

文章编号: 1000-5692 (1999)04-0331-05

# 9 个白僵菌菌株对马尾松毛虫的致病性

方志刚<sup>1</sup>, 张立钦<sup>1</sup>, 赵仁友<sup>2</sup>

(1. 浙江林学院资源与环境系, 浙江临安 311300; 2. 浙江省丽水地区森林病虫害防治站, 浙江丽水 323000)

**摘要:** 浙江省丽水地区是马尾松毛虫白僵菌自然常发区。近几年来采集并分离到球孢白僵菌 9 个野生菌株。测定它们在 PDA 平板上的营养生长和产孢量, 以及菌株对马尾松毛虫的致病力。结果表明, B<sub>2</sub>, B<sub>4</sub> 和 B<sub>14</sub> 等 3 个菌株致病力最强, 营养生长最快, 产孢量较高, 达 3 亿个 cm<sup>-2</sup>, 在今后生产上对马尾松毛虫的防治最具应用潜力; 次之是 B<sub>7</sub>, B<sub>10</sub>, B<sub>11</sub> 和 B<sub>12</sub> 等 4 个菌株; 而 B<sub>6</sub> 和 B<sub>13</sub> 菌株的各个性状较差, 几无潜力。同时也说明自然界中存在遗传多样性的自然菌株。表 5 参 6

**关键词:** 球孢白僵菌; 菌株; 马尾松毛虫; 致病性

**中图分类号:** S482.7; S763.853      **文献标识码:** A

近 20 a 来, 我国的白僵菌生产和在防治松毛虫上的应用是世界上最大的真菌杀虫剂应用项目<sup>[1]</sup>。全国每年用白僵菌防治森林害虫的面积约 54 万 hm<sup>2</sup>, 是南方各省开展防治的主要手段之一<sup>[1,2]</sup>。但近些年来, 基层普遍反映效果不稳定。这个问题原因是多方面的, 其中一个重要因子是菌种问题<sup>[1~3]</sup>。浙江省丽水地区是白僵菌常发区。几年来, 作者通过广泛的采集, 获得 9 个白僵菌自然菌株。本文对这些菌株的营养生长、产孢量和对马尾松毛虫 (*Dendrolimus punctata*) 的致病力等进行了研究, 其目的是筛选出有开发前景的优良菌株。

## 1 材料与方法

### 1.1 自然菌株和来源

作者对丽水地区的主要白僵菌流行区进行了调查, 共采集到 14 号标本, 经稀释分离或划线分离, 纯化后得到 9 个菌株(表 1), 经鉴定均属于球孢白僵菌 (*Beauveria bassiana*)。B<sub>2</sub>, B<sub>4</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>7</sub>, B<sub>10</sub> 和 B<sub>12</sub> 采自马尾松毛虫的幼虫, B<sub>14</sub> 采自马尾松毛虫茧, B<sub>11</sub> 采自栎褐舟蛾 (*Naganoea albibasis*), B<sub>13</sub> 采自一种寄生蜂上。分布的地点有丽水市、庆元县和松阳县。

收稿日期: 1999-07-14

作者简介: 方志刚(1956-), 男, 浙江义乌人, 副教授, 从事森林昆虫学研究。

表1 9个自然菌株来源一览

Table 1 Hosts and distribution of 9 natural strains

菌株	自然寄主	采集地点	采集时间	
B <sub>2</sub>	马尾松毛虫	丽水地区林场白塔岗南坡	04-04	橘园边
B <sub>4</sub>	马尾松毛虫	丽水地区林场寿宁寺林区东坡	04-04	
B <sub>6</sub>	马尾松毛虫	庆元县五大堡乡万年桥至蒙汗公路沿线	04-10	
B <sub>7</sub>	马尾松毛虫	丽水地区林场寿仁寺坑	05-13	
B <sub>10</sub>	马尾松毛虫	松阳县西屏山公园	05-13	曾放过菌
B <sub>11</sub>	栎褐舟蛾	丽水市南明山公园	07-05	
B <sub>12</sub>	马尾松毛虫	丽水市万象山公园	07-05	曾放过菌
B <sub>13</sub>	寄生蜂	丽水市南明山公园	07-05	
B <sub>14</sub>	松毛虫茧	松阳县西屏镇王村金脚	09-15	

## 1.2 菌株营养生长量测定

先在 PDA 培养基上培养好白僵菌菌落, 把牙签剪成 1 mm 长, 置于 5% 蔗糖溶液中灭菌后取出, 放在白僵菌菌落上, 在 28 °C 下培养 1 d, 然后取出分别置于 PDA 平板的中央。每皿一段, 每一菌株重复 3 次, 最后置于 28 °C 下培养, 以后每天定时定点观察菌落的直径, 并作统计。

## 1.3 各菌株产孢量测定

各菌株在 PDA 平板上, 28 °C 下培养 2 周, 用打孔器在菌落中央到边缘的中点处, 取出一定面积的菌落, 置于 0.1% 吐温-80 的定量无菌水中, 充分振荡使孢子分散, 用血球计数板测定孢子数量, 并换算成每平方厘米的孢子产量。

## 1.4 不同菌株对马尾松毛虫的毒力测定

供试马尾松毛虫采自丽水市的 3 龄幼虫。在 PDA 培养基上每天光照 12 h 培养各菌株, 2 周后获得大量的分生孢子。用 0.1% 吐温-80 的无菌水配制成  $1 \times 10^5$  孢子悬浮液, 用微量注射器在每头松毛虫体表上接种 100  $\mu$ L 的孢子悬浮液, 然后把松毛虫置于大广口瓶内的松枝叶上, 瓶内以湿润的滤纸保湿, 瓶口用沙布包扎, 每处理 2 个重复, 每个重复 30 头虫, 最后置于 25 °C 的培养箱内饲养。以无菌水接种作对照。以后继续保湿, 每天观察记录马尾松毛虫的反映、死亡时间、死亡率和白僵虫数。

# 2 结果与分析

## 2.2 各菌株营养生长

各菌株在 PDA 培养基上菌落生长平均直径见表 2。从表 2 可知各菌株在 PDA 培养基上生长都不快, 8 d 内其菌落直径在 12.20 ~ 15.50 mm 不等。统计分析表明 B<sub>1</sub>, B<sub>7</sub>, B<sub>14</sub>, B<sub>4</sub>, B<sub>10</sub>, B<sub>11</sub>, B<sub>12</sub>, 与 B<sub>13</sub> 之间存在显著差异, 与 B<sub>6</sub> 之间存在极显著差异。此外, 还发现 B<sub>6</sub>, B<sub>7</sub> 和 B<sub>13</sub> 的气生菌丝较多。从试验结果来看, 除 B<sub>6</sub> 和 B<sub>13</sub> 外, 其他菌株的菌落直径生长都较快。

## 2.3 各菌株产孢量

在 PDA 上培养 2 周后, 测定每平方厘米产孢量(表 3)。经分析各菌株产孢量之间存在显著差异。B<sub>12</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>14</sub> 和 B<sub>4</sub> 的产孢量与 B<sub>7</sub>, B<sub>10</sub> 和 B<sub>11</sub> 之间有显著差异。这 7 个菌株与 B<sub>6</sub> 和 B<sub>13</sub> 之间存在极显著差异。B<sub>12</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>14</sub> 和 B<sub>4</sub> 产孢量最高, 达 3 亿个  $\cdot \text{cm}^{-2}$ ; B<sub>7</sub>, B<sub>10</sub> 和 B<sub>11</sub> 其

表 2 各菌株菌落生长直径

Table 2 Growth of 9 natural strains on PDA medium

菌 株	菌 落 直 径/mm						
	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	8 d
B <sub>2</sub>	2.50	6.95	9.20	11.10	13.35	14.50	15.50
B <sub>4</sub>	2.45	6.90	9.15	10.95	13.05	14.25	15.35
B <sub>7</sub>	2.45	6.85	9.30	11.65	13.45	14.50	15.45
B <sub>6</sub>	2.25	6.10	7.85	9.30	10.65	11.70	12.20
B <sub>10</sub>	2.40	6.80	9.10	11.20	13.10	14.30	15.20
B <sub>11</sub>	2.90	7.50	9.50	11.30	12.70	14.20	15.00
B <sub>12</sub>	1.75	4.95	7.60	9.55	11.30	13.85	15.00
B <sub>13</sub>	1.85	4.50	7.30	8.80	11.00	13.05	14.20
B <sub>14</sub>	2.35	6.40	8.90	11.00	13.15	14.40	15.40

次, 达 2 亿个 $\cdot\text{cm}^{-2}$ ; 而 B<sub>6</sub> 和 B<sub>13</sub> 产孢量显著少, 尤其是 B<sub>13</sub> 产孢量比其他菌株少几十倍之多。产孢量是优良菌株的一个重要指标。从记录结果来看 9 个菌株的产孢量排列顺序是 B<sub>12</sub> > B<sub>2</sub> > B<sub>14</sub> > B<sub>4</sub> > B<sub>10</sub> > B<sub>11</sub> > B<sub>7</sub> > B<sub>6</sub> > B<sub>13</sub>。

表 3 各菌株产孢量比较

Table 3 The sporogenous ability of 9 strains on PDA

重复	菌株产孢量 ( $\times 10^8$ ) / (个 $\cdot\text{cm}^{-2}$ )								
	B <sub>2</sub>	B <sub>4</sub>	B <sub>6</sub>	B <sub>7</sub>	B <sub>10</sub>	B <sub>11</sub>	B <sub>12</sub>	B <sub>13</sub>	B <sub>14</sub>
I	3.20	2.90	0.90	2.10	2.30	2.54	3.54	0.09	3.30
II	3.50	3.20	0.66	2.35	2.79	2.34	3.78	0.11	3.20
III	3.36	2.80	0.76	2.54	2.90	2.35	3.75	0.10	2.98
平均	3.30	3.00	0.77	2.30	2.60	2.40	3.60	0.10	3.10

## 2.4 各菌株对马尾松毛虫的致病力

各菌株对马尾松毛虫致病力测定结果见表 4~5。从表 4~5 可知菌株间的致病力差异十分显著。B<sub>2</sub>, B<sub>4</sub>, B<sub>14</sub>, B<sub>7</sub>, B<sub>10</sub>, B<sub>11</sub> 和 B<sub>12</sub> 对马尾松毛虫致病力较强, 其中 B<sub>2</sub>, B<sub>4</sub>, B<sub>14</sub> 最强, 而 B<sub>6</sub> 和 B<sub>13</sub> 致病力很弱。从致病时间来看, 接种 1 d 后出现松毛虫死亡, 2 d 极个别出现白僵现象。5 d 后死亡率和白僵率明显增多, 其中 B<sub>2</sub> 为最高, 其次是 B<sub>4</sub> 和 B<sub>14</sub>。6 d 后各菌株对马尾松毛虫致病力差异最明显, 其致病能力从强到弱的次序是 B<sub>2</sub> (白僵率 68.3%, 死亡率 96.7%), B<sub>4</sub> (白僵率 46.7%, 死亡率 98.3%), B<sub>7</sub> (白僵率 43.3%, 死亡率 96.7%), B<sub>14</sub> (白僵率 48.3%, 死亡率 86.7%), B<sub>10</sub> (白僵率 43.3%, 死亡率 86.7%), B<sub>11</sub> (白僵率 33.3%, 死亡率 83.3%), B<sub>12</sub> (白僵率 26.7%, 死亡率 83.3%), B<sub>6</sub> (白僵率 6.7%, 死亡率 20.0%) 和 B<sub>13</sub> (白僵率 3.3%, 死亡率 13.3%)。10 d 后, 除 B<sub>6</sub> 和 B<sub>13</sub> 外, 各菌株对松毛虫的致死率和白僵率几达 100%, 而 B<sub>6</sub> 和 B<sub>13</sub> 的毒力很低, 与对照相近。

综上所述, 比较各菌株的菌落直径生长、产孢量和致病力, 表明 B<sub>2</sub>, B<sub>4</sub> 和 B<sub>14</sub> 是最优良菌株。这些菌株在今后的生产上最具应用潜力。其次是 B<sub>7</sub>, B<sub>10</sub> 和 B<sub>11</sub> 和 B<sub>12</sub> 菌株。而 B<sub>6</sub> 和

表4 各菌株对马尾松毛虫的致死数

Table 4 The lethality of 9 strains to masson-pine caterpillar

菌株	重复	试虫数 /头	死亡数/头									
			1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	8 d	9 d	10 d
B <sub>2</sub>	1	30	3	4	5	7	20	30	30	30	30	30
	2	30	3	9	11	11	24	28	29	30	30	30
B <sub>4</sub>	1	30	6	7	8	9	23	29	30	30	30	30
	2	30	1	1	2	5	11	30	30	30	30	30
B <sub>6</sub>	1	30	0	4	4	4	5	6	6	8	9	10
	2	30	3	4	5	6	6	6	6	6	6	6
B <sub>7</sub>	1	30	0	1	2	5	13	28	29	28	29	30
	2	30	2	3	4	6	12	30	30	30	30	30
B <sub>10</sub>	1	30	0	3	6	7	8	26	28	29	29	29
	2	30	1	2	2	4	9	26	28	30	30	30
B <sub>11</sub>	1	30	1	5	5	6	8	23	25	30	30	30
	2	30	0	3	3	7	9	27	27	28	28	29
B <sub>12</sub>	1	30	0	1	1	3	11	25	25	29	30	30
	2	30	1	4	4	4	9	25	28	30	30	30
B <sub>13</sub>	1	30	2	3	3	3	3	3	3	6	13	15
	2	30	1	3	3	3	5	5	5	5	9	11
B <sub>14</sub>	1	30	0	4	5	6	17	26	30	30	30	30
	2	30	0	5	6	7	18	26	26	28	30	30
ck	1	30	0	2	2	3	3	3	3	4	9	10
	2	30	0	3	5	5	5	5	5	9	10	12

表5 各菌株对马尾松毛虫的白僵数

Table 5 White corpse (*Beauveria basiana*) rate of 9 strains to masson-pine caterpillar

菌株	重复	试虫数 /头	白僵数/头									
			1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	8 d	9 d	10 d
B <sub>2</sub>	1	30	0	0	0	0	6	23	30	30	30	30
	2	30	0	0	0	3	6	18	25	26	28	30
B <sub>4</sub>	1	30	0	0	0	2	6	16	26	28	30	30
	2	30	0	0	0	0	2	12	27	28	29	30
B <sub>6</sub>	1	30	0	0	0	1	2	2	2	4	7	7
	2	30	0	0	0	0	2	2	2	3	4	6
B <sub>7</sub>	1	30	0	0	0	0	2	13	21	27	27	29
	2	30	0	0	1	1	1	13	21	23	27	27
B <sub>10</sub>	1	30	0	0	0	0	1	14	20	26	29	29
	2	30	0	0	1	1	1	12	26	30	30	30
B <sub>11</sub>	1	30	0	0	0	0	1	11	18	25	29	29
	2	30	0	1	1	1	1	9	17	25	25	26
B <sub>12</sub>	1	30	0	0	1	1	1	7	12	26	28	30
	2	30	0	0	0	1	3	10	15	26	29	30
B <sub>13</sub>	1	30	0	0	0	0	0	0	0	2	7	10
	2	30	0	0	0	0	0	2	2	2	5	10
B <sub>14</sub>	1	30	0	0	1	1	2	16	22	26	29	30
	2	30	0	0	0	0	2	13	16	25	28	29
ck	1	30	0	0	0	0	0	0	2	4	4	6
	2	30	0	0	0	0	0	0	1	8	9	12

B<sub>13</sub>较差, 对马尾松毛虫的防治几乎无应用价值。此外, 也说明来自庆元县马尾松毛虫上自然寄生的 B<sub>6</sub> 和来自丽水寄生蜂上的 B<sub>13</sub> 与其他菌株有较大的遗传差异。

今后, 可以进一步深入地研究这些优良菌株的生物学、生态学特性以及生产条件和应用前景, 尽早地为生产服务。

### 参考文献:

- 1 包建中, 古德祥. 中国生物防治[M]. 太原: 山西科学技术出版社, 1996. 391~415.
- 2 张立钦, 董林根. 浙江省白僵菌防治松毛虫的现状与前景[J]. 浙江林学院学报, 1993, 10(2): 216~220.
- 3 王焱, 蹇永训, 张天栋. 对提高我国白僵菌生产和应用的几点看法[J]. 森林病虫通讯, 1992, (2): 40~41.
- 4 丁珊, 孙继美, 肖华, 等. 筛选球孢白僵菌菌株的试验[J]. 森林病虫通讯, 1997, (3): 13~15.
- 5 Shimazu M, Hiroki Sato. Microbial control of the pine sawyer, *Monochamus alternatus* by *Beauveria bassiana* [A]. In: Yang Baojun. *International symposium on pine wilt disease caused by pine wood nematode* [C]. Beijing, 1995. 128~135.
- 6 Shimazu M. Potential of the cerambycid-parasitic type of *Beauveria brongniartii* for microbial control of *Monochamus alternatus* [J]. *Appl Entomol Zool*, 1994, 29: 127~130.

## Pathogenicity of 9 strains of *Beauveria bassiana* to masson-pine caterpillar

FANG Zhi-gang<sup>1</sup>, ZHANG Li-qin<sup>1</sup>, ZHAO Ren-you<sup>2</sup>

(1. Department of Resources and Environment, Zhejiang Forestry College, Lin'an 311300, China; 2. Forest Disease and Insect Pest Control Station of Lishui Prefecture, Lishui 323000, Zhejiang, China)

**Abstract:** Nine strains of *Beauveria bassiana*, collected from Lishui, Zhejiang, a natural epidemic area, were isolated during April to September. The test showed that three strains (B<sub>2</sub>, B<sub>4</sub> and B<sub>14</sub>) were the best on their mycelium growth, sporogenous ability and pathogenicity to masson-pine caterpillar, four strains (B<sub>7</sub>, B<sub>10</sub>, B<sub>11</sub>, and B<sub>12</sub>) were the second best, and two strains (B<sub>6</sub> and B<sub>13</sub>) were the worst. Consequently, B<sub>2</sub>, B<sub>4</sub> and B<sub>14</sub> strains have applied-potentiality to control masson-pine caterpillar in future.

**Key words:** *Beauveria bassiana*; strains; masson-pine caterpillar (*Dendrolimus punctatus*); pathogenicity