

181-184

6054(13)

第8卷第2期
1993年6月中国病毒学
VIROLOGICA SINICAVol. 8 No. 2
Jun, 1993小麦土传病毒在感病小麦细胞中的分布
及小麦梭条斑花叶病毒RNA组分

陈剑平**

S435.121.9

(浙江省农业科学院病毒学实验室, 杭州 310021)

提 要

四川雅安、陕西长安的土传小麦病毒病由小麦梭条斑花叶病毒(WSSMV)引起,而浙江安吉、新昌、江苏宜兴的病害则由WSSMV和土传小麦花叶病毒(SBWMV)所致。WSSMV和SBWMV可以同时复合感染同一株小麦,但在病细胞中二者彼此独立分布。我国WSSMV RNA有2个基因组,分子量分别为 2.6×10^6 和 1.5×10^6 ,与日本小麦黄花叶病毒(WYMV)一致。

关键词: 小麦梭条斑花叶病毒 土传小麦花叶病毒 病毒定位 RNA基因组

小麦病毒; 花叶病毒; 土传病毒

我国小麦上发生的土传病毒病有土传小麦花叶病毒(Soil-borne wheat mosaic virus, SBWMV)和小麦梭条斑花叶病毒(Wheat spindle streak mosaic virus, WSSMV; 或称作小麦黄花叶病毒 Wheat yellow mosaic virus, WYMV)二种。在过去的几年中,本人和其他工作者已对这二种病害的发病规律、土传特性、危害程度、防治以及病毒粒子形态、血清学、细胞病理学和外壳蛋白组分等方面进行了研究^[1-9]。本文报道SBWMV和WSSMV在小麦病细胞中的定位以及中日WSSMV核酸组分的比较。

材 料 和 方 法

一、毒源和抗血清 供试的我国毒源分别系四川雅安、陕西长安、浙江安吉和新昌、江苏宜兴等5个分离物^[1,7]。日本WYMV标准分离物由T. Hiyoashi提供。所有毒源(除浙江安吉分离物先经带毒禾谷多粘菌接种传毒纯化^[14])都通过病土接种保存^[1]。

WYMV和WSSMV兔抗血清分别由T. Usugi(日本)和K. Z. Haulfer(美国)赠送, SBWMV单克隆抗体由苏格兰作物所赠送。

二、免疫电镜 参见文献^[4]。捕获抗体为WSSMV兔抗血清和SBWMV单抗混合液, 稀释1000倍, 修饰抗体分别为WSSMV兔抗血清或SBWMV单抗, 稀释20倍。

本文于1992年10月15日收到, 12月9日修回。

* 浙江省自然科学基金课题。

** 通讯地址:

Virology Department, Scottish Crop Research Institute, Invergowrie, Dundee, DD2 5DA, UK.

三、WSSMV 和 SBWMV 在感病小麦细胞中的定位 病组织(病根和病叶)的固定、脱水、过滤、透析、包埋和聚合等步骤参见文献^[1]。其中的病毒通过免疫胶体金标记法进行标记。超薄切片经 BSA-TBS(含 1% 小牛血清, 0.5mol/L NaCl, 0.5ml/L Tween 20 和 1g/L NaN₃ 和 Tris-HCl 缓冲液)室温下封片 15 分钟, 稀释 1000 倍的 WSSMV 兔抗血清(或 SBWMV 单抗)室温下处理 5 分钟, BSA-TBS 冲洗, 稀释 80 倍的单抗兔 IgG-金结合物(直径 10nm, Sigma 公司)或羊抗鼠 IgG-金结合物(直径 20nm, Sigma 公司)室温下处理 3 分钟, BSA-TBS 冲洗, 最后经醋酸铀和柠檬酸铅双染色, 置于电镜观察。

四、WSSMV 提纯及 RNA 电泳 提纯采用新鲜病叶, 方法参见文献^[6]。取 WSSMV 提纯液各 30 μ l, 分别加入 20% SDS 2 μ l, 上样于含有 0.5 μ g/ml EB 的 1.0% 琼脂糖凝胶, 70V 下电泳 2 小时。电泳采用 TBE 缓冲液系统。

结 果

一、毒源中病毒种类 供试的我国 5 个小麦毒源, 其病叶经免疫电镜检测, 其中四川雅安、陕西长安分离物仅含有 WSSMV(图版 XI 1), 而浙江安吉、新昌和江苏宜兴分离物中除有 WSSMV 外, 还含有 SBWMV(图版 XI 2), 但 SBWMV 含量比 WSSMV 低。SBWMV 有两种长度的粒子, 长度分别为 280nm 和 140—150nm, 其中短粒子数量比长粒子大。

二、WSSMV 和 SBWMV 在病细胞中定位 取浙江安吉和江苏宜兴的病叶和病根经戊二醛固定, L. R. White 树脂包埋, 其超薄切片中可见许多风轮状内含体, 柱状体和板状集结体以及网状体。图版 XI 3 为根表皮细胞中所见很大且充满整个细胞的风轮状内含体和板状集结体。经胶体金颗粒特异性标记的 WSSMV 颗粒束分布于风轮体和板状集结体周围(图版 XI 3)。不论是病叶叶肉细胞还是病根表皮细胞中, 都可见大量经特异性金颗粒标记的 WSSMV 和 SBWMV, 两种病毒都以束状出现, 但彼此独立分布(图版 XI 4、5)。

三、WSSMV RNA 组分 供试的四川雅安、陕西长安、浙江安吉和日本毒源按文献^[6]方法提纯后, 获得的病毒制剂在电镜下可见大量粗细均匀的线状病毒粒子, 很少有杂质, 也没有 SBWMV(但在其他几次提纯制剂中, 安吉毒源常含有少量 SBWMV), 紫外测定呈 WSSMV 吸收曲线。病毒制剂经 SDS 裂解, 琼脂糖凝胶电泳, EB 染色后, 四川雅安、陕西长安、浙江安吉和日本分离物均呈 2 个 RNA 带, 且各分离物的 RNA 1 和 RNA 2 的分子量基本一致(图版 X 6), 根据 Usugi 等^[7]对日本分离物的测定, 分子量分别为 2.6×10^4 和 1.5×10^4 。

讨 论

WSSMV 由 Slykhuis (1960)^[12]在加拿大发现。WYMV 由 Sawada 于 1927 年在日本首次发现, 其病原于 1968 年得到鉴定^[13]。在加拿大、美国和法国, WSSMV 仅侵染小麦 *Triticum*^[12], 而日本 WYMV 除侵染小麦外, 还可经摩擦接种侵染黑麦^[13], 但二者在发病规律、传毒特性、粒子形态、血清学和细胞病理学等方面极为相似。先前,

Usugi 等认为 WSSMV 具有 2 个外壳蛋白组分 (33kd 和 26.5kd), 而 WYMV 只有一个外壳蛋白组分 (33kd)^[11], 进一步研究表明, WSSMV 的 26.5kd 蛋白是 33kd 的降解产物, 从而二种病毒具有相同的外壳蛋白组分^[11]。尽管各研究者报道的 WSSMV 外壳蛋白分子量有异, 分别为 36kd^[14,16]、33kd^[11]和 30kd^[6-8], 但这可能是各实验室工作条件不同或株系不同之故。Usugi 等 (1989)^[11]报道, 美国 WSSMV 分离物 RNA 2 分子量仅为 1.4×10^6 , 比日本 WYMV 分离物 RNA 2 分子量略小。我们的研究也获得类似结果 (未发表)。然而, 在 Usugi 等人和我们研究中所采用的美国 WSSMV 分离物都经长期摩擦接种保存, 从而有可能 RNA 2 发生缺失突变。这在大麦和性花叶病和 SBWMV 已得到证实。因此, 二者的差异是真实的, 还是因缺失突变所致, 有必要深入研究。总之, 综合各方面的结果, 认为 WYMV 和 WSSMV 为同一种病毒或同一种病毒的不同株系^[11]是确切的。由于 WSSMV 已于 1976 年在《植物病毒描述》(Description of Plant Viruses) 介绍过, 认为把这种病毒的名统一为 WSSMV 较为合适 (B. D. Harrison 和 A. F. Murant, 私人通讯)。

和大麦黄花叶病毒 (Barley Yellow Mosaic Virus, BaYMV) 一样, WSSMV 因其粒子为线状, 并编码形成风轮状内含体而曾归于马铃薯 Y 病毒组^[17]。然而, 由于 WSSMV 具有两种长度的粒子和两个 RNA 基因组, 且由禾谷多粘菌传播 (蚜虫不传), 表明与马铃薯 Y 病毒组成员不同。再则, WSSMV 与 40 多种线状病毒 (其中 23 种为马铃薯 Y 病毒组成员) 无一存在血清学关系^[4,11], 为此, Usugi 等提出 BaYMV, WSSMV 等土传线状病毒应从马铃薯 Y 病毒组中划分出来, 建立大麦黄花叶病毒组^[17]。

同一块小麦田中, 可以同时发生 WSSMV 和 SBWMV。我们的工作表明同一株小麦中可以同时检测到 WSSMV 和 SBWMV, 但二者独立分布于同一感病细胞中, 彼此互不干扰, 其原因则不清楚。此外, 同一个禾谷多粘菌孢子是否同时携带两种病毒, 并传播给小麦寄主, 还是禾谷多粘菌对不同病毒的传播具有专化性, 则有待于深入研究。

参 考 文 献

- [1] 侯庆树等, 1985, 江苏农业学报, 1(3): 25—28。
- [2] 侯庆树等, 1987, 江苏农业学报, 3(4): 29—33。
- [3] 陈剑平等, 1990, 病毒学报, 6(3): 239—244。
- [4] Chen Jianping et al., 1991, *Plant Pathology*, 40: 226—231。
- [5] 阮义理等, 1991, 植物病理学报, 21(3): 165—171。
- [6] 陈剑平等, 1989, 病毒学杂志, 4(2): 176—181。
- [7] 陈剑平等, 1990, 病毒学杂志, 5(2): 193—200。
- [8] 陈剑平等, 1990, 植物病理学报, 20(1): 5—11。
- [9] 陈剑平等, 1992, 中国病毒学, 7(2): 207—215。
- [10] 陈剑平等, 1993, 中国病毒学, 8(1): 107—110。
- [11] Usugi, T. et al., 1989, *Annals of the Phytopathological Society of Japan*, 55(1): 26—31。
- [12] Slykuis, J. T. 1976, CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses, No.167。
- [13] Usugi, T. 1988, in: *Developments in Applied Biology 2: Viruses with Fungal Vectors*, eds by J. I. Cooper et al., pp213—226, Association of Applied Biologists, UK
- [14] Haulfer, K. Z. et al., 1985, *Phytopathology*, 75: 1349,

- [15] 周广和等, 1989, 病毒学报, 5(1): 46—51。
- [16] Usugi, T. et al., 1987, Abstracts of papers given at a meeting on Viruses with Fungal Vectors at the University of St Andrews, 25—27 August 1987, p29.
- [17] Matthews, R. E. F., 1982, Intervirology, 17: 1—199.

Localization of Wheat Soil-borne Viruses in Infected Wheat and RNA Species of Wheat Spindle Streak Mosaic Virus (WSSMV)

Chen Jian-ping

(Virology Laboratory, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou, 310021)

Wheat soil-borne virus diseases in Ya'an, Sichuan and Chang'an, Shanxi (PRC) were caused by wheat spindle streak mosaic virus (WSSMV) and those in Anji and Xichang, Zhejiang and Yixing, Jiangsu were caused by complex of WSSMV and soil-borne wheat mosaic virus (SBWMV) infection. Both viruses could co-infect the same wheat plant but independently distributed inside infected cells. Chinese WSSMV contained 2 species of RNA with molecular weight of 2.6×10^4 and 1.5×10^4 , identical or similar to that of Japanese isolate.

Key words, Wheat Spindle Streak Mosaic Virus Soil-borne Wheat Mosaic Virus Virus localization RNA species