

球孢白僵菌与苦参碱联合作用对稻水象甲成虫毒力测定

朱晓敏¹, 张强¹, 李锋², 李雪梅³, 王艳辉², 高悦⁴, 赫思聪⁴, 田志来^{1*}

(1. 吉林省农业科学院植物保护研究所/农业部东北作物有害生物综合治理重点实验室, 吉林 公主岭 136100; 2. 通榆县乌兰花镇农业技术推广站, 吉林 白城 137209; 3. 大安市农业技术推广中心, 吉林 大安 131300; 4. 吉林省农科院生物制剂实验厂, 吉林 公主岭 136100)

摘要:为了筛选出防治稻水象甲的高效生物农药,以球孢白僵菌 WP(100 亿/g)、WP(100 亿/g)+苦参碱、苦参碱、绿僵菌乳粉剂(100 亿/g)等 4 个处理对稻水象甲成虫进行室内生测试验,在施菌(药)24 h 后开始观察稻水象甲成虫的死亡情况。结果表明:(WP(100 亿/g)+苦参碱)处理组的 LT₅₀ 最小,为 122.27 h,比单剂白僵菌及苦参碱分别缩短 36.65%、41.28%;校正死亡率最高,为 89.47%,比单剂球孢白僵菌及苦参碱分别提高 13.32%、15.91%;白僵菌与苦参碱联合作用,在防治效果上是具有加成或增效的。

关键词:稻水象甲;白僵菌;苦参碱;毒力测定

中图分类号:S435.112*.6

文献标识码:A

文章编号:2096-5877(2020)02-0041-03

Bioassay for Combination Effects of *Beauveria Bassiana* and Matrine on Rice Water Weevil, *Lissorhoptrus Oryzophilus*

ZHU Xiaomin¹, ZHANG Qiang¹, LI Feng², LI Xuemei³, WANG Yanhui², GAO Yue⁴, HE Sicong⁴, TIAN Zhilai^{1*}

(1. Institute of Plant Protection, Jilin Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Integrated Pest Management on Crops in Northeast, Ministry of Agriculture, Gongzhuling 136100; 2. Wulanhua Town Agricultural Technology Promotion Station of Tongyu County, Baicheng 137209; 3. Da'an Agricultural Technology Extension Center, Da'an 131300; 4. Biological Agents Demonstration Plant of Jilin Academy of Agricultural Sciences, Gongzhuling 136100, China)

Abstract: In order to screen out high-efficiency biological pesticides for controlling rice water weevil, *Beauveria bassiana* WP (10 billion / g), WP (10 billion / g) + matrine, matrine, Metarhizium emulsifiable powder (10 billion / g) were carried out on the indoor bioassay of the rice water weevil, and the death of the rice water weevil began to be observed 24 hours after the application of the bacteria. The results showed that WP (10 billion / g) + matrine had the smallest LT₅₀ of 122.27 h and the highest corrected mortality rate of 89.47%, the LT₅₀ of which was 36.65% and 41.28% shorter than single dose of *Beauveria bassiana* and matrine, respectively. Compared with a single dose of *Beauveria bassiana* and matrine, the corrected mortality rate increased 13.32% and 15.91%, respectively. The combination of *Beauveria bassiana* and matrine has an additive or synergistic control effect.

Key words: *Lissorhoptrus oryzaophilus* Kuschel; *Beauveria bassiana*; Matrine; Bioassay

稻水象甲 (*Lissorhoptrus oryzaophilus* Kuschel) 又名稻水象、稻根象、稻象甲等。属鞘翅目 (Coleoptera), 象虫科 (Curculionidae), 沼泽象亚科 (Er

irhininae), 稻水象属 (*Lissorhoptrus*), 主要为害水稻等禾本科农作物, 是一种世界性检疫害虫^[1]。20 世纪 70 年代初, 发现孤雌生殖型稻水象甲已传入亚洲^[2]。1988 年稻水象甲在我国河北省唐海县首次发现, 此后稻水象甲疫区已扩散至我国西北、西南、东北、华北、华东、华中、华南等 23 个省 (自治区、直辖市) 463 个县 (市或地区)^[3-5]。目前, 稻水象甲还有继续蔓延的趋势, 发生面积也逐渐增多, 对作物危害十分严重。稻水象甲成虫啃食

收稿日期: 2019-05-29

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2017YFE0104900); 吉林省科技厅农业重点技术攻关项目 (20190301065NY)

作者简介: 朱晓敏 (1987-), 女, 助理研究员, 硕士, 主要从事微生物农药及害虫生物防治研究工作。

通讯作者: 田志来, 男, 研究员, E-mail: gzltzl@126.com

稻叶,幼虫为害稻根,影响分蘖;水稻被害时一般减产10%~30%,受害较重时减产40%~60%,甚至造成植株死亡,导致绝收^[6-8]。我国从20世纪80年代开始开展稻水象甲的研究工作,对稻水象甲的行为学、生态学、生理生化及发生、防治方面进行了大量研究,解决了许多关键问题。在稻水象甲的防控上,70年代以克百威颗粒剂作为主要防治药剂,该药1995年被禁后,氟虫腈、噻虫嗪、氯虫苯甲酰胺成为主要替代药剂^[9]。目前对稻水象甲的防治仍以化学防治为主,且以三唑磷防治稻水象甲成虫效果较好^[10-12];由于稻水象甲专性寄生和捕食性天敌匮乏,对于稻水象甲生物防治,主要以微生物农药为主,国内学者开展了大量的稻水象甲生物防治研究工作^[13-23]。但是,采用生物防治手段叠加方法防治稻水象甲,至今未见报道。为进一步筛选防治稻水象甲的高效生物农药,以及增强生物药剂的速效性和田间防效,本文以白僵菌可湿性粉剂为基础,联合生物农药苦参碱,进行了室内生测试验,结果如下。

1 材料与方 法

1.1 供试材料

(1) 试验药剂:白僵菌可湿性粉剂(100亿/g,吉林省农业科学院植物保护研究所提供)、苦参碱水剂(有效成分含量0.3%,江苏丰山集团股份有限公司)、绿僵菌乳粉剂117(100亿/g,重庆大学提供)。

(2) 供试虫源及饲养:供试稻水象甲成虫于2017年秋季采集于吉林省公主岭市南崴子镇水稻田内,采回后放置在温度为(26±1)℃的室内条件下,单管分离放置7 d后将死虫及僵虫去除,挑取活跃、健康的成虫个体备用。

1.2 试验方法

本试验参照国家农业部行业标准NY/T 1154.4-2006进行。

药剂处理:将白僵菌WP(100亿/g)、绿僵菌

EP(100亿/g)按照使用说明分别配置成孢子浓度为 2×10^7 孢子悬浮液、生物农药苦参碱浓度为200倍液、试验共计设置白僵菌WP、绿僵菌EP、苦参碱、白僵菌WP+苦参碱(1:1等体积)、清水空白对照(CK),共计5个处理。

生测试验方法:采用喷雾法处理,将准备好的稻水象甲成虫放在经灭菌的培养皿内,每皿20头,然后用喉头喷雾器对每个培养皿进行喷雾接种(重复按喷雾器3下)每个处理设4个重复,每个重复20头稻水象甲成虫。喷雾接种后,将稻水象甲单头放入装有滤纸条的指形管中,指形管管口用棉球塞好,以保持通气。对照组用等量的0.1%吐温-80无菌水接种。记好名称、浓度、编号等。将处理和对照均置于(26±1)℃、RH=90%的条件下,三日内向指形管内加水以保持高湿,第二天起逐日调查统计感染死亡虫数,并记录僵虫数,累计调查15 d,最后统计校正死亡率。

1.3 调查及统计分析方法

施药后24、48、72、96、120、144、168 h连续调查稻水象甲死亡数量,根据调查数据计算各处理的校正死亡率。用DPS软件对调查数据进行统计分析,计算各药剂以及不同梯度下的 LT_{50} ,评价各药剂对稻水象甲的毒力活性。

2 结果与分析

不同药剂处理对稻水象甲具有较高毒力,不同处理的 LT_{50} 也不同,白僵菌处理、苦参碱处理、绿僵菌处理的 LT_{50} 分别为193.01 h、208.23 h、265.83 h;而白僵菌+苦参碱处理的 LT_{50} 值为122.27 h,致病力表现为最好;白僵菌在100亿/g孢子浓度下与苦参碱联合作用,其对稻水象甲的致死时间比苦参碱单剂缩短近42%,与此浓度下白僵菌比较, LT_{50} 明显减小,致死效率提高36.65%,说明苦参碱对白僵菌致病于稻水象甲有促进和增效作用(表1)。

表1 不同药剂处理对稻水象甲的毒力(LT_{50})

| 处理(亿/g) | 毒力相关方程 | 相关系数 | LT_{50} (h) | 95%置信区间 |
|-----------|-------------------------|---------------|---------------|-----------------|
| 白僵菌WP | $y=3.735 1+0.006 556 x$ | $r=0.980 096$ | 193.01 | 193.01±50.102 |
| 白僵菌WP+苦参碱 | $y=3.861 6+0.009 308 x$ | $r=0.984 617$ | 122.27 | 122.27±23.92 |
| 苦参碱 | $y=3.147 3+0.008 897 x$ | $r=0.973 853$ | 208.23 | 208.23±64.507 4 |
| 绿僵菌EP | $y=3.142 1+0.006 989 x$ | $r=0.981 283$ | 265.83 | 265.83±78.406 9 |
| CK | $y=3.142 7+0.002 668 x$ | $r=0.980 484$ | 696.14 | 696.14±178.036 |

白僵菌WP+苦参碱处理药后7 d校正死亡率最高,为89.47%,而白僵菌WP处理其校正死亡率

能达到78%以上,对防治稻水象甲有较强的致病力;其中绿僵菌处理药后7 d校正死亡率最低,为

24.56%。但白僵菌与苦参碱联合使用能达到89.47%的致病效果,远比单独使用苦参碱对稻水象甲的致病力高,也比单独使用白僵菌(孢子浓度达到100亿/g)防治稻水象甲提高10%以上,说

明白僵菌与苦参碱合剂在保证白僵菌单独使用对稻水象甲产生防效的同时,还可以作为有效增强白僵菌的速效性的措施(表2)。

表2 不同药剂对稻水象甲成虫毒力

| 药剂处理 | 供试虫数(头) | 平均校正死亡率(%) | | | |
|------------|---------|--------------|-------------|-------------|--------------|
| | | 药后1 d | 药后3 d | 药后5 d | 药后7 d |
| 白僵菌 WP | 80 | 13.33±4.41ab | 26.67±8.82a | 62.07±4.56a | 78.95±3.04ab |
| 白僵菌 WP+苦参碱 | 80 | 18.33±4.41a | 31.67±1.67a | 70.69±3.44a | 89.47±3.51a |
| 苦参碱 | 80 | 16.67±1.67a | 28.33±1.67a | 62.07±8.62a | 77.19±3.51b |
| 绿僵菌 EP | 80 | 3.33±3.33bc | 5.00±2.89b | 15.52±1.72b | 24.56±3.51c |
| CK | 80 | 0.00±0.00c | 0.00±0.00b | 1.15±0.57b | 1.75±1.75d |

注:表中数据为平均值±标准误,不同小写字母表示0.05水平上差异显著

关于白僵菌对稻水象甲的致死率浓度测试中得出,不同药剂致病力有差异,但整体上均高于绿僵菌,从致死效率的角度分析统计的实验结果和其趋势基本一致。另一方面,速效性是生物农药白僵菌广泛应用的技术瓶颈之一,与生物源农药的联合作用,是增强白僵菌速效性的有效途径之一。

3 讨 论

在利用白僵菌、绿僵菌防治稻水象甲方面,国内外学者曾做了大量工作,并取得了一定的成绩^[24-26]。前人研究结果表明,不同球孢白僵菌对稻水象甲均具有一定的致死作用,是一种很有利用前景的生防资源,在稻水象甲的生物防治方面具有潜在的应用价值。近年来国内外学者都针对单一的白僵菌对稻水象甲进行防治。本研究首次采用了白僵菌与苦参碱联合作用,其白僵菌与苦参碱联合施用平均校正死亡率能接近90%,远高于单独使用白僵菌或苦参碱对稻水象甲的校正死亡率,二者表现出较好的加成和增效作用,说明二者联合防治稻水象甲具有可行性。本研究采用单一浓度试验测试了白僵菌与苦参碱联合作用对稻水象甲的致病力,取得了初步的实验结果,对于二者联合作用的最佳比例、有效剂型等还有待于进一步测试研究。

本研究首次采用白僵菌与单一生物农药苦参碱联合作用对稻水象甲进行了室内生测试验,并取得了显著效果。对于其它生物源农药与白僵菌联合使用是否具有促进和增效作用,有待进一步的试验验证^[27-29]。

从室内生测角度,单一试验得出白僵菌与苦参碱联合施用,二者具有协同增效作用;从田间防治角度,用球孢白僵菌与生物农药苦参碱联合施用,能否

在防治稻水象甲的同时,又能达到高防效、低成本、长持效的目的,我们还需进一步深入研究。

参考文献:

- [1] 郭文超,李晶,魏振兴,等.新疆首次发现水稻重大外来有害生物稻水象甲[J].新疆农业科学,2011,48(1):70-74.
- [2] 邓根生,张先平,孙敏,等.国内外稻水象甲研究现状[J].陕西农业科学,2005(2):55-56.
- [3] 王小武.新疆稻水象甲传播、扩散及防控技术研究[D].石河子:石河子大学,2017.
- [4] 贺华良,胡岩,叶波,等.湖南省稻水象甲的遗传多样性及入侵扩散特点[J].湖南农业大学学报(自然科学版),2018,44(6):613-619.
- [5] 朱晓敏,骆家玉,田志来.我国稻水象甲研究进展与展望[J].吉林农业科学,2015,40(5):79-84.
- [6] 张富满,王越人,王宝春.稻水象甲的扩散原因及治理对策[J].吉林农业科学,2006,31(5):42-44.
- [7] 余海忠,杨璞,刘慧宏,等.检疫性害虫稻水象甲的控制策略研究进展[J].植物检疫,2008(2):108-111.
- [8] 曾燕清,李贵龙,杜永春.不同药剂对稻水象甲成虫防治效果及对幼虫控制研究[J].湖南农业科学,2006(1):60-70.
- [9] 王小武,丁新华,吐尔逊·阿合买提,等.不同生物药剂对稻水象甲的毒力、拒食活性及防效分析[J].生物安全学报,2017,26(1):68-74.
- [10] 孙艳梅,陈殿元.吉林省水稻有害生物的发生动态及防治对策[J].吉林农业科学,2003,28(3):35-38.
- [11] 何永福,张忠民,叶照春,等.不同药剂防控稻水象甲幼虫试验[J].农药,2016,55(8):607-609,620.
- [12] 叶照春,张忠明,何永福,等.防治稻水象甲成虫药剂室内筛选[J].农药,2012,51(8):613-615.
- [13] 于凤泉,李志强,刘培斌,等.稻水象甲生物防治研究进展[J].辽宁农业科学,2003(6):19-20.
- [14] 陈祝安,冯惠英,施立聪,等.田间施放绿僵菌防治稻水象甲效果评价[J].中国生物防治,2000,16(2):52-55.
- [15] 柴一秋,陈祝安.金龟子绿僵菌对稻水象甲的致病性[J].中国生物防治,2000,16(1):22-25.

(下转第115页)

时间 2.5 h,在此条件下水解度为 27.80%。

参考文献:

- [1] 李 良,周 艳,邹智博,等. 高温豆粕大豆分离蛋白射流空化辅助提取[J]. 农业机械学报,2019,50(9):373-380.
- [2] 李婷婷. 超声辅助酶解高温豆粕制糖肽技术研究与构效分析[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2017.
- [3] 于冬蕾,李婷婷,吴海波,等. 超声辅助酶解高温豆粕制备抗氧化产物[J]. 食品科学,2018,39(20):268-277.
- [4] Xin D Z, Jian W Z, Heng Z W, et al. Evaluation of soybean meal as alternative to fish meal in diet for juvenile Asian red-tailed catfish (*Hemibagrus wyckioides*) [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2019, 25(4): 1036-1049.
- [5] Choi D G, He M, Fang H, et al. Replacement of fish meal with two fermented soybean meals in diets for rainbow trout(*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2019(4): 1-10.
- [6] 张 磊,刘松鑫,刘 畅,等. 鹿骨胶原多肽螯合钙的制备[J]. 食品工业,2019,40(11):1-6.
- [7] 王 虹,刘 鑫,邹晓霜,等. 蛋白鲜味肽复合调味品生产技术研究[J]. 中国食物与营养,2018,24(11):34-38.
- [8] 李学鹏,谢晓霞,朱文慧,等. 食品中鲜味物质及鲜味肽的研究进展[J]. 食品工业科技,2018,39(22):319-327.
- [9] 莫加利,陈季旺,刘静泊,等. 风干武昌鱼中鲜味肽的分离纯化及二级结构分析[J]. 食品科学,2019,40(14):23-28.
- [10] 谢晓霞. 文蛤与蓝蛤鲜味肽的呈味特性及其与鲜味受体 T1R1/T1R3 的分子作用研究[D]. 锦州:渤海大学,2019.
- [11] 张宁龙,王文利,刘 源. 牛肉风味肽的研究进展[J]. 食品工业科技,2019,40(8):317-322.
- [12] 居乃琥. 国际调味品工业发展的新动向与对策(上)[J]. 中国调味品,2006(12):4-8.
- [13] 刘玉兰,汪学德,丁 莉. 利用高温豆粕生产醇洗大豆浓缩蛋白的研究[J]. 中国油脂,2007(11):36-39.
- [14] 李 莹,韩云胜,赵青余,等. 豆粕与发酵豆粕中主要营养成分、抗营养因子及体外消化率的比较分析[J]. 中国饲料,2019(23):76-81.
- [15] 张 静,李 理. Alcalase 蛋白酶酶解高温豆粕制备水溶性大豆多肽[J]. 食品工业科技,2012,33(10):212-215.
- [16] 高梅娟,刘 平,兰小红,等. 双酶酶解豆粕蛋白制备低苦味肽[J]. 食品工业科技,2010,31(2):193-197.
- [17] LIU B Y, ZHU K X, PENG W, et al. Effect of sequential hydrolysis with endo- and exo-peptidase on bitterness properties of wheat gluten hydrolysates[J]. *RSC Advances*, 2016,6(33):27659-27668.
- [18] SEO W H, LEE H G, BAEK H H. Evaluation of bitterness in enzymatic hydrolysates of soy protein isolate by taste dilution analysis[J]. *Journal of Food Science*, 2008, 73(1):6.
- [19] 刘伯业. 小麦蛋白低苦味肽的制备及其脱苦机理研究[D]. 无锡:江南大学,2017.
- [20] 包美丽,杨添植,张立钢,等. 双酶法制备马鹿茸降血糖肽工艺优化及其对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果[J]. 食品科学,2017,38(6):88-95.
- [21] 孙 敏,李 诚,刘爱平,等. 乳清蛋白抗氧化肽的制备及体外抗氧化活性研究[J]. 中国油脂,2019,44(8):22-27.
- [22] 叶 凯,李小强,周金虎,等. 响应面法酶解藜麦蛋白制备 α -淀粉酶抑制肽的工艺研究[J]. 中国调味品,2019,44(12):6-11.
- [23] 韩继福,任建波. Alcalase 酶水解玉米蛋白粉制备可溶性肽最佳条件的研究[J]. 吉林农业科学,2003(3):46-49.
- [24] 王广慧,李士慧,梁 婷,等. 响应面优化超声波辅助复合酶法提取杏鲍菇黄酮[J]. 东北农业科学,2018,43(1):45-50.
- [25] 赵欣锐,王秋阳,杨晰茗,等. 木聚糖酶改性红松松仁膜衣膳食纤维工艺优化及结构分析[J]. 东北农业科学,2019,44(5):111-115,122.
- [26] 田志刚,孙洪蕊,刘香英,等. 酶制剂对马铃薯面包品质的影响[J]. 东北农业科学,2019,44(5):103-106.
- [27] 任志龙,吕俊丽,王 涵,等. 酶-微波法协同提取苜蓿酚类物质工艺的研究[J]. 东北农业科学,2019,44(4):89-93.
- [28] 余 敏,黄晶晶,付瑞燕,等. 响应曲面法优化酶解豆粕蛋白制备降糖肽的工艺[J]. 食品工业科技,2018,39(6):108-113.
- (责任编辑:王丝语)
- [24] Yozhizawa E. Microbial control of the rice water weevil with entomogenous fungi[A]. In: Hirai K. Establishment, spread, and management of the rice water weevil and migratory rice pests in east Asia[C]. *Narc, Tsukuba*, 1993: 265-274.
- [25] 陈建军,艾新龙,汤少波,等. 白僵菌与两种化学药剂对稻水象甲成虫的药效试验[J]. 湖北植保,2018(6):33-34.
- [26] 王 伟,吕梦娇,赵利霞,等. 新型苦参碱衍生物的水相合成及其晶体结构(英文)[J]. 有机化学,2018,38(4):883-889.
- [27] 豆敏详,姚 满,吴志凤,等. 苦参碱在土壤中的环境行为研究[J]. 农药学报,2017,19(5):576-582.
- [28] 刘秀红,王小武,丁新华,等. 新疆主要稻区不同稻水象甲地理种群对常用杀虫剂抗性测定[J]. 新疆农业科学,2018(10):1847-1853.
- [29] 徐 进,杨茂发,狄雪源,等. 球孢白僵菌 YS03 菌株对稻水象甲的田间防治效果[J]. 西南农业学报,2015,28(4):1630-1633.
- (责任编辑:王丝语)

(上接第 43 页)

- [16] 蒋明星,高晗武. 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.
- [17] 王 鹏,司怀军,吴家和. 不同球孢白僵菌株毒杀稻水象甲成虫的效果分析[J]. 生物学杂志,2016,33(1):17-20.
- [18] 徐 进,杨茂发,师沛琼,等. 球孢白僵菌 YS03 菌株对稻水象甲成虫取食的影响[J]. 广东农业科学,2013,40(20):73-76.
- [19] 徐 进,杨茂发,杨大星,等. 不同球孢白僵菌对稻水象甲成虫的致病力测定[J]. 贵州农业科学,2013,41(3):69-72.
- [20] 李春雨,谭长仁,魏雅娟,等. 生物农药 1% 苦参碱水剂防治蟹田稻水象甲技术研究[J]. 北方水稻,2008,38(6):74-75.
- [21] 李晓光,王立侠,刘 影,等. 应用生物农药防治稻水象甲的试验研究[J]. 吉林农业大学学报,2004,26(4):411-413.
- [22] 吕德久. 苦参碱可溶性液剂在养蟹稻田应用的初步研究[J]. 农业研究,2010(2):107.
- [23] 狄雪源,杨茂发,徐 进,等. 贵州稻水象甲危害损失和防治指标研究[J]. 应用昆虫学报,2015,52(6):1474-1481.