

# 斜纹夜蛾核多角体病毒郴州株的生物学与应用研究

李小一<sup>1</sup>, 李宏光<sup>2</sup>, 曹健<sup>2</sup>, 罗经仁<sup>1</sup>, 曾维爱<sup>2\*</sup>, 周玲红<sup>1</sup>, 匡传富<sup>2</sup>, 成军平<sup>2</sup>, 李云霞<sup>1</sup>

(1. 郴州市农业科学研究所, 湖南 郴州 423000; 2. 中国烟草中南农业试验站郴州基地, 湖南 郴州 423000)

**摘要:** 本研究首次在湖南郴州分离出了斜纹夜蛾核多角体病毒 (*Spodoptera litura* nucleopolyhedrovirus, *SpliNPV*) 郴州株, 并对其室内生物活性分析和田间应用效果进行了系统研究。结果表明, 该病毒的人工繁殖方法以饲喂法较好, 病死率为 65.0%; 害虫染毒后 4~8 d 达死亡高峰, 高温、高湿、寡日照天气有利于病毒的发生流行; 此病毒的室内校正防效为 86.6%, 略优于已投入市场的病毒产品; 田间校正防效为 88.4%, 稍高于阿维菌素农药产品的防效; 病毒原液中的病毒多角体的浓度为  $1.03 \times 10^{11}$  OBs/mL, 为国内的强毒株。该病毒作为防治害虫的生物因子, 具有很好的应用开发前景。

**关键词:** 斜纹夜蛾核多角体病毒; 郴州株; 生物学; 防治效果

中图分类号: S435.72

文章编号: 1007-5119(2012)01-0081-04

DOI: 10.3969/j.issn.1007-5119.2012.01.018

## Biology and Application of *Spodoptera litura* nucleopolyhedrovirus Chenzhou Strain

LI Xiaoyi<sup>1</sup>, LI Hongguang<sup>2</sup>, CAO Jian<sup>2</sup>, LUO Jingren<sup>1</sup>, ZENG Weiai<sup>2\*</sup>, ZHOU Linghong<sup>1</sup>, KUANG Zhuanfu<sup>2</sup>, CHENG Junping<sup>2</sup>, LI Yunxia<sup>1</sup>

(1. Chenzhou Institute of Agricultural Sciences, Chenzhou, Hunan 423000, China; 2. Chenzhou Base, South-central Agricultural Experiment Station, CNTC, Chenzhou, Hunan 423000, China)

**Abstract:** The laboratory bioassay and field control efficacy of *Spodoptera litura* nucleopolyhedrovirus (*SpliNPV*) Chenzhou strain were preliminarily examined. The efficient artificial propagation method was used to feed the host larvae with virus suspension, the average mortality of the insects was 65.0%. The death peak of the pests was in 4-8 days after infecting the virus. The high temperature and humidity, and poor light could help this virus. Field control efficacy of Chenzhou strain was 86.6% in laboratory, which was better than another commercial strain. The corrected control efficacy of this strain was 88.4% in the fields, which was higher than that of avermectin pesticide significantly. It was detected that the occlusion body (OB) concentration of the initial virus's stock solution was  $1.03 \times 10^{11}$  OBs/ml, and it was a strong *SpliNPV* strain, as it showed an excellent efficacy to control the pest *Spodoptera litura*, there will be a good prospect of application and development of this *SpliNPV* strain.

**Keywords:** *Spodoptera litura* nucleopolyhedrovirus; Chenzhou strain; biology; control effect

斜纹夜蛾 (*Spodoptera litura*) 属鳞翅目夜蛾科, 是杂食性昆虫, 危害植物达 99 科 290 种以上, 其中主要的有 90 余种。它是我国粮、棉、烟草、蔬菜等作物的重要害虫, 也是世界上许多国家和地区的重要害虫之一<sup>[1]</sup>。湖南省郴州市作为国家优质烟叶主产区, 每年因斜纹夜蛾幼虫危害, 造成了严重的产量与质量损失, 且由于田间长期大量施用化学农药, 造成害虫抗药性、耐药性增强, 同时对烟田环境的动物性天敌杀伤严重。

利用昆虫病毒控制斜纹夜蛾已成为最佳选择。已有研究表明, 病毒类生物农药对斜纹夜蛾种群有明显的控制作用, 田间使用后斜纹夜蛾下代种群数量降至当代的 0.203 倍, 而化学防治区的下代种群数量上升至当代的 1.884 倍<sup>[2]</sup>。为此, 不少科研单位和企业都对斜纹夜蛾核多角体病毒 (*SpliNPV*) 进行了开发利用, 且已成功开发为生物杀虫剂<sup>[3]</sup>。目前, 斜纹夜蛾核多角体病毒已广泛地用来防治棉花、蔬菜、烟草、莲藕等作物上的斜纹夜蛾害虫,

基金项目: 湖南省烟草公司郴州市公司科技基金资助项目 (CZYC2008005); 中国烟草总公司湖南省公司科技基金资助项目 (09-11Aa30)

作者简介: 李小一, 男, 副研究员, 主要从事植物保护方面的科研工作。E-mail: lixiaoyi\_036@163.com。\*通信作者, E-mail: zwa10537@163.com

收稿日期: 2010-10-22

修回日期: 2011-05-24

其复配剂在小白菜上施用 3 d 后,防治斜纹夜蛾的防效可达 80%以上<sup>[3]</sup>。

为充分发挥斜纹夜蛾病毒生物防治的效果,作者们通过多年的努力,首次从湖南郴州分离出了斜纹夜蛾核多角体病毒 (*Spodoptera litura* nucleopolyhedrovirus, *SpliNPV*) 郴州株,并通过对该病毒株的接种、繁殖、防效试验、田间发生流行条件等方面的研究,探讨了该病毒的有效接种方法和繁殖方法,分析了其防治效果、发生流行特点。

## 1 材料与方法

### 1.1 病毒的接种与繁殖

对本地病毒株于 47 cm×47 cm×43 cm 的网箱或直径为 27 cm 的玻璃缸中隔离饲养繁殖,每缸每批饲养健康的 3~5 龄斜纹夜蛾幼虫 20~40 头,每箱每批饲养 40~100 头,饲养法每次饲养的第一批饲料为带毒的烟叶或空心菜叶,接种的病毒原液用清水稀释 500 倍。每天检查清理残叶及虫粪,及时添加无毒鲜叶,待害虫死后及时取出,剔除非病死虫,保留病死虫,按各病毒株分别装瓶,密封保存于家用冰柜 (0~5℃) 中,记载初始虫龄、虫数;每天病死虫数;其他死亡虫数、化蛹数、羽化数。

### 1.2 病毒原液的粗提取

把各病毒株病死虫虫体刺破,搅拌后用 2 层纱布于漏斗中进行过滤粗提,各原液密封保存于家用冰柜 (0~5℃) 中,待用。

### 1.3 病毒侵染、发生、流行特点的调查与试验

1.3.1 室内繁殖观察 在病毒接种繁殖过程中,观察并记载病毒原液量及稀释浓度、初始虫龄、虫数,处理后 2~11 d 每天的病死虫数、非病死虫数、化蛹虫数;于大烧杯中放置持水量为 15%~20% 的土壤约 3 cm,将病毒繁殖过程中收集的活蛹埋入烧杯土壤内,观察记载初始活蛹数、羽化数,分析病毒侵染、发生特点及致病力。

1.3.2 病虫虫粪的致病力试验 取病死虫的虫粪 5 g,用清水稀释 10 倍,涂抹于新鲜烟叶上,饲喂 4~5 龄健康幼虫 30~40 头,观察记载其病死虫数。

1.3.3 大田调查 烟草生产季节于大田进行普查,了解田间自然发生流行情况,调查并记载田间斜纹夜蛾密度、感染病毒死亡虫数及密度,收集本地气象资料,以便分析。

### 1.4 室内测试各病毒株的防效

取本地病毒株原液和河南产病毒株原液各 1 mL,稀释 500 倍,用新鲜烟叶浸渍 10 s,按以上病毒繁殖方法饲养健康的 3 龄斜纹夜蛾幼虫 30~50 头,设清水对照,饲养到化蛹,记载初始虫龄、虫数、每天病死虫数、其他死亡虫数,每天计数并清除病死虫,计算虫口减退率、相对防效,筛选出强毒株。

防效计算方法:

$$\text{虫口减退率} = \frac{\text{药前虫数} - \text{药后虫数}}{\text{药前虫数}} \times 100\%$$

$$\text{校正防效} = \frac{\text{各处理区虫口减退率} - \text{清水对照虫口减退率}}{1 - \text{清水对照虫口减退率}} \times 100\%$$

### 1.5 不同生物药剂的田间防效对比试验

1.5.1 各处理试验药剂 处理 1: 苏云金杆菌; 处理 2: *SpliNPV* (郴州株); 处理 3: 阿维菌素; 处理 4: 清水对照。

1.5.2 施药方法 于 2008 年 6 月 29 日斜纹夜蛾低龄 (2~3 龄) 高峰期施药,每株施药量 45 mL,对烟叶正反两面均匀喷雾,施药当天天气晴朗,无风。小区面积 12.5 m<sup>2</sup>; 重复 4 次。

1.5.3 调查方法、时间和次数 逐株逐叶调查,每小区调查 30 株,记数存活虫数,中期即药后 8 d 调查 1 次药害叶数。药前、药后 1、5、8、10 d 分别调查斜纹夜蛾存活虫数 1 次,共调查 5 次。

1.5.4 防效计算方法 方法同 1.4。

### 1.6 病毒株的形态学、分子和生物学检测分析

取本地病毒株原液样品 40 mL 送中国科学院武汉病毒所进行多角体的分离提纯和显微计数分析。

## 2 结果

### 2.1 病毒的接种与繁殖

通过 5 月 30 日—9 月 17 日用喂毒法对 2~5 龄

幼虫共接种病毒繁殖 7 次，其病死率与化蛹率分别为 65.0%、9.6%，且病死率随接种时虫龄的增高而降低，以 2 龄虫开始接种病死率最高，最高达 89.3%，5 龄虫接种后，最低病死率只有 28.0% (表 1)。

表 1 室内病毒接种繁殖

Table 1 Inoculation of the virus reproduction indoor with feeding method

接种日期/ (月-日)	虫龄/ 龄	初始 虫数/ 头	病死 虫数/ 头	病死 率/ %	化蛹 数/ 头	化蛹 率/%	平均 化蛹 率/%
05-30	2	28	25	89.3	1	3.6	9.6
06-05	4	18	15	83.3	2	11.1	
06-19	5	57	22	38.6	10	17.5	
06-26	5	50	14	28.0	5	10.0	
06-26	3、4	15	13	86.7	1	6.7	
07-17	4	58	38	65.6	8	13.8	
09-17	2	44	28	63.6	2	4.5	

2.2 病毒侵染特性

2.2.1 室内染病特点 斜纹夜蛾幼虫取食病毒后第 3 天开始死亡，4~8 d 达死亡高峰，平均病死率达 65.0%，化蛹率只有 9.6% (表 1)，且活蛹羽化率只有 24.3% (表 2)，正常情况下斜纹夜蛾的化蛹率与羽化率分别为 56.2%、87.1%以上<sup>[5]</sup>，可见幼虫一旦感染病毒后其一生都将带病而终；害虫取食病毒后所排出的粪便也含病毒，用病虫虫粪喂虫也可致幼虫病死，病死率为 12.0% (表 3)。

表 2 病毒繁殖中活蛹羽化率

Table 2 Insect feces virulence

日期/ (月-日)	初始蛹 数/头	死蛹数/ 头	羽化 数/头	羽化率/ %	平均羽 化率/%
06-05—06-24	8	5	3	37.5	24.3
06-30—07-10	6	6	0	0	
07-17—07-23	17	10	6	35.3	

表 3 虫粪致病力

Table 3 Viral reproduction rate of live pupae

日期/ (月-日)	初始虫数/ 头	病死虫数/ 头	病死率/ %	平均病死 率/%
06-11—06-21	35	4	11.4	12
06-16—06-26	40	5	12.5	

2.2.2 害虫室内接种病毒后发病的历期与温度关系 经 5—9 月室内接种病毒的 7 次试验观测数据分析得到，接种的初始虫龄与发病始期、死亡高峰的历期间的相关系数分别为-0.37、-0.31，即病毒的潜伏期与幼虫感染病毒的初始虫期无关，但幼虫自

接种到始发病或死亡高峰间的历期有随气温高低变化而变化的特点，在日均温 24.6 °C 时，病毒潜伏期为 6 d，死亡高峰在接种后第 8 天，当日均温为 25.0~30.0 °C 时，潜伏期则减为 3~5 d (表 4)。

表 4 害虫室内接种后发病的历期与温度的关系

Table 4 The relationship between incidenced pest's duration and temperature after the insects inoculated with virus indoor

批 次	日期/ (月-日)	初始 虫龄/龄	发病时间/d		日均温/°C	
			始发病	盛发病	接种至始发	接种至盛发
1	05-16—05-26	4	4	5	26.7	26.2
2	05-30—06-09	2	6	8	24.6	25.1
3	06-01—06-29	5	4	6	29	28.1
4	06-26—07-06	5	3	5	24.9	26.3
5	06-26—07-06	3.5	3	4	24.9	25.5
6	07-17—07-27	4	5	6	29.9	30.1
7	09-17—09-27	2	3	4	28.8	29.1

注：接种方法为饲喂法。

2.2.3 自然发生流行特点 由表 5 可知，田间始见发病虫为 6 月 10 日，6 月 12 日—7 月 16 日在田间幼虫盛发和气候适宜条件下流行，6 月 5 日—20 日为斜纹夜蛾第一代幼虫发生盛期，烟田中斜纹夜蛾幼虫在 6 月 15 日达百株虫量峰值为 317.6 头，同时达病死率高峰为 0.5%，7 月上中旬为斜纹夜蛾第二代幼虫发生盛期，烟田中斜纹夜蛾幼虫在 7 月 10 日达百株虫量峰值为 152.8 头，7 月 14 日达病死率高峰为 1.2%，害虫感病流行期的气象条件为高温高湿天气：温度为 27.0 °C (日均温 21.5~31.2 °C)、相对湿度为 79.0% (日湿度 60%~98%)、日照为 5.3 h/d (0~11.8 h/d)，且田间害虫染病死亡的时期都是在连续降雨的高温、高湿、寡日照天气之后。

2.3 不同病毒株的室内防治效果对比

2008 年 6 月利用 *SpliNPV* 郴州株与 *SpliNPV* 广州株 (河南生产) 的室内防效对比试验，设清水对

表 5 2008 年田间斜纹夜蛾幼虫量与发病情况

Table 5 Survey statistics of pest's number and incidence in field (2008)

调查对象	始发 期/(月-日)	各代盛发 期/(月-日)	高峰日 期/(月-日)	发病高峰虫 量/(头·百株 <sup>-1</sup> )	发病高峰 病死率/%
<i>Spodoptera litura</i>	05-25	06-05—06-20	06-15	317.6	-
		06-30—07-15	07-10	152.8	-
<i>SpliNPV</i>	06-10	06-12—06-30	06-15	-	0.5
		07-05—07-16	07-14	-	1.2

照,分别用饲喂法接种 2 龄幼虫 30~50 头,郴州株与广州株的校正防效分别为 86.6%、84.6%,郴州病毒株的防效略优于商业化的广州病毒株(表 6)。

表 6 室内防效对比试验

Table 6 Comparative test of control effect indoor

处理	初始虫量/头	病死虫数/头	病死率/%	其他死亡/头	死亡合计/头	虫口减退率/%	校正防效/%
广州病毒	30	19	63.3	8	27	90	84.6
郴州病毒	46	31	67.4	11	42	91.3	86.6
清水(对照)	40	0	0	14	14	35	-

#### 2.4 不同生物药剂的田间防治效果对比

田间使用 3 种生物药剂防治斜纹夜蛾的防效见表 7, 结果可知, 施药后第 8 天, 3 种生物药剂对斜纹夜蛾均有较好的防效, 郴州病毒株稀释 3000 倍后的校正防效达 88.4%, 高于阿维菌素的防效。

表 7 田间防治效果对比试验调查结果

Table 7 Field control effect comparative test findings

处理	浓度/(mg·kg <sup>-1</sup> )	施药前初始虫数/头	施药后 8 d 存活数/头	减退数/头	减退率/%	校正防效/%
苏云金杆菌	1000	64	1	63	98.4	93.4
斜纹夜蛾病毒(郴州株)	333.3	65	2	63	97.2	88.4
阿维菌素	250	77	4	73	94.8	78.5
清水(对照)	-	95	23	72	75.8	-

#### 2.5 本地病毒株的检测分析结果

对送检的斜纹夜蛾核多角体病毒(*SpliNPV*)郴州株的原液, 在 2 °C 冰箱中保存 10 个月后进行多项检测, 经分离后镜检出病毒原液中的病毒颗粒浓度为  $1.03 \times 10^{11}$  OBs/mL; 经限制性内切酶分析, 其电泳图谱与广州病毒株的图谱比较近似<sup>[6]</sup>, 但有差异, 可初步确定该病毒株属于郴州分离株。

### 3 结 论

本研究通过对本地斜纹夜蛾核多角体病毒(*Spodoptera litura nucleopolyhedrovirus*, *SpliNPV*)郴州株的室内生物活性分析和田间应用效果研究。结果表明, 该病毒的人工繁殖方法以饲喂法较好, 病死率为 65.0%, 室内校正防效为 86.6%, 略优于

已投入市场的病毒产品, 田间校正防效为 88.4%, 稍高于阿维菌素农药产品的防效; 病毒原液中的病毒多角体的浓度为  $1.03 \times 10^{11}$  OBs/mL, 为国内的强毒株。而且, 通过国家级科研机构专业性的检测分析, 本地病毒株是 *SpliNPV* 郴州分离株, 也为斜纹夜蛾核多角体病毒(*SpliNPV*)的资源库提供了一个新的材料<sup>[6-7]</sup>。

进一步通过利用国内现有的斜纹夜蛾核多角体病毒两个不同分离株(广州株和郴州株)的毒性高低的室内外防治效果对比试验和生物活性测定, 由于郴州株的室内外防效高及半致死中量低<sup>[6]</sup>, 郴州株应属于二者的强毒株。这些结果显示, 该病毒作为防治害虫的生物因子, 具有很好的应用开发前景。

致 谢: 本研究得到湖南农业大学肖启明、谭济才、陈永年 3 位教授以及中国科学院武汉病毒研究所孙修炼研究员、宗三林副研究员, 中国科学院动物研究所戈峰研究员的悉心指导, 在此一并表示衷心的感谢!

#### 参考文献

- [1] 黄志鹏, 余剑开, 黄必旺, 等. 斜纹夜蛾核型多角体病毒的分离及感染力测定[J]. 福建农业大学学报, 1998, 27(2): 181-184.
- [2] 应霞玲, 陈若霞, 古斌权. 病毒类生物农药对斜纹夜蛾田间种群的控制作用[J]. 浙江农业科学, 2000(5): 233-235.
- [3] 蒲蛰龙. 昆虫核型多角体病毒及斜纹夜蛾病毒杀虫剂的利用[J]. 长江蔬菜, 1990(6): 20-21.
- [4] 易敏, 徐树兰, 汤历, 等. 30 亿 PIB/g 斜纹夜蛾核多角体病毒 5% 甲维盐悬浮剂防治小白菜斜纹夜蛾药效试验[J]. 广东农业科学, 2010(8): 140-142.
- [5] 李小一, 陈永年, 王雪梅, 等. 斜纹夜蛾生命表试验研究[J]. 烟草科技, 2001(4): 44-46.
- [6] 曾维爱, 李小一, 邓正平, 等. 斜纹夜蛾核多角体病毒郴州株的形态学、基因组酶切图谱及生物活性测定[J]. 中国烟草科学, 2010, 31(3): 41-44.
- [7] 孙修炼, 胡志红. 我国昆虫病毒杀虫剂的研究与应用进展[J]. 中国农业科技导报, 2006, 8(6): 33-37.