

一株高毒力刀孢蜡蚧菌最适培养条件的优化 及其对桃蚜的毒力测定

黄岩^{1*}, 李茂业^{1*}, 刘苏¹, 刘明科¹, 丁朝阳¹, 齐禹哲¹,
闫雪梨¹, 钱逸彬¹, 徐逸凡¹, 闫芳芳^{2**}

(1. 安徽农业大学植物保护学院/植物病虫害生物学与绿色防控安徽普通高校重点实验室, 合肥 230036;

2. 四川省烟草公司攀枝花市公司, 攀枝花 617026)

摘要: 刀孢蜡蚧菌 *Lecanicillium psalliotae* 是一种重要的昆虫病原真菌, 在害虫生物防治中应用广泛。为明确刀孢蜡蚧菌生长和产孢的最适培养条件, 本文对一株刀孢蜡蚧菌 HFLP006 菌株的培养条件进行优化, 比较了不同培养基种类、初始接菌量、培养温度、供试碳源和氮源对该菌株产孢量的影响。结果表明, 在 SDAY 液体培养基中, 以 8% 接菌量培养 8 d 能够获得最大产孢量 2.83×10^9 个孢子/mL。菌株 HFLP006 最适产孢温度为 26 °C。以甘露醇和葡萄糖为碳源能够获得最大产孢量, 分别为 1.28×10^9 和 1.25×10^9 个孢子/mL, 二者之间差异不显著。以酵母浸粉为氮源获得的产孢量 (9.48×10^8 个孢子/mL) 最大, 且显著高于其他氮源处理组。使用 1×10^7 个孢子/mL 的菌悬液对桃蚜进行毒力测定, 处理后第 7 d 试虫平均校正死亡率达 80.73%。本研究所获得的结果对菌株 HFLP006 的大规模工业生产和生物防治应用均具有重要意义。

关键词: 刀孢蜡蚧菌; 初始接菌量; 温度; 碳源; 氮源

中图分类号: S476.1 文献标识码: A 文章编号: 1005-9261 (2021) 02-0349-07

Optimization of Culture Conditions for a Highly Virulent *Lecanicillium psalliotae* and Its Pathogenicity against Green Peach Aphid

HUANG Yan^{1*}, LI Maoye^{1*}, LIU Su¹, LIU Mingke¹, Ding Chaoyang¹, QI Yuzhe¹, YAN Xueli¹,
QIAN Yibin¹, XU Yifan¹, YAN Fangfang^{2**}

(1. Key Laboratory of Biology and Sustainable Management of Plant Diseases and Pests of Anhui Higher Education Institutes/School of Plant Protection, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China; 2. Sichuan Tobacco Corporation Panzhihua Company, Panzhihua 617026, China)

Abstract: *Lecanicillium psalliotae* is an important entomopathogenic fungus widely used in biological pest control. In order to determine the optimal culture conditions of the fungus, an optimization was performed for the *L. psalliotae* HFLP006 strain in this study by comparing the spore production of the fungus under different medium, initial inoculation densities, temperatures, carbon and nitrogen sources. The results showed that, the highest production of spores (2.83×10^9 spores/mL) was obtained when the fungus was inoculated in SDAY medium, under a 8% inoculation density, and cultured for eight days. The optimal temperature for HFLP006 strain was 26 °C. By using mannitol and glucose as carbon sources can yield highest amount of spores, which were 1.28×10^9 and 1.25×10^9 spores/mL, respectively. In addition, the difference on the spore production between the

收稿日期: 2020-01-13

基金项目: 国家重点研发计划 (2016YFD0300908); 安徽省自然科学基金 (1908085MC70); 四川省烟草公司攀枝花市公司重点项目 (SCYC201806); 中国烟草总公司四川省公司重点科技项目 (SCYC201706, SCYC201703)

作者简介: *并列第一作者, 黄岩, 硕士研究生, E-mail: 1198639487@qq.com; 李茂业, 博士, 副教授, E-mail: sj412bq@163.com。 **通信作者, 农艺师, E-mail: 172785496@qq.com。

DOI: 10.16409/j.cnki.2095-039x.2021.03.027

two carbon sources was not significant. The highest yield of spores, 9.48×10^8 spores/mL, was obtained by using yeast extract as nitrogen source, and significantly higher than those using other nitrogen sources. The pathogenicity of HFLP006 strain (1×10^7 spores/mL) on the green peach aphid, *Myzus persicae*, was tested and the average adjusted mortality of aphids was 80.73% at seven days after the treatment. The findings from this study are of significant importance not only to large-scale industrial production of HFLP006 strain, but also for the application of the fungus in biological pest control.

Key words: *Lecanicillium psalliotae*; initial inoculation density; temperature; carbon source; nitrogen source

昆虫病原真菌在自然界中分布广泛,在农业害虫生物防治中具有重要的应用价值和开发潜力。当前许多科研工作者已发现了多种昆虫病原真菌,包括布氏白僵菌 *Beauveria brongniartii*、金龟子绿僵菌 *Metarhizium anisopliae*、蜡蚧轮枝菌 *Lecanicillium lecanii*、玫烟色棒束孢 *Paecilomyces furmosoroseus* 等^[1]。刀孢蜡蚧菌 *Lecanicillium psalliotae* 是蜡蚧菌中的一类具有广谱性的昆虫病原真菌,对烟粉虱 *Bemisia tabaci*、桃蚜 *Myzus persicae* 和假眼小绿叶蝉 *Empoasca vitis* 等农林业害虫均具有较强的侵染能力^[2]。蜡蚧轮枝菌对烟粉虱的致死中浓度 (LC_{50}) 仅需 1×10^7 个孢子/mL^[3]。刀孢蜡蚧菌在低浓度条件下,菌悬液浓度为 1.66×10^3 个孢子/mL 时,对豆蔻蓟马 *Sciothrips cardamomi* 的致死率为 62.9%^[4],对假眼小绿叶蝉 *Empoasca vitis* 控制效果达到 50.9%^[5]。此外,蜡蚧轮枝菌对扶桑绵粉蚧 *Phenacoccus solenopsis* 也具有较高毒力,袁盛勇^[6]报道该菌对扶桑绵粉蚧 2 龄若虫的 LC_{50} 仅为 1.66×10^3 个孢子/mL。除了单独使用外,应用昆虫病原真菌和天敌协同防治害虫可以得到较好的结果^[7]。郑珊珊等^[8]将浓度为 5×10^7 个孢子/mL 的蜡蚧轮枝菌菌悬液喷施到缨小蜂 *Schizophragma parvulus* 体表对假眼小绿叶蝉进行防治,结果表明对假眼小绿叶蝉的控制效果最高可达 90.8%。

蜡蚧菌也可以与某些农药进行复配,产生协同增效作用。莽逸伦^[9]报道蜡蚧菌孢子悬浮液与印楝素混用后,大豆蚜 *Aphis glycines* 累计校正死亡率为 94.16%,而单独施用蜡蚧菌孢子悬浮液的处理最高累积校正死亡率为 76.64%。

近年来的研究表明,蜡蚧菌能够通过直接寄生和产生代谢产物两种方式来控制线虫和绿霉菌等植物病原微生物。赵洋^[10]报道蜡蚧菌产生的几丁质酶对南方根结线虫卵孵化的抑制作用明显,使用几丁质酶原液的处理组,卵的抑制率达到 83.17%。此外,蜡蚧菌对作物的生长发育也具有一定的促进作用^[11]。

近年来,由于化学农药的滥用^[12],导致土壤污染,作物农残过高,害虫产生抗药性等一系列问题。而利用昆虫病原真菌对害虫进行生物防治,则能在一定程度上减轻对环境的破坏。因此,基于昆虫病原真菌的害虫防治技术近年来受到广泛关注^[13]。昆虫病原真菌的大规模工业生产是使其在田间得以大范围应用的前提。由于不同种昆虫病原真菌对初始接菌量、温度、碳源和氮源的偏好情况不同,明确昆虫病原真菌最适培养条件有利于减少昆虫病原真菌工业生产成本,增加产品产量。刀孢蜡蚧菌作为一种重要的昆虫病原真菌,目前还鲜有对该菌株培养条件的报道。

为了明确刀孢蜡蚧菌 HFLP006 的最适培养条件,本研究以一株对桃蚜 *Myzus persicae* (Sulzer) 高毒力的刀孢蜡蚧菌 HFLP006 为对象,比较了该菌在不同初始接菌量、温度、碳源和氮源条件下的生长情况和产孢量,并对桃蚜进行了毒力测定,以期明确该刀孢蜡蚧菌菌株的最佳培养条件。本研究为昆虫病原真菌的培养提供了崭新的思路,对菌株 HFLP006 的大规模工业生产和生物防治应用均具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 供试菌种

供试刀孢蜡蚧菌 HFLP006 由贵州省贵阳市开阳县马场烟叶试验田中的桃蚜虫体获得,在安徽农业大学植物保护学院生物防治实验室分离保藏。试验前,用接种环挑取一定量孢子接种到 SDAY 固体培养基上,在 26 °C 培养箱中培养 10 d,活化备用。

1.2 供试昆虫

供试桃蚜于 2019 年采自四川省泸州市烟草试验基地,在安徽农业大学植物保护学院人工气候室内用

烟草(云烟 87)饲养多代,饲养条件为温度(25±1)℃,光周期 16D:8L, RH>85%。挑选大小一致,有较强活力的无翅成蚜置于提前洗净的烟草叶片上,12 h 后将成蚜挑出,留下叶片上的若蚜继续饲养,待若蚜发育至成蚜,挑取最后一次脱皮 1~2 d 内活力强的无翅成蚜作为供试虫源。

1.3 最适培养基的筛选

基础培养基:葡萄糖 2.2 g,蛋白胨 0.2 g, K₂HPO₄ 0.1 g, 无水 MgSO₄ 0.05 g, 纯水 100 mL, pH 7.0。SDAY 液体培养基:葡萄糖 4.0 g,蛋白胨 1.0 g, 酵母浸粉 1.0 g, 纯水 100 mL。PDA 液体培养基:马铃薯 20 g(削去外皮,开水煮沸 20 min,用纱布滤去残渣),葡萄糖 2.0 g,纯水 100 mL。

1.4 最适初始接菌量的筛选

将培养 10 d 的菌株 HFLP006 在无菌条件下接入 SDAY 液体培养基的锥形瓶中,在(26±0.3)℃,光周期 16D:8L,转速为 120 r/min 的恒温摇床培养 10 d,测其孢子浓度,待浓度达到 10⁸ 个孢子/mL 时吸取菌液,按 0.5%、1%、2%、4% 和 8% 的接菌量分别接入 PDA 和 SDAY 液体培养基中,每个浓度重复 3 次,在恒温摇床连续培养 7 d,首次接入 48 h 后使用血球计数板在显微镜下测其孢子浓度并观测颜色变化。

1.5 最适温度的筛选

将菌株 HFLP006 以 1% 接菌量接入 SDAY 液体培养基,在 5 个不同温度(22℃、24℃、26℃、28℃ 和 30℃)处理下,在光周期为 16D:8L,转速为 120 r/min 的恒温摇床中连续培养 7 d。每个温度重复 3 次,测定方法同 1.4。

1.6 最适碳源及氮源的筛选

在最适碳源筛选试验中,将基础培养基中的葡萄糖分别用另外 5 种碳源(可溶性淀粉、乳糖、麦芽糖、蔗糖、甘露醇)替换,使其含碳量相同,配制成 6 种不同的碳源培养基;在最适氮源筛选试验中,将基础培养基中的蛋白胨分别用另外 3 种氮源(酵母浸粉、硝酸钾、硫酸铵)替换,使其含氮量相同,配制成 4 种不同的氮源培养基。将菌株 HFLP006 以 1% 接菌量接入各处理培养基中,在 26℃、光周期 16D:8L、转速 120 r/min 的恒温摇床培养。每个处理重复 3 次,培养及测定方法同 1.4。

1.7 对无翅桃蚜成虫的毒力测定

吸取培养 10 d 的 HFLP006 孢子悬浮液(培养条件:SDAY 液体培养基、26℃、光周期 16D:8L、转速 120 r/min),在显微镜下用血球计数板计算孢子浓度,用无菌水将孢子悬浮液稀释至 1×10⁷ 个孢子/mL。将孢子悬浮液用小喷壶喷在带有无翅成蚜的烟草叶片上(每片烟叶 30 头桃蚜成虫),喷施至烟草叶片完全湿润,对照组试虫喷施无菌水。待烟草叶片在室温下晾干后,每个处理取 3 片烟叶(烟草中上部叶片),装入透明保鲜盒,置于光周期 16D:8L、温度(26±1)℃光照培养箱中,连续观察 7 d,计算试虫死亡率。试验设置 4 次生物学重复。

1.8 数据统计与分析

使用 Abbott 公式计算出 LD₅₀ 和毒力回归方程。采用邓肯新复极差法,比较在不同培养基种类、不同初始接菌量、不同温度、不同碳源及不同氮源条件下菌株产孢量差异性。所有数据均由 DPS 软件完成统计分析。校正死亡率(%)=(处理组死亡率-对照组死亡率)/(1-对照组死亡率)×100。

2 结果与分析

2.1 接菌量对刀孢蜡蚧菌生长状况的影响

在不同接菌量条件下,供试刀孢蜡蚧菌 HFLP006 菌株产孢量情况如表 1 所示。在 SDAY 培养基中,各处理的最大产孢量的峰值出现在第 7 d 或第 8 d,之后产孢量开始下降。菌株 HFLP006 在各时间段的产孢量均显著高于其他接菌量处理组($F_{4,10}=71.43, P<0.05$)。在接菌量 8% 条件下,培养第 8 d 菌株 HFLP006 产孢量达到最大值(28.30×10⁸ 个孢子/mL)。

在 PDA 培养基中,8% 接菌量处理组在各时间段的产孢量均显著高于其他接菌量处理组($F_{4,10}=91.39, P<0.05$),且在第 8 d 产孢量达到最高,为 16.11×10⁸ 个孢子/mL。此外,在各接菌量条件下,接种于 SDAY 培养基的菌株的最大产孢量均大于 PDA 培养基。

表 1 不同初始接菌量条件下刀孢蜡蚧菌产孢量的比较
Table 1 Comparison in spore production of *L. psalliotae* under different initial inoculation density

培养基 Medium	接菌量 Inoculation density (%)	产孢量 Spore production (10 ⁸ spores/mL)								
		2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	8 d	9 d	10 d
SDAY	0.5	0.031±0.00 e	0.24±0.04 e	0.95±0.06 d	1.65±0.27 e	4.90±0.41 d	13.17±0.72 e	12.40±1.47 d	11.53±0.47 d	10.80±1.14 c
	1	0.13±0.00 d	0.56±0.02 d	1.16±0.06 cd	4.15±0.58 d	7.68±0.88 c	15.03±0.63 d	18.33±1.14 c	17.47±0.85 c	16.23±0.65 b
	2	0.36±0.04 c	0.78±0.06 c	1.48±0.04 c	5.58±0.24 c	13.03±0.51 b	20.42±0.56 c	18.87±1.12 c	18.50±0.87 c	14.07±1.94 b
	4	0.77±0.073 b	0.99±0.05 b	4.99±0.39 b	8.65±0.38 b	15.77±1.07 a	24.53±0.63 b	22.90±1.38 b	20.47±1.02 b	16.13±2.13 b
	8	0.95±0.55 a	1.24±0.04 a	7.68±0.23 a	14.63±0.51 a	16.60±0.66 a	25.90±1.18 a	28.30±0.85 a	26.83±1.07 a	25.67±1.78 a
PDA	0.5	0.34±0.03 e	0.08±0.00 e	0.57±0.03 c	0.96±0.05 e	3.72±0.28 e	7.97±0.71 d	13.07±0.99 c	12.00±0.80 c	9.87±0.25 c
	1	0.17±0.02 d	0.39±0.02 d	0.81±0.04 c	3.21±0.22 d	5.18±0.22 d	13.27±0.78 c	16.11±1.18 b	12.10±0.50 c	10.30±1.49 c
	2	0.26±0.01 c	0.61±0.06 c	1.02±0.04 c	5.00±0.68 c	10.65±0.61 c	14.27±1.41 c	16.13±1.31 b	15.33±0.96 b	14.03±0.63 b
	4	0.52±0.03 b	1.08±0.08 b	3.33±0.39 b	6.08±0.55 b	11.67±0.86 b	16.53±0.57 b	15.90±1.14 b	14.53±0.86 a	13.83±0.70 b
	8	0.68±0.06 a	1.50±0.04 a	5.70±0.45 a	8.83±0.70 a	13.57±0.41 a	19.27±0.31 a	20.53±0.71 a	17.60±6.56 a	16.27±0.67 a

注：同列数据后不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。
Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference ($P<0.05$).

2.2 温度对刀孢蜡蚧菌生长状况的影响

菌株 HFLP006 在 22 ℃~30 ℃ 条件下均可以生长并产生分生孢子（表 2）。在 22 ℃~24 ℃ 范围内，培养 2~5 d 菌株 HFLP006 的产孢量随温度增加而增大。在 28 ℃ 条件下，从第 5 d 开始菌株产孢量随温度增加而减少。菌株 HFLP006 在 5 个温度条件下的最大产孢量存在明显差异，该菌株在 26 ℃ 培养 6 d 后，产孢量达到最大值 16.92×10^8 个孢子/mL，显著高于其他处理组 ($F_{4,10}=301.90$, $P<0.05$)。

表 2 不同培养温度条件下刀孢蜡蚧菌产孢量的比较
Table 2 Comparison in the amount of spores produced by *L. psalliotae* under different incubation temperatures

温度 Temperature (℃)	产孢量 Spore production (10 ⁸ spores/mL)					
	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d
22	0.16±0.01 c	2.18±0.11 c	7.10±0.15 c	8.93±1.05 d	8.53±0.43 d	8.200±0.50 c
24	0.48±0.03 b	4.12±0.50 a	8.83±0.85 b	11.10±0.46 b	12.17±0.60 c	11.27±0.12 b
26	0.72±0.04 a	2.88±0.15 b	4.46±0.15 d	10.08±0.24 c	16.92±0.41 a	15.55±0.53 a
28	0.50±0.13 b	2.13±0.12 c	9.31±0.33 a	12.10±0.35 a	15.93±0.15 b	15.30±0.70 a
30	0.11±0.02 c	1.08±0.17 d	4.56±0.07 d	8.69±0.13 d	8.33±0.25 d	7.93±0.71 c

注：同列数据后不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。
Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference ($P<0.05$).

2.3 碳源对刀孢蜡蚧菌生长状况的影响

菌株 HFLP006 在以甘露醇作为碳源的培养基中产孢量最大，在培养第 6 d 达到 12.83×10^8 个孢子/mL，显著高于以蔗糖、麦芽糖、淀粉和乳糖为碳源的处理组 ($F_{5,12}=16.69$, $P<0.05$)，但与碳源为葡萄糖的处理组之间差异不显著 ($P>0.05$)。说明以甘露醇为碳源能够促进菌株 HFLP006 产孢，但葡萄糖对该菌株的产孢也具有相似效果（表 3）。

2.4 氮源对刀孢蜡蚧菌生长状况的影响

菌株 HFLP006 在以酵母浸粉为氮源的条件下，在培养第 6 d 达到最大产孢量 9.48×10^8 个孢子/mL，显著高于其他处理组 ($F_{3,8}=88.68$, $P<0.05$)。而以硫酸铵为氮源的处理组在各个培养时间的产孢量均为最低（表 4）。

2.5 刀孢蜡蚧菌对无翅桃蚜成虫的致病力

菌株 HFLP006 对无翅成蚜的校正死亡率随着时间的增加而上升，施菌后 1~3 d，试虫死亡率较低，

表 3 不同碳源条件下刀孢蜡蚧菌产孢量的比较
Table 3 Comparison in the amount of spores produced by *L. psalliotae* under different carbon sources

碳源 Carbon sources	产孢量 Spore production (10 ⁸ spores/mL)					
	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d
葡萄糖 Glucose	0.71±0.19 b	1.93±0.07 a	7.83±0.93 a	10.72±1.57 a	12.57±0.24 a	11.13±0.65 b
蔗糖 Sucrose	0.71±0.12 b	1.18±0.03 c	6.07±0.42 bc	8.56±0.30 a	9.80±0.30 b	6.46±0.26 d
麦芽糖 Maltose	0.36±0.05 c	1.57±0.10 b	3.74±0.22 d	7.58±1.59 a	9.31±0.38 b	9.06±0.47 c
淀粉 Soluble starch from potato	0.54±0.02 bc	1.11±0.16 c	5.36±0.53 c	10.66±1.90 a	8.73±0.61 b	9.61±0.34 c
乳糖 Lactosum	1.07±0.21 a	1.17±0.08 c	6.71±1.25 ab	10.86±2.76 a	6.67±2.31 c	5.70±0.33 d
甘露醇 D-Mannitol	0.36±0.03 c	1.72±0.11 b	7.81±0.10 a	9.55±0.78 a	12.83±0.11 a	12.77±1.30 a

注：同列数据后不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。
Note: different lowercase letters in the same column indicate significant difference ($P<0.05$).

表 4 不同氮源条件下刀孢蜡蚧菌产孢量的比较
Table 4 Comparison in the amount of spores produced by the *L. psalliotae* under different nitrogen sources

氮源 Nitrogen sources	产孢量 Spore production (10 ⁸ spores/mL)					
	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d
蛋白胨 Peptone	0.40±0.03 c	0.81±0.18 b	3.56±0.61 b	7.89±0.60 a	7.36±0.53 b	6.70±0.35 a
酵母浸粉 Yeast extract powder	0.80±0.06 a	1.49±0.09 a	5.68±0.47 a	8.03±0.46 a	9.48±0.49 a	5.26±0.16 b
硫酸铵 Ammonium sulfate	0.33±0.01 c	0.54±0.05 c	2.48±0.63 c	4.42±0.60 d	3.70±0.44 d	3.33±0.32 c
硝酸钾 Potassium nitrate	0.62±0.06 b	0.91±0.03 b	2.83±0.40 bc	5.30±0.52 c	5.97±0.25 c	5.41±1.19 b

注：同列数据后不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。
Note: different lowercase letters in the same column indicate significant difference ($P<0.05$).

而在施菌后 3~5 d 试虫死亡率迅速上升。从第 5 d 开始致死率增长趋势逐渐平缓，第 7 d 试虫的校正死亡率达 80.73%。计算获得回归方程为 $Y=0.6705+3.2672X$ ，相关系数为 0.8975，95%置信区间 0.9622~1.6881，LD₅₀ 为 1.3251 g/mL。

3 讨论

不同培养条件对昆虫病原真菌的生长、性状和产孢量均有显著影响。其中，初始接菌量对菌株产孢量的影响最为直接。刘超等^[14]研究了初始接菌量对致病病原真菌白色念珠菌 *Canidia albicans* 的抑菌效果，发现初始接菌量越小白色念珠菌菌株受到外界因素的干扰就越小。在 SDAY 液体培养基中，当初始接菌量为 8%时，菌株 HFLP006 获得的最大产孢量显著高于其他处理。但是从生产工艺层面考虑，若采用这一接菌量条件，会增加成本的投入，所以在生产实践中采用何种接菌量应结合生产者自身及消费者的消费能力综合考虑。此外，本试验发现 PDA 培养基培养效果低于 SDAY 培养基，而且在接菌后第 3 d 所有 PDA 处理组的菌悬液中均出现了白色结块，干扰了后续孢子浓度的测定。推测该现象也会对刀孢蜡蚧菌的工业发酵造成影响。

培养温度的高低直接影响刀孢蜡蚧菌菌株产孢量^[15]。李戌清等^[16]通过对一株分离自番茄叶片上的刀孢蜡蚧菌进行培养，发现其虽在 25 ℃~30 ℃条件下均能正常生长，但最适培养温度为 25 ℃。这一结果与本研究最适培养温度 26 ℃的结论略有差异，可能是与菌株采集地不同有关。谢佶芹等^[17]在实验室进行蛀虫蜡蚧菌 *Lecanicillium cauligalbarum* 最适生长温度与营养条件试验，得出蛀虫蜡蚧菌最适生长温度为 25 ℃，说明不同种的蜡蚧菌所需最适温度有一定差异。谷祖敏等^[18]在研究 2 株蜡蚧菌耐热性差异分析试验中发现，28 ℃条件下蜡蚧菌 VL17 和 VL18 菌株孢子萌发率分别达 89.26%和 91.83%。本试验发现菌株 HFLP006 最适培养温度为 26 ℃的结论与他们所得出的最适温度结论略有不同，原因可能是与不同种蜡蚧菌的生物学特性有关^[19]。

供试培养基中的碳源在一定程度上影响着菌株的生长产孢。高利^[20]在进行液体与固体培养几种生防真

菌的研究中发现葡萄糖对蜡蚧菌的生长有积极作用。本研究结果表明在接菌量相同的条件下,刀孢蜡蚧菌 HFLP006 在含有甘露醇和葡萄糖的液体培养基中均能正常生长。本试验还发现可溶性淀粉作为碳源的处理,菌株产孢量不理想。原因可能是可溶性淀粉作为多糖^[21],不能被刀孢蜡蚧菌直接吸收利用,且可溶性淀粉需要提前加热熔化形成胶体,操作步骤较为复杂,在生产上难以使用。

除了碳源之外,氮源也与真菌菌株的生长产孢有一定的相关性。姜灵^[22]发现以氮源为蛋白胨的培养基中,蜡蚧轮枝菌菌株最大产孢量为 9.05×10^6 个孢子/mL,而在酵母浸粉为氮源处理中最大产孢量为 6.05×10^6 个孢子/mL。张召荣等^[23]发现以蛋白胨作为氮源培养一株来自古巴的蜡蚧菌 CHLB5,在培养第 7 d 产孢量可达 3.96×10^{10} 个孢子/mL。本研究发现当以酵母浸粉为氮源时,刀孢蜡蚧菌 HFLP006 的最大产孢量显著高于其他处理,这与 Mehta 等^[24]的报道一致。供试氮源为酵母浸粉的处理的最大产孢量优于其他氮源处理,表明酵母浸粉在本研究中是最适合刀孢蜡蚧菌生长产孢的氮源,这也说明刀孢蜡蚧菌 HFLP006 与其他种蜡蚧菌嗜好氮源的种类不同。

在毒力测定中,刀孢蜡蚧菌 HFLP006 对桃蚜无翅成蚜的侵染力较高,表明该菌株有应用于田间防治桃蚜的潜力。田佳等^[25]从野外采集了一株球孢白僵菌菌株 BQ-64,该菌株在浓度为 1×10^7 个孢子/mL 时对桃蚜的最大校正死亡率仅为 29.85%。本研究同样使用 1×10^7 个孢子/mL 的 HFLP006 菌悬液处理桃蚜,在第 7 d 校正死亡率为 80.73%,所以本研究中刀孢蜡蚧菌更具有防治潜力。当前也有一些关于蜡蚧菌联合使用的研究,孔琼等^[26]研究发现蜡蚧菌与 3%啉虫脒可湿性粉剂和 20%丁硫克百威乳油复配后对蜡蚧菌的杀伤力最小,说明刀孢蜡蚧菌也许能与农药复配,以提高防效,降低农药使用量。

本研究从供试培养基种类、初始接菌量、温度、碳源和氮源及菌株毒力测定 6 个方面研究获得最大产孢量的培养条件,所培养的孢子对桃蚜具有较高侵染力,本研究结果对刀孢蜡蚧菌大规模工业生产和生物防治应用均具有重要意义。后续研究将重点关注菌株 HFLP006 的工业生产及该菌株与其他药剂的相容性,使该菌株更好地应用于桃蚜生物防治。

参 考 文 献

- [1] 余焱颖,郭应菊,杨雪,等. 我国虫生真菌的研究现状[J]. 四川农业科技, 2018(12): 27-29.
- [2] 蒲蛰龙,李增智. 昆虫真菌学[M]. 合肥: 安徽科学技术出版社, 1996, 394-395.
- [3] 谢婷,景亮亮,张晓霞,等. 八种常用农药与蜡蚧轮枝菌 JMC-01 的相容性及对烟粉虱若虫的毒力测定[J]. 应用昆虫学报, 2020, 57(3): 682-689.
- [4] Senthil C M, Kumar T K, Jacob S, et al. Isolation and characterization of a *Lecanicillium psalliotae* isolate infecting cardamom thrips (*Sciothrips cardamomi*) in India[J]. Biological Control, 2015, 6(3): 363-373.
- [5] 郑珊珊,姜荣良,田麟,等. 蜡蚧轮枝菌和缨小蜂对假眼小绿叶蝉的协同控制作用[J]. 江西农业大学学报, 2012, 34(2): 282-287.
- [6] 袁盛勇,闫鹏飞,孔琼. 蜡蚧轮枝菌对扶桑绵粉蚧的致病性研究[J]. 环境昆虫学报, 2016, 38(4): 748-754.
- [7] 李先伟,潘明真,刘同先. BANKER PLANT 携带天敌防治害虫的理论基础与应用[J]. 应用昆虫学报, 2013, 50(4): 890-896.
- [8] 郑珊珊,姜荣良,田麟,等. 蜡蚧轮枝菌和缨小蜂对假眼小绿叶蝉的协同控制作用[J]. 江西农业大学学报, 2012, 34(2): 282-287.
- [9] 莽逸伦,韩岚岚,赵奎军,等. 蜡蚧菌和 3 种低浓度杀虫剂混用对大豆蚜的影响[J]. 中国生物防治学报, 2018, 34(2): 266-273.
- [10] 赵洋,陈德鑫,黄化刚,等. 渐狭蜡蚧菌 *Lecanicillium attenuatum* 产几丁质酶的活性及对南方根结线虫卵孵化的抑制作用[J]. 植物保护学报, 2014, 41(5): 547-554.
- [11] Senthil C M, Kumar T K, Jacob S, et al. Geethu. Multifarious plant growth promotion by an entomopathogenic fungus *Lecanicillium psalliotae*[J]. Microbiological Research, 2018, 207(10): 153-160.
- [12] 丁浩东,万红友,秦攀,等. 环境中有机磷农药污染状况、来源及风险评价[J]. 环境化学, 2019, 38(3): 463-479.
- [13] Srigiriraju L, Semtenr P J, Bloomquist L J R. Monitoring for imidacloprid resistance in the tobacco-adapted form of the green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae), in the eastern United States[J]. Pest Management Science, 2010, 66(6): 76-85.
- [14] 刘超,赵丽萍,王良明,等. 培养基,接菌量,培养温度对真菌抑菌试验的影响[J]. 沈阳部队医药, 2001, 6(3): 514-515.
- [15] Kanaoka M, Isogal A, Murakoshi S, et al. *Bassianolide*, a new insecticidal cyclodepsipeptide from *Beauveria bassiana* and *Verticillium lecanii*[J]. Agricultural Biological Chemistry, 2017, 42(3): 629-635.

- [16] 李戌清, 田忠玲, 李红斌, 等. 一株分离自番茄叶片的刀孢蜡蚧菌的鉴定、生物学特性及其对杀菌剂敏感性[J]. 中国生物防治学报, 2016, 32(1): 62-69.
- [17] 谢估芹, 周叶鸣, 邹晓, 等. 蛀虫蜡蚧菌的产孢条件优化[J]. 中国生物防治学报, 2020, 36(1): 150-154.
- [18] 谷祖敏, 戈婉儿, 纪明山. 2株蜡蚧轮枝菌耐热性差异分析[J]. 华中农业大学学报, 2018, 37(5): 40-44.
- [19] 鹿连明, 杜丹超, 胡秀荣, 等. 三种侵染柑橘木虱的蜡蚧菌属真菌的生物学特性[J]. 浙江农业学报, 2016, 28(10): 1738-1744.
- [20] 高利. 液体与固体培养几种生防真菌的研究[J]. 中国生物防治, 2009, 25(4): 322-327.
- [21] 豁银强, 刘松继, 陈江平, 等. 麦冬多糖对大米淀粉凝胶化及凝胶特性的影响[J]. 中国粮油学报, 2020, 35(11): 48-53.
- [22] 姜灵. 蜡蚧轮枝菌的生物学特性及与常用杀虫剂对烟粉虱的协同作用[D]. 银川: 宁夏大学, 2018.
- [23] 张召荣, 张艳军, 谢明. 一株来自热带地区蜡蚧菌的鉴定, 生物学特性及其对烟粉虱的致病力[J]. 中国生物防治学报, 2015, 31(1): 64-70.
- [24] Mehta J, Kaushal N, Sen P, *et al.* Impact of carbon & nitrogen sources on the *Verticillium lecanii* and *Metarhizium anisopliae* entomopathogenic fungi[J]. European Journal of Experimental Biology. 2012, 2(4): 1278-1283.
- [25] 田佳, 汝冰璐, 王颖, 等. 一株对桃蚜有高致病性球孢白僵菌的分离、筛选与鉴定[J]. 植物保护学报, 2018, 45(3): 606-613.
- [26] 孔琼, 薛春丽, 袁盛勇, 等. 田间常用化学农药对蜡蚧轮枝菌生长的影响[J]. 江苏农业科学, 2011, 39(4): 122-124.

(责任编辑: 张莹)