

## 我国为害番茄的病毒种群与烟草花叶病毒 (TMV) 株系分化的初步鉴定

全国番茄抗病育种协作组

郑贵彬 徐鹤林 熊助功

(西安市农业科学研究所, 西安) (江苏省农业科学院, 南京) (上海农业科学院, 上海)

### 提 要

我国占番茄面积最大的春季露地和保护地栽培的番茄, 近些年由于烟草花叶病毒 (TMV) 引致的病毒病发生为害, 每年都程度不同地造成损失, 全国番茄抗病育种协作组在确定TMV为抗病育种主攻目标的同时, 以Pelham, J (1968) 提出的基因对基因的相关性概念为TMV株系分类的原则, 进行了全国番茄TMV株系鉴定的联合试验, 鉴定结果: 我国为害番茄的TMV存在着株系分化, 其中只侵染感病品种 (+/+ ) 的0株系占有TMV自然群体的绝大多数, 这一株系普遍存在于我国南北各地的番茄产区 (重庆、兰州、西安、南京、上海、北京、吉林、哈尔滨、广州); 少数地区 (西安、南京、北京) 出现了侵染Tm型抗病品种的1株系; 能侵染Tm-2/Tm-2纯合基因品种的2株系 (南京、吉林) 和能侵染Tm/Tm、Tm-2/Tm-2两个纯合基因及Tm/Tm·Tm-2<sup>pv</sup>/Tm-2<sup>pv</sup>复合基因品种的1.2株系 (北京) 仅在局部田块里分离出。随着这些TMV株系的出现, 育种工作者可采取相应的对策, 利用有关的抗源材料, 源源不断地培育出新的抗病品种和后备材料, 从而掌握了控制病害的主动权。同时, 摸清病毒株系也为抗病品种的推广、合理布局提供了依据。再则, 我国自国外引进大量抗TMV基因的番茄品种仅短短十多年历史, 却分离有2和1.2株系, 这对我国各地近几年大面积推广种植含Tm-2抗病基因的番茄品种会带来潜在的危险。其分化原因, 究竟是通过引种传入的或是株系分化现象, 有待进一步探讨。

番茄病毒自六十年代中期开始在我国发生为害, 迄今已在各地广为传播, 且日趋严重, 现已成为威胁番茄生产的重要病害。经十多年来的防治实践证明, 选育抗病品种是一项根本性的防治途径, 因此, 查清病毒病的毒源类型、株系分化及其分布, 对有目的地开展抗病育种、研究抗病遗传规律及室内苗期筛选等是必不可少的的基础工作。为此, 1979

本稿1986年10月29日收到。

注: 参加病毒鉴定的单位 (人员) 有江苏省农科院蔬菜所 (徐鹤林、龙明生)、西安市农科所 (郑贵彬)、上海市农科院园艺所 (姚文岳、丁辛顺)、中国农科院蔬菜所 (蔡少华、冯兰香)、东北农学院园艺系 (郑品清)、华南农学院植保系 (高乔婉)、北京市农科院植保所 (周桂珍、王先彬)、西南农学院植保系 (苏家玖)、重庆市农科所 (黎策义)、吉林省蔬菜所 (杨永林)、兰州市农科所 (陆家兴)。本项工作承蒙西北农业大学植保系魏宇生教授提出宝贵意见, 特此致谢。

年中国农业科学院在重庆、广州先后主持召开全国蔬菜科研协作会议和全国蔬菜植保科研协作会议,会议决定成立番茄抗病育种协作组和番茄抗病鉴定协作组,两个协作组于1980年春在南京江苏省农业科学院蔬菜研究所联合召开会议共同组成番茄抗病育种协作组,并确定毒源鉴定(1980—1983年)的具体实施计划,按全国行政区划(华北、华东、西北、东北、华南、西南)所在的协作组成员单位,共同开展番茄病毒病原鉴定的联合试验。本文是病毒鉴定组1980—1983春进行全国为害番茄的病毒种群与烟草花叶病毒(TMV)株系鉴定试验所得结果的初步汇总。

## 材 料 与 方 法

**1、番茄病毒种群鉴定:** 番茄病毒种群的生物鉴定由协作组各成员单位分头进行,鉴定的毒源是自当地(北京、上海、南京、西安、重庆、长春、哈尔滨、兰州和广州)郊区春、夏、秋各茬番茄田块采集症状典型的病株,得到的毒源在防虫温室内按常规方法先接种于普通烟、心叶烟和番茄上,依症状特点初步归类,再选取代表毒源进行分离、纯化和增殖,然后做寄主反应试验和稳定性测定。寄主反应试验供试的鉴别寄主有茄科、葫芦科、苋科、豆科、藜科等植物12种左右,各3—5株,接种苗龄一般在3—4片真叶期,稳定性的测定寄主是心叶烟或苋色藜。

病毒粒体形态观察制样是取代表毒源的病毒制剂,作铜网滴样后,以1% pH7.5的磷钨酸负染2—5分钟,干燥后在电镜下观察。

**2、TMV的株系鉴定:** 在生物鉴定的基础上,各成员单位分别选取当地典型的TMV代表毒源,做三次单斑分离纯化后,携带样品于1982年11月下旬和1983年3月上旬分两批在江苏省农业科学院蔬菜研究所集中进行番茄病毒病TMV株系鉴定的联合试验。

TMV株系鉴定所用的鉴别寄主系中国农业科学院蔬菜研究所提供的GCR系统番茄,包括GCR26(基因型+/+)、GCR237(基因型Tm/Tm)、GCR236(基因型Tm-2<sup>nv</sup>/Tm-2<sup>nv</sup>)、GCR526(基因型Tm-2/Tm-2)、GCR254(基因型Tm/Tm·Tm-2<sup>nv</sup>/Tm-2<sup>nv</sup>)、GCR267(基因型Tm-2<sup>a</sup>/Tm-2<sup>a</sup>)。同时还加有亮黄烟和心叶烟。

各TMV代表毒源按常规接种于具有4片真叶的GCR系统的番茄苗上,每一鉴别寄主接种10株。亮黄烟、心叶烟各接3株。接种后在防虫温室内保持24—28℃的条件下。待症状出现后进行观察记载和归类。另设不接毒的为对照。

## 鉴 定 结 果

### 1. 番茄病毒的种群鉴定:

各地采样结果,番茄病毒病的毒源类型大同小异。主要有:

I类分离物:心叶烟、曼陀萝、苋色藜局部枯斑。白烟、亮黄烟有的局部枯斑、有的系统花叶。三生烟、辣椒系统花叶。千日红接种叶局部枯斑。番茄系统花叶或花叶坏死。不侵染黄瓜或西葫芦及蚕豆。它们的致死温度90—95℃、稀释终点 $2 \times 10^{-5}$ — $3 \times 10^{-7}$ 、体外存活期50—70天以上。这一分离物的稳定性和寄主反应与典型的烟草花叶病

毒 (TMV) 相同。[3, 8, 11] 从它们局部的或系统地侵染白烟、亮黄烟, 又把烟草花叶病毒种群区分为番茄系和普通系。

选取提纯的TMV病毒制剂, 做电镜观察, 均显示大量相同的约 $300 \times 16$ 毫微米的棒状病毒颗粒。

除广州外, 各市鉴定结果均以TMV为主, 即占栽培面积最大的春季 (3—7月) 保护地、露地番茄中, 鉴定出的TMV病毒标样为总标样2385份的66.07%。哈尔滨郊区几乎均为TMV。

II类分离物: 心叶烟、蔓陀萝、白烟、三生烟、辣椒、黄瓜或西葫芦以及番茄均为系统花叶。莧色藜、蚕豆为局部枯斑。其致死温度是 $55-65^{\circ}\text{C}$ 、稀释终点 $10^{-2}-10^{-4}$ 、体外存活期2—5天。从上述测定结果, 这一类分离物[3]应归属于黄瓜花叶病毒 (CMV)。此类毒源在露地春番茄中, 只是从6月中旬以后比例上升, 但夏、秋番茄几乎是以CMV危害为主。

电镜观察结果, 病毒粒体球形, 直径为30毫微米。这类毒源占25.67%。

鉴定中还分离出一定数量TMV和CMV的复合毒源, 占8.18%。

另外, 个别地区采到少量的马铃薯X病毒 (PVX), 其特点是局部侵染干日红, 接种叶上布1—2mm的外缘紫红色, 中心灰色的局部枯斑。系统侵染茄科寄主。致死温度 $70-80^{\circ}\text{C}$ 、稀释终点 $5 \times 10^{-5}-10^{-6}$ 、体外存活期70天以上。这类毒源仅占总标样的0.08%。

## 2. 烟草花叶病毒 (TMV) 的株系分化:

在全国TMV病毒株系鉴定的联合试验中, 各地共提供纯化的病毒分离物34份, 通过它们在GCR系统番茄鉴别寄主上出现的症状反应, 并根据Pelham的基因对基因的TMV株系分类标准, 确定有如下四类 (见表1和表2)。

表1 Pelham的TMV株系分类标准  
Tab.1 Classification indices of the strains of TMV by Pelham

抗病基因型	TMV 株系			
	0	1	2	1,2
+/+	S	S	S	S
Tm/Tm	R	S	R	S
Tm-2/Tm-2	R	R	S	S
Tm-2 <sup>a</sup> /Tm-2 <sup>a</sup>	R	R	R	R

S: 感病 R: 抗病

I类: 这一类占鉴定TMV分离物总数的73.5%, 它们仅在GCR26(+ / +)上产生系统花叶, 即接种后第9天开始出现症状, 或者畸形花叶, 或者疱斑花叶。是属于0株系。

II类: 这一类除系统侵染GCR26(+ / +)外, 还侵染GCR237(Tm/Tm)产生系统花叶, 症状出现最早的是在接种后的第9—12天 (北京、南京), 最迟的需17天 (西安), 这一类归属为1株系。占总数的14.8%。

III类: 南京0102和吉林81820-24属这一类, 能系统侵染GCR26(+ / +)、GCR236

表 2 全国为害番茄的TMV株系鉴定联合试验结果  
Tab.2 The results of the combined tests for the strains of TMV of infecting Tomato in China

TMV 毒源编号	亮 黄 烟	心 叶 烟	GCR26 (+/+)	GCR237 (Tm/Tm)	GCR526 (Tm2/Tm2)	GCR236 (Tm2 <sup>nv</sup> /Tm2 <sup>nv</sup> )	GCR254 (Tm/Tm · Tm2 <sup>nv</sup> /Tm2 <sup>nv</sup> )	GCR267 (Tm2 <sup>s</sup> /Tm2 <sup>s</sup> )	致病株系 pelham 1968
南京 032	L	L	Sm	0	0	0	0	0	0株系
西安 76-6	S	L	Sm	0	0	0	0	0	0株系
西安 76-23	S	L	Sm	0	0	0	0	0	0株系
兰州 F-1	L	L	Sm	0	0	0	0	0	0株系
兰州 st-1	L	L	Sm	0	0	0	0	0	0株系
兰州 sm-1	L-S	L	Sm	0	0	0	0	0	0株系
上海 82-77	L-S	L	Sm	0	0	0	0	0	0株系
上海 82-17	L	L	Sm	0	0	0	0	0	0株系
上海 82-99	L	L	Sm	0	0	0	0	0	0株系
上海 82-76	L	L	Sm	0	0	0	0	0	0株系
上海 82-62	L-S	L	Sm	0	0	0	0	0	0株系
北京 80-1	S	L	Sm	0	0	0	0	0	0株系
北京 80-6	L	L	Sm	0	0	0	0	0	0株系
哈尔滨 82Ⅱ-7	L	L	Sm	0	0	0	0	0	0株系
哈尔滨 82Ⅱ-11	L	L	Sm	0	0	0	0	0	0株系
哈尔滨 82-3	L	L	Sm	0	0	0	0	0	0株系
哈尔滨 82-5	S	L	Sm	0	0	0	0	0	0株系
吉林 81-820-3	L-S	L	Sm	0	0	0	0	0	0株系
吉林 81-820-7	L	L	Sm	0	0	0	0	0	0株系
吉林 81-820-13	S	L	Sm	0	0	0	0	0	0株系
重庆 83单5TV244	S	L	Sm	0	0	0	0	0	0株系
重庆 83单4TV145	S	L	Sm	0	0	0	0	0	0株系
重庆 83单2TV250	S	L	Sm	0	0	0	0	0	0株系
重庆 83单1TV239	S	L	Sm	0	0	0	0	0	0株系
广州 TMV-MO	S	L	Sm	0	0	0	0	0	0株系
南京 0126	L-S	L	Sm	Sm	0	0	0	0	1株系
西安 76-62	S	L	Sm	Sm	0	0	0	0	1株系
北京 109	L-S	L	Sm	Sm	0	0	0	0	1株系
北京 81-32	L-S	L	Sm	Sm	0	0	0	0	1株系
北京 81-14	L-S	L	Sm	Sm	0	0	0	0	1株系
南京 0102	L	L	Sm	0	Sm	Sm	0	0	2株系
吉林 81820-24	L	L	Sm	0	Sm	Sm	0	0	2株系
北京 82-85	L	L	Sm	Sm	Sm	Sym	Sym	0	1.2株系
北京 81-13	L	L	Sm	Sm	Str-SN	Str-SN	Str-SN	0	1.2株系
C K	O	O	O	O	O	O	O	O	

S: 系统侵染 L: 局部侵染 Sm: 系统花叶 Y: 黄色 Str: 条纹坏死 N: 枯斑

(Tm-2<sup>nv</sup>/Tm-2<sup>nv</sup>)和GCR526(Tm-2/Tm-2), 均表现皱缩花叶, GCR237(Tm/Tm) 无症状, 但可自接种叶上分离到病毒, 不侵染GCR254(Tm/Tm · Tm-2<sup>nv</sup>/Tm-2<sup>nv</sup>)和GCR267(Tm-2<sup>s</sup>/Tm-2<sup>s</sup>)。此类归属2株类; 占总数的5.9%。

Ⅳ类: 如北京的 L82-85 和 L81-13, 这一类的特点是不能侵染 GCR267(Tm-2<sup>s</sup>/

Tm-2<sup>a</sup>), 却能系统侵染其它各鉴别寄主, 但这两份分离物又互有区别, 除在GCR26 (+ / +) 和GCR237 (Tm/Tm) 上都产生系统花叶外, 主要是前者于接种后第7天开始在GCR526 (Tm-2/Tm-2)、GCR236 (Tm-2<sup>nv</sup>/Tm-2<sup>nv</sup>) 和GCR254 (Tm/Tm · Tm-2<sup>nv</sup>/Tm-2<sup>nv</sup>) 出现茎叶顶端严重坏死症状; 第9天后叶片相继出现系统的枯斑坏死。而后者在这三个鉴别寄主上都是系统花叶, 即GCR526 (Tm-2/Tm-2) 为深浅绿花叶, GCR263 (Tm-2<sup>nv</sup>/Tm-2<sup>nv</sup>) 和 (GCR254 (Tm/Tm · Tm-2<sup>nv</sup>/Tm-2<sup>nv</sup>) 植株上部茎叶皱缩和系统的黄色斑驳花叶。该类属于1.2株系。亦占总数的5.9%。

## 讨 论

随着我国人民对番茄的需求量大幅度增加, 番茄的种植面积逐年扩大, 但由于病毒病连年严重危害, 已成为番茄增产的主要障碍, 做为育种工作者, 针对这一生产中的突出问题, 确定病毒种类、株系分化及其分布情况是抗病育种研究的重要基础工作。

通过80—83年春连续三年多的系统鉴定结果, 首先明确我国导致番茄严重减产的主要病毒毒源是烟草花叶病毒 (TMV) 和黄瓜花叶病毒 (CMV), 阳间番茄于6月中旬前主要是TMV为害, 其后的各月CMV占优势, 而栽培面积最大的春季温室、早熟覆盖番茄和露地春番茄是TMV为主。因此, 全国番茄抗病育种协作组确定TMV为抗病育种的主攻目标。继而鉴定TMV的株系分化, 主要采用Pelham, J. (1968) (4, 6) 提出的基因对基因相关性概念的株系分类系统, 鉴定的结果是O株系占有TMV自然群的绝大多数, 这一株系普遍分布于我国南北各地 (重庆、兰州、哈尔滨、吉林、广州、上海、西安、北京、南京); 少数地区 (西安、南京、北京) 出现了1株系; 2株系和1.2株系分别在南京、吉林和北京的局部田块里分离到。

我国自国外引进带有抗TMV基因番茄品种只不过短短十多年历史, 却分离出带有潜在危险的2和1.2株系, 应引起高度警惕。国外<sup>(1, 6)</sup>曾屡次见报道有关株系分化情况, 英国原温室采集的TMV都是O株系, 1966年从荷兰引进含有Tm基因的抗TMV品种后, 仅仅两年就发现了很多能侵染Tm型抗病品种的1株系。1973年日本的千叶、神奈川、静岗等县也发生完全类似的现象。我国<sup>(9, 10)</sup>在几个地区出现了1株系, 彼此间只不过在GCR237 (Tm/Tm) 上出现症状的迟早有些差别, 这与普及含Tm基因的特罗皮克、瓦尔特、强力米寿、台湾红等品种有关, 这一点是可以理解的。关于侵染Tm-2的株系的存在, 欧美很早就肯定了, 日本野场等<sup>(2)</sup>1976年在感病品种上嫁接, 从Tm-2抗病接穗的发病部位分离出TMV, 能引起Tm-2抗病品种全身感染的株系。意大利Cirulli等和荷兰Rast<sup>(7, 8)</sup>先后发现有引起Tm-2<sup>a</sup>纯合品种系统枯斑和花叶症状的株系。我们在个别地区<sup>(9)</sup>分别分离出2株系和可侵染Tm-2/Tm-2、Tm/Tm · Tm-2<sup>nv</sup>/Tm-2<sup>nv</sup>的1.2株系, 而后者至今尚未见有报道。这两个株系的发生, 究其原因是经引种传入, 或是株系分化, 有待深入探讨证实。

对于从事抗病育种工作者来说, 必须明确当地造成危害的主导株系, 有的放矢地培育新的抗病品种。与此同时, 随时掌握株系的变异动态, 有预见性和针对性地运用有关抗源材料, 不断培育具有复合基因的后备材料, 以保证病害得到有效地控制。近些年

来, 全国番茄抗病育种协作组各成员单位, 针对我国番茄产区普遍存在着TMV的O株系和1株系这一现实, 积极采取措施, 通力协作, 陆续培育出含Tm基因的强丰、丽春和Tm-2基因的苏抗3号、苏抗4号、苏抗5号、早魁、早丰、佳红、浙粉杂2号等番茄抗病品种, 已在各地大面积推广种植, 对番茄防病增产起到极其明显的作用。现各地正全面普及, 在生产上将会发挥更大的效益。但现已发现局部地区存在有TMV的2株系和1.2株系, 这对原已推广开来的抗病品种, 将产生潜在的危险, 因此, 必须在发现地区采取防止扩散蔓延的相应措施, 诸如植物检疫、种子处理、拔除烧毁以及有关各项综合防治措施等, 以确保我国现有抗病品种能够持续地发挥防病增产效果。

### 参 考 文 献

- [1] 山川邦夫: 1977 野菜/抵抗性品种とその利用 73-79.
- [2] 野场和徳、岸国平: 1976 トマトレニわけるTMVの系統分化レニ関する研究。病害レニ関する試験成績 (野菜試験場, 昭和50年度) 47-58.
- [3] Smith, K.M., 1972, *A textbook of plant virus disease 3ed.*
- [4] Pelham, J., 1968 *TMV resistance. Rep. Glasshouse Crops Res. Inst.*, 45-48.
- [5] Pelham, J., J. T. Fletcher & J.H. Hawking., 1970. *Ann. Appl. Biol.* 65, 293-297.
- [6] Pelham, J., 1972. *Ann. Appl. Biol.* 71, 219-228.
- [7] Cirulli, M, & L. J. Alexander., 1975, *Plant Dis. Rep* 59, 465-469.
- [8] Rast, A. Th.B., 1975, *Agric. Res. Rep*, 11-46.
- [9] 徐鹤林、李惠芬、龙明生、刘裕岭, 1984, 中国蔬菜(1)44-48.
- [10] 郑贵彬, 1985, 陕西农业科学(5)21-22.
- [11] 郑贵彬, 1983, 中国农业科学(2)79-83.

## A Preliminary Study on the Virus Groups of Tomato and Strain Differentiation of Tobacco Mosaic Virus (TMV) in China

Zheng Gui-bin Xu He-lin Xiong Zhu-gong

(The National Cooperation Group for Tomato Disease-Resistant  
Breeding, Xian, Nanjing, Shanghai)

The differentiation of TMV strains was studied and identified all over the country according to the principle of classification of TMV strains proposed by Pelham, J. (1938). The results of identification show that there is a strain differentiation of TMV on tomato in China where four strains were isolated from tomato fields. The strain 0 which only infects susceptible varieties (+/+ ) holds the most considerable proportion in TMV population in nature, which is widely distributed in most of the tomato producing areas in China, from south to north (Chongqing, Lanzhou, Xian, Nanjing, Shanghai, Beijing, Jiling, Haerbing, Guangzhou); The strain 1 which appears in a few areas (Xian, Nanjing, Beijing) can infect the varieties with gene  $Tm_1$ ; The strain 2 (in Nanjing, Jiling) which can infect the varieties with homozygous gene  $Tm_2/Tm_2$  and the strain 1.2 (in Beijing) which can infect the varieties with the gene-type of  $Tm/Tm$  or  $Tm-2/Tm-2$  or with the compound homozygous gene  $Tm/Tm \cdot Tm-2^{av}/Tm-2^{av}$  were merely isolated from individual field. With the appearance of these TMV strain, breeders should take a corresponding measure to breed new virus-resistant varieties and preparative materials by means of relative resistant resources, holding the initiative in disease prevention and control, moreover, knowing the virus strains may provide a scientific basis for extending the disease-resistant cultivars into proper areas.

Nevertheless, it is only ten years since we have introduced a large number of TMV-resistant varieties from abroad, the appearance of strain 2 and strain 1.2 has occurred, and has brought about latent threat to the cultivars with resistant gene  $Tm-2$  that widely cultivated in China in recent years. Whether this phenomenon caused by plant introduction or strain differentiation is yet to be investigated.