

球孢白僵菌

菌株对桔小实蝇的毒力测定

袁盛勇¹ 孔琼² 马艳粉³ 李正跃³ 肖春³ 普金霞¹

1. 云南红河学院农学系, 蒙自 661100; 2. 云南红河学院生物系, 蒙自 661100;
3. 云南农业大学植物保护学院, 昆明 650201

摘要 以桔小实蝇成虫、幼虫和蛹为目标昆虫, 利用不同分生孢子浓度的球孢白僵菌 MZ041016 菌株对其进行室内毒力测定。结果表明, 供试菌株在室内对桔小实蝇成虫、幼虫和蛹具有较强的毒力。菌株分生孢子浓度为 3.6×10^5 个/mL 时, 可造成桔小实蝇各虫态大量死亡, 在 3.6×10^8 个/mL 孢子浓度下成虫死亡率达 95.45%, 致死中时间 ($L T_{50}$) 为 3.562 d, 第 8 天的致死中浓度 ($L C_{50}$) 为 2.14×10^5 个/mL; 在 3.6×10^8 个/mL 孢子浓度下幼虫死亡率达 95.94%, $L T_{50}$ 为 4.926 d, 第 8 天的 $L C_{50}$ 为 3.03×10^5 个/mL; 3.6×10^8 个/mL 孢子浓度下蛹死亡率达 78.15%, $L T_{50}$ 为 5.358 d, 第 8 天的 $L C_{50}$ 为 3.31×10^5 个/mL。

关键词 球孢白僵菌; 桔小实蝇; 毒力

中图分类号 S 482.3⁺9 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2010)02-0152-04

球孢白僵菌 *Beauveria bassiana* 是真菌杀虫应用最多的一个种类, 属于半知菌亚门丝孢纲从梗目白僵菌属, 可寄生 6 个目 15 个科的 200 余种昆虫和螨类, 且致病性强, 适应性广, 是一种广谱性的杀虫真菌^[1-2]。桔小实蝇 *Bactrocera dorsalis* (Hendel) 是一种重要果树和蔬菜害虫, 以幼虫蛀入成熟果实危害, 使果实腐烂和落果, 造成巨大经济损失。长期以来, 在果园对桔小实蝇的防治, 主要依靠化学农药, 尤其是在果实成熟期大量使用化学农药, 由此不断引发食品安全问题, 同时对果园生态系统也造成破坏。

目前国内外对利用病原微生物防治桔小实蝇的相关研究较少。笔者利用球孢白僵菌 MZ041016 菌株对桔小实蝇进行了室内毒力测定, 旨在为进一步准确评价田间释放白僵菌的环境安全性和进行持续控制桔小实蝇的研究提供理论依据。

材料与方法

球孢白僵菌的来源

供试球孢白僵菌 MZ041016 菌株从云南省蒙自县红河学院附近田间菜青虫上分离获得, 菌种经分离鉴定后纯化培养, 保存于红河学院农学系农业害虫综合防治实验室。

桔小实蝇的饲养

供试桔小实蝇幼虫采集于云南蒙自番石榴腐烂果实内, 在室内用饲料进行人工饲养并建立桔小实蝇种群待用^[3-5]。

菌株的扩繁

用 PDA 培养基大量扩繁球孢白僵菌, 在直径 90 mm 的培养皿中倒入 20 mL 培养基, 用接种针将菌种接种于培养皿中, 培养 8 d 后供试。

分生孢子液的制备: 用 50 mL 无菌水混合 0.05% 吐温-80 作为润湿剂, 振荡脱溶固体培养上的分生孢子, 并以双层丝网过滤。用血球计数板在显微镜下检查计算孢子数^[6], 测定孢子浓度, 再用无菌水分别稀释成所需的浓度, 每个浓度不少于 50 mL, 以 0.05% 吐温-80 混合无菌水作对照。

菌株对桔小实蝇幼虫的毒力测定

设 3.6×10^4 、 3.6×10^5 、 3.6×10^6 、 3.6×10^7 、 3.6×10^8 个/mL 5 个孢子浓度, 3 个重复, 用 0.05% 吐温-80 混合无菌水作对照。每个重复取 30 头幼虫, 采用浸渍法接种^[7]。将幼虫浸入盛有 20 ~ 30 mL 孢子悬液中, 30 s 后迅速取出, 放进盛有饲料的培养皿中, 以纱布封口后置于 25 ℃、相对湿度为 (80% ± 5%) 的人工气候培养箱中。连续观察 8 d, 记录化蛹虫数和死亡虫数, 并随时将死亡虫体取出。

收稿日期: 2009-04-10; 修回日期: 2009-06-17

* 云南省科技厅重点项目 (2003NG08) 资助

袁盛勇, 男, 1975 年生, 硕士, 讲师。研究方向: 昆虫生态及害虫综合防治。E-mail: ysy9069@163.com

菌株对桔小实蝇蛹的毒力测定

设 3.6×10^4 、 3.6×10^5 、 3.6×10^6 、 3.6×10^7 、 3.6×10^8 个/mL 5 个孢子浓度, 3 个重复, 用 0.05% 吐温-80 混合无菌水作对照。每个重复取 30 头蛹, 采用浸渍法接种^[4]。将蛹浸入盛有 20~30 mL 孢子液中, 浸 1 min 后迅速取出, 放进装有沙子的玻璃瓶中, 用纱布封口后置于人工气候培养箱中。连续观察 8 d, 记录羽化蛹数, 并将羽化虫体取出。

菌株对桔小实蝇成虫的毒力测定

设 3.6×10^4 、 3.6×10^5 、 3.6×10^6 、 3.6×10^7 、 3.6×10^8 个/mL 5 个孢子浓度, 3 个重复, 用 0.05% 吐温-80 混合无菌水作对照。每个重复取 30 头成虫, 采用喷雾法接种。每个重复在 2 L 瓶壁有孔的矿泉水瓶内放入 30 头成虫。接种时先将成虫放进瓶内, 在虫体上喷洒 4 mL 孢子液, 并在瓶内供给饲料和蜂蜜水, 用纱布封口后置于人工气候培养箱中。连续观察 8 d, 记录其死亡虫数。

数据统计

试验数据采用统计软件 Spss10 处理。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, 再分别计算剂量效应的致死中浓度 ($L C_{50}$)、致死中时间 ($L T_{50}$) 和相关系数 (r) 等参数。

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

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

结果与分析

菌株对桔小实蝇幼虫的毒力

试验结果表明, 球孢白僵菌 MZ041016 菌株分生孢子在 3.6×10^8 个/mL 浓度下对桔小实蝇幼虫毒力最强, 第 8 天校正死亡率为 95.94% (对照为 2.33%); 其次是在 3.6×10^7 个/mL 孢子浓度下的毒力, 校正死亡率为 83.46%; 3.6×10^4 个/mL 孢子浓度下的毒力最弱, 校正死亡率为 28.96%。在不同分生孢子浓度下桔小实蝇幼虫第 3 天开始出现虫体死亡。随着时间的推移和浓度增加, 幼虫校正死亡率呈逐渐增加趋势。

供试菌株对桔小实蝇幼虫第 5~8 天的致死中浓度 ($L C_{50}$) 依次为 2.13×10^8 个/mL、 2.34×10^7 个/mL、 2.68×10^6 个/mL 和 3.03×10^5 个/mL。随着时间的推移, 致死中浓度逐渐减小(表 1)。

表 1 球孢白僵菌 MZ041016 菌株分生孢子对桔小实蝇幼虫的致死中浓度

Table 1 The $L C_{50}$ yield from Beauveria bassiana MZ041016 against larvae of *B. dorsalis*

时间 Time/d	回归方程 Toxic model	相关系数 r	致死中浓度 $L C_{50}$ (个/mL)
5	$y = 2.10 + 0.36x$	0.962 0	2.13×10^8
6	$y = 2.23 + 0.38x$	0.985 4	2.34×10^7
7	$y = 2.27 + 0.42x$	0.971 9	2.48×10^6
8	$y = 2.04 + 0.54x$	0.975 0	3.03×10^5

试验结果还表明, 随着孢子浓度的增加, 桔小实蝇幼虫致死中时间 ($L T_{50}$) 也逐渐减小, 在 $3.6 \times 10^5 \sim 3.6 \times 10^8$ 个/mL 孢子浓度下的 $L T_{50}$ 依次为 8.368 d、6.362 d、5.582 d 和 4.926 d(表 2)。

表 2 球孢白僵菌 MZ041016 菌株分生孢子对桔小实蝇幼虫的致死中时间

Table 2 The $L T_{50}$ yield from Beauveria bassiana MZ041016 against larvae of *B. dorsalis*

浓度/(个/mL) Concentration	回归方程 Toxic model	相关系数 r	致死中时间 $L T_{50}$ /d
3.6×10^5	$y = 1.362 4 + 3.942 9x$	0.956 8	8.368
3.6×10^6	$y = 0.754 9 + 5.282 9x$	0.973 0	6.362
3.6×10^7	$y = 0.780 1 + 5.650 4x$	0.971 8	5.582
3.6×10^8	$y = 0.131 9 + 7.028 4 x$	0.963 1	4.926

菌株对桔小实蝇蛹的毒力

试验结果表明, 球孢白僵菌 MZ041016 菌株分生孢子在 3.6×10^8 个/mL 浓度下对桔小实蝇蛹毒力最强, 第 8 天校正死亡率为 78.15% (对照为 0.67%); 其次是在 3.6×10^7 个/mL 浓度下的毒力, 校正死亡率为 68.49%; 3.6×10^4 个/mL 浓度下的毒力最弱, 校正死亡率为 29.46%。在菌株分生孢子 3.6×10^8 个/mL 孢子浓度下桔小实蝇蛹第 3 天出现蛹体死亡, 其它浓度第 4 天开始出现蛹死亡。随着时间推移和浓度增加, 蛹的校正死亡率呈逐渐增加趋势。

供试菌株对桔小实蝇蛹第 5~8 天的致死中浓度 ($L C_{50}$) 依次为 4.18×10^8 个/mL、 3.15×10^7 个/mL、 2.83×10^6 个/mL 和 3.31×10^5 个/mL(表 3)。

表 3 球孢白僵菌 MZ041016 菌株分生孢子对桔小实蝇蛹的致死中浓度

Table 3 The $L C_{50}$ yield from Beauveria bassiana MZ041016 against pupae of *B. dorsalis*

时间 Time/d	回归方程 Toxic model	相关系数 r	致死中浓度 $L C_{50}$ (个/mL)
5	$y = 1.81 + 0.37x$	0.956 4	4.18×10^8
6	$y = 1.92 + 0.42x$	0.978 9	3.35×10^7
7	$y = 2.39 + 0.37x$	0.962 5	2.83×10^6
8	$y = 2.92 + 0.34x$	0.950 9	3.31×10^5

试验结果还表明, 随着孢子浓度的增加, 桔小实

蝇蛹的致死中时间 ($L T_{50}$) 逐渐减小, 在 $3.6 \times 10^5 \sim 3.6 \times 10^8$ 个/mL 孢子浓度下的 $L T_{50}$ 依次为 9.365 d、6.910 d、6.078 d 和 5.358 d (表 4)。

表 4 球孢白僵菌 MZ041016 菌株分生孢子对桔小实蝇蛹的致死中时间

浓度/(个/mL)	回归方程	相关系数	致死中时间
Concentration	Toxic model	r	$L T_{50}/d$
3.6×10^5	$y = 0.4348 + 4.6993x$	0.9695	9.365
3.6×10^6	$y = 0.7772 + 5.0300x$	0.9357	6.910
3.6×10^7	$y = 1.2161 + 4.8279x$	0.9443	6.078
3.6×10^8	$y = 1.0620 + 5.4017x$	0.9701	5.358

菌株对桔小实蝇成虫的毒力

试验结果表明, 球孢白僵菌 MZ041016 菌株分生孢子在 3.6×10^8 个/mL 浓度下对桔小实蝇成虫毒力最强, 第 8 天校正死亡率为 95.45% (对照为 2.37%); 其次是在 3.6×10^7 个/mL 孢子浓度下的毒力, 校正死亡率为 90.0%; 3.6×10^4 个/mL 孢子浓度下的毒力最弱, 校正死亡率为 30.91%。在菌株分生孢子 3.6×10^7 个/mL 和 3.6×10^8 个/mL 浓度下桔小实蝇成虫第 2 天出现虫体死亡, 其它浓度处理第 3 天出现成虫死亡。随着时间的推移和浓度增加, 成虫校正死亡率呈逐渐增加趋势。

供试菌株对桔小实蝇成虫第 5~8 天的致死中浓度 ($L C_{50}$) 依次为 3.53×10^8 个/mL、 3.36×10^7 个/mL、 2.48×10^6 个/mL 和 2.14×10^5 个/mL。随着时间的推移, 致死中浓度 ($L C_{50}$) 逐渐减小 (表 5)。

表 5 球孢白僵菌 MZ041016 菌株分生孢子对桔小实蝇成虫的致死中浓度

时间	回归方程	相关系数	致死中浓度
Time/d	Toxic model	r	$L C_{50}/(\text{个/mL})$
5	$y = 1.32 + 0.54x$	0.9725	3.53×10^8
6	$y = 1.47 + 0.57x$	0.9701	3.16×10^7
7	$y = 2.07 + 0.52x$	0.9927	2.68×10^6
8	$y = 2.32 + 0.52x$	0.9483	2.14×10^5

试验结果还表明, 随着孢子浓度的增加, 桔小实蝇成虫的致死中时间 ($L T_{50}$) 逐渐减小, 在 $3.6 \times 10^5 \sim 3.6 \times 10^8$ 个/mL 孢子浓度下的 $L T_{50}$ 依次为 6.882 d、5.406 d、4.289 d 和 3.562 d (表 6)。

球孢白僵菌 MZ041016 菌株不同浓度孢子液对桔小实蝇成虫各虫态的毒力测定结果表明, 在 3.6×10^8 个/mL 孢子浓度下, 对幼虫的毒性最高,

表 6 球孢白僵菌 MZ041016 菌株分生孢子

对桔小实蝇成虫的致死中时间

Table 6 The $L T_{50}$ yield from *Beauveria bassiana* MZ041016 against adult of *B. dorsalis*

浓度/(个/mL)	回归方程	相关系数	致死中时间
Concentration	Toxic model	r	$L T_{50}/d$
3.6×10^5	$y = 1.0645 + 4.8439x$	0.9903	6.882
3.6×10^6	$y = 1.3991 + 4.9134x$	0.9512	5.406
3.6×10^7	$y = 1.9406 + 4.8379x$	0.9936	4.289
3.6×10^8	$y = 1.9843 + 5.4656x$	0.9800	3.562

校正死亡率为 95.94%; 其次是成虫, 校正死亡率为 95.45%; 对蛹的毒性最低, 校正死亡率为 78.15%。

另外, 在相同处理时间的情况下, 球孢白僵菌 MZ041016 菌株不同浓度孢子液对桔小实蝇蛹的致死中浓度 $L C_{50}$ 值最大, 成虫的 $L C_{50}$ 值次之, 幼虫的 $L C_{50}$ 值最小。这说明球孢白僵菌 MZ041016 菌株对桔小实蝇幼虫的毒力最强, 成虫次之, 对蛹的毒性相对最弱。

讨论

目前对桔小实蝇主要采用化学防治和甲基丁香酚诱杀雄虫, 利用昆虫病原真菌对桔小实蝇的防治的报道很少。

本试验利用球孢白僵菌 MZ041016 菌株不同浓度分生孢子液对桔小实蝇的各个虫态进行了毒力测定。结果表明: 菌株在 3.6×10^8 个/mL 孢子浓度下对桔小实蝇各虫态的毒力最强, 幼虫第 8 天的校正死亡率达 95.94%, 蛹的校正死亡率为 78.15%, 成虫的校正死亡率为 95.45%; 幼虫、蛹和成虫的致死中浓度 $L C_{50}$ 分别为 3.03×10^5 个/mL、 3.31×10^5 个/mL 和 2.14×10^5 个/mL; 该浓度下幼虫、蛹和成虫的致死中时间 $L T_{50}$ 分别为 4.926 d、5.358 d 和 3.562 d。这说明高浓度的球孢白僵菌 MZ041016 菌株分生孢子液对桔小实蝇各虫态防治效果要优于低浓度的防治效果。

本试验结果表明, 球孢白僵菌 MZ041016 菌株对桔小实蝇各虫态的毒力效果依次是幼虫 > 成虫 > 蛹。该结论与潘志萍等^[8]报道的桔小实蝇不同虫态对球孢白僵菌的易感染性为成虫 > 蛹 > 幼虫的结论不一致。其原因, 一方面可能是由于菌株不同导致毒性差异; 另一方面可能是由于有蛹壳包住蛹体, 分生孢子不能接触到虫体, 造成蛹的死亡率较低。根据室内毒力测定和药效分析, 球孢白僵菌 MZ041016 菌株对桔小实蝇不同虫态的防治效果均较好, 但田间防治效果如何还有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 翟锦彬, 黄秀梨, 许萍. 球孢白僵菌的昆虫致病机理研究[J]. 微生物学报, 1995, 22(1): 110-113.
- [2] 李荣森, 罗绍彬. 微生物防治害虫[M]. 北京: 科学出版社, 1983.
- [3] 袁盛勇, 李正跃, 肖春, 等. 桔小实蝇各虫态发育历期及有效积温的研究[J]. 西南农业大学学报, 2005, 27(3): 316-318.
- [4] 袁盛勇, 孔琼, 肖春, 等. 温度对桔小实蝇发育、存活和繁殖的影响[J]. 华中农业大学学报, 2005, 24(6): 587-590.
- [5] 袁盛勇, 孔琼, 肖春, 等. 桔小实蝇成虫人工饲料的筛选[J]. 华中农业大学学报, 2006, 25(4): 371-374.
- [6] 沈萍, 范秀溶, 李广武. 微生物实验[M]. 3版. 北京: 高等教育出版社, 1999: 90-91.
- [7] 李国霞, 杜家纬. 蜡蚧轮枝菌对桃蚜的浸染力及其生殖力的影响[J]. 华东昆虫学报, 2009(1): 38-44.
- [8] 潘志萍, 李敦松, 黄少华. 球孢白僵菌对桔小实蝇致病力的测定[J]. 华中农业大学学报, 2006, 25(5): 518-519.

Detection on the Virulence of *Beauveria bassiana* MZ041016 against *Bactrocera dorsalis* (Hendel)

YUAN Sheng-yong¹ KONG Qiong² MA Yan-fen³ LI Zheng-yue³ XIAO Chun³ PU Jin-xia¹

1. Department of Agronomy, College of Honghe, Yunnan Province, Mengzi 661100, China;

2. Department of Biology, College of Honghe, Yunnan Province, Mengzi 661100, China;

3. College of Plant Protection, Yunnan Agricultural University, Yunnan Province, Kunming 650201, China

Abstract The virulence of five different concentrations of isolate of *Beauveria bassiana* named MZ041016 against adult, larvae and pupae of *Bactrocera dorsalis* (Hendal) was tested in laboratory. Large amount of *Bactrocera dorsalis* (Hendal) of each stage were killed at the concentration 3.6×10^5 spores/mL. The mortality of 3.6×10^5 spores/mL against adult was 95.45%, and the lethal time ($L T_{50}$) of this concentration was 3.562 d. The lethal concentration ($L C_{50}$) of eight day after treatment was 2.14×10^5 spores/mL. The mortality of 3.6×10^8 spores/mL against larvae was 95.94%, and the lethal time ($L T_{50}$) of this concentration was 4.926 d. The lethal concentration ($L C_{50}$) of eight day after treatment was 3.03×10^5 spores/mL. The mortality of 3.6×10^8 spores/mL against pupae was 78.15%, and the lethal time ($L T_{50}$) of this concentration was 5.358 d. The lethal concentration ($L C_{50}$) of eight day after treatment was 3.31×10^5 spores/mL. The isolate of *Beauveria bassiana* named MZ041016 had virulence against adult, larvae and pupae *Bactrocera dorsalis* (Hendal) in laboratory, and the application prospect of it in field should be feasible. The result provided a scientific basis for the pollution-free production of fruit and biology control of *Bactrocera dorsalis* (Hendal) in field.

Key words *Beauveria bassiana*; *Bactrocera dorsalis* (Hendel); virulence

(责任编辑: 陈红叶)