

文章编号: 1003-8701(2007)04-0035-03

麦叶蜂幼虫感染异小杆线虫的时间-剂量-死亡率模型研究

任向辉¹, 王运兵¹, 韩日畴², 马召辉¹, 王延果¹

(1. 河南科技学院, 河南 新乡 453003 2. 广东省昆虫研究所, 广州 510260)

摘要: 在异小杆线虫 LN2 品系对麦叶蜂 5 龄幼虫的小规模敏感性试验基础上, 进行了室内毒力测定实验, 利用时间-剂量-死亡率分析技术对生测数据进行了处理。结果表明, 48 h 该品系的 LD₅₀ 为 1 840 线虫/虫。在 9 000 线虫/虫、4 500 线虫/虫、2 250 线虫/虫、1 130 线虫/虫、560 线虫/虫、280 线虫/虫 6 个浓度梯度的处理下, LT₅₀ 依次为 41、44、47、51、56 和 61 h。和几率分析技术相比, 时间-剂量-死亡率分析兼顾时间效应与剂量效应, 可以用于昆虫病原线虫毒力评价。

关键词: 麦叶蜂; 异小杆线虫; 时间-剂量-死亡率模型

中图分类号: S476*.15

文献标识码: A

小麦叶蜂 (*Dolerus tritici* Chu) 是我国麦田常见害虫。5 龄幼虫有假死现象, 傍晚开始出土咬食麦叶, 老熟幼虫则钻入地下休眠。时间-剂量-死亡率模型 (time-dose-mortality model, TDM model) 又称互补重对数模型 (complementary log-log model, CLL model)^[1,6]。该模型兼顾时间效应与剂量效应, 非常适合处理生物活体杀虫剂与低毒化学杀虫剂的生测资料, 是一种比较先进的数学分析方法, 但应用其处理昆虫病原线虫生测数据的报道目前国内还没有见到。虽然有应用昆虫病原线虫防治叶蜂的文献, 但防治麦叶蜂的报道还没有^[2]。在小规模线虫敏感性测试试验的基础上进行了异小杆线虫 (*Heterorhabditis indica*) LN2 品系对麦叶蜂的室内毒力测定, 生测数据利用 TDM 模型进行了分析。

1 材料与方法

1.1 实验材料

供试昆虫为同一采集地的麦叶蜂 5 龄幼虫。异小杆线虫 (*Heterorhabditis indica*) LN2 品系由广东省昆虫研究所提供, 海绵培养 10 低温保存。

1.2 实验方法

1.2.1 线虫寄主敏感性试验

取 4 个直径 9 cm 消毒培养皿。两个培养皿中放置 5g 带菌湿土, 土壤为叶蜂采集地的弱碱性壤土。另两个培养皿中放置与底部同大的两张无菌水打湿的干净滤纸。湿土培养皿加少量新鲜小麦叶段并注意保证土壤的透气性, 湿滤纸培养皿也加入少量新鲜小麦叶段。

每培养皿放 10 头麦叶蜂 5 龄幼虫, 分别加入 2 000 头斯氏线虫。带菌湿土培养皿中滴加线虫水悬液时注意培养皿的一侧放置叶蜂幼虫, 9 cm 远的另一侧滴加水悬液。20 室温培养 3 d 后解剖虫尸观察并开始收集线虫记数。

1.2.2 室内毒力生物测定实验

由于相对其它生物活体农药昆虫病原线虫个体较大, 无法稀释成较大的浓度梯度。此外, 昆虫病

收稿日期: 2007-04-20

项目基金: 河南科技学院重点资助基金项目 (0500136)

作者简介: 任向辉 (1967-), 讲师, 硕士, 主要从事昆虫学教学与科研。

原线虫不能直接杀死寄主昆虫而是通过共生菌杀死，昆虫寄主死亡时间一般在 48 h 左右。因此，实验设计时线虫的剂量不应太小，死虫统计应为 12 h 一统计为宜^[5]。

取 14 个直径 9 cm 的消毒培养皿，每个培养皿放置两张和底部同大的干净滤纸与少量新鲜小麦叶片段，再放 25 头麦叶蜂幼虫。取 12 个培养皿两个培养皿一个浓度梯度滴加 4 mL 线虫水悬液。浓度梯度为 9 000 条 / 虫、4 500 条 / 虫、2 250 条 / 虫、1 130 条 / 虫、560 条 / 虫与 280 条 / 虫共 6 个浓度梯度^[5]，最后两个培养皿滴加 4 mL 无菌水作空白对照。24 培养 12 h 一记数。

1.2.3 数据处理

分析软件采用 DPS 处理系统,数据分析用时间- 剂量- 死亡率模型。该模型简述如下^[3,4,6]:
该模型假定对于测试时间来说,受试昆虫被供试因子 d_i 致死的累计死亡概率为:

$$P_{ij}=1- \exp[- \exp(\tau_j+ \beta \lg d_i)]$$
 (1)

在时间区间(t_{j-1},t_j)内, d_i 使受试昆虫发生的死亡概率(即条件死亡概率)可表示为:

$$q_{ij}=1- \exp[- \exp(\gamma_j+ \beta \lg d_i)]$$
 (2)

公式(1)、(2)中待估参数 β 表示描述剂量效应的斜率; τ_j 和 γ_j 分别表示对应于时间 t_j 和时间区间(t_{j-1},t_j)内时间效应的待估参数。对公式(2)中的参数 γ_j 和 β 可以通过二项分布变量的最大似然数逼近法求得, τ_j 可通过有关公式估计。根据公式(1),理论上在任意时刻 t_j ,导致试虫死亡率 P_{ij} 的有效剂量为:

$$\theta_{ij}=\{\ln[- \ln(1- p_{ij})]- \tau_j\}/ \beta$$
 (3)

当死亡率 $P_{ij}=0.5$ 和 0.9 时,可根据公式(3)求出相应生物杀虫剂剂量(D)的对数值 $\lg(LD_{50})$ 和 $\lg(LD_{90})$,再求反对数即可得 LD_{50} 及 LD_{90} 。剂量 d_i 导致试虫死亡的速率,常以使试虫达到死亡率 P_{ij} 所需的时间表示,它们是 τ_j 的函数。估计致死中时的公式如下:

$$LT_{50}=t_j+[(t_{j+1}- t_j).(0.5- P_{ij})]/(P_{ij}- P_{j+1})$$

2 结果与分析

2.1 寄主敏感性实验结果

敏感性测试结果表明,麦叶蜂幼虫对异小杆线虫较敏感,湿滤纸与湿土中死亡时间相差不大,84 h 寄主全部死亡。

2.2 滤纸法室内毒力生测实验

异小杆线虫 LN2 品系对麦叶蜂室内毒力生测的实验结果见表 1:

表 1 异小杆线虫 LN2 品系滤纸法生测麦叶蜂存活数

剂量(每虫线虫数)	时间(h)							
	0	12	24	36	48	60	72	84
9 000	50	48	43	30	16	8	2	0
4 500	50	48	39	29	20	13	10	4
2 250	50	49	40	35	26	17	13	6
1 130	50	48	44	38	28	19	12	8
560	50	47	41	40	29	18	10	9
280	50	49	47	44	34	27	24	13
0	50	50	50	50	49	49	49	49

2.3 TDM 模型分析结果

表 2 异小杆线虫对麦叶蜂的 TDM 模型参数估计

方程系数	数值	标准误差	t 值	显著水平
β 值	0.646 66	0.126 37	5.117 13	0.000 01
	- 5.412 06	0.517 87	10.450 56	0
γ_j	- 4.167 21	0.456 21	9.134 37	0
	- 3.916 67	0.458 56	8.541 17	0
估计值	- 3.126 42	0.430 58	7.260 95	0
	- 2.932 58	0.428 88	6.837 70	0
值	- 3.006 17	0.439 28	6.843 45	0
	- 2.491 58	0.427 69	5.825 58	0

上述数据利用 DPS 软件进行时间- 剂量- 死亡率模型分析,公式(2)中各参数估计结果见表 2, 根据分析结果应用 DPS 自带绘图程序可绘制出条件死亡率三维图(图 1)。

DPS 还给出了 LD_{50} 与各剂量的 LT_{50} 对比见表 3。

查反对数表得第 4 个时段(即 48 h)异小杆线虫的 LD_{50} 为 1 835 线虫 / 虫, 约 1 840 线虫 /

虫。6 个浓度梯度的 LT_{50} 大约 41、44、47、51、56 和 61 h。

生物测定的卡方检验结果见下:

Pearson 卡方检验值: $X^2=37.623\ 80\ Df=34\ X^2_{0.05}=48.60>X^2$
Hosmer- Lemeshow 卡方检验值: $X^2=3.800\ 1\ Df=8\ X^2_{0.05}=15.51>X^2$

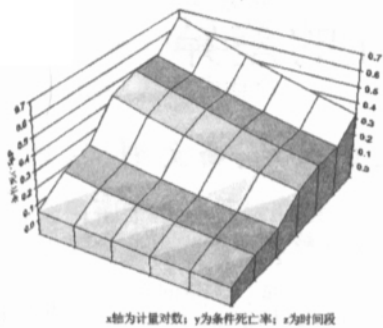


图 1 异小杆线虫的条件死亡率三维图

表 3 异小杆线虫的 LD_{50} 与 LT_{50}

时段	各时段 LD_{50} 的对数		各梯度剂量的 LT_{50}	
	LD_{50} 对数	SE	剂量对数	LT_{50}
1	7.802 42	0.760 23	3.954 24	40.550 4
2	5.486 03	0.365 32	3.653 21	43.623 6
3	4.416 11	0.204 18	3.352 18	46.989 0
4	3.268 36	0.100 48	3.053 08	51.244 8
5	2.507 12	0.144 67	2.748 19	55.978 7
6	2.030 29	0.200 72	2.447 16	61.458 8
7	1.462 22	0.272 47	-	-

3 讨 论

感染期线虫由于外鞘的保护作用,可以耐受一定的化学农药与压力,能和化学农药混用并可喷雾撒播,一定天气条件下对食叶害虫也有一定防治作用。上述生测数据结果表明,异小杆线虫对麦叶蜂幼虫的敏感性很好。室内滤纸法毒力测定数据时间- 剂量- 死亡率模型分析显示异小杆线虫对麦叶蜂的毒力指标与线虫感染一般寄主的毒力指标相似,致死中时一般 2 d 左右,2 d 的致死中量为每头寄主昆虫几百头线虫。小规模带菌湿土敏感性试验还表明,其对北方麦田的土壤环境有一定的适应性。本次生物测定表明,昆虫病原线虫是防治麦叶蜂危害盛期幼虫很有价值的生防因子。

昆虫病原线虫在杀死寄主时起共生菌注射器的作用,感染期线虫的剂量与进入寄主的共生菌剂量是呈正比的。本次线虫生测数据的处理表明,线虫剂量与寄主死亡时间是有联系的,时间- 剂量- 死亡率模型适用于线虫感染寄主昆虫的生测数据处理。与传统的几率分析方法相比,应用时间- 剂量- 死亡率模型分析生测数据可以做到兼顾时间效应与剂量效应,充分利用数据中体现的各种信息。异小杆线虫在麦田的存活情况、对麦叶蜂幼虫地下状态的防治试验、低剂量的生测试验以及与化学杀虫剂的协同毒力试验本文还没有涉及,须进一步进行研究。

参考文献:

[1] 冯明光. 时间- 剂量- 死亡率模型取代几率分析技术[J]. 昆虫知识, 1998, 35(4): 233- 238 .
[2] 李平淑, 张善稿, 张刚应, 等. 应用芜菁夜蛾线虫防治蛀干害虫和叶蜂[J]. 生物防治通报, 1987, 3(3): 139- 140 .
[3] 许文耀, 游文莉, 陈章艳. 甲维盐氟铃脲复配剂对甜菜夜蛾的时间- 剂量- 死亡率模型研究 [J]. 华东昆虫学报, 2004, 13(2): 84- 90 .
[4] 贾春生. 绿僵菌对东北大黑鳃金龟的时间 - 剂量 - 死亡率模型分析[J]. 中国植保导刊, 2005, 25(10): 11- 14 .
[5] 陈 涛, 张友清, 孙松柏, 等. 生物农药检测及其原理[M]. 北京: 中国农业出版社: 1993: 284- 317 .
[6] 唐启义, 冯明光. 实用统计分析及计算机处理平台[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997: 131- 142 .

Study on Time- dose- mortality Model of *Dolerus tritici* Infected *Heterorhabditis indica*

REN Xiang- hui¹, WANG Yun- bing¹, HAN Ri- chou², MA Zhao- hui¹, WANG Yan- guo¹

(1 Henan Science and Technology College, Xinxiang 453003;

2. Insects Research Institute of Guangdong Province, Guangzhou 510260, China)

Abstract: On the basis of a small- scale sensitivity text, the indoor virulence bioassay of *Heterorhabditis indica* was carried out on *Dolerus tritici*, and the data were processed by time- dose- mortality (TDM) model. The results showed that the LD_{50} of nematode strain LN2 was 1840 infective juveniles (下转第 40 页)

僵菌处理后苜蓿切叶蜂在第 5d 和第 10d 的死亡率分别为 52% 和 84.8%。试验结果表明,从田间采集到的感白僵菌死亡的僵蜂体上分离得到的菌株较 Brinkman 等(1997)从蝗虫体内分离的球孢白僵菌株系对苜蓿切叶蜂成蜂具有较高的致病力。本试验的研究结果与 Brinkman 等 (1997) 和 Georzen 等(1990)的研究结果均表明白僵菌对苜蓿切叶蜂是非常有害的^[3,5]。

由于苜蓿切叶蜂在国内外苜蓿制种业上的重要性, 在生长季节要使白僵菌对切叶蜂的影响达到最小,降低苜蓿切叶蜂繁殖过程中因白僵菌而造成的损失,应在远离施用白僵菌的苜蓿制种地进行苜蓿切叶蜂的繁殖。另外,由于白僵菌的分生孢子长时间暴露在太阳光下会丧失侵染能力,所以,在放蜂前 10d 左右,可以利用白僵菌对苜蓿田间的害虫进行防治。切叶蜂易于人工管理,可在人工巢板中繁殖,也可在喷施白僵菌的时候将巢板取走,以此来减少成蜂与空气中白僵菌孢子接触的几率,减少对蜂的影响。在实际生产中,应因地选蜂,针对苜蓿制种田的条件,选择对白僵菌具有较强抗性的一化性种群的首蓿切叶蜂。将来应加强从微观生态学来对一化性种群和二化性种群抗病性差异进行研究。

参考文献:

- [1] 付志坚,等. 白僵菌对昆虫的致病性机理研究综述[J]. 武夷科学, 2000(16):105- 109 .
- [2] 蒋明星,等. 球孢白僵菌对稻水象甲成虫的毒力测定[J]. 植物保护学报. 2002, 29(3):287- 288 .
- [3] Mark A. Brinkman, Billy W. Fuller, Kevin G. Leubke, et al., Susceptibility of Adult Alfalfa Leafcutting Bees (Hymenoptera: Megachilidae) to *Beauveria bassiana* Infection[J]. J. Agric. Entomol, 1997. 14(4): 393- 396 .
- [4] 张永军,等. 球孢白僵菌的生物学特性及对小麦蚜虫的毒力[J]. 西南农业大学学报, 2001, 23(2): 144- 146 .
- [5] Goerzen, D. W., M.A. Erlandson & K.C. Moore. 1990. Effect to two insect viruses and two entomopathogenic fungi on larval and pupal development in the alfalfa leafcutting bee, *Megachile rotundata* (Fab.) (Hymenoptera: Megachilidae) [J]. Can. Entomol. 122:1039- 1040 .

Susceptibility of Different Voltine Adult Alfalfa Leaf- cutting Bee, *Megachile rotundata* F.

(Hymenoptera: Megachilidae), to *Beauveria bassiana* Infection

LI Mao- hai, LI Jian- ping, YANG Gui- hua, LIU Jin- wen, HOU Yun- long, QU Wen- li

(Institute of Plant Protection, Academy of Agricultural Sciences of Jilin Province, Gongzhuling, 136100 China)

Abstract: The susceptibility of two strains of alfalfa leaf- cutting bee to *Beauveria bassiana* was studied in laboratory. The bivoltine adult died faster than the univoltine adult under 28 °C and RH 60% after treatment, the mortality was 67% and 38% at 72 hours respectively. There was significant difference on susceptibility between two strains of the bee to *B. bassiana*. The bivoltine adult was more susceptible to *Beauveria bassiana* ($P < 0.05$).

Key words: *Megachile rotundata*; *Beauveria bassiana*; Susceptibility; Voltine

(上接第 37 页)(IJ) per insect larvae at 48 hours, and the LT50 of this strain were 41 hr., 44 hr., 47 hr., 51 hr., 56 hr. and 61 hr. in the dosages order of 9,000 IJ per larvae, 4,500 IJ per larvae, 2,250 IJ per larvae, 1,130 IJ per larvae, 560 IJ per larvae and 280 IJ per larvae. In conclusion, TDM model technology considers both time and dosage effects compared with Probability Analysis Technology, and adapts to the virulence evaluation of Entomopathogenic nematode.

Key words: *Dolerus tritici*; *Heterorhabditis indica*; Time- dose- mortality model