

昆虫质型多角体病毒的研究进展^{*}

贺倩^{**} 刘小侠 张青文^{***}

(中国农业大学农学与生物技术学院昆虫系 IPM 与植物抗虫性实验室 北京 100193)

Progresses of insect cytoplasmic polyhedrosis virus. HE Qian^{**}, LIU Xiao-Xia, ZHANG Qing-Wen^{***} (*IPM & Plant Resistences Lab, College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193, China*)

Abstract Cytoplasmic polyhedrosis viruses (CPVs) belong to the genus *Cypovirus* in the family Reoviridae, and are divided into 19 distinct electrophoretotypes on the basis of variation in the electrophoretic migration patterns of genome segments. They are unique within the Reoviridae family in having a single-layer capsid contained within a polyhedrin inclusion body, yet being fully capable of cell entry and endogenous RNA transcription. CPVs can attack 221 insect hosts causing chronic infections. Great progress has been made in sequencing CPV genomes. The genome of two type 1 CPVs from *Bombyx mori*, type 1 and type 14 from *Lymantria dispar* and type 15 from *Trichoplusia ni*, have been fully sequenced and deposited in GenBank. These sequences provide more genetic information for studying the evolutionary relationship and origins of cypoviruses. This paper summarizes recent research on the structure, infection characteristics, genome characteristics of CPVs and their possible future applications.

Key words cytoplasmic polyhedrosis virus (CPV), structure, molecular biology, biocontrol

摘 要 质型多角体病毒 (Cytoplasmic polyhedrosis virus, CPV) 隶属呼肠孤病毒科 Reoviridae 质型多角体病毒属 *Cypovirus*, 通常基因组由 10 个节段双链 RNA 构成。RNA 分子量为 3~27 u。根据病毒基因组 dsRNA 片段在聚丙烯酰胺或琼脂糖凝胶中电泳图谱的差异, 目前 CPV 已被分为 19 个电泳型。不同于呼肠孤病毒科其它成员, CPV 为单层衣壳, 而不是常见的双层衣壳结构, 衣壳蛋白主要由衣壳蛋白、大突起蛋白及塔式突起蛋白组成。大部分质型多角体病毒引起昆虫慢性疾病, 造成寄主死亡或适应性降低。随着 RNA 病毒基因序列测定技术的成熟, 质型多角体病毒的序列测定方面取得较大进展, 目前 GenBank 核苷酸序列数据库中已经公布了家蚕 *Bombyx mori* CPV 电泳型 1 两个株系 (H 株和 I 株)、舞毒蛾 *Lymantria dispar* CPV 电泳型 1、舞毒蛾 CPV 电泳型 14 及粉纹夜蛾 *Trichoplusia ni* CPV 电泳型全基因组序列, 为该病毒的进化与起源的研究提供更多的遗传信息。本文从结构功能、侵染特点、基因组特点及应用前景等方面综述了昆虫质型多角体病毒的研究进展。

关键词 质型多角体病毒, 结构, 基因序列, 生防

质型多角体病毒 (Cytoplasmic polyhedrosis virus, CPV) 属于呼肠孤病毒科 Reoviridae 质型多角体病毒属 *Cypovirus*^[1], 1934 年, 由 Ishimori 在患病家蚕 *Bombyx mori* 中肠细胞的细胞质中首次观察到^[2]。昆虫质型多角体病毒在昆虫细胞质内增殖, 具有蛋白质包涵体, 侵染昆虫中肠细胞, 宿主范围相对较广, 约 250 种, 其中 80% 为鳞翅目, 16% 为双翅目, 3% 为膜翅目, 1% 为鞘翅目和脉翅目^[3]。感染质型多角体病

毒的昆虫死亡周期较缓慢, 一般为 3~18 d 乃至更长。但在病虫患病期间, 病毒不断随粪便排出, 感染其它健康虫, 感病幼虫繁殖能力下

^{*} 资助项目: 国家“973”项目 (2006CB102006) 和“支撑”计划项目 (2006BAD08A07-5)。

^{**} E-mail: heqian0418@163.com

^{***} 通讯作者, E-mail: zhangqingwen@263.net

收稿日期: 2009-11-13, 修回日期: 2010-03-09

降,同时,它可经卵传递给下一代,在害虫种群中形成病毒流行病,从而有效的控制害虫的数量^[4]。有些 CPV 能侵染不同种、不同属甚至不同科的昆虫^[5]。但是目前为止,还没有发现 CPV 能侵染脊椎动物或植物^[6]。

1 昆虫质型多角体病毒的分型、命名与颗粒结构

病毒粒子通常含有由 10 dsRNA 构成的基因组^[7],但 *Trichoplusia ni* cypovirus type 15 (TnCPV-15), *Antheraea mylitta* cypovirus type 4 (AmCPV-4) 基因组由 11 个 dsRNA 构成^[8-10],继 Arella 等^[8]发现 *Bombyx mori* cypovirus type 1 (BmCPV-1) 的第 11 个 RNA 即 small polyhedron gene segment (SP), Kotani 等^[11]使用不同方法提取 BmCPV-1 的 RNA,发现了第 12 个 RNA,但是未对新发现的 RNA 做功能等方面的研究。病毒基因组 RNA 分子量为 3 ~ 27 u。根据病毒基因组 dsRNA 片段在聚丙烯酰胺或琼脂糖凝胶中电泳图谱的差异,目前 CPV 已被分为 19 个电泳型^[12,13],电泳型之间至少有 3 个基因节段的迁移率不同。病毒基因组 dsRNA 片段杂交分析与病毒结构蛋白血清学比较,都证实这一分类系统是可行的。到现在为止,已经有超过 230 种质型多角体病毒以此为分类依据而被描述。

目前 CPV 的命名包括基因组电泳型与其原始宿主名。这是由于尽管有些昆虫与某种特殊 CPV 类型呈现专一的相互关系,然而却能被不同 CPV 类型感染,如舞毒蛾 *Lymantria dispar* 能被 CPV-1 型、11 型和 14 型感染,粉纹夜蛾 *Trichoplusia ni* 能被 CPV-5 型和 15 型感染。

得益于结构生物学与信息处理等新技术的运用与发展,包括 X 射线晶体衍射、低温电镜与三维重构术,呼肠孤病毒结构方面已取得突破性进展。CPV 的蛋白质包涵体一般为四边形、六边形等,大小为 0.5 ~ 10 μm ,由单一的多角体蛋白组成。病毒粒子为球状正二十面体。采用冰冻电镜和计算机三维重构技术研究 CPV 病毒颗粒表明,不同于呼肠孤病毒科其它

成员,CPV 为单层衣壳,而非常见的双层衣壳结构,它的衣壳蛋白主要由三种结构蛋白组成,分别是衣壳蛋白 CSP (Capsid shell protein)、大突起蛋白 LPP (Large project protein) 及塔式突起蛋白 TP (Turrent protein)^[13],这些突起结构,尤其是 TP 上的 79 个氨基末端残基对病毒的复制起到关键作用^[14,15]。Zhou 等^[16]最近对 CPV 8Å 分辨率结构进行了研究,揭示 CPV 单一衣壳蛋白除了具有封闭 dsRNA 基因组与保护转录酶活性外,同时进化为具有结构蛋白的作用,其功能同于其它 dsRNA 病毒的外层衣壳。Yu 等^[17]利用低温电子显微技术在 3.88 Å 分辨率上研究了 CPV 衣壳蛋白的三维结构,在与基因组 RNA 直接作用的区域中观察到 α -螺旋与 β -发卡结构之间的构想改变,同时发现了 CPV 特有的 mRAN 加帽结构和 mRAN 释放孔。

2 质型多角体病毒对昆虫的侵染

昆虫质型多角体病毒宿主范围相对较广,一般引起寄主慢性疾病,并且具有明显区别核型多角体病的症状。质型多角体病毒混合发生在自然界中广泛存在,另外在实验室内发现了大量交叉感染的现象。

2.1 昆虫质型多角体病毒病的典型病症

昆虫质型多角体病的典型病症,与核型多角体病毒病显著不同,感病幼虫食欲减退,取食量显著下降;生长缓慢,发育延长而不整齐;行动迟缓,在粪便和呕吐物中包含大量多角体;至后期幼虫死亡或者勉强完成发育;解剖死后不久的幼虫,可以看到消化道不是正常状态的透明,而是呈淡黄色或乳白色;虫体死后仍保持完好,皮肤坚韧不易触破^[18]。

2.2 质型多角体病毒对昆虫的影响

大部分质型多角体病毒引起昆虫慢性疾病,造成寄主死亡或适应性 (fitness) 降低,包括繁殖能力、蛹重和后代生存率降低从而有效控制寄主的种群数量^[19]。粉纹夜蛾 1 龄幼虫和 4 龄幼虫对 CPV 的敏感度不同,相比较而言,前者的死亡率高,后者的死亡率较低。同时被感染幼虫与健

康幼虫相比,推迟了 5 d 化蛹^[20]。Sikorowski 和 Lawrence^[21]研究了 CPV 对烟芽夜蛾 *Heliothis virescens* 的侵染,结果表明,除了预蛹期外,所有虫态能被 CPV 感染,并且虫龄越小越敏感。Sikorowski 等^[22]在 1992 年报道用被感染 CPV 的西南玉米螟 *Diatraea grandiosella* 幼虫或蛹的血淋巴喂食烟芽夜蛾幼虫,(36 ± 10) d 后,烟芽夜蛾开始出现感染症状,与被喂食 CPV 多角体而患病的烟芽夜蛾幼虫相比,两者的症状没有差别。当被饲喂混有 *Helicoverpa armigera* cypovirus type 5 (HaCPV) 的人工饲料时,棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 幼虫尤其是 1 龄幼虫的生长发育被推迟并且蛹重显著下降^[23]。

2.3 质型多角体病毒的混合发生

质型多角体病毒的混合发生在自然界中很常见。1978 年,苏德明等从棉铃虫分离出棉铃虫质型多角体病毒,从 dsRNA 的电泳图谱来看,是一个 CPV 的混合物^[24]。1996 年 Belloncik 等^[25]利用细胞系培养从 HaCPV 分离到了一种 HaCPV-type A。这种病毒的核酸电泳图谱与 type 1、type 12 类似,但是能发现至少有 3 个条带有明显区别,因而被命名为 HaCPV-14。武汉大学病毒研究中心的 Yang 等将从中国分离到的 HaCPV 饲喂给棉铃虫,通过改变棉铃虫饲养条件,分离到了 HaCPV-5,这一结果得到基因测序的确认^[26]。在中国安徽和广东马尾松毛虫 *Dendrolimus tmnctatus* 上分离的马尾松毛虫质型多角体病毒为 DsCPV-1 和 DsCPV-2 的混台物^[27]。Graham 等^[13]于 2006 年从冬尺蠖 *Operophtera brumata* 中分离到了 2 种 CPV,即 OpCPV-18 和 OpCPV-19。

2.4 质型多角体病毒的交叉感染及其复制机制的分析

昆虫质型多角体病毒的交叉感染在 20 世纪 90 年代到 21 世纪初之间曾吸引不少学者的关注。虽然对交叉感染的现象做了大量观察研究,但对其机制至今不甚明了。

例如 HaCPV 北京株可以成功地交叉感染家蚕,然而即使 HaCPV 北京株在蚕体连续增殖多代,其基因组电泳谱一直稳定显示为

BmCPV-1 型;一旦回接棉铃虫,获得的 CPV 基因组电泳谱又呈 HaCPV 北京株类型^[18]。DsCPV-1 感染棉铃虫幼虫所得病毒的多角体,与其感染马尾松毛虫得到的病毒多角体在形状上没有明显的区别,但基因组 dsRNA 电泳图谱与 DsCPV-1 的明显不同,呈现棉铃虫 CPV 病毒的类型;回接松毛虫后,病毒又恢复为 DsCPV-1 的类型^[28]。

昆虫 CPV 交叉感染的复制机制较为复杂,可能是异源病毒诱发了宿主自身潜伏型病毒的活化复制;就 HaCPV 北京株对家蚕的交叉感染与回接的实验结果来看,有关交叉复制的解释至少还有一种:HaCPV 北京株是一个遗传上异质的复合体,其中包含 BmCPV-1 在内。当此异质复合体共感染家蚕时,BmCPV-1 以家蚕为原始宿主或最适宿主在复制时处于优势,而 HaCPV 在家蚕中作为次要病毒与 BmCPV-1 共复制,但在量上被优势病毒所掩盖。此观点被基因组电泳结果证实^[18]。

3 昆虫质型多角体病毒的复制与转录

近年来运用 X 射线晶体衍射及低温电镜与三维重构术,对呼肠孤病毒核心蛋白与完整颗粒结构高分辨率的解析,不仅揭示了呼肠孤病毒核衣壳蛋白所具有的转录酶活性,同时阐明了内源性 RNA 转录与调节的结构基础。

质型多角体病毒被寄主吞食后,被中肠碱性消化液溶解,释放出 CPV 病毒粒子进入肠腔。病毒粒子吸附在中肠上皮组织柱状细胞微绒毛表面,病毒 dsRNA 经病毒粒子的突起注入细胞质,并向细胞核移动,在细胞外留下空壳^[29]。子代病毒核酸在核内复制,病毒粒子则在细胞质内装配成熟。

CPV 转录与复制因脱壳而激活,然后进行单链(Single stranded, ss) RNA 的转录,整个转录过程在亚病毒颗粒中进行,由病毒核心携带的 RNA 依赖性 RNA 聚合酶(RNA-dependent RNA polymerase, RdRp)和其它复制酶的共同作用,以全保留方式进行。

为进一步揭示转录酶同底物 RNA/产物

mRNA 相互作用方式 ,Xia 等通过对 CPV 完整的与空的衣壳的 13Å 分辨率密度图谱分析 ,获得了病毒颗粒中心高度螺旋的 dsRNA 与内衣壳位点转录酶蛋白形成的锥型环绕转录酶复合物 (TEC)模型 ,提出了 RNA 复制与转录过程的模板移动机制^[30]。早期的生物化学与结构研究认为 ,dsRNA 模板在 TEC 作用下转录获得新生的 mRNA ,然后通过 TP 塔式突起蛋白加帽后运送到寄主细胞质。Xia 等^[30]获得 CPV 新的结构信息 ,勾画了在活性转录中允许内部基因组排序的详细的逐级转录机制。在静态时 ,RNA 基因组负链的 3' 与 TEC 接触形成转录起始复合物;转录一旦开始 ,位于衣壳蛋白上的解旋酶结构域解开 dsRNA 两条链 ,这样负链 RNA 得以插入 TEC 内小的 RNA 结合缝隙 ,在位于 RNA 聚合酶附近的 RNA 结合结构域负链与正链汇合形成二聚物。在延伸处理过程中 ,TEC 提供了结构框架引导新形成的 dsRNA 产物向衣壳中心域帽化酶连接 ,接着新合成的 mRNA 通过 TP 塔式突起释放。这一机制为 dsRNA 病毒高效有序的内源性 RNA 转录提供了依据^[17,31]。

4 质型多角体病毒的基因组序列分析、同源性分析与进化研究

质型多角体病毒分子生物学开始于 20 世纪 80 年代 ,落后于杆状病毒分子生物学的发展 ,但近年来已取得较大进展 ,也是质型多角体病毒的研究热点之一。

1988 年 ,日本首次报道了家蚕质型多角体

病毒 (BmCPV) 基因组第 10 片段的核苷酸序列 ,经过十几年研究 ,于 2002 年完成了其基因组 10 个片段的全序列测定。马尾松毛虫质型多角体病毒 (*Dendrolimus tmnctatus* cypovirus , DpCPV-1) 是我国 1973 年首次分离得到的一种质型多角体病毒 ,OpCPV-1 江西株 (OpCPV-JX) 多角体蛋白基因 (AF318306) 和 NS5-蛋白基因 (AY173076) 的核苷酸序列以及 S8 (AF513912) 全基因序列先后被测定^[32-34]。目前 GenBank 核苷酸序列数据库中已经公布了 BmCPV-1 两个株系 (H 株和 I 株)、*Lymantria dispa* cypovirus type 1 (LdCPV-1) ,LdCPV-14、*Trichoplusia ni* cypovirus type 15 (TnCPV-15) 和 *Helicoverpa armigera* cypovirus type 5 (HaCPV-5 , Chinese strain) 全基因组序列^[35]。

BmCPV 是目前研究较多的昆虫质型多角体病毒 ,基因组及其编码蛋白的主要特性研究较其它昆虫 CPV 更为详尽 (表 1)。BmCPV-1 依据其多角体的形状及其在细胞内形成的部位分为 I、H、P、A、B、B1、B2、C1 和 C2 9 个株系 ,其中 H 株为野生型 ,其它 8 个株为突变型。一些 dsRNA 病毒包括蓝舌病毒和轮状病毒编码产生的蛋白具有 RNA 结合功能 ,它们或者参与复制过程包括转录和包装 ,或者在 RNA 转运、修饰和翻译过程中发挥重要作用^[36]。如由 *Dendrolimus punctatus* cypovirus 1 (DpCPV-1) 的 RNA 片段 S6 和 S8 分别编码的结构蛋白 VP4 和非结构蛋白 p44 就具有重要的 RNA 结合作用^[37]。

表 1 家蚕质型多角体病毒电泳型 1 H 株基因组及其编码蛋白

基因组节段	碱基数 (bp)	编码的蛋白	氨基酸数 (个)	参考文献
S12	647	未知	未知	[10]
S11	321	未知	未知	[8]
S10	944	多角体蛋白	248	[8]
S9	1 186	非结构蛋白 NS5	320	[38]
S8	1 328	非结构蛋白 p44	390	[39]
S5	2 852	多肽 p101	881	[40]
S4	3 262	结构蛋白 VP3	1 057	[41,42]
S3	3 846	未知	1 293	[42]
S2	3 854	RNA 依赖性 RNA 聚合酶	1 225	[43]
S1	4 190	结构蛋白 VP1	1 333	[42]

质型多角体病毒 RNA 片段两端具有保守的序列,比如家蚕质型多角体病毒 10 个 dsRNA 片段的末端相同^[44],也就是 5'端具有 AGTAAA 保守序列,3'端具有 GTI'AGCC 保守序列,此为所有电泳 I 型的质型多角体病毒的共同特征,也是与其它各型 CPV 的一个重要的差别。由于 CPV 的每个片段均靠与病毒结合的 RNA 聚合酶形成复制酶模板,因此在 CPV 的每个片段末端都出现的保守序列,推测可能是基因组转录、mRNA 翻译、双链片段复制和正确装配成病毒粒子的识别位点^[4]。比如 HaCPV-5 3'端的保守序列 AUG 被推测是质型多角体病毒 RNA 转录起始最重要的位点^[35]。

不同电泳型的 CPV 之间未发现有明显 RNA 序列同源性^[45,46],但同一电泳型的 CPV 基因组序列及其编码蛋白的氨基酸序列有较高的同源性,其中多角体蛋白基因高度相似。如 BmCPV-1 与 LdCPV-1 对应节段的 RNA 序列同源性为 81%~90%、对应蛋白的同源率为 82%~97%。质型多角体病毒进化和起源的进一步探讨,需要更多的遗传信息,目前获得的基因序远远不能满足其需求。

5 质型多角体病毒的应用与展望

昆虫病毒由于宿主特异性高,既不直接损害天敌,也不干扰作物生理,可以认为是一类不破坏环境的害虫防治因素^[18]。

利用昆虫病毒防治害虫的研究早在 19 世纪末就已开展了。杆状病毒杀虫剂应用最成功的例子是巴西的黎豆夜蛾 *Anticarsia gemmatilis* NPV,它在近 100 万公顷的大豆上应用^[47]。

我国已进入田间试验应用的昆虫病毒种类中 85% 为杆状病毒,不到 15% 为质型多角体病毒和其它病毒^[47]。从发病快、宿主域狭等方面考虑,一般认为杆状病毒是较理想的生物杀虫剂,但杆状病毒本身的特性也决定了它在应用中的种种问题,比如在日光直射下病毒稳定性不够好;从施用病毒到害虫死亡前的潜育期内,病虫取食量几乎不减少等等。

质型多角体病毒有其自身的生防潜力。首

先,使病虫取食量明显减少,有利于减轻病虫当代对作物的为害程度;其次,病虫传毒能力强,被病毒感染的幼虫,不断随虫粪排出病毒,有利于病毒在害虫种群内水平传播;再次,带病期长,延长了排毒时间,增强了病毒水平传播的作用,而且由于病虫取食量不多,因此并不会因为带病期长而大量增加当代为害程度;最后,质型多角体病毒具有强烈的经卵传染能力,而垂直传播是病毒后效作用的基础^[18]。

病毒杀虫剂的杀虫速度慢,因此研究其与其它药剂或助剂的混用是必然的。其中 Bt 所具有的优势使得它成为与昆虫病毒混用的最佳选择品种之一。研究得最多的昆虫病毒与 Bt 混用是 DpCPV 与 Bt 混用。林业防治中将 DpCPV 与 Bt、白僵菌混用是较为常见的生物防治手段。Marzban 等^[23]在室内测定了 Cry1Ac 和 HaCPV 对 1 龄、3 龄棉铃虫的致死和弱化作用,发现 Cry1Ac (0.3 $\mu\text{g/g}$) 与 HaCPV (6×10^6 、 1×10^7 和 3×10^7 PIB/mL) 各浓度混合时,对棉铃虫幼虫生长的抑制呈现增效作用。

所有这些都表明,使用 CPV 作为控制害虫种群数量的手段,具有其独特的优点,是完善有害生物综合治理体系的理想选择之一。

参 考 文 献

- 1 Mertens P. P. C., Areila M., Attoui H. Reoviridae. In: Van Regenmortel M. H. V., Fauquet C. M., Bishop D. H. L., et al. (eds.). Virus Taxonomy. Classification and Nomenclature of Viruses. Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Academic Press, 2000. 395~480.
- 2 Aruga H. Cytoplasmic polyhedrosis of the silkworm historical, economical, and epizootiological aspects. In: Aruga H., Tanada Y. (eds.). The cytoplasmic-polyhedrosis virus of the silkworm. University of Tokyo Press, Tokyo, Japan, 1971. 3~21.
- 3 Hukuhara T., Bohami J. R. Reoviridae. In: Adams J. R., Bohami J. R. (eds.). Atlas of Invertebrates. Boca Raton, FL: CRC Press, 1991. 393~430.
- 4 Mertens P. P. C., Rao S., Zhou H. Cypovirus, Reoviridae. In: Fauquet C. M., Mayo M. A., Manilo V. J., et al. (eds.). Virus Taxonomy, VIIIth Report of the ICTV. Elsevier/Academic Press, London, 2004. 522~533.

- 5 赵同海,陈昌洁,徐静,等. 松毛虫质型多角体病毒的宿主域与交叉感染. 昆虫学报, 2004, **47**(1):117~123.
- 6 Bellonick S. Cytoplasmic polyhedrosis virus-Reoviridae. *Adv. Virus Res.*, 1989, **37**:173~209.
- 7 Payne C. C., Mertens P. P. C. Cytoplasmic polyhedrosis virus. In: Joklik W. K. (ed.). *The Reoviridae*, Plenum Press, London, 1983. 425~504.
- 8 Arella M., Lavalle C., Bellonick S. Molecular cloning and characterization of cytoplasmic polyhedrosis virus polyhedrin and a viable deletion mutant gene. *J. Virol.*, 1988, **62**(1):211~217.
- 9 Qanungo K. R., Kundu S. C., Mullins J. I., et al. Molecular cloning and characterization of *Antheraea mylitta* cytoplasmic polyhedrosis virus genome segment 9. *J. Gen. Virol.*, 2002, **83**:1483~1491.
- 10 Rao S., Carner G. R., Scott S. W., et al. Comparison of the amino acid sequences of RNA-dependent RNA polymerases of cypoviruses in the family Reoviridae. *Arch. Virol.*, 2003, **148**(2):209~219.
- 11 Kotani E., Hayashi Y., Sugimura Y., et al. Identification of novel double-stranded RNA produced in midgut epithelial tissue of the silkworm, *Bombyx mori*, during infection by a cypovirus 1. *J. Insect Biotechnol. Sericology*, 2005, **74**:29~34.
- 12 Shapiro A., Green T., Rao S., et al. Morphological and molecular characterization of a cypovirus from the mosquito *Uranotaenia sapphirina* (Diptera: Culicidae). *J. Virol.*, 2005, **79**(15):9430~9438.
- 13 Graham R. I., Rao S., Possee R. D., et al. Detection and characterization of three novel species of reovirus (Reoviridae), isolated from geographically separate populations of the winter moth *Operophtera brumata* (Lepidoptera: Geometridae) on Orkney. *J. Invertebr. Pathol.*, 2006, **91**(2):79~87.
- 14 Ikeda K., Nakazawa H., Shimo-Oka A., et al. Immobilization of diverse foreign proteins in viral polyhedra and potential application for protein microarrays. *Proteomics*, 2006, **6**:54~66.
- 15 Coulibaly F., Chiu E., Ikeda K., et al. The molecular organization of cypovirus polyhedra the molecular organization of cypovirus polyhedra. *Nature*, 2007, **446**:97~101.
- 16 Zhou Z. H., Zhang H., Jakana J. Cytoplasmic polyhedrosis virus structure at 8 Å by electron cryomicroscopy: structural basis of capsid stability and mRNA processing regulation. *Structure*, 2003, **11**(6):651~663.
- 17 Yu X. K., Jin L., Zhou Z. H. 3.88 Å structure of cytoplasmic polyhedrosis virus by cryo-electron microscopy. *Nature*, 2008, **453**:415~419.
- 18 吕鸿声. 昆虫病毒分子生物学, 第1版第2次印刷. 北京: 中国农业出版社. 2001. 411~442.
- 19 Dwyer G., Dushoff J., Yee S. H. The combined effects of pathogens and predators on insect outbreaks. *Nature*, 2004, **430**:341~345.
- 20 Vail P. V., Hall I. M., Gough D. Influence of a cytoplasmic polyhedrosis on various developmental stages of the cabbage looper. *J. Invertebr. Pathol.*, 1969, **14**(2):37~244.
- 21 Sikorowski P. P., Lawrence A. M. *Heliothis* cytoplasmic polyhedrosis virus and its effect upon microbial contaminant-free *Heliothis virescens*. *J. Invertebr. Pathol.*, 1994, **63**(1):56~62.
- 22 Sikorowski P. P., Luttrell R. G., Lawrence A. M. Inapparent infection of *Diatraea grandiosella* by *Heliothis virescens* cytoplasmic polyhedrosis virus. *Entomophaga*, 1992, **37**(3):347~351.
- 23 Marzban R., He Q., Liu X. X., et al. Effects of *Bacillus thuringiensis* toxin Cry1Ac and cytoplasmic polyhedrosis virus of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (HaCPV) on cotton bollworm (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Invertebr. Pathol.*, 2009, **101**(1):71~79.
- 24 苏德明, 乐云仙, 陈梅琴, 等. 棉铃虫质型多角体病毒病的研究, 复旦学报(自然科学版), 1978, **17**(1):74~78.
- 25 Bellonick S., Liu J., Su D., et al. Identification and characterization of a new cypovirus, type 14, isolated from *Heliothis armigera*. *J. Invertebr. Pathol.*, 1996, **67**(1):41~47.
- 26 Yang L., Li T., Yanqiu L., et al. Identification and genome characterization of *Heliothis armigera* cypovirus types 5 and 14 and *Heliothis assulta* cypovirus type 14. *J. Gen. Virol.*, 2006, **87**(2):387~394.
- 27 赵同海, 陈昌洁. 松毛虫 CPV 不同分离株的基因组电泳图谱. 昆虫知识, 2004, **41**(3):212~216.
- 28 陈昌洁, 王志贤, 陶粮, 等. 利用棉铃虫为宿主增殖松毛虫质型多角体病毒. 林业科学研究, 1990, **3**(3):263~265.
- 29 Zhang H., Zhang J., Yu X., et al. Visualization of protein-RNA interactions in cytoplasmic polyhedrosis virus. *J. Virol.*, 1999, **73**(2):1624~1629.
- 30 Xia D., Sun Y. K., McCrae M. A., et al. X-ray powder pattern analysis of cytoplasmic polyhedrosis virus inclusion bodies. *Virology*, 1991, **180**(1):153~158.
- 31 方勤, 丁清泉. 呼肠孤病毒内源性转录的结构基础. 中国病毒学, 2004, **19**(5):535~539.
- 32 杜建宇, 张珈敏, 郭海涛. 马尾松毛虫质型多角体病毒多角体蛋白基因的 cDNA 克隆及序列分析. 中国病毒学,

- 2001, **16**(1):350~354.
- 33 文力 张珈敏 王琼. 马尾松毛虫质型多角体病毒 NS5 蛋白基因的 cDNA 克隆及序列分析. 中国病毒学, 2003, **18**(1):49~53.
- 34 胡建芳 张珈敏 杨娟. 单引物法扩增马尾松毛虫质型多角体病毒基因组第 8 片段及其序列分析. 中国病毒学, 2003, **18**(1):39~43.
- 35 Tan L., Zhang J., Li Y., et al. The complete nucleotide sequence of the type 5 *Helicoverpa armigera* cytoplasmic polyhedrosis virus genome. *Virus Genes*, 2008, **36**(3):587~593.
- 36 Chen W., Hu Y., Li Y., et al. Characterization of the RNA-binding regions in protein p36 of *Heliothis armigera* cypovirus 14. *Virus Res.*, 2007, **125**(2):211~218.
- 37 Zhao S. L., Liang C. Y., Zhang W. J., et al. Characterization of the RNA-binding domain in the *Dendrolimus punctatus* cytoplasmic polyhedrosis virus nonstructural protein p44. *Virus Res.*, 2005, **114**(3):80~88.
- 38 Hagiwara K., Tomita M., Nakai K., et al. Determination of the nucleotide sequence of *Bombyx mori* cytoplasmic polyhedrosis virus segment 9 and its expression in BmN4 cells. *J. Virol.*, 1998, **72**(7):5762~5768.
- 39 Hagiwara K., Tomita M., Kobayashi J. Nucleotide sequence of *Bombyx mori* cytoplasmic polyhedrosis virus segment 8. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1998, **247**(3):549~553.
- 40 Hagiwara K., Kobayashi J., Tomita M., et al. Nucleotide sequence of genome segment 5 from *Bombyx mori* cypovirus 1. *Arch. Virol.*, 2001, **146**(1):181~187.
- 41 Ikeda K., Nagaoka S., Winkler S., et al. Molecular characterization of *Bombyx mori* cytoplasmic polyhedrosis virus genome segment 4. *J. Virol.*, 2001, **75**(2):988~995.
- 42 Hagiwara K., Rao S., Scott S. W., et al. Nucleotide sequences of segments 1, 3 and 4 of the genome of *Bombyx mori* cypovirus 1 encoding putative capsid proteins VP1, VP3 and VP4, respectively. *J. Gen. Virol.*, 2002, **3**(6):1477~1482.
- 43 Sun J., Dai W., Yang Y., et al. Cloning, expression and location of the RNA-dependent RNA polymerase gene from *Bombyx mori* cypovirus 1. *Chin. J. Agr. Biotechnol.*, 2005, **2**(3):213~218.
- 44 Kuchino Y., Nishimura S. Homologous yermal dequence in the fouble-stuanded RNA henome segments of Cytoplmmc polyhedrosis virus of the silkworm *Bombyx mori*. *J. Virol.*, 1982, **44**(2):538~543.
- 45 Nibert M. L., Schiff L. A. Reoviruses and their replication. In: Knipe D. M., Howley P. M. (eds.). *Fields Virology*. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2001. 1679~1728.
- 46 Altschul S. F., Madden T. L., Schaffer A. A., et al. Gapped BLAST and PSIBLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic. Acids. Res.*, 1997, **25**(17):3389~3402.
- 47 Moscardi F. Asessment of the application of baculoviruses of control of Lepidopter. *Annu. Rev. Entomol.*, 1999, **44**(1):257~289.
- 48 胡远扬. 昆虫病毒研究的回顾与展望. 中国病毒学, 2004, **19**(3):303~308.