

广州郊区辣椒花叶病病原病毒鉴定*

何显志 高乔婉 骆学海 范怀忠

(植保系)

提 要

根据病毒粒子形态、血清反应、内含体形态、媒介昆虫种类、物理性质、寄主范围和症状特点,广州郊区辣椒花叶病的病原病毒可以鉴定为黄瓜花叶病毒的辣椒轻花叶型株系(CMV—PMMS),辣椒脉斑驳病毒(马铃薯Y病毒组的一个成员)的辣椒绿脉带型株系(PVMV—PGVBS)和烟草花叶病毒的辣椒黄色花叶型株系(TMV—PYMS)和辣椒枯斑型株系(TMV—PLNS)。

PMMS的病毒粒子形态为球状,直径约27毫微米;免疫琼脂双向扩散试验结果证明它与普通CMV存在亲缘关系;在百日菊上对CMV的Price NO.6株系有保护作用;可由棉蚜进行非持久性传递;致死温度为55°C,体外保毒期7天,稀释终点为 10^{-5} ;在辣椒、黄瓜、心叶烟和普通烟等植物上引起系统性花叶,在苋色藜、豇豆等植物上引起局部枯斑,不侵染十字花科蔬菜。

PGVBS的病毒粒子形态为弯曲线状,大小约720×14毫微米;在感病辣椒细胞质中可见典型的风轮状内含体;可由棉蚜传递;致死温度为60°C,体外保毒期1天;人工接种7个科的24种植物中仅在辣椒一种植物上引起外部症状。

PYMS和PLNS的病毒粒子形态均为直杆状;免疫琼脂双向扩散试验结果表明两者与普通TMV存在亲缘关系;但PYMS比PLNS与TMV的亲缘关系更密切。在普通烟上,普通TMV对PYMS有完全的保护作用,对PLNS有不完全的保护作用;两者都不由蚜虫传递;PYMS的致死温度为84°C,体外保毒期>6个月,稀释终点为 10^{-5} 。PLNS的致死温度为87°C,体外保毒期>6个月,稀释终点为 10^{-7} 。两者在寄主范围和反应上的主要差异是,PYMS在元岗甜椒、普通烟和番茄上引起系统性黄色花叶;PLNS在元岗甜椒和普通烟上引起局部枯斑,不侵染番茄。

前 言

辣椒花叶病是辣椒生产的主要限制因素之一,造成辣椒减产达30~60%^{[24][28]}。1981年春广州郊区辣椒的发病率为20~60%;农民称此病为“鸡头黄”,认为减产达20~30%。

辣椒病毒病的病原病毒国外已报道有三十多种^[18],其中最重要而且发生最普遍的是马铃薯病毒Y(PVY)和烟草蚀纹病毒(TEV)^[28]。在我国有关的研究报道较少^{[1][2][22]},已报道的病毒有:CMV, TMV和PVY。

* 蒙植保系林孔勳副教授对本文审阅,莫蒙异老师鉴定蚜虫,嵇阳火老师协助拍摄植物症状照片,电镜室章潜才等同志协助拍摄电镜照片和制样,内蒙古大学张鹤龄老师提供马铃薯Y病毒的抗血清,谨此致谢。

本研究的目的在于鉴定广州郊区辣椒花叶病原病毒种类,为进一步研究和防治提供依据。

一般材料和方法

自1980年春至1981年春,我们先后在广州郊区主要辣椒产区采集病样共58个,在温室用汁液抹擦法接种于作为鉴别寄主的岑村尖椒 (*Capsicum frutescens*) 元岗甜椒 (*C. frutescens*) 普通烟哈瓦那38号 (*Nicotiana tabacum* 'Havana 38')、心叶烟 (*N. glutinosa*)、黄瓜 (*Cucumis sativus*) 和苋色藜 (*Chenopodium amaranticolor*) 上,根据它们在这些鉴别寄主上所引起的症状特点,把类似的分离物逐渐淘汰,余下在鉴别寄主上症状显著不同的4个分离物作为鉴定的代表株(见表1)。这4个分离物按它们在辣椒上引起的症状特点,分别称为辣椒轻花叶型分离物(PMMI)、辣椒绿脉带型分离物(PGVBI)、辣椒黄色花叶型分离物(PYMI)和辣椒枯斑型分离物(PLMI),并分别保存在心叶烟、辣椒、哈瓦那38号烟和千日红 (*Gomphrena globosa*) 上,作为各项研究的毒源。

表1 广州郊区辣椒花叶病代表分离物在鉴别寄主上的症状及繁殖寄主

分离物名称	采集地点	在鉴别寄主上的症状			繁殖寄主
		元岗甜椒	38号烟	心叶烟	
PMMI	沙河公社龙洞大队	轻型花叶	花叶	花叶	心叶烟
PGVBI	沙河公社棠下大队	斑驳绿脉带	不侵染	不侵染	辣椒
PYMI	沙河公社龙洞大队	黄色花叶	黄色花叶	局部枯斑	38号烟
PLMI	沙河公社棠下大队	局部枯斑	局部枯斑	局部枯斑	千日红

各分离物的寄主范围、物理性质(包括致死温度、体外保毒期和稀释终点)、交互保护作用 and 蚜虫传毒试验,除特别提到的之外,皆按常规方法进行。每项试验重复三次。

试验的具体方法和结果

(一) 辣椒花叶病4个分离物的分布情况 如上所述,我们曾把不同采集地采集的病样,按照它们在鉴别寄主上的症状归类为四个分离物,其中PMMI在每个采集地均有采到,共22个,PLNI 6个,PGVBI 5个,PYMI只有1个,可以初步认为广州郊区的辣椒花叶病主要是由PMMI病原病毒所引致。从采集地的病毒类型来看,棠下大队共有三种类型,表明这里发生的病毒病是较复杂的。在采集的病样中还有24个没有接种成功,它们可能是生理性病害或是由于某些原因接种不上,这一点与一些研究者遇到情况相类似^[28]。

(二) PMMI的鉴定 [本试验鉴定为黄瓜花叶病毒的辣椒轻花叶型株系(CMV—PMMS)]

1. 寄主范围和症状: 本分离物的寄主范围较广,经汁液接种测定的7个科26种植

物中, 有 5 个科 18 种植物感染发病。

产生花叶症状的寄主植物有: 黄瓜、南瓜 (*Cucurbita moschata*)、普通烟三个品种 (*N. tabacum* 'Havana 38', 'Xanthi-nc', 'Samsun')、心叶烟、番茄 (*Lycopersicon esculentum*)、茄子 (*Solanum melongena*)、龙葵 (*S. nigrum*)、曼陀罗 (*Datura stramonium*)、酸浆 (*Physalis floridiana*)、百日菊 (*Zinnia elegans*)、眉豆 (*Vigna cylindrica*)。

产生局部枯斑的寄主植物有: 苋色藜、昆诺阿藜 (*Chenopodium quinosa*)、七叶仔豇豆 (*Vigna sinensis*)、绿豆 (*Phaseolus aureus*) 和蚕豆 (*Vicia faba*)。

不感染的植物有: 矮牵牛 (*Petunia hybrida*)、蕹达菜 (*Beta vulgaris*)、千日红、双季玉豆 (*Phaseolus vulgaris*)、台山白菜 (*Brassica chinensis*)、中花菜心 (*B. parachinensis*)、咸阳大白菜 (*B. pekinensis*) 和马耳早萝卜 (*Raphanus sativus*)。

2. 鉴别寄主的反应特征: 辣椒——植株矮化, 系统性轻型花叶, 严重时产生蕹叶症, 病株下部叶片偶然出现橡叶纹 (见图 1)。黄瓜——系统性花叶。普通烟——系统性花叶, 偶然在接种叶上出现橡叶纹 (见图 2)。

3. 物理性质: 按常规方法接种心叶烟进行测定, 结果表明, 本分离物致死温度为 55°C , 体外保毒期为 7 天, 稀释终点为 10^{-5} 。

4. 蚜虫介体的传毒试验: 本试验供试的蚜虫为棉蚜, 供试植物为黄瓜。试验结果, 本分离物可为棉蚜传递, 棉蚜的获毒饲养期少于 5 分钟, 传毒时间少于 3 小时, 表明棉蚜传递本分离物为非持久性的。

5. 交互保护作用试验: 在百日菊上先接种本分离物, 约 10 天后选花叶症状明显的叶片再接种 CMV 的 Price No. 6 株系, 另选栽培情况相同的健康百日菊也用 Price No. 6 株系接种做为对照。处理接种 9 株, 对照接种 3 株。试验结果, 接种 5~7 天后在对照株的每片接种叶上产生 2~8 个枯斑, 而处理株至第 15 天后也未见出现任何枯斑。这表明本分离物在百日菊上对 Price No. 6 株系有保护作用, 即表明两者是有亲缘关系的。

6. 血清学研究: 提纯程序基本按 Lot 和 Marrou 的方法进行^[27]。试验按常规琼脂免疫双向扩散法。用同样处理的健康植株和正常兔血清做对照。试验重复 6 次, 以肉眼可见的沉淀线做为阳性的标准。

试验结果, CMV 抗血清与 PMMI 抗原扩散反应为阳性, 与普通 TMV 抗原扩散反应为阴性; 普通 TMV 抗血清与本身抗原扩散反应为阳性, 与 PMMI 抗原扩散反应为阴性; 所设对照均为阴性。表明 PMMI 与 CMV 有密切的亲缘关系而与 TMV 无亲缘关系 (见图 3, 4)。

7. 病毒粒子的形态观察: 病毒制样按常规磷钨酸负染法进行。把 PMMI 半提纯液制样后在电镜下观察, 可见大量球状的病毒颗粒, 直径约为 27 毫微米, 有些粒体有中空现象。在相同方法处理的健株中未观察到类似的颗粒。

8. 病组织中内含体的观察: 取接种后 14 天的的心叶烟病叶用下列 4 种方法进行固定: (1) 常规双固定法, (2) 0.05% 锇酸固定 5 小时^[36], (3) 1.2% 高锰酸钾固定 2~4 分钟^[37], (4) 0.05M 氯化钙渗透 30 分钟后用 0.05% 锇酸固定 5 小时^[37]。

从上述4种固定病叶的超薄切片中均没有观察到病毒内含体。

9. 结论: 根据病毒粒子的形态与大小, 可以认为PMMI与CMV是相似的^[16]。血清学和交互保护作用研究结果又表明, PMMI与CMV存在着密切的亲缘关系。PMMI可由棉蚜作非持久性传递的这种性质也与CMV相同^[16]。在物理性质和主要寄主反应上, PMMI与范怀忠和柯冲^[8], 莽克强和史春霖^[1], Book和Guthrie^[14]所报道的CMV相似(见表2)。它们的物理性质也基本一致。在辣椒、普通烟、心叶烟、黄瓜、番茄和百日菊等主要鉴别寄主上所引起的花叶症状也基本相同。因此, 我们认为把PMMI鉴定为CMV的一个株系是恰当的, 并称之为CMV的辣椒轻花叶型株系(CMV-PMMS)。

表2 PMMI与文献上的CMV在物理性质和主要寄主反应上的比较*

CMV株系	报道人	物理性质			主要寄主反应									
		致死温度(0°C)	稀释终点	体外保毒期(天)	辣椒	烟	心叶烟	黄瓜	番茄	百日菊	大白菜	小白菜	豇豆	绿豆
十字花科蔬菜病原病毒(3号)	范怀忠 柯冲	55	5×10^{-3}	4	—	S	S	S	S	S	O	S	—	L
十字花科蔬菜病原病毒(4号)	范怀忠 柯冲	55	10^{-3}	6	—	S	S	S	S	S	O	O	—	L
细椒花叶病原病毒(河南)	莽克强 史春霖	60	10^{-3}	3	S	S	S	S	S	S	O	O	O	—
辣椒花叶病原病毒(肯尼亚)	Book Guthrie	65	10^{-5}	—	S	S	S	S	S	S	—	—	L	—
普通黄瓜花叶病毒	文献综述	50—65	10^{-4} — 10^{-5}	6—7	S	S	S	S	S	S或L	O或S	O或S	S、L或O	L或O
PMMI	作者	55	10^{-5}	7	S	S	S	S	S	S	O	O	L	L

*S=系统侵染 L=局部侵染 O=不侵染 —=没有测定

(三) PGVBI的鉴定〔本试验鉴定为辣椒脉斑驳病毒的辣椒绿脉带型株系(PVMV-PGVBS)〕

1. 寄主范围和症状: 按常规方法用PGVBI接种7个科中的24种植物。试验结果, PGVBI只在辣椒一种植物上引起症状, 前期引起叶片斑驳, 其后成绿脉带, 果实变形, 斑驳(见图5)。

在下列植物上均无症状: 普通烟的三个品种(Havana 38, Xanthi-nc, Samsun) 心叶烟, 番茄, 茄子, 龙葵, 蔓陀罗, 酸浆, 矮牵牛, 苋色藜, 昆诺阿藜, 蕹达菜, 千日红, 黄瓜、南瓜, 绿豆, 七叶仔豇豆, 蚕豆, 双季玉豆, 台山白菜, 中花菜心, 马耳早萝卜和百日菊。另外还加用0.2M磷酸缓冲液(pH7.2)来抹擦接种普通烟(Havana 38)心叶烟、黄瓜、苋色藜和蔓陀罗, 也没有产生症状。

2. 物理性质: 用缓冲液压榨病叶汁液接种辣椒来进行测定, 结果表明, PGVBI的

致死温度为 60°C ，体外保毒期为1天。

3. 蚜虫传毒试验：供试蚜虫为棉蚜，供试植物为岑村尖椒。试验结果表明，棉蚜可在辣椒间传递PGVBI。

4. 病组织中内含体的电镜观察：供试材料为表现绿脉带症状的辣椒嫩叶。组织超薄切片是按常规方法。样品在EM—400电镜下观察。

观察结果，在感病辣椒细胞质中有大量的风轮状和圆柱状内含体，也有弯曲的层状集合体和假结晶体（见图6，7）。

5. 病毒粒子的形态观察：供试材料为表现绿脉带症状的辣椒叶片。病毒半提纯程序基本按Delgadosanchez和Grogan的方法进行^[17]，但用1%亚硫酸钠代替巯基乙醇和二乙基二硫代碳酸钠作还原剂，并增加0.3M尿素。把PGVBI的半提纯液按前述方法制样后在电镜下检查，可见大量线状、弯曲的病毒粒子，长度约 720×14 毫微米（见图8）。

6. 血清学研究：供试抗原分别是加入了十二烷基硫酸钠（SDS）的新鲜病叶榨出液^[32]和病毒的半提纯液^[23]，供试抗血清是马铃薯病毒Y的抗血清。免疫扩散试验在含有SDS的琼脂板上进行^[20]。扩散孔直径为7毫米，孔间边缘距离为5毫米。平板在室温下放置48小时后记录。试验重复2次。

试验结果，所有抗原孔和抗血清孔之间均没有反应。初步表明PGVBI与马铃薯病毒Y之间，不存在血清学关系。

7. 结论：根据病毒粒子形态，在感病组织中有典型的风轮状内含体，以及可由棉蚜传递等特性，表明它是马铃薯Y病毒组的一个成员^[35]。

文献上报道从自然感病的辣椒上分离到的马铃薯Y病毒组的病毒有马铃薯病毒Y^[35]、烟草蚀纹病毒^[34]、辣椒斑驳病毒^[33]和辣椒脉斑驳病毒^[13]等。但在寄主范围上它们至少能侵染茄科中好几种植物，这显然与PGVBI仅在辣椒上引起外部症状的性质不同。国内报道的马铃薯Y病毒^{[4][5]}的寄主范围也相当广泛，显然也是与PGVBI不同的（见表3）。

血清学初步试验结果也表明，PGVBI与马铃薯病毒Y没有血清学关系，即它不是马铃薯病毒Y的一个株系。

唯一与PGVBI性质比较相类似的是Lana^[25]在尼日利亚报告的辣椒脉斑驳病毒（PVMV）。两者用人工接种都只能侵染辣椒；病毒粒子形态都是弯曲线状，长度在 730×14 毫微米左右；都可由棉蚜在辣椒间传递；在致死温度上，Lana的分离物是 65°C ，与PGVBI（ 60°C ）基本相同。根据血清学试验结果，Lana把他的分离物定为辣椒脉斑驳病毒的一个株系。既然PGVBI与Lana的PVMV在上述性质上十分相似，所以我们暂把PGVBI鉴定为辣椒脉斑驳病毒的绿脉带株系（PVMV-PGVBS）。

（四）PYMI和PLNI的鉴定 [本试验鉴定为TMV的辣椒黄色花叶型株系（TMV—PYMS）和辣椒枯斑型株系（TMV—PLNS）]

1. 寄主范围和症状：按常规方法分别用PYMI和PLNI接种7个科中的26种植物。

表3 PGVBI与文献记载的马铃薯Y病毒组病毒在物理性质和主要寄主反应的比较*

病 毒	报道人	物 理 性 质			主 要 寄 主 反 应							
		致 死 温 度 (0°C)	稀 释 终 点	体外保毒期 (天)	辣 椒	烟	心 叶 烟	番 茄	酸 浆	蔓 陀 罗	黄 瓜	苋 色 菜
马 铃 薯 病 毒Y (229号)	黎少梅 范怀忠	60	10 ⁻⁴	28	O	S	S	S	L	O	O	—
山东花生花叶病毒	史春霖 徐绍华	50	10 ⁻⁴	5	S	S	S	O	—	S	O	L
马铃薯病毒Y (YM80701-13)	杨永林 隋淑媛	—	—	—	S	S	S	O	L	—	S	L
马 铃 薯 病 毒Y	Smith	60	10 ⁻³	3	S	S	S	S	—	O	—	—
烟 草 蚀 纹 病 毒	Shepherd	55	10 ⁻³	10	S	S	S	S	—	S	—	—
辣 椒 斑 驳 病 毒	Purcifull Zitter	—	—	—	S	S	—	S	S	O	—	O
辣 椒 脉 斑 驳 病 毒	Brunt Kenten	60	10 ⁻⁴	8	S	S	—	—	—	—	—	L
辣 椒 脉 斑 驳 病 原 病 毒	Lana	65	10 ⁻⁵	3	S	O	O	O	O	O	O	O
PGVBI	作 者	60	—	1	S	O	O	O	O	O	O	O

* S=系统侵染 L=局部侵染 O=不侵染 —=没有测定

(1) PYMI引起花叶症状的寄主植物有元岗甜椒、普通烟二个品种(Havana 38和 Samsun)、番茄、茄子、龙葵、酸浆、百日菊、千日红和咸阳大白菜。

引起局部枯斑的寄主植物有岑村尖椒、心叶烟、普通烟(Xanthi-nc)、蔓陀罗、苋色藜、昆诺阿藜、蕹菜、豇豆、双季玉豆和眉豆。隐症带毒寄主植物有台山白菜。不侵染黄瓜、南瓜、矮牵牛、中花菜心、马耳早萝卜、绿豆和蚕豆。

在上述寄主植物中,有鉴别特征的寄主有:元岗甜椒——系统性黄色花叶,常出现黄色圈斑(见图9)。普通烟——系统性黄色花叶,常出现黄色圈斑(见图10)。心叶烟——接种叶产生局部枯斑。黄瓜——不侵染。

(2) PLMI引起花叶症状的寄主植物有龙葵、台山白菜、咸阳大白菜、中花菜心和百日菊。产生局部枯斑的寄主植物有元岗甜椒、岑村尖椒、心叶烟、普通烟二个品种(Xanthi-nc和Havana 38)苋色藜、蕹菜、豇豆、双季玉豆和眉豆。

产生系统性枯斑的寄主植物有普通烟(Samsun)、酸浆、蔓陀罗、千日红和昆诺阿藜。隐症带毒寄主植物有茄子和马耳早萝卜。不侵染黄瓜、南瓜、番茄、绿豆、蚕豆和矮牵牛。

在上述寄主植物中，有鉴别特征的寄主有：元岗甜椒——接种叶产生局部枯斑，严重感染时在茎上引起褐色坏死长条斑，随后整株枯死（见图11）。普通烟——在接种叶产生局部枯斑（*Havana 38*）或引起系统性枯斑（*Samsun*）（见图12）。千日红——系统性花叶，其后发生枯斑。黄瓜——不侵染。

在大田辣椒上，PLNI表现为系统性花叶和茎上褐色坏死长条斑两种不同的症状，分别采样在温室接种辣椒后均出现与后者相同的接种叶枯斑，其后茎上发生褐色坏死长条斑的症状。系统性花叶病样接种后为什么也出现局部枯斑症状的原因未明，有待进一步研究。

2. 物理性质：供试植物是心叶烟和普通烟。试验结果表明，PYMI的致死温度为 84°C ，体外保毒期 >6 个月，稀释终点为 10^{-5} 。PLNI的致死温度为 87°C ，体外保毒期 >6 个月，稀释终点为 10^{-7} 。

3. 蚜虫传毒试验：由于试验上的限制性，PYMI和PLNI的供试蚜虫分别为棉蚜和桃蚜，供试植物分别为元岗甜椒和台山白菜。结果表明，棉蚜不能传递PYMI，桃蚜不能传递PLNI。

4. 交互保护作用试验：为明确PYMI和PLNI与普通TMV（本研究室的烟草分离株）的亲缘关系，进行了此项试验。PYMI和PLNI与普通TMV的交互保护作用试验以PYMI和PLNI在感染TMV的普通烟哈瓦那38号上分别产生黄色圈斑和局部枯斑为依据。用TMV接种普通烟，约15天后在花叶症状明显的叶片上分别接种PYMI和PLNI，同时也分别用这两分离物接种栽培情况相同的健康烟草叶片做为对照。各处理各接种9株，对照接种6株。

试验结果，在感染TMV的普通烟叶片上接种PYMI，不出现这一株系在普通烟叶片上引起的特有的黄色圈斑，但在对照株上接种6天后则开始出现黄色花叶，15天左右出现黄色圈斑。这表明在烟草上TMV对PYMI有保护作用，两者有亲缘关系。在感染TMV的普通烟和健康烟叶片上分别接种PLNI，皆产生PLNI特征性的枯斑，但在处理株接种叶上，平均每片叶的枯斑数为26个，在对照株接种叶上，平均每片叶的枯斑数为253个。这表明TMV在普通烟上对PLNI有一定的不完全的保护作用，两者有可能是亲缘关系较远的两个株系。

5. 血清学试验：PYMI和PLNI的半提纯按Gooding用8%正丁醇作澄清剂和两次聚乙二醇沉淀的方法进行^[19]。按常规不完全福氏佐剂方法用PYMI和PLNI免疫家兔制备抗血清。

试验用琼脂免疫双向扩散和免疫对流电泳两种方法进行。供试抗原用病毒的半提纯液。在各项试验中，抗原和抗血清不再进行稀释。试验重复6次，用同等处理的健株和正常兔血清做为对照。以肉眼可见的沉淀线作为判定阳性的标准。琼脂扩散基本按Dudman的方法^[17]，但抗原不进行超声波预处理。试验结果，PYMI和PLNI的抗原和抗血清分别与普通TMV的抗原和抗血清进行交叉扩散，反应俱为阳性。表明两分离物皆与普通TMV有共同的抗原决定簇，具有亲缘关系（见图13，14）。

把PYMI的抗原和普通TMV的抗原置于相邻抗原孔中，分别与它们的抗血清进行扩

散,两抗原各自所形成的沉淀带完全融合,且形状、位置相同,表明两抗原有十分相似的抗原决定簇,是亲缘关系很相近的两个株系(见图15)。

把PLNI的抗原和普通TMV的抗原置于相邻的抗原孔中,分别与它们的抗血清进行扩散,两抗原各自所形成的沉淀带不融合,普通TMV的沉淀带比PLNI有沉淀带有短小的突击刺,表明普通TMV较PLNI有小部分多余的抗原决定簇,是亲缘关系较远的两个株系。

对流电泳基本按胡雪芳等的方法^[6],但电泳液由pH8.6改为pH7.2。将PYMI和PLNI的抗原分别与普通TMV抗血清在琼脂板上进行电泳,电泳1小时后,两分离物的抗原孔与TMV抗血清孔之间皆出现明显的沉淀带,进一步表明两分离物与普通TMV存在亲缘关系。

6. 病毒粒子形态观察: 分别用PYMI和PLNI的半提纯液按负染方法制样后在电镜下观察,均观察到大量成束排列的直杆状病毒粒子,粒子长度均为 $200-500 \times 13-15$ 毫微米,在同样处理的健株对照样品中没有观察到类似的粒子。两分离物的病毒粒子形态、大小,提纯后的集合情况与一些研究者报道的情况相类似^[7]。此外,分别取感染了普通TMV、PYMI的哈瓦那38号烟叶片和正常烟草叶片用浸出法^[21]制样后,在电镜下观察,普通TMV和PYMI的两病样中也都观察到 $250-800 \times 13-15$ 毫微米的病毒粒子,

表4 PYMI和PLNI与文献记载的TMV在物理性质和主要寄主反应上的比较*

病 毒	报 道 人	物 理 性 质			主 要 寄 主 反 应								
		致死温度 (0°C)	稀 释 终 点	体外保 毒期 (天)	辣 椒	烟	心 叶 烟	蔓 陀 罗	番 茄	黄 瓜	大 白 菜	小 白 菜	豇 豆
烟草花叶病毒 (大白菜环斑型61-2)	裘维番 吴新兰	>90	10^{-8}	>32	-	S	L	L	S	O	S	S	-
烟草花叶病毒 (油菜24号)	李德葆	90	10^{-6}	>120	-	S	L	L	S	O	S	-	L
十字花科蔬菜第三 类病原病毒	柯 冲 范怀忠	90	5×10^{-4}	>120	L	L	L	SL	O	O	S	S	O
烟草花叶病毒 (薹菜45号)	王拱辰	97	10^{-8}	>90	-	L	L	L	O	O	S	S	L
烟草花叶病毒 (CPO株系)	Mathur Mishra	95	10^{-7}	-	S	L	L	L	S	-	-	-	O
普通烟草花叶病毒	文献综述	>90	10^{-7}	>30	S 或 L	S 或 L	L	L 或 SL	S 或 O	O	S	S	L 或 O
PYMI	作 者	84	10^{-5}	>120	S	S	L	L	S	O	S	S	L
PLNI	作 者	87	10^{-7}	>120	L	L	L	SL	O	O	S	S	L

* S = 系统侵染 L = 局部枯斑 SL = 系统性枯斑 O = 不侵染 - = 没有测定

正常烟草叶片样品中没有观察到类似的粒子。目前研究报道的TMV粒子一般大小为 300×15 毫微米。PYMI和PLNI的病毒粒子在长度上与目前报道的TMV粒子的长度差异较大,其原因很值得进一步研究。

7. 结论:血清学和交互保护作用研究结果表明,PYMI是TMV的一个亲缘关系十分相近的株系,PLNI是TMV的一个亲缘关系较远的株系。两个分离物均不能由蚜虫传递的特性与TMV的特性相一致^[8]。在物理性质和主要寄主反应上,PYMI和PLNI与文献^{[8][9][10][11][20]}所记载的TMV也很相似(见表4)。它们的致死温度都相当高($>80^{\circ}\text{C}$),体外保毒期长达1个月以上,在心叶烟、蔓陀罗上均引起枯斑,不能侵染黄瓜。从国内报告的TMV来看,似乎存在能侵染番茄^{[8][9]}与不侵染番茄^{[10][11]}的两种类型,PYMI与前者相同,PLNI与后者相同。

虽然,PYMI和PLNI的粒子长度与TMV的粒子长度差异较大,但综合上面几个方面的研究结果,我们认为暂时把PYMI和PLNI鉴定为TMV的两个株系是恰当的,分别称为辣椒黄色花叶型株系(TMV-PYMS)和辣椒枯斑型株系(TMV-PLNS)。

讨 论

本文鉴定了广州郊区辣椒花叶病的病原病毒有黄瓜花叶病毒的辣椒轻花叶型株系(CMV-PMMS),辣椒脉斑驳病毒的辣椒绿脉带型株系(PVMV-PGVBS),和烟草花叶病毒的辣椒黄色花叶型株系(TMV-PYMS)和辣椒枯斑型株系(TMV-PLNS)。

Makkous和Gumpf(1974)报道在美国最普遍和最严重的辣椒花叶病是由PVY和TEV引起的^[28]。但在广州我们还未分离到这两种病毒。Lockhart和Fischer^[29]和Maurizio conti和Vera Masenga^[30]根据由PVY引起的辣椒花叶病在前作或同季度广泛栽种马铃薯的地区发生最普遍,认为马铃薯是辣椒PVY花叶病的主要侵染源。在我们采样地的附近很少栽种马铃薯,而且过去在十字花科^{[3][10]}、和葫芦科^[12]等主要蔬菜作物上也未发现过PVY,所以本试验在辣椒上未能分离到PVY可能与缺乏侵染源有关。至于TEV这种病毒在广东从未见报道,而且这种病毒只在甜椒(*Capsicum annuum*)上引起系统性花叶而在广州种植的辣椒(*C. frutescens*)上则引起系统性凋萎,所以也不可能在广州种植的辣椒上存活,而本试验在辣椒上未能分离到TEV也是理所当然的。

根据本试验结果,广州辣椒花叶病病原病毒主要是由蚜虫传的CMV和PVMV,共占病毒分离物总数的79.4%,其中CMV又约为PVMV的4倍。从过去在十字花科^[3]和葫芦科^[12]、蔬菜作物上都普遍发现CMV这个事实来看,本试验结果显然也是正常的。因此,在防治上就应以CMV为主要的研究对象。

本试验分离到的TMV-PYMS株系与在烟草、番茄上常见的TMV株系不同,广州是首次报道,在病毒学上有其重要意义,值得注意。TMV-PLNS株系在许多特性和广州十字花科蔬菜花叶病病原病毒中的TMV株系完全相同,很可能是同一株系。虽然在辣椒这两种TMV株系所引起的病株很少,但在其它作物的侵染循环究竟如何,仍须继续探索。对广州辣椒花叶病病原病毒的研究本试验只是一个开始,尚待今后继续深入研究。

引用文献

- [1] 莽克强, 史春霖, 1963, 北京瓜类花叶病毒的调查研究, 《植物保护学报》2 (4): 423—429.
- [2] 杨永林、隋淑媛, 1981, 吉林省主要地区甜(辣)椒病毒病原鉴定简报, 《吉林农业科学》(8): 67—75.
- [3] 范怀忠, 柯冲, 1957, 广州及其附近十字花科蔬菜花叶病毒的鉴定, 《植物病理学报》3 (2): 155—168.
- [4] 黎少梅、范怀忠, 1974, 马铃薯花叶型退化病发生原因的初步研究, 《植物保护学报》3 (4): 421—422.
- [5] 史春霖, 徐绍华, 1979, 山东花生花叶病毒的研究, 《植物病理学报》9 (2): 131—136.
- [6] 胡雪芳, 钱元骏, 赵桂秋等, 1979, 家蚕胃肠型脓病血清学研究, I、质型多角体病毒免疫对流电泳, 《蚕业科学》5 (2): 16—21.
- [7] 张秀华、李国玄、梁锡炯、田波, 1980, 植物病毒弱毒系及其应用 1. 烟花叶病毒 番茄株系弱毒系的诱变和性质的研究, 《植物病理学报》10 (1): 49—54.
- [8] 裘维蕃、吴新兰、梁训生, 1922, 关于引致大白菜孤丁病的环斑型烟草花叶病毒的研究, 《植物保护学报》1 (2): 85—93.
- [9] 李德葆, 1964, 浙江油菜花叶病毒类型初报, 《植物保护学报》3 (2): 198.
- [10] 柯冲、范怀忠, 1964, 广州地区十字花科蔬菜花叶病第三类病原病毒的鉴定, 《植物保护学报》3 (2): 173—180.
- [11] 王拱辰, 1978, 浙江油菜花叶病毒类型研究, 《微生物学报》18 (4): 298—309.
- [12] 李芳、范怀忠, 1962, 广州地区瓜类花叶病毒的鉴定及调查, 《植物保护学报》1 (1): 82.
- [13] Brunt, A. A. and R. H. Kenten. 1972. Pepper veinial mottle virus. No. 104 i Description of plant viruses. Commonw. Mycol. inst. Assoc. Appl. Biol., Kew, Surrey, England.
- [14] Book, E. R. and E. J. Guthrie. 1975. Notes on East African plant virus diseases 9. Gucumber mosaic virus. Journal of East African Agriculture and Foristry. 41(1), 81-84.
- [15] Delgado-sanchez, S., and R. G. Grogan. 1965. Purification and properties of potato virus Y. Phytopathology 56 1397-1404.
- [16] Doolittle, and Jagger. 1979. Cucumber mosaic virus. No. 213 in Description of plant viruses. Cnmonw. Mycol. Inst., Assoc. Appl. Biol., Kew. Surrey, England.
- [17] Dudman, W. F. 1964. Differentiation of strains of tobacco mosaic virus by immune difusion in agar plates. Phytopathology 55 635-639.
- [18] Edwardson, J. R., and R. G. Christie. 1979. Light microscopy of inclusions induced by viruses infecting peppers. Fitopatologia Brasileira 4, 341-373.
- [19] Gooding, G. V. 1966. A simple technique for purification of tobacco mosaic virus in large quantities. Phytopathology 57, 228.
- [20] Gooding, G. V., JR., and W. W. Bing. 1970. Serological identification of potato virus Y and tobacco etch virus using immunodiffusion plates containing sodium dodecyl sulfate. Phytopathology 60, 1293 (Abstr.)
- [21] Hitchborn, J. H., and C. J. Hills. 1965. The use of negative staining in the electron

- microscopic examination of plant viruses in crude extracts. *Virology* 27, 528-540.
- [22] How, T. H. and L. Y. Li. 1963. Preliminary notes on the virus diseases of some economic plants in Kwang-tung province. *Journal of Lingnan Science* 15(1) 67-78. (see A. M. P. 1936, 15(5) 385.)
- [23] Jang Kyung Choi, Takanori Maeda and Satoshi Wakimoto. 1978. Serological properties of turip mosaic virus. *日本植物病理学会报* 44, 14-21.
- [24] Joshi, R. D. and L. N. Dubey 1973. Assessment of losses due to cucumber mosaic virus on chilli. *Science and Culture* 39 (11) 521-522. (see R. P. P. 1974, 53 (11): 4693.)
- [25] Lana, A. O. 1975. An unusual new virus from pepper in Nigeria. *Phytopathology* 65, 1329-1332.
- [26] Lockhart, B. E. L., and H. V. Fischer. 1974. Serious losses caused by potato virus Y infection in pepper in Morocco. *Plant Disease Reporter* 58 (2) : 141-143.
- [27] Lot, Marrou, Quiot, and Esvan. 1979. Cucumber mosaic virus. No. 213 (No. 1 revised) in *Description of plant viruses*. Commonw. Mycol. Inst., Assoc. Appl. Biol., Kew, Surrey, England.
- [28] Makkouk, K. M., and D. J. Cumpf. 1974. Further identification of naturally occurring virus disease of pepper in California. *Plant Disease Reporter*, 58 1002-1006.
- [29] Mathur, S. B., M. D. Mishra, and V. P. Tiwari. 1966. A new strain of tobacco mosaic virus affecting chilli pepper variety Puri Orange. *Plant Disease Reporter* 50, 619-622.
- [30] Maurizio Conti, Vera Masenqa. 1977. Identification and prevalence of pepper viruses in Northwest Italy. *Phytopathologische Zeitschrift* 90, 212-222.
- [31] Mayer, Iwanowski, and Allard. 1975. Tobacco mosaic virus. No. 151 in *Description of plant viruses*, Commonw. Mycol. Inst., Assoc. Appl. Biol., Key, Surrey, England.
- [32] Purcifull, D. E., E. Hiebert, and J. G. McDONALD. 1973. Immunochemical specificity of cytoplasmic inclusions induced by viruses in the potato Y group. *Virology* 55, 275-279.
- [33] Purcifull, D. E., T. A. Zitter, and Ernest Hiebert. 1978. Morphology, host range, and serological relationships of pepper mottle virus. *Phytopathology* 65, 559-562.
- [34] Shepherd, R. J. 1971. Tobacco etch virus. No. 55 in *Description of plant viruses*. Commonw. Mycol. Inst., Assoc. Appl. Biol., Key, Surrey, England.
- [35] Smith, K. M. 1970. Potato virus Y. No. 37 in *Description of plant viruses*. Commonw. Mycol. Inst., Assoc. Appl. Biol., Key, Surrey, England.
- [36] Warmke, H. E. 1967. Use of dilute Osmium tetroxide for preservation of three-dimensional crystals of tobacco mosaic virus. *Virology* 32 : 534-537.
- [37] Warmke, H. M. 1968. Fine structure of inclusion formed by the aucuba strain of tobacco mosaic virus. *Virology* 34 : 149-157.

IDENTIFICATION OF THE CAUSAL VIRUSES OF THE MOSAIC
DISEASE OF PEPPER IN THE SUBURB OF GUANGZHOU

Ho S. C. Faan H. C. Gao C. W. Lou S. H.

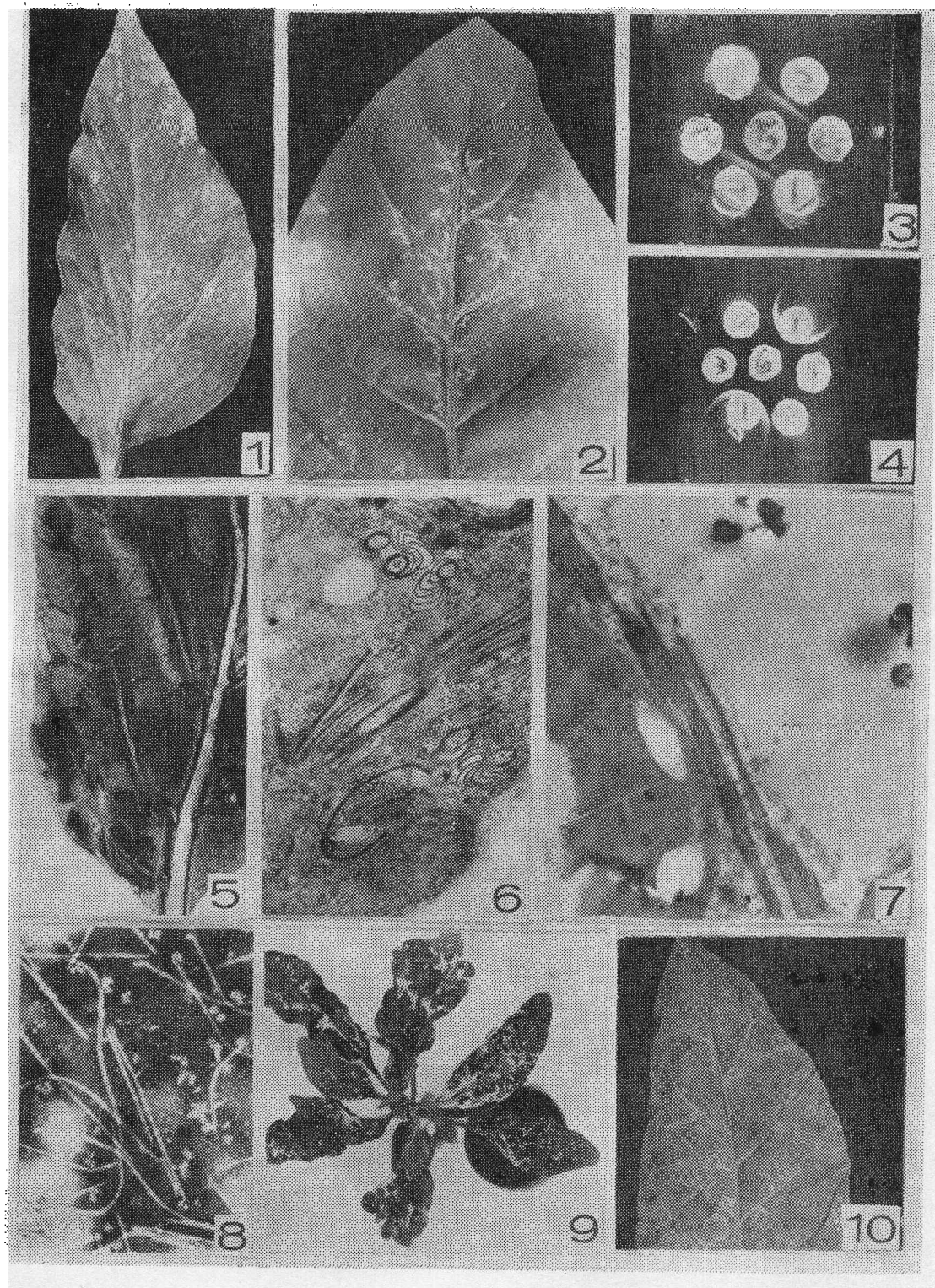
(Department of Plant Protection)

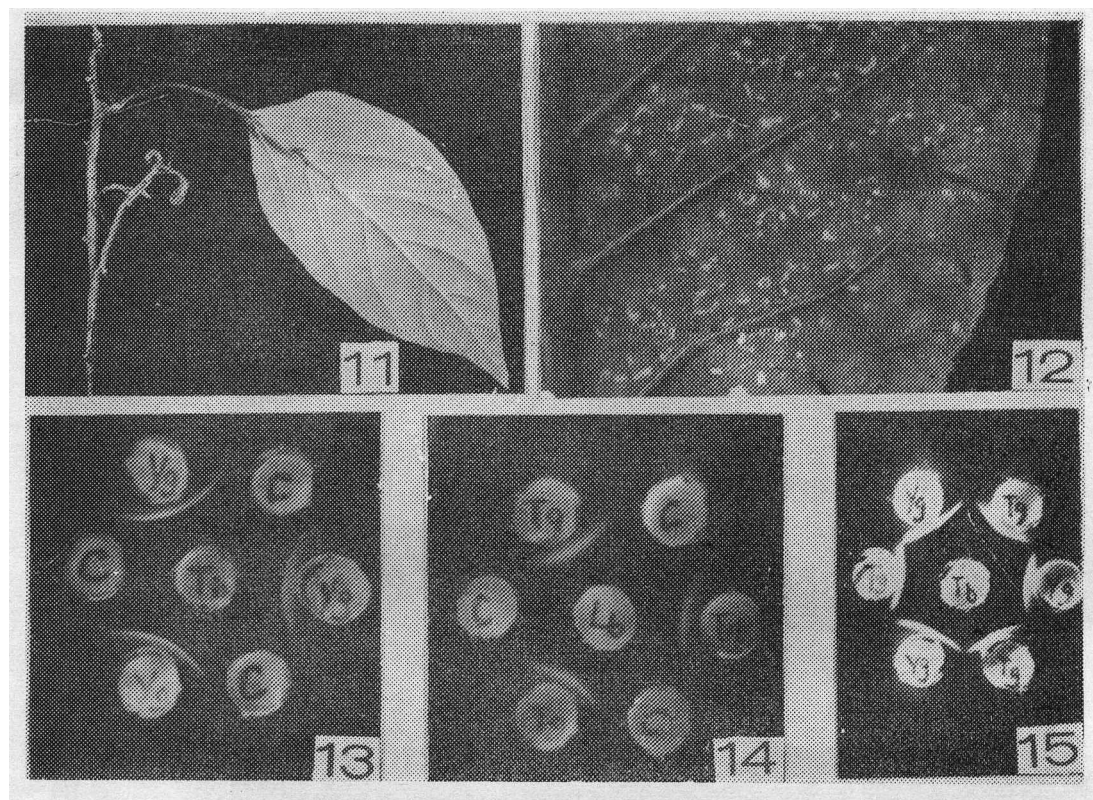
ABSTRACT

The mosaic disease is one important factor limiting the production of pepper *Capsicum frutescens* in the suburb of Guangzhou. The results of field survey showed that disease incidence was 30-60% in the growing season of 1981.

Tests were made to determine the identity of the causal viruses. During the period starting from the Spring of 1980 to the Summer of 1981, a total of 58 samples of the affected peppers were tested. On the basis of virus particle morphology, serology, physical properties and host range, a strain of cucumber mosaic virus designated as pepper mild mosaic strain (CMV-PMMS), a strain of pepper vein mottle virus designated as pepper green vein-banding strain (PVMV-PGVBS) and two strains of tobacco mosaic virus designated as pepper yellow mosaic strain (TMV-PYMS) and pepper local necrosis strain (TMV-PLNS) were identified. Among these viruses cucumber mosaic virus (CMV-PMMS) was most frequently isolated from the diseased plants in the fields.

附图





附 图 说 明

图 1 PMMS在岑村尖椒上引起的橡叶纹症状。

图 2 PMMS在Havana 38号烟上引起的橡叶纹症状。

图 3、4 琼脂免疫双向扩散图 1.普通TMV抗原；2.PMMS抗原；3.同样处理的健康心叶烟（对照）；4.同样处理的健康38号烟（对照）；5.CMV抗血清；6.普通TMV抗血清。

图 5 PGVBS在元岗甜椒上引起斑驳、绿脉症状。

图 6 PGVBS在感病的岑村尖椒细胞质中产生的风轮状、园柱状内含体和弯曲的层状集合体， $\times 43200$ 。

图 7 PGVBS在感病的岑村尖椒细胞质中产生的假结晶体， $\times 9257$ 。

图 8 PGVBS的病毒粒子形态， $\times 50000$ 。

图 9 PYMS在元岗甜椒上引起系统性黄色花叶。

图 10 PYMS在Havana 38号烟上引起的黄色圈斑。

图 11 PLNS在元岗甜椒上引起的茎褐色长条斑和整株枯死。

图 12 PLNS在Samsun烟上引起系统性枯斑。

图 13、14 琼脂免疫双向扩散图 Yg.PYMS抗原；Tb.普通TMV抗体；Tg.普通TMV抗原；Lb.PLNS抗体；C.对照。

图 15 琼脂免疫双向扩散图 Yg.PYMS抗原；Tg.普通TMV抗原；Tb普通TMV抗体。