

DOI: 10.3969/j.issn.2095-1787.2023.01.014

木毒蛾核型多角体病毒的 PCR 快速检测技术

刘用堃¹, 孙悦¹, 陈佳宁¹, 曲良建², 张飞萍¹, 王荣^{1*}
¹福建农林大学林学院, 福建 福州 350002;
²中国林业科学研究院森林生态环境与保护研究所, 北京 100091

摘要:【目的】木毒蛾是福建沿海地区防护林树种木麻黄的主要害虫之一, 具有成为国际危险性有害生物的潜在可能性。木毒蛾核型多角体病毒 (*Lymantria xylinea* multiple nucleopolyhedrovirus, LyxyMNPV) 是高效控制木毒蛾的优良天敌资源, 具有高度安全性。建立 LyxyMNPV 的 PCR 快速检测技术, 有利于该虫防治技术及木毒蛾核型多角体病毒的进一步研究。【方法】根据 LyxyMNPV 基因组中的特有基因 *gp131* 设计特异性引物, 利用 PCR 法扩增该目的基因片段并测序检验, 建立 LyxyMNPV 的分子快速检测技术体系。【结果】以 GAL 为引物的 PCR 检测技术对 LyxyMNPV 基因组的灵敏度可达 $1\text{ fg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 对多角体悬液浓度检测最低量可达 $5.0\text{ PIB} \cdot \text{mL}^{-1}$, 可明确区分 LyxyMNPV 和其他 7 种昆虫核型多角体病毒。该体系同时适用于感病木毒蛾的不同虫态 (卵、幼虫、蛹和成虫) 的检测, 以及环境样本 (包括土壤、树枝和寄生蜂) 的检测。【结论】成功建立了具有高度特异性、灵敏性的 LyxyMNPV 分子快速检测技术, 为 LyxyMNPV 的快速检测提供分子生物学证据。
关键词: 聚合酶链式反应; 木毒蛾核型多角体病毒; 灵敏检测; 生物防治



开放科学标识码
(OSID 码)

Establishment of PCR detection for *Lymantria xylinea* multiple nucleopolyhedrovirus

LIU Yonglong¹, SUN Yue¹, CHEN Jianing¹, QU Liangjian², ZHANG Feiping¹, WANG Rong^{1*}
¹College of Forestry, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China;
²Research Institute of Forest Ecology, Environment and Protection, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China

Abstract: 【Aim】The casuarina moth, *Lymantria xylinea*, is one of the main pests of *Casuarina equisetifolia*, in the coastal areas of Fujian Province. It has the potential to become an international quarantine pest. *L. xylinea* multiple nucleopolyhedrovirus (LyxyMNPV) is an excellent resource for the control of *L. xylinea* as it is a natural enemy of this pest and is very safe for use in the environment. The establishment of PCR detection for LyxyMNPV is conducive to the study and control of *L. xylinea*. 【Method】A pair of specific primers was designed according to the previously reported unique gene *gp131* of LyxyMNPV. The target gene fragment was amplified using PCR and sequenced to establish a rapid PCR detection system. 【Result】The detection limit of our method was $1\text{ fg} \cdot \text{mL}^{-1}$ for LyxyMNPV DNA or $5.0\text{ PIB} \cdot \text{mL}^{-1}$ for polyhedrons. It had high specificity in distinguishing LyxyMNPV from the other seven insect nucleopolyhedroviruses, and was detectable in different developmental stages of infected *L. xylinea*, including eggs, larvae, pupae, and adults. This system has also been successfully used for virus detection in the soil, host plant branches, and parasitic wasps of *L. xylinea*. 【Conclusion】A highly specific and sensitive molecular rapid PCR detection method was successfully established, which provided convincing and microscopic molecular evidence for the rapid detection of LyxyMNPV.
Key words: PCR; *Lymantria xylinea* multiple nucleopolyhedrovirus; sensitive detection; biological control

木毒蛾 *Lymantria xylinea* Swinhoe 隶属鳞翅目 Lepidoptera 裳蛾科 Erebidae 毒蛾属 *Lymantria*, 又名黑角舞毒蛾、相思叶毒蛾、木麻黄毒蛾等 (张智涵等, 2020; Wang *et al.*, 2018), 具有成为国际危险性有害生物的潜在可能性 (Dewaard *et al.*, 2010; Pogue & Schaefer, 2007; Wang *et al.*, 2018)。木毒

收稿日期 (Received): 2022-03-29 接受日期 (Accepted): 2022-05-26
基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (31600522); 福建省自然科学基金 (2017J0106)
作者简介: 刘用堃, 男, 硕士研究生。研究方向: 森林保护。E-mail: LYL413319@126.com
* 通信作者 (Author for correspondence), 王荣, E-mail: wangronghl0501@126.com

蛾可对35科100余种树木造成危害,包括木麻黄 *Casuarina equisetifolia* Forst.、龙眼 *Dimocarpus longan* Lour.、杨梅 *Myrica rubra* (Lour.) S. et Zucc. 等 (Hwang *et al.*, 2007; Shen *et al.*, 2006), 大发生时可将树木叶片(小枝)取食殆尽,削弱树木正常生理功能,如遇不良气候条件时可造成林木死亡(何学友, 1998; Pogue & Schaefer, 2007)。

生物防治是当前害虫防治中应用前景最广的手段之一。核型多角体病毒具有高度的生态安全性以及寄主专一性,易在靶标昆虫种群内流行,能在森林保护中发挥作用,我国自1965年就已开始研究核型多角体病毒(梁振普等, 2017)。目前,我国生物农药登记的核型多角体杀虫剂有64种(截至2019年),其中,棉铃虫核型多角体病毒(*Helicoverpa armigera* nucleopolyhedrovirus, HearNPV) 29种,斜纹夜蛾核型多角体病毒(*Spodoptera litura* nucleopolyhedrovirus, SpltNPV) 12种,甜菜夜蛾核型多角体病毒(*Spodoptera exigua* multiple nucleopolyhedrovirus, SeMNPV) 10种,苜蓿银纹夜蛾核型多角体病毒(*Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus, AcMNPV) 7种,甘蓝夜蛾核型多角体病毒(*Mamestra brassicae* multiple nucleopolyhedrovirus, MbMNPV) 6种(周利琳等, 2017),木毒蛾核型多角体病毒(*Lymantria xyli* multiple nucleopolyhedrovirus, LyxyMNPV) 则没有记录。木毒蛾核型多角体病毒属于杆状病毒科 Baculoviridae Alpha 杆状病毒属 *Alphabaculovirus* (梁振普等, 2017; 罗辑等, 2014)。LyxyMNPV 全基因组(GQ202541.1)已于2010年被测定,它由156344个碱基组成,含有157个开放阅读框,拥有4个特有基因,分别为 *gp011* (177 bp)、*gp019* (168 bp)、*gp130* (252 bp)、*gp131* (2070 bp) (Nai *et al.*, 2010)。

1977年,研究人员使用扫描电镜和透射电镜首次对福建沿海地区木麻黄林内感病木毒蛾幼虫尸体内的LyxyMNPV进行了鉴定与初步研究,对其内、外部形态进行了简单描述(福建林学院林学系森保教研组等, 1980)。现今研究还停留在肉眼观测阶段(Charpentier *et al.*, 2003)。通过光学显微镜检测的昆虫核型多角体病毒最低检测水平为 10^6 个多角体(王文欢等, 2009),无法检测低水平感染病毒的试虫。PCR检测方法具有高灵敏度、高效快速的优点,对核型多角体病毒核酸的灵敏度可达1 fg

(Kukan, 1999),但针对LyxyMNPV的PCR检测体系目前尚未建立。

当前,国内对核型多角体病毒的研究多集中在产品复配和组合物等方面(刘成亨, 2001),而国外研究则侧重于利用分子生物学技术改造核型多角体病毒。本文通过LyxyMNPV的特有基因 *gp131* 设计特异性引物,建立了针对木毒蛾核型多角体病毒的分子水平快速鉴定方法,以期应用于野外林间木毒蛾病毒流行病检测、实验室木毒蛾种群病毒感染检测以及病毒的垂直传播等研究。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究所使用的木毒蛾幼虫、虫尸及卵块采集于福建省平潭综合试验区木麻黄纯林,健康木毒蛾幼虫于福建农林大学实验室饲养(饲养条件:16L:8D,相对湿度80%~85%,温度24~26℃)。在该样地收集环境样本,随机选取6棵木毒蛾幼虫危害的木麻黄,收集挂尸(被LyxyMNPV感染的幼虫呈倒V字型悬挂于枝干上)周围的木麻黄枝条并混合;同时,采集选取的6株木麻黄周围的土壤并混合;室内收集该样地内木毒蛾卵块中的卵寄生蜂(大蛾卵跳小蜂 *Ooencyrtus kuwanai* Howard)并混合。

甜菜夜蛾核型多角体病毒、斜纹夜蛾核型多角体病毒、棉铃虫核型多角体病毒、舞毒蛾核型多角体病毒(*Lymantria dispar* multiple nucleopolyhedrovirus, LdMNPV)、春尺蠖核型多角体病毒(*Apocheima cinerarius* nucleopolyhedrovirus, AciNPV)、苜蓿银纹夜蛾核型多角体病毒、美国白蛾核型多角体病毒(*Hyphantria cunea* nucleopolyhedrovirus, HcNPV)由中国林业科学研究院提供。

1.2 试验方法

1.2.1 病毒制备 将野外采集的虫尸放入研钵中,加入适量的PBS ($0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH=7.4)充分研磨,3层纱布过滤。 $600 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心10 min,取上清液, $10000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心25 min,取沉淀并使用PBS悬浮, $5000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心30 min取沉淀。重复3次,将沉淀悬浮,所得悬液即为LyxyMNPV粗提液,4℃保存。

将粗提液采用蔗糖密度梯度离心法进行纯化(Harrap *et al.*, 1977)。将蔗糖溶液按60%、45%、30%由高到低的顺序依次注入离心管中,病毒平铺于蔗糖溶液上部。 $5000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心30 min,收集分离的

病毒(白色部分)并用适量双蒸水 $10000\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 30 min , 重复多次, 直至洗去蔗糖, 然后使用 PBS 悬浮纯化的病毒多角体, 通过血球计数法计算浓度, 并调整稀释为 5.0×10^9 、 5.0×10^8 、 5.0×10^7 、 5.0×10^6 、 5.0×10^5 、 5.0×10^4 、 5.0×10^3 、 5.0×10^2 、 5.0×10^1 、 $5.0\text{ PIB} \cdot \text{mL}^{-1}$, $-80\text{ }^\circ\text{C}$ 保存备用。

1.2.2 感病卵、蛹和成虫的获取 用浓度为 $5.0 \times 10^3\text{ PIB} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 LyxyMNPV 溶液喷洒饲料, 感染木毒蛾 2 或 3 龄健康幼虫, 幼虫化蛹后单独收集, 待其羽化、产卵。收集的卵不进行消毒处理, 随机取 30 个卵块先在 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 放置 40 d , 再置于 $25\text{ }^\circ\text{C}$ 用于孵化, 剩余卵块置于 $-10\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱保存备用。孵化后的幼虫每头单独饲养直至化蛹, 随机取 30 个蛹放置于 $25\text{ }^\circ\text{C}$ 环境中, 待其羽化收集成虫, 剩余蛹置于 $-10\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱保存备用。

1.2.3 病毒 DNA 提取 取纯化过的 LyxyMNPV, 使用 TaKaRa MiniBEST Viral RNA/DNA Extraction Kit Ver.5.0 试剂盒提取基因组。

1.2.4 病虫总 DNA 的制备 取感染 LyxyMNPV 的木毒蛾卵、幼虫、蛹以及成虫, 使用通用基因组 DNA 提取试剂盒(天漠生物公司)提取病虫总 DNA。

1.2.5 环境样本 DNA 的制备 将野外采集的土壤和木麻黄枝条混合样品分别用研磨机充分研磨, 并分别取 0.5 g 样品, 利用 PowerViral™ 环境样品 DNA/RNA 提取试剂盒(QIAGEN)提取总 DNA。随机选取实验室内收集的 10 个木毒蛾卵寄生蜂大蛾卵跳小蜂样本, 提取总 DNA。

1.2.6 PCR 扩增 依据 LyxyMNPV 基因组特有基因 *gp131* 设计特异性引物, GAL-F: $5'\text{-TTCCGGAC-CATCATCGAGCA-3'}$; GAL-R: $5'\text{-GGGCGAACATTC-GCAAGTCT-3'}$, 扩增的目的片段长 879 bp 。PCR 反应体系: $2 \times \text{Taq PCR Master Mix } 12.5\text{ }\mu\text{L}$, DNA 模板 $1\text{ }\mu\text{L}$, 上下游引物各 $1\text{ }\mu\text{L}$ ($10\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), 最后加双蒸水至 $25\text{ }\mu\text{L}$ 。反应条件: $95\text{ }^\circ\text{C}$ 预变性 3 min , $95\text{ }^\circ\text{C}$ 变性 30 s , DNA 模板 $62\text{ }^\circ\text{C}$ 复性 30 s , $72\text{ }^\circ\text{C}$ 延伸 1 min , 共 34 个循环; $72\text{ }^\circ\text{C}$ 再延伸 5 min , 反应完成后 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 静置待取出。取 $10\text{ }\mu\text{L}$ 反应液经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测, 送福州尚亚生物技术有限公司检测。

2 结果与分析

2.1 引物特异性分析

分别用 LyxyMNPV、AcMNPV、AcNPV、HearNPV、HycuNPV、LdMNPV、SeMNPV、SpltNPV 的基因组作为

模板, 用引物 GAL 对以上 DNA 进行扩增及琼脂凝胶电泳检测。只有以 LyxyMNPV DNA 为模板、GAL 为引物的扩增得到一条清晰的目标条带(图 1)。测序结果经 BLAST 基因库比对, 相似性为 99.9%, 证明引物 GAL 对 LyxyMNPV DNA 具有高度特异性。

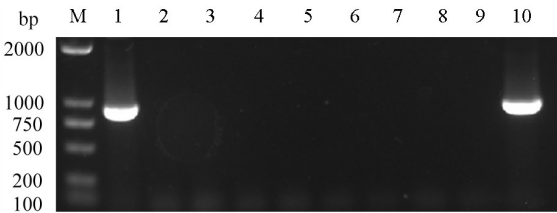


图 1 GAL 引物特异性验证

Fig.1 Detection of different nucleopolyhedrovirus by primer pair GAL

M: Marker; 1~8: LyxyMNPV、AcMNPV、AcNPV、HearNPV、HycuNPV、LdMNPV、SeMNPV、SpltNPV; 9: 阴性对照(双蒸水); 10: 阳性对照(LyxyMNPV)。
M: Marker; 1~8: LyxyMNPV、AcMNPV、AcNPV、HearNPV、HycuNPV、LdMNPV、SeMNPV、SpltNPV; 9: Negative control (ddH₂O); 10: Positive control (LyxyMNPV)。

2.2 引物灵敏度检测

以 GAL 为引物, 将 LyxyMNPV 基因组 DNA 分别稀释到 $1\text{ }\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $1\text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $1\text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $100\text{ fg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $10\text{ fg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $1\text{ fg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 并分别作为模板进行 PCR 扩增。结果显示, 所有浓度模板扩增产物通过琼脂凝胶电泳检测均可见目标条带, 最低检测浓度低至 $1\text{ fg} \cdot \text{mL}^{-1}$ (图 2)。

分别以不同浓度的 LyxyMNPV 多角体悬液为模板、GAL 为引物进行 PCR 扩增, 并将扩增产物进行琼脂凝胶电泳检测。结果显示, 多角体悬液最低检测浓度可低至 $5.0\text{ PIB} \cdot \text{mL}^{-1}$ (图 3)。

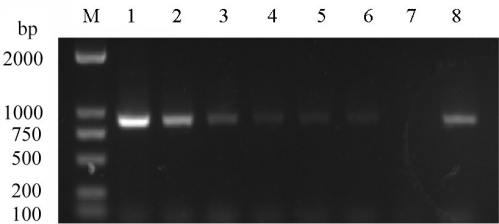


图 2 不同浓度 LyxyMNPV 基因组 *gp131* 基因扩增

Fig.2 Amplification of *gp131* in different concentrations of LyxyMNPV genome by primer pair GAL

M: Marker; 1~6: $1\text{ }\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $1\text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $1\text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $100\text{ fg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $10\text{ fg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $1\text{ fg} \cdot \text{mL}^{-1}$; 7: 阴性对照(双蒸水); 8: 阳性对照(LyxyMNPV)。
M: Marker; 1~6: $1\text{ }\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $1\text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $1\text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $100\text{ fg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $10\text{ fg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $1\text{ fg} \cdot \text{mL}^{-1}$; 7: Negative control (ddH₂O); 8: Positive control (LyxyMNPV)。

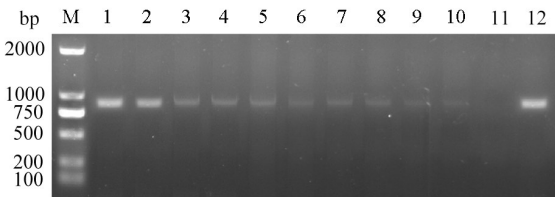


图 3 不同浓度 LyxyMNPV 多角体悬液 *gp131* 基因扩增

Fig.3 Amplification of *gp131* in polyhedron suspensions with different concentrations by primer pair GAL

M: Marker; 1~10: 5.0×10^9 , 5.0×10^8 , 5.0×10^7 , 5.0×10^6 , 5.0×10^5 , 5.0×10^4 , 5.0×10^3 , 5.0×10^2 , 5.0×10^1 , 5.0 PIB · mL⁻¹;

11: 阴性对照 (双蒸水); 12: 阳性对照 (LyxyMNPV)。

M: Marker; 1~10: 5.0×10^9 , 5.0×10^8 , 5.0×10^7 , 5.0×10^6 , 5.0×10^5 , 5.0×10^4 , 5.0×10^3 , 5.0×10^2 , 5.0×10^1 , 5.0 PIB · mL⁻¹;

11: Negative control (ddH₂O); 12: Positive control (LyxyMNPV)。

2.3 不同虫态的 LyxyMNPV 检测

分别以感病木毒蛾的卵、幼虫、蛹和成虫总 DNA 为模板,GAL 为引物进行 PCR 扩增,并进行琼脂凝胶电泳检测。结果显示,感病木毒蛾的卵、幼虫、蛹和成虫全部出现了特异性条带(图 4)。

2.4 环境样品 LyxyNPV 检测

分别以大蛾卵跳小蜂总 DNA、木麻黄树枝总 DNA、泥土总 DNA 为模板,GAL 为引物进行 PCR 扩增,并进行琼脂凝胶电泳检测。结果显示,三者都能检测到 LyxyMNPV(图 5)。

3 讨论与小结

LyxyMNPV 的 4 个特异基因中,*gp011* 和 *gp019* 均没有同源基因,有很高的特异性,32%的 *gp130* 与新隐球菌假定蛋白的 20 个氨基酸有匹配性,*gp131* 与黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 的 62 个氨基酸有 31%的匹配度(Nai *et al.*,2010)。4 个特异基因中仅 *gp130* 含有可识别的启动子,在感染的早期或晚期可能被转录。*gp131* 编码产物是类核衣壳蛋白,没有可识别的启动子,可能不会被转录(Nai *et al.*,2010)。本试验依据 *gp131* 设计特异性引物主要是考虑可较好地控制目的片段长度及其高度特异性。

本研究在木毒蛾的卵、幼虫、蛹和成虫中均检测出 LyxyMNPV,推测 LyxyMNPV 具有垂直传播能力。垂直传播是指病原体经母体传给子代的传播方式,是核型多角体病毒重要的传播途径(张彦,2014),有卵表传播和卵内传播 2 种传播方式:卵表传播为幼虫在孵化时咬穿卵壳,经口感染了卵壳上携带的病原体;卵内传播则是感病母体的生殖细胞含有病毒,从而使卵内发生胚胎感染。也有研究称,核型多角体病毒的垂直传播能由父体介导,病

毒通过被感染的父体精子细胞进行传播,但感染率较低(冯成利等,2007;张彦,2014)。目前,垂直传播在家蚕 *Bombyx mori* L.(张彦,2014)、棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (Hübner)(曲良建等,2005)、甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* Hübner(蒋杰贤等,2005)等核型多角体病毒中均已被证实。

通过环境样本检测可知,泥土、树枝、寄生蜂中均含有 LyxyMNPV。核型多角体病毒以包涵体的形式从虫尸中释放,由于具有多角体蛋白,可在环境中长期生存,后经昆虫取食再次感染(郭忠建等,2018)。本研究发现,寄生蜂可能是该病毒传播的重要媒介昆虫。Laila *et al.* (2021)认为核型多角体病毒基因组中具有对特定寄生蜂的致死因子,是竞争关系。但 Nolwenn *et al.* (2015)却认为该病毒能够帮助寄生蜂在宿主体内生长。因而二者的相互作用机制尚不清楚,还需进一步研究。

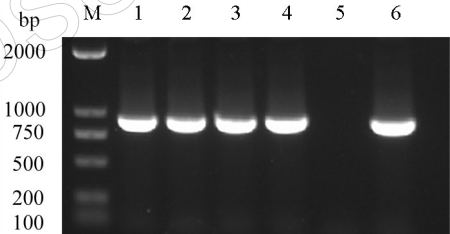


图 4 感病木毒蛾不同虫态总 DNA *gp131* 基因扩增

Fig.4 Amplification of *gp131* of total DNA in different states of infected *L. xyliana* by primer pair GAL

M: Marker; 1~4: 卵、幼虫、蛹、成虫总 DNA;

5: 阴性对照 (双蒸水); 6: 阳性对照 (LyxyMNPV)。

M: Marker; 1~4: Total DNA of eggs, larvae, pupae and adults;

5: Negative control (ddH₂O); 6: Positive control (LyxyMNPV)。

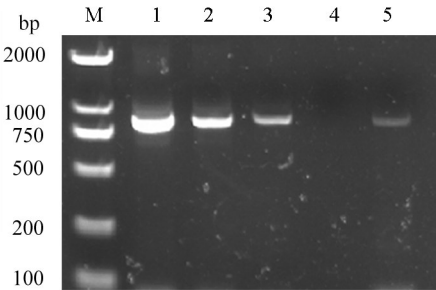


图 5 不同环境样本总 DNA *gp131* 基因扩增

Fig.5 Amplification of *gp131* of total DNA in different environmental samples by primer pair GAL

M: Marker; 1~3: 寄生蜂、木麻黄树枝、泥土总 DNA;

4: 阴性对照 (双蒸水); 5: 阳性对照 (LyxyMNPV)。

M: Marker; 1~3: Total DNA of parasitic wasps, *C. equisetifolia* branches and soil; 4: Negative control (ddH₂O);

5: Positive control (LyxyMNPV)。

参考文献

- 冯成利, 苏志坚, 黄亚东, 冯娅, 2007. 昆虫核型多角体病毒的垂直传播. 陕西师范大学学报(自然科学版), 35(6): 38–43.
- 福建林学院林业系森保教研组, 福建省林业科学研究所森保组, 平潭县林业技术推广站, 1980. 木毒蛾核多角体病毒血清学的初步研究. 昆虫学报, 23(2): 184–187.
- 郭忠建, 田婷, 董现云, 唐旭东, 2018. 核型多角体病毒多角体作为微晶的研究进展. 蚕业科学, 44(6): 953–957.
- 何学友, 1998. 福建省沿海木麻黄衰枯原因的研究. 福建林业科技, 25(3): 40–45.
- 蒋杰贤, 曾爱平, 李香云, 蒋祝瑞, 2005. 甜菜夜蛾核型多角体病毒在宿主种群中的垂直传播研究. 昆虫学报, 48(6): 922–927.
- 梁振普, 李路军, 张俊庆, 刘雅静, 吴慧, 李鹏娟, 冯文霞, 张小霞, 2017. 昆虫杆状病毒组学研究进展. 河南农业科学, 46(8): 1–6.
- 刘成亨, 2001. 木毒蛾复合病毒制剂研究. 华东昆虫学报, 10(1): 77–81.
- 罗辑, 周国英, 朱积余, 2014. 核型多角体病毒基因组学研究进展. 林业科学研究, 27(4): 551–556.
- 曲良建, 张永安, 王玉珠, 王登元, 2005. PCR 法证实棉铃虫核型多角体病毒对棉铃虫经卵和蛹的垂直传播. 中国生物防治, 21(1): 45–48.
- 王文欢, 曲良建, 王玉珠, 张永安, 2009. 基于 PCR 方法的美国白蛾核型多角体病毒早期检测. 昆虫学报, 52(6): 707–712.
- 张彦, 2014. 家蚕核型多角体病毒在家蚕中的垂直传播及检测技术研究. 硕士学位论文. 合肥: 安徽农业大学.
- 张智涵, 左城, 张继锋, 王锦达, 王荣, 2020. 木毒蛾室内种群幼虫虫龄的测定及划分. 延边大学农学学报, 42(3): 39–46.
- 周利琳, 杨帆, 司升云, 2017. 甜菜夜蛾卵和成虫携带核型多角体病毒对种群数量的影响. 植物保护, 43(4): 42–45.
- CHARPENTIER G, DESMARTEAUX D, BOURASSA J P, BELLONCIK S, ARELLA M, 2003. Utilization of the polymerase chain reaction in the diagnosis of nuclear polyhedrosis virus infections of gypsy moth (*Lymantria dispar*, Lep., Lymantriidae) populations. *Journal of Applied Entomology*, 127: 405–412.
- DEWAARD J R, MITCHELL A, KEENA M A, GOPURENKO D, BOYKIN L M, ARMSTRONG K F, POGUE M G, LLAMA J, FLOYD R, HANNER R H, HUMBLE L M, 2010. Towards a global barcode library for *Lymantria* (Lepidoptera: Lymantriinae) tussock moths of biosecurity concern. *PLoS ONE*, 5: e14280.
- HARRAP K A, PAYNE C C, ROBERTSON J S, 1977. The properties of baculoviruses from closely related hosts. *Virology*, 79: 14–31.
- HWANG S Y, HWANG F C, SHEN T C, 2007. Shifts in developmental diet breadth of *Lymantria xyline* (Lepidoptera: Lymantriidae). *Journal of Economic Entomology*, 4: 1166–1172.
- KUKAN B, 1999. Vertical transmission of nucleopolyhedrovirus in insects. *Journal of Invertebrate Pathology*, 74: 149–155.
- LAILA G, EDYTA S, SHOHEI O, RIE O, CATHY C, MOHAMMAD V, STEPHANIE H, DOUG B, DWAYNE D H, DAVID A T, AKI K, MIO K, SHIORI S, JUN T, KEN T, KAZUYO W, MAKI N I, YASUHISA K, YONGGYUN K, MARTIN A E, SALVADOR H, MADOKA N, 2021. Horizontally transmitted parasitoid killing factor shapes insect defense to parasitoids. *Science*, 373: 535–541.
- NAI Y S, WU C Y, WANG T C, CHEN Y R, LAU W H, LO C F, TSAI M F, WANG C H, 2010. Genomic sequencing and analyses of *Lymantria xyline* multiple nucleopolyhedrovirus. *BMC Genomics*, 11: 116.
- NOLWENN M D, FANNY M, MARC R, RICHARD G, OSEE D, DAVID D, LUCAS L, ANNE-NATHALIE V, DOROTHEE M, SABINE N, VINCENT D, JACQUES B, BENJAMIN G, FREDERIC T, GUILLAUME M, 2015. Who is the puppet master? Replication of a parasitic wasp-associated virus correlates with host behaviour manipulation. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 282: 20142773.
- POGUE M, SCHAEFER P W, 2007. A review of selected species of *Lymantria* Hübner (1819) (Lepidoptera: Noctuidae: Lymantriinae) from subtropical and temperate regions of Asia, including the descriptions of three new species, some potentially invasive to North America. *International Journal of Mechanics and Control*, 15: 31–35.
- SHEN T C, TSENG C M, GUAN L C, HWANG S H, 2006. Performance of *Lymantria xyline* (Lepidoptera: Lymantriidae) on artificial and host plant diets. *Journal of Economic Entomology*, 99(3): 714–721.
- WANG R, ZHANG Z H, HU X, WU S Q, WANG J D, ZHANG F P, 2018. Molecular detection and genetic diversity of casuarina moth, *Lymantria xyline* (Lepidoptera: Erebidae). *Journal of Insect Science*, 18(3): 1–9.

(责任编辑:郭莹)