

钱元骏宋翠娥论文集

王裕兴 郭锡杰 张耀洲 编



ZHEJIANG UNIVERSITY PRESS

浙江大学出版社

钱元骏宋翠娥论文集

王裕兴
郭锡杰 编
张耀洲

钱元骏宋翠娥论文集

王裕兴 郭锡杰 张耀洲 编

责任编辑 王 锴

出版发行 浙江大学出版社

(杭州天目山路 148 号 邮政编码 310028)

(E-mail: zupress@mail. hz. zj. cn)

(网址: <http://www.zjupress.com>

<http://www.press.zju.edu.cn>)

电话: 0571-88925592, 88273066(传真)

排 版 杭州大漠照排印刷有限公司

印 刷 德清县第二印刷厂

开 本 787mm×1092mm 1/16

印 张 27.75

字 数 695 千

版 印 次 2008 年 8 月第 1 版 2008 年 8 月第 1 次印刷

书 号 ISBN 978-7-89490-480-5

定 价 50.00 元

版权所有 翻印必究 印装差错 负责调换

浙江大学出版社发行部邮购电话(0571)88925591

目 录

1 病原性状研究

家蚕脓病病毒的稳定性和消毒法的研究	3
柞蚕脓病多角体的稳定性研究	19
家蚕胃肠性脓病的研究预报	27
紫外线对家蚕质型多角体病毒的钝化	32
家蚕质型多角体病毒的研究	34
家蚕细胞质多角体病毒的研究	40
家蚕 CPV、NPV、FV 对理化学处理的耐受力	45
家蚕软化病病毒的分离纯化与形态结构	51
空头性软化病病原的研究	58
家蚕软化病病毒的化学性状研究	63
我国部分地区家蚕软化病病毒性状鉴定	67
理化因子对家蚕浓核病病毒的病原性及抗原性的影响	72
我国家蚕浓核病病毒(DNV)寄生组织部位研究	78
家蚕浓核病毒的研究	84
家蚕浓核病毒对理化学消毒剂的稳定性	91
家蚕浓核病毒免疫学及致病机理的研究	94
并发胃肠型脓病后家蚕病毒性软化病病毒纯化方法	95
中国与日本的家蚕 DNV 的血清学关系	101
家蚕浓核病毒(DNV)对不同蚕品种的侵染性研究	103
家蚕 CPV 血清学研究	108
家蚕胃肠型脓病血清学研究	112
家蚕质型多角体病毒的血清学研究	118

2 传染规律研究

家蚕脓病软化病隐性感染的研究	129
家蚕脓病软化病隐性感染的研究	135
家蚕脓病软化病的环境诱发与病毒感染关系的研究	141

家蚕脓病软化病的环境诱发与病毒感染关系的研究	149
东 34×苏 12 对传染性软化病(FV)的抗性及其机制研究初报	157
蚕座混育传染与胃肠型脓病的发生	161
对转青卵和蚁蚕的抑制及起蚕绝食时间与病毒感染抵抗性的关系	167
冷藏浸酸种浸酸时间温度与病毒感染性的关系	172
关于高低温处理蚕对家蚕浓核病毒(DNV)敏感机制的研究	175
蚕种微粒子病流行的思考	180
家蚕品种抗氟化物性能的比较	183
家蚕不同发育时期对氟化物的敏感性试验	186
现行蚕品种对氟化物的抗性研究	191
家蚕黑尾病发病原因的初步调查	196

3 诊断技术研究

家蚕软化病病毒血清学诊断研究	201
酶对流免疫电泳对家蚕浓核病的早期诊断技术	207
家蚕病毒病血清诊断实用化研究	214
家蚕病毒病的血清诊断法	218
家蚕浓核病的免疫酶组织化学方法早期诊断技术	223
家蚕病毒病早期诊断	227
免疫酶技术在家蚕病理研究上的应用	233
点免疫结合测定法检测家蚕病毒	236
胶乳凝集试验在家蚕浓核病毒检测中的应用	240
家蚕浓核病的血清学诊断方法	245
生物素一亲和素系统在家蚕病毒研究中的应用	253
生物素一亲和素系统在家蚕病毒研究中的应用	256
家蚕微粒子孢子的免疫酶标鉴别法初报	263

4 防治方法研究

家蚕传染性疾病的诊断和防治	269
赛力散石灰浆混合剂蚕室蚕具消毒试验	280
灭菌丹防僵粉试验报告	287
养蚕消毒防病操作细则	293
石灰在蚕病防治中的作用	302
新消毒剂“优氯净”消毒效果试验初报	308
怎样防治蚕病	314
“优氯净”消毒试验	324
石灰防治家蚕病毒病	332

家蚕病毒病的发生、诊断和防治(上)	335
家蚕病毒病的发生、诊断和防治(下)	344
控制家蚕微粒子病危害的措施	353
家蚕微粒子病化学疗法的研究	356
家蚕微粒子病化学疗法的研究简报	360

5 综 述

家蚕的病害	365
国内外蚕病研究近况	372
家蚕病毒的血清学研究进展	380
家蚕微粒子病研究进展	385
家蚕蚕体标本制作	390

6 宋翠娥论文选编

家蚕体液内过氧化氢酶(Catalase)活性与几个性状的关系研究	397
春蚕用品种选育的体会	401
地方品种在育种上的利用	405
春蚕用品种菁松、皓月的选育与性状简介	408
春用斑纹限性品种应用研究简报	413
菁松、皓月原种性状与饲养技术	415
地方品种在育种上的利用	419
家蚕春用品种菁松、皓月的育成	421
菁松、皓月原种性状与繁育技术要点	429
关于菁松、皓月品种退化问题的分析	433

1

钱元骏宋翠娥论文集

病原性状研究

家蚕脓病病毒的稳定性和消毒法的研究^①

一、绪 言

关于家蚕脓病病原体——脓病滤过性病毒——的研究,我所已开始工作三年,其中关于本病毒对多种理化学刺激的稳定性(抵抗力)试验,大致已告完成。由于稳定性的测定,是防病消毒的基本依据,是生产技术上所迫切需要了解的,所以先将这部分的成绩和关于扑灭脓病的蚕室蚕具消毒方法的研究,合并写成本报告。

为了说明本试验中,所用方法的理论根据,先将有关脓病病毒的基本性状,简述如下:

1. 滤过态病毒:我们常用 Berkefeld V 管,将脓病蚕的血液或组织磨碎液(去消食管),于一定技术操作下加以滤过。滤液中含有本病毒,用添食或注射等方法接种均能使蚕传染发病。但它的稳定性很小,稍加刺激或短期存放就失去致病作用。

2. 多角体:病蚕的血球,及其他许多组织的细胞核中,发生大量多角体,细胞破损即浮游于血液中,使血液非常浑浊。我们根据多种试验观察,确认多角体是脓病滤过性病毒的另外一种存在形态;它是一种结晶体,可能是由于很多病毒集合起来形成的。它进入蚕的胃中,经胃液溶解后即能使蚕感受发病。但将洗净了的多角体注入血液中,不能使蚕传染发病。它是脓病病毒的一种耐久形态,可以多年保存,稳定性很大,较难扑灭。它是我们消毒的对象。

根据上述脓病病毒两种存在形态的特性,在本试验中不论稳定性或消毒法的效力鉴定,均采用添食接种法。

又因食下传染率蚁蚕最大,稚蚕次之,壮蚕很小,故供试蚕均采用蚁蚕。

以前有许多学者做过关于脓病病原体的抵抗力或消毒效果等试验,由于大都采用壮蚕注射法来鉴定效果,而这种鉴定法,可说对多角体的稳定性和消毒力是不可能接触到的。因此我们认为我们所做的试验,是有其必要性的。

二、多角体——脓球——的稳定性试验

1. 对湿热(蒸汽)的稳定性

(1) 供试材料:以当年脓病蚕的新鲜脓汁(血液)在低温通风状态下制成血干,密闭贮藏

^① 本文原载《蚕丝通报》,1955,1: 6—15。作者:镇江蚕业研究所。

于干燥黑所。

试验时取用此项血干,加杀菌蒸馏水稀释以作材料,并用 Thoma 血球计测定脓汁 1 mm^3 中含有多角体的数量,再适当加水调成多角体含量合于目的的稀释液。将上项稀释液 0.2 ml 滴于曾经消毒的干净载玻片上,其中,(干)待脓汁干涸后行湿热处理。(湿)系滴上玻片后即行湿热处理。

(2) 处理方法:在大型电热煮沸消毒器内加水约一半,器内放置特制之铜架一具,半立水中,半露水面。架上放置载玻片之用。

处理时将水通电煮沸,待蒸汽直喷,温度达 100°C 时,微开器盖,将干湿两种载玻片试材,放入器内架上,迅速关盖,经规定时间取出。

(3) 添食鉴定:处理后的脓汁,无论干湿均再加适量的杀菌水调和,然后平均涂抹在六片桑叶上,每片桑叶面积为 1 cm^2 ,添食蚁蚕 100 头,食桑时间 10 小时。

兹将三回试验中,脓病蚕发生百分率,表示如下:

表 1 脓病多角体对湿热(蒸汽)刺激的稳定性

试验 回数	试验时间	处理材料含 多角体浓度	湿热处理时间(分)												不添食 对照区
			0		3		5		10		15		30		
			干	湿	干	湿	干	湿	干	湿	干	湿	干	湿	
I	1954. 4. 19	34 800/mm ³	91%	84%	0	1%	1%	1%	0	0	0	1%	0	0	1%
II	1954. 5. 7	145 000/mm ³	96%	97%	0	1%	0	0	0	0	1%	0	0	0	0
III	1954. 6. 11	380 000/mm ³	98%	74%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1%	0

注: 试验日期 第 I 回 1954 年 4 月 19—28 日

II 5 月 7—16 日

III 6 月 11—20 日

蚕 品 种 沅汗×华八 饲养至三龄起蚕为止

综观上表三回试验成绩,知多角体对 100°C 的湿热,稳定性很小,经 3 分钟处理,不论在干燥状态或湿润状态,均已失去感染力。

2. 对在水中煮沸的稳定性

(1) 供试材料:材料与 1 所用相同,脓汁浓度为多角体含量 $34\ 800/\text{mm}^3$,每区用量仍为 0.2 ml 。

(2) 试验方法:于大型电热煮沸消毒器,去盖后满装清水,水中竖立特制之铜架,架上插放秤量瓶 5 只,瓶身埋入水中,仅瓶口露出水面。每秤量瓶中先放杀菌蒸馏水 5 ml ,然后通电把煮沸器内的清水煮沸,此时滴入配好的脓汁 0.2 ml ,经过规定时间,将秤量瓶由沸水中取出,再用电气远心沉淀器,使多角体沉淀。

(3) 添食鉴定:将沉淀的多角体,完全涂抹于叶片上,行蚁蚕添食,其方法与 1 相同,结果如下表:

表 2 脓病多角体对煮沸的稳定性

煮沸时间(分)	0	3	5	10	15	30	不添食对照
脓 病 率	94%	0	0	0	0	0	0

注：试验日期 1954 年 4 月 19—28 日

蚕 品 种 沅汗×华八

据上表成绩所示,多角体在水中煮沸 3 分钟已失去传染性。

3. 对干热的稳定性

(1) 供试材料：此次所用多角体材料,为组织磨碎液。其收集方法,先将脓病蚕除去食管后的其他组织,用研钵磨碎,加水稀释,再用消毒棉花滤过即得。滤过脓汁内含多角体为 $95\,000/\text{mm}^3$ 。

(2) 干热处理：将上述脓汁,滴于载玻片上,每枚 0.4 ml。待干燥后放入已经升温至 100°C 之电热干燥箱中。加热至一定时间后取出。

(3) 添食鉴定：在载玻片上,将已经加温处理的脓汁加适量之水调和,再将其全部涂抹于面积 1.2 cm^2 之叶片三枚上,行蚁蚕添食。每区蚁蚕 50 头。

表 3 脓病多角体对 100°C 干热处理的稳定性

干热接触时间(分)	0	15	30	45	60	90	120	180	240	360
脓 病 率	94%	12%	2%	0	0	0	0	0	0	0

注：试验日期 1953 年 7 月 14—21 日

蚕 品 种 沅汗×华八

观上表成绩,脓病多角体经 100°C 干热处理 45 分钟,已失去传染性。

4. 对升汞的稳定性

关于多角体对升汞的稳定性试验,计前后共做四次,逐次所用方法,综述如下：

(1) 供试材料：以当年脓蚕血干稀释成下列浓度的脓汁。

第一回： $38\,000/\text{mm}^3$ 第二回： $186\,000/\text{mm}^3$

第三回： $745\,000/\text{mm}^3$ 第四回： $380\,000/\text{mm}^3$

(2) 试验方法：于消毒离心玻管中加入材料脓汁 0.3 ml,再加入一定浓度的升汞溶液 10 ml,处理一定时间。

处理中实验室温度保持一定,在达规定处理时间一分半钟前,将沉淀管放入电气离心沉淀器中开始回转,使多角体沉淀于管底,倾弃其上层澄清的升汞溶液,再加杀菌蒸馏水离心沉淀,如此反复 3~4 回,洗去多角体上附着的药液。

(3) 添食鉴定：脓球洗净后,平均涂抹于六片桑叶上,每片叶面积为 1 cm^2 ,添食蚁蚕 100 头,食桑时间 10 小时。

结果如表 4、表 5、表 6 所示：

表 4 脓病多角体对升汞的稳定性(第一回)

脓病率 升汞浓度	处理时间 (分)	3	5	10	15	30	60
0.5%		88%	94%	98.04%	77%	86%	94%
0.2%		96.08%	94.34%	94%	93.07%	91.26%	75.96%
0.1%		86%	73%	94%	69%	77.45%	69%
未处理脓汁添食		94.12%					
不添毒对照		0					

注：试验日期 1954 年 4 月 12—20 日
蚕品种 沅汗×华八
药液温度 20℃

表 5 脓病多角体对升汞的稳定性(第二回)

脓病率 升汞浓度	处理时间 (小时)	1	3	6	12	24
0.5%		85%	90.09%	98%	93%	90%
1%		90%	85%	95%	87%	89%
2%		83%	86%	93%	90%	48%
3%		91%	95%	82.7%	79%	35%
未处理脓汁添食		97%				
不添毒对照		0				

注：试验日期 1954 年 4 月 28—5 月 8 日
蚕品种 沅汗×华八
药液温度 20℃

表 6 脓病多角体对升汞的稳定性(第三、四回)

脓病率 升汞浓度	处理时间 (小时)	24	36	48	72
第三回	1%	89.6%	41%	38.5%	—
	2%	37%	7%	2%	0
	3%	18.6%	5%	2%	1%
第四回	1%	—	—	—	2%
	2%	—	—	—	0
	3%	—	—	—	0

续 表

脓 病 率 升汞浓度		处理时间 (小时)	24	36	48	72
第三回	脓汁未消毒添食		73%			
	不添毒对照		0			
第四回	脓汁未消毒添食		94%			
	不添毒对照		0			

注：试验日期 第三回 1954 年 5 月 7—10 日

第四回 1954 年 6 月 8—11 日

蚕 品 种 沅汗×华八

饲养天数 第三回 1954 年 5 月 10—20 日

第四回 1954 年 6 月 11—21 日

处理液温 25℃

综观上列四次试验成绩,多角体对升汞的稳定性很强大,须用 2% 及 3% 的高浓度溶液在 25℃ 之下,经 72 小时的长时间处理,才能完全失去感染力。

5. 对蚁醛的稳定性

供试材料:与 4 升汞试验时所用的相同,多角体含量第一回 266 000/mm³,第二回 96 800/mm³。其他试验方法及添食鉴定方法亦均与 4 所用的完全相同,不再赘述。兹仅将二次试验成绩,列表如下。

表 7 脓病多角体对蚁醛的稳定性

脓 病 率 蚁醛浓度		处理时间 (分)	3	5	10	15	30	60	90	120
第一回	1%		94%	88%	89%	81%	2%	2%		
	2%		89%	90%	17%	4%		1%		
	4%		23%	5%	1%	0	4%	0		
第二回	1%				65%	12%	0	0	0	0
	2%				8%	0	0	0	0	0
	4%				0	0	0	0	0	0
第一回	不添食对照		0							
	脓汁不消毒添食		98%							
第二回	不添食对照		0							
	脓汁不消毒添食		90%							

注：试验日期 第一回 1954 年 5 月 1 日

第二回 1954 年 5 月 22 日

蚕 品 种 沅汗×华八

药液温度 25℃

根据第二回试验成绩,多角体对蚁醛的稳定性在 25℃时,1%的经过 30 分钟以上,2%的经过 15 分钟以上,失去传染力。

6. 对盐酸的稳定性

本试验所用材料与方法,与 4、5 两节试验相同,兹将所获成绩列表如下:

表 8 脓病多角体对盐酸的稳定性

盐 酸 浓 度		5%	10%	15%
盐 酸 比 重		1.025	1.05	1.075
处理 时间 及 脓 病 率	3 分	0%	0%	1%
	5 分	0	0	0
	10 分	0	1%	0
	15 分	0	0	0
	30 分	0	0	0
	60 分	0	2%	1%
不处理脓汁添食		93%		
不添食对照		1%		
盐酸 0.015%添食		1%		

注:脓球经盐酸处理迅速膨大,破裂结块。
脓球处理虽经洗涤,添食液中计算仍有微量盐酸约 0.015%,故另设此对照区处理时脓汁浓度为 298 000/mm³ 处理时温度 25℃。
试验日期 1954 年 5 月 25—6 月 3 日
蚕 品 种 沅汗×华八

依上表成绩,用 5%即密度 1.025 的盐酸,在 25℃时处理多角体 3 分钟,已失去传染力。
考蚕种的人工孵化法,一般使用盐酸液温 46~48℃,密度 1.075~1.1,处理时间为 5 分钟左右,其程度已远超出多角体对盐酸稳定性以上。我所曾将脓汁涂抹于蚕连纸上,按照即时浸酸、冷藏浸酸两种方法,施行浸酸,结果涂于连纸上之脓汁,均失去传染力,因知蚕种经过浸酸后,兼有彻底的卵面消毒作用。

7. 对酒精的稳定性

本试验所用材料方法,与第 4、5 两节相同,兹将两回试验的成绩分别列表如下:

表 9 多角体对酒精的稳定性(第一回)

脓 病 率 \ 酒精浓度		50%	70%	90%
处理时间(分)				
3		99%	94%	100%
5		96%	98%	97%

续 表

脓 病 率 处理时间(分)	酒精浓度	50%	70%	90%
10		100%	100%	96%
15		98%	94%	99%
30		98%	96%	95%
60		94%	81%	63%
脓汁添食		92%		
不添毒对照		1%		

注：试验日期 1954 年 6 月 5—14 日
蚕 品 种 沅汗×华八
药液温度 25℃

表 10 多角体对酒精的稳定性(第二回)

脓 病 率 处理时间(分)	酒精浓度	70%	80%	90%
30		75%	85%	100%
60		23%	1%	50%
90		17%	6%	1%
120		20%	8%	1%
180		12%	0	0
360		4%	0	0
脓汁添食		90%		
不添食		0		

注：试验日期 1954 年 6 月 14—23 日
蚕 品 种 沅汗×华八
脓汁浓度 69 000/mm³
药液温度 25℃

脓球经酒精处理后,与盐酸相同,逐渐起膨大破裂的现象。经 60 分钟大部分脓球已非常破碎,唯仍保持其传染致病的作用,须在 80%酒精中,于 25℃时浸渍 3 小时,方能失去感染力。

8. 对漂白粉的稳定性

(1) 供试材料：

甲、多角体：以本年发生的脓病蚕(用高温冲击法诱发)血液,迅速干燥制成血干后保

续表

腺 病 率 浓度		时 间 (分)		3	5	10	15	30	60	说 明
不 添 食 对 照	第一回	0								
	第二回	0								
	第三回	0								
第一回	0.1%漂白粉添食	0								

注：蚕品种 沅汗×华八

综观上表成绩,第一回和第三回试验,脓病完全没有发生;第二回试验,药液浓度和处理时间等完全相同,但脓汁中含有多角体的浓度,比第一第三两回高出很多,因而仍有脓病蚕发生。

(4) 脓球量与药液量的关系:

为证实腩球量与药液量的比例对稳定性的关系,我们更以不同数量的腩球,在同浓度同液量的漂白粉中经同时间的处理,其结果如下表:

表 12 脓球量与药液量对稳定性的关系

组号	消毒液		消毒液 10 ml 中含脓汁量	每 1 ml 消毒 液负荷消毒 脓球数	消毒后药液 的稀释法	添食稀释液 中脓球浓度 (mm ³ 计算值)	消毒 时间 (分)	脓病率 (%)
	浓度	液量						
I	0.3%	10 ml	2 ml	208 000 万个	药液 水量 1 ml+19 ml	10 400/mm ³	3	84
							10	97
							30	100
II	0.3%	10	2	208 000	1 ml+9 ml	20 800/mm ³	3	89
							10	97.02
							30	99
III	0.3%	10	1	104 000	1 ml+9 ml	10 400/mm ³	3	74.26
							10	83
							30	100
IV	0.3%	10	0.5	52 000	1 ml+4 ml	10 400/mm ³	3	16
							10	80
							30	95

续 表

组号	消毒液		消毒液 10 ml 中含脓汁量	每 1 ml 消毒 液负荷消毒 脓球数	消毒后药液 的稀释法	添食稀释液 中脓球浓度 (mm ³ 计算值)	消毒 时间 (分)	脓病率 (%)
	浓度	液量						
V	0.3%	10	0.5	52 000	1 ml+9 ml	5 200/mm ³	3	14
							10	90.12
							30	62
VI	0.3%	10	0.1	10 400	不稀释	10 400/mm ³	3	0
							10	0
							30	0
VII	0.3%	10	0.1	10 400	1 ml+4 ml	2 080/mm ³	3	0
							10	0
							30	0
VIII	不添食对照							0
IX	10 400/mm ³ 脓汁添食							95
X	0.3%漂白粉液添食							2.97

注：消毒液为漂白粉液加入脓汁补足水量后浓度为 0.3%

试验日期 1954 年 6 月 10—19 日

试验温度 25℃

蚕品种 沅汗×华八 每区 100 头

上表 I、II、III、IV 四试验组共 12 区，添食脓球量四组相同，但每 1 ml 漂白粉溶液负荷消毒的脓球数逐组依次降低，试验结果第 I、II、III、IV 组均无效，III 组起表示有绝对的消毒效力。

依上表成绩判断，可知一定浓度、一定分量的漂白粉溶液，负荷消毒脓球数量有一定限制，超出此数量即不能达到彻底消毒之效。

(5) 多角体对漂白粉稳定性的几点特点：

分析上列各次试验成绩，发现多角体对漂白粉的稳定性有如下特性：

甲．作用时间很快，在 3 分钟内可以起消毒作用，如 3 分钟不能达消毒目的，即使把时间延长到 1 小时，效果并不增加。

乙．对脓球的消毒，并不严格地要有一定程度以上的浓度，即使很稀薄的溶液，只要它所接触的脓球量较少，该溶液中所含有效氯绝对量足够负荷消毒作用，也同样有效。

丙．一定浓度、一定容量的药液，能够消毒的脓球数是受一定限制的，此种现象以漂白粉溶液表现得最显著，常影响于实际消毒效果。在实际操作中，必须考虑被消毒物上含有多角体的数量，以决定应用浓度及液量。其他药液，例如蚁醛，我们曾做多次试验，虽有此倾向