

# 广州地区豌豆黄顶病毒的鉴定\*

高乔婉 余雅丽\*\* 范怀忠

(植保系)

## 摘 要

1960—1964年我们对广州地区豌豆黄顶病的病原进行了初步鉴定。该病毒不能由汁液摩擦和土壤传递,传病介体为豆蚜(*Aphis fabae* Kaltanbach),一个豆蚜的传病率可高达66—68%,2—10个的相差不多,都高达80—100%。最短获毒饲养时间为3小时,病毒在虫体内潜育期最少7小时,最短传毒饲养时间少于15分钟,保毒虫能终生传病。可以认为该病毒是一种持久性病毒。1981年我们进行了病毒的电镜观察,病毒粒子线状,大小为 $12 \times 416 - 496$  nm。

此病毒除侵染豌豆外,还可侵染蚕豆、菜豆和紫云英,不能侵染苜蓿、三叶草、豇豆、红豆、眉豆、大豆、花生、赤小豆、绿豆、扁豆、苕子等。在豌豆上,病害潜育期5—20天。

根据文献上的有关报道,我们认为本病毒是一种新报道的病毒,暂命名为豌豆黄顶病毒。至于此病毒在病毒分类上的归属问题,则还有待于进一步研究解决。

豌豆黄顶病在广州地区经常有所发生,个别年份和个别田块发生较为严重。

在1960—1964年间我们对此病的病原病毒进行鉴定过程中,发现此病毒也能为害蚕豆引起基本相同的症状,随后还发现武汉地区严重发生蚕豆黄顶病的病原病毒也是相同的<sup>[1]</sup>。根据当时的文献资料<sup>[4][5]</sup>,我们认为这是一种新的病原病毒,命名为豌豆黄顶病毒,并发表了简报<sup>[1]</sup>。

1981年我们对此病毒进行了电镜观察,结果进一步支持了我们的上述见解。

本文是此项研究的详细报告。

## 症 状 和 发 生 情 况

豌豆黄顶病病株顶部叶片黄化而小,皱缩,叶缘向下卷曲,叶质脆;病部枝条短

\*本院电镜室赖红华同志协助作电镜观察,昆虫教研组莫蒙异老师协助鉴定豆蚜,谨此致谢。

\*\*当时在本系进修的湖北农科院植保所研究人员。

缩,病株的地表茎基部腋芽大量萌发(有时多达10条),呈丛枝症,植株发病后不再开花结实,很快枯死。(图2)

在广州地区本病每年从十一月份开始一直发生到翌年二月,通常多在田间边行发生,一般发病率很低,但在个别年间发生较多,个别田块的发病率可高达50%以上。

本病在广州地区主要为害豌豆类作物,其次为害蚕豆。

## 传 染 途 径

### (一) 汁液机械摩擦传染试验

1961年12月按常规方法进行两次试验,每次接种豌豆及蚕豆幼苗各10株,置温室内观察30天未见发病,表明此病不能通过汁液机械摩擦传染。

### (二) 病土传染试验

1962年3月取(1)本院蔬菜场病田病株下的土壤及(2)病土再加上病株残体,分别置于口径33公分的盆钵中。每盆播种豌豆种子50粒,置防虫笼中,发芽生长后观察30天。重复两次,均未见有发病。表明本病不能通过土壤或土壤生物传染。

### (三) 蚜虫传染试验

1960年12月至1961年2月在本院温室进行。供试豆蚜的无蚜翅采自田间无病豌豆植株,在防虫笼内豌豆上饲养繁殖。供试桃蚜(*Myzus persicae* sultz)取自温室普通莠上繁育的。

按常规方法,把无毒豆蚜及桃蚜先放在病株上进行获毒饲育24小时,然后转移到供试豌豆幼苗上,每株放带毒豆蚜或桃蚜20头,进行传毒饲育24小时,各重复3次,每次各5株。试验结果:(1)豆蚜传毒的试株100%发病,表明豆蚜是本病的媒介昆虫;

(2)桃蚜传毒的植株全部不发病,表明桃蚜不是本病的媒介昆虫。

### (四) 蚜虫传毒特性

1. 传毒头数与发病率:1961年3月至1963年4月在本院温室进行,按常规方法把在病株上获毒饲育24小时以上的带毒蚜,分别按1、2、5、10、20头放在无病的豌豆幼苗上传毒饲育24小时。试验结果(见表1)表明,带毒豆蚜传毒效率很高,1头豆蚜的传病率就可高达66—86%;2—10头豆蚜的传病率相差不多,都高达80—100%;20头豆蚜的传病率则为100%。至于病害潜育期则各个处理全部都在5—10天范围内。由于潜育期受各种条件影响较大,而在本试验未加严格控制,所以,试验结果没有显著差异。

2. 获毒饲育时间对发病率的影响:1962年12月至1963年3月在本院温室进行。按常规方法,以无毒蚜虫2—5头/株在病株上分别按0.5、1、2、3、4、5、24小时获毒饲育后,放在无病豌豆幼苗上传毒饲育24小时,试验结果(见表2)表明,最短获毒饲育期(以2—5头为一个传毒单位计)为3小时左右,5小时的效果还不很稳定。获毒饲育24小时的传毒效率就可达100%。

3. 传毒饲育时间对发病率的影响:1962年12月至1963年3月在本院温室进行。按常规方法把无毒蚜虫放在病株上进行获毒饲育15、20、25、30、60分钟。试验结果(见

表1 传毒蚜虫头数对发病率的影响

头 数	接 种 次 数	发病株数/接种株数	发 病 率 (%)	病害潜育期(天)
1	1	5/6	86	9
	2	8/12	66	5—10
	3	6/8	75	9
2	1	4/4	100	9—12
	2	8/10	80	10
	3	5/5	100	9
5	1	7/8	87	9—12
	2	5/5	100	5
	3	5/5	100	9
10	1	8/8	100	9
	2	9/10	90	10
	3	5/5	100	10
20	1	8/8	100	7
	2	5/5	100	10
	3	5/5	100	5

表2 获毒饲育时间对发病率的影响

获毒时间(小时)	次 数	发病株数/接种株数*	发 病 率 (%)	病害潜育期(天)
0.5	1	0/5	0	/
	2	0/5	0	/
1	1	0/5	0	/
	2	0/5	0	/
2	1	0/5	0	/
	2	0/5	0	/
	3	0/5	0	/
3	1	0/5	0	/
	2	1/5	20	20
	3	3/5	60	15
4	1	2/4	50	12
	2	0/5	0	/
	3	2/5	40	12

5	1	4/5	80	20
	2	4/5	80	10
	3	0/5	0	/
24	1	5/5	100	7
	2	5/5	100	15
	3	5/5	100	7

• 每株放虫 2—5 头

表 3) 表明, 最短传毒饲养时间少于 15 分钟, 传毒饲养时间 25 分钟以上的发病率较稳定, 可保持在 60—80% 之间, 而 60 分钟则可达 100%。

表 3 传毒饲养时间对发病率的影响

传毒时间 (分)	次 数	发病株数/接种株数	发 病 率 (%)	病害潜育期(天)
15	1	1/5	20	11
	2	4/5	80	8
	3	4/5	80	13
20	1	1/5	20	13
	2	2/5	40	8
	3	3/5	60	8
25	1	4/5	80	9
	2	3/5	60	8
30	1	4/5	80	9
	2	4/5	80	10
	3	4/5	80	10
60	1	5/5	100	10
	2	5/5	100	8
	3	5/5	100	8

4. 传毒的持久性: 1963年11—12月在本院温室进行。按常规方法, 把获毒饲养24小时后的带毒蚜, 每10头放在1株无病豌豆幼苗上进行传毒饲养24小时后, 即转移到另一株无病苗上, 如此继续每隔24小时转换健苗一次, 直至带毒蚜虫死亡为止。试验结果(见表4)表明, 本试验的带毒蚜虫最多只存活5天, 也能传病5天, 即带毒蚜虫可以

终生传病, 也就是说, 豌豆黄顶病毒属于持久性(循环性)病毒。

5. 病毒在虫体内的潜育期: 1964年3月在本院温室进行。按常规方法把无毒虫在病株上进行获毒饲育3小时后, 2头/株在无病豌豆苗上进行传毒饲育, 每隔若干小时转移植株一次, 测定病毒在虫体内的潜育期。试验结果(见表5)表明, 此病毒在豆蚜体内的潜育期(循环期)最少约7小时, 但即使在29小时后, 有传毒能力的蚜虫仍只约60%。

表4 蚜虫传毒的持久性

天 数	次 数	发病株数/接种株数*	发病率(%)	病害潜育期(天)
1	1	7/10	70	13
	2	7/7	100	15
2	1	7/9	77	12
	2	5/5	100	15
3	1	6/8	75	12
	2	3/5	60	15
4	1	3/5	60	13
	2	2/3	66	15
5	1	1/2	50	14

\* 每株放带毒蚜虫10头, 由于蚜虫死亡或逃跑, 故接种株数逐天减少; 到第3天后, 每株只放出5头, 到第5天蚜虫全部死亡。

表5 病毒在豆蚜体内的潜育期

获毒+传毒饲育时间	发病株数/接种株数	发病率(%)	病害潜育期(天)
3+1=4	0/5	—	—
3+2=5	0/5	—	—
3+3=6	0/5	—	—
3+4=7	1/5	20%	9
3+6=9	2/5	40%	9
3+10=13	0/5	—	—
3+21=24	2/5	40%	9
3+26=29	3/5	60%	9

## 寄主范围及反应

1961—1964年间在本院温室进行。按常规方法把获毒饲育24小时以上的带毒蚜虫以20头/株对蚕豆等16种豆科植物作寄主范围进行测定。接种后约一个月, 不论有无症状表

现,一律回接到豌豆上去,以证明不表现症状的是否隐症寄主植物,而表现症状的是否确为本病毒所引起的。试验结果表明,本病毒可侵染豌豆(*Pisum sativum*) (发病株数/接种株数: 15/15, 潜育期: 5—15天)、蚕豆(*Vicia faba*) (15/15, 7—20天)、矮生菜豆(*Phaseolus vulgaris* var. *humilis*) (16/21, 7—15天)、生蔓菜豆(*Phaseolus vulgaris*) (16/21, 7—15天)、紫云英(*Astragalus sinicus*) (15/15, 15天)等四种豆科植物。不侵染苜蓿(*Medicago sativa*) (0/30)、红三叶草(*Trifolium incarnatum*) (0/30)、豇豆(*Vigna sinensis*) (0/20)、绿豆(*Phaseolus aureus*) (0/10)、赤小豆(*Phaseolus calcaratus*) (0/5)、眉豆(*Vigna cylindrica*) (0/5)、大豆(*Glycine max*) (0/5)、花生(*Arachis hypogaea*) (0/5)、扁豆(*Dolichos lablab*) (0/5)、苕子(*Vicia sativa*) (0/20)等11种豆科植物。

蚕豆病株的症状基本和豌豆的一样。最初的症状为顶部叶片的叶缘向下卷曲,继而新生长的顶叶缩小、黄化、皱缩、质脆,病株矮缩,后期腋芽抽生呈丛枝症。(图3)

菜豆病株顶部叶片缩小,叶面皱缩,病株矮缩,腋芽抽生呈丛枝症,叶片黄化不显著。紫云英病株顶叶缩小,叶片皱缩、黄化、丛枝不显著。

## 病原病毒的电镜观察

1981年3月进行了此项研究。作电镜观察的材料为人工感染的蚕豆病株。取顶梢心(末端黄化部位)80克剪碎,加0.2M碳酸缓冲液(含0.5%巯基乙醇pH7.2)匀浆(W/V 1:1),加80毫升氯仿充分搅拌后放在冰箱里3小时,在4000rpm下进行离心20分钟后,取水相部分加3%氯化钠和6%聚乙二醇(分子量6000),溶解后放入冰箱过夜,在7000rpm下进行离心30分钟,用0.01M碳酸缓冲液(pH7.2)把沉淀重悬,加10%聚乙二醇和5%氯化钠,溶解后放在冰箱里过夜,在7000rpm下进行离心30分钟,用0.01M碳酸缓冲液把沉淀重悬,把重悬液在30,000rpm下进行离心2小时,用0.01M磷酸缓冲液把沉淀重悬,在4000rpm下再进行离心20分钟。取一小滴上清液(即部分提纯的病毒制备物)按常规方法制样,用3%磷钨酸(PH7.0)负染15分钟,然后放在Philips EM-400型电镜下观察。

观察结果有大量线状病毒粒体。由于反差较弱,未能拍照及量度粒体大小。两周后再用该提纯液制样,用3%磷钨酸(PH7.0)负染10分钟作电镜观察,发现大多数病毒粒体已断裂成各种长度的粒体(见图1)。多数粒体直径为12nm\*,长度为414-496nm,也看到个别长达1002nm的粒体。

\*断裂后量度的长度与实际长度可能有差异。

表 6 豌豆黄顶病毒和类似的豌豆病毒对比表

项 目	病毒名称	豌豆黄顶病毒 Pea yellow-top virus	菜豆卷叶病毒 (豌豆顶端黄化病毒) Bean leaf-roll virus (Pea tip-yellowing virus)	豌豆叶卷病毒 Pea leaf roll virus	豌豆叶卷病毒 Pea leaf roll virus
报 道 人		范怀忠, 高乔婉, 余雅丽 (1965)	Quantz & Völkl (1954)	Tinsley (1959)	Musil (1966)
国 家		中 国 广 州	德国, 比利时, 荷兰	英 国	斯洛伐克
病毒粒子形态大小		线状, $12 \times 416-496\text{nm}$	球状, 直径 $27\text{nm}$		线状, 长 $760\text{nm}$
汁液摩擦能否传递		—	—	—	+
种子能否传递			—	—	+
蚜 虫 介 体	<i>Aphis laburni</i> (豆豌豆)	+			
	<i>Myzus persicae</i> (桃蚜)	—	+	+	+
	<i>Macrosiphum solanifolii</i> (马铃薯长管蚜)		+		+
	<i>M. pisi</i> (豌豆蚜)			+	+
	<i>Megoura viciae</i> (蚕豆修尾蚜)		+		
	<i>Acyrtosiphon onobrychis</i>		+		
介体与病毒的相互关系		持久性 (循环性)	持久性 (循环性)	持久性 (循环性)	非持久性
在豌豆和蚕豆上的症状特点		豌豆顶叶黄化卷曲, 叶变小, 质脆, 枝条短缩, 呈丛枝症。蚕豆症状与豌豆基本相同	豌豆叶卷, 顶叶退绿, 叶形小, 茎筛管坏死	蚕豆顶叶卷曲, 植株上部叶片黄化, 变厚, 质脆, 植株矮化, 落叶, 生长点坏死豌豆症状不如蚕豆严重	豌豆叶变狭, 向下卷曲, 有时伴有花叶, 斑驳症。
寄主范围		豌豆, 蚕豆, 菜豆, 紫云英	豌豆, 蚕豆, 菜豆, 苜蓿, 君子	豌豆, 蚕豆, 苜蓿	豌豆, 蚕豆, 苜蓿 苕色藜

\* 表内空格表示没有进行试验工作

## 讨 论

根据本试验结果:广州地区豌豆黄顶病毒能借蚜虫传递,汁液机械摩擦和土壤(包括土壤生物)都不能传递。至于其蚜虫介体是否只限于豆蚜,这是值得进一步研究解决的。

豆蚜的最短获毒饲育时间,由于本试验用2—5头/株的试验结果为3小时,所以如果用1头/株来进行试验则最少也在3小时以上。豆蚜的最短传毒饲育时间,由于本试验的最短时间为15分钟,所以试验结果只能是少于15分钟。按常理推测,应该只要三几分钟就很足够。保毒豆蚜按本试验结果显然是能够终生传毒。上面这些现象(特别是最短获毒饲育时间和终生传毒这两个现象)表明,本病原病毒是一种持久性(循环性)传递的病毒。至于此病毒是否能在豆蚜体内增殖,这也是一个值得进一步研究解决的问题。

在国内外已报告过的豌豆病毒病中,类似本病的只有豌豆和菜豆叶卷病,即Quantz and Volk于1954年报道,在德国、比利时和荷兰发生的菜豆叶卷病(又称豌豆顶端黄化病)<sup>[5-6]</sup>, Tinsley在1959年报道在英国发生的豌豆叶卷病<sup>[7]</sup>和Musil在1966年报道在斯洛伐克发生的豌豆叶卷病<sup>[4]</sup>,这三个病的病原病毒和我们的豌豆黄顶病的病原病毒,在病毒性状、介体种类、介体和病毒的相互关系和寄主范围等各方面的对比见表6。由于Musil的豌豆叶卷病毒属非持久性,能由汁液机械摩擦传递,寄主范围包括非豆科的苋色藜,并且有花叶或斑驳症状,可以肯定和我们的豌豆黄顶病毒不同。至于Quantz and Volk的菜豆叶卷病毒(豌豆顶端黄化病毒)和Tinsley的豌豆蚜卷病毒,在各个方面的性质基本相同,有人<sup>[2]</sup>认为是属于同一种病毒。这些病毒和本试验的豌豆黄顶病毒虽然在许多方面的性质也都类似,但由于其病毒粒体是球状的<sup>[8]</sup>,并可由桃蚜传递,本试验的豌豆黄顶病毒粒体是线状的,桃蚜不能传递,因此,可以认为这些病毒和本试验豌豆黄顶病毒是不相同的。至于豌豆黄顶病毒,在病毒分类上的归属问题,尚待研究。



## 参 考 文 献

[1] 范怀忠 高乔婉 余雅丽, 1965, 广州地区豌豆黄顶病和武汉地区蚕豆黄化病的病原鉴定简报, 《植物保护学报》4 (1):104。

[2] Aldrich, P.T.A. 1965. The incidence of bean leaf roll virus in some varieties of field bean (*Vicia faba* L) Plant Path 14(1):11—13 (RAM 44:2297)

[3] Ashby, J.W, Huttinga, H. 1979. Purification and some properties of pea leaf roll virus. Netherland Journal of Plant Pathology 85(3) 113—123 (RPP 59:1947) (原文未读)

[4] Musil, M. 1966. On the occurrence of a leaf roll in pea in Slovakia Biologia Bratisl, 21 (2):133—138 (RAM 45:2293) (原文未读)

[5] Quantz, L. & völk, G. 1954. Leaf roll disease of the field bean and pea, a new virus disease of Leguminosae. NachrBL. dtsh. PflSch Dienst (Braunshw.), Stuttgart, 6, 12, 177—182 (RAM 34:272) (原文未读)

[6] Smith, K.M. 1972. Bean leaf roll virus. A textbook of plant virus diseases. 3rd. Edi.

[7] Tinsley, T. W 1959. Pea leaf roll, a new virus diseases of Legumes in England. Plant Pathology 8 (1):17—18

## ON THE IDENTITY OF YELLOW—TOP DISEASE OCCURRING IN GUANGZHOU

Kao Chiao—Wan, Yu Ya—Li, Faan Hwei—Chung.

(Plant Protection Department, SCAC)

### ABSTRACT

The pea yellow—top is the major virus disease of peas grown in the winter season from November to January in Guangzhou district, causing some damage from time to time in some localities. The major symptoms of the disease consisted of shoot yellowing, stunting and sterility, and the leaves of the yellow shoots becoming small in size with or without slight crinkling.

The disease and its causal virus were studied in 1960—1964 and again in 1981. It was found that the virus particles were in the shape of flexuous rods, measuring  $12 \times 416-466\text{nm}$ . The virus could not be transmitted by mechanical inoculation method nor by soil inoculation method. *Aphis laburni* Kaltanbach was found to be the vector while *Myzus persicae* Sulty was not. *A. laburni* transmitted the virus in a persistent (circulative) manner. The shortest acquiring period was 3 hours. The incubation period in the vector was 7—24 hours. The infective aphid was shown to be able to transmit the virus all through its life until its death. The host range of the virus was found to be limited to peas and broad beans, a variety of bean and a variety of *Astragalus sinicus*. The following plant species were found to be immune to the disease: alfalfa, clover, common vetch, soybean, peanut, mung bean, hyacinth dolichos, Adzuki bean, Azuki bean, and catjang cowpea.

Based on the above preliminary results it is suggested that the pea yellow-top occurring in Guangzhou district is a newly recorded virus disease which is different from all the pea and broad bean virus diseases reported elsewhere in the world.



图1 豌豆黄顶病毒粒子形态

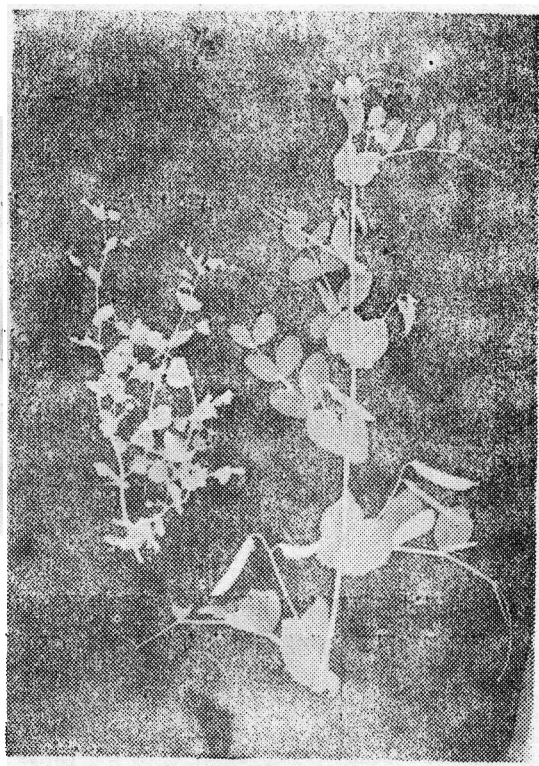


图2 豌豆黄顶病人工感染豌豆 (左：病株 右：健株)

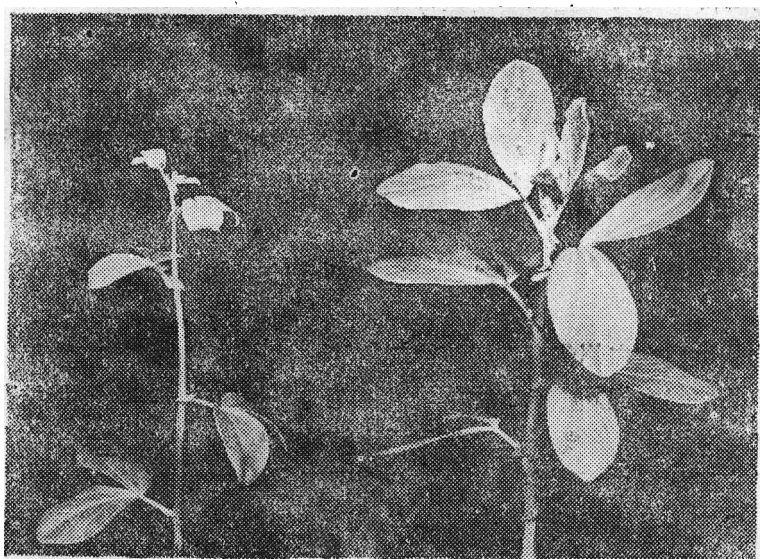


图3 豌豆黄顶病人工感染蚕豆 (左：病株 右：健株)