

鸡旦果花叶病病原病毒的鉴定*

郑冠标 高乔婉 张曙光 范怀忠

(植物病毒研究室)

提 要

根据病毒粒体形态、血清学反应、寄主范围、鉴别寄主反应及物理性质,广州地区鸡旦果花叶病病原病毒被鉴定为CMV的一个分离物。此CMV分离物可由汁液摩擦、桃蚜、棉蚜传染鸡旦果及西番莲(龙珠果)幼苗。首次发现花生是人工接种的枯斑寄主。

关键词: 鸡旦果; 百香果; 黄瓜花叶病毒

前 言

鸡旦果(百香果, *Passiflora edulis*)是一种分布广泛的世界性热带饮用果品,营养丰富,其加工产品已进入国际市场。我国近二十年来在粤、桂、闽、滇等省(区)已陆续引种,生长较好,很有前途。

关于为害鸡旦果的病毒,马来西亚^[8]、澳大利亚^[11]、巴西^{[4][6]}、印度^[10]、日本^[12]、津巴布韦^[6]、荷兰^[9]等已报道有CMV、PWV (Passion fruit woodiness virus) 及PLV (*Passiflora latent virus*) 三种病毒。除为害黄鸡旦果 (*Passiflora edulis var flavicarpa* Deg.) 和紫鸡旦果 (*Passiflora edulis* Sims) 外,也为害西番莲 (*Passiflora caerulea*); 日本报道鸡旦果的CMV寄主范围有10科31种植物^[12]。在巴西,这三种病毒引起较严重的损失^[4]。但在国内迄今还无鸡旦果病毒病的研究报道。

1986年我们从广州华南农业大学园艺系果园的黄鸡旦果及紫鸡旦果表现花叶症状的植株上分离到两个病毒分离物,并进行了鉴定。

材 料 和 方 法

(一) 毒源

采自广州华南农业大学果园黄鸡旦果及紫鸡旦果病株,汁液摩擦接种到西葫芦 (*Cucurbita pepo*) 幼苗上,获得两个病毒分离物。将这两个分离物分别通过昆诺阿藜 (*Chenopodium quinoa*) 三次单枯斑分离纯化,再回接到鸡旦果幼苗上。在确实证明这两个纯化分离物都能对上述不同寄主引起相同症状之后,才在西葫芦上进行繁殖。编号为紫果1号及黄果7号。

* 在本课题研究过程中,承蒙园艺系陈乃棠副教授的协助,深表谢意。

1987年4月4日收稿

(二) 电镜鉴定

用紫果1号和黄果7号的西葫芦病株叶片作为病毒的粗提纯材料。采用0.5M柠檬酸缓冲液(pH6.5含0.5%巯基乙醇)氯仿提取,聚乙二醇(分子量6,000)进行沉淀与超离心(35,000rpm)相结合的提纯程序来制备病毒的部份提纯液,用作电镜观察材料。常规方法制样,2%醋酸铀负染2分钟。

(三) 血清试验

用本研究室的CMV番茄株系(简称CMV-37)的抗血清,按常规琼脂双扩散法进行测定。试验重复一次。

免疫吸附电镜测定,将制备有Formar支持膜的铜网的有膜一面放在CMV37抗血清丙种球蛋白稀释20倍液滴上处理15分钟,取出用0.1M pH7.0磷酸缓冲液冲洗铜网上多余的抗血清。再将包被了抗血清丙种球蛋白的铜网面复盖在黄果7号及紫果1号病株叶片榨取液滴上处理15分钟,再经磷酸缓冲液冲洗,然后用醋酸铀负染2分钟。

试验结果

(一) 症状及发生情况

田间调查:紫鸡旦果病叶呈典型花叶,在嫩叶上较明显,往往有黄点或黄斑出现,顶部新抽出嫩叶卷曲,老叶有褪绿及黄化表现,病株矮化,生长不良,花、果明显减少。

黄鸡旦果病叶亦呈典型花叶,老叶有黄化斑点,但病株矮化不明显。

在上述两品种的果实中,都有石果症状的发生,用小刀削去石果的外果皮,即可见到果肉中有硬块。

(二) 病毒形态观察

在EM-400电镜下观察到相当数量的球状病毒颗粒,直径为22nm。对照无此种颗粒。

(三) 血清学试验

琼脂双扩散试验表明:紫果1号和黄果7号的西葫芦病叶制备的抗原与CMV-37号抗血清产生清晰的沉淀线,且与CMV-37抗原沉淀线互相吻合(图2)。

在免疫吸附电镜检查结果,观察到两分离物的制样都有大量的CMV球状病毒颗粒。病毒颗粒中心核基清晰,对照无此种颗粒。

上述两项血清学试验表明:黄果7号及紫果1号两分离物同属黄瓜花叶病毒。

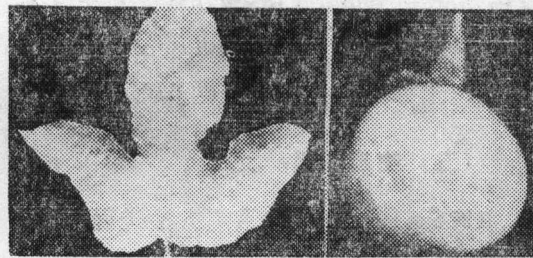
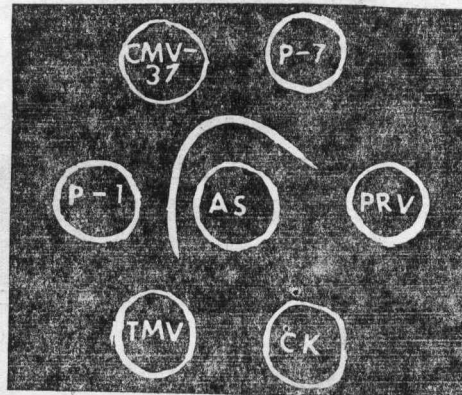


图1 鸡旦果花叶症状



中央孔 = CMV-37抗血清; P-1 = 紫果1号, CK = 健康烟植株汁液; P-7 = 黄果7号。

图2 鸡旦果花叶病原的血清反应

(四) 寄主范围

1986年8~12月在温室用紫果1号及黄果7号同时进行此项试验。按常规汁液摩擦接种13科38种植物,接种后在防虫网室观察30天,不表现症状的植物回接到西葫芦及昆诺阿藜上,以证明其是否隐症寄主植物。

试验结果:两分离物的寄主范围完全相同,它们与CMV的寄主范围亦相同。

表现花叶症状的试验植物有:黄鸡旦果〔发病株数/接种株数4/6(紫果1号)2/6(黄果7号)〕,紫鸡旦果(2/6,4/6),西番莲(龙珠果)(*Passiflora foetida* 6/6,6/6),普通烟(*Nicotiana tabacum* Havana 38 6/6,6/6),心叶烟(*N. glutinosa* 6/6,6/6),西葫芦(*Cucubita pepo* 6/6,6/6),白兰瓜(*Cucumis melo* 6/6,6/6),矮牵牛(*Petunia hybrida* 6/6,4/6),假酸浆(*Nicandra phsaloides* 6/6,6/6),马齿苋(*Amaranthus tricolor* 4/6,6/6),茄子(*Solanum melongena* 4/6,4/6),黄瓜(*Cucumis Sativus* 6/10,6/10)(接种子叶有褪绿斑,后消失,真叶表现系统花叶),千日红(*Gomphrena globosa* 6/6,6/6),长辣椒(*Capsicum frutescens* var. *longum* 4/6,4/6),短辣椒(*C. frutescens* var. *conoides* 4/6,4/6),南瓜(*Cucumis moschata* 6/6,6/6),

表现局部枯斑的试验植物有:苋色藜(*Chenopodium amaranticolor* 6/6,6/6),灰藜(*C. serotinum* 6/6,6/6),番杏(*Tetragonia expansa* 6/6,6/6),豌豆(*Pisum sativum* 6/6,6/6),花生(*Arachis hypogaea* 6/6,6/4),蚕豆(*Vicia faba* 6/6,6/6),绿豆(*Phaseolus aureus* 6/6,6/6),豇豆(*Vigna sinensis* 6/6,6/6),木豆(*Cajanus cajan* 6/6,6/4)。

(五) 物理性质

1986年10~12月按常规方法进行试验。供试植物为西葫芦,重复3~4次。每处理接种3株。

结果表明:此病毒两个分离物的致死温度为50~55℃,稀释终点为 10^{-3} ,体外保毒期为4~5天(在室温25~30℃下保毒)。这进一步表明,两个分离物的物理性质是一样的,与一般CMV基本相同。

(六) 蚜虫传染试验

1986年9~11月在温室进行试验。供试的棉蚜(*Aphis gossypii*)及桃蚜(*Myzus persicae*)为分别饲养在无病的西葫芦及普通烟草上的蚜虫。用无毒的棉蚜及桃蚜经饥饿1~2小时后,分别在用紫果1号和黄果7号接种的西葫芦病株上获毒饲养24小时,后转移到健康的西番莲(龙珠果)幼苗上进行接种饲养24小时。结果是:棉蚜〔发病株数/接种株数12/12(紫果1号),8/12(黄果7号)〕,桃蚜(8/12,8/12)。此结果表明,棉蚜及桃蚜均能传递两个分离物。

讨论和结论

根据病毒粒体形态,血清反应,寄主范围,物理性质及蚜虫传染试验,广州地区鸡

且果花叶病毒的两个分离物是相同的，它们被鉴定为CMV的一个分离物。

根据Fulton^[6]对黄瓜花叶病毒株系的分类法，我们用鸡旦果的两个分离物分别接种甜菜、番茄、黄瓜、豌豆和豇豆五种鉴别寄主上（见本文寄主范围），获得与Fulton对CMV株系分类表上E株系极为近似的症状反应（表1），因此，我们认为广州地区鸡旦果病毒的两个分离物属于Fulton的CMV的E株系。

表1 广州鸡旦果分离物与Fulton的CMV株系比较*

品 种	A	B	C	E	F	广州CMV分离物
甜 菜	LDCS Mo MaL	LS 黄斑 条斑	←——— LDCS Mo MaL ——→			
黄 瓜	←——— LDCS ——→					LDCS
	VC GMo		YMo		VC, GMo	M
番 茄	VC Mo	MaL	LS St Mo MaL	MaL	Mo MaL	O
豌 豆	Mo 下部叶 W	St	YMo VC W	LS	YMo W	LS
豇 豆	LS VC St Mo		LS C VC St Mo	LS	LS VC St Mo	LS

*LS=局部坏死斑, G=绿色, VC=脉明, M=花叶, MaL=叶子扭曲, St=矮化,
LDCS=局部扩散褪绿斑, C=褪绿, W=萎蔫及死亡, Mo=斑驳, Y=黄色, O=不感染。

广州鸡旦果CMV分离物病毒粒体直径为22nm。巴西⁶报道的为24nm，津巴布韦⁷在西番莲 (*Passiflora allardii*) 上的为18~20nm，都稍有差异。但总的来说，都比普通CMV粒体28~30nm为小。这个问题有待进一步研究。

在寄主范围方面，本文使用了测定CMV的常用寄主植物计14科38种植物，结果表明与一般CMV的基本相同，但发现花生是这个株系的新人工接种的枯斑寄主，文献尚未见报道^{[1][2][13]}。

日本报道鸡旦果CMV的一个分离物，人工接种可引起番茄叶片产生严重的条斑，我们的分离物却不侵染番茄，由此可以初步认为，广州与日本的这两个分离物可能是不相同的，也可能是试验用的番茄品种不同所致。

广州地区鸡旦果除受CMV侵染而引起花叶症外，其果实还呈现硬块，表明可能还同时感染了石果病毒 (PWV)^[11]，这一点还有待进一步研究。

引用文献

[1] 史春霖, 徐绍华, 山东花生花叶病毒的研究, <植物病理学报>, 9(2) 1979, 131—136.
 [2] 许泽永, O. W. Barnett, 花生矮化病毒株系的寄主反应、血清学关系以及核糖核酸模式研究, <中国油料>, (2) 1984, 63—70.
 [3] Anonymous, 1974. New Viruses of Passion Fruit. PAN20(1), 87.
 [4] Chagas, C. M., Kitajima, E. W., Lin, M. T., Gama, M. I., C.S., Yamashiro, T., 1981. [A serious disease of yellow passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*

- Deg.) in Bahia State, caused by an isolate of passion fruit woodiness virus.]
Fitopatologia Brasileira 6 (2), 259—268.
- [5] Chagas, C. M., Joazeiro, P. P., Kudamatsu, M. J. 1984. (Mosaic of purple passion fruit, a new virus disease in Brazil. Fitopatologia Brasileira 9 (2), 241—247.
- [6] Fulton J. P. 1950. Studies on strains of Cucumber Virus 1 from spinach. Phytopathology 40, 729—736.
- [8] Gopo, J. M., Cavill, R. 1982. Methods of isolation and purification of Passiflora mosaic virus. Transactions of the Zimbabwe Scientific Association 61(3), 27—32.
- [9] Hakkaart, F. A., Versluys, J. M. A. 1981. (Virus in *Passiflora caerulea* eliminated by meristem culture.) Vakblad voor de Bloemisterij 36 (1), 24—25
- [10] Mall, V. R. 1977. A new passion fruit mosaic virus disease in India. Current Science 46 (5), 153—154.
- [11] Pares, R. D., McGechan, J. K. 1975. The distribution and ultrastructural effects of passion fruit woodiness virus (PWV) in bean leaves. Australian Journal of Botany. 23 (6), 905—914.
- [12] Yonaha, T., Tamori, M., Yamanoha, S., Nakasone, T. 1979. (Studies on passion fruit virus disease in Okinawa. 1. CMV isolated from diseased *Passiflora edulis* and *Passiflora foetida* plants.) Science Bulletin of College of Agriculture, University of the Ryukyus, No. 26, 29—38.
- [13] Xu Zeyong, Barnett O. W. 1984. Identification of a cucumber mosaic virus strain from naturally infected peanut in China Plant Dis. (68), 386.

ETIOLOGICAL IDENTIFICATION OF PASSION FRUIT MOSAIC DISEASE OCCURRING IN GUANGZHOU

Zheng Guanbiao Kao Chiawan Zhang Shuguang Faan Hwei-chung

(Plant Virus Research Laboratory)

ABSTRACT

Two virus isolates were obtained from the passion fruit plants growing in the campus fruit garden of South China Agricultural University. The two isolates were found to be identical, and was therefore suggested to be an isolate of CMV on basis of the morphology of the virus particle, serology, host range, differential host reaction, physical properties and aphid vectors. Peanut was found to be a new artificial inoculated host plant of CMV which induced local lesions on inoculated leaves.

Key words, passion fruit, *passiflora edulis*, Cucumber mosaic Virus