



龙秀珍, 吴雨欣, 何瞻, 高旭渊, 曾宪儒, 韦德卫, 江小冬, 张建民, 农向群, 于永浩. 红火蚁活性真菌菌株的室内筛选研究 [J]. 环境昆虫学报, 2022, 44 (6): 1493–1501.

红火蚁活性真菌菌株的室内筛选研究

龙秀珍^{1*}, 吴雨欣^{3*}, 何瞻¹, 高旭渊¹, 曾宪儒¹, 韦德卫¹,
江小冬¹, 张建民³, 农向群^{2**}, 于永浩^{1**}

(1. 广西农业科学院植物保护研究所/农业农村部华南果蔬绿色防控重点实验室/广西作物病虫害生物学重点实验室, 南宁 530007;
2. 中国农业科学院植物保护研究所, 北京 100193; 3. 长江大学农学院, 湖北荆州 434023)

摘要: 在实验室条件下采用浸渍法测定了 15 株白僵菌 *Beauveria* spp., 15 株绿僵菌 *Metarhizium* spp. 和 4 株淡紫紫孢菌 *Purpureocillium lilacinum* (Thom) 对红火蚁 *Solenopsis invicta* Buren 工蚁的活性, 并测定分析了高活性菌株对红火蚁工蚁的毒力。结果表明, 以 1.0×10^8 孢子/mL 的浓度处理红火蚁工蚁后第 10 天, 白僵菌 HHY-B、LCM1、ZYSYE-Y2、Bb034、ZG5、Bb720、Bb040、CP728 和淡紫紫孢菌 LYC1 菌株的活性较强, 红火蚁工蚁的校正死亡率为 84.70%~98.79%, 僵虫率为 70.61%~90.38%。红火蚁工蚁在接种不同浓度的高活性菌株后, 随着孢子浓度的升高, 红火蚁的累积校正死亡率和僵虫率增大, 致死中时 (LT_{50}) 缩短, 第 10 天白僵菌 ZYSYE-Y2、CP728、HHY-B、LCM1、ZG5、Bb040、Bb720、Bb034 和淡紫紫孢菌 LCM1 菌株对红火蚁工蚁的 LC_{50} 分别为 1.16×10^5 、 1.49×10^5 、 2.27×10^5 、 2.28×10^5 、 2.32×10^5 、 3.79×10^5 、 4.94×10^5 、 8.47×10^5 和 3.90×10^6 孢子/mL。当孢子浓度为 1.0×10^7 孢子/mL 时, 白僵菌 HHY-B、CP728、ZG5 和 Bb040 菌株处理的最终校正死亡率分别为 91.54%、94.60%、91.23% 和 94.65%, 僵虫率为 82.51%、91.74%、85.43% 和 80.60%, 致死中时 (LT_{50}) 为 4.22 d、4.07 d、3.72 d 和 3.68 d。综合分析表明, 白僵菌 HHY-B、CP728、ZG5 和 Bb040 菌株对红火蚁工蚁具有较强的活性, 可作为红火蚁生物防治的候选菌株。

关键词: 红火蚁; 虫生真菌; 毒力; 感染

中图分类号: Q968.1; S433

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858 (2022) 06-1493-09

Screening activity strain of entomopathogenic fungi to *Solenopsis invicta* in laboratory

LONG Xiu-Zhen^{1*}, WU Yu-Xin^{3*}, HE Zhan¹, GAO Xu-Yuan¹, ZENG Xian-Ru¹, WEI De-Wei¹,
JIANG Xiao-Dong¹, ZHANG Jian-Min³, NONG Xiang-Qun^{2**}, YU Yong-Hao^{1**} (1. Plant Protection
Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences/ Key Laboratory of Green Prevention and
Control on Fruits and Vegetables in South China Ministry of Agriculture and Rural Affairs/ Guangxi Key
Laboratory of Biology for Crop Diseases and Insect Pests, Nanning 530007, China; 2. Institute of Plant
Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China; 3. College of
Agriculture, Yangtze University, Jingzhou 434023, Hubei Province, China)

Abstract: The pathogenicity of 15 strains of *Beauveria* spp., 15 strains of *Metarhizium* spp., 4 strains of

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2021YFD1000500)

* 共同第一作者: 龙秀珍, 女, 1986 年生, 硕士, 副研究员, 主要从事农业昆虫与害虫防治研究工作, E-mail: longxiuzhen2006@163.com; 吴雨欣, 女, 2001 年生, 本科, E-mail: 2423782155@qq.com

** 共同通讯作者 Author for correspondence: 于永浩, 男, 博士, 研究员, 研究方向为农业昆虫与害虫防治, E-mail: yxp1127@163.com; 农向群, 女, 研究员, 研究方向为农业昆虫与害虫防治, E-mail: xqnong@sina.com

收稿日期 Received: 2022-10-09; 接受日期 Accepted: 2022-10-26

Purpureocillium lilacinum (Thom) and different concentrations of high virulence strains to *Solenopsis invicta* Buren was determined by the soaking method. The results showed that the *Beauveria* spp. HHY-B, LCM1, ZYSYE-Y2, Bb034, ZG5, Bb720, Bb040, CP728 and *P. lilacinum* LYC1 strains exhibited the strongest activity to red imported fire ant workers, the corrected mortality and infection rate varied from 84.70% ~ 98.79% and 72.98% ~ 90.38%, respectively, after inoculation with a concentration of 1.0×10^8 spores/mL for 10 d. Moreover, the corrected mortality and infection rate of *S. invicta* increased and the median lethal time reduced with the increase of the conidium concentration. The LC_{50} values of the ZYSYE-Y2, CP728, HHY-B, LCM1, ZG5, Bb040, Bb720, Bb034 and LYC1 strains on day 10 post-treatment were 1.16×10^5 , 1.49×10^5 , 2.27×10^5 , 2.28×10^5 , 2.32×10^5 , 3.79×10^5 , 4.94×10^5 , 8.47×10^5 and 3.90×10^6 spores/mL. When inoculated with a concentration of 1.0×10^7 spores/mL of HHY-B, CP728, ZG5 and Bb040 strains for 10 d, the corrected mortality to red imported fire ant workers were 91.54%, 94.60%, 91.23% and 94.65%, and the infection rates were 82.51%, 91.74%, 85.43% and 80.60%, the median lethal time were 4.22 d, 4.07 d, 3.72 d and 3.68 d, respectively. Collectively, the results indicated that HHY-B, CP728, ZG5 and Bb040 strains of *Beauveria* spp. could be good candidate strains in *S. invicta* biological control.

Key words: *Solenopsis invicta* Buren; entomopathogenic fungi; virulence; infection

红火蚁 *Solenopsis invicta* Buren 是世界上 100 种最具有破坏力的入侵生物之一 (Vinson, 1997), 自 2004 年中国大陆发现红火蚁发生为害后 (曾玲等, 2005), 其迅速在我国扩散蔓延 (陆永跃和曾玲, 2015)。截止 2022 年 6 月 20 日农业农村部公布的数据, 红火蚁已传播至 12 个省 (区、市), 579 个县 (市、区) (农业农村部办公厅, 2022), 尤其是近 5 年来新增红火蚁发生县级行政区 245 个, 在城市公园绿地、农田、林地及其他公共地带都有发生。

化学防治仍是现阶段防控红火蚁的主要手段, 我国目前在红火蚁上登记的、尚在有效期内的农药产品有 62 个 (截止 2022 年 11 月 7 日中国农药信息网数据), 美国有 191 个产品, 澳大利亚有 84 个产品, 这些产品全部为化学药剂 (陈雪等, 2022), 但过度使用化学农药会产生严重的 “3R” 问题。近年来, 基于病原微生物的生物防治制剂成为 IPM 的重要组成部分 (Chandler *et al.*, 2011), 因而利用虫生真菌防控红火蚁受到了研究者的广泛关注。在美国和巴西, 将球孢白僵菌 *Beauveria bassiana* 孢子作为粉剂直接撒在蚁巢表面或制作成豆油层包裹的菌球供红火蚁搬回蚁巢, 虽有不少工蚁被感染, 且能减少红火蚁外出觅食, 但对红火蚁蚁巢的控制效果并不理想 (Oi *et al.*, 1994, Bextine and Thorvilson, 2002)。Park 等

(2022) 用浓度为 1×10^7 孢子/mL 的白僵菌 ANU1 菌株处理后, 大型工蚁和小型工蚁在第 7 天和第 8 天的死亡率分别达到 100%。在国内, 不少科研工作者也开展了虫生真菌对红火蚁致病力的研究, 发现不同类型的菌株对红火蚁的致病力有较大差异, 已筛选出在高浓度下对红火蚁工蚁致病力较高的多为白僵菌和金龟子绿僵菌 *Metarhizium anisopliae* (杨佳后等, 2009; 吕利华等, 2011; 王磊等, 2018; 吴志鹏等, 2020)。本研究测定 15 株白僵菌、15 株绿僵菌和 4 株淡紫紫孢菌对红火蚁工蚁的致病力, 筛选出对红火蚁具有较高致病力的菌株, 以期对红火蚁的生物防治提供候选虫生真菌资源。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

供试的 15 株白僵菌 *Beauveria* spp.、15 株绿僵菌 *Metarhizium* spp. 和 4 株淡紫紫孢菌 *Purpureocillium lilacinum* (Thom), 由广西农业科学院植物保护研究所和中国农业科学院植物保护研究所提供, 详细信息见表 1。将保存在斜面培养基的菌株转接到相应的固体培养基上, 接种后置于 $26 \pm 1^\circ\text{C}$ 的人工气候箱中培养, 待产生大量分生孢子后, 刮取孢子粉备用。

表 1 供试菌株信息
Table 1 Strain informations

菌株编号 Strain No.	保存地点 Stored place	菌株种类 Species	培养基 Substrate	菌株编号 Strain No.	保存地点 Stored place	菌株种类 Species	培养基 Substrate
HHY-B	GXPPRI	<i>Beauveria</i> sp.	PDA	SYGR-4	GXPPRI	<i>Metarhizium</i> sp.	PDA
LG-LX1	GXPPRI	<i>Beauveria</i> sp.	PDA	HHY-L	GXPPRI	<i>Metarhizium</i> sp.	PDA
LCM-LX1	GXPPRI	<i>Beauveria</i> sp.	PDA	ZYSYE-Y1	GXPPRI	<i>Metarhizium</i> sp.	PDA
ZYSYE-Y2	GXPPRI	<i>Beauveria</i> sp.	PDA	LDS	GXPPRI	<i>Metarhizium</i> sp.	PDA
SHM	GXPPRI	<i>Beauveria</i> sp.	PDA	TNCC-CDT	GXPPRI	<i>Metarhizium</i> sp.	PDA
YMM	GXPPRI	<i>B. bassiana</i>	PDA	JZC	GXPPRI	<i>Metarhizium</i> sp.	PDA
LCM1	GXPPRI	<i>Beauveria</i> sp.	PDA	TNCC-NN	GXPPRI	<i>Metarhizium</i> sp.	PDA
ZG5	GXPPRI	<i>Beauveria</i> sp.	PDA	ZG30	GXPPRI	<i>Metarhizium</i> sp.	PDA
ABE	GXPPRI	<i>Beauveria</i> sp.	PDA	ZG16	GXPPRI	<i>Metarhizium</i> sp.	PDA
YJ1	GXPPRI	<i>Beauveria</i> sp.	PDA	JCPG1	GXPPRI	<i>M. anisopliae</i>	PDA
DTM-B	GXPPRI	<i>Beauveria</i> sp.	PDA	CDTLJ1	GXPPRI	<i>M. rileyi</i>	SMAY
Bb034	IPPCAAS	<i>B. bassiana</i>	PDA	CDTNN2	GXPPRI	<i>M. rileyi</i>	SMAY
Bb040	IPPCAAS	<i>B. bassiana</i>	PDA	941	IPPCAAS	<i>M. anisopliae</i>	PDA
Bb720	IPPCAAS	<i>B. bassiana</i>	PDA	085	IPPCAAS	<i>M. anisopliae</i>	PDA
CP728	IPPCAAS	<i>Beauveria</i> sp.	PDA	014	IPPCAAS	<i>M. anisopliae</i>	PDA
HHY-M	GXPPRI	<i>P. lilacinum</i>	PDA	LYCH1	GXPPRI	<i>P. lilacinum</i>	PDA
HHY-Z	GXPPRI	<i>P. lilacinum</i>	PDA	LYC1	GXPPRI	<i>P. lilacinum</i>	PDA

注: GXPPRI 为广西农业科学院植物保护研究所, IPPCAAS 为中国农业科学院植物保护研究所。Note: GXPPRI was the Plant Protection Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences. IPPCAAS was the Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences.

1.2 供试红火蚁

红火蚁工蚁采集自广西南宁市西乡塘区广西壮族自治区农科院科研试验基地, 用火腿肠诱集法采集, 并在室内饲养一段时间, 待种群稳定后挑取大小基本一致的健康工蚁用于试验。

1.3 试验方法

1.3.1 虫生真菌菌株对红火蚁生物活性的初步测定

用无菌的 0.05% 吐温-80 的水溶液将孢子粉配制成 1.0×10^8 孢子/mL 的孢悬液备用。选取大小基本一致的红火蚁工蚁浸入配制好的孢悬液中, 5 s 后取出, 放入垫有湿润滤纸的塑料杯中, 杯口周围涂有一层特氟龙防止红火蚁逃逸, 杯内放置塞有棉花的灭菌“水试管”和 10% 蔗糖水的 5 mL 试管各 1 支。试验条件为室温, 室温为 27 ~ 30℃, 每天观察记录死亡的试虫数量, 并将其挑到铺有湿润滤纸的培养皿中保湿培养, 虫尸上长出菌丝

及孢子则计为被感染(僵虫), 实验连续观察 10 d。每杯接入试虫约 50 头, 重复 3 次, 以无菌的 0.05% 吐温-80 水溶液处理作为对照。

1.3.2 虫生真菌菌株对红火蚁的毒力测定

选取对红火蚁工蚁有较高校正死亡率和僵虫率的菌株, 分别配制 1.0×10^4 、 1.0×10^5 、 1.0×10^6 、 1.0×10^7 和 1.0×10^8 孢子/mL 的孢悬液, 按 1.3.1 的方法, 测定菌株不同浓度的孢悬液对红火蚁的毒力。

1.4 数据统计

获得的数据经 Excel 整理后, 用 SPSS 17.0 软件进处理分析, 统计各处理试虫的累积校正死亡率和累计校正死亡率。利用 Duncan's 新复极差法对试验数据进行差异显著性分析, 采用 Probit 方法计算致死中时 (LT_{50}), 求回归方程及计算致死中浓度 (LC_{50})。累积死亡率、累积校正死亡率和僵虫率的计算公式如下:

累积死亡率(%) = (处理死亡总虫数/处理总虫数) × 100

累积校正死亡率(%) = (处理累积死亡率 - 对照累积死亡率) / (100 - 对照累积死亡率) × 100

僵虫率(%) = (总僵虫数/处理总虫数) × 100

2 结果与分析

2.1 虫生真菌菌株对红火蚁工蚁的初步活性

结果表明供试的各菌株对红火蚁工蚁的活性有较大差异。其中白僵菌 HHY-B、LCM1、ZYSYE-Y2、Bb034、ZG5、Bb720、Bb040 和 CP728 菌株对红火蚁的活性较高, 红火蚁工蚁的校正死亡率均大于 93%, 致死中时为 3.23 ~ 4.33 d,

除 Bb034 菌株的僵虫率为 70.61% 外, 其余 7 个菌株的僵虫率均大于 80%, 显著高于其余菌株。虽然白僵菌 YMM 和淡紫紫孢菌 HHY-M 菌株对红火蚁工蚁的校正死亡率也较高, 分别为 98.90% 和 93.48%, 致死中时分别为 2.50 d 和 2.16 d, 但僵虫率仅为 25.11% 和 61.68%。白僵菌 SHM、DTM-B、YJ1、ABE 和淡紫紫孢菌 LYC1 菌株对红火蚁工蚁的活性也较好, 校正死亡率均达 80% 以上, 但除 LYC1 菌株的僵虫率为 72.98% 外, 其余 4 个菌株的僵虫率仅为 46.29% ~ 63.31%。供试的绿僵菌对红火蚁的活性均较低, 除 CDTNN2 和 ZG30 菌株对红火蚁工蚁的校正死亡率大于 70% 外, 其余菌株的校正死亡率仅为 16.05% ~ 55.02% (表 2)。

表 2 各虫生真菌菌株处理后第 10 天对红火蚁工蚁的致死效果

Table 2 Accumulative corrected mortality and infection rate of red imported fire ant workers treated with different strains of entomopathogenic fungi on the 10th day

菌株种类 Species	菌株编号 Strain No.	校正死亡率 (%) Corrected mortality	僵虫率 (%) Infection rate	致死中时 (d) (95% 置信限) LT ₅₀ (95% confidence limit)
<i>Beauveria</i> spp.	YMM	98.90 ± 3.49 a	25.11 ± 1.74 ghi	2.50 (1.57 ~ 3.33)
	HHY-B	98.79 ± 3.66 a	88.70 ± 0.46 a	3.32 (2.53 ~ 4.06)
	LCM1	98.16 ± 3.42 a	88.57 ± 1.64 a	3.85 (3.61 ~ 4.09)
	ZYSYE-Y2	96.55 ± 4.42 a	85.54 ± 0.79 a	3.30 (2.67 ~ 3.88)
	Bb034	95.30 ± 7.35 a	70.61 ± 2.94 bc	3.51 (2.80 ~ 4.19)
	ZG5	95.39 ± 5.11 ab	90.38 ± 1.09 a	4.08 (3.46 ~ 4.66)
	Bb720	95.30 ± 5.41 ab	86.07 ± 2.51 a	3.98 (3.36 ~ 4.56)
	Bb040	93.68 ± 3.24 abc	82.49 ± 3.17 ab	3.23 (2.72 ~ 3.70)
	CP728	93.09 ± 3.12 abc	89.40 ± 2.16 a	4.33 (2.70 ~ 6.09)
	SHM	85.53 ± 2.56 bcd	59.79 ± 0.83 cde	5.00 (4.46 ~ 5.56)
	DTM-B	85.69 ± 1.12 bcd	63.31 ± 2.23 cd	4.60 (4.07 ~ 5.11)
	YJ1	83.64 ± 2.34 cd	46.29 ± 4.35 ef	4.31 (3.52 ~ 5.16)
	ABE	82.40 ± 4.17 cd	53.46 ± 0.16 de	4.20 (3.38 ~ 5.00)
	LCM-LX1	31.83 ± 1.20 fghij	13.27 ± 3.82 ijkl	—
	LG-LX1	18.43 ± 4.51 ij	9.81 ± 2.31 kl	—
<i>Metarhizium</i> spp.	CDTNN2	75.78 ± 3.95 d	18.78 ± 1.49 hijkl	3.59 (2.51 ~ 4.70)
	ZG30	71.71 ± 7.08 de	61.41 ± 3.42 cd	4.39 (3.81 ~ 4.99)
	LDS	55.02 ± 4.32 ef	36.46 ± 1.40 fg	7.55 (6.84 ~ 8.48)
	ZYSYE-Y1	50.82 ± 3.36 fg	38.61 ± 2.74 fg	9.22 (8.42 ~ 10.29)
	TNCC-CDT	46.90 ± 5.87 fg	38.30 ± 4.52 fg	—
	JZC	46.10 ± 5.73 fg	37.20 ± 5.38 fg	—

续表 2 Continued table 2

菌株种类 Species	菌株编号 Strain No.	校正死亡率 (%) Corrected mortality	僵虫率 (%) Infection rate	致死中时 (d) (95% 置信限) LT ₅₀ (95% confidence limit)
<i>P. lilacinum</i>	CDTLJ1	45.54 ± 2.80 fg	18.94 ± 4.40 hijkl	—
	SYGR-4	44.86 ± 2.89 fg	35.72 ± 2.96 fg	—
	ZG16	43.08 ± 4.39 fgh	36.67 ± 5.00 fg	—
	HHY-L	42.23 ± 2.41 fgh	14.07 ± 1.73 ijkl	—
	TNCC-NN	37.01 ± 5.49 fghi	28.93 ± 3.76 gh	—
	085	35.83 ± 5.93 fghij	20.40 ± 1.20 hijk	—
	941	30.86 ± 2.79 ghij	24.30 ± 0.88 ghi	—
	JCPG1	22.32 ± 2.15 hij	8.73 ± 2.65 l	—
	014	16.05 ± 1.59 j	11.28 ± 2.97 jkl	—
	HHY-M	93.48 ± 1.60 abc	61.68 ± 3.11 cd	2.16 (1.79 ~ 2.50)
	LYC1	84.70 ± 2.21 bcd	72.98 ± 1.82 bc	5.80 (5.14 ~ 6.51)
	LYCH1	47.24 ± 4.86 fg	29.01 ± 2.69 gh	—
	HHY-Z	22.58 ± 2.67 hij	21.57 ± 2.54 hij	—

注: 数据为 1.0×10^8 孢子/mL 孢悬液接种红火蚁后第 10 天的观察值; 表中数据为平均值 $\pm$ 标准误, 同列数据后不同字母者表示在 0.05 水平上差异显著 (Duncan's); “—” 表示红火蚁工蚁的最终死亡率低于 50%, 无法估算 LT₅₀。Note: The data were observed on the 10th day after inoculation with 1×10^8 spores /mL. Data were mean $\pm$ SE, values in same column followed by different letters indicated significantly different at 0.05 level (Duncan's). “—” represented that the mortality of infected fire ant workers was less than 50%, LT₅₀ values cannot be estimated.

以上述试验的第 10 天校正死亡率 > 80% 且僵虫率 > 70% 作为选择指标, 筛选出 9 个活性较高的菌株, 即白僵菌菌株 HHY-B、LCM1、ZYSYE-Y2、Bb034、ZG5、Bb720、Bb040、CP728 和淡紫紫孢菌菌株 LYC1。

2.2 虫生真菌菌株对红火蚁的毒力

2.2.1 剂量 - 时间 - 死亡率曲线

红火蚁工蚁在接种梯度浓度孢悬液后, 其累积校正死亡率随着孢子浓度的升高而增大, 当孢子浓度为 1.0×10^4 孢子/mL 和 1.0×10^5 孢子/mL 时, 除 CP728 和 ZYSYE-Y2 菌株外, 其余 7 个菌株的最终校正死亡率均不足 30%。当孢子浓度为 1.0×10^8 孢子/mL 和 1.0×10^7 孢子/mL 时, 各菌株处理的红火蚁工蚁在接种后的前 3 天的校正死亡率均较低, 从第 4 天开始出现大量死亡, 并随着处理时间的推移, 红火蚁的累积校正死亡率逐渐升高, 其中白僵菌 HHY-B、CP728、ZG5、Bb720、Bb040、LCM1 菌株处理的校正死亡率在第 8 天时均达 80% 以上。淡紫紫孢菌 LYC1 菌株处理的红火蚁工蚁的校正死亡率增加较缓慢, 孢子浓度为

1.0×10^8 孢子/mL 和 1.0×10^7 孢子/mL 的最终校正死亡率均不足 80% (图 1)。

2.2.2 虫生真菌菌株不同浓度对红火蚁的逐日累积僵虫率

红火蚁工蚁在接种不同浓度的孢悬液后, 其累积僵虫率随着孢子浓度的升高而增大。当孢子浓度为 1.0×10^8 孢子/mL 和 1.0×10^7 孢子/mL 时, 各菌株处理的红火蚁工蚁在接种后的前 3 天的僵虫率均较低, 从第 4 天开始僵虫率迅速升高, 并随着处理时间的推移, 僵虫率逐渐升高; 其中白僵菌 ZG5 处理的最终僵虫率达 90% 以上, HHY-B、CP728、Bb040 菌株处理的最终僵虫率均大于 80%。淡紫紫孢菌 LYC1、白僵菌 Bb034 菌株各浓度处理的红火蚁工蚁的最终僵虫率均不足 60% (图 2)。

2.2.3 虫生真菌菌株对红火蚁的毒力回归

从 9 株菌株不同浓度处理红火蚁工蚁后第 10 天的致病力回归方程可知, 红火蚁的死亡率与菌株浓度成正比, 白僵菌 HHY-B、CP728、ZG5、Bb720、ZYSYE-Y2、Bb040、Bb034 和 LCM1 菌株

对红火蚁工蚁的 LC_{50} 分别为 2.27×10^5 、 1.49×10^5 、 2.32×10^5 、 4.94×10^5 、 1.16×10^5 、 3.79×10^5 、 8.47×10^5 和 2.28×10^5 孢子/mL, 而淡紫紫

孢菌 LCM1 菌株对红火蚁的 LC_{50} 为 3.90×10^6 孢子/mL, 比除 Bb034 菌株外的其他白僵菌菌株的高 10 倍左右 (表 3)。

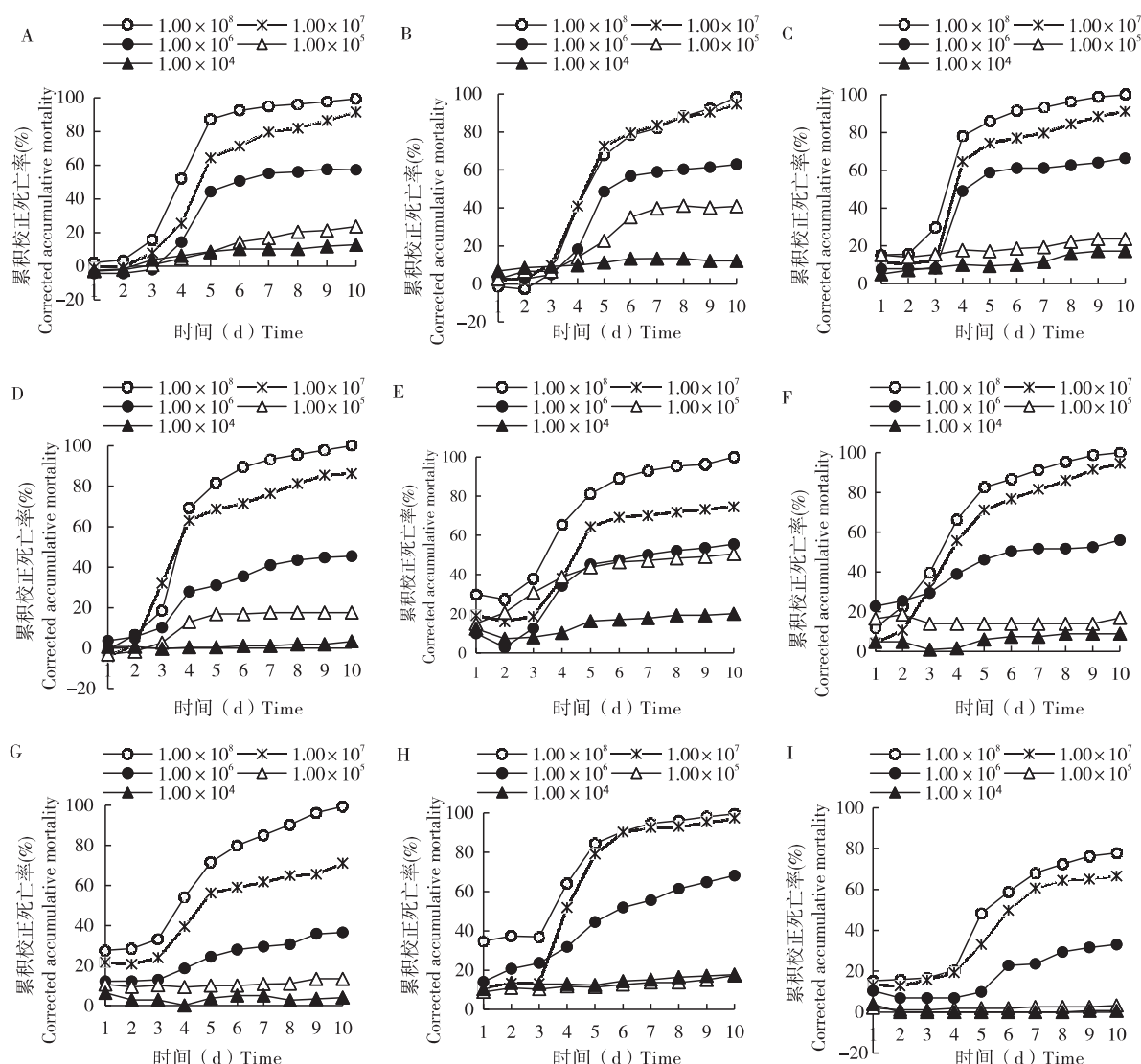


图1 9株虫生真菌菌株不同浓度处理对红火蚁工蚁的逐日累积校正死亡率

Fig. 1 Daily corrected accumulative mortality of the red imported fire ant workers after treatment with 9 strains of entomopathogenic fungi in different concentration

注 Note: A, HHY-B; B, CP728; C, ZG5; D, Bb720; E, ZYSYE-Y2; F, Bb040; G, Bb034; H, LCM1; I, LYC1。

除 CP728 菌株 1.0×10^7 孢子/mL 和 ZYSYE-Y2 菌株 1.0×10^5 孢子/mL 处理的 LT_{50} 值以外, 9 株虫生真菌菌株各浓度处理的 LT_{50} 值均随着孢子浓度的增加而缩短, 在 1.0×10^8 孢子/mL 浓度下, 白僵菌 ZG5、ZYSYE-Y2、Bb040、Bb034 和 LCM1 菌株处理红火蚁工蚁的 LT_{50} 值小于 3 d, 表明这几个菌株对红火蚁的致死时间较短。在 1.0×10^7 孢子/mL 浓度下, 8 个白僵菌菌株对红火蚁工蚁的

LT_{50} 值差别不大, 处于 3.43 ~ 4.32 d 间。当浓度降至 1.0×10^5 孢子/mL 时, 白僵菌 ZYSYE-Y2 菌株处理的红火蚁工蚁的 LT_{50} 值为 5.30 d, 而其余菌株处理红火蚁的最终死亡率均不足 50%, 无法估算 LT_{50} 。在相同浓度下, 淡紫紫孢菌 LCM1 菌株对红火蚁的 LT_{50} 值均比其他白僵菌菌株的值大, 表明该菌株对红火蚁的致死速率较其他白僵菌的慢 (表 4)。

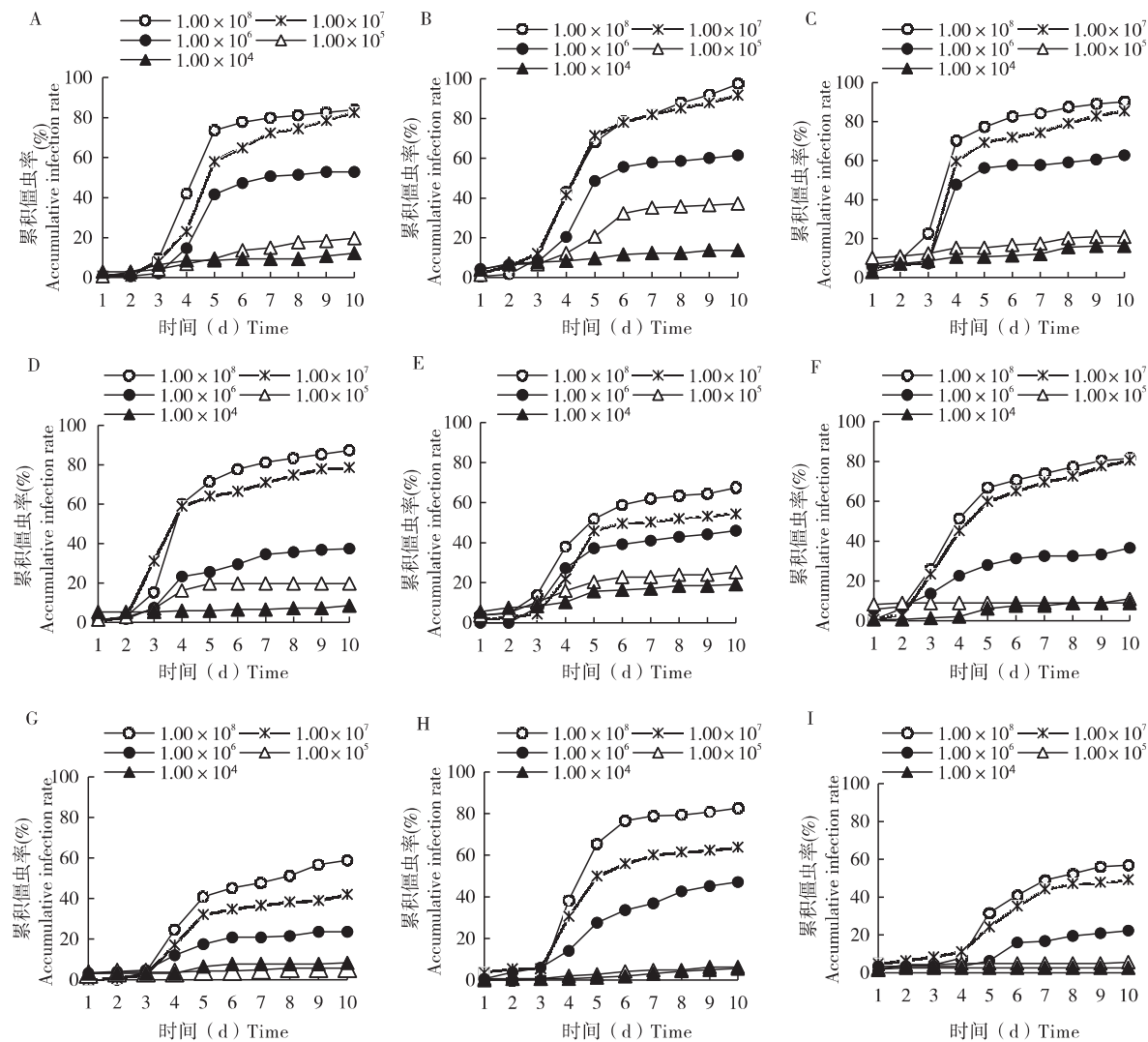


图2 9株虫生真菌菌株不同浓度处理对红火蚁工蚁的逐日累积僵虫率

Fig. 2 Daily accumulative infection rate of the red imported fire ant workers after treatment with 9 strains of entomopathogenic fungi in different concentration

注 Note: A, HHY-B; B, CP728; C, ZG5; D, Bb720; E, ZYSYE-Y2; F, Bb040; G, Bb034; H, LCM1; I, LYC1.

表3 9株虫生真菌处理红火蚁工蚁 10 d 时的致死中浓度

Table 3 LC₅₀ values of fire ant workers treated with 9 species of entomopathogenic fungi on the 10th day after the treatment

菌株编号 Strain No.	致病力回归方程 Pathogenicity regression equation	χ^2	P	LC ₅₀ ($\times 10^5$ 孢子/mL) (95% confidence limit)
HHY-B	$y = -4.19 + 0.78x$	16.89	0.001	2.27 (0.45 ~ 8.45)
CP728	$y = -3.90 + 0.75x$	7.35	0.062	1.49 (0.53 ~ 3.53)
ZG5	$y = -4.41 + 0.82x$	16.78	0.001	2.32 (0.48 ~ 8.67)
Bb720	$y = -4.80 + 0.84x$	18.41	0.000	4.94 (1.23 ~ 17.85)
ZYSYE-Y2	$y = -2.76 + 0.55x$	36.96	0.000	1.16 (0.00037 ~ 13.75)
Bb040	$y = -5.30 + 0.95x$	24.82	0.000	3.79 (0.74 ~ 17.65)
Bb034	$y = -4.59 + 0.77x$	28.18	0.000	8.47 (1.19 ~ 52.54)
LCM1	$y = -5.09 + 0.95x$	45.09	0.000	2.28 (0.14 ~ 18.78)
LYC1	$y = -4.58 + 0.70x$	10.79	0.013	39.04 (12.62 ~ 152.60)

注: 回归方程中 y 为机率值, x 为孢子浓度的对数。Note: y represented probit, x represented logarithm of spore concentration in regression equation.

表 4 9 株不同孢子浓度虫生真菌菌株对红火蚁工蚁致死中时
Table 4 LT_{50} values of nine species of entomopathogenic fungi against red imported fire ant workers at different concentrations

菌株编号 Strain No.	不同孢子浓度的 LT_{50} (95% 置信限 95% confidence limit) (孢子/mL)				
	1.0×10^4	1.0×10^5	1.0×10^6	1.0×10^7	1.0×10^8
HHY-B	—	—	6.44 (5.43 ~ 7.92)	4.22 (3.38 ~ 5.06)	3.19 (2.32 ~ 4.01)
CP728	—	—	6.16 (5.19 ~ 7.51)	4.07 (3.36 ~ 4.75)	4.37 (3.61 ~ 5.08)
ZG5	—	—	5.27 (4.17 ~ 6.72)	3.72 (2.85 ~ 4.56)	2.83 (2.12 ~ 3.49)
Bb720	—	—	8.73 (7.74 ~ 10.12)	3.72 (3.24 ~ 4.18)	3.17 (2.57 ~ 3.73)
ZYSYE-Y2	—	5.30 (5.72 ~ 5.99)	6.38 (5.49 ~ 7.64)	3.95 (3.15 ~ 4.80)	2.35 (1.68 ~ 2.95)
Bb040	—	—	6.36 (5.51 ~ 7.52)	3.68 (3.47 ~ 3.88)	2.85 (2.44 ~ 3.25)
Bb034	—	—	—	4.32 (3.56 ~ 5.17)	2.62 (1.86 ~ 3.32)
LCM1	—	—	5.52 (4.89 ~ 6.29)	3.43 (2.42 ~ 4.39)	2.25 (1.38 ~ 3.02)
LYC1	—	—	—	5.95 (4.84 ~ 7.63)	4.75 (3.72 ~ 6.02)

注 “—” 表示红火蚁工蚁的最终死亡率低于 50%，无法估算 LT_{50} 。Note “—” represented that the mortality of infected the red imported fire ant workers was less than 50%， LT_{50} values cannot be estimated.

综合上述，根据各菌株对红火蚁工蚁的致病性，从校正死亡率、僵虫率、致死中浓度和致死中时等因素综合分析，白僵菌 HHY-B、CP728、ZG5 和 Bb040 菌株对红火蚁工蚁具有较高的活性，可作为红火蚁生物防治的候选菌株。

3 结论与讨论

本研究对 15 株白僵菌、15 株绿僵菌和 4 株淡紫紫孢菌菌株以浓度为 1.0×10^8 孢子/mL 的孢悬液处理红火蚁工蚁，初步筛选出的 9 株高活性菌株（第 10 天的累积校正死亡率大于 80%，且僵虫率大于 70%）中，有 8 株为白僵菌，1 株为淡紫紫孢菌，而绿僵菌处理的红火蚁工蚁校正死亡率和僵虫率均较低，这与其他学者的研究结果一致（吕利华等，2011；许齐爱等，2013；吴志鹏等，2020），说明白僵菌是红火蚁生物防治最有应用前途的生防菌（Lofgren *et al.*, 1975）。值得关注的是，白僵菌 YMM 和绿僵菌 CDTNN2 菌株的最终校正死亡率较高（分别为 98.90% 和 75.78%），致死中时在同类菌株中也最短（分别为 2.50 d 和 3.59 d），但僵虫率仅为 25.11% 和 18.78%，这可能是由于菌株产生的次级代谢产物直接导致了寄主的死亡（Khouri *et al.*, 2019），具体原因还有待进一步研究。

将初筛到的 9 株高活性菌株用梯度浓度的孢

悬液处理红火蚁工蚁后，红火蚁的累积校正死亡率和僵虫率随着浓度的升高而增大，致死中时（ LT_{50} ）随之缩短，当孢子浓度为 1.0×10^7 孢子/mL 和 1.0×10^8 孢子/mL 时，各菌株均表现出较高的毒力；当孢子浓度为 1.0×10^6 孢子/mL 时，除白僵菌 CP728 和 ZG5 菌株处理的最终校正死亡率和僵虫率均大于 60% 外，其余菌株的均明显降低；当孢子浓度为 1.0×10^5 孢子/mL 时，除白僵菌 ZYSYE-Y2 菌株处理的最终死亡率大于 50% 外，其余菌株的校正死亡率和僵虫率均降至较低水平。这可能跟红火蚁等社会性昆虫的梳理行为有关，它们能通过自我梳理和相互梳理减少体表孢子的数量，从而降低被侵染致死的几率（Ugelvig and Cremer, 2007；Okuno *et al.*, 2011；邱华龙，2016）。而当使用高浓度孢悬液处理时，可能是由于孢子浓度过高，梳理行为也无法阻止孢子侵入红火蚁体内，故死亡率均较高（Reber *et al.*, 2011）。因此，在利用虫生真菌防治红火蚁时，需加大孢子的浓度，或研制不易被红火蚁梳理移除孢子的制剂，使红火蚁不能完全梳理掉所有的孢子，以增加被侵染的几率（邱华龙，2016）。

本研究在室内对红火蚁工蚁进行活性测定，筛选出了活性较高的白僵菌 HHY-B、CP728、ZG5 和 Bb040 菌株，但各菌株对红火蚁工蚁后、幼虫、蛹和卵的活性还有待研究，以期筛选出更优良的菌株为红火蚁的生物防治奠定基础。

参考文献 (References)

- Bextine BR, Thorvilson HG. Field applications of bait-formulated *Beauveria bassiana* alginate pellets for biological control of the red imported fire ant (Hymenoptera: Formicidae) [J]. *Environmental Entomology*, 2002, 31 (4): 746–752.
- Chen X, Chen RR, Jiang P, et al. Comparative study on the current registration status of pesticides on red imported fire ants (*Solenopsis invicta* Buren) in China, the United States of America, and Australia [J]. *China Plant Protection*, 2022, 42 (5): 79–85. [陈雪, 陈冉冉, 姜培, 等. 中国和美国、澳大利亚红火蚁农药登记现状对比研究 [J]. 中国植保导刊, 2022, 42 (5): 79–85]
- Chandler D, Bailey AS, Tatchell GM, et al. The development, regulation and use of biopesticides for integrated pest management [J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*, 2011, 366 (1573): 1987–1998.
- Khoury CA, Guillot J, Nemer N. Lethal activity of beauvericin, a *Beauveria bassiana* mycotoxin, against the two-spotted spider mites, *Tetranychus urticae* Koch [J]. *Journal of Applied Entomology*, 2019, 143 (9): 974–983.
- Lu YY, Zeng L. 10 years after red imported fire ant found to invade China: History, current situation and trend of its infestation [J]. *Plant Quarantine*, 2015, 29 (2): 1–6. [陆永跃, 曾玲. 发现红火蚁入侵中国 10 年: 发生历史、现状与趋势 [J]. 植物检疫, 2015, 29 (2): 1–6]
- Lofgren CS, Banks WA, Glancey BM. Biology and control of imported fire ants [J]. *Annual Review of Entomology*, 1975, 20: 1–30.
- Lv LH, Liu XY, Xie MQ, et al. Screening of high pathogenicity strains of entomopathogenic fungi against red imported fire ant [J]. *Journal of South China Agricultural University*, 2011, 32 (4): 35–39. [吕利华, 刘晓燕, 谢梅琼, 等. 寄生红火蚁虫生真菌高致病力菌株的筛选 [J]. 华南农业大学学报, 2011, 32 (4): 35–39]
- Ministry of Agriculture and Rural Affairs. Notice on the administrative region list of the national agricultural plant quarantine pest distribution (No. [2022] 13) [Z]. July 1, 2022. [农业农村部办公厅. 关于印发《全国农业植物检疫性有害生物分布行政区名录》的通知 (农办农 (2022) 13 号) [Z]. 2022 年 7 月 1 日]
- Oi DH, Pereira RM, Stimac JL, et al. Field applications of *Beauveria bassiana* for control of the red imported fire ant (Hymenoptera: Formicidae) [J]. *Journal of Entomology*, 1994, 87 (3): 623–630.
- Okuno M, Tsuji K, Sato H, et al. Plasticity of grooming behavior against entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* in the ant *Lasius japonicus* [J]. *Journal of Ethology*, 2011, 30: 23–27.
- Park Y, Vatanparast M, Sajjadian SM. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* ANU1 to the red imported fire ant, *Solenopsis invicta* workers in Korea [J]. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 2022, 25 (2).
- Qiu HL. Behavioral Defensive Mechanisms of Workers Against Entomopathogenic Fungi Infection in Fire Ants *Solenopsis invicta* [D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2016. [邱华龙. 绿僵菌胁迫下红火蚁的防御行为及机制探讨 [D]. 广州: 华南农业大学博士论文, 2016]
- Reber A, Purcell J, Buechel S, et al. The expression and impact of antifungal grooming in ants [J]. *Journal of Evolutionary Biology*, 2011, 24: 954–964.
- Ugelvig LV, Cremer S. Social prophylaxis: Group interaction promotes collective immunity in ant colonies [J]. *Current Biology*, 2007, 17: 1967–1971.
- Vinson SB. Invasion of the red imported fire ant (Hymenoptera: Formicidae): Spread, biology, and impact [J]. *Journal of American Entomologist*, 1997, 43 (1): 23–39.
- Wang L, Xu YJ, Li ZL, et al. Pathogenicity of three strains of *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) to red imported fire ant *Solenopsis invicta* Buren [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2018, 40 (4): 820–824. [王磊, 许益鏖, 李梓琳, 等. 三株金龟子绿僵菌对红火蚁的致病力测定 [J]. 环境昆虫学报, 2018, 40 (4): 820–824]
- Wu ZP, Tong YH. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* to *Solenopsis invicta* workers [J]. *Journal of Forest and Environment*, 2020, 40 (1): 99–105. [吴志鹏, 童应华. 球孢白僵菌和金龟子绿僵菌对红火蚁工蚁的致病力测定 [J]. 森林与环境学报, 2020, 40 (1): 99–105]
- Xu QA, Li JY, Ren SX. Selection of *Metarhizium flavoviride* isolates to control the red imported fire ant *Solenopsis invicta* [J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2013, 29 (3): 384–388. [许齐爱, 李佳颖, 任顺祥. 红火蚁高致病力黄绿绿僵菌菌株的筛选 [J]. 中国生物防治学报, 2013, 29 (3): 384–388]
- Yang JH, Sun F, Liao KH, et al. Bioassay of 4 strains of *Beauveria bassiana* against *Solenopsis invicta* [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2009, 31 (1): 46–51. [杨佳后, 孙钊, 廖坤宏, 等. 4 株球孢白僵菌对红火蚁毒力的生物测定 [J]. 环境昆虫学报, 2009, 31 (1): 46–51]
- Zeng L, Lu YY, He XF, et al. Identification of red imported fire ant *Solenopsis invicta* to invade mainland China and infestation in Wuchuan Guangdong [J]. *Chinese Bulletin of Entomology*, 2005, 42 (2): 144–148, 230–231. [曾玲, 陆永跃, 何晓芳, 等. 入侵中国大陆的红火蚁的鉴定及发生为害调查 [J]. 昆虫知识, 2005, 42 (2): 144–148, 230–231]