

油桐尺蠖核型多角体病毒接种几种脊椎动物细胞的试验

谢天恩 王录明 兰萍章

(中国科学院武汉病毒研究所,湖北)

利用昆虫病毒防治害虫,既要求有防虫效果,又必须考虑其安全性。油桐尺蠖核型多角体病毒对实验动物的致病性试验,已有报道^[1]。本文侧重于细胞水平,用油桐尺蠖核型多角体病毒接种鸡胚细胞、地鼠肾细胞及人胚肺细胞,观察病毒能否在细胞中增殖或引起细胞病理变化。

材料与方 法

一、油桐尺蠖核型多角体病毒悬液的制备

将病毒感染的油桐尺蠖幼虫,用 75% 乙醇浸泡 15 分钟,体表消毒。收集病虫血淋巴于离心管中(内加少量饱和苯基硫脲液),3000rpm 离心 30 分钟,取上层液并加入 Grace 液^[2],0.45 μ m 的微孔滤器过滤,除去多角体,制成 10⁻¹ 浓度的病毒悬液,经活性测定,对油桐尺蠖幼虫具有感染性。

二、细胞培养

鸡胚单层细胞是用孵化 9—10 天的鸡胚,按常规方法消化分离细胞,原代培养,培养液是在 199 液中加入 10% 的乳牛血清。地鼠肾细胞(武汉生物制品所赠)的培养液: Eagle 液 60%、牛肉水解液 28%、乳牛血清 10%。人胚肺原代单层细胞(武汉大学病毒系赠),培养液是在 199 液中加入 10% 的乳牛血清。以上三种细胞均在 37℃ 培养。油桐尺蠖血球细胞的培养是在 Grace 液中加入 10% 的乳牛血清,置 26℃ 培养。

三、病毒接种

细胞培养形成单层后,吸去旧培养液,用 Hanks 液各洗涤一次,每瓶细胞分别接种病毒悬液 0.1ml,于 26℃ 吸附作用 1 小时,之后再用 Hanks 液各洗涤一次,加入培养液,每瓶 2ml。对照组不接种病毒悬液。细胞分别置 26℃ 和

本文照片由我所电镜室协助拍摄,特此致谢。

37℃ 培养,每天镜检,5天后收集细胞,以 2.5% 戊二醛液和 1% 锇酸液固定,苯二甲酸二丙烯酯包埋,作超薄切片,再用醋酸双氧铀和柠檬酸铅两次染色,用 JEM-100C 电镜观察。

结果与讨论

1. 病毒接种于油桐尺蠖血球细胞后,细胞发生明显的变化,核膜边缘不整齐,且与细胞质分开,在细胞核中很容易观察到病毒增殖的不同阶段的形态,有病毒发生基质、核壳体、病毒粒子和多角体(图版 I-1)。

2. 病毒接种于鸡胚单层细胞、地鼠肾细胞、和人胚肺细胞,无论在 26℃ 或 37℃ 培养的,其细胞内均未观察到病毒粒子或多角体的形成,细胞无病理变化,细胞生长正常,与未接种病毒的对照组没有区别(图版 I-2—5,图版 II-6,7)。

3. 病毒接种于地鼠肾细胞后的第 5 天,将其细胞连续传代,共传代了 6 次,然后收集细胞作超薄切片,电镜观察,也没有看到病毒在细胞

内增殖的迹象,细胞生长与对照组一样正常(图版 II-8,9)。

上述结果表明油桐尺蠖核型多角体病毒接种于昆虫的血球细胞,具有高度的敏感性,但对鸡胚单层细胞、地鼠肾细胞及人胚肺细胞没有影响。

26℃ 是昆虫病毒增殖的适宜温度,而鸡胚细胞、地鼠肾细胞及人胚肺细胞生长繁殖的适宜温度是 37℃,基此,我们将已接种病毒的三种细胞,分别置 26℃ 和 37℃ 培养,但病毒在细胞中都不能增殖。

McIntosh 等^[3]曾用玉米夜蛾核型多角体病毒接种几种哺乳动物的培养细胞,都未检查出病毒的增殖和细胞病理变化,与我们的试验结果十分相似。

参考文献

- [1] 祝庆荃等: 中国茶叶, 4: 30—32, 1982。
- [2] Grace, T.D.C.: *Nature*, 195: 788—789, 1962。
- [3] McIntosh, A.H. et al.: *J.N. Y. Entomol. Soc.* 81: 175—182, 1973。