

274-375, Tong

第6卷第4期
1991年12月中国病毒学
VIROLOGICA SINICAVol. 6 No. 4
Dec. 1991

茶刺蛾颗粒体病毒的分离与鉴定

杨志荣 刘世贵 伍铁桥 吴宇

(四川大学生物工程系, 成都 610064)

提 要

茶刺蛾 [*Darna trima* (more)]* 属鳞翅目刺蛾科, 危害多种果树林木。1985年我们从四川珙县某茶园自然罹病死亡的大量茶刺蛾幼虫中, 分离到一种茶刺蛾病原物, 通过纯化后, 经感染试验、电镜形态观察、超微结构研究等, 结果确定该病原物为一种颗粒体病毒。

关键词: 茶刺蛾 颗粒体病毒 形态观察 超微结构

昆虫病毒

茶刺蛾 [*Darna trima* (more)]* 属鳞翅目, 刺蛾科, 主要危害茶树, 并兼危害果树、油桐和园林树木。该虫分布于我国南方诸省区、茶区, 每5—7年呈周期性大发生, 一年发生2至3代, 危害严重时, 仅留枝条和叶柄。1985年我们在四川珙县某茶园里发现许多自然罹病死亡的茶刺蛾幼虫, 用虫尸分离物回复喂食感染健康的茶刺蛾幼虫, 病虫表现出与自然罹病幼虫一样的病症。我们对自然罹病死亡的茶刺蛾幼虫的病原物进行了分离提纯和形态观察, 认为该病原物为一种颗粒体病毒。

材 料 和 方 法

一、颗粒体的纯化和形态观察^[1,2] 将自然感染致死的茶刺蛾虫尸加入适量的 PBS (pH 7.4) 研磨过滤, 滤液经 3500 r/m 与 6500 r/m 交替离心数次及 45—65% (w/w) 蔗糖梯度离心, 获得纯颗粒体, 取少许颗粒体加到扫描电镜的载物台上, 真空干燥、喷镀后置电镜下观察颗粒体形态。

二、病毒粒子的制备与形态观察^[1] 取少量纯颗粒体病毒悬液加入等体积 0.1 mol/L Na₂CO₃、0.17 mol/l NaCl 混合液, 30℃ 水浴降解 30 分钟, 调 pH 至 7.5, 经 6500—20000 r/m 交替离心后取一滴滴于 100 目铜网上, 磷钨酸负染后置电镜下观察病毒粒子的形态。

三、颗粒体的超微结构观察^[3] 将纯颗粒体经戊二醛和鞣酸双固定后, 丙酮脱水、树脂包埋, 超薄切片, 切片捞于铜网上, 磷钨酸负染, 在电镜下观察颗粒体内部结构。

本文于1990年11月17日收到, 1991年3月14日修回。

*昆虫标本由中科院动物研究所方承莱副研究员鉴定, 特表谢意。

结 果

一、病虫症状: 幼虫取食涂有病毒的茶叶后, 48小时后开始发病, 食欲减退, 继而行动迟缓, 体色加深, 体节肿胀, 4天后开始幼虫大量死亡, 死虫体液化, 躯体柔软而易破, 流出乳白色或淡黄色脓样物, 新鲜死虫无臭味, 脓样物涂片在相差显微镜下观察可见大量的颗粒体。

二、颗粒体形态: 在电镜下, 颗粒体大多数呈椭圆形、也有卵形, 颗粒体表面和边缘不甚整齐, 中间部分稍有凹陷, 有的一端和二端均为平钝, 其大小不均一, 平均大小为 $296 \times 130\text{nm}$, 详见图版 VI 1。

三、病毒粒子的形态: 颗粒体经弱碱降解后, 游离的病毒粒子在电镜下大多数呈直杆状, 有的稍微弯曲, 有的一端钝圆, 另一端突出, 有的两端钝圆, 见图版 VI 2。病毒粒子的平均大小为 $281 \times 73.5\text{nm}$ 。

四、颗粒体的超微结构: 一个完整的颗粒体经包埋、超薄切片和负染后在电镜下, 病毒粒子位于颗粒体中心, 被两层膜包围, 中心为核衣壳, 病毒粒子外面包被着有晶格阵排列的结晶蛋白, 一个颗粒体内仅有一个病毒粒子, 并大多数呈直杆状, 其平均大小为 $271 \times 67.5\text{nm}$, 如图版 VI 3、4 所示。

根据上述研究结果, 参照国际病毒分类与命名系统^[1], 我们所分离到的茶刺蛾病毒, 属于无脊椎动物病毒中的杆状病毒属 (Baculovirus B 中亚组 (Baculovirus subgroup B)) 的一种, 定名为茶刺蛾颗粒体病毒 (Darna trima Granulosis Virus 简称 DtGV)。

参 考 文 献

- [1] 刘年翠、梁东瑞等, 1984, 病毒学集刊, 武汉大学出版社, 1: 62-71, 74-91。
- [2] Brown D.A. et al, 1977, Virolog 81: 317-327。
- [3] 戴华生等, 1983, 新实验病毒学, 中国学术出版社。
- [4] Fenner, F., 1976, Classification and Nomenclature of Virus, Second Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses, Intervirology, 7: 1-116。

Isolation and Identification of Darna Trima Granulosis Virus

Yang Zhi-rong Liu Shi-gui Wu Tie-giao Wu Yu

(Institute of Biotechnology of Sichuan University, Chengdu 610084)

Darna trima belongs to Lepidoptera Limacodidae. It harms several kinds of fruit trees and woods. We isolated a kind of pathogeny from many naturally dead young insects of Darna trima in tea garden of Gong County of Sichuan in 1985. After purification, by its infection test, shape observation in electron microscope and ultrastructural observation, the results show that the pathogeny of Darna trima is a kind of granulosis virus.

Key words: Darna trima Granulosis virus Shape observation
Ultrastructural observation

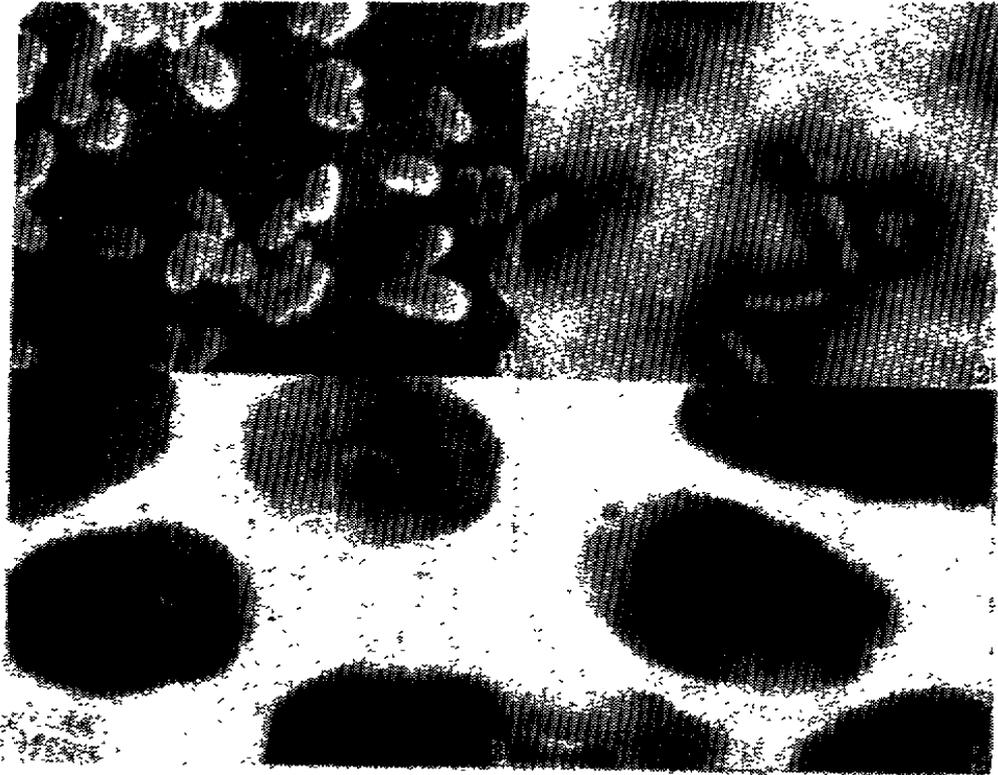


图1 颗粒体病毒包涵体(10000 \times)

Fig.1 Inclusion body of DtGV

图2 病毒粒子电镜照片(29000 \times)

Fig.2 Electron microscope photograph of virion DtGV

图3 颗粒体超薄切片电镜片,显示病毒粒子形态。(100000 \times)

Fig.3 Electron microscope photograph of Superthin section
of DtGV, showed the shape of virion

图4 颗粒体超薄切片电镜照片显示病毒粒子形态。(100000 \times)

Fig.4 Electron microscope photograph of superthin section
of DtGV, showed the shape of virion.