

1990年9月  
September, 1990

---

# 植物检疫研究报告

TECHNICAL BULLETIN OF  
PLANT QUARANTINE RESEARCH

---

## 花卉病毒研究(三)

Studies of Ornamental Plant Viruses (3)

农业部植物检疫实验所

Institute of Plant Quarantine  
Ministry of Agriculture  
People's Republic of China

## 目 录

- 一、侵染菊花和风信子的番茄不孕病毒的鉴定 ..... 舒秀珍等 ( 1 )  
二、利用菊花茎尖再生脱毒植株 ..... 许宏冠等 ( 11 )  
三、侵染唐菖蒲的黄瓜花叶病毒的鉴定 ..... 陈燕芳等 ( 16 )  
四、侵染唐菖蒲烟草环斑病毒的鉴定 ..... 陈燕芳等 ( 21 )  
五、唐菖蒲茎尖的脱毒培养 ..... 许宏冠等 ( 27 )

### Contents

1. Identification of Tomato Aspermy Virus infecting Chrysanthemum  
and Hyacinth ..... ShuXiuzhen ( 1 )  
2. Regeneration of virus-free plants from chrysanthemum  
meristems ..... Xu Hongguan ( 11 )  
3. Identification of Cucumber Mosaic Virus on Gladiolus .....  
..... Chen Yanfang ( 16 )  
4. Identification of Tobacco Ringspot Virus on Gladiolus .....  
..... Chen Yanfang ( 21 )  
5. Meristem culture of Gladiolus for elemination of plant  
Viruses ..... Xu Hongguan ( 27 )

# 侵染菊花和风信子的番茄不孕病 毒 的 鉴 定

舒秀珍 朱水芳 胡伟贞 陆家珏 沈淑琳 王树琴 陈燕芳

## 摘 要

1986年先后在北京的公园采到菊花病样4个，北京动植检所送检风信子球茎病样一个。这5个分离物经人工接种10科36种植物，多表现花叶、斑驳、畸形等症状，而番茄的果实小而无籽。以菊—6分离物制备的抗血清与其它4个分离物产生明显融合的沉淀线，证明它们的抗原性完全相同。这5个分离物与从菜豆分离的番茄不孕病毒（TAV）的抗血清反应产生分枝状的明显的沉淀线。

菊—6分离物的理化特性：TIP为55—60℃，DEP为 $10^{-2}-10^{-4}$ ，LIV为2天。其病毒粒体为等轴多面体，平均直径为 $27\text{nm}\cdot O\cdot D_{260}/280 = 1.76$ ，病毒外壳蛋白分子量约为26300。

根据上述以菊—6分离物为代表的5个分离物的特性与Hollings et al(1971)所描述的从菊花分离的TAV基本相同，鉴定它们属TAV，但与菜豆分离物不完全相同，属不同株系。

关键词：番茄不孕病毒 菊花 风信子 分离物 鉴定

## 前 言

番茄不孕病毒（Tomato Aspermy Virus 简称 TAV）的寄主范围广，人工接种可侵染24科100多种植物，在种植菊花的国家均有分布<sup>[1, 2]</sup>，1982年我国首次从菜豆上分离到TAV<sup>[3, 4]</sup>，但从菊花和风信子上分离该病毒尚未见有报道。我国菊花品种资源极为丰富，从南到北种植菊花很普遍。根据我们调查，菊花上的病毒症状多种多样，较为复杂，因此，从1986—1988年我们在北京、广州、成都、上海、南京、杭州、昆明等地采集约500多个病样进行检测，结果表明，TAV在菊花上的发生是极为普遍的，是为害菊花的主要病原病毒。受侵染的花朵小，经常表现碎锦（即出现杂色），质量低劣。

## 材 料 和 方 法

### 一、毒株

1986年7月和11月先后在北京北海公园花圃采集到褪绿花叶病样3个（菊—6北京），菊—38，菊—118Ⅰ①），12月在紫竹院公园花圃采集到绿花病样1个（菊—绿朝云）。

注 本研究系农业部“七五”重点科研项目的专题。

同年北京动植检所送检风信子有变黑坏死斑的球茎，种于温室花盆内，长成的植株表现较为瘦弱并有极轻微条纹花叶症状。

以上五分离物先后在昆诺阿藜上经单斑分离纯化后作为毒源。

## 二、寄主反应试验

供试寄主包括茄科、豆科、藜科、葫芦科、苋科、旋花科、菊科、番杏科等10科36种植物。供试植物的生育期；葫芦科用子叶期，豆科用单叶期，其它科一般4—7叶期。

## 三、稳定性测定

用黄花烟 (*Nicotiana rustica*) 病叶充分显症后采下研磨过滤的病汁液作稳定性测定，测定寄主植物为苋色藜 (*Chenopodium amaranticolor*) 和假酸浆 (*Nicandra physaloides*)。

## 四、病毒提纯方法

接种在普通烟 (*Nicotiana tabacum* "White Burley") 15—20天后采收的病叶，加2倍体积的0.2mol/L磷酸缓冲液 (PH 6.5)，捣碎，加入5%正丁醇，20%氯仿，振荡10分钟，离心除去沉淀，上清液用10%PEG, (MW. 6000)沉淀，再用0.01mol/L 磷酸缓冲液悬浮 (内含0.001mol/L EDTA)，然后，105000rpm超速离心1.5小时，沉淀用0.01mol/L 磷酸缓冲液悬浮，经高速离心去杂质后即为粗提物，用以进行5—20%蔗糖梯度离心，得精提纯物。

## 五、电镜观察

提纯病毒制剂适当稀释后，滴少许于铺有Formvar膜的铜网上，片刻后吸去多余病毒汁液，用2%醋酸氯金负染1分钟左右，吸干，置电镜下观察病毒粒体。

测病毒颗粒大小时用乳胶颗粒 (直径109nm) 作校对，在双解剖镜下测病毒50个颗粒和乳胶颗粒直径，然后算出直径大小。

## 六、蛋白分子量测定

样品溶于0.01mol/L PH 7.2—7.4磷酸缓冲液，含2%SDS，0.5%巯基乙醇，沸水水浴加热处理5分钟，冰浴急冷，2000rpm离心10分钟，上清液用于加样。标准蛋白样品(上海生化所东风试剂厂生产)内含磷酸化酶B (94,000)，牛血清白蛋白 (67,000)，肌动蛋白 (43,000)，碳酸酐酶 (30,000) 烟草花叶病毒外壳蛋白 (17,500)，用同样方法处理。

SDS—聚丙烯酰胺凝胶电泳：分离胶浓度12%，浓缩胶5%，交联度2.6%电胶和缓冲液中都含1%SDS。电泳2小时后用考马氏亮蓝及R-250染色，洗脱后照相。

## 七、血清学测定

用我所从菜豆分离提纯的TAV制备的抗血清及黄瓜花叶病毒的抗血清,用琼脂双扩散法测定毒株的血清学亲缘关系。

## 试验结果

### 一、寄主反应试验

上述5分离物寄主范围广,汁液接种10科36种植物,表现斑驳花叶,畸形或扭曲或有耳突或疱突者有普通烟(*Nicotiana tabacum* "White Burley", "Xanthi-nc") (见图1),心叶烟(*N. glutinosa*) (见图2),德伯尼烟(*N. debneyi*)、毛叶烟(*N. sylvestris*)、黄花烟(*N. rustica*)、番茄(*Lycopersicum esculentum* "早粉2号",番茄结的果实小而无籽(见图3)或仅有个别种子),大豆(*Glycine max* "猴子毛"),洋酸浆(*Physalis floridana*)、矮牵牛(*Petunia hybrida*)、毛曼陀罗(*Datura metel*)、曼陀罗(*D. stramonium*)、天仙子(*Hyoscyamus niger*)、翠菊(*Callistephus Chinensis*)和龙葵(*Solanum nigrum*)。

表现系统坏死斑的有假酸浆(*Nicandra physaloides*)、天鹰椒(*capsicum frutescens*)、千日红(*Gomphrena globosa*)。

表现局部枯斑的有长豇豆(*Vigna sesquipedalis* "黑种三尺"),蚕豆(*Vicia faba* "成胡9号"),绿豆(*Phaseolus aureus* "M7A")、番杏(*Tetragonia expansa*)、昆诺阿藜(*Chenopodium quinoa*)、苋色藜(*C. amaranticolor*)、墙生藜(*C. murale*)、百日菊(*Zinnia elegans*)。

表现局部褪绿斑的有老枪谷(*Amaranthus caudatus*)、西风古(*A. retroflexus*)、黄瓜(*Cucumis sativus*)和金鱼草(*Antirrinum majus*)。

它们都不侵染菜豆(*Phaseolus vulgaris* "家雀旦" "Pinto", "Topcrop", "Monroe")、补骨脂(*Psoralea corylifolia*)和裂叶花葵(*Lavatera trimestris*)。

现将菊-6、菊-118 I① 和风信子三分离物与番茄不孕病毒在主要鉴别寄主上作一症状比较。(见表1)

菊-6, 菊-118 I①、菊-38、菊-绿朝云和风信子五分离物在以上寄主上的症状反应与Hollings et al(1971) (见CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses No. 79 1971) 对番茄不孕病毒描述的寄主症状反应基本相似,特别是引起番茄不孕,与从菜豆分离的TAV的大部分寄主反应相似,但有部分寄主反应不同,在黑种三尺上表现局部坏死斑,对菜豆、裂叶花葵和补骨脂不侵染,而菜豆分离的TAV对这4种鉴定寄主均表现为系统侵染。以上5分离物都不系统侵染黄瓜,在心叶烟上表现严重蕨叶,表明它们和CMV的症状反应亦有明显差别。

表1 菊-6, 菊-118 I①, 风信子分离物与番茄不孕病毒在鉴别寄主上的症状比较  
 Table 1 Comparison of symptom expressions among isolates Chry-6,  
 Chry-118 I① and Hyacinth with Tomato Aspermy Virus on indicator plants

症状 (Symptoms)	分离物(Isolates) 菊-6及菊-118 I① Chry-6 and Chry-118 I①	风信子分离物 Hyacinth isolate	TAV (Des. of Pl. V. No. 79)	TAV (菜豆分离物) (Bean isolate)
普通烟( <i>Nicotiana tabacum</i> “White Burley”)	CRS-Mo mal	CRS-Mo mal	Mo, mal	Mo, mal
心叶烟 ( <i>N. glutinosa</i> )	CM-Mo <sup>+</sup> mal	Mo <sup>+</sup> , mal	CM-Mo <sup>+</sup>	Mo <sup>+</sup>
黄瓜 ( <i>Cucumis sativus</i> )	Lc	○	Lc 或 ○	○
番茄 ( <i>Lycopersicum esculentum</i> “早粉2号”)	Mo, mal Ffs	Mo, mal	Mo, mal Ffs	M <sup>-</sup> , Ffs
昆诺阿藜 ( <i>Chenopodium quinoa</i> ) 苋色藜( <i>C. amaranthicolor</i> )			Lc-s	
长豇豆( <i>Vigna sesquipedalis</i> “黑种三尺”)		Ls		M-Mo
菜豆 ( <i>Phaseolus vulgaris</i> )		○		M-Mo
裂叶花葵 ( <i>Lavatera trimestris</i> )		○		CM
补骨脂 ( <i>Psoralea corylifolia</i> )		○		Ls-M

注: CRS=褪绿环斑(Chlorotic Ringspot), Mo=斑驳(Mottle),  
 mal=畸形(Malformation), C=褪绿(Chlorosis), M=花叶(Mosaic),  
 s=枯斑(necrotic spot), Lc=局部褪绿斑(Local chlorotic spot),  
 Ls=局部枯斑(Local necrotic spot), Ffs=果实无籽(Fruits with no seeds)  
 ○=不侵染(No infection), + =严重(heavy), - =轻微(light).

## 二、稳定性测定

表2 菊-6与番茄不孕病毒稳定性比较

Table 2 Comparison of Chry-6 with Tomato Aspermy Virus stability

分离物(Isolates) 稳定性 (Stability)	菊-6 (Chry-6)	TAV (Des. of. Pl. V. No. 79)	TAV (从菜豆分离物) (Bean isolate)
TIP	55°-60°C	55°-60°C	55°-60°C
DEP	$10^{-2}$ - $10^{-4}$	$10^{-4}$ - $10^{-5}$	$10^{-2}$ - $10^{-5}$
LIV	2天(days)	2-6天(days)	6-9天(days)

从表2看出，菊-6的稳定性与Hollings et al(1971)描述的TAV稳定性基本相似。

## 三、病毒粒体理化特性

1. 病毒粒体大小。菊-6提纯病毒制剂稀释后电镜观察，见有大量球形粒体，平均直径为27nm左右（见图4）。提纯病毒制剂紫外吸收光谱测定用菊-6病毒制品，适当稀释后，经分光光度计紫外扫描，呈现出典型的核蛋白吸收曲线（见图5），其最高吸收值在波长260nm，最低吸收值在波长242nm，A<sub>260</sub>/A<sub>280</sub>为1.76，与国外已报道的TAV A<sub>260</sub>/A<sub>280</sub>为1.73—1.77相近。

2. 蛋白外壳亚基分子量测定。电泳结果，标准蛋白出现清晰的5条沉淀带，菊-6外壳蛋白亚基出现一条明显的沉淀带，其位置在碳酸酐酶与烟草花叶病毒外壳蛋白之间（见图6）。经过6次电泳重复，绘出标准分子量曲线图。根据菊-6样品迁移率，在标准曲线上查出，蛋白质亚基分子量约为26300。

## 四、血清学反应

菊-6、菊-118 I①、菊-38等5个分离物的病汁液分别与我所从菜豆分离制备的番茄不孕病毒抗血清作琼脂扩散反应有明显的沉淀线，但不相连（见图7），说明血清学与番茄不孕症病相关。但不完全相同。与黄瓜花叶病毒抗血清没有反应，表明无血清学关系。

菊-6制备的抗血清效价为1/256（免疫双扩散法），与菊-118 I①、菊-38、菊-绿朝云和风信子分离物有明显的沉淀线，且完全融合，证明抗原性完全相同。

## 结 论 和 讨 论

从试验结果可以看出，分离物菊—6与从菜豆上分离的TAV 的抗血清具明显的血清反应，而且其寄主症状反应（特别是引起番茄不孕），稳定性，病毒粒体大小，理化特性等和TAV也很相似，因此，初步认为此分离物为TAV。但它和从菜豆分离的TAV 不完全相同，表现为血清反应沉淀线呈分枝状，寄主的症状反应也不完全相同，表明它和从菜豆上分离的TAV属不同的株系。

本试验首次测定了菊—6的外壳蛋白亚基的分子量为 26300，与 Cucumvirus 病毒组的 26000相接近，进一步确认此病毒属于Cucumvirus组的TAV。

菊—6的抗血清和菊—118 I ①；菊—38、菊—绿朝云和风信子4个分离物具强烈的血清反应，沉淀线很好吻合，寄主症状反应也一样，说明它们都属TAV。

### 参 考 文 献

1. M. Hollings & Olwen M, Stone 1971 CMI/AAB Descriptions of plant Viruses No. 79
2. M. Klinkowski 1977 Pflanzliche Virologie 3:62-64
3. 王树琴等 1982 菜豆种传的番茄不孕病毒的研究 植物检疫研究报告 农业部植物检疫实验所 1982年3月印
4. 马德芳等 1983 植物保护学报 Vol.10, No. 3 P.215-217.

### Identification of Tomato Aspermy Virus Infecting Chrysanthemum and Hyacinth

Shu Xiuzhen Zhu Shuifang Hu weizhen Lu Jiajue

Shen Shulin Wang Shuqin Chen Yanfang

(Plant Quarantine Institute, Ministry of Agriculture)

#### Abstract

Four diseased samples of chrysanthemum showing chlorotic mosaics or green flowers were collected from the Beihai park and Zhzhuyan park in Beijing in July and December of 1986. Another one showing black necrotic spots on bulb of Hyacinth was from Beijing Animal and plant Quarantine Service.

These five isolates were inoculated on 36 species of plants belonging to 10 families (e.g. Solanaceae, Leguminosae, Chenopodiaceae, Cucurbitaceae, Amaranthaceae and Compositae etc.). The infected plants showed either systemic mosaic, severe mottle or malformation. The diseased fruits of tomato became small, deformed and seedless. Cucumber and cowpea showed chlorotic local lesions. They did not infect Phaseolus vulgaris, Psoralea corylifolia and Lavatera trimestris.

The stability of the virus was: TIP 55-60°C, DEP  $10^{-2}$ - $10^{-4}$ , LIV 2 days (room temperature).

The purified virus was shown as isometric polyhedron particles with a diameter of about 27 nm.

The virus has typical ultraviolet absorption spectrum of nucleic protein, O.D. A<sub>260</sub>/280=1.76, its molecular weight was 26300.

By agar double diffusion assay, the precipitation band between the anti-serum of bean isolate (TAV) and each of the antigens of the 5 isolates from Chrysanthemum was branching, while the precipitation band between the antiserum of isolate Chry-6 and each of the antigens of the 5 isolates (including Chry-6) was confluent.

Based on these characteristics as well as on the results of biological identification, the five isolates coincided closely with the Tomato Aspermy Virus recorded on CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses No. 79 1971. So it is concluded that these five isolates were identical with Tomato Aspermy Virus, but were not of the same strain with the bean isolate.

Key words: Tomato Aspermy Virus Chrysanthemum Hyacinth  
isolate

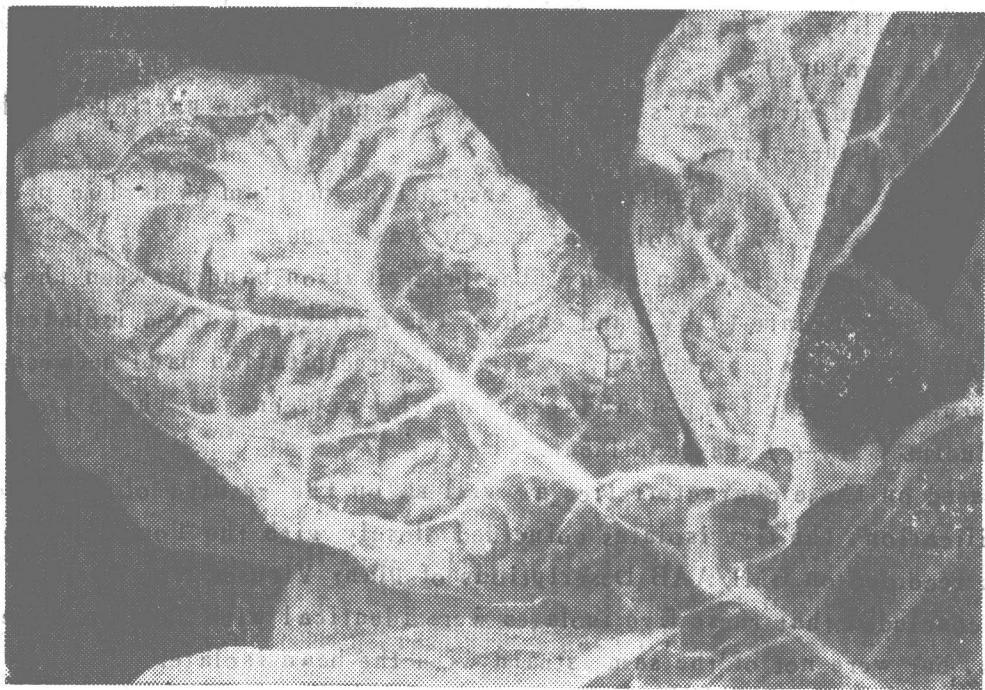


图1. 普通烟“White Burley”表现斑驳，畸形  
Fig 1. Mottle, malformation in *Nicotiana tabacum* “White Burley”

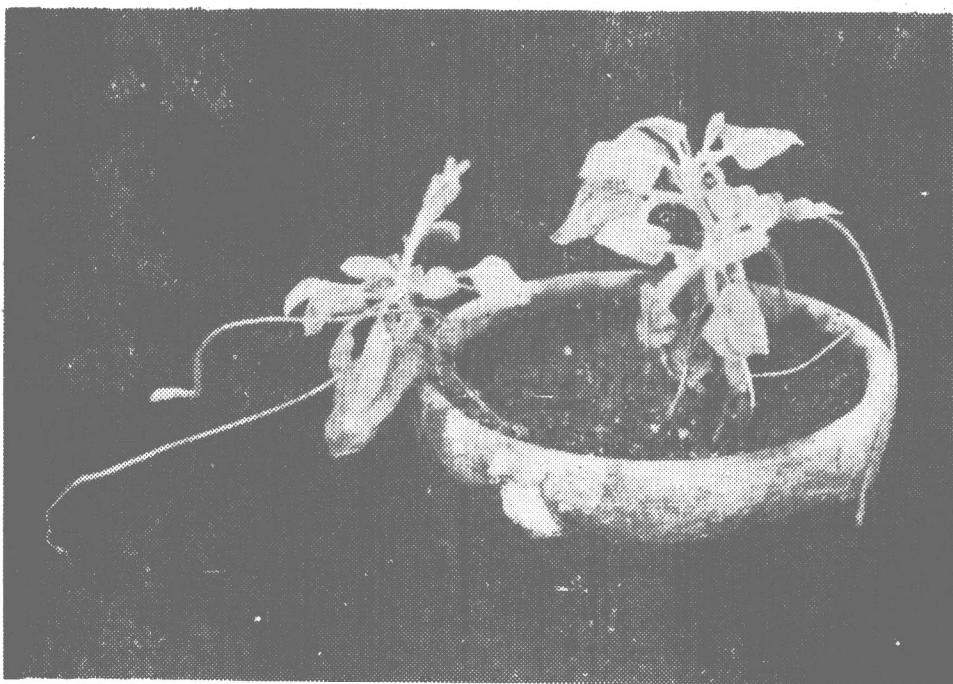


图2. 心叶烟表现花叶畸形  
Fig 2. Mosaic, malformation in *N. glutinosa*

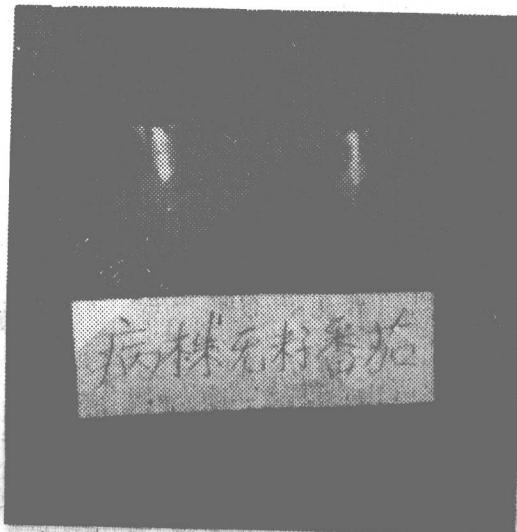


图3. 番茄果实无籽

Fig 3. Frutits with no seeds in  
*Lycopersicum esculentum*



图4. 菊-6病毒粒子图

Fig 4. Chry-6 virus particles

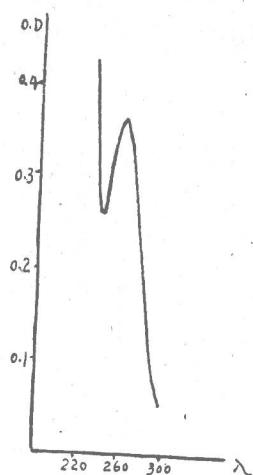


图5. 菊-6病毒紫外吸收光谱图

Fig 5. Ultraviolet absorbance curve of Chry-6 virus

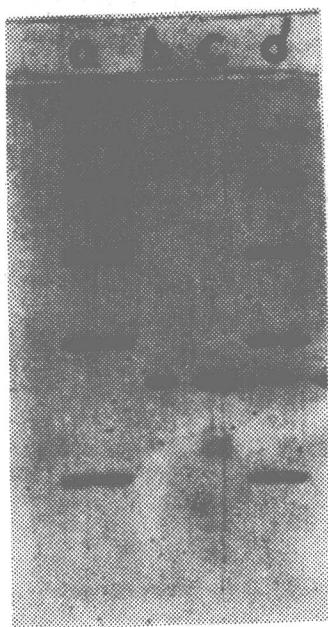


图6. 菊-6外壳蛋白亚基聚丙烯酰胺凝胶电泳图

Fig 6. The map of coat  
protein subunif of Chry-6  
in PAGE

- a. 标准旦白质(Standard protein)
- b. c 菊-6(Chry-6)
- d. 标准旦白质+菊-6
- d. Standard potein+Chry-6

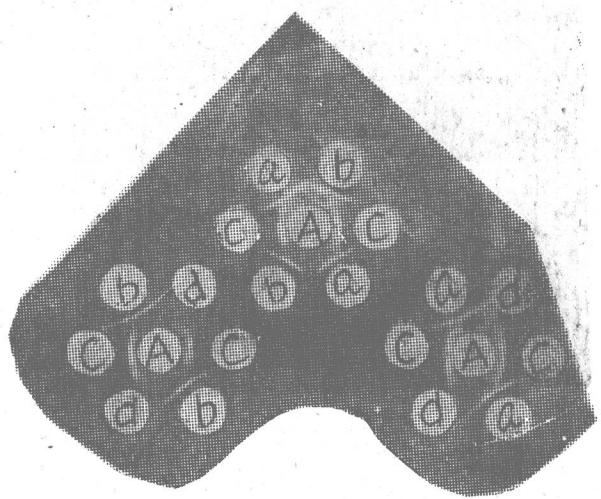


图7. 菊-6，菊-38与TAV琼脂双扩散图

Fig 7. Chry-6, Chry-38 and TAV  
agar double deffusion assay

- A. 菜豆TAV抗血清(Bean-TAV antserum)
- a. 菊-6纯抗原(Chry-6 antigen)
- b. 菊-38纯抗原(Chry-38 antigen)
- c. 菜豆TAV纯抗原(Bean-TAV antigen)
- d. 健株对照(Health plant as a check)

# 利用菊花茎尖再生脱毒植株

许宏冠 舒秀珍 朱水芳

## 摘要

以患有番茄不孕病毒(TAV)的菊花植株为试验材料，切取带1~2个叶原基的茎尖组织，接种到分化培养基MS+BA<sub>3</sub>mg/L+NAA0.01mg/L(单位下同)上，可诱导外植体产生愈伤组织，进一步分化出不定芽。壮苗和生根培养基分别是：MS+BA<sub>3</sub>+NAA0.1和MS+NAA0.1，再生植株的脱毒率为73%。若在茎尖培养之前先对病株进行热处理，则可获得更高的脱毒率。

花卉脱毒是农业部“七五”重点课题的研究内容之一，我们从1986年开始这项研究。本试验是以脱去菊花TAV为目的，观察培养条件对菊花植株再生过程的影响，以及不同处理方法的脱毒效果。

## 一、茎尖培养

### 〈一〉材料和方法

- 1.供试材料为患有TAV的菊花植株，品种是“绿朝云”。
- 2.剪取带有顶芽的枝条，流水冲洗1小时，然后用75%酒精进行表面消毒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，接着用无菌蒸馏水冲洗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，接种到固体培养基上。

3.培养基： $M_1 = MS + BA_3 + NAA_{0.01}$ ；  
 $M_2 = White + BA_3 + NAA_{0.01}$ ； $M_3 = MS + BA_3 + NAA_{0.1}$ ； $M_4 = MS + NAA_{0.1}$ 。

以上培养基均添加琼脂0.6%，蔗糖3%，pH值调至5.8。

- 4.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2000Lux。

### 〈二〉结果

#### 1.影响茎尖成活因素的调查

带有1~2个叶原基的茎尖(L)接种到 $M_1$ 和 $M_2$ 培养基上，均能成活，并形成愈伤组织；不带叶原基的茎尖(N)，无论是接种到 $M_1$ 或 $M_2$ 培养基上，都未能成活，先是褐变，最后枯死(见表1)

表1. 影响茎尖成活和分化的因素

Table 1. The factors of growth and differentiation of meristems

培 养 基 Kinds of medium	茎 尖 种 类 Kinds of meristem	接 种 个 数 No. of inoculation	成 活 个 数 No. of growth	分 化 情 况 Case of differentiation
M <sub>1</sub>	L	4	4	愈伤组织 Callus 不定芽 shoots
	N	7	0	枯 死 died
M <sub>2</sub>	L	4	4	愈伤组织 callus
	N	7	0	枯 死 died

Notes: L=meristem with leaf primordium

N=meristem without leaf primordium

## 2. 影响愈伤组织再分化因素的调查

在M<sub>1</sub>培养基上续继培养的愈伤组织，经2~3周，可分化出不定芽（见图1）；而在M<sub>2</sub>培养基上续继培养的愈伤组织，虽然保持生长，但未能分化出不定芽（见图2）。如果将在M<sub>2</sub>培养基上形成的愈伤组织转移到M<sub>1</sub>培养基上去培养，则也能诱导出不定芽。

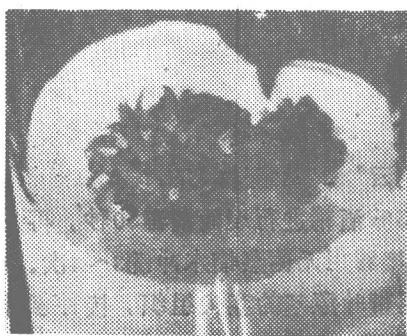


图1. 示不定芽

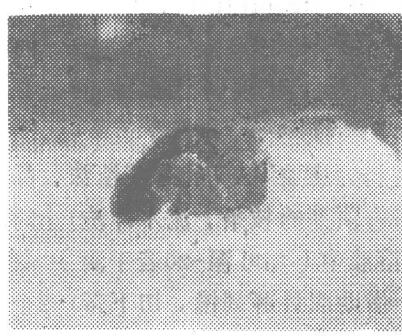


图2. 示愈伤组织

Fig.1 Shoot formation from callus Fig.2 Callus without Shoot formation

## 3. 壮苗和生根

将不定芽自基部处从愈伤组织上切下，并移植到M<sub>3</sub>培养基上，约经1个月，可长成株高1cm以上、具有4枚叶片以上的小苗。这时，将部分小苗移植到M<sub>1</sub>、M<sub>2</sub>和M<sub>4</sub>培养基上去，其余小苗则移植到新鲜的M<sub>3</sub>培养基上继续培养。1周后，对它们的生长和分化情况进行调查，凡是移植到M<sub>4</sub>培养基上去的小苗，均能分化出根。不过，小苗地上部的生长则以移植到M<sub>3</sub>培养基上的为优（见表2），其次是移植到M<sub>1</sub>培养基上的小苗，而移植到M<sub>2</sub>培养基上的小苗生长最差，个别植株叶片甚至发黄（见图3）。

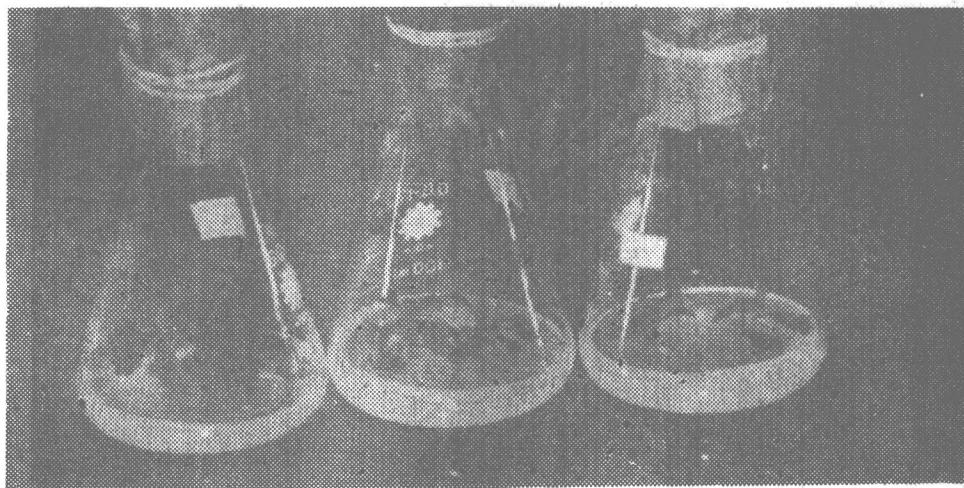
## 4. 移栽和检测

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好的温室内。植株

表2. 壮苗和生根情况调查

Table 2, The case of shoot growth and root formation

培养基 medium	W <sub>3</sub>	1M <sub>3</sub>	M <sub>3</sub>	M <sub>4</sub>	增 长 数 No. of increase		
调查时间 time							
调查内容 contents	移植前 before transplant	移植后1周 1 week after transplant	移植前 before transplant	移植后1周 1 week after transplant			
地 上 部 part of shoot	株高(cm) length of shoot(cm)	1.4	1.8	0.4	1.2	1.3	0.1
	叶数(枚) No. of leaf	4.4	5.7	1.3	5.6	5.7	0.1
地 下 部 part of root	根长(cm) length of root(cm)	0	0	/	0	0.9	0.9
	根数(条) No. of root	0	0	/	0	7.3	7.3

图3. 左: 在M<sub>3</sub>培养基上生长的植株中: 在M<sub>1</sub>培养基上生长的植株右: 在M<sub>2</sub>培养基上生长的植株Fig.3, left: shoots on M<sub>3</sub> mediummiddle: shoots on M<sub>1</sub> mediumright: shoots on M<sub>2</sub> medium

生长到比较健壮时，开始对其进行脱毒检测，检测方法包括生物接种、血清学方法等。对11株再生植株进行检测，有8株脱去了TAV，脱毒率为73%。

与患病植株相比较，脱毒植株生长粗壮，无病毒症状，且保持花瓣绿色的品种特性（见图4、图5）。

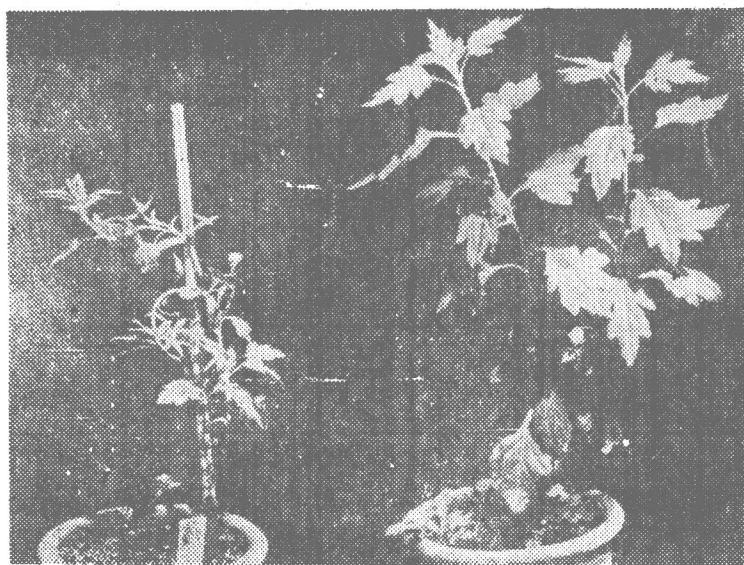


图4. 左：患病植株

右：脱毒植株

Fig.4, left : TAV infected plant

right : Virus-free plant

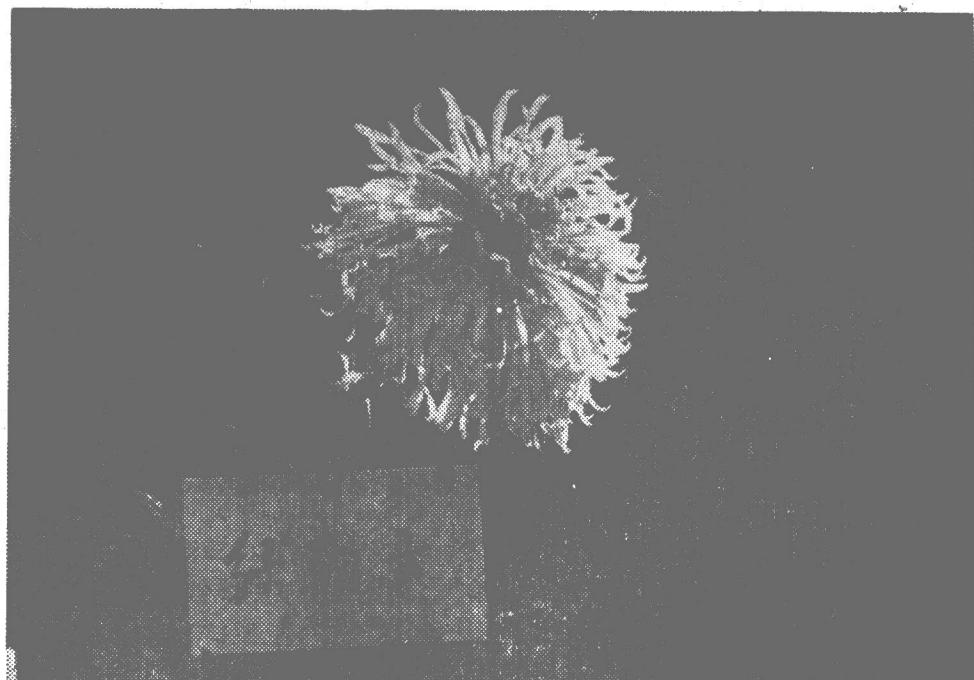


图5. 开花情况

Fig.5, The case of bloom

## 二、热处理与茎尖培养并用

经此方法脱毒的菊花品种有雪涛、古城春色、杏花春雨、绿云、墨荷等品种。具体方法是在切取茎尖培养之前，先将患有TAV的母株置35—38℃、辅加全日光照的条件下生长2个月以上，然后取其萌发新芽作切取茎尖的材料，消毒方法与前述相同，分化培养基用MS+BA<sub>3</sub>+NAA<sub>0.01</sub>，壮苗培养基是MS+BA<sub>3</sub>+NAA<sub>0.1</sub>，生根培养基为MS+NAA<sub>0.1</sub>。经此方法处理后，所得再生植株的脱毒率可达90%以上。

## 三、讨 论

1. 茎尖培养是脱去菊花TAV的有效途径，结合热处理能获得更好的脱毒效果。因此在对脱毒把握性不大的带病材料进行脱毒处理时，宜采用热处理与茎尖培养并用的方法。据报道，在培养基中添加某些对病毒繁殖有抑制作用的化学药物，亦能获得好的脱毒效果。这方面有待作进一步研究。

2. MS和white两种培养基相比较，前者更适合于菊花茎尖的生长和分化。可能是菊花更喜欢生长在高无机盐含量的基质中的缘故。

## 参 考 文 献

1. 麻谷正义等，1968，日本植物病理学会报，34(5) 384～385。
2. 山家弘士，1987，植物防疫，(9) 1—4。
3. Hakkart, A.F. and Quak.F. 1964 Neth.J. plant path. 70 (1964) 154—157

### Regeneration of virus-free plants from Chrysanthemum meristems

Xu Hongguan Shu Xiuzhen Zhu Shufang  
(Plant Quarantine Institute, Ministry of Agriculture)

#### Abstract

The experimental material was from the Chrysanthemum plants which were infected by TAV (Tomato Aspermy Virus). The meristems with 1 or 2 leaf primordia cut from the unhealthy plants were cultured on MS medium containing 3 mg/L BA and 0.01 mg/L NAA. Callus formation from the meristems was observed on the media, and then shoot formation from the callus. The shoots grew better on MS medium containing 3 mg/L BA and 0.1 mg/L NAA than on MS medium containing 3 mg/L BA and 0.01 mg/L NAA. Roots were induced from the shoots after transferring onto MS medium with 0.1 mg/L NAA. It was known that 75% the regenerated plants of Chrysanthemum were freed from TAV through virus testing. If the meristems of Chrysanthemum were cultured following heat treatment, virus-free rate was much higher.