

是高度保守的,如家蚕的A1与A3氨基酸序列同源性达到95.5%,A2与A3氨基酸序列同源性达到94.9%;黑腹果蝇中,42A、5C与87E氨基酸序列同源性也达到96.8%。在利用细胞质特异型肌动蛋白基因作为测定生物体内其他基因在mRNA水平表达的内标时,既要确定细胞质特异型肌动蛋白的mRNA序列,同时必须清楚相应生物种类肌肉特异型肌动蛋白的mRNA序列,确保内标的PCR产物不含有肌肉特异型肌动蛋白的转录成分,否则2类肌动蛋白成分混杂,失去内标意义。本研究由于只克隆了八字地老虎的细胞质特异型肌动蛋白基因并以其为标准设计RF-PCR引物,由于引物设计位置与未克隆的肌肉特异型肌动蛋白可能存在高度相似性,其PCR产物中很可能包含肌肉特异型肌动蛋白mRNA成分,这需要在以后的试验中通过克隆相应的肌肉特异型肌动蛋白基因,以设计针对细胞质特异型肌动蛋白基因的引物加以解决,以更好地发挥细胞质特异型肌动蛋白作为内标的作用。

参 考 文 献

1 Shetlerline P., Sparrow J. *Actin*. Academic Press, London, 1994. 1~ 62.
 2 Pollard T. D., Cooper J. A. *Annu. Rev. Biochem.*, 1986,

55: 987~ 1 035.
 3 Kabsch W., Vandekerckhove J. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, 1992, 21: 49~ 76.
 4 Christine C. K., Michelle D. C., Fyrberg E. A. *Cell*, 1984, 38(3): 711~ 719.
 5 Fyrberg E. A., Bond B. J., Hershey N. D., et al. *Cell*, 1981, 24(1): 107~ 116.
 6 Fyrberg E. A., Mahaffey J. W., Bond B. J., et al. *Cell*, 1983, 33(1): 115~ 123.
 7 Sanchez F., Tobin S L., Rdent U., et al. *J. Mol. Biol.*, 1983, 163(4): 533~ 551.
 8 Mounier N., Coulon M., Prudhomme J. C. *Insect Biochem.*, 1991, 21(3):293~ 301.
 9 Mounier N., Gaillard J., Prudhomme J. C. *Nucl. Acids Res.*, 1987, 15(6): 2 781
 10 Mounier N., Prudhomme J. C. *Biochimie*, 1986, 68(9): 1 053~ 1 061.
 11 Mounier N., Prudhomme J. C. *Insect Biochem.*, 1991, 21(5): 523~ 533.
 12 Choi J. K., Holtzer S., Chacko S. A., et al. *Mol. Cell Biol.*, 1991, 11(9): 4 473~ 4 482.
 13 Labuhn M., Braek C. *Gerontology*, 1997, 34(5): 261~ 267.
 14 胡莺,沈波,杨明夏,等.中国寄生虫病防治杂志,2003,16(2):65~ 68.
 15 Sambrook J., Russell D. W. *Molecular Cloning: a laboratory manual*. 3rd ed. Cold Spring Harbor publications, New York, 2001.
 16 Nicole M., Manolo G., Dominique M., et al. *J. Mol. Evol.*, 1992, 34(5): 406~ 415.
 17 Hooper S. L., Thuma J. B. *Physiol. Rev.*, 2005, 85(3): 1 001~ 1 060.

棉铃虫多核型多角体病毒 ν -*cath* 同源基因的克隆及序列分析*

唐平^{1,2*} 李轶女² 唐玉斌¹ 张寰³ 易咏竹¹ 韩宾² 秦启联^{3***}

(1.江苏科技大学生物与环境工程学院 镇江 212018; 2.中国农业科学院生物技术研究所 北京 100081; 3.中国科学院动物研究所 农业虫害鼠害综合治理研究国家重点实验室 北京 100101)

Cloning and sequence analysis of ν -*cath* gene of *Helicoverpa armigera* multiple nucleocapsid nucleopolyhedrovirus. TANG Ping^{1,2*}, LI Yi-N ², TANG Yu-Bin¹, ZHANG Huan³, YI Yong-Zhu¹, HAN Bin², QIN Qi-Lian^{3***} (1. College of Biology & Environmental Engineering, Jiangsu University of Science and Technology,

* 国家自然科学基金(30670082)资助。

** Email: jstangping@yahoo.com.cn

*** 通讯作者, Email: qinqi@ioz.ac.cn

收稿日期: 2008-09-22, 修回日期: 2008-10-08

Zhenjiang 212018, China; 2. *Biotechnology Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences*, Beijing 100081, China; 3. *State Key Laboratory of Integrated Management of Pest Insects & Rodents, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences*, Beijing 100101, China)

Abstract In order to obtain the whole genome sequence of *Helicoverpa armigera* multiple nucleocapsid nucleopolyhedrovirus (HearMNPV), the genomic DNA of HearMNPV was partially digested by *Sau3A I*, and the plasmid vector pUC19 was fully digested by *Sal I*, and subsequently filled in by the Klenow fragment. After ligation and transformation, the inserted sequence showing high identity with that of the *v-cath* gene was acquired and identified. Its open reading frame (ORF) has 1 026 base pairs, encoding 341 amino acids. In comparison of its nucleotide and amino acid sequences with those of other baculovirus, HearMNPV *v-cath* shows the highest homology with that of *Mamestra configurata* NPV-B (MacoNPV-B), but the lowest homology with that of *Cydia pomonella* GV (CpGV). It is therefore suggested that HearMNPV *v-cath* had two ways of evolution: one is point mutation and the other is short nucleotide sequences.

Key words *Helicoverpa armigera* multiple nucleocapsid nucleopolyhedrovirus, *v-cath*, sequence analysis

摘要 为获得棉铃虫多核衣壳型多角体病毒 (*Helicoverpa armigera* multiple nucleocapsid nucleopolyhedrovirus) 基因组序列, 采用随机克隆方法, 建立 HearMNPV 的质粒基因文库, 并通过插入片段进行克隆鉴定和序列分析, 获得编码组织蛋白酶基因 *v-cath*。该基因阅读框为 1 026 bp, 共编码 341 个氨基酸。核苷酸和氨基酸同源性比较结果表明: HearMNPV 的 *v-cath* 基因与蓓带夜蛾核型多角体病毒 B (*Mamestra configurata* NPV-B) 的同源性最高, 而与苹果皮小卷蛾颗粒体病毒 (*Cydia pomonella* GV CpGV) 同源性最低, 由此认为, 杆状病毒科的 *v-cath* 基因在进化上存在 2 种进化方式: 一类以点突变为特征, 基因长度变化不明显; 另一类突变以小片段的碱基增减为特征。

关键词 棉铃虫多核衣壳型多角体病毒, 组织蛋白酶基因 (*v-cath*), 序列分析

杆状病毒是指病毒粒子外表呈杆状, 其基因组大小在 80~ 180 kbp 之间的单分子双链环状超螺旋 DNA^[1], 是农林重要害虫的自然控制因子, 主要是对鳞翅目、膜翅目和双翅目进行防治^[2, 3], 用它作为外源基因的表达载体具有高效、安全、易操作等优点, 可有效地用于真核表达系统^[4]。

棉铃虫 *Helicoverpa armigera* H bner 是一种杂食性的经济害虫, 可导致棉花、玉米、烟草、西红柿及小麦等植物及蔬菜的损失, 利用棉铃虫病毒进行综合性生物防治是目前的一个重要策略, 美洲棉铃虫单核衣壳核型多角体病毒 (*Helicoverpa zea* NPV, HzSNPV) 是在 1970 年第一个注册的商业杆状病毒杀虫剂, 在美国广泛用于棉铃虫的防治^[5]。棉铃虫单核衣壳核型多角体病毒 (*Helicoverpa armigera* NPV, HearSNPV) 在中国也广泛用于棉花和蔬菜的防治, 在 1999 年就有 100 000 hm² 的棉花通过 HearSNPV 商业病毒进行防治^[6]。在 1978 年曾在华东地区田

间分离出棉铃虫多核衣壳型多角体病毒 (*Helicoverpa armigera* multiple nucleocapsid NPV, HearMNPV)^[7], 然而目前还未见对棉铃虫多核型多角体病毒的基因及基因组组成的报道, 因此, 我们建立了棉铃虫多核型多角体病毒质粒基因文库, 对插入片段进行克隆鉴定和序列分析, 发现了与杆状病毒组织蛋白酶基因 *v-cath*^[8] 同源性较高的片段, 并对其序列进行了分析。

1 材料与方法

1.1 材料及主要试剂

棉铃虫多核型多角体病毒 (HearMNPV) 由中国科学院动物所秦启联组提供; 大肠杆菌 DH10B、载体 pUC19 由中国农业科学院生物技术研究所保存; 限制性内切酶、T₄ DNA 连接酶等均购自 Promega 公司。LB 液体培养基和固体培养基按照文献^[9]的方法配制。

1.2 实验方法

1.2.1 棉铃虫多核型多角体病毒 (HearMNPV) 基因组 DNA 的制备 病毒多角体经反复离心纯化后镜检, 用 0.1 mol/L Na_2CO_3 和 0.15 mol/L NaCl 缓冲混合液 (pH=10.3) 充分悬浮裂解多角体, 加入 SDS 至终浓度 0.5%, 冰浴 10 min, 分别经苯酚氯仿抽提后加入 2 倍体积的无水乙醇, 离心去上清, 70% 乙醇洗涤, 干燥后溶于 TE 中, 保存于 4℃ 冰箱备用^[10]。

1.2.2 基因文库构建 首先将 *Sau3A* *iv* 酶进行适当稀释, 对 1~3 μg HearMNPV 基因组 DNA 进行酶切, 酶切完成后回收约 3~5 kb 的条带, 在 dATP 和 dGTP 存在的条件利用 Klenow 对 *Sau3A* *iv* 酶切产生的粘性末端进行半补齐; 电泳回收 *Sal* *iv* 完全消化的 pUC19, 在 dCTP 和 dTTP 存在的条件下, 利用 Klenow 对 *Sal* *iv* 酶切产生的粘性末端进行半补齐; 将半补齐产物连接, 转化, 37℃ 培养箱内倒置过夜, 单菌落接种于 3 mL LB 液体培养基中, 37℃ 振荡培养过夜。少量抽提质粒 DNA, 溶于 100 μL 0.1×1 TE 中, -20℃ 保存备用^[11], 鉴定的阳性克隆子由中国农业科学院重大工程测序部测序。

1.2.3 核苷酸及其编码氨基酸的序列分析 序列用 BLAST 软件 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>) 与 GenBank 数据库进行比较分析, 氨基酸序列分析及同源性比较采用 DNASTar 和 Clustal X 软件进行, NetOGlyc 及 NetNGlyc 软件 (ExPASy) 分析 O-糖苷化位点及 N-糖苷化位点; PHEsec (EMBL) 程序分析蛋白二级结构, 其它杆状病毒的 *v-cath* 基因序列均引自 GenBank 数据库。

2 结果与分析

2.1 HearMNPV *v-cath* 基因序列分析

在构建的 HearMNPV DNA 的文库中, 对插入片段测序结果进行检索分析, 获得与 *v-cath* 类似的基因, 序列分析表明, HearMNPV *v-cath* 基因的读码框由 1 026 个核苷酸组成, 编码 341 个氨基酸, 分子质量约为 37.6 kD。氨基酸序列

分析表明, *v-cath* 的第 29 位氨基酸 (T) 为一个 O-连接的 GlcNAc 糖苷化位点。HearMNPV *v-cath* 氨基酸序列二级结构分析表明, 存在 7 个 α -螺旋, 8 个 β -折叠, 该序列具有 3 个保守结构域: 148~159 QGMCGACWAFAG 为 cysteine 活性中心, 285~295 LNHAVLLVGYG 为 histidine 活性中心, 302~321 YWTIKNSWGPDPYGENGYVRI 为 asparagine 活性中心 (图 1)。

2.2 *v-cath* 基因的同源性比较

经比对在已公布的 43 种杆状病毒中发现有 32 种有 *v-cath* 同源基因, 应用 DNASTar 软件对 HearMNPV 的 *v-cath* 基因的蛋白质序列与这 32 种 *v-cath* 同源基因的氨基酸序列进行同源性比较。结果表明, 与 HearMNPV *v-cath* 基因氨基酸和核苷酸一致性最高的是 MacoNPV-B, 分别为 100% 和 99%, 与 CpGV 同源性最低, 分别为 41% 和 38% (表 1)。

2.3 根据 *v-cath* 基因氨基酸序列同源性构建的分子进化树

应用 Clustal X 软件对 32 种杆状病毒的 *v-cath* 基因的氨基酸序列进行同源性比较, 并建成分子进化系统树 (图 2)。从图 2 可见, 在已测序的杆状病毒基因组中, 只在寄生鳞翅目昆虫的杆状病毒外中发现 *v-cath* 基因。杆状病毒分为 2 大类: 颗粒体病毒 (GV) 和核多角体病毒 (NPV), 核型多角体病毒又明显分为两个群: *iv* 群 (Group *iv*) 和 \oplus 群 Group \oplus , HearMNPV 位于 \oplus 群 NPV 中, 颗粒体病毒自成一类。 *iv* 群中 11 个 *v-cath* 基因的长度趋于一致, 氨基酸数目为 323 或 324 个; GV 中的 4 个 *v-cath* 基因氨基酸数目介于 327~446 之间, 而 \oplus 群中 *v-cath* 基因的长度变化较大, 最长的为 HzSNPV 的 *v-cath* 基因, 编码 367 个氨基酸, 最短的为茶尺蠖核型多角体病毒 (*Ectropis oblique* NPV, EcobNPV) 的 *v-cath* 基因, 编码 299 个氨基酸。基于 *v-cath* 基因的长度及其基因的同源性, 认为杆状病毒的 *v-cath* 基因存在 2 种进化方式: 一类以点突变为主, 相对的基因长度的差异不是很大; 另一类突变以大片氨基酸缺失为特征。

```

gccttggcgcggtgcccggatcgaatttgatgtacaccatcgtaatgttgctttagttga
tgaagtttgcctggcctcaaatcgctttatatacagagttgaatgacgcaaccatcatgaaa
tcaaacttgggtggtttatgatacataatataactaagtagctattgtttatgaaatgata
atgacaataactaataacttttgcctgctggtcagcgcgtgtgtgacgagtcacgatcaa
M N K L L L I L L L L V S A V L T S H D Q 60
gtagtggcgcctgcccaccactactacgaaaccaaactctacaacattaatagtgcc
V V A V A T T T T T K P N L Y N I N S A 120
ccgttgtattttgaataatttattacgcaatacaacaagcagtttcgagcgaagatgaa
P L Y F E K F I T Q Y N K Q Y S S E D E 180
aaaaaatatcgatataaacatttttgcgcacaatattgaaatcgatcaacgcgaaaaacagt
K K Y R Y N I F R H N I E S I N A K N S 240
cgcacagattcggcctttacaagatcaacagattcgcagacatgaccaagaacgaggtg
R N D S A V Y K I N R F A D M T K N E V 300
gtcaatcgtcacaccggctcggcgtcgggcgataccggggcaatttttgtgaaaccatc
V N R H T G L A S G D T G A N F C E T I 360
gttgcgcagcggccggggcaacgacaacgaccgcctaaattttgattggcgcaactcaat
V V D G P G Q R Q R P A N F D W R N Y N 420
aaagtcacctcggtaaaagaccaagggcatgtcggggcatgttggcgctttgcgggtcta
K V T S V K D Q G M C G A C W A F A G L 480
ggcgcgctcgagagtcagtagccatcaagtagatagattaatagacctgcccgaaca
G A L E S Q Y A I K Y D R L I D L A E Q 540
cagctggctgattgtgattttgtcgcacatgggctgtgatggaggacttattcacactgcc
Q L V D C D F V D M G C D G G L I H T A 600
tacgaacaataatgcacattggcggggctcgcagcaggagtatgactatcgtataaggcg
Y E Q I M H I G G V E Q E Y D Y P Y K A 660
gtacgtttgcccgtgcccgttaaagcctcacaatttgcgcgttagcgtgcaaacgttat
720
V R L P C A V K P H K F A V G V R N C Y
cgttacgtctctttagcgaagaacgactgaagatcgttacgccattgttggccatt
780
R Y V L L S E E R L E D L L R H V G P I
gccattgcccgtggacgctgtgcatcaccgattattacgggtggcgtcataagtttttgc
840
A I A V D A V D L T D Y Y G G V I S F C
gaaaataacggtctcaatcatccgctgttgcctcgtcggttacggtgttgaacaacgctg
900
E N N G L N H A V L L V G Y G V E N N V
ccctattggactataaagaattcctgggctcccgttacggcgaacacggctatgtgca
960
P Y W T I K N S W G P D Y G E N G Y V R
attcgtcgcgggtgtaattcattgcggcatgatcaacgagctggcgtctagtgtctcagatc
1020
I R R G V N S C G M I N E L A S S A Q I
gettaa 1026
A *
gtttgtcaattgtcacattataatttagctcctgaatcgtgatgccgtcgcggtatttcgtcgcacgttttaatttttttac
ttttgataaacaacagtagctcgcgatataatttttagcgtgaacaacgccagtagtcaagaggccaagtagt
cattttgtgaactgatactgcttctgctttttc

```

图1 HearMNPV *v-cath* 基因的核苷酸序列和推导的氨基酸序列的分析
下划线表示 2-螺旋, 方框表示β-折叠, O-糖基化位点由双下划线标出, 阴影表示蛋白质活性区域。

3 讨论

杆状病毒是有囊膜的双链 DNA 大型病毒, 宿主域仅限于无脊椎动物, 在已测序的 43 个杆状病毒全基因组中, 有 31 个寄生鳞翅目的杆状病毒基因组中存在 *v-cath* 基因与 HearMNPV *v-*

cath 有同源性, 推测 *v-cath* 为非必需基因。HearMNPV 与 MacoNPV-B 的 *v-cath* 基因一致最高, HearMNPV 最早是在中国华东地区分离, MacoNPV-B 分离于加拿大西部南阿尔伯特, 而且发现 HearMNPV 对东方粘虫 *Pseudaletia separata* 有较好的感染性, 而不能感染斜纹夜蛾

表 1 *v-cath* 基因核苷酸与氨基酸序列一致性比较

杆状病毒(缩写)	核苷酸一致性(%)	氨基酸一致性(%)	基因库编号	病毒全称
MacoNPV-B	99	100	NG-004117	<i>Mamestra configurata</i> NPV-B
MacoNPV-A	92	98	NG-003529	<i>Mamestra configurata</i> NPV-A
SfMNPV	79	86	NG-009011	<i>Spaloptera frugiperda</i> MNPV
SeMNPV	78	85	NG-002169	<i>Spaloptera exigua</i> MNPV
AgseNPV	77	80	NG-007921	<i>Agrotis segetum</i> NPV
TrSNPV	52	57	NG-007383	<i>Trichoplusia ni</i> SNPV
ChchNPV	51	57	NG-007151	<i>Chrysodeixis chalcites</i> NPV
AnpeNPV	56	57	NG-008035	<i>Antheraea pernyi</i> NPV
OrleNPV	51	54	NG-010276	<i>Orgyia leucostigma</i> NPV
EppoNPV	52	55	NG-003083	<i>Epiphyas postvittana</i> NPV
OpMNPV	50	52	NG-001875	<i>Orgyia pseudotsugata</i> MNPV
LdMNPV	51	52	NG-001973	<i>Lymantria dispar</i> MNPV
EcoMNPV	51	58	NG-008586	<i>Ecotopis obliqua</i> NPV
CfDefNPV	54	55	NG-005137	<i>Choristoneura fumiferana</i> DEF MNPV
CfNPV	56	55	NG-004778	<i>Choristoneura fumiferana</i> MNPV
RoNPV	52	54	NG-004323	<i>Rachiplusia ou</i> MNPV
PlyxMNPV	49	54	NG-008349	<i>Plutella xylostella</i> MNPV
AcNPV	52	54	NG-001623	<i>Autographa californica</i> NPV
HycuNPV	46	53	NG-007767	<i>Hyphantria cunea</i> NPV
BmNPV	53	54	NG-001962	<i>Bombyx mori</i> NPV
MaviNPV	51	52	NG-008725	<i>Maruca vitrata</i> MNPV
CbNPV	52	53	NG-008293	<i>Clanis bilineata</i> NPV
AdhoNPV	47	49	NG-004690	<i>Adoxophyes honmai</i> NPV
SpltNPV	45	48	NG-003102	<i>Spaloptera litura</i> NPV
LeseNPV	45	47	NG-008348	<i>Leucania separata</i> NPV
HearNPV-G4	41	43	NG-002654	<i>Helicoverpa armigera</i> NPV-G4
HearNPV-C1	38	43	NG-003094	<i>Helicoverpa armigera</i> NPV-C1
HzSNPV	42	44	NG-003349	<i>Helicoverpa zea</i> SNPV
AgseGV	45	46	NG-005839	<i>Agrotis segetum</i> GV
XecnGV	41	42	NG-002331	<i>Xestia e-nigrum</i> GV
CrleGV	41	42	NG-005068	<i>Cryptophlebia leucotreta</i> GV
CpGV	38	41	NG-002816	<i>Cydia pomonella</i> GV

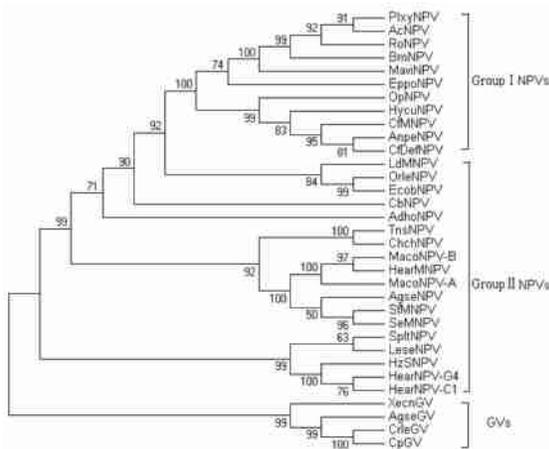


图 2 32 种杆状病毒 *v-cath* 氨基酸序列分子进化树状图

Pralenia litura 及甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua*, MacoNPV-B 除了感染 *M. configurata* 外还可以

感染甜菜夜蛾和粉纹夜蛾 *Trichoplusia ni*^[12], 因此二者的宿主域存在着不同, 也不存在地理区域交叉, 为深入研究杆状病毒的进化提供线索。

杆状病毒的感染引起昆虫的液化, 有助于病毒的水平传播。*v-cath* 基因(viral cathepsin L-like gene) 又称半胱氨酸蛋白酶基因 cp (cysteine protease gene), 它的序列与木瓜蛋白酶家族的半胱氨酸蛋白酶有着明显同源性。缺失 *v-cath* 基因的重组病毒感染的昆虫死亡后虫体保持一种正常的白色, 虫体内部器官亦保持完整, 这暗示 V-CATH 蛋白与宿主的液化即组织的降解有着直接的联系^[8]。有报道用双拷贝 *v-cath* 基因的重组 AcMNPV 杆状病毒与野生型相比具有更加明显的杀虫效果, 双拷贝 *v-cath* 的重组 HaNPV 病毒滴度高于野生型病毒^[13]。杆状病毒表达系统是一个很好的表达系统, 有

产量高、生物活性高和安全性好的优点,已应用于人类疫苗和动物疫苗的生产。但一些分泌性蛋白与膜结合糖蛋白在杆状病毒系统中很难表达或者只能低水平表达^[14]。例如 *Theileria parva* (一种原生型寄生虫) 的子孢子表面蛋白 p67 在此系统的表达水平就很低,但在缺失 *v-cath* 基因苜蓿银纹夜蛾多角体病毒表达系统中人们发现 p67 的表达有显著的升高^[15],说明这种改进能有效地保护分泌性蛋白不被降解。在 AcMNPV 中 V-CATH 蛋白能特异性降解肌动蛋白,引起蛋白水解过程, *v-cath* 基因的存在是造成杆状病毒表达系统中表达的外源蛋白降解的主要原因,因此并利用基因敲除删除了杆状病毒的 *v-cath* 基因,是提高重组病毒的稳定性和表达效率途径之一。

目前在我国的棉铃虫中已经分离出数种核型多角体病毒,其中 HearNPV-C1 HearNPV-G4 株已进行全基因测序分序,作为无污染的绿色杀虫剂并大量用于田间防治,但是已有报道单一的杆状病毒 OBs 作为杀虫剂可引起宿主的抗性,由此认为不同种类的病毒混合使用能够延缓宿主对病毒抗性^[6],因而 HearMNPV 与 HearSNPV 的交替或混合使用在棉铃虫的防治上将有很好的防治效果, HearMNPV 整个基因组的测定,也将为杆状病毒分子进化及生物防治提供更多的信息。

参 考 文 献

- Zanotto P. M., Kessing B. D., Maruniak J. E. *J. Invertebr. Pathol.*, 1993, **62**(2):147- 164.
- Cory J.S., Bishop D.H. *Mol. Biotechnol.*, 1997, **7**(3):303 ~ 313.
- Moscardi F. *Annu. Rev. Entomol.*, 1999, **44**: 257~ 289.
- 唐平, 李兵, 沈卫德, 等. 昆虫知识, 2006, **44**(6): 826~ 829.
- Shieh T. R. *Adv. Virus Res.*, 1989, **36**: 315~ 343.
- Chen X., Ijkel W. F. J., Tarchini R., *et al. Gen. Virol.*, 2001, **82**: 241~ 257.
- 吕鸿声. 昆虫病毒与昆虫病毒病. 北京: 科学出版社, 1982.
- Homa L. G., Ohkawab T., Trudeau D., *et al. Virology*, 2002, **296**(2): 212~ 218.
- 萨姆布鲁克 J., 拉塞尔 D. W. 分子克隆试验指南(上、下册). 北京: 科学出版社, 2002. 8.
- 张志芳, 何家禄, 吴祥甫. 蚕业科学, 1995, **21**(2): 86~ 90.
- Nie Z. M., Zhang Z. F., Wang D., *et al. BMC Genomics*, 2007: <http://www.biomedcentral.com/1471-2164/1478/1248>.
- Li L., Donly C., Li Q., *et al. Virology*, 2002, **297**(2): 227 ~ 244.
- 刘德立, 段媛媛, 齐义鹏. 中国病毒学, 2003, **18**(3): 254 ~ 258.
- Tomija N., Betenbaugh M. J., Lee Y. C. *Acc. Chem. Res.*, 2003, **36**(8): 613~ 620.
- Kaha S. A., Salcedo A. M., Wafula P. O., *et al. Virology*, 2004, **122**(1): 113~ 118.
- Asser-Kaiser S., Frisch E., UrdorfSpahn K., *et al. Science*, 2007, **317**: 1 916~ 1 918.

研究发现蚂蚁喜欢盐胜过糖

我们时常看到蚂蚁团团围住一块糖大吃起来,因此大家都以为蚂蚁爱吃糖。然而,一项新研究发现有些蚂蚁其实不太爱吃糖而更喜欢咸味美食,至少当它们生活在远离海洋的少盐区时是这样。

所有动物从蚂蚁到人类都需要盐来维持其身体神经和肌肉的活动性以及水分的平衡。蚂蚁特别“哄抢”甜食是因为它们需要能量。但研究人员推测蚂蚁的口味会因其所在地而不同,并为此对远离海洋不同远近的蚂蚁进行了偏爱盐或糖的测试,发现远离海洋的蚂蚁更喜欢盐。此研究成果发表在美国《国家科学院院刊》(PNAS)上,这是由美国国家地理学会和亚马逊保护协会赞助的研究项目。

此“自助餐实验”为蚂蚁提供了浸有盐或糖液的棉球美食,供蚂蚁选择食用。科学家发现生活在 100 多公里内陆的蚂蚁偏爱浸有盐的棉球美食。这种偏爱主要表现在食草蚂蚁,因为食肉蚂蚁从猎物中获取了足够的盐分。类似的食草动物如母牛和鹿能通过舐食盐渍地来获得盐分,而狼和其它食肉动物则从血淋淋的肉食中获得盐分。

研究人员想知道这种饮食偏爱是否也适合于所有昆虫甚至微生物。特别是负责此项研究的迈克尔·卡斯帕里还打算了解喷盐的树叶能否加快生态系统的活跃性,就像运动饮料能提升运动员成绩一样。(来源: 网易探索)