

## 乌柏金带蛾核型多角体病毒初步研究\*

周显明 张金国

(贵州省林业科学研究所)

于在林 韩一依

(中国林业科学研究院林业研究所)

冯俊现

(贵州省正安县林业局)

**关键词** 乌柏金带蛾; 核型多角体病毒

乌柏金带蛾 (*Eupterote sapiuora* Yang) 俗称合辣子、乌柏毛虫, 属鳞翅目, 带蛾科。由北京农业大学杨集昆教授定名为一新种<sup>[1]</sup>。主要危害乌柏、泡桐、杨树等13种经济和用材树种, 是贵州乌柏产区最严重的害虫, 年发生面积约100多万亩。不但造成乌柏籽大幅度减产, 而且降低乌柏籽出油率近10%, 给农林业生产造成巨大的经济损失。

1986年在贵州省务川县乌柏林区采集到罹病死亡的乌柏金带蛾幼虫。1988年开始对该病原进行初步分离和电镜观察, 证明为一株核型多角体病毒, 现将结果报道于后。

### 一、材料与方 法

#### (一) 多角体的分离提取

多角体的纯化是将再次感病后所得死虫加水研磨, 稀释后用120目尼龙纱布过滤, 滤液经1000 r/min离心5 min, 去沉淀取上清液, 用4000 r/min离心20 min, 弃上清液。沉淀物置40%~60% (w/w) 蔗糖梯度溶液上, 4000 r/min离心30 min。然后抽取多角体悬液, 由Tris-盐酸缓冲液 (TE) 和0.5% SDS溶液及蒸馏水分别洗涤离心。所得灰白色沉淀即为纯化的病毒多角体。

#### (二) 病毒感染试验

1988年8月在正安县苗圃场内采集3~4龄幼虫, 装入50cm×60cm×50cm的养虫笼内饲养4~6天, 待幼虫适应后, 用第一次野外感病死虫分离得到的病毒多角体, 配成 $4.5 \times 10^8$ /ml、 $2.5 \times 10^8$ /ml、 $2.5 \times 10^6$ /ml多角体悬液, 分别装入小型手持喷雾器内, 均匀地喷于泡桐叶片上, 至不滴水为度, 阴干后放入养虫笼。接毒前, 笼内幼虫饥饿24 h。接毒喂食48 h后, 换无毒泡桐叶继续饲养。以后每隔1~2天换取鲜叶一次。定期观察幼虫活动及发病状况。

#### (三) 病毒粒子的分离提纯

纯化后的EsNPV多角体用0.05 M  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 、0.05 M NaCl (pH 11) 的混合液(1:1), 在室温下碱解。纯化方法按文献[2]。碱解液置于TE配制的40%~60%蔗糖梯度上以40000

本文于1989年11月21日收到。

- 本项研究为贵州省“七五”科技攻关课题“乌柏金带蛾防治技术研究”内容之一。参加感染试验的还有遵义地区林业局张本光。

r/min、4℃下离心，再经离心或透析去糖，纯化病毒粒子。

#### (四) 超薄切片

纯化后的病毒在 0~4℃条件下，在 4%戊二醛磷酸缓冲液中固定。30%~100%的乙醇脱水，后置于环氧丙烷中包埋，超薄切片后染色，供电镜观察。

#### (五) 电镜观察

将提纯所得的多角体制片后真空镀膜。用 PHILIPS SEM-505 扫描电镜观察。病毒粒子按常规方法，以 2%磷钨酸 (pH 7.2) 负染，1 min 后置于 PHILIPS SEM-400T 透射电镜上观察。

## 二、研究结果

### (一) 感病症状

接毒 3~4 天后，幼虫取食减少，行动缓慢，反应迟钝，个体略小于正常幼虫。一般 4~7 天开始死亡，10~13 天达到高峰。濒死虫体呈弯曲状萎缩，体色比正常幼虫稍深。虫体略软，不肿胀。感病死虫多数以尾足或腹足同时附着在树干或枝叶上，呈“八”形或垂直倒挂状。虫体组织多数不完全解液体化，体液呈深褐色、发粘、无臭味。

### (二) 多角体及病毒形态

多角体一般为不规则形，有的近似三角形，少数近方形或近圆形，大小为 1540~3380nm，平均为 2320nm (图 1, 2)。病毒粒子为杆状，两端较平截，其大小为 210~240nm，平均为 225nm。病毒粒子呈束状，外面具囊膜，内含 2~3 个核衣壳，属多粒包埋型病毒 (MEV) (图 3)。病毒束长 380~460nm，宽 38~42nm。

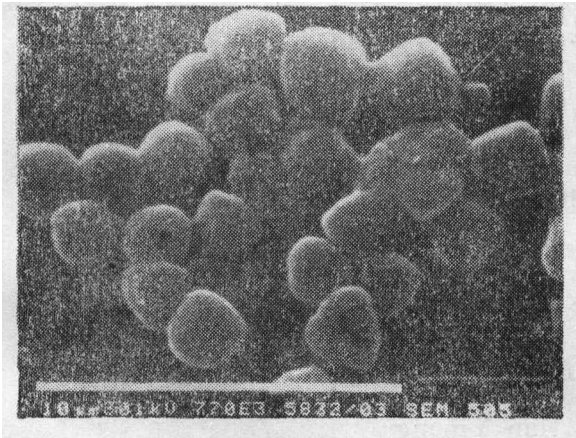


图 1 乌柏金带蛾原株核多角体，7700×

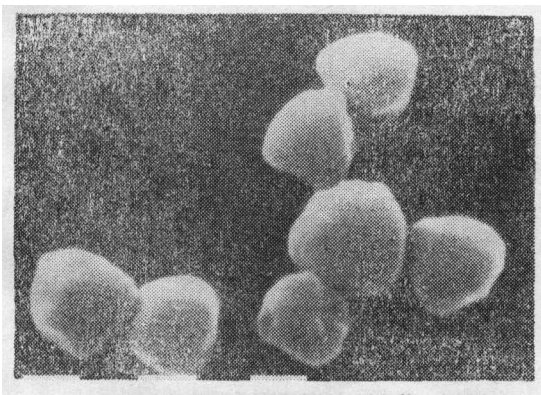


图 2 乌柏金带蛾接毒后再分离核多角体，8500×



图 3 乌柏金带蛾核多角体病毒粒子，60000×

**(三) 回交感染试验**

感病死虫在室内常温下保存一年半后再提纯分离,直至两年后其毒力仍较强(表1)。

**表 1 乌柏金带蛾EsNPV感染试验** (正安,1988·8,室内套笼)

每毫升核多角体	供试虫数 (头)	10天总死亡率		校正死亡率 (%)	15天总死亡率		校正死亡率 (%)
		(头)	(%)		(头)	(%)	
$4.5 \times 10^8$	120	58	48.33	35.41	108	90.00	86.21
$2.5 \times 10^8$	120	49	40.83	26.04	98	81.67	74.72
$2.5 \times 10^6$	45	16	35.56	19.45	28	62.22	47.89
对照(清水)	40	8	20	—	11	27.50	—

根据昆虫病毒的分类原则,我们将分离获得的这株病毒,命名为乌柏金带蛾核型多角体病毒,简称EsNPV,属杆状病毒科,A亚组。属国内外第一次报道<sup>[3,4]</sup>。有关它的利用问题,值得进一步研究。

**参 考 文 献**

- [1] 杨集昆等,1990,乌柏金带蛾新种记述,林业科学研究,3(2):142~145。  
 [2] 于在林等,1987,杨尺蠖核型多角体病毒的提取及某些理化性质分析,林业科学,23(2):221~226。  
 [3] Martignoni, M. E., 1986, A catalog of viral diseases of Insects and Mites, USDA forest technical report PNW-195。  
 [4] 梁东瑞等,1986,中国昆虫病毒图谱,146-1,湖南科技出版社。

## A PRELIMINARY STUDY ON THE NPV OF *EUPTEROTE SAPIVORA*

Zhou Xianming    Zhang Jingguo

(The Research Institute of Forestry, Guizhou Province)

Yu Zailin    Han Yinong

(The Research Institute of Forestry CAF)

Feng Junxian

(The Forest Bureau of Zhengan County, Guizhou Province)

**Abstract** A nuclear polyhedrosis virus was isolated from the corpse of larva of *Eupterote sapivora* Yang in Guizhou Province, China. The back infection showed that the NPV is highly pathogenic to the insect. Under transmission and scanning of electron microscopy, the size of polyhedra ranges 1540~3380 nm and that of virions 380~460 nm. Ultra-thin sections showed that there are 2 or 3 virions in each bundle.

**Key words** *Eupterote sapivora* Yang; nuclear polyhedrosis virus