

豆天蛾核型多角体病毒病的研究*

孙发仁 王怀宽

季 敏

(山东省泰安市菜篮子科技园, 泰安 271000)

(山东省泰安市农科所, 泰安)

摘 要 从豆天蛾 (*Clanis bilineata tsingtaica* Mell) 的幼虫中分离到一株核型多角体病毒, 其多角体的平面图象多为六边形和近圆形, 直径 $0.6 \sim 2.0 \mu\text{m}$, 病毒粒子杆状, 两端圆滑, 大小约 $50\text{nm} \times 320\text{nm}$ 。室内和田间试验表明, 该株病毒对豆天蛾幼虫有比较强的致病力。对三龄幼虫的致死中浓度 (LC_{50}) 为 $1.4 \times 10^{4.8}$ 个多角体 ml^{-1} , $y = 3.24 + 0.54x$ 。田间防治效果可达 70% 左右, 与苏云金杆菌制剂或其他害虫病毒制剂混用, 防治效果达 90% 以上, 好于常用化学农药氧化乐果, 且残效作用较长。该病毒对家蚕、蚜虫和瓢虫无致病作用。

关键词 大豆 豆天蛾 核型多角体病毒 防治效果

豆天蛾 (*Clanis bilineata tsingtaica* Mell) 幼虫是黄淮大豆产区的主要害虫之一, 除大豆外它还危害洋槐等树木^[1]。近几年来在山东一些地区发生较重, 造成很大损失。1981 年 8 月我们从野外捕获的豆天蛾雌成虫在室内产卵孵化饲养过程中, 发现有部分幼虫自然死亡, 经检验病原物, 是一种核型多角体病毒。为了进一步明确此株病毒的致病力及其在生产上应用的可能性, 几年来我们对该株病毒进行了形态观察、室内毒力测定和田间防治试验。现将其实验结果报道如下。

1 材料和方法

1.1 试验病毒来源

1981 年 8 月将室内自然病死的幼虫虫体研磨, 加少量无菌水稀释过滤, 再加青、链霉素 (各 2000U/ml) 灭菌 8h, 经低速差异离心粗提多角体, 室内进行感染增殖。

1.2 室内毒力测定

1.2.1 供试幼虫 室外灯光诱捕雌蛾, 室内进行产卵、孵化, 经饲养观察后, 选择龄期一致的健康幼虫用作感染试验, 试验前饥饿 12h。

1.2.2 感染液的配制 将灭菌后的粗提多角体加适量无菌水摇匀计数后配成所需要的各种浓度。

1.2.3 喂毒方法 将粗提的多角体配成每毫升含有 1.4×10^7 、 1.4×10^6 、 1.4×10^5 、 1.4×10^4 和 1.4×10^3 个多角体的 5 种浓度。每头以 0.1ml 用微量注射器吸取滴于 1cm^2 的叶面上,

涂匀晾干,进行喂食感染。每浓度一组,每组15头幼虫,分别放在消毒的容器内,瓶口用细纱布扎紧,涂无菌水作对照,重复3次。感染36h检查各组叶片全部吃光,然后加入新鲜清洁叶片继续饲养。按试验要求进行观察记载。以病毒致死虫数比病毒致死虫数与残留活虫数之和计算死亡率,求 LC_{50} 。

1.3 田间试验

大田试验使用病虫尸匀浆液,施用前计算多角体数量。试验前选点定株调查虫口基数,试验第十三至十五天调查残留活虫数,计算校正虫口减退率。

2 试验结果

2.1 病虫症状及病毒形态

2.1.1 病虫症状 幼虫取食涂有病毒的叶子3~4d后表现食量减少,8~9d出现大量死亡,病死虫多以腹足粘附叶梗呈“人”形吊挂,也有的以尾足粘附叶片倒悬。病死虫体黄褐色,松软,体壁较易破碎,流出黄白色至浅黄褐色的粘稠体液,新鲜死虫无腐臭味。体液涂片在光学显微镜下观察可见大量折光的多角体颗粒悬浮在体液之中。

2.1.2 病毒形态 挑取病虫脂肪或气管组织切片观察,可见到多角体在细胞核内形成,细胞核特别膨大,几乎占满整个细胞,随着病毒发展,最后核膜和细胞膜破裂,释放大量的多角体于体腔内。在透射电镜下观察,多角体的平面图象多为六边形和近圆形,其直径0.6~2.0 μ m(图1-A)。多角体经0.05mol/L Na_2CO_3 和0.05mol/L NaCl混合液降解,可见从多角体释放出的杆状病毒粒子,两端浑圆,大小约50 \times 320nm(图1-B)。超薄切片表明病毒粒子呈粒,无一定秩序包埋得多角体中,为单粒包埋类型(图1-C)。

2.2 室内致病力测定

2.2.1 病毒液处理卵粒对初孵幼虫致病力的影响 用毛笔蘸取 3.2×10^7 多角体/ml的悬液涂在卵粒表面,晾干后在常温下观察。其结果表明,病毒沾污的卵粒孵化率与涂灭菌水的对照卵粒无明显差异,但涂病毒的卵粒孵出的幼虫第八天死亡率高达54.2%,明显高于对照(表1)。

表1 病毒处理卵对初孵幼虫致病力的影响

处 理	供试卵 粒数	孵化 率(%)	累 计 死 亡 率 (%)					
			3d	4d	5d	6d	7d	8d
沾污病毒	48	91.7	4.2	18.4	29.8	39.6	54.2	54.2
涂灭菌水对照	44	90.9	2.3	6.8	11.4	11.4	13.6	13.6

2.2.2 毒力测定 不同浓度的豆天蛾核型多角体病毒分组感染三龄幼虫的死亡率随病毒浓度的增加而上升(表2)。 LC_{50} 为 1.4×10^{18} 个多角体/ml(图2)。

2.2.3 寄主范围试验 以银纹夜蛾(*Plusia agnata* Staudinger)、菜粉蝶(*Pieris rapae* L.)、甘蓝夜蛾(*Barathra brassicae* L.)、柞蚕(*Antheraea pernyi* Guérin-Méneville)、杨毒蛾(*Leucania satilis* L.)、花椒凤蝶(*Papilio xuthus* L.)、家蚕(*Bombyx mori* L.)和瓢虫(*Coccinella septempunctata*)等的二至三龄幼虫为

供试幼虫, 用 1.6×10^7 多角体 / ml 的病毒液浸泡饲料饲喂。结果表明该株病毒只对豆天蛾幼虫有致病力, 死亡率在 85% 以上, 对其余几种昆虫幼虫均无致病力。

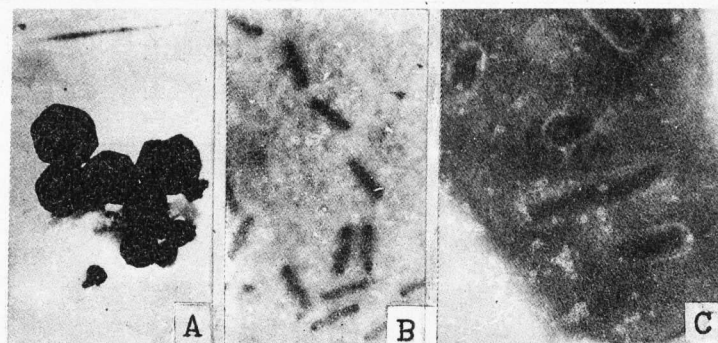


图 1 豆天蛾核型多角体病毒

A. 病毒包涵体的形态; B 病毒粒子 $\times 4000$; C. 病毒粒子单粒包埋 $\times 7000$

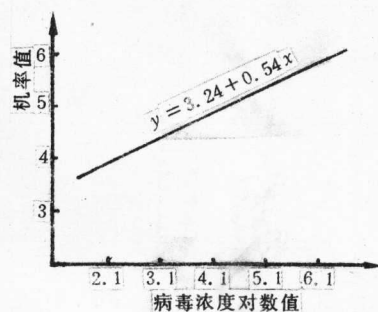


图 2 C_p NPV 5 种浓度感染三龄

幼虫死亡率回归直线

2.3 田间防治试验

2.3.1 杀虫效果试验 田间试验表明, 豆天蛾核型多角体病毒对豆天蛾幼虫有比较强的致病力、防治效果在 70% 左右。此株病毒与苏云金杆菌混用, 防治效果明显提高, 且兼治大豆银纹夜蛾、小夜蛾和大豆尺蠖等其它大豆害虫 (表 3)。

表 2 五种浓度的病毒感染三龄幼虫的结果

病毒浓度 (多角体 / ml)	供试幼虫 (头)	病毒致死 虫数(头)	校正死 亡率(%)	机率值
1.4×10^6	44	32	70.6	5.54
1.4×10^5	42	24	53.8	5.09
1.4×10^4	44	20	41.3	4.78
1.4×10^3	41	12	26.5	4.37
1.4×10^2	40	7	11.2	3.78
对照	42	3	—	—

表 3 豆天蛾核型多角体病毒田间防治试验结果

试验地点	时 间	病毒施用浓度	虫口基数 (头)	第 13~15 天残留 活虫数(头)	防治效果(%)
肥城县	1988.8	1.6×10^7 多角体 / ml	—	18	67.3
新城镇	1988.8	对照	—	55	—
肥城县	1990.7-8	3.2×10^6 多角体 / ml	37	12	72.3
仪阳乡	1990.7-8	氧化乐果 1500 倍液	30	10	71.6
		对照	29	35	—
肥城县	1991.8	3.8×10^6 多角体 / ml	48	15	71.6
仪阳乡	1991.8	Bt 乳剂 800 倍液	42	9	80.5
		上二者混施, 保持单施浓度	52	6	89.5
		对照	40	44	—

2.3.2 豆天蛾和银纹夜蛾两种核型多角体病毒混合使用试验 从表 4 的试验结果可以看出, 这两种病毒混合使用防治效果明显提高, 豆天蛾和银纹夜蛾这两种害虫的总虫口下降率为 91.4%, 银纹夜蛾核型多角体病毒单独使用总虫口下降为 87.2%。由于豆天蛾核型多角体病毒寄主专一性强, 仅对豆天蛾幼虫有效, 对大量发生的银纹夜蛾幼虫无致病力, 所以该病毒单独使用时总虫口下降率只有 16.8%。

3 讨论

1981年8月从自然患病死亡的豆天蛾幼虫中分离的多角体病毒,从幼虫感染症状、病毒寄生的部位,多角体在寄主组织的细胞核中形成,病毒粒子杆状等一系列结果,参照国际病毒分类和命名系统^[2,5],这株病毒属杆状病毒科A亚组的一员,暂定名为豆天蛾核型多角体病毒,简称CbNPV。

表4 两株病毒田间混施试验结果 (1990.8)

试验处理	虫口基数(头)			残存活虫数(头)			虫口下降率(%)			总校正虫口下降率(%)
	总虫口	豆天蛾	银纹夜蛾	总虫口	豆天蛾	银纹夜蛾	总虫口	豆天蛾	银纹夜蛾	
CbNPV 单施	103	15	88	91	11	80	11.7	73.3	9.1	16.8
PaNPV 单施	105	12	93	22	10	12	79.0	16.7	87.1	87.2
混 施	100	14	86	17	4	13	83.0	71.4	84.9	91.4
空白(对照)	90	11	79	94	12	82	-4.4	9.1	3.8	

注:施用浓度:CbNPV为 1.4×10^7 个多角体/ml, PaNPV为 2.4×10^6 个多角体/ml;两者混施保持各单施的浓度

室内和大田试验表明,此株病毒对寄主豆天蛾幼虫有比较强的致病力,尤其是该病毒与苏云金杆菌或银纹夜蛾核型多角体病毒混用,可大大地提高防治效果。国内曾报道小菜蛾和菜粉蝶两种颗粒体病毒混合使用有增效作用^[3],认为是两种颗粒体病毒交叉感染增加了幼虫对病毒的敏感性,起到了促进感染的结果。也报道了菜粉蝶颗粒体病毒与银纹夜蛾核型多角体病毒混合使用^[4],防治效果的提高主要是混合使用弥补了病毒单施寄主专一性强的缺点,增加了防治害虫的种类。豆天蛾核型多角体病毒与苏云金杆菌、银纹夜蛾核型多角体病毒混合使用,能同时有效地控制豆天蛾和银纹夜蛾这两种大豆主要害虫的危害,从而大大地提高了防治效果。

鸣谢 段宗利、董光泉、陈洪财、段玉美等同志做了大量的田间试验工作;济南军区总医院电镜室协助拍摄照片,在此一并致谢。

参 考 文 献

- 1 朱弘复等编著 蛾类图册第二号.北京:科学出版社,1980,41
- 2 梁东瑞,胡远扬等.中国昆虫病毒图谱.长沙:湖南科学技术出版社,1986,113~117
- 3 刘年翠,梁东瑞.小菜蛾和菜粉蝶颗粒体病毒混合感染试验和大田应用效果.病毒学集刊,1979,72~78
- 4 孙发仁,高玉英.两种昆虫病毒混合使用试验.生物防治通报,1992,8(1):33~35
- 5 Matthews REF. Classification and Nomenclature of Viruses. Fourth Report of ICTV. Intervirology, 1982, 17(1~3): 1~200

Studies on the Nuclear Polyhedrosis Virus Disease of *Clanis bilineata tsingtauca* Mell

Sun Faren Wang Huaikuan

(Taian Scientific and Technical Garden for Vegetable Basket, Taian 271000)

Ji Min

(Taian Institute of Agricultural Sciences, Taian)

Abstract In August 1981, a nuclear polyhedrosis virus (NPV) was isolated from dead larvae of *Clanis bilineata tsingtauca* Mell in the laboratory. Under electron microscopy the polyhedra were seen as nearly rounded and hexagon in shape, varying from 0.6 to 2.0 micron in diameter. The virus particles liberated from the polyhedra in 0.05 mol / L Na_2CO_3 and 0.05 mol / L NaCl were rod shape with rounded ends, measured 50×320 nm.

Bioassay conducted in the laboratory showed that the medium lethal concentration (LC_{50}) was $1.4 \times 10^{4.8}$ polyhedra / ml, $y = 3.24 + 0.54x$. Field tests showed that the mortality of the larvae may reach 70% by spraying with the polyhedral suspension. Mixed application of the CbNPV and PaNPV, or CbNPV and *Bacillus thuringiensis*, was tested in the field, over 90% mortality was obtained.

Key words: *Clanis bilineata tsingtauca*; Nuclear polyhedrosis virus (NPV); bacillus thuringiensis; Efficiency of control.