安徽歙县油茶林昆虫病原真菌物种多样性及其季节变化

刘玉军[1,2*]， 陈龙胜[1,2]， 周海波[1,2]， 蔡群兴[1,2]， 许舒雯[1,2]

（1. 安徽省应用技术研究院，安徽省植物活性成分提取分离关键技术工程中心，合肥 230088；
2. 安徽省科学技术研究院，合肥 230031）

摘要 为研究安徽歙县油茶林的昆虫病原真菌群落多样性，于2016－2017年对油茶林内自然罹病的昆虫标本进行分离和鉴定。结果表明，分离的昆虫病原真菌共计132株，鉴定为6属10种。球孢白僵菌 *Beauveria bassiana*、环链棒束孢 *Isaria cateniannulata* 和细脚棒束孢 *I. tenuipes* 为歙县油茶林昆虫病原真菌的优势类群，3种昆虫病原真菌的数量占所有菌株的75.76%。同时对昆虫病原真菌物种的多样性研究表明，其物种数、多度、多样性指数、均匀度等指标在一年中变化不大。不同季节昆虫病原真菌数量变化较大，夏季菌株最为丰富，随着气温下降及降雨量的减少，菌株数量逐渐下降。本研究结果可为进一步开发生物农药奠定基础。

关键词 油茶； 昆虫病原真菌； 物种多样性； 季节变化

中图分类号： S 476 **文献标识码：** A **DOI：** 10.16688/j.zwbh.2018198

Species diversity and seasonal variation of entomopathogenic fungi in *Camellia oleifera* forest in She County of Anhui Province

LIU Yujun[1,2]， CHEN Longsheng[1,2]， ZHOU Haibo[1,2]， CAI Qunxing[1,2]， XU Shuwen[1,2]

（1. *Anhui Academy of Applied Technology*，*Anhui Engineering Technology Research Center for Extraction and Isolation of Active Components*，*Hefei* 230088，*China*；2. *Anhui Academy of Science and Technology*，*Hefei* 230031，*China*）

Abstract An investigation on community diversity of entomopathogenic fungi was conducted in *Camellia oleifera* forest in She County of Anhui Province from 2016 to 2017. In total，132 strains were isolated and identified as 10 species belonging to six genera were identified. The results indicated that *Beauveria bassiana*，*Isaria cateniannulata* and *I. tenuipes* were the dominant groups of entomopathogenic fungi，accounting for 75.76% of the collected species. The number of species，richness，Shannon-Wiener diversity index and evenness show a little change in one year. The number of strains varied greatly in different seasons，and the abundance of each species was the highest in summer. The amount of strains decreased with the decrease of temperature and rainfall. The results provided a scientific data for exploitation and utilization of the entomopathogenic fungi for biocontrol.

Key words *Camellia oleifera*； entomopathogenic fungi； species diversity； seasonal variation

油茶 *Camellia oleifera* 为常绿小乔木或灌木，是我国特有的木本食用油料树种[1]。安徽歙县是全国油茶发展重点县，该县把油茶产业作为一项富民兴县的特色产业来抓，因而油茶产业不断发展壮大，到2014年末，全县油茶林总面积达到7 400 hm^2，油茶产值达2.4亿元，油茶产业已初具规模[2]。然而随着油茶种植面积的不断扩大，歙县油茶害虫的发生与为害日趋严重，油茶害虫为害致使油茶树花蕾、果实、叶片干枯和脱落，严重时甚至造成油茶林枯竭而死、油茶籽颗粒无收[3-6]。同时由于油茶害虫种类较多，且栽培地的生态环境存在一定差异，害虫的预测预报难度较大，而虫害的大面积暴发常常会造成油茶林病害的流行，导致更严重的经济损失。因此，油茶害虫已成为制约油茶产业发展的重要因素。

在自然界，天敌对害虫的控制作用是长期存在的，充分利用天敌对害虫的自然控制作用是害虫生

收稿日期： 2018－05－09 **修订日期：** 2018－06－29
基金项目： 安徽省博士后研究人员科研活动资助经费(2016B094)；安徽省科技重大专项(17030801026)
* 通信作者 E-mail：yjliu@ahau.edu.cn

态调控的重要措施之一。油茶病虫害的天敌资源比较丰富,昆虫病原真菌是其中重要一类[7-9]。昆虫病原真菌是昆虫病原微生物中的最大类群,也是自然界中控制害虫种群消长的一个重要因子和重要的生物防治资源,其中真菌杀虫剂具有安全性好、效费比高、能够发挥持续控制效果及易于人工培养等优点,是发展环境友好型生物农药的理想选择[10],在害虫综合治理和环境保护方面扮演着越来越重要的角色[11-14]。加强自然界中昆虫病原真菌优势种群的生态学研究对于合理保护和持续利用这类宝贵资源进行生物防治有重要意义。但现有的文献资料中未见油茶林昆虫病原真菌全年物种动态变化规律的研究,尤其针对油茶林昆虫病原真菌物种多样性迄今也无任何报道。本文对安徽歙县油茶林进行了为期 1 年的昆虫病原真菌资源调查和研究,以期了解其昆虫病原真菌物种多样性和种群结构特点,探讨该区域油茶林内的昆虫病原真菌种类,为进一步开发利用提供科学依据。

1　材料与方法

1.1　自然概况

试验样地设在安徽歙县北岸镇金竹岭油茶基地(118°57′E, 29°88′N),面积约 15 hm^2。本次调查的油茶林树龄 12 年左右,地处歙县南部,距歙县县城 15 km,平均海拔 500 m 以上,属亚热带季风气候,气候温和、雨量充沛,年均气温 16.4℃,年降水量 1 477 mm,日照充足。油茶林实行粗放管理,不加任何人工抚育措施,只在采收期采收果实。

1.2　试验方法

1.2.1　标本的采集

根据油茶林的自然地形设置 20 个样方,每个样方约 100 m^2,同时根据昆虫的发生时间及发生量的不同,降水量的季节差异,分别选择 2016 年 8 月、9 月和 11 月及 2017 年 1 月、3 月、5 月、6 月和 7 月在样方内所有油茶植株叶面、树干、枯枝落叶层以及土表等处采集罹病昆虫标本,并详细记载标本信息,为了避免杂菌干扰,采集后的标本保存于 4℃冰箱内,2 d 后分离处理。

1.2.2　标本的分离、鉴定及保存

菌株分离纯化和鉴定参照蒲蛰龙等[10]、Hawksworth 等[15] 和陈名君等[16] 的方法,即采用虫尸体表分生孢子或弹射后的子囊孢子划线分离法。为防止细菌或其他杂菌污染,采用加入适量青霉素、硫酸链霉素和多果定的选择性 SDAY 培养基,纯化后的菌株参考文献资料[10,15-16]进行鉴定。昆虫标本和菌种均保存于安徽省科学技术研究院微生物保藏室。

1.2.3　昆虫病原真菌群落组成研究

参考郭先见等[17]的方法对相对丰盛度、多样性指数以及群落均匀度指数进行分析。

相对丰盛度:$P_i = N_i / N$;

多样性指数:$H = -\sum P_i \ln P_i$;

群落均匀度指数:$E = H / \ln S$;

其中 N 为所有种的个体数,N_i 为第 i 个物种的个体数,S 为群落的物种数。

2　结果与分析

2.1　油茶林昆虫病原真菌物种多样性

分离鉴定表明,从采集的 167 份昆虫标本中分离的昆虫病原真菌菌株共计 132 株,平均检出率为 79.04%,隶属于 3 科 6 属 10 种,均为已知种,其中球孢白僵菌 *Beauveria bassiana*、环链棒束孢 *Isaria cateniannulata* 以及细脚棒束孢 *I. tenuipes* 的数量占绝对优势,3 种昆虫病原真菌的数量占所有菌株的 75.76%,金龟子绿僵菌 *Metarhizium anisopliae*、粉棒束孢 *I. farinosa*、布氏白僵菌 *B. brongniartii*、莱氏绿僵菌 *Metarhizium rileyi*、斜链棒束孢 *I. cateniobliqua* 和淡紫紫孢菌 *Purpureocillium lilacinum* 所占比例分别为 6.82%、4.55%、4.55%、4.17%、2.27%和 1.52%,而北虫疠霉 *Pandora borea* 所占比例最小,仅占 0.76%。从分离寄主来看,球孢白僵菌的寄主种类多达 9 种,包括油茶象、马尾松毛虫、蚂蚁、叶甲、蜡蝉、油茶宽盾蝽、盲蝽、松墨天牛、螳螂;而 4 种棒束孢种寄主多样性较低,以鳞翅目为主(表 1)。

2.2　油茶林不同月份昆虫病原真菌的群落多样性

由表 2 可知,歙县油茶林昆虫病原真菌各月份的种群丰富度都相对较低,不同月份的个体总数有一定差异,其中 2016 年 8 月和 2017 年 6 月分别采集到 26 株和 22 株,是采集数量最多的两个月份,2017 年 1 月采集到的数量最少,仅采集到 7 株。不同月份采集到的昆虫病原真菌种类也存在一定的差异,2016 年 8 月样本中分离鉴定出 8 种,2017 年 1 月样本中分离鉴定出 4 种,2016 年 11 月和 2017 年 3 月、5 月的样本都仅分离鉴定出 5 种。总体来看,

气温、湿度较高的 6—9 月油茶林的昆虫病原真菌个体数量较高，而寒冷干旱的 1 月和 11 月菌株数量较少。从多样性指数（H'）来看，也是高温高湿的 8 月份最大，低温干旱季节较小。

表 1　油茶林昆虫病原真菌种类及其分离寄主[1)]

Table 1　Hosts and species of entomopathogenic fungi in *Camellia oleifera* forest

种名 Species	数量/株 Number	占总数比例/% Percentage	分离寄主 Host
球孢白僵菌 *Beauveria bassiana*	55	41.67	油茶象 *Curculio chinensis*（18）、马尾松毛虫 *Dendrolimus punctatus*（10）、蚁科 Formicidae（8）、叶甲科 Chrysomelidae（7）、蜡蝉科 Fulgoridae（5）、油茶宽盾蝽 *Poecilocoris latus*（3）、盲蝽科 Miridae（2）、松墨天牛 *Monochamus alternates*（1）、螳螂科 Mantidae（1）
环链棒束孢 *Isaria cateniannulata*	28	21.21	鳞翅目 Lepidoptera（23）、油茶象 *Curculio chinensis*（5）
细脚棒束孢 *I. tenuipes*	17	12.88	鳞翅目 Lepidoptera（11）、步甲科 Carabidae（6）
金龟子绿僵菌 *Metarhizium anisopliae*	9	6.82	油茶宽盾蝽 *Poecilocoris latus*（5）、盲蝽科 Miridae(4)
粉棒束孢 *I. farinosa*	6	4.55	鳞翅目 Lepidoptera（6）
布氏白僵菌 *B. brongniartii*	6	4.55	熊蜂科 Bombidae（6）
莱氏绿僵菌 *Metarhizium rileyi*	5	4.17	蜘蛛 Araneid（5）
斜链棒束孢 *I. catenioliqua*	3	2.27	叶甲科 Chrysomelidae（3）
淡紫紫孢菌 *Purpureocillium lilacinum*	2	1.52	鳞翅目 Lepidoptera（2）
北虫疠霉 *Pandora borea*	1	0.76	蚜虫 Aphid（1）

1）括号中的数字表示寄主数量。
Figures in bracket indicate the number of host.

表 2　油茶林不同月份昆虫病原真菌群落多样性

Table 2　Community diversities of the entomopathogenic fungi in *Camellia oleifera* forest in different months

时间/年-月 Time	丰富度(S) Richness	个体总数(N) No. of individuals	Shannon-Wiener 指数(H') Shannon-Wiener diversity index	均匀度(E) Evenness
2016－08	8	26	1.87	0.90
2016－09	6	19	1.46	0.82
2016－11	5	11	1.38	0.86
2017－01	4	7	1.27	0.91
2017－03	5	15	1.29	0.80
2017－05	5	14	1.37	0.85
2017－06	7	22	1.36	0.70
2017－07	6	18	1.20	0.67

2.3　油茶林昆虫病原真菌优势种的季节变化

从图 1 可以看出，3 种优势菌球孢白僵菌、环链棒束孢以及细脚棒束孢菌株数量较高值均出现在温湿度较高的夏季（7 月和 8 月），而干燥寒冷的晚秋（11 月）及冬季（1 月和 3 月）则分布较少。3 种优势菌具有相似的季节分布规律，且波动幅度相似。随着温湿度变化，不同月份 3 个种的菌株数量变化较大，球孢白僵菌菌株数量最大值出现在 8 月，共分离出 13 个菌株；环链棒束孢和细脚棒束孢菌株数量最大值出现在 7 月，分别分离出 7 个和 4 个菌株；3 种优势菌菌株数量的最小值均出现在 11 月，其中球孢白僵菌菌株数量明显多于其他 2 种菌。

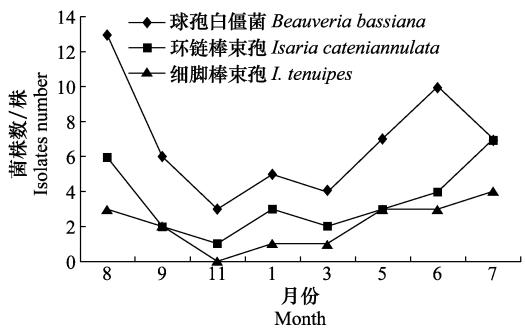

图 1　不同月份昆虫病原真菌优势种数量动态

Fig. 1　Dynamics of dominant entomopathogenic fungi in different months

3　讨论

油茶林受人为干扰较大，在油茶林生态系统中，

了解天敌对害虫的持续控制作用,充分利用天敌对害虫的自然控制效果是害虫生态调控的重要措施之一。与较为精细管理的油茶林相比,粗放管理油茶林中植物多样性较高。夏莹莹等[18]对 5 种经营措施下的油茶林地中植物种类进行了调查,结果显示,粗放经营的油茶林地中植物种类最为丰富,其中灌木 16 科 25 属 28 种;草本 37 科 64 属 69 种。同时粗放经营的油茶林地中昆虫多样性也较丰富。何振等[19]对不同垦复方式油茶林中节肢动物的分布分析表明,跳虫在不同油茶林中分布不均匀,跳虫最丰富的为未垦复油茶成林,采集到的跳虫达 6 属 139 头,占 44.1%,其丰富度、多样性指数、均匀度均较大。昆虫病原真菌物种多样性与植物群落结构也表现出相似的规律,王品等[20]研究发现,植被类型越复杂,昆虫病原真菌物种多样性也越高,分离数量也越多。本文选择粗放管理的油茶林为研究对象,分析害虫天敌-昆虫病原真菌资源的群落多样性,不仅可以明确油茶林的昆虫病原真菌种类,还可以为油茶害虫的综合治理提供依据。

油茶害虫种类繁多,初步统计达到 300 余种,在大面积暴发成灾的油茶林中虫种多达十余种,其中油茶象 *Curculio chinensis*、黑胶粉虱 *Aleuroplatus pectiniferus*、黑足角胸叶甲 *Basilepta melanopus*、油茶毒蛾 *Euproctis pseudoconspersa*、茶梢蛀蛾 *Parametriotes theae*、黑跗眼天牛 *Bacchisa atritarsis* 为害严重[21-22]。油茶象是油茶最主要的种实害虫,其成虫和幼虫均可为害油茶果,致使油茶果空壳、脱落,造成大量落果;同时,油茶果被油茶象幼虫为害后,茶果内堆满粉末状或棍状粪便,种仁易发霉变质,茶油品质降低[23]。国家林业局 2013 年第 4 号公告将其列入全国林业危险性有害生物名单。在前期对歙县油茶林病虫害调查过程中发现油茶象也是该地区油茶最主要的害虫,对油茶产业发展造成很大威胁。安徽歙县油茶林昆虫病原真菌的特点是多样性指数较低,但个体数量较丰富。球孢白僵菌是该地区油茶林中昆虫病原真菌的优势种,在获得的 132 个昆虫病原真菌菌株中共有 55 个,其中寄主为油茶象的球孢白僵菌数量最多,占其寄主总数的 32.73%。球孢白僵菌引起油茶象白僵病的自然流行,是控制油茶象种群增长的重要因子。今后应当重视利用球孢白僵菌对油茶象进行生物防治,以持续稳定地控制油茶象种群。

参考文献

[1] 庄瑞林. 中国油茶[M]. 北京:中国林业出版社,2008.

[2] 汪则纯,汪蓉蓉,汪树人,等. 歙县省油茶良种繁育示范基地建设成效与展望——以歙西林场良种选育和建新油茶示范基地为例[J]. 中国林副特产,2014(2):87-89.

[3] 刘凌,泽桑梓,季梅,等. 中国油茶林害虫和螨类及其天敌研究综述[J]. 西部林业科学,2013,42(1):98-104.

[4] 周国英,宋光桃,李河. 油茶病虫害防治现状及应对措施[J]. 中南林业科技大学学报,2007,27(6):179-182.

[5] 周红春,谭济才,戴立霞,等. 湖南省油茶林主要病虫害的发生及为害特点[J]. 中国植保导刊,2009,29(7):27-29.

[6] 颜权,杨卫星,邓艳,等. 广西油茶病虫害调查初报及防控建议[J]. 植物保护,2013,39(2):170-173.

[7] 束庆龙,张良富. 中国油茶栽培与病虫害防治[M]. 北京:中国林业出版社,2009.

[8] 何学友,蔡守平,詹祖仁,等. 绿僵菌对油茶象幼虫林间控制效果[J]. 福建林业科技,2015,42(4):18-22.

[9] 何学友,蔡守平,杜月飞,等. 感染油茶象幼虫的高致病力金龟子绿僵菌菌株筛选[J]. 林业科学,2015,51(8):52-59.

[10] 蒲蛰龙,李增智. 昆虫真菌学[M]. 合肥:安徽科学技术出版社,1996.

[11] WANG Chengshu, WANG Sibao. Insect pathogenic fungi: genomics, molecular interactions, and genetic improvements [J]. Annual Review of Entomology, 2017, 62(1): 73-90.

[12] LI Zengzhi, ALVES S B, ROBERTS D W, et al. Biological control of insects in Brazil and China: history, current programs and reasons for their successes using entomopathogenic fungi [J]. Biocontrol Science and Technology, 2010, 20: 117-136.

[13] 刘玉军, 张龙娃, 何亚琼, 等. 栎旋木柄天牛高毒力球孢白僵菌菌株的筛选[J]. 昆虫学报, 2008, 52(2): 143-149.

[14] ZHANG Longwa, LIU Yujun, YAO Jian, et al. Evaluation of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes) isolates as potential agents for control of *Dendroctonus valens* LeConte[J]. Insect Science, 2011, 18(2): 209-216.

[15] HAWKSWORTH D L, KRIK P M, SUTTON B C, et al. Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi [M]. Oxon: CAB International, 1995: 1-616.

[16] 陈名君,黄勃,王蒙,等. 琅琊山虫生真菌物种多样性和季节变化[J]. 应用生态学报,2007,18(9):2075-2079.

[17] 郭先见,沈万芳,刘玉军,等. 粗放经营茶园土壤昆虫病原真菌种群多样性及时间生态位[J]. 应用生态学报,2014,25(11):3331-3336.

[18] 夏莹莹,江泽鹏,刘凯,等. 不同经营措施对油茶林下植物多样性影响研究[J]. 植物研究,2017,37(6):887-896.

[19] 何振,李迪强,李密. 不同垦复方式油茶林土壤节肢动物多样性特征[J]. 应用昆虫学报,2016,53(6):1361-1368.

[20] 王品,黄翠,黎健龙,等. 英德市茶园土壤昆虫病原真菌群落结构域多样性研究[J]. 茶叶科学,2013,33(6):562-569.

[21] 陈健. 赣中地区油茶主要病虫害调查[D]. 南昌:江西农业大学,2016.

[22] 何学友,熊瑜,蔡守平,等. 油茶害虫名录[J]. 武夷科学,2010,26:11-29.

[23] 李苗苗,张威,吕军美,等. 茶籽象为害对油茶果产量和茶油品质的影响[J]. 植物保护,2016,42(5):65-68.

(责任编辑: 杨明丽)