

球孢白僵菌对大豆蚜毒力的室内生物学测定*

刘兴磊^{1,2} 张正坤¹ 徐文静¹ 刘影¹ 王金刚^{2**} 李启云^{1**}

(1. 吉林省农业科学院 长春 130033; 2. 东北农业大学 哈尔滨 150030)

摘要 对来源于吉林省不同地区的 15 株球孢白僵菌 *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. 菌种对大豆蚜 *Aphis glycines* Matsumura 毒力进行了室内生物学测定。所有供试菌株对大豆蚜虫均有一定的致病性, 杀虫效率差异明显, 杀虫效率与孢子浓度和作用时间均呈正相关。通过对大豆蚜毒力室内生物学测定结果的综合分析, 菌株 S14 - X - 1 为毒力较高菌株, 具有进一步研究应用价值。

关键词 球孢白僵菌, 大豆蚜, 生物学测定

Toxicity of fifteen strains of *Beauveria bassiana* against *Aphis glycines*

LIU Xing-Lei^{1,2} ZHANG Zheng-Kun¹ XU Wen-Jing¹ LIU Ying¹

WANG Jin-Gang^{2**} LI Qi-Yun^{1**}

(1. Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033, China; 2. Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract The toxicity of fifteen strains of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. to *Aphis glycines* Matsumura was determined. All tested strains were toxic to *A. glycines* and obvious differences in the mortality rates achieved by the different strains were positively correlated with spore concentration and treatment time. Strain S14 - X - 1 had the highest amount of toxic isolates.

Key words *Beauveria bassiana*, *Aphis glycines*, biological activity

大豆蚜 *Aphis glycines* Matsumura 俗称腻虫, 多集中在大豆的生长点、顶叶、幼嫩叶背面, 刺吸汁液危害, 造成叶片卷曲、植株矮化、降低产量, 还可传播病毒病, 造成减产和品质下降。目前, 对蚜虫的防治主要依靠化学农药防治, 化学防治存在农药残留、害虫极易产生抗药性、危害环境等一系列的负面影响。白僵菌 (*Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.) 是应用最广泛的生防真菌之一, 自发现其具有杀蚜作用以来, 成为了国内外开展刺吸式口器害虫生物防治的首选菌种。国内外研究者开展了白僵菌对多种蚜虫的毒力筛选和防治研究, 并取得一定的成效 (Feng and Johnson, 1990; 张永军等, 2001; 刘帅等, 2009)。高毒力菌种的筛选对于大豆蚜虫田间防治具有重要作用, 本研究拟利用从吉林省不同地区采集到的球孢白僵菌菌株进行对大豆蚜虫毒性的室内生物学测定, 拟获得具有较高活性的杀蚜菌株, 为东北地区大豆蚜虫的生

物防治提供候选菌株。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试菌株 在吉林省不同地区采集亚洲玉米螟 *Ostrinia nubilalis* 僵虫, 并分离了 15 株球孢白僵菌菌株 (表 1), 保存于吉林省农业科学院生物农药实验室。

1.1.2 培养基 萨氏培养基 (SDAY): 4% 葡萄糖、1% 蛋白胨、1% 酵母粉及 1.5% ~ 2% 琼脂、去离子水 1 000 mL, pH 为自然 pH 值。液体培养基为 (SDY) 培养基。

1.1.3 供试蚜虫 吉林省农业科学院公主岭市试验田内大豆叶片上的大豆蚜, 未施用任何化学农药。采集后人工选取大小一致且健康的个体进行试验。

* 资助项目: 公益性行业 (农业) 科研专项 (201103022 - 13)、吉林省科技厅科技支撑计划重点资助项目 (20080249)。

** 通讯作者, E-mail: qyli@cjaas.com, wangjingang99@yahoo.com.cn

收稿日期: 2011-09-15, 接受日期: 2011-10-31

表 1 供试菌株及地区来源
Table 1 Original resource of tested strains

编号 No.	菌株 Strain	地区来源 Original resource	编号 No.	菌株 Strain	地区来源 Original resource
1	S14-X-1	双辽	9	JT1	九台
2	S9-X-1	双辽	10	TH9	通化
3	L2-8	梨树	11	YSH7	榆树
4	T3-2-1	*	12	D1-5	德惠
5	CHL11	长岭	13	D6-2-1	德惠
6	CHL20	长岭	14	L1-1-1	梨树
7	D4-2-1	德惠	15	JH7	蛟河
8	DA3	大安			

注：“*” T3-2-1 为吉林省农业科学院植物保护研究所谭云峰研究员赠予。

“*” T3-2-1 was donated by Prof. Tan Yunfeng of Plant Protection Institute of Jilin Academy of Agricultural Sciences.

1.2 方法

1.2.1 球孢白僵菌不同菌株的培养 从沙土管原始保存菌株中划线接种菌体到 SDAY 培养基上,SDAY 培养基均采用 90 mm 的培养皿,每个培养皿倒 20 mL 培养基,整个过程均在超净工作台无菌操作。接种后放入生化培养箱 26℃ 培养,每个菌株 5 重复,培养 30 d 后观察其菌落形态特征。

1.2.2 室内生物毒力测定 蚜虫接种采用浸渍法(刘帅等,2009)略有改进。试验前取平展的叶片浸在多菌灵药液中 10 min,然后取出浸泡在无菌水中 15 min,浸泡 2 次,并冲洗干净,自然晾干,用吸足营养液的棉球包裹叶柄基部,置于直径为 90 mm 的培养皿中,皿底铺两层湿的灭菌滤纸,以保持湿度。用毛笔移取,去除已死蚜虫及过大或过小的蚜虫,只留下个体中等且生长较为一致的成蚜,放于叶片上。以 2.0×10^4 、 2.0×10^5 、 2.0×10^6 、 2.0×10^7 、 2.0×10^8 孢子/mL 的 5 个孢子浓度梯度作为 5 个处理,将菌悬浮液喷洒在着生有蚜虫的叶片上,喷洒 5 次,直至叶片湿润为止,每个处理设置 5 个重复,每重复 50 头蚜虫。用 0.01% (吐温-80) 无菌水处理作对照。(25 ± 1)℃ 条件下,每天观察并记录蚜虫的死亡数,至第 7 天结束。镜检,以 Abbott 公式计算校正死亡率。

1.2.3 数据统计方法

死亡率 = 死虫数/试虫数 × 100,

校正死亡率 = (处理组死亡率 - 对照组死亡率)/(1 - 对照组死亡率) × 100,

感染僵虫率 = 感染白僵菌虫数/试虫数 × 100。

试验数据采用统计软件 DPSV 7.05 版进行处理,根据校正死亡率、感染率进行概率值转换后,作线性回归分析,建立直线回归模型,从而分别估计生测效应致死中浓度 LC_{50} 、致死中时间 LT_{50} 和相关系数(r)等参数。

2 结果与分析

由表 2 可知,15 个菌株对大豆蚜虫均有一定的致病性,但死亡率和感染率差异明显。在 2×10^8 孢子/mL 供试浓度下,菌株 D6-2-1、S14-X-1 校正死亡率大于 50%,感染率为 32.8% 和 41.2%,其余菌株致病性相对较弱,致病性最弱的是 JH7,感染率仅为 1.6%。在 15 菌株中有 3 株对蚜虫有较高的致病力,感染率为 30% 以上。菌株 S14-X-1 毒力最强,感染率高达 41.2%。

由表 3 可知,15 菌株对大豆蚜毒力测定的相关性(r)较好,当孢子浓度为 2×10^8 时各菌株室内毒力测定结果显示时间最短的,致病力最快的菌株是 S14-X-1,半致死时间为 153.3016 h,其次为菌株 DA3 半致死时间为 161.9675 h,最差菌株为 T3-2-1 半致死时间达到 262.5267 h。

由表 4 可知,15 菌株对大豆蚜毒力测定显示当生物测定在最后一天时,各菌株的半致死浓度差异显著,其中半致死浓度最低的菌株为 JT1,次之的是菌株 DA3、S14-X-1、D6-2-1 致死中浓度为 10^9 左右,最差的菌株为 L1-1-1。

为了进一步明确各供试菌株对大豆蚜虫的毒力,对各供试菌株的致死中浓度和致死中时间进行了系统分析。从图 1 可以看出,除个别菌株外,供试菌株的两项指标吻合度较高,其中 2×10^8 孢子/mL 浓度下致死率最高的菌株 S14-X-1 的致死中浓度和致死中时间均表现在较低水平,为最强菌株。

3 讨论

从 20 世纪 50 年代开始,球孢白僵菌已被应用于防治玉米螟、大豆食心虫和甘薯叶甲,20 世纪 70 年代林业上应用球孢白僵菌大面积防治松毛虫并获得了明显成功。目前,生产上应用球孢白僵

表 2 不同菌株对大豆蚜虫的室内生物测定

Table 2 Bioassay against *Aphis glycines* of different isolates of *Beauveria bassiana*

菌株 Stains	虫数(头) Quantity	死亡数 Mortality	死亡率 Mortality rate	校正死亡率 Corrected mortality	感染率 Infection rate
D1 - 5	250	68	27.2%	22.6%	8.8%
L1 - 1 - 1	250	74	29.6%	25.1%	6.0%
T3 - 2 - 1	250	79	31.6%	27.2%	11.2%
D4 - 2 - 1	250	72	28.8%	24.3%	18.8%
L2 - 8	250	84	33.6%	29.4%	6.8%
JT1	250	80	32.0%	27.7%	21.6%
D6 - 2 - 1	250	190	76.0%	74.5%	32.8%
TH9	250	65	26.0%	21.3%	5.6%
YSH7	250	115	46.0%	42.6%	24.0%
JH7	250	97	38.8%	34.9%	1.6%
CHL11	250	113	45.2%	41.7%	9.6%
CHL20	250	99	39.6%	35.7%	28.4%
S14 - X - 1	250	144	57.6%	54.9%	41.2%
S9 - X - 1	250	69	27.6%	23.0%	7.2%
DA3	250	118	47.2%	43.8%	30.0%
CK	250	15	6%		0

表 3 同一孢子浓度各菌株对大豆蚜毒力测定

LT₅₀的毒力回归方程(2 × 10⁸ 孢子/mL)

Table 3 Regression equation on LT₅₀ of pests mortality and conidia concentration of isolates of *Beauveria bassiana* (2 × 10⁸ spores/mL)

菌株 Stians	毒力回归方程 Regression equation of toxicity	相关系数(r) Correlation coefficient (r)	LT ₅₀ /h
S14 - x - 1	Y = 0.0421X - 1.4054	0.9773	153.3016
DA3	Y = 0.0432X - 1.9970	0.8733	161.9675
YSH7	Y = 0.0403X - 1.6916	0.8421	162.0242
D6 - 2 - 1	Y = 0.0549X - 4.0988	0.9107	165.7341
CHL20	Y = 0.0500X - 3.3084	0.9404	166.1680
JT1	Y = 0.4110X - 1.9484	0.8741	169.0608
D4 - 2 - 1	Y = 0.0512X - 3.7452	0.8856	170.8046
TH9	Y = 0.0428X - 2.3720	0.9300	172.2429
D1 - 5	Y = 0.0458X - 3.3486	0.8856	182.2838
CHL11	Y = 0.0461 X - 3.411	0.8989	182.4511
L2 - 8	Y = 0.0226X - 0.0060	0.8903	188.1954
S9 - x - 1	Y = 0.0331X - 1.6698	0.9093	202.3564
L1 - 1 - 1	Y = 0.0270X - 0.5215	0.9615	204.5000
T3 - 2 - 1	Y = 0.0046X - 3.0738	0.8963	209.6482
JH7	Y = 0.0281X - 2.3772	0.9188	262.5267

表 4 不同孢子浓度各菌株对大豆蚜

LC₅₀的毒力回归方程(第 7 天)

Table 4 Regression equation on LC₅₀ of pests mortality of different conidia concentrations of isolates of *Beauveria bassiana* (the seventh day)

菌株 Stians	毒力回归方程 Regression equation of toxicity	相关系数(r) Correlation coefficient (r)	LT ₅₀ (h)
S14 - x - 1	Y = 0.2206X + 2.9368	0.9097	9.3527
DA3	Y = 0.5096X + 0.32296	0.8490	9.1648
YSH7	Y = 0.2838X + 2.0036	0.9194	10.5581
D6 - 2 - 1	Y = 0.2756X + 2.3656	0.9509	9.5588
CHL20	Y = 0.2094X + 2.5516	0.8002	11.6925
JT1	Y = 0.7390X - 1.2748	0.9145	8.4909
D4 - 2 - 1	Y = 0.3314X + 1.4328	0.9540	10.7640
TH9	Y = 0.1640X + 2.6528	0.8079	14.3121
D1 - 5	Y = 1.0104X - 3.7452	0.9406	13.6551
CHL11	Y = 0.455X + 0.2092	0.9476	10.5246
L2 - 8	Y = 0.4613X - 0.2200	0.8839	11.3159
S9 - x - 1	Y = 0.1416X + 2.4746	0.8522	17.8347
L1 - 1 - 1	Y = 0.1394X + 2.4724	0.9467	18.1319
T3 - 2 - 1	Y = 0.1690X + 2.4740	0.8859	13.3727
JH7	Y = 0.7812X - 3.4788	0.9722	10.8532

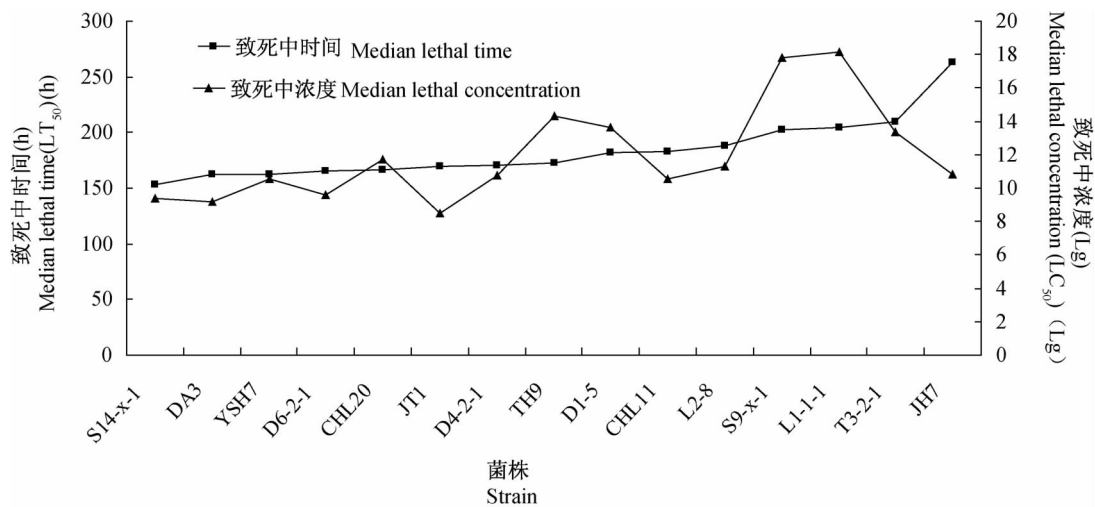


图1 供试菌株对大豆蚜虫毒力综合分析

Fig. 1 Synthetic analysis of toxicity against *Aphis glycines* of tested stains

菌防治松毛虫、玉米螟和水稻叶蝉等,每年防治面积达 50 万 hm^2 左右,是世界上最成功的生物防治实例(Feng *et al.*, 1994)。大豆蚜作为大豆生育期的主要害虫,一直以来都以化学农药防治为主要手段,白僵菌防治刺吸式口器害虫的研究日趋增多,已逐渐成为国内外开展刺吸式口器害虫生物防治的候选菌株。1995 年上半年,美国相继注册登记了球孢白僵菌系列产品,用于防治蚜虫、叶蝉等刺吸式害虫,标志着防治刺吸式害虫的真菌杀虫剂产业化的开始(冯明光等,1999)。

本研究为了筛选具有抗大豆蚜活性的白僵菌生防菌株,对来源于吉林省不同地区的白僵菌菌株进行了对大豆蚜虫的室内生物活性测定,各供试菌株在杀虫时间和供试浓度上存在一定差异,可能是由于其本身的生理生化特性造成,综合各项指标,菌株 S14 - X - 1 致死时间最短,LT₅₀ 为 153.3 h,致死浓度低,为高毒力菌株,可作为下一步大豆蚜的生防真菌。球孢白僵菌对害虫具有一定的专化性,本研究菌株均来源于玉米螟的白僵菌菌株,这也可能是导致本研究只筛选到 2 个菌株的致死率大于 50%。今后,作者拟进行优良菌株在大豆蚜虫上的接种扶壮工作,提高这些优良菌株的杀虫效率;同时,从田间采集来源于大豆蚜

虫的球孢白僵菌菌株,并进行玉米螟生物活性测定,研究和明确来源于不同寄主的白僵菌菌种的专化性差异,为拓宽野生菌株的杀虫谱,获得具有广谱抗性的生防菌株奠定基础。

参考文献 (References)

- 冯明光,徐均焕,屠国兴,1999. 杀虫真菌制剂的开发与应用前景. 杭州科技, 20 (4):19—21.
- Feng MG, Johnson JB, 1990. Relative virulence of six isolates of *Beauveria bassiana* on *Diuraphis noxia* (Homoptera: Aphididae). *Environ. Entomol.*, 19 (3): 785—790.
- Feng MG, Poprawski TJ, Khachatourians GG, 1994. Production, formulation and application of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insect control: current status. *Biocontrol. Sci. Technol.*, 4 (1): 3—34.
- 刘帅,李瑞军,陆秀君,李静,董建臻,谢成生,2009. 甘蓝蚜优良球孢白僵菌 BD061 - 3 菌株的筛选. 安徽农业科学, 37(16):7523—7524,7616.
- 张永军,王中康,殷幼平,裴炎,2001. 球孢白僵菌的生物学特性及对小麦蚜虫的毒力. 西南农业大学学报, 23(2): 144—146.