

甜菜夜蛾核型多角体病毒青岛分离株 SeMNPV-QD的毒力测定

孙雨¹, 陈英健¹, 杨铭鑫², 郑桂玲¹, 韩佳辰¹, 李洁¹, 李长友^{1*}

(1. 青岛农业大学植物医学学院, 青岛 266109; 2. 青岛城市农人农业科技有限公司, 青岛 266109)

摘要: 为评价一株新的甜菜夜蛾核型多角体病毒(青岛分离株 SeMNPV-QD)在害虫生物防治中的应用潜力, 本文以甜菜夜蛾核型多角体病毒青岛株 SeMNPV-QD 与美国株 SeMNPV-US1 为材料, 分别测定了病毒对甜菜夜蛾细胞系的感染、对甜菜夜蛾幼虫的室内生物活性以及田间防治效果。研究表明, SeMNPV-QD 与 SeMNPV-US1 对甜菜夜蛾细胞系 Se-3 的感染率分别为 92.34%和 93.65%, 平均每个细胞的病毒多角体产量分别为 23.97 和 24.10 PIB, 差异均不显著; SeMNPV-QD 与 SeMNPV-US1 对初孵甜菜夜蛾幼虫的 LC_{50} 分别为 4.43×10^4 和 4.35×10^4 PIB/mL, LT_{50} 分别为 4.12 和 4.02 d; SeMNPV-QD 与 SeMNPV-US1 对 4 龄甜菜夜蛾幼虫的 LC_{50} 分别为 9.25×10^5 和 4.44×10^5 PIB/mL, LT_{50} 分别为 6.20 和 5.50 d; SeMNPV-QD 和 SeMNPV-US1 对大葱田甜菜夜蛾幼虫具有较好的防治作用, 7 d 的校正防效分别达到 74.99%和 79.04%。研究结果将为新病毒株的深入研究开发以及甜菜夜蛾的生物防治提供理论依据。

关键词: 甜菜夜蛾; 核型多角体病毒; 感染率; 生物测定; 防治效果

中图分类号: S476.1 文献标识码: A 文章编号: 1005-9261(2020)05-0744-07

Virulence of a Nucleopolyhedrovirus, SeMNPV-QD, Isolated from *Spodoptera exigua* in Qingdao, China

SUN Yu¹, CHEN Yingjian¹, YANG Mingxin², ZHEN Guiling¹, HAN Jiachen¹, LI Jie¹, LI Changyou^{1*}

(1. College of Plant Health and Medicine, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China; 2. Qingdao City-farmer Agricultural Technology Co. Ltd., Qingdao 266109, China)

Abstract: Biocontrol potential of a new nucleopolyhedrovirus isolated from *Spodoptera exigua* in Qingdao (SeMNPV-QD) was evaluated by measuring the laboratory bioactivity and field control efficacy of SeMNPV-QD and SeMNPV American isolate (SeMNPV-US1). The results showed that the infection rates of SeMNPV-QD and SeMNPV-US1 to the *S. exigua* cell line Se-3 were 92.34% and 93.65%, respectively, and the yield of virus polyhedra was 23.97 PIB/cell and 24.10 PIB/cell, respectively. There were no significant differences in infection rate and yield of virus polyhedra between the two virus isolates. The LC_{50} of SeMNPV-QD and SeMNPV-US1 against the first instar *S. exigua* larvae were 4.43×10^4 PIB/mL and 4.35×10^4 PIB/mL, respectively, and the LT_{50} were 4.12 d and 4.02 d, respectively. The LC_{50} against the fourth instar *S. exigua* larvae were 9.25×10^5 PIB/mL and 4.44×10^5 PIB/mL, respectively, and the LT_{50} were 6.20 d and 5.50 d, respectively. SeMNPV-QD and SeMNPV-US1 achieved high control, 74.99% and 79.04%, respectively, against *S. exigua* larvae on green Chinese onion. These results provide theoretical basis for further research and development of this new virus isolate and biological control of *S. exigua*.

收稿日期: 2020-01-07

基金项目: 国家自然科学基金(31972333); 国家重点研发计划(2017YFD0200400)

作者简介: 孙雨, 硕士研究生, E-mail: 1076626026@qq.com; *通信作者, 教授, E-mail: cyli@qau.edu.cn.

DOI: 10.16409/j.cnki.2095-039x.2020.05.013

Key words: *Spodoptera exigua*; nucleopolyhedrovirus; infection rate; bioassay; control efficiency

甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* 属鳞翅目 Lepidoptera、夜蛾科 Noctuidae, 是一种多食性的重要世界性害虫^[1], 幼虫能取食 35 个科 170 多种植物, 包括玉米、花生、番茄、辣椒、甜椒等作物, 近年来在美洲、亚洲、非洲、澳洲和欧洲等地造成了严重危害^[2]。在我国, 甜菜夜蛾分布遍及全国各省(自治区、直辖市), 其中 17 个省(直辖市)有暴发记录, 给农业生产造成严重损失^[3,4]。目前, 对甜菜夜蛾的防治还是以使用广谱的化学杀虫剂为主, 但是一些研究表明, 甜菜夜蛾的抗药性发展很快, 已对多种化学杀虫剂产生了高水平的抗性^[5,6]。因此, 开发新的生物防治技术, 受到人们的极大关注。甜菜夜蛾核型多角体病毒(*Spodoptera exigua* multiple nucleopolyhedrovirus, SeMNPV)属于杆状病毒科 Baculoviridae、 α -杆状病毒属 *Alphabaculovirus*, 是甜菜夜蛾的重要病原^[7], 对甜菜夜蛾具有高致病性和寄主特异性, 且对环境无害, 不影响天敌种群, 已经在一些国家生产和商品登记, 在大田和温室作物上用于甜菜夜蛾的防治^[8,9]。

在自然界分离的 SeMNPV 种群中存在着高度的基因型变异, 其中一些变异引起基因功能的改变, 导致病毒的一些关键性状如毒力和传播特性上表现不同。自从美国加利福尼亚州首次分离出 1 株 SeMNPV 后^[10], 在世界不同区域陆续分离了 30 余株 SeMNPV, 各个毒株的毒力和生物学特性等表现也不同^[11-16]。在已经进行基因组测序的 SeMNPV 中, 7 个欧洲分离株与美国分离株 SeMNPV-US1 具有相似的基因组大小和 G+C 含量^[17], 而我们从患病甜菜夜蛾幼虫中分离的 SeMNPV-QD, 其基因组与美国株 SeMNPV-US1 的相似性仅为 45.8%, 是一种新的甜菜夜蛾核型多角体病毒^[18]。为评价该病毒株对甜菜夜蛾的杀虫效果, 本文以美国株 SeMNPV-US1 为对照, 进行了细胞感染测定、室内毒力测定以及田间防治试验, 为新病毒株的深入研究和应用提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

甜菜夜蛾是本实验室长期用人工饲料饲养的实验室种群, 饲料配方和饲养方法参照李腾武等^[19]的方法, 在 $(27 \pm 1)^\circ\text{C}$, 光周期为 16L:8D 的光照培养箱内饲养, 分别选取初孵幼虫和四龄幼虫供生物测定用。

1.2 供试病毒和制剂

甜菜夜蛾核型多角体病毒青岛分离株 SeMNPV-QD 是由本实验室 2009 年从青岛市患病甜菜夜蛾幼虫体内分离并保存^[18]; 甜菜夜蛾核型多角体病毒美国分离株 SeMNPV-US1 由美国康奈尔大学提供; 科云甜菜夜蛾核型多角体病毒悬浮剂(SeMNPV-KY, 3×10^9 PIB/mL), 由河南省济源市白云实业有限公司生产并提供。

1.3 病毒的增殖和纯化

采用饲料混合病毒法, 在 24 孔培养板的每孔中加入 8 mm^3 大小的饲料块, 取 $10\text{ }\mu\text{L}$ 浓度为 3.0×10^9 PIB/mL 的 SeMNPV-QD 和 SeMNPV-US1, 分别滴加到饲料块上, 每孔接种 1 头 4 龄初期的甜菜夜蛾幼虫, 待饲料食完后, 添加新鲜的人工饲料, 待幼虫出现典型的病毒感染症状时, 每天收集病死虫, 于 4°C 冰箱贮存。收集的病死虫, 每头虫加 1 mL 灭菌水, 研磨死虫, 参照 O'Reilly 等^[20]的方法纯化病毒, 用血球计数板计数, 置于 4°C 保存。

1.4 细胞感染率和病毒多角体产量的测定

按方法 1.3 用两种甜菜夜蛾病毒分别感染甜菜夜蛾幼虫, 将出现典型病毒感染症状但未死亡的幼虫取出, 在超净工作台中, 分别用 10% 的次氯酸钠和 75% 的乙醇消毒 3~5 min, 用灭菌纯水冲洗后在灭菌滤纸上吸干水分, 剪去幼虫腹足, 血淋巴滴入 TNM-FH 培养基中, 制备芽生病毒(BV)悬液, 参照 O'Reilly 等^[20]方法用甜菜夜蛾细胞 Se-3 测定 BV 滴度^[20]。取对数生长期的甜菜夜蛾细胞 Se-3^[21], 将细胞稀释到 2×10^5 cell/mL, 接入 24 孔板中, 每孔 1 mL, 于 27°C 生化培养箱中进行贴壁培养; 待细胞贴壁后, 弃去培养基, 将 BV 悬液按照感染复数(MOI)为 10 的比例加入待感染细胞中孵育 1 h, 吸去病毒悬液, 在每

孔中加入 1 mL 新培养基, 27 ℃生化培养箱中培养, 每天在显微镜下观察, 以细胞中出现病毒多角体为感染特征, 记录感染细胞占全部细胞的比例。感染 4 d 后, 吸取细胞悬液, 置于 1.5 mL 离心管中, 先使用血球计数板计数测定细胞浓度, 然后 5000 r/min 离心 5 min, 弃上清; 加入 1 mL 0.5% 的 SDS 重悬细胞, 参照 Ding 等^[22]的方法用超声波破碎仪裂解细胞, 参数为 400 W 处理 1.5 min, 释放出病毒多角体, 使用血球计数板测定多角体浓度, 参照 Wang 等^[23]方法计算细胞中多角体产量。

1.5 病毒的室内毒力测定

分别对纯化的 SeMNPV-QD 与 SeMNPV-US1 的病毒悬液进行 10 倍梯度稀释, 分别测定两种病毒对甜菜夜蛾初孵幼虫和 4 龄幼虫的毒力。对初孵甜菜夜蛾幼虫生物测定采用液滴法, 具体参照 Hughes 等^[24]的方法, 设置 1.0×10^7 、 1.0×10^6 、 1.0×10^5 、 1.0×10^4 和 1.0×10^3 PIB/mL 共 5 个浓度, 以蒸馏水作为对照; 对四龄甜菜夜蛾幼虫生物测定采用饲料混毒法, 参照 Redman 等^[25]的方法, 在 24 孔培养板的每孔中加入 8 mm³ 大小的饲料块, 设置 1.0×10^8 、 1.0×10^7 、 1.0×10^6 、 1.0×10^5 和 1.0×10^4 PIB/mL 共 5 个浓度, 以蒸馏水作为对照, 取 10 μL 病毒悬液或蒸馏水滴加到饲料表面; 每个处理 30 头幼虫, 接毒后每天记录幼虫死亡数, 统计累计校正死亡率, 计算 LC₅₀、LT₅₀ 及其 95% 置信限。

1.6 病毒的田间防治试验

试验设在山东省胶州市里岔镇前朱陈沟村大葱生产基地, 甜菜夜蛾为自然发生, 根据田间调查, 于 2018 年 7 月选择甜菜夜蛾 1~3 龄幼虫的发生高峰期进行田间试验。分别设浓度为 4.0×10^6 PIB/mL 的 SeMNPV-QD、SeMNPV-US1 和科云 SeMNPV 制剂 (SeMNPV-KY) 等 3 种处理, 以清水为对照, 每个处理 3 次重复, 共计 12 个小区, 每个小区 30 m², 随机区组排列。每个小区内采用对角线 5 点取样法, 每点定点调查 20 株大葱, 调查虫口基数后进行喷药。使用手动喷雾器分别将稀释好的病毒液和清水对大葱叶面进行均匀喷雾, 于用药后的 7 d 调查植株上的活虫数, 根据下述公式计算虫口减退率和校正防效。虫口减退率 (%) = (防治前活虫数 - 防治后活虫数) / 防治前活虫数 × 100; 校正防治效果 (%) = (处理区虫口减退率 - 对照区虫口减退率) / (1 - 对照区虫口减退率) × 100。

1.7 数据统计与分析

利用 OriginPro 9.1 软件绘制病毒浓度对数、处理天数与累计校正死亡率的关系图, 用 SPSS 软件进行数据处理, 分别计算病毒对甜菜夜蛾幼虫的 LC₅₀、LT₅₀ 及其 95% 置信限, 采用邓肯氏新复极差法检验不同处理间的差异显著水平。

2 结果与分析

2.1 病毒对甜菜夜蛾细胞的感染率和病毒产量

SeMNPV-QD 和 SeMNPV-US1 接种甜菜夜蛾细胞系 Se-3, 3 d 细胞出现典型的核型多角体病毒感染特征, 细胞核膨大, 核内形成病毒多角体, 一些细胞 4 d 开始破碎, 多角体逐渐释放出来 (图 1)。SeMNPV-QD 和 SeMNPV-US1 对 Se-3 细胞 4 d 的感染率分别为 92.34% 和 93.65%, 病毒多角体产量分别为 23.97 和 24.10 PIB/细胞, 差异均不显著 (表 1)。

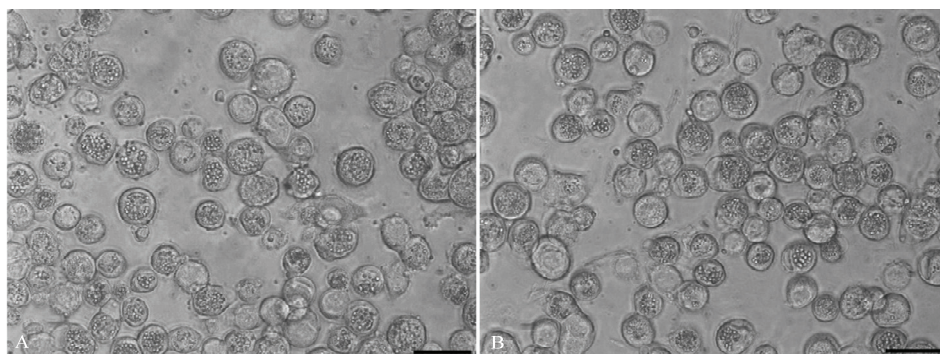
表 1 两株甜菜夜蛾核型多角体病毒对 Se-3 细胞 4 d 的感染情况
Table 1 Infection of two SeMNPV isolates against *Spodoptera exigua* cell line Se-3 (4 d)

病毒 Viruses	细胞感染率 Infection rate (%)	病毒多角体产量 (PIB/细胞) Yield of inclusion body (PIB/cell)
SeMNPV-QD	92.34±1.01	23.97±1.75
SeMNPV-US1	93.65±0.82	24.10±1.31

2.2 病毒对甜菜夜蛾初孵幼虫的毒力

测定了 5 个浓度的 SeMNPV-QD 和 SeMNPV-US1 对甜菜夜蛾初孵幼虫的毒力, 不同病毒浓度处理后的累计校正死亡率见图 2。随着病毒浓度的增加, 死亡率逐渐提高。SeMNPV-QD 和 SeMNPV-US1 的 LC₅₀ 分别为 4.43×10^4 PIB/mL (95% 置信区间为 $4.59\times10^3\sim2.78\times10^5$ PIB/mL) 和 4.35×10^4 PIB/mL (95% 置信区间为 $2.94\times10^3\sim3.63\times10^5$ PIB/mL), 二者对初孵幼虫的 LC₅₀ 差异不显著。

以 1×10^7 PIB/mL 的浓度接种甜菜夜蛾初孵幼虫, 3 d 幼虫开始发病死亡, SeMNPV-QD 和 SeMNPV-US1 的 LT_{50} 分别为 4.12 和 4.02 d, SeMNPV-US1 杀虫速度略快于 SeMNPV-QD, 但二者差异不显著 (图 3)。



A: SeMNPV-QD 感染 4 d 的细胞形态 Micrographs of cells infected with SeMNPV-QD at 4 days post infection;

B: SeMNPV-US1 感染 4 d 的细胞形态 Micrographs of cells infected with SeMNPVUS1 at 4 days post infection (Bar=40 μ m)

图 1 两株甜菜夜蛾核型多角体病毒对 Se-3 细胞的感染

Fig. 1 Infection of two SeMNPV isolates against *Spodoptera exigua* cell line Se-3

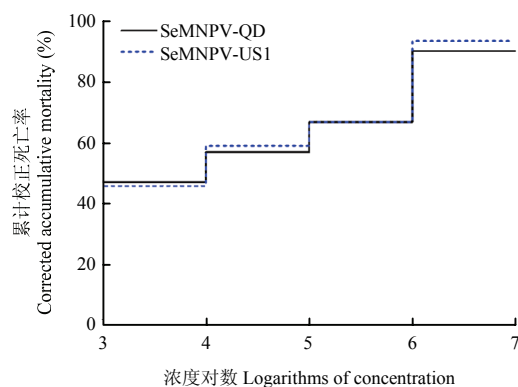


图 2 不同浓度病毒对甜菜夜蛾初孵幼虫的累计校正死亡率

Fig. 2 Corrected accumulative mortality of two SeMNPV isolates against 1st instar larvae of *Spodoptera exigua*

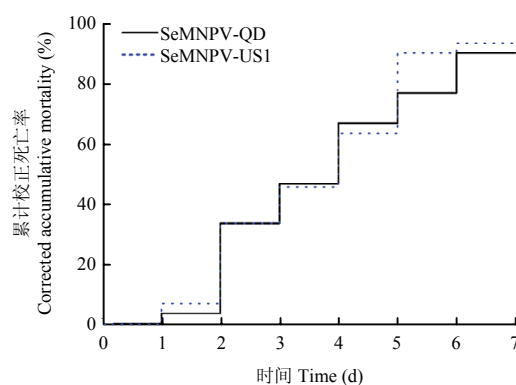


图 3 两株甜菜夜蛾核型多角体病毒对甜菜夜蛾初孵幼虫的 LT_{50}

Fig. 3 LT_{50} of two SeMNPV isolates against 1st instar larvae of *Spodoptera exigua*

2.3 病毒对甜菜夜蛾 4 龄幼虫的毒力

分别用 1×10^4 、 1×10^5 、 1×10^6 、 1×10^7 和 1×10^8 PIB/mL 等 5 个浓度的 SeMNPV-US1 和 SeMNPV-QD 感染甜菜夜蛾 4 龄幼虫, 甜菜夜蛾幼虫的累计校正死亡率随着感染病毒浓度的增加而上升。在低浓度 (1×10^4 和 1×10^5 PIB/mL) 下, SeMNPV-QD 的死亡率显著低于 SeMNPV-US1, 在高浓度 (1×10^6 、 1×10^7 和 1×10^8 PIB/mL) 下, 二者的死亡率差异不显著 (图 4)。SeMNPV-QD 和 SeMNPV-US1 的 LC_{50} 分别为 9.25×10^5 PIB/mL (95% 置信区间为 $1.27 \times 10^4 \sim 2.87 \times 10^7$ PIB/mL) 和 4.44×10^5 (95% 置信区间为 $9.30 \times 10^3 \sim 2.52 \times 10^7$ PIB/mL), SeMNPV-US1 对 4 龄幼虫的活性是 SeMNPV-QD 的 2.1 倍。

以 1×10^8 PIB/mL 的病毒浓度饲喂 4 龄甜菜夜蛾, 接种 3 d 幼虫开始发病, SeMNPV-QD 和 SeMNPV-US1 的 LT_{50} 分别为 6.20 和 5.50 d, SeMNPV-US1 杀虫速度略快于 SeMNPV-QD, LT_{50} 缩短 0.70 d (图 5)。

2.4 病毒对甜菜夜蛾幼虫的田间防治效果

在大葱田, 使用浓度 4.0×10^6 PIB/mL 的三种病毒制剂喷雾防治甜菜夜蛾, 均具有较好的防治效果 (表 2)。SeMNPV-QD、SeMNPV-US1 和科云制剂 (SeMNPV-KY) 喷药后 7 d, 虫口减退率分别为 84.88%、87.34% 和 82.35%, 均显著高于清水对照; SeMNPV-QD、SeMNPV-US1 和科云制剂 (SeMNPV-KY) 的校正防效分别为 74.99%、79.04% 和 70.08%, 三者的差异不显著。

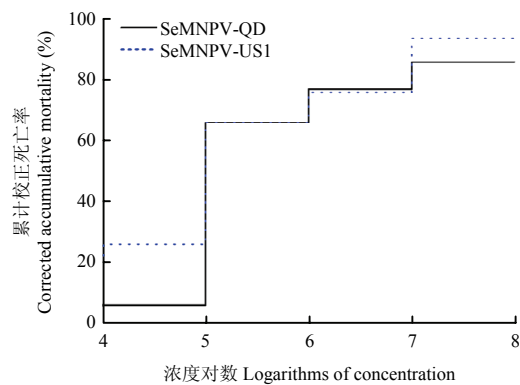


图 4 不同浓度病毒对甜菜夜蛾 4 龄幼虫的累计校正死亡率

Fig. 4 Corrected accumulative mortility of two SeMNPV isolates against 4th instar larvae of *Spodoptera exigua*

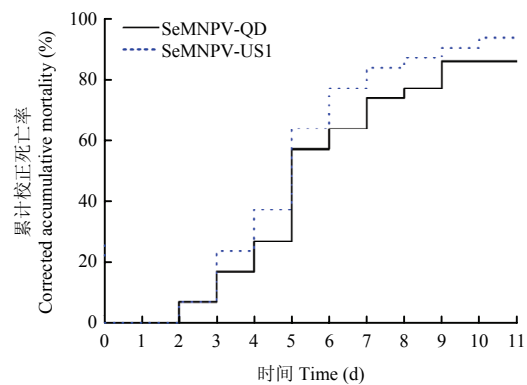


图 5 两株甜菜夜蛾核型多角体病毒对甜菜夜蛾 4 龄幼虫的 LT₅₀

Fig. 5 LT₅₀ of two SeMNPV isolates against 4th instar larvae of *Spodoptera exigua*

表 2 不同病毒制剂对甜菜夜蛾 7 d 的田间防治效果

Table 2 Control efficiency of different virus formulations against *Spodoptera exigua* larvae at 7 d after application

处理 Treats	虫口基数 (头) Initial No. of larvae	活虫数 (头) Survival No. of larvae	虫口减退率 Population decline rate (%)	校正防治效果 Correct control efficiency (%)
SeMNPV-QD	86	13	84.88 A a	74.99 A a
SeMNPV-US1	79	10	87.34 A a	79.06 A a
SeMNPV-KY	102	18	82.35 A a	70.08 A a
CK	91	55	39.56 B b	

注：同列数据后不同大写和小写字母分别表示在 $P<0.01$ 和 $P<0.05$ 水平差异显著。
Note: Different uppercase and lowercase letters in the same column indicated significant difference at 0.01 and 0.05 level.

3 讨论

甜菜夜蛾核型多角体病毒 (SeMNPV) 是甜菜夜蛾的重要病原微生物, 具有不同生物学特性毒株的分离对于甜菜夜蛾的防治具有重要意义。目前报道已从世界各地分离了 30 余株 SeMNPV^[10-16], 各个分离株表现的性状也不尽相同, 与美国株 (SeMNPV-US1) 相比, 西班牙分离株 (SeMNPV-SP2) 对当地的甜菜夜蛾 *Almeria* 种群的毒力最强^[17]。3 个水平传播的欧洲分离株 (HT-SeG24、HT-SeG25 和 HT-SeG26) 的致病性明显高于 3 个垂直传播的分离株 (VT-SeA11、VT-SeA12 和 VT-SeOx4)^[26]。Caballero 等^[12] (1992) 比较了美国株 (SeMNPV-US1)、泰国株 (SeMNPV-Th) 和西班牙株 (SeMNPV-SP1 和 SeMNPV-SP2) 对甜菜夜蛾幼虫的毒力差异, 发现 SeMNPV-Th 的毒力最高, SeNPV-SP1 的毒力最低。Zamora-Avilés 等^[15]比较了 4 个墨西哥分离株与美国株、西班牙株的分子和生物学特征, 西班牙株 SeSP2 毒力最高, 其次为墨西哥株 SeSIN6, 但它们的毒力与大多数分离株相似。上述分离株虽毒力不同, 但遗传相似性较高, 如 7 个欧洲分离株与美国分离株 SeMNPV-US1 具有相似的基因组大小和 G+C 含量, 基因组相似性为 97.3%, 7 个欧洲分离株之间的基因组相似性为 98.7%^[17]。本文的 SeMNPV-QD 与甜菜夜蛾核型多角体病毒美国株 SeMNPV-US1 在基因组上差别较大, 其基因组与 SeMNPV-US1 的相似性仅为 45.8%^[18], 根据杆状病毒科下确定种的规则, 如果两种病毒的晚期表达因子 *lef-8*、*lef-9* 和多角体蛋白基因 *polh* 基于 Kimura 2 参数模型的核苷酸距离大于 0.05 substitutions/site, 则认为是不同的种^[27]。SeMNOV-QD 与其他已报道的核型多角体病毒 *lef-8*、*lef-9* 和 *polh* 的核苷酸距离均大于 0.05 substitutions/site^[18], 表明是一种新的甜菜夜蛾核型多角体病毒, 已经将分类提议提交至国际病毒命名委员会 (ICTV), 建议将 SeMNPV-QD 命名为甜菜夜蛾核型多角体病毒 B 种 (*Spodoptera exigua* multiple nucleopolyhedrovirus B), SeMNPV-US1 更新为甜菜夜蛾核型多角体病毒 A 种 (*Spodoptera exigua* multiple nucleopolyhedrovirus A)。虽然二者对细胞的侵染率和对初孵幼虫的毒力差异不显著, 但其他生物学特性是否存在差异以及二者的关系如何还需要进一步研究。

SeMNPV-QD 和 SeMNPV-US1 对大葱田甜菜夜蛾幼虫均具有较好的防治效果,7 d 的校正防效在 70% 以上,与 SeMNPV 商品制剂的防效差异不显著。本次田间施药后 3 d 有降雨,虽然雨量不大,可能是导致对照虫口减退率较高的原因之一,对试验造成一定的影响。由于杆状病毒杀虫剂具有选择性和专一性,对环境无污染,安全性较好,具有良好的应用前景^[28,29]。SeMNPV-QD 的发现和研究也为甜菜夜蛾的生物防治提供一个选择和新的微生物资源。

目前昆虫病毒杀虫剂的生产主要是利用活虫体来增殖,需要饲养大量试虫,费时费力,而且容易导致其他微生物的污染^[30]。昆虫细胞培养为昆虫病毒的离体增殖和基础研究奠定了基础,筛选对病毒敏感和高产的昆虫细胞系并开展大规模培养将为病毒杀虫剂的生产提供理想的体系。本文测定了甜菜夜蛾细胞系 Se-3 对 SeMNPV-QD 与 SeMNPV-US1 的敏感性,细胞系 Se-3 具有较高的感染率和病毒多角体产量,该细胞系可以作为病毒增殖和生产的离体材料,也为病毒的分子生物学研究提供支持。

参 考 文 献

- [1] Karimi-Malati A, Fathipour Y, Talebi A A, *et al.* Life table parameters and survivorship of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) at constant temperatures[J]. *Environmental Entomology*, 2014, 43(3): 795-803.
- [2] Dai H Q, Zhang W J. A quantitative study on development, fecundity and mortality of beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), infected by SeMNPV[J]. *Arthropods*, 2018, 7(1): 26-30.
- [3] Zheng X L, Cong X P, Wang X P, *et al.* A review of geographic distribution, overwintering and migration in *Spodoptera exigua* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae)[J]. *Journal of the Entomological Research Society*, 2011, 13: 39-48.
- [4] 文礼章, 文意纯, 诸凤丹, 等. 我国甜菜夜蛾间歇性暴发频度的大尺度地理差异及其成因分析[J]. *应用昆虫学报*, 2014, 51(1): 232-247.
- [5] Zuo Y Y, Huang J L, Wang J, *et al.* Knockout of a P-glycoprotein gene increases susceptibility to abamectin and emamectin benzoate in *Spodoptera exigua*[J]. *Insect Molecular Biology*, 2018, 27(1): 36-45.
- [6] Sun X X, Li H Y, Jiang Y J, *et al.* Resistance risk evaluated by metaflumizone selection and the effects on toxicities over other insecticides in *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae)[J]. *Journal of Economic Entomology*, 2019, 112(5): 2354-2361.
- [7] Simon O, Williams T, Lopezferber M, *et al.* Virus entry or the primary infection cycle are not the principal determinants of host specificity of *Spodoptera* spp. nucleopolyhedroviruses[J]. *Journal of General Virology*, 2004, 85: 2845-2855.
- [8] Virto C, Navarro D, Tellez M M, *et al.* Natural populations of *Spodoptera exigua* are infected by multiple viruses that are transmitted to their offspring[J]. *Journal of Invertebrate Pathology*, 2014, 122: 22-27.
- [9] Chen Y, Guo L, Wan N, *et al.* Transcriptomic analysis of the interactions between the *Spodoptera exigua* midgut and nucleopolyhedrovirus[J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2020, 163: 241-253.
- [10] Steinhaus E A. Nomenclature and classification of insect viruses[J]. *Bacteriology Review*, 1949, 13: 203-223.
- [11] Vlak J M, van Frankenhuyzen K, Peters D, *et al.* Identification of a new nuclear polyhedrosis virus from *Spodoptera exigua*[J]. *Journal of Invertebrate Pathology*, 1981, 38: 297-298.
- [12] Caballero P, Zuidema D, Santiago-Alvarez C, *et al.* Biochemical and biological characterization of four isolates of *Spodoptera exigua* nuclear polyhedrosis virus[J]. *Biocontrol Science and Technology*, 1992, 2: 145-157.
- [13] Luna-Espino J C, Castrejón-Gómez V R, Pineda S, *et al.* Effect of four multiple nucleopolyhedrovirus isolates on the larval mortality and development of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae): determination of virus production and mean time to death[J]. *Florida Entomologist*, 2018, 101(2): 153-159.
- [14] Murillo R, Muñoz D, Lipa J J, *et al.* Biochemical characterization of three nucleopolyhedrovirus isolates of *Spodoptera exigua* and *Mamestra brassicae*[J]. *Journal of Applied Entomology*, 2001, 125: 267-270.
- [15] Zamora-Avilés N, Murillo R, Lasa R, *et al.* Genetic and biological characterization of four nucleopolyhedrovirus isolates collected in Mexico for the control of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae)[J]. *Journal of Economic Entomology*, 2017, 110: 1465-1475.
- [16] 张俊杰, 李茂俭, 未荣杰, 等. 甜菜夜蛾核型多角体病毒中国分离株的分离鉴定及毒力测定[J]. *中国病毒学*, 2001, 16(4): 361-363.
- [17] Theze J, Cabodevilla O, Palma L, *et al.* Genomic diversity in European *Spodoptera exigua* multiple nucleopolyhedrovirus isolates[J]. *Journal of General Virology*, 2014, 95: 2297-2309.

- [18] Chen Y J, Qi B X, Zheng G L, *et al.* Identification and genomic sequence analysis of a new *Spodoptera exigua* multiple nucleopolyhedrovirus, SeMNPV-QD, isolated from Qingdao, China[J]. Journal of Invertebrate Pathology, 2019, 160: 8-17.
- [19] 李腾武, 杨崇珍, 何将绪, 等. 甜菜夜蛾人工饲料及饲养技术研究[J]. 昆虫知识, 2001, 38(5): 383-386.
- [20] O'Reilly D R, Miller L K, Luckow V A. Baculovirus Expression Vectors: A Laboratory Manual[M]. New York: Oxford University Press, 1992.
- [21] Su R, Zheng G L, Wan F H, *et al.* Establishment and characterization of three embryonic cell lines of beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae)[J]. Cytotechnology, 2016, 68: 1223-1232.
- [22] Ding X, Chen X, Cao Y, *et al.* Quality improvements of cell membrane chromatographic column[J]. Journal of Chromatography A, 2014, 1359: 330-335.
- [23] Wang P, Toung R, Granados R R. The establishment of new cell lines from *Pseudaletia unipuncta* with differential responses to baculovirus infection[J]. In Vitro Cellular & Developmental Biology- Animal, 1999, 35: 333-338.
- [24] Hughes P R, van Beek N A M, Wood H A. A modified droplet feeding method for rapid assay of *Bacillus thuringiensis* and baculoviruses in noctuid larvae[J]. Journal of Invertebrate Pathology, 1986, 48: 187-192.
- [25] Redman E M, Wilson K, Cory J S. Trade-offs and mixed infections in an obligate-killing insect pathogen[J]. Journal of Animal Ecology, 2016, 85: 1200-1209.
- [26] Cabodevilla O, Ibanez I, Simon O, *et al.* Occlusion body pathogenicity, virulence and productivity traits vary with transmission strategy in a nucleopolyhedrovirus[J]. Biological Control, 2011, 56: 184-192.
- [27] Jehle J A, Lange M, Wang H, *et al.* Molecular identification and phylogenetic analysis of baculoviruses from Lepidoptera[J]. Virology, 2006, 346: 180-193.
- [28] 冯振群, 卢清, 李芳功. 甜菜夜蛾病毒杀虫剂防治花生甜菜夜蛾田间效果试验[J]. 花生学报, 2016, 45(3): 61-65.
- [29] 类承凤, 姜干明, 彭玲, 等. 亚洲玉米螟核型多角体病毒分离株鉴定及其对草地贪夜蛾的室内毒力测定[J]. 中国生物防治学报, 2019, 35(5): 741-746.
- [30] Rohrmann G F. Baculovirus Molecular Biology (4rd edition)[M]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US), 2019.