

东北地区土壤中高毒力虫生真菌菌株的筛选

王 爽,李新民,刘春来,夏吉星,杨 帆,王克勤,刘兴龙

(黑龙江省农业科学院 植物保护研究所,黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要:为筛选具有应用价值的高毒力虫生真菌菌株,利用大蜡螟诱集土样中虫生真菌。结果表明:采自中国东北不同生态类型的36份土样中,每份土样3~4龄诱虫30头,14 d共有454头感菌,其中克东腾家围子地区土样感菌率最高达80%。虫尸上分离纯化出301份菌株,其中多数为白僵菌,极少数为绿僵菌及其它菌株。其中的41份菌株进行了桃蚜和小菜蛾的室内生物测定,每菌株浓度为 1.0×10^7 孢子 \cdot mL $^{-1}$,菌株JSJ-10、QG1-1、MBD-2、BEE-15、HYD-11、MLX-1和FN-9对桃蚜具高毒力,喷雾7 d后的校正死亡率分别为96.6%、96.6%、96.1%、93.2%、92.8%、87.6%和82.8%;而绿僵菌菌株WMS-12、MBD-1对小菜蛾具高毒力,浸后5 d试虫的校正死亡率分别为83.3%和69.3%。

关键词:大蜡螟;虫生真菌;桃蚜;小菜蛾;生物测定;白僵菌;绿僵菌

中图分类号:S473.12 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2015)01-0050-07 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2015.01.0050

虫生真菌是一种重要的生物防治资源,在农林害虫生物防治中发挥着巨大的作用,受到国内外生物防治界的广泛关注。用虫生真菌来防治害虫不仅持效期长、无残留、无公害、不伤害天敌、害虫不易产生抗性^[1-5],而且虫生菌具有可观的扩散效果^[4],较长的土壤宿存能力,独特的侵染方式(可通过寄主体壁侵染害虫)^[6],在防治森林害虫、刺吸式口器害虫和地下害虫上是其它微生物杀虫剂无法替代的。同时,虫生真菌也可通过寄主的消化道和呼吸道侵染害虫,因其独具的侵染方式,使之成为生物防治的首选因子。目前,全世界已知虫生真菌约100属,800余种^[4],近10年来,登记注册的杀虫真菌生防制剂已有60余个产品。我国20世纪70年代末始见一些专题研究,现已报道的虫生真菌已达400余种,其中开发应用的虫生真菌为20种,而仅有不足10个真菌农药的注册产品^[8]。研究表明,虫生真菌分布十分广泛,不同生境条件下分离获得的同一种类的菌株间在数量和致病性存在着显著差异。因此,开展虫生真菌种类资源及分布研究,对发现新资源、筛选高效、广谱生防菌株和生物制剂的开发具有十分重要的理论意义和应用价值。东北地区具有丰富的耕地和森林资源,然而,有关东北地区虫生真菌的种类及分布研究报道甚少。

本研究利用大蜡螟^[9]对东北不同生态类型的土壤虫生真菌资源进行诱集,并开展其对农业害虫桃蚜和小菜蛾致病性研究,以期筛选出具有应用价值的高毒力虫生真菌生防菌株,进一步为生物农药的开发和利用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试土样共36份,于2011年采集北安等地;供试昆虫:大蜡螟、桃蚜、小菜蛾;分离纯化培养基:PDA培养基;生测菌株:各地区诱集的昆虫病原真菌分离纯化后选1~2株共41株进行生物测定。

1.2 方法

1.2.1 菌株的分离及纯化 采集土样:采集土样1 000 g(其中森林土壤采集地表以下20 cm土样,其它类型土壤采集地表以下10 cm土样),置于4℃冰箱储存备用。

分装土样:将供试土样编号后,分装于市售的玻璃罐头瓶中,每个土样装1瓶,每瓶放入30头大蜡螟幼虫,摇动瓶子,使土样完全覆盖住大蜡螟,并用消毒后的喷壶喷入适量的无菌水,使土样的湿度接近饱和,然后扣紧瓶盖,在室温下保湿培养。14 d后观察记录僵虫数量。

分离纯化:利用单孢子分离技术从感染僵虫中分离纯化出昆虫病原真菌。

1.2.2 生物测定 1)昆虫的饲养:桃蚜采用室内盆栽水萝卜苗继代饲养。将桃蚜成蚜接在水萝卜苗上,待其繁殖、生长。做3%水琼脂平板,完全

收稿日期:2014-08-26

基金项目:黑龙江省农业科技创新工程资助项目

第一作者简介:王爽(1981-),女,黑龙江省哈尔滨市人,硕士,助理研究员,从事微生物农药、生物防治研究。E-mail:wslovegyn0@163.com。

凝固前将表面消毒处理的油菜叶贴于平板上,叶背朝上。用毛刷挑取水萝卜苗上的成蚜于平板叶背上,每皿 40 头,用保鲜膜封口,并用针刺穿保鲜膜,便于空气流通。24 h 后,将每皿内的成蚜挑出,留若蚜 48 h 后,将统一龄期的若蚜每 20 头放置一新的水琼脂平板内,进行毒力测定。

小菜蛾由中国科学院绿色生物技术有限公司提供虫卵,虫卵经油菜苗孵化后饲养至 2 龄备用。

2)孢子悬液的制备:先将保存在固体 PDA 斜面的菌株转接到内有灭菌的 PDA 固体培养基中活化培养,接种后置于 25℃生化培养箱中恒温培养 7 d。等到平皿中产生大量分生孢子后,刮取孢子粉并用适量吐温溶解于 0.003 mol·L⁻¹磷酸二氢钾缓冲液(含 0.02%润湿剂 TritonX-100)中,水溶液的体积视孢子粉的量而定。震荡得到孢子悬液。用血球计数板计数母孢子悬液的浓度,再用含 0.05%吐温-80 的无菌水溶液将母孢子悬液配成 1.0×10⁷孢子·mL⁻¹备用。

3)试虫处理:供试桃蚜采用标准喷塔法接种,将载有蚜虫的叶片培养皿平置于自动喷塔(Spray Tower, Burkard Scientific Ltd., Uxbridge, Middx, UK)的载物台(直径 11 cm,面积 95 cm²)上,在 6.5 kg·cm⁻²的喷雾压力下,将 3.0 mL吐温水(CK)或孢子悬液自喷头由上而下喷到载物台上,每处理 4 次重复。处理后置于(25±0.5)℃,L:D=16:8 的恒温培养箱中饲养。每天定时观察试虫,记录死虫数,并将死虫挑至平板边缘观察是否被侵染。一旦有新的若蚜产

生立即挑出,连续观察 7 d。

小菜蛾:将 2 龄小菜蛾幼虫分别在不同菌株 10⁷孢子·mL⁻¹孢悬液中浸 10 s,滤纸吸干后,放入盛有保湿滤纸的培养盒内,每天饲喂新鲜白菜叶片(25±0.5)℃,L:D=14:10 的恒温培养箱中饲养。每处理 10 头,重复 3 次,以 0.5%吐温-80 为对照。每天定时观察并记录小菜蛾的死亡情况。

2 结果与分析

2.1 昆虫病原真菌的诱集与分离

大蜡螟在各地区土样中感染僵死情况见表 1。36 个地区的土样中均诱集到了昆虫病原真菌,土样中昆虫病原真菌的总检出率为 100%,大蜡螟僵虫总检出数为 454 头,总僵虫率为 42%,其中北安等 13 个地区土壤中大蜡螟僵虫率达 50%以上,现已纯化出昆虫病原真菌 301 株,按各地区纯化菌株数量分别编号(1-X),如北安地区纯化出 10 株昆虫病原真菌,依次编号为 BA-1、BA-2、BA-3…BA-10,通过观察大蜡螟虫尸表面的菌丝及分生孢子形态,可以看出各地区土样中的昆虫病原真菌多数为白僵菌,少数为绿僵菌,还有一些个别的其它昆虫病原真菌。其中已鉴定的白僵菌菌株有 BA-11、GQS-5、JDBD-1、JSJ-10、KDT-22、KS-15、MLX-1、MS2-6、MY-7、ND-9、NS-1、QBD-16、YS-6、WX-8、YAYL-5、YS-2、LNX-1、WMS2-4、FN-9、BEE-15、YAJ-5、HT-7 和 WJ-5,总计 23 株,绿僵菌菌株 4 株分别为 LXXS-10、MBD-1、WMS-12 和 YS-3,桔青霉 1 株为 MLX-13。

表 1 不同地区土样中大蜡螟僵虫数量
Table 1 The cadaver number of *Galleria mellonella* larvae of soil samples from different ecotype areas

编号 Identification number	采集地点 Collection places	土壤类型 Soil type	僵虫数 Cadaver number	感菌率/% Percentage of susceptible
BA	北安	丘陵黑土大豆田(粘)	21	70.00
BEE	八五三二分场二队	黑土大豆田(粘)	16	53.33
BQL	拜泉龙家	黑土大豆田	11	36.67
FN	富裕农场	平原黑土(略黄)大豆田	23	76.67
GQS	格球山农场	平原黑土向日葵田(粘)	11	36.67
HT	哈尔滨糖研	平原黑土大豆田	10	33.33
HYD	虎林迎春大豆田	平原黑土大豆田	12	40.00
JDBD	鸡东宝山文旱处大豆田	平原黑土大豆田	7	23.33
JSJ	九三红五月农场	平原黑土大豆田	13	43.33
JSJ	九三尖山农场	平原黑土大豆田(粘)	19	63.33

续表 1
Continuing Table 1

编号 Identification number	采集地点 Collection places	土壤类型 Soil type	僵虫数 Cadaver number	感菌率/% Percentage of susceptible
JSN	九三嫩江农场	平原黑土大豆田	17	56.67
KDT	克东腾家围子	平原黑土大豆田	24	80.00
KS	克山西联乡	平原黑土大豆田	15	50.00
KSNC	克山农场	平原黑土大豆田	12	40.00
LNXY	辽宁岫岩兴隆镇试验田旁	山区半山区沙土大豆田旁	5	16.67
LXXS	辽宁岫岩兴隆镇试验田	山区半山区沙土大豆田	13	43.33
MBD	穆桂八面通大豆田	山区黑土大豆田	5	16.67
MLX	穆棱下城子镇山坡土	山区黑土大豆田	19	63.33
MPD	密山裴德镇大豆田	平原黑土大豆田(粘)	17	56.67
MS. 2	明水 2	平原黑土	11	36.67
MY	密山市玉米田	平原黑土玉米田	9	30.00
ND	讷河东兴村	平原黑土大豆田	17	56.67
NJ	讷河九井	平原黑土(粘)	10	33.33
NS	嫩江双山镇	平原黑土	6	20.00
QBD	七台河宝泉林场大豆地	林地黑土大豆田	16	53.33
QBD2	七台河北兴农场大豆田	平原黑土大豆田(粘)	6	20.00
QG1	青岗 1	丘陵黑土	13	43.33
WJ	五大连池景区	山坡黑土大豆田	21	70.00
WMS	牡丹江分院试验地	平原黑土	19	63.33
WMS2	牡丹江分院试验地 2	平原黑土	8	26.67
WX	五大连池新发镇	山坡黑土大豆田(粘)	13	43.33
YAJ	依安建明村	平原黑土	12	40.00
YAYL	依安依龙镇	平原黑土	5	16.67
YS	依安三兴镇	平原黑土	14	46.67
HB	虎林八五口农场	平原黑土大豆田(粘)	1	3.33
QTH	七台河宝泉林场	山地林地黑土(粘)	3	10.00
共计 Total			454	

各地区土样中大蜡螟诱虫数量为 30 头。
The number of *Galleria mellonella* larvae for baiting soil samples from different ecotype areas was 30.

2.2 生测结果

2.2.1 桃蚜 感染白僵菌和绿僵菌的蚜虫症状表现见图 1,感病初期蚜虫身体膨大,然后变僵。不久蚜虫体外触角尖和足尖上先出现白色菌丝

体,之后整个虫体均被白色菌丝覆盖,随后白僵菌侵染的蚜虫被白色或淡黄色的分生孢子覆盖,绿僵菌侵染的蚜虫被绿色的分生孢子覆盖,最后虫体被分生孢子和菌丝体完全覆盖。

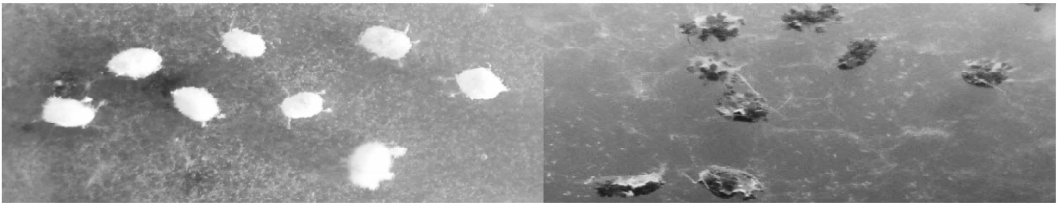


图 1 白僵菌和绿僵菌菌株侵染蚜虫后在死蚜虫体上的生长情况
Fig. 1 Growth of *Beauveria bassiana* and *Metarrhizium anisopliae* on dead green peach aphid infected by them

桃蚜接菌后累计校正死亡率见表 2,在菌液浓度为 1.0×10^7 孢子 \cdot mL⁻¹时,多数菌株都可以侵染桃蚜,接菌第 3 天部分处理的桃蚜出现了侵染症状,接菌第 6、7 天侵染效果明显的菌株处理的桃蚜开始大批量死亡,一半以上的菌株在接菌 7 d 后对桃蚜的累积校正死亡率达到 50% 以上,具有很好的防治效果。各菌株对若蚜的侵染

差异显著,接菌 5 d 菌株 MLX-1、HYD-11 对桃蚜的累计校正死亡率就达 50% 以上,显著高于其它菌株,接菌 7 d 菌株 JSJ-10、QG1-1、MBD-2、BEE-15、HYD-11、MLX-1、FN-9 对桃蚜表现出高毒力,防治效果分别为 96.6%、96.6%、96.1%、93.2%、92.8%、87.6% 和 82.8%,显著高于其它菌株。

表 2 各菌株对桃蚜若蚜的校正死亡率
Table 2 Corrected mortality of nymphal *Myzus persicae* of different strains

菌株 Strain	校正死亡率±SE/% Corrected mortality				
	第 3 天 The third day	第 4 天 The fourth day	第 5 天 The fifth day	第 6 天 The sixth day	第 7 天 The seventh day
BA-11	3.5±3.0 c	5.1±0.3 hi	8.7±3.2 jklmnop	5.2±5.1 qrs	7.0±2.6 klmn
BEE-15	1.6±2.8 c	6.6±5.7 ghi	36.9±12.1 def	66.0±1.8 bc	93.2±7.6 ab
BQL-3	0±0 c	0±0 i	−2±3.3 q	18.9±6.6 lmnop	20.8±7.9 jk
FN-9	1.6±2.8 c	5.0±5 hi	10.0±5 jklmnop	16.9±10.5 mnopq	82.8±7.3 abcd
GQS-5	0±0 c	1.7±3.0 i	7.5±2.6 lmnopq	26.5±3.8 jklm	55.3±11.4 gh
HT-7	3.3±2.8 c	3.3±2.8 i	1.4±3 opq	3.2±2.8 qrs	9.7±13.5 klmn
HYD-11	13.6±7.5 b	30.7±12.5 b	71.8±6 a	82.4±3.0 a	92.8±2.9 ab
JDBD-1	1.8±3.2 c	13.4±7.4 efgh	39.1±20 cde	54.5±25.8 cde	56.5±27.7 fgh
JSH-7	1.6±2.8 c	13.5±3.1 defg	25.4±5 gh	38.4±2.9 ghij	45.5±3 hi
JSJ-10	13.3±5.7 b	21.6±7.6 cd	28.3±10.4 efg	65.5±7.1 bc	96.6±5.7 a
JSN-10	0±0 c	3.4±2.9 i	5.6±0.8 mnopq	8.0±2.7 pqrs	12.7±8.9 klmn
KDT-22	0±0 c	5.0±0 hi	9.9±5.1 jklmnop	9.9±5.1 nopqrs	9.9±5.1 klmn
KS-15	10.1±0.3 b	15.1±4.7 def	27.1±2.5 fgh	57.8±4.6 cd	73.7±3.8 cde
KSNC-11	13.3±2.8 b	18.3±2.8 de	25.0±8.4 ghi	43.7±11.9 efgh	54.8±9.2 h
LXXS-10	0±0 c	0±0 i	−2.0±3.3 q	3.0±8.1 rs	13.2±10.5 klm
MBD-1	0±0 c	1.6±2.8 i	11.8±2.7 jklmno	12.1±2.5 nopqr	33.1±4.7 ij
MBD-2	12.9±7.1 b	14.5±8.3 defg	25.4±5.6 gh	49.9±2.6 defg	96.1±3.3 a
MLX-1	0±0 c	0±0 i	54.9±6.9 b	75.7±3.6 ab	87.6±3.1 abc
MLX-13	0±0 c	1.6±2.8 i	−0.2±0.3 pq	−0.2±0.3 rs	47.1±9.2 hi
MLX-19	0±0 c	0±0 i	−2.0±3.3 q	−2.0±3.3 s	6.4±3 klmn
MPD-8	0±0 c	5.0±5.0 hi	8.3±2.8 klmnop	30.8±4.4 hijkl	58.5±5.4 fgh
MS-2-6	0±0 c	0±0 i	20.4±4.8 ghij	41.1±4.3 fghi	57.4±7.5 fgh
MY-5	0±0 c	5.0±0 hi	20.1±0.3 ghijk	54.2±3.8 cdef	60.2±4.5 efgh
MY-7	0±0 c	5.0±5 hi	13.5±3.1 ijklmn	22.2±6 klmno	33.0±5.8 ij
ND-9	0±0 c	14.7±0.4 defg	29.9±1.3 defg	66.6±1.6 bc	76.1±2.6 cd
NJ-6	0±0 c	1.6±2.8 i	3.0±8.1 opq	4.7±10.4 qrs	18.5±7.7 kl
NS-1	12.7±4.2 b	12.7±4.2 efgh	18.1±7.2 ghijkl	33.1±6.8 hijk	70.2±4.3 def
NS-5	0±0 c	0±0 i	0±0 pq	55.0±6.8 cde	79.1±5.6 bcd
QBD-13	0±0 c	7.2±3.3 fghi	7.2±3.3 lmnopq	9.3±3.3 opqrs	11.1±5.1 klmn

续表 2

Continuing Table 2

菌株 Strain	校正死亡率/%±SE Corrected mortality±SE				
	第 3 天 The third day	第 4 天 The fourth day	第 5 天 The fifth day	第 6 天 The sixth day	第 7 天 The seventh day
QBD-16	0±0 c	0±0 i	0±0 pq	−3.8±3.2 s	34.4±6.1 ij
QBD2-5	3.6±3.1 c	3.6±3.1 i	5.2±9.6 mnopq	23.2±11.9 klmn	54.5±10.6 h
QG1-1	13.3±5.7 b	28.3±2.8 bc	40.0±5 cd	53.4±3.9 cdef	96.6±5.7 a
WJ-5	0±0 c	5±5 hi	5±5 mnopq	1.5±6.1 rs	50.7±8.1 h
WMS-12	1.6±2.8 c	1.6±2.8 i	−0.3±5.4 pq	−0.3±5.4 rs	−2.2±3.2 n
WMS2-4	0±0 c	0±0 i	−2.0±3.3 q	−2.0±3.3 s	−0.8±4.8 mn
WX4-2	3.3±2.8 c	5.0±5 hi	5.0±5.0 mnopq	10.2±4.7 nopqrs	12.1±2.5 klmn
WX-8	1.7±3.0 c	1.7±3 i	15.3±5.5 hijklm	12.2±6.3 nopqr	15.6±4.9 kl
YAJ-5	3.6±3.1 c	17.3±5.4 de	15.8±4.4 hijklm	28.2±10 ijklm	35.7±11 i
YAYL-5	0±0 c	7.6±4.1 fghi	11.6±2.0 jklmno	38.1±2.8 ghij	50.5±4.8 h
YS-2	22.4±2.5 a	41.1±8.3 a	47.9±10.8 bc	53.3±9.3 cdef	69.5±3.6 defg
YS-3	0±0 c	0±0 i	−2±3.3 q	3.3±3.3 qrs	5.0±5.3 lmn

2.2.2 小菜蛾 小菜蛾接菌后累计校正死亡率见表 3,在菌液为 1.0×10^7 孢子·mL⁻¹ 浓度下,接菌第 3 天部分菌株表现出很好的致病效果,其中菌株 WMS-12、LXXS-10 对小菜蛾的校正死亡率达 50% 以上,绿僵菌菌株 WMS-12、MBD-1、

YS-3、LXXS-10 对小菜蛾表现出很好的毒力效果,接菌第 5 天,对小菜蛾的累积校正死亡率分别为 83.3%、69.3%、57.7% 和 57.0% 显著高于其它菌株。

表 3 各菌株对小菜蛾的校正死亡率

Table 3 Corrected mortality of *Plutella xylostella* of different strains

菌株 Strain	平均校正死亡率±SE/% Corrected mortality		
	第 3 天 The third day	第 4 天 The fourth day	第 5 天 The fifth day
BA-11	3.3±5.8 efg	10.0±0 fghij	13.3±5.8 ghijklmn
BEE-15	0±0 efg	6.7±16 hij	3.3±12.5 klmn
BQL-3	10±0 defg	16.7±5.8 fghij	20.0±10 fghijklm
FN-9	−0.3±10.6 fg	9.7±18 fghij	13.7±10.8 ghijklmn
GQS-5	0±0 efg	17.3±6.5 fghij	39.0±6 cdefg
HT-7	3.3±5.8 efg	6.7±5.8 hij	30.0±10 defghij
HYD-11	3.3±5.8 efg	−0.3±10.6 j	20.7±27.6 fghijklm
JDBD-1	7.7±6.6 efg	8.0±18.1 ghij	8.3±16.8 ijklmn
JSH-7	0±0 efg	7.0±6.1 ghij	10.3±0.6 hijklmn
JSJ-10	7.0±6.1 efg	10.3±0.6 fghij	24.0±15.1 efghijkl
JSN-10	−1±21.8 fg	6.3±15.9 hij	9.7±18 hijklmn
KDT-22	3.3±5.8 efg	27.7±6.9 defghi	34.3±5.1 cdefgh
KS-15	32.7±19.9 bc	33.3±19.2 cdef	36.7±24.6 cdefg
KSNC-11	6.7±11.5 efg	30.0±8 defgh	47.0±14 bcde

续表 3

Continuing Table 3

菌株 Strain	平均校正死亡率±SE/% Corrected mortality		
	第 3 天 The third day	第 4 天 The fourth day	第 5 天 The fifth day
LXXS-10	56.7±5.8 a	55.3±5 abc	57.0±2.7 bc
MBD-1	35.0±14 bc	46.7±22.1 bcd	69.3±7.6 ab
MBD-2	3.3±5.8 efg	9.7±18 fghij	7.0±16.6 jklmn
MLX-1	10.0±10 defg	13.3±11.5 fghij	33.3±15.3 cdefghi
MLX-13	0±0 efg	6.7±16 hij	3.7±17 klmn
MLX-19	31.3±14.8 bc	31.7±23.8 defg	27.3±20.2 defghijk
MPD-8	0±0 efg	7.0±6.1 ghij	13.7±15.2 ghijklmn
MS2-6	27.0±28.6 cd	33.7±24.7 cdef	51.3±16.2 bed
MY-5	6.7±5.8 efg	14.0±12.2 fghij	13.7±13 ghijklmn
MY-7	3.3±5.8 efg	−0.3±10.6 j	−7.7±5.7 n
ND-9	0±0 efg	0±0 j	3.7±6.4 klmn
NJ-6	−0.3±10.6 fg	17.3±15.6 fghij	17.3±15.6 ghijklmn
NS-1	26.7±11.5 cd	33.3±5.8 cdef	46.7±5.8 bcde
NS-5	16.7±10.4 cdef	26.7±14.5 defghi	30.0±19.5 defghij
QBD-13	20.0±10 cde	43.3±5.8 bcde	56.7±11.5 bc
QBD-16	−3.7±6.4 g	−0.3±10.6 j	3.3±5.8 klmn
QBD2-5	3.0±12.2 efg	20.7±1.3 efghij	30.7±8.9 defghij
QG1-1	3.7±6.4 efg	0±11.1 j	−3.7±6.4 mn
WJ-5	0±0 efg	−3.7±6.4 j	3.3±5.8 klmn
WMS-12	60.0±10 a	73.3±5.8 a	83.3±5.8 a
WMS2-4	−3.7±6.4 g	3.3±5.8 ij	3.3±5.8 klmn
WX4-2	26.7±5.8 cd	27.3±4.5 defghi	44.0±10.8 cdef
WX-8	−0.3±10.6 fg	10.0±10 fghij	17.0±5.1 ghijklmn
YAJ-5	3.3±5.8 efg	9.7±18 fghij	10.7±11.1 hijklmn
YAYL-5	3.3±5.8 efg	3.7±6.4 ij	3.3±12.5 klmn
YS-2	3.3±5.8 efg	3.3±5.8 ij	−1.0±11.3 lmn
YS-3	47.7±13.5 ab	57.3±17.9 ab	57.7±18 bc

3 结论与讨论

各地区土样均诱集到虫生真菌,证明东北地区的土壤中广泛地存在虫生真菌,从 454 份感菌大蜡螟僵虫体表的分生孢子形态观察,大多是白僵菌,少数为绿僵菌,还有更少数的其它昆虫病原真菌。现已鉴定出菌株 BA-11、GQS-5、JDBD-1、JSJ-10、KDT-22、KS-15、MLX-1、MS2-6、MY-7、ND-9、NS-1、QBD-16、YS-6、WX-8、YAYL-5、YS-2、LNXY-1、WMS2-4、FN-9、BEE-15、YAJ-5、

HT-7 和 WJ-5 为白僵菌菌株,菌株 LXXS-10、MBD-1、WMS-12 和 YS-3 为绿僵菌菌株,MLX-13 为桔青霉。因数量大,只对 40 余份菌株做了细致的研究,筛选出对桃蚜和小菜蛾为靶标害虫的高毒力菌株,菌株浓度为 1.0×10^7 孢子 \cdot mL⁻¹ 时,菌株 JSJ-10、QG1-1、MBD-2、BEE-15、HYD-11、MLX-1、FN-9 喷雾 7 d 后对桃蚜的校正死亡率分别为 96.6%、96.6%、96.1%、93.2%、92.8%、87.6%、82.8%。菌株 WMS-12、MBD-1

对小菜蛾浸渍 5 d 后试虫的校正死亡率分别为 83.3%、69.3%，且发现高毒力菌株的产孢量也很高，多数达 1×10^{10} 个 $\cdot g^{-1}$ 以上，少数达 1×10^9 个 $\cdot g^{-1}$ 。

纯化菌株数量大，全部进行深入研究需要很长时间，因此只能研究一部分，现有条件只能从观察菌丝形态来对各菌株进行分类，达不到更细致的鉴定，生测试虫具有局限性，曾采集田间玉米螟老熟幼虫为生测对象，但因采集量少 300 头对个别菌株进行生物测定效果，但因数量需求大，只好换做购买人工饲养的玉米螟也做了一批实验，但效果均不理想，达不到防治指标，究其原因可能因为人工饲料玉米螟中含有防腐剂山梨酸抑制真菌的侵染，所以达不到生测目的。因实验室条件方便大批量饲养桃蚜和小菜蛾，所以采用这两种害虫作为靶标害虫，不同的病原菌对不同靶标害虫防治效果不同，还应进一步深入研究其它靶标害虫，东北地区土壤广泛含有昆虫病原真菌，且数量

庞大，更近一步的研究还需要一个漫长的过程。

参考文献：

- [1] 郭莉华,林华峰.微生物防治害虫研究进展[J].白蚁科技,2000,17(3):27-28.
- [2] 倪长春.利用昆虫病原微生物防治害虫的现状和展望[J].世界农药,2005,27(4):35-36.
- [3] 史清亮,孙树荣.生物农药的研究进展与发展对策[J].山西农经,2000(2):35-37.
- [4] 喻子牛.微生物农药及其产业化[M].北京:科学出版社,2000.
- [5] 张兴.生物农药概览[M].北京:中国农业出版社,2011.
- [6] 林华峰.虫生真菌研究进展[J].安徽农业大学学报,1998,25(3):251-254.
- [7] 张克勤,高松,刘杏忠.我国杀虫真菌的研究现状与展望[J].植物保护,1996,22(1):43-46.
- [8] 周燧,王中康,喻子牛.微生物农药研发与应用[M].北京:化学工业出版社,2006.
- [9] Siegfried Keller, Philip Kessler, Christian Schweizer. Distribution of insect pathogenic soil fungi in Switzerland with special reference to *Beauveria brongniartii* and *Metharhizium anisopliae*[J]. Bio Control, 2003, 48: 307-319.

Screening of High Virulent Strains of Entomogenous Fungi in Soil of Northeast China

WANG Shuang, LI Xin-min, LIU Chun-lai, XIA Ji-xing, YANG Fan, WANG Ke-qin, LIU Xing-long

(Plant Protection Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086)

Abstract: In order to screen high virulence fungus strains, using baiting soil samples with larvae of *Galleria mellonella*, thirty-six soil samples were collected from different ecotype areas in Northeast China. Each soil sample was baited with 30 larvae of third or fourth instar, fourteen days later, a total of 454 larvae which had been infected. The occurrence frequency of entomopathogenic fungi in high density area was 80% in Tengjia-weizi of Kedong county. There were 301 fungus isolated from the cadavers, most isolates were *Beauveria bassiana*, a little *Metarrhizium anisopliae* and others, there were 41 fungus isolated, they were tested under laboratory conditions against *Myzus persicae* and *Plutella xylostella*. Each isolate was bioassayed under the concentrated standard spray of 1.0×10^7 conidia $\cdot mL^{-1}$. Isolates of JSJ-10, QG1-1, MBD-2, BEE-15, HYD-11, MLX-1 and FN-9 were more virulent to *Myzus persicae*, causing a corrected mortality of 96.6%, 96.6%, 96.1%, 93.2%, 92.8%, 87.6% and 82.8% after spraying 7 d. As for *Plutella xylostella*, isolates of WMS-12 and MBD-1 which were *Metarrhizium anisopliae* were more virulent, causing a corrected mortality each of 83.3% and 69.3% after dipping 5 d.

Keywords: *Galleria mellonella*; entomogenous fungi; *Myzus persicae*; *Plutella xylostella*; bioassay; *Beauveria bassiana*; *Metarrhizium anisopliae*

(本文的作者还有邵天玉,单位同第一作者)