

文章编号: 1001-1498(2009)05-0652-05

白僵菌孢悬液添加增效剂对 松墨天牛幼虫的致死作用

刘洪剑^{1,3}, 束庆龙², 汪来发^{3*}, 朴春根³, 方建民¹, 董广平¹

(1. 安徽省林业科学研究院, 安徽 合肥 230031; 2. 安徽农业大学林学与园林学院, 安徽 合肥 230036;
3. 中国林业科学研究院森林生态环境与保护研究所, 国家林业局森林保护学重点实验室, 北京 100091)

摘要:将球孢白僵菌孢悬液分别与海藻糖、葡萄糖、L-丙氨酸和 FeSO₄ 4种增效剂混合, 各自配成 4种不同浓度的增效剂白僵菌孢悬液, 接种于松墨天牛幼虫体表。结果表明, 4种增效剂在白僵菌防治松墨天牛幼虫的过程中都起到一定的增效作用, 添加海藻糖可使天牛幼虫的致死率平均提高 18.05%, 葡萄糖平均提高 8.75%。第 11天时, 4种浓度海藻糖使天牛幼虫的致死率分别提高 23.1%、76.9%、15.4%、53.8%; 葡萄糖分别提高 30.8%、0.0%、53.8%、7.7%; L-丙氨酸分别提高 38.5%、23.1%、23.1%、-7.7%; FeSO₄ 分别提高 14.04%、36.39%、16.71%、20.67%。

关键词:增效剂; 球孢白僵菌; 松墨天牛; 生物防治

中图分类号: S763 文献标识码: A

Research on the Biocontrol of *Monochamus alternatus* Larvae by *Beauveria bassiana* with Several Synergists

LIU Hong-jian^{1,3}, SHU Qing-long², WANG Lai-fa³,
PAO Chun-gen³, FANG Jian-min¹, DONG Guang-ping¹

(1. Forestry Academy of Anhui Province, Hefei 230031, Anhui, China; 2. College of Forestry and Garden, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, Anhui, China; 3. Research Institute of Forest Ecology, Environment and Protection, CAF, Key Laboratory of Forest Protection, State Forestry Administration, Beijing 100091, China)

Abstract: *Beauveria bassiana* spore suspension was mixed with trehalose, glucose, L-alanine and FeSO₄ respectively, and were made up 4 different concentrations of synergist of *B. bassiana* spore suspension, then inoculated them on the *Monochamus alternatus* larvae. The results showed that four different kinds of synergists made a certain synergism in the process of control of *B. bassiana* to *M. alternatus* larvae. The death rate of *M. alternatus* larvae was increased on an average of 18.05% by trehalose-additives; That was increased on an average of 8.75% by glucose. In the 11th day, the death rates of *M. alternatus* larvae were increased on 23.1%, 76.9%, 15.4%, 53.8% respectively by different concentration spore suspensions of trehalose. They were increased by 30.8%, 0.0%, 53.8%, 7.7% respectively by glucose, increased by 38.5%, 23.1%, 23.1%, -7.7% respectively by L-alanine, and increased by 14.04%, 36.39%, 16.71%, 20.67% respectively by FeSO₄.

Key words: synergist; *Beauveria bassiana*; *Monochamus alternatus*; biological control

收稿日期: 2008-11-03

基金项目: 国家科技部社会公益研究专项(2005D B3J139), 国家人事部留学回国人员基金及中韩林业科研合作课题联合资助

作者简介: 刘洪剑(1979—), 男, 山东临沂人, 实习研究员, 从事松材线虫病防治的研究。

*通讯作者: 汪来发, 男, 安徽望江人, 研究员, 博士, 从事森林病理学和植物线虫学研究。E-mail: nana@forestry.ac.cn

球孢白僵菌 (*Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.) 作为一种生物杀虫剂,长期以来,备受国内外生物方面学者和生产单位的关注和青睐,对植物某些病虫害确实起到很好的防治效果^[1-9]。但作为一种生物农药,比化学农药更加容易受到温湿度等环境因素的影响^[10-12]。作为松材线虫病的传播媒介——松墨天牛 (*Monochamus alternatus* Hope),东至台湾、南至广东、西至西藏、西北至秦岭、北至河北、东北至辽宁均有分布^[13]。因此,要扩大白僵菌的施用范围,在中国纬度较高地区和中西部较干旱地区如何能更好地发挥白僵菌的防治作用,显得尤为重要。徐均焕等^[14]从营养学的角度出发,在研究球孢白僵菌孢子对杀蚜效果的作用中,选择一些能有效促进孢子萌发的促进剂,以加速孢子的萌发,取得了一定的效果。王素英等^[15]通过试验,发现 H_3BO_3 在球孢白僵菌防治光肩星天牛的过程中具有显著的增效作用。这使得白僵菌孢子能在雨水较少的干旱地区应用增加了可行性。本文从营养学的角度,探讨了几种增效剂在白僵菌防治松墨天牛幼虫中的作用,旨在今后生产防治实践中更好地发挥白僵菌防治效果。

1 材料与方法

1.1 试验材料

球孢白僵菌菌株 226 系从江苏省南京市东善桥林场马尾松 (*Pinus massoniana* Lamb.) 树中感染白僵菌的松墨天牛幼虫体表分离纯化获得。

松墨天牛采自江苏省南京市郊马尾松树体内,以越冬 4 龄幼虫为供试虫,室内试养 2 天,选择健康、大小基本一致的幼虫用于生物测定试验。

吐温-80、分析纯聚乙二醇辛基苯基醚、海藻糖、葡萄糖、L-丙氨酸、 $FeSO_4$ 、 1.0×10^8 孢子 (个 $\cdot mL^{-1}$) 的白僵菌孢悬液、 1.0×10^7 孢子 (个 $\cdot mL^{-1}$) 的白僵菌孢悬液。

1.2 测定方法

1.2.1 OP 乳化剂 (聚乙二醇辛基苯基醚) 浓度的筛选 将分析纯聚乙二醇辛基苯基醚分别配成 0.05%、0.1%、0.2% 和 0.5% 的无菌水溶液,取 1 mL 1.0×10^8 孢子 (个 $\cdot mL^{-1}$) 白僵菌孢悬液分别与 9 mL 上述不同浓度的 OP 乳化剂溶液混匀,制成 1.0×10^7 孢子 (个 $\cdot mL^{-1}$) 的孢悬液。选出的松墨天牛幼虫经孢悬液处理后,置于 25℃ 恒温培养箱内培养,每天观察并统计天牛幼虫死亡情况及白僵菌侵染情况。以相同浓度的无菌水孢悬液处理的松墨

天牛幼虫作对照,同置于 25℃ 恒温培养箱内培养。

1.2.2 白僵菌加增效剂对松墨天牛幼虫防治效果的测定 选用海藻糖、葡萄糖、L-丙氨酸和 $FeSO_4$ 作为添加剂,以筛选出的 0.1% 的 OP 乳化剂作为表面活性剂,分别制成 0.05%、0.1%、0.2%、0.5% 的 4 种浓度增效剂溶液,分别配制成白僵菌孢悬液,用注射器在每一松墨天牛幼虫体表接种 100 μL ,各处理 20 头幼虫。分别以无菌水及不含增效剂的球孢白僵菌悬液处理作对照。置 20℃ 恒温培养箱内饲养,每天观察记录 1 次。

2 结果与分析

2.1 OP 乳化剂浓度对白僵菌作用松墨天牛幼虫的影响

OP 乳化剂在 0.05% ~ 0.30% 浓度范围内对白僵菌作用松墨天牛幼虫的影响见图 1。从图中可以看出,OP 乳化剂开始对白僵菌侵染松墨天牛幼虫有抑制作用,第 7 天时,对照 (CK) 处理过的松墨天牛幼虫有 2 头死亡,不同浓度乳化剂菌液处理的天牛幼虫死亡数量分别为 2、0、1 和 0 头。此时结果与徐均焕等^[14]的研究相符合。但从第 9 天开始用乳化剂菌液处理的天牛幼虫的死亡数量明显高于对照天牛的死亡数量。第 19 天时,对照及各浓度乳化剂处理的天牛幼虫的死亡数量分别为 13、18、15、16、18 头。可能 OP 乳化剂作为一种化学药剂本身对松墨天牛幼虫起到一定的杀伤作用。从各处理的松墨天牛幼虫随时间的累计死亡数量来看,浓度为 0.10% 的乳化剂对白僵菌作用松墨天牛幼虫的影响最小。

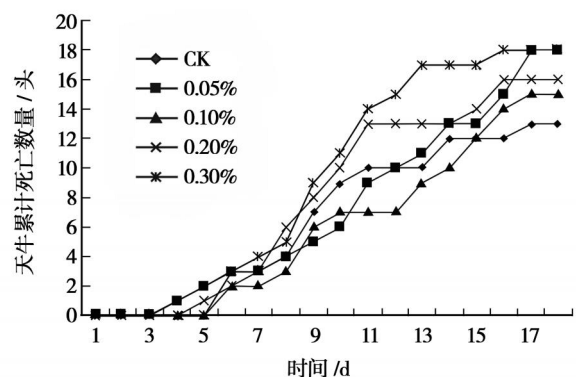


图 1 不同浓度 OP 乳化剂对白僵菌作用松墨天牛幼虫的影响

最终试验结果显示,白僵菌能在松墨天牛幼虫体内有效继代宿存的天牛幼虫的数量随着 OP 乳化剂浓度的升高而减少,乳化剂浓度从 0.05% 到 0.30% (v/v),白僵菌有效继代宿存的松墨天牛幼虫

数量分别为 2、0、1、0 头,而以无菌水孢悬液 (CK) 处理的天牛幼虫,最终白僵菌有效继代宿存的天牛幼虫数量为 3 头。可见,无论是从初期的松墨天牛幼虫的死亡率来看,还是从最终的有效继代宿存率来看,OP 乳化剂对白僵菌侵染松墨天牛幼虫均有一定的抑制作用。

2.2 白僵菌加增效剂对松墨天牛防治效果的影响

在白僵菌孢悬液中加入海藻糖后,白僵菌侵染松墨天牛幼虫明显,可使天牛幼虫的致死率平均提高 18.05%,而无菌水处理过的松墨天牛幼虫在 20 条件下,第 7 天死亡率只有 5%,最终死亡率为 15%。但是海藻糖对白僵菌侵染松墨天牛幼虫的增效作用与海藻糖浓度没有显著的相关性(图 2),总体来看,浓度较高,更有利于白僵菌对天牛幼虫的侵染。4 种浓度海藻糖对白僵菌的增效作用先升高,第 11 天时达第一峰值,不同浓度海藻糖使天牛幼虫的致死率分别提高 23.1%、76.9%、15.4%、53.8%,而后逐渐降低,第 15 天前海藻糖的增效作用又有上升的趋势。葡萄糖对球孢白僵菌侵染松墨天牛幼虫的作用与海藻糖较类似,它也是一种促进孢子萌

发的促进剂。葡萄糖对白僵菌侵染松墨天牛幼虫的增效作用与其浓度不存在相关性(图 3),在白僵菌侵染天牛幼虫的作用中,使天牛幼虫的致死率平均提高仅有 8.75%,效果不如海藻糖理想(18.05%)。处理第 11 天,4 种浓度葡萄糖使天牛幼虫的致死率分别提高 30.8%、0.0%、53.8%、7.7%。与海藻糖不同的是,低浓度的葡萄糖对白僵菌的增效作用随浓度逐渐提高;浓度较高时,反而抑制了白僵菌对松墨天牛幼虫的杀灭作用。

L 丙氨酸对球孢白僵菌侵染松墨天牛幼虫的作用(见图 4)表明,低浓度的 L 丙氨酸能有效促进白僵菌对松墨天牛幼虫的侵染,L 丙氨酸对白僵菌侵染松墨天牛幼虫的增效作用与其浓度呈显著的负相关,随 L 丙氨酸浓度的升高而明显降低。经方差分析,4 种浓度之间 ($P = 0.0001 < 0.01$),L 丙氨酸的增效作用差异极显著。处理第 11 天,4 种浓度 L 丙氨酸使松墨天牛幼虫的致死率分别提高 38.5%、23.1%、23.1%、-7.7%;第 13 天,分别提高 60%、30%、10%、0.0%。0.50% 的 L 丙氨酸对松墨天牛幼虫的扶壮程度远远大于其对白僵菌孢子萌发的促

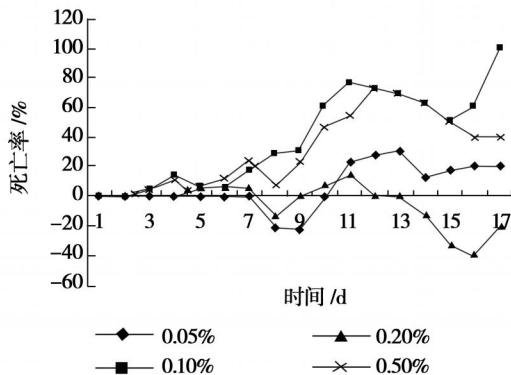


图 2 松墨天牛在添加不同浓度海藻糖菌液作用下的累计校正死亡率

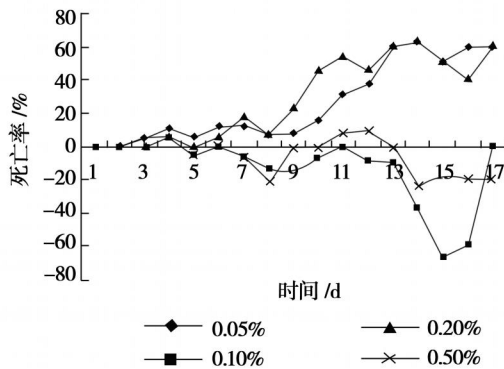


图 3 松墨天牛在添加不同浓度葡萄糖菌液作用下的累计校正死亡率

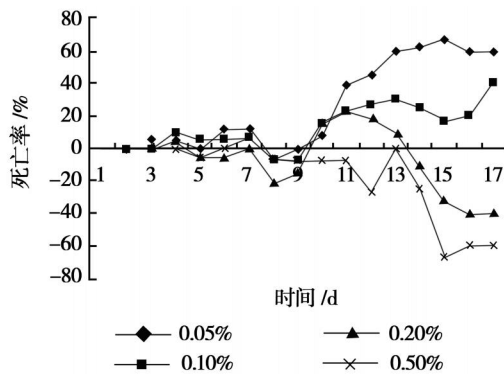


图 4 松墨天牛在添加不同浓度 L 丙氨酸菌液作用下的累计校正死亡率

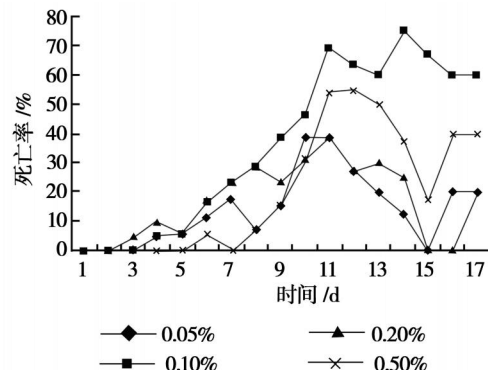


图 5 松墨天牛在添加不同浓度 FeSO₄ 菌液作用下的累计校正死亡率

进作用,使得其校正死亡率均小于 0。0.05%、0.10%、0.20% 3 种浓度的 L 丙氨酸在白僵菌侵染松墨天牛幼虫的作用中,可使天牛幼虫的致死率平均提高 10.48%。

本试验的结果表明(图 5),4 种浓度的 FeSO_4 对白僵菌侵染松墨天牛幼虫均有显著的“增效”作用,在白僵菌侵染天牛幼虫的作用中,使天牛幼虫的致死率分别平均提高 14.04%、36.39%、16.71%、20.67%。但徐均焕等^[14]的研究表明,矿物盐 FeSO_4 对孢子萌发的影响表现为明显的抑制作用。可能 FeSO_4 作为一种矿物盐,本身对松墨天牛幼虫有一定的杀伤作用,虽然 FeSO_4 对孢子萌发的影响表现为抑制作用,但 FeSO_4 对松墨天牛幼虫的杀伤力远大于其对白僵菌孢子的抑制作用,从而表现出 FeSO_4 对白僵菌侵染松墨天牛幼虫的“增效”作用。

球孢白僵菌在不同增效剂及不同浓度的同种增效剂作用下有效继代宿存的松墨天牛幼虫数量见表 1。经方差分析知,同种增效剂在不同浓度之间 ($P=0.6098 > 0.05$) 差异不显著;不同增效剂之间 ($P=0.3249 > 0.05$) 差异也不显著(表 2)。

表 1 不同浓度增效剂作用下白僵菌有效继代宿存的松墨天牛幼虫数量

项目	CK	0.05%	0.10%	0.20%	0.50%
海藻糖	0	1	2	0	5
葡萄糖	0	6	2	1	0
L 丙氨酸	0	0	0	1	0
FeSO_4	0	0	0	0	1

表 2 方差分析

变异来源	平方和 (SS)	自由度 (df)	均方 (MS)	F 值	显著水平 (P)
区组间	8.2	4	2.05	0.695	0.6098
处理内	11.35	3	3.7833	1.282	0.3249
误差	35.4	12	2.95		
总变异	54.95	19			

3 结论与讨论

本研究对不同浓度 OP 乳化剂对白僵菌作用松墨天牛幼虫的影响及 4 种添加剂对松墨天牛幼虫的侵染效果进行了测定。结果如下:

OP 乳化剂开始对白僵菌侵染松墨天牛幼虫有一定的抑制作用,对白僵菌作用松墨天牛幼虫的 OP 乳化剂最适浓度为 0.10% (v/v)。此外 OP 乳化剂对白僵菌的有效继代宿存率也有一定的影响。

方差分析表明,不同增效剂之间以及同种增效

剂在不同浓度之间差异均不显著。4 种添加剂在白僵菌对松墨天牛幼虫防治效果中所起的作用各有不同。海藻糖对白僵菌侵染松墨天牛幼虫的增效作用与海藻糖浓度没有显著的相关性,总体来看,浓度较高,更有利于白僵菌对天牛幼虫的侵染。葡萄糖也是一种促进球孢白僵孢子萌发的促进剂,对白僵菌侵染松墨天牛幼虫的增效作用与其浓度不存在相关性,低浓度的葡萄糖对白僵菌的增效作用是逐渐提高;浓度较高时,反而抑制了白僵菌对松墨天牛幼虫的杀灭作用。这可能是葡萄糖作为一种营养成分,浓度较低便能满足白僵菌孢子萌发、生长的需求,显著促进其生长,而低浓度的葡萄糖对个体较大的松墨天牛幼虫起不到明显的作用;但当葡萄糖浓度较高时,葡萄糖便成为天牛幼虫补充营养的重要来源,从而增强了天牛幼虫的抗病性,相对削弱了白僵菌的侵染致病性。L 丙氨酸对白僵菌侵染松墨天牛幼虫的增效作用与其浓度呈显著的负相关,随 L 丙氨酸浓度的升高而明显降低,说明在该浓度范围内,L 丙氨酸能显著提高松墨天牛幼虫的抵抗真菌侵染能力。 FeSO_4 对白僵菌侵染松墨天牛幼虫的“增效”作用与其浓度无明显的相关性。各浓度的 FeSO_4 对白僵菌的这种“增效”作用先升高后降低,而后又有上升的趋势。这可能是因为 FeSO_4 在对白僵菌孢子产生抑制作用的同时, FeSO_4 作为一种矿物盐,对松墨天牛幼虫也有很强的杀伤作用,而且 FeSO_4 对松墨天牛幼虫的杀伤力远大于其对白僵菌孢子的抑制作用,从而表现出 FeSO_4 对白僵菌侵染松墨天牛幼虫的“增效”作用。 FeSO_4 的这种“增效”作用的机理还需进一步加以研究验证。

参考文献:

- [1] 刘洪剑,朴春根,汪来发,等.白僵菌和肿腿蜂对松墨天牛幼虫的作用[J].林业科学,2007,43(5):64-68
- [2] 张立钦,刘军.松墨天牛优良白僵菌菌株筛选[J].南京林业大学学报,2000,24(2):33-37
- [3] 马良进,杨毅,张立钦.松墨天牛寄生白僵菌的优良菌株筛选[J].东北林业大学学报,2006,34(5):4-6
- [4] Shimazu M, Katagiri K. Pathogens of the pine sawyer, *Monochamus alternatus* Hope, and possible utilization of them in a control program [C]//Proceedings of XV II UFRO World Congress, Japan, 1981: 291-295
- [5] Shimazu M, Sato H. Microbial control of the pine sawyer, *Monochamus alternatus* by *Beauveria bassiana* [C]//International Symposium on Pine Wood Nematode Beijing, China, 1995: 128-137
- [6] 徐福元,张培,赵菊林,等.利用小蠹虫释传白僵菌技术防治松材线虫病的研究[J].林业科学研究,2000,13(专):63-68

- [7] 孙继美, 丁 珊, 肖 华, 等. 球孢白僵菌防治松墨天牛的研究 [J]. 森林病虫通讯, 1997(3): 16 - 18
- [8] 段彦丽, 张永安, 王玉珠. 温度和增效剂对苏云金杆菌杀虫活性的影响 [J]. 中国森林病虫, 2007, 26(1): 1 - 4
- [9] 胡 强, 贝纳新, 高 萍, 等. 高毒力杀蚜白僵菌的分离及筛选 [J]. 现代农药, 2008, 7(2): 44 - 46
- [10] 杨敏芝, 谭云峰, 田志来. 不同温、湿度和光照对白僵菌孢子活力的影响 [J]. 吉林农业科学, 2005, 30(3): 60 - 61
- [11] 孙鲁娟, 吴孔明, 郭予元. 不同温、湿度下白僵菌对棉铃虫幼虫的致病力 [J]. 昆虫学报, 2001, 44(4): 501 - 506
- [12] 刘银泉, 冯明光, 刘树生, 等. 不同温度下球孢白僵菌对桃蚜的毒力 [J]. 中国生物防治, 2000, 16(2): 56 - 60
- [13] 杨宝君, 潘宏阳, 汤 坚, 等. 松材线虫病 [M]. 北京: 中国林业出版社, 2003: 48 - 56
- [14] 徐均焕, 冯明光, 董贤明. 球孢白僵菌孢子萌发促进剂的筛选及其对杀蚜效果的增强作用 [J]. 植物保护学报, 2003, 30(1): 45 - 50
- [15] 王素英, 邹立杰, 时亚琴, 等. 球孢白僵菌加增效剂对光肩星天牛的防治效果 [J]. 中国生物防治, 2000, 16(2): 96 - 封三

《植物遗传资源学报》征订启事

《植物遗传资源学报》是中国农业科学院作物科学研究所和中国农学会主办的学术期刊, 为全国中文核心期刊、中国科技核心期刊、全国优秀农业期刊。该刊为中国科技论文统计源期刊、中国科学引文数据库来源期刊(核心期刊)、中国核心期刊(遴选)数据库收录期刊、中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊, 又被《中国生物学文摘》和中国生物学文献数据库、中文科技期刊数据库收录。据中国期刊引证研究报告统计, 2007年度《植物遗传资源学报》影响因子达 0.914。

报道内容为大田、园艺作物, 观赏、药用植物, 林用植物、草类植物及其一切经济植物的有关植物遗传资源基础理论研究、应用研究方面的研究成果、创新性学术论文和高水平综述或评论。诸如, 种质资源的考察、收集、保存、评价、利用、创新、信息学、管理学等; 起源、演化、分类等系统学; 基因发掘、鉴定、克隆、基因文库建立、遗传多样性研究。

双月刊, 大 16 开本, 128 页。定价 20 元, 全年 120 元。各地邮局发行, 邮发代号: 82-643。国内刊号 CN11-4996/S, 国际统一刊号 ISSN1672-1810。

本刊编辑部常年办理订阅手续, 如需邮挂每期另加 3 元。

地址: 北京市中关村南大街 12 号 中国农业科学院《植物遗传资源学报》编辑部

邮编: 100081 电话: 010 - 82105794 010 - 82105796(兼传真)

E-mail: zwyczyxb2003@163.com zwyczyxb2003@sina.com