

荔枝蝽白僵菌优良菌株的筛选及应用技术的研究

林庆源

(福建省森林病虫害防治检疫总站, 福建 福州 350003)

摘要: 从林间采集的自然感染白僵菌的荔枝蝽僵虫, 分离纯化菌株, 进行不同菌株生长性状培养比较, 以及在室内和果园中对荔枝蝽毒力生物测定, 从中筛选出生长性状优良, 对荔枝蝽毒力最强的菌株 Bh1, 应用该优良菌株的菌剂与农药混用防治, 能有效地控制荔枝枝蝽的严重危害, 适宜菌厂大规模生产和在闽中、南地区大面积防治推广。

关键词: 白僵菌; 菌株筛选; 荔枝蝽; 应用技术

中图分类号: S763 文献标识码: A

Selection and Application of *Beauveria bassiana* to Control *Tessaratoma papillosa*

LIN Qingyuan

(General Station of Forest Diseases and Pests Control and Quarantine of Fujian Province, Fuzhou 350003, Fujian, China)

Abstract: Three isolates (Bh1, Bh2, Bh3) of *Beauveria bassiana* separated from *Tessaratoma papillosa* were studied by comparing the speed of hyphae growths, yield of conioilia, bioassays to *T. papillosa*, in order to control the insects in the field. The results showed that Bh1 was an excellent isolation to *T. papillosa*, which could be produced in a larger scale and used to control the insects in the middle and southern of Fujian Province.

Key words: *Beauveria bassiana*; strain screening; *Tessaratoma papillosa*; application technique

荔枝蝽 (*Tessaratoma papillosa* Drury) 是福建省荔枝 (*Litchi chinensis* Sonn.)、龙眼树 (*Dimocarpus longan* Lour.) 的主要害虫之一, 近几年随着两树大面积连片种植, 该虫严重发生, 危害猖獗, 果树花穗、幼果和嫩梢被害后, 一般果实减产 20%~30%, 重则达 50%~60%, 甚至绝收。目前, 防治荔枝蝽主要采取化学农药, 少数利用平腹小蜂 (*Anastatus japonicus* Ashmead) 防治。化防需多次喷药才能控制虫害, 释放寄生蜂要求准确测报, 这些应用技术, 给防治带来诸多不便, 1997 年以来, 在福清、漳州、南安等地调查, 发现荔枝蝽被白僵菌 *Beauveria bassiana* Bals. Vuill. 自然感染致死, 并采集一些僵虫尸进行分离纯化培养, 经培养性状对比以及室内外毒力测定, 从中筛选出优良菌株应用于菌厂生产, 并在果园基地中

进行推广示范, 取得了较好的防治效果, 为荔枝蝽防治寻找出一条比较经济、有效、便捷的生物防治途径。现将试验研究结果报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌株及来源 1997 年 4 月从福清、南安、龙海等 3 个不同果园内采集到的荔枝蝽自然僵虫分离所得菌株, 编号为 Bh1、Bh2 和 Bh3。

1.1.2 供试虫源 室内供试虫在福清市白僵菌厂后山荔枝、龙眼树上人工捕捉 2~4 龄若虫, 林间试验地选设在福清菌厂后山荔枝林和渔溪龙眼基地发生荔枝蝽的果园进行。

1.2 方法

1.2.1 菌株分离培养 将采集到的僵虫体表消毒,切成组织块,接种于配制好的平皿培养基(培养基配方为:马铃薯 200 g,葡萄糖 20 g,蛋白胨 10 g,琼脂 20 g,水 1 000 mL),待长出菌落,及时挑取无杂菌感染且生长最快的菌落再移接于平皿和试管斜面,25 ℃恒温培养 15 d,逐日观察记载菌落生长速度、菌落色泽、形态、产孢时间以及测定孢子萌发率等情况。

1.2.2 单孢分离 采用稀释纯化法,将成熟孢子用无菌水(含 0.5%吐温 80)稀释到一定菌液浓度,用挑针把菌液滴在无菌的载玻片上,在 600 倍显微镜下选择单孢,将其移入盛有培养基的平皿中,25 ℃恒温培养 15 d,然后分别选取单孢分离较好的菌株进一步试验。

1.2.3 菌落生长速率测定 经选取的单孢株,分别移接在盛有同量培养基直径为 9 cm 的培养皿中央,25 ℃恒温培养,每天观察菌落生长情况、开始产孢时间,并用油标卡尺测量菌落直径,计算菌株日平均生长速率($\text{mm} \cdot \text{d}^{-1}$);每单株 3 个重复,培养时间为 15 d。

1.2.4 产孢量测定 单孢株培养 15 d 后,加吐温和灭菌水定量洗下,移入三角瓶稀释,充分摇匀后,用血球计数板测算单位面积产孢量。

1.2.5 孢子萌发率测定 成熟孢子稀释液 1 mL 加 10 mL 营养液(葡萄糖 2 g,蛋白胨 0.5 g; KH_2PO_4 0.1 g,水 100 mL),用湿罩法,25 ℃恒温培养 12 h 后,每隔 4 h 检查孢子萌发情况,计测 24 h 孢子萌发率,各设 3 个重复。

1.2.6 菌粉生产 应用分离所得的纯净菌株,在福清菌厂按斜面管种→一级大米种培养→二级液体种扩大培养→三级固体扩大培养→烘(阴)干→粉碎等工序进行生产,并分别测定菌株生产菌粉的含孢量和孢子萌发率。

1.2.7 室内毒力测定 1997 年 5 月和 1998 年 4 月分别利用 3 个斜面管菌株孢子及其生产的菌粉用清水稀释配制成菌液孢子浓度为 1×10^8 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$,然后用手持喷雾器均匀地喷在接有荔枝蜡若虫且水培于罐头瓶的荔枝嫩梢叶及花穗上,喷至虫体及枝叶花菌液欲滴为度,每菌株处理 30 头虫,重复 3 次,并喷清水作对照,养虫笼内每天喷清水保湿,并逐日更换新鲜含花穗的嫩梢叶,喷后第 3 天开始观察若虫感病死亡情况。

1.2.8 林间防治试验 1998 年,将不同菌株生产的

菌粉加工制成白僵菌粉炮,选择雨后放粉炮,粉炮用量 30 个 $\cdot\text{hm}^{-2}$ (含菌粉 3.75 $\text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$),龙眼基地每菌株处理区面积 0.67 hm^2 ,设 3 个重复,并设对照,在福清菌厂荔枝树林试验选择样枝并用塑料纱网套笼,放菌炮后立即在各处理区选取样树或样枝 5 株(枝),调查样树或样枝的虫口数,防治后分别于 3、15、30 d 检查样树(枝)上的活虫口数以及树下荔枝蜡死亡情况,统计虫口下降率,求算校正平均防治效果。

1.2.9 白僵菌与化学农药混合防治荔枝蜡试验 1998 年用福清林业白僵菌厂生产的防治荔枝蜡菌粉,含孢量为 1.945×10^{10} 个 $\cdot\text{g}^{-1}$,孢子萌发率为 90.1%;用 25 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 溴氰菊酯乳油, [由艾格福(天津)有限公司生产] 加工制成有效成分为 125、250、500、750 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的溴氰菊酯粉剂,分别用 D1、D2、D3、D4 表示,荔枝蜡菌粉用 B 表示。菌药分别按 4:1 的比例均匀混合制作成混合粉炮,每个 125 g。

2 结果和分析

2.1 菌株生长性状及菌粉质量比较

经分离纯化培养观察,野外采集的天然荔枝蜡僵虫,接种于培养基上,3 个菌株 48~56 h 菌丝即开始生长,菌落圆形,均为乳黄色,平绒状,菌落扩展速度以 Bh1 最快,较 Bh2 和 Bh3 二个菌株显示较强的生长扩展能力。各菌株在培养基上的产孢时间、发芽率及其生产的菌粉质量测定结果见表 1。

表 1 不同菌株在培养基上的产孢时间、孢子萌发率及菌粉质量测定情况

菌株编号	产孢时间/h	斜面种孢子萌发率/%	菌粉含孢量/ $\times 10^8 \cdot \text{g}^{-1}$	菌粉孢子萌发率/%
Bh1	120	95.4	196.2	96.3
Bh2	136	92.6	169.5	91.2
Bh3	128	93.1	181.5	94.5

从表 1 可以看出,3 个菌株中, Bh1 菌株产孢时间最早,120 h 就开始产孢, Bh3 次之, BH2 最迟,从斜面管还看到 Bh1 菌株较另 2 个菌株孢子层厚实,而且紧密均匀,表现出优良的培养性状。斜面种 Bh1 菌株孢子萌发率达 95.4%,发芽力最强。由不同菌株生产的菌粉质量测定比较, Bh1 菌粉含孢量最高,平均含孢量为 196.2×10^8 个 $\cdot\text{g}^{-1}$, 24 h 孢子萌发率也最高,达 96.7%,比其它两个菌株生产的菌粉质量好。

2.2 室内毒力测定

3 个菌株及其菌粉产品菌液室内对荔枝蜡毒力

测定结果见表 2。

表 2 不同菌株及其菌粉产品室内毒力测定结果

菌株 编号	供试虫 数/头	死亡率/%				校正 死亡率/%
		3 d	5 d	7 d	14 d	
Bh1	90	17.8	30.0	61.1	90.0	89.4
(Bh1)	90	16.7	32.2	58.9	92.2	91.6
Bh2	90	13.3	25.6	53.3	83.3	82.3
(Bh2)	90	14.4	26.7	56.7	84.4	83.3
Bh3	90	15.6	31.1	57.8	86.7	85.9
(Bh3)	90	13.3	27.8	55.6	87.8	86.9
CK	90			5.6	5.6	
(CK)	90			4.4	6.7	

注: 菌株编号括号为产品毒力测定

从表 2 可以看出, 从荔枝蜡僵虫分离的 3 个菌株对荔枝蜡若虫具有较强的致病力, 从 2 次试验情

况看, 不论是菌株斜面种菌液或菌粉产品菌液, 对若虫都有较强的毒效, 处理后 3 d, 幼龄若虫即开始死亡, 到 7 d 时死亡率均达到 50% 以上, 若虫腹背节间都发白, 到 10 d 时大量白僵, 到 14 d 时, 菌株种及其产品毒力平均校正死亡率以 Bh1 最高, 为 90.5%, 而 Bh2 和 Bh3 分别为 82.8% 和 86.4%, 相对比 Bh1 稍低, 结果分析还得知, 各菌株斜面种及其产品毒力差异不明显, 表明经扩大培养生产, 毒力不但没有下降, 反而稍有提高, 证明所分离的菌株对荔枝蜡有特效, 表现较为稳定。

2.3 林间防治效果比较

1998 年 4 月下旬, 应用菌株生产的菌粉对荔枝和龙眼树上的荔枝蜡进行林间防治试验, 防治后分别于 7、15、30 d 调查统计防治效果, 试验结果见表 3。

表 3 不同菌株林间对荔枝蜡的防治效果

试 验 地	菌株 编号	样树数 株、枝	防治前 总虫 数/头	防治后活虫口数/头			虫口死亡率/%			校 正 死亡率/ %
				7 d	15 d	30 d	7 d	15 d	30 d	
龙 眼 基 地	Bh1	15	963	390	128	94	59.5	86.7	90.2	89.7
	Bh2	15	879	448	191	167	49.0	78.3	81.0	80.0
	Bh3	15	898	431	163	139	52.0	81.8	84.5	83.8
	CK1	15	907	892	880	865	1.7	3.0	4.6	/
荔 枝 果 园	Bh1	9	148	56	18	12	62.2	87.8	91.9	91.4
	Bh2	9	153	77	37	28	50.3	75.8	81.7	80.6
	Bh3	9	149	69	29	21	53.7	83.2	85.9	85.0
	CK2	9	139	136	133	131	2.2	4.3	5.8	/

表 3 林间试验结果表明, 不论在荔枝树上套笼或龙眼基地试验调查, 3 个菌株生产的菌粉对荔枝蜡都有较好的防治效果, 平均防效都达到 80% 以上。防治区较对照区虫口下降率差异显著。防后 7 d 调查时, 树下地表及套笼内有较多的死亡若虫, 地表死虫已开始发白, 证明菌株对荔枝蜡毒力较强。调查结果显示, 3 个菌株菌粉对荔枝蜡的毒力以 Bh1 最强, 两处试验平均防治效果为 90.6%, 而 Bh2 和 Bh3 分别为 80.3% 和 84.4%, 这与室内毒力测定的结果基本相符。到结果期林间调查还发现防治区果

树座果率高, 果实采收时, 明显比对照区丰产, 而且荔枝、龙眼果实品质好。在对照区因被荔枝蜡危害, 花轴不结果, 被害嫩梢枯萎, 幼果枯萎脱落, 引起大量落花落果, 果实大幅减产, 证明白僵菌高毒株对荔枝蜡能起到有效的控制作用, 林间防治效果较好。

2.4 白僵菌与化学农药混合剂防治效果比较

在室内毒力测定的基础上, 应用纯菌粉、农药粉及菌药 4:1 混合粉进一步开展林间防治试验, 选择雨后第 2 天早晨或有露水的天气进行人工施放粉炮, 各处理林间防治效果见表 4。

表 4 菌粉、药粉及菌药混合粉林间防治效果

处理	粉炮用量/ (个·hm ⁻²)	样株 数/株	总虫 数/条	虫口死亡率/%				校正 死亡率/%
				3 d	7 d	15 d	30 d	
B	30	50	2 591	21.5	64.0	80.0	84.2	83.0
D1	30	50	2 769	28.0	51.0	51.0	51.0	47.4
B+ D1	30	50	2 548	27.0	70.0	82.7	89.0	88.2
D2	30	50	2 615	51.6	61.3	61.3	61.3	58.4
B+ D2	30	50	2 414	32.4	75.0	88.0	90.0	89.3
D3	30	50	2 463	66.0	70.6	70.6	70.6	68.4
B+ D3	30	50	2 613	43.5	98.1	95.1	98.0	97.9
D4	30	50	2 584	72.9	75.3	75.3	75.3	73.58
B+ D4	30	50	2 421	47.6	87.5	96.1	97.1	96.9
CK			2 477	2.4	3.8	4.7	6.9	

表 4 结果表明, 防治后 30 d 纯菌粉防治效果为 83.0%, 检查过程发现到 15 d 时若虫死亡才进入高峰期, 4 种不同浓度的溴氰菊酯粉炮 30 d 校正效果在 47.4%~73.5%, 7 d 后没有再发现幼虫死亡。从效果比较看, 4 种浓度的溴氰菊酯粉炮, 头 3 d 林间杀虫效果较纯菌粉和菌药混合粉高, 7 d 后分别比混合粉效果低, 这可能是纯药粉粉炮防治, 药粉飘散距离有限, 无法均匀接触虫体, 导致幼虫死亡, 所以在虫口密度较大的林分, 单用纯菌粉或药粉粉炮防治都无法及时有效地控制住虫灾, 而菌药混合后, 能发挥生物、化学药剂双方的优点, 起到增效效应。

地面的温湿度有利于孢子侵入掉落在地上的若虫体, 加快了若虫的死亡速度, 到 7 d 时调查菌药混合粉防治小区地表及树上僵虫明显增多, 死虫僵虫率达 95% 以上。4 种浓度药粉与白僵菌的菌药混合粉防治, 到 30 d 平均防治效果较纯菌粉效果提高 5.2%~14.9%, 比同浓度纯药粉效果提高 23.4%~40.8%, 并以 D3+ B 增效作用最佳, 分别较纯菌粉效果提高 14.9%。

2.5 生产应用示范

1998 年, 将筛选的 Bh1 菌株提供福清、南安、林下等菌厂进行菌粉生产, 经生产观察, Bh1 菌株按常规工艺生产质量较稳定, 产孢能力强, 产孢量高, 成品率高, 经各厂菌粉质量检测, 平均含孢量在 186.3~228.4×10⁸个·g⁻¹之间, 平均孢子萌发率在 92.3%~96.8%, 1999 年 4—5 月, 生产的菌粉分别应用防治荔枝、龙眼基地的荔枝蚜, 每公顷用量在 30~45 个粉炮, 经渔溪、南安、林下等防治区效果调查, 平均防治效果达 89.6%。

3 小结和讨论

(1) 本研究从自然感染白僵菌的荔枝蚜上分离筛选出的 Bh1 菌株对荔枝蚜具有较高的毒杀力, 生

产性状表现优良, 易扩大培养生产, 产孢能力强, 可以在生产上大力推广。利用白僵菌防治荔枝蚜, 不污染环境, 对人畜无害, 可避免因长期施用化学农药杀灭果园有益天敌, 对保障荔枝、龙眼果树稳产高产具有促进作用。

(2) 荔枝、龙眼基地果树冠幅大, 枝叶茂密, 林内湿度适宜, 有利于白僵菌孢子的存活, 只要掌握在 4—5 月荔枝蚜孵化盛期, 结合有利天气施放白僵菌粉炮, 并准确掌握在 2~3 龄若虫期进行及时防治, 就可以取得较好的防治效果。如果在菌粉中加入微量农药, 可起增效作用, 而且效果更加稳定。若能在果园内连年使用白僵菌, 则有可能造成荔枝蚜白僵病的自然流行, 起到长期控制的作用, 应用前景乐观。

(3) 为把荔枝蚜的危害控制在经济允许之下, 可以因地制宜, 结合果园管理技术, 大力推广应用白僵菌防治荔枝蚜, 今后还需继续对荔枝蚜菌株的生物学特性、工业化生产和应用剂型、包装等深入研究。对该菌株在果园中的生态条件、流行病发生以及与其它生化制剂混用防治等有待于以后进一步试验研究。

参考文献:

- [1] 李运帷, 吕昌仁, 陶恒才, 等. 白僵菌的生产与应用[M]. 北京: 中国林业出版社, 1981
- [2] 蔡国贵. 马尾松毛虫白僵菌优良菌株的筛选及其应用研究[J]. 安徽农业大学学报, 1999, 26(增刊) 171~176
- [3] 刘世骥. 白僵菌生长性状及致病力比较试验[J]. 微生物学通报, 1979, 6(1): 19~20
- [4] 范弘达, 倪可儿. 白僵菌优良菌株的自然筛选[J]. 福建林业科技, 1991, 18(2) 42~49
- [5] 陈嘉文, 陈昌洁. DCPV-Bt 复合微生物杀虫剂研究初报[J]. 林业科学研究, 1993, 6(专刊): 118~121