

VIRUSI INSEKATA.
POLIEDARNO VIRUSNO OBOLJENJE
(*BACULOVIRUS*) TOPOLOVOG GUBARA (*LEUCOMA
SALICIS* L.) NA PODRUČJU VOJVODINE

Č. SIDOR,¹ B. ZAMOLA² i F. KAJFEŽ²

¹ Pasterov zavod, Novi Sad, Jugoslavija i ² CRC-Compagnia di Ricerca
Chimica, Department of Applied Microbiology and Biology, Chiasso,
Switzerland

(Primitljeno 30. X 1977)

U radu je dat kratak pregled pojedinih grupa insekatskih virusa. U ovom prvom delu rada poklonjena je veća pažnja *Baculovirusima*, koji su poznati samo kod insekata, a zatim su izneseni podaci o poliedarnom virusnom oboljenju (*Baculovirus*) *Leucoma salicis* L. (*Lepidoptera*, *Lymantriidae*) jedne od značajnih štetočina topola, a naročito u drvodredima.

Poliedarno virusno oboljenje *L. salicis* proučavano je na području SAP Vojvodine u reonu u kojem se topola gaji na znatnim površinama. U uslovima gajenja ove intenzivne šumske kulture *L. salicis* često oboleva od pomenutog virusnog oboljenja te se virusi ubrajaju među značajne faktore regulacije prenamnožene štetočine.

Izneseni su rezultati proučavanja poliedara i infektivnosti virusa za različite stupnjeve starosti gusenica. *L. salicis*, kao i osetljivosti prema ovom virusu gusenica nekih drugih *Lymantriidae*. Ispitivan je uticaj vrste hrane na razvoj oboljenja u inficiranim gusenicama *L. salicis*, zatim infektivnost virusa različitih starosti kao i prenošenje virusa sa inficiranih roditelja na potomstvo.

Proučavanjima virusa insekata poklonjena je značajnija pažnja tek u poslednje dve decenije od kada i datiraju najvažniji podaci o njihovom poznavanju. Danas znamo da nekoliko stotina insekatskih vrsta oboleva od virusa koji su, uglavnom, specifični samo za određene insekte (1). Međutim, iz izveštaja mnogih institucija u svetu, koje se bave ovim ispitivanjima, saznaje se da se broj insekatskih vrsta koje obolevaju od viroza povećava svake godine. Naročita pažnja posvećuje se viroznim oboljenjima štetnih insekata, jer su virusi česti uzročnici sloma njihovih gradacija, a pored toga zna se da je većina insekatskih virusa patogena

samo za pojedine insekatske vrste, dok druga živa bića nisu osjetljiva prema njima. Međutim, insekti kao i ostale artropode imaju značaja i zbog toga što su oni česti prenosioci biljnih, animalnih i humanih virusa. U ovome radu biće reči samo o virusima kojima su insekti domaćini.

Najranija proučavanja virusnih oboljenja insekata bila su vršena na svilenoj bubi (*Bombyx mori* L.) zbog njenog velikog značaja u ekonomici pojedinih zemalja. Virusna oboljenja ovog insekta bila su zapažena mnogo ranije nego što je mogla biti određena njihova prava priroda. Prema vanjskim znacima na abdomenu obolelih gusenica svilene bube nalaze se žute tačkice i prema njima se bolest nazivala žutica. Ovo oboljenje se danas naziva poliedarno virusno oboljenje ili poliedrija zbog toga što se u ćelijama obolelih organa insekata nalazi veliki broj višestраниh inkluzija ili poliedara. Poliedri su bili zapaženi od strane najranijih istraživača među koje spada i *Maestri* (2), jer su se poliedri mogli videti posmatranjem pomoću mikroskopa kojim se u to vreme raspolagalo. Baš ti poliedri bili su razlog neslaganja mnogih istraživača tokom ranijih godina. Smatralo se, naime, da su poliedri produkt i reakcija organizma na oboljenje. *Prowazek* (3) je dokazao da je sok obolelih svilenih buba profiltriran kroz višeslojni filtrir-papir i u kojem se nisu mogli videti poliedri bio infektivan za zdrave gusenice svilene bube. Ovo je bio dokaz da se radi o virusnom oboljenju. Nešto kasnije izneseno je mišljenje (4) da je moguće da se uzročnik oboljenja može nalaziti i u poliedrima, jer kada su se poliedri razložili pomoću slabe alkalije, zapažena su posmatranjem u tamnom polju mikroskopa vrlo sitna telašca. Konačno, pomoću elektronskog mikroskopa dokazano je prisustvo virusa u poliedrima (5).

Za klasifikaciju insekatskih virusa postoje različiti predlozi, ali čini se da jedinstvena klasifikacija još uvek nije prihvaćena od svih istraživača. Na X međunarodnom mikrobiološkom kongresu u Meksiku 1970. god. Potkomitet za viruse insekata izdvojio je sedam grupa virusa insekata od kojih *Baculovirusi* i *Iridovirusi* imaju samostalan status roda i razlikuju se od ostalih poznatih grupa virusa, dok *Entomopoxvirusi*, *Parvovirusi*, *Reovirusi*, *Rabdovirusi* i *Enterovirusi* koji su konstatovani kod insekata ulaze u opšte grupe virusa (6).

KRATKA KARAKTERISTIKA RAZLIČITIH GRUPA INSEKATSKIH VIRUSA

I grupa — *Baculovirusi*. Ova grupa deli se u dve podgrupe: A. *Poliedroze* i B. *Granuloze*.

U poliedroze ove grupe spada kao tipičan predstavnik nuklearni tip poliedrije svilene bube. Od nuklearne poliedrije, najčešće, obolevaju larve *Lepidoptera* i *Hymenoptera*. Kod ovoga tipa poliedrije virus se umnožava u ćelijskim jedrima više napadnutih tkiva unutarnjih organa kod *Lepidoptera* i samo u jedrima ćelija crevnog epitela kod *Hymenoptera*. Virioni kod nuklearne poliedrije su štapićastog oblika za razliku

od citoplazmične poliedrije kod koje su virioni sferičnog oblika. Poliedri znatno variraju prema obliku i veličini a varijacije se dešavaju prema vrsti insekata a, takođe, i u samom insektu. Međutim, u istoj ćeliji poliedri su istog oblika i veličine. Promer poliedara varira od 0,5 do 15 mikrona, već prema vrsti insekata. Oblik poliedara prenosi se i osetljivi insekti prema određenom virusu uvek daju isti oblik poliedara kao što su i oni koji su korišćeni za infekciju. Unutar poliedara nalaze se virioni čija se veličina kreće oko 30—90 x 220—320 milimikrona. Virioni sadrže DNK koju okružuje unutarnja i spoljna membrana proteinskog sastava.

Poliedri se ne rastvaraju u vodi, dok su lako topivi u lužinama i kiselinama. Oni su otporni prema procesima koji se dešavaju prilikom raspadanja insekata uginulih od viroza. Kada se poliedri drže u frižideru na 4—5 °C, virulentnost virusa u njima održava se u toku nekoliko godina.

Granuloze su virusna oboljenja koja su konstatovana samo kod *Lepidoptera*. Ime granuloza potiče od granula, inkluzija, koje se u ogromnom broju nalaze u obolelim i uginulim gusenicama od ovog virusnog oboljenja. Veličina granula u proseku kreće se oko 300—500 x 119—350 milimikrona. Granule se rastvaraju u alkalijama i kiselinama. Nisu osetljive na procese koji se dešavaju u toku raspadanja tkiva uginulih insekata od ovog oboljenja. Granulosis virusi napadaju više organa, ali je masno tkivo glavno mesto njihovog umnožavanja. Pored toga kod nekih insekatskih vrsta napadnut je hipodermis i drugi organi. Kod ovog oboljenja promena boje kože od normalne u svetliju je redovna pojava. Granulosis virusi se umnožavaju u ćelijskom jedru kao i u citoplazmi zavisno od vrste insekta. U granulama se, redovno, nalazi po jedan virion koji je sastavljen od DNK koja je okružena unutarnjom i spoljnom proteinskom membranom. Veličina viriona u granulama u proseku se kreće između 36—80 x 245—411 milimikrona.

II grupa — *Entomopoxvirusi*. Tipičan predstavnik ove grupe je virus koji je nedavno konstatovan (7) kod gundelja (*Melolontha melolontha* L.). Ovi virusi zatim su nađeni kod *Coleoptera*, *Lepidoptera* i *Diptera*. Virusi se umnožavaju u citoplazmi i uklopljeni su u inkluzijama koje se nazivaju sferoidi ili ovoidi. Virioni su ovalni a veličina im se kreće u proseku 170—250 x 300—325 milimikrona, sadrže DNK.

III grupa — *Iridovirusi*. Ovi virusi insekata nemaju sebi sličnih među biljnim, animalnim i humanim virusima. Tipičan predstavnik ove grupe virusa nalazi se kod *Tipula paludosa* Meig. Virusi ove grupe koji sadrže DNK nalaze se kod različitih vrsta komaraca, umnožavaju se u citoplazmi masnog i ostalih tkiva. Oboleli insekti imaju plavičast odsjaj. Virioni su heksagonalnog oblika i veličine oko 130 milimikrona u promeru. Infektivni su za više redova insekata.

IV grupa — *Parvovirusi*. Imaju svog predstavnika u virusu *denzonukleoze* kod voštanog moljca *Galleria mellonella* L. Kod gusenica vošta-

nog moljca obolelih od denzonukleoze u jedrima obolelih ćelija zapažaju se gusta i tamnija mesta u kojima se nalaze nakupljeni virioni koji sadrže DNK. Oni su ikosahedralne forme veličine u promeru 20—30 milimikrona.

V grupa — *Reovirusi*. U ovu grupu spadaju virusi citoplazmične polidrije insekata. Virioni su sferičnog oblika, u promeru oko 60 milimikrona, umnožavaju se u citoplazmi, sadrže RNK. Citoplazmična poliedrija je konstatovana kod oko 100 insekatskih vrsta. Kod ovog virusnog oboljenja napadnute su ćelije creva, dok su ostali organi pošteđeni.

VI grupa — *Rabdovirusi*. U ovu grupu ubraja se virus sigma insekata *Drosophila melanogaster*. Insekti ove vrste inficirani virusom sigma vrlo su osetljivi prema CO₂, jer ginu već posle nekoliko sekundi ako dođu u kontakt sa CO₂. Nisu zapažene neke druge promene na inficiranim insektima. Virus se prenosi preko inficiranih ženki na potomstvo.

VII grupa — *Enterovirusi*. U ovu grupu spada virus koji izaziva akutnu paralizu pčela i napada ćelije creva. Virus sadrže RNK, imaju izometrijsku formu i veličine su 20—30 milimikrona u promeru, lokalizovani su u citoplazmi.

U prvom prilogu proučavanja virusa insekata iznećemo rezultate ispitivanja poliedarnog virusnog oboljenja *L. salicis*.

MATERIJALI I METODE RADA

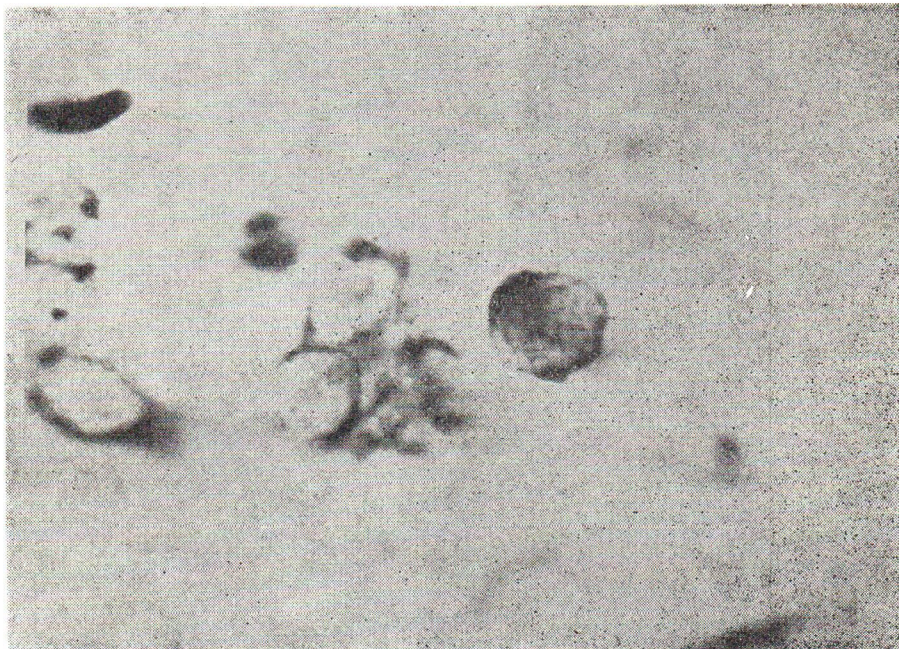
Ispitivanja su vršena na insektima koji su kao oboleli ili uginuli sa vanjskim simptomima virusnih oboljenja sakupljeni u prirodnom uslovima ili su bili poreklom iz uzgoja u laboratoriji. Insekti su disekovani i od njih su pravljene preparati ili obični razmazi tkiva na predmetnim pločicama, koji su nakon fiksacije obojeni Giemsinim metodom i posmatrani pomoću običnog mikroskopa. Za histološka ispitivanja fiksirane su u Brasil-Duboscqovom ili Carnoyevom rastvoru čitave gusenice ili njihovi delovi, koji su nakon prolaska kroz seriju alkohola i hlороforma ukalupljeni u parafinu. Ukalupljeni insekti sečeni su mikrotomom a preseći su bojeni po Heidenhaimu hematoksilinom i zatim su posmatrani pomoću običnog mikroskopa. Za posmatranje pomoću elektronskog mikroskopa poliedarne inkluzije su prečišćene ispiranjem i centrifugiranjem u destilisanom vodi i zatim su prenošene na mrežice na kojima su obojene fosfotungstatom i posmatrane. Virioni su oslobađani iz poliedarnih inkluzija tako što su inkluzije tretirane 0,5—1% -tnim rastvorom Na₂CO₃ nakon čega su izvršena prečišćavanja pomoću ultracentrifuge po metodi koja se za te svrhe koristi (1). Istaloženi virioni prenošeni su na mrežice na kojima su posmatrani uz prethodno kontrastiranje fosfotungstatom.

Infekcije gusenica vršene su per os tako što su im davani listovi tretirani suspenzijom poliedarnih inkluzija određenih koncentracija.

REZULTATI

Poliedarno virusno oboljenje *L. salicis* ispitivano je iz razloga što se tu radi o štetočini koja ima značaja, jer njene gusenice, kada se namnože izazivaju golobrste na topolama i vrbama čijim se lišćem hrane. O poliedarnom virusnom oboljenju *L. salicis* u nas nema mnogo podataka. Ovo se oboljenje spominje da postoji i da izaziva pomor među gusenicama ove štetočine (8). Više je pomenuto oboljenje ispitivano u drugim zemljama. Prema podacima iz literature poliedarno virusno oboljenje *L. salicis* prvi su proučavali Weiser i saradnici (9) u Čehoslovačkoj a zatim je proučavanju ovog oboljenja poklonjena pažnja i u drugim zemljama (10—13).

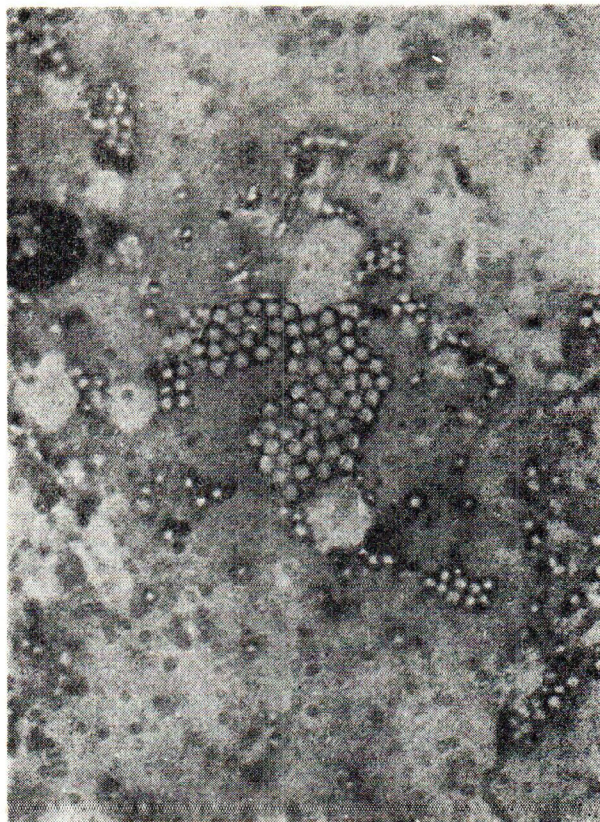
Prema podacima naših višegodišnjih ispitivanja gusenice *L. salicis* u nas često ginu u prirodnim uslovima od poliedarnog virusnog oboljenja i pri vrhuncu njihovog brojnog namnoženja oboljenje je vrlo zastupljeno u gusenicama a nalazi se i u lutkama ove štetočine. Infekcija stadijuma larve ostvaruje se kada ove unesu u probavni trakt poliedre zajedno sa hranom. Prve patološke promene zapažaju se već nakon 48 sati u ćelijskim jedrima u kojima se sakuplja hromatin te se na obojenim



Sl. 1. Krvne ćelije *L. salicis* ispunjene poliedarnim inkluzijama. Uvećano oko 1000x

histološkim preparatima vide tamna mesta koja se ne vide u ćelijama zdravih gusenica. Sa napredovanjem oboljenja u tim tamnim mestima ili virogenim stromama (14) formiraju se virioni štapićastog oblika oko kojih se nakuplja belančevinska masa u obliku poliedara. Broj poliedara u jedru se uvećava tako da je ono na kraju patogenog procesa ispunjeno poliedrima koji pritišću na jedrovu membranu koja se širi i prileže uz membranu ćelije (sl. 1), a na kraju se pucanjem membrana oslobađaju poliedri (sl. 2).

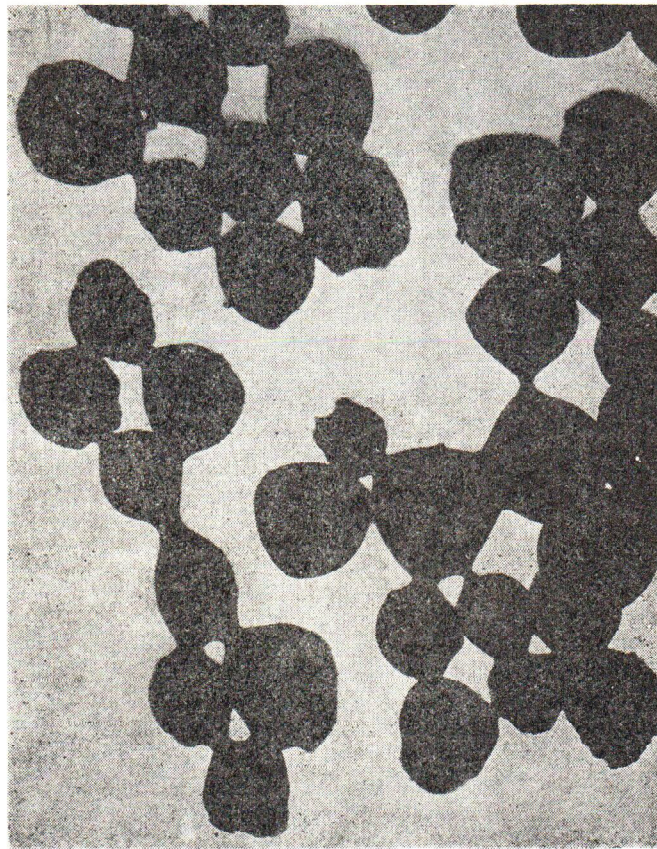
Virus napada više unutarnjih organa čije ćelije i čitava tkiva razara i pretvara u kašastu masu prepunu poliedarnih inkluzija. Čitava ta masa nalazi se okružena vrlo slabom, lomljivom kožom koja puca i tada se oslobađa unutarnji sadržaj prepun poliedara. Oni kontaminiraju lišće kojim se hrane još zdrave gusenice koje se tada zaražavaju. Poliedri su



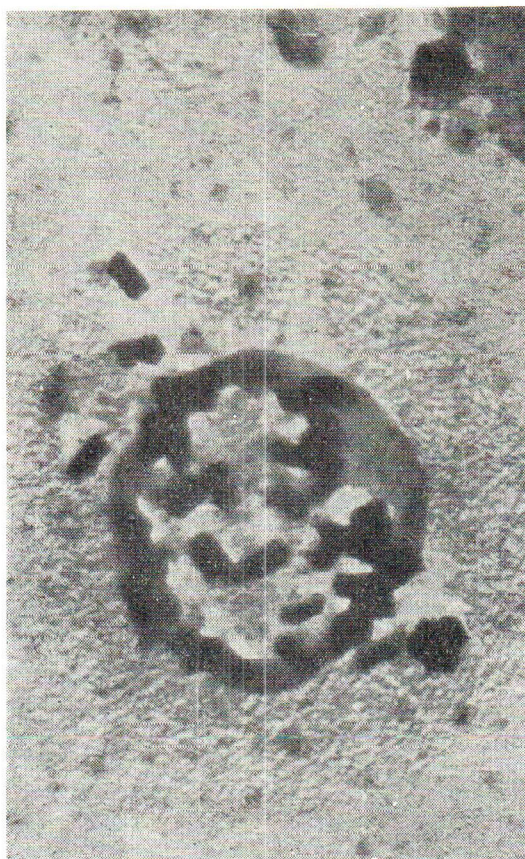
Sl. 2. Poliedarne inkluzije oslobođene iz ćelije nakon pucanja ćelijske membrane. Uvećano oko 1000x

oblika okruglastog do trouglastog (sl. 3) u promeru 1—4 μm i u njima se nalaze virioni štapičastog oblika veličine oko 290—300 x 60—100 mikrona (sl. 4, 5).

Pošto virus napada i organe za disanje, traheje, to je redovna pojava da se obolele gusenice penju prema vršnim delovima biljki hraniteljki gde je kretanje vazduha intenzivnije i tu ginu obešene zadnjim nožicama (sl. 6).

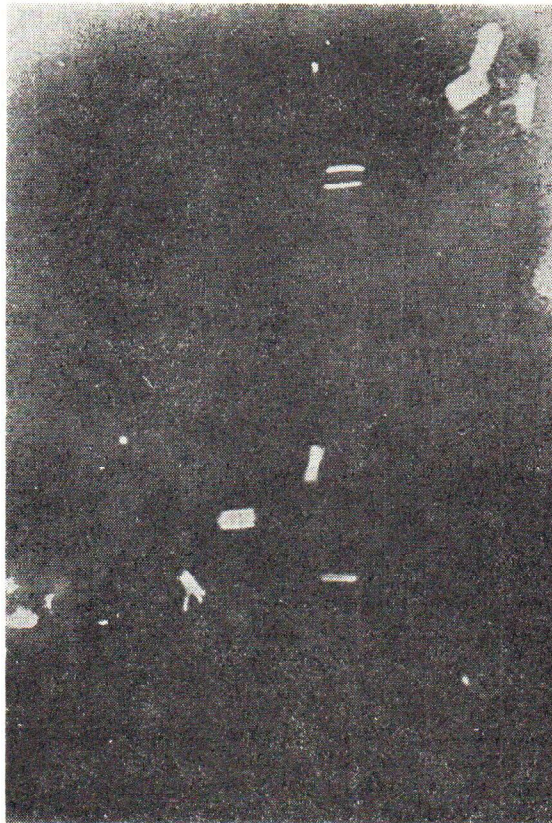


Sl. 3. Poliedri *L. salicis*. Uvećano oko 9000x



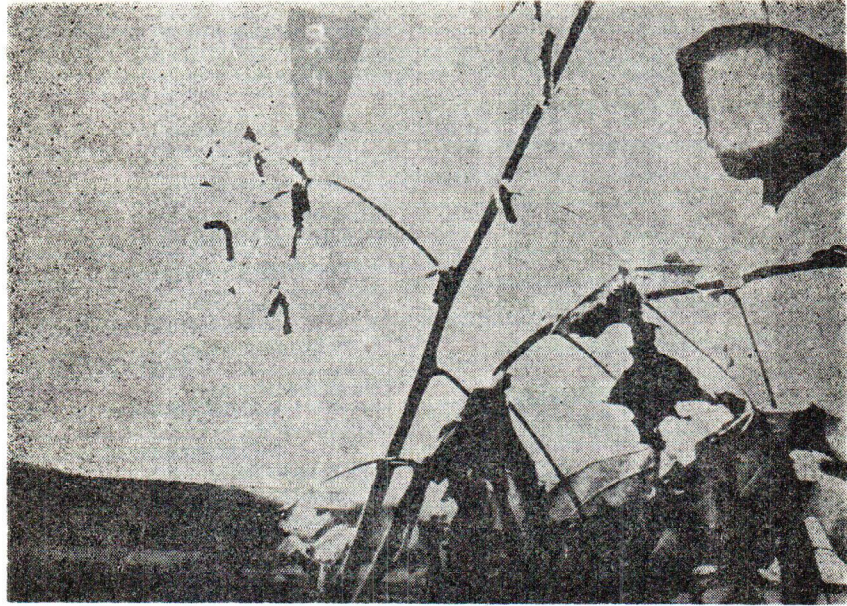
Sl. 4. Razoren poliedar *L. salicis*. Vide se oslobođeni svežnjevi viriona. Uvećano oko 18000x

Zapaženo je da su jajna legla *L. salicis* položena na lišću i granama topole bila kontaminirana sadržajem uginulih i raspadnutih gusenica iste vrste. Takva legla bila su sakupljena i stavljena u posude i u laboratoriji je posmatrano piljenje i razvoj gusenica paralelno sa piljenjem i razvojem gusenica iz kontrolnih legala i legala tretiranih površinski 0-2% -tnim rastvorom Na_2CO_3 u toku 5 minuta. Konstatovano je da su sve gusenice iz kontaminiranih legala uginule sa simptomima poliedrije u vremenu 4—10 dana nakon piljenja, dok su gusenice ispiljene iz kontrolnih legala u tom periodu bile zdrave.



Sl. 5. Virioni *L. salicis* nakon razlaganja zajedničke membrane. Uvećano oko 30 000x

U laboratorijskim uslovima premazivana su jajna legla *L. salicis* suspenzijom poliedara iste vrste koncentracije 308×10^3 po l/ccm. Nakon piljenja gusenice su hranjene lišćem topole koje je prethodno oprano mlazom vode. Iz više od 91% jaja u tretiranim leglima ispilile su se gusenice a sličan procenat piljenja (93,2%) bio je iz jaja u kontrolnim leglima. Ponašanje izašlih gusenica praćeno je i tada je konstatovano da je u vremenu 14 dana nakon piljenja uginulo 71,9% gusenica izašlih iz legala kontaminiranih virusima. Nijedna gusenica iz ovih legala nije postigla stadijum leptira, dok su gusenice izašle iz kontrolnih legala postigle stadijum leptira u 89,4%. Ovi podaci ukazuju da su gusenice *L. salicis* bile inficirane virusima prilikom pregrizanja jajnog horiona u vreme piljenja.



Sl. 6. Uginule gusenice *L. salicis* od poliedrije obešene zadnjim nožicama na listu topole

Infekcija gusenica *L. salicis* u početku ishrane suspenzijama poliedarnih virusa *Porthetria dispar* L., *Lymantria monacha* L. i *L. salicis* (*Lymantriidae*) izvršena je tako što je tek ispiljenim gusenicama dato lišće topole koje je bilo uronjeno u suspenzije poliedara približno jednakih koncentracija. Rezultati ovoga eksperimenta nalaze se u tablici 1.

Tablica 1.

Mortalitet gusenica *L. salicis* kojima je prva hrana bilo lišće topole tretirano suspenzijama virusa različitih insekatskih vrsta

Vrsta i koncentracija virusa	Broj uginulih gusenica nakon infekcije u danima			Ukupno hranjenih gusenica	Ukupno uginulih gusenica za 15 dana u %
	5	10	15		
<i>L. salicis</i> 308 x 10 ³ po 1/ccm	8	49	29	86	100
<i>L. monacha</i> 366 x 10 ³ po 1/ccm	—	15	—	53	28,30
<i>P. dispar</i> 418 x 10 ³ po 1/ccm	4	—	—	34	11,76
Kontrola (voda)	—	—	—	37	0,00

Prema podacima u tablici 1. gusenice *L. salicis* kojima je prva hrana nakon piljenja bilo lišće topole tretirano suspenzijom vlastitih poliedara sve su uginule sa simptomima virusnog oboljenja u toku 15 dana. Među gusenicama koje su hranjene lišćem tretiranim suspenzijama poliedara *L. monacha* i *P. dispar* za isto vreme uginulo je sa simptomima virusnog oboljenja 28,3% odnosno 11,7% od ukupnog broja hranjenih gusenica *L. salicis*. U netretiranoj kontroli za isto vreme nije bilo uginulih gusenica. Ovi podaci ukazuju na visoku patogenost poliedarnih virusa *L. salicis* kao i na to da su gusenice *L. salicis* ginule sa simptomima viroza i kada su hranjene poliedarnim virusima *L. monacha* i *P. dispar*. U ovom slučaju moguće je da su korišćeni virusi drugih rodova insekata bili patogeni za *L. salicis* gusenice ili pak da su ovi strani virusi uticali na aktivaciju vlastitih virusa koji se vrlo često nalaze u insektima u latentnom stanju. Ukoliko postoje morfološke razlike među korišćenim poliedrima za infekciju i onih koji su karakteristični za vrstu koja se inficira tada se lakše dolazi do zaključka da li se radi o stvarnom prenosu ili aktiviranju latentnih virusa. U našem slučaju posmatranjem poliedarnih inkluzija uginulih gusenica došlo se do zaključka da su se virusi *L. monacha* i *P. dispar* umnožavali u gusenicama *L. salicis*.

Poznato je da otpornost prema virusima raste sa starošću insekata. Za ispitivanja otpornosti korišćene su gusenice *L. salicis* četvrtog razvojnog stupnja koje su inficirane per os različitim koncentracijama vlastitih poliedarnih virusa. Rezultati ovih ispitivanja nalaze se u tablici 2.

Tablica 2.

Mortalitet gusenica L. salicis četvrtog razvojnog stupnja nakon hranjenja lišćem topole oprskanim različitim koncentracijama suspenzija poliedara

Dani nakon infekcije	Koncentracija poliedara u ccm					Kontrola netretirane
	308×10^3	308×10^4	308×10^5	308×10^6	308×10^7	
	Uginulo gusenica					
7	—	1	—	6	10	—
9	—	—	2	9	5	—
10	—	1	—	2	4	—
12	1	—	—	1	—	—
13	1	3	3	1	1	—
14	1	1	2	1	—	—
Ukupno uginulo	3(15%)	6(30%)	17(85%)	20(100%)	20(100%)	0,00

Rezultati izneseni u tablici 2. ukazuju da su 14 dana nakon infekcije uginule sa simptomima virusnog oboljenja sve gusenice *L. salicis* hranjene najvećim koncentracijama suspenzije poliedara. Za isto vreme uginulo je među gusenicama hranjenim nižim koncentracijama 90, 35,

30 i 15 procenata od ukupnog broja gusenica u eksperimentu, dok u netretiranoj kontroli nije bilo uginulih u istom periodu.

Uticao vrste hrane na tok bolesti i ugibanje inficiranih gusenica. U ovim ispitivanjima korišćene su gusenice *L. salicis* četvrtog stupnja starosti koje su stalno hranjene lišćem topole. Nakon što su dva dana hranjene lišćem topole tretiranim suspenzijama vlastitih poliedarnih virusa istih koncentracija kao i u tablici 2, ishrana po 20 inficiranih gusenica nastavljena je lišćem topole, vrbe, šljive i jabuke. Sumarni rezultati ovog eksperimenta koji su vršeni u toku 14 dana nalaze se u tablici 3.

Tablica 3.

Mortalitet inficiranih gusenica L. salicis četvrtog stupnja i hranjenih različitom vrstom hrane

Vrsta hrane lišće	Koncentracija poliedara					Kontrola
	308 x 10 ³	308 x 10 ⁴	308 x 10 ⁵	308 x 10 ⁶	308 x 10 ⁷	
	Ukupno uginulo gusenica u %					
Topola	15	30	40	90	100	—
Vrba	25	40	35	70	100	1
Šljiva	70	70	75	100	100	20
Jabuka	90	95	100	100	100	20

Podaci u tablici 3. ukazuju da je vrsta hrane znatno uticala na razvoj oboljenja u inficiranim gusenicama *L. salicis* vlastitim virusom. Lišće vrbe gusenice su rado jele i gotovo sa istim intenzitetom kao i lišće topole. Naprotiv lišćem šljive i jabuke vrlo slabo su se hranile i njihovo napredovanje u porastu bilo je vrlo slabo. Sve uginule gusenice su pregledane i u njima su konstatovani poliedri. Međutim i u netretiranoj kontroli gusenice su ginule sa simptomima virusnog oboljenja. Podaci o ugibanju gusenica u različitim procentima gusenica u kontroli ukazuju da je ishrana gusenica lišćem šljive i jabuke pozitivno uticala na razvoj poliedrije i da je aktivirala poliedriju koja se, verovatno, u gusenicama nalazila u latentnom obliku.

Da izmenjena vrsta hrane utiče pozitivno na razvoj poliedrije konstatovano je u slučaju *B. mori* (15) i *P. dispar* (16) i nekih drugih insekata, dok za gusenice *Pseudaletia unipuncta* Haw. ova pojava nije konstatovana (17).

Uporedna ispitivanja patogenosti poliedarnih virusa L. salicis različitih starosti. Za ispitivanja su korišćene suspenzije poliedarnih virusa starosti jedan mesec i četiri godine, koje su do upotrebe držane u frižideru na 4—5 °C. Suspenzija četiri godine starosti bila je približne koncentracije 386 x 10⁷ pol/ccm a sveža suspenzija 308 x 10⁷ pol/ccm. U ove suspenzije je uronjeno lišće topole kojim su se jedan dan hranile gusenice *L. salicis* 4/5 stupnja starosti. Nakon ishrane tretiranim lišćem ishrana gusenica bila je nastavljena netretiranim lišćem topole. Rezultati ovog eksperimenta nalaze se u tablici 4.

Tablica 4.

Rezultati uporednih ispitivanja patogenosti virusa *L. salicis* različitih starosti

Starost virusa	Broj uginulih gusenica nakon infekcije u danima						Broj uginulih lutki	Ukupno uginulo u %	Broj izašlih leptira
	6	8	9	12	14	17			
4 godine	15	19	45	5	—	—	16	100	—
Sveža suspenzija	25	17	18	4	1	1	34	100	—
Kontrola (voda)	—	2	—	3	1	—	—	12	44(88%)

Prema podacima u tablici 4. patogenost virusa *L. salicis* držanjem četiri godine u frižideru nije se osetnije izmenila u poređenju sa svežim virusom. Prema podacima literature (18) konstatovano je da poliedarni virusi *B. mori* zadržavaju patogenost i nakon 15 godina kada se drže u frižideru na 4 °C. Zamrzavanjem i topljenjem virusi u poliedrima ne menjaju patogenu moć, jer su zaštićeni belančevinastom masom poliedarne inkluzije (19).

Prenošenje poliedrije L. salicis sa roditelja na potomstvo putem jaja. U eksperimentima ispitivanja patogenosti različitih koncentracija poliedarnih virusa izvestan broj inficiranih gusenica *L. salicis* preživio je i dao imaga koja su položila jaja u leglima. Nekoliko takvih legala poslužilo je za ispitivanja da li se poliedrija prenosi sa inficiranih roditelja na potomstvo putem jaja. Izdvojena legla prvo su potopljena u 2% -tni rastvor NaOH u toku dva minuta a zatim su isprana mlazom tekuće vode. Paralelno sa ovim jajnim leglima ispitivana su i jajna legla poreklom od zdravih roditelja. Rezultati ovih ispitivanja nalaze se u tablici 5.

Tablica 5.

Rezultati ispitivanja prenošenja poliedrije *L. salicis* sa roditelja na potomstvo putem jaja

Poreklo gusenica	Broj uginulih gusenica u danima nakon piljenja					Ukupno uginulih gusenica u %		Ukupno preživelih gusenica u %
	2	4	8	12	20	Poliedrija	Drugi razlozi	
Od inficiranih roditelja	14	13	5	10	4	68,4	6,9	24,7
Od zdravih roditelja	—	—	2	—	6	4,7	2,9	92,5

Podaci u tablici 5. ukazuju na velike razlike u ugibanju gusenica *L. salicis* poreklom od zdravih roditelja i roditelja koji su preživeli infekciju virusima. Pregledom uginulih gusenica poreklom od inficiranih roditelja u najvećem broju slučajeva razlog ugibanja bila je poliedrija, dok je 4,69% gusenica poreklom od zdravih roditelja uginulo sa znacima poliedrije. Naši podaci o prenošenju poliedrije od inficiranih roditelja na potomstvo slažu se sa rezultatima koje su dobili istraživači nekih drugih zemalja ispitujući viruse drugih insekatskih vrsta (20, 21, 22).

DISKUSIJA

Proučavanje insekatskih virusa značajno je zbog toga što su ovi virusi vrlo prisutni u mnogim insekatskim vrstama među kojima izazivaju oboljenja često u epizootskim razmerama. Neke od grupa insekatskih virusa kao što su Baculovirusi konstatovane su samo kod insekata. Pošto se virioni ili virusi ove grupe nalaze okruženi belančevinastom masom u vidu poliedarnih inkluzija, to se njihova virulentnost u prirodnim uslovima, kada su zaklonjeni od direktnog uticaja zraka, održava duže vreme pa i nekoliko godina ispod opalog lišća i u plićim slojevima zemlje.

Pošto nemamo podataka da su *Baculovirusi* infektivni za ostali živi svet, to se njihovom proučavanju pridaje sve veća pažnja s obzirom na mogućnost njihove primene za izazivanje veštačkih zaraza među prenamnoženim insektima. Naša ispitivanja, koja se odnose na infekciju, patogenost, postojanost virulencije i prenošenje virusa sa roditelja na potomstvo čine mali doprinos poznavanju virusa *L. salicis* insekta koji napada drvorede topola pored puteva i u naseljenim mestima a što je od posebnog značaja i sa stanovišta higijene i toksikologije.

Literatura

1. Smith, K. M.: Insect virol., N. Y. (1967) 1.
2. Maestri, A.: Framm. anat. fisiol. patol. (1856) 117.
3. Prowazek, S.: Zblt. Bakt. I. Orig., 67 (1913) 268.
4. Komárek, J.: Z. angew. Ent., 10 (1924) 99.
5. Bergold, G. H.: Z. Naturforsch., 2b (1947) 122.
6. Wildy, P.: Monographs in virology, 5 (1971) 1.
7. Vago, C.: J. Insect Pathol., 5 (1963) 275.
8. Serafimovski, A.: Zaštita bilja (Beograd), 25 (1954)
9. Weiser, J., Ludvig, J., Veber, J.: Zool. Ent. listy, R. III, (1954)
11. Steopoe, J., Savulescu, A., Ploaie, A.: Rev. Biol. Acad. Roumaine, 6 (1961) 411.
12. Grigorova, R.: Compt. Rend. Acad. Bulg. Sci., 15 (1962) 85.
13. Huertos, R. M., Templado, J.: Microbiol. Esp., 11 (1958) 93.
14. Xeros, N.: Nature, 178 (1956) 412.
15. Vago, C.: Re Can. Biol., 10 (1951) 299.
16. Kovačević, Z.: Zaštita bilja Beograd, 23 (1954)
17. Tanada, Y.: Ann. Ent. Soc. America, 47 (1954)

20. Smirnof, W. A.: Coll. insect microb. control., (1962)
21. Smith, K. M., Wyckoff, R. G.: Research, 4 (1951) 148.
22. Martignoni, M. E., Milstead, J. E.: J. Insect Pathol., 4 (1962) 113.
18. Steinhilber, A. E.: Science, 120 (1954) 186.
19. Bergold, H. G.: Hand. Virusforsch. V., 4 (1958) 60.

Summary

POLYHEDRAL VIRAL DISEASE OF LEUCOMA SALICIS L. IN VOIVODINA, YUGOSLAVIA

The paper deals with a nuclear polyhedral viral disease (Baculovirus) of the brown tail moth (*Leucoma salicis* L., Lepidoptera, Lymantriidae) which is very often a pest of the poplar tree especially in Voivodina, Yugoslavia.

The disease occurs in overcrowded populations of larvae. In our experiments a high percentage of the offspring of parents which survived the infection died with signs of the polyhedral disease (68.44 per cent).

Polyhedral viruses of *L. salicis* stored in a refrigerator at 4–5° C for four years caused death in 100 per cent of infected moths 17 days after infection. The same results were obtained with freshly isolated viruses.

The mortality of the infected *L. salicis* larvae depends on the kind of feed. Unsuitable food causes a faster development of the disease.

Younger larvae of *L. salicis* are more susceptible to the virus than the older ones. They become infected during the hatching if the surface of egg cluster is contaminated with the polyhedral virus.

*Institute Pasteur, Novi Sad, Yugoslavia
and Compagnia di Ricerca Chimica, Sa,
Chiasso, Switzerland*

*Received for publication
October 30, 1977*