

1982年3月

March 1982

植物检疫研究报告

TECHNICAL BULLETIN OF
PLANT QUARANTINE RESEARCH

菜豆种传的番茄不孕病毒的研究

I. 病毒的分离和生物鉴定

II. 病毒的理化性质及血清学测定

Studies of Tomato Aspermy Virus Transmitted by Bean Seed

I. Isolation and Biological Identification of the Virus

II. Physical and Chemical Characteristics and Serological Assay

农牧渔业部植物检疫实验所

Institute of Plant Quarantine

Ministry of Agriculture, Animal Husbandry and Fishery

People's Republic of China

菜豆种传的番茄不孕病毒的研究

I. 病毒的分离和生物鉴定

王树琴 舒秀珍 沈淑琳 陈燕芳

摘 要

从田间菜豆花叶病株上,及温室内直播菜豆种子的实生苗上,分离出八个毒株,其中B_M-32(在北京东北旺公社马连洼三大队采集的菜豆病株)及B_S-38(黑龙江一窝蜂菜豆)经接种鉴定,除菜豆以外,还可侵染大豆、豇豆、爬豆、蚕豆、豌豆、绿豆、苋色藜、昆诺阿藜、土荆芥、百日菊、千日红、心叶烟、普通烟、番茄、矮牵牛、补骨脂、罗勒、裂叶花葵和瓜尔豆等。

在*Nicotiana glutinosa*上,接种叶开始出现局部退绿斑,两周后产生系统明脉、严重花叶、斑驳、脉带、皱缩、泡突、叶扭等症状;在*N. tabacum*“White Burly”(普通烟)上,产生系统的斑驳、皱缩、泡突、叶畸形;*Lycopersicum esculentum*(番茄),在“早粉二号”品种上,前期表现植株矮化、细叶,后期出现轻型斑驳、叶扭,并形成无子果;在*Chenopodium amaranticolor*(苋色藜)和*C. quinoa*(昆诺阿藜)上,接种叶出现退绿斑和枯斑,幼叶为网状花叶;*Vigna sesquipedalis*(长豇豆),在“黑种三尺”和“红咀燕”两个品种上,接种叶均表现为斑驳,后为系统轻性花叶;*Phaseolus vulgaris*(菜豆),在“66-13”、“Topcrop”和“家雀蛋”等几个品种上,均为系统花叶、斑驳、泡突。对*Cucumis sativus*(黄瓜),对“长青”和“192”两个品种不侵染。

菜豆病种子,隔离播种,得斑驳症状病苗,经血清测定为TAV,种传率为18%。

致死温度55—60℃,稀释终点为 10^{-2} — 10^{-5} ,体外存活期6—9天,病毒粒体球状,直径27—30nm,与澳大利亚提供的番茄不孕病毒n株系的血清反应,产生明显的沉淀线,用B_M-32抗血清测定七个不同的毒株,沉淀线相融合,说明抗原性相同。

综合上述,B_M-32及B_S-38的鉴别寄主反应,致死温度,稀释终点,体外存活期,病毒粒子形态,大小及血清反应测定均与CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses No.79 1971对番茄不孕病毒的描述相一致,其它的六个毒株的血清反应与番茄不孕病毒的血清反应完全相同,这六个毒株也均为番茄不孕病毒。

* 本试验是在季良所长指导下进行的,中国农科院品资所小杂豆组提供的菜豆病种子,本所血清室提供的抗血清,王欣贞、吴盼同志协助工作,在此一并致谢。

番茄不孕病毒 (Tomato Aspermy Virus简称TAV), 寄主范围广泛, 人工接种可以侵染24科双子叶和3科单子叶的100种以上的植物。因其侵染番茄可以引起严重的叶扭、矮化和形成无子果, 故命名为番茄不孕病毒。除番茄外可自然侵染芹菜、辣椒、菊花、百合等作物。人工接种可侵染甜菜、大豆、向日葵、甘薯、莴苣、烟草、菜豆、芝麻、茄子、菠菜、蚕豆、豇豆、玉米等作物。在繁殖上可以种传, 但尚无通过作物种传的报导。

我们于1980年8月, 从北京东北旺公社马连洼三大队二小队菜豆地, 采集了花叶症状(编号B_M-32)的毒株, 另外从中国农科院作物所索取的菜豆病籽长出的病苗分离出B_S-38、B_S-37、B_S-18、B_S-130、B_S-41等共八个毒株。并着重对B_M-32和B_S-38进行了寄主范围, 鉴别寄主反应, 稳定性及血清学的鉴定试验。

试 验 方 法

供试寄主: 有茄科、豆科、藜科、葫芦科、苋科、菊科等6科35种的植物。接种均用健苗, 苗龄视植物而异。茄科4—5叶, 豆科两单叶一复叶, 藜科7—8叶, 葫芦科为两子叶, 其它为4—6叶。

稳定性测定: 用普通烟“White Burley”病汁液进行稳定性测定, 所用试管口径大小, 管壁薄厚均一致。致死温度测定, 每管滴病汁液10滴, 温度间隔为5℃, 在恒温水浴下处理10分钟。稀释终点按10倍间隔稀释成 10^{-1} , 10^{-2} , …… 10^{-6} , 用pH6—7的冷开水为稀释剂, 用滴管在反应板穴中各放9滴水, 用同一吸管吸1滴病汁液于第一穴中成 10^{-1} , 吸吐10次, 再由 10^{-1} 穴中吸1滴到第二穴中成 10^{-2} , 用同一方法稀释到 10^{-6} , 再从最后一个稀释度吸去1滴, 使每一处理均为9滴。采用拉丁方排列接种, 每一处理三重复。体处存活期在室温下测定, 每天接种用9滴病汁液, 逐日连续测定。

血清鉴定: 供试的抗血清由本所血清组提供, 用琼脂双扩散法测定不同毒株间的血清亲缘关系。

接种方法为常规的汁液接种, 摩擦剂为硅藻土。

接种与稳定性测定, 一般在室温17—25℃之间进行的。

试 验 结 果

1. **寄主范围:** 在人工接种的6科35种植物中, 无反应的有: 白三叶、红三叶、大麻、藜、黄瓜(192, 长青)、小豆(天津红小豆)。可侵染的有: 大豆(猴子毛)、菜豆(家雀蛋、丰收白、“66—13”、Topcrop、Monroe bean)、豇豆(红咀燕、黑种三尺、白爬豆)、蚕豆(成胡九号)、豌豆(绿珠)、绿豆(黑龙江小粒3号)、苋色藜、昆诺阿藜、土荆芥、百日菊、千日红、心叶烟、普通烟“White Burley”, 普通烟“Harrow velvet”、大椒“双富”、番茄(早粉二号)、矮牵牛、补骨脂、罗勒、裂叶花葵、番杏、瓜尔豆。其中在部分寄主上的主要症状见表一。

表一 B_M-32在豆类及其部分寄主上的症状反应

寄 主 名 称	症 状
<i>Glycine max</i> “猴子毛” 大豆	接种2—3周后幼叶出现严重斑驳、皱缩、泡突、脉带、叶下卷、叶脉和叶柄有坏死条、植株矮化。(图2)
<i>Phaseolus vulgaris</i> “66—13” 菜豆	接种叶一周后有大的退绿黄斑，两周后幼叶有明显的斑驳，脉带，泡突和叶畸形。(图2)
<i>Phaseolus vulgaris</i> “Monroe bean” 菜豆	接种两周后，接种叶出现1mm大小枯斑，幼叶花叶，三周后幼叶也出现1mm大小的枯斑。
<i>Vigna sesquipedalis</i> “黑种三尺” 长豇豆	接种两周后接种叶出现斑驳或4mm大小的环斑，幼叶花叶，斑驳。
<i>Vicia faba</i> “成胡9号” 蚕豆	接种叶两周后出现紫斑。
<i>Phaseolus aureus</i> “黑龙江小粒3号” 绿豆	接种两三周后出现花叶，斑驳。
<i>Pisum sativum</i> “绿珠” 豌豆	接种二周后，基部叶片干枯，后整株枯死。
<i>Zinnia elegans</i> 百日菊	接种4—5天后，接种叶出现黄脉，斑驳。
<i>Petunia hybrida</i> 矮牵牛	接种7天后，接种叶出现边缘不清的茶褐色斑。
<i>Tetragonia expansa</i> 番杏	接种后3—7天接种叶出现2—3mm退绿黄斑。
<i>Gomphrena globosa</i> 千日红	接种叶出现1mm大小的退绿斑点。
<i>Nicotiana rustica</i> 黄花烟	系统花叶，斑驳。
<i>Capsicum annuum</i> “双富大椒”	系统花叶。
<i>Datura stramonium</i> 曼陀罗	系统斑驳。
<i>Ocimum basilicum</i> 罗勒	系统退绿，斑驳。
<i>Lavatera trimestris</i> 裂叶花葵	接种叶黄脉，幼叶系统脉带。
<i>Psoralea corylifolia</i> 补骨脂	接种叶有褐色枯斑，幼叶黄脉，扭曲，花叶，泡突。

2. 鉴别寄主反应: B_M-32和B_S-38在鉴别寄主上的反应与 Descriptions of Plant Viruses №79 1971, 番茄不孕病毒的描述比较:

表二 B_M-32及B_S-38两毒株与番茄不孕病毒在鉴别寄主上的症状比较

症 状 鉴别寄主	毒 株	B _M -32及B _S -38	TAV(CMI/AAB Des.of PI. Viruses №79, 1971)
<i>Nicotiana glutinosa</i> 心叶烟		接种叶产生退绿斑，一两周后系统明脉，后严重花叶，斑驳，脉带，泡突，叶扭，矮缩。(图1)	接种叶产生退绿斑或半枯死斑，1—2周后系统明脉，严重花叶，泡突，叶扭，矮缩。
<i>N. tabacum</i> “White Burley” 普通烟		严重的系统斑驳，皱缩，泡突，叶畸形。	严重的系统斑驳，矮缩，扭曲。
<i>Cucumis sativus</i> 黄瓜“192”		无反应。	典型株系不侵染，有的株系接种后3—8天，子叶产生局部退绿斑，真叶不感染。

症 状 毒 株 鉴 别 寄 主	B _M -32及B _S -38	TAV(CMI/AAB Des.of PI. Viruses №79, 1971)
<i>Lycopersicon esculentum</i> 番茄“早粉二号”	细叶, 植株矮化, 轻型花叶, 斑驳, 叶扭曲。果实缩小, 畸形, 多数果实无籽。(图4)	叶严重斑驳, 矮缩, 果畸形, 缩小, 多数株系不形成种子。
<i>Chenopodium amaranticolor</i> 苋色藜 <i>C. quinoa</i> 昆诺阿藜	接种一周左右, 在接种叶上产 生许多退绿斑和枯斑。两三周后 幼叶有网状花纹。	接后3—7天, 产生许多退绿斑 和坏死局部斑, 无系统症状。
<i>Vigna sesquipedalis</i> 长豇豆 “黑种三尺”	接种一周后斑驳, 幼叶轻微花叶。	接种后3—4天产生局部坏死斑。
<i>Phaseolus vulgaris</i> 菜豆 “66—13”	接种叶产生黄斑, 幼叶系统斑 驳, 花叶, 泡突, 叶畸形。	

在心叶烟、普通烟、黄瓜上的反应完全相同, 番茄叶部症状及无籽果情况基本相同, 在苋色藜(昆诺阿藜)、长豇豆、菜豆上, B_M-32和B_S-38两毒株在接种叶上的症状基本上与Descriptions of Plant Viruses №79 1971的描述相同或相近, 但两毒株在这三种寄主上, 当局部症状出现半月后均出现系统症状。我们分析可能与毒株的来源有关, 一般番茄不孕病毒, 文献报导, 多是从菊花或番茄上分离的, 而B_M-32, B_S-38, B_S-37、B_S-18等八个毒株, 都是从菜豆上采集的, 因而对菜豆的致病力与典型株系有所不同。

3. 稳定性测定: 繁殖寄主用的普通烟“White Burley”, 枯斑寄主用的番杏 *Tetragoria expansa*。

表三 B_M-32与番茄不孕病毒稳定性比较

稳 定 性	B _M -32 毒 株	TAV(CMI/AAB Des.of Pl. Viruses №79 1971)
TIP	55—60℃	55—60℃
DEP	10 ⁻² —10 ⁻⁵	10 ⁻⁴ —10 ⁻⁵
LIV	6—9天	2—6天

4. 病毒粒体及血清反应: 据本所血清室与中科院微生物所观察结果为27—30nm的球状粒体, 病毒RNA的聚丙烯酰胺凝胶电泳分析说明, 本病毒的基因组由四段RNA组成。本病毒与澳大利亚提供的番茄不孕病毒的n株系抗血清有明显的沉淀线, 用本所血清室制备的B_M-32抗血清(与澳大利亚的番茄不孕病毒进行过标定)与B_M-32, B_S-38, B_S-37, B_S-18等八个毒株的病汁液反应, 在琼脂板上的沉淀线相融合, 其抗原性相同。

5. 种传: 从中国农科院品资所试验圃的菜豆病株上采集的种子, 播种在隔虫温室, 48粒种子, 有9株幼苗发病, 经血清测定为TAV, 种传率为18.75%。另从定为TAV的病株上采收的16粒种子, 播种后又进行播种, 得3株典型斑驳症状的病苗(图3), 种传率为18.8%。

综上几点比较,说明本所自菜豆上采集的八个毒株均为番茄不孕病毒,但据国外报导番茄不孕病毒在田间自然主要侵染番茄、菊花、辣椒、芹菜,百合等作物,只能在繁缕上种传,而我们的毒株是采自田间自然发病的菜豆病株和菜豆种传的实生苗,这些都与典型的TAV有所不同,是否是一个新株系有待进一步研究。

参 考 文 献

- (1) Ainsworth, Rep. exp. Res. Stn Cheshunt 1938, 60. 1939
- (2) Blencowe & Caldwell, Ann. appl. Biol. 36, 320, 1949
- (3) Des. of Pl. Viruses No 79 1971
- (4) M. Klinkowski (1980) Pflanzliche Virologie, Band II P62
- (5) 马德芳, 胡伟贞等 (1982)《菜豆种传的番茄不孕病毒的研究 I 病毒的理化性质及血清学测定》植物检疫研究报告。

Studies of Tomato Aspermy Virus Transmitted by Bean Seed

I. Isolation and Biological Identification of the Virus

Wang Shuqin Shu Suizen Shen Shulin Chen Yanfang

(Institute of Plant Quarantine, Ministry of Agriculture,
Animal Husbandry and Fishery)

Abstract

Eight isolates were collected in field from plants infected by bean mosaic virus and greenhouse from seedlings grown from bean seeds. Among which B_M-32 was examined on various plants by mechanical inoculations and was proved that it could also infect *Phaseolus vulgaris*, *Glycine max*, *Vigna sesquipedalis*, *Vicia faba*, *Pisum sativum*, *Nicotiana glutinosa*, *N. tabacum*, *Lycopersicum esculentum*, etc.

B_S-38 isolate was seed-borne in *Phaseolus vulgaris*. Transmitted through 18% of the seed from infected *Phaseolus vulgaris*.

Different symptoms showed on differential hosts.

TIP 55-60°C, DEP 10⁻²-10⁻⁵, LIV 6-9 days.

Particle was isometric and 27-30nm in diameter.

The gene group contained 4 sections of RNA, no reaction with the anti-serum of the strains of K, X, Q, M, T, D, of CMV was observed in the agar double diffusion tests. Precipitating line was visible distinctly when they were tested with TAV serum made in Australia. Same results were obtained when the eight different isolates were tested separately with anti-serum made by the Institute of Plant Quarantine, Ministry of Agriculture, Animal Husbandry and Fishery. These eight isolates were all identified as the same virus.

According to the reactions of differential hosts, physical property, particle shape and size and reactions of serum, B_M-32 isolate was like the description of TAV in CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses No. 79, So that this isolate was identified as TAV. The other isolates based on their same reactions to TAV serum were identified also as TAV. Because of the systemic symptoms of mosaic, mottling and seed-borne character in this isolate, We considered that this isolate might be a new strain of TAV.

菜豆种传的番茄不孕病毒的研究

Ⅱ. 病毒的理化性质及血清学测定

马德芳 邱并生 田 波

(中国科学院微生物所)

胡伟贞 张作芳 张成良 宋淑敏

(农牧渔业部植物检疫实验所)

摘 要

从北京郊区田间表现系统花叶的菜豆病叶上分离得到的病毒(B_M-32)以及从菜豆种子长出的病苗上分离到病毒(Bs-38)。两毒株的病毒颗粒均为多面体,直径27~30nm。提纯的病毒具有典型的核蛋白吸收曲线,最高吸收在260nm,最低吸收在240nm。病毒RNA的聚丙烯酰胺凝胶电泳分析证明,该毒株的病毒的基因组由4段RNA组成,其分子量与黄瓜花叶病毒组的病毒RNA一致。

琼脂双扩散证明:B_M-32与澳大利亚n-TAV的抗血清产生明显的沉淀线,而与澳大利亚6个CMV抗血清没有反应。Bs-38与B_M-32双扩散沉淀线完全愈合。根据以上特性及其生物学特征的研究^[12],证明B_M-32和Bs-38两毒株均系番茄不孕病毒。

前 言

自Brierley和Smith(1951)首次将一种侵染菊花能引起番茄不孕的病毒,定名为番茄不孕病毒(TAV)以来,Holling, M(1955)^[4]Govier, D, A(1957)^[5]、Lawson, R, H, (1967)^[6]、Mink, G, T(1969)^[7]、Stace-Smith和Tremaine(1973)^[3]、N. Habili和R, I, B, Francki(1974)^[1]等曾先后研究了TAV的性质。他们的研究工作指出,TAV和黄瓜花叶病毒在寄主范围、病状表现、传播介体、理化性质方面十分相似,故将TAV归于Cucumovirus组。TAV和CMV的RNA经聚丙烯酰胺凝胶电泳分析表明,RNA₁和RNA₂分子量没有区别,只是RNA₃和RNA₄稍有不同。二者蛋白亚单位的分子量虽无区别,但血清学性质和氨基酸组成略有差异,因此定为两种不同的病毒。

* 本研究经农牧渔业部植检所季良研究员指导,并审定文稿,赵瑞生同志协助部分工作,特此致谢。

本文报导从菜豆上得到的TAV B_M-32和B_S-38两个毒株的提纯, 病毒理化性质和病毒血清学反应的结果。

材 料 和 方 法

1. 试验材料

由农牧渔业部植检所病毒室提供二个试材: [10]

(1) 从北京东北旺公社马连洼大队采集的菜豆病叶上分离得到的病毒, 编号为B_M-32;

(2) 从中国农科院作物所取来的菜豆种子长出的病苗上分离得到的病毒, 编号为B_S-38。

上述二种毒源, 经纯化后, 分别接种在普通烟上 (*Nicotiana, tabacum* "white Burley"), 在防虫温室里繁殖, 待显症后, 采收, 作提纯材料。

2. 提纯方法

病叶加二倍体积的0.5M 柠檬酸缓冲液 (pH6.5, 内含0.5% 巯基乙醇)[1]匀浆, 加一倍体积的冷氯仿, 充分振荡, 放冰箱2.5小时后, K70D离心机5000rpm*离心20分钟, 取上清液, 加10% 聚乙二醇 (简称PEG, MW6000) 和4% NaCl (W/V), 放冰箱沉淀2小时后, MSE 18型离心机8000rpm离心30分钟。将沉淀悬浮于0.01M磷酸缓冲液中 (pH7.0, 内含0.001M EDTA, 下同), 9000rpm离心15分钟。取上清液于VAC601超速离心机上105000g离心120分钟。取沉淀悬浮于0.01M 磷酸缓冲液中。将感病叶片匀浆后, 不加沉淀剂, 直接经两次差速离心也能得到纯病毒制剂。

3. 电镜观察

将提纯的病毒制剂适当稀释后, 滴少许于预先铺有Formvar膜的铜网上, 片刻, 吸去多余的病毒液, 待将干时, 用2% 醋酸氧铀负染3—5分钟, 吸去染料, 晾干, 置H-500电镜下观察。

4. 抗血清制备及血清学测定

用上述方法提纯的抗原作一次静脉注射(2.8mg)。另取56mg加Freund完全佐剂, 乳化后肌肉注射于家兔体内, 制备抗血清, 抗血清的效价1:256 (免疫双扩散法), 冻干, 冷贮备用。为鉴定该病毒和CMV的血清学关系, 使用了澳大利亚的CMV-T、CMV-U、CMV-K、CMV-X、CMV-M、CMV-Q几个株系抗血清和澳大利亚n-TAV的标准抗血清, 还有国内几个CMV分离物及其抗血清, 进行了常规的琼脂双扩散试验。

5. 分析超离心

在Spinco model 分析超离心机上用司列伦光学系统对该病毒作了沉降分析。当转速达21410rpm后, 每隔2分钟30秒照相, 共照6张。

6. RNA的抽提和聚丙烯酰胺凝胶电泳

为分析该病毒RNA组分, 用如下方法进行了RNA提取。一定体积的病毒液加等体积RNA抽提缓冲液 (100ml体积中含0.6M乙酸钠, 0.6% SDS, 20mM EDTA), 再加等体积80% 饱和酚, 充分振荡, 用3K离心机上12000rpm离心10分钟, 取水相, 再加入 $\frac{1}{2}$ 体积的饱和酚抽提2次。于水相中加3倍体积无水乙醇, 冰槽过夜。然后10000rpm离心20分钟。取沉淀用70%冷乙醇洗二次后, 将沉淀真空抽干, 溶于少量RNA样品液[2] (内含20mM Tris-HCl、

* rpm-转/分

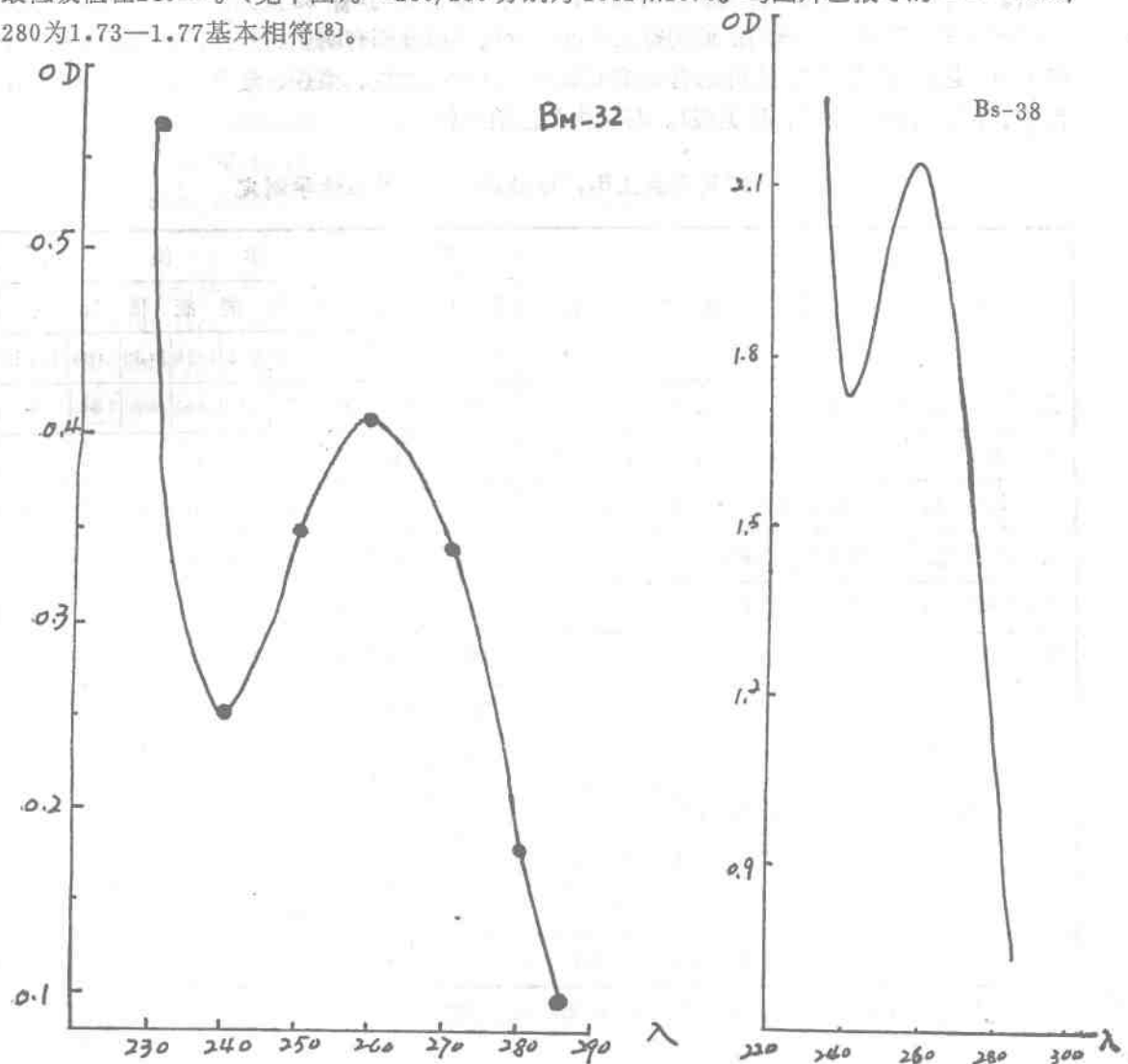
0.1M NaCl, 1mM EDTA, pH8.5)中。该样品用于聚丙烯酰胺凝胶电泳。

聚丙烯酰胺凝胶浓度为2.6%，3E系统缓冲液(0.12 M Tris, 0.06M NaAc, 0.003M EDTA, 用冰醋酸调pH至7.4)。予泳一小时后加样, 每根胶加样15—20 μ g, 电流为每根胶5mA。

结 果

1. 提纯病毒的性质

B_M-32和B_S-38 提纯的病毒制剂具有典型的核蛋白紫外吸收峰, 最高吸收值在 260nm, 最低吸值在240nm。(见下图)。A₂₆₀/280 分别为 1.82和1.70。与国外已报导的 TAV A₂₆₀/280为1.73—1.77基本相符^[8]。



B_M-32及B_S-38提纯制剂紫外吸收曲线图

B_M-32和B_S-38提纯液在电镜下均见到很多直径为27—30nm的球状病毒颗粒(图1), 也与TAV的大小相符。^[8]

提纯的B_M-32(3mg/ml)溶于0.1M 磷酸缓冲液中(pH7.0), 进行超离心沉降分析, 只出现一个沉降峰(图2)。其S值为81, 与stace-Smith(1973)^[3]所测80—83S相符。

2. 病毒血清学反应

用琼脂双扩散试验, B_M-32 抗原与其相应抗血清以及澳大利亚 $n-TAV$ 抗血清产生明显的沉淀线, 而与澳大利亚 CMV 的 T 株、 K 株、 X 株、 U 株、 Q 株和 M 株没有反应, 表明其间无血清学关系。^[1,8,9] 但与国内豇豆 CMV , 香蕉 CMV 的抗血清沉淀线相交, 呈分枝状, 证明二者有远缘血清学关系(图3)^[5,6,8]。 B_S-38 与 B_M-32 的沉淀线完全愈合, 证明二者抗原性完全相同(图4)。

将 B_M-32 接种于菜豆、大豆、豇豆、普通烟、心叶烟、番茄等寄主植物幼苗, 均可致病, 各自表现不同症状。采集各类病株研磨榨汁, 制备澄清液与 B_M-32 抗血清进行免疫双扩散反应, 均呈阳性反应。定量测定证明寄主不同, 含病毒浓度都有明显的差异。如在测定的12种寄主中, 以豇豆、普通烟、心叶烟含毒浓度最高; 其次是大豆、菜豆、矮牵牛、罗勒、苋色藜; 番茄、百日菊浓度最低。详见表1。与生物测定结果相似。

表1 不同寄主上 B_M-32 致病症状及其血清学测定

寄主名称	致病后症状特点	血清学测定								
		阳性	抗原澄清液稀释度							
		对照	原液	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128
豇豆	系统感染、花叶、斑驳	卅 ^{*1}	/ ^{*3}	/	/	卅	++	++	+	+
普通烟	系统感染、花叶、孢突、叶畸形	卅	卅	卅	++	++	++	+	+	+
心叶烟	系统感染、明脉、褪绿斑、斑驳	卅	卅	卅	++	++	++	+	- ^{*2}	-
大豆(猴子毛)	孢斑突起、斑驳	卅	/	/	++	++	+	±	-	-
菜豆(丰收白)	系统感染、花叶、斑驳	卅	++	++	++	+	+	±	-	-
菜豆(家雀蛋)	同上	卅	++	++	++	+	+	-	-	-
矮牵牛	褐斑	卅	++	+	+	+	+	-	-	-
罗勒	斑驳	++	-	-	++	+	+	-	-	-
菜豆(6613)	系统感染、花叶、斑驳	卅	卅	++	+	+	-	-	-	-
苋色藜	第一周局部显症, 后系统花叶	卅	++	++	+	+	-	-	-	-
百日菊	黄脉	卅	-	-	++	-	-	-	-	-
番茄	系统感染、花叶、斑驳、扭曲	卅	++	++	+	-	-	-	-	-

*1 卅……+ 表示血清反应呈阳性、由强到弱的等级

*2 - 表示阴性反应

*3 / 表示未做该稀释度的血清反应

3. 病毒RNA的聚丙烯酰胺凝胶电泳分析

电泳结果说明, B_M-32 基因组由4段RNA组成, 四条带的位置与 $CMV-RNA$ 位置一致。与标准 $CMV-RNA$ 混合后进行电泳, 只出现四条带, 说明它们的分子量很相近。(图5)

根据以上特性以及该二毒株能侵染菊科植物而不侵染黄瓜, B_M-32形成不孕番茄果实等特点^[10], 均与文献报导的TAV相同。所以认为 B_M-32和 B_S-38 两毒株均为黄瓜花叶病毒组的番茄不孕病毒。

国外报导的TAV都是从菊花或番茄上分离到的, 人工接种可以侵染菜豆, 但菜豆自然不发病。而我国的TAV是从菜豆上分离到的, 而且菜豆种子能传毒^[10]。我国的TAV 菜豆分离物是否是一个新株系, 有待进一步研究。

参 考 文 献

1. N. Habili & R.I.B.Francki (1974)
Comparative studies of TAV and CMV 1. Physical and chemical properties
Virol. 57. 392-401.
2. Peden, K.W.C., & Symons R.H. (1973)
Cucumber mosaic virus contains a functionally divided genome Virol. 53, 487-492.
3. Stace-smith & tremaine (1973)
Biophysical and biochemical properties of TAV Virol. 51, 401-408.
4. Hollings, M. (1955)
Investigation of chrysanthemum viruses
1. Aspermy flower distortion Ann, Appl. Biol. 43, 88-102.
5. Govire, D.A. (1957)
The properties of tomato aspermy virus and its relationship with CMV Ann, Appl. Biol. 45, 62-73.
6. Lawson, R.H. (1967)
Relationships among tomato aspermy, aspermy-related viruses from chrysanthemum, and two strains of CMV.
Virol. 32, 357-362.
7. Mink, G.I. (1969)
Serological relationship among CMV, TAV and peanut stunt virus, Phytopath. 59, 1889-1893.
8. CMI/ABB Descriptions of plant viruses No 79, 1971
9. Oertel, Nova Acta Leopoldina 189:1, 1969.
10. 王树琴等 (1982) 《菜豆种传的番茄不孕病毒的研究 I. 病毒的分离及生物鉴定》植物检疫研究报告.

STUDIES ON THE TOMATO ASPEMY VIRUS OF BEAN SEED-BORNE

II. Physical and Chemical Characteristics and Serological Assay

Ma Defang Qiu Bingsheng Tian Bo

(Institute of Microbiology, Academia Sinica)

Hu Weizhen Zhang Zuofang Zhang Chengliang Song Shumin

(Institute of Plant Quarantine, Ministry of Agriculture,
Animal Husbandry and Fishery)

Abstract

The virus B_M-32 was isolated from diseased *Phaseolus vulgaris* showing systemic mosaic symptom on the leaves, and the virus B_M-38 was isolated from diseased seedling grown in the greenhouse from seeds probably carried the virus. These two viruses preparations were isometric spherical about 27-30nm in diameter. The purified virus had typical ultraviolet absorption spectrum of nucleic protein at 260nm (max.) and 240nm (min.). Polyacrylamide-gel electrophoresis indicated that RNA of the virus could be resolved into 4 species and the molecular weight is identical with RNA of Cucumovirus.

The agar double diffusion assay indicated evident band of precipitate between B_M-32 and Australia n-TAV antiserum, but no relationship with 6 kinds of Australia CMV antiserum. B_S-38 and B_M-32 had confluent band of precipitate.

Based on these characteristics as well as results of biological identification, the two isolates B_M-32 and B_S-38 seemed to be probably the same with Tomato Aspepy Virus.

