

吡虫啉与蝉拟青霉的相容性及增效作用研究

李 忠^{1,2,3}, 赵 致^{2,4}, 金道超^{1,3}

(1. 贵州大学 农学院, 贵州 贵阳 550025; 2. 贵州大学 贵州省药用植物繁育与种植重点实验室, 贵州 贵阳 550025; 3. 贵州大学 山地农业病虫害重点实验室, 贵州 贵阳 550025; 4. 贵州大学 生命科学学院, 贵州 贵阳 550025)

摘要: 为了提高蝉拟青霉的杀虫毒力, 研究了吡虫啉对蝉拟青霉菌落生长、产孢、孢子萌发的影响及菌药混用的杀虫效果。结果表明, 致死剂量(1 : 3 000)的吡虫啉对蝉拟青霉菌落生长和产孢有一定的影响, 而亚致死剂量(1 : 15 000)和次亚致死剂量(1 : 30 000)的吡虫啉对菌落生长、产孢、孢子萌发均无显著影响, 其对菌落生长的抑菌率分别为 2.53% 和 0.73%, 对孢子萌发的抑制率仅为 1.02%、-0.35%。该药剂亚致死剂量和次亚致死剂量分别与蝉拟青霉孢子液混用后, 对蚜虫的致死中时(LT₅₀)比单用孢子液提前了 0.37 d、0.26 d, 蚜虫的校正死亡率也增加。表明亚致死剂量和次亚致死剂量的吡虫啉与蝉拟青霉具有良好的相容性, 混用后具有明显的增效作用。

关键词: 化学杀虫剂; 微生物杀虫剂; 吡虫啉; 蝉拟青霉; 杀虫效果; 相容性; 增效作用

中图分类号: S476⁺.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2012)02-0089-04

Compatibility of Imidacloprid and *Paecilomyces cicadae* and Synergism against Aphids

LI Zhong^{1,2,3}, ZHAO Zhi^{2,4}, JIN Dao-chao^{1,3}

(1. College of Agriculture, Guizhou University, Guiyang 550025, China; 2. Guizhou Key Laboratory for Propagation and Cultivation of Medicinal Plants, Guizhou University, Guiyang 550025, China; 3. The Key Laboratory for Plant Pest Management in Mountain Agriculture, Guizhou University, Guiyang 550025, China; 4. College of Life Sciences, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract: The effects of imidacloprid on colony growth, conidial sporulation and germination of *Paecilomyces cicadae* were tested. The results showed that the lethal dose(1 : 3 000) imidacloprid inhibited mycelium growth and sporulation to a certain degree, but the sublethal dose (1 : 15 000) and low sublethal dose(1 : 30 000) of imidacloprid had no apparent effect on mycelium growth, conidial sporulation and germination. Their inhibition rates were 2.53% and 0.73% on colony growth, and 1.02% and -0.35% on conidial germination. These indicated that the sublethal dose and low sublethal dose of imidacloprid had compatibility with *P. cicadae*. The result of a bioassay showed obvious synergism against aphids when *P. cicadae* was mixed with the sublethal dose and low sublethal dose of imidacloprid, with LT₅₀ 0.37 days and 0.26 days earlier and the corrected mortality rate higher than that of *P. cicadae* alone.

Key words: chemical insecticide; microbial insecticide; imidacloprid; *Paecilomyces cicadae*; insecticidal effect; compatibility; synergism

收稿日期: 2011-09-21

基金项目: 贵州大学人才基金项目[贵大人基合字(2008)031号]; 国家科技支撑计划课题(2009BAI74B01); 贵州省科技厅创新人才团队建设项目(黔科合人才团队[2010]4006); 贵州省科技厅重点实验室计划项目(黔科合计 Z 字[2010]4015)

作者简介: 李 忠(1971-), 男, 贵州瓮安人, 副教授, 博士, 主要从事植物病虫害生防方面的教学及科研工作。

E-mail: zhongzhongligzu@163.com

蝉拟青霉 [*Paecilomyces cicadae* (Mique) Samson] 又名蝉花, 不仅具有药理活性, 还是具有极为广谱并具较强致病性的虫生真菌, 可以寄生鳞翅目 (Lepidoptera)、膜翅目 (Hymenoptera) 中的很多昆虫^[1-2]。蝉拟青霉 (*P. cicadae*) 等微生物杀虫剂虽具有不污染环境、对人畜安全等优点, 但防治效果因受环境因子的影响较大而不稳定, 且杀虫速度相对较慢, 影响人们使用的积极性。有效解决这些问题的途径之一就是微生物杀虫剂与化学杀虫剂混用。将微生物杀虫剂与化学杀虫剂混合使用, 能够结合双方的优点, 一方面可以解决微生物杀虫剂致死缓慢问题, 另一方面还可以很大程度上缓解害虫对化学农药产生抗药性问题^[3-4]。为此, 人们一直在进行微生物制剂同化学杀虫剂合理混配的研究, 并随着新农药的不断问世, 研究也更加深入^[5-7]。

吡虫啉 (imidacloprid) 是一种超高效、强内吸、广谱、低毒杀虫剂, 对蚜虫、稻飞虱、叶蝉、蓟马、稻纵卷叶螟等害虫具有很好的防治效果^[8-10]。本试验就其与蝉拟青霉的相容性以及菌药混用的增效作用进行研究, 为今后蝉拟青霉混合制剂的生产应用提供参考依据。

1 材料和方法

1.1 供试材料

供试菌种为蝉拟青霉 (*P. cicadae*) LB 菌株, 采自贵州省荔波县茂兰自然保护区, 保存于贵州大学植保科学实验室。供试昆虫为室外盆栽板蓝根蚜虫 (*Lipaphis erysimi*), 挑取个体大小一致的无翅蚜供试。供试农药为 10% 吡虫啉可湿性粉剂, 由英国百诺实业有限公司生产。

1.2 吡虫啉对蝉拟青霉菌落生长的影响试验

参照李增智等^[5]的方法, 将 PDA 培养基和不同用量吡虫啉充分混合, 配成 3 种含不同农药剂量 (A、B、C) 的培养基。其中 A 为致死剂量, 即推荐使用剂量 (1:3 000), B 为亚致死剂量 (1:15 000), C 为次亚致死剂量 (1:30 000)。将在无药 PDA 培养基上培养 5 d 的蝉拟青霉菌落, 用 10 mm 的打孔器切取小菌块, 置于含农药的平板培养基中央, 每个农药剂量处理重复 3 次。而后放置于光照培养箱中 (26 °C, 12L/12D) 培养 10 d, 测量菌落直径 (mm), 以不加农药的 PDA 培养基为空白对照。

以第 10 天的菌落生长直径进行显著性检验, 并求出各种农药剂量的抑菌率:

抑菌率 = (对照菌落直径 - 处理菌落直径) / (对照菌落直径 - 10) × 100%。

1.3 吡虫啉对蝉拟青霉产孢的影响试验

用 PDA 培养基配制 3 种不同试验剂量 (A、B、C) 的吡虫啉, 定量吸取 1 mL 蝉拟青霉分生孢子悬浮液 (含孢量为 5×10^7 个/mL) 接种至各处理的培养基中, 用玻璃三角环涂抹均匀, 放置于光照培养箱中 (26 °C, 12L/12D), 15 d 后测定各处理的产孢量。每处理重复 3 次, 以不加农药的培养基为对照。

1.4 吡虫啉对蝉拟青霉孢子萌发的影响试验

将已灭菌的 PDA 液体培养基 50 mL 分别与 3 种不同剂量吡虫啉 (A、B、C) 混合, 在无菌室内加入少许蝉拟青霉纯孢子粉, 并加 2 滴 Tween-80 作乳化剂, 调整孢子含量在显微镜 (400×) 下每视野为 100 个左右。分别吸取 20 μL 混合液, 点于洁净的载玻片上, 将玻片放入已铺有湿滤纸的保湿培养皿内, 并置于 26 °C 恒温培养箱中, 24 h 后镜检孢子萌发情况, 统计孢子萌发率。每处理重复 3 次, 以无菌水替代农药作对照。

计算孢子萌发抑制率:

萌发抑制率 = (对照孢子萌发率 - 处理孢子萌发率) / 对照孢子萌发率 × 100%。

1.5 吡虫啉与蝉拟青霉混用对蚜虫的生物活性影响试验

1.5.1 试验处理 共设以下 6 个处理: (1) A 剂量吡虫啉; (2) B 剂量吡虫啉; (3) C 剂量吡虫啉; (4) 孢子液与 B 剂量吡虫啉混合; (5) 孢子液与 C 剂量吡虫啉混合; (6) 孢子液。将菌液及菌药混用的孢子含量调整为 5×10^7 个/mL。

1.5.2 生物测定 采用浸法进行: 将着生有蚜虫的板蓝根叶片摘下, 浸入各处理液内 2~3 s 后取出, 在室温下待叶片表面晾干后, 用狼毫小毛笔挑选出个体大小、体色相近的无翅蚜虫于无虫、洁净的叶片上, 用浸湿的棉团包裹叶柄, 置于底铺滤纸的培养皿内 (每皿 1 片叶, 每叶 30 头蚜虫), 在滤纸上用滴管滴入无菌水, 25 °C 恒温培养 (要注意棉团保湿和添加新鲜叶子), 重复 3 次。2 d 和 7 d 后分别检查几个无菌处理的蚜虫死亡率, 3~7 d 内每天统计含菌处理的蚜虫感染死亡率。以蚜虫浸 Tween-80 水为对照 (CK)。

1.6 统计方法

采用 SPSS 12.0 统计软件对相容性试验结果进行方差分析, 比较各处理与对照间的差异显著性, 求出含菌处理的毒力回归方程及致死中时 LT_{50} 。

增效作用判定采用 Bliss 的独立联合作用概念, 混用后的理论死亡率低于实际效果即为增效。公式为: $P_c - P_m = P_c - [P_1 + P_2(1 - P_1)]$ 。式中, P_c 为

菌药混用的实际死亡率, P_m 为理论死亡率, P_1 为孢子液的实际死亡率, P_2 为药剂的实际死亡率。 $(P_c - P_m) > 0$ 时为增效作用, $(P_c - P_m) < 0$ 时为拮抗作用^[11]。

2 结果与分析

2.1 不同剂量吡虫啉对蝉拟青霉菌落生长的影响

从表 1 可以看出,在以致死剂量的吡虫啉处理的平板上,蝉拟青霉的菌落直径与对照相比,存在极显著差异($P < 0.01$),说明致死剂量的吡虫啉对蝉拟青霉生长有显著影响。从抑菌率可以看出,致死剂量的吡虫啉对蝉拟青霉的抑制作用较强,抑菌率为 30.79%;亚致死剂量和次亚致死剂量的吡虫啉处理对菌落生长没有明显影响,菌落直径和对照差异不显著,其抑菌率分别为 2.53% 和 0.73%。

表 1 不同剂量吡虫啉对蝉拟青霉菌落生长的影响

稀释倍数	菌落直径/mm	抑菌率/%
3 000	73.67±0.88bB	30.79
15 000	99.67±1.45aA	2.53
30 000	101.33±1.86aA	0.73
CK	102.00±2.98aA	—

注:同列不同大、小写字母分别表示差异达极显著水平($P < 0.01$)和显著水平($P < 0.05$),下同。

2.2 不同剂量吡虫啉对蝉拟青霉产孢量的影响

由表 2 可知,吡虫啉对蝉拟青霉的产孢量存在一定影响,剂量越高,影响越大。从总体上看,3 个吡虫啉剂量处理对蝉拟青霉产孢抑制的大小顺序是:致死剂量 > 亚致死剂量 > 次亚致死剂量。用亚致死剂量和次亚致死剂量的吡虫啉处理后,蝉拟青霉的产孢量分别为 3.08×10^7 个/cm²、 3.23×10^7 个/cm²,而对照为 3.27×10^7 个/cm²,可见亚致死剂量、次亚致死剂量的吡虫啉对蝉拟青霉产孢的影响不显著。

表 2 不同剂量吡虫啉对蝉拟青霉产孢量的影响

稀释倍数	产孢量/($\times 10^7$ 个/cm ²)
3 000	2.53±0.21bB
15 000	3.08±1.14aAB
30 000	3.23±0.04aA
CK	3.27±0.16aA

2.3 不同剂量吡虫啉对蝉拟青霉孢子萌发的影响

由表 3 可知,经致死剂量的吡虫啉处理后,蝉拟青霉孢子萌发率最低,为 92.07%,而对照的孢子萌发率为 93.46%,二者差异不显著。不同剂量的吡虫啉对孢子萌发的影响不大,抑制率分别为

1.49%、1.02%、-0.35%。致死剂量、亚致死剂量与次亚致死剂量的吡虫啉对蝉拟青霉孢子萌发的影响差异不显著,表明吡虫啉与该菌孢子具有良好的相容性。

表 3 不同剂量吡虫啉对蝉拟青霉孢子萌发的影响

稀释倍数	孢子萌发率/%	抑制率/%
3 000	92.07±0.83aA	1.49
15 000	92.51±1.20aA	1.02
30 000	93.79±1.17aA	-0.35
CK	93.46±1.85aA	—

2.4 吡虫啉与蝉拟青霉混用对蚜虫的生物活性

以蚜虫为生测对象,通过 7 d 内蚜虫死亡情况的统计分析,获得蝉拟青霉及其与吡虫啉混用的室内杀蚜效果(表 4)和毒力测定结果(表 5)。

从表 4 可以看出,A 剂量吡虫啉处理 7 d 时,蚜虫的校正死亡率为 100%;其次是孢子液+B 剂量吡虫啉,蚜虫校正死亡率为 90.53%;孢子液+C 剂量吡虫啉处理,蚜虫校正死亡率为 88.17%;而单独用菌孢子液处理,蚜虫的校正死亡率为 79.88%。可见,菌药混用后的杀蚜效果明显好于纯孢子液处理。从表 5 可以看出,B 剂量、C 剂量吡虫啉与菌混用后的 LT_{50} 分别为 4.03 d、4.14 d,而纯孢子液处理蚜虫的 LT_{50} 为 4.40 d,可见,亚致死剂量、次亚致死剂量的吡虫啉与菌混用后的 LT_{50} 均比单独用菌孢子液处理的 LT_{50} 小(分别提前 0.37 d 和 0.26 d),说明菌药混用具有增效作用。

表 4 蝉拟青霉及其与吡虫啉混用的室内杀蚜效果(7 d)

处理	校正死亡率/%	$(P_c - P_m)/\%$
A 剂量吡虫啉	100	—
B 剂量吡虫啉	51.19	—
C 剂量吡虫啉	12.42	—
孢子液+B 剂量吡虫啉	90.53	0.35
孢子液+C 剂量吡虫啉	88.17	5.79
菌孢子液	79.88	—

表 5 蝉拟青霉与吡虫啉混用对蚜虫的致死时间

处理	回归方程	R	LT_{50}/d
孢子液+B 剂量吡虫啉	$y = -3.87 + 6.39x$	0.946 1	4.03
孢子液+C 剂量吡虫啉	$y = -3.87 + 6.28x$	0.951 1	4.14
菌孢子液	$y = -3.87 + 6.28x$	0.935 1	4.40

再根据 Bliss 的独立联合作用公式计算可知(表 4),B 剂量、C 剂量吡虫啉与菌混用的 $P_c - P_m$ 均大于 0(分别为 0.35%、5.79%),也说明亚致死剂量、次亚致死剂量吡虫啉与菌混用具有增效作用。

3 小结与讨论

吡虫啉是烟碱类高效杀虫剂,具广谱、高效、低毒、低残留的特点,主要用于防治刺吸式口器害虫。在田间推荐使用剂量范围内,其对蝉拟青霉菌丝生长有一定的抑制作用,而亚致死剂量和次亚致死剂量范围内其与蝉拟青霉具有良好的相容性。在选用吡虫啉作为蝉拟青霉的增效剂时,采用亚致死剂量和次亚致死剂量的吡虫啉与菌混用具有增效作用,杀蚜虫致死中时提前,蚜虫死亡率增加。

在前期研究中发现,多数杀虫剂对蝉拟青霉具有较强的抑制作用,故只选择吡虫啉与蝉拟青霉进行相关试验。本研究仅做了室内试验,关于吡虫啉与蝉拟青霉混用的田间试验效果还有待进一步研究。今后在蝉拟青霉混合制剂的研究方面,还应进一步扩大化学药剂的筛选范围及考虑与其他杀虫微生物的协同作用。

参考文献:

[1] 邓叔群. 中国的真菌[M]. 北京:科学出版社,1963:753.

(上接第 81 页)

- [8] 武继承,郑惠玲,史福刚,等. 不同水分条件下保水剂对小麦产量和水分利用的影响[J]. 华北农学报,2007,22(5):40-42.
- [9] 刘春生,杨吉华,马玉增,等. 抗旱保水剂在果园中的应用效应研究[J]. 水土保持学报,2003,17(2):134-136.
- [10] 黄占斌,朱书全,张铃春. 保水剂在农业改土节水中的效应研究[J]. 水土保持研究,2004,11(3):57-61.
- [11] 辛小桂,黄占斌,朱元骏,等. 水分胁迫条件下几种化学材料对玉米幼苗抗旱性的影响[J]. 干旱地区农业研究,2004,22(1):54-57.
- [12] 华孟,苏宝林. 高吸水树脂在农业上的应用的基础研究[J]. 北京农业大学学报,1989,15(1):37-43.
- [13] Vestberg M, Saari K, Kukkonen S, et al. Mycotrophy of crops in rotation and soil amendment with peat influence the abundance and effectiveness of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi in field soil[J]. Mycorrhiza, 2005, 15(6):447-458.
- [14] 武继承,王生厚,袁中富. 黄泛砂区农业资源高效利用种植模式研究[J]. 河南农业科学,2000(12):18-22.
- [15] 史竹叶,赵世伟. 黄土高原土壤持水曲线的计算方法[J]. 西北农业学报,1999,8(6):44-47.
- [16] 张明炷,黎庆淮,石秀兰. 土壤学与农作学[M]. 北京:中国水利水电出版社,2002:158.
- [17] 曹丽花,赵世伟,赵勇钢,等. 土壤结构改良剂对风砂土水稳性团聚体改良效果及机理的研究[J]. 水土保持

- [2] 陈祝安. 虫生真菌蝉拟青霉的研究[J]. 真菌学报,1991,10(4):280-287.
- [3] 丁珊,汤坚,王成树,等. 灭幼脉与白僵菌的相容性及增效作用的研究[J]. 安徽农业大学学报,1996,23(3):366-370.
- [4] 陈年春. 农药生物测定技术[M]. 北京:北京农业出版社,1991:95-129.
- [5] 李增智,杨震,汤坚. 12 种化学杀虫剂对 3 种虫生真菌孢子萌发影响的研究[J]. 安徽农业大学学报,1996,23(3):360-365.
- [6] 宋漳. 化学杀虫剂对绿僵菌的影响及菌药混用研究[J]. 福建林学院学报,2001,21(4):308-311.
- [7] 李伟,王秀芳,盛承发,等. 常用杀虫剂对块耳霉菌落生长和产孢的影响[J]. 植物保护学报,2003,30(1):75-79.
- [8] 丘光,顾正远,肖英芳. 吡虫啉对蚜虫的防效[J]. 农药,1995,34(8):33.
- [9] 白焕章,高子晋,李辉,等. 超高效杀虫剂吡虫啉介绍[J]. 石家庄化工,1994(4):1.
- [10] 刘漪,石德清. 吡虫啉的研究与进展[J]. 高等函授学报:自然科学版,2004,17(1):6.
- [11] 陈春年. 农药生物测定技术[M]. 北京:北京农业大学出版社,1991:95-129.

- 持学报,2007,21(2):65-68.
- [18] 李道林,何传龙,闫晓明. 不同土壤调理剂在砂姜黑土上应用效果研究[J]. 土壤,2000(4):210-214.
- [19] 陈永兴. 免深耕土壤调理剂对土壤性状和芦柑产量品质的影响[J]. 福建果树,2006(2):11-12.
- [20] 陈之群,孙治强,张慧梅. 土壤调理剂对辣椒田土壤理化性质的影响[J]. 河南农业科学,2005(7):84-85.
- [21] 黄占斌,辛小桂,宁荣昌. 保水剂在农业生产中的应用与发展趋势[J]. 干旱地区农业研究,2003,21(3):11-14.
- [22] B A 科夫达(苏). 土壤学原理(下)[M]. 北京:科学出版社,1981.
- [23] 黄震,黄占斌,李文颖,等. 不同保水剂对土壤水分和氮素保持的比较研究[J]. 中国生态农业学报,2010,18(2):245-249.
- [24] 杜社妮,白岗栓,赵世伟,等. 沃特和 PAM 保水剂对土壤水分及马铃薯生长的影响研究[J]. 农业工程学报,2007,23(8):72-79.
- [25] 张富仓,李继成,雷艳,等. 保水剂对土壤保水持肥特性的影响研究[J]. 应用基础与工程科学学报,2010,18(1):120-128.
- [26] 介晓磊,李有田,韩燕来,等. 保水剂对土壤持水特性的影响[J]. 河南农业大学学报,2000,34(1):22-24.
- [27] 党秀丽,张玉龙,黄毅. 保水剂对土壤持水性能影响的模拟研究[J]. 农业工程学报,2005,21(4):191-192.