

三叶草夜蛾颗粒体病毒研究初报

毛美珍

(新疆石河子农学院)

吴祖银

(新疆农科院微生物所,乌鲁木齐)

三叶草夜蛾 (*Mamestra trifoli* Hb.) 分布于我国华北、东北、新疆等地。是甜菜幼苗后期和生长后期的主要害虫之一。对大豆、玉米等作物也有危害。

1981年7月发现室内饲养的三叶草夜蛾幼虫有罹病死亡现象。经分离鉴定其病原物为颗粒体病毒。为了开发我国昆虫病毒资源,寻找防治三叶草夜蛾的生物防治方法,对该病毒进行了初步研究。

一、病症

三叶草夜蛾幼虫(2—3龄)于18—20℃被该病毒感染后,在潜伏期无任何症状,3、4天后,食欲减退,行动迟缓,发育较慢,体色由深变浅,腹部变白,体表出现黄白色斑点,7天左右开始大量死亡,死后表皮易破,流出乳白色或黄白色脓样物,无臭味。

二、病原物的染色和镜检

取自然罹病死亡幼虫的乳白色脓样物少许,加一滴蒸馏水涂片,晾干后,加一滴1N HCl浸润固定,加热至有蒸气而不致沸腾,3—5分钟后水洗,晾干,用结晶紫或伊红染色3—5分钟,水洗后镜检^[1]。在1,000倍以上的普通光学显微镜下观察,颗粒体呈深蓝色或鲜明的粉红色。

三、病毒的分离和纯化

将自然罹病死亡的三叶草夜蛾幼虫,按每头虫尸5ml无菌水的比例,置于研钵磨碎,用两层纱布过滤,滤液经1,500rpm离心20分钟,取上清液。上清液经4,000rpm离心90分钟后,取下部乳白色悬浮液,经甘油梯度(10—70% W/W),4,000rpm离心30分钟,取出病毒带,再用无菌水洗涤,并经15,000rpm离心60分钟,即得较纯净的乳白色颗粒体沉淀,同时除去甘油。

四、电镜观察

将提纯的病毒涂在制备好的铜网上,经2%PTA负染,用国产DXA4—10型电镜观察。病毒颗粒体形态绝大多数呈长椭圆形,边缘整齐,大小不一,有的一端突出,一端钝圆。从检测100个颗粒体结果看,其大小平均长度为420nm,宽度为180nm(见图1)。

用0.2M Na_2CO_3 (1份)和0.2M NaCl (1份)与纯化的颗粒体悬浮液以1:1的比例混合,在室温下碱解20分钟,滴于铜网上,经2%PTA

罹病幼虫材料由本院植保82班张建华同学提供。参加本工作的还有新疆农科院微生物研究所严民范同志,本院植保82班刘杰同学。电镜照片由新疆化学研究所李维琪、吾尔尼莎同志拍摄。特此一并致谢。

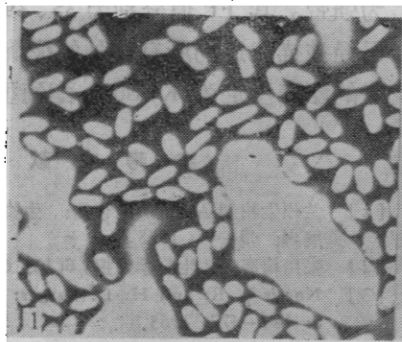


图1 MtGV 的颗粒体 PTA 负染,
(9,000×)

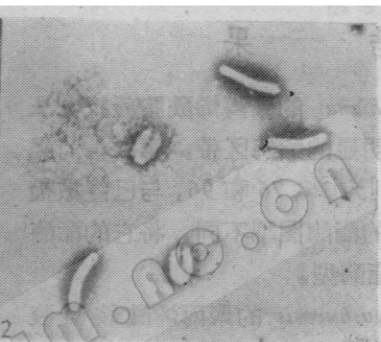


图2 MtGV 经碱液降解后的病毒粒子,
PTA 负染 (19,200×)

负染后电镜观察。病毒粒子多数呈杆状,略弯,一端钝圆,一端突出。有的呈“U”形,直杆状。每个颗粒体内只有一个病毒粒子。病毒粒子平均长度约为 376 nm,宽度约为 72nm (图2)。

五、鉴定

根据上述观察结果,和第二届国际病毒命名和分类委员会“关于昆虫与无脊椎动物病毒

分类方案”(1979)。感染三叶草夜蛾幼虫的病毒应归类于杆状病毒 B 亚组 (Baculovirus subgroup B) 的一个种,定名为三叶草夜蛾颗粒体病毒 (*Mamestra trifoli GV*, 简称 MtGV)。

参 考 文 献

- [1] 武颢文、常绍慧: 昆虫学报, 20(4): 485, 1977。