

鳞柄白毒鹅膏菌和毒芹的复合毒素粗提物对杨干象的毒效

任怡桐, 杨绍斌 (沈阳大学生命科学与工程学院, 辽宁沈阳 110044)

摘要 [目的]探讨鳞柄白毒鹅膏菌和毒芹的毒素粗提物的复合物对杨干象的毒杀效果,为微生物杀虫剂的开发与利用提供理论依据。[方法]采用穿孔法测定不同浓度鳞柄白毒鹅膏菌、毒芹的毒素粗提物及二者的复合物对杨干象的毒杀效果。[结果]鳞柄白毒鹅膏菌和毒芹的毒素粗提物及二者的复合物均对杨干象具有毒杀作用。施药 24 h 后,鳞柄白毒鹅膏菌和毒芹的毒素粗提物对杨干象都有显著毒杀效果,最高浓度时杀虫率分别达 81.10% 和 84.43%,后者的毒杀效果明显优于前者。鳞柄白毒鹅膏菌和毒芹的毒素粗提物的复合物在 48 h 内可达到 100% 的杀虫率,该复合物对杨干象在 12、24、48、72 h 的半致死浓度(LC_{50})分别是 74.669、56.123、45.343、39.115 mg/mL。[结论]鳞柄白毒鹅膏菌和毒芹的毒素粗提物的复合物作为一种复合微生物杀虫剂,对杨干象有显著的防治效果。

关键词 杨干象;鳞柄白毒鹅膏菌;毒芹;微生物杀虫剂;半数致死浓度;毒效

中图分类号 S763.38 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2016)18-150-02

Toxic Effects of Composite Toxin Crude Extracts of *Amanita virosa* and *Cicuta virosa* L. on *Cryptorhynchus lapathi* L.

REN Yi-tong, YANG Shao-bin (College of Life Science and Engineering, Shenyang University, Shenyang, Liaoning 110044)

Abstract [Objective] To discuss the toxic effects of composite toxin crude extracts of *Amanita virosa* and *Cicuta virosa* L. on *Cryptorhynchus lapathi* L., and to provide new theoretical foundation for the development and utilization of microbial pesticide. [Method] We detected the toxic effects of toxin crude extracts of *A. virosa* and *C. virosa* and the composite of the two on *C. lapathi*. [Result] Crude extracts of *A. virosa* and *C. virosa* and the composite of the two had toxic effects on *C. lapathi*. After administration for 24 h, crude extracts of *A. virosa* and *C. virosa* had significant toxic effects on *C. lapathi*. The killing rates reached 81.10% and 84.43%, respectively, at the highest concentration. The toxic effects of the latter was superior to that of the former. Composite of the two reached 100% killing rate within 48 h. Semi-lethal concentrations (LC_{50}) at 12, 24, 48 and 72 h were 74.669, 56.123, 45.343 and 39.115 mg/mL, respectively. [Conclusion] Composite of the crude extracts of *A. virosa* and *C. virosa* has significant control effects on *C. lapathi* as a kind of compound microbial pesticide.

Key words *Cryptorhynchus lapathi* L.; *Amanita virosa*; *Cicuta virosa* L.; Microbial pesticide; Semi-lethal concentration; Toxicity test

杨干象(*Cryptorhynchus lapathi* L.)隶属鞘翅目象虫科,分布于中国的辽宁、黑龙江、河北和新疆维吾尔自治区等地区,以及美国、前苏联、斯洛伐克、意大利、加拿大等国家。在国内杨干象寄主以甜杨、中东杨、白城杨等为主。杨干象是国家级检疫性蛀干有害生物之一,暴发迅猛极其不易防治。幼虫和卵生长隐蔽,会切断树木的输导组织造成蛀蚀危害,使杨树大量干部枯干或整株死亡^[1]。

迄今为止,已有大量防治杨干象的研究报道。苗建才等^[2]将氧化乐果加工成微胶囊缓释剂对杨干象进行防治。尚海庆等^[3]通过研究发现,水剂注射法防治杨干象幼虫的效果最好,涂毒环阻隔法防治杨干象成虫的效果较好。有大量研究表明大型毒蕈对昆虫有毒杀作用,陈琳等^[4]发现褐鳞环柄菇对二斑叶螨有较明显的毒杀作用。唐冠忠^[5]在幼虫危害期采用毛笔点涂法,成虫期采用阻隔法进行防治,可减轻杨干象危害。许国民等^[6]发现在杨干象成虫始化期采取 350 mL 2.5% 溴氰菊酯加 10 kg 废机油混合剂涂毒环阻隔法的防治效果较好^[6]。鉴于前人对杨干象和大型毒蕈的研究,笔者对鳞柄白毒鹅膏菌和毒芹的毒素粗提物进行复合,研究其对蛀干害虫杨干象的毒杀效果,旨在寻找一种新的安全有效且环境友好型的杀虫剂。

1 材料与方法

1.1 试验地概况 选取辽宁省康平市二牛所口镇防风林作为试验点,试验树种为北京杨和白杨,2~5 年生幼树,平均胸

径为 8.05 cm。随机抽样调查 20 株,有虫率达 73%。

1.2 材料

1.2.1 供试昆虫。杨干象在辽宁 1 a 发生 1 代,以卵或 1 龄幼虫在寄主枝干上越冬。翌年 4 月中旬越冬幼虫开始活动,卵也进入孵化盛期。5 月中下旬在坑道末端向木质部钻蛀羽化孔道,并在孔道末端做一椭圆形蛹室,用细木屑封闭孔口并化蛹。成虫在辽宁 6 月中旬开始羽化。

在试验林中用肉眼观察高 1.0~1.5 m 有“点状孔”流出树汁液,通常会招引蚂蚁、苍蝇等昆虫吸食树汁。剖开该部位的树皮韧皮部和木质部之间出现横向蛀道,间或出现 2~3 龄幼虫活体^[7]。采用五点取样法进行采样并做好标记。

1.2.2 供试大型真菌与植物。试验所用植物与大型真菌于 2015 年 6~8 月采于辽宁省沈阳市棋盘山风景区和东陵后山,经辽宁省农业科学院食用菌所刘俊杰教授鉴定并参照相关文献进行比较确认^[8]。共采集到大型真菌 8 种,分别是鳞柄白毒鹅膏菌(*Amanita virosa* Lam.: Fr.)、金粒蜡伞[*Hygrophorus chrysodon* (Batsch) Fr.]、白黄侧耳[*Pleurotus cornucopiae* (Paul.: Pers.) Rolland]、粉色小菇[*Mycena rosea* (Bull.) Gramberg]、小白杯伞[*Clitocybe candicans* (Pers.: Fr.) Kummer.]、褐鳞环柄菇[*Lepiota helveola* Bres.]、絮边蘑菇[*Agaricus subfloccosus* (Lange) Pilat]、小牛肝菌[*Boletinus paluster* (peck) peck]。对 8 种大型真菌提取物进行筛选预试验,利用提取物对杨干象进行相同浓度下 48 h 毒杀试验,试验结果表明鳞柄白毒鹅膏菌提取物对杨干象的灭杀效果最好,所以选用鳞柄白毒鹅膏菌进行复合毒杀试验。

共采集到植物 5 种,分别是毒芹(*Cicuta virosa* L.)、白皮松(*Pinus bungeana* Zucc.)、毛白杨(*Populus tomentosa*

基金项目 辽宁省沈阳市科技计划项目(F13-261-9-00)。
作者简介 任怡桐(1990-),女,辽宁沈阳人,硕士研究生,研究方向:微生物资源与利用。
收稿日期 2016-04-13

Carr.)、甘野菊[*Dendranthema boreale* (Makino) Ling]、苦苣菜(*Sonchus oleraceus* L.)。对 5 种植物乙醇提取物进行筛选试验,利用提取物对杨干象进行相同浓度下 48 h 毒杀试验,结果表明芹乙醇提取物对杨干象的灭杀效果最好,所以选用毒芹进行复合毒杀试验。

1.2.3 引诱剂。试验采用菌糠添加甜蜜素作为引诱剂。菌糠因所栽培的食用菌种类不同而具有不同的组成成分,试验选择食用菌杏鲍菇菌糠作为引诱剂。菌糠由辽宁省沈阳菌蕈保健品有限公司提供,选择无霉无虫的洁净菌筒进行干燥粉碎,过 20 目筛,并喷洒适量甜蜜素进行充分拌和,制成引诱剂备用。

1.3 方法

1.3.1 提取物的制备。将毒芹全草剪切后放入鼓风干燥箱中干燥至恒重,用中草药粉碎机粉碎,过 40 目筛。将粉状物与 95% 乙醇按质量比 1:4 混合装入溶剂瓶。在振荡培养箱内振荡提取 96 h 后用真空泵抽滤,滤液经旋转蒸发仪蒸发后鼓风干燥至恒重,制得毒芹粗提物 A 备用。

将鳞柄白毒鹅膏菌的子实体进行固体 PDA 培养基扩繁培养,分离菌落接种到液体培养基中摇床培养,在培养约 7 d 后进行超声波细胞破碎,对破碎后的发酵液离心取上清液,进行旋转蒸发浓缩得到浓缩液。将浓缩液放入蒸发皿中置于干燥箱内干燥至恒重,制得鳞柄白毒鹅膏菌粗提物 B 备用。

1.3.2 药泥的制备。将配制好的毒芹粗提物 A 和鳞柄白毒鹅膏菌粗提物 B 分别与引诱剂充分拌合,制成含水量 60% ~ 65% 的 A 药泥和 B 药泥。试验前 6 h 将 A 药泥和 B 药泥分别制作完成,置于 10 ℃ 以下密封保存备用。

1.3.3 毒杀试验。

1.3.3.1 毒芹粗提物 A 药泥对杨干象幼虫的毒杀试验。设 5 个浓度处理组:1.4、2.1、2.8、3.5、4.2 mg/mL。采用堵孔法:先向 A 药泥中加入 0.5 mL 95% 乙醇使其溶解,再用蒸馏

水稀释搅拌成泥状,然后在已标记的树木上寻找蛀道,用试验药泥填满蛀道并用宽薄膜封缝,防止药泥干燥脱落。同一浓度药泥采用 30 头幼虫进行试验,挂签做好标记。杀虫效果检验方法采用观察幼虫情况,以虫体不蠕动、变瘪、呈黄褐色判定死亡。

1.3.3.2 鳞柄白毒鹅膏菌粗提物 B 药泥对杨干象幼虫的毒杀试验。设 5 个处理组 14.0、28.0、42.0、56.0、70.0 mg/mL)。试验步骤与毒芹粗提物 A 相同。

1.3.3.3 鳞柄白毒鹅膏菌和毒芹的复合毒素粗提物对杨干象幼虫的毒杀试验。用毒芹粗提物 A 药泥与鳞柄白毒鹅膏菌粗提物 B 药泥按 100:1 混合,设 5 个处理组:14.0、28.0、42.0、56.0、70.0 mg/mL)。设置蒸馏水作为对照组。

试验时间在 5 月 13 ~ 25 日进行 3 次重复试验,平均环境温度(25 ± 3)℃,湿度为 50% ± 10%,光暗周期 13/11 h。药后 12、24、48、72 h 分别观察 11 棵标记树木孔洞中的杨干象死亡情况,计算校正死亡率。

1.4 数据处理 应用 SPSS 19.0 软件分别计算毒芹和鳞柄白毒鹅膏菌的毒素粗提物对杨干象的致死浓度(LC₅₀)和回归方程。

校正死亡率 = (处理死亡率 - 对照死亡率)/(1 - 对照死亡率) × 100%

死亡率 = 毒杀致死虫数/试验前总虫数 × 100%

2 结果与分析

2.1 毒芹、鳞柄白毒鹅膏菌的毒素粗提物及二者混合物对杨干象的灭杀效果 由表 1 可知,在相同浓度梯度下杨干象死亡数量随着毒芹、鳞柄白毒鹅膏菌提取物及二者混合物对杨干象作用时间延长而增长。在相同时间范围内杨干象死亡数量随着毒芹、鳞柄白毒鹅膏菌提取物及二者混合物浓度的增加而增长。在相同条件下,毒芹、鳞柄白毒鹅膏菌提取物及二者混合物对杨干象的灭杀效果不同,说明毒芹、鳞柄白毒鹅膏菌提取物及二者混合物对杨干象的灭杀作用有差异。

表 1 不同浓度的毒芹、鳞柄白毒鹅膏菌的毒素粗提物及二者混合物对杨干象的灭杀效果
Table 1 Killing effects of the toxin crude extracts of *A. virosa* and *C. viros* and the composite of the two on *C. lapathi*

提取物 Extracts	浓度 Concentration mg/mL	平均死亡数 Average death number//头			
		12 h	24 h	48 h	72 h
毒芹毒素粗提物 Crude extracts of <i>C. viros</i>	1.4	3.67	5.67	8.33	9.67
	2.1	8.67	11.67	13.33	17.33
	2.8	12.33	14.33	19.33	26.33
	3.5	17.67	22.33	26.67	28.33
	4.2	21.67	25.33	29.67	30.00
	14.0	0.33	1.33	3.67	6.33
鳞柄白毒鹅膏菌毒素粗提物 Crude extracts of <i>A. virosa</i>	28.0	2.33	4.67	7.67	12.33
	42.0	4.67	6.33	13.67	18.67
	56.0	7.33	13.67	20.67	24.33
	70.0	18.33	24.33	28.67	30.00
	14.0	3.33	6.33	9.33	12.33
	8.0	8.67	12.33	13.33	16.33
复合混剂 Composite coagulant	42.0	13.33	17.67	20.33	27.33
	56.0	16.33	21.67	26.33	30.00
	70.0	23.67	28.33	30.00	30.00
	蒸馏水 Distilled water	0	0.33	0.33	1.33

使图像能最大程度地反映黄瓜真实颜色,提高判别结果的准确度。

参考文献

[1] 张宏军,于建新. 温室黄瓜早衰与再生根的培养[J]. 当代蔬菜,2006(12):34.

[2] 应以斌,饶秀勤,赵匀,等. 机器视觉技术在农产品品质自动识别中的应用[J]. 农业工程学报, 2000, 16(1):103-108.

[3] ARIANA D,LU R. Detection of mechanical injury on pickling cucumbers using near - infrared hyper spectral imaging [J]. Computer and electronics in agriculture, 2006, 53:60-70.

[4] 王红永,曹其新,刘文秀,等. 基于神经网络的黄瓜等级判别[J]. 农业机械学报,1999,30(6):83-88.

[5] 袁挺,张俊雄,李伟,等. 基于机器视觉的非结构环境下黄瓜目标特征识别[J]. 农业机械学报,2009(8):170-174.

[6] 冯青春,袁挺,纪超,等. 黄瓜采摘机械臂结构优化与运动分析[J]. 农业机械学报,2010(S1):244-248.

[7] 方如明. 计算机图像处理与米的品质检测[J]. 农业工程学报,1992,

8(3):2299-2308.

[8] 李峰嵘,刘晓平,李自元,等. 图像分割多阈值法研究[J]. CT 理论与应用研究,2006(4):13-17.

[9] 张鹏,秦志伟,王丽莉,等. 黄瓜果实弯曲性遗传分析[J]. 东北农业大学学报,2010(1):29-33.

[10] 许晓丽,卢志茂,张格森,等. 改进近邻传播聚类的彩色图像分割[J]. 计算机辅助设计与图形学学报,2012,24(4):514-519.

[11] 赵静,何东健. 果实形状的计算机识别方法研究[J]. 农业工程学报, 2001,3(2):165-167.

[12] 张书慧,陈晓光,张晓敏,等. 苹果、桃等农副产品品质检测与分级图像处理系统的研究[J]. 农业工程学报,1999,15(1):201-204.

[13] 黄星奕,吴守一,方如明,等. 计算机视觉技术在大米胚芽识别中的应用[J]. 农业机械学报,2000,31(1):62-65.

[14] 应义斌,景寒松,马俊福. 利用计算机视觉进行黄花梨果梗识别的新方法[J]. 农业工程学报,1998,14(2):221-225.

[15] 王贺,白廷柱. 基于直觉模糊集的红外图像伪装评价研究[J]. 红外技术,2012(3):181-184.

(上接第 151 页)

2.2 毒芹、鳞柄白毒鹅膏菌的毒素粗提物及二者混合物对杨干象的毒力 分析鳞柄白毒鹅膏菌、毒芹毒素粗提物和二者复合物对杨干象 12、24、48、72 h 毒力,发现 3 种试剂的毒力方程均能用线性回归方程表达(表 2),表明在同一时间段内,试虫死亡率与试剂浓度呈正相关。

鳞柄白毒鹅膏菌毒素粗提物对杨干象 12、24、48、72 h 的 LC_{50} 分别是 106.720、72.525、56.008、44.089 mg/mL。毒芹毒

素粗提物对杨干象 12、24、48、72 h 的 LC_{50} 分别是 84.877、71.219、57.628、43.350 mg/mL。鳞柄白毒鹅膏菌和毒芹复合毒素粗提物对杨干象 12、24、48、72 h 的 LC_{50} 分别是 74.669、56.123、45.343、39.115 mg/mL。由此可见,随着时间的延长,鳞柄白毒鹅膏菌、毒芹毒素粗提物以及二者毒素粗提物复合物对杨干象的 LC_{50} 呈下降趋势,而在相同时间段内,二者毒素粗提物复合物对杨干象的 LC_{50} 均最小,说明鳞柄白毒鹅膏菌、毒芹二者毒素粗提物复合物毒性最大。

表 2 毒芹、鳞柄白毒鹅膏菌的毒素粗提物及二者混合物对杨干象的 LC_{50}
Table 2 Detection results of LC_{50} of toxin crude extracts of *A. virosa* and *C. viros* and the composite of the two on *C. lapathi*

时间 Time//h	鳞柄白毒鹅膏菌 <i>A. virosa</i>			毒芹 <i>C. viros</i>			二者复合物 Composite of the two		
	回归方程 Regression equation	R^2	LC_{50} mg/mL	回归方程 Regression equation	R^2	LC_{50} mg/mL	回归方程 Regression equation	R^2	LC_{50} mg/mL
12	$y=0.006x-0.173$	0.764	106.720	$y=0.009x-0.249$	0.729	84.877	$y=0.011x-0.419$	0.764	74.669
24	$y=0.009x-0.245$	0.807	72.525	$y=0.010x-0.257$	0.778	71.219	$y=0.014x-0.416$	0.838	56.123
48	$y=0.011x-0.195$	0.920	56.008	$y=0.012x-0.246$	0.875	57.628	$y=0.014x-0.343$	0.802	45.343
72	$y=0.012x-0.128$	0.929	44.089	$y=0.012x-0.145$	0.947	43.350	$y=0.014x-0.264$	0.803	39.115

3 结论与讨论

对鳞柄白毒鹅膏菌、毒芹毒素粗提物和二者复合物对杨干象 12、24、48、72 h 的毒力进行研究,试验所用毒素粗提物复合物是质量比为 100:1 的鳞柄白毒鹅膏菌与毒芹提取物,70 mg/mL 的复合药剂 48 h 即可达到 100% 的杀虫率。其中,鳞柄白毒鹅膏菌与毒芹提取物的复合物对杨干象的毒杀效果最好,对杨干象在 12、24、48、72 h 的 LC_{50} 分别是 74.669、56.123、45.343、39.115 mg/mL,复合物用量越大,杀虫效果越好。

利用毒芹和鳞柄白毒鹅膏菌的毒素粗提物复合物对杨干象进行毒杀试验,可以寻找更好的生物源杀虫剂配方,为微生物杀虫剂的开发提供新的理论依据。微生物源杀虫剂可以通过大规模扩繁得到,制作成本较低。微生物源杀虫剂属于低毒杀虫剂,对人畜及环境的影响小,可在城市周边大范围使用,具有较好的应用前景。杨干象为全世界普遍且对

树木危害较大的有害昆虫,对其进行生物源杀虫剂研究,旨在寻找一种新的安全有效且环境友好型的杀虫剂。在后续试验中,需要对该试验所采用的大型真菌和植物提取物的有效成分进行深入研究。

参考文献

[1] 吴香. 杨树柱干害虫杨干象的防治措施[J]. 农业与技术,2014(7):53.

[2] 苗建才,迟德富,李清宇,等. 氧乐果微胶囊剂的制备及防治杨干象的研究[J]. 东北林业大学学报,1990(4):35-42.

[3] 尚海庆,王振. 不同施药方法防治杨干象效果比较[J]. 安徽农业科学, 2009(35):17557-17558.

[4] 陈琳,崔阳,杨绍斌. 褐鳞环柄菇毒素粗提物对二斑叶螨的毒性研究[J]. 广东农业科学,2011(22):71-72.

[5] 唐冠忠. 杨干象综合防治技术研究[J]. 河北林业科技,2005(2):1-3.

[6] 许国民,王树国,贾喜棉. 杨干象几种防治方法的效果对比[J]. 河北林果研究,2009(1):57-60.

[7] 林国玉,杜国兴. 浅谈杨干象防治技术[J]. 黑龙江科技信息, 2014(1):272.

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