

应用抑菌剂生产白僵菌的研究

杨敏芝 宋益良** 徐庆丰*

(吉林省农科院植保所)

摘 要

3年试验证明:用麦麸生产白僵菌时,采用敌克松、硫酸铜、漂白粉0.1~0.3%的浓度直接拌料可获得良好的效果 $C_{2.3}^{3.4}$,产孢量高,每克菌粉含孢子70~113亿,而且对白僵菌生长安全,抑制杂菌明显。用玉米糝生产白僵菌时,则以玉米糝煮沸30分钟的产孢量较高,每克菌粉含39.74亿孢子。采用玉米糝预浸1天,再用0.1%硫酸铜液浸糝15分钟,也可获得较好的效果。此法不用高压灭菌,简单、经济,适合农村应用。

经过多年大面积防治实践证明,白僵菌防治玉米螟的效果一般稳定在80%以上;对农林害虫也具有显著的防治效果⁽¹⁾。但目前白僵菌制剂生产仍以麦麸为原料的固体生产方式为主;部分地区(东丰县)采用玉米糝。在三级固体培养时,原料均需高压灭菌,耗费大量燃料,大大增加生产成本,而且工艺复杂,易受杂菌污染。为了节省燃料和成本,提高成品率,进行了应用抑菌剂拌料,代替高压灭菌生产白僵菌的试验。本文报告3年来的研究结果。

材 料 和 方 法

(一) 试验材料

1. 供试菌株:

采用玉米螟白僵菌9*菌株。

2. 培养基:

斜面菌种采用0.3%蛋白胨PDA培养基;固体二级种子用100%麦麸做培养基;液体二级种子培养基采用20%马铃薯煮出液加2%蔗糖、0.3%蛋白胨制成;三级固体发酵培养基采用80%麦麸、20%锯末或100%玉米糝。

3. 抑菌剂种类及浓度

漂白粉0.3、0.5%;敌克松0.1、0.3%;硫酸铜0.3、0.5%;六六六0.1%溶液。

(二) 试验方法

1. 麦麸培养:

将不同种类的抑菌剂配制成不同浓度溶液,分别加入固体培养料中,麸不炒,料与抑菌剂的比例为1:1;炒麸料与抑菌剂比例为1:1.2。混拌均匀静置15分钟接种,接菌量二级种子与料之比为2:10,接种后用手攥料指缝略有水即可,如果水分不够,应补充

本文承蒙曾广然研究员审阅,深表谢意。

* 徐庆丰:安徽省农业经济学院。

** 宋益良:北京中国农科院植保所。

凉开水。以不加抑菌剂的固体料高压灭菌（ $1\text{ Kg}/\text{cm}^2$ ，50分钟）为对照。另一处理则将麦麸和白纸条一同倒入锅内炒料，当白纸条变黄，取出冷至 30°C 接种培养。

2. 玉米楂培养：

（1）先将玉米楂于清水中浸泡1，2，3天，然后捞出，稍控去水分，再放于0.5%硫酸铜溶液中浸泡5分钟，捞出控水接种培养。（2）用清水浸楂3天，捞出控水，分别放于0.1、0.3、0.5%硫酸铜液中浸泡3，5，10，15，20和30分钟，捞出控水接种培养。（3）玉米楂煮沸10，20，30分钟后，捞出控水，降温后接种。

3. 抑菌剂对5种真菌的直接抑制效果：

（1）菌液配制：将5种真菌分别接入盛有无菌水三角瓶中，每瓶内装100粒玻璃珠，在旋涡器上振荡5分钟，使孢子分散于水中。用血球计数器测定每毫升含孢子2亿个。（2）抑菌剂配制：分别将10mL无菌水配制成0.1、0.2、0.3、0.4、0.5%浓度的漂白粉和硫酸铜溶液，加滤纸片摇匀备用。分别吸取配好的5种真菌菌液5mL，滴入5个培养皿内，随入倾入PDA培养基10mL，制成含菌平板，待凝固后，将滤纸片放于平板上，每皿4片，置于 25°C 温箱内培养2天，测量其抑菌圈直径。

4. 培养和管理：

麦麸培养料接种后，放于木制曲盘中，料的上、下撒一定量的无菌锯末，以防杂菌污染和水分蒸发。玉米楂培养料接种后，在曲盘上、下放无菌报纸，置于 20°C 恒温培养。在培养过程中，控制料温不超 28°C 。当料温升高即往水泥面泼水降温保湿或开门窗降温，以免导致霉菌污染。当料面略干应盖塑料保湿，以利于菌丝快速生长。冬季生产白僵菌料铺宜稍厚（4~5cm），夏季料铺稍薄（3~4cm）。相对湿度应保持在80%左右。

5. 调查项目：

（1）检测抑菌剂对5种真菌的抑菌圈。（2）在麦麸、玉米楂培养过程中，每隔4小时调查室温、料温、菌丝生长状态及有无杂菌污染。（3）测定每克菌粉含孢子数：每处理取3点采样，每点取菌粉1g，用血球计数法测定含孢子数，从中选出产孢量最高的配方。

结果 和 分析

（一）漂白粉、硫酸铜对几种微生物的抑菌效应

经过3次重复试验结果看出（表1），硫酸铜浓度为0.1、0.2、0.3、0.4、0.5%对5种真菌无抑制作用。其原因可能是供试的5种真菌具有耐硫酸铜的性能。也有个别抑菌剂无抑制圈也能起到抑制杂菌生长作用，如0.1%漂白粉浓度对白僵菌无抑菌圈，但对根霉、黑曲霉、黄曲霉和青霉具有强烈的抑制作用。0.2%漂白粉浓度在3次重复试验中，仅有1次出现抑菌圈，2次无抑制菌圈，这说明它对白僵菌抑制作用不明显。当用0.3%漂白粉浓度时，对白僵菌的抑制作用仍不明显。0.5%漂白粉浓度对白僵菌抑制明显。由此可见，随着漂白粉抑菌剂浓度的增高，对白僵菌产生抑制效应。故在白僵菌生产中选用的浓度以0.1~0.3%为宜。可达到抑制杂菌生长和白僵菌正常生长的目的。

表 1

漂白粉对 5 种真菌的抑制效果调查

菌种 浓度	抑 菌 圈 直 径 (mm)							
	根 霉				黑 曲 霉			
漂白粉 (%)	I	II	III	均值	I	II	III	均值
0.1	0.8757	2.2966	4.8867	1.3530	0.7375	4.5188	2.3533	2.5365
0.2	1.3450	1.9433	1.2833	1.5239	0.9675	4.6420	2.5800	2.7232
0.3	1.7275	2.7875	2.1700	2.2217	1.2213	5.0929	2.4058	2.9064
0.4	2.8900	3.3550	2.4516	2.8989	1.5150	6.1513	3.5114	3.7259
0.5	2.3900	3.3643	2.5300	2.9281	1.6600	7.9688	4.5427	4.7238

续表 1

菌种 浓度	抑 菌 圈 直 径 (mm)											
	黄 曲 霉				青 霉				白 僵 菌			
漂白粉%	I	II	III	均值	I	II	III	均值	I	II	III	均值
0.1	1.0183	2.3325	0.7250	1.3588	0	1.3371	0	0.4624	0	0	0	0
0.2	1.2500	2.4800	1.1675	1.6325	1.9325	1.4330	1.5850	1.6102	0	0.3963	0	0.132
0.3	1.1475	2.7550	1.2800	1.7275	2.2650	1.5020	2.4050	2.0573	0	0.8875	1.3767	0.754
0.4	3.0413	4.6563	2.4050	3.3875	3.2450	2.4263	2.1575	2.6096	2.1150	2.1300	1.8871	2.044
0.5	3.1729	4.9900	2.3117	3.4912	2.5340	4.2075	2.2383	2.9933	2.3183	2.3863	2.3767	2.360

(二)不同种类抑菌剂生产白僵菌对产孢量的影响

试验结果证明(表 2), 利用不同种类的抑菌剂生产白僵菌其产孢量有差异。例如炒料中添加 0.3% 敌克松生产白僵菌, 其每克菌粉孢子量高于对照 57.27 亿。其次是 0.5 漂白粉和 0.3% 硫酸铜孢子量, 分别高于对照 33.77 亿/克和 27.2 亿/克。对于炒料后加菌剂 0.3、0.5% 硫酸铜液产孢量最佳, 比对照多 58.95、46.36 亿/克。炒料不加抑菌剂

表 2

不同种类抑菌剂生产白僵菌对产孢量的影响

处 理 浓 度	每克菌粉含孢子数 (亿/克)	处 理 浓 度	每克菌粉含孢子数 (亿/克)
不 炒 料	50.10	炒 料	39.84
0.3% 漂白粉	79.30	0.3% 漂白粉	80.75
0.5% 漂白粉	88.17	0.5% 漂白粉	35.46
0.1% 敌克松	80.46	0.1% 敌克松	32.30
0.3% 敌克松	101.67	0.3% 敌克松	61.06
0.1% 六六六	70.95	0.1% 六六六	68.38
0.3% 硫酸铜	81.60	0.3% 硫酸铜	113.35
0.5% 硫酸铜	75.20	0.5% 硫酸铜	100.76
0.1% 高锰酸钾	4.40	0.1% 高锰酸钾	14.30
0.3% 高锰酸钾	4.60	0.3% 高锰酸钾	40.80
0.1% 六氯苯	48.00	0.1% 六氯苯	12.42
高压灭菌(对照)	54.40		

炒料加0.3、0.5%漂白粉液其孢子量也高于对照35.44、26.35、31.06亿/克。这项试验结果说明，抑菌剂敌克松、硫酸铜和漂白粉等能代替高压灭菌，节省燃料和时间，既经济又简单。麦麸经炒后其营养成分被释放为白僵菌更好地吸收利用，同时也起到了消灭杂菌作用，也有利白僵菌的生长产孢，这是一种可行的生产白僵菌的好方法。

(三)不同浓度硫酸铜液浸糙时间对白僵菌产孢量的影响

用不同浓度硫酸铜液浸糙，时间不同，其产孢量有明显差异(表3)。当用0.1%硫酸铜液浸糙时，则以15分钟最适宜，产孢量高达每克菌粉含25.27亿孢子，比用0.1%硫酸铜液浸糙3分钟的每克菌粉高出11.25亿孢子。如用0.3、0.5%硫酸铜液浸糙3分亦有较好效果，但不如用0.1%硫酸铜液浸糙15分产孢量高，说明它起到抑制杂菌明显的效果。这一试验结果可为农村用玉米楂生产白僵菌，选择适用抑菌剂及其浓度和浸糙时间提供科学依据。

表3 硫酸铜液浸糙不同时间对白僵菌孢子量的影响

浓 度	时 间 (分)	每克菌粉含孢子数 (亿/克)						总 值
		1	2	3	4	5	6	
0.1% 硫酸铜	3	14.8	19.2	18.8	9.7	11.4	19.2	14.62
	5	18.0	19.1	17.5	13.1	10.9	10.6	14.87
	10	21.7	25.5	21.6	18.2	18.0	19.9	20.82
	15	25.0	26.4	26.7	24.7	24.3	24.5	25.27
	20	23.4	23.1	23.2	19.1	19.9	19.5	21.07
	30	27.1	27.3	26.4	14.3	14.3	14.5	20.65
0.3% 硫酸铜	3	20.4	17.5	18.9	16.4	24.6	24.8	20.43
	5	15.6	14.0	15.1	22.5	12.8	21.3	16.88
	10	18.1	17.1	14.8	17.7	17.3	17.6	17.16
	15	22.1	14.7	15.0	15.6	13.8	23.5	17.45
	20	10.3	12.6	11.2	22.3	11.4	14.6	13.73
0.5% 硫酸铜	3	25.0	26.7	25.1	16.5	17.4	15.6	21.05
	5	21.2	20.5	21.0	11.2	14.4	13.6	16.98
	10	20.2	16.2	19.0	16.4	22.6	22.5	19.48
	15	13.0	14.5	12.2	24.1	19.4	22.2	17.57
	20	18.5	25.9	24.3	15.4	16.9	15.4	19.40

(四)玉米楂水预浸时间对白僵菌产孢量的影响

玉米楂用水预浸1, 2, 3天, 又在0.5%硫酸铜和0.5%漂白粉液浸泡3分钟, 根据表4试验结果看出, 玉米楂用水预浸1天的比较好, 无论采用0.5%漂白粉或0.5%硫酸铜其产孢都比较高, 前者每克菌粉含32.2亿孢子, 后者26.5亿孢子。而用水预浸2天的产孢量差, 预浸3天的0.5%漂白粉污染杂菌。这说明预浸糙时间长, 养分被浸出, 可引致杂菌生长繁殖。

表4 水预浸糙不同时间对白僵菌产孢量的影响

抑菌剂	每克菌粉含孢子数(亿/克)		
	1天	2天	3天
0.5%硫酸铜	26.5	18.97	18.83
0.5%漂白粉	32.5	27.33	杂菌

10亿以上。这与玉米糙煮沸后糊化较好,养分可被白僵菌充分吸收利用有关。如煮沸时间超过30分,糊化过分,透气性差对白僵菌产孢不利,另外浪费燃料,不经济。根据试验结果可以认为,在白僵菌生产中应采用煮沸30分钟即可取得满意效果。

表5 玉米糙煮沸不同时间对产孢量的影响

煮沸时间 (分)	每克菌粉含孢子数(亿/克)			
	I	II	III	均值
10	17.75	40.43	28.99	29.06
20	13.85	45.77	30.01	29.88
30	26.87	52.24	40.11	39.74

产孢量比较高,每克菌粉含孢子26.5~32.5亿;用0.1%硫酸铜液浸糙15分产孢量也较高,每克菌粉含25.27亿孢子;玉米糙煮沸30分钟,产孢量很高,每克菌粉含39.74亿孢子。麦麸炒后接种产孢量也比较理想。

利用抑菌剂拌料生产白僵菌是具有工艺简单,成本低的优点。但必须选用具有生命力很强的菌株,加大接种量,造成白僵菌的自然优势,同时要严格控制的温湿度,工作人员严格操作,用器、具严密消毒,防止杂菌污染,才能得到优质产品。

参 考 文 献

- (1) 蒲哲龙:白僵菌的生产,《害虫生物防治的原理和方法》,1978年,155~156,175~178。
- (2) 方中达:真菌的分离和培养,《植病研究方法》,1979年,114~115,370~371。
- (3) 农牧渔业部全国植物保护总站:利用抑菌剂生产白僵菌试验,《农作物病虫害生物防治资料汇编》,1987,149~150。
- (4) 李运帷等著:白僵菌的大量生产,《白僵菌的生产和应用》,1981,47~50。

(五)玉米糙煮沸时间对白僵菌产孢量的影响

玉米糙预浸1天,煮沸10,20,30分3个处理,通过表5试验结果看出,以煮沸30分的产孢量高,每克菌粉含孢子39.74亿,比煮沸10分和20分的产孢量高

小 结

从上述五方面试验结果看出:麦麸用敌克松、硫酸铜、漂白粉等抑菌剂拌料生产白僵菌,产孢量高,每克菌粉含70~113亿孢子。抑菌剂浓度以0.1~0.3%为适宜,对白僵菌生长安全,抑制杂菌明显。玉米糙预浸1天,再用抑菌剂浸糙8