

13-17

华南农业大学学报 15 (4) 1994: 13~17
J.South China Agr.Univ.

华南番木瓜病毒病及环斑病毒株系的调查鉴定*

蔡建和** 范怀忠

(华南农业大学植保系植物病毒研究室, 广州, 510642)

A

摘要 根据田间调查、病毒粒子和内含体形态、血清反应、寄主范围和症状、昆虫介体、物理性质、潜育期等试验结果, 认为华南4省区的番木瓜病毒病只有PRV一种。根据在西葫芦上的症状特点, 将PRV初步区分为4个株系, 即Ys, Vb, Sm和Lc。在313份标样中, 它们单独所占比例分别为40.57%, 10.22%, 0.64%, 4.47%, Ys+Vb(复合侵染)占44.08%, 这表明Ys为优势株系, Vb次之, Lc和Sm发生少分布不广。研究结果还表明, 以前有人报道的PMaLV实则是本研究的Vb, 而不是一个新病毒。

关键词 番木瓜病毒病; 番木瓜环斑病毒株系鉴定
中图分类号 S436.67

番木瓜(*Carica papaya*)病毒病是番木瓜生产上的主要限制因素(范怀忠等, 1964; 那霸哲义, 1985; Conover, 1964; Purcifull et al, 1984)。世界上已报道的番木瓜病毒病有番木瓜环斑病(PRV)(Purcifull et al, 1984)、番木瓜花叶病(PMV)(Conover, 1964; Cook, 1972)、番木瓜顶端坏死病(PANV)(Lastra et al, 1981)、番木瓜凋萎病(PDNV)(Wan et al, 1981)、苏罗番木瓜致死黄化病(SPLYV)(Loreto, 1983)等, 也曾从番木瓜分离到番茄斑萎病毒(TSWV)(Gonsalves et al, 1986)、烟草环斑病毒(TRSV)(Lana, 1980)和烟草曲叶病毒(TLCV)(Cook, 1972)。在我国, 除PRV(范怀忠等, 1964)外, 有人曾报道番木瓜畸叶病(PMaLV)(骆学海等, 1988)。至于PRV的株系或分离物, 国内外已报道约22个: 华南1个(吴方城等, 1983)、我国台湾2~7个(张清安, 1979; Yeh et al, 1984)、日本、美国、厄瓜多尔、巴西和尼日利亚分别报道了5、3、1、1和2个(那霸哲义, 1985; Lana, 1980; Yeh et al, 1984)。为了明确华南番木瓜病毒病种类以及它们的发生情况, 为进一步综防措施提供理论依据, 特进行本调查研究。

1 材料和方法

从广东、广西、海南和福建4省区主产地采集番木瓜病毒病标样313份, 分别按常规摩擦法接种于番木瓜、西葫芦(*Cucurbita pepo*)、烟草(*Nicotiana tabacum*)和千日红(*Gromphrena globosa*)等鉴别寄主。根据症状反应进行分类。

寄主范围、物理性质、桃蚜传染、病毒形态及内含体电镜观察均按常规方法进行。病毒提纯和血清学测定参照Purcifull等(1984)方法。

PRV抗血清由本实验室制备。

2 试验结果

2.1 五类分离物的获得

华南4省区番木瓜病毒病的田间症状基本相同, 主要为花叶、斑驳、叶畸形(见图

1994-03-10收稿

* 国家自然科学基金资助项目

** 现在广西农科院植保所工作

1)和(或)卷曲,茎干上水渍状斑点或(和)条斑,果上水渍状斑点或(和)环状斑等。根据在鉴别寄主上的症状反应把313份标样分为5类,并各以一个症状典型的标样作为其代表。这5类分离物均不侵染烟草和千日红;在番木瓜上症状差异不大,但在西葫芦上有较明显的差异。因而被分为4个分离物:(1)分离物 Ys,叶上有黄色斑点(见图2);(2)分离物 Vb,沿叶脉产生灰白色带(见图3);(3)分离物 Sm,重花叶(见图4);(4)分离物 Lc,叶片卷曲(见图5)。第5类标样具有分离物 Ys 和 Vb 的复合症状。前4类分离物分别纯化后保存于番木瓜和西葫芦上。

2.2 寄主范围及症状反应

在供试的6科13种植物中,4类分离物均只能侵染番木瓜、西葫芦、南瓜(*C. moschata*)、蒲瓜(*Lagenaria siceraria*)、二青黄瓜(*Cucumis melo* var. *erqing*)、夏青瓜(*C. melo* var. *shaqing*)、青根白瓜(*C. melo* var. *qinggun*)、黑毛节瓜(*Citrullus vulgaris* var. *heimoa*)、昆诺藜(*Chenopodium* var. *quinoa*)和苋色藜(*C. amaranticolor*)(表1)。不侵染普通烟(*Nicotiana tabacum*)、千日红(*Gromphrena globosa*)和金鱼草(*Antirrhinum majus*)。

4类分离物在番木瓜、南瓜、蒲瓜、昆诺藜和苋色藜等上症状有差异(表1)。在西葫芦上差异较为明显(如前述),潜育期也有所不同,在25~30℃下,Sm为3~6天,Ys和Lc均为6~8天,Vb为9~14天。

用0.1 mol/L(pH7.0)磷酸缓冲液作为接种缓冲液,4个株系中仅Sm较易侵染昆诺藜和苋色藜,产生局部褪绿斑或枯斑,并可以回接到番木瓜和西葫芦上。

表1 4个PRV分离物的寄主范围及其症状反应⁽¹⁾

寄主种类		PRV 分离物			
		Ys	Vb	Sm	Lc
番木瓜	<i>Carica papaya</i>	M,Mo	M,Mo,D	M,Mo,D,W	M,Mo,W
西葫芦	<i>Cucurbita pepo</i>	Ys,MM	Vb,D	Sm,D	Ys,YV,Lc
南瓜	<i>C. moschata</i>	Ys,MM	Vb	Ys,M	Ys,MM
蒲瓜	<i>Lagenaria siceraria</i>	M	Vb	Sm,D	M
二青黄瓜	<i>Cucumis melo</i> var. <i>erqing</i>	M	M	M	M
夏青瓜	<i>C. melo</i> var. <i>shaqing</i>	M	M	M	—
青根白瓜	<i>C. melo</i> var. <i>qinggun</i>	M	M	M	M
黑毛节瓜	<i>Citrullus vulgaris</i> var. <i>heimoa</i>	—	—	M	—
昆诺藜	<i>Chenopodium quinoa</i>	LoChS	LoChS	LoChS,LoS	LoChS
苋色藜	<i>C. amaranticolor</i>	(LoS)	(LoChS)	LoS	(LoChS)

(1) D:叶畸形 Lc:卷叶 LoChS:局部褪绿斑 LoS:局部坏死斑 M:花叶 MM:轻花叶 Mo:斑駁 Sm:重花叶 Vb:脉带(灰白色) W:病株凋萎 Ys:褪绿黄斑 YV:黄脉 ():极少发生 —:无症

2.3 桃蚜(*Myzus persicae*)传染试验

按常规方法,试验植物为番木瓜,每苗接5~10头经获毒饲育15~30 min的若蚜,接种饲育12 h。结果Ys、Vb、Sm和Lc发病率分别为75%(18/24)、66.6%(16/24)、60%(15/25)和50%(13/26),差异不大。

2.4 物理性质测定

供试植物为西葫芦,接种缓冲液同上,在常温(23~28℃)下进行,重复3次。结果表明:4个分离物的物理性质差异不大:致死温度Lc为50~53℃,其余均为53~55℃;体外

存活期 Lc 为 32~48 h, 其余均为 56~72 h; 稀释终点 Ys 和 Lc 为 10^{-2} ~ 10^{-3} , Vb 为 10^{-3} ~ 10^{-4} , Sm 为 10^{-4} ~ 10^{-5} 。

2.5 病毒粒子电镜观察

用病叶浸出液或病毒提纯物经 2.5% 磷钨酸负染 2 min 后电镜观察。4 个分离物病毒粒子均为线状, 大小基本相同, 多数为 $500 \sim 800 \text{ nm} \times 12 \text{ nm}$ 。

2.6 病毒内含体电镜观察

病叶超薄切片电镜观察发现, 4 个分离物在病叶细胞内均有典型的风轮状内含体。

2.7 血清学测定

SDS-琼脂糖双扩散试验表明, 4 个分离物提纯物均与 PRV 抗血清呈阳性反应, 形成清晰的沉淀带, 各沉淀带之间吻合很好。

2.8 4 个分离物发生分布情况

从 4 省区共采集标样 313 份 (广东的广州、肇庆、江门、珠海、湛江、佛山和汕头等共 198 份; 海南的海口 10 份; 广西的梧州、百色和南宁等共 75 份; 福建的厦门和漳州共 30 份), 其中 Ys 127 份 (40.57%), Vb 32 份 (10.22%), Ys+Vb 138 份 (44.08%), Sm 2 份 (0.64%, 采自广州), Lc 14 份 (4.47%)。可见 Ys 分布最广发生最多, Vb 次之, Lc 和 Sm 分布不广发生不多。由于各地采样数目差异较大, 所以上述结果只能相对地表明各分离物的分布和发生情况。

3 讨论和结论

根据试验结果, 从华南 4 省区分离到的 4 类番木瓜病毒分离物均为线状病毒, 其大小多数为 $500 \sim 800 \text{ nm} \times 12 \text{ nm}$ 。在细胞内都形成风轮状内含体, 与 PRV 血清都呈阳性反应, 寄主范围基本相同, 都只局限于番木瓜科、葫芦科和藜科植物, 都可通过桃蚜传播, 致死温度都在 $50 \sim 55^\circ\text{C}$ 之间。这些特性与国内外报道的番木瓜环斑病毒 (PRV) 的基本一致 (张清安, 1979; 吴方城等, 1983; Conover, 1964; Lana, 1980; Purcifull et al, 1984; Yeh et al, 1984)。所以这 4 个分离物均无可怀疑地属于 PRV。由于它们在寄主植物特别是在西葫芦上存在一定差异, 这反映它们的病毒基因组必然也存在一定差异, 所以我们认为这 4 个分离物应作为 PRV 的不同株系, 分别命名为 PRV-Ys (简称 Ys), PRV-Vb (简称 Vb), PRV-Sm (简称 Sm) 和 PRV-Lc (简称 Lc)。

Ys 各方面的性状与本研究室骆学海和范怀忠 (1988) 报道的 PRV (PRV 普通型) 相同。

Vb 引致番木瓜花叶、叶畸形, 西葫芦沿叶脉变灰白色等症状, 与本研究室骆学海和范怀忠 (1988) 报道的番木瓜畸叶病毒 (PMaLV) 相同。两者的寄主范围、传播媒介及病毒内含体形态等方面也基本相同。骆学海等之所以认为 PMaLV 是不同于 PRV 的一种新病毒, 其主要依据是两者的病毒粒子大小不同 (PMaLV 为 $351 \sim 527 \text{ nm} \times 12 \text{ nm}$, PRV 为 $600 \sim 800 \text{ nm} \times 12 \text{ nm}$) 和两者间没有血清学关系 (骆学海等, 1988)。但本试验结果却表明, 两者的病毒粒子大小均为 $500 \sim 800 \text{ nm} \times 12 \text{ nm}$, 两者之间存在密切的血清学关系, 而其它鉴定的性状则都相同。因此, 本文作者认为 PMaLV 应是 PRV 的 Vb 株系。

Sm 容易侵染昆诺藜和苋色藜并产生局部枯斑, 这一点与华南 (吴方城等, 1983; 范怀忠等, 1964) 和台湾省 (张清安, 1979) 以及国外数地区 (Cook, 1972; Lana, 1980; Purcifull et al, Yeh et al, 1984) 报道的相同。吴方城等 (1983) 认为华南 PRV 不能侵染昆诺藜和苋色藜, 本研究的另三个 PRV 株系亦很难或不能侵染这两种植物并产生局部枯斑, 可见能否侵染昆诺藜和 (或) 苋色藜是不同株系的致病力不同所致。Sm 在昆诺藜上的单斑可用以回接到番木瓜、

西葫芦和昆诺藜上去,表明这个株系可作为筛选弱株系等研究的理想材料。

根据本调查结果,华南4省区以Ys和Vb分布广发生多,而Sm和Lc分布不广而发生少,所以在防治上应以前二者为主要对象,同时兼顾后二者。

本调查研究初步表明,当前华南番木瓜病毒病只有PRV一种。是否还存在别的病毒种类,值得进一步调查解决。

至于在华南和台湾省以及国外已报道的PRV株系或分离物与我们从华南4省采集的4个株系的异同问题,由于地区气候、供试植物品种、接种材料、方法和接种时期等等因素的不同,若只根据文献报道而予以比较和作出鉴定意见,我们认为是不稳妥的。这个问题还有待于各地区都把他们的PRV株系或分离物进行外壳蛋白基因组全序列分析后才能较稳妥地予以解决。

致谢 本调查鉴定承蒙骆学海副教授、高乔婉教授和何显志讲师提供宝贵意见,广东省农科院伍尚忠研究员审阅全文,谨此致谢。

参 考 文 献

- 吴方城,徐绍华,彭学贤.1983.华南番木瓜环斑病毒的鉴定、提纯和性质的初步研究.植物病理学报,13(3): 21-27
- 那霸哲义.1985.番木瓜轮点病的发生.今日の农业,29(11): 58~61
- 张清安.1979.木瓜病毒纯系病毒之分离与二种不同微型病毒之寄主范围及物理性质之比较.中华农业研究,28(3): 207-215
- 范怀忠,任佩瑜.1964.番木瓜花叶病初步调查研究.植物保护学报,3(4):423
- 骆学海,范怀忠.1988.番木瓜畸叶病毒——新发现的一种番木瓜病毒.华南农业大学学报,9(3): 79~80
- Conover R. A. 1964. Distortion ringspot, a severe virus disease of papaya in Florida. Flor Sta Hortic Soc, 77: 440~443
- Conover R A. 1964. Mild mosaic and mottle ringspot, two papaya virus diseases of minor importance in Florida. Flor Sta Hortic Soc, 77: 444~448
- Cook A A. 1972. Virus disease of papaya. Flor Agric Exp Stn Tech Bull, 750: 1~19
- Gonsalves D, Trujillo E E. 1986. Tomato spotted wilt virus in papaya and detection of the virus by ELISA. Plant Disease, 70: 501~506
- Lana A F. 1980. Transmission and properties of virus isolated from *Carica papaya* in Nigeria J Hortic Sci, 55(2): 191~197
- Lastra R, Quiro E. 1981. Papaya apical necrosis, a new disease associated with a rhabdovirus. Plant Disease, 65: 439~440
- Loreto T. 1983. Occurrence of a lethal yellowing of solo papaw in Pernambuco State. Biologico, 49: 275~279
- Purcifull D, Edwardson J, Hiebert E. et al. 1984. Papaya ringspot virus. In: Commonw Mycol Inst /Assoc Appl Biol eds. Descriptions of plant viruses No. 292 England: Kew, Surrey, 8
- Wan S H, Conover R A. 1981. A rhabdovirus associated with a new disease of Florida papaya. Pro Sta Hortic Soc, 94: 318
- Yeh S D, Gonsalves D. 1984. Comparative studies on host range and serology of papaya ringspot and watermelon mosaic virus I. Phytopathology, 74: 1081~1085

INVESTIGATION AND IDENTIFICATION OF PAPAYA VIRUSES AND RINGSPOT VIRUS STRAINS IN SOUTH CHINA

Cai Jianhe Fan Huaizhong*

(Plant Virus Lab., Plant Protection Dept. South China Agr. Univ., Guangzhou, 510642)

Abstract

Papaya ringspot virus (PRV) only was found in this survey in South China. Based on the different symptom expressions on *Cucurbita pepo*, 4 PRV strains were preliminarily identified. They were Ys, Vb, Sm and Lc. These 4 PRV strains could be basically identified by the morphology of virus particles and inclusions, serological reactions, host range, transmissibility by *Myzus persicae*, and physical properties. The Sm easily caused necrotic local lesions on *Chenopodium quinoa*, and successfully back-inoculated to papaya and *C. pepo*. Among a total of 313 papaya virus samples collected, 40.57% of them were infected with Ys, 10.22% with Vb, 44.08% with the above 2 strains mixed, 4.47% with Lc, 0.64% with Sm. This research showed that papaya malformed leaf virus (PMLV) reported was not a new virus of papaya, but a strain of PRV, i.e. Vb strain.

Key words papaya virus diseases, strain identification of papaya ringspot virus

*Faan Hwei-chung



图版 1 番木瓜畸形病叶; 2 Ys 的黄斑症(西葫芦病叶); 3 Vb 的脉带症状(西葫芦病叶); 4 Sm 的严重花叶症(西葫芦病叶); 5 Lc 的叶卷曲症(西葫芦病叶); 6 SDS-免疫双扩散血清反应图。