

黄地老虎颗粒体病毒形态研究初报

新疆农业科学院农业科学研究所微生物室、植保室

新疆化学研究所生化室病毒组

(乌鲁木齐)

黄地老虎 (*Euxoa segetum*) 在我国东北、西北、华北地区均有不同程度的发生和为害,新疆多年来发生普遍而严重,是当地粮、棉、油、糖、菜等农作物的重要害虫之一。

1977 年我们从田间自然感病的黄地老虎体内分离到黄地老虎颗粒体病毒,经鉴定属杆状病毒属 B 亚组。室内数十次试验证明,用浸有病毒的灭蓼和白菜等饲料,饲喂 1—3 龄的幼虫,感病死亡率均达 98% 以上,5—6 龄感病死亡率稍低。1977 年 8 月在乌鲁木齐市郊区选择黄地老虎严重发生的大白菜地 20 亩,作田间对比试验,效果显著。如在某公社生产队试验,将感病死虫粗制品 10 克,加水稀释 (1:5000),在田间黄地老虎 1—2 龄时,喷施在大白菜幼苗上,另设对照。喷后第五天幼虫开始发病,7—8 天感病率达 51.2—72.1%,并有死虫。9 月初,当幼虫 3—5 龄时调查,防治区比对照区虫口减退率达 90—95.3%,植株受害轻微,生长健壮。10 月中旬测产经病毒处理区大白菜单株平均重 3.9 公斤,亩产 10508—11047 公斤,比对照增产 4.7—5 倍。

试验表明黄地老虎颗粒体病毒使用安全,无残毒。将感病黄地老虎幼虫用乙醚麻醉后,用 75% 乙醇表面消毒 10 分钟,再用无菌生理盐水洗涤 5—6 遍,将虫体解剖,去其头部和消化道,然后磨碎,以 1:100 的无菌生理盐水制成悬浮液,经差速离心去杂,加入双抗 1500 微克/毫升,处理 4 小时即试验用毒液。以健康黄地老虎幼虫用上述法制成对照用组织液。

取健康 2—3 龄家蚕 100 条用桑叶蘸取毒液饲喂,二天后换成新鲜桑叶。对照选用同龄家蚕 100 条,地老虎 20 条,结果地老虎均发病,家蚕均不发病,并正常化蛹结茧,羽后交尾产卵。

用动物和家畜进行急性和亚急性接毒:供试

健康小白鼠 35 只,每 5 只一组,共 4 组,分别对每只小白鼠进行皮下注射毒液 2 毫升,腹膜注射 2 毫升,饲喂 4 毫升,另有对照。接毒后第二天称重一次,记录健康状况。45 天内均未发病,每只小白鼠体重增加 1.5—5 克,其中 3 只母鼠怀孕 4 天时进行腹腔注射毒液。正常产仔鼠,仔鼠至第 4 代均保持正常生长和繁殖能力。试验白鼠解剖查内脏未发现病变,电镜观察无颗粒体和病毒粒子残留。其它供试家兔 20 只,每只重 1—1.5 公斤,每只皮下和腹膜注射各 5 毫升,饲喂 10 毫升;2 岁新疆细毛羊 20 支,每只皮下和腹膜注射各 10 毫升,饲喂 15 毫升;育肥猪 6 只,每只皮下和腹膜注射 10 毫升,饲喂 15 毫升;5 岁牛 5 头,每头皮下和腹膜注射各 25 毫升,饲喂 30 毫升。45 天内均未发病,体温无异常,体重普遍增加,解剖查内脏无病变,电镜观察无颗粒体和病毒粒子残留。

黄地老虎颗粒体病毒的发现和应用,为黄地老虎的防治开辟了新的途径,提供了高效无残毒的微生物农药。

颗粒体病毒形态观察:

(一) 光学显微镜观察

将感病黄地老虎幼虫的脂肪体磨碎制成悬浮液,滴于载玻片上,卡室品红染色,边沿呈深红色,中间不着色;亚甲蓝甲醇饱和溶液染色为无色;碱性品红甲醇饱和溶液染色,呈卵形或椭圆形的红色小颗粒。

(二) 电子显微镜观察

1. 颗粒体: 将感病黄地老虎幼虫脂肪体磨成匀浆,滴于覆有火棉胶-碳膜的铜网上,磷钨酸负染,镜检结果发现颗粒体病毒是一种有包涵体

本文于 1977 年 11 月 23 日收到。

的病毒,颗粒体为卵形或椭圆形,其大小为 $0.4-0.6$ 微米 $\times 0.1-0.25$ 微米。见图版 I-1。

2. 游离病毒粒子: 将感病黄地老虎幼虫的脂肪体磨成匀浆后加入 2% 的 NaOH, 处理 3 分钟即滴附于火棉胶-碳膜的铜网上, 磷钨酸负染, 镜检结果发现每个颗粒体(即包涵体)内, 有一个病毒粒子, 它由外膜(即发育膜)所包被。从颗粒体内释放出的病毒粒子均呈短杆状, 稍弯曲, 其大小为 $0.2-0.4$ 微米 $\times 0.08$ 微米。(见图版 I-2, 3)。

3. 颗粒体内病毒粒子: 将感病黄地老虎的脂肪体切成 1 立方毫米的小块, 在 pH7.4 磷酸缓冲液的 3% 戊二醛固定液中固定 3 小时, 再在钨酸蔗糖固定液中固定 2.5 小时, 经不同浓度的酒精脱水, 再以 1:9 的甲丁酯浸透包埋, Tesea 478 型超薄切片机切片, 片厚为 500 \AA 。醋酸铀柠檬酸铅染色, 电镜观察见图版 I-4。

结果可见大量的颗粒体, 并显示出颗粒体纵横切面, 可证实包涵的结构。图中有正在释放的病毒粒子和已释放出病毒粒子的空壳。