

# 广州地区樟叶蜂肠型核多角体病 及其病原病毒的观察\*

戴冠群 石木标 冼炳才 伍建芬 黄增和  
(植保系) (林学系)

## 提 要

本文报道了樟叶蜂幼虫的一种病毒病。病毒只在寄主中肠组织中细胞核内复制,故称为肠型核多角体病毒病而有别于鳞翅目昆虫中核多角体病毒病。病虫肛门流出粘液,粘液干后,幼虫尾部就粘附在基质上。因此,感病晚期或已死的幼虫其躯体则头部往下而悬垂于枝、叶上。感病初期,幼虫行动呆滞、食欲不振,体色由正常的绿色逐渐变为棕褐色。

多角体在扫描电子显微镜下观察,为五边形或六边形的多角体,大小 $0.6-1.0\mu\text{m}$ ,在超薄切片中,多角体的晶格为点线型,点间距为 $50\text{\AA}$ ,病毒粒子杆状,大小为 $227\times 71\text{nm}$ 。

我国自七十年代以来,各地相继发现了不少的昆虫病原病毒,其寄主绝大多数属鳞翅目害虫。所分离出来的昆虫病毒则多数为杆状病毒,并以核型多角体病为主。对膜翅目叶蜂的病毒病于1981年前尚未引起注意<sup>[2,3]</sup>。伍建芬等<sup>[1]</sup>在饲养樟叶蜂时,曾看到其幼虫有相互感染致死的现象。后经我们进一步观察,认为这是一种由病毒所引起的核多角体病,而且异于鳞翅目昆虫中的普通核型多角体病,对叶蜂幼虫在较强的感染力。由于膜翅目中昆虫的核多角体病,国外迄今报道的只不过26种<sup>[8]</sup>,国内最近报道2种<sup>[2,3]</sup>。故本文就本病的病征及病原病毒的初步观察作一简报,提供有关方面参考。

## 材 料 和 方 法

(一) 病原物 樟叶蜂幼虫病原病毒最初得自本院林学系昆虫教室内饲养该虫时所病死的幼虫。经过滤、离心提纯的多角体,加50%中性甘油,贮存于冰箱备用。

(二) 病理解剖观察及病毒的分离提纯 将感病的幼虫进行解剖,取其中肠部份,于研钵中加无菌蒸馏水研碎,然后以4层纱布过滤,除去碎片,所得滤液再以消毒脱脂棉花过滤,并用 $5,000\text{r.p.m.}$ 以下的速度交差离心,提取多角体。所得材料置 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱备用。

取一定量的多角体,加入适量的 $0.05\text{M Na}_2\text{CO}_3$ 和 $0.02\text{M NaCl}$ 混合液降解处理20~30分钟,然后以 $3,000\text{r.p.m.}$ 离心15分钟,取得病毒上清液。

(三) 病虫组织超薄切片的制备 取染病后期但尚未死亡的幼虫进行解剖,取其脂肪体、气管、中肠、真皮等组织,分别切成小块,然后以4%戊二醛固定液处理2小

\* 本文超薄切片、电镜观察和拍照,均承本院电镜室大力协助,特此致谢。

时,再以1%OsO<sub>4</sub>固定1小时,以后用0.05M磷酸缓冲液充分冲洗,酒精系列脱水,618\*环氧树脂包埋,LKB超薄切片机切片,切片厚度为300—400Å。再以醋酸铀和柠檬酸铅片染,Philips EM—400型电子显微镜观察。

**(四) 多角体及病毒粒子的电子显微镜观察** 粗提纯的多角体稀释液滴加在铜板上,碳—黄金旋转投影,JSM—25S电子显微镜观察。

病毒上清液滴加于Formvar铜网膜上,2%磷钨酸负染,Philips EM—400型电子显微镜观察。

## 观察和结果

**(一) 病征** 感病幼虫体色明显地由暗绿色变为淡黄色,死亡时变成黄褐色。感病初期食欲减退以后停食。感病幼虫烦躁不安,尾部略有萎缩,虫体缩短变小,肛门经常排泄出粘稠液体,多数幼虫呈现脱肛现象(图1)。死亡幼虫以其尾部粘附于所在枝叶上。死虫体壁完整并且坚韧,体内组织不液化,仅见中肠出现病变,中肠淡灰白色。幼虫在显病后4~6天内死去。

**(二) 病理特征** 感病晚期的幼虫解剖后在光学显微镜下作常规检测,真皮组织、脂肪组织及气管等均未发现多角体。只有中肠组织,在压碎后用苦味酸—氨基黑染色法观察,可见深蓝色的五边形或不规则形的多角体。

**(三) 多角体及其超微结构形态** 本病的多角体形态在扫描电子显微镜下观察到的立体图像,呈不规则的多角体形,多为五边形和六边形,也有三角形及四边形的多面体,其各个面和大小并不一致,大小为0.6~1μm,平均为0.7μm(图2)。

从多角体超薄切片的放大图像中,多角体外围未见有膜状结构。但多角体的蛋白质晶格清晰可见,晶格成点状线形花样平行排列(图6)。晶格间距为50Å。

**(四) 病毒形态** 以弱碱液处理后所释放出来的病毒粒子呈杆状,两边平行,两端钝圆,其大小为227×71nm(图3)。从多角体的超薄切片中,可见到病毒粒子是以单粒包埋形式存在于包涵体(多角体)中,并且是随机排列的。在细胞核内,有的病毒粒子已明显地具有套膜。但核内亦有裸露的核壳体,这是不成熟的病毒(图4)。套膜为双层结构。本文的几张超薄切片均显示出:凡具有套膜的病毒体才能嵌入多角体内。与此相反,未具有套膜的核壳体则不能嵌入多角体中(图4、5、6、)。

## 讨论

有一个时期,对昆虫的脂肪组织、真皮组织、气管、肠道皮膜组织等细胞核多角体病都看成为同一类型的病毒病。五十年代末,J.Weiser<sup>[9]</sup>根据病毒的组织亲嗜性,把肠型核多角体病毒从一般的核多角体病毒类群区分出来,建立独立的Birdia属。后来,J.Krywienczyk和G.Bergold<sup>[5,10]</sup>对昆虫进行了血清学的研究,证实了肠型核多角体病毒类群有它的抗原同族性。这样,进一步证实了Weiser的工作,虽然,国际病毒分类委员会(ICTV)把杆状病毒分为3个亚群<sup>[7]</sup>,但是,我们觉得Weiser氏在杆状病毒中设置一个Birdia属是有必要的。肠型核多角体病毒主要仅存在于叶蜂类昆虫的中肠中,

是有它的特殊性的。六十年代末, 田中茂男等在家蚕中发现中肠核多角体病〔4〕, 但它的病原病毒则是园球形, 所以与叶蜂类的肠型核多角体病在性质上大有迥异。

Weiser建立的Birdia属的病毒, 其特征是: 病毒粒子棒杆状, 大小在400×40nm左右。包涵体的形状为多角体, 在细胞核中形成。这种多角体状包涵体仅在膜翅目昆虫肠道中发现。因此, 称为肠型核多角体病。病死的幼虫由于肛门流出的粘液而被粘附于枝叶上。由于病毒仅在肠道组织中复制, 因而病虫体壁较为坚韧, 不易液化。后一特征明显区别于一般型核多角体病, 我们在本实验中所观察到的现象是符合上述特征的。

昆虫病毒的分类, 近年来进展较快, R.E.F Matthews的国际病毒分类委员会第三次报告, 对昆虫病毒较第2次报告的分类作了较多的修订, 杆状病毒明确分为3亚组, 即核多角体病毒、颗粒体病毒及无包涵体杆状病毒。不过, 鉴于实用上的原因, 我们还是倾向于Weiser教授把肠型核多角体病毒从普通核型多角体病毒中分立出来。因此, 我们把本实验中观察到的病毒称为樟叶蜂肠型核多角体病毒。

#### 参 考 文 献

- 〔1〕 伍建芬、黄增和、温瑞贞, 1982, 樟叶蜂的生物学和防治, 《昆虫学报》25 (1): 42—8。
- 〔2〕 戴冠群、苏星、伍建芬、石木标, 1982, 两种叶蜂的肠型核多角体病毒, 《林业科技通讯》(7): 32—3。
- 〔3〕 庞义、陈其津, 1982, 樟叶蜂的一种中肠型多角体病毒的鉴定, 《昆虫天敌》4 (1): 43—4。
- 〔4〕 田中茂男、清水孝夫、有贺久雄, 1967, 家蚕の中肠丹筒細胞の核内に多角体む形成するウイルス病, 中肠核多角体病につびこ, 《日本蚕糸学雑誌》36 (1): 1—10。
- 〔5〕 Krywienczyk J. and G. H. Bergold, 1960 Serological relationships of viruses from some lepidopterous and hymenopterous insects, *Virology*, 10, 300—15.
- 〔6〕 Krywienczyk J. and G. H. Bergold, 1960 Serological relationships between inclusion body proteins of some lepidoptera and hymenoptera, *J. Immunol.*, 84, 404—8.
- 〔7〕 Mathews R. E. 1979 Classification and Nomenclature of Viruses, 3rd Report of ICTV. S. Karger, Basel.
- 〔8〕 Martignoni M.E. and P.J. Iwai 1981 A Catalogue of viral diseases of Insects Mites and Ticks, in "Microbial control of pests and plant disease: 1970—1980" (H.D. Burgues ed.) Acad. Press, London.
- 〔9〕 Weiser J. 1977 An atlas of insect diseases. 2nd revised edition, Academia, Prague.

#### A MIDGUT NUCLEAR POLYHEDROSIS OF THE CAMPHOR SAWFLY MESONEURA RUFONONTA (ROHWER) IN GUANGZHOU

Tai Guan-qun Shi Mu-biao Xian Bing-cia Wu Jian-fen Huang Zeng-he  
(Plant Protection Department) (Department of Forestry)

#### ABSTRACT

A midgut nuclear polyhedrosis virus was isolated from a camphor sawfly *Mesoneura rufononta* (Rohwer). The diseased insect showed a symptom of losing appetite and thus

becoming slow in motion. After infection the color of the larva's body turned from dark green to faint yellowish brown. The diseased larvae became flaccid, but the skin did not become fragile.

After being infected, the larva usually died in 4—6 days. It was observed that the virus-infected larva generally discharges a kind of dark-fluid through anus, with which the moribund larva might stick to the plant.

By the study in the SEM, the inclusion bodies were demonstrated to be a shape of pentagonal or hexagonal polyhedron and measure 0.6-1.0  $\mu\text{m}$  in size. The examination of an ultrathin section of the midgut NPV inclusion revealed a pattern of regular dots and rows. The lattices of the polyhedra were shown to have a spacing of 50  $\text{\AA}$  between the centers of them. The virus particle is of an usual rod shape and measures 227 $\times$ 71nm in size.

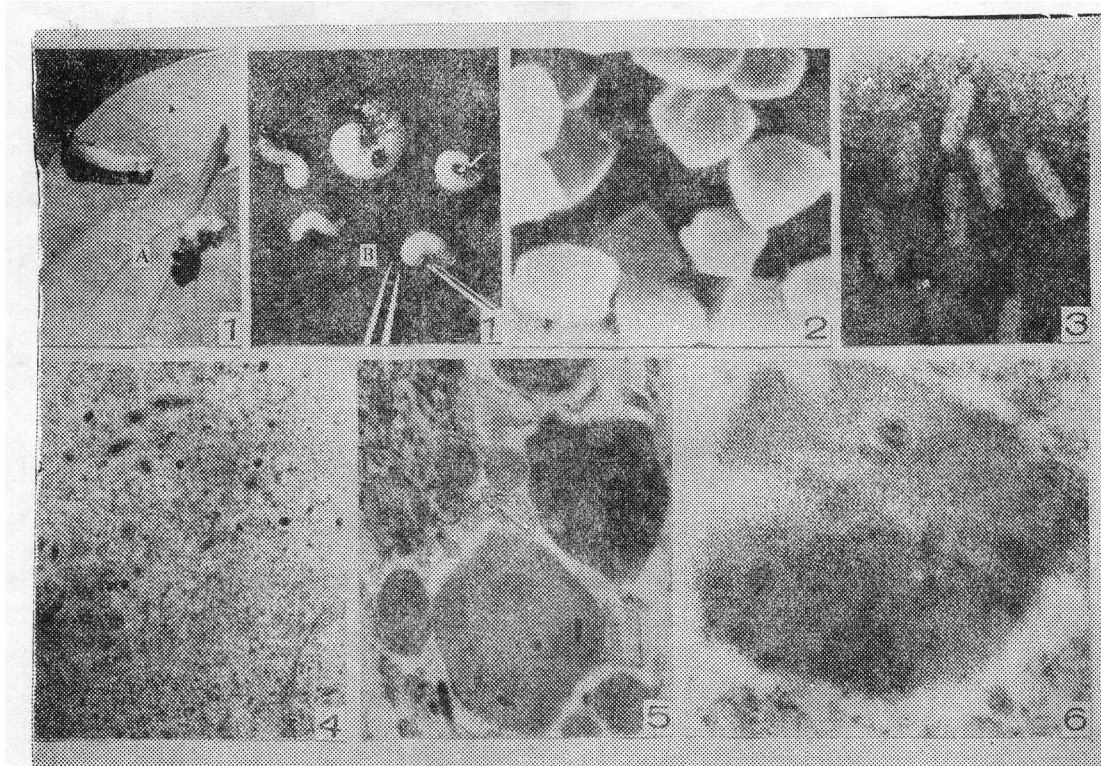


图 版 说 明

1. (A-B) 感染肠型核多体病的樟叶蜂, 示幼虫严重脱肛。
2. 樟叶蜂肠型核多角体病的包涵体。扫描电子显微镜下的图像。示五边形、六边形的多角体。 $\times 3,300$
3. 樟叶蜂肠型核多角病粒子。 $\times 75,820$
4. 樟叶蜂幼虫中肠上皮细胞超薄切片。示病毒粒子及多角体在核内形成。注意病毒粒子的套膜及裸露的核壳体。 $\times 43,600$
5. 同上。
6. 樟叶蜂幼虫中肠细胞超薄切片, 示多角体蛋白质网状晶格。 $\times 159,840$