



A Simple Method for Purification and Quantitation of *Plutella xylostella* Granulosis Virus 【Research report】

小菜蛾顆粒體病毒之純化及簡易計量法【研究報告】

Shu-Tzeng Lee and Cheng-Jen Shih

李淑增、石正人*

*通訊作者E-mail :

Received: Accepted: 1996/06/06 Available online: 1996/06/01

Abstract

Larvae of *Plutella xylostella* were infected with its granulosis virus (PxGV). The crude extraction from virus-infected larvae was purified by discontinuous sucrose centrifugation. The concentration of PxGV was estimated by the method of mixing PxGV with latex bead, and was observed by transmission electron microscopy. Better results were obtained when the latex bead was diluted to 100 X. Absorbance of the PxGV mixture was measured by a spectrophotometer (Hitachi U-2000) at wavelengths ranging from 200 to 1100 nm. The peak absorbance was located between 200-300nm. The optical densities of different concentrations of PxGV were estimated under various wavelengths, e.g., 280、330、380、400、550 and 800nm. The results showed absorbance of PxGV increased with an increase of concentration, and there was a significant relationship between absorbance and PxGV concentration. When comparing the absorbance at different wavelengths, the absorbance decreased with an increase of wavelength at the same concentration of PxGV.

摘要

小菜蛾顆粒體病毒(*Plutella xylostella* granulosis virus, PxGV)感染幼蟲後，利用非連續性蔗糖梯度離心法，可得純化之顆粒體。將已知濃度之膠體小圓球混合PxGV後，經電顯觀察，可計算PxGV之濃度。其中膠體小圓球稀釋倍數為100倍時，其個數與PxGV之個數相當，較易觀察。利用光譜儀測定PxGV之水懸浮液，在波長為200-1100nm之範圍內，其吸光值高峰200-300nm之間。以光波長為280、330、380、400、550及800nm，分別測定不同PxGV濃度時，各波長之吸光值變化，結果在同一波長時，吸光值隨供試PxGV之濃度增加而增加，二者之間有極顯著之相關性。利用迴歸分析可求得吸光值(Y)與顆粒體濃度(X)之迴歸曲線。以波長為400nm者為例，二者之迴歸相關曲線為 $Y=e^{-23.18+2.25X}$, $R^2=0.99^{**}$ 。利用此種迴歸相關曲線，可從顆粒體懸浮液之吸光值，計算顆粒體之濃度。比較不同波長之吸光值，得知同一濃度之PxGV，其吸光值隨測試波長之增加而減少，此顯示低波長之吸光值對PxGV之濃度測定較為有利。

Key words: *Plutella xylostella*, granulosis virus, absorbance, latex bead

關鍵詞: 小菜蛾、顆粒體病毒、吸光值、膠體小圓球。

Full Text:  [PDF \(7.73 MB\)](#)

下載其它卷期全文 Browse all articles in archive: <http://entsocjournal.yabee.com.tw>

小菜蛾顆粒體病毒之純化及簡易計量法

李淑增 石正人* 國立臺灣大學植物病蟲害學系 臺北市羅斯福路四段1號

摘 要

小菜蛾顆粒體病毒(*Plutella xylostella granulosis virus*, PxGV)感染幼蟲後,利用非連續性蔗糖梯度離心法,可得純化之顆粒體。將已知濃度之膠體小圓球混合PxGV後,經電顯觀察,可計算PxGV之濃度。其中膠體小圓球稀釋倍數為100倍時,其個數與PxGV之個數相當,較易觀察。利用光譜儀測定PxGV之水懸浮液,在波長為200-1100nm之範圍內,其吸光值高峰在200-300nm之間。以光波長為280、330、380、400、550及800nm,分別測定不同PxGV濃度時,各波長之吸光值變化,結果在同一波長時,吸光值隨供試PxGV之濃度增加而增加,二者之間有極顯著之相關性。利用迴歸分析可求得吸光值(Y)與顆粒體濃度(X)之迴歸曲線。以波長為400nm者為例,二者之迴歸相關曲線為 $Y=e^{-23.18+2.25X}$, $R^2=0.99^{**}$ 。利用此種迴歸相關曲線,可從顆粒體懸浮液之吸光值,計算顆粒體之濃度。比較不同波長之吸光值,得知同一濃度之PxGV,其吸光值隨測試波長之增加而減少,此顯示低波長之吸光值對PxGV之濃度測定較為有利。

關鍵詞: 小菜蛾、顆粒體病毒、吸光值、膠體小圓球。

前 言

小菜蛾為本省重要之蔬菜害蟲,由於化學藥劑之使用,對抗藥性之發生及環境所造成的影響甚為鉅大(Cheng, 1984),因此微生物防治之利用便日漸受到重視(Hou, 1991)。其中顆粒體病毒為小菜蛾之重要病原微生物(Wang and Rose, 1978),在田間普遍存在,可作為防治小菜蛾之用(Su, 1989)。

顆粒體病毒屬於桿狀病毒科(Baculoviridae)真桿狀病毒亞科(Eubaculovirinae),顆

粒體病毒屬(Granulosis virus)(Francki *et al.*, 1991),為昆蟲之重要病原微生物。在我國曾被用來防治小菜蛾及紋白蝶(*Artogeia rapae*),並證實和田間亦具成效(Su, 1987b)。

顆粒體病毒的外形呈卵圓形,直徑約為0.2-0.4 μ m(Harper, 1986),已接近光學顯微鏡之解像極限,很難以普通光學顯微鏡觀察,更遑論計算病毒的個數。但在病毒的研究工作中,精確的定量是一個很重要的基礎。本研究以小菜蛾顆粒體病毒(PxGV)感染幼蟲,經過分離、純化等步驟,觀察其顯微

構造，並以膠體小圓球混合法(mixture with latex bead)來進行顆粒體病毒的計量。另外，為顧及使用上的方便，亦嘗試以光譜儀(spectrophotometer)之吸光值(optical density, OD)來做顆粒體病毒濃度判定的依據，期能提供一套簡便的計量方法，對顆粒體病毒的計量有所幫助。

材料與方法

小菜蛾顆粒體病毒之萃取與純化

PxGV係前蘇智勇博士所遺留之罹病蟲體，由高雄區農業改良場李平全先生贈與。首先在實驗室感染幼蟲並大量生產，顆粒體病毒之純化，參照Yamamoto and Tanada (1978)之方法進行。將罹病幼蟲約200隻以均質機打碎，經四層紗布過濾，以30000xg離心20分鐘，將沉澱溶解在30ml的水中，再離心，此步驟重覆三次，最後將沉澱溶在30ml的水中並以紗布再過濾。取過濾液進行高低速離心，以200xg離心20分鐘收集上清液；再以6000xg離心20分鐘收集沉澱，重複此步驟數次，直至得到白色沉澱為止。將沉澱物溶於最少量(約3ml)的水中，進行非連續性蔗糖梯度離心(discontinuous sucrose gradient)。在35ml的超高速離心管中，先放入10ml 80%(w/v)蔗糖懸浮液於底部，上層再注入50%蔗糖懸浮液20ml，最後每管加入顆粒體病毒粗萃取液約2ml，以超高速離心機(Hitachi, SCP85H2)，在4℃下進行離心(70000xg)2小時，收集在不同濃度蔗糖界面所形成的病毒懸浮帶，用3倍體積水稀釋，並以6000xg離心20分鐘，所得沉澱即為高純度的PxGV顆粒體(granule)，保存於4℃冰箱，作為供試病毒來源。

膠體小圓球混合法

此法是將PxGV與大小相似的膠體小圓球(latex, 0.46 μ m, Sigma, Cat. No. LB-5)混合之後，利用穿透式電子顯微鏡觀察，計算膠體小圓球與PxGV的相對數目。穿透式電子顯微鏡樣品之製備，首先取200mesh之金屬銅網，其上以2.5%的弗氏液(Formvar/chloroform)所形成的薄膜作為支持膜(supporting membrane)(Chen *et al.*, 1991)。完成支持膜的製作後，利用滴染法(drop method)，將PxGV顆粒體與膠體小圓球混合液附著於支持膜上，並加以染色。以自夾式鑷子(self-clamping forceps)夾住銅網的邊緣(膜面朝上)，將混合液滴3ml於其上，靜置3分鐘後，以濾紙自邊緣吸去液體，並滴上2%磷鎢酸(phosphotungstic acid, PTA)作為染劑進行負染色(negative stain)，待2分鐘後，用濾紙吸走多餘染劑，風乾後即可利用穿透式電子顯微鏡進行觀察。穿透式電子顯微鏡(transmission electron microscope, TEM)(Hitachi, H-7100)，借用國科會北部貴儀中心之儀器。本試驗膠體小圓球懸浮液之稀釋比例，分別為用水稀釋20、50及100倍，並與PxGV懸浮液等比例混合。

光譜儀之測定

將經電顯觀察後確定濃度之PxGV懸浮液，以光譜儀(Hitachi, U-2000)進行波長掃描(wavelength scan)，測定波長範圍為200—1100nm間之吸光值。取已知濃度的PxGV懸浮液以蒸餾水作2倍體積的連續稀釋，由濃度為 2.56×10^{10} granules/ml，稀釋到濃度為 10^8 granules/ml為止。依波長掃描的結果，挑選出幾個吸光值較高的波長來進行測試。以280、330、380、400、550及800nm等波長進行不同濃度吸光值之測定，所得結果以迴歸曲線求吸光值與濃度之間的相關關係，期能找到一個在病毒液濃度與吸光值間相關性

最高的波長，以作為將來病毒定量之依據。

結 果

利用膠體小圓球混合計算PxGV之濃度

經非連續性蔗糖梯度離心後，可得高純度之PxGV顆粒體。以負染法利用穿透式電子顯微鏡觀察顆粒體，所得結果如圖一。從圖中可知，PxGV顆粒體之呈像不甚理想。此乃因在製備穿透式電子顯微鏡觀察之樣品時，由於進行負染色的時間無法準確掌握，而導致染色過深或過淺，影響觀察之結果。為改進呈像之清晰度，乃直接將PxGV與膠體小圓球混合後，不經鎢磷酸染色，而直接將樣品置於電顯下觀察，可得較佳的效果(圖二)。

為計算二種物體之相對濃度，首先計算試驗添加之膠體小圓球的濃度。膠體小圓球購自Sigma公司，原始為10%之懸浮液，而其濃度之計算可依廠商提供之計算公式求得。

$$\text{number of particles per ml} = \frac{6W \times 10^{12}}{\rho \times \pi \times \varphi}$$

W=grams of polymer per milli liter in latex (e.g., 0.025g for a 2.5% latex)

φ =diameter in microns of latex micropar-

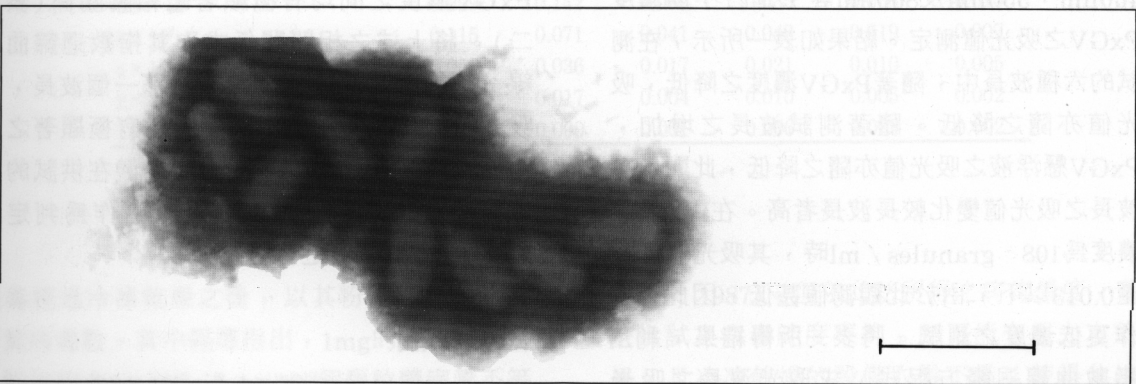
ticles (e.g., 0.46 for Sigma, Cat. No. LB-5)

ρ =density of polymer in grams per milli liter (e.g., 1.0^5 for polystyrene)

依此公式，可得膠體小圓球懸浮液之濃度為 $(6W \times 10^{12}) / (1.05 \times 3.14 \times 0.46) = 2.84 \times 10^{12}$ beads / ml。從圖二之電顯圖片中，可明顯看出兩種形狀的物體，其中圓球形者為膠體小圓球，而卵圓形者即為PxGV。圖二A為膠體小圓球稀釋100倍後與PxGV混合所得結果。計算圖二A中膠體小圓球與PxGV個數的比例，結果為56:30，此時膠體小圓球已稀釋100倍，其濃度應為 2.84×10^{10} bead / ml，據此可推算顆粒病毒的濃度為 1.52×10^{10} granules / ml。圖二B則為膠體小圓球稀釋20倍時之情形，此時膠體小圓球與PxGV之比例為175:13，可求得病毒濃度為 1.05×10^{10} granules / ml。

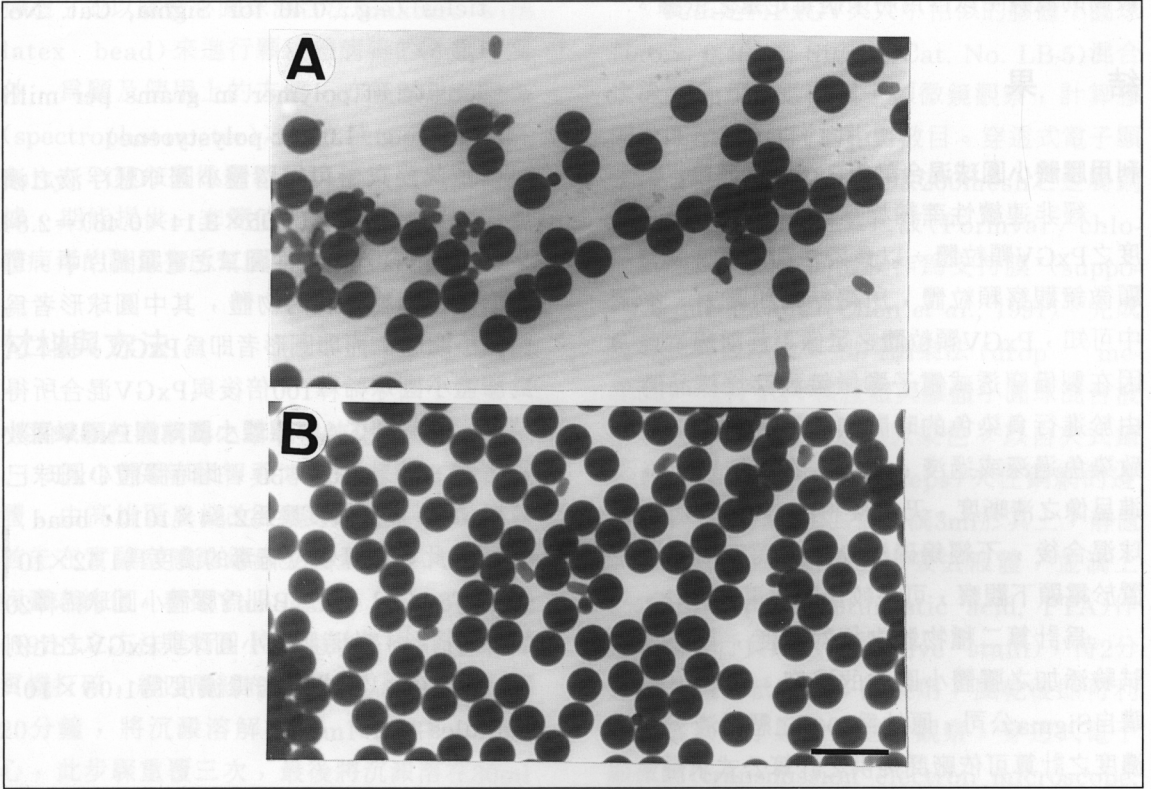
利用光譜儀之吸光值測定PxGV之濃度

從上項電顯觀察中，可計算求得供試之PxGV濃度。將已知濃度之PxGV以蒸餾水稀釋後，利用光譜儀進行波長掃描，所得結果如圖三。從圖三可知，PxGV之吸光值，在所觀測之波長範圍內(200-1100nm)，其吸光高



圖一 利用穿透式電子顯微鏡觀察經磷鎢酸染色之小菜蛾顆粒體病毒。

Fig. 1. Electron micrograph of phosphotungstic acid-stained *Plutella xylostella* granulosis virus. Bar=0.2 μ m.



圖二 穿透式電子顯微鏡觀察小菜蛾顆粒體病毒與膠體小圓球混合之懸浮液。A. 膠體小圓球稀釋倍數為100倍。B. 膠體小圓球稀釋倍數為20倍。

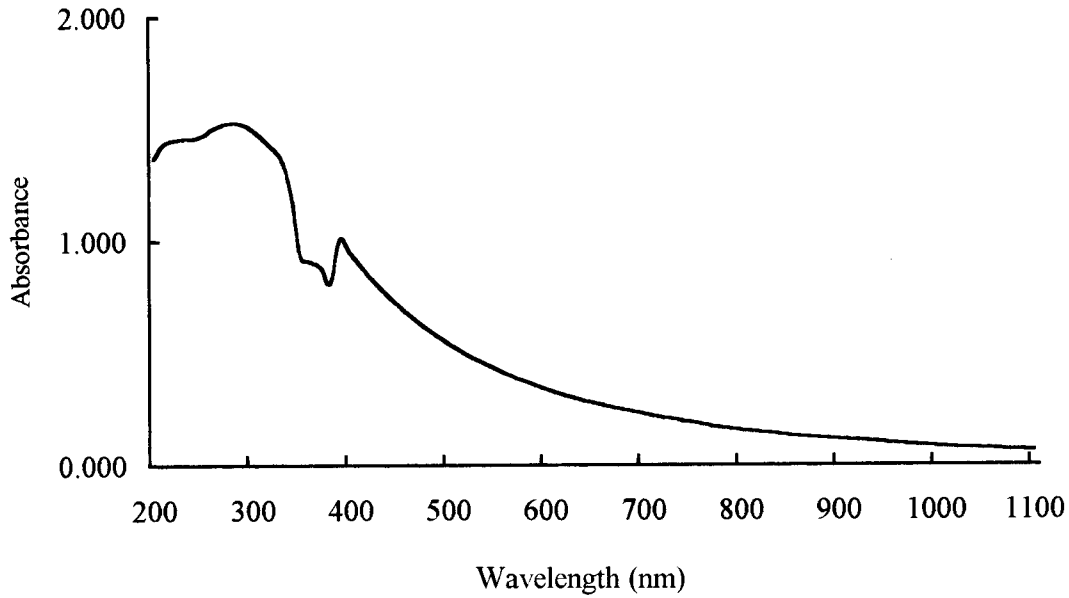
Fig. 2. Electron micrograph of *Plutella xylostella* granulosis virus mixed with latex suspension. A. Latex diluted to 100 X. B. Latex diluted to 20 X. Bar=1 mm.

峰在波長為200—300nm之間。依此結果選定六種不同波長即280nm、330nm、380nm、400nm、550nm及800nm等，進行不同濃度PxGV之吸光值測定。結果如表一所示，在測試的六種波長中，隨著PxGV濃度之降低，吸光值亦隨之降低。隨著測試波長之增加，PxGV懸浮液之吸光值亦隨之降低，此顯示短波長之吸光值變化較長波長者高。在PxGV之濃度為108 granules/ml時，其吸光值已降至0.013以下，由於此觀測值甚低，因此不再作更低濃度之測試。將表一所得結果，利用指數曲線迴歸方程式，求取光波長之吸光值(Y)與PxGV濃度(X)之相關關係及

其相關係數，所得結果可知，在280、330、380、400、550及800nm之波長下，其吸光值與PxGV濃度之間均有極顯著之相關關係(表二)。將上述之相關關係求取其指數迴歸曲線，可得圖四之結果。無論在那一個波長，吸光值與顆粒體病毒液濃度間均有極顯著之相關關係。從此可知，利用光譜儀在供試的六種波長，均可利用其吸光值，作為判定PxGV懸浮液濃度之依據。

討 論

以往顆粒體病毒的計量法，是將純化的病



圖三 小菜蛾顆粒體病毒懸浮液進行波長掃描(200-1100nm)圖。
 Fig. 3. The absorbance of *Plutella xylostella* granulosis virus suspension by wavelength scan(200-1100nm).

表一 利用不同光波長測定小菜蛾顆粒體病毒懸浮液之吸光值
 Table 1. Absorbance by spectrophotometer of *Plutella xylostella* granulosis virus(PxGV) suspension at different wavelengths.

PxGV concentration (granules / ml)	280nm	330nm	380nm	400nm	550nm	800nm
2.56×10^{10}	1.532	1.511	1.315	1.201	0.573	0.220
1.28×10^{10}	1.376	1.034	0.742	0.660	0.293	0.111
6.4×10^9	0.866	0.554	0.377	0.336	0.148	0.057
3.2×10^9	0.457	0.282	0.187	0.170	0.075	0.029
1.6×10^9	0.229	0.142	0.089	0.085	0.038	0.016
8×10^8	0.115	0.071	0.041	0.042	0.019	0.007
4×10^8	0.057	0.036	0.017	0.021	0.010	0.005
2×10^8	0.027	0.017	0.004	0.010	0.005	0.002
1×10^8	0.013	0.009	0.001	0.006	0.003	0.002

毒經過冷凍乾燥之後，以其粉末之重量來計算病毒數。其中報導指出，1mg的顆粒體病毒粉末約含 $3 \times 10^{10} - 5.4 \times 10^{10}$ 個顆粒體病毒不等 (Tanada and Hukuhara, 1971; Hukuhara

et al., 1987)。但依此法所得之病毒濃度，若是供試之病毒純度不夠，即可能有很大之差異，且冷凍乾燥的設備取得不易，使得此法並不實用。在田間利用病毒殺蟲劑防治害蟲

表二 小菜蛾顆粒體病毒濃度與吸光值之迴歸方程式

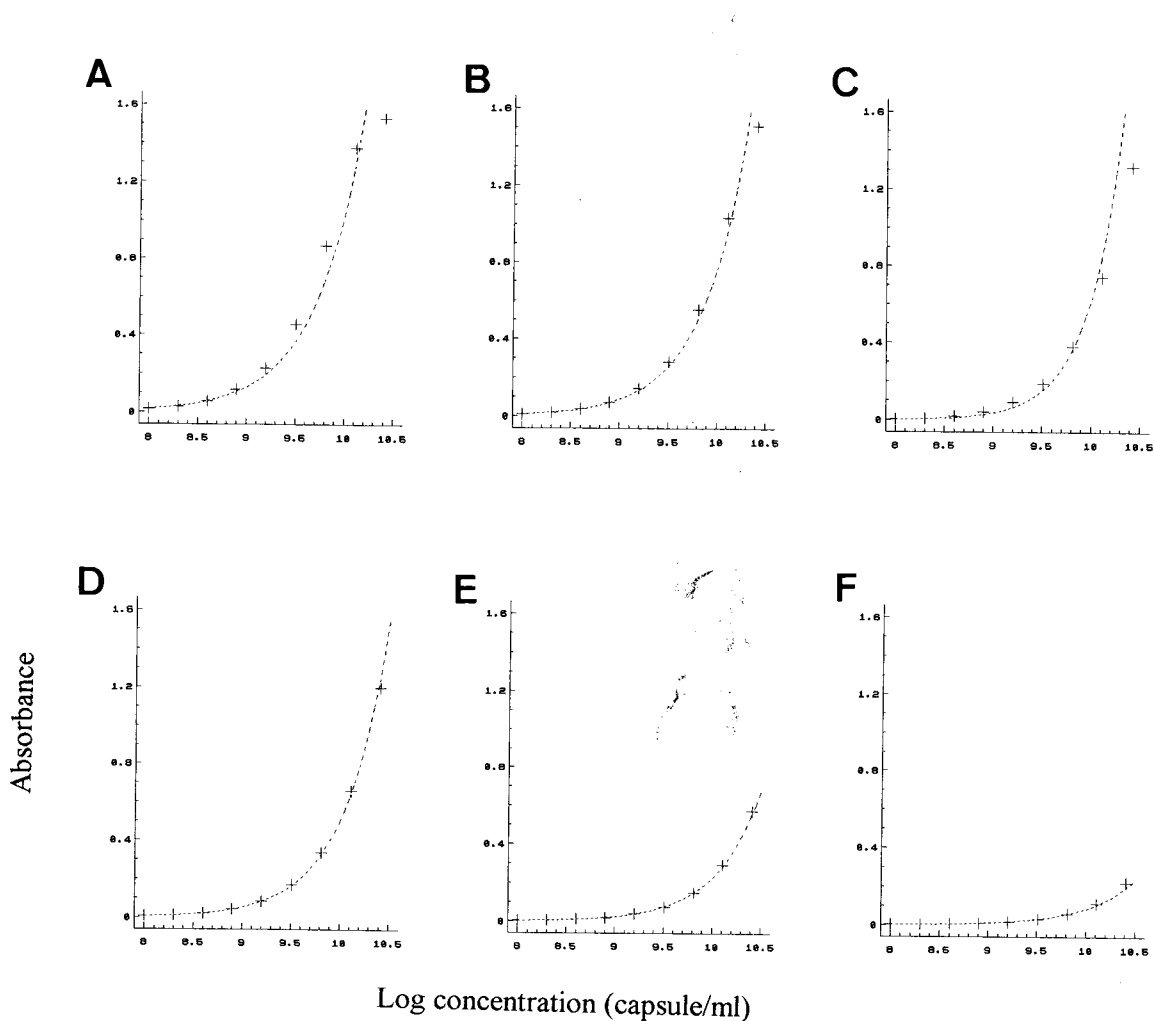
Table 2. Regression equations for concentrations of *Plutella xylostella* granulosis virus and absorbance.

Wavelength(nm)	Regression equation ¹⁾	R ²
280	$Y=e^{-20.79+2.08X}$	0.9800**
330	$Y=e^{-22.18+2.19X}$	0.9969**
380	$Y=e^{-29.25+2.88X}$	0.9732**
400	$Y=e^{-23.18+2.25X}$	0.9993**
550	$Y=e^{-23.58+2.21X}$	0.9994**
800	$Y=e^{-22.99+2.05X}$	0.9883**

1) Y=Absorbance.

X=PxGV concentration.

2) **Significant difference



圖四 小菜蛾顆粒體病毒濃度與吸光值之迴歸曲線圖。

Fig. 4. The regression curve derived from concentrations of *Plutella xylostella* granulosis virus and absorbances at different wavelengths with a spectrophotometer. A. 280 nm, B. 330 nm, C. 380 nm, D. 400 nm, E. 550 nm, F. 800 nm.

時，為估計昆蟲病毒用量，常以幼蟲當量(larval equivalent, LE)作為計量單位，亦即單位容積內所含之罹病蟲數(Su, 1987a)。惟此種計量方法，可能會因病蟲受感染的程度不同，而使蟲體內之病毒數有所變化，如此不易獲得精確數字，使得試驗的變數增加。Tanada *et al.* (1973)亦嚐試利用光波長為550nm之吸光值來作*Pseudaletia unipuncta*顆粒體病毒之定量，惟無滿意之結果。因此開發簡易之顆粒體病毒計量方法，有其實用之價值。

一般而言，病毒的計量方法包括了膠體小圓球混合法、血球凝集檢測法(hemagglutination assay)、病毒斑檢測法(plaque assay)及終點稀釋法(endpoint dilution)等(Prescott *et al.*, 1993)。其中膠體小圓球混合法由於可以直接在穿透式電子顯微鏡下觀察，且不須經過感染細胞株的步驟，在應用上較其他三種方法方便。本試驗採用膠體小圓球混合法，所得PxGV之定量結果甚為理想。但利用此法必須經過電顯樣品之製備及觀察，不但手續繁複且儀器亦不大眾化，因此乃嘗試利用光譜儀之吸光值來測試PxGV懸浮液之濃度。此法又較上述四種方法簡易，且光譜儀又較電子顯微鏡普遍。從光譜儀之吸光值所得結果可知，在固定的波長下，PxGV之吸光值與濃度間呈現極顯著之相關關係。因此，這個方法應為最實用之簡易計量法。

當PxGV與不同濃度的膠體小圓球混合時，所求得的PxGV濃度相似，可知利用此法來計算顆粒體病毒具相當高之準確度。但在觀察時若顆粒體病毒的純度不夠，即可能妨礙TEM的觀察結果，因此PxGV在經過蔗糖梯度離心純化之後，再利用0.8 μ m的濾網過濾，去除不必要的雜質，可使觀察更順利的進行。

在進行PxGV計量時，膠體小圓球的濃度，會影響到PxGV的聚集程度。比較圖二所

得結果可知，當膠體小圓球稀釋100倍時(圖二A)，PxGV與膠體小圓球之比例較為相當，計算容易。但若膠體小圓球稀釋倍數為20倍時(圖二B)，二者之比例懸殊，且有時PxGV會被膠體小圓球遮蓋，因而減低PxGV之計量。因此，日後利用此法觀察病毒濃度時，將膠體小圓球稀釋100倍，可得到較精確的病毒濃度估算值。

一般的TEM樣本製作時，是用濾紙吸走未乾的懸浮液(Chen *et al.*, 1991)，但此法常會帶動PxGV以及膠體小圓球，導致其聚集於銅網的邊緣，而無法觀察。為克服此一缺點，可將其置於無菌操作檯中，待其自然乾燥後再取出觀察，可降低此種困擾。另外，利用負染法進行觀察時，常因染色不均勻導致觀察結果不理想。由於PxGV與膠體小圓球之體積夠大，且厚度亦夠，使得電子顯微鏡的電子束無法穿透，所以不必使用負染色的方法即可觀察。

在使用光譜儀做不同濃度PxGV之吸光值測定時，發現當濃度低於 10^8 granules / ml時，其吸光值的變化就失去規律，且其值常為零，可知此法在濃度低於 10^8 granules / ml時並不適用。因此若欲以此法進行濃度判定時，應使用較高濃度之病毒懸浮液。例如將萃取10隻病蟲所得之顆粒體病毒，溶於1ml水中。Tanada *et al.* (1973)曾嚐試建立在波長為550nm之吸光值與病毒濃度之相關曲線，但並未成功。從本試驗中所選用的六個波長比較，可知在550及800nm時，吸光值與病毒液濃度間雖具高度的相關性，但隨著濃度的提高，其吸光值變化的幅度卻較其他波長小，可能會導致在濃度的判定，有較大的誤差(圖四)。因此日後當以波長為280、330、380及400nm為主，測定其吸光值，進而利用本試驗所得迴歸方程式，即可計算顆粒體病毒液之濃度。

參考文獻

- Chen, J. C., J. W. Lee, and Z. S. Yang.** 1991. Biological Electromicroscope. National Science Council of Taiwan. 266 pp. (in Chinese).
- Cheng, E. Y.** 1984. The chemical control and insecticide-resistance of lepidopterous vegetable pests. Proceedings of the Symposium on the Control of Insects on Vegetables in Taiwan. pp. 100-110(in Chinese)
- Francki, R. I. B., C. M. Fauquet, D. L. Knudson, and F. Brown.** 1991. Archives of Virology. Supplementum 2. Springer-Verlag / Wien Press, New York. 450 pp.
- Harper, J. D.** 1986. Interactions between baculoviruses and other entomopathogens, chemical pesticides, and parasitoids. pp.133-155. *in*: R. R. Granados, and B. A. Federic. eds. The Biology of Baculoviruses, Volume II. Practical Application for Insect Control. CRC Press, Florida.
- Hou, R. F.** 1991. Recent status of insect pathology in Taiwan. Chinese J. Entomol., Special Publication No. 7. pp. 87-97(in Chinese).
- Hukuhara, T., K. Tamura, Y. Zhu, H. Abe, and Y. Tanada.** 1987. Synergistic factor shows specificity in enhancing nuclear polyhedrosis virus infections. Appl. Entomol. Zool. 22: 235-236.
- Prescott, L. M., J. P. Harley, and D. A. Klein.** 1993. Microbiology. Wm. C. Brown Publishers, Dubuque, Iowa. pp. 353-354.
- Su, C. Y.** 1987a. Utilization of *Plutella xylostella* granulosis virus (PxGV) for control of *P. xylostella* in the field. Plant Prot. Bull. 29: 85-87(in Chinese).
- Su, C. Y.** 1987b. The evaluation of granulosis viruses for control of *Plutella xylostella* and *Artogeia rapae* at different time intervals. Plant Prot. Bull. 29: 397-399 (in Chinese).
- Su, C. Y.** 1989. The evaluation of granulosis and nuclear polyhedrosis viruses for control of three lepidopterous insect pests on cruciferous vegetables. Chinese J. Entomol. 9: 189-196. (in Chinese)
- Tanada, Y., and T. Hukuhara.** 1971. Enhanced infection of a nuclear-polyhedrosis virus in larvae of the armyworm, *Pseudaletia unipuncta*, by a factor in the capsule of a granulosis virus. J. Invertebr. Pathol. 17: 116-126.
- Tanada, Y., M. Himeno, and E. M. Omi.** 1973. Isolation of a factor, from the capsule of a granulosis virus, synergistic for a nuclear-polyhedrosis virus of the armyworm. J. Invertebr. Pathol. 21: 31-40.
- Wang, C. L., and R. I. Rose.** 1978. Control of imported cabbage worm, *Pieris rapae crucivora* Boisduval, with granulosis virus in the field. Plant Prot. Bull. 20: 16-20(in Chinese).
- Yamamoto, T., and Y. Tanada.** 1978.

Protein components of two strains of
granulosis virus of the armyworm,
Pseudaletia unipuncta (Lepidoptera,
Noctuidae). J. Invertebr. Pathol. 32:

158-170.

收件日期：1996年3月25日

接受日期：1996年6月6日

A Simple Method for Purification and Quantitation of *Plutella xylostella* Granulosis Virus

Shu-Tzeng Lee and Cheng-Jen Shih* Department of Plant Pathology and Entomology, National Taiwan University, Taipei, Taiwan, R.O.C.

ABSTRACT

Larvae of *Plutella xylostella* were infected with its granulosis virus (PxGV). The crude extraction from virus-infected larvae was purified by discontinuous sucrose centrifugation. The concentration of PxGV was estimated by the method of mixing PxGV with latex bead, and was observed by transmission electron microscopy. Better results were obtained when the latex bead was diluted to 100 X. Absorbance of the PxGV mixture was measured by a spectrophotometer (Hitachi U-2000) at wavelengths ranging from 200 to 1100 nm. The peak absorbance was located between 200-300 nm. The optical densities of different concentrations of PxGV were estimated under various wavelengths, e.g., 280, 330, 380, 400, 550 and 800 nm. The results showed absorbance of PxGV increased with an increase of concentration, and there was a significant relationship between absorbance and PxGV concentration. When comparing the absorbance at different wavelengths, the absorbance decreased with an increase of wavelength at the same concentration of PxGV.

Key words: *Plutella xylostella*, granulosis virus, absorbance, latex bead