

# 马铃薯 X 病毒和烟花叶病毒对于马铃薯 Y 病毒 侵染酸浆的干扰作用的研究\*

田 波 覃秉益 林传光

(中国科学院微生物研究所, 北京)

把含有烟花叶病毒(TMV)或马铃薯 X 病毒(PXV)的烟汁, 或把含有提纯的 TMV 或 PXV 的缓冲液与含有马铃薯 Y 病毒(PYV)的烟汁混合接种酸浆上, PYV 所引起的局部病斑比单独接种的较少。

PXV 对于 PYV 侵染酸浆的干扰作用仅发生于两病毒同时接种于同一叶表面的情况下。TMV 的干扰作用则也能发生于先接种或在接种 PYV 之后 24 小时内接种 TMV 或两病毒分别在叶面和叶背接种的情况下。

PXV 的浓度与干扰作用成比例。经过紫外线照射或热处理而钝化了的 PXV 没有干扰作用。预先系统感染 PXV 趋于消除混合接种时 PXV 对 PYV 的干扰。无论所用的 X 病毒毒株是强的或弱的都存在这种关系。

马铃薯 Y-病毒是与高温条件下严重发生的花叶型退化有关的复合病中重要的成分之一。在实践上, Y-病毒的检验是一个困难问题。从无病状的马铃薯植株收获的块茎中有些会长出具有皱缩花叶病状并可测出 Y-病毒的植株。但是, 在播种之前肯定已经存在于这些块茎及幼芽中的 Y-病毒通常是很难用酸浆检查出来的。

利用鉴别寄主(指示植物)检验病毒的灵敏度决定于许多因素。对于马铃薯 Y-病毒来说, 较重要的是病毒的浓度、寄主的敏感(感病)性和复合病毒成员间的相互关系。

鉴于近来报告的病毒在局部病斑寄主上的相互干扰作用范围比在系统侵染寄主上为广, 我们研究了在汁液接种中马铃薯 X-病毒(PXV)和普通烟花叶病毒(TMV)对于马铃薯 Y-病毒(PYV)侵染酸浆的影响。在研究过程中发现 PXV 和 TMV 对于 PYV 侵染酸浆具有不同的干扰作用, 并且

预先接种 PXV 可以抵消混合病毒接种中的 PXV 对于 PYV 的侵染的干扰。

## 材料和方法

试验用的病毒包括从马铃薯男爵 (Irish Cobbler) 品种上分离的, 能在酸浆和烟上引起重花叶病状的一个 PXV 强毒株 (称为 PXV-s), 从马铃薯红纹白 (Red Warba) 品种上分离的不引起酸浆和烟发病状的一个 PXV 弱毒株 (称为 PXV-m), TMV 的典型株和从马铃薯男爵品种上分离的 PYV 的典型株。

作为毒源的各病毒株都培养在烟上。接种后两周采集病叶, 榨取汁液, 汁液经 4000 转/分离心 20 分钟后, 取上液为接种物。

含 PYV 汁液与等量的第二 (“挑战”) 病毒汁液或在体外混合后同时接种或分别单独先后接种于酸浆 (*Physalis floridana*) 的半叶。另半叶用等量的健叶汁液混合含 PYV 的汁液来接种作为

\* 病毒提纯工作由裴美云同志进行, 此文曾承王鸣纹和周家炽教授审阅, 特此致谢。

本文 1965 年 8 月 31 日收到。

对照。接种前叶片上均匀地撒布 600 筛目的金钢砂。每一样品至少接种 15 个半叶,以所有半叶上产生的总病斑数的差别来表示 PYV 侵染所受影响的程度。

当用提纯的 TMV 和 PXV-s 作试验时,取含有一定浓度提纯病毒的缓冲液与含有 PYV 的汁液混合后进行接种,并以无病毒的相应缓冲液与相同的 PYV 汁液混合接种为对照。

TMV 的提纯方法按文献[1]。PXV 的提纯方法如下:榨取感染 PXV 的烟叶汁,加入 1M 柠檬酸钠使浓度达到 0.05M 为止,按汁液容量的 1/10 加入氯仿,摇动 30 分钟,在冷冻离心机 4000 转/分下离心 20 分钟。上液在 0.05M 柠檬酸钠中连续透析两次,每次 12 小时。离心,取上液,每 1000 毫升加 164 克固体  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 。离心,取沉淀,用 0.05M 柠檬酸钠溶解。如此反复沉淀溶解,直至上液无色为止。最后再透析一次。

结 果

(一) 含有 PXV 或 TMV 的汁液的干

扰作用 我们在利用酸浆测定混合感染 PYV + PXV 及单独感染 PYV 的烟草植株内的 PYV 浓度时,注意到前者引起的病斑数总比后者少得多。这是因为在混合感染条件下 PYV 的浓度较低还是存在于接种物中的 PXV 干扰了 PYV 侵染酸浆的呢?为此,用感染单一病毒的烟汁进行了单独的和混合的接种试验。表 1 所列的结果表示含有 PXV 和 TMV 汁液的都肯定有干扰作用。虽然各次试验结果的差异相当大,但是含有干扰病毒的汁液使 PYV 在相同浓度下对酸浆的侵染率一般都降低一半以下。

(二) 提纯的 PXV 或 TMV 的干扰作

用 上述干扰作用可能有两种可能性:一是干扰作用在于汁液中所含有病毒颗粒的本身;二是干扰作用在于感染病毒的植株中所形成的其他物质。我们用提纯的 PXV-s 和 TMV 进行了干扰试验。从表 2 中可

表 1 含有 PXV 或 TMV 的烟汁对 PYV 侵染酸浆的干扰作用

干扰汁液中 含有的病毒	试验 次数	酸浆半叶上斑点总数		
		PYV + 健汁 (对照)	PYV + 干扰汁液	相当对照 %
PXV-s	1	113	13	11.5
	2	60	15	25.0
	3	107	37	35.6
	4	164	57	34.9
PXV-m	1	68	28	41.2
	2	151	76	50.3
TMV	1	336	159	43.3
	2	228	47	20.7
	3	97	27	27.8
	4	335	65	19.6

以看到,提纯的病毒与粗汁液接种物具有相似的干扰作用。一方面,可以肯定 PXV 和 TMV 颗粒本身对 PYV 侵染酸浆有干扰作用,另一方面,试验结果还不能否定除病毒以外还有其他物质可能也起部分的干扰作用。

表 2 提纯的 PXV-s 和 TMV 对于 PYV 侵染酸浆的干扰作用

用来干 扰的病 毒	干扰病 毒的存 在条件	试验 次数	酸浆半叶上斑点总数		
			PYV + 健 汁或缓冲 液(对照)	PYV + 干扰病毒	相当对照 %
PXV-s	粗汁液	1	268	162	60.4
		2	146	95	65.1
	提 纯	1	121	55	45.5
		2	191	119	62.3
TMV	粗汁液	1	336	159	47.3
		2	228	47	20.6
	提 纯	1	196	63	32.2
		2	157	73	46.6

(三) 二病毒接种的间隔时间对干 扰 作用的 影响 为了摸索 PXV 和 TMV 对于 PYV 侵染酸浆的干扰作用的性质,曾分别把“挑战”的病毒在接种 PYV 之前或之后的不同时间进行接种。获得的结果说明这

两种组合的相互关系是不一样的。TMV 具有持久的干扰作用。显然,干扰作用与它侵染之后在酸浆体内的增殖有关。而且, TMV 比 PYV 的增殖似乎较为迅速,因为先接种 PYV 24 小时之后再接种 TMV 对于 PYV 引致酸浆的病斑数仍表现有相当显著的干扰作用。这种情况与以往报告的病毒毒株之间典型的干扰实例没有根本的区别。PXV 与 PYV 的组合则不然,它们只有在同时混合接种的条件下才表现出干扰作用。图 1 表示,无论先接种 PXV 或 PYV,两种病毒的接种只要相隔 2 小时基本上就没有干扰作用。在间隔更短的进一步试验中看到,PXV 的接种比 PYV 若迟 5 分钟就几乎完全不对 PYV 起干扰作用,若比 PYV 早 5 分钟接种,则酸浆上的病斑数减少大约一半。

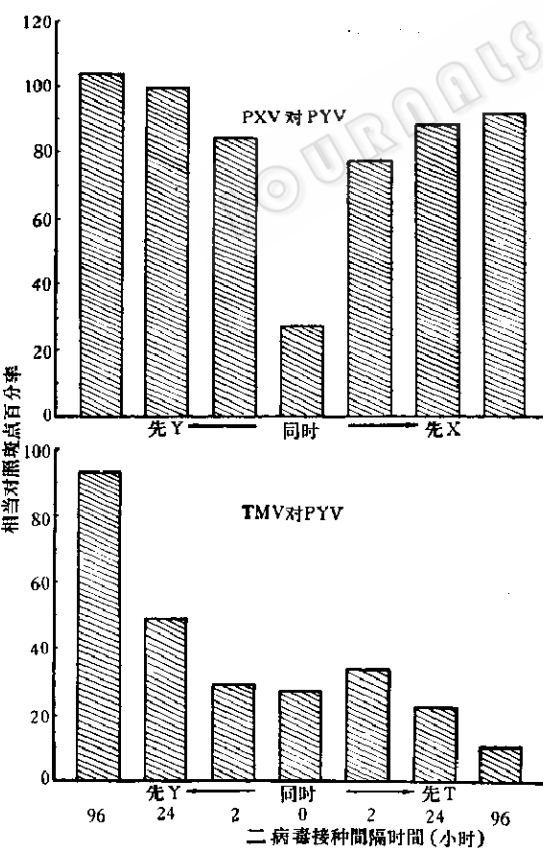


图 1 两种病毒接种间隔时间对于干扰作用的影响

(四) 二病毒接种的空间隔离对干扰作用的影响 在二病毒接种的空间隔离试验中,把 PYV 和“挑战”病毒分别接种在酸浆叶片的正面和反面。如表 3 所示,在这种空间隔离的条件下,与时间隔离的结果相符合,PXV 不表现干扰作用,而 TMV 的干扰作用仍然发生。

表 3 接种部位对于 PXV 和 TMV 干扰 PYV 侵染酸浆的影响

组	接种的病毒		斑点总数	与对照相比(%)
	叶正面	叶背面		
I	PYV	○	214	100.0
	PYV + PXV-s	○	83	38.8
	PYV	○	353	100.0
	PYV + TMV	○	136	38.5
II	○	PYV	389	100.0
	PXV-s	PYV	362	93.1
	○	PYV	101	100.0
	TMV	PYV	18	17.9
III	PYV	○	189	100.0
	PYV	PXV-s	178	94.1
	PYV	○	288	100.0
	PYV	TMV	63	21.9

(五) PXV 的浓度与干扰作用的关系

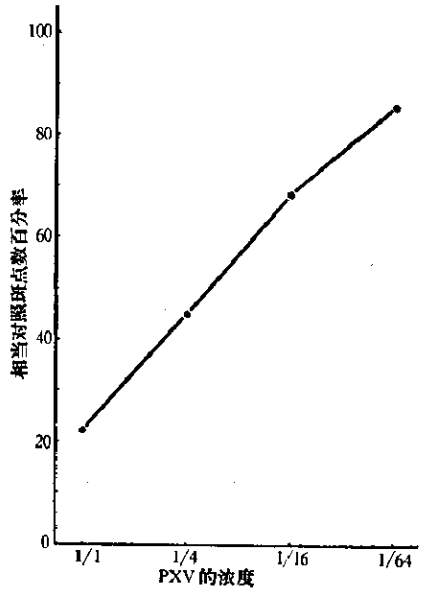


图 2 PXV 的浓度与干扰作用的关系

既然 PXV 对于 PYV 侵染酸浆的干扰只发生于两病毒同时接种于同一部位的条件下，可以预期在混合接种中干扰程度将随着 PXV 浓度的稀释而按比例地降低。试验也证实这一点(图 2)。

(六) PXV 的钝化与干扰作用的关系

为了考查 PXV 对于 PYV 侵染的干扰是否与它的生物活性有关，我们曾用经紫外线处理的、经热处理的与未经处理的 PXV 进行比较试验。紫外线处理的试验方法是将含有 PXV-s 的粗汁液和无病毒的粗汁液各 1 毫升分别置于直径 9 厘米的培养皿内使成一薄层在距离 Philips 紫外灯光源 17 厘米下照射 2.5 小时，照射后各加入含 PYV 汁液 1 毫升，进行混合接种。热处理的条件是把样品置于直径 9 毫米的薄壁试管中，在 75℃ 水浴内经过 20 分钟。表 4 所列的试验结果表示用上述两种方法钝化的 PXV 对 PYV 的侵染都没有干扰作用。

表 4 PXV 的钝化处理对于干扰效能的影响

与 PYV 相混合前的 汁液的处理		接种在酸浆半 叶上发生的斑 点总数		与对照相比 (%)	
		试验 1	试验 2	试验 1	试验 2
紫外线 照射	无病毒汁液	185	215	100.0	100.0
	含 PXV 汁液	154	221	83.2	102.8
热处理	无病毒汁液	596	221	100.0	100.0
	含 PXV 汁液	539	234	90.4	105.9
无处理	无病毒汁液	414	161	100.0	100.0
	含 PXV 汁液	257	81	62.1	50.3

(七) PXV 的预先接种对于 PXV + PYV 混合接种中 PYV 侵染率的影响

进一步了解已经存在于酸浆体内的 PXV 对于 PYV 侵染率的影响似乎是有意义的。我们曾对于未接种和接种了 PXV-m 或 PXV-s 病毒 10—20 天之后的酸浆幼株，进行 PYV 单独的和与 PXV 相混合的接种。结果，由于预先接种，酸浆体内系统携带的

PXV 看来不仅不干扰单独接种的 PYV 的侵染，而且抵消了混合接种中的 PXV 对于 PYV 侵染的干扰。

表 5 预先接种 PXV 对于 PYV 在与 PXV 相混合的接种中侵染酸浆的影响

试验	后接种的病毒	先接种的病毒			
		O		PXV	
		斑点数	百分比	斑点数	百分比
1	Y	150	100.0	67	100.0
	Y + X <sup>s</sup>	46	30.6	67	100.0
2	Y	196	100.0	139	100.0
	Y + X <sup>s</sup>	63	31.4	121	87.1
3	Y	99	100.0	73	100.0
	Y + X <sup>s</sup>	69	69.7	64	87.7
	Y			101*	100.0
	Y + X <sup>s</sup>			152*	151.0
4	Y	69	100.0	77	100.0
	Y + X <sup>s</sup>	57	82.6	87	113.0
	Y			165*	100.0
	Y + X <sup>s</sup>			197*	119.3
5	Y	230	100.0	112	100.0
	Y + X <sup>s</sup>	180	78.2	104	92.9
	Y	189	100.0	235	100.0
	Y + X <sup>m</sup>	137	71.5	233	99.2
	Y			83*	100.0
	Y + X <sup>s</sup>			90*	108.2
	Y			75*	100.0
	Y + X <sup>m</sup>			65*	86.7

\*先接种的病毒毒株为 X<sup>s</sup>，其余均为 X<sup>m</sup>。

讨 论

本文所研究的是在同一寄主上系统侵染的病毒对局部侵染的病毒的干扰作用两个实例。TMV 与 PYV 的关系大概是广泛发生的、与病毒毒株间相似的病毒种间的相互干扰作用。McKinney<sup>[2]</sup> 早已证明“Maryland Medium Broadleaf”品种烟和 *Nicotiana sylvestris* 预先感染了 PYV 可减少并延迟 TMV 的 BSY 突变种和 *Nicotiana virus* 6 病斑的发生。在酸浆上 TMV 对于

PYV 的干扰是类似的情况。这两种常见的病毒之间的互相干扰还可能具有实践上的重要性。

PXV 与 PYV 在各种寄主上的相互关系显然是很复杂的。在马铃薯或烟体内 PYV 促进 PXV 的增殖, 而 PYV 的浓度则不受 PXV 的影响<sup>[3,4]</sup>。Ross<sup>[5]</sup> 和 Hutton<sup>[6]</sup> 曾报告在对 PXV 免疫的并对 PYV 有局部斑反应的马铃薯实生苗种株上混合接种 PXV 和 PYV 时, 比单独接种 PYV 时发生较少的病斑。Ross<sup>[5]</sup> 也报告过在混合接种中, PXV 延缓 PYV 在酸浆上病斑的出现。在其他病毒中, 病毒毒株之间在局部感染的寄主上的相互关系有类似情况<sup>[7-9]</sup>。但是, 这两种病毒在局部斑寄主上的干扰作用可能不是相互的, 因为 Thomson<sup>[9]</sup> 曾报告 PYV 和 TMV 促进 PXV 在 White Burley 烟叶上引起的局部斑。从这些事例结合本文所报告的资料看来, PXV 对于 PYV 的

单方面干扰只发生在侵染点上并且是在侵染活动的最初阶段上。至于已经存在于酸浆体内的 PXV 如何又能抵消这种干扰, 目前还无从解释。无论如何, 这一现象指出了提高酸浆作为 PYV 鉴定寄主的效能的一个途径。

### 参 考 文 献

- [1] 张友尚、裴美云、曹天钦、周家炽: 生物化学与生物物理学报, **3**: 47—54, 1963。
- [2] McKinney, H. H.: *Amer. J. Bot.*, **28**: 770—778, 1941.
- [3] Lin, C. K. (林传光) and Tien, P. (田 波): *Scientia Sinica*, **10**: 962—975, 1961.
- [4] Rochow, W. F. and Ross, A. F.: *Virology*, **1**: 10—27, 1955.
- [5] Ross, A. F.: *Phytopathology*, **40**: 24, 1950.
- [6] Hutton, E. M.: *Austral. J. Agr. Res.* **3**: 362—371, 1952.
- [7] 裴美云、崔文华、田波: 植物病理学报, **7**: 159—164, 1965。
- [8] Siegel, A.: *Virology*, **8**: 470—477, 1959.
- [9] Thomson, A. D.: *Virology*, **13**: 262—264, 1961.

## STUDIES ON THE INTERFERENCE OF POTATO X VIRUS AND TOBACCO MOSAIC VIRUS WITH POTATO Y VIRUS IN THE LOCAL LESION PRODUCTION ON *PHYSALIS FLORIDANA*

TIEN PO, SYUN BING-I AND LIN CH'WAN-KWANG

(Institute of Microbiology, Academia Sinica, Peking)

In mixed inoculations, PXV and TMV, either in crude tobacco extract or under purified conditions, were *almost equally* effective in the inhibition of local lesion production on *Physalis floridana* caused by PYV.

PXV interfered with PYV only when both viruses were inoculated simultaneously on the same leaf surface. With TMV, however, interference also occurred under conditions of PYV following TMV by unlimited length of time or TMV following PYV within 24 hours, and of the two viruses separately

inoculated on the upper and lower surfaces of leaves.

The degree of interference by PXV was directly proportional to its concentration in the mixed inoculum. Inactivation of PXV by ultraviolet light irradiation or heat treatment of the virus-containing tobacco extract eliminated its interfering effect. Inhibition of PYV infection by PXV in a mixed inoculum did not occur on plants previously systemically infected with PXV. This relation appeared to hold both with mild strain and severe strain of the X virus used.