

基于高通量测序技术检测草地贪夜蛾病毒多样性

徐 瑶¹ TAJDAR Alia¹ 李向永² 石旺鹏¹ 曹 川^{1*}

(1. 中国农业大学植物保护学院昆虫学系, 北京 100193; 2. 云南省农业科学院农业环境资源研究所, 昆明 650205)

摘要: 为探索草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* 病毒的多样性, 通过宏转录组和小 RNA 测序技术手段分析鉴定了自云南省采集的草地贪夜蛾田间自然种群携带的病毒类型。结果显示, 宏转录组测序数据分析可得到 14 个病毒科, 包括 5 个昆虫相关的病毒科, 5 个植物病毒科和 4 个细菌病毒科。昆虫相关的病毒分别属于杆状病毒科 *Baculoviridae*、呼肠孤病毒科 *Reoviridae*、分体 RNA 病毒科 *Partitiviridae*、传染性软腐病病毒科 *Iflaviridae* 和弹状病毒科 *Rhabdoviridae*, 其中传染性软腐病病毒和分体 RNA 病毒为首次在草地贪夜蛾中报道。同时利用小 RNA 深度测序技术从草地贪夜蛾样品中检测到鳞翅目杆状病毒、分体 RNA 病毒和传染性软腐病病毒的序列, 进一步验证了宏转录组的分析结果。表明利用高通量测序技术可初步揭示存在于草地贪夜蛾自然种群的昆虫病毒多样性。

关键词: 草地贪夜蛾; 病毒; 高通量测序; 宏转录组; 小 RNA 测序

The discovery of viruses associated with the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* by high-throughput sequencing

XU Yao¹ TAJDAR Alia¹ LI Xiangyong² SHI Wangpeng¹ CAO Chuan^{1*}

(1. Department of Entomology, College of Plant Protection, China Agricultural University, Beijing 100193, China;

2. Institute of Agricultural Resources & Environment, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650205, Yunnan Province, China)

Abstract: To explore the diversity of viruses that infect the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*, metatranscriptome and small RNA sequencing data were obtained from natural populations of the fall armyworm collected from Yunnan Province. A total of 14 virus families were identified using transcriptomic data, including five insect-associated virus families, five plant virus families and four bacterial virus families. Insect-associated viruses that identified belong to *Baculoviridae*, *Reoviridae*, *Partitiviridae*, *Iflaviridae* and *Rhabdoviridae*, among which the latter two were reported in the fall armyworm for the first time. Sequences of baculovirus, partitivirus and iflavirus were also found in the small RNA sequencing data, which further verified the transcriptomic results. In summary, high-throughput sequencing technologies could be used to reveal the diversity of insect viruses that are associated with natural populations of the fall armyworm.

Key words: *Spodoptera frugiperda*; viruses; high-throughput sequencing; metatranscriptome; small RNA sequencing

草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* 属鳞翅目
Lepidoptera 夜蛾科 Noctuidae 灰翅夜蛾属 *Spodop-*

tera, 最初在美洲的亚热带和热带地区发生(王磊
等, 2019), 是严重为害我国多种农作物的一种入侵

基金项目: 草地贪夜蛾种群遗传结构及生物防治技术(2019TC207)

* 通信作者 (Author for correspondence), E-mail: chuancao@cau.edu.cn

收稿日期: 2020-06-17

迁飞性害虫(姜玉英等,2019;Sun et al.,2019)。草地贪夜蛾生活周期短、繁殖能力强(赵胜园等,2019),可取食玉米、小麦、水稻、甘蔗、甘蓝、马铃薯等300多种农作物和经济作物(李艳朋等,2020;任学祥等,2020;赵雪晴等,2020)。自2019年1月从缅甸入侵我国云南省(杨学礼等,2019),在短短1年内已经扩散至黄河流域及其南部地区的26个省(市、自治区),并完成了定殖过程,即将进入暴发阶段(吴孔明,2020),对我国玉米、高粱等农作物产业的可持续发展构成了严重威胁(巴吐西等,2020;何莉梅等,2020;秦誉嘉等,2020)。因此,对草地贪夜蛾的防控迫在眉睫,必须及时有效地控制草地贪夜蛾的暴发,并降低该害虫持续迁飞扩散的风险。

昆虫病毒是一种可以在宿主昆虫种群中流行传播的天然生物杀虫剂,具有杀虫毒力高、稳定性高、特异性强、生物安全性高、不易诱导宿主产生抗性的优点(孙修炼和胡志红,2006;Sun,2015;Nouri et al.,2018)。目前,已经发现并鉴定的昆虫致病性病毒包括15个科600多种(谭嘉琳等,2014;Lefkowitz et al.,2018),应用昆虫病毒杀虫剂防治农林害虫已成为国内外害虫生物防治的一个重要发展方向(孙修炼和胡志红,2006;Sun,2015;Nouri et al.,2018)。国内外利用天敌、真菌、苏云金芽胞杆菌 *Bacillus thuringiensis* 等防控草地贪夜蛾已取得了一定成果(Cruz-Avalos et al.,2018;李国平等,2019;唐璞等,2019),但对于草地贪夜蛾病毒仅有少量研究,主要集中于颗粒体病毒、核型多角体病毒等基因组及病理学方面(Bideshi et al.;2006;Barrera et al.,2015;陈万斌等,2019)。Simón et al.(2011)通过比较尼加拉瓜草地贪夜蛾核型多角体病毒(*Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus-B, SfMNPV-B)与美国和巴西草地贪夜蛾核型多角体病毒(SfMNPV-3AP2, SfMNPV-19)的全基因序列发现,不同的病毒株不但存在开放阅读框的插入和丢失,且一些基因受到了强烈的适应性进化选择作用,这可能与病毒的毒力及宿主适应性等性状有关。因此,进一步鉴定和分离草地贪夜蛾病毒,可丰富我国的病原微生物资源,拓展害虫的生物防治措施,为科学、绿色、可持续防控草地贪夜蛾提供依据和资源。

高通量测序技术由于操作简单快速、不具有序列依赖性、检测成本较低等优点被广泛用于病毒多样性检测(Liu et al.,2011;Ho & Tzanetakis,

2014)。高通量测序技术不仅能够检测到生物体内绝大部分含量低的病毒基因,而且不需要对病毒进行分离富集,避免了不可培养病毒信息的丢失(Munson-McGee et al.,2018;战斌慧和周雪平,2018),该技术的出现突破了传统病毒诊断技术对新病毒进行鉴定的局限性,创新了发现和鉴定未知病毒的方法,促进了病毒检测鉴定领域的发展(Liu et al.,2011;Ng et al.,2011;Nouri et al.,2018)。基于高通量测序技术鉴定病毒主要利用宏转录组测序、宏基因组测序和小RNA深度测序3种技术,如Kleanthous et al.(2019)对在英国剑桥收集蚂蚁的总RNA提取物进行了宏转录组高通量测序,通过对宏转录组测序数据与病毒数据比对发现了3种新病毒。宏基因组测序技术是对生物体内或特定环境中所有微生物的遗传信息总和进行检测(Xiao et al.,2018),已被广泛用于病毒多样性研究和新病毒资源挖掘中,如Xiao et al.(2018)应用宏基因组测序技术从我国云南省大理市、景谷县和宁洱县3个地区的8700头蚊子中分别鉴定出了42、40和45种病毒。吴萍等(2011)研究表明,昆虫等真核生物在利用RNA沉默来抵御入侵病毒时会特异性识别病毒RNA,并将其切割为18~30 nt的小干扰RNA,因此直接对宿主的小RNA进行深度测序,可以快速鉴定入侵宿主的病毒种类。Ma et al.(2011)利用小RNA深度测序技术从我国南部的野生型蚊子中鉴定到了DNA病毒。

因此,为探索草地贪夜蛾病毒多样性,本研究利用宏转录组测序技术和小RNA深度测序技术对云南省草地贪夜蛾田间自然种群所携带的病毒资源进行分析鉴定,进一步丰富草地贪夜蛾病毒基因数据,以期今后该害虫的病毒生物防治提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试样品:2019年7月在云南省昆明市富民县及嵩明县玉米地采集草地贪夜蛾3~5龄幼虫,分别装入采样袋中,注明采集时间、地点等信息,迅速放到干冰中保存,带回实验室,于-80℃保存备用。根据郭井菲等(2019)研究报道对草地贪夜蛾幼虫形态特征描述进行鉴定。

试剂及仪器:TRIzol试剂、RNase-free water,美国Invitrogen公司;Chloroform、Isopropanol、无水乙

醇, 中国国药集团; PBS 缓冲液, 美国 Solarbio 公司。Eppendorf 5424/R 台式冷冻离心机, 德国 Sigma 公司; JXFSTPRP-24 全自动样品快速研磨机, 上海净信实业发展有限公司; NanoDrop2000+PowerWareHT 超微量分光光度计, 美国赛默飞公司。

1.2 方法

1.2.1 草地贪夜蛾幼虫的宏转录组测序及数据分析

取 20 头 3~5 龄草地贪夜蛾幼虫, 将其研磨后的组织匀浆液于 4℃、500 r/min 离心 10 min, 除去组织碎片, 取混合上清液利用蔗糖等密度梯度离心法收集病毒。向 50 mL 无菌离心管中从管底部依次缓慢加入 60% 蔗糖溶液 5 mL、50% 蔗糖溶液 4 mL、40% 蔗糖溶液 3 mL、30% 蔗糖溶液 2 mL 和 20% 蔗糖溶液 1 mL, 最后在蔗糖溶液上层加入上清液, 并于 4℃、23 000 r/min 下高速离心 3 h。离心后取出蔗糖溶液之间的病毒带, 混合后参照 TRIzol 试剂操作说明书进行病毒 RNA 提取。提取的 RNA 委托诺禾致源公司去除 rRNA 后建库, 并在 HiSeq-PE150 测序平台仪进行宏转录组双端测序。

测序获得的原始序列(raw reads)去除 N 含量超过 10% 和低质量(Phred quality-score≤5)碱基数超过 50% 的 reads, 最后得到高质量序列(clean reads)。高质量序列利用 Trinity 2.8.6 软件(Grabherr et al., 2013)进行组装, 以获得含有更完整病毒序列信息的 contigs, 参数设置为默认。组装获得的 contigs 利用 BLASTn、BLASTx 工具分别与 NCBI 核酸数据库及蛋白数据库中的病毒序列(NCBI: txid 10239)进行比对, 比对的参数设置为: $E\text{-value} \leq 10^{-5}$ 、序列同源性≥85%、保留比对得分最高的前 5 条结果。比对完成后对病毒比对结果进行过滤: 对于比对到多种病毒的同一 contig, 若比对到的多种病毒属于同一属或同一科可将病毒序列归为同一科或同一属; 若比对到的多种病毒属于不同属不同科则只保留 contig 比对到的得分最高的病毒种类。

1.2.2 小 RNA 测序及数据分析

另取 20 头 3~5 龄草地贪夜蛾幼虫进行研磨, 研磨后的组织匀浆液进行总 RNA 提取。样品总 RNA 的提取同样参照 TRIzol 试剂操作说明进行, 提取的 RNA 委托诺禾致源公司进行小 RNA 测序。测序获得的高质量序列筛选长度 18~30 nt 的小 RNA(吴萍等, 2011), 利用 Velvet 1.2.10 软件进行短序列拼接(Zerbino & Birney, 2008), 获得 con-

tigs。Velvet 1.2.10 软件拼接的 K-mer 参数设置为 18, 组装的 contigs 最小长度为 80 bp。拼接得到的 contigs 与 NCBI 中病毒核酸数据库进行 BLASTn 比对分析, 得到与病毒有高度同源性(≥85%)的 contigs。BLASTn 比对的相关参数设置以及比对结果筛选同宏转录组数据分析。

2 结果与分析

2.1 宏转录组测序获得的病毒序列信息

草地贪夜蛾宏转录组测序后共得到 47 601 773 条原始序列, 经质控后获得 45 565 498 条高质量序列。所有高质量序列组装后获得 14 255 条 contigs (201~3 981 bp), 所有 contigs 与 NCBI 数据库中的病毒序列比对后得到 14 个病毒科(表 1)。在比对得到已知病毒的所有序列中, 98.75% 基因序列与 5 个昆虫相关的病毒科, 分别为杆状病毒科 *Baculoviridae*、呼肠孤病毒科 *Reoviridae*、分体 RNA 病毒科 *Partitiviridae*、传染性软腐病病毒科 *Iflaviridae* 和弹状病毒科 *Rhabdoviridae*。检测到的植物病毒和细菌病毒相关序列相对较少, 仅占有病毒序列的 1.25%, 其中比对得到的植物病毒科包括分体 RNA 病毒科、雀麦花叶病毒科 *Bromoviridae*、帚状病毒科 *Virgaviridae*、蕃茄丛矮病毒科 *Tombusviridae*、花椰菜花叶病毒科 *Caulimoviridae* 和长线病毒科 *Closteroviridae*; 细菌病毒科包括丝杆噬菌体科 *Inoviridae*、短尾噬菌体科 *Podoviridae*、肌尾噬菌体科 *Myoviridae* 和长尾噬菌体科 *Siphoviridae*(表 1)。根据病毒核酸类型进行分类发现: 双链核糖核酸(double-stranded ribonucleic acid, dsRNA)病毒基因序列所占比例最高, 为 64.77%; 其次比例较高的为正链单链核糖核酸(single-stranded ribonucleic acid, ssRNA), 为 32.47%; 双链脱氧核糖核酸(double-stranded deoxyribonucleic acid, dsDNA)病毒所占比例较少为 2.69%; 此外还检测到单链脱氧核糖核酸(single-stranded deoxyribonucleic acid, ssDNA)和反转录病毒, 但所占的比例极低。

宏转录组数据经拼接后, 共获得 47 条与昆虫相关病毒序列具有较高同源性的高质量 contigs, 其中 20 条 contigs (228~851 bp) 比对到鳞翅目核型多角体病毒的几丁质酶和鳞翅目颗粒体病毒的组织蛋白酶; 2 条 contigs (669 bp 和 670 bp) 比对到呼肠孤病毒的 RNA 依赖 RNA 聚合酶; 18 条 contigs 比对到分体 RNA 病毒的 RNA 依赖 RNA 聚合酶和

衣壳蛋白,2条 contigs (796 bp 和 1 671 bp) 比对到鳞翅目弹状病毒的 RNA 依赖 RNA 聚合酶;另外,有 5 条 contigs 可比对到膜翅目传染性软腐病病毒聚合蛋白。

表 1 草地贪夜蛾中经比对鉴定的病毒
Table 1 Viral viruses identified in *Spodoptera frugiperda*

类别 Category	病毒核酸类型 Nucleic acid	科 Family	属 Genus	比对蛋白 Matched protein
昆虫相关 病毒 Insect- associated viruses	双链 DNA dsDNA	杆状病毒科	甲型杆状病毒属	几丁质酶
		<i>Baculoviridae</i>	<i>Alphabaculovirus</i>	Chitinase
			乙型杆状病毒属	组织蛋白酶
			<i>Betabaculovirus</i>	Cathepsin
	双链 RNA dsRNA	呼肠孤病毒科	—	RNA 依赖 RNA 聚合酶
		<i>Reoviridae</i>		RNA-dependent RNA polymerase
		分体 RNA 病毒科	—	RNA 依赖 RNA 聚合酶、衣壳蛋白
		<i>Partitiviridae</i>		RNA-dependent RNA polymerase, capsid protein
	正链 RNA ssRNA(+)	传染性软腐病病毒科	传染性软腐病病毒属	聚合蛋白
		<i>Iflaviridae</i>	<i>Iflavirus</i>	Polyprotein
植物病毒 Plant viruses	负链 RNA ssRNA(-)	弹状病毒科	—	RNA 依赖 RNA 聚合酶
		<i>Rhabdoviridae</i>		RNA-dependent RNA polymerase
	正链 RNA ssRNA(+)	雀麦花叶病毒科	—	衣壳蛋白
		<i>Bromoviridae</i>		Capsid protein
		帚状病毒科	—	聚合蛋白
		<i>Virgaviridae</i>		Polyprotein
		蕃茄丛矮病毒科	—	聚合蛋白
		<i>Tombusviridae</i>		Polyprotein
		长线病毒科	—	衣壳蛋白
		<i>Closteroviridae</i>		Capsid protein
细菌病毒 Bacterial viruses	反转录病毒 RT viruses	花椰菜花叶病毒科	—	假定蛋白
		<i>Caulimoviridae</i>		Hypothetical protein
	双链 DNA dsDNA	长尾噬菌体科	—	DNA 聚合酶 III
		<i>Siphoviridae</i>		DNA polymerase III
		肌尾噬菌体科	—	DNA 转化酶
		<i>Myoviridae</i>		DNA-invertase
	单链 DNA ssDNA	短尾噬菌体科	—	P1-P2 融合蛋白
		<i>Podoviridae</i>		P1-P2 fusion protein
		丝形噬菌体科	—	假定蛋白
		<i>Inoviridae</i>		Hypothetical protein

2.2 小 RNA 测序获得的病毒序列信息

草地贪夜蛾小 RNA 深度测序后得到 32 291 565 条原始序列,经质控后获得 27 527 200 条高质量序列,其中 18~30 nt 之间的高质量序列为 7 141 034 条 (25.94%)。高质量序列拼接后共获得 84 条 contigs (84~410 bp),其中 14 条 contigs 与病毒基因组具有高度同源性。在获得的病毒基因序列中,有 3 条

contigs (86、315 和 398 bp) 比对到鳞翅目颗粒体病毒的 1 种假定蛋白;2 条 contigs (89 bp 和 109 bp) 比对到分体 RNA 病毒的假定蛋白;2 条 contigs (149 bp 和 196 bp) 比对到传染性软腐病病毒的聚合蛋白。另有 7 条 contigs 比对到未知的病毒基因序列,尚无法确定是否为昆虫病毒。

3 讨论

高通量测序技术已在病毒种类多样性和发现新病毒等方面被广泛应用,对系统研究样本所携带病毒的多样性和遗传进化有着重要意义(Liu et al., 2011; Nouri et al., 2018)。本研究利用宏转录组及小RNA测序技术从我国云南省草地贪夜蛾自然种群中鉴定到了5个与昆虫相关的病毒,包括杆状病毒科、呼肠孤病毒科、分体RNA病毒科、传染性软腐病病毒科和弹状病毒科。其中杆状病毒科的核型多角体病毒和颗粒体病毒广泛寄生于鳞翅目昆虫,既可以在种群间水平传播,引起病毒流行病,又可以将病毒垂直传播给子代,是对害虫进行有效控制的生防微生物资源(秦启联等, 2012; Barrera et al., 2015)。Bideshi et al. (2006)和Simón et al. (2011)在尼加拉瓜、美国、巴西等国家的草地贪夜蛾中发现草地贪夜蛾核型多角体病毒。不同地理种群分离出的病毒株在致病力上有着较大的区别,一些高毒力毒株可达到80%以上的致死率,并造成在自然种群中的大流行,一些感染则只会出现慢性症状(Gardner & Fuxa, 1980)。这可能与病毒及宿主的遗传背景有关,Niz et al. (2020)研究表明SfMNPV对原分离宿主有适应性,接种其它种群后可能没有同样的效果。在我国草地贪夜蛾核型多角体病毒未见报道,但有少量关于棉铃虫核型多角体病毒*Helicoverpa armigera nucleopolyhedrovirus*、甜菜夜蛾核型多角体病毒*Spodoptera exigua multiple nucleopolyhedrovirus*、斜纹夜蛾核型多角体病毒*Spodoptera litura nucleopolyhedrovirus*等病毒杀虫剂对草地贪夜蛾卵孵化率和幼虫致死率影响的研究(张海波等, 2020)。颗粒体病毒也已在其它国家的草地贪夜蛾中发现,其毒性一般较弱,染毒幼虫身体常变黄且发胀,一般不会液化,死亡率较低,为慢性感染(Pidre et al., 2019)。Cuartas-Otálora et al. (2019)研究发现颗粒体病毒经常与核型多角体病毒共同侵染宿主,可作为增效剂提高核型多角体病毒的毒力。本研究自我国草地贪夜蛾自然种群中鉴定出的2种杆状病毒,可以用于害虫生物防治。草地贪夜蛾弹状病毒最初在草地贪夜蛾的卵巢细胞系Sf9中被发现(Ma et al., 2014),此后Schroeder et al. (2019)在美国和加勒比地区的草地贪夜蛾野生种群中检测到了表达量相对较高的弹状病毒,但目前还未有弹状病毒对草

地贪夜蛾致病性的相关报道。

本研究还检测到与分体RNA病毒科和传染性软腐病病毒科病毒具有高度同源性的序列,在草地贪夜蛾中首次报道这2种病毒。分体RNA病毒科最初仅在真菌和植物中发现,近年来利用高通量测序技术在黑腹果蝇*Drosophila melanogaster*、埃及伊蚊*Aedes aegypti*及非洲黏虫*Spodoptera exempta*等昆虫中也发现了类似分体RNA病毒(Webster et al., 2015; Fauver et al., 2016; Xu et al., 2020)。Xu et al. (2020)研究发现将非洲黏虫体内的分体RNA病毒通过注射接种至草地贪夜蛾中,对草地贪夜蛾具有一定的致病性,并提高了宿主对核型多角体病毒的易感性。传染性软腐病病毒是对一些鳞翅目、膜翅目和半翅目农业害虫具有致病性的一种潜在生物防治病毒,目前已经在甜菜夜蛾*Spodoptera exigua* (Millán-Leiva et al., 2012)、褐飞虱*Nilaparvata lugens* (Murakami et al., 2013)、柞蚕*Antheraea pernyi* (Geng et al., 2014)、小菜蛾*Plutella xylostella* (陈大嵩等, 2017)等昆虫中被鉴定,它可以导致宿主产生腹泻、形态畸形和致死等症状。进一步对这些具有致病力的病毒进行分离纯化,对于生物防控草地贪夜蛾具有重要意义。

在草地贪夜蛾宏转录组数据和小RNA数据中还检测到多种未知病毒,这主要是由于病毒序列变异较快,而依赖于序列同源性进行病毒的鉴定具有一定的局限性,会产生无法鉴定的“暗”病毒(Obbard et al., 2020)。因此,需要对这些病毒进行分离及进一步研究,以补充序列分析上的不足。

本研究利用高通量测序初步检测了我国云南省部分地区草地贪夜蛾自然种群携带病毒的多样性,鉴定了多种感染草地贪夜蛾的昆虫病毒,为研究对草地贪夜蛾有致病性并能在自然种群之间传播流行的潜在生物防治病毒奠定基础。今后将进一步对草地贪夜蛾致病性病毒进行分离和鉴定,并开发其在生物防治方面的应用潜力。

参 考 文 献 (References)

- BA TX, ZHANG YH, ZHANG Z, GUAN DD, LI CC, JI ZY, YIN XT, ZHANG AH, TANG QB, LIU YH, et al. 2020. The host preference and population life tables of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) fed on maize and wheat. *Plant Protection*, 46 (1): 17–23 (in Chinese) [巴吐西, 张云慧, 张智, 关豆豆, 李翠

- 翠, 季昭云, 殷新田, 张爱环, 汤清波, 刘延辉, 等. 2020. 草地贪夜蛾对小麦和玉米的产卵选择性及其种群生命表. 植物保护, 46(1): 17-23]
- BARRERA GP, BELAICH MN, PATARROYO MA, VILLAMIZAR LF, GHIRINGHELLI PD. 2015. Evidence of recent interspecies horizontal gene transfer regarding nucleopolyhedrovirus infection of *Spodoptera frugiperda*. BMC Genomics, 16(1): 1008
- BIDESHI DK, DEMATTEI MV, ROULEUX-BONNIN F, STASIAK K, TAN YP, BIGOT S, BIGOT Y, FEDERICI BA. 2006. Genomic sequence of *Spodoptera frugiperda* ascovirus 1a, an enveloped, double-stranded DNA insect virus that manipulates apoptosis for viral reproduction. Journal of Virology, 80(23): 11791-11805
- CHEN DS, DAI JQ, HAN SC. 2017. Phylogenetics analysis of the complete genome of *Diamondback moth iflavivirus*. Journal of Environmental Entomology, 39(3): 618-631 (in Chinese) [陈大嵩, 戴建青, 韩诗畴. 2017. 小菜蛾传染性软腐病毒的全基因组序列及其进化分析. 环境昆虫学报, 39(3): 618-631]
- CHEN WB, LI YY, WANG MQ, LIU CX, MAO JJ, CHEN HY, ZHANG LS. 2019. Entomopathogen resources of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*, and their application status. Plant Protection, 45(6): 1-9 (in Chinese) [陈万斌, 李玉艳, 王孟卿, 刘晨曦, 毛建军, 陈红印, 张礼生. 2019. 草地贪夜蛾的昆虫病原微生物资源及其应用现状. 植物保护, 45(6): 1-9]
- CRUZ-AVALOS AM, BIVIÁN-HERNÁNDEZ MDLA, IBARRA JE, RINCÓN-CASTRO MCD. 2018. High virulence of Mexican entomopathogenic fungi against fall armyworm, (Lepidoptera: Noctuidae). Journal of Economic Entomology, 112(1): 99-107
- CUARTAS-OTÁLORA PE, GÓMEZ-VALDERRAMA JA, RAMOS AE, BARRERA-CUBILLOS GP, VILLAMIZAR-RIVERO LF. 2019. Bio-insecticidal potential of nucleopolyhedrovirus and granulovirus mixtures to control the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J. E. smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). Viruses, 11(8): 684
- FAUVER JR, GRUBAUGH ND, KRAJACICH BJ, WEGER-LUCARELLI J, LAKIN SM, FAKOLI LS, BOLAY FK, DICLARO JW, DABIRE KR, FOY BD, et al. 2016. West African *Anopheles gambiae* mosquitoes harbor a taxonomically diverse virome including new insect-specific flaviviruses, mononegaviruses, and totiviruses. Virology, 498: 288-299
- GARDNER WA, FUXA JR. 1980. Pathogens for the suppression of the fall armyworm. Florida Entomologist, 63(4): 439-447
- GENG P, LI WL, LIN L, DE MIRANDA JR, EMRICH S, AN LJ, TERENIUS O. 2014. Genetic characterization of a novel *Iflavirus* associated with vomiting disease in the Chinese oak silkworm *Antheraea pernyi*. PLoS ONE, 9(3): e92107
- GRABHERR MG, HAAS BJ, YASSOUR M, LEVIN JZ, THOMPSON DA, AMIT I, ADICONIS X, FAN L, RAYCHOWDHURY R, ZENG QD, et al. 2013. Trinity: reconstructing a full-length transcriptome without a genome from RNA-Seq data. Nature Biotechnology, 29(7): 644-652
- GUO JF, JING DP, TAI HK, ZHANG AH, HE KL, WANG ZY. 2019. Morphological characteristics of *Spodoptera frugiperda* in comparison with three other lepidopteran species with similar injury characteristics and morphology in cornfields. Plant Protection, 45(2): 7-12 (in Chinese) [郭井菲, 静大鹏, 太红坤, 张爱红, 何康来, 王振营. 2019. 草地贪夜蛾形态特征及与3种玉米田为害特征和形态相近鳞翅目昆虫的比较. 植物保护, 45(2): 7-12]
- HE LM, ZHAO SY, WU KM. 2020. Study on the damage of fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* to peanut. Plant Protection, 46(1): 28-33 (in Chinese) [何莉梅, 赵胜园, 吴孔明. 2020. 草地贪夜蛾取食为害花生的研究. 植物保护, 46(1): 28-33]
- HO T, TZANETAKIS IE. 2014. Development of a virus detection and discovery pipeline using next generation sequencing. Virology, 471/472/473: 54-60
- JIANG YY, LIU J, XIE MC, LI YH, YANG JJ, ZHANG ML, QIU K. 2019. Observation on law of diffusion damage of *Spodoptera frugiperda* in China in 2019. Plant Protection, 45(6): 10-19 (in Chinese) [姜玉英, 刘杰, 谢茂昌, 李亚红, 杨俊杰, 张曼丽, 邱坤. 2019. 2019年我国草地贪夜蛾扩散为害规律观测. 植物保护, 45(6): 10-19]
- KLEANTHOUS E, OLENDRAITE I, LUKHOVITSKAYA NII, FIRTH AE. 2019. Discovery of three RNA viruses using ant transcriptomic datasets. Archives of Virology, 164(2): 643-647
- LEFKOWITZ EJ, DEMPSEY D, HENDRICKSON RC, ORTON R, SIDDEL SG, SMITH DB. 2018. Virus taxonomy: the database of the International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). Nucleic Acids Research, 46(1): 708-717
- LI GP, JI TJ, SUN XX, JIANG YY, WU KM, FENG HQ. 2019. Susceptibility evaluation of invaded *Spodoptera frugiperda* population in Yunnan Province to five Bt proteins. Plant Protection, 45(3): 15-20 (in Chinese) [李国平, 姬婷婷, 孙小旭, 姜玉英, 吴孔明, 封洪强. 2019. 入侵云南草地贪夜蛾种群对5种常用Bt蛋白的敏感性评价. 植物保护, 45(3): 15-20]
- LI YP, LI M, LIU HH, XIAO Q, LI XY. 2020. Occurrence and control of *Spodoptera frugiperda* in early sowing wheat field in northern Jiangsu Province. Plant Protection, 46(2): 212-215 (in Chinese) [李艳朋, 李猛, 刘鸿恒, 肖琦, 李秀钰. 2020. 草地贪夜蛾在江苏北部早播麦田的发生与防治. 植物保护, 46(2): 212-215]
- LIU SJ, VIJAYENDRAN D, BONNING BC. 2011. Next generation sequencing technologies for insect virus discovery. Viruses, 3: 1849-1869
- MA H, GALVIN TA, GLASNER DR, SHAHEDUZZAMAN S, KHAN AS. 2014. Identification of a novel rhabdovirus in *Spodoptera frugiperda* cell lines. Journal of Virology, 88(12): 6576-6585
- MA MJ, HUANG Y, GONG ZD, ZHUANG L, LI C, YANG H, TONG YG, LIU W, CAO WC. 2011. Discovery of DNA viruses

- in wild-caught mosquitoes using small RNA high throughput sequencing. *PLoS ONE*, 6(9): e24758
- MILLÁN-LEIVA A, JAKUBOWSKA AK, FERRÉ J, HERRERO S. 2012. Genome sequence of SeIV-1, a novel virus from the *Iflaviridae* family infective to *Spodoptera exigua*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 109(1): 127–133
- MUNSON-MCGEE JH, PENG SY, DEWERFF S, STEPANAUSKAS R, WHITAKER RJ, WEITZ JS, YOUNG MJ. 2018. A virus or more in (nearly) every cell: ubiquitous networks of virus-host interactions in extreme environments. *ISME Journal*, 12: 1706–1714
- MURAKAMI R, SUETSUGU Y, KOBAYASHI T, NAKASHIMA N. 2013. The genome sequence and transmission of an iflavirus from the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. *Virus Research*, 176(1/2): 179–187
- NG TFF, WILLNER DL, LIM YW, SCHMIEDER R, CHAU B, NILSSON C, ANTHONY S, RUAN YJ, ROHWER F, BREITBART M. 2011. Broad surveys of DNA viral diversity obtained through viral metagenomics of mosquitoes. *PLoS ONE*, 6(6): e20579
- NIZ JM, SALVADOR R, FERRELLI ML, CAP AS, ROMANOWSHI V, BERRETTA MF. 2020. Genetic variants in Argentinean isolates of *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus. *Virus Genes*, 56: 401–405
- NOURI S, MATSUMURA EE, KUO YW, FALK BW. 2018. Insect-specific viruses: from discovery to potential translational applications. *Current Opinion in Virology*, 33: 33–41
- OBARD DJ, SHI M, ROBERTS KE, LONGDON B, DENNIS AB. 2020. A new lineage of segmented RNA viruses infecting animals. *Virus Evolution*, 6(1): vez061
- PIDRE ML, SABALETTE KB, ROMANOWSKI V, FERRELLI ML. 2019. Identification of an Argentinean isolate of *Spodoptera frugiperda* granulovirus. *Revista Argentina de Microbiología*, 51(4): 381–385
- QIN QL, CHENG QQ, ZHANG JH, WANG HT, MIAO L, LI X, ZHANG H. 2012. Industrialization, commercialization and the perspective of the viral insecticides. *Chinese Journal of Biological Control*, 28(2): 157–164 (in Chinese) [秦启联, 程清泉, 张继红, 王红托, 苗麟, 李瑄, 张寰. 2012. 昆虫病毒生物杀虫剂产业化及其展望. *中国生物防治学报*, 28(2): 157–164]
- QIN YJ, YANG DC, KANG DL, ZHAO ZH, ZHAO ZH, YANG PY, LI ZH. 2020. Potential economic loss assessment of maize industry caused by fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) in China. *Plant Protection*, 46(1): 69–73 (in Chinese) [秦誉嘉, 杨冬才, 康德琳, 赵紫华, 赵中华, 杨普云, 李志红. 2020. 草地贪夜蛾对我国玉米产业的潜在经济损失评估. *植物保护*, 46(1): 69–73]
- REN XX, HU BJ, SU XY, XU LN, SU WH, QIU K, ZHENG ZY, ZHANG QY, QIU HY, YE Z. 2020. Fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*, were found damaging difference between wheat-maize rotation and wheat-soybean rotation in Anhui Province. *Plant Protection*, 46(2): 287–288 (in Chinese) [任学祥, 胡本进, 苏贤岩, 徐丽娜, 苏卫华, 邱坤, 郑兆阳, 张启勇, 邱化义, 叶正. 2020. 安徽发现草地贪夜蛾区别为害麦玉/麦豆轮作田小麦. *植物保护*, 46(2): 287–288]
- SCHROEDER L, MAR TB, HAYNES JR, WANG R, WEMPE L, GOODIN MM. 2019. Host range and population survey of *Spodoptera frugiperda* rhabdovirus. *Journal of Virology*, 93(6): e02028-18
- SIMÓN O, PALMA L, BEPERET I, MUÑOZ D, LÓPEZ-FERBER M, CABALLERO P, WILLIAMS T. 2011. Sequence comparison between three geographically distinct *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus isolates: detecting positively selected genes. *Journal of Invertebrate Pathology*, 107(1): 33–42
- SUN XL. 2015. History and current status of development and use of viral insecticides in China. *Viruses*, 7(1): 306–319
- SUN XL, HU ZH. 2006. Progress in study and application of the viral insecticides in China. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 8(6): 33–37 (in Chinese) [孙修炼, 胡志红. 2006. 我国昆虫病毒杀虫剂的研究与应用进展. *中国农业科技导报*, 8(6): 33–37]
- SUN XX, HU CX, JIA HR, WU QL, SHEN XJ, ZHAO SY, JIANG YY, WU KM. 2019. Case study on the first immigration of fall armyworm *Spodoptera frugiperda* invading into China. *Journal of Integrative Agriculture*, 18: 2–10
- TAN JL, JING TZ, MEI J. 2014. Changes to the taxonomy of entomopathogenic viruses since the 9th report of ICTV. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 42(26): 9040–9043 (in Chinese) [谭嘉琳, 景天忠, 梅静. 2014. ICTV 第 IX 报告以来昆虫病毒分类上的变化. *安徽农业科学*, 42(26): 9040–9043]
- TANG P, WANG ZZ, WU Q, LIU YQ, SHI M, HUANG JH, CHEN XX. 2019. The natural enemies of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* and their application in biological control programs. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 56(3): 370–381 (in Chinese) [唐璞, 王知知, 吴琼, 刘银泉, 时敏, 黄健华, 陈学新. 2019. 草地贪夜蛾的天敌资源及其生物防治中的应用. *应用昆虫学报*, 56(3): 370–381]
- WANG L, CHEN KW, ZHONG GH, XIAN JD, HE XF, LU YY. 2019. Progress for occurrence and management and the strategy of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (Smith). *Journal of Environmental Entomology*, (3): 479–487 (in Chinese) [王磊, 陈科伟, 钟国华, 冼继东, 何晓芳, 陆永跃. 2019. 重大入侵害虫草地贪夜蛾发生危害、防控研究进展及防控策略探讨. *环境昆虫学报*, (3): 479–487]
- WEBSTER CL, WALDRON FM, ROBERTSON S, CROWSON D, FERRARI G, QUINTANA JF, BROUQUI JM, BAYNE EH, LONGDON B, BUCK AH, et al. 2015. The discovery, distribution, and evolution of viruses associated with *Drosophila melanogaster*. *PLoS Biology*, 13(7): e1002210
- WU KM. 2020. Management strategies of fall armyworm (*Spodoptera*

- frugiperda*) in China. Plant Protection, 46(2): 1–5 (in Chinese) [吴孔明. 2020. 中国草地贪夜蛾的防控策略. 植物保护, 46(2): 1–5]
- WU P, GUO XJ, ZHOU JC. 2011. Advances in the mechanism of antiviral RNA silencing in insects. Acta Entomologica Sinica, 8: 77–82 (in Chinese) [吴萍, 郭锡杰, 周加春. 2011. 昆虫 RNA 沉默抗病毒机制研究进展. 昆虫学报, 54(8): 77–82]
- XIAO PP, LI CH, ZHANG Y, HAN JC, GUO XF, XIE L, TIAN MY, LI YQ, WANG MP, LIU H, et al. 2018. Metagenomic sequencing from mosquitoes in China reveals a variety of insect and human viruses. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 8: 364
- XU PJ, YANG LY, YANG XM, LI T, GRAHAM RI, WU KM, WILSON K. 2020. Novel partiti-like viruses are conditional mutualistic symbionts in their normal lepidopteran host, African armyworm, but parasitic in a novel host, fall armyworm. PLoS Pathogens, 16(6): e1008467
- YANG XL, LIU YC, LUO MZ, LI Y, WANG WH, WAN F, JIANG H. 2019. Fall armyworm was firstly detected in Jiangcheng County, Yunnan Province, China. Yunnan Agriculture, (1): 72 (in Chinese) [杨学礼, 刘永昌, 罗茗钟, 李依, 王文辉, 万飞, 姜虹. 2019. 云南省江城首次发现迁入我国西南地区的草地贪夜蛾. 云南农业, (1): 72]
- ZERBINO DR, BIRNEY E. 2008. Velvet: algorithms for de novo short read assembly using de Bruijn graphs. Genome Research, 18: 821–829
- ZHAN BH, ZHOU XP. 2018. Application of next-generation sequencing technology in detection of plant and insect viruses. Plant Protection, 44(5): 120–126 (in Chinese) [战斌慧, 周雪平. 2018. 高通量测序技术在植物及昆虫病毒检测中的应用. 植物保护, 44(5): 120–126]
- ZHANG HB, WANG FL, CHEN YM, YU GJ, CHU SP, LU P, CHEN H, ZHU JP, CHE JY, ZHANG F, et al. 2020. Study on the control effect of nucleopolyhedrovirus on *Spodoptera frugiperda*. Plant Protection, 46(2): 254–260 (in Chinese) [张海波, 王凤良, 陈永明, 于淦军, 褚妹频, 卢鹏, 陈华, 朱加萍, 车晋英, 张芳, 等. 2020. 核型多角体病毒对玉米草地贪夜蛾的控制作用研究. 植物保护, 46(2): 254–260]
- ZHAO SY, YANG XM, HE WEI, ZHANG HW, JIANG YY, WU KM. 2019. Ovarian development gradation and reproduction potential prediction in *Spodoptera frugiperda*. Plant Protection, 45(6): 28–34 (in Chinese) [赵胜园, 杨现明, 和伟, 张浩文, 姜玉英, 吴孔明. 2019. 草地贪夜蛾卵巢发育分级与繁殖潜力预测方法. 植物保护, 45(6): 28–34]
- ZHAO XQ, CHEN FS, YIN YQ, ZHANG HM, LI XY, DAI JH, WANG GB, LI YC, SHEN AD. 2020. Occurrence and damage characteristics of *Spodoptera frugiperda* on highland barley, oat and proso millet in Yuanmou County, Yunnan Province. Plant Protection, 46(2): 216–225 (in Chinese) [赵雪晴, 陈福寿, 尹艳琼, 张红梅, 李向永, 戴剑鸿, 王贵斌, 李永川, 谌爱东. 2020. 草地贪夜蛾在云南元谋县青稞、燕麦、糜子田的发生为害特征. 植物保护, 46(2): 216–225]

(责任编辑:王 璇)