

油桐尺蛾核型多角体病毒 *lef-8* 基因结构及系统进化分析

罗 辑^{1,2}, 周国英^{1*}, 朱积余²

(1. 中南林业科技大学林学院, 湖南 长沙 410004; 2. 广西壮族自治区林业科学研究院, 广西 南宁 530002)

摘要: *lef-8* 基因作为杆状病毒重要的早期表达基因, 编码病毒 RNA 聚合酶的最大亚基。本文通过对油桐尺蛾核型多角体病毒 *lef-8* 基因进行测序, 对其基因结构及其在杆状病毒中的系统进化进行了分析。发现 *lef-8* 基因在油桐尺蛾核型多角体病毒中编码区长 2 634 bp, 编码 877 个氨基酸。在 5' -UTR 区具有可能为其启动子及转录起始位点的信号序列, 在 3' -UTR 区具有加尾信号序列, 但这些序列的具体功能还有待进一步研究。其蛋白序列与常见的模式 NPV 同源性较低, 但具有共同的签名序列。通过对杆状病毒 *lef-8* 基因的系统进化分析, 发现颗粒体病毒和核型多角体病毒明显分为两支, 而核型多角体病毒中又明显分为 4 个分支, 其进化关系在很大程度上与其寄主的进化关系相关。

关键词: 油桐尺蛾; 核型多角体病毒; 杆状病毒; *lef-8* 基因; 基因结构; 系统进化

中图分类号: S763.3

文献标识码: A

The Structural and Phylogenetic Analysis of Late Expression Factor 8 (*lef-8*) Gene in *Buzura suppressaria* Nuclear Polyhedrosis Virus

LUO Ji^{1,2}, ZHOU Guo-ying¹, ZHU Ji-yu²

(1. College of Forestry, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, Hu'nan, China; 2. Guangxi Zhuang Autonomous Region Forestry Research Institute, Nanning 530002, Guangxi, China)

Abstract: Late expression factor 8 (*lef-8*) gene is an early expression gene, and codes the largest subunit of RNA polymerase in baculovirus. The authors sequenced the *lef-8* gene of *Buzura suppressaria* nuclear polyhedrosis virus (BsNPV). It had 2 634 bp coding region and encoding 877 amino acid residues. Some signal sequences were found in untranslated region (UTR): possible promoter and transcription initiation site were found in 5' -UTR, and a putative polyadenylation signal sequence was found in 3' -UTR. But whether they had substantial function needs further research. The protein sequence of *lef-8* gene in BsNPV was low homologous to model NPVs. But they had nearly the same signal sequence. By phylogenetic analysis of *lef-8* gene in baculovirus, it was found that the nuclear polyhedrosis virus (NPV) and the granulosis virus (GV) was separated obviously to two branches, while the NPV broke into 4 branches. And evolutionary relationship in baculovirus was largely associated with its host.

Key words: *Buzura suppressaria*; nuclear polyhedrosis virus; baculovirus; *lef-8* gene; gene structure; phylogenetic analysis

油桐尺蛾 (*Buzura suppressaria*) 作为我国南方重要的林业害虫, 每年都对林业生产造成严重的损

失^[1]。油桐尺蛾核型多角体病毒 (*Buzura suppressaria* nuclear polyhedrosis virus, BsNPV) 能专一性的侵

收稿日期: 2014-04-23

基金项目: 中国博士后科学基金资助项目(2014M552533XB); 广西林科院博士后专项资金项目(林科 2013 号); 广西林科院基金项目(林科 201401 号)

作者简介: 罗 辑(1985—), 男, 湖南长沙人, 博士后, 主要从事森林病虫害研究。

* 通讯作者: 教授, 博士生导师, E-mail: gyzhou2118@163.com

染油桐尺蛾,对其起到生物防治的作用,是很有潜力的生物农药。其属于核型多角体病毒,是杆状病毒的一大分支,对宿主具有较高的特异性^[2]。其研究最早是在20世纪70年代,中国科学院武汉病毒所在湖北蒲圻羊楼洞茶场以及四川新胜茶场,发现油桐尺蛾自然患病幼虫,倒挂而死。经分离鉴定确认为油桐尺蛾核型多角体病毒感染^[3]。在此之前该病毒在世界范围内尚未见报道,为我国首次报道命名^[4]。此后,武汉病毒所对油桐尺蛾核型多角体病毒的形态结构^[5]、毒力测定^[6-7]、病毒的核酸^[8]、蛋白及血清学性质^[9-10]等进行了研究,为其在实际生产中的应用奠定了一定的基础。

RNA 转录相关基因是很重要的一类基因,因为病毒侵染和增殖过程中需要的酶都需要从病毒基因组转录,而转录所需要的酶一方面来自宿主的转录酶,另一方面需要病毒基因组编码的转录酶参与。与转录相关的酶中,最重要的就是核型多角体病毒的 RNA 聚合酶,其由多个基因编码。*lef-8* 就是编码病毒 RNA 聚合酶最大亚基的基因,另外3个亚基分别由 *lef-4*、*lef-9*、*p47* 三个基因编码^[11-12]。这几个基因特别是 *lef-8* 和 *lef-9* 在不同种类的核型多角体病毒中具有一定的保守性,能够作为鉴定病毒种类的依据^[13]。因此本文对油桐尺蛾核型多角体病毒 *lef-8* 基因进行了测序及序列分析,并与杆状病毒进行了比较。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 供试昆虫 油桐尺蛾于2013年7月采集于广西壮族自治区来宾市忻城县。于实验室内用桉树叶饲养,人工气候箱控制温湿度及光照:温度控制在 $28 \pm 1^\circ\text{C}$,光周期 L:D = 16:8,湿度在幼虫期为 $40 \pm 5\%$,蛹及成虫期为 $80 \pm 5\%$ 。

1.1.2 供试病毒 油桐尺蛾核型多角体病毒从广西南宁市六里林场采集的油桐尺蛾上分离保存。

1.2 方 法

1.2.1 病毒的增殖 选取生长状态相同的油桐尺蛾四龄幼虫,单条置于培养皿中饥饿24 h,用喷有油桐尺蛾核型多角体病毒悬液的桉树叶饲喂,待其发病死亡后收集虫尸。

1.2.2 病毒的纯化 将收集的虫尸置于研钵中,加适量 PBS (pH 7.4) 缓冲液研磨。用夹有一层棉花的纱布过滤,4℃ 差速离心,收集沉淀。沉淀用 0.1% SDS 洗涤后,用少量 PBS 重悬。再用 30%~65% 蔗

糖连续梯度离心,收集病毒带,PBS 洗涤后 4℃ 保存。

1.2.3 病毒 DNA 提取 向病毒悬液中加入等体积碱解液 ($0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Na}_2\text{CO}_3$, $0.17 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaCl}$, $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ EDTA}$, pH 10.8), 37℃ 保温至澄清。加入 10% SDS 至终浓度为 0.5%,加入蛋白酶 K,至终浓度 $0.25 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,55℃ 保温 3 小时。酚氯仿抽提后溶于 TE 中,置于 -20℃ 备用。

1.2.4 引物合成和 PCR 扩增 引物由上海立菲生物技术公司合成:

lef8-F:TAACACATAACCCCCCAACAAAAC

lef8-R:GCACAACCATCTGAGTTACATACTT

PCR 体系为病毒 DNA 20 ng,引物 ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 各 1.6 μL ,2 (Taq PCR MasterMix 25 μL ,反应体系 50 μL 。反应条件 94℃ 预变性 3 min;94℃ 变性 20 s,58℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 3.5 min,35 个循环;72℃ 延伸 10 min,4℃ 保存。1.5% 琼脂糖凝胶电泳后切胶回收后送上海立菲生物技术公司测序。

1.2.5 系统进化分析 在 NCBI 上搜索杆状病毒 *lef-8* 基因,下载具有全长的所有序列,用 MEGA 6.0 对其编码的蛋白进行比对分析。用 Neighbor-Joining 法构建系统进化树。

2 结果与分析

2.1 基因序列与结构

通过测序及拼接分析,最终得到了一个 3 771 bp 的片段 (GenBank accession: KJ685549,图 1)。该片段中编码区 2 634 bp,5' 非编码区 (5'-UTR) 626 bp,3' 非编码区 (3'-UTR) 511 bp。*lef-8* 基因序列中富含 A、T 碱基,编码区 AT 含量高达 61.20%,3' 及 5' UTR 区 AT 含量也在 61% 左右。

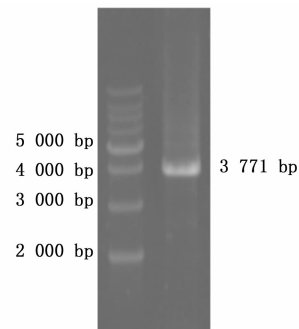


图 1 油桐尺蛾核型多角体病毒 *lef-8* 基因电泳图

在该片段的非编码区中,能够发现一些病毒基因的结构序列 (图 2)。5'-UTR 中具有可能的启动子序列。在起始密码子上游 528 bp 处为 CAGT 序

列,此序列被认为是杆状病毒早期 RNA 聚合酶 II 转录起始位点^[14];在起始密码子上游 96 bp 处为 GATA 序列,此序列则被认为是宿主转录因子特异性结合的位点^[15];起始密码子上游 486 bp 处有 TATAA 序列,起始密码子上游 428 bp 处有 CATT 序列,两序列之间相隔 53 bp,这两个序列的组合为可能的 TATA 启动子区^[16]。3'-UTR 中能找到可能的加尾信号序列 ATTA^[17],其位于终止密码子下游 27 bp 处。

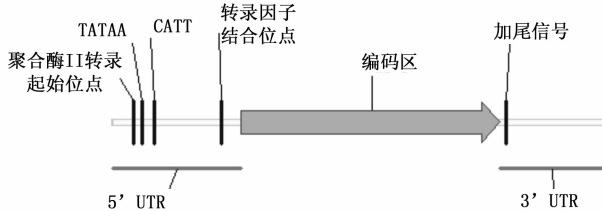


图 2 油桐尺蛾核型多角体病毒 *lef-8* 基因的结构

2.2 蛋白序列与结构

lef-8 基因编码 877 个氨基酸,分子量约为 102.3 KD,等电点为 8.97。在 PSIPRED 网站 (<http://bioinf.cs.ucl.ac.uk/psipred/>) 预测其二级结构,发现其大部分区域均为无规卷曲,占到总数的 56.4%,而 β 折叠(29.9%)约为 α 螺旋(13.7%)的两倍。在 PROSITE 网站 (<http://prosite.expasy.org/scanprosite/>) 预测蛋白的特征序列,发现其 719 ~ 731 氨基酸处的蛋白序列 GVKICGVHGQKGV 为 RNA 聚合酶 β 链的签名序列。其与常用的模式核型多角体病毒相比,同源性不高,均在 60% 左右,其与家蚕核型多角体病毒 (*Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus, BmNPV) 和苜蓿银纹夜蛾核型多角体病毒 (*Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus, AcNPV) 的 LEF-8 同源性均为 61%,而与黄杉毒蛾核多角体病毒 (*Orgyia pseudtsugata* nuclear polyhedrosis virus, OpNPV) 同源性只有 57% (图 3)。

BsNPV	MTDVTVD FNEL YDNL KQ. KYSFVF YLNC VNKTN. NNTSFKSLQERKSYLCCVVDVPGVHCVDLHKCLPWFPGTFLDSDRPH. . . DTKEMSDVRCGTFMIDGRN	96
AcNPV	MTDVTVD FNEL YDRLEN. KYKLYTFDCATNSN. ERMFLFCATQERKSYLCCALNEQLNCVMMHKCVFVIFGTRLDKQFRET. DQVDANMNINGTFMLDGRF	97
BmNPV	MTDVTVD FNEL YDKLEN. KYKLYTFDCATNNNER ILFGAIGERKSYLCCALNEQLNCVMMHKCVFVIFGTRLDKQFRET. DDIDANMNINGTFMLDGRF	98
OpNPV	MTDVTVD FDLA YAKLEAPPNNLRVLVLECCAPES. GPLDLAAIGERKSYTCCALNNRRNCVLMHKCVVVFVIFGTRLDARLRAPSAEFDAQNNLRGTFMLDGRF	99
BsNPV	LSF PNIIMMNNVLI LHNFYDKQFSKNCRRMFLYGMVDEEKKINRAIQLVYDNCEDMLF ARDVYASDYVVTENLMSCLHLYLQKSGKWEPLNFLDFYKPFQS	196
AcNPV	LSF PNIIMMNNVLI VHNHFYDKLYAKRCKRMFLYGMVDEEKKINRAIQLVYDKQDVLV F ARDVYASDYVVTEDLMSVLETYLANSGKURPLDFLFVYNTLHK	197
BmNPV	LSF PNIIMMNNVLI VHNHFYDKLYAKRCKRMFLYGMVDEEKKINRAIQLVYDKQDVLV F ARDVYASDYVVTEDLMSVLETYLANSGKURPLDFLFVYNTLHK	198
OpNPV	LSF PNIIMMNNVLI VHNHFYDKLYAKRCKRMFLYGMVDEEKKINRAIQLVYDKATRRLF ARDVYASDYVVTEDLNLAVLETYLANSGKURPLDHLFRYSKAAHK	199
BsNPV	NMLVECIKCMRVRNINYSIDMLANKTIYKHYLMSLAIKP. VIKMYES. MQSDNAONGATPAKKK. KLCTILFPKCEKRIVDVNVNGLIYIVS	287
AcNPV	OQLVEHFKIMNHDINYSIDSLANKIYKHYLIELLLTSTILQNVQR. VLDKTADDAYIVANKRREKIQSVLYNKEKKIIVDCIVNGLIYQVS	291
BmNPV	OQLVEHFKIMNHDINYSIDSLANKIYKHYLIELLLTSTILQNVQR. VLDKTADDAYIVANKRREKIQSVLYNKEKKIIVDCIVNGLIYQVS	292
OpNPV	OQLVDFIKIMNHDICYSIDMLANKTIYKHYLMELLLTSTIVLQHYQKRAGENEALKRRLCEGEPAPSKRRRKAQSVLYNKEKKIIVDSVNVNGLIYQVS	299
BsNPV	KTF SKQRKRFIVYQDNCSSMNNIEINTPLKRYRQGEVVRITNDTRQNMILMQKMDVFKIVDSFFHGGENTVAGKFFFLCRNVRLPANVYELVRDKFMCHHK	387
AcNPV	KTF SKQRKRFVFNQDNCSSMNNIEISLFPVLYKRYGVEVARI TNDSEHRQMLKQKQKDFVRFIGSFFHGGENTVAGKFFFLCRNMLPNVDYEMVACKFQVYLLK	391
BmNPV	KTF SKQRKRFVFNQDNCSSMNNIEISLFPVLYKRYGVEVARI TNDSEHRQMLKQKQKDFVRFIGSFFHGGENTVAGKFFFLCRNMLPNVDFEMVACKFQVYLLK	392
OpNPV	KTF SKQRKRFVFNQDNCSSMNNIEISLFPVLYKRYGVEVARI TNDSEVRQMLKQKQKDFVRFIGSFFHGGENTVAGKFFFLCRNMLPNVDYEMVADKFAELQQ	399
BsNPV	LEL LQHIENDMCDENVRRLTFND RPTIECCKRFNLDKIF YTFKHNHCPIELKLNGLLFFVNHHEGMVCIKRRIVRMSK. TNVRLVLLTPVEYHYKHSLL	486
AcNPV	HMLVAFVDDLDNDVQDSDLLIFND RPTNLKCLKLSNTSFIYVYTKRNHAP IELKITDRILVFNHHEGMVCIKRRKLRVNN. EADINVLTPVEYHYKHSIY	489
BmNPV	HMLVAFVDDLDNDVQDSDLLIFND RPTNLKCLKLSNTSFIYVYTKRNHAP IELKITDRILVFNHHEGMVCIKRRKLRVNN. EADINVLTPVEYHYKHSIY	490
OpNPV	FGLVAFVHDLAHCADGALLIFND RPTNLCCARADVPKIVYRLRDRRCP IELKASSNLLVFNHHEGMVCAKRRVIGAPVNASINALLTPVEYHYKHSIF	499
BsNPV	RT. NDSIACIEENDTYSLMSKLYQYYKYNTNIFRITVVPKLIIVSLTNLKNAMPVNFVTS SVDYLDLHPQNSVWVS PHIRLNNKMFRL UTLVRDHLR M	585
AcNPV	YN. PIIQCTIVENDDKSLMSKLEQYYVYRNFILHFRHTVVPKLIIVSLTNLKNAMPV EYKEE. NCVSGLPNCYSVWVNSKSL LNNKMFRL UTLVRDNLK M	587
BmNPV	YN. PIIQCTIVENDDKSLMSKLEQYYVYRNFILHFRHTVVPKLIIVSLTNLKNAMPV EYKEN. SCVSGLPNCYSVWVNSKSL LNNKMFRL UTLVRDNLK M	588
OpNPV	HAP TVSAACEIEESDDVRCLMSKLEQYYFAEYTHLFRHTVVPKLIIVSLTNLKNAMPVLR. STLGTAPVCLSVWGDHVL LNNKMFRL UTLVRDNLK M	595
BsNPV	TAE DYPYIPDILKLP IRLVNNKINLKGKLVYAKNETPKIKF HASAE. NNCVNVVCGNVLHMAGVVLSNVKTIAMIVDGRYKRIECSKSHGNYIFKIVYYFRQ	684
AcNPV	TAE DYPYIPHIALP ICLVNNKINLKGKLVVGPQSCLVKFINSD. KMYVWALD DGLVLYMAGVLSNMAKINNVYDGRYKRIEICTNGNFVYVYVYVFRQ	686
BmNPV	TAE DYPYIPHIALP ICLVNNKINLKGKLVVGPQSCLVKFINSD. KMYVWALD DGLVLYMAGVLSNMAKINNVYDGRYKRIEICTNGNFVYVYVYVFRQ	687
OpNPV	TAE DYPYIPHIALP IRLVNNKINLKGKLVLAGAVPTLKF VASGPHVGVVLP DNVVQYFAGTVL SGRKIVMAH DGRKVMVEACTINGAHNVYVYVYVFRQ	695
BsNPV	LEWQIVKEIDSLNINFDNIVYLKLTMTSTNDLCSVKICGVHGQKGVWGMEDLTEMMAEDGTAQICLSFVSYLSRQSNFDDWERKYVYVYVYVFRQ	784
AcNPV	IKNQKIEKLDASIVVNGDMVMLKIVIVTSTNDLECHIKICGVHGQKGVWRSSEDLTEMMAEDGTAQICLSFVSYLSRQSNFDKIERKYVYVYVYVYVFRQ	786
BmNPV	IKNQKIEKLDASIVVNGDMVMLKIVIVTSTNDLECHIKICGVHGQKGVWGGEDLTEMMAEDGTAQICLSFVSYLSRQSNFDKIERKYVYVYVYVYVFRQ	787
OpNPV	TRNQAVEISLAASMTLACDAVIVRTAVVYVTSDDLECSVKICGVHGQKGVWRSSEDLTEMMAEDGTAQICLSFVSYLSRQSNFDRLEKRYVYVYVYVYVFRQ	795
BsNPV	KRYP IFNIPYMLFNNTPDNIYKEFKIKNHTGHEKVEGTRLDQWTKNQSFVGNRMSSE LHVMRGGSNLPCNCGEFVWVSLLMCNMTIMKNEES	876
AcNPV	KRYP IFNIPYMLFNNTPDNIYKEFKIKNHTGHEKVEGTRLDQWTKNQSFVGNRMSSE LHVMRGGSNLPCNCGEFVWVSLLMCNMTIMKNEES	876
BmNPV	KRYP IFNIPYMLFNNTPDNIYKEFKIKNHTGHEKVEGTRLDQWTKNQSFVGNRMSSE LHVMRGGSNLPCNCGEFVWVSLLMCNMTIMKNEES	877
OpNPV	KRYP IFNIPYMLFNNTPDNIYKEFKIKNHTGHEKVEGTRLDQWTKNQSFVGNRMLAESLQWVRGSSNLPCNCGEFVWVSLLMCNMTIMKNEES	884

方框中为 RNA 聚合酶 β 链签名序列

图 3 油桐尺蛾核型多角体病毒 LEF-8 与常用的模式核型多角体病毒同源性

2.3 杆状病毒 LEF-8 系统进化分析

从 NCBI 上收集已知杆状病毒的 LEF-8 蛋白序列,包括核型多角体病毒(NPV)和颗粒体病毒(GV)。以颗粒体病毒为外类群构建系统进化树(图4)。从图中可以看出,NPV 和 GV 分成了明显的两支,这说明二者之间存在较大的基因差异,甚至可能具有不同的进化起源。NPV 中也明显存在 4 个分支,其中在基部的分支为侵染膜翅目和双翅目的 NPV,而其它的寄主均为鳞翅目昆虫。从寄主方面看,在大部分情况下,侵染同属寄主的 NPV 具有较近的亲缘关系,但侵染 *Orgyia* 以及 *Spodoptera* 两个属的 NPV 中有例外,并不是都聚在一个分支上;在科的水平上也具有类似的规律,例如在 NPV Group I 的一个分支上聚集的 NPV 均以夜蛾科为寄主。因此可以看出,杆状病毒的系统进化与其寄主的进化关系是非常相关的。

3 讨论

3.1 *lef-8* 基因结构

油桐尺蛾核型多角体病毒是一种寄生于油桐尺蛾体内的昆虫病毒,其在宿主体内大量扩增繁殖后引起宿主组织器官液化,进而死亡。正是由于其营寄生生活,很多生理活动需要依靠寄主的酶或者代谢产物参与。在病毒侵染宿主的早期,病毒仅有其环状的基因组 DNA 进入宿主细胞中,其自身不具备其他任何酶类,因此其早期基因的表达则完全依靠宿主的表达系统。*lef-8* 基因是油桐尺蛾核型多角体病毒晚期表达因子之一,编码病毒自身的 RNA 聚合酶的最大亚基,其是病毒早期表达的重要基因之一。所以在其基因结构中能够找到可能为宿主转录因子特异性结合位点的序列——GATA,并且在其 3'-UTR 区能找到真核生物的加微信号序列,这也是其适应在真核生物中寄生生活的一个方面。但根据文献,除了能找到可能的宿主转录因子结合位点外,还能找到可能的 TATA 启动子区以及杆状病毒早期 RNA 聚合酶 II 转录起始位点,这些位于基因 5'-UTR 的信号序列都可能起到启动转录的功能。与其他核型多角体病毒相比,BsNPV 的 *lef-8* 基因 5' 端的可能启动信号较多,并且与其他种类有些差异。在杆状病毒 *lef-8* 基因的 5' 端,起始密码子上游大约 200 bp 内存在晚期表达启动子和早期表达启动子,它们在一些种类中同时存在^[18],在一些种类中单独存在^[19],而在一些种类的 5' 端这两种启动子都缺

失^[20]。在 BsNPV 中虽然能够找到早期表达启动子 TATA 区,但其位于起始密码子上游近 500 bp 处,按文献的标准应属于两种启动子都缺失的类型。但是否其启动子区域与起始密码子相距较远还需要更多实验上的证据。另外从序列上找到的启动信号较多,而具体哪个才是主导信号或者哪些信号共同起到启动作用还有待进一步研究。

3.2 *lef-8* 基因系统进化

从序列上看,杆状病毒的 *lef-8* 基因存在较大的种间差异。最长的序列长达 2 942 bp(*Hemileuca* sp. NPV),最短的则仅有 2 484 bp(*Phthorimaea operculella* GV),相差近 500 bp。但差异之中也存在着一定的保守性,例如所有的 GV 中此基因同源性较高,使得 GV 都聚在了同一分支上而与 NPV 分开。如果将 GV 和 NPV 分开来分析,会发现在一定程度上病毒亲缘关系的远近与其宿主亲缘关系的远近有正相关。在非寄生生物中,物种的进化主要是由于其对环境因子的适应,进而通过自然对其的选择作用完成进化过程。而寄生生物由于其寄生于宿主体内,因此环境因子对其影响较小,宿主体内的各种生物因子则对其影响很大,所以环境因子对其的选择作用有限。寄生生物与其宿主则通过相互之间的适应作用协同进化。杆状病毒作为一种特殊的寄生生物,与其他寄生生物有个显著差异,其不像寄蝇、线虫等寄生生物一样仅仅取食其宿主,由于其基因组很小,必须通过将自身的基因组整合到宿主基因组中,并利用宿主基因组及细胞中的各种生物成分才能完成其生命周期,因此其与宿主的基因交流更为密切^[21]。正是这种密切的基因交流使得在大多数情况下,杆状病毒的亲缘关系随其宿主亲缘关系变化而变化。而在少数情况下,可能会出现寄生于同属寄主的杆状病毒不在进化树的同一分支上的情况,例如本研究中侵染 *Orgyia* 以及 *Spodoptera* 两个属的病毒。这一方面可能是由于病毒自身在进化过程中产生的变异,另一方面可能是寄主虽然亲缘关系与其他近缘种接近,但 *lef-8* 基因与其他近缘种有一定的差异,进而导致其病毒在协同进化过程中也与其他病毒产生了一定的差异,但具体是什么原因导致的还有待进一步研究证实。而出现寄生于同属寄主的杆状病毒不在进化树的同一分支上的这种现象并不是由于进行进化分析时涉及的基因数不足或者使用的分析方法不当。从其他研究者的研究结果^[22-23]中可以发现,不论是用全基因组数据还是结

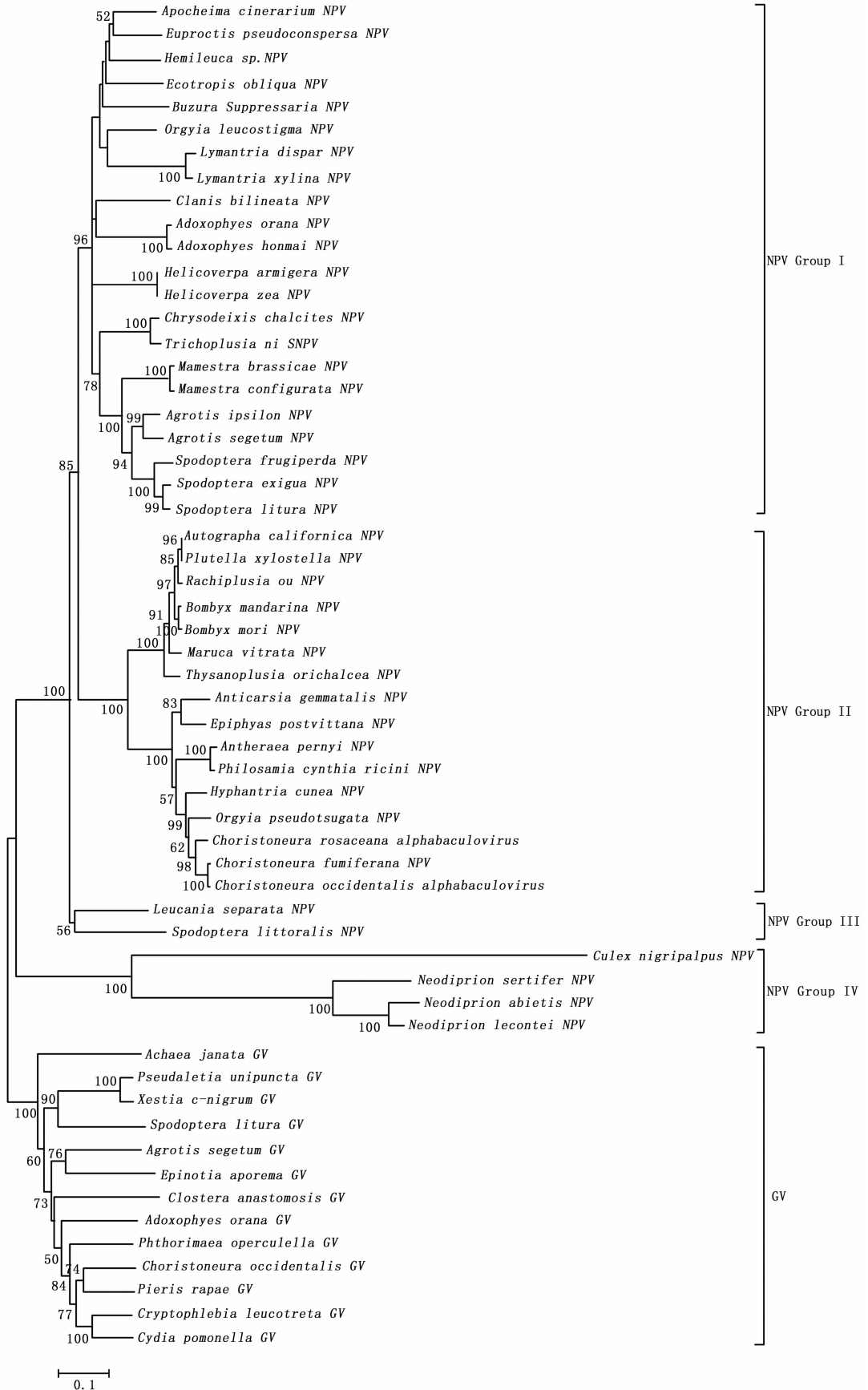


图4 杆状病毒 LEF-8 进化树

合多个基因数据进行分析,得到的都是类似的结果。这一方面从其他研究者的角度佐证了本研究结论的可靠性;另一方面从分子生物学及基因组学方面表明:杆状病毒的亲缘关系在绝大多数情况下是随寄主的亲缘关系变化而变化的,少数情况下也会与寄主的亲缘关系存在差异。

参考文献:

- [1] 梁光祥,何国业,蒙庆卓. 油桐尺蠖危害桉树用灭幼脉Ⅲ号防治试验初报[J]. 广西林业科学, 1998, 27(3): 41-44.
- [2] 陈 川,张永安,王玉珠,等. 油桐尺蠖核型多角体病毒(BusuNPV)生物学与检测技术研究[J]. 林业科学研究, 2011, 24(3): 410-414.
- [3] 祝天荃,刘宇兰,刘 军,等. 油桐尺蠖核型多角体病毒对实验动物的毒性试[J]. 中国茶叶, 1982, (4): 30-32.
- [4] 谢天恩,彭辉银,葛云垣,等. 大尺蠖核型多角体病毒的生产及其应用[J]. 中国茶叶, 1980, (5): 18-20.
- [5] 陈明树,孙富林,许大海. 油桐尺蠖核型多角体病毒生物学特性的研究[J]. 湖北农业科学, 1981, (12): 26-28.
- [6] 彭辉银,陈新文,金 锋,等. 保存时间对油桐尺蠖核型多角体病毒杀虫剂毒力的影响[J]. 生物防治通报, 1993, 9(3): 119-121.
- [7] 曾云添,汤显春,刘宇蓝,等. 油桐尺蠖核型多角体病毒毒力的生物测定[J]. 广东茶叶科技, 1983, (4): 1-5.
- [8] 孙松柏,陈明树,孙富林,等. 油桐尺蠖核型多角体病毒 DNA的限制性内切酶分析[J]. 华中农学院学报, 1985, 4(2): 75-80.
- [9] 刘明富,谢天恩. 原位化学切割法对油桐尺蠖核型多角体病毒两种相似多肽的比较研究[J]. 病毒学杂志, 1991, 6(1): 75-78.
- [10] 梁布锋. 油桐尺蠖核型多角体病毒杀虫剂的血清学检测[J]. 湖北农业科学, 1990, (10): 20,28.
- [11] Acharya A, Gopinathan K. Characterization of late gene expression factors *lef-9* and *lef-8* from *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus[J]. Journal of General Virology, 2002, 83(8): 2015-2023.
- [12] Crouch E A, Cox L T, Morales K G, et al. Inter-subunit interactions of the *Autographa californica* M nucleopolyhedrovirus RNA polymerase[J]. Virology, 2007, 367(2): 265-274.
- [13] Jose J, Jalali S K, Shivalingaswamy T M, et al. Molecular Characterization of Nucleopolyhedrovirus of Three Lepidopteran Pests Using Late Expression Factor-8 Gene[J]. Indian Journal of Virology, 2013, 24(1): 59-65.
- [14] Blissard G W, Kogan P H, Wei R, et al. A synthetic early promoter from a baculovirus: Roles of the TATA box and conserved start site CAGT sequence in basal levels of transcription[J]. Virology, 1992, 190(2): 783-793.
- [15] Kogan P H, Chen X, Blissard G W. Overlapping TATA-dependent and TATA-independent early promoter activities in the baculovirus gp64 envelope fusion protein gene[J]. Journal of Virology, 1995, 69(3): 1452-1461.
- [16] Xing K, Deng R, Wang J, et al. Analysis and prediction of baculovirus promoter sequences[J]. Virus Research, 2005, 113(1): 64-71.
- [17] Huang H, Wang M, Deng F, et al. The ha72 Core Gene of Baculovirus Is Essential for Budded Virus Production and Occlusion-Derived Virus Embedding, and Amino Acid K22 Plays an Important Role in Its Function[J]. Journal of Virology, 2014, 88(1): 705-709.
- [18] Simón O, Palma L, Beperet I, et al. Sequence comparison between three geographically distinct *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus isolates; Detecting positively selected genes[J]. Journal of Invertebrate Pathology, 2011, 107(1): 33-42.
- [19] Tang X D, Xiao Q, Ma X C, et al. Morphology and genome of *Euproctis pseudoconspersa* nucleopolyhedrovirus [J]. Virus Genes 2009, 38(3): 495-506.
- [20] Ahrens C H, Russell R L Q, Funk C J, et al. The Sequence of the *Orgyia pseudotsugata* Multinucleocapsid Nuclear Polyhedrosis Virus Genome[J]. Virology, 1997, 229(2): 381-399.
- [21] 丁 铲. 病毒的进化与传播[J]. 中国家禽, 2010, 32(11): 35-37.
- [22] Zhu Z, Yin F, Liu X, et al. Genome Sequence and Analysis of *Buzura suppressaria* Nucleopolyhedrovirus: A Group II *Alphabaculovirus*[J]. Plos One, 2014, 9(1): e86450.
- [23] Thumbi D K, Eveleigh R J M, Lucarotti C J, et al. Complete Sequence, Analysis and Organization of the *Orgyia leucostigma* Nucleopolyhedrovirus Genome [J]. Viruses, 2011, 3(11): 2301-2327.