

荧光增白剂 Tinopal LPW 对蜀柏毒蛾核型多角体病毒 增效作用研究*

周建华^{1**}, 胡应之³, 肖育贵¹, 肖银波¹, 郭亨孝²

(1.四川省林业科学研究院, 四川成都 610066; 2.四川省林业厅, 四川成都 610081; 3. 四川省大英县林业局, 四川大英 651000)

Study on a Synergistic Effect of Tinopal LPW on *Parocneria orientia* NPV

ZHOU Jian-hua¹, HU Ying-zhi³, XIAO Yu-gui¹, XIAO Yin-bo¹, GUO Heng-xiao²

(1. Sichuan Academy of Forestry, Chengdu 610081; 2. Sichuan Forestry Bureau, Chengdu 610081; 3. Daying forestry bureau, Daying 651000)

Abstract: Bioassay of PoNPV+1%TinopalLPW was conducted on second instar larvae of a laboratory colony of *Parocneria orientia*. The results showed that 1%TinopalLPW had a marked synergistic effect. Various doses of PoNPV along with 1%TinopalLPW were sprayed on second and third instar larvae of an overwintering population in the field. The combinations were 3.6×10^{11} PIB/hm²+1%TinopalLPW, 1.8×10^{11} PIB/hm²+1%TinopalLPW, 9.0×10^{10} PIB/hm²+1%TinopalLPW and 3.6×10^{11} PIB/hm², 1.8×10^{11} PIB/hm², 9.0×10^{10} PIB/hm². The most marked synergistic effect was obtained with 9.0×10^{10} PIB/hm²+1%TinopalLPW. Other combinations did not have significant synergistic effects.

Key words: Fluorecent brightener; Tinopal LPW; PoNPV; Synergistic effect

摘要:用 1%TinopalLPW 荧光增白剂作为蜀柏毒蛾核型多角体病毒增效剂对蜀柏毒蛾 2 龄幼虫进行室内毒力测定, 结果表明 1%Tinopal LPW 对 *Parocneria orientia* NPV 有较强的增效作用。使用 3.6×10^{11} PIB/hm²+1%TinopalLPW、 1.8×10^{11} PIB/hm²+ 1%TinopalLPW、 9.0×10^{10} PIB/hm²+1%TinopalLPW 和 3.6×10^{11} PIB/hm²、 1.8×10^{11} PIB/hm²、 9.0×10^{10} PIB/hm² 6 种处理对林间越冬代 2-3 龄幼虫进行超低容量喷雾防治, 结果表明除 9.0×10^{10} PIB/hm²+1%TinopalLPW 表现出显著的增效作用外, 其余剂量有增效作用但不显著。

关键词: 荧光增白剂; Tinopal LPW; 蜀柏毒蛾核型多角体病毒; 增效作用

中图分类号: S763.12

文献标识: A

文章编号: 1003-5125(2006)03-0273-04

蜀柏毒蛾 (*Parocneria orientia* Chao) 是我省第一大森林害虫, 近几年每年发生面积达 43 万多 hm², 严重地威胁长江中上游防护林的建设成果。采用蜀柏毒蛾核型多角体病毒 (*Parocneria orientia* Nuclear polyhedrosis virus, 简称 PoNPV) 防治蜀柏毒蛾危害是我省蜀柏毒蛾生物防治的主要手段, 但由于受 PoNPV 产量的限制, 制约了我省蜀柏毒蛾生物防治的发展。荧光增白剂是一类能显著提高昆虫病毒毒力、快速缩短寄主昆虫死亡时间、提高昆虫病毒对紫外光保护作用的

化学因子, 特别是对 NPV 具有很强增效作用 [1~4]。

1992 年 Shapiro 首次报道了 TinopalLPW 等荧光增白剂能极大地提高 NPV 的毒力, 而且几乎对所有 NPV 具有增效作用。 [2] 本文首次研究报道了 Tinopal LPW 荧光增白剂对 PoNPV 的增效作用, 以期提高 PoNPV 使用面积, 进一步提高我省蜀柏毒蛾生物防治的水平。

1 材料和方法

收稿日期: 2005-11-14, 修回日期: 2006-03-02

* 基金项目: 国家“十五”攻关子课题 (2001BA509B11)

** 通讯作者: 周建华 (1964-), 四川成都籍, 男, 副研究员, 主要从事森林病虫害研究。
Corresponding author. Tel: 028-84793820, Email: Jianhua-8188@163.com

1.1 材料

PoNPV 由本研究院通过室内感染的蜀柏毒蛾虫体经分离提纯所得。增效剂 Tinopal LPW 由 Sigma Chemical Company St Louis Mo 公司提供。

蜀柏毒蛾 2 龄幼虫来至林间采集的卵块在室内孵化后饲养到 2 龄所挑选的大小一致健康的虫体。

1.2 PoNPV 对 2 龄幼虫的毒力测定

将供试 PoNPV 提纯液稀释成浓度分别为 1.6×10^8 PIB/mL、 1.6×10^7 PIB/mL、 1.6×10^6 PIB/mL、 1.6×10^5 PIB/mL、 1.6×10^4 PIB/mL 五种浓度的病毒液，将上述不同浓度 PoNPV 液喷洒在用无菌水清洗的不同柏木鳞叶上，并用上述柏木鳞叶饲喂蜀柏毒蛾 2 龄幼虫。将上述蜀柏毒蛾 2 龄幼虫放入瓶中进行饲养，每瓶饲养头数为 30 头，每种浓度设立三个重复组，饲养温度为 20°C 。虫体饲养 3d 后，更换无毒清洁柏叶，同时设立 3 个清水对照组，每天观察记录虫体死亡情况，第 15d 结束。

1.3 PoNPV 与 1%TinopalLPW 混配后对 2 龄幼虫的毒力测定

将供试 PoNPV 提纯液稀释成浓度分别为 1.6×10^8 PIB/mL、 1.6×10^7 PIB/mL、 1.6×10^6 PIB/mL、 1.6×10^5 PIB/mL、 1.6×10^4 PIB/mL 五种浓度的病毒液，每种浓度体积为 100mL。在上述每种浓度的 PoNPV 中加入 1g 的 TinopalLPW 备用。将上述病毒液喷洒在用无菌水清洗的柏木鳞叶上，并用上述柏木鳞叶饲喂蜀柏毒蛾 2 龄幼虫。将上述蜀柏毒蛾 2 龄幼虫放入瓶中进行饲养，每瓶饲养头数为 30 头，每种浓度设立三个重复组，饲养温度为 20°C 。虫体饲养 3d 后，更换无毒清洁柏叶，同时设立 3 个清水对照组，观察记录虫体死亡情况，第 15d 结束。

1.4 1%TinopalLPW 液对 2 龄幼虫的毒性测定

将 1%TinopalLPW 液喷洒在用无菌水清洗的不同柏木鳞叶上，并用上述柏木鳞叶饲喂蜀柏毒蛾 2 龄幼虫。将上述蜀柏毒蛾 2 龄幼虫放入瓶中进行饲养，每瓶饲养头数为 30 头，3 瓶一组，共 3 组，饲养温度为 20°C ，同时设立 3 组清水对照组，每天观察记录虫体死亡情况，第 15d 结束。

1.5 PoNPV、PoNPV+1%TinopalLPW 对林间 2-3 龄的防治试验

选择高度为 2.0m 左右、平均虫口密度为 87 头的纯柏木幼林。使用 3.6×10^{11} PIB/hm²+1%TinopalLPW、 1.8×10^{11} PIB/hm²+1%TinopalLPW、 9.0×10^{10} PIB/hm²+1%TinopalLPW 和 3.6×10^{11} PIB/hm²、 1.8×10^{11} PIB/hm²、 9.0×10^{10} PIB/hm² 6 种处理对林间越冬代 2-3 龄幼虫进行超低容量喷雾防

治。每个处理防治面积均为 0.067hm^2 ，每个处理重复 3 次，并设立清水喷雾处理对照。每种处理随机设立 30 株样株^[5,6]，并记载其虫口数，喷洒后第 15d 观察记载样株上的虫口数。日均温为 20°C 。

1.6 数据处理

将室内试验各处理组虫体校正死亡率转化成死亡机率值，将各处理浓度转化为浓度对数值，计算其与死亡率的回归方程、 LC_{50} 、95%的置信区间并进行卡方检验。室内测定的 PoNPV 和 PoNPV +1% TinopalLPW 对 2 龄蜀柏毒蛾核型多角体病毒毒力以 LC_{50} 表示^[7]。PoNPV+1%TinopalLPW 对蜀柏毒蛾 2 龄幼虫毒力增效作用采用孙云沛的方法^[8]进行测定。

增效比值 $S_R = \text{PoNPV 的 } LC_{50} / (\text{PoNPV} + 1\% \text{ TinopalLPW 的 } LC_{50})$

将林间各处理中 30 株样株的虫口数下降率计算成虫口下降率，并计算出每种处理的平均虫口下降率并进 Log 值转化，进行方差分析和 Duncan 法多重分析^[9]。对 PoNPV 和 PoNPV+1%TinopalLPW 两种处理方式虫口下降率的差异显著性分析得出林间 PoNPV 加入 1%TinopalLPW 后对蜀柏毒蛾 2-3 龄幼虫防治效果的增效作用。

2 结果和分析

2.1 PoNPV 和 PoNPV+1%TinopalLPW%对 2 龄幼虫的毒力测定

PoNPV、PoNPV +1% TinopalLPW 两种处理方式对蜀柏毒蛾 2 龄幼虫的毒力测定的 LC_{50} 及其 95% 置信限、毒力回归方程和虫体死亡时间和死亡率关系见表 1、图 1。

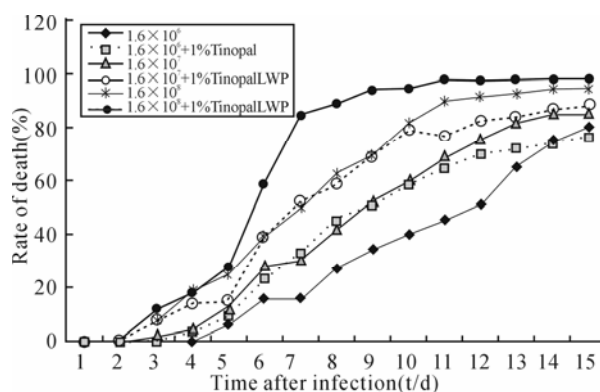


图 1 2 龄蜀柏毒蛾感染病毒后死亡率的时间变化
Fig.1 Time-mortality curve of 2-instar *P. orientalis* Larvae infected with PoNPV

1% TinopalLPW 对蜀柏毒蛾 2 龄幼虫的死亡率为 8.9%，无法测定其 LC_{50} ，可将其作为无毒增效剂看待。

表1 两种处理对蜀柏毒蛾2龄幼虫的室内毒力
Table 1 Toxicity of 2 kinds of treatments on 2-instar larvae of *Parocneria orientalis*

Treatments	PIB/mL	Rate of death (%)	LC ₅₀ (PIB/ml)	Y=a+bx
PoNPV	1.6×10 ⁸	95.6	6.5390×10 ⁴ (2.01×10 ⁵ -2.13×10 ⁴)	Y=2.6693+0.4840X (R=0.97)
	1.6×10 ⁷	85.6		
	1.6×10 ⁶	80.7		
	1.6×10 ⁵	58.6		
	1.6×10 ⁴	36.5		
PoNPV+1%TinopalLPW	1.6×10 ⁸	92.8	1.2180×10 ³ (2.57×10 ⁴ -1.29×10 ²)	Y=4.1669+0.2700X (R=0.96)
	1.6×10 ⁷	88.6		
	1.6×10 ⁶	76.5		
	1.6×10 ⁵	70.8		
	1.6×10 ⁴	65.3		

表1可见, PoNPV+1%TinopalLPW 在 20℃温度条件下对 2 龄蜀柏毒蛾核型多角体病毒的 LC₅₀ 为 1.2180×10³ PIB/mL, 而 PoNPV 的 LC₅₀ 为 6.5390×10⁴ PIB/mL, 增效比值 S_R 为 53.68。分析可见, 在 PoNPV 加入 1%TinopalLPW 后对 2 龄蜀柏毒蛾有较强增效作用。

从 2 龄蜀柏毒蛾幼虫毒力测定的虫体死亡时间和死亡率关系图 1 可见, PoNPV+1%TinopalLPW 在 1.6×10⁶ PIB/ml 浓度与 PoNPV 相比较, LT₅₀ 较 PoNPV 组快 3d 左右, 致死时间明显缩短; PoNPV+1%TinopalLPW 在 1.6×10⁷ PIB/ml 浓度与 PoNPV 相比较, LT₅₀ 较 PoNPV 组快 2d 左右, 致死时间明显缩短; PoNPV+1%TinopalLPW 在 1.6×10⁸ PIB/ml 浓度与 PoNPV 相比较, LT₅₀ 较 PoNPV 组快 2d 左右, 致死时间明显缩短。上述结果分析表明 PoNPV 加入 1%TinopalLPW 后可明显缩短 2 龄蜀柏毒蛾的死亡时间。

2.2 PoNPV、PoNPV+1%TinopalLPW 对林间 2-3 龄的防治效果

PoNPV、PoNPV+1%TinopalLPW 6 种处理防治蜀柏毒蛾 2-3 龄幼虫 15 天后, 林间虫口下降率见表 2。对 3.6×10¹¹ PIB/hm²、1.8×10¹¹ PIB/hm²、9.0×10¹⁰ PIB/hm²、3.6×10¹¹ PIB/hm²+1%TinopalLPW、1.8×10¹¹ PIB/hm²+1%Tinopal LPW、9.0×10¹⁰ PIB/hm²+1%TinopalLPW 6 种处理方式虫口下降率 log 值进行方差分析。结果处理间呈显著差异(F=170.55>F_{0.05}), 重复间差异不显著(F=0.9592<F_{0.05}); 对 6 种处理方式的林间 2-3 龄的平均虫口下降率 log 值进行 Duncan 法多重分析^[9], 见表 2。

结果表明, PoNPV 和 PoNPV+1%Tinopal LPW 2 种处理方式中, 除 9.0×10¹⁰ PIB/hm² 剂量差异显著外, 表现出显著的增效作用外, 其余剂量差异均不显著。

表2 PoNPV 和 PoNPV+1%TinopalLPW 对林间 2-3 龄的防治效果多重比较

Table 2 Multipl comparison for average field control of 2-3 instar larvae

Tretments	Replicates			Average	log	5% significant
	I	II	III			
9.0×10 ¹⁰ PIB/hm ²	50.	49.8	52.4	51.0	1.71	
1.8×10 ¹¹ PIB/hm ²	71.	73.7	68.9	71.5	1.86	*
3.6×10 ¹¹ PIB/hm ²	82.5	78.8	84.5	81.9	1.91	*
9.0×10 ¹⁰ PIB/hm ² + 1%TinopalLPW	85.7	83.7	86.4	85.0	1.93	*
1.8×10 ¹¹ PIB/hm ² + 1%TinopalLPW	92.5	87.7	94.8	91.7	1.96	*
3.6×10 ¹¹ PIB/hm ² + 1%TinopalLPW	95.1	92.7	97.8	95.2	1.98	*
Control	3.5	4.8	2.1	3.50		

*: No obvious difference.

3 讨论

Shaprio 等报道了荧光增白剂对舞毒蛾核型多角体病毒毒力的增强作用, 在大部分荧光增白剂当中, TinopalLPW 对所有试验核型多角体病毒具有增效作用, 而且不同浓度的 TinopalLPW 荧光增白剂对舞毒蛾核型多角体病毒的毒力差异较大, 1%浓度为最佳浓度^[2]。本研究采用了 1%TinopalLPW 作为 PoNPV 的增效剂具有代表性。

在林间防治试验中, PoNPV 和 PoNPV+1%TinopalLPW 2 种处理方式中, PoNPV+1%Tinopal LPW 的防治效果高于 PoNPV。3 种林间使用浓度在加入 1%的 TinopalLPW 后对 2-3 龄蜀柏毒蛾防治效果分别提高 34%、32%和 16%, 显现出增效作用。但 3 组剂量的防治效果除 9.0×10¹⁰ PIB/hm² 剂量增效显著外, 1.8×10¹¹ PIB/hm² 和 3.6×10¹¹ PIB/hm² 剂

量增效不显著。

在使用 PoNPV 的生产防治蜀柏毒蛾中, 3.6×10^{11} PIB/hm² 作为 PoNPV 的生产使用量标准剂量, 其防治效果达 85%^[10], 加入 1% TinopalLPW 后, 9.0×10^{10} PIB/hm² + 1% TinopalLPW 其对林间 2-3 龄幼虫的防治效果均达到林间使用量 3.6×10^{11} PIB/hm² 的效果, 可使 PoNPV 使用量提高 4 倍。

TinopalLPW 对 NPV 的增效作用在低剂量效果较好^[1], 本研究也表明了这种现象。对林间 2-3 龄的防治效果分析, 低剂量的 9.0×10^{10} PIB/hm² 使用剂量对 2-3 龄幼虫死亡率增效作用显著, 4.5×10^{10} PIB/hm²、 2.25×10^{10} PIB/hm²、 $1.139.0 \times 10^{10}$ PIB/hm² 甚至更低剂量增效作用如何有待研究。

从本研究室和林间试验的结果分析来看, 1% TinopalLPW 可作为 PoNPV 的增效剂加入到制剂中。但由于 PoNPV 制剂中含有一定的水份, 由于 TinopalLPW 水溶液 PH 呈碱性, 将 1% TinopalLPW 加入 PoNPV 制剂中长时间陈放后对 PoNPV 毒力有无影响及其对高龄蜀柏毒蛾幼虫的毒力增效作用等有待研究。

References

- [1] Yan D H, Chen C J (严东辉, 陈昌洁). Martin Shaprio. Improving effect of virus to control pest by optical brighteners [J]. Science silvae sinicae, 2003, 39 (1): 153-159
- [2] Shaprio M. Use of optical brighteners as radiation protectants for gypsy moth (Lepidoptera: Lymamtriidae) Nuclear polyhedrosis virus [J]. Econ Entomol, 1992, 85 (5) : 1 682-1 686.
- [3] Nickle W R, Shaprio M. Use stilbene brightener tinopalLPW as a radiation protectant for *Steinemema Carpocapsae* [J]. J Nematol, 1992, 24 (3) : 371-373
- [4] Peng J X, Yang H, Hong H Z, (彭建新, 杨 红, 洪华珠). Synergistic actor of enhancment in Activity of Nuclear Polyhedrosis Virus [J] Chin J Biolog Control (中国生物防治), 2000, 16 (2): 87-91.
- [5] Long X X, Liu L C, Zhou P, (隆孝雄, 刘良才, 周 波) *et al.* Spatial pattern of population of *Parocneria orienta* Eggs and instar larvae [J]. J Sichuan Fores Sci technol (四川林业科技), 1992, 13 (4): 29-32.
- [6] Long X X, Zuo Q, (隆孝雄, 左 谦). Research of Sampling Techniques of *Parocneria orienta* [J]. J Sichuan Fores Sci technol. (四川林业科技), 1992, 13 (4) : 20-25.
- [7] Zhang Z B, (张宗炳). The toxicity test of insecticide (杀虫剂的毒力测定) [M]. Shanghai: Science Technology Publishing House.
- [8] Sun Y P (孙云沛), Johnson E R. Analysis of Joint action of insecticides against houseflies [J]. Econ Entomol, 1960, 53: 887-892.
- [9] Wu X G (邬祥光). The maths assay methodology of insect ecology (昆虫生态学数学分析方法) [M]. Beijing: Agrictrue Publishing House, 1981: 627-633.
- [10] Zhou J H, Tang M J, Qing Y C, (周建华, 唐孟佳, 秦严昌) *et al.* The effect of *Parocneria orienta* Nuclear polyhedron virus to control [J]. Sichuan Fores Sci technol, (四川林业科技) 1992, (4): 13-15.