

[19]中华人民共和国专利局

[51]Int.Cl.⁴



[12]发明专利申请公开说明书

A01N 43 / 653

A 01N 25 / 00
// (A01N 43 / 635,
41:10)

[11] CN 85 1 08679 A

CN 85 1 08679 A

[43] 公开日 1986年9月10日

[21] 申请号 85 1 08679
 [22] 申请日 85. 11. 26
 [30] 优先权
 [32] 85. 1. 16 [33] 美国 [31] 692, 365
 [71] 申请人 维拉泰克公司
 地址 美国加利福尼亚州·科斯塔梅萨
 [72] 发明人 理查德·蒙罗·法里斯
 罗伯茨·安古斯·史密斯

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
 代理部
 代理人 辛敏忠 顾柏棣

[54] 发明名称 用核病毒素处理植物病毒病的方法

[57] 摘要

化合物1-β-D-呋喃核糖基-3-1,2,4-三唑-3-甲酰胺及其2,3,5-三乙酰基或5'-丁酰基衍生物单独使用,或与其它抗病毒剂或渗透剂合用来防治植物病毒或类病毒病。本发明能有效防治的病毒包括:马铃薯Y病毒、甜菜花叶病毒、芜菁花叶病毒、荷兰石竹隐潜病毒、黄瓜花叶病毒、李坏死环斑病毒、蕃茄丛矮病毒、烟草花叶病毒、雀麦花叶病毒、蕃茄斑萎病毒和苜蓿花叶病毒。

242/8602765/01

北京市期刊登记证第1405号

权 利 要 求 书

1.处理植物以防止病毒病或类病毒的方法,包括应用有效量的1- β -D-呋喃核糖基-1,2,4-三唑-3-甲酰胺或它的2,3,5-三乙酰基或5'-丁酰基衍生物。

2.根据权利要求1的方法,其中所述的致病病毒或类病毒为下述各组病毒:烟草花叶病毒、甜菜花叶病毒、蕃茄丛矮病毒、荷兰石竹隐潜病毒、黄瓜花叶病毒、马铃薯X病毒、李坏死环斑病毒、马铃薯Y病毒、雀麦花叶病毒、芜菁花叶病毒、苜蓿花叶病毒和蕃茄斑萎病毒。

3.根据权利要求1的方法,其中有效量的1- β -D-呋喃核糖基-1,2,4-三唑-3-甲酰胺或它的2,3,5-三乙酰基或5'-丁酰基的衍生物用作土壤浇灌。

4.根据权利要求1的方法,其中有效量的1- β -D-呋喃核糖基-1,2,4-三唑-3-甲酰胺或它的2,3,5-三乙酰基或5'-丁酰基的衍生物用压力或重力注射法施用于植物。

5.根据权利要求1的方法,其中有效量的1- β -D-呋喃核糖基-1,2,4-三唑-3-甲酰胺或它的2,3,5-三乙酰基或5'-丁酰基的衍生物用于叶部喷洒。

6.根据权利要求1的方法,其中所述的1- β -D-呋喃核糖基-1,2,4-三唑-3-甲酰胺或它的2,3,5-三乙酰基或5'-丁酰基的衍生物是与有效量的渗透剂二甲基亚砷(DMSO)或其它渗透剂和表面活性剂合用的。

7.根据权利要求1的方法,其中所述的1- β -D-呋喃核糖基-1,2,4-三唑-3-甲酰胺或它的2,3,5-三乙酰基或5'-丁酰基的衍生物是加到用于繁殖植物的组织培养中去的。

8.防治植物病毒或类病毒病的方法,包括以有效量的1- β -呋喃核糖基-1,2,4-三唑-3-甲酰胺及其2,3,5-三乙酰基或5'-丁酰基衍生物与一

种驱避空气中传病介体的反光性地面盖复材料结合使用。

9. 防治植物病毒或类病毒病的方法，包括应用有效量的1-β- 呋喃核糖基-1,2,4- 三唑-3- 甲酰胺及其2,3,5-三乙酰基或5'- 丁酰基衍生物处理已知是作物病毒隐匿所的目标杂草。

10. 根据权利要求3 的方法，其中所述的1-β- D- 呋喃核糖基-1,2,4-三唑-3- 甲酰胺及其2,3,5-三乙酰基或5'- 丁酰基衍生物的应用浓度为大约100-2,000ppm。

11. 根据权利要求5 的方法，其中所述的1-β- D- 呋喃核糖基-1,2,4-三唑-3- 甲酰胺及其2,3,5-三乙酰基或5'- 丁酰基衍生物的应用浓度为大约100 到2,000ppm。

12. 根据权利要求7 的方法，其中所述的1-β- D- 呋喃核糖基-1,2,4-三唑-3- 甲酰胺及其2,3,5-三乙酰基或5'- 丁酰基衍生物的应用浓度为大约10-400 μM之间。

13. 在烟草愈伤组织培养中防治烟草花叶病毒引起的病毒病的方法，其中1-β- D- 呋喃核糖基-1,2,4- 三唑-3- 甲酰胺及其2,3,5-三乙酰基或5'- 丁酰基衍生物的浓度约为0.5 到1.0 mM之间，而腺嘌呤阿拉伯糖苷以约0.1 到1.0mM的浓度加到固体的诱枝介质中。

14. 防治植物病毒或类病毒病的方法，包括用有效量的1-β- D- 呋喃核糖基-1,2,4- 三唑-3- 甲酰胺及其2,3,5-三乙酰基或'-丁酰基衍生物加到温室盆栽的土壤中或加到试验植物盆中，用作预防感染病毒剂。

16. 根据权利要求1 的方法，其中所述的1-β- D- 呋喃核糖基-1,2,4-三唑-3- 甲酰胺及其2,3,5-三乙酰基或5'- 丁酰基衍生物以水溶液的形式应用。

17. 根据权利要求1 的方法，其中所述的1-β- D- 呋喃核糖基-1,2,4-三唑-3- 甲酰胺及其2,3,5-三乙酰基或5'- 丁酰基衍生物以酒精的水溶液形式应用(体积比: 约5 % -15 %)。

18. 根据权利要求1的方法,其中所述的1- β -D-呋喃核糖基-1,2,4-三唑-3-甲酰胺及其2,3,5-三乙酰基或5'-丁酰基衍生物以二甲基亚砜的水溶液形式应用(体积比:5%-25%)。

用核病毒素处理植物病毒病的方法

本发明涉及防植物病毒病的抗病毒剂——核病毒素 (Ribavirin)。病毒和类病毒引起很多种植物病害，每年都导致价值可观的作物的损失。病毒对一年生的种子繁殖的作物所造成的损失因每年的环境条件不同而异，而对多年生的木本植物所造成的损失（所谓加速衰老）则随树龄的增长而逐渐增加。因为对作物在时间、劳力、资本和土地方面的投资，这种慢性病可能造成严重的经济后果。植物病毒病造成的损失不仅包括更换作物的花费，也包括因等待新更换的作物生长到盛产期这段时间所造成的损失，例如，柑桔树从苗木长到盛果期需要几年的时间。病毒还能使仅以无性繁殖来繁殖的大田作物和观赏植物产生重大的损失，特别是马铃薯、草莓、葡萄、柑桔、苹果、樱桃、兰花、百合花、蝴蝶花、玫瑰和麝香石竹。在缺少治疗措施的情况下，如果病毒在营养繁殖的母本植物中存在着，则所有的后代都被病毒感染，其结果是造成慢性的作物损失。进而，在现有的植株上监视区域性的发病趋势和病症的花费也与植物病毒病的突然爆发有关。病毒病所导致的粮食作物和观赏植物的减产对生产者和公众都构成重要的经济威胁。

现时，最常用的控制病毒病的方法是采用一系列的栽培方法来防止植物感染病毒。应用无病毒的种子栽培到经过熏蒸杀死传病介体（如线虫）的土壤中。栽培的时间和地点要选择在可以避免像蚜虫、叶蝉等天然的空中传病介体存在的条件下。为了减少感染的始发中心，栽培的地点要选择在杂草或天然植物严重蔓延的地方，这些杂草和植物是窝藏病毒的。如果病毒有交替宿主的话，可能需一段不种作物的时期来打破自然循环，这种循环使病毒不断地从作物上转移到交替宿主上，然后又返回作物上。

另一种控制方法是培育抗病毒的植物。当有可以培育成所需要的植物的抗病毒的资源植物时，只要新的病毒株不再出现，这个方法是有效的。新病毒株能克服植物的抗性。这种方法在某些作物中不能有效地防治抗性的病毒变种。由于缺乏适合的抗病毒的基团，育种通常不是一种能控制病毒病的措施。

与上述防治方法有关的主要问题是很多病毒病既不能用栽培管理措施，也不能用抗病育种的方法来解决。而且，与其它植物虫害和病害相反，生产者没有有效的药剂可用。结果是很多病毒病仍无法控制。易于感染病毒的植物不像动物那样已经发展起很好的免疫系统，所以染病之后，植物没有防御机制来摆脱病毒。一旦植物感染病毒，它就终生患病。

本发明的目的包括提供一种抗病毒的药剂，它可有效地防治多种引起植物病害的病毒和类病毒，在低浓度下即可有效地控制住病毒病，而且可用不同的方法及在植物发育的不同阶段施用于植物。

本发明是用1-β-D-呋喃核糖基-1,2,4-三唑-3-甲酰胺和它的2,3,5-三乙酰基和5'-丁酰基的衍生物处理植物病毒病。1-β-D-呋喃核糖基1,2,4-三唑-3-甲酰胺和它的衍生物已显示出广谱的抗病毒活性。这些化合物可通过局部地浇灌土壤，通过注射植株或喷射植株或喷射叶部等方式施用。这些化合物可单独使用，亦可根据环境和要处理的病毒对象，与其它药物诸如渗透剂二甲基亚砷(DMSO)、二甲基甲酰胺(DMF)，抗病毒剂腺嘌呤阿拉伯糖苷等一起混用。

美国专利No.3,798,209于1978年11月14日曾在Re 29,835中再公开过。它揭示了化合物1-β-D-呋喃核糖基-1,2,4-三唑-3-甲酰胺作为抗病毒剂在活体外和活体内均显示为广谱的抗病毒剂，它的2,3,5-三乙酰基和5'-丁酰基的衍生物也显示出抗病毒的活性。后两个衍生物是分别在美国专利No.3,897,415和3,984,369中揭示的。

1- β -D-呋喃核糖基-1,2,4-三唑-3-甲酰胺单独使用或与其它抗病毒剂混合使用的详细情况如下。为了进一步说明本发明，1- β -D-呋喃核糖基-1,2,4-三唑-3-甲酰胺和它的衍生物将用下列三个名称被提及：
(a) 该化合物，(b) 核病毒素，(c) 上文所用的化学名称。

核病毒素的一个潜在用途是用作植物病毒病的保护性处理或治疗性处理。在田间生长的植物上，当大部分植物显示受病毒感染时，任何能延迟感染时间的防止措施都可看作是有效的控制病毒病的方法。一种方法是把一种对空气中的传病介体有驱避作用的反光性的地面复盖材料与杀病毒剂，如核病毒素，结合起来使用。第二个方法是用核病毒素喷到已知是目标病毒第二宿主的杂草上。用核病毒素代替除草剂喷病毒隐匿的第二宿主的优点在于：它不杀伤目标以外的其它杂草和野生植物。

核病毒素也用于保护观赏植物。在观赏植物中，可能比防止病毒引起作物产量损失更为重要的是减轻病毒感染的症状。没有病毒存在的植物自然也就不显示病状。病状通常以杂色和疤痕斑斑显示出来。观赏植物是以它们供观赏的魅力来出售的，病状的出现将大大地降低它们的商品价值。

核病毒素可能是生产无病植株和增加后代植株产量和质量最有用的工具。对于无性繁殖的植物，如果树、核桃、草莓或马铃薯来说，核病毒素也可用于生产无病毒的母株。此外，它也可掺合在正常的组织培养繁殖程序中，来繁殖多种观赏植物。核病毒素也可用作种子处理以防止病毒通过种子传给后代。

核病毒素的另一潜在用途是在现时正在发展着的常规繁殖技术中除去病毒或使植物组织保持无病毒的状态。这方面应用的一个例子是用封闭在胶囊中的体胚来繁殖体组织以防止有性变异或满足更进一步植物育种的需
要。把核病毒素应用在体胚中，在维持无病植株方面可能是非常有用的。一些植物可以用无性繁殖来防止从种子有性繁殖可能发生的遗传学上的变异。封胶囊前用核病毒素处理体胚将保持植株后代不染病毒。该化合物也

可与新发展起来的植物遗传工程方法结合起来使用，即将核病毒素加到常规的繁殖程序中去。1- β -D-呋喃核糖基-1,2,4-三唑-3-甲酰胺和它的酯类衍生物(2,3,5-三乙酰基和5'-丁酰基)都是水溶的，所以本发明能以水溶液的形式处理植株、种子、砧木和土壤。化合物也可溶于酒精的水溶液(体积比：5-15%)、二甲基甲酰胺的水溶液(5-25%)、二甲基亚砷的水溶液(5-25%)和二甲基亚砷。

应用核病毒素的方法可分为下列三类：

- (1). 治疗处理整个植株；
- (2). 通过组织培养生产无病毒植物；和
- (3). 处理种子。

在化合物中加入帮助渗透及展着的添加剂可用来喷植株。用作叶部喷射和土壤浇灌时，核病毒素的浓度约为100-2,000ppm。

在处理树木时，由于树体大及环境条件不利于叶部喷洒，可以将化合物通过重力流或压力注射到树干中，像施用内吸杀真菌剂或抗生素那样施用。许多使用核病毒素的方法都可用来生产无病毒的植物。一种方法是像前文所描述的那样处理整个植株从而在生长点附近得到较大范围的无病毒区域。另一种方法是在含有核病毒素的介质上再生大的苗芽，用核病毒素是为了消灭病毒。

核病毒素也可作为一种组分加在供常规组织培养用的基质中。核病毒素可以在植物不同的发育阶段添加进去，原生质体阶段，愈伤组织阶段，长胚阶段，或者小植株阶段。在一些植物的某一发育阶段加核病毒素似乎是更为有效，其浓度在约100到400 μ M之间都是有效的。

至少有两种方法可用于处理感染病毒的种子。一种是前文提到的处理整个植株以保证产生的种子不带病毒，另一种方法是处理已感染病毒的植物所产生的具有潜在可能传病的种子以防止新生的植株被感染。核病毒素也可以用来拌种、浸种或浇灌土壤。

进而，核病毒素还可以用作多种处理感染病毒的组织的药剂的成份之一。

从上述讨论中可以很清楚地看到，用核病毒素来防止和处理植物病毒病不仅可用于温室中，也可用于大田中。

核病毒素对防治下列各组病毒都已显示出是有效的：马铃薯 X 病毒组 (potexviruses)、马铃薯 Y 病毒组 (potyviruses)、甜菜黄化病毒组 (closteroviruses)、芜菁花叶病毒组 (tymoviruses)、荷兰石竹隐潜病毒组 (carlaviruses)、黄瓜花叶病毒组 (cucumoviruses)、李坏死环斑病毒组 (ilarviruses)、蕃茄丛矮病毒组 (tombsviruses)、蕃茄斑萎病毒 (tomato spotted wilt virus) 和苜蓿花叶病毒 (alfalfa mosaic virus)。烟草花叶病毒 (tobamovirus) 和雀麦花叶病毒 (bromovirus) 组中的病毒仅对核病毒素轻度敏感。

下表列举了用核病毒素防治有效的各种病毒病：

表 1

用核病毒素防治有效的各种病毒病

作物类	作物	病毒	病毒组别
谷类	高粱	玉米矮花叶病毒	马铃薯 Y 病毒
谷类	小麦	土传小麦花叶病毒	烟草花叶病毒
		雀麦花叶病毒	雀麦花叶病毒
大田和饲料类	苜蓿	苜蓿花叶病毒	苜蓿花叶病毒
		苜蓿潜伏病毒	荷兰石竹隐潜病毒
大田和饲料类	甜菜	甜菜黄萎病毒	甜菜黄化病毒
		甜菜花叶病毒	马铃薯 Y 病毒
	玉米	玉米矮花叶病毒	马铃薯 Y 病毒
	大豆	大豆花叶病毒	马铃薯 Y 病毒

蔬菜类	十字花科植物	芜菁花叶病毒	马铃薯 Y 病毒
蔬菜类	葫芦科植物	西瓜花叶病毒 ¹ 和 ²	马铃薯 Y 病毒
		黄瓜花叶病毒	黄瓜花叶病毒
蔬菜类	莴 苣	莴苣花叶病毒	马铃薯 Y 病毒
		莴苣巨脉病毒	未分组的病毒
蔬菜类	辣 椒	蕃茄蚀纹病毒	马铃薯 Y 病毒
		马铃薯 Y 病毒	马铃薯 Y 病毒
		辣椒脉斑驳病毒	马铃薯 Y 病毒
		辣椒斑驳病毒	黄瓜花叶病毒
		烟草花叶病毒	烟草花叶病毒
蔬菜类	蕃 茄	蕃茄花叶病毒	烟草花叶病毒
		蕃茄不孕病毒	黄瓜花叶病毒
		蕃茄斑萎病毒	蕃茄斑萎病毒
		烟草蚀纹病毒	马铃薯 Y 病毒
观赏植物	石 竹	香石竹坏死斑纹病毒	甜菜黄化病毒
		香石竹斑驳病毒	蕃茄丛矮病毒
观赏植物	蝴蝶花	芒针蝴蝶花花叶病毒	马铃薯 Y 病毒
		菜豆黄色花叶病毒	马铃薯 Y 病毒
观赏植物	百 合	百合无症病毒	荷兰石竹隐潜病毒
		黄瓜花叶病毒	黄瓜花叶病毒
观赏植物	兰 花	齿兰环斑病毒	烟草花叶病毒
		建兰花叶病毒	马铃薯 X 病毒
观赏植物	玫 瑰	苹果花叶病毒	李坏死斑病毒
		李坏死斑病毒	李坏死斑病毒
果树类	苹 果	苹果褪绿叶斑病毒	甜菜黄化病毒
		苹果茎沟病毒	甜菜黄花病毒

		图拉苹果花叶病毒	李坏死斑病毒
		苹果花叶病毒	李坏死斑病毒
果树类	櫻桃	李坏死斑病毒	李坏死斑病毒
		李萎缩病毒	李坏死斑病毒
果树类	柑桔	柑桔速衰病毒	甜菜黄花病毒
		马铃薯 X 病毒	马铃薯 X 病毒
		马铃薯 Y 病毒	马铃薯 Y 病毒
		马铃薯 S 病毒	荷兰石竹隐潜病毒

在一项试验核病毒素对烟草花叶病毒 (TMV) 和豇豆褪绿斑驳病毒 (CCMV) 的抗病毒效力的研究中, 将烟草花叶病毒 u1 菌株维持在一种烟草 (*Nicotiana Tabacum* L. "Xanthi") 上, 用半叶法在 0.01 M 磷酸钾缓冲液 (PH7.0) 和 1% 的 C 盐混合液中测定烟草 (*N. Tabacum* L. "Xanthi Nc") 的感染情况, 每个接种试验有 6-12 个重复, 随机取样。将豇豆褪绿斑驳病毒维持在加里福尼亚黑眼豇豆上, 用半叶法, 用上述缓冲溶液稀释过的汁液测定大豆 (*Glycine Max* L.) 的感染情况。在机械接种叶子 4 小时后, 从接过种的叶子上取出直径 7mm 的园片, 每个处理取 10 个园片。将园片放在适当的药剂的溶液中, 在真空下使溶液渗入园片, 然后放在卫生纸上干燥 10 到 15 分钟。将园片浮在直径 3.5cm 内盛药剂溶液的培养皿中, 并将培养皿放在 25℃ 的植物生长室中, 在 15,000 勒克光照下保持 14 小时。对照的园片的用蒸馏水处理, 处理方法相同。培养 96 小时后, 从药剂溶液中取出叶子园片, 于 -20℃ 下冷冻起来直到试验感染情况。药剂处理过的园片的感染情况是与水处理的园片相比较得到的。每种药剂用 2-4 个不同的浓度进行处理, 每个浓度差为 5 倍, 每个试验至少重复两次。促进烟草愈伤组织生长的标准介质是由 Murashige 和 Skoog 盐加上 0.8% 的琼脂组成的, 琼脂中含有吲哚乙酸 (3mg/l)、激动素 (0.3

mg/l),和蔗糖(40g/l)。再生的介质与标准介质相同,只是它仅含有吡啶乙酸(3mg/l),另加N6-异戊烯基腺嘌呤(10mg/l)。愈伤组织是用感染了TMV的烟草的木髓组织生成的。将经过过滤消毒的药剂加到高压灭过菌的介质中。将在药剂存在下生长的愈伤组织的边缘除去,以避免取出做TMV感染试验用的原来种子的愈伤组织。取出在含有药剂的介质中发育起来的新幼茎,进行类似的试验。试验表明,核病毒素抑制TMV和CCMV在这些系统中繁殖。CCMV的繁殖对核病毒素比TMV更为敏感。对烟草愈伤组织生长和分化所优选的核病毒素的浓度是抑制TMV在叶子园片中繁殖所需浓度的一倍。然而,新发育的烟草愈伤组织和新茎仍然含有TMV。使叶子园片中90%病毒被抑制的核病毒素溶液的浓度对TMV为0.2mM,对CCMV为0.1mM。

其它试验是用麝香百合“*Arai*”(*Lilium Longiflorm* “*Arai*”)和 *Lilium* “*Enchantment*”进行的,前者被认为是难以得到无病毒植株的。这两种植物均含有百合无症状病毒(LSV)和郁金香杂色病毒(TBV)将用含或不含核病毒素介质诱导出的顶芽分离下来,然后放在无核病毒素的介质中培养。用浓度为0.0-40.0 μ M之间的核病毒素溶液培养,对非遗传形成的顶芽的数目及鳞茎的平均重量没有明显的影响。在浓度为400 μ M时,鳞茎的生长明显地降低。用ELISA、免疫扩散滴试验和电子显微镜测定了叶子样品中的LSV和TBV。40.0 μ M的核病毒素降低了感染LSV和/或TBV的麝香百合“*Arai*”植株的百分率,但对L. “*Enchantment*”效果不明显。这些试验的结论是,当用顶芽来培育鳞茎时,核病毒素是增加植株产量最有用的工具。

另一项所研究是把核病毒素与腺嘌呤阿拉伯糖苷合用在烟草组织培养液中试验了防治烟草花叶病的效果。将感染了TMV的烟草愈伤组织培养物置于含有核病毒素与腺嘌呤阿拉伯糖苷不同组合的固体的茎诱发介质中一个月,然后测定新茎中的病毒。介质中有药剂时,降低发茎的频率。然

而在某些两种药剂的组合中，在被测试的再生茎中没有发现 TM V。当新茎转移到不含药剂的介质中时，残留茎继续生长到有4-5个长1cm以上的叶子时，还未发现 TM V感染的症状。其中一些植株在温室中长成植株后测定其感染的情况，仍发现是无病毒的。在测试感染情况时发现核病毒素和腺嘌呤阿拉伯糖苷都能有效地抑制 TM V的繁殖。在接种之后立即施药，这两种药剂均能抑制 TM V在叶子细胞中繁殖。但用 TM V接种无组织状态的愈伤细胞，再用核病毒素或腺嘌呤阿拉伯糖苷处理，则不能抑制 TM V的繁殖。然而，在烟草组织培养中，以0.5-1.0 μM 的核病毒素与0.1-1.0mM的腺嘌呤阿拉伯糖苷合用，则能控制 TM V的出现。

对观赏植物，例如兰花的研究表明，核病毒素可有效地消灭常见的使兰属植物致病的兰花品系的烟草花叶病毒(TM V-10)。30-1,000ppm的核病毒素已经用于兰花无性繁殖的组织培养中，用于喷植株或浇灌土壤。用电子显微镜和 ELISA血清学的试验测定了病毒的滴度。为了加强核病毒素的透性，在所有处理及对照中都加入200ppm的二甲基亚砷。研究表明建兰属兰花是可以摆脱 TM V-10 的。培养物在所研究的四种核病毒素浓度(30, 100, 300 和1,000ppm)的介质中培养均可发育成无病毒的植株。在这些条件下发育的所有组织：茎、根、及未分化的类原始球茎体均是无病毒的。

感染了齿兰环斑病毒的建兰属植物母株已经在核病毒素存在下再生建兰属植物的顶芽或原始球茎被放在液体或固体的 KNUDSONC 介质中培养。这种介质是 MOREL 专为培养兰花而改进的一种介质。试验表明，从种子培育出来的健康的建兰属植物，可以在含0、10或25ppm核病毒素的介质中生长得很好，但在含50ppm核病毒素介质中培养，四周后成为有坏死的病株。从第六代再培养物起，用 ELISA 试验测试不再测出病毒。

另一研究表明，感染了马铃薯 Y 病毒的马铃薯栽培品种可用顶芽再生。虽然用此技术得到的健康植株比例通常是高的，但它要求复杂的介质，而

且顶芽外植体的再生率很低。顶芽放在补加 V B5 和生长物质的 MURASHIGE 和 SKOOG 介质上培养。其它的外植体(枝、枝条片段、短枝片段)放在不补加生长物质的 MURASHIGE 和 SKOOG 介质中培养。在植物材料中存在的马铃薯病毒 Y 可以在活体外培养之前或之后被控制住,采用的方法是血清学(ELISA)法,或者用烟草作试验植物采用生物学的指标(indexing)。得到的结果证明,用顶芽培养可以将马铃薯 Y 病毒从感病植株上除去。加入核病毒素(10、25和50ppm)可加强再生率,但因在抑制病毒的浓度下对植物的毒性,使它不适合用作感染 Y 病毒的马铃薯顶芽培养的病毒抑制剂。然而,对其它类型的外植体(枝、枝片段和短枝片段)以25或50ppm的核病毒素在活体外培养3-4周后,可有效的增加得到的无病毒植株的数目。感染了齿兰环斑病毒(ORSV)的兰属植物的原始球茎,可放在含0、10、25或40ppm核病毒素的液体 KNUDON C 介质中繁殖。在同样的介质上经过三个月的次级培养表明,10ppm的核病毒素不抑制 ORSV 的繁殖,而在25ppm的核病毒素中培养所得到的原始球茎中病毒的浓度逐步减少。

因此,一种抗病毒剂被揭示出来了,它对防治某些植物病毒或类病毒是有效的。很明显,在使用本专利时,熟练的本专业人员在不脱离本发明的构思的情况下,作出许多修改是可能的。因而,除了在权利要求的精神而外,本发明未受到限制。