

新的甲虫芽孢杆菌-鲁乳1号的研究*

宋协松 元树亮

(山东省花生研究所)

1977年9月16日,我们在山东省临沭县大蔡庄大队采到了自然感染乳状菌的大黑金色蛱螬,取其体内病原经多次注射喂食试验筛选出对大黑金龟蛱螬敏感的新菌系-鲁乳1号。并在1977—81年对该菌的形态、菌剂的生产、防治效果等方面进行了研究,现报道如下。

材料与方法

一、鲁乳1号菌的分离和致病率的测定

将蛱螬用清水洗净,于60℃水中浸5—6分钟,取出将菌血滴于载玻片上,制成血涂片备用。

1. 注射筛选: 将血涂片用酒精和水冲洗,放入装有0.1%胰化胨液的培养皿内,60℃水中活化20分钟,4000转/分离心15分钟,2—3次,计算含菌量。用微量注射器进行注射^[1]。28—30℃室内饲养,挑选发病快,致病率高的菌系反复提纯筛选。

2. 喂食筛选: 挑选致病快、症状明显的蛱螬,取其菌血制成菌剂。用2—3龄蛱螬3—5头,在昆虫饲养室内进行致病率测定,提纯筛选。

3. 盆栽试验: 用白瓷试验罐,每罐用25亿菌,沟施,播花生10粒,接大黑三龄幼虫10头,置室内40天后检查。

4. 水泥池试验: 每池长180,宽160,深100(厘米),用106.56亿菌,拌于切碎的油菜叶上撒于播种沟内,接大黑三龄幼虫180头,播30粒花生覆土,34天后检查致病率。

5. 田间小区试验: 面积0.006—0.01亩,挖排水沟,每区接虫180头。

6. 大田试验: 5月上旬每亩用2.5万亿菌,撒施花生播种沟内。夏末用花生地10亩,每

亩用2.5亿菌剂,花生收获时调查对产量的影响。

二、菌剂的制作方法

在室温26—28℃,让虫吞食菌剂,8天后加饲养马铃薯,20—25天后将芽孢成熟的病蛱螬集中一起,用同前处理法处理后,加水和吸附剂(甘薯粉)混匀,干燥后(每克含10亿芽孢菌)备用。

试验结果

一、鲁乳1号对大黑金龟蛱螬的致病率

1. 春季试验: 结果见表1,(1978—80年)。

表1说明鲁乳1号菌系对大黑金龟蛱螬均有较高的致病率。

2. 夏秋季试验: 结果见表2。

表2说明,在花生生长期施用该菌剂,对各龄幼虫均可致病,尤其对低龄幼虫,因虫小、气温高,病虫死亡快。因此用菌剂防治低龄蛱螬有较好效果。

二、鲁乳1号病原菌形态和生活史

1. 形态: 营养体是短杆状,长×宽=3.9(2.3—5.0)×0.5(0.3×0.7)微米。孢子囊似履状,有单链和双链,一端钝圆、一端稍尖。孢子囊的一端或两端有折光强的伴孢体,单伴孢体较多,占80—90%。双伴孢体较少,占10—20%。孢子囊大小为3.2(2.31—4.2)×0.8(0.6×0.9)微米,单伴孢体0.8(0.8—0.84)×0.5(0.4—0.7)微米,比双伴孢体要大些。但双伴孢体大小也不一样0.6(0.4—0.6)×0.6(0.4—0.7)微米和0.5(0.4—1.15)×0.4(0.4—0.6)微米,芽

* 本文承杨明华同志指导;胡宝珏、黄玉璋、徐秀娟、张孟先、陈培军、郝兴芳、吕国华参加部分工作;有关县、社、队大力支持,一并致谢。

表 1 鲁乳 1 号对三龄大黑金龟蛴螬的致病率

处 理	结 果 项 目	总虫数 (头)	病虫数 (头)	致病率 (%)	致病幅度 (%)	备 注
注射菌剂		1270	823	64.8	39.9—94.8	
喂菌剂(罐头瓶)		1016	689	65.6	38.9—100.0	室内 67.8
喂菌剂(大罐)		177	82	45.5	32.8—59.8	46.3
水 泥 池		36	18	50.0	50.0	
小 区		54	20	36.0	30.8—37.7	室外 37
大 面 积		108	41	37.96	25.0—64.71	

表 2 鲁乳 1 号对大黑金龟幼虫田间试验结果

试 验 地 点	结 果 项 目	面积 (亩)	调查面积 (米 ²)	果率 (%)	防效 (%)	残虫数 (头/米 ²)	虫口减退率 (%)	亩产量 (斤/亩)	增产 (%)
蓬莱县邓格庄		3.5	6	20.3	72.4	10.5	80.2	426.7	155.9
对照		0.2	3	73.5	—	53.0	—	166.7	—
胶南县辛庄		3.0	9	50.2	43.1	13.2	47.2	186.7	143.4
对照		0.2	4	88.3	—	25	—	76.7	—
乳山县		3.5	4	15.2	82.8	14.0	84.1	773.3	126.3
对照		0.2	2	88.4	—	88.0	—	341.7	—

孢大小为 $1.4 (1.15-1.7) \times 0.7 (0.46-0.8)$ 微米。

2. 生活史: 寄主吞食孢子后, 首先在肠道内萌发, 侵入中肠后进一步繁殖, 再侵入血腔。菌在血腔内的发育大体分四个时期^[1] ①芽孢萌发期: 芽孢萌发失去折光而膨大, 此时血淋巴透明, 时间 2—3 天。②营养体增殖期: 营养体大多为单链或双链, 此时血淋巴混浊, 病状可辨,

需 6 天左右 (见图 1-1, 2)。③伴孢体形成期: 此时菌体膨大, 有长尾巴并出现微弱折光的芽孢和伴孢体 (见图 1-3), 病状较明显, 约 12 天左右。④芽孢成熟期: 血淋巴中充满了具有折光性强的芽孢和伴孢晶体 (见图 1-4, 5, 6), 血淋巴呈牛乳状, 幼虫随之死亡, 约需 25—30 天。一头染病三龄幼虫, 可含孢子 8×10^9 , 多达 11×10^9 。其寄主范围及试验结果见表 3。



图 1 芽孢形成过程

表3 用鲁乳1号饲喂不同种类蛱螬的结果

结 果 名 称	总虫 数(头)	患病 数(头)	患病率 (%)	患病幅度 (%)	校正患 病率 (%)	备注
大黑鳃金龟	56	34	60.71	40.91—80.0	57.14	自感
对照	12	1	8.3			
黑皱鳃金龟	56	19	33.93	15.4—66.67		自感
蒙古丽金龟	55	2	3.64			
棕色鳃金龟	57	2	3.51			自感
暗黑鳃金龟	17	0				
铜绿丽金龟	41	0				
毛棕鳃金龟	40	0				
方斑鳃金龟	23	0				

表3说明,大黑金龟蛱螬是易感染虫种,其次是黑皱鳃金龟,其它病虫则不被感染。

三、鲁乳1号的生物学特性

鲁乳1号菌在1.5%酵母膏、0.3% K_2HPO_4 、3H₂O、0.2%葡萄糖、2%琼脂培养基上,28—30℃培养,菌落圆形乳白色,大小为 0.7×0.3 厘米。2天后即可见到双链短杆状营养体,但只有少数能发育成芽孢。革兰氏反应和过氧化酶反应均为阴性。

试验表明患病蛱螬死亡的快慢与温度有密切关系,土壤温度在18℃以下未见感病,其患病最适温度为28℃。温度低时蛱螬能带病越冬,存活200余天,温度高时10—15天蛱螬可死亡,幼龄虫死亡快,3龄虫死亡慢。

四、菌剂效果与施用技术的关系

试验证明以甘薯干粉做吸附剂,菌剂应用效果最好。如以甘薯干粉做吸附剂,其致病率为65.45%,而细粘土为10.87%,硅藻土为14.85%,滑石粉为15.38%, $CaCO_3$ 为9.8%。

用菌剂拌土做饵料,其致病率为63.19%,而拌油菜叶为70.85%,拌麦麸为56.3%,拌豆饼类为58.08%,拌甘薯丝为71.25%,拌萝卜丝为43.04%,拌菠菜叶为57.08%,菌液直接浇沟为70.64%,菌剂墩施为56.51%。但用菌粉拌花生种,其致病率为13.36%,效果最差。试验说明在蛱螬食入100—9000个菌时,其致病率为16.0%,食入1—200万个菌为16.2%,食入300—400万个菌为30.2%,食入500—5000万

个菌为34.19%。在田间每亩施用500亿个菌,其致病率为4.4%,5000亿个为7.8%, 10^4 亿个为17.9%, 3×10^4 亿个为26.1%,实际应用说明以每亩施用2.5—3万亿个为宜。

讨 论

研究中发现,鲁乳1号菌系与日本甲虫芽孢杆菌有相同之处,但也有一些不同,见表4。鲁乳1号菌系的病原孢子囊大,有些具有双伴孢体,对大黑金龟蛱螬特别敏感,而对蒙古丽、铜绿丽蛱螬不感染。日本甲虫芽孢杆菌的孢子囊较鲁乳1号菌系小,无双伴孢体,对大黑金龟蛱螬不感染,而对蒙古丽、铜绿丽特别敏感。它们的主要相同点均具伴孢体。目前多数学者都同意将有伴孢体的乳状芽孢杆菌归为日本甲虫芽孢杆菌,但设立变种^[1]。鉴于鲁乳1号与日本甲虫芽孢杆菌有明显区别,故定为日本甲虫芽孢杆菌的变种(*Bacillus popilliae* var. Shandong)。目前,尚不能用人工的方法生产鲁乳1号菌剂,但采用饲喂菌剂法生产菌剂获得了成功,此法简单、有效,适合农村使用。

表4 鲁乳1号与日本金龟乳状菌之比较

主要内容		鲁乳1号	日本金龟乳状菌
病原形态	孢子囊大小(微米)	3.094×0.803	2.449×0.836
	芽孢大小(微米)	1.411×0.693	1.193×0.762
	A伴孢体大小(微米)	0.716×0.547	0.585×0.578
	B伴孢体大小(微米)	0.539×0.433	无
对寄主反应	菌液注射大黑蛱螬致病率(%)	65.10	14.5
	菌剂喂食大黑蛱螬致病率(%)	76.40	0
	菌液注射蒙古丽蛱螬致病率(%)	0	61.5
	菌液注射铜绿丽蛱螬致病率(%)	0	30.6
革兰氏		阴性	阴性
过氧化氢酶		阴性	阴性
发现地点		中国山东临沭大蔡庄	美国

参 考 文 献

- [1] 杨明华: 乳状菌研究的有关问题, 微生物学通报, 7(3): 129—132, 1980。