

DOI:10.13718/j.cnki.zwyx.2023.02.009

球孢白僵菌与四唑虫酰胺联合应用 对草地贪夜蛾的毒力研究

蒋文杰¹, 李伟¹, 郑军², 苏伶俐¹, 李瑞鹏¹, 张紫慧¹,
雷云飞³, 任家琼⁴, 张开军¹, 王梓英¹, 刘怀¹

1. 西南大学 植物保护学院/昆虫学及害虫控制工程重庆市市级重点实验室, 重庆 400715;
2. 重庆市涪陵区农业技术推广站, 重庆 408000;
3. 重庆市江津区农业技术推广中心, 重庆 402260;
4. 重庆市垫江县植保植检站, 重庆 408300

摘要: 为了明确四唑虫酰胺与球孢白僵菌联合应用对草地贪夜蛾的防治效果, 本研究选择了对草地贪夜蛾高毒力的球孢白僵菌 Bb105 株系和化学药剂四唑虫酰胺, 开展了两者不同比例混配和不同使用顺序对草地贪夜蛾幼虫的毒力研究. 球孢白僵菌与四唑虫酰胺不同配比对草地贪夜蛾毒力的研究结果表明, 两者以 9:1 和 4:1 的比例混合使用时, 共毒系数分别为 738.50 和 421.19, 表现出增效作用, 且混用比例为 9:1 时增效作用最明显. 两者不同使用顺序对草地贪夜蛾的毒力测定结果表明, 先使用球孢白僵菌 72 h 后再使用四唑虫酰胺对草地贪夜蛾的实际致死率比预测死亡率高, 也表现出协同增效作用. 研究结果为菌药联合防治草地贪夜蛾的实践应用奠定了良好的理论基础.

关键词: 球孢白僵菌; 四唑虫酰胺;

草地贪夜蛾; 联合毒力

中图分类号: S435.132

文献标志码: A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



文章编号: 2097-1354(2023)02-0059-10

Study on the Toxicity of *Beauveria bassiana* Combined with Tetraniliprole to *Spodoptera frugiperda*

JIANG Wenjie¹, LI Wei¹, ZHENG Jun², SU Lingli¹,

收稿日期: 2023-03-26

基金项目: 鲁渝科技协作计划项目(cstc2020jscx-lyggX0006); 重庆市现代山地特色高效农业蔬菜产业技术体系项目(2020[4-6]).

作者简介: 蒋文杰, 主要从事草地贪夜蛾防治相关研究.

通信作者: 刘怀, 教授, 主要从事昆虫生态、有害生物监测与可持续治理等方面的研究.

LI Ruipeng¹, ZHANG Zihui¹, LEI Yunfei³, REN Jiaqiong⁴,
ZHANG Kaijun¹, WANG Ziyang¹, LIU Huai¹

1. Key Laboratory of Entomology and Pest Control Engineering, College of Plant Protection, Southwest University, Chongqing 400715, China;

2. Agricultural Technology Extension Station of Fuling District, Chongqing 408000, China;

3. Agricultural Technology Extension Center of Jiangjin District, Chongqing 402260, China;

4. Plant Protection and Inspection Station of Dianjiang County, Chongqing 408300, China

Abstract: In order to clarify the control effect of the combined application of tetraniliprole and *Beauveria bassiana* on the armyworm *Spodoptera frugiperda*, this study selected the *B. bassiana* Bb105 and the chemical Tetraniliprole, which are highly toxic to this pest, to carry out a toxicity study on the larvae of *S. frugiperda* by mixing them in different proportions and using them in different application order. The results of the study on the toxicity of different ratios of the *B. bassiana* and tetraniliprole to *S. frugiperda* showed that when the two were mixed at 9 : 1 and 4 : 1, the co-toxicity coefficients were 738.50 and 421.19, respectively, showing a synergistic effect, and the former had the most obvious synergistic effect. The toxicity test results of the two different order of uses on *S. frugiperda* showed that using *B. bassiana* for 72 hours before using tetraniliprole has a higher actual mortality rate than the predicted mortality rate, also showed a synergistic effect. The research results have laid a good theoretical foundation for the practical application of the combination of entomopathogenic fungi and chemical in the control of *S. frugiperda*.

Key words: *Beauveria bassiana*; tetraniliprole; *Spodoptera frugiperda*; co-toxicity

草地贪夜蛾(*Spodoptera frugiperda*)原产于美洲热带和亚热带地区,属鳞翅目(Lepidoptera)、夜蛾科(Noctuidae)、灰翅夜蛾属(*Spodoptera*),是一种分布范围广、具有杂食性和迁飞性的农业害虫。草地贪夜蛾于2018年12月入侵到我国云南,随后逐步扩散至全国的大部分省市^[1]。草地贪夜蛾具有很强的环境适应能力、迁飞能力以及杂食性,是其暴发成灾的重要原因^[2-9]。近几年来,在化学药剂的频繁使用下,草地贪夜蛾已对多种化学药剂产生了中等抗性,杀虫剂的抗药性风险越来越大^[10-13]。而球孢白僵菌是一种对多种农业害虫有高毒力的昆虫病原真菌,且害虫对其不易产生抗性,但对害虫的灭杀作用较杀虫剂见效慢。单独使用杀虫剂或生防菌已不能满足绿色高效防控有害生物的长远需求,菌药复配不仅能够提高对害虫的防治效率,降低化学药剂的使用量,延缓有害生物抗药性的产生,还为有害生物的综合防治提供了新的可能。

本课题组前期筛选了对草地贪夜蛾具有高毒力的球孢白僵菌和化学药剂四唑虫酰胺。因此,以球孢白僵菌 Bb105、四唑虫酰胺和草地贪夜蛾为主要研究对象,探究四唑虫酰胺与球孢白僵菌 Bb105 的不同联合应用方式,挖掘了四唑虫酰胺与球孢白僵菌的最佳配比及球孢白僵菌与四唑虫酰胺防控草地贪夜蛾的最佳使用顺序,为延缓草地贪夜蛾抗药性的产生,实现对草地贪夜蛾持续有效防控,提供了重要的组合药剂。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试药剂:200 g/L 四唑虫酰胺 SC,拜耳作物科学(中国)有限公司生产。

供试菌株:球孢白僵菌 Bb105 由重庆大学彭国雄教授提供。

供试昆虫:草地贪夜蛾采自于2020年5月重庆市合川区的玉米种植地($30^{\circ}11'N$, $106^{\circ}05'E$).将玉米叶上的幼虫转移到室内人工气候室中饲养,人工气候室设置光周期 $L/D=16\text{ h}/8\text{ h}$ 、温度 $(25\pm 1)^{\circ}\text{C}$ 、湿度80%.采用新鲜人工饲料和新鲜玉米叶饲养草地贪夜蛾幼虫,待幼虫羽化为成虫后提供10%的蜂蜜水饲养.待草地贪夜蛾形成稳定种群后,用毛笔挑选健康活跃的、体型大小一致的3龄幼虫供试.

供试玉米:玉米品种为“中品甜糯F1号”,将玉米种子浸泡于温水中,定时换水(一天两次),在第3天发芽后将其种植于无农药的实验地中,定时浇水,待玉米生长大约30 d,剪取新鲜玉米嫩叶,用以饲喂草地贪夜蛾幼虫.

1.2 试验方法

1.2.1 球孢白僵菌和四唑虫酰胺混用对草地贪夜蛾的联合毒力

球孢白僵菌 Bb105 对草地贪夜蛾的毒力测定:将球孢白僵菌 Bb105 配置 1×10^7 孢子/mL 的孢子悬浮液,采用浸虫法对草地贪夜蛾 3 龄幼虫进行毒力测定.用无菌的毛笔将草地贪夜蛾 3 龄幼虫单头挑入孢子悬浮液中,浸渍 15 s 后挑出,置于滤纸上吸去多余水分,转移到装有新鲜玉米叶片的 9 cm 的塑料培养皿内,放置于培养箱中,温度 $(26\pm 1)^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $\geq 80\%$ 、光周期 $L/D=16\text{ h}/8\text{ h}$.每日定时观察草地贪夜蛾幼虫的死亡情况,以无菌水为空白对照,每个处理设置 3 个重复,每个重复 20 头幼虫.每天定时更换新鲜玉米叶片并检查草地贪夜蛾的死亡数量.

四唑虫酰胺对草地贪夜蛾的毒力测定:将四唑虫酰胺用无菌水稀释成 0.20 mg/L, 0.04 mg/L, 0.008 mg/L, 0.001 6 mg/L, 0.000 32 mg/L, 0.000 064 mg/L 等 6 个浓度梯度,采用浸叶法测定 LC_{50} .参考张紫慧^[14]的方法进行测定,每天定时更换新鲜玉米叶片并检查草地贪夜蛾的死亡数量.

球孢白僵菌和四唑虫酰胺不同比例混用对草地贪夜蛾的毒力测定:将球孢白僵菌 Bb105 的孢子悬浮液与四唑虫酰胺均在 LC_{50} 浓度下,按体积比 9:1, 4:1, 1:1, 1:4, 1:9 的比例配置母液,分别稀释为 5 个浓度梯度,采用浸虫法处理草地贪夜蛾 3 龄幼虫.用无菌的毛笔将草地贪夜蛾 3 龄幼虫单头挑入混合药剂中,浸渍 15 s 后挑出,置于滤纸上吸去多余水分,转移到装有新鲜玉米叶片的 9 cm 的塑料培养皿内,再饲养于培养箱中,温度 $(26\pm 1)^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $\geq 80\%$ 、光周期 $L/D=16\text{ h}/8\text{ h}$.每日定时观察草地贪夜蛾幼虫的死亡情况.以无菌水为空白对照,不同处理设置 3 个重复,每个重复 20 头幼虫.每天定时更换新鲜玉米叶片并检查草地贪夜蛾的死亡数量,计算球孢白僵菌和四唑虫酰胺不同比例混配条件下草地贪夜蛾的 LC_{50} 值.

1.2.2 先球孢白僵菌、后四唑虫酰胺处理对草地贪夜蛾的联合毒力

草地贪夜蛾 3 龄幼虫在接种球孢白僵菌 Bb105 的第 2~4 d 死亡数量急剧上升,根据球孢白僵菌 Bb105 对草地贪夜蛾的 LT_{50} 值设置球孢白僵菌和四唑虫酰胺使用间隔的时间段为 24 h, 48 h 和 72 h.

用新鲜嫩玉米叶饲养草地贪夜蛾幼虫至 3 龄,挑选健康活跃体型大小较一致的 3 龄幼虫,在试验开始时(0 h)用浓度为 LC_{50} 的球孢白僵菌孢子悬浮液处理草地贪夜蛾幼虫后,分别在 24 h, 48 h 和 72 h 后再用浓度为 LC_{50} 的四唑虫酰胺处理.每次处理时将草地贪夜蛾幼虫放入相应溶液中 15 s,立即取出,置于滤纸上吸去过量的菌液,转移到培养皿中,用滤纸保湿.置于培养箱中培养 7 d,温度 $(26\pm 1)^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $\geq 80\%$ 、 $L/D=16\text{ h}/8\text{ h}$.每天定时添加新鲜玉米叶片并观察记录草地贪夜蛾的死亡情况(表 1).试验虫数与重复同本文 1.2.1.

表1 先球孢白僵菌后四唑虫酰胺联合应用处理组设置

处理	0 h	24 h	48 h	72 h
对照	水	水	水	水
Bb105(0 h)	菌	水	水	水
四唑虫酰胺(24 h)	水	药	水	水
四唑虫酰胺(48 h)	水	水	药	水
四唑虫酰胺(72 h)	水	水	水	药
Bb105(0 h)+四唑虫酰胺(24 h)	菌	药	水	水
Bb105(0 h)+四唑虫酰胺(48 h)	菌	水	药	水
Bb105(0 h)+四唑虫酰胺(72 h)	菌	水	水	药

1.2.3 先四唑虫酰胺、后球孢白僵菌处理对草地贪夜蛾的联合毒力

在试验开始时(0 h)先用浓度为 LC_{50} 的四唑虫酰胺处理草地贪夜蛾幼虫, 处理 24 h, 48 h, 72 h 后, 分别用浓度为 LC_{50} 的球孢白僵菌 Bb105 处理(表 2). 测定方法和试验虫数同本文 1.2.1.

表2 先四唑虫酰胺后球孢白僵菌联合应用处理组设置

处理	0 h	24 h	48 h	72 h
对照	水	水	水	水
四唑虫酰胺(0 h)	药	水	水	水
Bb105(24 h)	水	菌	水	水
Bb105(48 h)	水	水	菌	水
Bb105(72 h)	水	水	水	菌
四唑虫酰胺(0 h)+Bb105(24 h)	药	菌	水	水
四唑虫酰胺(0 h)+ Bb105(48 h)	药	水	菌	水
四唑虫酰胺(0 h)+ Bb105(72 h)	药	水	水	菌

1.3 数据处理与统计分析

在测定球孢白僵菌和四唑虫酰胺对草地贪夜蛾的联合毒力时, 以球孢白僵菌 Bb105 作为标准药剂 A, 四唑虫酰胺作为供试药剂 B. 计算混合药剂的共毒系数(CTC), 共毒系数 ≥ 120 表现为增效作用; $80 < \text{共毒系数} < 120$, 表现为相加作用; 共毒系数 ≤ 80 表示拮抗作用. 计算公式如下:

$$\text{毒力指数(TI)} = \frac{\text{标准药剂的 } LC_{50}}{\text{供试药剂的 } LC_{50}} \times 100$$

$$\text{混合药剂的毒力指数(ATI)} = \frac{\text{标准药剂的 } LC_{50}}{\text{混合药剂的 } LC_{50}} \times 100$$

$$\text{混剂理论毒力指数(TTI)} = \text{TI(a)} \times \text{a 在混剂中所占比例} + \text{TI(b)} \times \text{b 在混剂中所占比例}$$

$$\text{共毒系数(CTC)} = \frac{\text{混剂实际毒力指数 ATI}}{\text{混剂理论毒力指数 TTI}} \times 100$$

通过观察草地贪夜蛾在球孢白僵菌和化学药剂不同使用次序处理下的存活时间以及通过预测作出的存活曲线, 判断球孢白僵菌和化学药剂在不同使用次序下对草地贪夜蛾的毒杀效果, 若预测曲线置于实际存活曲线的置信区间外并处于它的下方, 则表明发生了显著的协同作

用. 计算公式如下:

存活曲线: 死亡率(%) = $\frac{1}{\left(1 + \left(\frac{\text{天数}}{LT_{50}}\right)^b\right)} \times 100\%$

预测曲线: $E_{Bb+Tet} = E_{Bb} + E_{Tet} - (E_{Bb} \times E_{Tet})$

实际曲线: 每一天的校正死亡率

$P_a(\%) = \frac{P_b - P_0}{1 - P_0} \times 100\%$

式中: E_{Bb+Tet} 表示在球孢白僵菌 Bb105 和四唑虫酰胺混合作用下预期的死亡率; E_{Bb} 表示球孢白僵菌 Bb105 处理后的死亡率; E_{Tet} 表示在四唑虫酰胺处理下的死亡率; P_a 为校正死亡率(%); P_b 为处理组死亡率(%); P_0 为空白对照组的死亡率(%). 数据分析软件为 SPSS 26.0, 作图软件为 GraphPadPrism 8.0.

2 结果与分析

2.1 球孢白僵菌和四唑虫酰胺混用对草地贪夜蛾的联合毒力

通过对球孢白僵菌 Bb105 和四唑虫酰胺按不同比例混用后对草地贪夜蛾的联合毒力研究, 结果表明, 球孢白僵菌 Bb105 与四唑虫酰胺以 9 : 1 比例混合时, 共毒系数最高, 为 738.50; 比例为 4 : 1 时, 共毒系数为 421.19; 两种混合比例下的共毒系数均大于 120, 具有显著的增效作用. 当球孢白僵菌 Bb105 与四唑虫酰胺混合比例为 1 : 1 时, 共毒系数为 96.86, 大于 80 却小于 120 呈相加作用. 当两者比例为 1 : 4 和 1 : 9 时, 共毒系数均小于 80, 分别为 48.11 和 48.36, 表现出显著的拮抗作用. 综上可知, 只有当球孢白僵菌 Bb105 与四唑虫酰胺以 9 : 1, 4 : 1 比例混合使用时才会出现增效作用, 并且当比例为 9 : 1 时, 增效作用最明显. 从联合作用中药剂 LC_{50} 与单用药剂的 LC_{50} 的比值中也可看出, 二者以体积比 9 : 1 和 4 : 1 混合后比值均显著小于 1, 说明联合应用可以减少药剂的使用量, 表现增效作用; 反之, 二者以体积比 1 : 1、1 : 4 和 1 : 9 混合后比值大于 1, 表明联合应用不具增效作用(表 3).

表 3 球孢白僵菌和四唑虫酰胺不同混配比例对草地贪夜蛾毒力与共毒系数

处理	毒力回归方程	相关系数(<i>r</i>)	$LC_{50}/(mg \cdot L^{-1})$	共毒系数	混配效果	比值
四唑虫酰胺	$y = 1,008x + 2,523$	0.988	0.003 1	—	—	—
Bb105	$y = 0.61x - 3.762$	0.978	1.46×10^6	—	—	—
Bb105: 四唑虫酰胺(1 : 9)	$y = 0.736x - 1.587$	0.890	0.006 96	48.36	拮抗作用	2.24
Bb105: 四唑虫酰胺(1 : 4)	$y = 0.689x + 1.459$	0.889	0.007 65	48.11	拮抗作用	2.47
Bb105: 四唑虫酰胺(1 : 1)	$y = 0.574x + 1.307$	0.970	0.005 28	96.86	相加作用	1.70
Bb105: 四唑虫酰胺(4 : 1)	$y = 0.557x + 1.505$	0.974	0.001 99	421.19	增效作用	0.64
Bb105: 四唑虫酰胺(9 : 1)	$y = 0.436x + 1.240$	0.958	0.001 44	738.50	增效作用	0.47

注: 比值=联合作用中药剂的 LC_{50} /单用药剂的 LC_{50} .

通过球孢白僵菌 Bb105 不同浓度的孢子悬浮液与 LC_{50} 浓度的四唑虫酰胺按不同体积比合并做 5 个梯度稀释后处理试虫, 不同处理所得的 LT_{50} 差异明显. 二者体积比 9 : 1 和 4 : 1 联合使用对草地贪夜蛾的 LT_{50} 明显比单独使用菌株 Bb105 对草地贪夜蛾的 LT_{50} 短, 而二者体积比 1 : 1, 1 : 4 和 1 : 9 联合使用中菌株 Bb105 在 1×10^7 孢子/mL 对草地贪夜蛾的 LT_{50} 和二者

体积比 1 : 4 联合使用中菌株 Bb105 在 1×10^5 孢子/mL 对草地贪夜蛾的 LT_{50} 均比菌株单用对草地贪夜蛾的 LT_{50} 长. 这也从侧面表明二者以体积比 9 : 1 和 4 : 1 混合提高了防治效率, 存在协同增效作用, 而二者以体积比 1 : 1, 1 : 4 和 1 : 9 混合下存在拮抗作用(表 4).

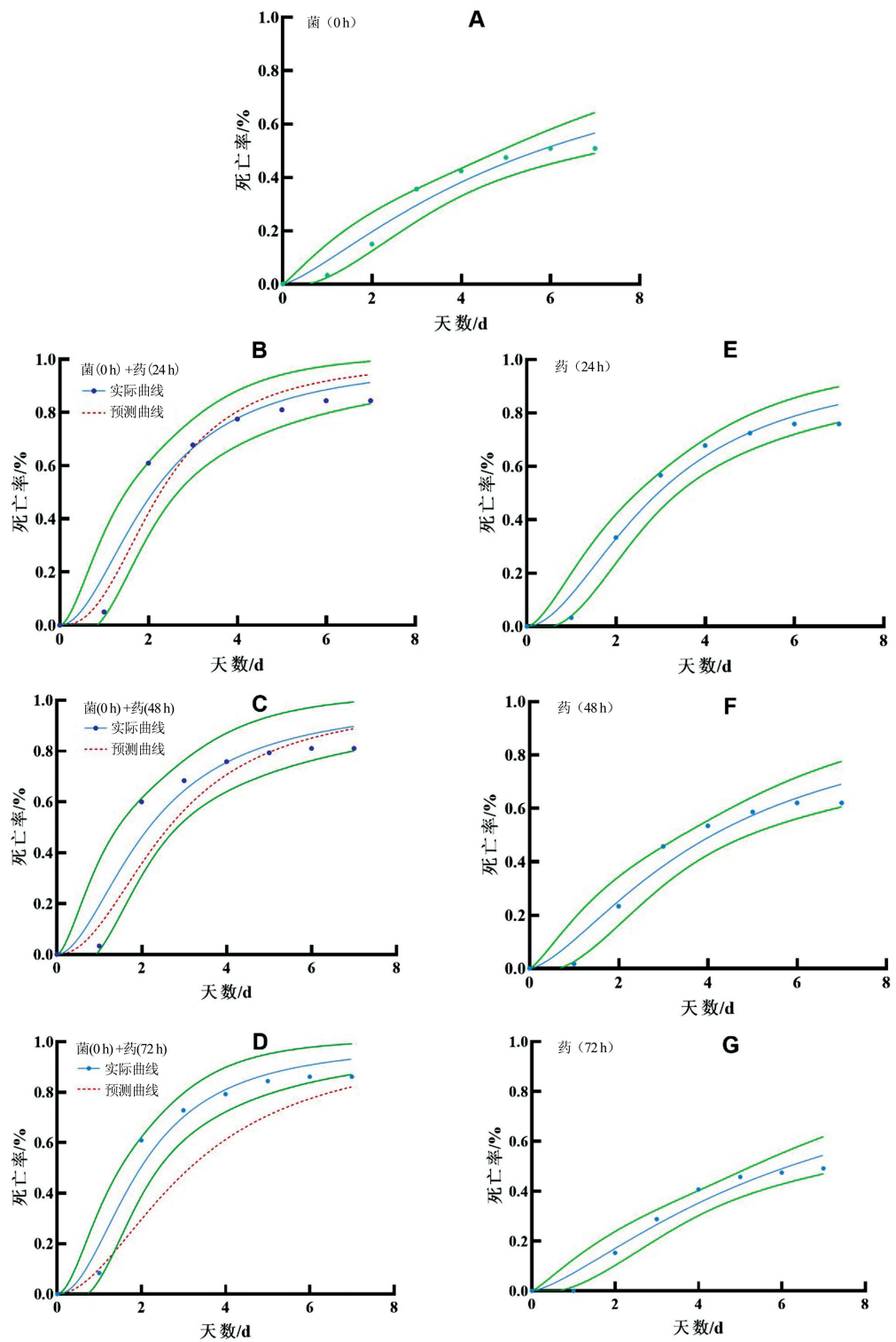
表 4 球孢白僵菌不同浓度与四唑虫酰胺联合使用对草地贪夜蛾的协同作用

处理	比例	毒力回归方程	LT_{50} (d)	95% 的置信区间	相关系数(r)	卡方值(χ^2)
Bb105 ⁸ (四唑虫酰胺)	1 : 9	$y = 2.366x - 0.823$	2.226	1.503~2.872	0.917	6.849
	1 : 4	$y = 2.377x - 0.774$	2.117	1.765~2.444	0.923	6.284
	1 : 1	$y = 2.654x - 0.700$	1.835	1.529~2.113	0.931	5.951
	4 : 1	$y = 3.117x - 0.760$	1.753	1.492~1.993	0.961	4.803
	9 : 1	$y = 2.510x - 0.555$	1.663	1.352~1.944	0.94	5.764
CK1(Bb105 ⁸)	—	$y = 3.958x - 1.429$	2.297	1.61~2.939	0.951	7.055
Bb105 ⁷ (四唑虫酰胺)	1 : 9	$y = 1.934x - 1.042$	3.455	2.934~4.125	0.9	5.897
	1 : 4	$y = 1.924x - 0.941$	3.083	0.17~15.448	0.963	2.174
	1 : 1	$y = 2.190x - 0.998$	2.824	2.409~3.264	0.928	5.17
	4 : 1	$y = 2.449x - 0.963$	2.474	2.116~2.825	0.956	3.676
	9 : 1	$y = 2.307x - 0.972$	2.637	2.251~3.028	0.927	5.804
CK2(Bb105 ⁷)	—	$y = 2.997x - 1.322$	2.761	2.114~3.369	0.926	10.489
Bb105 ⁶ (四唑虫酰胺)	1 : 9	$y = 2.090x - 1.564$	5.598	4.674~7.390	0.993	0.36
	1 : 4	$y = 1.999x - 1.444$	5.276	4.409~6.911	0.993	0.359
	1 : 1	$y = 2.417x - 1.558$	4.410	3.846~5.246	0.971	1.852
	4 : 1	$y = 2.361x - 1.334$	3.674	3.209~4.268	0.955	3.132
	9 : 1	$y = 2.481x - 1.491$	3.991	3.504~4.646	0.96	2.782
CK3(Bb105 ⁶)	—	$y = 2.125x - 1.819$	7.178	5.744~10.748	0.851	6.264
Bb105 ⁵ (四唑虫酰胺)	1 : 9	$y = 1.904x - 1.822$	9.052	6.722~16.672	0.955	1.357
	1 : 4	$y = 1.537x - 1.612$	11.175	7.483~29.227	0.946	1.349
	1 : 1	$y = 1.370x - 1.309$	9.030	6.275~20.825	0.974	0.648
	4 : 1	$y = 1.912x - 1.308$	4.830	4.050~6.235	0.923	3.881
	9 : 1	$y = 2.304x - 1.641$	5.155	4.410~6.449	0.983	0.927
CK4(Bb105 ⁵)	—	$y = 2.072x - 1.983$	9.054	6.300~22.712	0.721	5.126
Bb105 ⁴ (四唑虫酰胺)	1 : 9	$y = 2.207x - 2.090$	8.849	6.759~15.237	0.99	2.132
	1 : 4	$y = 2.032x - 1.963$	9.247	6.889~17.072	0.97	3.207
	1 : 1	$y = 1.863x - 1.767$	8.881	6.603~16.305	0.942	1.923
	4 : 1	$y = 1.865x - 1.689$	8.043	6.131~13.748	0.967	6.373
	9 : 1	$y = 2.065x - 1.823$	7.630	5.999~11.923	0.962	1.503
CK5(Bb105 ⁴)	—	$y = 1.576x - 2.158$	23.411	9.97~3374.146	0.903	2.254

注: 四唑虫酰胺浓度均为 LC_{50} ; Bb105⁸, Bb105⁷, Bb105⁶, Bb105⁵ 和 Bb105⁴ 表示球孢白僵菌浓度分别为 1×10^8 孢子/mL、 1×10^7 孢子/mL、 1×10^6 孢子/mL、 1×10^5 孢子/mL 和 1×10^4 孢子/mL.

2.2 先球孢白僵菌后四唑虫酰胺处理对草地贪夜蛾的联合毒力

先使用球孢白僵菌 Bb105 后间隔不同时间再使用四唑虫酰胺对草地贪夜蛾的毒力研究结果见图 1. 先使用球孢白僵菌处理草地贪夜蛾 3 龄幼虫后, 间隔 24 h 和 48 h 后再使用四唑虫酰胺的两个处理组中, 当两者共同作用 7 d 时, 草地贪夜蛾的实际死亡率分别为 84.48% 和 81.04%, 而独立作用模型预测草地贪夜蛾的死亡率为 88.12% 和 81.36%, 独立作用模型预测的死亡率高于实际死亡率, 但没有表现出协同增效作用. 但先用球孢白僵菌处理草地贪夜蛾间隔 72 h 后再用四唑虫酰胺处理, 7 d 的累积校正死亡率为 86.21%, 高于独立作用模型预测的死亡率 75.01%, 在处理 1 d 后即表现出一定的协同效果, 并且随着时间的增加, 球孢白僵菌和四唑虫酰胺的协同增效作用也在增加.



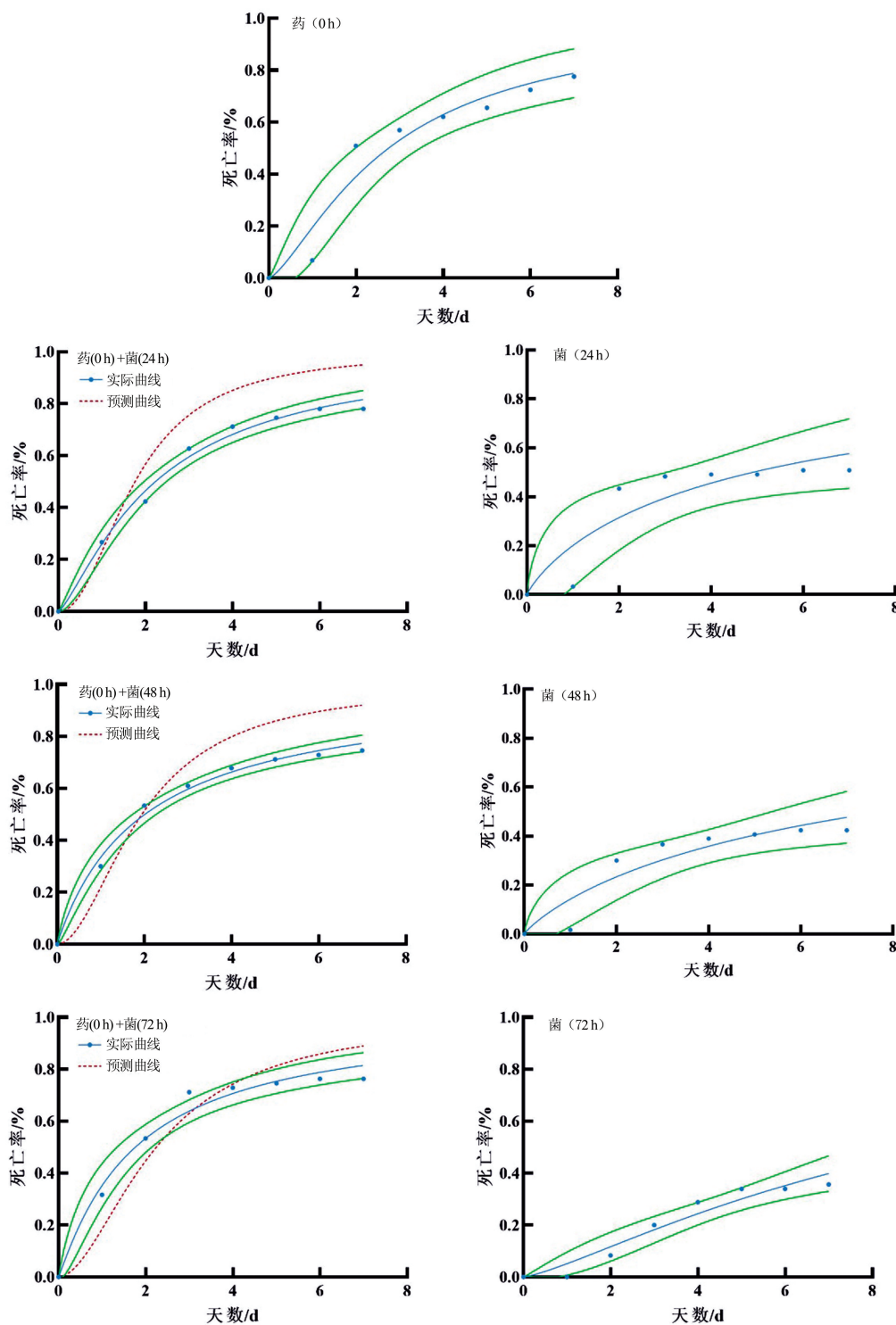
药为四唑虫酰胺处理, 菌为球孢白僵菌 Bb105 处理. 菌(0 h)即一开始就使用球孢白僵菌, 菌(0 h)+药(24 h)即先菌 24 h 后药, 与药(24 h)先水 24 h 后药进行比较; 菌(0 h)+药(48 h)即先菌 48 h 后药, 与药(48 h)先水 48 h 后药进行比较; 菌(0 h)+药(72 h)即先菌 72 h 后药, 与药(72 h)先水 72 h 后药进行比较.

图 1 先菌后药(左)与先水后药(右)对草地贪夜蛾防效实际曲线与预测曲线的比较

2.3 先四唑虫酰胺后球孢白僵菌处理对草地贪夜蛾的联合毒力

先用四唑虫酰胺处理草地贪夜蛾幼虫, 间隔 24 h, 48 h 和 72 h 后, 再用球孢白僵菌 Bb105

处理,当两者共同作用7 d时,草地贪夜蛾的累积校正死亡率分别为77.97%,74.58%和76.27%,而独立作用模型预测的死亡率为88.99%,87.30%和85.81%,3个处理的预测死亡率均高于实际死亡率(图2).试验结果表明,先用四唑虫酰胺处理草地贪夜蛾间隔24 h,48 h和72 h后再用球孢白僵菌 Bb105 处理均没有表现出协同增效作用.



药为四唑虫酰胺处理,菌为球孢白僵菌 Bb105 处理.药(0 h)即一开始就使用四唑虫酰胺,药(0 h)+菌(24 h)即先药 24 h 后菌,与菌(24 h)先水 24 h 后菌进行比较;药(0 h)+菌(48 h)即先药 48 h 后菌,与菌(48 h)先水 48 h 后菌进行比较;药(0 h)+菌(72 h)即先药 72 h 后菌,与菌(72 h)先水 72 h 后菌进行比较.

图2 先药后菌(左)与先水后菌(右)对草地贪夜蛾防效实际曲线与预测曲线的比较

3 结论与讨论

四唑虫酰胺属于双酰胺类农药,具备低毒、高效、低残留且对鳞翅目害虫防效好等优点,是目前国家推荐防治草地贪夜蛾的化学药剂.实验室前期的研究表明,四唑虫酰胺对草地贪夜蛾有着较好的防效^[14].球孢白僵菌不易产生抗性、对环境友好且能够形成长期的控制作用,是害虫绿色防控技术的重要手段之一.考虑到草地贪夜蛾对环境的耐受性强,容易对化学药剂产生抗性这一特点,本研究选择了化学药剂四唑虫酰胺与球孢白僵菌联合应用技术研究,以期延缓草地贪夜蛾对药剂抗药性的产生,开发对草地贪夜蛾有持续控制作用的方法.

通过球孢白僵菌与四唑虫酰胺混用对草地贪夜蛾的毒力测定,结果表明,球孢白僵菌与四唑虫酰胺等体积以9:1和4:1比例混用对草地贪夜蛾有明显增效作用,并且9:1增效作用最明显.张亚茹^[15]的研究结果发现球孢白僵菌与乙基多杀菌素两者混合比为4:1防治害虫时,共毒系数为258.45,具有一定的增效作用,与本研究结果一致.贾苗^[16]的研究结果也表明绿僵菌与双酰胺类杀虫剂氯虫苯甲酰胺在8:2的混合比例下共毒系数为1642,也表现出显著的增效作用,而在2:8比例下共毒系数为33,表现为拮抗作用.推测混合药剂中占高比例的化学药剂可能对球孢白僵菌的萌发和生长有一定的抑制作用,两者表现为拮抗作用;而占低比例的化学药剂对其萌发和生长抑制率低,两者表现为协同增效作用.

通过球孢白僵菌与四唑虫酰胺在不同使用顺序和间隔时间下对草地贪夜蛾的毒力研究,结果表明,先使用球孢白僵菌再在72 h后使用化学药剂四唑虫酰胺,实际防效曲线高于预测曲线,表现出一定增效作用,在其他害虫中的研究也有相似的结果出现.例如,张亚茹^[15]研究发现先使用球孢白僵菌在72 h后使用乙基多杀菌素时,烟粉虱实际死亡率高于预测的死亡率,表现出协同增效作用.Meyling等^[17]的试验结果也表明先使用球孢白僵菌、间隔48 h后再使用高效氯氰菊酯也会产生协同增效的作用.Jia等^[18]对此现象提出了猜测,球孢白僵菌的侵染会降低昆虫解毒代谢酶的活性,从而影响到昆虫对化学药剂的代谢.在球孢白僵菌侵染一段时间后,昆虫的解毒代谢酶无法对化学药剂进行代谢,进而加剧了昆虫的死亡.当真菌与药剂使用顺序调换后,先使用化学药剂24 h,48 h,72 h后再使用球孢白僵菌,草地贪夜蛾的实际死亡曲线低于预期死亡曲线,表现出拮抗作用.而Fulong等^[19]研究发现在吡虫啉与球孢白僵菌联合应用中,先使用吡虫啉间隔24 h后使用球孢白僵菌提高了对科罗拉多马铃薯甲虫的毒杀效果,并提出了化学药剂吡虫啉抑制了靶标害虫的取食行为,靶标害虫在饥饿的状态下没有足够的能量来抵抗真菌侵染的猜想.这与本试验的研究结果不一致,推测原因是化学药剂四唑虫酰胺作用于昆虫体内的同时,对球孢白僵菌的附着与萌发也可能存在一定的影响,这有待进一步深入的研究.

参考文献:

- [1] 王亚如,蔡香云,王锦达,等.重大入侵害虫草地贪夜蛾的研究进展[J].环境昆虫学报,2020,42(4):806-816.
- [2] EARLY R, GONZÁLEZ-MORENO P, MURPHY T, et al. Forecasting the Global Extent of Invasion of the Cereal Pest *Spodoptera frugiperda*, the Fall Armyworm [J]. NeoBiota, 2018, 40(40): 25-50.
- [3] MURUA G, MOLINA-OCHOA J, COVIELLA C. Population Dynamics of the Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and Its Parasitoids in Northwestern Argentina [J]. Florida Entomologist, 2006, 89(2): 175-182.

- [4] MONTEZANO D G, SPECHT A, SOSA-GOMEZ D R, et al. Host Plants of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas[J]. African Entomology, 2018, 26(2): 286-300.
- [5] JOHNSON S J. Migration and the Life History Strategy of the Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda* in the Western Hemisphere [J]. International Journal of Tropical Insect Science, 1987, 8(4): 543-549.
- [6] ROSE A, SILVERSIDES R, LINDQUIST O. Migration Bight by an Aphid, *Rhopalosiphum maidis* (Hemiptera: Aphididae) and a Noctuid, *Spodoptera frugiperda* (Lep: Noctuidae) [J]. The Canadian Entomologist, 1975, 107(6): 567-576.
- [7] GUTIÉRREZ-MORENO R, MOTA-SANCHEZ D, BLANCO C A, et al. Field-Evolved Resistance of the Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) to Synthetic Insecticides in Puerto Rico and Mexico [J]. Journal of Economic Entomology, 2019, 112(2): 792-802.
- [8] FIGUEIREDO M, MARTINS-DIAS A, CRUZ I. Relationship between Fall Armyworm and Their Natural Biological Control Agents in the Maize Crop [J]. Pesquisa Agropecuaria Brasileira, 2006, 41(12): 1693-1698.
- [9] 崔丽, 芮昌辉, 李永平, 等. 国外草地贪夜蛾化学防治技术的研究与应用 [J]. 植物保护, 2019, 45(4): 7-13.
- [10] 黄至畅, 龙楚云, 吴明峰, 等. 湖南不同地区草地贪夜蛾种群对四种类型杀虫剂的抗药性监测 [J]. 精细化工中间体, 2022, 52(5): 30-34.
- [11] 牛多邦, 檀称龙, 吴玉杰, 等. 安徽省草地贪夜蛾对杀虫剂的敏感性和靶标突变检测 [J]. 植物保护, 2022, 48(2): 201-207, 213.
- [12] ZHAOY X, HUANG J M, NI H, et al. Susceptibility of Fall Armyworm, *Spodoptera Frugiperda* (J. E. Smmth), to Eight Insecticides in China, with Special Reference to Lambda-Cyhalothrin [J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2020, 168: 104623.
- [13] 苏湘宁, 廖章轩, 李传瑛, 等. 广东草地贪夜蛾对2种常用农药的抗药性及助剂和增效剂对农药毒力的影响 [J]. 南方农业学报, 2020, 51(6): 1274-1281.
- [14] 张紫慧. 四唑虫酰胺对草地贪夜蛾亚致死效应研究 [D]. 重庆: 西南大学.
- [15] 张亚茹. 乙基多杀菌素与球孢白僵菌对烟粉虱的协同作用研究 [D]. 重庆: 西南大学.
- [16] 贾苗. 绿僵菌和杀虫剂协同抑制飞蝗免疫研究 [D]. 北京: 中国农业科学院.
- [17] MEYLING N V, ARTHUR S, PEDERSEN K E, et al. Implications of Sequence and Timing of Exposure for Synergy between the Pyrethroid Insecticide Alpha-Cypermethrin and the Entomopathogenic Fungus *Beauveria Bassiana* [J]. Pest Management Science, 2018, 74(11): 2488-2495.
- [18] JIA M, CAO G C, LI Y B, et al. Biochemical Basis of Synergism between Pathogenic Fungus *Metarhizium anisopliae* and Insecticide Chlorantraniliprole in *Locusta migratoria* (Meyen) [J]. Scientific Reports, 2016, 6(1): 28424.
- [19] FURLONG M J, GRODEN E. Evaluation of Synergistic Interactions between the Colorado *Potato beetle* (Coleoptera: Chrysomelidae) Pathogen *Beauveria Bassiana* and the Insecticides, Imidacloprid, and Cyromazine [J]. Journal of Economic Entomology, 2001, 94(2): 344-356.

责任编辑 王新娟