



梁超鹏, 梁洁容, 何俊琅, 等. 金龟子绿僵菌生物学特性及其对草地贪夜蛾的侵染[J]. 江西农业大学学报, 2022, 44(2): 386–392.

LIANG C P, LIANG J R, HE J L, et al. Biological characteristics of *Metarhizium anisopliae* and its infection to *Spodoptera frugiperda* [J]. Acta agriculturae universitatis Jiangxiensis, 2022, 44(2): 386–392.

# 金龟子绿僵菌生物学特性 及其对草地贪夜蛾的侵染

梁超鹏, 梁洁容, 何俊琅, 程东美\*

(仲恺农业工程学院 资源与环境学院, 广东 广州 510225)

**摘要:**【目的】探究金龟子绿僵菌(*Metarhizium anisopliae*, ZKJGL)生长发育所需要的营养条件以及对草地贪夜蛾(*Spodoptera frugiperda*)幼虫的侵染力, 为草地贪夜蛾生物防治研究以及生防菌剂的开发提供参考。【方法】室内测定温度、光周期、pH以及氮源、碳源对金龟子绿僵菌菌株ZKJGL菌丝生长和产孢的影响, 并测定其对草地贪夜蛾2龄幼虫的活性。【结果】金龟子绿僵菌ZKJGL菌丝生长和产孢的适宜温度为20~25℃、pH=7、全黑暗条件, 对碳源和氮源要求不高, 麦芽糖、酵母膏或蛋白胨的利用率较好。孢子浓度为 $5 \times 10^8$  cfu/mL的金龟子绿僵菌ZKJGL菌株侵染草地贪夜蛾后累计死亡率达77.78%,  $LC_{50}$ 为 $4.406 \times 10^6$  cfu/mL,  $LT_{50}$ 少于4 d。【结论】金龟子绿僵菌ZKJGL易于培养, 对营养条件、光照要求不高, 对草地贪夜蛾的幼虫具有较强的致病力, 可作为优良菌株进一步研发生物农药应用于防治草地贪夜蛾。

**关键词:** 金龟子绿僵菌; 生物学特性; 草地贪夜蛾; 毒力测定

中图分类号: S476 文献标志码: A 文章编号: 1000-2286(2022)02-0386-07

## Biological Characteristics of *Metarhizium anisopliae* and Its Infection to *Spodoptera frugiperda*

LIANG Chaopeng, LIANG Jierong, HE Junlang, CHENG Dongmei\*

(School of Resources and Environment, Zhongkai Academy of Agricultural Engineering, Guangzhou, 510225)

**Abstract:** [Objective] This study aims to explore the nutritional conditions required for the growth and development of *Metarhizium anisopliae* (ZKJGL) and its infectivity to *Spodoptera frugiperda*, thus providing reference for the research on biological control of *S. frugiperda* and the development of biocontrol agents. [Method] The effects of temperature, photoperiod, pH, nitrogen source and carbon source on mycelial growth and sporulation of *M. anisopliae* ZKJGL were determined in laboratory, and its activity on the second instar larvae of *S. frugiperda* was determined. [Results] The results showed that the suitable temperature for mycelial growth and sporulation of *M. anisopliae* ZKJGL was 20–25℃, pH=7, total darkness conditions, low requirements for carbon

收稿日期: 2021-12-11 修回日期: 2022-02-10

基金项目: 广东省重点领域研发计划项目(2020B020224002)

Project supported by the Guangdong Province Research and Development Plan Projects in Key Areas(2020B020224002)

作者简介: 梁超鹏, orcid.org/0000-0002-6516-8133, 2020146750@qq.com; \*通信作者: 程东美, 副教授, 博士, 主要从事植物保护研究, orcid.org/0000-0002-4638-0884, zkcdm@163.com。

and nitrogen sources and effective utilization of maltose, yeast extract or peptone. The cumulative mortality rate was 77.78%,  $LC_{50}$  was  $4.406 \times 10^6$  cfu/mL,  $LT_{50}$  was less than 4 d after infection of *Metarhizium anisopliae* ZKJGL strain with spore concentration of  $5 \times 10^8$  cfu/mL. [Conclusion] *M. anisopliae* ZKJGL was easy to be cultured, it had low requirements on nutrition and light conditions, and it had strong pathogenicity to *S. frugiperda*. It can be used as an excellent strain for further research and development as a biological pesticide to control *S. frugiperda*.

**Keywords:** *Metarhizium anisopliae*; biological characteristics; *Spodoptera frugiperda*; toxicity determination

【研究意义】草地贪夜蛾(*Spodoptera frugiperda*),鳞翅目夜蛾科灰翅夜蛾属,原产于美洲热带和亚热带地区<sup>[1]</sup>,具有繁殖能力强、环境适生性广、迁飞性、暴食性、寄主广等特点,是全球预警的跨国界迁飞性农业重大害虫。2016年1月首次在他国尼日利亚发现,现扩散到110个国家,危害多种作物<sup>[2]</sup>,严重威胁被侵入国的粮食生产和生态安全。2019年首次入侵我国,同年在全国26个省份发现,在华南、西南等地定殖;2020年在全国27个省(市、区)见虫,实际发生面积达134.6万 $hm^2$ ;2021年7月,全国19省份868个县市发生草地贪夜蛾74.2万 $hm^2$ ,发生面积较去年同期增加19%。草地贪夜蛾的防治成为保障国家粮食和农业生产安全的迫切需求。金龟子绿僵菌是重要虫生真菌,寄主包括8个目30个科200多种昆虫<sup>[6]</sup>,广泛用于防治蔬菜、花卉、果树及农作物上的多种害虫,取得了良好的经济效益和显著的生态效益。【前人研究进展】为有效控制草地贪夜蛾,我国制定了包括抗虫品种、种子处理、推-拉策略、诱杀和天敌利用、科学用药等综合防治措施。药剂防治是当前生产中主要措施之一,我国在产品筛选和登记中取得了较快的发展,已有14个农药产品获批用于防治草地贪夜蛾,其中包含苏云金杆菌(*Bacillus thuringiensis*)<sup>[3]</sup>、球孢白僵菌(*Beauveria bassiana*)<sup>[4]</sup>、金龟子绿僵菌(*Metarhizium anisopliae*)<sup>[5]</sup>、甘蓝夜蛾核型多角体病毒等10种微生物菌剂,氯虫苯甲酰胺、乙基多杀菌素、溴氰·噻虫嗪等3种化学农药,1种植物源农药(苦参·印楝素),微生物菌剂成为防治的主要产品类型。【本研究切入点】绿僵菌对草地贪夜蛾具有较强的致病性,在部分国家已登记为草地贪夜蛾防治药剂,入选我国农业农村部推荐的草地贪夜蛾应急防治用药推荐名单,目前只有2个产品获批登记用于草地贪夜蛾防治药剂,草地贪夜蛾的生物防治技术和生防制剂还有待完善。【拟解决的问题】本研究于广州市番禺区草地贪夜蛾幼虫僵虫上分离获得一株虫生真菌,经鉴定为金龟子绿僵菌,并研究其生物学特性和对草地贪夜蛾2龄幼虫的致病力,以期丰富绿僵菌资源,并筛选出适合草地贪夜蛾防治的高效菌株。

## 1 材料与方 法

### 1.1 供试菌株、虫源及饲养

金龟子绿僵菌菌株ZKJGL广州市番禺区草地贪夜蛾幼虫僵虫上分离,鉴定后于实验室保存。实验前将菌株接种于PDA固体培养基上,在 $(25 \pm 1)^\circ C$ 的培养箱中培养备用。

草地贪夜蛾幼虫由华南农业大学农药学系徐汉虹教授团队提供,在室内孵化幼虫后以人工饲料饲养至化蛹,待羽化产卵后作为实验室供试虫源。室内饲养条件为温度 $(28 \pm 1)^\circ C$ ,相对湿度70%~90%,光周期L/D=16 h/8 h。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 金龟子绿僵菌ZKJGL菌株生物学特性试验方法** 本试验设置5个处理(温度、pH、光周期、碳源、氮源),每处理重复3次。将各处理放入 $(25 \pm 1)^\circ C$ 培养箱(温度处理除外)培养,7 d后记录各处理菌落特征并测量其直径。往每个处理培养皿中加入0.05%吐温-80溶液,刮下培养基上的全部分生孢子,制成孢子悬浮液,经纱布过滤后,用血球计数板在生物显微镜下观察并测定每个处理的孢子数量。

**温度处理:**将ZKJGL菌饼接种于PDA培养基上后,将其放入5个不同温度的培养箱内(35, 30, 25, 20,  $15^\circ C$ ),每个温度处理重复3次。

**pH处理:**向灭菌后的PDA培养基滴入1滴1%农用链霉素,并用比色卡比对测定pH,按照测定的pH

用0.1 mol/L NaOH和0.1 mol/L HCl溶液分别将PDA培养基pH调节9个所需要的酸碱度(11、10、9、8、7、6、5、4、3),分别接入直径为5 mm菌饼于不同酸碱度培养基中央。

光周期处理:将ZKJGL菌饼接于PDA培养基上,放置于25℃、3种不同光周期的培养箱中(24 L:0 D、12 L:12 D和0 L:24 D)。

碳源处理:以察氏培养基( $\text{NaNO}_3$  2 g,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  1 g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5 g, KCl 0.5 g,  $\text{FeSO}_4$  0.01 g, 2% 琼脂粉, 蔗糖 30 g, 水 1 000 mL, pH 自然)为基础培养基,分别以等量麦芽糖、葡萄糖、棉籽糖、纤维素等4种材料作为供试碳源替换基础培养基中的蔗糖以及缺碳处理,配制成6种培养基,将ZKJGL菌饼分别接于6种不同碳源培养基上。

氮源处理:基础培养基为察氏培养基,分别以牛肉浸膏,硫酸铵,蛋白胨和酵母膏等4种材料作为供试氮源替换基础培养基中的硝酸钾以及缺氮处理,制成6种不同氮源类型的试验培养基,将ZKJGL菌饼分别接于6种不同氮源培养基上。

**1.2.2 金龟子绿僵菌 ZKJGL 对草地贪夜蛾的侵染** 将培养基表面分生孢子刮下制成6种浓度的孢子悬浮液( $1 \times 10^8$ ,  $5 \times 10^8$ ,  $5 \times 10^7$ ,  $1 \times 10^7$ ,  $5 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^6$  cfu/mL),以浸虫法<sup>[7]</sup>进行致病力测定。将大小一致、健康的草地贪夜蛾2龄幼虫在供试孢子悬浮液中浸渍5 s后取出,置于滤纸上吸取多余水分,移至6孔板以人工饲料按1.1方法正常饲养。将昆虫板放入25℃的培养箱内,光周期设为16 L:8 D,每处理重复3次,每重复20头虫。以灭菌含吐温-80溶液处理为对照组(CK)。每天定时观察并记录幼虫受侵染后的反应,将死亡幼虫移出,在 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 、L/D=16 h/8 h条件下保湿培养,根据虫体是否长出目的菌确定各虫的死亡原因。连续察看7 d,计算草地贪夜蛾2龄幼虫受ZKJGL菌株侵染后死亡情况。按数据处理及统计分析方法计算累计死亡率和累计校正死亡率<sup>[8]</sup>。

### 1.3 数据处理及统计分析方法

金龟子绿僵菌ZKJGL的生物学特性经Excel整理后,采用DPS 7.05统计软件统计各处理幼虫的累计死亡率和累计校正死亡率,利用LSD法对试验数据进行差异显著性分析。使用SPSS 26.0进行统计分析,利用Probit方法计算求回归方程、致死中时( $\text{LT}_{50}$ )、致死中浓度( $\text{LC}_{50}$ )及相关系数( $R$ )。

$$\text{累计死亡率} = \text{死亡总虫数} / \text{处理总虫数} \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{累计校正死亡率} = (\text{处理组累计死亡率} - \text{对照组累计死亡率}) / (1 - \text{对照组累计死亡率}) \times 100\% \quad (2)$$

## 2 结果与分析

### 2.1 金龟子绿僵菌 ZKJGL 生物学特性

**2.1.1 温度对菌株 ZKJGL 菌落生长和产孢量的影响** 该菌在15~35℃范围内均能生长和产孢,25~30℃是菌落生长的最适温度域,15℃生长缓慢。菌株在25℃时测得最高产孢量,其次为20℃,30℃和35℃时产孢量接近,15℃时产孢量最低。说明菌株ZKJGL生长和产孢的最适温度为25℃(表1)。

表1 温度对金龟子绿僵菌菌株 ZKJGL 菌落生长和产孢量的影响

Tab.1 Effect of temperature on colony growth and sporulation of *Metarhizium anisopliae* ZKJGL

| 温度/ $^\circ\text{C}$<br>Temperature | 菌落直径/mm<br>Colony diameter    | 产孢量/ $\times 10^6$ cfu $\cdot\text{mL}^{-1}$<br>Sporogenous amount |
|-------------------------------------|-------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| 15                                  | 1.03 $\pm$ 0.10 <sup>d</sup>  | 0.02 $\pm$ 0.01 <sup>e</sup>                                       |
| 20                                  | 6.55 $\pm$ 0.21 <sup>c</sup>  | 0.73 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>                                       |
| 25                                  | 12.25 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup> | 1.44 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>                                       |
| 30                                  | 12.82 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup> | 0.32 $\pm$ 0.08 <sup>c</sup>                                       |
| 35                                  | 8.98 $\pm$ 0.50 <sup>b</sup>  | 0.15 $\pm$ 0.03 <sup>c</sup>                                       |

纵列数据后字母相同者表示经多重比较差异不显著(LSD,  $P < 0.05$ )。

Those with the same letters after the column data indicate that there is no significant difference in multiple comparisons (LSD,  $P < 0.05$ ).

**2.1.2 PH对菌株ZKJGL菌落生长和产孢量的影响** 该菌在 pH5~11 范围内均能生长,在 6 和 7 时生长最好,菌落直径分别为 30.95 mm 和 30.55 mm,pH 在 11 和 3,不利于菌丝的生长。菌株在 pH 为 10 时产孢量最大,为  $8.47\times10^6$  cfu/mL;pH 为 4 时产孢量最低。由此得知,菌株 ZKJGL 菌落生长和产孢的最适 pH 为 6~7,pH 过高或过低都对菌株的生长不利(表 2)。

表 2 pH对金龟子绿僵菌菌株 ZKJGL 菌落生长和产孢量的影响  
Tab.2 Effect of pH on colony growth and sporulation of *Metarhizium anisopliae* ZKJGL

| pH | 菌落直径/mm<br>Colony diameter | 产孢量/ $\times10^6$ cfu·mL <sup>-1</sup><br>Sporogenous amount |
|----|----------------------------|--------------------------------------------------------------|
| 3  | 10.38±0.18 <sup>b</sup>    | 1.34±0.39 <sup>b</sup>                                       |
| 4  | 19.33±2.29 <sup>ab</sup>   | 1.07±0.50 <sup>b</sup>                                       |
| 5  | 27.28±0.13 <sup>a</sup>    | 1.68±0.45 <sup>ab</sup>                                      |
| 6  | 30.95±0.15 <sup>a</sup>    | 1.20±0.46 <sup>b</sup>                                       |
| 7  | 30.55±0.35 <sup>a</sup>    | 2.66±0.77 <sup>ab</sup>                                      |
| 8  | 27.55±0.25 <sup>a</sup>    | 1.42±0.46 <sup>ab</sup>                                      |
| 9  | 22.42±0.27 <sup>ab</sup>   | 1.81±0.36 <sup>ab</sup>                                      |
| 10 | 13.68±0.13 <sup>ab</sup>   | 8.47±5.80 <sup>a</sup>                                       |
| 11 | 7.25±0.15 <sup>b</sup>     | 0.86±0.36 <sup>ab</sup>                                      |

纵列数据后字母相同者表示经多重比较差异不显著(LSD, $P<0.05$ )。

Those with the same letters after the column data indicate that there is no significant difference in multiple comparisons (LSD, $P<0.05$ ).

**2.1.3 光周期对菌株ZKJGL菌落生长和产孢量的影响** 光周期对菌株 ZKJGL 菌落生长和产孢量影响较小(表 3)。在恒温培养箱中培养 7d 后,全光照、半光照和全黑暗条件下,菌落直径无明显差异;菌株在全黑暗条件下平均产孢量高于半光照和全光照,但从统计学角度来看,各处理之间无明显差异。由此得知,光周期对菌株 ZKJGL 的生长和产孢影响较小。

表 3 光周期对金龟子绿僵菌菌株 ZKJGL 菌落生长和产孢量的影响  
Tab.3 Effects of photoperiod on colony growth and sporulation of *Metarhizium anisopliae* ZKJGL

| 光周期<br>Photoperiod | 菌落直径/mm<br>Colony diameter | 产孢量/ $\times10^6$ cfu·mL <sup>-1</sup><br>Sporogenous amount |
|--------------------|----------------------------|--------------------------------------------------------------|
| 24 L:0 D           | 20.93±0.24 <sup>a</sup>    | 1.58±0.51 <sup>a</sup>                                       |
| 12 L:12 D          | 18.52±0.25 <sup>a</sup>    | 2.27±0.33 <sup>a</sup>                                       |
| 0 L:24 D           | 19.28±1.95 <sup>a</sup>    | 4.69±1.41 <sup>a</sup>                                       |

纵列数据后字母相同者表示经多重比较差异不显著(LSD, $P<0.05$ )。

Those with the same letters after the column data indicate that there is no significant difference in multiple comparisons (LSD, $P<0.05$ ).

**2.1.4 碳源对菌株ZKJGL菌落生长和产孢量的影响** 菌株 ZKJGL 在 6 种碳源的培养基上均能生长,以麦芽糖的利用率最高,培养 7 d 后菌落直径为 13.27 mm;葡萄糖、淀粉、蔗糖、纤维素、棉籽糖为碳源时,菌丝生长速度相近。菌株在 6 种碳源培养基上的产孢量无明显差异。说明菌株 ZKJGL 生长和产孢对碳源要求较低(表 4)。

**2.1.5 氮源对菌株ZKJGL菌落生长和产孢量的影响** 该菌在供试的 6 种氮源培养基上均能生长,其中,以硝酸钾、牛肉浸膏、酵母粉、蛋白胨的利用率较高,菌丝生长较为旺盛,培养 7 d 后菌落直径均大于 11 mm;以硫酸铵氮源的时生长最慢,培养 7 d 后菌落直径为 4.32 mm,低于对照和其他氮源的菌落直径。氮源对菌株的产孢量有影响,但差异不显著,以蛋白胨、酵母膏、硝酸钾为氮源的培养基上,产孢量在  $0.14\times10^6$  cfu/mL 以上,略高于硫酸铵和牛肉浸膏。由此得知,菌株 ZKJGL 培养对氮源要求不高,利用率较高的为蛋白胨、酵母膏(表 5)。



表 4 碳源对金龟子绿僵菌菌株 ZKJGL 菌落生长和产孢量的影响

Tab.4 Effects of carbon sources on colony growth and sporulation of *Metarhizium anisopliae* ZKJGL

| 碳源<br>Carbon source  | 菌落直径/mm<br>Colony diameter    | 产孢量/ $\times 10^6$ cfu $\cdot$ mL <sup>-1</sup><br>Sporogenous amount |
|----------------------|-------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| 麦芽糖 Maltose          | 13.27 $\pm$ 0.18 <sup>a</sup> | 0.51 $\pm$ 1.42 <sup>a</sup>                                          |
| 葡萄糖 Glucose          | 10.78 $\pm$ 0.17 <sup>b</sup> | 0.67 $\pm$ 1.05 <sup>a</sup>                                          |
| 蔗糖 Sucrose           | 10.73 $\pm$ 0.17 <sup>b</sup> | 0.41 $\pm$ 1.03 <sup>a</sup>                                          |
| 棉籽糖 Cottonseed sugar | 9.83 $\pm$ 0.89 <sup>b</sup>  | 0.47 $\pm$ 1.18 <sup>a</sup>                                          |
| 纤维素 Cellulose        | 10.23 $\pm$ 0.92 <sup>b</sup> | 0.29 $\pm$ 1.26 <sup>a</sup>                                          |
| 缺碳 Carbon deficiency | 9.88 $\pm$ 0.25 <sup>b</sup>  | 0.58 $\pm$ 0.90 <sup>a</sup>                                          |

纵列数据后字母相同者表示经多重比较差异不显著(LSD, $P<0.05$ )。

Those with the same letters after the column data indicate that there is no significant difference in multiple comparisons (LSD, $P<0.05$ ).

表 5 氮源对金龟子绿僵菌菌株 ZKJGL 菌落生长和产孢量的影响

Tab.5 Effects of nitrogen sources on colony growth and sporulation of *Metarhizium anisopliae* strain ZKJGL

| 氮源<br>Nitrogen source  | 菌落直径/mm<br>Colony diameter    | 产孢量/ $\times 10^6$ cfu $\cdot$ mL <sup>-1</sup><br>Sporogenous amount |
|------------------------|-------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| 硫酸铵 Ammonium sulfate   | 4.32 $\pm$ 0.17 <sup>c</sup>  | 0.04 $\pm$ 0.12 <sup>ab</sup>                                         |
| 硝酸钾 Potassium nitrate  | 11.43 $\pm$ 0.28 <sup>a</sup> | 0.14 $\pm$ 0.37 <sup>ab</sup>                                         |
| 牛肉浸膏 Beef extract      | 11.55 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup> | 0.04 $\pm$ 0.10 <sup>ab</sup>                                         |
| 酵母膏 Yeast extract      | 11.95 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup> | 0.15 $\pm$ 0.37 <sup>ab</sup>                                         |
| 蛋白胨 peptone            | 11.95 $\pm$ 0.59 <sup>a</sup> | 0.16 $\pm$ 0.72 <sup>a</sup>                                          |
| 缺氮 Nitrogen deficiency | 8.30 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>  | 0.01 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>                                          |

纵列数据后字母相同者表示经多重比较差异不显著(LSD, $P<0.05$ )。

Those with the same letters after the column data indicate that there is no significant difference in multiple comparisons (LSD, $P<0.05$ ).

2.2 金龟子绿僵菌 ZKJGL 对草地贪夜蛾的侵染效果

菌株 ZKJGL 孢子悬浮液处理草地贪夜蛾 2 龄幼虫,各浓度处理均有死亡情况,表明菌株对其具有一定的致病力。从图 1 和表 6 可见,试虫的死亡率随孢子悬浮液浓度的升高和处理时间的延长而增加。孢子悬浮液浓度为  $5\times 10^8$  cfu/mL 和  $1\times 10^8$  cfu/mL 时,幼虫的死亡率相近,处理后 1~7 d 均无明显差异,第 7 天的死亡率分别为 77.78% 和 74.07%,显著高于其他浓度。各浓度的杀虫效果在第 3 天出现较为明显差异,浓度在  $1\times 10^7$  cfu/mL 和  $5\times 10^6$  cfu/mL 的致死率明显低于 3 个高浓度处理,浓度为  $1\times 10^6$  cfu/mL 的处理致病性最弱,从处理后 4 d 开始,显著低于其他处理,第 7 天的累积死亡率仅为 40.74%。

从处理时间来看,孢子悬浮液的浓度为  $5\times 10^8$  cfu/mL 和  $1\times 10^8$  cfu/mL 的处理致死中时  $LT_{50}$  较短,分别为 3.925 d、4.295 d; $LT_{50}$  随着孢子悬浮液浓度的降低而相应的增大,浓度为  $5\times 10^7$  cfu/mL、 $1\times 10^7$  cfu/mL 和  $5\times 10^6$  cfu/mL 的  $LT_{50}$  均大于 5 d; $1\times 10^6$  cfu/mL 浓度处理的  $LT_{50}$  时间最长,为 7.294 d。处理 7 d 后,使用 Probit 模型,ZKJGL 菌株孢子悬浮液对草地贪夜蛾 2 龄幼虫的致病力回归方程  $PROBIT(p)=-2.576+0.388X$ , $LC_{50}$  为  $4.406\times 10^6$  cfu/mL。

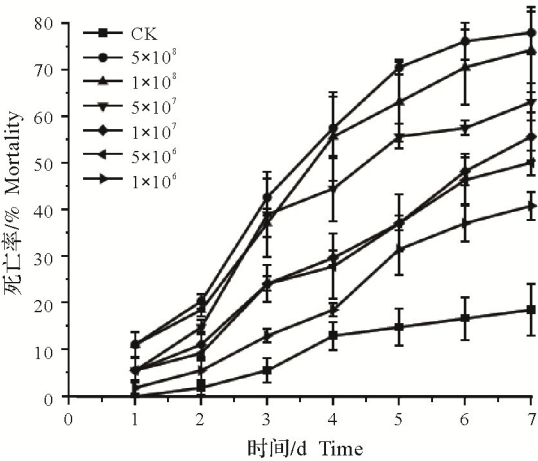


图 1 金龟子绿僵菌菌株 ZKJGL 孢子悬浮液对草地贪夜蛾 2 龄幼虫的致死率

Fig.1 Mortality rate of *Metarhizium anisopliae* ZKJGL spore suspension against 2nd instar larvae of *Spodoptera frugiperda*

表 6 金龟子绿僵菌菌株 ZKJGL 对草地贪夜蛾幼虫的活性  
Tab.6 Activity of *Metarhizium anisopliae* strain ZKJGL against *S. frugiperda* larvae

| 孢子浓度/(cfu·mL <sup>-1</sup> )<br>Spores<br>concentration | 累计死亡率/%<br>Cumulative<br>mortality | 累计校正死亡率/%<br>Cumulative corrected<br>mortality rate | 毒力回归方程<br>Toxicity regression<br>equation | LT <sub>50</sub> /d | 相关系数 R<br>Correlation<br>coefficient |
|---------------------------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------------------------|-------------------------------------------|---------------------|--------------------------------------|
| 5×10 <sup>8</sup>                                       | 77.78±4.54 <sup>a</sup>            | 72.73±3.57 <sup>a</sup>                             | Y=12.104X+2.379                           | 3.925               | 0.971                                |
| 1×10 <sup>8</sup>                                       | 74.07±9.20 <sup>ab</sup>           | 68.18±9.55 <sup>a</sup>                             | Y=11.375X+1.590                           | 4.295               | 0.976                                |
| 5×10 <sup>7</sup>                                       | 62.96±4.00 <sup>abc</sup>          | 54.54±2.83 <sup>ab</sup>                            | Y=9.788X+0.794                            | 5.072               | 0.959                                |
| 1×10 <sup>7</sup>                                       | 55.56±5.24 <sup>bcd</sup>          | 45.46±3.24 <sup>bc</sup>                            | Y=8.466X-3.704                            | 6.215               | 0.996                                |
| 5×10 <sup>6</sup>                                       | 50±2.62 <sup>cd</sup>              | 38.64±4.36 <sup>bc</sup>                            | Y=7.870X-2.909                            | 6.632               | 0.990                                |
| 1×10 <sup>6</sup>                                       | 40.74±3.02 <sup>d</sup>            | 27.27±6.46 <sup>c</sup>                             | Y=7.077X-7.143                            | 7.294               | 0.989                                |
| CK                                                      | 18.52±5.45 <sup>e</sup>            |                                                     |                                           |                     |                                      |

3 结论与讨论

金龟子绿僵菌在农作物病虫害防治中起着重要作用,已被成功地用作许多土壤害虫的潜在生物防治剂<sup>[9]</sup>。从国内外杀虫剂应用总量上看,至今生物杀虫剂所占比例仍然很低,大约为 1%~5%<sup>[10]</sup>,获得更多高致病力菌株,研究其生物学特性和发酵境况,并保持其高致病力是推动真菌杀虫剂发展的重要因素。为明确金龟子绿僵菌具体的生物学特性,黄鹏等<sup>[11]</sup>结合前人研究表明:金龟子绿僵菌 FM-03 菌株在温度为 25℃、光周期为 12 L:12 D、pH 为 7、营养生长条件碳源为乳糖、氮源为酵母膏时菌株有最好的生长量和产孢量。刘思雨<sup>[12]</sup>通过金龟子绿僵 MAXD170705 菌株在 SDAY 培养基上、于永浩等<sup>[13]</sup>通过金龟子绿僵菌 JC002 在 PDA 培养基的研究均发现温度为 25℃、pH 为 7 的生长量和生产孢量最好。侯颖等<sup>[8]</sup>研究发现金龟子绿僵菌 Ma121 在察氏琼脂培养基 Czapek 上,温度为 25~30℃、pH 为 7、光周期为 0 L:24 D 的培养条件下生长量和产孢量最好。孙家宝等<sup>[14]</sup>研究发现金龟子绿僵菌在 PPDA 培养基无光照条件下温度 25℃、pH 为 6~8 时生长量和产孢量最好。本试验结果发现,ZKJGL 菌株的最适培养环境条件的温度是 25℃、光周期为 0 L:24 D、pH 为 7,营养培养条件中碳源为麦芽糖、氮源为蛋白胨,这与黄鹏<sup>[11]</sup>、刘思雨<sup>[12]</sup>、于永浩<sup>[13]</sup>、侯颖<sup>[8]</sup>、孙家宝<sup>[14]</sup>等学者的研究成果有一定的差异,分析原因可能与菌株的地理分布和寄主来源不同,ZKJGL 菌株具有一定的生理差异所致。活性研究表明,菌株 ZKJGL 可以有效侵染草地贪夜蛾 2 龄幼虫,具有较强的致死作用;在恒温条件下培养 4~5 d,死虫虫体表面有绿色分生孢子产生并逐渐长满虫体;试虫的累计死亡率随处理的孢子悬液浓度的增加而升高,处理浓度为 5×10<sup>8</sup> cfu/mL 时试虫的死亡率最大。

昆虫病原真菌是指能够直接侵入健康昆虫体内、迅速增殖和导致昆虫死亡的真菌类群<sup>[15]</sup>。因其对环境友好,具有害虫不易产生抗性、易流行,被认为是最有可能替代化学农药的下一代新型生物农药,在草地贪夜蛾防治中具有很大的应用潜力<sup>[16-17]</sup>。研究金龟子绿僵菌的生物学特性及其对草地贪夜蛾的侵染力,为虫生真菌杀虫剂的生产以及防治草地贪夜蛾提供参考,最终目标是能够将高效菌株应用于农业害虫防治。本研究初步明确了金龟子绿僵菌菌株 ZKJGL 对草地贪夜蛾的致病力,对菌株发酵培养及田间防效等还需要进一步研究。

致谢:广东省现代农业产业共性关键技术研发创新团队项目(2021KJ133)同时对本研究给予了资助,谨致谢意!

参考文献 References:

[1] 王建,杨小雪,王丹丹,等.对草地贪夜蛾高毒力的苏云金芽胞杆菌菌株筛选与杀虫活性研究[J].中国生物防治学报,2021,37(4):660-670.  
WANG J, YANG X X, WANG D D, et al. Screening and insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* strains with high toxicity against *Spodoptera frugiperda* [J]. Chinese journal of biological control, 2021, 37(4): 660-670.

[2] 占军平,张安明,邓方坤,等.甘蓝夜蛾核型多角体病毒悬浮剂防治草地贪夜蛾的应用与推广[J].中国生物防治学报,2020,36(6):872-873.  
ZHAN J P, ZHANG A M, DENG F K, et al. Application and promotion of mamestra brassicae unclear polyhedrosis virus suspension for control of *Spodoptera frugiperda* [J]. Chinese journal of biological control, 2020, 36(6): 872-873.

[3] 李菊,杨莲,赵艳梅,等.玉溪市红塔区 8 种药剂防治玉米草地贪夜蛾筛选试验[J].农业科技通讯,2021(8):79-80.

- LI J, YANG L, ZHAO Y M, et al. Screening test of 8 fungicides against *Spodoptera frugiperda* in maize in Hongta District of Yuxi City[J]. *Bulletin of agricultural science and technology*, 2021(8): 79-80.
- [4] 雷妍圆, 章玉苹, 薛志洪, 等. 一株球孢白僵菌的分离鉴定及其对草地贪夜蛾的致病性[J]. *环境昆虫学报*, 2020, 42(3): 593-601.
- LEI Y Y, ZHANG Y P, XUE Z H, et al. Isolation and identification of a *Beauveria bassiana* isolate and its pathogenicity to *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)[J]. *Journal of environmental entomology*, 2020, 42(3): 593-601.
- [5] 杨振荣, 柴克蓉, 梅钢柱, 等. 金龟子绿僵菌 CQMa421 与其他药剂混用防治草地贪夜蛾田间试验[J]. *湖北植保*, 2021(3): 17-19.
- YANG Z R, CHAI K R, MEI G Z, et al. Field trial of *Metarhizium anisopliae* CQMa421 mixed with other fungicides against fall armyworm[J]. *Hubei plant protection*, 2021(3): 17-19.
- [6] 裘晖, 吴振强, 梁世中. 金龟子绿僵菌及其杀虫机理[J]. *农药*, 2004(8): 342-345.
- QIU H, WU Z Q, LIANG S Z. *Metarhizium anisopliae* and its mechanism of killing insects[J]. *Agrochemicals*, 2004(8): 342-345.
- [7] 中华人民共和国农业部. 农药室内生物测定试验准则 杀虫剂 第6部分: 杀虫活性试验浸虫法: NY/T 1154.6—2006[S]. 北京: 中国农业出版社, 2006.
- Ministry of Agriculture of the People's Republic of China. Guidelines for laboratory bioassay of pesticides, insecticides part 6: insecticidal activity test, immersion method: NY/T 1154.6—2006[S]. Beijing: China Agricultural Press, 2006.
- [8] 侯颖, 夏彦飞, 徐建强, 等. 一株绿僵菌的鉴定、生物学特性及对东亚飞蝗的致病力[J]. *中国生物防治学报*, 2015, 31(3): 333-339.
- HOU Y, XIA Y F, XU J Q, et al. Identification and biological characteristics of a *Metarhizium* strain and its virulence against oriental migratory locust[J]. *Chinese journal of biological control*, 2015, 31(3): 333-339.
- [9] Ramanujam B. Biological control of white grubs, *Holotrichia serrata* (Fabricius) in sugarcane by two species of entomopathogenic fungi, *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*[J]. *International journal of tropical insect science*, 2020, 41(1): 671-680.
- [10] 农向群, 张英财, 王以燕. 国内外杀虫绿僵菌制剂的登记现状与剂型技术进展[J]. *植物保护学报*, 2015, 42(5): 702-714.
- NONG X Q, ZHANG Y C, WANG Y Y. Advances in registration and formulation techniques of *Metarhizium* biological insecticides [J]. *Journal of plant protection*, 2015, 42(5): 702-714.
- [11] 黄鹏, 姚锦爱, 余德亿. 金龟子绿僵菌 FM-03 生物学特性及其对柑橘粉蚧的侵染[J]. *中国生物防治学报*, 2018, 34(6): 858-865.
- HUANG P, YAO J A, YU D Y. Biological characteristics of *Metarhizium anisopliae* FM-03 and its infection against planococcus citri[J]. *Chinese journal of biological control*, 2018, 34(6): 858-865.
- [12] 刘思雨, 薛锐, 肖关丽, 等. 一株小阔胫绒金龟幼虫绿僵菌的分离鉴定及培养条件的优化研究[J]. *应用昆虫学报*, 2019, 56(6): 1410-1421.
- LIU S Y, XUE R, XIAO G L, et al. Use of an orthogonal rotation combination design to identify optimal culture conditions for a *Metarhizium* sp. isolated from *Maladera ovatula* (Fairmaire) larvae[J]. *Chinese journal of applied entomology*, 2019, 56(6): 1410-1421.
- [13] 于永浩, 龙秀珍, 曾宪儒, 等. 蔗根土天牛高致病力绿僵菌菌株的生物学特性研究[J]. *应用昆虫学报*, 2014, 51(1): 73-79.
- YU Y H, LONG X Z, ZENG X R, et al. Biological characteristics of a strain of *Metarhizium* that is highly pathogenic to *Dorystenes granulosus*[J]. *Application of entomological journal*, 2014, 51(1): 73-79.
- [14] 孙家宝, 邓勋, 宋小双. 金龟子绿僵菌的生物学特性及毒力测定[J]. *中国林副特产*, 2007(3): 17-19.
- SUN J B, DENG X, SONG X S. Biological property and virulence measurement of *Metarhizium anisopliae*[J]. *Forest by-product and speciality in China*, 2007(3): 17-19.
- [15] 郑亚强, 胡惠芬, 付玉飞, 等. 草地贪夜蛾莱氏绿僵菌的分离鉴定[J]. *植物保护*, 2019, 45(5): 65-70.
- ZHENG Y Q, HU H F, FU Y F, et al. Isolation and identification of entomopathogenic fungi *Metarhizium rileyi* isolated from *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith)[J]. *Plant protection*, 2019, 45(5): 65-70.
- [16] 刘春来. 昆虫病原真菌在农林害虫生物防治中的应用[J]. *黑龙江农业科学*, 2017(3): 68-73.
- LIU C L. Application of entomopathogenic fungi in biological control of agroforestry pests[J]. *Heilongjiang agricultural science*, 2017(3): 68-73.
- [17] 张维, 彭国雄, 夏玉先. 昆虫病原真菌防控草地贪夜蛾的现状、问题与展望[J]. *中国生物防治学报*, 2019, 35(5): 674-681.
- ZHANG W, PENG G X, XIA Y X. Current status, problems and prospects of entomopathogenic fungi in controlling fall armyworm *Spodoptera frugiperda*[J]. *Chinese journal of biological control*, 2019, 35(5): 674-681.