

球孢白僵菌菌株间差异性的研究

陈祝安 黄基荣 葛岚屏

(浙江省科学院亚热带作物研究所)

摘要 本文对不同来源的4个球孢白僵菌菌株进行了培养观察。在培养基量、接种量相同;培养条件一致的情况下,比较它们之间的产孢量。并通过生物检测,计算出对菜青虫的致死中时。结果表明,菌株间在培养性状、产孢量及毒力诸方面均存在差异。

关键词 球孢白僵菌;培养性状;产孢量;毒力测定;菜青虫

球孢白僵菌 *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. 是世界上研究最早,防治农林害虫常用的微生物杀虫剂^[1,2,3,4,5]。广泛收集种质资源,从中筛选出产孢量高、毒力强的菌株,对有效地利用和进一步开展遗传育种研究均有重要意义。1982—1987年间共收集分离到4个菌株,并研究测定了它们的产孢量和毒力,现将结果报道如下。

材 料 和 方 法

(一) 菌株来源

4个菌株编号为22[#]、36[#]、63[#]、81[#]。其中22[#]菌株由角蝉(*Tricentrus* sp)虫尸分离纯化得到;36[#]系柑桔木虱(*Diaphorina citri* Kuw.)虫尸分离取得;63[#]由美国康奈尔大学 Soper 博士赠送;81[#]从柳杉毛虫(*Hoenimnema roesleri* Laznquiere)虫尸分离得到。

(二) 培养性状观察

将4个菌株的分生孢子分别点植到马铃薯-葡萄糖-琼脂(PDA)、察氏培养基(Czapek media)和里查培养基(Richard media)平板上,22±1℃温育半个月,定期记录培养性状,测量菌落直径,重复5次。

(三) 产孢量测定

以大米饭为培养基,装于口径2cm试管内,每管10g,灭菌后接入0.2ml孢子悬浮液,置23±1℃恒温培养,用血球计数器测定培养5和14天的孢子产量,再换算成每克鲜菌剂的含孢量。各重复2次。

(四) 毒力测定

利用PDA斜面培养4个菌株成熟的分生孢子,分别称取0.1g,用1:3000洗衣粉液乳化后经血球计数器测定分生孢子数,换算成每克孢子粉的含孢量,然后再称取用40孔目过筛的滑石粉调配成每克含孢子 2.5×10^4 个的菌粉,均匀撒在滤纸上。受测昆虫为室外饲养的菜青虫(*Pieris repae* L.)。选取2—3龄健康幼虫,置于上述撒满孢子粉的滤纸上,任其爬行,待全身粘满孢子粉时放入养虫缸内,每天饲以新鲜甘兰叶,并记载感病虫数。每个菌株处理25头虫,重复2次。用不加孢子的灭菌滑石粉作为对照。

结 果 和 讨 论

(一) 培养性状比较

1. 4个菌株在3种培养基上的菌落形态有明显差异。

(1) 在PDA上:81[#]菌落圆形,有辐射状沟纹,菌苔白色绒毛状,中央部分浅黄色,边缘整齐。培养后期产生大量分生孢子使表面呈粉状。63[#]菌落圆形,表面凹凸不平,粉状。菌苔白色,绒毛状,边缘常见稀疏绒毛状。后期同81[#]。36[#]菌落圆形,中部扁平或隆起,下陷沟纹较81[#]深。边缘略呈不规则波浪形。菌落表面浅黄色粉状,背面浅黄色,后期转红褐色。22[#]菌落圆形,中部扁平或隆起,白色,周围米黄色。后期菌落表面形成指状的孢梗束。

(2) 在察氏培养基上:81[#]菌落圆形,边缘

本文系国家自然科学基金资助项目范围部分内容。

表 1 四个菌株的生长量比较

菌落直径 (mm)	培养基与时间 (d)	PDA		察氏培养基	
		10	14	10	14
菌株号					
81		18.1	30.2	15.7	25.8
63		27.2	40.0	20.0	31.0
36		18.6	23.2	19.7	28.0
22		25.8	38.7	15.5	29.5

菌丝稀疏,中部米黄色,背面淡黄色。63[#]菌丝体极稀疏,上有少量白色粉状孢子堆,背面无色。36[#]菌丝体较稀疏,菌落表面白色粉状,背面黄褐色。22[#]菌落馒头状拱起,菌丝体白色,绒毛状一絮状。

(3) 在里查培养基上: 81[#]生长极差。菌苔稀疏茸毛状,上有极少量孢子,背面鲜黄色。63[#]生长较好。菌落中部拱起,见不规则下陷沟纹。菌苔(菌丝体)浅黄一乳白色,茸毛状一絮状,表面粉状,产生大量分生孢子。背面黄一浅褐色。36[#]生长极差,菌落表面有点状或块状突起,菌苔稀疏茸毛状,孢子少,背面锈色,有紫红色渗液。22[#]菌落表面有深陷的沟纹,粉状,菌苔蛋黄色,局部乳白色,茸毛状,背面焦黄色。

2. 在 PDA 和察氏培养基上, 4 个菌株的生长量亦有明显差异。63[#]菌株无论在 PDA 或察氏培养基上生长都较快。培养 14 天的菌落直径在 PDA 上达到 40mm, 在察氏培养基上达到 31mm。而 36[#]和 81[#]则有明显偏低现象(表 1)。

表 2 四个菌株的产孢量比较(个孢子/g 鲜菌剂)

菌株号	培养时间(d)	
	5	14
81	1.2×10^7	7.5×10^8
63	5.7×10^7	1.8×10^9
36	1.8×10^7	1.9×10^8
22	1.9×10^8	1.6×10^9

(二) 产孢量的测定

在培养基量、接种量相同以及其他培养条件一致的情况下, 4 个菌株的产孢量有明显差

别。从表 2 看出, 培养 5 天产孢量以 22[#]为最高, 每克鲜菌剂含孢量为 1.9×10^8 个。其次是 63[#]、36[#]和 81[#]。培养 14 天的产孢量则以 63[#]为最好, 它是 36[#]的 9.5 倍, 81[#]的 2.4 倍; 与 22[#]相近似。

(三) 毒力测定

在 4 个菌株分生孢子浓度相同的情况下, 其感病率和时间(h)的关系见表 3 所列。表 3 说明虫体处理后 24 小时就开始发病, 48 小时 63[#]和 36[#]处理组致死率分别为 51.1% 和 47.6%。120 小时 63[#]菌株处理组的试虫全部死亡。

表 3 四个菌株对菜青虫毒力比较

菌株号	供试虫数(头)	不同时间(h)的感病率(%)				
		24	48	72	96	120
81	45	6.7	33.3	71.1	88.9	95.6
63	45	13.3	51.1	88.9	93.3	100.0
36	42	14.3	47.6	76.2	95.2	95.2
22	37	5.4	32.4	54.1	62.2	75.7

用机值分析法求毒力回归, 并计算致死中时(LT₅₀)^[2], 4 个菌株的毒力依次为 63[#]>36[#]>81[#]>22[#](表 4)。

表 4 毒力回归方程与致死中时

菌株号	回归方程	X ²	LT ₅₀ (h)
81	$Y = -3.18 + 4.73t$	1.50	56
63	$Y = -4.11 + 5.59t$	6.23	43
36	$Y = -2.89 + 4.72t$	3.85	47
22	$Y = -1.23 + 3.36t$	0.74	71

(下转第 18 页)

(上接第 3 页)

参 考 文 献

- [1] 蒲蛰龙: 害虫生物防治的原理和方法, 科学出版社,
p. 147—161, 1978。
[2] Hall, R. A: *Entomophaga*, 29(3): 311—321, 1984.

- [3] Paul H. D. and Byron J. M.: *J. Insect Pathol.*
5:451—459, 1963.
[4] Paschke J. D. *J. Invertebrate Pathol.* 7: 101—
111, 1965.
[5] Roberts D. W. and Humber R. A: *Biology of*
Conidial Fungi 2: 223—225, 1981.