

Bt 工程菌 WG-001 与化学杀虫剂复配最佳配方 筛选及田间防效研究^{*}

张聪冲 邱 浩 覃春华 游 红 李建洪^{**}

(华中农业大学植物科学技术学院 武汉 430070)

摘 要 为了延缓小菜蛾 *Plutella xylostella* (L.) 抗药性的产生和发展,筛选 Bt 工程菌 WG-001 与化学杀虫剂的最佳复配配方,本研究采用浸叶法分别测定了 Bt 工程菌 WG-001 与茚虫威、丁醚脲和巴丹复配对小菜蛾的增效作用。结果表明,当 Bt 工程菌 WG-001 与茚虫威以有效成分之比为 100.10:0.72 复配时,增效作用最强,共毒系数为 178.05。而 Bt 工程菌 WG-001 分别与丁醚脲和巴丹复配表现相加或拮抗作用。田间试验结果表明,Bt 工程菌 WG-001 与茚虫威以 100.10:0.72 的有效成分之比进行复配后,药后 7 d,500 倍液对小菜蛾的平均防效为 84.88%,显著优于 Bt 工程菌 WG-001 和茚虫威单用的平均防效。

关键词 苏云金芽孢杆菌工程菌 WG-001,茚虫威,小菜蛾,增效作用,田间防效

Screening of optimum proportion and field effect of mixtures of Bt engineering strain WG-001 and chemical insecticides against *Plutella xylostella*

ZHANG Cong-Chong QIU Hao QIN Chun-Hua YOU Hong LI Jian-Hong^{**}

(College of Plant Science & Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070)

Abstract The relative effectiveness of mixtures of the Bt strain WG-001 with the pesticides indoxacarb, diafenthiuron and cartap for controlling the diamondback moth (DBM) *Plutella xylostella* (L.) was determined using the leaf-dipping method. The results indicate that a 100.10:0.72 mixture of Bt strain WG-001 and indoxacarb was the most synergetic with a co-toxicity coefficient (CTC) of 178.05. Mixtures of Bt strain WG-001 with diafenthiuron or cartap had an additive or antagonistic action, respectively. Results of a field trial showed that the average control effect of a 500 times dilution of the Bt strain WG-001 and indoxacarb mixture was 84.88% 7 days after treatment, significantly higher than using either Bt WG-001 or indoxacarb separately ($P < 0.05$).

Key words *Bacillus thuringiensis* engineering strain WG-001, indoxacarb, *Plutella xylostella*, synergetic action, field effect

小菜蛾 *Plutella xylostella* (L.) 是世界性十字花科蔬菜的主要害虫之一,在我国各蔬菜种植地区均有发生,寄主达 40 多种,对蔬菜生产构成了极大威胁(吴永汉等 2005)。由于化学农药的大量连续使用,导致小菜蛾对化学农药的抗性水平越来越高(黄雄英等 2008),但化学农药以其速效性好而深受农民欢迎。苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*, Bt)对小菜蛾具有较好的防治效果,

无农药残留和环境污染问题,已成为防治小菜蛾的重要手段,但生产实践中也存在苏云金杆菌单剂杀虫谱较窄,速效性较差等问题(杜传玉, 2007),而且世界各地小菜蛾已经对其产生了抗药性(李建洪等 2000)。

近年来,国内对苏云金杆菌与化学农药混配等方面作了较多研究,发现与化学杀虫剂的合理混用,不仅能有效地延缓害虫抗药性的发展进程

^{*} 资助项目:公益性行业(农业)科研专项(200803001)。

^{**} 通讯作者, E-mail: jianhl@mail.hzau.edu.cn

收稿日期:2010-06-22,接受日期:2011-03-06

(王巧兰和夏敬华, 2004), 同时还能提高药效, 减少用药量, 降低成本, 有利于生态环境的保护(徐健等, 2001)。

苏云金芽孢杆菌工程菌 WG-001 (Bt WG-001) 是华中农业大学喻子牛教授领导的课题组构建的一株高毒力 Bt 工程菌(张振宇等, 2005)。本研究通过室内筛选确定 3 种化学杀虫剂(丁醚脲、茚虫威、巴丹)分别与 Bt 工程菌 WG-001 制剂的最佳混配比例, 并对最佳配比进行田间试验, 以期达到对小菜蛾田间防治效果好、持效时间长、毒性较小、使用成本低等目的, 对小菜蛾田间防治具有十分重要的意义。

1 材料与方法

1.1 供试药剂

苏云金芽孢杆菌工程菌 WG-001 WP, 16 000 IU/mg, 福建蒲城绿安生物农药有限公司; 5% 茚虫威 EC, 97% 巴丹原粉, 20% 丁醚脲 EC, 广东省农业科学院植物保护研究所(未添加增效剂, 用于室内毒力测定); 15% 茚虫威 SC, 美国杜邦公司。

1.2 供试昆虫

小菜蛾 3 龄幼虫, 为本实验室连续饲养多代的种群, 饲养条件: 温度 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$, 湿度 60% ~ 70%, 光照 L:D = 16:8。

1.3 试验方法

1.3.1 室内毒力测定 采用国际抗性行动委员会(IRAC)提出的浸叶法(No. 018) (<http://www. irac-online. org/teams/methods/>; 吴文君, 1988), 在预备试验中明确各药剂有效浓度范围的基础上, 将各药剂用 0.5% 的 TritonX-100 水溶液稀释成 5 个系列浓度(如 400、200、100、50、25 mg/L Bt 药液)。将新鲜的甘蓝叶片先用清水冲洗并自然晾干, 然后将叶片剪成 6.5 cm 左右的圆片, 在配制的药液中浸渍 10 s, 自然晾干后, 分别移入直径为 7 cm 的培养皿内, 然后向每个培养皿内接入 10 头 3 龄幼虫, 每个处理设 4 个重复, 以清水处理作为空白对照。处理后的小菜蛾幼虫置于 25°C 恒温饲养室内, 72 h 后检查死、活虫数。

计算死亡率、校正死亡率。用 Finney 机率分析法和 DPS 统计分析软件进行数据处理, 求出 LC_{50} 值, 毒力回归方程和相关系数。

1.3.2 最佳配比的筛选 采用交互测定法进行最佳配比的筛选(陈立等, 2000; 吴仁锋和刘术朝, 2004; 胡长效等, 2008)。以单剂 A、B 的 LC_{50} 值为基础, 设 11 个浓度梯度及空白对照共 12 个处理进行测定, 其中各处理两单剂比例见表 1(以各自 LC_{50} 值为 100%, 然后 10 等分, 分别计算在各比例中的含量)。

表 1 各处理单剂比例(%)

Table 1 Proportion of mixture of pesticides

单剂 Pesticide	组别/Group										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Pesticide A	100	90	80	70	60	50	40	30	20	10	0
Pesticide B	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100

各处理测定结果计算公式如下:

预期死亡率 = A 药剂 LC_{50} 值实测死亡率 $\times$ A 药剂所占比例 + B 药剂 LC_{50} 值实测死亡率 $\times$ B 药剂所占比例,

毒效比率 = 实际死亡率 / 预期死亡率。

其中 A、B 农药 LC_{50} 值实际死亡率及混用的实际死亡率都以测定校正死亡率来计算。毒效比率 > 1.25 表现增效作用, 毒效比率 < 0.75 表现拮抗作用, 毒效比率在 1 左右为相加作用。

1.3.3 共毒系数的计算 选择毒效比率大于 1.25 的配比, 采用孙云沛法(Sun and Johnson, 1960)对混剂进行联合毒力测定, 计算共毒系数。

1.3.4 田间药效试验 试验方法参照《农药田间药效试验准则》(一)(GB/T 17980.13-2000)(姜辉等, 2000), 在湖北省孝感市云梦县城关镇白合标准化生产示范基地进行, 供试作物为花椰菜, 2009 年 8 月 16 日播种, 生育期 240 d。试验采用完全随机设计, 每个处理 4 次重复, 并设清水对照, 每小区面积 15 m^2 , 施药时间为 2009 年 11 月 5 日, 药剂处理设置见表 8。

试验采用 5 点法进行调查, 每小区 5 点取样, 每点 2 株定点调查, 药前调查虫口基数, 药后 1、3、7 d 调查小菜蛾幼虫残虫数, 计算虫口减退率和防效, 并采用 DPS 软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 单剂毒力测定

采用浸叶法对小菜蛾 3 龄幼虫进行毒力测定, 表 2 结果表明, 茚虫威对小菜蛾 3 龄幼虫具很

高的生物活性 , LC_{50} 值为 7. 8584 mg/L; Bt 工程菌 WG-001 对小菜蛾 3 龄幼虫生物活性最低 , LC_{50} 值为 108. 3745 mg/L; 丁醚脲和巴丹对小菜蛾 3 龄幼虫的 LC_{50} 值分别为 33. 7935 mg/L、87. 0599 mg/L , 生物活性介于茚虫威和 Bt 工程菌 WG-001 之间。

表 2 4 种药剂对小菜蛾 3 龄幼虫的毒力
Table 2 Bioactivity of pesticides on *Plutella xylostella*

供试药剂 Pesticides	回归方程 Regression equation	致死中浓度 LC_{50} (mg/L)	相关系数 R^2	95% 置信区间 95% FL (mg/L)
Bt WG-001	$Y = 1. 4784 + 1. 7306x$	108. 3745	0. 9577	82. 4274 ~ 144. 6779
茚虫威 Indoxacarb	$Y = 3. 8940 + 1. 2353x$	7. 8584	0. 9936	5. 5158 ~ 12. 9644
丁醚脲 Diafenthiuron	$Y = 2. 2040 + 1. 8289x$	33. 7935	0. 9850	26. 3732 ~ 45. 5062
巴丹 Cartap	$Y = 3. 1386 + 0. 9596x$	87. 0599	0. 9916	55. 9692 ~ 181. 8342

2. 2 最佳配比筛选
采用交互测定法 , 分别以 4 种单剂的 LC_{50} 近似值 (Bt 取 110 mg/L , 茚虫威取 8 mg/L , 丁醚脲取 35 mg/L , 巴丹取 88mg/L) 为 100% 进行筛选 , 处理设置及试验结果见表 3 ~ 5。

表 3 Bt 工程菌 WG-001 与茚虫威复配最佳配比初步筛选
Table 3 Optimal proportion of mixture of Bt WG-001 and indoxacarb

组别 Group	比例 Proportion	含量 Content of active ingredient	实际死亡率 (%) Observed mortality	预期死亡率 (%) Expected mortality	毒效比率 Toxicity ratio
1	100: 0	110 + 0	55. 56	/	/
2	90: 10	99 + 0. 8	72. 22	54. 72	1. 32
3	80: 20	88 + 1. 6	77. 78	53. 89	1. 44
4	70: 30	77 + 2. 4	69. 44	53. 06	1. 31
5	60: 40	66 + 3. 2	58. 33	52. 22	1. 12
6	50: 50	55 + 4. 0	52. 78	51. 39	1. 03
7	40: 60	44 + 4. 8	47. 22	50. 56	0. 93
8	30: 70	33 + 5. 6	44. 44	49. 72	0. 89
9	20: 80	22 + 6. 4	52. 78	48. 89	1. 08
10	10: 90	11 + 7. 2	47. 22	48. 06	0. 98
11	0: 100	0 + 8. 0	47. 22	/	/

表 4 Bt 工程菌 WG-001 与丁醚脲复配最佳配比初步筛选
Table 4 Optimal proportion of mixture of Bt WG-001 and diafenthiuron

组别 Group	比例 Proportion	含量 Content of active ingredient	实际死亡率 (%) Observed mortality	预期死亡率 (%) Expected mortality	毒效比率 Toxicity ratio
1	100: 0	110 + 0	55. 56	/	/
2	90: 10	99 + 3. 5	52. 78	55. 00	0. 96
3	80: 20	88 + 7. 0	58. 33	54. 44	1. 07
4	70: 30	77 + 10. 5	47. 22	53. 89	0. 88
5	60: 40	66 + 14. 0	52. 78	53. 33	0. 99
6	50: 50	55 + 17. 5	52. 78	52. 78	1. 00
7	40: 60	44 + 21. 0	50. 00	52. 22	0. 96
8	30: 70	33 + 24. 5	38. 89	51. 67	0. 75
9	20: 80	22 + 28. 0	52. 78	51. 11	1. 03
10	10: 90	11 + 31. 5	47. 22	50. 56	0. 93
11	0: 100	0 + 35. 0	50. 00	/	/

表 5 Bt 工程菌 WG-001 与巴丹复配最佳配比初步筛选
Table 5 Optimal proportion of mixture of Bt WG-001 and cartap

组别 Group	比例 Proportion	含量 Content of active ingredient	实际死亡率 (%) Observed mortality	预期死亡率 (%) Expected mortality	毒效比率 Toxicity ratio
1	100: 0	110 + 0	67. 50	/	/
2	90: 10	99 + 8. 8	42. 50	65. 25	0. 65
3	80: 20	88 + 17. 6	35. 00	63. 00	0. 56
4	70: 30	77 + 26. 4	25. 00	60. 75	0. 41
5	60: 40	66 + 35. 2	47. 50	58. 50	0. 81
6	50: 50	55 + 44. 0	52. 50	56. 25	0. 93
7	40: 60	44 + 52. 8	45. 00	54. 00	0. 83
8	30: 70	33 + 61. 6	35. 00	51. 75	0. 68
9	20: 80	22 + 70. 4	37. 50	49. 50	0. 76
10	10: 90	11 + 79. 2	40. 00	47. 25	0. 85
11	0: 100	0 + 88. 0	45. 00	/	/

根据表 3 ~ 5 的实验结果 ,Bt 工程菌 WG-001 与丁醚脲复配各配比毒效比率在 0. 75 和 1. 07 之间 ,均表现为相加作用 ;与巴丹复配各配比毒效比率在 0. 41 和 0. 93 之间 ,表现为相加或拮抗作用。而 Bt WG-001 与茚虫威复配 ,当 Bt 浓度大于 77 mg/L 时 ,毒效比率大于 1. 25 ,表现为增效作用 ,因此选择 Bt WG-001 与茚虫威复配进行进一步研究。由于 Bt 与茚虫威的 LC_{50} 值相差较大 ,茚虫威含量的较小变化就会引起 Bt 含量的较大变化 ,因

此需要在此增效区间内进行进一步的筛选 ,以明确二者复配的最佳配比。

2. 3 Bt WG-001 与茚虫威复配最佳配比筛选

在 Bt WG-001 LC_{50} 值 70% ~ 100% ,茚虫威 LC_{50} 值 30% - 0 区间内 ,对两单剂分别 10 等分 ,以对应组合为配比进行测试 ,处理设置及试验结果见表 6。

表 6 Bt 工程菌 WG-001 与茚虫威复配最佳配比进一步筛选
Table 6 Optimal proportion of mixture of Bt WG-001 and indoxacarb

组别 Group	比例 Proportion	含量 Content of active ingredient	实际死亡率 (%) Observed mortality	预期死亡率 (%) Expected mortality	毒效比率 Toxicity ratio
1	100: 0	110 + 0	37. 50	/	/
2	97: 3	106. 7 + 0. 24	30. 00	37. 65	0. 80
3	94: 6	103. 4 + 0. 48	45. 00	37. 80	1. 19
4	91: 9	100. 1 + 0. 72	57. 50	37. 95	1. 52
5	88: 12	96. 8 + 0. 96	57. 50	38. 10	1. 51
6	85: 15	93. 5 + 1. 20	47. 50	38. 25	1. 24
7	82: 18	90. 2 + 1. 44	35. 00	38. 40	0. 91
8	79: 21	86. 9 + 1. 68	42. 50	38. 55	1. 10
9	76: 24	83. 6 + 1. 92	45. 00	38. 70	1. 16
10	73: 27	80. 3 + 2. 16	52. 50	38. 85	1. 35
11	70: 30	77. 0 + 2. 40	37. 50	39. 00	0. 96
12	0: 100	0 + 8. 0	42. 59	/	/

从筛选结果可以看出 ,第 4 组 (91: 9)、第 5 组 (88: 12)、第 10 组 (73: 27) 的毒效比率分别为

1. 52、1. 51、1. 35 ,具有明显的增效作用。

2.4 复配联合毒力测定

分别对具有增效作用的 3 组复配进行联合毒

力测定,并对测定结果进行数据处理,采用孙云沛

法计算共毒系数,结果见表 7。

表 7 Bt 工程菌 WG-001 与茚虫威复配不同配比联合毒力测定
Table 7 Synergism of mixture of Bt WG-001 and indoxacarb on *Plutella xylostella*

杀虫剂及其混配比例 Pesticides and proportion of mixtures	回归方程 Regression equation	致死中浓度 LC ₅₀ (mg/L)	共毒系数 Co-toxicity coefficient
Bt	$Y = 2.7539 + 1.1808x$	79.8178	—
茚虫威 Indoxacarb	$Y = 4.0636 + 1.4939x$	4.2344	—
Bt: 茚虫威 (91:9) Bt: indoxacarb (91:9)	$Y = 3.4848 + 1.2265x$	17.1959	178.05
Bt: 茚虫威 (88:12) Bt: indoxacarb (88:12)	$Y = 3.3562 + 1.3554x$	16.3226	155.62
Bt: 茚虫威 (73:17) Bt: indoxacarb (73:17)	$Y = 3.3992 + 1.3813x$	14.4204	140.63

根据试验结果,第 4、5、10 组 3 组的共毒系数分别为 178.05、155.62、140.63,与交互测定结果表现一致,表明 Bt WG-001 与茚虫威在这 3 种复配配比下,对小菜蛾具有较好的增效作用。当 Bt 与茚虫威以 91:9 (有效成分比为 100.10:0.72) 复配时共毒系数最大,增效作用最明显。

2.5 Bt 工程菌 WG-001 与茚虫威复配最佳配比的田间药效试验

效价为 16 000 IU/mg 的 Bt 工程菌 WG-001 WP 与 15% 茚虫威 SC 以有效成分的最佳配比 100.10:0.72 复配,进行田间试验,采用邓肯氏新复极差法进行统计分析,结果见表 8。

表 8 16 000 IU/mg Bt WP 与 15% 茚虫威 SC 及其混配对小菜蛾的田间防治效果
Table 8 Field control effects of mixture of Bt and indoxacarb on *Plutella xylostella*

处理 Treatment	虫口基数 /头 Number of larvae	药后 1 d 1 st day after treatment		药后 2 d 2 nd day after treatment		药后 3 d 3 rd day after treatment	
		残虫数/头 Number of remaining larvae	平均防效 (%) Average control effect	残虫数/头 Number of remaining larvae	平均防效 (%) Average control effect	残虫数/头 Number of remaining larvae	平均防效 (%) Average control effect
Bt 与 茚虫威 500 倍 500 dilution of Bt + indoxacarb	168	67	61.21 a	21	87.75 a	25	84.88 a
Bt 与 茚虫威 750 倍 750 dilution of Bt + indoxacarb	192	74	56.62 a	43	78.89 ab	48	75.63 ab
Bt 与 茚虫威 1 000 倍 1 000 dilution of Bt + indoxacarb	154	61	52.42 a	48	68.4 b	52	61.87 c
Bt 500 倍 500 dilution of Bt	139	68	45.45 a	34	72.32 b	43	68.26 bc
茚虫威 4 000 倍 4 000 dilution of indoxacarb	111	41	66.39 a	25	80.28 ab	28	76.22 ab
清水对照 CK	126	128	—	132	—	129	—

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Different small letters after data in the same column indicate significantly different at 0.05 level.

根据田间试验结果,16 000 IU/mg Bt WP 与 15% 茚虫威 SC 以 100:10:0.72 的有效成分比进行复配,药后 7 d,平均防效可以达到 84.88%,高于两单剂的平均防效,并与 16 000 IU/mg Bt WP 单用的平均防效具有显著差异。

3 讨论

自从美国太平洋酵母公司于 1957 年生产出第一个 Bt 商品制剂以来,Bt 杀虫剂作为一种对人类安全无毒、无污染的高效微生物杀虫剂,在害虫大田防治中发挥着重要作用(李建洪等,1998),但是目前在小菜蛾的防治应用中存在防效明显降低等问题。近年来发现,Bt 与一些化学杀虫剂混用可以提高防效(徐健等 2001)。

本研究以十字花科蔬菜小菜蛾为防治对象,采用华中农业大学生命科学技术学院构建的高毒力 Bt 工程菌 WG-001 分别与茚虫威等 3 种化学杀虫剂复配,通过室内筛选得到一个具有增效作用的最佳配比,田间试验表明,此配比在药后 7 d 表现出较好的防治效果,与单独使用 Bt 的防效具有显著差异。

温度是影响 Bt 杀虫活性,特别是田间杀虫活性的主要因素之一,环境温度过高或过低都会降低 Bt 杀虫蛋白活性(喻子牛,1993)。由于田间试验后期气温骤降,同时伴随有降雨,很可能导致了各处理防效的降低,因此,在晴天和气温适当时施药可能会达到更好的防治效果。

采用 Bt 与化学杀虫剂茚虫威混用,可以减少单剂用量,减轻杀虫剂的选择压力,有效控制害虫对 Bt 等抗药性的产生,还能降低化学杀虫剂对天敌的杀伤以及对环境的破坏作用,显著提高对田间小菜蛾的防治效果,目前在生产上尚未见到二者复配的应用,因此,本研究对十字花科蔬菜小菜蛾的防治具有重要的指导意义。

参考文献 (References)

- 陈立,徐汉虹,李云宇,何娜芬,赵善欢,2000. 农药复配最佳增效配方筛选方法的探讨. *植物保护学报*,27(4): 349—354.
- 杜传玉,2007. 苏云金杆菌复配剂对小菜蛾和菜青虫的防治效果. *黑龙江农业科学*, (2): 50—51.
- 胡长效,丁永辉,彭兰华,2008. 鱼藤酮与高效氟氯菊酯不同比对牛蒡长管蚜的毒力及田间防效研究. *江西农业学报*,20(1): 32—33.
- 黄雄英,周小毛,柏连阳,2008. 长沙地区小菜蛾对 13 种药剂的抗药性测定. *植物保护*,34(5): 146—149.
- 姜辉,陈景芬,王晓军,卞燕,王少成,吴士雄,2000. GB/T 17980.13-2000 农药田间药效试验准则(一) 杀虫剂防治十字花科蔬菜的鳞翅目幼虫. 北京:中国标准出版社. 394—397.
- 李建洪,邓望喜,喻子牛,2000. 小菜蛾对苏云金芽孢杆菌抗性研究进展. *湖北植保*, (2): 11—12.
- 李建洪,伍建宏,喻子牛, Ray A,1998. 小菜蛾对苏云金芽孢杆菌的抗药性研究. *华中农业大学学报*,17(3): 214—217.
- Sun YP, Johnson ER, 1960. Analysis of joint action of insecticides against house flies. *Econ. Entomol.*, (53): 887—891.
- 王巧兰,夏敬华,2004. 农业害虫抗药性及其治理. *植物保护*,30(6): 15—18.
- 吴仁锋,刘术朝,2004. 阿维菌素与高效氯氰菊酯对小菜蛾毒力最佳配比的筛选. *湖北农业科学*, (1): 54—56.
- 吴文君,1988. 植物化学保护实验技术导论. 西安:陕西科学技术出版社. 57—222.
- 吴永汉,张纯胃,许方,金斐雅,2005. 小菜蛾对阿维菌素和抑太保的抗性监测及治理对策研究. *温州大学学报*,18(2): 37—41.
- 徐健,蔡杨生,朱锦磊,胡春霞,许秋香,2001. 苏云金杆菌与化学杀虫剂的联合作用测定. *江苏农业科学*, (2): 45—46.
- 喻子牛,1993. 苏云金芽孢杆菌制剂的生产和应用. 北京:农业出版社. 153—154.
- 张振宇,李林,任红燕,吴晓明,喻子牛,孙明,2005. 苏云金芽孢杆菌基因工程菌 WG-001 和 1125BG 在盆栽土壤中的安全性评估. *安全与环境学报*,5(6): 118—122.