

## 落叶松尺蠖核型多角体病病毒的病征 及病毒的形态和组织病理观察

孙士英 吕泽勋 黄冠辉 戴如一

(河北省科学院微生物研究所, 保定)

高 延 厅

(河北省林业科学研究所, 石家庄)

### Observations of the Symptom and Tissue Pathology of *Erannis ankeraria* Staudinger Nuclear Polyhedrosis and the Shape of the Virus

Sun Shi-ying Lu Ze-xun

(Institute of Microbiology, Hebei Academy of Sciences, Baoding)

Gao yan-ting

(Hebei Institute of Forestry Sciences, Shijiazhang)

1983年7月,我们在围场县大面积的落叶松林地发现落叶松尺蠖(*Erannis ankeraria* Staudinger)发生一种自然流行病,发病幼虫大量死亡。采集的病死幼虫经鉴定,确定其病原物为落叶松尺蠖核型多角体病毒(EaNPV),据现有资料,此病毒系国内外首次报道<sup>[1-3]</sup>。现将该病毒的病征、病毒形态和组织病理观察结果总结如下。

### 材 料 与 方 法

**1. 多角体的制备** 病死幼虫研碎,加蒸馏水稀释过滤,500—1000转/分离心5分钟共2轮次,弃下沉粗渣,取上清液经4000转/分离心30分钟,共2轮次,取灰白色沉淀,得到较纯净的多角体。多角体涂布于铜网上,喷镀金属后供扫描电镜观察。

**2. 病毒粒子的制备** 取初步纯化的多角体,用适量无菌水稀释,经差速离心数次进一步纯化,而后悬浮于2毫升无菌水,再加入等量0.04mol/L  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  + 0.1mol/L NaCl 混合液溶解多角体,用相差显微镜间隔数分钟检查一次,当大部分多角体溶解后,用1NHCl

本文于1986年11月14日收到。

调溶解液至中性。溶液经3000转/分离心10分钟,共2轮次,弃沉淀,取上清液17000转/分离心40分钟,沉淀用重蒸水洗涤一次,将样品滴于电镜载网,磷钨酸负染,透射电镜观察。

**3. 多角体超薄切片透射电镜观察** EaNPV多角体经多次离心提纯后用4—8%戊二醛和四氧化钼1—2%液固定1小时后用乙醇梯度脱水,采用Epon812环氧树脂包埋,经35℃,45℃,60℃各聚合一天后,置干燥器中3—7天取出, LKB-III型超薄切片机切片,厚300 Å,用醋酸双氧铀溶液染色,EM400T电镜观察。

**4. 病理组织切片** 将浓度为 $1 \times 10^8$  PIB/ml喷湿落叶松叶,凉干后饲喂2龄尺蠖幼虫48小时,然后饲以无病毒的落叶松叶,饲毒后每间隔二日取样用Bouins F.Luid液固定,常规石蜡包埋和切片。Hamm氏(1966)改进法染色,光学显微镜观察。

## 结果和讨论

**1. 病征** 幼虫取食多角体后,初期无明显变化,随着病势加重,表现出行动迟缓,食欲下降,体色逐渐变浅,有的老龄病虫腹部变成粉红色。在自然条件下,发病后期幼虫喜向上爬,常爬至树的顶部,在树顶部1米左右的主干和枝杈处,大量病虫聚集成堆,吐丝缠绕,死后使主干上部变为黑色,类似于前人报道的“树顶病”的情况,少数病虫分散倒悬在树干或侧枝上死亡(见图1,2)。病虫表皮易破,触破后体内流出褐色液体,无臭味。

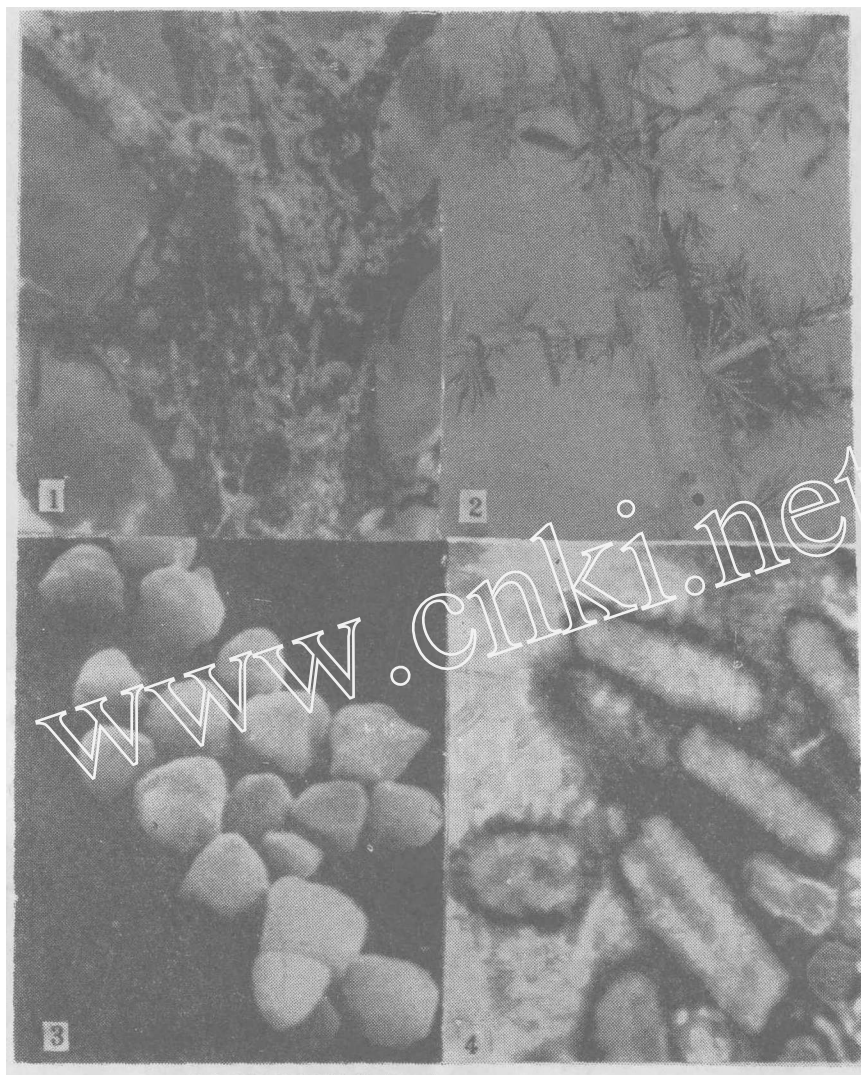
**2. 形态** (1)多角体扫描电镜观察结果, EaNPV包涵体(多角体)大多近似三角形,少数呈四角形或圆形,个别多角体的表面有凹陷或具乳状突起。多角体的直径0.5—1.8微米,平均1.2微米(见图3)。

(2)病毒粒子:病毒粒子杆状,有囊膜,两端钝圆,大小为 $316 \times 70$ 毫微米,( $266 - 346 \times 59 - 96$ 毫微米)。病毒囊膜溶解后释放出的核衣壳,直径约为45毫微米,可见到一个囊膜内有2个核衣壳(见图4)。

(3)多角体超薄切片电镜观察:病毒粒子单个存在,属单粒包埋型(SEV),每个切割面上平均有病毒粒子14.8个(2—23个)(见图5,6)。

**3. 组织病理:** 图7,8为病虫组织切片,可以看到真皮细胞、脂肪体和气管基质细胞明显病变,少数中肠上皮细胞也被感染。感病细胞核明显膨大,占据细胞的大部分,核内充满多角体,整个细胞也较正常细胞大,在切片中,看到在同一组织中邻近细胞存在着不同程度的病变,特别是在真皮和脂肪体组织中,此种现象尤为明显,这种现象可能是由于病毒从先感染的细胞对邻近细胞的再感染所致。但我们没有观察到不同敏感组织存在着病变顺序的差异,可能由于各种敏感组织大都浸浴在血淋巴中,当病毒粒子进入血腔后,这些组织的细胞都有与病毒接触和被感染的同等机会。

图9,10为正常的幼虫组织横切,各种组织均正常,细胞核较小,细胞排列整齐致密。



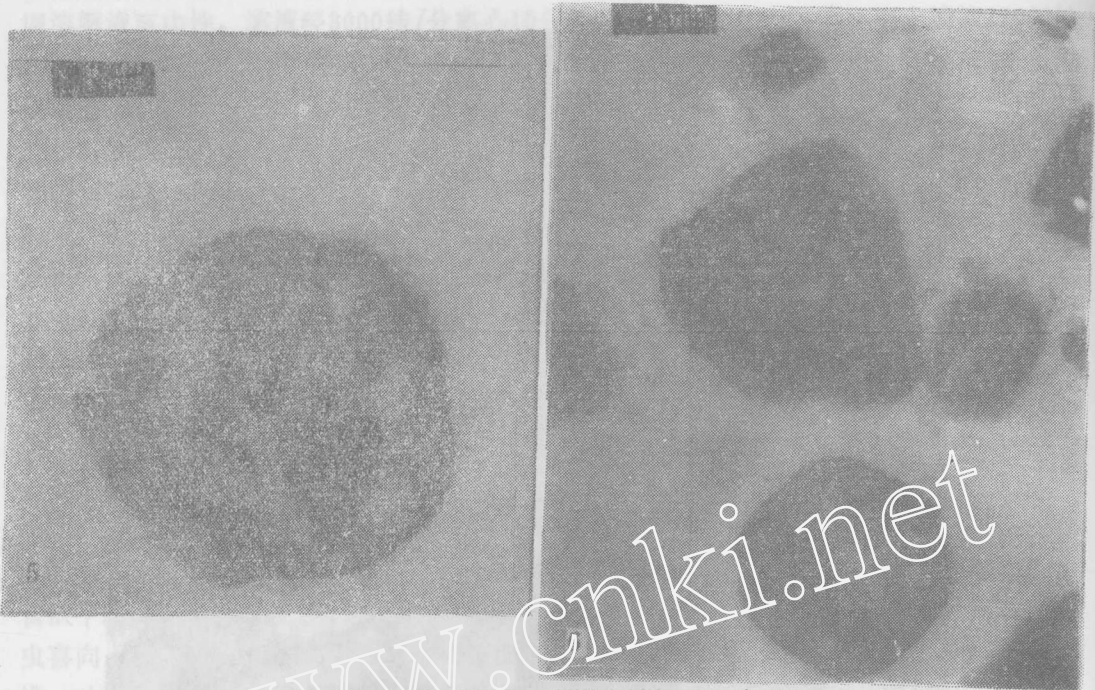
- 1、幼虫在树顶大量聚集死亡
- 2、EaNVP感病后分散倒悬在树干或枝上的死亡虫。
- 3、EaNVP多角体(8500X)近似三角形,少数四角或圆形。
- 4、EaNVP杆状的病毒粒子(100,000X)。

Fig. 1. Larvae died at the top of larch in mass.

Fig. 2. Larvae infected with EaNVP hanged in stem or branch.

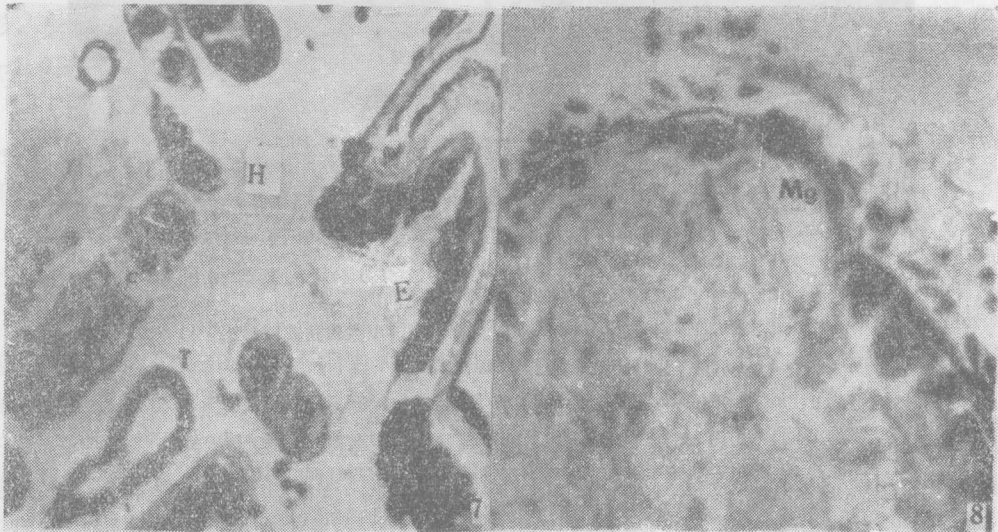
Fig. 3. Most of Ea polyhedra are similar to triangle, little tetrangle or round(8500X).

Fig. 4. Bacular virion of Ea polyhedra(100, 000X).

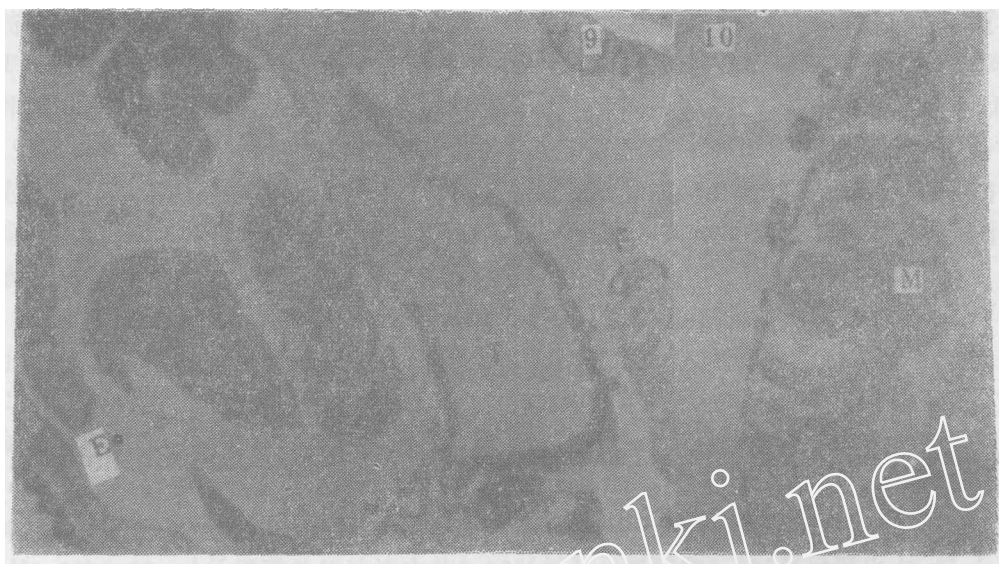


5. EaNPV多角体超薄切片, 示单粒包埋 (36000×)  
Fig. 5. Ultrathin section of Ea polyhedra, show single, embedded(36, 000×).

6. EaNPV多角体超薄切片, 示单粒包埋 (60000X).  
Fig. 6. Ultrathin section of Ea polyhedra, show single embedded(60, 000X)



7, 8 病虫组织切片 (4×100X)  
H: 胸腔; E: 表皮层真皮细胞核被感染; T: 气管基质细胞核被感染;  
F: 脂肪体细胞核被感染; Mg: 中肠上皮细胞核被感染。  
Fig. 7. 8. Tissue section of diseased larvae (4×100X).  
H—Haemocoele E—Nucleus of Epidermis Infected T—Nucleus of Trachea Infected  
F—Nucleus of Fat Body Infected Mg.—Nucleus of midgut Infected



9, 10正常的落叶松尺蠖幼虫组织横切, 各种组织均正常(4×100X)。

F:脂肪体; T:气管; E:表皮层; M:肌肉。

Fig. 9, 10. Tissue section of the normal larch looper larvae(4×100X)

F—Fat Body T—Trachea E—Epidermis M—Muscle

### 参 考 文 献

- [1]黄冠辉、高延厅等, 1984林业科技通讯, 1:29-30。
- [2]邢祖培等, 1985, 北京农业科学, 10:5-7。
- [3]武汉大学病毒研究所等, 1986 中国昆虫病毒图谱, 湖南科学出版社。
- [4]D. A. Brown et al., 1977, *Virology*, 81, 317-27.
- [5]J.J. Hamm., 1966, *J. Invert. Pathol*, 8:125-126.
- [6]Teakle R.E. et al., 1974, *J. Invert. Pathol*, 23(1):127-129.