



Investigation of Pathogenicity of AcMNPV to Nine Lepidopteran Pests in Taiwan 【Research report】

加州苜蓿夜蛾核多角體病毒對台灣九種鱗翅目害蟲之致病力【研究報告】

Shu-Jen Tuan, Suey-Sheng Kao、Ya-Chan Chao、Roger F. Hou
段淑人*、高穗生、趙裕展、侯豐男

*通訊作者E-mail:

Received: 1997/11/24 Accepted: 1997/12/01 Available online: 1997/12/01

Abstract

Pathogenicity and histopathology of *Autographa californica* nucleopolyhedrovirus (AcMNPV) to larvae of 9 lepidopteran species in Taiwan were investigated. *Trichoplusia ni*, *Plutella xylostella*, and *Spodoptera exigua* were highly susceptible to AcMNPV; LC₅₀ values for AcMNPV to the 3rd instar larvae at 6th day postinoculation were 1.24, 2.07×10³, and 2.40×10³ PIBs/mm³, respectively. Their LT₅₀ values at a concentration of 7.8×10² PIBs/mm³ were 3.7, 6.3, and 7.8d, respectively. *Heliothis virescens*, *S. litura*, *Ostrinia furnacalis*, and *Galleria mellonella* were found to be moderately susceptible. *Helicoverpa armigera* showed a very low mortality, while *Corcyra cephalonica* was not infected with AcMNPV. In the infected larvae, target cells became swollen and finally lysed resulting from the formation of inclusion bodies, especially, in the fat body, hypodermis, tracheal matrix, and hemocytes. Furthermore, the infected larvae prolonged larval development, failed to molt or pupate, and finally died. The pupation and adult emergence of infected larvae decreased, whereas the number of abnormal pupae and moths increased.

摘要

本文探討加州苜蓿夜蛾核多角體病毒(*Autographa californica* nucleopolyhedro-virus, AcMNPV)對本省九種鱗翅目害蟲-斜紋夜蛾(*Spodoptera litura*)、甜菜夜蛾(*S. exigua*)、菸芽夜蛾(*Heliothis virescens*)、玉米穗蟲(*Helicoverpa armigera*)、擬尺蠖(*Trichoplusia ni*)、亞洲玉米螟(*Ostrinia furnacalis*)、小菜蛾(*Plutella xylostella*)、外米綴蛾(*Corcyra cephalonica*)及大蠟蛾(*Galleria mellonella*)之致病力。試驗結果顯示以擬尺蠖、小菜蛾及甜菜夜蛾之罹病死亡率最高，對三齡幼蟲之半致死濃度依序為1.24、2.07×10³ 及2.40×10³ PIBs/mm³;以7.8×10² PIBs/mm³，接種幼蟲時，其半致死時間依序為3.7、6.3、及7.8天。菸芽夜蛾、斜紋夜蛾、亞洲玉米螟與大蠟蛾次之，玉米穗蟲之感受性極低，而外米綴蛾經由多次試驗，均未發現受此病毒感染致死之蟲體。加州苜蓿夜蛾之核多角體病毒除造成寄主急性感染，病毒在脂肪體細胞、表皮真皮層細胞、氣管鞘細胞、血球細胞等核內大量複製，造成細胞崩解，而導致幼蟲在數天內潰爛死亡之外，還會影響殘存之幼蟲的正常生長發育，使其脫皮時間延遲，甚至脫皮不全而死，並使化蛹率及羽化率明顯下降；另發現畸形蛹、死蛹、與成蟲捲翅的比率偏高。

Key words: *Autographa californica* nucleopolyhedrovirus, pathogenicity, Lepidopteran pest

關鍵詞: 加州苜蓿夜蛾核多角體病毒、致病力、鱗翅目害蟲。

Full Text: [PDF\(5.2 MB\)](#)

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

加州苜蓿夜蛾核多角體病毒對台灣九種鱗翅目害蟲之致病力

段淑人* 高穗生 台灣省農業藥物毒物試驗所生物藥劑系

趙裕展 中央研究院分子生物研究所 臺北市南港區研究院路二段128號

侯豐男 國立中興大學昆蟲學系 臺中市國光路250號

摘要

本文探討加州苜蓿夜蛾核多角體病毒(*Autographa californica* nucleopolyhedrovirus, AcMNPV)對本省九種鱗翅目害蟲——斜紋夜蛾(*Spodoptera litura*)、甜菜夜蛾(*S. exigua*)、菸芽夜蛾(*Heliothis virescens*)、玉米穗蟲(*Helicoverpa armigera*)、擬尺蠖(*Trichoplusia ni*)、亞洲玉米螟(*Ostrinia furnacalis*)、小菜蛾(*Plutella xylostella*)、外米綴蛾(*Corecyra cephalonica*)及大蠟蛾(*Galleria mellonella*)之致病力。試驗結果顯示以擬尺蠖、小菜蛾及甜菜夜蛾之罹病死亡率最高，對三齡幼蟲之半致死濃度依序為 1.24 、 2.07×10^3 、及 2.40×10^3 PIBs / mm³；以 7.8×10^2 PIBs / mm³接種幼蟲時，其半致死時間依序為3.7、6.3、及7.8天。菸芽夜蛾、斜紋夜蛾、亞洲玉米螟與大蠟蛾次之，玉米穗蟲之感受性極低，而外米綴蛾經由多次試驗，均未發現受此病毒感染致死之蟲體。加州苜蓿夜蛾之核多角體病毒除造成寄主急性感染，病毒在脂肪體細胞、表皮真皮層細胞、氣管鞘細胞、血球細胞等核內大量複製，造成細胞崩解，而導致幼蟲在數天內潰爛死亡之外，還會影響殘存之幼蟲的正常生長發育，使其脫皮時間延遲，甚至脫皮不全而死，並使化蛹率及羽化率明顯下降；另發現畸形蛹、死蛹、與成蟲捲翅的比率偏高。

關鍵字：加州苜蓿夜蛾核多角體病毒、致病力、鱗翅目害蟲

前言

斜紋夜蛾(*Spodoptera litura* Fabricius)、甜菜夜蛾(*Spodoptera exigua* Hübner)、菸芽夜蛾(*Heliothis virescens* Fa-

bricius)、玉米穗蟲(*Helicoverpa armigera* Hübner)及擬尺蠖(*Trichoplusia ni* Hübner)均屬鱗翅目夜蛾科(Lepidoptera: Noctuidae)害蟲，為本省重要之經濟害蟲，幼蟲為雜食性為害十字花科蔬菜、瓜類、豆類、

雜糧、菸草及花卉等。小菜蛾(*Plutella xylostella* Linnaeus)係十字花科蔬菜上之重要害蟲，因世代短及繁殖力強，故易對一般化學藥劑產生抗藥性。亞洲玉米螟(*Ostrinia furnacalis* Guen'ee)可為害玉米、高粱及豆類等作物，尤其幼蟲蛀食玉米莖部及果穗，造成防治困擾及嚴重損失。外米綴蛾(*Corcyra cephalonica* Stainton)為倉貯害蟲，而大蠟蛾(*Galleria mellonella* Linnaeus)係養蜂業的害蟲之一。上述九種害蟲中，部份害蟲已對化學藥劑產生抗藥性，或不適合施用化學藥劑。由於長久以來化學藥劑的頻繁使用，加速害蟲產生抗藥性，同時造成自然生態平衡的破壞，與消費者對殘留農藥的疑慮，使得非化學藥劑防治方法的開發與利用益顯重要。尤其目前環保與生態保育之意識日漸高張，因此開發專一性強、安全性高且殺蟲力強之生物性殺蟲劑，作為抑制害蟲族群之利器，乃為農業發展之時代趨勢。而核多角體病毒(nucleopolyhedrovirus, NPV)對害蟲具有極高的致病力與寄主專一性，其可感染五百種以上的昆蟲，其中又以鱗翅目、膜翅目、雙翅目及鞘翅目等為主要寄主。目前為止只針對節肢動物有病原性，不感染哺乳動物，對人畜及天敵均無害，可供作安全有效的防治因子(Ignoffo, 1973; Groner, 1986)。在田間實際應用上已證實核多角體病毒之防治效果甚至比化學藥劑為高(Smits *et al.*, 1987)，且有數種病毒已經商品化，如*Heliothis zea* NPV, *Orgyia pseudotsugata* NPV, *Lymantria dispar* NPV及*Neodiprion sertifer* NPV等(Agathos, 1991)。

由於加州苜蓿夜蛾核多角體病毒(*Autographa californica* nucleopolyhedrovirus, AcMNPV)之寄主範圍相當廣泛，包括至少三十四種分屬於十二科之鱗翅目害蟲，故被認為是最具開發潛能之病毒。田間測試證

明，該病毒能有效地降低萐蔥中擬尺蠖及甜菜夜蛾的族群，且綠甘藍經該病毒處理後，亦可見擬尺蠖及小菜蛾幼蟲均有顯著的減少(Granados and Williams, 1986)。本文擬測定出AcMNPV對本省之九種重要經濟害蟲之致病力，了解利用此病毒防治此等害蟲之可行性，以為田間防治之參考。同時擬自感受性較高之害蟲中，選擇出最適合大量繁殖該病毒之代用寄主。日後擬以基因工程法構築具有高殺蟲毒效之重組AcMNPV時，再與此野生型病毒之殺蟲毒效相互比較，俾供高殺蟲效力之基因重組病毒的篩選標準。

材料與方法

一、供試蟲源

1. 甜菜夜蛾(*Spodoptera exigua*)、菸芽夜蛾(*Heliothis virescens*)、斜紋夜蛾(*Spodoptera litura*)及玉米穗蟲(*Helicoverpa armigera*)等四種夜蛾科幼蟲分別採自溪湖青葱田、霧峰菸草田、草屯芋田及朴子玉米田，經室內恆溫箱 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 、光照12L : 12D、濕度 $70 \pm 5\%$ R.H.，並以人工飼料(每公升水含：花豆粉125g、酵母粉50g、小麥胚芽46g、半胱胺酸0.5g、維他命B+C混合液5ml、山梨酸1.25g，抗真菌劑1.5g、洋菜31.25g)飼育幼蟲，以20%蜜水餵食成蟲，累代飼養三代以上，挑選健康三齡初蛻幼蟲，以飼料表面污染法進行致病力測試。

2. 亞洲玉米螟(*Ostrinia furnacalis*)採自朴子玉米田之卵塊，以人工飼料(Hung and Hwang, 1988)累代飼育於 $28 \pm 1^\circ\text{C}$ 、光照12L : 12D、濕度 $70 \pm 5\%$ R.H. 恒溫生長箱，至三代以後取健康三齡初蛻幼蟲，以飼料表面污染法進行生物檢定。

3. 小菜蛾(*Plutella xylostella*)及擬尺蠖(*Trichoplusia ni*)分別採自梨山及霧峰甘

藍菜田之幼蟲，經室內長期以油菜苗及人工飼料(配方修改自Asano *et al.*, 1993，另添加高麗菜葉粉16g / 675ml水)飼育於22±1°C、光照12L : 12D、濕度70±5% R.H. 恒溫生長箱，並挑選健康三齡初蛻幼蟲，以人工飼料表面污染法進行對病毒致病力測試。

4.大臘蛾(*Galleria mellonella*)係取自國立中興大學昆蟲系之蟲源，經以小麥胚芽粉、甘油及奶粉為主之人工飼料(杜武俊，未發表)於恒溫箱25±1 °C、光照12L : 12D、濕度70±5% R.H.，累代飼養三代以上，挑選健康三齡初蛻幼蟲，以飼料表面污染法進行致病力測試。

5.外米綴蛾(*Corcyra cephalonica*)取自台灣省農業試驗所應用動物系之卵粒，以米糠及碎粒玉米為飼料(Wu, 1993)，飼育於30±2°C、光照12L : 12D、濕度70±5% R.H.，取三齡幼蟲進行生物檢定。

二、病毒來源

1.由於AcMNPV尚無商品，且在本省亦無法取得感染該病毒之病蟲，故先自台灣大學動物學系羅竹芳教授取得可感染該病毒之細胞株(IPLB-SF21AE)及AcMNPV病毒液，先以含8%胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)之TNM-FH培養液大量繼代培養該細胞株，再將AcMNPV病毒液接入細胞培養液中，接種病毒五天後，回收感染病毒的細胞，以0.5% SDS溶液於室溫下處理10分鐘，使細胞膜破裂裸露出繁殖的病毒包含體，並以血球計數器定量。

2.以細胞株(IPLB-SF21AE)繁殖AcMNPV，收集大量之病毒包含體，利用飼料表面污染法感染甜菜夜蛾四齡初健康幼蟲，進行病毒在蟲體內之大量繁殖，以活化病毒感染力，罹病蟲體體液經由鏡檢及蛋白質電泳分析確認無誤後，做為本試驗後續生

物檢定之病毒感染源。

三、病毒對幼蟲致病力之測定

以飼料表面污染法接種，先將每個飼料塊(直徑7 mm×高10 mm)分別置於30孔培養盤中(每孔直徑3.4 cm×高2.9 cm)，以30 µl之 10^8 PIBs / ml濃度病毒液均勻滴於定體積之人工飼料塊上，使每塊飼料之病毒濃度為 7.8×10^3 PIBs / mm³，待病毒液滲透並稍陰乾後，再單隻接入供試蟲種之三齡初蛻幼蟲。每處理30隻幼蟲，至少重覆四次，並以無菌水滴於人工飼料塊上做為對照組。處理後幼蟲置於25±1°C、光照12L : 12D、濕度70±5% R.H.之恒溫生長箱中，並於接種後三天更換新鮮無病毒飼料；同時開始每天記錄蟲體發病情形直至接種後12天，以比較該病毒對本省九種害蟲之致病力。並自其中選出感受性較高之三種害蟲，以三倍系列稀釋濃度病毒液進行生物檢定，每天記錄幼蟲死亡率並換算為對機數，分析其半致死濃度(LC₅₀)及半致死時間(LT₅₀)(Finney, 1971)。

將罹病之蟲體研磨稀釋後抹片，以光學顯微鏡400倍鏡檢，觀察病蟲體液中病原菌之種類與病毒形態，以了解病蟲之死因。同時取罹病幼蟲體液加入等量2倍濃度之樣品緩衝液(sample buffer)，煮沸10分鐘後進行膠體電泳分析法(SDS-PAGE, 12.5%)(Finnerty *et al.*, 1994)，分析病毒包含體蛋白質之主要蛋白質分子量，以確認致死病毒之種類。以飢餓處理過之菸芽夜蛾三齡初幼蟲為供試蟲，以前述之飼料污染法，將六種濃度之病毒污染飼料塊(2.34×10^1 、 7.80×10^1 、 2.34×10^2 、 7.80×10^2 、 2.34×10^3 、 7.80×10^3 PIBs / mm³)單隻餵予幼蟲後，置於25±1°C 恒溫生長箱中，每天觀察直至幼蟲化蛹，記錄蟲體因病毒或非病毒造成之罹病死亡率及對化蛹率之影響。

以飢餓處理過之斜紋夜蛾五齡初幼蟲為供試蟲，以接種源飲入法(Klein, 1978)單隻餵予 $5 \mu\text{l}$ 之 10^8 PIBs / ml濃度病毒液(即每隻幼蟲給予 5×10^5 PIBs)，二小時後再分別給予人工飼料，置於 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 恆溫生長箱中，記錄蟲體發病死亡情形，及比較AcMNPV對老熟幼蟲化蛹率、不正常蛹比例及對雌雄性比率之影響。

四、寄主幼蟲之組織病理學觀察

將飢餓處理過之供試害蟲三齡初蛻幼蟲，於接種病毒(7.8×10^3 PIBs / mm^3 ，如前述飼料污染法)後，置於 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 恆溫生長箱中，依蟲種對病毒感受性之差異，在接種後3, 5, 7及10天取樣固定(固定液 = 福馬林 : 醋酸 : 70% 酒精 = 1 : 1 : 20)24小時後，以序列遞增濃度之酒精進行脫水，再以酒精與二甲苯1 : 1的溶液置換一次，及純二甲苯一次，再以二甲苯與石蠟1 : 1混合液於 45°C 烘箱中浸漬隔夜，最後換成純蠟於 56°C 烘箱中浸漬隔夜，即可進行蟲體之包埋及切片(厚度為 $4\mu\text{m}$)，並以Azocarmine G及counter-stain solution (1% phosphotungstic acid, 0.1% aniline blue, 0.5% orange G, 0.2% fast green FCF)各染色15至20分鐘(Hamm, 1966; Tuan et al., 1994)，即可由鮮紅色之病變細胞核，利用光學顯微鏡觀察到AcMNPV感染幼蟲之組織。

結 果

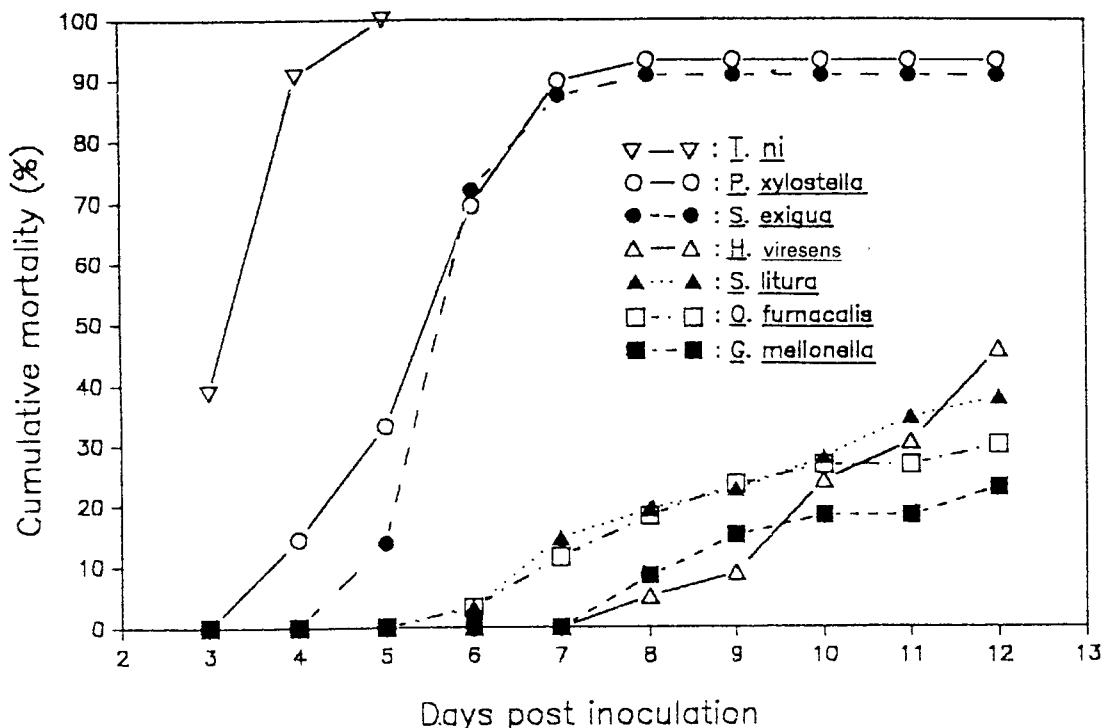
一、加州苜蓿夜蛾核多角體病毒對九種害蟲之致病力

經由人工飼料表面污染法接種高濃度(7.80×10^3 PIBs / mm^3)之病毒液予九種供試蟲後得知，AcMNPV對本省霧峰品系擬尺蠖、梨山品系小菜蛾及溪湖品系之甜菜夜蛾

幼蟲具有頗高之致病力。擬尺蠖之潛伏期很短、發病集中而快速，接種三天即有將近40%之死亡率，接種四天時即達90%之死亡率，五天已全數罹病死亡；而小菜蛾於接種四天時，產生15%以上之死亡率，且與甜菜夜蛾相同，於接種後七天有90%左右之死亡率。菸芽夜蛾、斜紋夜蛾、亞洲玉米螟與大蠍蛾次之，於接種後十二天之罹病死亡率依序為45%、38%、30%及22%，但其潛伏期均較長，約接種一週後方出現罹病死亡蟲體，且上升幅度緩慢不集中(圖一)。而玉米穗蟲感受性極低、至化蛹前其罹病死亡率低於10%；外米綴蛾經由多次試驗，至接種後四週均未發現因本病毒致死之蟲體。病毒接種之濃度愈高，則供試幼蟲死亡率愈高，且發病後二至三天內即達死亡高峰(圖二)，而半致死時間亦隨著接種濃度之上升而縮短，以 7.80×10^1 PIBs / mm^3 病毒液接種幼蟲時，擬尺蠖、小菜蛾及甜菜夜蛾幼蟲之半致死時間依序為4.3、7.1、及超過12天；若提高病毒濃度為 7.80×10^2 PIBs / mm^3 時，擬尺蠖、小菜蛾及甜菜夜蛾幼蟲之半致死時間則縮短為3.7、6.3、及7.8天(表一)。此三種供試蟲對AcMNPV之感受性以擬尺蠖最高，較小菜蛾及甜菜夜蛾之感受性高1000倍以上，接種後六天之死亡率觀察，其半致死濃度依序為 1.24 、 2.07×10^3 、及 2.40×10^3 PIBs / mm^3 (表一)。

二、加州苜蓿夜蛾核多角體病毒與其他病毒複合感染

病毒生物活性檢定過程中，為確定罹病幼蟲之致病感染源，採用400倍之光學顯微鏡鏡檢病蟲體液。而核多角體病毒之多角體蛋白質(polyhedrin)之組成比例及分子量大小，亦可做為病毒種類鑑別之參考。本試驗即利用SDS-PAGE蛋白質電泳分析法來鑑別



圖一 以人工飼料污染法接種加州苜蓿夜蛾核多角體病毒(7.8×10^3 PIBs / mm³)造成數種鱗翅目三齡幼蟲之累積死亡率。

Fig. 1. Cumulative mortality of several lepidopteran 3rd-instar larvae on artificial diets contaminated with 7.8×10^3 PIBs / mm³ of AcMNPV.

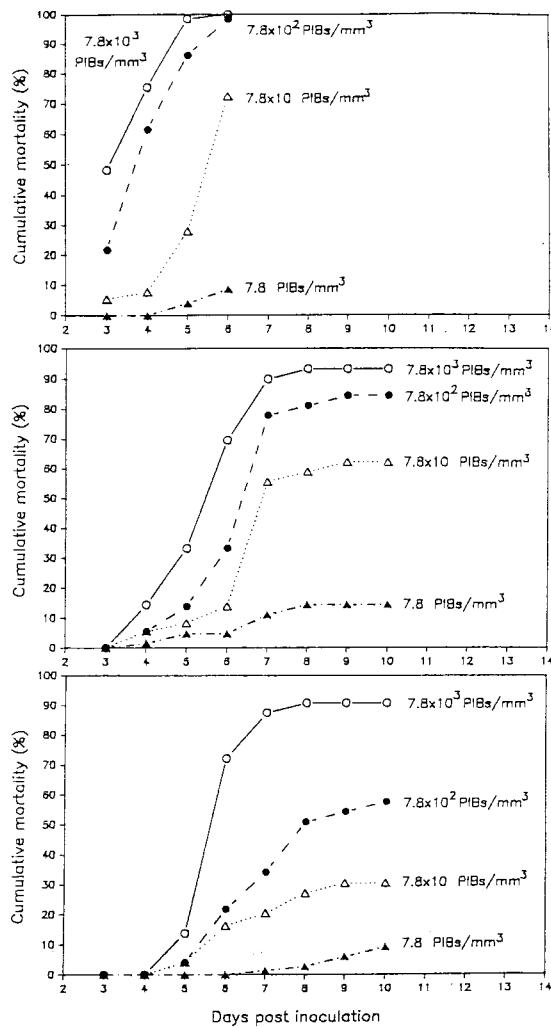
病蟲之感染源及複合感染之情形，發現實驗室內若同時進行SpeiNPV試驗時，幼蟲本身可能已污染到SpeiNPV，接種AcMNPV之甜菜夜蛾幼蟲罹病蟲體體液中，亦含有高濃度之SpeiNPV，且可看出當此二種病毒同時感染甜菜夜蛾時，仍舊以SpeiNPV對其原始寄主亦即甜菜夜蛾之致病力較高，多角體蛋白質含量較AcMNPV蛋白質為高；唯在確認供試之甜菜夜蛾幼蟲無污染時，再接種AcMNPV，則病蟲體液所含多角體蛋白質以該病毒為主(圖三)。

菸芽夜蛾於接種AcMNPV後，很容易發生與其他病原菌複合感染之情形，而增加幼蟲之總死亡率。將罹病死亡蟲體體液抹片，經由光學顯微鏡400倍觀察確認，除部分蟲體

含有AcMNPV包含體外，尚有一部分之蟲體無法鏡檢到該病毒包含體，少部份病蟲體液中亦有微孢子蟲之存在。尤其在接種後7天死亡蟲數雖達10%，在採樣鏡檢時卻未發現病毒包含體，而至9天後非病毒死亡蟲數約為因病毒死亡蟲數之兩倍，至第11天時因病毒而死之蟲體佔全數死蟲之一半，直至第19天因病毒而死之蟲體達到61.4%，加上非病毒而死之蟲體及脫皮失敗致死之蟲體，共可造成93%之幼蟲死亡率(圖四)。

三、加州苜蓿夜蛾核多角體病毒對寄主幼蟲之組織病理學觀察

由於AcMNPV對供試九種鱗翅目幼蟲之致病力有很大之差異，因此在進行石蠟切片



圖二 以不同濃度加州苜蓿夜蛾核多角體病毒處理人工飼料($7.8 \sim 7.8 \times 10^3$ PIBs / mm³)接種三齡擬尺蠖(A)、小菜蛾(B)及甜菜夜蛾(C)幼蟲之累積死亡率。

Fig. 2. Cumulative mortality of *T. ni*, *P. xylostella*, and *S. exigua* 3rd-instar larvae on artificial diets contaminated with different concentrations of AcMNPV ($7.8 \sim 7.8 \times 10^3$ PIBs / mm³). (A: *T. ni*; B: *P. xylostella*; C: *S. exigua*)

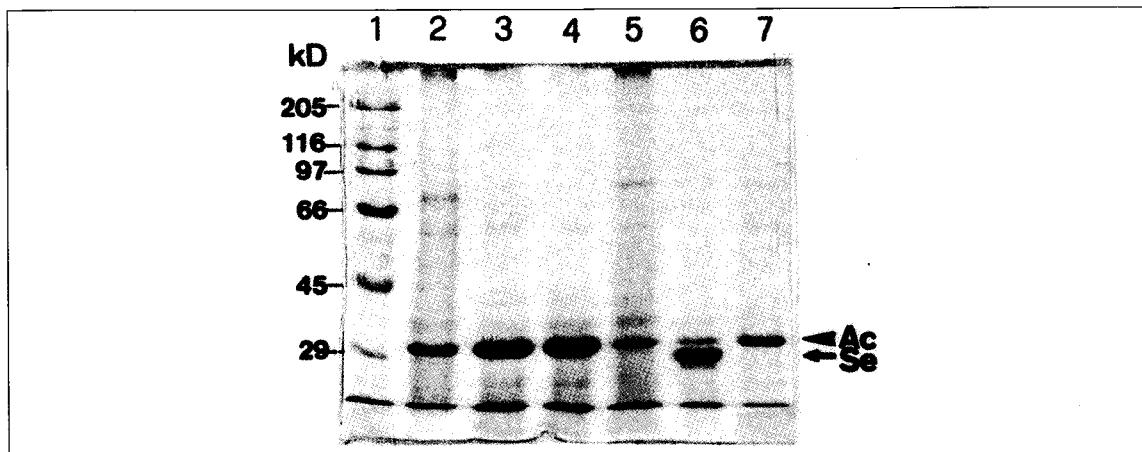
表一 擬尺蠖、小菜蛾與甜菜夜蛾接種加州苜蓿夜蛾核多角體病毒後之半致死濃度與半致死時間之比較

Table 1. Comparison of LC₅₀ and LT₅₀ values for *Trichoplusia ni*, *Plutella xylostella*, and *Spodoptera exigua* fed on diet contaminated with AcMNPV

Insect species	LC ₅₀ ^a PIBs / mm ³	Time-mortality regression line	Coeff. Value	LT ₅₀ ^b Days	Time-mortality regression line	Coeff. Value
<i>T. ni</i>	1.24	y = 4.91 + 0.97x	0.96	3.71	y = -1.77 + 1.82x	0.99
<i>P. xylostella</i>	2.07×10^3	y = 2.53 + 0.75x	0.99	6.27	y = -0.11 + 0.82x	0.94
<i>S. exigua</i>	2.40×10^3	y = 1.98 + 0.89x	0.92	7.83	y = 0.95 + 0.52x	0.93

^a Analyzed 6 days postinoculation.

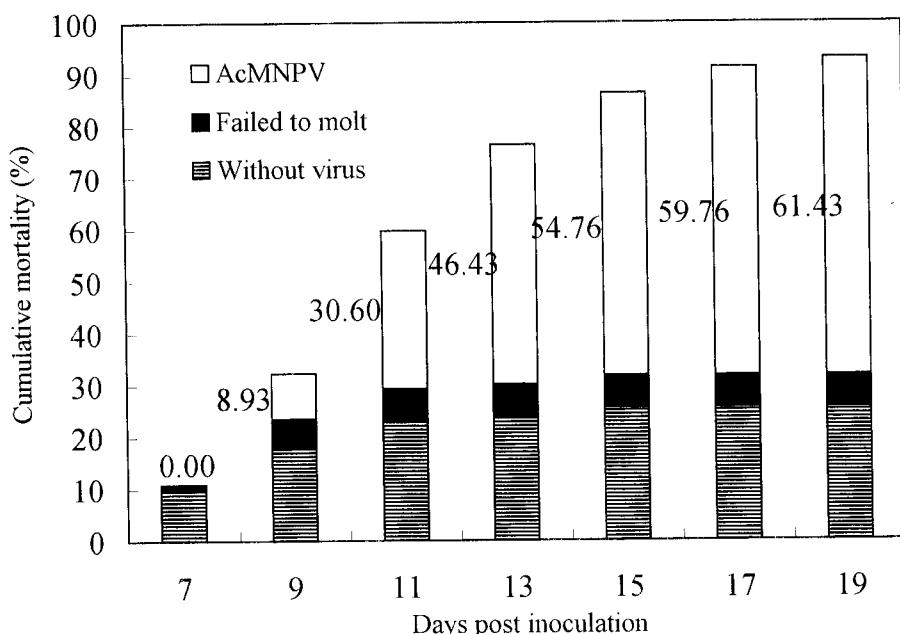
^b Inoculum: 7.8×10^2 PIBs / mm³.



圖三 數種鱗翅目幼蟲接種加州苜蓿夜蛾核多角體病毒後，罹病死亡蟲屍體液之蛋白質電泳分析。

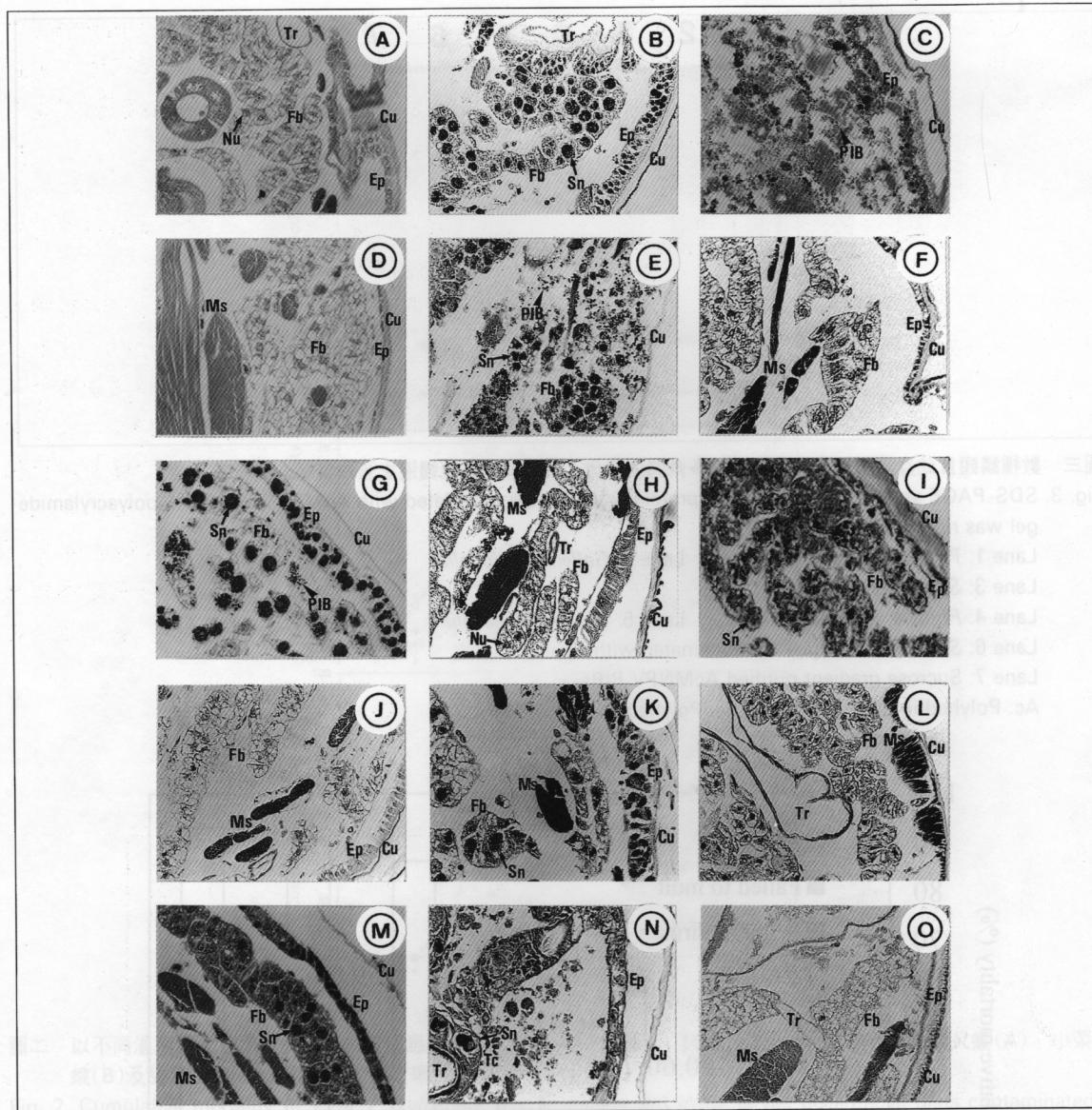
Fig. 3. SDS-PAGE analysis of hemolymph proteins of cadavors inoculated with AcMNPV. A 12.5% polyacrylamide gel was run for 2.5 hr at 30mA.

Lane 1: Protein markers. Lane 2: *Galleria mellonella*
 Lane 3: *Spodoptera exigua* Lane 4: *Plutella xylostella* Lane 5: *Ostrinia furnacalis*
 Lane 6: *Spodoptera exigua* (contaminated with SpeiNPV)
 Lane 7: Sucrose gradient purified AcMNPV PIBs
 Ac: Polyhedrin of AcMNPV Se: Polyhedrin of SpeiNPV



圖四 以 7.8×10^3 PIBs / mm³之加州苜宿夜蛾核多角體病毒經由人工飼料污染法接種三齡菸芽夜蛾後之幼蟲累積死亡率。

Fig. 4. Cumulative mortality of *Heliothis virescens* larvae fed on an artificial diet contaminated with AcMNPV (7.8×10^3 PIBs / mm³).



圖五 健康及病毒感染幼蟲之蟲體橫切面，顯示正常細胞及病變細胞核腫大現象。A：健康擬尺蠖幼蟲。B及C：病毒接種三及四天之擬尺蠖幼蟲。D及E：健康及接種病毒五天之小菜蛾幼蟲。F及G：健康及接種病毒五天之甜菜夜蛾幼蟲。H及I：健康及接種病毒七天之菸芽夜蛾幼蟲。J及K：健康及接種病毒七天之斜紋夜蛾幼蟲。L及M：健康及接種病毒七天之大臘蛾幼蟲。N：接種病毒七天之玉米螟幼蟲。O：接種病毒十天之外米綴蛾幼蟲。

Cu：表皮；Ep：真皮層；Fb：脂肪體；Ms：肌肉細胞；Nu：細胞核；PIB：病毒多角體；Sn：膨大細胞核；Tc：氣管細胞；Tr：氣管。

Fig. 5. Cross sections of healthy and virus infected larvae showing normal cells and infected cells with swollen nucleus at different days postinoculation (dpi) with AcMNPV. (260×) A: healthy larva of *T. ni*; B and C: infected larvae of *T. ni* at 3 and 4 dpi respectively; D and E: Healthy and infected larvae of *P. xylostella* at 5 dpi; F and G: healthy and infected larvae of *S. exigua* at 5 dpi; H and I: healthy and infected larvae of *H. virescens* at 7 dpi; J and K: healthy and infected larvae of *S. litura* at 7 dpi; L and M: healthy and infected larvae of *G. mellonella* at 7 dpi; N: infected larvae of *O. furnacalis* at 7 dpi; O: virus treated larvae of *C. cephalonica* at 10 dpi.

Cu: Cuticle; Ep: Epidermis; Fb: Fat body; Ms: Muscle; Nu: Nucleus; PIB: Polyhedral inclusion body; Sn: Swollen nucleus; Tc: Trachea cells; Tr: Trachea.

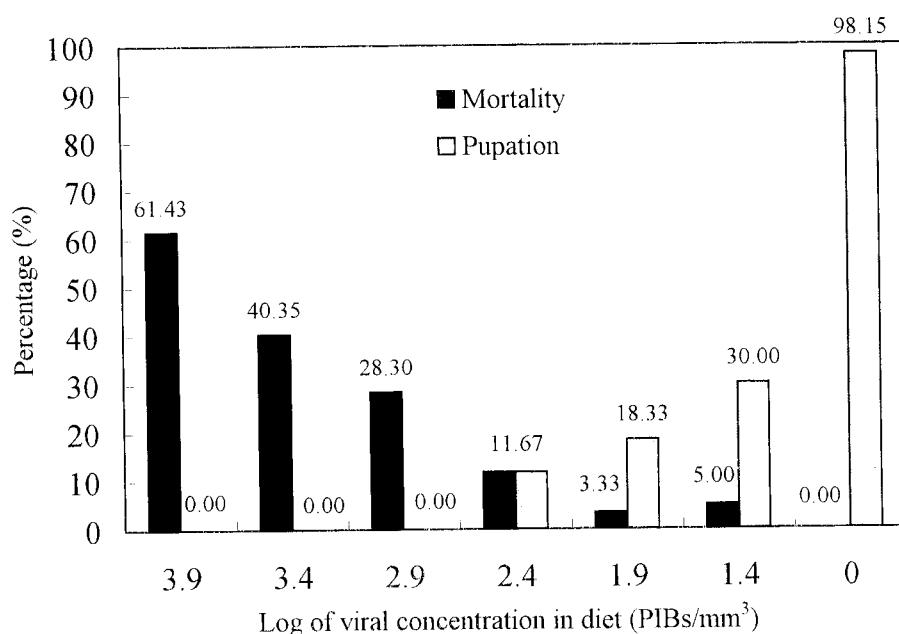
Inoculation 2 dpi. PIBs are visible in the infected larvae at 3 dpi and more numerous at 4 dpi.

時，則依幼蟲感受性高低、設計於不同接種天數取樣。擬尺蠖取接種後3天及4天者，小菜蛾及甜菜夜蛾則取接種後五天者，菸芽夜蛾、斜紋夜蛾、亞洲玉米螟與大蠟蛾則取接種後7至10天之病蟲，而外米綴蛾則取接種後10至14天之病蟲。經切片染色後發現擬尺蠖、小菜蛾及甜菜夜蛾之感染程度極為嚴重，幼蟲脂肪體細胞、表皮細胞、氣管鞘、神經鞘、肌肉、馬氏管、血球細胞及腸壁細胞等均可見腫大之細胞核，甚至感染末期之病蟲蟲體組織完全崩解，造成幼蟲體腔內一片模糊，只見病毒包含體充滿血腔(圖五C, E, G)。而菸芽夜蛾、斜紋夜蛾、大蠟蛾及玉米螟之罹病幼蟲體內，均有因病毒包含體遽增而腫大的細胞核，尤其在氣管鞘、脂肪體及表皮細胞受感染特別嚴重(圖五I, K, M, N)。

外米綴蛾在接種 7.80×10^3 PIBs / mm³病毒污染飼料後，經14天培養，再取樣切片、鏡檢其各組織，結果並未發現任何因病毒感染而細胞核腫大的現象(圖五O)。

四、加州苜蓿夜蛾核多角體病毒對寄主蛹期及成蟲之影響

不同濃度之病毒對幼蟲之化蛹率有很大之影響，接種 2.34×10^1 至 7.80×10^3 PIBs / mm³病毒污染飼料塊液予三齡菸芽夜蛾時，可造成28.3%~61.4% 幼蟲死亡且體液中含有大量病毒包含體、且殘存幼蟲至接種後20天仍無法化蛹，僅停滯在末齡蟲期，取食量降低且發育甚為緩慢。隨著接種病毒濃度之下降，幼蟲罹病死亡率減少、且正常化蛹率增加。接種濃度在 7.80×10^2 PIBs / mm³以上之



圖六 以不同濃度之加州苜蓿夜蛾核多角體病毒經由人工飼料污染法接種三齡菸芽夜蛾幼蟲之累積死亡率及化蛹率。
Fig. 6. Cumulative mortality and pupation of 3rd-instar larvae of *Heliothis virescens* larvae fed on an artificial diet contaminated with different concentrations of AcMNPV.

供試幼蟲，其正常化蛹率均為0%；而低濃度病毒處理之幼蟲死亡率雖然在5%以下，但其正常化蛹率亦僅為對照組的三分之一左右（圖六）。

以高濃度AcMNPV接種439隻五齡斜紋夜蛾幼蟲後，可產生約10.5%之幼蟲死亡率，及在化蛹前產生25.5%之死亡率，順利進入蛹期之比例僅佔64.0%比對照組之91.3%明顯降低許多。而在所有蛹體當中又有約49.8%之不正常蛹，比對照組之6.6%高出許多，即將近一半之蛹體為翅腹接不全或畸型。因此雖然幼蟲因病毒而造成之死亡率不高，但最終之正常化蛹率（化蛹率×正常蛹比例）卻僅為對照組之37.7%（表二）。將存活之正常蛹分雌雄並分別秤重，發現無論雌蛹或雄蛹之蛹重病毒處理組均較對照組明顯減輕許多。處理組之羽化率僅45.4%約為對照組之一半，而其中又有75.9%之不正常或捲翅之成蛾，比對照組

之20.6%高出2.7倍（表三）。總計自五齡幼蟲至正常成蛾，處理組之總存活率（化蛹率×正常蛹比例×羽化率×正常成蛾比例）約為3.5%較對照組之54.9%明顯下降甚多。但在雌雄性比例方面，雖然無太大之差異，但仍有雌性比例下降之趨勢，尤其雌成蛾之比例下降較多（表二、三）。

討 論

一般而言，昆蟲病毒具有寄主專一性，不同種昆蟲之核多角體病毒其寄主範圍相差甚遠。且即使同一種寄主昆蟲的病毒，但不同分離株，其對昆蟲致病力亦異（Caballero *et al.*, 1992）。由於AcMNPV具有很廣泛的寄主範圍，因此有許多研究已先後證實除原始寄主加州苜蓿夜蛾（*A. californica*）以外，該

表二 加州苜蓿夜蛾核多角體病毒對斜紋夜蛾之死亡率，化蛹率及性比率之影響

Table 2. Larval and pupal mortality, pupation, and sex ratio of pupae from 5th-instar *Spodoptera litura* larvae imbibed 5×10^6 PIBs AcMNPV suspension

Treatment	Number of larvae tested	Larval mortality (%)	Pre-pupal mortality (%)	Pupation (%)	Normal Pupae (%)	Abnormal pupae (%)	Sex ratio of pupae (f / f+m)
AcMNPV (5×10^6 PIBs / larva)	439	10.48	25.51	64.01	50.18	49.82	0.418
Control (Dist. water)	480	0	8.95	91.25	93.42	6.58	0.493

表三 加州苜蓿夜蛾核多角體病毒對斜紋夜蛾蛹重，羽化率及成蟲性比率之影響

Table 3. Pupal weight, adult emergence, and sex ratio of adult from 5th-instar *Spodoptera litura* larvae imbibed 5×10^6 PIBs AcMNPV suspension

Treatment	Number of larvae tested	Weight of pupae (mg ± SD)	Weight of pupae (mg ± SD)	Adult emergence (%)	Normal adult (%)	Abnormal adult (%)	Sex ratio of pupae (f / f+m)
AcMNPV (5×10^6 PIBs / larva)	141	227.6 ± 17.0	236.1 ± 179.7	45.39	24.11	75.89	0.382
Control (Dist. water)	438	329.0 ± 18.5	357.7 ± 27.7	81.05	79.45	20.55	0.476

病毒尚可對擬尺蠖、甜菜夜蛾、小菜蛾、大蠟蛾、棉葉蟲(*Buccalatrix thurberiella*)、歐洲玉米螟(*Ostrinia nubilalis*)、海鹽沼澤毛蟲(*Estigmene acrea*)、*Heliothis*屬數種害蟲、*Boarmia selenaria*、粉斑螟(*Epehestia cautella*)及菸草天蛾(*Manduca sexta*)等均有致病力(Vail *et al.*, 1971; Witt and Janus, 1976; Lewis *et al.*, 1977; Vail and Collier, 1982; Scheepens and Wysoki, 1989; Washburn *et al.*, 1995)。尤其對擬尺蠖幼蟲具有特別高之致病力，本試驗中以高濃度病毒處理後4天可達90%之死亡率、5天即達100%。其感染速率較其他寄主快，在接種後4小時，即可在中腸上皮細胞偵測到病毒早期基因表現，並在接種後12小時，即由中腸上皮層周圍之微氣管細胞開始，進行系統性感染全身各組織細胞，較菸芽夜蛾提早甚多(Washburn *et al.*, 1995)。且在Tn5B1-4細胞株生產包含體之數量比SF21AE細胞株高出六倍之多(Bonning *et al.*, 1995)。由體內試驗及體外試驗，均顯示擬尺蠖對AcMNPV具極高之感受性。

雖然此病毒之寄主範圍很廣，但其對不同科、屬之鱗翅目幼蟲之致病力差異頗大，即使對同一屬不同種之幼蟲所引起之致病力差異亦大。就以*Heliothis*屬而言，菸芽夜蛾之感受性較棉鈴蟲(*H. zea*)高10倍(Vail *et al.*, 1978)，且病毒產量相差約6000倍，但兩者之潛伏期均很長，在接種一週後方可見其罹病死亡率之快速上升(Vail and Collier, 1982)。而大棉鈴蟲(*H. peltigera*)對此病毒之感受性極高，以417 PIBs / mm²之濃度可使長度約10 mm大小之幼蟲於一週內全數罹病死亡；玉米穗蟲則感受性較大棉鈴蟲低(Scheepens and Wysoki, 1989)。而在本試驗中亦發現，採自於本省霧峰菸草田之菸芽夜蛾與嘉義朴子玉米田之玉米穗蟲，對此

病毒之感受性亦有很大之差異。菸芽夜蛾在接種後19天之總死亡率可達93%，其中有60%以上之幼蟲在鏡檢體液時，可發現大量之病毒包含體，且正常化蛹率亦隨著接種病毒之濃度而大幅下降，此與Scheepens and Wysoki(1989)所做玉米穗蟲結果相符；然玉米穗蟲在化蛹前之罹病死亡率則僅低於10%。以*Spodoptera*屬而言，AcMNPV對甜菜夜蛾有很高之致病力(Tompkins *et al.*, 1988)，本試驗中甜菜夜蛾三齡初蛻幼蟲經病毒處理一週後，亦有約90%之罹病死亡率；但對海灰翅夜蛾(*S. littoralis*)幼蟲卻完全無致病力(Scheepens and Wysoki, 1989)。此病毒感染海灰翅夜蛾細胞株(SL2)時，其出芽型病毒(budded virus, BV)之產量及多角體蛋白質之濃度均遠低於草地貪夜蛾(*S. frugiperda*)細胞株(SF9)，且SL2細胞在感染6–8小時即產生許多空胞，在24小時後細胞受到極度破壞，顯示該細胞株受此病毒感染後即進行細胞自戕(apoptosis)，而嚴重影響病毒複製(Chejanovsky and Gershburg, 1995)。本試驗結果得知AcMNPV對斜紋夜蛾三齡幼蟲之致死率亦不高，接種後12天供試幼蟲約有40%之死亡率。對五齡幼蟲而言，雖然幼蟲死亡率僅約10%，死於化蛹前期者26%，但感染病毒存活之蛹體有50%為畸型蛹，且體重減輕、成蟲羽化率低於50%，其中又有四分之三為捲翅或不正常成蛾，至於雌成蛾性比率亦會下降。Subrahmanyam and Ramakrishnan (1981)研究亦指出感染病毒之斜紋夜蛾幼蟲其脫皮失敗之次數增加，且末齡幼蟲會延長發育期且造成化蛹失敗。Santiago-Alvarez and Vargas Osuna (1988)報告，經病毒處理而存活之海灰翅夜蛾雄蛾之繁殖力會減弱，影響下一代卵之孵化率，或造成下一代初齡幼蟲罹病死亡。

病毒包含體經口進入幼蟲中腸後，經鹹

性腸液及酵素作用使得具有細胞感染力之病毒粒子自包含體內釋出，並穿透中腸腸壁至血腔中，再感染脂肪體細胞、表皮細胞、氣管鞘、神經鞘、肌肉、馬氏管、血球及腸壁細胞等(Lewis *et al.*, 1977; Vail and Collier, 1982; Washburn *et al.*, 1995)。感染初期會產生大量的出芽病毒或為細胞外病毒(*extra-cellular virus*, ECV)，其經由穿透寄主細胞膜而取得病毒粒子之封膜(envelope)，其一端具有表面突出物(peplomers)，皆可再次感染鄰近細胞，此種型式之病毒結構特殊(Adams *et al.*, 1977)。而後期則產生大量的病毒包含體(*occlusion body*, OB)，最後由於病毒快速的增殖，致使細胞核腫大進而崩解，造成幼蟲組織完全破壞、體液混濁。罹病幼蟲死亡後，蟲體表皮潰爛而流出大量高致病力之包含體(Hunter and Hall, 1968; Whitlock, 1974; Tuan *et al.*, 1995)。一般而言，幼蟲發病的潛伏期約3至9天，甚至更久可長達數10天，依幼蟲食入的病毒劑量、幼蟲發育期、環境之溫濕度等而有很大的差異。病毒接種濃度愈高，則死亡率愈高，潛伏期也愈短；幼蟲對病毒之感受性亦隨著齡期之增長而降低，齡期愈高死亡率愈低，且死亡時間也明顯延後(Allen and Ignoffo, 1969; Boucias *et al.*, 1980; Smits and Vlak, 1988; Tuan *et al.*, 1994)。本試驗中AcMNPV對具高感受性之擬尺蠖潛伏期僅需2~3天，對小菜蛾及甜菜夜蛾需4~5天，但對其他供試蟲則需一週以上，其間差異頗大。而由組織病理切片結果觀之，前三種害蟲體內受病毒感染之情形甚為嚴重，所有組織均有細胞核腫大、甚至脹破之現象，其他害蟲之感染情形則較輕。經由病毒感染後，寄主體內會產生大量之病毒包含體蛋白質，其蛋白質分子量乃依感染病毒之種類而異(Finnerty *et al.*, 1994)。Arne and Nordin

(1995)將HzSNPV及AcMNPV同時接種棉鈴蟲二齡及四齡幼蟲，發現可顯著降低半致死劑量且提早半致死時間，因此適當混合比例的兩種病毒液較單獨一種病毒液之致病力高。在本試驗之進行期間，甜菜夜蛾本身潛伏感染之核多角體病毒會因接種AcMNPV後嚴重發病。此時罹病幼蟲體內之多角體蛋白質乃以甜菜夜蛾核多角體病毒為主，經由鏡檢可觀察到病毒包含體形態之不同，以及蛋白質電泳分析其分子量之大小有異。因此在進行病毒檢定時，應特別注意供試蟲體健康條件、或儘量避免同時進行多種病毒檢定、以及慎防人為污染，以免影響試驗結果。

據Shapiro (1986)之建議，繁殖病毒之最佳寄主，除了應考慮其繁殖病毒之能力與品質外，尚需注意寄主幼蟲大量飼育之難易，與其體型之大小。在本試驗之九種害蟲中，對加州苜蓿夜蛾之核多角體病毒之感受性，以擬尺蠖、小菜蛾及甜菜夜蛾三種為最高，且大量飼育的系統均已建立，但因小菜蛾幼蟲蟲體較小，與擬尺蠖及甜菜夜蛾幼蟲相差數倍，故在經濟之觀點上，以擬尺蠖及甜菜夜蛾優於小菜蛾，因此以這兩種幼蟲做為繁殖該病毒之代用寄主較其他七種幼蟲為適合。

目前由於遺傳工程生物技術之快速成長，歐美先進國家已研發含激素、神經毒、或細胞毒蛋白之重組病毒，擬加速害蟲之死亡時間、減少作物損失(Maeda, 1989; Martens *et al.*, 1990; Steward *et al.*, 1991; Tomalski and Miller, 1991; Cory *et al.*, 1994)。以含蠍毒之重組病毒AcAaIT，測試其對五齡擬尺蠖幼蟲之致病力，結果明顯地加速幼蟲之半致死時間，並明顯地降低幼蟲取食量(Ignoffo and Garcia, 1996)。因此若能選用適當的毒素基因進行基因工程改造AcMNPV，必可加強AcMNPV的致死速

率，而成為良好的微生物殺蟲劑。

誌謝

本試驗進行期間承本所林秀昭、林月美、蘇珍桂、羅翠姍小姐提供試驗蟲隻，以及陳文霖先生協助病毒試驗，使得試驗順利完成，在此一併誌謝。

參考文獻

Adams, J. R., R. H. Goodwin, and T.

A. Wilcox. 1977. Electron microscopic investigations on invasion and replication of insect baculoviruses *in vivo* and *in vitro*. *Biologie Cellulaire* 28: 261-268.

Agathos, S. N. 1991. Mass production of viral insecticides. pp. 217-238. in: Maramorosch, K., ed. *Biotechnology for Biological Control of Pests and Vectors*. CRC Press, Boca Raton, FL.

Allen, G. E., and C. M. Ignoffo. 1969. The nucleopolyhedrosis virus of *Heliothis* quantitative *in vivo* estimates of virulence. *J. Invertebr. Pathol.* 13: 378-381.

Arne, C. N., and G. L. Nordin. 1995. Enhancement of indices of viral infection by simultaneously administering *Helicoverpa zea* and *Autographa californica* nuclear polyhedrosis viruses to larval *Helicoverpa zea* (Boddie). *J. Invertebr. Pathol.* 66: 18-24.

Asano, S., T. Maruyama, T. Iwasa, A. Seki, M. Takahashi, and G. G. Soares, Jr. 1993. Evaluation of bio-

logical activity of *Bacillus thuringiensis* test samples using a diet incorporation method with diamondback moth, *Plutella xylostella* (Linnaeus) (Lepidoptera: Yponomeutidae). *Appl. Entomol. Zool.* 28: 513-524.

Bonning, B. C., K. Hoover, S. Duffey, and B. D. Hammock. 1995. Production of polyhedra of the *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus using the Sf21 and Tn5B1-4 cell lines and comparison with host-derived polyhedra by bioassay. *J. Invertebr. Pathol.* 66: 224-230.

Boucias, D. G., D. W. Johnson, and G. E. Allen. 1980. Effects of host age, virus dosage, and temperature on the infectivity of a nucleopolyhedrosis virus against velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatalis*, larvae. *Environ. Entomol.* 9: 59-61.

Caballero, P., D. Zuidema, C. Santago-Alvarez, and J. M. Vlak. 1992. Biochemical and biological characterization of four isolates of *Spodoptera exigua* nuclear polyhedrosis virus. *Biocont. Sci. Tech.* 2: 145-157.

Chejanovsky, N., and E. Gershburg. 1995. The wild-type *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus induces apoptosis of *Spodoptera littoralis* cells. *Virology* 209: 519-525.

Cory, J. S., M. L. Hirst, T. Williams, R. S. Hails, D. Goulson, B. M. Green, T. M. Carty, R. D. Possee, P. J. Cayley, and D. H. L. Bishop. 1994.

- Field trial of a genetically improved baculovirus insecticide. *Nature* 370: 138-140.
- Finnerty, C. M., R. R. Granados, P. R. Hughes, and A. C. Bellotti.** 1994. Bioassay of several baculoviruses for virus-induced mortality in *Manduca sexta* larvae and induction of infection-specific protein. *J. Invertebr. Pathol.* 63: 140-144.
- Finney, D. J.** 1971. Probit analysis. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- Granados, R. R., and K. A. Williams.** 1986. *In vivo* infection and replication of baculoviruses. pp. 89-108. in: Granados, R. R., and B. A. Federici, eds. *The Biology of Baculoviruses*. Vol. 1. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Groner, A.** 1986. Specificity and safety of baculoviruses. pp. 177-202. in: Granados, R. R., and B. A. Federici, eds. *The Biology of Baculoviruses*. Vol. 1, CRC Press, Boca Raton, FL.
- Hamm, J. J.** 1966. A modified azan staining technique for inclusion body viruses. *J. Invertebr. Pathol.* 8: 125-126.
- Hung, C. C., and J. S. Hwang.** 1988. The mass rearing method of major insect pests: Asian corn borer, *Ostrinia furnacalis*, guava mealy bug, *Planococcus minor* and beet armyworm, *Spodoptera exigua*. Annual Report of TACTRI. pp. 50-52 (In Chinese).
- Hunter, D. K., and I. M. Hall.** 1968. Cytopathology of a nuclear polyhedrosis virus of the beet armyworm, *Spodoptera exigua*. *J. Invertebr. Pathol.* 12: 93-97.
- Ignoffo, C. M.** 1973. Development of a viral insecticide: concept to commercialization. *Exp. Parasitol.* 33: 380-406.
- Ignoffo, C. M., and C. Garcia.** 1996. Mortality and feeding of late-instar *Trichoplusia ni* larvae fed a wild or recombinant strain of the nuclear polyhedrosis virus of *Autographa californica*. *J. Invertebr. Pathol.* 68: 191-193.
- Klein, M.** 1978. An improved peroral administration technique for bioassay of nucleopolyhedrosis viruses against Egyptian cotton worm, *Spodoptera littoralis*. *J. Invertebr. Pathol.* 31: 134-136.
- Lewis, L. C., R. E. Lynch, and J. J. Jackson.** 1977. Pathology of a baculovirus of the alfalfa looper, *Autographa californica*, in the European corn borer, *Ostrinia nubilalis*. *Environ. Entomol.* 6: 535-538.
- Maeda, S.** 1989. Increased insecticidal effect by a recombinant baculovirus carrying a synthetic diuretic hormone. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 165: 1177-1183.
- Martens, J. W. M., G. Honee, D. Zuidema, J. W. M. van Lent, B. Visser, and J. M. Vlak.** 1990. Insecticidal activity of a bacterial crystal protein expressed by a recombinant baculovirus in insect cells. *Appl.*

- Environ. Microbiol. 56: 2764-2770.
- Santiago-Alvarez, C., and E. Vargas Osuna.** 1988. Reduction of reproductive capacity of *Spodoptera littoralis* males by a nuclear polyhedrosis virus (NPV). J. Invertebr. Pathol. 52: 142-146.
- Scheepens, M. H. M., and M. Wysoki.** 1989. Pathogenicity of AcMNPV for larvae of *Boarmia selenaria*, *Heliothis armigera*, *Heliothis peltigera*, *Spodoptera littoralis* and *Ephestia cautella*. J. Invertebr. Pathol. 53: 183-189.
- Shapiro, M.** 1986. *In vivo* production of baculoviruses. pp. 31-62. in Granados, R. R., and B. A. Federici, eds. The Biology of Baculoviruses. Vol. 2. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Smits, P. H., and J. M. Vlak.** 1988. Biological activity of *Spodoptera exigua* nuclear polyhedrosis virus against *S. exigua* larvae. J. Invertebr. Pathol. 51: 107-114.
- Smits, P. H., M. van de Vrie, and J. M. Vlak.** 1987. Nuclear polyhedrosis virus for control of *Spodoptera exigua* larvae on glass-house crops. Entomol. Exp. Appl. 43: 73-80.
- Stewart, L. M. D., M. Hirst, M. Lopez-Ferber, A. T. Merryweather, P. J. Cayley, and R. D. Possee.** 1991. Construction of an improved baculovirus insecticide containing an insect-specific toxin gene. Nature 352: 85-88.
- Stiles, B., and H. A. Wood.** 1983. A study of the glycoproteins of *Auto-*grapha californica nuclear polyhedrosis virus (AcNPV). Virology 131: 230-241.
- Subrahmanyam, B., and N. Ramakrishnan.** 1981. Influence of a baculovirus infection on molting and food consumption by *Spodoptera litura*. J. Invertebr. Pathol. 38: 161-168.
- Tomalski, M. D., and L. K. Miller.** 1991. Insect paralysis by baculovirus-mediated expression of a mite neurotoxin gene. Nature 352: 82-85.
- Tompkins, G. J., E. M. Dougherty, J. R. Adams, and D. Diggs.** 1988. Changes in the virulence of nuclear polyhedrosis viruses when propagated in alternate noctuid (Lepidoptera: Noctuidae) cell lines and hosts. J. Econ. Entomol. 81: 1027-1032.
- Tuan, S. J., S. S. Kao, and D. J. Cheng.** 1994. Histopathology and pathogenicity of *Spodoptera exigua* nuclear polyhedrosis virus isolated in Taiwan. Chinese J. Entomol. 14: 33-45 (In Chinese).
- Tuan, S. J., S. S. Kao, U. L. Leu, and D. J. Cheng.** 1995. Pathogenicity and propagation of *Spodoptera litura* nuclear polyhedrosis virus isolated in Taiwan. Chinese J. Entomol. 15: 19-33 (In Chinese).
- Vail, P. V., and S. S. Collier.** 1982. Comparative replication, mortality, and inclusion body production of the *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus in *Heliothis* sp. Ann. Entomol. Soc. Am. 75: 376-382.

- Vail, P. V., G. Sutter, D. L. Jay, and D. Gough.** 1971. Reciprocal infectivity of cabbage looper and alfalfa looper nuclear polyhedrosis viruses. *J. Invertebr. Pathol.* 17: 383-388.
- Vail, P. V., D. L. Jay, F. D. Stewart, A. J. Martinez, and H. T. Dulmage.** 1978. Comparative susceptibility of *Heliothis virescens* and *H. zea* to the nuclear polyhedrosis virus isolated from *Autographa californica*. *J. Econ. Entomol.* 71: 293-296.
- Washburn, J. O., B. A. Kirkpatrick, and L. E. Volkman.** 1995. Comparative pathogenesis of *Autographa californica* M nuclear polyhedrosis virus in larvae of *Trichoplusia ni* and *Heliothis virescens*. *Virology* 209: 561-568.
- Whitlock, V. H.** 1974. Symptomatology of two viruses infection *Heliothis armigera*. *J. Invertebr. Pathol.* 23: 48-56.
- Witt, D. J., and C. A. Janus.** 1976. Aspects of the cross transmission to *Galleria mellonella* of a baculovirus from the alfalfa looper, *Autographa californica*. *J. Invertebr. Pathol.* 27: 65-69.
- Wu, T. K.** 1993. An improved method to rear and collect the rice moth, *Corycra cephalonica* Stainton (Lepidoptera: Pyralidae). *Chinese J. Entomol.* 13: 9-15 (In Chinese).

收件日期：1997年9月1日

接受日期：1997年11月24日

Investigation of Pathogenicity of AcMNPV to Nine Lepidopteran Pests in Taiwan

Shu-Jen Tuan* and Suey-Sheng Kao Biopesticide Department, Taiwan Agricultural Chemicals and Toxic Substances Research Institute, Wufeng, Taichung, Taiwan 413, R.O.C.

Yu-Chan Chao Institute of Molecular Biology, Academia Sinica, 128 Yen-Chiu Road, Sec. 2, Nankang, Taipei, Taiwan 115, R.O.C.

Roger F. Hou Department of Entomology, National Chung Hsing University, Taichung 402, Taiwan, R.O.C.

ABSTRACT

Pathogenicity and histopathology of *Autographa californica* nucleopolyhedrovirus (AcMNPV) to larvae of 9 lepidopteran species in Taiwan were investigated. *Trichoplusia ni*, *Plutella xylostella*, and *Spodoptera exigua* were highly susceptible to AcMNPV; LC₅₀ values of AcMNPV to the 3rd instar larvae at 6th day postinoculation were 1.24, 2.07×10³, and 2.40×10³ PIBs / mm³, respectively. Their LT₅₀ values at a concentration of 7.8×10² PIBs / mm³ were 3.7, 6.3, and 7.8 d, respectively. *Heliothis virescens*, *S. litura*, *Ostrinia furnacalis*, and *Galleria mellonella* were found to be moderately susceptible. *Helicoverpa armigera* showed a very low mortality, while *Corcyra cephalonica* was not infected with AcMNPV. In the infected larvae, target cells became swollen and finally lysed resulting from the formation of inclusion bodies, especially, in the fat body, hypodermis, tracheal matrix, and hemocytes. Furthermore, the infected larvae prolonged larval development, failed to molt or pupate, and finally died. The pupation and adult emergence of infected larvae decreased, whereas the number of abnormal pupae and moths increased.

Key words: *Autographa californica* nucleopolyhedrovirus, pathogenicity, Lepidopteran pest