维普资讯 http://www.cqvip.com

89-94

第8卷第1期 中国病毒学 Vol.8 No.1
1993年3月 VIROLOGICA SINICA Mar.1993

侵染辣椒的烟草蚀纹病毒的鉴定

张满良 魏宁生

(15)

(西北农业大学植保系，杨陵712100)

S436.48
S432.41

提 要

1990年在杨陵从表现花叶畸形的辣椒上分离到H90-2分离物。汁液摩擦接种6科17种植物，病毒可侵染2科8种植物，在白肋烟、三生烟上出现坏死蚀纹，在辣椒、心叶烟、曼陀罗上出现花叶畸形，在苋色藜上出现局部枯斑。该分离物的致死温度为50—55℃，稀释限点10^{-3}—3×10^{-3}，体外保毒期3—5天，桃蚜可传毒。病毒粒体为线状，稍弯曲，长720—750nm，宽13nm，与烟草蚀纹病毒的抗血清有明显的阳性反应。根据这些特性，经初步鉴定该病毒属于马铃薯Y病毒组的烟草蚀纹病毒(TEV)。

关键词：辣椒 烟草蚀纹病毒 为害鉴定

烟草蚀纹病毒(Tobacco etch virus, TEV)属于马铃薯y病毒组的成员，在世界各地均有分布，主要为害茄科植物，包括辣椒、番茄以及烟草等[8]。在美国，TEV是辣(甜)椒生产一个重要限制因子，常常使产量和质量大幅度降低[9,10]。

在我国，1985年以来，谢联辉[2]、李慧琴[3]在福建、陕西的烟草上以及韦石泉[1]在沈阳的烟草和辣椒上发现了类似烟草蚀纹病毒的为害，但都未作过系统研究。1989年，魏宁生等[4]对陕西渭北烟草上的烟草蚀纹病毒作了较为详细的生物学和理化特性的研究。1990年，作者在陕西杨陵地区辣椒上也发现了烟草蚀纹病毒，并作了生物学特性、病毒的分离和提纯、电子显微镜观察以及血清学方面的工作，本文报道了鉴定的结果。

材料和方法

一、毒源的采集、纯化及繁殖 1990年夏季，在陕西杨陵地区辣椒上采得10株病毒标样，先接种在白肋烟(*Nicotiana tabacum CV white Burley*)上，结果有两株在接种叶上产生坏死园斑，在非接种叶上产生蚀纹。用枯斑分离后转接在心叶烟上，待表现症状后，尼龙纱罩内保留备用。用Samsun烟作为繁殖寄主。这两株分离物分别称为H90-1和H90-2。

二、代表毒源的生物测定 试验用H90-2分离物。寄主范围、寄主反应、抗性测定以及蚜虫传毒试验参考张成良[5]方法进行。寄主范围及寄主反应试验用6科17种植物，抗性测定用枯斑寄主

本文于1991年10月28日收到，1992年6月26日修回。

维普资讯 http://www.cqvip.com

苋色藜，每处理接种10—15株，重复2—3次。用Samsun烟作为蚜虫传毒试验寄主，测定的蚜虫种类有桃蚜（*Myzus persicae*）、甘兰蚜（*Brevicoryne brassicae*）、萝卜蚜（*Rhopalosiphum pseudobrassicae*）以及麦二叉蚜（*Schizaphis graminum*）。蚜虫均为室内培养的无毒蚜虫。每种蚜虫接15株，每株接10头，吸毒时间1—2小时，接毒2—4小时后，用药剂杀蚜，置无虫温室观察记载发病情况，每处理各重复二次。

三、病毒的提纯 烟草蚀纹病毒的提纯方法参考*Dougherty, W. G.*[7]进行，部分过程略有修改。H90-2分离物在Samsum烟上繁殖。用pH7.5的HEPES缓冲液，8%的PEG(6000)和0.1mol/L NaCl沉降两次，结合差速离心（5000—10000r/m）得到病毒悬液。

提纯后的病毒在UVIKON810型紫外分光光度计上进行紫外扫描，测定病毒的紫外吸收光谱。同时，将提纯的病毒悬液在有Formvar膜的铜网上滴样，用2%磷钨酸（pH7.0）负染2—3分钟后，在电镜下观察，并测量粒子大小及计算各种长度粒子所占比例。

四、H90-2病毒抗血清的制备 耳静脉注射用提纯的病毒悬液作为抗原。肌肉注射是在病毒悬液中加等量Freund完全佐剂（西德进口）充分乳化后，对体重约3公斤的健康公兔进行免疫。前三次用肌肉注射，每次间隔二星期，采血前一周再作一次耳静脉注射，注射量依次为3mg、4mg、4mg、3mg。在耳静脉采血，凝固后放于37℃温箱1—2小时收集抗血清，加25%NaN_3溶液二滴，4℃冰箱保存备用。

五、SDS-琼脂双扩散试验 介质组成为0.8%琼脂，0.5%SDS，0.1%NaN_3，2%牛血清白蛋白。H90-2病叶汁液经3000r/m离心后的上清液加等量3%SDS，室温下放置1小时后在琼脂凝胶孔内加样。其它操作方法同文献[6]。试验中所用TEV、PDX、PDY、TMV、WMV-2抗血清均为本病毒研究室提供。PVX、PVy、TMV、WMV-2病毒也为病毒研究室分离保存毒原。

结 果

一、带毒毒源的生物学测定

1. 寄主范围及寄主反应：H90-2分离物在Samsun烟上繁殖后，摩擦接种在6个科17种植物上，表1是测定的结果。结果表明，有2科8种植物能被H90-2侵染。茄科的白烟（图1A、B）、三生烟出现坏死蚀纹症状，心叶烟（图1.C.）、曼陀罗、辣椒出现花叶和畸形；番茄和矮牵牛出现斑驳花叶；藜科的苋色藜出现局部枯斑（图1.D）。其它植物均未出现症状，回接苋色藜后也同样无症状。

2. 体外性状：H90-2分离物在烟叶汁液中的致死温度为50—55℃，稀释限点为10^{-3}—3×10^{-5}，体外保毒期3—5天（20—22℃）。

3. 蚜虫传毒：用桃蚜、甘兰蚜、萝卜蚜以及麦二叉蚜作传毒试验表明，仅桃蚜能传播H90-2，传毒率为26%。甘兰蚜、萝卜蚜以及麦二叉蚜均不能传毒。

二、病毒提纯和电子显微镜观察

将提纯的H90-2病毒悬液用0.01mol/L，pH7.0的PBS缓冲液稀释后，在自动记录的UVIKON810型紫外分光光度计上进行紫外扫描，测定其吸收曲线。最大吸收峰为259nm，最小吸收峰为241.2nm，A260/280=1.28，结果见图4。

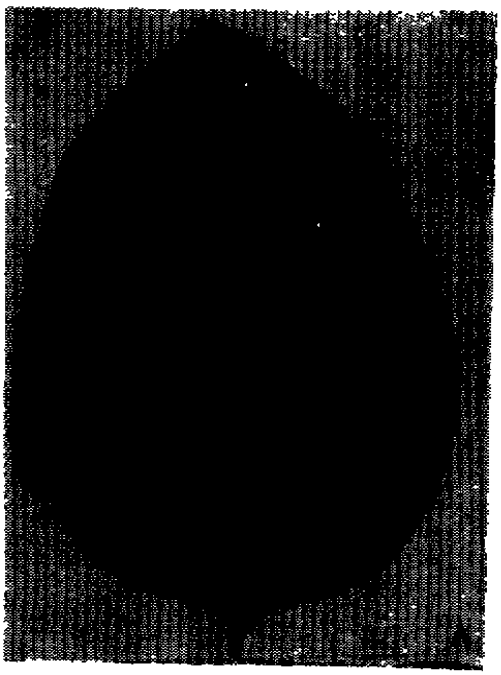
在电镜下看到病毒粒体形态为线状，稍有弯曲，粒子宽度为13nm，粒子长度差别较大，其中以700—750nm为数最多，约占60%左右，结果见图2。

维普资讯 http://www.cqvip.com

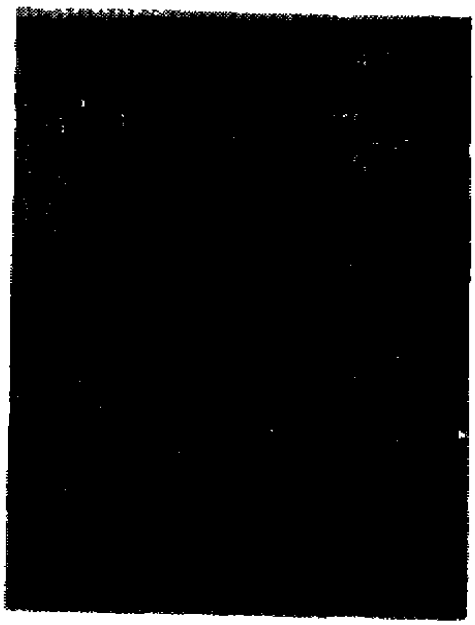
表 1. H90-2分离物的寄主范围及寄主反应
Table 1. Host range and host reaction of H90-2

寄主 Hosts		学名 Nomenclature	症状 Symptoms
茄科	心叶烟	*Nicotiana glutinosa*	M,Dis
	白烟	*N.tobacum*, White Burley	M,NE
	三生烟	*N.tobacum*, Samsun	M,NE
	曼陀罗	*Datura stromonium*	M,Dis
	辣椒	*Capsicum annuum*	M,Dis
	番茄	*Lycopersicon esculentum*	M
	矮牵牛	*Petunia hybrid*	M
藜科	苋色藜	*Chenopodium amaraticolor*	LN
	昆诺藜	*C.Quinoa*	O
豆科	菜豆	*Phaseolus Vulgaris*	O
	豇豆	*Vigna Sinensis*	O
	蚕豆	*Vicia faba*	O
葫芦科	西瓜	*Citrullus Vulgaris*	O
	黄瓜	*Cucumis Sativus*	O
	西葫芦	*Lagenaria Vulgaris*	O
苋科	千日红	*Gomphrena globosa*	O
十字花科	白菜	*Brassica pekinensis*	O

M：花叶　　Dis：畸形　　NE：坏死蚀纹
LN：局部枯斑　　O：无症状



A. 在白烟上的局部坏死（初期症状）
A. local lesions on tobacco, white Burlny (first symptom)



B. 在白烟上的蚀纹坏死（后期症状）
B. Etch lesions on tobacco white Burley (later symptom)

维普资讯 http://www.cqvip.com

C. 在心叶烟上的系统花叶
C. systematic mosaic on *Nicotiana glutinosa*

D. 在苋色藜上的局部枯斑
D. local lesions on *chenopodium amaranticolor*

图1. H90-2的寄主反应
Fig 1. Host reaction of H90-2

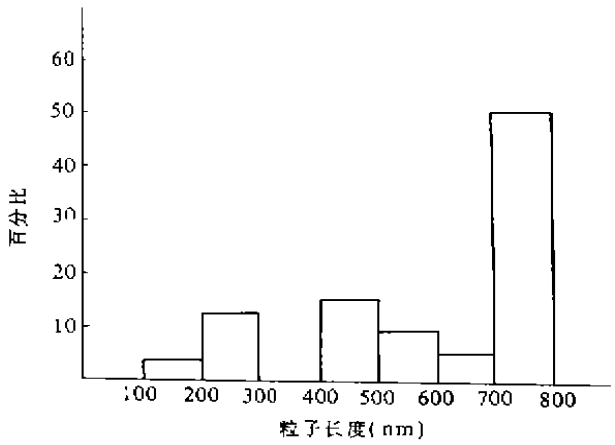


图2. H90-粒子长度分布频率
Fig2. Length distribution frequency of H90-2 particles

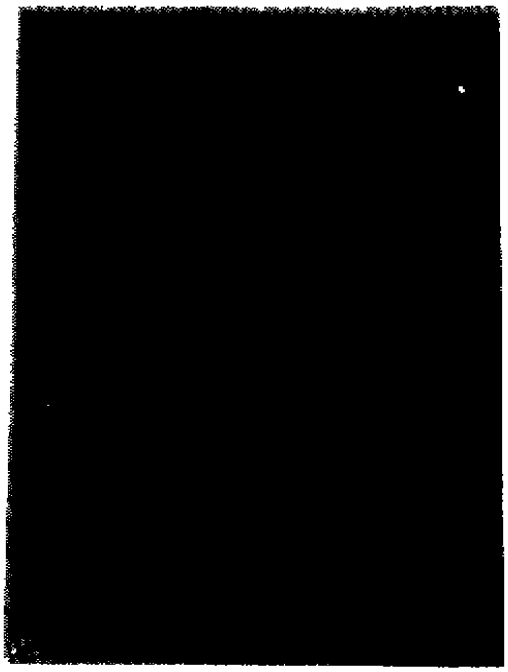


图3. H90-2病毒粒子电镜照片×48000
Fig 3. Electron micrographs of H90-2 particles ×48000

维普资讯 http://www.cqvip.com

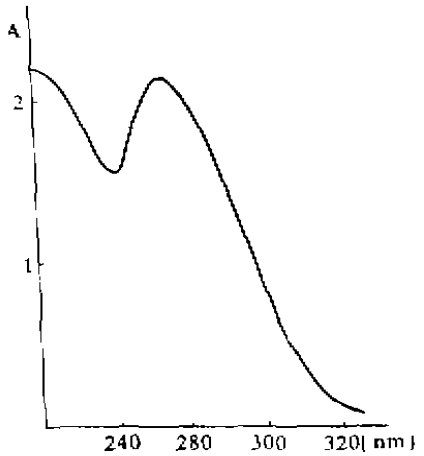


图4. H90-2病毒紫外吸收曲线

Fig 4. UV absorption curve of H90-2

图 5. SDS-琼脂双扩散试验

1. 中间孔：TEV抗血清 2. 其它孔：H90-2

Fig5. SDS-agar double diffusion test

1. middle hole, TEV antiserum

2. other holes, H90-2

三、抗血清效价的测定

试用管沉淀法测定，H90-2病毒制备的抗血清效价为1/512。

四、SDS-琼脂双向扩散试验

H90-2分离物在琼脂扩散中与TEV抗血清呈明显的阳性反应，图5是试验的结果。而与马铃薯y病毒（PVy）、马铃薯X病毒（PVX）、烟草花叶病毒（TMV）、西瓜花叶病毒2号（WMV-2）抗血清均无反应。用H90-2分离物制备的抗血清只与H90-2分离物有强阳性反应，而与PVy、PVX、TMV、WMV-2四种病毒无反应。

讨　论

从辣椒上分离的H90-2分离物的病毒粒体为线状，稍有弯曲，长720—750nm，宽13nm。在琼脂双扩散中与烟草蚀纹病毒(TEV)抗血清呈阳性反应。寄主范围、寄主反应、体外抗性以及蚜虫传毒测定与烟草蚀纹病毒极为相似。根据以上特性，可以将H90-2分离物初步鉴定为烟草蚀纹病毒。

在电镜下看到病毒粒子长短差别较大，其中有14%的病毒粒子长度在200—300nm之间，4%的病毒粒子在100—200nm之间。这些短粒子可能是提纯过程中出现断裂的结果。

1988年，我们从烟草上分离到烟草蚀纹病毒[4]，烟草和辣椒上分离的烟草蚀纹病毒是否有株系分化，尚待进一步研究。

烟草蚀纹病毒能够在辣椒上形成严重症状，影响辣椒产量和质量，因而调查其发病情况、为害程度以及造成的经济损失是十分必要的。

维普资讯 http://www.cqvip.com

参 考 文 献

〔1〕 韦石泉等，1986，辽宁农业科学，(3)：29—31.

〔2〕 谢联辉等，1985，中国植病学会第三届代表大会与学术讨论会论文摘要，第147页.

〔3〕 李慧琴，1986，西北烟草学会第一次代表大会交流材料，西安.

〔4〕 魏宁生等，1989，中国烟草，(1)：1—6.

〔5〕 张成良等，1980，植物病毒鉴定，农业出版社.

〔6〕 梁训生等，1985，植物病毒血清学技术，农业出版社.

〔7〕 Dougherty, W.G., 1983, *Virology*, 131 : 473—481.

〔8〕 Purcifull, D.E.et al., 1982, CMI/AAB Description of plant Virus, No.258

〔9〕 Anderson, C.W.1959.*Phytopathology*, 49 : 97～101.

〔10〕 Zipora Weinbaum, et al., 1976, *Plant Disease Report*.60 : 469—471.

Identification of Tobacco Etch Virus Infecting Capsicum annuum

Zhang Manliang Wei Ningsheng

(*Department of Plant Protection, Northwestern Agricultural University, Yangling, Shaanxi* 712100)

An isolate of virus was obtained from *Capsicum annuum* in Yangling of Shaanxi Province. Virus infected 8 plant species from families out of 17 plant species from 6 families tested. Virus Caused systematic lesion etch on *Nicotiana tobacum* white Burley and *N. tobacum samsun*, and mosaic and distorsion on *Datura stramonium* and *Capsicum annuum*, and local lesions on *Chenopodium amaranticolor*. Its thermal inactivation point was 50—55℃ dilution end point was 1000—3000, and longevity in vitro was 3—5 days. *Myzus persicae* was demonstrated as aphid victor. Virus particles were filamentous, about 720—750 nm x 13 nm. The virus reacted positively with the antiserum of Tobacco etch virus by immunodiffusion tests. On the basis of these characteristics, the virus isolate was considered to be identical to TEV of potyvirus group.

Key Words: Tobacco etch virus *Capsicum annuum*