

金龟子绿僵菌破坏素 A 与 5 种杀虫剂混配对苹果黄蚜的联合毒力

郭卓琼, 弓奇田, 张建珍, 马恩波, 韩鹏飞*

(山西大学应用生物研究所, 太原 030006)

摘要 为了更科学合理地选择防治苹果黄蚜的药剂, 采用浸渍法测定了虫生真菌毒素-破坏素 A 和杀虫剂 1.8% 阿维菌素 EC、4.5% 高效氯氰菊酯 EC、10% 吡虫啉 WP、40% 啉虫脒 WG、10% 烯啶虫胺 AS 等对苹果黄蚜的毒力, 结果显示, 上述药剂对苹果黄蚜的致死中浓度(LC₅₀) 分别为 0.016、0.221、0.221、2.242、9.793 和 8.247 mg/L, 表明破坏素 A 对苹果黄蚜具有较高的毒力, 1.8% 阿维菌素 EC 和 4.5% 高效氯氰菊酯 EC 次之。进一步筛选破坏素 A 与杀虫剂的最佳混配比例, 结果表明, 当破坏素 A 和 1.8% 阿维菌素 EC 以 4:6、5:5、6:4、7:3、8:2、9:1 的比例混配时均具有显著的增效作用, 混配比为 9:1 时共毒系数为 176.36, 毒力效果最佳。生物杀虫剂破坏素 A 与阿维菌素的混配施用在苹果黄蚜的防治中具有较好的应用前景。

关键词 苹果黄蚜; 破坏素 A; 农药混配; 毒力测定

中图分类号: S 435 文献标识码: B DOI: 10.16688/j.zwbh.2018429

Co-toxicity of mixture of *Metarhizium anisopliae* destruxin A and 5 kinds of insecticides on *Aphis citricola*

GUO Zhuoqiong, GONG Qitian, ZHANG Jianzhen, MA Enbo, HAN Pengfei

(Research Institute of Applied Biology, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

Abstract In order to reasonably choose insecticides against *Aphis citricola*, toxicity of *Metarhizium anisopliae* destruxin A, abamectin 1.8% EC, beta-cypermethrin 4.5% EC, imidacloprid 10% WP, acetamiprid 40% WG and 10% nitenpyram AS was determined by insect dipping method. The results showed that the median lethal concentrations (LC₅₀) were 0.016, 0.221, 0.221, 2.242, and 9.793 mg/L and 8.247 mg/L, respectively. *M. anisopliae* destruxin A had the highest insecticidal activity, followed by abamectin 1.8% EC and beta-cypermethrin 4.5% EC. Furthermore, the optimal proportion of destruxin A and insecticides was determined. Destruxin A and abamectin 1.8% EC at the proportion from 4:6 to 9:1 had a significant synergistic effect. When the proportion was 9:1, the co-toxicity was the highest with the co-toxicity coefficient of 176.36. The mixture of the two biological insecticides has good application prospect for controlling *A. citricola* in the field.

Key words *Aphis citricola*; destruxin A; pesticides mixture; toxicity test

苹果黄蚜 *Aphis citricola* van der Goot 又名绣线菊蚜, 属半翅目 Hemiptera 蚜科 Aphididae, 分布于北美、日本、朝鲜以及中国, 在我国广泛分布于陕西、山西、内蒙古、河北、河南等地区^[1]。苹果黄蚜可对苹果、沙果、海棠等果树造成严重危害。我国北方果树种植较多, 因此, 苹果黄蚜是北方常见的果树害虫^[2]。苹果黄蚜的若蚜、成蚜常常聚集在较嫩的树

梢和树叶背面, 在吸食树叶汁液的过程中破坏植物细胞, 使果树生长失去平衡。受害果树树叶向背面弯曲皱缩; 严重时整枝树枝死亡, 甚至全株枯亡, 果品品质下降^[3]。

破坏素(destruxin)是由金龟子绿僵菌 *Metarhizium anisopliae* 产生的一类六元环缩肽化合物, 是一类环境友好型生物源农药, 目前已经发现的种

类高达 39 种^[4],研究表明,破坏素具有多种生物活性和很多重要的功能,比如免疫抑制、抗病毒以及抗增殖等^[5]。破坏素具有广谱的杀虫活性,可以通过饲喂、注射的方式进入昆虫体内,对半翅目、直翅目、鳞翅目、鞘翅目等多种昆虫具有拒食作用和胃毒作用^[5-6]。由于目前破坏素生产成本仍较高,所以破坏素单剂只用于室内毒力测定,在大田试验中主要与常规化学杀虫剂复配使用,达到化学农药减施增效的目的。如破坏素与甲氨基阿维菌素苯甲酸盐(甲维盐)混配对西花蓟马 *Frankliniella occidentalis* 的联合毒力明显高于单剂^[5];1.5%甲维·绿僵菌素悬浮剂在有效剂量 2.4 g/hm² 下对甘蓝斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 的田间药效最长持效期可达 14 d^[7];2%阿维·绿僵菌素悬浮剂对朱砂叶螨 *Tetranychus cinnabarinus* 有较好的生物活性^[8]。在苹果黄蚜 *A. citricola* 的防治过程中,化学农药的大量使用,导致农药残留超标,果品品质下降,同时使得苹果黄蚜产生了抗性,出现了防治效果逐年减弱的现象。为了更加有效地防治苹果黄蚜,降低农药残留,延缓害虫的抗药性,本研究测定了破坏素 A 与阿维菌素、高效氯氰菊酯、吡虫啉等农药混配对苹果黄蚜的毒力,筛选出破坏素 A 与化学农药混用的最佳复配比例,为破坏素复配制剂的开发、苹果黄蚜的防治提供参考,对减少化学农药的使用量,提高果品品质,保证食品安全,保护生态环境、生产无公害或绿色食品具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试药剂

1.8%阿维菌素乳油(abamectin),山东惠民中联生物科技有限公司;4.5%高效氯氰菊酯乳油(*beta*-

cypermethrin),江苏克胜集团股份有限公司;10%吡虫啉可湿性粉剂(imidacloprid),山东麒麟农化有限公司;10%烯啶虫胺水剂(nitenpyram),山东惠民中联生物科技有限公司;40%啉虫脒水分散粒剂(acetamiprid),山东滨农科技有限公司。

破坏素 A 标准品购于 Sigma-Aldrich 公司,纯度为 96.5%,试验所用破坏素 A 溶液参照胡琼波等^[9]的方法制备。

1.1.2 供试害虫

2017 年 5 月在山西省太原市山西省农业科学院试验田,选择栽培管理条件一致的苹果园(品种为‘富士’),于试验当天采集带有苹果黄蚜的嫩梢、嫩叶,带回备用。

1.2 试验方法

1.2.1 药剂毒力测定

供试试剂用丙酮配制成母液,然后再将药剂等比稀释到试验浓度(表 1)。稀释溶液尽量在通风橱或者超净工作台中进行。稀释后的溶液可放置在 50 mL 离心管中,于 4℃ 冰箱中保存,备用。配制的所有溶液放置不得超过一周,以避免溶液污染等因素造成试验结果的不准确性。

采用浸渍法测定药剂对苹果黄蚜的毒力。将带有苹果黄蚜的嫩叶(梢)用镊子夹住,浸入不同浓度的药液中 5~10 s 后取出,迅速用吸水纸吸去多余药液,挑选个体大小一致的无翅蚜放于铺有保湿滤纸的一次性培养皿中饲养,并用吸水性较好的脱脂棉球包裹叶柄以防嫩叶(梢)失水,用扎有透气孔的保鲜膜覆盖培养皿。每个浓度重复 3 次,每次重复 30 头苹果黄蚜,以清水为空白对照。24 h 后观察记录苹果黄蚜死亡情况,用毛笔轻触虫体,不动则判定为死亡。用 SPSS 软件计算致死中浓度 LC₅₀、斜率和标准误差等数据。

表 1 防治苹果黄蚜的不同药剂的配制浓度

Table 1 Types and concentrations of insecticides against *Aphis citricola*

药剂 Insecticide	浓度/mg·L ⁻¹ Concentration	药剂 Insecticide	浓度/mg·L ⁻¹ Concentration	药剂 Insecticide	浓度/mg·L ⁻¹ Concentration
破坏素 A destruxin	0.06	1.8%阿维菌素 EC	0.280 0	4.5%高效氯氰菊酯 EC	0.600 0
	0.05	abamectin 1.8% EC	0.140 0	<i>beta</i> -cypermethrin 4.5% EC	0.300 0
	0.04		0.070 0		0.150 0
	0.03		0.035 0		0.075 0
	0.02		0.017 5		0.037 5

续表 1 Table 1(Continued)

药剂 Insecticide	浓度/mg · L ⁻¹ Concentration	药剂 Insecticide	浓度/mg · L ⁻¹ Concentration	药剂 Insecticide	浓度/mg · L ⁻¹ Concentration
10%吡虫啉 WP	4.00	40%啉虫脒 WG	88.0	10%烯啶虫胺 AS	22.000
imidacloprid 10% WP	2.00	acetamiprid 40% WG	44.0	nitenpyram 10% AS	11.000
	1.00		22.0		5.500
	0.50		11.0		2.750
	0.25		5.5		1.375

1.2.2 筛选最佳的混配组合

根据单剂毒力测定的结果,将破坏素 A 分别与 1.8%阿维菌素乳油、4.5%高效氯氰菊酯乳油、10%吡虫啉可湿性粉剂、40%啉虫脒水分散粒剂、10%烯啶虫胺水剂进行混配,混配比例为 1:5、1:2、1:1、2:1、5:1。利用所得到的数据计算毒力比率。毒力比率(toxicity ratio; TR)小于 0.75 为减效作用;毒力比率在 0.75~1.25 之间为相加作用;毒力比率大于 1.25 为增效作用^[5]。

毒力比率=实际死亡率/预期死亡率;
预期死亡率=MR_A×P_A+MR_B×P_B。
其中,MR_A 代表 A 农药 LC₅₀ 下实际死亡率,P_A 代表 A 农药所占比例;MR_B 代表 B 农药 LC₅₀ 下实际死亡率,P_B 代表 B 农药所占比例。

1.2.3 最佳的混配比例筛选

根据 1.2.2 中毒力测定结果,选出毒力最强的混配组合进行配比筛选。混配浓度选择两种药剂的 LC₅₀,按照 1:9、2:8、3:7、4:6、5:5、6:4、7:3、8:2、9:1 的比例混配,采用浸渍法测定混剂对苹果黄蚜的毒力,从中筛选出最佳的混配比例。混配药剂的毒力用共

毒系数(CTC)来表示。共毒系数小于 80 为拮抗作用,共毒系数在 80 到 120 之间为相加作用,共毒系数大于 120 为增效作用。

混配药剂的共毒系数采用孙云沛法计算^[10]。

2 结果与分析

2.1 不同药剂对苹果黄蚜的毒力

各药剂对苹果黄蚜的毒力测定结果(表 2)表明,破坏素 A、1.8%阿维菌素 EC、4.5%高效氯氰菊酯 EC、10%吡虫啉 WP、40%啉虫脒 WG、10%烯啶虫胺 AS 对苹果黄蚜的 LC₅₀ 分别是 0.016、0.221、0.221、2.242、9.793、8.247 mg/L;说明苹果黄蚜对破坏素 A 最敏感,其次是 4.5%高效氯氰菊酯 EC 和 1.8%阿维菌素 EC,然后是 10%吡虫啉 WP,而对 10%烯啶虫胺 AS 和 40%啉虫脒 WG 敏感性较差;4.5%高效氯氰菊酯 EC 和 1.8%阿维菌素 EC、10%烯啶虫胺 AS 和 40%啉虫脒 WG 对苹果黄蚜 LC₅₀ 的 95%置信区间有重叠(表 2);表明 4.5%高效氯氰菊酯 EC 和 1.8%阿维菌素 EC、10%烯啶虫胺 AS 和 40%啉虫脒 WG 对苹果黄蚜的毒力差异不显著。

表 2 不同药剂对苹果黄蚜的毒力

Table 2 Toxicity of different insecticides to *Aphis citricola*

药剂 Insecticide	斜率± 标准误 Slope±SE	卡方值 χ ²	P 值 P	致死中浓度/mg · L ⁻¹ (95% 置信区间) LC ₅₀ (95% confidence interval)	试验虫数/头 Number of tested insects
破坏素 A destruxin A	2.079±0.288	4.974	0.290	0.016(0.014 6~0.022 7)	30
1.8%阿维菌素 EC abamectin 1.8% EC	1.300±0.244	6.637	0.084	0.221(0.179 0~0.295 0)	30
4.5%高效氯氰菊酯 EC <i>beta</i> -cypermethrin 4.5% EC	1.622±0.242	0.536	0.911	0.221(0.018 0~0.271 0)	30
10%吡虫啉 WP imidacloprid 10% WP	1.863±0.384	3.547	0.315	2.242(1.806 0~3.075 0)	30
40%啉虫脒 WG acetamiprid 40% WG	1.161±0.289	1.015	0.798	9.793(8.146 0~21.625 0)	30
10%烯啶虫胺 AS nitenpyram 10% AS	1.931±0.246	4.348	0.226	8.247(6.378 0~10.300 0)	30

2.2 最佳混配组合筛选结果

从表 3 中可以看出,破坏素 A 分别与 1.8%阿维菌素 EC、4.5%效氯氰菊酯 EC、40%啉虫脒 WG 混配时,当混配比例为 1:5 和 1:2 时表现为相加作用,其余均为增效作用;破坏素 A 与 10%吡虫啉 WP 混配表现为增效作用的比例分别是 2:1 和 5:1,

破坏素 A 和 10%烯啶虫胺 AS 混配表现为增效作用的比例分别是 1:1、2:1 和 5:1,其他的表现为相加作用。5 组混配组合中,综合各项因素初筛到最佳的混配组合为破坏素 A 与 1.8%阿维菌素 EC,其次是破坏素 A 与 4.5%高效氯氰菊酯 EC。

2.3 最佳混配比例筛选结果

根据孙云沛提出的共毒系数法计算破坏素 A 与 1.8%阿维菌素 EC 混配不同配比对苹果黄蚜的联合毒力结果见表 4。从表中可知,混配比例为 1:9

时共毒系数是 76.89,两者之间为拮抗作用;混配比例为 2:8和 3:7时共毒系数分别为 83.83 和 91.25,两者表现为相加作用;其他几组配比均为增效作用,其中配比为 9:1时共毒系数值为 176.36,增效最明显。

表 3 混配组合对苹果黄蚜的毒力比率

Table 3 Virulence ratio of destruxin A mixed with five insecticides on *Aphis citricola*

复配组合(A:B) Composite formulation (A:B)	体积比(A:B) Volume ratio (A:B)	混合后各组浓度/ mg · L ⁻¹ Mixed concentration	预期死亡率/% Expected mortality	实际死亡率/% Actual mortality	毒力比率 Toxicity ratio
破坏素 A:阿维菌素 destruxin A:abamectin	1:5	0.003+0.184	46.8	47.7	1.02
	1:2	0.005+0.147	48.4	52.9	1.09
	1:1	0.008+0.110	50.0	62.5	1.25
	2:1	0.011+0.737	50.5	72.6	1.44
	5:1	0.013+0.037	51.1	79.1	1.55
破坏素 A:高效氯氰菊酯 destruxin A:βeta-cypermethrin	1:5	0.003+0.184	42.6	42.1	0.99
	1:2	0.005+0.147	43.5	54.1	1.24
	1:1	0.008+0.110	45.4	60.8	1.34
	2:1	0.011+0.737	47.3	71.4	1.51
	5:1	0.013+0.037	48.2	82.4	1.71
破坏素 A:吡虫啉 destruxin A:imidacloprid	1:5	0.003+1.868	46.4	45.0	0.97
	1:2	0.005+1.495	47.6	51.7	1.09
	1:1	0.008+1.121	49.8	58.2	1.17
	2:1	0.011+0.747	50.1	65.7	1.31
	5:1	0.013+0.374	50.3	70.1	1.39
破坏素 A:啉虫脒 destruxin A:acetamiprid	1:5	0.003+8.160	49.1	46.5	0.95
	1:2	0.005+6.529	49.3	54.1	1.09
	1:1	0.008+4.897	50.5	63.6	1.26
	2:1	0.011+3.264	50.4	72.1	1.43
	5:1	0.013+1.632	51.9	76.6	1.48
破坏素 A:烯啶虫胺 destruxin A:nitenpyram	1:5	0.003+6.873	45.5	44.8	0.98
	1:2	0.005+5.498	44.0	50.7	1.15
	1:1	0.008+4.124	45.4	58.8	1.30
	2:1	0.011+2.749	46.9	60.0	1.28
	5:1	0.013+1.375	49.3	69.5	1.41

表 4 破坏素 A 与阿维菌素对苹果黄蚜的联合毒力(48 h)

Table 4 Co-toxicity of destruxin A and abamectin on *Aphis citricola* (48 h)

破坏素 A:阿维菌素 destruxin A:abamectin	LC ₅₀ /mg · L ⁻¹ (95%置信区间) LC ₅₀ (95% confidence interval)	斜率±标准误 Slope±SE	卡方值 χ ²	P 值 P	共毒系数 Co-toxicity coefficient
10:0	0.016(0.015~0.023)	2.079±0.288	4.974	0.290	—
9:1	0.010(0.009~0.011)	1.688±0.338	0.370	0.946	176.36
8:2	0.015(0.012~0.018)	1.669±0.345	0.188	0.980	130.96
7:3	0.018(0.015~0.021)	1.472±0.344	1.760	0.624	123.16
6:4	0.019(0.015~0.022)	1.490±0.227	1.478	0.687	133.89
5:5	0.024(0.021~0.028)	1.357±0.320	0.803	0.849	124.33
4:6	0.022(0.019~0.026)	1.389±0.229	1.563	0.992	164.01
3:7	0.050(0.034~0.076)	1.619±0.276	0.508	0.917	91.25
2:8	0.074(0.058~0.090)	1.504±0.275	0.608	0.895	83.83
1:9	0.126(0.108~0.145)	1.317±0.219	1.505	0.681	76.89
0:10	0.221(0.179~0.295)	1.300±0.244	6.637	0.084	—

3 结论与讨论

不同类型的杀虫剂适用于不同类的昆虫,尤其是高效氯氰菊酯、阿维菌素,都是近些年来防治果蔬害虫的主力杀虫剂,具有高效、低毒等优点。破坏素作为一种生物源绿色杀虫剂越来越受到关注,本研究使用的破坏素 A 对苹果黄蚜具有较高的毒力,其 LC_{50} 为 0.016 mg/L,对苹果黄蚜的防治效果明显优于市售高效低毒化学合成农药,如阿维菌素和高效氯氰菊酯。破坏素的作用方式多样,具有胃毒作用、触杀作用、拒食作用,本试验采用浸渍法进行毒力测定,证明了破坏素 A 对苹果黄蚜具有触杀作用,其他作用方式还需要进一步研究。由于破坏素的生产成本较高,目前只能通过与常规杀虫剂混配来使用。另一方面,由于大量化学农药的频繁使用已导致苹果黄蚜对多种农药产生了抗性,农药的混用也是解决这一问题的有效途径。本研究将破坏素 A 与不同的化学杀虫剂混配之后,发现对苹果黄蚜具有较高防效的组合是破坏素 A 与阿维菌素。王兴民等^[5]将破坏素与不同的农药进行混配,发现破坏素与甲维盐混用对西花蓟马的联合毒力最佳,这表明破坏素与阿维菌素或甲维盐混配后对取食植物汁液的害虫具有很好的防治效果。共毒系数是用来衡量混剂是否具有增效作用、相加作用和拮抗作用的指标,本研究中,当破坏素 A 与阿维菌素的比例为 2:8 和 3:7 时表现出明显的相加作用,比例为 4:6 时具有显著地增效作用($CTC=164.01$),在两者以 9:1 混配时,增效作用最佳($CTC=176.36$)。破坏素与阿维菌素都属于生物源杀虫剂,对环境友好,这两种药剂混配使用对于大幅减少化学农药的使用,提高防治效果,降低害虫抗药性的发生具有重要意义。但是由于目前破坏素的产量不高,造成成本偏高,从成

本以及使用方法等方面考虑,建议以 4:6 的比例进行混配。

本研究的试验结果为苹果黄蚜的绿色高效防治提供了理论依据,但由于实验室内饲养与田间实际情况的差异,以及试验方法等因素的影响,其在农业生产应用中的效果还需田间药效试验来验证。目前国内外学者已经找到控制绿僵菌毒素分泌的相关基因,通过对绿僵菌的改造以及破坏素制备工艺的优化,相信很快就可以降低破坏素的生产成本并运用到农业生产中,为害虫绿色防控提供有力支持,为农业生产可持续发展保驾护航。

参考文献

- [1] 武荣祥. 陕西省苹果黄蚜的抗药性监测及种群动态研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2016.
- [2] 李德芬. 1.2%苦·烟乳油防治苹果黄蚜试验[J]. 河北林业科技,2009,17(1):5.
- [3] 贺济良,南斌成,朱刚,等. 苹果黄蚜的发生与防控技术[J]. 农业技术与装备,2013(20):26-27.
- [4] 何广位,胡维娜,胡琼波. 绿僵菌素对四种昆虫细胞的毒性[J]. 应用昆虫学报,2015,52(6):1466-1473.
- [5] 王兴民,邵振芳,SHAUKAT A,等. 绿僵菌素与化学农药混配对西花蓟马的联合毒力[J]. 广东农业科学,2015,42(16):60-63.
- [6] 胡维娜. 家蚕 Bm12 细胞中绿僵菌素 A 结合蛋白的初步研究[D]. 广东:华南农业大学,2016.
- [7] 邵振芳,王泽清,尹文兵,等. 1.5%甲维·绿僵菌素悬浮剂防治甘蓝斜纹夜蛾的田间药效[J]. 安徽农业科学,2015,43(35):182-183.
- [8] 王兴民,邵振芳,SHAUKAT A,等. 2%阿维·绿僵菌素悬浮剂对朱砂叶螨的生物活性[J]. 热带农业工程,2015,39(2):17-20.
- [9] 胡琼波,任顺祥,刘树艳. 绿僵菌素的分离制备及其对蛱蛄的毒力[J]. 昆虫学报,2007,50(5):461-466.
- [10] SUN Yunpei, JOHNSON E R. Analysis of joint action of insecticides against house flies [J]. Journal of Economic Entomology, 1960,53(5):887-892.

(责任编辑:杨明丽)