

文章编号:1001-7380(2018)02-0042-03

## 几株绿僵菌对影等鳃金龟幼虫的 毒力及耐高温性测定

单文娟<sup>1</sup>, 潘永胜<sup>2\*</sup>

(1.江苏宿城经济开发区管理委员会,江苏 宿城 223800; 2.宿迁市林木有害生物检疫防治站,江苏 宿迁 223800)

**摘要:**影等鳃金龟幼虫对多种农作物、花卉苗木等根及幼苗危害大。作者对收集的20株绿僵菌产孢量情况进行了计量,筛选出产孢量高的  $Ma_{42}$ ,  $Ma_{788}$ ,  $Ma_{789}$  3个菌株,并进一步开展了3菌株对影等鳃金龟幼虫的毒力及耐高温性测定。结果表明  $Ma_{789}$  菌株的致病力较强,注喷处理30 d后,感染率达43%;  $Ma_{788}$  菌株的耐高温性较强,40℃水浴处理12 h后,孢子萌发率仍在33%以上。供试验的3菌株毒力和耐高温性未表现出一定的相关性。

**关键词:**绿僵菌;影等鳃金龟;毒力测定;生物防治;耐高温性

中图分类号:S763.306.4;S763.380.64

文献标志码:A

doi:10.3969/j.issn.1001-7380.2018.02.011

## Determination of virulence against *Exolontha umbraculata* larva and high temperature resistance of several strains of *Metarhizium anisopliae*

SHAN Wen-juan<sup>1</sup>, PAN Yong-sheng<sup>2\*</sup>

(1. Administration Committee of Sucheng Economic Development Zone of Jiangsu, Sucheng 223800, China;

2. Suqian Forest Pest Quarantine and Prevention Station, Suqian 223800, China)

**Abstract:** *Exolontha umbraculata* larva is harmful to the roots and seedlings of many crops. Sporulation quantity of 20 *Metarhizium anisopliae* strains were measured in this paper, and then  $Ma_{42}$ ,  $Ma_{788}$ ,  $Ma_{789}$  were screened out with high yield of spore. Furthermore, their virulence against *Exolontha umbraculata* larva and high temperature resistance were also determined. The results showed that  $Ma_{789}$  was the most virulent in 30 days after injection, with infection rate of 43%. And  $Ma_{788}$  had the highest temperature resistance since after 40℃ water bath treatment for 12 h, it still got more than 33% of spore germination rate. We concluded that there was no correlation between virulence and high temperature resistance of 3 strains tested.

**Key words:** *Metarhizium anisopliae*; *Exolontha umbraculata*; Toxicity test; Biological control; High temperature resistance

蛴螬即金龟子的幼虫,是主要的地下害虫之一,可危害多种农作物和花卉苗木的种子、根及幼苗等,而影等鳃金龟的幼虫个体相对较大,危害更重。蛴螬的常规防治方法有药物拌土、毒饵诱杀等,但长期、大量化学药剂的使用,使害虫产生一定的抗药性,更主要的是会造成土壤、水体等环境的污染,而真菌杀虫剂具有使用安全、不污染环境、可

扩散流行和害虫不易产生抗性等优点,是国内外生物防治的研究重点。陈斌等室内测定了从棕色金龟子幼虫体上分离的金龟子绿僵菌对小云斑鳃金龟幼虫的毒力,赵文琴等应用不同的绿僵菌、白僵菌菌株对铜绿丽金龟的幼虫进行了生物测定,结果显示供试绿僵菌对靶标金龟子均有较强的毒性<sup>[1-2]</sup>,绿僵菌在其他多种农林害虫的生物防治中

收稿日期:2018-03-05;修回日期:2018-04-11

作者简介:单文娟(1982-),女,山东淄博人。从事园林绿化管护等工作。

\* 通信作者:潘永胜(1980-),男,山东青州人,高级工程师,硕士。从事森林病虫害防治研究。E-mail:panpan03@126.com。

也都取得了明显成效。另外,最常用的绿僵菌菌剂为分生孢子,在生产、加工、储存、运输、使用等过程,可能会遇到短暂或持续高温,一定程度上影响孢子萌发和致死力,研究分生孢子的耐高温性,对于指导生产中的温度控制,以及选择适宜防治区域和防治时间等具有重要意义。本文选用几株产孢量高的绿僵菌菌株,测定了其对应鳃金龟幼虫的毒力和耐高温性,为以后的生物防治特别是利用绿僵菌等微生物防治害虫提供借鉴。

1 材料与方法

1.1 菌种来源

绿僵菌 (*Metarhizium anisopliae*) *Ma*<sub>785</sub>, *Ma*<sub>788</sub>, *Ma*<sub>789</sub>, *Ma*<sub>793</sub>, *Ma*<sub>795</sub>, *Ma*<sub>798</sub>, *Ma*<sub>799</sub>, *Ma*<sub>800</sub>, *Ma*<sub>801</sub>, *Ma*<sub>802</sub>, *Ma*<sub>804</sub>, *Ma*<sub>805</sub>, *Ma*<sub>806</sub>, *Ma*<sub>807</sub>, *Ma*<sub>808</sub>, *Ma*<sub>809</sub>, *Ma*<sub>811</sub>, *Ma*<sub>812</sub>, 由中国林业科学研究院提供; *Ma*<sub>20</sub>, *Ma*<sub>42</sub> 由安徽农业大学提供。

1.2 供试昆虫

影等鳃金龟 (*Exolontha umbraculata*) 幼虫:采于江苏省林业科学研究院天敌繁育场楼下东侧空地,室温下用马铃薯切块单只单瓶饲养,待收集到一定数量后,挑选大小一致且健康的虫体进行毒力测定。

1.3 菌株产孢量测定

采用点接法用接种针挑取绿僵菌孢子于 PDA 培养基(马铃薯 200 g/L,葡萄糖 20 g/L,琼脂 18 g/L)平板中央,放入(25±1)℃培养箱中培养,每处理重复 3 次。菌株产孢量测定于菌落生长 15 d 后,用打孔器在菌落核心至边缘 1/2 处取菌块,置于装有适量无菌水的锥形瓶中,使用涡旋式搅拌器充分振荡直至均匀,血球计数板计数,换算成单位面积产孢量<sup>[3]</sup>。

1.4 室内毒力测定

将菌株产孢量测定中筛选出的产孢量高的 3 菌株的分生孢子粉分别用无菌水制成浓度为 1.0×10<sup>8</sup> 个/mL 的孢子悬浮液,用无菌水作对照,每个处理设重复 3 个,每个重复试虫 10 头<sup>[4]</sup>。用注射器注喷绿僵菌分生孢子悬浮液在幼虫体表,每只注喷 2 mL,对照注喷无菌水。处理后的试虫置于广口瓶中的湿土内,每瓶 1 头虫,用马铃薯切片饲喂,温度控制在 25—28℃,注意保持土壤的湿度,定期记录感染虫数。

1.5 分生孢子耐热性测定

将筛选出的产孢量高的 3 菌株在 PDA 培养基平板上培养 14 d,在超净工作台上用接种铲取绿僵菌孢子,放于装有无菌水的三角瓶中,浓度约为 10<sup>6</sup> 个/mL,用涡旋式搅拌器充分振荡,然后分别放于温度系列为 25,30,35,40℃的水浴锅中加热 12 h。用无菌毛刷蘸取灭菌过的 PDA 培养基均匀涂布于无菌载玻片上成一层薄层,然后用无菌移液管取不同温度水浴处理过的孢子悬浮液于载玻片的培养基薄层上,再用涂布棒涂布均匀,置于(25±1)℃培养箱中培养 18 h,统计萌发率。试验设重复 3 个,每个重复各统计 100 个以上的孢子<sup>[5-6]</sup>。

2 结果与分析

2.1 绿僵菌的产孢量

20 株绿僵菌 PDA 培养基平板培养后的产孢量情况见表 1。从表 1 中可见,产孢量最高的菌株是 *Ma*<sub>789</sub>,其次是 *Ma*<sub>788</sub>,*Ma*<sub>42</sub>。3 菌株产孢量显著高于其他菌株。因利用绿僵菌开展生物防治中最常用的菌剂形式为分生孢子,故本文选用此 3 菌株作进一步的毒力和耐高温性测定。

表 1 20 株绿僵菌的产孢量(以菌株编号排序)

菌株	产孢量/(×10 <sup>8</sup> /mm <sup>2</sup> )	菌株	产孢量/(×10 <sup>8</sup> /mm <sup>2</sup> )	菌株	产孢量/(×10 <sup>8</sup> /mm <sup>2</sup> )	菌株	产孢量/(×10 <sup>8</sup> /mm <sup>2</sup> )
<i>Ma</i> <sub>20</sub>	47.746	<i>Ma</i> <sub>793</sub>	18.458	<i>Ma</i> <sub>801</sub>	20.336	<i>Ma</i> <sub>807</sub>	60.125
<i>Ma</i> <sub>42</sub>	98.588	<i>Ma</i> <sub>795</sub>	3.647	<i>Ma</i> <sub>802</sub>	42.220	<i>Ma</i> <sub>808</sub>	55.262
<i>Ma</i> <sub>785</sub>	31.610	<i>Ma</i> <sub>798</sub>	17.463	<i>Ma</i> <sub>804</sub>	13.926	<i>Ma</i> <sub>809</sub>	54.378
<i>Ma</i> <sub>788</sub>	110.524	<i>Ma</i> <sub>799</sub>	17.684	<i>Ma</i> <sub>805</sub>	21.000	<i>Ma</i> <sub>811</sub>	31.389
<i>Ma</i> <sub>789</sub>	133.955	<i>Ma</i> <sub>800</sub>	5.084	<i>Ma</i> <sub>806</sub>	40.673	<i>Ma</i> <sub>812</sub>	17.021

2.2 对影等鳃金龟幼虫的毒力

感染的影等鳃金龟幼虫初期行动迟缓,身体呈

萎靡状态,然后体表出现浅褐色斑点,随着感染的不断发展,虫体全身变成深褐色,不久便死亡。死

亡不久被感染虫体开始变硬并长出白色絮状菌丝，后菌丝布满全身且变绿。从感染率可看出,3 菌株对影等鳃金龟幼虫的毒力强弱依次为  $Ma_{789}>Ma_{788}>Ma_{42}$ ,具体结果见表 2。

表 2 绿僵菌对影等鳃金龟幼虫的毒力

菌株	试虫总数/头	死虫数/头	僵虫数/头	死亡率/%	校正死亡率/%	感染率/%	显著性	
							0.05	0.01
$Ma_{789}$	30	16	13	53.333	50.000	43.333	a	A
$Ma_{788}$	30	14	10	46.667	42.857	33.333	b	B
$Ma_{42}$	30	9	6	30.000	25.000	20.000	c	C
CK	30	2	0	6.667	0	0	d	D

死亡率(%)=(死虫数/试虫总数)×100;校正死亡率(%)=(处理组死亡率-对照组死亡率)×100/(1-对照组死亡率);感染率(%)=(僵虫数/试虫总数)×100

2.3 不同温度处理后分生孢子萌发率

3 菌株经 25,30,35,40 ℃ 不同温度水浴处理后,孢子萌发率见图 1,在 25 ℃ 和 30 ℃ 水浴处理后的 3 菌株孢子萌发力差别不大,表现出高萌发率,均在 96% 以上;经 35 ℃ 水浴处理后, $Ma_{42}$  萌发率下降为 82.367%, $Ma_{788}$ , $Ma_{789}$  萌发率分别为 72.939% 和 71.269%;而经 40 ℃ 水浴处理后,3 菌株孢子萌发率显著下降到 35% 以下,其中  $Ma_{788}$  表现较强的耐热性, $Ma_{42}$  耐热性适中, $Ma_{789}$  孢子萌发率却下降到了 16.809%。

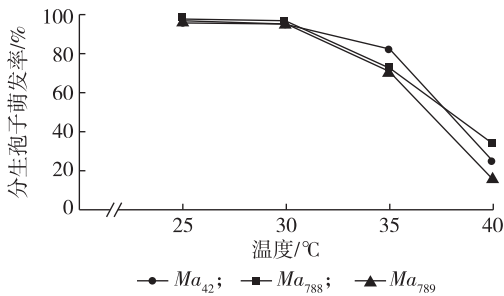


图 1 不同温度处理后各菌株孢子萌发率

3 结论

20 株绿僵菌于 PDA 平板培养 15 d 后,通过对其产孢量计量可知,产孢量最高的为  $Ma_{789}$ ,达到  $133.955\times10^8$  个/ $\text{mm}^2$ ,产孢量最低的是  $Ma_{795}$ ,仅有  $3.647\times10^8$  个/ $\text{mm}^2$ 。选用其中产孢量高的  $Ma_{42}$ , $Ma_{788}$ , $Ma_{789}$  3 菌株对影等鳃金龟幼虫进行了室内毒力和耐高温性测定,由于影等鳃金龟幼虫个体相对

较大,抵抗力较强,故试验结果没有预期理想,但从感染率可知,3 菌株中毒力最强的是  $Ma_{789}$ ,其次是  $Ma_{788}$ ,再次是  $Ma_{42}$ ;经不同温度水浴处理后的孢子萌发率情况表明,3 菌株中耐高温较强的是  $Ma_{788}$ ,其次是  $Ma_{42}$ ,而  $Ma_{789}$  耐高温性相对较差。可见,本文中供试验的 3 菌株毒力和耐高温性未表现一定的相关性,因为绿僵菌最常用的菌剂形式为分生孢子。本文仅选择了产孢量高的 3 菌株进行了进一步的毒力及耐高温性测定,不排除其他 17 株绿僵菌对影等鳃金龟毒力更强的可能性。另外, $Ma_{789}$  的野外毒力情况及其孢子在土壤中的宿存能力等,都有待以后的进一步研究。

参考文献:

[1] 陈 斌,李正跃,杜富荣,等.金龟子绿僵菌对马铃薯田小云斑鳃金龟子的生物防治潜力评价[J].云南农业科技,2003(b12):147-150.

[2] 赵文琴,樊美珍,蔡守平,等.不同绿僵菌、白僵菌菌株对铜绿丽金龟幼虫的毒力生物测定[J].生物学杂志,2005,22(5):43-45.

[3] 李宝玉,张礼生,农向群,等.金龟子绿僵菌孢子低温休眠与复苏[J].中国生物防治学报,2005,21(3):198-200.

[4] 潘永胜,徐福元,韩正敏,杨扇舟蛾幼虫高毒力绿僵菌菌株筛选研究[J].江苏林业科技,2012,39(5):13-15,44.

[5] 潘永胜,徐福元,韩正敏,等.松褐天牛成虫高毒力绿僵菌菌株筛选及液体振荡培养条件[J].林业科学研究,2010,23(1):102-107.

[6] 宋 漳,徐乐勤,江 涛.8 株绿僵菌孢子萌发条件及室内侵染马尾松毛虫试验[J].浙江农林大学学报,1997,14(2):165-168.