



稻纵卷叶螟颗粒体病毒的增殖与持续传播特征

韩光杰, 李传明, 张楠, 刘琴, 黄立鑫, 夏杨, 陆玉荣, 徐健*

江苏里下河地区农业科学研究所 国家农业微生物扬州观测实验站, 江苏 扬州 225007

韩光杰, 李传明, 张楠, 刘琴, 黄立鑫, 夏杨, 陆玉荣, 徐健. 稻纵卷叶螟颗粒体病毒的增殖与持续传播特征[J]. 微生物学报, 2024, 64(3): 907-916.

HAN Guangjie, LI Chuanming, ZHANG Nan, LIU Qin, HUANG Lixin, XIA Yang, LU Yurong, XU Jian. Proliferation and persistent spread characteristics of baculovirus CnmeGV in *Cnaphalocrocis medinalis*[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2024, 64(3): 907-916.

摘要: 【目的】分析稻纵卷叶螟颗粒体病毒(*Cnaphalocrocis medinalis* Guenée granulovirus, CnmeGV)在稻纵卷叶螟(*Cnaphalocrocis medinalis*)体内的增殖动态,明确其持续传播特征,丰富杆状病毒流行病学研究,为CnmeGV制剂的高效应用提供理论支撑。【方法】转录组测序分析幼虫感染CnmeGV 96 h后及羽化成虫中病毒基因的转录水平,建立基于CnmeGV特异基因 *Cmorf123* 的定量检测标记,分析CnmeGV在稻纵卷叶螟体内的增殖动态和持续传播特征。【结果】转录组测序分析表明,CnmeGV所有基因都在幼虫体内转录,其中转录水平最高的为乙酰基转移酶基因,但在成虫转录组中未发现病毒基因的转录。建立了CnmeGV定量检测体系,发现病毒在侵染48 h后,基因复制水平稳定;在侵染后的2 d与4 d病毒拷贝数显著增加,侵染4 d后,DNA含83个病毒拷贝/ng。稻纵卷叶螟幼虫感染CnmeGV后,在成虫和卵中未检测到病毒基因的转录,而在蛹中检测到少量的病毒转录本;86.7%以上的蛹和蛹蜕中均检测到病毒DNA,13.3%成虫中检测到病毒DNA,卵和感染后的第二代幼虫也均能检测到病毒DNA,但卵表经处理后未检测到病毒DNA。【结论】CnmeGV感染稻纵卷叶螟4 d内增殖水平逐渐增加并稳定。CnmeGV病毒粒子可以通过成虫经卵表跨代传播,羽化是稻纵卷叶螟清除CnmeGV的主要途径。

关键词: 杆状病毒; 持续传播; 跨代传播; 潜伏感染; 稻纵卷叶螟

资助项目: 国家自然科学基金(32372539, 32302351); 江苏省自然科学基金(BK20181215); 江苏省“333”优秀青年人才项目(苏人才办[2022]21号); 江苏省亚夫科技服务项目(KF[22]1020); 扬州市生态农业重点实验室(YZ2023244); 农业基础性长期性科技工作项目(NAES069AM04)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32372539, 32302351), the Natural Science Foundation of Jiangsu Province (BK20181215), the Jiangsu Province “333 Excellent Youth Talent” Project ([2022]21 of Provincial Talent Office in Jiangsu), the Yafu Technology Service Project in Jiangsu Province (KF[22]1020), the Yangzhou Key Laboratory of Ecological Agriculture (YZ2023244), and the Basic and Long-term Scientific and Technological Work Projects in Agriculture (NAES069AM04).

*Corresponding author. Tel/Fax: +86-514-87302019, E-mail: bio-xj@163.com

Received: 2023-10-08; Accepted: 2023-11-16; Published online: 2023-11-23

Proliferation and persistent spread characteristics of baculovirus CnmeGV in *Cnaphalocrocis medinalis*

HAN Guangjie, LI Chuanming, ZHANG Nan, LIU Qin, HUANG Lixin, XIA Yang, LU Yurong, XU Jian*

National Agricultural Experimental Station for Agricultural Microbiology in Yangzhou, Lixiahe District Institute of Agricultural Sciences in Jiangsu, Yangzhou 225007, Jiangsu, China

Abstract: [Objective] This study explored the proliferation dynamics and persistent spread characteristics of *Cnaphalocrocis medinalis* granulovirus (CnmeGV) in *Cnaphalocrocis medinalis*, aiming to enrich the epidemiological knowledge about baculovirus and provide theoretical support for the efficient application of CnmeGV formulations. [Methods] Transcriptome sequencing was employed to determine the transcriptional levels of viral genes in the larvae infected with CnmeGV for 96 h and in the emerged adults. A quantitative detection marker based on the specific gene *Cmorf123* of CnmeGV was established to measure the proliferation dynamics and persistent spread characteristics of CnmeGV in *C. medinalis*. [Results] All the genes of CnmeGV were transcribed in the infected larvae, with the acetyltransferase gene showing the highest transcription level. However, no transcription of viral gene was detected in the transcriptome of adults. The measurement with the quantitative detection marker of CnmeGV showed that the replication level of viral gene remained stable within 48 h post infection. The copies of viral genes significantly increased 2 and 4 days post infection, and each nanogram of DNA contained 83 copies of viral genes 4 days post infection. After infection, no viral transcription was detected in the adults or eggs, while a few transcripts were detected in the pupae. Viral DNA was detected in more than 86.7% of pupa and pupal slough samples and while 13.3% of adults. Viral DNA was detected in both the eggs and the second-generation larvae after infection, while no viral DNA was detected on the egg after the surface treatment. [Conclusion] The proliferation level of CnmeGV in *C. medinalis* gradually increased and then remained stable within 4 days post infection. CnmeGV particles can be spread for two generations by the egg surface. The eclosion of *C. medinalis* is the main pathway for clearing CnmeGV.

Keywords: baculovirus; persistent spread; cross-generational spread; latent infection; *Cnaphalocrocis medinalis*

杆状病毒是一类能感染昆虫的病原微生物，其专一性强，能持续控制害虫危害，已被广泛开发为安全、高效的微生物杀虫剂^[1-3]。杆状病毒主要包含 4 个属：甲型杆状病毒属 (Alphabaculovirus)、乙型杆状病毒属

(Betabaculovirus)、丙型杆状病毒属 (Deltabaculovirus) 和丁型杆状病毒属 (Gammabaculovirus)^[4]。在自然界中，杆状病毒通过经口感染的方式在宿主中建立感染。病毒颗粒被昆虫取食后在昆虫中肠碱性蛋白酶的作用

下裂解,释放的病毒粒子穿透昆虫围食膜感染中肠柱状细胞,从而引发感染^[5-6]。作为重要的昆虫种群调控因子,棉铃虫核型多角体病毒(*Helicoverpa armigera* nucleopolyhedrovirus, HearNPV)、甘蓝夜蛾核型多角体病毒(*Mamestra brassicae* nucleopolyhedrovirus, MabNPV)、斜纹夜蛾核型多角体病毒(*Spodoptera litura* nucleopolyhedrovirus, SpliNPV)、小菜蛾颗粒体病毒(*Plutella xylostella* granulovirus, PlxyGV)等15种病毒的80个产品被中国农业农村部批准为商用病毒杀虫剂。

稻纵卷叶螟颗粒体病毒(*Cnaphalocrocis medinalis* Guenée granulovirus, CnmeGV)是专性感染稻纵卷叶螟(*Cnaphalocrocis medinalis* Guenée)的乙型杆状病毒,为双链DNA病毒,其基因组大小为11.2 kb,包含133个潜在开放阅读框,其中32个为特异基因^[7]。CnmeGV田间应用后可以持续控制害虫达48 d,有效抑制害虫种群密度并保护其天敌^[8-10]。不同于其他杆状病毒较短的致死中时间^[11],CnmeGV田间应用后,稻纵卷叶螟的初始死亡时间为8.4 d,致死中时间达到20.16–21.98 d^[10]。然而,CnmeGV在宿主体内的增殖规律尚不清楚,这严重制约了病毒制剂效果提升的相关研究。杆状病毒除了侵染后使害虫致死,还能在害虫后代种群中持续传播,降低蛹重、羽化率和产卵量,控制种群发展^[8]。杆状病毒持续传播包括水平传播和垂直传播,其中水平传播途径主要包括土壤、感病昆虫排泄物、死亡虫尸和寄生蜂等捕食者^[12-14],其传播能力依赖于宿主密度。自1979年首次在广东省江门市恩平市地区发现CnmeGV以来,时隔30年在同一地区仍发现大量的稻纵卷叶螟感染CnmeGV,表明CnmeGV可以在土壤中存活并通过水平传播感染稻纵卷叶螟^[15]。另外,杆状病毒也能通过卵表和经卵内从成虫到幼虫的垂

直传播途径导致下一代的宿主出现明显病症或无病症的病毒感染^[16]。利用巢氏PCR技术检测发现,稻纵卷叶螟感染CnmeGV后,蛹蜕中检测到大量的病毒DNA,成虫变态在稻纵卷叶螟体内病原物的清除中发挥了重要作用^[17],但是CnmeGV在DNA与RNA水平上如何跨代传播还未知。本研究建立了CnmeGV定量检测技术体系,分析CnmeGV在稻纵卷叶螟体内的转录水平和增殖动态,明确其跨代传播特征,为CnmeGV病毒制剂的高效应用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 病毒感染及宿主饲养

稻纵卷叶螟为室内常年饲养种群,饲养温度(26±1)°C,相对湿度70%–75%,光周期14 L:10 D,使用玉米苗饲养。CnmeGV病毒由实验室保存,配制10⁵ OB/mL的病毒液,添加0.1%吐温-80后将玉米叶片浸渍,晾干后接种稻纵卷叶螟4龄初幼虫100头/重复,共3个重复。正常饲养96 h后,收集幼虫,其余幼虫继续饲养,蛹表处理后待成虫羽化收集成虫。多余成虫配对,待产卵后收集部分卵粒,分成3个重复,参照韩光杰等^[17]的方法进行卵表处理。其余卵继续饲养至第二代,收集第二代3龄幼虫。

1.2 DNA与RNA的提取

分别使用苯酚-氯仿抽提法提取稻纵卷叶螟幼虫、成虫、蛹及卵的DNA^[17],使用TaKaRa公司RNA抽提试剂盒提取RNA。参照PrimeScript RT Reagent Kit试剂盒说明书,对所有RNA进行反转录,保存于–80 °C备用。

1.3 转录组测序分析

收集感染病毒96 h的幼虫、羽化的成虫及未感染的幼虫和成虫各15头,提取RNA后送至南京集思慧远生物科技有限公司测序分析,具

体分析流程参考前期研究^[18]。对测序结果进行从头组装,并与 CnmeGV 病毒基因组比对^[7],分析 CnmeGV 133 个基因的期望拷贝数。设定 CnmeGV 基因组所有基因期望拷贝数为 1 200,基于转录组数据中病毒基因期望拷贝数,利用 TB-tools 中 HeatMap 功能构图^[19],分析基因相对转录水平。

1.4 特异性探针 Cmorf123 及绝对定量标准的建立

根据稻纵卷叶螟早期特异表达基因 *orf123* 设计实时荧光定量 PCR 引物 Cmorf123 (Cmorf123F: 5'-CTTGCAACAAGTTCGC-3'; Cmorf123R: 5'-CATGATGTAGTGACACG-3'),以稻纵卷叶螟 β -actin 基因为内参基因^[18]。以实验室保存的 CnmeGV DNA 为模板,使用 Cmorf123 引物扩增片段,凝胶电泳分离,对目的片段割胶回收后连接到北京全式金生物技术有限公司 pEASY-T3 克隆载体,构建质粒 T3-*orf123*,其大小为 3 254 bp。参照天根生化科技(北京)有限公司质粒小提试剂盒说明书提取质粒,使用赛默飞公司 NanoDrop N50 touch 微量分光光度计测定浓度,梯度稀释成不同倍数作为模板,使用赛默飞公司实时荧光定量 PCR 仪进行扩增,建立绝对定量标准曲线。

1.5 PCR 扩增

Cmorf123 片段扩增使用 TaKaRa 公司 Prime STAR Max DNA Polymerase,反应程序为 98 °C 10 s, 55 °C 5 s, 72 °C 15 s, 32 个循环。实时荧光定量 PCR 分析使用 TaKaRa 公司 TB Green Fast qPCR Mix,反应程序为:预变性 95 °C 30 s; 95 °C 5 s, 60 °C 10 s, 40 个循环。

1.6 数据分析

使用 GraphPad Prism 6.0 统计软件分析数据。数据表示为至少 3 个独立实验的平均值 \pm

标准误差(standard error of mean, SEM)。通过 *t* 检验分析基因表达水平的差异,不同虫态病毒检出率统计分析采用卡方测验。

2 结果与分析

2.1 CnmeGV 在稻纵卷叶螟幼虫及成虫中转录的分析

以亚致死剂量 CnmeGV 感染稻纵卷叶螟 4 龄幼虫后,幼虫均能完全化蛹,且成虫羽化率达 93.4%。进一步分析幼虫及成虫转录组中病毒基因转录水平发现,在幼虫转录组数据中,CnmeGV 所有基因都被检测到,其中期望拷贝数最高的基因为 *orf27*、*orf28* 和乙酰基转移酶基因 *acetyltransferase*,且这 3 个基因共转录。病毒口服感染因子 *pif-1*、*pif-2*、*pif-3* 和 *pif-4/odv-28* 基因的期望拷贝数较低,但 *pif-5/odv-e56* 的期望拷贝数较高,是其他 *pif* 基因的 2 倍。一些病毒晚期表达基因,如 *p12*、*F-protein* 等期望拷贝数也较高,是早期表达基因 *ie-1* 的 3–5 倍。然而,在成虫转录组数据中,未检测到病毒基因的转录,表明 CnmeGV 未在成虫体内复制(图 1)。

2.2 CnmeGV 在稻纵卷叶螟幼虫体内的复制与增殖

以稻纵卷叶螟 β -actin 为内参基因,CnmeGV 特异基因 *Cmorf123* 作为探针(扩增效率为 102.89%),设定病毒侵染 6 h 的 *Cmorf123* 表达水平为 1,发现病毒侵染 24 h 内,随着侵染时间的增加,病毒复制水平增加。在侵染 48 h 后,病毒复制水平保持稳定,是侵染 6 h 时的 20 倍(图 2A)。

以构建的质粒 T3-*orf123* 梯度稀释样为模板,建立 *Cmorf123* 绝对定量检测体系,标准曲

线为 $Y=-2.8913X+32.054$ ($R^2=0.9958$) (图 2B)。分别以感染病毒的稻纵卷叶螟 DNA 为模板, 分析单位 DNA 中含有的病毒拷贝数。结果表明,

在病毒侵染的第 2 天与第 4 天, 病毒 DNA 水平显著增加, 病毒侵染 4 d 后, 其 DNA 水平相对稳定, 含 83 个病毒拷贝/ng DNA (图 2C)。

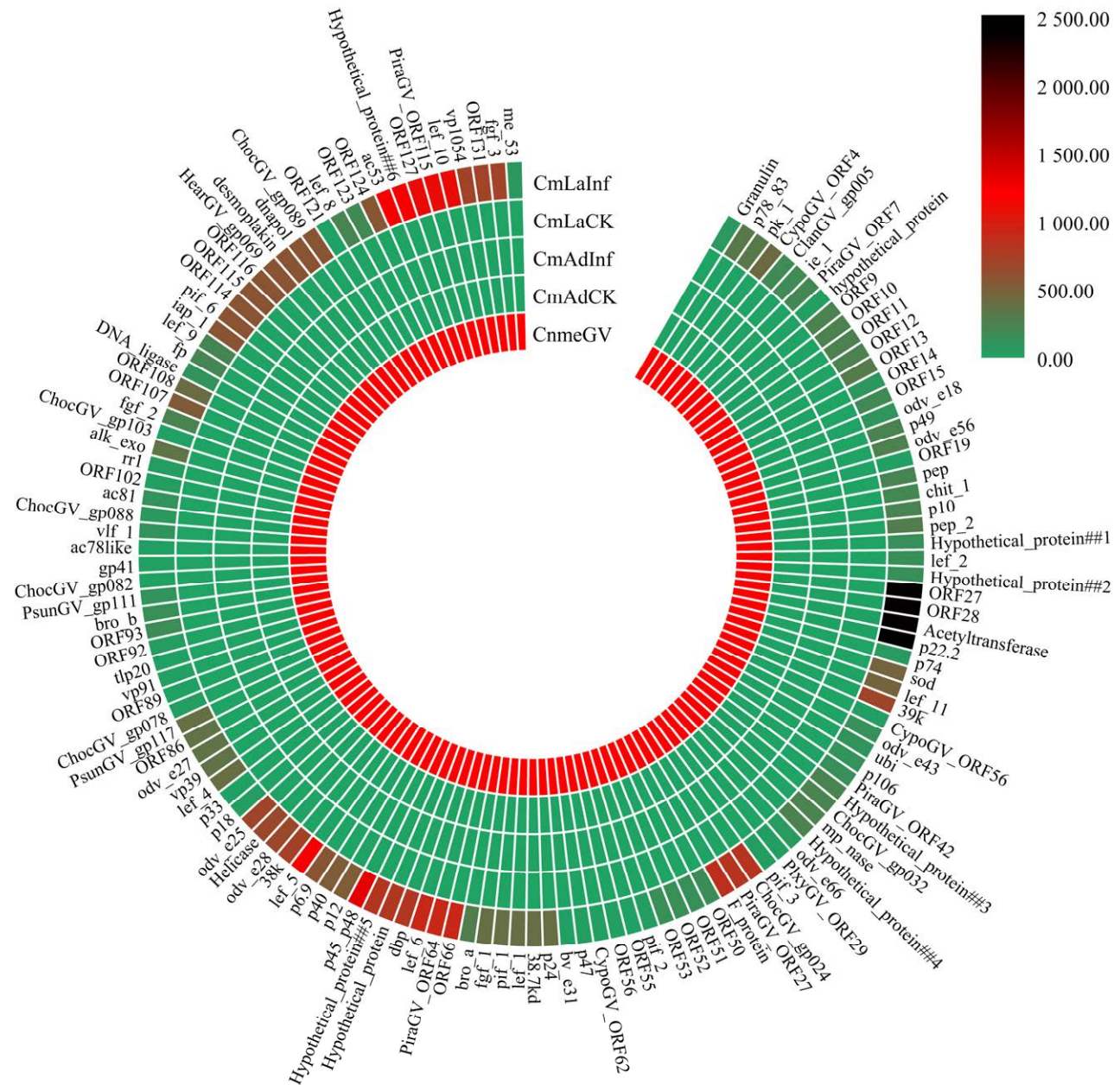


图 1 CnmeGV 在稻纵卷叶螟感染幼虫及成虫中的转录水平

Figure 1 The transcription levels of CnmeGV genes in infected larvae and adults of *Cnaphalocrocis medinalis*. CmLaInf and CmAdInf represent infected larvae and adults, respectively; CmLaCK and CmAdCK represent natural larvae and adults, respectively; CnmeGV is genome DNA.

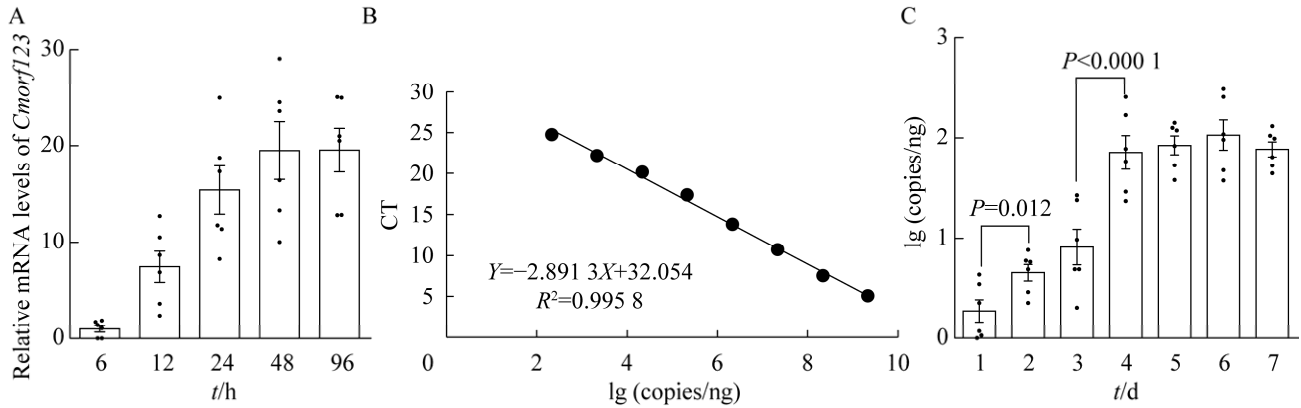


图 2 CnmeGV 在稻纵卷叶螟中的复制和增殖水平

Figure 2 The replication and proliferation levels of CnmeGV in *Cnaphalocrocis medinalis*. A: The replication level of CnmeGV in *C. medinalis* at 6–96 h. B: The absolute quantitative standard curve of Cmorf123. C: The proliferation level of CnmeGV in *C. medinalis* at 1–7 d. The *P*-value represents the significant difference.

2.3 CnmeGV 在稻纵卷叶螟中的持续传播特征

以 Cmorf123 为探针，分别从 RNA 及 DNA 水平检测 CnmeGV 在不同虫态与不同世代稻纵卷叶螟中的分布情况。结果发现，在感染 CnmeGV 的稻纵卷叶螟成虫和卵中未在 RNA 水平检测到病毒存在，在少量个体蛹中病毒有复

制。DNA 水平检测发现，蛹和蛹蜕中有 86.7% 以上个体含有病毒颗粒，而在成虫中仅有 13.3% 个体检测到病毒 DNA，蛹到成虫阶段病毒含量显著降低($\chi^2=48.517$, $P<0.001$)。在卵中检测到病毒 DNA，但卵表经处理后，未能检测到病毒 DNA。感染后第二代幼虫中病毒 RNA 与 DNA 的检出率分别为 13.3%与 26.7% (表 1)。

表 1 CnmeGV DNA 与 RNA 在不同虫态及不同世代稻纵卷叶螟中检出率统计

Table 1 Statistics analysis of the positive rate of CnmeGV at DNA and RNA levels in different stages and generations of *Cnaphalocrocis medinalis*

检测水平	样品	检测总数	阳性数	阳性率	卡方值	<i>P</i> 值
Detection level	Samples	Total number	Number of positives	Positive rate (%)	Pearson chi-square (χ^2)	<i>P</i> -value
RNA level	Larvae	30	30	100.0	45.880	<0.001
	Pupae	30	4	13.3		
	Adults	30	0	0.0		
	Eggs	3	0	0.0		
	Offspring larvae	30	9	30.0		
DNA level	Larvae	30	30	100.0	1.404*	0.236
	Pupae	30	27	90.0	48.517**	<0.001
	Pupal molt	30	26	86.7		
	Adults	30	4	13.3		
	Eggs	3	3	100.0		
	Sterilized eggs	3	0	0.0		
	Offspring larvae	30	8	26.7		

*: The chi-square of the positive rate of CnmeGV at DNA level during Larva-pupa; **: The chi-square of the positive rate of GmeGV at DNA level during Pupa-adult.

3 讨论与结论

杆状病毒主要通过口服感染宿主昆虫,口服感染因子 *pif* 基因在包埋型病毒粒子(occlusion-derived virus, ODV)感染中肠柱状上皮细胞时发挥重要作用^[20]。一些 *pif* 基因,如 *pif-1*、*pif-2*、*pif-3* 等能形成复合物保护 PIF 蛋白免受中肠蛋白酶的降解,帮助病毒感染中肠细胞^[21]。而 CnmeGV 感染稻纵卷叶螟 96 h 的转录组数据中发现, *pif-1*、*pif-2*、*pif-3* 等基因的期望拷贝数较低,表明病毒可能已经完成了对宿主中肠细胞的感染。不同的是, *pif-5* 的转录水平相对于其他 *pif* 基因较高。前期研究发现,敲除苜蓿银纹夜蛾核型多角体病毒(*Autographa californica* multicapsid nucleopolyhedrovirus, AcMNPV) *pif-5* 基因导致 ODV 的感染能力严重受损^[21-22]。进一步研究表明, *pif-5* 的敲除不仅影响 ODV 的口服感染能力还降低了 AcMNPV 感染 Sf9 细胞的能力^[23],表明 *pif-5* 可能在杆状病毒感染宿主脂肪体细胞中具有一定的作用。因此 CnmeGV 的 *pif-5* 基因持续高水平转录可能有利于病毒增殖。本研究还发现 CnmeGV 乙酰基转移酶具有高转录活性,而针对该基因的功能研究还较少。蛋白质乙酰化对细胞自我调节和对病毒感染的反应至关重要,家蚕核型多角体病毒(*Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus, BmNPV)感染可以引起 BmN 细胞大量蛋白质的乙酰化,同时病毒蛋白也被宿主乙酰转移酶乙酰化^[24],而使用组蛋白去乙酰基转移酶抑制剂可以提高杆状病毒介导的基因在 Sf9 细胞中的表达^[25]。因此, CnmeGV 中乙酰基转移酶的高转录是否和宿主蛋白的乙酰化水平相关值得探索。

杆状病毒经口感染进入昆虫中肠后,遇到第一个天然屏障就是围食膜。围食膜可以阻止细

菌、真菌和病毒等大的颗粒而具有免疫防御功能^[6]。一些杆状病毒,如黏虫颗粒体病毒(*Pseudaletia unipuncta* granulovirus, PuGV)^[26]、粉纹夜蛾颗粒体病毒(*Trichopusia ni* granulovirus, TnGV)^[27]、小地老虎颗粒体病毒(*Xestia c-nigrum* granulovirus, XcGV)^[28]等含有一种增效蛋白(enhancin),可以降解围食膜肠黏蛋白,增强通透性,提高病毒的侵染效率,但在 CnmeGV 中并未发现该基因^[7]。CnmeGV 侵染稻纵卷叶螟后,其 RNA 水平稳定上升,并在 48 h 保持稳定,但宿主体内病毒 DNA 的含量在感染后的第 2 天与第 4 天才显著增加。因此,缺失 *enhancin* 可能造成 CnmeGV 早期侵染效率低,病毒积累较少。但病毒的增殖还受宿主免疫的影响。CnmeGV 感染可以诱导稻纵卷叶螟氧化应激系统,宿主通过上调 *CncC* 基因来清除病毒引起的氧化损伤,而抑制 *CncC* 可以显著增加 CnmeGV 的早期增殖水平^[29]。免疫识别、细胞的自噬与凋亡、RNAi、Toll、Imd、JAK-STAT 和 STING 信号通路等相关的抗病毒免疫途径也影响了病毒的增殖^[30-31]。因此,后期需要着重通过调控稻纵卷叶螟感染 CnmeGV 4 d 内的免疫功能来提高病毒的增殖能力。

杆状病毒在宿主体内增殖后的无病症持续传播也称为潜伏感染,它可以通过影响昆虫生殖能力抑制害虫种群暴发^[3,8]。然而,潜伏感染的病毒如何跨代传播一直存在争议。家蚕(*Bombyx mori*)感染多角体病毒 BmNPV 后,蚕种经实验室消毒,其病毒 DNA 携带率仍有 10%^[32],而印度谷螟(*Plodia interpunctella*)感染颗粒体病毒(*Plodia interpunctella* granulovirus, PlinGV)后,在蛹、成虫卵巢和睾丸中均能检测到病毒晚期表达的颗粒体蛋白基因(*granulin*) mRNA^[33]。在本研究中,稻纵卷叶螟感染 CnmeGV 后,在感染当代及后代幼虫中均能检测到 CnmeGV *orf123*

基因 DNA, 但仅在蛹中检测到少量的 *orf123* mRNA, 且在成虫转录组中也未发现病毒基因转录本, 表明 CnmeGV mRNA 很难跨代传播。值得注意的是, 稻纵卷叶螟化蛹时, 病毒 DNA 大部分留在蛹中, 而羽化时, 病毒 DNA 多数留在蛹蜕被清除。作为完全变态昆虫, 稻纵卷叶螟在化蛹时, 虽然组织结构重塑, 但仅有外表皮脱落, 而羽化时脱落的组织较多, 因此稻纵卷叶螟可能通过羽化这一变态过程将病原物排出体外。非洲黏虫 (*Spodoptera exempta*) 感染多角体病毒 (*Spodoptera exempta* nucleopolyhedrovirus, SpexNPV) 后, 成虫的头部、翅膀和腿病毒载量最高, 而在昆虫腹部较低^[34], 这种现象也可能是蛹蜕中的病毒颗粒黏附在这些部位造成的。因此, 昆虫蛹到成虫的变态过程可能是杆状病毒跨代传播的主要障碍。

卵是脊椎动物、无脊椎动物一个重要的形态, 它包含物种的所有遗传信息, 病毒潜伏感染遗传信息的传递必须通过卵进行垂直传播。灰飞虱卵黄原蛋白 Vg 的 vWD 结构域与水稻条纹病

毒 (rice streak virus, RSV) 的外壳蛋白有强结合, 进入到血淋巴的 RSV 通过与 Vg 的结合被 Vg 的受体带入了卵巢生殖区, 然后病毒与 Vg 分开, 经营养丝直接进入卵母细胞, 完成了 RSV 的经卵传播^[35]。但在稻纵卷叶螟的成虫和卵中, 未检测到 CnmeGV 的 mRNA 信息, 仅在卵表检测出病毒 DNA 信息, 表明 CnmeGV 可通过卵表传播, 但卵表的病毒是来源于卵巢或精巢还是成虫交配行为还需进一步证实。由此提出了 CnmeGV 跨代传播途径: CnmeGV 感染稻纵卷叶螟后, 6–48 h 病毒复制水平逐渐增强, 96 h 后病毒粒子数相对稳定; 感染病毒未死亡的幼虫可以成功化蛹, 稻纵卷叶螟主要通过羽化将病毒清除, 少量的病毒以 DNA 形式进入成虫, 并进一步通过卵表将病毒传播到下一代 (图 3)。综上所述, 本研究发现稻纵卷叶螟感染 CnmeGV 后, 4 d 内的免疫防御是限制病毒早期快速增殖的主要因素, CnmeGV 粒子可以经卵表在害虫种群中跨代传播, 宿主昆虫的羽化是清除杆状病毒粒子的主要途径。

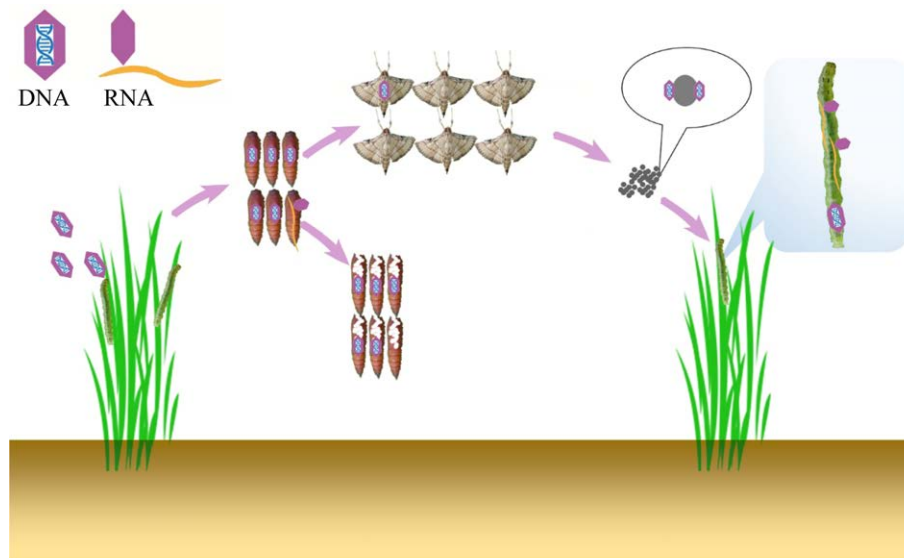


图 3 CnmeGV 在稻纵卷叶螟种群中持续传播特征

Figure 3 The persistent spread characteristics of CnmeGV in *Cnaphalocrocis medinalis*.

参考文献

- [1] SUN XL. History and current status of development and use of viral insecticides in China[J]. *Viruses*, 2015, 7(1): 306-319.
- [2] LANDWEHR A. Benefits of baculovirus use in IPM strategies for open field and protected vegetables[J]. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 2021, 4: 593796.
- [3] BINDU TN, BALAKRISHNAN P, SAJEEV TV, SUDHEENDRAKUMAR VV. Seeding baculovirus HpNPV in the epicentre populations of teak defoliator, *Hyblaea puera* to prevent large-scale outbreaks[J]. *Current Science*, 2022, 122(7): 812.
- [4] 类承凤, 胡葭, 何峰, 沈蜜, 孙修炼. 杆状病毒新的分类地位和书写方式[J]. *中国生物防治学报*, 2021, 37(4): 646-650.
LEI CF, HU J, HE F, SHEN M, SUN XL. New taxonomic status and name writing of the baculoviruses[J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2021, 37(4): 646-650 (in Chinese).
- [5] 李慧, 郭采平, 朱士茂. 杆状病毒经口感染及经口感染因子研究进展[J]. *微生物学报*, 2015, 55(4): 395-400.
LI H, GUO CP, ZHU SM. Advances in baculovirus *per os* infection and *per os* infectivity factor—a review[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2015, 55(4): 395-400 (in Chinese).
- [6] 孟庆峰, 刘晓勇. 杆状病毒与昆虫宿主相互作用的研究进展[J]. *昆虫学报*, 2013, 56(8): 925-933.
MENG QF, LIU XY. Research progress in the interactions of baculoviruses with host insects[J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2013, 56(8): 925-933 (in Chinese).
- [7] HAN GJ, XU J, LIU Q, LI CM, XU HX, LU ZX. Genome of *Cnaphalocrocis medinalis* granulovirus, the first *Crambidae*-infecting betabaculovirus isolated from rice leaffolder to sequenced[J]. *PLoS One*, 2016, 11(2): e0147882.
- [8] 刘琴, 李传明, 韩光杰, 徐彬, 黄立鑫, 陆玉荣, 夏杨, 徐健. 稻纵卷叶螟颗粒体病毒亚致死作用对宿主生长、繁殖和生理生化的影响[J]. *中国生物防治学报*, 2022, 38(4): 982-989.
LIU Q, LI CM, HAN GJ, XU B, HUANG LX, LU YR, XIA Y, XU J. Sub-lethal effect of *Cnaphalocrocis medinalis* granulovirus to the growth, reproduction and physiology of host[J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2022, 38(4): 982-989 (in Chinese).
- [9] XU J, LIU Q, LI CM, HAN GJ. Field effect of *Cnaphalocrocis medinalis* granulovirus (CnmeGV) on the pest of rice leaffolder[J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2019, 18(9): 2115-2122.
- [10] 徐健, 李传明, 韩光杰, 徐彬, 祁建杭, 孙俊, 刘琴. 颗粒体病毒(CnmeGV)对稻纵卷叶螟的感染及害虫种群增长的影响[J]. *江苏农业学报*, 2018, 34(1): 29-33.
XU J, LI CM, HAN GJ, XU B, QI JH, SUN J, LIU Q. The effect of *Cnaphalocrocis medinalis* granulovirus (CnmeGV) on larva infection and population regulation of rice leaffolder[J]. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 2018, 34(1): 29-33 (in Chinese).
- [11] 孙雨, 陈英健, 杨铭鑫, 郑桂玲, 韩佳辰, 李洁, 李长友. 甜菜夜蛾核型多角体病毒青岛分离株 SeMNPV-QD 的毒力测定[J]. *中国生物防治学报*, 2020, 36(5): 744-750.
SUN Y, CHEN YJ, YANG MX, ZHENG GL, HAN JC, LI J, LI CY. Virulence of a nucleopolyhedrovirus, SeMNPV-QD, isolated from *Spodoptera exigua* in Qingdao, China[J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2020, 36(5): 744-750 (in Chinese).
- [12] 查萌, 田志强, 李建成, 路子云, 李贞, 张松斗, 刘小侠. 中红侧沟茧蜂对棉铃虫核型多角体病毒的传播作用[J]. *植物保护*, 2023, 49(1): 200-206.
ZHA M, TIAN ZQ, LI JC, LU ZY, LI Z, ZHANG SD, LIU XX. Transmission of *Helicoverpa armigera* nucleopolyhedrovirus by *Microplitis mediator*[J]. *Plant Protection*, 2023, 49(1): 200-206 (in Chinese).
- [13] WILLIAMS T. Soil as an environmental reservoir for baculoviruses: persistence, dispersal and role in pest control[J]. *Soil Systems*, 2023, 7: 29.
- [14] MOREL A, LEIGH B, MUÑOZ D, CABALLERO P, MEDINA P, DÁDER B. The parasitoid *Hyposoter didymator* can transmit a broad host range baculovirus in a two host system[J]. *Horticulturae*, 2023, 9: 170.
- [15] 张珊, 贾茜雯, 孙士锋, 庞义, 陈其津, 杨凯. 一株稻纵卷叶螟颗粒体病毒的系统发育分析和流行病学调查[J]. *环境昆虫学报*, 2014, 36(5): 756-762.
ZHANG S, JIA XW, SUN SF, PANG Y, CHEN QJ, YANG K. Phylogenetic analysis and epidemiologic investigation of a *Cnaphalocrocis medinalis* granulovirus strain[J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2014, 36(5): 756-762 (in Chinese).
- [16] 翁庆北, 庞义. 杆状病毒在昆虫中的持续感染[J]. *环境昆虫学报*, 2010, 32(1): 90-95.
WENG QB, PANG Y. Persistent infection of baculoviruses in insects[J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2010, 32(1): 90-95 (in Chinese).
- [17] 韩光杰, 刘琴, 李传明, 祁建杭, 徐彬, 陆玉荣, 徐健. 稻纵卷叶螟颗粒体病毒的持续感染及检测[J]. *中国农业科学*, 2020, 53(19): 3988-3995.
HAN GJ, LIU Q, LI CM, QI JH, XU B, LU YR, XU J. The persistent infection and detection of *Cnaphalocrocis medinalis* granulovirus in *Cnaphalocrocis medinalis*[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2020, 53(19): 3988-3995 (in Chinese).

- [18] HAN GJ, LIU Q, LI CM, XU B, XU J. Transcriptome sequencing reveals *Cnaphalocrocis medinalis* against baculovirus infection by oxidative stress[J]. *Molecular Immunology*, 2021, 129: 63-69.
- [19] CHEN CJ, CHEN H, ZHANG Y, THOMAS HR, FRANK MH, HE YH, XIA R. TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data[J]. *Molecular Plant*, 2020, 13(8): 1194-1202.
- [20] 郑秦, 范颖, 王海萍, 许伟凡, 孔祥硕, 吴小锋. 杆状病毒经口感染因子之间相互作用分析[J]. *病毒学报*, 2018, 34(1): 85-93.
ZHENG Q, FAN Y, WANG HP, XU WF, KONG XS, WU XF. Analysis of the interactions among baculovirus *per os* infectivity factors (PIFs)[J]. *Chinese Journal of Virology*, 2018, 34(1): 85-93 (in Chinese).
- [21] WANG X, SHANG Y, CHEN C, LIU SR, CHANG M, ZHANG N, HU HR, ZHANG FH, ZHANG T, WANG ZY, LIU XJ, LIN Z, DENG F, WANG HL, ZOU Z, VLAK JM, WANG ML, HU ZH. Baculovirus *per os* infectivity factor complex: components and assembly[J]. *Journal of Virology*, 2019, 93(6): e02053-18.
- [22] NIE YC, FANG MG, ERLANDSON MA, THEILMANN DA. Analysis of the *Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus overlapping gene pair *lef3* and *ac68* reveals that AC68 is a *per os* infectivity factor and that LEF3 is critical, but not essential, for virus replication[J]. *Journal of Virology*, 2012, 86(7): 3985-3994.
- [23] 陈诚. 杆状病毒口服感染因子 PIF5 功能初步研究[D]. 北京: 中国科学院大学硕士学位论文, 2019.
CHEN C. A preliminary functional study of baculovirus *per os* infectivity factor 5 (PIF5)[D]. Beijing: Master's Thesis of University of Chinese Academy of Sciences, 2019 (in Chinese).
- [24] HU DB, XUE SJ, ZHAO C, WEI M, YAN HH, QUAN YP, YU W. Comprehensive profiling of lysine acetylome in baculovirus infected silkworm (*Bombyx mori*) cells[J]. *Proteomics*, 2018, 18: 1700133.
- [25] PENG Y, SONG JH, LU JX, CHEN XW. The histone deacetylase inhibitor sodium butyrate inhibits baculovirus-mediated transgene expression in Sf9 cells[J]. *Journal of Biotechnology*, 2007, 131(2): 180-187.
- [26] 韩光杰, 刘琴, 徐贝贝, 王建军, 祁建杭, 李传明, 徐健. 粘虫颗粒体病毒增效蛋白基因片段优化及功能[J]. *微生物学报*, 2016, 56(9): 1459-1467.
HAN GJ, LIU Q, XU BB, WANG JJ, QI JH, LI CM, XU J. Optimized expression and functional analysis of enhancin gene from *Pseudaletia unipuncta* granulovirus (PuGV-Ps)[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2016, 56(9): 1459-1467 (in Chinese).
- [27] HAYAKAWA T, HASHIMOTO Y, MORI M, KAIDO M, SHIMOJO E, FURUSAWA I, GRANADOS RR. Transgenic tobacco transformed with the *Trichopusia ni* granulovirus *enhancin* gene affects insect development[J]. *Biocontrol Science and Technology*, 2004, 14(2): 211-214.
- [28] HAYAKAWA T, KO R, OKANO K, SEONG SI, GOTO C, MAEDA S. Sequence analysis of the *Xestia c-nigrum* granulovirus genome[J]. *Virology*, 1999, 262(2): 277-297.
- [29] 张楠, 韩光杰, 刘琴, 李传明, 祁建杭, 陆玉荣, 夏杨, 徐健. 稻纵卷叶螟转录因子 CncC 对杆状病毒 CnmeGV 感染的响应及功能[J]. *中国农业科学*, 2023, 56(13): 2491-2503.
ZHANG N, HAN GJ, LIU Q, LI CM, QI JH, LU YR, XIA Y, XU J. Response and function of the transcription factor CncC in *Cnaphalocrocis medinalis* infected with baculovirus CnmeGV[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2023, 56(13): 2491-2503 (in Chinese).
- [30] 李洁, 李洁, 于乾龙, 郑桂玲, 张彬, 李长友. 鳞翅目昆虫抗病毒免疫反应的研究进展[J]. *环境昆虫学报*, 2021, 43(5): 1079-1094.
LI J, LI J, YU QL, ZHENG GL, ZHANG B, LI CY. Advance research on antiviral immunity response in lepidopteran insects[J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2021, 43(5): 1079-1094 (in Chinese).
- [31] HAN GJ, LI CM, ZHANG N, LIU Q, HUANG LX, XIA Y, XU J. *CmHem*, a hemolin-like gene identified from *Cnaphalocrocis medinalis*, involved in metamorphosis and baculovirus infection[J]. *PeerJ*, 2023, 11: e16225.
- [32] 张彦. 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[D]. 合肥: 安徽农业大学硕士学位论文, 2014.
ZHANG Y. Study on vertical transmission and detection technique of BmNPV in the silkworm, *Bombyx mori* L.[D]. Hefei: Master's Thesis of Anhui Agricultural University, 2014 (in Chinese).
- [33] BURDEN JP, GRIFFITHS CM, CORY JS, SMITH P, SAIT SM. Vertical transmission of sublethal granulovirus infection in the Indian meal moth, *Plodia interpunctella*[J]. *Molecular Ecology*, 2002, 11(3): 547-555.
- [34] GRAHAM RI, TUMMALA Y, RHODES G, CORY JS, SHIRRAS A, GRZYWACZ D, WILSON K. Development of a real-time qPCR assay for quantification of covert baculovirus infections in a major African crop pest[J]. *Insects*, 2015, 6(3): 746-759.
- [35] HUO Y, LIU WW, ZHANG FJ, CHEN XY, LI L, LIU QF, ZHOU YJ, WEI TY, FANG RX, WANG XF. Transovarial transmission of a plant virus is mediated by vitellogenin of its insect vector[J]. *PLoS Pathogens*, 2014, 10(3): e1003949.