

# 侵染丝瓜的黄瓜花叶病毒研究

周雪平<sup>1</sup> 徐志新<sup>2</sup> 徐 静<sup>3</sup> 李德葆<sup>1</sup>

(1 浙江农业大学生物技术所, 杭州, 310029; 2 杭州动植物检疫局; 3 温州地区农科所)

**摘要** 1993年6月从温州市郊区丝瓜病株上获得一病毒分离物L-93, 人工摩擦接种5科22种植物, L-93能侵染5科18种植物。L-93在多种葫芦科植物上具有很强的侵染力。提纯病毒颗粒为球形, 直径约28 nm。在琼脂双扩散试验中, L-93与CMV抗血清具有密切的血清学关系。SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳测得其衣壳蛋白亚基分子质量为29000u, 分析植物组织中dsRNA, 发现有4条dsRNA条带, 长度分别为含3.3, 3.0, 2.2和 $0.9 \times 10^3$  b。根据以上结果, L-93被鉴定为黄瓜花叶病毒(CMV)。种子传毒试验表明, CMV不能通过丝瓜种子传毒。在交互保护试验中, 弱毒株系CMVP1对L-93侵染具有很好的保护效果, 保护率达89%, 保护接种植株中, L-93浓度明显低于未保护植株。

**关键词** 丝瓜; 黄瓜花叶病毒; 鉴定; 交互保护  
**中图分类号** S435.1

丝瓜(*Luffa cylindrica*)是我国广泛栽培的蔬菜之一, 由于它富含多种氨基酸, 并具有特有的鲜嫩口味, 因而具有较高的经济价值。近年来, 丝瓜病毒病发生十分严重, 据调查重田块发病率达100%。作者曾对温州地区丝瓜病毒病进行初步研究, 并分离到了黄瓜花叶病毒(CMV)、烟草花叶病毒(TMV)及一种Potyvirus, 其中CMV是丝瓜上的主要病毒病原\*。为了进一步了解CMV的生物学习性, 作者对侵染丝瓜的CMV进行了进一步的研究, 并用弱毒株系CMVP1进行了交互保护试验, 现将研究结果报道如下:

## 1 材料与方法

### 1.1 病毒来源

分离物L-93为1993年6月从温州市郊表现花叶病症状的丝瓜病株上采集获得, 经苜蓿色藜单斑纯化后繁殖保存于三生烟上。CMVP1为含有卫星RNA的弱毒株系, 由作者分离鉴定(周雪平, 1992), 并繁殖保存于番茄。

### 1.2 生物学特性测定

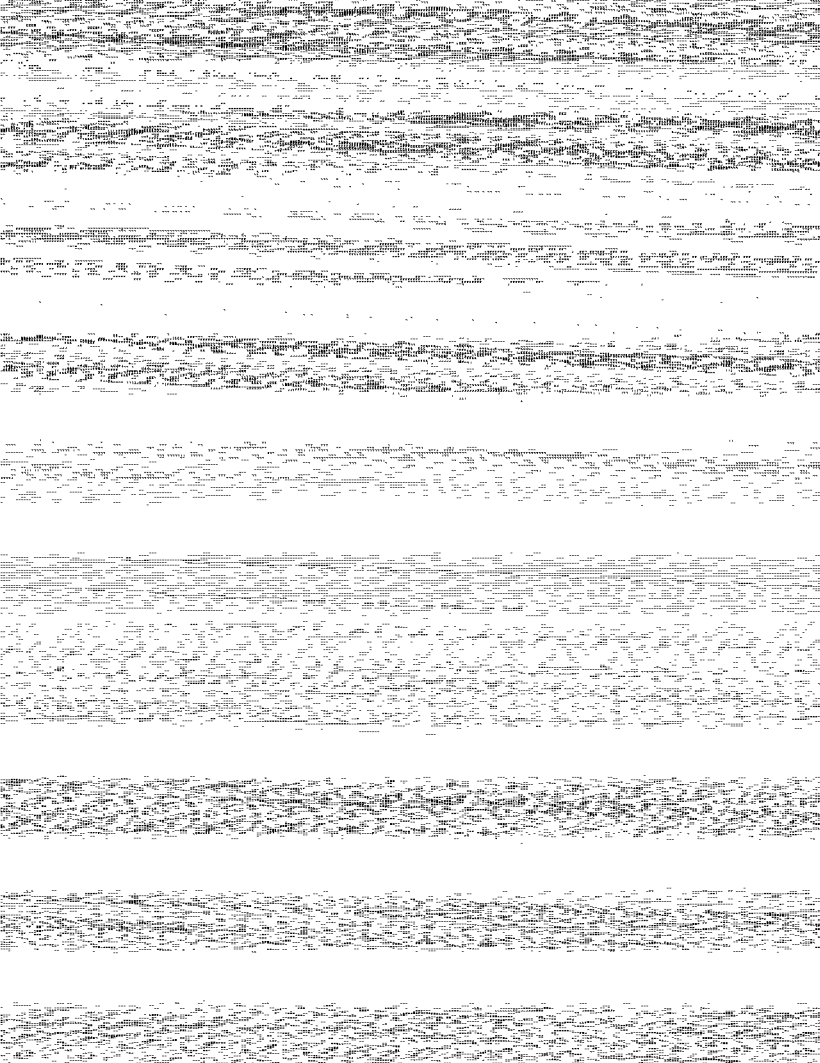
寄主范围、体外抗性测定均按常规方法进行(田波等, 1987)。种子传毒试验时, 将田间CMV侵染的丝瓜病种子播种于防虫温室, 出苗后20 d检查有无病株, 无病植株再回接苜蓿色藜。

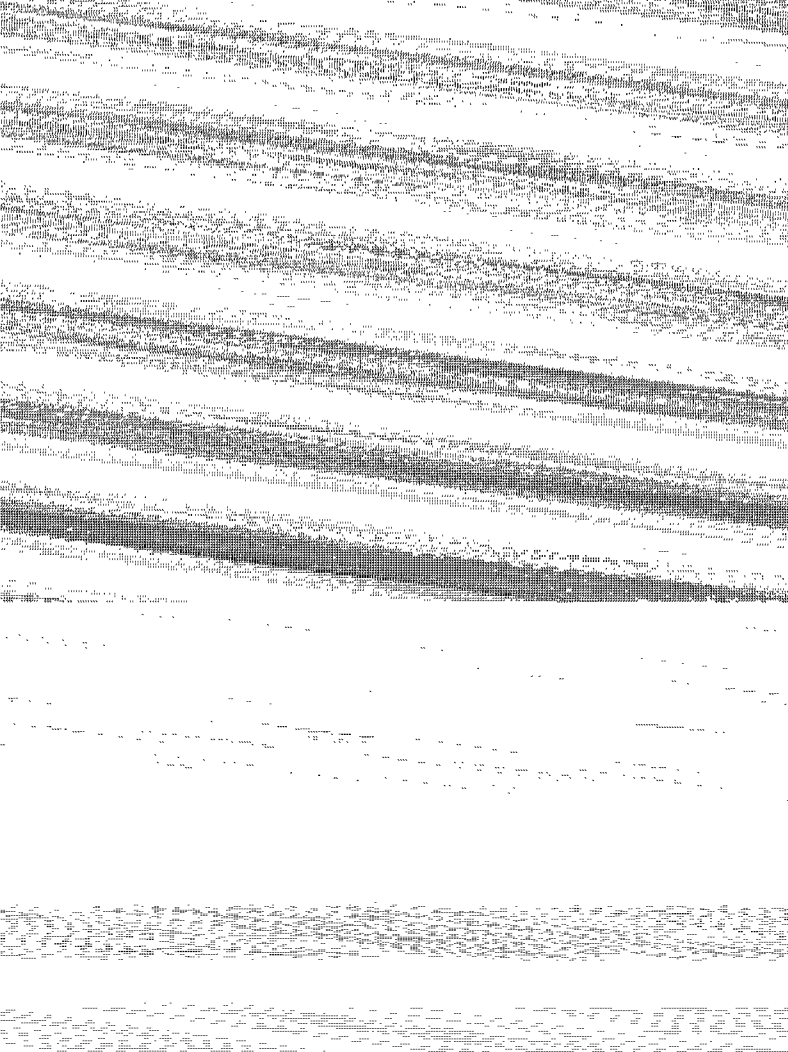
### 1.3 病毒提纯及粒体形态的电镜观察

将L-93接种三生烟, 10 d后采收病叶进行提纯, 提纯方法如下: 病叶加入2倍体积预冷的0.5 mol/L pH7.5的磷酸缓冲液(PB)(内含0.01 mol/L EDTA, 0.1% 巯基乙醇, 2% Triton X-100), 匀浆1 min, 再加10% 氯仿: 正丁醇(1:1), 匀浆1~2 min, 4℃下8000 g离心20 min。上清液加6% PEG, 0.1 mol/L NaCl, 4℃搅拌4 h, 8000 g离心20 min。沉淀用0.02 mol/L PB(pH7.4, 内含0.01 mol/L EDTA, 1%, Triton X-100)充分悬浮, 8000 g离心

1994-07-19收稿

\*徐静, 周雪平. 1995. 温州地区丝瓜病毒初步研究. 山东大学学报, (增): (印刷中)





像3精正张'国'此'好'可'能'人'想'那'里'建'  
林'正'用'更'精'密'和'中'心'地'转'到'93'拍'杉'树'  
和'的'能'值'0'的'快'速'理'想'的'抛'舞'舞'  
1'的'能'值'的'0'的'能'值'和'能'值'的'  
3'的'能'值'的'能'值'和'能'值'的'  
3'的'能'值'的'能'值'和'能'值'的'

### 3 讨论

出'能'值'的'能'值'和'能'值'的'  
和'能'值'的'能'值'和'能'值'的'

芦科植物上具有很强的侵染性,可能是病毒与寄主长期共同演化使其对同类寄主的致病性增强。对豆科植物上的 CMV 分离物的比较研究表明,根据在豆科植物上的症状反应,CMV 可归为两个致病型(周雪平等,1994),根据 L-93 在豆科植物上的症状,它属致病型 I。

综观我国报道的葫芦科植物病毒种类主要有 CMV、南瓜花叶病毒(SqMV)、西瓜花叶病毒 1 号和 2 号(WMV-1,WMV-2)、烟草坏死病毒(TNV)和小西葫芦黄化花叶病毒(ZYMV)等,而我们对温州地区初步调查表明,温州地区丝瓜病毒有 CMV、TMV 和 Potyvirus,而 CMV 是主要病原。种子传毒试验表明 CMV 不能通过种子传毒,因而蚜虫传毒是造成丝瓜病毒病严重危害的主要途径。由于 CMV 寄主范围十分广泛,且又是以蚜虫非持久性方式传毒,给防治带来一定的难度。有效的途径是通过抗性品种选育培育抗病品种及生物防治等方法。

作者曾从田间豌豆上分离获得含卫星 RNA 的黄瓜花叶病毒弱株系,它在大多数植物上症状很轻或无任何症状,且对番茄、烟草上 CMV 强株系侵染均具有很好的保护效果(周雪平,1992),为此我们也尝试用 CMVP1 进行丝瓜病毒病防治。温室试验证明,保护接种的丝瓜能抵抗强毒株的侵染,保护率可达 89%。有关交互保护的解释主要有弱株系抑制了强毒株侵入、复制及细胞之间运转等(肖火根等,1994;Dodds et al, 1985; Sherwood et al, 1982),据作者测定,CMVP1 保护作用主要与早期侵染复制有关。目前正在利用 CMVP1 进行田间小区试验,如田间也能获得成功,可推广使用 CMVP1 以减少丝瓜生产中病毒病的危害。

#### 参 考 文 献

- 田 波,裴美云.1987.植物病毒研究方法.北京:科学出版社,138~140
- 肖火根,范怀忠.1994.番木瓜环斑病毒株系间交互保护作用研究.病毒学报,10(2):164~171
- 周雪平.1992.含卫星 RNA 的黄瓜花叶病毒(CMV)弱株系防治植物病毒病研究:[学位论文].南京:南京农业大学植保系
- 周雪平,濮祖芹,方中达.1994.豆科植物上分离的黄瓜花叶病毒(CMV)五个分离物的比较研究.中国病毒学,9(3):232~238
- Dodds J A, Lee S Q, Tiffany M. 1985. Cross protection between strains of cucumber mosaic virus: effect of host and type of inoculum on accumulation of virions and double stranded RNA of the challenge strain. Virology, 188:235~240
- Sherwood J L, Fulton R W. 1982. The specific involvement of coat protein in tobacco mosaic virus (TMV) cross protection. Virology, 119:150~158

## STUDIES ON CUCUMBER MOSAIC VIRUS ISOLATED FROM *Luffa cylindrica*

Zhou Xueping<sup>1</sup> Xu Zhixing<sup>2</sup> Xu Jing<sup>3</sup> Li Debao<sup>1</sup>

(1 Institute of Biotechnology, Zhejiang Agr. Univ., Hangzhou, 310029; 2 Hangzhou  
Animal & Plant Quarantine Service; 3 Wenzhou Agricultural Research Institute)

### Abstract

A virus isolate (L-93) from *Luffa cylindrica* was collected in Wenzhou, Zhejiang province. It mechanically infected 18 plants in five families, and produced severe mosaic and stunt symptoms in many *Curcubitaceae* crops. The purified virus particles were spheric with 28nm in diameter. Agarose gel double diffusion tests showed L-93 strongly reacted with the antisera of CMV. The capsid protein of L-93 contained one polypeptide with molecular weights of 29000. Analysis of dsRNA extracted from infected tobacco showed four major species of viral dsRNA of approximately 3.3, 3.0, 2.2 and  $0.9 \times 10^3$  b in length. On the basis of these characteristic, L-93 was identified as a strain of CMV. Seeds collected from CMV infected *Luffa* in field were detected for viruses, The result showed that CMV was not seedborne in *Luffa cylindrica*. In greenhouse cross protection tests, *Luffa* plants were first vaccinated with mild strain CMVP1 and challenge-inoculated with L-93 10 days later, the disease incidence of vaccinated plant decreased by 90% and the protective rate was 89%.

**Key words** *Luffa cylindrica*; CMV; identification; cross protection