

杨帆,刘春来,王爽,等.一株虫生真菌的分离鉴定及生防潜力研究[J].黑龙江农业科学,2019(12):72-77.

一株虫生真菌的分离鉴定及生防潜力研究

杨帆,刘春来,王爽,刘亮,蒋希峰,李新民

(黑龙江省农业科学院 植物保护研究所/农业部哈尔滨作物有害生物科学观测实验站,黑龙江哈尔滨 150086)

摘要:为挖掘虫生真菌资源,获得高效生防菌,本文利用大蜡螟诱集法从东北地区不同类型土样中筛选虫生真菌,其中选取了一株虫生真菌 FLNXY5 菌株,经形态学及 18s rDNA ITS 序列分析鉴定为球孢白僵菌 *Beauveria bassiana* (KY419577)。本研究对 FLNXY5 菌株生物学特性、对小菜蛾 *Plutella xylostella* 2 龄幼虫的致病性及对 7 种植物病原菌抑菌活性进行测定,结果表明,FLNXY5 菌株菌丝生长最适温度为 25 ℃,产孢量在 28 ℃ 极显著高于其他处理。30 与 25 ℃ 处理下,24 h 萌发率最高达 91%,无显著差异。浓度为 1.0×10^9 孢子·mL⁻¹ 的菌悬液处理小菜蛾 2 龄幼虫,5 d 后的校正累计侵染率为 89.2%。球孢白僵菌 FLNXY5 的拮抗机理研究中,菌株 FLNXY5 对水稻稻瘟病菌 *Pyricularia grisea* 菌丝抑制率最高达 40.63%,对番茄灰霉病菌 *Botrytis cinerea* 菌丝抑制率最低为 29.14%。本次研究得到的菌株发酵滤液对试验选取的 7 种植物病原菌菌丝没有抑制作用。

关键词:球孢白僵菌;生物学特性;致病性;抑菌作用

球孢白僵菌 (*Beauveria bassiana*) 是白僵菌属 (*Beauveria*) 的优势种,在自然界中分布广,寄主昆虫已达到 15 目 149 科 750 多种^[1-2]。丝孢类虫生真菌一般通过昆虫体壁侵染,昆虫不易产生抗性,其中白僵菌属和绿僵菌属 (*Metarhizium*) 最具代表性,已被世界各国争相开发用于多种农林害虫的防治^[3-5]。

但白僵菌属作为植物病原菌的拮抗菌,研究报道较少。Renwick 等发现分离自小麦根际的球孢白僵菌在盆栽试验中对小麦全蚀病的控制较好^[6]。Reisenzein 等研究发现某些球孢白僵菌菌株对尖孢镰刀菌 *F. oxysporum* E. F. Smith & Swingle 的菌丝生长具有抑制作用^[7]。Ownley 等^[8]通过混配白僵菌分生孢子与甲基纤维素溶液,对番茄种子包衣,能提高幼苗在土壤中对立枯丝核菌 *Rhizoctonia solani* 和群结腐霉 *Pythium myriotylum* 的抗性。

本试验从辽宁岫岩兴隆镇大豆田土壤中分离筛选到一株球孢白僵菌菌株,通过生物学特性测定、对 2 龄小菜蛾幼虫毒力测定及常见的 7 种重

要作物病害的拮抗作用研究,综合评价球孢白僵菌 FLNXY5 生防应用潜力,研究结果对该菌株的盆栽及田间试验奠定了基础,为扩大其生防范围提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试土样 土样采自辽宁岫岩兴隆镇大豆试验田。

1.1.2 供试菌株 K3 大豆根腐病菌尖镰孢菌 (*Fusarium oxysporum*)、K8 水稻稻瘟病菌 (*Pyricularia grisea*)、K9 玉米大斑病菌 (*Setosphaeria turcica*)、K14 马铃薯早疫病菌 (*Alternaria solani*)、K13 番茄灰霉病菌 (*Botrytis cinerea*)、K15 水稻纹枯病菌 (*Rhizoctonia solani*)、K17 玉米茎基腐病菌 (*Fusarium graminearum*)。以上菌株由黑龙江省农业科学院植物保护研究所植病室提供。

1.1.3 供试虫源 大蜡螟(网上购买)。小菜蛾 2 龄幼虫(室内连续饲养多代),由黑龙江省农业科学院植物保护研究所农业昆虫室提供。

1.2 方法

1.2.1 菌株的分离纯化 采集辽宁岫岩兴隆镇大豆试验田地表下 10 cm 土样。参照王爽等^[9]方法,对采集样本进行室内虫生真菌诱集,收集感染僵虫,分离、纯化虫生真菌。

1.2.2 菌落的形态观察 将 PDA 斜面保存的

收稿日期:2019-07-15

基金项目:国家重点研发计划(2017YFD02011084);国家科技重大专项和重点研发项目(课题)省级资金(GX18B017)。

第一作者简介:杨帆(1982-),女,博士,助理研究员,从事作物病虫害生物防治研究。E-mail:yf_echo2011@163.com。

通讯作者:李新民(1963-),男,硕士,研究员,从事微生物农药研究。E-mail:xinmin63@163.com。

待测菌株 FLNXY5 在 PDA 平板培养基上活化培养, 25 °C 全黑暗培养 7 d, 刮取分生孢子, 无菌水配制 1.0×10^9 孢子 \cdot mL⁻¹ 菌悬液。取菌悬液 0.4 mL, 均匀涂布于 PDA 平板上。培养 3 d 后, 用打孔器(φ 7 mm)在菌落上打孔, 将菌碟转接于 PDA 平皿中心, 25 °C 全黑暗培养, 每间隔 2 d 观察菌落形态, 至 15 d 结束观测。

1.2.3 菌株分子鉴定 收集培养 7 d 的 FLNXY5 菌株菌丝体, 提取菌体 DNA。通用引物 ITS1 和 ITS4 由华大基因公司合成, PCR 扩增体系 50 μ L, 测定参照杨帆等^[10]的方法。扩增产物经 1% 琼脂糖凝胶检测, 再经 DNA 胶回收试剂盒回收纯化, 送样测序。NCBI 完成序列分析, 并构建系统发育树。

1.2.4 生长速率及产孢量测定 测定参照杨帆等^[10]的方法。

1.2.5 孢子萌发和芽管生长测定 测定参照杨帆等^[10]的方法。

1.2.6 菌株对小菜蛾致病性测定 0.05% 无菌吐温水收集菌株 FLNXY5 分生孢子, 配成 1.0×10^9 孢子 \cdot mL⁻¹ 菌悬液, 十倍稀释法配菌悬液 1.0×10^8 、 1.0×10^7 、 1.0×10^6 、 1.0×10^5 孢子 \cdot mL⁻¹。

浸虫法参考雷妍圆等^[11]的方法, 略有改动, 本试验饲喂新鲜油菜叶。

1.2.7 菌株对植物病原菌丝生长的抑制作用测定 待测菌 1.0×10^9 孢子 \cdot mL⁻¹ 孢悬液每 400 μ L 涂布于 SADY 培养基平板, 病原菌打菌碟接种到 PDA 培养基平板中心, 25 °C 黑暗培养 3 d, 待用。打孔器(φ 5 mm)分别在病原菌边缘、FLNXY5 菌株平板打取菌碟, 采用双重对峙培养法^[10], 测量

抑菌带宽和处理组病原菌菌落半径, 计算菌丝生长抑制率(IMG)。

$IMG = (\text{对照菌落半径} - \text{病原菌菌落半径}) / \text{对照菌落半径} \times 100\%$ ^[10]。

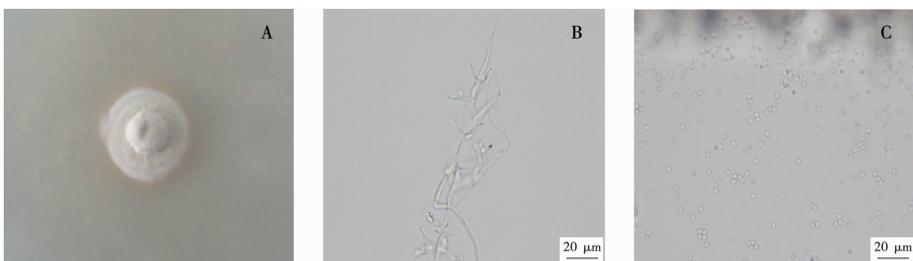
1.2.8 代谢产物 对供试病原菌抑菌活性测定 菌株 FLNXY5 接种于萨氏液体培养基, 每三角瓶 100 mL 培养液 3 个菌碟(φ 5 mm), 25 °C、180 r \cdot min⁻¹ 条件下振荡培养 5 d。发酵液在 10 000 r \cdot min⁻¹ 条件下离心 15 min, 0.22 μ m 细菌过滤器过滤上清液, 得无菌发酵滤液, 于 4 °C 保存备用。参照平板扩散培养法^[10], 测量抑菌圈直径。

1.2.9 数据分析 采用 SPSS 13.0 数据处理系统对生物学特性及对病原菌菌丝的抑制作用进行方差分析, 毒力回归方程及 LC₅₀、LT₅₀ 计算采用 POLO 数据处理系统进行。

2 结果与分析

2.1 菌株纯化及菌落形态

经大蜡螟诱集, 土样中僵虫数 5 头, 感菌率 16.67%。纯化虫生菌依次编号 FLNXY1-5。PDA 培养基培养 FLNXY5 菌株, 初期菌丝白色, 随菌落逐渐扩大, 颜色为乳白色至乳黄色, 薄粉状, 分生孢子易散落, 培养至后期整个菌落被白色分生孢子覆盖(图 1A)。在奥林巴斯光学显微镜下观察产孢细胞基部的形状从典型的瓶状到丝状, 着生于菌丝分支上, 分生孢子着生在“之”字形的产孢细胞梗上(图 1B), 分生孢子光滑、透明、无色、单孢, 多数为圆球形和近球形, 直径大小为 2.51~3.02 μ m(图 1C)。



A: 菌株 FLNXY5 菌落形态; B: 分生孢子产孢器; C: 分生孢子
A: Cultural characters of strain FLNXY5; B: Conidiogenous cell; C: Conidia

图 1 白僵菌 FLNXY5 菌株形态特征

Fig. 1 Morphological feature of spores and colony morphology for strain FLNXY5

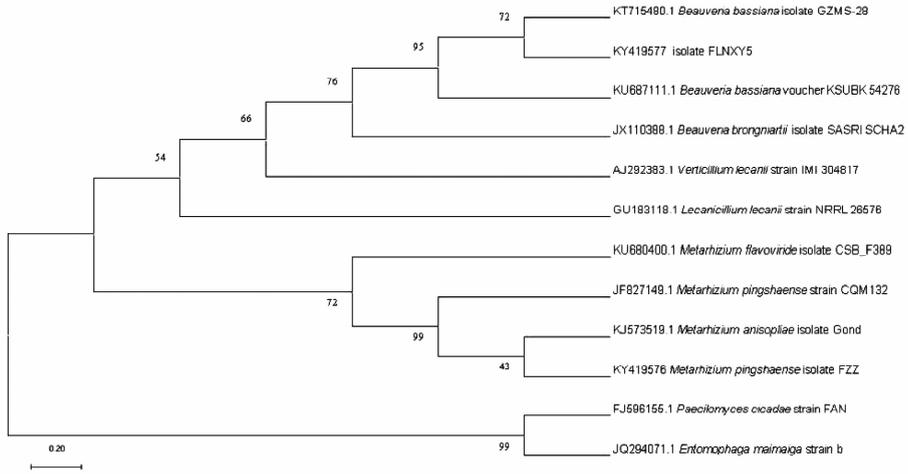
2.2 菌株的分子生物学鉴定

利用通用引物对供试菌株 FLNXY5 的 18S

rDNA-ITS 区域进行扩增, 得到 500 bp 左右的片段(KY419577)。通过菌落形态观察结合 NCBI-

Blast 序列比对, 菌株 FLNXY5 为球孢白僵菌。对虫生真菌主要属的一部分种在 GenBank 中筛选序列, 结合本供试菌株 FLNXY5 序列, 进行同

源性比较, 构建系统发育进化树(图 2), 菌株 FLNXY5 与球孢白僵菌 GZMS-28 的同源性达到 100%。



图中菌株由上至下依次为:球孢白僵菌、待测菌株 FLNXY5、球孢白僵菌、布氏白僵菌、蜡蚧轮枝菌、蜡蚧轮枝菌、绿僵菌、平沙绿僵菌、金龟子绿僵菌、平沙绿僵菌、蝉拟青霉、虫霉属

The strains in the picture from top to bottom are *Beauveria bassiana*, tested strain FLNSY5, *Beauveria bassiana*, *Beauveria brongniartii*, *Verticillium lecanii*, *Lecanicillium lecanii*, *Metarhizium flavoviride*, *Metarhizium pingshaense*, *Meterhizium cmisopliae*, *Metarhizium*, *pingshaense*, *Paecilomyces cicadae*, *Entomophaga maimaiga*

图 2 rDNA-ITS 序列构建的系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree of different strains based on rDNA-ITS

2.3 菌株生长速率与产孢量

不同温度处理下, 菌株 FLNXY5 具有较宽的生长范围, 除在 40 °C 下不生长, 其他处理均可生长, 但产孢量和生长速率明显不同。28 °C、30 °C 处理的生长速率无显著差异, 极显著高于其他温度处理, 且 28 °C 菌丝的致密度高于 30 °C。25 °C 下生长速率极显著低于 28 °C, 但菌丝致密度高于 28 °C。产孢量在 28 °C 极显著高于其他处理(表 1)。结果表明, FLNXY5 菌株生长的最适温度范围为 25~28 °C, 最适产孢温度为 28 °C。

2.4 菌株孢子萌发和芽管的形成

菌株 FLNXY5 在 30 °C 下萌发率最高达 91%, 与 25 °C 下无显著差异, 与其他处理存在极显著差异。其中, 30 °C 下多芽管萌发占总萌发数的 11%, 与 25 °C 和 35 °C 下无差异。25 °C 芽管长 11.39 μm, 与 30 °C 下无显著差异, 与其他处理存在极显著差异。处理后 48 h, 菌株 FLNXY5 菌丝生长过长, 无法测量。适合菌株萌发及菌丝生长的温度范围为 25~30 °C(表 2)。

表 1 菌株 FLNXY5 在不同温度下生长速率及产孢量

Table 1 The conidia production and growth rate of isolate FLNXY5 at different temperature

温度 Temperature/°C	生长速率 Growth rate/(cm·d ⁻¹)	产孢量/(孢子·皿 ⁻¹) Conidia production
12	(0.07±0.003)efD	(2.38±0.65)×10 ⁷ cC
14	(0.13±0.022)cC	(1.69±0.78)×10 ⁸ cC
15	(0.09±0.008)deCD	(8.44±1.51)×10 ⁸ cC
20	(0.12±0.005)cdC	(2.77±0.74)×10 ⁹ bB
25	(0.20±0.022)bB	(3.07±2.18)×10 ⁹ bB
28	(0.33±0.045)aA	(1.04±0.18)×10 ¹⁰ aA
30	(0.34±0.012)aA	(3.98±0.96)×10 ⁹ bB
35	(0.06±0.010)fDE	(1.24±0.24)×10 ⁸ cC
37	(0.02±0.016)gEF	(4.10±0.38)×10 ⁷ cC
40	0 gF	0 cC

注: 同列数据中小写字母表示在 0.05 水平, 大写字母表示在 0.01 水平, 下同。

Note: The different lowercase and capital letters in the same column indicate significant difference at 0.05 and 0.01 level.

表 2 菌株 FLNXY5 在不同温度 24 h 的萌发率及芽管长

Table 2 The length of germ tube and conidium germinations of FLNXY5 isolate at different temperature for 24 h

温度 Temperature/ ℃	萌发率 Germination rate/%	多芽管萌发比例 Germination ratio of multi germ tube/%	芽管长 Length of germ tube/ μm
15	(1±1)dD	(0)cB	(1.61±1.15)bB
20	(20±5)cC	(6±4)bAB	(2.78±0.91)bB
25	(88±5)aA	(12±5)aA	(11.39±5.30)aA
30	(91±4)aA	(11±6)abA	(9.32±5.95)aA
35	(53±7)bB	(10±6)abA	(2.75±1.23)bB

表 3 菌悬液对小菜蛾 2 龄幼虫的毒力测定

Table 3 The virulence of isolate on 2nd instar larvae of *Plutella xylostella*

菌悬液浓度 Concentration/(Conidia·mL ⁻¹)	校正累计侵染率 Corrected accumulative infection rate/%			
	2 d	3 d	4 d	5 d
1.0×10 ⁵	7.50±3.54	17.50±10.61	17.50±10.61	17.50±10.61
1.0×10 ⁶	38.14±10.65	43.14±12.90	50.39±9.42	57.06±13.75
1.0×10 ⁷	35.00±0.00	45.00±5.00	55.00±0.00	58.33±2.89
1.0×10 ⁸	84.07±10.26	87.59±8.86	87.59±8.86	87.59±8.86
1.0×10 ⁹	85.83±10.10	89.17±5.20	89.17±5.20	89.17±5.20

分别建立处理浓度、处理时间与小菜蛾幼虫校正累计侵染率毒力回归方程,菌株 FLNXY5 对小菜蛾二龄幼虫的 LC₅₀ 为 6.23×10⁶ 孢子·mL⁻¹ (95% 置信区间 1.63×10⁶~1.93×10⁷), 回归方程 Y = -4.44 + 0.65X; LT₅₀ 为 3.42 d (95% 置信区间 2.43~5.88), 回归方程 Y = -0.80 + 1.51X。

2.6 菌株对供试病原菌菌丝生长的抑制作用

由表 4 看出, 7 株供试病原菌菌丝生长均受到球孢白僵菌不同程度的抑制, 对水稻稻瘟病菌菌丝抑制率最高达 40.63%, 对番茄灰霉病菌的菌丝抑制率最低为 29.14%, 对大豆根腐病菌的抑菌带宽最大, 达 0.57 cm, 对水稻纹枯病菌的抑菌带宽最小, 仅有 0.13 cm。由图 3 看出, 球孢白僵菌对几种病原菌均有明显的抑菌带。

2.7 代谢产物对植物病原真菌菌丝生长的抑制作用

本研究提取的球孢白僵菌发酵滤液对试验选

2.5 菌株对小菜蛾幼虫的侵染致病性

小菜蛾 2 龄幼虫经 FLNXY5 菌悬液处理后, 初期幼虫对触碰反应、取食行为及外表与对照组无差异。随接种天数的增加同一饲养盒内幼虫的取食量及对触碰反应差异较大, 且死虫数增加, 虫尸体色多数变黑, 僵硬。将死亡幼虫挑至保湿的培养皿, 置 25℃ 培养箱, 随时间推移, 虫尸体表出现白色菌丝, 后被白色分生孢子覆盖。1.0×10⁹ 孢子·mL⁻¹ 浓度处理第 2 天和第 5 天, 对幼虫校正累计侵染率最高, 分别为 85.83% 和 89.17% (表 3), 侵染致病率与处理浓度显著相关。

取的植物病原菌均没有起到抑制作用, 考虑是否与发酵时间及代谢产物活性物浓度有关。

表 4 菌株对供试病原菌的抑制作用

Table 4 The inhibition activity of isolates to plant pathogenic fungi

供试病原菌 Plant pathogenic fungi	生长抑制率 Inhibition rate/%	抑菌带宽 Length of inhibition zone/cm
大豆根腐病菌尖镰孢菌	38.66±5.68	0.57±0.12
水稻稻瘟病菌	40.63±0.90	0.36±0.21
玉米大斑病菌	37.43±4.94	0.47±0.12
番茄灰霉病菌	29.14±3.41	0.28±0.05
马铃薯早疫病菌	35.08±3.27	0.26±0.05
水稻纹枯病菌	31.55±3.13	0.13±0.06
玉米茎基腐病菌	36.10±2.16	0.28±0.10

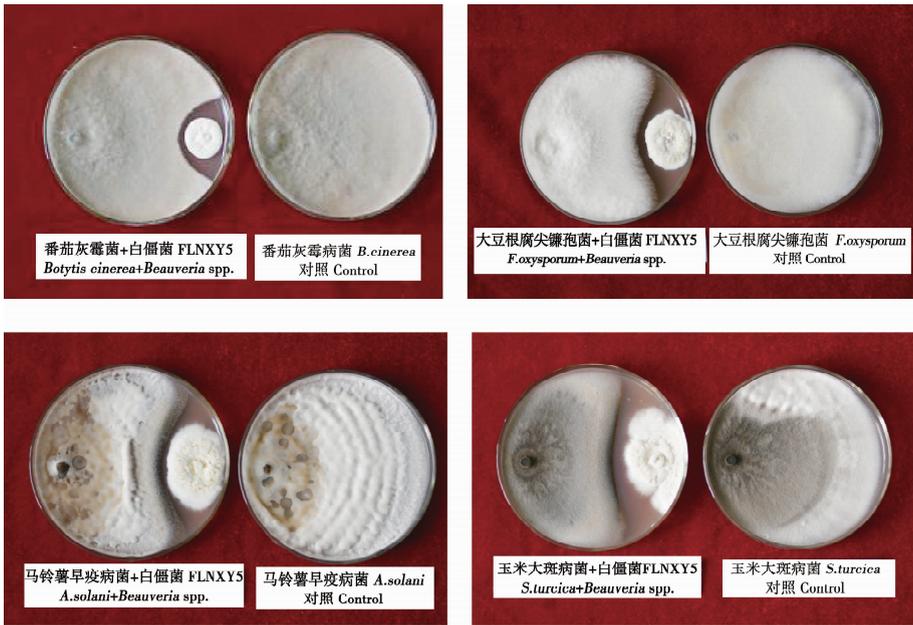


图3 菌株对几种植物病原菌菌丝生长抑制作用

Fig. 3 The inhibition activity of strain to plant pathogenic fungi

3 结论与讨论

关于昆虫病原真菌,尤其是白僵菌一直是研究热点,菌株由于营养条件和寄主的不同而发生相应的变化,很难仅依靠形态学来对其进行属种的分类,而分子生物学技术很好的解决了近缘种的分类难题^[12]。本试验通过大蜡螟诱集法对东北地区不同类型土样进行虫生菌的诱集,对其中一株菌株 FLNXY5 进行了形态学观察及 18S rDNA ITS 序列分析,鉴定出该菌株为球孢白僵菌,并对其进行了生物学、致病力及对常见致病菌拮抗作用的测定。

通过生物学特性研究,发现本试验获得的球孢白僵菌生长速率最适温度为 25 ℃,产孢量在 28 ℃ 下极显著高于其他处理。检测菌株的孢子萌发率,24 h 球孢白僵菌萌发率最高达 91%,且 30 ℃ 与 25 ℃ 处理无显著差异,与其他处理差异极显著。与之前研究者发现分离自不同区域的虫生菌株在不同培养基、不同处理下的生物学特性存在较大差异的结果是一致的^[10]。

虫生真菌的致病力始终是衡量菌株生防潜力的重要指标。雷妍圆等^[11]采用 4 种接种方式,比较了球孢白僵菌 Bb02 对小菜蛾 2 龄和 3 龄幼虫的致病力,得出浸虫法最适用于室内准确评价球孢白僵菌对小菜蛾的致病力。本试验对小菜蛾二龄幼虫通过浸虫法进行毒力测定表明,球孢白僵菌 FLNXY5 LC_{50} 为 6.23×10^6 孢子·mL⁻¹, LT_{50}

3.42 d。虫生菌毒力测定试验,受接种方式、供试昆虫龄期、外界条件等影响,结果有差异^[13-14]。

虫生真菌作为植物病原菌的拮抗菌研究起步较晚,目前报道较少^[10,15-17]。Bark 等^[18]发现球孢白僵菌代谢液具有抑制或推迟灰霉病菌分生孢子萌发的作用。Vega 等^[19]研究发现室内抑菌试验中,球孢白僵菌代谢液能抑制立枯丝核菌的菌丝生长。陈方新等^[20]通过平板对峙培养试验,发现球孢白僵菌对玉米茎基腐病菌又较好的抑制效果。本试验通过对峙培养和平板扩散培养,测定球孢白僵菌及代谢产物对黑龙江省 7 种重要植物病原菌菌丝生长抑制率,均有不同程度的抑制效果,都可以产生抑菌带;但其代谢产物对 7 株植物病原菌均没有抑制作用,分析原因可能同液体发酵菌株代谢产物中抑菌活性物浓度太低有关,对植物病原菌没起到拮抗作用。通过对球孢白僵菌 FLNXY5 的生物学特性、致病力以及拮抗作用的研究,为筛选得到的其他菌株后续研究提供了理论参考,为筛选高效、广谱球孢白僵菌及扩大其生防范围具有重要意义。

参考文献:

- [1] 蒲蛰龙,李增智. 害虫真菌学[M]. 合肥: 安徽科学技术出版社,1996:297-304.
- [2] Inglis D G,Goettel M S,Butt T M, et al. Use of hyphomycetous fungi for managing insect pests[J]. Fungi As Biocontrol Agents,2001:23-69.
- [3] 王萍莉. 虫生真菌对白星花金龟幼虫的致病力测定[J]. 北

- 方园艺,2012(24):152-153.
- [4] Diana C L, Gregory A S. The endophytic fungal entomopathogens *Beauveria bassiana* and *Purpureocillium lilacinum* enhance the growth of cultivated cotton(*Gossypium hirsutum*) and negatively affect survival of the cotton bollworm(*Helicoverpa zea*) [J]. *Biological Control*, 2015, 89: 53-60.
- [5] 李增智,黄勃,陈名君,等. 分子时代的白僵菌研究[J]. *菌物学报*,2011,30(6): 823 - 835.
- [6] Renwick A, Zampbell R, Coe S. Assessment of in vivo screening systems for potential biocontrol agents of *Gaeumannomyces araminis* [J]. *Plant Pathology*, 1991, 40: 524-532.
- [7] Reisenzein H, Tiefenbrunner W. Growth inhibiting effect of different isolates of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*(Bals.) Vuill. to the plant parasitic fungi of the genera *Fusarium*, *Armillaria* and *Rosellinia* [J]. *Pflanzenschutz Berichte*, 1997, 57(1): 15-24.
- [8] Ownley B H, Dee M M, Gwinn K D. Effect of conidial seed treatment rate of entomopathogenic *Beauveria bassiana* 11-98 on endophytic colonization of tomato seedlings and control of *Rhizoctonia disease* [J]. *Phytopathology*, 2008, 98: 118.
- [9] 王爽,李新民,刘春来,等. 东北地区土壤中高毒力虫生真菌菌株的筛选[J]. *黑龙江农业科学*, 2015(1), 50-56.
- [10] 杨帆,刘春来,王爽,等. 一株平沙绿僵菌的鉴定及生防应用潜力评价[J]. *植物保护*, 2018, 44(5): 199-205.
- [11] 雷妍圆,吕利华,何余容. 不同接种方式下球孢白僵菌对小菜蛾的致病力[J]. *植物保护*, 2010, 36(6): 142-146.
- [12] 张亚波,吴盼盼,王鹏,等. 一株绿僵菌的鉴定及其生物学特性[J]. *林业科学*, 2012, 48(12): 134-140.
- [13] 张建伟,王中康,申剑飞,等. 小菜蛾高致病力绿僵菌的筛选、鉴定及培养特性研究[J]. *中国生物防治学报*, 2012, 28(1): 53-61.
- [14] Sarfraz M, Keddie A, Dossall L. Biological control of the diamondback moth, *Plutella xylostella*: A review [J]. *Bio-control Science and Technology*, 2005, 15: 763-789.
- [15] Lozano-Tovar M D, Ortiz-Urquiza A, Garrido-Jurado I, et al. Assessment of entomopathogenic fungi and their extracts against a soil-dwelling pest and soil-borne pathogens of olive [J]. *Biological Control*, 2013, 67: 409-420.
- [16] Lara R J, Bonnie H O. Can we use entomopathogenic fungi as endophytes for dual biological control of insect pests and plant pathogens? [J]. *Biocontrol Control*, 2018, 116: 36-45.
- [17] 陈方新,梅玉云,张强,等. 玉米根际球孢白僵菌(*Beauveria bassiana*)的分离与鉴定[J]. *核农学报*, 2016, 30(1): 58-64.
- [18] Bark Y G, Lee D G, Kim Y H, et al. Antibiotic properties of an entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* on *Fusarium oxysporum* and *Botrytis cinerea* [J]. *Korean Journal of Plant Pathology*, 1996, 12(2): 245-250.
- [19] Vega F E, Goettel M S, Blackwell M, et al. Fungal entomopathogens: new insights on their ecology [J]. *Fungal Ecology*, 2009, 2: 149-159.
- [20] 陈方新,齐永霞. 虫生真菌对玉米茎基腐病菌的室内抑制作用研究 [C]. 中国植物病理学会. 中国植物病理学会 2014 年学术年会论文集, 2014: 530-534.

Research on Isolation, Identification and Bio-control Potential Application of an Entomopathogenic Fungal Strain

YANG Fan, LIU Chun-lai, WANG Shuang, LIU Liang, JIANG Xi-feng, LI Xin-min

(Plant Protection Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences/ Scientific Observing and Experimental Station of Crop Pest in Harbin, Ministry of Agriculture, Harbin 150086, China)

Abstract: In order to obtain efficient biocontrol fungus, an entomopathogenic fungal strain isolated from infected *Galletia mellonella* larvae was identified as *Beauveria bassiana* by both morphological and molecular methods. Biological characteristics of the isolate was studied. It showed that the optimum temperature for mycelium growth was 25 °C. The optimum temperature for conidia production was 28 °C which was significantly higher than other treatments. The highest conidia germination rate was 91% after being cultured for 24 h, and there was no significant difference between 25 °C and 30 °C. The pathogenicity of *Beauveria bassiana* strain FLNXY5 against the second instar larvae of *P. xylostella* was investigated in the laboratory. The corrected accumulative infection rate 89.2% was obtained by 5 days later at a concentration of 1.0×10^9 conidia·mL⁻¹ suspension. The inhibition rate of strain FLNXY5 on mycelium growth of *P. grisea* was 40.63% and the lowest inhibition rate on mycelium growth of *B. cinerea* was 29.14%. The metabolic liquid of strain FLNXY5 had no inhibition against 7 species of plant pathogenic fungi.

Keywords: *Beauveria bassiana*; biological characteristics; pathogenicity; antimicrobial effect