

红缘灯蛾 (*Amsacta lactinea* Cramer)

幼虫颗粒体病的病原分离和观察

戴冠群 石木标 冼炳才

(植物保护系)

摘 要

1979年春季在广州近郊首次发现了红缘灯蛾幼虫的病毒颗粒体病。初步观察了它的流行病情况。死虫腹足成(A)形状悬挂在植株枝叶上,在电子显微镜下检测了病毒及其包涵体并量度其大小:颗粒体为 $200 \times 430\text{nm}$,病毒杆状粒子为 $80 \times 320\text{nm}$,用离心方法初步分离纯化病毒,72小时后才能在 $0.05\text{MNa}_2\text{CO}_3$ 和 0.02MNaCl 混合液中降解,并释放出病毒粒子,在病毒粒子的紧身膜上具有螺旋纹构造。

由杆状病毒(Baculovirus)亚组B引起的鳞翅目幼虫的颗粒体病,直到1949年Steinhaus的《昆虫病理学原理》(“Principles of Inset pathology”)一书问世以来,才加以确认。近30年来有关本病的报导(89种)少于多角体病(364种),但我们认为在自然界中本病实际上还是较为普遍存在的^{[3][6]}。

1979年春季我们曾于广州近郊员村、谭村等地发现红缘灯蛾(*Amsacta lactinea* Camer)幼虫大量死亡。经过调查认为是一种颗粒体病毒病^[2]。翌年和1981年春季(3月上旬至4月上旬)上述两地再次发生红缘灯蛾幼虫大量罹病死亡现象。其症状与1979年所见的相同。此外,在华南农学院菜地及相邻的长湴村菜地亦有不少罹病死亡的此种幼虫(图1)。

病征 此类幼虫死亡的情况大致相似。死时呈“A”形挂于植株叶片枝干上。刚死不久的幼虫,口腔尚遗留暗灰色粘稠液体。头部下垂,前腹肿胀。体内组织液化,体壁表皮易触破而流出脓液。无蛋白质腐解的臭味。

显微镜观察 用此类幼虫体液做涂片,苦味酸氨基黑染色法和石炭酸复红鉴别染色法进行检测,均可观察到典型的颗粒体存在。前法颗粒体呈现蓝黑色小杆棒颗粒,后法经1%NaOH处理后染成鲜红色小颗粒。

*本实验的电子显微镜观察,承本院电子显微镜室大力支持谨致谢意。

病原体的分离纯化 我们曾将1979、1980两年所采集到的红缘灯蛾死虫标本分别研磨打碎,用三层纱布过滤。滤液收集后,用普通医用离心机(LXJ-64-10型,北京医疗器械厂出品)差异离心法获得所需材料,保存于普通冰箱(4℃)中备用。

病原体的电子显微镜观察 将上述初步纯化的分离材料,经黄金旋转投影,在JSM-25S扫描电子显微镜下观察,可以见到椭圆形的病毒包涵体——颗粒体。其平均大小为 $260 \times 430\text{nm}$ (图2)。

所分离的颗粒体材料用 $0.05\text{M Na}_2\text{CO}_3 + 0.02\text{M NaCl}$ 降解液处理60分钟,再用普通医用离心机离心(4000转/分)处理30分钟,去沉淀物,取上层清液,上铜网火棉胶膜用3%磷钨酸溶液负染,在philips EM-400型透射电子显微镜下观察。弱碱降解72小时后的标本可见颗粒体溶解,并释放出病毒粒子,病毒粒子呈杆状,有斜横向螺旋形结构,平均大小为 $320 \times 80\text{nm}$ (图3、4)。

讨论

1. 三年来,我们对红缘灯蛾幼虫颗粒体病毒病的流行作了初步观察。1979年4月中旬在广州近郊员村菜地发现此种幼虫大量罹病死亡,而离员村不远的谭村亦发现有此种情况,且沿途一带公路两侧均可发现罹病死去的幼虫。此后,1980和1981两年的4月间,除上述两地外,在华南农学院及相邻的长湴村菜地亦可见到同样罹病及死亡的幼虫。检查这些虫尸标本,在普通光学显微镜和电子显微镜下观察,均发现有颗粒体的存在。

这三年的春季,广州地区持续降雨、2—3级偏东风或东北风、潮湿、气温在 $20-28^\circ\text{C}$ 之间。气温较高,湿度较大^[1]。因此,推测红缘灯蛾幼虫颗粒体病的爆发,可能与气候有关。雨水可促进虫尸细菌性腐解,风吹雨淋易使颗粒体流动传播,造成一定范围内幼虫颗粒体的流行^{[4][5][8]}。

此外,从田间采集的罹病幼虫的粪粒,也含有颗粒体,这些虫尸、粪粒均可作为感染原。由于颗粒体在自然界中的存活特性致使下一代幼虫或来年的幼虫感染罹病。虽然,红缘灯蛾在广州地区经济意义不大,但是,作为对昆虫病毒性流行病的观察,似有一定的参考价值。今后,我们拟对病毒颗粒体在土壤中存活时间、对昆虫感染的因子和途径等作进一步的观察以期探明其感染发病规律^{[4][5][8]}。

2. 在电子显微镜中观察,能清楚观察到该病毒杆状粒子具有横向螺旋纹存在(图4)。Smith和Hills^[7]两氏在菜粉蝶(*Pieris brassicae* Linnaeus)颗粒体病毒杆状粒子上发现有螺旋纹结构,他们曾指出这个裸露的颗粒体病毒粒子的紧身膜上螺旋结构某一部分可能是DNA。但近年来有人指出这是亚蛋白结构。我们曾在多个昆虫GV的病毒杆上发现有螺旋纹结构(如丽绿刺蛾(*Parasa lepida* Cramer)的颗粒体病毒)。这种现象有待进一步的观察和探讨。

3. 此种幼虫的颗粒体病毒粒子在弱碱中降解较为困难,时间很长、需要72小时才能释放出病毒粒子。而斜纹夜蛾(*Prodenia litura* Fab.)、丽绿刺蛾(*Parasa lepida* Cramer),竹斑蛾(*Artana funeralis* Butler)等颗粒体病毒粒子在同一降解液($0.05\text{M Na}_2\text{CO}_3$ 和 $0.2\text{M Na}_2\text{Cl}$)中作短时间处理即可释放出病毒粒子。因此,在红缘灯蛾幼

虫颗粒体病毒粒子中是否含有一些特殊组分?

根据病状和病原物的普通显微镜、电子显微镜观察,我们初步认为此种病毒可归属在杆状病毒属B亚组。

参 考 文 献

- [1] 广州日报 1979, 1980, 1981三年中的4月份气象记录。
- [2] 戴冠群、石木标、沈炳才、张家辉, 1979, 红缘灯蛾 (*Amsacta lactinea* Cramer) 的病毒性流行病的初步观察, 《病毒学集刊》, 1979国庆卅周年献礼专辑, 82—83。
- [3] 蔡秀玉、丁翠, 1980, 我国已知昆虫病毒名录, 《微生物学通报》, 第7卷第5期, 封3—4, 217。
- [4] Jacques R. P. 1974 Occurrence and accumulation of virus of *Trichoplusia* in treated field plots. *J. Inverteb. Pathol.*, 23, 140—152.
- [5] Jacques R. P. and Harcourt D. G. 1971 Viruses of *Trichoplusia* and *P. rapae* in soil in fields of crucifers in Southern Ontario. *Can. Entomol.* 103, 1285—1290.
- [6] Martignoni M. E. and Iwai P. J. 1977 A catalog of viral diseases of insects and mites. USDA Forest Service General Thch. Rep. PNW—40
- [7] Smith K. M and Hills G. H 1960 Multiplication and ultrastructure of insect viruses. paper read at the 11th International Congress Entomology, vienna, 1960.
- [8] Thompson C. G. and Scott D. W. 1979 Production and persistence of the NPV of the Douglas-fir tussock moth, *Orgyia pseudotsugata* (Lepidoptera: Lymantriidae), in the forest ecosystem. *J. Invert. pathol.* 33, 57—65.

A PRELIMINARY REPORT ON THE VIRUS GRANULOSSES OF RED-COSTATE TIGER MOTH (*Amsacta lactinea* Cramer)

Tai Guan-qun et al.

(Department of Plant Protection, SCAC)

Abstract

A virus disease of red-costate tiger moth (*Amsacta lactinea* Cramer) was first discovered in spring 1979 in the suburbs of Guangzhou. The severe epizootic disease in this insect population have been observed. Dead larvae remained suspended from leaves by their abdominal prolegs in the form of an inverted 'V'. The virus and its inclusion body was examined and measured with philips EM-400 model electron microscope and JSM 25S scanning electron microscope. The average size of granule and virus was follows:

granules : 260x430nm,

virus rods : 80x320nm.

The granules were gross-purified by centrifuge, after 72 hr. dissolved in 0.05M Na₂CO₃ and 0.02M NaCl and liberation of individual virus rods. A closely packed helical structure of the intimate membrane of isolated granuloses virus rods was detected.

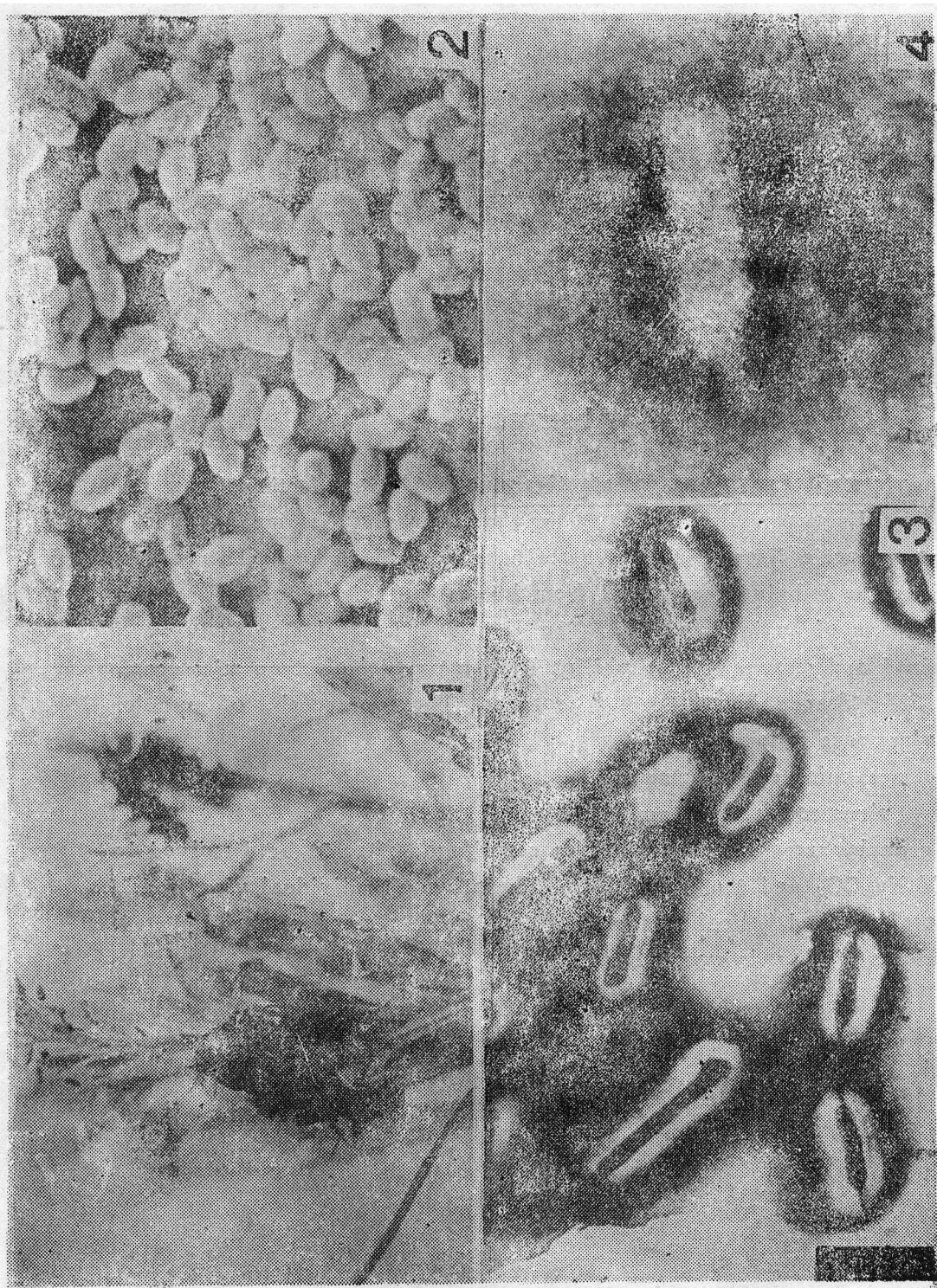


图 1

图 3

图 4

红缘灯蛾幼虫罹病死亡的状态,呈“Λ”形挂于植株上。

红缘灯蛾幼虫病毒颗粒体经弱碱降解处理60分钟,透射电子显微镜图像,病毒荚膜尚未完全降解,中央示杆状病毒粒子。3%PTA负染色。×43,200。

红缘灯蛾幼虫病毒颗粒体,经弱碱降解处理72小时示螺旋纹结构。3%PTA负染色。×155,502。