

芹菜病毒病症状分析与毒原种类鉴定^{*}

李省印¹, 常杨生², 常宗堂¹

(1 西北农林科技大学 园艺学院, 陕西 杨凌 712100; 2 陕西省杨凌区种子分公司, 陕西 杨凌 712100)

[摘 要] 通过对芹菜病毒毒原的侵染寄主、症状特点及其发展、抗性指标、传播方式、粒体形态与大小等的观察和测定, 结果表明, 危害芹菜的病毒为芹菜花叶病毒(CaMV)和黄瓜花叶病毒(CMV), 这两种病毒的典型鉴别寄主为胡萝卜(*Daucus carota* var. *sativa*)和千日红(*Gamphrena glabosa*); 对所得 CaMV 的测定发现, 其致死温度为 50~60℃, 稀释限点为 10^{-3} ~ 10^{-4} , 体外保毒期 3~4 d; 电镜观察显示, 其形态为线状粒体, 属马铃薯 Y 病毒组, 长 650~850 nm, 宽 15~18 nm; 其传播方式为汁液摩擦传毒和蚜虫引起的非持久性传毒。

[关键词] 芹菜; 病毒病; 毒原鉴定; CaMV; CMV

[中图分类号] S636.308

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2004)07-0085-04

芹菜(*Apium graveolens*)是我国常年栽培的主要蔬菜之一, 芹菜病毒病的发生对芹菜产量和品质影响颇大。芹菜病毒病在陕西各菜区均有分布, 作者追踪调查发现, 在 20 世纪 80 年代初, 西安市西郊潘家村和南郊八里村 3 块芹菜生产田中, 芹菜生长前期的 10 月份芹菜病毒病平均发病率为 5%, 到次年 5 月份时平均发病率上升为 38%; 不同品种间抗病性也有一定差异, 其中(北京)实杆绿芹、(天津)玻璃翠等品种较空心白杆芹(当地农家种)表现抗病; 到 90 年代初, 随着国外高产优质品种的引入, 芹菜病毒病的发生日趋猖獗, 1990 年以来, 西安、杨凌、宝鸡、咸阳、渭南等地田间栽培的日本西芹、美国西芹平均发病率达到 47%。日本、美国、英国、德国、法国等对芹菜花叶病毒(Celery mosaic virus)的基本特性只进行了简单记述^[1~6], 迄今尚未见国内有关该病害的研究报道。本文对芹菜病毒病的症状特点及其发展、毒原的寄主范围与症状反应、鉴别寄主、抗性指标、传播方式、粒体形态及大小等进行了观察鉴定, 以期在生产实际中芹菜病毒病的综合防治提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 症状表现

供鉴病毒标样分别于 2001-10(28 份)和 2002-05(100 份)采自西安郊区与杨凌地区生长前期和即将开花的芹菜病株, 品种有实杆绿芹、美国西芹和日本西芹。经田间和室内症状归类后, 将 12 种症状类

型不同的标样分别用汁液摩擦接种法保存于普通烟草株(*Nicotiana glauca*)上。

1.2 寄主范围及其症状反应

鉴定用毒原取自上述普通烟草株, 共选用 20 种植物作寄主范围接种测定。试验在防虫温室内进行, 育苗种子、土壤、花盆及工具等事先经过消毒。

1.3 传病途径试验

1.3.1 汁液摩擦接种传染 当莖色藜、烟草、曼陀罗、芹菜长到 3 叶期时, 每克病叶加 3 mL 0.05 mol/L, pH 7.0 的磷酸缓冲液, 研磨汁液, 并加 600 目金刚砂少许, 然后用食指蘸取病毒汁液在中部两片叶面上单向摩擦 4 次, 3 min 后用清水冲去叶面残留物, 病症显露时, 记载发病情况。

1.3.2 蚜虫传染 蚜虫试验在圆筒铁纱虫罩内进行, 接种植物用曼陀罗和芹菜 2~4 叶期幼苗。每株接饥饿 2~3 h、饲毒 24 h 的桃蚜(*Myzus persicae*)及芹菜蚜(*Cavariella japonica*, 也叫柳二尾蚜)各 8 头, 接毒 24 h 后, 喷药灭虫。另附设不杀灭蚜虫组, 观察记载环境温度、光照等对蚜虫繁殖与活动性的影响。

1.4 病毒抗性测定

病毒生物抗性测定于(25±2)℃按常规方法在温室内进行^[7,8], 将病毒接种于枯斑寄主莖色藜和系统反应寄主曼陀罗上。致死温度设 45, 50, 55, 60, 65 和 70℃6 个处理, 均处理 10 min; 稀释限点用 10 倍稀释法, 分 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} 4 个处理; 体外保毒期设在室温下(22℃)放置 0.5, 1, 2, 3, 4 和 5 d

* [收稿日期] 2003-06-05

[基金项目] 国家自然科学基金项目(39170537); 陕西省自然科学基金项目(39117); 杨凌示范区科研专项基金项目(98C01)

[作者简介] 李省印(1957-), 男, 陕西永寿人, 副研究员, 主要从事蔬菜病虫害和食用菌研究。

6 个处理。每处理 6 盆, 重复 3 次。

1.5 病毒粒体电镜观察

试材为新发病的心叶烟(*Nicotiana glauca*)
幼嫩叶片为材料, 用浸渍法释出病汁液, 分别滴加体
积分数 1% 和 2% 的磷钨酸 (PTA: phosphonic
tungstic acid) 负染 2 min, 在电镜下观察, 以健康

株为对照。

2 结果与分析

2.1 症状表现

根据田间和室内症状归类, 芹菜不同生育期病
毒病的症状类型和特点列于表 1。

表 1 芹菜病毒病的症状类型

Table 1 Symptom types of celery virus disease

生育期 Stages	样号 Codes	份数 Numbers	症状类型 Symptom types	症状特点 Symptom characteristics
冬前营养 生长期 Nutritive growth period	V ₁	9	“鸡爪”症 “Chicken-talon” form	叶片变长, 缺刻变深, 呈鸡爪形, 具黄绿相间的斑块 Leaves extend in length, leaf gaps deepen, and look like “chicken-talon”, with yellow and green blotches
	V ₂	9	沿脉失绿症 Chlorosis along vein	病叶不变形, 沿叶脉失绿 Leaf shape is normal, with chlorosis along the leaf vein edge
	V ₃	7	叶丛生症 Witches'-broom	叶柄变粗短, 丛生; 新叶极度皱缩, 疱斑或轻花叶 Petioles become stubby, witches'-broom; new leaves curl and crimple extremely, with blister mottles, or mild mosaic
	V ₄	3	黄化症 Etiolation	整株叶片黄化失绿, 外叶较内叶严重 Leaves of overall plant etiolate, and the outer is severer than the inner
	V ₅	13	叶缘油渍症 Like oil stains	叶正边缘有油渍状白浆色膜 White mucus membrane is like oil stains on upper surface of leaves margin
	V ₆	11	褪绿圆斑症 Chlorosis round spots	病叶呈褪绿圆斑, 黄而亮 Diseased leaves show chlorosis round spots, is bright yellow in color
	V ₇	15	“鸡爪”症 “Chicken-talon” form	叶鸡爪形; 老叶圆小厚, 缺刻少而叶柄细短; 病株陡长, 节间细长, 纤维发达 Leaves show “chicken-talon” form; the old leaves become small, round and thick with little leaf gaps and short slight petioles; plant is leggy with slender stalks among nodes, prospered fibers
冬后 抽薹期 Repro- ductive growth (bolting period)	V ₈	9	蚀纹症 Chlorosis lines	叶片黄绿细纹紧密嵌合, 呈云丝状分布, 波浪式弯曲 Yellow and green fine lines wedge closely distributing like cloud silks and bending like waves on leaf
	V ₉	13	矮化症 Stunting	植株矮化, 黄嫩叶及茎稍萎缩成团; 茎粗嫩, 易折断 Plants dwarf, new leaflets and stemlets become witches' broom and bunchy-top; stem is thick, tender, broken easily
	V ₁₀	10	黄斑块症 Yellow blotches	叶具 2~4 个不规则大黄斑块, 多呈长形, 黄绿界限分明 Diseased leaves have 2~4 large yellow blotches, the most show anomalous rectangle, yellow and green boundary is clear
	V ₁₁	8	赤褐黄化症 Reddish brown etiolation	叶片赤褐黄化, 叶绿色深并带紫色, 个别叶有小绿点分布 Leaves become reddish brown etiolation, leaves margin is dark color with purple, very few leaf has tiny green dots
	V ₁₂	21	扭曲畸形症 Winding, deformity	茎扭曲成 S 形, 顶叶明脉, 其他叶花叶; 侧枝多而细 Stems of diseased plants express S-form winding deformity, and chlorosis veins on top leaves, mosaic else; there are more and slender side branches

2.2 寄主范围及其症状反应

所用 20 种接种植物中, 夏至草 (*Lagopus supina*)、大车前草 (*Plantago major*)、白藜 (*Chenopodium album*)、西葫芦 (*Cucurbita pepo*)、宽
荚芸豆 (*Phaseolus vulgaris*)、大豆 (*Glycine max*)、
大蓟 (*Cirsium segetum*)、紫花地丁 (*Viola philippica*)、苦蕒菜 (*Sonchus oleraceus*)、小白韭草
(*Conyza canadensis*)、野枸杞 (*Lycium barbarum*) 等
11 种均不表现症状, V₈ 号毒原在绿叶苋菜
(*Amaranthus tricolor*) 上表现为花叶症状, 其他 8 种
寄主的反应表现如表 2。

由表 1、表 2 可见, 从抽薹种株所采的 8 种病毒

代表性分离物可归属两种毒原。按其寄主范围和症
状特点, 基本判定 V₅、V₆、V₇、V₁₀、V₁₁、V₁₂ 为黄瓜花
叶病毒 (CMV), 占总标样的 78%; V₈、V₉ 为芹菜花
叶病毒 (CaMV), 占总标样的 22%; 冬前营养生长期的
4 种代表性分离物 (V₁、V₂、V₃、V₄) 全属 CMV。

试验结果表明, 芹菜生长前期的主要毒原为
CMV, 后期则是 CaMV, CMV 同时危害。区别这两
种病毒的鉴别寄主为胡萝卜 (*Daucus carota* var
sativa, 品种为大荔野鸡红) 和千日红 (*Gomphrena
g lobosa*), 即 CMV 在千日红上有明显的花叶症状;
CaMV 在胡萝卜上表现为非接种叶尖端细弯, 呈黄
尖。

表 2 不同症状毒原的寄主范围与症状特征

Table 2 The host ranges and inflection characteristics of different isolates

病毒分离物 Isolates	普通烟 <i>Nicotiana tabacum</i>	心叶烟 <i>Nicotiana glutinosa</i>	千日红 <i>Gomphrena g lobosa</i>	曼陀罗 <i>Datura stramonium</i>	苋色藜 <i>Chenopodium amaranticolor</i>	黑籽菜豆 <i>Phaseolus vulgaris</i>	蚕豆 <i>Vicia faba</i>	胡萝卜 <i>Daucus carota</i>
V ₁ , V ₂ , V ₃ , V ₄ , V ₅ , V ₆ , V ₇ , V ₁₀ , V ₁₁ , V ₁₂	M	F	M, R	M	M	L (p&b)	L (bl)	C
V ₈ , V ₉	M	F	S	M	M	L (p&b)	L (bl)	C, D

注: M: 花叶; F: 蕨叶; L: 枯斑 (p&b: 紫褐色; bl: 黑色); R: 花叶带有红斑; S: 均匀的小圆红斑; C: 接种叶弯曲, 叶尖截形坏死; D: 非接种叶尖端细弯, 呈黄尖。
Notes: M: Mosaic; F: Fern leaves; L: Local lesions (p&b: purple and brown; bl: black); R: Mosaic with red spots; S: Well-distributed round small red spots; C: Leaves flexure and leaves apex of sharp necrosis on the inoculated leaves; D: The tip is yellow, slenderizing and flexure on non-inoculated leaves

2 3 传病途径试验

2 3 1 汁液摩擦接种传染 两种病毒很容易以常规汁液摩擦接种法传病。枯斑反应寄主苋色藜的接种发病率为 96%, 日均温 20 左右时潜育期约为 15 d, 最短的仅为 8 d。烟草、曼陀罗和芹菜等系统感染的植物发病率平均为 85%, 同条件下潜育期为 30 d。

2 3 2 蚜虫传染 用桃蚜 (*Myzus persicae*)、芹菜蚜 (柳二尾蚜, *Cavariella japonica*) 进行传毒试验测定, 证明 V₈ 分离物可感染曼陀罗和芹菜, 日均温 18 左右时, 桃蚜对曼陀罗的传毒潜育期为 8 d, 在芹菜上为 22 d。芹菜蚜比桃蚜的传毒潜育期长 2~3 d。另外, 对附设的不杀灭蚜虫组的观察发现, 日均温 < 15 持续 7 d 以上, 光照不足 (1 200 lx 以下) 时蚜虫的发生量和活动性明显降低; 而日均温 > 20 并伴随持续强光 (1 800 lx 以上) 7 d 以上, 蚜虫的繁殖和危害加重。

2 4 病毒抗性测定

以苋色藜和曼陀罗为接种对象, 结果表明, V₈ 分离物致死温度为 50~60 (10 min), 稀释限点为 10⁻³~10⁻⁴ (10 倍稀释法), 体外保毒期为 3~4 d (22); V₅ 所测抗性指标均与 CMV 记载标准相吻合^[8~10]。

2 5 病毒粒体电镜观察

V₈ 分离物的病叶浸出液用磷钨酸负染后, 电镜观察可以看到长短不均等的线条状病毒粒体, 稍弯, 长 650~850 nm, 宽 15~18 nm; 体积分数 2% 磷钨酸负染的图片效果比体积分数 1% 磷钨酸负染的反差明显 (图 1)。健株无毒汁液对照中未发现任何粒体。

由以上鉴定结果可以断定, V₈, V₉ 分离物为 CeMV, 其余分离物则是 CMV。

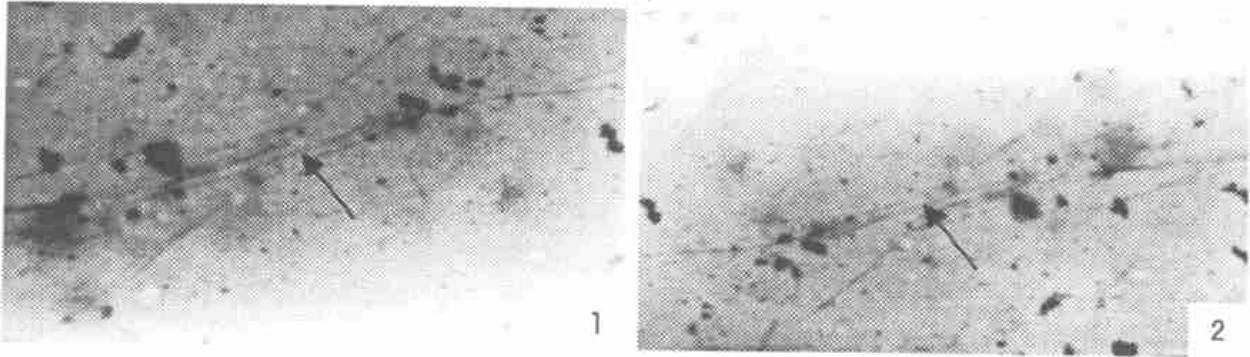


图 1 电镜观察到的 CeMV 线状病毒粒子照片 (5 000 ×)
1 体积分数 2% 磷钨酸负染; 2 体积分数 1% 磷钨酸负染

Fig 1 CeMV photos from electron microscopy, showing filamentous particles (5 000 ×)
1 2% (V/V) PTA negative staining; 2 1% (V/V) PTA negative staining

3 讨 论

3 1 CeMV 的形态与抗性

据报道, 芹菜花叶病毒 (Celery mosaic virus) 的

粒体是线状, 长度约 750~800 nm, 寄主范围较窄^[1~6]; 致死温度 55~60 (10 min), 稀释限点 0.25 × 10⁻³ 倍, 体外保毒期 6 d; 通过汁液传染, 胡萝卜蚜 (*Semiaphis heraclei*) 和桃蚜均可引起非持久性

传播^[1,4]。

从本次调查鉴定结果可以断定, V₈, V₉ 分离物为 CaMV, 与日本的有关研究^[1,2] 结果基本一致。不同之处在于, 病毒粒体长度变幅稍大, 这可能是由于病毒株系分化^[9,10] 等内因所致, 也可能是病毒提纯处理方法^[11,12] 等外因不同造成的, 其真正原因还有待于进一步研究证实。

3.2 发病影响因素分析

与抽薹前相比, 该病在芹菜抽薹后发生严重, 说明不同生育期具有明显的阶段抗病性; 由于汁液摩擦和蚜虫危害都极易引起传毒, 所以, 人工操作、蚜虫密度与活动能力及风雨冲溅等都会影响病毒病的发生与流行。本试验发现, 日均温 > 20℃ 并伴随持续强光 7 d 以上, 有利于蚜虫的繁殖和危害, 因此, 早春和晚秋的温度、日照、降雨等气象因素及品种类型、田间管理水平等都会影响田间发病的严重程度。关于土壤与种子传毒问题, 本试验对此虽未深入研究, 但从田间调查得知, 其发病有一定的规律性, 呈多点小中心放射状分布, 这除了用蚜虫的近距离传

毒来解释外, 种子(包括病株残屑)、土壤(线虫、真菌、病残根等)是否传毒, 也应引起重视并加以探索。

3.3 防治途径分析

芹菜田间 CMV 引起的病株率远大于 CaMV, 且前期危害全部为 CMV, 后期 CMV 所占比例也较高(78%), 而 CaMV 仅占 22%。所以, 防治重点应放在发生严重且寄主范围较广^[10,13~16] 的 CMV 上。在防治途径上, 应主要选用抗病抗蚜品种, 积极利用栽培防病和化学防蚜措施。如叶色黄绿的日本西芹对蚜虫有引诱作用, 在病害重灾区应注意限用。对于非持久性病毒而言, 于蚜虫大量发生时喷药杀虫防止病毒传染为时已晚, 所以应及时掌握蚜虫的消长规律和发生高峰, 提早预防蚜虫迁入和危害, 并尽量避免人工作业时摩擦传毒。确定留种田时, 要考虑远离 CMV 发生比率较高的茄果类和十字花科蔬菜或油菜田^[10,13~16], 且事先调查前期的发病情况, 尽量选留未发病株。另外, 借鉴前人^[9,12,13,17] 对其他作物的抗病育种经验及致病病毒种类确定, 对芹菜抗病毒遗传规律研究^[18] 及抗病育种^[9,12,13,17] 意义深远。

[参考文献]

- [1] [日]保坂康弘 植物病毒图鉴[M]. 梁训生译. 北京: 中国农业出版社, 1978
- [2] [日]小室康雄 野菜のウイルス[M]. 日本大阪: 养贤堂, 1984
- [3] 上海科技情报研究所 日本对蔬菜病毒病的研究[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1977
- [4] Converse R H. Agriculture handbook No. 651[M]. Washington, USA: U SDA, 1988
- [5] Francki R I B. Descriptions of plant viruses No. 213[M]. London, England: Commonwealth Mycological Institute (CM I/ABB), 1979
- [6] 上海农业科技情报中心 国外蔬菜病害防治技术[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1985
- [7] 方中达 植病研究方法[M]. 第 3 版. 北京: 中国农业出版社, 1998
- [8] 植物病毒鉴定编写组 植物病毒鉴定[M]. 北京: 中国农业出版社, 1979
- [9] 安井秀夫, 三川邦夫 番茄抗病毒病育种研究 II. CMV 不同分离株之间的致病性变异[J]. 野菜试验报告, 1978, (4): 27- 53
- [10] 杨永林, 杨淑珍, 王 慧 辣椒上 CMV 株系鉴别寄主的筛选与应用研究[J]. 吉林农业科学, 1981, (3): 22- 27
- [11] 崔璋京, 前田淳亮, 胁本哲 A Method for purification of turnip mosaic virus[J]. 日植病报, 1977, (43): 440- 448
- [12] 李经略, 李省印, 赵玉霞, 等 芜菁花叶病毒提纯和抗血清制备及应用的研究[J]. 陕西农业科学, 1987, (6): 17- 18
- [13] 郑贵彬, 郁和平 茸毛番茄新品系一代杂种的避蚜防病(CMV)效果[J]. 中国蔬菜, 1989, (1): 28- 31
- [14] 李经略, 李省印, 赵雅雅, 等 西安地区十字花科蔬菜病毒种类变化分析[J]. 植物保护, 1985, 11(5): 11- 13
- [15] 李省印 西安地区大白菜主要病害发生原因调查[J]. 北方园艺, 1989, (9): 29- 32
- [16] 吕佩珂, 李明远, 吴钜文, 等 中国蔬菜病虫原色图谱[M]. 北京: 中国农业出版社, 1992
- [17] 李树德 中国主要蔬菜抗病育种进展[M]. 北京: 科学出版社, 1995
- [18] 李省印, 柯桂兰, 宋胭脂, 等 大白菜抗芜菁花叶病毒遗传规律的研究[J]. 陕西农业科学, 1991, (4): 1- 4

(下转第 92 页)

果, 这样可逐步扩大种植地域、季节。除此之外, 还可适当发展舍饲养羊, 不但可使植被得到保护, 防止水土流失, 改善生态环境, 也可使农民获得更大的经济效益, 有利于农民早日脱贫致富。

3.4 发展精准农业

所谓精准农业 (Precision agriculture), 就是精细准确的科学化、现代化农业生产, 又称精准农作或计算机辅助农业。其生产手段精心, 资源投入精省, 运作尺度精准, 收获高产而优质。

据报道^[8], 山东烟台市精准农业发展迅速, 1993 ~ 1997 年该市粮食总产稳定在 300 万 t 左右, 经济作物和畜牧业收入比 1992 年增加了近 1 倍, 1997 年全市农村总收入 1 564 万元, 比 1992 年增加了近 4 倍。当前, 黄土高原干旱区正在大规模进行生态环境建设, 这就为精准农业的发展提供了一个良好的基础条件, 建立“粮—菜—果—畜—草”型精准农业示范基地, 一定可以推动该区农村经济的发展。

[参考文献]

- [1] 李玉山. 渭北陕北粮食生产的态势与定位[J]. 水土保持通报, 1998, (2): 76- 79
- [2] 马世均. 旱农学[M]. 北京: 农业出版社, 1991. 180- 203
- [3] 赵聚宝. 中国北方旱地农田水分开发利用[M]. 北京: 农业出版社, 1996. 209- 212
- [4] 赵明智. 陕北黄绵土水分、水分转化率和抗旱保墒问题探讨[J]. 黄土高原治理研究, 1990, (5): 295- 300
- [5] 杨开宝, 郭培才. 梯田田坎水分耗散及其对作物产量影响初探[J]. 水土保持通报, 1994, (4): 43- 47.
- [6] 赵松岭. 黄土高原半干旱地区水土保持型农业的局限性[J]. 西北植物学报, 1995, (8): 13- 18
- [7] 山 仑, 陈国良. 黄土高原旱地农业的理论与实践[M]. 北京: 科学出版社, 1993
- [8] 戎 恺. 精准农业的研究应用现状和发展趋势[J]. 上海农业学报, 2000, 16(3): 5- 8

On ways of development dryland rainfed agriculture on Loess Plateau

QU Zhen-m in¹, HU Jun-peng², SUN Ping-yang¹

(1 CCP Committee Office of Binxian County, Binxian, Shaanxi 713500, China;

2 Sci-Tech Popularization Department, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Through analysis of the history of dryland farming on Loess Plateau and main restrictive factor of provision production, this paper brings forward some agricultural development thinkings in the region, such as development of supplement irrigation, enhancing research and extension of dryland farming techniques, adjustment of agricultural industries' structure, bringing into effect precision agriculture, etc

Key words: Loess Plateau; rainfed agriculture; agriculture technology

(上接第 88 页)

Symptom analysis and pathogen identification of virus disease on celery

LI Sheng-yin¹, CHANG Yang-sheng², CHANG Zong-tang¹

(1 College of Horticulture, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Seed Company of Yangling District, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: The host range, symptom characteristics, transmitting way, shape and size etc of pathogenic viruses in celery were tested and observed. The results showed that diseased samples were infected by CEMV (celery mosaic virus) and CMV on celery. *Daucus carota* var. *sativa* and *Gamphrena globosa* were the best indicator species. Isolated CEMV could be transmitted by sap rub and aphids (*Myzus persicae* and *Cavariella japonina*) in non-persistent manner efficiently. The properties of crude sap were: T₁₀ = 50~60, DEP = 10⁻³~10⁻⁴, L₅₀ = 3~4 days; the particles of CEMV were filamentous virus, slight flexure, about 650~850 nm in length, 15~18 nm in breadth under electron microscopic studies. According to the result of identification, CEMV is considered as a member of potyvirus (potato y virus).

Key words: celery; virus disease; pathogen identification; CEMV; CMV