

以蚕为媒 传承蚕桑丝织技艺

陈璐 刘昌文 张英 朱建军 王心果 李一平

(湖南省蚕桑科学研究所, 长沙 410127)

摘要: 蚕桑丝织技艺是我国传统文化的精髓,也是世界文化遗产的重要组成部分。湖南的蚕桑生产在西周时期就初具规模,在此基础上发展起来的湘绣誉满天下,“花垣苗绣”“桃源刺绣”“溆浦蚕灯舞”等一大批本土特色鲜明的非遗传承,更加彰显出湖湘蚕桑文化的深厚底蕴。而长期以来,由于受多方面条件的限制,缺乏传承和推广。本文探讨了在中、小学生研学和综合实践课程中融入非遗文化—蚕桑丝织技艺的现状与建议,并总结出一套适合推广的传承模式,为青少年学习和传承蚕桑丝织技艺提供路径。

关键词: 蚕桑文化; 丝织技艺; 传承; 湖南

中国蚕桑丝织技艺包括栽桑、养蚕、缫丝、印染、丝织等整个生产过程的生产技艺,及其间所需用到的设施设备、丝绸产品和衍生出来的民俗活动,是蚕农们在长期生产活动中的历史积淀,于2009年入选联合国教科文组织《人类非物质文化遗产代表作名录》。湖南的蚕桑生产在西周时期就初具规模,在此基础上发展起来的湘绣誉满天下,“花垣苗绣”“桃源刺绣”“溆浦蚕灯舞”等一大批本土特色鲜明的非遗,更加彰显湖湘蚕桑文化的深厚底蕴。学习蚕桑文化知识,掌握蚕桑丝织技艺,作为一项认识自然、学习科学知识、培养观察能力和爱心的实践课程,可以激发学生的爱国热忱与民族精神,让青少年在活动中手脑并用,全身心参与,并亲历蚕桑生产过程,强化劳动观念,弘扬勤俭、奋斗、创新、奉献的“春蚕精神”,引导学生动手实践,获得有积极意义的价值体验。

1 湖南蚕桑丝织技艺传承现状

为更好地发掘、保护、传承蚕桑丝织技

艺,激发学生们对科学探索的热情,湖南省蚕桑科学研究所于2017年开始致力于蚕桑丝织技艺传播活动,已深入全省40余所学校开展相关课程讲座,相继举办了“蚕桑文化进校园”“大自然的公开课”“走进蚕海桑田 践行春蚕精神”“童趣蚕桑园 助学母亲节”等一系列体验活动,并取得了阶段性成绩,参与活动的学生和老师给出了很高的评价,在创新研学模式的同时,最终让广大师生加深了对蚕桑历史文化、养蚕丝织技艺和丝绸延伸产品的认知。

2 当前主要问题

2.1 现有政策支持力度不足

蚕桑丝织技艺传承活动既能了解蚕桑历史文化知识,又能通过兴趣进行实践体验,是十分适合儿童青少年科学体验和劳动实践教育的载体。但由于没有较为明确的政策引导,推广活动进展较为缓慢。

2.2 底层蚕桑文化知识获取困难

由于产业结构调整、国际茧丝价格波动

频繁等原因,蚕桑行业日益萎靡,城市里基本上已无成片区桑园,儿童青少年更是无从接触蚕和桑,多是通过书本和口述加以想象。在活动过程中,既需要耐心和细致地讲解,又要有生动和具体的体验,传播推广任重道远。

2.3 活动资金缺乏

蚕桑丝织技艺传承活动在全省范围内全面开展,需要大量的人力、物力、场馆基地的建设和维护来加以保证,目前运营的湖南蚕桑科技文化中心,其经费主要由湖南省蚕桑科学研究所承担,以公益性为主,资金压力较大。

3 具体措施及建议

3.1 准确把握政策的新变化和新特点

深入学习贯彻习近平总书记关于教育的重要论述,结合教育部印发《关于推进中小学生研学旅行的意见》教基一[2016]8号、《中小学综合实践活动课程指导纲要》教材[2017]4号和《大中小学劳动教育指导纲要(试行)》等系列文件精神,突显活动特色和意义,争取领导重视、上级部门支持、社会支持和家长支持,在师资力量、场地设施、经费投入等方面合理规划和统筹安排,以蚕桑丝织技艺实践课程的开发为核心,面向学校和社会,合力推进传承活动顺利有序地开展。

3.2 自主创新,搭建主题鲜明的学习空间

3.2.1 品种创新 湖南省蚕桑科学研究所以优良春用和夏秋用品种为育种亲本,通过回交、插交分别导入优良丝质材料血缘与天然绿色茧和黄色茧基因,在不同自然气候与人工设置环境条件下对新组配材料进行定向培育与选择,使新材料在原育种亲本的综合性状进一步得到提高的基础上,同时还赋予其天然彩色茧特性。最终利用多元组配方法选育出强健、稳产、优质、易繁、茧色稳定的实用性夏秋用天然绿色茧四元杂交家蚕新品种“湘

彩绿1号”和天然黄色茧四元杂交家蚕新品种“湘彩黄1号”。在活动过程中,同学们对吐彩色丝的特色家蚕品种,充满好奇心和求知欲,并学会运用简单测量工具对彩色茧蚕等物体定量观察、采集数据、简单记录;学会较长时间观察、记录蚕儿生长与变化,用各种感官感知自然事物并用语言或图画描述特征。通过引导观察蚕儿在生长过程中不同阶段的习性和体态变化,让学生认识并了解天然彩色茧蚕品种的育成原理和过程,并给有意向动手实践的学生提供相关物料,让他们领养蚕宝宝,开展蚕儿饲养实验。

3.2.2 课程创新 现行小学《科学》教材“动物的生命周期”中以蚕为研究观察对象,每个学生都要进行蚕的饲养与观察。课程创新以学校校本为切入口,以蚕桑丝织技艺学习为主线,采取课内外相结合的教学模式,并根据学生不同的学习阶段,有针对性的开设桑叶采摘体验、蚕儿饲养体验、手动缫丝和蚕茧手工艺品制作等综合实践课程,同时穿插介绍蚕桑生产、丝绸贸易和地方民俗的演变过程,同学们在学习家蚕生长发育、桑树基础知识和蚕桑生产技艺的同时,还能了解蚕桑历史事件和历史人物,认识蚕桑文化、蚕桑产品对现代社会、生活和文化的影响。通过课程的整合融通,让蚕桑丝织技艺传承实践活动从单一学科向其他学科辐射,并逐步实现全学科覆盖。

3.2.3 产品创新 包括对养蚕盒、手提袋、养蚕手册、设施设备、在线服务内容等不断优化、创新。目前已获国家知识产权局授权专利4项(多功能养蚕盒:ZL 201630325891.8;一种多功能手提袋:ZL 201621261184.8;一种便携式多功能养蚕盒:ZL 201620779428.5;一种手摇式缫丝车:ZL 201820945416.4),今后还将继续进行产品创新,更好地为活动服务。

3.2.4 营销创新 湖南蚕桑丝织技艺传承实践

(下转第25页)

盐酸恩诺沙星对家蚕细菌性败血病的防治试验

吴洪丽 周洪英 孙波 郝瑜 叶建美 许淑琼 刘启燕

(湖北省农业科学院经济作物研究所, 武汉 430070)

摘要: 利用第 3 代喹诺酮类抗菌药物盐酸恩诺沙星开展防治家蚕细菌性败血病试验, 结果表明, 盐酸恩诺沙星对家蚕黑胸败血病病原菌枯草芽胞杆菌 (*Bacillus subtili*) 及灵菌败血病病原菌粘质沙雷氏菌 (*Serratia marcescens*) 均具有良好的抑制效果, 500mg/L 盐酸恩诺沙星对家蚕黑胸败血病及灵菌败血病病蚕的保护率均超过 90%, 高于对照药物; 2 500mg/L 以下剂量的盐酸恩诺沙星对家蚕杂交种及原种生产安全。

关键词: 盐酸恩诺沙星; 家蚕细菌病; 防治效果; 安全性; 药物敏感性

家蚕细菌性败血病主要有黑胸败血病和灵菌败血病, 是养蚕生产的常见病害, 其损失率占蚕病损失率的 20% 以上^[1], 对蚕茧和蚕种生产造成较大危害, 防治方法一般采用添食抗生素^[2-4]。目前生产上使用的抗生素有硫氰酸红霉素、氟苯尼考、盐酸环丙沙星等^[5-7], 前两者可防治家蚕黑胸败血病, 盐酸环丙沙星可防治家蚕灵菌败血病, 但尚未研发出同时有效防治上述 2 种败血病的药物。此外, 同一种抗生素的长期使用会导致细菌产生耐药性^[5], 需要不断筛选新的药物来满足生产需求。因此, 本项目组开展了盐酸恩诺沙星对家蚕细菌性败血病的防治研究。

1 材料与方法

1.1 材料

资助项目: 现代农业产业技术体系建设专项(No. CARS-18); 国家自然科学基金青年科学基金项目(No.31600010); 湖北省农业科技创新中心项目(No.20070205)。

第一作者: 吴洪丽(1963—), 女, 研究员。

E-mail: wuhl001@163.com

通讯作者: 郝瑜, 研究员。E-mail: jbpshao@163.com

1.1.1 药剂 盐酸诺氟沙星, 有效成分含量 99.2%, 枣阳臻远化工有限公司产品; 乳酸诺氟沙星, 有效成分含量 99.2%, 武汉贝尔卡生物医药有限公司产品; 诺氟沙星, 有效成分含量 99.2%, 山西同济药业有限公司产品; 盐酸恩诺沙星, 有效成分含量 99.3%, 上虞京新药业有限公司产品; 磺胺嘧啶钠, 有效成分含量 98.1%, 佛山市南海北沙药业有限公司产品; 恩诺沙星, 有效成分含量 99.1%, 上虞京新药业有限公司产品; 磺胺间甲氧嘧啶钠, 有效成分含量 99.2%, 佛山市南海北沙药业有限公司产品; 硫氰酸红霉素, 有效成分含量 99.1%, 效价 751 单位 /mg, 湖北宜都东阳光生化药业有限公司产品; 盐酸环丙沙星, 有效成分含量 99.4%, 上虞京新药业有限公司产品。

1.1.2 家蚕品种 飞鹤 × 祥云及其原种, 正常条件下催青并饲养。

1.1.3 病原菌 家蚕黑胸败血病病原菌枯草芽胞杆菌 (*Bacillus subtili*, Bs) 由本研究室保存; 家蚕灵菌败血病病原菌粘质沙雷氏菌 (*Serratia marcescens*, Sm) 来自广东微生物研究所菌种保藏中心。

1.1.4 MH 琼脂培养基 牛肉浸膏粉 2g、酸水解酪蛋白 17.5g、可溶性淀粉 1.5g、琼脂

17g, 加水 1 000mL, pH 调节至 7.3 ± 0.2 。配好后, 放入高压蒸汽灭菌锅内 121°C 灭菌 21min, 冷却备用。

1.2 体外抑菌试验

采用牛津杯法进行体外抑菌试验。称取磺胺嘧啶钠 50mg 和甲氧苄啶 10mg 配成复方磺胺嘧啶钠, 其他供试药物各称取 50mg, 分别定溶于 1L 的容量瓶中, 配制成 50mg/L 药液备用。将试验菌接种于营养琼脂斜面培养基上培养 24h, 每个病原菌斜面用无菌水冲洗菌苔, 并稀释成约 $2 \times 10^8\text{CFU/mL}$ 菌悬液, 双层法倒平板, 下层空白 MH 培养基, 上层 MH 培养基中加入菌悬液 (体积比 1:100), 每只牛津杯中加入 200 μL 供试药物的溶液, 28°C 培养过夜。测量牛津杯周围透明无菌圈直径大小, 记录数据, 每个试验组设 3 次重复, 取平均值, 统计分析比较各供试药物的抑菌效果。

1.3 药效试验

供试蚕为飞鹤 $\times$ 祥云杂交种, 按照蚕用抗微生物药效评价试验技术指导原则^[8]进行药效试验。

1.3.1 接种方法 将试验菌接种于营养琼脂斜面培养基上培养 24h, 试验时, 用无菌水冲洗菌苔制成菌悬液, Bs 稀释至 $2 \times 10^8\text{CFU/mL}$, Sm 稀释至 $2 \times 10^7\text{CFU/mL}$, 备用。用经酒精灯火焰灭菌的接种针蘸取少量菌液, 给 5 龄起蚕体表下穿刺接种。

1.3.2 给药方法 供试蚕分为 13 组, 6 组感染 Bs, 6 组感染 Sm, 1 组不接种细菌 (阴性对照), 每组 50 头蚕, 重复 3 区。试验组分别添食 125、250、500、1 000mg/L 盐酸恩诺沙星药液, 1 组设为感染不给药对照 (阳性对照), Bs 药物对照组添食 10 万单位/L 硫氰酸红霉素, Sm 药物对照组添食 500mg/L 盐酸环丙沙星。接种结束后开始喂药叶, 在第 1 天内 24h 全部喂药叶, 第 2、3 天分别喂药叶 6h, 其余时间喂普通桑叶, 第 4 天开始只喂普通桑叶。

1.3.3 发病调查 根据试验蚕发病死亡的症状

进行调查。黑胸败血病死蚕先胸部变黑, 继而扩展到全身; 灵菌败血病死蚕全身发红。阳性对照组调查统计 72h 内的发病死亡率, 给药处理组除了调查给药期间的发病个体数外, 在给药结束后继续饲养 48h 调查发病死亡蚕头数, 合计总的发病数, 计算发病死亡率。保护率 = (阳性对照组发病死亡率 - 药物试验组发病死亡率) / 阳性对照组发病死亡率 $\times 100\%$ 。试验设置 3 个重复, 统计平均保护率。1.3.4 结果判定方法 阳性对照组发病死亡率 $\geq 90.0\%$ 。给药处理组以平均保护率 $\geq 90.0\%$, 判定该抗生素药物治疗有效。

1.4 安全性试验

安全药理学试验按照蚕药靶动物安全性试验技术指导原则^[8]进行, 分别用飞鹤 $\times$ 祥云杂交种及原种进行试验, 设置 3 个试验组, 分别添食 500、1 500 和 2 500mg/L 盐酸恩诺沙星, 对照组添食清水, 每组重复 3 区, 每区 400 头蚕。药液与桑叶配比为 100mL 药液、2 000g 桑叶, 将药液均匀喷洒在桑叶上, 在 4 龄第 3 天、5 龄第 1 天、第 3 天、上簇前 1 天各喂药叶 1 次, 每次 6h; 当发现病蚕时, 第 1 天连续添食 3 次, 每次 8 h, 以后每天 1 次, 每次 6h。杂交种调查家蚕的急慢性中毒情况、4 ~ 5 龄的发育经过时间、4 龄眠蚕体质量、熟蚕体质量、幼虫生命力、虫蛹率、死笼率、全茧量、茧层量、茧层率等指标; 原种除了调查上述指标外, 还要调查单蛾产卵数、良卵率、孵化率等指标。比较试验组与对照组上述各项指标的差异显著性, 确定最大耐受剂量或剂量范围。杂交种以幼虫发育经过时间、幼虫生命力、全茧量为关键指标, 原种以幼虫发育经过时间、虫蛹率、单蛾产卵数、不良卵率和孵化率为关键指标, 试验组任何一个关键指标显著劣于对照组, 该试验组安全性判定不合格。

1.5 统计分析

试验数据采用 SAS 9.0 数据分析软件进行统计分析。

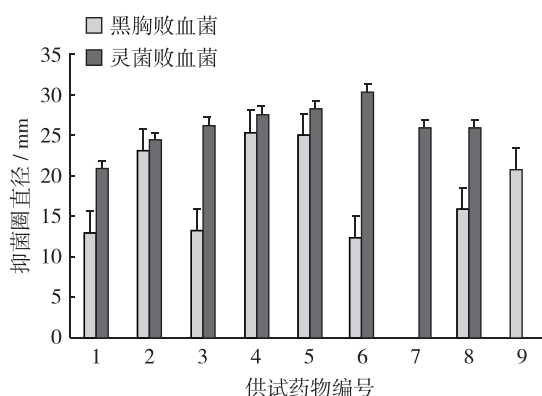
2 结果与分析

2.1 药物体外抑菌试验

采用体外抑菌试验对试验药物进行筛选, 结果(如图 1), 盐酸恩诺沙星对 Bs 及 Sm 都有较强的抑制效果, 其抑菌圈直径平均为 24.94mm 和 28.22mm, 均高于对照药物盐酸环丙沙星和硫氰酸红霉素, 综合抑菌效果高于其他试验药物。因此, 选择盐酸恩诺沙星为防治家蚕细菌性败血病新药进行研究。

2.2 盐酸恩诺沙星药效试验

家蚕接种 Bs 和 Sm 后, 测定盐酸恩诺沙星对由这 2 种病原菌引起的败血病的保护率, 由表 1 可以看出, 盐酸恩诺沙星在质量浓度 $\geq 500\text{mg/L}$ 时, 对这 2 种病原菌引起的家蚕黑胸败血病和灵菌败血病的保护率均高于 90%, 且显著高于对照药物硫氰酸红霉素及盐



1- 盐酸诺氟沙星, 2- 乳酸诺氟沙星, 3- 诺氟沙星, 4- 恩诺沙星, 5- 盐酸恩诺沙星, 6- 复方磺胺嘧啶钠, 7- 磺胺间甲氧嘧啶钠, 8- 盐酸环丙沙星, 9- 硫氰酸红霉素。

图 1 供试药物体外抑菌试验结果

酸环丙沙星 ($P < 0.05$), 判定盐酸恩诺沙星药液质量浓度 $\geq 500\text{mg/L}$ 对这 2 种败血病防治有效。

表 1 盐酸恩诺沙星对家蚕黑胸败血菌及灵菌败血菌的药效试验

药物	药物浓度	黑胸败血菌		灵菌败血菌	
		发病率 /%	保护率 /%	发病率 /%	保护率 /%
盐酸恩诺沙星	$125\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	84.00 ± 1.63	16.00 ± 1.63	89.33 ± 4.11	10.67 ± 4.11
	$250\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	41.33 ± 1.89	58.67 ± 1.89	38.00 ± 1.63	62.00 ± 1.63
	$500\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	8.00 ± 1.63	92.00 ± 1.63^a	9.33 ± 0.94	90.67 ± 0.94^a
	$1\,000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	4.67 ± 1.89	95.33 ± 1.89	7.33 ± 2.94	92.67 ± 2.94^a
硫氰酸红霉素	$100\,000\text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$	11.33 ± 0.94	88.67 ± 0.94^b		
盐酸环丙沙星	$500\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$			12.00 ± 1.63	88.00 ± 1.63^b
阳性对照		99.33 ± 0.94		100 ± 0	
阴性对照		2.00 ± 1.63		2.67 ± 0.94	

同列数据后不同小写字母表示 2 个处理组间存在显著差异 ($P < 0.05$)。

2.3 盐酸恩诺沙星安全性试验

对杂交种的安全性试验可以看出(表 2), 试验组幼虫发育经过时间与对照无显著差异, 幼虫生命率显著高于对照, 全茧量与对照无显著差异, 死笼率极显著低于对照, 万蚕收茧量显著高于对照, 说明盐酸恩诺沙星对家蚕杂交种防病效果良好, 使用安全。原种安全性试验结果显示(表 3), 试验组幼虫发育经过时间、虫蛹率、单蛾产卵数、不良卵率

与对照无显著差异, 孵化率部分试验组显著高于对照, 其余与对照无显著差异, 死笼率显著或极显著低于对照, 说明盐酸恩诺沙星对家蚕原种防病效果良好, 使用安全。

3 讨论

盐酸恩诺沙星为合成的第 3 代喹诺酮类抗菌药物, 抗菌谱广, 渗透性强, 对革兰阴

表 2 盐酸恩诺沙星对家蚕杂交种的安全性

项 目	500 mg·L ⁻¹ 盐酸恩诺沙星	1 500 mg·L ⁻¹ 盐酸恩诺沙星	2 500 mg·L ⁻¹ 盐酸恩诺沙星	空白对照组
4~5 龄发育经过时间	13 d 8 h	13 d 8 h	13 d 8 h	13 d 8 h
4 龄眠蚕体质量 /g	0.734 ± 0.003 [*]	0.724 ± 0.004	0.727 ± 0.004	0.726 ± 0.002
熟蚕体质量 /g	2.617 ± 0.019 ^{**}	2.559 ± 0.007 ^{**}	2.660 ± 0.007 ^{**}	2.704 ± 0.005
幼虫生命率 /%	99.33 ± 0.10 [*]	98.92 ± 0.17 [*]	99.28 ± 0.10 [*]	98.25 ± 0.78
死笼率 /%	0.94 ± 0.03 ^{**}	0.85 ± 0.04 ^{**}	1.18 ± 0.15 ^{**}	2.61 ± 0.20
万蚕收茧量 /kg	23.90 ± 0.18 [*]	22.91 ± 0.15	22.80 ± 0.25	22.62 ± 0.19
全茧量 /g	2.359 ± 0.015	2.361 ± 0.015	2.380 ± 0.023	2.405 ± 0.032
茧层量 /g	0.580 ± 0.002	0.576 ± 0.006	0.573 ± 0.003	0.577 ± 0.002
茧层率 /%	24.59 ± 0.13	24.40 ± 0.34	24.09 ± 0.22	24.01 ± 0.25

“*”表示与空白对照有显著差异, “**”表示与空白对照有极显著差异。表 3 同。

表 3 盐酸恩诺沙星对家蚕原种的安全性

项 目		500 mg·L ⁻¹ 盐酸恩诺沙星	1 500 mg·L ⁻¹ 盐酸恩诺沙星	2 500 mg·L ⁻¹ 盐酸恩诺沙星	空白对照组
4~5 龄发育经过时间	飞鹤	13 d 8 h	13 d 8 h	13 d 8 h	13 d 8 h
	祥云	12 d 8 h	12 d 8 h	12 d 8 h	12 d 8 h
4 龄眠蚕体质量 /g	飞鹤	0.683 ± 0.003 [*]	0.681 ± 0.003 [*]	0.682 ± 0.004 [*]	0.694 ± 0.004
	祥云	0.633 ± 0.002 [*]	0.645 ± 0.004	0.648 ± 0.004	0.641 ± 0.003
熟蚕体质量 /g	飞鹤	2.365 ± 0.035 ^{**}	2.392 ± 0.033 ^{**}	2.462 ± 0.041 ^{**}	2.278 ± 0.042
	祥云	2.261 ± 0.031 [*]	2.278 ± 0.029 [*]	2.329 ± 0.033	2.337 ± 0.028
虫蛹率 /%	飞鹤	98.34 ± 0.75	98.26 ± 0.82	99.32 ± 0.69	98.12 ± 0.71
	祥云	98.46 ± 0.69	98.58 ± 0.48	98.51 ± 0.81	98.63 ± 0.74
死笼率 /%	飞鹤	4.11 ± 0.35 [*]	3.47 ± 0.48	3.17 ± 0.29 [*]	3.74 ± 0.46
	祥云	2.42 ± 0.29 ^{**}	2.78 ± 0.32 ^{**}	3.11 ± 0.38 [*]	4.06 ± 0.38
全茧量 /g	飞鹤	2.122 ± 0.044 [*]	2.083 ± 0.051	2.091 ± 0.044	2.088 ± 0.044
	祥云	2.042 ± 0.038 [*]	2.047 ± 0.039 [*]	2.036 ± 0.041	2.018 ± 0.035
茧层量 /g	飞鹤	0.554 ± 0.010 [*]	0.551 ± 0.008 [*]	0.577 ± 0.012	0.572 ± 0.008
	祥云	0.481 ± 0.008	0.485 ± 0.007	0.477 ± 0.010	0.476 ± 0.010
茧层率 /%	飞鹤	26.30 ± 0.06 [*]	27.21 ± 0.05 [*]	27.71 ± 0.09	28.06 ± 0.08
	祥云	23.87 ± 0.07	23.93 ± 0.07	23.9 ± 0.04	23.92 ± 0.11
单蛾产卵数 /粒	飞鹤	642.94 ± 13.22	655.52 ± 18.21	656.20 ± 21.11	659.94 ± 29.31
	祥云	659.26 ± 18.46	661.3 ± 22.64	662.66 ± 21.41	664.7 ± 18.32
不良卵率 /%	飞鹤	0.82 ± 0.04	0.86 ± 0.03	0.86 ± 0.05	0.88 ± 0.03
	祥云	0.86 ± 0.03	0.83 ± 0.04	0.85 ± 0.04	0.87 ± 0.04
孵化率 /%	飞鹤	98.52 ± 0.09	98.25 ± 0.09	98.99 ± 0.08	98.92 ± 0.07
	祥云	99.22 ± 0.03 [*]	99.15 ± 0.03 [*]	98.49 ± 0.08	97.8 ± 0.09

性菌有很强的杀灭作用。盐酸恩诺沙星易溶于水, 便于家蚕添食。

本次试验的供试菌是家蚕黑胸败血病病原菌枯草芽孢杆菌及家蚕灵菌败血病病原菌

粘质沙雷氏菌, 盐酸恩诺沙星在本研究中的体外抑菌、药效试验及安全性试验中表现良好。此外, 本课题组还按照农业部对抗菌类新兽药试验的要求及规范开展了药敏试验^[9],

桑枝秸秆培养大球盖菇栽培种配方的筛选

邹湘月 肖建中 李双庆 邵元元

(湖南省蚕桑科学研究所, 长沙 410127)

摘要: 试验以桑枝秸秆为主要的地球盖菇栽培种培养原料, 通过室外进行覆土栽培, 比较不同栽培种配方对地球盖菇菌丝生长情况、速度、营养生长时间、产量及经济效益的差异。结果表明, 配方3(桑枝秸秆38%、玉米芯35%、麦麸20%、石灰和石膏各1%)为最佳配方, 地球盖菇在营养生长和出菇阶段栽培效果最佳。

关键词: 地球盖菇; 桑枝秸秆; 配方; 菌丝生长; 产量

地球盖菇(*Stropharia rugosoannulata*) 又称皱环球盖菇、酒红色球盖菇、裴氏假黑伞等, 隶属担子菌门、层菌纲、伞菌目、球盖菇科、球盖菇属^[1]。其成熟时菌盖呈现酒红色, 且色泽艳丽、柄粗盖肥、肉质脆嫩, 享有“山林珍品”的美誉, 近几年我国各地开始广泛栽培, 菇体中所含氨基酸、粗脂肪、蛋白质等含量显著高于其他食用菌品种^[2-3]。地球盖菇属于草腐型食用菌, 对多种作物秸

秆中的纤维素和木质素具有较强的降解能力, 且抗逆性强、栽培技术简单粗放, 是联合国粮农组织(FAO)向发展中国家推荐栽培的蕈菌之一, 也是一种名贵的食药两用真菌。桑枝作为桑树生物量最大的副产物, 来源广泛而稳定, 并且富含适合食用菌生长的营养物质^[4], 利用桑枝栽培地球盖菇, 不仅能充分利用桑业废弃物资源, 同时还能将桑枝中的1-脱氧野尻霉素(DNJ)富集到地球盖菇中,

试验结果表明, 黑胸败血病、灵菌败血病的历史菌株及从国内主要蚕区采集分离的64株现行菌株均对盐酸恩诺沙星敏感, 说明盐酸恩诺沙星对家蚕黑胸败血病及灵菌败血病的防治效果具有一定的广泛性。

参考文献

- [1] 安慧. 宜州家蚕两种细菌病原鉴定及防治研究[D]. 南宁: 广西大学, 2017.
- [2] 张友洪, 周安莲, 青学刚, 等. 四川省家蚕主要病害及其早期预警与防控技术措施[J]. 四川蚕业, 2018, 46(1): 46-49.
- [3] 王英民. 家蚕蚕病的科学防治[J]. 蚕桑茶叶通

讯, 2015, (2): 10-12.

- [4] 吴洪丽, 孙波, 叶建美, 等. 家蚕细菌病防治研究进展[J]. 北方蚕业, 2014, 35(4): 1-3; 8.
- [5] 谭汪英, 贾雪峰, 黄胜, 等. 抗生素类蚕药的使用分析及讨论[J]. 广西蚕业, 2018, 55(2): 35-38.
- [6] 沈炜, 林蔚红, 戴建忠, 等. 蚕药销售与使用现状的调查分析[J]. 蚕桑通报, 2018, 49(2): 56-57.
- [7] 吴刚. 浅谈蚕药的使用[J]. 蚕桑通报, 2013, 44(4): 56-57.
- [8] 农业部兽药评审中心. 兽药研究技术指导原则汇编[M]. 北京: 化学工业出版社, 2012: 127-132.
- [9] 周洪英, 孙波, 郝瑜, 等. 家蚕病原细菌对新蚕药盐酸恩诺沙星可溶性粉药敏性研究[J]. 北方蚕业, 2017, 38(4): 27-29; 54.

一定程度上提高大球盖菇的营养及保健价值,增加蚕桑业附加值^[5]。大球盖菇栽培种基料成分是影响栽培种适应性的主要因素^[6]。本研究以充分利用丰富的桑枝秸秆资源,制备对桑枝具有良好适应性的大球盖菇栽培种为目的,比较不同栽培种配方对大球盖菇菌丝生长情况、速度、营养生长时间、产量及经济效益的差异,筛选最佳栽培种配方,以期为高产高效栽培大球盖菇提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试大球盖菇菌株由湖南省农业大学食用菌研究所保存,编号为 S;供试桑枝由湖南省蚕桑科学研究所试验基地提供。将桑枝条粉碎成 0.8cm 以下的小木屑,装袋保存用于制备栽培种基质。常规栽培种(对照)由长沙县国钦食用菌专业合作社提供。

1.2 主要试剂

葡萄糖、酵母膏、 KH_2PO_4 、 MgSO_4 、琼脂等试剂购自国药集团化学试剂有限公司,为分析纯;马铃薯、稻壳、牛粪、稻草、麦麸、石灰等购自当地农贸市场。

1.3 主要仪器

立式压力蒸汽灭菌锅(YXQ-LS-50SII),上海博迅实业有限公司医疗设备厂产品;电子天平(PL203),梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司产品;恒温干燥箱(DHG-9140),上海一恒科学仪器有限公司产品;超净工作台(SW-CJ-2FO),苏州净化设备有限公司产品;卧式矩形压力蒸汽灭菌器(YXQ-WF21-900SZ),湖南共创医疗设备有限公司产品;其他为实验室常规设备及耗材。

1.4 试验方法

1.4.1 培养基制备 (1)母种培养基:马铃薯 200g,葡萄糖 18g,琼脂 20g, KH_2PO_4 3g, MgSO_4 1.5g,酵母膏 2g,蛋白胨 2g,自来水 1 000mL,pH 自然。(2)原种培养

基:麦粒 90%,麦麸 8%,石灰 2%,含水量 65%,pH 自然。(3)栽培种培养基:主料是桑枝秸秆、玉米芯、麸皮等。试验以目前市场上的大球盖菇栽培种主要用料作为对照,共设 5 个配方,各用料配比如表 1 所示,每个配方为 1 个处理,每个处理面积为 2m^2 ,重复 3 次。

表 1 供试栽培种用料及配比

配方	桑枝屑 (%)	玉米芯 (%)	麦麸 (%)	牛粪 (%)	石灰 (%)	石膏 (%)
1	78	—	15	5	1	1
2	58	25	10	5	1	1
3	38	35	20	5	1	1
4	18	55	20	5	1	1
5(CK)	—	68	25	5	1	1

1.4.2 栽培种制备 取干燥度 70% 以上无霉变的桑枝,粉碎粒径小于 8mm,按 1.4.1 (3)栽培种配方的比例搅拌均匀,装在规格为 17×33 聚丙烯袋中,每袋干料 0.6kg,灭菌后按无菌操作规程接种。每个配方接种 50 袋,设 3 个重复。

1.4.3 菌丝培养 将菌袋移入经过消毒、干燥通风的组培室内暗培养,接种 2d 后观察菌丝萌发吃料的情况,留意是否有菌袋污染并及时检出,菌丝培养大约 1 个月后即可满袋^[4]。分别记录各菌株在栽培种培养料上菌丝萌发时间,计算在定植后测量菌丝生长速度及生长势,观察菌丝生长情况。

计算公式为 $v=I/t$ 。式中, v 表示菌丝日均生长速度 (mm/d), I 表示生长量 (mm), t 表示培养天数 (d)。

1.4.4 出菇管理 2019 年 11 月上旬在湖南省蚕桑科学研究所桑枝食用菌大棚的室外基地采用轻简化畦式栽培方法栽培大球盖菇。将桑枝屑:稻壳:麦麸=1:0.65:0.15(质量比)配比,加入 1% 生石灰,调节基料含水量 65%~70%,配匀后建堆发酵 3d,在中心料温达到 60°C 时翻料,基质发酵好后铺料在畦床上,按铺 3 层料播 2 层菌种的方法进行

播种, 用菌种量 $500\text{g}/\text{m}^2$, 栽培料用量 $20\text{kg}/\text{m}^2$, 料要紧密结实, 以利于菌丝吃料, 上层覆园林土 3cm 厚, 最后在畦面上铺好 $1 \sim 2\text{cm}$ 预湿稻草。四周挖好排水沟, 防止积水。当畦面泥土发白出现原基时, 用微喷法每天喷水 $2 \sim 3$ 次, 保持出菇期空气相对湿度 90% 左右。在子实体 $7 \sim 8$ 分熟, 菌盖呈钟型尚未开伞时采摘, 测重并记录, 出菇结束后, 统计各处理鲜菇产量。

取发酵后培养料样品 5kg , 薄摊晾干后测重, 计算折干率和大球盖菇子实体生物学效率。

计算公式为 $\omega = (W_f/W_d) \times 100\%$ 。式中, ω 表示生物学效率, W_f 表示子实体鲜质量, W_d 表示培养料干质量。

1.4.5 数据分析

各配方试验设置 3 个重复, 对原始数据先进行标准化或归一化处理后, 再采用 EXCEL 进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 供试栽培种配方大球盖菇的菌丝体生长状况比较

从表 2 可以看出, 在不同的栽培种配方料上, 大球盖菇的菌丝长势不同。其中栽培种菌丝表现最好的是对照组, 接种后第 2 天开始萌发, 生长速度最快, 达到 $1.80\text{mm}/\text{d}$, 且菌丝粗壮、颜色洁白、长势旺盛; 在添加桑枝屑的几个供试配方中, 长势最好的是配

方 3, 菌丝生长速度达到 $1.75\text{mm}/\text{d}$, 仅次于对照组, 且菌丝浓密、均匀; 而配方 1 和配方 4 的菌丝表现不佳, 其中配方 1 长势最差, 平均生长速度最慢, 只有 $1.54\text{mm}/\text{d}$, 纯桑枝屑加麦麸的配方菌丝生长缓慢、生长势最低, 不宜采用。

表 2 供试配方料中的大球盖菇菌丝生长状况

配方	萌发时间 /d	菌丝日均生长速度 (mm/d)	菌丝外观	菌丝长势
1	2	1.54 ± 0.033	洁白、菌丝极少	+
2	1	1.64 ± 0.023	洁白、稀疏	++
3	1	1.75 ± 0.011	洁白、浓密、均匀	+++
4	1	1.57 ± 0.092	偏黄、分布不均	++
5(CK)	1	1.80 ± 0.041	菌丝粗壮、洁白	+++

注: “+++” 表示菌丝长势旺盛、整齐, “++” 表示长势中等、粗细不均, “+” 表示长势较弱。

2.2 供试栽培种配方大球盖菇的出菇情况比较

大球盖菇菌丝不仅在桑枝秸秆栽培种基料上生长良好, 还能在含桑枝栽培料上顺利生长, 且取得较高产量。由表 3 可知, 在配方 2 中大球盖菇营养生长时间最短, 为 136d , 其次为对照组 (138d), 分析可能该配方栽培种的成分和配比接近出菇料, 增加了菌丝的适应性, 易于吃料故有利于提早出菇。而桑枝屑含量较高的配方 1 所用的营养生长时间最长, 达到 156d , 且产量和生物转化率皆偏低, 该配方中桑枝含量太高没有添加玉米芯, 导致碳源和氮源比率不适合、基

表 3 供试配方料中的大球盖菇的出菇情况

配方	营养生长时间 /d	平均产量 (kg/m^2)			总产量 (kg/m^2)	生物转化率 (%)
		I 级菇	II 级菇	III 级菇		
1	156	1.68 ± 0.365	4.13 ± 0.166	1.49 ± 1.065	7.30 ± 0.715	84.9
2	136	1.74 ± 0.311	4.02 ± 0.331	4.04 ± 0.651	9.80 ± 0.663	114.3
3	143	3.35 ± 0.156	3.98 ± 0.187	2.69 ± 0.355	10.02 ± 0.313	116.5
4	148	2.09 ± 0.221	4.36 ± 0.029	2.65 ± 0.446	9.10 ± 0.476	105.8
5(CK)	138	2.83 ± 0.069	5.01 ± 0.298	2.36 ± 0.574	10.20 ± 0.658	118.6

料透气性变差而影响了出菇效果；供试 5 个配方中总产量最高的是对照组，为 $10.2\text{kg}/\text{m}^2$ ，其次为配方 3 ($10.02\text{kg}/\text{m}^2$)，但对照的 I 级菇率不及配方 3 ($3.35\text{kg}/\text{m}^2$)，而 II 级菇产量大，说明适量桑枝屑的添加有利于促进 I 级菇率的生成，改善产品商品性状；配方 2 的总产量也较高，接近于对照和配方 3，但 I 级菇率偏低，只有 $1.74\text{kg}/\text{m}^2$ 。从出菇情况来看，配方 3 的出菇表现最好。

2.3 供试栽培种配方大球盖菇的经济效益比较

不同栽培种培养料上大球盖菇的产出和

效益差异如表 4 所示，5 个不同栽培种的处理，最理想的为配方 3 和对照，平均产值都达到了 $54.77\text{元}/\text{m}^2$ ，平均收益最高，为 $36\,515.16\text{元}$ ；5 个配方由于只是栽培种的培养料成分上有偏差，对总投入没有产生较大影响，故其平均投入都在 $21.22 \sim 21.30\text{元}/\text{m}^2$ 之间，差异较小。不同栽培种培养的大球盖菇效益顺序依次为：配方 3（与 CK 同）> 配方 4 > 配方 2 > 配方 1。配方 1 由于前期菌丝长势不佳，产量和 I 级菇率较低，导致单位产值最低，只有 $38.56\text{元}/\text{m}^2$ 。

表 4 供试配方料中的大球盖菇经济效益比较

配方	平均产量(kg/m^2)			平均投入 ($\text{元}/\text{m}^2$)	平均产值 ($\text{元}/\text{m}^2$)	666.7 m^2 平均收益 (元)	投入产出比 (%)
	I 级菇	II 级菇	III 级菇				
1	1.68	4.13	1.49	21.30	38.56	25 707.95	181.03
2	1.74	4.02	4.04	21.27	46.14	30 761.54	216.92
3	3.35	3.98	2.69	21.26	54.77	36 515.16	257.62
4	2.09	4.36	2.65	21.24	46.47	30 981.55	218.79
5(CK)	2.83	5.01	2.36	21.22	54.77	36 515.16	257.62

一步研究。

3 小结

试验以桑枝秸秆、玉米芯为栽培种主要基料，筛选大球盖菇最佳栽培种配方。试验结果表明，大球盖菇菌丝能在含桑枝秸秆的栽培种基料里生长良好，后期出菇产量可观，纯桑枝秸秆可单独作为栽培种培养基料，但效果不太理想，生物学转化率和效益低于其他配方；而配方 3（桑枝秸秆 38%、玉米芯 35%、麦麸 20%、石灰石膏各 1%）有利于菌丝分解基质，可制得菌丝品质完全接近于市售生产用栽培种，在出菇方面，总产量和经济效益与市售种基本一致，且 I 级菇率高出其 18.4%，所以，配方 3 所制栽培种对桑枝秸秆的适应性更好。至于桑枝秸秆与其他原料配比的栽培模式和优良菌种的筛选还有待进

参考文献

- [1] 黄年来,林志彬,陈国良,等.中国食药菌学[M].上海:上海科学技术文献出版社,2010:647-655.
- [2] 李丽君,曹乐梅,刘浩宇,等.我国北方大球盖菇林地栽培覆土试验研究[J].山东农业科学,2019,51(3):58-61.
- [3] 龚赛,赵淑芳,聂阳,等.不同栽培条件下大球盖菇的经济效益[J].中国食用菌,2016,35(4):35-38.
- [4] 邹湘月,肖建中,杨勇,等.适合桑枝基质栽培的秀珍菇优良菌株的筛选[J].中国蚕业,2020,41(2):22-25.
- [5] 刘浩宇,冀宪领,李丽君,等.基质不同桑枝木屑含量对大球盖菇子实体 1-脱氧野尻霉素富集量的影响[J].蚕业科学,2019,45(2):0256-0261.
- [6] 许彬,李慧星,郭书贤,等.玉米秸秆培养大球盖菇栽培种配方比较[J].食用菌,2019,41(1):32-34;38.

不同施肥处理对果桑光合与果实品质及土壤微生物数量的影响

于 翠 董朝霞 朱志贤 李 勇 莫荣利 邓 文 熊 超 胡兴明

(湖北省农业科学院经济作物研究所, 武汉 430070)

摘 要: 研究常规施肥(单施化肥)、减量施肥(有机肥代替减量化肥)、优化施肥(减量施肥基础上氮肥减量, 增施有机肥和中微量元素肥料)3种施肥方式对桑树叶片净光合速率(P_n)、果实品质及土壤微生物数量的影响, 为探求果桑高效施肥技术提供理论参考。结果发现, 优化施肥桑树叶片 P_n 、叶绿素相对含量(SPAD 值)、可溶性糖含量、蔗糖合成酶活性、中性转化酶活性、土壤细菌及放线菌数量等均高于减量施肥和常规施肥处理($P<0.05$), 而可溶性酸含量和可溶性酸性转化酶活性优化施肥处理显著低于常规施肥和减量施肥处理($P<0.05$)。研究结果表明, 优化施肥处理通过施肥方式的改变, 增施有机肥, 适量补施镁肥、硼肥、锌肥、硅肥等, 可减少化肥的施用量, 改善土壤理化性质, 有助于提高果桑叶片光合作用及果实品质。

关键词: 果桑; 施肥; 品质; 土壤微生物

桑椹是集营养、药用、保健于一体的优质浆果, 具有补血、补肾、抗衰老、降血压等多种医疗保健功能, 被卫生部列入“既是食品又是药品”名单。近年来, 随着人们生活水平的提高, 田园综合体、休闲农业、观光旅游采摘已成为城乡居民生活的一种新业态, 而桑椹采摘已成其特色内容, 在精准扶贫、乡村振兴中正在发挥重要作用。桑椹作为一种新兴水果, 在湖北省的成熟期常年在4月中下旬至“五一”黄金假期, 可填补春季水果采摘的空档, 丰富春季新鲜水果供应种类, 带动春季休闲农业、观光旅游产业发展。

然而, 目前果桑生产中多沿用叶用桑施肥方式, 过分依赖化肥、忽视有机肥及微量元素投入的现象较普遍, 结果导致肥料利用率降低, 生态环境恶化, 桑椹菌核病发生严重^[1], 土壤有机质下降, 这些均不利于果桑生产的可持续发展。不同的施肥条件对植株体内的生理代谢会产生一定的影响, 其光合特性也会因此改变^[2-3]。光合性能直接影响到果桑光合产物的生产及最终生物产量和经济产量的形成。研究表明, 合理施肥能提高植物光合作用效率和生物产量^[4-5], 进而大大提高果桑及其他果树的果实品质^[6-9]。韩传明等^[6]的研究表明, 虽然桑树施用复合肥对果实氢离子浓度指数的影响较小, 但可显著促进果桑生长, 改善果实品质。潘峰等^[7]的研究表明, 配方施肥可有效改善高原藏区赤霞珠葡萄果实品质及果园土壤理化性质, 使赤霞珠葡萄果实单穗质量及可溶性固形物、维生素

资助项目: 湖北省技术创新专项重大项目(No.2019ABA090); 现代农业产业技术体系建设专项(No.CARS-18)。

第一作者: 于翠(1980—), 女, 研究员, 硕士生导师。

E-mail: mrsyu888@hotmail.com

通讯作者: 胡兴明, 研究员, 硕士生导师。

E-mail: 13607121598@163.com

C和总酸含量分别提高了21.04%、8.51%、11.23%、19.18%和16.00%。目前,对桑椹营养成分及保健功能的研究较多,但在施肥方面的研究报道较少。科学施肥能够有效改善土壤条件,增加土壤肥力,促进植物生长,改善产品品质^[7-9]。因此,寻求适宜果桑生长和提高果实品质的最佳施肥配方,是果桑生产栽培中亟待解决的问题。

本试验针对生产中果桑施肥管理技术混乱,菌核病发生逐年加重问题^[10],通过有机肥替代化肥,以及中微量元素的施入,探索果桑最优施肥方式,从而提高果桑肥料利用效率,降低菌核病发病率,减少环境污染,保持果桑高产优质和可持续发展,为果桑施肥管理提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试桑树

供试桑树品种为粤椹大10,于2014年栽植于湖北省农业科学院经济作物研究所桑树种质资源圃,栽植密度为 $3.4\text{m} \times 1.0\text{m}$,低中干养成。

1.2 施肥处理

于2015—2018年,按3种处理进行施肥试验,每一种施肥处理小区按国家土壤肥力长期定位试验标准统一设置为 66.7m^2 ,20株桑树,随机排列,每个施肥处理设4次重复。供试有机肥、复合肥、尿素、硫酸钾镁、微肥等均由湖北宜化集团有限责任公司提供。3个施肥处理均是以等氮量为标准进行设计。

常规施肥:施用 $900\text{kg}/\text{hm}^2$ 复合肥(15-15-15), $300\text{kg}/\text{hm}^2$ 尿素(质量分数46%)。

减量施肥:与常规施肥等氮量,以有机肥替代减施的氮肥。施用 $600\text{kg}/\text{hm}^2$ 复合肥(15-15-15), $210\text{kg}/\text{hm}^2$ 尿素(质量分数46%), $1\,687.5\text{kg}/\text{hm}^2$ 硫酸钾镁(钾质量分数22%,镁质量分数19.4%), $15\,000\text{kg}/\text{hm}^2$ 有机肥(有机质质量分数 $\geq 45\%$,N、 P_2O_5

和 K_2O 的总质量分数 $\geq 5\%$)。

优化施肥:与常规施肥和减量施肥等氮量,以有机肥替代减施的氮肥,并配施中微量元素肥料(硼、锌、硅、镁)。施用 $600\text{kg}/\text{hm}^2$ 复合肥(15-15-15), $120\text{kg}/\text{hm}^2$ 尿素(质量分数46%), $112.5\text{kg}/\text{hm}^2$ 硫酸钾镁(钾质量分数22%,镁质量分数19.4%), $6\text{kg}/\text{hm}^2$ 硼肥(硼质量分数 $\geq 15\%$), $6\text{kg}/\text{hm}^2$ 锌肥(锌质量分数 $\geq 25\%$), $90\text{kg}/\text{hm}^2$ 镁肥(MgO质量分数 $\geq 25\%$), $90\text{kg}/\text{hm}^2$ 硅肥(有效硅质量分数 $\geq 20\%$), $30\,000\text{kg}/\text{hm}^2$ 有机肥(有机质质量分数 $\geq 45\%$,N、 P_2O_5 和 K_2O 的总质量分数 $\geq 5\%$)。

全年肥料分3次施入,冬季施有机肥,春季发芽前施40%无机肥料,夏伐后施60%无机肥料。

1.3 桑树叶片光合生理指标测定

2016年4月25日、5月12日,2017年4月21日、5月9日,2018年4月22日、5月18日,采用LI-6400型便携式光合系统(LI-COR公司)测定光合生理指标。每个处理区选择长势一致的3株桑树,从3株桑树中选择5个光照良好的顶部新梢,测定每个新梢第7位叶片的净光合速率(P_n)。测定条件:环境温度 $28.9 \sim 30.3^\circ\text{C}$,光强 $1\,000\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$,大气 CO_2 浓度(C_a) $400\mu\text{mol}/\text{mol}$,相对湿度 $76\% \sim 80\%$ 。

1.4 桑树叶片叶绿素含量测定

取测定净光合速率后的桑树叶片,采用SPAD-502便携式手持叶绿素仪(日本美能达有限公司)活体测定桑树叶片的相对叶绿素含量。

1.5 土样采集及桑树根围土壤微生物的分离与计数

2018年5月18日采集果桑根围土壤样品,采用五点取样法取 $0 \sim 20\text{cm}$ 土壤,将土壤连同果桑根系一同装入无菌袋,将同一处理的样品混合,采用抖根法取附着根上的土壤为根围土壤并混匀,一部分土样(约 200g) 4°C

保存,供微生物分析研究,另一部分土样自然风干,供土壤理化性质分析。土样速效氮、速效磷、速效钾及有机质含量测定,分别采用碱解扩散法、碳酸氢钠浸提-钼锑抗比色法、醋酸铵浸提-火焰光度法和重铬酸钾容量法-外加法^[11]。

微生物数量分析采用常规稀释平板法^[12],细菌分离采用牛肉膏蛋白胨培养基,放线菌分离采用高氏一号培养基,真菌分离采用马丁氏培养基。微生物计数的基本单位为CFU/g(m_d)。

1.6 可溶性糖与可滴定酸含量的测定及糖代谢相关酶活性的检测

2018年5月18日采集果桑土壤样品同时采集果实。采集成熟度一致的果实,各处理小区分别采集100颗果实进行指标测定。

可溶性糖采用蒽酮比色法^[13]测定。取0.5g果桑样品沸水浴20min,冷却后定容到100mL;取样液0.5mL用蒽酮试剂测定,用分光光度计620nm波长下比色,计算可溶性糖含量。每处理取3份样品进行提取,每份提取液测定3次重复。

可滴定酸采用氢氧化钠滴定法^[13]测定。取5g果实样品研磨成匀浆,80℃水浴中浸提30min,冷却后定容到50mL;取10mL样液用0.1mol/L NaOH滴定,计算有机酸含量。每处理取3份样品进行提取,每份提取液测定3次重复。

蔗糖合成酶(sucrose synthase, SS)、中性转化酶(neutral invertase, NI)、可溶性酸性转化酶(soluble acid invertase, S-AI)活性采用Solarbio公司生产的试剂盒进行测定。SS活性按照样本鲜质量计算,酶活力单位定义:37℃下每分钟催化产生1μg蔗糖所需的酶量定义为一个酶活力单位。NI活性按鲜质量计算,酶活力单位定义:37℃下每分钟产生1μg还原糖所需的酶量定义为一个酶活力单位。S-AI活性按鲜质量计算,酶活力单位定义:37℃下每分钟产生1μg还原糖所需的

酶量定义为一个酶活力单位。每处理取3份样品进行提取,每份提取液测定3次重复。

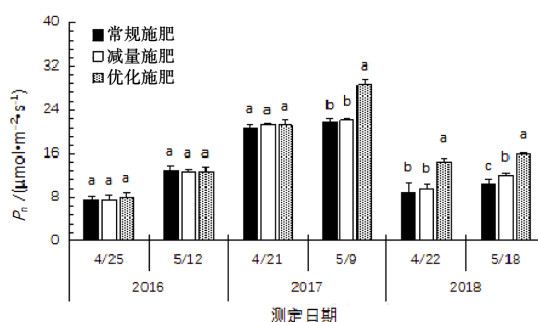
1.7 数据处理

采用SPSS 19.0数据处理系统进行统计分析(LSD法),EXCEL软件绘图。

2 结果分析

2.1 施肥对叶片净光合速率的影响

施肥对果桑叶片净光合速率影响的研究结果(图1)表明,2016年4月25日、5月12日和2017年4月21日不同施肥处理间比较叶片净光合速率(P_n)差异不显著,而2017年5月9日、2018年4月22日、2018年5月18日优化施肥处理叶片 P_n 高于减量施肥和常规施肥处理,差异达显著水平($P<0.05$),常规施肥处理叶片 P_n 最小。不同测定日期比较,2017年不同施肥处理叶片 P_n 高于2016年和2018年,5月不同施肥处理叶片净光合速率高于4月。



相同的小写字母表示组间差异不显著($P>0.05$),不同的小写字母表示组间差异显著($P<0.05$)。图2~6同。

图1 常规施肥、减量施肥和优化施肥果桑叶片净光合速率比较

2.2 施肥对叶片SPAD值的影响

施肥对果桑叶片SPAD值影响的研究结果(图2)表明,2016年4月25日不同施肥处理叶片SPAD值差异不显著,其他测定日期优化施肥处理叶片SPAD值高于常规

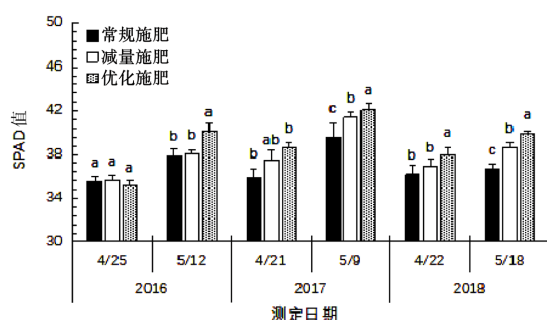


图2 常规施肥、减量施肥和优化施肥果桑叶片SPAD值的比较

施肥和减量施肥处理，且差异达显著水平 ($P<0.05$)。不同测定日期比较，2017年不同施肥处理叶片SPAD值高于2016年和2018

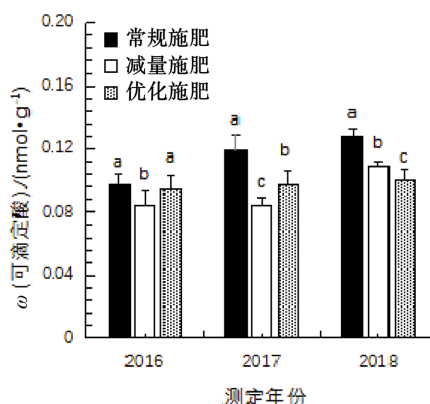
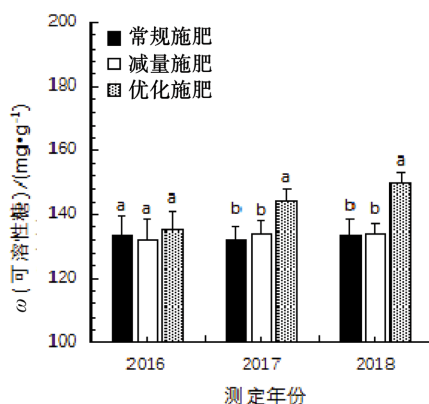


图3 常规施肥、减量施肥和优化施肥果实可溶性糖和可滴定酸含量比较

2.4 施肥对果实糖代谢相关酶活性的影响

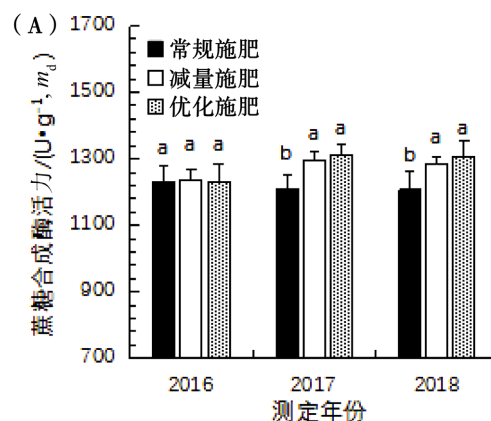
如图4所示，2016年各施肥处理间比较果实中蔗糖合成酶活性差异不显著，2017和2018年优化施肥处理果实中蔗糖合成酶活性显著高于减量施肥和常规施肥处理 ($P<0.05$)。2016—2018年常规施肥处理果实中可溶性酸性转化酶活性高于其他施肥处理，优化施肥处理最低，处理间比较差异达显著水平 ($P<0.05$)。2016—2018年优化施肥处理果桑果实中中性转化酶活性高于减量施肥和常规施肥处理，且处理间差异达显著水平 ($P<0.05$)，2017和2018年常规施肥处理果

年，5月不同施肥处理叶片净光合速率高于4月。

2.3 施肥对果桑可溶性糖和可滴定酸含量的影响

如图3所示，2016年各施肥处理间比较可溶性糖含量差异不显著，2017—2018年优化施肥处理果实中可溶性糖含量显著高于减量施肥和常规施肥处理 ($P<0.05$)。2016年不同施肥处理果实中可滴定酸含量不同，减量施肥果实中可滴定酸含量小于优化施肥处理和常规施肥处理，且处理间差异达显著水平 ($P<0.05$)。2017—2018年常规施肥处理果实可滴定酸含量显著高于减量施肥和优化施肥处理，2018年优化施肥处理果实中可滴定酸含量最低。

实中中性转化酶活性最低。



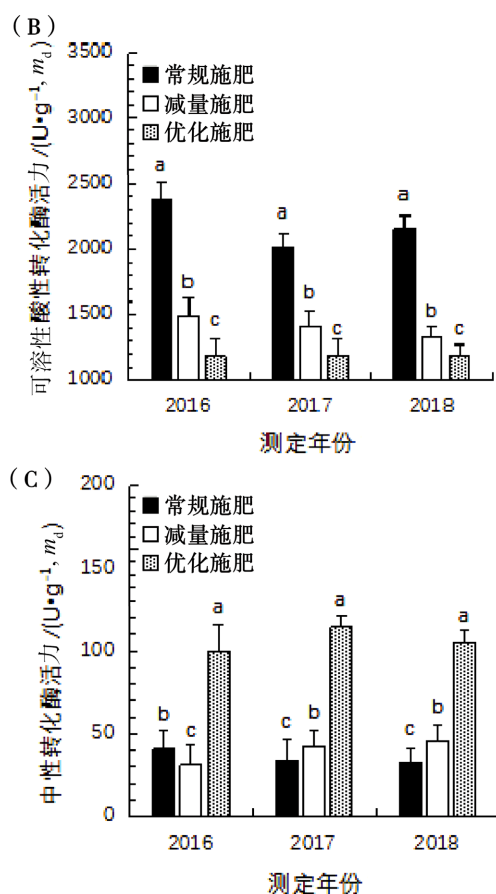


图4 常规施肥、减量施肥和优化施肥果桑果实糖代谢相关酶活性比较

2.5 施肥对根际土壤微生物数量的影响

如图5所示,2016—2018年优化施肥处理果桑根际土壤细菌和放线菌数量高于减量施肥和常规施肥处理,且与常规施肥处理间比较差异达显著水平($P<0.05$)。随施肥时间的延长,优化施肥处理果桑根际土壤细菌呈逐渐增加趋势,而常规施肥和减量施肥处理呈先升高后下降的趋势。优化施肥处理果桑根际土壤真菌数量低于常规施肥和减量施肥处理,但处理间比较差异不显著。

2.6 施肥对根际土壤养分含量的影响

如图6所示,2016年不同施肥处理土壤有机质含量差异不显著,2017—2018年优化施肥处理土壤有机质含量高于减量施肥和常

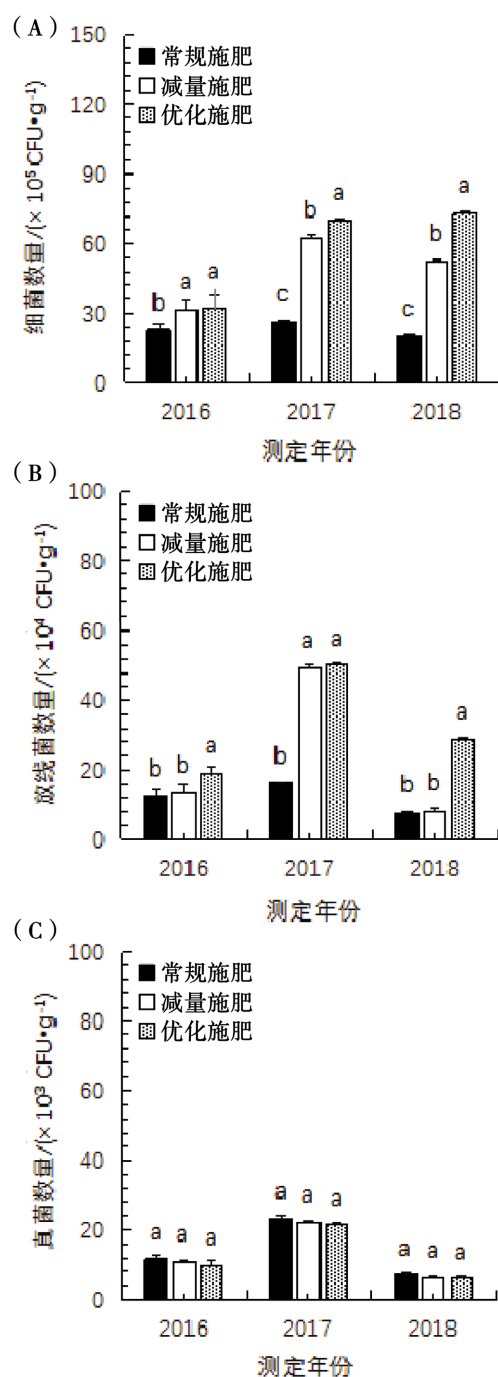


图5 常规施肥、减量施肥和优化施肥果桑根际土壤微生物数量比较

规施肥处理,且处理间比较差异达显著水平($P<0.05$),常规施肥处理土壤有机质含量

最低。2016年和2017年不同施肥处理土壤碱解氮含量差异不显著,2018年优化施肥和减量施肥土壤碱解氮含量显著高于常规施肥 ($P<0.05$)。2016年优化施肥处理土壤速效磷含量高于其他施肥处理,且与常规施肥处理间比较差异达显著水平,而2017—2018年常规施肥土壤速效磷含量显著高于减量施肥和

优化施肥处理 ($P<0.05$)。各取样时间优化施肥处理土壤速效钾含量均高于常规施肥处理,且处理间比较差异达显著水平 ($P<0.05$)。随施肥时间延长,各施肥处理土壤碱解氮和速效磷含量呈升高趋势,而减量施肥和优化施肥处理土壤速效钾含量呈先升高后下降趋势。

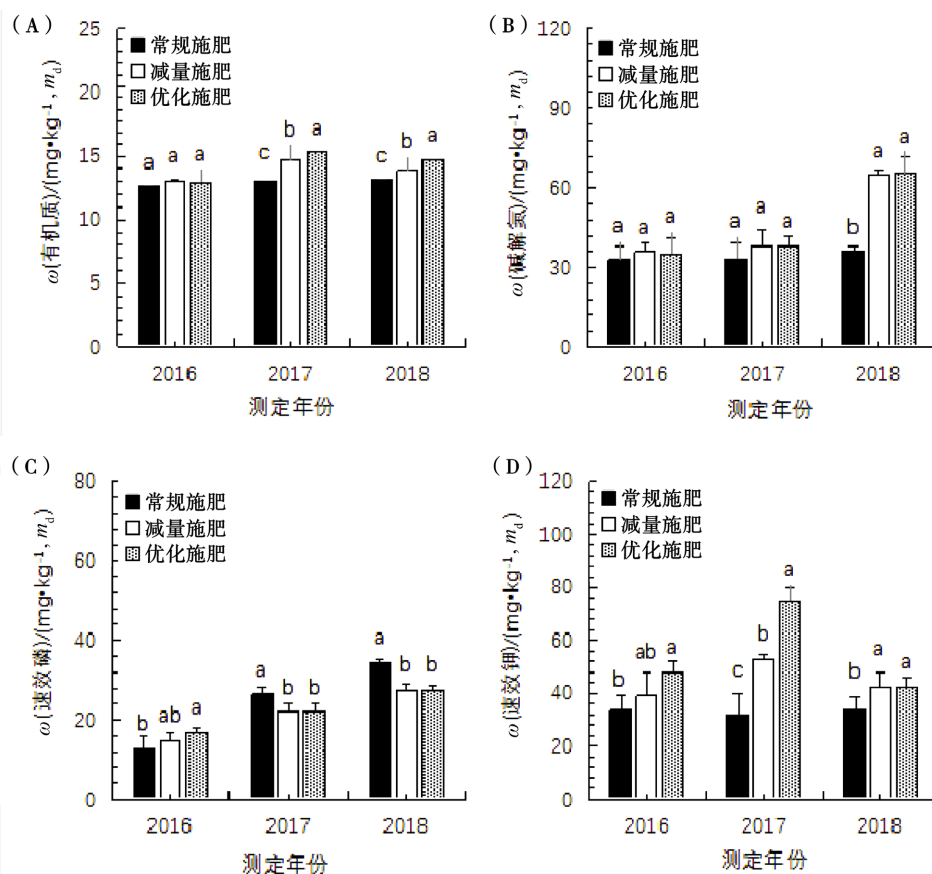


图6 常规施肥、减量施肥和优化施肥果桑土壤养分含量比较

3 讨论与结论

施肥是果桑栽培管理的重要生产环节,是改善果实品质的重要手段。有研究表明,施用有机肥可以改善土壤结构,提高土壤有机质和速效养分含量,促进土壤养分的转化,以利于植物吸收利用,从而提高植物的净光

合速率和生物产量^[14]。本试验结果表明,优化施肥处理(减少化肥施用,增施有机肥和微量元素),桑树功能叶片净光合速率、SPAD值、可溶性糖含量、蔗糖合成酶活性等均高于常规施肥处理,而可滴定酸含量低于其他施肥处理。王锐等^[15]的研究表明,早红柿果实增施有机肥后,可溶性糖和可溶性固形物含量显著提高,而可滴定酸含量显著

降低;尹兰香等^[16]的研究亦表明,生物有机肥处理在显著提高酿酒葡萄可溶性固形物含量的同时,还能显著降低可滴定酸含量。优化施肥处理果实中可滴定酸含量降低可能与果实中酸性转化酶活性有关,试验数据表明,优化施肥处理果实中可溶性酸性转化酶活性低于其他施肥处理,可能导致可滴定酸含量降低。

中、微量元素在桑树植株体内含量较低,却显著影响着桑树的生长、发育、产量和品质,有时甚至成为桑树生长中的限制因子。陈丽楠等^[17]的研究表明,在施用氮磷钾肥基础上增施硅、硼、锌肥,可提高葡萄可溶性固形物含量、糖酸比、维生素C含量,降低可滴定酸含量,提高叶片营养成分含量。本试验中优化施肥处理通过施肥配比的改变,减少化肥的施用量,适量补施镁肥、硼肥、锌肥、硅肥等,能够改善土壤理化性质,调节果实中品质形成相关酶活性,有助于提高果桑叶片净光合速率和果实可溶性糖含量,降低果实可滴定酸含量。

优化施肥由于实施了按需施肥,减少了过量施用化肥,同时适量增施中微量元素促进了果桑的均衡营养,优化施肥还能够改善土壤理化性状,提高果桑土壤微生物的数量^[18],影响根系对土壤养分的吸收利用,进而影响桑树叶片叶绿素含量及光合性能,最终影响果桑的生长,有利于果桑产量的提高和果实品质的改善。常规施肥处理土壤的理化性状变差,土壤细菌和放线菌数量下降,土壤的速效氮、速效钾和有机质含量都低于优化施肥处理,果桑对肥料利用效率下降,导致果桑叶片的叶绿素含量较低,光合速率低,制造的光合产物少,进而影响果实产量及品质。

参考文献

- [1] 陆飞,唐燕梅,曾森,等.桑椹菌核病的综合防治技术[J].广西蚕业,2011,48(3):24-26.
- [2] 鲁剑巍,熊建平,陈防,等.施肥对桑叶品质的影

响[J].蚕业科学,2004,30(4):417-420.

- [3] 赵卫国,吴惠就,刘利.种茧育桑园专用复合肥的研究[J].蚕业科学,2000,26(1):48-50.
- [4] 刘芳,元新华,赵吉平,等.施肥对旱作冬小麦植株水分变化与光合生理特性的影响[J].作物学报,1997,23(5):615-619.
- [5] 丁小涛,金海军,张红梅,等.施肥对黄瓜整个生长期光合作用及产量的影响[J].浙江农业学报,2010,22(5):634-638.
- [6] 韩传明,王翠香,刘方春,等.不同施肥量对无核‘大十’果桑生长和果实品质的影响[J].中国农学通报,2015,31(16):78-82.
- [7] 潘峰,黄素平,李开军,等.配方施肥对葡萄品质及土壤理化性质的影响[J].湖南农业科学,2018,(4):52-55.
- [8] 程杰山,蒋爱丽,奚晓军,等.不同施肥量对‘巨玫瑰’葡萄生长和果实品质的影响[J].中国农学通报,2012,28(25):167-171.
- [9] 赵建民,王晓斌,王科强,等.不同施肥量对猕猴桃单果重及叶片直径的影响[J].陕西林业科技,2009,(1):16-18.
- [10] 王锐.果桑菌核病的发生规律与综合防治技术[J].安徽农学通报,2019,25(10):72-73.
- [11] 鲁如坤.土壤农业化学分析方法[M].北京:中国农业出版社,2000:21-142.
- [12] 中国科学院南京土壤研究所微生物室.土壤微生物研究法[M].北京:科学出版社,1985:240-274.
- [13] 张宪政,陈凤玉,王荣富.植物生理学实验技术[M].沈阳:辽宁科学技术出版社,1994:144-151.
- [14] 丁小涛,金海军,张红梅,等.施肥对黄瓜整个生长期光合作用及产量的影响[J].浙江农业学报,2010,22(5):634-638.
- [15] 王锐,马蕾,李磊,等.不同施肥处理对土壤肥力及酿酒葡萄品质的影响[J].北方园艺,2017,(18):121-126.
- [16] 尹兰香,廖汝玉,金光,等.不同有机肥处理对早红柿果实品质的影响[J].福建农业学报,2012,27(4):385-388.
- [17] 陈丽楠,刘秀春,王炳华.优化配方施肥对葡萄产量及品质的影响[J].中国果树,2014,(2):33-36.
- [18] LOPES A R,FARIA C,PRIETO-FERNÁNDEZ Á,et al.Comparative study of the microbial diversity of bulk paddy soil of two rice fields subjected to organic and conventional farming[J].Soil Biol Biochem,2011,43(1):115-125.

桑叶粉饲料生物发酵工艺试验

叶添梅¹ 李霞¹ 李飞鸣² 李凤娜³ 肖建中¹ 罗安乐² 颜新培¹

(1 湖南省蚕桑科学研究所, 长沙 410127; 2 湖南省桑叶加农业科技有限公司, 宁乡 410600; 3 中国科学院亚热带农业生态研究所, 长沙 410127)

摘要:以乳酸菌、酵母菌、枯草芽孢杆菌复合菌种发酵桑叶粉饲料, 通过正交试验 L9 (3⁴) 对桑叶粉配比、发酵底物含水量、发酵时间、发酵方式 4 个因素综合分析, 以桑叶粉发酵料感官品质、干物质粗蛋白质、粗纤维含量、单宁降解率等为指标优化桑叶粉饲料生物发酵工艺。初步确定最佳桑叶粉饲料发酵工艺参数及条件为: 桑叶粉比例 80%, 含水率 40%, 发酵 9 天, 螺丝口发酵。在上述条件下, 桑叶发酵料蛋白质含量为 27.22%, 粗纤维含量 26.00%, 单宁降解率 46.35%。

关键词:桑叶粉; 发酵工艺; 正交试验; 粗蛋白; 单宁

桑叶是多年生木本植物桑树的主要产物, 营养丰富, 粗蛋白质含量 20% 以上, 且氨基酸种类齐全、比例适宜, 是一种优质的畜禽蛋白质源^[1]。近年来, 由于豆粕等传统的饲用蛋白质资源日益紧缺, 桑叶作为一种非常规蛋白饲料资源的研发应用得到了国内外学者广泛关注。目前桑叶已逐渐应用于各种畜禽、水产动物的养殖中, 并表现出特殊的饲用价值, 但在使用过程中存在粗纤维含量过高、日粮中添加量过少以及桑叶中含有的一些抗营养因子抑制动物对养分的消化吸收等问题。

微生物发酵是近年来饲料行业和养殖业常用的饲料加工手段, 发酵饲料常用菌种主要有乳酸菌、酵母菌和芽孢杆菌等。植物乳

酸菌在发酵过程中产生有机酸, 可改善饲料适口性, 降低动物肠道的 pH 值, 提高饲料的消化率^[2]。芽孢杆菌可产生蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶等, 可水解桑叶蛋白的肽链, 形成低分子易吸收的多肽; 酵母菌可将多糖酵解成寡糖, 促进益生菌的增殖, 改善动物肠道菌群, 提高饲料适口性^[3]。本试验以桑叶、豆粕为发酵原料, 设定发酵底物含水量、原料配比、发酵时间、发酵方式 4 个因素, 采用正交试验法, 通过评定桑叶粉发酵料感官品质, 测定其 pH 值、粗蛋白、粗纤维及单宁含量的变化, 初步优化桑叶粉饲料发酵的工艺条件, 为桑叶粉生物发酵饲料生产应用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料: 桑叶粉、豆粕、发酵菌种 (乳酸菌、酵母菌、枯草芽孢杆菌复合菌种), 由湖南省桑叶加农业科技有限公司提供。

发酵容器: 发酵袋、磨口瓶、螺丝口瓶。

资助项目:长沙市科技计划项目经费资助(No.kh1902157); 现代农业产业技术体系专项(No.CARS-18)。

第一作者:叶添梅(1990—), 女, 硕士, 畜牧师, 主要从事蚕桑资源利用研究。

E-mail: yetianmei@126.com.

通讯作者:颜新培, 男, 博士, 研究员。

E-mail: 776256205@qq.com.

1.2 试验方法

1.2.1 试验设计 本试验采用 L9 (3⁴) 正交试验设计, 设有桑叶粉配比、发酵底物含水量、发酵时间、发酵方式 4 个因素, 每个因素设 3

个水平, 共 9 个试验组, 每组 3 个重复 (见表 1 和表 2)。在发酵的 3d、6d、9d 分别采样分析样品 pH 值及干物质粗蛋白质、粗纤维、单宁的变化。

表 1 正交试验因素及水平

水平	因素 A 桑叶粉配比(%)	因素 B 底物含水量(%)	因素 C 发酵时间(d)	因素 D 发酵方式
1	100	35	3	发酵袋
2	60	30	6	螺口瓶
3	80	40	9	磨口瓶

表 2 桑叶粉固态发酵条件正交试验设计

组合	因素 A 桑叶粉配比(%)	因素 B 底物含水量(%)	因素 C 发酵时间(d)	因素 D 发酵方式
1	100	35	3	发酵袋
2	100	30	6	螺口瓶
3	100	40	9	磨口瓶
4	60	35	6	磨口瓶
5	60	30	9	发酵袋
6	60	40	3	螺口瓶
7	80	35	9	螺口瓶
8	80	30	3	磨口瓶
9	80	40	6	发酵袋

1.2.2 发酵菌种活化 将复合菌种与红糖按照 2:1 的比例混合, 添加少量温度为 25 ~ 35℃ 水稀释活化。按照试验设计将桑叶粉、豆粕粉与菌液充分混合, 压实密封。每个处理设 3 个平行试验, 置于室温下自然发酵。

1.2.3 各指标测定方法 采用提取浸提液的方法^[5]测定发酵料的 pH 值, 按照常规法测定桑叶发酵料的干物质粗蛋白质 (GB-5009.5-2010)、粗纤维 (GB5009.4-2010), 测定单宁 (GB/T 27985-2011) 含量, 计算其降解率。

1.2.4 数据处理 所得数据采用 Origin75 软件进行数据处理及作图, 结果以“平均数 ± 标准差”表示。

2 结果与分析

2.1 不同处理对桑叶粉发酵料感官品质的影响

由表 3 可知, 各组发酵饲料 pH 值均有下降, 但速度较慢, 其中含水率越高 pH 值降幅越大, 9 个处理中, 3 号处理的 pH 值最低为 5.12, 其次是 9 号处理的 pH 值为 5.26。各处理组发酵料外观差异不大, 无霉菌斑点, 都能保持发酵饲料的自然色泽; 气味变化方面, 各组在发酵过程中均能出现酸香味或醇香味, 无不适异味。发酵品质 pH 值影响因素主次顺序为 B>C>D>A, 4 个因素的最优组合为 A2B3C2D3。

2.2 正交试验结果

2.2.1 粗蛋白质含量 由表 4-1 可知, 以粗蛋白质为考察指标, 通过极差分析, RA>RD>RB>RC, 说明桑叶粉比对粗蛋白质含量的影响最大, 其次是发酵方式、底物含水量、发酵时间。4 个因素的最优组合为 A2B3C2D2, 试验结果见图 1。

表 3 正交试验感官品质

处理	pH 值	气味	表观性状
1	6.59 ± 0.02	淡酒香味	草绿色、质地松软
2	6.34 ± 0.12	酒香味	黄绿色、结构紧密,易散开
3	5.12 ± 0.17	酸香味	黄褐色、手捏湿润,易散开
4	5.59 ± 0.34	淡酒香味	浅黄褐色、质地紧密,容易分散
5	5.92 ± 0.32	酸、醇味	淡绿色,质地松散
6	6.03 ± 0.03	浓酒香味	黄褐色、紧密,手捏易散开
7	6.26 ± 0.04	酒香味	淡绿色,有光泽,结构紧密,易散开
8	6.30 ± 0.07	酒香味	黄绿色、松软
9	5.26 ± 0.05	浓酒酸味	黄绿色,质地松散,手感湿润

表 4-1 正交试验蛋白含量极差分析

试验号	试验因素				粗蛋白质(%)
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	12.84
2	1	2	2	2	13.87
3	1	3	3	3	13.46
4	2	1	2	3	29.05
5	2	2	3	1	21.29
6	2	3	1	2	28.81
7	3	1	3	2	27.22
8	3	2	1	3	20.32
9	3	3	2	1	20.13
粗蛋白质	K ₁	13.39	20.04	20.66	18.09
	K ₂	26.38	18.49	21.01	23.30
	K ₃	22.56	20.80	20.66	20.94
	R	12.99	2.31	0.35	5.21

A>D>B>C

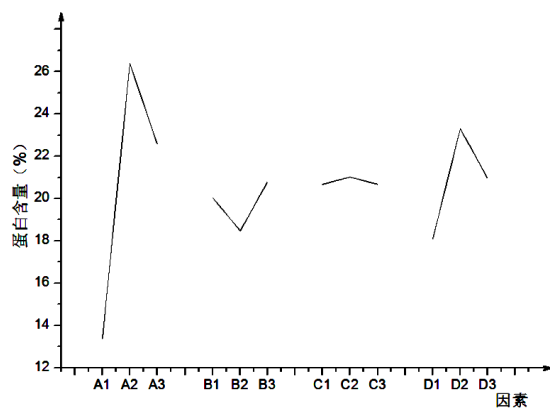


图 1 试验因素图

2.2.2 粗纤维含量 由表 4-2 可知,以粗纤维为考察指标,通过极差分析,RA>RC>RD>RB,说明桑叶粉配比对粗纤维含量的影响最大,其次是发酵时间、发酵装方式、底物含水量。4 个因素的最优组合为 A3B1C1D2,试验结果见图 2。

表 4-2 正交试验粗纤维含量极差分析

试验号	试验因素				粗蛋白质(%)
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	30.42
2	1	2	2	2	32.36
3	1	3	3	3	30.39
4	2	1	2	3	30.18
5	2	2	3	1	33.63
6	2	3	1	2	21.13
7	3	1	3	2	26.00
8	3	2	1	3	24.35
9	3	3	2	1	25.82
粗纤维	K ₁	31.06	28.87	25.30	29.95
	K ₂	28.31	30.11	29.45	26.50
	K ₃	25.39	30.01	30.01	28.30
	R	5.67	1.24	4.71	3.45

A>C>D>B

2.2.3 影响单宁降解率的因素 由表 4-3 可知,通过极差分析,RA>RD>RC>RB,说明桑叶粉配比对单宁降解率的影响最大,其次是发酵方式、发酵时间、含水量。4 个因素的最优组合为 A1B1C3D3,试验结果见图 3。

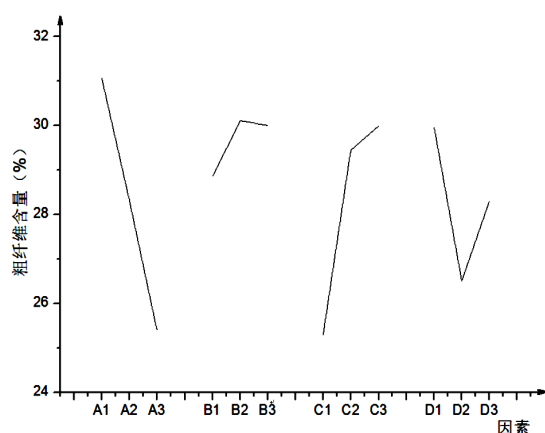


图2 试验因素图

表4-3 正交试验单宁降解极差分析

试验号	试验因素				粗蛋白质(%)
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	36.70
2	1	2	2	2	41.60
3	1	3	3	3	53.67
4	2	1	2	3	22.49
5	2	2	3	1	20.05
6	2	3	1	2	23.63
7	3	1	3	2	46.35
8	3	2	1	3	39.37
9	3	3	2	1	21.79
单宁降解	K ₁	43.99	35.18	33.23	26.18
	K ₂	22.06	33.67	28.63	37.19
	K ₃	35.84	33.03	40.02	38.51
	R	21.93	2.15	11.40	12.33

A>D>C>B

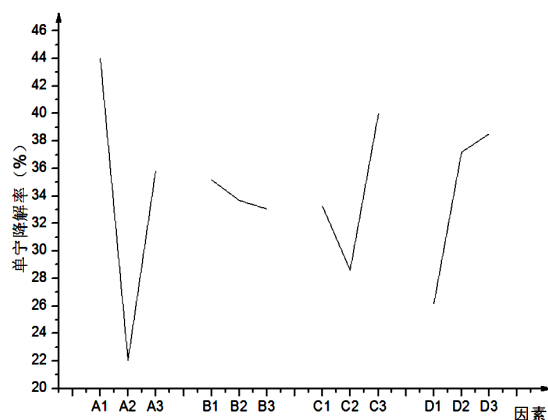


图3 试验因素图

3 小结与讨论

本试验利用枯草芽孢杆菌、乳酸菌及酵母菌混合发酵制备桑叶粉发酵饲料，通过L9(3⁴)正交试验，以桑叶粉发酵料感官品质、干物质粗蛋白质、粗纤维含量，单宁降解率等指标考察桑叶粉发酵生产中关键因素，确定桑叶粉生物发酵的最佳工艺：桑叶粉比例80%，含水率40%，发酵9天，螺丝口发酵。在上述条件下，桑叶粉发酵饲料粗蛋白质含量为27.22%，粗纤维含量26.00%，单宁降解率46.35%。发酵桑叶粉具有一定的药用保健功能，对动物保健抗病具有重要作用，也为畜禽饲料多样化应用展现了前景。

固态发酵的含水率是影响发酵成功的关键因素之一，含水量高容易使基质多孔性降低，减少基质内气体，而含水量低容易造成基质膨胀程度低，菌体生长受到抑制^[4]。周梦佳等^[5]研究发现，含水率对发酵饲料pH变化有显著影响，但含水率过高或过低不利于pH的降低，以35%~40%为宜。林标声^[6]研究表明物料含水率越高，发酵效果越好，但实际操作中，水分含量越高，其包装、运输、保持等操作成本越高，市场接受度也越小，建议含水量在34%~40%。本试验桑叶粉发酵采用低水分发酵方式（含水率40%），pH值下降速度较慢，但随着含水率增加pH值降低，本试验结果与胡仁建等^[7]报道复合菌种发酵桑叶饲料pH值在5.0~6.3之间保持一致。本试验经复合菌种发酵后的桑叶为褐色，具有酵母特定的香味，改善了桑叶饲用的适口性^[3]。各处理组桑叶粉发酵料样品外观差异不大，都能保持饲料的自然色泽，各组在发酵过程中均能出现酸香味或醇香味，无不适异味。

枯草芽孢杆菌、植物乳酸菌杆菌和啤酒酵母菌种组合属于互补共生的优势菌种组合，发酵桑叶可大量使用啤酒酵母和植物乳

酸杆菌, 枯草芽孢杆菌用量需适中^[7]。刘晓燕^[8]等研究影响枯草芽孢杆菌的生长的主要因素为碳源、氮源, 对碳源的考察中二糖和单糖优于多糖; 在氮源的考察中, 有机氮源优于无机氮源, 且鱼粉对枯草芽孢杆菌的生长优于酵母浸粉和黄豆粉。张洪燕^[9]利用4类菌对桑叶进行发酵处理, 得到霉菌对桑叶粗蛋白质含量增加效果较佳, 霉菌与芽孢杆菌对降低桑叶的粗纤维含量效果较佳。另有研究表明复合菌种可提高发酵桑叶饲料的蛋白质含量和品质, 减低桑叶的部分营养抑制效应, 如降低纤维素含量^[10]。但物料中蛋白含量越高, 其微生物生长速率下降^[6]。本试验结果表明, 处理组7发酵后粗蛋白含量为27.22%, 较发酵前有所提高, 但粗纤维含量下降效果不佳, 可能与本试验桑叶粉为含茎秆的桑枝叶, 富含木质素, 而木质素较难分解, 导致可溶性碳水化合物量较少, 因此降解效果不佳。从试验结果来看, 粗纤维含量有所下降, A3因素组粗纤维含量最低。有研究表明桑叶微生物发酵综合评价, 得出接种量是影响发酵综合评定指数的主要因素, 且乳酸菌与酵母按1:1比例混合评价指数最高^[11], 后续可对菌种量及菌种比例进行调整验证。

从单宁降解情况来看, 100%桑叶组, 随发酵时间的延长, 单宁降解率也越高, 达53.67%; 其次是处理组7, 单宁降解率46.35%, 单宁含量降低, 有助于桑叶在畜禽生产中的应用。徐丹等^[12]研究报道利用乳酸杆菌和芽孢杆菌混合发酵桑叶, 单宁含量下降28.33%。单菌种发酵试验, 植物乳酸菌对单宁降解有一定效果; 且混合菌发酵效果优于单菌^[13]。李丹等^[14]研究发现经发酵后原豆粕中的大分子物质被微生物分解, 大豆蛋白被降解为优质小肽蛋白源, 并产生了益生菌、寡肽、维生素、UGF(未知生长因子)等活

性物质, 而抗营养因子单宁也会被最大程度的游离出来。本试验固体发酵基质添加豆粕的作用是为微生物发酵提供必要的氮源和改变发酵基质蓬松的结构, 但添加豆粕含量越多, 反而不利于单宁的降解, 从本试验结果来看豆粕添加量不宜超过20%。

参考文献

- [1] 张媛. 桑叶的营养成分和食用药用开发价值研究进展[J]. 现代农业科技, 2012,(22):264.
- [2] 王庆云, 王晓伟, 王猛. 微生态制剂在养猪中的应用[J]. 河南畜牧兽医(综合版), 2015,(8):36-37.
- [3] 任元元, 康建平, 黄静, 等. 复合菌种混合发酵提高桑叶蛋白利用率的研究[J]. 食品与发酵科技, 2016,52(01):20-23.
- [4] 杨建松, 王露, 郭宏, 等. 无抗仔猪饲料发酵工艺条件的研究[J]. 饲料工业, 2014,35(05):32-35.
- [5] 周梦佳, 李涛, 曾燕, 等. 含水率对发酵饲料品质的影响[J]. 中国饲料, 2013,(07):12-14.
- [6] 林标声, 罗建, 李益明, 等. 微生物发酵饲料生产关键因素的优化及发酵过程成分变化分析[J]. 中国农学通报, 2015,31(32):1-6.
- [7] 胡仁建, 杨丽群, 蔡家利, 等. 提高发酵桑叶饲料必需氨基酸含量的复合菌剂[J]. 蚕业科学, 2015,41(05):902-907.
- [8] 刘晓燕, 王玲玲, 刘振华. 渔用枯草芽孢杆菌发酵工艺优化研究[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2019,(02):123-128.
- [9] 张洪燕, 黄先智, 郑旺, 等. 适合改善桑叶发酵饲料主要营养物质含量的菌剂筛选[J]. 蚕业科学, 2016,42(06):1053-1061.
- [10] 周盟, 刁其玉, 张乃峰, 等. 微生态制剂在动物营养与饲料的应用[J]. 饲料研究, 2012,(1):7-20.
- [11] 孙琦, 孙庆元, 赵悦, 等. 桑叶的微生态发酵[J]. 大连工业大学学报, 2017,36(01):19-22.
- [12] 徐丹, 唐子婷, 王雪丹, 等. 发酵桑叶生物活性成分含量变化研究[J]. 饲料研究, 2017,(20):45-49.
- [13] 刘平, 孙林, 曾作财, 等. 菜籽粕中单宁的固态发酵降解和条件优化[J]. 饲料研究, 2018,(04):70-75.
- [14] 李丹, 邱静, 谷旭, 等. 不同大豆原料中单宁含量的差别分析[J]. 饲料工业, 2016,37(01):38-41.

夏秋用蚕品种“湘彩黄 1 号”农村试养报告

艾均文¹ 胡卫东² 谢秋香²

(1 湖南省蚕桑科学研究所, 长沙 410127; 2 湘潭县信达茧丝绸有限公司, 湖南湘潭 411218)

目前, 农村推广使用的家蚕品种几乎都是白色蚕茧品种。将这些蚕茧加工成市场上使用的多彩丝绸, 必须要经过煮茧、缫丝、精练、丝织、印染、整理等多个加工工序。印染过程中会产生工业废水, 使用的染料中有相当一部分含有对人体有害甚至致癌的物质^[1]。天然彩色茧作为一种特色原料茧, 用其生产的生丝及丝绸织品能保持色调柔和的天然彩色, 免去了印染工序, 具有绿色环保的特点。同时, 天然彩色丝具有更加显著的保暖、吸湿、通气、抑菌、抗氧化、防紫外线等特殊功能^[2-3]。因此加强对天然彩色茧品种的示范推广有着重要的现实意义与商业化前景。

湖南省蚕桑科学研究所已于 2015 年育成天然彩色茧新品种“湘彩黄 1 号”^[4]。为了解该品种的生产性状以及在湘潭市秋季生产条件下的饲养技术要点, 2016—2019 年秋季湘潭县信达茧丝绸有限公司连年多批次在夏秋季进行该品种的试养示范。其中, 2018—2019 年还利用了本公司承担国家蚕品种试验的 B 组农村区域试验的机会, 按照《国家桑蚕品种试验生产鉴定实施方案》要求, 对“湘彩黄 1 号”进行了对比试验。现将试验结果总结如下。

资助项目: 现代农业产业技术体系建设专项(No. CARS-18)。

第一作者: 艾均文(1968—), 男, 湖南鼎城人, 研究员, 主要从事蚕、桑种质资源研究与品种选育。
E-mail: aijunwen718@sina.com

1 材料与方法

1.1 供试材料

蚕品种: 试验蚕品种为“湘彩黄 1 号”, 对照蚕品种为国家桑蚕品种试验生产鉴定(B 组)指定对照种“两广二号”(9·芙×7·湘)。试验时间为早秋, 均为散卵蚕种, 卵量(25 000 粒/盒)。试验蚕种为育成单位湖南省蚕桑科学研究所提供, 对照种由广西自治区蚕业管理总站提供。

1.2 试验地点和方法

1.2.1 试验地点 所有参试品种均在国家桑蚕品种试验生产鉴定点湘潭县信达茧丝绸有限公司的花石、谭家山标准化饲育大棚中进行。每个大棚均可一批全程饲养 10 盒蚕种, 共 5 个大棚。每对参试品种每季饲养正、反交各 5 盒, 共 10 盒。每个标准饲育大棚饲育每对品种的正交、反交蚕种各 1 盒。各标准化饲养大棚的饲育条件和技术处理均按《国家桑蚕品种试验生产鉴定实施方案》要求执行, 确保一致性。

1.2.2 蚕种的处理及饲养 彩黄 1 号、两广二号分别于 2018 年 7 月 30 日、2019 年 8 月 5 日出库, 催青采取简易催青方法, 即: 蚕卵戊₃以前为 24℃, 干湿差 2 ~ 2.5℃; 戊₃以后为 25.5 ~ 26℃, 干湿差 1 ~ 1.5℃。小蚕共育均在湘潭县信达茧丝绸有限公司的花石共育室。1 ~ 2 龄 27 ~ 28℃, 干湿差 0.5 ~ 1℃; 3 龄 26 ~ 26.5℃, 干湿差 1 ~ 1.5℃。4 龄饲

食除沙后分发到各标准化饲育大棚, 各对品种的正交、反交蚕种分别相邻饲养。各标准化饲育大棚不同参试品种的桑叶均为相同品种, 其中花石的 2 个大棚为农桑 14 号, 谭家山的 3 个大棚为粤桑 11 号, 前者采取地面片叶育, 后者采取地面条桑育。大蚕期加强大棚温度降温, 当温度超过 32℃ 时设法降温。上簇采取自动上簇方法, 簇具为塑料折簇, 每盒蚕种约为 50 个。簇中保持簇室光线明暗均匀, 保持通风良好, 避免震动、强风直吹、强光直射和温度剧变。

1.2.3 蚕茧调查 采茧均在上簇后第 6 日采茧。蚕茧按普通茧、双宫茧、次下茧(穿头茧、印烂茧、薄皮茧、绵茧、畸形茧)分类, 茧层结实的蛆孔茧、鼠害茧按普通茧计数, 但另外放置。分品种、分正反交调查普通茧重

量和总收茧量, 计算普通茧重量百分率。每一标准化饲育大棚每对品种抽取鲜茧 2.0kg, 正、反交蚕茧等量(各 1kg), 调查公斤茧粒数, 然后全部切割, 调查健蛹率。

1.2.4 丝质调查 在各饲养大棚的各参试品种正反交普通茧中单独抽样 0.5kg, 相同品种正反交蚕茧分别均匀混合进行烘烤。鲜茧烘烤利用湘潭县信达茧丝绸有限公司的车子风烘烤茧灶统一烘烤。采取二冲烘茧法进行烘茧。

2 结果与分析

2.1 不同品种的饲育成绩

对“湘彩黄 1 号”“两广二号”正反交各 5 盒分别调查, 正交、反交分别统计, 在农村饲养成绩见表 1。

表 1 2018—2019 年秋季各参试品种农村饲养成绩

年份	品 种	5 龄 (d : h)	全龄 (d : h)	普通茧量 (kg)	总收茧量 (kg)	普通茧质量 百分率 (%)	每盒蚕种 产茧量 (kg)	公斤茧粒数 (粒)	健蛹率 (%)
2018 年	湘彩黄 1 号正交	5 : 20	19 : 00	143.67	148.12	97.00	29.62	601	89.68
	湘彩黄 1 号反交	5 : 20	19 : 00	145.00	146.24	99.15	29.25	661	95.23
	平均			144.34	147.18	98.07	29.44	631	92.46
	两广二号正交	5 : 20	19 : 00	145.10	149.80	96.86	29.96	593	88.50
	两广二号反交	5 : 20	19 : 00	143.20	147.50	97.08	29.50	654	95.67
	平均			144.15	148.65	96.97	29.73	624	92.09
2019 年	湘彩黄 1 号正交	6 : 12	21 : 10	135.6	147.8	91.75	29.56	732	90.25
	湘彩黄 1 号反交	6 : 12	21 : 10	127.8	142.2	89.87	28.44	757	90.31
	平均			131.7	145.0	90.81	29.00	745	90.28
	两广二号正交	6 : 12	21 : 10	137.4	149.0	92.21	29.80	727	90.98
	两广二号反交	6 : 12	21 : 10	130.7	141.9	92.11	28.38	760	90.69
	平均			134.1	145.5	92.16	29.09	744	90.84

从表 1 可以看出, “湘彩黄 1 号”“两广二号”的 5 龄经过与全龄经过相当, 总收茧量、普通茧率也基本相当, 公斤茧粒数略多于对照两广二号, 2018 年“湘彩黄 1 号”的健蛹率略高于对照“两广二号”, 2019 年“湘彩黄 1 号”的健蛹率略低于对照“两广二号”。综合 2 年饲养成绩, 天然彩色茧品种“湘彩

黄 1 号”与对照品种“两广二号”在发育经过、产茧量、健蛹率等丰产性、强健性指标相仿。

2.2 不同品种的缂丝成绩

将“湘彩黄 1 号”“两广二号”正反交干茧分别抽取 0.5kg 混合, 送至中国干茧公证检验南充实验室(四川省蚕业研究所)进行样茧缂丝, 其缂丝成绩见表 2。

表 2 2018—2019 年秋季农村生产蚕茧样茧缂丝成绩

年份	品 种	上车茧率 (%)	鲜毛茧 出丝率 (%)	茧丝长 (m)	解舒丝长 (m)	解舒率 (%)	纤度 (D)	茧丝纤度 综合均方差 (D)	净度 (分)
2018 年	湘彩黄 1 号	95.77	14.87	806	567	70.1	2.186	0.466	94.1
	两广二号	95.92	14.94	783	540	69.0	2.210	0.502	94.3
2019 年	湘彩黄 1 号	96.32	15.04	792	587	74.1	2.348	0.388	95.2
	两广二号	95.94	14.87	776	585	75.4	2.293	0.405	94.7

从表 2 可以看出,连续 2 年的缂丝成绩中,“湘彩黄 1 号”的茧丝长比对照品种平均长 19.5m,解舒率相当,解舒丝长也比对照略长,茧丝纤度相当,茧丝纤度综合均方差略小,净度相当。

3 小结与讨论

湘潭县是国家蚕桑产业技术体系长沙综合试验站的新品种新技术试验示范基地之一。本公司从 2016 年起连续多批次饲养新蚕品种,每年饲养 8 ~ 10 批,每批饲养 15 ~ 40 盒,均表现出了发育整齐,眠性快,就眠齐一的特点。壮蚕期食桑旺盛,较为粗壮,上蔸营茧快。与其育成时的亲系品种“两广二号”的多项农村饲养调查指标相仿^[4],通过此次连续 2 年农村生产鉴定的各项丝质鉴定成绩也与对照品种相当。

本次连续 2 年早秋蚕期开展的饲养试验,大蚕高温干燥,特别是 5 龄后期均是 30℃以上的高温,叶质较差,新蚕品种表现出了与

此季节主推蚕品种“两广二号”一致的耐高温、耐粗食特点。“湘彩黄 1 号”适合在湘潭,乃至在湖南的夏秋季推广。

为了充分开发该品种蚕茧为天然黄色茧的特点,本公司开展了鲜茧或干茧水丝绵加工,加工后丝绵具有明显的天然黄色,体现了较好的色彩稳定性^[4],所生产的丝绵加工产品在市场上非常受欢迎,在不加大蚕茧生产成本的条件下,取得了较为理想的经济效益,其产业化开发前景十分看好。

参考文献

- [1] 孟繁利,艾均文,薛宏,等.家蚕天然彩色茧资源利用现状与开发前景[J].湖南农业科学,2011,(17):126-129.
- [2] 梁海丽,葛君.家蚕天然彩色茧丝的色素特性研究[J].丝绸,2005,(6):20-22.
- [3] 古勇,李安明.类黄酮生物活性的研究进展[J].应用与环境生物学报,2006,12(2):283-286.
- [4] 艾均文,司马杨虎,薛宏,等.家蚕夏秋用四元杂交天然黄色茧新品种湘彩黄 1 号的选育[J].蚕业科学,2017,43(1):45-55.

(上接第 2 页)

活动一直以地推拓展和线下联系为主,应在已有的营销方式上,借鉴线上教育和新媒体直播模式,积极拓展新的网络推广渠道。通过与有影响力的平台合作,把课件搬到线上,以天然彩色茧蚕和养蚕盒为教学道具,于潜移默化中进行推广宣传,并采取线上线下联动结合的模式,对接有需求的学校、学生,及时线下配送相关产品。

3.3 栽桑引凤,多渠道开展合作

湖南省蚕桑科学研究所已形成了较完整的实践活动体系,配套建成了全国领先的“科技文化中心”“蚕宝宝梦工场”和“桑果果体验园”等互动体验场馆,希望以此为引领,吸引企业和社会资金参与,带动各地市州县建设一批蚕桑特色产业园。并由点到线,辐射带动整个湖南蚕桑行业创新发展。

广东英德蚕种场微粒子病发生原因及防治措施

王电梅¹ 钟苏苑² 刘吉平³ 杨琼⁴ 李林山² 饶文聪⁵
马月娇⁵ 胡智明¹

(1 广东丝源集团有限公司, 广州 510640; 2 广东省蚕业技术推广中心, 广州 510640; 3 华南农业大学, 广州 510642; 4 广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所, 广州 510640; 5 广东省丝绸集团英德蚕种场, 广东英德 513021)

摘要: 2019年开造, 广东英德蚕种场生产的原种毒率达25.17%, 且超毒品种均为日系品种, 为弄清病因减少蚕种场损失, 多位专家前往英德蚕种场对蚕种场桑园环境、桑园用肥、洗桑池、冷库、养蚕房、保种室等展开调查, 初步推测此次超毒现象或与英德近期气候、所用有机肥盐或重金属超标、桑叶未洁净到位、工人未合理使用石灰粉、蚕种场环境因素有关, 专家组根据病因给出相关防治建议。蚕种场依据专家建议, 规范制种流程, 第六造制种取得较好成绩。
关键词: 广东; 英德; 蚕种场; 微粒子病; 防治

家蚕微粒子病病原属原生动物门, 微孢子虫纲, 微孢子虫目, 微孢子虫科, 微孢子虫属, 是由微粒子原虫感染引起的一种严重危害蚕种生产的传染性病害, 其可通过食下传染、胚种传染2种传播途径传染, 具传播速度快、危害严重等特点, 被列为世界性检疫病害, 现行蚕种生产将其作为重要的检验检疫指标进行判定^[1-2]。微粒子病原孢子广泛存活于: 病蚕(蛹、蛾)体、分泌物、排泄物、脱离物及被污染的蚕具、蚕室、附属室等场所。病原孢子可通过空气、水体、家禽、昆虫等媒介传播^[3], 微粒子病

爆发危害严重时, 在土壤、空气、养蚕废弃物、衣服, 乃至养蚕工作者家里都可以检测到微孢子。而桑园常见桑螟、桑尺蠖、桑天牛、菜粉蝶、斜纹夜蛾等害虫, 以及其他的一些农业作物害虫都是微粒子病原孢子的重要传播媒介, 如蝗虫、玉米螟等。

广东省丝绸集团英德蚕种场现有1 000多亩原蚕饲育专用桑园, 年生产原种3万张, 一代杂交种10万盒, 承担了广东省70%以上的原种生产和供应任务。蚕种场饲育有“9·芙”“芙·9”“7·湘”“湘·7”“东·43”5个品种, 每年饲养造别为一、二、六、七、八造, 每个造别饲养4个批次。多年来, 英德蚕种场十分重视防微防病工作, 微粒子病发生少, 生产平稳。2019年第一造英德蚕种场制种有毒率达25.17%, 超毒品种均为日系, 给蚕种场造成巨大经济损失, 为挽救蚕种场损失, 随多位专家前往英德蚕种场展开调查, 逐一排查病因, 并给出防治建议。

资助项目: 广东省蚕桑产业技术体系建设专项(NO. 2019KJ124)。

第一作者: 王电梅(1992—), 女, 广西桂林人, 硕士, 助理农艺师。

E-mail: luckyddddd@qq.com

通讯作者: 胡智明(1968—), 男, 广东广州人, 硕士, 高级农艺师。

E-mail: silk168@163.com

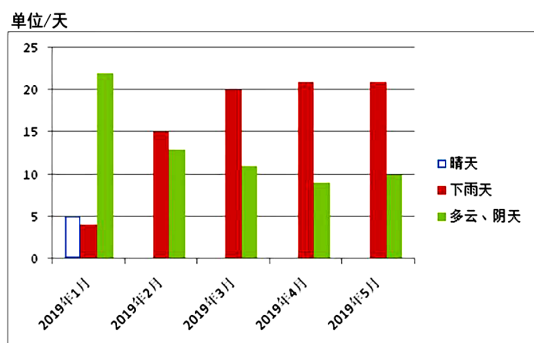
1 英德蚕种场微粒子病发病原因分析

1.1 防微意识淡薄

养蚕工人对微粒子病的严重性认识不足,存在麻痹松懈思想。同时,工人过分依赖洗桑带来的便利,更有部分工人养蚕中存在细节操作不规范等问题,防微意识薄弱,致使防微工作没有真正落实到位。

1.2 气候及环境因素

1.2.1 连续阴天多雨,桑园病虫害高发 桑树在一定的光照强度范围内,桑叶光合速率随光照强度增强而加快。长日照有利于桑树开雄花,促进其生长;短日照则利于桑树开雌花,促进其休眠。图1可知,英德2019年2—5月几乎全为阴天或下雨天,此时正值英德蚕种场一、二造养蚕期。连续的阴雨天气不仅影响桑树生产发育、光合作用、物质代谢、物质积累等多项生长因子,高温多湿的气候还给桑园病虫害提供优质繁育环境,严重危害桑树生长。连续降雨会冲刷掉刚喷上的杀虫剂及杀菌剂,使得药物无法发挥药效。蚕吃了叶质不好的桑叶,体弱,抵抗力差,易感病。日系品种较中系品种抵抗力弱,吃了劣质的桑叶更易感病。



数据来源于天气网

图1 英德市2019年1—5月气候情况

1.2.2 蚕种场环境 微粒子病病原在环境中主要以孢子的形式存在,空气则是孢子的重

要传播媒介。由于受市场茧价影响,英德蚕种场近两年茧壳均未外售,堆放在距蚕房约100m的杂物间内,杂物间位于蚕种场北部,吹北风时极有可能将空气中的微孢子吹入养蚕区及桑园,给养蚕区带来微粒子威胁。饲养中,中系品种在饲养时需遮光,日系品种则不需要,遮光布可阻挡空气中的微孢子直接感染蚕体,日系则缺少相关保护。

1.3 有机肥未充分发酵,或存在盐及重金属超标

英德蚕种场使用的有机肥通过鸡粪与磷肥随机堆放发酵而成,发酵半年后使用,随机堆放的有机肥极有可能还未完全发酵就被使用,未完全发酵的有机肥施入土壤后会持续发酵进而和桑树抢营养,影响桑叶叶质。鸡场饲养的鸡一般以喂食人工饲料为主,鸡场产生的鸡粪极易出现盐、重金属超标现象,施用盐、重金属超标的有机肥会对土壤产生二次污染,不利于桑树生长。

1.4 桑叶清洁未到位

英德蚕种场采用流水线洗桑机用漂白粉精液浸渍漂洗桑叶,漂白粉精液浸泡约2min,漂白粉精液流动漂洗约8min,桑叶漂洗后再用克孢灵消毒约30min。漂白粉精液洗桑要求桑叶被完全浸泡,浸叶中需轻压叶面2~3次,微粒子孢子壁才可能被溶解、消灭。流水线洗桑,不能保证每片桑叶都浸到位、时间浸泡够长,也不能保证漂白粉精浓度始终保持在0.3%~0.4%。流水线洗桑的方式,桑叶表面残留的生物尸体、分泌物等很难去除,桑叶表面残留物未及时清除还会污染洗桑机内其他干净桑叶,蚕吃了不干净的桑叶很容易感病。桑叶清洁仍处于试验阶段,还未建立规范的操作流程,需进一步制定桑叶清洗操作规范。

1.5 工人未合理使用石灰粉

调查发现,英德蚕种场在养蚕期间,工人在蚕座上仅撒有一层薄薄的石灰粉。鲜石灰粉具有较强的吸湿性,是蚕座、蚕体良好

的干燥剂,鲜石灰还具强碱性,能迅速溶解家蚕病毒病的多角体外壳,从而杀死家蚕微粒子释放出的游离病毒粒子^[4]。广东气候常年高温多湿,养蚕期间可多撒石灰,石灰不仅能使蚕座保持干燥,还对真菌孢子增殖和生长起到一定的抑制作用。

2 英德蚕种场微粒子病防治措施

2.1 强化防微意识,净化源头

2.1.1 狠抓防微消毒,彻底切断病源 养蚕前,密封蚕室、上簇室、制种室等生产区门窗,用含有效氯0.4%漂白粉精液消毒蚕室、上簇室、制种室等养蚕附属室,就地消毒0.5h以上,然后打开门窗,用水清洗。蚕窝、蚕沙箩、蚕网及尼龙薄膜等蚕具用含有效氯0.4%的漂白粉精液浸泡至少0.5h,然后用清水漂洗干净。用福尔马林液消毒地面和环境,密闭门窗24h后,开窗风干后再关闭门窗。

进入蚕室、桑室前,需严格按照要求用洗手液、肥皂等洗手,并换上工作服和工作鞋后才可进入蚕室。

整批制种结束后,需对蚕室、上簇室、制种室及蚕具等用含有效氯0.4%漂白粉精液消毒。用过的蚕筷、蛾布、黑布等还需用水煮沸0.5h以上。

2.1.2 加强防微意识,及时清除病患 上簇或收茧后,将病蚕尸体、病蛹、烂茧等养蚕废弃物集中放入塑料垃圾袋,淋上漂白粉精液后才可丢到垃圾桶。制种后留下的削口茧、蛾口茧统一用透气性较好的编织袋装好并集中堆放,以防茧壳发生霉变滋生病毒,同时还可防止老鼠乱拉乱拖,将微孢子带入蚕室、桑室等生产区造成微孢子污染。削口茧、蛾口茧需及时处理,远离生产区,避免空气、人体、老鼠、昆虫等媒介传播茧壳上残留的微孢子。

2.2 加强桑园管理,供应优质桑叶养蚕

2.2.1 因地制宜,做好桑园病虫害防控 捕捉

桑园常见桑螟、斜纹夜蛾、菜粉蝶等病虫,准确把握虫情,调查其带毒率,及时掌握微粒子原虫分布规律,因地制宜,为蚕种场制定针对性的病虫害防治方案提供依据。

2.2.2 冬期清园,减少桑园病虫害密度 冬期管理剪枝后,清除桑树上、地面残叶和桑园及周边杂草,消灭潜伏在落叶和杂草中桑螟、桑尺蠖等越冬害虫。犁冬后,用毒性较大的农药对土壤进行杀虫,同时对土壤进行翻晒,并撒上生石灰,从根源杀灭部分害虫的越冬蛹,降低虫口存活基数。

2.2.3 把握虫情,适期灭虫 准确把握虫情,尽量在幼虫期(3龄前)将害虫消灭。桑园常见桑螟、桑尺蠖等害虫的防治期是幼虫期,此时害虫食量小,危害小,抗药能力差,少量使用触杀性杀虫剂就可将其伤害,达到理想的防治效果。

2.2.4 有机肥测定后才可施入地 为防止不合格有机肥下地对土壤造成二次污染而影响桑树生长,可提前做一个有机肥测定实验。实验设置4个组,每组3个重复,每个重复100粒种子,可用任何蔬菜种子开展实验,也可用桑种或水芹种子,除变量外,实验种子、实验工具、实验环境等需保证一致。1组为对照组,用清水开展种子发芽率实验;2~4组为实验组,采用随机取样法随机抽取3个点的鸡粪配成鸡粪水提物开展种子发芽率做实验。鸡粪水提物比例为1:100,即1g鸡粪兑100ml水。实验组种子发芽率至少大于等于对照组60%,有机肥才可使用,高出比例越高说明有机肥越安全,促生长能力越强,对桑树生长越有利。

2.3 防止食下传染,把好叶面消毒关

食下传染是指微孢子原虫附着在桑叶上,蚕食下被感染桑叶后发病的一种传染途径。为有效防止微孢子病原体通过桑叶感染蚕体,工人在摘桑时应及时处理掉含有昆虫尸体、排泄物或分泌物的桑叶,从根本上减少被污染桑被喂食。采摘回来的桑叶经过消

毒、漂洗、甩干后才可使用。桑叶可用含有效氯0.3%~0.4%的漂白粉精液浸泡消毒,另还应配备有效氯浓度在2%左右的母液做后续添加使用,桑叶消毒时需不定时检测消毒液,确保消毒液有效氯浓度保持在0.3%~0.4%^[5-6]。用漂白粉精消毒后的桑叶需用清水漂洗,漂洗后的桑叶还需用脱水机甩干后才可用于喂蚕。桑叶消毒牢记少量多次,添加桑叶前需测定漂白粉精液有效氯浓度,并保证有效氯浓度维持在0.3%~0.4%,才可有效减少各种病源。桑叶浸泡后可保证桑叶含水率,提高蚕儿食量和食率,提高蚕宝宝强健度。同时需进一步摸索桑叶清洗工艺,建立合理规范的桑叶清洁技术流程。

2.4 加强监督,严格执行养蚕规范

2.4.1 严格做好“五选工作” 养蚕中在卵、蚕、茧、蛹、蛾5个阶段选择时,坚决按淘汰标准淘汰各龄迟眠蚕、弱小蚕等发育不良的虚弱个体,确保种蚕发育整齐,防止微孢子虫病的发生和蔓延。若发现有微孢子虫病病死蚕时,切忌不要随意丢放,应集中放入塑料袋,淋上漂白粉精液后才可丢到垃圾桶。

2.4.2 充分发挥石灰在养蚕中的作用 石灰的化学名称为氧化钙(CaO),遇水后会产生化学反应,发热,粉化成熟石灰或消石灰,俗称氢氧化钙,pH值在9.5以上,具强碱性。常言道:“养蚕全靠一把灰”^[4]。简单的一句话道出石灰在养蚕生产中的重要性,石灰价格低廉,却具强碱性和强吸湿性,可在生产上起到广泛的消毒防病作用。

从2龄起蚕起,每天可用新鲜石灰粉对蚕体、蚕座进行消毒,可有效预防微粒子病的发生^[7]。若蚕期发生病毒害,可增施石灰粉次数,消灭蚕儿表面病原并阻止孢子的繁殖和对其他蚕儿、蚕座的污染。蚕因食下有农药残留的桑叶中毒时,立即撒上新鲜石灰,可起到终止蚕儿继续进食有毒桑叶的作用。起蚕时,可增施石灰粉,阻止早起蚕继续进食而造成蚕儿发育不齐。眠蚕时,应适量撒

薄薄一层石灰,撒过多易造成蚕不蜕皮。

只有使用新鲜石灰才具消毒作用,长期暴露在空气中的石灰粉可与二氧化碳发生氧化反应而不具备消毒作用,一次未能使用完的石灰需用塑料袋装好,封好口,并及时使用。石灰粉使用前要过筛,避免石灰块对蚕体造成伤害。使用石灰粉消毒蚕体时,要均匀撒在蚕体上^[4,7]。

2.5 加强预知检查

2.5.1 桑园预知检查 收蚁前一周,可对桑园地面、树根、树干、虫口叶进行随机取样预知检查,一旦发现微孢子,桑园需再次喷洒杀虫剂及杀菌剂及时消灭病源并阻止病源蔓延。再次喷药的桑园需过了农药安全期才可使用。

2.5.2 蚕室预知检验 养蚕生产开始前,需对蚕室、上蔴室及蚕具进行抽检,若发现微粒子孢子,需对蚕室再次消毒。

2.5.3 迟眠蚕检查 养蚕中,需对各龄迟眠蚕、弱小蚕、半蜕皮蚕等发育不良个体进行预知检查,若发现微孢子应及时淘汰。根据本批次微粒子病发生和流行情况及蚕儿生长发育情况,有必要时还需对落地蚕或死笼茧等进行检查。

2.5.4 促进化蛾检查 胚胎传染是微粒子病原传染的重要途径,通过有效的母蛾检验来判断制种批次的微粒子感病情况,及时淘汰被感染母蛾产下的卵,可以及时中断微粒子病的蔓延,确保蚕卵无病繁殖后代。

3 英德蚕种场微粒子病防治取得的成效

英德蚕种场依据专家组意见,随即召开规范化种桑养蚕培训会,围绕桑园管理、施肥、摘桑、洗桑、养蚕等细节及注意事项对工人进行培训,并对桑园环境及蚕种场环境做了整改,及时卖掉存放在仓库的茧壳。2019年第六造,英德蚕种场制种有毒率降至5.37%,明显低于上半年的毒率25.17%。

家蚕热激蛋白的研究进展

陈鹏宇¹ 李德臣² 吴 凡²

(1 江汉大学生命科学院, 武汉 430056; 2 湖北省农业科学院经济作物研究所, 武汉 430070)

摘 要: 热激蛋白在家蚕的生长发育过程中发挥着重要的生物学作用。该文对国内外学者近几年在家蚕热激蛋白上的研究进展进行了综述, 分析了家蚕热激蛋白的分类, 概括了家蚕热激蛋白的基本性质, 介绍了家蚕热激蛋白在对温度的响应、家蚕抗逆、抗病与滞育中的作用及其他生物学功能等方面的研究现状, 提出了在家蚕热激蛋白研究上存在的问题, 展望了家蚕热激蛋白研究的发展趋势, 以期利用热激蛋白提高家蚕品种的抗逆性和深入研究家蚕以及其他鳞翅目昆虫热激蛋白的生物学功能提供参考。

关键词: 家蚕; 热激蛋白; 基因表达; 生物学功能

热激蛋白是一类高度保守的蛋白质, 又可称为热休克蛋白, 是在生物体遭遇高温、低温、不良环境或其他刺激时体内合成的一种应激蛋白。热激蛋白是 Ristossa 在 1962 年研究果蝇唾腺染色体时发现的, Tissières 等^[1]进一步研究发现该蛋白是一组响应温度胁迫的特殊蛋白。热激蛋白广泛分布于各种生物体内, 在分子进化上相对比较保守, 具

有保守的 α 晶体结构域, 在细胞的生长、发育、分化和基因转录等方面具有重要的作用, 参与维持和调控细胞内多种蛋白质的构象和功能, 是生物体重要的应激抗逆蛋白, 在生物体受到胁迫时, 降低细胞的受损程度或者使细胞免于损伤。

学者们对热激蛋白的生物学功能进行了一系列的研究, 证实热激蛋白主要参与到免疫

防微工作是一个系统过程, 绝不可仅重视或依赖某一环节, 而忽略其他环节的重要性。随着其他农作物日益发展, 桑园面临各种农药威胁, 使得防微工作在新形式下变得更加复杂, 急需每一位蚕桑人探索新模式、研发新装备, 共同面对防微困境。

参考文献

- [1] 曹宁宁, 袁桂阳, 宋友权, 等. 防微灵对家蚕微粒子病的防治效果试验 [J]. 中国蚕业, 2016, 37(3): 32-36.
- [2] 农业部种植业管理司. 新中国 60 年蚕桑生产情况资料汇编 [G]. 北京: 中国农业科技出版社, 2014: 305-312.
- [3] 郑金余, 王志浪, 蔡建军. 微粒子病的综合防治措施 [J]. 蚕桑通报, 2010, 41(3): 61-62.
- [4] 丁建军. 石灰在养蚕生产中的作用 [J]. 广西蚕业, 2004, 41(2): 42-43.
- [5] 张利干, 吕立芹. 关于我场微粒子病防治方法 [J]. 四川蚕业, 2015, 43(2): 50-51.
- [6] 黄樟树, 潘玮瑄, 余体花. 杭州蚕种场微粒子病防治的主要措施 [J]. 蚕桑通报, 2019, 50(2): 37-38.
- [7] 陈玲. 浅谈石灰在养蚕生产中的作用 [J]. 蚕学通讯, 2011, 31(2): 42-43.

系统中,对生物体起重要的保护作用。Yang等^[2]研究发现,在粉尘螨(*Dermatophagoides farinae*)中,热激蛋白HSP70参与调控其对热的应激反应。Tarnawska等^[3]研究了不同镉浓度处理下甜菜夜蛾(*Spodoptera exigua*)5龄幼虫中肠的应激蛋白的水平,发现暴露于高浓度镉的甜菜夜蛾热激蛋白HSP70的表达最初高于对照,但在饲养12代后,与对照的表达水平没有差异,推测HSP70蛋白在对镉耐受性较低的昆虫中起保护作用。Gu等^[4]研究发现热激蛋白HSP70和HSP90参与水稻害虫稻叶卷叶螟幼虫对高温选择的热适应过程。Zhang等^[5]研究发现小热休克蛋白Ap-sHSP19.1在柞蚕的免疫应答和热耐受性中起着重要作用,其表达量在脂肪体中最高,在马氏管中最低。Liu等^[6]研究发现sHSP21在柞蚕的先天免疫应答中起重要作用。也有学者发现热激蛋白还参与生物的生长发育,如Luan等^[7]研究发现小热激蛋白参与了野蚕的丝腺发育或丝蛋白合成。

家蚕作为重要的经济昆虫,是研究鳞翅目昆虫的模式生物。家蚕是变温动物,对温度尤为敏感,最适宜的饲育温度为20~30℃,温度过高或过低均会对其生长发育造成严重的影响,加之家蚕体内没有类似哺乳动物的B细胞和T细胞,体液中也缺乏免疫球蛋白及补体等,因此家蚕在面临非生物胁迫和生物胁迫时,会采取表达热激蛋白的方式来应答这些胁迫。热激蛋白在家蚕的生长发育中起到重要的作用,本文对国内外学者近几年在家蚕热激蛋白上的研究进展进行了综述,为利用热激蛋白提高家蚕品种的抗逆性和深入研究家蚕以及其他鳞翅目昆虫热激蛋白的生物学功能提供参考。

1 家蚕热激蛋白的鉴定与分类

热激蛋白家族按照其相对分子质量的大小、功能和结构可分为5类:HSP60、

HSP70、HSP90、HSP110和小分子量热激蛋白亚族^[8-9]。小分子量热激蛋白亚族广泛存在于原核和真核生物体内,通常作为分子伴侣参与生物体的各种生理活动,其相对分子质量较小,一般为15~30kD。

研究人员很重视编码家蚕热激蛋白的基因研究,到目前为止,已经克隆和鉴定了35个家蚕热激蛋白基因。其中大分子热激蛋白有BmHSP40、BmHSP40.3、BmHSP52、BmHSP60、BmHSP68、BmHSP70、BmHSP90等18种,小分子热激蛋白有BmHSP19.9、BmHSP20.8、BmHSP20.1、BmHSP21.4、BmHSP23.7、BmHSP25.4、BmHSP27.3、BmHSP27.4等17种^[10-14]。家蚕热激蛋白家族及其功能见表1。家蚕小分子热激蛋白的主要生物学功能是在极端条件下,防止细胞被降解,特别是在高于家蚕正常的饲育温度下。有研究表明,小分子热激蛋白在家蚕的精巢组织中表达量较高,对家蚕中精巢细胞的发育有重要作用^[11,15-16]。

2 家蚕热激蛋白的研究进展

2.1 家蚕热激蛋白的基本性质研究

家蚕的热激蛋白基因在所有的组织中都或多或少地表达,说明其对家蚕生长发育有重要的意义。专家们对家蚕热激蛋白基因进行了鉴定和表达分析。房守敏^[17]鉴定了3个家蚕热激蛋白基因,*BmHSP90A1*、*BmHSP90B1*和*BmTrap1*,这些基因的表达序列标签分析发现*BmHSP90A1*和*BmTrap1*基因在家蚕的各发育时期和组织中均表达。*BmTrap1*在5龄家蚕幼虫的精巢中表达量非常高,推测该基因参与家蚕精巢发育和精子的发生过程。Wang等^[18]研究发现家蚕的小分子热激蛋白基因*BmsHSP27.4*(GenBank登录号:AK382044)位于家蚕的第5连锁群,全长为944bp,ORF为741bp,编码246个氨基酸。*BmsHSP27.4*在家蚕脑部、眼睛和脂肪体中的

表 1 已鉴定的家蚕热激蛋白家族及其功能

热激蛋白家族	成员	相对分子质量(kD)	生物学功能
HSP60	BmHSP40、BmHSP40.3、BmHSP60、BmHSP52	40~60	参与家蚕的滞育过程和抗逆过程
HSP70	BmHSP68、BmHSP70、BmHSP70-3、BmHSP70-5、BmHSP70-14、BmHSP70A1、BmHSP70A2、BmHSP70B、BmHSP75	68~75	参与家蚕的变态发育过程、滞育调节和抗逆过程
HSP90	BmHSP83、BmHSP90、BmHSP90A1、BmHSP90B1、BmHSP97	83~97	参与家蚕的生长发育、滞育和抗病过程
HSP110	未鉴定出	—	—
小分子热激蛋白	BmHSP1、BmHSP10、BmHSP12.2、BmHSP19.5、BmHSP19.8、BmHSP19.9、BmHSP20.1、BmHSP20.4、BmHSP20.8、BmHSP20.8A、BmHSP21.4、BmHSP22.6、BmHSP23.7、BmHSP25.4、BmHSP27.3、BmHSP27.4、BmHSP33	1~33	在家蚕体内组成性表达,具有分子伴侣活性、参与家蚕的抗逆和抗病过程及对高温的应激反应

表达量很高,而且其表达量在高温胁迫下升高。Sheng 等^[13]鉴定了家蚕的小分子热激蛋白基因 *BmHSP25.4*,其 ORF 为 372bp,编码了由 223 个氨基酸组成的序列,预测其编码的蛋白质相对分子质量为 25.4kD,Western 印迹分析结果表明该基因在家蚕 5 龄幼虫的血液和脂肪体中表达。孙卫忠等^[19]采用克隆、表达和荧光原位杂交的方法,鉴定了家蚕小分子热激蛋白基因 *BmHSP20.8* 的 ORF 为 561bp,该基因不含有内含子序列,为单拷贝基因。Li 等^[20]研究发现,HSP 类型的 *DnaJ* 基因在家蚕脂肪体中的表达较高,Western blot 检测 *DnaJ1* 蛋白在家蚕 5 龄幼虫的血细胞中表达最高,其次是脂肪体和头部,而且在血细胞中,*DnaJ1* 主要定位于细胞质中。热激蛋白的表达贯穿于家蚕的整个生长发育过程中,起到重要的生理作用。

2.2 家蚕热激蛋白对温度的响应

家蚕是变温动物,其生长发育需要在适宜的温湿度条件下,温度的变化对家蚕生长发育的影响很大。特别是在成虫母蛾的产卵过程中,如果接触超过 30℃ 的高温,其受精过程被扰乱,所产卵多为不受精卵和死卵。在应对温度变化时,家蚕热激蛋白在其中起到非常重要的作用。金鑫等^[21]检测了高温条

件下,耐高温家蚕品种 7532 和高温较敏感的普通家蚕品种皓月中 *BmsHSP27.4* 基因的表达变化,发现在高温诱导下,*BmsHSP27.4* 基因在脂肪体、丝腺和中肠中的表达均增加,推测该基因为高温敏感基因,参与家蚕对高温的耐受。唐芬芬等^[22]对家蚕 5 龄幼虫进行 42℃ 热激 15min 处理,结果发现小分子热激蛋白 *BmHSP25.4* 在家蚕 5 龄幼虫中肠组织中的表达量与对照相比显著升高。Xia 等^[23]研究发现,家蚕的小分子热激蛋白基因 *BmHSP19.9* 的表达量也在高温刺激下升高。Li 等^[24]研究发现家蚕在高温下饲育,其体内的热激蛋白 HSP19.9 和 HSP20.4 的表达升高,而 HSP70 的表达下降。

Sheng 等^[13]研究发现,小分子热激蛋白 *BmHSP25.4* 主要分布在细胞质中,在家蚕受到热激后,*BmHSP25.4* 由细胞质转移到细胞膜上,但热激后 3h,*BmHSP25.4* 又回到细胞质中。李斌等^[15]研究了小分子热激蛋白基因 *BmsHSP19.9* 在家蚕 5 龄幼虫受到热刺激后的表达变化,发现其表达量在后部丝腺、脂肪体和精巢中显著增加,推测该基因可保护家蚕抵御高温胁迫和外界环境刺激。Li 等^[25]研究比较了热处理后,耐热品种 932 和热敏感品种 HY 的蛋白质表达差异,发现在热处理

的早期,热激蛋白基因 *HSP19.9*、*HSP23.7*、*HSP40-3*、*HSP90*、*HSP70* 及其结合蛋白的表达量升高,热处理 24h 后,其表达量下降,除 *HSP70* 以外,其余热激蛋白基因在 932 品种中的转录水平高于 HY,表明热激蛋白在家蚕耐高温胁迫中发挥重要作用。Guo 等^[26] 分析了不同温度下 (13℃、25℃、37℃) 家蚕品种的转录组,发现在 13℃ 和 37℃ 下,有 8 个热激蛋白基因 (*hsp19.5*、*hsp19.9*、*hsp20.4*、*hsp23.7*、*hsp70A1*、*hsp70A2* 和 *hsp70A3*) 的表达量升高,说明热激蛋白在家蚕抵御高温和低温胁迫中发挥重要作用。Li 等^[27] 研究发现家蚕雄蛹在 45℃ 热激 30min 后,热激蛋白基因 *HSP19.9*、*HSP20.4*、*HSP25.4* 的表达增加,在热激处理 24h 后达到最高。Wang 等^[28] 发现高温处理后,雌蚕和雄蚕脂肪体内热激蛋白基因表达上调,但是在雄蚕脂肪体中 *Hsp25.4* 的表达下降。

由此可见,家蚕热激蛋白可以被高温或低温诱导表达,参与家蚕的应激反应,帮助家蚕适应剧烈的环境温度变化,克服其对家蚕带来的伤害,以保护机体免受损伤。热激蛋白基因可以作为提高家蚕品种抗性的一个候选基因,对其基因进行过表达或者基因编辑,从而提高家蚕品种的耐高温特性。

2.3 热激蛋白在家蚕抗逆、抗病性中的作用

家蚕的热激蛋白在生长发育和免疫机制中发挥重要作用,可被一些非生物因素(高温、恶劣环境)和生物因素(病毒、细菌、真菌)诱导表达。很多研究者发现,热激蛋白参与家蚕对抗核型多角体病毒(BmNPV)和质型多角体病毒(BmCPV)的感染过程。Wu 等^[29] 分析了感染 BmNPV 家蚕和正常家蚕的幼虫中肠中基因表达变化情况,发现家蚕感染 BmNPV 后中肠中热激蛋白基因 *BmHsp23.7* 的表达量增加。Iwanaga 等^[30] 研究了家蚕感染 BmNPV 后,家蚕热激同源蛋白 BmHSC70-4 的作用,发现该蛋白在 BmNPV 感染整个过程中表达量变化不大,但

是在感染后期,该蛋白在 BmNPV 感染细胞的细胞核中的表达量增加。Cheng 等^[31] 研究了家蚕感染 BmNPV 后中肠蛋白的表达变化,发现热激蛋白 BmHSP60 参与感染后家蚕中肠细胞的凋亡过程。Hu 等^[32] 在 BmN 细胞感染 BmNPV 后,采用质谱法(MS)鉴定了其蛋白质和胆固醇,发现 HSP 90 作为结合蛋白参与了 BmNPV 的侵袭过程。Guo 等^[33] 研究发现家蚕感染 BmNPV 后,70-kD 家族(HSC/HSP70)的热激同源蛋白参与了宿主细胞中聚集体的形成过程。Kolliopoulou 等^[34] 研究了家蚕在感染 BmCPV 后,其 2 龄和 4 龄幼虫中肠组织中的转录组,发现家蚕的热激蛋白 HSP19.9、HSP20.8、HSP70、sHSP19.5、sHSP23.8 等参与家蚕对 BmCPV 的免疫反应。而 Guo 等^[35] 的研究结果表明热激蛋白 Bmhs20.1 的表达量在家蚕感染 BmCPV 后下降。Li 等^[36] 还发现家蚕感染脓核病毒(BmBDV)后,热激蛋白 HSP90 可以与病毒编码的蛋白质相结合。

热激蛋白还参与家蚕对非生物的胁迫应激过程。Zhang 等^[37] 用腐败菌素 A(DA)处理家蚕 Bm12 细胞,发现处理后的家蚕 Bm12 中,热激蛋白基因 *BmHSP70-3*、*BmHSP75*、*BmHSP83* 和 *BmHSCP* 的表达显著升高。Gong 等^[38] 比较分析了 O₂ 或 HCl 处理后家蚕卵的转录组,发现经 O₂ 和 HCl 处理后热激蛋白基因 *BmHSP70*、*BmHSP60* 和 *BmHSP83* 表达升高,表明这些基因与胁迫耐受性有关。Chen 等^[39] 发现在氟化钠(NaF)的胁迫下,家蚕热激蛋白的表达上调。

2.4 热激蛋白在家蚕滞育中的作用

家蚕是一种滞育昆虫,通过滞育调节生长繁殖时间,以适应季节变化,滞育后必须经过一段时间的滞育代谢,才能解除滞育,但是家蚕滞育的具体机制目前还未解析,目前已经确定家蚕热激蛋白参与了对滞育的调控。Sirigineedi 等^[40] 分析了家蚕滞育诱导卵和非滞育卵中热激蛋白的表达,发现在滞

育诱导卵中, *BmHSP40* 和 *BmHSP70* 基因的表达升高, 推测这两个基因在家蚕卵滞育诱导中发挥重要作用。另外, 还有学者的研究也证实 *BmHSP70* 基因参与对家蚕卵的滞育诱导调控过程^[41-44]。Fan 等^[45] 比较了家蚕滞育卵和非滞育卵中基因表达的变化, 证实热激蛋白基因 *BmHSP19.9*、*BmHSP20.1*、*BmHSP20.4*、*BmHSP20.8*、*BmHSP21.4*、*BmHSP23.7*、*BmHSP70*、*BmHSP90* 在滞育和非滞育卵中均有表达。Ponnuvel 等^[46] 的研究也发现, 热激蛋白基因 *BmHSP20.4*、*BmHSP40*、*BmHSP70* 和 *BmHSP90* 在家蚕滞育卵和非滞育卵胚胎发育的所有阶段均有不同程度的表达, 表明热激蛋白基因对家蚕胚胎的早期发育过程非常重要。

2.5 家蚕热激蛋白的其他生物学功能

热激蛋白除对家蚕的免疫系统起保护作用外, 还参与家蚕的很多生命活动, 在其中扮演着重要角色。王瑞娴等^[47] 发现 *BmsHSP19.9* 基因在中肠、脂肪体和马氏管中的转录水平在家蚕的中肠受到刺激后增加, 推测该基因在家蚕中肠组织的应激系统中发挥重要作用。Wu 等^[48] 分析了 *BmHSP20.8* 在家蚕体内的亚细胞定位情况, 发现该蛋白是一种线粒体蛋白, 具有分子伴侣活性, 对线粒体的生长发育具有重要作用。Chen 等^[49] 采用蛋白质组学方法分析了3龄家蚕体内的蛋白质表达变化, 发现 *BmHSP70* 的表达与家蚕体内1-脱氧野尻霉素(DNJ)的积累呈负相关, 但相关性较弱。Zhang 等^[50] 分析了家蚕蛾睾丸的蛋白质组成, 发现其中有32个热激蛋白构成睾丸中最丰富的蛋白质组, 表明热激蛋白对家蚕生殖细胞的存活、发育和分化至关重要。Luan 等^[7] 对多个不同产丝家蚕个体进行了转录组比较分析, 发现编码小热激蛋白的基因 *BGIBMGA005780* 与茧层量显著相关, 该蛋白在家蚕丝腺发育和丝蛋白的合成中起重要作用。Ohsawa 等^[51] 鉴定了家蚕热休克同源70互作蛋白, 发现其在家蚕

的性腺和脂肪体中表达量较高, 与 *BmHSC70* 相互作用, 具有E3连接酶活性。Tian 等^[52] 研究了二氧化钛纳米粒子处理后家蚕脂肪体的基因表达变化, 发现有7个热激蛋白基因(*hsp68*、*hsp70*、*hsp1*、*hsp16.1/hsp16.11*、*hsp90*、*hsp20.8* 和 *hsp20.4*) 的表达水平增加, 其中 *hsp68*、*hsp70*、*hsp90* 的上调表达与蛋白质代谢增强呈正相关。Liu 等^[53] 比较了在家蚕单性生殖热诱导和双性生殖系中卵母细胞的基因表达差异, 发现热激蛋白HSP68在两种处理中存在表达差异。

热激蛋白在家蚕的生长发育中发挥重要的生物学作用, 参与家蚕的抗逆性、滞育、胚胎发育、生殖器官的形成、应激反应等重要的生命活动, 在提高家蚕对高温、细菌感染抵抗性方面起到重要作用, 可以稳定细胞结构和维持细胞正常功能, 但是具体的作用机制还有待于进一步研究。

3 问题与展望

热激蛋白参与昆虫多种重要的生物学功能, 包括维持蛋白质活性、确保蛋白质正确折叠、降解、易位和组装、参与热激免疫反应和作为分子伴侣等功能, 在昆虫的抗逆性和对环境的适应性等方面起到重要的作用。Zhang 等^[54] 研究发现柞蚕小热激蛋白Ap-sHSP25.4参与柞蚕对抗NPV的感染, 可以提高柞蚕的免疫力。Zhang 等^[55] 研究证实小热激蛋白Ap-sHSP20.8在柞蚕的免疫应答中发挥重要作用。Si 等^[56] 鉴定了中华按蚊(*Anopheles sinensis*)的72个HSP基因, 发现在拟除虫菊酯的胁迫下, 热激蛋白AsHSP90AB、AsHSP70-2和AsHSP21.7的表达均显著升高, 推断HSP90、sHSP和HSP70家族参与中华按蚊对拟除虫菊酯的胁迫反应。Reitmayer 等^[57] 发现蜜蜂暴露于柴油废气中3.5h, 热激蛋白HSP70的表达量与暴露时间呈显著正相关。还有研究证实, 小分子量热

激蛋白在果蝇的生长发育过程中发挥积极作用,参与神经系统、生殖系统和肌肉的发育^[58]。由此可见,热激蛋白对昆虫的生长发育起到至关重要的作用。

热激蛋白参与家蚕的许多生理生化过程,无论家蚕处于正常状态还是抗逆状态,热激蛋白都在家蚕重要而复杂的生物学过程中起到不可或缺的作用。到目前为止,研究人员已经对家蚕热激蛋白进行了比较系统的研究,但是对其研究主要集中在高温胁迫、耐热性和抗逆性等方面,而对家蚕热激蛋白其他的生物学功能知之甚少。业内专家对家蚕小分子热激蛋白的研究比较集中和系统,但是对于家蚕小分子热激蛋白在机体中发挥作用的具体分子机制还不是很清楚,而且小分子热激蛋白在家蚕中是否还存在其他的生物学功能和作用机制也未知。加之,家蚕体内热激蛋白的具体种类以及每种热激蛋白在家蚕生命活动中所起的具体作用和分子机制等还未知,有待于我们进一步研究和探索。相信随着研究的不断深入,家蚕热激蛋白的功能会逐渐地被发现和揭示,这将为进一步利用其功能提高家蚕品种的抗性和丝质提供基础和理论参考,同时也为农林鳞翅目害虫的防治提供新的分子生物学技术和参考价值。

参考文献

- [1] Tissières A, Mitchell HK, Tracy UM. Protein synthesis in salivary glands of *Drosophila melanogaster*: relation to chromosome puffs[J]. *J Mol Biol*, 1974, 84: 389-398.
- [2] Yang R, Niu D, Zhao Y, et al. Function of heat shock protein 70 in the thermal stress response of *Dermatophagoides farinae* and establishment of an RNA interference method[J]. *Gene*, 2019, 705: 82-89.
- [3] Tarnawska M, Kafel A, Augustyniak M, et al. Microevolution or wide tolerance? Level of stress proteins in the beet armyworm *Spodoptera exigua* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) exposed to cadmium for over 150 generations[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2019, 178: 1-8.
- [4] Gu LL, Li MZ, Wang GR, et al. Multigenerational heat acclimation increases thermal tolerance and expression levels of Hsp70 and Hsp90 in the rice leaf folder larvae[J]. *J Therm Biol*, 2019, 81: 103-109.
- [5] Zhang J, Li Q, Sun Y, et al. Molecular cloning and functional analysis of small heat shock protein 19.1 gene from the Chinese oak silkworm, *Antheraea pernyi*[J]. *Arch Insect Biochem Physiol*, 2018, 99: e21516.
- [6] Liu QN, Liu Y, Xin ZZ, et al. A small heat shock protein 21(sHSP21) mediates immune responses in Chinese oak silkworm *Antheraea pernyi*[J]. *Inter J Biol Macromol*, 2018, 111: 1027-1031.
- [7] Luan Y, Zuo W, Li C, et al. Identification of genes that control silk yield by RNA sequencing analysis of silkworm (*Bombyx mori*) strains of variable silk yield[J]. *Inter J Mol Sci*, 2018, 19: E3718.
- [8] Kim KK, Kim R, Kim SH. Crystal structure of a small heat-shock protein[J]. *Nature*, 1998, 394: 595-599.
- [9] Hoffmann AA, Sørensen JG, Loeschcke V. Adaptation of *Drosophila* to temperature extremes: bringing together quantitative and molecular approaches[J]. *J Therm Biol*, 2003, 28: 175-216.
- [10] Sakano D, Li B, Xia Q, et al. Genes encoding small heat shock proteins of the silkworm, *Bombyx mori*[J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2006, 70: 2443-2450.
- [11] Li ZW, Li X, Yu QY, et al. The small heat shock protein(sHSP) genes in the silkworm, *Bombyx mori*, and comparative analysis with other insect sHSP genes[J]. *BMC Evol Biol*, 2009, 9: 215.
- [12] Sosalegowda AH, Kundapur RR, Boregowda MH. Molecular characterization of heat shock proteins 90(HSP83?) and 70 in tropical strains of *Bombyx mori*[J]. *Proteomics*, 2010, 10: 2734-2745.
- [13] Sheng Q, Xia J, Nie Z, et al. Cloning, expression, and cell localization of a novel small heat shock protein gene: BmHSP25.4[J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2010, 162: 1297-1305.
- [14] 罗素娟, 杨慧鹏, 李轶女, 等. 家蚕小热激蛋白家族成员 Hsp23.7 基因的克隆与分析[J]. *昆虫知识*, 2010, (3): 467-471.
- [15] 李斌, 夏庆友, 藤井博, 等. 低分子量热激蛋白 Bmhsp19.9 基因的表达[J]. *农业生物技术学报*, 2005, 13(2): 195-201.
- [16] 聂红毅, 钟晓武, 衣启营, 等. 家蚕精巢中小热激蛋白在不同发育时期的蛋白质组学分析[J]. *中国*

- 农业科学,2011,44(9):1923-1930.
- [17] 房守敏. 家蚕热激蛋白 HSP90 的鉴定、进化与表达模式[J]. 蚕学通讯,2015,35(4):7-13.
- [18] Wang H,Fang Y,Bao Z,et al.Identification of a *Bombyx mori* gene encoding small heat shock protein BmHsp27.4 expressed in response to high-temperature stress[J].Gene,2014,538:56-62.
- [19] 孙卫忠,李斌,王彦文,等. 家蚕 HSP20.8 基因体外表达及荧光原位杂交研究[J]. 蚕业科学,2007,33(1):14-19.
- [20] Li Y,Bu C,Li T,et al.Cloning and analysis of DnaJ family members in the silkworm,*Bombyx mori*[J]. Gene,2016,576:88-98.
- [21] 金鑫,鲍忠赞,王华,等. 高温(34℃)条件下家蚕热激蛋白基因 BmsHSP27.4 的表达变化[J]. 蚕业科学,2014,40(4):620-626.
- [22] 唐芬芬,郑亚强,白兴荣,等. 短时热激后家蚕对核型多角体病毒的抗性及相关抗菌肽和热激蛋白基因表达水平的变化[J]. 昆虫学报,2017,60(5):505-512.
- [23] Xia Q,Cheng D,Duan J,et al.Microarray-based gene expression profiles in multiple tissues of the domesticated silkworm,*Bombyx mori*[J].Genome Biol,2007,8:R162.
- [24] Li J,Moghaddam SHH,Du X,et al.Comparative analysis on the expression of inducible HSPs in the silkworm,*Bombyx mori*[J].Mol Biol Rep,2012,39:3915-3923.
- [25] Li QR,Xiao Y,Wu FQ,et al.Analysis of midgut gene expression profiles from different silkworm varieties after exposure to high temperature[J]. Gene,2014,549:85-96.
- [26] Guo H,Huang C,Jiang L,et al.Transcriptome analysis of the response of silkworm to drastic changes in ambient temperature[J].Appl Microbiol Biotechnol,2018,102:10161-10107.
- [27] Li J,Wei G,Wang L,et al.KPNA3-knockdown eliminates the second heat shock protein peak associated with the heat shock response of male silkworm pupae(*Bombyx mori*)by reducing heat shock factor transport into the nucleus[J].Gene,2016,575:452-457.
- [28] Wang H,Fang Y,Wang L,et al.Transcriptome analysis of the *Bombyx mori* fat body after constant high temperature treatment shows differences between the sexes[J].Mol Biol Rep,2014,41:6039-6049.
- [29] Wu P,Wang X,Qin GX,et al.Microarray analysis of the gene expression profile in the midgut of silkworm infected with cytoplasmic polyhedrosis virus[J].Mol Biol Rep,2011,38:333-41.
- [30] Iwanaga M,Shibano Y,Ohsawa T,et al.Involvement of HSC70-4 and other inducible HSPs in *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus infection[J].Virus Res,2014,179:113-118.
- [31] Cheng Y,Wang XY,Hu H,et al.A hypothetical model of crossing *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus through its host midgut physical barrier[J].PLoS One,2014,9:e115032.
- [32] Hu X,Zhu M,Liang Z,et al.Proteomic analysis of BmN cell lipid rafts reveals roles in *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus infection[J].Mol Genet Genomics,2017,292:465-474.
- [33] Guo ZJ,Tao LX,Dong XY,et al.Characterization of aggregate/aggresome structures formed by polyhedrin of *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus[J].Sci Rep,2015,5:14601.
- [34] Kolliopoulou A,Van Nieuwerburgh F,Stravopodis DJ,et al.Transcriptome analysis of *Bombyx mori* larval midgut during persistent and pathogenic cytoplasmic polyhedrosis virus infection[J].PLoS One,2015,10:e0121447.
- [35] Guo R,Wang S,Xue R,et al.The gene expression profile of resistant and susceptible *Bombyx mori* strains reveals cypovirus-associated variations in host gene transcript levels[J].Appl Microbiol Biotechnol,2015,99:5175-5187.
- [36] Li G,Zhou Q,Hu Z,et al.Determination of the proteins encoded by BmBDV VD1-ORF4 and their interacting proteins in BmBDV-infected midguts[J].Curr Microbiol,2015,70:623-629.
- [37] Zhang H,Hu W, Xiao M,et al.Destruxin A induces and binds HSPs in *Bombyx mori* Bm12 cells[J].J Agr Food Chem,2017,65:9849-9853.
- [38] Gong J,Tian S,Zhou X,et al.Transcriptional response of silkworm(*Bombyx mori*)eggs to O₂ or HCl treatment[J].Inter J Mol Sci,2016,17:1838.
- (以下略)

征 稿 启 事

《蚕丝科技》是由湖南省蚕桑科学研究所、湖南省茧丝绸行业协会主办的蚕业科技刊物,季刊,每季度末出版。

1 征稿范围

本刊主要刊登蚕业研究论文、科技成果、生产技术、产业论坛、经营管理、综合利用、蚕丝文化、国内外蚕丝科技动态、茧丝绸生产和流通的信息等。

2 文稿写作要求

(1) 文稿要求论点明确,数据可靠,文句精炼通畅。研究论文、研究报告、研究进展、综述等文稿全文一般不超过5 000字,其它文稿限2 500字以内。

(2) 层次标准采用阿拉伯数字连续编号,多层次编号之间用下圆点“.”相隔,末位数字后不加点号,如“1”“1.2”“1.2.3”等,并靠左顶格书写,小标题之后接正文应留一字空。

(3) 计量单位应以1984年国务院颁布的法定计量单位为准。常用的法定计量单位如:a(年),d(天),h(小时),min(分),s(秒);m(米),cm(厘米);hm²(公顷),m²(平方米);L(升),kg(千克),t(吨);℃(摄氏度)。

(4) 来稿中的插图、表格要简明清晰,具有自明性,排在正文首次提及之后,文字部分避免罗列与图表重复的内容。表格编排采用三线表,不带竖线,可加必要的辅助横线,word制表功能绘制。

(5) 参考文献应按照GB/T 7714—2005标准著录,采用“顺序编码制”,于篇末方括号编码,以“上标”格式标注。文献作者不超过3位需全部列出,超过3位只列出前3位,后加“等”(如A,B,C,等)。联机文献须后缀引用日期和访问路径。

(6) 依照《著作权法》有关规定,本刊可对录用的稿件作必要的修改、删节,如不同意,请投稿时予以说明。来稿一律文责自负。

(7) 本刊稿件编审周期为3个月,如3个月未收到本刊退修或录用通知,作者可另行处理。文稿刊出后,本刊将酌付稿酬,并赠样刊2本,本刊不退原稿,请作者自留底稿,且勿一稿多投。

(8) 来稿请附注第一作者简介(姓名、出生年月、性别、职称、单位、研究方向或从事工作),通讯地址,邮政编码,联系电话,E-mail。科技资助项目论文须注明项目来源、名称和编号。

(9) 本刊地址:湖南省长沙市芙蓉区军科路23号省蚕桑科学研究所《蚕丝科技》编辑部,邮编:410127。联系电话:0731-85586976。投稿邮箱:hncks@hncks.com。

目 次

产 业 发 展

以蚕为媒 传承蚕桑丝织技艺 陈 璐 刘昌文 张 英等 (1)

研 究 报 告

盐酸恩诺沙星对家蚕细菌性败血病的防治试验 吴洪丽 周洪英 孙 波等 (3)

桑枝秸秆培养大球盖菇栽培种配方的筛选 邹湘月 肖建中 李双庆等 (7)

不同施肥处理对果桑光合与果实品质及土壤微生物数量的影响
..... 于 翠 董朝霞 朱志贤等 (11)

桑叶粉饲料生物发酵工艺试验 叶添梅 李 霞 李飞鸣等 (18)

生 产 技 术

夏秋用蚕品种“湘彩黄 1 号”农村试养报告 艾均文 胡卫东 谢秋香 (23)

综 述

广东英德蚕种场微粒子病发生原因及防治措施 王电梅 钟苏苑 刘吉平等 (26)

家蚕热激蛋白的研究进展 陈鹏宇 李德臣 吴 凡 (30)

信 息

征稿启事 (37)

封面设计 廖熙选