

1990年12月

Dec. 1990

植物检疫研究报告

TECHNICAL BULLETIN OF
PLANT QUARANTINE RESEARCH

花卉病毒研究(六)

农业部植物检疫实验所

Institute of Plant Quarantine

Ministry of Agriculture, People's Republic of China

目 录

- 1.关于“菊花病毒检疫检验规程”的建议……………舒秀珍等 (1)
- 2.关于“唐菖蒲病毒病检疫检验操作规程”的建议……………陈燕芳等 (8)
- 3.关于“仙人掌类植物病毒的检疫检验规程”的建议……………王树琴 (13)
- 4.我国仙人掌类植物的主要病害——仙人掌X病毒复合侵染的烟草花叶
病毒的分离和鉴定……………王树琴等 (16)

Contents

- 1.A Proposal Concerning Quarantine Indexing Procedures
Chrysanthemum Viruses…………… (1)
- 2.A Proposal Concerning Quarantine Indexing Procedures Gladiolus
Viruses…………… (8)
- 3.A Proposal Concerning Quarantine Indexing Procedures Cactus
Viruses…………… (13)
- 4.Isolations and Idetifications of Cactus X and TMV from Cactuses in
China …………… (16)

二、使用单位

检疫机构、植物检疫所(站)、国家试验场、有关单位繁殖生产出口基地等。

三、检验所需时间

检验所需时间一年。

四、检验对象

1. 番茄不孕病毒 (Tomato Aspermy Virus 简称 TAV)

关于“菊花病毒检疫检验 规程”的建议

舒秀珍 朱水芳 许宏冠

农业部植物检疫实验所

一、前言

菊花原产我国，是栽培最悠久的传统名花之一。在我国分布极广，从南到北均有种植。在十二世纪传到朝鲜、日本、后传到欧洲、美洲等地，现成为世界各国人们喜爱的花卉之一，被列为四大切花之首（菊花、唐菖蒲、月季、香石竹），大量生产出口创汇。

近年来，我国由于改革开放政策的深入发展，也从国外引入和出口各种菊花，特别是切花品种。据国外文献报道，菊花病毒病是菊花上的重要病害，可侵染菊花的病毒约有20多种，发生普遍的主要是番茄不孕病毒菊花株系，菊花B病毒、菊花矮化类病毒，还有菊花褪绿斑驳类病毒、菊花脉斑驳病毒，番茄斑萎病毒，菊花潜隐病毒，菊花轻斑驳病毒，菊花环斑病毒等，也有报道马铃薯黄矮病毒也可侵染菊花。

过去对我国菊花上发生的病毒情况不了解，经过86—89年在全国10多个大中城市进行调查采样，温室内分离鉴定，初步明确为害菊花的主要病毒是番茄不孕病毒，其次是菊花B病毒，发生普遍。还有菊花矮化类病毒，菊花褪绿斑驳类病毒、烟草花叶病毒、马铃薯Y病毒、黄瓜花叶病毒和马铃薯X病毒为局部地区零星发生。为了防止新的病毒的传入，从国外应引入脱毒试管苗，引入后要隔离试种观察，进行病毒和类病毒的检疫检测，以免新病毒传入，保护我国的菊花资源。同时对我国生产出口创汇的菊花，要进行产地检疫，要进行脱毒处理，特别是对繁殖母株的检疫，提高菊花脱毒生产的质量，保证菊花顺利完成出口创汇的任务。特制定本规程，所列各项措施，专门用以检疫检验菊花的病毒病。希望本规程在试用过程中，不断修改补充完善，简化，以便达到准确、简便和快速的进行检测。

二、使用单位

检疫苗圃、植物检疫所（站），隔离试种场，菊花大量繁殖生产出口基地等。

三、检验所需时间

检疫所需时间一年

四、检验对象

1. 番茄不孕病毒 (Tomato Aspermy Virus 简称 TAV)

寄主范围广，可为害各种菊花，是菊花上的主要病毒病害。

症状：由于品种不同，引起叶片产生各种不同症状类型的病斑，有褪绿花叶，坏死斑，坏死环斑，脉淡，脉褪绿呈网状，隐症带毒。花碎锦，花形小，开花不整齐。

分布：中国和广泛种植菊花的国家，有欧洲、美国、加拿大、日本、朝鲜、苏联、印度、澳大利亚，新西兰等国家。

检疫评价：我国发生普遍，出口时应保证脱去该病毒。引进时注意检疫，因变异株系较多，寄主范围和致病力强弱有差别，保证安全引种和保护我国的菊花资源。

2. 菊花B病毒 (Chrysanthemum Virus B 简称 CBV)

症状：因品种不同而异，引起叶片轻微花叶、斑驳或明脉，脉黄或无症状，可引起花瓣坏死条斑，花少，花小。

分布：我国、欧洲及种植菊花的国家。

检疫评价：我国分布普遍，出口时应保证脱去该病毒。引进时注意检疫，因症状轻微，易被忽视。

3. 菊花矮化类病毒 (Chrysanthemum Stunt Viroid 简称 CSV)

自然发生主要侵染菊花，是菊花上的一种重要病毒。

症状：主要引起植株矮化，叶表现轻微黄化或略有畸形，叶小，花序变小，有些品种叶片表现有白斑，有些品种植株有束顶的现象。

分布：我国在北京零星发生，美国在40年代曾引起大流行，损失严重。在加拿大，欧洲各国、英国、荷兰、印度、澳大利亚等国均有分布。

检疫评价：我国仅局部地区零星发生，在美国曾有大流行的教训，该病为害后严重影响观赏价值，又不易脱毒，应注意检疫。

4. 菊花褪绿斑驳类病毒 (Chrysanthemum chlorotic mottle Viroid 简称 CC-MOV)

症状：嫩叶表现褪绿斑驳、植株矮小、花期推迟、花小。

分布：我国广州、北京零星发生、美国。

检疫评价：我国局部地区零星发生，类病毒较难防治，引入时注意检疫。

5. 番茄斑萎病毒 (Tomato Spotted Wilt Virus 简称 TSWV)

可侵染菊花外，还可侵染大丽菊 (Dahlia) 和百日菊 (Zinnia)。

症状：叶片表现褪绿和坏死。

分布：西欧、美国、澳大利亚。我国未见报道。

检疫评价：可以通过菊苗传播，我国尚未报道菊花上发生，引入时注意检疫。

6. 烟草花叶病毒 (Tobacco Mosaic Virus 简称 TMV)

症状：引起菊花叶片褪绿斑点和脉淡。

分布：烟草花叶病毒在我国发生普遍，但为害菊花仅见于上海，昆明局部地区。

检疫评价：进出口时注意检疫不带毒。

7. 马铃薯Y病毒 (Potato Virus Y 简称 PVY)

症状：引起叶片褪绿花叶或褪绿褐园斑。

分布：马铃薯Y病毒在我国发生普遍、但在我国局部地区上海、昆明为害菊花属零星发生。

检疫评价：进出口时注意检疫。

8. 黄瓜花叶病毒 (Cucumber Mosaic Virus 简称 CMV)

症状：菊花叶片表现脉间褪绿黄斑块。

分布：黄瓜花叶病毒在我国分布普遍，但为害菊花仅在广州极零星发生。

9. 马铃薯X病毒 (Potato Virus X 简称 PVX)

症状：引起菊花褪绿花叶。

分布：马铃薯X病毒在我国分布普遍，但为害菊花仅在南京极零星发生。

检疫评价：进出口时注意检疫。

五、准备工作

1. 审核受理报检单、检疫协定或贸易合同等有关单证，对引入或出口明确检疫要求。

2. 了解报检数量、备货现场，确定检验时间、地点。菊花病毒一般在冬季（温度偏低）和夏季（温度偏高）病毒浓度低，不宜检验，这时国外引入的菊花可先入圃防虫温室或指定的隔离地块种植一段时间。当温度适宜时再检。

3. 塑料袋、标签、笔。

六、现场检验和取样

1. 国外引入菊花

(1) 登记从何地（国家）引入、品种、数量、苗令、有无何虫害和病害症状类型特征。

(2) 取样：

组培苗：每一品种取3瓶。

幼苗：每一品种取不同症状类型（包括无症状）10—20个幼苗样品。若引入数量大则取样数量相应增加。

2. 国内出口菊花

我国产地检疫应选择春季（3—4月），秋季（10—11月）采样各一次。

(1) 登记出口何地（国家）、品种、数量、苗令，有无何虫害和病害症状类型特征。

(2) 取样：

繁殖母株：每一品种取3个嫩芽枝叶。

幼苗：每一品种取不同症状类型（包括无症状）10—20个幼苗或嫩叶或基部发出的嫩枝叶样品。

将每一样品分装入塑料袋内，标签写上从何引入或输出国家、品种、症状类型，采样日期等放入塑料袋中。

七、菊花入圃检疫的栽培管理

1. 国外引入菊花入圃检疫的栽培管理

(1) 栽种前的处理：菊花入圃后，先将其枯叶或脚叶除去，观察是否带有蚜虫、粉虱

和红蜘蛛等害虫，用溴氢菊酯等药液喷杀，放在荫凉处待药液凉干后即可上盆栽种。

(2) 基质：菊花喜含腐植质，排水透气性良好，中性偏酸的砂壤土。

人工调制培养土：秋季用阔叶落叶5份，锯末3份，马粪2份，分层掺合堆成长条形或圆形，上面用园土覆盖10厘米厚发酵。来春3—4月间翻捣3次，使其发酵均匀，然后再加4份砂土掺匀堆置，保持湿润，堆置2个月便可使用，使用前应进行消毒杀虫。

堆制腐熟的培养土经消毒后，按2份培养土加1份砾石混匀装盆。

(3) 上盆：将药液凉干的菊苗植株基部插入基质内，并充分渗透水。

取回是组培苗样品，则应从试管瓶内小心取出菊苗，洗净基部的培养基，然后将基部插入基质内，充分渗透水，上面罩一烧杯，插入标签记号

(4) 温湿度和光照：菊花喜凉爽不喜炎热，以20—25℃为最适宜生长温度，上盆后将其放在荫凉背光处5—7天，温度不超过25℃以上，保持基质湿润以便菊株复活，春夏秋季每天在上午10时前，冬季在午后浇水，待其复活后便可放在见阳光的温室内观察检疫。

(5) 追肥：硫酸，尿素等氮肥可适时适量做追肥，可根据植株生长情况再追施肥料，保持植株生长正常。

2. 国内生产的菊花准备出口的产地检疫

(1) 选取不同品种的繁殖母株为主要检疫检验对象。

(2) 于春(3—4月)秋(10—11月)季定期到产地田间大面积调查采样，根据不同品种，观察症状类型，采回室内检验。栽种观察，方法同(1)。

八、检验方法

1. 症状观察

根据采回不同症状类型，编号登记，如褪绿花叶，坏死斑，脉淡，无症状，花碎锦等。

2. 接种检验

鉴别寄主：昆诺阿藜，苋色藜、普通烟“White Burley”，矮牵牛，番杏，千日红，4—5叶期幼苗，每种接1—2株。

接种前将手用肥皂洗干净，根据编号顺序取嫩叶1—2片或花瓣数瓣放于消过毒的研钵内，加数滴磷酸缓冲液(PH7)研磨，汁液内加少许硅藻土或金刚砂，然后用食指蘸取病汁液轻轻摩擦接种于鉴别寄主上，接完后用清水轻轻冲去汁液，然后将鉴别寄主放于温室20—25℃，不低于15℃以下，不高于30℃以上待其发病。一般接种后，第三天应每天观察症状，表现有症状的鉴别寄主应作详细记录，发病充分可作血清学鉴定。

鉴别寄主反应： 见下表

鉴别寄主症状和潜育期

症状 鉴别寄主	病毒	TAV	CBV	TSWV	TMV	PVY	CMV	PVX
昆诺藜阿 <i>Chenopodium quinoa</i>		接种4—7天叶片局部褪绿斑和枯斑, 无系统症状	不侵染		接种3—4天表现局部坏死斑	接种10天后局部褪绿斑和枯斑	接种4—5天局部褪绿斑和枯斑	接种10天局部褪绿斑或坏死斑
普遍烟 <i>Nicotiana tabacum</i> “White Burley”		接种10—15天接种叶褪绿斑, 心叶显褪绿环斑, 脉淡。	不侵染	接种叶局部坏死斑, 后系统坏死, 畸形	接种4—5天接种叶局部坏死斑。	接种10—15天后, 心叶明脉, 系统脉带花叶, 坏死株系脉坏死。	接种10天后局部褪绿斑或坏死斑, 系统花叶	接种2周后系统环纹斑花叶
矮牵牛 <i>Petunia hybrida</i>		接种10—15天心叶脉淡, 花叶。	接种20天后接种叶局部褪绿圆形黄斑。	接种2—4天接种叶局部坏死斑, 无系统侵染	接种4—5天局部坏死斑, 后心叶花叶	接种15天后, 系统花叶	接种10天后心叶花叶	接种2周后系统环纹花叶
千日红 <i>Gomphrena globosa</i>		接种10—15天系统坏死斑	不侵染		接种4—5天局部枯斑, 后系统枯斑	不侵染	接种10天后局部枯斑, 心叶枯斑扭曲	接种7天后局部圆形枯斑, 无系统症状
番杏 <i>Tetragonia expansa</i>		接种7—10天接种叶局部枯斑, 无系统症状。	接种20天后接种叶局部褪绿斑和枯斑, 无系统症状		接种4—5天局部枯斑, 无系统症状	不侵染	不侵染	不侵染

3. 血清学检验

已制有血清TAT (菊花株系), TMV, CMV, PVY, PVX。CBV是小鼠腹水。检验方法如下:

(1) 琼脂双扩散法, 适宜检测TAV, CMV, TMV。具体方法详见“兰花病毒检疫检验规程”P.4 (三) 血清学检验 1. 琼脂双扩散法。

采回的样品亦可直接作琼脂双扩散反应, 在温度适宜发病的植株内, 病毒浓度高亦可测出。

(2) A—蛋白酶联免疫吸附试验:

适宜检测TAV, CBV, CMV, TMV, PVY, PVX。

具体方法详见“兰花病毒检疫检验规程”P.7。 4. A—蛋白酶联

(3) 电镜检测:

适宜检测: CBV, TMV, PVY, PVX。

①直接沾取法：对线状和杆状病毒容易观测。具体方法详见“兰花病毒检疫检验规程”P.9（四）电镜检测

②免疫电镜诱捕法：

直沾法观察有杆状病毒粒体，可用TMV抗血清作免疫电镜诱捕。若为线状病毒粒体，可用CBV小鼠腹水，PVY，PVX抗血清作免疫电镜诱捕。

具体方法详见“兰花病毒检疫检验规程”P.10（四），电镜检测的免疫电镜诱捕。

对病毒病可以根据以上方法检测：TAV和CMV，可以通过鉴别寄主鉴定和琼脂双扩散反应容易检验。CBV在鉴别寄主矮牵牛的接种叶20天以后表现局部圆形黄斑，作电镜观察为线状粒体689nm。TMV在鉴别寄主上表现枯斑，电镜下观察为杆状粒体。PVY在矮牵牛和普通烟上为系统症状，不侵染千日红，PVX可以局部侵染千日红，可用PVY和PVX抗血清作免疫电镜诱捕加修饰，为线状病毒，便可肯定。

4.双向聚丙烯酰胺凝胶电泳检测

适用范围：检验菊花矮化类病毒和菊花褪绿斑驳类病毒。

（1）核酸提取：1份样品（约5克）+2份样品抽提液（0.5M NaCl, 0.1M tris—HCl—pH8.5, 5mM EDTA Na₂, 2% SDS, 1% 巯基乙醇）研碎，加入2vol氯仿与2vol水饱和苯酚混合液搅匀，9000转/分，离心10分钟，取上清，加2.5vol 95%乙醇，1/20 3.0M NaAC—17~4℃过夜。离心取沉淀，真空干燥保存起来或加电缓冲液悬浮，即可作电泳检测。

（2）电泳检测：第一向电泳采用不完全变性胶，即5%聚丙烯酰胺中加入2M尿素，用89mM TBE缓冲液（89mM tris—硼酸, 5mM EDTA Na₂, pH8.3），用溴酚兰和二甲苯兰作指示剂，当电泳溴酚兰跑出胶板时，停止电泳。第二向电泳为逆向电泳，打开胶板后，从二甲苯兰以下（不包括二甲苯兰）至溴酚兰之间部分切除掉，并切除胶板两边小部分胶（以便加电泳液时去掉气泡），重新夹好胶和电泳槽，胶板方向与原来一样，电极缓冲液仍用TBE，但要稀释4倍，并加温至89—95℃，沿两块玻璃板灌入电泳槽内。颠倒原来电极，这时样品往回跑，当二甲苯兰跑出胶板时，停止电泳，胶板用银染色。在电泳加样时，每次电泳都加一标准CSV或CCMOV样品做对照。

菊花矮化类病毒除用凝胶电泳检测外，亦可用鉴别寄主检测，但所需时间较长，具体方法如下：

爪哇三七（*Gynura aurantiaca*）是诊断CSV最灵敏的鉴别寄主，接种方法用针刺法。用消过毒的刀片将5—6片叶的爪哇三七植株由叶柄切掉叶片，顶端只留2—3片小嫩叶，将病株和健株的菊花叶分别榨取汁液滴在叶柄切口和茎上，然后用针刺滴有汁液接种物的部位。将植株培养于30—35℃温室中，2—3周后用病汁液接种的爪哇三七顶端叶片变小，皱曲并向叶背反卷。此后长出的叶片都表现出严重的病状，而健叶汁液接种的爪哇三七则生长正常。

九、检疫处理

1.对出口菊花

（1）经检验未发现有检疫协定和对外贸易合同条款中所规定的应检病毒，准予放行出口。

(2) 经检验发现检疫协定或贸易合同中所规定的应检病毒, 则不能放行。

2. 对进口菊花

(1) 属一般品种, 检出国内未报道的病毒或病情较严重的病株, 则销毁处理。

(2) 检出国内已发生的病毒, 限制栽种在隔离的苗圃内, 不能作大量繁殖。

3. 脱毒处理

对引入名、优、稀有菊花品种资源, 检出国内已发生的病毒, 可进行茎尖培养和热处理相结合的脱毒处理方法。

(1) 热处理: 先将患有病毒的母株置 $35-38^{\circ}\text{C}$, 辅加全日光照的条件下生长2—3个月以上, 然后取其萌发的新芽作切取茎尖的材料。

(2) 茎尖培养: 剪下经热处理后萌发的新芽枝条, 流水冲洗1小时, 然后用75%酒精表面消毒30秒, 再放在2%次氯酸钠溶液中(加吐温—20若干滴)灭菌15分钟, 用灭菌蒸馏水冲洗3—4次, 在超净工作台内, 借助双目解剖镜, 切下带1—2个叶原基或不带叶原基的茎尖组织, 接种到 $\text{Ms} + \text{BA}_3 + \text{NAA}_{0.1}$ 固体培养基上, 形成愈伤组织, 并可分化出不定芽。

将不定芽自茎基部从愈伤组织上切下, 移植到 $\text{M}_3 + \text{BA}_3 + \text{NAA}_{0.1}$ 壮苗培养基上, 约经一个月, 可长成株高1cm以上, 具4个叶片以上的小苗。

将小苗再移植到 $\text{Ms} + \text{NAA}_{0.1}$ 的生根培养基上培养。

以上所述培养基均加琼脂0.6%, 蔗糖3%, pH5.8。

培养室温度为 $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$, 光照时间12小时/天, 光照强度约2000勒克斯。

(3) 移栽和检测: 待株高长至2cm, 根长1cm左右, 将小苗从瓶中移出盆栽在隔离条件的温室内, 植株生长较健壮时, 进行脱毒检测。

检测方法用鉴别寄主接种和血清学方法以及电镜检测相结合。在不同时期, 在适宜的温度条件下反复检测3—4次, 确实未检出病毒, 方确认为脱毒苗, 可以繁殖。

十. 对引种菊花的意见

由于菊花以插条繁殖, 病毒可随插条传播, 可侵染菊花的病毒种类多且复杂, 绝不能以插条的形式大量引入, 为了安全起见, 对名、优、稀有品种应提倡引进脱毒试管苗, 便于检疫和大量繁殖。

参考文献

- [1] 舒秀珍等. 侵染菊花和风信子的番茄不孕病毒的鉴定. 病毒学杂志, 1990, (2): 186—192
- [2] 舒秀珍等. 菊花病毒的鉴定及其检验技术研究. 植物检疫研究报告 花卉病毒研究(五) 农业部植物检疫实验所. 1990 9月
- [3] T.Q. 迪内. 菊花矮化病和菊花褪绿斑驳病——类病毒和类病毒病. 1985, P. 35—42
- [4] 陈炜等. 类病毒双向聚丙烯酰胺电泳检测技术. 微生物通报, 1985, 12(3): 132—135
- [5] 李孟津等. 我国菊花褪绿斑驳类病毒的鉴定. 微生物学报, 1987, 27(2): 121—127
- [6] P. Brierley and F.F. Smith. Survey of Virus diseases of Chrysanthemum plant Disease Report, 1951, 35: 524—526
- [7] J.M. Wilson. The incidencic of CBV, TAV and TSWV in commerced chrysanthemum flowers crops in victora. plant pathol. 1983, 12: 17
- [8] 薛守纪. 菊花栽培. 中国林业出版社, 1980

关于“唐菖蒲病毒病检疫检验 操作规程”的建议

陈燕芳、许宏冠

一、前言

唐菖蒲是四大切花之一，它具有花色艳丽，花姿优美等特点，很多国家都把它作为赚取外汇的重要手段。我国唐菖蒲品种很丰富，花色有红、黄、蓝、白、紫等色。但由于病毒病为害严重，对花的产量和质量都受到很大影响，因此，长期不能打进国际市场，每年都要从国外引进唐菖蒲球茎，然后出口切花。

近年来，广州、深圳、厦门、吉林、北京、天津等省市先后从荷兰引进唐菖蒲球茎。如1986—1987一年内，经香港进入深圳口岸所的荷兰唐菖蒲球茎就多达719万头。

据国外资料报导，侵染唐菖蒲的病毒有10多种，寄主范围广，为害唐菖蒲严重的病毒有：菜豆黄花叶病毒、黄瓜花叶病毒、烟草环斑病毒、蚕豆萎蔫病毒、烟草脆裂病毒、番茄环斑病毒和番茄斑萎病毒。

近年来口岸所截获送检的唐菖蒲球茎获得的病株210株，从以上这些病样和病株中，鉴定出4种病毒，有：菜豆黄花叶病毒，黄瓜花叶病毒，烟草环斑病毒和蚕豆萎蔫病毒。烟草环斑病毒是在口岸所截获荷兰引进的唐菖蒲球茎鉴定出来的，在我国唐菖蒲尚未发现，是一种危险性的病源。菜豆黄花叶病毒和黄瓜花叶病毒发病普遍且严重，蚕豆萎蔫病毒只有局部地区发生，应引起注意。应从国外引进名、优、珍稀的脱毒试管苗，引进后，在隔离条件下种植，跟踪检测，确无病毒才可应用。为了保护我国的花卉和农业的安全生产，特制订本规程，以检验唐菖蒲的病毒病。

二、使用单位

可供检疫苗圃，口岸动植检所，植保植检站及唐菖蒲引种单位和种植场使用。

三、检疫所需时间

检疫所需时间一年。

四、检验对象

(一) 国内未发生的病毒

1. 烟草环斑病毒 (Tobacco ring spot virus简称TRSV)

寄主范围广，人工接种侵染22种植物，侵染豆科、茄科的普通烟，曼陀罗、心叶烟、藜科的昆诺阿藜，苋色藜，菠菜和葫芦科作物。引起大豆、豇豆、菜豆、玉米顶枯。由汁液和线虫传播。病毒致死温度为60—65℃，稀释终点 10^{-4} — 10^{-5} ，体外存活期6—7天。该病毒由

一种蛋白亚基构成，分子量约58000道尔顿。

症状：轻性斑驳。

分布：美国、加拿大、英国、荷兰、意大利、伊朗和澳大利亚。

检疫评价：在我国唐菖蒲未发现，是一种危险性的病源。该病毒经大豆种子种传并引起大豆、玉米、豇豆、菜豆顶枯，因此，引进的唐菖蒲球茎隔离试种地块远离这些作物。发现该病毒，即烧毁。

2. 番茄环斑病毒 (Tomato ring spot virus简称TomRSV)

寄主范围广，人工接种侵染昆诺阿藜、苋色藜、番杏、普通烟、大豆等，由汁液和线虫传毒。

症状：斑驳或花叶。

分布：英国、日本、美国。

检疫评价：我国列为对外检疫对象，引种时要严格检疫，传毒介体为线虫，唐菖蒲球茎带毒，一旦传入，很难根除。一发现，立即烧毁。

3. 烟草脆裂病毒 (Tobacco rattle virus简称TRV)

寄主范围：侵染唐菖蒲杂交种，普通烟，昆诺阿藜、苋色藜，粒体杆状，190nm和45—115nm。

症状：叶片边缘呈锯齿状缺刻。

分布：意大利、日本、埃及和荷兰。

检疫评价：该病毒在我国未报道。由汁液和线虫传播，一旦传入很难根除。引种时，严格检疫，一旦发现，立即烧毁。

4. 番茄斑萎病毒 (Tomato spotted wilt virus, 简称TSWV)

寄主范围广，侵染普通烟“White Burley”、克利夫兰烟、矮牵牛、心叶烟、黄瓜。

症状：叶片褪绿、褪化。

分布：澳大利亚。

检疫重要性：在我国唐菖蒲尚未发现。该病毒很容易失活，接种要及时，引进要严格检疫。

(二) 国内已发生的病毒

1. 菜豆黄花叶病毒 (Bean yellow virus, 简称BYMV)

寄主范围：可侵染豆科和非豆科作物。在20种非豆科试验寄主中有17种感染，菜豆、昆诺阿藜、苋色藜、千日红、烟草等，由汁液和蚜虫以非持久的方式传播。

症状：褪绿条纹。

分布：中国、美国、澳大利亚、意大利、加拿大、英国、日本、伊朗、印度、荷兰、德国。

检疫评价：在我国种植唐菖蒲的省份普遍发生，为害较重，是唐菖蒲上的主要病害。出口切花时，要注意脱去病毒。

2. 黄瓜花叶病毒 (Cucumber mosaic virus简称CMV)

寄主范围广，侵染茄科、藜科、豆科及番杏科等。

症状：花叶。

分布：中国、美国、意大利、荷兰、英国、日本、澳大利亚、新西兰、加拿大、委内瑞拉

拉。

检疫评价：该病毒在世界广泛分布，在我国果树、蔬菜、花卉普遍发生，也是为害唐菖蒲的主要病害之一。出口切花时，要注意不带毒。

3. 蚕豆萎蔫病毒 (Broadbean wilt virus简称BBWV)

寄主范围广，侵染昆诺阿藜，苋色藜、矮牵牛、普通烟、番杏、商陆和番豌豆。

症状：褪绿环斑。

分布：中国和美国。

检疫评价：在我国豆类、蔬菜上普遍发生，而为害唐菖蒲只有局部地区零星发生。但该病毒寄主范围广，输入的球茎需要远离豆类蔬菜地块种植，以免病毒的扩散蔓延。

五、准备工作

1. 检查发货单上所列的项目与货物是否相符。
2. 引进的唐菖蒲球茎，先在隔离网室、温室或隔离试种地种植，待长出叶片后，再检验。
3. 消毒土壤和花盆、准备塑料袋、标签、笔。

六、现场检疫和取样

(一) 从国外输入的唐菖蒲球茎

1. 登记从何国家输入，品种名称、数量、有无杂菌感染，去除腐烂发霉球茎。
2. 取样：随机取样，每100头球茎取10头，有品种名称的每一品种按10%取样。
3. 组培苗取2瓶。

(二) 出口的唐菖蒲切花

出口地区或国家要求不带何种病毒时，就需要产地检疫。

1. 每年4—5月去隔离试种地观察唐菖蒲的生长情况，有无病毒症状。
2. 取样：每品种取不同症状顶部嫩叶片10—15片，标签上写明时间、地点、品种名称，症状一同放在塑料袋内。

七、唐菖蒲隔离试验检疫栽培管理

从国外引进的唐菖蒲球茎，栽培在网室或隔离地块。

1. 播种：宜栽培于向阳背风及排水良好之砂壤土中，大球每畦可种600头，行株距 20×10 cm，覆土不能过深，3—4 cm为宜。
2. 温度：唐菖蒲产于非洲，虽是喜温作物，但气温过高对生长不利，球茎一般在4℃开始萌发，生长发育最适温度为20—25℃。
3. 施肥、灌水和中耕除草。
唐菖蒲生长期应施肥2—3次，即展叶后孕穗期及花后球茎发育期施用。早春及夏季干旱季节应注意灌水，过于干旱则叶尖发黄，抽花时更不能缺水，长出四片叶后要中耕除草。
4. 在唐菖蒲的整个生长发育期，注意病虫害的发生。特别是病毒病，发现病毒病症状，取不同症状类型的病叶带回室内接种鉴定。

八、病样检验鉴定方法

1. 生长试验症状观察

将随机取样的唐菖蒲球茎，按不同品种播种在消毒的土壤（消毒土3/5，花卉营养土和硅石各2/5）和花盆内，高14cm，口径15cm的花盆播种3—4个球茎，上覆盖2—3cm营养土，每盆插上一个牌子，上写着品种名称，从何引入、播种日期，置在18—25℃的隔虫温室或网室中待其发芽生长约10—15天后，长出第一片叶，观察叶片有无病毒症状，若发现病株，调查其发病率。

2. 接种鉴别寄主

选取不同症状类型的病株，每株剪取顶部症状明显的叶片1/2—1/3片叶，用剪刀剪成细长条，放在已消毒的研钵内，加几滴自来水或磷酸缓冲液（PH7.0）研磨成汁液加硅藻土少许。用肥皂把手洗干净，用食指蘸取病汁液轻轻摩擦在鉴别寄主昆诺阿藜或莧色藜、普通烟“White Burley”、豇豆“里种三尺”，黄瓜、矮牵牛叶片上，接完后用自来水冲洗多余的病汁液，按顺序插上标签，置18—25℃的防虫温室中约4—7天后陆续发病，每天详细记录发病情况，鉴别寄主反应见下表：

鉴别寄主 病毒	昆诺阿藜	普通烟 “White Burley”	番 杏	黄 瓜	矮牵牛
TRSV	接种3—4天后出现 局部坏死斑	接叶局部褪绿斑， 系统环斑			
TomRSV	接叶局部坏死斑系 统顶枯	接叶坏死局部斑或 环斑系统线纹	接叶局部褪绿 斑，系统褪绿斑		
TRS	接叶局部坏死斑无 系统症状			接叶褪绿斑或 坏死斑	
TSWV		接叶局部坏死斑， 系统坏死，叶片畸形			接种3—4天后， 出现局部坏死 斑，无系统症状
BYMV	接叶局部褪绿斑， 无系统症状	不侵染			
CMV	接叶局部斑，或坏 死斑	接叶局部褪绿斑， 系统坏死和枯叶			
BBWV	接种3—4天后，出现 局部坏死斑，系统顶枯				

(三) 血清检验: 已制备抗血清的有CMV和TRSV。

1. 琼脂双扩散试验: CMV、BBWV、TRSV、TomRSV、TRV和TSWV球状病毒, 适用于此法检验。具体做法详见“关于兰花病毒检疫检验规程”的建议血清学检验P4。

2. 酶联免疫吸附试验: A-蛋白酶联检验BYMV、CMV、TRSV、TomRSV、BBWV、TRV和TSWV。

具体做法详见“关于兰花病毒病检疫检验规程”的建议(三) 4. P7-9。

3. 电镜检测

(1) 直接沾取法: 此法适于BYMV线状病毒和杆状病毒。球状病毒在电镜下不容易观察到病毒粒体。

(2) 免疫电镜诱捕法: BYMV、CMV、BBWV、TRSV、TomRSV、TRV和TSWV适用于此法检验, (四) P9-10。

具体做法见“关于兰花病毒检疫检验规程”的建议四, 电镜检测的免疫电镜诱捕。

唐菖蒲上的7种主要病毒, 用以上三种方法进行检测, 就可以准确的检验出是何种病毒。

九、检疫处理

(1) 从国外引进的唐菖蒲球茎, 检出国内尚未发生的危险性病毒, 则不能放行。哪个品种带有危险性病毒就烧毁哪个品种。

(2) 检出国内已发生的病毒, 球茎栽培在隔离试种地, 检疫苗圃或网室一年, 隔离地块远离蔬菜, 果树、玉米种植地, 隔离试种期间, 跟踪进行采样检测, 未发现危险性病毒方可放行。

(3) 科研和生产单位需引入名, 优, 珍稀的品种资源, 检出国内已发生的病毒, 经茎尖脱毒处理(茎尖组培脱毒略)保持其优良特性, 供科研和生产上应用。

参考文献

[1] 陈燕芳等(1986), 侵染唐菖蒲的黄瓜花叶病毒的鉴定。花卉病毒研究(一), 植物检疫研究报告1986年, 9月, 11-15。

[2] 陈燕芳等(1990), 侵染唐菖蒲的烟草环斑病毒的鉴定。植物病理学报。1990年第3期。

[3] 陈燕芳等(1990), 侵染唐菖蒲的菜豆黄花叶病毒的分离和鉴定简报。植物检疫1990年第3期。

[4] 张建如等(1982), 园林科技情报6(1982)。

[5] 姚同玉(1980), 花卉园艺。中国建筑工业出版社。

[6] Bridgmon, G.H. et al., 1952, Phyto. 42 (2) 65-70.

[7] Brierley, P., 1952, Pl. Dis. Rept. 46 (7) 505.

[8] Bos, L., 1970, Neth. J. Pl. Path. 76 (1970) 8-46.

[9] Stace-smith, R., 1970, Description of Plant viruses No. 17, CMI/AAB.

[10] Klinkowski, M., 1977, Pflanzliche virologie Band. 4. 71-73.

[11] Stace-smith, R., 1985, Description of plant viruses No. 19, CMI/AAB.

关于“仙人掌类植物病毒的 检疫检验规程”的建议

Quarantine Indexing Procedures

—Cactus Vivuses

王树琴

(农业部植物检疫实验所)

一、前言

仙人掌类植物的病毒病，主要有仙人掌X病毒，仙人指扭曲病毒，蟹爪莲病毒，烟草花叶病毒，仙人掌2号病毒和类菌原体等。我国过去这方面不曾有过报导，现鉴定出来的有仙人掌X病毒，烟草花叶病毒和类菌原体，除此在电镜下还见到未定名的长线状病毒粒体。受单一的仙人掌X病毒侵染的植株，一般无症状。

仙人掌类植物除单一的直接栽培外，往往进行嫁接，如蟹爪莲接仙人掌或三棱箭，仙人球接三棱箭等，所以作为砧木或者接穗健康与否，直接影响花卉的品质，为了保护仙人掌类资源，国内南北方品种资源交流或与国外品种资源交流，都应进行检疫检验。

二、使用单位

供检疫苗圃，隔离试验场和检疫站（所）使用。

三、检验所需时间

检疫所需时间一年。

四、检验对象

仙人掌X病毒，烟草花叶病毒。

(一) 仙人掌X病毒 (Cactus Virusx)

主要发生于许多栽培的仙人掌类植物（在美国野生仙人掌也曾见过此病毒），经汁液或嫁接传播，人工接种可侵染苋科，藜科及石竹科的一些植物（石竹科植物是隐性侵染）。

症状：此病毒单一侵染，一般无症，复合侵染时有系统花叶或局部坏死。

分布：欧美、中国。

检疫评价：在国内从仙人掌、仙人指、仙人球、三棱箭上均分离到仙人掌X病毒，可见

此病毒在仙人掌类植物上存在较普遍。为了保护仙人掌类植物及品种资源，对此病毒应进行检疫。

(二) 烟草花叶病毒 (Tobacco mosaic Virus)

可侵染仙人掌类植物。

检疫评价：该病毒极易汁液传播，而且寄主范围广泛，又为害蔬菜，农作物，所以为了保护大田作物和仙人掌类植物的品种资源，尤其从国外进口的品种资源时，要进行检疫，因国外不同的烟草花叶病毒株系，致病力不同。

(三) 仙人掌丛枝病

为类菌原体病害 (MLO)，菌体充满于嫩丛生枝的韧皮部筛管的细胞中，呈圆形，椭圆形，直径约230—448nm。

症状：叶状茎变形，病茎侧面的顶端长出许多肉质圆柱形细枝，呈丛生状，病重时叶状茎全部变为圆柱形细枝，全株矮化，生长不良。

分布：仙人球产地都会发生此病毒，中国南京。

检疫评价：此病毒靠嫁接传播，所以在嫁接时注意植物材料的选择。又因症状明显突出，所以在选择引进品种资源时，注意症状观察。感病后丧失其经济价值，所以从保护品种资源及经济效益上看，应实行检疫。

(四) 扭仙人指病毒 (Aporocactus Virus)

为汁液传播。

分布：中欧。

(五) 蟹爪莲病毒 (Zygocactus Virus)

为汁液传播。

症状：与仙人掌X病毒复合侵染，产生花叶和坏死。

分布：中欧。

检疫评价：蟹爪莲在仙人掌类植物中经济价值较高，在我国尚未明确有此病毒之前，为了保护我国的品种资源，如从国外引进时，要注意症状观察。

五、检验方法

(一) 症状观察

仙人掌X病毒单一侵染时，一般无症。

(二) 接种试验

将仙人掌类植物直接接种到试验植物时，时间很长，一般需一个月左右时间，如从寄主植物上再进行接种时，一般7—10天即可发病。该病毒在几种鉴别寄主上的症状如下：

苋色藜：局部退绿，然后转为坏死。

昆诺阿藜：局部褪绿、坏死。顶叶无症。

千日红：局部红色边际的枯斑。

老枪谷：花叶，斑驳叶脉坏死，顶叶变小。

(三) 血清学检验

1. 琼脂扩散法：适用于烟草花叶病毒。

- (1) 制备琼脂板;
- (2) 反应孔和反应液排列;
- (3) 制备抗原和抗血清反应液;
- (4) 反应条件和时间;
- (5) 判断结果;
- (6) 注意事项。

以上各项内容,均参照“兰花病毒检疫检验规程”建议中,有关血清学检验的琼脂扩散法部分。

2. A-蛋白酶联:适用于仙人掌X病毒。

(1) 溶液配制:包被液、0.02MPBM液、洗涤液、稀释液、底物缓冲液、底物溶液等项内容均可参照关于“兰花病毒检疫检验规程”的建议中的A-蛋白酶联中溶液配制部分。

(2) 制备抗原和抗血清液:取仙人掌类植物组织0.5g,加稀释液约0.5ml,研磨,取上部澄清液,即用为抗原液,抗血清稀释液或合适浓度。

(3) 操作步骤、判断结果,注意事项均参照“兰花病毒检疫检验规程”的建议中的有关部份。

(四) 电镜检测

凡有条件的单位均可辅助使用电镜检测。

适用范围:仙人掌X病毒,烟草花叶病毒,特别是线状和杆状粒体的病毒。

方法和步骤:

(1) 沾取法;

(2) 免疫电镜诱扑;

(3) 免疫电镜诱扑修饰。

上述三种方法的详细制片程序,均参照“兰花病毒检疫检验规程”的建议中的有关电镜检测部分。但是仙人掌类植物汁液粘滑,不易研磨,所以仙人掌类植物不必切成细丝,而是整块剪下用研棒轻轻敲打出汁液,再进行沾取。

六、检疫处理

(一) 凡一切进口的品种资源,检出国内未报导的病毒,或是病情严重的病株(不论其病毒是否国内已发生),均进行销毁处理。

(二) 限制使用:只许在病圃中栽培,不得大量繁殖,凡引进资源检出国内已发生的病毒,限制种在病圃(或隔离圃)中,待其开花结出种籽后(即无病毒种子),将病株再销毁处理,种子用为繁殖。

(三) 脱毒处理:只是设想,未曾实践,不便提出详细方法,有待实践后再补充。

七、仙人掌类植物的审批

通过举办花展,品种资源交流,互赠等多种渠道均有引进仙人掌类植物的可能,在加强植物检疫的同时,也要把好审批关,在审批时要说明限制的病毒,并要对方开具检疫证书。应大力提倡引进种子或脱毒的试管苗。