

DOI:CNKI:61-1390/S.20110907.1100.019

网络出版时间:2011-09-07 11:00

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20110907.1100.019.html>

3 株苹果蠹蛾颗粒体病毒本土株的 毒力测定与田间防效

甘恩宇^{a,b}, 李晓峰^{a,b}, 于欢^b, 吴正伟^b, 徐利^{a,b}, 张雅林^b, 王敦^{a,b}

(西北农林科技大学, ^a 生命科学学院, ^b 植保资源与病虫害防治教育部重点实验室, 陕西 杨凌 712100)

[摘要] **【目的】**通过与比利时商用病毒株系 CypoGV-BG 的对比,研究 3 株国内苹果蠹蛾(*Cydia pomonella*)颗粒体病毒株系 CypoGV-ZY、CypoGV-KS1、CypoGV-KS2 的毒力和田间防治效果,为我国苹果蠹蛾的生物防治和病毒杀虫剂的研制奠定基础。**【方法】**采用饲喂法研究 3 株病毒对苹果蠹蛾 3 龄幼虫的毒力大小。以性诱剂诱集的雄虫数量和受害果率为评价指标,检测 3 株苹果蠹蛾颗粒体病毒的田间防效。**【结果】**3 株国内株系 CypoGV-ZY、CypoGV-KS1 和 CypoGV-KS2 对苹果蠹蛾 3 龄幼虫的 LD_{50} 分别为 3.43×10^4 , 8.81×10^4 和 1.04×10^5 OBs/mL,优于 CypoGV-BG 的 5.31×10^5 OBs/mL;而病毒浓度为 5×10^5 OBs/mL 时,3 株病毒株系的 LT_{50} 分别为 4.05, 4.11 和 4.19 d,与 CypoGV-BG 的 4.98 d 差异不显著。田间防效结果表明,防治 3 个月后,从性诱剂诱集的雄虫数量看,3 株本土病毒株防效均显著优于 CypoGV-BG;从果实受害率看,CypoGV-ZY、CypoGV-KS1 的果实受害率分别为 39.5% 和 41.3%,与化学杀虫剂灭幼脲的防效(36.9%)接近,显著强于 CypoGV-KS2 和 CypoGV-BG。**【结论】**CypoGV-ZY 和 CypoGV-KS1 分离株对我国西北疫区的苹果蠹蛾具有较强的毒力及田间防治效果,防效明显优于国外商品病毒制剂。

[关键词] 苹果蠹蛾颗粒体病毒;毒力测定;田间防效

[中图分类号] S476

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2011)10-0119-04

Virulence determination for three native *Cydia pomonella* granulovirus strains and their control effect in field

GAN En-yu^{a,b}, LI Xiao-feng^{a,b}, YU Huan^b, WU Zheng-wei^b,

XU Li^{a,b}, ZHANG Ya-lin^b, WANG Dun^{a,b}

(^a College of Life Sciences, ^b Ministry of Education Key Laboratory of Plant Protection Resources & Pest Management,
Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: **【Objective】** Compared with a commercial *Cydia pomonella* granulovirus strain from Belgium CypoGV-BG, the virulence determination and control effects in field were studied for three native *C. pomonella* granulovirus strains CypoGV-ZY, CypoGV-KS1 and CypoGV-KS2 isolated from northwest of China. It would provide a foundation for biological control of *C. pomonella*. **【Method】** The LD_{50} and LT_{50} were carried out by bioassay on three native *C. pomonella* granuloviruses and the commercial strain CypoGV-BG against instar *C. pomonella* larvae. Quantity of trapped insects by pheromone lure and fruit damage percentage rate were used to evaluate the control effect in field for these four strains. **【Result】** The

* [收稿日期] 2011-05-30

[基金项目] 公益性行业(农业)科研专项(200903042);西北农林科技大学基本科研业务费项目(CX200907, PY200903)

[作者简介] 甘恩宇(1987—),男,四川汉源人,在读硕士,主要从事病毒资源利用与生物防治研究。

E-mail: kilo01378517@yahoo.com.cn

[通信作者] 王敦(1973—),男,青海西宁人,副教授,博士,主要从事昆虫生化与分子生物学,昆虫病毒分子生物学与生物防治研究。E-mail: wanghandecn@yahoo.com.cn

LD₅₀ of the three native granuloviruses Cypov-GV-ZY, Cypov-GV-KS1, Cypov-GV-KS2 was 3.43×10^4 , 8.81×10^4 and 1.04×10^5 OBs/mL respectively, while the LD₅₀ of Cypov-GV-BG was 5.31×10^5 OBs/mL. The LT₅₀ of the three native granuloviruses was 4.05, 4.11 and 4.19 d respectively, and they were similar as 4.98 d of Cypov-GV-BG. The data of quantity of trapped insects by pheromone lure showed that the control effects of three native strains were significantly superior to Cypov-GV-BG. The control effect in field showed that the fruit damage rate of Cypov-GV-ZY and Cypov-GV-KS1 was 39.5% and 41.3% respectively. This was similar to chlorbenzuron in field (36.9%) and was significantly better than the control effects of Cypov-GV-KS2 and Cypov-GV-BG. 【Conclusion】 The results indicated that two native Cypov-GV strains, Cypov-GV-ZY and Cypov-GV-KS1 have a potential to be developed as biological control agent for *C. pomonella* in China.

Key words: *Cydia pomonella* granulovirus; virulence determination; control effect in field

苹果蠹蛾 (*Cydia pomonella* L.) 属鳞翅目 (Lepidoptera) 卷蛾科 (Tortricidae), 主要危害苹果、沙果、梨、桃、杏、石榴、核桃等果实, 造成果品品质下降、果实减产等^[1]。该害虫是我国一类检疫性害虫, 原产于欧洲东南部, 在中国主要分布于新疆、甘肃省张掖市以西等地, 并呈现逐渐向东扩散的趋势^[2-5]。倘若苹果蠹蛾传入我国苹果主产区陕西和山东, 将会对我国的苹果产业造成严重的打击。因此, 立足本土积极挖掘针对该危险性检疫害虫的生物防治手段, 对阻隔苹果蠹蛾的扩散和无公害防治具有重要的现实意义。

苹果蠹蛾颗粒体病毒 (*Cydia pomonella* granulovirus, Cypov-GV) 1964 年首次被发现于墨西哥^[6], 2001 年美国开始使用 Cypov-GV 防治苹果蠹蛾, 2003 年以后在欧美推广使用^[7-8], 但目前已有苹果蠹蛾幼虫对 Cypov-GV 产生抗性的报道^[9-10]。我国主要通过化学防治来控制苹果蠹蛾的危害, 并利用性信息素对其成虫发生高峰进行了预测监控^[11], 但对苹果蠹蛾颗粒体病毒杀虫剂的研发尚未见报道。为此, 本研究对 3 株苹果蠹蛾颗粒体病毒本土株的室内毒力与田间防治效果进行了分析, 以期治理日益严重并向东扩散的苹果蠹蛾提供新的生物防治手段。

1 材料与方法

1.1 病毒来源

苹果蠹蛾颗粒体病毒张掖株 (Cypov-GV-ZY) 2005 年由西北农林科技大学分子病毒学实验室 (隶属植保资源与病虫害防治教育部重点实验室) 分离于甘肃张掖^[12]; 苹果蠹蛾颗粒体病毒喀什株 1 (Cypov-GV-KS1) 和喀什株 2 (Cypov-GV-KS2) 由该分子病毒学实验室于 2006 年分离自新疆喀什。病毒毒株纯化后在甘肃张掖和新疆喀什地区扩繁, 获得浓度为 1.00×10^{12} OBs/mL 的苹果蠹蛾颗粒体病毒悬浮

液。苹果蠹蛾颗粒体病毒比利时株 Cypov-GV-BG 于 2009 年购自比利时。

1.2 试虫来源与试验地点

试验用虫采集于新疆喀什市疏勒县的苹果园内, 在第 1 代幼虫高发期采摘大量有虫果, 剥果取出幼虫, 选取 3 龄幼虫分别单独放入无菌的 1.5 mL 离心管内, 用新鲜的苹果块进行饲养。毒力测定与田间防效试验均在疏勒县进行。

1.3 室内毒力测定^[13]

1.3.1 病毒株对苹果蠹蛾 3 龄期幼虫的 LD₅₀ 测定

选用 Cypov-GV-ZY、Cypov-GV-KS1 和 Cypov-GV-KS2 毒株, 同时设 1 个无防治空白对照和 1 个 Cypov-GV-BG 毒株对照, 每个病毒株系均设 1.00×10^6 , 0.50×10^6 , 0.25×10^5 , 1.00×10^4 和 6.25×10^3 OBs/mL 5 个浓度梯度。每个处理 3 个重复, 每个重复 30 只幼虫。将苹果蠹蛾 3 龄幼虫分别单独放入无菌的 1.5 mL 带孔离心管中, 将苹果切成 2 mm³ 的小块, 用移液器分别吸取不同浓度的病毒液, 每一小块苹果滴 1 μ L 液体, 立即放入离心管中喂食。空白对照每个苹果块滴等量无菌水。1 d 后待带毒果块取食完全, 换喂新鲜的苹果块 (0.5 cm $\times$ 0.5 cm $\times$ 1.5 cm)。喂毒后每隔 24 h 观察记录各处理幼虫死亡数, 计算平均死亡率和校正死亡率。

平均死亡率 = 各处理组死亡虫数 / 各处理组总虫数 $\times 100\%$;

校正死亡率 = (各处理组平均死亡率 - 对照组平均死亡率) / (1 - 对照组平均死亡率) $\times 100\%$ 。

1.3.2 3 种病毒株系同一浓度对苹果蠹蛾 3 龄幼虫的 LT₅₀ 测定

选用 Cypov-GV-ZY、Cypov-GV-KS1 和 Cypov-GV-KS2 3 个毒株, 每株病毒株系浓度均为 5×10^5 OBs/mL, 设为 3 个处理, 另设 1 个空白对照, 每个处理 3 个重复; 每个重复 50 只苹果蠹蛾 3 龄幼虫, 给毒方法同 1.3.1。

1.4 田间防效试验

根据室内毒力测定结果,选取相邻但互不影响、果树生长条件基本一致的果园,各病毒株系均以 5×10^5 OBs/mL 为喷药浓度,从 4 月下旬苹果开花结束后开始以 $1\,000\text{ L/hm}^2$ 的剂量喷药防治,每周 1 次,持续防治到 7 月底,同时设空白对照、CypoGV-BG 病毒对照和 25%灭幼脲悬浮剂(稀释 2 000 $\times$)对照。

1.4.1 性诱剂诱集的雄虫数量 性诱剂诱芯的放置密度为 15 个/hm²,2 个诱芯间隔不少于 50 m;2 周更换 1 次诱芯。从开始防治即逐周统计诱芯诱集的雄虫数量,最后计算周平均诱虫量。

周平均诱虫量=每周诱虫总数/果园面积。

1.4.2 果实受害率 每 2 周统计 1 次。施药结束后及果实成熟期前,在每个处理果园按对角线法选取 10 棵果树,每棵树分上、中、下 3 层,东、西、南、北 4 个方位各选 15 个果实,逐个统计受害情况,计算果实受害率。

果实受害率=受害果实数量/果实总数 $\times$

表 1 不同 CypoGV 株系对苹果蠹蛾 3 龄幼虫的 LD₅₀

Table 1 LD ₅₀ analysis of CypoGV with different strains to 3 instar larvae		OBs/mL	
病毒株系 Virus strain	LD ₅₀	95% 置信区间 95% confidence interval	
		下限 Lower limit	上限 Upper limit
CypoGV-ZY	3.43×10^4 b	2.88×10^4	4.16×10^4
CypoGV-KS1	8.81×10^4 b	6.83×10^4	9.14×10^4
CypoGV-KS2	1.04×10^5 b	0.69×10^5	1.26×10^5
CypoGV-BG	5.31×10^5 a	4.87×10^5	6.45×10^5

注:表中同列数据后不同小写字母表示在 5%水平上差异显著,表 2 同。
Note:The superscripts with different letters mean significant difference at 5%,and it is the same in table 2.

表 2 不同 CypoGV 株系对苹果蠹蛾 3 龄幼虫的 LT₅₀

Table 2 LT ₅₀ analysis of CypoGV with different strains to 3 instar larvae		d	
病毒株系 Virus strain	LT ₅₀	95% 置信区间 95% confidence interval	
		下限 Lower limit	上限 Upper limit
CypoGV-ZY	4.05 b	4.01	4.22
CypoGV-KS1	4.11 b	4.04	4.23
CypoGV-KS2	4.19 b	4.09	4.31
CypoGV-BG	4.98 a	4.79	5.22

2.2 不同 CypoGV 株系对苹果蠹蛾 3 龄幼虫的田间防效

由表 3 可知,防治 1 个月后,从 6 月起,所有防治组诱捕的苹果蠹蛾雄虫数量显著少于空白对照组,而且相比 5 月份下降幅度十分明显;果实受害率的下降情况与苹果蠹蛾雄虫诱集数量类似,说明 3 株苹果蠹蛾颗粒体病毒国内株系、1 株比利时株系和化学杀虫剂灭幼脲均对苹果蠹蛾的发生具有很好的防治效果。

100%。
1.5 数据统计与分析

试验测定数据用 SPSS Statistics 17.0 软件进行分析和计算。

2 结果与分析

2.1 不同 CypoGV 株系对苹果蠹蛾 3 龄幼虫的室内毒力

由表 1 和表 2 可以看出,3 株本土苹果蠹蛾病毒株的室内毒力均强于 CypoGV-BG,且以 CypoGV-ZY 的毒力最强,CypoGV-KS2 相对于另外 2 株本土株系而言,与毒力最弱的 CypoGV-BG 差异较小。LT₅₀数据显示,3 株本土株系的 LT₅₀显著优于 CypoGV-BG,但相差不到 1 d。以上结果表明,3 株本土苹果蠹蛾病毒株系与 CypoGV-BG 的毒力差异显著,证明 3 株国内株系均具有很强的毒力,具备开发为病毒杀虫剂的潜力。

从 6 月份起,对比本土病毒株系与商品株 CypoGV-BG 的防效,在诱捕雄虫数上,国内病毒株系 CypoGV-ZY、CypoGV-KS1、CypoGV-KS2 与灭幼脲相近,但显著优于 CypoGV-BG,说明 3 株病毒本土株与灭幼脲对苹果蠹蛾的防治效果接近,而 CypoGV-BG 的田间防效不如本土株系和灭幼脲;在果实受害率上,CypoGV-ZY、CypoGV-KS1 与灭幼脲对苹果蠹蛾的防治效果接近,并显著优于 CypoGV-KS2 和 CypoGV-BG,说明 CypoGV-ZY 和 CypoGV-KS1 2 株本

土株系的田间防效显著优于本土株系 CypoGV-KS2 和比利时商用株系 CypoGV-BG。

综上所述,3 株苹果蠹蛾颗粒体病毒均具有很好的苹果蠹蛾防治效果,其中 CypoGV-KS1 与 Cy-

poGV-ZY 的田间防治效果接近于化学杀虫剂灭幼脉,但优于 CypoGV-KS2 和商业化株系 CypoGV-BG,因此在病毒杀虫剂的研究中,应优先考虑前 2 株病毒。

表 3 不同 CypoGV 株系对苹果蠹蛾 3 龄幼虫的田间防效

Table 3 Control effect analysis of CypoGV with different strains and treatment in field

处理 Treatment	平均诱虫数量/(只·hm ⁻² ·周 ⁻¹) Average quantity of trapped insects per hm ² in a week			果实受害率/% Fruit damage rate		
	5 月 May	6 月 June	7 月 July	5 月 May	6 月 June	7 月 July
CypoGV-ZY	2 340 Aa	1 185 Ab	540 Ab	49.4 Aa	40.1 Ab	39.5 Ab
CypoGV-KS1	2 325 Aa	1 155 Ab	615 Ab	51.3 Aa	44.0 Ab	41.3 Ab
CypoGV-KS2	2 445 Aa	1 260 Ab	585 Ab	59.9 Ba	55.7 Bb	49.4 Bb
CypoGV-BG	2 385 Aa	1 530 Bb	945 Bb	55.8 Ba	54.6 Bb	51.4 Bb
25%灭幼脉悬浮剂 25% chlorbenzuron	2 310 Aa	1 200 Ab	495 Ab	45.6 Ab	42.9 Ab	36.9 Ab
空白对照 Control untreated	2 475 a	2 235 a	1 755 a	56.6 a	73.7 a	89.0 a
合并标准误差 Pooled SE	145.5	43.5	61.5	3.3	1.9	1.1

注:同列数据后标不同大、小写字母表示在 5%水平上分别与灭幼脉、空白对照差异显著。
Note:The superscripts with different capital letters and lowercases mean significant difference at 5% to chlorbenzuron and non-treatment CK, respectively.

3 结 论

本研究结果表明,本土病毒株系的毒力均强于比利时商用毒株,其中以 CypoGV-ZY 的室内毒力最强,说明 3 株苹果蠹蛾颗粒体病毒本土株系都是高毒力株,具备开发为苹果蠹蛾颗粒体病毒杀虫剂的潜力。

田间防效试验结果说明,3 株本土病毒株对苹果蠹蛾具有很好的防治效果,特别是 CypoGV-ZY、CypoGV-KS1 的防治效果接近于化学杀虫剂灭幼脉;同时发现,在田间防治时,3 株本土株系与比利时商用毒株的防效差异较室内毒力进一步增大,本土株系的田间防治效果显著优于比利时商用毒株,特别是 CypoGV-ZY 在室内毒力和田间防效上都具有明显优势,有望发展为新的病毒杀虫剂。

[参考文献]

[1] Barnes M M. Tortricids in pome and stone fruits,codling moth occurrence,host race formation and damage [M]. Amsterdam, Netherlands;Elsevier Science Publisher,1991.

[2] 张学祖. 苹果蠹蛾(*Carpocapsa pomonella* L.)在我国的新发现 [J]. 昆虫学报,1957(4):467-472.

Zhang X Z. Taxonomic notes on the codling moth,*Carpocapsa pomonella* L. in Sinkiang [J]. Acta Entomologica Sinica,1957 (4):467-472. (in Chinese)

[3] 尤光华,张玉军. 苹果蠹蛾的发生与防治 [J]. 西北园艺,1996 (3):42.

You G H, Zhang Y J. Occur and control of *Cydia pomonella*

[J]. Northwest Horticulture,1996(3):42. (in Chinese)

[4] 秦占毅,刘生虎,岳彩霞,等. 苹果蠹蛾在甘肃敦煌的生物学特性及综合防治技术 [J]. 植物检疫,2007,21(3):170-171.

Qin Z Y, Liu S H, Yue C X, et al. Biological characteristics and integrated control technique of *Cydia pomonella* Dunhuang in Gansu province [J]. Plant Quarantine,2007,21(3):170-171. (in Chinese)

[5] 许永锋. 苹果蠹蛾在张掖市发生与为害规律调查 [J]. 植物检疫,2008,22(4):246-248.

Xu Y F. The research on the occur and infestation of sesamia inferens of *Cydia pomonella* in Zhangye [J]. Plant Quarantine, 2008,22(4):246-248. (in Chinese)

[6] Tanada Y. A granulosis virus of the codling moth *Carpocapsae pomonella* [J]. Journal of Insect Pathology,1964(8):378-380.

[7] Falcon L A, Kane W R, Bethel R S. Preliminary evaluation of a granulosis virus for control of the codling moth [J]. Journal of Economic Entomology,1968(61):1208-1213.

[8] Lacey L A, Arthurs S P, Knight A, et al. Efficacy of codling moth granulovirus;effect of adjuvants on persistence of activity and comparison with other larvicides in a pacific northwest apple orchard [J]. Journal of Entomological Science,2004(39):500-513.

[9] Eberle K E, Jehle J A. Field resistance of codling moth against *Cydia pomonella* granulovirus (CpGV) is autosomal and incompletely dominant inherited [J]. Journal of Invertebrate Pathology,2006,93(3):201-206.

[10] Sabine A K, David G H. Sex linkage of CpGV resistance in a heterogeneous field strain of the codling moth *Cydia pomonella* (L.) [J]. Journal of Invertebrate Pathology,2009,103(1):59-64.