

低温条件下苏云金芽孢杆菌增效剂的研究

阿地力·沙塔尔¹, 张永安^{2*}, 王玉珠²

(1. 新疆农业大学林学院, 新疆 乌鲁木齐 830052; 2. 中国林业科学研究院森林生态环境与保护研究所, 北京 100091)

摘要: 通过向 Bt 制剂中添加蔗糖、糖精、维生素 C 和几丁质酶等物质后发现, 以上这些物质在一定的浓度范围内, 均有不同程度的刺激昆虫取食及提高 Bt 制剂杀虫效果的作用。其中糖精 $0.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 试验所设置的 15、20、25 °C 条件下, 刺激昆虫取食及提高 Bt 制剂杀虫效果的作用明显好于其它物质, 与单用 Bt 相比, 杀虫效果分别提高了 39.9%、42.8% 和 29.4%。此外, 增效剂的加入有利于加快 Bt 制剂的杀虫速度, 提高害虫的早期死亡率。

关键词: 苏云金杆菌; 增效剂; 低温条件

中图分类号: S767.3 文献标识码: A

Research on Synergist of *Bacillus thuringiensis* at Low Temperature

ADIL·Sattar¹, ZHANG Yong-an², WANG Yirzhu²

(1. Department of Forestry, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, Xinjiang, China;

2. Research Institute of Forest Ecology, Environment and Protection, CAF, Beijing 100091, China)

Abstract: Sucrose, gluside, vitamin C and chintinase were used as synergists in the study. They could stimulate insects to eat and increase insecticidal activity of Bt in certain concentration. When gluside was mixed into Bt in the concentration of $0.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ under 15 °C, 20 °C, and 25 °C, the insecticidal activities were 39.9%, 42.8%, 29.4% respectively, higher than that of Bt used only. Moreover, compared with other additives it could stimulate insect to eat and increase insecticidal activity significantly. Besides, these synergists could increase the speed of killing larvae by Bt.

Key words: *Bacillus thuringiensis*; synergist; low temperature condition

Bt 制剂是目前世界上研究最深入、产量最大、应用最广泛的微生物杀虫剂。由于 Bt 对环境无污染、对其它生物比较安全, 因此在害虫的可持续控制及生物多样性保护方面发挥着重要的作用。

在林业生产实践中用 Bt 制剂防治我国北方地区早春发生的松毛虫 (*Dendrolimus* spp.)、春尺蠖 (*Apocheima cinerarius* Erschoff)、舞毒蛾 (*Lymantria dispar* L.)、梦尼夜蛾 (*Orthosia inceta* Hüfnagel)、黄褐天幕毛虫 (*Malacosoma neustria testacea* Motschulsky) 等害虫时, 还存在着防效不稳定、杀虫速度慢等问题。其主要原因是 Bt 本身对幼虫的取食有抑制作用, 使目标昆虫的取食行为发生改变, 表现出少取食或拒

食现象^[1, 2]。其次, 昆虫在低温条件下取食量和新陈代谢水平下降、食菌量减少、肠道酶的活性降低等因素, 使 Bt 晶体降解为有毒物质的量及对昆虫中肠的破坏性减少, 从而导致害虫死亡率降低、死亡时间延长。

关于 Bt 杀虫剂增效途径方面研究的报道较多^[3-7], 但如何在低温条件下提高 Bt 杀虫剂的杀虫效果方面的研究, 国内外报道的不多。1971 年 Smimoff 首次在 Bt 杀虫剂中添加微量的几丁质酶防治云杉色卷蛾 (*Choristoneura fumiferana* Clemens) 幼虫, 与单用 Bt 杀虫剂相比, 在低温条件下加速幼虫死亡, 效果十分明显, 低于 20 °C, 效果则差^[8, 9]。国

收稿日期: 2004 06 09

基金项目: 国家“十五”攻关“林木病虫害环境协调性农药及其航空喷洒技术研究”(2001BA509B12)

作者简介: 阿地力·沙塔尔(1968—), 男, 维吾尔族, 新疆莎车人, 硕士。

* 通讯作者: 张永安(1959—), 男, 研究员, 主要从事昆虫病原微生物研究, 中国林科院森森保所 65#。

内赵同海等室内研究发现环境温度 20 ℃为界限, 等于或高于 20 ℃, Bt 杀虫剂对 2 龄棉铃虫 (*Helicoverpa armigera* Hübner) 幼虫的杀死效果明显^[10]。张永安等通过 6 种 Bt 产品在 15、20、27 ℃条件下感染油松毛虫 (*Dendrolimus punctatus tabulaformis* Tsai et Liu) 试验, 结果发现, 20 ℃以下时, 温度对 Bt 的杀虫效果影响显著, 平均每降低 1 ℃, 试虫死亡率下降 6.4%。低温条件下, 增加 Bt 使用剂量并不能提高杀虫效果^[11]。因此, 如何在低温条件下提高 Bt 杀虫剂的杀虫效果, 是目前防治我国发生面积最大、种类最多而且危害最严重的林业食叶害虫急需解决的问题, 在害虫可持续控制方面具有重要的实践意义。

1 材料

1.1 供试 Bt 制剂及昆虫

Bt 悬浮剂(山东鲁抗生物农药厂生产), 毒力效价为 4 000 IU·mL⁻¹。以室内人工饲养的棉铃虫 2~3 龄幼虫作供试虫。

1.2 人工饲料、培养基及供试药剂

棉铃虫人工饲料(由北京中林恩多威生物技术有限公司提供)、PDB 培养基、几丁质、蔗糖、糖精(甜度为蔗糖的 500 倍, 天津糖精厂生产)、大豆色拉油、甘油、维生素 C、几丁质酶(粉拟青霉在 PDB+ 1% 几丁质的液体培养基里发酵所获得)、粉拟青霉 (*Pae-cilomyes farinosus* (Dicks.) Brown et Smith) 粗提液。

2 方法

2.1 增效剂的初选

用 100 mL 无菌水按 1% (固体物质 10 g·L⁻¹、液体物质 10 mL·L⁻¹) 比例配制 7 种增效剂药液, 以移液枪吸取 Bt 制剂 0.25 mL, 分别加入到增效剂药液之中, 配制 7 种 400 倍的 Bt 增效剂混悬液。将饲料块浸泡到 Bt 增效剂混悬液中 0.5 min 取出晾干后, 置于养虫杯内供已称好体质量的 2 龄幼虫取食(每头幼虫单独饲养)。添加剂每处理 3 个重复, 每个重复 20 头幼虫, 设不加添加剂的同浓度 Bt 为对照 1, 无菌水处理为对照 2; 处理完毕后置于 25 ℃培养箱内饲养。

2.2 增效剂的复选

根据初选中的供试幼虫死亡率和取食量选择出 4 种有增效作用的增效剂, 在初选的浓度基础上再分别设 3 个浓度梯度, 配制不同浓度梯度的 400 倍 Bt 增效剂混悬液。将饲料块和幼虫按 2.1 中的方法做同样处理, 处理完毕后分别置于 15、20、25 ℃培养

箱内饲养。

2.3 结果检查

在 15、20、25 ℃培养箱内饲养 48 h 后检查供试幼虫的死亡情况, 之后再取出各处理的活幼虫称其体质量并统计死亡虫数(死亡虫数每天统计 1 次, 直到第 10 天)。计算出死亡率和校正死亡率。

3 结果与分析

3.1 增效剂的初选结果与分析

将 7 种增效剂按 2.1 方法配制 Bt 增效剂混悬液, 并用此液处理人工饲料, 在 25 ℃条件下对棉铃虫幼虫进行了死亡率的增效试验, 结果见表 1。

表 1 25 ℃条件下各种添加剂对 Bt 杀虫效果的影响

增效剂	供试虫/头	校正死亡率/%	体质量增加量/(mg·头 ⁻¹)
Bt+ 蔗糖	60	78.4	10.0
Bt+ 糖精	60	54.7	12.1
Bt+ 大豆色拉油	60	72.9	5.4
Bt+ 甘油	60	61.9	14.6
Bt+ 维生素 C	60	74.6	13.9
Bt+ 几丁质酶	60	83.8	6.1
Bt+ 粉拟青霉粗提液	60	72.9	9.9
(Bt, 对照 1)	60	65.5	9.5
(无菌水, 对照 2)	60		50.8

由表 1 可知, 从体质量平均增加量可看出, 糖精、甘油、维生素 C 等有明显的刺激取食作用, 与 Bt 单用的相比分别高出 2.6、5.1、4.4 mg·头⁻¹。蔗糖对幼虫体质量增加量影响不太显著。而几丁质酶所处理的幼虫体质量平均增加量与 Bt 单用的相比低了 3.4 mg·头⁻¹。

从死亡率看, 所测的 7 种增效剂中除糖精外, 都有不同程度的增效作用, 其中蔗糖、维生素 C、几丁质酶等的效果最明显, 与 Bt 单用的校正死亡率相比分别高出 12.9%、9.1% 和 18.8%。糖精在 1% 的浓度下表现了拮抗作用, 即校正死亡率与 Bt 单用的相比下降了 10.8%。这可能是浓度过高而导致的。根据死亡率和幼虫体质量增加量等指标, 把蔗糖、糖精、维生素 C 和几丁质酶等物质确定为复选的增效剂。

3.2 增效剂的复选结果与分析

对初选中表现出增效作用的 4 种物质按 2.2 的方法处理进行复选。

3.2.1 增效剂对幼虫体质量的影响 由表 2 可知, 15 ℃条件下 4 种增效剂的 3 种浓度水平在一定程度上消除了 Bt 对幼虫取食的抑制, 其中糖精 0.2 g·

L^{-1} 水平的体质量增加量最为明显,其次为维生素 C 的 $10 g \cdot L^{-1}$ 水平的浓度。蔗糖 $10 g \cdot L^{-1}$ 水平的体质量增加量比较差。但是与对照相比,4 种增效剂的任何一种浓度水平下 2 d 内的幼虫体质量增加量处于负增长的趋势。

20 °C 条件下 4 种增效剂中糖精 $0.2 g \cdot L^{-1}$ 浓度对幼虫取食的刺激作用非常明显,幼虫的平均体质量增加量达 $6.2 mg \cdot 头^{-1}$,在所有处理中最高。维生素 C $30 g \cdot L^{-1}$ 浓度为次,体质量增加量为 $5.9 mg \cdot 头^{-1}$ 。蔗糖在 3 种浓度水平下出现了幼虫体质量增加量随浓度的增加而增加的趋势。糖精 $10 g \cdot L^{-1}$ 浓度下幼虫的平均体质量增加量出现了负增长,与单用 Bt 相比体质量增加量低于 $0.5 mg \cdot 头^{-1}$,反而起了拮抗作用。维生素 C 和几丁质酶在 $50 g \cdot L^{-1}$ 浓度下幼虫体质量增加量与 $30 g \cdot L^{-1}$ 浓度相比分别下降了 $3.2 mg \cdot 头^{-1}$ 和 $4.9 mg \cdot 头^{-1}$,这可能是浓度过高饲料变酸而抑制幼虫取食,或者抑制幼虫正常生长发育所导致的。

25 °C 条件下 4 种增效剂在高浓度下对幼虫都有很强的抑制取食作用,即幼虫的体质量增加量普遍下降,与单用 Bt 相比其下降量 $5.2 \sim 7.9 mg \cdot 头^{-1}$ 左右。对幼虫取食刺激作用最显著的浓度是蔗糖、维生素 C、几丁质酶的 $30(g \cdot L^{-1}$ 或 $mL \cdot L^{-1})$ 和糖精 $0.2 g \cdot L^{-1}$ 浓度。这说明在对昆虫生长发育适宜的温度范围内,4 种增效剂的浓度超过最大增效浓度临界时,不但不能起到增效作用反而抑制昆虫取食。

表 2 4 种增效剂在 3 种温度条件下对幼虫体质量的影响

增效剂	增效剂 浓度	不同温度下 2 d 内幼虫的体质量 平均增加量/($mg \cdot 头^{-1}$)		
		15 °C	20 °C	25 °C
Bt+ 蔗糖	$10 g \cdot L^{-1}$	- 2.3	- 0.4	10.0
	$30 g \cdot L^{-1}$	- 0.7	0.5	19.6
	$50 g \cdot L^{-1}$	- 1.6	1.3	4.3
Bt+ 糖精	$0.2 g \cdot L^{-1}$	- 0.2	6.2	14.7
	$1 g \cdot L^{-1}$	- 0.8	2.0	12.1
	$10 g \cdot L^{-1}$	- 1.0	- 1.5	2.1
Bt+ 维生素 C	$10 g \cdot L^{-1}$	- 0.5	0.7	13.9
	$30 g \cdot L^{-1}$	- 0.6	5.9	17.5
	$50 g \cdot L^{-1}$	- 0.8	2.7	1.6
Bt+ 几丁质酶	$10 mL \cdot L^{-1}$	- 0.6	1.6	6.1
	$30 mL \cdot L^{-1}$	- 0.7	5.2	14.1
	$50 mL \cdot L^{-1}$	- 1.4	0.3	2.6
(Bt, 对照 1)		- 2.9	- 1.0	9.5
(无菌水, 对照 2)		19.1	23.4	50.8

3.2.2 增效剂对杀虫效果的影响 从表 3 看, 15 °C

条件下不仅 4 种增效剂之间的增效差异非常显著,而且同种增效剂不同浓度之间的增效差异也非常显著。糖精 $0.2 g \cdot L^{-1}$ 和几丁质酶 $50 mL \cdot L^{-1}$ 浓度水平的幼虫校正死亡率达 70%, 与单用 Bt 相比幼虫校正死亡率提高了 40%。维生素 C $10 g \cdot L^{-1}$ 的浓度水平为最差,与单用 Bt 相比没有增效作用。

20 °C 条件下 4 种增效剂不同浓度之间对 Bt 增效作用的差异非常显著。其中糖精随浓度的增加其增效作用减弱,甚至丧失,即 $0.2 g \cdot L^{-1}$ 浓度下校正死亡率达 83.9%,比单用 Bt 相比提高了 42.8%,而 $10 g \cdot L^{-1}$ 浓度下校正死亡率才 35.7%,比单用 Bt 相比校正死亡率下降了 5.3%。维生素 C 和几丁质酶 $30 mL \cdot L^{-1}$ 、 $50 mL \cdot L^{-1}$ 浓度下增效作用一样,蔗糖 $50 mL \cdot L^{-1}$ 浓度下的校正死亡率比 $30 mL \cdot L^{-1}$ 浓度下的下降了 14.1%。这说明增效剂的增效作用不能随浓度的增加而增加,反而降低了增效作用。

表 3 4 种增效剂在 3 种温度下对 Bt 杀虫效果的影响

增效剂	浓度	供试虫/ 头	校正死亡率/%		
			15 °C	20 °C	25 °C
Bt+ 蔗糖	$10 g \cdot L^{-1}$	60	37.9	53.7	78.2
	$30 g \cdot L^{-1}$	60	48.3	67.8	83.6
	$50 g \cdot L^{-1}$	60	39.7	53.7	76.3
Bt+ 糖精	$0.2 g \cdot L^{-1}$	60	70.6	83.9	94.5
	$1 g \cdot L^{-1}$	60	56.9	73.2	87.2
	$10 g \cdot L^{-1}$	60	37.9	35.7	54.2
Bt+ 维生素 C	$10 g \cdot L^{-1}$	60	31.0	39.2	73.8
	$30 g \cdot L^{-1}$	60	46.6	69.7	76.3
	$50 g \cdot L^{-1}$	60	41.4	69.7	78.2
Bt+ 几丁质酶	$10 mL \cdot L^{-1}$	60	48.3	44.7	89.1
	$30 mL \cdot L^{-1}$	60	67.2	73.2	83.6
	$50 mL \cdot L^{-1}$	60	70.7	73.2	85.4
(Bt, 对照 1)		60	30.7	41.1	65.1

在 25 °C 条件下 4 种增效剂的 3 种浓度(除了糖精 $10 g \cdot L^{-1}$ 外)对 Bt 均有不同程度的增效作用,其中糖精 $0.2 g \cdot L^{-1}$ 的增效作用最为显著,校正死亡率达 94.5%,与单用 Bt 相比校正死亡率提高了 29.4%。而糖精 $10 g \cdot L^{-1}$ 浓度校正死亡率才 54.2%,与单用 Bt 相比下降了 10.9%。这说明糖精高浓度的加入反而降低了 Bt 的杀虫效果。其它 3 种增效剂不同浓度水平对 Bt 的增效作用差异不太显著,变化幅度 4.4%~ 7.3% 左右。

3.2.3 增效剂对死亡速度的影响 从表 4 看出, Bt + 糖精($0.2 g \cdot L^{-1}$) 的浓度 15、20、25 °C 条件下与单用 Bt 相比,其致死中时间(LT50 值)分别提前 2、3、2

d. 通过添加增效剂可以提高 Bt 的速效性。

表 4 Bt+ 糖精($0.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 和 Bt 致死中时间(LT50 值)

药剂	d		
	15 °C	20 °C	25 °C
Bt+ 糖精	6.75	4.39	3.29
(Bt, 对照 1)	8.75	8	5.76

4 结论与讨论

(1) 试验所测的蔗糖、糖精、维生素 C 和几丁质酶等在 3 种温度条件下均有不同程度的刺激昆虫取食的作用, 这种取食刺激作用在一定的浓度范围内, 随温度的升高显得更加明显。其中糖精 $0.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 不管是哪一种温度条件下它的刺激取食作用明显好于其它物质。

(2) 供试的 4 种添加剂在一定的浓度范围内, 均可以不同程度地提高 Bt 的杀虫效果, 其中糖精 $0.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度下对 Bt 的增效作用非常显著。在 15、20、25 °C 条件下, 与单用 Bt 相比, 杀虫效果分别提高了 39.9%、42.8% 和 29.4%。试验所设置的浓度范围内, 糖精浓度与死亡率之间呈负相关。

(3) 试验证明: 在能够起到增效作用的浓度范围内, 增效剂的加入有利于加快 Bt 的杀虫速度, 提高害虫的早期死亡率, 这可以减少害虫对作物造成的损失, 在实际应用中具有一定的意义。

(4) 在试验所设置的浓度范围内, 糖精的浓度与死亡率之间成反比的关系, 即糖精 $0.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度下增效作用最好, 糖精 $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 效果则不好。因此在

今后的研究中需要再设置更多的浓度梯度, 找出最佳的浓度。

(5) 试验中发现几丁质酶处理的幼虫, 不管是在低温还是在适温条件下生长发育明显迟缓于其它处理组。这与几丁质酶破坏昆虫中肠围食膜的几丁质组分有关。

参考文献:

- [1] 马骁、王富明. 苏云金杆菌对柑桔凤蝶取食量和生长发育的影响[J]. 广西植保, 2001, 14(2): 126~ 128
- [2] 喻子牛. 苏云金芽孢杆菌制剂的生产和应用[M]. 北京: 农业出版社, 1993
- [3] 温志强, 黄必旺, 吴小平. 无机化学添加剂与 Bt 混合对小菜蛾杀虫效果的影响[J]. 福建农业大学学报, 1999, 28(3): 1~ 5
- [4] 王明道, 君新明, 郭线茹, 等. 无机盐对 Bt 制剂防治棉铃虫的增效作用研究[J]. 河南农业大学学报, 1999, 33(2): 186~ 189
- [5] 尹新明, 郭线茹, 贾新成, 等. 提高苏云金杆菌对棉铃虫毒力的研究[J]. 华北农学报, 1999, 14(2): 1~ 5
- [6] 袁哲明, 孟小林, 欧洋, 等. 取食刺激物对病毒和苏云金杆菌的增效作用[J]. 武汉大学学报, 1998, 44(杀虫微生物专刊): 45~ 47
- [7] 邹华娇, 邱思鑫, 赵士熙. 添加剂对苏云金杆菌制剂杀虫效果的影响[J]. 华东昆虫学报, 2002, 11(2): 105~ 109
- [8] Smimoff W A. Effect of chitinase on the action of *Bacillus thuringiensis* [J]. Can Entomologist, 1971, 103: 1829~ 1831
- [9] 邱立友. 微生物几丁质酶与害虫防治[J]. 河南农业大学学报, 1995, 29(2): 184~ 191
- [10] 赵同海, 张永安, 王玉珠, 等. 温度对 Bt 杀虫剂杀虫效果的影响[J]. 林业科技通讯, 1999(10): 26~ 28
- [11] 张永安, 王玉珠, 赵同海. 六种 Bt 产品杀虫效果比较[J]. 中国森林病虫, 2001(2): 12~ 14