

绿僵菌防治第1代马尾松毛虫的研究*

宋 漳^{**} 江英成¹

(福建农林大学南平校区林学院 福建南平 353001)

(¹福建省上杭县林业委员会森林病虫害防治检疫站 福建上杭 364200)

摘要 供试的绿僵菌和白僵菌菌种在室内对马尾松毛虫2~3龄幼虫的毒力相当。在25℃条件下,绿僵菌的 $n(LC_{50}) = 1.06 \times 10^7 L^{-1}$, $t(LT_{50}) = 7.95 \sim 12.04 d$ ($n(spore) = 1.0 \times 10^{11} \sim 1.0 \times 10^7 L^{-1}$);白僵菌的 $n(LC_{50}) = 1.37 \times 10^6 L^{-1}$, $t(LT_{50}) = 7.48 \sim 11.27 d$ ($n(spore) = 1.0 \times 10^{11} \sim 1.0 \times 10^7 L^{-1}$)。试验显示:与白僵菌相比,绿僵菌具有较强的耐高温和耐旱特性。在高温、低湿的条件下绿僵菌的杀虫效果优于白僵菌。林间防治试验也表明,绿僵菌防治第1代马尾松毛虫的效果显著优于白僵菌,显示出较好的应用前景。表8 参14

关键词 金龟子绿僵菌;球孢白僵菌;马尾松毛虫;毒力;孢子萌发率

CLC S763.306 : S476.12

APPLICATION OF METARHIZIUM ANISOPLIAE TO CONTROL THE FIRST GENERATION OF DENDROLIMUS PUNCTATUS

SONG Zhang^{**} & JIANG Yingcheng¹

(Forestry College, Fujian Agriculture and Forestry University (Nanping Campus), Nanping, Fujian 353001, China)

(¹Forest Disease and Insect Pest Control and Quarantine Station of Shanghangm County, Shanghang, Fujian 364200, China)

Abstract *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* were used to control *Dendrolimus punctatus* in laboratory. The data was showed that there was small difference in toxicity to 2nd ~ 3rd instar larvae of *D. punctatus* between *M. anisopliae* and *B. bassiana* at 25 ℃ in the laboratory. The $n(LC_{50})$ of *M. anisopliae* was $1.06 \times 10^7 L^{-1}$ and the $t(LT_{50})$ was $7.95 \sim 12.04 d$ ($n(spore) = 1.0 \times 10^{11} \sim 1.0 \times 10^7 L^{-1}$). The $n(LC_{50})$ of *B. bassiana* was $1.37 \times 10^6 L^{-1}$ and the $t(LT_{50})$ was $7.48 \sim 11.27 d$ ($n(spore) = 1.0 \times 10^{11} \sim 1.0 \times 10^7 L^{-1}$). The strain of *M. anisopliae* was more tolerant to high temperature and drought than *B. bassiana*. At high temperature or low humidity, the pathogenicity of *M. anisopliae* on *D. punctatus* was superior to that by *B. bassiana*. The test indicated that *M. anisopliae* was greatly superior in controlling first generation of *D. punctatus* to *B. bassiana*, and had greater value in controlling *D. punctatus* probably. Tab 8, Ref 14

Keywords *Metarhizium anisopliae*; *Beauveria bassiana*; *Dendrolimus punctatus*; toxicity; germination

CLC S763.306 : S476.12

马尾松毛虫是我国主要的森林害虫,北起豫南、陕南,南达广东、广西等15个省(区)均有马尾松毛虫的分布,常发生周期性成灾现象,而虫灾发生与否受到多种包括生物和非生物因素的影响^[1]。为此,人们一直在努力寻求科学有效的治理方法。目前我国南方各省在春季降雨量多,林中空气湿度大的时候,普遍采用白僵菌来防治,收到较好的效果^[2~4]。但由于白

僵菌的应用需要较高的湿度条件,所以用它来防治第1代马尾松毛虫时便受到环境条件的制约,防治效果不理想。绿僵菌属广谱性虫生真菌,常用于防治农林害虫^[5~9]。1985年,李增智等人用绿僵菌对马尾松毛虫进行室内感染试验,证明它对马尾松毛虫具有毒力,且有一定的耐旱性^[10~11]。因此本文就绿僵菌对马尾松毛虫的毒力,不同温度、湿度下分生孢子萌发力和致病力,以及对第1代马尾松毛虫的田间防治效果,并用白僵菌做对比试验,对利用绿僵菌防治第1代马尾松毛虫的可能性进行初步探讨。

1 材料和方法

1.1 供试菌种及供试昆虫

供试菌种:金龟子绿僵菌 *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin 来源于中国农业菌种保藏中心,球孢白僵菌 *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. 为本室分离自马尾松毛虫。供试昆虫为马尾松毛虫 *Dendrolimus punctatus* Walker.

1.2 室内毒力测定

将供试菌种先接种于 PDA 培养基($\rho / \text{g L}^{-1}$: 马铃薯 200, 葡萄糖 20, 琼脂 18, 加水至 1 L)斜面上, (25 ± 1)℃恒温培养 12 d, 用 0.1% 吐温-80 无菌水配制成孢子浓度梯度 $n = 1.0 \times 10^{11} \sim 1.0 \times 10^7 \text{ L}^{-1}$ 的分生孢子悬浮液。每种浓度设 3 个重复, 每个重复 30 条 2~3 龄马尾松毛虫。用微量注射器吸取上述菌液滴于幼虫体表, 每虫接种量为 0.1 mL 菌液, CK 用等量的 0.1% 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 25℃ 饲养。每日更换松针, 喷清水以保持高湿, 逐日统计感染死亡虫数。

1.3 不同温度和湿度下的致病力试验

处理温度($\theta / ^\circ\text{C}$)设置分别为 20, 25, 28, 30, 32. 在 25℃ 下, 相对湿度(RH)分别设定为 100%, 96%, 92%, 88%, 82%, 75%. 每处理各设 3 个重复, 每重复 30 条 2~3 龄幼虫。接种液分生孢子浓度 $n = 2.0 \times 10^{10} \text{ L}^{-1}$, 每条虫接种量 0.1 mL. CK 用等量的 0.1% 吐温-80 无菌水接种。

1.4 不同温度和湿度下分生孢子萌发率测定

孢子萌发培养基配方:蛋白胨 0.05%, 葡萄糖 0.1%, 琼脂 2%. 萌发温度($\theta / ^\circ\text{C}$)分别为 10, 15, 20, 25, 28, 32, 37. 相对湿度用饱和盐溶液来控制^[12], 相对湿度($RH / \%$)分别为 32.5, 50.5, 62.5, 75.5, 80.0, 85.0, 92.5, 100. 试验方法: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 0.05% 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, 然后分别置于不同温度下及 25℃ 时不同湿度下培养 24 h 后镜检统计萌发率。实验设 3 个重复, 每个重复各统计 500 个以上孢子。

1.5 林间防治试验

林间防治菌粉:绿僵菌菌粉和白僵菌菌粉委托福建省上杭县白僵菌厂生产, 含孢量 n 分别为 $50 \times 10^8 \text{ g}^{-1}$ 和 $107 \times 10^8 \text{ g}^{-1}$. 采用投放粉炮方式进行防治, 每个粉炮净重 125 g, 每 hm^2 施放 75~90 个。每种处理设标准株 10 株, 重复 3 次。定期调查死亡情况, 21 d 结束试验。

2 结果与分析

2.1 绿僵菌和白僵菌对马尾松毛虫的毒力

以 2~3 龄马尾松毛虫幼虫为生测对象, 接种处理 2 d 后松毛虫个体开始死亡, 虫尸经数天后出现典型的绿色僵虫症状, 侵染 12 d 后的死亡情况见表 1. 通过 LD_{50} (或 LC_{50}) 的 BASIC 程序(稍作修改)运算^[13], 结果得到死亡率(用机率值)与感染浓度(用对数值)的回归方程和 LC_{50} (见表 2), LT_{50} 的计算结果见表 3. 从毒力测定结果可以看出, 供试的绿僵菌和白僵菌菌株对马尾松毛虫的僵虫率相近, 在 25℃ 条件下, 供试绿僵菌菌株对 2~3 龄马尾松毛虫的毒力仅略低于供试的白僵菌菌株。

2.2 温湿度对绿僵菌和白僵菌致病力的影响

在 20~32℃ 温度范围内, 供试的绿僵菌和白僵菌菌株均有不同程度的杀虫效果(表 4). 在 20~30℃ 之间, 白僵菌有较好的杀虫效果, 但在 25℃ 条件下, 白僵菌的杀虫效果最好. 而绿僵菌在 25~32℃ 之间有较好的杀虫效果, 28℃ 时的杀虫效果最好. 当温度高于 28℃ 以上时, 绿僵菌的杀虫效果优于白僵菌, 说明在较高温度下绿僵菌对马尾松毛虫的致病力比白僵菌高。

表 1 绿僵菌(M)和白僵菌(B)5 种不同浓度分生孢子感染马尾松毛虫的死亡率*

Table 1 The mortalities of *Dendrolimus punctatus* infected by different concentrations of conidia of *M. anisopliae* (M) and *B. bassiana* (B)*

孢子浓度 Spore concentration (n / L^{-1})	供试虫数 Quantity for test (n)	M			B		
		死亡虫数 No. of death (n)	死亡率 Mortality (r/%)	校正死亡率 Correction mortality ($r_c / \%$)	死亡虫数 No. of death (n)	死亡率 Mortality (r/%)	校正死亡率 Correction mortality ($r_c / \%$)
1.0×10^{11}	30	27	90.00	88.89	28	93.33	92.59
1.0×10^{10}	30	24	80.00	77.78	25	83.33	81.48
1.0×10^9	30	22	73.33	70.37	24	80.00	77.78
1.0×10^8	30	19	63.33	59.26	22	73.33	70.37
1.0×10^7	30	17	56.67	51.85	19	63.33	59.26
0(CK)	30	3	10.00		3	10.00	

* M 为金龟子绿僵菌(*Metarhizium anisopliae*); B 为球孢白僵菌(*Beauveria bassiana*). 下同(The same below).

表2 绿僵菌和白僵菌对马尾松毛虫幼虫的毒力
Table 2 Toxicity of *M. anisopliae* and *B. bassiana* to larvae of *D. punctatus*

供试菌种 Species for test	LC ₅₀ (n / L ⁻¹)	95% 置信限 95% confidence limits (n / L ⁻¹)	回归方程 Regression equation	卡方检验 Chi - square test
M	1.06 × 10 ⁷	2.42 × 10 ⁶ ~ 4.61 × 10 ⁷	y = 3.0266 + 0.2810x	$\chi^2_{0.05}(4) = 9.488 > 1.004$
B	1.37 × 10 ⁶	1.64 × 10 ⁵ ~ 1.14 × 10 ⁷	y = 3.3554 + 0.2680x	$\chi^2_{0.05}(4) = 9.488 > 0.904$

表3 绿僵菌和白僵菌对马尾松毛虫幼虫的致死时间
Table 3 Lethal time of *M. anisopliae* and *B. bassiana* to larvae of *D. punctatus*

孢子浓度 Spore concentration (n / L ⁻¹)	M		B			
	回归方程 Regression equation	LT ₅₀ (t / d)	相关系数 Correlation coefficient	回归方程 Regression equation	LT ₅₀ (t / d)	相关系数 Correlation coefficient
1.0 × 10 ¹¹	y = 2.1950 + 0.3529x	7.95	0.9658	y = 2.1372 + 0.3830x	7.48	0.9658
1.0 × 10 ¹⁰	y = 2.1749 + 0.3164x	8.93	0.9829	y = 2.2746 + 0.3162x	8.62	0.9759
1.0 × 10 ⁹	y = 1.9288 + 0.3068x	10.01	0.9775	y = 2.1222 + 0.3042x	9.46	0.9945
1.0 × 10 ⁸	y = 2.1172 + 0.2504x	11.51	0.9653	y = 2.2454 + 0.2685x	10.26	0.9946
1.0 × 10 ⁷	y = 1.9198 + 0.2557x	12.04	0.9950	y = 2.0185 + 0.2646x	11.27	0.9877

表4 不同温度下绿僵菌和白僵菌的致病力比较
Table 4 Comparison of pathogenicity between *M. anisopliae* and *B. bassiana* at different temperatures

θ / °C	供试菌种 Species for test	校正死亡率 Correction mortality (r _c / %)		LT ₅₀ (t / d)	回归方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient
		M	B			
20	M	59.26	10.53	y = 2.6079 + 0.2271x	0.9938	
	B	74.19	8.31			0.9668
25	M	81.48	9.04	y = 2.5032 + 0.2763x	0.9937	
	B	93.55	6.41			0.9892
28	M	93.55	6.28	y = 3.2984 + 0.2711x	0.9839	
	B	90.62	7.08			0.9959
30	M	84.62	6.91	y = 3.3661 + 0.2363x	0.9788	
	B	71.33	8.67			0.9452
32	M	69.23	8.46	y = 3.3174 + 0.1989x	0.9657	
	B	49.78	11.26			0.9788

在 25°C 的温度条件下, 随着相对湿度的降低, 绿僵菌和白僵菌两个菌株对马尾松毛虫的致病力呈显著的下降趋势, LT₅₀也随之延长。相对湿度高于 96% 时, 白僵菌呈现很好的杀虫效果, 杀虫率达 90.26% 以上, t (LT₅₀) < 7.62 d。但相对湿度降至 92% 以下时, 白僵菌的杀虫率降至 74.07% 以下, t (LT₅₀) 将大于 9.14 d。

而绿僵菌在相对湿度高于 92% 时, 呈现出较好的杀虫效果, 杀虫率达 85.19% 以上, t (LT₅₀) < 8.42 d。从试验可以看出, 相对湿度低于 92% 以下时, 绿僵菌对马尾松毛虫的毒力明显高于白僵菌, 致死时间也比白僵菌要短得多(表 5)。

表5 不同湿度下绿僵菌和白僵菌的致病力比较
Table 5 Comparison of pathogenicity between *M. anisopliae* and *B. bassiana* in different humidities

RH/%	供试菌种 Species for test	校正死亡率 Correction mortality (r _c / %)		LT ₅₀ (t / d)	回归方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient
		M	B			
100	M	92.86	6.62	y = 3.1523 + 0.2793x	0.9873	
	B	96.15	6.10			0.9915
96	M	89.29	7.91	y = 2.8377 + 0.2732x	0.9905	
	B	90.26	7.62			0.9848
92	M	85.19	8.42	y = 2.5409 + 0.2919x	0.9849	
	B	74.07	9.14			0.9886
88	M	73.08	8.87	y = 2.6313 + 0.2670x	0.9775	
	B	66.67	9.87			0.9872
82	M	50.00	11.42	y = 2.3194 + 0.2346x	0.9789	
	B	30.77	14.06			0.9811
75	M	42.31	12.42	y = 2.3148 + 0.2163x	0.9694	
	B	26.92	15.47			0.9700

2.3 温湿度对绿僵菌和白僵菌分生孢子萌发力的影响

试验结果如表6所示,在10~37℃温度范围内,绿僵菌和白僵菌分生孢子萌发率差异很大。供试的绿僵菌和白僵菌菌株在20~28℃间均有较高的萌发率,绿僵菌分生孢子萌发的最适温度为28℃,白僵菌分生孢子萌发的最适温度为25℃。分生孢子萌发率超过50%的温度范围:绿僵菌为20~32℃,白僵菌为20~28℃。从试验还可以看出,绿僵菌比白僵菌耐高温。这就是为什么在自然界中昆虫白僵菌病多在春季流行,而绿僵菌病多半在夏季流行的原因^[5]。同时也进一步验证了在高温条件下绿僵菌杀虫效果优于白僵菌的原因。

表6 不同温度下绿僵菌和白僵菌分生孢子萌发率($P_G/\%$)

Table 6 The germination percentage of conidia at different temperatures ($P_G/\%$)

供试菌种 Species for test	$\theta / ^\circ\text{C}$						
	10	15	20	25	28	32	37
M	8.2	16.6	74.5	85.3	90.7	55.3	15.3
B	0	12.4	73.1	92.8	83.7	19.3	0

在不同的相对湿度下,绿僵菌和白僵菌分生孢子的萌发率差异很大(表7),随着相对湿度的降低,绿僵菌和白僵菌分生孢子萌发率呈现不同程度的下降速率。相对湿度在80%以下时,白僵菌分生孢子萌发率骤然降至30.1%以下,而绿僵菌分生孢子萌发率的

下降幅度则比较平缓,在相对湿度为32.5%时,绿僵菌分生孢子仍有6.7%的萌发率。因此,从试验结果看来,与白僵菌相比,绿僵菌具有较好的耐旱性,同时也说明了在相对湿度较低时,绿僵菌的杀虫效果优于白僵菌的原因。

表7 不同相对湿度下分生孢子萌发率($P_G/\%$)

Table 7 The germination percentage of conidia in different humidities ($P_G/\%$)

供试菌种 Species for test	RH/%							
	100	92.5	85	80	75.5	62.5	50.5	32.5
M	95.7	93.6	92.1	74.3	68.2	52.7	11.3	6.7
B	96.4	87.2	71.7	30.1	12.6	8.4	5.7	0

2.4 绿僵菌和白僵菌林间防治第1代马尾松毛虫效果

2000年6月下旬在福建省上杭县湖洋乡湖洋村15 a生马尾松林进行应用绿僵菌和白僵菌防治第1代马尾松毛虫的对比试验。防治期间的日平均气温为27.88℃,日平均相对湿度为75.52% (资料由当地气象站提供)。从林间试验结果可以看出(表8),与白僵菌相比,绿僵菌对第1代马尾松毛虫的防治效果显著优于白僵菌,同时也进一步验证了室内试验所显示的绿僵菌的耐高温和耐旱性特征。本试验的防治效果不太理想,可能与绿僵菌菌粉含孢量偏低($n = 50 \times 10^8 \text{ g}^{-1}$,仅为白僵菌菌粉含孢量的一半)有关,但绿僵菌已表现出具有较大的防治第1代马尾松毛虫的潜力。

表8 第1代马尾松毛虫林间防治试验效果
Table 8 Effect of control experiment on the first generation of *D. punctatus* in the field

供试菌种 Species for test	防治时间 Control duration	龄期 Instar	处理面积 Treated area (A / hm^2)	调查虫数 No. of larvae investigated (n)	死亡虫数 No. of death (n)	死亡率 Mortality (r/%)	校正死亡率 Correction mortality ($r_c/\%$)
M	2000-06-21~		0.80	463	248	53.56	43.11
B	2000-07-12	3~5	0.80	478	174	36.40	22.09
CK			0.67	392	72	18.37	

3 讨论

试验结果表明,供试的绿僵菌和白僵菌菌株对马尾松毛虫的毒力相当,与供试的白僵菌菌株相比,绿僵菌分生孢子具有较好的耐温和耐旱性,在高温和低湿的条件下,绿僵菌的杀虫效果优于白僵菌。林间防治结果显示,绿僵菌防治第1代马尾松毛虫的效果显著优于白僵菌。

白僵菌孢子在环境中萌发、生长和产孢的适宜条件是:相对湿度为100%、温度为25~30℃^[14]。本次室内孢子萌发力测定也得到相似的结果:白僵菌孢子萌发的适宜温度为25~28℃,最适温度为25℃;适宜的相对湿度为100%~92.5%,最适相对湿度为100%。

所以,在春季多雨,林中环境湿度大的条件下,使用白僵菌防治越冬代马尾松毛虫可以达到较好的防治效果,这方面已有很多报道^[2~4]。然而,从试验中可以看出,在温度条件满足的情况下,相对湿度是影响白僵菌孢子萌发的主要限制性因素(在25℃下,相对湿度为80%和75.5%时,白僵菌分生孢子萌发率仅分别为30.1%和12.6%)。因此,在第1代马尾松毛虫发生期间,由于林间温度较高、相对湿度较低(本次林间防治期间的日平均气温为27.88℃,日平均相对湿度为75.52%),白僵菌分生孢子发芽率低,从而影响侵染的发生和病害流行,白僵菌的应用便受到了限制。本试验供试的绿僵菌菌株分生孢子在20~32℃温

度范围内和 100% ~ 62.5% 的相对湿度范围内均有较好的萌发力,甚至在 37℃ 下和 32.5% 的相对湿度下仍分别有 15.3% 和 6.7% 萌发率,显示了较好的耐高温和耐旱性. 室内侵染试验和林间防治试验也表明,绿僵菌在高温和低湿的条件下具有显著优于白僵菌的杀虫效果. 上述试验结果说明,绿僵菌也许正可以弥补白僵菌应用在防治第 1 代马尾松毛虫上的不足,显示了较好的应用前景.

参考文献

- 1 Huang YZ (黄英姿), Gu DX (古德祥), Zhang WQ (张文庆), Liang CF (梁承丰), Lin YH (林育红), Chen ZF (陈占芳), Li NL (李南林). Analysis of importance factors affecting the incidence types of *Dendrolimus punctatus*. *Chin J Appl Environ Biol* (应用与环境生物学报). 2001, 7(1): 56 ~ 60
- 2 徐庆丰. 白僵菌的防虫作用及其在应用上的一些问题. 昆虫知识. 1964, 8(6): 293 ~ 297
- 3 蒲蛰龙主编. 害虫生物防治的原理和方法. 第 2 版. 北京: 科学出版社, 1984. 162 ~ 179
- 4 林冠伦编著. 生物防治导论. 南京: 江苏科学技术出版社, 1988. 253 ~ 258
- 5 郭好礼, 傅仓生, 李振兰. 绿僵菌的研究与应用. 北京: 中国农业科技出版社, 1990. 26 ~ 52
- 6 刘作易. 澳洲对绿僵菌的研究及其应用. 见: 中国菌物学会虫生真菌专业委员会编. 中国虫生真菌研究与应用(第 4 卷). 北京: 中国农业科技出版社, 1997. 18 ~ 22
- 7 南开大学生物系昆虫教研室. 金龟子绿僵菌对几种蛴螬的药效试验. 昆虫知识. 1978, 15(2): 40
- 8 Xie XY (谢杏扬), Dai ZR (戴自荣), Huang ZY (黄珍友). Primary laboratory experiment on application of *Metarrhizium anisopliae* (Metch) Sorokin to infect *Coptotermes formosanus* Shiraki. *Entomol Knowl* (昆虫知识). 1984, 21(5): 223 ~ 224
- 9 刘辉, 王世平, 董树新, 王虎, 樊美珍. 利用绿僵菌防治桃小食心虫. 见: 中国菌物学会虫生真菌专业委员会编. 中国虫生真菌研究与应用(第 3 卷). 北京: 中国农业科技出版社, 1993. 150 ~ 154
- 10 Li ZZ (李增智), Cheng SL (程双龙), Lu XX (鲁绪祥). Preliminary study on laboratory infection and spore production of *Metarrhizium anisopliae* and *Paecilomyces farinosus*. *J Anhui Agri Coll* (安徽农学院学报). 1985, (2): 85 ~ 90
- 11 Song Z (宋漳), Xu LQ (徐乐勤), Jiang T (江涛). Conidia germination and laboratory infection of 8 *Metarrhizium* spp. Strains to *Dendrolimus punctatus*. *J Zhejiang For Coll* (浙江林学院学报). 1997, 14(2): 165 ~ 168
- 12 吴千红, 邵则信, 苏德明编著. 昆虫生态学实验. 上海: 复旦大学出版社, 1991. 229 ~ 230
- 13 张宗炳编著. 杀虫剂的毒力测定——原理·方法·应用. 北京: 科学出版社, 1988. 388 ~ 391
- 14 Walstad JD, Anderson RF, Stambaugh WJ. Effects of environmental conditions on two species of muscardine fungi (*Beauveria bassiana* and *Metarrhizium anisopliae*). *J Invertebr Pathol*. 1970, 16: 221 ~ 226