甜菜夜蛾增殖马尾松毛虫质型多角体病毒防治应用研究*

赵正萍[1**] 颜学武[1***] 邬 颖[1] 周 刚[1] 刘跃进[2]

（1. 湖南省林业科学院，长沙 410004；2. 湖南省森林病虫害防治检疫总站，长沙 410004）

摘 要 **【目的】** 研究替代寄主甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* 增殖的 Se-DpCPV 及其复合剂对马尾松毛虫 *Dendrolimus punctatus* 的防治效果，为进一步研究马尾松毛虫林间大规模防治提供依据。**【方法】** 在室内利用接种不同浓度病毒的松针饲喂马尾松毛虫幼虫，比较替代寄主增殖的 Se-DpCPV 和野生型 DpCPV 毒力能力以及 Se-DpCPV 对不同龄期马尾松毛虫幼虫毒力水平；同时，在林间利用固定翼植保无人机喷洒不同浓度 DpCPV 及其复合剂，测定各组对第 1 代马尾松毛虫幼虫的防治效果。**【结果】** 甜菜夜蛾增殖的 Se-DpCPV 和野生型 DpCPV 对马尾松毛虫幼虫具有同样的感染致病能力，对马尾松毛虫 3 龄幼虫半数致死浓度 LC_{50} 分别为 4.73×10^3 PIB/mL 和 3.36×10^3 PIB/mL，二者毒力差异性不显著（P=0.107＞0.05）。Se-DpCPV 对马尾松毛虫 2-5 龄各龄幼虫半数致死浓度 LC_{50} 分别为 2.03×10^3、4.73×10^3、1.05×10^4、3.85×10^4 PIB/mL。当 Se-DpCPV 林间用量分别为 375 亿、750 亿和 1 500 亿 PIB/hm^2 时，Se-DpCPV+3.2%阿维菌素复合剂防治组马尾松毛虫校正死亡率为 86.05%、90.70%和 94.19%，对马尾松毛虫的林间防治效果显著高于 Se-DpCPV+25%灭幼脲复合剂（66.28%、72.09%和 79.07%）和 Se-DpCPV（59.30%、63.95%和 70.93%）。活虫 DpCPV 感染率最低为 80.00%，最高可达 93.33%。Se-DpCPV 与 3.2%阿维菌素、25%灭幼脲复配，比单独使用两种药剂防治效果至少分别提高 17.45%和 33.72%。**【结论】** 在林间马尾松毛虫大暴发时，在马尾松毛虫 3 龄以下幼虫期，使用 DpCPV+3.2%阿维菌素复合剂（750 亿 PIB/hm^2，7.5 mL/hm^2）在短时间内迅速降低虫口基数，同时起到持续控制的效果。

关键词 马尾松毛虫，质型多角体病毒，DpCPV 复合剂，甜菜夜蛾，替代寄主，林间防治

Applied research on the *Dendrolimus punctatus* cytoplasmic polyhedrosis virus propagated in the substitute host *Spodoptera exigua*

ZHAO Zheng-Ping[1**] YAN Xue-Wu[1***] WU Ying[1] ZHOU Gang[1] LIU Yue-Jin[2]

(1. Hunan Academy of Forestry, Changsha 410004, China; 2. Hunan General Station of Forest Pest Management and Quarantine, Changsha 410004, China)

Abstract **[Objectives]** To provide a foundation for further research on the bio-control of *Dendrolimus punctatus* in the field. The virulence of the *Dendrolimus punctatus* cytoplasmic polyhedrosis virus (DpCPV) propagated in the substitute host *Spodoptera exigua*, named Se-DpCPV, and its compound agent, to *D. punctatus*, were studied. **[Methods]** The virulence of Se-DpCPV to *D. punctatus* larvae was compared to that of the original isolate DpCPV by feeding larvae pine needles infected with different concentrations of the virus, and the virulence of Se-DpCPV to *D. punctatus* larvae of different ages was determined. A field trial of the effectiveness of spraying different concentrations of Se-DpCPV and its compound agents from a fixed-wing unmanned aerial vehicle to control first generation of *D. punctatus* larvae was also conducted. **[Results]** Se-DpCPV was as infectious as the original isolate to 3rd instar larvae of *D. punctatus* and its median lethal concentration (LC_{50}) of 4.73×10^3 PIB/mL was not significantly different from that of the original isolate (3.36×10^3 PIB/mL). Median lethal concentrations (LC_{50}) of

*资助项目 Supported projects：湖南省林业科技计划项目（XLK201504）

**第一作者 First author，E-mail：zzping1989@163.com

***通讯作者 Corresponding author，E-mail：123124061@qq.com

收稿日期 Received：2018-03-15，接受日期 Accepted：2018-07-05

Se-DpCPV against 2nd, 3rd, 4th and 5th instar larvae of *D. punctatus* were 2.03×10^3, 4.73×10^3, 1.05×10^4 and 3.85×10^4 PIB/mL, respectively. Spraying 3.75×10^{10}, 7.50×10^{10} and 1.50×10^{11} PIB/hm^2 Se-DpCPV mixed with 3.2% avermectin (7.5 mL/hm^2) achieved corrected mortality rates of *D. punctatus* of 86.05%, 90.70% and 94.19%, respectively. The control efficiency of this mixture was significantly higher than that of 25% chlorbenzuron (1 g/hm^2), for which the corresponding corrected mortality rates were 66.28%, 72.09% and 79.07%. Corrected mortality rates for three different concentrations of Se-DpCPV applied without an insecticide were 59.30%, 63.95% and 70.93%. The infection rate of *D. punctatus* was 80.00% to 93.33%. Compared with 3.2% avermectin and 25% chlorbenzuron, the control efficiency of the Se-DpCPV mixture was at least 17.45% to 33.72% higher. **[Conclusion]** A mixture of Se-DpCPV (7.50×10^{10} PIB/hm^2) and 3.2% avermectin (7.5 mL/hm^2) is recommended for the control of *D. punctatus* before the 3rd instar. This mixture can reduce the population base of *D. punctatus* within a short time and has a long-lasting effect.

Key words *Dendrolimus punctatus*, cytoplasmic polyhedrosis virus, the DpCPV compound agent, *Spodoptera exigua*, substitutive host, field management

马尾松毛虫 *Dendrolimus punctatus* 隶属鳞翅目 Lepidoptera 枯叶蛾科 Lasiocampidae 松毛虫属 *Dendrolimus*，广泛分布于我国安徽、湖南、河南、海南、广西和台湾等十多个省份，主要危害马尾松 *Pinus massoniana*、火炬松 *P. taeda*、湿地松 *P. elliottii* 等松属植物，是危害我国松林历史性害虫之一。其发生范围广、危害面积大、常猖撅成灾，主要以幼虫取食松针，大发生时连片松林在数日内，即可被蚕食精光，远看枯黄、焦黑，如同火烧一般，常称为“不冒烟的森林火灾”，并诱发次期性害虫，造成松树连片或块状枯死。

马尾松毛虫质型多角体病毒（*Dendrolimus punctatus* cytoplasmic polyhedrosis virus，简称 DpCPV）是防控马尾松毛虫主要生物防治手段之一，且具有持效作用，一次防治可控制 5-6 年不成灾（刘清浪等，1986）。应用昆虫病毒防治农林害虫，其前提条件是能否实现病毒工厂化生产。目前，DpCPV 生产主要是利用天然寄主马尾松毛虫林间或围栏进行复制，不仅受季节性及虫源的限制，也严重影响病毒的产量与质量。采用人工饲料在室内大规模饲养宿主昆虫或替代寄主昆虫进行病毒增殖是获得大量病毒的重要途径，同时不受环境和寄主虫源等条件限制，能实现病毒周年性生产。研究发现，松毛虫 CPV 具有相对广泛的宿主范围，可使鳞翅目 10 科 31 种昆虫感染发病，并且对其中多个种类的昆虫具有较高的感染力和良好的杀虫效果（赵同海和陈晶浩，2004）。目前，已证明甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua*、棉铃虫 *Heliothis armigera*、粉纹夜蛾 *Trichoplusis ni* 和银纹夜蛾 *Argyrogramma agnata* 等昆虫能够作为增殖 DpCPV 的优良替代寄主（陈昌洁等，1990；周小毛和戴冠群，1993；何雪香等，2000；马永平等，2001；陈飞等，2008；肖宇宙等，2010）。本文通过利用替代寄主甜菜夜蛾增殖以及分离提纯的 Se-DpCPV 与野生型 DpCPV 进行毒力比较，同时测试其对不同龄期的马尾松毛虫幼虫的毒力水平，以及在林间利用固定翼植保无人机喷洒 DpCPV 及其复合剂进行小规模的防治试验，比较不同剂量 DpCPV 及与其他药剂复配对马尾松毛虫幼虫的联合增效作用，为马尾松毛虫灾害的预防和控制奠定基础。

1　材料与方法

1.1　实验材料

供试病毒及替代寄主：接种的野生型 DpCPV 由中国科学院武汉病毒研究所分离提纯所得；替代寄主甜菜夜蛾由中国农业科学研究院引进并在室内利用人工饲料饲养 2 代以上的品系。

供试药剂：3.2%阿维菌素乳油（河北省沧州志诚化工有限公司）和 25%灭幼脲悬浮剂（河南省安阳市安林生物化工有限责任公司）。

1.2　实验方法

1.2.1　接种方法及检查方法　甜菜夜蛾卵块用 5%甲醛溶液浸泡 15 min，然后取无菌水漂洗 2

次，自然凉干后移入经消毒的圆形塑料杯（底 φ=6.5 cm，顶 φ=9.5 cm，H=7 cm）中于无菌室（温度 25 ℃，L∶D=14∶10，湿度 60%）内饲养至 3 龄。然后选取健康活跃的甜菜夜蛾 3 龄幼虫，饥饿 8-10 h 后，于方形养虫盒（55 cm×35 cm×8 cm）中饲养，每盒 250-300 头。将 DpCPV 稀释为 10^5 PIB/mL，滴加到新鲜人工饲料表面，阴干后饲喂甜菜夜蛾幼虫，接种剂量为 50 μL/虫。及时更换、添加新鲜无毒人工饲料，每天观察统计幼虫死亡情况，清理病死虫。接种 3 d 后，开始收集被病毒感染致死的幼虫，保存于 -20 ℃冰箱中备用，连续收集直至预蛹前期。将收集的病死虫匀浆，二层纱布过滤后，经 500 r/min 和 4 000 r/min 差速离心法进行病毒纯化，分离出的病毒命名为 Se-DpCPV。

1.2.2 Se-DpCPV 和 DpCPV 对马尾松毛虫幼虫毒力测试 林间采集健康活跃的马尾松毛虫幼虫，于养虫笼（30 cm×30 cm×30 cm）中饲养。将分离提纯的 Se-DpCPV 以及野生型 DpCPV 分别稀释到 10^3、10^4、10^5、10^6 PIB/mL 4 个浓度梯度，喷洒到松针叶上，感染从野外采集的 3 龄马尾松毛虫幼虫，幼虫活跃程度、大小等生理指标基本一致。病毒剂量为 50 μL/虫，每组 50 头，共 8 组，每组各 3 个重复。用喷洒等量无菌水处理的 3 龄马尾松毛虫幼虫作空白对照。待松针取食殆尽，及时添加、更换新鲜无毒松针，接毒 3 d 后每天记录感染死亡情况，至预蛹前期。统计幼虫死亡率、校正死亡率、半数致死浓度 LC_{50}，比较 Se-DpCPV 以及野生型 DpCPV 的 LC_{50} 差异显著性。

1.2.3 Se-DpCPV 对不同龄期马尾松毛虫幼虫毒力测试 林间采集健康活跃的马尾松毛虫幼虫，于养虫笼（30 cm×30 cm×30 cm）中饲养。将 Se-DpCPV 稀释到 10^3、10^4、10^5、10^6 PIB/mL 4 个浓度梯度，喷洒到松针叶上，分别喂食感染 2、3、4、5 龄马尾松毛虫幼虫。每个龄期幼虫活跃程度、大小等生理指标基本一致。病毒剂量为 50 μL/虫，每组 50 头，各 3 个重复。用喷洒等量无菌水处理的 2-4 龄马尾松毛虫幼虫作空白对照。待松针取食殆尽，及时添加、更换新鲜无毒松针，接毒 3 d 后每天记录感染死亡情况，至预蛹前期。统计幼虫死亡率、校正死亡率、半数致死浓度 LC_{50}。

1.2.4 林间防治试验 试验地位于郴州市桂阳县流峰镇，东经 112°33′36″-112°45′42″，北纬 25°37′15″-26°53′28″，属亚热带湿润季风性气候，年均气温 16 ℃，年均降水量 1 552.3 mm，地形以丘陵为主。试验地人工营造松林主要为马尾松和火炬松混交林，其中马尾松占 75%左右，面积 200 hm^2。树龄 8-10 年生，树高 2-4 m，郁闭度 0.6-0.7。林中马尾松毛虫有虫株率达 70%以上，虫口密度约 40-60 头/株，呈中、重度发生。

于 2017 年第一代马尾松毛虫 3-4 龄幼虫期，在流峰镇松林设 12 块标准地，采用固定翼植保无人机施药。喷药量为 10 kg/hm^2，防治面积各 1 hm^2，不同处理的样地之间至少间隔 10-15 m。喷药顺序为对照组-Se-DpCPV 组-Se-DpCPV+3.2%阿维菌素组-Se-DpCPV+25%灭幼脲组，从低浓度到高浓度。每喷完一个处理，均用清水清洗药箱及喷头。实验当天林间平均温度 25.5 ℃左右，相对湿度 68.1%，风速约 0.4 m/s。具体处理方式及施药量见表 1。

各处理区采用随机取样法分别抽取标准株 6 株，喷病毒后每个处理区随机设 6 个套笼，每笼 30 条虫，以作效果检查。具体做法是：将马尾松毛虫幼虫连同枝条一起罩进养虫网里，扎紧网口，以防止幼虫逃逸。喷病毒后第 3、7、21 天调查记录标准株上马尾松毛虫死亡情况，计算不同处理区马尾松毛虫死亡率和校正死亡率。同时于喷药后第 21 天在各处理区非标准株上分别采集 30 头马尾松毛虫活虫，解剖镜检 DpCPV 感染情况。计算公式如下：

死亡率（%）=（施药前活虫数－施药后活虫数）/施药前活虫数×100，

校正死亡率（%）=（处理死亡率－对照死亡率）/（1－对照死亡率）×100。

1.3 数据统计与分析

统计方法采用 SPSS 24.0 和 Microsoft Excel 2010 数据处理软件进行单因素方差分析和相关分析。

表 1　林间试验处理方式及用量

Table 1　Different treatments and application rates on *Dendrolimus punctatus* larvae in the field

序号 Number	处理方式 Treatments	用量 Application rates
1	Se-DpCPV	375 亿 PIB/hm^2
2	Se-DpCPV	750 亿 PIB/hm^2
3	Se-DpCPV	1 500 亿 PIB/hm^2
4	3.2%阿维菌素 3.2% Abamectin	7.5 mL/hm^2
5	Se-DpCPV+3.2%阿维菌素 Se-DpCPV+3.2% Abamectin	375 亿 PIB/hm^2，7.5 mL/hm^2
6	Se-DpCPV+3.2%阿维菌素 Se-DpCPV+3.2% Abamectin	750 亿 PIB/hm^2，7.5 mL/hm^2
7	Se-DpCPV+3.2%阿维菌素 Se-DpCPV+3.2% Abamectin	1 500 亿 PIB/hm^2，7.5 mL/hm^2
8	25%灭幼脲 25% Chlorbenzuron	15 g/hm^2
9	Se-DpCPV+25%灭幼脲 Se-DpCPV+25% Chlorbenzuron	375 亿 PIB/hm^2，15 g/hm^2
10	Se-DpCPV+25%灭幼脲 Se-DpCPV+25% Chlorbenzuron	750 亿 PIB/hm^2，15 g/hm^2
11	Se-DpCPV+25%灭幼脲 Se-DpCPV+25% Chlorbenzuron	1 500 亿 PIB/hm^2，15 g/hm^2
CK	水 Water	10 kg/hm^2

每个处理加 0.25%光保护剂。

0.25% fluorescent brightener OB added in each treatment.

2　结果与分析

2.1　Se-DpCPV 和 DpCPV 对马尾松毛虫幼虫毒力比较

马尾松毛虫幼虫感染 Se-DpCPV 和 DpCPV 后均出现行动迟缓、懒动、少食等症状，幼虫开始萎缩。3 d 后开始有少部分幼虫死亡，死虫体壁完好，不液化，部分死虫肛门排泄出乳白色粪便，取粪便涂布镜检可见大量多角体，表现出典型的 CPV 感染症状。

同一病毒不同浓度单因素方差分析结果表明，马尾松毛虫 3 龄幼虫的死亡率随着接种浓度的增大而升高（表 2)。接种浓度为 10^3、10^4、10^5、10^6 PIB/mL 时，感染 Se-DpCPV 的马尾松毛虫 3 龄幼虫校正死亡率分别为（38.27±6.59）%、（54.68±12.02）%、（74.10±9.89）%和（88.49±8.17）%；感染 DpCPV 的马尾松毛虫 3 龄幼虫校正死亡率分别为（39.57±7.78）%、（58.99±9.89）%、（78.42±6.47）%和（90.65±6.94）%。浓度-死亡率回归分析显示，Se-DpCPV 的回归方程为 Y=3.148 9＋0.503 7X，野生型 DpCPV 的回归方程为 Y=3.126 7＋0.531 2X。替代寄主与天然宿主增殖的 DpCPV 对马尾松毛虫幼虫具有同样的感染致病能力，对马尾松毛虫幼虫半数致死浓度 LC_{50} 分别为 4.73×10^3 PIB/mL 和 3.36×10^3 PIB/mL，其差异性不显著（P=0.107＞0.05），说明甜菜夜蛾作为替代寄主增殖 DpCPV 并不影响病毒的毒力。

2.2　Se-DpCPV 对各龄马尾松毛虫幼虫毒力比较

室内毒力测试结果表明，利用甜菜夜蛾增殖的 Se-DpCPV 对马尾松毛虫各龄幼虫均具有很强的感染力（表 3)。随着 Se-DpCPV 浓度的增加，马尾松毛虫幼虫的感染死亡率也随之增加。据浓度-死亡率回归分析显示，感染 Se-DpCPV 的 2 龄幼虫的回归方程为 Y=3.572 6＋0.431 6X，3 龄幼虫的回归方程为 Y=3.148 9＋0.503 7X，4 龄幼虫的回归方程为 Y=3.212 4＋0.444 5X，5 龄幼虫的回归方程为 Y=3.204 5＋0.391 6X，各龄幼虫的半数致死浓度 LC_{50} 分别为 2.03×10^3、4.73×10^3、1.05×10^4、3.85×10^4 PIB/mL。

2.3　不同处理区马尾松毛虫的防治效果

不同剂量 Se-DpCPV 及其复合剂对马尾松毛虫幼虫均具有较好的防治效果（表 4)。喷药

表 2 Se-DpCPV 和 DpCPV 对马尾松毛虫幼虫毒力

Table 2 Bioassay of Se-DpCPV and DpCPV on *Dendrolimus punctatus* larvae

病毒 Virus	病毒浓度（PIB/mL） Concentration (PIB/mL)	死亡率（%） Mortality (%)	校正死亡率（%） Calibration of mortality (%)	回归方程 Regression equation	半数致死浓度 LC_{50}（PIB/mL） Median lethal concentration LC_{50} (PIB/mL)
Se-DpCPV	10^3	42.67±6.11 bC	38.27±6.59 bC	Y=3.148 9+0.503 7X	4.73×10^3
	10^4	58.00±11.13 bBC	54.68±12.02 bBC		
	10^5	76.00±9.17 bAB	74.10±9.89 aAB		
	10^6	89.33±7.57 aA	88.49±8.17 aA		
DpCPV	10^3	44.00±7.21 cC	39.57±7.78 cC	Y=3.126 7+0.531 2X	3.36×10^3
	10^4	62.00±9.17 bBC	58.99±9.89 bBC		
	10^5	80.00±6.00 aAB	78.42±6.47 aAB		
	10^6	91.33±6.43 aA	90.65±6.94 aA		

表中数据为平均值±标准差（mean±SD），同组数据后标有相同字母表示差异不显著，不同小写字母表示差异显著（P<0.05），不同大写字母表示差异极显著（P<0.01）。表 3 同。

Data in the table are mean ± SD, and followed by the different letters in the same group indicate significantly different at the 0.05 level by Duncan's multiple range test, while followed by the different capital letters indicate extremely significantly different at the 0.01 level. The same as table 3.

表 3 Se-DpCPV 对不同龄期马尾松毛虫幼虫毒力

Table 3 Bioassay of Se-DpCPV on different instar of *Dendrolimus punctatus* larvae

虫龄 Instar	病毒浓度（PIB/mL） Concentration (PIB/mL)	死亡率（%） Mortality (%)	校正死亡率（%） Calibration of mortality (%)	回归方程 Regression equation	半数致死浓度 LC_{50}（PIB/mL） Median lethal concentration LC_{50}(PIB/mL)
2 龄 2^{nd} instar	10^3	53.33±8.08 cB	49.64±8.72 cB	Y=3.572 6+0.431 6X	2.03×10^3
	10^4	61.33±6.42 bcB	58.27±6.94 bcB		
	10^5	72.67±10.26 bAB	70.50±11.08 bAB		
	10^6	91.33±8.08 aA	90.65±8.72 aA		
3 龄 3^{rd} instar	10^3	42.67±6.11 bC	38.27±6.59 bC	Y=3.148 9+0.503 7X	4.73×10^3
	10^4	58.00±11.13 bBC	54.68±12.02 bBC		
	10^5	76.00±9.17 bAB	74.10±9.89 aAB		
	10^6	89.33±7.57 aA	88.49±8.17 aA		
4 龄 4^{th} instar	10^3	38.67±7.02 cC	33.81±7.58 cC	Y=3.212 4+0.444 5X	1.05×10^4
	10^4	52.00±9.17 bcBC	48.20±9.89 bcBC		
	10^5	68.00±13.11 abAB	65.47±14.15 abAB		
	10^6	83.33±6.43 aA	82.01±6.94 aA		
5 龄 5^{th} instar	10^3	33.33±9.02 bC	28.06±9.73 bC	Y=3.204 5+0.391 6X	3.85×10^4
	10^4	42.67±7.02 bBC	38.13±7.58 bBC		
	10^5	60.67±8.08 aAB	57.55±8.72 aAB		
	10^6	73.33±11.02 aA	71.22±11.89 aA		

第 3 天，各处理均开始出现死虫，多数死亡个体表现出倒挂等症状，活虫取食量减少。其中，Se-DpCPV+3.2%阿维菌素处理组的马尾松毛虫幼虫在短期内出现大量死亡现象，Se-DpCPV+

表 4　不同处理对马尾松毛虫林间防治效果

Table 4　Application effect of different treatments on *Dendrolimus punctatus* larvae in the field

处理方式 Treatments	用量 Application rates	死亡率（%） Mortality (%)			校正死亡率（%） Calibration of mortality (%)	活虫感染率（%） Infection rate (%)
		3 d	7 d	21 d		
Se-DpCPV	375 亿 PIB/hm^2	8.89±5.09 cB	44.44±8.39 dDE	61.11±10.72 eD	59.30±11.21 eD	90.00
Se-DpCPV	750 亿 PIB/hm^2	13.33±3.33 cB	48.89± 8.39 cdCDE	65.56± 11.71 deCD	63.95± 12.26 deCD	90.00
Se-DpCPV	1 500 亿 PIB/hm^2	16.67±8.82 cB	56.67± 12.02 bcdABCD	72.22± 8.39 cdeABCD	70.93± 8.78 cdeABCD	93.33
3.2% 阿维菌素 3.2% Abamectin	7.5 mL/hm^2	50.00±8.82 bA	62.22± 10.18 abcdABCD	70.00± 8.82 cdeABCD	68.60± 9.23 cdeABCD	-
Se-DpCPV+ 3.2% 阿维菌素 Se-DpCPV+ 3.2% Abamectin	375 亿 PIB/hm^2 7.5 mL/hm^2	55.56± 15.03 abA	71.11± 13.47 abABC	86.67± 8.82 abcABC	86.05± 9.23 abcABC	83.33
Se-DpCPV+ 3.2% 阿维菌素 Se-DpCPV+ 3.2% Abamectin	750 亿 PIB/hm^2 7.5 mL/hm^2	64.44±5.09 aA	75.56± 6.94 aAB	91.11± 6.94 abAB	90.70± 7.26 abAB	86.67
Se-DpCPV+ 3.2% 阿维菌素 Se-DpCPV+ 3.2% Abamectin	1 500 亿 PIB/hm^2 7.5 mL/hm^2	65.56±8.39 aA	78.89±6.94 aA	94.44± 3.85 aA	94.19± 4.03 aA	86.67
25% 灭幼脲 25% Chlorbenzuron	15 g/hm^2	4.44±1.92 cB	26.67±8.82 eE	35.56± 11.71 fE	32.56± 12.25 fE	-
Se-DpCPV+ 25% 灭幼脲 Se-DpCPV+ 25% Chlorbenzuron	375 亿 PIB/hm^2 15 g/hm^2	10.00±8.82 cB	50.00± 6.67 cdCDE	67.78± 13.88 deBCD	66.28± 14.52 deBCD	83.33
Se-DpCPV+ 25% 灭幼脲 Se-DpCPV+ 25% Chlorbenzuron	750 亿 PIB/hm^2 15 g/hm^2	12.22±6.94 cB	52.22± 8.39 cdBCD	73.33± 8.82 bcdeABCD	72.09± 9.23 bcdeABCD	80.00
Se-DpCPV+ 25% 灭幼脲 Se-DpCPV+ 25% Chlorbenzuron	1 500 亿 PIB/hm^2 15 g/hm^2	17.78±5.09 cB	65.56± 13.47 abcABCD	80.00± 10.00 abcdABCD	79.07± 10.47 abcdABCD	86.67

表中数据为平均值±标准差（mean±SD），同列数据后标有相同字母表示差异不显著，不同小写字母表示差异显著（P<0.05），不同大写字母表示差异极显著（P<0.01）。

Data in the table are mean ± SD, and followed by the different letters in the same column indicate significantly different at the 0.05 level by Duncan's multiple range test, while followed by the different capital letters indicate extremely significantly different at the 0.01 level.

25%灭幼脲处理组和 Se-DpCPV 处理组马尾松毛虫死亡率相对较低；喷药第 7 天，各处理组马尾松毛虫死亡率均有大幅度增加，活虫精神萎靡、拒食等现象比例增加，含灭幼脲的处理组幼虫表现出明显虫体缩小症状；喷药后 21 d，各处理区马尾松毛虫死亡率进一步增加，未死亡个体有少量开始化蛹。各添加 DpCPV 处理组的病死虫均分离出 DpCPV。

随着 DpCPV 浓度的增加，各处理组马尾松毛虫死亡率呈上升趋势。Se-DpCPV 处理组，21 d 马尾松毛虫平均校正死亡率分别为（59.30±11.21）%、（63.95±12.26）%和（70.93±8.78）%；

Se-DpCPV+3.2%阿维菌素处理组，21 d 马尾松毛虫校正死亡率分别为（86.05±9.23）%、（90.70±7.26）%和（94.19±4.03）%，与单独施用 3.2%阿维菌素的马尾松毛虫校正死亡率（68.60±9.23）%相比，防治效果至少提高 17.45%，最多提高 25.59%；Se-DpCPV+25%灭幼脲处理组，21 d 马尾松毛虫校正死亡率分别为（66.28±14.52）%、（72.09±9.23）%和（79.07±10.47）%，与单独施用 25%灭幼脲的马尾松毛虫校正死亡率（32.56±12.25）%相比，防治效果至少提高 33.72%，最多提高 46.51%。施用 DpCPV 复合剂的防治效果均高于单独施用 DpCPV 的，其中 Se-DpCPV+3.2%阿维菌素处理组马尾松毛虫死亡率显著高于其他两组。各处理区非标准株上采集的马尾松毛虫活虫 DpCPV 感染率最低为 80%，最高达 93.33%。说明各处理对马尾松毛虫均有较好的防治作用。

3 讨论

由于野外增殖 DpCPV 容易受到季节和虫源的限制，而松毛虫人工饲养技术尚不成熟，导致 CPV 无法大量增殖满足林间防治应用需求。利用替代寄主增殖 DpCPV 能否保持原病毒株对马尾松毛虫的致病能力是其生产应用的前提。目前，在生产应用中，用于增殖 DpCPV 的替代寄主主要是棉铃虫和甜菜夜蛾。由于棉铃虫对松毛虫 CPV 比较敏感，一直被用于室内增殖松毛虫 CPV（陈昌洁等，1990；陈飞等，2008）。但松毛虫 CPV 对棉铃虫存在交叉感染现象，用棉铃虫作为替代寄主增殖 DpCPV 尚存在一些不确定的因素（曾陈湘等，1996；赵同海和陈昌洁，2004；Li *et al.*，2006；Tan *et al.*，2008）。而利用甜菜夜蛾作为替代寄主增殖 DpCPV，连续传代 3 次后得到的 DpCPV-Se3 的电泳图谱、形态特征、同源性序列分析与 DpCPV 均无明显变化（肖宇宙等，2010）。同时，已有研究及本试验结果均证实替代寄主与天然宿主增殖的 DpCPV 对马尾松毛虫幼虫具有同样的感染致病能力，马尾松毛虫幼虫感染 Se-DpCPV 和 DpCPV 后均表现出典型的 CPV 感染症状，说明甜菜夜蛾作为替代寄主增殖 DpCPV 并不影响病毒的毒力，这与肖宇宙等（2010）研究结果是一致的。另外，甜菜夜蛾作为增殖 DpCPV 的替代寄主，在生产应用中具有独特的优点：已研制出适于其继代繁殖的人工饲料，饲养成本低廉，饲养方式简单，同时甜菜夜蛾成活率高，产卵量大，孵化率达 95%以上，已经建立了一套成熟的室内规模化饲养技术体系；甜菜夜蛾幼虫无自相残杀的现象，可群集性饲养，能够提高空间利用率、节约工作量以及降低生产成本；甜菜夜蛾饲养周期短，室内饲养没有季节和虫源的限制，可为生产 DpCPV 提供稳定的寄主虫源，满足马尾松毛虫大暴发时 DpCPV 生产及应用的需求。

与化学杀虫剂相比，病毒作用速度相对较慢，一般进入虫体内需要经历 7-14 d 的大量增殖，才能导致害虫死亡，同时病毒对低龄幼虫防治效果较好，使用关键时期需掌握在 3 龄以下幼虫期。因此林间使用时，可以通过结合其他防治增效技术，缩短靶标害虫的发病时间，提高其杀虫速效性，同时不影响控制的持续性，以进一步提高防治效果（徐涛等，2016）。如在马尾松毛虫卵期，可以利用“生物导弹”技术，即通过利用松毛虫赤眼蜂 *Trichogramma dendrolimi* 等天敌昆虫为载体传递 DpCPV 污染卵壳，幼虫孵化后因取食卵壳而感染病毒，从而使初孵幼虫罹病，并诱导害虫种群流行病毒病，达到控制的目的（彭辉银等，1998）；在马尾松毛虫幼虫期，利用病毒与其他病原微生物、高效低毒的化学杀虫剂复配，在林间马尾松毛虫大暴发时，使用 DpCPV 复合剂不仅可以在短时间内迅速降低马尾松毛虫虫口基数，减少松树失叶率，减轻对林木的破坏，同时林间大量死虫和感染活虫，也可为 DpCPV 的宿存以及进一步的水平及垂直传播侵染提供有利条件，起到持续控制的效果。同时 DpCPV 复合剂的应用可降低化学防治所造成的环境污染等问题，也可克服其他防治措施的局限性（李乔等，2000）。在选择复配剂时，要根据当地的林地功能性特征，尤其是在有林下养殖、林下种植的林地，选择对靶标昆虫作用效果强，而对非靶标生物无毒害作用的制剂。在今后的研

究应用中，可进一步开展 DpCPV 增效技术研究，以提高其林间防治效果，为保护森林资源健康、可持续发展，维护自然生态平衡，提高林木生态系统的防御自控能力，确保林区人民群众正常生产生活，以及促进以松林景观为主的旅游业的健康发展奠定基础。

参考文献 (References)

Chen CJ, Wang ZX, Tao L, Liu G, 1990. The replication of *Dendrolimus punctatus* CPV by *Heliothis armigera*. *Forest Research*, 3(3): 263–265, 303. [陈昌洁, 王志贤, 陶粮, 刘革, 1990. 利用棉铃虫为宿主增殖松毛虫质型多角体病毒. 林业科学研究, 3(3): 263–265, 303.]

Chen F, Liu XX, Tao M, 2008. Influence of *Dendrolimus punctatus* cytoplasmic polyhedrosis virus on the growth and development of cotton bollworm. *Journal of Yunnan Agricultural University*, 23(6): 873–875. [陈飞, 刘小侠, 陶玫, 2008. 马尾松毛虫质型多角体病毒对棉铃虫生长发育的影响. 云南农业大学学报, 23(6): 873–875.]

He XX, Wu RG, Zheng CX, 2000. Factors affecting the production of DPCPV in its substitutive host *Helicorverba armigeria* (Hubner). *Virologica Sinica*, 15(4): 61–66. [何雪香, 吴若光, 曾陈湘, 2000. 影响棉铃虫增殖马尾松毛虫质型多角体病毒的条件因子的初步探讨. 中国病毒学, 15(4): 61–66.]

Li Q, Fang J, Zhang KF, Li SC, Wang FH, Yang SH, Wang YL, 2000. The prevention and cure experimental research on CPV against *Dendrolimus punctatus*. *Journal of Xinyang Teachers College* (*Natural Science Edition*), 13(1): 91–94. [李乔, 方俊, 张开福, 李世成, 王富河, 杨胜辉, 汪运利, 2000. 质型多角体病毒(CPV 复合剂)防治马尾松毛虫的研究. 信阳师范学院学报(自然科学版), 13(1): 91–94.]

Li Y, Tan L, Li YQ, Chen W, Zhang JM, Hu YY, 2006. Identification and genome characterization of *Heliothis armigera* cypovirus types 5 and 14 and *Heliothis assulta* cypovirus type 14. *The Journal of General Virology*, 87(2): 387–394.

Liu QL, Wu RG, Zeng CX, 1986. Studies on a cytoplasmic polyherosis virus for controlling masson-pine caterpillar *Dendrolimus punctatus* Walker. *Virologica Sinica*, 1986(4): 65–72. [刘清浪, 吴若光, 曾陈湘, 1986. 应用马尾松毛虫质型多角体病毒防治松毛虫的研究. 病毒学杂志, 1986(4): 65–72.]

Ma YP, Meng XL, Hu R, Xu JP, 2001. Comparison of producing *Dendrolimus punctatus* cytoplasmic polyhedrosis virus in substitutive host insect. *Virologica Sinica*, 16(2): 155–160. [马永平, 孟小林, 胡蓉, 徐进平, 2001. 替代宿主增殖松毛虫质型多角体病毒的比较研究. 中国病毒学, 16(2): 155–160.]

Tan L, Zhang JM, Li Y, Li YQ, Jiang H, Cao X, Hu YY, 2008. The complete nucleotide sequence of the type 5 *Helicoverpa armigera* cytoplasmic polyhedrosis virus genome. *Virus Genes*, 36(3): 587–593.

Peng HY, Chen XW, Jiang Y, Shen RJ, Zhou XM, Hu ZH, 1998. Controlling *Dendrolimus punctatus* with *Trichogramma dendrolimi* carrying cytoplasmic polyhedrosis virus. *Chinese Journal of Biological Control*, 14(3): 111–114. [彭辉银, 陈新文, 姜芸, 沈瑞菊, 周显明, 胡志红, 1998. 松毛虫赤眼蜂携带质型多角体病毒防治马尾松毛虫. 中国生物防治, 14(3): 111–114.]

Xiao YZ, Sun XL, Tang XC, Peng HY, 2010. Propagation of *Dendrolimus punctatus* cytoplasmic polyhedrosis virus in substitutive host *Spodoptera exigua*. *Chinese Journal of Applied Environmental Biology*, 16 (1): 84–90. [肖宇宙, 孙修炼, 汤显春, 彭辉银, 2010. 甜菜夜蛾增殖马尾松毛虫质型多角体病毒研究. 应用与环境生物学报, 16 (1): 84–90.]

Xu T, Chen QW, Ke PQ, 2016. Influence factor in the use effect of DCPV and its use suggestions. *Journal of Sichuan Forestry Science and Technology*, 37(3): 140–141, 65. [徐涛, 陈全武, 柯沛强, 2016. 影响 DpCPV 使用效果的因素及使用建议. 四川林业科技, 37(3): 140–141, 65.]

Zeng CX, Wu RG, He XX, 1996. Screening of DpCPV's substitutional hosts. *Guangdong Forestry Science and Technology*, 12(2): 22–27. [曾陈湘, 吴若光, 何雪香, 1996. 马尾松毛虫质型多角体病毒替代寄主筛选的研究. 广东林业科技, 12(2): 22–27.]

Zhao TH, Chen CJ, 2004. Research advance on electrophoretypes of different strains of cytoplasmic polyhedrosis viruses from *Dedrolimus* spp. *Entomological Knowledge*, 41(3): 212–216. [赵同海, 陈昌洁, 2004. 松毛虫CPV不同分离株的基因组电泳图谱. 昆虫知识, 41(3): 212–216.]

Zhao TH, Chen CJ, Xu J, Zhang QW, 2004. Host range and cross infection of cytoplasmic polyhedrosis viruses from *Dendrolimus* spp. *Acta Entomologica Sinica*, 47(1): 117–123. [赵同海, 陈昌洁, 徐静, 张青文, 2004. 松毛虫质型多角体病毒的宿主域与交叉感染. 昆虫学报, 47(1): 117–123.]

Zhou XM, Dai GQ, 1993. Studies on the alternate host of a cytoplasmic polyhedrosis virus from the massonpine catrpillar, *Dendrolimus punctatus* Walker. *Journal of South China Agricultural University*, 14(1): 114–121. [周小毛, 戴冠群, 1993. 马尾松毛虫质型多角体病毒替代宿主的研究. 华南农业大学学报, 14(1): 114–121.]