

一种虫生真菌——棒束孢菌的初步研究*

梁宗琦 陈月碧 刘爱英 王迺亮

(贵州农学院, 贵阳)

棒束孢属(*Isaria*)中的很多种, 都是具有应用价值的虫生真菌。象小金棒束孢(*Isaria kogane*), 日本长谷川等成功地将它用于田间金龟子幼虫的防治。近年来, 我们从云尺蛾(*Buzura thibetaria*)等多种茶树害虫上分离到几株产生典型孢梗束的虫生真菌, 经培养观察, 鉴定为棒束孢属中蝉花(*I. cicadae*)的近似种, 编号为 1401、402 等。该菌在不同培养基上形成孢子的能力不同。经生物测定表明, 该菌对茶树害虫有一定的致病力。现简报如下。

材 料 和 方 法

一、菌种的鉴定和培养

(一) 菌种的鉴定

参照 Brown 等人^[1]的方法进行。

(二) 平板培养

将菌株点种于含有 KH_2PO_4 和 3% 蔗糖的察氏琼脂和马铃薯蔗糖琼脂(PDA)上, 24℃ 培养, 7 天和 14 天观测菌落直径、高度、结构、边缘、颜色及其变化和形成孢子的程度等。

(三) 载片培养

将菌株点种于上述两种培养基的平板上。24℃ 培养 7 天左右, 取菌落边缘小块培养物紧

贴于经火焰灭菌的载片上, 然后置于放有湿滤纸的培养皿中, 继续培养 48—72 小时。挑取培养物, 染色镜检。

(四) 液体培养

250 毫升三角瓶中, 装入 50 毫升 2% 蛋白胨和 2% 蔗糖的营养液, 灭菌后接入菌种, 20 ± 2℃ 室温培养。

二、固体发酵

(一) 培养基

1. 75 克麦麸, 25 克黄豆饼粉, 100 毫升水。
2. 75 克麦麸, 25 克云尺蛾蛹粉, 100 毫升水。

3. 100 克麦麸, 1 克蛋白胨和 0.5 克甘油, 100 毫升水。

4. 2 号培养基加入 0.5 克甘油。

(二) 发酵工艺

发酵容器用 500 克装的罐头瓶, 每瓶装料 70 克。灭菌后接入 20% (体积/重量) 用斜面制备的孢子液。24℃ 培养 7 天, 倾入 150 × 230 × 50 毫米的带盖瓷盘中, 每盘装料 200 克。18—

* 漏潭茶叶科学研究所夏怀恩、夏绍濯、王太华等同志参加标本采集, 夏怀恩同志鉴定罹病昆虫。

22℃ 培养 10 天。

(三) 产品后处理

每种固体发酵物皆分两组,一组于 40℃ 烘干后室温贮存 45 天。另一组室温自然干燥存放 45 天。

三、生物测定

参照 Ferroni 等测定虫生真菌毒力的方法^[2]。孢子悬液浓度为 10^5 孢子/毫升,以 4—5 龄的菜青虫为测试虫。

罹病死亡的标准是:虫体僵硬,并长出具有特色的孢梗束或白色粉状孢子。每处理重复 3 次,总虫数不低于 30 头。

结 果

一、自然寄生情况及寄主范围

在湄潭、遵义等地茶园中,我们从云尺蛾,

小白尺蛾(*Scopula subknictaria*),茶毛虫(*Euproctis pseudoconsersa*),茶小卷叶蛾(*Adoxophyes priuastana*),茸毒蛾(*Dasychira balbarana*)和一种夜蛾蛹体上分离到 6 个棒束孢属的菌株。它们在自然条件下,都从蛹体上长出典型的孢梗束;其头部常呈棒状、棉球状和分枝的掌状。成熟时形成白色至米黄色粉状孢子;基部光滑致密,圆形或扁平,奶酪色至米黄色,直径 2 毫米左右;孢梗束全高 10—35 毫米。一个采自茶叶片上的小白尺蛾标本,孢梗束的高度则只有 2 毫米左右。

二、培养性状及产孢特征

棒束孢菌的培养性状及产孢特征详见表 1 及图 1。此外,在载片培养时,亦易出现 Brown 等人描述的未能正常发育的孢子头 (abortive head),盲肠形,头部膨大达 5.0 微米,菌丝宽 1.6

表 1 棒束孢菌 1401 与已知相近种的比较

菌 名	培 养 性 状	个 体 形 态	寄主昆虫及症状
棒束孢菌 1401 (<i>Isaria</i> sp.)	在察氏琼脂上, 24℃ 培养 7 天时菌落直径 15 毫米, 平展、毯状, 表面灰白色, 中部白色粉状孢子, 背面偶呈淡棕色。14 天后有 2—3 毫米指状孢梗束形成。 在 PDA 上, 14 天菌落直径 60 毫米, 毯状, 有同心轮层, 有放射状结构。	瓶梗下部球形或纺锤形膨大, 上部变细呈柱状, 大小 $2.5-3.2 \times 4.8-6.4$ 微米和 $1.6-3.6 \times 6.3-15.0$ 微米; 细柱状部分长 $1.6-3.2$ 微米。瓶梗多着生于典型的孢子梗上。 分生孢子长圆形、长卵圆形或腊肠形, $1.6-2.8 \times 5.0-10.0$ 微米, 大型孢子为 3.2×8.0 微米, 有双细胞分生孢子; 有 1—3 滴内含物。分生孢子成链, 长约 100 微米。 在 PDA 上培养时, 瓶梗可变长达 100 微米, 直径 $0.3-0.8$ 微米。	寄生于多种鳞翅目蛹体上, 孢梗束散生或丛生; 分枝或不分枝; 头部棒状、珊瑚状或掌状, 有白至米黄色孢子粉; 基部奶酪色至米黄色, 光滑, 高 10—35 毫米。
蝉棒束孢菌(蝉花) (<i>I. cicadae</i>)		瓶梗中部膨大、瓶状, 上部变细呈细柱状或突然变尖, 常成丛生于菌丝上, 形如花瓣, $2-3 \times 6-8$ 微米。 分生孢子椭圆形或纺锤形或肾形, $1.8-3.5 \times 5.1-14$ 微米; 常含 1—3 油滴。	寄生于蝉若虫, 丛生于头部, 分枝或不分枝, 高 16—60 毫米, 头部白色粉状, 椭圆形或纺锤形。
虫花棒束孢菌 (虫花)(<i>I. farinosa</i>)	察氏琼脂上 24℃ 培养 7 天时菌落直径 20—25 毫米, 高 1.5—4.0 毫米, 垫毯状; 表面白色至淡黄色, 背面最初白色后变为向外扩散的亮黄色, 菌落后期出现绳状结构。	分生孢子近球形至广椭圆形, $2-3 \times 1.5-2$ 微米。 小梗为瘦长的瓶状, 最宽部分 $0.8-2.0 \times 5-15$ 微米。	寄生多种鳞翅目蛹体, 孢梗束群生, 分枝高 20—38 毫米。柄细, 奶酪色至米黄色, 光滑, 头部多枝, 白色, 粉末状。

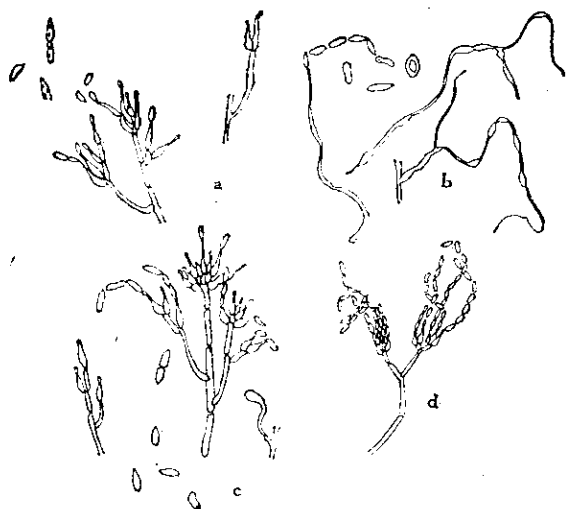


图1 棒束孢菌的分生孢子

- a: 在察氏琼脂上 1401 菌株的产孢瓶梗和分生孢子;
b: 在 PDA 上变为细长的 1401 菌株的瓶梗和分生孢子;
c, d: 402 菌株的双细胞分生孢子和孢子穗。

微米。双细胞分生孢子大小为 $2-3.2 \times 8-11$ 微米。一般分生孢子两端稍尖;老熟的孢子出现液泡后,因位置和大小不同可呈现膨大的梭状、近鼓锤状和双球状。

在三角瓶中液体培养一月后,可形成高达 75 毫米的孢梗束,其基部分枝肉色,头部索状分枝,初期卵黄色,后变为白色粉状。

三、不同培养基产生的孢子对致病性的影响

1401 菌在所用四种培养基上都能良好生长,并形成相当数量的孢子(详见表 2),但其孢子的致病性,因培养基成份不同而有明显差异(见表 2)。加有蛋白胨和甘油的 3 号培养基上生长的孢子的致病力最高,未加蛋白胨和甘油的 1 号培养基则无致病作用。从 4 和 2 号培养基的比较可看出,甘油对提高孢子的致病性是

表 2 不同培养基产生的孢子对 3—5 龄菜青虫的致病效果

培养基编号	试虫总数 (头)	幼虫感染死 亡率(%)	蛹感染死 亡率(%)	蛹羽化率 (%)
1	30	0.0	0.0	43.0
2	30	6.6	20.0	10.0
3	30	6.6	60.0	0.0
4	30	10.0	33.3	0.0

有一定影响的。

四、孢子烘干对致病性的影响

生物测定结果表明,40℃ 烘干的产品全部丧失致病性,室温保存的产品则基本保持了原有致病性(见表 3)。

表 3 不同温度干燥的产品对 4—5 龄菜青虫的感染死亡率

培养基	试虫总数 (头)	死亡率(%)	
		40℃ 烘干	20℃ 室温
1	30	0.0	0.0
2	30	0.0	16.0
3	30	0.0	76.6
4	30	0.0	73.3

讨 论

从表 1 的比较可看出,1401 菌的分生孢子形状和大小与虫花菌(*I. farinosa*)显著不同。和蝉花相比,虽然在寄主昆虫及其在虫体上孢梗束的大小,和瓶梗着生情况上有差异,但是,在瓶梗和分生孢子梗的形状和大小等方面却比较接近。至于该菌具有的双细胞分生孢子,和在 PDA 上出现的丝状瓶梗等特征,在有关文献中则未见记载^[3-4]。Brown 等人(1957)认为,对于棒束孢菌的分类来说,分生孢子形成的方式比孢梗束的有无具有更大的意义。我们在实验研究中发现,此菌孢梗束的有无、大小和形状,是随培养基成分和湿度的不同而发生变化。经同一处理感染的菜青虫蛹体,在潮湿的条件下,可形成高达 30 毫米分枝的孢梗束;在较干燥的条件下,则只形成约 3 毫米的小指状孢梗束;若在液体培养基中,则可形成高达 75 毫米的孢梗束。后者和蝉花的孢梗束就十分近似。爪哇拟青霉 [*Paecilomyces javanicus* (Fr. et Bail.) Broun et Smith] 虽与本菌也很相似,但前者菌落呈紫色和几乎没有孢梗束存在,则为明显差异。综上所述,我们认为本菌应是蝉花(*Isaria cicadae* Miq.) 的一个近似种。

不同批次的实验结果都表明,培养基的成分和孢子的致病强弱有十分密切的关系。加入

1% 的蛋白胨对提高孢子的致病性效果显著;加入 0.5% 甘油亦有增效作用;缺少动物性蛋白质或其降解物,则致病性基本丧失。

菜青虫发病致死多为蛹期,但若与斜面孢子大量接触,则潜伏期缩短,幼虫处理 3 天后即死亡。因此,本菌要在田间作杀虫剂应用,必须考虑其使用剂量。

参 考 文 献

- [1] Brown, A. H. S. et al.: Trans. Brit. Mycol. Soc., **40**(1): 17—89, 1957.
- [2] Ferron, P. et al.: J. Invertebr. Patol., **25**(3): 379—388, 1975.
- [3] 幸兴球: 微生物学报, **15**(1): 21—26, 1975.
- [4] 邓叔群: 《中国的真菌》, 科学出版社, 1964.