

不同地域莱氏野村菌的培养性状及对斜纹夜蛾的毒力

唐维媛^{1,2,4}, 彭小东^{1,2}, 王欢^{1,2}, 周焕景^{1,2}, 张义明^{2,3*}

(1.贵州大学化学与化工学院,贵州 贵阳 550003;2.贵州省发酵工程与生物制药重点实验室,贵州 贵阳 550003;
3.贵州工业职业技术学院化学与材料系,贵州 贵阳 550008;4.贵州省昆虫研究所,贵州 贵阳 550025)

摘要:研究了来自山东、安徽、河南的 3 株莱氏野村菌在 PDA 培养基上的生物学性状,并测定了它们对斜纹夜蛾 3 龄幼虫的毒力。结果表明:3 株莱氏野村菌的菌落形态类似,但产孢量差异显著,其中以来自安徽的菌株 Nr19 的产孢量最高,为 1.64×10^8 个/cm²;3 株莱氏野村菌对斜纹夜蛾幼虫都有明显的致病效果,致死率和僵虫率分别达到 95% 和 80% 以上,其中以 Nr19 菌株的综合致病效果最好,对斜纹夜蛾 3 龄幼虫的校正死亡率和僵虫率分别为 97.62% 和 84.09%,半数致死时间(LT₅₀)为 4.044 1 d。

关键词:莱氏野村菌;斜纹夜蛾;生物学性状;毒力

中图分类号:Q949.32

文献标志码:A

文章编号:1007-1032(2013)03-0279-03

Culturing characteristics of *Nomuraea rileyi* from different regions and their virulence to *Spodoptera litura*

TANG Wei-yuan^{1,2,4}, PENG Xiao-dong^{1,2}, WANG Huan^{1,2}, ZHOU Huan-jing^{1,2}, ZHANG Yi-ming^{2,3*}

(1.School of Chemistry and Chemical Engineering, Guizhou University, Guiyang 550003, China; 2.Guizhou Province Key Laboratory of Fermentation Engineering and Biopharmacy, Guiyang 550003, China; 3.School of Chemistry and Materials Science, Guizhou Industry Polytechnic College, Guiyang 550008, China; 4.Institute of Entomology, Guizhou Province, Guiyang 550025, China)

Abstract: 3 strains of *Nomuraea rileyi* from different regions(Shandong ,Anhui ,Henan)were cultured on PDA and their virulence to the 3rd *Spodoptera litura* larvae were compared. Results show that, the 3 strains from different regions have the similar colony morphology, while there was remarkable differences in sporulation. The highest sporulation of strains was Nr19 from Anhui, the production of spore was 1.64×10^8 spores/cm²; In the toxicity tests, three of them had obvious pathogenic effects on the *S. litura* larvae, the mortality and cadaver rates reached more than 95% and 80%, respectively. And the Nr19 had the best comprehensive pathogenic effects on the 3rd *Spodoptera litura* larvae, the corrected mortality and muscardine cadaver were 97.62% and 84.09%, respectively; the median lethal time (LT₅₀) was 4.0441 d.

Key words: *Nomuraea rileyi*; *Spodoptera litura*; biological characteristics; virulence

斜纹夜蛾(*Spodoptera litura* (Fabricius)) 已知寄主植物有大豆、棉花、烟草等 290 多种,主要危害植物的叶片和幼嫩茎秆^[1-4],其发生呈间歇性爆发形式,危害极大。目前,防治斜纹夜蛾仍以化学防治为主,但斜纹夜蛾对化学农药抗药性逐渐增强,防治效果也随之下降,且严重破坏生态平衡。

莱氏野村菌(*Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson)寄主范围大,能寄生 40 余种昆虫,尤其对鳞翅目夜蛾科类的昆虫有着很强的致病力,且对益虫、捕食者和人体无害,与化学杀虫剂也有较好的兼容性^[5-7]。莱氏野村菌这些特性决定了它在农林害虫的防治,尤其是在有害生物综合治理(IPM)防治策略方面有着

收稿日期:2012-12-06

基金项目:贵州省科学技术基金项目(黔科合 J 字[2010]2062 号);贵州大学研究生创新基金项目(理工 2012008)

作者简介:唐维媛(1977—),女,贵州遵义人,博士研究生,副教授,主要从事生物技术研究,tywygcn@126.com; *通信作者,ymzhang5262@163.com

很大的开发和应用潜力^[8]。笔者对来自山东、安徽、河南的3株莱氏野村菌的生物学特性进行研究,主要考察不同地区的莱氏野村菌菌株的致病力、菌落生长状况及产孢量的异同,以期为该菌的进一步开发利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

斜纹夜蛾3龄幼虫,由河南省济源白云实业有限公司提供。莱氏野村菌菌种Nr12(山东)、Nr19(安徽)和Nr42(河南),由安徽农业大学虫生真菌菌种保藏库提供。将真菌接种在PDA培养基上,在光照培养箱内(25±1)℃恒温培养10d,待用。

1.2 方法

1.2.1 菌液制备

将3株真菌的分生孢子粉刮到盛有20mL 0.05%吐温-80无菌水的三角瓶(含玻璃珠)中,在涡旋振荡器上充分振荡,血球计数板计数,用0.05%吐温-80溶液稀释,配制成 1.0×10^7 个/mL的孢子菌悬液。

1.2.2 菌落及孢子产量的测量

依据文献[9]方法。用微量移液枪吸取10μL菌悬液滴在配制好的PDA固体平板表面,品字型接种,每点呈一圆形接种面,静置15min后,移至(25±1)℃的光照恒温培养箱中培养。待长出菌丝后,每天测量菌落直径,连续测量7d,计算菌丝的生长速率。10d后用直径6.35mm的打孔器从菌落中心至边缘的中点取菌块3个,置于试管中,3个重复,用吐温-80无菌水洗脱孢子,在涡旋振荡器上充分振荡10min,血球计数板测定孢子含量,折算成每cm²的孢子含量。

1.2.3 试虫接菌与饲养

采用浸蘸法对试虫进行接菌^[10-11]。将3龄幼虫放入莱氏野村菌孢子悬液中浸蘸5~10s后,晾干虫体表面的水分后,分装至培养皿中,喂以饲料,皿内用湿棉球保湿,置于25℃光照培养箱中培养(14h光照,10h黑暗),每个处理试虫15头,3个重复,以0.05%吐温-80无菌水处理作为对照。对

幼虫接种菌液后,每日早、晚按时观察和记录其行为、感病症状、死亡虫数,连续观察10d。中途及时清除养虫器皿中的排泄物,更换饲料。每天将检查出的死虫单独放入小盒中,25℃下保湿培养,观察记录其变化情况,根据虫尸上长出的菌丝症状,统计僵虫率。

1.3 数据处理

以LT₅₀、校正死亡率和僵虫率作为试虫毒力分析的指标。以时间(d)的对数为自变量(x),死亡率的机率值为因变量(y),采用机率值分析法^[12],计算毒力回归方程和LT₅₀值,据此分析不同菌株的毒力。

2 结果与分析

2.1 莱氏野村菌菌株的生长性状及产孢情况

在25℃下光照培养10d后,3株菌株的菌落绒毛状,干燥,厚度中等,较为致密;基质呈浅褐色,孢子粉呈绿色,菌落形态差异不明显,但基质颜色及孢子粉色泽差异较为明显,Nr19基质及孢子粉色泽比Nr42的深。

3株菌株在PDA培养基上表现出不同的生长性状(表1)。均在第4天开始产生白色菌丝,其中以Nr12的菌落生长速率最快,为1.14mm/d,但三者差异不明显;以Nr19产孢量最高,达到 1.64×10^8 个/cm²,且与另2株的产孢量差异极显著($P < 0.01$),表明Nr19的培养性状优于Nr12和Nr42。

表1 供试菌株在PDA培养基上的生长及产孢情况

Table 1 Growth and sporulation of different strains on PDA		
菌株代号	菌落生长速率/ (mm·d ⁻¹)	10d产孢量/ (×10 ⁸ 个·cm ⁻²)
Nr12	(1.14±0.06)Aa	(1.17±0.03)Bb
Nr19	(1.08±0.06)Aab	(1.64±0.02)Aa
Nr42	(0.94±0.03)Ab	(1.07±0.02)Bc

2.2 莱氏野村菌对斜纹夜蛾幼虫的感病症状

3株菌株对斜纹夜蛾幼虫均有致死作用,幼虫的感病症状相似。感病初期,试虫进食量减少或不进食,活动力减弱,有些被侵染的试虫体表色泽发暗。幼虫被寄生死亡后,手触之,其身体柔软,1d后,身体僵直、硬化。高湿条件下培养1d后,虫体的背部及腹部先出现白色菌丝,逐渐整个虫体表

面被白色菌丝完全覆盖,继续保湿培养 1~2 d,白色转变为草绿色,继而转变为深绿色,虫尸体表被绿色分生孢子覆盖全身。分生孢子干燥疏松,易松散,自然条件下可在虫尸周围弹射。继续培养,虫尸被分生孢子侵蚀,体内水分散失,虫体逐渐瘪塌,孢子堆积在虫尸体表和虫尸周围。

2.3 莱氏野村菌对斜纹夜蛾 3 龄幼虫的毒力

3 株菌株对斜纹夜蛾 3 龄幼虫均表现出不同程度的致病性,但致死效果差异明显(表 2),其中 Nr12 的校正死亡率最高,为 100%,其次是 Nr19,为 97.62%。3 株莱氏野村菌菌株对斜纹夜蛾 3 龄幼虫

的校正死亡率都在 95% 以上,说明莱氏野村菌是对斜纹夜蛾 3 龄幼虫具有强毒力。

3 株菌株的僵虫率都达到 80% 以上,且致死速率也较快,Nr19 的 LT_{50} 为 4.044 1 d,僵虫率达 84.09%,显著高于另 2 株菌株,表明 3 株菌株都能侵染致死斜纹夜蛾 3 龄幼虫,且其孢子粉松散,易于在害虫种群间散布,形成二次侵染。其致死率和僵虫率较高的原因可能是斜纹夜蛾 3 龄幼虫的龄期较低,对莱氏野村菌的敏感性高,且 3 龄的虫体较大,营养丰富,菌体侵入后,利于其生长和繁殖。

表 2 莱氏野村菌菌株对斜纹夜蛾 3 龄幼虫的致病效果

菌株编号	校正死亡率/%	僵虫率/%	回归方程	相关系数	LT_{50} /d	95%的置信限/d
Nr19	97.62	84.09	$y=4.2157x+2.4418$	0.8888	4.0441	(3.6647, 5.1973)
Nr12	100.00	82.22	$y=9.1182x-1.7353$	0.9314	5.4785	(5.0889, 5.8980)
Nr42	95.24	81.40	$y=8.2049x-1.5822$	0.9319	6.3420	(5.8427, 6.8837)

3 结 论

莱氏野村菌曾一度成为美国和巴西等国控制黎豆夜蛾在经济危害阈值以下的因子^[13-15]。本研究选取的来自 3 个省份的 3 株菌,虽然菌落形态和生长速率差异并不明显,但是其孢子粉色泽及产孢量存在明显差异,这说明不同地区菌系存在生理差异。供试菌株对斜纹夜蛾幼虫校正死亡率均达到 95% 以上,说明在不同地区都适用于防治该类害虫。

参考文献:

- [1] 姚文辉. 斜纹夜蛾的生物学特性[J]. 华东昆虫学报, 2005, 14(2): 122-127.
- [2] 陈斌, 周小毛, 柏连阳, 等. 斜纹夜蛾防治研究进展[J]. 江西农业学报, 2008, 20(3): 52-54.
- [3] 胡坚. 斜纹夜蛾为害烟草情况调查及防治[J]. 植物保护, 2006(11): 70-71.
- [4] 蒋杰贤, 梁广文. 斜纹夜蛾种群空间动态[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 1999, 25(5): 382-386.
- [5] Ignoffo C M. Handbook of Natural Pesticides: Microbial Insecticides[K]. Boca Raton FL USA: CRC Press Inc, 1988: 151-236.
- [6] 蒲蛰龙, 李增智. 昆虫真菌学[M]. 合肥: 安徽科学技术出版社, 1996.
- [7] 杨新军, 林华峰, 李茂业, 等. 莱氏野村菌 Nr05 菌株的培养性状及其对斜纹夜蛾的毒力[J]. 中国生物防治,

2007, 23(1): 44-48.

- [8] Ambethgar V. Potential of entomopathogenic fungi in insecticide resistance management (IRM): A review[J]. Journal of Biopesticides, 2009, 2(2): 177-193.
- [9] 涂增, 翟逸, 万永继. 环境因子对莱氏野村菌 cq 菌株生长发育的影响[J]. 西南农业大学学报, 2006, 28(1): 49-53.
- [10] 林华峰, 杨新军, 高亿波, 等. 几种虫生真菌对斜纹夜蛾的致病性[J]. 应用生态学报, 2007, 18(4): 937-940.
- [11] 马骏. 防治斜纹夜蛾的爪哇拟青霉菌株筛选及培养[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2007, 33(4): 466-470.
- [12] 李世广, 林华峰. 不同条件下几种虫生真菌对棉铃虫的侵染致病效应[J]. 华东昆虫学报, 2003, 12(1): 29-34.
- [13] Buirges H D. Microbial Control of Pests and Plant Diseases[M]. London & New York: Academic Press, 1981: 513-518.
- [14] Faria M R, Tigano Milani M S, Lecuona R E. Natural incidence of *Nomuraea rileyi*(Farlow) Samson in a population of *Anticarsia gemmatalis* Hubner in Federal district[J]. Anais da sociedade Entomologica do Brasil, 1993, 22(2): 385-388.
- [15] Sundaramurthy V T, Gahukar R T. Integrated management of cotton insect pests in India[J]. Outlook on Agriculture, 1998, 27(4): 261-269.

责任编辑: 罗慧敏

英文编辑: 罗维