

·论 著·

Bti对三带喙库蚊的杀伤效果及温度的影响

马素媛^{1,2}, 王英^{1*}, 赵清¹, 徐铁龙³, 吴红渠⁴, 艾国平^{1*}

摘要:目的 对苏云金杆菌以色列亚种(*Bacillus thuringiensis israelensis*, Bti)杀伤三带喙库蚊幼虫的效果进行生物测定,并探讨温度对Bti杀伤效果的影响。方法 首先利用概率分析方法对Bti水分散颗粒剂作用于三带喙库蚊幼虫的杀伤效果进行生物测定,然后检测和比较在不同温度下Bti对三带喙库蚊幼虫的杀伤效果,明确温度对Bti灭蚊效果的影响。结果 Bti对三带喙库蚊幼虫的灭杀起效快,12h内即显示很强的杀伤效果。 LC_{50} 和 LC_{95} 分别是171.72 IU/L和646.60 IU/L。24h内温度(16~37℃)对杀伤效果有一定的影响,适当提高环境温度,可以增强Bti对蚊幼虫的杀伤效果。结论 三带喙库蚊幼虫对Bti较为敏感,一定范围内升高温度可以提高Bti的起效速度和杀伤效果。本研究结果提示,Bti是三带喙库蚊防制的理想生物杀虫剂。

关键词 苏云金杆菌以色列亚种;三带喙库蚊;生物测定;温度

中图分类号 R384.1 文献标识码 A 文章编号 1009-9727(2012)12-1427-03

Killing effect of *Bacillus thuringiensis israelensis* on *Culex tritaeniorhynchus* larvae and effect of temperature on the killing. MA Su-yuan^{1,2}, WANG Ying^{1*}, ZHAO Qing¹, et al. (1. Institute of Tropical Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400038, P.R. China; Corresponding author: WANG Ying, AI Gou-ping; E-mail: wangyingtmmu@126.com; aigping@yahoo.com)

Abstract: Objective To study the Killing effect of *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) on *Culex tritaeniorhynchus* larvae and the effect of temperature on the killing. Methods Firstly, bioassay was carried out to test the mortality of *Culex tritaeniorhynchus* larvae after Bti treatment by probit analysis and the killing effect of Bti on *C. tritaeniorhynchus* under different temperature was investigated. Results *C. tritaeniorhynchus* larvae were quickly killed by Bti 12 hours after treatment with Bti. LC_{50} and LC_{95} were 171.72 IU/L and 646.60 IU/L respectively. And, the killing efficiency was significantly affected by temperature within the range of 16~37℃ in 24 hours. But there was no significant difference between groups 12h and 24h post treatment at 28℃ and 37℃. Conclusion *Culex tritaeniorhynchus* larvae are sensitive to Bti. The Killing Effect of Bti on *C. tritaeniorhynchus* larvae could be accelerated and improved by enhancement of the temperature in a limited range. The results show that Bti is a kind of ideal larvicide to control *C. tritaeniorhynchus*.

Key words: *Bacillus thuringiensis israelensis*; *Culex tritaeniorhynchus*; Bioassay; Temperature

三带喙库蚊是流行性乙型脑炎的主要传播媒介,并可能携带有基孔肯雅病毒、版纳病毒、Kadipiro病毒、环状病毒、西尼罗河病毒等^[1,2],在我国主要分布于除青海、新疆和西藏以外的全国各省区,是云南各地人房和畜房的优势蚊种。云南省德宏州盈江县地处我国西南边陲,与缅甸交界,县城附近地势平坦,四面环山,是大山深处的平原。该地以种植水稻和甘蔗等为主,气候温热潮湿,稻田和耕牛饲养等都为蚊虫滋生创造了较好的环境。因此,在该地区蚊虫分布密度非常大,其中绝大部分是三带喙库蚊。化学杀虫剂是当前灭蚊的主要措施,然而,我国多地报道三带喙库蚊对敌敌畏、溴氰菊酯均已达到高抗水平,对其它常用化学杀虫剂也产生了部分抗性^[3-5]。本课题组的前期研究结果也提示,云南省德宏州盈江县太平镇的三带喙库蚊对溴氰菊酯已产生非常高的抗药性,寻找

新型杀虫剂已成为当前亟待解决的问题。苏云金杆菌以色列亚种(*Bacillus thuringiensis israelensis*, Bti)作为最常用的生物杀虫剂,在蚊虫防治上给我们带来了希望。本研究探讨了云南省德宏州盈江县太平镇三带喙库蚊幼虫对Bti的敏感性,并比较分析了不同温度下Bti对杀蚊幼虫效果,为今后Bti在该地区的应用提供重要参考。

1 材料与方法

1.1 试验药剂和虫种 1)药剂:苏云金杆菌以色列亚种(*Bacillus thuringiensis israelensis*, Bti)水分散颗粒剂,效价为3000IU/mg,由湖北康欣农药业有限公司馈赠;2)虫种:本研究中所用的试虫为采自云南省盈江县太平镇稻田茬地积水的三带喙库蚊Ⅲ龄幼虫。

1.2 试验方法 从采集蚊幼虫的稻田收集稻田水,分

基金项目 国家自然科学基金(No.81271875)和美国NIH重大课题(No.U19A1089672)

作者单位 1. 第三军医大学军事预防医学院热带医学研究所,重庆 400038 2. 云南普洱卫生学校,云南 普洱 6650002 3. 中国疾病预防控制中心中心寄生虫病所,上海 200025;4. 湖北省生物农药工程研究中心,湖北 武汉 430064

作者简介:马素媛(1977~),本科,讲师,现于第三军医大学攻读MPH,研究方向:蚊媒防治。

*通讯作者:E-mail: wangyingtmmu@126.com; aigping@yahoo.com

别挑取约100条Ⅲ龄幼虫放入装有1L当地山泉水的饲养盆中,共六盆。用移液器准确吸取Bti药液,漩涡混匀后,快速将不同剂量的Bti加入各饲养盆。分别于加药后6h、12h和24h、48h,观察和记录不同药量下的蚊幼虫死亡情况。根据上述研究结果,选定某一亚致死Bti剂量处理三带喙库蚊Ⅲ龄幼虫,处理方式同上。设立对照组(加入不含Bti的相同量水)。处理后,分别在16℃、28℃、37℃三个不同温度的环境下进行饲养,每个温度下各组有3个重复。处理后,分别于6h、12h、24h观察和记录幼虫死亡数。比较分析不同温度下,三带喙库蚊幼虫对Bti的敏感性。

1.3 数据分析和统计学处理 利用概率分析生物测定方法分析数据,构建公式,计算 LC_{50} 和 LC_{95} 。利用Abbott公式校正死亡率。利用GraphPad Prism 5.02软件进行回归分析和制图。

2 结果

2.1 苏云金杆菌以色列亚种对三带喙库蚊幼虫的杀伤效果 经数次试验后,选取0、18、36、72、144、288 IU/L等不同梯度浓度进行幼虫处理,于处理后不同时间点记录幼虫死亡情况(见图1)。对浓度进行log值计算;同时,查表获得死亡率的概率值;然后,利用GraphPad Prism软件进行线性回归分析和制图(见图2)。结果显示,浓度的log值和死亡率的概率值具有很好的线性关系,得到公式 $y=2.588x-0.2524$ 。根据此公式,计算获得Bti对三带喙库蚊进行杀伤处理后24h的 LC_{50} 为171.72 IU/L, LC_{95} 为646.60 IU/L。从处理后不同时间点的幼虫死亡情况来看,Bti起效时间比较快,12h以内,杀伤效果明显。12h后,效果趋于缓和,虽然仍有新增加的死亡幼虫,但死亡数量较前12h明显减少。

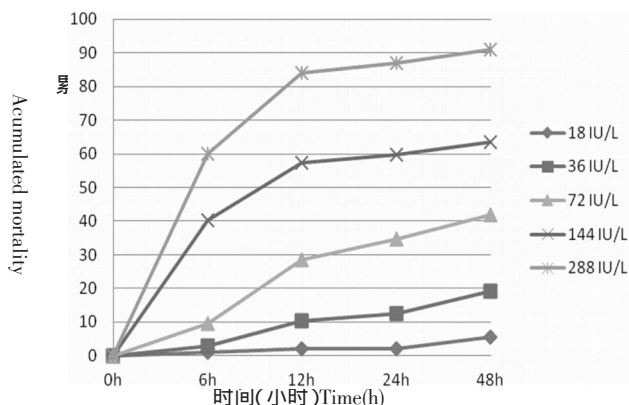


图1 Bti处理后不同时间点,蚊幼虫死亡情况

Fig 1 Accumulated mortality of *Culex tritaeniorhynchus* larvae by treatment of Bti

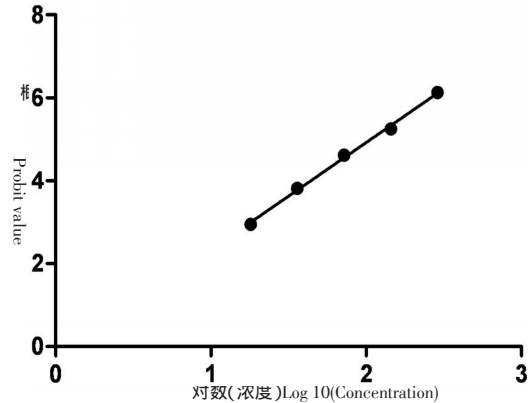


图2 处理24h后,不同浓度Bti与蚊幼虫死亡情况的关系

Fig 2 Linear regression of $\log_{10}(\text{concentration})$ and probit value in the probit analysis at 24h post Bti treatment

2.2 温度对杀伤效果的影响 根据第一部分研究结果,我们选择亚致死剂量240 IU/L的浓度进行处理。分别于Bti处理后不同时间点观察蚊幼虫死亡情况,结果如下表(见表1)。进行同一时间点的不同温度间死亡率进行三组间比较分析时,分别于处理后6h、12h和24h,三个不同温度下的幼虫累积死亡率组间有着非常显著的差异,温度越高,幼虫死亡率也越高($P<0.01$)。进行两组间比较分析,则处理后12h和24h,28℃和37℃的幼虫累积死亡率组间差异无统计学意义($P>0.05$),但均显著高于16℃的幼虫累积死亡率($P<0.01$);其它的同一点不同温度的两组间比较均差异有统计学意义($P<0.01$)。本结果提示,在一定范围内,温度对Bti的杀伤效果有影响,升高环境温度可以提高Bti的杀伤速度和效果。

表1 苏云金杆菌以色列亚种在不同温度、不同时间对三带喙库蚊幼虫的杀伤效果

Table1 Mortality of *Culex tritaeniorhynchus* under different temperatures and at different time points post Bti treatment

时间Time	16℃幼虫死亡率 (%)Mortality of larvae at 16℃(%)	28℃幼虫死亡率 (%)Mortality of larvae at 28℃(%)	37℃幼虫死亡率 (%)Mortality of larvae at 37℃(%)
6小时(h)	8.16	26.42	46.24
12小时(h)	14.29	57.23 [#]	60.00 [#]
24小时(h)	49.66	66.01 [*]	64.12 [*]

注:同一个时间点不同温度间比较(包括两两比较和三三比较),组间(除符号标注的组间)差异有统计学意义(χ^2 检验, $p<0.01$);符号^{*}、[#]表示两两比较,组间差异无统计学意义(χ^2 检验, $p>0.05$)。Note: Comparison at the same time point but different temperature (including comparison in pairs and in three), showing significant difference as compared between groups (Chi square test, $P<0.01$); The sign^{*} means comparison in pairs, without significant difference (Chi square test, $P>0.05$)

3 讨论

随着化学杀虫剂耐药性和环境污染问题的日益突出,越来越多的人开始关注生物杀虫剂的应用。目

前,常用的生物杀虫剂包括苏云金杆菌以色列变种(*Bacillus thuringiensis israelensis*, Bti)和球形芽孢杆菌(*Bacillus sphaericus*, Bs)。其对蚊媒幼虫的杀伤机制主要是基于其分泌的毒性蛋白,能够通过配体受体的方式与蚊肠上皮细胞结合,破坏肠上皮细胞,导致蚊幼虫的死亡^[6,7]。苏云金杆菌作为最常用的生物杀虫剂,目前已广泛开展了疾病防控、农业等不同领域的应用研究。近年来,随着研究的不断深入,Bti在蚊媒控制和蚊传疾病的防治中的应用,也越来越被人们重视^[8,9]。尤其是今后随着生产工艺的不断改进,生产成本会下降,药效则会提高,应用也将更加广泛^[10]。

三带喙库蚊作为我国的一个常见蚊种,兼食人和动物血,猪、牛是其主要吸血对象,是猪、牛棚最主要的蚊媒组成。三带喙库蚊常常在黄昏后2h左右,和黎明前时间在室外袭击人、吸人血^[1]。目前,多地的三带喙库蚊已对常用化学杀虫剂产生了极强的抗药性。因此,亟需思考针对三带喙库蚊的新的灭蚊方法。生物杀虫剂无疑是当前首选的新方法。不同厂家生产的Bti有效含量不尽相同,以质量浓度进行生物测定,所获得的结果对于不同厂家生产的Bti没有可比性。因此,在实际应用中,就无法根据文献报道中给出的质量浓度进行参考。本研究利用国际公认的概率分析方法,以单位浓度进行生物测定,回归效果好,较之大多数研究中以质量浓度计算更加科学,能够较好地今后的实际应用提供参考。

本研究结果显示,三带喙库蚊幼虫对于Bti比较敏感,起效时间快,12h以内杀伤效果明显。因此,Bti是三带喙库蚊防治较为有效的生物杀虫剂,在实际应用中可参考本研究结果进行三带喙库蚊防治,长时间防治需要及时加药,以防药效下降后导致的杀虫效果下降和抗药性的产生。同时我们还评价了不同温度对三带喙库蚊幼虫的杀伤效果的影响,结果显示,Bti在杀伤三带喙库蚊幼虫的过程中,在16~37℃的温度范围内,温度上升可以提高药物杀伤效果。12h内温度上升可以明显提高Bti的杀伤效果,但随着时间的增加,到了12h以后,从16℃提高温度至28℃可显著增加Bti的杀伤效果,然而,进一步提高温度至37℃,则不能显著提高Bti的杀伤效果。本研究结果也提示,温度可以提高Bti的起效速度。总之,本研究结果提示,苏云金杆菌以色列亚种是有效进行三带喙库蚊防制的理想杀虫剂,在已对化学杀虫剂产生抗药性的地区,可以考虑使用Bti防制三带喙库蚊。

参考文献:

- [1] DONG XS. The mosquito fauna of Yunnan China (Volume Two) [M]. Yunnan: Yunnan Science & Technology Press, 2010. 1-750. (In Chinese)
(董学书. 云南蚊志类(下卷) [M]. 云南: 云南科技出版社, 2010. 1-750)
- [2] Feng Y, Zhang HL, Liang GD. Newly arbovirus isolated from arthropod in China [J]. Chin J Vector Biol & Control, 2009, 20(2): 178-181. (In Chinese)
(冯云, 张海林, 梁国栋. 我国从节肢动物中新分离的虫媒病毒[J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2009, 20(2): 178-181)
- [3] Yang WF, Chu HL, Liu DP, et al. Resistance of *Culex tritaeniorhynchus* to commonly used pesticides in Suzhou [J]. Chin J Vector Biol & Control, 2011, 22(1): 33-34. (In Chinese)
(杨维芳, 褚宏亮, 刘大鹏, 等. 苏州市三带喙库蚊对常用杀虫剂的抗药性调查[J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2011, 22(1): 33-34)
- [4] Liu HX, Leng PE, Xu RQ, et al. Resistibility of mosquitoes to frequently-used insecticides in Shanghai and its coping strategies [J]. Chin J Hyg Insect Equip, 2009, 2: 112-115. (In Chinese)
(刘洪霞, 冷培恩, 徐仁权, 等. 上海地区蚊虫对常用杀虫剂的抗性及其防治对策[J]. 中华卫生杀虫药械, 2009, 2: 112-115)
- [5] Sun YX, Yue YJ, She JJ, et al. Resistance of *Culex tritaeniorhynchus* to several traditional insecticides in high incidence areas of Japanese encephalitis in Shanxi Province [J]. Chin J Vector Biol & Control, 2009, 20(4): 313-316. (In Chinese)
(孙养信, 岳永杰, 余建军, 等. 陕西省流行性乙型脑炎高发区三带喙库蚊的抗药性研究[J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2009, 20(4): 313-316)
- [6] Zhang LL, Guan Y, Zhang QL, et al. Overview on mosquitocidal mechanism of *Bacillus mucilaginosus* [J]. Chin J Vector Biol Control, 2008, 19(4): 377-388. (In Chinese)
(张灵玲, 关怡, 张群林, 等. 苏云金芽孢杆菌杀蚊机制研究概况[J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2008, 19(4): 377-388)
- [7] El-Bendary M. *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus sphaericus* biopesticides production [J]. J Basic Microbiol, 2006, 46(2): 158-170.
- [8] Dai YH, Huang XD, Liu LJ, etc. A Research on Resistibility of Pale library mosquito larvae to *Bacillus thuringiensis* in Ji Ning [J]. Acta Parasitol Med Entomol Sinica, 2011, 18 (2): 99-102. (In Chinese)
(代玉华, 黄晓丹, 刘丽娟, 等. 济宁地区淡色库蚊幼虫对苏云金杆菌的抗性水平研究[J]. 寄生虫与医学昆虫学报, 2011, 18(2): 99-102)
- [9] Yi JR, Lin LF. Test on Bactivec against *Aedes albopictus* larvae of different ages and the affecting elements [J]. Chin J Hyg Insect Equip, 2003, 9(2): 15-18. (In Chinese)
(易建荣, 林立丰. 苏云金杆菌悬浮剂杀灭白纹伊蚊不同龄期幼虫实验及其影响因素分析[J]. 中华卫生杀虫药械, 2003, 9(2): 15-18)
- [10] Poopathi S, Abidha S. A medium for the production of biopesticides (*Bacillus sphaericus* and *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*) in mosquito control [J]. J Econ Entomol, 2009, 102(4): 1423-1430.

收稿日期 2012-10-17 编辑 崔宜庆