

# 棉铃虫微孢子虫病的田间发生调查及其致病力测定

王容燕, 王金耀, 曹伟平, 杜立新, 宋 健, 冯书亮

(河北省农林科学院 植物保护研究所, 河北 保定 071000)

**摘要:** 1998–2003 年对棉铃虫的微孢子虫病的发生情况进行了调查, 2000 年田间棉铃虫为中重发生, 微孢子虫病呈现发生流行的趋势, 第 4 代幼虫感染率达到 49.0%, 2001 年之后, 微孢子虫的感染率逐渐减少。该微孢子虫只感染棉铃虫、甜菜夜蛾和菜青虫, 不感染粘虫、玉米螟和家蚕。室内生测结果表明, 该微孢子虫对棉铃虫具有较高的致病力,  $10^7$  孢子/mL 的浓度接种 2 龄棉铃虫幼虫, 16 d 死亡率达到 100%, 接种 3 龄棉铃虫, 16 d 死亡率为 87.8%, 可以达到控制当代种群和压低下代种群的目的;  $10^5 \sim 10^6$  孢子/mL 的浓度接种 2 龄棉铃虫幼虫, 当代羽化率为 32.2%, 13.3%, 下一代幼虫死亡率为 88.9%, 100%, 可以控制下一代种群。

**关键词:** 棉铃虫; 微孢子虫; 田间发生; 致病力

中图分类号: S435.62 文献标识码: A 文章编号: 1000–7091(2008)增刊–0248–04

## The Occurrence of Microsporidiosis (*Nosema* sp.) Infecting *Helicoverpa armigera* in Field and Its Pathogenicity

WANG Rong-yan, WANG Jin-yao, CAO Wei-ping, DU Li-xin, SONG Jian, FENG Shu-liang

(Institute of Plant Protection, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Baoding 071000, China)

**Abstract:** The occurrence of microsporidiosis (*Nosema* sp.) infecting *Helicoverpa armigera* was investigated in the field. In 2000, *Helicoverpa armigera* occurred serious, and microsporidiosis showed epidemic trend in its population. The infection rate of the 4th generation larvae was 49.0%. After 2001, the infection rate decreased gradually. The microsporidian could infect *H. armigera*, *Pieris rapae* and *Spodoptera exigua* and couldn't infect *Lencania separata*, *Ostrinia furnacalis* and *Bombyx mori*. The pathogenicity had strong to *Helicoverpa armigera*. The microsporidian with the concentration of  $10^7$  spores/mL could control previous generation population and keep down next generation population. The mortality of the 2nd instar larvae was 100% at 16 d after inoculation. The mortality of the 3rd instar larvae was 87.8% at 16 d after inoculation. When the microsporidian with the concentration of  $10^5$  and  $10^6$  spores/mL inoculated the 2nd instars larvae, the eclosion rates were 32.2% and 13.3%, the mortalities of next generation larvae was 88.9% and 100%. The microsporidian was useful to control the next generation population of *H. armigera*.

**Key words:** *Helicoverpa armigera*; Microsporidiosis; Occur in field; Pathogenicity

棉铃虫(*Helicoverpa armigera*) 属鳞翅目夜蛾科, 为杂食性害虫, 以幼虫蛀食为害棉花、玉米、番茄、辣椒等为主, 是我国农业生产上的主要害虫。1990 年以来, 我国棉铃虫连年大暴发, 仅 1992 年全国发生面积达  $433.3 \times 10^4$  hm<sup>2</sup>, 造成全国棉花总产损失 30% 以上, 严重地区损失 50% 以上, 直接经济损失逾百亿元<sup>[1]</sup>。随着转 Bt 基因抗虫棉的大面积应用, 棉铃虫在棉田的危害曾得到了有效的控制。但是,

由于棉铃虫抗性的发展以及抗虫棉表达的差异, 棉铃虫的发生程度又呈逐年加重的趋势, 尤其是 3, 4 代棉铃虫的发生危害最为严重<sup>[2–4]</sup>。因此, 开发利用其他有效的生物防治资源进行棉铃虫防治, 对其防治效果, 以及减缓抗性发展具有重要意义。

微孢子虫是昆虫病原微生物, 属于专性细胞内寄生的单细胞原生动物。它一旦侵入寄主昆虫体内, 便能够通过食物、接触等将病原体传播给其他个

收稿日期: 2008–10–09

基金项目: 河北省农林科学院财政专项(2007040001)

作者简介: 王容燕(1971–), 女, 湖南长沙人, 副研究员, 主要从事杀虫微生物研究。

通讯作者: 冯书亮(1957–), 男, 河北威县人, 研究员, 主要从事杀虫微生物研究。

体,而且可以通过卵传染给后代,从而引起昆虫微孢子虫病的发生和流行,是自然界中制约昆虫种群密度的重要因素之一。目前我国研究最多的是蝗虫微孢子虫(*Nosema locustae*)<sup>[5,6]</sup>、斜纹夜蛾微孢子虫(*Nosema lituræ*)<sup>[7]</sup>、甜菜夜蛾微孢子虫(*Nosema* sp.)<sup>[8]</sup>等,其中,蝗虫微孢子虫(*Nosema locustae*)已经进行了大面积的防治应用<sup>[9]</sup>。河北省农林科学院植物保护研究所1997年在河北省3个主要产棉区棉铃虫的疾病发生流行的普查中,发现被微孢子虫自然感染的棉铃虫<sup>[10]</sup>,初步鉴定该微孢子虫属于微孢子纲,微孢子虫目,微粒子科,微粒子属(*Nosema* sp.)。本研究对棉铃虫微孢子虫在1998–2003年的田间发生进行了调查,并对其致病力进行了测定。

# 1 材料和方法

## 1.1 供试昆虫

棉铃虫(*Helicoverpa armigera*)、粘虫(*Leucania separata*)、玉米螟(*Ostrinia furnacalis*):由研究所昆虫天敌研究室提供,饲喂人工饲料<sup>[11]</sup>。家蚕(*Bombyx mori*):由河北昌黎县蚕种场提供蚕卵,孵化后饲喂桑叶。菜青虫(*Pieris rapae*)、甜菜夜蛾(*Spodoptera exigua*):由本研究室从田间采集幼虫或成虫,室内饲养化蛹,羽化产卵,孵化为幼虫后,饲喂甘蓝叶片作为供试虫。

## 1.2 棉铃虫微孢子虫病的田间发生调查

1998–2003年第4代棉铃虫发生时,在河北省保定市郊区随机采集2~4龄的棉铃虫幼虫。将田间采回的棉铃虫幼虫置于26℃光照培养箱中,L:D=16:8,无菌单头饲喂人工饲料,每隔2d检查感病情况,记录感染微孢子虫的幼虫数。

## 1.3 微孢子虫对几种昆虫的感染试验

将感病的棉铃虫幼虫进行体表消毒后,加入无菌水研磨,纱布过滤,用血球计数板计数法确定微孢子虫悬液的浓度。将孢子悬液放于4℃保存。

微孢子虫对棉铃虫、粘虫、玉米螟、家蚕、菜青虫、甜菜夜蛾卵的感染试验采用将微孢子虫悬浮液( $10^7$ 孢子/mL)直接喷雾在卵粒上的方法。对棉铃虫、粘虫、玉米螟2龄幼虫的感染试验,将微孢子虫悬浮液均匀喷洒在0.5cm×0.5cm×0.2cm的人工饲料块上,晾干,26℃感染饲养。家蚕、菜青虫、甜菜夜蛾幼虫的感染试验采用微孢子虫悬浮液均匀喷洒在桑叶或甘蓝叶片上,26℃感染饲养的方法。以上试验,同时设饲喂正常饲料的空白对照,每个处理3次重复,每次重复30头虫,于感染后分别调查幼虫死亡率、化蛹率和成虫羽化率。

## 1.4 棉铃虫感染试验

将 $10^7$ 孢子/mL的微孢子虫悬浮液喷洒在0.5cm×0.5cm×0.2cm的人工饲料块上,待晾干后分别饲喂2,3,4,5龄的健康棉铃虫幼虫,同时设饲喂正常饲料的空白对照。每个处理3次重复,每一重复30头幼虫,置于30℃下感染饲养,并于感染后4,8,12,16d分别调查幼虫死亡率。 $10^5$ , $10^6$ 和 $10^7$ 孢子/mL3种浓度的微孢子虫接种2龄、3龄幼虫,在26℃下饲养,调查化蛹率、成虫羽化率和下一代幼虫死亡率。

幼虫死亡率=死亡幼虫数/供试虫数×100%

化蛹率=正常蛹数/供试虫数×100

成虫羽化率=正常羽化的成虫数/供试虫数×100%

下一代幼虫死亡率=下一代幼虫死亡数/下一代幼虫总数×100%

# 2 结果与分析

## 2.1 田间棉铃虫感染微孢子虫的调查

1997年在田间发现棉铃虫被微孢子虫感染,1998–2003年对棉铃虫微孢子虫病的发生情况进行了调查。结果表明,第1,2,3代棉铃虫未见微孢子虫感染;第4代棉铃虫微孢子虫病在不同年份发生情况不同(表1)。在1998,1999年微孢子虫的发生较轻,在2000–2002年棉铃虫发生严重,自然感染微孢子虫病也呈现了发生流行的趋势,感染率分别为49.0%,33.5%和26.2%。2003年棉铃虫中轻程度发生,调查中也未发现自然感病幼虫。因此可以推断,若环境中微孢子虫孢子或有感病的幼虫存在,如果寄主种群密度和环境条件适宜,微孢子虫在寄主种群中就有可能造成疾病的发生和流行,从而影响了当年的虫口基数,造成第2年的虫口密度减小,发生危害减轻。但是这种疾病在田间的具体发生流行规律如何,还需进行深入细致地调查研究。

## 2.2 微孢子虫对几种昆虫的感染试验

采用微孢子虫悬浮液( $10^7$ 孢子/mL)喷雾感染棉铃虫、玉米螟、粘虫、家蚕、菜青虫、甜菜夜蛾的卵,并将微孢子虫悬浮液喷雾于饲料表面,饲喂2龄幼虫。结果表明,该微孢子虫对棉铃虫的感染力最强,卵期接种,幼虫死亡率为100%,2龄幼虫期接种,大部分幼虫在化蛹前死亡,能够化蛹的个体均为畸形蛹;甜菜夜蛾与菜青虫的幼虫、蛹、成虫均能被感染。幼虫期死亡率低于蛹期和成虫期,卵期接种比2龄幼虫期接种的处理,各虫态死亡率均高,且甜菜夜蛾的敏感程度略高于菜青虫;玉米螟、粘虫、家蚕的幼虫、

蛹、成虫及后代均未发现被感染的虫体。由此可以明确,该微孢子虫不感染玉米螟、粘虫和家蚕(表 2)。

表 1 田间第 4 代棉铃虫的微孢子虫病发生情况调查

Tab. 1 The occurrence of microsporidian infected on the 4th generation larvae of <i>Helicoverpa armigera</i> in field					
年份 Year	世代 Generation	调查虫量 No. of investigation larvae	感染微孢子虫的幼虫数 No. of infected larvae	微孢子虫感染率/ % Infection rate	当年棉铃虫发生程度 The extent of <i>A. armigera</i> occurrence in current year
1998	4	420	0	0	中重
1999	4	380	10	2. 6	中重
2000	4	200	98	49. 0	中重
2001	4	230	77	33. 5	中重
2002	4	210	55	26. 2	中度
2003	4	180	0	0	中轻

表 2 棉铃虫微孢子虫对几种昆虫的感染试验

Tab. 2 The experiment of microsporidian infected on larvae of <i>Helicoverpa armigera</i> , <i>Spodoptera exigua</i> , <i>Pieris rapae</i> , <i>Leucania separata</i> , <i>Ostrinia furnacalis</i> and <i>Bombyx mori</i>					
昆虫种类 Insect species	卵期接种 Inoculation in egg stage			2 龄幼虫期接种 Inoculation in the 2nd instar larvae	
	幼虫死亡率/ % Larvae mortality	化蛹率/ % Pupation rate	成虫羽化率/ % Eclosion rate	化蛹率/ % Pupation rate	成虫羽化率/ % Eclosion rate
棉铃虫 <i>Helicoverpa armigera</i>	100	—	—	0	—
甜菜夜蛾 <i>Spodoptera exigua</i>	17. 8±1. 9	31. 1±6. 9	6. 7±3. 3	41. 1±1. 9	20±3. 3
菜青虫 <i>Pieris rapae</i>	14. 4±1. 9	41. 1±3. 8	7. 8±1. 9	43. 3±3. 3	23. 3±3. 3
粘虫 <i>Leucania separata</i>	0	100	98. 9±1. 9	100	100
玉米螟 <i>Ostrinia furnacalis</i>	0	100	100	100	97. 8±1. 5
家蚕 <i>Bombyx mori</i>	0	98. 9±1. 9	97. 8±1. 5	100	96. 7±0. 0

2.3 微孢子虫对棉铃虫的致病力

棉铃虫接种微孢子虫后(10<sup>7</sup>孢子/mL)(表 3),随着感染时间的增加,幼虫死亡率逐渐增加,2 龄和 3 龄幼虫感染,16 d 死亡率就分别达到了 100%,

87. 8%,由此可以说明该微孢子虫具有较强的致病力,10<sup>7</sup>孢子/mL 的浓度防治 2 龄幼虫可以达到控制当代种群数量的目的。

表 3 不同龄期的棉铃虫幼虫接种微孢子虫(10<sup>7</sup>孢子/mL)后的死亡率(26℃)

Tab. 3 The mortality of <i>Helicoverpa armigera</i> larvae infected with microsporidian in different instars(26℃)					
处理 Treatment		死亡率/ % Mortality			
		4 d	8 d	12 d	16 d
2 龄	接种	10±0. 0	63. 3±3. 4	90. 5±2. 5	100±0. 0
2nd instar	空白 CK	0	0	0	5. 6±2. 0
3 龄	接种	5. 0±1. 7	47. 8±2. 5	76. 7±1. 7	87. 8±3. 4
3rd instar	空白 CK	0	0	0	3. 3±1. 7
4 龄	接种	0	0	0	15. 6±2. 0
4th instar	空白 CK	0	0	0	0
5 龄	接种	0	0	18. 3±1. 7	28. 9±1. 9
5th instar	空白 CK	0	0	0	0

表 4 不同浓度的微孢子虫接种棉铃虫幼虫后对当代及下一代的影响(26℃)

Tab. 4 The effect of microsporidian on current generation and next generation of <i>Helicoverpa armigera</i> larvae infected with different concentration						
浓度 Concentration	接种 2 龄幼虫 Inoculated in the 2nd instar larvae			接种 3 龄幼虫 Inoculated in the 3rd instar larvae		
	化蛹率/ % Pupation rate	羽化率/ % Eclosion rate	下一代幼虫死亡率/ % Mortality of next generation larvae	化蛹率/ % Pupation rate	羽化率/ % Eclosion rate	下一代幼虫死亡率/ % Mortality of next generation larvae
10 <sup>5</sup> 孢子/mL	52. 2±1. 9	32. 2±5. 1	100	65. 6±3. 8	42. 2±3. 8	88. 9±3. 8
10 <sup>6</sup> 孢子/mL	24. 4±5. 1	13. 3±3. 3	不产卵	52. 2±3. 8	21. 1±1. 9	100
10 <sup>7</sup> 孢子/mL	0	—	—	16. 7±3. 3	11. 1±1. 9	不产卵
CK	98. 9±1. 9	96. 7±3. 3	6. 7±3. 3	97. 8±3. 8	95. 6±1. 9	7. 8±1. 9

3 种不同浓度的微孢子虫悬浮液接种棉铃虫幼虫,随着浓度的增加,其致病力明显增强(表 4)。10<sup>5</sup>~10<sup>6</sup>孢子/mL 的浓度接种 2 龄棉铃虫可以控制下

一代种群,当代化蛹率为 52. 2%, 24. 4%, 羽化率为 32. 2%, 13. 3%, 成虫不产卵或下一代幼虫全部死亡。10<sup>5</sup>孢子/mL 的浓度接种 3 龄期幼虫,其幼虫

65. 6%能够化蛹, 42. 2%羽化, 产的卵虽能孵化成幼虫, 但幼虫发育历期延长, 在化蛹前, 88. 9%的幼虫死亡, 存活的幼虫化畸形蛹或不能羽化。因此, 该微孢子虫在较低浓度下( $10^5$  孢子/mL), 可以控制下一代种群的数量。

### 3 讨 论

微孢子虫在田间可自然控制害虫的种群数量, 微孢子虫的传播途径又分为水平传播和垂直传播。当寄主种群的密度达到一定阈值时, 微孢子虫通过接触、食物、粪便等感染寄主, 进行水平传播; 微孢子虫也可以侵染雌虫的卵巢, 感病雌虫产下的卵也是感病的, 通过卵传播给寄主下一代, 即为垂直传播; 从而自然调节寄主昆虫的种群数量。Brooks W M等<sup>[9]</sup>报道发生在美国的美洲棉铃虫微孢子虫(*Nosema heliothidis*)能够调节美洲棉铃虫(*Helicoverpa zea*)的田间种群, 通过灯光诱集美洲棉铃虫成虫, 平均患病率为30%。本研究在1999–2003年调查了微孢子虫在玉米田第4代棉铃虫的发生情况, 结果表明, 2000–2002年随着棉铃虫严重发生, 微孢子虫病也呈现了发生流行的趋势, 随后2003年, 棉铃虫发生转轻, 其患病率也较轻; 从另一方面来讲, 由于微孢子虫病的发生和流行, 控制了越冬的虫口密度, 造成了第2年棉铃虫的发生较轻。

本项研究在室内测定结果表明, 感染微孢子虫的棉铃虫发育历期比正常幼虫延长6~20 d, 供试的棉铃虫微孢子虫 $10^7$  孢子/mL的浓度接种2, 3龄幼虫可以控制当代幼虫的数量,  $10^5\sim 10^6$  孢子/mL的浓度接种2龄幼虫可以控制下一代幼虫的数量。冉红凡等<sup>[13]</sup>通过透射电镜观察得出, 该微孢子虫在后期可以侵染棉铃虫的神经节, 这是该微孢子虫对棉铃虫幼虫致病力较强的原因之一。

本项研究还确定了棉铃虫微孢子虫的寄主昆虫为棉铃虫、甜菜夜蛾与菜青虫, 对家蚕具有安全性。但是因为微孢子虫是专性寄生的原生动物, 需要活体繁殖, 而棉铃虫、甜菜夜蛾与菜青虫的大规模群体

饲养较难, 因此如果工厂化生产微孢子虫, 还需要筛选适宜的替代寄主。

致谢: 河北省农林科学院植物保护研究所的胡明峻研究员、范秀华副研究员、冉红凡博士在本项研究中做了大量的工作, 在此谨表谢意!

### 参考文献:

- [1] 戴小枫, 郭予元. 棉铃虫的抗药性与治理[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995.
- [2] 夏兰芹, 徐琼芳, 郭三堆. 抗虫棉生长发育过程中Bt杀虫基因及其表达的变化[J]. 作物学报, 2005, 31(2): 197–202.
- [3] 郭建英, 周洪旭, 万方浩, 等. 转基因棉田节肢动物群落结构与动态[J]. 华北农学报, 2007, 22(6): 183–189.
- [4] 姚永生, 李春芳, 叶花香, 等. 虱螨脲对棉铃虫实验种群的生物活性研究[J]. 华北农学报, 2008, 23(增刊): 243–247.
- [5] 张 龙. 蝗虫微孢子虫及其在蝗害治理中的作用[J]. 生物学通报, 1999, 34(2): 11–13.
- [6] 王振华, 塔 娜, 严毓骅, 等. 蝗虫微孢子虫病在优势蝗虫种类中的持续传播[J]. 华北农学报, 2006, 21(2): 132–134.
- [7] 李社平, 问锦曾. 斜纹夜蛾微孢子虫一新种[J]. 中国农业科学, 1987, 20(1): 71–74.
- [8] 陈广文, 陈曲候. 甜菜夜蛾微孢子虫研究 III: 超微结构与致病机理[J]. 动物学报, 1999, 45(2): 121–128.
- [9] 张 龙, 严毓骅, 石旺鹏. 协调应用蝗虫微孢子虫与卡死克防治东亚飞蝗[J]. 中国生物防治, 1999, 15(2): 57–59.
- [10] 范秀华, 冯书亮, 王容燕. 棉铃虫微孢子虫的初步观察[J]. 植物保护学报, 2000, 27(4): 377.
- [11] 冯书亮, 付韵琴, 范秀华, 等. 几株高效苏云金杆菌菌株对玉米螟、棉铃虫、粘虫和黄地老虎的毒力测定[J]. 中国生物防治, 1995, 11(1): 22–25.
- [12] Brooks W M, Cranford J D. Host parasite relationships of *Nosema heliothidis* Lutz and Splendor[J]. Misc Publ Entomol Soc Am, 1978, 11: 51.
- [13] 冉红凡, 冯书亮, 潘文亮, 等. 棉铃虫幼虫感染棉铃虫微孢子虫后的组织病理学变化[J]. 昆虫学报, 2003, 46(1): 118–121.