

亚迪丰对家蚕细菌性败血病的防治效果

王玉华^{1,2}, 刘挺, 黄可威 (1. 中国农业科学院蚕业研究所, 江苏镇江212018; 2. 江苏科技大学, 江苏镇江212003)

摘要 [目的] 寻找对芽孢杆菌和灵菌感染引起的家蚕细菌性败血病有效且有实际使用价值的药物。[方法] 将亚迪丰加蒸馏水配制成不同浓度的药液, 采取3种方式对经卒倒菌、灵菌创伤感染的5龄起蚕进行给药, 研究亚迪丰对家蚕细菌性败血病的防治效果。[结果] 细菌感染家蚕的浓度大小与家蚕发病率成正比。125、250 ng/L 亚迪丰可防治由卒倒菌等芽孢杆菌感染引起的家蚕细菌性败血病, 连续饲以24 h 药叶后改每天饲以6 h 药叶或直接每天饲以6 h 药叶, 治愈率均达100%。500 ng/L 亚迪丰可防治由灵菌感染引起的家蚕细菌性败血病, 连续饲以24 h 药叶后改每天饲以6 h 药叶, 治愈率达100%。[结论] 亚迪丰对家蚕细菌性败血病有较好的防治效果。

关键词 亚迪丰; 家蚕; 细菌性败血病; 防治效果

中图分类号 S884.4⁺2 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)30-13237-02

Control Effect of Yadifeng on Bacterial Septicemia of Silkworm

WANG Yu-hua et al (Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang, Jiangsu 212018)

Abstract [Objective] The study was to find the drug that had the practical use value and the control effect on bacterial septicemia of silkworm caused by bacillus and serratia infection. [Method] The medical solution with different concn. was prepared by adding distilled water into Yadifeng, the 5th instar silkworm infected by *Bacillus thuringiensis* Var. *sotto* Ishiwata and *Serratia marcescens* Bizio through traumatic infection was administered by 3 ways and the control effect of Yadifeng on bacterial septicemia of silkworm was studied. [Result] The concn. of bacterial infecting silkworm was proportional to incidence of silkworm. Yadifeng at 125 and 250 ng/L could prevent and cure the bacterial septicemia of silkworm infected by bacillus such as *B. thuringiensis* Var. *sotto* etc., and the cure rate reached 100% by continuously feeding drug leaf for 24 h and then feeding drug leaf for 6 h every day or directly feeding drug leaf for 6 h every day. Yadifeng at 500 ng/L could prevent and cure the bacterial septicemia of silkworm infected by *S. marcescens*, and the cure rate reached 100% by continuously feeding drug leaf for 24 h and then feeding drug leaf for 6 h every day. [Conclusion] Yadifeng had better control effect on bacterial septicemia of silkworm.

Key words Yadifeng; Silkworm; Bacterial septicemia; Control effect

家蚕细菌性败血病是指细菌侵入蚕体、蚕蛹和蚕蛾的体液中, 大量繁殖并随着体液循环分布到全身, 引起严重的全身症状, 该病分为原发性和继发性2种。败血病在蚕业生产中时有发生, 尤其在夏秋高温多湿季节, 给蚕农带来极大的经济损失, 筛选研制理想的抗菌药物用于蚕业生产是实现稳产高产、提高经济效益的重要技术措施之一。引起家蚕败血病的病原细菌种类繁多, 如黑胸败血病菌、沙雷铁氏菌、青头败血病菌及粪链球菌, 卒倒菌产生的结晶性毒素被蚕食下会引起蚕中毒而发生卒倒病, 但卒倒菌的菌体或芽孢通过创伤感染引发的家蚕败血病在生产中也较常见^[1-2]。在较常用的防治细菌性败血病的蚕药中, 大多数对芽孢杆菌类引起的败血病防治效果好, 而对灵菌引起的败血病, 有实际使用价值的药物较少^[3]。笔者以卒倒菌(芽孢杆菌类)和灵菌(短杆菌类)为代表, 寻找在蚕业生产中对芽孢杆菌和灵菌引起的败血病有效且有实际使用价值的药物并进行了相关试验。

1 材料与方

1.1 供试材料 亚迪丰(中国农业科学院蚕业研究所附属蚕药厂提供), 营养琼脂(购于上海市医学化验所试剂厂)。

1.2 供试仪器 净化工作台(SWCF-1F, 吴江市新长城空调净化有限公司)、隔水式电热恒温培养箱(PYX-DHS, 上海市跃进医疗器械一厂)、生物显微镜(XS-212, 江南光学仪器厂)、电热恒温鼓风干燥箱(DHG-9143BS, 上海新苗医疗器械制造有限公司)、台式离心机(TDL80-2B, 上海安亭科学仪器厂)、快速混匀器(SK-1, 常州国华电器有限公司)、电子天平(AUW20D, 日本岛津公司)、磁力搅拌机(85-2C, 巩义市予华仪器有限责任公司)、手提式压力蒸汽消毒器(上海申安医疗

器械厂)、生化培养箱(SPX-150BS, 上海新苗医疗器械制造有限公司)、海尔电冰箱、血球计数板等。

1.3 供试蚕品种 苏菊×明虎(江苏省蚕种管理所提供), 按常规饲养至5龄起蚕供试, 100头/区。

1.4 供试病原及感染试验 苏云金杆菌卒倒变种(简称卒倒菌, *Bacillus thuringiensis* Var. *sotto* Ishiwata)和沙雷铁氏菌(蚕业上通称灵菌, *Serratia marcescens* Bizio)为中国农业科学院蚕业研究所病理室保存。取1支卒倒菌或灵菌的斜面培养物分别加入适量灭菌水及吐温80, 用吸管将菌苔轻轻吹吸洗下后, 充分振摇混匀制成菌悬液, 再按需稀释制备成各级浓度的菌悬液, 用灭菌接种针蘸取菌液给5龄起蚕进行创伤感染, 调查卒倒菌及灵菌对家蚕的致病性; 同时用最后3级梯度浓度的菌悬液进行活菌计数培养。

1.5 给药途径 将亚迪丰分别加蒸馏水稀释配制成1000、500、250、125和62.5 ng/L 5级梯度浓度的药液, 用喷雾器将不同浓度的药液均匀地喷在桑叶上, 以桑叶正反面湿润为宜, 用电风扇稍吹干后备用。

对经卒倒菌、灵菌创伤感染的5龄起蚕按试验分区要求的不同方式进行给药: 处理₁, 连续饲以24 h 药叶后, 改饲普通叶至上簇, 调查发病率; 处理₂, 连续饲以24 h 药叶后, 改每天饲以6 h 药叶, 其余时间饲以普通叶至上簇, 调查发病率; 处理₃, 每天饲以6 h 药叶, 其余时间饲以普通叶至上簇, 调查发病率。

同时设阳性对照(即感染病原菌不添药对照)和空白对照(即正常饲养对照)。

2 结果与分析

2.1 卒倒菌、灵菌对家蚕的致病性 试验结果表明, 活菌记数为 3×10^7 cfu/ml 的卒倒菌菌悬液感染家蚕后, 家蚕24 h内的发病死亡率为100%; 而用 3×10^6 cfu/ml 的卒倒菌菌悬液感染家蚕, 家蚕24 h内的发病死亡率为65%~90%, 此后家

蚕基本上不再发病死亡。灵菌菌悬液对家蚕有较强的致病性,活菌记数为 8×10^6 cfu/ml 的灵菌菌悬液感染家蚕,家蚕在 24 h 内的发病死亡率为 100%,而用活菌记数为 2×10^6 cfu/ml 的灵菌菌悬液感染家蚕,家蚕 100% 死亡,但死亡时间延长至 48 h。可见,家蚕感染细菌浓度的大小和发病率成正比。

2.2 亚迪丰对卒倒菌败血病的防治效果 由表 1 可以看

出,亚迪丰对家蚕卒倒菌败血病的防治效果显著,连续饲以浓度为 250 及 125 ng/L 的亚迪丰药叶 24 h 后,改每天饲以 6 h 药叶或直接每天饲以 6 h 药叶的各处理区治愈率均可达到 100%,而连续饲以 24 h 药叶后停药改饲普通叶至上簇处理区的治愈率则不太理想;62.5 ng/L 的亚迪丰对家蚕卒倒菌败血病的防治效果低于 90%。

表 1 亚迪丰对卒倒菌败血病的防治效果

Table 1 Control effect of Yadferg on silkworm septicemias caused by *Bacillus thuringiensis* Var. sotto %

亚迪丰浓度 ng/L Yadferg concentration	处理 Treatment	第 1 次 First time		第 2 次 Second time	
		发病率 Incidence rate	治愈率 Cure rate	发病率 Incidence rate	治愈率 Cure rate
250		7	93	23	77
		0	100	0	100
		0	100	0	100
125		13	87	10	90
		0	100	0	100
		0	100	0	100
62.5		24	76	31	69
		12	88	20	80
		12	88	17	83

注:不添药对照的发病率均为 100%,正常对照均未发病。下表同。卒倒菌浓度为 3×10^7 cfu/ml。

Note: Incidence rate of the control without drug is 100%; and normal control has no incidence. The same as follows. The concentration of *Bacillus thuringiensis* Var. sotto is 3×10^7 cfu/ml.

2.3 亚迪丰对灵菌败血病的防治效果 由表 2 可以看出,亚迪丰对家蚕灵菌败血病有明显的防治效果,连续饲以浓度为 1 000 或 500 ng/L 亚迪丰药叶 24 h 后改每天饲以 6 h 药叶,对被灵菌感染的家蚕治愈率为 100%。每天饲以浓度为 1 000 ng/L 亚迪丰药叶 6 h,对被灵菌感染的家蚕治愈率为

100%;每天饲以浓度为 500 ng/L 亚迪丰药叶 6 h,对被低浓度(2×10^6 cfu/ml) 灵菌感染的家蚕治愈率为 100%,对被高浓度(8×10^6 cfu/ml) 灵菌感染的家蚕治愈率为 93% 以上。250 ng/L 亚迪丰对家蚕灵菌败血病的防治效果较差。

表 2 亚迪丰对灵菌败血病的防治效果

Table 2 Control effect of Yadferg on silkworm septicemias caused by *Serratia marcescens* Hizo %

灵菌菌液浓度 cfu/ml Bacterial concentration of <i>Serratia marcescens</i>	亚迪丰浓度 ng/L Yadferg concentration	处理 Treatment	第 1 次 First time		第 2 次 Second time	
			发病率 Incidence rate	治愈率 Cure rate	发病率 Incidence rate	治愈率 Cure rate
8×10^6	1 000		53	47	67	33
			0	100	0	100
			0	100	0	100
	500		80	20	97	3
			0	100	0	100
			7	93	3	97
	250		80	20	90	10
			30	70	40	60
			54	46	80	20
2×10^6	1 000		37	63	40	60
			0	100	0	100
			0	100	0	100
	500		63	37	77	23
			0	100	0	100
			0	100	0	100
	250		70	30	58	42
			10	90	34	66
			38	62	45	55

3 讨论

综上所述,亚迪丰具有抗菌活性强、抗菌谱广、杀菌作用高效迅速等特点,对家蚕细菌性败血病有显著的防治效果。

亚迪丰用于防治由卒倒菌等芽孢杆菌感染引起的家蚕败血病,每天饲以 125 ng/L 的亚迪丰药叶 6 h,其余时间改饲普通

(下转第 13241 页)

是优良的高茧层量组合,可作为生产性杂交组合,应用于家蚕高茧层量育种。A × b、A × d、B × a、B × b、C × c、D × a、D × d 的特殊配合力相对效应值均为负值。

表4 亲本万蚕茧层量的一般配合力相对效应(\hat{g}_i 和 \hat{g}_j)及组合的特殊配合力相对效应(S_{ij})

Table 4 Relative effect of general combining ability of cocoon yield of 10 000 larvae (\hat{g}_i and \hat{g}_j) and the relative effect of special combining ability of combinations (S_{ij})

项目 Item	S_{ij}				\hat{g}_i
	a(1)	b(2)	c(3)	d(4)	
A(1)	2.889	-1.557	2.484	-3.816	-10.069
B(2)	-2.019	-4.496	2.864	3.651	3.053
C(3)	3.855	1.654	-7.472	1.963	-4.144
D(4)	-4.725	4.399	2.124	-1.797	11.159
\hat{g}_j	-1.767	0.886	-0.487	1.368	

表5 亲本2性状的配合力总效应值(t.c.a)

Table 5 Total effect value of combining ability in characters of parent 2

项目 Item	t.c.a				
	a(1)	b(2)	c(3)	d(4)	
万蚕产茧量 Cocoon yield of 10 000 larvae	A(1)	-5.897	-6.476	-6.579	-7.520
	B(2)	-1.246	0.171	3.365	6.972
	C(3)	-2.882	0.815	-11.153	0.441
	D(4)	3.675	11.520	7.578	7.217
万蚕茧层量 Cocoon shell weight of 10 000 larvae	A(1)	-8.947	-10.739	-8.072	-12.517
	B(2)	-0.732	-0.557	5.431	8.072
	C(3)	-2.056	-1.603	-12.102	-0.813
	D(4)	4.667	16.444	12.796	10.730

2.3 配合力总效应值的分析 家蚕 F_1 代的性状表现既受亲本一般配合力效应影响,又受特定杂交组合的特殊配合力效应制约,将父本和母本的一般配合力及组合特殊配合力的相对效应值按线性累加为配合力总效应(t.c.a),可更准确地判断杂交组合的优劣。家蚕2个综合性状的配合力总效应值见表5。由表5可知,对万蚕产茧量而言,B × b、B × c、B × d、C × b、C × d、D × a、D × b、D × c、D × d 9个杂交组合的配合力总

效应值均为正值,特别是D × b、D × c、D × d、B × d的配合力总效应值相对较高,是较好的高产茧量组合,其杂交后代获得高产茧量基因型的机率较大。对万蚕茧层量而言,B × c、B × d、D × a、D × b、D × c、D × d 6个杂交组合的配合力总效应值均为正值,特别是D × b、D × c、D × d、B × d的配合力总效应值相对较高,是较好的高茧层量组合,其杂交后代获得高茧层量基因型的机率较大。

3 小结

该试验结果表明,家蚕万蚕产茧量、万蚕茧层量2个综合性状主要受基因加性遗传效应控制,受环境效应的影响相对较小。在中系4个亲本中,K32和K22的万蚕产茧量、万蚕茧层量2个综合性状的一般配合力相对效应值较高,分别为7.497、11.159和2.316、3.053;在日系4个亲本中,丁22和丁62的万蚕产茧量、万蚕茧层量2个综合性状的一般配合力相对效应值较高,分别为1.507、0.886和1.778、1.368。分别由其组配的K32 × 丁22、K22 × 丁62杂交组合的万蚕产茧量、万蚕茧层量2个综合性状的特殊配合力相对效应值及配合力总效应值(万蚕产茧量: $S_{Db} = 2.515$, $S_{Bd} = 2.879$, t.c.a $_{Db} = 11.520$, t.c.a $_{Bd} = 6.972$;万蚕茧层量: $S_{Db} = 4.399$, $S_{Bd} = 3.651$, t.c.a $_{Db} = 16.444$, t.c.a $_{Bd} = 8.072$)均较高,因而这2个组合的平均产量(万蚕产茧量: $D_b = 21.64$ kg, $B_d = 20.76$ kg;万蚕茧层量: $D_b = 5.460$ kg, $B_d = 5.068$ kg)较高,是理想的高产组合,可作为生产性组合。在加大母种的选育力度的同时,进一步检测2组合茧丝质的各项性能指标,可望选择出符合育种目标的优良的高产优质家蚕基因型。

参考文献

- [1] 向仲怀. 中国蚕种学[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 1995: 276-280.
- [2] 黄远樟, 刘来福. 作物数量遗传学基础[J]. 遗传, 1980, 2(2): 43-46.
- [3] 刘来福. 作物数量遗传[M]. 北京: 农业出版社, 1984: 202-243.
- [4] 刘庆信, 张万英, 孙景晨. 9个家蚕品种配合力测定及其杂交组合选配[J]. 山东农业大学学报, 1994, 25(2): 207-212.
- [5] 卢红, 丁天龙, 员新平, 等. 家蚕杂交组合配合力测定实验初报[J]. 蚕学通讯, 2007, 27(4): 19-22.
- [6] 章佩祯, 沈雪华, 程新华. 利用双测交法配制家蚕多元杂种的研究[J]. 蚕业科学, 1988, 14(2): 64-67.

倒菌,这可能与家蚕体液偏碱性有关,灵菌在偏碱性条件下比卒倒菌更具有抗药性,也可能与亚迪丰在家蚕体液中半衰期短有关,因为亚迪丰为氟诺酮类药物,属于浓度依赖型药物,由于在家蚕体液中半衰期短导致有效杀菌浓度持续时间不够长,致使防治效果下降,其药动、药理学研究有待进一步深入。

参考文献

- [1] 黄可威, 郭锡杰. 蚕病防治技术[M]. 北京: 金盾出版社, 1995: 39-48.
- [2] 中国农业科学院蚕业研究所. 中国养蚕学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1990: 582-590.
- [3] 黄可威, 朱峰, 陆有华. 克蚕菌防治家蚕细菌性败血病的研究[J]. 蚕业科学, 1993, 19(4): 234-236.
- [4] 刘挺, 王玉华, 黄可威. 蚕用抗菌药物亚迪丰的抗菌活性和药物动力学研究[J]. 蚕业科学, 2005, 31(4): 454-457.

(上接第13238页)

桑叶,可收到预期效果;亚迪丰用于防治由灵菌感染引起的家蚕败血病,连续饲以500 ng/L的亚迪丰药叶24 h后,改每天饲以6 h药叶,其余时间饲以普通桑叶,可达到良好的防治效果。

刘挺等^[4]研究的亚迪丰体外抗菌活性试验结果表明,亚迪丰对卒倒菌、灵菌的最低抑菌浓度均为0.5 $\mu\text{g/ml}$,对灵菌的最低杀菌浓度为1.0 $\mu\text{g/ml}$,对卒倒菌的为2.0 $\mu\text{g/ml}$ 。同时,亚迪丰的体内抗菌活性试验结果表明,亚迪丰对被卒倒菌感染的家蚕具有良好的保护作用,其对感染家蚕保护作用的半数有效量(ED_{50})为8.81 ng/kg;而对被灵菌感染的家蚕有效保护作用剂量较大,其对感染家蚕保护作用的 ED_{50} 为54.95 ng/kg。在家蚕体内亚迪丰对灵菌的防治效果不如卒