绿僵菌生物防治制剂田间抗逆性提升技术研究进展*

张芷娴[1, 2**] 张姗姗[1, 2] 卓富彦[3] 郭 伟[1, 2***]

（1. 中国科学院动物研究所，动物多样性保护与有害动物防控全国重点实验室，北京 100101；
2. 中国科学院大学，北京 100049；3. 全国农业技术推广服务中心，北京 100026）

摘 要 绿僵菌属 *Metarhizium* 的昆虫病原真菌是农业害虫绿色防控体系的重要微生物农药资源，生态安全性高。然而，田间强紫外辐射、高温、干旱等非生物胁迫易造成分生孢子失活、侵染能力下降，导致绿僵菌制剂田间防效不稳定。本文基于绿僵菌侵染机制阐述了非生物胁迫对绿僵菌的损伤机制，进而从菌株遗传改良、发酵条件优化和外源助剂保护三个层面归纳了绿僵菌抗逆性提升技术的研究进展，对比分析了各技术路径的作用特点、适配场景与发展局限。最后对未来绿僵菌多胁迫响应机制解析、基因工程改造以及抗逆技术体系构建的发展方向进行了展望，旨在为开发田间稳定性强、防效显著的绿僵菌生防制剂提供理论参考与技术框架，推动微生物农药在绿色农业中的应用与推广。

关键词 绿僵菌；昆虫病原真菌；非生物胁迫；抗逆性；生物防治

Progress in research on enhancing the field stress tolerance of *Metarhizium* mycoinsecticides

ZHANG Zhi-Xian[1, 2**] ZHANG Shan-Shan[1, 2] ZHUO Fu-Yan[3] GUO Wei[1, 2***]

(1. State Key Laboratory of Animal Biodiversity Conservation and Integrated Pest Management, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. National Agricultural Technology Extension Service Center, Beijing 100026, China)

Abstract Entomopathogenic fungi within the genus *Metarhizium* are important, environmentally-friendly, microbial, pesticide resources for the biological control of agricultural pests. Nevertheless, abiotic stresses, such as intense ultraviolet radiation, high temperature and drought, readily induce conidial inactivation and impaired infectivity, reducing the effectiveness of *Metarhizium* formulations. This review describes the infection process of *Metarhizium* and the mechanisms through which abiotic stresses affect this fungal genus. It summarizes progress in three areas of research on the enhancement of *Metarhizium* stress tolerance: improvement of genetic strains, optimization of fermentation conditions and exogenous adjuvant protection. The functional characteristics, applicable scenarios and limitations, for developing each strategy are comparatively analyzed. Finally, future research priorities are discussed, including the further elucidation of *Metarhizium* multi-stress response mechanisms, synergistic optimization of multiple technologies and the construction of standardized industrial systems. This review aims to provide a theoretical basis and a technical framework for the development of cost-effective *Metarhizium* biocontrol formulations that have high stability in the field, and to facilitate the application and promotion of microbial pesticides in sustainable agriculture.

Key words *Metarhizium*; entomopathogenic fungi; abiotic stress; stress tolerance; biological control

*资助项目 Supported project：中国科学院战略性先导科技专项资助（XDB1650000）

**第一作者 First author，E-mail：17305052105@163.com

***通讯作者 Corresponding author，E-mail：guowei@ioz.ac.cn

收稿日期 Received：2026-07-27；接受日期 Accepted：2026-08-30

农业害虫是造成全球农作物产量与品质损失的核心生物胁迫之一（Ma *et al*., 2025）。长期以来，化学杀虫剂是害虫防控的主要手段，但长期滥用引发靶标害虫抗药性增强、非靶标生物危害、环境污染与农产品残留超标等局限（戈峰, 2025; 戈峰等, 2025）。而微生物农药凭借对人畜安全、环境友好、不易产生抗性等独特优势，成为绿色防控体系的重要组成部分（Yapa *et al*., 2025）。其中绿僵菌属 *Metarhizium* 昆虫病原真菌是全球应用最广泛的虫生真菌类群之一，在蝗虫、地下害虫、刺吸式口器害虫等重大农业靶标害虫的生物防治中发挥了关键作用。绿僵菌是当前真菌杀虫剂研发与使用的核心真菌资源，其分生孢子既是核心侵染单元也是制剂的主要活性成分（Peng *et al*., 2022）。然而，绿僵菌制剂的田间表现易受环境条件制约，如强紫外辐射、高温、干旱等非生物胁迫常导致绿僵菌制剂在大田开放环境下防效波动大、持效期短，难以达到化学农药稳定的防控效果（Quesada-Moraga *et al*., 2023）。

为突破这一局限，国内外学者从多个方面开展了绿僵菌抗逆改良研究，如极端生境的本土菌株筛选获得天然高抗逆种质；物理诱变与基因工程技术通过随机突变或定向基因调控进一步强化菌株的胁迫耐受能力；优化培养条件，从细胞结构、代谢防御、酶活功能等层面提升孢子的胁迫耐受性；添加外源助剂为孢子提供外源防护（Alonso-Díaz *et al*., 2024; Muazu *et al*., 2024）。尽管绿僵菌抗逆改良已取得大量阶段性成果，但现有研究多聚焦于单一胁迫类型与单一技术路径，缺乏对各技术的作用机制、适配场景、不同改良策略的系统整合与梳理（Lomer *et al*., 2001）。

本文围绕强紫外线、高温和干旱三类制约田间应用的核心非生物胁迫，系统阐述非生物胁迫对绿僵菌的损伤机制，从菌株源头改良、发酵工艺优化、外源助剂防护三个层面归纳绿僵菌农药抗逆的研究进展，对比各类技术路径的优势与应用局限，并对未来研发方向进行展望，旨在为开发环境适应性强、田间防效稳定的绿僵菌生防制剂提供理论参考与技术框架。

1 绿僵菌农药的发展与瓶颈

1.1 绿僵菌农药的发展

绿僵菌属 *Metarhizium* 隶属于子囊菌门 Ascomycota 粪壳菌纲 Sordariomycetes 肉座菌目 Hypocreales 麦角菌科 Clavicipitaceae，是当前生物防治领域研究最深入、应用最广泛的昆虫病原真菌类群之一。1878 年，俄罗斯微生物学家 Metchnikoff 首次从奥地利金龟子 *Anisoplia austriaca* 中分离获得金龟子绿僵菌 *Metarhizium anisopliae*。他提出人工培育分生孢子来控制甜菜象甲 *Cleonus punctiventris Germar*，以啤酒糟为廉价基质量产绿僵菌孢子，拌沙撒施田间，甜菜象甲田间死亡率可达 55%-80%，这是人类首次工业化生产和大面积田间应用微生物农药（Lord, 2005）。此后，绿僵菌生物农药在巴西、澳大利亚、意大利、新西兰、瑞士和美国等多个国家多有应用，科研人员发现并分离出不同的绿僵菌菌种，用于防治多种农林农业害虫（Boaventura and Quintela, 2025; Yapa *et al*., 2025）。例如中国研究人员从重庆黄脊竹蝗 *Ceracris kiangsu* 中分离出菌株 CQMa102，经中国科学院微生物研究所鉴定为蝗绿僵菌变种 *M. anisopliae* var. *acridum*，并成功应用于防治飞蝗 *Locusta migratoria*（Peng *et al*., 2008）。目前在世界范围内作为生物杀虫剂使用的绿僵菌共 11 种，包括蝗绿僵菌 *Metarhizium acridum*、金龟子绿僵菌 *Metarhizium anisopliae*、褐色绿僵菌 *Metarhizium brunneum*、黄绿绿僵菌 *Metarhizium flavoviride*、大孢绿僵菌 *Metarhizium majus*、亨伯绿僵菌 *Metarhizium humberi*、贵州绿僵菌 *Metarhizium guizhouense*、新西兰绿僵菌 *Metarhizium novozealandicum*、瘿绵蚜绿僵菌 *Metarhizium pemphigi*、平沙绿僵菌 *Metarhizium pingshaense* 和莱氏绿僵菌 *Metarhizium rileyi*（Yapa *et al*., 2025），覆盖直翅目 Orthoptera、蜚蠊目 Blattodea、半翅目 Hemiptera、鞘翅目 Coleoptera 和鳞翅目 Lepidoptera 等害虫（Peng *et al*., 2022）。后来，绿僵菌防治范围从农林害虫延伸至蚊子、蜱、白蚁等病媒生物（Scholte *et al*., 2007; Zoberi, 2018）。

与化学农药相比，绿僵菌生物农药具有环境友好、对人畜安全、不易产生抗药性等优点，因此成为一种重要的生物防治手段（Quesada-Moraga *et al*., 2023）。

1.2　绿僵菌农药面临的问题

绿僵菌完整致病循环包含分生孢子黏附寄主体表、孢子萌发、穿透寄主体壁，随后在血淋巴内定殖增殖；寄主死亡后，菌丝穿出虫尸表皮并在体表产生新一代分生孢子（Peng *et al*., 2022）。整个生理过程对田间环境高度敏感，强紫外辐射、高温及干旱会降低孢子活力，抑制孢子萌发、菌丝生长与降低产孢能力，造成菌株致病力减弱，最终影响田间防治效果（霍英慧等, 2022; 刘明秀等, 2024）。

野外条件下太阳光中的紫外辐射主要分为UVA（320-400 nm）和UVB（290-320 nm）两个波段，真菌细胞对UVB的敏感性高于UVA（Yao *et al*., 2010）。在田间应用场景下，UVB辐射是导致绿僵菌孢子失活的关键胁迫因素，其诱导的DNA 相邻碱基的共价连接产生两种细胞毒性光产物环丁烷嘧啶二聚体（Cyclobutane pyrimidine dimer, CPD）和（6-4）-嘧啶-嘧啶酮（6-4PP），直接造成遗传物质的损伤，阻断DNA复制与基因转录，导致孢子萌发、代谢和侵染相关的功能蛋白无法合成（Peng *et al*., 2024）。在峰值313 nm的UVB荧光灯照射下，在罗伯茨绿僵菌 *Metarhizium robertsii* ARSEF 23和ARSEF 2575菌株（旧称金龟子绿僵菌）感染死亡的虫尸和培养基上培养的分生孢子随紫外照射时间延长活力呈显著骤降趋势。照射4 h时，虫尸孢子几乎完全失活，而马铃薯葡萄糖酵母浸膏琼脂（Potato dextrose agar plus yeast extract, PDAY）培养基孢子相对可培养率降至20%以下（Rangel *et al*., 2004）。同样采用峰值313 nm的UVB荧光灯照射罗伯茨绿僵菌和褐色绿僵菌，8 h后菌株萌发率降至5%以下（Couceiro *et al*., 2021）。

温度是影响绿僵菌田间防效的重要因素之一。当孢子遭遇热胁迫时，线粒体电子传递链发生泄漏，大量电子与氧气结合，生成远超细胞清除能力的活性氧（Reactive oxygen species, ROS），ROS攻击线粒体导致膜电位崩溃、细胞结构氧化损伤，无法再产生ATP，导致孢子缺乏萌发和修复所需的能量，活力丧失，而孢子内源丙酮酸介导的抗氧化防御系统激活滞后，会加剧热诱导氧化损伤（Wu *et al*., 2019）。蝗绿僵菌、罗伯茨绿僵菌和金龟子绿僵菌在28-32 ℃的温区范围内均可正常萌发，38与40 ℃下分生孢子萌发受到严重抑制（Rangel *et al*., 2010）。金龟子绿僵菌LA菌株分生孢子在20-35 ℃范围内均可萌发，24 h内萌发率达到90%以上，但在40 ℃条件下无萌发现象。30 ℃时，该菌株对飞蝗 *Locusta migratoria* 致病力最强，而在20和40 ℃条件下，致死时间显著延长（岳梅等, 2010）。

干旱会造成绿僵菌细胞壁和细胞膜复合体的厚度下降，细胞壁韧性下降、细胞膜易破裂，分生孢子皱缩变形（Sánchez-Rey *et al*., 2024）。绿僵菌FI25、FI610菌株分生孢子萌发的最低水活度（Water activity, A_w）阈值为0.96，低于该值萌发完全受阻。菌株突破寄主体壁产孢的水活度阈值为0.93，低于该阈值真菌仅能在寄主体腔内定殖，无法完成体表产孢（Milner *et al*., 1997）。Lazzarini等（2006）比较了11株金龟子绿僵菌在不同水活度下的萌发速率和毒力，发现水活度0.99条件下所有菌株均可快速萌发，水活度0.93时萌发显著延迟，萌发启动时间推迟至48-72 h。水活度0.98条件下所有菌株均表现出高毒力，多数菌株10 d内可对锥蝽3龄若虫造成高死亡率，而水活度0.75与0.43条件下，25 d累计死亡率均不超过25%，毒力显著下降。

2　菌株源头改良

2.1　天然抗逆菌株的筛选

长期生长在极端环境中的真菌，会演化出更强的抗逆能力。如蝗绿僵菌38 ℃下仍保持约30%的萌发率，耐热性显著高于罗伯茨绿僵菌、金龟子绿僵菌，这与其寄主蝗虫的行为性体温调节特征有关（Rangel *et al*., 2010）。摩洛哥东南部的绿洲生态系统，常年高温干旱、昼夜温差极大，研究人员从40份土壤样本共分离获得82株罗伯茨绿僵菌分离株，并筛选出2株超高耐热菌株

R2 和 R4，45 ℃高温处理 2 h 后萌发率分别达到 93.67%和 95.67%（Imoulan *et al*., 2026）。Alonso-Díaz 等（2024）从墨西哥韦拉克鲁斯州热带牧场土壤分离出 6 株高致病、强耐紫外的金龟子绿僵菌菌株，在 UVA+UVB 照射后依然能保持稳定的菌落形成能力。陈自宏等（2021）对来自高黎贡山的 5 株绿僵菌进行抗逆性能测试，筛选出对高盐、高温、酸碱性和紫外具有较高耐受性的菌株 BUM66.1 和 BUM225。其中 BUM66.1 在高温胁迫和紫外线辐射条件下的产孢能力最强，BUM225 在高盐（0.6 mol/L）和酸性条件（pH=5）下的产孢能力最强。霍英慧等（2022）从新疆地区土壤中分离得到的 17 株绿僵菌中筛选出对飞蝗具有高毒力的菌株 M1-17，且较其它菌株更加适应新疆高温、干旱和强紫外线的环境，具有很好的开发利用价值。

2.2 诱变育种

物理诱变通过不同类型辐射诱发基因组随机突变，结合定向胁迫筛选可快速获得抗逆性状显著提升的突变株。常用的诱变方式主要包括紫外诱变、^{60}Coγ 射线诱变、常压室温等离子体（Atmospheric and room temperature plasma, ARTP）诱变及重离子束诱变等。

紫外诱变主要通过诱导真菌 DNA 形成嘧啶二聚体引发基因突变。研究人员采用 311 nm 的 UVB 光源照射处理金龟子绿僵菌 Ma83 菌株 90 min，筛选获得综合抗逆能力最强的菌株 MaUV-22，UVB 照射 1 h 后萌发率达 92.9%，45 ℃热激处理 0.5 和 1 h 后萌发率分别为 96.1%和 64.8%，均显著高于野生型的 26.7%和 8.6%；对渗透胁迫、氧化胁迫的耐受性显著提升；同时对大蜡螟 *Galleria mellonella* 3 龄幼虫毒力显著增强，半致死时间（Median lethal time, LT_{50}）较野生型缩短 3.02 d（Gao *et al*., 2025）。^{60}Coγ 射线属于电离辐射，穿透力强、诱变谱广，可诱发碱基替换、DNA 片段缺失与易位等多种突变类型。研究者以泰国本土分离的韩国绿僵菌 *Metarhizium koreanum* MLUBN038 与 MNMHN031 为实验菌株，采用 0.6-1.0 kGy 梯度剂量的 ^{60}Coγ 射线辐照分生孢子，初筛共获得 79 株耐热突变株，其中 MN031_Mt80 的耐热上限提升至 42 ℃，ML038_Mt71 与 MN031_Mt46 对褐飞虱 *Nilaparvata lugens* LT_{50} 分别较野生型缩短 47.5%与 40.9%，14 d 校正死亡率较野生型分别提升 64.3%与 75.8%，致病速度与最终致死率均显著提高（Muazu *et al*., 2024）。

然而单一诱变方式容易出现突变饱和、正向突变率低等问题，若采用不同机制的诱变构建复合诱变体系，可提高正向突变频率。黄玉等（2021）建立 ARTP 处理 40 s 联合紫外诱变 120 s 的复合诱变体系处理金龟子绿僵菌 421 菌株，获得突变株 AU3、AU34。紫外照射 5 min 后，孢子存活率以及对小菜蛾 *Plutella xylostella* 的校正致死率均显著高于原始菌株。其中 AU34 的 LT_{50} 最短，仅 6.12 d；该突变株同时具备更强的耐高温能力；产孢量达（1.63 ± 0.22）×10^{8} conidia·cm^{-2}，较原始菌株提高 63.81%。经 6 次连续传代验证，菌株产孢性状稳定，无遗传衰退现象。该研究表明 ARTP 与紫外复合诱变可同步提升绿僵菌的生长速率、产孢能力、紫外耐受性、耐热性与杀虫毒力，是高效选育优良绿僵菌的可行技术路径。

除常规紫外与 γ 射线外，碳离子束等重离子辐射作为高线性能量转移（Linear energy transfer, LET）诱变源，可诱发更复杂的 DNA 双链断裂，突变频率更高，但也伴随着表型不确定性。Fitriana 等（2014）以两株金龟子绿僵菌野生株 AcMa5 与 PaMa02 为材料，对比碳离子束与 γ 射线两种诱变方式的耐热改良效果，共获得 5 株稳定耐热突变体。AcMa5 衍生突变体的生长上限由 36 ℃提升至 38 ℃，经 45 ℃湿热胁迫 1 h 后仍维持 5.6%-19.3%的萌发率（野生型为 0）。而碳离子束诱变获得的 PaMa02-ib 突变体耐热上限由 36 ℃提升至 39 ℃。但物理诱变的随机性具有风险，PaMa02-ib 突变体的杀虫毒力几乎完全丧失，25 ℃下 10 d 校正死亡率仅 4%，远低于野生型的 94%。这表明物理诱变的随机突变特性可能导致毒力衰退等负面性状产生（王兴民等, 2015）。必须经过系统的生物学性状、遗传稳定性与杀虫毒力等多维度评价，方可进入后续制剂开发与田间应用（王诗玮等, 2019）。

2.3　基因工程改造

随着金龟子绿僵菌、蝗绿僵菌等模式菌株全基因组测序的完成，以及 CRISPR-Cas9 基因编辑等遗传操作体系的成熟，通过解析紫外损伤修复、热激应答、氧化应激、细胞壁稳态等抗逆通路的关键调控基因，采用过表达、基因敲除等手段强化目标性状，能够增强绿僵菌抗逆性。目前绿僵菌基因工程抗逆改良主要分为正向通路强化、代谢调控、负调控因子敲除三大技术方向。

正向功能基因过表达可以直接强化菌株的抗胁迫能力。罗伯茨绿僵菌的单拷贝基因 *hsp*25 编码典型小热激蛋白，是温度与特定渗透胁迫应答的关键调控因子，遗传改造过表达 *hsp*25，35 ℃条件下，工程菌株分生孢子在马铃薯葡萄糖肉汤（Potato dextrose broth, PDB）培养基中的萌发率较野生型提升 43%，蝗虫翅膀体表萌发率提升 10%，热激后对甘露醇渗透胁迫、热-冻融循环损伤的耐受性、菌丝生长量、田间持效期同步增强，且未对基础毒力造成负面影响。该研究为热激蛋白类靶标在绿僵菌抗逆中的应用提供了完整的功能验证与田间应用效果的评估（Liao *et al*., 2014）。异源表达极端嗜盐古菌 *Halobacterium salinarum* 的高活性 CPD 光解酶 HsPHR2，可使罗伯茨绿僵菌经 7 h 自然光照射后的孢子存活率较野生型提升 32 倍，并且仍可在 11 d 内实现冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae* 100%的致死率（Fang and St Leger, 2012）。

代谢工程通过调控胞内保护性代谢物的积累，提升绿僵菌胁迫耐受性。罗伯茨绿僵菌菌丝受热时，分生孢子中 ROS 爆发早于丙酮酸应答性积累，导致抗氧化防御滞后，在丙酮酸达到有效浓度前已发生不可逆氧化损伤。基于此，研究者在分生孢子中过表达丙酮酸激酶基因，实现丙酮酸的预积累。改造后菌株在 42 ℃处理 30 min 时 ROS 水平显著低于野生型，热胁迫耐受性大幅提升（Wu *et al*., 2019）。Leng 等（2011）通过 RNAi 沉默蝗绿僵菌胞内中性海藻糖酶基因 *Ntl*，沉默菌株胞内海藻糖含量大幅提升，45 ℃湿热的半抑制时间（Median inhibition time，IT_{50}）与 65 ℃干热 IT_{50} 均显著高于野生型，耐热性显著增强，且不影响对飞蝗的毒力，为代谢工程抗逆改良提供了可靠的候选基因。

敲除或沉默胁迫应答的负调控因子也是绿僵菌抗逆改良的重要策略。如蝗绿僵菌 *MaAL* 基因的敲除实现菌株抗逆性与毒力的协同提升，*MaAL* 缺失后分生孢子萌发速率显著加快，UVB 的 IT_{50} 较野生型延长 2.08 h，46 ℃热激 IT_{50} 延长 1.29 h，同时对高渗胁迫与细胞壁胁迫的抗性显著增强，且对寄主的侵染能力显著提升（Hong *et al*., 2025）。蝗绿僵菌的 *MaSep1* 是裂殖酵母 *Sep1* 的同源基因。敲除 *MaSep1* 后，分生孢子萌发加速，半萌发时间（Median germination time, GT_{50}）较野生型缩短约 1 h，热激与 UVB 胁迫 IT_{50} 均显著高于野生型与回补株（Song *et al*., 2024）。但绿僵菌不同胁迫应答通路存在显著拮抗效应，单一基因改造难以实现多胁迫协同提升。敲除蝗绿僵菌 *MaNrg1* 基因，菌株 UVB 半抑制时间较野生型提升约 70%，且对寄主毒力无显著变化。但对氧化胁迫（60 mmol·L^{-1} H_2O_2）的敏感性增加（Hu *et al*., 2026）。敲除蝗绿僵菌的 *MaPac2* 基因后，分生孢子萌发速率加快，对 UVB 辐射、湿热胁迫、氧化胁迫与高渗胁迫的耐受性均显著增强，但却出现产孢下降、表皮穿透能力减弱的情况（Hu *et al*., 2025）。蝗绿僵菌的 C2H2 型锌指转录因子 *Mamrn* 基因对高温与 UVB 的耐受性具有反向调控，敲除株 UVB 的耐受性显著增强，但热激的耐受性显著降低，二者调控方向完全相反（Qin and Xia, 2025）。上述研究表明，绿僵菌的不同胁迫应调控网络复杂，部分调控因子可对不同胁迫产生反向调控效应，需通过多基因叠加、精准调控实现性状平衡优化。

3　发酵条件优化

3.1　培养基组分调节

发酵基质营养组分直接调控绿僵菌孢子的细胞结构、代谢物质积累与胁迫防御通路激活，通过在发酵基质中添加特定物质、优化营养配比，可以提前激活胁迫防御通路、富集抗逆功能分子，提升绿僵菌制剂的田间稳定性。

不饱和脂肪酸、植物信号分子、维生素类物

质可有效调控菌株抗逆性状。在莱氏绿僵菌 Nm017 菌株培养基中补充 2%亚油酸，可显著提高分生孢子的耐干旱能力，而且不影响孢子产量与杀虫毒力，是菌剂加工性能改良的重要工艺方向（Sánchez-Rey *et al*., 2024）。水杨酸（Salicylic acid, SA）是植物体内的一种细胞信号代谢产物，参与植物对病原菌和环境胁迫的抗性。在罗伯茨绿僵菌 ARSEF2575 的培养基中添加 1-4 mmol·L^{-1} 水杨酸可特异性诱导分生孢子 45 ℃湿热耐受性提升约 2 倍，产孢量虽较富营养对照有小幅下降，但仍为碳饥饿培养基的 20-40 倍，具有显著的产能优势（Rangel *et al*., 2012）。在培养基中添加核黄素可提高蝗绿僵菌 ARSEF324 与罗伯茨绿僵菌 ARSEF2575 菌株的分生孢子对 UVB 的抗性。绿僵菌抗紫外胁迫依赖光复活与光保护两条核心通路，前者依赖黄素腺嘌呤二核苷酸（Flavin adenine dinucleotide, FAD）通过光解酶特异性修复 DNA 嘧啶二聚体，后者通过黑色素等屏蔽紫外，依赖漆酶、聚酮合酶的合成（Peng *et al*., 2024）。核黄素是 FAD 的生物合成前体，在罗伯茨绿僵菌中，核黄素通过上调光解酶基因 *MrPhr2* 与漆酶基因 *MrLac* 提升其抗紫外能力，而在蝗绿僵菌中主要通过上调 *MaLac3* 与 *MaPks2* 基因表达强化色素合成提高紫外抗性（Pereira-Junior *et al*., 2018）。

单一外源物质仅能适配单一胁迫改良，如上述添加水杨酸仅能提高绿僵菌耐热能力，无紫外保护效果（Rangel *et al*., 2012）。而规模化生产需要兼顾孢子产量、抗逆稳定性与杀虫毒力等多个核心指标。Ferreira 等（2021）以大米基质固体发酵的罗伯茨绿僵菌为研究对象，确定最优配比为 0.001%核黄素加 0.162%硝酸钠，使分生孢子产量达到规模化生产标准，分生孢子对 45 ℃湿热的耐受能力、胞外蛋白酶活性均显著提升，而且不影响对埃及伊蚊 *Aedes aegypti* 幼虫的毒力。这表明多组分协同优化有可能在现有发酵体系基础上，实现产量、抗逆、毒力多方面的平衡。

3.2 营养胁迫

通过限制营养供给或施加逆境处理，诱导真菌提前激活胁迫防御通路，使成熟孢子获得更强的抗逆能力，是发酵工艺优化的另一核心方向。碳源是调控绿僵菌生长繁殖与胁迫应答的核心营养信号，其调控效应的本质是碳分解代谢阻遏（Carbon catabolite repression, CCR）机制。研究表明金龟子绿僵菌分生孢子的 UVB 耐受性与碳源偏好性呈显著负相关。无外加碳源的基础培养基（Minimal medium without an exogenous carbon source, MM）与非偏好碳源处理的分生孢子，UVB 胁迫后的相对萌发率比富养 PDAY 培养基偏好碳源组提升 2 倍以上（Rangel *et al*., 2006）。

营养饥饿是已被证实、抗逆增益最显著的交叉保护诱导策略。寡营养型培养基与大米固态发酵产出的分生孢子对 UVB 抗性及萌发速率显著高于富营养型 PDAY 培养基产出的孢子（Rangel *et al*., 2004）。但营养胁迫策略孢子产量无法满足规模化生产需求，无蔗糖寡营养条件下产孢量下降可达 94.8%，经济成本极高，难以直接应用于大田制剂的工业化发酵（Rangel *et al*., 2015）。针对这一技术痛点，研究者陆续研究了多种交叉保护效应诱导抗逆的方案，其中光质调控、渗透胁迫、低氧胁迫是三类研究较为系统的策略。Dias 等（2020）发现低强度蓝光与白光照射可显著提升分生孢子的渗透与紫外耐受性，绿光提升效应较弱，红光则会降低两种胁迫耐受性。光质调控对绿僵菌抗逆能力的提升效果稍弱于营养胁迫，却不影响孢子产量，适合大规模固体发酵的产孢阶段调控。渗透胁迫是在培养基中添加 NaCl、KCl 等盐类营造高渗环境，对绿僵菌抗逆能力的增强弱于营养胁迫，但强于部分弱光处理，可显著提升孢子的渗透耐受性与交叉抗逆能力，虽然同样存在产孢量下降的问题，但下降的幅度远小于营养胁迫（Rangel *et al*., 2015）。

3.3 微菌核发酵

微菌核（Microsclerotium）是真菌在营养胁迫下形成的黑色素化致密菌丝聚集体，是区别于气生分生孢子、芽生孢子的另一种繁殖体，具有耐干燥、耐胁迫、土壤持效期长、复水后可原位产孢的特点，成为土栖害虫等非叶面场景长效生防制剂的理想繁殖体，其发酵工艺的开发是近年绿僵菌抗逆制剂的研究热点（Paixão *et al*., 2023）。

微菌核的抗逆性显著优于传统气生分生孢子，研究表明，罗伯茨绿僵菌微菌核经 UVB 辐射 4 h 后菌丝萌发率仍达 84.6%，而气生分生孢子萌发率降为 0。50 ℃干热胁迫 3 h 后萌发率维持 80%以上，而气生分生孢子萌发率仅 58%，微菌核抗逆优势极为显著（García Riaño *et al*., 2024）。绿僵菌属多个种（金龟子绿僵菌、罗伯茨绿僵菌、蝗绿僵菌、亨伯绿僵菌）均可通过高 C∶N 比的深层液态发酵制备微菌核。多菌株筛选数据显示，培养 5 d 微菌核产量可达 0.7×10^7-1.1×10^7 个/L，风干后菌丝萌发率≥93%，复水后单粒可产生大量具侵染活性的分生孢子，26 ℃下可维持 3.5 个月以上的生物活性，部分菌株低温储存活性无衰减（Mascarin *et al*., 2014）。微菌核的抗逆特性使其在热带亚热带高温、强紫外的田间环境条件下表现出一定的应用潜力，对微小牛蜱 *Rhipicephalus microplus* 的毒力实验表明，微菌核颗粒的杀蜱活性未被高温削弱，低剂量有望提高稳定防效。此外，微菌核衍生的分生孢子毒力与气生孢子无显著差异，是长效、稳定型真菌生物农药的重要发展方向（Paixão *et al*., 2023）。

4　助剂保护

4.1　紫外保护助剂

紫外保护助剂通过物理屏蔽、化学吸收、抗氧化损伤修复三种核心机制，阻隔或消耗田间紫外辐射能量，减少孢子 DNA 与细胞结构受损，是提升制剂田间紫外耐受性的最简捷、高效的产业化手段。

物理屏蔽型的紫外保护助剂可通过反射、散射紫外光阻挡辐射到达孢子表面。矿物油与植物油是绿僵菌油悬浮剂的核心载体，油相可在孢子表面形成保护膜，阻隔紫外辐射，同时提升孢子在低湿度环境下的萌发能力、促进寄主表皮附着。早期针对黄绿绿僵菌的经典研究表明，紫外照射 2 h 后，油剂配方的孢子 48 h 萌发率仍达 37.5%；而水剂紫外照射仅 1 h 后，24 h 萌发率就降至 4.7%，表明矿物油与植物油能显著提高绿僵菌抗紫外能力（Moore *et al*., 1993）。

高岭土、二氧化钛（TiO_2）等无机矿物颗粒依靠颗粒的光散射与反射作用实现紫外屏蔽。高岭土作为传统黏土载体，适配可湿性粉剂加工。研究证实，含高岭土的金龟子绿僵菌可湿性粉剂经 12 h UVB 照射后，孢子萌发率仍维持 80%以上，而未保护的孢子萌发率不足 10%，表明高岭土紫外防护效果显著（Loong *et al*., 2013）。纳米 TiO_2 兼具紫外吸收、散射与反射多重作用。近年来开发的氨基硅烷改性 TiO_2 基 Pickering 乳液体系实现了技术升级，可自发吸附于油水界面形成致密颗粒膜，在稳定乳液的同时构建包裹油滴的连续紫外屏蔽层，自然日光暴露 3 h 后，游离孢子活性急剧下降，而乳液包埋的孢子萌发率与未暴露的对照组无显著差异（Feldbaum *et al*., 2021）。海藻酸钠等天然多糖通过凝胶三维网络将孢子包埋于颗粒内部，形成致密物理屏障抵御紫外辐射，适配土壤施用的颗粒剂产品。针对平沙绿僵菌的藻胶颗粒剂研究显示，海藻酸钠基质可有效保护孢子活性，紫外照射 30 min 后，与对照组相比添加海藻酸钠基质颗粒产孢量略有提升，证实其具有显著的紫外保护效果，有望提高绿僵菌制剂的田间稳定性（刘耀辉等, 2025）。高分子材料可通过亲疏水相互作用在分生孢子表面形成均匀的纳米保护层。研究证实，特定高分子包覆阻挡紫外与热胁迫的直接损伤，保护胞内蛋白质结构，提升热胁迫后的酶活性实现紫外、热双重胁迫的协同防护，为多抗逆制剂开发提供了新的技术路径（毕飞虎等, 2024）。

化学吸收型紫外保护助剂是一类具有特征紫外吸收结构的有机化合物，可特异性吸收紫外波段能量，并以热能或无害长波辐射释放，通常与油基载体复配使用以提升防护效率。苯并三唑类保护剂 Eusolex8021 主要吸收 UVB 波段辐射。研究显示，模拟太阳辐射 2 h 后，与其他防晒剂相比，掺入 Eusolex8021 的绿僵菌油剂配方在培养 48 h 后仍显示出高于未保护对照的萌发率（Hunt *et al*., 1994）。Moore 等（1993）研究表明，油剂中添加 1%氧苯酮后，经 3 h 紫外照射的黄绿绿僵菌孢子 48 h 萌发率达 81.9%，而纯油剂对照组仅为 28.1%，防护增益极为显著。但研究人员在西非马里进行试验证明，添加 2%氧苯酮的黄绿绿僵菌制剂在田间对蝗虫的防效与不

含氧苯酮的绿僵菌油制剂无显著差异，可能是由于油基载体本身已具备一定紫外保护能力，加上植物冠层结构提供了自然遮荫。说明实验室与田间实际应用情况存在很大差异，绿僵菌抗逆助剂的开发需要完成实验室到田间的完整验证（Shah *et al*., 1998）。

抗氧化损伤修复型保护助剂通过淬灭自由基、提升细胞抗氧化系统活性的方式实现对分生孢子的间接紫外保护。植物多酚是一类重要的抗氧化损伤修复型保护剂，多元酚羟基结构赋予了高效的自由基清除能力，保护核酸、蛋白质等生物大分子免受氧化损伤（Rao and Zheng, 2025）。研究表明，绿茶和红茶茶提取物对黄绿绿僵菌 As-2 菌株分生孢子具有显著的紫外保护效果，UVB 照射 120 min 后，绿茶和红茶处理组菌株产孢水平达到对照组的 5 倍以上（Bayramoglu, 2023）。王宏民等（2015）发现，抗坏血酸具有显著紫外防护活性，0.2 mg/mL 抗坏血酸可使紫外照射后的玫烟色棒束孢 Pf9606 分生孢子存活率达 95.47%，但实际对绿僵菌的紫外保护效果仍需通过针对绿僵菌菌株的外源添加实验进行验证。生物抗氧化多糖如壳聚糖，广泛来源于虾蟹甲壳、真菌细胞壁等，具有自由基清除与氧化损伤保护活性。现有研究主要聚焦于植物抗逆性，虽可为绿僵菌抗氧化损伤修复型保护剂提供理论参考，但对绿僵菌是否有紫外保护效果还需进一步实验验证（赵盼等, 2010）。

4.2 高温干旱保护助剂

针对高温干旱的外源保护助剂开发，核心思路是通过物理屏障阻隔、胞外稳态维持、代谢功能补充等方式，降低胁迫对孢子结构与功能的损伤。

油基制剂是目前应用最广泛、技术最成熟的孢子高温干旱防护剂型。45 ℃处理 8 h 后，悬浮于纯矿物油、菜籽油中的金龟子绿僵菌孢子平均相对活力仍超过 70%，而悬浮于水相、羧甲基纤维素凝胶或可乳化油中的孢子萌发率已降至 20%以下（Paixão *et al*., 2017）。海藻糖是真菌内源相容性二糖，可稳定蛋白质空间结构、维持细胞膜磷脂双分子层完整性，是真菌耐热、脱水、高渗等多类胁迫应答的核心功能分子，其胞内积累量与分生孢子耐热性、储藏稳定性呈显著正相关（Seekles *et al*., 2023）。如前文 2.3 所述，丙酮酸是细胞对抗热诱导活性氧损伤的第一道代谢防线。研究证实，分生孢子丙酮酸本底水平与耐热性直接相关，通过产孢阶段代谢调控或制剂阶段外源补充提升丙酮酸含量，或可显著增强孢子热胁迫耐受性，但实际效果仍需通过外源添加、配方相容性和田间试验验证（Wu *et al*., 2019）。

新技术和方法也促进了抗逆性助剂的创新。利用新型孢子表面工程化技术，合成的两亲性热响应聚合物，通过疏水烷基链结合在罗伯茨绿僵菌分生孢子表面，形成一层低细胞毒性、高生物相容性的保护层，不但能增强孢子对高温与紫外辐射的耐受性，而且可提升胁迫条件下孢子的表皮穿透效率与杀虫毒力（Yang *et al*., 2024）。通过外源保护助剂复配，将乳清蛋白、黄原胶、菊粉按 1-2.5∶0.3-1.2∶1 比例获得的绿僵菌热保护助剂，可有效抵御田间高温对孢子的损伤，显著提升绿僵菌在高温环境中的抗逆性（康乐等, 2025）。

5 展望

绿僵菌生防制剂田间防效不稳定、施用场景存在局限性及受环境因素影响大的核心瓶颈是菌株抗逆性不足。提高菌株田间抗逆性是高效应用的关键。现有绿僵菌制剂从喷施到接触害虫，分生孢子长时间暴露在自然环境中，长期遭受各类非生物胁迫干扰，极易丧失生物活性，大幅降低田间防控效果。

基因工程技术实现了绿僵菌抗逆性状的定向精准调控，但绿僵菌不同非生物胁迫的调控网络存在分化甚至拮抗，提高抗逆性的同时可能伴随毒力减弱的情况。未来可结合多组学技术、高通量基因编辑与合成生物学手段，挖掘更多优质抗逆靶标基因，通过多基因叠加改造实现菌株性状的定向优化，具有良好的发展前景（Lovett and St Leger, 2018）。现有多项研究已证实基因改良对提升绿僵菌杀虫效能的可行性与安全性，如通过基因敲除、异源基因导入等手段可显著提升菌株对靶标害虫的杀虫毒力（Tong *et al*., 2020, 2021; 康乐等, 2024）。上述改良方式都在未引入

外源毒素基因的情况下提高了绿僵菌杀虫毒力，因此未来可将绿僵菌抗逆靶标基因改造与天然或合成的外源基因插入相结合，从而实现抗逆性状与毒力的协同提升。值得注意的是，菌株的基因工程改造可能存在遗传不稳定、非靶标生物毒性及环境释放后生态安全等潜在风险（于得水, 2018）。因此需系统验证工程菌株在连续传代、规模化发酵及田间复杂胁迫条件下抗逆性状与毒力性状的遗传稳定性；评估其对授粉昆虫与天敌昆虫等非靶标生物的安全性；并探究其在土壤、植物根际等环境中的长期存活能力、种群动态与基因水平转移风险（St Leger and Wang, 2010; Habig *et al*., 2024; 丁玎等, 2025）。未来构建多层次、多维度的安全风险评价体系，是抗逆工程菌株商业化的必要前提。

基于壳聚糖、海藻酸钠等材料的刺激响应型微胶囊，包裹孢子后能够有效阻隔强紫外、高温和干旱等外界胁迫，当接触昆虫体表或遇到适宜湿度时，囊壁快速裂解释放孢子，显著减少孢子在恶劣环境中暴露的时间，提高抗逆性与侵染能力（Yao *et al*., 2020; Yapa *et al*., 2025）。而氧化石墨烯、生物源二氧化硅纳米颗粒等低毒纳米材料作为助剂增效载体，不仅能够提升孢子抗逆性能，还可促进菌株在作物根际定殖、诱导作物产生抗虫性，实现害虫防控与作物促生双重应用效益（Harada *et al*., 2026; Zhan *et al*., 2026）。

目前多数绿僵菌抗逆优化技术仍停留在实验室验证阶段，如外源保护助剂的开发等研究多在恒定温湿度、单一紫外胁迫的理想条件下评估菌株抗逆性能，无法完全模拟田间强紫外、高温和干旱等多胁迫协同的复杂环境，导致实验结果优异的菌株或制剂在田间防效大打折扣（Shah *et al*., 1998; Lomer *et al*., 2001; Lovett and St Leger, 2015）。针对这一问题，首先可构建智能化助剂改良体系，在实验室条件下实现单一多效抗逆助剂和组合多效抗逆助剂的智能化筛选与复配；其次将基因工程获得的改造菌株与抗逆助剂进行组合，实现菌株抗逆性能的有效提升；最终，通过建立更贴近田间实际的多胁迫因子复合评价模型，模拟不同生态区紫外线强度、温度、湿度的动态变化，精准预判制剂的田间表现，结合大田试验完成配方筛选和工艺优化，实现绿僵菌制剂从生产到田间效能的全方面提升（李强等, 2025）。此研究思路与技术体系，也可为其他杀虫真菌生防制剂的优化升级与高效应用提供重要借鉴。

参考文献 (References)

Alonso-Díaz MÁ, Lozano-Velázquez MDL, García-Galicia IA, Fernández-Salas A, 2024. Germination and culturability after UV irradiation of *Metarhizium anisopliae* native from soils of tropical cattle farms. *Microbiology Research*, 15(3): 1326–1333.

Bayramoglu Z, 2023. The UV protectant properties of tea extracts on entomopathogenic fungus spores and their lethal effect on *Galleria mellonella* (L., 1758) (Lepidoptera: Pyralidae). *Turkish Journal of Entomology*, 47(4): 363–372.

Bi FH, Huang B, Yang G, 2024. Mechanisms of polymer-enhanced abiotic stress tolerance in entomopathogenic fungi. 2024 Annual Academic Conference of the Mycological Society of China. Fuzhou: 285–286. [毕飞虎, 黄勃, 杨光, 2024. 高分子增强昆虫病原真菌对抗非生物胁迫机制研究. 中国菌物学会 2024 年学术年会. 福州: 285–286.]

Boaventura HA, Quintela ED, 2025. The multifunctionality of the fungus *Metarhizium* spp. and its use in Brazilian agriculture. *Bragantia*, 84: e20240183.

Chen ZH, Chen K, Xie QM, 2021. Evaluation of stress tolerance in selected strains of *Metarhizium* from Gaoligong Mountains. *Journal of Baoshan University*, 40(5): 1–4. [陈自宏, 陈凯, 谢琪敏, 2021. 高黎贡山几株绿僵菌菌株的耐逆性测定. 保山学院学报, 40(5): 1–4.]

Couceiro JDC, Fatoretto MB, Demétrio CGB, Meyling NV, Delalibera ÍJr, 2021. UV-B radiation tolerance and temperature-dependent activity within the entomopathogenic fungal genus *Metarhizium* in Brazil. *Frontiers in Fungal Biology*, 2: 645737.

Dias LP, Pedrini N, Braga GUL, Ferreira PC, Pupin B, Araújo CAS, Corrochano LM, Rangel DEN, 2020. Outcome of blue, green, red, and white light on *Metarhizium robertsii* during mycelial growth on conidial stress tolerance and gene expression. *Fungal Biology*, 124(5): 263–272.

Ding D, Jang F, Cao LL, Kang L, 2025. A novel fungal insecticide development system for sustainable agriculture. *Bulletin of Chinese Academy of Sciences*, 40(6): 1089–1102. [丁玎, 姜枫, 操丽丽, 康乐, 2025. 建立新型真菌杀虫剂创制体系助力农业绿色发展. 中国科学院院刊, 40(6): 1089–1102.]

Fang W, St Leger RJ, 2012. Enhanced UV resistance and improved killing of malaria mosquitoes by photolyase transgenic entomopathogenic fungi. *PLoS ONE*, 7(8): e43069.

Feldbaum RA, Yaakov N, Mani KA, Yossef E, Metbeev S, Zelinger E, Belausov E, Koltai H, Ment D, Mechrez G, 2021. Single cell encapsulation in a pickering emulsion stabilized by TiO_2 nanoparticles provides protection against UV radiation for a biopesticide. *Colloids and Surfaces B*: *Biointerfaces*, 206: 111958.

Ferreira JM, Pinto SMN, Soares FEF, 2021. *Metarhizium robertsii* protease and conidia production, response to heat stress and virulence against *Aedes aegypti* larvae. *Applied Microbiology and Biotechnology Express*, 11(1): 166.

Fitriana Y, Satoh K, Narumi I, Saito T, 2014. Ion-beam and gamma-ray irradiations induce thermotolerant mutants in the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* s.l. *Biocontrol Science and Technology*, 24(9): 1052–1061.

Gao H, Luo Y, Li Q, Guo J, Wang B, 2025. UV-induced mutants of *Metarhizium anisopliae*: Improved biological parameters, resistance to stressful factors, and comparative transcriptomic analysis. *Journal of Fungi*, 11(6): 412.

García Riaño JL, Barrera GP, Hernández LC, Villamizar LF, 2024. Microsclerotia from *Metarhizium robertsii*: Production, ultrastructural analysis, robustness, and insecticidal activity. *Fungal Biology*, 128(2): 1643–1656.

Ge F, 2025. Reflections on the philosophy and methodology of pest management in agriculture and forestry. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 62(5): 1149–1159. [戈峰, 2025. 农林害虫管理的哲学观与方法论探讨. 应用昆虫学报, 62(5): 1149–1159.]

Ge F, Men XY, Li Z, Ju Q, Zhang XR, Liang XY, 2025. Main achievements and prospects in the ecological regulation and management of pests in China. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 62(3): 549–558. [戈峰, 门兴元, 李卓, 鞠倩, 张兴瑞, 梁潇以, 2025. 中国害虫生态防控的成就、技术突破与未来展望. 应用昆虫学报, 62(3): 549–558.]

Habig M, Grasse AV, Müller J, Stukenbrock EH, Leitner H, Cremer S, 2024. Frequent horizontal chromosome transfer between asexual fungal insect pathogens. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 121(11): e2316284121.

Harada LK, Guilger-Casagrande M, Germano-Costa T, Bilesky-José N, Polanczyk RA, Gonçalves KC, Silva PG, Silva e Silva JV, Prado RM, Fraceto LF, Lima, R, 2026. Biogenic silica nanoparticles enhance *Beauveria bassiana* bioavailability and efficacy for sustainable pest control. *ACS Omega*, 11(20): 29525–29540.

Hong G, Wang S, Jin Y, Xia Y, Peng G, 2025. An Asp f2-like protein negatively affects stress tolerance, conidiation and virulence in *Metarhizium acridum*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 214: 106631.

Hu X, Li B, Li Y, Xia Y, Jin K, 2025. MaPac2, a transcriptional regulator, is involved in conidiation, stress tolerances and pathogenicity in *Metarhizium acridum*. *Journal of Fungi*, 11(2): 100.

Hu X, Li Y, Xia Y, Jin K, 2026. MaNrg1, a transcriptional regulator, negatively regulates the UV-B tolerance and governs the microcycle conidiation in *Metarhizium acridum*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 218: 106938.

Huang Y, Nimazhaxi, Xue ZL, Zhang GQ, 2021. Breeding of high performance *Metarhizium anisopliae* strain by ARTP/UV mutagenesis. *Science and Technology of Food Industry*, 42(4): 60–64, 70. [黄玉, 尼玛扎西, 薛正莲, 张国强, 2021. ARTP 与紫外线复合诱变选育高性能绿僵菌菌株. 食品工业科技, 42(4): 60–64, 70.]

Hunt TR, Moore D, Higgins PM, Prior C, 1994. Effect of sunscreens, irradiance and resting periods on the germination of *Metarhizium flavoviride* conidia. *Entomophaga*, 39(3): 313–322.

Huo YH, Chen J, Wang H, Ye XF, Yu F, 2022. Screening and stress resistance of *Metarhizium* strains in Xinjiang. *Journal of Environmental Entomology*, 44(3): 743–750. [霍英慧, 陈娟, 王晗, 叶小芳, 于非, 2022. 新疆地区绿僵菌菌株筛选及抗逆性研究. 环境昆虫学报, 44(3): 743–750.]

Imoulan A, Arabi M, Mechkirrou L, Ben Gharsa H, Leclerqu A, 2026. Thermotolerant *Metarhizium robertsii* from Moroccan southeastern oases: Isolation, heat stress screening and pathogenicity to *Tenebrio molitor* larvae. *Ecological Engineering & Environmental Technology*, 27(3): 140–155.

Kang L, Chen QH, Ding D, 2024. Highly virulent *Metarhizium robertsii* specifically engineered against Acrididae pests, and preparation method and application thereof. China: Patent grant, CN202310944430.8. 2024-03-29. [康乐, 陈清华, 丁玎, 2024. 特异针对蝗科害虫改造的高毒力罗伯茨绿僵菌及其制备方法和应用. 中国: 发明授权, CN202310944430.8. 2024-03-29.]

Kang L, Ding D, Wu ZQ, Jiang F, 2025. A thermal protectant for entomopathogenic fungal spores, a fungal insecticide, and applications thereof. China: Patent grant, CN202510928188.4. 2025–11–14. [康乐, 丁玎, 武志琦, 姜枫, 2025. 一种杀虫真菌孢子的热保护剂、真菌杀虫剂及其应用. 中国: 发明授权, CN202510928188.4. 2025–11–14.]

Lazzarini GM, Rocha LF, Luz C, 2006. Impact of moisture on in vitro germination of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* and their activity on *Triatoma infestans*. *Mycological Research*, 110(4): 485–492.

Leng Y, Peng G, Cao Y, Xia Y, 2011. Genetically altering the expression of neutral trehalase gene affects conidiospore thermotolerance of the entomopathogenic fungus *Metarhizium acridum*. *BMC Microbiology*, 11: 32.

Li Q, Chen WB, Cai T, Wang ZY, Chen M, 2025. Synergistic effect of four biotic pesticides on *Hyphantria cunea*. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 62(1): 202–210. [李强, 陈文帮, 蔡婷, 王张远, 陈敏, 2025. 四种生物农药对美国白蛾的复配增效作用研究. 应用昆虫学报, 62(1): 202–210.]

Liao X, Lu HL, Fang W, St Leger RJ, 2014. Overexpression of a

Metarhizium robertsii HSP25 gene increases thermotolerance and survival in soil. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(2): 777–783.

Liu MX, NIMA YuZhen, Feng XT, Li XL, Yang Y, Zhang KJ, Xiang D, Chen HQ, Li YY, Liu H, 2024. The effect of short-term high temperature stress on the biological characteristics of *Neoseiulus barkeri* (Hughes) carrying *Beauveria bassian*a (Vuillemin). *Chinese Journal of Applied Entomology*, 62(3): 606–614. [刘明秀, 尼玛玉珍, 冯小天, 李宣良, 杨瑒, 张开军, 相栋, 陈翰秋, 李亚迎, 刘怀, 2024. 短时高温胁迫对携带球孢白僵菌的巴氏新小绥螨的生物学特性的影响. 应用昆虫学报, 62(3): 606–614.]

Liu YH, Shen ZL, Liang S, Li ZJ, Shu JP, Zhang YB, Zhai FY, 2025. Preparation and performance evaluation of *Metarhizium pingshaense* alginate granules based on sodium alginate. *Chinese Journal of Biological Control*, 41(3): 617–626. [刘耀辉, 沈志来, 梁爽, 黎子建, 舒金平, 张亚波, 翟凤艳, 2025. 基于海藻酸钠的平沙绿僵菌藻胶颗粒剂制备及性能评价. 中国生物防治学报, 41(3): 617–626.]

Lomer CJ, Bateman RP, Johnson DL, Langewald J, Thomas M, 2001. Biological control of locusts and grasshoppers. *Annual Review of Entomology*, 46: 667–702.

Loong CY, Sajap AS, Noor HM, Omar D, Abood F, 2013. Effects of UV-B and solar radiation on the efficacy of *Isaria fumosorosea* and *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycetes: Hyphomycetes) for controlling bagworm, *Pteroma pendula* (Lepidoptera: Psychidae). *Journal of Entomology*, 10(2): 53–65.

Lord JC, 2005. From Metchnikoff to Monsanto and beyond: The path of microbial control. *Journal of Invertebrate Pathology*, 89(1): 19–29.

Lovett B, St Leger RJ, 2015. Stress is the rule rather than the exception for *Metarhizium*. *Current Genetics*, 61(3): 253–261.

Lovett B, St Leger RJ, 2018. Genetically engineering better fungal biopesticides. *Pest Management Science*, 74(4): 781–789.

Ma CS, Wang BX, Wang XJ, Lin QC, Zhang W, Yang XF, van Baaren J, Bebber DP, Eigenbrode SD, Zalucki MP, Zeng J, Ma G, 2025. Crop pest responses to global changes in climate and land management. *Nature Reviews Earth & Environment*, 6(4): 264–283.

Mascarin GM, Kobori NN, de Jesus Vital RC, Jackson MA, Quintela ED, 2014. Production of microsclerotia by Brazilian strains of *Metarhizium* spp. using submerged liquid culture fermentation. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(5): 1583–1590.

Milner RJ, Staples JA, Lutton GG, 1997. The effect of humidity on germination and infection of termites by the hyphomycete *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 69(1): 64–69.

Moore D, Bridge PD, Higgins PM, Bateman RP, Prior C, 1993. Ultra-violet radiation damage to *Metarhizium flavoviride* conidia and the protection given by vegetable and mineral oils and chemical sunscreens. *Annals of Applied Biology*, 122(3): 605–616.

Muazu SA, Cobelli P, Wangsomboondee T, 2024. Gamma irradiation induced thermotolerance in *Metarhizium* spp. enhancing biocontrol of *Nilaparvata lugens* (Stål). *Biological Control*, 194: 105542.

Paixão FRS, Muniz ER, Barreto LP, Bernardo CC, Mascarin GM, Luz C, Fernandes ÉKK, 2017. Increased heat tolerance afforded by oil-based conidial formulations of *Metarhizium anisopliae* and *Metarhizium robertsii*. *Biocontrol Science and Technology*, 27(3): 324–337.

Paixão FRS, Muniz ER, Catão AML, Santos TR, Luz C, Marreto RN, Mascarin GM, Fernandes ÉKK, 2023. Microsclerotial pellets of *Metarhizium* spp.: Thermotolerance and bioefficacy against the cattle tick. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 107(7/8): 2263–2275.

Peng G, Wang Z, Yin Y, Zeng D, Xia Y, 2008. Field trials of *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* (Ascomycota: Hypocreales) against oriental migratory locusts *Locusta migratoria manilensis* (Meyen) in northern China. *Crop Protection*, 27(9): 1244–1250.

Peng H, Zhang YL, Ying SH, Feng MG, 2024. Rad2, Rad14 and Rad26 recover *Metarhizium robertsii* from solar UV damage through photoreactivation in vivo. *Microbiological Research*, 280: 127589.

Peng ZY, Huang ST, Chen JT, Li N, Wei Y, Nawaz A, Deng SQ, 2022. An update of a green pesticide: *Metarhizium anisopliae*. *Life*, 15(1): 1141–1159.

Pereira-Junior RA, Huarte-Bonnet C, Paixão FRS, Roberts DW, Luz C, Pedrini N, Fernandes ÉKK, 2018. Riboflavin induces *Metarhizium* spp. to produce conidia with elevated tolerance to UV-B, and upregulates photolyases, laccases and polyketide synthases genes. *Journal of Applied Microbiology*, 125(1): 159–171.

Qin Y, Xia Y, 2025. A negative melanin regulator Mamrn regulates thermo and UV tolerance via distinct mechanisms in *Metarhizium*. *Microbiological Research*, 297: 128190.

Quesada-Moraga E, González-Mas N, Yousef-Yousef M, Garrido-Jurado I, Fernández-Bravo M, 2023. Key role of environmental competence in successful use of entomopathogenic fungi in microbial pest control. *Journal of Pest Science*, 97(1): 1–15.

Rangel DEN, Braga GUL, Flint SD, Anderson AJ, Roberts DW, 2004. Variations in UV-B tolerance and germination speed of *Metarhizium anisopliae* conidia produced on insects and artificial substrates. *Journal of Invertebrate Pathology*, 87(2/3): 77–83.

Rangel DEN, Anderson AJ, Roberts DW, 2006. Growth of *Metarhizium anisopliae* on non-preferred carbon sources yields conidia with increased UV-B tolerance. *Journal of Invertebrate Pathology*, 93(2): 127–134.

Rangel DEN, Fernandes ÉKK, Dettenmaier SJ, Roberts DW, 2010.

Thermotolerance of germlings and mycelium of the insect-pathogenic fungus *Metarhizium* spp. and mycelial recovery after heat stress. *Journal of Basic Microbiology*, 50(4): 344–350.

Rangel DEN, Fernandes ÉKK, Anderson AJ, Roberts DW, 2012. Culture of *Metarhizium robertsii* on salicylic-acid supplemented medium induces increased conidial thermotolerance. *Fungal Biology*, 116(3): 438–442.

Rangel DEN, Braga GUL, Fernandes ÉKK, Keyser CA, Hallsworth JE, Roberts DW, 2015. Stress tolerance and virulence of insect-pathogenic fungi are determined by environmental conditions during conidial formation. *Current Genetics*, 61(3): 383–404.

Rao MJ, Zheng BS, 2025. The role of polyphenols in abiotic stress tolerance and their antioxidant properties to scavenge reactive oxygen species and free radicals. *Antioxidants*, 14(1): 74.

Sánchez-Rey LE, Moreno-Sarmiento N, Grijalba-Berna EP, Quiroga-Cubides G, 2024. Physiological response of *Metarhizium rileyi* with linoleic acid supplementation. *Fungal Biology*, 128(4): 1827–1835.

Scholte EJ, Takken W, Knols BGJ, 2007. Infection of adult *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* mosquitoes with the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Acta Tropica*, 102(3): 151–158.

Seekles SJ, van den Brule T, Punt M, Dijksterhuis J, Arentshorst M, Ijadpanahsaravi M, Roseboom W, Meuken G, Ongenae V, Zwerus J, Ohm RA, Kramer G, Wösten HAB, de Winde JH, Ram AFJ, 2023. Compatible solutes determine the heat resistance of conidia. *Fungal Biology and Biotechnology*, 10(1): 21.

Shah PA, Douro-Kpindou OK, Sidibe A, Daffe CO, Pauuw HVD, Lomer CJ, 1998. Effects of the sunscreen oxybenzone on field efficacy and persistence of*Metarhizium flavoviride* conidia against *Kraussella amabile* (Orthoptera: Acrididae) in Mali, West Africa. *Biocontrol Science and Technology*, 8(3): 357–364.

Song T, Li C, Jin K, Xia Y, 2024. The forkhead box gene MaSep1 negatively regulates UV- and thermo-tolerances and is required for microcycle conidiation in *Metarhizium acridum*. *Journal of Fungi*, 10(8): 544.

St Leger RJ, Wang CS, 2010. Genetic engineering of fungal biocontrol agents to achieve greater efficacy against insect pests. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85(4): 901–907.

Tong X, Wang Y, Yang P, Wang C, Kang L, 2020. Tryptamine accumulation caused by deletion of MrMao-1 in *Metarhizium* genome significantly enhances insecticidal virulence. *PLoS Genetics*, 16(4): e1008675.

Tong X, Wang Y, Li J, Hu S, Yang P, Kang L, 2021. Transformation of glycerate kinase (GLYK) into *Metarhizium acridum* increases virulence to locust. *Pest Management Science*, 77(3): 1465–1475.

Wang HM, Li YF, Li H, Zhao JH, Zhang XH, 2015. Stress-tolerance of entomogenous fungi *Isaria fumosorosea* Pf9606. *Journal of Microbiology*, 35(2): 65–71. [王宏民, 李亚芳, 李赫, 赵建华, 张仙红, 2015. 虫生真菌玫烟色棒束孢 Pf9606 抗逆性的研究. 微生物学杂志, 35(2): 65–71.]

Wang SW, Ji Q, Zhu TH, 2019. Resistance of *Metarhizium rileyi* UV mutation to dichlorvos. *Plant Protection*, 45(6): 185–191. [王诗玮, 纪琪, 朱天辉, 2019. 紫外线诱变莱氏绿僵菌对敌敌畏的耐药性. 植物保护, 45(6): 185–191.]

Wang XM, Luo Y, Long XZ, Zhao J, Ren SX, 2015. Effect of UV mutagenesis on biological characteristics of *Isaria fumosorosea*. *Journal of Southern Agriculture*, 46(7): 1213–1217. [王兴民, 罗莹, 龙秀珍, 赵晶, 任顺祥, 2015. 紫外线诱变对玫烟色棒束孢生物学特性的影响. 南方农业学报, 46(7): 1213–1217.]

Wu C, Zhang X, Fang W, 2019. Increasing pyruvate concentration enhances conidial thermotolerance in the entomopathogenic fungus *Metarhizium robertsii*. *Frontiers in Microbiology*, 10: 519.

Yang G, Bi F, Yu D, Wang Y, Ren H, Wei H, Wang Z, Huang B, 2024. Engineering entomopathogenic fungi using thermal-responsive polymer to boost their resilience against abiotic stresses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 72(37): 20308–20320.

Yao MF, Xie JJ, Du HJ, McClements DJ, Xiao H, Li LJ, 2020. Progress in microencapsulation of probiotics: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(2): 857–874.

Yao SL, Ying SH, Feng MG, Hatting JL, 2010. In vitro and in vivo responses of fungal biocontrol agents to gradient doses of UV-B and UV-A irradiation. *BioControl*, 55(3): 413–422.

Yapa AT, Thambugala KM, Samarakoon MC, de Silva N, 2025. *Metarhizium* species as bioinsecticides: Potential, progress, applications & future perspectives. *New Zealand Journal of Botany*, 63(2/3): 439–461.

Yu DS, 2018. The knock out and functional analysis of SIRT2 gene in *Metarhizium robertsii*. Master dissertation. Hefei: Anhui Agricultural University. [于得水, 2018. 罗伯茨绿僵菌 SIRT2 基因的敲除及功能分析. 硕士学位论文. 合肥: 安徽农业大学.]

Yue M, Lei ZR, Meng T, Wang ZY, Yao JM, 2010. Temperature influence on conidial germination rate, enzyme activity and virulence of *Metarhizium anisopliae* LA isolate. *Plant Protection*, 36(2): 56–60. [岳梅, 雷仲仁, 孟涛, 王兆勇, 姚君明, 2010. 温度对绿僵菌 LA 菌株孢子萌发、酶活力及毒力的影响. 植物保护, 36(2): 56–60.]

Zhan ZF, Batool R, Wang XP, Han HL, Myint Y, Wang ZY, Zhang YJ, Guo JF, 2026. Graphene oxide enhances the dual role of *Beauveria bassiana* in biocontrol of the Asian corn borer and promotion of the maize seedling growth under field conditions. *Chemical Engineering Journal*, 529: 173004.

Zhao P, Wang L, Meng XH, 2010. Research progress of antioxidant properties and applications of chitosan and its derivatives. *Food Science*, 31(15): 299–303. [赵盼, 王丽, 孟祥红, 2010. 壳聚糖及其衍生物的抗氧化性能及应用研究进展. 食品科学, 31(15): 299–303.]

Zoberi MH, 2018. *Metarhizium anisopliae*, a fungal pathogen of *Reticulitermes flavipes* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Mycologia*, 87(3): 354–359.