

汤普森被毛孢对二斑叶螨致死率的建模分析*

韩智杰¹ 瞿娇娇¹ 张晓娜² 郭建军² 邹晓^{1**}

(1. 贵州大学 真菌资源研究所 贵阳 550025; 2. 贵州大学 昆虫研究所 贵阳 550025)

摘要 本文采用蒸汽压提供湿度的方法研究了在施用不同浓度的孢子悬液及不同温湿度下汤普森被毛孢对二斑叶螨 *Tetranychus urticae* Koch 的致死情况,并用灰色预测和回归分析建立了数学模型。结果表明:试验条件范围内,完全二次方程的拟合效果较好;在温度为 28.09℃、湿度为 100%、浓度为 250 万个/mL 时,致死率达到 81.66%,防效最佳;较湿度而言,温度对被毛孢的影响更为显著;在高浓度或高湿度下,被毛孢对环境的变化更为敏感。综合评价,汤普森被毛孢对二斑叶螨的防效欠佳,若欲推广,尚需进一步的改良。

关键词 汤普森被毛孢,二斑叶螨,温湿度,孢子浓度,致死率,数学模型

Using mathematical modeling to analyze the mortality of *Tetranychus urticae* infested by *Hirsutella thompsonii*

HAN Zhi-Jie¹ QU Jiao-Jiao¹ ZHANG Xiao-Na² GUO Jian-Jun² ZOU Xiao^{1**}

(1. Institute of Fungus Resources, Guizhou University, Guiyang 550025, China;

2. Institute of Entomology, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract The efficiency of controlling *Tetranychus urticae* Koch with the pathogen *Hirsutella thompsonii* Fisher under various humidity and temperature conditions was investigated and Grey model prediction and regression analysis were used to construct a mathematical model of the effects of various parameters on mite mortality. The results indicate that the model was a perfect fit under the test conditions. Control was most effective at a temperature, humidity and pathogen concentration of 28.09℃, 100% and 2.5 million/mL, respectively, with a death rate of up to 81.66%. The influence of temperature on *H. thompsonii* was found to be greater than that of humidity. *H. thompsonii* was found to be more sensitive to changes in the environment at high temperature and humidity. It is concluded that the control efficiency of *T. urticae* by *H. thompsonii* is not high and would need to be improved if *H. thompsonii* is to be used as a biocontrol agent.

Key words *Hirsutella thompsonii*, *Tetranychus urticae*, temperature and humidity, concentration of spore, mortality, mathematical model

二斑叶螨 *Tetranychus urticae* Koch 是多种农作物的害螨之一(徐学农等,2011;刘庆娟等,2012;仇贵生等,2012)。长期以来化学农药的滥用在对二斑叶螨的防治起到一定作用的同时,也使其抗药性不断增强(Edge and James,1982;Hoy *et al.*,1988)。面对叶螨类的危害和化学防治残留问题的严峻局面,有学者利用捕食性天敌开展传统生物防治(Hardman *et al.*,1995),也有在果园叶螨防治中提倡以保护和增强天敌作用为重要内容的综

合治理(IPM)(Croft and Slone,1998)。近年国内外学者也从真菌制剂和抗螨品种等方面探索害螨控制技术(Shi *et al.*,2008;Stoddard,2010)。在自然界由于微生物引起的节肢动物病理性死亡案例中,真菌约占总数的60%(陈学新,2010)。因此利用真菌防治节肢动物一直受到学界的关注。

利用被毛孢真菌防治螨类的工作早已进行,自从1950年Fisher在柑桔锈壁虱虫体上发现汤普森被毛孢 *Hirsutella thompsonii* Fisher 以来,美国政

* 资助项目:公益性行业(农业)科研专项“作物叶螨综合防控技术研究与示范推广”(201103020);贵州省科技基金(黔科合J字[2011]2160)。

** 通讯作者, E-mail: coprinus@126.com

收稿日期:2012-12-06,接受日期:2012-12-31

府在 20 个世纪七八十年代曾批准使用被以汤普森被毛孢为主要成分的杀螨剂 (McCoy, 1996)。但是,应用汤普森被毛孢防治二斑叶螨的防效统计存在问题,甚至微生物防治害虫的防效普遍存在类似问题,常用做法就是统计虫口消减程度,但许多消减因素会影响统计结果的准确性 (Fernando, 2007)。防效问题最直观的体现就是靶标昆虫的致死率,致死率检测成为防效统计的重要指标。Gardner 采用显微操作技术将汤普森被毛孢分生孢子接种到二斑叶螨并置于较高湿度环境,死亡率高达 97% (Gardner *et al.*, 1982)。说明该菌在最适环境条件下对螨的致死率接近 100%,也说明该菌成活率和侵染效率很高。因此,二斑叶螨的致死率可用其与环境因素相互作用的数学模型来表达,在一定程度上可以通过气象数据信息和所用菌剂浓度来估算致死率。

1 材料与方法

1.1 菌种和螨种来源

汤普森被毛孢购自中国科学院微生物研究所菌种保藏中心,菌株号:3.4430。二斑叶螨取自贵州大学昆虫研究所。

1.2 方法

1.2.1 温、湿度的控制及接种方法 试验温度从 22℃ 到 30℃,间隔为 2℃ 的 6 个梯度。根据“拉乌尔定律”($P = P \times X$)和理想气体状态方程($PV = nRT$),在密闭塑料容器中利用非电解质葡萄糖结合当时大气压,配制相对湿度为 95% 到 100% 的 6 个湿度梯度。点种法接种于 PDA 平板中心,置于调定湿度和温度的密闭容器中,培养 14 d。

1.2.2 菌落直径的测量与数据处理 用游标卡尺测量各平板中菌落的直径。并对测量数据做单因素方差分析并结合 Gauss 函数拟合以观察曲线走势。讨论在试验温湿度范围内,温度和湿度对汤普森被毛孢生长的影响程度,根据差异的显著性选取温湿度和孢子浓度的实验组合。

1.2.3 不同浓度的孢子悬液对二斑叶螨致死率的测定 用浓度为 0.05% Tween-80 无菌水洗涤长势良好的斜面。血球计数法统计孢子浓度,并稀释成 250、25、2.5 万个/mL 的 3 个浓度梯度。等量喷雾到长有二斑叶螨的蚕豆 (*Vicia faba* Linn.) 叶片,用无菌凡士林涂抹叶片边缘,防止螨逃逸。

并将叶片置于 1.2.2 中实验组条件,12 d 后,统计侵染死亡率,镜检以螨尸长出汤普森被毛孢产孢结构为准。

1.2.4 死亡率的灰色预测 GM(1,1) 及回归分析

采用 GM(1,1) 预测模型 (邓聚龙, 2002), 根据致死率的结果, 预测湿度在 85% 到 94% 之间, 各温度及浓度条件下, 汤普森被毛孢对二斑叶螨的致死率。对致死率与温、湿度及浓度之间的关系, 进行三元线性回归和三元完全二次回归构建致死率与温度、湿度和浓度关系的数学模型。

2 结果与分析

2.1 菌落直径的测量与数据处理

2.1.1 菌落直径的测量与分析 汤普森被毛孢的菌落直径, 在同一湿度下不同温度的分布, 总是呈现正态分布 (图 1); 而在同一温度下不同湿度的分布, 呈现出的则是围绕 16 mm 上下波动的一条曲线 (图 2)。并且该曲线在整体上, 并没有现出上升或下降的趋势, 且在同一湿度下的波动大致相同。说明: 在温度范围 22℃ 到 30℃ 下, 汤普森被毛孢的生长服从正态分布。且在该温湿度下, 湿度对其生长的影响, 不如温度显著。

2.1.2 菌落直径的方差分析 对数据进行方差分析的结果表明, 不同温湿度下汤普森被毛孢的生长, 在总体上存在显著性差异 (显著性水平为 2.32×10^{-6})。但在某几个温湿度下的生长可能并不存在显著性差异, 如图 3 所示。将使汤普森被毛孢生长情况相近的温湿度组合归为一组。然后, 取每组中处于中间位置的温湿度组合作为代表, 用于后面的致死率试验。结果如表 1 所示。

2.2 二斑叶螨死亡率的统计

以不同浓度菌液侵染二斑叶螨, 在表 1 中“代表组合”下培养。镜检统计二斑叶螨的死亡率, 结果如表 2 所示。

2.3 死亡率的 G(1,1) 灰色预测

用湿度轴替换时间轴, 预测湿度在 85% 到 94% 之间, 汤普森被毛孢对二斑叶螨的致死率, 结果如表 3 所示。灰预测的结果显示: 大多数组份数据随湿度从 94% 到 85% 递减。其中, “250 万个/mL 30℃” 变化最快。但在 “250 万个/mL 22℃” 和 “25 万个/mL 28℃” 等条件下递增, 这不符合汤普森被毛孢的生长规律, 该情况可能是原

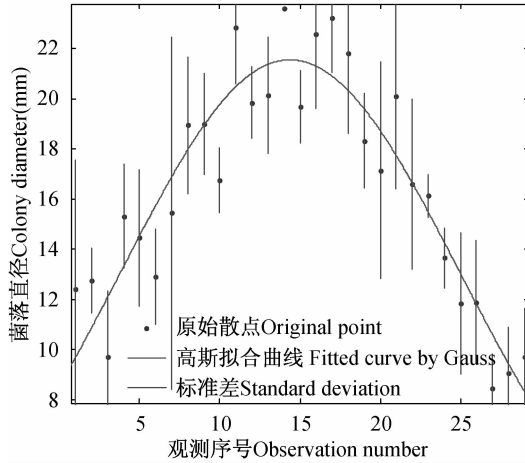


图 1 湿度集中时不同温湿度下汤普森被毛孢菌落直径拟合曲线

Fig. 1 Fitted curve of *Hirsutella thompsonii* colony diameter in different temperature when humidity concentrate

注:图中横轴数字,依次表示:22℃,95%;22℃,96%;22℃,97%;22℃,98%;22℃,99%;24℃,95%;24℃,96%;24℃,97%;24℃,98%;24℃,99%;24℃,100%;直到30℃,95%;30℃,96%;30℃,97%;30℃,98%;30℃,99%;30℃,100%。

x axis represents observation number. From No. 1 to No. 25 are 22℃,95%;22℃,96%;22℃,97%;22℃,98%;22℃,99%;22℃,100%;24℃,95%;24℃,96%;24℃,97%;24℃,98%;24℃,99%;24℃,100%; to 30℃,95%;30℃,96%;30℃,97%;30℃,98%;30℃,99%;30℃,100%.

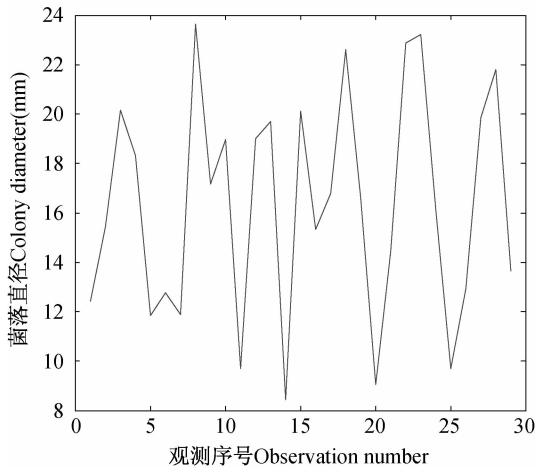


图 2 温度集中时不同温湿度下汤普森被毛孢菌落直径拟合曲线

Fig. 2 Fitted curve of *Hirsutella thompsonii* colony diameter in different humidity when temperature concentrate

注:图中横轴数字,依次表示:95%,22℃;95%,24℃;95%,26℃;95%,28℃;95%,30℃;96%,22℃;96%,24℃;96%,26℃;96%,28℃;96%,30℃;直到100%,22℃;100%,24℃;100%,26℃;100%,28℃;100%,30℃。

x axis represents observation number. From No. 1 to No. 30 are 95%,22℃;95%,24℃;95%,26℃;95%,28℃;95%,30℃;96%,22℃;96%,24℃;96%,26℃;96%,28℃;96%,30℃; to 100%,22℃;100%,24℃;100%,26℃;100%,28℃;100%,30℃.

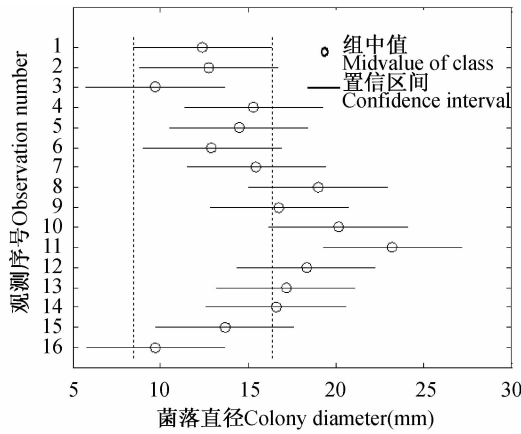


图 3 汤普森被毛孢菌落直径数据的多重比较

Fig. 3 Multiple comparison of *Hirsutella thompsonii* colony diameter

表 1 温湿度的分组及代表值的选取

Table 1 Groups of humiture and their representative

组别 Group	温湿度 Temperature and humidity						代表组合 Representative
1	22℃ 97%	30℃ 97%					30℃ 97%
2	22℃ 95%	22℃ 99%	22℃ 100%	28℃ 100%			28℃ 100%
3	22℃ 98%	22℃ 99%	24℃ 95%	24℃ 98%	28℃ 96%	28℃ 97%	24℃ 98%
4	24℃ 97%	26℃ 95%	28℃ 95%				24℃ 97%
5	26℃ 99%						26℃ 99%

表 2 不同温湿度及孢子悬液浓度下二斑叶螨的死亡率

Table 2 The death rate of *Tetranychus urticae* in different relative humidity and temperatures and concentrations of spore suspension

浓度及温湿度 Concentrations (million/mL) temperature(℃) and humidity(%)	致死率 Death rate					均值 Average
	平行 1 Repeat 1	平行 2 Repeat 2	平行 3 Repeat 3	平行 4 Repeat 4	平行 5 Repeat 5	
	250 22 100	0.071	0.176	0.000	0.103	
250 22 99	0.240	0.143	0.130	0.467	0.236	0.243
250 22 98	0.240	0.143	0.130	0.467	0.236	0.243
—	—	—	—	—	—	—
2.5 28 97	0.110	0.000	0.000	0.000	0.000	0.022
2.5 28 96	0.110	0.000	0.000	0.000	0.000	0.022
2.5 28 95	0.000	0.000	0.000	0.000	0.071	0.014

注:— 表示缺失资料;表中只列出了部分数据。

— means missing data. Only parts data have been listed in the table.

表 3 汤普森被毛孢对二斑叶螨致死率的 G(1,1) 灰色预测结果

Table 3 The prediction of GM (1,1) model in Grey System Theory for the death rate of *Tetranychus urticae* killed by *Hirsutella thompsonii*

温度及浓度 Temperatures(℃) and concentrations (ten thousands/mL)	湿度 Humidity (%)	预测值 Value of prediction	模型精确度 Accuracy of model	误差范围 Error range
22 250	94	0.3101	0.9313	[0.2706, 0.5061]
22 250	93	0.3168	0.9313	[0.2768, 0.5155]
22 250	92	0.3238	0.9313	[0.2832, 0.5252]
22 250	91	0.3309	0.9313	[0.2896, 0.5348]
—	—	—	—	—
28 2.5	87	0.0035	0.9006	[0.0021, 0.0063]
28 2.5	86	0.0029	0.9006	[0.0015, 0.0057]
28 2.5	85	0.0024	0.9006	[0.0010, 0.0052]

注:表中只列出了部分数据。

Only parts data have been listed in the table.

始数据异常造成的。

以图 1 中温湿度的观测顺序标注 x 轴,以致死率表示 y 轴。在浓度为 25 万个/mL 时,绘制不同温湿度对应二斑叶螨死亡率的散点图,并用 Gauss 函数拟合。结果如图 4 所示。由于汤普森被毛孢的生长是导致二斑叶螨死亡的直接原因,所以图 4 的拟合结果,除了因为 y 轴所表示的含意不同而导致曲线高度不同外,其它特征在理论上都应该与图 1 相一致。

可以看见,图 4 中的曲线无正态性,与图 1 中曲

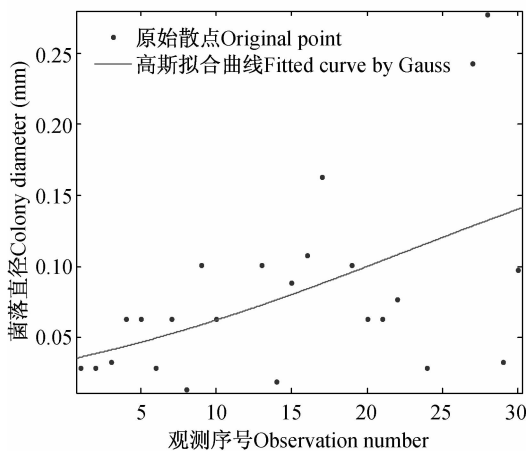


图 4 浓度 25 万个/mL 温湿度对应致死率全数据拟合曲线

Fig. 4 Fitted curve of death rate with all data in concentration 25 million/mL

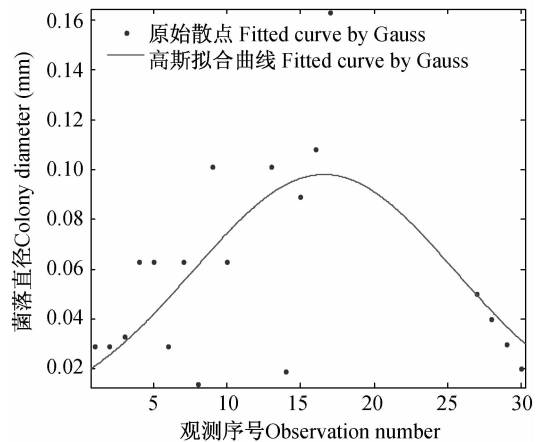


图 5 浓度 25 万个/mL 温湿度对应致死率去除异常数据拟合曲线

Fig. 5 Fitted curve of death rate in concentration 25 million/mL when wiped off unusual data

线的走势完全不同。去除图 4 中异常数据的散点,并依照高斯函数,补充若干散点,以保持 x 轴的完整性。再用高斯函数拟合,结果如图 5 所示。可以看见,峰值在观测序号 15 附近,且曲线走势也与图 1 相似。用同样的方法,分析其他浓度,也有类似结果。灰色预测之所以出现异常,可能因为在相应温湿度及浓度组合下试验数据与事实相违。

2.4 回归建模

2.4.1 三元线性回归分析与完全二次回归分析

去除灰预测的异常数据,用其余数据进行回归分析。三元线性回归与完全二次回归的方差分析显示:在显著性水平 0.05 下,两个回归方程都是显著的。它们的均方根误差分别为 0.0699 和

0.0465,判定系数分别为 0.7632 和 0.8919。说明完全二次回归的整体效果比三元线性回归的要好,图 6 中更可以直观的看出这一点。

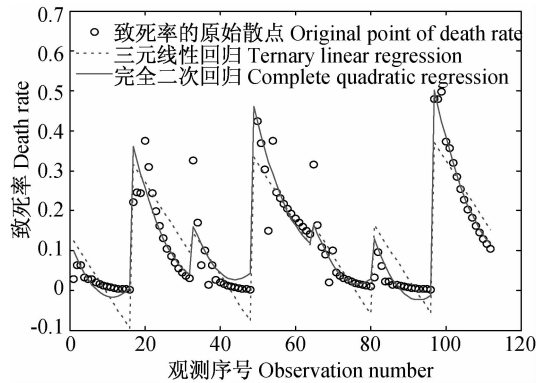


图 6 三元线性回归与完全二次回归拟合效果的比较

Fig. 6 Compare of ternary linear regression and complete quadratic regression

图 6 显示:依照完全二次回归方程,仍将有一小部分曲线出现致死率小于 0 的情况。这是由于这些观测点致死率接近 0,而回归方程是根据最小二乘法所得,因而回归曲线总是在原始数据附近有所波动。过高或过低的温度,较低的湿度以及较低的浓度都不利于汤普森被毛孢对二斑叶螨的致死。由此改进回归方程得到实验所用汤普森

被毛孢菌株对二斑叶螨的致死率与菌液浓度及温、湿度间的数学模型,如式(1)所示。以初值(30,100,250)解约束非线性规划,下式收敛于(28.09,100,250)。即:防效最佳的温湿度和浓度分别为:28.09℃、100%、250万个/mL时,致死率达到81.66%。

$$y = \begin{cases} 0.0007x_1x_2 + 0.0002x_1x_3 + 0.0001x_2x_3 - 0.0067x_1^2 + 0.0011x_2^2 + 0.2564x_1 - 0.2138x_2 - 0.0125x_3 + 6.5351; & y \geq 0 \\ 0; & y \leq 0 \end{cases}$$

$$x_1 \in [22,30]; x_2 \in [85,100]; x_3 \in [25,250] \quad \text{式(1)}$$

其中: y 表示朱砂叶螨的死亡率; x_1 表示温度(℃); x_2 表示湿度(%); x_3 表示浓度(万个/mL)。

2.4.2 模型的进一步讨论

控制温度,绘制湿度和浓度同致死率之间关系的曲面。

在图 7 中,还有两个值得关注的现象。第一,随着相对湿度或孢子浓度的降低,曲面变得更为平坦。这样就导致了内侧两条边各自的平均斜率总是大于其对应外侧边的平均斜率。说明:汤普森被毛孢对二斑叶螨的致死作用在高浓度或高湿度下,对环境的变化更为敏感。

第二,在浓度为 250 万个/mL 时,100% 的湿度下,30℃ 到 22℃ 的致死率分别为:0.78、0.8、0.8、0.8、0.78、0.75、0.7、0.64、0.56。除 30℃ 时的致死率略微偏小外,整个数列成递减趋势。在

其余的湿度下,也有类似的规律。说明:在高浓度下,较高的温度有利于汤普森被毛孢对二斑叶螨的致死,这与在低浓度时有所不同。

3 讨论

作为活体的生物制剂,汤普森被毛孢在温湿度和孢子浓度都较大时对二斑叶螨的致死率达到最大,故在气温较低或湿度不大的时候不宜在田间施用,即使使用量很大也达不到较好的效果,此时建议采用其它防治方法。当环境在高浓度或高湿度下,被毛孢对其它影响因子的变化更为敏感,所以可以根据所施用的环境中变化及时调整所施用的浓度可以达到较好的使用效果。

用于实验的汤普森被毛菌株对二斑叶螨虽然

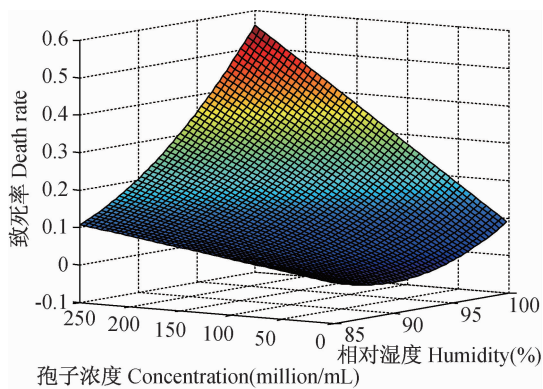


图 7 22℃下湿度和浓度同致死率之间的关系

Fig. 7 Relation of concentration and humidity and death rate in 22℃

这里只列出 22℃时的图形,其他温度下的图形均与其相似。

Only the drawing of 22℃ have been revealed in there, and others are similar.

有一定的致死作用,但从总体来看其致死率并不太高,并且其对温、湿度和浓度的要求都较苛刻。致死效果的不理想,与菌株有一定关系,菌株保藏时间较长(据标识应是 1992 年保存的菌株)并且菌株活化时间较短。利用该汤普森被毛孢菌株还需对菌株进行选育或改造。在对数据进行灰色预测时,发现灰预测在一定程度上能够自行检验原始数据的好坏。

参考文献 (References)

- Croft BA, Slone DH, 1998. Perturbation of regulated apple mites; immigration and pesticide effects on outbreaks of *Panonychus ulmi* and associated mites (Acari, Tetranychidae, Eriophyidae, Phytoseiidae and Stigaeidae). *Environ. Entomol.*, 27:1548 – 1556.
- Edge VE, James DJ, 1982. Detection of cyhexatin resistance in two spotted mite, *Tetranychus urticae* Koch in Australia. *J. Aust. Entomol. Soc.*, 21:198.
- Fernando LCP, 2007. Evaluation of four isolates of *Hirsutella thompsonii* against coconut mite (*Aceria guerreronis*) in Sri Lanka. *Crop Prot.*, 26 (7):1062 – 1066.
- Fisher FE, 1950. Two new species of *Hirsutella* patouillard. *Mycologia*, 42:13 – 16.
- Gardner WA, Ronald DO, Gregory KS, 1982. Susceptibility of the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch, to the fungal pathogen *Hirsutella thompsonii* Fisher. *The Florida Entomologist*, 65(4):458 – 465.
- Hardman JM, Smith RF, Bent E, 1995. Effects of different integrated pest management programs on biological control of mites on apple by predatory mites (Acari) in Nova Scotia.

Environ. Entomol., 39:293 – 322.

- Hoy MG, Conley J, Robinson WC, 1988. Yhexatin and fenbutatin-oxide resistance in Pacific spider mite: stability and mode of inheritance. *J. Econ. Entomol.*, 81:57 – 64.
- McCoy CW, 1996. Pathogens of eriophyoid mites//Liquist EE, Sabelis MW, Bruin J (eds.). *Eriophyoid Mites: Their Biology, Natural Enemies and Control*, Amsterdam: Elsevier. 481 – 490.
- Shi W, Zhang L, Feng M, 2008. Time-concentration-mortality responses of carmine spider mite (Acari: Tetranychidae) females to three hypocrealean fungi as biocontrol agents. *Biol. Control*, 46(3):495 – 501.
- Stoddard FL, 2010. Integrated pest management in fababean. *Field Crops Res.*, 115 (3):308 – 318.
- 陈学新, 2010. 21 世纪我国害虫生物防治研究的进展、问题与展望. *昆虫知识*, 47(4):615 – 625.
- 邓聚龙, 2002. 灰预测与灰决策. 武汉:华中科技大学出版社. 111 – 130.
- 刘庆娟, 刘永杰, 于毅, 周仙红, 马惠, 2012. 二斑叶螨对七种杀螨剂的抗药性测定及其机理研究. *应用昆虫学报*, 49(2):376 – 381.
- 仇贵生, 张怀江, 闫文涛, 殷万东, 陈汉杰, 岳强, 2012. 苹果园二斑叶螨的经济为害水平. *植物保护学报*, 39 (3):200 – 204.
- 徐学农, Christian B, Hans-Michael P, 2011. 西花蓟马、二斑叶螨与黄瓜新小绥螨的相互关系研究. *应用昆虫学报*, 48(3):579 – 587.