

苏云金杆菌毒力指示昆虫玉米螟 与棉铃虫、粘虫、黄地老虎的 毒力相关性测定*

冯书亮 付韵琴 范秀华 王容燕 邢建民 胡明峻

(河北省农林科学院植物保护研究所,保定 071000)

摘 要 选用在我国分布较广、出现频率较高的 4 个血清型中的 6 株供试菌株,以玉米螟为毒力指示昆虫,进行了毒力指示昆虫与棉铃虫、粘虫和黄地老虎的毒力相关性测定。结果显示,设定各供试菌株对玉米螟的毒力指数为 1,那么各供试菌株对棉铃虫的相对毒力指数为 0.647 ± 0.074 ,对粘虫的相对毒力指数为 0.268 ± 0.07 ,对黄地老虎的相对毒力指数为 0.145 ± 0.031 。4 种供试昆虫对各种供试菌株的相对敏感性顺序为玉米螟>棉铃虫>粘虫>黄地老虎。

关键词 苏云金杆菌 玉米螟 棉铃虫 粘虫 黄地老虎 毒力指示昆虫

近年来,国内外对具有杀虫活性的苏云金杆菌(*Bacillus thuringiensis*)的研究方兴未艾,每年都从自然界中分离出大量的苏云金杆菌菌株^[4]。欲从中筛选出用于生产的高毒力菌株,必须测定其杀虫范围和杀虫活性,这是一项繁重的工作。为建立一套快速高效的筛选方法,作者选用在我国分布较广、出现频率较高的 4 个血清型的 6 个供试菌株,以玉米螟(*Ostrinia fureacalis* Guenee)作毒力指示昆虫,进行了毒力指示昆虫与棉铃虫(*Heliothis armigera* Hubner)、粘虫(*Mythimna separata* Walker)和黄地老虎(*Euxoa segetum* Schiffermuller)的毒力相关性测定。通过测试菌株对毒力指示昆虫的毒力测定结果,预测该菌株对某些夜蛾科害虫的毒效,为建立我国苏云金杆菌杀虫资源的优化筛选模型提供依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试昆虫 玉米螟二龄幼虫:由本研究室用人工饲料饲养获得。棉铃虫初孵幼虫:由本研究室用人工饲料饲养获得。粘虫二龄幼虫:由本研究室用天然饲料饲养获得。黄地老虎初孵幼虫:由本研究室用半人工饲料饲养获得。

1.1.2 供试菌株 苏云金杆菌库斯塔克亚种(H3ab):HD-1 菌株由湖北省农科院微生物工厂提供;HL25 菌株和 80-1 菌株由本研究室分别从死亡玉米螟幼虫和死亡粘虫幼虫中分离获得。苏云金杆菌肯尼亚亚种(H4ac)7905 菌株由本研究室从死亡玉米螟幼虫中分离获得。苏云金杆菌鮎泽亚种(H7)KH 菌株由东京农工大学岩花秀典教授提供。苏云金杆菌 G02 菌株(H6)由本研究室从土壤中分离获得。

1.2 试验方法

1.2.1 供试菌株的孢晶制剂制备 在盛有 30ml 多成分合成培养基(牛肉膏 0.5%、蛋白胨 1%、NaCl 0.2%、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.03%、 K_2HPO_4 0.03%、 $MnSO_4$ 0.005%、pH7.3)的 250ml 三角瓶中,分别接各供试菌株斜面菌苔一环,旋转摇床培养(30℃,250rpm)至孢晶游离。培养液经离心(3000rpm,15min)收集培养物,用乳糖悬浮丙酮沉淀的方法制备成孢晶制剂^[3]。

1.2.2 生物测定程序及方法 本试验采用的生物测定方法主要参照我国已建立起来的苏云金杆菌制剂的生物测定方法^[1,2],具体程序和方法如下。

1.2.2.1 供试昆虫感染饲料的组成及制备 ①玉米螟和棉铃虫通用感染饲料组成:黄豆粉 4.5g,玉米粉 5.0g,酵母粉 3.3g,多维葡萄糖 4.0g,维生素 C 0.38g,复合维生素 B 0.13g,琼脂 2.0g,山梨酸 0.3g,甲醛 0.08ml,水 100ml。②粘虫用感染饲料组成:麦麸 7.0g,草粉 5.5g,维生素 C 0.7g,酵母粉 2.3g,山梨酸 0.25g,琼脂 2.0g,水 100ml。③黄地老虎的感染饲料组成:维生素 C 0.6,复合维生素 B 0.15g,多维葡萄糖 4.0g,酵母粉 6.0g,玉米粉 5.0g,麦麸 2.0g,灰菜粉 3.5g,山梨酸 0.6g,琼脂 3.5g,水 150ml。在上述饲料组成中不溶于水的固形物均过 60 目筛。其具体的制备方法参照幼虫饲养饲料的制备方法进行,但制备好的稀粥状混合物,放入 65℃ 恒温水浴锅内加盖保温备用。

1.2.2.2 各供试孢晶制剂菌悬液的制备 用 1/10000 天平称取一定量样品,分别倒入盛有玻璃珠的磨口三角瓶中,加 50ml 磷酸缓冲液(组成:NaCl 0.85%, K_2HPO_4 0.6%, KH_2PO_4 0.3%,吐温 0.001%),浸泡 20min,在旋转式摇床上摇 20min 即成母液。将母液按需要量吸移至磨口试管中(每次吸液前猛烈振荡使之均匀)然后以 2 倍等比级差,用磷酸缓冲液稀释成 7 个不同浓度的菌悬液。

1.2.2.3 饲料与菌液的混合分装 用 100ml 截头注射器量取饲料 18ml,倒入 50ml 的烧杯内,迅速加入 2ml 配制好的菌悬液,用电动搅拌机高速搅拌 1min 后倒入灭菌培养皿(直径 6cm)中静置,室温下冷却凝固。将混配好的玉米螟、粘虫和黄地老虎的感染饲料分别切成长宽各 1.5cm 的饲料块,并分别放入直径 3cm,高 8cm 的养虫管内,每管放 2 块,空白对照加无菌饲料块。将混配好的棉铃虫饲料切割成宽 0.5cm,长 1cm 的长条饲料块,放入直径 1cm,高 6cm 的指形管内,每管装一块,空白对照加无菌饲料块。

1.2.2.4 接虫感染 把生理状况一致的健康玉米螟和粘虫的二龄幼虫及黄地老虎初孵幼虫分别接入装有各自感染饲料的养虫管内,每管接 10 头,每一浓度接 30 头,空白对照虫数相同,接虫后用白细布扎严管口。将玉米螟放入温度为 35℃ 的人工气候箱内感染饲养。将粘虫放入温度为 29℃ 的人工气候箱内感染饲养,将黄地老虎放入温度为 28℃ 的人工气候箱内感染饲养。

将未经取食的健康初孵棉铃虫幼虫接入盛有感染饲料的指形管中,每管一头,每浓度和空白对照均接 30 头,然后用特制棉塞盖紧,每 10 管扎成一捆,竖立放于 36℃ 恒温培养箱中感染

饲养。

1.2.2.5 结果检查和统计分析 玉米螟、粘虫和黄地老虎幼虫感染饲养 72h 后,棉铃虫幼虫感染饲养 48h 后,用长针轻触虫体,检查死活虫数,计算死亡率,求出毒力回归式,得出 LC_{50} 。设定各供试菌株对玉米螟的毒力指数为 1,计算出在特定生测条件下各供试菌株对粘虫、棉铃虫和黄地老虎的相对毒力指数。

2 结果与分析

本试验选用分属 4 个血清型的 6 个菌株作供试菌株,以玉米螟为毒力指示昆虫,进行了毒力指示昆虫与棉铃虫、粘虫及黄地老虎之间的毒力相关性测定,测定结果(表 1)表明,以玉米螟为毒力指示昆虫测算出的各供试菌株对棉铃虫的相对毒力指数为 0.51~0.72,平均为 0.647 ± 0.074 ;各供试菌株对粘虫的相对毒力指数为 0.17~0.39,平均为 0.268 ± 0.070 ;各供试菌株对黄地老虎的相对毒力指数为 0.08~0.18,平均为 0.145 ± 0.031 。由此可见,4 种供试昆虫对各供试菌株的相对敏感性顺序为玉米螟>棉铃虫>粘虫>黄地老虎。LSR 测验表明,以玉米螟为毒力指示昆虫,测算出的分属 H3ab、H4ac、H6、和 H7 型的各菌株对棉铃虫的相对毒力指数无显著差异,对粘虫和黄地老虎的相对毒力指数也无显著差异。从而说明,以玉米螟为毒力指示昆虫,测算出的 4 种血清型的各菌株对棉铃虫、粘虫和黄地老虎的平均相对毒力指数是稳定的,依据测定出的相对毒力指数来预测某菌株对棉铃虫、粘虫及黄地老虎的毒力大小是可靠的。

表 1 不同血清型的苏云金杆菌菌株对玉米螟、棉铃虫、粘虫和黄地老虎的毒力相关性测定结果

供试昆虫	H3ab						H4ac		H7		H6		平均相对 毒力指数 ($\bar{x}\pm\delta$)
	HD-1		HL 25		80-1		7905		KH		GO2		
	LC ₅₀	相对毒	LC ₅₀	相对毒	LC ₅₀	相对毒	LC ₅₀	相对毒	LC ₅₀	相对毒	LC ₅₀	相对毒	
	($\mu\text{g/g}$)	力指数	($\mu\text{g/g}$)	力指数	($\mu\text{g/g}$)	力指数	($\mu\text{g/g}$)	力指数	($\mu\text{g/g}$)	力指数	($\mu\text{g/g}$)	力指数	
玉米螟**	19.01	1	29.83	1	17.33	1	32.56	1	56.79	1	16.35	1	1
棉铃虫	32.54	0.59	58.59	0.51	25.03	0.69	48.32	0.67	81.02	0.70	22.79	0.72	0.647±0.074
粘 虫	88.04	0.22	126.92	0.24	57.36	0.30	187.42	0.17	199.05	0.29	42.12	0.39	0.268±0.070
黄地老虎	116.03	0.16	168.00	0.18	222.74	0.08	233.21	0.14	378.79	0.15	104.01	0.16	0.145±0.031

* 相对毒力指数= $\frac{\text{制剂对毒力指示昆虫的 } LC_{50}}{\text{制剂对供试昆虫的 } LC_{50}}$; ** 毒力指示昆虫

3 讨论

以玉米螟为毒力指示昆虫,用分属 4 个不同血清型的 6 株苏云金杆菌菌株对棉铃虫、粘虫及黄地老虎的毒力相关性测定结果表明,毒力指示昆虫与棉铃虫、粘虫及黄地老虎之间表现出一定的毒力相关性。就绝大多数菌株而言,通过对玉米螟的毒力测定,依据供试菌株对各供试昆虫的平均相对毒力指数预测在特定条件下不同菌株对棉铃虫、粘虫及黄地老虎的毒效的方法是可行的。另一方面,玉米螟容易饲养,在我国作为饲料昆虫已有出售,虫源易得,是较理想

的生测虫种。因而,以玉米螟作为苏云金杆菌对夜蛾科昆虫的毒力指示昆虫筛选高毒力菌株是可行的。

不同的苏云金杆菌菌株对某些昆虫种类之间的毒力相关性,可能源于以下两种因素:一是每种昆虫降解伴孢晶体原毒素的消化液内环境(如 pH、消化酶等)是相对恒定的;二是尽管各菌株起主要杀虫作用的蛋白质毒素成分有差异,但对昆虫作用的位点是专一的,即只作用于目标昆虫的中肠上皮细胞。

参 考 文 献

- 1 冯书亮等. 关于我国苏云金杆菌制剂毒力标准化问题的探讨. 微生物学杂志, 1989, 8(1): 68~70
- 2 钟连胜等. 棉铃虫作供试虫的苏云金杆菌制剂毒力生物测定的研究. 生物防治通报, 1990, 6(增刊): 1~5
- 3 伯吉斯 HD, 赫西 NW. 昆虫和螨类的微生物防治. 北京: 科技出版社, 1977, 338~341
- 4 大庭道夫, 神田康三. *Bacillus thuringiensis* の殺虫活性スペクトルと, 有効菌株のスクリーニング. 日本农芸化学会誌, 1990, 64(10): 1620~1622

Toxic Correlation between *Ostrinia furnacalis*(the Indicator Insect for the Toxicity of *Bacillus thuringiensis*) and *Heliothis armigera*, *Mythimna separata*, *Euxoa segetum*

Feng Shuliang Fu Yunqin Fan Xiuhua Wang Rongyan
Xing Jianmin Hu Mingjun

(Institute of Plant Protection ,Hebei Academy of Agricultural and Forestry Sciences,Baoding)

Abstract The toxicities of six strains of *Bacillus thuringiensis* (belonging to four serotypes)to *Ostrinia furnacalis* (toxic indicator insect) and *Heliothis armigera* Hübner, *Mythimna separata* Walker and *Euxoa segetum* Schifferrmüller were tested and compared , and the correlation between the toxic indicator insect and the other three kinds of insect was also determined . Suppose the toxic index of the tested strains to *O. furnacalis* is 0. The toxic indices to *H. Armigera* , *M. separata* and *E. segetum* are 0.647 ± 0.074 , 0.268 ± 0.070 and 0.145 ± 0.031 , respectively. So the sequence of *B. thuringiensis* is *O. furnacalis* > *H. armigera* > *M. separata* > *E. segtum*.

Key words: *Bacillus thuringiensis* ; *Ostrinia furnacalis*; *Heliothis armigera*; *Mythimna separata* ; *Euxoa segetum*; Toxic indicator insect