

杨尺蠖核型多角体病毒的初步研究*

王志贤 王贵成 王徽 崔士英 吴燕

(中国林业科学院林业研究所, 北京)

1979年在河北省坝上地区发现大量杨尺蠖(*Apocheima cinerarius*)幼虫自然死亡, 经研究确认是由一种核型多角体病毒所引起。为寻求用病毒防治杨尺蠖害虫的新途径, 我们对这种病毒所致的病征、组织病理及其致病力进行了观察研究, 现将初步结果报告如下:

材料与方法

一、试验材料

1. 供试病原: 1979年春自野外采得患病幼虫, 于室内饲养, 逐日收集典型病症死亡的幼虫, 置于 -20°C 低温冰箱内保存。

2. 供试幼虫: 将采自无病毒病林区的虫卵放入室内孵化, 幼虫以盆栽榆树苗饲养, 至3龄时供试验用。

二、试验方法

1. 多角体的提取: 将患病幼虫磨碎, 经过滤, 离心, 提取, 放入 4°C 冰箱内保存备用。

2. 电镜观察: 以扫描电镜观察多角体形态。另取初步净化的多角体沉淀, 经碱液(0.02 M Na_2CO_3 和 0.05 M NaOH)处理后负染, 用透射电镜观察病毒粒子形态。

3. 组织病理观察: 以 2.6×10^7 多角体/ml 病毒悬液处理的叶片喂饲3龄幼虫, 每隔24小时取2头感病幼虫, 按一般石蜡切片法制成切片, 用Hamm氏法染色, 在光学显微镜下观察拍照。

4. 感染试验: 将感病死虫研磨过滤后制成病毒悬液, 经双抗处理(即用青霉素、链霉素各500单位/ml处理)后, 依次配成 2.6×10^7 、 $1.3 \times$

10^7 、 6.5×10^6 、 3.2×10^6 、 1.6×10^6 、 8.6×10^5 、 4.1×10^5 多角体/ml七种浓度, 以浸渍法处理杨树枝叶, 风干后放入玻璃缸内, 接入刚脱皮的3龄幼虫20头, 重复3次。每一浓度接60头, 饲喂48小时, 然后换新鲜枝叶。每日镜检并统计死亡数, 观察10天, 最后计算死亡率。

试验结果

一、病征

此病毒能感染杨尺蠖的各龄幼虫。幼虫感病初期症状不明显, 感病后多数向枝梢顶部爬行, 随病程发展, 食量逐渐减小, 行动日趋迟缓, 患病末期, 虫体明显肿胀, 特别是第4节以后, 死亡前幼虫吐丝将腹部末端固着在枝梢、叶柄或叶片上, 死后倒挂树上(图版I-1)。死亡的幼虫体壁易破, 稍一触动即流出黄红色或黄褐色的粘性乳状液。有一部分幼虫虽能勉强化蛹, 但最终死亡于病毒病而不能羽化为成虫。

二、组织病变

通过组织切片观察, 这种病毒主要感染幼虫的脂肪体、真皮细胞、气管上皮、肌肉、神经膜、中肠上皮、血细胞、马氏管(图版I-5—10)等组织。病毒在这些组织的细胞核内增殖, 被感染的细胞核膨大, 核内充满多角体, 经Hamm氏染色液染色的多角体呈红色。

(下转第212页)

* 此项研究是在肖刚柔教授指导下进行的。电镜照片由中国农科院原子能所电镜室拍摄。河北省张家口地区康保林场员云山同志在采集病原方面给予多方协助。在此一并致谢。

(上接第 204 页)

三、多角体与病毒粒子的形态

多角体大多为三角形，少数近圆形（图版 I-4），直径 1—1.8 μm 。多角体经 0.02 M Na_2CO_3 和 0.05 M NaCl 溶液处理释放出病毒粒子，粒子呈杆状，长约 272—311 nm，宽约 66—83 nm，病毒粒子在多角体中呈单粒包埋（图版 I-3, 4）。

按照国际病毒命名委员会规定，杨尺蠖核

型多角体病毒属杆状病毒科（Baculoviridae）杆状病毒属（*Baculovirus*）的 A 亚组。

四、感染实验

经室内初步测定，证明这种病毒对杨尺蠖有较高的感染力，一般感病后 3—4 天开始死亡，7 天达死亡高峰。以每毫升含 8.2×10^5 多角体病毒悬液（16,000 倍）处理 3 龄幼虫，10 天死亡达 84.4%，以每毫升 1.6×10^6 多角体病毒悬液（8,000 倍）处理，9 天死亡达 92.3%。