

核型多角体病毒的增殖与棉铃虫血淋巴酯酶的变化*

徐旭士^{1**} 赵贵军² 李飞¹ 刘润忠³ 张友清³ S435.622.2
S476.13¹(南昌大学生物学系, 南昌 330047)²(中山大学生物防治国家重点实验室, 广州 510275)³(中国科学院武汉病毒研究所, 武汉 430071)

关键词 棉铃虫, 血淋巴, 酯酶, 核型多角体病毒, EST

核型多角体病毒(NPV)对同源棉铃虫有很强的毒杀作用,是重要杀虫资源。病毒感染导致宿主代谢紊乱,引起一系列生化反应的变化,可通过一定方法观察到其表征,此为病毒感染的病理生化特征。昆虫血淋巴对于病毒感染引起的全身症状具有重要作用,并影响宿主物质和能量代谢的性质与水平,反映出病毒-宿主的互作关系。本文以血淋巴酯酶同工酶(EST)为感病指标,对其感染变化进行研究。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 供试病毒 棉铃虫核型多角体病毒,取自湖北仙桃磷肥厂生化分厂。

1.1.2 供试昆虫 棉铃虫三龄幼虫,由该厂提供,半人工饲料饲养。

1.2 实验方法

1.2.1 病毒感染 剂量为 2.5×10^3 PIBs/克饲料,一次性饲毒。

1.2.2 血淋巴电泳样品制备:按文献[1]的方法进行。对照组选取同数量的未饲毒幼虫,同法采样。样品标示: D为感病组, C为对照组,下标为采样时间。

1.2.3 凝胶电泳 按文献[2]所述进行。7.5%分离胶,4.0%浓缩胶。初始电压12 V/cm,样品进入分离胶后为15 V/cm,上样量为6 μ L。1.2.4 电泳凝胶染色与脱色 按有关文献操作^[3],制作干板供拍照和扫描。1.2.5 凝胶薄层扫描 岛津 CS-9000 线性扫描,参考波长 $\lambda_R = 385$ nm,样品波长 $\lambda_S = 480$ nm。酯酶条带数以扫描峰形数表示,条带含量以各个峰面积表征。

2 结果和分析

2.1 NPV 感染棉铃虫后血淋巴酯酶同工酶的变化

三龄幼虫感染 NPV 后 120 h 内 EST 凝胶电泳的变化及对照见图 1。电泳图谱显示,6 h

收稿日期: 1998-06-24, 修回日期: 1999-02-07

* 江西省自然科学基金资助项目

** 现在工作单位: 南京师范大学生物学系, 南京 210097

健虫有 10 条酶带(按迁移率由高到低依次为 1~10)。随发育与感染时间延长,部分酶带显示“消失/出现”变化,主要表现在前沿的 8、9、10 带和后滞的 1、2、3 带,分析认为这部分酶带对 NPV 感染较为敏感,其中 1、2、8、10 带在感染早期(6~12 hpi)即出现明显的变化,揭示 EST 具有特定的病毒感染的病理生化意义。而位于迁移中间的 6、7 酶带基本存在于感染和发育的全程,可见这二类酶为昆虫发育和病毒复制所必需,其代谢不受病毒感染的控制。结果还表明,感染组与对照组的同一电泳类型的酶带不存在迁移率的变化,提示 NPV 感染不影响 EST 的空间结构。

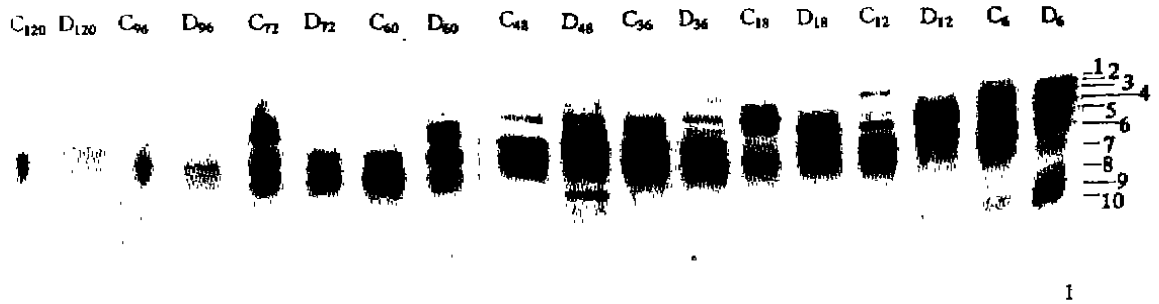


图 1 三龄健康棉铃虫幼虫和感染同源 NPV 后染病幼虫血淋巴酯酶的聚丙烯酰胺凝胶电泳图谱
D 为感染组, C 是健康组。

Fig. 1 PAGE of the esterases in the hemolymph of the healthy third instar larvae of *Helicoverpa armigera* and that the infective ones after infection with NPV
D, infection, C, control (the number is the time of gathering hemolymph from the larvae)

2.2 血淋巴 EST 电泳凝胶的薄层扫描

按文献[2]所述的方法将扫描峰的面积换算为酶的相对含量,有关结果与数据见图 2 和表 1(仅保留整数)。

表 1 血淋巴酯酶同工酶的相对含量变化(感染组|对照组)

Table 1 The changes of relative content of esterases in hemolymph (infection|control)

酶带 Bands	病毒感染时间(h) Hours postinfection with nuclear polyhedrosis virus									
	hpi	6	12	18	36	48	60	72	96	120
1	80 12	9 0	0 8	10 9	0 10	0 10	0 0	0 0	0 0	0 0
2	0 163	82 499	0 9	472 0	437 112	0 20	0 11	0 10	0 10	0 0
3	1024 657	10 0	0 369	0 0	185 297	116 0	0 0	0 0	0 0	0 0
4	1459 675	920 60	134 1057	230 338	320 283	90 0	0 982	0 0	0 0	0 0
5	1600 1067	1416 741	874 606	268 987	800 0	1267 0	176 1714	0 0	0 0	0 0
6	883 604	787 92	499 0	945 2083	249 2979	717 436	135 941	354 739	267 576	
7	615 880	76 74	45 38	18 15	650 1036	590 1753	120 478	90 446	24 354	
8	120 107	0 9	11 0	0 0	0 0	131 149	0 98	0 87	0 60	
9	116 108	0 0	0 66	0 18	86 0	115 0	0 0	0 0	0 0	
10	390 159	125 0	0 0	0 0	58 0	40 0	10 0	0 0	0 0	
Total	6287 4432	3425 1475	1563 2153	1943 3450	2785 4717	3066 2358	441 4224	444 1282	291 990	

从整个感染时间来看,病毒感染对 EST 的效应可分三种: 1) 感染刺激 EST 的表达,如 1、3、4、5、10 带; 2) 感染抑制酶的合成,具体为 2、7、8、9 带; 3) 中间类型,6 号带为此类。这种结果说明, NPV 感染对昆虫血淋巴 EST 的影响在不同的感染时间与酶带之间均不相同,提示

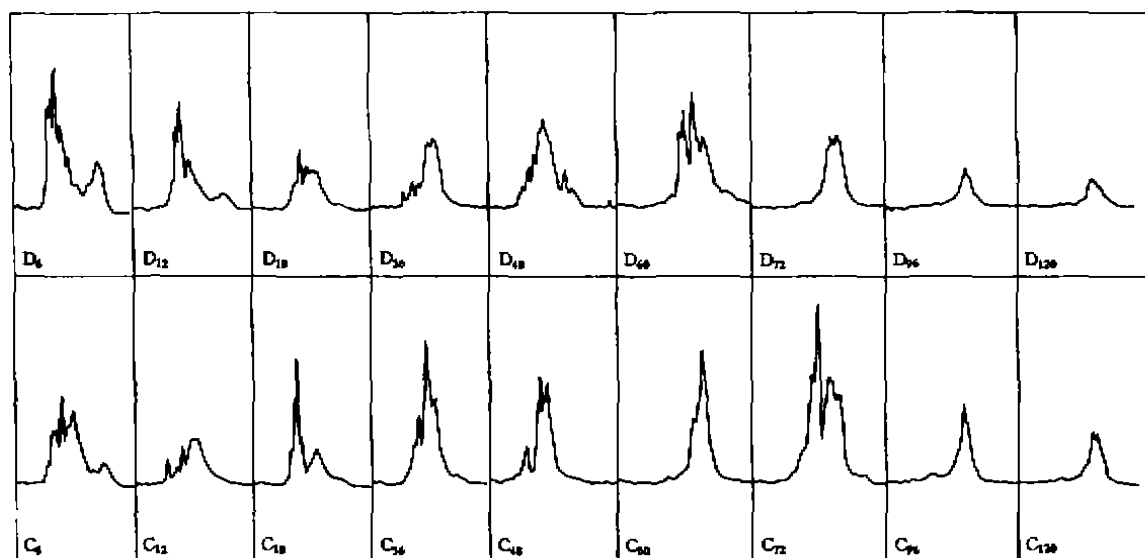


图2 酯酶同工酶带的薄层扫描

Fig. 2 The pattern of thin-layer scanning for esterases bands of PAGE

不同迁移类型的 EST 在 NPV 感染后的病理生化意义可能互异。各样品总的 EST 含量的变化规律表现为感染早期(6~12 hpi)的对照组含量低于感染组 0.4~0.7 倍,而感染中后期(18~120 hpi)的对照组却高于感染组 1.4~9.6 倍,可见 NPV 在感染前期对血淋巴 EST 的合成具有刺激作用,到中后期则严重抑制酶的表达。

参 考 文 献

- 1 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
- 2 徐旭士,张超英,谢天恩. BsNPV 感染油桐尺蠖及 Bs464 细胞的酯酶分析. 中国病毒学. 1994, 9(1): 37-42
- 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 Multiplication of Nuclear Polyhedrosis Viruses and Changes of Hemolymph Esterases in *Helicoverpa armigera* Larvae after Infection with NPV

Xu Xushi¹ Zhao Guijun² Li Fei¹ Liu Runzhong³ Zhang Youqing³

¹(Department of Biology, Nanchang University, Nanchang 330047)

²(State Key Labs for Biocontrol, Zhongshan University, Guangzhou 510275)

³(Wuhan Institute of Virology, Academia Sinica, Wuhan 430071)

Abstract By the polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) and thin-layer scanning, the es-

terases (EST) of the third instar larvae of the *Helicoverpa armigera* were investigated in quality and quantity after infection with nuclear polyhedrosis viruses (NPV). The changes in sort and content of hemolymph EST were examined at six hours postinfection and the numbers of EST bands were from more to less as develop and infective time in larvae. The varies in EST pattern between infection and control were not significant but the content of each band and the accumulation of EST were obvious. According to the changeable regularity in EST content of zymogram, the total and single content in diseased larvae always gradually decreased with passages of infective time but in the healthy larvae had no distinct changes. The results demonstrated that the infection with NPV could affect the EST metabolism in larvae hemolymph, and the metabolic changes may show the infective level and extent, therefore it had indicated function.

Key words *Helicoverpa armigera*, Hemolymph, Esterase, Nuclear polyhedrosis virus