

陕西线辣椒种子携带和传播病毒研究初报^{*}

赵尊练^{1a}, 吴云锋^{1b}, 史联联², 阎玉让², 严小良^{1a}, 郭建伟^{1a}

(1 西北农林科技大学 a 园艺学院, b 植物保护学院, 陕西 杨凌 712100;

2 宝鸡市农业技术推广中心, 陕西 宝鸡 721001)

[摘 要] 2004-12~ 2005-01, 从陕西省线辣椒主产区随机采集3个线辣椒品种的28份种子样品, 经酶联免疫吸附法(ELISA)和RT-PCR法检测发现, 28份种子样品中, 与烟草花叶病毒(TMV)抗血清呈阳性反应者占14.29%, 呈弱阳性或可疑反应者占42.86%; 与黄瓜花叶病毒(CMV)抗血清呈阳性反应者占7.14%, 呈弱阳性或可疑反应者占46.43%; 仅有1份种子(占3.57%)与马铃薯Y病毒(PVY)抗血清出现弱阳性或可疑反应, 其余均为阴性反应。线辣椒苗期生长观察试验表明, 只有对TMV表现强阳性反应的3份种子样品, 在出苗后40 d出现轻型花叶症状, 其他对TMV、CMV和PVY表现弱阳性和阴性反应的样品均未出现可见症状, 直至出苗后70 d依然如此, 说明种子带毒量较低时不足以引起幼苗发病。RT-PCR检测结果表明, 随机抽取的5份样品播种后, 均未从其幼苗的叶片中扩增出蚕豆萎蔫病毒(BBWV)的CP基因, 说明这5份种子样品的幼苗中均不存在BBWV。研究结果还表明, 采自宝鸡地区的种子样品TMV带毒率和带毒量较高; 采自咸阳和渭南地区的种子样品CMV带毒率较高, 但带毒量较低; 采自宝鸡地区凤翔县的3份样品3种病毒均未检出; 不同品种种子带毒率无明显变化规律。

[关键词] 线辣椒; 种子; 病毒; ELISA; RT-PCR

[中图分类号] S436.418.1⁺2

[文献标识码] A **[文章编号]** 1671-9387(2005)10-0001-06

辣(甜)椒(*Capsicum annuum* L.)是一种重要的园艺作物, 根据联合国2002年的统计资料, 全世界辣(甜)椒年总产量约2 440万t^[1]。自Doolittle发现黄瓜花叶病毒(CMV)侵染辣(甜)椒以来, 国内已报道有38种病毒侵染辣(甜)椒^[1]; 国外则报道在自然条件下能侵染辣(甜)椒的病毒达45种之多, 并且还有一些病毒可在人工条件下侵染辣(甜)椒^[2,3]。随着辣(甜)椒在许多主产区的持续栽培和连作, 辣椒病毒病的危害呈不断上升趋势, 减产幅度为30%~70%, 已经成为制约辣(甜)椒生产的严重障碍。

随着市场的发展和消费的多元化, 线辣椒除了主要用于制干辣椒外, 也越来越多地用于鲜食、制酱、提取色素等^[4]。陕西省是我国线辣椒的主产区之一, 从20世纪80年代至今, 年种植面积一直稳定在66 667 hm²左右, 已经形成了自身的特色和优势^[5]。然而近10年来, 随着气候的变化及各种生产环境的演化, 病毒病在陕西线辣椒产区的危害日益加重, 已经成为陕西线辣椒生产的首要障碍^[4~6]。

长期以来人们认为, 辣(甜)椒病毒病主要是由昆虫(如蚜虫)、机械摩擦、人为接触、田间残留的病

枝病叶传播的, 对种子携带和传播病毒病的研究报道很少, 并且国内外的相关研究都集中在灯笼椒及角椒上^[7~12], 对线辣椒尚未见报道。陕西育成的线辣椒品种“8212”、“8819”、“陕椒2001”等除用于陕西线辣椒生产外, 还推广到全国许多省(区)。近年来, 每年有数十吨产自陕西的线辣椒种子销往全国各地^[4~6]。所以, 陕西线辣椒的种子带毒情况不仅关系到病毒病在陕西线辣椒产区的蔓延, 而且还会影响国内线辣椒产业的发展。

本试验对采集于陕西线辣椒主产区的3个主栽品种的28份种子样品的带毒情况进行了检测和分析, 以期摸清陕西线辣椒种子携带及传播病毒的现状, 为种子消毒处理、选择制种基地等提供科学依据, 并为辣椒育种、栽培及相关的研究提供借鉴。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试材料 3个线辣椒品种种子随机采自陕西宝鸡、咸阳、渭南(依次由西向东)3个线辣椒主产区, 采种时间为2004-12~2005-01。各样品的采集

* [收稿日期] 2005-05-16

[基金项目] 科技部“九五”攻关重大专项(2004BA516A 09)

[作者简介] 赵尊练(1960-), 男, 陕西乾县人, 副研究员, 硕士, 主要从事线辣椒抗病育种与栽培技术研究。

地点、品种名称详见表1。其中,扶风县、岐山县、眉县、凤翔县属于宝鸡地区,兴平市和武功县属于咸阳地区,渭南市属于渭南地区。

表1 供试线辣椒种子的采种地点及品种名称

Table 1 Collecting location and variety of seeds

样品编号 Order of samples	采集地点 Collected location	采集时间 Collected time	品种名称 Cultivars	样品编号 Order of samples	采集地点 Collected location	采集时间 Collected time	品种名称 Cultivars
1	扶风县召公镇 Shaogong of Fufeng	2004-12-28	陕椒 981 Shanjiao 981	15	兴平市桑镇 Sangzhen of Xingping	2005-01-15	陕椒 2003 Shanjiao 2003
2	岐山县马江镇 Majiang of Qishan	2004-12-28	陕椒 2001 Shanjiao 2001	16	兴平市桑镇 Sangzhen of Xingping	2005-01-15	陕椒 981 Shanjiao 981
3	岐山县马江镇 Majiang of Qishan	2004-12-28	陕椒 2003 Shanjiao 2003	17	武功县小村镇 Xiaocun of Wugong	2005-01-15	陕椒 2001 Shanjiao 2001
4	岐山县马江镇 Majiang of Qishan	2004-12-28	陕椒 981 Shanjiao 981	18	武功县小村镇 Xiaocun of Wugong	2005-01-15	陕椒 2003 Shanjiao 2003
5	眉县青化乡 Qinghua of Meixian	2004-12-28	陕椒 2001 Shanjiao 2001	19	武功县小村镇 Xiaocun of Wugong	2005-01-15	陕椒 981 Shanjiao 981
6	眉县青化乡 Qinghua of Meixian	2004-12-28	陕椒 2003 Shanjiao 2003	20	渭南市辛市镇 Xinshi of Weinan	2005-01-26	陕椒 981 Shanjiao 981
7	眉县青化乡 Qinghua of Meixian	2004-12-28	陕椒 981 Shanjiao 981	21	渭南市辛市镇 Xinshi of Weinan	2005-01-26	陕椒 2001 Shanjiao 2001
8	凤翔县纸坊乡 Zhifang of Fengxiang	2004-12-28	陕椒 2001 Shanjiao 2001	22	渭南市辛市镇 Xinshi of Weinan	2005-01-26	陕椒 2003 Shanjiao 2003
9	凤翔县纸坊乡 Zhifang of Fengxiang	2004-12-28	陕椒 2003 Shanjiao 2003	23	渭南市官底乡 Guandi of Weinan	2005-01-26	陕椒 981 Shanjiao 981
10	凤翔县纸坊乡 Zhifang of Fengxiang	2004-12-28	陕椒 981 Shanjiao 981	24	渭南市官底乡 Guandi of Weinan	2005-01-26	陕椒 2001 Shanjiao 2001
11	兴平市汤坊乡 Tangfang of Xingping	2005-01-15	陕椒 2001 Shanjiao 2001	25	渭南市官底乡 Guandi of Weinan	2005-01-26	陕椒 2003 Shanjiao 2003
12	兴平市汤坊乡 Tangfang of Xingping	2005-01-15	陕椒 2003 Shanjiao 2003	26	渭南市田市乡 Tianshi of Weinan	2005-01-26	陕椒 981 Shanjiao 981
13	兴平市汤坊乡 Tangfang of Xingping	2005-01-15	陕椒 981 Shanjiao 981	27	渭南市田市乡 Tianshi of Weinan	2005-01-26	陕椒 2001 Shanjiao 2001
14	兴平市桑镇 Sangzhen of Xingping	2005-01-15	陕椒 2001 Shanjiao 2001	28	渭南市田市乡 Tianshi of Weinan	2005-01-26	陕椒 2003 Shanjiao 2003

1.1.2 试剂 烟草花叶病毒(TMV)、黄瓜花叶病毒(CMV)和马铃薯Y病毒(PVY)的抗体均由西北农林科技大学植保学院病毒实验室保存;辣根过氧化物酶酶标二抗,购于华美公司;反转录酶(M-MLV)和Taq DNA多聚酶分别由Promega和Takara公司生产;用作阳性对照(CK₁)的3种病毒均为西北农林科技大学植保学院病毒实验室保存的提纯样;阴性对照(CK₂)为灭活处理的线辣椒种子。

1.2 方法

1.2.1 TMV、CMV和PVY的ELISA检测 (1)样品制备。每个样品取30粒种子(约0.2g),于研钵中加液氮研磨成粉状,加0.02mol/L的PBS缓冲液(pH=7.2)2mL,10000 r/min离心5min,取上清液在-20℃下保存备用。(2)包被抗原。聚苯乙烯板每孔加样品0.1mL,每样品加2孔,重复3次,37℃温育1h,然后于4℃冰箱孵育24h,取出弃抗原,用洗涤缓冲液PBST(PBS+0.1% Tween 20)洗3次,每次5min。(3)加抗体。TMV和CMV抗体用PBST+BSA稀释500倍,PVY抗体稀释1000倍。每孔加抗体0.1mL,37℃温育2h,弃抗体,用上述同样方法洗涤3次。(4)加酶标抗体。酶标抗体用PBST-

BSA稀释300倍,每孔加0.1mL,37℃温育2h,弃酶标抗体,用上述同样方法洗涤3次。(5)底物显色。每孔加显色液(邻苯二胺(OPD)0.01g,加底物缓冲液(pH5.5磷酸-柠檬酸缓冲液)10mL,H₂O₂20μL)0.1mL,37℃温育10min。

最后加2mol/L H₂SO₄终止反应,照相,用酶标仪在405nm下测光密度(OD)值。以P/N大于2.0为阳性,P/N小于1.5为阴性,P/N在1.5~2.0为弱阳性或可疑(P为被检样品的OD值,N为阴性对照的OD值)^[13]。

1.2.2 蚕豆萎蔫病毒(BBWV)的RT-PCR检测 由于西北农林科技大学植保学院病毒实验室无BBWV抗血清,而RT-PCR也是检测辣椒病毒的一种有效方法^[12,14],故本试验采用RT-PCR法检测辣椒种子携带BBWV的情况。

(1)引物设计合成。根据已报道的BBWV的序列,设计CP基因全序列引物,其序列如下:

上游引物P1: gga att ctg atg gag gag gat gt;

下游引物P2: gcc cta gga acc ctg cat aat ac。

(2)总RNA的提取与RT-PCR扩增。RNA的提取:随机选3,8,10,18,28号样品,每样取10~15粒

种子播种, 当幼苗长出 3 片真叶时取 0.5 g 叶片在液氮中研磨至粉末, 转入离心管中; 加 250 μ L 氯仿, 250 μ L Tris 饱和酚, 500 μ L RNA 抽提液, 振荡 1~2 min, 在 4 $^{\circ}$ C 下 12 000 r/min 离心 5 min; 将上清液转入新的离心管中, 加入 250 μ L 氯仿和 250 μ L Tris 饱和酚, 摇匀后在 4 $^{\circ}$ C 下 12 000 r/min 离心 5 min, 将上清液转入新的离心管中, 加入相同体积的 4 mol/L LiCl, -20 $^{\circ}$ C 沉淀 4 h 以上或者过夜; 4 $^{\circ}$ C 下 12 000 r/min 离心 5 min, 弃上清液, 用体积分数 70% 酒精洗 2 次; 真空抽滤, 加入 20 μ L 焦碳酸二乙酯 (DEPC) 水。

RT-PCR 扩增: 取一新的经 DEPC 处理的 0.5 mL 离心管, 加入 RNA 提取液 6 μ L (2 μ g)、10 μ mol/L 3 端引物 4 μ L (0.5 μ g)、不含 RNA 酶的 ddH₂O 2 μ L, 稍离心混匀, 70 $^{\circ}$ C 处理 5 min; 立即置冰上, 依次加入 5 倍第一链合成缓冲液 5 μ L、10 mmol/L dNTP 5 μ L、RNasin 2 μ L 和 M-MLV (200 U/ μ L, Promega) 1 μ L, 加 ddH₂O 至反应总体积为

25 μ L, 稍离心, 混匀后置 42 $^{\circ}$ C 水浴锅中反转录 1 h; 最后于 95 $^{\circ}$ C 水浴锅中作用 5 min, 以使 M-MLV 灭活。

PCR 扩增体系: 10 mmol/L dNTP 1.5 μ L, 10 $\times$ PCR Buffer 2.5 μ L, 25 mmol/L Mg²⁺ 2.0 μ L, 10 mmol/L P₁ 2.0 μ L, 10 mmol/L P₂ 2.0 μ L, dDNA 2.0 μ L, Taq DNA 多聚酶 (5 U/ μ L, Takara) 0.2 μ L。加 ddH₂O 至反应总体积为 25 μ L 后进行以下 PCR 程序: 94 $^{\circ}$ C 变性 3 min; 94 $^{\circ}$ C 1 min, 55 $^{\circ}$ C 50 s, 72 $^{\circ}$ C 1.5 min, 32 个循环; 最后 72 $^{\circ}$ C 10 min。

1.2.3 种植观察试验 每样品随机取 10~15 粒种子, 播于花盆, 每样品重复 3 次。温室栽培至 4 片真叶时 (苗龄 25 d) 开始调查发病情况, 每隔 2 周调查 1 次, 至第 70 天为止。

2 结果与分析

2.1 TMV, CMV 和 PVY 的 ELISA 检测结果
28 份样品的 ELISA 检测结果见表 2。

表 2 28 份线辣椒种子 TMV, CMV, PVY 带毒情况的 ELISA 检测结果 (OD 值)

Table 2 Detection of TMV, CMV and PVY from pepper seeds by ELISA

样品编号 Order of samples	TMV			CMV			PVY		
	OD 值 OD value	P/N	反应 Reaction	OD 值 OD value	P/N	反应 Reaction	OD 值 OD value	P/N	反应 Reaction
1	0.93	13.28	++	0.07	0.88	-	0.14	1.27	-
2	0.84	12.00	++	0.08	1.00	-	0.15	1.36	-
3	1.00	14.29	++	0.10	1.25	-	0.16	1.45	-
4	0.13	1.86	+	0.28	3.50	++	0.14	1.27	-
5	0.08	1.14	-	0.10	1.25	-	0.14	1.27	-
6	0.09	1.29	-	0.16	2.00	+	0.16	1.45	-
7	0.24	3.43	++	0.07	0.88	-	0.13	1.18	-
8	0.08	1.14	-	0.08	1.00	-	0.14	1.27	-
9	0.08	1.14	-	0.06	0.75	-	0.11	1.00	-
10	0.08	1.14	-	0.09	1.13	-	0.13	1.18	-
11	0.09	1.29	-	0.12	1.50	+	0.15	1.36	-
12	0.11	1.57	+	0.13	1.63	+	0.14	1.27	-
13	0.14	2.00	+	0.12	1.50	+	0.15	1.36	-
14	0.10	1.43	-	0.13	1.63	+	0.13	1.18	-
15	0.11	1.57	+	0.10	1.25	-	0.17	1.54	+
16	0.10	1.43	-	0.09	1.13	-	0.16	1.45	-
17	0.11	1.57	+	0.32	4.00	++	0.15	1.36	-
18	0.10	1.43	-	0.12	1.50	+	0.15	1.36	-
19	0.10	1.43	-	0.13	1.63	+	0.15	1.36	-
20	0.11	1.57	+	0.13	1.63	+	0.16	1.45	-
21	0.07	1.00	-	0.15	1.88	+	0.15	1.36	-
22	0.12	1.71	+	0.14	1.75	+	0.13	1.18	-
23	0.12	1.71	+	0.12	1.50	+	0.12	1.09	-
24	0.10	1.43	+	0.12	1.50	+	0.14	1.27	-
25	0.11	1.57	+	0.12	1.50	+	0.11	1.00	-
26	0.10	1.43	-	0.10	1.25	-	0.12	1.09	-
27	0.13	1.86	+	0.06	0.75	-	0.11	1.00	-
28	0.13	1.86	+	0.10	1.25	-	0.12	1.09	-
CK ₁	0.68	9.71	++	0.70	8.75	++	0.65	5.91	++
CK ₂	0.07		-	0.08		-	0.11		-

注: 表中 OD 值为 3 次重复的平均值; ++, 阳性; +, 弱阳性或可疑; -, 阴性; 下表同。
Note: The OD is the average of 3 replications; ++, strong positive; +, weak positive; -, negative. The following table is the same.

2.1.1 TMV 检测结果 ELISA 检测结果(表2)表明,1,2,3号种子的 P/N 值远大于2.0,说明其与TMV抗血清呈强阳性反应,种子带有大量TMV;7号种子的 P/N 值也大于2.0,对TMV呈阳性反应,说明该种子也带有一定量TMV;4,12,13,15,17,20,22,23,25,27,28号种子的 P/N 值为1.5~2.0,反应呈弱阳性,说明种子带有或可能带有少量TMV;其他样品种子的 P/N 值均小于1.5,为阴性反应,说明种子不带毒或带毒量很低。计算可知,28份种子中,与TMV抗血清呈阳性反应者占14.29%,呈弱阳性或可疑反应者占42.86%。

2.1.2 CMV 检测结果 28份种子中,4和17号样品与黄瓜花叶病毒(CMV)抗血清呈较明显的阳性反应(表2, $P/N > 2.0$),说明有7.14%的种子带有一定量CMV;6,11~14,18~25号样品与黄瓜花叶病毒抗血清呈弱阳性反应($1.5 \leq P/N \leq 2.0$),表明有46.43%的种子带有或者可能带有少量CMV;其他样品为阴性反应($P/N < 1.5$),说明其种子不带毒或带毒量很低。

2.1.3 PVY 检测结果 所有28个样品与马铃薯Y病毒(PVY)抗血清的反应结果比较一致(表2),除15号种子样品呈极弱的阳性反应($P/N = 1.54$)外,其余27份样品均为阴性反应,表明所有种子均不带PVY或带毒量很低。

2.2 BBWV 的RT-PCR 检测结果

在随机抽取的5份种子样品的幼苗叶片中,均未扩增出BBWV的CP基因,说明这5份种子样品的幼苗均不带BBWV。而笔者在1999和2000年的成株样品检测中发现,BBWV在陕西线辣椒上的检出率分别为21%和37%^[15],在所检测的7种病毒中侵染率较高,是引起陕西线辣椒病毒病的一种主要病原。

表3 28份线辣椒种子带毒的地域分布

Table 3 Regional distribution of pepper seeds with TMV, CMV and PVY

样品编号 Order of samples	采集地点 Collected location	品种名称 Cultivars	对TMV的反应 Reaction of TMV	对CMV的反应 Reaction of CMV	对PVY的反应 Reaction of PVY
1	扶风县 Fufeng	陕椒981 Shanjiao 981	++	-	-
2	岐山县 Qishan	陕椒2001 Shanjiao 2001	++	-	-
3	岐山县 Qishan	陕椒2003 Shanjiao 2003	++	-	-
4	岐山县 Qishan	陕椒981 Shanjiao 981	+	++	-
5	眉县 Meixian	陕椒2001 Shanjiao 2001	-	-	-
6	眉县 Meixian	陕椒2003 Shanjiao 2003	-	+	-
7	眉县 Meixian	陕椒981 Shanjiao 981	++	-	-
8	凤翔县 Fengxiang	陕椒2001 Shanjiao 2001	-	-	-
9	凤翔县 Fengxiang	陕椒2003 Shanjiao 2003	-	-	-
10	凤翔县 Fengxiang	陕椒981 Shanjiao 981	-	-	-
11	兴平市 Xingping	陕椒2001 Shanjiao 2001	-	+	-

本次幼苗中未能检测到BBWV,一种可能是种子不带毒,另一种可能是种子带毒量很少,不足以引起幼苗发病,而在成株期BBWV可能通过其他途径传播。

2.3 苗期生长观察结果

对28份种子样品进行温室苗期生长观察试验结果表明,出苗后第25天,所有幼苗生长良好,未观察到花叶、斑驳、疱斑、坏死等病毒病症状;出苗后第40天,1,2,3号种子样品的幼苗出现TMV轻型花叶,其他ELISA检测TMV,CMV和PVY为阳性和阴性反应的样品均未出现可见症状,直至出苗后第70天依然如此。这些结果说明,种子不带毒或带毒量较低不会引起幼苗和植株发病。

2.4 种子带毒的地域分布

宝鸡、咸阳、渭南为陕西省线辣椒的3个主要产区。由表3可知,宝鸡地区的线辣椒种子样品TMV带毒率较高,40%的样品为阳性反应,10%的样品为弱阳性或可疑反应;CMV带毒率较低,仅10%的样品为阳性反应,10%的样品为弱阳性或可疑反应;所有样品均不带PVY。咸阳地区的样品CMV带毒率较高,11.1%的样品为阳性反应,66.7%的样品为弱阳性或可疑反应;TMV带毒率较低,无阳性反应样品,只有44.4%的样品为弱阳性或可疑反应;另有11.1%的样品对PVY为弱阳性或可疑反应。渭南地区分别有77.8%和66.7%的样品可能带有TMV和CMV,但均无阳性反应样品,说明TMV和CMV带毒率较高,但带毒量较低;所有样品均不带PVY。另外,从宝鸡地区凤翔县采集的3个样品中,3种病毒均未检出,这一结果支持了以前的研究结论,即凤翔是陕西省线辣椒主产区中病毒病相对较轻的区域^[4~6,15]。

续表3 Continued Table 3

样品编号 Order of samples	采集地点 Collected location	品种名称 Cultivars	对 TMV 的反应 Reaction of TMV	对 CMV 的反应 Reaction of CMV	对 PV Y 的反应 Reaction of PV Y
12	兴平市 Xingping	陕椒 2003 Shanjiao 2003	+	+	-
13	兴平市 Xingping	陕椒 981 Shanjiao 981	+	+	-
14	兴平市 Xingping	陕椒 2001 Shanjiao 2001	-	+	-
15	兴平市 Xingping	陕椒 2003 Shanjiao 2003	+	-	+
16	兴平市 Xingping	陕椒 981 Shanjiao 981	-	-	-
17	武功县 Wugong	陕椒 2001 Shanjiao 2001	+	++	-
18	武功县 Wugong	陕椒 2003 Shanjiao 2003	-	+	-
19	武功县 Wugong	陕椒 981 Shanjiao 981	-	+	-
20	渭南市 Weinan	陕椒 981 Shanjiao 981	+	+	-
21	渭南市 Weinan	陕椒 2001 Shanjiao 2001	-	+	-
22	渭南市 Weinan	陕椒 2003 Shanjiao 2003	+	+	-
23	渭南市 Weinan	陕椒 981 Shanjiao 981	+	+	-
24	渭南市 Weinan	陕椒 2001 Shanjiao 2001	+	+	-
25	渭南市 Weinan	陕椒 2003 Shanjiao 2003	+	+	-
26	渭南市 Weinan	陕椒 981 Shanjiao 981	-	-	-
27	渭南市 Weinan	陕椒 2001 Shanjiao 2001	+	-	-
28	渭南市 Weinan	陕椒 2003 Shanjiao 2003	+	-	-

2 5 种子带毒与品种的关系

由表3可知,线辣椒品种“陕椒981”种子TMV,CMV和PVY的检出率分别为60%,50%和0%;线辣椒品种“陕椒2001”种子TMV,CMV和PVY的检出率分别为44%,56%和0%;线辣椒品种“陕椒2003”种子TMV,CMV和PVY的检出率分别为67%,56%和11%。从总体上看,线辣椒种子带毒情况与品种无明显的联系。

3 讨 论

3 1 关于种子带毒与植株发病的问题

Chitra等^[11]对灯笼椒种子携带和传播TMV和ToMV(番茄花叶病毒)的研究结果表明,带毒种子出苗后在3叶期即表现花叶症状。为此,本试验也选择苗期栽培鉴定线辣椒种子对病毒的传播情况。本研究表明,1,2,3号样品在ELISA检测中对TMV表现为强阳性反应(OD值≥0.84),在苗期生长观察中发现了TMV症状,说明种子带毒可以引起植株发病。其他对TMV,CMV和PVY表现弱阳性和阳性反应的样品(OD值均≤0.32)均未出现可见症状,这一方面可能是由于带毒量少,不足以引起可见症状。Chitra等^[11]的研究结果也表明,灯笼椒种子将TMV传给幼苗的机率与种子样品在410 nm

下的OD值呈显著正相关,OD值在0.29以下时,传播率为0,在0.30~0.52时,传播率为1%~10%。另一方面,也有可能是种皮带毒,在萌发中未曾侵染后代植株,但其可能性有待于今后进一步研究。

3 2 关于辣椒类型与种子带毒的问题

国内外关于辣椒种子带毒的研究一直集中在青椒上^[7~12]。刘建华等^[8]对湘研系列青椒的研究结果表明,青椒种子主要携带TMV和CMV,而且带毒率很高,但未检出PVY和PVX(马铃薯X病毒);Kazinczi等^[2]也认为,青椒种子可以携带并传播TMV和CMV,不携带和传播PVY。尽管青椒与线辣椒在对病毒病的抗性和耐性方面存在明显差异^[4,6],但从本检测结果看,线辣椒种子带毒情况与前人对青椒的研究结果基本吻合。

3 3 关于品种与种子带毒的问题

尽管本试验所选的3个品种对病毒病的宏观抗性有所不同^[6],但试验结果表明,各品种间带病种类和检出率无明显的规律性差异,其原因可能有以下几个方面:辣椒为常异交作物^[4],所选线辣椒为常规种,种内一致性有限^[4,6];线辣椒品种间对病毒病反应的差异主要表现为耐性差异,而非抗性或免疫性差异^[5,6,16]。

[参考文献]

[1] 杨永林, 闫淑珍, 田茹燕, 等. 中国六省、市辣(甜)椒病毒病种群及其分布的研究[J]. 中国病毒学, 1995, 10(4): 332- 339
[2] Kazinczi G, Horvath J, Gaborjanyi R. Some aspects of pepper virus research[J]. Acta Phytopathologica et Entomologica, 2001, 36: 329-

347.

- [3] Mijatovic M, Ivanovic M, Obradovic A, et al. Potato virus Y (PVY) on pepper in Serbia[J]. Acta Horticulturae, 2002, 579: 545- 549.
- [4] 庄灿然, 吕金殿, 梁耀琦. 中国制干辣椒[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 1995.
- [5] 赵尊练, 严小良. 中国线辣椒产业发展的思路与对策[J]. 中国农学通报, 2003, 19(5): 176- 179.
- [6] 赵尊练, 谭根堂, 严小良, 等. 辣椒高效生产实用技术[M]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学出版社, 2003.
- [7] 肖英, 程秉铨, 周俊, 等. 辣椒种子病毒的检测及防治[J]. 新疆农业科学, 1995, (6): 257- 259.
- [8] 刘建华, 刘勇, 杨宇红. 辣椒种传病毒种类及其传病作用研究[J]. 湖南农业科学, 1995, (6): 41- 42.
- [9] Tosic M, Sutic D, Pesic Z. Transmission of tobacco mosaic virus through pepper *Capsicum annuum* cultivar Niska-spika seed[J]. Phytopath Z, 1980, 97: 10- 13.
- [10] Shigeharu Takeuchi, Yasufumi Hikichi, Yoichi Kawada, et al. Direct immunostaining assay, a new simplified technique for detection of tobamoviruses from seeds of green pepper (*Capsicum annuum* L.) [J]. Ann Phytopathol Soc Jpn, 1999, 65: 189- 191.
- [11] Chitra T R, Prakash H S, Albrechtsen S E, et al. Seed transmission of mosaic viruses in tomato and bell pepper[J]. Tropic Science, 1999, 39: 80- 84.
- [12] Kazuhiro Toyoda, Yasufumi Hikichi, Shigeharu Takeuchi, et al. Efficient inactivation of pepper mild virus (PMMoV) in harvested seeds of green pepper (*Capsicum annuum* L.) assessed by a reverse transcription and polymerase chain reaction (RT-PCR)-based amplification[J]. Scientific Report of the Faculty of Agriculture Okayama University, 2004, 93: 29- 32.
- [13] 程秉铨, 周俊, 孙小陆, 等. 辣椒病毒的酶联免疫吸附法检测[J]. 新疆农业科学, 1995, (5): 218- 220.
- [14] 黄粤, 马荣群, 岳文辉. 应用RT-PCR方法检测辣椒轻微斑驳病毒[J]. 山东农业科学, 2004, (5): 56- 57.
- [15] 赵尊练, 史联联, 谭根堂, 等. 陕西省辣椒主产区辣椒病毒病原种类鉴定及其分布研究[J]. 中国农业科学, 2004, 37(11): 1738- 1742.
- [16] 崔明礼, 刘杨, 肇桂英. 辣椒抗病病毒研究现状概述[J]. 辽宁农业科学, 2000, (3): 36- 37.

Preliminary report on transmission of viruses through line pepper (*Capsicum annuum* L.) seed in Shaanxi province

**ZHAO Zun-lian^{1a}, WU Yun-feng^{1b}, SHI Lian-lian², YAN Yu-rang²,
YAN Xiao-liang^{1a}, GUO Jian-wei^{1a}**

(1 a College of Horticultural, b College of Plant Protection, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Agricultural Extension Center of Baoji City, Baoji, Shaanxi 721001, China)

Abstract: To understand the transmission of virus through line pepper seed and supply evidence for seed treatment and production, the TMV, CMV, PVY and BBWV on 28 seed samples, which were collected from 3 major line pepper production areas of Shaanxi province from December of 2004 to January of 2005, of 3 line pepper cultivars were examined by ELISA and RT-PCR respectively. The results of ELISA indicated that: 14.29% of samples showed strong positive reaction and 42.86% showed weak positive reaction to TMV; 7.14% of samples showed positive reaction and 46.43% showed weak positive to CMV; only one sample showed weak positive reaction to PVY. In seedling stage, 3 samples that showed strong positive reaction to TMV performed the symptom of TMV on the 40th day after sprouting, and the other seedlings were normal until the 70th day after sprouting. These results indicated that the viruses in most samples were not strong enough to cause the virus disease in seedling although some of them showed weak positive reaction to virus. The seedlings of 5 samples, which were selected randomly from 28 samples, were examined by RT-PCR. The results showed that the PC gene of BBWV was not amplified by means of RT-PCR and there wasn't BBWV in the seedlings of these 5 seed samples. The results of this experiment also indicated that the carrying percentage of TMV in samples collected from Baoji area was higher; and the carrying percentage of CMV in samples collected from Xianyang and Weinan area was higher; the 3 samples collected from Fengxiang county were virus free; the percentage of virus in samples was not varied with cultivars.

Key words: line pepper; seed; virus; ELISA; RT-PCR