

棉铃虫核型多角体病毒腹腔接种实验动物的研究

彭凤刚

(北京市农林科学院植物保护研究所,北京)

昆虫病毒的安全性研究,开始于美国对美洲棉铃虫 (*Heliothis zea*) 核型多角体病毒的研究。通过多种途径对脊椎动物进行实验,未发现对实验对象表现毒性、病原性及致癌性等^[1]。以后国内外对多种杆状病毒,包括国内对棉铃虫核型多角体病毒进行的研究,都获得了相同的结果^[2,3]。但近来,邢祖培等用甘兰夜蛾核型多角体病毒腹腔接种豚鼠后,在脏器细胞的细胞质中发现了多角体^[4]。本文报道用棉铃虫核型多角体病毒对裸鼠、地鼠、小白鼠腹腔接种的初步结果。

材料与方 法

(一) 毒种

棉铃虫核型多角体病毒由新疆农业科学院供给,经室内繁殖而来。

(二) 实验动物

裸鼠 (14—15g/只)、地鼠 (20g/只)、小白鼠 (12—14g/只) 购于中国生物制品研究所或中国药品生物制品检定所。棉铃虫由本所养虫室供给。

(三) 病毒提纯

取病毒致死幼虫加少量无菌水研磨,纱布过滤后差速离心,得到相对纯的多角体。然后经 30—60% 蔗糖梯度离心,取病毒层。洗糖后配成每毫升含 200 单位青链霉素悬液,显微镜下计数,冰箱保存备用。

(四) 接种方法与剂量

腹腔接种按常规方法进行。病毒剂量按 5×10^7 多角体/g 体重,接种裸鼠、地鼠; 5×10^6 多角体/g 体重接种小白鼠。各处理 2—3 只,同时设正常对照。接种后第 13、23、30、40d 进行解剖,取内脏(肝、脾、胰、肾)作回接实验。同时,取裸鼠内脏按常规方法作电镜超薄切片观察。

(五) 回接实验

分别取各种处理的鼠内脏,加少量无菌水研磨后,加足五倍内脏重量的水,制成悬液。用滴管吸取,滴于养虫盘的盘孔内饲料上,每孔 2—3 滴。

然后让 2—3 龄棉铃虫取食,每孔一头虫。每个处理 20—50 头,逐日观察记载,直至虫体死亡或化蛹。

结 果

(一) 回接实验

接种鼠内脏回接棉铃虫后第 6d 开始死亡,呈现核型多角体病毒的典型症状。取病死虫脓汁涂片,扫描电镜观察,发现典型的棉铃虫核型多角体病毒(图 1)。小白鼠内脏(接种后第 40d)悬液使虫体死亡率达 30% 以上;地鼠内脏(接种后第 30d)悬液使虫体死亡率达 90% 以上。而无菌水对照和正常小白鼠内脏对照未见病毒致死幼虫。

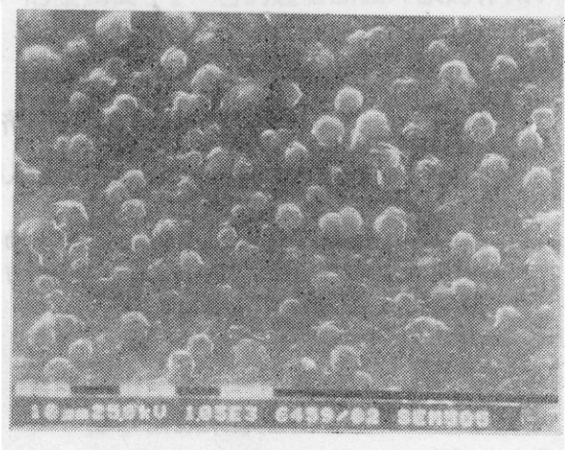


图 1 取食腹腔接种病毒的小白鼠内脏悬液病死虫脓汁

另外,对裸鼠(接种后第 13d)内脏作了 10 倍稀释实验。方法是把裸鼠的肝、脾按其重量的 10 倍加水研磨后,按 10 倍的倍比稀释悬液。用定量移液管吸取 0.1 ml 悬液滴于 $0.1 \times 1.5 \times 1.5$ cm 饲料表面。然后置于养虫盘内,让 2 龄棉铃虫取

本文于 1987 年 12 月 22 日收到。

承导师邢祖培指导;北京市卫生防疫站电镜室协助拍摄电镜照片,特此致谢。

食,记载死亡率,结果见表1。

由此看出,鼠内脏组织中多角体具有活性,由上表推算出每克组织中多角体含量小于接种量 5×10^7 多角体/g。

(二) 超薄切片电镜观察

在腹腔接种后 13d 和 23d 的裸鼠肝、脾细胞的细胞质中发现多角体(图 2、3)。

讨 论

昆虫病毒的安全性问题,人们已作了大量的



图2 腹腔接种病毒 13d 后的裸鼠肝细胞 (15,000 \times)

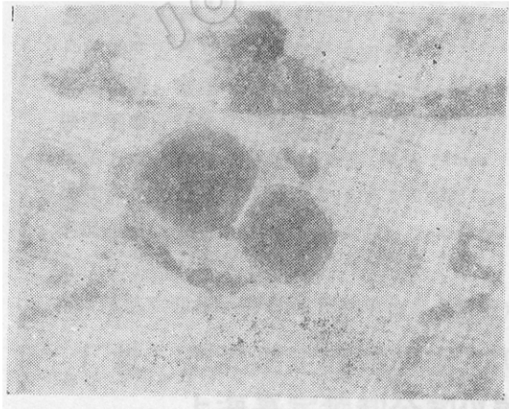


图3 腹腔接种病毒 13d 后裸鼠脾细胞 (17,000 \times)

表1 裸鼠腹腔接种后第 13d 肝脾回接 2 龄棉铃虫

稀 释 度	实验虫总数 (头)	病毒致死虫数 (头)	病毒致死率 (%)
10^{-1}	20	20	100
10^{-2}	18	13	65
10^{-3}	20	8	40
10^{-4}	24	1	4.2
10^{-5}	20	0	0

试验。本实验的动物接种后,活动正常,未发现异常表现。动物解剖后内脏也未发现特异性病变,这与前人的报道相同。但接种鼠内脏悬液回接靶虫可使虫体感染病毒病而死亡。说明昆虫病毒在实验动物中可以滞留,而且滞留期达 40d 以上。

昆虫病毒能否感染脊椎动物细胞,人们也已作了大量研究。许多研究结果表明,昆虫病毒不能进入脊椎动物细胞。但也有相反的例子,如: Volkman 等曾用苜蓿银纹夜蛾核型多角体病毒的病毒粒子,接种 30 多种脊椎动物离体细胞(包括 20 多种人的细胞)。一个星期后,在细胞质的液泡中发现了病毒粒子,但未发现病毒繁殖现象^[3]。本实验在整体裸鼠内脏细胞的胞质中发现了多角体,并且多角体可能具有活性。这与邢祖培等用甘兰夜蛾核型多角体病毒腹腔接种豚鼠后,在内脏细胞内发现多角体结果一致。这些多角体可能是内脏细胞吞噬了注射进的多角体,但也不能排除病毒繁殖后产生的新多角体。这些多角体对机体有何影响以及哺乳动物机体能否最后把病毒“消灭”等问题,还有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Greer, F. et al.: *Chemical Technology*, 6:342—347, 1971.
- [2] Burges, H. D. et al.: *Entomophaga*, 25(4): 329—340, 1980.
- [3] 袁砚修等: *微生物学报*, 9(3): 101—105, 1982.
- [4] 邢祖培: *华北农学报*, 2(4): 94—98, 1987.
- [5] Volkman, L. E. et al.: *Applied and Environmental Microbiology*, 45(3):1085—1093, 1983.

INTRAPERITONEAL INJECTION OF *HELIOTHIS ARMIGERA* NUCLEAR POLYHEDROSIS VIRUS INTO TEST ANIMALS

Peng Fenggang

(*Institute of Plant and Environmental Protection, Beijing Municipal Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Beijing*)

Heliothis armigera nuclear polyhedrosis virus purified by sucrose gradient centrifugation was injected into the peritonea of nude mice, golden hamsters and mice. On day 13, 23, 30, 40 postinjection, the animals were killed and internal organs (liver, kidney, spleen, pancreas) were taken out. The second or third instar *Heliothis armigera* larvae fed with homogenized internal organs showed the nuclear polyhedrosis and mortality was thirty percent.

Under the electron microscopy inclusion bodies could be found in the cytoplasm of liver cell and spleen cell of nude mice on day 13 and 23 postinjection.

Key words

Heliothis armigera; Nuclear polyhedrosis virus; Intraperitoneal injection