

文章编号: 1005-0906(2007)06-0109-02

共生菌对两种玉米病虫害杀虫抑菌活性的测定

王欢¹, 丛斌², 刘限¹, 董辉², 杨飞¹

(1. 沈阳农业大学生物科学技术学院, 沈阳 110161; 2. 沈阳农业大学植物保护学院, 沈阳 110161)

摘要: 利用 40 株昆虫病原线虫共生菌菌株, 以亚洲玉米螟和玉米小斑病菌作为供试昆虫和供试真菌, 对其杀虫抑菌活性进行测定。结果表明, 共生菌发酵液对两种病虫害均有一定的活性。其中菌株 A24-2 的杀虫抑菌活性最为明显, 处理后 120 h 对亚洲玉米螟的平均校正死亡率为 44.25%, 抑菌圈大小为 15.00 mm。

关键词: 昆虫病原线虫; 共生菌; 亚洲玉米螟; 玉米小斑菌

中图分类号: S482.39

文献标识码: A

Evaluation of the Insecticidal and Antibiotic Activities of the Symbiotic Bacteria Strains to *Ostrinia furnacalis* and *Bipolaris maydis*

WANG Huan¹, CONG Bin², LIU Xian¹, et al.

(1. College of Biological Science and Technology, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161;

2. College of Plant Protection, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China)

Abstract: Forty strains of symbiotic bacteria were isolated from entomopathogenic nematodes. Bioassay results showed that all strains had virulent activity to the first instar larvae of *Ostrinia furnacalis* and *Bipolaris maydis* to some extent, among which A24-2 strain was the best one. The average corrected mortalities to *Ostrinia furnacalis* was 44.25% and the antibiotic activities to *Bipolaris maydis* was 15.00 mm.

Key words: Entomopathogenic nematode; Symbiotic bacteria; *Ostrinia furnacalis*; *Bipolaris maydis*

昆虫病原线虫共生菌作为一种新的生物防治因子具有安全性高、杀虫效果好、杀虫谱广等优点, 还有杀虫抑菌的双重活性。通过共生菌防治病虫害是一种安全的方法。本研究通过 40 个共生菌菌株对亚洲玉米螟和玉米小斑病的杀虫抑菌活性测定, 得到一株对两者均具有较高杀虫抑菌活性的共生菌菌株, 为进一步研究该细菌及其杀虫抑菌活性物质提供基础数据和实验方法。

1 材料与方法

1.1 供试材料

收稿日期: 2007-04-13

基金项目: 国家自然科学基金 (30170625); 国家“十五”攻关课题 (2004BA509B04); 辽宁省自然科学基金 (20022084); 沈阳农业大学青年教师科研基金 (2005002)

作者简介: 王欢 (1977-), 女, 讲师, 博士, 从事昆虫害虫生物防治的研究。E-mail: zanhuan@163.com

丛斌为本文通讯作者。E-mail: cong_bin@21cn.com

供试菌株为 40 株共生菌菌株。供试昆虫为亚洲玉米螟 (*Ostrinia furnacalis*) 1 龄幼虫, 玉米小斑病菌。供试培养基为 NA 培养基、NBTA 培养基、牛肉汤培养基、PDA 培养基。

1.2 实验方法

1.2.1 共生菌发酵液的制备

将保存的共生菌划线于 NA 培养基平板上, 27℃ 培养 24~48 h, 挑取单菌落, 再划线于 NBTA 培养基平板上, 27℃ 培养 24~48 h, 挑取单菌落接入牛肉汤培养基中, 于 160 r/min、27℃ 水浴恒温摇床振荡培养 48 h, 4℃ 保存备用。

1.2.2 共生菌对亚洲玉米螟 1 龄幼虫的胃毒活性

以制好的共生菌发酵液为供试样, 设无菌发酵液为对照。将发酵液以 100 μL/g 的比例混入人工饲料中喂饲供试昆虫, 每一菌株为一个处理, 每个处理设 3 个重复, 每个重复 24 头幼虫, 置于 25℃ 生化培养箱中, 5 d 后记录幼虫存活数和活虫体重, 计算校正死亡率和平均体重抑制率, 对各数据用 SPSS 11.5 版统计分析软件进行单因素方差分析。

1.2.3 共生菌对玉米小斑菌的抑菌活性

将灭菌后的直径为 6 mm 的小圆滤纸片在共生菌发酵液中浸润 5 min 后,放入 PDA 培养基平板中心,将玉米小斑菌分 4 块放在滤纸片的四周,距培养皿边缘 2 cm 处。每个菌株 3 次重复,设置无菌发酵

液为对照,放置于 27℃恒温培养箱中培养,5 d 后测量抑菌圈大小,对各数据用 SPSS 11.5 版统计分析软件进行单因素方差分析。

2 结果与分析

表 1 共生菌对亚洲玉米螟幼虫和玉米小斑病菌的杀虫抑菌活性
Table 1 Insecticidal and antibiotic activities of symbiotic bacteria strains to *Ostrinia furnacalis* and *Bipolaris maydis*

亚洲玉米螟				玉米小斑病菌									
<i>Ostrinia furnacalis</i>				<i>Bipolaris maydis</i>									
菌 株 Strains	平均校正死亡率		抑菌圈 (mm)	菌 株 Strains	平均校正死亡率		抑菌圈 (mm)						
	平均体重抑制率				平均体重抑制率								
	(%)	(%)			(%)	(%)							
Average corrected mortality				Average corrected mortality									
rate of larvae weight				rate of larvae weight									
15-2	28.77	EFG	14.14	ABCDE	8.33	ABCDE	1	0.00	A	30.36	BCDEFGHIJK	6.00	ABCD
15-2-1	4.17	ABCD	0.00	A	5.33	ABCD	Ht1	4.14	ABCD	40.52	GHIJKL	6.00	ABCD
15-2-4	8.88	ABCD	7.32	ABC	3.00	A	03100C-1R	0.00	A	36.74	EFGHIJKL	8.83	BCDE
15-2-5	4.17	ABCD	0.00	A	10.00	FE	03100C-2R	19.59	CDEF	72.84	O	6.90	ABCDE
NC34-1	9.26	ABCD	5.35	AB	5.33	ABCD	03101Y-1R	7.75	ABCD	44.27	IJKLMN	8.83	BCDE
NC34-2	1.39	AB	3.99	A	5.00	ABCD	03121H-3R	12.03	ABCD	31.80	CDEFGHIJK	3.00	A
NC34-3	14.23	ABCDE	0.00	A	6.33	ABCDE	0312-4	6.96	ABCD	46.14	JKLMN	3.00	A
NC34-4	31.30	FGH	9.92	ABCD	4.00	ABC	0312-4-2R	7.43	ABCD	47.81	JKLMN	3.00	A
HZ	6.85	ABCD	4.41	A	5.00	ABCD	0384q	5.00	ABCD	15.30	ABCDEFG	6.33	ABCDE
HZ-1	12.56	ABCDE	31.33	CDEFGHIJK	8.33	ABCDE	0385D	12.22	ABCD	54.82	KLMO	6.33	ABCD
HZ-2	13.98	ABCDE	10.99	ABCDE	3.66	AB	0386L	6.67	ABCD	47.86	JKLMN	4.00	ABC
HZ-3	9.74	ABCD	0.00	A	5.50	ABCD	0389	7.78	ABCD	38.17	EFGHIJKL	5.00	ABCD
HZ-4	38.64	GH	21.38	ABCDEFGHJ	4.33	ABC	0389-1R	0.00	A	33.82	DEFGHIJK	8.26	ABCDE
A24-1	19.30	CDEF	39.34	FGHIJKL	11.33	EF	0389-2R	7.78	ABCD	38.17	EFGHIJKL	9.06	CDE
A24-2	44.25	H	49.69	KLMNO	15.00	F	0397C2	3.63	ABC	68.07	MN	5.33	ABCD
A24-3	17.12	ABCDEF	19.47	ABCDEFGHI	5.00	ABCD	0397C2-1R	3.63	ABC	68.07	MN	8.00	ABCDE
A24-4	12.06	ABCD	41.17	HIJKL	5.66	ABCD	0397C2-2R	2.25	ABC	31.00	CDEFGHIJK	8.86	BCDE
Otio	15.62	ABCDEF	15.87	ABCDEFGH	3.00	A	0398B-2R	17.96	BCDEF	66.91	MNO	4.83	ABCD
Otio-2	21.16	DEF	36.27	EFGHIJKL	3.66	AB	0399H-1R	0.77	AB	42.38	IJKLM	8.33	ABCDE
Otio-6	9.29	ABCD	0.00	A	3.00	A	0399H-2R	11.57	ABCD	61.25	LMNO	8.33	ABCDE

注:不同字母表示差异显著(P<0.05)。
Note: The different letters were significantly different (P<0.05).

由表 1 可见, 40 个共生菌菌株的发酵液对亚洲玉米螟 1 龄幼虫均有一定的胃毒活性, 其中杀虫作用最明显的菌株为 A24-2,其 120 h 的平均校正死亡率为 44.25%。经 SPSS 分析,菌株 NC34-4 和 HZ-4 120 h 与菌株 A24-2 的平均校正死亡率无显著差异,分别为 31.30%和 38.64%。SPSS 分析表明,40 个共生菌菌株的发酵液对未死虫的生长抑制作用差异均比较显著, 其中抑制作用最为明显的菌株为 03100C-2R,平均体重抑制率为 72.84%,抑制作用与其无显著差异的菌株有 A24-2、0385D、0398B-2R 和 0399H-2R,平均体重抑制率分别为 49.69%、54.82%、66.91%和 61.25%。因此,共生菌菌株 A24-2 的发酵

液对亚洲玉米螟 1 龄幼虫的胃毒活性最为明显。
多数共生菌菌株对玉米小斑菌均有一定的抑菌活性。经 SPSS 分析,共生菌 A24-2 的抑菌活性在 40 个菌株中最高,对玉米小斑菌抑菌圈的平均半径为 15.00 mm; 共生菌 0312-4、0312-4-2R、03121H-3R、otio、otio-6、15-2-4 的抑菌活性在 40 个菌株中最低,抑菌圈的平均半径均为 3.00 mm,无抑菌活性。

3 结论与讨论

实验结果表明, 发酵液对亚洲玉米螟 1 龄幼虫和玉米小斑病具有不同程度胃毒活性和抑菌作用,尤其是高毒力菌株 A24-2 的发酵液具 (下转第 113 页)

(上接第 110 页)有较高的杀虫抑菌活性,处理后 120 h 的平均校正死亡率可达 44.25%, 抑菌圈大小可达 15.00 mm,是一株极具发展潜力的生防菌株。

实验可知,不同的共生菌菌株对供试的昆虫和真菌,其杀虫抑菌活性均有所变化,不同线虫品系共生菌的杀虫抑菌活性不尽相同,即使是同一品系的共生菌菌株,其杀虫抑菌活性也有一定差异,该结果与前人研究结果基本一致。昆虫病原线虫共生菌是一类特殊的革兰氏阴性细菌,其代谢物不仅具有杀虫、抑菌的活性,而且还有抗癌活性,是一类极具研究价值的微生物。目前已有很多关于昆虫病原线虫共生菌杀虫毒素和杀虫基因的报道。本研究主要立足于本国资源,从全国范围内的不同地区土壤中分离昆虫病原线虫及其共生菌,生物测定不同共生菌菌株的杀虫抑菌活性,从中筛选高毒力菌株。还需要进一步对其抗逆性进行研究,才能深入了解这一高毒力菌株的性质及应用前景。

参考文献:

- [1] Harry K K . Entomophogenic nematodes[J]. Ann. Rev. Entomol., 1993, 38: 181-206.
- [2] David J B, Jerald C E. Purification and characterization of a high-molecular-weight insecticidal protein complex produced by the entomopathogenic bacterium *Photorhabdus luminescens*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1998, 8: 3029-3035.
- [3] Bowen D J, Rocheleau T A, Blackburn M, et al. Novel insecticidal toxins from the bacterium *Photorhabdus luminescens*[J]. Science, 1998, 6: 2129-2132.
- [4] 王立霞 . *Xenorhabdus bovienii* A54 菌株杀虫物质的研究[D] . 北京:中国农业科学院博士研究生学位论文,2000 .
- [5] 崔 龙 . 昆虫病原线虫共生菌杀虫基因的克隆、表达和功能分析[D] . 广州:中山大学博士学位论文,2003 .
- [6] 王勤英 . 嗜线虫致病杆菌杀虫蛋白的分离纯化及杀虫蛋白基因克隆[D] . 河北:河北农业大学博士论文,2004 .

(责任编辑:张 英)