

# 8株绿僵菌孢子萌发条件及室内 侵染马尾松毛虫试验

宋 漳

徐乐勤

江 涛

(福建林学院资源与环境系, 南平 353001)

(福建省建阳市范桥林场)

(福建省南平市林业委员会)

**摘 要** 与供试白僵菌菌株相比,某些绿僵菌菌株具有较强的耐高温和耐旱能力。经室内毒力测定,8个绿僵菌菌株中有2个菌株(M<sub>2</sub>和M<sub>4</sub>)对马尾松毛虫有毒力,其中M<sub>4</sub>的毒力与白僵菌相当,其致死中量为 $4.75 \times 10^7$ 个孢子 $\cdot L^{-1}$ ,致死中时为6.19~12.20 d(在 $1.0 \times 10^{11} \sim 1.0 \times 10^7$ 个孢子 $\cdot L^{-1}$ 的浓度下)。结果显示绿僵菌在防治马尾松毛虫上具有较大的开发利用价值。

**关键词** 绿僵菌;白僵菌;马尾松毛虫;毒力测定;萌发

**中图分类号** S763.42

绿僵菌(*Metarhizium* ssp.)具有分布范围大寄生谱广等特点,因此常被用来防治多种农林害虫,并获得不同程度的成功。李增智等曾就绿僵菌防治马尾松毛虫的可能性进行初步探讨,证明它对马尾松毛虫具有毒力<sup>[1]</sup>。为筛选适用于防治马尾松毛虫的绿僵菌菌株,本试验就来源不同的8株绿僵菌进行孢子萌发试验和室内传染马尾松毛虫试验,并与白僵菌菌株相比较。

## 1 材料与方 法

### 1.1 菌种来源

金龟子绿僵菌(*Metarhizium anisopliae*): M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub>, M<sub>3</sub>, M<sub>4</sub>;大孢绿僵菌(*M. majarosporae*): M<sub>5</sub>, M<sub>6</sub>;黄绿绿僵菌(*M. flavoviride*): M<sub>7</sub>; *Metarhizium* sp.: M<sub>8</sub>。以上菌种均来自于中国农业菌种保藏中心。文中菌株编号为自编号。

球孢白僵菌(*Beauveria bassiana*): B<sub>1</sub>, 来源于福建建瓯白僵菌厂。

### 1.2 供试昆虫

马尾松毛虫(*Dendrolimus punctatus*)3~4龄幼虫

收稿日期: 1996-08-09; 修回日期: 1996-11-12

第1作者简介: 宋漳,男,1963年生,讲师,硕士

©1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

### 1.3 不同温度和湿度下分生孢子发芽力测定

孢子萌发培养基配方: 蛋白胨  $0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 葡萄糖  $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 琼脂  $20.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。温度系列: 8.5, 15.0, 20.0, 25.0, 28.0, 32.0, 37.0 $^{\circ}\text{C}$ 。湿度系列 (用 25 $^{\circ}\text{C}$ 时饱和盐溶液来控制<sup>[2]</sup>): 22.5%, 32.5%, 50.5%, 62.5%, 75.5%, 80.0%, 85.0%, 92.5%, 100%。

方法: 用无菌毛刷蘸取灭菌过的萌发培养基均匀涂布于无菌载玻片上成一薄层, 再用无菌毛刷蘸取用  $0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 吐温-80无菌水配制的分生孢子悬浮液均匀涂布于载玻片的培养基薄层上, 然后置于不同湿度下及 25 $^{\circ}\text{C}$ 时不同湿度下培养 48h, 统计发芽率。实验设 3个重复, 每个重复各统计 100个以上孢子。

### 1.4 室内毒力测定

将供试菌种先接种于马铃薯琼脂培养基斜面上, 25 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养 12 d, 然后用  $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 吐温-80无菌水配制成浓度梯度为:  $1.0 \times 10^{11} \sim 1.0 \times 10^7$ 个孢子 $\cdot \text{L}^{-1}$ 的分生孢子悬浮液。每种浓度设 2个重复, 每个重复 15条 3~4龄马尾松毛虫。用微量注射器吸取上述菌液滴于幼虫体表, 每虫接种量 0.1 mL, 对照组用  $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 吐温-80无菌水接种。处理后, 放入装有松针的罐头瓶中, 瓶盖装有铁丝网, 以保持通气, 置于室温下饲养。每日更换松针, 喷清水保持高湿, 逐日统计感染死亡虫数。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同温度下分生孢子发芽力

从表 1可以看出, 在 8.5~37.0 $^{\circ}\text{C}$ 范围内, 不同的绿僵菌菌株分生孢子发芽力差异很大。与供试白僵菌菌株相比较, 除了 M<sub>5</sub>菌株外, 供试的绿僵菌各菌株均表现出比供试白僵菌菌株更强的耐高温能力。这种耐高温性与菌株有一定相关性。方差分析表明, 在不同温度下绿僵菌与白僵菌孢子发芽力之间差异显著。

表 1 不同温度下绿僵菌和白僵菌分生孢子发芽力

Table 1 The germination percentage of *Metarhizium* spp. and *Beauveria bassiana* at different temperatures %

菌 株	温 度 $^{\circ}\text{C}$						
	8.5	15.0	20.0	25.0	28.0	32.0	37.0
M <sub>1</sub>	15.3	33.0	75.4	93.2	94.3	90.3	20.4
M <sub>2</sub>	0	3.0	32.4	46.0	8.7	7.7	4.6
M <sub>3</sub>	0	9.7	80.7	95.3	57.3	1.3	0.2
M <sub>4</sub>	0	16.6	74.6	100	78.7	55.3	25.4
M <sub>5</sub>	0	1.0	32.1	98.3	25.0	0	0
M <sub>6</sub>	0	4.6	24.7	27.6	9.9	7.7	6.2
M <sub>7</sub>	0	8.1	49.8	60.0	5.3	2.0	0.6
M <sub>9</sub>	0	19.6	75.4	97.4	78.3	24.3	19.4
B <sub>1</sub>	0	44.0	52.0	84.5	84.5	23.0	0

### 2.2 不同湿度下分生孢子发芽力

在不同的相对湿度下, 不同绿僵菌菌株分生孢子的发芽力差异很大。李增智等的研究认为绿僵菌具有耐旱性<sup>[1]</sup>。从本试验结果来看(表 2), 随着相对湿度的降低, 绿僵菌各菌株和供

试的白僵菌菌株分生孢子发芽力呈不同程度的下降速率。相对湿度在 80% 以下时, 白僵菌  $B_i$  菌株分生孢子发芽率骤然降至 9.3% 以下, 而绿僵菌分生孢子发芽率的下降幅度则比较平缓。且经方差分析可知, 在不同湿度下绿僵菌与白僵菌  $B_i$  菌株间分生孢子发芽力呈显著差异。因此, 与供试白僵菌菌株相比较, 某些绿僵菌菌株表现出较强的耐旱性, 但这种耐旱性显然与菌株有一定相关性。

### 2.3 对马尾松毛虫的毒力

8株绿僵菌的室内侵染试验表明, 仅有  $M_2$  和  $M_4$  菌株对马尾松毛虫幼虫有毒力。从致死中量  $LD_{50}$ 、致死中时  $LT_{50}$  和回归曲线的斜率  $b$  值来看,  $M_4$  菌株的毒力略高于  $M_2$  菌株, 而与供试白僵菌  $B_i$  菌株的毒力相当 (表 3~4)。

表 2 不同湿度下绿僵菌和白僵菌分生孢子发芽力

Table 2 The germination percentage of *Metarhizium* spp. and *B. bassiana* in different humidity %

菌 株	相 对 湿 度 %								
	100	92.5	85.0	80.0	75.5	62.5	50.5	32.5	22.5
$M_1$	98.6	97.1	92.1	79.5	74.5	50.0	25.0	13.1	8.5
$M_2$	19.3	16.0	14.3	7.6	5.3	0	0	0	0
$M_3$	16.2	4.0	1.0	0.6	0	0	0	0	0
$M_4$	93.3	85.7	62.0	26.7	8.7	2.0	0	0	0
$M_5$	3.3	2.0	0	0	0	0	0	0	0
$M_6$	67.3	66.8	61.7	59.7	27.3	29.1	0	0	0
$M_7$	67.3	66.0	61.9	59.3	37.3	29.8	0	0	0
$M_8$	100	97.0	95.3	94.0	89.0	77.7	11.7	8.0	3.7
$B_i$	96.0	82.3	80.1	9.3	7.1	4.0	2.3	0	0

表 3 绿僵菌和白僵菌对马尾松毛虫幼虫的致病力

Table 3 Pathogenicity of *Metarhizium* spp. and *B. bassiana* to larvae of *Dendrolimus punctatus*

菌 株	$LD_{50}$ /个 $\cdot$ L $^{-1}$	95%置信限 /个 $\cdot$ L $^{-1}$	回归方程
$M_2$	$3.52 \times 10^8$	$6.14 \times 10^7 \sim 2.02 \times 10^9$	$y = 3.3447x - 0.2984x$
$M_4$	$4.75 \times 10^7$	$9.77 \times 10^6 \sim 2.34 \times 10^8$	$y = 3.4763x - 0.3258x$
$B_i$	$8.05 \times 10^7$	$1.42 \times 10^7 \sim 4.56 \times 10^8$	$y = 3.5269x - 0.3003x$

### 3 小结

本试验结果表明, 与供试白僵菌菌株相比, 绿僵菌具有较强的耐高温和耐旱性, 且这些抗性与菌株有一定的相关性。供试的 8个绿僵菌菌株中, 仅有  $M_2$ 和  $M_4$  菌株对马尾松毛虫有毒力, 以  $M_4$ 的毒力较高, 与供试白僵菌菌株的毒力相当。

我国南方各省, 在降水多、空气湿度大的时候, 使用白僵菌防治马尾松毛虫可达 80% 死亡率, 已成为一种主要的防治手段<sup>[3]</sup>。然而, 白僵菌的应用易受环境条件的制约。当林间温度

表 4 绿僵菌和白僵菌对马尾松毛虫幼虫的致死时间

Table 4 Mortality time of *Metarhizium* spp. and *B. bassiana* to larvae of *D. punctatus*

菌 株	浓度 $\times 10^x$	$LT_{50}$ /d	回归方程
M <sub>2</sub>	$1.0 \times 10^{11}$	9.37	$y = 2.5382 + 0.2627x$
	$1.0 \times 10^{10}$	10.50	$y = 2.8722 + 0.2027x$
	$1.0 \times 10^9$	11.54	$y = 2.8179 + 0.1891x$
	$1.0 \times 10^8$	13.49	$y = 2.9391 + 0.1528x$
	$1.0 \times 10^7$	15.64	$y = 2.9404 + 0.1316x$
M <sub>4</sub>	$1.0 \times 10^{11}$	6.19	$y = 3.4546 + 0.2496x$
	$1.0 \times 10^{10}$	8.41	$y = 3.4401 + 0.1856x$
	$1.0 \times 10^9$	9.82	$y = 3.1503 + 0.1834x$
	$1.0 \times 10^8$	11.07	$y = 3.2216 + 0.1607x$
	$1.0 \times 10^7$	12.20	$y = 3.0303 + 0.1614x$
B <sub>1</sub>	$1.0 \times 10^{11}$	6.51	$y = 3.7110 + 0.1980x$
	$1.0 \times 10^{10}$	7.98	$y = 3.6014 + 0.1752x$
	$1.0 \times 10^9$	8.99	$y = 3.5640 + 0.1596x$
	$1.0 \times 10^8$	11.80	$y = 3.4237 + 0.1336x$
	$1.0 \times 10^7$	12.83	$y = 3.2031 + 0.1400x$

较高或相对湿度较低时,白僵菌分生孢子发芽率很低,从而影响侵染的发生和病害流行。因此,绿僵菌的耐高温和耐旱性,也许可以弥补白僵菌的不足,而有较大的开发利用价值

## 参 考 文 献

- 1 李增智,程双龙,鲁绪祥,等.绿僵菌、黄僵菌对松毛虫的室内杀虫及固体生产试验初报.安徽农学院学报,1985,12(2):85~90
- 2 吴千红,邵则信,苏德明,等.昆虫生态学实验.上海:复旦大学出版社,1991.229~230
- 3 武颀文.应用粉拟青霉素等真菌防治油松毛虫.林业科学,1988,24(1):34~39

Song Zhang (Fujian College of Forestry, Nanping 353001, PRC), Xu Leqin, and Jang Tao.

**Conidia Germination and Laboratory Infection of 8 *Metarhizium* spp. Strains to *Dendrolimus punctatus*.** *J Zhejiang For Coll*, 1997, 14(2): 165~168

**Abstract** The results showed that some strains of *Metarhizium* spp. were more tolerant to high temperature and drought than *Beauveria bassiana*. Of 8 strains of *Metarhizium* spp., 2 strains (M<sub>2</sub>, M<sub>4</sub>) showed pathogenicity to 3rd~4th instar larvae of *Dendrolimus punctatus* in laboratory. The  $LD_{50}$  of M<sub>4</sub> strain was  $4.75 \times 10^7$  spores  $\text{L}^{-1}$ , and the  $LT_{50}$  6.19~12.20 days for the concentration of  $1.0 \times 10^7 \sim 1.0 \times 10^{11}$  spores  $\text{L}^{-1}$ . The laboratory test indicated that the toxicity of M<sub>4</sub> strain was almost the same with that of *B. bassiana*, and that some strains of *Metarhizium* spp. had great value in controlling *D. punctatus*.

**Key words** *Metarhizium* spp.; *Beauveria bassiana*; *Dendrolimus punctatus*; toxicity test; germination