

美国白蛾核型多角体病毒与四种常用化学杀虫剂的复配增效作用研究*

谢丹洁^{1**} 刘云朋¹ 汪海鹏² 刘程林¹ 赵同海¹ 曲良建^{1***}

(1. 中国林业科学研究院森林生态环境与自然保护研究所, 国家林业与草原局森林保护学重点实验室, 北京 100091;

2. 北京市京西林场管理处, 北京 102300)

摘要 【目的】比较甲氨基阿维菌素苯甲酸盐(简称: 甲维盐)、高效氯氰菊酯、灭幼脲和苦参碱 4 种常用杀虫剂对美国白蛾 *Hyphantria cunea* 幼虫的杀虫活性, 筛选出和美国白蛾核型多角体病毒 (*Hyphantria cunea* nucleopolyhedrovirus, HycuNPV) 混配后具有显著增效作用的杀虫剂, 明确其最佳混配比例, 从而为今后美国白蛾的高效防治提供依据和参考。【方法】以美国白蛾 3 龄幼虫为试虫, 采用人工饲料表面涂布法分别测定美国白蛾核型多角体病毒和 4 种化学杀虫剂的毒力。利用共毒因子法评价 4 种杀虫剂与 HycuNPV 混配后的杀虫效果, 明确具有显著增效作用的化学杀虫剂, 并研究其使用的最佳增效配比和浓度。【结果】供试的 4 种杀虫剂对美国白蛾 3 龄幼虫的毒力大小顺序为甲维盐>高效氯氰菊酯>灭幼脲>苦参碱, 其致死中浓度 (Median lethal concentration, LC_{50}) 依次为 0.021、2.149、4.522 和 70.255 $mg \cdot L^{-1}$ 。HycuNPV 与甲维盐分别以致死中浓度混配后表现出显著的增效作用, 且两者体积比 1:9 时增效作用最为显著, 其增效比值为 29.06 倍, 致死中时间 (Median lethal time, LT_{50}) 与仅用 HycuNPV 相比缩短了 2.89 d。【结论】4 种杀虫剂中甲维盐对美国白蛾 3 龄幼虫毒力最高, 且与 HycuNPV 复配后具有最显著的增效作用。当 HycuNPV 与甲维盐的浓度分别为 0.021 $mg \cdot L^{-1}$ 和 1.18×10^6 OBs $\cdot mL^{-1}$, 且体积比为 1:9 的复配比例下效果最好。

关键词 美国白蛾; 核型多角体病毒; 化学杀虫剂; 增效作用

The synergistic effect of HycuNPV on four common chemical insecticides

XIE Dan-Jie^{1**} LIU Yun-Peng¹ WANG Hai-Peng² LIU Cheng-Lin¹
ZHAO Tong-Hai¹ QU Liang-Jian^{1***}

(1. Key Laboratory of Forest Protection of National Forestry and Grassland Administration, Ecology and Nature Conservation Institute, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China; 2. Beijing Jingxi Forestry Administration Office, Beijing 102300, China)

Abstract 【Objectives】To compare the insecticidal activity of four commonly used insecticides; emamectin benzoate, beta-cypermethrin, chlorobenzuron and matrine, on the larvae of *Hyphantria cunea* (Drury), in order to determine which have a significant synergistic interaction with the *Hyphantria cunea* nuclear polyhedrosis virus (HycuNPV). 【Methods】Groups of 3rd instar larvae of *H. cunea* infected with HycuNPV were treated with one of the four chemical insecticides above using the artificial feed surface coating method. The synergistic interaction between each insecticide and HycuNPV was then evaluated using the co-toxicity factor method. Those insecticides with a significant synergistic effect were identified, and the optimal pesticide: virus ratio and concentration was determined. 【Results】The relative toxicity of the four insecticides tested was: emamectin benzoate > beta-cypermethrin > chlorobenzuron > matrine, and their median lethal concentrations (LC_{50}) were 0.021,

*资助项目 Supported projects: “十四五”国家重点研发计划项目 (2021YFD1400300)

**第一作者 First author, E-mail: xiedanjie2020@163.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: qulj2001@caf.ac.cn

收稿日期 Received: 2022-12-26; 接受日期 Accepted: 2023-01-15

2.149, 4.522 and 70.255 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, respectively. A combination of emamectin benzoate ($0.021\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) and HycuNPV($1.18\times 10^6\text{ OBs}\cdot\text{mL}^{-1}$) had a significant synergistic effect. A pesticide: virus volume ratio of 1 : 9 resulted in a 29.06 fold increase in mortality and a 2.89 day reduction in the median lethal time (LT_{50}) compared to HycuNPV in isolation. **[Conclusion]** Among the insecticides tested, emamectin benzoate had both the highest toxicity to 3rd instar *H. cunea* larvae, and the greatest synergy with HycuNPV. Optimum toxicity was achieved at a concentration of $0.021\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ emamectin benzoate and $1.18\times 10^6\text{ OBs}\cdot\text{mL}^{-1}$ HycuNPV and a volume ratio of 1 : 9.

Key words *Hyphantria cunea*; nucleopolyhedrovirus; chemical insecticide; synergistic effect

美国白蛾 *Hyphantria cunea* (Drury) 属鳞翅目 Lepidoptera 目夜蛾科 Erebidiae 灯蛾亚科 Arctiinae (Zahiri *et al.*, 2012, 2013), 是重要的国际性检疫害虫 (Schowalter and Ring, 2017; 李路莎等, 2018; Wu *et al.*, 2019; Yuan *et al.*, 2020; 贾红梅等, 2022)。自侵入我国以来, 该害虫已在多个省市大面积爆发并造成严重危害 (于长义, 1993; 武海卫等, 2012; 罗立平等, 2018)。近些年来, 美国白蛾已跨越长江传入到江苏和上海等南方地区, 除为害常见的阔叶植物外, 南方落羽杉等针叶树种亦遭受严重损失 (卢修亮等, 2021; 黄广育, 2022), 北害南移现象凸显。此外, 美国白蛾对农作物亦构成严重威胁, 是目前我国唯一同时被林业和农业列为检疫对象的重大入侵性害虫 (杨忠岐和张永安, 2007; 郭小军, 2018; 吕全等, 2022)。根据国家林业和草原局 2022 年第 5 号公告, 我国美国白蛾疫区涉及 14 个省 (自治区、直辖市) 的 611 个县级行政区 (国家林业和草原局政府网, 2022), 发生面积达 73.14 万 hm^2 (赫传杰等, 2022), 严重影响我国林业生态文明和美丽中国建设。

化学杀虫剂在美国白蛾综合治理中发挥着重要作用, 化学药剂的大量使用, 不仅会造成环境污染和物种多样性丧失等生态问题, 而且对人民的的生活和健康亦造成一定的负面影响 (Silva *et al.*, 2011)。因此, 降低农药使用量、提高农药使用效果是目前美国白蛾治理中亟待解决的科学问题 (Edosa *et al.*, 2019)。美国白蛾核型多角体病毒 (*Hyphantria cunea* nucleopolyhedrovirus, HycuNPV) 是实现美国白蛾持续控制的理想生物杀虫剂, 防治效果突出 (段彦丽等, 2009), 但其杀虫速度较慢、应用成

本较高等缺点给 HycuNPV 的大面积推广应用造成严重挑战。当前利用昆虫病毒与杀虫剂、荧光增白剂、增效蛋白等增效因子混配来提高杀虫效果的研究取得了良好的进展 (郭慧芳等, 2003; 江敏华等, 2013; 刘海明等, 2013; 王承锐等, 2020), 但关于 HycuNPV 与化学杀虫剂混配协调使用技术的研究则鲜有报道。本研究以美国白蛾幼虫为靶标昆虫, 明确 4 种不同作用机理的常用化学杀虫剂对美国白蛾幼虫的毒力效果, 研究其与 HycuNPV 混配协调使用技术, 集成化学杀虫剂快速和病毒杀虫剂持效的优点, 在提高防治效果的同时, 达到减少化学农药的使用和降低病毒成本的目的, 从而为今后美国白蛾高效防控提供理论依据和参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

美国白蛾由中国林业科学研究院森林生态环境与自然保护研究所昆虫病理与病原微生物学科组用人工饲料连续饲养 20 代以上, 试验时选取长势一致健康的 3 龄美国白蛾幼虫备用。

HycuNPV 毒株由本实验室保存和提供, 试验前以 $1.0\times 10^7\text{ OBs}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度感染 3 龄健康幼虫, 收集感染死亡病虫, 经过滤和离心提纯后计数, 然后置于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中待用; 供试化学农药为 5% 甲氨基阿维菌素苯甲酸盐水分散颗粒 (河北中保绿农作物科技有限公司, 简称甲维盐, EMB), 0.5% 苦参碱水剂 (河北中保绿农作物科技有限公司), 25% 灭幼脉悬浮剂 (济南绿霸农药有限公司), 4.5% 高效氯氰菊酯微乳剂 (河北中保绿农作物科技有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 单剂毒力测定 根据预实验的结果, 将 HycuNPV 和 4 种化学杀虫剂分别用无菌蒸馏水等比稀释 5-6 次。HycuNPV 稀释后的浓度为 10^7 、 10^6 、 10^5 、 10^4 和 10^3 OBs·mL⁻¹; 甲维盐稀释倍数依次为 25 万倍、50 万倍、100 万倍、200 万倍和 400 万倍; 高效氯氰菊酯稀释倍数为 2 000 倍、4 000 倍、8 000 倍、1.6 万倍、3.2 万倍和 6.4 万倍; 灭幼脉稀释倍数为 2 500 倍、5 000 倍、1 万倍、2 万倍、4 万倍和 6 万倍; 苦参碱稀释倍数为 25 倍、50 倍、100 倍、200 倍和 400 倍。采用人工饲料表面涂布法 (Thamthiankul *et al.*, 2008) 对 HycuNPV 和上述 4 种化学杀虫剂进行毒力测定。

在昆虫饲料杯 (底径 6.3 cm×高 5.3 cm) 中倒入约 15 mL 美国白蛾人工饲料于室温自然冷却, 然后取 200 μL 待测药剂均匀涂在人工饲料表面, 自然晾干后将预饥饿 24 h 后、长势一致 3 龄健康美国白蛾幼虫置于人工饲料表面取食; 每个处理 30 头, 重复 3 次, 以无菌水作为对照。待试虫将饲料取食完, 加入新鲜无毒人工饲料继续饲养观察。每 24 h 观察记录幼虫的死亡情况, 直至全部死亡或者化蛹; 若对照死亡率高于 20%, 则重做试验, 用 Abbott 公式计算不同处理的校正死亡率。

死亡率 (%) = 死亡虫数/处理总虫数×100,

校正死亡率 (%) = (处理死亡率 - 对照死亡率) / (1 - 对照死亡率) × 100。

1.2.2 共毒因子的测定 根据单剂毒力测定结果得到 HycuNPV (A) 和化学杀虫剂 (B) 两单剂的致死中浓度分别为 a 和 b, 根据等效线法中相加作用线的六等分点, 设置 a/5b、a/2b、a/b、2a/b 和 5a/b 5 个配比, 采用 Mansour 等 (1966) 的共毒因子法 (Co-toxicity factor, CTF) 初步评价 A+B 混剂的增效作用效果。具体配制方法是先配置 HycuNPV 和化学杀虫剂两单剂的致死中浓度药液, 再按体积比 1:5、1:2、1:1、2:1 和 5:1 混合, 分别将不同配比的混剂进行毒力测定。化学杀虫剂与 HycuNPV 复配的毒力测定方法同 1.2.1。

理论死亡率 (%) = A 药剂 LC₅₀ 实际死亡率 × A 在混剂中所占比例 + B 药剂 LC₅₀ 实际死亡率 × B 在混剂中所占比例,

共毒因子 = [(实际死亡率 - 理论死亡率) / 理论死亡率] × 100。

共毒因子 > 20 为增效作用, < - 20 为拮抗作用, 共毒因子介于 - 20 与 20 之间为相加作用。

1.2.3 增效比值的测定 选择共毒因子大于 20 的组合进一步测定其增效作用, 具体做法为将 HycuNPV 和化学杀虫剂两单剂配制为致死中浓度, 按 HycuNPV 和化学杀虫剂 1:9、1:4、3:7、2:3、1:1、3:2、7:3、4:1 和 9:1 的体积比混合, 得到全部配比的混剂, 再根据死亡率按照等比数列设置 5 个浓度梯度进行毒力测定。参照刘海明等 (2013) 的方法, 求得增效比值 (Synergy ratio, S_R), 以此来评价不同配比的增效作用。化学杀虫剂与 HycuNPV 复配的毒力测定方法同 1.2.1。

增效比值 S_R = HycuNPV 的 LC₅₀ / (HycuNPV + 化学杀虫剂) 的 LC₅₀。

增效倍数 > 1 为增效作用, = 1 为相加作用, < 1 为拮抗作用。

1.3 数据分析

数据分析采用 SPSS Statistics 22.0 软件, 根据不同药剂有效成分浓度的对数值和美国白蛾死亡数进行概率回归分析 (Probit analysis), 求出毒力回归方程、χ² 值、LC₅₀ 值及其 95% 置信限。

2 结果与分析

2.1 单剂毒力测定结果

4 种化学杀虫剂对美国白蛾 3 龄幼虫的毒力测试结果如表 1 所示, 结果表明, 供试的化学杀虫剂中甲维盐的毒力最高, 其 LC₅₀ 为 0.02 mg·L⁻¹, 苦参碱的毒力最低, 其 LC₅₀ 为 70.255 mg·L⁻¹, 高效氯氰菊酯和灭幼脉的 LC₅₀ 分别为 2.149 mg·L⁻¹ 和 4.522 mg·L⁻¹, 4 种药剂对美国白蛾 3 龄幼虫的毒力高低顺序为: 甲维盐 > 高效氯氰菊酯 > 灭幼脉 > 苦参碱。HycuNPV 病毒杀虫剂对

表 1 HycuNPV 与 4 种杀虫剂对美国白蛾 3 龄幼虫的毒力
Table 1 Toxicity of HycuNPV and four insecticides to the 3rd instar larvae of *Hyphantria cunea*

处理 Treatment	毒力回归方程 Toxicity regression equations	标准误 Standard error	致死中浓度 LC ₅₀	95%置信区间(mg·L ⁻¹) 95% CL (mg·L ⁻¹)	卡方值 χ^2 (df=3)	相关系数 Correlation coefficient
5%甲氨基阿维菌素苯甲酸盐 5% Emamectin benzoate (EMB)	$y=5.316+3.132x$	0.706	0.020	0.014-0.025	0.363	0.924
4.5%高效氯氰菊酯 4.5% <i>Beta</i> -cypermethrin	$y= - 1.161+3.493x$	0.253	2.149	1.774-2.525	0.070	0.977
25%灭幼脲 25% Chlorobenzuron	$y= - 0.685+1.046x$	0.250	4.522	1.732-8.009	0.303	0.831
1.3%苦参碱 1.3% Matrine	$y= - 2.335+1.265x$	0.213	70.255	41.350-109.941	0.365	0.888
美国白蛾核型多角体病毒 HycuNPV	$y= - 2.668+0.439x$	0.064	1.18×10^6	6.20×10^5 - 2.72×10^6 OBs·mL ⁻¹	8.715	0.855

美国白蛾 3 龄幼虫的 LC₅₀ 为 1.18×10^6 OBs·mL⁻¹。

2.2 增效作用测定结果

2.2.1 HycuNPV 与 4 种杀虫剂复配对美国白蛾毒力的配伍选择 利用共毒因子法评价 4 种化学杀虫剂与 HycuNPV 混配后的杀虫效果，由表 2 可知，HycuNPV 与甲维盐在 2：1、1：1、1：2、1：5 比例下混配均有显著的增效作用，其共

毒因子分别为 31.45、23.45、31.66 和 32.45；HycuNPV 与高效氯氰菊酯和苦参碱混配后共毒因子均小于 - 20，表现出拮抗作用；而 HycuNPV 与灭幼脲混配后共毒因子基本上处于 - 20-20 之间，杀虫效果表现出相加作用，亦不具有增效作用。因此，确定甲维盐为适宜与 HycuNPV 混配使用的化学杀虫剂，并继续开展后续最佳增效配比试验研究。

表 2 HycuNPV 与 4 种杀虫剂复配后对美国白蛾 3 龄幼虫的毒力
Table 2 Toxicity of HycuNPV combined with four insecticides to the 3rd instar larvae of *Hyphantria cunea*

复配组合 Composite formulation A+B	配比 Ratio	查自 LC-P 线的死亡率(%) Mortality derived from LC-P line (%)		预期死亡率 (%)	实际死亡率 (%)	共毒因子 Co-toxicity factor
				Theoretical mortality (%)	Actual mortality (%)	
		A	B			
HycuNPV+4.5% 高效氯氰菊酯	5 ∶ 1	47.20	0.50	47.70	17.78±1.66	- 62.73
	2 ∶ 1	45.60	5.50	51.10	17.78±1.01	- 65.21
HycuNPV+4.5% <i>Beta</i> -cypermethrin	1 ∶ 1	43.40	16.30	59.70	20.00±1.73	- 66.50
	1 ∶ 2	40.40	29.30	69.70	53.33±2.23	- 23.49
	1 ∶ 5	35.40	41.80	77.20	46.67±0.92	- 39.55
HycuNPV+1.3%苦参碱	5 ∶ 1	47.20	15.20	62.40	37.78±2.03	- 39.46
HycuNPV+1.3% Matrine	2 ∶ 1	45.60	25.90	71.50	15.56±1.46	- 78.24
	1 ∶ 1	43.40	33.60	77.00	53.33±3.68	- 30.74
	1 ∶ 2	40.40	39.60	80.00	53.33±3.68	- 33.34
	1 ∶ 5	35.40	44.40	79.80	20.00±1.63	- 74.94

续表 2 (Table 2 continued)

复配组合 Composite formulation A+B	配比 Ratio	查自 LC-P 线的死亡率(%) Mortality derived from LC-P line (%)		预期死亡率 (%)	实际死亡率 (%)	共毒因子 Co-toxicity factor
				Theoretical mortality (%)	Actual mortality (%)	
		A	B			
HycuNPV+5%甲氨基	5 : 1	47.20	0.40	47.60	33.33±1.19	- 29.98
阿维菌素苯甲酸盐	2 : 1	45.60	6.80	52.40	68.88±7.35	31.45
HycuNPV+5% Emeactin benzoate	1 : 1	43.40	16.00	59.40	73.33±5.71	23.45
	1 : 2	40.40	28.80	69.20	91.11±7.19	31.66
	1 : 5	35.40	40.10	75.50	100.00±7.94	32.45
HycuNPV+25%灭幼脲	5 : 1	47.20	20.80	68.00	68.87±3.19	1.28
HycuNPV+25% Chlorobenzuron	2 : 1	45.60	30.90	76.50	80.00±5.93	4.58
	1 : 1	43.40	37.70	81.10	97.78±7.76	20.57
	1 : 2	40.40	42.75	83.15	97.78±7.19	17.59
	1 : 5	35.40	46.70	82.10	97.78±7.76	19.10

A: 混剂中 HycuNPV 所占的体积; B: 混剂中杀虫剂所占的体积 (HycuNPV、高效氯氰菊酯菊酯、苦参碱、甲氨基阿维菌素苯甲酸盐及灭幼脲的配制浓度分别为 1.18×10^6 OBs·mL⁻¹、2、70、0.02 和 4.5 mg·L⁻¹)。
A: The volume of HycuNPV in the mixture; B: The volume of insecticide in the mixture (the formulated concentrations of HycuNPV, *beta*-cypermethrin, matrine, emamectin benzoate, and chlorobenzuron were 1.18×10^6 OBs·mL⁻¹, 2, 70, 0.02 and 4.5 mg·L⁻¹, respectively).

2.2.2 HycuNPV 与甲维盐的最佳增效配比筛选 在共毒因子法筛选出最佳配比组合为 HycuNPV+甲维盐的基础上,进一步通过细化配比测定增效倍数得到最佳复配比例。HycuNPV 与甲维盐共设置 9 个不同配比 (HycuNPV : 甲维盐混配比例为 9 : 1-1 : 9), 复配后对 3 龄美国白蛾幼虫的毒力测定结果由表 3 所示, 在设定的 9 个配比中, 9 : 1-3 : 7 的增效比值分别为 0.46、0.47、1.03、4.95、2.59、6.75 和 7.64,

均表现出一定的的增效作用,2 : 8 和 1 : 9 配比下的增效作用最为显著,增效比值分别为 20.99 和 29.06。因此,当 HycuNPV 和甲维盐以 1 : 9 的体积比复配为最佳增效配比,在此条件下的混配制剂的半数致死时间 LT₅₀ (表 4) 由 HycuNPV 处理下的 7.530 d 缩短至 4.639 d, 累计死亡率曲线 (图 1) 也可以明显看出,复配后的制剂对美国白蛾幼虫的死亡率始终高于单一制剂 HycuNPV。

表 3 HycuNPV 与甲维盐复配不同配比对美国白蛾幼虫的增效作用
Table 3 Synergistic effects of different proportions of HycuNPV and emamectin benzoate on the 3rd instar larvae of *Hyphantria cunea*

配比 (A : B) Ratio (A : B)	毒力回归方程 Toxicity regression equations	标准误 Standard error	致死中浓度×10 ⁵ (OBs·mL ⁻¹) LC ₅₀ ×10 ⁵ (OBs·mL ⁻¹)	相关系数 Correlation coefficient	增效比值 Synergy ratio	相互作用 Interaction effect
9 : 1	y=0.672 - 4.307x	0.316	25.56	0.973	0.46	拮抗 Antagonism
8 : 2	y=0.829 - 5.304x	0.466	25.13	0.964	0.47	拮抗 Antagonism
7 : 3	y=1.120 - 6.790x	0.481	11.49	0.931	1.03	相加 Addition
6 : 4	y=1.532 - 8.237x	0.316	2.39	0.970	4.95	增效 Synergism
5 : 5	y=1.420 - 8.039x	0.465	4.57	0.994	2.59	增效 Synergism

续表 3 (Table 3 continued)

配比 (A : B) Ratio (A : B)	毒力回归方程 Toxicity regression equations	标准误 Standard error	致死中浓度×10 ⁵ (OBs·mL ⁻¹) LC ₅₀ ×10 ⁵ (OBs·mL ⁻¹)	相关系数 Correlation coefficient	增效比值 Synergy ratio	相互作用 Interaction effect
4 : 6	y=1.720 - 9.018x	0.319	1.75	0.988	6.75	增效 Synergism
3 : 7	y=0.965 - 5.007x	0.237	1.54	0.957	7.64	增效 Synergism
2 : 8	y=2.288 - 10.869x	0.251	0.56	0.947	20.99	增效 Synergism
1 : 9	y=2.768 - 12.757x	0.508	0.41	0.997	29.06	增效 Synergism

A: 混剂中 HycuNPV 所占的体积; B: 混剂中杀虫剂所占的体积 (HycuNPV 及甲氨基阿维菌素苯甲酸盐的配制浓度分别为 1.18×10⁶ OBs·mL⁻¹ 和 0.02 mg·L⁻¹)。
A: The volume of HycuNPV in the mixture; B: The volume of insecticide in the mixture (the concentrations of HycuNPV and emamectin benzoate were 1.18×10⁶ OBs·mL⁻¹ and 0.02 mg·L⁻¹, respectively.)

表 4 HycuNPV 和 HycuNPV+EMB (1 : 9) 处理下美国白蛾 3 龄幼虫的半数死亡时间
Table 4 LT₅₀ of the 3rd instar larvae of *Hyphantria cunea* under
HycuNPV and HycuNPV+EMB (1 : 9) treatment

处理 Treatment	毒力回归方程 Toxicity regression equations	95%置信区间(d) 95% CL (d)	相关系数 Correlation coefficient	半数死亡时间 (d) LT ₅₀ (d)
HycuNPV	y=0.525 - 1.895x	6.185-7.842	0.973	7.530
HycuNPV : EMB (1 : 9)	y=0.483 - 2.239x	4.144-5.225	0.990	4.639

EMB: 甲维盐 Emamectin benzoate.

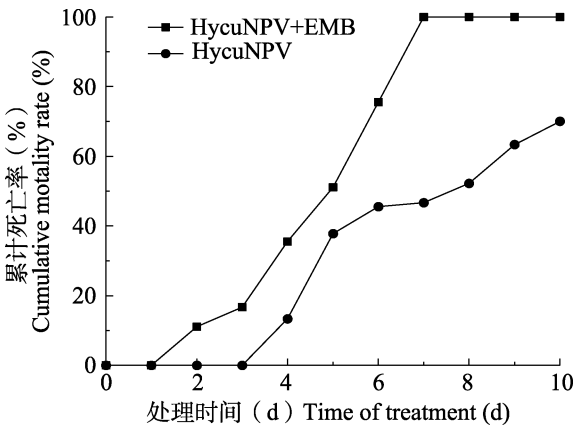


图 1 HycuNPV 和 HycuNPV+EMB (1 : 9) 处理下美国白蛾 3 龄幼虫的累计死亡率
Fig. 1 Cumulative mortality of the 3rd instar larvae of *Hyphantria cunea* treated with HycuNPV and HycuNPV+EMB (1 : 9)
EMB: 甲维盐 Emamectin benzoate.

3 讨论

昆虫病毒与其他不同类型杀虫剂混配使用

是缩短杀虫时间、提高防治效果的主要途径之一。郭慧芳等 (2005) 将 6.67 mg·L⁻¹ 虫酰肼和苜蓿银纹夜蛾核型多角体病毒 (AcNPV) 混合作用于 3 龄、4 龄甜菜夜蛾, LT₅₀ 较单一使用 AcNPV 分别缩短 10.8% 和 6.5%, 同时显著抑制了幼虫的生长发育。段彦丽等 (2008) 将 HycuNPV 与 Bt 复配对美国白蛾幼虫进行毒力测定, 复配后两病原互相有显著的增效作用, 并且将 LT₅₀ 缩短 0.5-2.1 d。Dáder 等 (2020) 将苜蓿银纹夜蛾核型多角体病毒 (AcNPV)、海灰翅夜蛾核型多角体病毒 (SpliNPV) 和 7 种化学杀虫剂进行混配, 结果显示低浓度的印楝素、阿维菌素和氰氟虫腙与 AcNPV 和 SpliNPV 联合使用对苜蓿银纹夜蛾和海灰翅夜蛾的防治具有协同增效作用。本研究首先测定甲维盐、高效氯氰菊酯、灭幼脲、苦参碱和 HycuNPV 对美国白蛾 3 龄幼虫的毒力, 4 种杀虫剂的单剂毒力从大到小依次为甲维盐、高效氯氰菊酯、灭幼脲及苦参碱。进一步研究发现,

HycuNPV 与甲维盐复配的 4 个配比均表现出增效作用, 随后对 HycuNPV+甲维盐的 9 个配比采用共毒系数法进行联合毒力分析。结果表明, 美国白蛾核型多角体病毒与甲维盐体积比在 9:1-1:9 之间均表现出增效作用, 且在 1:9 配比处理下增效作用最明显, 增效倍数达 29.06, LT_{50} 与单一使用 HycuNPV 相比, 缩短了 2.891 d。研究中还发现, 高浓度 HycuNPV 与甲维盐复配后呈现一定拮抗作用, 随着 HycuNPV 浓度逐渐降低和甲维盐浓度逐渐升高, 两者表现出显著的增效作用现象。Allah 等 (2020) 的研究结果与之相似, 较高剂量的棉铃虫核型多角体病毒 (HaNPV) 和乙基多杀菌素混配后存在拮抗作用。已有研究表明, NPV 和杀虫剂混配后的拮抗作用可能是由于取食潜力的降低或昆虫肠道 pH 值的变化 (El-Helaly and El-bendary, 2013), 但具体机制仍有待深入研究。

在本研究中, HycuNPV 与甲维盐复配使用后的病毒终浓度为 10^5 OBs·mL⁻¹, 成本降低为复配前的 1/100, 5%甲维盐在进行野外美国白蛾防治时推荐使用的稀释倍数为 1 000 倍, 复配后的稀释倍数为 180 万倍, 使用剂量降低到原来的 1/1 800, 不仅解决了美国白蛾病毒杀虫剂成本高、杀虫速度慢的不足, 而且极大减少了化学农药的使用量, 降低了化学农药对环境和生态系统等负面影响。本研究的结论是基于室内试验的结果, 林间的实际防治效果尚有待进一步验证。此外, HycuNPV 与甲维盐混配使用的增效机制尚不明确。已有的报道中, 病毒侵入虫体后利用宿主的养分完成复制增殖, 并导致其防御系统紊乱, 相关酶活性变化引起有机体损伤, 最终造成虫体死亡 (季香云等, 2014)。昆虫病毒杀虫剂与化学药剂混合使用后产生增效作用, 其部分原因在于昆虫体内的保护酶系遭到破坏导致氧自由基大量累积, 无法维持机体正常生理功能 (张慧等, 2006)。同时, 已有研究证实甲维盐可通过提高氧自由基水平、抑制抗氧化酶活性, 进而导致线粒体损伤, 引发细胞凋亡 (Xu *et al.*, 2022)。根据已有的研究结果可以预测, 昆虫病毒与甲维盐复配使用后共同作用于昆虫的免疫

系统, 导致关键酶活变化, 从而加速昆虫的死亡。在今后的研究中, 可以通过组学和现代分子生物学技术, 对 HycuNPV 与甲维盐组合的复配增效的具体机制进行深入探究, 从而为病毒和农药杀虫剂的高效利用提供理论基础和指导。

参考文献 (References)

- Allah DA, Shafqat S, Syed MZ, Muhannad A, Muhannad SS, Muhannad I, Umbreen S, Naeem I, Suliman MA, 2020. Interaction of HaNPVs with two novel insecticides against *Helicoverpa armigera* Hübner (Noctuidae: Lepidoptera), *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(8): 2124–2128.
- Dáder B, Aguirre E, Caballero P, Medina P, 2020. Synergy of lepidopteran nucleopolyhedroviruses AcMNPV and SpliNPV with insecticides. *Insects*, 11(5): 316.
- Duan YL, Qu LJ, Wang YZ, Zhang YA, Tao WQ, Guan L, Yang ZQ, 2009. Sustainable effects for *Hyphantria cunea* nuclear polyhedrosis virus on the host insects and the diffusion approach of the virus. *Scientia Silvae Sinicae*, 45(6): 83–86. [段彦丽, 曲良建, 王玉珠, 张永安, 陶万强, 关玲, 杨忠岐, 2009. 美国白蛾核型多角体病毒传播途径及对寄主的持续作用. 林业科学, 45(6): 83–86.]
- Duan YL, Tao WQ, Qu LJ, Yan R, Zhang YA, Yang ZQ, 2008. Joint pathogenicity of nucleopolyhedrovirus and *Bacillus thuringiensis* to *Hyphantria cunea*. *Chinese Journal of Biological Control*, 24(3): 233–238. [段彦丽, 陶万强, 曲良建, 颜容, 张永安, 杨忠岐, 2008. HcNPV 和 Bt 复配对美国白蛾的致病性. 中国生物防治, 24(3): 233–238.]
- Edosa TT, Jo YH, Keshavarz M, Anh YS, Noh MY, Han YS, 2019. Current status of the management of fall webworm, *Hyphantria cunea*: Towards the integrated pest management development. *Journal of Applied Entomology*, 143(1/2): 1–10.
- El-Helaly, AA, El-bendary HM, 2013. Impact of spinosad and nucleopolyderosis virus alone and in combination against the cotton leaf worm *Spodeptera litralis* under laboratory. *Applied Science Reports*, 2(1): 17–21.
- Government Network of the National Forestry and Grassland Administration, 2022. Announcement No. 5 of the National Forestry and Grassland Administration in 2022: *Hyphantria cunea* epidemic area in 2022[EB/OL]. (2022-03-18) <http://www.forestry.gov.cn/main/5461/20220318/110715854936547.html>. [国家林业和草原局政府网, 2022. 国家林业和草原局公告 2022 年第 5 号: 2022 年美国白蛾疫区[EB/OL]. (2022-03-18) <http://www.forestry.gov.cn/main/5461/20220318/110715854936547.html>.]

- Guo HF, Fang JC, Han ZJ, 2003. Advances in insect virus synergists. *Acta Entomologica Sinica*, 46(6): 766–772. [郭慧芳, 方继朝, 韩召军, 2003. 昆虫病毒增效剂研究进展. 昆虫学报, 46(6): 766–772.]
- Guo HF, Han ZJ, Fang JC, Liu BS, 2005. Synergistic effect of tebufenozide combined with *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus against *Spodoptera exigua*. *Journal of Plant Protection*, 32(04): 411–415. [郭慧芳, 韩召军, 方继朝, 刘宝生, 2005. 虫酰肼对苜蓿银纹夜蛾核型多角体病毒的增效作用. 植物保护学报, 32(04): 411–415.]
- Guo XJ, 2018. Biological characteristic and intergrated control of *Hyphantria cunea*. *Heilongjiang Agricultural Science*, 2018(9): 165–168. [郭小军, 2018. 美国白蛾的生物学特征及其综合防治. 黑龙江农业科学, 2018(9): 165–168.]
- He CJ, Li JZ, Wang Y, Chen YF, Liu F, 2022. Occurrence of *Hyphantria cunea* and trend forecast for 2022. *Forest Pest and Disease*, 41(1): 46–48. [赫传杰, 李加正, 王越, 陈怡帆, 刘枫, 2022. 美国白蛾发生情况及 2022 年趋势预测. 中国森林病虫, 41(1): 46–48.]
- Huang GY, 2022. Occurrence regularity of *Hyphantria cunea* in Jinshan district of Shanghai. *Forest Pest and Disease*, 41(2): 27–31. [黄广育, 2022. 上海金山区美国白蛾发生规律初探. 中国森林病虫, 41(2): 27–31.]
- Ji XY, Bao YB, Wan NF, Jiang JX, Tan JC, 2014. Effect of SINPV on the phenol oxidase activity and hemolymph melanization of the infected larval *Spodoptera litura* (Fabriciu). *Journal of Huazhong Agricultural University*, 33(1): 47–50. [季香云, 包杨滨, 万年峰, 蒋杰贤, 谭继才, 2014. 核型多角体病毒对斜纹夜蛾酚氧化酶活性及血淋巴黑化的影响. 华中农业大学学报, 33(1): 47–50.]
- Jia HM, Zhang HJ, Zhang X, 2022. Occurrence characteristic and comprehensive countermeasure of *Hyphantria cunea*. *Journal of Fruit Resources*, 3(2): 60–62. [贾红梅, 张宏杰, 张旭, 2022. 美国白蛾发生危害特点及综合防控措施. 果树资源学报, 3(2): 60–62.]
- Jiang MH, Zheng CG, Xu SL, Li GG, Tang L, 2013. Synergistic effect of pithol hydrazide on nuclear polyhedrosis virus of *Spodoptera litura*. *China Plant Protection*, 33(8): 53–55. [江敏华, 郑常格, 徐树兰, 利广规, 汤历, 2013. 虫酰肼对斜纹夜蛾核型多角体病毒的增效作用. 中国植保导刊, 33(8): 53–55.]
- Li LS, Yuan YF, Wu L, Chen M, 2018. Effects of plants on the feeding behavior and detoxification enzyme activities in *Hyphantria cunea* (Lepidoptera: Arctiidae) larvae. *Acta Entomologica Sinica*, 61(2): 232–239. [李路莎, 袁郁斐, 武磊, 陈敏, 2018. 不同寄主植物对美国白蛾幼虫取食行为及解毒酶活性的影响. 昆虫学报, 61(2): 232–239.]
- Liu HM, Zhou HX, Li CY, 2013. Enhancing effects of fluorescent brightener 28 and *Helicoverpa armigera* granulovirus enhancin on *Hyphantria cunea* nucleopolyhedrovirus. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 15(2): 153–158. [刘海明, 周洪旭, 李长友, 2013. 荧光增白剂与增效蛋白对美国白蛾核型多角体病毒 (HcNPV) 的增效作用. 农药学报, 15(2): 153–158.]
- Lu XL, Han FY, Wen XY, Qiu LX, Qu T, Chang GB, 2021. Analysis on the occurrence situation and countermeasures of *Hyphantria cunea* (Drury). *Forest Pest and Disease*, 40(1): 44–48. [卢修亮, 韩凤英, 温玄烨, 邱立新, 曲涛, 常国彬, 2021. 美国白蛾发生形势分析与对策建议. 中国森林病虫, 40(1): 44–48.]
- Luo LP, Wang XY, Yang ZQ, Cao LM, 2018. Research progress in the management of fall webworm, *Hyphantria cunea* (Drury). *Journal of Environmental Entomology*, 40(4): 721–735. [罗立平, 王小艺, 杨忠岐, 曹亮明, 2018. 美国白蛾防控技术研究进展. 环境昆虫学报, 40(4): 721–735.]
- Lv Q, Zhang SF, Lin RZ, Wang HM, 2022. Occurrence status of main forestry invasive species in China and their research trends. *Plant Protection*, 48(4): 21–38. [吕全, 张苏芳, 林若竹, 王慧敏, 2022. 中国主要林业入侵生物的发生现状及其研究趋势. 植物保护, 48(4): 21–38.]
- Mansour NA, Eldefrawi ME, Topozada A, Zeid M, 1966. Toxicological studies on the egyptian cotton leaf worm, *Prodenia litura*. VI. Potentiation and antagonism of organophosphorus and carbamate insecticides. *Journal of Economic Entomology*, 59(2): 307–311.
- Schowalter T, Ring D, 2017. Biology and management of the fall webworm, *Hyphantria cunea* (Lepidoptera: Erebiidae). *Journal of Integrated Pest Manage*, 8(1): 1–6.
- Silva GA, Picanco MC, Bacci L, Crespo ALB, Rosado JF, Guedes RNC, 2011. Control failure likelihood and spatial dependence of insecticide resistance in the tomato pinworm, *Tuta absoluta*. *Pest Management Science*, 67(8): 913–920.
- Thamthiankul CS, Tantichodok A, Panbangred W, 2008. Spore stage expression of a vegetative insecticidal gene increase toxicity of *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* SP41 against *Spodoptera exigua*. *Journal of Biotechnology*, 136(3/4): 122–128.
- Wang CR, Li EJ, Wang SB, Wang QH, Wang YZ, Zhang YA, Duan LQ, 2020. Identification of new virus strain of *Apocheima cinerarius* and its synergistic effect on *A. cinerarius* nucleopolyhedrovirus. *Chinese Journal of Biological Control*, 36(2): 196–202. [王承锐, 李恩杰, 王少博, 王青华, 王玉珠, 张永安, 段立清, 2020. 春尺蠖新病毒株的鉴定及其对春尺蠖核型多角体病毒的增效作用. 中国生物防治学报, 36(2): 196–202.]

- 196–202.]
- Wu HW, Kang Z, Xin SL, Qin XB, Zhang QM, Liu HX, 2012. Effects of different food plants on the growth, development and reproduction of fall webworm, *Hyphantria cunea*, larvae. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 49(4): 963–968. [武海卫, 康智, 信善林, 秦绪兵, 张秋梅, 刘焕秀, 2012. 不同食料植物对美国白蛾生长发育和繁殖的影响. *应用昆虫学报*, 49(4): 963–968.]
- Wu NN, Zhang SF, Li XW, Cao YH, Liu XJ, Wang QH, Liu Q, Liu HH, Hu X, Zhou XJ, James AA, Zhang Z, Huang YP, Zhan S, 2019. Fall webworm genomes yield insights into rapid adaptation of invasive species. *Nature Ecology and Evolution*, 3(1): 105–115.
- Xu Z, Li L, Bai JY, Zhang Y, Min MR, Ma W, Ma L, 2022. Transcriptome analysis of emamectin benzoate caused midgut damage by inducing oxidative stress, energy metabolism disorder and apoptosis in gypsy moth (*Lymantria dispar*). *Pest Management Science*, 78(11): 4628–4637.
- Yang ZQ, Zhang YA, 2007. Researches on techniques for biocontrol of the fall webworm, *Hyphantria cunea*, a severe invasive insect pest to China. *Chinese Bulletin of Entomology*, 44(4): 465–471, 622. [杨忠岐, 张永安, 2007. 重大外来入侵害虫——美国白蛾生物防治技术研究. *昆虫知识*, 44(4): 465–471, 622.]
- Yu CY, 1993. Review of the control work and future control strategies of *Hyphantria cunea*. *Forest Pest and Disease*, 1993(4): 35–37. [于长义, 1993. 美国白蛾防治工作回顾及今后防治对策. *森林病虫通讯*, 1993(4): 35–37.]
- Yuan Y, Li L, Zhao J, Chen M, 2020. Effect of tannic acid on nutrition and activities of detoxification enzymes and acetylcholinesterase of the fall webworm (Lepidoptera: Arctiidae). *Journal of Insect Science*, 20(1): 1–7.
- Zahiri R, Holloway JD, Kitching IJ, Lafontaine JD, Mutanen, M, Wahlberg N, 2012. Molecular phylogenetics of Erebidae (Lepidoptera, Noctuoidea). *Systematic Entomology*, 37(1): 102–124.
- Zahiri R, Lafontaine JD, Holloway JD, Kitching IJ, Schmidt BC, Kaila L, Wahlberg N, 2013. Major lineages of Nolidae (Lepidoptera, Noctuoidea) elucidated by molecular phylogenetics. *Cladistics*, 29(4): 337–359.
- Zhang H, Wang XR, Kuang SZ, Wu JF, Lv ZZ, 2006. Effect of sublethal concentration of insecticides and SINPV on the activities of SOD, CAT and POD in *Spodoptera litura*. *Acta Entomologica Sinica*, 49(5): 775–779. [张慧, 王晓容, 匡石滋, 吴洁芳, 吕作舟, 2006. 斜纹夜蛾核型多角体病毒与两种亚致死剂量的农药混用对斜纹夜蛾体内三种抗氧化酶活性的影响. *昆虫学报*, 49(5): 775–779.]