

黄瓜花叶病毒侵染源的研究

鲁瑞芳* 刘元凯

(黑龙江省农科院园艺所, 哈尔滨, 150069)

S432.41

提 要 试验证明黄瓜花叶病毒(CMV)可经黄瓜种子传播, 传毒率为 0.20%, 传毒部位为种皮和种胚。经 ELISA 检测和枯斑反应, 7 种一年生和 12 种两年或多年生杂草感染 CMV, 其中刺儿菜、苦菜、还阳参、黄花蒿、伏委酸菜、鼠掌草和本氏蓼是 CMV 野生寄主新种, 苍耳、柱腺独行菜、凤花菜、益母草和酸浆 5 种杂草作为 CMV 野生寄主, 属国内首次报道。另外, 4 种观赏植物和 2 种树木也感染 CMV, 为该病毒的防治提供了依据。

关键词: 黄瓜花叶病毒 野生寄主 ELISA 枯斑反应 传毒率 侵染源, 寄生, 发生

CMV 可由 20 余种植物的种子传播^[1], 关于黄瓜种子能否种传 CMV 有不同的报道^[2,3]。国外对 CMV 野生寄主的研究较早, 涉及近百种杂草^[4,5,6]。Quiot 等从 39 种杂草中分离到 CMV, 而且某些株系通常从特定的杂草上分离到^[5]。我国 CMV 野生寄主的研究较少, 目前尚无黄瓜上 CMV 发生与野生寄主关系的报道。

材料与方法

- 1 种子带毒实验** 采用内蒙古赤峰生产的黄瓜商品种子(长春密刺)。种子催芽后播种于防虫温室内的消毒花盆中, 每盆两粒, 共播种 512 盆, 保苗 1024 株。出苗后观察有无典型症状。对有症状株用 ELISA 检测, 同时用单株分别接种苋色藜; 并使用 225 株健苗作为对照。
- 2 种子带毒部位测定** 将黄瓜种子置 25℃温箱中浸泡 4 小时, 剥去种皮, 用 ELISA 分别检测种皮、种胚是否带毒。
- 3 杂草和观赏植物的采集** 1988—1989 年 4—8 月份在哈尔滨郊区、伊春、绥化、大庆等地的黄瓜大棚、温室内及其附近, 采集标样 24 种; 每个棚室内采集杂草每种 3—5 株, 用无毒塑料袋分装。紫丁香采自哈尔滨郊区和大庆; 杨树苗和观赏植物均采自本所。全部标样用 ELISA 检测。ELISA 检测为阳性的标样接种苋色藜。
- 4 ELISA 检测方法** 采用间接 ELISA 方法^[7]。CMV 抗血清由农业部植物检疫实验所提供。CMV 抗血清、辣根过氧化物酶标羊抗兔免疫球蛋白 G 及抗原的工作浓度分别为 1:2000、1:1500 和 1:40。以大于阴性 OD 值两倍的为阳性反应。
- 5 常规摩擦接种** 0.05mol/L PBS pH6.5 与亲鲜病叶的比例为 5:1(V/W)。每个标样接种 5 株苋色藜, 观察 2—4 周。试验在半自动控温温室内进行, 用具及栽培土均经高压灭菌。试验期间室最高及最低平均温度分别为 25.2℃和 14.5℃。

结 果

- 1 种子带毒实验:** 对 1024 株黄瓜苗观察了 28 天, 子叶出现退绿斑、真叶呈现花叶的有 3 株,

本文于 1992 年 9 月 23 日收到, 1993 年 2 月 1 日修回。

* 现地址: 陕西杨陵西北农业大学植保系

使用 CMV 抗血清进行 ELISA 检测,呈阳性反应的有 2 株,并在宽色藜上呈枯斑反应;另一株经 ELISA 检测为阴性,但在宽色藜上仍出现枯斑,该株可能带有其他病毒。子叶无症状、真叶皱缩症的有 118 株;植株矮化、叶片畸形的有 48 株,ELISA 检测均为阴性,宽色藜上无枯斑。检测 225 株正常株也均为阴性反应(表 1)。因此黄瓜种子的带毒率为 0.20%。

2 种子带毒部位的检测:用 CMV 抗血清分别检测了 893 粒种子的种皮和胚,其中序号为 216 号和 704 号的种皮及 216 号的种胚均与 CMV 抗血清呈阳性反应,表明黄瓜种子的种皮和种胚均可带毒。

表 1 黄瓜种子带毒率检测

Tab. 1 Detection of the rate of cucumber seed with CMV

症状 Symptom	种子序号及 标样数量 Seed No. and number	ELISA 检测值 OD value of ELISA detection				结果 Result	枯斑反应 Necrotic spot reaction
		样品 Sample	CK ⁻	CK ⁺			
			Negative control	Positive control			
花叶 Mosaic Total	8	0.65	0.02	1.18	+	LN	
		0.64	0.04	1.43	+		
	103	0.11	0.04	0.34	-	LN	
		0.11	0.04	0.39	-		
	(共 3 个)	0.25	0.07	0.34	+	LN	
		0.27	0.08	0.30	+		
皱缩 Crinkling Total	110	0.06	0.03	0.31	-	O	
		0.07	0.04	0.32	-		
	163 (共 118 个)	0.05	0.04	0.28	-	O	
		0.04	0.04	0.33	-		
畸形 Malformation	125	0.10	0.06	0.34	-	O	
		0.11	0.07	0.39	-		
矮化 Stunting Total	133 (共 48 个)	0.09	0.07	0.35	-	O	
		0.09	0.07	0.38	-		
无症状 Non symptom Total	5 (共 225 个)	0.08	0.05	0.41	-	O	
		0.06	0.04	0.44	-		

+, Positive 阳性反应, -, Negative 阴性反应, LN, Local necrosis, 局部枯斑反应, O, Non symptom 无症状

3 杂草带毒检测:本试验共采集 14 科 24 种常见杂草,共计 699 份标样。ELISA 检测结果(表 2)表明:反枝苋、本氏蓼、苍耳、酸浆、繁缕等 7 种一年生杂草带有 CMV,多数为叶部带毒。两年或多年生杂草有伏委陵菜、苍耳、凤花菜、还阳参和蒲公英等 12 种杂草感染 CMV,除个别外,大多数杂草的叶部和根部均可带毒,其中前 4 者带毒率为 65%以上。

4 观赏植物及树木的带毒检测:在检测的8种观赏植物中,珊瑚豆、菊花、小花锦葵和佩客来均感染CMV,而石榴、马蹄莲、金桔和茉莉花则不感染;紫丁香和杨树苗均感染CMV(表3)。

表2 CMV对24种杂草的侵染

Tab. 2 Detection of 24 weed species infected by CMV

杂草种类 Weed species	症状 Symptom	ELISA 检测 ELISA detection		枯斑反应 Necrotic spot reaction				
		检测株数 No. of detected plants	病株率(%) Infection rate		叶部 Leaf		根部 Root	
			叶部 Leaf	根部 Root	接种数 No. of inocu- lated plants	发病数 No. of infected plants	接种数 No. of inocu- lated plants	发病数 No. of infected plants
		菊科 Compositae						
蒲公英 <i>Taraxacum mongolicum</i>	Cr, O	28	357	17.85	1	1	5	5
苦苣菜 <i>Ixeris hriensis</i>	O	52	1154	28.85	6	5	15	12
还阳参 <i>Crepis crocea</i>	YM	25	76.00	20.00	19	17	5	4
刺儿菜 <i>Cephalanoplos segetum</i>	O	25	0	4.00	—	—	1	1
苍耳 <i>Xanthium japonicum</i>	M	12	100.00	0	12	12	—	—
黄花蒿 <i>Artemisia annua</i>	O	21	23.80	23.80	5	4	5	4
艾蒿 <i>A. argyi</i>	O	10	0	0	—	—	—	—
十字花科 Cruciferae								
荠 <i>Capsella bursa-pastoris</i>	Cr, O	38	15.79	10.52	6	6	4	3
凤花菜 <i>Rorippa islandica</i>	F, O	49	65.22	59.57	32	29	29	25
柱腺独行菜 <i>Lepidium ruderale</i>	O	24	4.17	16.67	1	1	4	3
葶苈 <i>Draba nemorosa</i>	O	49	14.29	20.41	7	7	10	10
大戟科 Euphorbiaceae								
槲草 <i>Acalypha australis</i>	YM	7	0	0	—	—	—	—
大麻科 Cannabiaceae								
葎草 <i>Humulus scandens</i>	O	46	0	0	—	—	—	—
蔷薇科 Rosaceae								
伏委陵菜 <i>Potentilla chinensis</i>	O	35	85.71	100.00	20	18	15	12
石竹科 Caryophyllaceae								
繁缕 <i>Stellaria media</i>	O	90	25.66	0	23	17	0	0
车前科 Plantaginaceae								
平车前 <i>Plantago depress</i>	Ch, O	29	20.7	23.53	—	—	—	—

豆科 Leguminosae									
苜蓿 <i>Medicago</i> spp.	MO	15	6.00	0	9	8	—	—	
苋科 Amaranthaceae									
反枝苋 <i>Amaranthus retroflexus</i>	0	6	16.67	0	1	1	—	—	
藜科 Chenopodiaceae									
藜 <i>Chenopodium album</i>	0	3	0	0	—	—	—	—	
唇形科 Labiateae									
益母草 <i>Leonurus sibiricus</i>	0	48	6.25	8.33	3	2	4	3	
茄科 Solanaceae									
酸浆 <i>Physalis alkekengi</i>	Cr,O	26	30.77	0	8	7	—	—	
牻牛儿苗科 Geraniaceae									
牻牛儿苗 <i>Geranium dahuricum</i>	0	38	2.63	10.41	1	1	4	3	
蓼科 Polygonaceae									
本氏蓼 <i>Persicaria bungeanum</i>	0	10	20.00	0	2	2	—	—	
洋铁叶 <i>Rumex patienti</i> <i>L. var. callosus</i> F.	SN	13	0	0	—	—	—	—	
总计 14 科 24 种 Total 14 families 24 species		699	166	124	156	138	101	85	

注: Ch, Chlorosis 退绿; Cr, Crinkling 皱缩; F, fern 蕨叶;

YM, yellow mosaic 黄色花叶; SN, systemic necrosis 系统坏死斑

O, non symptom 无症状; —, non test 未 ELISA 检测结果为阳性的标样进行接种 inoculated with the positive samples by ELISA detection

表 3 CMV 对观赏植物和树木的侵染

Tab. 3 Detection of the ornamentals and trees infected by CMV

植物种类 Plant species	症状 Symptom	检测株数 No. of detected plants	检测部位 Detected part	感染 CMV 的比例 Infection rate by CMV
珊瑚豆 <i>Solanum pseudo-capsicum</i> var. <i>difforum</i>	Mt	1	叶片 leaf	1/1
石榴 <i>Punica granatum</i> L.	Mt	2	叶、片 leaf and flower	0/2
马蹄莲 <i>Zantedeschia aethiopica</i>	Mt	1	叶片 leaf	0/1
金桔 <i>Fortunella margarita</i>	Ch	2	叶片 leaf	0/2

小花锦葵 <i>Malva parviflora</i>	M	1	叶片 leaf	1/1
茉莉花 <i>Jasminum sambac</i>	M	1	叶片 leaf	0/1
菊花 <i>Dendranthema spp.</i>	Ch, M	5	叶片 leaf	5/5
仙客来 <i>Cyclamen persicum</i>	M	4	叶、花 leaf and flower	4/4
紫丁香 <i>Syringa oblata</i>	Ch, M	3	叶片 leaf	3/3
杨树 <i>Populus spp.</i>	Mt	10	叶片 leaf	8/10
总计 Total 10		30	叶、花 leaf and flower	22/30

注: Ch, Chlorosis 褪绿, M, Mosaic 花叶, Mt, Mottling 斑驳花叶

讨 论

除 Doilivttle 报道黄瓜种了可传带 CMV 外,一般认为黄瓜种子不传带 CMV。本试验证明黄瓜种子的种皮和种胚均带 CMV,带毒率分别为 0.22% 和 0.11%。带毒率虽低,但作为毒源,仍不可忽视。

经 ELISA 检测和枯斑反应,7 种一年生和 12 种两年或多年生杂草均为 CMV 的野生寄主。与 Bruckart 等的报道^[4,5,8,9,10]相比。刺儿菜、苦菜、黄花蒿、还阳参、伏委陵菜、鼠掌草和本氏蓼 7 种杂草是国际上未见报道的 CMV 野生寄主;苍耳、柱腺独行菜、凤花菜、益母草和酸浆 5 种杂草在国内是首次报道,这无疑对防治 CMV 有着重要意义。

在调查中发现,黄瓜育苗温室内有多种花卉,如珊瑚豆、仙客来、菊花等。在有蚜虫存在的情况下,常感染 CMV。此外,紫丁香和杨树苗在哈尔滨种植较广,也应引起重视。因此,作者认为在目前尚未推广抗病毒品种和有效防治药剂的情况下,采用防治蚜虫和清除杂草是十分必要的。

参 考 文 献

- 1 Tomlinson J. A. Epidemiology and control fo virus disease of vegetables. *Ann. Appl. Biol.* 1987, 110: 661—681
- 2 北京农业大学主编. 农业植物病理学 第一版, 北京: 农业出版社. 1985, 460—464
- 3 Doolittle S. P. and Walker M. N. Further study on the overwintering and dissemination of cucurbit mosaic. *J. Agric. Res.* 1925, 31(1), 1—58
- 4 Faan H. C. and Johnson J. The overwintering of the cucumber mosaic virus. *Phytopathol.* 1951, 41(10), 1001—1010
- 5 Quiot J. B, et al. Ecologie et épidémiologie du Virus de la Mosique du Concombre dans le Sud—Est de la France. VI. Conservation de deux types de populations virales dans les plantes sauvages. *Ann. Phytopathol.* 1979, 11(3), 349—357
- 6 Tomlinson J. A. and Simpson C. J. Weed plants as sources of cucumber mosaic virus. *Ann. Appl. Biol.* 1970, 66, 11—16
- 7 Clark M. F. Immuncorbsent assays in plant pathology. *Ann. Rev. Phytopathol.* 1981, 19, 253—286

- 8 Bruchart W. L. and Lorbeer J. W. Cucumber mosaic virus in weed hosts near commercial fields of lettuce and celery. *Phytopathol.* 1976, 66(3): 253—259
- 9 Rist D. L. Occurrence and overwintering of cucumber mosaic virus and broad bean wilt virus in weeds growing near commercial lettuce field in New York. *Phytopathol.* 1989, 79(1): 65—69
- 10 (加)E· 阿尔斯塔克主编, 裴美云译, 田波校. 植物病毒比较诊断指南, 第一版, 北京: 农业出版社, 1991, 173—231

Study of Cucumber Mosaic Virus on Infection Source

Lu Ruifang Liu Yuankai

(*Horticultural Institute of Heilongjiang Agricultural Academy, Harbin, 150069*)

The tests proved cucumber mosaic virus (CMV) could be transmitted by cucumber seed with the rate of 0.20% in seed surface and embryo. Seven and twelve biennial or perennial weed species were infected by CMV through ELISA detection and the necrotic spot reaction. Among them, Seven newly discovered wild hosts were *Cephalanoplos segetum*, *Ixeris hninensis*, *Crepis crocea*, *Artemisia annua*, *Potentilla chinensis*, *Geranium dahricum* and *Persicaria bungeanum*. The following five weed species of *Xanthium japonicum*, *Leonurus sibiricus*, *Lepidium ruderales*, *Rorippa islandica* and *Physalis alkekengi* were reported for the first time in China. Four ornamentals and two tree species were also infected by CMV.

Key words: Cucumber mosaic virus Wild host ELISA Local necrotic Spot reaction
Seed transmission rate