

陈琳,崔阳,杨绍斌. 豹斑毒鹅膏菌毒素粗品对二斑叶螨的毒性试验[J]. 江苏农业科学,2013,41(7):106-107.

豹斑毒鹅膏菌毒素粗品对二斑叶螨的毒性试验

陈琳,崔阳,杨绍斌

(沈阳大学生物与环境工程学院,辽宁沈阳 110044)

摘要:从 5 种蕈菌中筛选出对二斑叶螨有毒的豹斑毒鹅膏菌,并将其液体培养产物离心、破碎、萃取、烘干,制成大型真菌毒素粗品粉末,兑水配制成不同浓度的药液,对二斑叶螨进行毒性试验。结果表明:随着豹斑毒鹅膏菌毒素粗品浓度的增加,对二斑叶螨的防治效果越来越明显。当豹斑毒鹅膏菌毒素粗品浓度达到 0.19 g/mL 时,二斑叶螨的死亡率为 88.33%;24 h 后,LC₅₀ 为 0.19 g/mL,LT₅₀ 为 7.783 d,效果显著。说明豹斑毒鹅膏菌的毒素粗品对二斑叶螨有显著的毒杀作用。

关键词:豹斑毒鹅膏菌;毒素粗品;二斑叶螨;毒杀作用

中图分类号: S476;S433.7 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)07-0106-02

二斑叶螨(*Tetranychus urticae* Koch)属叶螨科叶螨属,是一种分布于世界各温带、亚热带地区的害螨,是园林花卉植物的重要害螨之一,其寄主植物共有 50 科 200 余种。该螨以刺吸式口器刺吸植物的汁液,危害寄主的叶片、芽和嫩茎,植物受害后植株干枯,给农业生产造成严重的损失^[1]。目前,防治二斑叶螨多采用喷施杀螨剂如哒螨灵等的方法,这种方法虽然杀虫效果很好,但剧毒、高残留化学农药的大量使用使花卉等植物产生农药残留,同时也使二斑叶螨产生抗药性。随着科技的发展,人们认识到大型有毒真菌及其次生代谢产物具有抑菌杀虫活性,并且大型真菌毒素是天然产物,具有易降解、种类多、活性强、与环境相容性好、易与其他药物混配、合理使用对人畜安全等优点,因此受到人们的高度重视^[2]。笔者所在的课题组通过 2 年的试验研究取得了理想的效果,现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试昆虫 二斑叶螨于 2010 年 8 月在沈阳大学生物学院试验田的茄子叶上采集,之后在室内用大豆叶片饲养,由中国科学院动物研究所王剑锋博士鉴定。

1.1.2 供试菌种 毒红菇[*Russula emetica* (Schaeff.:Fr.) Pers. ex S. F. Gray]、蛹虫草[*Cordyceps militaris* (L.:Fr.) Link]、豹斑毒鹅膏菌[*Amanita pantherina* (Dc.:Fr.) Schrm]、褐云斑鹅膏菌[*Amanita porphyria* (Alb. et Schw.:Fr.) Secr.]、五棱散尾鬼笔[*Lysurus mokusin* (L.:Pers.) Fr]于 2010 年 7 月采自辽宁省本溪市五女山、沈阳市东陵后山、青原、东北林业大学老山试验林场等地,参照相关材料^[3]并

经辽宁省农业科学研究院食用菌所刘俊杰研究员鉴定。

1.2 试验方法

1.2.1 5 种蕈菌的毒素粗品药液对二斑叶螨毒性筛选 取 5 种蕈菌生长良好的斜面菌种,切取 2 cm² 转接至盛有 50 mL PDA 培养基(不含琼脂)的 250 mL 摇瓶中,放入恒温振荡培养箱,在 110 r/min、26 ℃下摇床培养^[4]。5 种大型真菌液体培养产物以无离子水冲洗 3 次,4 000 r/min 离心收集 5 种蕈菌菌丝体,去除它们的上清液,加 12 mL 无离子水,4 000 r/min 离心,收集清洗后大型真菌菌丝体,取 3 个样本的平均值。将 5 种大型真菌菌丝体分别溶解于 50 mL 无离子水,搅拌均匀,并以超声波(200 W,工作/间歇为 1 s/1 s)破碎^[5],40 ℃ 恒温烘干制取其毒素粗品。

本试验采用 FAO1980 推荐的玻片浸渍法^[6]并加以改进,其具体步骤包括:首先,5 种蕈菌分别取其毒素粗品 1 000 mg,溶于 10 mL 的无离子水中,搅拌均匀后制成浓度为 100 mg/mL 的药液,依次配制成相同浓度的毒红菇组、蛹虫草组、豹斑毒鹅膏菌组、褐云斑鹅膏菌组、五棱散尾鬼笔组的药液。其次,将双面胶剪成 2 cm×2 cm 大小,粘在载玻片的一面,选取 3~5 d 的健壮成螨,用 0 号毛笔挑起使其背部向下轻轻粘在胶面上,每块载玻片粘 5 头螨,每个处理剂量重复 4 次,即 4 个载玻片上的二斑叶螨共计 20 头。将粘有二斑叶螨的载玻片放在消毒后的培养皿内,放一湿棉球,上面加盖玻璃板,置于温度为 26 ℃、相对湿度为 80% 的人工气候箱中,2 h 后镜检,如有死亡个体,则补粘活螨之后再进行测定。测定时,将载玻片粘有二斑叶螨的一端浸入待试 5 组药液中,经 3 s 后取出,随即用滤纸吸干附在螨体周围和胶带上的多余药液,空白对照浸清水,对照组死亡率在 10% 以内为有效试验。各药液处理后的载玻片再放回原来的培养皿中,将培养皿置于 26 ℃培养箱中,恒温饲养 24 h 后利用双目实体解剖镜检查结果。统计二斑叶螨死亡数,检查时,用毛笔尖轻轻触及螨体,肢体不动,无反应者记为死亡个体,计算其死亡率:死亡率=死亡虫数/总虫数×100%。

1.2.2 不同浓度与作用时间的豹斑毒鹅膏菌毒素粗品对二斑叶螨的致死效应 用上述方法得到豹斑毒鹅膏菌毒素粗品,豹斑毒鹅膏菌毒素粗品以无离子水为溶剂混合制成

收稿日期:2012-12-20

基金项目:教育部重点实验室开放基金(编号:ERCERR0805);辽宁省沈阳市科技计划(编号:1081100-1-00)。

作者简介:陈琳(1963—),女,辽宁沈阳人,副教授,主要从事植物病、虫害方面研究。E-mail:chenlin5078@sina.com。

通信作者:杨绍斌,教授,主要从事微生物方面的研究。E-mail:Ysb810@163.com。

0.03、0.07、0.11、0.15、0.19 g/mL 的溶液。采用玻片浸渍法,用豹斑毒毒鹅膏菌和褐鳞环柄菇毒素粗品进行成螨的毒杀试验。在恒温培养箱(相对湿度 70%,温度 24 ℃)中培养,统计每天死亡螨数,并取出螨体,观察 24 h,计算出 LC₅₀和 LT₅₀。

1.2.3 数据处理 采用 DPS 2000 和 SPSS 13.0 对数据进行单因素试验,统计最小显著差异(LSD)。

2 结果与分析

2.1 5 种大型真菌的毒素粗品药液对二斑叶螨毒性筛选

从表 1 可看出,在蕈菌毒素粗品的毒性筛选试验当中,豹斑鹅膏菌毒素粗品药液对二斑叶螨有明显的致死效应,这表明豹斑鹅膏菌毒素粗品具有明显的毒杀作用。此外,五棱散尾鬼笔、褐云斑鹅膏菌在试验中也表现出一定的毒性,但是效率较低,且其致死效应重复性较差。因此,笔者只对致死效应比较显著的豹斑鹅膏菌进行毒性研究。

2.2 不同浓度豹斑毒鹅膏菌毒素粗品的致死效应的测定

表 2、表 3、表 4 结果表明,0.19 g/mL 豹斑毒鹅膏菌毒素

表 1 24 h 后毒效试验中二斑叶螨的死亡情况

组别	死亡数量 (头)	死亡率 (%)
毒红菇组	1.66	8.3
蛹虫草组	2.33	11.7
豹斑鹅膏菌组	16.70	83.5
褐云斑鹅膏菌组	4.30	21.5
五棱散尾鬼笔组	2.66	13.3
对照组	0	0

粗品对二斑叶螨的毒力最强,24 h 的校正死亡率达 88.33%;0.15 g/mL 豹斑毒鹅膏菌毒素粗品对二斑叶螨的 24 h 校正死亡率达 78.67%;而 0.03 g/mL 豹斑毒鹅膏菌毒素粗品对二斑叶螨的毒力最弱,但是其 24 h 校正死亡率也达到了 26.33%。在相同浓度下,二斑叶螨的死亡数量随着处理时间的延长而增加,校正死亡率呈线性增加,且不同浓度不同时间各组之间差异显著。由表 3、表 4 可知,12、15、18、24 h 的 LC₅₀分别为 0.120、0.096、0.082、0.075 g/mL,相应的 LT₅₀依次为 35.064、25.410、14.689、9.760、7.783 d。

表 2 不同浓度豹斑毒鹅膏菌毒素粗品对二斑叶螨的致死情况

浓度 (g/mL)	校正死亡率(%)						
	3 h	6 h	9 h	12 h	15 h	18 h	24 h
0.03	4.33a	8.00a	14.33a	18.67a	21.33a	23.33a	26.33a
0.07	8.67b	16.33b	23.67b	31.00b	39.00b	43.67b	45.67b
0.11	12.33c	23.67c	33.00c	44.33c	52.67c	59.00c	62.00c
0.15	15.33d	31.00d	45.33d	56.00d	67.33d	73.67d	78.67d
0.19	17.67e	38.33e	51.00e	66.33e	76.00e	86.33e	88.33e
无离子水	0	0	0	0	0	0	0

注:同列数据后不同字母表示差异显著(P<0.05),相同字母表示差异不显著(P>0.05)。

表 3 豹斑毒鹅膏菌毒素粗品对二斑叶螨处理不同时间的 LC₅₀

时间 (h)	回归方程	相关系数	LC ₅₀ (g/mL)
12	y = 180.450x + 6.107	0.999	0.120
15	y = 233.441x + 7.415	0.989	0.096
18	y = 264.032x + 7.913	0.989	0.082
24	y = 265.968x + 9.519	0.969	0.075

表 4 豹斑毒鹅膏菌对二斑叶螨的 LT₅₀

浓度 (g/mL)	回归方程	相关系数	LT ₅₀ (d)
0.03	y = 0.650x + 1.182	0.917	35.064
0.07	y = 0.823x - 2.251	0.931	25.410
0.11	y = 0.620x - 2.826	0.987	14.689
0.15	y = 0.496x + 3.191	0.921	9.760
0.19	y = 0.437x - 3.434	0.904	7.783

3 结论

目前对园林花卉植物害虫叶螨类的防治主要采用化学农药,这些化学农药使园林花卉植物害虫螨类产生抗药性及农药残留,影响农业可持续发展。利用大型真菌防治园林花卉植物害虫螨类,不但驱杀率高,而且不会产生抗药性,无药物残留,不会造成环境污染,蕈菌毒性成分由 C、H、O 等元素所构成,不含有不能降解的化学成分,在蕈菌漫长的演化过程中早已形成了蕈菌特有的循环代谢有效途径,易分解,无污

染^[7-8]。蕈菌毒在自然条件下可天然降解,这种蕈菌杀螨剂对二斑叶螨防治有重要理论依据。

本试验结果表明,豹斑毒鹅膏菌毒素粗品对二斑叶螨的毒杀效果显著,尤其当毒素粗品浓度达到 0.19 g/mL 时,二斑叶螨死亡率达到 88.33%。由此可见,豹斑毒鹅膏菌毒素粗品是一种杀虫效果较为理想的环境友好型生物杀虫剂,在园林花卉植物生产产业中有着广阔的发展前景和开发利用空间。

参考文献:

[1]朴春树,周玉书,仇贵生,等. 二斑叶螨滞育特性的初步研究[J]. 昆虫知识,2000,37(4):212-214.
[2]高锦明. 高等真菌代谢产物[M]. 杨凌:西北农林科技大学出版社,2003.
[3]卯晓岚. 中国大型真菌[M]. 郑州:河南科学技术出版社,2000.
[4]郭学武,姚丽敏,龚建华,等. 两种鹅膏菌纯培养菌丝的分离培养和生长形态[J]. 中国食用菌,2008,27(3):27-30.
[5]汪国轮,郭学武,龚建华,等. 蘑菇菌丝体代谢产物对果蝇的致死效应[J]. 云南植物研究,2005,27(1):71-80.
[6]王开运,赵卫东,姜兴印,等. 十种杀螨剂对二斑叶螨抗性种群不同发育阶段的毒力比较[J]. 农药,2002,41(3):29-31.
[7]任怀礼. 防治苹果树害螨的理想药剂[J]. 西北园艺:果树,2002(2):38.
[8]潘文,张春民,刘钰,等. 植物源杀虫剂的研究现状与发展前景[J]. 河北农业科学,2003,7(3):45-49.