

## 利用棉铃虫为宿主增殖松毛虫质型多角体病毒\*

陈昌洁 王志贤 陶 粮 刘 革

(中国林业科学研究院林业研究所)

**关键词** 棉铃虫; 松毛虫; 质型多角体病毒

应用细胞质多角体病毒 JDS-CPV 在日本防治赤松毛虫 (*Dendrolimus spectabilis*) 以及在我国台湾省防治马尾松毛虫 (*D. punctatus*) 均取得较好的效果<sup>[1~3]</sup>。自1983年以来, 利用 JDS-CPV 在我国广东、云南、浙江、安徽等省防治松毛虫, 也都具有很好的效果<sup>[4]</sup>。JDS-CPV 的复制, 过去主要是利用林间的松毛虫。如何使之成为周期性的连续生产, 宿主的供应是个需解决的问题。

利用宿主的自然种群, 人工饲料饲养宿主昆虫以及昆虫组织细胞等方式增殖病毒, 是当前昆虫病毒复制的几种方法。JDS-CPV 商品制剂“松开命”(Matsukemin) 的生产主要是利用宿主的自然种群在林间大量复制, 再经室内提取制备而成。此法的缺点是受季节性及虫源限制, 且往往遭到天敌的寄生或感染。Vanderzant<sup>[5,6]</sup>等开创了应用半合成人工饲料大规模地饲养昆虫, 并用于病毒的增殖。Ignoffo(1964)将此法用于粉纹夜蛾 *Trichoplusia ni* NPV 的生产, 以后又用于棉铃虫、黄杉毒蛾、舞毒蛾 NPV 的大量生产<sup>[7]</sup>。

此外, 利用某些病毒可以感染原宿主以外昆虫的特点, 可以选择易饲养、周期短、生物量大、病毒产量高的昆虫为宿主进行病毒工厂化生产, 如加拿大黄杉毒蛾 NPV 的生产<sup>[8]</sup>。但至今未见 CPV 有类似的报道。为了给今后 CPV 工业化生产提供实验依据, 1983~1985年, 利用棉铃虫为宿主进行了 CPV 的感染试验, 现将结果报道于后。

### 一、材料和方法

1. 病毒来源 供试病毒为日本赤松毛虫质型多角体病毒 (*Dendrolimus spectabilis* CPV, 简称 JDS-CPV), 在安徽马尾松毛虫上感染而获得的一种松毛虫 CPV 新毒株。

2. 替换宿主 棉铃虫 *Heliothis armigera* (Ha) 由中国农科院钱纪放、赵永巧同志提供虫卵及饲料配方(配方从略)。

3. 试虫饲养及病毒接种 用 2% 次氯酸钠液处理卵表 2 min, 经清洗后置 28℃, 相对湿度 80%~90% 条件下孵化, 幼虫孵化后 48 h (2 龄) 接病毒, 单管饲养单管接毒, 接毒浓度为 0.056 亿/管, 接毒虫在 28±0.5℃, 相对湿度 80%~90%, 光照 16 h, 黑暗 8 h 条件下饲养。

本文于1989年11月30日收到。

\*工作中曾得到钱纪放先生的大力协助, 中国林科院电镜组协助拍摄电镜照片, 特此一并致谢。

4. RNA提取和电泳方法 多角体、RNA 提取以及 RNA 电泳分析, 参照陶粮等的方法<sup>[9]</sup>。

## 二、结果与分析

1. 人工饲料饲养的棉铃虫, 在28℃条件下完成一个世代需31~32天。卵期3天, 幼虫期11天, 预蛹2~3天, 蛹期10天, 成虫4~5天。在第二龄幼虫时接毒, 每管0.056亿, 接毒后11~12天即可采收。

2. 松毛虫 CPV 接毒棉铃虫幼虫后, 中肠肿胀, 呈白色或黄白色, 为典型的质型多角体病毒病。镜检病肠, 可见到大量多角体(图版 I-1~4)。根据对 146 头棉铃虫幼虫试验, 每头分别以0.056 亿多角体量的感染检查结果表明, 感染率可高达100%。证实棉铃虫不仅可用作松毛虫 CPV 的替换寄主, 而且可在室内控制条件下进行松毛虫 CPV 的大量增殖。

3. 松毛虫 CPV 接毒棉铃虫后, 到采收时, 虫体重量的变异幅度不大(表 1), 平均为 0.38~0.42 g/虫, 多角体产量平均2.83亿/虫。这与林间以松毛虫为宿主大量增殖松毛虫 CPV 时多角体的回收量相近似。从表 1 看出, 各取样间平均每虫多角体产量差异较大, 差数为2.45倍。这可能和取样时间的先后有关。按平均2.83 亿/虫的增殖量, 约18头虫所产生的多角体即可防治一亩林地的松毛虫。

表 1 松毛虫CPV在棉铃虫上的增殖量

项 目 编 号	取 样 数 (头)	总 虫 体 重 (g)	平 均 单 虫 体 重 (g)	总 中 肠 重 (g)	平 均 单 虫 中 肠 重 (g)	多 角 体 总 量 (亿)	平 均 每 虫 多 角 体 (亿)
1	15	6.40	0.42	1.30	0.089	25.27	1.68
2	19	7.60	0.40	1.71	0.090	40.09	2.11
3	22	9.34	0.42	1.78	0.080	69.24	3.15
4	30	11.50	0.38	1.92	0.064	98.31	3.28
5	22	9.35	0.42	1.75	0.079	86.16	3.92

表 2 松毛虫CPV在Ha上增殖后  
室内对松毛虫的感染

供试浓度 (CPB/ml)	供试虫数 (头)	死亡虫数 (头)	死 亡 率 (%)
10 <sup>4</sup>	76	27	35.5
10 <sup>5</sup>	65	40	61.5
10 <sup>6</sup>	66	51	77.3
CK <sub>1</sub>	126	8	6.9
CK <sub>2</sub>	121	12	9.9

注: 试虫为第一代5龄幼虫。

4. 从表 2 看出, 在棉铃虫上增殖的松毛虫 CPV, 对松毛虫也有较高的致死率。这一结果与相同浓度的原病原对原宿主的致死率相似。棉铃虫感病后存活的残留幼虫, 蛹期的死亡率还可达14.8%。

5. 松毛虫病毒与在棉铃虫上增殖的病毒以及棉铃虫自身的病毒, 在包含体外部形态上较难区别, 但似乎棉铃虫病毒以锥形为多, 而松毛虫病毒则多为六角形和近圆形(图版 I-1~4)。根据 CPV-RNA 电泳图谱,

日本原株、安徽感染株和棉铃虫原株, 分属三种不同类型(图版 I-5~8)。日本原株为 9 条带, 10 个基因片段(图版 I-5), 棉铃虫则有 12 条带(图版 I-8)。据钱纪放等的研究<sup>1)</sup>, 棉

1) 钱纪放等, 1986年, 棉铃虫质型多角体病毒的基础与应用研究(待发表)。

铃虫病毒的基因组可能有14条带以上,甚至多达16个基因片段。而松毛虫 CPV 在棉铃虫上的感染材料则兼具两株病毒的 RNA 带谱。这可分析为既有感染,也有诱发,属两株病毒的混合物(图版 I-7)。JDS-CPV 在安徽马尾松毛虫上的感染株与原株的 RNA 带谱也不完全相同。安徽感染株在 6、7 带处各多出一条带,经多次复制,其带谱稳定(图版 I-6)。

以上试验结果表明,松毛虫 CPV 无论在松毛虫上以及棉铃虫上的感染株,对松毛虫种群都可产生较好的控制效果。以棉铃虫为宿主增殖松毛虫 CPV 是完全可行的。

### 参 考 文 献

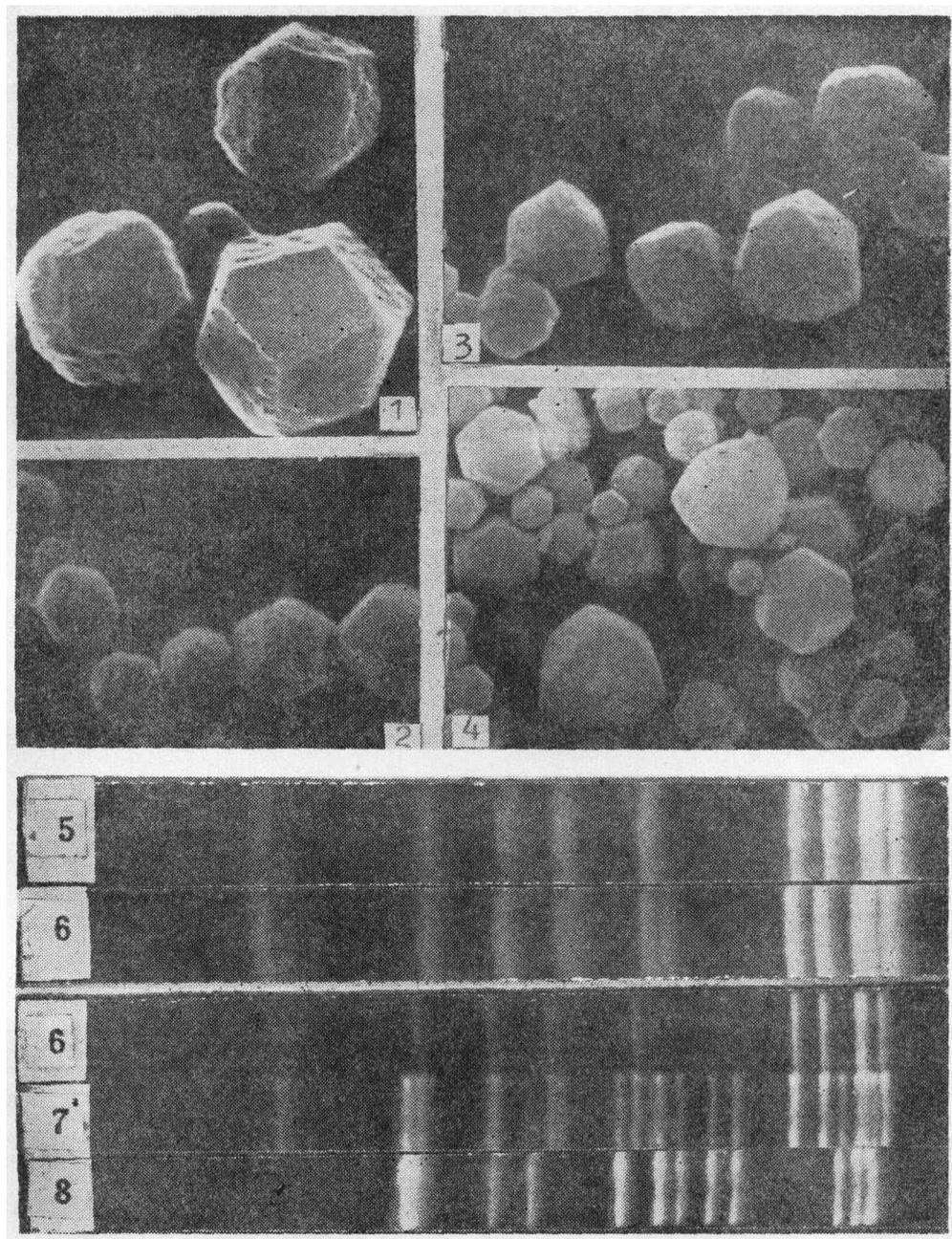
- [1] Koyama, R., 1966, On the control of the pine caterpillar using Smithiavirus, *Trans 11th J. Jap. For. Soc.* (In Japanese), 359~374.
- [2] Ying, S. L., 1970, Application of *Isaria* sp., Cytoplasmic Polyhedrosis Virus and *Bacillus thuringiensis* against the pine caterpillar *Dendrolimus punctatus*, *Q. J. Chinese For.*, (4), 51~68.
- [3] Ying, S. L., 1986, A decade of successful control of pine caterpillar *Dendrolimus punctatus* by microbial agents, *Forest Ecology and Management*, (15), 69~74.
- [4] 陈昌洁等, 1988, 赤松毛虫质型多角体病毒的引进和利用研究, *林业科学研究*, 1(1):14~24.
- [5] Vanderzant, E. S., et al., 1962, The role of ascorbic acid in the nutrition of three cotton insects, *J. Ins. Physiol.*, 8:287~297.
- [6] Vanderzant, E. S., et al., 1962, Rearing of the bollworm on artificial diet, *J. Econ. Entomol.*, 55: 140.
- [7] Shapiro, M., 1982, *Microbial and viral pesticides* (Edited by Edouard Kurstak), 463.
- [8] Cunningham, J. C., 1983, Two viruses granted temporary registration in Canada, *Newsletter*, 2(2), 4~5.
- [9] 陶粮等, 1988, 七株松毛虫质型多角体病毒 RNA 基因图谱比较研究, *林业科学*, 24(1):28~33.

## THE REPLICATION OF *DENDROLIMUS PUNCTATUS* CPV BY *HELIOTHIS ARMIGERA*

Chen Changjie Wang Zhixian Tao Liang Liu Ge  
(The Research Institute of Forestry CAF)

**Abstract** This study deals with the replication of *Dendrolimus punctatus* CPV by the cotton bollworm *Heliothis armigera*. The results show that *D. punctatus* CPV not only can be replicated by *H. armigera* but also can induce the virus of the host. Under the condition of average weight 0.41 g per larvae,  $2.84 \times 10$  PIB were reproduced by each larva. A satisfactory result obtained after using this virus replicated on *H. armigera* to control *D. punctatus*.

**Key words** *Heliothis armigera*; *Dendrolimus punctatus*; CPV



1~4. 不同毒株的多角体形态 1.日本赤松毛虫原株(9 310×), 2.日本赤松毛虫原株经棉铃虫复制后在松毛虫上的复制株(1 000×), 3.棉铃虫原株(9 500×), 4.棉铃虫原株在松毛虫上的复制株(7 950×)

5~8. 不同毒株的 CPV-RNA 电泳图谱 5.日本赤松毛虫原株, 6.日本赤松毛虫原株在安徽松毛虫上的复制株, 7.安徽复制株在棉铃虫上的复制株, 8.棉铃虫原株