

天津近郊番茄病毒类型的研究

郑燕棠 曹为玉 赵万英
朱海英 周良炎 王 民

(天津市农业科学院中心实验室, 天津300192)

提 要

应用 ELISA 间接法检测出天津近郊番茄上至少有 9 种病毒类型。且首次检测出国内在番茄上尚未报道的番茄黑环病毒 (TBRV)、绒毛烟斑驳病毒 (VTMoV)。

经生物学测定还分离出番茄上表现枯斑型的 86-125 和在豇豆上产生大红斑的 86-95-15 均与 13 种抗血清呈阴性反应的杆状待测病毒。

关键词: 番茄黑环病毒 绒毛烟斑驳病毒 番茄

番茄病毒是蔬菜上的重要病害, 病毒类型多达 30 多种^[1], 严重影响了产量和品质。根据我们研制的《植物病毒分类信息管理系统》^[2]的微机检索结果, 能侵染番茄的病毒类型有 80 多种, 而我国在番茄类型研究“六五”规划攻关项目中主要鉴定出四种病毒 (TMV、CMV、PVY、PVX)^[3], 尤其是本地区过去尚未开展这项研究, 查清病毒类型及其分布是研究抗病育种和制定防治措施的前提。本文报道天津近郊番茄病毒类型的研究。

材 料 与 方 法

(一) 血清学试验

1. 番茄标样: 从天津近郊采集标样 1000 多份中选出有代表性的 453 份保存在 -30°C 冰箱内供检测用。
2. 抗血清: 由农业部植检所血清室提供的 12 种抗血清和美国康奈尔大学病毒专家 D. Gon-Saves 提供的“TSWV”抗血清为抗体供检测用。详见表 1。
3. 酶标抗体: 辣根过氧化物酶标记羊抗兔结合物为市售产品。
4. 检测病毒采用 ELISA 间接法^[4], 在《DG-302 型酶联免疫检测仪》检测结果。测读波长 490nm 的 O.D 值。

结果判断: 当 $P/N \geq 1.5$ 判作阳性结果, P 代表样品的 O.D 值。N 代表阴性样品 O.D 值。

(二) 生物学测定

1. 供试的指示植物: 番茄 (*Lycopersicon Esculentum*), 心叶烟 (*Nicotiana glutinosa*),

本文于 1988 年 6 月 20 日收到。

*张成良先生为我室技术顾问, 并提供大量抗血清, 在此深表谢意。

表1
Table 1 抗血清类型
Types of Antiserum

序号	病毒 Viruses	抗血清 Antiserum
1	TMV	烟草花叶病毒抗血清
2	CMV	黄瓜花叶病毒抗血清
3	PVX	马铃薯X病毒抗血清
4	PVY	马铃薯Y病毒抗血清
5	TAV	番茄不孕病毒抗血清
6	TNV	烟草坏死病毒抗血清
7	TSWV	番茄丛矮病毒抗血清
8	TBRV	番茄黑环病毒抗血清
9	VTMOV	绒毛烟斑驳病毒抗血清
10	RCNMV	红三叶草坏死花叶病毒抗血清
11	TRSV	烟草环斑病毒抗血清
12	AMV	苜蓿花叶病毒抗血清
13	WCMV	白三叶草花叶病毒抗血清

千日红 (*Gomphrena globosa*)、豇豆 (*Vigna Siuensis*)、曼陀罗 (*Datura Stramonium*) 等17科45种寄主。

2. 番茄病毒标样：在血清学试验的基础上选出173份番茄病毒标样供生物学测定用。
3. 接种方法：汁液稳定性测定；电镜观察按常规方法进行^[5]。
4. 将分离到的六种病毒类型再用13种抗血清用ELISA间接法同测。

结果与讨论

一、ELISA检测

1. 以13种抗血清为抗体，以453份番茄标样为抗原，采用ELISA间接法，检测出天津近郊番茄上至少有9种病毒类型（详见表2）。其中检测出国内已经报道番茄上已存在7种病毒类型（TMV、CMV、PVX、PVY、TRSV、TNV、TAV），在ELISA检测基础上，用琼脂双扩散方法验证也呈阳性反应，且首次检测出国内在番茄上尚未报道的番茄黑环病毒（TBRV）和绒毛烟斑驳病毒（VTMOV）2种病毒类型，这二种病毒在国外分别由Smith（1946）和Weimer（1931, 1934）^[6]记述过。

2. 从血清学检测来分析田间病害流行情况首先明确了TMV、CMV是天津近郊番茄上主要病毒类型，呈阳性反应，两者占总检测数的69.1%。

二、六类分离物的初步鉴定

根据指示植物的症状表现，将接种叶的分离物归纳为六类分离物，详见表3。

从表3说明在生物学鉴定中不仅分离出国内已报道的TMV、CMV、PVX、PVY四种病毒，同时还分离出编号为86—125、86—95—15二种待测病毒。在上述试验的基础上，又对二种待测病毒进一步做了ELISA检测和汁液常规接种；寄主范围；病毒颗粒

表 2 ELISA检测番茄病毒病结果
Table 2 Results of ELISA Test on virus disease of tomato

序号	病毒类型	检测个数	阳性反应	百分率%	结果	电泳	琼脂双扩散结果
1	TMV	453	173	38.19	+	1	+
2	GMV	453	140	30.91	+	2	+
3	PVX	453	44	9.71	+	4	±
4	PVY	453	53	11.70	+	3	±
5	TAV	453	28	7.95	+	7	+
6	TNV	453	9	1.98	+	9	+
7	TSWV	305	0	0	-	~	~
8	TBRV	453	38	8.39	+	5	+
9	VLWGV	453	37	8.17	+	6	+
10	RCNMV	453	14	3.09	+	8	-
11	TRSV	453	38	8.39	+	5	+
12	AMV	453	14	3.09	+	8	+
13	WCMV	400	7	1.75	+	10	-

表 3 六类分离物在指示植物上的症状反应结果
Table 3 Symptoms of six isolates in the indicator plants

分离物	心叶烟	番茄	千日红	豇豆	蔓陀萝	血清学反应	初步鉴定
I-81-1	LN	SM	LN	LN(O)	LN	+TMV	TMV
II-86-125	LN	LN	O	O	LN	-(13种AS)	待测
III-86-95-3	SM	SM	SM/LN	LN	SM	+CMV	CMV
IV-86-20	SM	SM	LN	O	SM/LN	+PVX	PVX
V-86-15	SM	SM	O	O	O	+PVY	PVY
VI-86-95-15	SM	SM	SM	O/RN	SM	-(13种AS)	待测

备注: SM: 系统花叶 RN: 环斑
LN: 局部坏死 O: 无症状

观察初步分析在六种分离物中 II-86-125 与 TMV 有相似部分, 从形态上都属杆状, 且都在心叶烟上表现枯斑, 但是 86-125 在番茄上表现枯斑, 而 TMV 则表现系统花叶, 尤其 86-125 不侵染千日红, 对 13 种抗血清呈阴性反应, 能侵染 7 科 14 种植物, 纯化温度 90℃, 稀释终点 10⁻⁷, 体外存活期 6 天以上, 其性质有别于 TMV 等, 是番茄上尚未报道过的一个新的待测病毒。另外, VI-86-95-15 症状与 CMV 相似, 但是它在豇豆上产生局部大红斑, 其粒子形态为杆状, 对 13 种抗血清呈阴性反应, 能侵染 10 科 27 种植物, 纯化温度 60℃, 稀释终点 10⁻², 体外存活期 3 天等, 故 VI-86-95-15 是番茄上未曾报道过的一个新的待测病毒。其中 II-86-125 分离物是在 1986 年我们做田间调查时发现的。当时整株番茄叶片呈枯斑坏死, 损失严重, 误认为是真菌病害, 经试验证明是由汁液摩擦侵染的病毒性病害, 应密切注意该病毒的发生和危害。

参 考 文 献

- [1] G.P. Martelli, 1982, 园艺学学报, 127
 [2] 郑燕棠等, 1988, 天津农林科技 (1) 40—43
 [3] 徐鹤林等, 1984, 中国蔬菜, (1)—44
 [4] 张成良等, 1985, 植物病毒血清学技术农业出版社, 214—221
 [5] 袁维善, 1984, 植物病毒学, 农业出版社 98—103, 168—178
 [6] 奥良清等, 1982, 植物ウイルス事典, 朝食书店 526—527, 589—590

Studies on the Strain Types of Tomato Virus in the Tianjin Suburbs

Zheng Yan-tang Cao Wei-yu Zhao Wan-ying
Zhu Hai-ying Zhou Liang-yan Wang Min

(Tianjin Academy of Agricultural Science, Tianjin)

Tomato virus disease is an imperative problem for tomato production in the Tianjin suburbs. In 1986—87, using 13 antisera as antibodies, we detected 453 antigen samples of tomato by ELISA, finding that the main strain types were TMV (38.19%), CMV (30.91%), PVY (11.70%) and PVX (9.71%). And it was the first time for us to detect Tomato Black Ring Virus (TBRV) and Velvet Tobacco Mottle Virus (VTMoV) in tomato ever reported in China. Two undetermined rod-shaped particles observed by electron microscope were called 86-125 and 86-95-15, which cannot specially react with the 13 antisera by bioassay. It is explicit that TMV, CMV are the main virus diseases of tomato in Tianjin suburbs. The complex of tomato virus strains will continue to be studied in the future.

Key words: Tomato black ring virus Velvet tobacco mottle virus
Tomato