

四株昆虫病原芽孢杆菌的鉴定和毒效测定*

黄健屏

(中南林学院,湖南溆浦)

梁子超

(华南农学院,广州)

1973年,我们在广州市郊区、广东省德庆县、高要县等地进行马尾松毛虫(*Dendrolimus punctatus*)的天敌调查时,从分离到的50余个菌株中,得到4株含伴孢晶体的芽孢杆菌,编号为1-(1)、6-(2)、11-(5)、9-(2)。经生化鉴定初步表明:1-(1)菌株属于苏芸金杆菌蜡螟变种(*Bacillus thuringiensis* var. *galleriae*),6-(2)菌株为苏芸金变种(*B. T.* var. *thuringiensis*),9-(2)和11-(5)菌株的归属尚未明确。4株菌在室外进行毒效比较试验中都表现出较高的毒力;在毒效试验中,还观察了各菌对供试虫的致死高峰期和致死的最短时间。试验情况简报如下。

一、菌株的培养性状和形态特征

4株芽孢杆菌的营养体为杆状,大小约为0.8—1.25微米×2.25—3.5微米。革兰氏阳性,好氧。生长适温为28—34℃。芽孢椭圆形,形

成初期位于中央稍偏端。芽孢大小:6-(2)菌株为0.6—0.8微米×1.4—1.6微米;9-(2)菌株为0.65—0.85微米×1.2—1.6微米;1-(1)和11-(5)菌株为1.0—1.2微米×1.4—1.7微米;伴孢晶体呈菱形。1-(1)菌株形成晶体较多,6-(2)菌株生长较快,菌苔有明显皱纹,产生晶体较少。

二、菌株的生化反应

4个菌株同已知近似变种的标准菌株对比测定表明:1-(1)菌株的生化反应与蜡螟变种相符,组菌膜的产生,淀粉水解等性状略有差异;6-(2)菌株与苏芸金变种基本相符,但VP反应明显地比苏芸金变种强;9-(2)与11-(5)菌株与De Barjac和Bonnetol所列检索表中的任何一个变种均不相符(表1)。由此看来,从马尾松毛虫的病原菌中,有可能分离到苏芸金杆菌的新变种。

表1 4株芽孢杆菌与已知近似变种生化反应比较

菌株	VP 反应	卵磷 酯酶	水杨苷 水解	色素 产生	明胶 液化	蔗糖 水解	淀 粉 发 酵	甘露糖 水解	菌 膜 产 生	尿 素 酶	七叶 灵	牛乳 反 应	纤 维 二 糖
苏芸金变种	++	±	+	-	++	+	+++	+	++	-	++	+++	-
蜡螟变种	+	-	+	-	++	-	+++	-	++	+	++	++	-
松琥变种	+++	+	-	-	++	-	+	-	-	-	+	++	-
1-(1)	+	-	+	-	++	-	+	-	+	+	++	++	-
6-(2)	+++	±	+	-	++	+	+++	+	++	-	++	+++	-
9-(2)	+	+	+	-	++	-	++	-	+	-	++	++	-
11-(5)	+	+	+	-	++	-	++	-	+	-	++	++	-

注:“-”表示阴性反应;“±”表示反应结果不定;“+”、“++”和“+++”表示由弱到强的不同程度的阳性反应。

三、毒效测定

(一) 室内测定

供试菌株中除分离到的4株外,还有青虫菌、松毛虫杆菌(湖南省微生物研究所提供)、蜡螟菌和7216菌(*B. T.* var. *tianmensis*) (中国科

学院微生物研究所提供)。

供试昆虫:马尾松毛虫(3—4龄)、油茶毒蛾(*Euproctis pseudoconspersa*) (3—4龄)、乌桕毒蛾(*Euproctis bipunctapex*) (2龄眠期)。

* 室外毒效测定得到广东、湖南各有关单位的大力协助。

逐日检查死虫数,7日后计算致死率,试验结果表明:所有的试验菌株对马尾松毛虫、油茶毒蛾都有较高的毒效,以6-(2)菌株的毒效

最高;9-(2)菌株对乌柏毒蛾毒效较高,优于其它各试验菌株(表2)。

表2 数种苏芸金杆菌对三种松树害虫的室内毒效比较

供试菌	马尾松毛虫				油茶毒蛾				乌柏毒蛾			
	供试虫数 (头)	菌液浓度 (亿/毫升)	死虫数 (头)	死亡率 (%)	供试虫数 (头)	菌液浓度 (亿/毫升)	死虫数 (头)	死亡率 (%)	供试虫数 (头)	菌液浓度 (亿/毫升)	死虫数 (头)	死亡率 (%)
1-(1)	193	2.5	150	77.7								
6-(2)	182	2.8	179	98.4	1671	2.3	1633	97.8	276	2.0	145	52.5
9-(2)	181	2.0	126	96.6	2616	2.1	247	92.4	381	1.9	279	73.2
11-(5)	191	3.1	131	68.6	1230	2.7	1114	90.6	418	2.3	182	43.5
青虫菌	179	2.8	70	39.1	350	3.0	283	80.7				
松毛虫杆菌					300	2.6	260	86.6		215	2.2	95
蜡螟杆菌										235	2.3	113
7216菌										332		48.1
对照	119		5	4.1	434			22	5.8		0	0

(二) 室外测定

供试菌种与室内测定同。供试昆虫为马尾松毛虫、油茶毒蛾、乌柏水青蛾(*Actias selene*)、樟叶蜂(*Argo* sp.)。

对马尾松毛虫幼虫应用1-(1)、6-(2)、9-(2)等菌株进行液剂喷雾,毒效均高于同剂量的青虫菌,尤以6-(2)菌株效果为好。6—7天内可使林地虫口密度下降80%以上,杀虫效果最高可达90%。对油茶毒蛾的毒效比较试验中,以9-(2)菌株为最高,致死率达99.1%。对乌

柏水青蛾的毒力也以6-(2)、9-(2)菌株最高(表3)。4个菌株对樟叶蜂均无毒效。

在用湖南省微生物研究所生产的6-(2)菌粉剂(100亿孢子/克)防治松毛虫试验中,试验面积3亩,用药量为1.5公斤/亩,7天后药效调查表明:松毛虫1—2龄幼虫平均致死率为76.7%,3—4龄幼虫为45.8%,5—6龄幼虫为39%,如喷粉两次,7天后松毛虫幼虫死亡率可达86%。两个月后,喷粉两次的试验区很少见到虫茧。

表3 数种苏芸金杆菌对三种害虫的室外毒效测定*

供试菌	马尾松毛虫				油茶毒蛾				乌柏水青蛾			
	供试虫数 (头)	菌液浓度 (亿/毫升)	死虫数 (头)	死亡率 (%)	供试虫数 (头)	菌液浓度 (亿/毫升)	死虫数 (头)	死亡率 (%)	供试虫数 (头)	菌液浓度 (亿/毫升)	死虫数 (头)	死亡率 (%)
1-(1)	945	1.8	754	79.6								
6-(2)	1460	1.9	1335	91.4	1597	1.2	1424	89.2	165	1.3	165	100
9-(2)	876	2.3	667	76	1477	1.3	1464	99.1	161	1.2	158	98.4
11-(5)					1504	1.2	1126	74.9				
青虫菌	1025	2.3	767	74.8								
7216					1098	1.1	581	52.9	100	1.2	75	75
蜡螟菌					1252	1.2	1093	87.3	222	1.3	215	96.8
对照	524		63	12	847		6	0.7	85		4	0.5

* 试验林地因虫口密度低,故采用人工方法将害虫集中于处理树上。

在以后的小面积(5—10亩)和大面积试验中,对3—4龄松毛虫幼虫防治效果为58—87%,

对5—6龄幼虫为43—55%。

四、几种害虫死亡时间的测定

使用 6-(2)、9-(2) 菌株斜面培养物制成的菌液(1—4 亿孢子/毫升), 喷叶风干后饲虫, 每 2—4 小时观察一次, 在对 11 种害虫的致死最短

时间试验中表明: 6-(2)、9-(2) 菌株在 28 小时内均可致死试虫, 对臭椿皮蛾等 3 种害虫可在 4—6 小时之内致死(表 4), 其应用前景是较为理想的。

表 4 6-(2)、9-(2) 对 11 种害虫幼虫的最短致死时间

供 试 昆 虫	虫 龄	最短致死时间(小时)		气 象 条 件	
		6-(2)	9-(2)	温 度(℃)	相 对 湿 度(%)
马尾松毛虫	6	16—20	18—20	32.5	75
油茶毒蛾	5	6—8	6—8	30.5	60
臭椿皮蛾 (<i>Eligma narcissus</i>)	5	4—5	6	30	85
樗蚕蛾 (<i>Samia cynthia</i>)	5	8—10	10	27	88
乌桕水青蛾	6	12—14	12—14	32	68
油茶尺蠖 (<i>Biston marginata</i>)	4	20	18—20	28.5	85
甘蓝天蛾 (<i>Herse convolvuli</i>)	5	10	12	29	98
樟蚕 (<i>Dictyoprocta japonica</i>)	4	16—18	16—18	30	85
油茶毛虫 (<i>Lebeda nobilis</i>)	5—6	6—8	10—12	30	64
玉带凤蝶 (<i>Papilio polytes</i>)	4—5	12—14		28	75
乌桕毒蛾	2—3	24—28	18—20	21—27	62—5