

杨帆,周利琳,王攀,等.甘蓝茎部用药对小菜蛾内吸活性的影响[J].江苏农业科学,2018,46(9):104-108.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.09.023

甘蓝茎部用药对小菜蛾内吸活性的影响

杨帆,周利琳,王攀,望勇,李芒,刘小明,司升云

(武汉市农业科学技术研究院蔬菜科学研究所,湖北武汉 430345)

摘要:为探索新型精准施药方式筛选防治甘蓝小菜蛾的高效内吸性药剂,采用裹茎和灌根 2 种施药方法,测定 12 种杀虫剂对小菜蛾初孵幼虫的生物活性。结果表明,在裹茎处理下,氯虫苯甲酰胺、乙基多杀菌素和溴氰虫酰胺的活性明显高于其他药剂,最大致死率在 84.0% ~ 100.0% 范围内,且显著减缓了小菜蛾幼虫的发育进度。在灌根处理下,溴氰虫酰胺、氯虫苯甲酰胺、乙基多杀菌素、多杀菌素和阿维菌素的活性较高,最大校正死亡率超过 90.0%。药后 3~5 d,绝大多数药剂的灌根处理活性高于裹茎处理;用药后 7 d,除多杀菌素(药后 10、13 d)和阿维菌素外,其他药剂在 2 种施药方式下对小菜蛾幼虫的校正死亡率均没有显著差异。说明茎部用药速效性较根部用药较差,但持效性较好。选择氯虫苯甲酰胺等具有良好内吸性的杀虫剂时可以采用甘蓝茎部用药技术,在初孵幼虫阶段对小菜蛾进行有效防治。

关键词:甘蓝;小菜蛾;裹茎处理;灌根;校正死亡率;内吸性杀虫剂;植物茎部施药技术

中图分类号: S436.35 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)09-0104-04

传统应用化学农药的方式有种子处理、土壤处理(喷雾、撒施、灌根)和叶面处理(喷雾、喷粉、烟雾)等,尤以叶面喷雾应用最为普遍。但长期使用喷雾技术存在诸多不足之处,如(1)雾滴漂移和流失造成的农药浪费现象严重;(2)大量消耗水资源;(3)严重污染环境;(4)对天敌影响较大,对蛀干、蛀芯及藏在其他隐蔽处危害的害虫防治效果较差;(5)受环境因子(土壤吸附、风雨冲刷)干扰较大^[1]。此外,多年来农民滥用、误用化学农药已逐渐导致主要害虫抗(耐)药性上升、次要害虫大发生以及生态平衡破坏等一系列问题。因此,探索新型精准施药方式尤为重要。

植株茎部施药技术的原理是将内吸性农药以注射、涂抹等特定的方法施于植株茎部,使其通过内吸性渗透至植株体内,随体液传导扩散至其他部位或产生更毒的代谢物,使危害该部位的害虫中毒死亡^[1-2]。植株茎部施药技术起源于 15 世纪的树干注射农药^[3],目前用于部分林木及木本农作物(棉花、高粱、玉米)等的病虫害防治^[4-6],但未见有报道将这项技术应用于蔬菜植株的病虫害防控中。在之前的研究中笔者将吡虫啉等新烟碱类杀虫剂以茎部包裹的方式施于植株茎部发现,这项技术对蚜虫等刺吸式口器害虫有非常好的防治效果(未发表),但是否同样适用于咀嚼式口器害虫目前尚不可知。

小菜蛾(*Plutella xylostella* (L.))属鳞翅目(Lepidoptera)菜蛾科(Plutellidae),是重要的十字花科害虫之一,其生活周期短、繁殖能力强、世代重叠现象严重^[7-8]、对环境的适应性^[9-11],这些生物学特性使其在世界范围内普遍发生,危害

严重^[12-14]。小菜蛾成虫喜在叶背产卵,且卵粒分散,很少成堆^[8];1~2 龄幼虫常钻入叶片上下表皮之间取食叶肉,潜叶危害,在田间不易被发现,传统触杀性药剂也会因未能触及虫体而错过最佳防治时期。因此,选择内吸性强、持效期久的新型药剂,减少药剂施用量与规范施用方法,对于实现小菜蛾田间种群的可持续控制势在必行。

本研究选择目前生产中 12 种常用的防治小菜蛾的化学药剂,以甘蓝为寄主植物,在裹茎和灌根 2 种施药方式下对小菜蛾低龄幼虫的生物活性进行比较,以期筛选高效、低毒的新型内吸性药剂,同时验证通过茎部的内吸作用使药剂到达害虫取食部位进而使其中毒死亡的方法是否可行,为甘蓝茎部施药技术的深入研究提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 供试药剂

供试药剂主要有 20% 氯虫苯甲酰胺悬浮剂[美国杜邦(中国)有限公司]、10% 溴氰虫酰胺悬浮剂[美国杜邦(中国)有限公司]、6% 乙基多杀菌素悬浮剂(美国陶氏益农公司)、10% 虫螨脲悬浮剂(巴斯夫欧洲公司)、24% 甲氧虫酰肼悬浮剂(美国陶氏益农公司)、15% 茚虫威乳油[美国杜邦(中国)有限公司]、2.5% 多杀菌素悬浮剂(美国陶氏益农公司)、1.8% 阿维菌素乳油(华北制药集团爱诺有限公司)、10% 四氯虫酰胺悬浮剂[沈阳化工研究院(南通)化工科技发展有限公司]、20% 氟苯虫酰胺水分散剂(浙江石原金牛农药有限公司)、10% 氟啶虫酰胺水分散剂(浙江石原金牛农药有限公司)、5% 氟啶脲乳油(浙江石原金牛农药有限公司)。

1.2 供试虫源

于 2015 年 4 月下旬在武汉市农业科学院蔬菜科学研究所试验基地采集小菜蛾幼虫,在室内连续饲养多代采用新鲜甘蓝叶片群体饲养幼虫,成虫羽化后雌雄随机配对移入养虫笼内,饲喂 10% 新鲜蜂蜜水,并放入装有新鲜甘蓝叶片的塑

收稿日期:2016-12-03

基金项目:国家重点研发计划(编号:2016YFD0201008)。

作者简介:杨帆(1987—),女,山东淄博人,博士,农艺师,从事昆虫生态与预测预报研究。E-mail:sdzbyangfan@126.com。

通信作者:司升云,研究员,从事蔬菜害虫抗药性、新农药创制研究及农药登记试验等工作。E-mail:sishengyun@126.com。

料膜供其产卵。所有试虫均放置在温度为(25±1)℃、相对湿度为60%~70%、光一暗周期为14 h—10 h(光期为06:00—20:00)的人工气候室内饲养。选择生长发育良好的新羽化成虫作为供试虫源。

1.3 供试植株

甘蓝品种为京丰一号。于2015年6月30日将甘蓝种子播种于100孔育苗穴盘内,然后放置于温室的防虫网(120目细纱封闭)内生长发育;当幼苗发育至2~3张真叶时移栽到直径为20 cm、高为18 cm的花盆内,移栽时间为2015年7月21日。选择生长健康、长势一致的甘蓝苗作为供试植株。

1.4 试验设计

分别将12种药剂配制浓度为50 mg/L的溶液,待用。在养虫笼(80 cm×50 cm×40 cm)内放置苗龄一致、无虫卵的健康甘蓝苗,再放入一定数量的小菜蛾成虫,产卵24 h后取出,调查产卵基数。用药方式有2种:茎部用药(脱脂棉浸药裹茎法:用药量为3 mL,以3 mL清水作为空白对照)和根部用药(灌根法:根茎部周围5 cm处挖一小沟,将药液倒入,填平;用药量为20 mL,以20 mL清水作为空白对照),分别于施药后3、5、7、10、13 d观察幼虫的存活情况。每个处理重复4次,每个处理3株甘蓝苗。整个过程保持环境温度在(25±1)℃,相对湿度在60%~70%,分别按以下公式计算试虫的死亡率和校正死亡率。

死亡率 = 死虫数 / 总虫数 × 100% ;

校正死亡率 = 处理组死亡率 - 对照组死亡率 / (100 - 对

照组死亡率) × 100%。

1.5 数据处理

对相同用药方式及用药时间处理、不同药剂作用下小菜蛾幼虫的校正死亡率进行单因素方差分析,并用LSD法进行显著性检验;2种施药方式对校正死亡率的差异用t测验进行显著性检验。所有数据先经反正弦转化。不同药剂对幼虫发育进度影响的差异分析采用校正χ²检验。所有统计分析均在SAS 9.0中完成。

2 结果与分析

2.1 裹茎处理下12种药剂对小菜蛾幼虫的校正死亡率

在相同浓度相同用量不同时间的裹茎处理下,12种药剂对小菜蛾初孵幼虫的活性存在显著差异(*df* = 11、36; *F*₃ = 3.02, *P*₃ = 0.011 5; *F*₅ = 11.19, *P*₅ < 0.000 1; *F*₇ = 11.29, *P*₇ < 0.000 1; *F*₁₀ = 11.22, *P*₁₀ < 0.000 1; *F*₁₃ = 9.71, *P*₁₃ < 0.000 1)。由表1可知,氯虫苯甲酰胺和乙基多杀菌素对小菜蛾初孵幼虫的活性较高,于药后7 d达到最大,校正死亡率均为100.0%;其次为溴氰虫酰胺、氟啶虫酰胺和四氯虫酰胺,药后13 d校正死亡率分别为84.0%、74.4%、68.9%;再者为多杀霉素、茚虫威和阿维菌素,最大校正死亡率分别为43.1%、41.7%、40.4%;氟啶脲、虫螨腈和甲氧虫酰胺对小菜蛾的活性最低,最大校正死亡率分别为29.3%、22.8%、13.3%。说明氯虫苯甲酰胺、乙基多杀菌素、溴氰虫酰胺、氟啶虫酰胺和四氯虫酰胺这5种药剂有较好的茎部内吸效果。

表1 不同药剂在裹茎处理下对小菜蛾初孵幼虫的校正死亡率

药剂	产卵基数 (粒)	校正死亡率(%)				
		3 d	5 d	7 d	10 d	13 d
氯虫苯甲酰胺	342	17.0±5.0abc	98.4±0.7a	100.0±0.0a	100.0±0.0a	100.0±0.0a
溴氰虫酰胺	405	18.7±5.4abc	68.5±6.9b	79.9±7.4b	84.0±4.7b	84.0±4.7ab
乙基多杀菌素	338	39.7±5.6a	95.7±2.2a	100.0±0.0a	100.0±0.0a	100.0±0.0a
虫螨腈	90	18.7±4.1abc	18.7±4.1cd	22.8±4.1cde	22.8±4.1def	22.8±4.1e
甲氧虫酰胺	90	10.6±8.1bed	10.6±8.1d	13.3±10.8e	13.3±10.8ef	13.3±10.8e
茚虫威	90	25.5±7.2ab	33.6±12.9cd	41.7±13.4c	41.7±13.4cde	41.7±13.4cde
多杀霉素	90	20.0±3.6abc	37.7±14.2bc	41.7±17.9cd	43.1±17.7cde	43.1±17.7cde
阿维菌素	90	30.9±18.6ab	34.9±16.3c	34.9±16.3cde	40.4±14.3cdef	40.4±14.3de
四氯虫酰胺	160	9.2±3.8bed	38.7±14.9bc	39.3±16.2cde	63.9±18.1bc	68.9±15.9bc
氟苯虫酰胺	68	-0.9±3.6d	9.7±6.9d	11.8±4.6de	13.24±4.5f	17.0±7.9e
氟啶虫酰胺	75	5.9±7.0cd	39.3±9.1bc	38.3±9.3cde	53.3±9.4cd	74.4±6.7bcd
氟啶脲	100	3.9±0.9cd	19.0±3.3cd	22.5±5.5cde	21.0±6.5def	29.3±6.4e

注:同一列数据后不同小写字母表示在0.05水平上差异显著,表3同。

对不同药剂处理下小菜蛾幼虫的发育进度进行了比较,结果如表2、图1所示。药后3 d,药剂处理组与对照组幼虫的发育进度无显著差异,绝大多数个体处于1龄幼虫期。药后5 d,不同处理之间出现显著差异,其中氯虫苯甲酰胺、溴氰虫酰胺、乙基多杀菌素、四氯虫酰胺、氟苯虫酰胺、氟啶虫酰胺和氟啶脲7个处理组大部分幼虫仍停滞在1龄,发育进度显著降低,其他药剂与对照组超过90%的个体进入2~3龄幼虫期。值得注意的是,经四氯虫酰胺、氟苯虫酰胺、氟啶虫酰胺和氟啶脲处理后除显著降低1~2龄幼虫的发育进度外,还缩短了4龄幼虫的发育历期,药后13 d化蛹比例明显高于对照组。

2.2 灌根处理下12种药剂对小菜蛾幼虫的校正死亡率

灌根处理下12种药剂对小菜蛾初孵幼虫的活性存在显

表2 不同药剂在裹茎处理下对小菜蛾幼虫发育进度影响的卡方检验

卡方检验	施药后天数(d)				
	3	5	7	10	13
χ ²	4.851	18.902	23.656	19.338	15.024
<i>P</i>	0.173 5	<0.000 1	<0.000 1	<0.000 1	0.033 8

著差异(*df* = 11、36; *F*₃ = 4.37, *P*₃ = 0.001 2; *F*₅ = 16.06, *P*₅ < 0.000 1; *F*₇ = 20.70, *P*₇ < 0.000 1; *F*₁₀ = 15.89, *P*₁₀ < 0.000 1; *F*₁₃ = 11.10, *P*₁₃ < 0.000 1)。由表3可知,溴氰虫酰胺表现出极好的根部吸收效果,药后5 d对小菜蛾的校正死亡率迅速达到100%;其次为氯虫苯甲酰胺、乙基多杀菌素、多杀霉素和阿维菌素,最大校正死亡率均超过90.0%。这5种药剂处理后13 d的校正死亡率明显高于其他药剂;再者为氟啶虫酰

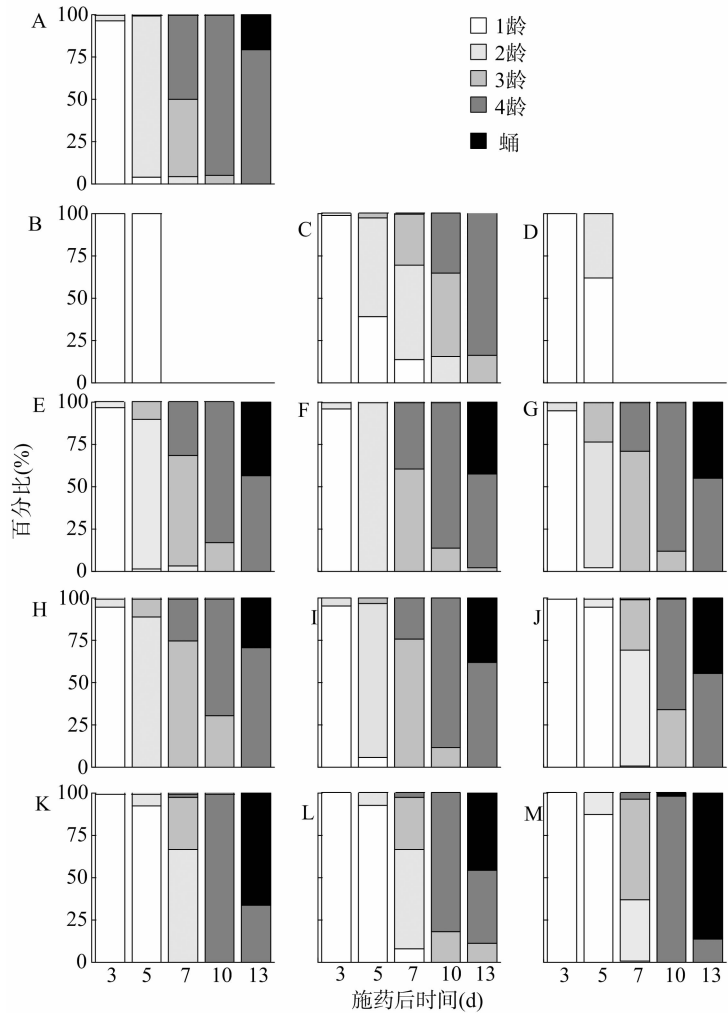


图1 不同药剂在裹茎处理下小菜蛾幼虫的发育进度比较

表3 不同药剂在灌根处理下对小菜蛾初孵幼虫的校正死亡率

药剂	产卵基数 (粒)	校正死亡率 (%)				
		3 d	5 d	7 d	10 d	13 d
氯虫苯甲酰胺	87	54.8 ± 7.0abc	89.7 ± 3.5ab	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a
溴氰虫酰胺	90	43.1 ± 7.0abcd	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a
乙基多杀菌素	90	52.6 ± 23.8ab	81.0 ± 9.8b	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a
虫螨腈	91	11.6 ± 1.6def	11.6 ± 1.6de	17.0 ± 7.0d	17.0 ± 7.0d	17.0 ± 7.0e
甲氧虫酰胺	90	20.0 ± 4.9cdef	20.0 ± 4.9cd	20.0 ± 4.9cd	20.0 ± 4.9cd	20.0 ± 4.9de
茚虫威	90	28.2 ± 7.6bcde	36.3 ± 3.6cd	36.3 ± 3.6bc	37.7 ± 2.7bcd	37.7 ± 2.7de
多杀霉素	90	52.6 ± 8.2abc	81.0 ± 8.2b	90.5 ± 5.9a	91.9 ± 6.2a	91.9 ± 6.2ab
阿维菌素	90	71.5 ± 16.4a	87.8 ± 12.2ab	90.5 ± 9.5a	90.5 ± 9.5a	90.5 ± 9.5ab
四氯虫酰胺	133	9.6 ± 8.8ef	13.6 ± 12.5de	32.6 ± 8.7bcd	42.7 ± 16.2bcd	63.5 ± 20.4bc
氟苯虫酰胺	86	0.3 ± 4.2f	0.9 ± 4.1e	16.7 ± 11.7d	16.5 ± 11.7d	16.6 ± 11.6e
氟啶虫酰胺	85	27.3 ± 6.7bcde	45.7 ± 4.1c	47.5 ± 3.6b	59.4 ± 5.5b	71.1 ± 10.9bc
氟啶脲	101	15.6 ± 5.5def	42.3 ± 12.9c	44.7 ± 14.8bc	51.0 ± 17.2bc	56.2 ± 14.1cd

胺、四氯虫酰胺和氟啶脲,最大校正死亡率分别为 71.1%、63.5%、56.2%;虫螨腈、甲氧虫酰胺和氟苯虫酰胺对小菜蛾幼虫的活性较低,最大校正死亡率分别为 17.0%、20.0%、16.7%。说明溴氰虫酰胺、氯虫苯甲酰胺、乙基多杀菌素、多杀霉素和阿维菌素这 5 种药剂有较好的根部吸收效果。

2.3 不同用药方式对小菜蛾幼虫防治效果的比较

在相同浓度下,对裹茎和灌根 2 种施药方式下药剂对小菜蛾幼虫的防治效果进行比较,并对其差异显著性进行 *t* 测验,结果如表 4 所示。药后 3 d,氯虫苯甲酰胺、溴氰虫酰胺、多杀霉素和氟啶虫酰胺的根部处理防治效果显著高于茎部处理,其

他药剂在 2 种施药方式间无显著差异,但总体而言根部处理优势明显;药后 5 d,氯虫苯甲酰胺的茎部处理活性迅速升高,且显著高于根部处理,溴氰虫酰胺和四氯虫酰胺根部处理效果显著高于茎部处理,其他药剂无显著差异;药后 7~13 d,除多杀霉素(药后 10、13 d)和阿维菌素外,其他 10 种药剂在 2 种施药方式下对小菜蛾幼虫的校正死亡率均没有显著差异。

表 4 裹茎和灌根处理对小菜蛾初孵幼虫校正死亡率比较结果

药剂	P 值				
	3 d	5 d	7 d	10 d	13 d
氯虫苯甲酰胺	0.013 2	0.044 3 ^a			
溴氰虫酰胺	0.041 4	0.039 8	0.058 4	0.054 6	0.054 6
乙基多杀菌素	0.562 0	0.335 3			
虫螨腈	0.157 0	0.157 0	0.466 7	0.157 9	0.157 9
甲氧虫酰胺	0.300 5	0.300 5	0.452 8	0.776 8	0.776 8
茚虫威	0.797 1	0.801 0	0.735 8	0.670 7	0.670 7
多杀霉素	0.020 9	0.062 3	0.055 9	0.032 5	0.032 5
阿维菌素	0.052 5	0.056 5	0.039 5	0.044 4	0.044 4
四氯虫酰胺	0.966 2	0.045 8	0.822 9	0.400 7	0.891 2
氟苯虫酰胺	0.829 9	0.335 4	0.718 4	0.807 1	0.977 3
氟啶虫酰胺	0.039 6	0.547 6	0.406 6	0.602 9	0.889 1
氟啶脲	0.082 7	0.154 6	0.246 0	0.225 1	0.158 9

注:加粗的 P 值表示灌根处理对小菜蛾的致死率显著高于裹茎处理;a 表示裹茎处理对小菜蛾的致死率显著高于灌根处理。

3 结论与讨论

在我国,小菜蛾由北至南一年可发生 2~20 代^[15-17],而在北方夏季以及南方春末夏初季节由于环境温度较高,小菜蛾发育历期缩短,田间种群的世代重叠现象最为严重和复杂。这种世代差异一方面与成虫的产卵习性有关,小菜蛾成虫羽化当天即开始产卵,产卵期可一直持续到成虫死亡,更有研究表明小菜蛾种群的整个产卵期最长可持续 100 d^[7];另一方面与种群对环境的强适应性有关,在春季大发生后,小菜蛾可在生长期较长的甘蓝、萝卜和大白菜等十字花科作物上积累大量的虫源基数,引发秋季种群的再次猖獗。小菜蛾这种世代重叠的繁复性往往使残效期短的农药无法奏效。此外,考虑到该种群低龄幼虫潜叶危害,高龄幼虫叶背危害的习性^[9],从化学防治角度来看,笔者认为实现小菜蛾可持续控制的方法之一是选择杀卵且持效期长的内吸性药剂。

本研究从目前生产中常用的叶面喷雾制剂中筛选出 12 种内吸性好的新型药剂。在茎部用药处理下,12 种杀虫剂对小菜蛾低龄幼虫的毒力由高到低依次为氯虫苯甲酰胺、乙基多杀菌素、溴氰虫酰胺>氟啶虫酰胺、四氯虫酰胺>茚虫威、阿维菌素、多杀霉素>氟啶脲、虫螨腈、甲氧虫酰胺、氟苯虫酰胺(表 1)。大多数药剂在药后 7~10 d 达到最大活性,氟啶虫酰胺表现出的毒效较慢,但随着时间的延长,它对小菜蛾幼虫的致死作用整体上增强。在根部用药处理下,药剂的毒力由高到低依次为溴氰虫酰胺、氯虫苯甲酰胺、乙基多杀菌素>多杀霉素、阿维菌素>氟啶虫酰胺、四氯虫酰胺>氟啶脲、茚虫威、甲氧虫酰胺>虫螨腈、氟苯虫酰胺(表 2)。大多数药剂在药后 7 d 达到最大活性,其中溴氰虫酰胺表现出极好的根部吸收效果。

这些结果表明,氯虫苯甲酰胺、溴氰虫酰胺和乙基多杀菌素在 2 种施药方式下对甘蓝植株上小菜蛾的低龄幼虫均有较

好的应用效果。虽然在茎部处理下 3 种药剂在药后 3 d 的活性均较低,但药后 5 d 达到较高的水平,并且表现较为平稳,持效期均超过 13 d。在相同浓度下,茎部的用药量(3 mL)仅为根部(20 mL)的 15%,但两者最高防效无显著差异(表 4)。说明茎部用药对药剂的利用率明显优于根部用药,速效性差,但持效性好;同时说明氯虫苯甲酰胺、乙基多杀菌素、溴氰虫酰胺、氟啶虫酰胺和四氯虫酰胺这 5 种药剂更适用于茎部施药方式下农药的选择,还须进一步比较 2 种施药方式在相同药剂浓度及用量下的速效性和持效性。

本结果表明,可以通过蔬菜茎部包裹法实现对农药的施用,经植株茎部的内吸作用使药剂到达害虫取食部位使其中毒死亡,进而实现对害虫的持续控制作用。使用该方法对内吸性农药在蔬菜上进行病虫害的防治应用具有以下特点:(1)在农药施用过程中雾滴无飘移、无流失,对环境无污染;(2)节约大量水资源;(3)减少农药施用量,降低用药频率;(4)施药后受环境因子影响较小;(5)避免了农药与有益天敌的直接接触;(6)在害虫大发生前对植株进行施药处理,有效降低前期虫源基数。

当然,植株茎部施药技术要想实现规模化推广应用,还须进一步解决以下几个问题:(1)筛选或生产合适剂型的农药及其配套载体;(2)明确药剂在植株体内的动态分布及其与环境因子、植株生育期的关系,明确安全间隔期,结合田间害虫的发生规律确定最佳施药时期和施药次数;(3)测定植株体内药剂含量对靶标害虫毒力作用的致死中浓度(lethal concentration of 50%,简称 LC₅₀),确定推荐施药剂量;(4)评估茎部施药技术对植株自身的安全性(是否会造成局部药害)及后期生长和产量的影响。

参考文献:

[1] 吴春笃. 农药使用的安全性研究[J]. 农业机械学报,1996,27(增刊 1):148-152.

[2] 吴春笃. 植株茎部施药防治害虫的研究[J]. 农业机械学报,1996,27(增刊 1):139-143.

[3] Dick J M, Longman K A. Techniques for injecting chemicals into trees[J]. Arboricultural Journal,1985,9(3):211-214.

[4] 董英,汪维云,吴春笃,等. 桃树茎部施药的生理基础研究[J]. 农业机械学报,1999,30(5):76-80.

[5] 王慧瑜,赵玉安,贾耀军. 树干注射施药技术研究概况[J]. 农药学报,2005,7(2):104-108.

[6] 尹可锁,郑泗军,杨韶松,等. 利用假茎注射吡虫啉防控香蕉蓟马[J]. 植物保护,2016,42(5):238-241.

[7] 柯礼道,方菊莲. 小菜蛾生物学的研究:生活史、世代数及温度关系[J]. 昆虫学报,1979,22(3):310-319.

[8] 柯礼道,方菊莲. 小菜蛾生物学研究——生活习性的观察[J]. 植物保护学报,1980,7(3):9-14.

[9] 陈非洲,刘树生. 低温对小菜蛾实验种群的影响[J]. 应用生态学报,2004,15(1):99-102.

[10] 陆自强,陈丽芳,祝树德. 温度对小菜蛾发育与增殖影响的研究[J]. 昆虫知识,1988,25(3):147-149.

[11] 潘飞,何余容,王德森,等. 温度对小菜蛾生长发育和繁殖影响的研究进展[J]. 环境昆虫学报,2012,34(1):104-109.

[12] Harcourt D G, Cass L M. Photoperiodism and fecundity in *Plutella*

陈爽,赵晨,黎琪,等. 丁烯基多杀菌素高产菌株的诱变选育及培养基优化[J]. 江苏农业科学,2018,46(9):108-111.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.09.024

丁烯基多杀菌素高产菌株的诱变选育及培养基优化

陈爽^{1,2}, 赵晨², 黎琪², 王超², 张晓琳², 张云鹏², 李金萍³, 方俊¹

(1. 湖南农业大学生物科学技术学院, 湖南长沙 410128; 2. 国家粮食局科学研究院, 北京 100037; 3. 北京市植物保护站, 北京 100029)

摘要:利用不同剂量的亚硝基胍(nitroso-guanidin, 简称 NTG)对须糖多孢菌(*Saccharopolyspora pogona*) ASAGF58 诱变处理不同时间,通过 96 孔板发酵培养结合生物检测进行高通量筛选;利用单因素试验和正交试验,对高产菌株产丁烯基多杀菌素的发酵培养基进行碳源、氮源优化。结果表明,从 5 mg/mL NTG 诱变处理 50 min 的突变株中,筛选出 1 株遗传稳定且丁烯基多杀菌素产量明显提高的突变菌株 2-G4,该菌株丁烯基多杀菌素发酵产量比出发菌株提高 86.7%;优化获得的最佳培养基配方为 100.00 g/L 葡萄糖、50.00 g/L 糊精、20.00 g/L 玉米浆干粉、80.00 g/L 棉籽蛋白、5.00 g/L NaCl、5.00 g/L CaCO₃、1.02 g/L MgSO₄·7H₂O, pH 值为 7.2。2-G4 菌株在该优化培养基中的丁烯基多杀菌素产量比优化前提高 52.1%。

关键词:丁烯基多杀菌素;亚硝基胍;须糖多孢菌;诱变;正交试验;培养基优化

中图分类号:S482.3⁺9 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2018)09-0108-04

丁烯基多杀菌素(butenyl-spinosyns)^[1-3]是由土壤放线菌须糖多孢菌(*Saccharopolyspora pogona*)代谢产生的一类与多杀菌素结构类似、杀虫机制相同的大环内酯类杀虫剂^[4-5]。其杀虫谱比多杀菌素更为广泛,对多杀菌素无法控制的烟青虫^[6]、苹果蠹蛾、马铃薯甲虫等均有较好的杀虫活性^[7-9]。其杀虫机制与多杀菌素相同,通过作用于昆虫的神经系统,致其非功能性的肌肉收缩、衰竭,并伴随颤抖和麻痹,最终导致死亡^[10-12]。此外,丁烯基多杀菌素比多杀菌素具有更多的衍生物,到目前为止,已检测到 30 多种丁烯基多杀菌素衍生物^[1],丁烯基多杀菌素作为一种新型的生物农药在防治害虫方面有良好的应用价值和广阔的市场前景。

通过理化诱变筛选丁烯基多杀菌素高产菌株和培养基优化是提高其发酵产量的主要方法^[13]。目前,常规的诱变选育方法仍然是获得高产菌株的有效手段之一^[14-15],其中亚硝基胍(nitroso-guanidin, 简称 NTG)是一种超诱变剂,应用广泛,能与 1 个或几个酸碱基反应,引起 DNA 复制时碱基配对的转换而发生遗传变异^[16]。本研究利用 NTG 对前期筛选到的

ASAGF58 菌株进行诱变,拟筛选丁烯基多杀菌素稳定高产突变株,并通过单因素试验和正交试验对高产突变株的发酵培养基进行优化,以期获得高产丁烯基多杀菌素的配方。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试菌株 须糖多孢菌(*S. pogona*) ASAGF58 由国家粮食局科学研究院发酵生物技术实验室筛选和保藏。

1.1.2 生测幼虫 埃及伊蚊(*Aedes aegypti*)由中国疾病预防控制中心提供。

1.1.3 培养基 产孢培养基:10.00 g/L 葡萄糖,5.00 g/L 酪蛋白胨,5.00 g/L 酵母提取物,5.00 g/L 牛肉膏,0.74 g/L CaCl₂·2H₂O,15.00 g/L 琼脂,pH 值为 7.2。诱变种子培养基:30.0 g/L 胰蛋白大豆肉汤,3.0 g/L 酵母提取物,2.0 g/L MgSO₄,10.0 g/L 葡萄糖,pH 值为 7.2。诱变发酵培养基:64.80 g/L 葡萄糖,54.60 g/L 糊精,15.00 g/L 酵母膏,9.00 g/L 酵母提取物,15.00 g/L 胨化牛奶,1.20 g/L (NH₄)₂SO₄,3.00 g/L NaCl,0.05 g/L FeSO₄,1.00 g/L K₂HPO₄,pH 值为 7.2。种子培养基:10.0 g/L 糊精,30.0 g/L 酪蛋白胨,3.0 g/L 酵母提取物,2.0 g/L MgSO₄·7H₂O,0.5 g/L KH₂PO₄,pH 值为 7.2。发酵培养基:60.00 g/L 葡萄糖,20.00 g/L 玉米浆干粉,5.00 g/L NaCl,5.00 g/L CaCO₃,1.02 g/L MgSO₄·7H₂O,pH 值为 7.2。以上培养基均于 115 ℃ 灭菌 25 min。

术研究与示范——公益性行业(农业)科研专项“小菜蛾可持续防控技术与示范”进展[J]. 应用昆虫学报,2011,48(2):247-253.

[16]张贵云,张丽萍,刘珍,等. 山西十字花科小菜蛾种群消长动态及几种杀虫剂的触杀毒性比较[J]. 应用昆虫学报,2011,48(2):260-266.

[17]周晓榕,常静,庞保平,等. 内蒙古小菜蛾种群数量动态及抗药性监测[J]. 应用昆虫学报,2013,50(1):173-179.

收稿日期:2017-12-07

基金项目:北京市科技重大专项(编号:Z171100001317014)。

作者简介:陈爽(1991—),女,四川宜宾人,硕士研究生,主要从事微生物菌种改良的研究。E-mail:296430441@qq.com。

通信作者:方俊,博士,教授,主要从事农业废弃物资源化利用方面的研究。E-mail:363884835@qq.com。

maculipennis(Curt.)[J]. Nature,1966,210(5032):217-218.

[13]Hardy J E. *Plutella maculipennis* Curt., its natural and biological control in England[J]. Bulletin of Entomological Research,1938,29(4):343-372.

[14]Talekar N S,Shelton A M. Biology,ecology,and management of the diamondback moth[J]. Annual Review of Entomology,1993,38:275-301.

[15]冯夏,李振宇,吴青君,等. 小菜蛾抗性治理及可持续防控技