

苏云金芽孢杆菌对印度谷螟幼虫生长发育的影响

黄衍章 李世广 王转红

安徽农业大学植物保护学院, 合肥 230036

摘要 采用半人工饲料混药法, 观察了苏云金芽孢杆菌对初期性储粮害虫印度谷螟 *Plodia interpunctella* (Hübner) 幼虫生长发育的影响。结果表明: 苏云金芽孢杆菌对印度谷螟幼虫的毒杀作用并不明显, 当苏云金芽孢杆菌剂量 20 000 IU/g 时, 处理 7 d 后对印度谷螟幼虫的毒杀率与对照没有显著差异; 当苏云金芽孢杆菌剂量 2 500 IU/g 时, 其对印度谷螟的化蛹和羽化均表现出明显的抑制作用。

关键词 苏云金芽孢杆菌; 印度谷螟; 生长发育

中图分类号 S 432.2⁺1; S 436.33 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2010)02-0148-04

目前, 我国储粮害虫的主要防治措施为化学防治, 包括使用化学熏蒸剂和化学防护剂。熏蒸剂以磷化氢和溴甲烷为主, 防护剂则以防虫磷、虫螨磷、杀螟松为主。化学防治不仅减弱了天敌对害虫的自然控制作用, 造成害虫抗药性增强, 对非靶标生物毒性和环境污染加剧, 而且易造成粮食品质下降、食品安全风险增加等诸多问题^[1]。由此可见, 探索防治储粮害虫的新途径和新方法显得尤为迫切。利用病原微生物防治储粮害虫是害虫生物防治的一种重要手段, 其对人畜安全, 害虫难以产生抗药性, 符合可持续植物保护发展的客观要求, 对实现粮食的绿色安全储藏意义重大。

印度谷螟 *Plodia interpunctella* (Hübner) 属鳞翅目斑螟科昆虫, 是一种世界性的初期性储粮害虫, 在我国各地均有分布。印度谷螟幼虫食性复杂, 习性隐蔽, 其不仅咬食谷物胚部及表层, 并可吐丝连缀粮粒成团, 封闭粮面而造成粮食污染^[2-3]。苏云金芽孢杆菌 *Bacillus thuringiensis* (简称 Bt) 是目前世界上产量最大、应用最成功的微生物杀虫剂。利用苏云金芽孢杆菌防治鳞翅目等害虫, 国内外已有大量的研究报道^[4-5]。

此外, 苏云金杆菌对很多鳞翅目储藏物害虫, 如印度谷螟、粉斑螟 *Cadra cautella* (Walker)、粉螟 *Ephestia elutella* (Hübner)、米蛾 *Corcyra cephalonica* (Stainton)、地中海螟蛾 *Ephestia kuehniella* (Zeller) 和米黑虫 *A glossa dimidiata* (Haworth) 等

均有一定的防治效果^[6]。迄今为止, 利用苏云金芽孢杆菌防治印度谷螟虽有报道^[7-8], 但关于其作用方式国内外尚鲜有报道。笔者采用半人工饲料混药法, 观察了苏云金芽孢杆菌对初期性储粮害虫印度谷螟幼虫生长发育的影响, 旨在探索苏云金芽孢杆菌对印度谷螟幼虫的毒杀作用效果, 为印度谷螟的生物防治提供理论依据。

材料与方 法

供试材料

供试药剂: 苏云金杆菌悬浮剂, 2 000 IU/ μ L, 湖北太极生化有限公司产品。

供试虫源: 印度谷螟由安徽农业大学植物保护学院昆虫学实验室提供, 并用半碎黄豆饲养多代。所用黄豆的含水量为 14% \pm 1%。将供试成虫接入饲料后, 放入养虫室内(温度 26 ~ 28 $^{\circ}$ C, 相对湿度 70% ~ 80%), 7 d 后移出所有成虫, 待下一代幼虫孵化后取 3 龄幼虫供试。

生物活性测试时, 印度谷螟采用半人工饲料进行饲养。半人工饲料配方: 碎小麦 600 g, 大豆油 25 mL, 酵母粉 20 g, 山梨酸 1.0 g, 对羟基苯甲酸甲酯 1.0 g, 甘油 60 mL, 蜂蜜 60 mL, 水 30 g。将饲料配制好后, 放在 - 18 $^{\circ}$ C 的冰箱内冷藏备用。

测定方法

用移液枪分别取 1 200、600、300、150、75、37.5 μ L 的 2 000 IU/ μ L 苏云金杆菌悬浮剂, 加

收稿日期: 2009-08-28; 修回日期: 2009-11-20

*安徽省教育厅基金项目(KJ2009B112Z)资助

黄衍章, 男, 1975年生, 博士, 讲师。研究方向: 害虫生物防治。E-mail: hyz7508@sohu.com

1 mL 蒸馏水稀释摇匀后分别加入 60 g 半人工饲料中,搅拌均匀,每组分 3 管盛放,每管 20 g,重复 3 次,即配成剂量为 40 000、20 000、10 000、5 000、2 500、1 250 IU/g 的含菌食料。然后向每管中接入 20 头印度谷螟 3 龄幼虫,并在室温 28 ℃、湿度 70%、光照 12 h/d 的条件下饲养。对照组用清水处理,其它条件同处理组。饲养 3 d、5 d、7 d 后分别调查幼虫死亡率,10 d 后调查幼虫化蛹率,14 d 后调查蛹羽化率。

各处理观察指标的计算公式分别如下:

$$\text{幼虫死亡率}(\%) = \frac{\text{死亡虫数}}{\text{供试虫数}} \times 100$$

$$\text{化蛹率}(\%) = \frac{\text{化蛹虫数}}{\text{供试虫数}} \times 100$$

$$\text{羽化率}(\%) = \frac{\text{羽化成虫数}}{\text{化蛹虫数}} \times 100$$

统计方法

采用 DPS 数据处理软件对试验结果进行方差分析。将试验调查计算所得死亡率、化蛹率、羽化率转化为反正弦平方根后,用 LSD 法进行多重比较。

结果与分析

苏云金芽孢杆菌对幼虫存活率的影响

用拌有不同剂量苏云金杆菌悬浮剂的半人工饲料喂食印度谷螟幼虫,分别在处理 3 d、5 d、7 d 后调查幼虫的死亡率。从表 1 可知:处理 3 d 后,印度谷螟幼虫对照组死亡率为 21.67%,苏云金杆菌悬浮剂在 1 250~10 000 IU/g 剂量时对印度谷螟幼虫存活率的影响不明显,但在高剂量 20 000 IU/g 和 40 000 IU/g 处理条件下与对照组存在显著差异;苏云金杆菌在高剂量 40 000 IU/g 处理 5 d 后印度谷螟幼虫的死亡率为 63.33%,与对照组相比差异显著,处理 7 d 后印度谷螟幼虫的死亡率分别是 76.67%,显著高于对照组。

由此可见,苏云金芽孢杆菌在剂量为 1 250~20 000 IU/g 时对印度谷螟幼虫的毒杀效果并不明显。另外,用拌有苏云金杆菌悬浮剂的半人工饲料喂食幼虫的个体较对照组明显偏小,生长发育迟缓,化蛹和羽化时间也明显滞后。

表 1 苏云金芽孢杆菌对印度谷螟幼虫死亡率的影响

Table 1 The effect of *Bacillus thuringiensis* on the mortality rate of *Plodia interpunctella* (Hübner) larva

剂量/(IU/g) Dosage	平均死亡率/% Mean mortality		
	3 d	5 d	7 d
CK	21.67 ±5.28 cd BC	38.33 ±4.55 bc ABC	43.33 ±4.45 bc B
1 250	20 ±12.01 d C	23.33 ±13.35 c C	31.67 ±13.54 c B
2 500	26.67 ±4.92 bcd BC	35 ±0.00 bc BC	36.67 ±1.71 bc B
5 000	26.67 ±1.85 bcd BC	31.67 ±7.00 bc BC	38.33 ±7.00 bc B
10 000	35 ±5.15 abc ABC	40 ±2.93 b ABC	45 ±7.66 bc B
20 000	43.33 ±1.67 ab AB	50 ±2.87 ab AB	55 ±2.88 b AB
40 000	53.33 ±6.04 a A	63.33 ±6.81 a A	76.67 ±1.98 a A

1) 同列数值后相同的小写或大写字母表示在 0.05 或 0.01 水平差异不显著(下表同)。

Figures followed by common letter within the same column are not significant at 0.05 or 0.01 level (the same as following tables).

苏云金芽孢杆菌对幼虫化蛹率的影响

用苏云金芽孢杆菌喂食处理 10 d 后,调查印度谷螟幼虫的化蛹虫数,计算化蛹率。从表 2 可知,苏云金芽孢杆菌悬浮剂能显著地抑制印度谷螟幼虫的化蛹。对照组的化蛹率为 50.00%,苏云金芽孢杆菌在 1 250 IU/g 时印度谷螟幼虫的化蛹率为 41.67%,与对照组差异不显著,但是在 2 000 IU/g 时印度谷螟幼虫的化蛹率为 16.67%,与对照组相比差异极显著。

随着剂量的增加,苏云金芽孢杆菌悬浮剂对印度谷螟幼虫化蛹的抑制作用明显增强,在高剂量(4 000 IU/g)处理条件下印度谷螟幼虫的化蛹率为 1.67%,与对照相比组差异极显著。此外,用药剂处理后幼虫化蛹后的个体较对照组明显偏小,苏云金

芽孢杆菌对幼虫生长发育的抑制作用在蛹体上表现明显。用苏云金芽孢杆菌处理后的印度谷螟幼虫化蛹时间也明显滞后,高剂量处理后绝大多数幼虫个体不能正常化蛹。

表 2 苏云金芽孢杆菌对印度谷螟幼虫化蛹率的影响

Table 2 The effect of *Bacillus thuringiensis* on the pupation of *Plodia interpunctella* (Hübner) larva

剂量/(IU/g) Dosage	化蛹数/个 Pupation number			平均化蛹率/% Mean pupation rate
CK	8	10	12	50.00 ±5.77 a A
1 250	12	7	6	41.67 ±9.38 a A
2 500	3	4	3	16.67 ±2.18 b B
5 000	3	2	3	13.33 ±2.51 b B
10 000	2	3	2	11.67 ±2.51 b B
20 000	1	2	1	6.67 ±3.18 b BC
40 000	0	1	0	1.67 ±7.46 c C

苏云金芽孢杆菌对印度谷螟羽化率的影响

用苏云金芽孢杆菌处理 14 d 后,根据 10 d 后化蛹的情况调查统计印度谷螟蛹的羽化率。由表 3 可知,对照组的羽化率为 30.28%,用 1 250 IU/g、2 500 IU/g 剂量的苏云金芽孢杆菌处理的羽化率分别为 5.56%、8.83%,均只有 1 头蛹羽化。当处理剂量大于 2 000 IU/g 时,印度谷螟的蛹不能羽化,羽化率为 0。此外,用苏云金杆菌处理后羽化的成虫个体较对照组明显偏小,羽化时间也相对滞后,苏云金芽孢杆菌对幼虫生长发育的抑制作用在成虫个体上表现明显。

表 3 苏云金芽孢杆菌对印度谷螟羽化率的影响¹⁾

Table 3 The effect of *Bacillus thuringiensis* on the eclosion of *Plodia interpunctella* (Hübner)

剂量/ (IU/g) Dosage	成虫数/ 个 Adult number			平均羽化率/ % Mean eclosion rate
CK	3	2	4	30.28 ±5.88 a A
1 250	0	0	1	5.56 ±13.91 b B
2 500	0	1	0	8.83 ±17.32 b B
5 000	0	0	0	0 b B
10 000	0	0	0	0 b B
20 000	0	0	0	0 b B
40 000	0	0	0	0 b B

1) 观察蛹数为表 2 中各处理剂量的化蛹数。

The pupation number for observed was correspond with the pupa showed in Table 2.

讨 论

本研究结果表明,苏云金芽孢杆菌在 1 250 ~ 20 000 IU/g 剂量范围内对印度谷螟幼虫的毒杀作用并不明显,当苏云金芽孢杆菌剂量 20 000 IU/g 时,处理 7 d 后对印度谷螟幼虫的毒杀率与对照没有显著差异;当苏云金芽孢杆菌剂量 2 500 IU/g 时,对印度谷螟的化蛹和羽化均表现出明显的抑制作用。由于印度谷螟低龄幼虫的自然死亡率较大,在 5 000 IU/g 处理 5 d、7 d 时印度谷螟幼虫的平均死亡率低于对照组,这表明低剂量的苏云金杆菌可能有助于提高印度谷螟低龄幼虫的存活力。苏云金杆菌对鳞翅目幼虫主要通过伴孢晶体作用于中肠肠壁细胞而起到毒杀作用。本研究表明苏云金芽孢杆菌对印度谷螟幼虫虽没有明显的毒杀作用,但能显著抑制幼虫的生长发育,控制下一代害虫的种群数量。

目前,苏云金芽孢杆菌防治储藏物害虫主要有 2 种施用方法:一是表面施用,二是全堆拌施。全堆拌施法单位粮粒上的活芽孢数显著高于表面施用

法,但全堆拌药用药量大,费工费时^[9-10]。迄今为止,将苏云金芽孢杆菌用于控制印度谷螟虽已有报道,但多停留在试验阶段,离市场化仍具有较大的差距^[11]。实际生产使用时,苏云金杆菌对印度谷螟的防治效果并不理想,而且效果不稳定,受外界环境因素的干扰较大,经济成本较高,并不能被消费者接受。因此,应进一步研究苏云金芽孢杆菌的施药方法,降低防治成本。

苏云金芽孢杆菌在整个生命周期中可产生 2 种类型且专一性极强的杀虫蛋白:一种是在产孢过程中形成的杀虫晶体蛋白(ICPs),包括晶体毒素(Cry)和细胞裂解毒素(Cyt);另一种是在营养生长期合成并分泌到胞外的非晶体杀虫蛋白(VIPs),这 3 种蛋白的分子结构和毒性机理各不相同^[12-13]。苏云金芽孢杆菌对害虫的防治效果受菌株、芽孢和伴孢晶体的比例、剂型、使用方法及环境因素等的影响,芽孢和伴孢晶体之间的协同作用有助于提高鳞翅目幼虫的死亡速度。苏云金杆菌除了直接引起害虫死亡外,还可引起害虫蛹的发育迟缓,成虫羽化率、产卵量和孵化率的降低等^[14-16]。因此,有关苏云金芽孢杆菌不同类型毒蛋白对印度谷螟的生物活性尚有待进一步研究。

此外,目前已证实 10 多种昆虫在实验室条件下对苏云金芽孢杆菌产生了抗性,对苏云金芽孢杆菌不同变种敏感的鳞翅目、鞘翅目和双翅目昆虫中均有一些种类对其产生了抗性,印度谷螟是首个被证实实在非实验室条件下对苏云金芽孢杆菌-内毒素产生抗性的昆虫^[17]。在我国应用苏云金芽孢杆菌制剂时间较长的深圳、广州和上海等地,也发现苏云金芽孢杆菌制剂对小菜蛾的防治效果明显下降,这意味着抗性已经形成^[18]。因此,实际使用时,如何提高苏云金芽孢杆菌的防治效果,降低印度谷螟的抗性风险也是值得深入研究的课题。

参 考 文 献

- [1] OKONKWO E U, OKPYE W I. The efficacy of four seed powders and the essential oils as protectants of cowpea and maize grain against infestation by *Callosobruchus maculatus* (Fab.) (Coleoptera: Bruchidae) and *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae) in Nigeria[J]. International Journal of Pest Management, 1996, 42: 143-146.
- [2] 陈明,周继荣,唐江生,等.华南地区冬季印度谷螟的危害现状及生物防治[J].粮油仓储科技通讯,2006(1):36-37.
- [3] 贾胜利,刘树伦,张金伟,等.印度谷螟的危害与综合防治[J].

- 粮油仓储科技通讯,2005(1):24-25.
- [4] 冯书亮,付韵琴,范秀华,等. 几株高效苏云金杆菌菌株对玉米螟、棉铃虫、粘虫和黄地老虎的毒力测定[J]. 中国生物防治,1995(11):22-25.
- [5] 蔡亚君,彭可凡,戴顺英,等. 1株广谱苏云金芽孢杆菌及其发酵条件的研究[J]. 华中农业大学学报,2003,22(5):462-465.
- [6] 高燕,曾伶,许再福. 昆虫病原微生物在储藏物害虫防治中的研究与应用[J]. 昆虫天敌,2004,26(4):175-182.
- [7] TABASHNIK B E, MCGAUGHEY W H. Resistance risk assessment for single and multiple insecticides: response of Indian meal moth (Lepidoptera: Pyralidae) to *Bacillus thuringiensis* [J]. Journal of Economic Entomology, 1994, 87(4):834-841.
- [8] 王亚洲. 苏云金杆菌防治印度谷螟的研究进展[J]. 生物防治通报,1989,5(2):94-96.
- [9] 姚康. 仓库害虫和益虫[M]. 北京: 财政经济出版社,1986.
- [10] SANDNER H, SZCZYPIORSKA M, WEGOREK W. An integrated use of pathogen of insects and insecticide in plant protection[J]. Plant Protection Institute Bulletin, 1972, 52:43-54.
- [11] 吴际星,陈在俱,李青,等. 苏云金杆菌研究进展[J]. 湖北农业科学,1995(6):48-50.
- [12] 赖云松,王亚,涂巨民. ICP蛋白和VIP蛋白杀虫机理的毒性专一性的分子基础[J]. 华中农业大学学报,2008,27(5):680-690.
- [13] 李江,闫建平,蔡全信,等. 苏云金芽孢杆菌 *vip3A* 基因的检测[J]. 华中农业大学学报,2005,24(2):181-184.
- [14] ABDEL-RAZEK A S. Biological efficacy of some commercial and isolated varieties of *Bacillus thuringiensis* on the development of *Cadra cautella* (Walker) and *Tribolium confusum* Jacqueline du Val on stored crushed corn [J]. Bulletin, OILB/SROP, 1998, 21(3):67-74.
- [15] BLANK M, KAELIN P, GADANI F. *Bacillus thuringiensis* for the control of insect pests in stored tobacco [J]. Beitrage zur Tabakforschung International, 2002, 20(1):15-22.
- [16] JOHNSON D E, MCGAUGHEY W H. Contribution *Bacillus thuringiensis* spores to toxicity of purified cry proteins Indian meal moth larva [J]. Current Microbiology, 1996, 33:54-59.
- [17] 王世贵,叶恭银,胡萃. 昆虫对转 Bt 杀虫蛋白基因植物的抗性及其对策[J]. 生物技术,2000,10(5):27-31.
- [18] GROETERS F R, TABASHNIK B E, FINSON N, et al. Fitness costs of resistance to *Bacillus thuringiensis* in the diamondback moth [J]. Evolution, 1994, 48:197-201.

The Influence of *Bacillus thuringiensis* on the Growth and Development of *Plodia interpunctella* (Hübner) Larva

HUANG Yan-zhang LI Shi-guang WANG Zhuan-hong

College of Plant Protection, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China

Abstract The influence of *Bacillus thuringiensis* on the growth and development of *Plodia interpunctella* (Hübner) larva was reported in this research by applying half manual feedstuff mixed with drug. The result indicated that *Bacillus thuringiensis* didn't have obvious poison effect against *Plodia interpunctella* (Hübner) larva. When the dosage concentration was no more than 20 000 IU/g, the *Bacillus thuringiensis* didn't markedly affect the survival of *Plodia interpunctella* (Hübner) larva, which is similar to the contrast group at 7 days. At the same time, when the dose was no less than 2 500 IU/g, *Bacillus thuringiensis* could markedly restrain the pupate and eclosion action of this pest.

Key words *Bacillus thuringiensis*; *Plodia interpunctella* (Hübner); growth and development

(责任编辑:陈红叶)