

山楂粉蝶核型多角体病毒研究

李 岩 涛

(内蒙古农牧学院, 呼和浩特)

摘 要

1984、1985年的试验结果, 明确了温度、紫外光、日光及缓冲液pH值等几种物理因素对山楂粉蝶核型多角体病毒Acr NPV感染力的影响。Acr NPV分别在40℃冰箱中保存14个月、28个月和在果园树干上保留14个月的Acr NPV虫尸, 对幼虫的感染力无明显变化。Acr NPV存32℃恒温处理后, 其感染力随时间延长而逐渐下降。紫外光对Acr NPV杀伤力较大, 当紫外光照射240分钟后, Acr NPV完全丧失了对幼虫的感染力。果园试验表明Acr NPV悬液喷在果树叶正面和背面时, 对幼虫的感染力有差异。Acr NPV对幼虫的感染力和磷酸缓冲液的pH值有关, 当pH值为3.5或10.5时, 感病幼虫发病慢, 当pH值为7.2时, 幼虫发病快。

关键词 山楂粉蝶核型多角体病毒 感染力 物理因素

前 言

山楂粉蝶 *Aporia Crataegi* L. 是果树芽蕾期和林木的主要害虫。自1982年采集并分离出山楂粉蝶核型多角体病毒 (简称Acr NPV) 以来, 对其生物学特性曾做了部分研究^[1]。对其它昆虫核型多角体病毒的研究, 国内外已有很多报道^[2、3、4]。为了明确Acr NPV在生物防治中的应用价值, 我们特于1984、1985两年就温度、紫外光、日照、pH值和保存病毒的场所及时间等物理因素对其感染力的影响做了试验研究。现将结果报道如下。

试 验 材 料

山楂粉蝶的NPV是1983年6月在土右旗板申气果园采回的感病幼虫和蛹, 经1984年增殖和差异离心获得的, 并经血球计数器计数而成。

供试幼虫采自无病毒发生的土右旗北什吐果园。饲喂幼虫的苹果枝叶采自本院大果园。

结果与分析

一、Acr NPV在35℃恒温水浴箱中处理不同时间后的感染力

将浓度 2.18×10^7 PLB/ml的Acr NPV病毒液置于35℃恒温水浴箱中经过不同时间处

理后,取出分别喷在已备好的大小相似的苹果枝叶上,然后插入装有沙土、水的养虫瓶中。试验共分6个组,每组重复3次,并以无菌水处理的作为对照,每组接入四龄虫20头,逐日观察不同温度对Acr NPV感染力的影响,全程7天,结果见表1。

表1 Acr NPV经35℃恒温处理不同时间后的感染力

| 项 目 序 号 | 处理时间 (小时) | 死亡率 (%) | 校正死亡率 (%) |
|------------|-----------|---------|-----------|
| 1 | 12 | 96.8 | 96.7 |
| 2 | 24 | 74.2 | 73.3 |
| 3 | 36 | 61.3 | 60.0 |
| 4 | 48 | 59.4 | 58.1 |
| 5 | 60 | 50.1 | 48.5 |
| 6 | 72 | 22.4 | 19.8 |
| 4℃ | — | 97.5 | 97.4 |
| 无菌水 | — | 3.2 | — |

实验结果表明,Acr NPV经35℃恒温水浴箱中处理12—24小时后,对病毒的感染力影响不太大,感病幼虫的死亡率仍在70%以上。处理36小时,感病幼虫死亡率在60%左右。当时间延长到48—72小时,Acr NPV随着处理时间增长,对幼虫的感染力明显下降,感病幼虫的死亡率从58.1%降到19.8%。直到72小时,Acr NPV的感染力仍没有全部丧失。这说明,Acr NPV在35℃左右温度下,具有一定的稳定性。

Acr NPV这一特点和国内外已报道的其它昆虫NPV所做试验结果是一致的。

二、Acr NPV经日光照射不同时间后的感染力

将浓度 2.18×10^7 PLB/ml Acr NPV病毒液均匀喷在苹果树叶的正面和背面,做好标记,隔日摘取两种处理的枝叶饲喂3—4龄幼虫,经24小时后换无病毒的枝叶饲喂,其它处理同上,供试验幼虫各组皆40头,重复2次。以后逐日观察各组日照射对Acr NPV感染力的影响,全程8天。结果见表2。

从试验结果观察到Acr NPV喷洒在苹果枝上,不管在枝叶的正面还是背面,其感染力在4天内均无明显的变化,感病幼虫的死亡率仍在86%以上。直到第6天,喷洒在叶正面的Acr NPV因终日被阳光直射,对幼虫的感染力下降较快。因此,Acr NPV的感染力出现了明显的差异,感病幼虫的死亡率降至60.5%。到第8天、第10天,两种处理的Acr NPV对幼虫的感染力都显著下降,感病幼虫的死亡率为30.0%和16.5%。

Acr NPV在田间丧失感染力的主要原因是阳光中含有紫外线的灭活作用所致。实验结果还说明,喷洒在果树上的Acr NPV,对幼虫的感染力最少在4天内无明显变化。这为采用此种病毒进行生物防治,提供了一定的依据。

三、紫外光直接照射Acr NPV后的感染力

将浓度 2.18×10^7 PLB/ml Acr NPV悬液,均匀涂抹在叶面积大小相似的苹果叶片上(每片叶涂0.1ml),在30瓦紫外线灯下,相距40cm处照射15—240分钟(每增15分钟为一

表 2 Acr NPV经日光处理不同时间后的感染力

| 序 号 | 处理 方式 | 取样时间 (天) | 死亡率 (%) | 校正死亡率 (%) |
|-----|----------|----------|---------|-----------|
| I | 叶面 | 2 | 95.0 | 94.9 |
| | 叶背 | 2 | 95.0 | 94.9 |
| | 对照 | 2 | 2.0 | |
| II | 叶面 | 4 | 86.0 | 85.9 |
| | 叶背 | 4 | 94.5 | 94.4 |
| | 对照 | 4 | 1.0 | |
| III | 叶面 | 6 | 60.5 | 60.5 |
| | 叶背 | 6 | 85.5 | 85.5 |
| | 对照 | 6 | 0.0 | |
| IV | 叶面 | 8 | 30.5 | 28.0 |
| | 叶背 | 8 | 55.5 | 54.0 |
| | 对照 | 8 | 3.0 | |
| V | 叶面 | 10 | 16.5 | 16.5 |
| | 叶背 | 10 | 30.0 | 30.0 |
| | 对照 | 10 | 0 | |

组)，共16组，以无菌水和未照射的作为对照。各组幼虫40头，重复2次处理后，取出饲喂4龄幼虫，每头饲喂一片叶，喂完更换新鲜无毒叶片，观察Acr NPV经紫外光处理后的感染力，全程8天。结果见表3。

从表3看出，紫外光对Acr NPV的杀伤力较强。在试验所处的条件下，紫外光照射15—45分钟，对Acr NPV的感染力无明显影响，感病幼虫的死亡率仍在90%以上，当紫外光照射60—165分钟时，灭活作用较快，感病幼虫的死亡率由74.5%下降到40.0%左右；当照射180—240分钟时，Acr NPV灭活更快，感病幼虫死亡率由30%降到零。

上述表2、表3试验结果还说明，在应用病毒防治害虫时，应注意到阳光、紫外线对病毒的灭活作用。因此应选择午后喷洒，并尽可能喷在叶片的背面，以减少阳光的直射。或者采用适当的保护剂以减少紫外光的灭活作用，保护病毒的活性。这在生物防治上具有一定的实际意义。

四、不同 pH 值对 Acr NPV 活性的影响

将浓度 2.18×10^7 PLB/ml的Acr NPV病毒液，经pH (3.5—10.5)的磷酸缓冲液处理相同时间后，感染3龄幼虫，试验组每组20头，对照组20头，重复3次，观察不同pH值对Acr NPV感染力的影响，全程8天，结果见表4。

从表4可看出，缓冲液pH值的大小对Acr NPV的感染力有一定的影响：pH值为7.2时，感染幼虫后，其发病快慢和对照相同，感病幼虫死亡率都为97%，潜育期为4.5天；pH

表 3 Acr NPV在紫外线处理不同时间后的感染力

| 序 号 | 照射时间 (分钟) | 幼虫死亡率 (%) | 校正死亡率 (%) |
|-----|-----------|-----------|-----------|
| 1 | 15 | 92.5 | 92.4 |
| 2 | 30 | 90.5 | 90.4 |
| 3 | 45 | 90.5 | 90.4 |
| 4 | 60 | 74.5 | 74.1 |
| 5 | 75 | 62.5 | 61.9 |
| 6 | 90 | 60.0 | 59.3 |
| 7 | 105 | 60.0 | 59.3 |
| 8 | 120 | 51.0 | 50.3 |
| 9 | 135 | 46.0 | 45.1 |
| 10 | 150 | 39.0 | 38.0 |
| 11 | 165 | 40.0 | 39.1 |
| 12 | 180 | 30.0 | 28.9 |
| 13 | 195 | 21.0 | 19.8 |
| 14 | 210 | 14.0 | 12.7 |
| 15 | 225 | 3.5 | 2.0 |
| 16 | 240 | 0 | |
| CK | 未经照射 | 93.0 | 92.9 |
| CK | 无菌水 | 1.5 | |

表 4 Acr NPV的感染力与缓冲液 PH 值的关系

| 缓冲溶液 (pH) | 试虫头数 (头) | 重复次数 | 潜育期 (天) | 死亡率 (%) | 校正死亡率 (%) | 全程 (天) |
|-----------|----------|------|---------|---------|-----------|--------|
| 3.5 | 60 | 3 | 8 | 25.0 | 24.2 | 8 |
| 7.2 | 60 | 3 | 4.5 | 97.0 | 96.9 | 8 |
| 10.5 | 60 | 3 | 7.5 | 31.5 | 30.8 | 8 |
| 不喷 | 60 | 3 | 4.5 | 97.0 | 96.9 | 8 |
| 喷无菌水 | 60 | 3 | | 1.0 | | 8 |

值为3.5和10.5时,对Acr NPV有灭活和抑制作用,感病幼虫的死亡率分别是25%和31.5%,潜育期也延长,分别是8天和7.5天。以上结果,可能因多角体在酸性或碱性条件下,蛋白质很易溶解,使病毒失活所致。

五、保藏条件和时间长短对Acr NPV感染力的影响

将在冰箱 (4℃) 中存放14个月、28个月、室温14—25℃存放14个月和在果园内树主干上存留14个月的Acr NPV虫尸经分离后, 稀释为 2×10^7 PLB/ml 悬液, 均匀喷洒在已备好的苹果树枝叶上, 饲喂3龄幼虫, 每组20头, 重复3次, 观察其对幼虫的感染力, 全程8天, 结果见表5。

表5 Acr NPV在贮藏不同时间和条件下的感染力

| 保 存 条 件 | 保 存 时 间 (月) | 校正死亡率 (%) |
|-------------|-------------|-----------|
| 冰箱 (4℃) | 14 | 97.5 |
| 冰箱 (4℃) | 28 | 95.5 |
| 果园树主干上 | 14 | 75.5 |
| 室温 (14—25℃) | 14 | 73.5 |

从表5结果可看出, 在室温冰箱保藏14个月和28个月的Acr NPV虫尸, 对幼虫的感染力无明显变化。保存在室温下的Acr NPV和果园中树主干上的Acr NPV虫尸, 虽经14个月, 对幼虫感染力仍在70%以上, 说明Acr NPV具有一定的稳定性, 尤其在果园中的Acr NPV虫尸, 虽经一年时间, 其感染力仍很高。在自然界中能长期保存活性的这一特性可作为次代害虫的传染源。因此, 这种病毒一旦进入害虫种群的生态系中, 它就可以通过各种途径和方式传播扩散, 自动的调节控制害虫种群数量的变化。土右旗板串气果园1983年Acr NPV大流行, 1984年和1985年, Acr NPV在果园中仍有一定效果, 从而可知, Acr NPV在害虫防治上具有明显的应用价值。

结 论

一、山楂粉蝶核型多角体病毒 (Acr NPV) 在4℃温度下和不被阳光照射的果园树干上存放1—2年以上, 其感染力变化不大, 但在高温下容易丧失活性。这种特性和其它昆虫NPV病毒的特性是一致的。在果园中的病毒虫尸能保存较长时间的活性, 这对自然控制和调节害虫种群数量能起到积极作用。但对山楂粉蝶NPV的后效作用与其它生态因子的关系以及对其传播、扩散和流行规律需进一步探讨研究。

二、pH值对Acr NPV的稳定性有一定影响。pH值为7.2时, 其感染力不变, 对幼虫的感染力高; pH值为3.5或10.5时, 对山楂粉蝶NPV的感染力都有影响。产生这种结果可能因多角体在碱性条件下蛋白质易于溶解, 而使病毒失活有关。至于该病毒完全丧失活性的pH值及其降解机制尚需进一步试验研究。

三、紫外线对山楂粉蝶NPV有较大的杀伤力。将病毒液涂在果树叶背面, 经6天时间, 感病幼虫死亡率仍在85%以上, 10天感染力才降至30%。如果受到阳光直射, 感染力下降很快, 直射6天, 感病幼虫死亡率下降至60%左右, 到第8天, 感病幼虫的死亡率仅仅是30%。试验说明, 果园中喷洒山楂粉蝶NPV悬液, 最少在5天内其活性变化不大。但时间稍有增

加, 活性就很快丧失。因而在大面积防治上需要加些保护剂, 减少阳光直射, 从而保护和延长病毒的活性。

参 考 文 献

- [1] 李岩涛: 山楂粉蝶核型多角体病毒研究 (一) 《内蒙古大学学报》15 (2) 1984
- [2] 毕坎华等: 菜白蝶的一种新病毒 《微生物学报》23 (4) 1983
- [3] 吕鸿声: 《昆虫病与昆虫病毒病》科学出版社, 1980

A STUDY ON NUCLEAR POLYNEDROSIS VIRUS OF APORIA CRATAEGI

Li Yantao

(Inner Mongolia College of Agriculture and Animal Husbandry, Huhhot)

ABSTRACT

The experiments in 1984 and 1985 showed that physical factors such as temperature ultraviolet light sunlight and pH of the buffer can influence the infectious ability of the Acr NPV.

The infectious ability of the Acr NPV does not vary whether it is stored in a refrigerator at 4°C for 14 months and 28 months or in an infected body that stayed on a tree trunk in an orchard for 14 months.

The infectious ability of the Acr NPV treated at 35°C decreases in relation to the length of treatment. The Acr NPV can be damaged seriously by ultraviolet light and lost its infection ability entirely when it is irradiated for 240 minutes with ultraviolet rays.

Experiments in the orchard show that the infectious ability is different when the Acr NPV suspension is sprayed on the faces and the backs of the leaves.

The infectious ability of the Acr NPV is related to the pH of a phosphatic buffer. The infected larvae fall ill slowly when the pH is at 3.5 or at 10.5 and fall fast when at 7.2.

Key words: Acr NPV (Nuclear Polynedrosis Virus of Aporia crataegi); Infectious ability; Physical factors influence