

TUMAMONISÄRMIÖVIRUKSEN KÄYTÖSTÄ RUSKEAN MÄNTYPISTIÄISEN (*NEODIPRION CERTIFER* GEOFFR.) TORJUNNASSA

MATTI NUORTEVA

SUMMARY:

USE OF THE NUCLEAR POLYHEDROSIS VIRUS IN THE CONTROL OF THE EUROPEAN PINE SAWFLY (*NEODIPRION CERTIFER* GEOFFR.)

Saapunut toimitukselle 8. 8. 1972

Ruskean mäntypistiäisen tumamonisärmiövirustaudin ja sen käyttömahdollisuuksien kuvauksen jälkeen on tarkasteltu v. 1963 Lounais-Suomessa suoritettujen koeruis-
kutusten tuloksia. Ruiskutteina käytettiin Suomesta kerättyjä ja puhdistettuja moni-
särmiöitä veteen sekoitettuina sekä vastaavanlaista ruotsalaista seosta. Tulokset tar-
kastettiin 14 pv:n kuluttua ruiskutuksista ja jo tällöin oli mäntypistiäisen toukkape-
sueista 83—96 % täysin kuolleita. Taudin piilevän vaiheen ärsyttämiseksi akuuttiseksi
kokeiltiin useita kasvustolle vaarattomia aineita. Veteen sekoitetulla jauhetulla kvartsil-
la oli selvä kuolleisuutta lisäävä vaikutus ja kalkkikin näytti vaikuttavan jonkin ver-
ran.

1. JOHDANTO

Männyn neulasia syöväällä ruskealla mäntypistiäisellä (*Neodiprion certifer* Geoffr.) on maassamme melko usein suuria joukkoesiintymiä (esim. KANGAS 1963, JUUTINEN 1967). Tuhoalueet ovat yleensä paikallisesti rajoittuneita, mutta toisinaan voi tuhonaisten metsien laajuus olla jopa satojatuhansia hehtaareita. Koska pistiäisen toukat jättävät saman vuoden neulasen syömättä, kuolee puita vain yksittäistapauksissa syöntivaurioihin. Mutta varsinkin useampana perättäisenä vuotena sattunut neulasten menetys aiheuttaa männiköille tuntuvaan kasvun hidastumista (esim. TIHONEN 1970). Vaikka joukkoesiintymät luonnossa tyrehtyvät yleensä muutamassa vuodessa, voi tuholaisten torjunta tietyissä tilanteissa olla tarpeellista ja jopa kannattavaakin. Laajoilla tuhoalueilla ei myrkkujen käyttö torjuntaan ole kuitenkaan suotavaa niiden aiheuttamien monien haitallisten sivuvaikutusten vuoksi.

Ruskean mäntypistiäisen torjumiseksi on kehitetty myös biologisia torjuntakeinoja. Parhaimmaksi niistä on osoittautunut toukissa tautia aiheuttavan tumamonisärmiöviruksen käyttäminen. Tauti kehitettiin käytäntöön soveltuvaksi torjuntamenetelmäksi jo kaksikymmentä vuotta sitten Kana-
dassa (BIRD 1953, BIRD & WHALEN 1953). Myös eri puolilla Eurooppaa on monisärmiövirusta sen jälkeen käytetty hyvällä menestyksellä, useimmiten kuitenkin lähinnä kokeilutarkoituksella.

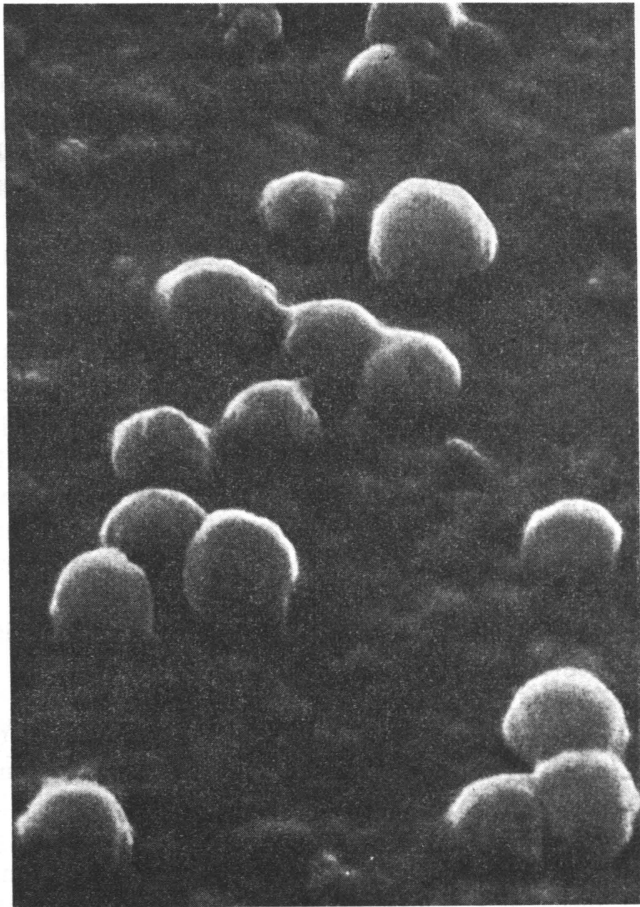
Viimeisen suuren mäntypistiäisesiintymisen aikana keräsin Hattulan Vuohiniemestä v. 1962 tautiin kuolleita toukkia ja puhdistin niistä monisärmiöitä talteen. Koeruis-
kutukset näillä suoritettiin seuraavana keväänä kolmella paikkakunnalla Lounais-Suomessa. Koska vielä silloin ei ollut varmuutta siitä, olisivatko pistiäisen toukat kestäviä niiden luontaiselta esiintymisalueelta kerättyä taudinaiheuttajakantaa vastaan, käytettiin ko-
keissa vertailun vuoksi myös Ruotsista kerättyä ja siellä puhdistettua moni-
särmiöpreparaattia. Lisäksi kokeiltiin erilaisia kasvustolle vaarattomia ai-
neita, joita voitaisiin ajatella lisäaineina käytettävän ruiskutusten yhtey-
dessä, jotta mahdollisesti luontaisesti piilevänä esiintyvä tauti saataisiin puh-
keamaan tappavaksi.

Metsissämme viimeksi sattuneen laaja-alaisen mäntypistiäisen joukko-
esiintymän loputtua v. 1965, mihin luontaisesti puhjenneella ja levinneellä
tumamonisärmiövirustaudilla oli oma osuutensa (NUORTEVA 1966), myös yleinen mielenkiinto ja varautuminen mäntypistiäisten aiheuttaman uhkan torjuntaan laski. Nyt on jälleen toukkia alkanut esiintyä laajemmilla alueilla runsaasti ja niiden torjuminenkin on tullut ajankohtaiseksi. Tähän tarkoi-
tukseen olisi saatavissa kotimaassa kerättyä, puhdistettua ja käyttöval-
miiksi annosteltua monisärmiövirusta (NIEMINEN 1971). Menetelmän käy-
tännönoton esteenä ei kuitenkaan ole yksinomaan torjunnasta aiheutuvat
kustannukset, vaan osaltaan myös tietämättömyys ja siitä johtuvat ennako-
luulot. Mutta jatkuvasti kehittyvät biologiset tuholaistorjuntamenetelmät
tulevat meilläkin tulevaisuudessa kuulumaan osaltaan myös käytännön
metsäammattimiesten toimialan piiriin.

Mäntypistiäiskysymyksen jouduttua jälleen valokeilaan, on tässä kir-
jituksessa aluksi kuvailtu monisärmiötaudin ominaisuuksia sekä sen jälkeen
esitetty sillä tekemieni kokeiden tuloksia.

2. TAUTI JA SEN AIHEUTTAJA

Kaikki toistaiseksi tunnetut tumamonisärmiövirukset elävät perhosten, sahapistiäisten tai kaksisiipisten solutumissa ja esiintyvät kukin tavallisesti vain yhdellä isäntäeläinlajeilla. Ruskealla mäntypistiäisellä on taudin ai-
heuttajana *Borrelinavirus diprionis* Shdanow virus. Siitä ja sen aiheuttaman



Kuva 1. Ruskean mäntypistiäisen (*Neodiprion sertifer* Geoffr.) tumamonisärmiövirustaudin monisärmiöitä. Kuva otettu kullatusta näytteestä 10 000 kertaisella suurennuksella scanning elektronimikroskoopilla.

Fig. 1. Polyhedral bodies of the nuclear polyhedrosis virus of the European pine sawfly (*Neodiprion sertifer* Geoffr.). Photograph of a gold plated specimen in a Scanning electron microscope, magnification 10,000 x.

taudin kehityksestä on julkaistu useita tutkimuksia (esim. BIRD & WHALEN 1953, KRIEG 1955 a, 1955 b ja 1961, NIEMINEN 1971).

Taudin kestoasteen muodostavat kidemäiset, valkuaisaineesta muodostuneet 0.5–5 μ kokoiset monisärmiöt (kuva 1), joiden sisällä on 20–50 varsinaista sauvamaista virusta. Ne ovat siellä hyvässä suojassa monilta ulkoisilta tekijöiltä ja säilyvät vuosikausia tai -kymmeniä elinkykyisinä. Monisärmiön sisällä ollessaan virukset eivät pysty lisääntymään eivätkä

aiheuttamaan tautia. Niinpä monisärmiöiden esiintyminen esim. suolen sisällössä ei suinkaan merkitse sitä, että eläin olisi sairastunut.

Jouduttuaan ruoan mukana isäntäeläimen suoleen hajoavat monisärmiöt ruoansulatusnesteen vaikutuksesta ja täten vapautuneet virukset tunkeutuvat suolen epiteelisolujen tumiin. Kaikki toukan toiset solukot samoin kuin pistiäisen muut kehitysvaiheet ovat kestäviä virustartuntaa vastaan. Yksilöllistä immuniteettiä taikka resistenttisuutta tätä tautia vastaan ei toistaiseksi ole tavattu (esim. KRIEG 1957). Sensijaan osa tartunnan saaneista toukista kestää sairauden kuolematta. Se esiintyy niissä tällöin piilevänä l. latenttina, mistä tarkemmin myöhemmin.

Ensimmäiset merkit taudista havaitaan solutumissa 30–48 tunnin kuluttua siitä, kun toukille on syötetty monisärmiöitä (BIRD & WHALEN 1953, KRIEG 1955 a, 1955 b ja 1961). 60 tunnin kuluttua ilmaantuvat ensimmäiset monisärmiöt näkyviin. Niiden lukumäärän lisääntyessä tuma turpoaa jatkuvasti ja solun lopulta särkyessä monisärmiöt purkautuvat suoleen ja sieltä ulosteiden mukana ulos. Yhdessä toukassa voi KRIEGIN ((1955 b) mukaan syntyä yli 100 000 000 monisärmiötä. Sairaiden toukkien ruokahuu huononee ja niiden ulosteiden määrä vähenee jo 48–60 tunnin kuluttua tartunnasta. Lopulta toukat lopettavat syöntinsä kokonaan ja kuolevat usein vasta monen päivän kuluttua.

Taudin puhkeamiseksi tappavaksi sairaudeksi on toukan saatava vähintään 50–500 monisärmiötä (BIRD & WHALEN 1953, KRIEG 1955 b). Mitä enemmän monisärmiöitä toukat syövät, sen nopeammin kuoleminen tapahtuu. Kokeissa toukat ovat yleensä kuolleet 6–16 vrk:n kuluessa. Mutta esimerkiksi suurten metsäalojen käsittelyssä voi yli 90 % kuolleisuuden saavuttaminen kestää jopa 27 vrk, koska monisärmiöitä ei saada levitetyksi yhtä tasaisesti toukkien saataville kuin pienemmissä koeruiskutuksissa (BIRD 1953). Myös lämpötila vaikuttaa oleellisesti taudin kehitysnopeuteen (KRIEG 1955 b, TVERMYR 1969). Neljää vuorokautta nopeammin ei tauti kuitenkaan pysty tappamaan. Mikäli toukat saavat virustartunnan vartuneina, IV toukkavaiheessa, eivät ne yleensä enää kuole tautiin.

3. PIILEVÄ TAUDINVAIHE

Kaikissa tapauksissa ei tauti siis tartunnan tapahduttua inkubaatioajan jälkeen puhkeakaan, vaan jää piileväksi l. latentiksi. Tämä on ruskealla mäntypistiäisellä yleistä. Näin tapahtuu varsinkin silloin, kun toukka on tartunnassa saanut vain vähän taudinaiheuttajia tai mikäli tartunta tapahtuu toukkavaiheen lopussa. Erityisesti KRIEG (1956, 1957) on tutkinut taudin piilevää vaihetta. Monet eri seikat voivat ärsyttää tämän taudinvaiheen akuuttiseksi. Tällaisia tekijöitä ovat mm. UV-säteily ja useat kemialli-

set aineet ($\text{HS} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{COOH}$, NaF ja $\text{NH}_2 \cdot \text{OH}$) sekä ennenkaikkea uusi virusinfektio (vrt. myös STEINHAUS 1958). Ärsytyksessä todennäköisesti isäntäsolun aineenvaihduntaan vaikuttavat tekijät muuttavat solun ja viruksen välistä tasapainoa jälkimmäisen hyväksi ja tauti puhkeaa. Viruksen lisääntyminen on oleellisesti riippuvainen isäntäsolun aineenvaihdunnasta.

Piilevästi sairastuneet toukat kehittyvät edelleen koteloiksi ja sitten aikuisiksi. Taudinaiheuttajat kulkeutuvat koko ajan mukana ja siirtyvät emon laskemiin muniinkin, joista kehittyvät toukat voivat sairastua akuutisesti (KRIEG 1957, BUTOVITSCH *et al.* 1960). Tällä tavalla tauti siirtyy sukupolvesta toiseen.

Piilevästi sairaiden aikuisten takaruumiissa esiintyy usein sairaalloisia tummia möhkäleitä (NUORTEVA 1964). Vaikka nämä möhkäleet eivät ehkä aina johtuisikaan virustaudista (vrt. NEILSON & ELGEE 1968, SMIRNOFF 1968), on niiden esiintyminen nimenomaan piilevän virustaudin yhteydessä siksi runsasta, että ilmiötä todennäköisesti voitaisiin käyttää laadittaessa ennusteita mäntypistiäistuhojen jatkuvuudesta (NUORTEVA 1965).

4. TAUDIN LEVIÄMINEN

Käytännön torjuntatyötä varten olisi tärkeätä tuntea tarkoin ne tekijät, jotka mahdollisesti edistävät tai ehkäisevät taudin leviämistä. Laajamittaiseen kulkutaudiksi puhkeamiseen vaikuttavat seikat olisi myös tunnettava. Valitettavasti tiedot taudin leviämisestä ovat vielä sangen puutteelliset.

Terveet toukat saavat tartunnan aina suun kautta. Koska ne elävät pesueittain, leviävät monisärmiöt helposti toukasta toiseen. Samoin taudinaiheuttajien leviäminen puun latvasta alaspäin ja lähiympäristöön on nopeata. Sadevesi voi sitä edistää, mutta tuulen mukana kulkeutuvista monisärmiöistä ei ole havaintoja. Ilmanvirtojen avulla tapahtuva taudin leviäminen lieneekin harvinaisempaa. Sensijaan linnut, petoluteet sekä erilaiset raatoja syövät hyönteiset toimivat tehokkaasti taudin levittämisessä pitempiä matkoja (esim. FRANZ *et al.* 1955, SCHÖNHERR 1965, BIRD 1961).

Toinen leviämistapa on taudin siirtyminen piilevässä vaiheessa sukupolvesta toiseen. Sama ilmiö on tavattu muillakin sahapistiäisillä (esim. BIRD 1961, SMIRNOFF 1961 ja 1962). Kun saastuneita emoja on tarpeeksi, n. 15 %, riittää se alkuunpanemaan täydelliseen tuhoon johtavan tautiaallon (kts. KRIEG 1961). Piilevällä taudinvaiheella onkin meidän oloissamme todennäköisesti suuri merkitys taudin leviämisessä (NUORTEVA 1966). Tautiaallon puhjettua se hävittää käytännöllisesti katsoen kaikki toukat laajoilta alueilta. Virustautiin mäntypistiäisen joukkoesiintymät luonnossa yleensä lopuksi tyrehtyvätkin.

5. MONISÄRMIÖIDEN KERÄÄMINEN

Tumamonisärmiövirustaudin käyttömenetelmät perustuvat monisärmiöiden suureen kestävytyteen ulkoisiin olosuhteisiin nähden. Virukset lisääntyvät ja monisärmiöt syntyvät vain elävien hyönteissolujen tumissa. Niitä on siis toistaiseksi pystytty kasvattamaan vain isäntäeläimensä elävissä toukissa.

Periaatteessa monisärmiöiden kerääminen ja puhdistaminen on helppoa. Tautiin kuolleita toukkia kerätään luonnosta tai erityisistä kasvatuksista, ne pehmitetään tai mädännytetään vedessä, jauhetaan ja siivilöidään. Seos sentrifugoidaan, pestään ja saatu monisärmiökonsentraatio lasketaan. Tällä menetelmällä pystytään keräämään massottain monisärmiöitä. Työn suorittamiseksi sen eri vaiheissa on monia ratkaisumahdollisuuksia (esim. BIRD & WHALEN 1953, LEWIS 1960, SMIRNOFF 1964, ROLLINSON *et al.* 1970, MAZZONE *et al.* 1970, NIEMINEN 1971). Puhdistetut monisärmiöt säilytetään kylmässä ja pimeässä. Edullisempää on kuitenkin varastoida raatomateriaali, jota voi säilyttää + 4°C vedessä tai mielummin kuivana tai pakastetuna, jolloin virusten taudinaiheuttamiskyky säilyy pitkiäkin aikoja (vrt. LEWIS 1960, NEILSON & ELGEE 1960).

Suomessa on viime vuosina Kemira Oy:n Vaasan biologisessä laboratoriossa laajemmassa mittakaavassa kerätty, puhdistettu ja annosteltu käyttövalmiiksi monisärmiöitä lasiampulleihin (NIEMINEN 1971).

6. KÄYTTÖ

Ruskean mäntypistiäisen monisärmiövirusta ei tietääkseni ole käytetty pölytteenä vaan aina ruiskutteenä veteen sekoitettuna. Toisinaan on kiinniteaineena käytetty maitojauhetta tai yhdessä tapauksessa metyyliiselloosaa (EIDMANN 1970). Käytetty konsentraatio on riippunut tavoitteesta ja ruiskutustavasta ja se on vaihdellut suuresti (vrt. esim. BIRD 1953, FRANZ 1954, SCHÖNHERR 1965, EIDMANN 1970, NIEMINEN 1971). Usein on konsentraatio ollut miljoona monisärmiötä millilitrassa ruiskutetta. Käytetty nestemäärä riippuu luonnollisesti mm. puuston laadusta. Jos kyseessä on laajat alueet, voidaan ruiskutus suorittaa kaistaleittain (vrt. EIDMANN 1970), ja antaa taudin itsestään levitä välialueille.

Euroopassa on menestyksellisiä ruiskutuksia suoritettu mm. seuraavissa maissa: Saksassa (FRANZ 1954, SCHÖNHERR 1965), Ruotsissa (BUTOVITSCH *et al.* 1960, EIDMANN 1970), Itävallassa (JAHN & SINREICH 1964), Norjassa (AUSTARÅ 1965) ja Suomessa (NIEMINEN 1971).

Varsinkin kylmien säiden vallitessa voi torjunnan vaikutus tuntua hitaalta verrattuna kemiallisten kasvinsuojeluaineiden tehoon. Mutta koska torjunta

viruksilla suoritetaan toukkien ollessa vielä pieniä, vaikuttaa se ennen kuin toukat alkavat varsinaisen vahingollisen syöntinsä (vrt. TVERMYR 1969). Toukkien hitaan ja jatkuvan kuoleamisen vuoksi torjunnan onnistumisen tarkistamisen ajankohdan valinnassa ja tulosten tulokinnassa onkin tiettyjä vaikeuksia ja erikoispiirteitä (kts. FRANZ 1968).

Ruskean mäntypistiäisen torjunnassa ei vielä ole kokeiltu piilevästi sairaiden emojen päästämistä tuhoalueille (vrt. SMIRNOFF 1962). Tämän keinon etuna olisi, että pistiäiset lentämällä helposti saavuttaisivat esim. vaikeakulkuisiakin alueita ja munimalla saastuneita munia levittäisivät tautia ympäristöönsä.

7. VAARATTOMUUS

Yleensä hyönteisissä esiintyvien monisärmiövirusten käytön suurimpia etuja on, että ne aiheuttavat tauteja vain tietyissä isäntäeläimissä. Tuma-monisärmiövirukset, joihin ruskealla mäntypistiäisellä esiintyvä tautikin kuuluu, ovat tässä suhteessa kaikkein valikoivimpia kohteensa suhteen. Ne esiintyvät miltei säännöllisesti vain yhdellä isäntäeläinlajilla. Koska taudin yhteydessä ei synny myöskään vaarallisia toksisia aineita, ei tumamonisärmiövirusten ole toistaiseksi todettu missään aiheuttaneen haitallisia sivuvaikutuksia.

Ruskean mäntypistiäisen tumamonisärmiövirustauti esiintyy yleisenä luontaisesti eri puolella Eurooppaa. Kun valtavat mäntypistiäisesiintymät tyrehtyvät tämän taudin ansiosta, täytyy taudinaiheuttajia silloin olla runsaasti miltei kaikkialla, myös asutuilla seuduilla. Mikäli tällä taudilla olisi haitallisia vaikutuksia ihmiselle, eläimille tai muulle elolliselle luonnolle, olisi jotain haittavaikutuksia jossakin jo pitänyt ilmetä. Mitään sivuvaikutuksia ei meillä eikä muuallakaan ole kuitenkaan havaittu, ei myöskään käytettäessä tätä virusta torjunnassa hyväksi.

Perusteellisia tutkimuksia tumamonisärmiövirusten vaarattomuudesta marsuille ja hiirille ovat tehneet mm. IGNOFFO ja HEIMPEL (1965) sekä MEINECKE, McLANE ja REHNBORG (1970) käyttäen tutkimuksissaan *Heliolithis zea* Boddie perhosen ja HEIMPEL (1966) *Trichoplusia ni* Hübner perhosen tumamonisärmiöviruksia. Lisäksi ensinmainitun perhosen virustautia on kokeiltu myös ihmiseen ilman havaittavaa haittaa (HEIMPEL 1967).

Monisärmiöviruspreparaattien turvallinen käyttö edellyttää tietenkin, ettei niissä ole mitään vaarallisia mikrobeja epäpuhtauksina. Lisäksi on kuitenkin syytä valppaasti seurata tutkimusten edistymistä ja kokemusten karttumista tälläkin alalla, sillä näitä asioitahan on tutkittu vasta parin vuosikymmenen ajan.

8. SUORITETUT TUTKIMUKSET

Sopivat paikat kokeita varten tiedusteltiin maastosta toukokuun alussa 1963. Koska ruiskutukset ja niiden tarkastukset suoritettiin maasta käsin, etsittiin korkeintaan 3–4 metrin korkuisia, tasaisia männyn taimistoja, joissa oli kylliksi mäntypistiäisen terveeltä näyttäviä munia. Vaikeutena oli löytää vaatimukset täyttäviä tarpeeksi laajoja taimistoja, sillä viruksen leviämisen vuoksi oli sillä suoritettavat ruiskutuskohdat oltava vähintään 100 metrin päässä kontrollista tai muista koekohdista. Kokeet suoritettiin kolmella paikkakunnalla Lounais-Suomessa: Pusulan Hyönölän harjulla, sen rinteillä ja alapuolella olevalla ojitetulla rämeellä, Perttelissä ojitetulla rämeellä ja Paimiossa jo vanhemmalla ojitusalueella, jossa männyn lisäksi kasvoi runsaasti koivua. Kenttä- ja laboratoriotöissä oli huolellisena apulaiseni metsänhoitaja Sakari Lilja.

Ruiskutteina käytettiin veteen sekoitettuna itse puhdistettua viruspreparaattia, ruotsalaista viruspreparaattia sekä eräitä lisäaineita mahdollisen piilevän taudin ärsyttämiseksi nopeasti tappavaksi.

Ainekset omaan monisärmiöpreparaattiin saatiin keräämällä kesällä 1962 Hattulan Vuohiniemestä tautiin kuolleita toukkia. Monisärmiöt puhdistettiin niistä ja niiden lukumäärät vesiliuoksessa laskettiin tohtori Osmo Tuuralan toimesta Helsingin yliopiston Eläintieteen laitoksen fysiologisella osastolla. Koska seoksessa oli vielä laskentaa haittaavia epäpuhtauksia, ovat konsentraatiomääritykset epävarmoja. Ruiskutuksissa käytettiin kahta monisärmiöväkevyyttä, joista väkevämmässä oli 150 000 monisärmiötä millilitrassa ja laimeammassa 13 000–65 000. Mikäli kiinniteainetta käytettiin, lisättiin veteen maitojauhetta 5 g/l.

Professorit G. Notini ja V. Butovitsch (Skogshögskolan, Stockholm) toimittivat käyttööni Ruotsissa kerättyä ja siellä puhdistettua monisärmiöpreparaattia, jota heidän suosituksensa mukaisesti käytettiin laimennettuna väkevyyteen 1 milj. monisärmiötä/ml.

Ärsytysaineina käytettiin tislattuun veteen sekoitettuna seuraavia aineita: 1. Jauhettua kvartsiä, joka oli mennyt 200 meshiä tiheän seulan läpi, 40 g/l. 2. Kalkkikivijauhetta (35 % Ca), 80 g/l. 3. Lannoitetta »suometsiä varten» (N 14 %, P₂O₅ 18 %, K₂O 10 %), 10–30 g/l. 4. Maitojauhetta (»Täysenergia»), 5–20 g/l.

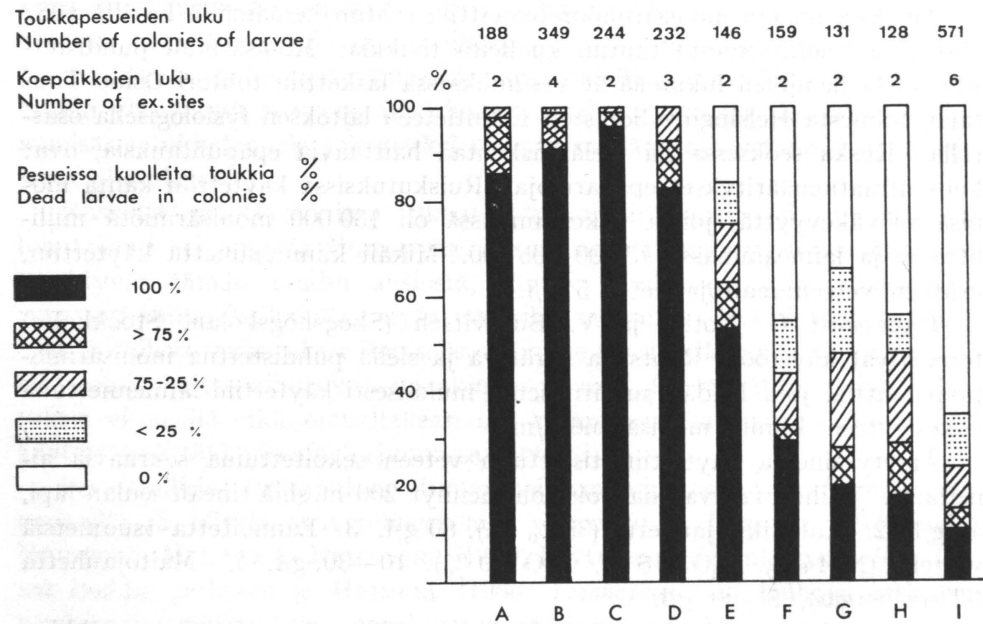
Ruiskutukset suoritettiin 30. V. — 5. VI. 1963 mäntypistiäisen toukkien ollessa I–II tai toisin paikoin I–III vaiheessa. Työhön käytettiin kannettavia paineruiskuja. Nestettä ruiskutettiin oksiin toukkapesueiden kohdalle sen verran, ettei se ruvennut tippumaan pisaroina neulasista. Kukin toukkapesue merkittiin muovinauhalla ja numeroitiin. Ruiskuja oli käytössä niin monta, että kutakin virusseosta varten oli omat ruiskut, samoin ärsytysaineita varten. Eri ruiskutuskohteita oli 19, ja niissä yhteensä 1 577 toukka-

pesuetta 666:ssa puussa. Kontrollit sijoitettiin vastaavasti kuuteen paikkaan, ja ne sisälsivät 571 toukkapesuetta 262:ssa puussa.

9. TULOKSET JA NIIDEN TARKASTELU

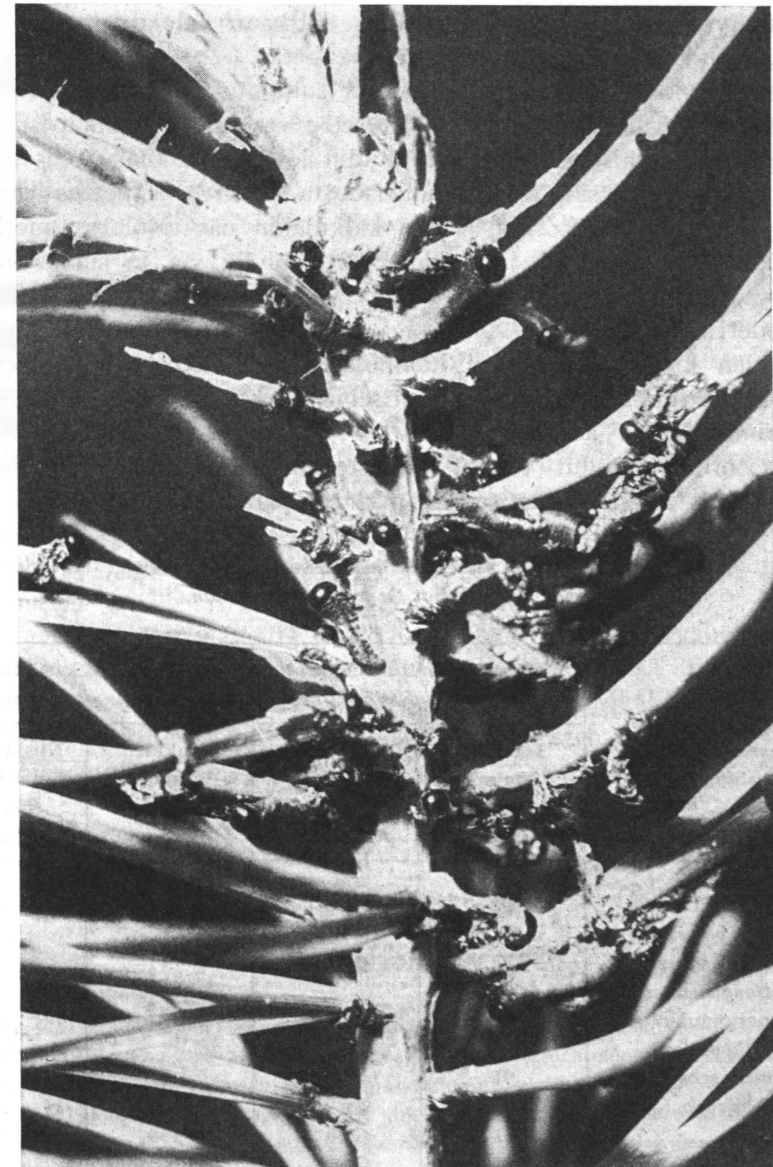
Tarkastukset koepaikoilla suoritettiin 14 vrk:n kuluttua kustakin ruiskutuksesta. Tällöin kunkin toukkapesueen terveydentila arvioitiin käyttäen jakoa seuraaviin viiteen ryhmään: Kaikki toukat kuolleet, yli 75 % toukista kuollut, 25–75 % toukista kuollut, alle 25 % toukista kuollut ja kaikki toukat terveitä. Terveiksi ei laskettu vielä elossa olevia toukkia, mikäli ne olivat selvästi sairaita, velttoja, ulkoihin ärsytyksiin reagoimattomia ja syöntinsä lopettaneita.

Ruiskutusten tulokset näkyvät kuvasta 2. Monisärmiöviruskäsittely oli tehonnut niin, että 83–96 % toukkapesueista oli täysin kuolleita (kts.



Kuva 2. Toukkapesueiden terveydentila 14 pv:n kuluttua ruiskutuksista. Ruiskutteiden merkinnät: A = Suomal. laimea virus, B = Suomal. väkevä virus, C = Suomal. väkevä virus + maitojauhe, D = Ruotsal. virus, E = Kvartsi, F = Kalkki, G = Maitojauhe, H = Lannoite, I = Kontrolli.

Fig 2. Condition of larval colonies 14 days after spraying. Substances used: A = Finnish weak virus, B = Finnish strong virus, C = Finnish strong virus + milk powder, D = Swedish virus, E = Quartz, F = Calcium, G = Milk powder, H = Fertilizer, I = Control.



Kuva 3. Virusruiskutuksen tappamia toukkia.
Fig. 3. Larvae killed by virus.

myös kuva 3). Täysin terveitä pesueita oli vain yksi (käsitelty ruotsalaisella viruspreparaatilla). Suomalaiset preparaattit olivat olleet hiukan tehokkaampia kuin ruotsalainen. Tämä johtunee ennenkaikkea suomalaisten preparaattien epäpuhtauksista, mikä yleensä vaikuttaa toukkakuolleisuutta

lisäävästi (vrt. esim. MAGNOLER 1968). Parhaan tuloksen antoi väkevä suomalainen seos, johon oli lisätty maitojauhetta.

Kaikki ärsykkeillä käsitellyt näyttivät suurentavan kuolleisuutta (kuva 2). Ehkä jo yksistään ruiskutteissa käytetty vesi edisti toukkapesueissa jo mahdollisesti luontaisesti esiintyvän taudin leviämistä. Tilastollisesti käsiteltynä näytti kvartsin toukkakuolleisuutta lisäävä vaikutus merkittävältä ($\chi^2 = 60.00^{***}$ ja 24.86^{***}) ja kalkillakin näytti olevan merkitystä ($\chi^2 = 10.23^{**}$ ja 10.60^{**}). Ainakin kvartsipölyllä voi jo sinänsäkin olla toukkia tappava vaikutus, mikä myöhemmin suorittamissani kokeissa onkin todettu.

Toukkien kuoleminen jatkui luonnollisesti tarkastushetken jälkeenkin. Elossa olevien toukkien terveydentilan selvittämiseksi niitä kerättiin laboratoriotutkimuksiin ja kasvatuksiin.

Laboratorioon tuodut toukat pakastettiin välittömästi. Myöhemmin jokaisen niiden keskusolesta tehtiin pisarapreparaatit objektilasille. Näyte

Taulukko 1. Tarkastuksen aikana vielä elävänä tavattujen toukkien terveydentila.

Table 1. Condition of larvae still alive at the time of inspection.

Käytetty ruiskute <i>Ingredients of solutions</i>	Mikroskooppitutkimukset <i>Microscopical inspections</i>		Toukkien kasvatus <i>Rearing of larvae</i>	
	Toukkien luku <i>Number of larvae</i>	Niissä monisärmiöitä <i>Infected by polyeder %</i>	Toukkien luku <i>Number of larvae</i>	Niistä kutoi kotelokopan <i>Cocoons product %</i>
Suomal laimea virus seos <i>Finnish weak virus susp.</i>	92	82	—	—
Suomal väkevä virus seos <i>Finnish strong virus susp.</i>	78	71	41	2
» + maitojauhe	22	68	—	—
» + <i>milk powder</i>				
Ruotsal. virus seos <i>Swedish virus susp.</i>	91	91	21	—
Kvartsi	91	68	195	1
<i>Quartz</i>				
Kalkki	74	58	392	7
<i>Ca</i>				
Maitojauhe	42	45	277	9
<i>Milk powder</i>				
Lannoite	38	53	118	35
<i>Fertilizer</i>				
Kontrolli	193	41	1 397	15
<i>Control</i>				

käsiteltiin xylolilla ja alkoholilla ja monisärmiöiden mahdollinen esiintyminen todettiin phasenkontrastimikroskoopilla. Kaikkiaan tutkittiin näin 721 toukkaa. Tulokset on esitetty taulukossa 1. Niistä voidaan havaita, että kontrolliin kuuluvista elossa olevista toukista 41 % oli jo sairaita, viruksella ruiskutetuista toukista 68—91 %, kvartsilla käsitellyistä 68 % ja muilla ärsykkeillä käsitellyistä toukista 45—58 %. Tautiin kuolleisuus olisi siis tämän mukaan todennäköisesti jatkunut saman suuntaisena kuin maastotarkastuksen tulokset jo osoittivat.

Kasvatuksissa kustakin koejäsenestä kerätyt toukat tai toukkapesueet pantiin yhteen kasvatuslaatikkoon. Tästä johtuen mahdollinen virustauti saattoi laatikossa levitä koko kasvatukseen. Niinpä kotelokehdon kehääviä yksilöitä olikin melko vähän, ja näistäkin osa osoittautui myöhemmin loisituiksi. Kasvatusten tulokset näkyvät taulukosta 1. Vain yksi viruksilla käsitellyistä toukista koteloitui. Siitä kuoriutui aikanaan koiras yksilö. Yleensä koiraat selviävätkin paremmin virustaudista, sillä niillä on lyhyempi toukka-aika kuin naarailta. Kontrolliin kuuluvista toukista kutoi kotelokoppansa 15 %, kvartsilla käsitellyistä 1 % ja muilla ärsykkeillä käsitellyistä 7—35 %.

Luonnossa eloon jääneillä harvoilla toukilla olisi ollut vähäiset kehittymismahdollisuudet, sillä jo tarkastuksia suoritettaessa niiden ympärillä parveili runsaasti loispistiäisiä. Loispistiäisillä on sikäli taudin kannalta merkitystä, että ne estävät tehokkaasti mahdollisten taudinkestävien toukkakantojen syntymisen.

KIRJALLISUUSLUETTELO

- AUSTARÅ, Ø. 1965. Virusbekjempelse av den røde furubarvepsen. Norsk Skogbruk 20, 654—656.
- BIRD, F. T. 1953. The use of a virus disease in the biological control of the European pine sawfly, *Neodiprion sertifer* (Geoffr.). Canad. Entom. 85, 437—446.
- » — 1961. Transmission of some insect viruses with particular reference to ovarial transmission and its importance in the development of epizootics. J. Insect Path. 3, 352—380.
- » — & WHALEN, M. M. 1953. A virus disease of the European pine sawfly, *Neodiprion sertifer* (Geoffr.). Canad. Entom. 85, 433—437.
- BUTOVITSCH, V., NOTINI, G. & WETTSTEIN von, S. 1960. Tallstekelvirus — ett nytt biologiskt bekämpningsmedel? Skogen 47, 302—303, 310.
- EIDMANN, H. H. 1970. Virus mot insekter. Skogsägaren 1970, 7—9.
- FRANZ, J. 1954. Erfolgreiche Verbreitung einer Virusseuche zur biologischen Bekämpfung der roten Kiefernbuschhornblattwespe. Gesunde Pflanzen 6, 173—175.
- » — 1968. Zur berechnung des Wirkungsgrades einer mikrobiologischen Bekämpfung von Schadinsekten. Anz. Schädlingskunde 41, 65—71.

- » —, KRIEG, A. & LANGENBUCH, R. 1955. Untersuchungen über den Einfluss der Passage durch den Darm von Raubinsekten und Vögeln auf die Infektiosität insektenpathogener Viren. Zeitschr. Pflanzenkrankh. 62, 721—726.
- HEIMPEL, A. M. 1966. Exposure of white mice and guinea pigs to the nuclear-polyhedrosis virus of the cabbage looper, *Trichoplusia ni*. J. Inverteb. Path. 8, 98—102.
- » — 1967. Human feeding tests using a nuclear-polyhedrosis virus of *Heliothis zea*. Ibid. 9, 55—57.
- IGNOFFO, C. M. & HEIMPEL, A. M. 1965. The nuclear-polyhedrosis virus of *Heliothis zea* (Boddie) and *Heliothis virescens* (Fabricius). Ibid. 7, 329—340.
- JAHN, E. & SINREICH, A. 1964. Beobachtungen zur Massenvermehrung der Schwarzköpfigen Kiefernbuschhornblattwespe *Neodiprion sertifer* Geoffr. im pannonischen Klimagebiet Österreichs in den Jahren 1958—1963. Mitt. forstl. Bundes-Versuchsanst. Mariabrunn, 65, 1—48.
- JUUTINEN, P. 1967. Zur Bionomie und zum Vorkommen der Roten Kiefernbuschhornblattwespe (*Neodiprion sertifer* Geoffr.) in Finnland in den Jahren 1959—65. Comm. Inst. Forest. Fenn. 63: 5, 1—126.
- KANGAS, E. 1963. Über das schädliche Auftreten der Diprion-Arten (Hym., *Diprionidae*) in finnischen Kiefernbeständen in diesem Jahrhundert. Zeitschr. Angew. Entom. 51, 188—194.
- KRIEG, A. 1955 a. Die Virusseuche der roten Kiefernbuschhornblattwespe (*Neodiprion sertifer*) (Geoffr.). Mitt. Biol. Bundesanst. Land-Forstwirtschaft. Berlin Dahlem 83, 92—95.
- » — 1955 b. Untersuchungen über die Polyedrose von *Neodiprion sertifer* (Geoffr.). Archiv. Ges. Virusforschung 6, 163—174.
- » — 1956. »Endogene Virusentstehung« und Latenzproblem bei Insektenviren. Ibid. 6, 472—481.
- » — 1957. »Toleranzphänomen« und Latenzproblem. Ibid. 7, 212—219.
- » — 1961. Grundlagen der Insektenpathologie. Wissensch. Forschungsber., Naturw. Reihe 69, Darmstadt, pp. 304.
- LEWIS, F. B. 1960. How to collect and process small polyhedral viruses of insects. Forest Res. Notes, N. East Forest Exp. Stn., Note 109, 8 pp.
- MAGNOLER, A. 1968. The differing effectiveness of purified and nonpurified suspensions of the nuclear-polyhedrosis virus of *Porthetria dispar*. J. Inverteb. Path. 11, 326—328.
- MAZZONE, H. M., BREILLATT, J. P. & ANDERSON, N. G. 1970. Zonal rotor purification and properties of a nuclear polyhedrosis virus of the European pine sawfly (*Neodiprion sertifer*, Geoffroy). IV th Internat. Colloq. Inverteb. Path., Univ. Maryland, 1970.
- MEINECKE, C. F., McLANE, W. C. & REHNBORG, C. S. 1970. Inhalation and dermal allergenicity studies of a nuclear-polyhedrosis virus of *Heliothis zea* in guinea pigs. J. Inverteb. Path. 15, 207—210.
- NEILSON, M. M. & ELGEE, D. E. 1960. The effect of storage on the virulence of a polyhedrosis virus. J. Insect Path. 2, 165—171.
- » — 1968. Turmlike bodies in virus-infected and noninfected adults of the spruce sawfly, *Diprion hercyniane*. J. Inverteb. Path. 10, 70—75.
- NIEMINEN, M. 1971. Investigations on biological protection methods at Rikkihappo Oy. Microbiol. Control of Insects, Int. Organiz. Biotechnol. Bioengineering, Seminar in Helsinki 1971, 19 pp.
- NUORTEVA, M. 1964. Eine Möglichkeit, die Kernpolyedrose bei latent verseuchten Imagines von *Neodiprion sertifer* Geoffr. (Hym., *Diprionidae*) nachzuweisen. Ann. Entom. Fenn. 30, 172—177.
- » — 1965. Ruskean mäntypistiäisen tuhoutuminen kulkutautiin nyt mahdollista ennustaa

- etukäteén. Summary: Forecasting the destruction of European pine sawfly by virus disease. Metsätaloudellinen Aikakauslehti 82, 153—154.
- » — 1966. Über die Ausbreitungsmöglichkeiten der Kernpolyedrose von *Neodiprion sertifer* Geoffr. (Hym., *Diprionidae*). Anz. Schädlingskunde 39, 49—52.
- ROLLINSON, W. D., HUBBARD Jr, H. B. & LEWIS, F. B. 1970. Mass rearing of the European pine sawfly for production of the nuclear polyhedrosis virus. J. Econ. Entom. 63, 343—344.
- SCHÖNHERR, J. 1965. Einsatz und Ausbreitung einer Viruskrankheit zur biologischen Bekämpfung der Roten Kiefern-Buschhornblattwespe *Neodiprion sertifer* (Geoffr.). Zeitschr. Pflanzenkr. Pflanzenschutz 72, 466—477.
- SMIRNOFF, W. A. 1961. A virus disease of *Neodiprion swainei* Middleton. J. Insect Path. 3, 29—46.
- » — 1962. Trans-ovum transmission of virus of *Neodiprion swainei* Middleton (*Hymenoptera Tenthredinidae*). Ibid. 4, 192—200.
- » — 1964. Preparation and application of viral material in biological control of the jack pine sawfly. Forest. Chronicle 40, 187—194.
- » — 1968. The nature of cysts found in pupae and adults of *Neodiprion swainei*. Canad. Entom. 100, 313—318.
- STEINHAUS, E. A. 1958. Stress as a factor in insect disease. Proc. X. Int. Congr. Entom., Montreal 1956, Vol. 4, 725—730.
- TIIHONEN, P. 1970. Ruskean mäntypistiäisen (*N. sertifer* Geoffr.) tuhojen vaikutuksesta männiköiden kasvuun Etelä-Pohjanmaalla, Pohjois-Satakunnassa ja Länsi-Uudellamaalla vuosina 1960—1967. Deutsches Ref.: Über die Einwirkungen des Schadfrasses der Roten Kiefernbuschhornblattwespe auf den Zuwachs der Kiefernbestände im südlichen Pohjanmaa, im nördlichen Satakunta und im westlichen Uusimaa in den Jahren 1960—67. Comm. Inst. For. Fenn. 71: 3, 1—21.
- TVERMYR, S. 1969. Effect of nuclear polyhedrosis virus in *Neodiprion sertifer* (Geoffr.). (Hymenoptera: *Diprionidae*) at different temperatures. Entomophaga 14, 245—250.

SUMMARY:

USE OF THE NUCLEAR POLYHEDROSIS VIRUS IN THE CONTROL OF THE EUROPEAN PINE SAWFLY (*NEODIPRION SERTIFER* GEOFFR.)

Experimental application of the nuclear polyhedrosis virus to control the European pine sawfly (Neodiprion sertifer Geoffr.) was carried out during the last outbreak of this sawfly in 1963. At present the European pine sawfly is again increasing alarmingly in East-Finland. Quantities of polyhedrosis virus preparation, collected and purified in Finland, are available as concentrations packed into ready-to-use capsules. In this paper, the virus, the course of disease and its latent stage, the dissemination, applications, and safety measures are described, and the results of the experimental sprayings in 1963 are presented.

Spraying took place in three localities in SW-Finland at the time when larvae were in I—III instars. A portable pressure sprayer was used. The

spray was formulated from larvae which died from the polyhedrosis virus disease in South-Finland during the previous summer. The weak solution contained 13 000—65 000 polyeders/ml and the strong solution 150 000 polyeders/ml of water. Due to impurities the concentration determinations are not precise. A virus preparation collected and purified in Sweden was also used at a concentration of 1 000 000 polyeders/ml of water.

Sprayed areas were inspected 14 days after application and the results are presented in Fig. 2. 83—96 % of the larval colonies were totally destroyed, compared to 11 % in the control. In order to reveal the condition of larvae still alive the midgut was examined by microscope for possible occurrence of polyeders. Some of the larvae were reared further but the majority of them died before producing cocoons (Table 1.).

Because the European pine sawfly had been abundant in these localities for several years, it was evident that at least the latent stage of the polyhedrosis disease was naturally present in the experimental areas. An attempt was made to change the stage of the disease from latent to acute by the application of substances, which are probably harmless to pine, but were expected to stress the larvae. The following substances were used as water solutions: 1) Ground quartz (passed through a 200 mesh sieve), 2) ground limestone (35 % Ca), 3) milk powder («Täysenerga»), and 4) fertilizer (N 14 %, P_2O_5 18 %, K_2O 10 %). The spray containing ground quartz had a very clear lethal effect upon larvae. Calcium was also observed to have a similar although weaker effect.