

菜粉蝶颗粒体病毒对哺乳动物的实验感染

姜 晋 如

(北京市农林科学院植物保护环境保护研究所, 北京)

昆虫病毒作为生物防治的一个重要方面而被日益广泛地使用。在自然环境中和在生产病毒制剂的过程中, 人们与病毒的长期接触, 昆虫病毒是否会感染人及哺乳动物, 一直是国内外昆虫病毒研究人员的重要研究内容。1975年, 联合国世界卫生组织在日内瓦召开的一次有关医学病毒学的讨论会上, 将病毒杀虫剂的潜在生态危险列为一项课题。因此, 多年来国内外学者做了大量的昆虫病毒的安全性试验, 认为昆虫病毒对人、畜等哺乳动物以及家禽、植物等均安全^[1-3]。特别是颗粒体病毒的宿主专一性, 使其安全性具有更特殊的意义^[4, 5]。菜粉蝶颗粒体病毒 (PrGV) 在我国是由中山大学生物系于1972年首次在广州市郊采集病毒虫分离获得^[6]。北京市农林科学院植物保护研究所昆虫病毒组于1980年在北京市郊分离出 PrGV 京农 801 株, 并做了安全性试验, 包括对小白鼠、豚鼠、家兔、鱼类、鸟类和家蚕的感染, 均未发现异常^[7, 8]。最近, 邢祖培等报道甘兰夜蛾核型多角体病毒 (MbnPV) 经腹腔接种豚鼠, 可在脏器中滞留 15d^[9]。但尚未见到有关 GV 的类似报道。本实验将提纯的 PrGV (京农 801 株) 经口服、鼻吸、腹腔注射和静脉注射等途径分别接种小白鼠、金黄地鼠和裸鼠, 取接种后 23d 的裸鼠脾脏经超薄切片, 在电子显微镜下观察到裸鼠脾脏细胞内的颗粒体病毒及其包涵体蛋白的典型晶格结构, 现报道如下。

材料与方 法

(一) 虫源

菜粉蝶幼虫 (菜青虫): 分别在广州市郊及北京市郊采集虫卵, 室内孵化后, 以天然饲料进行人工饲养。

(二) 病毒

菜粉蝶颗粒体病毒京农 801 株: 由北京市农林科学院植保所昆虫病毒组在京郊分离获得。

(三) 供试动物

1. 裸鼠: 6—8 周龄, 由卫生部药品生物制品检定所提供。

2. 金黄地鼠: 27—35g 体重, 由卫生部生物制品研究所提供。

3. 小白鼠: 由卫生部生物制品研究所提供, 12—14g 体重。

(四) 感染途径与检验时间

1. 口服试验: 按 5×10^6 GV/g 体重一次投在试验动物饲料中或加在饮用水中; 或按每日 3.4×10^4 — 8×10^4 GV/次投于试验动物饲料中或加在饮用水中, 连续投服至解剖, 分别于第一次投服后第 7—18d 做内脏解剖检查, 取肝、脾、胰、肾混合匀浆。

2. 鼻吸入试验: 将小白鼠麻醉后, 自鼻腔滴入 PrGV, 按 10^6 GV/次用量每两日滴鼻一次, 至 18d 和 20d 时分别做内脏解剖检查, 取肝、脾混合匀浆。

3. 腹腔接种: 按 5×10^6 GV/g 体重经腹腔接种小白鼠、金黄地鼠和裸鼠, 接种后 7—50d, 分别做内脏解剖检查, 取小白鼠的肝、脾混合匀浆, 取裸鼠的肝、脾、胰、肾混合匀浆, 取金黄地鼠的肝、脾、胰、肾分别匀浆。

4. 静脉接种: 按 5×10^6 GV/g 体重经尾静脉注射接种小白鼠和裸鼠, 接种后 9—23d 分别做内脏解剖检查, 取肝、脾、胰、肾混合匀浆。

(五) 检验方法

1. 回接靶虫: 将动物内脏组织加 1 倍体 α 无茵生理盐水匀浆后, 将 0.1ml 提取液涂于饲料上, 每组喂饲 20—30 头 2—3 龄菜青虫, 观察至化蛹。

2. 扫描电子显微镜下观察: 将回接试验中获得的病虫体液涂片, 经适当处理后在扫描电子显微镜下观察。

3. 透射电子显微镜下观察: 将腹腔接种 23d

本文于 1987 年 12 月 22 日收到。

表1 接种 PrGV 的哺乳动物脏器悬液回接靶虫试验结果

PrGV 对试验动物的感染				试验动物内脏组织悬液回接靶虫				
感染方式	试验动物	感染天数	剂 量	处 理	试验虫总头数	GV 病虫死亡头数	死亡率(%)	
口服	一次加在饮水中	小白鼠	18	5×10^7 GV/g 体重	回接	20	2	10.0
	一次加在饲料中	小白鼠	14	5×10^7 GV/g 体重	回接	22	3	13.6
	每日加在饮水中	小白鼠	7	$3.4 \times 10^8 - 8 \times 10^8$ GV/g 体重	回接	23	5	21.7
	每日加在饲料中	小白鼠	7	$3.4 \times 10^8 - 8 \times 10^8$ GV/g 体重	回接	24	4	12.5
					对 照	44	0	0
鼻吸	每两日滴鼻一次	小白鼠	18	10^9 GV/次	回接	20	1	5.0
			20	10^9 GV/次	回接	20	1	5.0
					对 照	64	0	0
静脉接种	一次静脉注射	裸鼠	16	10^9 GV/g 体重	回接	17	17	100.0
					对 照	64	0	0
			23	10^9 GV/g 体重	回接	19	7	36.8
				对 照	25	0	0	
		小白鼠	16	5×10^7 GV/g 体重	回接	44	41	95.3
					对 照	43	0	0
腹腔接种	一次腹腔注射	裸鼠	16	2×10^8 GV/g 体重	回接	19	19	100.0
					对 照	64	0	0
			23	2×10^8 GV/g 体重	回接*	16	6	37.5
				对 照	45	0	0	
		小白鼠	7	5×10^7 GV/g 体重	回接	21	20	95.2
			15	5×10^7 GV/g 体重	回接	21	19	90.5
			28	5×10^7 GV/g 体重	回接	20	20	100.0
			40	5×10^7 GV/g 体重	回接	19	15	78.9
			50	5×10^7 GV/g 体重	回接	16	13	81.3
					对 照	25	0	0
		金黄地鼠	14	5×10^7 GV/g 体重	肝脏悬液回接	22	21	95.5
			28	5×10^7 GV/g 体重	脾脏悬液回接	25	18	72.0
				5×10^7 GV/g 体重	胰脏悬液回接	22	21	95.5
				5×10^7 GV/g 体重	肾脏悬液回接	25	18	72.0
		对 照	44	0	0			
对照	小白鼠	22		正常脏器悬液回接	20	0	0	

* 观察腹腔接种的裸鼠至 23d 时解剖取内脏组织悬液(肝、脾、胰、肾)加 1 倍(重量/重量) 无菌生理盐水匀浆后, 将悬液稀释至 10^{-1} 倍, 取 0.1ml 涂叶喂虫。

其余未注*者均为将内脏组织加 1 倍无菌生理盐水匀浆后涂叶 0.1ml 喂虫。

的裸鼠脾脏做超薄切片后在电子显微镜下观察。

结果与讨论

(一) 实验动物的一般观察

在饲养过程中,无论是经口服、鼻吸、腹腔注射或静脉注射接种的试验动物与对照组动物相比均无明显异常。

(二) 回接试验

将接种后的动物内脏提取液回接靶虫后 4d 左右,菜青虫开始表现出典型颗粒体病毒病症状,即体色由正常的深绿色变为黄色,体节肿胀,节间形成较深的沟,体表变光滑,腹面变白,行动迟缓,死虫表皮易破(图 1)。

将病虫体液涂片后进行适当处理,在扫描电子显微镜下观察到有大量的颗粒体(图版 I-1)。

回接试验结果可归纳成表 1。

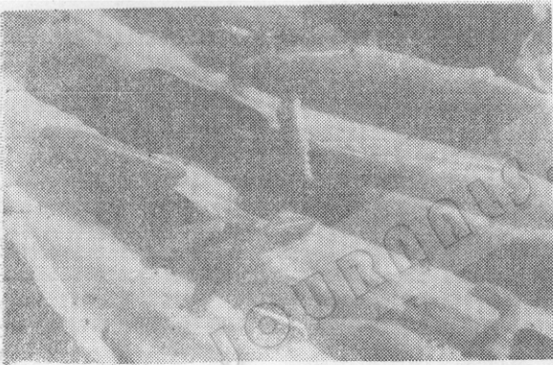


图 1. 取食接种 PrGV 的小白鼠内脏的菜青虫病虫

表 1 结果表明,依郭霍 (Robert Koch) 原则,进行回接,可证明被接种动物脏器带毒。

(三) 电镜观察

将腹腔接种后 23d 的裸鼠脾脏做超薄切片,在透射电子显微镜下观察可见,在细胞内有典型的颗粒体病毒,可看到完整的颗粒体病毒的横切面和纵切面。病毒粒子位于颗粒体的中央,被内膜与囊膜所包围,纵切面上可见病毒粒子的两端

呈环状。还可以观察到颗粒体的包涵体蛋白的晶格结构(图版 I-2、3),在完整颗粒体旁边还存在不整齐外缘但具晶格结构的包涵体蛋白(图版 I-3)。

以上结果说明:颗粒体病毒在试验动物体内仍保持毒力,试验动物能携带颗粒体病毒,尤其是在具有免疫机能的小白鼠体内带毒长达 50d 是值得引起注意的问题。但颗粒体病毒在动物细胞内是否有复制?特别是经口服这种自然感染方式接种的 GV 是如何通过胃肠壁进入肝、脾脏中的?有待于进一步研究。本文仅是 PrGV 的安全性试验的部分试验结果,现有材料尚不能说明 PrGV 已不安全。

参 考 文 献

- [1] 吕鸿声:昆虫病毒与昆虫病毒病,科学出版社,北京,p. 12, 94—108, 385—387, 1981。
- [2] 高尚荫:中国病毒病研究三十年,科学技术文献出版社重庆分社,重庆,p. 152—153, 1980。
- [3] Ignoffo, C. M.: *Chem. Tech.*, June: 342—347, 1971。
- [4] Ignoffo, C. M.: *J. Invertebr. Pathol.*, 7: 329—340, 1965。
- [5] Pawar, V. M. et al.: *Environ. Entomol.*, 7: 676—684, 1978。
- [6] Burges, H. D. et al.: *Entomophage*, 25(4): 329—340, 1980。
- [7] Doller, G. et al.: *Appl. Environ. Microbiol.*, 45(4): 1229—1233, 1983。
- [8] Burges, H. D. et al.: *Entomophage*, 25(4): 341—348, 1980。
- [9] 刘年翠等:武汉大学学报(自然科学版), (2): 77—83, 1981。
- [10] 梁东瑞等:中国昆虫病毒图谱,湖南科学技术出版社,长沙,p. 78—80, 1986。
- [11] 中山大学生物系昆虫专业等:微生物学报, 27(4): 351, 1977。
- [12] 昆虫病毒课题组:北京农业科学(植保环保所论文集),北京,p. 5—7, 1987。
- [13] 刘召南等:生物防治通报,3(2): 84—87, 1987。
- [14] 邢祖培等:华北农学报,2(4): 94—98, 1987。

EXPERIMENTAL INFECTION OF MAMMALS WITH *PIERIS RAPAE* GRANULOSIS VIRUS

Jiang Jinru

*Institute of Plant Protection and Environment Protection, Beijing Academy of Agriculture
and Forestry Sciences, Beijing)*

The experimental infection of mammals (such as mouse, golden hamster and nude mouse) was conducted with *Pieris rapae* Granulosis Virus (PrGV) of baculoviridae of insect virus by way of peritoneal and intravenous injection, per os and inhalation. 7—50 days after injection, target insects were reinoculated with the visceral extracts of infected mammals and killed by 5—100%, displaying typical symptom infected by granu-

losis virus. GV and its latticed structure of inclusion body were found in the ultrathin section of spleen which took out from infected nude mouse via peritoneal injection under electronmicroscope.

Key words

Pieris rapae; Granulosis virus; Experimental infection

图 版 说 明

1. 取食接种 PrGV 的小白鼠内脏的菜青虫病虫体液扫描电镜照片 ($\times 4,200$); 2、3. 腹腔接种后 23d 的裸鼠脾脏细胞, 细胞质中存在 PrGV。“↑”处为颗粒体病毒的包涵体蛋白的晶格结构 ($2. \times 25,000$; $3. \times 120,000$),