

张志春, 张 怡, 沈迎春, 等. 杀虫真菌爪哇棒束孢对非洲菊烟粉虱作用特点和控害效果[J]. 江苏农业学报, 2020, 36(6): 1398-1402.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2020.06.007

杀虫真菌爪哇棒束孢对非洲菊烟粉虱作用特点和控害效果

张志春¹, 张 怡², 沈迎春², 郭慧芳¹

(1. 江苏省农业科学院植物保护研究所, 江苏 南京 210014; 2. 江苏省农药总站, 江苏 南京 210036)

摘要: 烟粉虱是非洲菊上常发害虫, 主要依赖化学防治, 但常用药剂防治效果一般, 生物防治是理想的替代手段。本研究首先鉴定非洲菊烟粉虱的生物型, 然后测定虫生真菌爪哇棒束孢对非洲菊烟粉虱的室内杀虫活性, 并对其田间防治效果进行评价。结果表明, 非洲菊烟粉虱属于 Q 型; 爪哇棒束孢含量为 1 ml 1×10^6 孢子以上对非洲菊烟粉虱成虫即具有很高的致病力, 3 d 后校正死亡率达 90% 以上, 7 d 后非洲菊烟粉虱成虫全部死亡; 在湿度大于 85% 条件下, 1 ml 5.0×10^9 孢子爪哇棒束孢油悬剂稀释到 1 ml 2.5×10^6 孢子, 对田间非洲菊烟粉虱具有较高的防治效果, 药后 14 d 和 21 d 的校正防效分别为 88.60% 和 94.21%。说明虫生真菌爪哇棒束孢对非洲菊上的烟粉虱致病力高且实际防治效果好, 可用于非洲菊等花卉烟粉虱的防治。

关键词: 非洲菊; 烟粉虱; 爪哇棒束孢; 生物防治

中图分类号: S433 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2020)06-1398-05

Characteristics and control effects of insecticidal fungus *Isaria javanica* against *Bemisia tabaci* of *Gerbera jamesonii*

ZHANG Zhi-chun¹, ZHANG Yi², SHEN Ying-chun², GUO Hui-fang¹

(1. Institute of Plant Protection, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China; 2. Jiangsu Institute for the Control of Agrochemicals, Nanjing 210036, China)

Abstract: Whitefly is a common pest of *Gerbera Jamesonii*, which mainly depends on chemical control, but the common pesticides are not effective, and biological control is an ideal alternative method. In this study, the biotype of *Bemisia tabaci* was identified, then the toxicity and control effect of *Isaria javanica* against *Bemisia tabaci* were tested. The results showed that the *Bemisia tabaci* belonged to Q-type. When the content of *Isaria javanica* was more than 1×10^6 spores per milliliter, it had high pathogenicity to *Bemisia tabaci* with revised mortality rates above 90% and 100% at three and seven days. The 5.0×10^9 spores per milliliter *Isaria javanica* oil suspension had high control effect on *Bemisia tabaci* in the field with relative humidity above 85%. The corrected control effect was over 88.60% and 94.21% after 14 and 21 days at

2.5×10^6 spores per milliliter. These results indicate that the *Isaria javanica* has high pathogenicity against *Bemisia tabaci* of *Gerbera jamesonii*, and the control effect is good, so insecticidal fungus *Isaria javanica* can be used to control *Bemisia tabaci* in flowers.

Key words: *Gerbera jamesonii* Bolus; *Bemisia tabaci*; *Isaria javanica*; biological control

收稿日期: 2020-05-26

基金项目: 江苏省农业科技自主创新基金项目 [CX(12)3059]; 江苏省农业科学院基金项目 (611610); 江苏省农业三新工程项目 [SXGC(2017)209, JATS(2018)199, JATS(2019)323]; 江苏省特经作物安全用药筛选与登记项目 (2019-SJ-024, 2018-SJZJ002)

作者简介: 张志春 (1981-), 男, 江苏如皋人, 博士, 副研, 主要从事害虫生物防治研究。 (E-mail) 463603441@qq.com

通讯作者: 郭慧芳, (E-mail) guohf@jaas.ac.cn; 沈迎春, (E-mail) 515512896@qq.com

烟粉虱 (*Bemisia tabaci* Gennadius) 属半翅目粉虱科, 作为重要的入侵生物, 其已成为一种世界性害

虫,可通过直接刺吸、分泌蜜露诱发煤烟病以及传播病毒等产生危害,给农业生产和经济作物造成极大的危害^[1-4]。除为害蔬菜、棉花等经济作物外,烟粉虱也是花卉上的重要害虫。长期以来,烟粉虱的防治主要以化学农药防治为主,导致害虫对常见的化学农药如啉虫脒等产生了严重抗药性,增加了防治难度^[5-6],且不同生物型烟粉虱在寄主适应性、抗药性等方面均存在较大差异^[7-8],进一步增强了防治难度。

非洲菊(*Gerbera jamesonii* Bolus)是世界五大鲜切花之一^[9],其花色繁多,花枝挺拔,花期长且不易衰败,深受花卉种植者和消费者喜爱,具有极高的经济价值^[10]。然而由于非洲菊叶片宽大,是烟粉虱喜好的寄主,受危害严重,严重时造成的霉污病不仅影响光合作用,也影响非洲菊鲜切花的品质。非洲菊烟粉虱的防治同样依赖化学农药,化学农药长期单一使用后造成烟粉虱抗药性增强。由于繁殖速度快,为害隐蔽,抗药性强,烟粉虱的生物防治研究一直备受关注,其中利用虫生真菌进行生物防治已成为替代化学防治的最重要手段之一。蜡蚧轮枝菌、球孢白僵菌、座壳孢菌、拟青霉等已被报道可作为生物防治烟粉虱的杀虫真菌^[11],其中球孢白僵菌已被登记用于烟粉虱的防治。本实验室从田间烟粉虱中分离出杀虫真菌爪哇棒束孢^[12],并首次将这种真菌登记为生物农药,用于蔬菜上烟粉虱的生物防治。为进一步发挥生物农药爪哇棒束孢的作用,本试验研究了爪哇棒束孢对非洲菊烟粉虱的室内杀虫活性和田间防治效果等,以探明爪哇棒束孢对非洲菊烟粉虱的作用特点和防治潜力,提升花卉害虫生物防治水平。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试昆虫 非洲菊烟粉虱采自南京市农业科学研究所禄口基地,在人工气候室[温度:(25±1)℃,光周期:14L:10D]中用非洲菊饲养。

1.1.2 供试药剂 爪哇棒束孢(*Isaria javanica*)孢子粉和1 ml 5.0×10⁹孢子爪哇棒束孢油悬剂由江苏省农业科学院植物保护研究所研制。

1.2 试验方法

1.2.1 烟粉虱生物型鉴定 PCR反应扩增单头烟粉虱 *COI* 基因;根据 T5 Direct PCRKit (Aniamal Tis-

siue)(擎科生物科技有限公司)试剂盒说明书,利用加热裂解法处理单头烟粉虱作为DNA模板。PCR扩增所用引物为通用引物,上游引物 mt*COI*-F:5'-TTGATTTTTTGGTCATCCAGAAGT-3',下游引物 mt*COI*-R:5'-CTGAATATCGRCGAGGCATTCC-3'。扩增产物为 maDNA *COI* 基因3'末端大小为610 bp左右的部分序列。PCR反应体系:2×T5 Direct PCR Mix 25 μl, mt*COI*-F Primer 2 μl, mt*COI*-R Primer 2 μl,模板DNA 2 μl,加 ddH₂O 至50 μl。PCR反应体系于98℃变性3 min,然后进行36个循环:98℃变性1 s,50℃退火10 s,2℃延伸1 min;然后再72℃延伸5 min。反应产物置于4℃冰箱保存,送擎科生物科技有限公司测序。测序结果通过NCBI网站上的BLAST(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>)进行比对鉴定。

1.2.2 室内杀虫活性测定 将爪哇棒束孢孢子粉用0.05%吐温80配置成1 ml 1×10⁸孢子、1×10⁷孢子、1×10⁶孢子和1×10⁵孢子、1×10⁴孢子,以0.05%吐温80作为对照,均匀喷雾于带有采自非洲菊的烟粉虱黄瓜叶正反面,待烟粉虱成虫稳定不乱飞后,将黄瓜叶片放于高湿环境中,每个处理重复4次,分别于药后3 d和7 d调查活虫数,计算死亡率,并与对照死亡率进行比较,计算校正死亡率。用唐启义教授开发的DPS7.05统计分析软件进行数据处理,并进行差异显著性比较。

1.2.3 田间防效评价 在大棚中选取受烟粉虱危害的非洲菊,做好标记,每个小区标记10株,将1 ml 5.0×10⁹孢子爪哇棒束孢油悬剂用水稀释1 000倍和2 000倍即得到1 ml 5.0×10⁶和2.5×10⁶孢子2个处理,用电动喷雾器均匀喷雾于非洲菊叶正反面,每个处理设4个重复,每重复50株,同时用清水作对照。喷雾处理后大棚保持高湿环境24 h,然后正常管理,7 d后再次施以相同处理药液。分别于第一次施药前、施药后14 d和21 d调查活虫数,计算死亡率,并与对照死亡率进行比较,计算校正死亡率。感染率为显症虫数占供试虫基数的百分率。用DPS7.05统计分析软件进行数据处理,用Tukey's法进行不同处理间差异显著性比较。

2 结果与分析

2.1 烟粉虱生物型的鉴定

对烟粉虱 mtDNA *COI* 基因的扩增结果表明,

PCR产物大小约为610 bp,与预计中的产物大小相近,无非特异性条带。序列通过Blast比对(图1),初步确定为Q型,利用DNAMAN软件,将非洲菊烟粉虱粉虱COI基因序列和Q型烟粉虱、B型烟粉虱COI

基因序列比对,结果发现非洲菊烟粉虱mtDNA COI序列和Q型烟粉虱完全相同,非洲菊上的烟粉虱鉴定为Q型。

O型烟粉虱	TCCTGAGGAAAAAAGTTAAATTTACTCCAATCAACATGATATAAAATTGAGACACCAACCTATAATTTATTTAAGGTTAA	367
非洲菊烟粉虱	TCCTGAGGAAAAAAGTTAAATTTACTCCAATCAACATGATATAAAATTGAGACACCAACCTATAATTTATTTAAGGTTAA	109
B型烟粉虱	TGCTGAGGAAAAAAGTTAAATTTACTCCAATCAACATGATATAAAATTGAGACACCAACCTATAATTTATTTAAGGTTAA	336
O型烟粉虱	GCCCAAGATTAAATGGAATCAATAGATAAATCCCTCCACATAAGCAAAAAATATTCCTATTGATAACACAAATGAAAAAT	447
非洲菊烟粉虱	GCCCAAGATTAAATGGAATCAATAGATAAATCCCTCCACATAAGCAAAAAATATTCCTATTGATAACACAAATGAAAAAT	189
B型烟粉虱	ACCAAGATTAAATGGAATCAATAGATAAATCCCTCCACATAAGCAAAAAATATTCCTATTGATAACACAAATGAAAAAT	416
O型烟粉虱	GCGCAACAAAAATAAGTGTGATGCAACACACATCTACAGAAGACTTACCAAGAATAATTCAGTTAAATCCACCTATA	527
非洲菊烟粉虱	GCGCAACAAAAATAAGTGTGATGCAACACACATCTACAGAAGACTTACCAAGAATAATTCAGTTAAATCCACCTATA	269
B型烟粉虱	GTGCAACAAAAATAAGTGTGATGCAACACACATCTACAGAAGACTTACCAAGAATAATTCAGTTAAATCCACCTATA	496
O型烟粉虱	GTAAATAAAAAATAAAATTCCTGTAAATCAAGGCCAAGCGGCTCAATTTATTGACTTTTATTCACCCCAAGTAGCAAG	607
非洲菊烟粉虱	GTAAATAAAAAATAAAATTCCTGTAAATCAAGGCCAAGCGGCTCAATTTATTGACTTTTATTCACCCCAAGTAGCAAG	349
B型烟粉虱	GTAAATAAAAAATAAAATTCCTGTAAATCAAGGCCAAGCGGCTCAATTTATTGACTTTTATTCACCCCAAGTAGCAAG	576
O型烟粉虱	CCAACTAAAAATTTTAATTCCTGTAGGAACGGCAATAATCATAGTAGCTGAAGTGAATAAGCTCGAGTATCTACATCTA	687
非洲菊烟粉虱	CCAACTAAAAATTTTAATTCCTGTAGGAACGGCAATAATCATAGTAGCTGAAGTGAATAAGCTCGAGTATCTACATCTA	429
B型烟粉虱	CCAACTAAAAATTTTAATTCCTGTAGGAACGGCAATAATCATAGTAGCTGAAGTGAATAAGCTCGAGTATCTACATCTA	656
O型烟粉虱	TTCCAACGTGAATATATGATGCTCCTCAACAATAAACCCCTAAGATACCAATAGTCAATATAGGCTAAATTTATCCCAAC	767
非洲菊烟粉虱	TTCCAACGTGAATATATGATGCTCCTCAACAATAAACCCCTAAGATACCAATAGTCAATATAGGCTAAATTTATCCCAAC	509
B型烟粉虱	TTCCAACGTGAATATATGATGCTCCTCAACAATAAACCCCTAAGATACCAATAGTCAATATAGGCTAAATTTATCCCAAC	736
O型烟粉虱	CTTCCAAATACCTCTAATTTTCCAGCCTCCCTGCTAATTAATGAGAAACAATTCCAAACCTGGTAAAT	836
非洲菊烟粉虱	CTTCCAAATACCTCTAATTTTCCAGCCTCCCTGCTAATTAATGAGAAACAATTCCAAACCTGGTAAAT	579
B型烟粉虱	CTTCCAAATACCTCTAATTTTCCAGCCTCCCTGCTAATTAATGAGAAACAATTCCAAACCTGGTAAAT	805

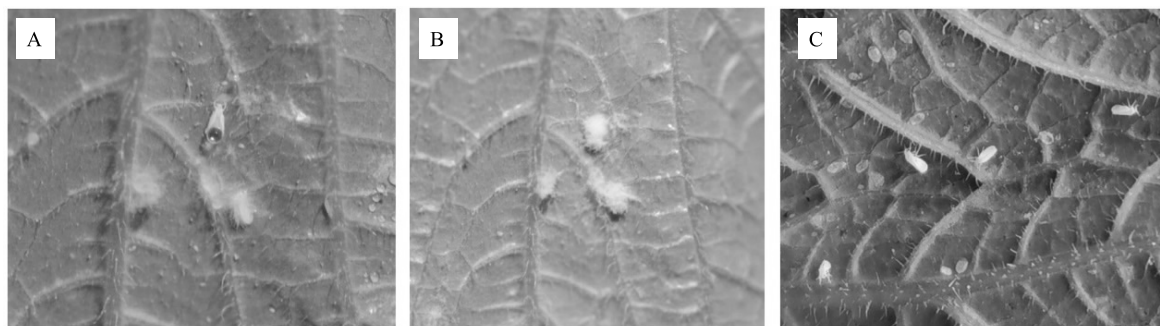
图1 烟粉虱COI基因序列比对结果

Fig.1 Sequence alignment of *Bemisia tabaci* COI gene

2.2 爪哇棒束孢对非洲菊烟粉虱的室内杀虫活性

爪哇棒束孢对烟粉虱的侵染效果如图2所示。从图2中可以看出,爪哇棒束孢真菌侵染5 d后,在

烟粉虱体表就能长满菌丝,7 d后,烟粉虱体表的爪哇棒束孢就能产生大量孢子,可以继续侵染其他烟粉虱。



A:处理后5 d;B:处理后7 d;C:未处理对照。

图2 非洲菊烟粉虱感染爪哇棒束孢后的症状

Fig.2 Symptom of whitefly infected with *Isaria javanica*

爪哇棒束孢对非洲菊烟粉虱的室内杀虫活性见表1。从表1中可以看出,爪哇棒束孢对非洲菊烟粉虱的致病力因孢子含量不同而异,在孢子含量为

1 ml 1×10^6 及以上时,对害虫表现出很高的致病活性,处理后3 d校正死亡率即达90%以上,7 d高达100%;孢子含量为1 ml 1×10^5 时,爪哇棒束孢杀虫

活性较低,7 d 后校正死亡率为 43%。爪哇棒束孢处理后 3 d 对烟粉虱成虫的毒力回归方程为 $Y=0.038x+3.437$ ($R=0.91$), LC_{50} 和 LC_{95} 分别为 1 ml 2.17×10^5 孢子和 1.11×10^7 孢子,处理后 7 d 对烟粉虱成虫的毒力回归方程为 $Y=0.038x+3.160$ ($R=0.89$), LC_{50} 和 LC_{95} 分别为 1 ml $1\times10^{5.06}$ 孢子和 $1\times10^{6.77}$ 孢子。

表 1 爪哇棒束孢对非洲菊烟粉虱的室内活性
Table 1 The insecticidal activity of *Isaria javanica* against whitefly

孢子含量 (1 ml)	校正死亡率 (%)	
	处理后 3 d	处理后 7 d
1×10^8	94.29±3.50a	100.00±0a
1×10^7	93.40±4.04a	100.00±0a
1×10^6	90.92±5.48a	100.00±0a
1×10^5	37.79±6.35b	43.58±6.39b
1×10^4	15.43±5.79b	24.94±5.07c

同列数据后不同小写字母表示不同处理间差异达 0.05 显著水平。

2.3 爪哇棒束孢对非洲菊烟粉虱的田间防治效果

1 ml 5.0×10^9 孢子爪哇棒束孢油悬剂对非洲菊烟粉虱表现出理想的田间控害效果。从表 2 可以看出,1 ml 5.0×10^9 孢子爪哇棒束孢油悬剂配置成 1 ml 2.5×10^6 和 5.0×10^6 孢子 2 个孢子含量药液喷雾处理,对温室内非洲菊烟粉虱均具有较好的防治效果。首次施药后 14 d,1 ml 2.5×10^6 孢子和 5.0×10^6 孢子药液对害虫的校正防效分别为 88.60% 和 90.87%,真菌感染率分别为 72.76% 和 81.89%,高孢子含量处理感染率显著高于低孢子含量处理 ($P<0.01$);首次施药后 21 d,1 ml 2.5×10^6 孢子和 5.0×10^6 孢子药液对烟粉虱的校正防效分别为 94.21% 和 94.52%,2 个孢子含量处理间没有显著差异,真菌感染率分别为 89.06% 和 92.79%,2 个孢子含量间也没有显著差异 ($P>0.05$)。

表 2 1 ml 5.0×10^9 孢子爪哇棒束孢油悬剂对非洲菊烟粉虱的田间防治效果
Table 2 Control effect of 5.0×10^9 spores per milliliter *Isaria javanica* oil suspension on whitefly

孢子含量 (1 ml)	首次施药后 14 d		首次施药后 21 d	
	校正死亡率 (%)	感染率 (%)	校正死亡率 (%)	感染率 (%)
5.0×10^6	90.87±3.39a	81.89±5.57a	94.52±1.50a	92.79±0.99a
2.5×10^6	88.60±1.41a	72.76±4.39b	94.21±1.14a	89.06±3.32a

同列数据后不同小写字母表示不同处理间差异达 0.05 显著水平。

3 讨论

利用虫生真菌防治害虫是生物防控的重要手段,因其环境友好、对人畜安全、易于规模生产、难以产生抗性等优点,日益受到人们的重视和青睐。由于长期使用化学农药,非洲菊烟粉虱对一些常用化学药剂产生了很高的抗药性,利用生物防治可以很好地解决这些问题^[13-15],国内外利用虫生真菌防治烟粉虱已经取得了一些成果,比如利用球孢白僵菌、玫烟色拟青霉菌和蜡蚧轮枝菌等虫生真菌能较好地防治烟粉虱^[11,16-17]。前人研究发现,白僵菌在湿度为 100% 的室内条件下对烟粉虱 3 龄若虫的 LC_{50} 为 1 ml 2.0×10^5 孢子,而玫烟色拟青霉菌的 LC_{50} 为 1 ml 1.86×10^{19} 孢子^[18],1 ml 1.0×10^7 孢子玫烟色棒束孢 IF-1106 菌株在室内高湿条件下处理烟粉虱成虫,10 d 的校正死亡率为 54.98%^[19]。而本研究结果表明,在室内爪哇棒束孢对非洲菊烟粉虱成虫 3 d 的 LC_{50} 即为 1 ml 2.17×10^5 孢子,显著优于玫烟色棒束孢 IF-1106 菌株。

对于烟粉虱等害虫的杀虫真菌研究,大多数局限于对杀虫真菌的室内活性研究,缺少田间条件下对害虫的杀虫效果评价。本研究发现,爪哇棒束孢油悬剂对设施大棚的非洲菊烟粉虱也具有很好的防治效果,有效成分用量为 1 ml 2.5×10^6 孢子时,14 d 的校正防效达 88.60%,21 d 的校正防效达 94.21%,且真菌感染率很高。综合上述研究结果表明,爪哇棒束孢对非洲菊烟粉虱的生物防治潜力大,除已开发用于蔬菜上的烟粉虱防治产品外,也可开发用于非洲菊等花卉上烟粉虱防治产品。由于杀虫真菌的侵染特点,施药后 24 h 内需要田间保持高湿度,有可能带来田间病害增加的风险。如何协调设施内病虫害的防控,营造短期高湿度条件以发挥杀虫真菌对害虫的防控作用,同时减少对病害发生的直接影响,需要进一步根据不同作物种类及生长期等进行病虫害发生和控制的系统研究。

参考文献:

[1] DE BARRO P J, LIU S S, BOYKIN L M, et al. *Bemisia tabaci*: a statement of species status [J]. Annual Review of Entomology, 2011, 56: 1-19.
[2] 许丽丽,蔡 力,沈伟江,等. 中国部分地区烟粉虱生物型种类及系统发育关系分析 [J]. 应用生态报, 2014, 25 (4): 1137-1144.

- [3] JONES D. Plant viruses transmitted by whiteflies [J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2003, 109:195-219.
- [4] DE BARRO P J, LIU S S, BOYKIN L M, et al. *Bemisia tabaci*: a statement of species status[J]. *Annual Review of Entomology*, 2011, 56:1-19.
- [5] 何玉仙, 翁启勇, 黄建, 等. 烟粉虱田间种群的抗药性[J]. *应用生态学报*, 2007, 18(7): 1578-1582.
- [6] 郑宇, 赵建伟, 何玉仙, 等. 福建省烟粉虱田间种群抗药性发展及其影响因素[J]. *应用生态学报*, 2012, 23(1): 271-277.
- [7] IIDA H, KITAMURA T, HONDA H I. Comparison of egg-hatching rate, survival rate and development time of the immature stage between B- and Q- biotypes of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae) on various agricultural crops[J]. *Applied Entomology and Zoology*, 2009, 44:267-273.
- [8] LUO C, JONES C M, DEVINE G, et al. Insecticide resistance in *Bemisia tabaci* biotype Q (Hemiptera: Aleyrodidae) from China [J]. *Crop Protection*, 2010, 29:429-434.
- [9] 郝向阳, 林觅, 孙雪丽, 等. 福建非洲菊产区根腐病病原菌的分离与鉴定[J]. *福建农业学报*, 2018, 33(4): 391-395.
- [10] 焦元辰, 郝向阳, 孙雪丽, 等. 不同激素和非生物胁迫处理对非洲菊 *SOD* 活性的影响[J]. *园艺与种苗*, 2018, 38(7): 6-9.
- [11] 王慧, 孔维娜, 马瑞燕. 烟粉虱生物防治研究进展[J]. *山西农业大学学报*, 2005, 25(4): 420-424.
- [12] GUO H F, QU Y F. Improvement on natural enemies of *Bemisia tabaci* using extracts of *Agrimonia pilosa* [J]. *Journal of Economic Entomology*, 2019, 112(4): 1581-1586.
- [13] 宋薇薇, 朱辉, 余凤玉, 等. 植物内生菌及其对植物病害的防治作用综述[J]. *江苏农业科学*, 2018, 46(6): 12-16.
- [14] 李欢, 曹雪梅, 陈茹, 等. 高效拮抗链孢霉和绿色木霉海洋细菌的筛选及鉴定[J]. *南方农业学报*, 2019, 50(7): 1519-1526.
- [15] 蒋妮, 白丹宇, 宋利沙, 等. 棘孢木霉 F_2 菌株对三七灰霉病的生物防治作用[J]. *江苏农业科学*, 2018, 46(20): 94-97.
- [16] 梁丽, 田晶, 马瑞燕. 玫烟色棒束孢研究进展[J]. *山西农业大学学报*, 2013, 33(4): 362-368.
- [17] 王联德, 黄建. 烟粉虱的为害及其生物防治策略[J]. *福建农业大学学报*, 2006, 35(4): 365-371.
- [18] 刘召, 雷仲仁. 对烟粉虱具有高致病力的虫生真菌筛选[J]. *中国蔬菜*, 2014(3): 37-40.
- [19] 田晶, 田浩楷, 刁红亮, 等. 玫烟色棒束孢对烟粉虱致病的时间-剂量-死亡率模型分析[J]. *河南农业科学*, 2017, 46(1): 70-75.

(责任编辑:陈海霞)