アメリカシロヒトリの顆粒病について¹

福原敏彦・有賀久雄・小林正彦

東京大学農学部

(1968年9月10日受領)

On the Granulosis of *Hyphantria cunea* DRURY. Tosihiko HUKUHARA, Hisao ARUGA and Masahiko KOBAYASHI (Faculty of Agriculture, University of Tokyo, Tokyo) *Jap. J. appl. Ent. Zool.* **13**: 1-4 (1969)

The signs and symptoms of the granulosis of *Hyphantria cunea* were described. The virus particle isolated from the granules was $300-350 \times 50-65 \text{ m}\mu$ in size. The granules and the virus particles were found in the cell cytoplasm of adipose tissue. The virulence of the granulosis virus and that of the nuclear-polyhedrosis virus were nearly the same, when they were administered perorally to *H. cunea* larvae. The granulosis virus of *H. cunea* was not transmissible to larvae of *Bombyx mori*.

アメリカシロヒトリが多角体病に侵されることは古くから知られていたが(CHAPMAN and GLASER, 1915), この虫のウイルス病が本格的に研究されるようになったのは, アメリカシロヒトリが原産地の北アメリカからヨーロッパに侵入して猛威をふるうようになり, その対策として天敵微生物の利用が考えられるようになってからである。ヨーロッパではじめに発見されたウイルス病は核多角体病で, ユーゴスラビア(VAGO and VASILJEVIĆ, 1953), ハンガリー(MACHAY and LOVAS, 1955; MACHAY, 1956; MACHAY and LOVAS, 1957; SZIRMAI, 1957), チェコスロバキヤ(WEIZER, 1958)など各地のアメリカシロヒトリがこの病気に罹病していることが観察された。ついで細胞質多角体病がユーゴスラビアで発見された(VAGO and VASILJEVIĆ, 1958)。顆粒病についてはじめて報告したのはユーゴスラビアの SCHMIDT and PHILIPS (1958)であった。VASILJEVIĆ (1964)によればユーゴスラビアでの顆粒病の発生は1957年から次第に増加し, 1959年と1960年には野外のアメリカシロヒトリ幼虫の85%がこの病気で死亡したが, 多角体病の発生はほとんど見られなくなったということである。KRIEG

and SCHMIDT (1962)はユーゴスラビアで *Bacillus thuringiensis* によるアメリカシロヒトリの防除試験を行なったが, その際にこの細菌によって顆粒病が誘発されることを観察した。WEIZER (1962)によれば, チェコスロバキヤでは顆粒病ウイルスの人為的散布や自然の伝播によって野外のアメリカシロヒトリにこの病気が蔓延した結果, その発生が激減したということである。

ヨーロッパ以外の地域でのこの虫のウイルス病の研究は比較的少なく, 北米では前述のCHAPMAN and GLASERの報告と, STEINHAUS and MARSH (1962, 1967)およびOLIVER (1964)の核多角体病と顆粒病に関する報告があり, 日本では核多角体病のみが見つかっていて(有賀ら1960, 1961, 1964; 福原・橋本, 1966)顆粒病は発見されていない。福原・橋本(1966)は顆粒病ウイルスをヨーロッパから導入して, その封入体の性状について記載した。

本論文では顆粒病罹病虫の病徴, 顆粒病ウイルス粒子の形態, 顆粒病ウイルスと核多角体病ウイルスの病原性の比較, および家蚕に対する顆粒病ウイルスの病原性等について報告する。

1 本研究は文部省の試験研究費によって行なわれたものである。

材料および方法

供試したアメリカシロヒトリ (*Hyphantria cunea* DRURY) は東京都内で採集したもので、幼虫の飼育にはクワの葉を用いた。顆粒病と核多角体病ウイルスの由来については前報 (福原・橋本, 1966) で述べたとおりである。

顆粒体の精製はつぎのようにして行なった。まず病死

虫を水に浸して数日から数週間室温に放置した。組織は次第に腐敗崩壊して、組織内に含まれていた顆粒体が放出され沈澱して白い層を形成したが、これをガーゼと脱脂綿で汙過して大きな組織片を除いた。つぎに汙液を低速で遠心 (3,000rpm, 10分間) したのち、上清をとり、これを高速で遠心 (10,000rpm, 30分間) すると顆粒体の白い沈澱が得られた。

ウイルスの接種材料としてはつぎの3種類を用いた。

第1図 アメリカシロヒトリの顆粒体から分離したウイルス粒子 ($\times 60,000$)。矢印は溶け残りの顆粒体。第2図 脂肪組織細胞の細胞質内の顆粒体とウイルス粒子 ($\times 24,000$)。第3図 同前 ($\times 12,000$)。G: 顆粒体, V: ウイルス粒子, T: 糸状粒子。

すなわち、(1) 罹病幼虫体液の蒸溜水稀釈液、(2) 精製封入体の蒸溜水浮遊液、および(3) 罹病幼虫を磨砕したものをガーゼで濾過した液である。接種の際には、これらの液をクワの葉の裏面に筆でぬりつけて幼虫に与えた。接種後1日おきに虫を観察して、罹病虫や死亡虫のあるときは体液を鏡検して顆粒体あるいは多角体の有無で診断した。

顆粒体からのウイルスの分離には、まず乾燥顆粒体5mgに0.035MNa₂CO₃と0.05MNaClの混液1mlを加え、室温に90分間放置して顆粒体を溶解した。つぎにこの液を低速で遠心(6,000rpm, 5分間)して不純物を沈澱させた。この上清を高速で遠心(10,000rpm, 60分間)して得られた沈澱を蒸溜水に浮遊させ、再び低速で遠心(6,000rpm, 5分間)した。得られた上清はウイルス粒子を含んでいるので、これをリンタングステン酸でネガティブ染色して電顕観察を行なった。

顆粒病罹病組織の電顕観察は7令幼虫の皮膚、気管および脂肪組織について行なった。これらの組織をグルタルアルデヒドで前固定したのち、1%オスミック酸で固定し、エポン樹脂に包埋したものについて超薄切片を作成し、酢酸ウラニルと硝酸鉛で2重染色して観察に供した。使用した電子顕微鏡はJEM-5Y型である。

実験結果および考察

顆粒病ウイルスは1～7令のアメリカシロヒトリ幼虫に対して病原性を持っており、若令幼虫ほど罹病率が高い傾向がみられた。経口接種から外部病徴の現われるまでの潜伏期間は6～14日であった。罹病幼虫は行動が不活発になり、体色は次第に黄色を帯び、皮膚が破れ易くなった。病気の末期の幼虫の体液は乳白色を呈していた。感染した終令幼虫は蛹化せずに幼虫態で死亡した。

顆粒体から分離したウイルス粒子は桿状でその長さは300～350m μ 、その幅は50～65m μ であった(第1図)。SCHMIDT and PHILIPS (1958)はウイルス粒子の長さを150～310m μ 、幅を40～70m μ としており、VASILJEVIĆ (1964)は長さを250～292m μ 、幅を42～58m μ としている。

罹病幼虫組織の超薄切片を電子顕微鏡により観察したところ、真皮および気管皮膜細胞には病変は認められなかったが、脂肪組織細胞の細胞質内に顆粒体とウイルス粒子が観察された(第2図、第3図)。顆粒体は細胞質内の空胞部分にかたまっている場合が多く、ウイルス粒子は細胞質全体に散在していた。超薄切片で認められたウイルス粒子は顆粒体から分離したものと形状が一致していたが、このほかに普通の大きさの桿状粒子の数倍の長さを持つ糸状の粒子が認められた。SMITH and BROWN (1965)はシロチョウ科とヤガ科の昆虫の顆粒病感染脂肪組織中に分枝した長い粒子を観察し、これをウイルス粒子と考えている。著者らの認めた糸状の粒子はこれと形状が似ている。

顆粒病ウイルスと核多角体病ウイルスの病原性を比較するために、それぞれのウイルスに感染したアメリカシロヒトリ幼虫の磨砕液とその混合液を6令のアメリカシロヒトリ幼虫に経口接種して発病率を比較した(第1表)。その結果同じ頭数の罹病幼虫から得られた両種ウイルスの病原性はほぼ同じであることが明らかになった。また両ウイルスを混合して経口接種した場合の病原性は、それぞれのウイルスを単独に接種した場合のそれと大差なかった。なお顆粒病ウイルス原液を添食した区で1頭の核多角体病虫が発生しているが、これは実験中にウイルスの汚染があったためと推測される。

家蚕に対するアメリカシロヒトリ顆粒病ウイルスの病

第1表 顆粒病ウイルスと核多角体病ウイルス添食によるアメリカシロヒトリの罹病数

ウ イ ル ス	稀 釈 濃 度	供 試 虫 数	顆 粒 病	核多角体病	両ウイルス病併発	そ の 他
顆 粒 病 ウ イ ル ス	原 液*	25	16	1	0	1
同 上	10 倍 液	25	14	0	0	1
同 上	100 倍 液	24	8	0	0	0
核多角体病ウイルス	原 液**	24	0	21	0	1
同 上	10 倍 液	25	0	12	0	1
同 上	100 倍 液	25	0	4	0	0
両ウイルス混合	原 液***	25	7	11	4	1
同 上	10 倍 液	25	7	6	4	0
同 上	100 倍 液	25	2	3	2	0
対 照 (無処理)	—	25	0	0	0	0

* 7令罹病虫の磨砕液(5頭, 生体重1.8g/100ml 蒸溜水)。 ** 同上(5頭, 生体重1.2g/100ml 蒸溜水)。

*** 両ウイルスをそれぞれ上記原液と等濃度含む。

原性を調べる目的で、顆粒病罹病虫体液の20倍稀釈液を家蚕1令幼虫40頭に添食する実験と精製顆粒体浮遊液(90mg/ml)を家蚕1令幼虫100頭, 4令幼虫50頭, および5令幼虫50頭に添食する実験を行なったがいずれの場合も家蚕はこのウイルスに感染しなかった。VASILJEVIĆ (1968) も本種の顆粒病ウイルスはモンシロチョウの幼虫にはよく伝染するが家蚕幼虫には伝染しないと述べている。

摘 要

アメリカシロヒトリの顆粒病の病徴について記載した。顆粒体から分離したウイルス粒子は桿状で $300\sim 350\times 50\sim 65\text{m}\mu$ の大きさであった。罹病幼虫の脂肪組織細胞の細胞質内に顆粒体とウイルス粒子が認められた。顆粒病ウイルスと核多角体病ウイルスの病原性はほぼ同じで、両ウイルスを混合して接種した場合も大差なかった。アメリカシロヒトリの顆粒病ウイルスはカイコ幼虫に対して病原性を示さなかった。

引用文献

- 有賀久雄・福原敏彦・福田章一・田中茂男 (1964) 数種鱗翅目昆虫の核多角体病ウイルスに関する電子顕微鏡的研究. 応動昆 8: 222~226.
- 有賀久雄・吉武成美・渡部 仁・福原敏彦 (1960) 数種りんし目昆虫の多角体病とその誘発. 応動昆 4: 51~56.
- 有賀久雄・吉武成美・渡部 仁・福原敏彦・長島栄一・河合孝 (1961) 数種りんし目昆虫の多角体病 (続報). 応動昆 5: 141~144.
- CHAPMAN, J. W. and R. W. GLASER (1915) A preliminary list of insects which have wilt, with a comparative study of their polyhedra. J. Econ. Entomol. 8: 140~150.
- 福原敏彦・橋本陽子 (1966) アメリカシロヒトリのウイルス病. 応動昆 10: 149~155.
- KRIEG, A. and L. SCHMIDT (1962) Über die Möglichkeiten der mikrobiologischen Bekämpfung von *Hyphantria cunea* (DRURY). Nachricht. Deutsch. Pflanzenschutz. 14: 177~182.
- MACHAY, L. (1956) Az amerikai fehér szövőlepké irtása vírussal. Agrártud. 8: 349~350.
- MACHAY, L. and B. LOVAS (1955) Der Erreger der Viruskrankheit von *Hyphantria cunea* DRURY. Acta Microbiol. 3: 117~124.
- MACHAY, L. and B. LOVAS (1957) Az amerikai fehér szövőlepké, *Hyphantria cunea* DRURY magyarországi vírusáról és e vírussal folytatott fertőzési kísérletek eredményeiről. Biológiai közlemények 5: 7~18.
- OLIVER, A. D. (1964) Studies on the biological control of the fall webworm, *Hyphantria cunea*, in Louisiana. J. Econ. Entomol. 57: 314~318.
- SCHMIDT, L. and G. PHILIPS (1958) Granuloza, nova virusna bolest na dudovcu, *Hyphantria cunea* DRURY. Fac. Agr. Forestry, Inst. Entomol. Zagreb No. 1: 1~27.
- SMITH, K. M. and R. M. BROWN (1965) A study of the long rods associated with insect granuloses. Virology 27: 512~519.
- STEINHAUS, E. S. and G. A. MARSH (1962) Report of diagnoses of diseased insects. 1951~1961. Hilgardia 33: 349~490.
- STEINHAUS, E. S. and G. A. MARSH (1967) Previously unreported accessions for diagnosis and new records. J. Invertebrate Pathol. 9: 436~438.
- SZIRMAI, J. (1957) Biologische Abwehr Mittels Virus zur Bekämpfung der *Hyphantria cunea* DRURY. Acta Microbiol. Hungaricae 4: 31~42.
- VAGO, C. and L. VASILJEVIĆ (1953) Détection d'une maladie à virus parmi les populations européennes de l'Ecarille fileuse (*Hyphantria cunea* DRURY Lepidoptera) actuellement en progression. C. R. Acad. Agric. France. 10: 654~655.
- VAGO, C. and L. VASILJEVIĆ (1958) Polyédrie cytoplasmique chez l'Ecarille fileuse (*Hyphantria cunea* DRURY, Lep. Arctiidae). Entomophaga 3: 197~198.
- VASILJEVIĆ, L. (1964) Etude au microscope électronique du virus de la granulose de l'Ecarille fileuse (*Hyphantria cunea* DRURY). Entomophaga, Mém. Hors Sér. No. 2: 383~391 and 556.
- VASILJEVIĆ, L. (1968) Uticaj virusa granulaze dudovca (*Hyphantria cunea* DRURY) na gusenice svilene bube (*Bombyx mori* L.) i kupusara (*Pieris rapae* L.). Plant Protection, Beograd, No. 98, 29~40.
- WEIZER, J. (1958) Report on research work of the laboratory of insect pathology 1957 and 1958. Czechoslovak Acad. Sci., Inst. Biol. 1~48.
- WEIZER, J. (1962) Biological insect control. Advances in Biological Sciences, Praha, 123~133.