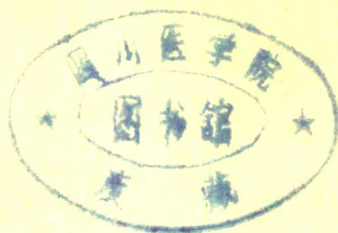


编号: (78)028

内 部

出国参观考察报告

澳大利亚植物病毒及有关研究的现况



88.84383

65

C-1

科学技术文献出版社

出国参观考察报告

澳大利亚植物病毒及有关研究的现况

(内部发行)

编辑者: 中国科学技术情报研究所

出版者: 科学技术文献出版社

印刷者: 中国科学技术情报研究所印刷厂

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经销

开本 $787 \times 1092 \cdot \frac{1}{16}$ 2.25印张 58千字

统一书号: 13176 · 53 定价: 0.30元

1979年3月出版 印数: 8000册

目 录

一、植物病毒病新病原的研究.....	(1)
(一) 弹状病毒 (Rhabdoviruses)	(1)
(二) 双生病毒 (Geminiviruses)	(3)
(三) 植物呼肠孤病毒 (Phytoreoviruses)	(4)
(四) 类病毒 (Viroid)	(6)
(五) 类菌质体和类立克次氏体 (Mycoplasma and Rickettsiae-Like Organisms)	(7)
二、植物病毒病害研究的广度.....	(8)
三、昆虫与病毒.....	(12)
(一) 植物病毒的昆虫介体.....	(13)
(二) 昆虫细胞的培养.....	(13)
(三) 昆虫病毒.....	(13)
(四) 节肢介体病毒 (Arboviruses)	(14)
四、病毒的分子生物学.....	(15)
(一) 植物病毒.....	(15)
(二) 动物病毒.....	(18)
(三) 以植物病毒为载体的植物遗传工程.....	(19)
五、植物检疫.....	(22)
六、无病原种的生产和国家种苗库.....	(23)
(一) 马铃薯无病原种 (经过病原物检验原种) 的生产.....	(24)
(二) 葡萄病毒病及检验过病毒的高质量葡萄蔓的生产.....	(27)
(三) 柑桔病毒病及柑桔种苗库的建立.....	(28)
(四) 国家种苗库的建立.....	(29)
七、蛋白质的研究.....	(30)
(一) 蛋白和多肽激素.....	(30)
(二) 植物信息蛋白.....	(31)
(三) 食用植物蛋白.....	(33)
(四) 羊毛蛋白.....	(34)
(五) 运动蛋白.....	(35)
(六) 蛋白质氨基酸排列顺序测定.....	(35)
(七) 病毒蛋白.....	(36)

No 2783

58.84383
Z 65
0.1

澳大利亚植物病毒及有关研究的现况

植物病毒考察组

中国科学院植物病毒考察组一行三人, 根据中澳两科学院科学交流的协定, 自1978年4月1日至21日在澳大利亚Canberra, Sydney, Brisbane, Adelaide, Melbourne和Mildura等地考察三周, 对国家研究机构、大学研究所和学系以及四个州的农业部研究所, 共31个单位、120个实验室的植物病毒、动物病毒及蛋白质研究进行了了解。澳大利亚植物病毒的研究, 有着相当高的水平。从研究的深度广度讲, 他们不如美国、英国、荷兰, 但澳大利亚有一支不大却很精干的队伍, 有一些近代化装备的实验室和温室; 他们紧跟世界生物科学发展的潮流, 密切联系大洋洲农业生产的实际, 做出了卓越的贡献。

现就印象比较突出的几个方面介绍如下:

一、植物病毒病新病原的研究

在对澳大利亚、太平洋岛屿和东南亚一些地区的粮食作物、甘蔗、果树、浆果、蔬菜、观赏植物、牧草、野草等病毒病广泛研究的基础上, 澳大利亚科学家正在对一些植物病毒及新型的病原进行着出色的工作。

(一) 弹状病毒 (Rhabdoviruses)

十几年来陆续报导的40余种植物弹状病毒中, 许多是由澳大利亚科学家发现并深入研究的。1973年以来, 一些有关植物弹状病毒的综述如 "Advances in Virus Research" Vol.18 (1973); Mahy & Bary编辑的 "Negative Strand Viruses", Vol.1 (1975) 和 Bishop 编辑的 "Rhabdoviruses" (待发表) 都是委托 Adelaide 大学 Wait 农业研究所的 R. I. B. Francki 和 J. W. Randles 执笔的, 这也反映了国际上对澳大利亚贡献的承认。

1. 莴苣坏死性黄化病毒 (Lettuce necrotic yellows virus, LNYV)

这是一种由蚜虫 *Hyperomyzus Lactucae* 传播的莴苣病害, 流行时造成很大损失。自1963年迄今, 澳大利亚的 L. L. Stubbs, T. C. Chambers, N. C. Crowley, R. I. B. Francki, J. W. Randles, G. T. O'Loughlin, G. D. McLean, B. S. Wolanski 等人对这种病毒进行了系统的研究, 因而在植物弹状病毒中, 对 LNYV 的病理、传毒媒介、病毒形态、结构和病毒核衣壳中依赖于 RNA 的 RNA 聚合酶, 了解得比较清楚。最近, Queensland 州农业部 (Queensland Department of Primary Industry) 植物病理组的 J. Dale 测定了 LNYV 各种蛋白成分的分子量。L、G (糖蛋白)、N 和 NS (核衣壳蛋白) 以及 M (基质蛋白) 的分子大小分别为 171、71、56、38 和 19×10^3 道尔顿。

2. 苦苣菜黄脉病毒 (Sowthistle yellow vein virus, SYVV.)

Queensland 州农业部植物病理组的 G. Behncken 和 Adelaide 大学 Waite 农业研究所 (Waite Agricultural Research Institute) 植物病理系的 R. I. B. Francki 曾分别研究过 SYVV 在媒介蚜虫 *Macrosiphum euphorbia* 中增殖的过程, 和 SYVV 同 LNYV 在血清学上并无亲缘关系等问题。目前 J. Dale 正进行深入的研究。他改进了抽提净化的方法, 用含 KCN 的 Tris 缓冲液抽提, 用粗硅藻土滤去杂质, 差速离心, 然后用蔗糖密度梯度电泳, 获得纯化的制剂。如用 Nonidet P-40 去污剂处理, 可去除外膜。Dale 比较了 SYVV (一种在

细胞核内外膜间装配的病毒) 和 LNYV (一种在细胞质内质网膜间装配的病毒) 蛋白组分

的不同。聚丙烯酰胺凝胶电泳图谱 (图 1)。

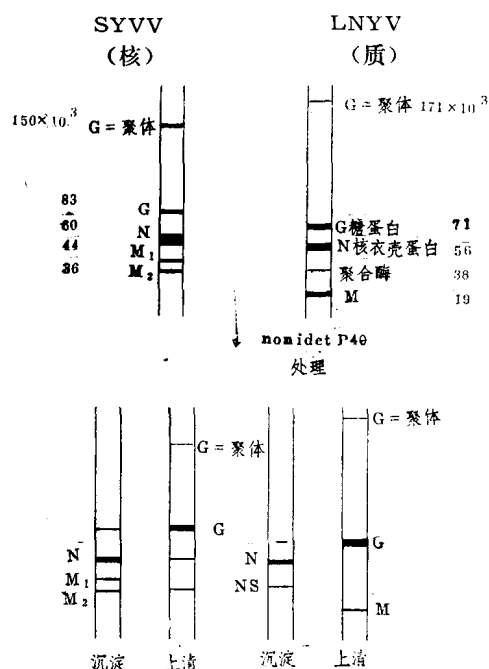


图 1

净化的 SYVV 制剂中有蛋白水解酶活力, 在动物弹状病毒中尚未见。这种蛋白水解酶是否病毒的组成部分? 与病毒的装配有无关系? J. Dale 最近证明: 这种蛋白水解酶来自植物。苦苣菜苗期无此活力。而二、三周后活力显著增加。巯基乙醇能使酶失活。SYVV 在甘氨酸缓冲液中, 有 Mg^{++} 存在时, 因酶的作用而 M_1 , M_2 逐渐消失, 加 EDTA 则 M_1 , M_2 皆始终保存。在 Tris 缓冲液中, 有 Mg^{++} 存在时, 只 M_1 消失。这说明 Mg^{++} 对酶活力的重要性。Dale 认为 M_1 , M_2 两种基质蛋白质系联在一起, 并以 M_2 为主。值得注意的是: 膜蛋白酶不能象上述蛋白酶那样渗入膜内部, 而只切除 SYVV 外膜表面上的糖蛋白突起。根据 Dale 的经验, 如欲净化弹状病毒去除杂蛋白, 宜用

木瓜蛋白酶。

3. 硬花甘蓝坏死性黄化病毒 (Broccoli necrotic yellows virus, BNYV.)

Victoria 州农业部植物研究所 (Plant Research Institute, Victorian Department of Agriculture) 的 R. G. Garrett 研究了 BNYV 在花椰菜和媒介蚜虫 (*Brevicoryne brassicae*, L.) 中装配的过程。在植株中, 弹状病毒质粒在细胞质泡囊中成熟堆积, 而在蚜虫中则在细胞核中成熟堆积。似乎在两种寄主中装配的途径不同。

4. 禾谷褪绿斑驳病毒 (Cereal Chlorotic mottle virus, CCMV.)

质粒大小约 $65 \times 230\text{nm}$, 每周有 17 突起, 用戊二醛固定、磷钨酸染色时, 呈清晰表面结构。在病株或媒介叶蝉 *Nesoclutha pallida*, Evans. 的脑组织和唾液腺中, 都可检查到病毒质粒。这个病毒是 Queensland 州农业部植物病理组的 R. Greber 发现的, 他也发现了下述的弹状病毒。

5. 马唐条纹病毒 (Digitaria striate virus, DSV.)

这种病毒质粒大小约 $55 \times 280\text{nm}$ 。在俯仰马唐病株和媒介叶蝉 *SoGatella Kalophon* 的脑组织和唾液腺中都可检查到病毒质粒, 以上两种病毒, 在超薄切片中直径相同, 而负染样品

则直径却差别显著，直径比为1:15。

6. 兰花斑点病毒 (Cymbidium mosaic virus, 即Orchid fleckvirus, OFV.)

Queensland农业部植物病理组的G. Behncken等人研究这种可汁液传染的弹状病毒，解开了一个重大疑团。近年来，在植物中发现了一些小的弹状病毒，质粒大小一如弹状病毒的核衣壳，并无外膜。大小两类弹状病毒究竟关系如何？一种合理的推测是小弹状病毒是尚未装配外膜的核衣壳。在我国的小麦丛矮病病株和日本北方禾谷花叶病病株中，病毒质粒是带外膜的，而在传毒飞虱唾液腺中却只见到小的无膜弹状质粒，这些是迄今说明二者关系的仅有的线索。Behncken将OFV小弹状病毒接种到心叶烟和黄烟 (N. Rustica)，在用钼酸铵染色的超薄切片中观察到直径30—40nm的无膜弹状质粒。但另外，还看到部分装膜和全部装膜的质粒，膜上突起清晰可辨。

7. 其他弹状病毒

Behncken一组还在配合农业需要，广泛诊断检测的基础上，发现一些其他弹状病毒，如蚜虫传的莴苣巨脉病毒 (Lettuce big vein virus)，草莓皱叶病毒 (Straw-berry crinkle virus) 等，但还未进行深入的研究。

(二) 双生病毒 (Geminiviruses)

近两三年来，连续发现了一类新型的病毒，即双生病毒，病毒质粒为直径约20nm的二十面体，两两连接。例如：

玉米条纹病毒 Maize Streak virus 非

豆金黄花叶病毒 Bean golden yellow mosaic virus 中南美

甜菜卷顶病毒 Beet curly top virus 美

木薯潜卷叶病毒 Cassava latent leaf curling virus 非

以上都属此类。

澳大利亚的植物病毒学家，在这方面也是站在第一线的。他们正在研究两种新的双生病毒：

1. 虎尾草条点花叶病毒 (Chloris striate mosaic virus CSMV.)

Canberra的联邦科学及工业研究组织 (Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation CSIRO) 的昆虫研究所 (Division of Entomology) 正研究此病毒，N.E. Grylls 1965年最先注意到虎尾草条点花叶病，证明它也是由叶蝉 *N. pallida* 传播的。1976年他观察到直径为17nm的质粒，主要集中在病株细胞核中。后来他与Franki协作，证明病毒质粒实际上是双生的。但这种病毒的血清学反应与玉米条纹病毒不同。Franki和他的同工作者Hatta(八田隆行)用磷酸缓冲液抽提冷冻过的材料。在这种条件下，细胞核核膜已破，病毒质粒释出，在5,000g离心后，上清加聚乙二醇PEG6,000至4%，加NaCl至浓度达0.2M，沉淀部分以中性去污剂Nonidet P40处理，差速离心两次，蔗糖梯度离心一次，得净化制剂。细胞核超薄切片和沉淀超薄切片中病毒质粒的形态和大小类似，分别为18×30nm和16×30nm。抽提液如用磷钨酸染色，则双生质粒断裂为二，制剂似是球状质粒，而用醋酸铀染色，则双生质粒完整。如冻干后用金属投影，也显示出是双生质粒。八田用两平行有机玻璃板分嵌球状质粒与双生质粒，移动回转，观其变化，或将样品在电镜中倾斜0°—50°，观察质粒变化，发现质粒永远两两接触，没有分散现象，证明确是双生的。取清晰的

电镜图象与制作的各种模型相比,推断每一球体有12个形态亚基,属T₁质粒。粘合之处,有一亚基失去,所以双生质粒亚基数为(12-1)×2。双生病毒是单链DNA病毒。迄今按基因结构划分的六类病毒中,植物病毒只有四种,即ss RNA(+), ss RNA(-), ds RNA, ds DNA。现在又有了ss DNA。

2. 菜豆夏枯病毒 (Bean summer death virus, BSDV.)

1969年New South Wales的Ballantyn最先研究这种植物病害,证明它是由叶蝉 *Orosius argentatus* 传播的。

Sydney大学植物病理及昆虫学系的J. Thomas发现这种病害的病原是一双生病毒,每个质粒由两个20nm的二十面体组成,结合面略有形变。病毒质粒不能传到花生,而能传到曼陀罗上,但病毒浓度较低。症状与甜菜卷顶病毒引起的症状相类似。病毒质粒分布于筛管细胞的细胞质内,而不在细胞核中。这位26岁的研究生正在积极研究菜豆夏枯病毒的ss DNA,年内结束他的博士论文。他认为这件工作的重要意义之一,即此ss DNA大小仅为φX-174的一半,即 0.8×10^6 ,是当前所知的最小的复制单位。

(三) 植物呼肠孤病毒 (Phytoreoviruses)

以玉米粗缩病毒(MRDV)为典型的植物呼肠孤病毒,近年来又受到科学工作者很大的重视。这种病毒具有双层蛋白外壳,二十面体上有突起,双股RNA基因组分为10—12个片段。病毒结构与复制机制的研究具有重要意义。在这方面,澳大利亚的科学工作者作出了不少贡献。

1. 玉米腿耳病毒 (Maize wallaby ear virus, MWEV.)

这种仅在澳大利亚发生的病害,虽早即发现,但直到CSIRO昆虫研究所的Grylls进行了系统的研究,才确知其是由叶蝉 *Nesoclutha pallida* 和 *Cicadulina bimaculata* 传播的病毒病,其病毒形态、寄主范围、症状、潜育期、卵传等现象,与玉米粗缩相似,应属一类。Grylls等进一步证明,其ds RNA能与多聚I-多聚C的抗体相作用,电泳时ds RNA共有十段,总重 19×10^6 道尔顿,电泳图谱与玉米粗缩和菲济病毒相近而有区别。

2. 斐济病病毒 (Fiji disease virus, FDV.)

这是一种由飞虱 *Perkinsiella saccharicida*, Kirk. 传播的甘蔗病害。Queensland大学微生物学系的D. S. Teakle最初在叶瘿中看到病毒质粒。几年来, Waite 农业研究所的Francki进行了系统的研究。他和日本研究生M. Ikegami起先分离获得的质粒是失掉蛋白外层的亚病毒粒子,具有很低的聚合酶活力。后来改用粗制剂,活力很高。他和另一日本同事八田隆行又进行了一系列电镜观察:

(1) 病毒结构 用冻干样品金属投影或汁液醋酸铀染色,在电镜下观察斐济病病毒的形态,1977年提出了病毒质粒的模型(图2)。

(2) 纤维 斐济病毒不易提纯,制剂用醋酸铀染色时,常有纤维状物质出现,用磷钨酸染色即消失(图3)。冻干样品也有纤维。在高倍下,纤维呈现双股螺旋结构,直径13nm。这种纤维究竟是病毒外壳中一种蛋白的直线聚合物,

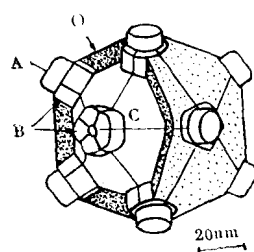


图2 斐济病病毒的结构

- 外层
- A——A突起,五面体
- B——B突起
- C——内核



图3

还是内含体蛋白或与病毒无关的寄主蛋白如p-蛋白的直线聚合物? Francki等正用血清学方法进行鉴定中。

(3) 内含体 用吖啶黄染色, 在显微镜下呈现黄色荧光点, 而细胞核则为绿色。

(4) 病毒胞质(Viropasm) 用冷冻蚀刻法或磷钨酸染色, 可以看出在病毒胞质中有直径7—8 nm的纤维。用去污剂和蛋白水解酶处理可以选择性去除病毒胞质中的蛋白组分, 现在正拟鉴定7—8 nm粗的纤维是否是核酸。

此外, Francki和一丹麦研究生J. Van der Lubbe使用完整病毒质粒、无外层的亚病毒质粒及直径13nm的纤维在兔中产生的各种抗血清, 分别检验FDV 侵染的病株汁液, 健康植株汁液, 净化的亚病毒粒子, 病毒RNA和多聚I-多聚C, 利用凝胶双扩散法, 初步获得了一些结果。目前用血清学手段诊断有无病毒侵染是方便的, 但用以鉴定蛋白质和核酸组分, 进一步阐明病毒的细微结构, 则还需做更多的工作。

3. 三叶草皱卷叶病毒(Rugose Leaf curl virus, RLCV.)

Grylls在研究牧草病害的过程中, 发现了这种病毒。寄主是叶蝉*Austroa gallia torrida*, Evans. 可卵传。病毒质粒形态很象水稻普通矮缩病病毒和伤瘤病毒。在叶蝉唾液腺超薄切片中, 直径为75—85nm, 而自带毒叶蝉或病株中抽提出的质粒直径只42—45nm。显然, 在净化过程中失掉了蛋白壳外层。Grylls还未对核酸组分进行过研究。

4. 双股RNA病毒的鉴定与细胞病理学技术

Francki 和八田隆行尝试了一些研究双股RNA病毒的技术:

(1) 检测净化过程 用人工合成多聚I-多聚C为抗原, 在兔中产生抗血清, 可与任何ds RNA反应而不与ss RNA或DNA 反应。在抽提净化斐济病病毒时, 可用此抗血清检测净化过程。

(2) 在超薄切片中, 用电镜鉴定ds RNA病毒, 排除核糖核蛋白体的干扰(图4)。

高离子强度+ RNase——ds RNA不消化

高离子强度+ RNase——ss RNA可消化, 试验结果如图5。

以此法试玉米穗耳病株及传毒媒介, 结果如图6。

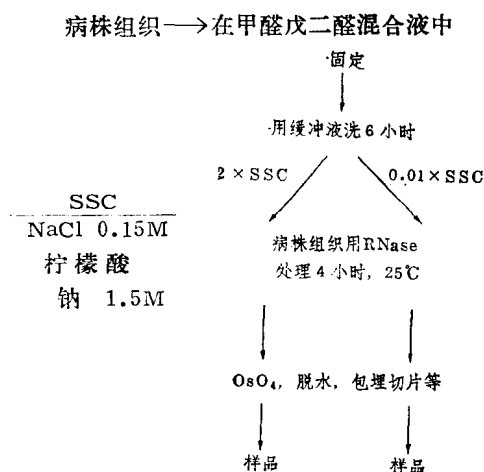


图 4

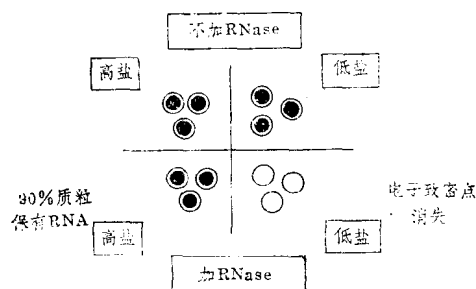


图 5

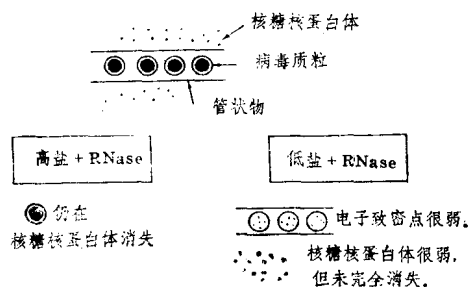


图 6

八田隆行认为：改变甲醛和戊二醛的比例，也许能更完全地消化掉核糖核蛋白体。此法也许可用以检测复制型RNA，即RF，因其也是ds RNA。他正以真蚕豆花叶病毒（Echtes ackerbohnen mosaic virus）体系进行验证。黄瓜花叶病毒（CMV）的RF一般不易鉴定，用此法也许可行。

八田隆行还设想：用多聚I：多聚C的抗血清联上铁蛋白，也许对电镜检测 dsRNA更有好处。

(四) 类病毒 (Viroid)

这类无蛋白的外壳，引起植物病害的小分子RNA，近年来引起植物病理学家和分子生物学工作者广泛的兴趣，1978年8月在西德举行了国际性会议，专门交流这方面研究的成就。现在报导或正在研究的类病毒有下列几种：

马铃薯纺锤型块茎病毒 Potato spindle tuber viroid

柑桔鳞皮病毒 Citrus exocortis viroid

黄瓜白瓜病毒 Cucumber pale fruit viroid

菊褪绿斑驳病毒 Chrysanthemum chlorotic mottle viroid

菊矮缩病毒 Chrysanthemum stunt viroid

椰树死亡病毒 Cadang cadang viroid

蛇麻草矮化病毒 Hop stunt viroid

澳大利亚科学工作者除从防治观点对柑桔鳞皮病进行研究外，最近还对两种类病毒进行了研究：

1. 椰树死亡病毒 (Cadang cadang)

Waite农业研究所提出，菲律宾的椰树死亡病可能系由类病毒引起。这种病发病率虽很高，有的地区达18%，但分布并无规则，不像虫传，而且扩展速率只有0.3—4%，比一般类菌质体引起的黄花型病害为慢。病树叶部有黄斑，花死或果小，几年后树即死亡。未能嫁接传染，电镜观察不见病毒质粒，用四环素、青霉素处理无效。Randles用凝胶电泳分析，在病叶中找到一种特异的小分子RNA，分子量约100,000， T_m 值约58°（图7）。

若提取RNA时加入RNase，则此病叶的特异RNA即消失。用RNase S₁处理，保温一定时间后，260nm吸收值增高10%，此后即不再增加。

Randles认为此特异的RNA大约有1/3的碱基形成分子内的双链区。

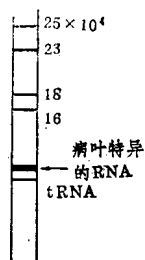


图 7

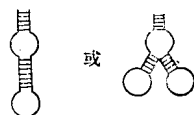


图 8

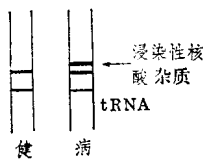


图 9

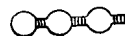


图 10

将此RNA用反转录酶转录成cDNA, 做分子杂交, 证明cDNA与寄主DNA有同源性(图8)。

2. 菊矮缩病毒

Adelaide大学生化系J. Gould等人对此类病毒进行了研究。自病株中可分离出侵染性核酸, 电镜下呈环状结构(图9)。

Gould推测分子中有约30%双链部分。用天门冬中的RNase S₁处理, 可在RNA上引起断口, 以反转录酶转录出cDNA, 与寄主DNA有同源性(图10)。

(五) 类菌质体和类立克次氏体 (Mycoplasma and Rickettsiae-Like Organisms)

自从1967年日本土居养二提出类菌质体学说, 即有些植物病害的病因是由于类似菌质体的物质而不是由于病毒感染所致, 十一年来, 国际上已发现了70多种类菌质体。此中, 有几个是由澳大利亚科学家发现的。Sydney大学植物病理及昆虫学系的J. W. Bowyer在豆类小叶病(Legume Little leaf)(此病由Grylls发现, 证明系由叶蝉*Orosius argentatus*传播), 蕃茄巨芽病(Tomato big bud, 也由同一叶蝉传播)和苜蓿丛枝病(Lucerne witches' broom)的病株和有关的媒介昆虫的超薄切片中, 都找到了类菌质体。用四环素族抗菌素处理, 可使症状减轻或消失。他同J. Thomas所摄的电镜照片, 是迄今所见细节最多的类菌质体照片。Bowyer虽经尝试, 尚未能离体培养这三种类菌质体。

Queensland州农业部植物病理组的Behnken等还在另一些植物病害中发现了类菌质体, 如芝麻花变叶病(Seasame phyllody), 叶蝉传播的草莓红矮病(Strawberry reddening stunting), 叶蝉传播的木瓜绿花病(Papaya green flowers), 后者用金霉素处理可减轻症状。薑分枝病(Ginger branching)经证明与蕃茄巨芽病系由同一类菌质体引起。

自1970年以来, 连续发现了十二种植物病害是由类立克次氏体引起的。

其中, 感染木质部细胞的有:

葡萄皮尔斯氏病	Pierce's disease of grape vine
苜蓿矮化病	Alfalfa dwarf disease
甘蔗截根苗矮缩病	Sugar cane ratoon stunting disease
桃矮化病	Peach phony disease
核果灼焦病	Prunus scalding disease

感染筛管细胞的有:

菟丝子矮缩病	Stunting disease of dodder
柑桔青果病	Citrus greening
心叶黄花稔小叶病	Little Leaf of <i>Sida cordifolia</i>
三叶草棒叶病	Clover club Leaf
三叶草皱捲叶病	Rugose Leaf curl

部位不详的有:

小麦褪绿不育病	Wheat chlorosis and aspermy
檳榔红叶病	Kenaf red leaf

十二种中, 澳大利亚科学家发现了三个。

Queensland大学微生物系的 Teakle 在甘蔗截根苗矮缩病病株木质部和琼脂包埋的抽提液离心沉淀的超薄切片中,都找到了这类病原。用热处理可减轻病害。

前已述及, Grylls在三叶草皱捲叶病病株及传毒昆虫中找到了伤瘤病毒型的病毒质粒。但Queensland州农业部植物病理组的G. Behncken和D.H. Gowanlock 1976年在病株中找到了类立克次氏体,直径0.25 μ m,长1—2 μ m或更长,外壁及质膜皆为三层,外壁凹凸不平,体内有核蛋白体样质粒和DNA纤维,病株对青霉素敏感。Behncken 的电镜照片细节清楚,但类立克次氏体与类似病毒质粒二者与三叶草皱捲叶病的关系和它们两者之间的关系,仍是澳大利亚科学家们争论的问题。

最近, Behncken正在研究的另一种类立克次氏体,是在澳大利亚西北灌溉区种植的洋蕨(槿蕨)中发现的。病株叶小、发红、心叶捲曲,不易生长。目前尚不知什么是传毒媒介,嫁接亦未成功。对青霉素敏感性有待试验。类立克次氏体的形状不规则,表面多突起。有的类立克次氏体中有均一的二十面体颗粒,可能是噬菌体类物质。

二、植物病毒病害研究的广度

从上节对植物病毒病新病原研究的综述,可以看出澳大利亚对植物病毒研究的深度,同时也可看到他们研究广度的一些方面。在世界各国发现的70多种类菌质体中,他们发现了三种;7种类病毒中他们发现了一种,并也在研究另外一种。在我们手头能查阅到的《植物病毒描述》(Descriptions of Plant Viruses)前9卷1—155种植物病毒中,由澳大利亚科学家执笔的有10种。这即是说,到1975年为止,他们研究得比较有成效为世界所公认的大体上占这样一个比例。但这并不能全面反映澳大利亚植物病毒研究的广度。目前全世界已知的植物病毒约700种,日本科学家在日本摸清了约150种,澳大利亚科学家在澳大利亚究竟摸清了多少种?我们这次参观访问,走马观花,接触的仅仅是局部的局部,下面只能根据所见所闻和赠阅的论文资料,对这方面研究的广度作一鸟瞰。

除了前节所述几种弹状病毒、双生病毒和双链RNA病毒以外,澳大利亚的科学家还关心下列的植物病毒病害:(见下页表)

澳大利亚植病学家对植物病毒病的调查检测和病毒的研究,还不止限于澳大利亚本土。他们研究的范围还包括斐济、汤加、巴布亚—新几内亚、萨摩亚 Gilbert 群岛直至菲律宾等南太平洋广大地区。斐济病毒和椰树死亡病研究的突出成果,已在第一部分报导。这方面研究的广度,可举两例。

(1) South Australia州农业部Northfield试验站的Van Velsen 博士曾给我们看了汤加群岛一些植物病毒病的照片,包括葡萄栓皮病(Grape corking bark),薯蓣黄脉病(Yam yellow vein),薯蓣花叶病(Yam mosaic),辣椒黄脉病(Pepper yellow vein),辣椒斑驳病(Pepper mottle),辣椒花叶病(Pepper mosaic),辣椒环斑病(Pepper ring spot),甘薯脉明病(Sweet potato vein clearing),甘薯花叶病(Sweet potato mosaic),黄体芋花叶病(Xanthosoma mosaic),海芋耳突病(alocasia enation),鳄梨褪绿病(Avocado chlorosis),黄瓜斑驳病(Cucumber leaf mottle),露兜斑驳病(Pandanus mottle)等。(2) New South Wales 州农业部生物所的Lilian Fraser博士受委托调查印度的柑桔病毒病,有一本专著:《印度的柑桔枝枯病》。

病毒病害或病毒	研 究 内 容	研 究 单 位
1. 胡萝卜杂色矮化病 Carrot motley dwarf	蚜虫 <i>Cavortella aegopodii</i> 传, 病原确定前就用抗病品种防治了该病。	Melbourne 大学农学院 Stubbs 等。
2. 莴苣花叶病 Lettuce mosaic	单独侵染不重要, 若与莴苣坏死黄化病毒混合侵染常造成损失。利用 Murray 河流域黑鹅山地区高温低湿气候防止蚜虫增殖, 生产无毒种子而达到有效控制。马铃薯 Y 型病毒, 血清学上与豌豆花叶病毒、菜豆黄化花叶病毒有关。	Waite 农业研究所 Francki 等。
3. Galinsoga parviflora mosaic	寄主范围、病状、病毒颗粒形态。	Queensland 州农业部。
4. 黄瓜花叶病 Cucumber mosaic virus	在瓜上不严重, 但对菠菜生产却是限制因子。对病毒 5 种 RNA 的同源性分析较详尽。证明有卫星 RNA 的存在。	Adelaide 大学生化系和 Waite 农研所。
5. 西瓜花叶病 Watermelon mosaic	在瓜上危害不重。	
6. 南瓜花叶病 Squash mosaic	在瓜上危害不重。	
7. 甘蔗花叶病 Sugar cane mosaic	有 4—5 个毒株, 传染玉米、高粱、马唐草等。五种蚜虫传。病毒形态。	Queensland 大学微生物系, CSIRO 昆虫研究所
8. 西番莲果实木化病 Passionfruit woodiness	病状、传播、耐病杂交种的培育与推广, 马铃薯 Y 型病毒, $12 \times 700\text{nm}$ 。	Queensland 大学微生物系, Queensland 州农业部
9. Kennedya yellow mosaic	汁传, 有两种圆形颗粒, 一为有侵染性的含 34% RNA、单链; 一为蛋白空壳。应归属 Tymovirus 组。	澳大利亚大学生物科学研究所 Gibbs
10. 三叶草矮化病 Subterranean clover stunt	蚜虫 <i>Aphis Craccivora</i> , <i>Myzus persicae</i> 传。流行于局部草原, 为害南部地区。用抗病品种已完全控制。该病毒在豌豆上造成黄顶。	CSIRO 昆虫研究所
11. 三叶草红叶病 Clover red leaf	<i>Acyrtosiphon solant</i> 传	
12. 菜豆黄化花叶病 Bean yellow mosaic	为两种菜豆重要病害, 也常使三叶草草原受到重大损失。Potyvirus 属, 血清学上与豌豆花叶病毒相近。	Waite 农研所
13. 豌豆花叶病 Pea mosaic	与菜豆黄化花叶病毒应属同一株系。	Waite 农研所
14. 花生斑驳病 Peanut mottle	汁传、种传、五种蚜虫传。病毒质粒为 700nm 弯曲杆状。	Queensland 农业部植病系

病毒病害或病毒	研 究 内 容	研 究 单 位
15. 草莓轻型叶缘黄化病 Strawberry mild yellow edge	在实行国家法令保证苗合格制度之前, 普遍浸染; 制度实行后, 除叶缘黄化病外, 其他病毒病已不见, 增产10倍。	
16. 草莓脉暗病 Strawberry vein-banding		
17. 草莓斑驳病 Strawberry mottle		
18. 蚕豆萎蔫病 Broad bean wilt	桃蚜传, 病毒球状25nm, 抗血清效价2048	Melbourne大学Stubbs
19. 茄花叶病毒 Eggplant mosaic virus	Tymo属病毒, 球状、30nm、具有32形态亚基, 外壳蛋白亚基20,500。	澳国立大学生物科学研究所Gibbs
20. 兰花花叶病毒 Cymbidium (orchid) mosaic virus	与PVY相近, 13×475nm, 6 %RNA	Victoria州农业部。Waite农研所
21. 大豆花叶病 Glycine mosaic	像豇豆花叶病, 甲虫传。	Sydney大学Bowyer
22. 大豆病毒Z Soybean Virus Z	特征及分类学。	澳国立大学生物科学研究所 Gibbs
23. 石竹花叶病 Carnation mosaic	寄主范围、种传、普遍存在, 但不严重。	同上
24. 鸢尾轻花叶病 Iris mild mosaic virus	800nm长。	
25. 唐菖蒲褪绿病 Gladiolus chlorotic virus	950nm长。	
26. 唐菖蒲黄化花叶病毒 Gladiolus yellow mosaic virus	750nm长。	
27. 瑞香花叶病 Daphne mosaic	寄主反应与烟草环斑病类似。	Vicfoviattl农业部植物所
28. 石竹斑驳病 Carnation mottle	1,200—1,500nm长, 血清学上与石竹黄斑病毒及石竹坏死斑病毒相近。	
29. 石竹甜菜黄化病型病毒 Carnation beet yellows type virus		
30. 石竹花叶病 Carnation mosaic		
31. 蕃茄斑萎病 Tomato spotted wilt	寄主范围、种传, 普遍存在。	澳国立大学生物科学研究所
32. 蕃茄环斑病毒 Tomato ringspot virus	线虫传、机械传, 外壳蛋白结构。	Queensland农业部
33. 豇豆花叶病 Cowpea mosaic	种传。	Waite 农研所
34. 绿豆花叶病 Mung bean mosaic	种传, 但不重要。	

病毒病害或病毒	研 究 内 容	研 究 单 位
35. 芜菁黄化花叶病毒 Turnip yellow mosaic virus	比较不同株系。	澳国立大学生物科学研究所Gibbs
36. 菸草花叶病毒 Tobacco mosaic virus	株系、分类、复制机制,豇豆株两种质粒,短质粒含有外壳蛋白基因。	同上, CSIRO 农研所
37. 菸草环斑病毒 Tobacco ring-spot virus Nicotiana velutina mosaic virus	在细胞中复制机制。 一种新的棒状病毒,与TMV相近。	Waite 农研所 Randles 同 上
38. 玉米条纹病 Maize stripe	分布广,引种抗病品种。	Queensland 州 农业部
39. 玉米坏死病 Maize necrosis		
40. 玉米环斑病 Maize ringspot		
41. 高粱花叶病 Sorghum mosaic		
42. 高粱红纹病 Sorghum red stripe		
43. 大麦条纹病 Barley stripe	全国都有,由蚜虫Rhopalosiphum Padi, R. maidens 和 Macrosiphum avenae传,为害大麦、小麦。西部推广耐病品种损失已不严重。液态冷冻植株,更易抽提病毒质粒。	Melbourne大学Stubbs, Victoria州农业部P. Smith
44. 大麦黄矮病 Barley yellow dwarf		
45. 马铃薯卷叶病 Potato leafroll	澳马铃薯最重要病害,利用保证种薯合格制度防治。	Victoria州农业部植物研究所
46. 马铃薯退化病 Potato X.Y.S virus	利用持续供给无毒种薯办法,如种薯检索,无毒茎尖培养等方法,获得有效防治。	同上
47. 葡萄黄点病 Grapevine yellow speckle	病状、传播、寄主范围、指示植物,热处理结合无毒种苗培育收到良好防治效果。	Queensland 州 农业部植病系, CSIRO园艺研究所等
48. 葡萄卷叶病 Grapevine leaf roll		
49. 葡萄扇叶病 Grapevine fanleaf		
50. 香蕉束顶病 Banana bunchy top	蚜虫Pentatonia nigronervosa传,二十年代严重威胁农业生产,目前已通过国家法令,清除病苗,得到控制。	
51. 鳄梨日灼病 Avocado Sun blotch	病状,草本寄主,种子传,病原不详。	CSIRO 园艺研究所
52. 木瓜花叶病 Papaya mosaic		同上, Queensland州农业部
53. 核果坏死环斑病 Prunus necrotic ringspot	花粉传,混合侵染,常造成桃树丛矮衰退病(Peach rosette & decline disease),核果矮缩病毒单独感染,造成丛矮,也能侵染樱桃。指示植物。	Melbourne大学农学院, Victoria州农业部植物所
54. 核果矮缩病 Prunus dwarf		
55. 核果深绿下陷斑驳病 Prunus drake green sunken mottle		

病毒病害或病毒	研 究 内 容	研 究 单 位
56. 梅条斑病 Plum line (樱桃黄花叶病) pattern (Cherry yellow mosaic)		Queensland 州农业部
57. 苹果环斑病 Apple ringspot		
58. 苹果花叶病 Apple mosaic		
59. 苹果Spy227 Apple Spy227 叶卷和衰弱病epinasty & decline		
60. 苹果茎凹病 Apple stem-pitting	在大多数品种上普遍存在。	
61. 苹果木质橡皮病 Apple rubbery wood		
62. 苹果扁枝病 Apple flat limb	在Gravenstein品种上严重。	
63. 苹果绿皱病 Apple green crinkle	主要危害澳著名品种 Granny Smith 传播、流行、指示植物、大田利用弱株 保护初步成功。速衰病与茎凹病是否为一种病原，在争论中。	CSIRO 园艺研究所, CSIRO 园艺研究所Mildura 试验站, New South Wales 州 农业部生物研究所
64. 柑桔速衰病 Citrus tristeza	病状, 病原鉴定、昆虫媒介。	
65. 柑桔枝枯病 Citrus dieback	1932年在 New South Wales 州发现, 果畸形, 品质坏, 茎凹树势弱, 大田用弱株 保护防治, 有希望。	
66. 柑桔茎凹病 Grapefruit (citrus paradisi) stem pitting	诊断、检疫	
67. 柑桔木质部陷点病 Xyloporosis		
68. 柑桔爆皮病 Psorosis		
69. 轮藻病毒 Chara coral-lina virus	管状, 长532nm, 宽18nm, 等电点3.4—3.7, $S_{20,w}=230$, RNA5%外壳蛋白分子量为 17.5×10^3 , 病毒分子量 3.6×10^6 , 认为应属草花叶病属	澳大利亚大学生物研究所Gibbs
Boeckella virus	一种虹病毒, 可接种到藻类, 也可接种到培养的L-细胞中。	同上

三、昆虫与病毒

昆虫做为媒介, 传播植物、动物和人的病毒病, 昆虫自身又直接为害作物、果树、牧草、牲畜等。另一方面, 病毒可以作为生物防治的手段。澳大利亚生物科学的研究同农牧业生产有着千丝万缕的关系。病毒工作者对植物病毒的昆虫介体、昆虫细胞的培养, 昆虫病毒和节肢介体病毒进行着重要的工作。有些植物病毒学者同时兼做昆虫病毒和医学病毒的研究。

(一) 植物病毒的昆虫介体

Grylls的工作,前已分别述及。从昆虫介体这一专长出发,通过协作,他掌握了澳大利亚粮食作物、蔬菜、牧草病毒发生的一些规律,并发现或阐明了一些新的病毒或其他病原。比较突出的例子是由叶蝉*Gicadulina bimaculata*,*Nesoclutha pallida*或许还有*Cicadulina bipunctella*传播的玉米穗耳病毒,由叶蝉*Austroagallia torrida*传播的三叶草皱卷叶病毒,由叶蝉*Orosius argentatus*传播的豆类小叶病、蕃茄巨芽病和苜蓿丛枝病的类菌质体和由叶蝉*Nesoclutha pallida*传播的虎尾草条点病毒。Grylls 根据丰富的实践经验,设计了一些简便的研究昆虫介体的仪器,如自动旋转捕虫装置和显微回旋玻针注虫器等。

(二) 昆虫细胞的培养

昆虫细胞的离体培养促进了近年来动物病毒研究的进展,植物病毒传毒媒介昆虫细胞的离体培养也已成功,但植物病毒作者还未能充分利用这一手段。澳大利亚情况也不例外。

CSIRO昆虫研究所的T. D. C. Grace在昆虫细胞的培养方面做出了贡献。1962年最早建立了第一个稳定的昆虫细胞系。用它的配方配制的培养液,在美国已商品化。他给我们看了培养的家蚕、伊蚊(*Aedes aegypti*, L.)和澳大利亚蛾(*Antherala eucalypti*. S.)的细胞,有的已稳定了十几年。在这些培养的细胞中,能繁殖胞质型多角体病毒和核质型多角体病毒,但不能繁殖颗粒型多角体病毒。马铃薯蛾的颗粒型多角体病毒很像核质型多角体病毒,但即使在培养的马铃薯蛾细胞中,也不能生长。

目前在澳大利亚的昆虫细胞系,多用于昆虫病毒和节肢介体病毒的研究。

(三) 昆 虫 病 毒

Grace研究了核质型多角体病毒繁殖形成的过程(图11):

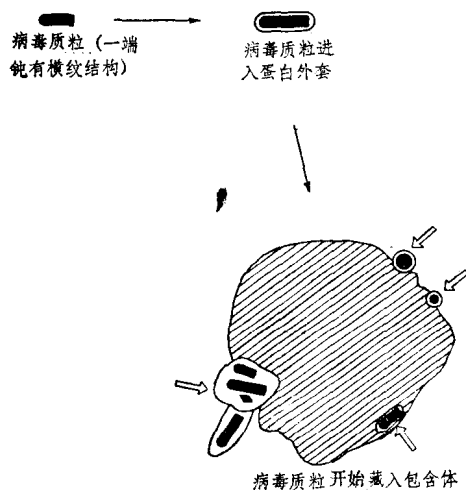


图 11

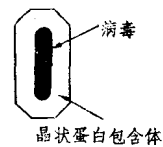


图 12

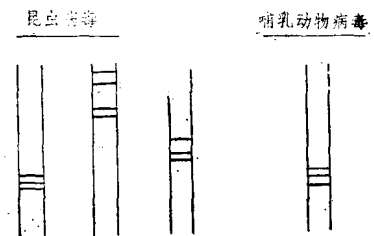


图 13

他又研究了马铃薯蛾的颗粒型多角体病毒。由于每一多角体中只有一个病毒质粒，在暗视野显微镜下即可看到，很易定量。这种蛾在澳大利亚为害马铃薯作物和贮藏的马铃薯，Grace 正想拿病毒作为生物防治的手段，一方面把病毒送去英国，鉴定对人和其他生物有无毒性，一方面在澳对蛾的分布、蛾对病毒感染的敏感性等进行调查，以期用于实践。这种病毒对寄主的要求非常专一，作为杀虫剂是有希望的。

类似的考虑，也促使 Victoria 州农业部植物研究所的 C. Reingenum 对未熟小苹果蛾 (Coddling moth of apple, *Carpocapsa pomonella*) 的一种颗粒型多角体病毒进行研究。这是一种 DNA 病毒，分子量 18×10^6 ，有15个多肽，并伴有碱性蛋白水解酶的活力(图12)。在苹果生长季节，为了杀蛾，需喷12次药剂，费用昂贵，所以也在考虑生物防治。

Reingenum 还研究了夜粘虫 (*Noctuidae*)，即一种为害牧草的蛾类。此虫用农药喷洒，不死于药，而死于病毒。一种潜隐侵染的病毒，因农药的作用而诱发。具体的诱发机制正在研究之中。

Reingenum 和国立大学生物学研究所的 A. J. Gibbs 等研究过许多昆虫病毒，包括蟋蟀瘫痪病毒 (Cricket paralysis Virus)，蜜蜂急性瘫痪病毒 (Bee acute paralysis) 等。蟋蟀病毒的寄主范围较宽，能侵染四十种以上的昆虫，在自然界分布很广，应视为一种真正的昆虫病毒，英、法、美、新西兰也都在研究。它与哺乳动物的 RNA 病毒很近似，但不能在哺乳动物中增殖。虽然如此，迄今人们仍不敢把蟋蟀瘫痪病毒用于生物防治。Gibbs 的同事 Scotti 曾将蟋蟀瘫痪病毒在果蝇细胞中繁殖，并将此观察发展成为一个生物测定蟋蟀瘫痪病毒的敏感的方法。

Reingenum 还比较了昆虫的和哺乳动物的细小核糖核酸病毒 (Picorna Virus) (图13)。他用凝胶电泳比较病毒蛋白图谱，发现各种昆虫病毒的图谱差异很大，而哺乳动物病毒的图谱则基本类似，这对病毒起源和演化的了解以及对昆虫的防治都有着重要的意义。

(四) 节肢介体病毒 (Arboviruses)

由节肢动物作为媒介传播的病毒，有 A、B 两类，已知有 300 多种。都属于披盖病毒 (Togaviridae)，是直径为 20—40nm 的二十面体，紧紧包于含脂外膜之内，单股 RNA 大小为 4×10^6 ，都有一外壳蛋白和两种外膜蛋白。A 类病毒质粒较大，50—70nm，B 类病毒或黄病毒 (flavivirus) 较小，都由节肢动物如蚊、虱传播。

Canberra 国立大学 John Curtin 医学研究所的 I. D. Marshall 介绍了他在节肢介体病毒病流行病学方面的研究，首先找到了病毒病传播的第一个环节，即蚊虫 *Culex annulirostris*，从其中分离出 11 种病毒。他注意到：大疫之年，蚊虫特别多。其次，他找到了中间寄生动物如苍鹭，鸬鹚，鸬鹚等野鸟，观察到他们多少与发病有平行关系。他着重研究了 Queensland 州罗司河多关节炎 (Ross River Polyarthritis, 属 A 类)，和澳大利亚南部墨累河流域脑炎 (Murray Valley encephalitis, 属 B 类) 与蚊虫的关系。他注意到两个非常接近但不相同的 B 类病毒——日本脑炎和墨累河流域脑炎以 Wallace 线——(印尼—巴布亚新几内亚) 为界的现象。

Canberra 国立大学生物科学研究所的 Mary W. Davey 正在比较 A 类和 B 类病毒在人工培养的蚊细胞中增殖的异同和相互干扰的现象。她觉得美中不足的是使用了伊蚊 *Aedes aegypti* 细胞系，而真正在澳大利亚传病的却是 *Culex annulirostris* 后一种的细胞还未能