

SINPV 对斜纹夜蛾幼虫的侵染阈值*

张文军

古德祥

(中山大学昆虫学研究所、生物防治国家重点实验室, 广州 510275)

摘 要 斜纹夜蛾核型多角体病毒(SINPV)对斜纹夜蛾幼虫的侵染阈值因温度和虫龄而异, 虫龄愈大, 温度愈高, 则侵染阈值也愈大. 在 20~40℃内, 3 龄幼虫的侵染阈值为 9 090.9~666 666.7 PIBs/头, 5 龄幼虫为 131 578.9~714 285.7 PIBs/头. 随温度升高, 各龄幼虫的侵染阈值差异逐渐减少, 接种量为 2×10^6 PIBs/头左右及高于 2×10^7 PIBs/头时, SINPV 自身似有一定的共生作用和拮抗作用. 作为病原体侵染阈值、致病性及寄主抗病性的指标, 侵染阈值优于 LD₅₀和 LC₅₀, 为解决病原体密度阈值的获取提供了一定的基础.

关键词 斜纹夜蛾, 核型多角体病毒(SINPV), 侵染阈值, 计算方法

分类号 Q 965.8

病原体密度是决定昆虫流行病爆发最重要的因子之一^[1~3], 而密度阈值是经济、有效地应用病原微生物防治农作物害虫的基本依据, 它有助于害虫流行病的预测预报以及选择适宜的病原检测技术. 然而, 对病原体的理论侵染阈值目前仍然缺乏基本的了解, 只能从 LD₅₀, LC₅₀及大田应用中估计^[1,2], 大量研究表明, 病原体密度达到阈值以上时, 再增加病原量不能显著地增大寄主昆虫的发病率^[1,2], 从而呈现出病原体的重叠侵染性质. 本文首次以重叠侵染转换法获取斜纹夜蛾核型多角体病毒(SINPV)的侵染阈值, 分析侵染阈值随温度和虫龄的变化规律, 为解决病原体密度阈值问题提供一定的基础.

1 材料与方 法

取斜纹夜蛾新鲜卵块, 以 10% 甲醛溶液浸泡消毒, 蒸馏水冲洗并甩干, 孵化后用干净白菜叶片饲喂至 3 龄和 5 龄备用. 同时, 准备 20, 25, 30, 35, 40℃ 5 个恒温箱, 保持箱内相对湿度 50%~70%, 普通日光灯照明, 光照时间 14 h/d.

取 SINPV 纯品配制为 8×10^{11} PIBs/L 的原液, 然后以 10 倍稀释法, 配制成 8×10^{11} , 8×10^{10} , 8×10^9 , 8×10^8 及 8×10^7 PIBs/L 的多角体悬浮液备用.

每温度、每 SINPV 浓度组试 15~20 头的 3 龄幼虫, 单头置放入直径 3 cm、高 5 cm 的塑料瓶中, 瓶内放置有涂沫了 25 μL SINPV 液的干净白菜叶(直径 8 mm)1 片, 对照组为无菌水涂叶. 试验前, 幼虫饥饿 12 h, 取食 24 h 后, 换以无毒干净白菜叶片饲喂, 逐日记载各

* 国家自然科学基金资助项目

收稿日期: 1995-10-30 张文军, 男, 32 岁, 博士后

瓶的虫龄和病死时间,并抽样镜检.5龄幼虫的饲毒试验与3龄幼虫相同.

1.1 重叠侵染

在一定的昆虫寄主群体或个体中,可供病原体侵染的位点数目有限,病原体接种量较高时将发生位点重叠侵染,但同位点重叠侵染只造成一次发病^[4].设寄主各位点的感染病性均匀一致,病原体随机侵染寄主位点,根据 Poisson 分布,单个位点被侵染 i 次的概率

$$P_i = e^{-m} m^i / i! \quad i = 0, 1, 2, \dots$$

其中, m 为单个位点被侵染的平均次数, e^{-m} 为位点不被侵染的概率.从而就有 $e^{-m} = 1 - y$, y 为寄主的发病百分率,该式等价于

$$m = -\ln(1 - y) \quad (1)$$

1.2 侵染阈值

寄主昆虫发病所需的最低数量的病原体接种量即为病原体的侵染阈值(TI)^[1].显然,侵染阈值与寄主昆虫的虫龄、温度等因素有关,且是侵染概率的倒数.侵染概率为发病点数与病原体接种量之比,根据(1)式,以群体百分率计,侵染阈值可由回归方法计算

$$100m = a + x/TI \quad (2)$$

式中, a 为常数, TI 为侵染阈值, x 为病原体接种量, $100m$ 为寄主群体发病点数.

2 结果与讨论

2.1 不同温度与虫龄下 S1NPV 的 TI

本试验主要讨论 S1NPV 对斜纹夜蛾的致死效应,因此,所求阈值确切而言应为致死阈值.但据外部症状和解剖镜检,病死率与染病率接近,故以 TI 进行分析.

2.1.1 各温度、虫龄及饲毒量下的幼虫病死率 3龄和5龄斜纹夜蛾幼虫在不同温度和饲毒量下的病死率(%)列于表1中.

表1 不同虫龄(I)、温度(T)及饲毒量下的幼虫病死率/(%)

Tab.1 Larval mortality under different instars, temperatures and S1NPV dosages

I /龄	$T/^\circ\text{C}$	饲毒量(PIBs/头)					
		0	2×10^3	2×10^4	2×10^5	2×10^6	2×10^7
3	20	0	7.14	53.33	86.67	93.33	100
	25	0	40.00	46.67	46.67	86.67	93.33
	30	0	46.67	46.67	—	66.67	80.00
	35	0	33.33	91.67	—	90.91	90.00
	40	0	30.00	20.00	—	37.50	41.67
5	20	0	28.57	40.00	40.00	73.33	85.71
	25	0	0	0	45.46	44.44	60.00
	30	0	26.67	26.67	20.00	40.00	53.33
	35	0	50.00	53.85	—	73.33	46.15
	40	0	40.00	33.33	—	42.86	46.67

2×10^5 PIBs/头中,部分处理近热源,造成意外死亡,故不计在内

2.1.2 TI 与 T 的关系 对应于(2)式的回归参数(a 和 TI)见表2所示,显然,随温度升高, S1NPV 的 TI 急促上升,关系如下:

3 龄: $TI = 445.5658 e^{0.18447I}$, $r = 0.9239$, $n = 5$ (数据数, 下同)

5 龄: $TI = 44271.5063 e^{0.06277I}$, $r = 0.7775$, $n = 5$

表 2 各温度下不同虫龄的 SINV 侵染阈值回归参数

Tab. 2 Regressional parameters for acquiring TI of SINV to different instars under different temperatures

$T/^\circ\text{C}$	3 龄期			5 龄期		
	a	$TI(\text{PIBs}/\text{头})$	$n/\text{头}$	a	$TI(\text{PIBs}/\text{头})$	$n/\text{头}$
20	62.2237	9090.9091	5	48.8419	131578.9474	6
25	68.7206	93457.9439	6	21.5782	270270.2703	6
30	55.0166	181818.1818	5	25.5155	384615.5965	6
35	126.7725	175438.5965	5	—	210509.4750	—
40	24.9936	666666.6667	5	35.7323	714285.7143	5

35 $^\circ\text{C}$ 下 5 龄幼虫因高接种量 SINV 的拮抗作用, TI 值经计算无意义, 由文中方法内插得到

在 35 $^\circ\text{C}$ 下, 3 龄和 5 龄幼虫的 TI 有一定下降, 形成阈值谷. 该现象并非误差所致, 而是 SINV 与幼虫的发育温度差异造成的一种叠合特征, 有关内容将另文专述.

定义同温度下 TI 的龄间差异 (D) 为 $D = [TI(5\text{ 龄}) - TI(3\text{ 龄})] / TI(5\text{ 龄}) \times 100\%$
 则 20, 25, 30, 40 $^\circ\text{C}$ 下的 D 分别是 93.09%, 65.42%, 52.73%, 6.67%, 从而有关系

$$D = 17.3934 e^{-0.13287I}, \quad r = -0.9545, \quad n = 4 \quad (3)$$

随温度升高, TI 的 D 逐渐减少, 因为高温对高龄幼虫的抗病性影响较低龄幼虫更大, 使其抗病性与低龄幼虫趋于一致. 高温下 SINV 对各龄幼虫的侵染效果差异不大.

以(3)式内插, 得到 35 $^\circ\text{C}$ 下 SINV 对 5 龄幼虫的 TI 为 210509.475 PIBs/头(表 2).

2.1.3 侵染阈值与虫龄的关系 在一定温度下, 幼虫虫龄高, 则 SINV 的 TI 也较大. 从而表明虫体抗病性愈强, 与过去对龄间抗病性一般规律的有关报道相同^[1-3].

研究表明, 幼虫抗病性随龄期的变化与虫龄有关^[1,2]. 因此, 可用 Malthus 方程

$$TI = ae^{bI}$$

描述各温度下 SINV 的 TI 与虫龄 (I) 的关系, 并以此内插或外推该温度下 1, 2, 4, 6 龄幼虫的 TI (见表 3). 根据表 2, 3, 随幼虫龄期增大, 35 $^\circ\text{C}$ 左右的阈值谷有加深的趋势.

表 3 各温度下不同虫龄 SINV 的 TI 内插和外推值

Tab. 3 Interpolation and extrapolation on (TI) of SINV to different instars under different T

$T/^\circ\text{C}$	1 龄	2 龄	4 龄	6 龄
20	628.1205	2389.7212	34590.4174	500684.7640
25	32315.4396	54951.1782	158895.2406	459456.8914
30	85948.8387	125004.8105	264423.5625	559337.0375
35	146207.4876	1610152.5439	192159.6930	230563.6033
40	622224.4134	644065.7525	690075.3682	739371.7366

综合 SINV 的 TI 与 T 和 I 的关系, 得如下回归式

$$TI = -700977.1 + 25027.85T + 58478.74I, \quad r = 0.8297, \quad n = 10$$

2.2 高接种量下 SINV 的拮抗作用和协生作用

比较各温度、虫龄下群体发病点数的回归值和实际值(图 1), 可以发现, 当 SINV 的

接种量在 2×10^6 PIBs/头左右时,实际发病点数一般高于回归值,说明 SINPV 的侵染似乎存在着一定的自身协生作用(增效作用),接种量大于 2×10^7 PIBs/头时,侵染表现拮抗作用的趋势.自身拮抗作用或协生作用的存在范围及其强度对了解昆虫病原物的侵染机制有重要意义,也关系到病原体田间施用的剂量与效果,过去缺乏定量研究. TI 方法可作为自身作用的一种检测技术.

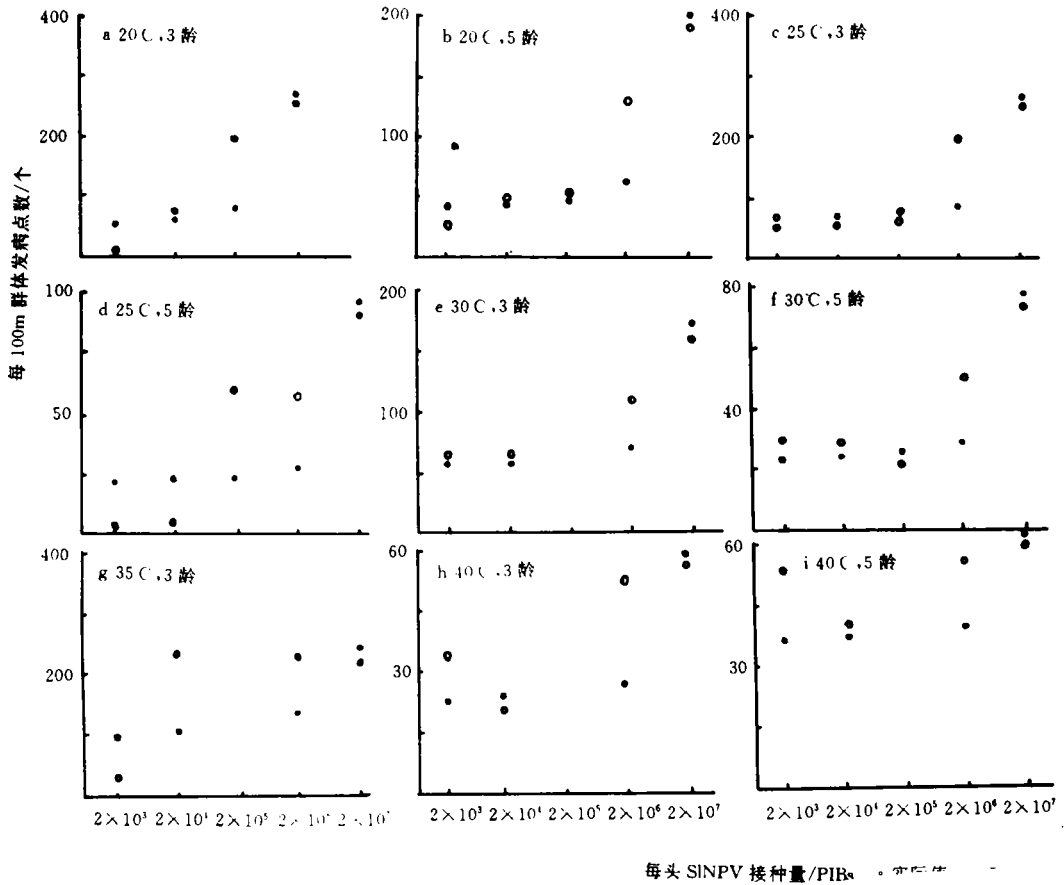


图 1 斜纹夜蛾幼虫发病点数和 SINPV 接种量的关系

Fig. 1 The relationship between larval incidence of *Spodoptera litura* F. and inoculum number of SINPV

2.3 TI 和 LD₅₀的关系

用机率值方法分析不同温度下各虫龄的 SINPV 致死中量(LD₅₀),结果见表 4.显然,在 35°C 和 40°C 下,5 龄幼虫的 LD₅₀值均小于 3 龄,即 5 龄抗病性弱于 3 龄,与实际情况不符.3 龄幼虫的 LD₅₀值在 20~35°C 内不断下降,此后上升,与事实也不尽相同.此外,部分虫龄和温度下(如 30°C 的 5 龄及 40°C)的 LD₅₀超出试验观察 50%病死率对应的 SINPV 接种量达数百倍,从而表明,LD₅₀的代表性远差于 TI 值.

表 4 SINPV 在不同温度下不同虫龄的 LD₅₀Tab. 4 LD₅₀ for SINPV infection to different instars under different temperatures /PIB_s · 头⁻¹

T/°C	20	25	30	35	40
3 龄	28 415. 741 5	23 310. 925 9	13 473. 995 7	452. 28	2 363 730 338. 0
5 龄	100 501. 695 4	3 932 303. 633 0	68 882 880. 28	4. 1813	1 934 986 364. 0

LD₅₀未充分考虑病原体的重叠侵染效应,在计算原理上,属经验拟合方法,未揭示病原体侵染寄主的定量机制,与 *TI* 有本质的不同,*TI* 在原理上优于 LD₅₀,对另一指标 LC₅₀,因未反映病原体的绝对摄入量,其效果自然比 LD₅₀更差^[1].从表 4 可见,SINPV 的 LD₅₀值从总体上高于 *TI*,正好反映了这样一种推测和观察,即 LD₅₀等通常高于自然发生的病原阈值^[2].从另一侧面证明了 *TI* 的正确性.由此可知,作为昆虫抗病性及病原体致病性的指标,*TI* 同样优于 LD₅₀和 LC₅₀.而且,计算 *TI* 与 LD₅₀等指标所需的数据资料一致,为获取 *TI* 提供了方便的途径.

参 考 文 献

- 1 Tanada Y, Kaya H K. Insect Pathology. San Diego:Academic press, 1993. 607
- 2 Fuxa J R, Tanada Y. 昆虫疾病流行病学(王丽英等译).北京:北京农业大学出版社,1992. 104~105
- 3 蒲蜚龙. 昆虫病理学. 广州:广东科技出版社,1994
- 4 Gregory P H. The multiple-infection transformation. Ann Appl Biol, 1948, 35:412~417

Infection Threshold of SINPV to Larva of *Spodoptera litura* F.

Zhang Wenjun* Gu Dezhang

Abstract The point location of insect is randomly and independently infected by the infectious pathogens. After the multiple-infection has been taken into account in total point locations, the infection threshold(*TI*) of the pathogen can be calculated. The results shown that the *TI* of nuclear polyhedrosis virus of *Spodoptera litura* F. (SINPV) was positively related to temperature and larval instars. Under the temperature of 20°C to 40°C, the *TI* for 3rd instar were between 9 090. 9 PIBs and 666 666. 7 PIBs per larvae, and for 5th instar were between 131 578. 9 PIBs and 714 285. 7 PIBs per larvae. The *TI* differences between different instars were gradually reduced with the rising temperature. In some inoculum numbers, the infection of SINPV have certain self-antagonism and selfmutualism. As the indices describing infection threshold, pathogenicity, and disease-resistance of insect, the *TI* is superior to LD₅₀ and LC₅₀.

Keywords *Spodoptera litura* F., nuclear polyhedrosis virus, infection threshold, algorithm

* Institute of Entomology and State Ker Laboratory for Biology Control, Zhongshan University, Guangzhou 510275

花生种子活力的形成*

林 鹿

傅家瑞

(华南理工大学轻工食品学院, 广州 510641)

(中山大学生物学系)

摘 要 种子活力形成于种子发育过程. 花生种子发育过程中, 贮藏蛋白质、蛋白酶和热稳定蛋白与种子活力有密切关系. ABA 在种子活力形成过程中具有重要的调控作用.

关键词 花生种子, 活力形成, 脱落酸, 贮藏蛋白质, 蛋白酶, 热稳定蛋白

分类号 Q 945. 65

种子活力包括活力形成和活力表达这两个方面. 以往对种子活力的研究大都集中在收获后的种子劣变及其对活力表达的影响等方面^[1], 而对种子发育过程中活力形成机制的研究报道尚少. 本文对种子发育过程中 ABA、贮藏蛋白质、热稳定蛋白及蛋白酶与种子活力的关系进行研究, 以探讨花生种子活力形成的机制, 为优质和高活力种子的生产提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 植物材料

供试花生 (*Arachis hypogaea* L.) 品种为粤油-116, 种植于中山大学试验小区内. 开花后挂牌标记果针入土时间, 按规定天数收集第一侧枝上第一和第二节的花生荚果, 根据大小、果壳花纹和种皮颜色选取发育一致的荚果和种子供试验用. 部份材料立即贮藏于 -40℃ 中供测定用.

1.2 离体胚培养

按黄上志和傅家瑞^[2]的方法, 采用 MS 培养基的无机成份和 B5 培养基的有机成份, 液体振荡培养. Fluridone (美国 Texas A&M 大学 J. D. Smith 教授赠送) 和 ABA (Sigma 公司产品) 经溶解后按规定浓度加入. 每组 20 瓶, 三次重复, 每瓶培养液 16 mL, 放入 3 粒胚 (去种皮的种子), 在 26℃ 条件下黑暗中培养.

1.3 发芽试验

采用垂直板直立发芽法, 每板 10 粒胚 (去种皮的种子), 3 次重复, 在 26℃ 条件下黑暗

* 国家自然科学基金和广东省自然科学基金资助项目

收稿日期: 1996-01-29 林鹿, 男, 32 岁, 中山大学 1994 届理学博士