

# 卵孢白僵菌与农药混用对蛴螬防治效果研究

宋龙腾<sup>1</sup>, 于洪春<sup>1</sup>, 王雨薇<sup>1</sup>, 张鑫琳<sup>1</sup>, 许国庆<sup>2</sup>

(1. 东北农业大学 农学院, 黑龙江 哈尔滨 150030; 2. 辽宁省农业科学院 植物保护研究所, 辽宁 沈阳 110161)

**摘 要:**使用不同浓度的卵孢白僵菌(NEAU30503)孢子悬浮液对蛴螬进行了生物测定,以商品卵孢白僵菌和绿僵菌作为对照,同时测定了卵孢白僵菌与陶本斯乳油和功夫乳油 2 种化学农药混用对蛴螬的致死率。结果表明:生物农药单独使用时,仅  $1.25 \times 10^{11}$  孢子数/L 的卵孢白僵菌(NEAU30305)在 40 d 时药效达到 79.9%,对照处理的杀虫效果为 44.6%~59.7%。菌药混用测定中,陶丝本(3 000×)与卵孢白僵菌的  $LT_{50}$  仅为 2.1 d,  $LT_{90}$  为 4.1 d,其防效最好。

**关键词:**卵孢白僵菌;杀虫剂;蛴螬;生物测定

**中图分类号:**S 482.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)01-0131-04

蛴螬是金龟类幼虫的统称,是我国农林草业最重要的地下害虫之一,多危害苗木根部。蛴螬种类多、分布广、危害时间长、营隐蔽性生活,防治极为困难,生产上主要采用化学农药防治措施<sup>[1]</sup>,但在防治过程中多次使用高剂量的化学农药存在投入成本高,污染环境,易产生抗药性等问题。卵孢白僵菌(*Beauveria brongniartii* Petch)属丝孢纲(Hyphomycetes),丛梗孢目(Moniliales),丛梗孢科(Moniliaceae),白僵菌属(*Beauveria*)。其寄主范围较窄,主要对于鞘翅目昆虫有极好的防治效果<sup>[2]</sup>。徐庆丰等<sup>[3]</sup>、郭志红等<sup>[4]</sup>研究应用卵孢白僵菌防治苗圃地蛴螬的试验<sup>[3-4]</sup>,其虫量和苗木被害率都明显下降,证明了白僵菌防治蛴螬的可行性。但其中针对春季发生蛴螬的防治技术仍待进一步研究。

现使用卵孢白僵菌和绿僵菌对蛴螬进行室内防治试验,并使用 2 种常用化学农药以低剂量进行混用,检验以上菌株对春季蛴螬的致病性,并检验其与化学农药混用效果,为高效安全的菌药复配剂生产实践及应用提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试昆虫:黄褐丽金龟(*Anomala ecolele* Faldermann),采自东北农业大学试验田,供试昆虫为春夏季田间 3 龄幼虫。采集后饲养 3 d,确保幼虫健康后进行

测定。

供试菌种:东北农业大学农学院农业昆虫与害虫防治实验室保存菌种(NEAU30305)。参照标准菌种绿僵菌,卵孢白僵菌发酵菌粉(简称商品绿僵菌和商品白僵菌)由盐城市神微微生物菌种科技有限公司提供。

供试农药:陶丝本乳油(有效成分为 48% 的毒死蜱),由东莞市瑞德丰生物科技有限公司生产;功夫乳油(有效成分为 2.5% 的高效氯氟氰菊酯),由吉林省八达农药有限公司生产。

### 1.2 试验方法

1.2.1 菌株培养和分生孢子计数 采用试管斜面法接种培养,在 28℃ 培养箱培养 10 d 后,用吐温-80 无菌水将卵孢白僵菌(NEAU30305)分生孢子制成悬浮液,用血球计数板计数分生孢子数,3 板重复。

1.2.2 生物测定 卵孢白僵菌(NEAU30305)测定,将孢子原液按照  $1 \times 10^9$  孢子数/L、 $5 \times 10^9$  孢子数/L、 $2.5 \times 10^{10}$  孢子数/L、 $1.25 \times 10^{11}$  孢子数/L 浓度配置药土。商品绿僵菌,商品白僵菌发酵菌粉,按照 1 和 0.5 g/L 2 个浓度配置药土。处理后 10 d 开始翻土观察计数,之后每 5 d 调查 1 次。化学农药的药效测定,陶丝本标准剂量 1 000×(即稀释 1 000 倍,以下格式均为此意)和低剂量 3 000×;功夫按照标准 2 000×和低剂量 6 000×,以及 2 种化学农药低剂量与  $1 \times 10^9$  孢子数/L 浓度的白僵菌混用的药土进行制备。处理后 3 d 开始进行翻土观察计数,第 5 天时调查 1 次,之后每 5 d 调查 1 次。室内生物测定方法采用药土法,挑选虫体大小一致的黄褐丽金龟三龄幼虫。用大豆芽作为食料。用容量为 4 L 的塑料桶作容器,每桶放置混合均匀药土 2 L,加入 20 颗豆芽作为食料。每处理试虫数量为 15 头,重复 3 次。对照组不加药剂。接虫后置于室内常温培养。

**第一作者简介:**宋龙腾(1988-),男,在读硕士,研究方向为害虫生物防治。

**责任作者:**于洪春(1966-),男,博士,教授,硕士生导师,研究方向为农业昆虫与害虫防治。E-mail: hongcyu@yahoo.com.cn.

**基金项目:**国家公益性行业(农业)科研专项资助项目(201003025)。

**收稿日期:**2012-09-17

### 1.3 数据分析

将观察时间分为 7 个时间区段(菌药混用的生物测定为 9 个时间段),分别统计、整理每个时间区段内的累计死亡率,并校正。菌药混用效果使用 Duncan 多重极差检验分析各处理差异性,并以  $LT_{50}$ 、 $LT_{90}$  累计校正死亡率作为对害虫毒力分析的指标,以时间(d)的对数值为  $X$ ,死亡率的几率值为  $Y$ ,采用几率值分析法计算毒力回归方程得出  $LT_{50}$ 、 $LT_{90}$  值。以上运算均采用 DPS v 7.05 数据处理系统软件完成。

## 2 结果与分析

### 2.1 卵孢白僵菌及参照菌株的生物测定

由表 1 可知,对照组蛴螬在 30 d 前无死亡情况出现,35 d 时幼虫出现死亡,据观察分析是由于幼虫开始

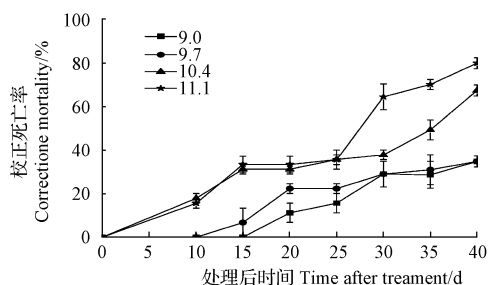
化蛹所致。用卵孢白僵菌分生孢子液的不同浓度进行毒力测试中,在 10 d 时  $2.5 \times 10^{10}$  和  $1.25 \times 10^{11}$  孢子数/L 2 个浓度的死亡率分别是 17.8%和 15.6%。15 d 时,2 个低浓度仍未发挥效果。30 d 时浓度为  $1.25 \times 10^{11}$  死亡率达到 64.4%,其余浓度死亡率低于 40%。40 d 时浓度从低到高的校正死亡率为:34.7%、34.7%、67.3%、79.9%。参考菌株的生物测定中,标准剂量 1 g/L 商品白僵菌和商品绿僵菌在 10 d 时死亡率分别达到 42.2%和 33.3%,30 d 时均达到 48.9%,40 d 时累计校正死亡率达 59.7%,有较好的防治效果,而低剂量的商品白僵菌和商品绿僵菌在 10 d 时死亡率分别为 20%和 17.8%,20 d 时为 28.9%和 31.1%,最终死亡率达到 47.1%和 44.6%。

表 1 不同浓度卵孢白僵菌及参考菌种对蛴螬的防效

Table 1 Effect of different concentrations of *Beauveria brongniartii* (NEAU30503) spore suspension and the reference treatment on white grub

菌剂处理	孢子浓度	试虫数量	累计死亡率/%							累计校正死亡率/%						
			10 d	15 d	20 d	25 d	30 d	35 d	40 d	10 d	15 d	20 d	25 d	30 d	35 d	40 d
卵孢白僵菌 (NEAU30503)	$1 \times 10^9$ /孢子数 $\cdot L^{-1}$	45	0	0	11.1	15.6	28.9	31.1	42.2	0	0	11.1	15.6	28.9	28.6	34.7
	$5 \times 10^9$ /孢子数 $\cdot L^{-1}$	45	0	6.7	22.2	22.2	28.9	33.3	42.2	0	6.7	22.2	22.2	28.9	30.9	34.7
	$2.5 \times 10^{10}$ /孢子数 $\cdot L^{-1}$	45	17.8	31.1	31.1	35.5	37.8	57.8	71.1	17.8	31.1	31.1	35.5	37.8	56.3	67.3
	$1.25 \times 10^{11}$ /孢子数 $\cdot L^{-1}$	45	15.6	33.3	33.3	35.5	64.4	71.1	82.2	15.6	33.3	33.3	35.5	64.4	70.1	79.9
商品白僵菌 (ACCC30290)	0.5 g/L	45	20.0	26.7	28.9	28.9	28.9	42.2	53.3	20.0	26.7	28.9	28.9	28.9	40.3	47.1
	1 g/L	45	42.2	44.4	46.7	48.9	48.9	60.0	64.4	42.2	44.4	46.7	48.9	48.9	58.6	59.7
商品绿僵菌 (ACCC30102)	0.5 g/L	45	17.8	26.7	31.1	31.1	31.1	46.7	51.1	17.8	26.7	31.1	31.1	31.1	44.8	44.6
	1 g/L	45	33.3	44.4	44.4	46.7	48.9	57.8	64.4	33.3	44.4	44.4	46.7	48.9	56.3	59.7
对照		20	0	0	0	0	0	3.3	11.7							

由图 1 可以看出,卵孢白僵菌悬浮液在浓度低于等于  $5 \times 10^9$  孢子数/L 时,虽然对蛴螬有致病性,但是效果并不理想,浓度大于  $5 \times 10^9$  孢子数/L 后,卵孢白僵菌对蛴螬的致病性随着浓度提高而显著增加,而且  $1.25 \times 10^{11}$  孢子数/L 浓度的卵孢白僵菌悬浮液在 40 d 时对蛴螬达到 79.9%的致死率,防治效果较为理想。

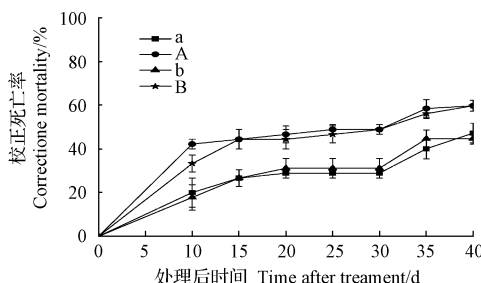


注:线条代表数字为卵孢白僵菌(NEAU30503)的孢子浓度的对数值,小数点后保留 1 位。

图 1 不同浓度卵孢白僵菌对蛴螬的防治效果

Fig. 1 Effect of different concentrations of *Beauveria brongniartii* (NEAU30503) spore suspension on white grub

由图 2 可以看出,参照菌种处理的试虫死亡率呈现阶段性增长,以参考菌株的死亡率与卵孢白僵菌的死亡率在同一区间,说明卵孢白僵菌浓度设定符合要求。通过观察受试昆虫发现,虽然在 10~30 d 时,3 龄幼虫期致死率仅为 28.9%~48.9%,但是有部分活虫体壁上出现菌斑,活动能力下降的情况,而且 35 d 后的死亡率出现提高。



注:a 表示低剂量的白僵菌,A 表示标准剂量的白僵菌,b 表示低剂量的绿僵菌,B 表示标准剂量的绿僵菌。

图 2 参考菌种对蛴螬的累计致死率

Fig. 2 Effect of the reference treatment on white grub

## 2.2 卵孢白僵菌与化学农药混用的生物测定

由表2可知,陶丝本(1 000×)5 d时达到了62.2%,25 d时到达100%。陶丝本(3 000×)5 d时达到了71.1%,30 d时到达100%。陶丝本(3 000×)与白僵菌混用处理中,3 d时死亡率达到73.3%,15 d时达到100%。功夫(24 000×)15 d时死亡率达到51.1%,30 d时死亡率达到86.7%,40 d时幼虫化蛹阶段,死亡率达到100%。功夫(6 000×)15 d时死亡率为28.9%,幼虫化蛹阶段(40 d)死亡率为57.3%,无法到防治效果,功夫

(6 000×)与白僵菌混用后,前期药效不仅无明显增强,而且在3和6 d的调查中,甚至低于单剂使用的累计死亡率。但在化蛹阶段二者混用的死亡率提升至74.9%,防治效果好于单剂使用。方差分析结果表明,低剂量陶丝本与白僵菌混用处理杀虫效果最高,且在5 d即与其它处理达到极显著差异,其次是陶丝本单剂使用(2种浓度间差异不显著),之后功夫(2 000×)效果好于功夫(6 000×)与白僵菌混用,功夫(6 000×)防治效果最差。

表2 菌药混用各处理对蛱螬的防效

Table 2 Effect of the mixtures of the insecticides with *Beauveria brongniartii* on white grub

药剂处理	试虫数量	累计校正死亡率/%								
		3 d	5 d	10 d	15 d	20 d	25 d	30 d	35 d	40 d
陶丝本 1 000×	45	42. 2bA	62. 2bB	71. 1bB	91. 1aA	95. 5abA	100. 0aA	100. 0aA	100. 0aA	100. 0aA
陶丝本 3 000×	45	51. 1bA	71. 1bB	71. 1bB	71. 1bA	86. 6bA	95. 6aAB	100. 0aA	100. 0aA	100. 0aA
陶丝本 3 000×+NEAU30503	45	73. 3aAB	93. 3aA	97. 8aA	100. 0aB	100. 0aA	100. 0aA	100. 0aA	100. 0aA	100. 0aA
功夫 2 000×	45	15. 6cB	40. 0cC	42. 2cC	51. 1cC	66. 7cB	75. 6bAB	86. 7aA	90. 8aAB	100. 0aA
功夫 6 000×	45	13. 3cB	24. 4dCD	24. 4dC	28. 9dD	37. 8dC	42. 2cC	46. 7bB	60. 8bBC	57. 3cC
功夫 6 000×+NEAU30503	45	1. 1cB	17. 8dD	24. 4dC	24. 4dD	33. 3dC	44. 4cC	53. 3bB	56. 3bC	74. 9bB

注:数据后标有不同字母表示差异显著,小写字母表示0.05水平,大写字母表示0.01水平。

Note: The datas within a column followed by the different letter are significantly different, lower-case letters show 0.05 level and majuscule letters show 0.01 level.

根据表2数据计算各处理的独立回归方程(表3),由此可以看出陶丝本(3 000×)与白僵菌混用的杀虫速度与陶丝本(3 000×)单用相比,LT<sub>50</sub>由4.9 d提前至2.1 d,LT<sub>90</sub>由9.6 d提前至4.1 d,说明陶丝本和白僵菌混用有极好的协同作用。功夫(6 000×)与白僵菌混用的杀虫速度与功夫(6 000×)单用相比,虽然LT<sub>50</sub>由原来32.2 d提前至27.5 d,但仍无法达到防治效果,说明功夫使用时需要达到标准浓度,且低剂量与白僵菌混用效果不明显。

表3 菌药混用各处理的毒力回归方程

Table 3 Virulence regression equation of the mixtures of the insecticides with *Beauveria brongniartii*

处理 (白僵菌浓度/孢子数·L <sup>-1</sup> )	回归方程	相关系数 R	LT <sub>50</sub> (d)	LT <sub>90</sub> (d)
陶丝本 1 000×	$Y=1.3577+5.2932X$	0.8949	4.8765	8.5158
陶丝本 3 000×	$Y=1.9000+4.4415X$	0.7979	4.9885	9.6942
陶丝本 3 000×+白僵菌 1×10 <sup>9</sup>	$Y=3.5719+4.4016X$	0.9312	2.1108	4.1267
功夫 2 000×	$Y=1.9441+3.2444X$	0.7288	8.7480	21.7226
功夫 6 000×	$Y=3.3502+1.0930X$	0.9461	32.3095	
功夫 6 000×+白僵菌 1×10 <sup>9</sup>	$Y=2.9621+1.4200X$	0.9276	27.2310	

## 3 讨论

对于生物农药和化学试剂的相容性测定国内已经有很多报道,孙家宝等<sup>[5]</sup>使用绿僵菌与农药混用防治东北大黑鳃金龟幼虫,李春香等<sup>[6]</sup>使用卵孢白僵菌(ACCC30290)与化学农药混用防治甜菜夜蛾,均得到很好的防效。同时陆秀君等<sup>[7]</sup>防治美国白蛾 *Hyphantria cunea* (Drury) 试验中发现孢球白僵菌与高效氯氰菊酯有拮抗作用。

在该试验中,卵孢白僵菌及参照菌株的生物测定表明,卵孢白僵菌(NEAU30305)的孢子悬浮液防治蛱

螬的致死效果已经达到商品生物试剂的标准,甚至在 $1.25 \times 10^{11}$ 孢子数/L浓度的孢子悬浮液处理中,防治效果要优于标准剂量的参照菌株,因此卵孢白僵菌(NEAU30305)具有作为商品化生物试剂的潜力。

卵孢白僵菌与化学农药混用的生物测定表明,陶丝本和卵孢白僵菌有很好的协同作用,单区段的累计死亡率和总体杀虫速度均高于单剂使用,而功夫和卵孢白僵菌的混用中,在10 d之前的调查中发现,其杀虫效果低于单剂使用,二者之间有拮抗作用,总体杀虫效果虽然好于单剂使用,但是并没有达到相加效果,因此二者之间有拮抗。因此,陶丝本和卵孢白僵菌混用是低毒,有效地防治蛱螬的方法。然而由于虫源有限,该试验并未进行共毒系数测定,该卵孢白僵菌与农药混用的相互作用仍待进一步研究。

## 参考文献

- [1] 徐秀娟. 中国花生病虫害鼠害[M]. 北京: 中国农业工业出版社, 2009.
- [2] 吕利华, 冯明光. 布氏白僵菌昆虫寄生名录[J]. 中国生物防治, 1995, 11(3): 144.
- [3] 徐庆丰, 洪家保. 布氏白僵菌防治花生蛱螬的研究[J]. 中国生物防治, 1997, 13(1): 23-25.
- [4] 郭志红, 崔永三, 杨弘平, 等. 卵孢白僵菌防治苗圃地蛱螬的应用技术[J]. 东北林业大学学报, 2001, 29(6): 32-35.
- [5] 孙家宝, 王非, 宋小双. 金龟子绿僵菌与农药混用室内杀虫效果研究[J]. 北方园艺, 2007(4): 220-221.
- [6] 李春香, 崔也平, 张英英. 卵孢白僵菌与农药的复配剂对甜菜夜蛾的毒力测定[J]. 北方园艺, 2009(7): 75-78.
- [7] 陆秀君, 李瑞军, 董立新, 等. 美国白蛾高毒白僵菌菌株筛选及其与高效氯氰菊酯的相容性[J]. 植物保护学报, 2008, 35(6): 575-576.

# 内生菌 SZ-1 的定殖力及其对姜瘟病的防效

孙正祥, 王 丰, 张 昊, 邓 乐, 周 燚

(长江大学 农学院, 湖北 荆州 434025)

**摘 要:**从无病的生姜块根中分离筛选出 1 株对姜瘟病菌(*Ralstonia solanacearum*)有较强抑制作用的内生菌 SZ-1;通过利福平标记研究其在生姜根际的定殖动态;测定了菌株 SZ-1 发酵液对姜瘟病的防治效果。结果表明:菌株 SZ-1 对番茄青枯病菌(*Pseudomonas solanacearum* Smith)、魔芋软腐病菌(*Erwinia carotovora* var. *carotovora*)及水稻白叶枯病菌(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*)等 6 种病原菌均表现不同程度的抑制作用。菌株 SZ-1 在生姜根际数量呈先上升后下降趋势,接种 50 d 后从根际回收的数量为  $4.6 \times 10^5$  cfu/g。灌根接种 30 d 后,姜瘟病的发病率为 23.47%,病情指数为 12.56,而对照发病率为 89.63%,病情指数为 31.52,相对防治效果为 60.15%。

**关键词:**姜瘟病;内生菌;定殖力;防治效果

**中图分类号:**S 476.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)01-0134-04

姜瘟病又称姜腐烂病、细菌性青枯病、姜青枯病,是由茄科雷尔氏菌 *Ralstonia solanacearum* 侵染引起的一种广泛分布于热带、亚热带及温带地区的毁灭性病害<sup>[1]</sup>。中国在 20 世纪 50 年代即有该病害发生,其病原菌为一种土壤习居菌,极易从根系、茎部伤口侵入植株,

并产生异多聚糖阻塞植物维管束,阻断水分输送渠道,使植物缺水萎蔫<sup>[2]</sup>。据报道,生姜(*Zingiber officinale* Rose.)栽培区常年由于姜瘟病的危害而损失 20%~30%,重病田损失高达 70%甚至绝收,严重影响着生姜产业的发展<sup>[3]</sup>。

长期以来,国内外对姜瘟病的防治多采用化学防治,有报道用氯化苦、消菌灵消毒土壤和种姜来防治姜瘟,但由于该病害是一类毁灭性的土传病害,病原菌变异大、寄主范围广,一般农药难以奏效,很难从根本上解决姜瘟病的发生<sup>[4-5]</sup>。化学杀菌剂的大量使用,导致生姜中有害、有害化学物质残留增加,影响食品安全。生

**第一作者简介:**孙正祥(1980-),男,博士,讲师,现主要从事植物病害生物防治研究工作。E-mail:sunzhengxiang9904@126.com.

**责任作者:**周燚(1972-),男,博士,副教授,现主要从事植物病害生物防治研究工作。E-mail:yizhou@yahoo.com.cn.

**基金项目:**湖北省教育厅中青年基金资助项目(Q2011130)。

**收稿日期:**2012-09-17

## Study on Control of Beetle Larvae by Mixture of Pesticides with *Beauveria brongniartii*

SONG Long-teng<sup>1</sup>, YU Hong-chun<sup>1</sup>, WANG Yu-wei<sup>1</sup>, ZHANG Xin-lin<sup>1</sup>, XU Guo-qing<sup>2</sup>

(1. College of Agriculture, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030; 2. Institute of Plant Protection, Liaoning Academy of Agricultural Sciences, Shenyang, Liaoning 110161)

**Abstract:** Bioassay of different concentrations of *Beauveria brongniartii* (NEAU30503) spore suspension on white grub was detected, choosing formulaic *Beauveria brongniartii* and Green *b. bassiana* as control, and the mortality rate of *Beauveria brongniartii* with 2 kinds of chemical pesticides (Ceramic bens creme and kungfu creme) were also detected. The results of toxicity determination in laboratory showed that *Beauveria brongniartii* (NEAU30503) at the dose of  $1.25 \times 10^{11}$  conidia/L was highly correct mortality as 79.9%. The correct mortality of the reference treatment was from 37.4% to 59.9%. While the mixtures of the insecticides with *Beauveria brongniartii*, the control effect of the mixtures of Dursban (1 000 ×) with *Beauveria brongniartii* showed the highest virulence whose  $LT_{50}$  of the larvae was 2.1 d, and  $LT_{90}$  was 4.9 d.

**Key words:** *Beauveria brongniartii*; insecticides; white grub; bioassay