

doi: 10.3969/j.issn.1674-0858.2016.04.13

蜡蚧轮枝菌对扶桑绵粉蚧的致病性研究

袁盛勇¹, 闫鹏飞², 孔琼¹, 邓裕亮³, 张宏瑞^{2*}, 刘正喜¹, 何红飞¹

(1. 红河学院生命科学与技术学院, 云南蒙自 661100; 2. 云南农业大学植物保护学院 昆明 650201;
3. 云南省西双版纳出入境检验检疫局, 云南景洪 666100)

摘要: 测定了蜡蚧轮枝菌 *Verticillium lecanii* MZ041024 菌株对扶桑绵粉蚧 *Phenacoccus solenopsis* Tinsley 的致病性。结果表明蜡蚧轮枝菌 MZ041024 菌株对扶桑绵粉蚧 1 龄若虫的致病率为 83.72%, 致死中浓度 LC_{50} 为 1.49×10^5 个/mL, 致死中时间 LT_{50} 是 5.21 d; 对 2 龄若虫的致病率为 74.42%, 致死中浓度 LC_{50} 为 3.66×10^3 个/mL, 致死中时间 LT_{50} 是 5.55 d; 对 3 龄若虫的致病率为 76.74%, 致死中浓度 LC_{50} 为 9.82×10^4 个/mL, 致死中时间 LT_{50} 是 5.44 d; 其对雌成虫的致病率为 85.37%, 致死中浓度 LC_{50} 为 2.80×10^4 个/mL, 致死中时间 LT_{50} 是 4.87 d。说明蜡蚧轮枝菌 MZ041024 菌株对扶桑绵粉蚧有较强的致病性。

关键词: 蜡蚧轮枝菌; 扶桑绵粉蚧; 致病性

中图分类号: Q968.1; S476

文献标志码: A

文章编号: 1674-0858(2016)04-0748-07

Study on virulence of *Verticillium lecanii* against *Phenacoccus solenopsis* Tinsley

YUAN Sheng-Yong¹, YAN Peng-Fei², KONG Qiong¹, DENG Yu-Liang³, ZHANG Hong-Rui^{2*}, LIU Zheng-Xi¹, HE Hong-Fei¹ (1. College of Life Science and Technology of Honghe University, Mengzi 661100, Yunnan Province, China; 2. Plant Protection College, Yunnan Agriculture University, Kunming 650201, China; 3. Yunnan Xishuangbanna Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Jinghong 666100, Yunnan Province, China)

Abstract: The virulence of *Verticillium lecanii* MZ041024 to 1st, 2nd and 3rd larvae and female adult of *Phenacoccus solenopsis* Tinsley under five different concentrations from 3.0×10^4 to 3.0×10^8 spores/mL was determined. Results indicated that mortality rate of *V. lecanii* MZ041024 to 1st larvae was 83.72%, the median lethal concentration (LC_{50}) was 1.49×10^5 spores/mL, and the median lethal time (LT_{50}) was 5.21 d; the pathogenic rate of isolate MZ041024 to 2nd larvae was 74.42%, LC_{50} was 3.66×10^3 spores/mL, and LT_{50} was 5.55 d; the mortality rate of isolate MZ041024 to 3rd larvae was 76.74%, LC_{50} was 9.82×10^4 spores/mL, and LT_{50} was 5.44 d; the pathogenic rate of isolate MZ041024 to female adults was 85.37%, LC_{50} was 2.80×10^4 spores/mL, and LT_{50} was 4.87 d. So the above data showed that the isolate MZ041024 of *V. lecanii* had strong virulence to *P. solenopsis* Tinsley.

Key words: *Verticillium lecanii*; *Phenacoccus solenopsis*; virulence

基金项目: 云南省学术技术带头人后备人才项目 (2015HB036); 红河学院植物保护硕士授权点建设项目; 云南农业大学农业入侵生物可持续控制研究创新团队 (2011HC005); 2013 年云南省高等学校卓越青年教师特殊培养项目

作者简介: 袁盛勇, 男, 1975 年生, 云南宣威人, 硕士, 副教授, 主要从事昆虫生态学及害虫综合防治研究, E-mail: ysy9069@163.com

* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail: hongruizh@126.com

收稿日期 Received: 2016-06-07; 接受日期 Accepted: 2016-07-16

我国于2008年在广东省广州市街道扶桑上首次发现扶桑绵粉蚧 *Phenacoccus solenopsis* Tinsley 入侵危害(武三安和张润志, 2009), 随即农业部相继确认在浙江、广西、云南、福建、江西和湖南等省发现该虫(吕茂翠等, 2013), 至2014年已在13个省份(直辖市/自治区)发生(Ahmed et al., 2015)。调查发现云南省共8个州(市)10个县(市)有扶桑绵粉蚧的分布(闫鹏飞等, 2013)。扶桑绵粉蚧的寄主范围较广, 可危害包括锦葵科、茄科、菊科、大戟科、苋科和葫芦科等53个科154种植物(Arif et al., 2009)。扶桑绵粉蚧主要以若虫和雌成虫危害, 可导致植物长势衰弱, 生长缓慢或停止, 落叶落花等, 严重时导致植物整株死亡, 如危害棉花(朱磊, 2014)、桂花树、茉莉花、木槿等植物(余海滨等, 2015)。目前对该虫的防治多采用化学防治方法, 如利用新氯化烟碱类等杀虫剂对棉花粉蚧进行毒力测定(胡学难等, 2010; 梁巧丽等, 2014a; 2014b)。为了减少环境污染和扶桑绵粉蚧抗药性问题, 昆虫病原真菌作为一种环境友好的生物防治方法, 越来越多地应用于害虫综合治理, 如球孢白僵菌用来防治扶桑绵粉蚧有较好的效果(袁盛勇等, 2015a; 2015b)。蜡蚧轮枝菌 *Verticillium lecanii* (Zimm) 是一种重要的虫生真菌, 可侵染介壳虫(陈宇平等, 2012)、枸杞蚜虫(刘浩等, 2012)、西花蓟马(袁盛勇等, 2011)和榕管蓟马(余德亿等, 2015)等害虫, 该菌广泛用于害虫生物防治。本文测定了蜡蚧轮枝菌 MZ041024 菌株对扶桑绵粉蚧的致病力, 以期为利用该菌防治该虫提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌种

蜡蚧轮枝菌 MZ041024 菌株分离自红河学院温室大棚罹病桃蚜上, 经复壮和扩繁后供实验使用。

1.1.2 供试虫源

扶桑绵粉蚧采自文山州富宁县, 原寄主为小驳骨 *Gendarussa vulgaris*, 在室内隔离饲养, 以扶桑枝条繁殖种群, 扩繁的后代种群用作实验试虫。

1.2 实验方法

1.2.1 菌种的扩繁、分生孢子液体的制备

采用马铃薯琼脂培养基(PDA), 在26℃下培

养10 d 收集分生孢子。将分生孢子刮到盛有50 mL 无菌水+0.05% 吐温-80 的锥形瓶中, 充分震荡, 使分生孢子分散, 过滤除去杂质和菌丝, 用血球计数板在显微镜下检查计算出孢子数, 测出浓度, 并用无菌水分别稀释到实验所需浓度。

1.2.2 菌株对扶桑绵粉蚧的致病力测定

将蜡蚧轮枝菌孢子液分别稀释到 3.0×10^4 ~ 3.0×10^8 个/mL 5个浓度, 并用无菌水+0.05% 吐温-80 作为对照, 每个处理设3个重复。挑选长势一致、孵化或蜕皮后约24 h 的各龄虫态, 每个虫期每浓度处理30头虫。从洁净扶桑植株上采集嫩梢, 用浸湿的棉团包裹叶柄, 外用塑料薄膜包扎好; 将粉蚧接于嫩梢上, 待稳定取食后进行接菌试验。

致病力测定采用点滴法, 按1 μL/头的剂量用微量取样器吸取孢子液并点滴到扶桑绵粉蚧虫体上。待若虫体表和扶桑嫩梢上菌液晾干后, 一并放入的玻璃小瓶内(直径7 cm、高8 cm)。用塑料薄膜封住瓶口, 用微针在薄膜上扎细小孔后将瓶子放置在人工气候箱内(温度 $26^\circ\text{C} \pm 0.5^\circ\text{C}$ 、相对湿度RH 70% ± 5%、光周期(L:D) 14 h: 10 h)。每日镜检死亡虫数, 并将死虫取出, 置于保湿条件下检查是否为蜡蚧轮枝菌感染, 连续观察记录9 d。

1.2 数据统计分析

采用统计软件 SPSS 19.0 进行分析数据, 对校正死亡率进行概率值转换后分析其与剂量(个/mL) 或处理时间(d) 对数值间关系, 建立直线回归模型, 从而分别估计剂量效应致死中浓度LC₅₀、致死中时间LT₅₀ 和相关系数(R) 等参数。

2 结果与分析

2.1 蜡蚧轮枝菌不同浓度孢子液对扶桑绵粉蚧1龄若虫的致病力

扶桑绵粉蚧1龄若虫接种蜡蚧轮枝菌, 累计校正死亡率均随着浓度的增大而增大, 并且随着时间的增加而增加。第9天时, 各浓度均的累计校正死亡率均达到最大值, 浓度为 3.0×10^8 个/mL 处理的累计校正死亡率最大, 为83.72%, 浓度为 3.0×10^4 个/mL 处理平均累计校正死亡率最低, 仅有45.35% (表1)。

3 结论与讨论

本试验测定了在各龄初期接种蜡蚧轮枝菌 MZ041024 菌株的不同浓度分生孢子液对扶桑绵粉蚧的致病力。结果表明, 蜡蚧轮枝菌 MZ041024 菌株对不同虫态的扶桑绵粉蚧均有侵染能力, 在虫体接种蜡蚧轮枝菌孢子液后第 2 天就有少数虫体死亡, 这些死亡的虫体中经保湿培养一部分没有产生菌丝, 这可能是在真菌在代谢的过程中, 产生的代谢产物具有杀虫活性; 随着处理时间延长, 死亡率逐渐升高, 第 9 天时各虫态的累计校正死亡率最高。该菌不同浓度分生孢子液对各个虫态的致病性测定中, 均以 3.0×10^8 个/mL 浓度对扶桑绵粉蚧的致病力最高。1 龄若虫初期和雌成虫初期接种, 其致病力高于 2 龄、3 龄初期接种; 不同浓度孢子液处理结果表明, 累计校正死亡率随着浓度增加而增加, 致死中时间随着浓度增加而减小。

蜡蚧轮枝菌可寄生多种害虫, 是重要的生防菌, 但是不同菌株对同种昆虫的致病力表现出较大的差异。对蜡蚧轮枝菌侵入蚧虫过程中的蛋白酶和几丁质酶的作用进行了研究, 不同菌株间这两种酶的活性的大小和变化是有差异的(彭国良等, 2009)。比较了蜡蚧轮枝菌 11 个单孢分离菌株对温室白粉虱 2 龄若虫致病性, 发现这 11 个单孢菌株对温室白粉虱若虫的致病性存在显著性差异(李国霞等, 1996), 因此, 有必要对蜡蚧轮枝菌不同菌株对扶桑绵粉蚧的致病性进行研究, 以筛选出致病性较好的菌株。

目前, 研究表明多种化学杀虫剂对扶桑绵粉蚧具有较好的杀虫效果(Nikam et al., 2010; 杨爱娟等, 2010; Sahito et al., 2011; 张美翠等, 2016), 但单以化学防治为主易产生抗药性和环境污染等问题, 因此需要采取综合防治措施。蜡蚧轮枝菌是国内应用最广的昆虫病原真菌之一, 但大规模防治时存在防治效果缓慢、不稳定的等缺点。此外, 扶桑绵粉蚧体表被有蜡粉层, 尤其是高龄若虫和成虫更厚, 对真菌的侵染造成阻碍。因此, 筛选毒性较强的菌株、增强蜡蚧轮枝菌对扶桑绵粉蚧体表蜡层的穿透性以提高防治效果的措施还需要进一步的研究。

参考文献 (References)

Ahmed MZ, Ma J, Qiu BL, et al. Genetic record for a recent invasion of

- Phenacoccus solenopsis* (Hemiptera: Pseudococcidae) in Asia [J]. *Environmental Entomology*, 2015, 44 (3): 907–918.
- Arif M I, Rafiq M, Ghaffar A. Host plant of cotton mealy bug (*Phenacoccus solenopsis*): A new menace to cotton agroecosystem of Punjab [J]. *International Journal of Agriculture and Biology*, 2009, 11 (2): 163–167.
- Chen YP, Feng ZT, Zhang HY, et al. Toxicity bioassay of a new strain 01Et of *Lecanicillium lecanii* against scale insect [J]. *China Plant Protection*, 2012, 32 (2): 16–20. [陈宇平, 冯镇泰, 张红艳, 等. 蜡蚧轮枝菌的新株系(*Lecanicillium lecanii*-01Et)对介壳虫的毒力测定[J]. 中国植保导刊, 2012, 32 (2): 16–20]
- Liang QL, Lu YY, Liang GW. Toxicities of 4 neonicotinoid insecticides to *Phenacoccus solenopsis* by 3 bioassay methods [J]. *Journal of South China Agricultural University*, 2014, 35 (4): 61–66. [梁巧丽, 陆永跃, 梁广文. 应用3种方法评价4种新氯化烟碱类杀虫剂对棉花粉蚧的毒力[J]. 华南农业大学学报, 2014, 35 (4): 61–66]
- Liang QL, Liang GW, Lu YY. Toxicity of 14 insecticides to cotton mealybug *Phenacoccus solenopsis* Tinsley with leaf dipping method [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2014, 41 (6): 99–104. [梁巧丽, 梁广文, 陆永跃. 应用浸叶法评价多种杀虫剂对棉花粉蚧的毒力[J]. 广东农业科学, 2014, 41 (6): 99–104]
- Lü MC, Ruan YM, Wang YY, et al. Effects of different host plants on the development and reproduction of *Phenacoccus solenopsis* Tinsley [J]. *Journal of Zhejiang Normal University (Nat. Sci.)*, 2013, 36 (2): 213–216. [吕茂翠, 阮永明, 王媛媛, 等. 寄主植物对扶桑绵粉蚧生长发育和繁殖的影响[J]. 浙江师范大学学报(自然科学版), 2013, 36 (2): 213–216]
- Hu XN, Ma J, Zhou JY, et al. Laboratory toxicity of six chemical insecticides to *Phenacoccus solenopsis* [J]. *Plant Quarantine*, 2010, 24 (3): 26–28. [胡学难, 马骏, 周健勇, 等. 6 种化学农药及其复配对扶桑绵粉蚧的室内毒力测定[J]. 植物检疫, 2010, 24 (3): 26–28]
- Li GX, Yan YH, Wang LY. The biology of eleven *Verticillium lecanii* isolates cultured with monospores and the comparison and selection of their pathogenicity against *Traileurodes vaporariorum* [J]. *Journal of China Agricultural University*, 1996, 1 (1): 83–88. [李国霞, 严毓骅, 王丽英. 蜡蚧轮枝菌 11 个单孢菌株的生物学及其对温室白粉虱致病性的比较和筛选[J]. 中国农业大学学报, 1996, 1 (1): 83–88]
- Liu H, Zhang L, Zhang ZS. In-door toxicity and chemicals sensitivity of *Verticillium lecanii* on *Aphis* sp. on *Lycium chinense* [J]. *China Vegetables*, 2012, 4: 87–90. [刘浩, 张龙, 张宗山. 蜡蚧轮枝菌对枸杞蚜虫的室内毒力和常用药剂敏感性测定[J]. 中国蔬菜, 2012, 4: 87–90]
- Nikam ND, Patel BH, Korat DM. Laboratory and field efficacy of selected insecticides against mealy bug *Phenacoccus solenopsis* Tinsley infesting cotton [J]. *Karnataka J. Agric. Sci.*, 2010, 23 (5): 712–715.
- Peng GL, Xue JL, Liu WM, et al. Role of protease and chitinase of

- Verticillium lecanii in infecting scale insect cuticle [J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2009, 2: 220–225. [彭国良, 薛皎亮, 刘卫敏, 等. 蜡蚧轮枝菌入侵蚧虫表皮过程中蛋白酶和几丁质酶的作用 [J]. 应用与环境生物学报, 2009, 2: 220–225]
- Sahito AH, Abro HG, Syed ST, et al. Screening of pesticides against cotton mealybug *Phenacoccus solenopsis* Tinsley and its natural enemies on cotton crop [J]. *International Research Journal of Biochemistry and Bioinformatics*, 2011, 1 (9): 232–236.
- Wu SA, Zhang RZ. A new invasive pest, *Phenacoccus solenopsis*, threatening seriously to cotton production [J]. *Chinese Bulletin of Entomology*, 2009, 46 (1): 159–162. [武三安, 张润志. 威胁棉花生产的外来入侵新害虫—扶桑绵粉蚧 [J]. 昆虫学报, 2009, 46 (1): 159–162]
- Yang AJ, Ma J, Gao J, et al. Screening and efficacy of insecticides for the control of *Phenacoccus solenopsis* Tinsley [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2010, 32 (4): 552–555. [杨爱娟, 马骏, 高军, 等. 防治扶桑绵粉蚧化学农药的筛选及其防治效果 [J]. 环境昆虫学报, 2010, 32 (4): 552–555]
- Yan PF, Sun YX, Li ZY, et al. Distribution and damage of *Phenacoccus solenopsis* Tinsley in Yunnan Province [J]. *Journal of Biosafety*, 2013, 22 (4): 237–241. [闫鹏飞, 孙跃先, 李正跃, 等. 云南省扶桑绵粉蚧的分布和危害 [J]. 生物安全学报, 2013, 22 (4): 237–241]
- Yu HB, Liang WS, Fang TS, et al. Investigation of damage and its natural enemies of *Phenacoccus solenopsis* Tinsley on garden plants in Guangdong Province [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2015, 37 (5): 1109–1112. [余海滨, 梁伟莎, 方天松, 等. 广东省扶桑绵粉蚧对园林植物为害及其天敌的调查 [J]. 环境昆虫学报, 2015, 37 (5): 1109–1112]
- Yu DL, Huang P, Yao JA, et al. Toxicity comparison of *verticillium lecanii* V3450 Strain to *Gynaikothrips uzeli* and *Amblyseius (Typhlodromips) swirskii* [J]. *Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition)*, 2015, 43 (8): 133–139. [余德亿, 黄鹏, 姚锦爱, 等. 蜡蚧轮枝菌 V3450 菌株对榕管蓟马及斯氏钝绥螨的毒力比较 [J]. 西北农林科技大学学报 (自然科学版), 2015, 43 (8): 133–139]
- Yuan SY, Kong Q, Zhang HR, et al. Detection on the virulence of *Verticillium lecanii* against adult and Nymph of *Frankliniella occidentalis* (Pergande) [J]. *Northern Horticulture*, 2011, 10: 131–133. [袁盛勇, 孔琼, 张宏瑞, 等. 蜡蚧轮枝菌对西花蓟马成虫和若虫的独立测定 [J]. 北方园艺, 2011, 10: 131–133]
- Yuan SY, Kong Q, Xue CL, et al. Determination of virulence of *Beauveria bassiana* Bb1287 to *Phenacoccus solenopsis* Tinsley [J]. *Journal of Southwest University (Natural Science Edition)*, 2015, 37 (8): 47–52. [袁盛勇, 孔琼, 薛春丽, 等. 球孢白僵菌 Bb1287 菌株对扶桑绵粉蚧毒力的测定 [J]. 西南大学学报 (自然科学版), 2015, 37 (8): 47–52]
- Yuan SY, Kong Q, Shen DR, et al. Virulence measurement of *Beauveria bassiana* strain to *Phenacoccus solenopsis* Tinsley [J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2015, 34 (4): 27–30. [袁盛勇, 孔琼, 沈登荣, 等. 球孢白僵菌对扶桑绵粉蚧致病力的测定 [J]. 华中农业大学学报, 2015, 34 (4): 27–30]
- Zhang MC, Zhao RY, Ruan YM. Toxicity of tea tree oils and eucalyptus oils to *Phenacoccus solenopsis* Tinsley [J]. *Journal of Zhejiang Normal University (Nat. Sci.)*, 2016, 39 (1): 70–73. [张美翠, 赵瑞英, 阮永明. 茶树和桉树精油杀虫剂对扶桑绵粉蚧的毒力测定 [J]. 浙江师范大学学报 (自然科学版), 2016, 39 (1): 70–73]
- Zhu L. Invasion risk analysis on *Phenacoccus solenopsis* Tinsley in Henan province [J]. *Journal of China Cotton*, 2014, 41 (9): 31–33. [朱磊. 扶桑绵粉蚧入侵河南省的风险分析 [J]. 中国棉花, 2014, 41 (9): 31–33]