

黄地老虎颗粒体病毒的研究

I. 颗粒体病毒的超微结构

徐绍华 王小凤 裴美云

(中国科学院微生物研究所, 北京)

石玉珊 吴祖银

(新疆农业科学院微生物研究所, 乌鲁木齐)

通过病虫组织和提纯病毒包含体的超薄切片的电镜观察, 研究了新疆黄地老虎颗粒体病毒 *Agrotis segetum granulosis virus* (简称 AsGV-XJ), 在组织细胞中的超微结构以及它的装配过程。从被 AsGV-XJ 侵染的脂肪体和皮层中, 观察到大量的颗粒体病毒。在前肠、中肠、后肠、马氏管、气管的组织切片中未观察到颗粒体病毒。AsGV-XJ 的装配是在脂肪体细胞的胞质中进行的, 从病毒粒子的核髓开始, 形成病毒粒子, 然后由包含体蛋白以类晶体方式包被, 构成一个完整的颗粒体。AsGV-XJ 的装配过程证明了核糖体、线粒体、内质网在其增殖中的重要作用, AsGV-XJ 的基本形态与国外报道的 AsGV 大致相同。观察到包含体外围有一层透明膜, 以及各种不同排列方式的双粒子所构成的包含体, 这是 AsGV-XJ 的特点。

从新疆分离到的黄地老虎颗粒体病毒 AsGV-XJ, 对寄主的侵染性较强, 杀虫率在 90% 以上^[1]。颗粒体病毒在虫体组织中的增殖部位与其毒力和株系类型有关^[2]。Paillot^[3] 曾用光学显微镜观察过 AsGV 引起的一些病理变化。我们通过病虫组织的超薄切片, 观察了 AsGV 侵染黄地老虎后病毒增殖部位及其装配过程。

材 料 和 方 法

用 AsGV-XJ 包含体悬液饲喂黄地老虎三龄幼虫一周后, 将病状典型的幼虫解剖, 立即固定在 3% 戊二醛中 12 小时。经缓冲液洗涤后, 移入 2% 锇酸中固定 4 小时, 再经乙醇梯度脱水和丙酮树脂混合剂浸透过夜, 用国产 618 树脂包埋, LKB-8800 III 型超薄切片机切片。2% 醋酸双氧铀、柠檬酸铅双染色, 日立 H-500 型电镜观察。

结 果

(一) AsGV-XJ 的增殖部位

在感染 AsGV-XJ 的黄地老虎病虫的一些组织, 如气管、马氏管、前肠、中肠、后肠等的超薄切片中, 没有观察到病毒增殖和寄主细胞的病理变化。在脂肪体组织中, 观察到大量的 AsGV-XJ 的包含体和病毒颗粒(图版 I-1), AsGV-XJ 包含体大都密集在脂肪粒和线粒体周围的胞质中。此外, 在皮层中也观察到了典型的 AsGV-XJ。

(二) AsGV-XJ 包含体及病毒颗粒的形态

AsGV-XJ 包含体为椭圆形, 横切面近似圆形(图版 I-2, 箭头所示), 大小一般在 $214 \times 360\text{nm}$ 左右。在包含体外层可见一电子致密的由颗粒状物质构成的膜(图版 I-2, A 箭头所示), 膜层外尚可见一层电

本文于 1980 年 10 月 7 日收到。

新疆农业科学院微生物研究所陈璐同志参加部份工作, 中国科学院微生物研究所技术室电镜组大力协助, 一并致谢。

子密度极低的透明膜(图版 I-2, B 箭头所示),厚度为 11nm,在照片过显影条件下,可以更清楚地看到这层透明膜。在每个 AsGV-XJ 包含体周围与胞质间都有一明显的亮区。病毒粒子位于包含体中央,中心区为电子致密的核髓,两端平直呈杆状,直径 24nm,长度一般为 170nm,核髓由内外两层膜包被,形成两端圆的杆状颗粒,大小为 $200 \times 50\text{nm}$ (图版 I-2, 双箭头所示)。观察所见,大部份 AsGV-XJ 包含体只包含一个病毒粒子,我们称之为单粒子包含体(图版 I-2, V1 箭头所示)。也看到包含两个病毒粒子的包含体,我们称之为双粒子包含体(图版 I-2, V2 箭头所示),包含体蛋白在两个病毒粒子中间内凹,形似哑铃(图版 I-2, V3 箭头所示)。根据蛋白亚基排列的完整一致,我们认为双粒子包含体不像是两个单个包含体由于膜融合靠接所致,而可能是它本身复制的类型之一。

从超薄切片中还可以看出,包含体蛋白分子呈类晶体排列,格距为 30\AA ,横切面多为斜纹的类晶体排列,格距为 50\AA (图版 I-3)。

在提纯的 AsGV-XJ 包含体的超薄切片中,观察到的包含体大小,结构与病虫组织切片的结果相似,但未见有如图 I-2 (B 箭头所示)显示出的透明膜;离体包含体丧失了透明膜,可能是提纯引起的人为结果。

(三) AsGV-XJ 装配过程

在电镜观察中可以清楚地看到从病毒核髓直至 AsGV-XJ 包含体的装配过程,其装配的每一个阶段均是在脂肪体胞质中的核糖体密集区进行的。从图版 II-4—14 列出了病毒装配的分布阶段。病毒侵染虫体后,首先是病毒基质在脂肪体内核糖体密集区异常聚集,形成了病毒粒子的核髓(图版 II-4),并逐渐向内质网靠近(图版

II-5),借助于内质网开始由核髓的一端装配病毒粒子的内外膜(图版 II-6—9),直至形成一个完整的病毒粒子(图版 II-10)其中双箭头所示为病毒粒子的横断面。当完整的病毒粒子形成后,开始由其一端装配包含体(图版 II-11),包含体蛋白的装配,是按照包含体蛋白的类晶体排列方式逐步把病毒粒子完全包裹在中心区,最后形成完整的 AsGV-XJ 颗粒(图版 II-12—14)。

讨 论

一般认为,颗粒体病毒在昆虫体内的增殖部位与病毒的毒力和株系有关,大多数颗粒体病毒只感染脂肪体,但有的也可感染中肠、气管、表皮等其他组织^[2]。根据 AsGV-XJ 能侵染脂肪体和皮层的特性,说明它是引起多项器官病的一种颗粒体病毒。

我国 AsGV-XJ 包含体形态结构与国外报道的一些颗粒体病毒基本一致^[4,5]。但在我们的材料中,包含两个病毒粒子的双粒子包含体,尚未见报道。

Howard 和 Smith^[4,5] 报道了颗粒体病毒在印度谷螟 (*Plodia interpunctella* Hbn.) 脂肪体细胞质内增殖和装配的超微结构。我们的结果中,从裸露的病毒粒子直至装配成完整 GV 包含体的逐项步骤与他们报道的一致。

虽然颗粒体病毒可在细胞质和细胞核中增殖^[2,3,6],但也有报道指出,如云杉卷叶蛾 (*Choristoneura fumiferana*) 和印度谷螟^[5] 上的颗粒体病毒只在细胞质中增殖而不侵染核。我们的 AsGV-XJ 则也属于后一种。

只侵染细胞质而不引起细胞核病变,这可能反映了不同株系的特点,甚至也可能是种属差别。为了进一步明确 AsGV-XJ

在寄主体内的增殖和装配过程, 尚需进行病毒在细胞中定位的研究。

用超薄切片研究昆虫病毒的超微结构时, 应根据各种组织器官的特点, 采取相应的固定包埋方法, 特别是在固定脂肪体上, 我们采取的步骤得到了较好的结果。

参 考 文 献

[1] 新疆农业科学院农业科学研究所防治黄地老虎

协作组: 微生物学通报, 5(2): 1—2, 1978。

- [2] Huger, A.: *Insect pathology, an Advanced Treatise* (Edited by Steinhuaas, E. A.), Vol. 1, 1963, p. 531.
- [3] Paillot, A.: *Ann. Epiphyt. Phytogenet*, 2: 341, 1963.
- [4] Smith, K. M.: *Virus-insect Relationships*, Longman, London, 1978, p. 60.
- [5] Howard, J. A. et al.: *J. Ultrastr. Res.*, 21: 251, 1968.
- [6] David, W. A. L.: *Advance Virus Res.*, 22: 116, 1978.

THE STUDY OF GRANULOSIS VIRUS OF *AGROTIS SEGETUM* SHIFF

I. THE ULTRA-STRUCTURAL STUDY OF GRANULOSIS VIRUS

Xu Shaohua Wang Xiaofeng Pei Meiyun

(*Institute of Microbiology, Academia Sinica, Beijing*)

Shi Yuhu Wu Zuyin

(*Institute of Microbiology, Xinjiang Academy of Agricultural Science, Ürümqi*)

Through the observation of sections of infected tissues and purified capsules of granulosis virus of *Agrotis segetum* isolated from Xinjiang (AsGV-XJ) we have studied the morphology of this virus and the ultra-structure of its assembly.

In the fat body and epidermis of infected larvae numerous capsules of AsGV-XJ were observed. But in the front-middle and rear gut, tracheal matrix, and Malpighian tubes, no pathological changes were found whatsoever. The assembly of AsGV-XJ occurs in the cytoplasm of the cell of infected fat body. The

assembly process is regarded as virus core being enveloped by membrane to form virus particle which is then enveloped by paracrystalline protein to form capsule.

It was shown that ribosomes, mitochondria, endoplasmic reticulum may play an important role in the process of multiplication of AsGV-XJ. The morphology of AsGV-XJ is essentially identical to GV reported by other authors. But the presence of outer transparent capsule membrane and the frequent occurrence of capsules containing double virus particles are probably characteristic to AsGV-XJ.