

杨树毒蛾核型多角体病毒在 病虫脂肪体细胞中的形态发生

李维琪 吾尔尼沙

(中国科学院新疆化学所, 乌鲁木齐)

吴祖银 陈璐

(新疆农科院微生物所, 乌鲁木齐)

提 要

本文介绍杨毒蛾核型多角体病毒 (*Leucoma selicis Nuclear Polyhedrosis Virus*) 在病虫脂肪体细胞中的形态发生, 描述了病毒粒子的形成和包被、包含体的沉积过程以及相伴随的细胞病变。

关键词: 杨毒蛾核型多角体病毒 感染的脂肪体细胞 病毒的形态发生 细胞病变

杨树毒蛾 (*Leucoma selicis*) 是杨树上的主要害虫之一。近年来分离到杨树毒蛾核型多角体病毒 (LsNPV), 为采用生物方法防治这种害虫提供了一个毒源^[1]。

国外关于核型多角体病毒的形态发生已有过许多报道^[2-5], 关于 LsNPV 的形态发生及感染细胞超微结构的病变还未见报道。

本文报道了应用超薄切片法研究杨树毒蛾核型多角体病毒在感染脂肪体细胞中的形态发生, 并尝试说明这种病毒的装配过程, 以期为这种病毒的感染及应用提供一些理论依据。

材料与方 法

以饲喂的方法给四龄的杨树毒蛾幼虫接种, 3~5日后, 幼虫行动迟缓, 厌食。将病虫脂肪体解剖出来, 经戊二醛、锇酸双固定, 酒精系列脱水, 环氧树脂 618 包埋, LKB-2088V型超薄切片机制切片, 切片染色后在国产 D×A₄₋₁₀ 电镜上观察。对照健虫脂肪体也作同样处理。

结 果

杨毒蛾健虫脂肪体细胞有一卵圆形的核, 胞浆内线粒体及核糖体非常丰富并有大的脂滴。

本文于1988年5月26日收到。

感染三日的病虫脂肪体出现了明显的病变：起初细胞核肥大，核仁消失，核内充满颗粒状染色物质；胞浆内核糖体显著增加，出现一片片染色很浅的区域，其内充满纤维状物质，这时核膜的双层膜结构保持完好（图1）。

有些核内出现了病毒发生基质（virogenic stroma），它是电子致密结构或似染色质样网络，这种网络之间的区域染色较浅，可以看出病毒发生基质的周围存在有大量的核衣壳（图2）。

在病毒发生基质四周，核衣壳呈现排列和聚集的现象。有时切面上可以见到排列的粒子多达200多个，“蜂窝式”的排列也很常见。病毒粒子的长度约400nm，直径约为30~40nm。在纵切面上看，有些粒子内部含的DNA不大均匀，这可能与切制方向有关，在横切面上看，有些粒子不含DNA（图4），另外也常见到一些柔软的棒状物（图3）。

在病毒发生基质的四周，还可以看到病毒核衣壳获得套膜的过程。一般是几个核衣壳排列起来与一段膜结构接触，然后这段膜卷曲成弓形并封闭起来，完成包被。病毒的套膜为典型的双膜结构，每个病毒束内的粒子数不等，从横切面上看有的12—13粒，有的仅含1粒（图5）。

在获得套膜的病毒束附近，常可见到“生长中”的多角体。多角体由小长大，包埋的病毒束由少到多。在病毒束附近见到了致密的纤维质团块，有不少病毒束正在进入多角体（图6）。

有些病变细胞核中出现了大量的多角体，因而核的体积膨大了许多，向四周压挤胞浆，胞浆中出现了更大块的透明区域，内部充满大量纤维状物质，中间有电子致密的中隔（图8）。

多角体一般为三角形，有时为四边形，其直径约为2~3 μ ，由蛋白晶格组成，晶格间距约40 \AA ，在其间包埋的病毒束仍具双膜，病毒束的大小与游离的那些相比大小改变不大，每个多角体中包埋的病毒束从10~15个不等（图7）。

在多角体成熟后，其最外部有一层电子致密的膜。一个细胞切面上多角体可多达40~50个。

讨 论

关于病毒核衣壳从病毒发生基质上“生长”出来这一概念是没有疑问的，病毒发生基质可能含有衣壳蛋白，同DNA有关的内部蛋白（internal protein）或DNA本身，换句话说，所有的核衣壳成分都包含在病毒发生基质中^[2]。

在典型的核衣壳附近，常可看到有直径与其相仿的长棒。Harrap等人认为核衣壳可能是以长链方式合成的，以后由于蛋白质合成的改变以及核酸的随机卷曲而折断成棒状核衣壳的^[4]。

由病毒发生基质所产生的核衣壳以一定方式排列，Harrap没有提及这种排列^[4]，但在Howard.J所做的颗粒体病毒的复制观察中见到了类似的现象^[5]。现在尚不知是否所有的核衣壳都必须经过这一阶段。

关于病毒束内的粒子数目，一般认为单粒包埋和多粒包埋是种间的差异^[2]。在我们的

样品中,有些病毒束内仅有一个粒子,而且出现的机率不算太低。我们推测有时有单粒及多粒包埋同时存在的现象。但LsNPV绝大部分是属多粒包埋型的。然而,这一观察还不能排除在病毒束中由于粒子参差不齐以致在某一面上仅出现一个粒子的可能性(图9)。

关于病毒套膜的来源, Hughes (1972) 在组织培养细胞上观察家蚕NPV复制时提到过有一种短膜,他认为这种短膜不是原有的核膜成分而是重新合成的。我们也见到了这种类型的膜并推测这是即将包埋的病毒束的套膜的来源。Howard 证明颗粒体病毒的复制与内质网有关^[5], 但就 LsNPV 来说, 虽然我们所见的膜与内质网在形态上相仿, 但却是在核内出现的。

Chung, K.L. (1980) 发现核型多角体与纤维质团块有密切关系^[1], 他们拍到纤维状物与“生长”中的多角体表面连接在一起的照片, 认为这种纤维质团块就是多角体蛋白。它们下一步将会合并到多角体蛋白晶格中去。我们也在获得套膜的病毒束间见到了这种致密的纤维质团块, 但与他们不同的是, 我们在胞浆中发现了较大面积的电子透明区, 内部也充满纤维物质并有电子致密的中隔。究竟这两种纤维质团块有什么关系还不清楚。

Hudson, J.S (1979) 在一种核型多角体病毒感染的梨豆夜蛾幼虫中, 在感染的脂肪体细胞胞质中也见到了大量的纤维团区, 他推测这是一种过剩产物或废物。他认为必须对包含体蛋白的产生过程进行仔细的研究方可了解这种结构的意义。

参 考 文 献

- (1) 吴祖银等, 1980, 新疆农业科学 1期。
- (2) Smith, K.M., 1976, The polyhedrosis-Baculoviruses nuclear polyhedrosis in *Virus-Insect Relationship*, K.M.Smith ed, P3—41, Longman Inc, New York.
- (3) Granados, R.R., 1976, Insect pathogenic viruses in tissue culture, in *Advances in Virus Research* Vol.20, P205, M.A.Lauffer ed, Academic Press Inc (London)
- (4) Harrap, K.A., 1972, *Virology*, Vol 50, PP133—139
- (5) Howard, J., 1968, *J.Ultrast. Res.* Vol. 21, PP251—268.
- (6) Kelly, D.C., 1981, *J.Gen.Virol.* Vol. 52, PP209—219.
- (7) Chung, K.L., 1980, *J.Gen.Virol.* Vol. 48, PP335—347

Ultrastructure of Fat Body Cells of *Leucoma selicis* Infected with a Nuclear Polyhedrosis Virus

Li Wei-qi Wurnisha

(Xinjiang Institute of Chemistry, Academia Sinica, Urumqi)

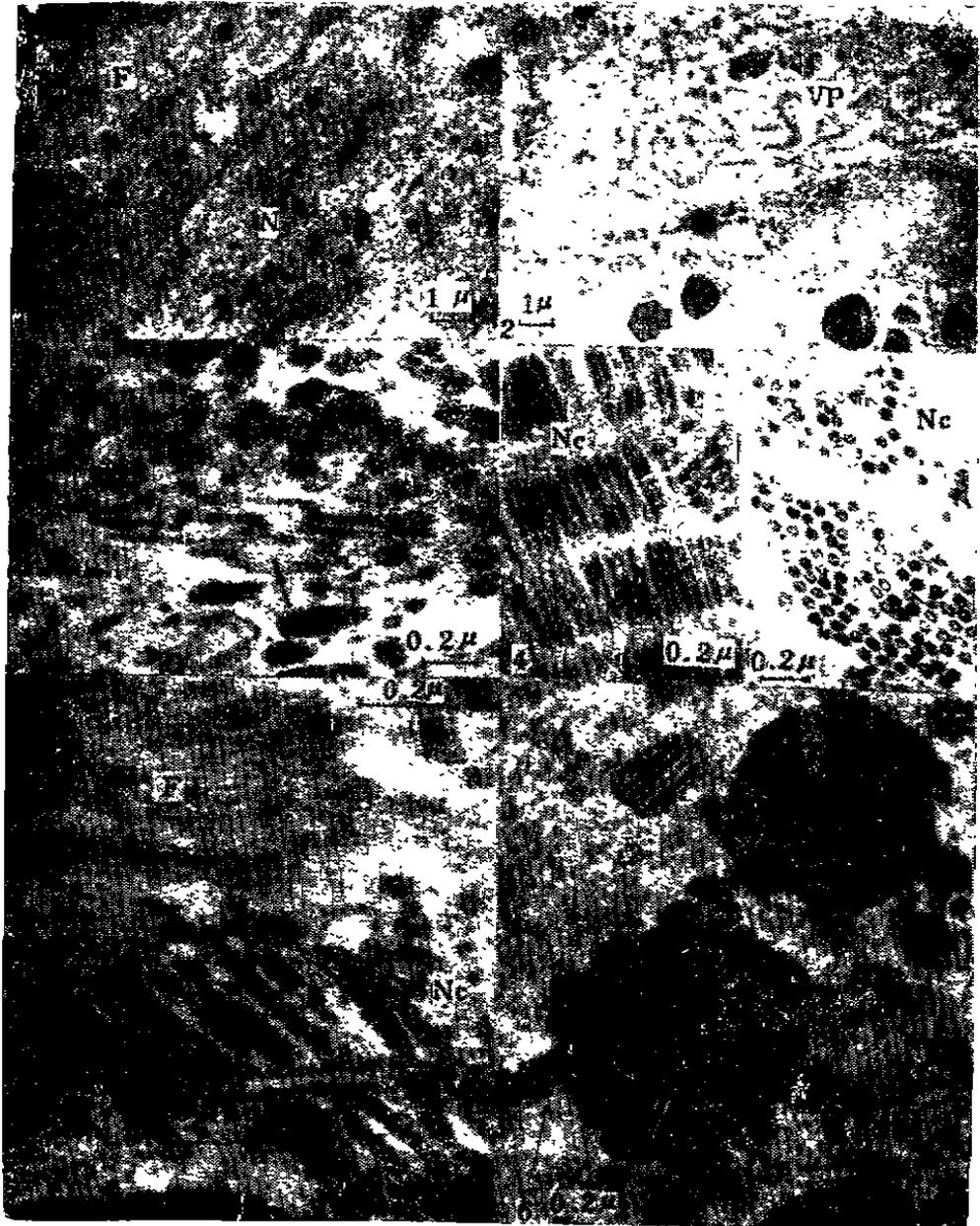
Wu Zu-ing Chen Lu

(Research Institute of Microbiology, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Urumqi)

The assembly processes of the *Leucoma selicis* NPV are observed by electron microscopy of sections of infected larval fat body cells. The synthesis and

envelopment of the virus nucleocapsid and stages in the formation of the polyhedral inclusion bodies are described. Bundles of fibrous material were seen in the nuclei and cytoplasm of cells containing polyhedral bodies. We also found that in the same polyhedron there are single and multiply embedded virus rods.

Key Words, *Leucoma selicis* nuclear polyhedrosis virus Infected fat body cells Morphogenesis Cytopathological change





图片说明 Illustration

- 图1 感染早期,核扩大,某些纤维物质出现在胞浆中。N、胞核、F、纤维物质
Fig.1 At early infection the nucleus enlarges greatly. Some fibrous material appears in cytoplasm. N: Nucleus, F: Fibrous material
- 图2 一个深度染色的网状物质形成并充满核(病毒发生基质)两个多角体在病毒胞浆中,从这网状结构上产生出病毒棒。Vp,病毒发生基质
Fig.2 A network of darkly staining material has formed which fills the nucleus (virogenic stroma). Two polyhedria appear inside it. It is in this network virus rods are formed. Vp, Virogenic stroma
- 图3 长的核衣壳样棒出现在胞浆中,我们假定它们将被“掐断”成核衣壳。(↗)
Fig.3 Long nucleocapsid-like rods appear in cytoplasm. We assume that it will be cut down and nucleocapsids appear.(↗)
- 图4 核衣壳随机地排列在核中,某些核衣壳不含DNA。(Ne)
Fig.4 Nucleocapsids aggregate randomly in the nucleus. Some nucleocapsids do not contain DNA in their cross sections.(Ne)
- 图5 核衣壳在一“短膜”上排列,获得套膜(Nc)。核中有纤维质团块(F)。
Fig.5 Nucleocapsids arrange on a short membrane to get envelope. Mass of fibres passes through the nucleus(F).
- 图6 多粒包埋的发育中的多角体。
Fig.6 Section of developing polyhedria with multiple-embedded virus rods.
- 图7 一个多角体,显示出晶格,病毒棒及膜,此时多角体外膜尚未形成。插图:晶格体放大像。
Fig.7 A polyhedron showing this crystalline lattice, the virus rod and its membrane, at this time the outer layer of particular matter have not formed, insert: high magnification of the crystalline lattice.
- 图8 存在于胞核及胞浆中的纤维质团块,在胞浆中的团块具有电子致密的中隔。(↗)
Fig.8 Mass of fibres exists both in nucleus and cytoplasm, the masses of fibres contain electron-dense interval.(↗)
- 图9 具有单粒及多粒包埋的多角体切片,病毒体可以是单粒包被(↗)或是成束包被的。
Fig.9 Section of polyhedron with single and multiple embedded virus rods, Virion may be enveloped in single or in group.