

几种十字花科作物病毒形态的观察*

裴美云 谌章群

(中国科学院微生物研究所,北京)

对油菜、白菜和榨菜上 16 个病毒分离物的血清学研究表明,我国主要十字花科作物病毒中除芜菁花叶病毒、黄瓜花叶病毒和烟花叶病毒外,还有抗原性完全不同于上述三种病毒的油菜花叶病毒 6 号和白菜上的三个分离物。为了进一步鉴定这些病毒分离物,对上述病毒的 6 个代表性分离物进行了电子显微镜观察。

材料和方法

一、病毒:包括在血清上无亲缘关系的三类病毒[芜菁花叶病毒(TpMV)、油菜花叶病毒 6 号(YMV₆)和白菜枯纹病毒]的 6 个分离物。

在 TpMV 中选择了寄主反应差别较大的白菜孤丁系(TpMV c. k.)^[1](侵染心叶烟 *Nicotiana glutinosa*)和引起油菜花叶的黄斑系(TpMV y. s.)^[2]以及 106 号分离物(TpMV₁₀₆)^[3](后二者均不侵染心叶烟)。

YMV₆中包括原来在油菜(*Brassica campestris*)上产生花叶的分离物^[4]和从花叶系中经千日红(*Gomphrena globosa*)单斑分离出的一个在土油菜上病状隐蔽,但与花叶系抗血清有正反应的分离物,它们是同一病毒的不同系。

白菜枯纹病毒是胡吉成等^[5]报告的白菜孤丁病毒的枯纹系。由于该病毒与 TpMV 的抗血清无反应,所以暂称白菜枯纹病毒。

病毒都在土油菜幼苗上繁殖,接种 3—4 周后采发病叶片作为病毒提取的材料。

二、病毒的提取:病叶在 -20℃ 下迅速冻结,榨取汁液,加入等容积的氯仿,用力摇匀,在 4℃ 冰箱内放置 30 分钟以上。4,000 转/分离心后,取上层清液在缓冲液(TpMV 用 0.02M pH 7.5 的硼酸缓冲液;YMV₆和白菜枯纹病毒用 0.05M pH 7.5 的磷酸缓冲液)中透析过夜。然后用差速离心法提取病毒,即先以通用 3K-型离心机 10,000 × g 离心 30 分钟,除去大颗粒的杂质,上清液再以 Omega-1 型离心机 105,000 × g 离心 90 分钟,病毒沉淀悬浮在相应的缓冲液中。一般进

行两次高低差速离心,即可进行电子显微镜观察。

三、电子显微镜观察方法:提取的病毒液用蒸馏水作适当稀释后,以白金耳点在碳-火棉胶支持膜上,干后用铬投影,投影角 $\theta = \tan^{-1} 1/4$ 。在日本 HU-11-A 型电子显微镜下观察并照像。

结果和讨论

一、三个 TpMV 分离物的形状和大小的比较:这三个病毒的颗粒在电子显微镜下都呈线状(图 2、3、4)。各测量了 100 个以上颗粒的长度(图 1)。证明三者的长度是相近的,长 800 毫微米左右的颗粒最多,66% 的 TpMV c. k., 54% 的 TpMV y. s. 和 47% 的 TpMV₁₀₆ 的颗粒都集中在 700—850 毫微米的范围内,较谢泼德和庞德(Shepherd 和 Pound)^[6]所报告的 TpMV 的 680 毫微米长一些,与博德和布兰德斯(Bode 和 Brandes)^[7]的 750 毫微米相近。三个分离物的宽度均为 18 毫微米左右。与谢泼德和庞德^[6]的观察十分一致,较博德和布兰德斯^[7]的 12—13 毫微米宽。图中还说明 TpMV 的颗粒极易裂成短线状,也有两个颗粒相互连接的情况。三个分离物形状和大小的一致性与它们在抗原性上的共同性是相符的。进一步说明我国十字花科作物上的 TpMV 与国外已报道的基本相同。颗粒大小稍有出入,这可能是观察的误差。

二、白菜枯纹病毒形状的初步观察:从白菜枯纹病叶提取的样品,经多次观察均未发现有线状颗粒,只看到一些大的和小的球状颗粒,大的直径在 70 毫微米左右(图 5)。健株汁液中只有小球状颗粒。所以 70 毫微米的大球可能是病毒颗粒。由于这一病毒的活力测定和提纯方法尚未解决,对此还需进一步的工作来验证,不过从电镜结果看把白菜枯纹病毒归入 TpMV^[5]似乎是不恰当的。

* 蒙本院原生物学实验中心协助进行电子显微镜观察和超离心,特此致谢。

本文 1973 年 2 月 9 日收到。

三、YMV. 隐蔽系的形状和大小: 前已报道 YMV. 花叶系为直径 38 毫微米的球体^[9], 对隐蔽系观察的结果(图 6)证明, 它和花叶系的形状和大小相同。进一步说明它们是属于同一病毒的不同系。在感染十字花科作物的病毒中, 形状和大小与 YMV. 相近的病毒有黄瓜花叶病毒(直径 35 毫微米的球体)和芜菁黄化花叶病毒(直径 22—32 毫微米的球体)^[9]。但 YMV. 与前者的寄主反应和抗原性显然不同。与后者的寄主反应, 传毒昆虫和理化性质也都不同^[8, 10, 11]。结合以往对 YMV. 抗原性和理化性质^[9]的研究, 我们认为 YMV. 可能是十字花科植物上的一个新的病毒种, 建议把它称为油菜花叶病毒(YMV)。

从我们对十字花科作物病毒的工作中可以看出, 血清学反应结合形态观察是鉴定某些病毒的极有用的手段。虽然有人报告马铃薯 X-病毒的颗粒长度因植株培养温度而异, 但其长度的变化只是由于颗粒的聚合或断裂而成倍的增减^[12], 并不影响以形态特征作为病毒分类的重要标准之一^[13]。

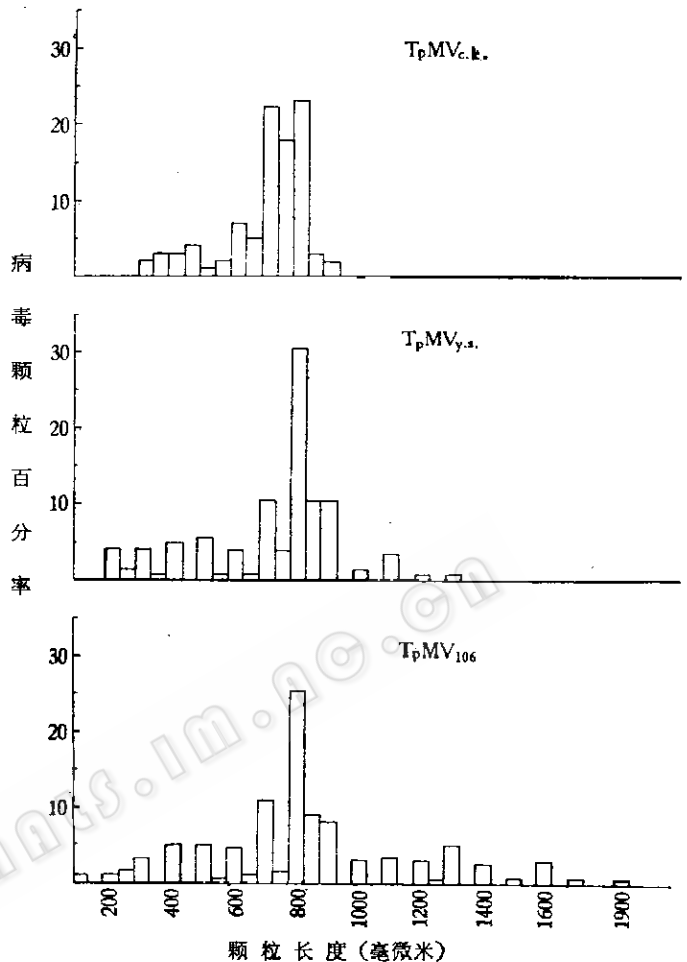


图 1 3 个 TpMV 分离物的颗粒长度的分布

参 考 资 料

- [1] 胡吉成、朱桂香、谢淑仪: 植物保护学报, 1: 25—34, 1962。
- [2] 沈淑琳、濮祖芹: 植物保护学报, 4: 35—42, 1965。
- [3] 李德葆: 植物保护学报, 3: 198, 1964。
- [4] 周家炽: 微生物学报, 8: 414—417, 1962。
- [5] 胡吉成、吴新兰、庞志超: 植物保护学报, 3: 415—416, 1964。
- [6] Shepherd, R. J. and Pound, G. S.: Phytopath., 50:797—803, 1960。
- [7] Bode, O. and Brandes, J.: Phytopath, Z., 34:103—106, 1958。
- [8] 裴美云、田波、张友尚、钱元任、曹天钦: 生物化学与生物物理学报, 5: 303—310, 1965。
- [9] 裴维蕃: 植物病毒学, 126—127, 农业出版社, 1964。
- [10] Markham, R.: The Viruses (Ed. by Burnet, F. M. and Stanley, W. N., Vol. 2:98—106, Academic Press, New York, London, 1959。
- [11] Smith, K. M.: A Textbook of Plant Virus Diseases, 2nd. ed., 594—597, Little, Brown and Company, Boston, 1957。
- [12] Moore, L. W. and Guthrie, J. W.: Phytopath., 55:607—611, 1965。
- [13] Гайдамович, С. Я. Жданов В. М.: Вopr. Вирусол. 17: 361—372, 1972。



图2 TpMV₁₀₆ 电子显微镜图
铬投影,放大20,000倍



图3 TpMV y. s. 电子显微镜图
铬投影,放大20,000倍

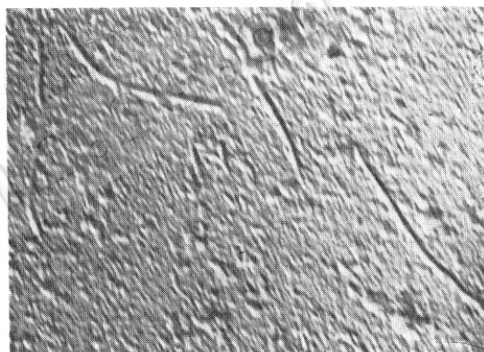


图4 TpMV c. k. 电子显微镜图
铬投影,放大36,000倍

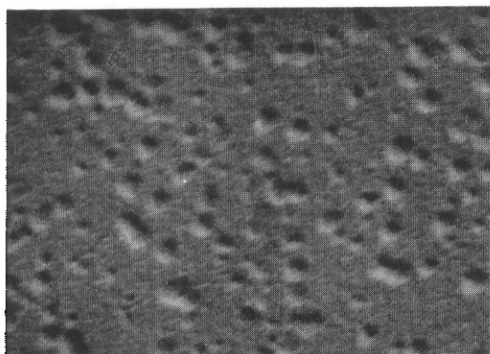


图5 白菜枯纹病毒电子显微镜图
铬投影,放大40,000倍(大
颗粒是病毒)

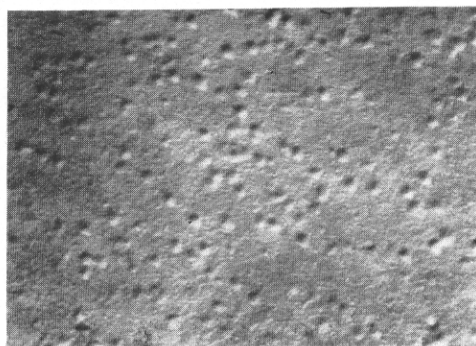


图6 YMV. 隐蔽系电子显微镜图
铬投影,放大60,000倍