

袁盛勇,孔琼,孙燕,等. 球孢白僵菌对南瓜实蝇致病力的测定[J]. 江苏农业科学,2015,43(9):158-160.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.09.048

球孢白僵菌对南瓜实蝇致病力的测定

袁盛勇¹,孔琼¹,孙燕¹,薛春丽¹,沈登荣¹,陈斌²,何超¹

(1.红河学院生命科学与技术学院/云南省高校农作物优质高效栽培与安全控制重点实验室,云南蒙自 661199;

2.云南农业大学植物保护学院,云南昆明 650201)

摘要:利用 $3.0 \times 10^4 \sim 3.0 \times 10^8$ 个/mL 5 个浓度的球孢白僵菌 XD0104015 菌株对南瓜实蝇的成虫、幼虫、蛹进行室内致病力测定。结果表明,成虫、幼虫、蛹校正死亡率均在 3.0×10^8 个/mL 孢子浓度下达到最高,分别为 $(90.00 \pm 1.92)\%$ 、 $(84.44 \pm 2.99)\%$ 、 $(80.00 \pm 2.95)\%$;致死中时间(LT₅₀)分别为 (4.088 ± 0.387) 、 (4.575 ± 0.569) 、 (4.702 ± 0.335) d;处理 9 d 的致死中浓度(LC₅₀)分别为 $(2.466 \pm 0.579) \times 10^4$ 、 $(2.578 \pm 0.452) \times 10^4$ 、 $(3.461 \pm 0.679) \times 10^4$ 个/mL,供试菌株在室内对南瓜实蝇各虫态均有较强的致病力,在田间具有较理想的应用前景。

关键词:南瓜实蝇;球孢白僵菌;致病力

中图分类号:S433.89 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)09-0158-02

球孢白僵菌(*Beauveria bassiana*)是一种发展较早、普及面积较大、应用较广的昆虫病原真菌^[1]。它是一类能寄生在昆虫体表和体内的真菌,通过气孔侵入虫体,吸收虫体水分萌发发芽管,随后分泌酶素溶解体壁几丁质,并不断生长菌丝,破坏体壁几丁质及上皮细胞或肠壁细胞而进入虫体体腔,继而破坏血细胞及其他器官细胞,最后菌丝穿出体壁,使虫身长满菌丝而死亡^[2]。南瓜实蝇(*Bactrocera tau*)是一种重要的果蔬害虫,该虫具有隐蔽性,寄主广,繁殖力强,适应性极强和危害严重等特点。它以幼虫蛀入成熟的果实中产生危害,导致果实腐烂、落果,造成严重经济损失^[3-4]。目前,对南瓜实蝇主要以化学防治为主,对环境造成较大的污染;随着人们环保意识的增强和对虫生真菌研究的深入,利用虫生真菌防治害虫越来越受到重视,这也是重要的方法之一^[5-7]。目前,国内外利用虫生真菌防治南瓜实蝇的相关研究较少,本研究利用球孢白僵菌 XD0104015 菌株对果蔬害虫南瓜实蝇的各虫态进行室内致病力测定,以期为使用昆虫病原真菌进行生物防治提供理论依据。

1 材料与与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株来源 供试球孢白僵菌 XD0104015 菌株保存于红河学院农学系农业害虫综合防治实验室。

1.1.2 供试虫源 室内人工饲养,建立南瓜实蝇种群。

1.2 方法

1.2.1 分生孢子液的制备 将复壮、扩繁后的球孢白僵菌 XD0104015 用 PDA 培养基培养后,将其分生孢子洗落后用无菌水过滤。用血球计数板在显微镜下计数,计算出原孢子液

浓度,稀释成试验所需的浓度梯度。

1.2.2 球孢白僵菌对南瓜实蝇致病力测定 设 $3.0 \times 10^4 \sim 3.0 \times 10^8$ 个/mL 5 个浓度,并用无菌水加 0.05% 吐温-80 作为对照,每个浓度 3 个重复,每个重复 30 头虫,接种后分别供给饲料,置于温度为 26℃、相对湿度为 85% 的人工气候箱中培养,连续观察 9 d,每天定时记录成虫死亡数,并将死亡的虫体挑出保湿培养,观察是否为真菌感染致死。

成虫采用喷雾法接种,将成虫置于 2L 的塑料瓶内,各浓度的孢子液喷于虫体上;幼虫和蛹均采用浸渍法接种,将幼虫和蛹在孢子液中浸 30 s 进行接种,然后用毛笔将幼虫挑入装有饲料的培养皿中,将蛹挑入装有适量沙子的小瓶中,用带小孔的纱布封口^[8-9]。

1.2.3 数据分析 试验数据均采用 SPSS 17.0 进行处理^[10]。根据校正死亡率进行概率值转换后,对剂量作线性回归分析,建立直线回归模型,从而分别估计致死中浓度 LC₅₀、致死中时间 LT₅₀、相关系数(*r*)等参数^[11]。相关计算公式如下:

$$\text{死亡率} = (\text{死亡虫数} / \text{供试虫数}) \times 100\% ;$$

$$\text{校正死亡率} = (\text{处理组死亡率} - \text{对照组死亡率}) / (1 - \text{对照死亡率}) \times 100\% .$$

2 结果与分析

2.1 球孢白僵菌对南瓜实蝇成虫的致病力

球孢白僵菌 XD0104015 菌株分生孢子液对南瓜实蝇成虫具有较强的致病力,其中在 3.0×10^8 个/mL 浓度下的致病力最强,累计到处理 9 d 的校正死亡率为 $(90.00 \pm 1.92)\%$ 对照为 5.56%; 3.0×10^4 个/mL 孢子浓度下的致病力相对最弱,校正死亡率为 $(62.22 \pm 4.01)\%$ 。供试菌株对南瓜实蝇成虫处理 5~9 d 的致死中浓度逐渐降低,从 $(3.775 \pm 0.617) \times 10^8$ 个/mL 降至 $(2.466 \pm 0.579) \times 10^4$ 个/mL;在 $3.0 \times 10^4 \sim 3.0 \times 10^8$ 个/mL 5 个孢子浓度下,随孢子浓度的逐渐增大其致死中时间呈现逐渐缩短的趋势(表 1)。

2.2 球孢白僵菌对南瓜实蝇幼虫的致病力

分生孢子液在 3.0×10^8 个/mL 浓度下对南瓜实蝇幼虫

收稿日期:2014-08-25

基金项目:国家自然科学基金(编号:30860005);红河学院植物保护硕士授权点建设项目。

作者简介:袁盛勇(1975—),男,云南宣威人,硕士,副教授,从事农业昆虫生态与害虫综合防治研究。E-mail:sysy9069@163.com。

表1 球孢白僵菌 XD0104015 菌株分生孢子液对南瓜实蝇成虫的致死中浓度和致死中时间

时间 (d)	致死中浓度回归			致死中时间回归			
	回归方程	相关系数	致死中浓度 (个/mL)	浓度 (个/mL)	回归方程	相关系数	致死中时间 (d)
5	$y = 2.265 + 0.264x$	0.972 1	$(3.775 \pm 0.617) \times 10^8$ a	3.0×10^4	$y = 3.857 + 4.307x$	0.979 2	7.862 ± 0.679 a
6	$y = 1.850 + 0.244x$	0.976 2	$(3.773 \pm 0.595) \times 10^7$ b	3.0×10^5	$y = 2.955 + 3.567x$	0.940 7	6.738 ± 0.564 b
7	$y = 1.521 + 0.236x$	0.966 9	$(2.842 \pm 0.493) \times 10^6$ c	3.0×10^6	$y = 2.402 + 3.065x$	0.966 4	6.078 ± 0.531 b
8	$y = 1.308 + 0.240x$	0.973 1	$(2.887 \pm 0.424) \times 10^5$ c	3.0×10^7	$y = 2.156 + 3.047x$	0.962 8	5.135 ± 0.446 c
9	$y = 0.981 + 0.223x$	0.920 3	$(2.466 \pm 0.579) \times 10^4$ d	3.0×10^8	$y = 1.756 + 2.871x$	0.971 6	4.088 ± 0.387 e

注:同列数据后标有不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。表2、表3同。

致病力最强,处理9 d的校正死亡率为 $(84.44 \pm 2.99)\%$,对照为 6.67% ; 3.0×10^4 个/mL浓度下对南瓜实蝇幼虫致病力相对较弱,但其校正死亡率也达到了 $(52.22 \pm 4.01)\%$;随时间的推移,供试菌株对南瓜实蝇幼虫处理5~9 d的致死中浓

度逐渐降低;随分生孢子液浓度的增加,其致死中时间也逐渐缩短,在 $3.0 \times 10^4 \sim 3.0 \times 10^8$ 个/mL孢子浓度下的 LT_{50} 从 (7.550 ± 0.694) d缩短至 (4.575 ± 0.569) d(表2)。

表2 球孢白僵菌 XD0104015 菌株分生孢子液对南瓜实蝇幼虫的致死中浓度和致死中时间

时间 (d)	致死中浓度回归			致死中时间回归			
	回归方程	相关系数	致死中浓度 (个/mL)	浓度 (个/mL)	回归方程	相关系数	致死中时间 (d)
5	$y = 1.553 + 0.164x$	0.916 5	$(3.117 \pm 0.247) \times 10^8$ a	3.0×10^4	$y = 3.153 + 3.592x$	0.983 4	7.550 ± 0.694 a
6	$y = 1.458 + 0.194x$	0.939 1	$(3.125 \pm 0.375) \times 10^7$ b	3.0×10^5	$y = 2.615 + 3.165x$	0.970 6	6.701 ± 0.586 b
7	$y = 1.127 + 0.176x$	0.917 6	$(2.578 \pm 0.452) \times 10^6$ c	3.0×10^6	$y = 2.322 + 2.992x$	0.979 3	5.971 ± 0.475 c
8	$y = 1.020 + 0.189x$	0.917 7	$(2.507 \pm 0.481) \times 10^5$ d	3.0×10^7	$y = 2.344 + 3.273x$	0.987 4	5.299 ± 0.385 c
9	$y = 0.843 + 0.190x$	0.908 8	$(2.578 \pm 0.452) \times 10^4$ e	3.0×10^8	$y = 2.355 + 3.567x$	0.990 5	4.575 ± 0.569 d

2.3 球孢白僵菌对南瓜实蝇蛹的致病力

南瓜实蝇蛹在接种后3 d出现死亡,9 d死亡率达到最大,在 3.0×10^8 个/mL浓度下对南瓜实蝇蛹致病力最强,累计校正死亡率为 $(80.00 \pm 2.95)\%$,对照为 4.44% 。供试菌

株对南瓜实蝇蛹处理5~9 d的致死中浓度逐渐降低,最低为 $(3.461 \pm 0.679) \times 10^4$ 个/mL;在 $3.0 \times 10^4 \sim 3.0 \times 10^8$ 个/mL孢子浓度下的致死中时间呈现逐渐缩短的趋势,最低为 (4.702 ± 0.335) d(表3)。

表3 球孢白僵菌 XD0104015 菌株分生孢子液对南瓜实蝇蛹的致死中浓度

时间 (d)	致死中浓度回归			致死中时间回归			
	回归方程	相关系数	致死中浓度 (个/mL)	浓度 (个/mL)	回归方程	相关系数	致死中时间 (d)
5	$y = 2.098 + 0.247x$	0.939 7	$(3.078 \pm 0.547) \times 10^8$ a	3.0×10^4	$y = 4.301 + 4.808x$	0.957 1	7.845 ± 0.583 a
6	$y = 1.403 + 0.218x$	0.935 9	$(2.829 \pm 0.485) \times 10^7$ b	3.0×10^5	$y = 3.186 + 3.793x$	0.972 6	6.919 ± 0.496 a
7	$y = 1.032 + 0.192x$	0.946 6	$(2.428 \pm 0.394) \times 10^6$ c	3.0×10^6	$y = 3.069 + 3.950x$	0.989 9	5.983 ± 0.475 b
8	$y = 1.106 + 0.253x$	0.978 3	$(2.382 \pm 0.524) \times 10^5$ d	3.0×10^7	$y = 2.734 + 3.816x$	0.972 6	5.206 ± 0.375 b
9	$y = 0.939 + 0.265x$	0.913 8	$(3.461 \pm 0.679) \times 10^4$ e	3.0×10^8	$y = 2.688 + 3.998x$	0.982 3	4.702 ± 0.335 c

3 结论与讨论

球孢白僵菌 XD0104015 菌株对南瓜实蝇成虫、幼虫、蛹均有较高的致病力,高浓度孢子的致病力明显高于低浓度。菌株在 3.0×10^8 个/mL孢子浓度下对成虫的致病力最强,处理9 d的累计校正死亡率为 $(90.00 \pm 1.92)\%$;其次是幼虫的累计校正死亡率,为 $(84.44 \pm 2.99)\%$;对蛹的致病力最弱,累计校正死亡率 $(80.00 \pm 2.95)\%$ 。由于蛹壳的保护导致菌液不能直接接触虫体,因此对蛹的致病力相对较差。说明球孢白僵菌 XD0104015 菌株对南瓜实蝇的致病力表现为成虫 > 幼虫 > 蛹。

室内的致病力测定效果较好,但田间条件复杂多变,成虫具有飞翔能力,可以把分生孢子直接喷施在成虫体表或者喷施在瓜田中瓜叶上经气流传播黏附于成虫体表建立寄生关系,达

到防治成虫目的;针对幼虫和蛹的防治,可以把球孢白僵菌的孢子液提前喷施在瓜田的土壤中,老熟幼虫从瓜果里跳到土壤接触分生孢子被寄生,蛹体在土壤中接触到喷施在土壤中的分生孢子寄生后导致蛹体死亡,同样可以达到防治南瓜实蝇蛹的目的。在防治南瓜实蝇成虫时可以利用某种诱集剂与球孢白僵菌 XD0104015 菌株孢子制剂相结合。田间实际大面积推广应用还需要进一步研究,以探索最有效喷菌时间和方式,制定并掌握最佳的施用方案以利提高防治效果。

参考文献:

[1] 刘艳梅,杨航宇,张宗舟. 昆虫病原真菌的种类和致病机理[J]. 天水师范学院学报,2009,29(2):40-43.
 [2] 王利军,谭万忠,罗华东,等. 虫生真菌及其在害虫生物控制中的应用现状与展望[J]. 河南农业科学,2010(4):119-125.

Md. Kafil Uddin, 胡彬, 王晓青, 等. 北京地区温室韭菜地迟眼蕈蚊种群动态初报[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(9): 160-161.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.09.049

北京地区温室韭菜地迟眼蕈蚊种群动态初报

Md. Kafil Uddin¹, 胡彬², 王晓青², 郑建秋², 张鹏飞¹

(1. 中国农业大学农业部生物防治重点实验室, 北京 100094; 2. 北京市植物保护站, 北京 100029)

摘要:采用棋盘式取样及黄板诱集等方法对北京市顺义区日光温室韭菜地中韭菜迟眼蕈蚊(*Bradysia odoriphaga* Yang et Zhang)的种群动态进行了初步调查。结果表明,韭菜迟眼蕈蚊幼虫全年有2个发生高峰,分别在5月上旬、6月下旬;成虫全年有3个发生高峰,分别在4月底、5月底、6月下旬,其中5月底的峰值最高;7月中旬至8月下旬未观察到韭菜迟眼蕈蚊;4月下旬后,被害株率已超过80%。

关键词:韭菜迟眼蕈蚊;韭菜;种群动态

中图分类号: S436.33 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)09-0160-02

韭菜迟眼蕈蚊(*Bradysia odoriphaga* Yang et Zhang)属双翅目眼蕈蚊科,是危害韭菜、大葱、洋葱、大蒜等百合科蔬菜的主要害虫^[1]。韭菜迟眼蕈蚊幼虫体小、繁殖快、世代重叠,且在地下危害,防治难度很大,严重影响韭菜的产量、质量。目前主要用高毒高残留农药进行灌根防治,造成严重的农药残留污染。冬季韭菜的经济价值最高^[2]。北京市冬季韭菜主要由温室提供^[3]。因此,摸清北京市温室韭菜地韭菜迟眼蕈蚊的种群动态,明确其发生规律,对种植无公害韭菜具有重要意义。

1 材料与与方法

1.1 调查地点

调查在北京市顺义区北京市植物保护站科研基地进行。温室类型为砖石结构日光温室,共有地53畦,畦长约680 cm,宽约125 cm。韭菜品种为绿霸,在畦内按行种植,行距约30.0 cm,株距约9.5 cm;温室管理到位,水肥条件良好。韭菜在春节前后共收割2茬。

收稿日期:2014-09-26

基金项目:北京市农业科技项目(编号:20140312053257_03020245);
公益性行业科研专项(编号:201303027)。

作者简介:Md. Kafil Uddin(1977—),男,孟加拉国人,博士研究生,
主要从事害虫生物防治研究。E-mail:mkafil77@aliyun.com。

通信作者:张鹏飞,博士研究生,从事害虫生物防治研究。E-mail:
zpf821@sina.com。

1.2 韭菜迟眼蕈蚊幼虫调查方法

采用棋盘式抽样法在温室中设置8块面积为1 m²的样方。每个样方中央随机选5丛韭菜,用铁铲将其挖起,挖土深度约25 cm。借助放大镜仔细数土中及韭菜根部的幼虫,之后将其全部埋入土中,尽量避免破坏其生存环境。每周在固定时间调查1次幼虫数量。

1.3 韭菜迟眼蕈蚊成虫调查方法

每隔4畦设1块黄板。将固定黄板的竹竿插入畦中央,高度约35 cm。仔细数黄板上的成虫,之后更换黄板。成虫与幼虫调查同步进行。

1.4 韭菜被害株率调查方法

危害率调查与幼虫调查共用相同的样方同步进行。被危害韭菜的地上部分症状:菜叶瘦弱、枯黄、萎蔫,最终倒伏死亡。在每个样方中记录具有上述症状的韭菜丛数及总丛数。

1.5 温湿度调查方法

在温室中央等距悬挂3个温度计,10:00观察并记录室温,与被害株率调查同步进行。随机选取3个观察点,将温度计插入土壤5 cm处,观察并记录土温,与被害株率调查同步进行。

1.6 数据分析方法

所有数据均用平均数±标准误表示。

2 结果与分析

2.1 韭菜迟眼蕈蚊成虫与幼虫的消长动态

如图1所示,2月中下旬幼虫数量开始增多,5月上旬达到最高峰,此后种群数量逐渐下降,6月下旬出现第二大高

[3]何恒果,李正跃,陈斌,等. 虫生真菌对害虫防治的研究与应用[J]. 云南农业大学学报,2004,19(2):167-173.

[4]安坤鹏,吴保锋,申科,等. 南瓜实蝇特性及防治技术的研究进展[J]. 长江蔬菜,2011(20):7-13.

[5]杨运华,杜开书,石明旺. 虫生真菌的生物防治研究进展[J]. 河南科技学院学报:自然科学版,2011,39(1):34-37.

[6]沈萍,范秀溶,李广武. 微生物实验[M]. 北京:高等教育出版社,1999:90-91.

[7]滕忠才,张立红,刘廷辉,等. 小菜蛾高毒力球孢白僵菌菌株抗旱性研究[J]. 江苏农业科学,2013,41(9):119-121.

[8]袁盛勇,孔琼,马艳粉,等. 球孢白僵菌MZ041016菌株对橘小实蝇的毒力测定[J]. 华中农业大学学报,2010,29(2):152-155.

[9]潘志萍,李敦松,黄少华. 球孢白僵菌对橘小实蝇致病力的测定[J]. 华中农业大学学报,2006,25(5):518-519.

[10]贾春生. 利用SPSS软件计算杀虫剂的LC₅₀[J]. 昆虫知识,2006,43(3):414-417.

[11]袁志发,卢恩双,郭满才,等. 毒力测定的统计分析方法研究[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2003,31(6):181-183.