

不同温度下新蚜虫疔霉对桃蚜的毒力测定

桂富荣¹, 李亚红², 李正跃^{1*}

(1. 云南农业大学植物保护学院, 云南 昆明 650201; 2. 云南省植保植检站, 云南 昆明 650034)

摘要 在 15、18、21、25、28℃ 温度下, 将新蚜虫疔霉应用孢子浴法对 1~2 龄桃蚜进行毒力测定, 各处理温度分别设 10 个剂量, 每剂量处理蚜虫 60~120 头, 逐日观察记载蚜虫死亡数量。结果表明, 新蚜虫疔霉具有较强杀蚜虫特性, 其致病性在 25℃ 时达最佳效果。接种后的前 2d 为新蚜虫疔霉的潜伏期, 接种后 3~4d 为对桃蚜的致死高峰期。在温度 15、18、21、25、28℃ 下, 接种 60min 后, 新蚜虫疔霉对桃蚜的 LT_{50} 值分别为 3.0、3.7、2.8、2.5、3.9 d。

关键词 有害生物生物防治; 新蚜虫疔霉; 桃蚜; 毒力测定

中图分类号 S 476.2

Effect of temperature on virulence of *Pandora neoaphidis* against *Myzus persicae*

GUI Fu-rong¹, LI Ya-hong², LI Zheng-yue¹

(1. *Plant Protection of Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China*;

2. *Yunnan Plant Protection Station, Kunming 650034, China*)

Abstract Virulence of the entomophthoralean fungus, *Pandora neoaphidis* was bioassayed on the green peach aphid, *Myzus persicae* at RH=85%, L//D=12//12 and temperature of 15, 18, 21, 25℃ and 28℃, respectively in the laboratory. The aphids with detached leaves of the Chinese cabbage were exposed to the spore shower of the fungal inocula produced in vitro for 1–60 min, resulting in 10 doses with each for 60–120 aphids. Based on daily observations, most of the visible deaths occurred on days 3–4. The result reveals that *P. neoaphidis* show the maximal effect at the temperature of 25℃. The LT_{50} of *M. persicae* at 15, 18, 21, 25℃ and 28℃ was 3.0, 3.7, 2.8, 2.5 days and 3.9 days, respectively.

Key words pest bio-control; *Pandora neoaphidis*; *Myzus persicae*; virulence

桃蚜(*Myzus persicae*)是世界性分布的刺吸式害虫, 寄主植物达 40 多科, 危害几乎所有的经济作物^[1]。由于许多化学杀虫剂在蔬菜上使用受到限制, 且蚜虫对杀虫剂易产生抗药性, 利用虫霉防治蚜虫具有重要意义^[2,3]。

新蚜虫疔霉(*Pandora neoaphidis* Humber), 是目前已知的最常见的蚜虫病病原物, 常引发高强度的蚜虫流行病^[4], 对蚜虫的自然控制起着一定的作用^[5]。虫霉孢子的产生、传播、萌发及侵入是其对昆

虫寄生侵染循环的重要环节, 受到环境因素直接或间接影响, 其中温度和湿度尤为重要^[6]。本文报道不同温度下新蚜虫疔霉对桃蚜的毒力。

1 材料与方法

1.1 菌种和接种体

新蚜虫疔霉菌株采自昆明松花坝马家庵倒座村甘蓝上的死亡蚜虫, 经分离纯化而得。其原始寄主为甘蓝桃蚜, 应用牛奶蛋黄培养基(SEMA)分离和纯化菌株。

收稿日期: 2004-10-14

基金项目: 云南省自然科学基金项目(2001C0017Q); 云南科技重点攻关项目(2001NG57)

* 通讯作者

参照 Feng 等^[7]及刘彩玲和冯明光^[1,8]的方法,将新鲜新蚜虫病菌菌丝挑入 100 mL 萨氏培养液(SDY)中,加入 0.25 mL 食用油和 1.25 mL 乳化剂,置于 20℃ 恒温培养箱中振荡(120 r/min)培养 48h,获新蚜虫病菌一。取上述菌液 2 mL 均匀涂布于 1.8% 琼脂平板($d=56\text{mm}$)上,用滤纸吸去多余水分后,在人工气候箱(25℃,光照//黑暗=12h//12h)中培养 24h,平板上的菌丝层处于产孢高峰,作为接种体使用。

1.2 供试桃蚜

在直径 12cm 培养皿内放置甘蓝叶片,接 30 头无翅成蚜,于 25℃ 人工气候箱中任其繁殖,48h 后将成蚜全部移出,留下若蚜经 24h 后,处于 2 龄期时供试验用。用吸足 Hoagland-Snyder 营养液^[9](加链霉素 20IU/mL)棉球包裹离体甘蓝叶片的叶柄基部,使叶片在蚜霉毒力测定期间适合蚜虫取食。

1.3 毒力测定

采用孢子浴(spore shower)方法^[7],将载有若蚜的离体甘蓝叶放入直径 15cm 的培养皿内,用湿润棉球置于叶柄基部保湿,将产孢盛期的新蚜虫病菌水琼脂平板倒置于盛有叶片的培养皿上,新蚜虫病菌分生孢子直接弹落在蚜虫上。通过控制蚜虫暴露时间 1、5、10、15、20、25、30、40、50、60 min,获得 10 个孢子剂量处理。每剂量处理 60~120 头蚜虫。每隔 1/4 时间段,培养皿旋转 90°使孢子能够均匀的落到蚜虫体表。同时在甘蓝叶上平放一盖玻片(15mm×15mm)收集孢子,10 点取样镜检、计数孢子量以确定蚜虫实际接种的剂量(个/mm²)。接菌后盖好皿盖,分别置于 15、18、21、25、28℃ 5 个温度的恒温箱中培养,每隔 24h 观察记录蚜虫死亡情况,发现病死蚜虫及时移出,保湿培养过夜镜检确诊死因。

1.4 数据分析

以方差分析确定各温度下新蚜虫病菌产孢量的差异,累积产孢量(S)随时间(T)变化的关系,用逻辑斯蒂模型 $S=a/[1+\exp(-(t-t_0)/b)]$ 进行拟合,式中 a 、 b 、 t_0 均为待估参数, S 为特定时间的最高理论产孢量。分析运算用计算机软件 Sigma Plot 8.0 数据处理系统。

用机率值分析方法^[10],在统计软件 SPSS10.0 for windows 上将蚜虫累积死亡率进行机率值转换后,分别对剂量和时间作线性回归分析建立直线回归模型^[11],从而分别估计剂量效应 LD_{50} 和时间效应 LT_{50} 。

2 结果与分析

2.1 不同处理温度下新蚜虫病菌接种量变化

新蚜虫病菌在不同温度下的接种量由其产孢量

决定。各处理时间的累积产孢量即为其接种量。因不同温度下单位时间内的产孢量不同,从而接种量也各不相同(图 1)。15℃ 下接种量最大,28℃ 下接种量最小。接种处理 60 min 时,15℃ 的孢子剂量为 263.9 个/mm²,28℃ 下为 115.8 个/mm²。根据各温度新蚜虫病菌的接种量随接种时间变化的观察值用逻辑斯蒂曲线进行拟合结果表明,在 1~60 min 内,同一温度下随处理时间的延长,接种量呈指数增长(图 1)。接种量模型的确定系数(r^2)均达到 0.95 以上,模型 F 检验及各参数的检验均达到极显著水平($P<0.0001$),说明模型拟合很好,拟合度很高。

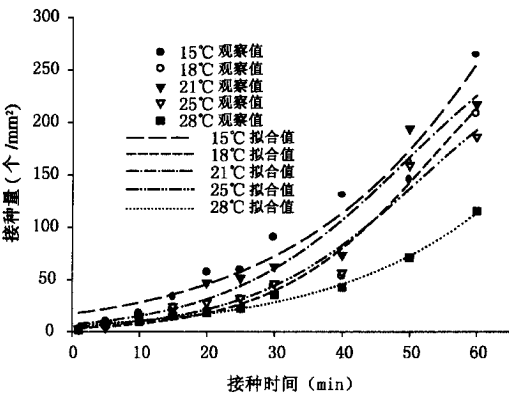


图 1 新蚜虫病菌孢子浴接种时间与
其接种量的关系

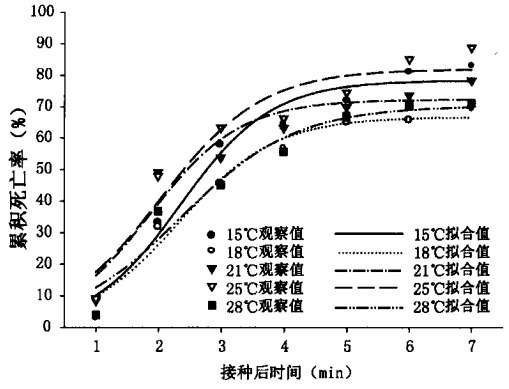


图 2 新蚜虫病菌孢子浴接种 60min 后观察
时间与桃蚜的累积死亡率

2.2 不同温度下各处理的桃蚜累积死亡率

试验表明,新蚜虫病菌对桃蚜有较强的毒力,在相同接种时间下,各温度处理的接种量以 15℃ 最高,28℃ 最低(图 1);桃蚜的累积死亡率却以 25℃ 最高,18℃ 最低。在同时接种处理 60 min 后第 7 天的累积死亡率分别为 88.8% 和 69.4% (图 2),说明累积死亡率除与接种量有关外,还受孢子萌发温度的影响。接种后第 3~4 天为桃蚜的死亡高峰期,累积死亡率在 25℃ 时达最大值。接种孢子量为 2.4~

186 个/mm² 时, 累积死亡率达 32%~88.78% (图 3)。各处理剂量的累积死亡率观察值用逻辑斯蒂曲线进行拟合结果表明, 累积死亡率模型的决定系数 (r^2) 均达 0.9 以上, 说明模型拟合较好, 拟合度高。

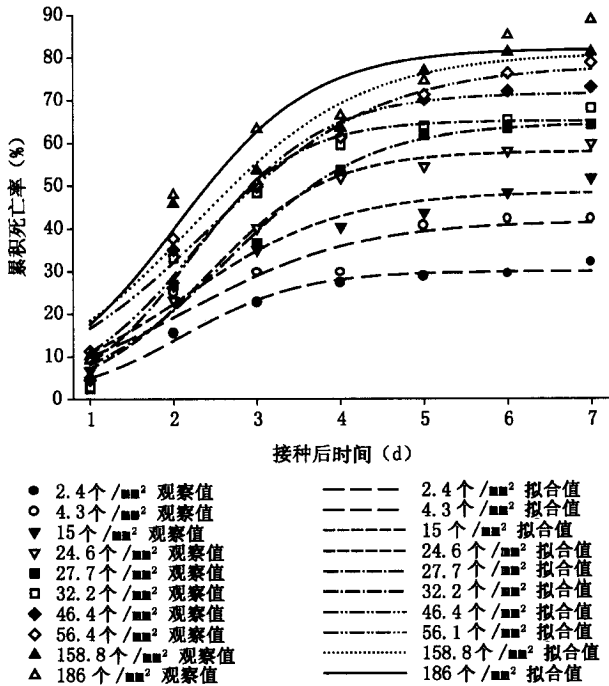
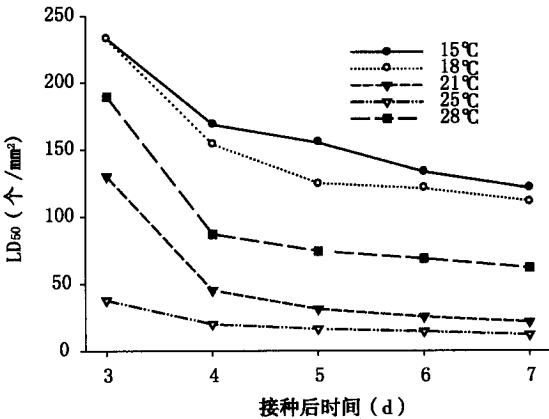


图 3 25℃ 下接种新蚜虫病菌后桃蚜的累积死亡率

在 15、18、21、28℃ 下, 接菌处理 1~60 min 后桃蚜的累积死亡率分别为 21.8%~82.97%、13.21%~



69.41%、27.93%~78.3% 和 15%~71.13%。在 28℃ 条件下孢子浓度与 18℃ 相比要小, 但累积死亡率却比之要高, 可能是 28℃ 下孢子的萌发率高于 18℃, 该菌在 28℃ 下比在 18℃ 下对桃蚜的致死力更强。

2.3 不同温度下的时间与剂量效应

根据机率值回归分析估计出不同温度下桃蚜接种新蚜虫病菌的剂量效应 LD₅₀ 和时间效应 LT₅₀ (图 4)。结果表明, 致死剂量是时间的函数, 接种后随着时间的延续, LD₅₀ 渐次减小, 表明剂量效应逐渐增强; 同样, 随剂量的增加, 时间效应也相应增强, 致死中时 LT₅₀ 随接种时间的增加 (本试验以桃蚜暴露于孢子浴中时间长短反映接种量差异) 而逐渐减小, 这与杀虫微生物的一般作用规律相吻合。在同一处理时间、不同温度下桃蚜 LT₅₀ 所需时间长短表明了新蚜病菌在各测试温度下对桃蚜的毒力强弱。如在接种时间为 60 min 时, 15、18、21、25、28℃ 下桃蚜的 LT₅₀ 值分别为 3.0、3.7、2.8、2.5、3.9 d。桃蚜在 15、18、21、25、28℃ 下接种孢子后第 3~7 天的 LD₅₀ 估计值分别为 232.9~121.1、232.2~111.6、130.1~21.5、37.8~11.9、189.3~61.8 个/mm² (图 4)。由此说明在所测试温度中, 25℃ 是新蚜虫病菌致死桃蚜的最适温度, 其次是 21℃, 均处于桃蚜种群增长的适温范围 5℃~29℃ 内^[12], 说明该菌具有很好的控蚜潜能。

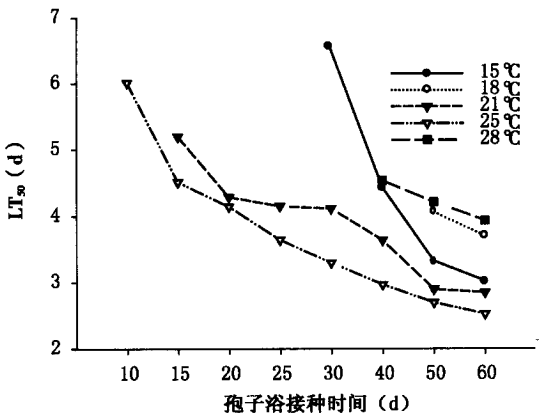


图 4 不同温度下桃蚜接种新蚜虫病菌的剂量效应 LD₅₀ 和时间效应 LT₅₀

3 结论与讨论

1). 试验结果表明, 接种后 1~2d 为新蚜虫病菌潜伏期, 接种后 3~4d 为对桃蚜的致死高峰期。15、18、21、25、28℃ 下接种 60 min 后桃蚜的 LT₅₀ 值分别为 3.0、3.7、2.8、2.5、3.9 d。这与桃蚜接种新蚜虫病菌后第 3 天进入死亡盛期的观察相符合。

2). 无论从接种剂量还是时间效应看, 新蚜虫病

菌均具有良好的杀蚜效果。当然, 仅仅基于这些结果还不够充分评价一种杀虫微生物的潜力。在田间大面积防治中, 不仅温度影响真菌杀虫剂的防治效果, 相对湿度、营养条件及产孢量等也影响其防治效果, 应结合环境因素进行实验才能对其开发利用前景作出充分客观的评价。

3). 温湿度是影响虫霉侵染力的重要因素, 在相对

湿度 85% 时, 15℃ 是新蚜虫疔霉的最适产孢温度, 不仅产孢量大, 而且不受光照的影响^[13], 而新蚜虫疔霉致死桃蚜的最适温度为 25℃, 说明温度是影响该菌侵入寄主体内并能发病的重要因素, 桃蚜的累积死亡率除与接种剂量有关外, 还受孢子萌发温度的影响。

参考文献

- [1] 刘彩玲, 冯明光. 安徽虫瘟霉对桃蚜的生物测定与时间-剂量效应分析[J]. 菌物系统, 1998, 17(4): 361~366.
- [2] 陈 涛. 有害生物的微生物防治原理和技术[M]. 武汉: 湖北科学技术出版社, 1995, 273~291.
- [3] Soper R S, Holbrook F R, Majchrowicz I, *et al.* Production of Entomophthora resting spores for biological control of aphids[J]. Life Sciences and Agriculture Experiment Station Technical Bulletin, 1975, 76:1-15.
- [4] 冯明光, 徐均换, 许 谦, 等. 飞虱虫疔霉和新蚜虫疔霉对桃蚜的毒力比较[J]. 浙江农业大学学报, 1999, 25(3): 225~228.
- [5] 李增智. 中国真菌志: 第十三卷(虫霉目)[M]. 北京: 科学出版社, 2000.
- [6] 刘彩玲, 冯明光. 不同温湿度组合对安徽虫瘟霉诱发桃蚜病害的影响[J]. 昆虫学报, 2000, 43(4): 380~387.
- [7] Feng M G, Liu C L, Xu J H, *et al.* Modeling and biological implication of time-dose-mortality data for the entomophthorean fungus, *Zoophthora anhuiensis*, on the green peach aphid *Myzus persicae*[J]. J Invertebr Pathol, 1998, 72: 246-251.
- [8] 刘彩玲, 冯明光. 初始接种量对安徽虫瘟霉液体培养下菌丝生物量的影响[J]. 浙江农业大学学报, 1999, 25: 229~232.
- [9] Adams J B, Van Emden H F. The biological properties of aphids and their host plant relationships[A]. Van Emden H F. Aphid Technology[C]. London: Academic press, 1972, 47-104.
- [10] Finney D J. Probit analysis, 3rd ed[M]. London: Cambridge University Press, 1980, 333.
- [11] 卢纹岱. SPSS for Windows 统计分析(第 2 版)[M]. 北京: 电子工业出版社, 2002.
- [12] 刘树生. 温度对桃蚜和萝卜蚜种群增长的影响[J]. 昆虫学报, 1991, 34(2): 189~366.
- [13] 桂富荣, 李正跃, 陈 斌等. 温度与光照对新蚜虫疔霉产孢格局的影响[J]. 华中农业大学学报, 2005, 24(2): 154~156.