

# 北京苜蓿花叶病毒 H-10 分离物的研究

## 1. 病毒的生物学测定、提纯及其理化性质

蔡发兴 莽克强

(中国科学院微生物研究所, 北京)

从苜蓿上经单斑分离得到 H-10 分离物, 经生物学鉴定和电镜下形态、大小的观察以及理化性质的分析, 确认为苜蓿花叶病毒 (AMV)。在芸豆和豇豆上只产生局部坏死斑而无系统病状。致死温度 50—55℃, 10 分钟, 体外存活(室温下) 12—24 小时, 稀释限点  $2 \times 10^{-3}$ — $10^{-3}$ , 蚜虫传, 等电点 4.60。提纯制品在电镜下呈现五种颗粒, 其宽度大致相等, 约 18—20nm, 但长度分别为 58、45、37、29nm, 第五种最小颗粒近球形, 直径为 18—20nm。病毒经分析超离心后出现四个主峰, 其沉降常数分别为 97S、87S、77S 和 67S; 经 3% 凝胶电泳后虽可检出 16 个组分, 但其中四个组分是主要的。初步认为这四个组分即 B、M、T<sub>1</sub> 和 T<sub>2</sub>。

苜蓿花叶病毒 (AMV) 的寄主范围很广, 可以侵染 51 科双子叶植物中的 430 多种, 其中不少是重要的经济作物, 如马铃薯、菸草、番茄以及豆科等植物, 往往造成严重病害<sup>[1]</sup>。AMV 作为三分基因组病毒 (Tripartite RNA genome) 的一种典型代表为病毒 RNA 基因组的结构<sup>[2]</sup>, 基因组的表达<sup>[3,4]</sup> 以及外壳蛋白质在病毒侵染复制过程中的作用<sup>[5]</sup> 等基础理论方面的研究提供了一个较理想的材料。早在 1939 年, 俞大绂先生就在《中国植物病毒名录》一文中报道南京有苜蓿 (*Medicago sativa*) 花叶病的发生, 但未做鉴定<sup>[6]</sup>。1980 年夏, 我们在北京中国医学科学院药用植物试验场的苜蓿上分离到 AMV 的一个分离物(编号为 H-10)。本文报道该分离物的分离、生物学鉴定、提纯及其理化性质。

## 材料和方 法

### (一) 分离物的寄主范围、症状及媒介昆虫的测定

田间的病株呈花叶、皱缩并严重矮化。将病

叶磨碎用常规汁液接种方法接种各鉴定寄主。该病毒只在芸豆 (*Phaseolus vulgaris*) 接种叶上产生枯斑而不发生系统症状, 因此, 利用芸豆做单斑分离来纯化病毒是较为理想的。取芸豆叶片上的枯斑, 用摩擦法接种于普通菸, 出现系统花叶和系统坏死, 然后再回接芸豆。如此反复地重复单斑分离, 所得纯化的毒源保存在心叶菸上(系统花叶, 偶有坏死) 做为鉴定、提纯的毒源。

为了测定提纯病毒的侵染性, 也利用芸豆做枯斑定量寄主。

采饲养在健康的普通菸上的无毒桃蚜 (*Myzus persicae*) 移到人工接种 H-10 分离物而发病的普通菸上进行饲毒 2 天。在防虫纱罩内, 将每株适龄健菸上放置 10 头饲过毒的蚜虫。接毒一天后喷乐果将蚜虫杀死。接种的菸株移入温室并观察发病情况。

### (二) 病毒的提纯

经单斑分离并保存在心叶菸或普通菸上的 H-10 分离物的病叶汁液, 磨擦接种普通菸的全部展开的叶片。接种后 10—13 天采集叶片, 去中脉

本文于 1981 年 1 月 6 日收到。

本工作承本所技术室电镜组协助, 生物物理研究所试验中心协助分析超离心技术, 并得到周家炽教授的支持, 一并致谢。

后放低温冰箱过夜。全部提纯操作在 4℃ 下进行。先将冻结的病叶在组织捣碎器中与冰冷的 0.2M 磷酸缓冲液 (pH7.0, 含 0.1% 巯基乙醇) 以 100g 病叶: 100ml 缓冲液的比例混合并搅拌均匀浆; 再加入 100ml/100g 叶片的预冷的氯仿-正丁醇 (1:1 体积), 继续匀浆成乳状。以 5,000 × g 离心 10 分钟, 取上清液, 每 100ml 上清液加 10g 聚乙二醇 (分子量 6,000) 和 10g NaCl。待溶解后继续搅拌 30 分钟, 静置冰箱 2 小时后以 10,000 × g 离心 30 分钟。取沉淀悬浮在 pH7.0、0.01M 磷酸缓冲液中, 再以 5,000 × g 离心 10 分钟, 弃沉淀取上清液, 超离心 78,000 × g、2.5 小时或 160,000 × g、1.5 小时, 离心后的沉集物溶于上述缓冲液中, 再重复超离心一次, 管底的病毒沉集物溶于含 0.001M NaN<sub>3</sub> 的上述缓冲液中, 冰箱中储存备用。

### (三) H-10 分离物的一些理化性质的测定

1. 消光系数: 已知 AMV 有几十种株系, 不同株系的紫外消光系数差别很大, 其范围在  $E = 39-70 \frac{1\%}{\text{cm} \cdot 260\text{nm}}$  为了较准确的定量病毒, 我们参照了 Neordam 的方法<sup>[7]</sup>测定了 H-10 分离物的消光系数。

2. 病毒的聚丙烯酰胺凝胶电泳: 按 Bol 等的方法<sup>[8]</sup>将 H-10 分离物的提纯制品溶于 PEN 缓冲液 (0.02M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.003M EDTA, 0.003M NaN<sub>3</sub>, pH7.0) 中, 并与浓蔗糖溶液混合使蔗糖最终浓度为 10%, 此时 0.15ml 样品中含约病毒 50—100 μg。将 0.15ml 样品加至已预电泳 1 小时的 3% 的管胶 (0.6 × 6cm) 胶顶上。4℃ 下进行电泳 18 小时 (5mA/管, 20V/cm)。为了维持上、下电泳槽中缓冲液 (0.04 M Tris, 0.02M NaAc, 0.002M EDTA) 恒定的 pH 值, 上、下槽缓冲液以 30ml/min 的流速循环。电泳后凝胶在紫外扫描仪 (Joyce loebl UV scanner) 上扫描。用考马斯亮蓝染色。

3. 等电点的测定: 向纯化的 5ml 无盐病毒溶液中 (病毒浓度为 3mg/ml, pH 6.32) 滴加 0.0015 N HCl。在 pHS-2 酸度计上测定其 pH, 然后用 72 型分光光度计在 590nm 处测其浊度。随着滴加 HCl, 浊度逐渐增加, 浊度不再增加时, 停加 HCl<sup>[9]</sup>。

4. 分析超离心: 将纯化的病毒用 0.02M 磷

酸缓冲液、0.08M NaCl 配成 5mg/ml, 在 UCAEA 分析超离心机上, 于 12.5℃ 条件下, 把角 40°, 转速 44,700 转/分离心, 待达到最高速后 6 分钟开始拍照, 每隔 2 分钟拍一张, 用作图法计算沉降常数。

5. 电镜观察: 将病毒用 0.067M 磷酸缓冲液 (pH7.0) 稀释成 0.5mg/ml, 与等体积的戊二醛混合, 固定 10 分钟, 然后加等体积的 2% 磷钨酸 (pH 7.0) 进行负染, 10 分钟后按常规方法制片、干燥, 在日立 H-500 电镜下观测。

## 结果与讨论

### (一) 病毒抗性的测定

将单斑分离纯化后的毒源接种普通菸, 10—20 天后取病叶去中脉, 100g 叶片加入 3g K<sub>2</sub>HPO<sub>3</sub> 研磨榨取液汁并分装小试管内, 在室温下保存, 测其体外保毒期; 在超级恒温水浴内测致死温度。用 0.02M、pH7 磷酸缓冲液稀释, 测定稀释终点。以上试验都以豇豆为测定寄主。每个处理四株, 试验重复 2—3 次。结果是: 体外保毒期为 12—24 小时, 稀释限点为  $2 \times 10^{-2} - 10^{-3}$ 。致死温度为 50—55℃。

### (二) 寄主范围和症状

H-10 分离物在 13 种鉴定寄主上的潜伏期及症状列在表 1 内和图版 I。H-10 分离物不能侵染十字花科的白菜、油菜和萝卜。

### (三) 蚜虫传毒的测定

蚜虫传毒试验重复三次, 每次分别传毒接种 8、10、10 株健康菸草。虫传率分别为 86%、80%、90%。将虫传发病的病叶汁再回接在芸豆上, 产生的枯斑与纯化的 H-10 病毒所产生的相同。可见桃蚜是有效的传毒媒介。

### (四) 病毒的提纯

根据四次提纯的结果, 病毒产量一般稳定在 600—700mg/1kg 病叶, 与已报道的其它几种株系的产量比较<sup>[9]</sup>, 产率是较高

表 1 H-10 分离物的寄主范围及症状出现的潜育期  
Table 1 Host Range and Incubation Period of Isolate H-10

寄 主 Hosts		症 状 Symptoms	潜育期(日) Incubation period (Day)
茄 科 Solanaceae	普通菸 ( <i>Nicotiana tabacum</i> )	明脉花叶, 系统坏死, 雀斑, 植株变黄皱缩 Vein clearing, mosaic, systemic necrosis fleck, plants become yellow and crinkle	3—7
	三生菸 ( <i>N. tabacum</i> 'xanthi-ne')	明脉斑驳褪绿, 偶有坏死斑块出现 Vein clearing, chlorotic mottle, occasionally necrotic local spots appeared	5—7
	心叶菸 ( <i>N. glutinosa</i> )	同普通菸 The same with those on <i>N. tabacum</i>	5—7
	曼陀罗 ( <i>Datura stramonium</i> )	轻微花叶, 偶有褪绿黄斑 Mild mosaic, occasionally chlorotic yellow spots	5—7
	辣 椒 ( <i>Capsicum annuum</i> )	花叶, 系统坏死 Mosaic, systemic necrosis	5—7
豆 科 Leguminosae	豇 豆 ( <i>Vigna sinensis</i> )	接种叶片呈红褐色枯斑 Red-brown lesions on inoculated leaves	1—2
	芸 豆 ( <i>Phaseolus vulgaris</i> )	同上 The same with those on <i>vigna sinensis</i>	1—2
	蚕 豆 ( <i>Vicia faba</i> )	坏死斑, 系统坏死花叶 Necrotic spots, systemic necrosis and mosaic	3—5
唇 形 科 Labiatae	罗 勒 ( <i>Ocimum basilicum</i> )	接种叶片呈大块坏死, 后期系统黄绿花叶 Large necrotic spots on inoculated leaves, systemic yellow-green mosaic in the late phase	4—10
藜 科 Chenopodiaceae	苋色藜 ( <i>Chenopodium amaranticolor</i> )	坏死斑, 顶叶呈花叶皱缩 Necrotic lesions, crinkle mosaic on top leaves	1—10
	灰 藜 ( <i>C. album</i> )	坏死斑, 无系统感染 Necrotic lesions, no systemic spread	2—3
苋 科 Amaranthaceae	千 日 红 ( <i>Gomphrena globosa</i> )	灰白坏死斑, 系统花叶中脉坏死 Grey-white necrotic local lesions, systemic mosaic and mid-vein necrosis	1—5
胡 芦 科 Cucurbitaceae	黄 瓜 ( <i>Cucumis sativus</i> )	轻微花叶 Mild mosaic	5—7

表 2 提纯的病毒感染力的测定  
Table 2 Infectivity of Purified Virus

浓度 Concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	枯斑数/叶 Number of lesions/leaf						总数 Total number	平均枯斑数/叶 Average number of lesions/leaf
	1	2	3	4	5	6		
20	474	262	475	584	199	165	2159	359
10	92	73	210	100	92	50	617	102
5	37	45	59	44	30	42	257	42
1	22	23	27	19	34	10	135	22
0.2	0	0	0	0	0	0	0	0

表 3 H-10 分离物五种颗粒的大小  
Table 3 Particle Size of the Five Components of Isolate H-10

处理染色 Negative staining	组 分 Component size (nm)					参考文献 References
	1	2	3	4	5	
固定* PTA	58×17-18	48×17-18	36×17-18	18-20	-	[10]
固定 PTA	56-60×18-20	45-46×18-20	35-36×18-20	30-31×15-18	-	[9]
固定 PTA	58.3×18.9	52.2×18.9	41.9×18.9	26-37	18.9	[11]
固定 PTA	58×18-20	45×18-20	37×18-20	29×18-20	18-20	本文 This paper

\* Fixed in PTA

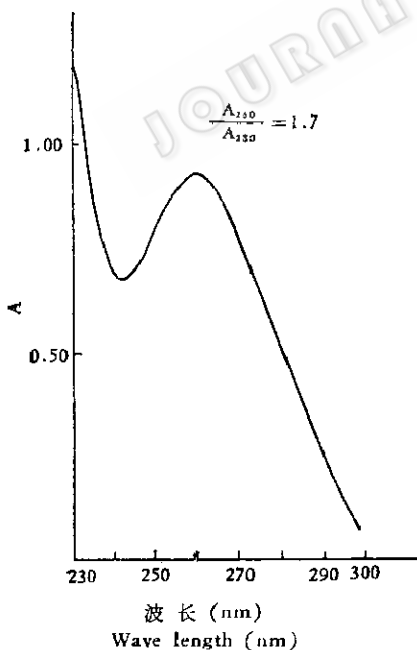


图 1 提纯的 H-10 分离物的紫外吸收光谱  
Fig. 1 UV absorption profile of purified isolate H-10

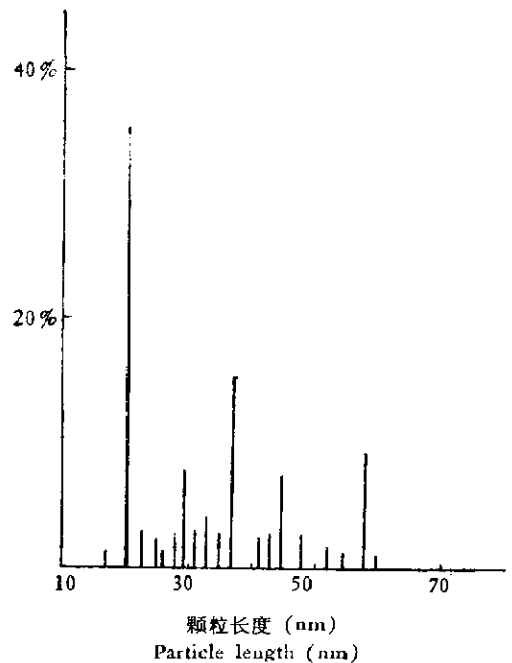


图 2 H-10 毒株五种颗粒的长度及其分布  
Fig. 2 Particle lengths distribution of five components of isolate H-10 virus

的。其最高吸收在 260nm, 最低吸收在 240nm,  $A_{260}/280 = 1.7-1.8$  为该病毒的吸收光谱(图 1)。为测定提纯病毒的侵染力, 将病毒用 0.067M 磷酸缓冲液 (pH7.0) 稀释成不同浓度并回接芸豆的两个子叶, 接种后两天统计枯斑数, 结果见表 2。

### (五) 病毒形态的电镜观察

在电镜下观察提纯的病毒, 可清晰地分出四种宽度近似而长度不等的棒状颗粒和第五种近似球形的颗粒(图版 II-1)。五种颗粒的大小及其与其它株系的比较见表 3。为找出五种颗粒出现频率, 测量了 200 个颗粒, 各种颗粒的分布图及其长度见图 2。从分布图可看出最长的颗粒只占 10%, 其它颗粒依长度递减分别为 9%、15%、9%; 近球形的颗粒高达 37%。

### (六) 病毒的消光系数、等电点和沉降常数

用 Noordam 的干重法测知 H-10 分离

物纯品的消光系数为  $E_{1cm}^{0.1\%}_{260nm} = 4.0$  从 HCl 滴定所得病毒悬浮液浊度变化(图 3)可知, 当 pH 达到 4.60 左右时, 浊度不再变化。病毒经超离心后可分出四个明显的峰, 其沉降常数分别为  $s_{20,w} = 97、89、77$  和 67S。第五个小峰虽可分辨但很不明显(图版 II-2)。

### (七) H-10 分离物的凝胶电泳

H-10 分离物经 3% 凝胶电泳后所得紫外扫描图和用考马斯亮蓝染色的图谱的两种结果一致(图 4 和图版 II-3)。从图谱上虽可分辨出多达 16 种组分, 但不难看出其主要组分为第 6、9、11 和 12 带(或峰), 这与分析超离心所得四个峰的结果是完全相应而一致的。根据四个峰的沉降常数推测并对比电泳图谱上的四个主要核蛋白带的相对泳动率, 初步认为这四个峰正是由 H-10 分离物四种较大的颗粒所形成。

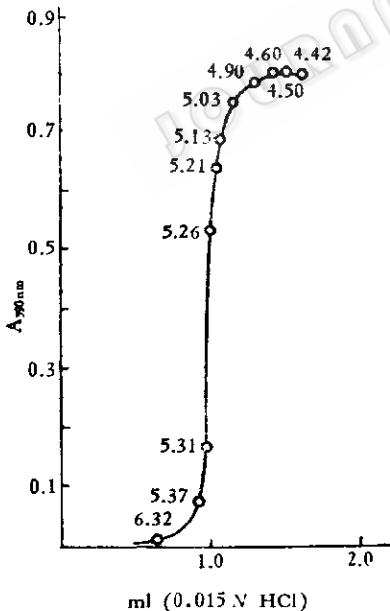


图 3 H-10 分离物等电点的测定

Fig. 3 Iso-electric point determination of isolate H-10

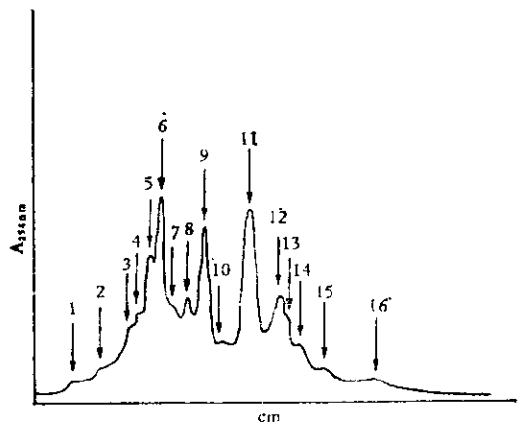


图 4 H-10 分离物经凝胶电泳后的紫外扫描图谱 (3% 丙烯酰胺, 0.15% 甲叉双丙酰胺)

Fig. 4 UV-Scanning profile of isolate H-10 after gel electrophoresis (3% acrylamide, 0.15% bis-acrylamide)

表 4 H-10 分离物与已知株系的比较

Table 4 Comparison of Isolate H-10 with The Strains Reported

毒株 Virus	症状* Symptoms	寄主范围 Host range									
		三生菸 <i>Nicotiana tabacum</i> cv. Samsun	心叶菸 <i>N. glauca</i>	曼陀罗 <i>Datura stramonium</i>	黄瓜 <i>Cucumis sativus</i>	辣椒 <i>Capiscu frutescens</i>	豇豆 <i>Vigna sinensis</i> cv. Black Eye-Calif	蚕豆 <i>Vicia faba</i>	蕃茄 <i>Lycopersicon esculentum</i>	菜豆 <i>Phaseolus vulgaris</i> cv. Bountiful	甜菜 <i>Beta vulgaris</i> P. I. 2273
苜蓿黄化花叶病 <sup>[17]</sup> Alfalfa yellow mosaic	1	+NS	+NS	-	-	-	+	+	-	+CS	
	2	+M	+M	+	-	-	+	+	-	+M	
爱达 AMV <sup>[16]</sup> Idaho AMV	1	+		-	-	-	+	+		-	
	2	+		-	-	+	+	+		+M,CS	
苜蓿黄斑 <sup>[16]</sup> Alfalfa yellow	1	+		-	-	-	+	+		-	
	2	+		+	-	+	+	+		+CS	
中脉坏死 <sup>[17]</sup> Vein necrosis	1	-	-	-	-	-	+	+		+N	
	2	+	+	+	-	+	+	+		+N	
块茎坏死 <sup>[18]</sup> Tuber necrosis	1	+	-	-	-	+N	+		-	+N	
	2	+N	+N	+	+	+M	-		-	+M	
土豆杂色 <sup>[10,19]</sup> Potato calico	1	+	+	-	-	+N	+	+N	-	+N	
	2	+M	+M	+	+	+M	-	+	-	+M	
黄化斑块 <sup>[20]</sup> Yellow patch	1	-	+CS			-	+		-	+NS	-
	2	+	+CM			+	-		-	-	-
苜蓿花叶典型株 <sup>[15,21]</sup> Alfalfa mosaic type strain	1	+	-	-	-	+	+	+N	+	+N	
	2	+	+	+	+	+	-	+	+	-	
辣椒 AMV <sup>[22]</sup> Pepper AMV	1	+C,CM	+		+	-		+N	-		
	2	+CM	+		+	+CR		+N,NS	-		
菸草 AMV <sup>[23]</sup> Tobacco AMV	1	+CR,CS	+CS,CR		+CS	+CR	+	+	-	+CR,VN	+
	2	+CM	+CM		+CM	+CM	+	+	-	+CS,CM	+
黄化斑点 <sup>[24]</sup> Yellow dot	1	-	-	-	+	-	+	+	-	-	
	2	+	+	+	+	-	+	+	-	+CS	
H-10 分离物 H-10 isolate	1	+NS	+NS	-	-	+N	+N	+N		+N	
	2	+CM	+CM	+CM	+CM	+CM	-	+CM,NS		-	

+ Susceptible; - Insusceptible; C; Chlorotic; CR; Chlorotic ring spot; CM; Chlorotic mottle; CS; Chlorotic spot; M; Mottle; NS; Necrotic lesions; VN; Mid-vein necrosis; AMV; Alfalfa mosaic virus.

\* 1 Local lesion; 2 Systemic.

AMV 的株系就目前所知至少有 20 多种,早期工作者主要依靠寄主范围和在 1—2 种鉴别寄主上的症状来区分毒株,如 Milbrath 等利用在番茄上的症状把 23 种分离

物分成四组,利用豇豆把 26 种分离物分成两组。自 Bancraft 等利用芸豆和豇豆上是否产生局部和系统症状来区分毒株后,大多以在这两种寄主上的症状为主要依据,

如 Hull 就根据这一原则把来自羽扇豆的两个分离物分成两个株系<sup>[9]</sup>。利用 1—2 种寄主症状的微细差别来区分 AMV 的株系似乎是不能令人信服的, 因为 AMV 是多颗粒的三分基因组病毒, 易于进行遗传物质的交换而发生变异。因此, Bawden 早在 1964 年就认为“描述像 AMV 这类极易变异的病毒的新株系往往是无价值的”<sup>[12]</sup>。AMV 所谓的各毒株虽在症状上不同, 但并不意味着在结构蛋白质的氨基酸组成或血清学上的表现必然有所差别。为此, Kraal (1975 年) 曾分析了 11 种 AMV 的不同毒株的氨基酸组成和羧基端的氨基酸残基, 将 11 种株系分成 3 个组, 其结果基本与血清学的测定或细胞中内含体的观察相吻合<sup>[13]</sup>。北京地区的 H-10 分离物在生物学方面的测定结果以及电镜观察到的五种颗粒的形态、大小; 四种颗粒的沉降常数以及病毒在凝胶电泳中表现出四个主峰外可多达 16—17 个组分的不均一性, 都有力地说明 H-10 是苜蓿花叶病毒 (AMV), 与 Bol<sup>[5]</sup> 或 Hull<sup>[14]</sup> 的有关工作结果基本一致。综观 H-10 的寄主范围和在芸豆、豇豆上的症状, 并与国外已报道的株系比较 (表 4), H-10 分离物似与 Weimer<sup>[25]</sup> 或 Zaumeyer<sup>[21]</sup> 的典型株相近, 但尚需血清学或有关外壳蛋白质、病毒基因组核酸化学性质方面的数据予以证实。

H-10 的纯品经分析超离心后得不同 S 值的四个峰, 经电泳后也得到四个主带。本工作未将 H-10 各组分分别提纯, 和混合的 H-10 制品共泳来确定电泳后各带相应的组分。Bol 等人曾将 AMV 425 毒株的 B、M 和 T<sub>b</sub> 分别纯化并电泳, 以确定病毒各组分在病毒电泳扫描图谱中的位置<sup>[5]</sup>。我们根据 H-10 四个组分的 S 值及与电泳后各主带的相对泳动率比较, 同时参考 Bol 等人的图谱, 初步认为第 6 带即 E 组分

(97S); 第 9 带即 M 组分 (89S); 第 11 带即 T<sub>b</sub> 组分 (77S); 第 12 带即 T<sub>a</sub> 组分 (67S)。这一结论的最终确定, 有待于对 AMV-H-10 的核酸及其所编码的蛋白质进行分析, 这一工作正在进行中。

### 参 考 文 献

- [1] Jaspars, E. J. et al.: Alfalfa Mosaic Virus CM/AAB Description of plant viruses, September 1980, No: 229 (No: 46, revised), Printed by the Cambrian News Ltd, Wales.
- [2] Brederode Frans Th. et al.: *Nucleic Acid Research*, 8 (10): 2213, 1980.
- [3] Rutgers, A. S.: "In Vitro and Vivo Translation of The RNAs of AMV" Ph.D. Thesis, 1977.
- [4] Van Vloten-Doting, L. et al.: In *Comprehensive virol*, vol XI, p. 53, 1977.
- [5] Bol, J. F. et al.: *Virology*, 46: 73—85, 1971.
- [6] Yu, T. F.: *Phytopathology*, 29: 459, 1939.
- [7] Noordam, D.: Identification of Plant Virus Methods Experiments, Wageningen, Centre for Agricultural Pub. and Documentation, 1973, pp. 151—152.
- [8] Oster, G. J.: *Biol. Chem.*, 190: 55—59, 1951.
- [9] Hull, R.: *Advances in Virus Research*, Academic press. New York and London, 1969. p. 365.
- [10] Gibb, S. A. J. et al.: *Virology*, 19: 441, 1963.
- [11] Hull, R.: *Virology*, 37: 416, 1969.
- [12] Bawden, F. C.: "Plant Viruses and Virus Disease", Ronald press, New York, 4th, 1964.
- [13] Kraal, B.: *Virology*, 66: 336, 1979.
- [14] Hull, R. et al.: *Virology*, 37: 416, 1969.
- [15] Zaumeyer, W. J.: *Phytopathology*, 43: 38, 1953.
- [16] Zaumeyer, W. J. *Phytopathology*, 53: 444, 1963.
- [17] Zaumeyer, W. J. et al.: *Phytopathology*, 50: 226, 1960.

- [18] Thomes H. R.: *Phytopathology*, **41**: 967, 1951.
- [19] Oswald J. W.: *Phytopathology*, **40**: 973, 1956.
- [20] Black L. M. et al.: *Phytopathology*, **30**: 444, 1940.
- [21] Zaumeyer W. J.: *J. Agr. Res.*, **56**: 747, 1938.
- [22] Berkeley G. H.: *Phytopathology*, **37**: 781, 1947.
- [23] Silber Gustave et al.: *Phytopathology*, **55**: 1108, 1965.
- [24] Kreiflow K. W. et al.: *Phytopathology*, **39**: 517, 1949.
- [25] Weimer J. L.: *Phytopathology*, **24**: 239, 1934.

## STUDY OF ALFALFA MOSAIC VIRUS ISOLATE H-10

### I. THE BIOLOGICAL IDENTIFICATION, PURIFICATION AND PHYSICAL, CHEMICAL PROPERTIES

Cai Faxing Mang Keqiang

(*Inst. of Microbiology, Academia Sinica, Beijing*)

A virus isolate (No. H-10) has been obtained from alfalfa (*Medicago sativa*) on the Experimental Farm of Medicinal Herbs Nursery, Chinese Academy of Medical Sciences in 1980. It has been identified as Alfalfa mosaic virus (AMV) through the biological tests, the shape and size under EM examination and the analysis of chemical and physical properties. The H-10 isolate only gives necrotic local lesions on bean and cowpea without systemic spread, the thermal inactivation point is usually between 50 and 55°C, the longevity in vitro is 12—24 h (room temp.), the dilution end point is  $5 \times 10^3 / 10^3$ , the isoelectric point is around 4.60. It is transmitted by *Myzus*

*persicae*. Under EM, purified virus preparation presents five components uniform width (18—20 nm) but nonhomogeneous lengths: 58, 45, 37, and 29nm respectively while the smallest particle is almost spherical with 18—20nm in diameter. Schlieren pattern of H-10 preparation in the analytical ultracentrifuge gave four major peaks with  $s_{20,w}$  97, 87, 77 and 67S. Although 16 bands had been detected on the gel electrophoresis profile, four major peaks of the schlieren pattern can be recognized. The results suggest that the four components of H-10 are correspond to the four well known components, B, M, T<sub>1</sub> and T<sub>2</sub> of the AMV common strain.