

# 从长春花粗提柑桔黄龙病病原体\*

PRIMARY PURIFICATION OF CITRUS YELLOW SHOOT PATHOGEN

FROM PERIWINKLE FOR SEROLOGICAL STUDY

柯 穗 唐伟文

范怀忠

柯 冲

(Ke Sui) (Tang Wei-wen) (Faan Hwei-chung) (Ke Chong)

(植保系)

(福建省农业科学院)

(Department of Plant Protection) (Fruit Research Institute Fujian Academy of Agricultural Sciences)

**关键词** 柑桔黄龙病; 柑桔青果病; 提纯血清学

**Key words:** Citrus yellow shoot disease; Citrus greening disease; Purification serology

柑桔黄龙病(国际上称为柑桔青果病)的诊断, 目前还是主要依靠症状和电镜超薄切片法, 前者易引起误诊, 后者操作复杂, 费时, 并且由于在病株中病原细菌(或称类细菌、类立克次氏体等)浓度低, 分布不均匀, 造成检出率低, 故十分需要寻找一种快速可靠的诊断方法, 借鉴于植物病毒成功地利用血清学方法作诊断。我们试图也用血清学方法对本病进行早期快速诊断。利用血清学作诊断首先必须解决病原提纯问题, 这就是本试验的目的。

## 材 料 和 方 法

将黄龙病病原体用菟丝子从柑桔移到长春花上, 再通过顶芽嫁接法大量地繁殖长春花病株。采表现典型症状的长春花叶片的叶脉作提纯材料, 用健康的长春花叶脉作对照。

在室温下取新鲜叶脉30g, 剪碎并加入0.1 mol/l Mg—甘氨酸, pH7.4缓冲液90m (1:3w/v), 在研钵中研磨成均浆。然后加纤维素酶(每毫升均浆中加1毫克酶), 在35℃下酶解作用3小时, 双层纱布过滤, 滤液经过低速离心(4,000g, 20 min 4℃)高速离心(40,000g, 40 min 4℃), 沉淀用0.5M甘露醇液悬浮, 重复三次。将最终获得的沉淀物包埋、切片、电镜下观察。

## 试 验 结 果

电镜下观察到病株沉淀物中含有大量病原体, 其菌体形态, 构造等特征均与发病柑

\*国家自然科学基金项目。成文后法国 J.M. BOVE 博士来访, 据称他们已成功制备了柑桔青果病原的血清抗体。

桔和长春花筛管细胞内黄龙病病原体完全相同(图1)，而在健株沉淀物中则没有发现，这说明粗提纯的沉淀物确实含有柑桔黄龙病病原体。将含有黄龙病病原体的沉淀物悬浮于1ml 0.5 mol/L甘露醇缓冲液(pH7.0)中，低速离心(3,000g, 20 min 4℃)后，上清液即为粗提之柑桔黄龙病病原体原液，备作抗原用。

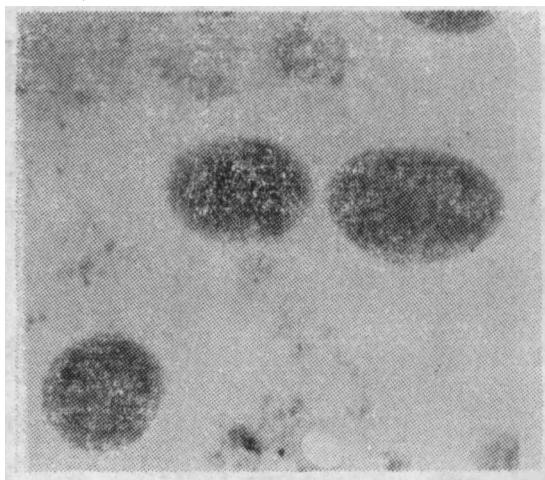


图1 沉淀物中柑桔黄龙病病原体。  $\times 3,00$