

金龟子绿僵菌 MaYTTR-04 菌株对 松墨天牛成虫的致病力

何学友¹, 蔡守平¹, 余培旺², 黄金水¹, 钟景辉³, 陈德兰², 熊瑜¹

(1. 福建省林业科学研究院, 福州 350012; 2. 武夷山市森林病虫害防治检疫站, 福建武夷山 354300;
3. 泉州市森林病虫害防治检疫站, 福建泉州 362000)

摘要: 松墨天牛 *Monochamus alternatus* Hope 是重大森林植物检疫性病害——松材线虫病的主要媒介昆虫。采用附节接种法测定金龟子绿僵菌 *Metarhizium anisopliae* MaYTTR-04 菌株对松墨天牛成虫的致病力。结果表明: 在恒温条件下, 松墨天牛第 6 天开始死亡, 第 18 天~21 天为死亡高峰期, 每头成虫接种孢子量为 $2.3 \times 10^6 \pm 0.2 \times 10^6$ 时成虫的死亡率第 18 天达 85%, 第 21 天达 95%; 时间效应指标值 LT_{50} 为 14.7 天。室内自然变温条件下, 松墨天牛第 3 天出现死亡, 第 15 天~21 天为死亡高峰期, 每头成虫接种孢子量为 $2.3 \times 10^6 \pm 0.2 \times 10^6$ 时的死亡率在第 15 天达 85%, 第 21 天达 100%; 时间效应指标值 LT_{50} 为 12.9 天。林间套笼 21 天后, 菌液处理的成虫平均死亡率为 60%, 僵虫率为 48.9%; 而通过无纺布菌条的成虫死亡率为 86.7%, 僵虫率为 75.6%。表明 MaYTTR-04 菌株对松墨天牛成虫有强的致病力, 且在较高变温环境温度下致病力更强。结果说明该菌株可作为生产性菌株应用于林间防治松墨天牛。

关键词: 松墨天牛; 金龟子绿僵菌 MaYTTR-04 菌株; 致病力; 林间试验; 优良菌株

中图分类号: Q965 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2008)01-0102-06

Virulence of a strain of *Metarhizium anisopliae*, MaYTTR-04, against adults of *Monochamus alternatus*

HE Xue-You¹, CAI Shou-Ping¹, YU Pei-Wang², HUANG Jin-Shui¹, ZHONG Jing-Hui³, CHEN De-Lan², XIONG Yu¹ (1. Fujian Academy of Forestry, Fuzhou 350012, China; 2. Wuyishan Forest Disease and Pest Control and Quarantine Station, Wuyishan, Fujian 354300, China; 3. Quanzhou Forest Disease and Pest Control and Quarantine Station, Quanzhou, Fujian 362000, China)

Abstract: *Monochamus alternatus* Hope is the major insect vector transmitting pinewood nematode disease, an important quarantine disease of pine forest. The virulence of a strain of *Metarhizium anisopliae*, MaYTTR-04, to adult *M. alternatus* was assayed by using the adult-conidial attaching method (attaching all tarsi of adult with dry conidial). The results showed that *M. alternatus* began to die at 6 days post inoculation (dpi) day at constant temperature ($25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$, RH $70\% \pm 10\%$, light period 10L:14D). The peak of death was between 18–21 dpi. The mortality of this beetle was 85% at 18 dpi when applied with the amount of inoculum at $2.3 \times 10^6 \pm 0.2 \times 10^6$ spores/adult, and the LT_{50} was 14.7 d. At room temperature ($24^\circ\text{C} - 33^\circ\text{C}$, RH 40%–60%, natural light from north), the adult of *M. alternatus* began to die at 3 dpi. The peak of death was between 15–21 dpi. The mortality was 85% at 15 dpi and 100% at 21 dpi when applied with the amount of inoculum at $2.3 \times 10^6 \pm 0.2 \times 10^6$ spores/adult, and the LT_{50} was 12.9 d. When the adults of *M. alternatus* were kept in the cage in natural pine forest for 21 days, the average mortality of the adults dealt with conidia suspension was 60%, and the cadaver rate was 48.9%, while the average mortality of the adult deal with non-woven fabric strips of *M. anisopliae* was 86.7%, and the cadaver rate was 75.6%. It was concluded that

基金项目: 福建省发改委 2006 年项目(绿僵菌优良菌株筛选与生产工艺规范化技术研究); 福建省 2006 年科技重大专项子专题(松材线虫、松突圆蚧防控技术研究与应用); 国家林业局南方山地用材林培育重点实验室资助项目

作者简介: 何学友, 男, 1963 年生, 四川大竹人, 博士, 教授级高级工程师, 主要研究方向为森林害虫生物防治, E-mail: hexueyou@public.fz.fj.cn

收稿日期 Received: 2007-06-26; 接受日期 Accepted: 2007-09-11

this strain of *M. anisopliae* is high virulent to *M. alternatus*, and more virulent at higher temperature, which may serve as a productive strain of biocontrol agents and be used in forest for controlling *M. alternatus*.

Key words: *Monochamus alternatus*; *Metarhizium anisopliae* MaYTTR-04; pathogenicity; field experiment; superior strain

松墨天牛 *Monochamus alternatus* Hope 是重大森林植物检疫性病害——松材线虫 *Bursaphelenchus xylophilus* 病的主要媒介昆虫(杨宝君等, 2003), 防治松墨天牛, 切断松材线虫的侵染循环是松材线虫病综合治理中的主要技术。绿僵菌 *Metarhizium* spp. 作为当今世界应用最为广泛的昆虫病原真菌之一(蒲蜚龙和李增智, 1996; Donald and Raymond, 2004), 在农、林以及卫生害虫的防治中越来越受到人们的重视, 但在利用其防治松墨天牛方面的研究很少。金龟子绿僵菌 *M. anisopliae* 可以有效寄生松墨天牛, 王四宝等(2004)选用 7 株虫生真菌对松墨天牛成虫进行了生物测定, 结果表明以金龟子绿僵菌 Ma83 菌株的致病力最强; 何学友等(2005)用来自日本为主的 10 个金龟子绿僵菌菌株对松墨天牛进行致病力测定, 也得到较为理想的结果。

何学友等(2007)从分离自土壤的 26 个菌株中初筛出 9 个菌株, 研究了它们对松墨天牛幼虫和成虫的侵染效果以及产孢量, 结果表明 MaYTTR-04 菌株的综合指标最好, 表现出良好的生防潜力。在此基础上作者进一步测定了 MaYTTR-04 菌株在室内对松墨天牛成虫的致病力和林间感染效果, 以便为生产上大面积应用绿僵菌生物防治提供菌株资源。

1 材料和方法

1.1 室内 MaYTTR-04 菌株对松墨天牛成虫致病力的测定

1.1.1 试虫来源及饲养: 松墨天牛成虫为马尾松虫害木置于室外大型养虫笼饲养羽化所得, 虫害木主要来自福建省武夷山市。试虫用新鲜的 1~2 年生马尾松枝条在开有通气孔的透明塑料杯(直径 9 cm, 高 9 cm)中单头饲养, 每 3 天换 1 次枝条。

1.1.2 供试菌株: 金龟子绿僵菌 MaYTTR-04 菌株, 分离自福建省永泰县樟城镇松林土壤, 在 SDAY 培养基上的产孢量达 $2.18 \times 10^8 \pm 0.12 \times 10^8 / \text{cm}^2$, 用 $10^7 / \text{mL}$ 个孢子的浓度菌悬液浸渍法接种, 对松墨天牛幼虫的 LT_{50} 为 13.7 天(何学友等, 2007)。试验前菌株转入 SDY 液体培养基中 $25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 振荡培养 72 h, 再转入 SDAY 平板培养 9~10 天, 待孢子大量产

生后刮取孢子备用。供试孢子的萌发率均在 95% 以上。

无纺布菌条制作培养基为 4% 黄豆粉 + 2% 白砂糖, 接种量为种子: 辅料 = 1:2, 制作方法参照胡加付等(2003)。

1.1.3 致病力测定: 供试松墨天牛成虫为 2~14 日龄, 个体大小基本一致, 并按日龄大小平均分配到各处理中(尽量减少因日龄引起的实验误差), 采用跗节接种法(Shimazu, 2004; 何学友等, 2005)接种。用干热法杀死的孢子与活孢子按 0:100, 0.1:99.9, 1:99, 10:90, 100:0 配制成不同活孢率的孢子粉, 然后用镊子轻夹住虫体, 六足悬空, 仅让跗节接触孢子粉, 接种后放入有松枝的养虫盒中任其自由活动 2~3 min, 再移入有 1~2 年生新鲜松枝的养虫盒中分别单头饲养。取 5 只接种纯孢粉的成虫测定其接种量, 测定方法见何学友等(2005), 其他处理按比例折算。各处理成虫平均接种量分别为 $2.3 \times 10^6 \pm 0.2 \times 10^6$ (纯孢子粉), $2.3 \times 10^5 \pm 0.2 \times 10^5$, $2.3 \times 10^4 \pm 0.2 \times 10^4$, $2.3 \times 10^3 \pm 0.2 \times 10^3$ 和 $2.3 \times 10^2 \pm 0.2 \times 10^2$ 孢子/头, 对照接种干热杀死的纯孢子粉。各处理接种 20 头成虫。试验在 2006 年 6 月 29 日~2006 年 8 月 15 日进行。

分别在恒温 ($25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$, 相对湿度 $70\% \pm 10\%$, 光周期 10L:14D), 室内自然变温 ($24^\circ\text{C} \sim 33^\circ\text{C}$, 相对湿度 40%~60%, 北面墙自然光) 两种条件下测定金龟子绿僵菌对松墨天牛成虫的致病力。每天观察记录死亡情况, 虫死后保湿培养, 观察菌丝生长及产孢情况。并挑片镜检确认是否为绿僵菌感染致死。

1.2 林间试验

试验设 2 个处理。处理 1: 将供试菌株的孢子粉用 0.3% 吐温-80 溶液配成 $1 \times 10^7 / \text{mL}$ 个孢子浓度的悬浮液。在福州国家森林公园马尾松林中, 选择合适的马尾松枝条, 套上纱笼(长 1.2 m, 直径 0.6 m), 每笼放入 15 头松墨天牛成虫, 将悬浮液用喷雾器均匀喷雾于枝、叶、虫体上, 以喷湿枝叶刚产生液滴为度, 扎紧笼口两端, 以免虫子逃逸。重复 3 次, 另设一组对照。对照用 0.3% 吐温-80 溶液喷雾。另取 5 只成虫带回实验室测定其带菌量(接种量)。测定方法: 将喷过菌液的天牛成虫放入盛有 75% 乙

醇的 1 mL 试管中,再加入 4 mL 的 0.3%吐温-80,充分振荡洗下虫体上的孢子,血球计数板测定孢子浓度(3次重复),并换算成每头成虫的接种量(何学友等 2005)。

处理 2:让松墨天牛成虫在无纱布菌条上爬行后,将其捉至上述的套笼中(枝条不做任何处理),每笼放入 15 头,重复 3 次。同时设一组对照(未爬过无纱布菌条的健康成虫)。另取 5 只成虫测定其带菌量(接种量),测定方法同上。

隔日观察记录试虫死亡情况,死虫带回室内保湿培养检查是否被感染以及产孢情况。试验中若因成虫取食造成枝条枯萎,及时将试虫转移至同样处理枝条的套笼中。试验在 2006 年 7 月 7 日~2006 年 7 月 30 日进行。

1.3 数据处理

数据应用 DPS 数据处理系统进行分析(唐启义和冯明光 2002)。

致病力测定结果用时间-剂量-死亡率模型(TDM 模型)进行模拟(Nowierski *et al.*, 1996; 冯明光, 1998)。TDM 模型按其数学结构又称为互补重对数模型(complementary log-log model, CLL 模型)。

受试生物死亡概率 P_{ij} 与时间 t_j ($j = 1, 2, \dots, j$)、供试致死因子的剂量 d_i ($i = 1, 2, \dots, i$) 的关系表达为: $P_{ij} = 1 - \exp[-\exp(T_j + \beta \lg(d_i))]$

上式中 β 即为描述剂量效应的斜率, T_j 是时间 t_j 的时间效应参数, $T_j + \beta \lg(d_i)$ 部分称为线性预测因子。 P_{ij} 是剂量 d_i 在第 j 个时间单位产生的累计死亡概率。

通过 DPS 软件处理数据即可得出待模拟的 TDM 模型及剂量效应和时间效应指标。

2 结果与分析

2.1 松墨天牛成虫感染 MaYTTR-04 菌株后的死亡率

图 1、图 2 为松墨天牛成虫接种不同剂量孢子后常温、恒温条件下的累计死亡率。25℃ 恒温条件下,松墨天牛成虫第 6 天开始死亡,18~21 天为死亡高峰期,其中接种量为 $2.3 \times 10^6 \pm 0.2 \times 10^6$ 孢子/头和 $2.3 \times 10^5 \pm 0.2 \times 10^5$ 孢子/头时的死亡率在第 18 天时分别达 85% 和 60%,接种量越大,死亡高峰出现的越早;成虫平均接种量 $2.3 \times 10^6 \pm 0.2 \times 10^6$ 时第 21 天的死亡率达 95%。在室温条件下,试虫第 3 天出现死亡,15~21 天为死亡高峰期,孢子量越

大,死亡高峰出现的越早;平均接种量 $2.3 \times 10^6 \pm 0.2 \times 10^6$ 时,第 15 天死亡率达 85%,21 天死亡率达 100%。这与前期测定该菌株在成虫接种量为 $1.2 \times 10^6 \pm 0.2 \times 10^6$ 时 21 天内死亡率 94.4% 的结果相一致(何学友等 2007)。

同时,恒温和室温条件下死亡率差异并不显著,累计死亡率因接种量的不同而有所差异,低接种量的在相同时间内死亡率低,接种量高死亡率也相应高。对照组松墨天牛未出现死亡。

由此可见,绿僵菌 MaYTTR-04 菌株不论在恒温或是室内常温情况下,对松墨天牛成虫均有很强的致病力,累计死亡率随处理后时间的延长而增加(中高剂量下 30 天后死亡率最后均达 100%),而且随接种量的增大而上升。

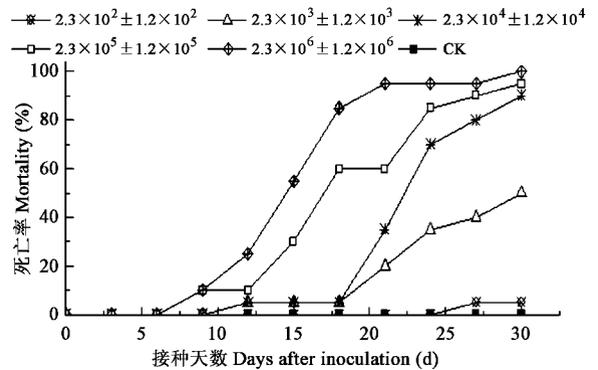


图 1 25℃ 恒温条件下接种 MaYTTR-04 菌株后松墨天牛成虫死亡率

Fig. 1 Accumulative mortality after inoculation at 25°C

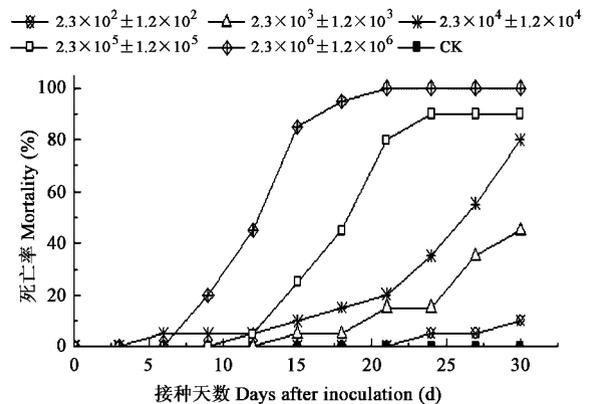


图 2 室温(24℃~33℃)条件下接种 MaYTTR-04 菌株后松墨天牛成虫累积死亡率

Fig. 2 Accumulative mortality after inoculation at room temperature (24°C - 33°C)

2.2 时间-剂量-死亡率模型

25℃ 恒温条件下,绿僵菌对松墨天牛成虫生物测定的时间-剂量-死亡率模型(条件死亡率模型和

累计死亡率模型)中各参数估计值见表 1。Hosmer-Lemeshow 检验卡方值的显著水平大于等于 0.05,则可认为数据拟合是成功的(唐启义和冯明光 2002),本试验 $C = 6.911$, $P = 0.546$,说明模型拟合无显著异质性存在,即拟合成功。表示条件死亡概率的时间效应参数 γ_i 在接种后 24 天显著较前后要大($\gamma_{24} = -4.9482$),说明这个时间前后天牛死亡数较多,而试验数据显示这个时间也正是天牛的死亡高峰期,说明该模型与试验观察结果较吻合,也符合虫生

真菌对昆虫致病的一般规律。

室内常温条件下,绿僵菌对松墨天牛成虫生物测定的时间-剂量-死亡率模型中各参数估计值见表 2。据 Hosmer-Lemeshow 检验,模型拟合无显著异质性存在($C = 3.566$, $P = 0.3894$),即拟合成功。表示条件死亡概率的时间效应参数 γ_i 在接种后 21 天显著较前后要大,说明这个时间前后天牛死亡数较多,而试验数据显示这个时间也正是天牛的死亡高峰期,说明该模型与试验观察结果吻合较好。

表 1 恒温条件下生物测定时间-剂量-死亡率模型模拟及参数估计

Table 1 Parameters estimated from modeling of the time-dose-mortality of the bioassay at constant temperature (25°C)

参数*	条件死亡率模型				参数*	累计死亡率模型		
	Conditional mortality model					Cumulative mortality model		
Parameter*	估计值	标准误	t 测验	P 值	Parameter*	估计值	Var(τ_j)	Cov(β, τ_j)
	Value	SE	t test	P value		Value		
β	0.9254	0.0244	37.8666	0.0001	β	0.9254	0.0004	0.0004
γ_3	-	-	-	-	τ_3	-18.0522	0.6498	0.0000
γ_6	-	-	-	-	τ_6	-17.3590	0.1625	0.0000
γ_9	-7.9473	1.8829	4.2208	0.0001	τ_9	-7.9472	2.3034	0.0087
γ_{12}	-7.6227	2.0658	3.6899	0.0007	τ_{12}	-7.0787	1.2277	0.0096
γ_{15}	-6.7096	2.7773	2.4159	0.0205	τ_{15}	-6.1841	1.7028	0.0165
γ_{18}	-6.0798	2.9431	2.0658	0.0455	τ_{18}	-5.4374	1.4489	0.0200
γ_{21}	-5.6925	2.9232	1.9473	0.0587	τ_{21}	-4.8637	1.0639	0.0191
γ_{24}	-4.9482	3.3613	1.4721	0.1490	τ_{24}	-4.2119	1.3708	0.0217
γ_{27}	-5.6676	2.1112	2.6846	0.0106	τ_{27}	-4.0022	0.8687	0.0191
γ_{30}	-5.0092	2.2049	2.2718	0.0287	τ_{30}	-3.6909	0.5330	0.0162

*: 参数符号下标表示接种后相应时间区间(天),下同。The subscripts respent the number the days after inoculation. The same below.

表 2 室温条件下生物测定的时间-剂量-死亡率模型模拟及参数估计

Table 2 Parameters estimated from modeling of the time-dose-mortality of the bioassay at room temperature (24°C - 33°C)

参数	条件死亡率模型				参数	累计死亡率模型		
	Conditional mortality model					Cumulative mortality model		
Parameter	估计值	标准误	t 测验	P 值	Parameter	估计值	Var(τ_j)	Cov(β, τ_j)
	Value	SE	t test	P value		Value		
β	1.2232	0.0250	48.9261	0.0001	β	1.2232	0.0003	0.0003
γ_3	-	-	-	-	τ_3	-19.7574	0.5191	0.0000
γ_6	-11.1219	0.8346	13.3259	0.0001	τ_6	-11.1217	0.3615	0.0013
γ_9	-9.6586	1.8503	5.2200	0.0001	τ_9	-9.4504	1.1758	0.0063
γ_{12}	-9.0543	2.2488	4.0262	0.0003	τ_{12}	-8.5397	1.0227	0.0093
γ_{15}	-7.7484	3.1180	2.4851	0.0177	τ_{15}	-7.3746	2.1960	0.0193
γ_{18}	-7.8899	2.4326	3.2435	0.0026	τ_{18}	-6.9063	0.9670	0.0164
γ_{21}	-6.8721	2.8994	2.3702	0.0233	τ_{21}	-6.1959	0.9777	0.0158
γ_{24}	-6.9763	2.3050	3.0266	0.0045	τ_{24}	-5.8187	0.5600	0.0134
γ_{27}	-6.4226	2.5998	2.4704	0.0184	τ_{27}	-5.3826	0.4860	0.0122
γ_{30}	-6.1593	2.5936	2.3748	0.0230	τ_{30}	-5.0042	0.4171	0.0114

2.3 不同温度条件下各时段绿僵菌 MaYTTR-04 菌株的致病力

表 3 为恒温或室内常温下各时间段绿僵菌 MaYTTR-04 菌株的致死对数剂量的估计值及 95% 置信度下的标准误。

在 25°C ± 1°C 恒温条件下,9、12、15 和 18 天绿

僵菌 MaYTTR-04 菌株的 LD₅₀ 分别为 1.56 × 10⁸、1.79 × 10⁷、1.93 × 10⁶ 和 3.02 × 10⁵,而室温条件下相应的值分别为 2.67 × 10⁷、4.81 × 10⁶、5.36 × 10⁵ 和 2.22 × 10⁵。恒温条件下,每头成虫接种量为 2.3 × 10⁶ ± 0.2 × 10⁶ 和 2.3 × 10⁵ ± 0.2 × 10⁵ 时,绿僵菌 MaYTTR-04 菌株对松墨天牛致死的时间效应指标值

LT₅₀分别为 14.7 天和 18.5 天。而室温条件下,这两个剂量相应的 LT₅₀分别为 12.9 天和 17.9 天。室温

条件下致死速度比恒温稍快。表明该菌株在较高且变幅较大的环境温度下致病力比 25℃ 恒温更强。

表 3 25℃ 恒温或室温(24℃ ~ 33℃)条件下各时段绿僵菌 MaYTTR-04 菌株的致死对数剂量的估计值

Table 3 Logarithm of lethal dose in different periods after treatment at 25°C or room temperature (24°C - 33°C)

时段 (d) Period	25°C		24°C - 33°C	
	LD ₅₀	LD ₉₀	LD ₅₀	LD ₉₀
3	19.1114 ± 0.9614	20.4088 ± 0.9734	15.8530 ± 0.6336	16.8345 ± 0.6391
6	18.3624 ± 0.5852	19.6597 ± 0.6040	8.7929 ± 0.5227	9.7745 ± 0.5280
9	8.1918 ± 1.6991	9.4891 ± 1.7099	7.4265 ± 0.9276	8.4080 ± 0.9338
12	7.2533 ± 1.2729	8.5506 ± 1.2879	6.6820 ± 0.8811	7.6635 ± 0.8897
15	6.2866 ± 1.4995	7.5839 ± 1.5188	5.7295 ± 1.2739	6.7110 ± 1.2848
18	5.4797 ± 1.4006	6.7771 ± 1.4246	5.3466 ± 0.8775	6.3281 ± 0.8910
21	4.8597 ± 1.2123	6.1571 ± 1.2386	4.7658 ± 0.8712	5.7473 ± 0.8843
24	4.1554 ± 1.3487	5.4527 ± 1.3749	4.4574 ± 0.6772	5.4389 ± 0.6916
27	3.9288 ± 1.0939	5.2262 ± 1.1224	4.1009 ± 0.6286	5.0824 ± 0.6427
30	3.5924 ± 0.8741	4.8897 ± 0.9045	3.7915 ± 0.5828	4.7731 ± 0.5970

通过对结果的分析可以看出,无论 25℃ 恒温还是室温条件下,松墨天牛成虫接种绿僵菌后,随着时间的延续,LD₅₀和 LD₉₀逐渐减小,剂量效应逐渐增强;而随着 LD₅₀和 LD₉₀的升高,致死松墨天牛成虫的时间就会缩短,即时间效应也相应增强。这符合杀虫微生物的一般作用规律,也是时间-剂量-死亡率模型的优越性所在,而传统的机率分析方法无法揭示剂量和时间效应的相互依赖关系(冯明光, 1998)。

2.4 林间感染结果

经测定,爬过无纺布菌条的松墨天牛成虫平均每头带菌量为 $4.8 \times 10^6 \pm 0.9 \times 10^6$ 个孢子,比菌液喷雾接种量 $2.5 \times 10^6 \pm 0.4 \times 10^6$ 要多。

林间套笼 21 天松墨天牛成虫死亡结果见图 3。菌液处理枝条后松墨天牛的平均死亡率为 60%,平均僵虫率为 48.9%。对照共死亡 3 头,平均死亡率 6.7%;而成虫爬过无纺布菌条后林间饲养的死亡率达 86.7%,僵虫率为 75.6%,对照死亡 1 头。对照死亡的成虫经保湿培养没有长出菌丝和孢子。通过无纺布菌条的成虫死亡率较喷雾处理的高,主要是因为其接种量较大。

可见, MaYTTR-04 菌株在林间对松墨天牛成虫也具有较强的致病力。

3 结论与讨论

(1) 恒温条件下,成虫平均接种量为 $2.3 \times 10^6 \pm 0.2 \times 10^6$ 和 $2.3 \times 10^5 \pm 0.2 \times 10^5$ 孢子/头时, MaYTTR-04 菌株对松墨天牛致死的时间效应指标值

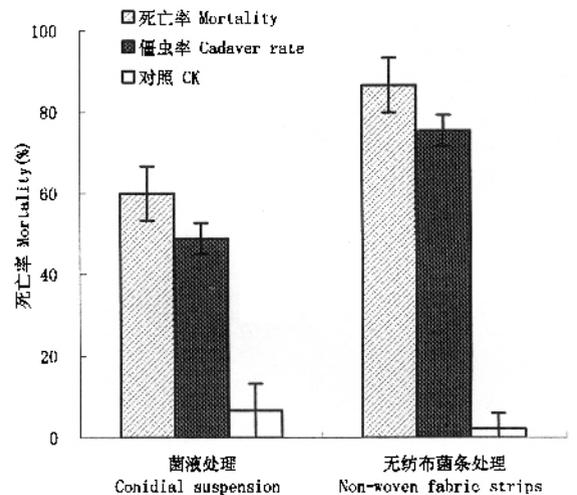


图 3 马尾松林间套笼绿僵菌对松墨天牛成虫的致病效果

Fig. 3 Virulence of *Metarhizium anisopliae* to *M. alternatus* in cage in the *Pinus massoniana* forest

LT₅₀分别为 14.7 天和 18.5 天。而室温条件下,这两个剂量相应的 LT₅₀分别为 12.9 天和 17.9 天。说明 MaYTTR-04 菌株对松墨天牛成虫具有很强的致病力。松墨天牛成虫在补充营养期间将携带的松材线虫传播到健康的松树,并导致其迅速枯萎死亡。线虫从松墨天牛体上脱出的最高峰在成虫羽化 2 周后 (Mineo, 1983),前 10 天传播的数量不到总量的 10% (蒋平等, 2002)。只要能在成虫羽化后 2 周内致死松墨天牛,对控制松材线虫病的传播是有效的。MaYTTR-04 菌株感染松墨天牛成虫在第 3 天就开始死亡,且由于感病在死亡前 2~5 天就基本停止取食,也就不能传播松材线虫。因此,金龟子绿僵菌

MaYTTR-04 菌株可以作为生产性菌株应用于林间大面积防治松墨天牛。

(2) 24℃ ~ 33℃ 室内变温条件下, MaYTTR-04 菌株对松墨天牛致死的时间效应指标值 LT_{50} 比恒温条件下小, 说明 MaYTTR-04 菌株在 24℃ ~ 33℃ 这一温度变幅范围致病力比 25℃ 恒温更强; 这对于该菌在生产上推广应用有很重要的实际意义。因为林间不是一个恒温的场所, 在我国大部分地区松墨天牛成虫期为 5 月 ~ 9 月, 夏季林间的气温多较高, 一般在 20℃ ~ 37℃ 之间。只有适应相对高温且变温幅度较大的菌株, 才能更好地在林间保持高致病力。同时, 喷雾处理和无纺布处理后林间套笼 21 天成虫平均死亡率分别达到 60% 和 87%, 进一步说明 MaYTTR-04 菌株的推广应用价值。

(3) 前人应用病原真菌防治蛀干害虫主要针对幼虫进行生物测定(王四宝等, 2004; 何学友等, 2005), 但幼虫在树干内为害, 很难接触到菌体, 这也是目前林业上利用天敌微生物防治蛀干害虫的一大难题。而成虫在林间活动, 即使常规的施菌方法也较容易接触到菌体, 从而使感染机会大大提高。因此, 针对发生面积大、分布范围广的松墨天牛成虫开展致病力强的优良菌株选育, 在防治中更具有应用价值。

(4) 绿僵菌的林间大面积施菌方法、施菌时期和有效剂型等仍有待进一步研究。在施菌方法方面, 目前利用无纺布施菌技术防治成虫取得了可喜进展(Okitsu *et al.*, 2000; 王滨等, 2003)。我们这次的林间试验也取得了较为理想的效果。

致谢 福建省林业科学研究院杨希高级工程师、武夷山市林业局陈庆敏工程师、福鼎市林业局王韧高级工程师、连江县林业局郑起连工程师等参加部分工作, 在此深表谢意。

参 考 文 献 (References)

- Donald WR, Raymond JSL, 2004. *Metarhizium* spp., cosmopolitan insect-pathogenic fungi: mycological aspects. *Advances in Applied Microbiology*, 54: 1 - 70.
- Feng MG, 1998. Substituting time-dose-mortality model for probit analysis technique. *Entomological Knowledge*, 35(4): 233 - 237. [冯明光, 1998. 时间-剂量-死亡率模型取代机率分析技术. 昆虫知识, 35(4): 233 - 237]
- Hu JF, Li NC, Li ZZ, Fan MZ, 2003. Mass production of non-woven fabric bands with *Beauveria bassiana*. *Forest Pest and Disease*, 23(3): 1 - 3. [胡加付, 李农昌, 李增智, 樊美珍, 2003. 白僵菌无纺布菌条生产技术的研究. 中国森林病虫, 23(3): 1 - 3]
- He XY, Chen SL, Huang JS, 2005. Preliminary screening of virulent strains of *Metarhizium anisopliae* against *Monochamus alternatus*. *Acta Entomol. Sin.*, 48(6): 975 - 981. [何学友, 陈顺立, 黄金水, 2005. 感染松墨天牛的金龟子绿僵菌菌株的初步筛选. 昆虫学报, 48(6): 975 - 981]
- He XY, Chen SL, Yang X, Huang JS, Huang BR, Cai SP, 2007. The investigation of *Metarhizium anisopliae* in forest soil in Fujian and Jiangxi provinces and pathogenicity against *Monochamus alternatus*. *Mycosystema*, 26(2): 289 - 294. [何学友, 陈顺立, 杨希, 黄金水, 黄炳荣, 蔡守平, 2007. 金龟子绿僵菌在森林土壤中的分布及对松墨天牛致病性测定. 菌物学报, 26(2): 289 - 294]
- Jiang P, Wu ZL, Chai XM, He ZH, Lin FP, 2002. Transmission characteristic of *Bursaphelenchus xylophilus* through *Monochamus alternatus*. *Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition)*, 26(3): 69 - 71. [蒋平, 吾中良, 柴希民, 何志华, 林福平, 2002. 松褐天牛传递松材线虫数量的研究. 南京林业大学学报(自然科学版), 26(3): 69 - 71]
- Mineo K, 1983. Exit of *Bursaphelenchus xylophilus* from the pine sawyer and invasion into pine branches. In: Trans. 34th Meet Kansai Branch Jpn. For. Soc. 295 - 261 (in Japanese).
- Nowierski RM, Zeng Z, Jaronski S, Dekgado F, Swearingen W, 1996. Analysis and modeling of time-dose-mortality of *Melanoplus sanguinipes*, *Locusta migratoria migratorioides*, and *Schistocerca gregaria* (Orthoptera: Acrididae) from *Beauveria*, *Metarhizium* and *Paecilomyces* isolates from Madagascar. *J. Invertebr. Pathol.*, 67: 236 - 252.
- Okitsu M, Kishi Y, Takagi Y, 2000. Control of adults of *Monochamus alternatus* Hope (Coleoptera: Cerambycidae) by application of non-woven fabric strips containing *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) on infested tree trunks. *J. Jap. Forest. Soc.*, 82(3): 276 - 280.
- Pu ZL, Li ZZ, 1996. *Insect Mycology*. Hefei: Anhui Science & Technology Publishing House. 26, 714. [蒲蜚龙, 李增智, 1996. 昆虫真菌学. 合肥: 安徽科学技术出版社. 26, 714]
- Shimazu M, 2004. A novel technique to inoculate conidia of entomopathogenic fungi and its application for investigation of susceptibility of the Japanese pine sawyer, *Monochamus alternatus*, to *Beauveria bassiana*. *Appl. Entomol. Zool.*, 39(3): 485 - 490.
- Tang QY, Feng MG, 2002. DPS[©] Data Processing System for Practical Statistics. Beijing: Science Press. 1 - 647. [唐启义, 冯明光, 2002. 实用统计分析及其 DPS 数据处理系统. 北京: 科学出版社. 1 - 647]
- Wang B, Fan MZ, Li ZZ, 2003. Control forest beetles with *Beauveria* nonwoven fabric sheet in combination with beetle attractants. *Chinese Journal of Biological Control*, 19(2): 91 - 92. [王滨, 樊美珍, 李增智, 2003. 白僵菌无纺布结合引诱剂防治鞘翅目林业害虫研究初报. 中国生物防治, 19(2): 91 - 92]
- Wang SB, Huang YP, Zhang XT, Liu YP, Fan MZ, Li ZZ, 2004. Screening and biological control of high virulent strains against *Monochamus alternatus* adults. *Forest Pest and Disease*, 23(6): 13 - 16. [王四宝, 黄勇平, 张心团, 刘云鹏, 樊美珍, 李增智, 2004. 松褐天牛成虫高毒力病原菌筛选及林间感染试验. 中国森林病虫, 23(6): 13 - 16]
- Yang BJ, Pan HY, Tang J, Wang YY, Wang LF, 2003. Nematodes of Pinewoods. Beijing: China Forest Publishing House. 1 - 263. [杨宝君, 潘宏阳, 汤坚, 王玉嬿, 汪来发, 2003. 松材线虫病. 北京: 中国林业出版社. 1 - 263]