

# 利用金龟子乳状菌防治蛱螬

解思斌

王福万

高天祥

(山东省农业科学院植保所) (山东省荣城县农技站) (山东医学院电镜室)

我省东部沿海一带花生产区, 蛱螬危害严重, 轻者缺苗断垄, 重者秧苗成片死亡。金龟子幼虫——蛱螬的种类多、食性杂, 在田间危害期长。应用微生物防治蛱螬的研究工作, 国外已有三十多年的历史。

1940年, Dutky, S. R. 分离并描述了日本金龟芽孢杆菌(*Bacillus popilliae* Dutky)<sup>[1]</sup>(简称日本金龟乳状菌), 并进一步研究了蛱螬活体接种繁殖乳状菌的方法, 为田间防治创造了条件。1939年到1953年, 美国在十万多英亩土地上了进行了防治工作, 有效地控制了日本金龟子的危害, 成为生物防治史上利用昆虫病原菌防治害虫的成功事例之一<sup>[2]</sup>。

一些国家从金龟子科的幼虫中, 分离到六个种和二个变种<sup>[3]</sup>。我国对金龟子乳状菌的研究工作起步较晚。1977年秋季, 在我省烟台地区蓬莱县村里集公社自然感染乳状病的金龟子幼虫[暗黑鳃金龟(*Holotrichia morosa* Waterhouse)和棕色鳃金龟(*Eotrichia titanis* Reitter)]分离出两株乳状菌。在鉴定该两菌株的同时, 进行了致病力测定。试验表明, 新菌株对危害花生较严重的暗黑鳃金龟和棕色鳃金龟有较强的致病力。而日本金龟子乳状菌对铜绿丽金龟(*Anomala corpulenta* Motsch ulsky)有较强的致病力。现将三年来的研究结果简报如下。

## 一、乳状菌形态特征

从山东省蓬莱县花生地里采集的患乳状病幼虫, 具有典型乳状病症状, 病虫全身呈乳白色混浊, 三对胸足混浊不透明, 背血管及盲肠囊也被乳白色混浊物所掩盖。病虫行动迟缓, 对外界刺激不敏感。

棕色鳃金龟乳状菌(简称乳状菌1号)在显微镜下观察, 营养体长杆状, 大小为 $5.4 \times 0.9$ 微米, 单个或成对, 两端钝圆, 革兰氏染色阴性, 孢子囊纺锤形, 大小 $1.6 \times 5.6$ 微米, 芽孢椭圆形, 大小 $0.9 \times 1.9$ 微米, 前孢体近圆球形, 大小 $0.5 \times 0.5$ 微米。电镜观察, 乳状菌的孢子囊似足印形。超薄切片观察, 孢子囊包括椭圆形芽孢, 和近圆球形的前孢体(图1)。暗黑鳃金龟乳状菌(简称乳状菌2号)的形态特征, 菌体大小几乎

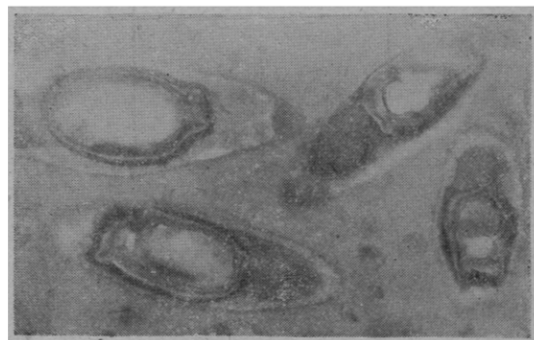


图1 乳状菌1号孢子囊超薄切片(20,000 $\times$ )

与乳状菌 1 号完全一样。乳状菌 1 号、2 号,与日本金龟乳状菌相比较,无论是营养体与孢子囊的大小、外部形态,以及孢子囊内孢子与前孢子大小比例都相似,而与当前各国报道的乳状菌类群其它种和变种,从形态上比较均有差别(见表 1)。

表 1 金龟子乳状菌形态比较

菌种产地	菌 种 名 称	菌体(不染色)大小(微米)		
		孢子囊	芽 孢	前孢子
美 国	<i>Bacillus popilliae</i> Dutky	1.6×5.5	0.9×1.8	0.5×0.5
瑞 士	<i>Bacillus fritourgensis</i> Wille	1.4×7.1	1.3×2.2	0.8×0.8
新 西 兰	New Zealand milky disease (Dumbleton)	1.5×5.0	0.9×1.8	0.9×0.9
美 国	<i>Bacillus lentimorbus</i>	1.0×3.5	0.9×1.8	无
澳 大 利 亚	<i>Bacillus lentimorbus</i> var. <i>australis</i>	1.0×3.5	0.9×1.9	无
澳 大 利 亚	<i>Bacillus euloomarachae</i>	0.7×3.2	0.2×0.4	无
美 国	<i>Bacillus lentimorbus</i> var. <i>Mayland</i>	0.7×2.8	0.1×0.3	无
山 东 蓬 莱	乳状菌 1 号	1.6×5.6	0.9×1.9	0.5×0.5
山 东 蓬 莱	乳状菌 2 号	1.6×5.6	0.9×1.9	0.5×0.5

二、病原性测定

金龟子乳状菌是专性病原菌,它只能在被感染的金龟子幼虫体进行营养生长和形成孢子。在人工合成培养基上不易生长,虽然国外已设计了用发酵罐大量繁殖营养体的工艺,但还不能形成大量的侵染性孢子。目前在乳状菌菌剂生产方面,仍然采用乳状菌注射法,使细菌在蛱蝶体内大量繁殖,然后将患病蛱蝶磨碎制成菌剂。

1. 注射感染: 用注射感染方法测定乳状菌 1 号和 2 号的致病力,用日本金龟乳状菌作对照。注射感染方法是将患乳状病的蛱蝶进行虫体消毒后,剪断第三胸足胫节,将乳白色体液与适量的 0.1% 蛋白胨液混合,制成菌悬液。

挑选三龄健壮无病的蛱蝶,用微量注射器进行注射感染,每头蛱蝶注射 3 微升,注入活孢子总数为  $1 \times 10^6$  个。注射后放在饲养罐中,并加入玉米粒、花生果、土豆块等饲料,在 26—28℃ 温室中培养。注射后第四天进行检查,挑出由于注射损伤致死的蛱蝶后,继续进行饲养观察。注射后第十天开始,每隔三天检查一次,统计感染率,实验结果见表 2。

由试验结果可看出,乳状菌 1 号和 2 号对暗黑鳃金龟和棕色鳃金龟致病力较强,对铜绿丽金龟致病力较弱。日本金龟乳状菌对铜绿丽

金龟有较强的致病力,但对暗黑鳃金龟和棕色鳃金龟致病力较差。

表 2 乳状菌不同菌株对蛱蝶致病力测定

供试菌株	供试蛱蝶虫种	供试虫数(头)	感染率(%)
乳状菌 1 号	暗黑鳃金龟	45	71.1
乳状菌 1 号	棕色鳃金龟	40	70
乳状菌 1 号	铜绿丽金龟	30	53.3
乳状菌 2 号	暗黑鳃金龟	40	72.5
乳状菌 2 号	棕色鳃金龟	50	82.5
乳状菌 2 号	铜绿丽金龟	50	22
日本金龟乳状菌	暗黑鳃金龟	30	65
日本金龟乳状菌	棕色鳃金龟	30	40
日本金龟乳状菌	铜绿丽金龟	74	89.2

2. 饲喂感染: 将患乳状病的蛱蝶体液,稀释后(每毫升含 50 亿个孢子)充分搅匀,在蛱蝶

表 3 乳状菌不同菌株饲喂感染比较试验

供试菌种	蛱蝶虫种	供试虫数(头)	发病虫数(头)	感染率(%)
乳状菌 1 号	暗黑鳃金龟	30	2	6.7
乳状菌 1 号	棕色鳃金龟	20	5	25
乳状菌 1 号	铜绿丽金龟	30	1	3.3
乳状菌 2 号	暗黑鳃金龟	20	2	10
乳状菌 2 号	棕色鳃金龟	20	3	15
乳状菌 2 号	铜绿丽金龟	30	0	0
日本金龟乳状菌	暗黑鳃金龟	30	4	13.3
日本金龟乳状菌	铜绿丽金龟	65	10	15.4
日本金龟乳状菌	四纹丽金龟	10	2	20

喜食的饲料上,均匀沾染菌液,凉干后放入饲养罐中,挑选2龄或3龄健壮幼虫,养于罐内,再覆盖湿土,在26—28℃温室中饲养。饲养14天后检查一次,以后每隔三天检查一次感染情况,30天以后统计感染结果(见表3)。

饲喂感染的感染率较低,各重复百分率也不够稳定,尚需继续研究提高感染率。

三、田间防治试验

从1976年春季开始,在山东省荣成县三个公社五个大队,用日本金龟乳状菌在十九亩花生田进行了防治试验。施菌方法是先将麦麸炒香,冷却后加乳状菌孢子粉300克(3亿孢子/克),再加适量细砂搅拌均匀,随花生播种时穴施。秋季进行田间防效调查,五个试验点,防治

效果平均66.9%,最高84.4%,最低49.3%。1977年继续用该菌进行田间防治试验,防治面积200亩,施菌方法改用乳状菌直接拌种处理。田间防治每亩用菌量为200克(3.7亿/克),防治效果平均46.6%,最高100%,最低—30.6%。

1978年春季应用乳状菌1号,在荣成县二个公社三个大队进行田间防治试验。采用菌剂拌种法,亩施300克(2亿孢子/克),防治效果平均23.4%,最高45.8%,最低2%。

为了确定合理用菌剂量,1977年春季用日本金龟乳状菌在荣成县两个大队,进行了不同剂量防治试验。按每亩施孢子粉(3.7亿孢子/克)100克、150克、200克、250克等四个剂量拌种。秋季进行田间防治效果调查,亩施150克以上都有一定的防治效果。1978年春季,在荣

表 4 乳状菌不同剂量防治蛴螬效果调查表

供试菌株	亩施菌量(克)	调查面积 (亩)	挖出蛴螬数 (头)	虫口减少率 (%)	抽 查 花 生 果			防治效果 (%)
					总果数	被害果	被害果率	
日本金龟乳状菌	100	0.01	25	-8.7	400	29	7.25	-11.5
	150	0.01	21	8.7	400	19	4.75	26.9
	200	0.01	11	52.1	400	10	2.5	61.5
	250	0.01	7	69.6	400	9	2.25	65.4
	对照(无处理)	0.01	23		400	26	6.5	
日本金龟乳状菌	100	0.01	20	39.3	500	38	7.6	-130
	150	0.01	1	78.8	550	7	1.3	60.6
	200	0.01	0	100	400	0	0	100
	250	0.01	4	89.9	550	7	1.3	60.6
	对照(施六六六)	0.01	33		450	15	3.3	
乳状菌1号	100	0.12	259	-5.3	2,765	67	2.42	42.2
	300	0.12	148	40.1	3,165	101	3.18	24.1
	500	0.12	141	44.2	2,294	86	3.75	10.1
	1,000	0.12	194	22.6	2,138	71	2.69	35.8
	对照(无处理)	0.12	246		2,650	111	4.19	
乳状菌1号	100	0.12	40	-60	1,499	8	0.54	56.1
	300	0.12	20	20	2,051	16	0.78	36.6
	500	0.12	17	32	1,192	15	1.26	-2
	1,000	0.12	13	48	1,477	11	0.74	39.8
	对照(无处理)	0.12	25		1,220	15	1.23	
乳状菌1号	100	0.08	19	-11.7	1,000	20	2	16.7
	300	0.08	13	13.5	1,000	33	3.3	-11.5
	500	0.08	7	18.9	1,000	13	1.3	45.8
	1,000	0.08	4	76.5	1,000	15	1.5	37.5
	对照(施六六六)	0.08	17		1,000	24	2.4	

成二个公社三个大队应用乳状菌 1 号进行不同剂量拌种的田间防治试验。按每亩施 100 克、300 克、500 克、1,000 克(均为 2 亿孢子/克)等四个剂量。试验结果,每亩用乳状菌 1 号制剂 300 克以上,都有较好的防治效果。与化学农药 6% 的六六六(1 公斤/亩)比较,一般好于六六六。防治结果见表 4。

试验结果看出,施菌量与防治效果在一定环境条件下成正相关。根据试验,每亩施菌量应不少于 1,000 亿个活孢子为宜。

#### 四、小结

乳状菌 1 号和 2 号是 1977 年秋季在我省筛选的新菌种,室内进行病原性测定,对暗黑鳃金

龟、棕色鳃金龟两种蛱蝶有较强的致病力。乳状菌 1 号在田间进行防治试验,有一定的压低虫口、保苗保果的作用。

乳状菌对蛱蝶的致病力与周围环境因子密切相关,特别是温度对乳状菌的致病力影响较大。室内注射感染试验和饲喂感染试验,在 26—30℃ 的条件下,感染率高,发病快,在 20℃ 以下,蛱蝶不易感染乳状病。

#### 参 考 文 献

- [1] Dutky, S. R.: *J. Agr. Research*, 61:57—61, 1940.
- [2] Norris, J. R.: *Microbes as biological control agents, Microbes and Biological Productivity*, Cambridge University Press, 1971, 129—229.
- [3] Steinkraus, K. H. and Toshiro: *Appl. Microbiol.*, 15:325—333, 1967.