

湖南现行家蚕品种资源对氟化物的抗性

艾均文, 孟繁利, 何行健, 薛宏, 黄仁志, 赵玉文

(湖南省蚕桑科学研究所, 湖南 长沙 410127)

摘要: 于 4 龄期分别采用 150、300、600、1 200、2 400 mg/kg NaF 的 2 倍稀释液对湖南省现行家蚕 22 个品种资源进行添毒试验, 通过机率值法和最小二乘法, 分别得出 NaF 对各品种的毒力回归方程和对家蚕品种资源的半致死量(LC_{50})。结果表明: 湖南省现行家蚕品种间的 LC_{50} 差异较大, 抗性强品种 1514、秋白 B、8535、夏芳 B 与秋丰 B 的 LC_{50} 超过含抗氟主效基因的基础品种 T6, 而抗性弱品种云 1、云 2、皓月 A、日 3 等的 LC_{50} 低于 1 000 mg/kg。

关键词: 现行家蚕品种; 抗氟性; 半致死量; 湖南

中图分类号: S882.2 文献标志码: A 文章编号: 1007-1032(2011)03-0280-03

Resistance of the commercial silkworm races in Hunan province to fluoride

AI Jun-wen, MENG Fan-li, HE Xing-jian, XUE Hong, HUANG Ren-zhi, ZHAO Yu-wen

(The Sericultural Research Institute of Hunan Province, Changsha 410127, China)

Abstract: In this study, the 22 different commercial silkworm races in Hunan province during 4th instar larvae were fed continuously on mulberry leaves immersed in serial two-fold dilutions of fluoride solutions with original concentration of 150, 300, 600, 1 200, 2 400 mg/kg respectively. The toxicological regression line(LD-P), median lethal concentration (LC_{50}), 95% fiducial limit of LC_{50} , relation coefficient(r) and chi square test(χ^2) were performed by a method according to the probit analysis and the least square. The bioassay result showed that there was distinct fluoride resistibility among these different commercial silkworm races in Hunan province. The commercial silkworm races "1514", "Qiubai B", "8535", "Xiafang B" and "Qiufeng B" were highly tolerant to fluoride, with LC_{50} 's greater than that of silkworm strain "T6", which harbor the fluoride tolerance major gene, and the commercial silkworm races "Yun 1", "Yun 2", "Haoyue A" and "Ri 3" were highly sensitive to fluoride with LC_{50} 's less than 1 000 mg/kg.

Key words: commercial silkworm race; fluoride resistance; LC_{50} ; Hunan province

由水泥厂、砖瓦厂、磷肥厂、铝厂等排放到大气中的氟化物被桑叶吸收后, 会引起蚕不同程度的中毒, 给养蚕业造成经济损失。1988 年, 国家《大气环境质量标准》补充颁布的《保护农作物的大气污染物允许最高浓度》^[1]规定, 桑叶一年内月平均氟含量不准超过 30 mg/kg。浙江省政府浙政发[1993]91 号文件下发《春蚕氟污染防治管理办法》, 并制定了《蚕桑区桑叶氟化物含量控制标准》^[2]。关于家蚕氟

化物中毒的原因、机理、过程、规律及防治措施等已有较多报道^[3-9], 但最经济有效的办法仍是提高家蚕品种的抗氟性^[10]。目前, 全国蚕茧主产地已育成了一批抗氟性较强的家蚕品种^[11-13]。针对湘潭、岳阳等地近年来相继发生的家蚕氟化物中毒事件, 笔者于 2010 年春季对湖南省现行家蚕品种资源的氟化物抗性进行了比较分析, 以期抗氟家蚕品种的选育打下基础。

收稿日期: 2010-09-12

基金项目: 现代农业(蚕桑)产业技术体系建设专项(nycytx-27-syz18); 农业部公益性行业(农业)科研专项(nyhyzx07-020); 湖南省科学技术厅项目(2010NK3050)

作者简介: 艾均文(1968—), 男, 湖南常德人, 博士, 研究员, 主要从事桑蚕种质资源与品种选育研究, aijunwen718@sina.com

1 材料与方法

1.1 材料

湖南省蚕桑科学研究所保育的由湖南育成的或现行推广的主要家蚕品种,包括日系品种T6、54A、日3、8536、秋白A、秋白B、1514、1504A、7522、854B、皓月A等11个;中系品种夏芳A、夏芳B、云1、云2、丰1、1501A、1501C、7521、秋丰B、8535、菁松A等11个,其中T6为1999年从中国农业科学院蚕业研究所引进的含有阈值为200 mg/kg抗氟主效基因的基础品种^[5,14],作为参照。选用同一桑品种农桑14。NaF为天津市大茂化学试剂厂产品。

1.2 方法

22个供试家蚕品种在相同条件下催青、收蚁,同室饲养,1~2龄全防干育,3龄半防干育,4~5龄普通育。参照文献^[15]的添食与调查方法,分别配制150、300、600、1 200、2 400 mg/kg的NaF溶液,2倍稀释后浸渍桑叶,浸渍时间为5 min,桑叶上、下午分别浸1次,晾干后注意保鲜,并按饲养标准喂养。每个品种设5个试验区 and 1个清水对照区,每区100头蚕。试验蚕在3龄眠中数取,4龄起蚕开始添食,每天喂4次,连续喂食60 h后更换正常叶。每次给桑前调查死蚕数,清水对照区蚕眠齐72 h后,仍未眠的试验区蚕、眠中死蚕均作为死亡蚕。试验处理期间只用防僵粉消毒1次,中除1次。

1.3 数据处理

因对照组死亡率均低于5%,计算中用实际死亡率代替校正死亡率。将药剂含量用对数值表示,死亡率用机率值表示,采用工作机率值法计算回归方程及 LC_{50} 与95%的可信限^[16]。用卡方 χ^2 检验回归方程 $y=a+bx$ 的合适性,如果 $\Sigma\chi^2 > \chi^2_{0.05} = 7.815 (df=3)$,则进行1次或多次校正,直到连续2次校正后, LC_{50} 的标准差非常接近。

2 结果与分析

2.1 添氟对家蚕生长发育的影响

观察4龄期家蚕,抗氟性强的家蚕品种或添氟

含量低的试验区家蚕的发育、眠起无明显差异,不表现毒害;抗氟性一般的家蚕品种或添氟含量不高的家蚕躯体略瘦,发育略有滞后现象,但染毒病症不明显;抗氟性较弱的品种或添氟含量较高的家蚕躯体明显缩小,发育明显偏慢,个体间大小有明显开差;抗氟性差的敏感品种或添氟浓度很高的家蚕个体明显比对照区缩小,群体大小开差(很大),体色锈黄,有吐水现象,发育严重滞后,部分蚕儿环节间膜处出现点状或带状黑斑,家蚕大量死亡。

2.2 氟化钠对家蚕品种资源的半致死量

以NaF对不同家蚕品种资源的添食致毒效果为依据,用工作机率值法求出回归方程,再通过回归方程求出 LC_{50} ,结果见表1。22个参试家蚕品种间 LC_{50} 存在明显差异。1514、秋白B、8535、夏芳B、1501C、秋丰B的 LC_{50} 达2 000 mg/kg以上,超过了对照品种T6,为抗氟性强品种;云1、日3、皓月A、云2的 LC_{50} 不到1 000 mg/kg,为抗氟性差的品种;7522、1504A、秋白A、8536、夏芳A、丰1、1501A等,其 LC_{50} 高于1 500 mg/kg,但低于2 000 mg/kg,为抗氟性中等的品种;54A、854B、7521、菁松A等,其 LC_{50} 只高于1 000 mg/kg,为抗氟性较弱的品种。中系的抗氟能力比日系略强,这与林昌麒等^[9]调查的结果相一致。有较大部分家蚕资源品种的调查数据所得卡方和大于 $\chi^2_{0.05} = 7.815 (df=3)$,说明这些品种所测定群体存在异质性^[16],这与家蚕品种资源是在特定环境条件与选择手段下选育或保存有关,它们在基因频率和基因型频率方面只是保持相对稳定。这些品种基本上未进行氟化物的筛选,即在氟化物适应性选择层面上是中性的,不同抗氟性能的个体选留和丢失几率是随机的,因而个体间也会存在明显差异。

试验结果还表明,湖南省保存的现行家蚕品种资源的抗氟性不仅差异较大,而且中、日系均存在 LC_{50} 超过含抗氟主效基因的基础品种T6的品种,有助于利用这些经济性状好、抗氟性强的品种资源进行品种改良,育成新的实用性抗氟品种,减少氟污染给蚕桑生产所带来的损失。

表1 氟化钠对湖南省现行家蚕品种资源的半致死量

Table 1 LC_{50} values of fluoride for different commercial silkworm races

品系	品种	回归方程	$LC_{50}/(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$	相关系数	置信区间/ $(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$	卡方和
日系	1514	$y=2.100x-2.203$	2 692.359	0.970 **	3 475.156~2 085.574	3.473
	秋白 B	$y=2.251x-2.562$	2 286.725	0.971 **	2 825.980~1 850.252	4.262
	T6	$y=2.588x-3.372$	1 872.451	0.966 **	2 453.321~1 428.337	11.882
	7522	$y=1.921x-1.233$	1 756.465	0.967 **	2 255.174~1 368.040	3.604
	1504A	$y=3.911x-7.479$	1 550.653	0.966 **	1 712.335~1 407.380	7.377
	秋白 A	$y=2.711x-3.630$	1 527.625	0.945 *	1 719.631~1 356.953	3.877
	8536	$y=2.626x-3.353$	1 517.166	0.920 *	2 254.773~1 003.396	32.128
	54A	$y=3.963x-7.072$	1 113.180	0.923 *	1 752.629~706.858	74.950
	854B	$y=3.101x-4.437$	1 104.719	0.965 **	1 418.504~859.649	15.854
	皓月 A	$y=2.799x-2.920$	675.572	0.958 *	902.528~507.024	19.515
	日 3	$y=2.690x-2.579$	657.088	0.946 *	866.696~498.974	18.463
	平均					1 523.091
	中系	8535	$y=2.291x-2.636$	2 152.368	0.979 **	2 639.255~1 755.303
夏芳 B		$y=3.229x-5.716$	2 080.764	0.962 **	2 327.844~1 858.002	1.239
1501C		$y=2.182x-2.226$	2 052.169	0.990 **	2 508.198~1 678.952	2.962
秋丰 B		$y=2.770x-4.146$	2 001.230	0.991 **	2 348.978~1 704.964	3.143
夏芳 A		$y=3.087x-5.055$	1 810.133	0.953 *	2 027.626~1 618.126	6.161
丰 1		$y=2.511x-3.171$	1 793.968	0.899 *	2 661.294~1 210.341	17.093
1501A		$y=2.600x-3.219$	1 655.852	0.899 *	2 792.322~986.665	41.254
7521		$y=5.100x-11.087$	1 426.540	0.992 **	1 539.485~1 321.886	1.752
菁松 A		$y=2.733x-3.256$	1 048.365	0.947 *	1 504.652~732.795	27.524
云 2		$y=2.532x-2.233$	718.600	0.992 **	811.234~636.581	4.811
云 1		$y=3.544x-4.982$	655.941	0.981 **	784.853~548.583	10.178
平均						1 581.448

参考文献:

- [1] GB9137—1988, 保护农作物的大气污染物允许最高浓度[S].
- [2] DB33/392—2003, 蚕桑区桑叶氟化物含量控制标准[S].
- [3] 吕顺霖, 顾国达, 徐俊良, 等. 氟对家蚕胚胎培养细胞毒害作用的形态学和组织学研究[J]. 蚕业科学, 1995, 21(2): 106-110.
- [4] 沈海铭. 桑蚕抗氟性遗传模式的研究[J]. 科技通报, 1997, 13(6): 419-422.
- [5] Xu Qing-gang, Chen Ke-ping, Yao Qin, et al. Screening and cloning of RAPD marker of fluoride tolerance gene in silkworm, *Bombyx mori* [J]. Zoological Research, 2004, 25(1): 69-72.
- [6] Zhou Hongliang, Chen Ke-ping, Yao Qin, et al. Molecular cloning of *Bombyx mori* cytochrome P450 gene and its involvement in fluoride resistance[J]. Journal of Hazardous Materials, 2008, 160: 330-336.
- [7] Chen Yu-yin, Du Xin, Jin Yuan-xiang. Cytochemical evidence for an anomalous dose-response of acid phosphatase activity in the blood but the midgut of fluoride-treated silkworm larvae, *Bombyx mori*[J]. Fluoride, 2005, 38(2): 133-138.
- [8] 吕顺霖, 杜孟达. 萘胺类化合物对氟中毒家蚕幼虫虫液 H_2O_2 酶活性的影响[J]. 浙江大学学报, 2000, 26(3): 259-260.
- [9] 林昌麒, 姚勤, 吴冬秀, 等. 家蚕品种资源对氟化物耐受性调查及相关分析[J]. 蚕业科学, 1996, 22(4): 253-254.
- [10] 周金妹, 杨明观. 以氟敏指数为指标的家蚕抗氟性选择效果[J]. 浙江农业大学学报, 1996, 22(4): 437-438.
- [11] 林昌麒, 姚勤, 方琴琴, 等. 家蚕夏秋用抗氟品种绿·萍×晴·光的选配及光的抗氟改良[J]. 蚕业科学, 2001, 21(1): 21-28.
- [12] 林昌麒, 姚勤, 侯成香, 等. 桑蚕品种菁松×皓月的抗氟改良系菁松_F×皓月_F[J]. 蚕桑通报, 2001, 32(1): 15-19.
- [13] 闭立辉, 顾家栋, 胡乐山, 等. 家蚕抗氟品种“桂蚕 F95”的选育研究[J]. 广西科学, 2008, 15(2): 198-204.
- [14] 林昌麒, 糜懿殿, 姚琴, 等. 家蚕耐氟显性主效基因的发现[J]. 蚕业科学, 1997, 23(4): 237-239.
- [15] 周金妹, 杨明观. 氟敏指数与半致死浓度(LC_{50})的相关性研究[J]. 蚕桑通报, 1994, 25(3): 14-16.
- [16] 沈晋良, 吴益东. 棉铃虫抗药性及其治理[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995: 136-150.

责任编辑: 罗慧敏