

1990年9月

Sep. 1990

植物检疫研究报告

TECHNICAL BULLETIN OF
PLANT QUARANTINE RESEARCH

花卉病毒研究 (五)

Studies of ornamental Plant Viruses (5)

农业部植物检疫实验所

Institute of Plant Quarantine

Ministry of Agriculture

People's Republic of China

目 录

- 菊花病毒的鉴定及其检验技术研究.....舒秀珍等 (1)
- 侵染花卉植物的蚕豆萎蔫病毒和马铃薯 Y 病毒的鉴定.....舒秀珍等 (11)
- 唐菖蒲病毒种类鉴定及检验技术研究.....陈燕芳等 (18)

Contents

Identification and detection of Chrysanthemum viruses in China	
..... S. Z. Shu et al (1)	
Identification of BBWV and PVY from Ornamental plants	
..... S. Z. Shu et al (11)	
Studies on the identification and detection methods of Gladiolus	
viruses in China	Y. F. Chen et al (18)

菊花病毒的鉴定及其检验技术研究*

舒秀珍 朱水芳 许宏冠 胡伟贞
沈淑琳 王树琴 陈燕芳 李晓芹

精 要 (Abstract)

从1986—1989年在北京、广州、海口、厦门、福州、上海、南京、杭州、成都、昆明、兰州、丹东等10多个大中城市的园林系统等42个单位,对菊花病毒病进行调查和采集病样共743份,在室内通过鉴别寄主反应,血清学和电镜观察,进行分离鉴定和检验,从我国菊花上分离和鉴定出6种病毒即番茄不孕病毒、菊花B病毒、马铃薯Y病毒、烟草花叶病毒、黄瓜花叶病毒、马铃薯X病毒和一种矮化类病毒。以前二者为主要病毒,分布广,为害重,其平均检出率分别为23.1%和7.7%。二者复合侵染普遍。其它病毒和类病毒为零星发生。还检出TAV和TMV, CBV和PVY二种组合的复合侵染。

本文提出菊花的检验技术,可供检疫苗圃和有关单位使用。

前 言 (Introduction)

菊花原产我国,栽培极广,从南到北均有种植,是人们较喜爱的传统名花,其特点适应性强,通过插条扦插容易栽活繁殖。这一名贵花卉随国际交流于唐代传入朝鲜,日本,以后传入欧洲和美洲,深受各国人民所喜爱,被列为世界四大切花之首(菊花·唐菖蒲,月季,香石竹)。我国栽培的菊花品种繁多,花姿花色千姿百态,各有千秋,很多城市把菊花定为市花,每年秋季各城市都举办不同规模的菊展,吸引着成千上万的菊花爱好者前去观赏。

近年来,由于对外开放,对内搞活“政策”的深入,从国外引进不少花卉,其中亦有菊花,同时为了创汇,也有切花出口。根据国外文献报道,可以侵染为害菊花的病毒和类病毒约有20—30种,均可随着菊花插条传播病毒。而我国有关菊花病毒的报道极少,为了摸清我国菊花病毒种类,发生为害情况,不论对培育菊花品种和进出口检疫都是非常必要的。自86年以来,在北京、广州、海口、厦门、福州、上海、南京、杭州、成都、昆明、兰州、丹东等10多个大中城市进行调查,采样和室内分离鉴定,检验技术的研究。本文报道菊花病毒种类及我国的分布为害,鉴定特性及检验技术。

* 本研究属农业部“七五”科研重点项目的专题,是在季良研究员指导下进行。并得到广州动植检所李怡珍、邱海洋,原上海园林所张健如,陈骊、南京所徐培方,南京农大李鸿建教授、南京植物园沈百炎、杭州植物园张英、昆明植物园周智明、朱象鸿、昆明所赵淑芳、成都植检所张全淑、陈永康、赵儒、四川省原子核应用技术研究所以张肇英、厦门所魏超、福州所李今中,王明霞、兰州所侯建雄、丹东所高荣扶、海口所植检科,动植物检疫总所陈汇海等同志大力协助采集病样。本所血清室制备抗血清,吕文学摄制照片、王锡忻、张广平和徐亮协助电镜观察,崔秀珍、刘凤琴协助辅助工作,在此一并致谢。

一、材料和方法 (Materials and Methods)

(一) 采集病样

菊花症状类型较复杂。根据不同症状类型采集幼嫩病叶, 各株病样分装不同塑料袋内。

(二) 采集地点

北京、广州、海口、厦门、福州、上海、南京、杭州、成都、昆明、兰州、丹东等10多个大中城市的园林研究所, 植物园、公园菊圃、菊展、花木公司或有关单位的花圃等共42个单位。

(三) 采集时间

从1986—1989年大量采集主要集中在春天(3—4月)和秋天(10—11月), 少量亦有在其它季节采集。

(四) 鉴定或检验方法

1. 电镜观察: 用直接沾取作电镜观察病毒粒体形态和大小。
2. 血清检测: 球形病毒用琼脂双扩散法检测。线状病毒用免疫电镜, 酶联免疫吸附试验(ELISA), 供测抗血清有TAV, CBV(小鼠腹水)PVYⁿ, TMV, CMV, PVX。
3. 鉴别寄主反应: 将病叶汁液直接接种到常用指示植物有昆诺阿藜(*Chenopodium quinoa*), 莧色藜(*C. amaranticolor*), 白肋烟(*Nicotiana tobacum cv. White Burley*), 矮牵牛(*Petunia hybrida*), 番杏(*Tetragonia expansa*), 千日红(*Gomphrena globosa*), 心叶烟(*N. glutinosa*)等, 接种后3—4天注意每天观察各鉴别植物出现症状情况, 若有出现褪绿斑或枯斑, 立即作单斑分离, 以便纯化病毒作进一步接种鉴定, 因发现有不同病毒组合的复合侵染。
4. 电泳检测: 检测类病毒病样用双向聚丙烯酰胺电泳检测。

二、试验结果 (Results)

(一) 侵染菊花病毒的种类及其检出率

自1986年以来, 先后调查了北京、广州、海口、厦门、福州、上海、南京、杭州、成都、昆明、兰州、丹东等10多个大中城市的园林系统的42个单位的菊花, 共采集病样743份, 经室内鉴定, 从中分离到6种病毒, 即番茄不孕病毒(Tomato aspermy Virus 简称TAV), 菊花B病毒(*Chrysanthemum virus B* 简称CBV), 马铃薯Y病毒(Potato Virus Y 简称PVY和坏死株系简称PVYⁿ), 烟草花叶病毒(Tobacco mosaic Virus 简称TMV), 黄瓜花叶病毒(Cucumber mosaic virus 简称CMV), 马铃薯X病毒(Potato Virus X 简称PVX)和一种菊花矮化类病毒(*Chrysanthemum stunt viroid* 简称CSV)。各种病毒的检出率见表1。

表1 侵染菊花病毒种类及其检出率 (%)

Table 1 Chrysanthemum viruses and detective percentage

采样地点 Collection area		北京	广州	福州	厦门	上海	南京	杭州	云南 昆明	成都	兰州	丹东	石家庄 [△]	辽宁 [△]	海口	合计
病样数 Samples		171	101	27	39	45	58	40	71	71	48	9	6	4	53	743
TAV	株	45	7	9	4	14	19	7	21	30	10	6				172
	%	26.3	6.9	33.3	10.3	31.1	32.8	17.5	29.6	42.3	20.8	66.7				23.1
CBV	株	20		2	1	4	4	6	3	8		4	1	2		57
	%	11.7		7.4	2.6	8.9	6.9	15	4.2	11.3		44.4	16.7	50		7.7
CSV*	株	5														5
	%	2.9														1.3*
PVY(PVY ⁿ)	株					2			1							3
	%					4.4			1.4							0.4
TMV	株					1			1							2
	%					2.2			1.4							0.3
CMV	株		1													1
	%		1.0													0.1
PVX	株						1									1
	%						1.7									0.1
TAV + CBV	株	9				1	2	3	1	4		3				23
	%	5.3				2.2	3.4	7.5	1.4	5.6		33.3				3.1
TAV + TMV	株					1										1
	%					2.2										0.1
CBV + PVY	株								1							1
	%								1.4							0.1

* 对北京、上海、广州、南京、成都共计385个病样用电泳检测CSV, 仅北京检出5个, 检出率为1.3%

△ 石家庄和辽宁是在京第二届花展采的病样。

如表1所示, 从采集743份病样中, 检出番茄不孕病毒最多, 分布最普遍, 共172份, 检出率为6.9~66.7%, 平均检出率为23.1%。其次是菊花B病毒有57份, 检出率为2.6~50%, 平均检出率为7.7%, 马铃薯Y病毒检出4份, 其中一份是PVYⁿ, 检出率为0.5%, 烟草花叶病毒检出3份, 检出率为0.4%, 黄瓜花叶病毒和马铃薯X病毒各检出1份, 检出率为0.1%。对北京、上海、广州、南京、杭州、成都的385份病样均作电泳检测菊花矮化类病毒, 仅在北京检出5份, 平均检出率为1.3%。

(二) 病毒的复合侵染

从743份病样中分离到3种复合侵染的组合(见表1, 表2), 从表1, 2表明, 以TAV和

CBV组合的复合侵染较普遍,在北京、上海、南京、杭州、昆明、成都、丹东均有,在上海还有TAV和TMV组合的复合侵染,昆明还有CBV和PVY组合的复合侵染。

(三) 不同地区的病毒种类及其为害情况

表2 菊花病毒种类的分布

Table 2 Distribution of Chrysanthemum viruses

病毒种类 (Viruses)	分 布 (Distribution)
TAV	北京、广州、厦门、福州、上海、南京、杭州、成都、昆明、兰州、丹东
CBV	北京、厦门、福州、上海、南京、杭州、成都、昆明、丹东、石家庄、辽宁
PVY, PVY ⁿ	上海、昆明
TMV	上海、云南畹町
CMV	广州
PVX	南京
CSV	北京
TAV + CBV	北京、上海、南京、杭州、成都、云南畹町
TAV + TMV	上海
CBV + PVY	昆明

从表1表2看出,不同采样地区,分离的病毒种类不完全相同。

为害北京菊花的病毒主要是TAV,检出率为26.3%,其次是CBV为11.7%,二者复合侵染为5.3%,再其次为菊花矮化类病毒,主要发生在矮型的多头菊上,电泳检出5份,为2.9%,其它城市未检出。

福州和厦门主要检出TAV和CBV,福州的检出率比厦门的高。

上海和昆明检出的病毒种类最多,除TAV和CBV检出率较高为主要病毒外,还检出PVY, PVYⁿ和TMV以及两个不同组合的复合侵染。

杭州、成都和丹东主要检出TAV和CBV及二者复合侵染。从成都和丹东的病样中TAV的检出率最高,杭州和丹东的CBV检出率最高。

辽宁和石家庄主要是在京花展上采的无症状病样,只检出CBV。

广州采样不少,症状也极明显,但TAV的检出率不高,仅6.9%,未检出CBV,86年检出1份CMV。海口53份病样中未检出病毒。我们分析可能广州、海口温度比其它城市温度偏高,虽然症状明显,但病毒浓度低,不易检出。

(四) 症状类型和检出率

由于我国种植菊花历史悠久,品种繁多,不同的地区有不同的品种,根据我们调查症状类型也较复杂多样化,一般大致可分为以下4种类型。

第1类 叶表现各种花叶,褪绿环斑,褪绿斑点,褪绿坏死环斑,坏死斑,脉间褪绿花叶

等。

第2类 叶表现黄化：叶脉淡黄，脉变粗变淡，脉淡呈网状。

第3类 花表现碎锦，即出现杂色花。

第4类 叶无症状，植株矮小瘦弱。

以上这四种类型均分离出TAV和CBV，以第1、3、4类型多数分离出TAV，第2类型多数分离出CBV，病毒浓度都很低，但不是绝对的。往往相同的品种症状是相同的一种类型，不同的品种表现不同的症状类型，有时症状非常明显，但不一定分离到病毒，而往往无症状的病样，却又分离到病毒。一般碎锦花瓣和嫩叶的病毒浓度比老叶的高，病毒容易被检出。

(五) 菊花主要病毒的特性

1. 番茄不孕病毒(TAV)：是侵染菊花的主要病毒，在我国分布广泛，为害普遍，发病率高，可引起叶片产生各种不同症状类型的病斑，引起花朵开花不整齐，花色不纯正，花形小，直接影响观赏价值。

该病毒寄主范围广，经接种试验可侵染10科36种植物。

该病毒生物学特性，理化特性，病毒粒体形态及血清关系等请详见“侵染菊花和凤信子的番茄不孕病毒的鉴定”一文。

2. 菊花B病毒(CBV)：该病毒在我国分布广泛，对菊花的为害仅次于番茄不孕病毒，检出率在2.6~50%不等，平均为7.7%，症状有明显或不明显，经电镜检测，病毒在植株体内浓度较低，接种在矮牵牛鉴别寄主上表现病斑极少，并常常和番茄不孕病毒复合感染，复合感染率一般为1.4~33.3%，平均为3.1%。

该病毒寄主范围窄，只侵染茄科、番杏科和旋花科等。

鉴别寄主反应：矮牵牛(*Petunia hybrida*)接种3周表现局部褪绿，黄色圆形斑(见图1)，后期变坏死斑，心叶无症。

心叶烟(*Nicotiana glutinosa*)接种3周表现局部褪绿斑点和斑纹。

克利夫兰烟(*N. clevelandii*)接种3—4周后心叶表现轻微斑驳花叶。

番杏(*Tetragonia expansa*)接种3周后表现局部褪绿斑，心叶无症。

稳定性：稀释终点为 10^{-3} — 10^{-4} ，致死温度为65—75℃，体外存活期4—5天(室温20—25℃)。

病毒粒体：为线状，提纯后测得长度为689×12nm(见图2)。

外壳蛋白亚基分子量：用SDS—聚丙烯酰胺凝胶电泳测定，经4次电泳结果证明，提纯的菊花B病毒外壳蛋白质由一种蛋白亚基构成(见图3)，分子量约34500道尔顿。

菊花B病毒侵染组织中双链RNA(ds-RNA)的抽提和检测，用酚从侵染B病毒的克利夫兰烟中抽提核酸，通过含有16%乙醇的CF—11纤维素柱，具有特异性吸附ds RNA的特性，经无水乙醇的缓冲液，将ds RNA洗脱下来，在1.0%琼脂扩电泳，结果病组织抽提液有一条明显的ds RNA谱带，而用同样方法，健康的克利夫兰烟抽提液无此特异谱带(见图4)。

检测方法：接种鉴别寄主矮牵牛接种叶表现褪绿黄色圆形斑，作免疫电镜见线状病毒，酶联免疫法亦可测得。



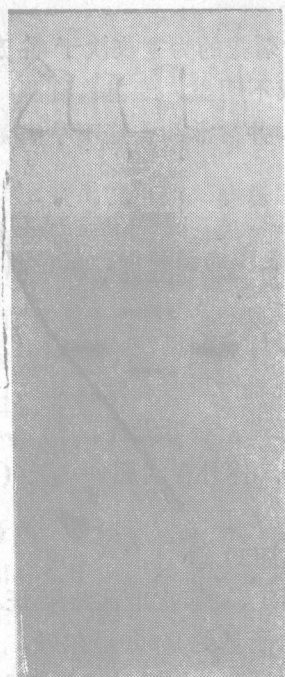
图1 菊花B病毒接种矮牵牛20天后出现局部褪绿圆形黄斑

Fig 1. Local chlorotic spots on leaves of *Petunia hybrida* 20 days after inoculation with CBV



图2 菊花B病毒线状粒体

Fig 2. The Particles of CBV filament



B A B

图3 菊花B病毒外壳蛋白电泳图

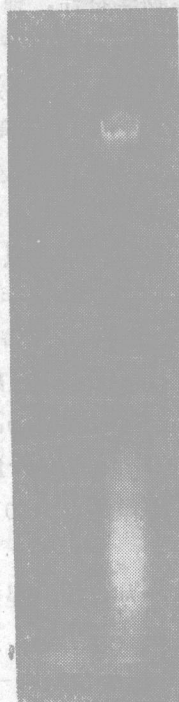
A. 标准蛋白

B. 菊花B病毒外壳蛋白带

Fig 3. The map of CBV coat protein electrophoresis

A. Standard protein

B. CBV



B A

图4 菊花B病毒ds—RNA电泳图

A. 病叶

B. 健叶

Fig 4. The map of CBV ds—RNA electrophoresis

A. Disease leaves

B. Healthy leaves

3. 菊花矮化类病毒 (Chrysanthemum stunt viroid 简称 CSV): 菊花病株表现严重矮化, 叶轻微黄化或有点畸形, 从我们检测北京、南京、上海、成都、广州等地 385 个菊花病样中, 仅在北京景山公园的多头菊测有 5 株为矮化类病毒, 检出率为 1.3%, 其检测方法如下:

核酸提取: 取 1 份样品加 1 份样品抽提液研碎, 加入 1vol 氯仿, 2vol 水饱和苯酚搅匀, 离心取上清, 加 2.5vol 95% 乙醇, -17°C 2 小时或过夜, 离心取沉淀, 真空干燥保存起来或加电极缓冲液悬浮, 即可作电泳检测。

对 Schumacher (1982) 方法作了改进的双向电泳法, 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 Na, pH8.3), 用溴酚兰和二甲基兰作指示剂, 当电泳到溴酚兰跑出胶板时, 停止电泳。第二向电泳为逆向电泳, 为低离子强度高温变性往复电泳, 20mM TBE pH8.3, 电极缓冲液加温后倒入电泳槽使胶板温度在 55°C 以上。电泳后用银染色进行鉴定。

本方法简便易行, 灵敏度高, 时间短, 50ml 叶组织中的 CSV 也能被检测出来。

4. 马铃薯 Y 病毒 (Potato virus Y 简称 PVY) 该病毒在菊花上为害不普遍, 只在上海、昆明零星发生, 除上海林业站苗圃病样中分离的是 PVY 坏死株系外, 在上海园林研究所和昆明采的 2 个病样中分离的都是 PVY 的普遍株系。

通过接种 30 种鉴别寄主反应, 主要在普通烟, 毛叶烟, 毛曼陀罗表现明脉, 以后呈脉带斑驳, 辣椒、矮牵牛表现斑驳花叶, 苋色藜表现局部褪绿斑, 曼陀罗、千日红和番杏表现无症状。上海林业站苗圃的一个病样, 在普通烟 “White Burleg” 上表现叶脉变竭, 后脉坏死, 叶片迅速干枯, 植株矮小 (此为 PVY 的坏死株系), 用 PVY 抗血清作免疫电镜观察为阳性反应的线状病毒。

病毒粒体为长线状, 约 $700\text{nm} \times 11\text{nm}$ 。

5. 烟草花叶病毒 (Tobacco mosaic Virus 简称 TMV): 该病毒在菊花上发生不普遍, 仅在云南畹町和上海零星发生, 症状为褪绿斑点。其中在上海的一个病样是和 TAV 复合侵染。

鉴别寄主反应: 昆诺阿藜, 苋色藜, 番杏、普通烟, 心叶烟, 毛叶烟接种第 3 天表现局部褐色枯斑约 3—4mm, 无系统症状。

矮牵牛和洋酸浆接种 3 天后局部显褐色枯斑, 以后心叶表现花叶, 畸形。

千日红接种 5—6 天显枯斑, 后表现系统枯斑。

病毒粒体为杆状, 长度为 $300\text{nm} \times 15\text{nm}$ 。

血清检测方法: 免疫电镜, 琼脂双扩散反应和酶联免疫吸附法。

6. 黄瓜花叶病毒 (Cucumber mosaic virus 简称 CMV): 该病毒在菊花上极少发生, 我们仅从广州病样中分离到。

鉴别寄主反应: 昆诺阿藜和苋色藜表现局部枯斑。

黄瓜表现黄绿色系统花叶。

普通烟、心叶烟、矮牵牛和洋酸浆表现系统花叶, 畸形。

千日红表现局部坏死斑, 心叶畸形, 扭曲。

病毒粒体为等轴对称, 直径约 30nm。

7. 马铃薯 X 病毒 (Potato virus X 简称 PVX): 该病毒在菊花上发生极少, 仅在南

京农业大学菊花育种圃病样中分离到。

鉴别寄主反应:

千日红: 接种叶表现紫红色圆形斑点, 无系统反应。

昆诺阿藜: 表现局部褪绿斑点。

普通烟 “White Burley” 和心叶烟表现系统褪绿环纹花叶。

矮牵牛和曼陀罗表现系统褪绿花叶、曼陀罗还表现有坏死斑。

病毒粒体为线状, 长度约为500nm。

(六) 检测技术

通过多年采样检测, 现提出菊花病毒的检验方法和步骤, 供检疫苗圃或有关单位参考使用。

1. 在没有电镜的一般单位, 有温室条件的, 可采用生物鉴定和抗血清检测两种方法。

(I) 生物鉴定: 使用昆诺阿藜, 普通烟 “White Burley”, 千日红和矮牵牛4种鉴别寄主按以下检索表检出各个病毒。

- (1) 在昆诺阿藜接种叶3—4天产生局部褪绿斑或枯斑..... (2)
- (2) 在普通烟 “W.B” 系统表现褪绿环斑, 脉淡..... TAV
- (2) 在普通烟 “W.B” 接种叶表现局部枯斑..... TMV
- (1) 在昆诺阿藜接种叶产生局部褪绿斑或枯斑..... (3)
- (3) 在千日红接种叶表现局部紫红色圆形枯斑, 无系统症状..... PVX
- (3) 在千日红接种叶表现褐色枯斑, 心叶扭曲, 畸形..... CMV
- (4) 在矮牵牛表现系统花叶..... (5)
- (5) 在普通烟 “W.B” 心叶表现明脉, 后显脉带斑驳花叶..... PVY
- (5) 在普通烟 “W.B” 心叶表现明脉, 后脉变褐色坏死, 干枯..... PVYⁿ
- (4) 在矮牵牛接种叶20天后表现局部褪绿圆形黄斑, 约有2~4mm,
无系统症状..... CBV

(II) 抗血清检测: 根据在鉴别寄主上的反应, 采用相应的抗血清进行检测。对TAV, CMV球形病毒用琼脂双扩散反应和酶联免疫吸附法。对CBV, PVY, PVX和TMV用SDS处理病汁液作琼脂双扩散反应, 用酶联免疫吸附法。

2. 有电镜单位可用电镜观察, 采用直沾法和免疫电镜法, 亦可结合生物鉴定进行。

三、结论与讨论 (Discussion and conclusion)

1. 通过对菊花广泛采集病样进行病毒分离鉴定和检测, 初步表明, 在我国可为害菊花的病毒有番茄不孕病毒, 菊花B病毒, 马铃薯Y病毒 (包括有坏死株系), 烟草花叶病毒, 黄瓜花叶病毒和马铃薯X病毒6种和一种菊花矮化类病毒。

2. 为害菊花主要是番茄不孕病毒, 其次是菊花B病毒, 这两种病毒在我国分布广, 普遍发病率高, 有些地方较重, 往往二者复合感染, 引起叶片表现各种病斑, 植株生长瘦弱, 花小, 花色碎锦不纯正, 严重影响观赏价值。马铃薯Y病毒, 烟草花叶病毒, 黄瓜花叶病毒和

马铃薯x病毒及矮化类病毒是局部地区零星发生。但是菊花是以插条作繁殖材料,若不严格选健株为母株,病插条可将病毒扩展开来,特别是类病毒。根据国外文献报道,可为害菊花的病毒和类病毒约有20—30种,在当前“改革开放”政策的深入,随着品种的引入和交流,检疫制度尚不健全,可能会有其它的病毒或类病毒等病毒随插条引入而传入,由于我们采集病样的面和数量以及检验方法都有局限性,可能还有些病毒和类病毒、类菌原体等病害尚未被检出来。今后随着检疫工作的开展和深入,可能还会不断检出新的病毒病害。

3. 在调查和采样检验中发现,各地植物园的菊圃病毒检出率较低,而菊花品种杂交育种圃,各城市公园的菊圃和机关单位的花圃(如饭店,宾馆等),花木公司的苗圃的病毒较严重,这可能与菊花品种交流、引种复杂和在繁殖时多年不严格选健株为母株有关系。

4. 在调查和检验中发现,采集病样的季节与病毒的检出率高低有关系。一般在夏季(温度偏高)和冬季(温度偏低)检出率都低,在春秋两季采集病样,检出率较高,特别是在秋季,是菊花开花季节,也是病毒浓度最高,检出率最高的季节。因此在南方城市如海口、广州、厦门等地检出率相对较低,病毒种类也较少,还可能与年平均温度较高,对病毒繁殖浓度,病害的发展均有抑制作用。因此在检疫时应注意季节和温度。

5. 通过多年对菊花病样的检测试验,以采新发嫩叶和花瓣检出率最高。生物鉴定的鉴别寄主以昆诺阿蓑、番杏、普通烟“White Burleg”,矮牵牛,千日红、心叶烟和芭色蓑较灵敏,容易把不同的病毒检测出来和区别开来。

6. 菊花病毒的防治:通过调查和研究表明,菊花叶片上病毒症状类型复杂,但主要病毒是TAV和CBV,分布广,发生普遍。其它病毒为零星发生。为了减轻病毒的为害,提高菊花的质量和经济效益,特提出以下防治措施:(1)在菊花育种单位和较大的繁育菊苗基地应建立脱毒的组培苗繁育体系,这对繁育无毒菊花苗,确保切花出口质量都是十分必要的。其脱毒方法可参考“利用菊花茎尖再生脱毒植株”(许宏冠等1989年花卉病毒研究(三)11页)。

(2)应严格选用生长健壮,无病毒的健株为繁殖母株。(3)菊圃种植的周围不要种植蔬菜,烟草等茄科植物。(4)定时和及时防治蚜虫,以免虫传毒。(5)在操作过程中注意手和用具的清洁消毒,以免接触传毒。

参 考 文 献

- [1] M. Hollings & Olwen M. Stone (1971) CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses No.79.No.110
- [2] T. O. Diener (1979) Viroids and Viroid Diseases P.34—37
- [3] R. Koenig, & I. Dalchow, (1979) Plant Disease Reporter 63 (4):301—303
- [4] T. O. Diener, & R. H. Lawson, (1973) Virology 51 (1):94—101
- [5] M. KLINKOWSKI (1977) PFLANZLICHE VIROLOGIE Band 4 p. 260—265, Band 2 p. 295—298
- [6] 舒秀珍等 (1990) 侵染菊花和凤信子的番茄不孕病毒的鉴定, 病毒学杂志 (2): 186—192

IDENTIFICATION AND DETECTION OF CHRYSANTHEMUM VIRUSES IN CHINA

Shu Xiuzhen Zhu Shuifang Xu Hongguan Hu Weizhen
Shen Shulin Wang Shuqin Chen Yanfang Li Xiaoqin

Abstract

Six viruses and one viroid are isolated from 743 Chrysanthemum samples, which were collected from park and botanical garden in Beijing, Guangzhou, Haikou, Xiamen, Fuzhou, Shanghai, Nanjing, Hangzhou, Chengdu, Kunming, Lanzhou, Dandong. They are Tomato Aspermy Virus (TAV), Chrysanthemum Virus B (CBV), Potato Virus Y (PVY, PVY^N), Tobacco Mosaic Virus (TMV), Cucumber Mosaic Virus (CMV), Potato Virus X (PVX) and Chrysanthemum Stunt Viroid (CSV). TAV and CBV are the main infecting Viruses on Chrysanthemum. TAV and CBV occurs commonly and may cause composed infection. The other viruses occur locally. TAV and TMV may cause composed infection. CBV and PVY may cause composed infection.

The methods for detecting Chrysanthemum viruses consist differential hosts reaction, double agar diffusion, ELISA or ISEM.

侵染花卉植物的蚕豆萎蔫病毒和 马铃薯Y病毒的鉴定

舒秀珍 胡伟贞 李晓芹

摘要 (Abstract)

1986年4月~1988年11月在广州、武汉、沈阳、哈尔滨、成都和上海等城市先后采集到鸢尾-84、香石竹-2、香豌豆-99,花毛茛-103,鸢尾-54,马蹄莲-57、香花海棠-40和菊花-11等8个分离物。前4个分离物接种到昆诺阿藜和苋色藜表现褪绿坏死斑,最后顶枯。接种蚕豆表现枯斑,沿主茎变褐,最后萎蔫枯死。侵染矮牵牛表现局部褐色环斑,系统花叶。侵染普通烟表现褪绿环斑及标叶。病毒稳定性: $TIP 50-60^{\circ}C$, $DEP 10^{-1}-10^{-2}$, $LIV 1-3$ 天。病毒为等轴对称球形粒体。用蚕豆萎蔫病毒抗血清作免疫电镜为阳性反应。根据以上特性鉴定为蚕豆萎蔫病毒 (Broad bean wilt virus)。

后4个分离物接种苋色藜为局部褪绿斑,无系统症状,接种普通烟“White Burley”和毛叶烟先表现心叶明脉,后脉带花叶,不侵染千日红和曼陀罗。病毒稳定性: TIP 为 $50-60^{\circ}C$, DEP 为 $10^{-1}-10^{-2}$, LIV 为 $1-2$ 天。病毒粒体为长线状。用马铃薯Y病毒抗血清作免疫电镜观察为阳性反应。根据该4个分离物以上特性鉴定为马铃薯Y病毒 (Potato virus Y)。

前言 (Introduction)

蚕豆萎蔫病毒(Broad bean wilt virus 简称 BBWV)和马铃薯Y病毒(Potato virus Y 简称 PVY)地理分布广。据文献报道BBWV在日本、美国、欧洲和澳大利亚等地均有分布,侵染寄主范围广泛,汁液接种可侵染14个科40多种植物^[1,2],在我国1982年吴仲兴首先报道从豇豆上分离到BBWV^[3],田文会等从菠菜上分离到BBWV^[4],1985年陈燕芳等从田青、豇豆、小豆、棉豆、菜豆、蚕豆、豌豆、大豆和牧草、绿肥等13种豆科植物上均分离到BBWV^[5,6]。李兴红等(1988)从辣椒上亦分离到BBWV的报道^[7]。

马铃薯Y病毒广泛分布于全世界,据文献报道主要侵染茄科和一些藜科及豆科等60多种植物^[1,2]。在我国的马铃薯、辣椒和烟草上经常分离到PVY。

以上两病毒侵染花卉植物在我国尚未见有报道。

1986年~1988年我们先后在不同的城市采集了不同的花卉植物病样,分别作了鉴别寄主反应,电镜观察和血清测定。在鸢尾(*Iris*),香石竹(*Dianthus caryophyllus*),香豌豆(*Lathyrus odoratus*),花毛茛(*Ranunculus asiaticus*)的病样中分离出BBWV。在鸢

尾、菊花 (*Chrysanthemum*), 马蹄莲 (*Zantedeschia aethiopica*) 和香花海棠 (*Begonia semqperflorens*) 病样中分离出PVY。现将鉴定情况分述如下。

材料和方法 (Materials and Methods)

1. 毒株来源

1986年4月在广州园林研究所采到叶片表现褪绿花叶的香花海棠—40病样; 6月在武汉园林研究所苗圃采到表现褪绿环斑的鸢尾—54病样和表现褪绿条纹的马蹄莲—57病样; 7月在沈阳北陵公园采到表现褪绿花叶鸢尾—84病样; 1988年3月在哈尔滨东北农学院园艺系花圃采到表现轻花叶的香石竹—2病样; 4月在成都草堂公园苗圃采到表现褪绿花叶的香豌豆—99和花毛茛—103病样; 11月在上海林业站苗圃采到表现褪绿花叶的菊花—11病样, 在温室内进行分离鉴定。这8个分离物均从枯斑寄主植物经过单斑分离纯化后再作寄主反应试验。

2. 寄主试验

供试寄主有茄科、豆科、藜科、苋科、番杏科等植物。

3. 稳定性测定

测BBWV用矮牵牛 (*Petunia hybrida*) 作病毒的繁殖寄主, 长豇豆 (*Vigna sesquipedalis* “黑种三尺”) 为测定寄主。

测PVY用普通烟 (*Nicotiana tabacum* “White Burlry”) 作病毒的繁殖寄主, 苋色藜 (*Chenopodium amaranticolor*) 为测定寄主。

4. 血清测定

用蚕豆萎蔫病毒抗血清 (美国ATCC。主要用诱捕法) 和马铃薯Y病毒抗血清 (我所血清室提供, 用诱捕修饰法^[9]) 分别作免疫电镜观测各分离物的血清学关系。

试验结果 (Results)

1. 寄主范围和症状反应

根据这8个分离物在温室内进行鉴别寄主症状反应比较, 结果见表1和表2。

根据表1所示, 鸢尾—84, 香石竹—2, 香豌豆—99, 花毛茛—103四个分离物的寄主范围和症状反应相似, 在“黑种三尺”豇豆上为局部侵染外, 在蚕豆、大豆、昆诺阿藜和苋色藜上均表现顶枯, 蚕豆先局部枯斑, 后整株枯萎变黑, 是其最大特点 (见图1)。在矮牵牛上表现坏死环斑 (见图2), 后表现系统花叶, 在千日红表现系统坏死斑, 在普通烟、洋酸浆、商陆和龙葵上表现系统花叶。不侵染番杏。

根据表2所示, 鸢尾—54, 上菊—11, 马蹄莲—57和香花海棠—40四个分离物的寄主症状反应相似。侵染普通烟、心叶烟、毛叶烟、德伯尼烟和黄花烟表现明脉, 后表现脉带花叶, 在苋色藜表现局部褪绿斑, 无系统症状, 不侵染千日红、曼陀罗、商陆和番杏。从表1和表2可见前4个分离物与后4个分离物在侵染寄主和症状特征有明显差异。

表1 鸢尾-84、香石竹-2、香豌豆-99和花毛茛-103毒株的寄主反应

Table 1 Reactions of indicator plants to isolates
Iris-84, Dianthus-2, Lathyrus-99, Ranunculus-103

鉴别寄主反应 Indicator plants	鸢尾-84 <i>Iris-84</i>	香石竹-2 <i>Dianthus-2</i>	香豌豆-99 <i>Lathyrus-99</i>	花毛茛-103 <i>Ranun-103</i>
蚕豆 <i>Vicia faba</i> (成胡9号)	LN-SN-W	LN-SN-W	LN-SN-W	LN-SN-W
大豆 <i>Glycine max</i> “猴子毛”	T _N	T _N	T _N	T _N
长豇豆 <i>Vigna sesquipedalis</i> “黑种三尺”	LC-LN	LC-LN	LC-LN	LC-LN
昆诺阿藜 <i>Chenopodium quinoa</i>	LC-SC _N -T _N	LC-SC _N -T _N	LC-SC _N -T _N	LC-SC _N -T _N
苋色藜 <i>C. amaranticolor</i>	LC-SC _N -T _N	LC-SC _N -T _N	LC-SC _N -T _N	LC-SC _N -T _N
矮牵牛 <i>Petunia hybrida</i>	LNRS-SM	LNRS-SM	LNRS-SM	LNRS-SM
千日红 <i>Gomphrena globosa</i>	S _N	S _N	S _N	S _N
曼陀罗 <i>Datura stramonium</i>	LNRS-SNRS	LNRS-SNRS	LNRS-SNRS	LNRS-SNRS
普通烟 <i>Nicotiana tabacum</i> “White Burley”	LCRS-SOL	LCRS-SOL	LCSR-SOL	LCRS-SOL
洋酸浆 <i>Physalis floridana</i>	S _M -	S _M -	S _M -	S _M -
黄花烟 <i>N. rustica</i>	LCRS-SCRS	LCRS-SCRS	LCRS-SCRS	LCRS-SCRS
商陆 <i>Phytolacca acinosa</i>	LN-SCRS	LN-SCRS	LN-SCRS	LN-SCRS
龙葵 <i>Solanum nigrum</i>	S _M	S _M	S _M	S _M
番杏 <i>Tetragonia expansa</i>	0	0	0	0

注: LC = 局部褪绿斑 (Local chlorotic lesions), LN = 局部坏死斑 (Local necrotic lesions),
LCRS = 局部褪绿环斑 (Local chlorotic ringspots), LNRS = 局部坏死环斑 (Local necrotic ringspots),
S_M = 系统花叶 (Systemic mosaic), S_N = 系统坏死斑 (Systemic necrotic spots), SCRS = 系统褪绿环斑 (Systemic chlorotic ringspots), SNRS = 系统坏死环斑 (Systemic necrotic ringspots),
W = 萎蔫 (Wilt), T_N = 顶枯 (Top necrosis), 0 = 不侵染 (No infection)
OL = 栎叶 (Oak leaf), - = 轻微 (Light)。

2. 稳定性

根据表3测定结果, 鸢尾-84、香石竹-2二分离物稳定性与BBWV的相似。鸢尾-54和上菊-11二分离物与PVY的稳定性相似。

表2 鸢尾-54, 上菊-11, 马蹄莲-57和香花海棠-40毒株的寄主反应

Table 2 Reactions of indicator plants to isolates Iris-84, Dianthus-2, Iris-54, Chry-11, Zan-57, Bego-40

鉴别寄主反应 Indicator plants	鸢尾-54 Iris-54	上菊-11 Chry-11	马蹄莲-57 Zan-57	香花海棠-40 Begonia-40
莧色藜 <i>Chenopodium amaranticolor</i>	LC _N	LC _N	LC _N	Lc
矮牵牛 <i>Petunia hybrida</i>	S _M 矮小	S _M 矮小	S _M	S _M
普通烟 <i>Nicotiana tabacum</i> "White Burley"	SVC _{Vb}	SVC _{VN}	SVC _{Vb}	SVC _{Vb}
毛叶烟 <i>N. sylvestris</i>	SVC _{Vb}	SVC _{Vb}	SVC _{Vb}	SVC _{Vb}
心叶烟 <i>N. glutinosa</i>	S _M	S _M	S _M	S _M
德伯尼烟 <i>N. debneyi</i>	S _M	S _M	S _M	S _M
黄花烟 <i>N. rustica</i>	LC-SMM	LC-SMM	LC-SMM	LC-SMM
洋酸浆 <i>Physalis floridana</i>	LN-SCM L _d	LN-SCM L _d	LN-SCM L _d	LN-SCM L _d
千日红 <i>Gomphrena globosa</i>	0	0	0	0
曼陀罗 <i>Datura stramonium</i>	0	0	0	0
商陆 <i>Phytolacca acinosa</i>	0	0	0	0
番杏 <i>Tetragonia expansa</i>	0	0	0	0

注: 详见表1. SVC=系统明脉 (Systemic vein clearing) VN=脉坏死 (Vein necrotic),

Vb=脉带 (Vein banding) SMM=系统轻性花叶 (Systemic mild mosaic) L_d=落叶 (Leaf drop)

表3 4分离物与BBWV、PVY稳定性比较

Table 3 Comparison of stabilities between four isolates and BBWV, PVY

稳定性 Stability	鸢尾-84 Iris-84	香石竹-1 Dian-2	BBWV(Des.of Pl.V.No.81)	鸢尾-54 Iris-54	上菊-11 Chry-11	PVY(Des.of Pl.V.No.37)
TIP	55—60°C	50—60°C	58°C	50—60°C	55—60°C	55—60°C
DEP	10 ⁻¹ —10 ⁻²	10 ⁻¹ —10 ⁻²	10 ⁻⁴ —10 ⁻⁵	10 ⁻¹ —10 ⁻²	10 ⁻¹ —10 ⁻²	10 ⁻² —10 ⁻³
LIV	1—3天	1—2天	2—3天	1—2天	1—2天	2—3天

3. 病毒粒体和血清关系

在温度适宜时(18—25℃)鸢尾—84, 香石竹—2, 香豌豆—99和花毛茛—103分离物的病毒分别用BBWV抗血清, 用诱捕法制片, 在电镜下(35000—40000倍)能观察到很多等轴多面体病毒粒体, 直径约26nm, 用诱捕修饰法制片, 电镜下可见到病毒粒体表面附着的抗体外套(见图3)说明此4种分离物与BBWV有明显的血清学关系。

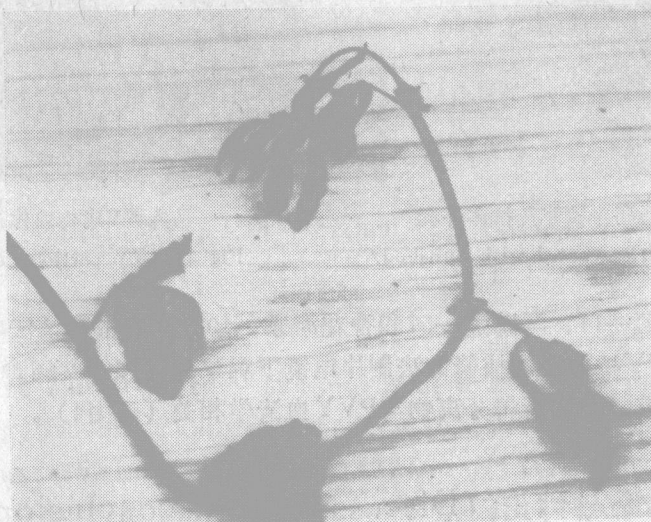


图1. 鸢尾—84接种蚕豆15天后植株表现萎蔫枯死

Fig 1, 15 days after inoculation with Iris-84 the whole *Vicia faba* plant wilted



图2. 鸢尾—84接种矮牵牛叶片表现局部坏死环斑

Fig 2, Local necrotic ringspots on leaves of *Petunia hybrida*