

DOI: 10.3969/j.issn.2095-1787.2014.02.008

不同土壤类型和含水量下金龟子绿僵菌对红火蚁的致病力

王 磊, 许益镌, 陆永跃*, 曾 玲*

华南农业大学红火蚁研究中心, 广东 广州 510642

摘要:【背景】红火蚁是一种危险性入侵生物, 虫生真菌对其防治效果会受到外界环境因子的影响。【方法】应用致病力测定的方法研究了不同剂量金龟子绿僵菌 M09 对红火蚁的毒力, 同时研究了含水量和土壤类型对绿僵菌毒力的影响。【结果】红火蚁的死亡率与金龟子绿僵菌的剂量呈正相关, 处理 4 d 后 LC_{50} 为 0.37 g。金龟子绿僵菌在砂土、壤土和粘土中对红火蚁的致死率均与对照差异显著, 其中在砂土中的毒力最强。此外, 在不同含水量的土壤中, 金龟子绿僵菌的致死率也不相同 ($P < 0.01$)。【结论与意义】土壤类型和土壤湿度会显著影响金龟子绿僵菌 M09 对红火蚁的防治效果。选择高湿和砂土类型的土壤施用金龟子绿僵菌 M09 可以达到较好的效果。

关键词: 红火蚁; 金龟子绿僵菌; 土壤环境; 致病力

Effect of soil water content and composition on the pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* against the invasive red fire ant, *Solenopsis invicta*

Lei WANG, Yi-juan XU, Yong-yue LU*, Ling ZENG*

Red Imported Fire Ant Research Center, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642, China

Abstract:【Background】The red imported fire ant *Solenopsis invicta* is a dangerous invasive ant species. A possible means of protection against the ant is the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae*. Environmental factors can impact the toxicity of *M. anisopliae* against *S. invicta*. 【Method】This paper investigated the effect of *M. anisopliae* M09 on the survival of fire ants exposed to different doses and under various soil moisture conditions and composition. 【Result】The survival rate of fire ant workers decreased with an increasing dosage of *M. anisopliae* M09; the LC_{50} was 0.37 g after 4 days. *M. anisopliae* M09 killed nearly all ants in sandy, loamy and clay soils, and had significant difference from the control. However, the treatment reduced ant numbers more effectively in sandy soil than in loamy or clay soils. The mortality of workers treated by *M. anisopliae* M09 at different soil moisture were significantly different ($P < 0.01$). 【Conclusion and significance】Soil composition and moisture have significant effect on *M. anisopliae* against the fire ant, and the soil composition and moisture should be considered when *M. anisopliae* is applied against the red fire ant.

Key words: *Solenopsis invicta*; *Metarhizium anisopliae*; soil environment; pathogenicity

红火蚁 *Solenopsis invicta* Buren 是一种危险的入侵生物, 目前在美国已占据超过 130 万 km² 的土地, 严重影响了公共安全、人类健康、生态环境等 (Williams *et al.*, 2001)。在美国南部, 每年因为红火蚁造成的损失超过 10 亿美元 (Wojcik *et al.*, 2001)。2004 年底, 我国大陆首次发现其入侵 (曾玲等, 2005a, 2005b), 截至 2013 年已侵入我国南方

多个省区 (Wang *et al.*, 2013)。

目前, 防治红火蚁主要依赖于化学药剂, 但杀虫剂会伤害非靶标生物, 同时大范围使用需要很高的成本 (Williams *et al.*, 2003)。作为生物防治重要组成部分的包括绿僵菌和白僵菌在内的虫生真菌在红火蚁防控中有较好的应用前景。Stimac *et al.* (1993) 在实验室条件下评价了球孢白僵菌 *Beauver-*

收稿日期 (Received): 2014-02-04 接受日期 (Accepted): 2014-03-15

基金项目: 国家重点基础研究发展计划项目(2009CB119206)

作者简介: 王磊, 男, 博士研究生。研究方向: 昆虫生态学和害虫防治

* 通讯作者 (Author for correspondence), 陆永跃, E-mail: luyongyue@scau.edu.cn; 曾玲, E-mail: zengling@scau.edu.cn

ia bassiana Vuillemin 菌株对红火蚁种群的控制效果,发现该菌株可以导致 70% ~ 92% 红火蚁死亡。Sanchez-Peña (1992) 在实验室条件下发现金龟子绿僵菌 *Metarhizium anisopliae* (Metch.) 在 5 d 内可使 100% 红火蚁后死亡。研究显示,含球孢白僵菌的球形饵剂在野外对红火蚁有不错的防治效果 (Bextine & Thorvilson, 2002a、2002b; Thorvilson et al., 2002)。Bextine & Thorvilson (2004) 研制了用于田间撒播防控红火蚁的含球孢白僵菌诱饵的新型设备。美国已经有商业化应用的含有生防真菌的生物农药问世(Williams et al., 2003)。

自发现红火蚁入侵后,我国在筛选对红火蚁高效的生防真菌方面做了很多工作。Kafle et al. (2011) 评价了台湾本地的白僵菌菌株在实验室和野外条件下对红火蚁的防控效果。刘晓燕等 (2010) 在红火蚁自然种群中分离出了淡紫拟青霉 *Paecilomyces liacinus* (Thom) Samson, 在实验室条件下发现其对红火蚁的致死率可达 70%。杨佳后等 (2009) 在实验室条件下评价了 4 株球孢白僵菌菌株对红火蚁的效果,发现原始寄主为红火蚁的菌株 5974 效果最好。吕利华等(2011) 评价了 1 株淡紫拟青霉、1 株金龟子绿僵菌菌株 Ma01 和 4 株球孢白僵菌菌株 Bb01、Bb02、Bb03、Bb04 对红火蚁的防治效果,发现 Bb02 和 Bb04 是红火蚁微生物防治的优良菌株。李薇等(2007) 评价了 3 株金龟子绿僵菌菌株对红火蚁的防治效果,发现在室内条件下,红火蚁在 1 周内的死亡率均达到 90% 以上。

在田间应用时,外界因子如温度、湿度、紫外线对虫生真菌的生物活性、毒力等有着重要的影响 (张伟等,2013), 导致其对红火蚁的防治效果不理想 (Fuxa & Richter, 2004; Oi & Pereira, 1993; Taber, 2000; Williams et al., 2001)。红火蚁是一种地栖蚂蚁,因此土壤对虫生真菌防治效果起着重要的作用。Pereira et al. (1993a、1993b) 指出土壤中的微生物和养分会影响球孢白僵菌的防效。Fuxa & Richter(2004) 研究了不同土壤湿度和组分下球孢白僵菌对红火蚁的防效,发现湿度对白僵菌的毒力有较大影响,粘土中的白僵菌对红火蚁防效较差。

本文研究土壤湿度和类型对金龟子绿僵菌防控红火蚁效果的影响。试验中使用的金龟子绿僵菌 M09 在室内生测中对红火蚁具有较高毒力(未出版),且该菌株已可规模化生产,目前主要用于林

业害虫防治(私人通讯),是一支极有潜力的红火蚁生防真菌。在发展其成为生物农药前,需要了解外界环境因子对其防效的影响。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 虫源及虫生真菌 红火蚁采集于广东省广州市区,在室内温度 26 ℃、湿度 60% ~ 70% 条件下使用 10% 糖水、黄粉虫饲养。金龟子绿僵菌 M09 孢子粉购自广东省林业科学研究院。

1.1.2 土壤含水量计算及土壤类型的确定 土壤采自华南农业大学,磨碎后使用干燥箱在 100 ℃ 下烘至恒重。土壤含水量计算参考 Wang et al. (2012)。

$$\text{相对含水量} = \frac{\text{绝对含水量}}{\text{饱和含水量}} \times 100\%.$$

在一个整理箱(20 cm × 15 cm × 15 cm)内按比例加入恒重的土壤和纯水配制得到相对含水量为 50% 的土壤。将配制好的土壤放置 5 ~ 10 min,使水分能完全渗入土粒中。通过土壤粒径的组成将采集到的土壤分为粘土、砂土和壤土(黄昌勇和徐建明,2010)。

1.2 试验方法

1.2.1 不同剂量金龟子绿僵菌 M09 对红火蚁工蚁的侵染情况 称取 150 g 含水量为 50% 的壤土置于一次性碗中,将金龟子绿僵菌孢子粉混入其中,再放入 100 头红火蚁工蚁,加盖以防止工蚁逃脱和水分丧失。每天检查一次性碗的质量,根据情况加水以维持其中的土壤湿度。分别于第 4 天、第 7 天和第 10 天检查并记录红火蚁死亡情况,并对死虫体进行保湿培养,观察其是否变为僵虫。金龟子绿僵菌的剂量分别为 0.02、0.05、0.10、0.20、0.50 和 1.00 g,以不含金龟子绿僵菌孢子的土壤作为对照。试验重复 5 次。

1.2.2 不同湿度条件下金龟子绿僵菌对红火蚁的侵染情况 土壤湿度梯度设定为 10%、30%、50%、70% 和 90%。分别称取 150 g 含有 0.3 g 金龟子绿僵菌的相应含水量的壤土置于一次性碗中,放入 100 头红火蚁工蚁,加盖以防止工蚁逃脱和水分丧失,并称重。每天检查一次性碗的质量,根据情况加水以维持其中的土壤湿度。分别于第 2 天、第 4 天、第 6 天、第 8 天和第 10 天检查并记录红火蚁死

亡情况,并对死虫体进行保湿培养,观察其是否变为僵虫。以含水量为50%和10%的不含菌的土壤作为对照。试验重复5次。

1.2.3 不同土壤类型下金龟子绿僵菌对红火蚁的侵染情况 试验使用砂土、壤土和粘土3种类型。称取150 g含有0.3 g绿僵菌、含水量为50%的土壤置于一次性碗中,再放入100头红火蚁工蚁,加盖以防止工蚁逃脱和水分丧失。每天检查一次性碗的质量,根据情况加水以维持其中的土壤湿度。分别于第2天、第4天、第6天、第8天和第10天检查并记录红火蚁死亡情况,并对死虫体进行保湿培养,观察其是否变为僵虫。以不含绿僵菌的壤土作为对照。试验重复5次。

1.3 数据分析

所有数据先用Shapiro-Wilk test检验正态分布,再用Levene's test进行方差齐性检验。对于符合正态分布和方差齐的数据使用Tukey法进行多重比较分析;对于方差不齐的数据使用非参数检验

Kruskal-Wallis test进行分析。当Kruskal-Wallis test分析发现各组间在0.05水平上差异显著时,使用Mann-Whitney test或two-sample Kolmogorov-Smirnov test比较。以上分析均在SPSS 18.0软件中操作。

2 结果与分析

2.1 不同剂量金龟子绿僵菌对红火蚁工蚁的毒力

金龟子绿僵菌孢子量与红火蚁死亡率呈正相关(表1)。工蚁死亡率随着金龟子绿僵菌剂量的增大和处理时间的延长而上升。当剂量为0.20 g时,50%红火蚁在处理后第4天死亡;剂量为0.02 g时,50%工蚁在处理后第7天死亡,在第10天时,工蚁存活率仅为20.6%。

对处理4 d后不同剂量金龟子绿僵菌对红火蚁的致死情况进行分析拟合,得到工蚁存活率与金龟子绿僵菌剂量间的指数回归方程, $Y = 0.8143e^{-1.32X}$ ($n = 6, R = 0.9555, P < 0.01$)。在这个模型中,Y代表工蚁存活率,X代表金龟子绿僵菌的剂量。

表1 不同剂量金龟子绿僵菌 M09 处理下红火蚁工蚁的存活率(%)

Table 1 Survival rates (%) of *S. invicta* workers at different dose of *M. anisopliae* M09 on different days

剂量 Dose (g)	处理 4 d Day 4	处理 7 d Day 7	处理 10 d Day 10
1.00	21.8 ± 4.5a	0.0 ± 0.0a	0.0 ± 1.3a
0.50	47.2 ± 6.8b	17.0 ± 3.6ab	1.8 ± 2.9ab
0.20	50.0 ± 10.5b	19.0 ± 5.6b	9.4 ± 5.1abc
0.10	59.4 ± 14.7bc	30.4 ± 8.7b	14.4 ± 7.3bc
0.05	78.2 ± 6.2cd	53.2 ± 6.5c	16.4 ± 6.3c
0.02	88.4 ± 3.2d	55.6 ± 8.5c	20.6 ± 6.3c
对照 Control	95.2 ± 1.8d	88.4 ± 4.4d	70.8 ± 4.2d

同列中不同字母表示在0.05水平上差异显著。数据使用LSD、Kruskal-Wallis test和Mann-Whitney test进行分析。

Different letters in the same column indicate significant differences at the 0.05 level. LSD, Kruskal-Wallis test and Mann-Whitney test were used to analyse the time required for the survival rate of *S. invicta* workers.

2.2 不同土壤湿度下金龟子绿僵菌对红火蚁的毒力

土壤湿度会显著影响金龟子绿僵菌对红火蚁的防效(表2)。处理4 d后,含水量为10%和30%的土壤中红火蚁存活率分别为0和24.0%,显著低于其他处理和对照。但在处理6 d后,含水量为10%的对照土壤中工蚁存活率迅速下降,在处理10 d后,工蚁全部死亡。在处理10 d后,含水量为10%、30%和50%的土壤中工蚁存活率分别为0.0、5.0%;70%含水量的土壤中工蚁存活率为32.8%,与含水量为50%的对照差异显著;同时,含水量为50%的土壤中工蚁存活率仅为5.0%,显著低于50%的对照。

2.3 不同土壤类型下金龟子绿僵菌对红火蚁的毒力

土壤类型会对金龟子绿僵菌的毒力产生显著影响(图1)。在砂土条件下,处理2 d后红火蚁的存活率仅为0.488,显著低于壤土和粘土($\chi^2 = 13.807, df = 3, P = 0.003$)。处理6 d后,各土壤类型下,红火蚁的存活率均低于0.200,差异不显著,且均显著低于对照($F = 13.306, df = 3, P = 0.000$)。处理10 d后,3种土壤中的红火蚁几乎全部死亡($\chi^2 = 14.868, df = 3, P = 0.002$)。

表 2 含有金龟子绿僵菌 M09 的不同湿度土壤中红火蚁的存活率(%)

Table 2 Survival rate (%) of *S. invicta* workers treated with *M. anisopliae* M09 in soils of different relative water content

时间 Time (d)	50% 对照 50% control (without M09)	10% 对照 10% control (without M09)	90%	70%	50%	30%	10%
	50% 对照 50% control (without M09)	10% 对照 10% control (without M09)	90%	70%	50%	30%	10%
2	92.2 ± 2.3a	98.6 ± 0.9a	93.0 ± 0.9a	93.2 ± 1.8a	91.2 ± 4.2a	87.4 ± 6.5a	69.2 ± 13.4b
4	73.8 ± 4.7a	67.4 ± 11.6a	80.4 ± 5.9a	85.0 ± 3.0a	57.2 ± 8.3a	24.0 ± 6.0b	0.0 ± 0.0c
6	52.4 ± 7.9ab	9.2 ± 2.8d	46.6 ± 5.4b	61.6 ± 3.5a	29.2 ± 5.1c	2.0 ± 1.5d	0.0 ± 0.0d
8	42.4 ± 7.7a	0.4 ± 0.4d	29.0 ± 6.6b	42.6 ± 3.4a	12.8 ± 3.0c	0.0 ± 0.0d	0.0 ± 0.0d
10	39.0 ± 5.2a	0.0 ± 0.0c	13.8 ± 3.9b	32.8 ± 3.9a	5.0 ± 1.6c	0.0 ± 0.0c	0.0 ± 0.0c

同行中不同字母表示在 0.05 水平上差异显著。数据使用 LSD、Kruskal-Wallis test 和 Mann-Whitney test 进行分析。

Different letters in the same row indicate significant differences at the 0.05 level. LSD, Kruskal-Wallis test and Mann-Whitney test were used to analysis the time required for the survival rate of *S. invicta* workers.

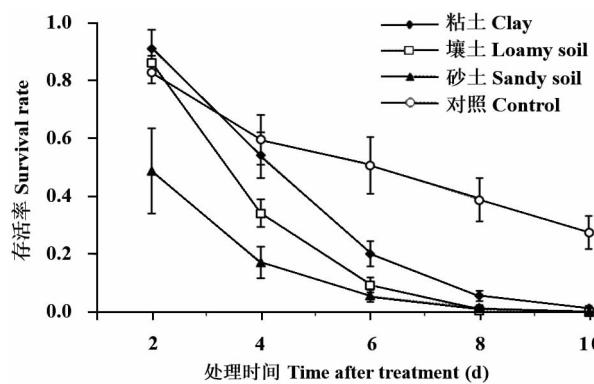


图 1 不同土壤类型下金龟子绿僵菌处理红火蚁的存活率

Fig. 1 Survival rate of *S. invicta* workers in the soil types containing *M. anisopliae* M09

3 小结与讨论

本研究发现,金龟子绿僵菌在高湿和低湿(90%、50%、30%、10%)环境下对红火蚁有较高的毒力。但是,处理 4 d 后 10% 对照土壤中的工蚁死亡率也较高,说明低湿环境不适合红火蚁生存。Potts *et al.* (1984)指出,在有幼蚁存在的情况下,工蚁喜欢选择高湿的环境(湿度接近 100%)。高亿波(2007)调查发现,在春季时,广东地区的红火蚁巢中央深度 6 cm 处的湿度可以达到 90% 以上。因此,在野外使用金龟子绿僵菌防治红火蚁时可以不用考虑土壤湿度对其防效的影响。当外界湿度达不到虫生真菌的要求时,可以选择改变施用时间或施用手段来提高土壤湿度。Wang *et al.* (2013)认为,广东春季频繁的降水给红火蚁的防治带来了一定的困难,尤其是使用饵剂进行防治。但是,高湿环境较适合绿僵菌孢子萌发(宋漳和江英成, 2001);金龟子绿僵菌在春季和夏季对广东地区的红火蚁具有较好的防治效果。

本研究发现,土壤类型会影响金龟子绿僵菌对红火蚁的毒力。虽然在金龟子绿僵菌处理 10 d 后,

3 种土壤中的红火蚁死亡率均达到 90% 以上,但是在砂土中,绿僵菌对红火蚁的致死速率最快,处理后 4 d 工蚁的存活率仅为 20%;处理 6 d 后,壤土中 80% 工蚁死亡。Fuxa & Richter(2004)指出,在粘土中的球孢白僵菌对红火蚁的致死率与空白对照差异不显著。本研究也发现,在 3 种类型土壤中,粘土对金龟子绿僵菌防效的影响最大,处理 10 d 后,粘土中的红火蚁死亡率仍然与对照差异显著。因此,粘土对虫生真菌的防效均有抑制作用,但是对金龟子绿僵菌防效的影响要小于对球孢白僵菌。下一步需要研究粘土与虫生真菌的互作。

相对于土壤湿度,土壤类型对虫生真菌防效的影响更大。广东省生态环境与土壤研究所(2004)指出,广东省内土壤类型以壤土为主。因此,如果在广东省内使用金龟子绿僵菌 M09 防治红火蚁,必须要与其他防治因子相结合。Wang *et al.* (2012)指出,氟虫腈在土壤高湿条件(含水量 90% 以上)下对红火蚁的防治效果优于低湿条件,而作者发现常规剂量下氟虫腈对金龟子绿僵菌 M09 的萌发和生长没有影响(未出版)。因此,研制针对高湿条件下使用的含有氟虫腈和金龟子绿僵菌的混用农药,不仅可以提高对红火蚁的防治效果,而且可以减少农药使用量。

参考文献

- 高亿波. 2007. 红火蚁入侵种群工蚁活动性规律研究. 合肥: 安徽农业大学.
- 广东省生态环境与土壤研究所. 2004. 广东省土壤资源及图谱(第 2 编). 广州: 广东科技出版社.
- 黄昌勇, 徐建明. 2010. 土壤学. 北京: 中国农业出版社.
- 李薇, 廖坤宏, 林圣, 曹源浩. 2007. 红火蚁生物防治与资源利用初探. 石家庄学院学报, 9(6): 63–66.
- 刘晓燕, 吕利华, 何余容. 2010. 自然寄生红火蚁病原真菌

- 的分离、鉴定及其对红火蚁的致病力. 中国生物防治, 26(3): 373-376.
- 吕利华, 刘晓燕, 谢梅琼, 何余容. 2011. 寄生红火蚁生真菌高致病力菌株的筛选. 华南农业大学学报, 32(4): 35-39.
- 宋漳, 江英成. 2001. 绿僵菌防治第1代马尾松毛虫的研究. 应用与环境生物学报, 7(6): 604-608.
- 杨佳后, 孙钒, 廖坤宏, 邬文静, 庞虹, 庞义. 2009. 4株球孢白僵菌对红火蚁毒力的生物测定. 环境昆虫学报, 31(1): 46-51.
- 曾玲, 陆永跃, 陈忠南. 2005a. 红火蚁监测与防治. 广州: 广东科技出版社.
- 曾玲, 陆永跃, 何晓芳, 张维球, 梁广文. 2005b. 入侵中国大陆的红火蚁的鉴定及发生为害调查. 昆虫知识, 42(2): 144-148.
- 张伟, 吕利华, 何余容, 谢梅琼, 王德森, 念晓歌. 2013. 环境因子及常用农药对致烟色棒束孢 SCAU-IFCF01 孢子萌发的影响. 中国生物防治学报, 29(1): 49-55.
- Bextine B R and Thorvilson H G. 2002a. Field applications of bait-formulated *Beauveria bassiana* alginate pellets for biological control of the red imported fire ant (Hymenoptera: Formicidae). *Environmental Entomology*, 31: 746-752.
- Bextine B R and Thorvilson H G. 2002b. Monitoring *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae) foraging with peanut oil-baited, UV-reflective *Beauveria bassiana* alginate pellets. *Southwestern Entomologist*, 27: 31-36.
- Bextine B R and Thorvilson H G. 2004. Novel *Beauveria bassiana* delivery system for biological control of the red imported fire ant. *Southwestern Entomologist*, 29: 47-53.
- Fuxa J R and Richter A R. 2004. Effects of soil moisture and composition and fungal isolate on prevalence of *Beauveria bassiana* in laboratory colonies of the red imported fire ant (Hymenoptera: Formicidae). *Environmental Entomology*, 33: 975-981.
- Kafle L, Wu W J, Kao S S and Shih C J. 2011. Efficacy of *Beauveria bassiana* against the red imported fire ant, *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae), in Taiwan. *Pest Management Science*, 67: 1434-1438.
- Oi D H and Pereira R M. 1993. Ant behavior and microbial pathogens (Hymenoptera, Formicidae). *Florida Entomologist*, 76: 63-74.
- Pereira R M, Stimac J L and Alves S B. 1993a. Soil antagonism affecting the dose-response of workers of the red imported fire ant, *Solenopsis invicta*, to *Beauveria bassiana* conidia. *Journal of Invertebrate Pathology*, 61: 156-161.
- Pereira R M, Alves S B and Stimac J L. 1993b. Growth of *Beauveria bassiana* in fire ant nest soil with amendments. *Journal of Invertebrate Pathology*, 62: 9-14.
- Potts L R, Francke O F and Cokendolpher J C. 1984. Humidity preferences of four species of fire ants (Hymenoptera: Formicidae: *Solenopsis*). *Insectes Sociaux*, 31: 335-340.
- Sanchez-Peña S. 1992. *Entomopathogenic Fungi against Red Imported Fire Ant, Solenopsis invicta (Hymenoptera: Formicidae)*. Lubbock, Texas: Texas Tech University.
- Stimac J L, Pereira R M, Alves S B and Wood L A. 1993. *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Deuteromycetes) applied to laboratory colonies of *Solenopsis invicta* Buren (Hymenoptera, Formicidae) in soil. *Journal of Economic Entomology*, 86: 348-352.
- Taber S. 2000. *Fire Ants*. College Station: Texas A & M University Press.
- Thorvilson H, Wheeler D, Bextine B and San Francisco M. 2002. Development of *Beauveria bassiana* formulations and genetically marked strains as a potential biopesticide for imported fire ant control. *Southwestern Entomologist*, 2002: 19-29.
- Wang J, Yang Q, Huang H, Zhang H, Hu J and Xu Y. 2012. Effect of soil water content on toxicity of fipronil against *Solenopsis invicta*. *Sociobiology*, 59: 1-9.
- Wang L, Lu Y, Xu Y and Zeng L. 2013. The current status of research on *Solenopsis invicta* Buren (Hymenoptera: Formicidae) in Mainland China. *Asian Myrmecology*, 5: 125-137.
- Williams D F, Collins H L and Oi D H. 2001. An historical perspective of treatment programs and the development of chemical baits for control. *American Entomologist*, 47: 146-159.
- Williams D F, Oi D H, Porter S D, Pereira R M and Briano J A. 2003. Biological control of imported fire ants (Hymenoptera: Formicidae). *American Entomologist*, 49: 144-155.
- Wojcik D P, Allen C R, Brenner R J, Forys E A, Jouvenaz D P and Lutz R S. 2001. Red imported fire ants: impact on biodiversity. *American Entomologist*, 47: 16-23.

(责任编辑:杨郁霞)

