

家蚕新品种华·康×湘·泰对家蚕核型多角体病毒的抗性鉴定

唐芸¹ 徐安英² 艾均文¹ 何行健¹ 郑颖¹ 叶征明¹
刘洋¹ 汪维熙¹ 朱贤¹ 彭大平¹ 宋拥军¹

(¹湖南省蚕桑科学研究所, 湖南长沙 410127; ²中国农业科学院蚕业研究所, 江苏镇江 212018)

摘要 华·康×湘·泰是湖南省蚕桑科学研究所与中国农业科学院蚕业研究所合作选育成的1对具有抗家蚕核型多角体病毒(BmNPV)突出特点的家蚕新品种。为了鉴定家蚕新品种华·康×湘·泰的原原种、杂交原种与一代杂交种(包括正反交)等各种级家蚕对BmNPV的抵抗能力,以洞·庭×碧·波的各种级家蚕为对照蚕品种,利用BmNPV多角体悬液对各供试蚕品种的各种级蚕种2龄起蚕开展经口添毒试验。结果表明,家蚕新品种华·康×湘·泰的各种级家蚕对BmNPV多角体的半致死浓度(LC₅₀)值均在1×10⁹个/mL以上,而对照蚕品种洞·庭×碧·波的各种级家蚕对BmNPV多角体的LC₅₀值均只在10⁶~10⁷个/mL水平之间,家蚕新品种华·康×湘·泰表现出了很强的抗BmNPV能力,具有明显的优势。

关键词 家蚕核型多角体病毒; BmNPV; 华·康×湘·泰; 半致死浓度; LC₅₀; 抗性鉴定

中图分类号 S884.5 **文献标识码** B **文章编号** 1007-0982(2019)04-0022-04

家蚕核型多角体病毒(*Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus, BmNPV)属杆状病毒科核型多角体病毒属,感染家蚕后所引发的血液型脓病是蚕业生产中发生频率最高、危害最严重的病害,所导致的蚕茧损失占有蚕病引起损失总量的70%以上^[1],1~5龄蚕均可被感染,属亚急性传染病。感染BmNPV的家蚕会逐渐表现出体躯肿胀,体色乳白,狂躁爬行,体壁易破,血液呈浑浊的乳白色等典型症状。洞·庭×碧·波是湖南省蚕桑科学研究所“八五”期间育成的夏秋用斑纹全限性品种^[2],具有体质强健、抗逆性强、丝质优良的特点,20世纪90年代与21世纪初在我国长江流域夏秋季大面积推广,曾位列单一品种年推广量的第3位^[3]。然而,该品种对BmNPV的抵抗力相对较弱^[1],较易发生血液型脓

病^[4],难以适应当前蚕桑产业规模化发展的需要。为此,湖南省蚕桑科学研究所与中国农业科学院蚕业研究所从2011年起合作开展了洞·庭×碧·波抗血液型脓病能力的改造,并育成了1对具有很强抗血液型脓病的家蚕新品种华·康×湘·泰。为了更加系统地了解新品种各个种级的改造效果,本试验分别以洞·庭×碧·波的原原种、原种与一代杂交种为对照,于2018年秋季开展梯级浓度的BmNPV多角体经口攻毒试验,分析比较了各个品种各个种级的半致死浓度(LC₅₀),以期为新蚕品种的蚕种繁育、农村推广及其它研究提供相关信息与借鉴资料。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 **供试家蚕品种** 抗病蚕品种:华(洞N)、康(庭N)、湘(碧N)、泰(波N)、华·康·康·华·湘·泰·泰·湘·华·康×湘·泰、湘·泰×华·康;对照蚕品种:洞·庭·碧·波、洞·庭·庭·洞·碧·波、波·碧·洞·庭×碧·波、碧·波×洞·庭。

以上2对参试品种的原原种、杂交原种与一代杂交种(含正反交)均由湖南省蚕桑科学研究所蚕

收稿日期:2019-09-06; 接受日期:2019-09-24
资助项目:湖南省自然科学基金项目(编号2017JJ2137);现代农业产业技术体系建设专项(编号CARS-18);湖南省农业农村厅科技重点项目(编号2014-01-05)。
第一作者信息:唐芸(1992—),女,湖南平江,本科,助理农艺师。
Tel: 18229828231, E-mail: ty4896@163.com
通讯作者信息:艾均文(1968—),男,湖南鼎城,博士,研究员。
Tel: 13574832818, E-mail: aijunwen718@sina.com

品种研究室提供,各个种级的家蚕均由 12 个卵圈混合收蚁普通桑叶饲养至 2 龄起蚕。

1.1.2 供试 BmNPV 病原 由湖南省蚕桑科学研究所蚕品种研究室 2018 年春季复壮纯化, BmNPV 多角体悬浮液原液的浓度为 3.20×10^9 个/mL。

1.2 试验方法

2018 年秋季,将各供试蚕品种各种级的家蚕在同一环境下饲养到 2 龄起蚕,数蚕分区,每个品种 6 区,每区 30 头,重复 3 次。为减少小蚕起蚕损伤,1 龄眠时数蚕,2 龄起时再对眠起迟、个体小的个别家蚕进行替换,以确保所抽取的家蚕发育齐一。将 BmNPV 多角体以 10 倍为梯度,分别用灭菌水稀释成 1×10^9 、 1×10^8 、 1×10^7 、 1×10^6 、 1×10^5 个/mL,以不含 BmNPV 多角体的灭菌水作为空白对照。各浓度分别取 10 μ L 的 BmNPV 多角体悬浮液(空白对照以同等体积的灭菌水代替病毒悬浮液),均匀涂抹于直径为 10 mm 的圆形桑叶上,每个试验区喂对应浓度 BmNPV 多角体悬浮液涂抹的桑叶 5 片,待家蚕将带毒桑叶吃干净后,改用普通桑叶继续饲喂。当家蚕发育至 2 龄眠时开始逐日调查发病蚕数,并将感染发病蚕及时清除,3 龄眠起后还持续调查 60 h。整理所统计的数据,借助 IBM SPSS Statistics 21 软件,计算各品种对 BmNPV 多角体的 LC_{50} 、 $\lg(LC_{50})$ 。

2 结果与分析

2.1 不同家蚕品种添食不同浓度 BmNPV 多角体悬浮液后的发病情况

在 2 龄眠之前观察,就已发现部分试验区的家

蚕表现出了病态,当空白对照区的家蚕进入 2 龄眠时,添毒处理区发病的家蚕却不食不眠,体壁发亮;当空白对照区的家蚕 3 龄眠起时,添毒处理区发病的家蚕大多体色乳白,或已经流脓而死。当空白对照区正常发育的家蚕 3 龄眠起 60 h 时,开展各试验区发病蚕数的最终调查统计。从调查统计结果可以看出,添食 1×10^5 个/mL 等低浓度 BmNPV 多角体的试验区发病蚕数明显低于添食 1×10^9 个/mL 等高浓度的试验区发病蚕数;抗病蚕品种同种级、同血缘系统的抗 BmNPV 病材料的试验区发病蚕数明显低于对照蚕品种的对对应种级或对应血缘系统的试验区发病蚕数;对照蚕品种添食高浓度 BmNPV 多角体的试验区的发病蚕数最多,鲜有存活个体;即使同为抗 BmNPV 病系统材料,日系的湘·泰、湘·泰·泰·湘的发病蚕数也均不同程度地高于中系的华·康、华·康·康·华。

2.2 不同家蚕品种对 BmNPV 的抵抗力

将调查结果用 IBM SPSS Statistics 21 软件计算抗 BmNPV 病家蚕新品种华·康×湘·泰和对照蚕品种洞·庭×碧·波对 BmNPV 的抵抗力,以 LC_{50} 为判断不同蚕品种、不同种级之间对 BmNPV 多角体抗性强弱的指标。从表 1 和图 1 可以看出,抗 BmNPV 病家蚕新品种华·康×湘·泰的不同种级对 BmNPV 多角体的 LC_{50} 值均在 10^9 个/mL 水平以上,而对照蚕品种洞·庭×碧·波的不同种级对 BmNPV 多角体的 LC_{50} 值在 $10^6 \sim 10^7$ 个/mL 水平之间,最高仅为 6.18×10^7 个/mL,两者差距明显,华·康×湘·泰对 BmNPV 的抵抗力明显高于洞·庭×碧·波。

表 1 不同家蚕品种对 BmNPV 的抵抗力

家蚕品种	回归方程	半致死浓度 (LC_{50}) / (个/mL)	95% 置信值	回归直线斜率	$\lg(LC_{50})$
华	$y = -4.631 + 0.397x$	4.58×10^{11}	$1.35 \times 10^{10} \sim 1.03 \times 10^{18}$	0.094	11.661
洞	$y = -4.926 + 0.744x$	4.16×10^6	$1.97 \times 10^6 \sim 8.53 \times 10^6$	0.061	6.619
康	$y = -3.387 + 0.309x$	9.42×10^{10}	$3.50 \times 10^9 \sim 1.80 \times 10^{16}$	0.060	10.974
庭	$y = -6.302 + 0.995x$	2.14×10^6	$1.26 \times 10^6 \sim 3.59 \times 10^6$	0.080	6.330
湘	$y = -5.055 + 0.555x$	1.28×10^9	$4.03 \times 10^8 \sim 9.83 \times 10^9$	0.068	9.107
碧	$y = -9.971 + 1.488x$	5.05×10^6	$3.05 \times 10^6 \sim 8.47 \times 10^6$	0.131	6.703
泰	$y = -3.715 + 0.410x$	1.18×10^9	$1.83 \times 10^8 \sim 1.76 \times 10^{11}$	0.055	9.072
波	$y = -7.936 + 1.211x$	3.58×10^6	$2.22 \times 10^6 \sim 5.84 \times 10^6$	0.097	6.554
华·康	$y = -4.418 + 0.332x$	2.00×10^{13}	$1.24 \times 10^{11} \sim 8.52 \times 10^{23}$	0.113	13.301
洞·庭	$y = -5.390 + 0.862x$	1.80×10^6	$9.62 \times 10^5 \sim 3.22 \times 10^6$	0.071	6.255
康·华	$y = -6.857 + 0.602x$	2.46×10^{11}	$1.35 \times 10^{10} \sim 4.79 \times 10^{18}$	0.220	11.391

中国蚕业

续表 1

家蚕品种	回归方程	半致死浓度 (LC_{50}) / (个/mL)	95%置信值	回归直线斜率	$\lg(LC_{50})$
庭·洞	$y = -2.543 + 0.306x$	6.18×10^7	$2.58 \times 10^7 \sim 1.89 \times 10^8$	0.045	7.791
湘·泰	$y = -4.003 + 0.421x$	3.26×10^9	$9.91 \times 10^8 \sim 2.26 \times 10^{10}$	0.060	9.513
碧·波	$y = -11.645 + 1.614x$	1.64×10^7	$2.92 \times 10^6 \sim 1.19 \times 10^8$	0.141	7.215
泰·湘	$y = -4.424 + 0.464x$	3.39×10^9	$1.11 \times 10^9 \sim 2.04 \times 10^{10}$	0.065	9.530
波·碧	$y = -10.459 + 1.554x$	5.40×10^6	$3.39 \times 10^6 \sim 8.71 \times 10^6$	0.136	6.732
华·康×湘·泰	$y = -4.434 + 0.395x$	1.64×10^{11}	$7.40 \times 10^9 \sim 1.16 \times 10^{16}$	0.083	11.215
洞·庭×碧·波	$y = -8.348 + 1.330x$	1.90×10^6	$1.38 \times 10^6 \sim 2.59 \times 10^6$	0.114	6.279
湘·泰×华·康	$y = -4.127 + 0.393x$	3.21×10^{10}	$5.12 \times 10^9 \sim 1.128 \times 10^{12}$	0.069	10.507
碧·波×洞·庭	$y = -8.289 + 1.185x$	9.87×10^6	$4.94 \times 10^6 \sim 2.05 \times 10^7$	0.094	6.994

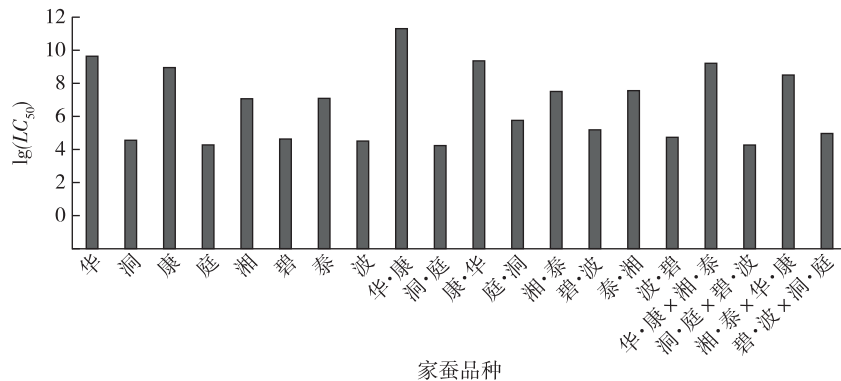


图 1 不同家蚕品种对 BmNPV 的抵抗力

3 小结与讨论

抗 BmNPV 病家蚕新品种华·康×湘·泰的正反交及其原原种、原种对 BmNPV 多角体的 LC_{50} 值均大于 1×10^9 个/mL, 对照蚕品种洞·庭×碧·波的正反交及其原原种、原种对 BmNPV 多角体的 LC_{50} 值均在 $10^6 \sim 10^7$ 个/mL 水平之间, 其中庭·洞最高, 为 6.18×10^7 个/mL。苏州大学基础医学与生物科学学院于 2019 年 5 月进行了该品种的鉴定试验, 华·康×湘·泰正反交对 BmNPV 多角体的 LC_{50} 值均大于 2.92×10^9 个/mL (未发表), 与本次试验结果的趋势是一致的。抗 BmNPV 病家蚕新品种华·康×湘·泰比对照蚕品种洞·庭×碧·波对 BmNPV 抗性强, 具有明显的优势。

本次试验与钱荷英等^[5]对菁松 N×皓月 N 检测结果相一致, 但没有明显表现出如孟智启^[6]、陈克平^[7]、朱勇^[8]等研究所得的家蚕对 BmNPV 抗性的偏父遗传现象, 今后还需进一步深入研究。此外, 家

蚕对 BmNPV 的抗性除了受遗传因素影响外, 还会受温湿度、桑叶质量、光照等多种内外部因素的影响^[9]。本次试验之所以选择在湖南省早秋的蚕期进行, 是因为试验环境条件较为恶劣, 平均温度超过 30 ℃, 环境干燥, 叶质差, 可以更加切实体现出夏秋用家蚕新品种华·康×湘·泰的抗逆性。此次试验的结果仅是 2018 年秋季进行 1 次试验得出的, 尚不能全面反映华·康×湘·泰在不同季节、不同区域对 BmNPV 的抗性强弱, 有待今后进一步深入研究加以补充完善。

参考文献

[1] 黄深惠, 石美宁, 唐亮, 等. 防治家蚕血液型脓病药物的研究进展[J]. 广西蚕业, 2014, 51(1): 8-10.
 [2] 艾均文, 贾孟周. 蚕品种洞·庭·碧·波原种的繁育[J]. 中国蚕业, 2000, 21(4): 29-30.
 [3] 冯家新. 2005 年全国蚕种饲养量及蚕品种的调查[J]. 中国蚕业, 2007, 28(1): 64-65.
 [4] 孙波, 吴洪丽, 周洪英, 等. 4 对家蚕品种添食 NPV 抗性试验 [C]// 中国农业科学院蚕业研究所, 国家 (下转第 28 页)

中国蚕业

续表 4

基点名称	蚕品种	上车茧率/%	茧层率/%	粒茧质量/g	茧丝长/m	解舒丝长/m	解舒率/%	茧丝纤度/dtex	洁净/分	等级
保山	华康 2 号	97.02			993	616	62.03	3.321		
	菁松×皓月	93.81			1 060	774	73.02	2.827		

由于祥云县及保山市样茧为当地缫丝厂检查,有些数据未进行调查。

高,在保山市的上车茧率为 97.02%,比菁松×皓月的 93.81%高 3.21 个百分点;从陆良县的蚕茧丝质成绩可以看出,华康 2 号的茧层率、粒茧质量、茧丝长、解舒丝长、解舒率都比菁松×皓月高,只是茧丝纤度比菁松×皓月稍粗,表现出一定的优势;从鹤庆县、祥云县和保山市的蚕茧丝质成绩可以看出,华康 2 号的茧层率、粒茧质量、茧丝长、解舒丝长、解舒率与菁松×皓月相差不大,茧丝质相当。

3 小结与讨论

实验室内的抗性测定结果表明,试验蚕品种华康 2 号(正反交)对 BmNPV 多角体的 LC_{50} 值均达到 10^9 数量级,较对照蚕品种菁松×皓月高出 4 个数量级,这与徐安英等^[1]的试验结果一致,说明华康 2 号具有较强的抗血液型脓病能力。在保山市等地试养,刚好遇到血液型脓病暴发,华康 2 号较少发生血液型脓病,产量稳定,盒种产茧量最高,比菁松×皓月高出 40%以上,抗血液型脓病优势非常明显。在没有血液型脓病发生的地区试养,与菁松×皓月相比,华康 2 号蚕茧偏小,产量略低,未能表现出其抗血液型脓病的优势。但是为了整个蚕区的稳产,保山市蚕区自 2016 年开始已经全面推广华康 2 号;陆良县也于 2017 年引进了华康 2 号原种,加大了该品种在陆良县的推广力度,2017 年生产的几万盒华康 2 号在当地出现了供不应求的局面,可见在血液型脓病多发、华康 2 号表现明显抗病增产优势的地区,华康 2 号受到了广大蚕农的普遍欢迎。本研究结果表明,华康 2 号抗血液型脓病能力强,经济性状总体

表现较好,在血液型脓病发生较多的季节和蚕区推广应用,其品种的抗病增产优势更为明显,建议扩大其在云南省的推广应用。

参考文献

[1] 吕鹏,潘晔,王鹏,等.家蚕抗核型多角体病毒的研究进展[J].科学通报,2015,60(14):1 285-1 297.

[2] 徐安英,钱荷英,刘明珠,等.家蚕抗血液型脓病品种“华康 2 号”[J].中国蚕业,2016,37(1):86-88.

[3] 徐安英,林昌麒,钱荷英,等.耐家蚕核型多角体病毒蚕品种“华康 2 号”的育成[J].蚕业科学,2013,39(2):275-282.

[4] 戴建忠,董瑞华,陈伟国,等.家蚕新品种华康 2 号在海宁市农村生产试验[J].中国蚕业,2014,35(4):31-32.

[5] 封利军,李清明,徐安英,等.家蚕新品种华康 2 号在勉县农村试验初报[J].中国蚕业,2015,36(1):35-36.

[6] 吴忠明,向志辉,韩世玉,等.耐家蚕核型多角体病毒蚕品种华康 2 号在黄平县试验初报[J].中国蚕业,2014,35(3):36-38.

[7] 简云峰,丁洁,孙亮,等.家蚕新品种华康 2 号的农村饲养试验[J].中国蚕业,2015,36(3):52-54.

[8] 吴文铂,章金中,徐安英.新蚕品种华康 2 号在涪陵区中秋蚕期农村饲养初报[J].中国蚕业,2014,35(1):25-27.

[9] 胡仕叶,罗朝斌,孙运朋,等.家蚕新品种华康 2 号在清镇市的饲养试验简报[J].中国蚕业,2016,37(3):24-27.

[10] 曾泽彬,刘学锋,王一,等.家蚕新品种华康 2 号在宜宾县秋蚕期农村饲养试验[J].中国蚕业,2016,37(3):21-23.

[11] 董占鹏,黄平,白兴荣,等.云南省家蚕病毒病的分布、危害状况与防治[J].云南农业科技,2002(1):21-23.

[12] 白兴荣,江亚,黄平,等.云南省家蚕血液型脓病的危害与流行分析[C]//中国蚕学会.全国家蚕病害控制技术与安全养蚕模式学术研讨会论文集.杭州:浙江大学蚕蜂研究所,2010:51-53.

[13] 贾春生.利用 SPSS 软件计算杀虫剂的 LC_{50} [J].昆虫知识,2006,43(3):414-417.

(上接第 24 页)

蚕桑产业技术体系武汉综合试验站,湖北省农业厅经济作物站,等.华东·华中地区第十二次蚕种学术研讨会论文集.武汉:[出版者不详],2010:214-216.

[5] 钱荷英,李刚,赵国栋,等.家蚕抗核型多角体病毒病新品种对 BmNPV 抗性的鉴定[J].中国蚕业,2017,38(4):15-22.

[6] 孟智启.家蚕对核型多角体病毒病抵抗力遗传规律的研究[J].

蚕业科学,1982,8(3):133-138.

[7] 陈克平,林昌麒.家蚕对核型多角体病的抗性及其遗传规律的研究[J].蚕业科学,1996,22(3):160-164.

[8] 朱勇,曾华明.家蚕对核型多角体病毒(NPV)抗性的遗传学研究[J].西南大学学报:自然科学版,1998,20(2):100-103.

[9] 吕鹏,潘晔,王鹏,等.家蚕抗核型多角体病毒的研究进展[J].科学通报,2015,60(14):1 285-1 297.