

杀虫真菌在玉米内的定殖及公主岭霉素对其定殖率影响的研究

张云月¹, 周艳宏², 杜茜¹, 毛刚¹, 高月波¹, 王立辉³, 汪洋洲^{1*}

(1. 吉林省农业科学院植物保护研究所, 吉林 公主岭 136100; 2. 哈尔滨师范大学, 哈尔滨 150025; 3. 镇赉县农业技术推广中心, 吉林 白城 137300)

摘要:为明确球孢白僵菌和金龟子绿僵菌在玉米植株内的定殖能力及公主岭霉素对其定殖率的影响,本研究以玉米秸秆颗粒为载体制备成载菌颗粒剂,将球孢白僵菌(*Beauveria bassiana*)(Bb)、金龟子绿僵菌(*Metarhizium anisopliae*)(Ma)和公主岭霉素(769)混合接种玉米植株,使球孢白僵菌和金龟子绿僵菌在玉米内定殖。结果表明:球孢白僵菌和金龟子绿僵菌联合接种组中两种虫生真菌的定殖率分别为47.5%和78%,均高于其他处理组,定殖能力最强。三种微生物农药联合接种组球孢白僵菌和金龟子绿僵菌的定殖率最低,分别为25%和50%。结果证明,球孢白僵菌和金龟子绿僵菌联用可相互促进彼此在寄主植物中的定殖能力,公主岭霉素能抑制球孢白僵菌和金龟子绿僵菌的增效作用,但与单一菌种接种时对寄主的定殖能力影响不显著。

关键词:球孢白僵菌;金龟子绿僵菌;公主岭霉素;定殖

中图分类号:S476

文献标识码:A

文章编号:2096-5877(2023)02-0095-04

Study on Colonization of Fungal Insecticides in Core and Gongzhulingmycin Effect on Colonization Efficiency

ZHANG Yunyue¹, ZHOU Yanhong², DU Qian¹, MAO Gang¹, GAO Yuebo¹, WANG Lihui³, WANG Yangzhou^{1*}

(1. Institute of Plant Protection, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Gongzhuling 136100; 2. Harbin Normal University, Harbin 150025; 3. Zhenlai Agricultural Technology Extension Station, Baicheng 137300, China)

Abstract:In order to determine the colonization efficiency of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in corn and the affection of gongzhulingmycin, three kinds of biological agents were inoculated together in corn with corn straw granule as a kind of microorganism-carrier. Colonization rate of *B. bassiana* and *M. anisopliae* were detected. The result shows that colonization rate of *B. bassiana* and *M. anisopliae* in treatment of *B. bassiana* with *M. anisopliae* was 47.5% and 78% respectively, significantly higher than other treatments and the control. Colonization rate of *B. bassiana* and *M. anisopliae* in treatment of three kinds of microbial agents were 25% and 50% respectively, lower than other treatments and the control. Our results indicated that combination of *B. bassiana* with *M. anisopliae* could increase the colonization efficiency each other. Gongzhulingmycin could inhibit the synergistic action of *B. bassiana* and *M. anisopliae*, but there is no significant effect on colonization efficiency of *B. bassiana* or *M. anisopliae*.

Key words:*Beauveria bassiana*; *Metarhizium anisopliae*; Gongzhulingmycin; Colonization

利用虫生真菌防治农业害虫是生物防治技术的主要方式之一^[1],而球孢白僵菌(*Beauveria bassiana*)(Bb)和金龟子绿僵菌(*Metarhizium anisopliae*)

(Ma)是目前世界上防治害虫应用较广的虫生真菌^[2]。研究发现将这两种虫生真菌联合应用对杀虫活性具有显著的协同增效作用。将球孢白僵菌和金龟子绿僵菌联合使用对草地贪夜蛾(*Spodoptera frugiperda*)幼虫进行室内杀虫活性评估,结果表明不同杀虫真菌联合使用能有效提高对草地贪夜蛾幼虫的杀虫活性^[3]。已验证虫生真菌具有植物内生性,该类菌种可在多种植物组织内定殖共生。如球孢白僵菌可以在玉米、高粱、番茄、棉花、小

收稿日期:2020-03-30

基金项目:国家重点研发计划项目(2017YFD0201804)

作者简介:张云月(1985-),女,助理研究员,硕士,从事农业昆虫与害虫防治研究。

通讯作者:汪洋洲,男,博士,副研究员,E-mail: wang_yangzhou@163.com

麦^[4-8]组织中定殖,金龟子绿僵菌可以在番茄、大豆、柳枝稷及扁豆等植物组织中定殖^[9-11]。

不吸水链霉菌公主岭新变种 *Streptomyces ah-grossopicus gongzhulingensis* (农抗 769) 是一种对真菌有广谱抑菌作用的生物防治放线菌,其代谢产物被称为公主岭霉素,是一种自然生物合成的混合制剂,抑菌谱广泛,对多种蔬菜和大田作物的病原菌具有较好的拮抗作用。研究发现农抗 769 对水稻稻瘟病病菌、玉米大斑病病菌、高粱散黑穗病病菌、玉米穗腐病病菌、葱紫斑病病菌、番茄炭疽病病菌等 16 种植物病原真菌均有明显的抑制效果^[12]。对昆虫病原真菌的作用效果鲜少报道。

本研究将玉米种子播种于混入载菌颗粒剂的营养土中,使球孢白僵菌和金龟子绿僵菌在玉米中定殖,旨在明确在对玉米定殖能力方面两者间相互作用以及公主岭霉素对其定殖能力的影响。

1 材料与方 法

1.1 供试材料

供试菌株:a.球孢白僵菌 BbDPSD2 菌株,分离自山东济南桃蛀螟幼虫僵虫,菌种保存于吉林省农业科学院植物保护研究所;b.金龟子绿僵菌购自厦门多多生物科技有限公司;c.公主岭霉素粉剂,吉林省农业科学院植物保护研究所提供。

供试玉米:吉单 209。

1.2 试验方法

1.2.1 试验设计

试验共设置 5 个处理,分别为:(1)球孢白僵菌接种组(Bb);(2)金龟子绿僵菌接种组(Ma);(3)球孢白僵菌和金龟子绿僵菌联合接种组(Bb+Ma);(4)球孢白僵菌、金龟子绿僵菌和公主岭霉素联合接种组(Bb+Ma+769);(5)空白对照组(CK)。每个重复 10 株,5 次重复。将玉米种子播种在直径 31 cm,高 30 cm 的花盆中,每盆装营养土 20 kg,施加复合肥 20 g,肥料终浓度为 0.1%。每盆播种 3 粒玉米种子。将花盆置于温室中(白天(25±2)℃,夜间(20±2)℃,相对湿度 RH50%,光周期 12 L:12 D)。待出苗后间苗,留下 1 株长势健壮的植株。

1.2.2 颗粒剂的配制

将球孢白僵菌 BbDPSD2 菌株、金龟子绿僵菌菌株接种于含有 100 mL SDY 液体培养基的锥形瓶中,置于恒温振荡培养箱中 26℃、180 r/min 暗培养 4 d。将公主岭霉素接种于灭过菌的玉米糝中(121℃,高压湿热灭菌 20 min),28℃培养 5~7

d,待玉米糝表面布满灰色的菌层后自然晾晒,干燥并粉碎,制备成公主岭霉素粉剂。将玉米秸秆粉碎成直径约为 3 mm 大小的颗粒,把培养好的菌液按照相应的试验处理组合倒入粉碎后的秸秆颗粒中,每 1 kg 秸秆中加入 100 mL 菌液,充分搅拌均匀。将配制好的颗粒剂混合物置于室温下,暗处培养 7 d。

1.2.3 接种处理

将发酵后的载菌颗粒剂和公主岭霉素按照质量比 1:1 的比例混匀,然后接入相应处理组的营养土中,搅拌均匀,每盆接种 20 g 菌种。把玉米种子播种在盛有适量营养土的花盆中,然后在种子表面覆盖 2 cm 混有相应菌种颗粒剂的营养土。将接种组与空白对照组分别置于温室中培养。

1.2.4 球孢白僵菌及金龟子绿僵菌在玉米内定殖率的检测

待玉米幼苗长至 5 叶期时,对玉米幼苗新鲜叶片进行分离鉴定。定殖率检测采用 PDA 检测法^[13],首先对样品表面进行消毒,分别用 70% 乙醇溶液和 1% 次氯酸钠溶液按照顺序依次浸泡 30 s,再用无菌水清洗 3 次;剖析样本修剪掉边缘,每个植株取 9 块小叶片,大小约 6 mm×6 mm,放入加有头孢和卡那霉素(终浓度分别为 120、240 mg/L)的 PDA 选择培养基中,每皿放入 9 片样本,用封口膜将培养皿密封,置于恒温培养箱中,26℃暗培养。7 d 后观察并记录植物组织上菌体生长情况,连续观察 15 d。定殖率(%)=(植物组织出现菌落的培养皿数量/培养皿总数)×100。

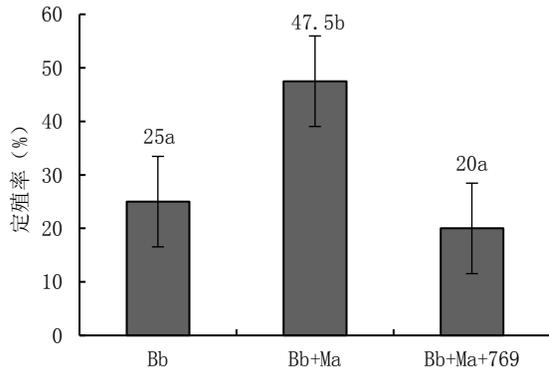
1.2.5 数据统计分析

利用 DPS 12.0 软件进行分析,定殖率采用单因素方差分析,多重比较采用邓肯氏新复极差法(Duncan's)。

2 结果与分析

2.1 不同微生物农药对球孢白僵菌在玉米植株内定殖的影响

从图 1 可知,在各接种组的玉米叶片内均检测出球孢白僵菌,在对照组中未检测出。其中 Bb+Ma 组定殖率最高为 47.5%,Bb 组为 25%,Bb+Ma+769 组为 20%。方差分析表明,Bb+Ma 组与 Bb 组以及 Bb+Ma 组与 Bb+Ma+769 组存在显著差异($F=5.89, P=0.0059$; $F=7.20, P=0.0027$),Bb 组与 Bb+Ma+769 组差异不显著($F=1.31, P=0.3903$)。结果表明金龟子绿僵菌对球孢白僵菌在玉米内的定殖有促进增效作用,公主岭霉素未对球孢白僵菌



注:不同小写字母表示差异显著($P<0.05$),下同

图1 球孢白僵菌在玉米中的定殖率

在玉米内的定殖产生影响。

2.2 不同微生物农药对金龟子绿僵菌在玉米植株内定殖的影响

金龟子绿僵菌在各接种组的玉米植株内均可定殖,定殖率有所不同(图2)。CK中未检测出金龟子绿僵菌。各个接种组中Bb+Ma组定殖率最高为78%,Ma组次之为68%,Bb+Ma+769组定殖率最低为50%。Ma组与Bb+Ma组以及Ma组与Bb+Ma+769组均无显著差异($F=1.63$, $P=0.2754$; $F=2.94$, $P=0.0645$),而Bb+Ma组与Bb+Ma+769组之间具有显著差异($F=4.57$, $P=0.0113$)。综上所述球孢白僵菌对金龟子绿僵菌在玉米中的定殖具有显著促进增效作用,但公主岭霉素对金龟子绿僵菌的定殖具有一定的抑制作用,但作用不显著。

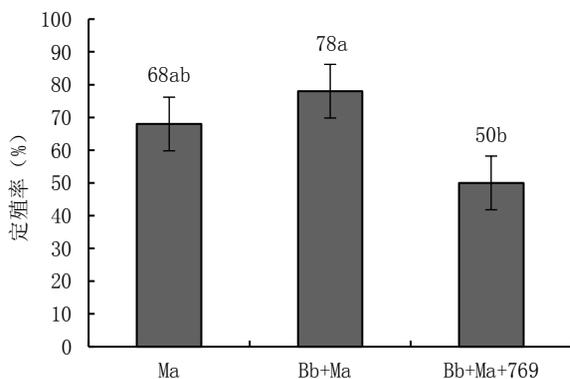


图2 金龟子绿僵菌在玉米中的定殖率

3 结论与讨论

研究虫生真菌与其他微生物的互作关系可明确其对昆虫致病力的影响^[14]。另外虫生真菌与某些植物病原真菌互作,对该植物病原真菌有抑制作用,从而防治植物病害^[15-16]。但关于虫生真菌之间的互作关系研究较少。本研究分别将球孢白僵菌和金龟子绿僵菌单独接种玉米中以及将二者

同时混合接种玉米中,发现分别接种和混合接种都可以在玉米中定殖,且混合接种其定殖率明显提高。这说明将球孢白僵菌和金龟子绿僵菌混合接种并没有影响二者在玉米中的定殖,反而相互作用提高定殖率。

人工接种虫生真菌到寄主植物中的方法主要有土壤灌溉、种子包衣、浸种、胚根敷料(土壤拌种)、根和根茎浸泡、茎部注射、叶面喷施和花朵喷施等^[5,17-20],这些方法都是将分生孢子悬液接种到寄主植物中。本研究将球孢白僵菌和金龟子绿僵菌先接种到粉碎的玉米秸秆颗粒中,然后将载菌颗粒拌入土壤中,这样能使营腐生生活的球孢白僵菌和金龟子绿僵菌以玉米秸秆为营养物质持续繁殖,进而增加定殖寄主的种群数量,从而提高定殖率增加可能性。

公主岭霉素—农抗769次生代谢产物作为一种广谱抑菌剂,不仅对植物病原菌具有较好的拮抗作用,同时对植物具有免疫诱抗作用,能促进植物的生长发育。研究发现公主岭霉素对水稻苗期恶苗病具有一定防治效果^[21]。研究发现农抗769菌液对大豆出苗、生长及产量均具有促进作用^[22]。本研究发现接种公主岭霉素的处理组(Bb+Ma+769)球孢白僵菌和金龟子绿僵菌的定殖率较混合处理组(Bb+Ma)显著下降,但较单一处理组(Bb、Ma)的定殖率影响并不显著。表明在寄主植物定殖能力方面公主岭霉素可能抑制了球孢白僵菌和金龟子绿僵菌的增效作用,但单一菌种接种时对寄主的定殖能力可能影响不显著。

本研究以秸秆颗粒为载体将球孢白僵菌和金龟子绿僵菌联合接种玉米,使其在玉米中定殖,进一步明确两种虫生真菌联合接种是可行的,但公主岭霉素却不能与球孢白僵菌、金龟子绿僵菌联合使用,从而为微生物农药的联合使用方法提供理论依据。

参考文献:

- [1] 徐庆丰,宋益良,杜长喜,等. Bt白僵菌粉剂防治玉米螟研究[J]. 吉林农业科学, 1988(4): 44-46.
- [2] De Faria, M R, Wraight, S P. Wraight mycoinsecticides and mycoacaricides: A comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types[J]. Biological Control, 2007, 43(3): 237-256.
- [3] 彭国雄,张淑玲,张维,等. 杀虫真菌与苏云金芽胞杆菌对草地贪夜蛾的联合室内杀虫活性研究[J]. 中国生物防治学报, 2019, 35(5): 735-740.

- [4] Bing L A, Lewis L C. Suppression of *Ostrinia nubilalis* (Hubner) (Lepidoptera: Pyralidae) by endophytic *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin[J]. Environmental Entomology, 1991, 20(4): 1207-1211.
- [5] Tefera T, Vidal S. Effect of inoculation method and plant growth medium on endophytic colonization of sorghum by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*[J]. BioControl, 2009, 54(5): 663-669.
- [6] Ownley B H, Griffin M R, Klingeman W E, et al. *Beauveria bassiana*: endophytic colonization and plant disease control[J]. Journal of Invertebrate Pathology, 2008, 98(3): 267-270.
- [7] Gurulingappa P, Sword G A, Murdoch G, et al. Colonization of crop plants by fungal entomopathogens and their effects on two insect pests when in planta[J]. Biological Control, 2010, 55(1): 34-41.
- [8] 李晓慧, 汪洋洲, 张 军, 等. 不同交配型球孢白僵菌在玉米植株中的定殖及其交配型基因变异比较研究[J]. 中国生物防治学报, 2014, 30(6): 743-749.
- [9] García J E, Posadas J B, Peticari A, et al. *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin Promotes Growth and Has Endophytic Activity in Tomato Plants[J]. Advances in Biological Researches, 2011, 5: 22-27.
- [10] Khan A L, Hamayun M, Khan S A, et al. Pure Culture of *Metarhizium anisopliae* LHL07 Reprograms Soybean to Higher Growth and Mitigates Salt Stress[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2012, 28: 1483-1494.
- [11] Sasan R K, Bidochka M J. The insect-pathogenic fungus *Metarhizium robertsii* (Clavicipitaceae) is also an endophyte that stimulates plant root development[J]. American Journal of Botany, 2012, 99(1): 101-107.
- [12] 张红丹, 杜 茜, 张正坤, 等. 放线菌 769 抑菌谱及液体培养生长曲线的测定[J]. 中国植保导刊, 2010, 30(7): 5-9.
- [13] Parsa S, Ortiz V, Vega F E. Establishing fungal entomopathogens as endophytes: towards endophytic biological control[J]. Journal of Visualized Experiments, 2013, 74: e50360.
- [14] Granzow S, Kaiser K, Wemheuer B, et al. The effects of cropping regimes on fungal and bacterial communities of wheat and faba bean in a greenhouse pot experiment differ between plant species and compartment[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 902.
- [15] Roberti R, Ghisellini L, Innocenti G. Biological control of black-leg of beet (*Phoma btae*) by *Metarhizium anisopliae* [J]. Journal of Plant Diseases and Protection, 1993, 100(2): 203-210.
- [16] Renwick A, Campbell R, Coe S. Assessment of in vivo screening systems for potential biocontrol agents of *Gaeumannomyces graminis* [J]. Plant Pathology, 1991, 40(4): 524-532.
- [17] Posada F, Vega F E. Establishment of the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) as an endophyte in cocoa seedlings (*Theobroma cacao*) [J]. Mycologia, 2005, 97(6): 1195-1200.
- [18] Posada F J, Aime M C, Peterson S W, et al. Inoculation of coffee plants with the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales)[J]. Mycological Research, 2007, 111: 748-757.
- [19] Brownbridge M, Reay S D, Nelson T L, et al. Persistence of *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) as an endophyte following inoculation of radiata pine seed and seedlings[J]. Biological Control, 2012, 61(3): 194-200.
- [20] Posada F J, Chaves F C, Gianfagna T J, et al. Establishment of the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* as an endophyte in cocoa pods (*Theobroma cacao* L.)[J]. Revista U.D.C.A. Actualidad & Divulgación Científica, 2010, 13(2): 71-78.
- [21] 安俊霞, 李晓光, 汪洋洲, 等. 公主岭霉素在水稻育秧期应用技术研究[J]. 东北农业科学, 2019, 44(2): 28-33.
- [22] 杜 茜, 初佳芮, 汪洋洲, 等. 不吸水链霉菌公主岭新变种对大豆生长和产量的影响[J]. 安徽农业科学, 2018, 46(6): 130-132, 161.

(责任编辑:王 昱)