

# 一株链霉菌发酵液的杀虫活性及稳定性研究

高 萍, 吴元华, 王 彭, 胡 强

(沈阳农业大学 植物保护学院 辽宁 沈阳 110161)

**摘 要:** 从土壤中分离得到一株放线菌菌株, 分别以叶片夹毒法和玻片浸渍法检测该菌株发酵液对小菜蛾和二斑叶螨的杀虫活性, 48 h 后校正死亡率分别为 71.7% 和 56%。通过对发酵液稳定性的初步研究, 结果表明: 发酵液中的活性物质在 60℃ 以下、偏酸性条件下比较稳定。是一株值得深入研究的杀虫抗生素生产菌株。

**关键词:** 链霉菌; 发酵液; 杀虫活性; 稳定性

**中图分类号:** S 482.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)10-0169-02

化学农药对于农业害虫的防治具有积极的作用, 但是长期大量的使用造成了环境污染和生态破坏, 并危害人类健康<sup>[1]</sup>。随着无公害蔬菜种植面积的不断扩大, 高效、低毒、安全的生物农药日益受到人们的青睐<sup>[2]</sup>。而杀虫抗生素作为一种理想的生物农药, 是一个具有广阔前景的新领域, 越来越受到世界各国的普遍重视<sup>[3-4]</sup>。

小菜蛾 (*Plutella xylostella* L.) 是十字花科蔬菜上最常见的主要害虫, 发生面积大, 世代重叠严重, 其防治已成为世界难题<sup>[5]</sup>。在进行杀虫抗生素的筛选过程中, 以小菜蛾为筛选靶标, 分离到了多株具有活性的放线菌。其中采自沈阳地区土壤中的链霉菌 SN336 菌株显示了较高的杀虫活性。对该菌株的杀虫活性及杀虫活性物质的稳定性进行了初步研究, 现报道如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试菌株

放线菌菌株 (*Streptomyces* SN336), 初步鉴定为金色链霉菌类群, 由实验室分离保存。

### 1.2 供试昆虫

小菜蛾 (*Plutella xylostella* L.) 2 龄幼虫, 养虫室内人工饲养。

二斑叶螨 (*Tetranychus urticae* Koch) 雌成螨, 养虫室内人工饲养。

### 1.3 发酵液的制备

1.3.1 发酵培养基配方 花生饼粉 2.5%、淀粉 5.0%、酵母粉 0.08%、葡萄糖 0.02% ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.08%、

$\text{CaCO}_3$  0.32%、NaCl 0.2%、pH 7.0 ~ 7.2。

1.3.2 培养条件 采用摇瓶发酵培养法, 每 250 mL 三角瓶装量 40 mL 发酵培养基, 摇床转速 180 ~ 220 r/min, 28℃ 振荡培养 5 d。

### 1.4 发酵液杀虫活性测定

1.4.1 叶片夹毒法检测发酵液对小菜蛾的杀虫活性 将小菜蛾 2 龄幼虫分放在试管中, 纱布封口, 每管 1 头, 1 次处理 20 头, 重复 3 次。饥饿 5 ~ 6 h 后, 以新鲜白菜叶制成的夹毒叶片饲喂, 每头试虫给一张夹毒叶片, 让其取食, 以点滴清水的圆叶片为对照, 放置在室温 23 ~ 25℃ 下的人工气候饲养箱饲养。分别于 24、48、72 h 后检查试虫生存或死亡情况并做计录。

1.4.2 玻片浸渍法检测发酵液对二斑叶螨的杀虫活性

采用 FAO1980 年推荐的玻片浸渍法<sup>[6]</sup>。用双面胶带纸贴在洁净的载玻片上, 夹去胶带上的纸片, 用零号毛笔轻轻挑起鲜活的二斑叶螨雌成螨粘附其上, 粘贴时要虫体背部粘胶, 肢体朝上可以活动。每玻片粘二斑叶螨 25 头, 重复 4 次。将粘有二斑叶螨的载玻片分别浸入发酵液中浸泡 5 s 后取出, 用滤纸吸去多余液体, 以粘螨玻片浸泡清水作为对照, 放置在室温 (23 ~ 25℃) 下的人工气候饲养箱饲养。分别于 24、48、72 h 后检查试虫生存或死亡情况并做计录。

### 1.5 发酵液杀虫活性稳定性研究

1.5.1 pH 稳定性试验 将发酵液 65 mL 用 1 mol/L HCl 和 1 mol/L NaOH 分别调整 pH 为 1、2、3、4、5、6、8、9、10、11、12、13 和 14 的溶液, 静置 24 h 后调回原始 pH 值 7, 并设原始 pH 值和清水为对照。采用浸渍法<sup>[7]</sup>接入小菜蛾 2 龄幼虫, 每皿 20 头, 重复 3 次, 放置在室温 23 ~ 25℃ 下的人工气候饲养箱饲养, 24、48、72 h 后记录死虫数量, 计算死亡率和校正死亡率。

1.5.2 热稳定性试验 将发酵液于 30、40、50、60、70、80、90、100℃ 下分别处理 1 h 后取出, 待冷却后进行杀虫

第一作者简介: 高萍 (1976-), 女, 辽宁 丹东人, 讲师, 博士, 主要从事农业昆虫及生物农药研究工作。E-mail: gpingh@163.com。

通讯作者: 吴元华。

基金项目: 辽宁省科技攻关资助项目 (2006215004); 沈阳 农业大学青年科研基金资助项目 (2005040)。

收稿日期: 2008-04-23

活性测定。测定方法同上。

2 结果与分析

2.1 发酵液对小菜蛾的杀虫活性

72 h 后, 发酵液对小菜蛾的校正死亡率达到 71.7%, 表明该菌株的发酵液对小菜蛾具有较好的杀虫活性(见表 1)。

表 1 发酵液对小菜蛾的杀虫活性结果

处理	24 h 死虫 /头	48 h 死虫 数/头	72 h 死虫 数/头	总死虫 数/头	总虫数 /头	死亡率 /%	校正死亡 率/%
发酵液	12	25	8	45	60	75.0	71.7
CK	3	0	4	7	60	11.7	

注 死亡率和校正死亡率为 3 次重复的平均值

2.2 发酵液对二斑叶螨的杀虫活性

72 h 后检测, 发酵液对二斑叶螨的校正死亡率为 56%, 表明该菌株的发酵液对二斑叶螨具有一定的杀虫活性(见表 2)。

表 2 发酵液对二斑叶螨的杀虫活性结果

处理	24 h 死虫 /头	48 h 死虫 数/头	72 h 死虫 数/头	总死虫 数/头	总虫数 /头	死亡率 /%	校正死亡 率/%
发酵液	25	22	9	56	100	56.0	56.0
CK	0	0	0	0	100	0	

注 死亡率和校正死亡率为 4 次重复的平均值

2.3 pH 值对发酵液杀虫活性的影响

发酵液在酸性和中性条件下比较稳定。碱性条件下活性有所下降(见图 1)。因此, 在发酵液中活性物质分离纯化和使用过程中应保持在 pH 5~7 的范围内。

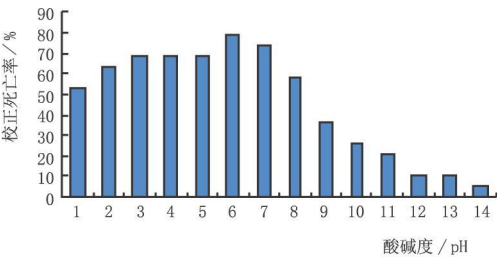


图 1 pH 值对发酵液杀虫活性的影响  
注: pH 7 为原始 pH 值并作为对照

2.4 温度对发酵液杀虫活性的影响

发酵液在低于 60℃的条件下杀虫活性基本稳定。当温度高于 60℃时, 处理 1 h 后, 发酵液的杀虫活性有所下降(见图 2)。

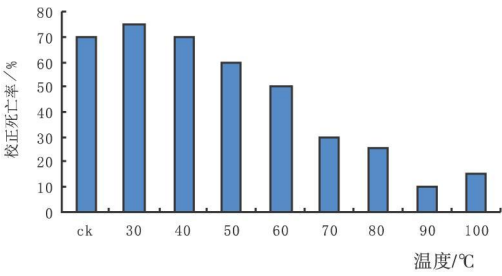


图 2 温度对发酵液杀虫活性的影响  
注: CK 对照为发酵液的原始发酵温度

3 结论与讨论

通过对发酵液杀虫活性的研究表明, 菌株 Streptomyces SN336 发酵液中的活性物质对小菜蛾和二斑叶螨具有一定的杀虫活性, 48 h 后校正死亡率分别为 71.7%和 56%。通过发酵液对酸碱和热稳定性的研究, 表明发酵液在酸性条件和温度 60℃以下具有较好的稳定性, 这为该菌株发酵液中有效组分的分离纯化和加工储藏提供了理论参考。关于该菌株活性物质的提取和分离及杀虫作用机理有待继续深入研究。

参考文献

[ 1 ] 孙爱飞, 杨文鸽, 潘云娣, 等. XS904 菌株发酵条件的优化及其杀虫活性物质的理化特性[ J ]. 浙江农业学报, 2006, 18(6): 441-444.  
[ 2 ] 徐汉虹, 安玉兴. 生物农药的发展动态与趋势展望[ J ]. 农药科学与管理, 2001, 22(1): 32-34.  
[ 3 ] 周启, 王道本. 农用抗生素和微生物杀虫剂[ J ]. 北京: 中国农业出版社, 1995: 1-5.  
[ 4 ] 胡珍珠, 林壁润, 谢双大, 等. 新农抗天山菌素的杀虫抑菌活性[ J ]. 植物保护学报 2006 33(1): 73-76.  
[ 5 ] 周小毛, 张扬, 肖汉祥. 天山菌素对小菜蛾和三化螟的杀虫活性试验初报[ J ]. 广东农业科学 2002(1): 46-48.  
[ 6 ] FAO. Revised method for spider mites and their eggs [ J ]. FAO Plant Production and Protection 1980 21: 49-54.  
[ 7 ] 左一鸣, 王开运, 姜兴印. 4 种抗生素类杀虫剂对小菜蛾不同龄期幼虫的毒力和杀卵作用[ J ]. 农药 2004 43(1): 25-27.

Insecticidal Activity and Stability of the Fermentation Broth of *Streptomyces*

GAO Ping, WU Yuan-hua, WANG Peng, HU Qiang

(College of Plant Protection, Shenyang Agricultural University, Shenyang Liaoning 110161, China)

**Abstract:** Actinomycete mycelia were isolated from soil and leaf sandwich method and Slide immersion were respectively used to determine that fermentation broth from the fungal mycelia had varying degrees of insecticidal activity towards *Plutella xylostella* and *Tetranychus urticae*, the relative mortality was 71.7% and 56% after 48 hours respectively. Preliminary studies were conducted on stability of the fermentation broth. The antimicrobial substance in the fermentation broth was stable to temperature below 60℃ and acidic pH. So it was deserved for further study.

**Key words:** Actinomycetes; Fermentation broth; Insecticidal activity; Stability