

苜蓿丫纹夜蛾核型多角体病毒对棉红铃虫 幼虫毒力的生物活性测定

张忠信 张友清 王晓容 袁砚修

(中国科学院武汉病毒研究所)

BIOASSAY OF AUTOGRAPHA CALIFORNICA NUCLEAR POLYHEDROSIS VIRUS AGAINST PECTINOPHORA GOSSYPIELLA LARVAE

Zhang Zhong-xin Zhang You-qing Wang Xiao-rong Yuan Yan-xiu

(Wuhan Institute of Virology, Academia Sinica, Wuhan)

苜蓿丫纹夜蛾核型多角体病毒 (Autographa californica Nuclear Polyhedrosis Virus简称AcNPV) 是一种广谱的昆虫病毒, 可以感染30种鳞翅目幼虫^[1,2,3,4,5,6,7,8]。本文报道使用AcNPV感染棉红铃虫 (Pectinophora gossypiella) 幼虫的结果。

材料与方 法

毒源: AcNPV为美国农业部仓库害虫研究室 Dr. Vail, P. V. 赠送的杀虫剂粉剂, 多角体含量为 1.76×10^9 PIB/mg。

供试幼虫: 供试的棉红铃虫为室内人工饲料饲养的3龄幼虫, 孵化后9天。

养虫器皿: 使用经高压灭菌的10毫升玻璃瓶及棉塞。

人工饲料的配制: 人工饲料的配方见表1。

表1 棉红铃虫人工饲料配方

Table 1: The composition of semi-synthetic diet for rearing *Pectinophora gossypiella*

成 份	用 量 (克)	成 份	用 量 (克)
棉 籽 粉	9	琼 脂	2.5
小 麦 粉	4	复 合 V _B	0.20
麦 乳 精	3	V _C	0.15
蔗 糖	4	山 梨 酸	0.10
酪 朊 粉	1	尼 泊 金 乙 脂	0.15
酵 母 粉	3	蒸 馏 水	120mL

本文于1985年9月26日收到

配制饲料时,先将一定量的琼脂和水放入耐热容器,在沸水锅中加热半小时,使琼脂完全溶解,取出琼脂待温度降至80℃左右,加入防腐剂,维生素及灭菌的棉籽粉等,高速组织捣碎机间断搅拌2—3分钟,趁热将饲料装入养虫瓶,冷却凝结后放入冰箱中备用,每瓶装3克饲料。这样配制的人工饲料可以保证幼虫期(约22天)不受杂菌污染,幼虫连续饲养传代5代。

多角体悬液的配制: AcNPV粉剂溶解稀释成 6×10^8 PIB/ml 感染棉红铃虫幼虫,取典型NPV症状的病死虫,加少量磷酸缓冲液(pH7.2)研磨,双层纱布过滤除掉组织碎片,差异离心三轮次,在显微镜下用血球计数板计数,稀释成六种浓度: 3×10^7 、 6×10^8 、 3×10^8 、 6×10^5 、 6×10^4 、 6×10^3 PIB/ml。

感染方法: 每瓶涂50 μ l多角体悬液于饲料表面,使感染的多角体剂量为500、100、50、10、1、0.1 PIB/mm²饲料表面积,每瓶接入3龄幼虫1头,在温度 27 ± 1 ℃,相对湿度85%的条件下取食感染,另设空白对照组。

数据整理: 从感染后第2天起,隔日镜检病毒病虫死亡数,感染后至第12天结束。用常规数理统计方法求出各组的死亡率,由死亡率换算出死亡率值,求出Log病毒剂量,Log感染天数和死亡率值的回归直线方法,经卡方检验符合实际情况,分别算出LD₅₀、LD₉₀、LD₇₀、LD₉₅所需的病毒感染剂量及其95%置信界限。

结果与讨论

用0.1、1、10、50、100、500 PIB/mm²饲料表面积的六种剂量感染棉红铃虫幼虫,结果见表2,此数据是四次重复的平均值。根据表2计算出AcNPV感染剂量对数与棉红铃虫幼虫死亡机率值的回归直线方程为 $y = 4.2001 + 0.9733X$,其函数图象见图1,根据回归直线方程式推算出使棉红铃虫3龄幼虫达到30%、50%、70%、90%所需的感染剂量及其95%置信界限(表3)。

表2 不同剂量的AcNPV感染棉红铃虫3龄幼虫的死亡率及机率值
Table 2: Larval mortality of *Pectinophora gossypiella* reared individually from third-instar larvae treated with different concentrations of AcNPV

感染剂量 (PIB/mm ²)	试虫头数	校正死亡率	机率值
500	30	100	/
100	30	95.4	6.695
50	30	74.6	5.662
10	30	54.3	5.108
1	30	16.9	4.034
0.1	30	5.0	3.355

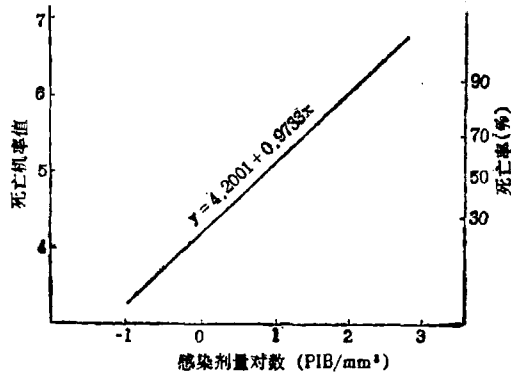


图 1: 不同剂量的AcNPV感染棉红铃虫 3 龄幼虫的回归直线

FIG 1: Dosage-mortality responses following ingestion of AcNPV by *Pectinophora gossypiella* third-instar larvae

表 3 AcNPV使棉红铃虫 3 龄幼虫死亡率达到30%、50%、70%、90%所需感染剂量及其95%置信界限

Table 3: Calculated number of PIB/mm² diet of surface for AcNPV and 95% fiducial limits for 30,50,70 and90 mortality of *Pictinophora gossypiella* larvae

死亡率 (%)	感染剂量 (PIB/mm ²)	95% 置信界限	
		下 限	上 限
30	1.9203	1.3925	2.6472
50	6.6350	3.7644	11.6943
70	22.9201	12.2067	43.0328
90	137.692	54.739	346.338

使用表 2 所列的三种感染剂量100、50、10PIB/mm² 饲料表面积, 感染棉红铃虫 3 龄幼虫, 幼虫死亡天数对数与死亡机率值的回归直线方程分别为:

$$y = 2.4070 + 4.233X$$

$$y = 3.1582 + 2.267X$$

$$y = 2.6317 + 2.383X$$

其函数图象见图 2, 由上述方程推算的LT₅₀值及95%置信界限见表 4。

1972年, Vail使用AcNPV感染棉红铃虫,使 1 龄幼虫达到50%死亡率需 5 PIB/mm² 饲料表面积,我们使用 3 龄幼虫, LD₅₀为6.635PIB/mm² 饲料表面积, 这表明AcNPV对我国的棉红铃虫具有很强的毒力。

棉红铃虫是我国棉区的主要害虫之一, 害虫大发生时棉花损失达10—15%, 给棉农带来重大经济损失, 引用AcNPV防治我国棉红铃虫将是一条新的途径, 并具有一定的意义, 应引起人们的重视。

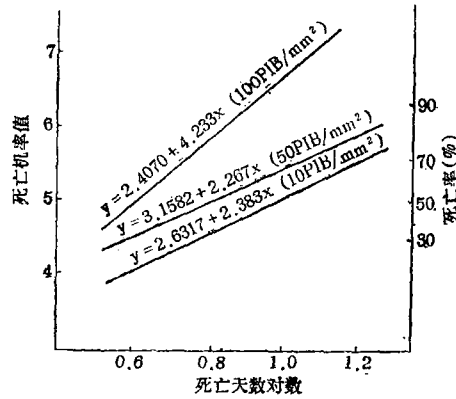


图2: AcNPV三种感染剂量感染棉红铃虫3龄幼虫死亡天数对数与死亡率值的回归直线

FIG 2: Time-mortality response of *Pectinophora gossypiella* third-instar larvae to different concentrations of AcNPV

表4 AcNPV三种剂量感染棉铃虫3龄幼虫的LT₅₀及其95%置信界限

Table 4. LT₅₀ values and 95% fiducial limits for *Pectinophora gossypiella* third-instar larvae treated with different concentrations of AcNPV

感染剂量(PIB/mm ²)	LT ₅₀ (天)	95% 置信界限	
		下 限	上 限
100	4.098	3.295	5.158
50	6.493	5.216	8.085
10	9.859	7.801	12.460

参 考 文 献

- [1] Vail.P.V.et.al,1972,J.Invertebr.Pathol.20:124—128.
- [2] Stairs.G.R.et.al,1974,J.Invertebr.Pathol.24:367—377.
- [3] Harper.J.D.et.al,1976,J.Invertebr.Pathol.27:275—277.
- [4] Witt.D.J.et.al,1976,J.Invertebr.Pathol.27:65—69
- [5] Kaga.H.et.al.1977.J.Econ.Entomol.70:9—12
- [6] Ignoffo.C.M.et.al.1979.J.Envirn.Entomol.8:1102—1104.
- [7] Capinera.J.L.et.al.1979.J.Econ.Entomol.72:570—571
- [8] 谢天恩,1984,“中国病毒与农业学术会议”综述报告。