

## 异源病毒感染对银纹夜蛾血淋巴酯酶的影响

舒志群<sup>\*</sup> 徐旭士 朱志民

(南昌大学生物科学工程系, 南昌 330047)

龙繁新<sup>†</sup> 许琳

(广州中山大学昆虫研究所生物工程系, 广州 510275)

关键词 粉纹夜蛾核型多角体病毒, 感染, 银纹夜蛾, 血淋巴, 酯酶

昆虫病毒,

对染病昆虫酯酶同工酶(简称酯酶)的变化进行分析测定, 已成为了解病毒进入虫体靶器官后的病理生化变化以及病毒复制与虫体新陈代谢之间关系的重要途径之一, 这方面的报道<sup>[1]</sup>侧重于同源病毒——寄主系统的研究, 本研究则针对银纹夜蛾 (*Argyrogramma agnata*) 幼虫感染异源粉纹夜蛾核型多角体病毒 (TnNPV) 后血淋巴酯酶的变化进行了探讨。现将结果报告如下:

### 材料和方法

#### 1 材料

- 1.1 虫源 实验室内用半人工饲料饲养三代的健康银纹夜蛾五龄初幼虫。
- 1.2 毒源 由中山大学昆虫研究所生物工程系提供的已纯化的 TnNPV 病毒株。
- 1.3 幼虫血淋巴样品的制备 挑选五龄初健康幼虫, 以经  $1.2 \times 10^7$  PIBs/mL 多角体悬液浸渍的人工饲料喂食感染。于感染后 12、36、72、108 h (样品编号依次为 I<sub>1</sub>、I<sub>2</sub>、I<sub>3</sub>、I<sub>4</sub>) 按文献<sup>[2]</sup>的方法收集血淋巴, 另设相应时间的健康血淋巴作为对照 (样品编号依次为 C<sub>1</sub>、C<sub>2</sub>、C<sub>3</sub>、C<sub>4</sub>)。

#### 2 方法

- 2.1 聚丙烯酰胺凝胶电泳 (PAGE) 按文献<sup>[1]</sup>方法进行, 凝胶浓度分别为 5% 浓缩胶, 7% 分离胶。起始电流 18 mA, 待指示剂进入分离胶后调至 22 mA, 加样量为 8  $\mu$ L, 电泳时间约 1 h。
- 2.2 染色及固定 按文献<sup>[3]</sup>所述方法进行。
- 2.3 凝胶薄层扫描 电泳凝胶置于 CS-9000 双波长薄层扫描仪上进行线性扫描。参考波长  $\lambda_R = 540$  nm, 样品波长  $\lambda_S = 640$  nm。

### 结果和分析

#### 1 银纹夜蛾感染 TnNPV 后血淋巴酯酶电泳的变化

电泳图谱显示, 健康幼虫的酯酶带数大致为 6 条 (按迁移率由低→高依次为 EST-1~EST-6), 而染病幼虫的酯酶在 12 hpi (hours postinfection) 即减少至 4 条带, 其中健康幼虫的 EST-2、EST-6 在 12 hpi 消失, 直至 72 hpi 出现, 同时 EST-5 开始消失, 其他酶带没有增

收稿日期: 1996-07-11, 修回日期: 1996-10-23

\* 现在地址: 江西省水土保持研究所, 南昌, 330029

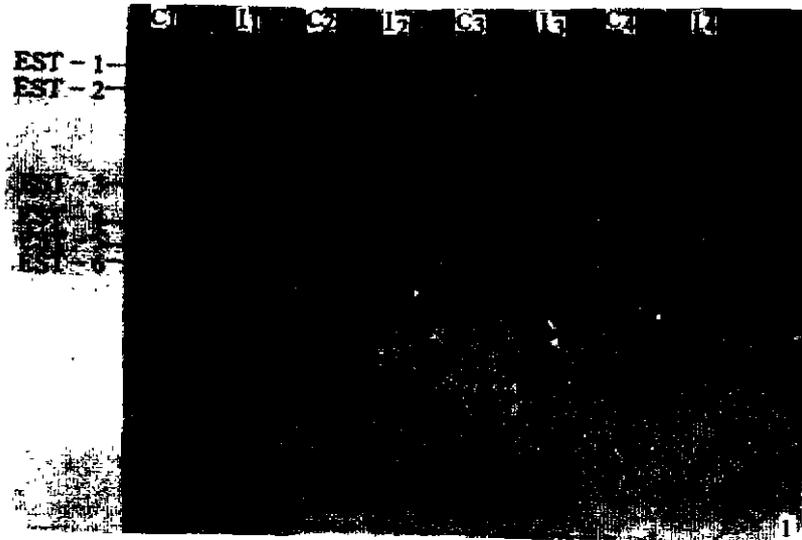


图1 五龄健康银纹夜蛾幼虫和感染粉纹夜蛾 NPV 后染病幼虫血淋巴酯酶的聚丙烯酰胺凝胶电泳图。C<sub>1-4</sub>:健康幼虫 12、36、72、108 h 的血淋巴酯酶电泳图;I<sub>1-4</sub>:染病幼虫 12、36、72、108 h 的血淋巴酯酶电泳图。

Fig. 1 Polyacrylamid gel electrophoresis (PAGE) of the esterases in the hemolymph of the healthy fifth instar larvae of *Argyrogramma agnata* and that of the infective ones after infection with *Trichoplusia ni* NPV. C<sub>1-4</sub>: PAGE of the healthy series at 12, 36, 72, 108 hours; I<sub>1-4</sub>: PAGE of the infective series at 12, 36, 72, 108 h postinfection.

减,分析认为这三条带对 NPV 感染比较敏感,可能具有特殊的病理生化意义。由此可知,感染后酯酶带不仅消失,而且发生在染病早期,这与油桐尺蠖 NPV 感染油桐尺蠖细胞的结果有所不同,其原因除由于病毒-寄主系统不同外,也揭示可能异源病毒在虫体内的复制和病毒-细胞作用方式与同源病毒的不同。

表1 血淋巴酯酶的相对含量

Tab. 1 The relative content of esterases in hemolymph

酶带 Zymogram	对照组 Control series				感染组 Infective series			
	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>	I <sub>1</sub>	I <sub>2</sub>	I <sub>3</sub>	I <sub>4</sub>
EST-1	663	669	984	789	40	53	330	761
EST-2	24	53	139	0	0	0	34	393
EST-3	1127	2068	3385	2649	155	683	1060	1727
EST-4	788	693	699	720	323	407	925	910
EST-5	527	126	120	138	69	105	0	0
EST-6	253	236	231	244	0	0	53	161

## 2 血淋巴酯酶凝胶的薄层扫描

按文献<sup>[1]</sup>中所述方法将扫描面积换算为酶的相对含量,并计算不同感染时间的染病幼虫各条酶带含量的相对变化值(I/C),结果分别列于表1和表2。

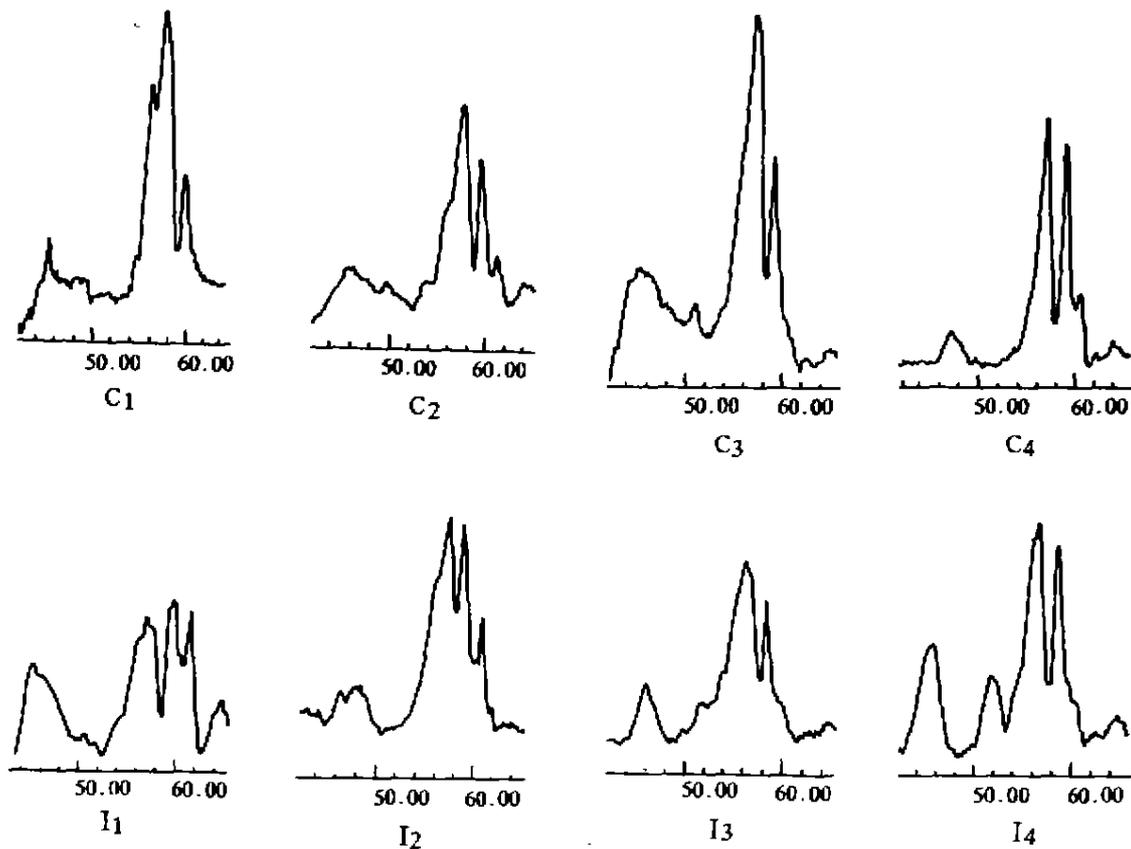


图 2 五龄健康银纹夜蛾幼虫和感染粉纹夜蛾 NPV 后染病幼虫血淋巴酯酶的薄层扫描图。C<sub>1</sub>-<sub>4</sub>: 健康幼虫 12、36、72、108 h 的血淋巴酯酶扫描图; I<sub>1</sub>-<sub>4</sub>: 染病幼虫 12、36、72、108 h 的血淋巴酯酶扫描图。

Fig. 2 Thin-layer scanning of the esterases in the hemolymph of the healthy fifth instar larvae of *Argyrogramma agnata* and that of the infective ones after infection with *Trichoplusia ni* NPV. C<sub>1</sub>-<sub>4</sub>: Thin-layer scanning of the healthy series at 12, 36, 72, 108 h; I<sub>1</sub>-<sub>4</sub>: Thin-layer scanning of the infective series at 12, 36, 72, 108 h postinfection.

表 2 染病幼虫血淋巴酯酶的相对变化值

Tab. 2 The I/C rate of esterases in hemolymph from infective series

	EST-1	EST-2	EST-3	EST-4	EST-5	EST-6
I <sub>1</sub> /C <sub>1</sub>	0.06	0	0.14	0.41	0.13	0
I <sub>2</sub> /C <sub>2</sub>	0.08	0	0.33	0.59	0.55	0
I <sub>3</sub> /C <sub>3</sub>	0.34	0.24	0.31	1.32	0	0.23
I <sub>4</sub> /C <sub>4</sub>	0.96	∞	0.65	1.26	0	0.66

两表综合反映了 TnNPV 的感染对银纹夜蛾酯酶的影响是比较显著的。其中, EST-4 的含量在染病后先降后升, 至 72 hpi 后含量成倍提高(132%)。除 EST-4 外, 其余各酶带含量在感染后 12 h 即低于对照组, 随着感染时间的延长, 这些酶带的含量逐渐增多, 但仍比同期对照组的低, 说明 TnNPV 对虫体血淋巴酯酶活性的抑制作用占优势, 但持续性有限, 这与虫体感染同源病毒后其酯酶代谢受抑制程度在后期表现更显著<sup>[1]</sup>有所差异。

## 参 考 文 献

- 1 徐旭士,张超英,谢天恩. BsNPV 感染油桐尺蠖及 Bs484 细胞的酯酶分析. 中国病毒学, 1994, 9(1):37-42
- 2 邓塔,蔡秀玉. 烟青虫核型多角体病毒的复制和染病后血淋巴蛋白的变化. 昆虫学报, 1993, 36(4):423-429
- 3 徐卫明,宋秋宝,姚鑫等. 小鼠胚胎组织、成体组织和胚胎瘤细胞酯酶同工酶谱的比较研究. 实验生物学报, 1985, 18(1):99-103

### The Effects on Hemolymph Esterases of *Argyrogramma agnata* after Infection with *Trichoplusia ni* NPV

Shu Zhiquan    Xu Xushi    Zhu Zhimin

(Department of Biology Science and Engineering of Nanchang University, Nanchang 330047)

Long Qixin    Xu Lin

(Biology Engineering Laboratory of Insects Institute of Zhongshan University, Guangzhou 510275)

After infection with *Trichoplusia ni* nuclear polyhedrosis viruses, the esterases in the hemolymph of the fifth instar larvae of the *Argyrogramma agnata* were examined by the polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) and thin-layer scanning. The results showed that TnNPV can inhibit the metabolism of the esterases at the early stages and the effects of heterologous NPV were different from those of homologous NPV.

**Key words** *Trichoplusia ni* NPV, Infection, *Argyrogramma agnata*, Hemolymph, Esterase