

两种拟青霉菌提取物对菜蚜的控制作用

徐伟松^{1,2}, 钟国华¹, 李畅方², 罗建军¹, 胡美英^{1*}

(1. 华南农业大学昆虫毒理研究室, 生物防治教育部工程研究中心, 广州 510642;

2. 广东省植物保护总站, 广州 510500)

摘要 浸叶法毒力测定结果表明, 淡紫拟青霉(*Paecilomyces lilacinus*)菌株 MCWA18 和拟青霉(*Paecilomyces* sp.) 菌株 X1 甲醇萃取物对萝卜蚜无翅成蚜 48 h 后 LC_{50} 分别为 0.343 5 mg/mL 和 0.830 9 mg/mL。网室盆栽试验, 菌株 MCWA18 和 X1 甲醇萃取物 2.5 mg/mL 处理 7 d 后对菜蚜的防治效果分别为 92.24% 和 87.06%, 田间小区试验处理后 7 d, 防治效果分别为 81.82% 和 81.70%, 相当于 1.3% 鱼藤氰乳油 500 倍的防效。

关键词 拟青霉; 代谢产物; 杀虫活性; 萝卜蚜; 桃蚜

中图分类号 S 482.292

Laboratory and field evaluation on insecticidal activity of the metabolites from two *Paecilomyces* spp. against aphids

Xu Weisong^{1,2}, Zhong Guohua¹ Li Changfang², Luo Jianjun¹, Hu Meiyong¹

(1. Laboratory of Insect Toxicology, South China Agricultural University, Research Centre of Biological Control, Ministry of Education, Guangzhou 510642, China;

2. General Station of Plant Protection of Guangdong Province, Guangzhou 510500, China)

Abstract Studies of biological activity indicated that methanol partitions from the extracts of *Paecilomyces lilacinus* MCWA18 and *Paecilomyces* sp. X1 strain had high activity against wingless adult of *Lipaphis erysimi* and the values of LC_{50} were 0.343 5 mg/mL and 0.830 9 mg/mL by leaf-dipping treatment for 48 h, respectively. The results showed that both of the extracts from *P. lilacinus* MCWA18 and *Paecilomyces* sp. X1 could well control aphids by spraying at the concentration of 2.5 mg/mL and the control efficacy was 92.24% and 87.06% in pot trials and 81.82%, 81.70% in field trials after treatment for 7 d, respectively.

Key words paecilomyces; metabolites; insecticidal activity; *Lipaphis erysimi*; *Myzus persicae*

真菌以其特殊的营养方式、独特的入侵方式和可行的宿存机制在害虫综合治理中表现出强大的生命力, 近年来由昆虫病原真菌开发微生物农药的研究日益受到重视。淡紫拟青霉(*Paecilomyces lilacinus*)是一种重要的生防真菌, 可寄生于蝉、蔗根象甲、荔枝蝽等害虫和病原线虫^[1], 但其代谢产物的杀虫活性和实际防治效果较少研究。本文在前期研究基础上^[2], 用多种方法测定了两种拟青霉甲醇提取物活性馏分对菜蚜的毒杀活性, 并进行了防治菜蚜的盆栽和小区试验, 为其在害虫防治上的应用提供基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试淡紫拟青霉(*Paecilomyces lilacinus*)菌株 MCWA18 由华南农业大学植物线虫研究室提供, 拟青霉 X1 菌株(*Paecilomyces* sp. X1 strain)为作者从华南农业大学教学农场罹病蚜虫虫体上分离得到。采用液液分离法分别对两种拟青霉的甲醇粗提取物进行萃取分离, 浓缩活性层得到目标菌株代谢产物的甲醇萃取物, 详细方法见参考文献^[2]。

室内毒杀活性测定供试昆虫为萝卜蚜 [*Lipaphis erysimi* (Kaltenbach)], 盆栽和田间试验

供试昆虫菜蚜是萝卜蚜和桃蚜(*Myzus persicae* Sulzer)混合种群(以萝卜蚜为主)。参比药剂为1.3%鱼藤氰乳油,广东德庆县曲江植保化工厂生产。

1.2 毒杀活性测定

1.2.1 载玻片法

采用FAO推荐的载玻片法,在载玻片(7.5 cm×2.5 cm)的一端粘上双面胶布,用毛笔挑选整齐一致的无翅成蚜30~50头,小心地把蚜虫背部粘在胶布上,并注意使蚜虫个体间保持合适的距离。把待测物用少量丙酮溶解,加清水稀释配制成5 mg/mL供试浓度(丙酮体积少于10%),将载玻片上粘有蚜虫的一端在待测药液中浸2 s即取出,用吸水纸将药液吸干,CK浸对照溶剂(与溶解待测物相同体积比例的丙酮清水溶液)。每处理设3个重复,每重复30头以上试虫。处理后24、48 h在解剖镜下检查试虫存活情况,以昆虫针轻轻接触试虫足和触角,无反应者判断为死亡试虫,把死虫移出培养皿,统计余下的活虫数量,计算死亡率和校正死亡率。

1.2.2 药膜法

取1.0 mL待测药液倒入长10.0 cm,直径2.0 cm的平底圆形试管中,倾斜旋转试管,让药液均匀涂布在试管内壁上,CK用对照溶剂,直立向上在室温下晾干,移入合适的试虫并让其在试管内自由爬行4 h,然后放入一小片干净的新鲜芥蓝叶片饲喂,试管开口端用细孔纱布封口,防止试虫逃逸。其他同1.2.1。

1.2.3 点滴法

挑选整齐一致的蚜虫接入培养皿中,在长嘴滴管中穿一根细的吸水棉丝线,下端露出1~2 mm,用滴管吸取少量待测药液,然后将棉线轻轻接触试虫背部,使试虫身体湿润即可,CK用对照溶剂。余同1.2.1。

1.2.4 浸叶法

参考文献方法^[3],把待测物用少量丙酮溶解,加清水稀释成一定浓度(丙酮体积少于10%),选取发育基本一致的试虫,连同叶片一起在药液浸5 s,CK浸溶剂(清水加少量丙酮)。取出后用吸水纸吸去多余药液,待室温下晾干后放入直径9 cm的培养皿

(垫有滤纸,加蒸馏水保湿),置于养虫室内饲养。处理后24、48 h检查试虫死亡情况,以Abbott公式计算死亡率和校正死亡率,并以校正死亡率的几率值为Y值,浓度对数为X值,采用最小二乘法求出毒力回归方程,计算出相关系数 r 、 LC_{50} 和 LC_{50} 的95%置信区间。

1.3 盆栽试验

参考文献方法^[2],以花盆(口径25 cm,高20 cm)培育芥蓝菜苗,统一摆放在网室内,待菜蚜(萝卜蚜与桃蚜混合种群,以萝卜蚜为主)繁殖到一定虫口密度时,将甲醇萃取物配制成水溶液,以医用手持喷雾器按常量均匀喷雾,喷至药液将要成线滴落为准,对照喷清水,每处理10个重复,每重复3盆芥蓝菜苗,处理后1、3、7 d调查菜苗存活虫数,按Abbott公式计算虫口减退率和防治效果。试验期间阴天无雨,日平均温度16~24℃,相对湿度78%~90%。

1.4 田间小区试验

试验地点为华南农业大学昆虫毒理研究室试验菜地。种植芥蓝30 d后,接入菜蚜并待其定殖稳定后进行试验。每处理3个小区(重复),每小区面积20~30 m²,小区随机排列。施药前调查每株菜苗菜蚜虫口数。待测药液配制同上,以医用手持喷雾器均匀喷雾处理,喷雾量按750 L/hm²计,对照喷清水。处理后1、3、7 d调查菜苗存活虫数,按Abbott公式计算虫口减退率和防治效果。试验期间阴天,药后2 d小雨,其他时间无雨,日平均温度15~22℃,相对湿度80%~90%。

2 结果与分析

2.1 两种拟青霉甲醇萃取物对萝卜蚜的毒杀活性

供试拟青霉甲醇萃取物对萝卜蚜无翅成蚜的毒杀活性测定结果见表1。淡紫拟青霉菌株MC-WA18和拟青霉菌株X1甲醇萃取物以5.0 mg/mL处理后48 h,载玻片法试验中试虫校正死亡率分别为71.27%和80.60%,药膜法处理分别为69.66%和73.80%,点滴法处理分别为79.54%和76.98%,3种处理方法结果相似,初步表明供试两种拟青霉甲醇萃取物对萝卜蚜均具有较高而又稳定的毒杀活性。

表 1 两种拟青霉甲醇萃取物对萝卜蚜的室内毒杀活性¹⁾

方法	供试样品	用量 /mg·mL ⁻¹	处理后 24 h		处理后 48 h	
			死亡率±SE/%	校正死亡率/%	死亡率±SE/%	校正死亡率/%
载玻片法	<i>Paecilomyces</i> sp. X1 甲醇萃取物	5	70.13±2.91	67.61	83.12±2.96	80.60
	<i>P. lilacinus</i> MCWA18 甲醇萃取	5	63.75±3.82	60.69	75.00±1.67	71.27
	CK	0	7.79±0.10	—	12.99±3.37	—
药膜法	<i>Paecilomyces</i> sp. X1 甲醇萃取物	5	45.33±2.02	41.72	77.33±3.18	73.80
	<i>P. lilacinus</i> MCWA18 甲醇萃取	5	43.75±1.73	40.04	73.75±4.33	69.66
	CK	0	6.19±1.45	—	13.47±3.61	—
点滴法	<i>Paecilomyces</i> sp. X1 甲醇萃取物	5	20.00±3.82	18.91	77.50±1.20	76.98
	<i>P. lilacinus</i> MCWA18 甲醇萃取	5	24.17±3.63	23.13	80.00±2.50	79.54
	CK	0	1.35±0.99	—	2.24±0.69	—

1) 数据为 3 个重复平均值。

为了更好地研究在接近田间实际条件时的防治效果,进一步采用浸叶法测定了两种供试拟青霉甲醇萃取物对萝卜蚜无翅成蚜的毒力,结果见表 2。处理后 24 h,菌株 MCWA18 和菌株 X1 甲醇萃取物对试虫的 LC₅₀ 分别为 0.643 6 mg/mL

和 0.477 8 mg/mL;处理后 48 h LC₅₀ 分别为 0.343 5 mg/mL和 0.830 9 mg/mL,毒力回归方程相关系数 *r* 为 0.954 0~0.992 6。说明供试两种拟青霉甲醇萃取物对萝卜蚜具有较高的毒杀活性。

表 2 浸叶法测定两种拟青霉甲醇萃取物对萝卜蚜毒力结果

供试样品 ²⁾	处理时间/h	毒力回归方程 (y=)	相关系数 (r)	LC ₅₀ (95%置信限) / mg·mL ⁻¹
<i>Paecilomyces</i> sp. X1 甲醇萃取物	24	5.333 0+1.038 1 <i>x</i>	0.954 0	0.477 8(0.471 1~0.484 6)
	48	5.130 4+1.621 0 <i>x</i>	0.958 8	0.830 9(0.825 5~0.836 4)
<i>P. lilacinus</i> MCWA18 甲醇萃取物	24	5.274 1+1.432 3 <i>x</i>	0.992 6	0.643 6(0.638 6~0.648 6)
	48	5.565 8+1.219 2 <i>x</i>	0.978 8	0.343 5(0.340 2~0.346 7)

2.2 网室盆栽试验结果

两种拟青霉甲醇萃取物防治菜蚜的盆栽试验结果见表 3。处理后 7 d,MCWA18 菌株甲醇萃取物 2.50 mg/mL和 1.25 mg/mL、X1 菌株甲醇萃取物 2.50 mg/mL和 1.3%鱼藤氰乳油 500 倍(有效成分用

量 0.026 mg/mL,制剂用量 2.00 mg/mL)处理的防治效果分别为 92.24%、62.42%、87.06%和83.37%,MCWA18 甲醇萃取物 2.50 mg/mL 对菜蚜的防治效果显著优于鱼藤氰 500 倍的防效,X1 菌株甲醇萃取物 2.50 mg/mL 处理则与后者差异不显著。

表 3 两种拟青霉甲醇萃取物对菜蚜网室盆栽试验的防治效果¹⁾

供试样品 ²⁾	用量 /mg·mL ⁻¹	处理前	处理后 1 d		处理后 3 d		处理后 7 d	
		虫口数 /头	虫口减退 率 / %	防治效果 ±SE/ %	虫口减退 率 / %	防治效果 ±SE/ %	虫口减退 率 / %	防治效果 ±SE/ %
<i>Paecilomyces</i> sp. X1	1.25	27.5	37.45	(38.21±5.67)c	46.55	(41.72±6.63)d	64.73	(62.42±5.79)c
	2.50	32.1	67.60	(67.99±4.59)a	82.55	(80.98±3.54)b	87.85	(87.06±1.98)b
<i>P. lilacinus</i> MCWA18	2.50	30.2	53.31	(53.88±4.87)b	86.75	(85.56±3.79)a	92.72	(92.24±3.75)a
1.3%鱼藤氰 EC	500 ³⁾	26.9	49.07	(49.69±6.31)b	69.14	(66.36±4.26)c	84.39	(83.37±3.06)b
CK(清水)	0	32.6	-1.23	—	8.28	—	6.13	—

1) 10 个重复平均值;防效后面字母相同者表示经 DMRT 法检验差异不显著(*p*=0.05); 2) 拟青霉样品为甲醇萃取物; 3) 为稀释倍数。

2.3 田间小区试验结果

两种拟青霉甲醇萃取物防治菜蚜的田间小区试验结果见表 4。处理后 7 d 内各处理在田间小区条件下对菜蚜有较好防效。处理后 1 d,MCWA18 菌株甲醇萃取物 2.5、25 mg/mL 以及 X1 菌株甲醇萃取物 2.5 mg/mL 处理的防治效果分别为 56.21%、41.42%和 54.13%,处理后 3 d,防治效果分别提高

到 81.32%、69.38%和 82.41%,处理后7 d防治效果分别仍保持为 81.82%、73.01%和81.70%,参比药剂 1.3%鱼藤氰乳油 500 倍处理后 1、3、7 d 的防治效果分别为 67.22%、83.81%和78.55%。DMRT 统计表明,处理后 1 d,两种拟青霉甲醇萃取物 3 种处理的防治效果均显著低于 1.3%鱼藤氰乳油 500 倍,但处理后 3 d,MCWA18 菌株甲醇萃取物 2.5 mg/mL 和 X1

菌株甲醇萃取物 2.5 mg/mL 处理的防治效果均与 1.3%鱼藤氰乳油 500 倍处理效果差异不显著。

表 4 两种拟青霉甲醇萃取物对菜蚜小区试验的防治效果¹⁾

供试样品 ²⁾	用量 /mg·mL ⁻¹	处理前	处理后 1 d		处理后 3 d		处理后 7 d	
		虫口数 / 头	虫口减退 率 / %	防治效果 ±SE/ %	虫口减退 率 / %	防治效果 ±SE/ %	虫口减退 率 / %	防治效果±SE / %
<i>Paecilomyces</i> sp. X1	1.25	182.9	42.37	(41.42±3.84)c	70.16	(69.38±3.07)b	69.93	(73.01±1.06)b
	2.50	192.1	54.88	(54.13±4.76)b	82.86	(82.41±7.90)a	79.61	(81.70±3.99)a
<i>P. lilacinus</i> MCWA18	2.50	162.5	56.92	(56.21±3.14)b	81.79	(81.32±2.32)a	79.74	(81.82±4.02)a
1.3%鱼藤氰 EC	500 ³⁾	179.6	67.75	(67.22±0.77)a	84.22	(83.81±1.51)a	76.10	(78.55±2.22)ab
CK(清水)	0	179.2	1.63	—	2.56	—	—11.40	—

1) 10 个重复平均值; 防效后面字母相同者表示经 DMRT 法检验差异不显著($p=0.05$); 2) 两种拟青霉样品为甲醇萃取物; 3) 为稀释倍数。

3 讨论

真菌毒素是真菌的二次代谢物,其种类繁多,性质稳定,结构相对简单,作用方式多样,生产方便,在害虫防治上具有广阔的应用前景^[4]。大量研究表明,许多拟青霉真菌在生长发育和侵染寄主的过程中都会产生多种具有生物活性的次生化合物^[5-7]。本文研究表明,淡紫拟青霉菌株 MCWA18 及从罹病蚜虫虫体上分离得到的拟青霉 X1 菌株的甲醇萃取物对蚜虫具有较高的室内杀虫活性以及盆栽和田间小区实际控制效果,而且盆栽效果和田间小区效果相似,说明效果稳定,结果可信,预示其有进一步深入研究的价值。此外,本文在筛选过程中采用了包括载玻片法、药膜法、点滴法和浸叶法等多种试验方法均证明供试菌株萃取物具有较高的室内杀虫活性,但前三者的研究方法侧重于揭示其触杀活性,而浸叶法则包括了触杀、胃毒等多种作用方式,也就是说,浸叶法得出的 LC₅₀ 是多种方式的综合作用效果,具体作用方式、活性物质种类、作用机制等有待深入研究。

参考文献

[1] CHRISTOS R, STEPHAN R, SEBASTIAN K, et al. Interactions of *Paecilomyces lilacinus* strain 251 with the mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*: Implications for *Meloidogyne incognita* control on tomato[J]. Biocontrol Science & Technology, 2006, 16(9): 981-986.

[2] 徐伟松, 胡美英, 钟国华, 等. 几种拟青霉代谢产物对蚜虫生物活性的研究[J]. 广东农业科学, 2003(5): 45-48.

[3] 慕立义. 植物化学保护研究方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1994: 1-248.

[4] 徐伟松, 胡美英, 钟国华. 真菌杀虫毒素的研究[J]. 云南农业大学学报, 2005, 20(3): 339-342.

[5] 戴美学, 祖爱民, 王青. G-P 复合生物杀虫剂防治麦蚜和菜蚜的研究[J]. 中国生物防治, 1997, 13(4): 173-175.

[6] FRANCES R, PHILIP F, HUGH F. Rationale for the use of microbial pesticides[G]// Chapman R F. Insect viruses and pest management. John Woley & Sons Ltd, 1998: 1-6.

[7] ALAMGIR K, KEITH W, HELENA N. Testing the nematophagous biological control strain *Paecilomyces lilacinus* 251 for paecilotoxin production [J]. FEMS Microbiology Letters, 2003, 227(1): 107-111.