

189-192

第8卷第2期
1993年6月中国病毒学
VIROLOGICA SINICAVol. 8 No. 2
Jun. 1993

卵磷脂促进小菜蛾颗粒体病毒感染的研究

孟小林 侯小辉, 夏军 张文军 梁东瑞

(武汉大学病毒系, 武汉 430072)

S476.13

提 要

采用有机溶剂从鸡蛋中提取卵磷脂, 与小菜蛾颗粒体病毒混合添食感染2-3龄小菜蛾幼虫, 所得数据经统计学方法处理, 得到三组死亡率与时间的回归直线方程为 $y = 18.1x - 59.8$ (GV对照)、 $y = 27.23x - 99.85$ (GV+30mg卵磷脂/ml)、 $y = 13.6x - 18$ (GV+70mg卵磷脂/ml)。GV+70mg卵磷脂/ml与GV对照组比较, 感染性提高了17%, LT₅₀提前了1.066天。结果表明, 卵磷脂对小菜蛾颗粒体病毒感染具有促进作用。

关键词: 小菜蛾 颗粒体病毒 卵磷脂 促进感染 生物测定

小菜蛾 (*Plutella xylostella* L. 简称 Px) 是世界性的蔬菜害虫之一。危害蔬菜作物达39种。1978年, 刘年翠等首次在国内分离到小菜蛾颗粒体病毒并对其作了生物毒性测定^[1]。由于小菜蛾幼虫个体小, 大量增殖病毒困难, 寻求新的替代宿主和寻找提高病毒感染的增效剂仍是当前小菜蛾病毒防治的一大探索性课题。

Tanada, Y (1959) 首次报道了一星粘虫 GV 夏威夷株对粘虫 NPV 的感染具有促进作用^[2], 其增效因子 (SF) 是一种存在于 GV 包含体蛋白基质中的 126-kDa 磷脂蛋白, 而其中的磷脂为活性基团^[3]。SF 可以促进病毒粒子对中肠微绒毛细胞质膜的吸附作用^[4], 台湾学者谭苏进 (1988) 首次采用卵磷脂与棉铃虫 NPV 共感染棉铃虫幼虫, 证实了卵磷脂能提高 NPV 的感染性达38%, 作者认为卵磷脂可望作为昆虫病毒杀虫剂的辅助剂^[5]。

目前, 国内外还未见有卵磷脂促进昆虫颗粒体病毒感染的报道, 本文结合本室“八五”攻关科研课题, 同样证实了卵磷脂对小菜蛾 GV 的感染性具有促进作用, 这对利用小菜蛾颗粒体病毒进行生物防治是大有裨益的。

材 料 和 方 法

一、材料:

小菜蛾 GV 毒种由本室梁东瑞教授提供, 添食感染健康幼虫, 收集患病死虫, 冰箱保存。卵磷脂由新鲜鸡蛋黄提取。

二、方法

本文于1992年6月11日收到, 7月28日修回。

1. 病毒感染液的制备 取五头四龄感病幼虫(重0.06克), 研磨过滤, 差异离心, 加10ml 无菌水制成母液, 双抗处理, 置冰箱保存备用。

2. 卵磷脂的提取 取新鲜鸡蛋黄169克, 用1200ml 热乙醇(95%)浸泡, 搅拌, 冷却后, 抽滤。用圆底烧瓶将乙醇减压真空蒸馏回收, 共得卵磷脂13.6克(湿重), 于真空干燥器内储存备用。

3. 感染试验 感染试验设立下述组合及对照: ①GV 10^{-2} /ml+卵磷脂30mg/ml(简称GV-L30); ②GV 10^{-2} /ml+卵磷脂70mg/ml(简称GV-L70); ③L30对照; ④L70对照; ⑤GV对照 10^{-2} /ml; ⑥正常健康幼虫对照。

将上述配好的①—⑤组分别添食感染2龄末3龄初Px幼虫, 每瓶约30—35头, 感染后的第三天更换新菜叶, 以后每天更换新叶, 保持温度(24℃—25℃)和湿度。

从感染后的第三天起, 每天统计各组Px幼虫的死亡及存活情况, 连续统计四天。本试验经三次重复。

结果和讨论

根据GV、GV-L₃₀和GV-L₇₀三组的重复结果(供试虫头数及死亡率汇总于表1),

表 1. 感染的天数及死亡率

Tab 1. Days after inoculation and mortality

(1) GV 对照 GV Control				
感染天数 Days after inoculation	供试虫 Test larvae	死 虫 Fatal larvae	蛹 Pupate	百分死亡率 Mortality(%)
1~3	129			
4		16		12.4%
5		24	23	31%
6		22	44	48.6%
(2) GV-L(30mg/ml)				
感染天数 Days after inoculation	供试虫 Test larvae	死 虫 Fatal larvae	蛹 Pupate	百分死亡率 Mortality(%)
1~3	101			
4		10	1	9.9%
5		25	12	34.65%
6		30	23	64.36%
(3) GV-L(70mg/ml)				
感染天数 Days after inoculation	供试虫 Test larvae	死 虫 Fatal larvae	蛹 Pupate	百分死亡率 Mortality(%)
1~3	99			
4		38		38.38%
5		8	14	46.46%
6		19	20	65.65%

按照统计学方法处理得到三组死亡率与时间的回归直线方程(见图1)以及各个LT₅₀(见表2)。由表可见GV-L₇₀试验组比GV对照组感染性提高了17%, LT₅₀提前了1.066天, 证明了卵磷脂对小菜蛾GV的感染性具有促进作用。

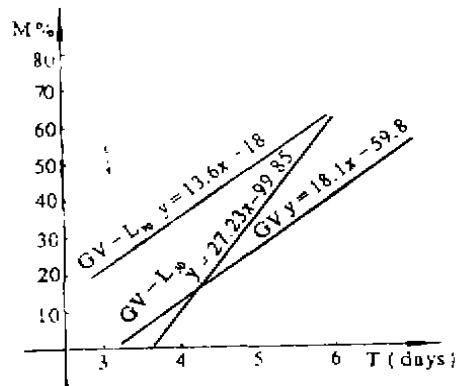


图1. 三组百分死亡率与时间的回归线

Fig 1. Time-mortality regression line of three groups

表2. 三组死亡率和LT₅₀的比较Tab 2. Comparison of mortality and LT₅₀ of three groups

试验组 Treatment	死亡率(%) Mortality(%)	LT ₅₀ (days)	时间-死亡率直线回归 Time-mortality regression line	相关系数 r
仅GV GV only	48.6	6.066	$y = 18.1x - 59.8$	0.99
GV-L ₃₀	64.36	5.50	$y = 27.23x - 99.85$	0.99
GV-L ₇₀	65.65	5.00	$y = 13.6x - 18$	0.97

$$y = ax + b; y = \text{死亡率 (mortality)}; x = \text{天 (day)}$$

通过本试验证实了卵磷脂对小菜蛾颗粒体病毒具有促进感染的作用。该文所用的L₁₀、L₇₀两个工作浓度主要是参照台湾学者谭苏进设立的L₅₀来确定的。从表2和表3可看出,在L₃₀与L₇₀之间对提高病毒的感染性似乎没有多大差别。因此,从应用这个角度考虑使用L₃₀配比这个浓度能减少卵磷脂的用量,同时又能达到促进病毒感染的目的。由于卵磷脂经提纯后不易干燥,本文所指的L₃₀和L₇₀都是指湿重,其有效卵磷脂成份实际上达不到30mg/ml或70mg/ml的浓度,准确的卵磷脂用量还有待今后进一步通过化学测定法或通过标准卵磷脂制剂进行校正。

从试验结果来看,GV-L₇₀试验组比GV对照组的感染性提高了17%,LT₅₀提前了1.066天,证明了卵磷脂对小菜蛾GV的感染性具有促进作用。这个结果与台湾学者谭苏进所作的棉铃虫NPV的结果相一致,但卵磷脂促病毒感染的幅度没有谭所做的结果高⁽¹⁾,这可能与本实验提取的卵磷脂的纯度不高有关,也许卵磷脂促进NPV感染比促进GV感染更有效,这还有待进一步研究。

卵磷脂是大豆油脂工业的主要副产品,这就为卵磷脂作为昆虫病毒杀虫剂的辅助剂提供了丰富的来源。

参 考 文 献

- (1) 刘年琴、梁东瑞等, 1979, 武汉大学学报, (2): 113.
- (2) Tanada Y. 1959, *J. Insect Pathol.* (1): 251-231.
- (3) Tanada Y. et al., 1973, *J. Invertebr. Pathol.*, 21: 31-40.
- (4) Tanada Y. et al., 1983, *Microbios.* 37: 87-93.
- (5) Sbu-Jea Tsau., 1988, *J. Invertebr. Pathol.*, 52: 180-182.

Enhancement of *Plutella xylostella* Granulosis Virus Infection by Lecithin

Meng Xiaolin Hou Xiaohui Xia Jun

Zhang Wenjun Liang Dongrui

(Department of Virology, Wuhan University, Wuhan 430072)

Lecithin was extracted by organic reagent from eggs and mixed with PxGV to infect 2th-3th instar Px larvae. Through the treatment of statistical method, we got three groups time-mortality regression lines, $y = 18.1x - 59.8$ (GV only), $y = 27.23x - 99.85$ (GV + 30mg/ml lecithin) and $y = 13.6x - 18$ (GV + 70mg/ml lecithin). Comparing with GV control group, mortality of GV + 70mg/ml lecithin group increased by 17% and LT50 decreased by 1.066 days. This result shows lecithin can enhance the infection of PxGV.

Key words: *Plutella xylostella* Granulosis virus Lecithin
Enhancing infection Bioassay