

Г. Х. ДРАМПЯН

ДАННЫЕ ЭЛЕКТРОННОМИКРОСКОПИЧЕСКОГО ИЗУЧЕНИЯ  
ПРОЦЕССОВ ПРОНИКНОВЕНИЯ И МОРФОГЕНЕЗА  
ВИРУСА ПОЛИЭДРОЗА В КЛЕТКАХ ГУСЕНИЦ  
HYPHANTRIA CUNEA DRURY

Изучалось развитие ДНК-геномного вируса ядерного полиэдроза в клетках гусениц американской белой бабочки *Hyphantria Cunea Drury*.

Обнаружено, что клетки могут инфицироваться невключившимися в белковое тело вирионами, а также вирионами, вышедшими из полиэдров в результате их разломов. В ядрах клеток последовательно выявлено образование нуклеокапсидов, формирование полигеномных вирионов и полиэдров. Как в ядрах, так и в цитоплазме зараженных клеток, обнаружены нитевидные структуры, являющиеся предшественниками белковых тел. Подобных структур в клетках неинфицированных гусениц не обнаружено.

Общеизвестно, что эпизоотии насекомых, вызванные полиэдрозом, сопровождаются их высокой смертностью. Следовательно, изучение процессов развития вируса полиэдроза в клетках гусениц опасного карантинного вредителя *Hyphantria Cunea Drury* представляет как научный, так и практический интерес. Этой проблеме посвящена данная работа.

*Материал и методика.* Гусениц 4, 5 возрастов инфицировали через корм 0,2 мл суспензии вирусов полиэдроза. Титр вируса составлял  $2,3 \times 10^5$  полиэдров в 1 мл. На 3, 5, 7 и 12-е сутки после заражения гусениц из гиподермы и жирового тела каждой особи брали по два кусочка, которые помещали в глютаральдегид на 60 мин, затем проводили дофиксацию по Шестранду в течение двух часов; кусочки обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и заключали в метакрилаты. Ультратонкие срезы получали на ультратоме ЛКВ-1800, окрашивали уранилацетатом и цитратом свинца. Препараты просматривали в электронном микроскопе JEM-6.

*Результаты и обсуждение.* Электронномикроскопическое исследование ультратонких срезов инфицированных клеток показало, что вирусы находятся в клетках на различных стадиях развития; с помощью определенных механизмов они передаются из клетки в клетку. Рассмотрим эти механизмы передачи и морфогенез вируса полиэдроза в клетках гусениц.

В экспериментальных исследованиях [2, 3, 4], посвященных вопросу проникновения и распределения инфекции в организме насекомых, зараженных кормлением, показано, что полиэдры вместе с пищей после заглатывания попадают в кишечник, где их белковые тела растворяются под воздействием щелочных секретов. Освободившиеся вирионы, проходя через поры перитрофной мембраны, попадают в зону столбчатых клеток кишечника. В ядрах этих клеток они размножаются, не включаясь в белковые тела. После высвобождения из разрушенных столбчатых кле-

ток кишечника вирионы проникают в клетки трахеального эпителия, гемолимфу, жировое тело и т. д. Нельзя не согласиться, что предполагаемая схема проникновения инфекции наиболее логична, но, по-видимому, не всегда и не во всех клетках кишечника вирионы, завершив свою репликацию, не включаются в белковые тела. Нами наблюдалась картина полного морфогенеза полиэдров в эпителиальной ткани кишечника. Прежде чем рассмотреть механизм передачи инфекции из клетки в клетку и морфогенез вируса в клетке, хочется отметить, что многие работы [1, 2, 5], в которых дана довольно полная картина самого морфогенеза, почти не касаются вопросов механизма передачи инфекции в клеточных популяциях. Изучение этого вопроса, как нам кажется, выявило бы некоторые сугубо специфические для этих вирусов стороны, отличающие их от вирусов позвоночных животных и человека.

Проведенные нами исследования ультратонких срезов клеток жирового тела и гиподермы показали, что инфекция в этих тканях передается из клетки в клетку в форме полигеномных вирионов (вместо термина «вирусные частицы, одетые оболочкой»), поступающих из двух источников: полигеномные вирионы, попавшие в межклеточное пространство из разрушенных клеток, где они не были включены в белковое тело, и полигеномные вирионы, высвободившиеся из находящихся в межклеточном пространстве зрелых полиэдров в результате их разломов в разных участках (рис. 1). Вероятно, это происходит под действием механического воздействия со стороны самих полигеномных вирионов. Во время исследований мы неоднократно наблюдали картины, свидетельствующие о подвижности нуклеокапсидов внутри оболочки. Можно предположить, что изгибы нуклеокапсидов с их последующим выпрямлением и всякого рода другие механические движения могут привести к разлому белкового тела полиэдра. В литературе имеются указания на наличие движения нуклеокапсида внутри оболочки [3]. Однако не исключено, что причины разломов могут быть и иные. Полигеномные вирионы, находящиеся в межклеточном пространстве, адсорбируются на клеточной мембране (рис. 2). В зоне соприкосновения вирусной оболочки с клеточной мембраной происходит разрыв обеих мембран (рис. 2), в результате чего нуклеокапсиды внедряются в цитоплазму клетки. В дальнейшем они располагаются у ядерной мембраны (рис. 3) и можно предположить, что либо нуклеокапсиды через поры мембраны проникают целиком в ядро с последующей депротенинизацией, либо в ядро проходит только нуклеиновая кислота. На ранних стадиях морфогенеза в ядре обнаруживается диффузно расположенная мелкозернистая масса, в зоне которой идет репликация генома вируса и последующее формирование нуклеокапсидных пучков (рис. 4). После накопления в этой зоне достаточного количества сформировавшихся нуклеокапсидов вокруг некоторых пучков начинает формироваться двухслойная оболочка (рис. 4, 8). Какова же природа этой оболочки? Мы не получили данных, указывающих на то, что оболочка вокруг пучков нуклеокапсидов является как бы продолжением одной из клеточных мембран, не выявлено, что при формировании она

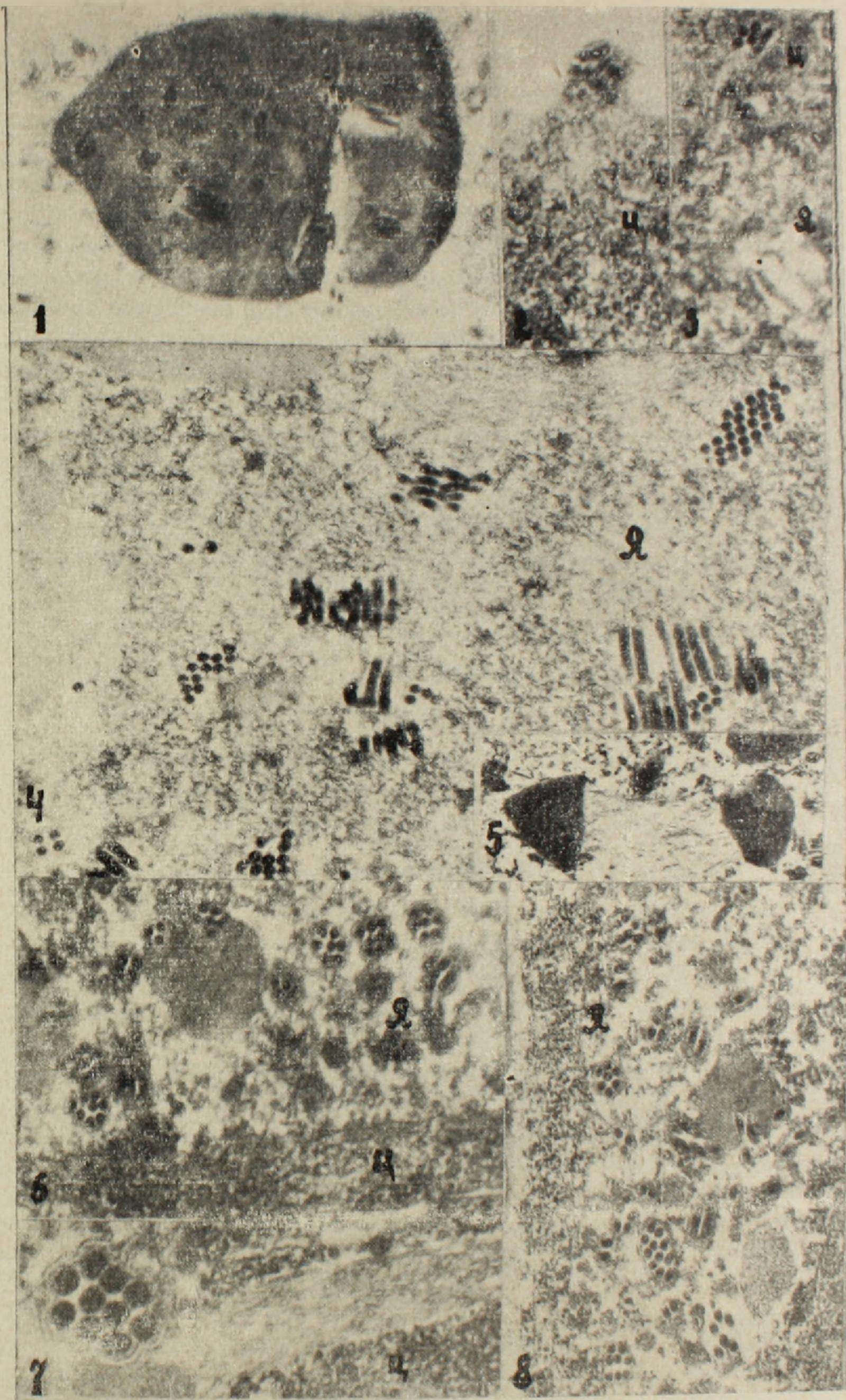


Рис. 1.  $\times 30000$ . Рис. 2.  $\times 35000$ . Рис. 3.  $\times 35000$ . Рис. 4.  $\times 40000$ .  
 Рис. 5.  $\times 8000$ . Рис. 6.  $\times 30000$ . Рис. 7.  $\times 120000$ . Рис. 8.  $\times 30000$ .

пространственно отделена от вируса. Исходя из фактического материала, можно сказать, что она образуется *de novo* лишь в тесной связи с нуклеокапсидами вируса (рис. 4, 8). Оболочка обычно включает в себя от 4 до 18 нуклеокапсидов. В этот период уже отчетливо выявляются в цитоплазме и ядре нитевидные структуры (рис. 4, 6), из которых в ядре формируются белковые тела (рис. 5). При морфологическом изучении общность белковых тел и нитевидных структур не вызывает сомнений (рис. 5). Только те полигеномные вирионы, которые полностью завершили свое развитие, включаются в белковые тела (рис. 6, 7). В ядре, даже после разрушения ее мембраны, на поздних сроках заражения можно обнаружить пучки нуклеокапсидов без оболочки. В основном эти пучки собираются в крупные кристаллоподобные образования, насчитывающие порой до 150 нуклеокапсидов. Ядро к этому моменту полностью разрушено, и зрелые полиэдры заполняют почти всю площадь клетки.

Изложенный материал позволяет заключить, что морфогенез вирусов насекомых в основном сходен с онтогенезом вирусов человека и позвоночных животных.

Институт эпидемиологии и микробиологии  
им. Н. Ф. Гамалеи АМН СССР, Москва

Поступило 3.IV 1973 г.

Գ. Խ. ԴՐԱՄԼՅԱՆ

**ՏՎՅԱԼՆԵՐ ՊՈԼԻԷԻՐՈՋԻ ՎԻՐՈՒՄԻ ՆԵՐԹԱՓԱՆՑՄԱՆ ՊՐՈՑԵՍԻ ԵՎ  
ՄՈՐՖՈԳԵՆԵԶԻ ԷԼԵԿՏՐՈՆԱՄԻԿՐՈՍԿՈՊԻԱԿԱՆ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅԱՆ  
ՎԵՐԱԲԵՐՅԱԼ ԹՐԹՈՒՌՆԵՐԻ ԲՋԻՋՆԵՐԻՄ**

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Ուսումնասիրվել է ամերիկյան սպիտակ թիթեռի (*Hyphantria cunea* Drury) թրթուռների բջիջներում կորիզային պոլիէդրոպի ԴՆԹ-գենոմային վիրուսի վարձացումը: Հյուսվածքների ցանկացած կտրվածքում, որոնք ֆիքսվել են վարակումից 3—12 օր հետո, հայտնաբերվել են վարակման տարբեր շրջաններում գտնվող բջիջներ: Հայտնաբերված է, որ բջիջները կարող են վարակվել վիրիոններով՝ չընդգրկված սպիտակուցային մարմինների մեջ և դուրս եկած պոլիէդրերից նրանց մասնատման հետևանքով: Բջիջների կորիզներում հետևողականորեն հայտնաբերվում է նուկլեո-կապսիդների գոյացում, պոլիգենոմային վիրիոններ և պոլիէդրեր ձևավորում: Վարակված բջիջների ինչպես կորիզներում, այնպես էլ ցիտոպլազմայում հայտնաբերվել են թելանման ստրուկտուրաներ, որոնք հանդիսանում են սպիտակուցային մարմինների նախորդողները: Նման ստրուկտուրաներ չվարակված թրթուռների բջիջներում չեն հայտնաբերվել:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Bird F. T. Can. J. Microbiol., 10, 49, 1964.
2. Cunningham J. C. Can. J. Microbiol., 17, 1, 69, 1971.
3. Larrap K. A. Virol. 42, 311, 1970.
4. Harrap K. A., Robertson J. S. J. Gen. Virol., 3, 2, 221, 1968.
5. Injac M., Vago C., Duthoit J—L., Veyrunes J—C. C. r. Acad. Sci., d273, 3, 439, 1971.