

苏云金芽孢杆菌-菌株 20 增效物质的筛选

王 爽¹, 于洪春², 刘兴龙¹

(1. 黑龙江省农业科学院 植物保护研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086; 2. 东北农业大学 农学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘要:以 2 龄小菜蛾幼虫为试虫, 研究了 NaH_2PO_4 、 CuSO_4 、Success、硼酸、柠檬酸、阿维菌素 6 种助剂对 Bt 20 的增效作用。结果表明: Success 对 Bt 20 的增效效果最好。小菜蛾在第 2 天的校正死亡率达到 42.2%~95.6%, 第 3 天的校正死亡率达到 48.9%~100.0%, 第 4 天校正死亡率达到 50.2%~100.0%。

关键词: 增效作用; 增效剂; 苏云金杆菌; 小菜蛾

中图分类号: Q939.96

文献标识码: A

文章编号: 1002-2767(2010)02-0009-02

小菜蛾(*Plutella xylostella* L.) 属鳞翅目菜蛾科昆虫, 是十字花科蔬菜最重要的害虫之一。近十几年来, 随着北方种植结构的调整, 保护地蔬菜迅速发展, 小菜蛾的为害也呈明显上升趋势^[1]。目前, 在哈尔滨地区小菜蛾已成为十字花科蔬菜危害最重的害虫之一。由于大量使用化学杀虫剂, 小菜蛾几乎对所有有机合成杀虫剂产生抗性, 并且具有抗性发展较快、抗性倍数较高的特点^[2]。小菜蛾已成为目前“化学杀虫剂防治困难”的典型害虫之一, 因此研究新型的生物制剂防治小菜蛾意义重大。

苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*, 简称 Bt) 是从自然界分离出来的昆虫病原细菌, 革兰氏染色呈阳性^[3], 对小菜蛾有很强的致病力。可同时含有多种杀虫基因, 从而使其杀虫活性具有多样性^[4]。对人畜及天敌安全, 据贾海民等研究显示, 唯独苏云金芽孢杆菌杀虫剂对天敌七星瓢虫表现无毒^[5]。苏云金芽孢杆菌不污染环境, 不破坏生态平衡, 是一种很好的“无公害”农药。

Bt 在传统的发酵过程中, 伴孢晶体易受环境影响而失活, 导致田间防效不稳、残效期短、杀虫速度慢等问题, 为此, 国内外许多学者都在研究如何提高 Bt 的杀虫效果。该文研究了 NaH_2PO_4 等 6 种助剂对苏云金杆菌的增效作用。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫的采集与饲养

试验所用小菜蛾虫源来自东北农业大学园艺试验站内田间捕捉到的小菜蛾成虫。将成虫喂饲 5% 的蜂蜜水。用搪瓷盘播种白菜籽, 待实生苗长到约 40 mm 高时, 可用于诱集小菜蛾的卵。待白菜苗长出两片真叶时, 可拿到养虫笼中饲养小菜蛾幼虫, 菜

苗叶片全部被吃光前, 将另一盘菜苗与其靠近, 幼虫会自动到新菜苗上取食。

1.2 供试助剂与菌株

试验用 Bt 20 菌株均为东北农业大学植物保护系生物防治实验室提供。

1.3 方法

将 NaH_2PO_4 配制为 0.05%、0.10%、0.20%; CuSO_4 配制为 0.50%、1.00%、2.00%; 硼酸配制为 0.50%、1.00%、2.00%; Success 配制为 3 000、6 000、9 000 倍液; 柠檬酸配制为 0.05%、0.10%、0.20%; 阿维菌素配制为 2 000、4 000、6 000 倍液。分别与筛选出的高毒菌株 Bt 20 菌液混合, 混合后使混合悬液中 Bt 20 的芽孢浓度为 1×10^6 芽孢·mL⁻¹, 对照为 1×10^6 芽孢·mL⁻¹ 的 Bt 20 菌液, 将上述混合液均匀地喷洒在新鲜的白菜叶片上。将 2 龄初小菜蛾幼虫饥饿 5 h 后放置于无菌的罐头瓶中, 瓶底放入上述带菌叶片, 每个处理 3 次重复, 每次重复试虫 15 头, 并设清水作对照。然后将其放入 25℃ 光照培养箱内饲养, 设光周期为 L14 : D10。24 h 后换无菌新鲜的白菜叶片。之后每天更换新鲜饲料。从第 2 天开始每天观察 1 次, 连续观察 3 d, 分别记录幼虫死亡数, 计算其死亡率和校正死亡率。将各处理的校正死亡率数值转换成反正弦值, 再用 SAS 软件对试虫的校正死亡率数值的反正弦值进行方差分析并做差异显著性比较。

2 结果与分析

6 种不同浓度增效物质单独使用和与 Bt 20 混配后对 2 龄小菜蛾幼虫的防治效果见表 1。结果表明, 单独使用柠檬酸、 NaH_2PO_4 、硼酸、 CuSO_4 对小菜蛾表现为无毒, 单独使用阿维菌素、Success 对小菜蛾有防效。Success 对小菜蛾的防治效果最好, 其次为阿维菌素。Success 各浓度液与 Bt 20 菌液的混合液对小菜蛾的校正死亡率都显著地高于单独使用 Bt 20 菌液对小菜蛾的校正死亡率。Success 9 000 倍稀

收稿日期: 2009-11-19

第一作者简介: 王爽(1981-), 女, 黑龙江省哈尔滨市人, 硕士, 从事害虫生物防治研究。E-mail: wslovegyn0@163.com。

表 1 *Bt* 20 与不同增效剂混配后对 2 龄小菜蛾幼虫的防治效果分析

处理	校正死亡率/%		
	2 d	3 d	4 d
<i>Bt</i> 20	8.9 ijk	40.0i	55.6 d
阿维菌素 2000 倍	71.1 c	75.6de	88.6 c
阿维菌素 4000 倍	40.0 de	60.0 efgh	68.3 d
阿维菌素 6000 倍	33.3def	53.3 ghi	56.8 d
阿维菌素 2000 倍 + <i>Bt</i> 20	46.7 d	77.8 d	93.3 bc
阿维菌素 4000 倍 + <i>Bt</i> 20	44.4d	73.3 de	88.9 c
阿维菌素 6000 倍 + <i>Bt</i> 20	40.0 de	71.1 def	84.4 c
Success 3000 倍	86.7 b	88.9c	93.3 bc
Success 6000 倍	46.7 d	62.2 defg	63.5 d
Success 9000 倍	4 2.2d	48.9 ghi	50.2 d
Success 3000 倍 + <i>Bt</i> 20	95.6 a	100.0 a	100.0a
Success 6000 倍 + <i>Bt</i> 20	86.7 b	95.6 b	100.0 a
Success 9000 倍 + <i>Bt</i> 20	84.4 b	93.3 bc	97.8 ab
CuSO ₄ , 0.50%	0.0 m	2.2 kl	2.2 f
CuSO ₄ , 1.00%	2.2 lm	2.2 kl	4.4 ef
CuSO ₄ , 2.00%	4.4 kl	6.7jk	6.7 ef
CuSO ₄ , 0.50% + <i>Bt</i> 20	8.9 ijk	44.4 ghi	55.6 d
CuSO ₄ , 1.00% + <i>Bt</i> 20	11.1hij	46.7 ghi	60.0 d
CuSO ₄ , 2.00% + <i>Bt</i> 20	17.8 ghi	55.6 fghi	64.4 d
硼酸, 0.50%	0.0 m	0.0 l	4.4 ef
硼酸, 1.00%	0.0 m	2.2 kl	6.7 ef
硼酸, 2.00%	2.2 lm	4.4 jkl	6.7 ef
硼酸, 0.50% + <i>Bt</i> 20	6.7 jk	46.7 ghi	48.9 d
硼酸, 1.00% + <i>Bt</i> 20	15.6 ghij	53.3 ghi	60.0 d
硼酸, 2.00% + <i>Bt</i> 20	26.7 efg	62.2 defg	68.9 d
NaH ₂ PO ₄ , 0.05%	0.0 m	2.2 kl	4.4 ef
NaH ₂ PO ₄ , 0.10%	2.2lm	2.2 kl	4.4 ef
NaH ₂ PO ₄ , 0.20%	6.7 jk	8.9 j	8.9 e
NaH ₂ PO ₄ , 0.05% + <i>Bt</i> 20	15.6 ghij	44.4ghi	57.8 d
NaH ₂ PO ₄ , 0.10% + <i>Bt</i> 20	17.8 ghi	44.4ghi	60.0 d
NaH ₂ PO ₄ , 0.20% + <i>Bt</i> 20	22.2 fgh	46.7 ghi	62.2 d
柠檬酸, 0.05%	0.0 m	0.0 l	4.4 ef
柠檬酸, 0.10%	2.2 lm	2.2 kl	4.4 ef
柠檬酸, 0.20%	4.4 kl	4.4 jkl	6.7 ef
柠檬酸, 0.05% + <i>Bt</i> 20	8.9ijk	42.2 hi	53.3 d
柠檬酸, 0.10% + <i>Bt</i> 20	11.1ijk	42.2 hi	53.3 d
柠檬酸, 0.20% + <i>Bt</i> 20	13.3 hij	51.1 ghi	57.8 d

注: *Bt* 20 的芽孢浓度为 1×10^6 芽孢 $\cdot L^{-1}$; 同列数据后标有相同小写字母表示在 5% 水平上无显著性差异。

稀释液与 *Bt* 20 菌液混用, 在第 2~4 天对小菜蛾幼虫的校正死亡率分别是 84.4%、93.3%、97.8%, 与 Success 3 000 倍稀释液单用时校正死亡率差异不显

著, 但与单用 Success 6 000、9 000 倍稀释液相比差异显著, Success 9 000 倍稀释液和 *Bt* 20 菌液混用对小菜蛾的校正死亡率与 Success 6 000 倍稀释液和 *Bt* 20 菌液混用的差异不显著。部分浓度阿维菌素与 *Bt* 20 菌液的混合液对小菜蛾的校正死亡率分别与单独使用各浓度的阿维菌素对小菜蛾的校正死亡率差异显著, 但方差分析表明, Success 与 *Bt* 20 混用对菜蛾的校正死亡率明显高于阿维菌素与 *Bt* 20 混用的校正死亡率。

由表 1 可知, Success 对 *Bt* 20 确实存在增效作用, 说明 Success 的加入可以明显地提高 *Bt* 20 对小菜蛾的杀虫效果和杀虫速度。因为各浓度 Success 与 *Bt* 20 菌液的混合液在第 4 天对小菜蛾的校正死亡率差异不显著, 因此, 从经济上考虑, 应选定 Success 稀释 9 000 倍液作为 *Bt* 20 的增效剂。

3 结论与讨论

该试验增效物质只对 *Bt* 20 在 1×10^6 芽孢 $\cdot mL^{-1}$ 浓度进行筛选, 所以还需进一步研究对 *Bt* 20 其它浓度的影响。由于阿维菌素、Success 都属于生物杀虫剂, 且均具有较高的杀虫活性, 与 *Bt* 20 混用均具有增效作用, 均可以与 *Bt* 混配生产复合生物杀虫剂。但由于阿维菌素原药高毒, 而 Success 毒性极低, 且较阿维菌素对小菜蛾的活性更高, 并对抗性菜蛾也具有很高的防治效果, 因此, 该试验选用 Success 作为 *Bt* 20 的增效剂, 可满足 AA 级绿色食品生产的需要。

参考文献:

- [1] 薛明, 毛永逊, 李强, 等. 小菜蛾生物学特性及药剂防治研究[J]. 莱阳农学院学报, 1994(A06): 137-140.
- [2] 曹毅. 小菜蛾的生物防治[J]. 长江蔬菜, 2001(9): 24-25.
- [3] Suzuki M T, Lereclus D, Arantes O M. Fate of *Bacillus Thuringiensis* strains in different insect larvae[J]. Canadian Journal of Microbiology, 2004, 50(11): 973-975.
- [4] 张松鹏, 杨建州. 经高浓度味精废水驯化的 *Bt* 菌株伴孢晶体特性及其活性成分研究[J]. 生物技术通报, 2002(1): 38-41.
- [5] 贾海民, 高占林, 潘文亮, 等. 20 种杀虫剂对七星瓢虫不同虫态的毒力测定[J]. 昆虫天敌, 1999, 21(4): 160-163.

Screening of the Potentiators to *Bt* 20

WANG Shuang¹, YU Hong-chun², LIU Xing-long¹

(1. Plant Protection Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086; 2. Collge of Agriculture of Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030)

Abstract: Taking the 2nd instar *Plutella xylostella* larvae as experimental worm, the synergism of six potentiators (NaH₂PO₄, CuSO₄, Success, Boric acid, Citric acid, Abamatin) on *Bt* 20 was studied. The results showed that Success had the best synergism effect on *Bt* 20. The corrected mortality to *Plutella xylostella* reached to 42.2%~95.6% on the second day, the third day's corrected mortality reached to 48.9%~100%, and the fourth day's corrected mortality could reach to 50.2%~100%.

Key words: synergism; potentiator; *Bacillus thuringiensis*; *Plutella xylostella*