

迁粉蝶核型多角体病毒的初步研究

杨明辉 林允洞 梁世平 袁爱华 孙富林

关键词 迁粉蝶、菜粉蝶、核型多角体病毒、交叉感染

迁粉蝶(*Catopsilia pomana* F.), 又名铁刀木粉蝶, 是铁刀木、腊肠树、愈疮木等热带林木的食叶害虫。虫情严重时, 树木仅留下秃枝光杆。在海南省, 该虫一年发生13~14代, 终年危害。在广东、广西、台湾、福建等省(区)也有分布。1990年, 在海南尖峰岭热带林业研究所试验站树木园采到迁粉蝶幼虫自然罹病死亡虫尸, 从中分离出一种核型多角体病毒。本文报道该病毒的分离、初步鉴定、回接感染和对菜粉蝶(*Pieris rapae* L.)交叉感染试验的结果。

1 材料和方法

1.1 病毒的获得和初步鉴定

野外采集获得迁粉蝶幼虫自然罹病虫尸, 外形尚完整, 轻刺表皮即破, 流出呈灰白色浓液, 无臭味。沾取灰白色浓液涂片、染色(1.0%苦味酸—0.5%氨基黑10B), 显微镜下观察, 仅见多角体样颗粒。吸取少量灰白色浓液, 稍作纯化处理(加1 ml 蒸馏水吹打洗涤, 台式高速离心机5 000 r/min, 3 min沉淀。离心、洗涤二轮次)后, 加等体积的0.1 mol Na₂CO₃—0.16 mol NaCl、pH 10.8的碱液降解, 不同时间取样制备透射电子显微镜样品, 碱解样品经2%PTA (pH 7.0)负染, 未碱解样品不负染。JEM—100C电子显微镜下作病原形态学鉴定。

1.2 回接感染试验

取适量灰白色浓液, 加入灭菌水, 吹打均匀后, 显微镜下计数, 测得多角体为 1.2×10^8 PIBs/ml, 涂抹浸润铁刀木嫩枝叶面, 枝条水养保鲜, 室内感染400头2~5龄期的迁粉蝶幼虫。供食24 h后更换充足的新鲜枝叶。在同批幼虫中随机取25头作健康对照。记录感病症状, 显微镜检查感病组NPV病死虫数及对照组NPV病死虫数, 最后计算感病死亡百分率。

1.3 交叉感染菜粉蝶试验

回接感染获得的典型NPV病死虫尸, 经粗略纯化处理(研磨, 200目尼龙纱过滤, 500 r/min离心1 min, 上清液再经3 500 r/min离心15 min, 取沉淀), 用灭菌蒸馏水(加吐温-80到0.2%)配制成 1.2×10^8 PIBs/ml的多角体悬液, 浸润甘兰叶面, 在室内感染3~5龄期菜粉蝶37头。供食24 h更换新鲜叶。对照组15头, 以含0.2%吐温-80的稀释水湿润甘兰叶代替

1991—07—08收稿。

杨明辉助理研究员, 梁世平, 袁爱华, 孙富林(中国科学院武汉病毒研究所, 湖北武昌, 430071); 林允洞(中国林业科学研究院热带林业研究所)。

有毒叶。病死虫逐条涂片在显微镜下检查死因。并按 NPV 常规提纯的方法^[1]分别从感染迁粉蝶和菜粉蝶虫尸中分离 NPV, 在电子显微镜下作两种来源的 NPV 形态学比较, 分析两者的异同点。

2 结果和分析

2.1 病毒鉴定结果

自然罹病迁粉蝶虫尸液化、不臭的现象符合 NPV 病的临床症状。电子显微镜下观察到灰白色浓液中含有大量近似三角形、四边形和圆形的多角体, 直径约 $0.7\sim 1.6\ \mu\text{m}$, 长短直径比约 $1.0\sim 1.3$, 平均为 1.1 (图版 I-1)。多角体内含有数目不等、粗细不一的杆状病毒束(图版 I-2), 病毒束内含 $1\sim 4$ 个约 $52\ \text{nm}\times 350\ \text{nm}$ 的杆状核衣壳(图版 I-4)。电镜下可观察到少量异形多角体, 形似两个多角体而成(图版 I-1 箭头所示)。

根据国际分类委员会《病毒分类与命名》的第四次报告, 从形态学特征可初步鉴定该多角体属杆状病毒科 A 组成员。

2.2 感染迁粉蝶结果

饲 NPV 的第二天, 幼虫表现食欲不振, 第三天开始死亡, 第四天达死亡高峰, 第六天死亡率达 100% , 无细菌病因死亡; 对照组无 NPV 病死亡。死亡虫尸倒挂、液化呈灰白色浓液, 无臭味, 与自然罹病虫尸症状相同, 电子显微镜下病毒形态与原病毒亦相同。也含有异形多角体(图版 I-3)。该感染结果证明所获 NPV 即为迁粉蝶幼虫自然罹病死亡病原。

2.3 感染菜粉蝶结果

饲 NPV 的第二天有幼虫开始化蛹, 第三天幼虫表现明显食欲不振, 第四天出现幼虫死亡, 至第七天幼虫全部死亡, 除两头蛹正常羽化外, 其它蛹亦变黑死亡。最终死亡率为 96.4% 。在显微镜下对死亡幼虫逐条检查, 均见大量多角体颗粒, 对照组无多角体病死亡。幼虫死亡病症: 体色由绿色消褪为黄绿色, 虫体软, 肿胀不严重, 内部组织液化, 无臭味。蛹内亦液化。

电镜观察证明感染菜粉蝶获得的 NPV 与迁粉蝶 NPV 有以下相似处: ①多角体的大小、形态相同。②含有异形多角体(图版 I-5)。③为多粒包埋型 NPV, 病毒束内核衣壳通常不超过 4 个。核衣壳约为 $53.5\ \text{nm}\times 344\ \text{nm}$ (图版 I-6~7), 与迁粉蝶原始 NPV 核衣壳 $52\ \text{nm}\times 350\ \text{nm}$ 相比, 差异不显著。

从以上结果分析说明感染菜粉蝶所得 NPV 与迁粉蝶 NPV 具有相似性, 认为菜粉蝶的致死原因为饲 NPV 感染所致。

3 讨论

对迁粉蝶自然罹病病原物的形态学鉴定和回接感染, 证明所获得的多角体是核型多角体病毒。该病毒对菜粉蝶的感染结果证明也有明显的致死能力。在广谱杀虫剂的研究中, 该病毒将是一种有意义的生物资源。

杆状病毒的异形包涵体, 在杆状病毒科 B 组即颗粒体病毒中较为多见。该病毒的异形多

角体的图像,为认识杆状病毒科A组形态的多样性提供了新的证据。

参 考 文 献

- 1 严家琪,胡国律,林栖凤,等.昆虫病毒核酸的研究 I.柞蚕和蓖麻蚕核型多角体DNA的分离和提纯.病毒学集刊第一集,1992,153~161.

Preliminary Study on Catopsilia pomana NPV

Yang Minghui Lin Youdong Liang Shiping Yuan Aihua Sun Fulin

Abstract A NPV strain was isolated from spontaneous dead mortal larvae of *Catopsilia pomana* Fabricius. The mortality of *C. pomana* larvae which were infected by the NPV of 1.2×10^8 PIBs/ml was 100%. When this NPV was used to infected the *Pieris rapae* larvae of the 3rd~5th instars with the same concentration, it showed 94.6% mortality. The cross-infection test revealed that this *C. pomana* NPV strain is a useful natural resources in broad spectrum insecticide research.

Key words *Catopsilia pomana*, *Pieris rapae*, nuclear polyhedrosis virus (NPV), cross-infection

Yang Minghui, Assistant professor, Liang Shiping, Yuan Aihua, Sun Fulin (Wuhan Institute of Virology, Chinese Academy of Science Wuhan 430071), Lin Youdong (The Research Institute of Tropical Forestry, CAF).

中林115等三个抗溃疡病杨树新品种选育在京通过鉴定

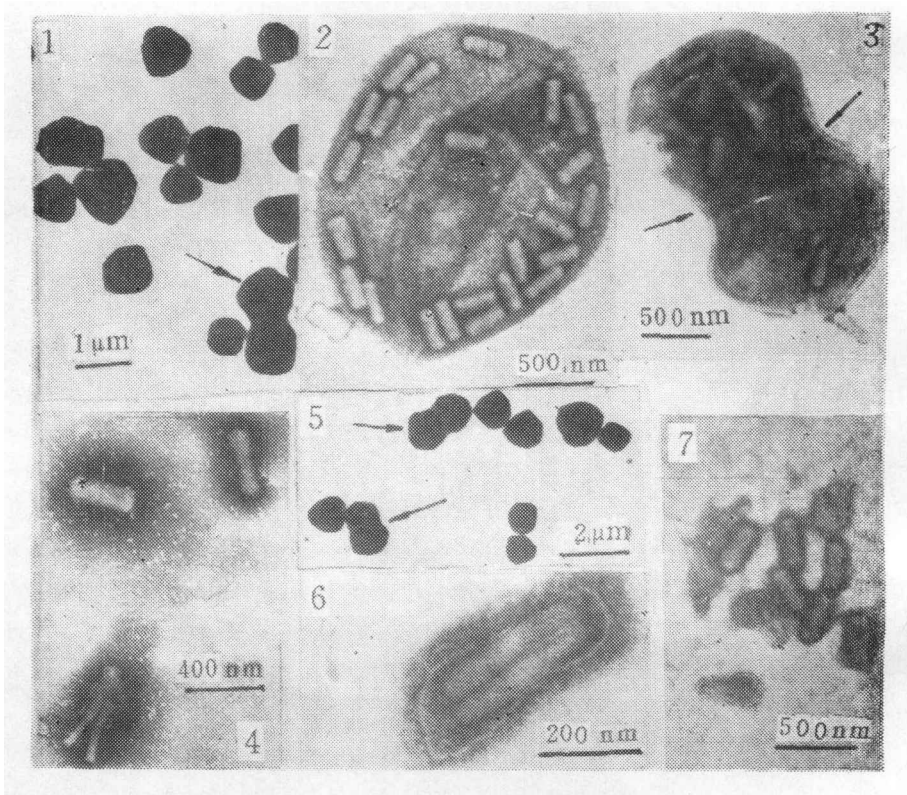
杨树溃疡病是我国杨树干部重要病害之一,对杨树生长造成较大危害,如1990年北京大兴县主栽的小美早杨溃疡病发病率达100%。为了解决杨树生产中的这一问题,由中国林科院林业研究所等单位组成的课题组,经过10多年的联合攻关,取得重要成果。1993年1月13日在北京通过鉴定。

专家们认为,此项研究在国内外首次选用69杨为母本,欧亚黑杨及其种内杂种为父本进行了抗杨树溃疡病杂交育种,选出中林115、中林379、中林34三个抗溃疡病杨树新品种。经过13年区域性栽培、接种对比试验,与国内外现有良种北京杨、I-214杨、沙兰杨等品种相比,属抗病虫良种,并具有速生、优质、易成活等优点。

中林115等三个杨树新品种在华北地区进行了大面积推广应用,面积达1万hm²。已列入国家和有关省地的推广计划,取得了显著的经济效益。仅以推广的1万hm²计算,可新增产值7846万元,年增金额1269.8万元,新增税利890万元。

专家们指出,该项研究,试验设计合理,符合育种程序,方法正确,数据可靠,在抗溃疡病杨树新品种选育方面达到了国际上同类研究的先进水平。

(黄鹂羽)



1 迁粉蝶NPV的多角体图像，箭头指示一个异形多角体；
2 一个迁粉蝶NPV多角体的碱降解图像；
3 一个迁粉蝶NPV异形多角体碱降解图像，箭头指示多角体膜；
4 迁粉蝶NPV的病毒束和正在释放的核衣壳；
5 迁粉蝶NPV感染菜粉蝶获得的多角体图像，箭头指示异形多角体；
6,7 迁粉蝶NPV感染菜粉蝶获得的病毒束和正在释放的核衣壳。