

## 感染萧氏松茎象的金龟子绿僵菌菌株的初步筛选\*

童应华<sup>1</sup> 陈顺立<sup>1</sup> 林 强<sup>2</sup>

( 1. 福建农林大学林学院 福州 350002 ; 2. 福建省森林病虫害防治检疫总站 福州 350003 )

关键词 : 萧氏松茎象 ; 金龟子绿僵菌 ; 致病力 ; 菌株筛选

中图分类号 : S763.306.4 文献标识码 : A 文章编号 : 1001-7488(2010)01-0169-06

### Preliminary Screen of Virulent Strains of *Metarhizium anisopliae* against *Hylobitelus xiaoi*

Tong Yinghua<sup>1</sup> Chen Shunli<sup>1</sup> Lin Qiang<sup>2</sup>

( 1. College of Forestry , Fujian Agriculture and Forestry University Fuzhou 350002 ;

2. General Station of Forest Disease and Pest Control and Quarantine of Fujian Province Fuzhou 350003 )

**Abstract :** A total of 12 strains of *Metarhizium anisopliae* Sorokin were tested for pathogenicity to *Hylobitelus xiaoi* , and a superior strain was used to infect trials in a forest. The results indicated that the strain Ma1291-2 had strong pathogenicity to *H. xiaoi* after treatment for 30 d by dipping inoculation with  $( 1.5 \pm 0.5 ) \times 10^8$  conidia  $\cdot$  mL<sup>-1</sup>. The correct mortality , the muscardine cadaver rate and the conidia content individual of *H. xiaoi* were respectively 70.59% , 70.81% and  $( 1.90 \pm 0.34 ) \times 10^8$  conidia individual , and the quickest median lethal times ( LT<sub>50</sub> ) were 13.89 d. The median lethal concentration ( LC<sub>50</sub> ) was  $1.1353 \times 10^6$  conidia  $\cdot$  mL<sup>-1</sup>. By infecting trials to *H. xiaoi* in a forest with the strain Ma1291-2 , mortality of the treatment was extremely significant higher than the control , the correct mortality , the muscardine cadaver rate and the conidia content individual of *H. xiaoi* were  $57.85\% \pm 1.19\%$  ,  $55.43\% \pm 2.90\%$  and  $( 1.12 \pm 0.41 ) \times 10^8$  conidia individual after 30 d , respectively , and the median lethal times ( LT<sub>50</sub> ) was 16.56 d. The results suggest that the strain of Ma1291-2 has great application value.

**Key words :** *Hylobitelus xiaoi* ; *Metarhizium anisopliae* ; pathogenicity ; strain screening

萧氏松茎象 (*Hylobitelus xiaoi*) 属鞘翅目 ( Coleoptera ) 象甲科 ( Curculionidae ) 松茎象属 (*Hylobilelus*) , 1997 年被定名为新种 ( 张润志 , 1997 )。该虫主要以幼虫钻蛀松树树干基部或根颈部的韧皮组织 , 松树被害后 , 大量流脂 , 树势减弱 ( 李宗顺等 , 1998 ; 梁承丰等 , 2003 ; 温小遂等 , 2004 ; 林仲桂等 , 2004 ; 高发祥等 , 2005 ; 戴立霞等 , 2006 ) , 或导致次期性害虫侵入 , 加快树木枯死 ( 梁承丰等 , 2003 ) , 成虫亦有上树取食枝条韧皮补充营养为害的习性 ; 其寄主主要有湿地松 (*Pinus elliottii*) ( 张润志 , 1997 )、火炬松 (*Pinus taeda*)、马尾松 (*Pinus massoniana*)、黄山松 (*Pinus taiwanensis*)、华山松 (*Pinus armandii*) ( 李宗顺等 , 2001 ) 和黑松 (*Pinus thunbergii*) 等松属植物 ( 林仲

桂等 2004 )。该虫国外分布未见报道 , 国内主要分布江西、福建、贵州、广东、广西、湖南、湖北 7 省 ( 区 ) 的 100 多个县 ( 市 )<sup>[1]</sup>。各发生地开展了该害虫种群发生规律与控制技术研究 , 但尚无有效控制方法。

虫生真菌是昆虫种群自然调控的重要因子 , 在害虫控制方面有巨大的潜力 ( 蒲蛰龙等 , 1996 )。自 1879 年 Metchnikoff 首次从奥地利丽金龟 (*Anisoplia austriaca*) 中分离出绿僵菌 , 并成功进行奥地利丽金龟和甜菜象甲 (*Bothynoderes punctiventris*) 的防治以来 , 绿僵菌就成为了害虫微生物防治的主要病原菌之一 ( 蒲蛰龙等 , 1996 ; Donald *et al.* , 2004 )。绿僵菌寄主极为广泛 , 达 7 个目 200 多种昆虫 ( Latch , 1965 ; Veen *et al.* , 1966 ) , 是当今世界广泛应用于防治农林害虫的病原真

收稿日期 : 2008-07-09。

基金项目 : 福建省自然科学基金项目 ( Z0516020 ) ; 福建省科技厅重点项目 ( 2006N0002 ) ; 福建省科技厅重点项目 ( 2004N013 )。

\* 陈顺立为通讯作者。本研究 9 个供试金龟子绿僵菌菌株由福建省林业科学研究院森林保护研究所何学友教授级高工提供 , 在此表示衷心感谢。

1) 国家林业局植树造林司 , 国家林业局森林病虫害防治总站。2006 年上半年全国主要林业有害生物发生情况及下半年发生趋势预测。森林简报 , 2006 , 16。

菌(蒲蛭龙等,1996)其应用于蛀干害虫的防治也有许多成功的实例,樊美珍等(1987)从青杨天牛(*Saperda populnea*)的罹病幼虫上分离到1株金龟子绿僵菌(*Metarhizium anisopliae*),并将其用于天牛等害虫的防治;Dubois等(2004)利用球孢白僵菌、布氏白僵菌和金龟子绿僵菌无纺布菌条相结合的方法防治光肩星天牛(*Anoplophora glabripennis*);夏成润等(2005)利用金龟子绿僵菌无纺布菌条与引诱剂相结合防治短角幽天牛(*Spondylis buprestoides*)。萧氏松茎象生物防治研究甚少,应用绿僵菌生物防治方面的研究尚无报道,而绿僵菌较白僵菌有更强的耐高温和耐旱特性(江英成,2000;宋漳等,2003),对林间气候条件的适应性较强,因此,本研究应用12株金龟子绿僵菌菌株对萧氏松茎象进行致病力测定和林间感染试验,筛选出高致病力菌株,为林间生物防治提供应用基础。

## 1 材料与方 法

1.1 金龟子绿僵菌的分离 1)样品采集 在萧氏松茎象危害较重的林分,选择树干近土表根茎部头年受害后尚留排泄物的松树为样株,清除蛀孔处土表层的杂物和排泄物,用75%酒精擦拭干净土铲后,铲取土壤约500g,装入干净的保鲜袋内密封,带回室内置于冰箱内保存备用。

2)培养基 常用培养基采用PPDA培养基:去皮马铃薯200g,葡萄糖20g,蛋白胨10g,

琼脂18g,蒸馏水1000mL。选择性培养基:在王滨等(2000)、胡开辉等(2004)的基础上进行改进,配方为:蛋白胨5g,葡萄糖10g,磷酸二氢钾( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )1g,7水硫酸镁( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )0.5g,琼脂20g,结晶紫 $100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,多菌灵 $0.8 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,硫酸链霉素 $100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,蒸馏水1000mL。

3)样品处理与菌株分离 将采集的样品分别过2mm筛,以逐步4分法取适量进行分离。称取2g样品放入锥形瓶,加入100mL 0.05%吐温-80无菌水,置于高速恒温振荡器(国华企业SHA-C恒温振荡器15DR)上充分振荡10min( $150 \text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ )。用无菌移液管吸取0.2mL悬液液滴入选择性培养基平板表面,无菌三角玻璃刮棒涂布均匀,静置后置于( $25 \pm 1$ ) $^\circ\text{C}$ 培养箱中倒置培养,每个样品3个重复。同时接3株金龟子绿僵菌作对照。第2天起观察菌落生长情况,并挑取与对照相似的菌落,用选择性培养基再次进行纯化培养,连续纯化2~3次。产孢后根据孢子形态、菌落特征和产孢结构等进行鉴定(魏景超,1979;裘晖等,2004),并将分离的菌株转入试管斜面培养,充分产孢后冷藏备用。

1.2 致病力测定 1)供试菌株 12个供试金龟子绿僵菌菌株中,9个菌株由福建省林业科学研究院森林保护研究所提供,3株为笔者林间分离所得的菌株。各菌株来源情况见表1。

表1 供试绿僵菌菌株来源<sup>①</sup>

Tab. 1 Origin of tested *M. anisopliae* strains

菌株编号 Strain No.	采集地 Locality	寄主或分布 Hosts or distribution	分离日期 Isolated date
MaFzzL-01	福建省福州市 Fuzhou, Fujian	土壤 Soil	2005-09
MaYDTR-008	福建省永定县 Yongding, Fujian	土壤 Soil	2005-08
Ma1291-2	台北市阳明山 Yangming mountain, Taipei	松墨天牛幼虫 <i>Monochamus alternatus</i> larvae	1996-12
MaWP-01	福建省武平县 Wuping, Fujian	土壤 Soil	2005-09
MaYT-04	福建省永定县 Yongding, Fujian	土壤 Soil	2005-08
MaYDTR-010	福建省永定县 Yongding, Fujian	土壤 Soil	2005-08
MaWP-04	福建省武平县 Wuping, Fujian	土壤 Soil	2005-09
MaJX-02	江西省石城县 Shicheng, Jiangxi	土壤 Soil	2005-09
MaZPTR-02	福建省漳浦县 Zhangpu, Fujian	土壤 Soil	2005-11
Ma1775	日本森林综合研究所 Forestry and Forest Products Research Institute of Japan	松墨天牛幼虫 <i>M. alternatus</i> larvae	2002-05
MaHA-01	福建省惠安县 Hui'an, Fujian	土壤 Soil	2005-09
Ma20	安徽省五河县 Wuhe, Anhui	光肩星天牛 <i>Anoplophora glabripennis</i>	2005-02

① MaWP-01, MaWP-04 和 MaJX-02 菌株为本研究分离所得,其他菌株由福建省林业科学研究院森林保护研究所提供。The strains MaWP-01, MaWP-04 and MaJX-02 were isolated from soil in this study, others provided by Research Institute of Forest Protection, Fujian Academy of Forestry.

2)孢子悬液的制备 各菌斜面培养充分产孢后,用10mL 0.05%吐温-80无菌水洗下,置于高速恒温振荡器上充分振荡10min( $150 \text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ ),血球计数板计数,根据需要配制成不同浓度的孢子

悬液备用。

3)试虫来源与饲养 供试成虫收集于福建省龙岩市武平县、三明市宁化县的马尾松林和江西省赣州市信丰万隆林场、石城县瑞坑的湿地松林。将

收集的成虫放入 30 cm × 30 cm × 40 cm 的自制养虫笼内,以 1~2 年生马尾松新鲜枝条室内笼养,每 3 天更换 1 次枝条。

4) 致病处理 将各菌株分别配成  $(1.5 \pm 0.5) \times 10^8$  孢子 · mL<sup>-1</sup> 的孢子悬液,采用浸渍法接种。选取健康成虫,用摄子单头夹入孢子悬液中,使整个虫体完全浸没并滞留 3 s 后立即取出,放入玻璃罐头瓶内,瓶内放入截成小段的 1~2 年生马尾松新鲜枝条,在瓶盖上打 6~8 个小孔,每瓶装 5 头成虫,于  $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 、 $(95 \pm 1)\%$  RH 的人工气候箱(MODEL SPX-250C 型,上海博迅实业有限公司医疗设备厂生产)内饲养。每个处理设 3 个重复,每个重复测定 13~16 头成虫,以 0.05% 吐温-80 无菌水作对照。3 天更换 1 次新鲜马尾松枝条,每天定时观察并记录各处理的死亡情况,并将死虫移出,放入培养皿内  $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$  保湿培养,观察虫体菌丝生长和产孢情况,持续观察 30 天。统计死亡和感染情况,以虫体表面长出菌丝体或子实层为有效致死。计算公式:

$$\text{死亡率} = \frac{\text{死虫数}}{\text{供试虫数}} \times 100\%$$

$$\text{校正死亡率} = \frac{\text{处理死亡率} - \text{对照死亡率}}{100 - \text{对照死亡率}} \times 100\%$$

$$\text{僵虫率} = \frac{\text{僵死虫数}}{\text{供试虫数}} \times 100\%$$

5) 僵虫虫体含孢量测定 待僵虫虫体充分产孢后,单头放入 300 mL 的锥形瓶内,加入 0.05% 吐温-80 无菌水 50 mL,并置于高速恒温振荡器上充分振荡 10 min  $(150 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1})$ ,洗下虫体孢子,用血球计数板计数,换算成单头虫体含孢量。

6) 高致病力菌株致死中浓度(LC<sub>50</sub>)的确定 选择致病力较强,且僵虫虫体含孢量较高的菌株,分别以 5 个浓度梯度的孢子悬液浸渍法接种,每个浓度梯度 3 个重复,每个重复测定 13~16 头健康成虫,以 0.05% 吐温-80 无菌水为对照。饲养、观察方法同 4)。

1.3 林间感染试验 选用致病力强和虫体含孢量高的 1 个菌株进行复壮,以  $(1.0 \pm 0.5) \times 10^{10}$  孢子 · mL<sup>-1</sup> 的孢子悬液浸渍法处理后铁丝笼林间笼养。设 3 个重复,每个重复处理 15~16 只成虫,并相距 50 m 以上,用 0.05% 吐温-80 无菌水处理 3 个重复为对照。供给新鲜的 1~2 年生枝条饲养,3 天更换 1 次新鲜马尾松枝条,每天观察 1 次死亡情况,并及时将死虫带回室内保湿培养,持续观察 30

天,以虫体表面长出菌丝体或子实层为有效致死,统计死亡率、侵染率。待虫体充分产孢后随机选取 20 头僵虫,测定虫体产孢量。

## 2 结果与分析

2.1 金龟子绿僵菌对萧氏松茎象的致病性 1) 致病特点 从福建龙岩、三明和江西石城萧氏松茎象危害较重的松林内,选择 19 个样区,共取土壤样品 95 份,分离到 3 个金龟子绿僵菌菌株,编号为 MaWP-01、MaWP-04 和 MaJX-02。将其与其他 9 个菌株分别对萧氏松茎象进行处理后, MaFzzL-01、Ma1291-2 和 Ma1775 菌株处理第 8 天出现死亡。致死虫体经  $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$  保湿培养后,起初口器末端、各附节末端和腹部末端出现白色点状,5~6 天后,口器末端、各附节末端和腹部末端有绿色孢子产生,且附节、各体节节间及腹板与侧板连接处,充满白色菌丝,约 8~9 天后,上述部位均长满绿色孢子。因此,从致病特点看,该虫的口器末端、各附节间及其末端、腹部末端、体节节间及腹板与侧板连接处是侵染的重要部位。

2) 累计死亡率动态 接菌后 30 天内各菌株致死的动态如图 1。从图 1 可知, Ma1291-2、MaWP-01、MaFzzL-01 和 Ma1775 等 4 个菌株处理后,从第 8 天开始到 18 天萧氏松茎象成虫累计死亡率上升较快,20 天后趋缓;其他菌株接种后 30 天内累计死亡率均在 30% 以下, MaYT-04、MaJX-02 和 Ma20 菌株处理后 18 天内尚未见死亡, MaHA-01 累计死亡率亦极低。可见, Ma1291-2、MaWP-01、MaFzzL-01 和 Ma1775 等 4 个菌株对萧氏松茎象成虫有较好的致死效果。

3) 不同菌株的致病力 对接菌后 30 天萧氏松茎象成虫死亡率进行方差分析,  $F = 17.95 > F_{0.01}(12, 26) = 2.96$ ,  $P = 0.0001 < 0.01$ ,各处理间存在极显著差异,进一步用邓肯氏(Duncan's)新复极差法进行多重比较,结果见表 2。试验结果表明: Ma1291-2、MaWP-01、MaFzzL-01 和 Ma1775 4 个菌株,其校正死亡率和僵虫率间无显著差异,但极显著高于其余供试菌株;其余各菌株的校正死亡率和僵虫率均低于 30%,其中 MaHA-01 和 Ma20 菌株未发现僵虫。Ma1291-2 菌株校正死亡率和僵虫率最高,分别为 70.59% 和 70.81%,用时间-死亡率的机率值分析,其 LT<sub>50</sub> 为 13.89 天,表明其对萧氏松茎象的致病力较强,致死速度比其他菌株快。

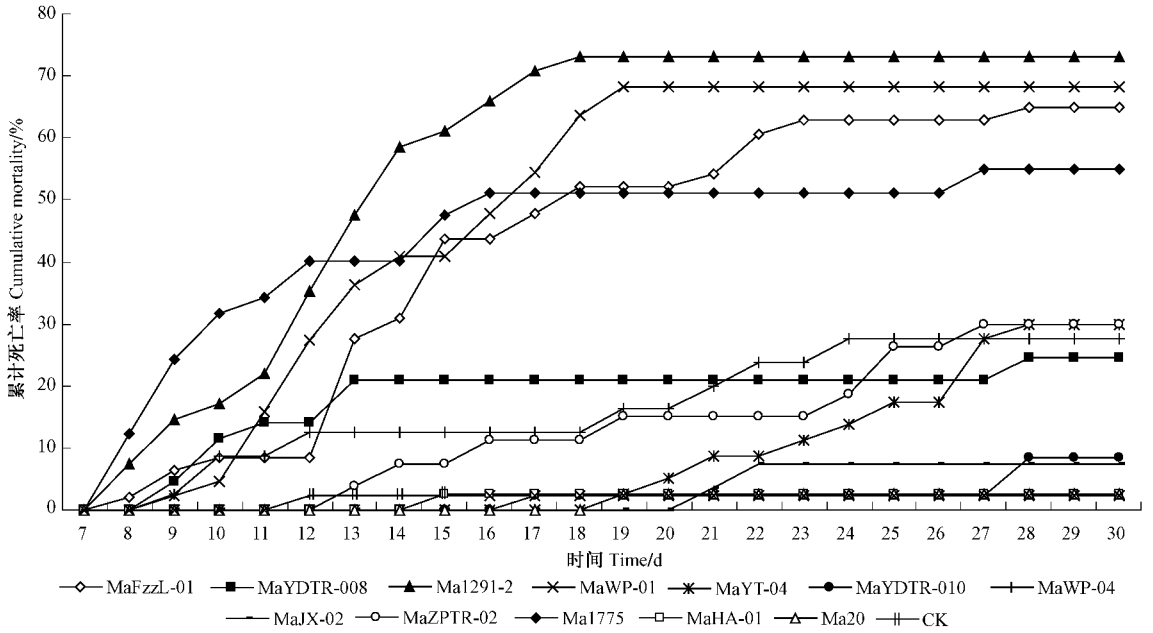


图 1 不同菌株处理后累计死亡率动态(30 天)

Fig. 1 Dynamics of the cumulative mortality of *H. xiaoi* treated by different *M. anisopliae* strains (30 d)

表 2 不同菌株对萧氏松茎象成虫的致病力<sup>①</sup>

Tab. 2 Pathogenicity of different strains to *H. xiaoi* adults

菌株编号 Strain No.	死亡率 Mortality/%	校正死亡率 Correct mortality/%	僵虫率 Musccardine cadaver rate/%	毒力回归方程 Toxicity regressive equation	致死中时 LT <sub>50</sub> /d	相关系数 Correlation coefficient( R )
Ma1291-2	70.81 a A	70.59	70.81 a A	$y = 1.7284 + 0.2356x$	13.89	0.9791
MaWP-01	70.02 a A	69.79	70.02 a A	$y = 2.0656 + 0.1836x$	15.98	0.8828
MaFzzL-01	64.82 a A	64.55	62.8 a A	$y = 2.1499 + 0.1504x$	18.95	0.9422
Ma1775	52.32 ab AB	51.96	53.54 a AB	$y = 3.1503 + 0.1216x$	15.25	0.9208
MaZPTR-02	29.71 bc BC	29.17	29.71 b B	—	—	—
MaYT-04	28.61 bc BC	28.06	27.5 b B	—	—	—
MaWP-04	27.49 bc BC	26.94	26.28 b BC	—	—	—
MaYDTR-008	24.44 c BC	23.86	24.44 b BC	—	—	—
MaYDTR-010	5.67 d CD	4.94	4.74 c CD	—	—	—
MaJX-02	5.05 d CD	4.32	5.05 c CD	—	—	—
MaHA-01	0.87 d D	0.11	0	—	—	—
Ma20	0.81 d D	0.05	0	—	—	—
CK	0.76 d D	—	—	—	—	—

① 接种量为  $(1.5 \pm 0.5) \times 10^8$  孢子 · mL<sup>-1</sup>。不同大、小写字母表示 Duncan's 新复极差显著性检验分别达到 0.01、0.05 水平, 同列中有相同字母表示差异不显著, 下同。Inoculating concentration was  $(1.5 \pm 0.5) \times 10^8$  conidia · mL<sup>-1</sup>. Different capital or small letters meant significant difference by Duncan's new multiple range method test at 0.01 and 0.05 level respectively, the same below.

2.2 僵虫虫体含孢量 虫体带菌量是该菌再侵染和害虫持续控制的重要条件, 对其致病力和林间流行病的诱发、传播、扩散起重要作用。经测定其充分产孢后的僵虫虫体平均单头含孢量(表 3), 结果表明, 感染 Ma1291-2 菌株僵虫虫体平均单头含孢量为  $(1.90 \pm 0.34) \times 10^7$  个, 除 Ma1775 菌株致死的虫体含孢量外, 与其余菌株致死的虫体含孢量间有极显著差异。Ma1775 菌株致死僵虫虫体含孢量亦显著高于其余菌株。MaYT-04, MaJX-02 和 MaYDTR-010 等 3 个菌株致死僵虫虫体含孢量较低。说明,

表 3 萧氏松茎象僵虫虫体平均单头含孢量  
Tab. 3 Mean conidia content individual of muscardine *H. xiaoi*

菌株编号 Strain No.	含孢量 Conidia content/ 10 <sup>6</sup>	差异显著性 Significant level	
		5%	1%
Ma1291-2	18.97 ± 3.41	a	A
Ma1775	10.87 ± 3.97	a	AB
MaWP-01	4.41 ± 0.81	b	BC
MaFzzL-01	3.79 ± 0.41	b	BC
MaWP-04	2.50 ± 0.46	bc	CD
MaYDTR-008	2.25 ± 0.34	bc	CD
MaZPTR-02	1.154 ± 0.20	c	DE
MaYT-04	0.50 ± 0.09	d	EF
MaJX-02	0.46 ± 0.03	d	EF
MaYDTR-010	0.24 ± 0.08	d	F

Ma1291-2 和 Ma1775 菌株有效致死僵虫具有较高的虫体含孢量。

2.3 高致病力菌株  $LC_{50}$  的测定 上述研究结果表明, Ma1291-2 有较强的致病力和较高的僵虫虫体

含孢量。进一步测定其  $LC_{50}$ , 结果见表 4, 随着孢子浓度的增大其校正死亡率上升, 致死中时  $LT_{50}$  缩短, 通过剂量-死亡率机率值分析, 其  $LC_{50}$  为  $1.1353 \times 10^6$  孢子  $\cdot mL^{-1}$ 。

表 4 Ma1291-2 菌株对萧氏松茎象的  $LC_{50}$  (30 d)

Tab. 4 Median lethal concentration ( $LC_{50}$ ) of the strain Ma1291-2 to *H. xiaoi* (30 d)

孢子浓度 Concentration/ $10^7$	死亡率 Mortality/%	校正死亡率 Correct mortality/%	致死中时 $LT_{50}/d$	毒力回归方程 Toxicity regression equation	致死中浓度 $LC_{50}/$ (conidia $\cdot mL^{-1}$ )	相关系数 Correlation coefficient( <i>R</i> )
270	73.25	72.64	12.82	$y = 3.7857 + 0.2005x$	$1.1353 \times 10^6$	0.9705
13.2	71.08	70.42	13.44			
1.30	57.75	56.79	16.90			
0.12	53.24	52.18	19.35			
0.01	42.08	40.76	—			
CK	2.22	—	—			

2.4 林间感染试验结果分析 林间感染试验设在福建省龙岩市武平县马头山公园。以 Ma1291-2 菌株的孢子悬液浸液法处理后林间笼养, 观察统计结果见表 5, 处理后 30 天, 萧氏松茎象的死亡率极显著高于对照 [ $F = 68.01 > F_{0.01}(1, 4) = 21.2$ ;  $P = 0.0012 < 0.01$ ], 校正死亡率和僵虫率分别为  $(57.85 \pm 1.19)\%$  和  $(55.43 \pm 2.90)\%$ , 致死中时为

16.56 天。僵虫室内保湿培养充分产孢后虫体含孢量为  $(1.12 \pm 0.41) \times 10^7$  个孢子  $\cdot 头^{-1}$ , 说明 Ma1291-2 菌株对该虫林间有较强的侵染力和虫体带菌量, 但由于林间的各种复杂因子的影响, 尤其是气候因子, 导致该菌株对萧氏松茎象林间的致病力与室内有一定差距。

表 5 Ma1291-2 菌株林间感染试验结果(30 天)<sup>①</sup>

Tab. 5 The results of infecting trials in the forest with the strain Ma1291-2 (30 d) (福建武平 Wuping, Fujian, 2006)

菌株编号 Strain No.	死亡率 Mortality/%	校正死亡率 Correct mortality/%	僵虫率 Cadaver rate/%	致死中时 $LT_{50}/d$	毒力回归方程 Toxicity regression equation	相关系数 Correlation coefficient( <i>R</i> )
Ma1291-2	59.60 a A	$57.85 \pm 1.19$	$55.43 \pm 2.90$ a	16.56	$y = 1.5367 + 0.2091x$	0.9075
CK	2.82 b B	—	—	—	—	—

① 接种量为  $(1.5 \pm 0.5) \times 10^{10}$  孢子  $\cdot mL^{-1}$ 。Inoculating concentration was  $(1.5 \pm 0.5) \times 10^{10}$  conidia  $\cdot mL^{-1}$ 。

### 3 结论与讨论

福建省是我国南方的主要林区, 现有松林 326.567 万  $hm^2$ , 占有林地面积的 54.85%, 萧氏松茎象是福建省松属植物的一种新危险性害虫, 自 2003 年 1 月在武平县首先发现该害虫危害以来, 经全面调查, 该虫在福建省主要分布于南平市、三明市和龙岩市, 而这三市松林面积点全省松林面积的 56.49%, 发生面积达约 20 万  $hm^2$ , 且发生呈加重趋势, 对我省的森林资源构成了较大威胁。要有效控制该虫的为害, 必须以林业防治为基础, 以生物防治为主要手段。

由于该害虫生活较隐蔽, 林间调查中尚未发现自然感染虫生真菌的僵虫, 因此, 本研究采用选择性培养基, 从该害虫发生较严重的林间土壤中分离出了 3 个金龟子绿僵菌菌株, 其中 MaWP-01 菌株在致病力筛选中体现较强的致病力, 说明, 松林土壤中宿

存有对该虫具致病性的绿僵菌, 这为该虫生物防治开辟了新途径。

运用 12 个金龟子绿僵菌菌株, 分别对萧氏松茎象进行致病性试验, 从致病特点看, 成虫的口器末端、各附节末端及附节间、腹部末端、体节节间及腹板与侧板连接处是绿僵菌侵染的重要部位。综合各菌株接菌后萧氏松茎象成虫的校正死亡率、僵虫率、僵虫虫体含孢量及  $LT_{50}$  的情况比较, Ma1291-2 菌株对该虫有较好的致死效果。但金龟子绿僵菌对寄主的入侵不仅是寄主与病原菌之间的生理生化作用的综合结果 (Gillespie *et al.*, 2000), 而且与环境因子有极大的关系。因此, 进一步优化 Ma1291-2 菌株生长、萌发和产孢的营养与环境条件, 深入该菌在害虫发生地的定殖与流行病诱发等方面的研究, 对应用该菌进行萧氏松茎象的生物防治有重要现实意义。

应用 12 个供试菌株中, MaWP-01、MaFzzL-01 和 Ma1775 亦有较好的致病效果, 有一定的应用潜力,

尤其是分离自林间土壤中的 MaWP-01 菌株,其林间宿存环境与该虫的习性有一定的关系。萧氏松茎象主要以幼虫在蛀道、成虫在蛹室或土中越冬,且成虫有傍晚上树行取食、交配和扩散等活动,早晨回到树干基部或土缝中的夜出性活动节律(温小遂等,2004;戴立霞等,2006),而真菌对昆虫最活跃的侵染范围在土壤的表土层(0~15 cm)(Wojciechowska *et al.*,1977),土壤中的绿僵菌可以以分生孢子(Samuels *et al.*,1990)、芽生孢子(Keller *et al.*,1986)、菌丝段(Aguda *et al.*,1987;Kruegger *et al.*,1992)或僵虫的方式宿存和侵染寄主昆虫。因此,进一步对 MaWP-01 菌株的生长、萌发和产孢条件的研究,并强化其对萧氏松茎象的致病力,有利于挖掘该菌株的应用潜力。

Ma1291-2 菌株林间感染试验,萧氏松茎象校正死亡率和僵虫率分别为(57.85 ± 1.19)%和(55.43 ± 2.90)%,致死中时为16.56天,僵虫虫体平均含孢量为(1.12 ± 0.41) × 10<sup>7</sup> 个孢子·头<sup>-1</sup>。说明该 Ma1291-2 菌株对该虫林间亦有较强的致病力,且害虫感染后有较高的虫体含孢量。因此,深入开展该真菌病在林间的发生和传播规律的研究,提高致病率,促进其林间流行,对该害虫的生物防治有极其重要的实际意义。

## 参 考 文 献

- 戴立霞,李 恂,王明旭,等. 2006. 萧氏松茎象的生物学特性和防治技术. 林业科学,42(7):60-65.
- 樊美珍,郭 超,燕新华. 1987. 从青杨天牛分离的几种致病真菌. 真菌学报,6(2):97-102.
- 高发祥,阙水发,霁永松,等. 2005. 萧氏松茎象生物学特性及防治方法研究. 湖北林业科技(2):28-31.
- 胡开辉. 2004. 微生物学实验. 北京:中国林业出版社,215-227.
- 江英成. 2000. 绿僵菌和白僵菌侵染马尾松毛虫试验比较. 浙江林学院学报,17(4):410-413.
- 李宗顺,刘玉生,彭金福,等. 1998. 萧氏松茎象生物学特性及其防治研究. 林业科学研究,11(2):198-202.
- 李宗顺,贺桂先. 2001. 萧氏松茎象的早期寄生研究. 华东昆虫学报,10(1):100-102.
- 林仲桂,雷玉兰,彭珍宝,等. 2004. 萧氏松茎象幼虫食性、危害及防治技术. 中国森林病虫,23(1):9-12.
- 梁承丰,蔡卫群,龚志海,等. 2003. 萧氏松茎象发生规律与虫情调查方法. 广东林业科技,19(4):23-26.
- 蒲蛰龙,李增智. 1996. 昆虫真菌学. 合肥:安徽科学技术出版社,95-97,114.
- 裘 晖,吴振强,梁世中. 2004. 金龟子绿僵菌及其杀虫机理. 农药,43(8):342-345.

- 宋 漳,卢凤美,陈 辉. 2003. 绿僵菌和白僵菌对刚竹毒蛾的毒力比较. 西北林学院学报,18(3):43-46.
- 王 滨,樊美珍,李增智. 2000. 球孢白僵菌选择性培养基的筛选. 安徽农业大学学报,27(1):23-28.
- 魏景超. 1979. 真菌鉴定手册. 上海:上海科学技术出版社.
- 温小遂,匡元玉,施明清,等. 2004. 萧氏松茎象成虫的取食、产卵和行为. 昆虫学报,47(5):624-629.
- 夏成润,丁德贵,刘云鹏,等. 2005. 金龟子绿僵菌无纺布菌剂与引诱剂相结合使用防治短角幽天牛的试验. 安徽农业大学学报,32(4):419-422.
- 张润志. 1997. 萧氏松茎象——新种论述(鞘翅目:象甲科). 林业科学,33(6):541-545.
- Aguda R M, Rombach M C, Im D J, *et al.* 1987. Suppressing of populations of the brown plathopper, *Nilaparvata lugens* (Stal) (Hom.; Delphacidae) in field cages by entomogenous fungi (Deuteromycotina) on rice in Korea. J App Entomo,104:167-172.
- Donald W R, Raymond J S L. 2004. *Metarhizium* spp., cosmopolitan insect-pathogenic fungi: mycological aspects. Advances in Applied Microbiology,54:1-70.
- Dubois T, Li Z Z, Hu J F, *et al.* 2004. Efficacy of fiber bands impregnated with *Beauveria brongniartii* cultures against the Asian longhorned beetle, *Anoplophora glabripennis* (Coleoptera: Cerambycidae). Biological Control,31:320-328.
- Gillespie J P, Bailey A M, Cobb B, *et al.* 2000. Fungi as elicitors of insect immune responses. Archives of Insect Biochemistry and Physiology,44:49-68.
- Keller S, Keller E, Auden J A L. 1986. Ein grössversuch zur bekämpfung des maikafers (*Melolontha melolontha* L.) mit dem pilz *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch. Mitteilung der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft,59:47-56.
- Kruegger S R, Villani M G, Martins A S, *et al.* 1992. Efficacy of soil applications of *Metarhizium anisopliae* (Metseh) Sorokin conidi and standard and lyophilized mycelial particles against scarab grubs. J Invertebr Pathol,59:54-60.
- Latch G C M. 1965. *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin strains in New Zealand and their possible use for controlling pasture inhabiting insects. N Zeal Agr Res,8:384-396.
- Samuels K D Z, Pinnock D E, Bull R M. 1990. Scarabaeid larvae control in sugarcane using *Metarhizium anisopliae*. J Invertebr Pathol,55:135-137.
- Veen K H, Ferron P. 1966. A selective medium for the isolation of *Beauveria tenella* and of *Metarhizium anisopliae*. Invertebr Pathol,8:268-269.
- Wojciechowska M, Kmitowa K, Fedroko A, *et al.* 1977. Duration of activity of entomopathogenic microorganisms introduced into the soil. Pol Ecol Stud,3:141-148.

(责任编辑 朱乾坤)