, 显著优于两者单用的毒力; 但 Bt WG-001 与巴丹混合表现为相加或拮抗作用^[29]。

溴氰菊酯、氯氰菊酯、高效氯氰菊酯和高效氯氟氰菊酯等拟除虫菊酯类杀虫剂可通过影响机体细胞色素 c 及电子传递系统, 实现对 Bt 制剂防治棉铃虫 (*H. armigera*)、小菜蛾 (*P. xylostella*)、大袋蛾 (*C. variegata*)、美国白蛾 (*Hyphantria cunea*)、桃小食心虫 (*Carposina niponensis*) 和果树食叶虫等的增效作用, 甚至延长持效期^[24,28,30]。

杀虫单、杀虫双和氟虫腈等沙蚕毒素类杀虫剂可通过作用于胆碱能突触, 阻遏神经正常传递, 从而实现对 Bt 制剂防治小菜蛾 (*P. xylostella*)、水稻二化螟 (*Chilo suppressalis*)、水稻三化螟 (*Tryporyza incertulas*)、稻纵卷叶螟 (*Cnaphalocrocis medinalis*) 和菜青虫 (*P. rapae*) 等的增效作用^[28,29]。然而, 每公顷施用 525 g 和 675 g 46% 杀虫单·苏可湿性粉剂 (Bt 制剂与杀虫单混剂) 防治水稻二化螟 (*C. suppressalis*), 施用 7 d 时, 稻田

蜘蛛减退率分别达到 23.4% 和 24.1%。因此,从生态环境等角度出发,化学杀虫剂与 Bt 制剂混用还应充分考虑其药物残留和环境兼容性^[28]。

氟铃脲、氟啶脲、氟虫脲、丁醚脲、除虫脲、灭幼脲、灭幼脲 3 号和虫酰肼等昆虫生长调节剂类杀虫剂可通过抑制昆虫几丁质的生物合成,损伤或破坏内分泌及腺体,进而实现增效 Bt 制剂对棉铃虫(*H. armigera*)、小菜蛾(*P. xylostella*)、美国白蛾(*H. cunea*)和甜菜夜蛾(*Spodopera exigua*)等的毒力,并使其速效性得以改善^[7,31]。

另一方面,不同化学杀虫剂与 Bt 制剂混用的防效稳定性不同。在常用剂量下,2.5%溴氰菊酯乳油、48%毒死蜱乳油对 Bt ICPs 无影响;高效氯氰菊酯、高效氯氟氰菊酯、灭多威和辛硫磷在 30 d 内对 Bt 芽孢及 ICPs 无明显影响^[6]。当浓度超过 1‰ 时,溴氰菊酯、氯氰菊酯对 Bt *kurstaki* 的杀虫活性可产生明显的抑制作用,而灭幼脲 3 号和辛硫磷却有促进作用^[31]。

因此,Bt 制剂与化学杀虫剂的复合制剂的使用应依据昆虫类型、龄期与化学杀虫剂的种类,同时还需兼顾二者比例、混合相容性、防效稳定性、制剂剂型和施用方式(如预先混合、现用现混或不能混合等)等,采用差异化复配方式。此外,化学杀虫剂的残留和环境兼容性等,也需充分考虑。

3 生物杀虫剂对苏云金芽孢杆菌杀虫活性的增效作用

3.1 苏云金芽孢杆菌毒素间的增效作用

不同亚种 Bt 可产生不同的 ICPs,而不同 ICPs 的杀虫活性不同。此外, α -外毒素、 β -外毒素、 γ -外毒素和 VIPs 等都具有杀虫活性,因此,Bt 不同毒素间杀虫活性的相互影响也逐渐引起研究人员的重视。Bruce 首先提出了不同毒素间的协同作用,并确定了 Bt *israelensis* (Bti) 27 kDa CytA 和 130 kDa 或 65 kDa Cry4 毒素对杀灭埃及伊蚊(*Aedes aegypti*)的增效作用;而 Bti Cyt1Aa 毒素对 Cry4Aa、Cry11Aa、Cry4Ba,以及 Cry4Ba 和 Cry2Aa2 毒素等防治埃及伊蚊(*A. aegypti*)和蚋属(*Simulium* spp.)幼虫,对 Cry1Fa、Cry2Ab、Cry1Ca 和 Cry9Aa 毒素防治棉铃虫(*H. armigera*)等不仅具有增效作用,还可使其速效性得到显著改善^[8~11,32,33]。Bt Cyt2Aa2 对 Cry4Ba 毒素防治 2 日龄埃及伊蚊

(*A. gypsi*)幼虫具有显著的增效作用,且研究表明与 Cry4Ba β_2 - β_3 环 Thr³²⁸、Tyr³³² 和 β_4 - β_5 环 Thr³⁶⁹、Phe³⁶⁴ 上的残基有关^[12]。Bt Cry10Aa 毒素对 Cry4B、Cry11Aa 毒素防治蚋属(*Simulium* spp.)幼虫,Cry1Ac 毒素对 Cry1Ca 毒素防治棉铃虫(*H. armigera*)均具有显著的增效作用^[32,33]。Bt *israelensis* Cyt1A98 毒素通过为 Cry4BLB 提供额外的结合位点并促进其寡聚体结构的形成,以 1% 比例实现对 Cry4BLB 毒素防治埃及伊蚊(*A. aegypti*)的显著增效作用^[9]。同样,共表达的 Bt *israelensis* Cry4Ba 毒素和 Bt *darmstadtensis* Cyt2Aa2 毒素对杀死埃及伊蚊(*A. aegypti*)和致倦库蚊(*Culex quinquefasciatus*)也表现出高度的增效活性。其中,大肠杆菌表达的 Cry4Ba 对埃及伊蚊(*A. aegypti*)的 LC₅₀ 为 140 ng/mL,对致倦库蚊(*C. quinquefasciatus*)没有毒性;而 Cyt2A2 对 2 种蚊种的 LC₅₀ 分别为 350 ng/mL 和 250 ng/mL。但 2 种毒素共同表达的 LC₅₀ 分别为 7 ng/mL 和 20 ng/mL,实现了二者的协同增效作用^[10,34]。重组表达 Cry3A 毒素和人类免疫缺陷病毒调节基因编码的反式激活蛋白(trans-activating protein, TAT)转导结构域(protein transduction domain, PTD)-Cry3Aa 包涵体初提物对杀灭甘薯小象甲(*Cylas formicarius*)幼虫和成虫表现出具有差异性的增效作用,且增效程度随着昆虫龄期的增加而降低^[35]。但值得注意的是,也有研究表明不同毒素间的增效作用与评价方法有关^[32]。

除内毒素外,芽孢、外毒素和钙粘蛋白等对 Bt 制剂的杀虫活性也有增效作用。Bt *kurstaki* HD-1 芽孢可提高 Cry1Ab 或 Cry1C 毒素对印度谷螟(*P. interpunctella*)敏感系(增效 35~50 倍)和抗性系(增效 25~44 倍)的毒力和速效性,而且经紫外线(UV)照射后,芽孢衣蛋白仍有增效作用^[36]。而 Bt VIP3 和 Cyt 毒素共表达可显著提高对棉铃虫(*H. armigera*)和甜菜夜蛾(*S. exigua*)的毒力,且比单剂分别提高了 3.35 倍和 4.34 倍,但对防治摇蚊(*Chironomus tepperi*)和棉铃虫(*H. armigera*)无协同作用,对防治致乏库蚊(*C. quinquefasciatus*)反而有拮抗作用^[37]。Bt VIP3 对 Cry 毒素防治甜菜夜蛾(*S. exigua*)、苹果蠹蛾(*Cydia pomonella*)和欧洲松毛虫(*Dendrolimus pini*)等农林害虫具有显著的增效作用^[38]。VIP3Aa7 与 Cry9Ca 毒素蛋白 N 端链接重组形成

的嵌合蛋白 V3AC9C 通过改善其溶解性使其对小菜蛾 (*P. xylostella*) 3 龄幼虫的毒力显著优于单一毒素,且比 VIP3Aa7 和 Cry9Ca 毒素混合物(质量比为 1:1)的毒力高 3.2 倍,其增效系数为 4.79,而质量比为 1:1 的 VIP3Aa7 和 Cry9Ca 毒素组成的混合物的增效系数仅为 1.46^[39]。同样,重组表达的西方玉米根虫 (*Diabrotica virgifera*) 钙粘蛋白 DvCad1 可增强 Cry3Aa、Cry3Bb 和 Cry8Ca 毒素对小黄粉 (*Alphitobius diaperinus*) 幼虫的毒力,且增效 3.30~5.93 倍^[40]。而甜菜夜蛾 (*S. exigua*) 类钙粘蛋白能够增强 Bt Cry1B 和 Cry1C 毒素对鳞翅目昆虫的毒力^[41]。

3.2 其他病原微生物对苏云金芽孢杆菌杀虫活性的增效作用

昆虫病毒具有不产生抗性、专一性强、对非目标影响小、持效期长以及极易在种群内引发流行病而起长期控制的作用(即可垂直传播)等优点,因此,也常用于增效 Bt 制剂毒力的研究。在棉铃虫 (*H. armigera*) 防治过程中,Bt *kurstaki* 和棉铃虫单粒核型多角体病毒 (*Helicoverpa armigera* single nuclear polyhedrosis virus, HaSNPV) 包涵体混合物对小菜蛾 (*P. xylostella*) 2 龄幼虫具有显著的增效作用,且可使其生长发育速率降低,化蛹率、蛹重和成虫率降低,同时其半数致死时间 (LT_{50}) 与其浓度呈负相关^[42]。对 Bt 有较强耐受性的茶尺蠖 (*Ectropis oblique hypulina*), Bt 制剂与茶尺蠖核型多角体病毒复配可明显提高其死亡率,加快其死亡速度^[43]。茶毛虫核型多角体病毒可显著增强 Bt 制剂对茶毛虫 (*Euproctis pseudoconspersa*) 的毒力,且以 1.0×10^5 PIB/ μ L : 2.0×10^3 IU/ μ L 比例增效最为明显,以 1 500 mL/hm² 施用 7 d,茶毛虫死亡率为 79.80%~92.84%,14 d 为 94.99%~95.80%^[44]。与 Bt 制剂单独使用相比,美国白蛾核型多角体病毒 (*Hyphantria cunea* nuclear polyhedrosis virus, HcNPV) 与其复合可提高其对美国白蛾 (*H. cunea*) 的毒力,缩短幼虫死亡时间,并将 LT_{50} 减少 0.5~2.1 d^[45]。而不同剂量的稻纵卷叶螟颗粒体病毒 (*Cnaphalocrocis medinalis* granulovirus, CmGV) 与 Bt 制剂复配对防治稻纵卷叶螟 (*C. medinalis*) 2 龄幼虫具有显著增效作用,共毒系数介于 124.92~160.47,较单独施用 CmGV 相比,将田间试验初始感染死亡时间缩短 3 d,感染死亡率提

高 20.23%,且持效期在 30 d 以上;其次,CmGV (1×10^5 OB/mg) 与 Bt ($16\ 000$ U/mg) 混合给药 3 d 的杀虫率为 62.68%~75.16%、保叶率为 65.27%~71.19%;给药 7 d 的杀虫率为 82.63%~89.3%、保叶率为 79.53%~85.12%;给药 14 d 的杀虫率为 80.41%~87.01%、保叶率为 78.26%~83.49%^[46]。Bt 制剂与一定数量的舞毒蛾核型多角体病毒 (*Lymantria dispar* nuclear polyhedrosis virus, LdNPV) 混用对防治舞毒蛾 (*Lymantria dispar*) 具有协同增效作用,且使死亡率和速效性都得以提高,同时虫口密度降低率以混合处理为最高,为 38.67%^[47]。然而,Bt 制剂和昆虫病毒间并不总是产生协同增效作用,因饲喂复方配剂的顺序、剂量和配比等的不同,还可产生相加作用或拮抗作用^[48]。

除昆虫病毒外,Bt、球形芽孢杆菌 (*Bacillus sphaericus*, Bs)、蜡状芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*, Bc)、球孢白僵菌 (*Beauveria bassiana*) 和粘质沙雷氏菌 (*Serratia marcescens*) 等病原微生物发酵上清液对 Bt 都有良好的增效作用^[49]。Bti K55 发酵上清液和 Bti K46 包涵体蛋白合成的纳米银离子 (silver nanoparticles, Ag NPs) 对 Bti 细胞防治埃及伊蚊 (*A. aegypti*) 具有显著增效作用,且协同因子分别为 3.3 (LC_{50})、10.0 (LC_{90}) 与 1.6 (LC_{50})、4.2 (LC_{90})^[50]。Bt *kurstaki* 发酵上清液可增效该亚种毒素对斜纹夜蛾 (*S. litura*)、甘蓝夜蛾 (*Mamestra brassicae*) 和甜菜夜蛾 (*S. exigua*) 的毒力,而对杀灭小菜蛾 (*P. xylostella*) 和卷叶蛾 (*Adoxophyes honmai*) 无增效作用^[51]。去除发酵上清液后,Bt-79007 菌株杀灭棉铃虫 (*H. armigera*) 的效价为 $1\ 307 \times 10^3$ IU/mL;而加入 10% 上清液的 Bt-79007 对棉铃虫的效价为前者的 1.53 倍^[52]。同样,Bt *buihui* 菌株发酵上清液可显著提高 CryIAc 毒素对斜纹夜蛾 (*S. litura*) 幼虫的杀虫活性,饲用仅含 3 000 μ g/g CryIAc 毒素的斜纹夜蛾 (*S. litura*) 幼虫,7 d 死亡率仅为 54%;而混合 Bt *buihui* 菌株发酵上清液后,7 d 死亡率高达 100%^[52]。Bc 与其发酵上清液均对舞毒蛾 (*L. dispar*) 无杀虫活性,但发酵上清液中次生代谢物 Zwittermicin A 对 Bt *kurstaki* 杀灭舞毒蛾 (*L. dispar*) 幼虫具有增效作用,且舞毒蛾 (*L. dispar*) 幼虫的死亡率与 Zwittermicin A 的剂量成正比^[53]。球形芽孢杆菌营养期杀蚊毒素 (mosquitocidal toxin 1, Mtx1) 对 Bt

israelensis Cyt1Aa 毒素杀灭致倦库蚊 (*C. quinquefasciatus*) 和其速效性同样具有显著的增效作用, Cyt1Aa 和 Mtx1 毒素作用于致倦库蚊 (*C. quinquefasciatus*) 3~4 龄幼虫的 LC_{50} 值分别为 116.5 ng/mL 和 45.29 ng/mL, 而当 Mtx1 与 Cyt1Aa 按 1:3 比例混合后, 其 LC_{50} 值仅为 20.19 ng/mL, 而毒力是 Mtx1 的 2.24 倍; 其次, Cyt1Aa 和 Mtx1 毒素的 LT_{50} 分别是 7.48 h 和 18.02 h, 混合作用的 LT_{50} 减少为 11.69 h, 比 Mtx1 的 LT_{50} 缩短了 6.33 h, 且不同比例混合情况下, LC_{50} 、 LC_{90} 与 LT_{50} 、 LT_{90} 的协同因子均大于 1, 表明 Cyt1Aa 和 Mtx1 毒素之间存在协同作用, 且协同效果随 Cyt1Aa 毒素用量的增加而得以增强^[14]。粘质沙雷氏菌 (*S. marcescens*) 发酵上清液提高 Bt CryIC 毒素对斜纹夜蛾 (*S. litura*) 的杀虫活性达 8 倍, 但对杀灭甘蓝夜蛾 (*M. brassicae*)、小菜蛾 (*P. xylostella*) 和卷叶蛾 (*A. honmai*) 无明显作用。Bs 对 Bti Cyt1A 毒素防治耐 Bs 菌株的史氏按蚊 (*Anopheles stephensi*) 具有显著的增效作用, 且 Cyt1A 与 Bs 混合物 (1:4) 的 LC_{90} 比单独使用 Bs 高 13 200 倍^[34]。综上所述, 微生物发酵上清液的种类、浓度以及 ICPs 浓度都影响着上清液对 Bt 制剂的增效作用, 且与上清液含增效物质的种类与性质有关, 然而, 上清液组成与具体的增效作用机制等仍需进一步研究。

3.3 其他生物杀虫剂对苏云金芽孢杆菌杀虫活性的增效作用

除 Bt 制剂外, 其他生物杀虫剂同样存在防效不稳定、速效性差和持效期短等诸多缺陷, 因此, 不同生物杀虫剂间混用以互补增效, 也是促进生物杀虫剂发展的有效途径。除病毒、细菌类生物杀虫剂外, 阿维菌素、印楝素、多杀霉素/多杀菌素和甲维盐等生物杀虫剂对 Bt 制剂防治稻纵卷叶螟 (*C. medinalis*)、黄野螟 (*Heortia vitessoides*) 和小菜蛾 (*P. xylostella*) 也具有显著的增效作用^[54~56]。阿维菌素和 Bt 制剂对稻纵卷叶螟 (*C. medinalis*) 3 龄初期幼虫的 LC_{50} 分别为 0.217 8 $\mu\text{g/mL}$ 和 372.73 $\mu\text{g/mL}$, 二者混合物 (0.1% 阿维菌素 · 1.00 $\times 10^{10}$ 活芽孢/g) 的 LC_{50} 为 93.17 $\mu\text{g/mL}$, 且共毒系数为 147.73^[54]; 对 5 龄黄野螟 (*H. vitessoides*) 的 LC_{50} 分别为 1.599×10^{-7} mg/L 和 6.94×10^{-4} $\mu\text{g/mL}$, 二者混合物 (阿维菌素: Bt 制剂 = 1:9) 毒

效比为 1.77^[55]; 对小菜蛾 (*P. xylostella*) 的 LC_{50} 分别为 3.8 $\mu\text{g/mL}$ 和 464.8 IU/mg, 二者混合物 (阿维菌素: Bt = 2:3) 的 LC_{50} 为 66.47 $\mu\text{g/mL}$, 即三者均表现出对 Bt 制剂的显著增效作用^[56]。同样, 甲维盐对 Bt 制剂防治黄野螟 (*H. vitessoides*) 具有显著增效作用, 且两者以重量比为 8:2、7:3 和 6:4 混配时, 增效作用最为显著^[57]。

4 其他添加物对苏云金芽孢杆菌杀虫活性的增效作用

动植物和微生物等在发育过程中都会产生次生代谢物, 以防御病虫害的侵入和感染等。水溶性植物丹宁、没食子酸和间苯二酚可引发棉铃虫肠道破损^[15,16], L-刀豆酸可改变烟草天蛾 (*Manduca sexta*) 中肠膜的透性和主动运输方式^[17], 几丁质酶则通过抑制几丁质的合成, 阻止昆虫正常蜕皮和变态, 上述方式均可增强 Bt 制剂的杀虫活性^[18~20]。1.63 mg/mL Bt 制剂仅使 10% 粉纹夜蛾 (*Trichoplusia ni*) 死亡, 加入 0.025%~0.5% 丹宁酸可将其毒力提高 47%~65%, 但速效性有所降低^[16]。酚糖酐、苯丙烯酸、对羟基苯丙烯酸、氯原酸、多酚氧化酶和川楝素等都可提高 ICPs 的毒性, 且对幼虫生长发育及变态、化蛹和蛹发育等具有明显的抑制作用^[15]。Bt HD-1 菌株 Cry 毒素与几丁质分解芽孢杆菌 (次生代谢产生几丁质酶) 混合防治小菜蛾 (*P. xylostella*) 和棉铃虫 (*H. armigera*) 的死亡率接近 100%^[18], Bt Cry21Aa 毒素复配铜绿假单胞菌几丁质酶可将秀丽隐杆线虫 (*Caenorhabditis elegans*) 的死亡率提高 6.3 倍, 且加剧其角质层、甲壳和肠的退化^[20]。

由于拒食、高温、光照和辐射等环境因素的影响, Bt 毒素蛋白三维结构极易被破坏而使活性降低, 甚至丧失, 因此, 取食刺激剂和光保护剂等也被尝试用于提高 Bt 制剂的毒力^[2,21~23,43,58]。除了成功开发的取食刺激剂 Coax 和 Entice, 糖类、脂类、氨基酸、玉米、棉花叶和棉籽等也被用于改善 Bt 制剂对害虫的适口性, 以实现其增效作用^[58]。此外, 刚果红、叶酸和对氨基苯甲酸可使 Bt HD-1 防治欧洲玉米螟 (*Ostrinia nubilalis*) 的持效期得以延长, 且以刚果红效果最好^[2]。而荧光增白剂 M2R 不仅可提高 Bt 制剂杀灭草地螟 (*Loxostege sticticalis*) 的速效性, 降低其使用浓度, 而且还可

显著提高其防治效果^[43]。除 M2R 外,荧光增白剂 Tinopal LPW、VBL 和 JD-3 都可增强 Bt 制剂对棉铃虫 (*H. armigera*) 的毒力,协同因子分别为 1.23、1.49 和 2.00,且 VBL+Bt 经紫外线照射 8 h 后,杀虫率仍高于 70%^[21]。与不产生黑色素的 Bt 相比,产黑色素的 Bt 对小菜蛾 (*P. xylostella*) 具有更强的毒力^[58],且随着黑色素浓度增加,杀虫活性提高,这是由于黑色素可有效保护 Bt 晶体毒素蛋白免于经紫外线照射而降解^[22]。研究表明, δ -内毒素经紫外线照射 7 h,其杀虫活性几乎完全丧失,而 δ -内毒素与 11 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 黑色素复配后经紫外线照射 7 h,仍可使 2 龄小菜蛾的死亡率超过 80%^[23]。

5 展望

在农林业实际生产中,高投入和集约化种植提高了生产水平,但也导致病虫害的大范围爆发与恶化。过度依赖和滥用化学杀虫剂防治病虫害已使环境恶化、人类健康受到不良影响。而 Bt 制剂以其专一、高效和对人畜环境友好等优势,为防治病虫害提供了新选择。然而,Bt 毒素的缺陷限制了其推广与应用,究其原因,Bt 制剂主要活性成分是蛋白质,极易受到高温、辐射、光照、适口性和生物防御等因素的影响,使其活性降低,甚至丧失。通过改善 Bt 制剂在生产、保存和施用中的不利条件,提高 Bt 毒素被摄食后的溶解、酶解、透膜、与受体结合、脂筏聚集、构象改变、寡聚化、插入上皮细胞和孔洞形成等诸多环节上的作用效率,克服病虫害自身产生的抗性,是实现增效 Bt 制剂毒力的关键。

开发速效性快、持效期长、特异性强和广谱的生物杀虫剂,从而逐步降低、甚至完全替代化学杀虫剂的使用,将是农林业病虫害综合治理的发展趋势。因此,发掘快速、稳定、高效和环境友好型的增效物质(剂)和因子,以弥补 Bt 制剂使用的诸多缺陷,可为复合新型 Bt 制剂的研制提供广泛的理论依据。然而,Bt 毒素的氨基酸序列、空间结构及杀虫谱具有多样性,毒力发挥也需多种因素的协同作用,是多步骤的作用结果,且各步骤都可能受到环境因素的影响,因此,增效物质(剂)、因子的合理使用必须依据其作用机制及增效机制而进行。此外,还应充分考虑增效物质(剂)和因

子残留、毒性、对非目标昆虫(尤其是有益生物等)的影响,以及目标害虫的种类、龄期和敏感性等。

参 考 文 献

- [1] Ge D H, Zhang X H, Nangong Z Y, et al.. Screening on synergist of *Bacillus thuringiensis* wettable powder[J]. Agr. Sci. Technol., 2012, 13(9): 1915-1918.
- [2] 申继忠, 钱传范. 苏云金杆菌杀虫剂增效途径研究[J]. 生物防治通报, 1994, 10(3): 135-140.
- [3] 金大勇, 李翔国, 张吉子. 苏云金杆菌制剂的增效因子研究进展[J]. 延边大学农学学报, 2012, 34(3): 267-272.
- [4] Aronson A I, Shai Y. Why *Bacillus thuringiensis* insecticidal toxins are so effective: Unique features of their mode of action [J]. FEMS Microbiol. Lett., 2001, 195(1): 1-8.
- [5] Pérez C, Muñoz-Garay C, Portugal L C, et al.. *Bacillus thuringiensis* ssp. *israelensis* Cyt1Aa enhances activity of Cry11Aa toxin by facilitating the formation of a pre-pore oligomeric structure [J]. Cell. Microbiol., 2007, 9(12): 2931-2937.
- [6] 曹伟平, 冯书亮, 范秀华, 等. 化学杀虫剂对苏云金杆菌芽孢及伴胞晶体的影响[J]. 农药学报, 2003, 5(1): 39-44.
- [7] 徐明, 徐福元, 吴小芹. 苏云金杆菌与灭幼脲混剂对美国白蛾幼虫围食膜的破坏研究[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2016, 40(3): 52-56.
- [8] Park H W, Pino B C, Kozervanich-Chong S, et al.. Cyt1Aa from *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* enhances mosquitoicidal activity of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD-1 against *Aedes aegypti* but not *Culex quinquefasciatus* [J]. J. Microbiol. Biotechnol., 2013, 23: 88-91.
- [9] Elleuch J, Jaoua S, Darriet F, et al.. Cry4Ba and Cyt1Aa proteins from *Bacillus thuringiensis israelensis*: Interactions and toxicity mechanism against *Aedes aegypti* [J]. Toxicon, 2015, 104: 83-90.
- [10] Lailak C, Khaokhiew T, Promptmas C, et al.. *Bacillus thuringiensis* Cry4Ba toxin employs two receptor-binding loops for synergistic interactions with Cyt2Aa2 [J]. Biochem. Bioph. Res. Co., 2013, 435: 216-221.
- [11] Cantón P E, Reyes E Z, De Escudero I R, et al.. Binding of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* Cry4Ba to Cyt1Aa has an important role in synergism [J]. Peptides, 2011, 32(3): 595-600.
- [12] Kaikaew A, Promptmas C, Angsuthanasombat C. Importance of Thr³²⁸ and Thr³⁶⁹ for functional maintenance of two receptor-binding b-hairpins of the *Bacillus thuringiensis* Cry4Ba toxin: Implications for synergistic interactions with Cyt2Aa2 [J]. Biochem. Bioph. Res. Co., 2016, 469(3): 698-703.
- [13] Baranek J, Konecka E, Kaznowski A. Interaction between toxin crystals and vegetative insecticidal proteins of *Bacillus thuringiensis* in lepidopteran larvae [J]. BioControl, 2017, 62(5): 649-658.
- [14] 杨艳坤, 蔡全信, 蔡亚君, 等. 球形芽孢杆菌 Mtx1 蛋白和苏云金杆菌 Cyt1Aa 晶体蛋白的协同作用 [J]. 微生物学

- 报, 2007, 47(3): 456-460.
- [15] Sivamani E, Rajendran N, Senrayan R, *et al.*. Influence of some plant phenolics on the activity of δ -endotoxin of *Bacillus thuringiensis* var. *galleriae* on *Heliothis armigera* [J]. Entomol. Exp. Appl., 1992, 63(3): 243-248.
 - [16] Gibson D M, Greenspan G L, Krasnoff S B, *et al.*. Increased efficacy of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* in combination with tannic acid [J]. J. Econ. Entomol., 1995, 88(2): 270-277.
 - [17] Felton G W, Datlman D L. Allelochemical induced stress: Effects of L-canavanine on the pathogenicity of *Bacillus thuringiensis* in *Manduca sexta* [J]. J. Invertebr. Pathol., 1984, 44: 187-191.
 - [18] Avupati R N S S, Khan M S, Johnson S, *et al.*. Diversity and functional annotation of chitinolytic *Bacillus* and associated chitinases from north western Indian Himalayas [J]. Appl. Soil Ecol., 2017, 119: 46-55.
 - [19] Subbanna A R N S, Rajasekhara H, Stanley J, *et al.*. Pesticidal prospectives of chitinolytic bacteria in agricultural pest management [J]. Soil Biol. Biochem., 2018, 116: 52-66.
 - [20] Chen L, Jiang H, Cheng Q, *et al.*. Enhanced nematicidal potential of the chitinase *pachi* from *Pseudomonas aeruginosa* in association with *Cry21Aa* [J]. Sci. Rep., 2015, 5: 14395.
 - [21] 徐莉, 杨红, 彭建新, 等. 荧光增白剂对苏云金芽孢杆菌毒力的增效作用及其紫外防护功效 [J]. 中国生物防治学报, 2001, 17(2): 63-66.
 - [22] 胡海艳, 黄雅莉, 梁志州, 等. 工程菌所产黑色素对苏云金芽孢杆菌毒力的保护作用 [J]. 农药学报, 2011, 13(2): 205-208.
 - [23] 宁华. 工程菌所产黑色素对生物大分子光保护作用的研究 [J]. 华中师范大学学报(自然科学版), 2001, 35(1): 85-88.
 - [24] 宋健, 冯书亮, 王容燕, 等. 对苏云金芽孢杆菌 HBF-1 菌株增效剂的初步筛选 [J]. 华北农学报, 2008, 23: 268-273.
 - [25] Morris O N, Converse V, Kanagaratnam P. Chemical additive effects on the efficacy of *Bacillus thuringiensis* Berliner subsp. *kurstaki* against *Mamestra configurata* (Lepidoptera: Noctuidae) [J]. J. Econ. Entomol., 1995, 88(4): 815-824.
 - [26] 李荣森, 戴顺英, 李小刚, 等. 化学助剂对苏云金芽孢杆菌的影响及新型悬乳剂的研制 [J]. 微生物学通报, 1991, 18(2): 68-71.
 - [27] Mardan A H, Harein P K. Susceptibility of a malathion-resistant of Indian meal moths (Lepidoptera: Pyralidae) to *Bacillus thuringiensis* Berliner [J]. J. Econ. Entomol., 1984, 77(5): 1260-1263.
 - [28] 周荣华, 刘翠军, 杨天武, 等. Bt 杀虫剂与化学杀虫剂混用的研究概况 [J]. 湖北农业科学, 2004, 5: 54-57.
 - [29] 张聪冲, 邱浩, 覃春华, 等. Bt 工程菌 WG-001 与化学杀虫剂复配最佳配方筛选及田间防效研究 [J]. 应用昆虫学报, 2011, 48(2): 313-318.
 - [30] 刘云飞, 陆秀君, 刘廷辉, 等. 苏云金杆菌与高效氯氟菊酯对美国白蛾的协同作用 [J]. 农药学报, 2012, 14(1): 51-55.
 - [31] 王学聘, 戴莲韵. 苏云金芽孢杆菌制剂与化学药剂混合使用的初步研究 [J]. 林业科技通讯, 1990, 8: 25-26.
 - [32] Li H, Bouwer G. Evaluation of the synergistic activities of *Bacillus thuringiensis* Cry proteins against *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) [J]. J. Invertebr. Pathol., 2014, 121: 7-13.
 - [33] Monnerat R, Pereira E, Teles B, *et al.*. Synergistic activity of *Bacillus thuringiensis* toxins against *Simulium* spp. larvae [J]. J. Invertebr. Pathol., 2014, 121: 70-73.
 - [34] Chenniappan K, Ayyadurai N. Synergistic activity of Cyt1A from *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* with *Bacillus sphaericus* B101H5a5b against *Bacillus sphaericus* B101H5a5b-resistant strains of *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: Culicidae) [J]. Parasitol. Res., 2012, 110: 381-388.
 - [35] 邱道寿, 刘晓津. PTD-Cry3Aa 原核融合表达产物对甘薯小象甲的活性研究 [J]. 生物灾害科学, 2012, 35(4): 347-351.
 - [36] Johnson D E, Oppert B, McGaughey W H. Spore coat protein synergizes *Bacillus thuringiensis* crystal toxicity for the Indian-meal moth (*Plodia interpunctella*) [J]. Curr. Microbiol., 1998, 36(5): 278-282.
 - [37] Yu X M, Liu T, Sun Z G, *et al.*. Co-expression and synergism analysis of Vip3Aa29 and Cyt2Aa3 insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis* [J]. Curr. Microbiol., 2012, 64(4): 326-331.
 - [38] Baranek J, Konecka E, Kaznowski A. Interaction between toxin crystals and vegetative insecticidal proteins of *Bacillus thuringiensis* in lepidopteran larvae [J]. BioControl, 2017, 62(5): 649-658.
 - [39] Dong F, Shi R P, Zhang S S, *et al.*. Fusing the vegetative insecticidal protein Vip3Aa7 and the N terminus of Cry9Ca improves toxicity against *Plutella xylostella* larvae [J]. Appl. Microbiol. Biotechnol., 2012, 96(4): 921-929.
 - [40] Park Y J, Hua G, Taylor M D, *et al.*. A coleopteran cadherin fragment synergizes toxicity of *Bacillus thuringiensis* toxins Cry3Aa, Cry3Bb, and Cry8Ca against lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) [J]. J. Invertebr. Pathol., 2014, 123: 1-5.
 - [41] Qiong L U, Zhang Y J, Cao G C, *et al.*. A fragment of cadherin-like protein enhances *Bacillus thuringiensis* Cry1B and Cry1C toxicity to *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) [J]. J. Integr. Agr., 2012, 11(4): 628-638.
 - [42] Magholli Z, Marzban R, Abbasipour H, *et al.*. Interaction effects of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* and single nuclear polyhedrosis virus on *Plutella xylostella* [J]. J. Plant Dis. Protect., 2013, 120(4): 173-178.
 - [43] 尹姣, 郭巍, 李克斌, 等. 光增白剂 M2R 对草地螟中肠胃食膜的影响及对 Bt 毒力的增效作用 [J]. 昆虫学报, 2009, 52(7): 763-768.
 - [44] 刘琴, 徐健, 唐美君, 等. 苏云金杆菌与 EpNPV 混用对茶毛虫的增效作用 [J]. 江苏农业科学, 2010(5): 165-167.
 - [45] 段彦丽, 陶万强, 曲良建, 等. HeNPV 和 Bt 复配对美国白蛾的致病性 [J]. 中国生物防治学报, 2008, 24(3): 233-238.
 - [46] 刘琴, 徐健, 王艳, 等. CmGV 与 Bt 对稻纵卷叶螟幼虫的协同作用研究 [J]. 扬州大学学报(农业与生命科学版),

- 2013, 34(4): 89-93.
- [47] 陈立坤, 张永安, 王玉珠, 等. Bt 和 LdNPV 混用对舞毒蛾幼虫毒杀效果的研究[J]. 中国森林病虫, 2013, 32(3): 36-39.
- [48] Raymond B, Sayyed A H, Wright D J. The compatibility of a nucleopolyhedrosis virus control with resistance management for *Bacillus thuringiensis*: Co-infection and cross-resistance studies with the diamondback moth, *Plutella xylostella* [J]. J. Invertebr. Pathol., 2006, 93(2): 114-120.
- [49] Wraight S P, Ramos M E. Characterization of the synergistic interaction between *Beauveria bassiana* strain GHA and *Bacillus thuringiensis morrisoni* strain tenebrionis applied against Colorado potato beetle larvae[J]. J. Invertebr. Pathol., 2017, 144: 47-57.
- [50] Asano S, Ogiwara K, Nakagawa Y. Prodigiosin produced by *Serratiamarcescens* enhances the insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin (CryIc) against common cutworm, *Spodoptera litura* [J]. J. Pestic. Sci., 1999, 24: 381-385.
- [51] 吴继星, 陈在珥, 李青. 苏云金杆菌 79007 发酵上清液对棉铃虫的毒力作用[J]. 微生物学报, 1997, 24(1): 35-36.
- [52] Asano S, Ogiwara K, Takahashi M, et al.. Culture medium of *Bacillus thuringiensis* serovar *japonensis* Buibui enhances the insecticidal activities of δ -endotoxin from *B. thuringiensis* serovar *Kurstaki* and *aizawai* against lepidopterous pest insects [J]. Appl. Entomol. Zool., 2000, 35(4): 575-582.
- [53] Stabb E V. Zwittermicin A: Producing strains of *Bacillus cereus* from diverse soils [J]. Appl. Environ. Microbiol., 1994, 60(12): 4404-4412.
- [54] 徐开云, 宋国庆, 张友明, 等. 0.1%阿维·100 亿活芽孢/g 苏 WP 防治稻纵卷叶螟和二化螟药效试验[J]. 现代农药, 2007, 6(5): 51-53.
- [55] 李嘉杰, 李东文, 郑礼飞, 等. 阿维菌素与苏云金杆菌复配对黄野螟增效作用研究[J]. 山东林业科技, 2011, 41(5): 52-53.
- [56] 林德锋, 廖金英, 吴顺章, 等. 阿维菌素与苏云金芽孢杆菌复配剂对小菜蛾毒力研究[J]. 广东农业科学, 2012, 39(16): 78-80.
- [57] 王玲, 郑礼飞, 陈志云, 等. 甲维盐与苏云金杆菌复配对黄野螟增效作用研究[J]. 山东林业科技, 2012, 42(1): 37-38.
- [58] Zhang J H, Wang C Z, Qin J D. Effect of feeding stimulant on the feeding behavior and mortality of *Helicoverpa armigera* on diets with *Bacillus thuringiensis* [J]. Insect Sci., 2000, 7(2): 155-160.