

甜菜夜蛾核型多角体病毒中国分离株的分离鉴定及毒力测定*

张俊杰¹,李茂俭²,未荣杰³,张友清^{1**}(1.中国科学院武汉病毒研究所,湖北武汉,430071; 2.江汉大学卫生技术学院,湖北武汉,430019;
3.河南汤阴恒源生化农药厂,河南安阳,455000)Isolation, Identification, and Determination of Virulence of *Spodoptera exigua* Nuclear Polyhedrosis Virus Chinese StrainZHANG Jun-jie¹, LI Mao-jian², WEI Rong-jie³, ZHANG You-qing^{1**}

(1. Wuhan Institute of Virology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan, 430071, China; 2. Department of Sanitation Technology, Jianghan University, Wuhan, 430019; 3. Tangyin Hengyuan Biochemical Pesticide Factory, Anyang, Henan, 455000, China)

Abstract: A strain of *Spodoptera exigua* Nuclear Polyhedrosis Virus (SeNPV) isolated from China was purified and identified. The results of bioassay indicated that the LC₅₀ of 2nd and 3rd instar of *Spodoptera exigua* was 6.6×10^4 and 2.6×10^5 PIB/ml.**Key words:** *Spodoptera exigua*; NPV; Chinese strain.**摘要:** 本文对分离自中国的甜菜夜蛾病毒进行提纯、鉴定。生物测定的结果表明其对二龄、三龄甜菜夜蛾的 LC₅₀ 分别为 6.6×10^4 , 2.6×10^5 PIB/mL.**关键词:** 甜菜夜蛾; 核型多角体病毒; 中国分离株

中图分类号: S435.663 文献标识码: A 文章编号: 1003-5125(2001)04-0361-03

甜菜夜蛾 (*Spodoptera exigua*), 属鳞翅目, 夜蛾科。是一种世界范围的农业害虫, 近年来在我国有大范围爆发的趋势, 严重危害蔬菜、棉花等农作物的生产。1949 年美国首次分离出甜菜夜蛾病毒 (SeNPV)^[1], 但国内尚未有正式报道。笔者于 2000 年夏在河南安阳地区采集到自然病死虫, 经分离鉴定该病原物为核型多角体病毒。

1 材料与方 法

1.1 病毒的分离与纯化

收集典型病死虫, 捣碎, 差速离心去除杂质, 上

清水洗 3 次, 蛋白酶 K 处理 30min, 沉淀用蒸馏水重悬, 冰箱保存备用。

1.2 多角体染色观察

取少许病毒悬液涂于玻片上, 按布维什娃染色法^[2]固定染色, 光学显微镜观察。

1.3 多角体及病毒粒子的电镜观察

将提纯的多角体用 pH10.8 的碱解液碱解, 每隔 5min 取样, 滴于铜网上, 2% PAT 负染, H-7000FA 电镜下观察。

1.4 多角体超薄切片

将提纯的多角体离心, 5% 戊二醛固定 5h, 然后

收稿日期: 2001-03-15, 修回日期: 2001-06-13

* 基金项目: 九五科技攻关项目 (96-C01-02-04)

作者简介: 张俊杰 (1976-), 男, 河南省漯河籍, 硕士。

** 通讯作者: 张友清 (1941-), 男, 湖北省仙桃籍, 研究员, 从事病毒生物防治研究。Correspondence author.

用1%钨酸固定1~2h,脱水,包埋,聚合,切片,染色后电镜观察。

1.5 生物测定

对二龄、三龄初甜菜夜蛾按混合饲食法^[2]进行生物测定,同时以清水做对照。生测温度 27℃ ± 1℃,从第3天起计算死亡率。用常规数理统计方法计算校正死亡率、机率值,求出回归方程及各自的 LC₅₀。

2 结果与讨论

2.1 感染虫的病症

病死幼虫为典型的核多角体病症,死亡幼虫体壁薄脆,一解即破,流出灰白色液体。

2.2 多角体染色观察

多角体在光学显微镜下成强折光性颗粒,能被伊红染成粉红色。

2.3 多角体的电镜观察

多角体形态为圆形、四边形、五边形等,其平均大小为 1.45μm。提纯的多角体经碱解后释放的病毒粒子呈杆状,两端钝圆,其大小为 347nm × 117.5nm,病毒粒子为多粒包埋型,每个病毒粒子含一个至四个核衣壳。(图1)

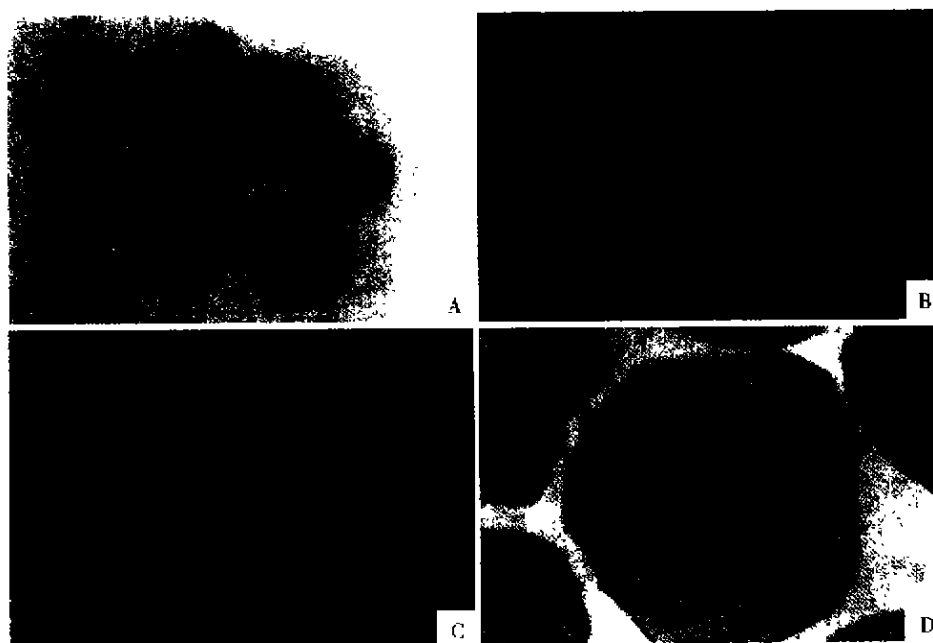


图1 甜菜夜蛾核多角体病毒的形态特征

A,多角体负染照片(×12,000);B,部分碱解的多角体(×12,000);C,甜菜夜蛾多角体病毒粒子(×15,000);D,甜菜夜蛾多角体超薄切片(×30,000)。

Fig.1 Morphology of SeNPV

A,Electron micrographs of negatively stained forms of the polyhedron inclusion bodies;B,Partly dissolved polyhedron;C,Electron micrographs of negatively stained forms of virion;D,Transmission electron micrographs of ultrathin section of the polyhedron inclusion bodies.

2.5 生物测定结果

以健康的二龄、三龄甜菜夜蛾为供试昆虫,感染后第4天幼虫开始死亡,统计结果用 Probit, SigmaPlot 软件进行分析,计算出 LC₅₀,结果见表1,回归方程见图2。

表1 二龄、三龄甜菜夜蛾的生物测定结果

Table 1 Result of bioassay of 2nd and 3rd instar *Spodoptera exigua*

虫龄 Instar	回归方程 Regression Line	LC ₅₀ (PIB/mL)	95%置信限(PIB/mL) 95% Fiducial Limit	
			下限	上限
二龄	Y = 1.81x - 3.72	6.60 × 10 ⁴	5.18 × 10 ⁴	8.93 × 10 ⁴
三龄	Y = 1.74x - 4.44	2.62 × 10 ⁵	2.10 × 10 ⁵	3.28 × 10 ⁵

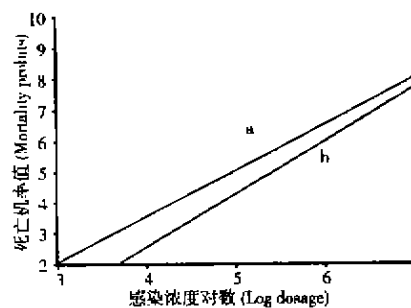


图2 病毒感染二龄(a)、三龄(b)甜菜夜蛾的回归方程

Fig.2 Regression Line of 2nd (a) and 3rd (b) instar *Spodoptera exigua* infected by virus