

侵染扁豆的三叶草黄脉病毒的鉴定*

李长松

(山东省农业科学院植物保护研究所, 济南250100)

提 要

1987年从泰安表现系统花叶的扁豆上分离到一个分离物B₂, 汁液摩擦接种9科38种植物, 它可侵染5科10种植物, 在扁豆和昆诺藜上引起系统花叶, 在苋色藜上引起局部枯斑。该分离物钝化温度为60—65℃, 稀释限点为10⁻³—10⁻⁴, 体外存活期为3—5天。可由桃蚜传播; 病毒颗粒线条状, 大小为700—760×12nm 病叶细胞内有风轮状内含体, 该分离物与三叶草黄脉病毒的抗血清有明显的阳性反应。根据这些特性, 该病毒属于马铃薯Y病毒组的三叶草黄脉病毒。

关键词: 扁豆 三叶草黄脉病毒

扁豆 (*Dolichos lablab* L.) 病毒病在泰安发生很普遍, 据作者在泰安郊区调查, 发病率一般在20—30%左右, 严重的可达80%, 主要症状为花叶和皱缩花叶。关于扁豆病毒病的毒原, 在北京沈淑琳等 (1985) 报道了苜蓿花叶病毒 (AMV)^[1], 在印度Capoor等 (1948) 报道了扁豆耳突花叶病毒 (DEM V)^[2]。作者从泰安表现系统花叶的扁豆上分离到一种病毒, 在10个病样中分离到两次, 另外有一种病毒系统侵染心叶烟、烟草、菜豆、豇豆等植物, 并与黄瓜花叶病 (CMV) 有血清学关系。本文报道第一类病毒 (B₂ 为代表) 的鉴定结果。

材 料 与 方 法

一、毒源及纯化方法: 在田间采集花叶症状的扁豆叶片, 带回室内用常规方法摩擦接种苋色藜 (*Chenopodium amaranticolor*) 等鉴别寄主, 在苋色藜上经过三次单斑分离纯化后存在昆诺藜 (*C. quinoa*) 上备用。

二、寄主范围: 按照常规方法用0.05mol/L磷酸缓冲液 (含1%巯基乙醇) 研磨, 摩擦接种9科38种植物, 接种2—3周后观察记载结果, 无症植株回接番杏 (*Teragonia expansa*)。

三、体外抗性测定: 采用常规方法^[1], 以番杏作为指示植物, 试验重复做两次。

四、蚜虫传毒试验: 在烟草上饲养的无毒桃蚜 (*Myzus persicae*), 饲毒前饥饿2—3小时, 饲毒1小时, 接种20株昆诺藜, 每株接种10头无翅蚜, 传毒12小时后再转株传毒, 最后以杀虫剂灭蚜, 2—3周记载发病株率。

本文于1990年10月10日收到, 1991年1月30日修回。

*本研究在山东农业大学朱汉城副教授指导下进行, 本所罗瑞梧研究员审阅文稿, 在此一并致谢。

五、血清学试验：血清学试验采用常规 SDS-琼脂双扩散方法 以病叶汁液作抗原，供试抗血清有三叶草黄脉病毒 (CYVV) 抗血清 (英国温室作物研究所 Brunt 博士提供)、三叶草黄脉病毒四棱豆株系统抗血清 (美国马里州大学 Corbett 博士提供)、芜菁花叶病毒 (TuMV) 抗血清 (日本藤泽一郎先生提供)、菜豆普通花叶病毒 (BCM) 抗血清和菜豆黄花叶病毒 (BYMV) 抗血清 (二者均由山东农业大学植保系病毒室提供)。

六、病毒颗粒及病组织超薄切片观察：用浸蘸法和粗提纯病毒 (病组织加适量磷酸缓冲液研磨，纱布过滤，氯仿澄清，PEG6000，沉淀二次，蒸馏水悬浮后备用)。在载有 Formvar 膜的铜网上制片，1% 磷钨酸染色后，在 JEM-1200EX 电镜下观察。

将发病明显的扁豆叶片切成 1 mm² 的小块，用 2% 戊二醛和 1% 鞣酸双固定，酒精系列脱水，Epon 812 树脂包埋，LKB-V 型超薄切片机切片，醋酸双氧铀和柠檬酸铅双染色，然后在 JEM-1200EX 电镜下观察。

结 果

一、寄主范围及感染症状

田间感病的扁豆表现系统花叶，叶片变小，节间缩短。分离物 B₁ 回接扁豆，接种叶无症状，心叶明脉，以后呈现系统花叶，严重时出现泡斑，植株矮化；在昆诺藜接种叶上表现褪绿斑，以后呈系统褪绿斑及花叶，是良好的繁殖寄主；在苋色藜接种叶上 7—12 天产生局部枯斑。B₁ 还系统侵染克利福兰烟 (*Nicotiana clevelandii*)、豇豆 (*Vigna sinensis*)，二者均表现系统花叶；在蚕豆 (*Vicia faba*) 上出现系统褐色枯斑。

B₁ 局部侵染普通烟 (*Nicotiana tabacum* var. "White Burley")、番杏 (*Tetragonia expansa*)、反枝苋 (*Amaranthus retroflexus*)、和菜豆 (*Phaseolus vulgaris* var "Top Crop")、均产生褪绿斑。

B₁ 分离物不侵染下列植物：藜科的甜菜 (*Beta vulgaris*)，茄科的烟草 (*Nicotiana tabacum* var "Bright Yellow"、"Samsun")、心叶烟 (*N. glutinosa*)、番茄 (*Lycopersicon esculentum*)、假酸浆 (*Nicandra physaloides*)、洋酸浆 (*Physalis alkekengi*)、矮牵牛 (*Petunia hybrida*)、曼陀罗 (*Datura stramonium*)、辣椒 (*Capsicum frutescens*)，苋科的千日红 (*Gomphrena globosa*)、鸡冠花 (*Celosia cristata*)，豆科的大豆 (*Glycine max* "红滑豆"、"1138—2")、决明 (*Cassia tora*)、花生 (*Arachis hypogaeae*)、红小豆 (*Phaseolus angularis*)、绿豆 (*P. aureus*)、利马豆 (*P. limensis*)、豌豆 (*Pisum sativum*) 长豇豆 (*Vigna sesquipedalis* "红嘴燕")、白三叶草 (*Trifolium repense*)，菊科的百日菊 (*Zinnia elegans*)、莴苣 (*Lactuca sativa*)、翠菊 (*Callistephus chinensis*)，葫芦科的黄瓜 (*Cucumis sativus*)、南瓜 (*Cucurbita mosachata*)，商陆科的商陆 (*Phytolacca acinosa*)，十字花科的大白菜 (*Brassica pekinensis* "胶州小叶")，玄参科的金鱼草 (*Mina acinosa*)。

二、体外抗性

B₁ 分离物在昆诺藜汁液中的钝化温度为 60—65℃，稀释限点为 10⁻²—10⁻¹，体外存

活期3—5天(18—22℃)。

三、蚜虫传播

桃蚜获毒后接种20株昆诺藜, 有10株发病, 传毒率为50%, 转株传毒20株昆诺藜未见发病, 可见该病毒可以由桃蚜传播。

四、血清学试验

B₂分离物在SDS-琼脂双扩散中与三叶草黄脉病毒(CYVV)的抗血清有明显的阳性反应, 而健株汁液对照无反应。B₂分离物与菜豆普通花叶病毒(BCMV)、菜豆黄花叶病毒(BYMV)及芜菁花叶病毒(TuMV)的抗血清无反应。

五、病毒粒体及病组织超薄切片的电镜观察

用浸蘸法和粗提纯病毒制片, 在电镜下均可见大量弯曲的线条状病毒粒体, 大小为700—760×12nm(图版V 1)接种种的扁豆叶片超切片在电镜下可见大量风轮状内含体(图版V 2)。

讨 论

从扁豆上分离出的B₂分离物的粒体为弯曲的线条状, 大小为700—760×12nm, 病组织内有风轮状内含体, 与三叶草黄脉病毒(CYVV)有密切的血清学关系, 在寄主范围及症状反应上与已报道的三叶草黄脉病毒(CYVV)极为相似^[6]。根据以上特性, 可以将B₂分离鉴定为三叶草黄脉病毒(Clover Yellow Vein Virus, CYVV)。国内外已报道自然侵染扁豆的病毒有苜蓿花叶病毒(AMV)^[8]和扁豆耳突花叶病毒^[9], 而三叶草黄脉病毒(CYVV)自然侵染扁豆的报道尚属首次。

据报道, CYVV株系之间在寄主范围上差异很大^[6], 国内外至今已报道了四个株系即典型株系^[6]、芜菁株系^[7]、四棱豆株系^[4]和菜豆株系^[8]。但分离物B₂与这四个株系在寄主反应上差异相当明显(见表1)。特别是B₂与四棱豆株系在钝化温度上差异很大, 前者为60—65℃, 而后者为30—40℃, 由此看来本文报道的分离物B₂与国内外报道的株系可能是不同的。

表1 B₂与已报道的CYVV在鉴别寄主上反应的比较
Table 1 Comparison of response of different CYVV strains on some hosts

株 系 Strains	典型株系 Typical strain	芜菁株系 Coriander strain	四棱豆株系 Winged bean strain	菜豆株系 Bean strain	B ₂
作者 Author	Hollings等 ^[6]	Singh等 ^[7]	Fox等 ^[4]	李长松等 ^[8]	本作者
普通烟(<i>Nicotiana tabacum</i>)	CL	O	—	O	CL
克利福兰烟(<i>N. clevelandii</i>)	M	VY, RS	—	O	M
菜豆(<i>Phaseolus vulgaris</i>)	M	O	M	CL, M	VN
扁豆(<i>Dolichos lablab</i>)	—	—	—	O	M
蚕豆(<i>Vicia faba</i>)	O	O	M	BL	BL
白三叶草(<i>Trifolium repense</i>)	M	M	O	O	O

CL: 褪绿斑; M: 花叶; O: 不侵染; VY, RS: 黄脉, 环斑; VN: 脉坏死; BL: 褪色枯斑; —: 没有试验
CL: chlorotic lesion; M: Mosaic; O: Non infected; VY, RS: Vein yellow, Ring spot; VN: Vein necrosis; BL: Brown lesion; —: Non tested

参 考 文 献

- [1] 田波、裘美云, 1988, 植物病毒研究方法(上)科学出版社。
 [2] 沈舒琳等; 1981 植物检疫研究报告。
 [3] 李长松、朱汉城, 1989, 山东农业大学学报, 20(4): 71—74。
 [4] Fox, M. and M.K. Corbett., 1985, *Plant Disease* 69: 352—354.
 [5] Hollings, M. and T.K. Narisani., 1956, *Ann. App. Biol.* 56: 99—109.
 [6] Hollings, M. and O.M. Stone., 1974, *Clover yellow vein virus CML/AAB, Description of Plant Viruses*, No 131.
 [7] Singh, R.P. and D. Lopez—Abella., 1971, *Phytopathology* 61: 333—334. .
 [8] Capor, S.P. and P.M. Varma., 1948, *Current Science* (2): 57—58.

Identification of Clover Yellow Vein Virus Infecting *Dolichos lablab*

Li Chang-song

(Institute of Plant Protection, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100)

An isolate of virus was obtained from *Dolichos lablab* in Tai-an, Shandong Province. It infected 10 plant species from 5 families out of 38 plant species from 9 families tested. It caused systematic mosaic on *Dolichos lablab* and *Chenopodium quinoa*, and local lesions on *C. amaranticolor*. Its thermal inactivation point was 60—65°C, dilution end point was 10^{-3} — 10^{-4} and longevity in vitro was 3—5 days. *Myzus persicae* was demonstrated as aphid vector. Virus particles were filamentous, about 700—760nm × 12nm. Pinwheel inclusion bodies were observed in the cytoplasm of the infected leaf under electron microscope. The virus reacted positively with the antiserum of Clover Yellow Vein Virus (CYVV) by immunodiffusion tests. On the basis of these characteristics, the virus isolate was considered to be identical to CYVV of the Potyvirus group.

Key Words: Clover Yellow Vein Virus *Dolichos lablab*