

# สัณฐานวิทยา โครงสร้างจุลภาคและโรควิทยาของ นิวเคลียร์โพลีฮีโดรซิสไวรัส<sup>1</sup>

ของหนอนกระทู้หอม, *Spodoptera exigua*.

Morphological, ultrastructural and pathological studies of  
the nuclear polyhedrosis virus of *Spodoptera exigua*.

ทิพย์วดี อรรถธรรม และ ศิรินันท์ เอี่ยมประภา<sup>2</sup>

Tipvadee Attathom and Sirinun Aemprapa

## ABSTRACT

Nuclear polyhedrosis virus (NPV) of the beet armyworm, *Spodoptera exigua* found in Thailand, was multiple-embedded type. Polyhedra varied greatly in shape and size. Mature polyhedra often angular in shape measured  $1.4\ \mu\text{m}$  in diameter. Polyhedra with cavities, protrusions and rough surface structure were frequently observed. In addition unusually huge globular polyhedra and adherent polyhedra not previously described were present in the nuclei of infected fat cells. Virions, contained 2-6 virus particles, measured  $132 \times 365\ \text{nm}$ . Rodshaped nucleocapsids or virus particles with the average size of  $51 \times 325\ \text{nm}$ , commonly occurred in bundles outside polyhedra. Histopathological studies revealed that heavily infections occurred in the nuclei of the fat body, hypodermis, and tracheal matrix cells. Mid gut epithelium, malpighian tubules and the epithelium and connective tissues associated with testes were apparently susceptible for virus replication. Infection process of the virus was characteristically similar to those of other nuclear polyhedrosis virus in Lepidopterous hosts. Electron microscope investigations revealed some cytopathologic changes directed by the virus in the nuclei of infected cells. Fibrillar strand, as the prominent masses, occurred in most nuclei. Curved and curled membranes known as membranous profiles are commonly found associated with fibrillar strand and virogenic stroma. Thick electron dense filamentous membranes were also observed in this study.

Results from this study would suggest that the NPV of *S. exigua* was different from the NPV of *Heliothis armigera*, *Trichoplusiani* and *Bombyx mori* found in Thailand. This virus was highly effective and promising to be developed as microbial agent for pest control programs.

## บทคัดย่อ

นิวเคลียร์โพลีฮีโดรซิสไวรัส (NPV) ของหนอน  
กระทู้หอม, *Spodoptera exigua* ที่พบในประเทศไทย

เป็นชนิด multiple embedded ผลึกโปรตีนเป็นรูป  
เหลี่ยมมีขนาดแตกต่างกันมาก โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง  
เฉลี่ย  $1.4\ \mu\text{m}$  พบผลึกโปรตีนที่มีโครงสร้างพื้น

1 ทุนอุดหนุนวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัย  
เกษตรศาสตร์

2 ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์  
Dept. of Entomology, Faculty of Agriculture, Kasetsart  
Univ.

ผิวขรุขระไม่เรียบและมีส่วนยื่นออกไปเป็นปุ่มปม ผลักรูปทรงกลมที่มีขนาดใหญ่ผิดปกติ และผลึกโปรตีนที่เชื่อมติดกัน ซึ่งยังไม่เคยมีรายงานมาก่อน Virion มีขนาดกว้างและยาว  $132 \times 365$  nm. ประกอบด้วยอนุภาคไวรัส 2-8 อนุภาค Nucleocapsid หรืออนุภาคไวรัสเป็นท่อนตรงมีขนาดกว้างและยาว  $51 \times 325$  nm. และพบเป็นจำนวนมากอยู่เป็นกลุ่มนอกผลึกโปรตีน ไวรัสเข้าทำลายอย่างรุนแรงในนิวเคลียสของเซลล์ของเนื้อเยื่อไขมัน เซลล์ไฝผนังลำตัวและเซลล์รอบท่ออากาศ นอกจากนี้ยังเจริญเพิ่มปริมาณในเซลล์กระเพาะอาหาร เซลล์รอบอวัยวะและเซลล์รอบท่อขับถ่ายด้วยกระบวนการเจริญเพิ่มปริมาณและการเข้าทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อคล้ายคลึงกับ NPV ของหนอนผีเสื้อโดยทั่วไป การเปลี่ยนแปลงในระดับเซลล์แตกต่างไปจากที่มีรายงานพบใน NPV ของหนอนผีเสื้ออื่นที่สำรวจพบในประเทศไทย โครงสร้างจุลภาคที่พบในเซลล์ที่ถูกไวรัสทำลายและไม่มีปรากฏในเซลล์ปกติ ได้แก่ fibrillar strand ซึ่งพบในเกือบทุกนิวเคลียสของเซลล์ที่ถูกทำลาย และ membranous profile ซึ่งมีปรากฏให้เห็นหลายลักษณะ คือ เป็นเส้นบางโค้งไปมาและซ้อนกันเป็นชั้นอยู่ชิดกับผนังนิวเคลียส เป็นเส้นสั้น ๆ กระจายทั่วไปในนิวเคลียสแต่มีอยู่หนาแน่นบริเวณ fibrillar strand และ virogenic stroma และเป็นเส้นหนาที่บ่งแสงอิเล็กตรอน

ผลจากการศึกษา ซึ่งให้เห็นว่า NPV ของหนอนกระทู้หอมนี้แตกต่างจาก NPV ของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน, *Heliothis armigera*; หนอนคืบกระหล่ำปลี, *Trichoplusia ni*; และหนอนไหม, *Bombyx mori* ที่มีรายงานพบในประเทศไทยและเป็นไวรัสที่มีประสิทธิภาพสูงและสามารถกำจัดแมลงได้เร็ว อันเป็นคุณสมบัติที่เหมาะสมต่อการนำมาใช้กำจัดแมลงศัตรูพืช

## คำนำ

นิวเคลียสโพลีฮีโดรซิสไวรัส (Nuclear polyhedrosis virus, NPV) ของหนอนกระทู้หอม, *Spodop-*

*tera exigua* Hubner พบครั้งแรกเมื่อ พ.ศ. 2506 ที่อำเภอดำเนินสะดวก จังหวัดราชบุรี หลังจากนั้นได้มีการศึกษาวิจัยนำไวรัสนี้มาใช้กำจัดหนอนกระทู้หอมซึ่งเป็นแมลงศัตรูสำคัญทำลายพืชผักเศรษฐกิจหลายชนิด และมีรายงานว่าสามารถกำจัดหนอนดังกล่าวได้เป็นอย่างดีในสภาพไร่ (ปรีชาและคณะ, 2524) กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ได้จัดทำโครงการส่งเสริม สาธิตและเผยแพร่ให้เกษตรกรสามารถผลิตไวรัสไว้ใช้กำจัดหนอนกระทู้หอมในสวนของตนเอง ทั้งนี้เนื่องจากในบางฤดูกาลแมลงชนิดนี้ระบาดทำความเสียหายมากและไม่สามารถกำจัดได้ด้วยสารเคมี มีเพียงไวรัสเท่านั้นที่สามารถลดการระบาดของแมลงลงได้ ดังนั้น NPV จะมีบทบาทสำคัญมากขึ้นในการกำจัดแมลงศัตรูพืช โดยเฉพาะแต่เพียงหนอนกระทู้หอมเท่านั้น และหากสามารถผลิตไวรัสนี้ขึ้นใช้เองภายในประเทศก็ควรจะนำมาใช้ทดแทนสารเคมีได้ในที่สุด อันจะเป็นการแก้ไขและลดปัญหาที่เกิดจากการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชซึ่งที่ประสบอยู่ในปัจจุบัน

ในต่างประเทศมีรายงานการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา กระบวนการเข้าทำลายและเพิ่มปริมาณในแมลงของ NPV ของ *Spodoptera exigua* (Hunter and Hall, 1968 ; Falcon and Hess, 1977) และของ *S. frugiperda* (Hamm, 1968) และมีรายงานพบ NPV ชนิดใหม่ของ *S. exigua* อีก (Vlak et al, 1981) ดังนั้นจึงเห็นสมควรที่จะศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา โครงสร้างจุลภาคและโรควิทยาของไวรัสของหนอนกระทู้หอมที่พบในประเทศไทย โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์ชนิดของไวรัสเปรียบเทียบกับไวรัสของแมลงศัตรูอื่น ๆ ที่สำรวจพบในประเทศ และเพื่อศึกษาคุณสมบัติดังกล่าวข้างต้นของไวรัสชนิดนี้ ซึ่งจะเป็นข้อมูลที่เป็นประโยชน์หากมีการสำรวจพบไวรัสของแมลงมากขึ้น ทำให้สามารถคัดเลือกสายพันธุ์ที่เหมาะสมมาใช้ประโยชน์ในการกำจัดหนอนกระทู้หอมและแมลงศัตรูพืชชนิดอื่นให้ประสบผลสำเร็จดียิ่งขึ้น

## อุปกรณ์และวิธีการ

### 1. แหล่งของเชื้อไวรัสและการทำให้บริสุทธิ์

นิวเคลียร์โพสตีโดรซิสไวรัส (NPV) ของหนอนกระทุ้มที่ใช้ในการศึกษานี้ แยกเชื้อมาจากหนอนกระทุ้มที่เป็นโรคร้ายในแปลงต้นหอมของเกษตรกรในเขตอำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม เพิ่มปริมาณไวรัสในห้องปฏิบัติการโดยใช้หนอนกระทุ้มเป็นแมลงอาศัย แยกไวรัสจากตัวหนอนด้วยการปล่อยให้ไวรัสออกจากซากหนอนและตกตะกอนอยู่กันภาชนะเมื่อผ่านการกรองด้วยผ้าขาวบางแล้ว นำสารแขวนลอยไวรัส (virus suspension) มาทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี sucrose density gradient centrifugation โดยใช้สารละลายน้ำตาลที่มีความเข้มข้น 85% 80% 55% 50% 45% และ 40% (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ตามลำดับ หมุนปั่นด้วยเครื่อง Sorvall Ultracentrifuge Model OTD-65 ที่ความเร็ว 25,000 รอบต่อนาที นาน 2 ชั่วโมง แยกชั้นผลึกโปรตีนของเชื้อไวรัส เจือจางด้วยน้ำกลั่นแล้วตกตะกอนด้วยการหมุนปั่นที่ความเร็ว 6,000 รอบต่อนาทีด้วยเครื่อง Tomy Seiko Centrifuge RS-20 III หลังจากผ่านการ dialysis ในน้ำกลั่นเพื่อล้างน้ำตาลออกแล้ว ทำให้บริสุทธิ์ยิ่งขึ้นด้วยการทำตามวิธีการดังกล่าวข้างต้นซ้ำอีกครั้ง เก็บเชื้อไวรัสบริสุทธิ์ไว้ที่ -3 องศาเซลเซียส เพื่อการศึกษาต่อไป

### 2. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและโครงสร้างจุลภาคของไวรัส

ก. ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope) ศึกษารูปร่างลักษณะและขนาดของผลึกโปรตีน (polyhedra) ของไวรัสด้วยการนำสารแขวนลอยไวรัสบริสุทธิ์มาหยดลงบนแท่นทองเหลืองรองรับตัวอย่าง หยด 2% glutaraldehyde เตรียมใน 0.1 M. Na-phosphate buffer pH 7.2 ลงบนตัวอย่างตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 30 นาที ค่อย ๆ ใช้น้ำส่วนเกินออกด้วยการใช้กระดาษกรองและซับที่ขอบแท่น เคลือบตัวอย่าง

แห้งที่เตรียมแล้วนี้ด้วยคาร์บอนและเคลือบซ้ำด้วยทอง ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด Model JEOL-JSM 35-CF ที่ 25 กิโลโวลต์

ข. ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบลำแสงผ่าน (Transmission electron microscope) ศึกษารูปร่างและขนาดของผลึกโปรตีนจากตัวอย่างเตรียมด้วยวิธี shadow casting คือหยดสารแขวนลอยไวรัสบริสุทธิ์ลงบนกริดทองแดงที่เคลือบด้วยฟอร์ม-วาร์ (formvar) และคาร์บอน ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที ใช้น้ำส่วนเกินออกด้วยการแตะกระดาษกรองที่ขอบกริดเคลือบตัวอย่างแห้งด้วยโลหะผสม platinum-palladium ด้วยเครื่อง vacuum evaporator JEE-4x โดยทำมุมเอียง 30 องศา ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบลำแสงผ่าน Model JEOL JEM-100S ที่ 80 กิโลโวลต์

ทำการศึกษาโครงสร้างจุลภาคของไวรัสจากภาพถ่ายอิเล็กตรอนของตัวอย่าง ultrathin section ซึ่งเตรียมตามขั้นตอนที่รายงานโดย ทิพย์วดี และ พิศสุวรรณ, (2527)

### 3. การศึกษาโรควิทยาของไวรัส

ได้ทำการศึกษาทั้งในระดับเนื้อเยื่อ (histopathology) จากตัวอย่าง paraffin sections และในระดับเซลล์ (cytopathology) จากตัวอย่าง ultrathin sections การเตรียมตัวอย่างทั้ง 2 วิธีนี้กระทำตามขั้นตอนที่รายงานโดยทิพย์วดี และพิศสุวรรณ (2527)

## ผลและวิจารณ์

### 1. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและโครงสร้างจุลภาคของไวรัส

ผลึกโปรตีนของ NPV ของหนอนกระทุ้มมีรูปร่างหลายแบบ คือ รูปสี่เหลี่ยมลูกบาศก์ ทรงกลม และรูปหลายเหลี่ยมทรงกลม (ภาพที่ 1) การศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ทำให้เห็นพื้นผิวของผลึกโปรตีนได้ละเอียดชัดเจนขึ้น ซึ่งพบว่า

ผลึกโปรตีนส่วนใหญ่มีพื้นผิวค่อนข้างเรียบ บางผลึกพื้นผิวขรุขระและมีส่วนยื่นแหลมออกไปเป็นปุ่มปม (ภาพที่ 1 ข.) และในบางผลึกจะเห็นเป็นร่องลึกกระจัดกระจายอยู่ทั่วผลึก สันนิษฐานว่าเป็นร่องที่เกิดจากการฝังตัวของอนุภาคไวรัสในผลึกโปรตีน ซึ่งอาจจะหลุดออกไปในระหว่างขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง ทำให้มีลักษณะเป็นร่องลึกปรากฏให้เห็น (ภาพที่ 1 ค.) ผลึกโปรตีน มีขนาดแตกต่างกัน พบว่าบางผลึกมีขนาดใหญ่มากถึง 4  $\mu\text{m}$ . ซึ่งมักเป็นผลึกรูปทรงกลมหรือเป็นเหลี่ยมเล็กน้อย และบางผลึกมีขนาดเล็กเพียง 0.5  $\mu\text{m}$ . เท่านั้น ในการศึกษาเกี่ยวกับเชื้อ NPV ของหนอนผีเสื้อหลายชนิดมีรายงานพบผลึกรูปสี่เหลี่ยมลูกเต๋าที่เรียกว่า cuboidal inclusion body ซึ่งเป็นผลึกที่มีขนาดใหญ่มาก เห็นเหลี่ยมมุมชัดเจนและไม่มีอนุภาคไวรัสอยู่ภายใน (Attathom, 1978) แต่ผลึกรูปทรงกลมขนาดใหญ่ที่พบในการศึกษานี้ ผู้วิจัยคิดว่าไม่ใช่ cuboidal inclusion body เพราะพบจำนวนค่อนข้างมาก ส่วนใหญ่เป็นรูปทรงกลมและมีขนาดใหญ่แตกต่างกันมีลักษณะพื้นผิวคล้ายคลึงกับผลึกโปรตีนของไวรัส จึงคิดว่าน่าจะเป็นผลึกโปรตีนของไวรัสที่มีอนุภาคไวรัสอยู่ภายในแต่ถูกสร้างขึ้นมามีขนาดใหญ่ผิดปกติเท่านั้น

ผลึกโปรตีนของไวรัสที่แยกออกจากตัวแมลงและผ่านขั้นตอนทำให้บริสุทธิ์ (purification) จะมีขนาดแตกต่างกันมาก เนื่องจากกระบวนการสร้างผลึกโปรตีนในเซลล์ของแมลงมิได้เสร็จสมบูรณ์พร้อม ๆ กัน ในขณะที่แยกจากตัวแมลงนั้น บางผลึกยังถูกสร้างไม่เต็มที่ ดังจะเห็นได้จากร่องลึกบนพื้นผิวผลึก ซึ่งเกิดจากอนุภาคไวรัสหลุดออกไป ทั้งนี้เพราะผลึกโปรตีนที่ถูกสร้างเสร็จสมบูรณ์เรียบร้อย ควรมีรูปทรงที่แน่นอน ขนาดใกล้เคียงกัน และมีผนังล้อมรอบ (polyhedral envelope) ทำให้มีพื้นผิวที่เรียบไม่เป็นปุ่มปมและไม่มีร่องลึกปรากฏให้เห็น ดังนั้นการกำหนดขนาดของผลึกโปรตีนด้วยการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของผลึกโปรตีนที่แยกเป็นเชื้อบริสุทธิ์มาจากแมลงนั้น จึงได้ผลไม่แน่นอนและไม่ควรใช้เป็นกฎเกณฑ์ การวัดที่ถูกต้องควรเป็น

การวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของผลึกโปรตีนที่สร้างเสร็จสมบูรณ์แล้ว ซึ่งจะเป็นค่าที่ถูกต้องแน่นอนของไวรัสแต่ละชนิด

การศึกษารูปร่างลักษณะและขนาดของผลึกโปรตีนจากตัวอย่างเตรียมด้วยวิธี shadow casting ให้ผลเช่นเดียวกัน (ภาพที่ 1 ง., จ.) ผลึกโปรตีนส่วนมากเป็นรูปทรงกลมและรูปเหลี่ยม พบผลึกโปรตีนที่มีขนาดใหญ่ผิดปกติซึ่งมีทั้งรูปทรงกลม และรูปสี่เหลี่ยมลูกบาศก์ (ภาพที่ 1 ฉ.) ขนาดของผลึกโปรตีนแตกต่างกันมาก เนื่องจากมีผลึกที่ยังถูกสร้างไม่เสร็จสมบูรณ์ปะปนอยู่ การศึกษาด้วยวิธี shadow casting ทำให้เห็นรูปทรงของผลึกโปรตีนชัดเจนขึ้น แต่ก็ยังไม่เหมาะสมในการนำมาเป็นมาตรฐานในการวัดขนาดของผลึกโปรตีน

กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบลำแสงผ่าน ช่วยให้เราสามารถศึกษาโครงสร้างจุลภาคต่าง ๆ ภายในผลึกโปรตีนของไวรัสได้อย่างละเอียด ไวรัสที่ศึกษานี้เป็นเชื้อ NPV แบบ multiple-embedded (MEV) กล่าวคือ virions ส่วนใหญ่ประกอบด้วยอนุภาคไวรัส (nucleocapsid) มากกว่าหนึ่งอนุภาคอยู่ในผนังล้อมรอบเดียวกัน อนุภาคไวรัสเป็นท่อนตรงและในขณะที่ยังไม่สร้างผนังล้อมรอบมักจะอยู่รวมกลุ่มกันมากกว่า 10 อนุภาคขึ้นไป แต่ที่มีผนังล้อมรอบ (virion) มักเป็นกลุ่มของไวรัสไม่เกิน 6 อนุภาค (ภาพที่ 4 ข. และ 5 ง.) Virions ที่เข้าฝังตัวในผลึกโปรตีนประกอบด้วยไวรัสตั้งแต่ 2-8 อนุภาค เฉลี่ยประมาณ 3 อนุภาค (ภาพที่ 4) ซึ่งตรงกับรายงานของ Hunter และ Hall (1968) Ackermann และ Smirnoff (1983) ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ Baculovirus 23 ชนิด และรายงานสรุปว่า virions ของเชื้อ NPV แบบ MEV จะประกอบด้วยอนุภาคไวรัสตั้งแต่ 1-17 อนุภาค และแต่ละผลึกโปรตีนจะมี virions ฝังตัวอยู่ภายในได้จำนวนมากถึง 200 อัน อย่างไรก็ตามเมื่อกระบวนการสร้างผลึกโปรตีนเสร็จสมบูรณ์ มีอนุภาคไวรัสจำนวนมากที่ไม่ได้เข้าไปอยู่ในผลึก (ภาพที่ 5 ฉ.) จากภาพถ่ายอิเล็กตรอนแสดงให้เห็นว่าผลึกที่เจริญเต็มที่

แล้ว ส่วนใหญ่จะเป็นรูปเหลี่ยม (ภาพที่ 3 และ 5) มี virions ฝังลึกอยู่ในเปลือกแบบกระจัดกระจาย จึงเห็นอนุภาคไวรัสทั้งตามยาวและตามขวาง มีผนังบาง ๆ (polyheral envelope) ล้อมรอบเป็นขอบเขตของเปลือกโปรตีนที่สมบูรณ์แล้ว นอกจากนี้ยังพบเปลือกโปรตีนที่มีส่วนแหลมยื่นออกไป (ภาพที่ 5 ก.) และเปลือกโปรตีนที่มาเชื่อมติดกันเป็นเปลือกแผ่น (ภาพที่ 5 ค.) เป็นที่น่าสังเกตว่าเปลือกโปรตีนของ NPV ของหนอนผีเสื้อโดยทั่วไป จะอยู่อย่างเดี่ยว ๆ กระจายทั่วนิวเคลียสของเซลล์โดยรักษาระยะห่างระหว่างเปลือกค่อนข้างคงที่ ไม่เคยพบเปลือกโปรตีนที่อยู่ชิดหรือติดกันเลย ลักษณะพิเศษเหล่านี้ชี้ให้เห็นความแตกต่างของไวรัสของหนอนผีเสื้อแต่ละชนิด นอกเหนือไปจากความแตกต่างด้านรูปร่างลักษณะและขนาด

ขนาดขององค์ประกอบต่าง ๆ ของไวรัสนั้นคำนวณจากค่าเฉลี่ยการวัด 50 ครั้งจากภาพถ่ายอิเล็กตรอนของตัวอย่าง ultrathin section สำหรับเปลือกโปรตีนวัดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉพาะเปลือกที่สมบูรณ์ที่มีผนังล้อมรอบแล้วเท่านั้น ซึ่งพบว่าเปลือกโปรตีนมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย  $1.4 \mu\text{m}$ . Hunter และ Hall, (1968) รายงานว่าเปลือกโปรตีนของ NPV ของ *S. exigua* มีขนาดถึง  $2.05 \mu\text{m}$ . โดยการวัดด้วย ocular micrometer ซึ่งแตกต่างจากไวรัสที่ศึกษานี้ สำหรับ virions พบว่ามีขนาดกว้างและยาวเฉลี่ย  $132 \times 365$  นาโนเมตร และ nucleocapsids มีขนาดกว้างและยาวเฉลี่ย  $51 \times 325$  นาโนเมตร ซึ่งมีขนาดใกล้เคียงกับ NPV ของหนอนผีเสื้อหลายชนิดที่ Ackermann และ Smirnof (1983) รายงานไว้ อย่างไรก็ตามพบว่า NPV ของหนอนกระทู้หอมมีขนาดใหญ่กว่า NPV ของหนอนคืบกระทู้พลี (ทิพย์วดี และ พิศสุวรรณ, 2527) และ NPV ของหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน (ทิพย์วดี และ สุพัฒน์, 2528) แต่เล็กกว่า NPV ของหนอนไหมที่สำรวจพบในประเทศไทย (ทิพย์วดี และ เนื่องพนิช, 2529)

## 2. การศึกษาทางโรควิทยาของไวรัส

### ก. การศึกษาในระดับเนื้อเยื่อ (histopatho-

logy) จากเทคนิคการย้อมสี paraffin sections ตามกรรมวิธีของ Hamm (1968) เปลือกโปรตีนของไวรัสจะติดสีแดงเข้ม ทำให้เห็นนิวเคลียสของเซลล์ที่ไวรัสเข้าทำลายมีสีแดงเข้มด้วย ช่วยให้สามารถศึกษาลักษณะการถูกทำลายและความจำเพาะของเซลล์หรือเนื้อเยื่อที่ถูกทำลายได้ดียิ่งขึ้น เนื้อเยื่อของหนอนกระทู้หอมปกติจะมีการจัดเรียงตัวของเซลล์ต่าง ๆ อย่างเป็นระเบียบ (ภาพที่ 2 ก., ข.) นิวเคลียสของเซลล์มีขนาดเล็กจนเกือบมองไม่เห็นเช่น เซลล์ใต้ผนังลำตัว (hypodermis) เซลล์ไขมัน (fat body) เซลล์รอบท่ออากาศ (tracheal matrix cells) และเซลล์กล้ามเนื้อ (muscle cells) เมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อของหนอนที่เป็นโรคอันเกิดจากเชื้อ NPV พบว่านิวเคลียสของเซลล์ใต้ผนังลำตัวขยายใหญ่ขึ้นและมีเปลือกโปรตีนของไวรัสอยู่เต็ม เซลล์ชั้นนี้จะแยกหลุดออกจากผนังลำตัวของแมลง (cuticle) เป็นช่วง ๆ และเสียรูปทรงไม่เป็นระเบียบ (ภาพที่ 2 ค., ง.) เซลล์กระเพาะอาหารของแมลงไม่ขยายขนาดขึ้นแต่มีลักษณะการเรียงตัวหลวม ๆ และหลุดขาดจากกันผิดไปจากปกติ เนื่องจากไวรัสเข้าไปเจริญเพิ่มปริมาณทำลายนิวเคลียสของเซลล์ แต่ไม่สร้างเปลือกโปรตีนหุ้ม ซึ่งตรงกับที่ Harrap และ Robertson (1968) ชี้แนะไว้ว่า NPV จะไม่สร้างเปลือกหุ้มอนุภาคไวรัสขณะอยู่ในเซลล์กระเพาะอาหาร เพราะอนุภาคไวรัสเหล่านั้นต้องแพร่กระจายเข้าทำลายเซลล์อื่น ๆ อีก การสร้างเปลือกหุ้มหมายถึงขบวนการเข้าทำลายสิ้นสุดแล้ว และอนุภาคไวรัสนั้นจะไม่มีโอกาสเข้าทำลายเซลล์อื่นอีกต่อไป เป็นที่น่าสังเกตว่า connective tissue รอบ ๆ เซลล์กระเพาะอาหารติดสีแดงเป็นบางส่วน (ภาพที่ 2 ค.) แสดงว่าเนื้อเยื่อนี้ถูกทำลายด้วยเช่นกัน เนื้อเยื่อที่ถูกทำลายอย่างรุนแรงได้แก่ เนื้อเยื่อไขมัน ซึ่งนิวเคลียสขยายใหญ่จนเกือบเต็มเซลล์ และมีเปลือกโปรตีนสีแดงเข้มบรรจุอยู่เต็มภายใน (ภาพที่ 2 ข.) เซลล์รอบท่ออากาศก็ถูกทำลายอย่างรุนแรงด้วยเพราะนิวเคลียสของเซลล์ขยายขนาดขึ้นเห็นชัดเจน (ภาพที่ 2 จ.) นอกจากนี้ยังพบว่านิวเคลียสของเซลล์รอบ ๆ อัณฑะ (testicular sheath) และของเซลล์

รอบท่อขับถ่าย (malpighian tubules) ขยายขนาดขึ้น และติดสีแดง (ภาพที่ 2 ก., ข.) แสดงว่าไวรัสเข้าไปเพิ่มปริมาณในเซลล์เหล่านี้ แต่การทำลายไม่รุนแรงนัก การศึกษาครั้งนี้ไม่พบว่าเซลล์กล้ามเนื้อและเซลล์เม็ดเลือดถูกทำลาย การศึกษาความจำเพาะ (specificity) ของชนิดของเนื้อเยื่อที่ถูกไวรัสทำลายมักได้ผลไม่คงที่ เนื่องจากชิ้นส่วนตัวอย่างที่เตรียมอาจไม่ได้รวมเนื้อเยื่อทุกชนิดของแมลงหรือเนื้อเยื่อนั้น ๆ ยังมิได้ถูกทำลายอย่างรุนแรงพอที่จะแสดงอาการให้เห็นได้ชัดเจน อย่างไรก็ตามเป็นที่ทราบกันว่าไวรัสชนิด NPV สามารถเข้าทำลายเนื้อเยื่อได้เกือบทุกชนิด ความจำเพาะจะอยู่ที่ความชอบ (preference) เข้าทำลายเนื้อเยื่อใดก่อนหรือหลังเท่านั้น ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า NPV ของหนอนกระทู้หอมที่พบในประเทศไทยนี้เข้าทำลายเนื้อเยื่อหลักเช่นเดียวกับ NPV ของหนอนผีเสื้อโดยทั่วไป ดังนั้นจึงสามารถฆ่าแมลงได้เร็วและมีประสิทธิภาพสูงอันเป็นคุณสมบัติที่เหมาะสมจะนำมาใช้กำจัดแมลงศัตรูพืช

#### ข. การศึกษาในระดับเซลล์ (cytopathology)

ความแตกต่างของ NPV ของหนอนกระทู้หอมกับของหนอนผีเสื้อชนิดที่พบในประเทศไทย โดยเฉพาะอย่างยิ่งของหนอนคืบกระทู้ *Trichoplusia ni*; หนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน *Heliothis armigera*; และหนอนไหม, *Bombyx mori* จะเห็นเด่นชัดขึ้นจากการศึกษาโรควิทยาในระดับเซลล์ ความแตกต่างนี้เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างองค์ประกอบภายในเซลล์อันเนื่องมาจากการถูกทำลายด้วยไวรัส แม้การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นบางอย่างจะคล้ายคลึงกันแต่เมื่อมองภาพรวม ๆ แล้วจะเห็นว่า มีลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่เป็นจำเพาะของไวรัสแต่ละชนิด ทำให้ทราบได้ว่าเป็น NPV ต่างชนิดกัน และสามารถใช้ในการวินิจฉัยชนิดของไวรัสได้

การศึกษาจากภาพถ่ายอิเล็กตรอนพบว่า ในเซลล์ไข่ม้วนของหนอนกระทู้หอมปกติ (ภาพที่ 3 ก.) นิวเคลียสมีลักษณะปกติเห็นส่วนของ nucleolus, chromatin และ nuclear membrane ซึ่งเป็นผนังบางสองชั้นได้ชัดเจน องค์ประกอบอื่น ๆ ของเซลล์ในไซโตพลาสซึม

เช่น mitochondria, endoplasmic reticulum และ granules ต่าง ๆ มีลักษณะเป็นปกติ ส่วนในเนื้อเยื่อไข่ม้วนที่ถูก NPV เข้าทำลาย (ภาพที่ 3 ข.) นิวเคลียสมีลักษณะบิดเบี้ยวและขยายใหญ่เต็มเซลล์ จนเห็นนิวเคลียสของแต่ละเซลล์อยู่ชิดติดกันเกือบไม่มีส่วนของไซโตพลาสซึมเหลืออยู่ ภายในนิวเคลียสมีผลึกโปรตีนอยู่เต็ม ส่วนของ chromatin ถูกดันไปอยู่ชิดกับผนังนิวเคลียสซึ่งขาดหายไปเป็นช่วง ๆ องค์ประกอบอื่น ๆ ภายในเซลล์ถูกทำลายหมดไม่เหลือคงรูปทรงไว้ เซลล์มีการจัดเรียงตัวที่ไม่เป็นระเบียบและแสดงอาการป่วยผิดปกติไปจากเซลล์ปกติ

กระบวนการเจริญเพิ่มปริมาณของ NPV ในนิวเคลียสของเซลล์ (ภาพที่ 4) เริ่มจากมีบริเวณทึบแสงอิเล็กทรอนิกส์เรียกว่า virogenic stroma เกิดขึ้นภายในนิวเคลียส อนุภาคไวรัส (nucleocapsid) ถูกสร้างขึ้นที่บริเวณนี้ก่อน และกระจายไปอยู่ทั่วเซลล์ จากนั้นจะถูกหุ้มด้วยผนังบางสองชั้นเป็น virions เนื่องจากไวรัสนี้เป็นแบบ multiple-embedded ดังนั้นจึงมีหลายอนุภาคอยู่รวมกัน (ภาพที่ 4 ก.) ผลึกโปรตีนจะถูกสร้างขึ้นระหว่างกลุ่มของ virions ที่กระจายอยู่ในนิวเคลียส และขยายขนาดขึ้น โดยรวม virions บริเวณใกล้เคียงเข้าไปในผลึกมากขึ้น เฉพาะอนุภาคไวรัสที่มีผนังล้อมรอบแล้วเท่านั้นจึงจะเข้าฝังตัวในผลึกโปรตีน (ภาพที่ 4 ข., ค.) เมื่อผลึกโปรตีนเจริญเติบโตเต็มทีจะมีผนังล้อมรอบ (ภาพที่ 4 ง.) และจะเพิ่มจำนวนมากขึ้นจนเต็มนิวเคลียส ทำให้นิวเคลียสขยายใหญ่ขึ้นจนผนังนิวเคลียสแตก และดันไซโตพลาสซึมทำให้ผนังเซลล์แตกในที่สุด ดังนั้นเมื่อแมลงตายตัวจะแตกเพราะเซลล์ได้ผนังลำตัวถูกทำลาย ผลึกโปรตีนจะออกมาออกตัวแมลงเพื่อแพร่กระจายต่อไป

มีโครงสร้างจุลภาค (ultrastructure) หลายอย่างที่เกิดขึ้นในนิวเคลียสที่ถูกทำลายและไม่พบในเซลล์ปกติ โครงสร้างที่เรียกว่า fibrillar strand พบในนิวเคลียสของเกือบทุกเซลล์ที่ถูกทำลาย (ภาพที่ 5 ก.) ซึ่งจะเห็นเป็นบริเวณทึบแสงอิเล็กทรอนิกส์เป็นป็นยาวและมักมีเส้น membrane สั้น ๆ เรียกว่า membranous profile ขวางไปมาในบริเวณนี้ (ภาพที่ 5 ข.) Membranous profile นั้นจะเห็นมีหลายลักษณะ เป็น

เส้นยาวโค้งไปมาและอยู่ซ้อนกันเป็นแถว พบบริเวณขอบนิวเคลียสของเซลล์ (ภาพที่ 5 ก.) เป็นเส้นสั้น ๆ โค้งไปมา อยู่ใกล้ชิดกัน fibrillar strand (ภาพที่ 5 ข.) และพบกระจายทั่วไปบริเวณ virogenic stroma (ภาพที่ 5 จ.) และเป็นเส้นหนาทึบแสงอิเล็กตรอน (ภาพที่ 5 ฉ.) กำเนิดและกลไกความสัมพันธ์ของโครงสร้างเหล่านี้กับไวรัสมีผู้ให้ข้อคิดเห็นไว้หลายอย่าง Summer และ Arnott (1969) กล่าวว่า fibrillar strand เป็นโปรตีนที่หลุดอยู่จากการถูกนำไปสร้างเป็นผลึกโปรตีน และ membranous profile เป็นส่วนของ nuclear membrane ซึ่งเข้ามามีส่วนเกี่ยวข้องกับการสร้างอนุภาคไวรัส ส่วน Krieg และ Huger (1969) กล่าวว่า membranous profile มีลักษณะคล้ายกับผนังที่ล้อมรอบอนุภาคไวรัสเนื่องจาก membranous profile มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับ fibrillar strand จึงอาจเป็นไปได้ว่า fibrillar strand คือโปรตีนที่สร้างขึ้นเพื่อเป็นผลึกโปรตีนหุ้มอนุภาคไวรัสและ membranous profile เป็นผนังบางที่จะถูกนำไปใช้ล้อมรอบผลึกโปรตีนอีกทีหนึ่ง นอกจากนี้ Krieg และ Huger (1969) ยังพบโครงสร้างที่เป็นเส้นหนาทึบแสงอิเล็กตรอนคล้ายกับที่พบในการศึกษานี้ และชี้แนะว่าเป็นลักษณะหนึ่งของอนุภาคไวรัสที่สร้างขึ้นเป็นเส้นยาว เรียกว่า virus filament อย่างไรก็ตาม Attathom (1978) ได้เคยรายงานโครงสร้างที่คล้ายคลึงกันนี้ว่าเป็น membranous profile อีกแบบหนึ่ง ซึ่งมีลักษณะเป็นแผ่นหนาทึบแสงอิเล็กตรอน และพบเกี่ยวข้องกับ NPV ของหนอนผีเสื้อหลายชนิด โครงสร้างที่พบในการศึกษานี้ น่าจะเป็น membranous profile มากกว่า เนื่องจากไม่ได้เป็นแท่งที่มีขนาดเท่ากันตลอด และมีลักษณะคล้ายเป็นแผ่นเมื่อตัดอย่างถูกตัด (section) ในแนวต่างกันขณะเตรียมตัวอย่าง อย่างไรก็ตาม ข้อคิดเห็นเหล่านี้จำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อพิสูจน์ข้อเท็จจริงต่อไป

เมื่อเปรียบเทียบกับ NPV อื่น ๆ ที่พบในประเทศไทย พบว่า NPV ของหนอนกระทู้หอมกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในนิวเคลียสของเซลล์มากที่สุด NPV ของหนอนเจาะสมอฝ้ายทำให้เกิด fibrillar strand และ membranous profile เช่นกัน แต่ไม่

เกิดกับทุกนิวเคลียสและมีการจัดเรียงตัวผิวนั้น (ทิพย์วดี และ สุพัฒน์, 2528) โครงสร้าง membranous profile ที่พบใน NPV ของหนอนไหมมีลักษณะเป็นเส้นวงกลมและเส้นบางสั้น ๆ ที่กระจายไปทั่วนิวเคลียสไม่รวมอยู่ที่ใดเฉพาะและไม่ค่อยพบ fibrillar strand (Attathom and Sinchaisri, 1987) ส่วนใน NPV หนอนคืบกระทู้หอมไม่พบโครงสร้างทั้งสองนี้ หรือหากมีก็น้อยมาก (ทิพย์วดี และ พิศสุวรรณ, 2527) การศึกษาทางโรควิทยาทำให้กล่าวสรุปได้ว่า NPV ของหนอนกระทู้หอมนี้เป็นไวรัสต่างชนิดกับ NPV ที่มีรายงานมาแล้ว มีความจำเพาะกับหนอนกระทู้หอมมิได้มาจากการถ่ายทอดข้ามชนิดของแมลง และเนื่องจากเข้าทำลายเนื้อเยื่อหลัก ๆ ของแมลงและมีลักษณะการทำลายอย่างรุนแรง จึงเป็นไวรัสที่มีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดแมลง

## สรุป

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา โครงสร้างจุลภาค และโรควิทยาของนิวเคลียร์โพลีดีโครมัสไวรัสของหนอนกระทู้หอมที่พบในประเทศไทยนี้ แสดงให้เห็นว่า ไวรัสที่ศึกษาต่างจากไวรัสที่พบในหนอนคืบกระทู้หอม หนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน และหนอนไหมที่สำรวจพบในประเทศไทย แม้ว่าลักษณะทางสัณฐานวิทยาขององค์ประกอบต่าง ๆ ของไวรัสจะคล้ายคลึงกับ NPV ของหนอนผีเสื้อโดยทั่วไป แต่ก็พอจะมองเห็นความแตกต่างที่เป็นจำเพาะของไวรัสชนิดนี้ได้ เช่น พบผลึกรูปทรงกลมขนาดใหญ่ผิดปกติปะปนกับผลึกโปรตีนของไวรัสอยู่ค่อนข้างมาก ไม่พบ cuboidal inclusion body เช่น NPV อื่น ๆ และพบผลึกโปรตีนที่มาเชื่อมติดกันซึ่งไม่เคยมีรายงานมาก่อน การศึกษาทางโรควิทยาชี้แนะให้เห็นว่าไวรัสนี้มีประสิทธิภาพสูงและสามารถกำจัดแมลงได้เร็วเพราะไวรัสเข้าทำลายเนื้อเยื่อหลักที่สำคัญคือ เนื้อเยื่อไขมัน เซลล์ที่ผนังลำตัวและเซลล์รอบท่ออากาศ นอกจากนี้ยังสามารถเจริญเพิ่มปริมาณในเซลล์กระเพาะอาหาร เซลล์รอบ ๆ อัมชะ และเซลล์รอบท่อขับถ่ายด้วย โครงสร้างจุลภาคหลายอย่างที่เกิดขึ้นในเซลล์ที่

ไวรัสเข้าทำลายนั้นแม้ว่าจะเป็นที่ทราบกันดีว่า เป็นลักษณะไม่จำเพาะกับไวรัสแต่ละตัว (non-specific) เนื่องจากมีรายงานพบเกี่ยวข้องกับการเข้าทำลายของ NPV ของหนอนผีเสื้อโดยทั่วไป แต่เมื่อศึกษารายละเอียดพบว่า รูปร่างลักษณะของโครงสร้าง การจัดเรียงตัว และจำนวนที่มีปรากฏให้เห็น แตกต่างกันไปในไวรัสแต่ละตัว ทำให้สามารถวิเคราะห์จำแนกไวรัสได้ โครงสร้างที่เรียกว่า fibrillar strand นั้นพบเป็นจำนวนมากในเกือบทุกเซลล์ที่ถูกทำลายด้วย NPV ของหนอนกระทู้หอม ส่วน membranous profile มีปรากฏให้เห็นหลายลักษณะ ส่วนใหญ่อยู่ใกล้ชิดกับ fibrillar strand และในบริเวณ virogenic stroma โครงสร้างดังกล่าวนี้แตกต่างจากที่รายงานพบใน NPV ของหนอนผีเสื้อชนิดอื่น ๆ ในประเทศไทย อย่างไรก็ตาม ไวรัสทั้งหมดนี้ยังจัดอยู่ในกลุ่มของนิวเคลียร์โพลีซี-โครชีสไวรัส การศึกษาคุณสมบัติทางฟิสิกส์ เคมี และ เซรุ่ม วิทยาประกอบกันจะช่วยให้สามารถทราบถึงความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันของไวรัสแต่ละตัวในกลุ่มนี้ได้ ซึ่งจะเป็นข้อมูลที่เป็นประโยชน์เมื่อมีการพบไวรัสใหม่เพิ่มขึ้น ทำให้สามารถจำแนกและคัดเลือกสายพันธุ์ที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้กำจัดแมลงศัตรูพืชต่อไป

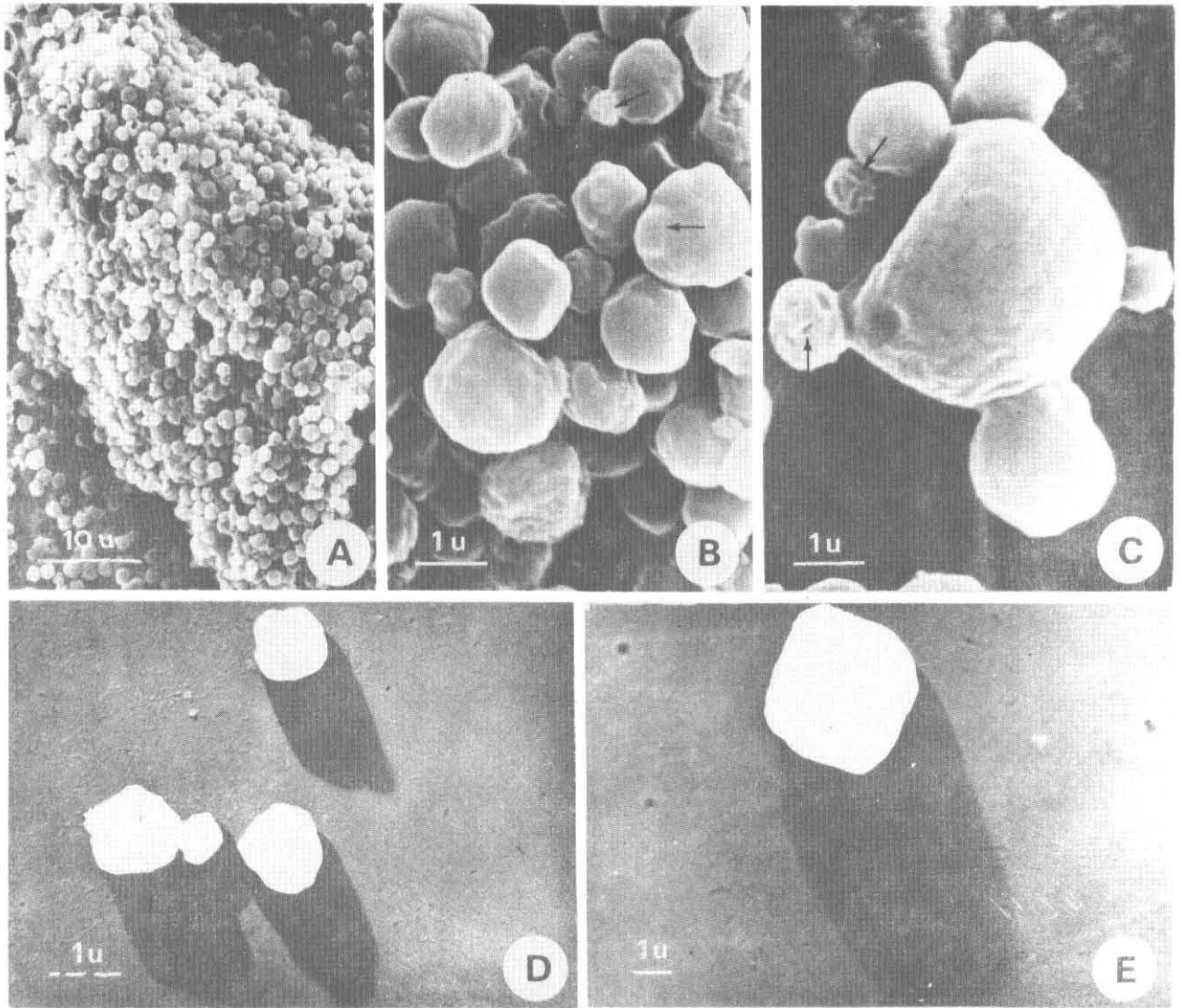
## เอกสารอ้างอิง

- ทิพย์วดี อรรถธรรม และ พิศสุวรรณ พูลผล. 2527. นิวเคลียร์โพลีซีโครชีสไวรัสของหนอนทับกระทู้หอมในประเทศไทย. ว.เกษตรศาสตร์ (วิทย.) 18 : 136-143.
- ทิพย์วดี อรรถธรรม และ สุพัฒน์ อรรถธรรม. 2528. การใช้เชื้อไวรัสในการปราบหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน, *Helicoverpa armigera* (Hubner). รายงานฉบับสมบูรณ์. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, กรุงเทพฯ. 108 น.
- ปรีชา อารีกุล, ชัย เศรษฐสมบัติ, อุทัย เกตุคุณิ และ ทนงจิตร วงษ์ศิริ. 2524. ผลสำเร็จของการใช้เชื้อไวรัสกำจัดหนอนกระทู้หอม. รวมเรื่องย่อการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 18 สาขาพืช.
- มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 79 น.
- Ackermann H. W. and W.A. Smirnoff. 1983. A morphological investigation of 23 Baculoviruses. J. Invertebr. Pathol. 41 : 269-280
- Attathom, T. 1978. A comparative study of six baculovirus isolates from larvae of the family Noctuidae (Insecta : Lepidoptera). Ph. D. dissertation, Univ. of Calif., Riverside.
- Attathom, T. and N. Sinchaisri. 1987 Nuclear Polyhedrosis virus isolated from *Bomby mori* in Thailand. 15 th International Sericultural Congress, Pattaya, Thailand. P.19 (Abstr.)
- Falcon, L.A. and R.T. Hess. 1977. Electron microscope study on the replication of *Autographa* nuclear polyhedrosis virus and *Spodoptera* nuclear polyhedrosis virus in *Spodoptera exigua*. J. Invertebr. Pathol. 29: 36-43.
- Hamn, J.J. 1966. A modified azan staining technique for inclusion body virus. J. Invertebr. Pathol. 8 : 125-126.
- Hamn, J.J. 1968. Comparative histopathology of a granulosis and a nuclear polyhedrosis of *Spodoptera frugiperda*. J. Invertebr. Pathol. 10 : 320-326.
- Harrap, K.A. and J.S. Robertson. 1968. A possible infection pathway in the development of a nuclear polyhedrosis virus. J. Gen. Virol. 3 : 221-225.
- Hunter D.K. and I.M. Hall. 1968. Cytopathology of a nucleopolyhedrosis of the beet armyworm, *Spodoptera exigua*. J. Invertebr. Pathol. 12 : 93-97.
- Krieg, A., and A.M. Huger. 1969. New Ultrastructural findings in insect nuclear polyhedroses. J. Invertebr. Pathol. 13 : 272-279.

Summers, M.D. and H.J. Arnott. 1969. Ultra-structural studies on inclusion formation and virus occlusion in nuclear polyhedrosis and granulosis virus infected cells of *Trichoplusia ni* (Hubner). J. Ultrastruct. Res.

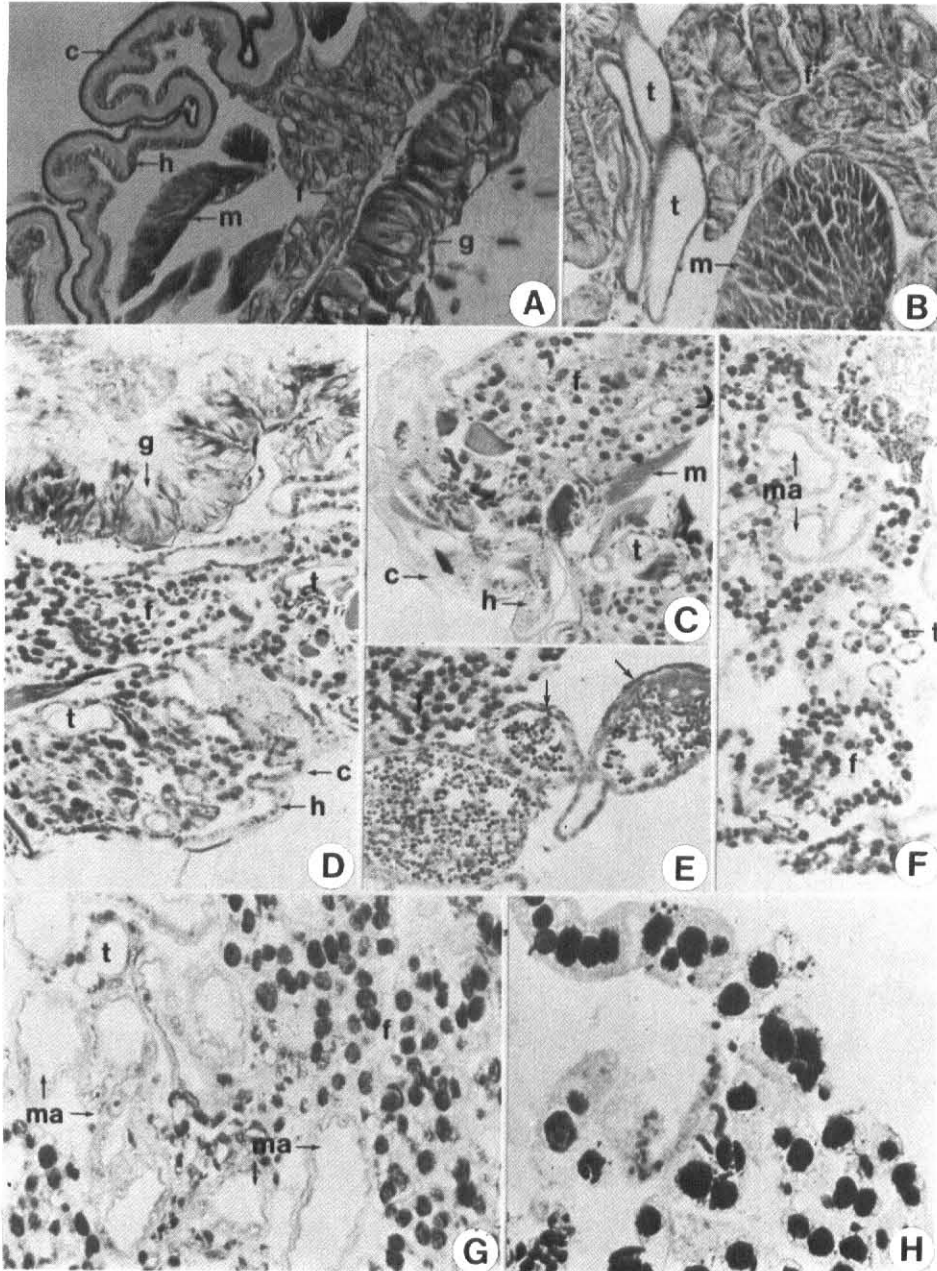
28 : 462-480.

Vlak, J.M., K.V. Frankenhuyzen and D. Peters. 1981. Identification of a new nuclear polyhedrosis virus from *Spodoptera exigua*. J. Invertebr. Pathol. 38 : 297-298.



**Figure 1** Electron micrographs of the polyhedral inclusion bodies of *Spodoptera exigua* NPV a. b. and c.) Scanning electron micrographs of the purified polyhedra. Note protrusions and holes (arrows)

on the rough surface of the polyhedra and huge globular polyhedron d. and e.) Shadow-casted preparations of polyhedra with various shapes and sizes.



**Figure 2** Healthy and NPV infected tissues of *Spodoptera exigua* a. and b.) Various health tissues 120 x. c. and d.) Various infected tissues. Note the enlarged nuclei filled with polyhedra which stained bright red. 75 x. e.) Infected

tracheal cells (t) 75 x. f.) infected epithelium cells of the testes (arrow) 75 x. g.) infected malpighian tubules (ma) 120 x. h.) infected fat cells 200 x. c = cuticle, h = hypodermis, m = muscle, g = gut and f = fat cells

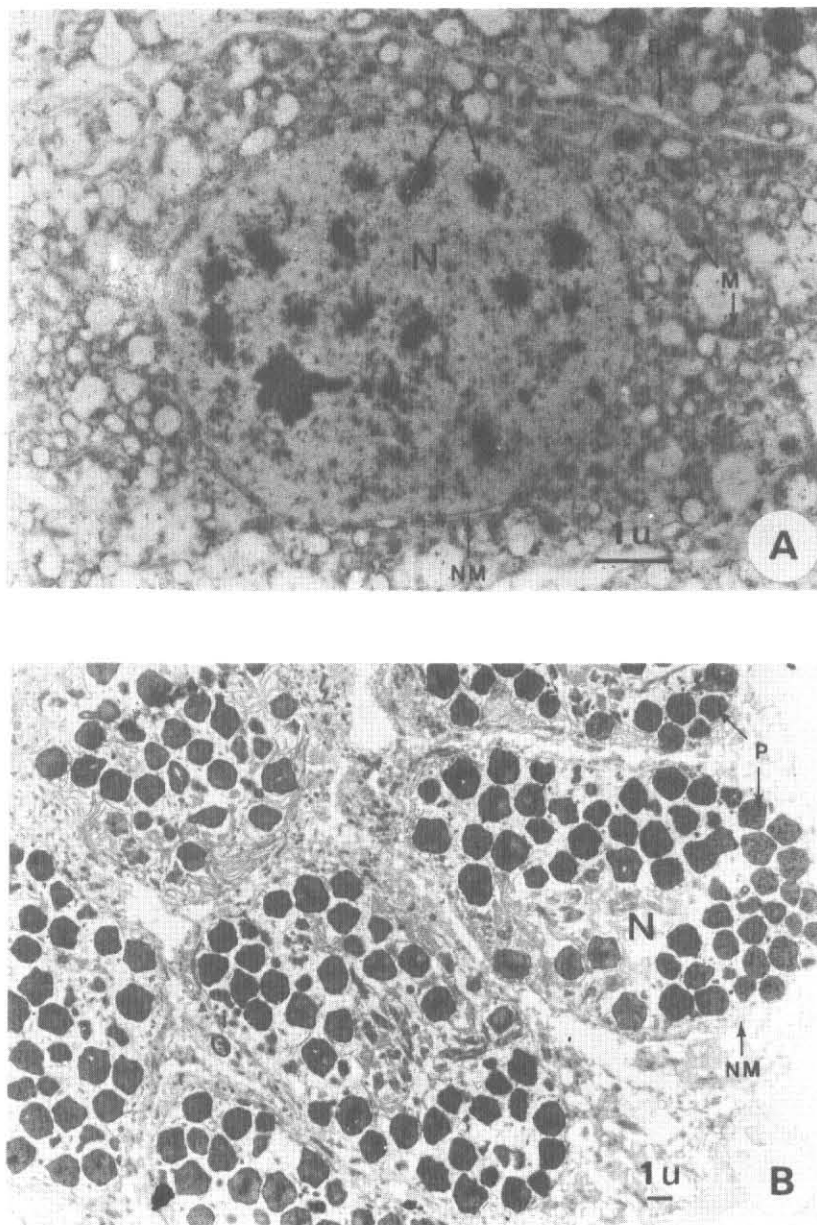
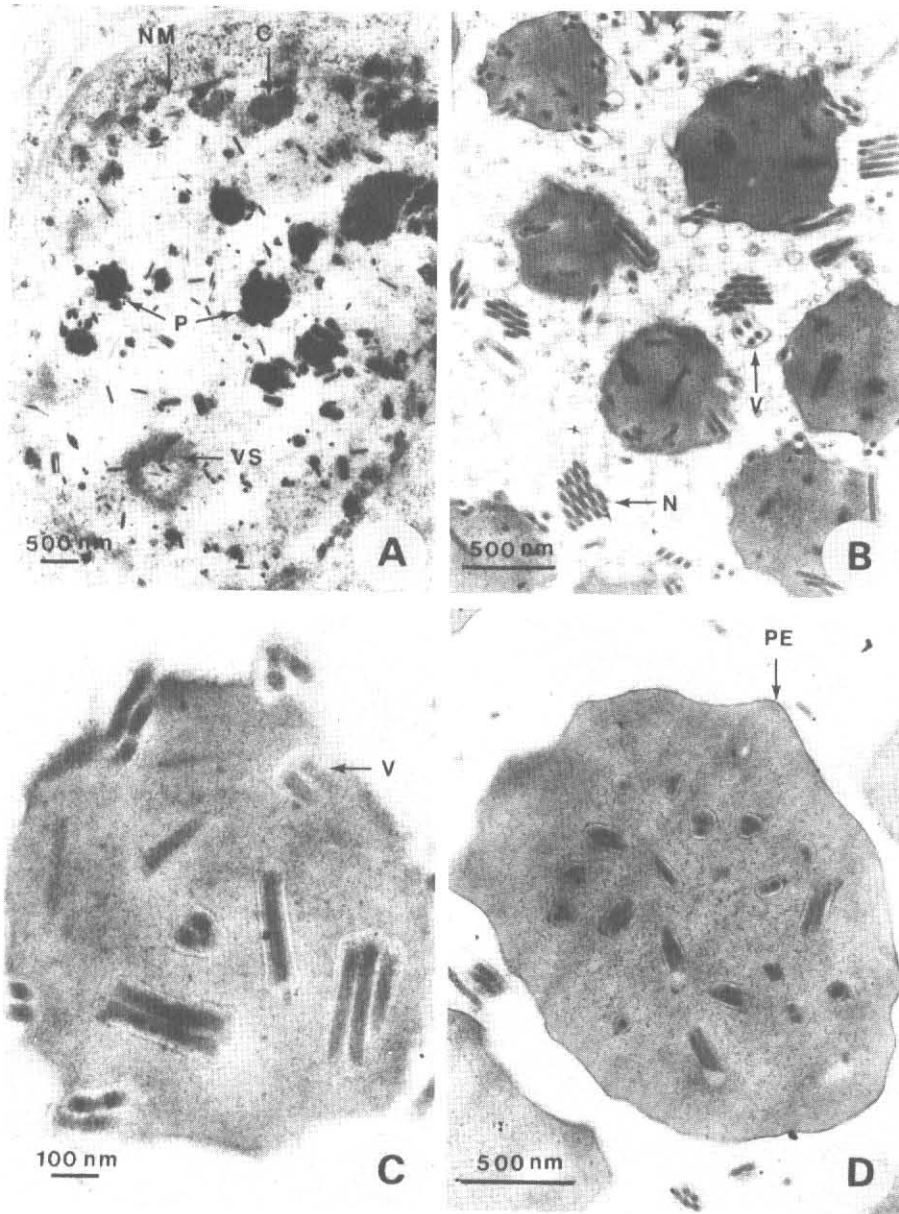


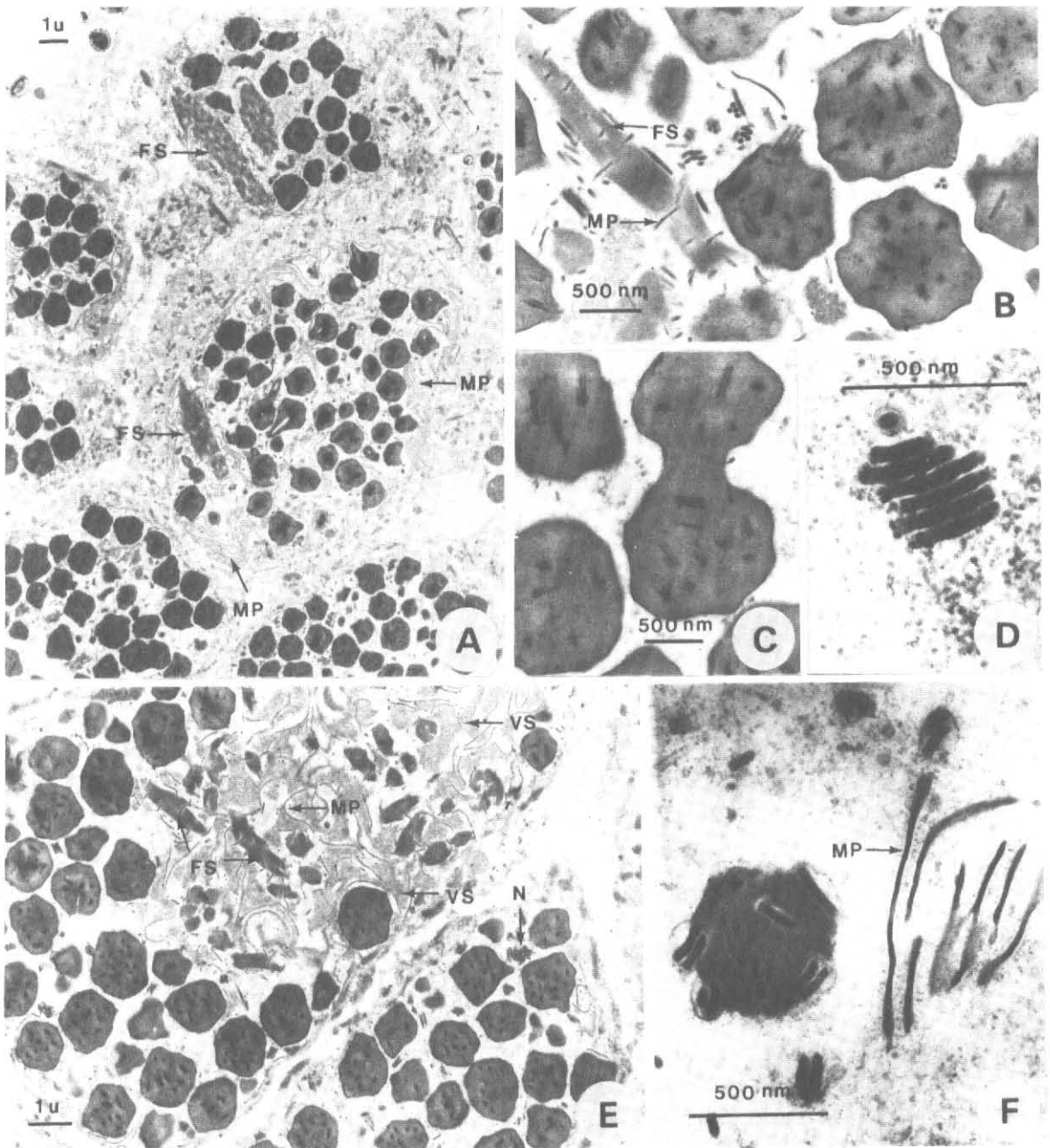
Figure 3 Electron micrographs of the nuclei of *Spodoptera exigua* fat cells. a) Healthy nucleus b) NPV infected nuclei filled with polyhedra. N = nucleus, C =

chromatin, ER = endoplasmic reticulum, M = mitochondria, NM = nuclear membrane, P = polyhedra



**Figure 4** Electron Micrographs of the *Spodoptera exigua* NPV a) Virus multiplication in the nucleus of infected fat cell. b) Developing polyhedra demonstrating virions embedded in the polyhedra and the nucleocapsids and virions outside

the polyhedra. C.) Polyhedron with occluded virions. d.) Completed polyhedron with polyhedral envelope. P = polyhedra, VS = virogenic stroma, N = nucleocapsid, V = virion and PE = polyhedral envelope.



**Figure 5** Electron micrographs of the *Spodoptera exigua* NPV infection a) Infected nuclei of fat cells demonstrating various ultrastructure changes occurred. b) Fibrillar strand (FS) and membranous profile (MP) associated with virus infection. c) Connected polyhedra. d)

Group of virus particles. e) Membranous profile (MP) within the area of virogenic stroma (VS). Note bundles of nucleocapsids (N) outside polyhedra. f) Thick electron dense membranous profile in the infected nucleus.