

赵莹,杨绍斌.白毒鹅膏菌复合烟草毒素粗品对花斑皮蠹的毒效[J].江苏农业科学,2015,43(9):175-177.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.09.055

白毒鹅膏菌复合烟草毒素粗品对花斑皮蠹的毒效

赵莹,杨绍斌

(沈阳大学生命科学与工程学院,辽宁沈阳 110044)

摘要:为开发环境友好型生物杀虫剂,找到一种生物防治花斑皮蠹的方法,利用白毒鹅膏菌和烟草的毒素粗品对花斑皮蠹幼虫进行诱杀试验。结果表明:白毒鹅膏菌复合烟草的毒素粗品对花斑皮蠹幼虫有一定的诱杀作用,并表现出明显的剂量效应。施药后 5 d,烟草提取物对花斑皮蠹幼虫的平均引诱率达 40% 以上,效果明显;在 3 种大型真菌毒素粗品中,白毒鹅膏菌毒素粗品对花斑皮蠹幼虫的毒杀效果最明显;白毒鹅膏菌复合烟草毒素粗品的诱杀效果随着白毒鹅膏菌毒素浓度的增大而越来越明显,且二者具有协同作用。当浓度达到 12% 时,花斑皮蠹幼虫的诱杀率为 79.25%,效果显著。说明作为一种生物源复合杀虫剂的白毒鹅膏菌复合烟草的毒素粗品防治花斑皮蠹幼虫效果显著。

关键词:白毒鹅膏菌;烟草;花斑皮蠹;毒素粗品;生物防治

中图分类号: S433.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)09-0175-02

花斑皮蠹(*Trogoderma variabile*)属鞘翅目(Coleoptera)皮蠹科(Dermestidae)昆虫,是世界性的储藏物害虫,主要危害粮食、织物、电缆、家居装潢材料及动植物标本,少数传播动物炭疽杆菌和微粒子病等^[1]。其幼虫破坏性大,活动隐蔽,耐寒、耐热、耐饿,繁殖力强,是斑皮蠹属在国内分布最广、危害最严重的种类;加之其隐藏于蛀成“隧道”的贮藏物中难以发现,也给其防治带来了不小的难题。目前,对花斑皮蠹的防治主要使用化学药物,由于杀虫剂的抗性及生态环境和食品安全问题,使大型真菌源农药的研究开发具有重要的意义。白毒鹅膏菌为常见毒菌,但它对花斑皮蠹是否有活性鲜为人知,与植物源毒素粗品复合使用杀虫国内外尚无报道。因此,本研究用上述材料研究其对花斑皮蠹幼虫的活性,为大型真菌复合植物源诱杀剂的研发和花斑皮蠹的防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试虫体 花斑皮蠹幼虫捕捉于辽宁省沈阳市木材加工场,由中国科学院动物研究所王剑锋博士鉴定。以木料、麦麸为饲料饲养,温度 26~28℃,相对湿度 70%~80%,自然光照。试验选取 3~4 龄幼虫。

1.1.2 供试菌种 白毒鹅膏菌、白黄盖鹅膏菌、红网牛肝菌,采自辽宁省本溪市五女山、沈阳市棋盘山风景区、鞍山市千山风景区。参照相关资料^[2-3],经辽宁省农业科学院食用菌研究所刘俊杰研究员鉴定。

1.1.3 供试植物 马尾松(*Pinus massoniana* Lamb.)、鱼腥草(*Houttuynia cordata* Thunb.)、茉莉花[*Jasminum sambac*

(L.) Ait]、烟草(*Nicotiana tabacum* L.)、侧柏[*Platy clados-
rentalis* (L.) Franco],购自国大药房中药店,分别将上述植物材料洗净,放入烘箱中于 50℃ 烘干,用电动粉碎机粉碎,过 40 目筛后密封备用。

1.1.4 试验仪器与设备 FA-2004 精密电子天平,LDZX-75KBS 立式压力蒸汽灭菌器,PRX-205B 智能人工气候箱,SW-CJ-2F(D)型医用净化工作台,JY99-2D 超声波细胞粉碎机,GL-161X 箱式高速冷冻离心机,BS-1EH 数显振荡培养箱,F160 电动粉碎机,R-215 旋转蒸发仪,DHG-9146A 鼓风干燥箱。

1.2 方法

1.2.1 毒素粗品的制备 将采集的 3 种大型真菌的子实体分别进行固体菌种扩繁,接种于 PDA 液体培养基中,于 26℃ 液体发酵摇床上培养 7 d,再进行超声波细胞破碎、离心,取上清液,进行旋转蒸发浓缩,浓缩液经 40℃ 恒温干燥,得毒素粗品^[4-6]。毒素粗品分别溶解于不同体积的无离子水中,用超声波破碎,再 3 000 r/min 离心制成浓度为 2%、5%、8%、10%、12% 的上清液。

1.2.2 植物提取物的制备 用电子天平分别称取植物干粉各 30 g,加入无水乙醇 120 mL,25℃ 下 120 r/min 振荡培养 24 h,过滤,无水乙醇定容至 100 mL,所得即为浓度为 0.3 g/mL 的提取液(1 mL 含有 0.3 g 植物干粉粗提物)。

1.2.3 植物提取物对花斑皮蠹幼虫的引诱性筛选 引诱试验采用滤纸药膜法^[7]。将直径为 9 cm 的培养皿洗净、烘干,把直径为 9 cm 的圆形滤纸对半剪开,其中一半在 0.3 g/mL 植物提取液中浸渍 5 min,另一半在无水乙醇中浸渍 5 min。待乙醇自然挥发后,用透明胶带将对应的两半处理过的滤纸粘在一起,用固体胶将粘贴后的滤纸固定在培养皿底部,接入花斑皮蠹 4 龄幼虫 20 头/皿,使其自然分散,放入木料、麦麸正常饲养,盖上皿盖,放入 26~28℃、相对湿度 70%~80%、无光照的培养箱中。设 A₁(侧柏)、A₂(烟草)、A₃(马尾松)、A₄(鱼腥草)、A₅(茉莉花)组;另取直径为 9 cm 的培养皿,其中只放入木料、麦麸作为空白对照(A₀)组;接虫后每 12 h 检

收稿日期:2014-10-21

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:赵莹(1990—),女,辽宁沈阳人,硕士研究生,研究方向为微生物资源与利用。E-mail:326450330@qq.com。

通信作者:杨绍斌,教授。E-mail:1657970182@qq.com。

查 1 次,2 d 后每 24 h 检查 1 次两半滤纸上的幼虫分布情况。

1.2.4 真菌毒素粗品对花斑皮蠹幼虫的毒性筛选 取 10% 上清液与木料、麦麸按 1∶5 的比例混合分布于直径为 9 cm 的培养皿内,接入花斑皮蠹 4 龄幼虫 20 头/皿,使其自然分散,盖上皿盖,试验条件同“1.2.3”节。设 B₁(白毒鹅膏菌)、B₂(白黄盖鹅膏菌)、B₃(红网牛肝菌)组;另取直径为 9 cm 的培养皿,其中只放入木料、麦麸作为空白对照(B₀)组;观察花斑皮蠹幼虫生长情况,5 d 后记录死亡数。

1.2.5 不同浓度的白毒鹅膏菌复合烟草毒素粗品诱杀效应的测定 将筛选出的 0.3 g/mL 烟草提取液分别与 2%、5%、8%、10%、12% 白毒鹅膏菌上清液混合,与木料、麦麸混合,并分别取 20 头花斑皮蠹幼虫放入直径为 9 cm 的培养皿中,试验条件同“1.2.3”节。设 C₁(2%)、C₂(5%)、C₃(8%)、C₄(10%)、C₅(12%)组;另取直径为 9 cm 的培养皿,其中只放入木料、麦麸作为空白对照(C₀)组;观察花斑皮蠹幼虫存活情况,5 d 后记录诱杀数。

1.2.6 数据处理 (1)引诱率计算。引诱率=(对照边虫数-处理边虫数)/对照边虫数×100%;平均引诱率=同一引诱材料各次检查时的引诱率之和/检查次数。(2)死亡率

计算。死亡率=死亡虫数/总虫数×100%;平均死亡率=同一触杀材料各次检查时的死亡率之和/检查次数;校正死亡率=(处理组死亡率-对照组死亡率)/(1-对照组死亡率)×100%。(3)诱杀率计算。诱杀率=(引诱处理边死亡虫数/总虫数)×100%。(4)统计分析。采用 DPS 2000 软件对试验数据进行 LSD 分析。

2 结果与分析

2.1 植物提取物粗品对花斑皮蠹幼虫的引诱性筛选

由表 1 可知,5 种植物的提取液对花斑皮蠹幼虫均具有一定的引诱作用,处理 3 d 后引诱效果均有明显的下降趋势。其中,烟草的提取液对幼虫的引诱作用最强,烟草提取液处理后 3 d 内引诱率一直保持在 75% 以上,4 d 内保持在 40% 以上。鱼腥草提取液在处理 2 d 内引诱率也在 80% 以上,但随后急剧下降。茉莉花提取液在处理 2 d 内引诱率在 70% 以上,但 3 d 后迅速降到 30% 以下。侧柏和马尾松的提取液表现出的引诱活性较差,除马尾松提取液在 12 h 的引诱率达到 70% 以上外,其余均在 65% 以下。

表 1 5 种植物粗品毒效试验中花斑皮蠹幼虫的引诱情况

组别	粗品浓度 (%)	供试虫数 (头)	平均引诱率(%)						
			12 h	24 h	36 h	48 h	72 h	96 h	120 h
A ₁	3	20	65.00aA	50.00aA	38.33aA	40.00aA	30.00aA	31.67aA	21.67aA
A ₂	3	20	85.00aB	98.33aB	95.00aB	86.67aB	76.67aB	55.00aB	43.33aB
A ₃	3	20	73.33aC	61.67aC	60.00aC	51.67aC	41.67aC	41.67aC	30.00aC
A ₄	3	20	88.33aB	86.67aD	90.00aD	81.67aD	48.33aD	46.67aD	35.00aD
A ₅	3	20	70.00aC	76.67aE	76.67aE	80.00aD	26.67aE	18.33aE	16.67aE
A ₀ (CK)	0	20	0	0	0	0	0	0	0

注:同列数据后小写字母 a 表示与 CK 组差异显著(P<0.05);不同大写字母表示各组间差异显著(P<0.05)。表 2、表 3 同。

2.2 真菌毒素粗品对花斑皮蠹幼虫的毒性筛选

由表 2 可知,在大型真菌毒素粗品的毒性筛选试验中,白毒鹅膏菌毒素粗品对花斑皮蠹幼虫有明显的致死效应。此外,白黄盖鹅膏菌和红网牛肝菌也表现出轻微的毒性,但效率较低,致死效应重复性较差,因此笔者只对致死效应最好的白毒鹅膏菌进行研究。

表 2 真菌毒素粗品毒效试验中花斑皮蠹幼虫的死亡情况

组别	粗品浓度 (%)	平均死亡虫数 (头)	平均死亡率 (%)	校正死亡率 (%)
B ₁	10	12.33aA	61.67aA	61.67aA
B ₂	10	6.00aB	30.00aB	30.00aB
B ₃	10	3.67aC	18.33aC	18.33aC
B ₀ (CK)	0	0	0	0

2.3 白毒鹅膏菌烟草复合粗品对花斑皮蠹幼虫诱杀效应的测定

由表 3 可知,在不同浓度的白毒鹅膏菌复合烟草毒素粗品对花斑皮蠹幼虫的毒效试验中,当烟草粗品浓度一定时,随着白毒鹅膏菌毒素粗品浓度的增大,对花斑皮囊幼虫的诱杀效果越来越明显,当浓度达到 12% 时,平均诱杀率达到了 79.25%,效果显著。

表 3 不同浓度白毒鹅膏菌复合烟草毒素粗品对花斑皮蠹幼虫的毒效试验

组别	粗品浓度	平均引诱数 (头)	死亡虫数 (头)	平均诱杀率 (%)
C ₁	2% + 0.3 g/mL	14.57aA	4.00aA	20.00aA
C ₂	5% + 0.3 g/mL	14.00aB	6.00aB	30.00aB
C ₃	8% + 0.3 g/mL	15.14aC	11.00aC	55.00aC
C ₄	10% + 0.3 g/mL	15.71aD	14.00aD	70.00aD
C ₅	12% + 0.3 g/mL	15.85aD	16.00aE	79.25aE
C ₀ (CK)	0	0	0	0

3 结论与讨论

大型真菌杀虫剂和植物源杀虫剂由于其独特的优势,在害虫防治上越来越受关注,其诱杀效率高,对人畜无害,无药物残留,不污染环境。用植物提取物将花斑皮蠹引诱到有毒草粗品的场所,使花斑皮蠹接触或食用致死,能达到以菌治虫的目的^[8-9]。有研究表明,白毒鹅膏菌毒素粗品对花斑皮蠹幼虫的毒杀效果明显,与 0.3 g/mL 烟草毒素粗品联合使用且浓度达到 12% 时,平均诱杀率达到 79.25%,是一种诱杀效果较理想的生物源杀虫剂,具有广阔的前景和利用空间,探索最佳诱杀虫模式是降低生产成本、保障农业发展的重要措施。

王 丰,郭道友,范余娟. 毒蝇鹅膏菌有效成分的提取工艺及抗菌特性[J]. 江苏农业科学,2015,43(9):177-179.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.09.056

毒蝇鹅膏菌有效成分的提取工艺及抗菌特性

王 丰^{1,2},郭道友³,范余娟¹

(1. 吉林农业科技学院,吉林吉林 132101; 2. 吉林省长白山动植物资源利用与开发实验室,吉林吉林 132101;

3. 吉林省舒兰市第二高级中学,吉林吉林 132600)

摘要:以长白山有毒真菌毒蝇鹅膏菌为原料,研究其活性成分的超声波提取工艺和抑菌性,确定了其最佳提取工艺条件:丙酮质量浓度 85%,料液比 1 g:25 mL,浸提温度 20℃,浸提时间 40 min。其中,丙酮质量浓度是影响提取率的主要因素。毒蝇鹅膏菌提取液对枯草芽孢杆菌、大肠杆菌、金黄葡萄球菌均有明显的抑菌效果,最低抑菌浓度是 0.062 5%;对酵母、青霉、米根霉、黑曲霉抑菌效果不明显。

关键词:长白山有毒真菌;有效成分;提取;抑菌

中图分类号:S482.2⁺92 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)09-0177-03

有毒真菌是含有对人或动物有毒成分的真菌的总称,一般是指大型真菌的子实体被人或动物食用后产生中毒反应的物种。据不完全统计,世界上已知具较明显毒性的大型真菌有 400 多种,如包括有轻微毒性的,则有 1 000 多种,中国目前包括怀疑有毒在内的大型有毒真菌有 421 种。近年来,传统化学农药面临严峻的挑战,大量高毒、高残留农药被禁止使用,开发对有害生物高效、易分解、且分解产物对环境无损害的生物农药是目前广泛研究和应用的领域。利用天然植物中具有良好抑菌杀菌活性的物质来防治农林病虫害成为农药学研究的热点^[1]。据相关资料反映,大多数研究的是有毒真菌的杀虫效果,国内外比较少有关于抑菌效果的研究。笔者对长白山有毒真菌有效成分的提取工艺及抗菌特性进行了研

究,旨在为有毒真菌提取物在农林业生产实践即植物源抑菌剂中的开发利用提供理论依据,也为有毒真菌的开发开辟一条新途径。

1 材料与方法

1.1 试验材料与仪器

供试菌种:枯草杆菌、大肠杆菌、金黄葡萄球菌、青霉、黄曲霉、黑曲霉,来自吉林农业科技学院实验室。

有毒真菌:毒蝇鹅膏菌,采集于吉林省白山市八道江镇长白山原始林区。

试验仪器:722 型紫外可见分光光度计,上海光谱仪器有限公司;电子恒温水浴锅;高温高压蒸汽灭菌锅等。

主要试剂:乙醇、三氯甲烷、丙酮、石油醚、牛肉膏、蛋白胨等,均为分析纯。

1.2 试验方法

1.2.1 杀虫活性物质提取工艺 在单因素试验的基础上,选定料液比、提取温度、提取时间 3 个参数为主要影响因素,每个因素取 3 个水平,采用 3 因素 3 水平 $L_9(3^3)$ 正交试验设计,找到超声辅助丙酮提取最佳工艺^[2-3],因素及水平设计见表 1。

1.2.2 真菌提取液的抑菌性测定 将 7 种供试菌种分别制

体培养条件[J]. 林业科技开发,2013,27(4):111-114.

[5]陈琳,孟美娇,杨绍斌,等. 豹斑毒鹅膏菌液体培养及产物毒性的初步研究[J]. 贵州农业科学,2011,39(10):93-96.

[6]汪梦筱,王伟,汪维云. 羊肚菌液体深层发酵工艺优化研究[J]. 包装与食品机械,2014(1):15-18.

[7]毛宁,丁珊珊,余宗钟. 裸盖菇 L-001 菌株液体培养及其产毒素初探[J]. 福建师范大学学报:自然科学版,2009,25(6):77-81.

[8]王霞,范腕腕,邓天福. 四种植物精油对花斑皮蠹的熏蒸作用[J]. 河南科技学院学报:自然科学版,2013,33(3):75-78.

[9]邓天福,姜雪晓. 大蒜生姜提取物对花斑皮蠹幼虫的驱避作用[J]. 河南科技学院学报:自然科学版,2011,39(1):47-50.

收稿日期:2014-11-07

基金项目:吉林省教育厅“十二五”科学技术研究(编号:吉教科合字[2013]第 331 号);吉林农业科技学院储备基金(编号:吉农院合字[2012]第 417 号);吉林省长白山动植物资源利用与开发实验室资助项目(编号:吉农院合字[2012]第 724 号);2013 年吉林省高等学校大学生创新创业训练计划。

作者简介,王 丰(1973—),女,吉林永吉人,硕士,副教授,主要从事分析化学和天然产物提取方面的科研与教学工作。E-mail:jlhkjxgc@126.com。

今后还应该深入研究不同使用方法和不同发育阶段的生物活性等方面,为大型真菌复合植物源诱杀剂的进一步开发和利用提供理论依据。

参考文献:

[1]邓天福,王霞. 两种防蛀剂对花斑皮蠹的熏蒸活性研究[J]. 河南科技学院学报:自然科学版,2013,6(6):18-20.

[2]卯晓岚. 中国大型真菌[M]. 郑州:河南科学技术出版社,2000:1-17.

[3]图力古尔,包海鹰,李玉. 中国毒蘑菇名录[J]. 菌物学报,2014(3):517-548.

[4]张 扬,赵 阳,范克胜,等. 红绒盖牛肝菌发酵培养基筛选及液