

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2015.03.008

EoNPV 不同品系的致病力及增效作用的研究^①

王晓庆¹, 冉烈², 彭萍¹, 胡翔¹

1. 重庆市农业科学院茶叶研究所, 重庆永川 402160; 2. 重庆文理学院 林学与生命科学学院, 重庆永川 402160

摘要: 测定了两品系 EoNPV 对信阳茶尺蠖种群幼虫的毒力及茶皂素和卵磷脂对其的增效作用。结果表明: W-EoNPV (湖北省农业科学院果茶研究所提供) 的毒力强于 Z-EoNPV (中国农业科学院茶叶研究所提供)。用 1, 2, 4 mg/mL 茶皂素和 EoNPV 混用, 最高质量浓度 (4 mg/mL) 可显著提高 Z-EoNPV 和 W-EoNPV 对茶尺蠖的毒力, 接种 14 d 后, 其死亡率比单用病毒分别提高了 16.34% 和 13.22%。2 mg/mL 茶皂素对 Z-EoNPV 有显著的增效作用, 14 d 后的防治效果提高了 12%, 但对 W-EoNPV 的效果不明显, 而茶皂素最低质量浓度 (1 mg/mL) 对 2 株病毒基本无增效作用。卵磷脂各质量浓度可提高 W-EoNPV 对茶尺蠖的致死率, 接种 14 d 后, 质量浓度由高至低分别使死亡率提高 16.25, 6.25 和 4.1 个百分点, 而卵磷脂对 Z-EoNPV 的增效作用极不明显。茶皂素和卵磷脂的最高质量浓度与 EoNPV 混合使用均可缩短 LT_{50} , 但低质量浓度不明显。

关键词: EoNPV; 茶尺蠖; 毒力; 茶皂素; 卵磷脂; 增效作用

中图分类号: S433

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2015)03-0048-05

茶尺蠖 *Ectropis obliqua* Prout 属鳞翅目尺蠖蛾科 Geometridae 害虫, 分布遍及各主产茶区, 是我国常发性主要茶树害虫之一^[1]。由于常年采用化学防治, 导致杀伤天敌、害虫抗药性增强、茶叶中农药残留量高、环境污染等问题, 影响茶叶出口和人体健康^[2]。茶尺蠖核型多角体病毒 (EoNPV) 杀虫剂是一种对人畜安全、不污染环境的生物农药^[3]。但茶尺蠖病毒水剂喷施后幼虫死亡速度慢, 食叶量较大, 当虫口密度大时, 茶叶损失也较大。此外在高温季节喷施, 幼虫期的死亡率降低^[2], 且对不同地理种群茶尺蠖的防治效果表现出地区差异性^[4-6]。寻找提高病毒感染的增效剂, 是当前茶尺蠖病毒防治的一大探索性课题。

目前, 对病毒增效剂的研究包括生物增效剂和化学增效剂^[7]。化学增效剂包括化学农药、荧光增白剂等。光增白剂不仅能增强病毒的感染性, 而且能有效保护杆状病毒免受紫外线辐射损伤, 同时还在一定范围内扩大病毒宿主域, 是一种很有应用潜力的杆状病毒增效因子^[8-9]。万成松等^[10]将化学杀虫剂和大豆卵磷脂与棉铃虫 HaNPV 混用, 均提高了 HaNPV 的毒力, 缩短了致死中时间 (LT_{50})。而生物增效剂主要包括病毒蛋白、微生物制剂以及植物源提取物等。孙以文等^[11]就植物源提取物蛇床子素对苜蓿银纹夜蛾核型多角体病毒 (AcNPV) 的增效作用进行研究, 蛇床子素作用于甜菜夜蛾幼虫时对 AcNPV 有显著增效作用, 但对病毒杀虫速度无明显提高作用。粘虫颗粒体病毒 PuGV-Ps 及其增效因子对粘虫核型多角体病毒 PsNPV 均有明显的增效作用^[12]。

茶叶是全球性三大饮料之一, 推广使用生物农药防治害虫, 有助于确保茶叶的食品安全生产。但目前, 生物农药仍然存在药效慢、防效不甚理想等弊端。在茶树上生物制剂与其他药剂混用已有研究报道, 喷施病毒 Bt 混剂和农药混剂后, 茶尺蠖幼虫的食叶量下降, 且气温对效果的影响也较小^[2]。茶皂素与雷公藤乳油混合使用, 可明显提高雷公藤乳油对茶尺蠖幼虫的防效^[13]。鉴于茶树作为茶叶的原料来源, 本文选用相对安全的茶皂素和卵磷脂的增效剂, 研究它们对 2 个地理品系病毒 (EoNPV) 的增效作用, 同时也测定了两个品系对信阳茶尺蠖种群幼虫的毒力, 从而针对此种群的茶尺蠖筛选出较好的病毒品系及增效剂, 为生产

① 收稿日期: 2013-09-18

基金项目: 农业部国家茶叶产业技术体系基金 (CARS-23); 重庆市科委基础与前沿研究项目 (CSTC2013jcyjA80031)。

作者简介: 王晓庆 (1982-), 女, 内蒙古乌市人, 助理研究员, 主要从事茶树害虫测报与综合防控研究。

通信作者: 彭萍, 研究员。

实践提供理论基础。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

茶尺蠖虫源 采自河南信阳经室内继代饲养供试；

饲虫食料 重庆市农业科学院茶叶研究所试验场福鼎大白茶品种的茶树叶片；

EoNPV 两个地理品系分别来自中国农业科学院茶叶研究所(简称 Z-EoNPV)，湖北省农业科学院果茶研究所(简称 W-EoNPV)；

62.36%茶皂素原粉(浙江东方茶叶科技有限公司)；大豆卵磷脂(浙江全金药业股份有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 EoNPV 病毒液的制备

称取一定重量感染病毒的茶尺蠖死虫体，放入 150 mL 的烧杯内，加蒸馏水(1g 虫体加蒸馏水 20 mL)研磨；用 3 层纱布过滤(6 单层)，蒸馏水反复冲洗；将液体倒入离心管内，平衡后，600 r/min 离心 10 min，取上清液；3 500 r/min 离心 30 min，弃上清，用蒸馏水充分悬浮沉淀，如此差速离心 3~4 次。显微镜计数，分别将两品系病毒稀释成适宜浓度系列备用。

1.2.2 EoNPV 室内的生物测定

分别将茶皂素和卵磷脂与两品系病毒(2×10^7 PIB/mL)等体积混合，茶皂素和卵磷脂的终浓度分别为 4 mg/mL, 2 mg/mL, 1 mg/mL 和 10 mg/mL, 5 mg/mL, 1 mg/mL。剪取新鲜干净茶梢，在混合悬液和系列浓度的病毒悬液中浸湿后自然晾干，摘取适当的茶梢嫩叶，分别放入玻璃罐头瓶中，接入 2 龄茶尺蠖健康幼虫，每瓶 10 头，并以清水浸湿茶梢饲虫为对照，每处理 4 个重复；饲毒 3 天后更换无毒茶叶继续饲养；观察幼虫生长情况，自幼虫出现死亡时起，每日记录幼虫死亡数、剩余活虫数及其龄期，直至幼虫化蛹或死亡。

1.3 数据分析

统计各种群死虫数与活虫数，计算死亡率，利用 Excel2003 进行数据分析，利用 SPSS17.0 分析 EoNPV 单用对茶尺蠖幼虫的致死中浓度(LC_{50})和致死中时间(LT_{50})，及其与茶皂素和卵磷脂混用对茶尺蠖的致死中时间(LT_{50})。

2 结果与分析

2.1 两地理品系病毒对茶尺蠖的毒力和致死时间

由表 1 可知，两茶尺蠖病毒品系对其幼虫的敏感性明显不同，W-EoNPV 和 Z-EoNPV 的 LC_{50} 分别为 1.08×10^6 PIB/mL 和 9.85×10^6 PIB/mL。W-EoNPV 的毒力是 Z-EoNPV 的 9 倍。回归方程的拟合优度经 X^2 检验，结果显示 $X^2 = 4.565$ ， $P = 0.207$ ，拟合良好。

由表 2 数据可知，接毒 5~14 d 后，在处理浓度为 1.0×10^7 PIB/mL 的情况下，茶尺蠖幼虫接毒后死亡率达到 50% 左右时，两病毒品系中 W-EoNPV 的致死中时间(LT_{50})短；Z-EoNPV 比 W-EoNPV 的 LT_{50} 要多 2.6 d。同样，回归方程的拟合优度经 X^2 检验，认为拟合良好。综合分析两病毒品系的 LC_{50} 和 LT_{50} ，充分说明 W-EoNPV 品系对信阳茶尺蠖种群的毒力强。

表 1 EoNPV 病毒品系对茶尺蠖幼虫的 LC_{50}

病毒品系	回归方程	LC_{50} /(PIB · mL ⁻¹)	95% 置信区间	卡方值 $X_{0.05}^2$	P
W-EoNPV	$Y = -5.017 + 0.819x$	1.08×10^6	$5.64 \times 10^5 \sim 2.01 \times 10^6$	4.565	0.207
Z-EoNPV	$Y = -11.275 + 1.612x$	9.85×10^6	$6.20 \times 10^6 \sim 1.41 \times 10^7$	4.146	0.246

表 2 EoNPV 病毒品系感染茶尺蠖幼虫的 LT_{50}

病毒品系	回归方程	LT_{50} /d	95% 置信区间	卡方值 $X_{0.05}^2$	P
W-EoNPV	$Y = -6.395 + 0.546x$	11.70	11.22~12.25	2.231	0.973
Z-EoNPV	$Y = -4.045 + 0.283x$	14.30	13.10~16.72	2.444	0.964

2.2 茶皂素对两地理品系病毒防治茶尺蠖效果的增效作用

从2株病毒(10^7 PIB/mL)加不同质量浓度的茶皂素感染2龄茶尺蠖幼虫的死亡率可见(图1),茶皂素最高质量浓度(4 mg/mL)可显著提高Z-EoNPV和W-EoNPV对茶尺蠖的致死效果,接种14 d后,死亡率从单用病毒的48.94%和81.25%分别提高到65.28%和94.72%;但茶皂素最低质量浓度(1 mg/mL)无增效作用.对于Z-EoNPV来讲,接毒后不同时间防治效果的总体趋势和单用病毒基本一致;对于W-EoNPV的增效作用,从接毒8 d后开始显现,但14 d后的防治效果趋于一致.同时,茶皂素的中间质量浓度2 mg/mL对Z-EoNPV有显著的增效作用,14 d后防治效果提高12%;但对W-EoNPV的效果不明显.故茶皂素4 mg/mL质量浓度可作为病毒防治茶尺蠖的增效剂,而低质量浓度时作用效果不明显.

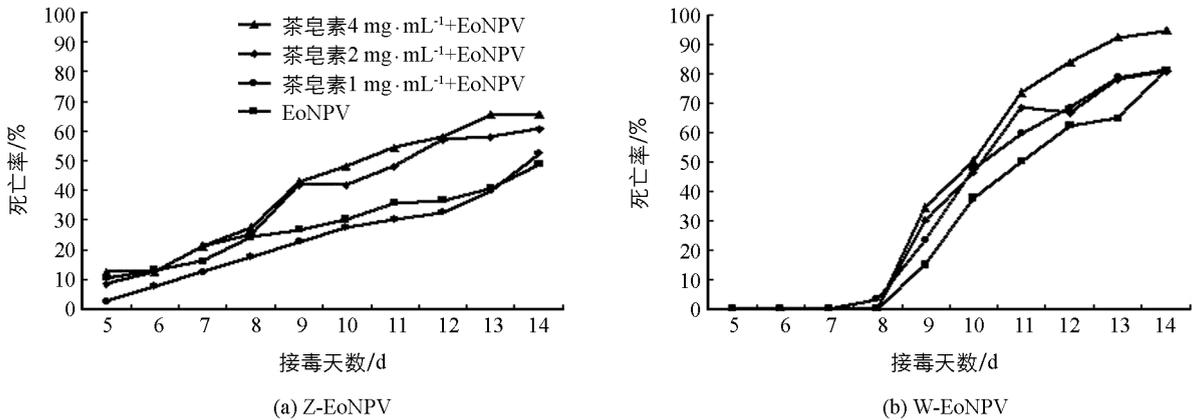


图1 茶皂素与武汉病毒和杭州病毒混合对茶尺蠖的时间-死亡率曲线

2.3 卵磷脂对两地理品系病毒防治茶尺蠖效果的增效作用

通过统计分析2株病毒(10^7 PIB/mL)加不同质量浓度的大豆卵磷脂感染2龄茶尺蠖幼虫的死亡率可知(图2),卵磷脂各质量浓度均可提高W-EoNPV对茶尺蠖的致死率,接种14 d后,卵磷脂10 mg/mL, 5 mg/mL, 1 mg/mL质量浓度分别使死亡率提高16.25, 6.25和4.1个百分点,以高质量浓度卵磷脂的增效作用最明显,对茶尺蠖的防治效果由81.25%上升到97.5%.但卵磷脂对Z-EoNPV的增效作用极不明显,最高质量浓度处理只提高2.72个百分点.

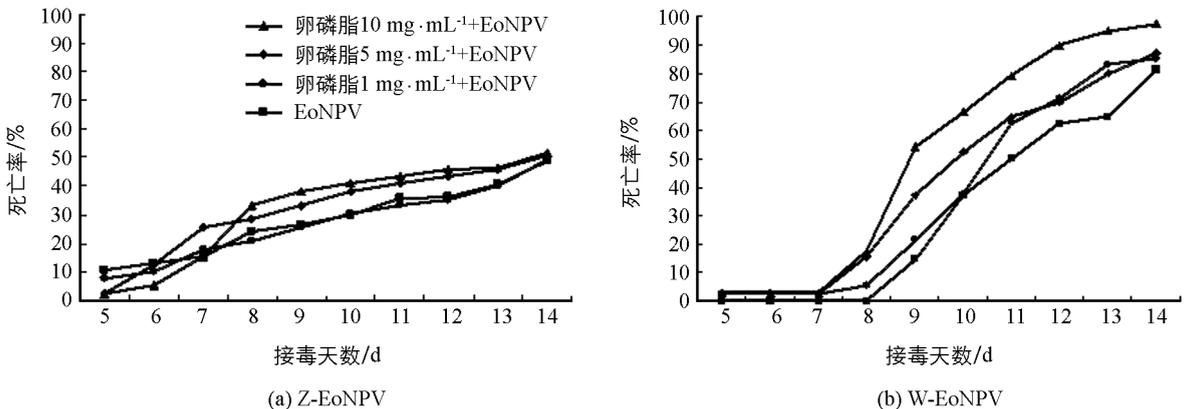


图2 卵磷脂与武汉病毒和杭州病毒混合对茶尺蠖的时间-死亡率曲线

2.4 茶皂素和卵磷脂与两地理品系病毒混用对茶尺蠖的致死速效性

从 LT_{50} 的结果可看出(图3),与EoNPV单独感染相比,茶皂素(4 mg/mL)可提前W-EoNPV和Z-EoNPV对茶尺蠖的致死中时间, LT_{50} 分别由11.70 d和14.30 d提前到10.27 d和10.93 d;卵磷脂(10 mg/mL)亦可提前2株病毒对茶尺蠖的致死中时间, LT_{50} 分别缩短了2.4 d和1.77 d.但茶皂素和卵磷脂最低质量浓度(1 mg/mL)的 LT_{50} 效果甚微,说明茶皂素和卵磷脂达到一定质量浓度后对病毒才具有显著增效作用.

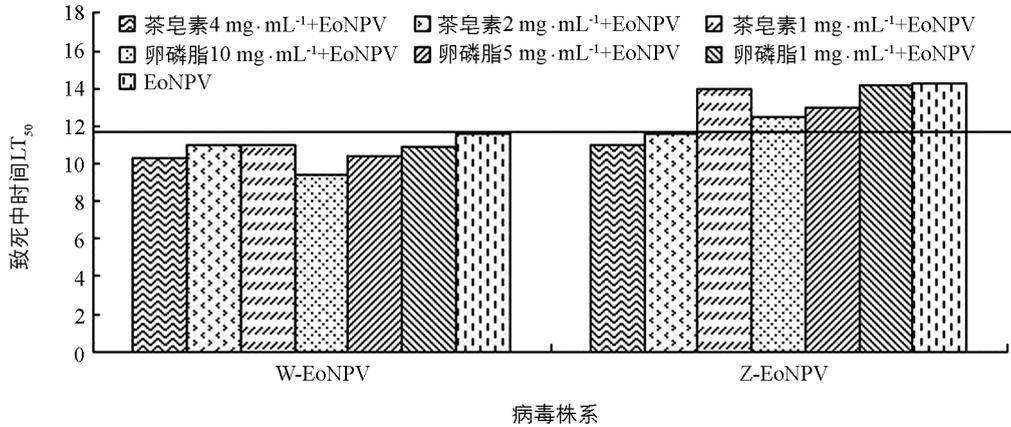


图 3 2 株病毒与茶皂素和卵磷脂混合对茶尺蠖的 LT_{50} 比较

3 讨论

昆虫病毒的不同地理品系间因遗传分化程度不同对同种昆虫的致病力发生了变化^[14]. LdMNPV 不同地理品系对舞毒蛾幼虫的毒力有显著差异^[9]. 同时, 笔者也发现茶尺蠖对不同地理品系 EoNPV 的敏感性存在地理差异^[5]. 本文结果表明 W-EoNPV 对信阳茶尺蠖种群幼虫的致病力强于 Z-EoNPV, 且在 8 个种群中, 信阳茶尺蠖种群对 Z-EoNPV 的抗性最强^[5].

利用生物和化学因子来促进病毒等杀虫剂的功效^[15-16], 增加其毒力, 是拓展杆状病毒杀虫剂应用的重要途径. 本研究发现, 茶皂素对两品系病毒具有增效作用, 本试验以茶皂素 4 mg/mL 质量浓度的效果最显著, W-EoNPV 和 Z-EoNPV 的 LT_{50} 分别提前 1.26 d 和 3.35 d; 2 mg/mL 茶皂素对 Z-EoNPV 增效作用, 14 d 后的防治效果提高了 12%; 但对 W-EoNPV 的效果不明显. 故 4 mg/mL 的茶皂素更适合作为病毒的增效剂. 选择高质量浓度的茶皂素, 以较大比例与病毒混配后使用, 防效增加明显, 具有良好的应用价值, 通过减少病毒的用量, 还可降低成本, 这与有关报道相一致^[17].

大豆卵磷脂与棉铃虫 HaNPV 混用, 提高 HaNPV 的毒力, 缩短 LT_{50} ^[10]. 而本研究发现, 大豆卵磷脂对不同品系病毒的增效作用有差异, 对 W-EoNPV 毒力的增效作用显著高于 Z-EoNPV; LT_{50} 分别缩短了 2.1 d 和 1.75 d, 差异不明显. 卵磷脂是大豆油脂工业的主要副产品, 这就为卵磷脂作为昆虫病毒杀虫剂的辅助剂提供了丰富的来源^[18]. 大豆卵磷脂还是一种天然的乳化剂和混悬稳定剂. 因此, 大豆卵磷脂可考虑作为病毒杀虫剂剂型配制的一种优良辅料^[10].

病毒制剂与其他药剂的混用可减少二者的用量, 降低生产成本, 降低害虫抗性的选择压, 延缓抗性的产生, 在茶尺蠖综合防治中具有重要意义. 但目前化学增效剂对杆状病毒增效研究在田间试验效果并没有试验室内的效果明显, 分析其原因可能是在自然条件下, 杆状病毒的杀虫效果会受到诸多因素的影响. 增效因子是否与自然环境相和谐, 是影响增效因子发挥作用的重要因素^[19]. 对茶尺蠖病毒增效途径的作用机理有待进一步研究, 这将有助于茶尺蠖病毒制剂的高效应用.

致谢: 试验所需茶尺蠖种群由河南省信阳市农业科学研究所赵丰华等同志采集; 病毒分别由湖北省果茶研究所、中国茶叶研究所提供, 在此一并致谢.

参考文献:

- [1] 张汉鹄, 谭济才. 中国茶树害虫及其无公害治理 [M]. 合肥: 安徽科学技术出版社, 2004: 155-160.
- [2] 殷坤山, 陈华才, 肖强, 等. 茶尺蠖核型多角体病毒制剂的试制与推广应用 [J]. 中国病毒学, 2000, 15(S1): 81-84.
- [3] 陈棣华, 孙维山. 茶尺蠖核型多角体病毒对三种有益昆虫的安全性试验 [J]. 中国茶叶, 1986, 8(4): 38-39.
- [4] 王晓庆, 盛忠雷, 彭萍, 等. 不同的茶尺蠖地理种群增长差异性研究 [J]. 西南师范大学学报: 自然科学版, 2013, 38(1): 68-71.
- [5] 王晓庆, 彭萍, 胡翔, 等. 茶尺蠖对不同品系 EoNPV 敏感性的地理差异研究 [J]. 西南农业学报, 2013, 26(3): 1062-1065.
- [6] 席羽. 茶尺蠖地理种群对茶尺蠖核型多角体病毒的敏感性差异及遗传变异研究 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2011.
- [7] 郭慧芳, 方继朝, 韩召军. 昆虫病毒增效剂研究进展 [J]. 昆虫学报, 2003, 46(6): 766-772.

- [8] 朱 蓉, 彭建新, 洪华珠. 光增白剂对杆状病毒的增效作用及机理 [J]. 中国生物防治, 2001, 17(4): 175-178.
- [9] 王树娟, 段立清, 李海平, 等. 荧光素对舞毒蛾核型多角体病毒不同地理品系的增效与光保护作用 [J]. 生态学报, 2012, 32(6): 1796-1802.
- [10] 万成松, 孙修炼, 张光裕. 棉铃虫核型多角体病毒与化学杀虫剂和卵磷脂混用的增效作用 [J]. 昆虫学报, 2000, 43(4): 346-355.
- [11] 孙以文, 郭慧芳. 蛇床子素对苜蓿银纹夜蛾核型多角体病毒的增效作用 [J]. 江苏农业科学, 2011, 39(3): 134-136.
- [12] 刘 强, 丁 翠. 粘虫颗粒体病毒及其增效因子对粘虫核型多角体病毒的增效作用 [J]. 应用与环境生物学报, 1999, 5(3): 300-304.
- [13] 董道青, 陈建明, 俞晓平, 等. 茶皂素对雷公藤乳油防治茶尺蠖幼虫的增效作用 [J]. 茶叶科学, 2008, 28(3): 228-233.
- [14] 吕鸿声. 昆虫病毒与昆虫病毒病 [M]. 北京: 科学出版社, 1982.
- [15] 王金山, 邓新平, 龚传秀, 等. 混配增效剂对3种杀虫剂的增效作用研究 [J]. 西南师范大学学报: 自然科学版, 2007, 32(3): 96-101.
- [16] 郭慧芳, 方继朝, 罗伟杰, 等. 不同昆虫病毒对斜纹夜蛾和甜菜夜蛾的联合增效作用 [J]. 中国生物防治, 2003, 19(1): 23-26.
- [17] 王小艺, 黄炳球. 茶皂素对农药的增效机理 II. 对药液接触角的影响 [J]. 茶叶科学, 1998, 18(2): 129-133.
- [18] 孟小林, 侯小辉, 夏 军, 等. 卵磷脂促进小菜蛾颗粒体病毒感染的研究 [J]. 中国病毒学, 1993, 8(2): 189-192.
- [19] 张建军, 周成刚, 郭光智, 等. 杆状病毒杀虫剂增效途径研究进展 [J]. 山东农业大学学报: 自然科学版, 2004, 35(1): 154-158.

Study on the Virulence and the Synergistic Effect of EoNPV Isolates Against the Larvae of Geometrid *Ectropis obliqua* Prout

WANG Xiao-qing¹, RAN Lie², PENG Ping¹, HU Xiang¹

1. Tea Research Institute, Chongqing Academy of Agricultural Sciences, Yongchuan Chongqing 402160, China;

2. College of Forestry and Life Science, Chongqing University of Arts and Sciences, Yongchuan Chongqing 402160, China

Abstract: The virulence of EoNPV (*Ectropis obliqua* Nuclear Polyhedrosis Virus) isolates against the larvae of geometrid (*Ectropis obliqua* Prout) and the synergistic effect of tea saponin or lecithin on EoNPV were determined. The results indicated that the virulence of W-EoNPV (provided by Fruit and Tea Institute of Hubei Academy of Agricultural Sciences) was greater than that of Z-EoNPV (provided by Tea Institute of Chinese Academy of Agricultural Sciences). Tea saponin added at a concentration of 4 mg/ml had significant synergistic actions on Z-EoNPV and W-EoNPV against *E. obliqua* larvae. Tested on the 14th day after the treatment, the corrected mortality of the pest was significantly increased by 16.34% and 13.22%, compared with Z-EoNPV and W-EoNPV, respectively. Tea saponin added at a concentration of 2 mg/ml against larvae of *E. obliqua* had a significant synergistic action on Z-EoNPV, the corrected mortality being increased by 12%, while no significant differences were found on W-EoNPV. There were no significant synergistic actions on either Z-EoNPV or W-EoNPV with tea saponin added at the concentration of 1 mg/ml. Lecithin added at a concentration of 10, 5 or 1 mg/ml to W-EoNPV increased the corrected mortality of larvae of *E. obliqua*. On the 14th day after treatment, the corrected mortality was increased by 16.25%, 6.25% or 4.1% respectively, while no synergistic action of lecithin on Z-EoNPV was detected. Tea saponin and lecithin added at their highest concentration shortened the lethal duration of EoNPV, but no obvious effect was found at other concentrations.

Key words: EoNPV (*Ectropis obliqua* Nuclear Polyhedrosis Virus); *Ectropis obliqua*; virulence; tea saponin; lecithin; synergistic effect

