

# 不同培养基对玫烟色棒束孢菌株的复壮研究

郭 恒, 赵义涛, 郑海霞, 张仙红\*

(山西农业大学农学院, 太谷 030801)

**摘要** 虫生真菌的毒力退化是一种普遍现象, 表现为产孢能力下降或丧失、毒力下降及次级代谢产物合成能力下降等。基于玫烟色棒束孢 *Isaria fumosorosea* PF904 菌株继代培养后产孢量和毒力严重退化, 本试验采用添加 4 种不同营养物质的培养基对其进行复壮。结果表明: 培养基中添加甲壳素粉后菌株毒力恢复最好, 复壮第 10 代时对小菜蛾幼虫的致死中时( $LT_{50}$ )由初始菌株的 5.86 d 下降至 3.32 d, 接菌第 7 天校正死亡率高于 82%, 且恢复比例较稳定; 蚕蛹培养基复壮后菌株产孢量恢复最好, 复壮第 10 代时, 产孢量由初始菌株的  $4.28 \times 10^6$  个/ $cm^2$  提升至  $1.73 \times 10^7$  个/ $cm^2$ , 提升 3 倍之多, 但毒力恢复较差; 而蝉蛻培养基复壮后产孢量和毒力恢复均不稳定; 添加 3 种营养物质的综合培养基, 第 10 代  $LT_{50}$  和产孢量分别恢复为 3.53 d 和  $1.58 \times 10^7$  个/ $cm^2$ , 对两者具有较好的恢复效果。

**关键词** 玫烟色棒束孢; 复壮; 毒力; 产孢量

**中图分类号:** S 476.12 **文献标识码:** A **DOI:** 10.16688/j.zwbh.2020146

## Rejuvenation of *Isaria fumosorosea* by adding different nutrients in the media

GUO Heng, ZHAO Yitao, ZHENG Haixia, ZHANG Xianhong\*

(College of Agronomy, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China)

**Abstract** Entomogenous fungal degradation was a common phenomenon, which is manifested by reduced or lost conidial production capacity, decreased virulence, and reduced secondary metabolite synthesis ability, etc. *Isaria fumosorosea* after subculture severely degraded in conidial production and virulence. In this study, the medium was supplemented with 4 different nutrients. The results showed that the virulence recovery of the strain was the best after rejuvenation with chitin medium. At the 10th generation, the  $LT_{50}$  decreased from 5.86 d of the original strain to 3.32 d. The *Plutella xylostella* larvae had a corrected mortality higher than 82% on the 7th day, and the recovery ratio was stable; the conidial production of the strain recovered best after rejuvenation with the silkworm chrysalis medium, increasing from  $4.28 \times 10^6$  conidia/ $cm^2$  of the original strain to  $1.73 \times 10^7$  conidia/ $cm^2$ , which increased by three times, but the recovery of virulence was poor; the recovery of two indicators after the rejuvenation with cicada medium was unstable. The comprehensive medium added with three kinds of nutrients had a good recovery effect on both virulence and conidia production, and the 10th generation  $LT_{50}$  was 3.53 d and conidial production was  $1.58 \times 10^7$  conidia/ $cm^2$ .

**Key words** *Isaria fumosorosea*; rejuvenation; virulence; conidia production

虫生真菌是一类重要的昆虫病原微生物, 但经多次继代培养后, 常常会发生菌落颜色、生长形式等的变化, 特别是产孢能力下降甚至丧失, 进而导致虫生真菌的毒力大幅度降低, 这种表型退化、表型不稳定、表型恶化、双重表型、突变和衰变均可称为菌株退化<sup>[1]</sup>。虫生真菌退化的原因多种多样, 据樊美珍报道, 菌株本身遗传物质改变及培养基成分和环境条件的影响可导致菌株退化<sup>[2]</sup>; 李琳等<sup>[3]</sup>通过比较

转录组学研究发现, 绿僵菌中一些参与胁迫响应和衰老的相关基因在退化菌株中显著上调, 推测退化菌株表现为老化现象, 发现活性氧(ROS)引起的线粒体损伤是导致菌株退化的机制之一; 此外, 转座子随机插入, 真菌双链 RNA 病毒的入侵或者染色体的缺失等均可导致菌种退化。但这些原因都不能很好地解释真菌退化的频率远远超过这些事件发生的概率, 且不同菌株退化频率也不尽相同, 因此人们尝

收稿日期: 2020-03-20

修订日期: 2020-05-22

基金项目: 山西省自然科学基金(201801D121253); 山西省重点研发计划(201903D221021)

\* 通信作者 E-mail: zxb6288@126.com

试通过多种方法恢复菌种原有性状。

虫生真菌频繁发生的菌种退化,成为其大规模生产应用所面临的重要问题,也为菌种保藏工作带来很大的困难。研究表明,虫生真菌可采用虫尸接种、宿主感染、培养基分离、培养基添加外源营养物质等方法复壮。如邹东霞等<sup>[4]</sup>采用马尾松毛虫 *Dendrolimus punctatus* Walker 虫尸对球孢白僵菌 *Beauveria bassiana* (Bals. -Criv.) Vuill. BD-10-4 菌株进行了复壮;马元伟等<sup>[1]</sup>通过培养基中添加外源氨基酸对罗伯茨绿僵菌 *Metarhizium robertsii* J. F. Bisch., S. A. Rehner & Humber ARSEF2575 菌株进行了复壮,并有效延缓了蛹虫草 *Cordyceps militaris* Link 01 菌株的退化;Bult 等<sup>[5]</sup>研究发现经过大蜡螟 *Galleria mellonella* Linnaeus 和黄粉虫 *Tenebrio molitor* Linnaeus 2 种易感菌寄主回接的金龟子绿僵菌 *M. anisopliae* (Metschn.) Sorokin 菌株毒力比人工培养基上培养的显著增强;李亚洁等<sup>[6]</sup>采取组织分离、孢子分离对蛹虫草进行了复壮等。

玫烟色棒束孢 *Isaria fumosorosea* Wize 属虫草菌科棒束孢属,可寄生 8 目 40 多种昆虫,尤其对蚜虫、粉虱等刺吸式口器害虫有很强的致病力,所以在害虫生物防治中有着非常重要的作用<sup>[7-10]</sup>。目前,国内外对玫烟色棒束孢的研究报道主要集中在生物学、分类鉴定、致病力测定、致病机理、防治应用等方面<sup>[11-12]</sup>,对菌株的复壮或预防菌株退化方面的研究鲜有报道。为此,本试验采用培养基添加外源营养物质的方法对玫烟色棒束孢退化菌株进行复壮,旨在探寻简便而有效的复壮方法,为玫烟色棒束孢的规模化生产和开发利用提供生产用菌株。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌株

玫烟色棒束孢菌株 PF904 为山西农业大学农学院农业害虫防治研究室经多次转接后退化的菌株。

1.1.2 供试培养基

本试验所用培养基及配方见表 1。

表 1 供试培养基及组分  
Table 1 Components of the test media

| 供试培养基<br>Test medium            | 用量 Amount                 |                 |              |                  |                                |                                |                           |
|---------------------------------|---------------------------|-----------------|--------------|------------------|--------------------------------|--------------------------------|---------------------------|
|                                 | 蒸馏水/mL<br>Distilled water | 马铃薯/g<br>Potato | 琼脂/g<br>Agar | 葡萄糖/g<br>Glucose | 蚕蛹粉/g<br>Silkworm pupal powder | 蝉蜕粉/g<br>Cicada ecdysis powder | 甲壳素粉/g<br>Chitosan powder |
| PDA                             | 1 000                     | 200             | 20           | 20               | —                              | —                              | —                         |
| 蚕蛹培养基 Silkworm chrysalis medium | 1 000                     | 200             | 20           | 20               | 10                             | —                              | —                         |
| 蝉蜕培养基 Cicada ecdysis medium     | 1 000                     | 200             | 20           | 20               | —                              | 10                             | —                         |
| 甲壳素培养基 Chitin medium            | 1 000                     | 200             | 20           | 20               | —                              | —                              | 10                        |
| 综合培养基 Comprehensive medium      | 1 000                     | 200             | 20           | 20               | 5                              | 5                              | 5                         |

1) “—”表示无此成分。  
“—” indicates no such component.

1.2 方法

1.2.1 菌株复壮

将供试菌株分别接种于上述 5 种培养基上,培养 7 d 后转接至相同的新培养基上,共转接 10 代。每代每种均重复 3 次,测定数据取平均值。

1.2.2 菌株生长量测定

使用电子游标卡尺在培养皿上以十字交叉法,对不同培养基上的菌落直径进行测量,每代培养至 14 d 时记录数据。

1.2.3 菌株产孢量测定

将培养好的菌株,利用直径为 7 mm 的打孔器

在固体平板培养基上菌落的中央至边缘 1/2 处打孔取样,放入有 10 mL 0.05%吐温-80 无菌水中,使用涡旋振荡仪将孢子充分洗脱混匀,然后用灭菌纱布过滤。利用血球计数板计数测量,换算成单位面积的孢子产量。每种培养基各取 3 个平板作为重复。

1.2.4 室内毒力测定

将培养好的菌落,用 10 mL 0.05%吐温-80 无菌水洗脱适量孢子,分别制成孢子含量为 10<sup>7</sup> 个/mL 的孢子悬浮液,采用浸虫法进行室内毒力测定。选取生长一致的小菜蛾 3 龄幼虫,浸入孢子悬浮液中 10 s 后取出,用滤纸吸去虫体上多余的菌液,然后放入有

甘蓝叶片的 9 cm 无菌培养皿中,每皿 20 头,保持皿内湿度。各试验处理重复 3 次,并用 0.05% 的吐温-80 溶液作为对照处理。连续观察 7 d,记录死亡虫数,并将死亡的虫体挑出,保湿培养,死亡虫体变僵硬并长出菌丝视为有效感染死亡,并计算校正死亡率。

校正死亡率 = (处理死亡率 - 对照死亡率) / (1 - 对照死亡率) × 100%。

1.2.5 恢复比例测定

试验过程中对菌株产孢量以及毒力两项指标的恢复情况进行比较,并取测定数据的平均值分别计算出相应恢复比例。试验共复壮培养 10 代,每培养 5 代测定一次,分别在第 5 代和第 10 代测量 2 次。

复壮培养至第 5 代时产孢量及毒力恢复比例:  
恢复比例 = |第 5 代菌株测定值 - 初始菌株测定值| / 初始菌株测定值。

复壮培养至第 10 代时产孢量及毒力恢复比例:  
恢复比例 = |第 10 代菌株测定值 - 第 5 代菌株测定值| / 第 5 代菌株测定值。

1.2.6 数据处理

试验数据均使用 IBM SPSS Statistics 20.0 软件和 Excel 2010 软件进行分析处理。

2 结果与分析

2.1 玫烟色棒束孢菌落形态的变异

随着传代次数的增多,PDA 上培养的玫烟色棒

束孢菌落浓密的同心圆纹逐渐消失,有的菌落产生扇形条纹,且伴有菌落质地变疏松、稀薄,孢子层变薄的现象,菌落颜色逐渐失去原有的浅粉色而变为白色,菌落形态也由绒毛状变为絮状。但在复壮培养基上这些现象只在前 5 代偶有发生,且气生菌丝生长较 PDA 培养甚少,说明添加营养物质的复壮培养基对于延缓和预防菌株退化变异具有一定的作用。

2.2 不同培养基对玫烟色棒束孢菌落生长的效果

通过对培养 14 d 后的玫烟色棒束孢菌落直径的对比发现,甲壳素培养基上的菌落生长速率较快且稳定,从第 4 代开始与对照 PDA 培养基具有显著性差异,从第 6 代开始与其前 4 代具有显著性差异,培养至 10 代时菌落直径最大,达 69.33 mm,各代平均为 65.39 mm。其次是蚕蛹培养基,从第 4 代开始与其第 2 代具有显著性差异,但之后 6 代生长速率变慢,各代平均为 63.18 mm。综合培养基上的生长速率也较为稳定,但复壮过程中,每 2 代之间直径变化幅度较小,14 d 时菌落直径为 59.22 ~ 64.45 mm,平均为 61.55 mm,波动较小。蝉蜕培养基上菌落的生长速率代际间不稳定,在复壮过程中生长时快时慢,直径范围在 60.38 ~ 66.51 mm 之间(表 2)。总体上每种培养基上的菌落直径均随传代次数的增加而逐渐增加,菌丝生长量也增大,其中甲壳素培养基对菌落生长具有明显的促进作用,具体原因还需进一步研究。

表 2 玫烟色棒束孢在不同复壮培养基生长 14 d 菌落平均直径<sup>1)</sup>

| 供试培养基<br>Test medium            | 菌落平均直径/mm Average diameter of colony |                         |                         |                         |                           |
|---------------------------------|--------------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------------|
|                                 | 第 2 代<br>2nd generation              | 第 4 代<br>4th generation | 第 6 代<br>6th generation | 第 8 代<br>8th generation | 第 10 代<br>10th generation |
| 甲壳素培养基 Chitosan medium          | (60.53±0.76)aC                       | (62.82±0.61)aC          | (65.95±0.56)aB          | (68.36±0.68)aA          | (69.33±0.79)aA            |
| 蚕蛹培养基 Silkworm chrysalis medium | (59.44±0.48)aD                       | (61.39±0.55)bC          | (64.63±0.75)aB          | (63.44±0.52)cB          | (66.72±0.63)bA            |
| 蝉蜕培养基 Cicada ecdysis medium     | (60.38±0.59)aC                       | (63.57±0.70)aB          | (62.78±0.62)bB          | (66.51±0.75)bA          | (65.83±0.97)bA            |
| 综合培养基 Comprehensive medium      | (59.22±0.67)aB                       | (61.08±0.36)bB          | (60.04±0.78)cB          | (63.14±0.66)cA          | (64.45±0.59)cA            |
| PDA                             | (60.47±0.54)aA                       | (60.47±0.54)bA          | (60.47±0.54)cA          | (60.47±0.54)dA          | (60.47±0.54)dA            |

1) PDA 培养基作为对照并未进行继代培养,数据为初始菌株菌落直径的平均值。同列数据后不同小写字母表示相同培养代不同培养基处理间差异显著;同行不同大写字母表示相同培养基不同培养代间差异显著( $P<0.05$ )。  
PDA medium as a control is not subcultured, and the data are the averages of the original strain colony diameters. Different lowercase letters in the same column indicate significant difference in the same generation on the different rejuvenation media. Different uppercase letters in the same row indicate significant difference in the different generation on the same rejuvenation media ( $P<0.05$ ).

2.3 玫烟色棒束孢在不同培养基上的产孢量

4 种不同培养基复壮后玫烟色棒束孢的产孢量如图 1 所示。从第 2 代开始经 4 种培养基复壮后的菌株,产孢量与初始菌株具有显著性差异。经蚕蛹

培养基复壮的菌株,产孢量恢复效果最好,在复壮培养过程中产孢量一直处于最高水平,从第 8 代开始与其他 3 种培养基产孢量均具有显著性差异,连续复壮 10 代后,菌株产孢量可达  $1.73 \times 10^7$  个/cm<sup>2</sup>,

提升 3 倍之多。综合培养基上的产孢量仅次于蚕蛹培养基,始终与甲壳素培养基和蝉蜕培养基的产孢量具有显著性差异,连续复壮培养 10 代后,综合培养基产孢量为  $1.58 \times 10^7$  个/ $\text{cm}^2$ 。甲壳素培养

基复壮的效果次之,单位面积产孢量为  $1.33 \times 10^7$  个/ $\text{cm}^2$ 。效果较差的是蝉蜕培养基,复壮 10 代后与其他 3 种培养基均具有显著性差异,产孢量仅为初始菌株的 2.6 倍。

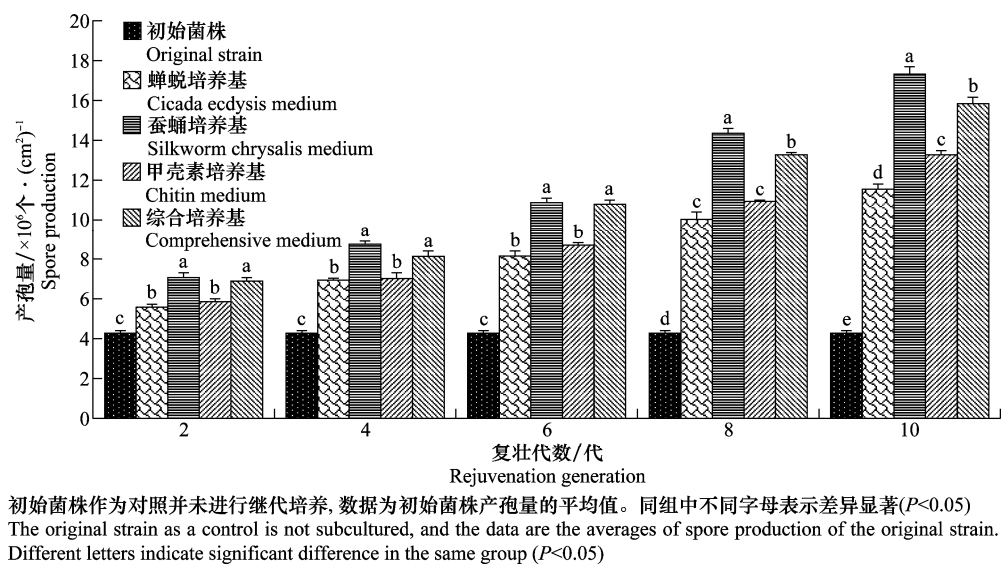


图 1 不同复壮培养基上培养不同代数玫烟色棒束孢产孢量的变化

Fig. 1 The change in *Isaria fumosorosea* spore production on different generations on different rejuvenation media

2.4 玫烟色棒束孢在不同培养基上的毒力

复壮后的玫烟色棒束孢菌株对小菜蛾幼虫的致死中时( $\text{LT}_{50}$ )和校正死亡率如表 3 所示。小菜蛾幼虫接种不同培养基复壮的菌株后,第 3 天幼虫出现死亡,对照也有个别幼虫死亡,第 4 天开始有僵虫出现,死亡率随着接种时间逐日递增,各菌株侵染 7 d 后,大部分幼虫死亡,个别结茧化蛹。

如表 3 所示,4 种复壮培养基均表现出明显的复壮效果,致死中时( $\text{LT}_{50}$ )均显著小于初始菌株,其中,甲壳素培养基复壮的菌株毒力恢复效果最好,连

续复壮 10 代后,菌株对小菜蛾的致死中时由初始菌株的 5.86 d 下降为 3.32 d,与其他 3 种培养基均具有显著性差异,校正死亡率也具有显著性差异,在第 7 天的累积校正死亡率达 82% 以上;其次是综合培养基复壮, $\text{LT}_{50}$ 第 10 代下降为 3.53 d,在处理第 7 天累积校正死亡率也达 76% 以上;蝉蜕培养基毒力恢复效果次之;效果最差的是蚕蛹培养基,复壮菌株对小菜蛾幼虫的  $\text{LT}_{50}$  和校正死亡率与其他 3 种培养基复壮的菌株相比均具有显著性差异,且复壮 10 代后,第 7 天的累积校正死亡率仅为 68.26%。

表 3 不同复壮培养基培养的玫烟色棒束孢菌株对小菜蛾 3 龄幼虫的致病力<sup>1)</sup>

Table 3 Pathogenicity of *Isaria fumosorosea* strains cultured on different rejuvenation media to the 3rd-instar larvae of *Plutella xylostella*

| 供试培养基<br>Test medium            | 校正死亡率(7 d)/%              |                           | $\text{LT}_{50}$        |                           |
|---------------------------------|---------------------------|---------------------------|-------------------------|---------------------------|
|                                 | Corrected mortality (7 d) |                           |                         |                           |
|                                 | 第 5 代<br>5th generation   | 第 10 代<br>10th generation | 第 5 代<br>5th generation | 第 10 代<br>10th generation |
| 甲壳素培养基 Chitin medium            | (69.82±1.45)a             | (82.38±1.14)a             | (4.35±0.14)c            | (3.32±0.10)d              |
| 蝉蜕培养基 Cicada ecdysis medium     | (63.03±0.97)b             | (74.79±0.90)b             | (4.43±0.16)c            | (3.56±0.14)c              |
| 综合培养基 Comprehensive medium      | (62.41±1.09)b             | (76.67±1.03)b             | (4.45±0.11)c            | (3.53±0.15)c              |
| 蚕蛹培养基 Silkworm chrysalis medium | (58.19±1.52)c             | (68.26±1.31)c             | (4.62±0.09)b            | (3.98±0.12)b              |
| PDA                             | (47.36±1.76)d             | (47.36±1.76)d             | (5.86±0.18)a            | (5.86±0.18)a              |

1) PDA 培养基作为对照并未进行继代培养,数据为初始菌株测定的平均值。同列数据后不同字母表示差异显著( $P<0.05$ )。  
PDA medium as a control is not subcultured, and the data are the averages of the measurements for the original strain. Different letters indicate significant difference in the same column( $P<0.05$ ).

2.5 玫烟色棒束孢在不同培养基上产孢量及毒力恢复比例

比较菌株经 4 种培养基复壮 10 代后,菌株产孢量和毒力(致死中时  $LT_{50}$ )的恢复比例如表 4 所示。玫烟色棒束孢菌株在经过不同培养基复壮后,菌株的产孢量和毒力均有大幅提高,总体趋势呈现复壮 1~5 代恢复比例较高,5~10 代恢复比例有所下降。经 10 代复壮,甲壳素培养基恢复比例较为稳定,下降速率比其他 3 种培养基低,恢复效果较稳定。而

蚕蛹培养基两项指标的恢复比例均在培养过程中下降幅度较大。

在产孢量方面,初始菌株经过蚕蛹培养基 5 代复壮后,恢复比例可达 126.8%,之后 5 代的恢复比例下降为 87.4%,但与其他复壮培养基恢复比例相比均为最高值。在毒力方面,初始菌株经过甲壳素培养基 5 代复壮后,恢复比例为 25.77%,之后 5 代复壮恢复比例仅下降为 23.68%,与其他复壮培养基恢复比例相比也均为最高值。

表 4 不同复壮培养基上菌株的产孢量及毒力恢复比例

Table 4 Recovery ratios of spore production and virulence in different rejuvenation media

| 供试培养基<br>Test medium            | 产孢量恢复比例/%<br>Recovery ratio of spore production |                           | 毒力恢复比例/%<br>Recovery ratio of virulence |                           |
|---------------------------------|-------------------------------------------------|---------------------------|-----------------------------------------|---------------------------|
|                                 | 第 5 代<br>5th generation                         | 第 10 代<br>10th generation | 第 5 代<br>5th generation                 | 第 10 代<br>10th generation |
|                                 |                                                 |                           |                                         |                           |
| 甲壳素培养基 Chitin medium            | 87.9                                            | 71.8                      | 25.77                                   | 23.68                     |
| 蝉蜕培养基 Cicada ecdysis medium     | 78.1                                            | 57.4                      | 24.41                                   | 19.64                     |
| 综合培养基 Comprehensive medium      | 111.2                                           | 83.5                      | 24.06                                   | 20.67                     |
| 蚕蛹培养基 Silkworm chrysalis medium | 126.8                                           | 87.4                      | 21.16                                   | 13.85                     |

3 结论与讨论

3.1 产孢量

虫生真菌菌株的产孢量是衡量菌株活力的重要指标之一。菌株具有较高的产孢量和高质量的孢子是其可以应用于大规模生产的必备条件。据报道,培养基是影响微生物生长和繁殖的重要因素之一,即营养对菌株生长和产孢有很大影响,若不能满足菌落生长的营养条件,许多菌株就不能生长或产孢<sup>[13-14]</sup>。浦静等<sup>[15]</sup>研究发现,培养基中以麦芽糖为碳源可能更利于玫烟色棒束孢菌株产孢;此外培养基中添加适量的动物性氮源也有助于菌株产孢<sup>[16]</sup>。本试验结果表明,添加含氮量较高的动物性氮源蚕蛹粉的培养基使供试菌株的产孢量恢复最好,其次是综合培养基和甲壳素培养基复壮,蝉蜕培养基复壮效果最差。这可能和培养基中动物性氮源含量有关,具体原因有待进一步探索。

3.2 毒力

虫生真菌菌株的毒力是衡量菌株应用潜力的重要指标。蔡国贵等<sup>[17]</sup>研究发现,菌株在营养丰富的培养基中生长相对稳定,在营养贫瘠的培养基中生长则容易变异,不同培养基通过影响菌株酶的表达水平引起菌株毒力的变化;李会平等<sup>[18]</sup>研究发现,

白僵菌菌株产酶能力与其对桑天牛幼虫的毒力呈正相关关系,培养基成分和培养条件会影响菌株的产酶能力,进而影响菌株毒力。甲壳素粉中蕴含的磷脂与蛋黄素可促进分生孢子的萌发和有效侵染,且稳定甚至增强菌株毒性<sup>[19]</sup>。本结果发现,供试菌株经甲壳素培养基复壮后对小菜蛾幼虫毒力恢复效果最好,这可能是因为玫烟色棒束孢菌株在吸收其营养后,能较好地诱导菌株产生几丁质酶,并增强了该酶的活性有关<sup>[20]</sup>。

3.3 恢复比例

分析试验结果发现,在多次复壮的过程中,4 种培养基均表现出了随着复壮代数的增加产孢量和毒力的恢复效果逐渐减弱的现象,但是甲壳素培养基具有相对较好的稳定性,恢复效果的下降速率较慢,原因可能是几丁质是真菌细胞壁的主要组成成分,对菌株的生长发育必不可少,同时也提高了菌株体内几丁质酶的活力<sup>[20]</sup>。其次是综合培养基恢复效果较好,可能是综合培养基具有更多种营养物质,形成了稳定的组合,能让菌株吸收不同性状生长所需要的营养。而蝉蜕培养基在复壮过程中对菌株 2 个指标的提升比例均不突出。此外添加蚕蛹粉的培养基仅使菌株在产孢量方面有大幅度提高,在毒力方面复壮效果不突出,且恢复比例波动较大,可见其稳

定性不足,具体原因还有待进一步探索。

综上所述,动物性氮源对玫烟色棒束孢的产孢有促进作用,所以经蚕蛹培养基复壮获得的菌株产孢量有了明显的提高,但对小菜蛾幼虫的毒力并没有显著的恢复,说明产孢量大的菌株毒力不一定强。甲壳素培养基对玫烟色棒束孢菌株的生长和毒力均有明显的促进作用,但在产孢量方面恢复效果一般,其恢复比例较稳定。因此,在生产中应用玫烟色棒束孢菌株,应根据具体需要综合考虑多种指标的影响选择复壮添加的营养物质。

### 参考文献

[1] 马元伟,王荣,高强,等. 外源氨基酸的添加对恢复或预防丝状真菌退化的研究[J]. 生物学杂志,2017,34(2):108-111.

[2] 樊美珍,李增智,唐晓庆. 白僵菌菌种退化及其控制[J]. 安徽农业大学学报,1996,23(3):239-245.

[3] 李琳. 丝状真菌退化机制的研究[D]. 北京:中国科学院,2012:70-74.

[4] 邹东霞,徐庆玲,廖旺姣,等. 2 种方法复壮马尾松毛虫球孢白僵菌的研究[J]. 广西林业科学,2016, 45(4): 365-368.

[5] BUTT T M, WANG C, SHAH F A, et al. Degeneration of entomogenous fungi [M]//EILENBERGH J, HOKKANEN H M T. An ecological and societal approach to biological control. American:Springer, 2006:213-226.

[6] 李亚洁,王鹤,孟楠,等. 蛹虫草菌种复壮技术的研究[J]. 食用菌,2006,28(2):23-26.

[7] 孟豪,田晶,付淑慧,等. 玫烟色棒束孢与球孢白僵菌对桃蚜致病力对比[J]. 植物保护学报,2014,41(6): 717-722.

[8] 黄建华,罗任华,秦文婧,等. 玫烟色棒束孢对小菜蛾的致病力[J]. 江西农业学报,2012,24(10):62-64.

[9] 王宏民,张亚丽,张仙红. 玫烟色拟青霉孢子萌发和附着胞形成的影响因子研究[J]. 山西农业科学,2009, 37(4):66-69.

[10] 田晶,梁丽,李新风,等. 玫烟色棒束孢 IF-1106 菌株对烟粉虱的致病力[J]. 山西农业科学,2013,41(7):728-731.

[11] ZHOU Fucui, ALI S, HUANG Zhen. Influence of the entomopathogenic fungus *Isaria fumosorosea* on *Axinoscymnus cardilobus* (Coleoptera: Coccinellidae) under laboratory conditions [J]. Biocontrol Science and Technology, 2010, 20(7): 709-722.

[12] 陈巍巍,冯明光. 玫烟色拟青霉的研究与应用现状[J]. 昆虫天敌,1999,21(3):140-144.

[13] 李农昌,樊美珍,李春如,等. 白僵菌有关培养条件及其与毒力关系的研究[J]. 安徽农业大学学报,1996,23(3):254-259.

[14] 张仙红,张兔,张未仲. 玫烟色拟青霉最适液体培养条件的研究[J]. 微生物学杂志,2006,26(6):16-18.

[15] 浦静,彭鑫,朱丽梅,等. 玫烟色棒束孢培养条件的研究[J]. 金陵科技学院学报,2016,32(4):76-79.

[16] 张璐璐. 防治西花蓟马的球孢白僵菌液固双相发酵条件优化[D]. 北京:中国农业科学院,2016.

[17] 蔡国贵,林庆源,徐耀昌,等. 白僵菌菌株退化与培养条件关系及其控制技术[J]. 福建林学院学报,2001, 21(1):76-79.

[18] 李会平,黄大庄,王志刚,等. 不同基质传代白僵菌菌株胞外蛋白酶和几丁质酶产生水平与菌株对桑天牛幼虫毒力的关系[J]. 蚕业科学,2008,34(3):521-524.

[19] LOHMANN U, SIKORA R A, HÖFER M. Influence of phospholipids on growth, sporulation and virulence of the endoparasitic fungi *Drechmeria coniospora*, *Verticillium balanoides*, and *Harposporium anguillulae*, in liquid culture [J]. Journal of Phytopathology, 1989, 125(2): 139-147.

[20] 邓彩萍,马荣,闫喜中. 不同培养液和温度诱导球孢白僵菌 BF 菌株产酶特性的研究[J]. 新疆农业大学学报,2011,34(3):239-243.

(责任编辑:田 喆)

(上接 149 页)

[30] 葛体达,隋方功,白莉萍,等. 水分胁迫下夏玉米根叶保护酶活性变化及其对膜脂过氧化作用的影响[J]. 中国农业科学,2005,38(5):922-928.

[31] 梁巧兰,张娜,魏列新,等. 深绿木霉蛋白 TrpT2A 诱导兰州百合抗灰霉病的作用[J]. 中国生物防治学报,2017, 33(4): 545-551.

[32] 袁扬,王胤晨,曾兵,等. 5 株木霉菌株对鸭茅生理生化指标的影响[J]. 黑龙江畜牧兽医,2017(10): 4-7.

[33] 赵忠娟,扈进冬,吴晓青,等. 哈茨木霉 LTR-2 对蔬菜种子和幼苗耐盐性的影响及其作用机制[J]. 山东科学,2015, 28(5): 27-34.

[34] 李纪顺,陈凯,李玲,等. 木霉融合子 Tpf-2 的定殖及其对番茄防御酶系的影响[J]. 植物保护,2018, 44(4): 65-69.

[35] 台莲梅,高俊峰,左豫虎,等. 长枝木霉菌 T115D 诱导大豆叶片防御酶活性及疫病盆栽防治效果[J]. 中国生物防治学报,2018, 34(6): 897-905.

[36] 莫贱友,郭堂勋,胡风云,等. 木霉菌株对香蕉枯萎病原菌抑菌效果测定[J]. 南方农业学报,2012, 43(5): 601-604.

[37] 余小兰,邹立飞,邹雨坤,等. 甜瓜枯萎病拮抗菌的筛选及鉴定[J]. 南方农业学报,2018, 49(6): 1118-1124.

(责任编辑:田 喆)