

DOI:10.11937/bfyy.201701030

天山野苹果林苹果小吉丁虫生真菌调查

孔婷婷, 刘爱华, 岳朝阳, 张静文

(新疆林业科学院 森林生态研究所, 新疆 乌鲁木齐 830000)

摘要:以天山野苹果林苹果小吉丁虫为调查对象,采用野外调查、采样和室内分离、鉴定相结合的方法,研究了天山野苹果林苹果小吉丁虫的危害程度及其虫生真菌的种类。结果表明:新源县苹果小吉丁虫口密度为 $0.76 \text{ 头} \cdot \text{m}^{-1}$,巩留县为 $2.72 \text{ 头} \cdot \text{m}^{-1}$;导致苹果小吉丁虫死亡的原因排序为物理致死>天敌寄生>真菌侵染>其它;从56份样本中分离得到41株真菌,隶属于4目7属,其中曲霉属(*Aspergillus*)和链格孢属(*Alternaria*)真菌数量最多;不同季节样本中都分离到了虫生真菌,夏季得到的真菌种类和数量最多。天山野苹果林苹果小吉丁虫中存在一定数量的虫生真菌,应将虫生真菌作为苹果小吉丁虫生物防治的新方法,进行更加深入的研究。

关键词:野苹果;苹果小吉丁虫;虫口密度;虫生真菌

中图分类号:S 436.611.2⁺9 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2017)01-0138-04

苹果小吉丁虫(*Agrilus mali* Matsumura)又名串皮虫、串干皮,属于果树毁灭性害虫,其幼虫在树干皮内取食,严重可造成果树枯死^[1-2]。自1995年新源县高潮牧场首次发现苹果小吉丁^[3]以来,已对野果林造成严重危害,野苹果种质资源生存受到严重威胁。2014年伊犁州苹果小吉丁发生面积 $4.65 \times$

10^3 hm^2 ,其中野苹果林发生面积 $4.36 \times 10^3 \text{ hm}^2$ 。目前国内对苹果小吉丁防治主要采用化学防治^[4]的方法,容易造成农药残留、环境污染、生物多样性破坏等诸多问题。国内外学者在利用植物提取物、昆虫天敌^[5-6]等方法防治苹果小吉丁虫方面也进行了诸多有益尝试,但多处于试验研究阶段,在生产中成功防治的实例尚少。

虫生真菌是一类能寄生在昆虫体表和体内的真菌。狭义上是指能侵入昆虫体内寄生、使昆虫发病致死的真菌。世界上已记载的虫生真菌约100属1000多种,中国已报道的达405种^[7]。虫生真菌是昆虫病原微生物中的最大类群,据野外调查越冬昆虫发现,昆虫疾病中约有60%是由真菌引起的^[8]。因此,虫生真菌以其种类多、安全有效、容易大量生产等优点,在害虫生物防治中占有重要地位,现已受

第一作者简介:孔婷婷(1985-),女,新疆石河子人,硕士,助理研究员,现主要从事森林病虫害防治等研究工作。E-mail: 55312984@qq.com.

基金项目:新疆维吾尔自治区公益性科研院所基本科研业务经费资助项目(KY201513, KYGY2016069);新疆维吾尔自治区科技攻关资助项目(201331124);林业公益性行业科研专项资助项目(201404403);国家自然科学基金委员会(NSFC)-新疆联合基金资助项目(U1503102)。

收稿日期:2016-09-29

Abstract:Single control method can not effectively control *Batocera horsfieldi* population within the scope of accreditation, fail to control the target. Measures for walnut tree of *Batocera horsfieldi* prevention and control, in the cultivation of walnut trees early should strengthen the walnut seedling quarantine, building high quality nursery resources, breeding resistant varieties and cultivation of scientific, strengthen silvicultural measures of management, to release *Batocera horsfieldi* insect natural enemies of *Dastarcus* and screening of dominant bacteria for spraying and biological control, auxiliary artificial insect, smashing eggs in larvicidal etc., as little as possible with or without the use of chemical control, and ultimately achieved the sustainable control of *Batocera horsfieldi*.

Keywords: comprehensive prevention and control; biological control; artificial; *B. horsfieldi*; prevention and control measures

到越来越多研究者的重视,并取得了显著成效^[9-11]。已经商品化生产的虫生真菌有链壶菌、球孢白僵菌、布氏白僵菌、金龟子绿僵菌、玫烟拟青霉和蜡蚧轮枝孢等,在害虫防治中有良好的防治效果^[12]。目前,国内尚鲜见对苹果小吉丁虫生真菌的研究,该研究以苹果小吉丁虫为研究对象,研究了苹果小吉丁虫生真菌的大致种类和分布,以期对苹果小吉丁虫的生物防治提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 调查地概况

调查地位于伊犁州新源县阿勒玛勒乡和巩留县库尔德宁镇。阿勒玛勒乡位于新源县城东南 21 km 处,东南环山,东高西低,平均海拔 1 818 m,属大陆性半干旱气候。无霜期 145~165 d,年降雨量 500 mm,年日照率 61%,南山逆温带拥有亚洲最大的约 $6.67 \times 10^3 \text{ hm}^2$ 野生果林。

库尔德宁镇位于巩留县东南部山区,平均海拔 2 000 m,属山地高寒气候,年均气温 7.4°C ,无霜期 150 d 左右,年均降水量 200~780 mm。

1.2 试验方法

1.2.1 样品采集 在新源县阿勒玛勒乡和巩留县库尔德宁镇各设置 5 个调查样地,样地大小为 0.3 hm^2 ,样地内野苹果树不少于 50 株,在样地中采用“Z”字型或隔几株树选一株标准株的方法,选取 10 株野苹果树,在每样株东、南、西、北 4 个方位各选取 1 根主枝,分别于 2015 年 5、7、9 月将树枝有苹果小吉丁为害症状的树皮剥开,查看苹果小吉丁虫是否被真菌侵染,统计体表覆盖菌丝的幼虫、成虫,将采集到的被真菌侵染的苹果小吉丁虫放入指形管,贴好标签后带回室内;并详细记录每株树的树高、胸径、调查枝条长度、粗度以及野苹果树受害等级,受害等级划分参考 WARGO^[13] 的方法。

1.2.2 虫生真菌的分离纯化 采用常规组织分离法对采集到的苹果小吉丁虫样本进行分离。①将体表覆盖菌丝的苹果小吉丁虫放入 75%乙醇中浸泡消毒 5 s,用无菌水漂洗 3~5 次,之后用灭菌的滤纸吸干虫体表面水分,将其分成 2~3 小块,移植到准备好的 PDA 平板上,置于 25°C 下恒温培养;②用接种环直接挑取虫体上的菌丝,接种到准备好的 PDA 培养基中央,置于 25°C 下恒温培养。纯化:用接种环在菌落边缘挑取尖端菌丝体,移植到新的 PDA 平板中央,直至得到纯化的典型菌落,保存备用。

1.2.3 真菌的鉴定 采用形态学和分子生物学相结合的方法。依据各菌株的培养特性、形态特征等将菌株鉴定到属;将真菌作为材料,参照 QIAGEN 公司

(QIAGEN,北京)真菌基因组 DNA 提取方法,提取基因组 DNA 作为 PCR 扩增模板。采用菌种鉴定通用引物(ITS1: $5'-\text{TCCGTAGGTGAACCTGCGG}-3'$ 和 ITS4: $5'-\text{TCCTCCGCTTATTGATATGC}-3'$)进行 PCR 扩增,胶回收后测序,所得序列通过 GenBank(NCBI) blast 搜索同源序列。

1.3 项目测定

测定苹果小吉丁虫口密度、死亡率及真菌出现频率,虫口密度=检出虫口数/调查枝条中长度;死亡率(%)=调查死亡的虫口数/调查虫口总数 $\times 100$;真菌出现频率(%)=分离到该菌的材料数/处理材料总数 $\times 100$ 。

1.4 数据分析

试验数据采用 Excel 2010 和 SPSS 19.0 软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 苹果小吉丁的虫口密度

由表 1 可知,新源县苹果小吉丁的虫口密度在 $0.41 \sim 1.04 \text{ 头} \cdot \text{m}^{-1}$,选择的 5 块样地中,样地 3 和样地 4 虫口密度间差异显著,其余样地虫口密度差异不显著;巩留县苹果小吉丁虫口密度在 $1.74 \sim 3.94 \text{ 头} \cdot \text{m}^{-1}$,样地 8 和样地 10 的虫口密度间差异显著,其余样地间无显著性差异。总的来看,巩留县苹果小吉丁虫口密度高于新源县,2 个县间存在显著或极显著差异,并且巩留县野苹果树受害等级也高于新源县。

表 1 研究区苹果小吉丁虫口密度

Table 1 Population density of *Agrilus mali* Matsumura in the study area

地区 Region	样地号 Sample number	海拔 Altitude /m	树高 Height of tree /m	胸径 Breast diameter /m	虫口密度 Population density /(头 $\cdot\text{m}^{-1}$)	野苹果树 受害等级 Injured degree
新源县	1	960	10.13	0.40	0.89ab	II
	2	1 180	10.15	0.38	0.90ab	II
	3	1 270	10.05	0.36	1.04a	III
	4	1 310	10.25	0.39	0.41b	II
	5	1 170	8.96	0.39	0.51ab	II
	平均值	1 178	9.91	0.38	0.76Bb	II
巩留县	6	1 170	10.0	0.37	2.34ab	III
	7	1 290	10.2	0.51	2.59ab	III
	8	1 350	8.3	0.47	1.74b	II
	9	1 290	7.75	0.35	3.27ab	III
	10	1 310	9.7	0.56	3.94a	IV
	平均值	1 282	9.19	0.45	2.72Aa	III

2.2 苹果小吉丁虫死亡率调查

经调查,新源县和巩留县野苹果林的苹果小吉

丁的成虫从羽化孔钻出前,死亡原因主要有天敌寄生、真菌侵染、物理致死(因羽化孔较小,成虫未能顺利爬出而导致的死亡)等。由表2可知,新源县苹果小吉丁死亡率为16.52%,真菌侵染率为3.74%;巩留县苹果小吉丁死亡率为17.36%,真菌侵染率为2.32%。并且,2地苹果小吉丁虫的死亡率呈相同变化规律,即物理致死率>天敌寄生率>真菌侵染率>其它。

表2 不同地点苹果小吉丁虫的死亡率

Table 2 Mortality of *Agrilus mali* Matsumura in different counties

地区	调查总数	死亡率	天敌寄生率	真菌侵染率	物理致死率	其它
Region	Total number/head	Death rate/%	Parasitism rate/%	Infection rate/%	Physical lethal rate/%	Others/%
新源县	321	16.52	4.05	3.74	7.48	1.25
巩留县	1 164	17.36	5.50	2.32	8.51	1.03

2.3 苹果小吉丁虫生真菌的分离鉴定

在新源县和巩留县野苹果林共采集样本56份,分离出41个纯培养菌株(表3),对得到的菌株进行初步整理、鉴定,共得到12个不同的真菌菌株,属于半知菌亚门和担子菌亚门的3纲、4目、7属。其中,丝孢纲丝孢目真菌最多,为21个,所占比例为51.22%。

表3 苹果小吉丁虫生真菌的数量组成

Table 3 Composition of species of entomogenous fungi of *Agrilus mali* Matsumura

纲名	目名	属名	菌株数	出现频率
Class	Order	Genus	Number	Frequency/%
腔胞纲	球壳孢目	壳囊孢属 <i>Cytospora</i>	7	17.07
Coelomycetes	Sphaeropsidales	色二孢属 <i>Diplodia</i>	6	14.63
	瘤座孢目	镰孢属 <i>Fusarium</i>	6	14.63
	Tuberculariales			
丝孢纲	丝孢目	曲霉属 <i>Aspergillus</i>	8	19.51
Hyphomycetes	Hyphomycetales	青霉属 <i>Penicillium</i>	5	12.20
		链格孢属 <i>Alternaria</i>	8	19.51
担子菌纲	多孔菌目	烟管菌属 <i>Bjerkandera</i>	1	2.44
Basidiomycetes	Polyporales			

2.4 不同部位苹果小吉丁虫生真菌分布

由表4可知,从患病幼虫虫体上分离到的真菌最多,为32株,属于10个种,数量较多的有金黄壳囊孢 *Cytospora chrysosperma*、细链格孢 *Alternaria tenuis*、燕麦镰刀菌 *Fusarium avenaceum* 以及砍断壳色单隔孢 *Diplodiamutula*;从成虫和虫粪中分离到的真菌较少,分别只有6株和3株。

2.5 不同季节苹果小吉丁虫生真菌分布

由图1可知,不同季节天山野苹果林苹果小吉丁虫生真菌的数目和种类各不相同,但是呈相同规律,即夏季>秋季>晚春。晚春,苹果小吉丁刚开始

表4 不同部位苹果小吉丁虫生真菌分布

Table 4 Distribution of entomogenous fungi in different parts

分离部位	菌株数	种类
Separatesite	Number	Species
幼虫	4	金黄壳囊孢 <i>Cytospora chrysosperma</i>
	2	壳囊孢属 <i>Cytosporaschulzeri</i>
	3	链格孢 <i>Alternaria alternata</i>
	4	细链格孢 <i>Alternaria tenuis</i>
	2	三线镰刀菌 <i>Fusarium tricinctum</i>
	4	燕麦镰刀菌 <i>Fusarium avenaceum</i>
	3	黄曲霉 <i>Aspergillus flavus</i>
	2	烟曲霉 <i>Aspergillus fumigatus</i>
	3	指状青霉 <i>Penicillium digitatum</i>
	5	砍断壳色单隔孢 <i>Diplodiamutula</i>
成虫	1	曲霉属 <i>Aspergillus</i> sp.
	2	指状青霉 <i>Penicillium digitatum</i>
	2	黄曲霉 <i>Aspergillus flavus</i>
虫粪	1	砍断壳色单隔孢 <i>Diplodiamutula</i>
	1	金黄壳囊孢 <i>Cytospora chrysosperma</i>
	1	烟管菌 <i>Bjerkanderaadusta</i>
	1	链格孢 <i>Alternaria alternata</i>

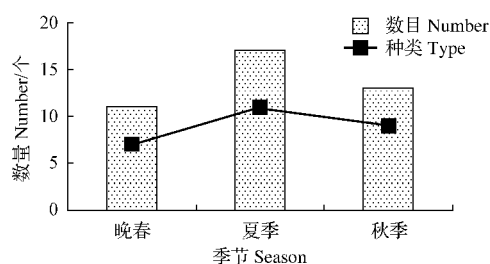


图1 苹果小吉丁虫生真菌数量的季节变化

Fig. 1 Season change of the number of entomogenous fungi
活动危害,且此时伊犁山区温度刚开始回升,所以得到的菌株数目和种类较少;夏季,适宜的水热条件利于真菌的生长发育,随着苹果小吉丁虫的繁衍,虫生真菌的数目和数量也有所增加;秋季,气温和湿度都开始下降,并且开始落叶,虫生真菌也随之减少。

3 结论与讨论

新源县阿勒玛勒乡和巩留县库尔德宁镇是野苹果树广泛分布的地区,野苹果林都受到了苹果小吉丁的为害,综合虫口密度和野苹果树受害等级2个因素综合考虑,巩留县野苹果林的受害程度重于新源县。与往年调查结果相比,2015年苹果小吉丁虫的危害有所减轻,这与林区及时剪除虫枝、清理危害严重且无防治价值的衰弱木,并且与进行大面积飞防相关。

该研究对苹果小吉丁成虫从羽化孔钻出前,苹果小吉丁的死亡情况进行了调查,发现苹果小吉丁虫在此期间的死亡率约为17%,造成死亡的原因主要有物理致死、天敌寄生和真菌侵染。苹果小吉丁

虫的真菌侵染率约为3%,也占有相当数量,如果找到一种对苹果小吉丁虫具有高致病力的真菌,人为加以利用,再加上虫生真菌自身的优点,对控制苹果小吉丁虫的种群密度将大有帮助。

在56份有菌丝覆盖的虫体样本中,分离得到12种真菌,隶属于3纲、4目、7属,但是并未分离到白僵菌、拟青霉、轮枝孢等常见的虫生真菌种类,并不说明在苹果小吉丁虫自然种群中不存在这些真菌,可能存在采样时间受限、样本量不足等原因,有待于继续调查研究。青霉属、曲霉属和镰刀菌属等真菌属于常见的虫生真菌类型^[8],细交链孢形成的细隔孢氮杂酸是具有杀虫功能的活性物质^[14],该研究分离到的这些真菌是否为苹果小吉丁虫的病原真菌,有待于进一步研究。在苹果小吉丁幼虫和虫粪中都分离到了金黄壳囊孢。近年来,天山野果林存在苹果小吉丁虫和野苹果腐烂病复合发生的情况^[15],所以,壳囊孢属真菌是苹果小吉丁虫生真菌,还是在幼虫死后腐生的,还需研究验证。此外,在不同季节得到了不同数目和种类的虫生真菌,虫生真菌的发生和分布与寄主昆虫的生活习性以及真菌的生长特性密不可分,与王四宝等^[16]研究结果相似,温度、湿度、光周期是影响苹果小吉丁虫生真菌种类和数量的重要环境因素。

参考文献

- [1] 吴雪娥,马福杰,阿拉达尔·达吾来西,等.新疆苹果小吉丁虫生物学特征及其防治[J].新疆农业科学,1997(6):273-274.
- [2] 王念平,于江南,陈卫民,等.苹果小吉丁虫发生规律及防治技术研究[J].林业实用技术,2007(9):30-31.

- [3] 王春晓,赵福,赵健桐,等.新疆发生苹果小吉丁虫[J].新疆农业科学,1995(5):225-226.
- [4] 崔晓宁,刘德广,刘爱华.苹果小吉丁虫综合防控研究进展[J].植物保护,2015,41(2):16-23.
- [5] 刘爱华,王登元,张新平,等.新疆苹果小吉丁优势天敌控害效果初探[J].新疆农业科学,2010,47(8):1522-1525.
- [6] 王智勇,杨忠岐,张彦龙,等.利用4种肿腿蜂(膜翅目:肿腿蜂科)防治危害新疆野苹果林的苹小吉丁(鞘翅目:吉丁甲科)[J].林业科学,2014,8(8):97-101.
- [7] 王清海,万平平,黄玉杰,等.虫生真菌在害虫生物防治中的应用研究[J].山东科学,2005,18(4):37-40.
- [8] 王记祥,马良进.虫生真菌在农林害虫生物防治中的应用[J].浙江林学院学报,2009,26(2):286-291.
- [9] 陈名君.不同森林生态系虫生真菌生物多样性研究[D].合肥:安徽农业大学,2008.
- [10] SHIMAZU M, TSUCHIYA D, SATO H, et al. Microbial control of *Monochamus alternatus*: Hope by application of nonwoven fabric strips with *Beauveria bassiana* on infested tree trunks[J]. Appl Entomol Zool, 1995, 30(1):207-213.
- [11] 王四宝,黄勇平,张心团,等.松褐天牛成虫高毒力病原真菌筛选及林间感染试验[J].中国森林病虫,2004,23(6):13-16.
- [12] SHAH P A, PELL J K. Entomopathogenic fungi as biological control agents[J]. Appl Microb Biotechnol, 2003, 61:413-423.
- [13] WARGO P M. Armillariella mellea and Agrilus bilineatus and mortality of defoliated oak trees[J]. Forest Science, 1977, 23(4):485-492.
- [14] 梁宗琦.虫生真菌的多样性[J].生物多样性,1996,4(4):235-241.
- [15] 刘爱华,张新平,温俊宝,等.天山野苹果林小吉丁虫与苹果腐烂病复合危害研究[J].新疆农业科学,2014,51(12):2240-2244.
- [16] 王四宝,刘竞男,黄勃,等.大别山地区虫生真菌群落结构与生态分布[J].菌物学报,2004,23(2):195-203.

Entomogenous Fungi of *Agrilus mali* Matsumura in Wild Apple Trees in Tianshan Mountain

KONG Tingting, LIU Aihua, YUE Zhaoyang, ZHANG Jingwen

(Institute of Forest Ecology, Xinjiang Academy of Forestry, Urumqi, Xinjiang 830000)

Abstract: *Agrilus mali* Matsumura in wild apple trees in Tianshan Mountain was the investigation object. Its damage degree and the kinds of entomogenous fungus were investigated by the method of the combination of field investigation, sampling and indoor isolation, identification. The results showed that the population density of *Agrilus mali* Matsumura was 0.76 head · m⁻¹ in Xinyuan county and 2.72 head · m⁻¹ in Gongliu county. The sequence of death causes of *Agrilus mali* Matsumura was physical lethal > insectparasite > fungi infection > others. A total of 41 fungus had been isolated from 56 samples and belonged to 4 orders 7 genus, in which *Aspergillus* and *Alternaria* were the most. Entomogenous fungi could be isolated from different seasons and was the most in summer. There were a set number of entomogenous fungus of *Agrilus mali* Matsumura in wild apple trees in Tianshan Mountain. And entomogenous fungi as a new method of biological control of *Agrilus mali* Matsumura should be further investigated.

Keywords: wild apple trees; *Agrilus mali* Matsumura; population density; entomogenous fungi