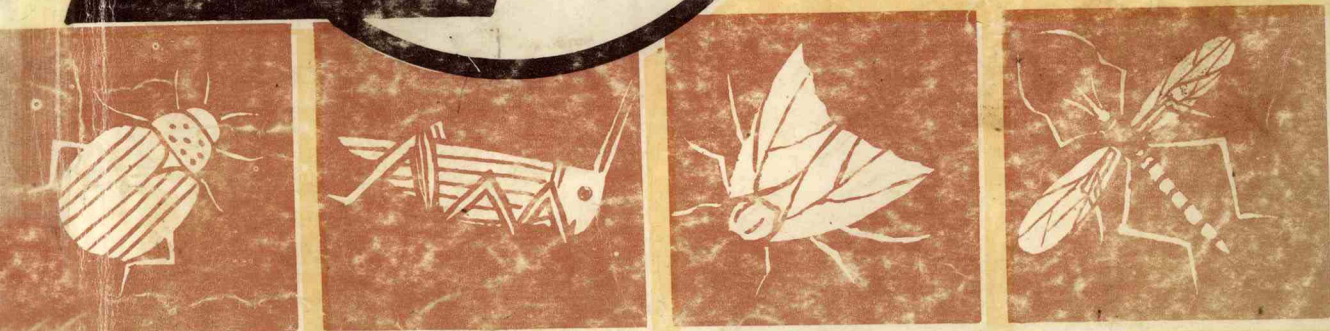
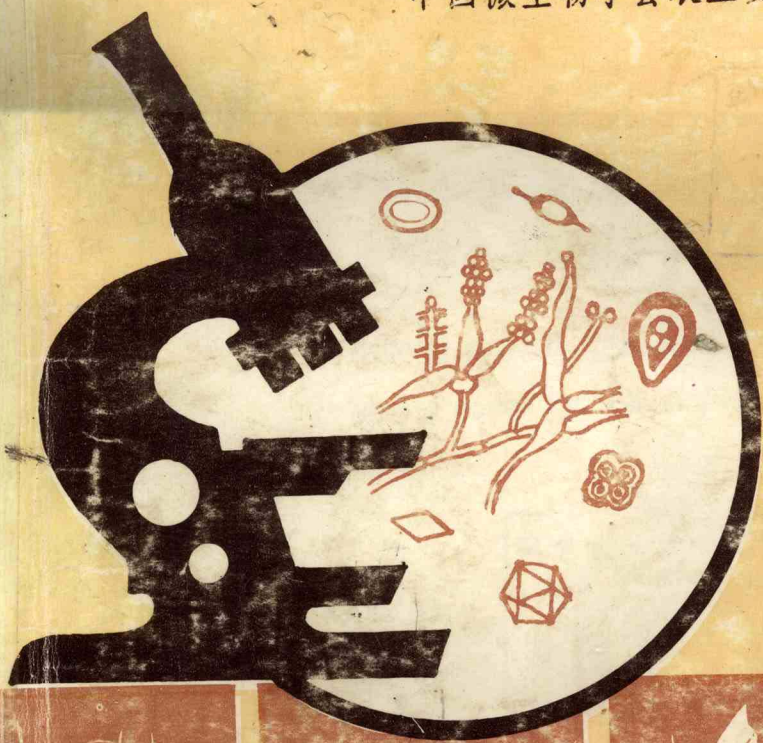


杀虫微生物

《杀虫微生物》编委会 编
中国微生物学会农业委员会



华中师范大学出版社

鄂新登字11号

杀虫微生物（第3卷）

《杀虫微生物》编委会 编
中国微生物学会农业专业委员会

*

华中师范大学出版社出版发行

（武昌桂子山）

新华书店湖北发行所经销

华中农业大学印刷厂印刷

*

开本 787×1092 1/16 印张 18.75 字数 480千字

1989年11月第1版 1991年11月第1次印刷

ISBN 7-5622-0783-6/Q·13

印数：1-1000 定价：6.00元

前 言

中国微生物学会农业微生物专业委员会于1990年10月在武汉召开了第四届全国杀虫微生物学术讨论会。来自全国21个省(市)的高等院校、科研、管理、出版、生产等方面的74个单位的137名代表出席了会议,在汉的科技工作者数十人列席了会议。大会共收到论文147篇,其中综述9篇,昆虫病毒44篇,杀虫细菌46篇,虫生真菌21篇,嗜虫线虫、微孢子和杀虫素21篇。

大会报告了转苏云金杆菌杀虫基因的植物基因工程等十一个专题综述。为了扩大对外交流,大会还介绍了第21、22届无脊椎动物病理学年会和两个月前在澳大利亚举行的“第五届无脊椎动物病理学和微生物防治学术讨论会”的概况,介绍了联合国计划开发署/世界银行/世界卫生组织的热带疾病研究和训练计划,并组织了部分与会者参加无脊椎动物病理学会和申报上述计划课题;大会还邀请了苏联拉脱维亚科学院生物研究所扎利什教授作了苏联微生物防治害虫概况的报告。大会分四个小组讨论了近两年来取得的研究成果。

在杀虫细菌方面,苏云金杆菌基因已成功地转移到棉花和水稻上,初步阐明了杀虫特异性与酶的关系;还分离出一批新菌株,扩大了杀虫范围。苏云金杆菌标准化毒力测定已制定出了一整套程序和方法,达到了国际先进水平,并获得农业部科技进步二等奖。球形芽孢杆菌的研究进入了世界先进行列,也获得中国科学院科技进步二等奖,首次发现了杀虫毒素基因并定位于质粒上,成功地从分子水平上区分有毒株和无毒株。一批新成果已进入了生产阶段,如苏云金杆菌

制剂年产达1500吨以上，球形芽孢杆菌灭蚊剂年产近300吨，它们在农、林害虫和医学昆虫的防治中发挥了重要作用。

昆虫病毒方面，在已深入研究的20多株昆虫病毒中，10多株具有良好的大田防治效果，使用面积达100多万亩。继棉铃虫NPV杀虫剂商品化之后，斜纹夜蛾NPV、菜粉蝶GV和松毛虫CPV杀虫剂的中试已通过鉴定，油桐尺蠖NPV杀虫剂也即将进行验收。

虫生真菌的资源调查及分类研究获得新进展，已分离出多种杀虫高毒力的新种和新菌株。白僵菌的研究和应用正在巩固和发展，用绿僵菌防治地下害虫、蛀干害虫和卫生害虫已逐渐受到重视，1990年用它防治桃小食心虫等害虫的面积已达2万多亩。生物工程的新技术已在育种中采用，对一些最主要虫生真菌的原生质体融合取得进展。

此外，斯氏线虫成批离体培养获得成功，防治木蠹蛾等蛀干害虫取得了良好的田间效果。索线虫对蚊虫、稻飞虱等重要害虫具有较强的控制能力。蝗虫微孢子已进入试生产和大面积田间试验阶段。浏阳霉素、南昌霉素等杀虫素正朝着提高发酵单位和毒力，降低成本，开拓市场方向发展。

综上所述，我国在杀虫微生物这个国际上十分活跃的领域内的工作有了很大发展。根据国际发展的总趋势，代表们建议有关部门将杀虫微生物列入“八五”规划，重大课题组织协作攻关，主要产品纳入国家计划轨道，尽快开创出杀虫微生物的新局面。这次出席会议人数之多，青年科技工作者比例之大是历届未有的，这预示着我国杀虫微生物事业兴旺发达，后继有人。

希望《杀虫微生物》第三卷的及时出版，对于促进我国杀虫微生物方面的研究、生产和应用有所裨益。

喻子牛

1989年10月于武昌狮子山

编者的话

继《杀虫微生物》第一卷(1987)和第二卷(1989)之后,第三卷又与读者见面了。本卷取材于1990年10月在武汉华中师范大学召开的中国微生物学会第四届杀虫微生物学术讨论会上147篇学术论文,集中地反映了我国近两年来在杀虫细菌、昆虫病毒、杀虫真菌、原生动物,嗜虫线虫和杀虫素等方面的研究成果。全卷分为综述、研究报告、研究简报、论文摘要等几部分,可供从事害虫综合防治工作的农、林、医、师等院校的师生及有关科技人员参考。因篇幅有限,未能收入全部论文,敬请鉴谅。本卷在编辑出版过程中,得到了华中师范大学昆虫学研究所、中国农科院生物学中心、北京农业大学植保系、华中农业大学土化系、武汉大学病毒系、中国科学院武汉病毒所、贵州农学院植保系,安徽农学院林学系、湖北省林业学校等单位的大力支持,在此致衷心感谢!

《杀虫微生物》(第三卷)编委会

编委会名单

(以姓氏笔划为序)

主编: 陈曲侯 范云六

编委: 王丽英 吕昌仁 张用梅 陈世夫 陈曲侯

张光裕 李荣森 汪耀南 李增智 范云六

洪华珠 梁东瑞 梁宗琦 喻子牛 鲍学纯

目 录

前言

综 述

- ✓ 真菌杀虫剂的发展..... (1)
- 昆虫无芽孢病原细菌的研究现状..... (7)
- ✓ 虫生真菌的微循环产孢及其作用..... (12)
- △ 苏云金芽孢杆菌伴孢晶体毒素杀虫特异性机制..... (18)
- 微生物杀虫剂离体生物测定技术的建立和应用..... (25)
- 昆虫病原线虫主要类群的研究进展..... (30)
- 昆虫病原斯氏线虫科分类研究的进展..... (36)
- △ 我国害虫病毒生物防治研究的进展..... (40)
- 对我国昆虫杆状病毒安全试验问题的建议..... (46)
- △ 我国微生物农药的研究和应用..... (51)
- △ 真菌和细菌在线虫生防中的作用及其研究进展..... (55)
- 苏联生物防治工作的发展..... (62)

研究报告

- △ 苏云金芽孢杆菌以色列亚种130kDa晶体蛋白基因的分子克隆与鉴定..... (66)
- 球形芽孢杆菌原生质体形成和再生研究..... (75)
- △ 苏云金芽孢杆菌Bt—37菌株原生质体形成的影响因素..... (80)
- 一株蛭螭乳状菌(A型)的研究..... (83)
- 南方六省杀虫细菌资源调查初报..... (86)
- △ 苏云金芽孢杆菌培养基上清液中可溶性毒素的纯化及性质研究..... (91)
- 球形芽孢杆菌CS—8半固体发酵产品急性安全试验..... (94)
- △ 10种苏云金芽孢杆菌制剂对鳞翅目、双翅目和鞘翅目昆虫的毒力比较..... (98)
- △ 苏云金芽孢杆菌CT—43菌株及其制剂对桑天牛幼虫的毒力..... (102)
- 高效生物灭子灵大面积应用效果..... (108)
- △ 苏云金芽孢杆菌质粒检测方法的比较..... (112)
- △ 苏云金芽孢杆菌187菌株漂浮颗粒剂灭中华按蚊的效果..... (116)
- 斜纹夜蛾核型多角体病毒粒子单克隆抗体的制备..... (120)
- 斜纹夜蛾核型多角体病毒在传代细胞系中增殖的研究..... (124)
- 杨雪毒蛾核型多角体病毒的形态结构及限制性酶解分析..... (129)
- 斜纹夜蛾幼虫感染斜纹夜蛾核型多角体病毒后血细胞的病理变化..... (134)
- 赤松毛虫核型多角体病毒的形态结构及组织病理研究..... (137)
- 斜纹夜蛾核型多角体病毒杀虫剂防治蔬菜斜纹夜蛾的应用效果..... (141)
- 灰茶尺蛾核型多角体病毒毒力的生物测定..... (147)

汇报

斜纹夜蛾核型多角体病毒不同分离株的毒力比较.....	(150)
德昌松毛虫质型多角体病毒毒力的生物测定.....	(153)
自然环境下油茶尺蠖核型多角体病毒在叶片上的持留性实验.....	(157)
斜纹夜蛾核型多角体病毒杀虫剂防治蔬菜害虫的经济效益、社会效益及生态效益的评价.....	(160)
茶蚕颗粒体病毒田间防治技术研究.....	(165)
用细胞遗传学方法检测大袋蛾核型多角体病毒对小白鼠的安全性.....	(168)
菜粉蝶颗粒体病毒杀虫剂安全性检定结果报告.....	(172)
斜纹夜蛾核型多角体病毒安全性试验.....	(177)
用微核测定法评价斜纹夜蛾核型多角体病毒对小白鼠的安全性.....	(180)
用微核测定法评价菜粉蝶颗粒体病毒对小白鼠的安全性.....	(182)
用微核试验测定几种昆虫病毒对小白鼠的全安性.....	(184)
油桐尺蠖核型多角体病毒杀虫剂防治水杉害虫的效果.....	(187)
白蚁病毒的分离鉴定及其理化特性研究.....	(191)
柑桔粉虱和粉虱座壳孢菌在柑桔树上的分布.....	(195)
白僵菌节孢子微胶囊的制作及其杀虫效果.....	(199)
北方根结线虫寄生真菌调查.....	(202)
影响绿僵菌杀蚊效果的若干因素.....	(208)
虫生串珠镰孢的生物学特性和寄主范围.....	(213)
浙江省昆虫病原镰刀菌的鉴定.....	(218)
利用绿僵菌防治桃小食心虫.....	(222)
pH值对武昌罗索线虫胚胎发育及孵化的影响.....	(226)
斯氏线虫防治蛀干害虫杨干象.....	(229)
增效剂对浏阳霉素的增效作用.....	(231)

研究简报

细菌制剂防治大蜡螟的研究.....	(237)
蛭蟥细菌病研究初报.....	(239)
球孢白僵菌对蚊、蝇的毒杀效果.....	(241)
苏云金杆菌毒素与抗性初探.....	(243)
苏云金杆菌和球形芽孢杆菌原生质体形成条件的选择.....	(245)
苏云金杆菌伴孢晶体血清学的研究.....	(248)
苏云金杆菌在柑桔叶片和桔园土壤中自然存活调查.....	(250)
球形芽孢杆菌Ts-1灭蚊毒素的单克隆抗体及其毒素性质的研究.....	(252)
我国第一商品病毒杀虫剂——棉铃虫病毒杀虫剂的应用.....	(254)
杀斜纹夜蛾苏云金杆菌 δ 内毒素的毒性和毒力特性的酶转换.....	(256)
苏云金杆菌制剂防治平菇瘿蚊的效果.....	(258)
菌株苏云金杆菌晶体蛋白性质的初步分析.....	(259)
昆虫杆状病毒与哺乳动物的互相作用.....	(261)
茶树害虫病毒与苏云金杆菌混合的杀虫效果.....	(262)

8213364

十八株昆虫病毒对白纹伊蚊和致倦库蚊幼虫的敏感性试验.....	(264)
迁粉蝶核型多角体病毒的分离.....	(266)
枣尺蠖核型多角体病毒应用试验.....	(267)
在桂林发现的4种颗粒体病毒的形态结构.....	(268)
在四川发现的7株森林害虫病原病毒.....	(269)
斜纹刺蛾核型多角体病毒的研究.....	(271)
褐刺蛾质型多角体病毒江苏分离株的研究.....	(272)
柏毛虫病毒研究初报.....	(273)
一株寄生粘虫的小团孢菌.....	(275)
云南冬虫夏草自然感染率的研究.....	(276)
利用绿僵菌Ma83防治柑桔吉丁虫.....	(278)
金针虫的一种病原真菌.....	(280)
杀虫真菌蝙蝠蛾拟青霉Cs—4菌株在医药上的应用.....	(282)
白僵菌工业化生产工艺.....	(283)
抗生杀螨剂浏阳霉素及其在农业中应用.....	(284)
粘虫幼虫正常血淋巴与自身防御的初步研究.....	(287)

论文摘要

稻田投放武昌罗素线虫防治蚊虫的研究(45) 农药对武昌罗素线虫生活力的影响(50) 毒力
 虫霉杀蚜虫有效成分的研究(85) 华光霉素防治螨类的效果(90) 古尼拟青霉种内原生质体
 融合研究(115) 丽绿刺蛾的流行病调查(119) 苏云金杆菌沾泽亚种7—29杀虫晶体蛋白结
 构基因的改造和表达的研究(123) 苏云金杆菌杀虫剂防治芦毒蛾的效果(128) 放线菌339
 菌株灭螺活性物质的研究(140) 绿僵菌在野外小水体的灭蚊试验(149) 蜡蚧轮枝菌北京
 株寄主谱的研究(171) 蝗虫微孢子虫超微结构研究(186) 温度对武昌罗素线虫感染和性比
 的影响(190) 武昌罗素线虫现场防治白纹伊蚊的初步试验(212) 蒙大拿微孢子虫一新种
 (217) 应用NPV防治大袋蛾(238) 放线菌339菌株生物学特性观察(240) 湖北省大面积应
 用苏云金杆菌防治马尾松毛虫(244) 我国高效灭蚊球形芽孢杆菌Bs₁₀的灭蚊蛋白的分子克
 隆和基因定位(249) 我国西南地区和陕西省土壤中苏云金杆菌和球形芽孢杆菌资源及其主
 要生物学特性(257) 将苏云金杆菌杀虫晶体蛋白基因导入棉花并获得转基因植株(260) 几
 种昆虫病毒交叉感染玉米螟的研究(261) 苏云金杆菌CT—43菌株的质粒检测和抗生素抗
 性测定(263) 昆虫病原真菌的液体培养(265) 蝗虫微孢子虫病理、致病性和传播(270)
 球形芽孢杆菌C₃—41菌杀蚊毒素的提纯及某些特性的研究(274) 球形芽孢杆菌Cs—41菌株
 感染致乏库蚊幼虫的组织病理学研究(274) 天然饲料和人工半合成饲料饲养菜粉蝶幼虫增
 殖菜青虫颗粒体病毒比较(279) 苏云金杆菌库斯塔克亚种HD—1菌株 δ —内毒素基因的分子
 克隆及在转基因植物中的表达(281) 几种芽孢杆菌防治蚜虫试验(288) 湖南省广泛应用
 苏云金杆菌乳剂防治蔬菜害虫(288)

DISINSECTIONAL MICROOGANISM

Vol. 3

MAIN CONTENTS

• REVIEWS •

- The Development of Fungal Insecticide (1)
- Situation of Study on Non-sporeforming Bacteria Pathogenic to Insects (7)
- Microcycle Conidiation and Its Importance in Entomogenous Fungi..... (12)
- The Mechanism for Insecticidal Specificity of *Bacillus thuringiensis* Crystalline Inclusions (18)
- The Establishment and Application of the Technique in Vitro Bioassay for Microbial Insecticide (25)
- Advances in Potential Nematode Parasites of Insects (30)
- Recent Advance on Taxonomy of Steinernematidae (36)
- Advance on the Biological Control to Injurious Insect in China..... (40)
- Suggestion on Safety Test of Insect Baculovirus in China (46)
- The Studies and Applications of Microbial Insecticides in China..... (51)
- Advance in Biocontrol of Nematode by Using Fungi and Bacteria (55)
- Advance of Biocontrol in the Soviet Union..... (62)

• REPORTS •

- Cloning and Characterization of 130 kDa Mosquito Larvicidal Gene from *Bacillus thuringiensis* subsp *israelensis*..... (66)
- Studies on Protoplast Formation and Regeneration of *Bacillus sphaericus*..... (75)
- The Factors Affecting the Protoplast Formation of *Bacillus thuringiensis* (80)
- A Preliminary Report on a New Strain Milky Disease Bacteria..... (83)
- Investigation of Insecticidae Bacterial Source in South China..... (86)
- Purification and Some Properties of Soluble Toxin from Supernatant of *Bacillus thuringiensis* (91)
- The Acute Toxicity Test of Semi-solid Fermentation Products of *Bacillus sphaericus* Cs-8 Against Mosquitoes (94)
- Comparison of Toxicity of Commercial *Bacillus thuringiensis* Preparation Against Lepidoptera Diptera and Coleoptera Insects (98)

The Effect of CT-43 Emulsion, A New <i>Bacillus thuringiensis</i> Against the Larvae of <i>Apriona germari</i>	(102)
Effect of Highly Active Biological Larvicide Against Mosquitoes in the Fields.....	(108)
A Study on the Methods of plasmids Detection in <i>Bacillus thuringiensis</i>	(112)
The Efficacy of Floating Granular of <i>Bacillus thuringiensis</i> 187 Strain Against <i>A.</i> <i>sinensis Carvae</i>	(116)
Monoclonal Antibodies Against <i>Spodoptera litura</i> Nuclear Polyhedrosis Virus.....	(120)
Propagation of <i>Spodoptera litura</i> Nuclear Polyhedrosis Virus in a Homologous Con- tinuous Cell Culture	(124)
A Study on the Shape and Structure of <i>Stilpnotia candida</i> S. NPV and the Ren Analysis of the Viral DNA	(129)
A Study on the Cytopathology of Hemocytes of Larval <i>Spodoptera litura</i> Infected with SINPV.....	(134)
A Study on the Shape, Structure and Histopathology of the Nuclear Polyhedrosis virus of <i>Dendrolimus spectabilis</i>	(137)
The Effect of NPV Insecticide on Controlling <i>Spodoptera litura</i> in the Vegetable Field.....	(141)
Bioassay of Nuclear Polyhedrosis Virus of <i>Ecotropis griseocens</i> Warren.....	(147)
Toxicity Comparison between Different Isolates of the <i>Spodoptera litura</i> Nuclear Polyhedrosis Virus	(150)
The Bioassay on the Infectivity of <i>Dendrolimus punctatus tehchangensis</i> Cytoplasmic Polyhedrosis Virus.....	(153)
The Test of Toxic Remains of BmSNPV on Tea Leaves in Natural Circumstances	(157)
The Economic, Ecological and Social Benefits of <i>Spodoptera litura</i> NPV Insecticide in the Control.....	(160)
Field Application Techniques of <i>Andraca bipunctata</i> GV.....	(165)
Safety test for <i>Cryptothelea variegata snellen</i> NPV by Means of Cytogenetic Methods	(168)
Report on Safety Considerations of <i>Pieris rapae</i> Granulosis Viral Insecticide.....	(172)
Safety Tests of the <i>Spodoptera litura</i> Nuclear Polyhedrosis Virus	(177)
Safety Test on <i>Spodoptera litura</i> Nuclear Polyhedrosis Virus Against Mice by Means of Micronucleus Assay	(180)
Safety Test on <i>Pieris rapae</i> Granulosis Virus Against Mice by Means of Micronucleus Assay	(182)
The Safety Evaluation of MbNPV, HaNPV, PrGV to Mice by Micronucleus Assay	(184)
The Effect of <i>Buzrna Suppressaria</i> NPV to control of <i>Metasequoia glyptost-</i> <i>roboides</i> Pest	(187)
Isolation, Identification and Physicochemical Properties of the Termitf Virus.....	(191)

Canopy Distribution of <i>Dialeurodes citri</i> and <i>Aschersonia aleyrodis</i>	(195)
The Study on Microcapsules of <i>Beauveria bassiana</i> Vuill and Its Control Effect.....	(199)
Investigation on the Fungi Parasites of <i>Meloidogyne hapla</i> in Peanut Field Soil	(202)
Observation on Factors Influence Virulence of <i>Metarhizium anisopliae</i> Conidia to <i>Mosquito Larvae</i>	(208)
Studies on the Biology of Entomogenous <i>Fusarium moniliforme</i>	(213)
Studies on the Entomogenous <i>Fusarium</i> in Zhejiang Province.....	(218)
Applications of <i>Metarhizium anisopliae</i> for Control of <i>Cayposina sasakii</i>	(222)
The Effect of pH on the Embryo Development and Hatching Ratios of <i>Romanomermis</i> <i>wunchangensis</i>	(226)
Control of <i>Steinernema</i> spp. on <i>Cryptorrhynchus lapathi</i>	(229)
Synergistism of Synergists to Antibiotic Liuyangmycin Ying	(231)
• NOTES •	
Control of the Greater Wax Moth(<i>Galleria mellonella</i>)with Bacterial Agent.....	(237)
Tentative Study on Bacterial Disease of the Smokybrown Cockroach, <i>Periplaneta</i> <i>Fuliginosa</i>	(239)
Virulence of <i>Beauveria bassiana</i> to Sevrsal Medical Insects	(241)
A Study on Resistance of Army Worm (<i>Leucania separata</i>) to Toxin of <i>Bacillus</i> <i>thuringiensis</i>	(243)
Favourable conditions for Producing Protoplasts of <i>Bacillus thuringiensis</i> and <i>Bacillus</i> <i>sphaericus</i>	(245)
A Serological Study on Crystals of <i>Bacillus thuringiensis</i>	(248)
Host Specificity of <i>Bacillus thuringiensis</i> δ -endotoxin Proteolysed by Proteases of	
Natural survival of <i>Bacillus thuringiensis</i> in citrus Garden.....	(250)
Monoclonal Antibody and Characterization of Mosquitocidl Protoxins of <i>Bacillus</i> <i>sphaericus</i> Ts-1	(252)
Applicaton of Viral Pesticide to Bollworln in China.....	(254)
Larval Gut Juice.....	(256)
Effect of <i>Bacillus thuringiensis</i> for <i>Mycophila fungicola</i> in <i>Pleurotus ostreatus</i>	(258)
Characteristic Analysis of two <i>Bacillust huringiensis</i> Crystal Proteins	(259)
The Interactions between Baculoviruses and Mammals.....	(261)
Field Tests on Controlling Tea Pests by using NPV Mixed with <i>Bacillus Thuring-</i> <i>iensis</i>	(262)
Toxicity Test of 18 Strains Agricultural Insect Virus to Mosquito Larvae.....	(264)
Isolation of <i>Catopsilia crocale</i> Nuclear Polyhedrosis Virus.....	(266)
The Applied Experiment of <i>sucra jujuba</i> Nuclear Polyhedrosis Virus	(267)
The Morphology Structure of Four Species of Insect Viruses Discoverina form Guelin	(268)
Several Types of Viruses of Forest Pests Discovered in Sichuan	(269)
Studies on the Nuclear Polyhedrosis Virus of <i>Oxyplax ochracea</i>	(271)

Study on the Cytoplasmic Polyhedrosis Virus of <i>Thosea postornata</i> Isolated from Jiangsu.....	(272)
Primary Report on Virus Research of <i>Parocheria orientalis</i> and <i>Dendrolimus</i> sp.....	(273)
<i>Sorospora uvela</i> Parasitizing <i>Pseudaletia separata</i>	(275)
Natural Infected Rate of <i>Cordyceps sinensis</i> in Yunnan Province	(276)
Control of <i>Agrilus auriventris</i> by the Strain Ma83 of <i>Metarhizium anisopliae</i>	(278)
A pathogenic Fungus of <i>Pleonomus canaliculatus</i>	(280)
On the Application of <i>Paecilomyces hppiali</i> Strain Cs-4 in Medicine.....	(282)
Technology of Industrial Production of <i>Beauveria bassiana</i>	(283)
Antibiotic Miticide Linyangmycin and Its Application in Agriculture	(284)
A Preliminary Study on Hemolymph of Army Worm (<i>Leucania separata</i>) and Its self-defecate	(287)

真菌杀虫剂的发展

李增智

(安徽农学院, 合肥)

THE DEVELOPMENT OF FUNGAL INSECTIDE

Li Zengzhi

(Anhui Agricultural College, Hefei)

当代有害生物治理的策略是一种多因子抑制有害生物的策略, 作为昆虫重要自然致死因子的虫生真菌可以3种方式结合进行有害生物综合治理体系: 引种定殖; 强化地方病; 真菌杀虫剂^[1]。当前在开始重视通过前2种方式利用昆虫的真菌自然流行病的同时, 真菌杀虫剂依然是一种主要的利用方式。

虫生真菌资源

虫生真菌资源是发展真菌杀虫剂的基础。目前世界上已记载约100属、800多种虫生真菌, 分布在真菌的各大类群里。美国人Thaxter曾发表专著《美国的虫霉》(1888), 记载美国的虫霉资源40余种; 英国人Petch从本世纪20年代就致力于调查英国本土及殖民地的虫生真菌, 30年间发表有关论文40余篇, 为这类资源的调查研究奠定了基础。如今欧美各国这类资源已基本清楚, 但仍时有新种发现, 全世界每年发表虫生真菌新种20个左右。第三世界各国多未进行过系统的研究, 资源潜力很大, 这对真菌杀虫剂新产品的开发具有重要价值。

新资源主要发现于植被丰富的地区, 尤其是保护良好的天然林。然而, 随着生态环境破坏的加剧, 尤其是森林的破坏, 物种以每天一种的速度灭绝, 昆虫及其病原物的存在都受到威胁。如拉丁美洲有2/3的原始森林已被破坏殆尽, 我国西双版纳及海南的热带雨林已被破坏一半左右。为了替生物防治事业保存下可贵的种质资源, 国外的一些有识之士已抓紧了虫生真菌资源调查的步伐, 特别是在第三世界国家和在非目标寄主中进行调查。少数真菌学家已将重点移向广袤的第三世界, 如Samson等。然而, 这些努力和其它昆虫病原资源调查一样, 远不能满足生物防治的需要。为此, 国际无脊椎动物病理学会本届主席Roberts在学会的第22届年会(1989年8月)上强烈呼吁保护昆虫病原物的种质资源, 以应付因生态环境变化而使这类资源濒临灭绝的危险^[2]。他建议该学会担负起引导的重任, 鼓励会员们加强野外采集, 并将菌种(或毒株)交可靠的保藏中心保藏, 这些保护措施必将为真菌杀虫剂提供更多有价值的新菌株。

我国虫生真菌资源的研究已在80年代逐渐开展,已对贵州、安徽、浙江、福建、湖南及西北的一些省区进行过比较系统的调查,对茶树、蔬菜、水稻、柑桔及林木害虫的病原真菌尤为详细,迄今已记载180种左右。目前已有3个项目得到国家自然科学基金的资助。1991年即将开始全国性的虫生真菌资源调查。

真菌杀虫剂生产工艺

真菌杀虫剂产品须是毒力高、抗性强、寄主谱广而贮藏期长的活菌体,因此同其它各种真菌产品相比,例如抗生素、有机酸、酶、饲料、食品等,其生产工艺既独特又困难,所以发展一直缓慢。

虽然苏联的白僵菌制剂早在60年代即已开始商品化进程,但国外的一些最重要的真菌杀虫剂却多是在80年代才陆续注册的。如英、美的蜡蚧轮枝孢和汤普生被毛孢皆于1981年注册,巴西的几种绿僵菌制剂于1982年末注册。据不完全统计^[3,4],国外陆续开发的真菌杀虫剂商品共24种,其中17种已注册,种类以苏联、美国及巴西居多。就白僵菌来看,苏联年产Bovrin约5吨。捷克斯洛伐克靠3个农业合作社年产Boverol及蜡蚧轮枝孢制剂Verticon 2—3吨,其中一个合作社1986年仅产Boverol 50kg,但1987年即猛增到500kg。现在这些厂正在扩建,拟建成年产5—50吨的规模。

固体、半固体及双相发酵仍是主要的生产方式。尽管我国在白僵菌等真菌的大量生产中主要使用廉价的麦麸和米糠做为培养基质,但这些物质成分不稳定,而且从代谢上考虑也不可取,因为真菌在开始大量生长之前须产生分解酶,从而延长了发酵时间,并且增加了污染的机会。因此,国外在商业化生产中不使用这些农副产品,而使用成分较均一的谷粒^[5]。

现在的各种生产方式各有利弊。浅盘开放培养易污染,表面易干燥而不产孢,培养基利用很不充分;聚丙烯塑料袋培养实际上是厌气培养,难以控制,产孢量较低;通风发酵池(桶)易闪缝,孢子易在成熟前发芽,同时,也难以控制污染问题;不管用哪种方法,在正常的10—14天发酵期间,很难一直保持培养室无菌。目前我国的白僵菌固体、半固体及双相发酵工艺正不断改进,程度不同地解决了上述问题。

深层发酵具有其它方法无以比拟的优点:易控制发酵条件,不易污染,发酵快,产量高,能充分利用营养。然而,多年来阻碍这种生产方式发展的关键问题——产品的形式问题迄今未见实质性突破。苏联多年来耗费巨资发展白僵菌深层发酵,据称已可大量生产分生孢子替代生活力弱、寿命短的芽生孢子,但仍因产品稳定性问题而最终停顿(Lipa,私人通讯)。波兰自1986年以来也曾组织深层发酵,但迄今只生产100—200kg。至于我国,这项试验多年来一直在断续进行,但也未见重大进展。白僵菌的某些菌株在深层发酵中确可产生分生孢子,用的培养液须含酵母、蛋白胨及麦芽浸汁。在培养72小时后,当甘油及氮源耗尽时,在发芽的芽生孢子上会形成瓶梗及分生孢子,但其稳定性并不理想。汤普生被毛孢的工业产品为菌丝制剂,后发现一株象牙海岸菌株,在含0.1%玉米糖浆及0.2%Tween80的培养液中3天后产生分生孢子,6—11天达产孢高峰,产量可达68—9700万分生孢子/ml;然而,这种孢子发芽率很低,仅5—13%,因此依然尚未解决问题^[4]。鉴于以上情况,在目前的技术水平下不可对虫生真菌的深层发酵抱过高期望,而应立足于传统的双相或固体发酵,不断改进生产工艺。

近年来利用菌丝防治害虫这一新途径的开辟较引人注目，有人认为有希望成为分生孢子大量生产的替代物。McCabe和Soper(1985)为虫霉田间试验而研究出以枯存(Marcescence)技术生产干菌丝^[6]，后被Roberts等应用到半知菌获得重要进展^[7]。菌丝很容易通过深层发酵大量生产，生产周期短，可连续生产。在发酵结束时，先将发酵液弃去，将培养物用清水洗涤数次，抽气过滤，制成25×25cm，重80—100g的干张状的“菌皮”，放在搁架上在室温下(22℃左右)自然干燥2小时，促进菌丝继续生长而缠结，使菌皮形成一张整体；然后以防干剂(10%麦芽糖或蔗糖)喷湿至饱和，以保持水分，减缓干燥速度，在4℃的通风恒温箱或冷藏箱内缓慢干燥18—20小时；然后将菌皮移出至室温下吹风干燥至一触即碎为止；最后将干菌皮粉碎，置-20℃下贮藏。为提高干菌丝在田间的抗逆性，可以2种技术制剂：①微囊剂。在培养液中加入藻酸钠和氯化钙，使菌丝在藻酸钙基质上沉淀和微囊化。②凝胶剂。在培养结束后排掉培养液，加入预制成凝胶状的淀粉和向日葵油。未制剂的干菌丝粉，也可直接用于喷雾。

制剂剂型

在获得大量接种体(分生孢子、芽生孢子或菌丝)后，应及时制成适当的剂型，以便保护这些接种体，使之既可最大限度地长期贮藏，在田间应用时又可向害虫传递最小的致死剂量。

制剂与否对接种体的寿命影响很大。图1显示，未制剂的球孢白僵菌分生孢子在4℃下

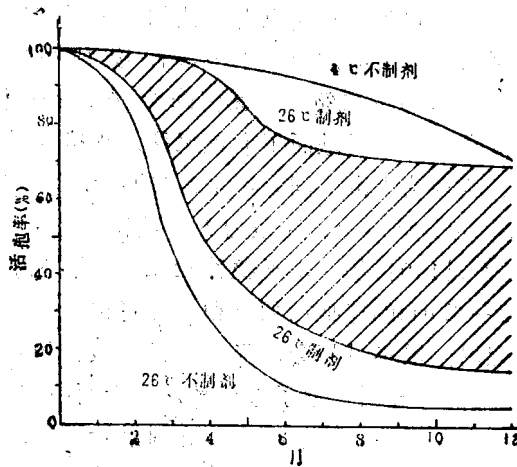


图1 剂型及温度对球孢白僵菌分生孢子活力的影响(仿Ward)

斜线部分为制成9种剂型的分生孢子的活孢率(以发芽率表示)下降情况。

贮存12个月后活孢率为71.5%，但在26℃下则降为5%。而制成9种剂型的分生孢子在26℃下贮藏1年后，活孢率(以发芽率表示)下降的程度各不相同，有些剂型仍可保持在62.7—75.5%之间。以一种活性白土Attaclay x-250为填充剂的剂型不光活孢率保存较好，而且生物测定也证明其毒力保持较高水平。然而须注意的是，迄今发现与虫生真菌接种体相容的惰性物质种类并不多。因此，接种体与剂型成分的相容性的问题须引起重视^[8]。在大量应用白僵菌的生产实践中，曾大量应用洗衣粉作为表面活性剂，然而孢子同洗衣粉的

相容性却未引起应有的重视。笔者曾检查过6种洗衣粉对虫生真菌发芽率的影响,发现除白猫牌无泡洗衣粉在0.1%和0.05%浓度时影响不显著外,其余5种洗衣粉对球孢白僵菌、所有6种洗衣粉对金龟子绿僵菌和粉拟青霉都有显著影响($P=0.95$)。

我国的白僵菌制剂工作自80年代初用旋风分离机提取分生孢子成功后,先后初步研制成使用油剂(二线油等^[9])和不同的乳剂(用“82乳油”^[10]、“ES—87湿润剂”^[11]等)进行低量和超低量喷雾的剂型,在大面积防治马尾松毛虫中起了重要作用。这类剂型是在应用之前才加入各种载体及助剂的“桶配剂型”,不存在对孢子活力造成长期影响的问题,故研制较快、较容易。迄今为止,国内外在液剂方面尚未研制成孢子或菌丝的“基本剂型”(或称“商业剂型”),即厂家—销售商最后卖给用户的形式或内容。与此相反,粉剂和可湿性粉剂等基本剂型在国外一些厂商已研制成功并大量销售使用,如Abbott公司;而可湿性粉剂在我国目前仍在研制之中。对于提取孢子粉的地方,存在着大量孢子粉在配制使用前的妥善贮存问题:若无冷藏设备而又不及时使用或制剂,便会因孢子大量失活而造成损失。

根据我国目前研制白僵菌剂型的现状,在虫生真菌的制剂中须特别注意剂型的以下物理性状:①匀质性。接种体在粉剂和可湿性粉剂的填充剂中应均匀分布;在液剂中应能迅速湿润,以克服某些种类(如白僵菌和绿僵菌)因表面张力而造成的疏水性,使之尽量悬浮均匀,缓慢沉降。球孢白僵菌和粉拟青霉孢子极小,悬浮性能很好;但虫霉目的孢子大,制剂时须再加入1—3%的胶性粘土等粘滞性物作悬浮剂。另外,各种助剂成分应同溶剂形成均匀的载体,不会出现因各成分间不相容而造成分层或沉淀。不管是以水为基础还是以油为基础,加入一定量液体中的接种体的量都与其比重有关;如超过了临界量,就会导致颗粒间相互吸引作用的加剧而造成团聚作用。常见的液剂中多含有接种体10—45%,表面活性剂3—8%,分散剂1—5%,载体35—65%^[8]。②沉降性。在以粉或液的形式喷施后,在正常情况下应尽可能快而多地沉降到目标区域而不大量飘移。飘移的远近及多少除与风力有关外,主要取决于颗粒的直径。从理论上讲,同是比重2.5的颗粒降落1m,粒径为10 μm 的需110秒,而粒径为1 μm 的则需200分钟以上。比重为1的颗粒,在1—2级风力下,每垂直下落10m,直径150 μm 的颗粒(过100目筛)水平飘移22m,而直径为2 μm 的颗粒竟飘移100km以上;因此,粒径为2—3 μm 的球孢白僵菌和粉拟青霉分生孢子,如不包在载体(固体颗粒或液滴)之中而直接应用,很难设想会沉降在目标区域。如从保证沉降出发而加大颗粒(例如用100目筛),则会由于填充剂与孢子直径悬殊过大而引起颗粒分异和团聚现象,造成混合不匀。综合考虑沉降性和匀质性,才能确定填充剂最合适的细度。至于液剂,其沉降性不仅同雾滴大小,还同剂型的粘度有关;如增加粘度,可减少飘移。③流动性。粉剂及可湿性粉剂的流动性指其自由流动性状。颗粒大、不圆滑、容重过大或过小都会降低流动性,使颗粒从包装袋向加料器、振动器及喷粉或喷雾器流动不畅,易造成堵塞。一般讲,容重不应低于320或高于900 kg/m^3 ;为此在制粉时常将容重不同的填充剂混合使用,以加大或减小容重。此外,填充剂与孢子的比例也会对剂型的匀质性及流动性造成一定的影响。典型的粉剂含重量为5—10%的接种体和90—95%的填充剂;而可湿性粉剂则含50—80%的接种体,15—45%的填充剂,1—10%的调配剂^[8]。

生物工程与菌株改良

60年代的生物防治使人们认识到菌株间广为存在的差异;70年代则发现多种虫生真菌中

存在的异核现象和准性重组，这既为菌种优良性状的保持带来极大困难，也为新菌株的选育提供了条件。然而，70年代的大量研究试图通过诱变来稳定地提高白僵菌等真菌的毒力，却并未获得令人满意的成果。

80年代细胞工程（原生质体融合）和基因工程（DNA重组）的迅速发展，给虫生真菌菌株的改良带来新的希望，为把不同菌株优良性状的结合开辟了新的途径。有人甚致构想，将用来生产供防治白粉虱、蚜虫和蓟马的制剂Nycotal, Vertalec和Thriptal的3株蜡蚧轮枝孢结合起来，产生一株“超级菌株”，用于防治这三类害虫。

自Silveira^[12]以原生质体融合技术获绿僵菌的二倍体以来，先后有人对球孢白僵菌、莱氏野村菌及蜡蚧轮枝孢原生质体形成、再生和融合进行过研究，在形成和再生的条件方面逐渐形成可行的技术路线。由于生物工程技术的发展，尤其是高效助融剂聚乙二醇（PEG）的发现及电融合技术的采用，使融合水平大大提高，通过遗传重组形成具多种优良性状的虫生真菌新菌株或许已为时不远。

成功地进行杂交融合一个重要先决条件是要能从未融合的亲本细胞中鉴别并筛选出已发生融合的杂合子。常规的做法是用互补的营养缺陷型和抗药性等遗传标记在选择性培养基上进行筛选。然而，野生型的亲本株在通过诱变获得营养缺陷时一般会降低对昆虫的毒力，而应用交互抗药性则可能会因有自发产生对抗药性的突变株而变得复杂化。为克服遗传标记带来的问题，人们对融合子非遗传标记的方法进行了多方面的探索。Chandler等^[13]采用一种新的检出系统，利用蜡蚧轮枝孢对高浓度氯酸钾及硒酸钠的耐受性可防止产生硝酸盐及硫酸盐的营养缺陷型这一特点，一方面应用诱发出的杂交标记，另一方面应用热失活的对药物敏感的野生型，便可保证在菌株改良过程中亲本菌株不发生突变。

我国关于虫生真菌原生质体融合的研究已经起步。农向群^[14]吴正铠^[15]等在球孢白僵菌、金龟子绿僵菌、蜡蚧轮枝孢及粉拟青霉的原生质体形成和再生及金龟子绿僵菌原生质体的融合方面已初获进展，并探索了紫外光对蜡蚧轮枝孢原生质体的诱变效应。

最近，St. Leger等^[16]通过常规的生化及免疫技术研究金龟子绿僵菌对寄主体壁的穿过程时发现，当附着胞形成时，该菌会产生一种凝乳硬蛋白酶（Pr1），它就是致病力的决定体，当侵入丝穿透寄主表皮时可使表皮软化。Staples等^[17]通过基因工程技术克隆了产生Pr1的基因，发现诱导附着胞发育的一种刺激也同时会控制基因表达和酶的分泌。他们发展了一种绿僵菌改造系统，用抗杀菌灵的ben 3基因破坏产生Pr1的基因，从而可得到一种突变株用以分析蛋白酶的分泌和致病性，这就成为一种易识别的改造标记；现在改造频率已达10%，而该基因已被插入绿僵菌基因组的连续排列中去。这一成果显示，通过引进重组DNA的方法可将一个完好的基因组中的基因从其正常环境中移出，作为DNA片断而加在克隆介体上。这不仅提供一种分析工具对由常规生化分析得出的结论进行严格的分析检验，而且还将构建出一些质粒，从而对虫生真菌进行遗传工程的改良。例如对绿僵菌，就可以通过Pr1酶的调控来加速其分泌，从而提高其毒力。