

DOI:10.13718/j.cnki.zwyx.2022.01.012

球孢白僵菌 ZJU435 与乙唑螨腈 对柑橘全爪螨的联合毒力

武可明¹, 李白成², 周林², 张谊模³,
何平¹, 彭国雄⁴, 夏玉先⁴

1. 重庆市璧山区现代农业发展促进中心, 重庆 402760;
2. 重庆谷百奥生物研究院有限公司, 重庆 402760;
3. 重庆市农业科学院, 重庆 401329;
4. 重庆大学 生命科学学院, 重庆 401331

摘 要: 柑橘全爪螨是我国柑橘的重要害虫/螨, 已对多种杀螨剂产生抗药性. 本文研究了微生物杀虫/螨剂球孢白僵菌 ZJU435 与杀螨剂乙唑螨腈对柑橘全爪螨的室内联合毒力及田间防效. 室内毒力测定结果表明, 100 亿孢子/mL 球孢白僵菌 ZJU435 OD(可分散油悬浮剂)与 30% 乙唑螨腈 SC(悬浮剂)按制剂体积 10:1 配比组合时, 其共毒系数最高, 达到 249.90, 具有明显的增效作用. 田间试验结果表明, 100 亿孢子/mL 球孢白僵菌 ZJU435 OD (20 mL/15 L)与 30% 乙唑螨腈 SC(2 mL/15 L)桶混, 药后 3, 7, 14 d 的校正防效分别为 84.41%, 90.02% 及 92.86%, 桶混后速效性显著优于球孢白僵菌 ZJU435 单剂(40 mL/15 L), 且与乙唑螨腈单剂(4 mL/15 L)差异无统计学意义, 持效性与球孢白僵菌 ZJU435 单剂差异也无统计学意义. 综上, 球孢白僵菌 ZJU435 与乙唑螨腈按 10:1 比例联合使用时的速效性增效均表现优异, 因此推荐在实际生产应用中加以推广.

关 键 词: 柑橘全爪螨; 球孢白僵菌; 农药减量;
共毒系数

中图分类号: S436.66

文献标志码: A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



文章编号: 2097-1354(2022)01-0084-06

Joint Toxicity of *Beauveria bassiana* ZJU435 and Cyetpyrafen Against *Panonychus citri*

WU Keming¹, LI Baicheng², ZHOU Lin², ZHANG Yimo³,
HE Ping¹, PENG Guoxiong⁴, XIA Yuxian⁴

收稿日期: 2021-11-10

基金项目: 重庆市技术创新与应用发展专项(cstc2021jscx-tpyzx0017); 重庆市英才计划(cstc2021ycjh-bgzxm0313).

作者简介: 武可明, 农学硕士, 主要从事病虫害防治技术应用与推广.

通信作者: 夏玉先, 教授.

1. The Center for the Promotion of Modern Agricultural Development in the Bishan District of Chongqing, Chongqing 402760, China;
2. Chongqing Gu Bai'ao Biological Research Institute Co., Ltd, Chongqing 402760, China;
3. Chongqing Academy of Agricultural Sciences, Chongqing 401329, China;
4. College of Life Science, Chongqing University, Chongqing 401331, China

Abstract: *Panonychus citri* is the important pest/mite of citrus in China, which has developed resistance to many acaricides. Herein, joint toxicity of the microbial insecticide *Beauveria bassiana* ZJU435 and cyetpyrafen was evaluated by indoor and field tests. The indoor toxicity test results showed that 10 billion spores/mL of *B. bassiana* ZJU435 OD (Oil Dispersion) and 30% of cyetpyrafen SC (suspension concentrate) at a ratio of 10 : 1 (V/V) presented the highest co-toxicity coefficient (CTC) of 249.90 and a remarkable synergistic effect. The results of field trial indicated that application of 10 billion spores/mL of *B. bassiana* ZJU435 (20 mL) OD and 30% of cyetpyrafen SC (2 mL), which were mixed in 15 L of water, produced a correction control effect of 84.41%, 90.02%, and 92.86% after treatment of 3, 7, and 14 d, respectively, and had significantly better quick effect than *B. bassiana* ZJU435 (40 mL/15 L) application, but no significant difference with cyetpyrafen SC (4 mL/15 L) application. Thus, combined application of *B. bassiana* ZJU435 and cyetpyrafen at specific ratio produced excellent quick and endurance effects, and has potential use in practical production and treatment.

Key words: *Panonychus citri*, *Beauveria bassiana*, Cyetpyrafen, Co-toxicity coefficient (CTC)

柑橘全爪螨 (*Panonychus citri* McGregor) 又名柑橘红蜘蛛, 在我国大部分柑橘产区均有分布, 是我国柑橘产区发生的最为严重的害螨之一, 被称为“柑橘的头号害虫/螨”。柑橘全爪螨具有体小、繁殖力强、代数多、对药剂抗性强等特点, 在部分柑橘产区能全年发生。柑橘全爪螨主要以口针刺吸柑橘叶片、嫩枝以及果实汁液, 从而造成柑橘品质及产量的严重损失^[1]。

防控柑橘全爪螨目前主要依赖化学防治手段, 化学杀螨剂有哒螨灵、炔螨特、螺螨酯及双甲脒等, 由于上述化学杀螨剂的大量使用, 柑橘全爪螨对其已产生严重的抗药性^[2-4]。乙唑螨腈为沈阳科创化学品有限公司开发的新型杀螨剂, 能够抑制螨类的琥珀酸脱氢酶, 作用于呼吸电子传递链的复合体 II (由一分子琥珀酸脱氢酶, 两分子铁硫蛋白和两分子 Cytb560 组成^[5]), 从而破坏能量合成, 发挥防治作用^[6]。宝卓 (30% 乙唑螨腈悬浮剂) 一经上市, 迅速占领市场, 被广泛用于螨类的防治。然而, 随着乙唑螨腈的大量施用, 其抗性风险也同样越来越显著。

已有报道表明, 微生物杀虫剂与化学杀虫剂联合使用, 具有速效持效兼备、降低化学农药用量、减少农残和环境污染, 以及减缓害虫抗药性产生和发展等优点^[7]。球孢白僵菌是一种常见的昆虫寄生型真菌, 对许多昆虫及螨类具有较高的致死活性^[8-11]。本研究通过评价球孢白僵菌 ZJU435 与乙唑螨腈对柑橘全爪螨的室内联合毒力, 从而筛选出具有增效活性的配比, 并进行田间药效试验验证, 找到对柑橘全爪螨防效优秀的组合方案, 为柑橘全爪螨的防治及乙唑螨腈的合理应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试药剂

100 亿孢子/mL 球孢白僵菌 ZJU435 OD (可分散油悬浮剂) (重庆聚立信生物工程有限公司); 30% 乙唑螨腈 SC (悬浮剂) (沈阳科创化学品有限公司)。

1.2 供试虫源

柑橘全爪螨采自重庆大学植物基地内种植的柑橘树, 在温度为 $(26 \pm 2)^\circ\text{C}$ 、相对湿度为

(75±5)%、光周期为 16:8(L/D)的人工气候室中,于柑橘苗上饲养,试验时挑选活泼健康的雌成螨个体进行试验。

1.3 室内毒力测定

室内毒力测定参照 Keena 等^[12]的方法并适当调整。在预试验基础上,将 2 种供试制剂分别用水配置成系列制剂浓度;将按 2 种供试制剂按 5 个体积比例(分别为 1:1, 2.5:1, 10:1, 40:1, 80:1)混配备用,用水配置成系列制剂浓度。将大小一致的带叶柄的平整柑橘叶片洗净擦干,浸没于供试药液 10 s 后取出,放在吸水纸上自然晾干,再将叶片插入到装满水的 5 mL 规格的西林瓶中,每张叶片接入一定数量的个体颜色大小相近、活力较高的柑橘全爪螨雌成螨,每个浓度设置 3 个重复。接好螨后,将培养皿置于温度(26±2)℃、(75±5)%、光周期 16:8(L/D)的培养箱中饲养。处理 48 h 后,在双目解剖镜下检查雌成螨的死亡情况(用小毛笔尖轻轻触碰雌成螨,螨足不动即视为死亡),并计算各处理组的死亡率,计算得出毒力回归方程、LC₅₀值、95%置信区间。根据孙云沛^[14]的共毒系数公式计算混剂的共毒系数。

毒力指数(TI)=标准药剂 LC₅₀值/供试药剂 LC₅₀值×100;

混剂实测毒力指数(ATI)=A 剂 LC₅₀值/混剂 LC₅₀值×100;

混剂理论毒力指数(TTI)=A 剂毒力指数×A 剂占比+B 剂毒力指数×B 剂占比;

共毒系数(CTC)=混剂实测毒力指数(ATI)/混剂理论毒力指数(TTI)×100。

所得共毒系数 CTC 大于 120,为增效作用;CTC 在 80~120 之间,为相加作用;CTC 小于 80 则为拮抗作用。

1.4 田间药效试验

田间试验地点为重庆市璧山区派登特农业科技园区柑橘园内,柑橘品种为“沃柑”,3 年树龄苗。试验参照《农药田间药效试验准则》^[13]进行,试验共设 3 个处理。处理 A:100 亿孢子/mL 球孢白僵菌 ZJU435 OD 20 mL 混合 30%乙唑螨腈 SC 2 mL;处理 B:100 亿孢子/mL 球孢白僵菌 ZJU435 OD 40 mL;处理 C:30%乙唑螨腈 SC 4 mL,各处理均对水 15 L。另设清水对照。每个处理设置 3 个小区,每小区 2 棵树,小区间设保护行。施药前调查虫口基数,方法为定点标记调查法,具体为标记每株东、西、南、北、中 5 点,每点标记 5 片叶,每小区共标记 50 片叶,统计叶片上所有的活螨数。于药后 3, 7, 14 d 各调查一次残余螨数,计算螨口减退率及校正防效。

1.5 数据处理与分析

室内毒力试验数据采用 DPS 软件处理系统及 Excel 进行数据统计分析;田间试验数据通过方差分析和 Duncan's 新复极差法检验进行比较,用 DPS 软件进行统计分析^[15]。

2 结果与分析

2.1 单剂对柑橘全爪螨的室内毒力

试验结果表明,2 种药剂对柑橘全爪螨的活性差异较大,其中 30%乙唑螨腈 SC 的毒力更高,药后 48 h 对柑橘全爪螨的 LC₅₀值为 1.105 mg/L,100 亿孢子/mL 球孢白僵菌 ZJU435 OD 对柑橘全爪螨的毒力相对偏低,药后 48 h 的 LC₅₀值为 25.490 mg/L(表 1)。

表 1 2 种药剂单剂对柑橘全爪螨的室内毒力

药剂	毒力回归方程	相关系数(<i>r</i>)	LC ₅₀ 值/(mg · L ⁻¹)	95%置信区间/(mg · L ⁻¹)
100 亿孢子/mL 球孢白僵菌 ZJU435 OD	$y=3.267-2.323x$	0.992	25.490	7.376~185.677
30%乙唑螨腈 SC	$y=-0.090-2.079x$	0.995	1.105	0.900~1.271

2.2 球孢白僵菌 ZJU435 与乙唑螨腈联合使用对柑橘全爪螨的室内联合毒力

100 亿孢子/mL 球孢白僵菌 ZJU435 OD 与 30%乙唑螨腈 SC 联合使用对柑橘全爪螨的室内联合毒力测定结果见表 2. 从结果可以看出 100 亿孢子/mL 球孢白僵菌 ZJU435 OD 与 30%乙唑螨腈 SC 按 10 : 1 体积联合使用时, 对柑橘全爪螨的共毒系数达到 249.90, 最具增效作用. 按制剂体积 40 : 1, 2.5 : 1 联合使用时, 共毒系数分别为 170.59 及 120.47, 同样具有增效作用. 其余配比下共毒系数均小于 120, 为相加或拮抗作用.

表 2 球孢白僵菌 ZJU435 与乙唑螨腈联合使用对柑橘全爪螨的室内联合毒力

制剂配比(球孢白僵菌 ZJU435 : 乙唑螨腈)	毒力回归方程	LC ₅₀ 值/(mg · L ⁻¹)	共毒系数(CTC)
1 : 1	$y=1.256-1.190x$	11.364	69.96
2.5 : 1	$y=0.977-1.094x$	7.817	120.47
10 : 1	$y=0.688-1.097x$	4.238	249.90
40 : 1	$y=0.334-1.633x$	1.603	170.59
80 : 1	$y=0.076-2.001x$	1.092	112.00

2.3 两种药剂及其组合对柑橘全爪螨的田间防效

根据室内筛选结果, 选出最具增效作用的混配组合进行柑橘全爪螨田间防治试验. 各处理组药后 3 d, 7 d 及 14 d 的螨口减退率及校正防效见表 3. 结果显示, 各处理组之间防效差异较明显. 其中 100 亿孢子/mL 球孢白僵菌 ZJU435 OD 与 30%乙唑螨腈 SC 按制剂体积 10 : 1 桶混时(对水 ZJU435 20 mL+乙唑螨腈 2 mL/15 L), 对柑橘全爪螨药后 3,7,14 d 校正防效分别为 84.41%,90.02%及 92.86%, 其速效性(药后 3 d)和持效性(药后 14 d)均显著优于单剂球孢白僵菌 ZJU435(对水 40 mL/15 L)的效果(50.05%和59.13%), 且与单剂乙唑螨腈(对水 4 mL/15 L)的效果(85.70%和 94.19%)差异无统计学意义.

表 3 两种药剂及其组合对柑橘全爪螨的田间防效

处理(制剂 用量/15L 水)	药前虫 数/头	药后 3 d			药后 7 d			药后 14 d		
		活虫 数/头	减退率/ %	校正防效/ %	活虫 数/头	减退率/ %	校正防效/ %	活虫 数/头	减退率/ %	校正防效/ %
ZJU435 40 mL	2 056	1008	50.97	50.05b	682	66.83	67.93b	725	64.74	59.13b
30%乙唑螨腈 SC 4 mL	2 436	342	85.96	85.70a	201	91.75	92.02a	122	94.99	94.19a
ZJU435 20 mL+ 30%乙唑螨腈 2 mL	2 209	338	84.70	84.41a	228	89.68	90.02a	136	93.84	92.86a
对照(清水)	2 338	2 295	1.84		2 418	-3.42		2 017	13.73	

注: 施药前螨口基数、活螨数为 3 次重复之和, 螨口减退率、校正防效为 3 次重复的平均值. 同列小写字母不同表示差异有统计学意义($p<0.05$).

3 结论与讨论

本研究测定了球孢白僵菌 ZJU435 与化学杀螨剂乙唑螨腈对柑橘全爪螨的室内联合毒力, 结果发现, 在制剂体积配比为 10 : 1, 2.5 : 1 及 40 : 1 时, 均有增效作用, 其中 10 : 1 时, 增效最为明显, 共毒系数达到 249.90. 真菌类生物农药与化学杀虫剂联合使用对害虫的增效作用已有较多研究, 李春香等^[16-17]筛选出 4 种杀虫剂(甲维盐、除尽、铁沙掌和康夫), 分别按田间使用剂量稀释 5 倍和 10 倍与 1×10^7 个孢子/mL 的球孢白僵菌复配, 降低了农药的使用量, 又提高了白僵菌的杀虫效果. 曹广春等^[18]以氯虫苯甲酰胺和绿僵菌为研究对象, 发现两者 1 : 4, 1 : 1 联合使用时, 作用飞蝗的 LC_{50} 均小于绿僵菌单独作用飞蝗的 LC_{50} , 存在增效作用. 本研究发现, 真菌类生物农药球孢白僵菌 ZJU435 与化学杀螨剂乙唑螨腈联合使用对螨类同样具有明显的增效作用, 降低了农药的使用量, 同时又提高了白僵菌的杀虫效果, 与李春香等^[16-17]的研究结果一致.

近年来, 随着柑橘种植面积的扩大, 柑橘全爪螨因其繁殖快、代数多、为害重, 已经成为危害柑橘产业的重大病虫害之一^[19]. 部分传统杀螨剂因抗药性问题已逐渐淡出市场, 在用药水平较高的区域, 随着有机磷类等中高毒杀虫剂在果树上的禁限用, 种植户用于柑橘全爪螨防治的药剂仅能在阿维菌素、乙唑螨腈、乙螨唑、螺螨酯、联苯肼酯等少数几种药剂中选择使用, 这进一步加大了抗性风险. 因此, 寻找新的杀虫剂来代替化学农药对柑橘全爪螨进行防治刻不容缓. 球孢白僵菌是一种广谱虫生病原真菌, 该菌作为一种常见的昆虫寄生型真菌, 对许多农林害虫具有较高的致死活性, 且对人畜、作物无毒无害, 已得到广泛的应用. 孙鲁娟等^[20]用高浓度(1×10^8 孢子/mL)、中浓度(1×10^7 孢子/mL)以及低浓度(1×10^6 孢子/mL)的白僵菌悬液浸泡棉叶 10 s 后分别喂食 1~4 龄棉铃虫, 3 个浓度剂量的白僵菌悬液对幼虫均有较强的致病力, LT_{50} 均大于 3, 随着浓度的增加, 棉铃虫死亡速度提高, 且不同温、湿度条件下白僵菌对棉铃虫的致病力不同. 方志刚等^[21]用分离到的 9 株野生白僵菌(0.1% 吐温-80 的无菌水配制成 1×10^5 孢子/mL)直接于松毛虫体表注射 100 μ L, LT_{50} 均大于 4, 其中 B2, B4 和 B14 等 3 个菌株致病力最强, 次之是 B7, B10, B11 和 B12 等 4 个菌株, 而 B6 和 B13 菌株较差. 马骏^[22]采用波特喷雾塔将分生孢子悬浮液对幼虫作喷雾处理, 研究了 12 个分离自澳大利亚的球孢白僵菌菌株对小菜蛾幼虫的致病力, 结果显示, LT_{50} 均大于 5, 其中菌株 EFD14 对小菜蛾的致病力最强, 且其致死力反映了对原寄主具有的一定程度的特异性. 由此可以看出, 尽管球孢白僵菌杀虫效果可观, 但其杀虫速度缓慢的缺点同样明显, 为克服该缺点, 已使用虫生真菌与低剂量的农药复配使用, 这在国内外已有相关的报道^[7, 23]. 而将常用农药与球孢白僵菌复配对柑橘全爪螨的毒力研究还未见报道. 本研究发现, 球孢白僵菌 ZJU435 联合化学杀螨剂乙唑螨腈在特定比例下对柑橘全爪螨具有较球孢白僵菌 ZJU435 单剂明显更好的速效性和持效性, 且与单剂乙唑螨腈差异无统计学意义.

球孢白僵菌 ZJU435 与化学杀螨剂乙唑螨腈在制剂体积配比为 10 : 1 联合使用时, 增效作用最为明显, 共毒系数达到 249.90, 且有较球孢白僵菌 ZJU435 单剂明显更好的速效性, 并与乙唑螨腈单剂差异无统计学意义. 生物农药应用于农业生产已持续半个世纪, 但一直发展缓慢, 在相当长一段时期内, 生物农药不可能完全取代化学农药, 两者协调发展, 采用混配和复配的途径, 将是今后农药发展的重要方向, 本研究为提高杀螨田间防效和减量化学农药使用提供了思路.

参考文献:

- [1] HU J F, WANG C F, WANG J, et al. Monitoring of Resistance to Spirodiclofen and Five other Acaricides in *Panonychus citri* Collected from Chinese Citrus Orchards[J]. Pest Management Science, 2010, 66(9): 1025-1030.
- [2] 冉春, 张云飞, 陈飞, 等. 柑橘全爪螨代谢抗性相关基因表达差异分析[J]. 果树学报, 2013, 30(1): 22-27.
- [3] 张昆, 丁天波, 杨爵铭, 等. 柑橘全爪螨两个田间种群抗性监测及羧酸酯酶生化特性研究[J]. 应用昆虫学报, 2013, 50(2): 362-367.
- [4] 陈飞, 张云飞, 刘浩强, 等. 几种代谢酶基因与柑橘全爪螨对双甲脒抗性的关系[J]. 植物保护学报, 2013, 40(2): 165-170.
- [5] 刘漫. 线粒体呼吸链复合物 II 的纯化和表征[D]. 北京: 首都师范大学, 2009.
- [6] 周晓肖, 江景勇, 邱莉萍, 等. 乙唑螨腈对草莓二斑叶螨的控制作用[J]. 浙江农业科学, 2017, 58(11): 2003-2005.
- [7] MEYLING N V, PELL J K, EILENBERG J. Dispersal of *Beauveria bassiana* by the Activity of Nettle Insects [J]. Journal of Invertebrate Pathology, 2006, 93(2): 121-126.
- [8] 蒲蛰龙, 李增智. 昆虫真菌学[M]. 合肥: 安徽科学技术出版社, 1996.
- [9] SHI W B, FENG M G. Lethal Effect of *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, and *Paecilomyces fumosoroseus* on the Eggs of *Tetranychus cinnabarinus* (Acari: Tetranychidae) with a Description of a Mite Egg Bioassay System[J]. Biological Control, 2004, 30(2): 165-173.
- [10] SHI W B, ZHANG L, FENG Mingguang. Time-Concentration-Mortality Responses of Carmine Spider Mite (Acari: Tetranychidae) Females to Three Hypocrealean Fungi as Biocontrol Agents[J]. Biological Control, 2008, 46(3): 495-501.
- [11] ALVES S B, TAMAI M A, ROSSI L S, et al. *Beauveria bassiana* Pathogenicity to the Citrus Rust Mite Phyllocoptruta Oleivora[J]. Experimental & Applied Acarology, 2005, 37(1-2): 117-122.
- [12] KEENA M A, GRAFTON-CARDWELL E, GRANETT J. Variability in Response of Laboratory-Reared and Field-Collected Populations of *Tetranychus* SPP. (Acari: Tetranychidae) to Hexythiazox[J]. Journal of Economic Entomology, 1991, 84(4): 1128-1134.
- [13] SUN Y P, JOHNSON E R. Analysis of Joint Action of Insecticides Against House Flies[J]. Journal of Economic Entomology, 1960, 53(5): 887-892.
- [14] 国家质量技术监督局. 农药田间药效试验准则: GB/T 17980.11—2000[S]. 北京: 中国标准出版社, 2000.
- [15] 唐启义, 冯明光. 实用统计分析及其 DPS 数据处理系统[M]. 北京: 科学出版社, 2002.
- [16] 李春香, 崔也平, 张英英. 卵孢白僵菌与农药的复配剂对甜菜夜蛾的毒力测定[J]. 北方园艺, 2009(7): 75-78.
- [17] 李春香, 顾丽婧, 张淑红, 等. 常用农药与球孢白僵菌复配对甜菜夜蛾的毒力研究[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(9): 4086-4088, 4123.
- [18] 曹广春, 贾苗, 李一波, 等. 一种绿僵菌和氯虫苯甲酰胺联合使用的杀虫毒力评价方法: CN201510247617.8[P]. 2015-08-26.
- [19] 张振, 封海东, 秦光明, 等. 柑橘全爪螨药剂防治研究进展[J]. 农业与技术, 2017, 37(12): 64-65.
- [20] 孙鲁娟, 吴孔明, 郭予元. 不同温、湿度下白僵菌对棉铃虫幼虫的致病力[J]. 昆虫学报, 2001, 44(4): 501-506.
- [21] 方志刚, 张立钦, 赵仁友. 9 个白僵菌菌株对马尾松毛虫的致病性[J]. 浙江林学院学报, 1999(4): 331-335.
- [22] 马骏. 球孢白僵菌对小菜蛾致病力的测定[J]. 湖南农业大学学报, 1999, 25(5): 387-391.
- [23] 谷祖敏, 李璐, 纪明山, 等. 6 种常用农药与球孢白僵菌和蜡蚧轮枝菌的相容性[J]. 农药, 2006, 45(5): 325-326.