

柳枯叶蛾多角体病毒的观察*

武 巍 文 常 绍 慧

(云 南 林 学 院)

柳枯叶蛾 (*Bhima undulosa* Walker) 分布于我国云南省;印度及印度尼西亚。主要为害柳树。在云南北部地区每年发生一代,7月间老熟幼虫群集于树干,枝杈的背阴处结薄茧化蛹,成虫7—8月出现,幼虫越冬(朱弘复等,1975)。

1975年初室内饲养的柳枯叶蛾幼虫因罹多角体病毒病而死亡,此后又在野外见到因多角体病死亡于树干和树枝上的幼虫。为了开发我国天敌微生物资源;为了寻找对柳枯叶蛾有效的防治方法,我们对该病毒进行了初步的研究。据所掌握的资料,国内外尚未报道过此种病毒。

材料和方法

1. 多角体大小测定 在普通光学显微镜下用测微尺测定。每个片子测5个视野,每个视野随机抽样测定30个多角体。共测10个玻片标本。

2. 染色 多角体需用酸或碱处理后方能染色(有贺久雄,1973)。我们用1N盐酸浸润固定标本,并在酒精灯上加热致有蒸气产生而不致沸腾,处理3—5分钟后水洗,结晶紫(孔雀绿、伊红或番红都可)染色3—5分钟,水洗后观察,多角体染成深蓝色,边缘清晰。

3. 制片 选取明显患病但还没有死亡的幼虫为材料。剪去一个腹足或刺破体壁,将流出的体液滴在载片上,盖上盖片用普通显微镜或相差显微镜观察病虫的血细胞。

制片观察气管壁细胞时,将病虫从腹部纵向剪开投入10%甲醛中固定,取出树枝状的气管,用1%的NaOH或1N盐酸浸润并火焰加热处理十分钟,水洗后5%伊红染色十分钟,吸水纸吸去多余染液,再水洗二次,用水溶性封固剂甘油封固,长期保存则需石蜡严密封固(田中克己,1957)。

观察脂肪组织时,取脂肪组织一小块,用苏丹III染色5—10分钟,滴加水溶性封固剂,加盖片稍压后观察。

4. 感染力的测定 试验用幼虫系野外采茧,室内产卵,孵化饲养的2龄幼虫;多角体病毒采自昆明温泉的感病幼虫,通过虫体扩大繁殖,所得病虫尸体加无菌水自然腐解一周,纱布过滤,3,500转/分离心洗涤2次,得多角体粗提纯。将此样品稀释成不同浓度,用血球计数板计数后涂抹于柳叶表面,晾干后饲虫;清水对照。24小时后换无病毒新叶。出现典型病症,镜检有多角体者计为病毒死亡。

5. 电镜观察 多角体:将纯化的多角体作成悬液,滴加于载网上,金属投影后观察;病毒:纯化的多角体用0.01M Na_2CO_3 + 0.05M NaCl溶解,12,000转/分沉淀病毒,磷钨酸负染。

结果和讨论

1. 病症 患病幼虫食欲减退,行动迟钝,死亡时往往用腹足或尾足钩住树干或树枝,成倒“v”字形或倒挂于树枝上。体壁变软,体内组织明显液化解体,死亡较久的虫尸体壁一触即破,流出褐色或咖啡色体液,无臭味。

2. 多角体和病毒粒子形态 从电镜照片(图版1,1)来看,柳枯叶蛾多角体呈不规则的多角形,有三角、四边、六边和近圆形等多种形状,边缘常有突起。多角体直径0.53—1.99微米,平均1.26微米。

病毒粒子的形状是分类学上的重要特征。柳枯叶蛾的病毒粒子杆状,多数病毒粒子成束存在,也常见到单个存在的粒子(图版1,2),根据电镜照片测定,病毒粒子长约370毫微米,宽约75毫微米,病毒束直径约110毫微米。

3. 幼虫体液、脂肪组织和气管壁细胞观察 健康幼虫的体液浅绿色,除有少量血细胞外不见其他颗粒;病死较久的体液是咖啡色,由于各种细

* 脂肪组织和气管壁细胞照片系云南林学院李天庆同志摄制。

表 1 柳枯叶蛾多角体病毒感染试验

浓 度 (多角体/每毫升)	试 验 虫 数	非病毒病死亡数	病毒病死亡数	病 毒 病 死 亡 %
2.64×10^8	95	1	94	98.9
2.64×10^7	93	3	81	87.1
2.64×10^6	95	5	37	38.9
对照1(无菌水)	95	2	21	22.1
对照2(无菌水)	95	2	20	21.1

虫龄：二龄(在试验中进入三龄);试验温度：23—25℃;试验日期：75年7月13日—7月28日。

胞解体,只能见到悬浮着的大量多角体;患病未死的幼虫体液是黄绿色或浅褐色,可见到在膨大了的血细胞的核中形成很多多角体。

感染了病毒的脂肪组织失去了原来的透明白色,成为乳白或浅黄色,并呈腐烂状态,苏丹 III 染色后,可分别染上红色的脂肪颗粒与存在于细胞核中不被染色的多角体(图版 I, 3)。

在气管壁细胞的核中有明显的多角体形成(图版 I, 4)。

4. 感染力 感染力是各种病原微生物病原性的表现,是一种重要的生物学特性,在防治实践上也有重要意义。据我们初步试验结果(表 1)在多角体浓度 2.46×10^6 /毫升范围内,幼虫有显著感染性。

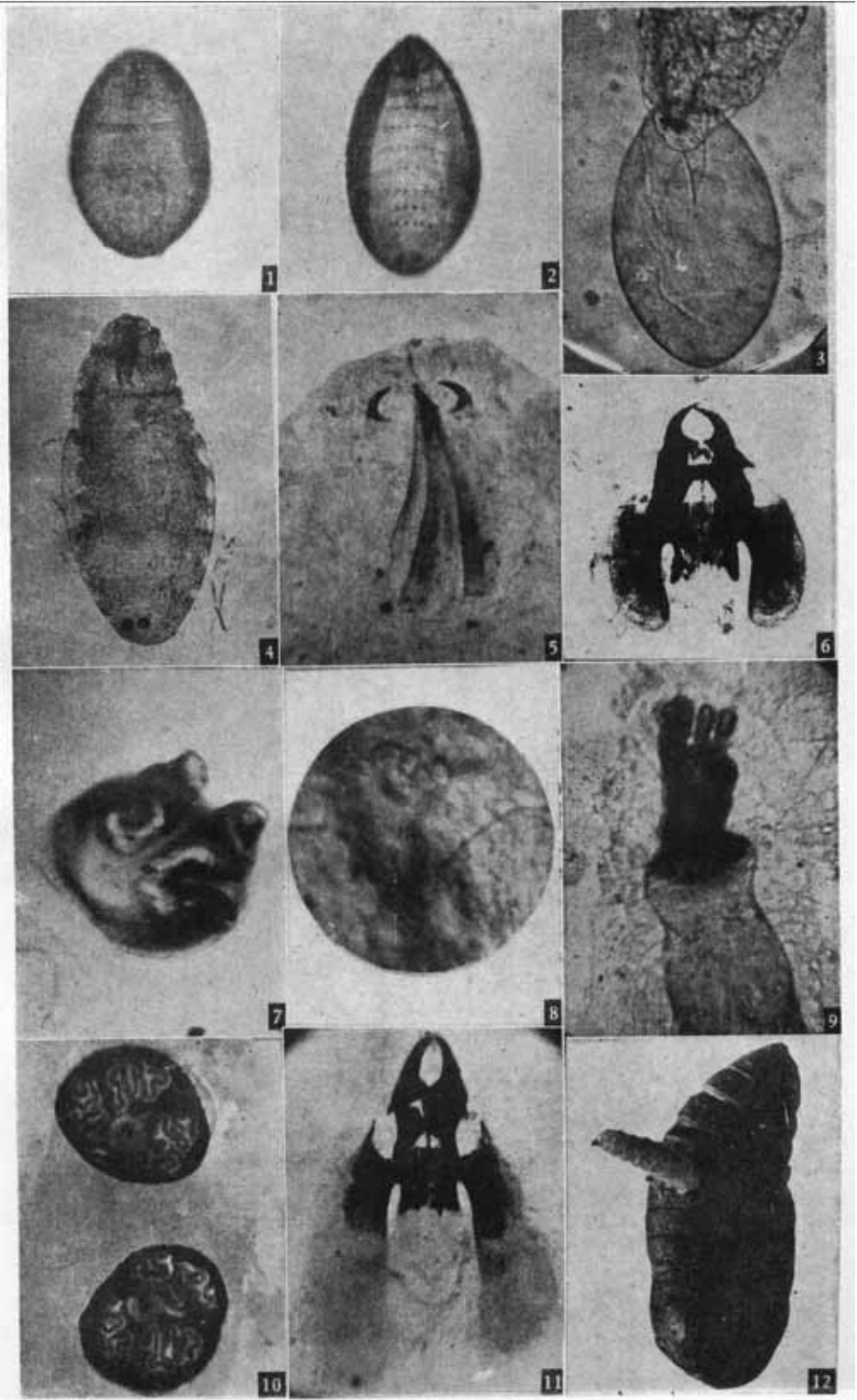
5. 讨论 根据观察研究,柳枯叶蛾多角体病毒的包含体产生在细胞核内,呈多角形,病毒粒子杆状,单个或呈束的存在于一个共同的外膜之内等特点,按国际病毒命名委员会 1971 年建议提出的病毒分类系统,柳枯叶蛾多角体病毒属于杆状病毒属 A 亚组 (*Baculovirus* subgroup A) 的一个种。是核型多角体病毒。

参 考 资 料

- 朱弘复等 1975 蛾类图册, 133 页。
 有贺久雄 1973 昆虫病理理论, 121 页。
 田中克己(长伯译) 1957 显微镜标本的制作方法, 271 页。

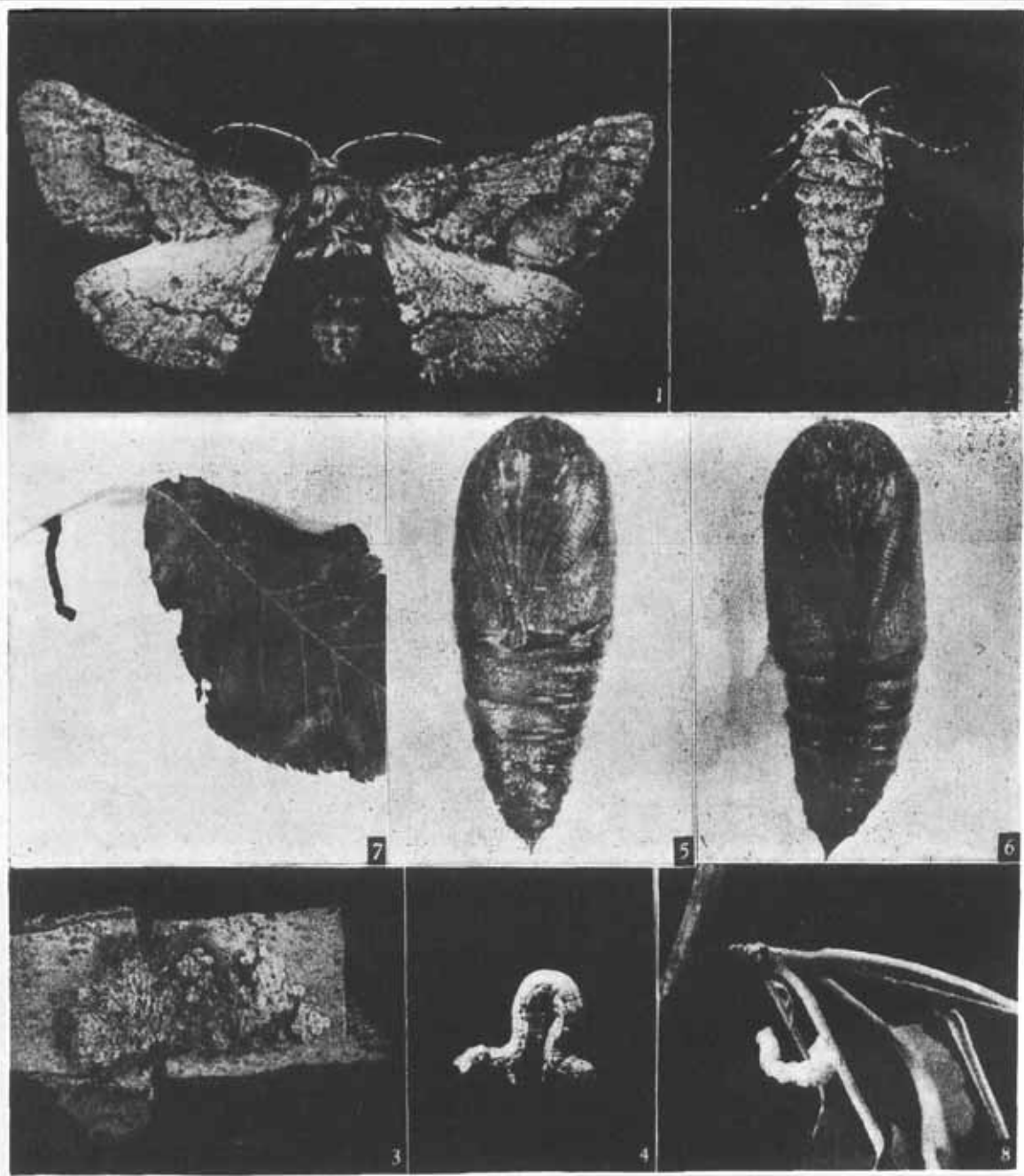
OBSERVATIONS ON A POLYHEDRAL VIRUS OF *BHIMA UNDULOSA* WALKER

WU JIN-WEN CHANG SHAO-HUI
 (Yunnan College of Forestry)

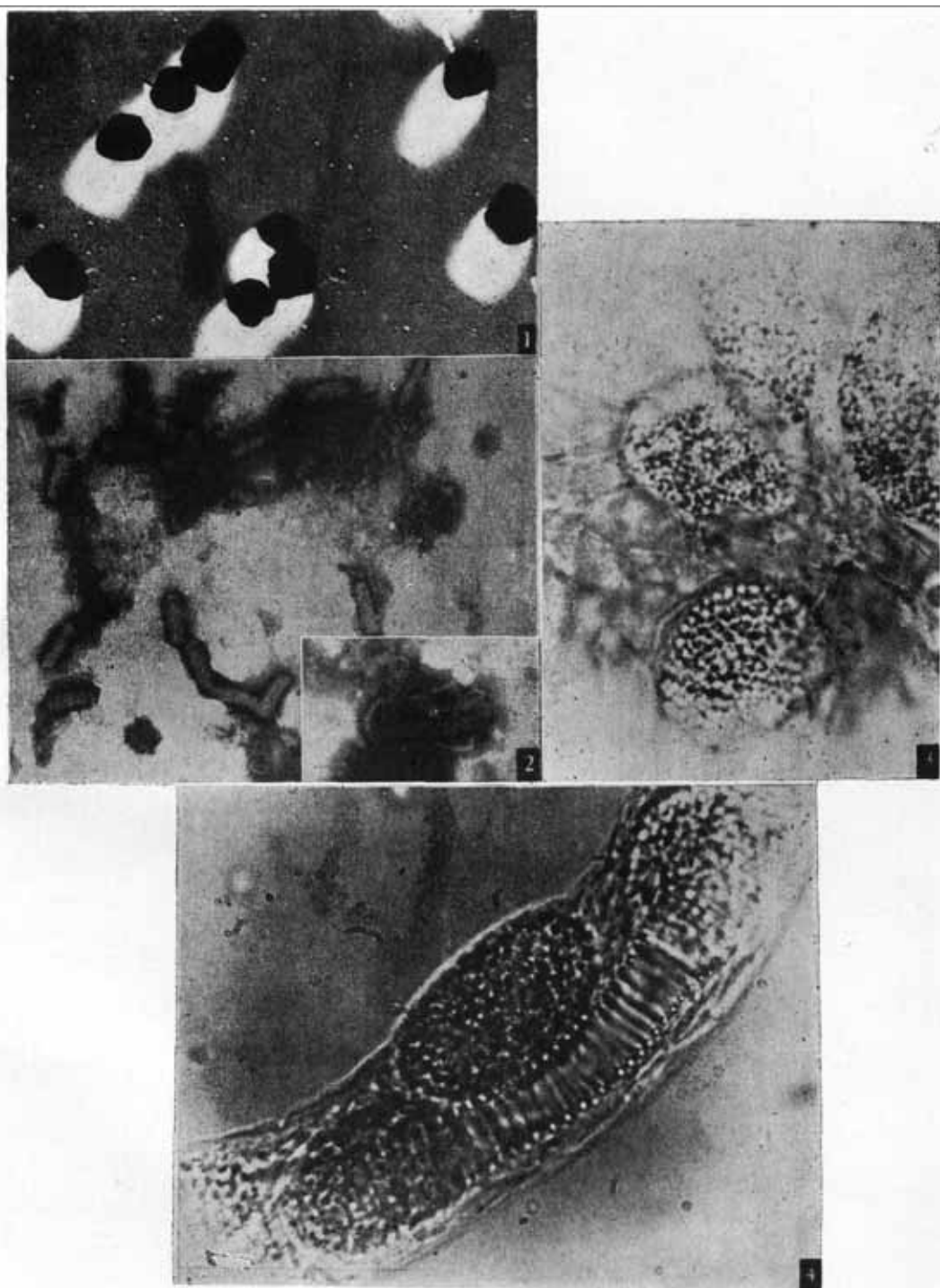


柞蚕饰腹寄蝇的卵、幼蛆、1-3 龄蛆的口咽器及气门

1.成熟卵的背面观，示卵壳上六角形刻纹； 2.成熟卵的腹面观，示卵内幼蛆； 3.幼蛆从卵钻出之状；
4.刚孵出的幼蛆； 5.一龄蛆前端示口咽器，其两侧已出现二龄蛆的颚钩； 6.二龄蛆的口咽器。
7.二龄蛆后气门(一侧)，示气门裂； 8.二龄蛆前气门(一侧)，示指突； 9.三龄蛆前气门(一侧)，示指突；
10.三龄蛆后气门，示气门裂及气门纽； 11.三龄蛆的口咽器； 12.蝇蛆从蛆蚕(蛹)体壁钻出之状。



1.雄蛾； 2.雌蛾； 3.卵； 4.幼虫； 5.雌蛹； 6.雄蛹； 7.感染青虫菌的幼虫尸体；
8.感染白僵菌的幼虫尸体。



1. 柳枯叶蛾核多角体, 铂铱投影 (6,370 $\times$)。

2. 柳枯叶蛾核多角体病毒电镜照片, 磷钨酸负染 (20,300 $\times$)。右下角一个病毒束外膜已破, 膜内可看到两个病毒杆 (40,000 $\times$)。

3. 感染核多角体病毒的脂肪细胞核 (1,200 $\times$)。

4. 感染核多角体病毒的气管壁细胞 (1,200 $\times$)。