

莴苣病毒病的研究

魏宁生

贾长盛

(西北农业大学植物保护系)

(青海省互助县农科所)

摘 要

从自然感病的109株莴苣上鉴定出莴苣花叶病毒(LMV)、黄瓜花叶病毒(CMV)及蒲公英黄色花叶病毒(DYMV)。LMV可通过种子传毒,病株种子的传毒率为10.35%(商业种子为5.37%);而CMV则不能种传。DYMV也可种传(3.07%),桃蚜(*Myzus persica*)作非持久性传播,而汁液接种较为困难。其TDP为65—70℃,DEP为 10^{-4} — 10^{-5} ,而L则为24h。病毒粒体呈球状,直径约为30nm, DYMV与SqMV, RMV及TRSV的抗血清不起反应。

关键词: 莴苣; 病毒病; 蒲公英黄色花叶病毒(DYMV)

陕西关中地区莴苣病毒病甚为严重,发病率通常为70~80%,其中严重矮化或死亡的植株达20%。在自然条件下,病株出现明脉、斑驳花叶、褐色枯斑、叶脉坏死或变黄、细网状脉间蚀纹、皱缩和矮化等症状。目前,国外已报道了20种可为害莴苣的病毒^[2, 6-8, 13, 16, 18, 20],国内山东也报道了发生莴苣花叶病毒(LMV)、黄瓜花叶病毒(CMV)^[1]。本文介绍从自然感病的莴苣上分离到LMV、CMV和蒲公英黄色花叶病毒(DYMV)的生物学和部分物理学测定的结果,其中DYMV在国内是首次报道。

1 材料和方法

1984年自陕西西安、咸阳、兴平、杨陵和宝鸡等地自然感病的莴苣上采集毒源109个,用汁液接种5个科9种植物,测定其寄主范围(接种时供试植物为3~4片真叶)。

病毒的体外稳定性:在莴苣花叶病毒(LMV、CMV)或蚕豆(DYMV)上经三次单斑分离纯化后以莴苣为增殖寄主,在接种后10天取病汁液按常规方法测定。测定稀释终点用蒸馏水稀释。

病毒的传播途径:无毒桃蚜(*Myzus persicae*)饥饿4小时后在莴苣病株上饲毒10分钟,再置于无病莴苣和莴苣花叶病毒上取食24小时。每株放桃蚜6头,接种时植株为4片真叶。从接种时的莴苣病株上采收种子,播于防虫温室中观察幼苗发病情况。

文本于1986年11月13日收到。

病毒的提纯：以茎用莴苣为增殖寄主，接种后13~14天收获病叶，去中脉。提纯LMV按每克组织加入1.5ml 0.5M硼酸缓冲液(pH7.5, 含0.1%巯基乙醇)的比例在组织捣碎机中匀浆，用四层纱布过滤后加8.5%正丁醇，于4℃下搅拌45分钟，然后按Tomlinson^[21]的方法进行差速离心。提纯DYMV按每克组织加入2ml 0.5M磷酸钾缓冲液(pH7.0, 含0.1%巯基乙醇)的比例在组织捣碎机中匀浆，用四层纱布过滤后在-20℃下冰冻24小时，室温下融化后加8%正丁醇，于4℃下搅拌45分钟，再静置30分钟后按Bos等^[6]的方法进行差速离心。

LMV样品的活性测定：将粗提纯的LMV用蒸馏水稀释不同倍数后接种苋色藜。

电镜观察：将提纯的病毒用2%磷钨酸负染(DYMV用pH6.6, LMV用pH7.0)后凉干，用Hitach H-600型透视电镜观察。

LMV抗血清的制备：以粗提纯的LMV为抗原，加入等量福氏完全佐剂后肌肉注射家兔三次，每隔一周注射一次，第1~2次各注射2mg病毒，第三次注射4mg病毒，于第三次注射后第十天采血。

病毒的凝胶双扩散试验：按常规方法进行。对LMV抗血清的效价和DYMV与南瓜花叶病毒(SqMV)、萝卜花叶病毒(RMV)及烟草环斑病毒(TRSV)的血清学关系，均用病汁液和粗提纯的病毒进行测定。

2 结 果

2.1 毒源鉴定

用109个毒源汁液接种5个科9种植物的结果(下表)表明，在莴苣上为害的有L-1、L-2和L-3三种病毒，分别确定为LMV，CMV和DYMV。

109个毒源接种9种植物的反应

病毒毒株	确定的病毒种类	所占毒源的数量	昆 诺 藜	苋 色 藜	普 通 烟	心 叶 烟	蚕 豆	豌 豆	曼 陀 罗	千 日 红	莴 苣
L-1	LMV	83	S	S	O	O	O	L	O	O	S
L-2	CMV	23	L	L	S	S	O	O	S	O	S
L-3	DYMV	3	S	S	O	O	L	O	O	O	S

注：S—系统侵染；L—局部侵染；O—无症状。

2.1.1 L-1 毒株：在莴苣上产生褪绿、疱斑、花叶和皱缩扭曲(图版I-1)。病重时植株矮化，叶片产生许多褐色枯斑。叶脉坏死，或全株死亡。生菜严重受侵时不能包心或死亡。昆诺藜(*Chenopodium quinoa*)被接种后，于接种叶片上出现圆形枯斑(图版I-2)，随后又产生系统畸形(图I-3)。苋色藜(*C. amaranticolor*)接种后除接种叶片产生的部分枯斑边缘具有红色晕圈外，其他症状同昆诺藜。豌豆(*Pisum sativa*)的接种叶片有时产生枯斑。普通烟(*Nicotiana tabacum*)、心叶烟(*N. glutinosa*)、蚕豆(*Vicia faba*)、曼陀罗(*Datura stramonium*)和千日红(*Gomphrena globosa*)接种后没有产生症状。

2.1.2 L-2 毒株：在莴苣上产生明脉、褪绿，叶脉变黄，叶片向背面卷曲（图版 I-4），病重时植株矮化皱缩并坏死。昆诺藜和苋色藜接种后接种叶片产生局部褪绿或枯



莴苣病毒病的研究 图版 I

1. 接种LMV后，莴苣产生的系统性症状；2. LMV接种昆诺藜后接种叶产生的枯斑；3. LMV 接种昆诺藜后产生的系统畸形；4. 接种 CMV 后莴苣产生的系统性症状；5. 接种 DYMV 后莴苣产生的蚀纹；6. 接种 DYMV后苋色藜呈针尖状褪绿斑；7. 接种 DYMV 蚕豆接种叶片呈褐色枯斑；8. 粗提纯样品中DYMV的球状颗粒。

斑。普通烟和心叶烟接种后接种叶片产生枯斑或局部褪绿，系统症状为花叶、环斑和畸形。曼陀罗的接种叶片产生沿脉变色、斑驳、非坏死性环斑或同心环斑或橡叶状褪绿，系统症状为局部褪绿或畸形。蚕豆、豌豆和千日红接种后未表现症状。

2.1.3 L-3 毒株：在莴苣上产生花叶、褐色枯斑、叶脉发黄或坏死，皱缩和细网状脉间近环状蚀纹（图版 I-5），生长后期植株顶端坏死。昆诺藜接种后产生许多小型枯斑，以后又产生系统性局部褪绿，并略呈畸形。苋色藜接种后，在接种叶片上产生枯

斑,其后出现略呈畸形和许多针尖状褪绿斑的系统症状(图版I-6)。蚕豆接种后,接种叶片上产生褪色的近圆形的枯斑(图版I-7)。苦蕒菜(*Chichorium endivia*)接种后则后接种叶片上出现斑驳,其后出现系统性坏死、鲜黄色花叶和皱缩。普通烟、心叶烟、曼陀罗、豌豆、千日红、蕃茄(*Lycopersicon esculentum*)和蒲公英(*Taraxacum officinale*)接种后未产生症状。

2.1.4 病毒的发生和流行:毒株L-1和L-2在各地均有发生,L-1发生的比例最大(占毒源总数76.15%),春季(77.31%)比秋季更为明显。次为L-2,秋季发生的比例(29.17%),比春季(18.83%)为多。L-3仅春季在宝鸡发现(3.5%)。

L-1在全年的发生比例中,以陕西兴平最大(90%),咸阳最小(62.5%);春季发生的比例以西安最大(91.31%),宝鸡最小(66.67%);秋季以兴平最大(100%),咸阳最小(50%)。L-2在全年的发生比例中,以咸阳最高(37.5%),兴平比例最低(10%);春季以咸阳的比例最高(25%),西安最低(8.69%);秋季亦以咸阳高(50%),兴平最低(0%)。

2.1.5 莴苣品种对病毒的抗性:尖叶莴苣、圆叶莴苣和生菜发生的病毒病较重,发病率通常达90%以上,严重矮化或死亡的植株在25%以上。红色尖叶莴苣和红色圆叶莴苣发病较轻,发病率一般为60%左右,严重矮化或死亡植株甚为罕见。5个品种虽然均以L-1发生的比例最大(57.89~100%),但不同品种受不同病毒侵染的比例不同。L-3仅在尖叶莴苣和圆叶莴苣上发生。红色圆叶莴苣只发生L-1。

2.2 病毒粒体的形态、大小及某些性质

2.2.1 病毒的体外稳定性:L-1的钝化温度为55~60℃,稀释终点为 10^{-1} ~ 10^{-2} ,体外保毒期为2~3天。L-2的钝化温度为65~70℃,稀释终点为 10^{-4} ~ 10^{-5} ,体外保毒期为3~4天。L-3的钝化温度为65~70℃,稀释终点为 10^{-4} ~ 10^{-5} ,体外保毒期为24小时。

2.2.2 病毒提纯液的侵染性:L-1的粗提纯液接种苋色藜后产生L-1的典型症状,表明具有侵染性。蒸馏水稀释50倍的粗提纯液仍有侵染性。

2.2.3 电镜观察:病毒粗提纯液的电镜观察表明,L-1毒株的粒体呈丝状,大小约为720×11nm。L-3毒株的粒体为球状(图版I-8),直径约为30nm。

2.3 血清学试验

2.3.1 L-1抗血清的效价:凝胶双扩散测定表明,制备的L-1抗血清与抗原起反应产生特异性的沉淀带(与健株汁液不起反应),用病汁液作抗原测定的效价为1:32,以粗提纯的病毒液作抗原的效价为1:64。分析认为抗血清效价低的可能原因是L-1免疫原性弱和注射病毒的次数少所致。

2.3.2 L-3与有关病毒组成员间的血清学关系:凝胶双扩散测定表明,病汁液和粗提纯病毒液与蠕传多面体病毒组的TRSV、豇豆花叶病毒组的RMV和SqMV的抗血清均无反应,表明L-3与TRSV、RMV和SqMV没有血清学关系。

2.4 传播途径

2.4.1 桃蚜传毒试验:L-1和L-3毒株都接种5株莴苣和5株苋色藜,接种后分别产生L-1和L-3的典型症状,表明L-1和L-3均由桃蚜以非持久性方式传

播。

2.4.2 种子传病试验：从人工接种L-1的莴苣病株上收获的937粒种子中有101株病株，表明可经莴苣病株种子传病，传毒率平均为10.35%，其中上部花序的种子传毒率为5.19%，中、下部花序上的种子传毒率分别为10.60%和14.14%。从大田收集的莴苣种子，传毒率为5.37%。从人工接种L-3的莴苣病株上收获的324粒种子中产生10株病株，表明莴苣病株种子能够传毒，传毒率为3.07%；接种的莯色藜种子亦能传毒，但传毒率为1.2%。从人工接种L-2病株上的407粒莴苣种子中没有发现病株，表明莴苣病株种子不能传播。

2.4.3 汁液接种：L-1和L-2毒株极易进行汁液接种，但L-3汁液接种较难，成功率只有25%左右。

3 讨论和结论

3.1 LMV：毒株L-1在莴苣上产生的症状、寄主范围、体外稳定性、传播途径和病毒粒体的形态、大小等特性均与文献中对LMV的报道基本相同^[2,10,11,14,15,16]。在文献报道侵染莴苣的杆状病毒中，芜菁花叶病毒侵染普通烟和心叶烟^[2,19]，鬼针草斑驳病毒的体外保毒期长达16天^[18]，甜菜黄矮病毒粒体长1250nm^[15]，烟草脆裂病毒粒体为180~197nm的短杆状^[2,7,16]，莴苣坏死黄化病毒和苦蕒菜黄脉病毒的粒体为弹状^[7]，莴苣巨脉不能用汁液接种，而且可能是类菌质体或类立克次氏体所致^[2,21]，翠菊黄化只能用菟丝子嫁接或叶蝉传播、为类菌质体所致^[2]，与L-1毒株不同，故将该毒株确定为马铃薯Y病毒组的莴苣花叶病毒。该毒株接种千日红未产生症状，可能是毒源植物体内病毒浓度低所致，体外保毒期上的差异则可能是由不同株系引起的，因为日本报道LMV的体外保毒期为1~25天^[3]。毒原鉴定表明LMV占毒原总数的76.15%，说明该病毒是莴苣病毒的主要种类。传播途径试验表明LMV由桃蚜以非持久性方式传毒，莴苣病株种子带毒，说明这是莴苣病毒病发生普遍、为害严重的主要原因。大田莴苣种子带毒率高达5.37%，表明莴苣病株种子带毒在LMV的发生流行中具有极其重要的作用。

3.2 DYMV：毒株L-3在莴苣上产生的症状、寄主范围、体外稳定性、传播途径及粒体形态、大小等特性与Bos等报道的DYMV相同^[3,13]。文献报道在侵染莴苣的球状病毒中，CMV不能系统侵染昆诺藜和莯色藜^[2,7,9]，南芥菜花叶病毒侵染普通烟和心叶烟^[2,7]，蕃茄斑萎病毒粒体直径为85nm^[7,11]，蕃茄黑环斑病毒侵染普通烟、蕃茄和曼陀罗^[2,7]，甜菜西方黄化病毒不能用汁液接种^[2,7]，莴苣春季黄化病毒由桃蚜以持久性方式传播^[12]，烟草坏死病毒的体外保毒期为2~3个月^[2,7]，蚕豆萎焉病毒系统侵染蚕豆^[2,7]，苜蓿花叶病毒粒体为18nm的球状和18~58nm的短杆状^[7]，芜菁丛簇病毒由大豆淡足跳蚱(*Phyllotreta nenorium*)传播^[7]，与L-3毒株不同，故初步确定为DYMV。至于钝化温度较高则可能是不同株系间的差异所致。传播途径试验表明病株种子传播DYMV，莴苣病株种子传毒率达3.07%。英国^[13]、捷克、西德、挪威、芬兰、瑞典和丹麦等^[4]西欧国家严重发生，汁液接种的成功率只有25%左右，故DYMV的为害性可能被低估了，似乎至少其潜在危险性是不可忽视的。

由于DYMV的粒体形态、大小、具有管状包膜、粒体在包膜内呈单行排列、蚜虫以非持久性方式传播及其他物理特性与蠕传多面体病毒组、植物呼肠弧病毒组、豇豆花叶病毒组和等径易变环斑病毒组有所不同^[5]，血清学试验表明DYMV与TRSV, RMV和SqMV无血清学关系，故其分类地位尚不能确定。

3.3 CMV: L-2毒株在莴苣上产生的症状、寄主范围、体外稳定性及传播途径等特性与CMV相同^[2, 7, 9]，故确定为CMV。CMV在田间常与LMV混合侵染，不能根据莴苣上的症状进行区分。

关中地区莴苣病毒病发生普遍而且严重，春季比秋季严重，尖叶莴苣、圆叶莴苣和生菜比红色尖叶莴苣及红色圆叶莴苣严重。发生的莴苣病毒以LMV为主，次为CMV，DYMV的为害性或潜在危险性似乎不容忽视。

参 考 文 献

- [1] 夏俊强等:《植物病理学报》, 1984, 14(4): 241—246.
- [2] 裘维蕃:《植物病毒学》, 农业出版社, 1984年.
- [3] 《日本对蔬菜病毒病的研究》, 上海科学技术出版社, 1977.
- [4] Broadbent, L.: *Ann. Appl. Biol.* 1951, 39: 689—706.
- [5] Bos, N. et al., *Neth. J. Pl. Path.* 1983, 89: 207—222.
- [6] Bruckart, W. L. et al., *Pl. Dis. Repr.* 1975, 59: 203—206.
- [7] Edouard Kurstak., *Handbook of plant virus infections: comparative diagnosis*, 1981.
- [8] Falk, B. W. et al., *Proceeding of florida state horticultural society*, 1982: 203—206.
- [9] Gibbs, J. A. et al., *CMI/AAB. Descrip. Pl. Vir.* No. 1, 1970.
- [10] Huttinga, H.: *Neth. J. Pl. Path.* 1973, 79: 125—129.
- [11] Ibid., *Neth. J. Pl. Path.* 1975, 81: 58—63.
- [12] Jagger., *J. Agr. Res.* 1921, 10: 737—739.
- [13] Kassanis., *Nature*, 1944, 154: 6.
- [14] Moghal, S. M. et al., *Virology*, 1976, 73: 350—362.
- [15] Ibid., *Virology*, 1981, 122: 210—216.
- [16] Maybe, D. E. et al., *Pl. Dis. Repr.* 1978, 62: 553—556.
- [17] Newhall, A. C., *Phytopathology*, 1923, 13, : 104—106.
- [18] Purcifull, D. E. et al., *Pl. Dis. Repr.* 1971, 55: 1061—1063.
- [19] Tomlinson, *CMI/AAB Descrip. Pl. Viruses*, No. 9, 1970.
- [20] Ibid., *Ann. Appl. Biol.* 1964, 53: 95—102.
- [21] Ibid., *32nd Annual Report for 1981, Natural regetable Research station*, 1981, 82—84.
- [22] Zink, F. W., et al., *J. Amer. Soc. Hor. Soc.* 1973, 98: 41—45.

VIRUS DISEASES OF LETTUCE

Wei Ningsheng

Jia Changsheng

(Department of Plant Protection,

(Agricultural Research Institute

Northwestern Agricultural University)

Huzhu County, Qinghai Province)

Abstract

Lettuce mosaic virus (LMV), cucumber mosaic virus (CMV) and dandelion yellow mosaic virus (DYMV) have been identified from 109 infected lettuce samples. LMV can be transmitted by *Myzus persicae* (non-persistent), Sap and infected lettuce seeds, and their transmission rate is 10.35% (Commercial seeds, 5.37%), while CMV can not be transmitted through seeds. DYMV is also transmitted by seeds (average 3.07%). *M. persicae* is non-persistently transmissible, and sap is difficult to inoculate. Virus TDP is 65—70°C, DEP is 10^{-4} — 10^{-5} , and longevity of leaf extract is 24 hr. The diameter of spherical virus particle is about 30nm. Agar double diffusion serological test indicates that DYMV is uncorrelated to squash mosaic virus, radish mosaic virus and tobacco ring-spot virus.

Key Word: lettuce, virus disease, Dandelion yellow mosaic virus (DYMV)