

汤普森多毛菌菌丝体的液体培养和田间防治柑桔锈壁虱的效果*

陈道茂 严森祥 李云琴 陈椒生

(浙江省科学院柑桔研究所, 黄岩)

汤普森多毛菌 (*Hirsutella thompsonii* Fisher) 是从柑桔锈壁虱尸虫体上分离的一种寄生性真菌^[1,2]。感染试验证明该菌对柑桔锈壁虱有极高的寄生性。本文报告该菌菌丝体液体培养方法和防治柑桔锈壁虱田间应用效果。

菌丝体的液体培养

一、材料和方法

试验用摇瓶进行。培养种子是用 PDA 培养基。液体培养基由葡萄糖和蛋白胨组成。发酵液经 3000 转/分, 离心 10 分钟得到的沉淀体积表示菌丝体量(单位: 毫升)。

二、实验结果

1. 液体培养基的碳、氮比(见表 1): 表 1 表明, 产量最高的培养基含葡萄糖和蛋白胨各每毫升 5 毫克, 培养终了菌丝体量为 31.8 毫升。

氮源比碳源对发酵的影响大。

2. 菌丝体经不同处理对其产量的影响: 菌

表 1 不同碳氮比对菌丝体产量的影响

培养液浓度(毫克/毫升)	0.1	0.5	1	5	10	20	30	50	对照
菌丝体量* (毫升/100毫升)									
葡萄糖	+	+	+	+	+	+	+	+	±
蛋白胨	+	0.83	1.37	16.1	17.3	16.1	15.7	13.9	±
蛋白胨(5毫克/毫升)+葡萄糖	8.7	14.0	19.3	31.8	27.1	23.4	22.7	13.3	±

* 结果为三次重复的平均数, 培养液 pH 6.7, 培养时间 4.5 天。对照用清水。+ 为微量, ± 为极微量。

* 本研究承浙江农业大学陈鸿逵教授指导。

丝体经磨碎后接种比不磨碎直接接种产量高,前者产菌丝体达 35.6 毫升,后者为 23.3 毫升。

3. 最适培养温度: 试验温度自 20℃ 至 34℃ 设四个处理。取 PDA 培养基制成的平板,划线接种培养 10 天,比较试验结果。结果说明以 27—28℃ 的菌落生长最快,24—25℃ 次之。

4. 最适培养 pH: 培养液的组成为 5 毫克/毫升的葡萄糖和蛋白胨,在 pH5—9.5 之间设 5 个处理,结果最适 pH 值在 7.0 左右。为避免污染杂菌,通常在生产时把 pH 值控制在 6.7。

5. 用抗菌素防止污染: 除降低培养液 pH 外,还加入一定量抗菌素,每 100 毫升的培养液中分别加入 200 毫克的双氢链霉素,氯霉素或金霉素,都能有效地防止细菌污染。

6. 通气量: 往复式摇瓶机以 80 次/分振荡时,菌丝体产量最高。而停止振荡则菌丝体很少生长。在 1000 毫升和 500 毫升三角瓶中,各装 500 和 250 毫升培养液,则前者的菌丝体产量高。1000 毫升三角瓶中装 500 毫升培养液,其产菌丝体量较装量 600 毫升为高。

7. 液体培养对分生孢子形成的影响: 多毛菌在上述培养条件下,很少形成分生孢子,仅在贴近瓶壁液面上才形成分生孢子。

8. 回收菌丝体和贮藏: 30000 毫升培养液,培养 4—4.5 天后可得 7500—9000 毫升湿菌丝体。用二层纱布过滤,得菌丝体块,贮存于 4℃ 冰箱中,供田间应用。

防治柑桔锈壁虱田间应用效果

湿菌体块用组织捣碎机捣碎,用水稀释喷洒。喷菌时间一般在下午 3 点后,避免阳光直射和过快蒸发。每 10 天观察虫口消长情况。用 20 倍放大镜检查四个视野的虫数作每果虫数。各处理树上选 10 个结果做空白,供三天后检查死亡情况用。防治效果以阿拔朗氏公式计算。喷菌后每 10 天防治效果以生存率计算。

1. 田间防治效果和有效期保持时间: 1972—1976 年共进行 21 次田间试验,防治效果可归纳为三个类型: ① 喷菌后 24—72 小时内没下过雨,气温在 25℃ 以上,相对湿度在 80% 以

上,共有 6 次试验,防治效果为 93.1—98.4%,平均为 96.5%; ② 喷菌的当晚或喷菌后 48 小时内连续下雨,菌丝体受雨水冲刷的共 12 例,防治效果下降到 14.7—84.5%,平均为 57.6%; ③ 喷菌后连续高温干燥,相对湿度在 50% 以下共 3 例,防治效果为 49.6—64.9%,平均为 56.9%。尽管如此,只要有适宜的天气条件都能获得满意的防治效果。汤普森多毛菌防治柑桔锈壁虱的有效时间在 2 个月以上,见图 1。



图 1 汤普森多毛菌防治柑桔锈壁虱效果*

*A 试验在 1973 年 8 月 13 日黄岩城关大桥大队;
B 试验在 1973 年 8 月 22 日本所试验园。

根据 C. W. McCoy 等^[2]报道,利用菌丝体碎片防治柑桔锈壁虱的有效期在 12 个星期以上。因此在我国条件下,试验有效期能持续多久有待进一步研究。

2. 悬浮菌丝体碎片应用的有效浓度: 将离心沉淀的湿菌丝体捣碎后稀释,试验设 40—850 倍 7 个处理,防治效果以稀释 40 倍最好,为 94.7%。稀释 85 倍以上效果明显下降。

3. 使害虫大量死亡的时间: 室内测定在 28℃ 保温保湿 48 小时,经 87 小时其死亡率达 97.1%,对照 24%。田间试验由于温度和湿度

变化,害虫大量死亡时间约在喷菌后10天左右。天气干旱则害虫大量死亡还要推迟。

4. 对人畜的安全性:多年来参加试验的20多人中至今未发现有任何不良影响。对家畜和田间有益生物也未发现有不良的影响。

讨 论

汤普森多毛菌液体培养方法简单,但该方法易产生大量菌丝体几乎不产生分生孢子。而利用菌丝体碎片防治柑桔锈壁虱只要天气适当,都能获得满意的结果。如果天气干旱,可利用喷灌的方法,改变空气湿度加以补救。

参 考 文 献

- [1] 浙江省黄岩柑桔研究所植保组: 昆虫学报 17: 225—226 1974。
- [2] McCoy, C. W. and Kanavel, R. F.: *J. Invert. Pathol.*, 14(3): 386—390, 1969.
- [3] McCoy, C. W. Selhime, A. G. Kanavel, R. F. and Hill, A. J.: *ibid*, 17(2): 270—276, 1971.
- [4] McCoy, C. W. and Kanavel, R. F.: Isolation of *Hirsutella thompsonii* from the citrus Rust Mite, *Phyllocoptruta oleivora*, and its cultivation on various Synthetic Media, *Journal of invertebrate Pathology*, 14(3): 386—390, 1969.
- [5] McCoy, C. W. Selhime, A. G. Kanavel, R. F. and Hill, A. J.: Suppression of Citrus Rust Mite Populations with Application of fragmented Mycelia of *Hirsutella thompsonii*, *Journal of invertebrate Pathology*, 17(2): 270—276, 1971.