

DOI: 10.3969/j.issn.2095-1787.2014.02.009

不同温度下白僵菌 Bb04 菌株 对红火蚁工蚁的致病力

刘晓燕¹, 吕利华², 何余容^{1*}

¹华南农业大学红火蚁研究中心, 广东 广州 510642; ²广东省农业科学院
植物保护研究所, 广东 广州 510640

摘要:【背景】白僵菌是一种应用最广泛的虫生真菌,已被用于工厂化大量生产,可防治多种农林害虫。【方法】试验设置 17、21、25、29 和 33 ℃ 5 个温度水平,采用喷雾法,将浓度为 1×10^5 和 1×10^8 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 的白僵菌孢子悬浮液分别感染红火蚁工蚁,以测试不同温度下白僵菌菌株对红火蚁工蚁的致病力。【结果】当浓度为 1×10^8 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 时,在 21、25 和 29 ℃ 条件下,红火蚁工蚁在 15 d 的累计死亡率均达到了 100%,在 17 和 33 ℃ 下分别为 99.36% 和 98.74%。当浓度为 1×10^5 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 时,在 21、25、29 和 33 ℃ 下,红火蚁工蚁在 15 d 的累计死亡率分别为 29.42%、36.18%、33.17% 和 27.21%,显著高于 17 ℃ 的累计死亡率。2 个浓度处理在 17~25 ℃ 时,白僵菌对红火蚁工蚁的致死中时(LT_{50})随着温度的升高而缩短,当温度为 29 和 33 ℃ 时,红火蚁的 LT_{50} 不减少反而增加。25 ℃ 时白僵菌 Bb04 菌株对红火蚁工蚁的 LT_{50} 最短,死亡速度最快,致病力最强。【结论与意义】该研究可为制定田间利用白僵菌防治红火蚁的最佳时期奠定基础。

关键词: 白僵菌 Bb04 菌株; 红火蚁; 温度; 致病力

Pathogenicity of strain Bb04 of *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. to red imported fire ant workers under different temperatures

Xiao-yan LIU¹, Li-hua LÜ², Yu-rong HE^{1*}

¹Red Imported Fire Ant Research Center, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642, China;

²Plant Protection Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou, Guangdong 510640, China

Abstract: 【Background】Red imported fire ant (RIFA), *Solenopsis invicta* Buren, is one of the most devastating pests in the world. Entomopathogenic fungi have been applied to control many crops insect pests successfully worldwide and may be a promising control for RIFA. The effect of temperature on pathogenicity of strain Bb04 of *Bearveria bassiana*, a suitable candidate to the RIFA workers, was studied in the laboratory. 【Method】The RIFA workers were infected with two concentrations of *B. bassiana* spore suspension (1×10^5 conidia $\cdot \text{mL}^{-1}$ and 1×10^8 conidia $\cdot \text{mL}^{-1}$) and kept under 17, 21, 25, 29 and 33 ℃ conditions. 【Result】The results showed there were significant differences in virulence of Bb04 to RIFA under different temperatures. When workers of RIFA were treated with 1×10^8 conidia $\cdot \text{mL}^{-1}$, the total mortality of infected RIFA after 15 days reached as high as 100% under 21 ℃, 25 ℃ and 29 ℃. Total mortality was 99.36% at 17 ℃ and 98.74% at 33 ℃. However, after 15 days with an infection rate of 1×10^5 conidia/mL, total mortalities of treated workers at 17 ℃, 21 ℃, 25 ℃, 29 ℃ and 33 ℃ were only 16.83%, 29.42%, 36.18%, 33.17% and 27.21%, respectively. At 17, 21 and 25 ℃, LT_{50} values of Bb04 against RIFA decreased from 5.41 at 17 ℃ to 3.88 at 21 ℃ and then 2.57 days at 25 ℃. LT_{50} increased again to 2.97 at 29 ℃ and 5.11 at 33 ℃. 【Conclusion and significance】25 ℃ was the most effective temperature to promote infection of RIFA by Bb04 and should be applied in both spring and autumn in the field.

Key words: Bb04 of *Bearveria bassiana* (Bals) Vuill.; *Solenopsis invicta* Buren; temperature; pathogenicity

红火蚁 *Solenopsis invicta* Buren 属膜翅目 Hymenoptera 蚁科 Formicidae 切叶蚁亚科 Myrmicinae 火蚁属 *Solenopsis*, 是世界上危害最严重的入侵有害生物之一(曾玲等,2005)。红火蚁原分布于南美的巴拉纳河流域(Buren *et al.*, 1974), 1930 年红火蚁入侵美国阿拉巴马州莫比尔(Vinson, 1997)。目前, 红火

蚁已扩散至美国 13 个洲和波多黎哥的 1.2 亿 hm^2 的区域(Callcott, 2002; Callcott & Collins, 1996), 在众多的加勒比海岛屿定殖(Davis *et al.*, 2001)。2001 年红火蚁入侵新西兰(Pascoe, 2001) 和澳大利亚(Natrass & Vanderwoude, 2001)。2003 年红火蚁入侵中国台湾, 2005 年入侵中国大陆(曾玲等, 2005)。

白僵菌是一种应用最广泛的虫生真菌, 其已知寄主昆虫达 200 种以上, 被用于工厂化大量生产, 可防治 30 种农林害虫(高崇省和赵森, 1996)。白僵菌属真菌被认为是红火蚁生物防治最有前途的真菌之一(Lofgren *et al.*, 1975)。当从红火蚁上分离出球孢白僵菌 *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. 后(Alves *et al.*, 1988; Stimac *et al.*, 1987), 便被应用于红火蚁的防治。在巴西, 田间试验结果显示, 约 80% 的红火蚁因球孢白僵菌感染而死亡(Stimac *et al.*, 1989)。球孢白僵菌虽然能寄生多种昆虫, 但不同菌株对寄主的专化性和致病力有一定差异(蒲蛰龙, 1978), 其致病力主要取决于菌株、害虫虫态及环境条件等因素(蒲蛰龙, 1994)。国内外均有白僵菌在不同温度下对不同寄主致病力的研究(何余容等, 2005; 林华峰等, 1998a、1998b; 刘银泉等, 2000; 孙鲁娟等, 2001; 王晓红等, 2007; Pandey & Kanaujia, 2004)。

在室内筛选对红火蚁具高致病力菌株的过程中, 一株原始分离自橘小实蝇 *Bactrocera dorsalis* Hendel 的球孢白僵菌 *B. bassiana* Bb04 菌株表现出对红火蚁工蚁较强的致病力和较快的致死速率(吕利华等, 2011), 显示出该株球孢白僵菌在红火蚁的生物防治中具有较强的应用潜力。为了更好地利用该白僵菌菌株防治红火蚁, 本试验就温度对白僵菌 Bb04 菌株致病力的影响进行初步研究, 以期找出有利于白僵菌侵染红火蚁合适的温度范围, 从而为制定田间应用白僵菌防治红火蚁的最佳时期奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

供试红火蚁采自广州市南沙区, 于室内饲养, 选取健康红火蚁工蚁。红火蚁蚁群的田间采集、室内蚁群的分离及饲养参照吕利华等(2006)方法。

1.2 供试菌株和孢子悬浮液的制备

将分离自橘小实蝇的球孢白僵菌 SCAU-Bb04

菌株, 用马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)培养, 用甘油试管法保存分生孢子于华南农业大学昆虫生态实验室 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的超低温冰箱中。试验时取出活化, 转接于 PDA 平板并保存于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中, 待用。

将白僵菌 Bb04 菌株接于 PDA 平板, 放入 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、光照周期 12L: 12D 的培养箱中, 培养 7 d。待菌落产孢后, 加入 20 mL 0.03% 吐温-80 无菌水, 用接种针轻刮菌丝及孢子制成菌液。将菌液倒入 200 mL 烧杯中, 用磁力搅拌器搅拌 30 min。待孢子完全分散后, 用双层医用纱布过滤菌液, 获得孢子悬浮液, 即供试母液, 用血球计数器计数母液的孢子浓度, 再稀释成 1×10^5 和 1×10^8 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 的孢子悬浮液。

1.3 试验用人工气候箱

型号 RXZ-300B, 温度灵敏度 $\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, 宁波市科技园区新江南仪器有限公司。

1.4 不同温度下白僵菌对红火蚁致病力的测定

采用喷雾法测定。用小型手动喷雾器(太阳神牌 128 微型喷壶)将配制好的孢子悬浮液喷于 100 头红火蚁工蚁虫体上。0.03% 吐温-80 无菌水处理作为空白对照。每处理 100 头虫, 3 次重复。将处理后的红火蚁工蚁放入底部铺有 2~3 mm 厚石膏的有盖塑料杯中(底部直径 7 cm, 顶部直径 9 cm, 高 6.5 cm), 在石膏中加入少许水, 保湿。在杯盖上扎若干小孔, 以便透气, 在塑料杯内壁涂少量滑石粉, 防红火蚁逃逸。将处理的供试虫体分别置于 17 、 21 、 25 、 29 和 $33\text{ }^{\circ}\text{C}$ 5 个恒温条件下培养, 相对湿度 85% 以上, 用棉花球吸取 25% 的蜂蜜水喂食红火蚁。每日检查并记录红火蚁的死亡数, 连续观察 15 d。根据虫体是否长出菌丝确定其死因, 归类计数。

1.5 统计分析

采用数据处理系统(DPS)处理试验数据(唐启义和冯明光, 2000), 计算致死中时(LT_{50}), 利用多重比较法比较处理间差异的显著性。

2 结果与分析

2.1 不同温度下红火蚁工蚁的逐日累计死亡情况

在不同温度下接种白僵菌 Bb04 菌株的红火蚁工蚁逐日累计死亡率见图 1。由图 1A 可知, 1×10^5 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 孢子悬浮液处理的红火蚁工蚁累计死亡率逐日上升缓慢, 各温度条件下第 15 天的累计死

亡率均未超过 40%。图 1B 显示, 1×10^8 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 孢子悬浮液处理的红火蚁工蚁, 在 25 和 29 $^{\circ}\text{C}$ 条件下, 第 2 天开始感病死亡, 之后累计死亡率增加迅速, 在第 4 天累计死亡率已超过 90%; 而在 17 $^{\circ}\text{C}$ 下, 红火蚁工蚁到第 7 天累计死亡率才达到 90%。

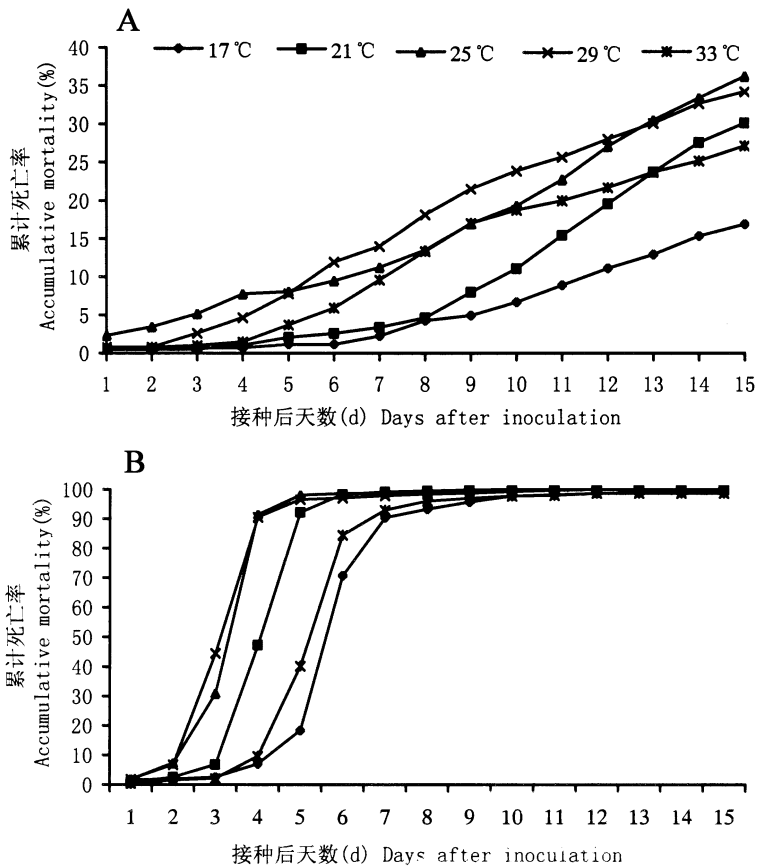


图 1 不同温度下红火蚁工蚁累计死亡率
Fig. 1 Daily cumulative mortality of red imported fire ants inoculated by *B. bassiana* under different temperatures
A. 1×10^5 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 孢子悬浮液; B. 1×10^8 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 孢子悬浮液。
A. 1×10^5 conidia $\cdot \text{mL}^{-1}$; B. 1×10^8 conidia $\cdot \text{mL}^{-1}$.

2.2 不同温度下红火蚁工蚁的死亡率

不同温度下第 15 天红火蚁工蚁的累计死亡率结果见表 1。结果表明, 在 17 ~ 33 $^{\circ}\text{C}$, 白僵菌 Bb04 菌株均能侵染红火蚁工蚁, 但在 21、25 和 29 $^{\circ}\text{C}$ 条件下, 1×10^8 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 孢子悬浮液处理的红火蚁工蚁在第 15 天的累计死亡率均达 100%, 而在 17

和 33 $^{\circ}\text{C}$ 时, 其死亡率分别为 99.36% 和 98.74%; 在 21、25、29 和 33 $^{\circ}\text{C}$ 条件下, 1×10^5 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 孢子悬浮液处理的红火蚁工蚁在第 15 天的累计死亡率分别为 29.42%、36.18%、33.17% 和 27.21%, 这 4 个温度处理之间的累计死亡率差异不显著, 但均显著高于 17 $^{\circ}\text{C}$ 红火蚁工蚁的累计死亡率。

表 1 不同温度下白僵菌 Bb04 菌株处理的红火蚁工蚁累计死亡率	
Table 1 Cumulative mortality induced by the isolate Bb04 of entomopathogenic fungus <i>B. bassiana</i> at different temperatures	
温度 Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	累计死亡率 Cumulative mortality (%)
	1×10^5 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 1×10^5 conidia $\cdot \text{mL}^{-1}$ 1×10^8 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 1×10^8 conidia $\cdot \text{mL}^{-1}$
17	16.83 $\pm$ 0.91b99.36 $\pm$ 0.64ab
21	29.42 $\pm$ 3.65a100.00 $\pm$ 0.00a
25	36.18 $\pm$ 2.04a100.00 $\pm$ 0.00a
29	33.17 $\pm$ 4.99a100.00 $\pm$ 0.00a
33	27.21 $\pm$ 2.45a98.74 $\pm$ 0.26b

表中同列中相同字母者表示在 0.05 水平上差异不显著 (DMRT 法)。
Within a same column, mean $\pm$ SE values with the same letters were not significantly different (Duncan's Multiple Range Test, $P=0.05$).

2.3 不同温度下白僵菌对红火蚁工蚁致病力的时间效应

将不同温度下用 2 个浓度白僵菌 Bb04 菌株处理后的红火蚁工蚁致病力数据进行机率值分析,得出其时间效应方程,求出致死中时 (LT_{50}) (表 2)。由表 2 可以看出,在 17 ~ 25 ℃,白僵菌 Bb04 菌株

对红火蚁工蚁的 LT_{50} 随着温度的升高而缩短。当温度为 29 和 33 ℃时,红火蚁的 LT_{50} 不减少反而增加。本试验结果表明,在 25 ~ 29 ℃下,白僵菌 Bb04 菌株对红火蚁工蚁的致病力最强,是田间最适宜防治红火蚁的温度范围。

表 2 不同温度下 2 个浓度白僵菌处理的红火蚁工蚁的时间效应方程
Table 2 Equation of time effect on RIFA worker induced by isolate of entomopathogenic fungus *B. bassiana* at two concentrations at different temperatures

浓度(个·mL ⁻¹) Concentration (conidial·mL ⁻¹)	温度 Temperature (℃)	回归方程 Regression equation ($y = a + bx$)	r	χ^2	P	LT_{50} (95% 置信限) LT_{50} (95% confidence interval) (d)
1 × 10 ⁵	17	$y = 1.24 + 2.32x$	0.9005	127.31	0.0000	41.71 (22.23 ~ 249.71)
	21	$y = 0.79 + 3.07x$	0.9139	813.05	0.0000	26.33 (22.90 ~ 31.24)
	25	$y = 2.53 + 1.68x$	0.9593	36.73	0.0016	22.60 (20.08 ~ 26.03)
	29	$y = 2.14 + 2.11x$	0.9823	9.62	0.0056	23.49 (11.97 ~ 658.80)
	33	$y = 1.74 + 2.29x$	0.9632	26.13	0.0000	29.42 (22.23 ~ 44.72)
1 × 10 ⁸	17	$y = -0.05 + 6.88x$	0.9395	194.42	0.0059	5.41 (3.86 ~ 6.98)
	21	$y = -0.30 + 9.00x$	0.9724	158.91	0.0000	3.88 (3.17 ~ 5.96)
	25	$y = 1.49 + 7.23x$	0.9764	933.90	0.0000	2.57 (1.31 ~ 4.10)
	29	$y = 2.17 + 5.98x$	0.9682	265.55	0.0000	2.97 (2.22 ~ 3.57)
	33	$y = -0.07 + 7.16x$	0.9589	785.24	0.0000	5.11 (4.53 ~ 7.21)

3 讨论

本研究表明,在 25 ℃,相对湿度 85% 以上,白僵菌处理浓度为 1 × 10⁸ 个·mL⁻¹时,对红火蚁的致病力最高,致时中时最短,致死速率最快,第 6 天的累计死亡率已达 100%,致死中时 (LT_{50}) 为 2.57 d。据报道,白僵菌生长发育不同时期(如菌丝生长期和产孢期)的最适温度不尽相同,最有利于白僵菌菌丝生长的温度为 25 ℃(孙鲁娟等,2001)。本试验结果表明,25 ℃时白僵菌对红火蚁的致病力最强,与菌丝生长的最适温度相吻合。

不同温度下白僵菌有不同的侵染途径。在适宜温、湿度下,主要从体壁侵染,而在低温环境下,则以消化道侵入为主(林华峰等,1998a)。在相对湿度为(90 ± 10)%的情况下,高温更有利于白僵菌的萌发侵入;低温时,孢子萌发率低,甚至不萌发,侵入昆虫的速度较慢,主要依赖于随食物进入消化道的分生孢子进行侵染(孙鲁娟等,2001)。本试验相对湿度控制在 85% 以上,在此条件下,当白僵菌孢子悬浮液的浓度为 1 × 10⁵ 个·mL⁻¹时,低温下(17 ℃)15 d 红火蚁工蚁的累计死亡率最低,表明低温不利于孢子的侵入;而当孢子浓度为 1 × 10⁸ 个·mL⁻¹时,33 ℃时红火蚁工蚁 15 d 的累计死亡率最低。此结果说明,虫生真菌对寄主的入侵不仅

与温、湿度等环境条件有关,还与菌液浓度有关,许多有关白僵菌对害虫致病力的研究(何余容等,2005;林华峰等,1998a、1998b;刘银泉等,2000;孙鲁娟等,2001;王晓红等,2007)均证明了这一点。

本研究得出的试验结果与前人研究的有关白僵菌对其他昆虫的致病力所得出的结论存在一定差异,除试验条件不同外,还可能与病原菌的致病力和寄主的感病性有关,具体原因有待进一步探讨。但从白僵菌对红火蚁的致死中时及累积死亡率可看出,本试验所用的菌株对红火蚁具有较快的致死速度,表明其在红火蚁的生物防治中具有较强的应用潜力。

参考文献

高崇省, 赵森. 1996. 害虫生物防治研究进展. 天津农林科技, (3): 38 - 44.
何余容, 吕利华, 邝灼彬, 冯夏, 陈焕瑜, 武亚静. 2005. 不同温湿度下球孢白僵菌对小猿叶甲的致病力. 昆虫学报, 48(5): 679 - 686.
林华峰, 樊美珍, 李增智, 胡萃. 1998a. 不同温湿度下白僵菌对松毛虫的侵染致病效应. 应用生态学报, 9(2): 195 - 200.
林华峰, 李增智, 胡萃. 1998b. 不同环境中松毛虫感染白僵菌过程的组织病理变化. 安徽农业大学学报, 25(4): 330 - 335.

- 刘银泉, 冯明光, 刘树生, 张宝鑫. 2000. 不同温度下球孢白僵菌对桃蚜的毒力. *中国生物防治*, 16(2): 56 – 60.
- 吕利华, 冯夏, 陈焕瑜, 刘杰, 刘晓燕, 何余容. 2006. 介绍红火蚁的野外采集和实验室饲养的方法. *昆虫知识*, 43(2): 265 – 267.
- 吕利华, 刘晓燕, 谢梅琼, 何余容. 2011. 寄生红火蚁虫生真菌高致病力菌株的筛选. *华南农业大学学报*, 32(4): 35 – 39.
- 蒲蛰龙. 1978. 害虫生物防治的原理和方法. 北京: 科学出版社.
- 蒲蛰龙. 1994. 昆虫病理学. 广州: 广东科技出版社.
- 孙鲁娟, 吴孔明, 郭予元. 2001. 不同温、湿度下白僵菌对棉铃虫幼虫的致病力. *昆虫学报*, 44(4): 501 – 506.
- 唐启义, 冯明光. 2000. 实用统计分析及其计算机处理平台. 北京: 中国农业出版社.
- 王晓红, 黄大庄, 李会平, 纪慧芳, 杜绍华. 2007. 不同温、湿度下球孢白僵菌 Bb00 菌株的生长状况及对桑天牛的致病力研究. *蚕业科学*, 33(2): 167 – 171.
- 曾玲, 陆永跃, 何晓芳, 张维球, 梁广文. 2005. 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.
- Alves S B, Stimac J L and Camargo M T V. 1988. Suscetibilidade *Solenopsis invicta* Buren e *S. saevissima* FR. Smith. a isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 17: 379 – 387.
- Buren W F, Allen G E and Whicomb W H. 1974. Zoogeography of the imported fire ants. *New York Entomology Society*, 82: 113 – 124.
- Callcott A M A. 2002. Range expansion of the imported fire ant 1918 ~ 2001 // Diffie S K. 2002. *Annual Imported Fire Ant Research Conference*. Athens, Georgia, 289 – 312.
- Callcott A M A and Collins H L. 1996. Invasion and range expansion of imported fire ants (Hymenoptera: Formicidae) in north America from 1981 ~ 1995. *Florida Entomologist*, 79: 240 – 251.
- Davis L R, Vander J, Meer P K and Porter S D. 2001. Red imported fire ants expand the range across the west Indies. *Florida Entomologist*, 84: 735 – 736.
- Lofgren C S, Banks W A and Glancey B M. 1975. Biology and control of imported fire ants. *Annual Review of Entomology*, 20: 1 – 30.
- Natrass R and Vanderwoude C. 2001. A preliminary investigation of the ecological effects of red imported fire ants (*Solenopsis invicta*) in Brisbane. *Ecological Management and Restoration*, 2: 220 – 223.
- Pandey A K and Kanaujia K R. 2004. Effect of temperature on pathogenicity of *Bearveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin and *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin against *Spodoptera litura* Fab. larvae. *Indian Journal of Plant Protection*, 32: 45 – 47.
- Pascoe A. 2001. Turning up the heat on fire ants. *Biosecurity*, 32: 6.
- Stimac J L, Alves S B and Camargo M T V. 1987. Suscetibilidade of *Solenopsis* spp. a diferentes species of fungus entomopathoengtics. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 16: 377 – 387.
- Stimac J L, Alves S B and Camargo M T V. 1989. Control of *Solenopsis* spp. (Hymenoptera: Formicidae) com *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin condicoes of laboratory campo. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 18: 95 – 103.
- Vinson S B. 1997. Invasion of the red imported fire ant (Hymenoptera: Formicidae): spread, biology, and impact. *American Entomologist*, 43: 23 – 39.

(责任编辑:郭莹)

