

DOI:10.13275/j.cnki.lykxyj.2022.006.011

# 3-溴丙酮酸对美国白蛾核型多角体病毒的增效作用

刘瑞霞<sup>1,2</sup>, 李恩杰<sup>3</sup>, 柏超<sup>4</sup>, 王青华<sup>1\*</sup>, 段立清<sup>2</sup>

(1. 中国林业科学研究院森林生态环境与自然保护研究所/国家林业和草原局森林保护学重点实验室, 北京 100091; 2. 内蒙古农业大学林学院, 内蒙古 呼和浩特 010019; 3. 中国林业科学研究院华北林业实验中心, 北京 102300; 4. 北京市新海园林工程有限公司, 北京 100018)

**摘要:** [目的] 利用 3-溴丙酮酸 (3-BrPA) 作为美国白蛾核型多角体病毒 (HycuNPV) 的生物增效剂, 探讨 3-BrPA 对 HycuNPV 的毒力和对美国白蛾生长发育的影响, 为进一步推进 HycuNPV 杀虫剂的应用提供新的增效剂。[方法] 通过室内在 HycuNPV 中添加不同剂量 3-BrPA, 分析其对 HycuNPV 的增效作用以及对美国白蛾生长发育的影响。[结果] 室内生物活性结果表明, 3-BrPA 对 HycuNPV 具有增效作用, 不仅可以提高 HycuNPV 的感染能力, 还能提高杀虫速度。当 3-BrPA 的添加剂量为 5.0、10.0 和 15.0 mg·g<sup>-1</sup> 时, HycuNPV 作用于美国白蛾 3 龄幼虫的 LC<sub>50</sub> 都有不同程度地降低; 并且对 HycuNPV 的增效倍数 (S<sub>R</sub>) 分别为 825.14、164.72 和 0.47, 共毒系数 (CTC) 分别为 82 613.63、16 579.25 和 147.27。不同浓度的 HycuNPV 在不同剂量的 3-BrPA 作用下, 其杀虫效果各不相同。添加不同剂量的 3-BrPA, LT<sub>50</sub> 缩短了 3.280~9.724 d。根据 S<sub>R</sub>、CTC、LT<sub>50</sub> 及 ST 等指标评判, 在浓度为 9.0 × 10<sup>5</sup> OBs·mL<sup>-1</sup> 的 HycuNPV 中添加 5.0 mg·g<sup>-1</sup> 的 3-BrPA 时, 增效作用最优。此外, 3-BrPA 和 HycuNPV 联合作用还显著抑制了幼虫的生长发育, 且存活幼虫的化蛹率和羽化率均低于单独使用病毒杀虫剂。[结论] 3-BrPA 对 HycuNPV 具有增效作用, 有望作为理想的病毒杀虫剂的增效剂。

**关键词:** 美国白蛾核型多角体病毒; 3-溴丙酮酸; 美国白蛾; 增效作用

**中图分类号:** S767.3

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1001-1498(2022)06-0101-07

美国白蛾 (*Hyphantria cunea* (Drury)) 属鳞翅目 (Lepidoptera) 灯蛾科 (Arctiidae), 是一种极易暴发成灾的世界性的检疫害虫, 也是我国重大外来入侵害虫。美国白蛾具有食性杂、适应性强, 繁殖量大、危害严重, 传播速度快等特点<sup>[1-2]</sup>, 2019 年被国家林业和草原局列为二级危害性林业有害生物 (国家林业和草原局公告 2019 年第 20 号)。美国白蛾于 1979 年首次在我国辽宁丹东地区发现, 此后由东向西扩散, 到 2019 年疫区已经扩散至北京、河北、内蒙古、河南、江苏和安徽

等 13 个省 (区、市) 的 598 个县级行政区<sup>[3]</sup>; 到 2020 年, 发生面积已达 74.64 万 hm<sup>2</sup>, 扩散范围进一步加大, 仅疫区就新增 11 个<sup>[4-5]</sup>; 2021 年疫区已涉及 13 个省 (区、市) 的 607 个县级行政区 (国家林业和草原局公告 2021 年第 7 号)。据预测分析, 随着气候变化, 美国白蛾潜在生境整体向中国北部和内陆湿度较高地区偏移, 黑龙江、四川、山西、台湾等地区未来可能成为美国白蛾主要潜在的发生区域<sup>[6]</sup>。为了减少美国白蛾的危害, 人们研究了多种防治药剂, 其中化学农药因具有易加工、高

收稿日期: 2022-02-06 修回日期: 2022-07-05

基金项目: 中国林科院中央级公益性科研院所基本科研业务费专项基金 (CAFYBB2018QB005); 十三五国家重点研发计划 (2018YFD0600202)

\* 通讯作者: 王青华, 博士, 副研究员, 主要研究方向: 昆虫病毒学, 电话: 01062889509, Email: wqh633@caf.ac.cn

效杀死大量个体等特点而在美国白蛾防治中发挥了重要作用, 但其所带来的负面影响, 如环境污染, 易产生药害、抗药性、杀伤天敌、破坏生态系统等问题, 促使人们偏向开发和利用安全、高效、可持续的生物防治药剂。

美国白蛾核型多角体病毒 (*Hyphantria cunea nucleopolyhedrovirus*, HycuNPV) 具有毒力强, 对寄主专一, 对环境和人畜安全, 不杀伤天敌等优点, 成为美国白蛾生物防治中重要的一种病原微生物杀虫剂<sup>[7]</sup>。但其自身也有一定的缺陷, 如病毒的大量复制只能通过活体繁殖, 生产成本和防治成本较化学农药均相对较高; 另外, 病毒侵染害虫到致病通常需要一定的周期, 在该周期内, 病虫的取食量几乎不减少, 仍会对农林作物造成一定的损失<sup>[8-9]</sup>, 这些因素制约了 HycuNPV 杀虫剂的发展。因此, 研究和开发能够提高 HycuNPV 的杀虫效率、缩短杀虫时间的增效剂资源, 成为扩大该病毒杀虫剂推广应用的重要途径<sup>[10-12]</sup>。

3-溴丙酮酸 (3-bromopyruvate, 3-BrPA) 既是杀菌剂噻菌灵的中间体, 也是糖酵解产物中丙酮酸的类似物, 对糖酵解途径的限制酶——己糖激酶 (hexokinase II, HKII) 的活性具有抑制作用<sup>[13]</sup>。已有研究表明, 3-BrPA 在医学上可用于抑制肿瘤细胞 ATP 的产生<sup>[14-15]</sup>, 并会抑制真菌的繁殖<sup>[16]</sup>, 被称为是一种新型、高效、无污染的生物制剂<sup>[17-18]</sup>。在病虫害防治方面, 高剂量的 3-BrPA 对秀丽隐杆线虫具有毒性, 低剂量的 3-BrPA 会延长线虫的生长发育时间<sup>[18-19]</sup>; 此外, 3-BrPA 对美国白蛾幼虫生长发育也具有显著的抑制作用<sup>[20]</sup>。为此, 本研究利用 3-BrPA 作为 HycuNPV 的生物增效剂, 探讨 3-BrPA 对 HycuNPV 的毒力影响和对美国白蛾生长发育的影响。以期利用 3-BrPA 作为 HycuNPV 的增效剂提高病毒对美国白蛾的杀虫效果, 为 HycuNPV 杀虫剂的广泛应用提供技术支持。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

美国白蛾核型多角体病毒 (HycuNPV)、美国白蛾 3 龄幼虫和人工饲料均由中国林业科学研究院林业昆虫病毒研发中心提供, 3 龄幼虫于温度 (25 ± 1) °C, 相对湿度 (60 ± 10) %, 光周期 16 L : 8 D 的昆虫饲养室中饲养。3-BrPA (纯度 ≥ 95%) 购自北京爱博森生物试剂有限公司。

### 1.2 研究方法

1.2.1 3-BrPA 对 HycuNPV 的增效作用的测定 美国白蛾 3 龄幼虫置于养虫杯 (Φ 6.3 cm × 5.2 cm) 饥饿处理 24 h。3-BrPA 添加剂量分别为 5.0、10.0、15.0、20.0 和 25.0 mg·g<sup>-1</sup> 时; 纯化的 HycuNPV 悬浮液依次稀释为 3.0 × 10<sup>7</sup>、9.0 × 10<sup>6</sup>、3.0 × 10<sup>6</sup>、9.0 × 10<sup>5</sup> 和 3.0 × 10<sup>5</sup> OBs·mL<sup>-1</sup>。将上述 3-BrPA 与 HycuNPV 混合加至养虫杯, 混合的加入方法具体如下: 先将 3-BrPA 加入每杯含有 (20 ± 0.5) g 的人工饲料表面, 待渗入饲料后, 再将 HycuNPV 悬浮液加入, 自然晾干, 接入试虫, 并设置无菌水为对照组。每组选取健康幼虫 10 头, 重复 3 次。自接毒后第 3 d 开始每天记录美国白蛾幼虫死亡症状和死亡数, 直至虫体全部死亡或化蛹<sup>[21-22]</sup>。

1.2.2 3 龄幼虫发育历期、羽化率和化蛹率的测定 选取浓度为 9.0 × 10<sup>5</sup> 和 3.0 × 10<sup>5</sup> OBs·mL<sup>-1</sup> 的 HycuNPV, 并分别添加剂量为 5.0、10.0、12.5 和 15.0 mg·g<sup>-1</sup> 的 3-BrPA 对美国白蛾 3 龄幼虫进行接毒, 分析不同处理对美国白蛾幼虫的发育历期、化蛹率和羽化率的影响。

### 1.3 数据分析

应用 Excel 2021 处理数据, 运用 SPSS 22.0 进行 probit 分析, 分别求出 3-BrPA 对 HycuNPV 的致死中浓度 (LC<sub>50</sub>) 和致死中时间 (LT<sub>50</sub>), 并用单因素方差分析 (ANOVA), Tukey test (*P* < 0.05) 分析幼虫发育历期、化蛹率和羽化率等<sup>[23]</sup>。

1.3.1 增效倍数与共毒系数 增效作用采用增效倍数 (S<sub>R</sub>) 与共毒系数 (CTC) 来衡量<sup>[11]</sup>, 计算公式如下:

$$S_R = LC_{50}(\text{HycuNPV}) / LC_{50}(\text{HycuNPV} + 3\text{-BrPA}) - 1 \quad (1)$$

$$CTC = LC_{50}(\text{HycuNPV}) / LC_{50}(\text{HycuNPV} + 3\text{-BrPA}) \times 100 \quad (2)$$

上式 (1) 中 S<sub>R</sub> 的计算和评价参考刘海明与段彦丽等人的方法<sup>[11、24]</sup>, 增效倍数 (S<sub>R</sub>) > 0, 表示为增效作用; (S<sub>R</sub>) < 0, 表示为拮抗作用; (S<sub>R</sub>) = 0, 表示为无增效作用。

上式 (2) 根据复配剂的联合作用划分标准, 共毒系数 (CTC) ≥ 120, 则药剂复配表示为增效作用; 若 CTC ≤ 80, 则表示拮抗作用; 若 80 <

CTC<120, 则表示为相加作用<sup>[25-26]</sup>。

## 2 结果分析

### 2.1 不同处理对美国白蛾3龄幼虫的LC<sub>50</sub>和增效作用分析

由表1可知, HycuNPV悬浮液在不同剂量的3-BrPA作用下, 其毒力出现显著差异。当3-BrPA的添加剂量为0时, 仅含有HycuNPV的对照组LC<sub>50</sub>为 $4.362 \times 10^5$  OBs·mL<sup>-1</sup>; 当3-BrPA的添加剂量低于 $15.0 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 时, HycuNPV的LC<sub>50</sub>均低

于对照组的LC<sub>50</sub>; 添加 $15.0 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  3-BrPA的HycuNPV与对照组相比, LC<sub>50</sub>并没有显著的差异。也就是说, 随着添加3-BrPA的剂量降低, LC<sub>50</sub>差异逐步增大。同时根据增效作用计算可知, 当3-BrPA的添加剂量分别为5.0、10.0和 $15.0 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 时, 增效倍数(S<sub>R</sub>)分别为825.14、164.72和0.47, 共毒系数(CTC)分别为82 613.63、16 579.25和147.27。由此可见, 添加5.0和 $10.0 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 的3-BrPA对HycuNPV具有明显的增效作用, 且前者的增效作用最显著。

表1 不同处理对美国白蛾3龄幼虫的LC<sub>50</sub>和增效作用分析

Table 1 Analysis of LC<sub>50</sub> and synergistic effects of different treatments on the 3<sup>rd</sup> instar larvae of *H. cunea*

处理 Treatment		Probit 回归方程 Probit structural equation regression $y=a+bx$	卡方值 $\chi^2$	自由度 <i>df</i>	LC <sub>50</sub> / (OBs·mL <sup>-1</sup> )	增效倍数 Synergy ratio (S <sub>R</sub> )	共毒系数 Co-toxicity coefficient (CTC)
HycuNPV/ (OBs·mL <sup>-1</sup> )	3-BrPA/ (mg·g <sup>-1</sup> )						
	--	$y=-5.164+0.916x$	24.957	3.162	$4.362 \times 10^5$	—	—
HycuNPV	5.0	$y=-1.153+0.423x$	19.308	3.162	$5.28 \times 10^2$	825.14	82 613.63
	10.0	$y=-0.915+0.268x$	12.172	3.162	$2.631 \times 10^3$	164.72	16 579.25
	15.0	$y=-4.570+0.835x$	15.401	3.162	$2.962 \times 10^5$	0.47	147.27

### 2.2 不同处理对美国白蛾3龄幼虫的LT<sub>50</sub>分析

不同浓度的HycuNPV悬浮液在不同剂量的3-BrPA作用下的杀虫速度如表2所示。不同浓度的HycuNPV在不同剂量的3-BrPA作用下, 其杀虫效果各不相同。在浓度为 $3.0 \times 10^7$  OBs·mL<sup>-1</sup>的HycuNPV中添加 $5.0 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 的3-BrPA, LT<sub>50</sub>最短(3.112 d), 添加 $10.0 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 的3-BrPA次之(3.710 d); 在浓度为 $9.0 \times 10^5$  OBs·mL<sup>-1</sup>的HycuNPV中添加 $5.0 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 的3-BrPA, LT<sub>50</sub>缩短时间最长, 达9.724 d。

当HycuNPV浓度为 $3.0 \times 10^7$ 和 $3.0 \times 10^6$  OBs·mL<sup>-1</sup>时, 添加 $15.0 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 的3-BrPA会使LT<sub>50</sub>延长; 添加 $5.0 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 的3-BrPA会缩短LT<sub>50</sub>, 相比较对照, 分别缩短4.628 d和6.376 d。当HycuNPV浓度为 $9.0 \times 10^6$  OBs·mL<sup>-1</sup>时, 添加3-BrPA均会使LT<sub>50</sub>延长。当HycuNPV浓度为 $9.0 \times 10^5$ 和 $3.0 \times 10^5$  OBs·mL<sup>-1</sup>时, 添加3-BrPA均可使LT<sub>50</sub>明显缩短, 且随着3-BrPA添加剂量的降低, LT<sub>50</sub>的差异逐步增大。

当3-BrPA的添加剂量为 $5.0 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 时, 仅有浓度为 $9.0 \times 10^6$  OBs·mL<sup>-1</sup>的HycuNPV的LT<sub>50</sub>延长了, 其余浓度的HycuNPV的LT<sub>50</sub>均明显缩

短, 其中浓度为 $9.0 \times 10^5$  OBs·mL<sup>-1</sup>的HycuNPV的LT<sub>50</sub>缩短时间最长(9.724 d)。当3-BrPA的添加剂量为 $10.0 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 时, 浓度为 $3.0 \times 10^7$ 、 $9.0 \times 10^5$ 和 $3.0 \times 10^5$  OBs·mL<sup>-1</sup>的HycuNPV的LT<sub>50</sub>缩短了, 且浓度为 $9.0 \times 10^5$  OBs·mL<sup>-1</sup>的HycuNPV的LT<sub>50</sub>缩短时间(7.070 d)明显长于其余2个浓度(4.030 d和3.280 d)。当3-BrPA的添加剂量为 $15.0 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 时, 仅有浓度为 $9.0 \times 10^5$ 和 $3.0 \times 10^5$  OBs·mL<sup>-1</sup>的HycuNPV的LT<sub>50</sub>出现缩短。

综上所述, 在一定浓度的HycuNPV中加入低剂量的3-BrPA, 会显著提高病毒的杀虫速度。

### 2.3 不同处理对美国白蛾幼虫发育历期的影响

由表3可以看出, 不同浓度的HycuNPV悬浮液在不同剂量的3-BrPA作用下, 美国白蛾幼虫的3龄发育历期和总发育历期(3龄起)都得到延长。当3-BrPA的添加剂量一定时, 浓度为 $9.0 \times 10^5$  OBs·mL<sup>-1</sup>的HycuNPV感染的美国白蛾幼虫3龄发育历期的延长时间都长于浓度为 $3.0 \times 10^5$  OBs·mL<sup>-1</sup>; 浓度为 $9.0 \times 10^5$  OBs·mL<sup>-1</sup>的HycuNPV感染的美国白蛾幼虫总发育历期的延长时间与浓度为 $3.0 \times 10^5$  OBs·mL<sup>-1</sup>的几乎无差异。特别是当

表 2 不同处理对美国白蛾 3 龄幼虫的  $LT_{50}$  分析Table 2 Analysis of  $LT_{50}$  of different treatments on the 3<sup>rd</sup> instar larvae of *H. cuneata*

处理 Treatment		卡方值 $\chi^2$	自由度 <i>df</i>	$LT_{50}$ (95%置信区间) (95% CL)/d	ST/d
HycuNPV/ (OBs·mL <sup>-1</sup> )	3-BrPA/ (mg·g <sup>-1</sup> )				
0 (无菌水)	—	—	—	—	—
—	5.0	76.841	8.376	50.376 (37.552~89.993)	—
—	10.0	79.666	8.376	29.177 (25.600~35.333)	—
—	15.0	140.122	8.376	13.155 (11.326~15.302)	—
$3.0 \times 10^7$	—	127.582	7.000	7.740 (6.995~7.462)	—
	5.0	123.833	8.185	3.112 (2.059~3.982)	4.628
	10.0	103.306	8.185	3.710 (1.882~5.253)	4.030
$9.0 \times 10^6$	15.0	184.018	8.185	8.979 (7.380~10.479)	-1.239
	—	25.139	7.000	7.115 (6.713~7.49)	—
	5.0	67.792	8.185	13.291 (12.320~14.337)	-6.176
$3.0 \times 10^6$	10.0	88.002	8.185	18.002 (16.646~19.713)	-10.887
	15.0	214.010	8.185	10.084 (8.111~12.046)	-2.969
	—	53.590	7.000	11.187 (10.374~12.073)	—
$9.0 \times 10^5$	5.0	124.257	8.185	4.811 (3.604~5.842)	6.376
	10.0	124.418	8.185	19.498 (17.177~23.090)	-8.311
	15.0	218.346	8.185	17.465 (15.680~19.865)	-6.278
$3.0 \times 10^5$	—	112.563	7.000	14.835 (10.97~29.701)	—
	5.0	149.801	8.185	5.111 (3.574~6.405)	9.724
	10.0	224.020	8.185	7.765 (4.553~10.338)	7.070
$9.0 \times 10^4$	15.0	70.566	8.185	9.832 (8.436~11.290)	5.003
	—	30.358	5.000	15.293 (11.695~30.359)	—
	5.0	68.125	7.211	8.074 (7.306~8.821)	7.219
$3.0 \times 10^4$	10.0	38.211	7.211	12.013 (11.224~12.876)	3.280
	15.0	41.304	7.211	11.496 (10.619~12.459)	3.797

注: ST 表示比对应浓度 HycuNPV 中未添加 3-BrPA 缩短的  $LT_{50}$ 。

Note: ST represents the  $LT_{50}$  compared with the corresponding concentration of HycuNPV without 3-BrPA.

3-BrPA 的添加剂量为  $15.0 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  时, 浓度为  $9.0 \times 10^5$  和  $3.0 \times 10^5 \text{ OBs} \cdot \text{mL}^{-1}$  的 HycuNPV 感染的美国白蛾幼虫一直未化蛹。

当 HycuNPV 浓度一定时, 随着 3-BrPA 添加剂量的升高, 美国白蛾幼虫的 3 龄发育历期和总发育历期均逐步变长, 其中, 在 HycuNPV 浓度为  $9.0 \times 10^5 \text{ OBs} \cdot \text{mL}^{-1}$  时, 添加剂量为  $15.0 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  的 3-BrPA 后, 美国白蛾幼虫 3 龄发育历期最长, 较对照组延长高达 9.00 d。

## 2.4 不同处理对幼虫总存活率、化蛹率和羽化率的影响

在不同浓度的 HycuNPV 中添加不同剂量的 3-

BrPA, 感染美国白蛾 3 龄幼虫后的总存活率、化蛹率和羽化率如表 4 所示。当 HycuNPV 的浓度为  $3.0 \times 10^5 \text{ OBs} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 仅在 3-BrPA 剂量为  $12.5 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  时, 美国白蛾幼虫总存活率为 10.00%, 化蛹率和羽化率均为 33.33%; 在 3-BrPA 其余的添加剂量下, 美国白蛾幼虫总存活率都为 0, 无化蛹, 也无羽化。当 HycuNPV 的浓度为  $9.0 \times 10^5 \text{ OBs} \cdot \text{mL}^{-1}$  时, 随着 3-BrPA 添加剂量的降低, 美国白蛾幼虫总存活率逐渐下降, 最高为 30.00%, 最低为 13.33%; 3-BrPA 添加剂量为 5.0、10.0 和  $12.5 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  时, 美国白蛾幼虫的化蛹率分别为 66.67%、25.00% 和 44.44%, 羽化率分别为 22.22%、

表 3 不同处理对美国白蛾幼虫发育历期的影响

Table 3 Effects of different treatments on the larvae development duration of *H. cunea*

处理 Treatment		3龄发育历期 Duration of 3 <sup>rd</sup> instar larvae/d	延长时间 Extended time/d	幼虫总发育历期 (3龄起) Duration of larvae stage (From 3 <sup>rd</sup> instar) /d	延长时间 Extended time/d
HycuNPV/ (OBs·mL <sup>-1</sup> )	3-BrPA/ (mg·g <sup>-1</sup> )				
0 (无菌水)	—	3.67 ± 0.333 c	—	9.00 ± 0.577 c	—
—	5.0	8.67 ± 0.333 b	—	13.00 ± 0.577 b	—
—	10.0	9.33 ± 0.333 b	—	15.00 ± 0.000 a	—
—	12.5	10.67 ± 0.333 a	—	16.00 ± 0.577 a	—
—	15.0	11.67 ± 0.333 a	—	—	—
	—	3.67 ± 0.333 c	—	9.33 ± 0.333 c	—
	5.0	8.67 ± 0.333 c	5.00	15.00 ± 0.577 c	5.67
3.0 × 10 <sup>5</sup>	10.0	9.33 ± 0.333 c	5.66	15.67 ± 0.333 c	6.34
	12.5	9.67 ± 0.333 c	6.00	16.33 ± 0.333 c	7.00
	15.0	12.33 ± 0.333 c	8.66	未化蛹	—
	—	4.00 ± 0.000 c	—	9.67 ± 0.667 c	—
	5.0	9.67 ± 0.667 c	5.67	15.33 ± 0.333 c	5.66
9.0 × 10 <sup>5</sup>	10.0	9.67 ± 0.333 c	5.67	16.00 ± 0.000 c	6.33
	12.5	10.33 ± 0.333 c	6.33	16.67 ± 0.333 c	7.00
	15.0	13.00 ± 0.577 b	9.00	未化蛹	—

注: 表中的数据为平均数 ± 标准误, 不同字母表示在不同处理下  $p < 0.05$  水平差异显著。

Note: The data is average ± standard error in the table, different small letters indicate that the  $p < 0.05$  level is significantly different under different treatments.

表 4 不同处理对幼虫总存活率、化蛹率和羽化率的影响

Table 4 Effects of different treatments on the overall survival rate, pupation rate and emergence rate of larvae

处理 Treatment		幼虫总存活率 ± 标准误差 Overall survival rate ± SE/%	化蛹率 ± 标准误差 Pupation rate ± SE/%	羽化率 ± 标准误差 Emergence rate ± SE/%
HycuNPV/ (OBs·mL <sup>-1</sup> )	3-BrPA/ (mg·g <sup>-1</sup> )			
0 (无菌水)	—	83.33 ± 3.333 b	92.13 ± 3.955 c	91.07 ± 4.495 c
—	5.0	83.33 ± 8.819 b	59.29 ± 9.285 c	77.78 ± 11.110 c
—	10.0	46.67 ± 8.819 c	40.00 ± 13.879 c	33.33 ± 33.333 c
—	12.5	33.33 ± 3.333 c	33.33 ± 19.246 c	0
3.0 × 10 <sup>5</sup>	—	73.33 ± 8.819 b	89.68 ± 5.206 c	69.44 ± 19.445 c
	5.0	0	—	—
	10.0	0	—	—
	12.5	10.00 ± 5.774 c	33.33 ± 33.333 c	33.33 ± 33.333 c
9.0 × 10 <sup>5</sup>	—	30.00 ± 10.000 c	62.22 ± 23.201 c	61.11 ± 30.932 c
	5.0	13.33 ± 8.819 c	66.67 ± 33.333 c	22.22 ± 22.223 c
	10.0	20.00 ± 11.547 c	25.00 ± 14.434 c	33.33 ± 33.333 c
	12.5	30.00 ± 11.547 c	44.44 ± 29.397 c	9.52 ± 9.523 c

注: 表中的数据为平均数 ± 标准误, 不同字母表示在不同处理下  $p < 0.05$  水平差异显著。

Note: The data is average ± standard error in the table, different letters indicate that the  $p < 0.05$  level is significantly different under different treatments.

33.33% 和 9.52%。

当 3-BrPA 的添加剂量一致时, 浓度为  $3.0 \times$

$10^5$  OBs·mL<sup>-1</sup> 的 HycuNPV 感染的美国白蛾幼虫总存活率、化蛹率和羽化率均低于浓度为  $9.0 \times$

$10^5$  OBs·mL<sup>-1</sup>的 HycuNPV。

### 3 讨论

3-BrPA 为低毒性杀菌剂, 安全性高, 对环境无害, 有望作为一种理想的昆虫病毒增效剂。已有研究表明, 高剂量的 3-BrPA 对线虫和美国白蛾有毒性作用, 且低剂量的 3-BrPA 可使线虫生长发育历期延长, 美国白蛾的生长发育抑制<sup>[18-20]</sup>; 但是, 都未将 3-BrPA 作为增效剂与其他生物杀虫剂联合使用。本研究发现 3-BrPA 能够与 HycuNPV 联合作用, 既提高了 HycuNPV 的毒力和杀虫速度, 又表现出显著的增效作用(表 1, 2)。当添加 3-BrPA 的剂量降低时, 对 HycuNPV 的增效倍数 ( $S_R$ ) 和共毒系数 (CTC) 越显著, 其中 3-BrPA 为  $5.0 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  时,  $S_R$  和 CTC 的值最大。当 3-BrPA 的添加剂量为  $5.0 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  时, 仅有浓度为  $9.0 \times 10^6$  OBs·mL<sup>-1</sup> 的 HycuNPV 的  $LT_{50}$  延长了, 其余浓度的  $LT_{50}$  均明显缩短。其中浓度为  $9.0 \times 10^5$  OBs·mL<sup>-1</sup> 的 HycuNPV 的  $LT_{50}$  缩短时间最长。根据  $S_R$ 、CTC、 $LC_{50}$  与  $LT_{50}$  综合决定, 两者联合的最佳增效配比为:  $9.0 \times 10^5$  OBs·mL<sup>-1</sup> HycuNPV +  $5.0 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  3-BrPA。

更为重要的是, 3-BrPA 的添加, 使 HycuNPV 对美国白蛾幼虫的生长发育有显著的抑制作用(表 3)。而 HycuNPV 单剂作用速度慢, 即便害虫最终因感染病毒而死, 可害虫在感染病毒后较长一段时间内生长发育速度正常, 其对寄主的取食量并未减少, 当代害虫依然对农林作物造成了严重的危害<sup>[27]</sup>。因此 HycuNPV 和 3-BrPA 的联合应用不仅保证了病毒本身控制作用的发挥, 也弥补了其病毒本身的缺陷, 从而有效抑制了该害虫对农林作物的危害程度, 进而达到减少防治成本和农林作物经济损失的目的。此外, 研究还发现, 3-BrPA 与 HycuNPV 联合作用对化蛹率和羽化率有一定的影响(表 4), 加入 3-BrPA 后化蛹率与羽化率均低于单独饲喂 HycuNPV。同单独应用 HycuNPV 防治美国白蛾幼虫相比, 3-BrPA 显示出了其作为昆虫病毒增效剂的诸多优越性, 可见, 3-BrPA 有望成为病毒增效剂的理想因子。

### 4 结论

3-BrPA 的添加对 HycuNPV 具有增效作用, 为 HycuNPV 提供新的具有应用前景的增效剂资源。

### 参考文献:

- [1] 郑桂玲, 周洪旭, 耿以龙, 等. 美国白蛾核型多角体病毒青岛分离株的生物活性测定[J]. 青岛农业大学学报, 2011, 28(2): 107-109.
- [2] 李娜, 李恩杰, 王青华, 等. 美国白蛾核型多角体病毒 ORF72 原核表达载体的构建、表达及纯化[J]. 林业科学研究, 2018, 31(5): 57-63.
- [3] 卢修亮, 韩凤英, 温玄烨, 等. 美国白蛾发生形势分析与对策建议[J]. 中国森林病虫, 2021, 40(1): 41-48.
- [4] 孙红, 周艳涛, 李晓冬, 等. 2020年全国主要林业有害生物发生情况及2021年发生趋势预测[J]. 中国森林病虫, 2021, 40(2): 45-48.
- [5] 国家林业和草原局. 2020年美国白蛾疫区公告(2020年第3号)[EB/OL]. (2020 03 13)[2020 08 17]. <http://www.forestry.gov.cn/>.
- [6] 纪烨琳, 苏喜友, 于治军. 基于随机森林模型的美国白蛾在中国的潜在生境预测[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2019, 43(6): 121-128.
- [7] 王承锐, 李娜, 李恩杰, 等. Taq Man 实时荧光定量 PCR 检测美国白蛾核型多角体病毒方法的建立[J]. 环境昆虫学报, 2019, 41(4): 922-928.
- [8] Ignoffo C M, Heimpel A M. The nuclear-polyhedrosis virus of *Heliothis zea* (boddie) and *Heliothis virescens* (fabricius). V. Toxicity-pathogenicity of virus to white mice and guinea pigs[J]. Journal of Invertebrate Pathology, 1965, 7(3): 329-340.
- [9] 郭慧芳, 方继朝, 韩召军. 昆虫病毒增效剂研究进展[J]. 昆虫学报, 2003, 46(6): 766-772.
- [10] 杨唯一, 张永安, 唐明, 等. 三种荧光增白剂对 HcNPV 增效作用研究[J]. 林业科学研究, 2009, 22(5): 736-739.
- [11] 刘海明, 周洪旭, 李长友. 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[J]. 农药学报, 2013, 15(2): 153-158.
- [12] 梁卿, 李辉, 徐树兰, 等. OB 增效剂对斜纹夜蛾核多角体病毒的增效作用[J]. 环境昆虫学报, 2008, 30(4): 331-335.
- [13] 侯芳燕, 王海蓉, 田勇, 等. 3-溴丙酮酸脂质立方液晶的处方筛选及制备工艺优化[J]. 蚌埠医学院学报, 2020, 45(5): 644-648.
- [14] 曾常茜, 吴思宇. 3-溴丙酮酸抗肿瘤作用及机制研究[J]. 中国新药杂志, 2009, 18(9): 793-795.
- [15] 魏倩因, 王素娟, 刘佳奇, 等. 抗癌烷化剂三溴基丙酮酸对秀丽隐杆线虫衰老指标及寿命的影响[J]. 中国当代医药, 2020, 27(17): 4-6.
- [16] Dylag M, Lis P, Niedzwiecka K, et al. 3-Bromopyruvate: a novel antifungal agent against the human pathogen *Cryptococcus neoformans*[J]. Biochemical Biophysical Research Communications., 2013, 434(2): 322-327.
- [17] Buijs M, Vossen J A, Geschwind J F, et al. Specificity of the anti-glycolytic activity of 3-bromopyruvate confirmed by FDG uptake in a rat model of breast cancer[J]. Invest New Drugs., 2009, 27(2): 120-123.
- [18] 付喜梅. 3-溴丙酮酸对秀丽隐杆线虫毒性和代谢的研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2016.
- [19] Mouchiroud L, Molin L, Kasturi P, et al. Pyruvate imbalance mediates metabolic reprogramming and mimics lifespan extension.

- sion by dietary restriction in *Caenorhabditis elegans*[J]. *Aging Cell*, 2011, 10(1): 39-54.
- [20] Qiu Q, Zou H F, Zou H, *et al.* 3-Bromopyruvate-induced glycolysis inhibition impacts larval growth and development and carbohydrate homeostasis in fall webworm, *Hyphantria cunea* Drury[J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2021, 179: 104961.
- [21] 张永安, 仲国立, 侯玉霞, 等. 茶尺蠖核型多角体病毒 (EoNPV) 的 PCR检测方法及其生物活性研究[J]. *林业科学研究*, 2008, 21(4): 451-455.
- [22] 甘恩宇, 李晓峰, 于欢, 等. 3株苹果蠹蛾颗粒体病毒本土株的毒力测定与田间防效[J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2011, 39(10): 119-122.
- [23] 丁金凤, 徐春梅, 张正群, 等. 溴氰虫酰胺对双委夜蛾生长发育、繁殖和营养利用的影响[J]. *中国农业科学*, 2017, 50(22): 4307-4315.
- [24] 段彦丽, 陶万强, 曲良建. HcNPV和Bt复配对美国白蛾的致病性[J]. *中国生物防治*, 2008, 24(3): 223-238.
- [25] Sun Y P, Johnson E R. Analysis of joint action of insecticides against house flies[J]. *Journal of Economic Entomology*, 1960, 53: 887-892.
- [26] 刘琴, 徐健, 王艳, 等. CmGV与Bt对稻纵卷叶螟幼虫的协同作用研究[J]. *扬州大学学报(农业与生命科学版)*, 2013, 34(4): 89-93.
- [27] 郭慧芳, 韩召军, 方继朝, 等. 虫酰肼对苜蓿银纹夜蛾核型多角体病毒的增效作用[J]. *植物保护学报*, 2005, 32(4): 411-415.

## Synergistic Effect of 3-bromopyruvate Combined with *Hyphantria cunea* Nucleopolyhedrovirus Against *Hyphantria cunea* (Drury)

LIU Rui-xia<sup>1,2</sup>, LI En-jie<sup>3</sup>, BAI Chao<sup>4</sup>, WANG Qing-hua<sup>1</sup>, DUAN Li-qing<sup>2</sup>

(1. Institute of Forest Ecology, Environment and Nature Conservation, Chinese Academy of Forestry/Key Laboratory of Forest Protection, State Forestry and Grassland Administration, Beijing 100091, China; 2. , Forestry College, Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot 010019, Inner Mongolia, China; 3. North China Forestry Experimental Center, Chinese Academy of Forestry, Beijing 102300, China; 4. Xinhai Landscape Engineering Co., Ltd., Beijing 100018, China)

**Abstract:** [Objective] In this paper, we used 3-bromopyruvate (3-BrPA) as a biological synergist of *Hyphantria cunea* nucleopolyhedrovirus (HycuNPV) to investigate the effect of 3-BrPA on the virulence of HycuNPV and the growth and development of *Hyphantria cunea*, which will provide new synergist resources for the application of HycuNPV insecticides. [Method] The synergistic effect on HycuNPV was analyzed by adding different doses of 3-BrPA incorporating with HycuNPV in laboratory. [Result] The bioassay results showed that 3-BrPA had a synergistic effect on HycuNPV. It could not only improve infectivity of HycuNPV, but also increase the insecticidal speed. When the dosages of 3-BrPA with 5.0, 10.0 and 15.0 mg·g<sup>-1</sup> were added to HycuNPV, the LC<sub>50</sub> of HycuNPV in the 3<sup>rd</sup> instar larvae of *H. cunea* decreased. The synergistic ratio (S<sub>R</sub>) of HycuNPV were 825.14, 164.72 and 0.47, and the co-toxicity coefficients (CTC) were 82613.63, 16579.25 and 147.27, respectively. Different concentrations of HycuNPV had different insecticidal effects under the different doses of 3-BrPA. Added different doses of 3-BrPA, the LT<sub>50</sub> of HycuNPV against the larvae were shortened by 3.280~9.724 d. According to S<sub>R</sub>, CTC, LT<sub>50</sub> and ST, the optimum synergistic effect was observed: 5.0 mg·g<sup>-1</sup> 3-BrPA + 9.0 × 10<sup>5</sup> OBs·mL<sup>-1</sup> HycuNPV. In addition, the combination of 3-BrPA and HycuNPV significantly inhibited the growth and development of larvae, and the pupation and emergence rate of surviving larvae were significantly lower than that of the virus insecticide alone. [Conclusion] 3-BrPA has a synergistic effect on HycuNPV, and is expected to be an ideal synergistic resource of viral insecticides.

**Keywords:** *Hyphantria cunea* nucleopolyhedrovirus; 3-bromopyruvate; *Hyphantria cunea* (Drury); Synergistic effect