

# 白僵菌耐低湿菌株的选育\*

安徽省当涂县白僵菌厂

安徽大学生物系 72 届毕业实践小组

白僵菌对农林害虫具有良好的防治效果,但受自然环境条件影响较大,特别是在较低湿度情况下,防治效果欠佳。我们通过对白僵菌的诱变育种,选出了 14、24 号等菌株,不仅在固体发酵中孢子含量、毒力方面都超过原始菌种,不仅在室内试验及林间应用上都显示出耐较低湿度的特点。

## 材料和方法

### 一、原始出发菌株

本厂生产用的菌株(代号  $D_1$ )\*\*;吉林交换菌种(代号  $G_1$ )。

### 二、诱变剂及剂量

钴  $^{60}\gamma$ -射线:照射剂量为 3—20 万伦琴。

亚硝酸: 0.04 M。

### 三、诱变方法

#### (一) 孢子悬浮液的制备

用无菌生理盐水将  $D_1$  和  $G_1$  菌株斜面孢子洗下,

倒入盛有玻璃珠的灭菌三角瓶中,震荡 10 分钟,镜检后调节孢子悬浮液浓度为  $5 \times 10^6$ /毫升左右。

#### (二) $\gamma$ -射线和亚硝酸复合处理

取孢子悬液 2 毫升,用钴  $^{60}\gamma$ -射线照射,照射距离为 25 厘米,剂量率为 343 伦琴/分,照射量分别为 3、5、10、15、20 万伦琴。照射过的孢子悬液立即放入 2 毫升 0.1 M 的亚硝酸钠溶液和 1 毫升 1 M pH 4.4 的醋酸缓冲液(使亚硝酸钠最终浓度为 0.04 M),27℃ 水浴中处理 10 分钟,吸取处理后的菌液 1 毫升加入 pH 8.6 的磷酸氢二钠溶液(0.07 M) 9 毫升,中止反应。

#### (三) 变异菌的分离

处理好的菌液经稀释涂皿后,放在 24—26℃ 温箱中培养,每天观察菌落生长情况,挑取生长旺盛、孢子形成快的单个菌落移种到斜面上培养,再分离纯化一次。实验中共选出 64 株变异菌株。

\* 本试验得到江苏省农科所钴源室的大力协助。

\*\* 系从林间感染白僵菌的松毛虫尸体上分离得到的。

# 效果测定

## 一、不同湿度孢子发芽试验

将变异菌株分别用 2% 的蛋白胨液稀释成孢子悬浮液,孢子数在  $5 \times 10^4$ /毫升左右,用毛笔均匀地涂在玻片上晾干,每组 6 个重复,用饱和氯化钠溶液控制干燥器内的湿度分别为 60%、65%、70%,置 25℃ 恒温培养。每隔 6 小时观察一次孢子发芽情况(见表 1)。

表 1 部分变异菌株不同湿度孢子发芽率(%)

相对湿度 (%)	菌 号							
	3	7	14	19	20	24	D <sub>1</sub>	G <sub>1</sub>
60	50	40	50	75	75	50	20	10
65	70	46	57	77	85	58.3	27	23
70	72	50	75	77	90	80	33	38

从表 1 中可看出 3、14、19、20、24 号菌株在湿度较低情况下,发芽率均较原始菌株有不同程度的提高。

## 二、室内毒效试验

将变异菌株的斜面孢子制成 0.5 亿/毫升左右的悬浮液,原始菌株 D<sub>1</sub>、G<sub>1</sub> 为对照。取 20 毫升孢子悬液分别喷洒在松针及虫体上(松毛虫为第一代 3—4 龄幼虫)。每处理用虫为 50 只。室内温度平均 28℃,相对湿度为 70—90%。

试验结果:14 号菌株(D<sub>1</sub> 变异株)和 24 号菌株(G<sub>1</sub> 变异株)杀虫率分别比原始菌株高 10—15% 左右。

## 三、发酵培养试验

将比较优良的变异株进行固体发酵试验,检验其是否有实际应用价值。二级菌种采用马铃薯条,25℃ 培养 10 天。培养基为麦麸加 50% 的水,接种后培养温度为 19—21℃。观察生长情况,平皿测定含菌量(表 2)。

从表 2 可看出,14、24 号菌株比出发菌株发酵周期短、孢子含量高。

表 2 部分菌株固体发酵情况

菌 号	发酵周期 (天)	活孢子数 (亿/克)	菌生长情况	孢子层颜色
3	10	140	较好	浅黄
7	10	127	较好	浅黄
14	10	157	好	粉白
19	12	153	好	粉白
20	12	83	一般	浅黄
24	9	140	较好	白
D <sub>1</sub>	12	53	一般	乳白
G <sub>1</sub>	12	65	一般	粉白

## 四、林间应用试验

为测定变异菌株的抗低湿及杀虫效果,我们在 1976 年夏季进行林间杀虫试验。试验面积为 358 亩,每亩有马尾松 300—400 株(6—7 年生),林间郁闭度为 0.4—0.5。试验从 6 月 30 日开始,7 月 27 日观察结束,试验期间总降雨量为 37.7 毫米,最高气温 37℃,最低气温 17.8℃。供试各菌株喷粉剂 2—3 亩,喷雾 1 亩,每亩喷粉量为 1.5 斤,喷雾浓度为 4 亿个孢子/毫升。

试验结果:14 号、24 号、G<sub>1</sub>、D<sub>1</sub> 菌的松毛虫死亡率各为:49.7%,59.3%,43.7%,26.2%,对照(不施菌)为 3.2%。

## 小 结

1. 通过诱变处理,选出 14、24 号两菌株,在较低湿度条件下,孢子发芽率高。同样培养条件下含活孢子数高,并具有一定的耐低湿性能,室内及林间应用均比原始菌株的杀虫率高。

2. 在一定限度内,r-射线诱变效应随照射剂量的增加而提高,15 万伦琴的照射剂量与 0.04 M 亚硝酸复合处理,对白僵菌的诱变效果较好(14、24 号均为此剂量处理得到的变异株)。

3. 对于白僵菌耐低湿菌株的选育,如何找出可靠的形态变异特征或生理生化变异特征,作为筛选的标准,还有待今后进一步研究。