

温度及常见农药对球孢白僵菌生物学特性的影响

邝灼彬¹, 吕利华², 冯夏², 陈焕瑜², 武亚敬¹, 何余容¹

(1 华南农业大学 昆虫生态研究室, 广东 广州 510642; 2 广东省农业科学院 植物保护研究所, 广东 广州 510640)

摘要: 在室内测试了6个温度对球孢白僵菌一菌株(分离自小猿叶成虫)的产孢量、孢子萌发率和菌落生长的影响。结果表明, 在17~26℃温度范围内, 球孢白僵菌的产孢量、孢子萌发率和菌落生长速率(菌落直径扩展)均随着温度的升高而增大。在26℃条件下, 各项生物学指标均达到最高, 即产孢量为 $6.40 \times 10^7 \text{ mL}^{-1}$ 、孢子萌发率为93.19%、菌落直径为22.80 mm。在23℃条件下, 虽然产孢量($5.95 \times 10^7 \text{ mL}^{-1}$)与26℃的有显著差异, 但孢子萌发率(91.32%)和菌落直径扩展(22.50 mm)无明显差异。当温度升高到29℃时, 各指标值均下降, 在32℃条件下球孢白僵菌不能生长。同时还测定了田间常用的6种杀菌剂和8种杀虫剂对球孢白僵菌的菌丝生长的影响, 结果表明杀菌剂对球孢白僵菌的菌丝生长有较强的抑制作用, 其中多菌灵完全抑制球孢白僵菌的生长, 但随着时间的推移, 抑制作用有所减弱。而杀虫剂的抑制作用较弱, 其中部分杀虫剂对球孢白僵菌菌丝生长不仅没有抑制作用, 反而有促进作用, 说明杀虫剂与球孢白僵菌相容性较好。

关键词: 球孢白僵菌; 温度; 农药; 菌落生长

中图分类号: Q968.1

文献标识码: A

文章编号: 1001-411X(2005)03-0026-04

Effect of temperature and chemical pesticides on the biological characteristics of *Beauveria bassiana*

KUANG Zhuo-bin¹, LÜ Li-hua², FENG Xia², CHEN Huan-yu², WU Ya-jing¹, HE Yu-rong¹

(1 Lab of Insect Ecology, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China;

2 Plant Protection Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China)

Abstract: *Beauveria bassiana* is an entomophagous fungi isolated from a vegetable beetle. The results showed that the spore yields, germination velocity and mycelia growth had a positive relationship with temperature at range of 17–26 °C. At 26 °C, the spore yields, germination rate and increase of mycelia clone diameter were the highest, they were $6.40 \times 10^7 \text{ mL}^{-1}$, 93.19% and 22.80 mm, respectively. However, higher temperature ($> 26 \text{ °C}$) had an adverse effect on *B. bassiana* and 32 °C was the high limit for *B. bassiana* growth and development. All 6 fungicides tested could inhibit the mycelia growth and only one of them, Carbendazim, inhibited the mycelia growth completely. 8 insecticides tested had a slight adverse effect on the mycelia growth and some of them even accelerated the mycelia growth instead of inhibition. It was showed that the insecticides were more compatible with *B. bassiana* than fungicides.

Key words: *Beauveria bassiana*; temperatures; pesticides; mycelia growth

球孢白僵菌 *Beauveria bassiana* Vuillemin 属于丝孢纲、丛梗孢目、丛梗孢科、白僵菌属。是一种广谱性的昆虫病原真菌, 可以寄生 15 目 149 科 700 多种昆虫和蛴螬类^[1], 具有致病性强、适应性强等特点, 已被用于防治多种重要的农林害虫^[2,3]。虫生真菌在

其生产过程中及在田间的应用中会受到一定的环境条件如温度、湿度影响^[4], 因此研究球孢白僵菌菌丝生长、产孢和孢子萌发的最合适温度范围对其室内大量繁殖及田间合理的应用技术具有重要的指导意义。由于化学农药仍是目前防治害虫的主要措施, 在

收稿日期: 2004-10-27

作者简介: 邝灼彬(1978-), 男, 硕士。通讯作者: 何余容(1963-), 女, 副教授, 博士;

E-mail: yrhe@scau.edu.cn

基金项目: 广东省科技计划项目资助(200320501)

©1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

田间应用虫生真菌防治害虫时如与农药合理混用, 可以提高生物措施的防治效果, 因此虫生真菌与其他治理手段之间的相容性是评价虫生真菌的一个指标^[5]. 2001年夏季, 在广东阳山西洋菜地发现了被球孢白僵菌感染的小猿叶甲, 通过对感病虫体分离、鉴定、纯化及不同分离株对小猿叶甲致病力的测定, 筛选出了1株具有较高致病力的球孢白僵菌分离株, 对幼虫的侵染率达90%以上, 对成虫的侵染率达84.5%^[6]. 为了进一步评价该菌株对环境的适应能力及与田间常用农药的兼容性, 更充分发挥其防治害虫的效果, 本文研究了温度及常用药剂对其生物学特性的影响, 为该分离株在室内的培养及田间的使用提供依据.

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌株 球孢白僵菌 *Beauveria bassiana* 自西洋菜地感病的小猿叶甲上分离获得, 经筛选后获得致病力最强的分离株. 用马铃薯葡萄糖琼胶培养基(PDA)于25℃光照(12 h光:12 h暗)恒温箱中培养, 待菌落形成后, 转移到PDA斜面, 再转入4℃冰箱贮存备用.

1.1.2 供试农药 选用目前十字花科蔬菜生产中大田常用的8种杀虫剂和6种杀菌剂, 供试浓度为田间常用浓度: 菜喜, 25%悬浮剂, 美国陶氏益农公司, 1 500倍; 阿克泰, 25%水分散粒剂, 瑞士诺华公司, 3 000倍; 灭虫灵, 1%乳油, 浙江海正化工股份有限公司, 2 000倍; 甲基乐斯本, 40%乳油, 美国陶氏益农公司, 1 500倍; 好年冬, 20%乳油, 苏州富美实公司, 1 000倍; 除尽, 10%悬浮剂, 美国氰胺公司, 1 000倍; 安打, 15%悬浮剂, 上海杜邦农化有限公司, 2 500倍; 吡虫啉, 10%可湿性粉剂, 浙江海正化工股份有限公司, 1 500倍; 咪鲜胺, 原粉, 江苏辉丰农化股份有限公司, 2 000倍; 喷克, 80%可湿性粉剂, 埃尔夫阿托化学公司, 600倍; 达科宁, 75%可湿性粉剂, 诺华农化(中国)有限公司, 800倍; 甲基托布津, 70%可湿性粉剂, 日本曹达株式会社, 1 000倍; 雷多米尔, 58%可湿性粉剂, 先正达(中国)投资有限公司, 800倍; 多菌灵, 50%可湿性粉剂, 上海升联化工有限公司, 600倍.

1.2 方法

1.2.1 温度对菌株生物学特性的影响 设17、20、23、26、29和32℃共6个温度梯度, 光照条件为12 h光:12 h暗. 分别测量供试菌株的产孢量、孢子萌发率和菌落生长速率3个指标.

菌落生长速率和产孢量的测定: 菌株在PDA平板上培养10 d形成菌落后, 加入含吐温-80的无菌

水收集孢子后, 移入烧杯中, 在磁力加热搅拌器中搅拌15 min, 得到适当浓度的孢子悬浮液, 取1 mL滴入存有PDA的培养皿($d=9$ cm)内, 用三角玻棒涂匀, 待4~5 d长出菌丝后, 用 d 为13 mm的打孔器钻取新鲜菌落, 并接种于PDA平板培养. 在培养皿底部标记2点以示其直径, 每处理重复5次, 每2 d观测菌落生长情况. 具体方法是用直尺以标记的2点作为基准测量菌落直径^[7], 第10 d记录最后1次数据. 用 d 为5 mm的灭菌打孔器在距培养皿中心相同的位置取菌块, 然后放入小烧杯中, 加吐温-80和20 mL无菌水^[8], 在磁力加热搅拌器中搅拌15 min, 使孢子充分分散, 制成孢子悬浮液, 用血球计数板测定产孢量.

孢子萌发率的测定: 将菌株培养10 d后, 分别用无菌水收集分生孢子, 制成悬浮液(每视野100个左右分生孢子), 用载玻片法测定孢子萌发率. 将孢子悬浮液直接滴在无菌载玻片上, 置于铺有滤纸的培养皿内, 皿内滴加3~4滴无菌水以保持100% RH, 培养24 h后镜检, 每个处理重复3次.

1.2.2 田间常用农药对菌株生物学特性的影响 在 d 为9 cm的培养皿中制成PDA平板, 用0.1 mL的移液管每皿移入0.1 mL药液, 倾斜培养皿并用三角玻棒轻轻涂抹使药液均匀布满培养基表面. 用 d 为13 mm的打孔器移种菌龄为7 d的菌丝块到含药PDA平板中央, 于25℃的恒温培养箱中暗培养, 分别于第5、10 d测量菌落直径. 每种农药处理设5个重复, 并设无农药PDA培养为对照. 计算抑制率:

抑制率=[(对照培养皿菌落直径-加药培养皿菌落直径)/对照培养皿菌落直径]×100%

1.2.3 数据统计 试验数据用SAS. 6. 12统计软件进行统计分析^[9].

2 结果与分析

2.1 温度对菌株生物学特性的影响

表1的结果表明, 6个温度梯度下, 除在32℃时球孢白僵菌不生长外, 其他5个温度下球孢白僵菌均能正常生长、产孢和孢子萌发. 在17~26℃温度范围内, 球孢白僵菌的产孢量、孢子萌发率和菌落生长速率均随温度的升高而增加. 在26℃条件下, 产孢量为 $6.40 \times 10^7 \text{ mL}^{-1}$ 、孢子萌发率为93.19%、菌落直径扩展为22.80 mm, 均达到最高. 当温度继续升高到29℃时, 各项指标有所下降. 在23℃条件下, 虽然产孢量显著低于26℃时, 但孢子萌发率和菌落直径扩展与26℃时差异不显著, 可见, 23~26℃是最适合球孢白僵菌生长发育的温度范围. 而过高<

29 ℃)和过低(<20 ℃)的温度均不利于球孢白僵菌菌落的生长、产孢及孢子萌发,因此在室内培养该菌株时应尽量避免过高或过低的温度条件,最好在23~26 ℃的温度范围内进行,田间使用时应选择合适的季节及时间进行。

表1 不同温度下球孢白僵菌菌株生物学特性的比较¹⁾

Tab. 1 Comparison of biological characteristics of *Beauveria bassiana* cultured under different temperatures

t/℃	产孢量	孢子萌发率	10 d后菌落直径扩展
	spore yields/mL ⁻¹	percentage of germinated conidia/%	increase of mycelia clon diameter after 10 days/mm
17	2.33×10 ⁷ d	52.70±2.13c	14.50±2.00c
20	3.65×10 ⁷ e	81.11±3.58b	15.66±0.65bc
23	5.95×10 ⁷ b	91.32±3.08a	22.50±0.50a
26	6.40×10 ⁷ a	93.19±1.78a	22.80±0.84a
29	2.13×10 ⁷ d	56.04±2.43c	16.40±1.67b
32	0	0	0

1)表中数据为平均数±标准误,同列中具相同字母者表示在0.05水平上差异不显著(DMRT法)

2.2 杀虫剂对球孢白僵菌菌落生长的影响

表2表明,试验用的8种杀虫剂对球孢白僵菌菌丝的生长影响不大,其中菜喜、阿克泰、灭虫灵、甲基乐斯本和好年冬在第5 d时对球孢白僵菌菌落生长不仅没有抑制作用,反而有促进作用。在第10 d时8种杀虫剂对球孢白僵菌均有一定的抑制作用,但抑制率较低,其中吡虫啉、安打和除尽的抑制率分别为8.07%、7.17%和6.28%;其次为好年冬、甲基乐斯本、灭虫灵、阿克泰和菜喜,其抑制率分别为4.48%、4.49%、1.34%、2.24%和0.45%,因此田间常用的杀虫剂与球孢白僵菌有较好的兼容性,可配合进行使用。

表2 田间常用杀虫剂对球孢白僵菌菌落生长的抑制率¹⁾

Tab. 2 Effect of insecticides on the mycelia growth of *Beauveria bassiana*

杀虫剂种类	抑制率 inhibition rate/%	
	5 d	10 d
菜喜 spinosad	-13.89±0.25a	0.45±0.37a
阿克泰 thiamethoxam	-9.72±0.10ab	2.24±0.12ab
灭虫灵 abamectin	-7.89±0.12ab	1.34±0.32abc
甲基乐斯本 chlorpyrifos-methyl	-4.17±0.50abc	4.49±0.62abcd
好年冬 carbosulfan	-1.39±0.35bc	4.48±0.20abcd
除尽 chlorfenvinpyr	5.56±0.12c	6.28±0.33bcd
安打 indoxacarb	5.56±0.41c	7.17±0.44cd
吡虫啉 imidacloprid	8.33±0.25c	8.07±0.22d

1)表中数据为平均数±标准误,同列中具相同字母者表示在0.05水平上差异不显著(DMRT法)

2.3 杀菌剂对球孢白僵菌菌落生长的影响

从表3可以看出,与杀虫剂相比,田间常用的杀菌剂对球孢白僵菌的生长有较强的抑制作用。在6种杀菌剂中,多菌灵完全抑制了球孢白僵菌菌落的生长,其抑制率达100%,而其他5种杀菌剂则对球孢白僵菌的生长有不同程度的抑制作用。第10 d,甲基托布津、雷多米尔、达科宁、喷克和咪鲜胺的抑制率分别为57.40%、56.05%、53.36%、41.70%和39.90%,其中前3种杀菌剂的抑制作用显著大于后2种。随着时间的推移,5种杀菌剂的抑制作用有所减弱,第10 d各处理(除多菌灵外)的抑制率低于第5 d。

表3 田间常用杀菌剂对球孢白僵菌菌落生长的抑制率

Tab. 3 Effect of fungicides on the mycelia growth of *Beauveria bassiana*

杀菌剂	抑制率 inhibition rate/%	
	5 d	10 d
咪鲜胺 prochloraz	50.00±0.19a	39.90±0.19a
喷克 mancozeb	51.39±0.16a	41.70±0.22a
达科宁 chlorothalonil	62.50±0.30b	53.36±0.19b
甲基托布津 thiophanate-methyl	65.28±0.16b	57.40±0.16c
雷多米尔 mMetalaxy+M+mancozeb	73.61±0.10c	56.05±0.26c
多菌灵 carbendazim	100.0±0.00d	100.0±0.00d

1)表中数据为平均数±标准误,同列中具相同字母者表示在0.05水平上差异不显著(DMRT法)

3 讨论

本研究结果表明,在23~26 ℃球孢白僵菌的产孢量、孢子萌发率和菌落生长速率达到最大值,是最适合球孢白僵菌的生长发育的温度范围。在32 ℃条件下球孢白僵菌完全不生长。前人研究表明最有利于白僵菌菌丝生长的温度为25 ℃,极限生长温度为5和35 ℃^[4]。本试验结果基本与之相符,但高温极限温度稍低,为32 ℃,这可能与不同地理来源的菌株对高温耐受力不同有关,这在其他研究者的报告中得到了证实^[10]。

田间常用化学农药来防治病虫害,在应用虫生真菌防治害虫时就不可避免的与有关农药混用,以提高防治效果,而化学农药是影响生物防治效果的重要因素之一^[11~13]。本研究结果表明,杀菌剂的抑制作用较强,其中多菌灵完全抑制球孢白僵菌的生长,而杀虫剂的抑制作用较弱,基本上没什么影响,即相容性好,这与前人的研究结果一致^[14,15]。因此,在十字花科蔬菜地施用球孢白僵菌防治小猿叶甲时可配合一些杀虫剂进行,而当田间用杀菌剂防治其

他蔬菜病害时, 应注意调整杀菌剂的种类和用药时间, 以充分发挥球孢白僵菌对小猿叶甲的控制作用。

参考文献:

- [1] 翟锦彬, 黄秀梨, 许 萍. 杀虫真菌—球孢白僵菌的昆虫致病机理研究近况[J]. 微生物学通报, 1995, 22(1): 45—48.
- [2] FENG M G, POPRAWSKI T J, KHACHATOURIANS G G. Production, formulation and application of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insect control; Current status[J]. Biocontr Sci Technol, 1994, 4: 3—34.
- [3] 李增智. 菌物在害虫、植病和杂草治理中的现状与未来[J]. 中国生物防治, 1995, 15(1): 35—40.
- [4] 蒲蛰龙, 李增智. 昆虫真菌学[M]. 安徽: 安徽科学技术出版社, 1996. 71—75.
- [5] 李增智. 虫生真菌在害虫治理中的应用现状[M]. 安徽农学院学报, 1987, 14(2): 57—66.
- [6] 何余容, 吕利华, 邝灼彬, 等. 球孢白僵菌不同分离株的生物学及对小猿叶甲成虫致病性测定[J]. 昆虫知识, 2004, 41(5): 442—445.
- [7] 丁 珊, 孙继美, 肖 华, 等. 筛选球孢白僵菌菌株的试验[J]. 森林病虫害通讯, 1997, 3: 13—16.
- [8] 孙继美, 汤 坚, 丁贵银. 球孢白僵菌不同菌株生物学特性的研究[J]. 安徽农业大学学报, 1996, 23(3): 297—302.
- [9] SAS Institute. SAS User' s Guide; Statistics[CP/ DK]. Cary: SAS Institute Inc, 1988.
- [10] 农向群, 高 松, 邓春生, 等. 白僵菌绿僵菌分生孢子对高温的耐受力[J]. 中国生物防治, 1999, 15(3): 111—114.
- [11] 廖文程, 叶兰钦, 邓建华, 等. 烟田常用化学农药对白僵菌孢子和菌丝的影响[J]. 云南农业大学学报, 2004, 19(1): 10—13.
- [12] JAROS S J, GRODEN D L, ZHANG J. Effects of selected fungicides and the timing of fungicide application on *Beauveria bassiana*-induced mortality of the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae)[J]. Biological Control, 1999, 15(3): 259—269.
- [13] ANDERSON T E, HAJEK A E, ROBERTS D W, et al. Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae): Effects of combinations of *Beauveria bassiana* with insecticides[J]. J Econ Entomol, 1989, 82: 83—89.
- [14] 许寿涛, 应盛华, 冯明光. 十种常用农药与球孢白僵菌的生物学相容性[J]. 植物保护学报, 2002, 29(2): 158—162.
- [15] OLMERT I, KENNETH R G. Sensitivity of the entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana*, *Verticillium lecanii*, and *Verticillium* sp. to fungicides and insecticides[J]. Environ Entomol, 1974, 3: 33—38.

【责任编辑 周志红】

欢迎订阅 2005 年《华南农业大学学报》

《华南农业大学学报》是华南农业大学主办的综合性农业科学学术刊物。本刊主要报道农业各学科的科研学术论文、研究简报、综述等, 设有农学、园艺、土壤肥料、植物保护、生物学、林业科学、动物科学与兽医学、农业工程与食品科学、信息科学、基础科学、综述、简报等栏目。本刊附英文目录和英文摘要。读者对象主要是农业院校师生、农业科研人员和有关部门的专业干部。

本刊为《中国科学引文数据库》、《中国科技论文统计源(中国科技核心期刊)》及《中国学术期刊综合评价数据库》固定刊源, 并排列在中国科学引文数据库被引频次最高的中国科技期刊 500 名以内。被《中文核心期刊要目总览》遴选为综合性农业科学核心期刊、植物保护类核心期刊。为美国《化学文摘》、美国《剑桥科学文摘: 生物技术与生物工程》、俄罗斯《文摘杂志》、英国《CABI》、英国《动物学记录》、《中国生物学文摘》及国内所有农业文摘期刊等国内外多家著名文摘固定刊源。

国内外公开发行人、季刊、A4 幅面, 每期 124 页, 定价 5.00 元, 全年 20.00 元、自办发行, 参加全国非邮发报刊联合征订发行, 非邮发代号: 6573。

订阅办法: 订阅款邮汇至: 300385 天津市大寺泉集北里别墅 17 号, 全国非邮发报刊联合征订服务部。

《华南农业大学学报》编辑部