

## 番茄乌心果病病原的进一步研究

盛方镜 陈集双 徐 平 徐均焕 洪 健

(浙江农业大学, 杭州 310029)

**摘 要** 对番茄乌心果病病原进行深入的研究表明, 温室中栽培的番茄, 在用番茄乌心果病的汁液摩擦后, 出现了与田间乌心果病相同症状。从而进一步证实长叶车前草花叶病毒(Ribgrass Mosaic Virus (RiMV))是番茄乌心果病的病原之一。通过调查发现, 该病害已在中国许多地区发生。

**关键词** 番茄乌心果病病原; 长叶车前草花叶病毒; 病原回接

**中图分类号** S436.412

Sheng Fangjing, Chen Jishuang, Xu Ping, Xu Junhuan & Hong Jian (Zhejiang Agricultural University, Hangzhou 310029)

A further study on the "Black fruit" disease of tomato. Journal of Zhejiang Agricultural University, 1993, 19(3): 331~334

**Abstract** After the Black-fruit disease of *Lycopersicon esculentum* was reported previously, the isolated Ribgrass Mosaic Virus (RiMV) was inoculated back to controlled plants of *L. esculentum*. The plants mechanically inoculated by RiMV in greenhouse appeared the same symptoms as that in field. This disease happened commonly in Yinxian, Jiangshan and Jinghua of Zhejiang province and many other places in China. Our results indicated that RiMV was one of the pathogens that caused the Black-fruit disease of tomato and it had spread widely in China.

**Key words** *Lycopersicon esculentum*; Black-fruit disease; Ribgrass Mosaic Virus; back inoculation

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

1.1.1 供试番茄苗 ①采集菜农常规方法育苗 30 株, 品种为日本大红×101, 于 1991 年 4 月 18 日移栽温室。②购自杭州市庆春门蔬菜种子门市部的番茄品种早丰 1 号、日本大红×101。种子经 10% 磷酸钠( $\text{Na}_3\text{PO}_4$ )浸种 10 min, 清水漂洗后, 播于温室无毒土中。

1.1.2 毒 源 病果第 7, 8 号取自杭州市江干区弄口村; 第 20~24 号取自四季青乡, 28 号取自武汉大学菜市场。

## 1.2 方法

1.2.1 毒源鉴定 用鉴别寄主和抗血清逐个地对毒源进行鉴定。

1.2.2 回接方法 毒源中加入 0.1 mol(pH7.2)的磷酸缓冲液研磨成糊状,摩擦接种于番茄叶片和果柄上,接种时以摩至折断表皮毛为适。

1.2.3 接种部位和时间 ①5~6叶期接种叶片的50株;②9~10叶期接种叶片的63株;③坐果期接种果柄的30株。

番茄乌心果病引起番茄果实僵硬、变褐干腐、维管束坏死,与 Young(1946)在美国得克萨斯州所描述的“番茄果实内部变褐,心腐病”的症状一致<sup>[1]</sup>。长期以来,由于对其病原不明而缺乏有效的防治措施,致使病情日益发展,近年已上升为杭州郊区番茄的主要病害之一。

作者经十余年的调查和研究,初步证实了长叶车前草花叶病毒是引起番茄乌心果病的病原之一<sup>[2]</sup>,经过对武昌、广州等地的番茄乌心果病进行鉴定,发现它们同属一种病原,并与 Holmes(1950)所报导的“长叶车前花叶病毒(RiMV)可引起番茄果实内部变褐”的结果一致<sup>[3]</sup>。通过在温室栽培的番茄上进行病毒接种,将长叶车前草花叶病毒摩擦接种于其叶片和果柄上,1991年6月至10月,长出番茄54个,其中有41个有乌心果病,而无症果亦同样带有病毒。对照组采用烟草花叶病毒(TMV)接种,叶片出现花叶皱缩,果实无乌心果症状,但从叶与果实中均可测出 TMV 粒子。通过回接,证实了长叶车前草花叶病毒可引起番茄乌心果病。

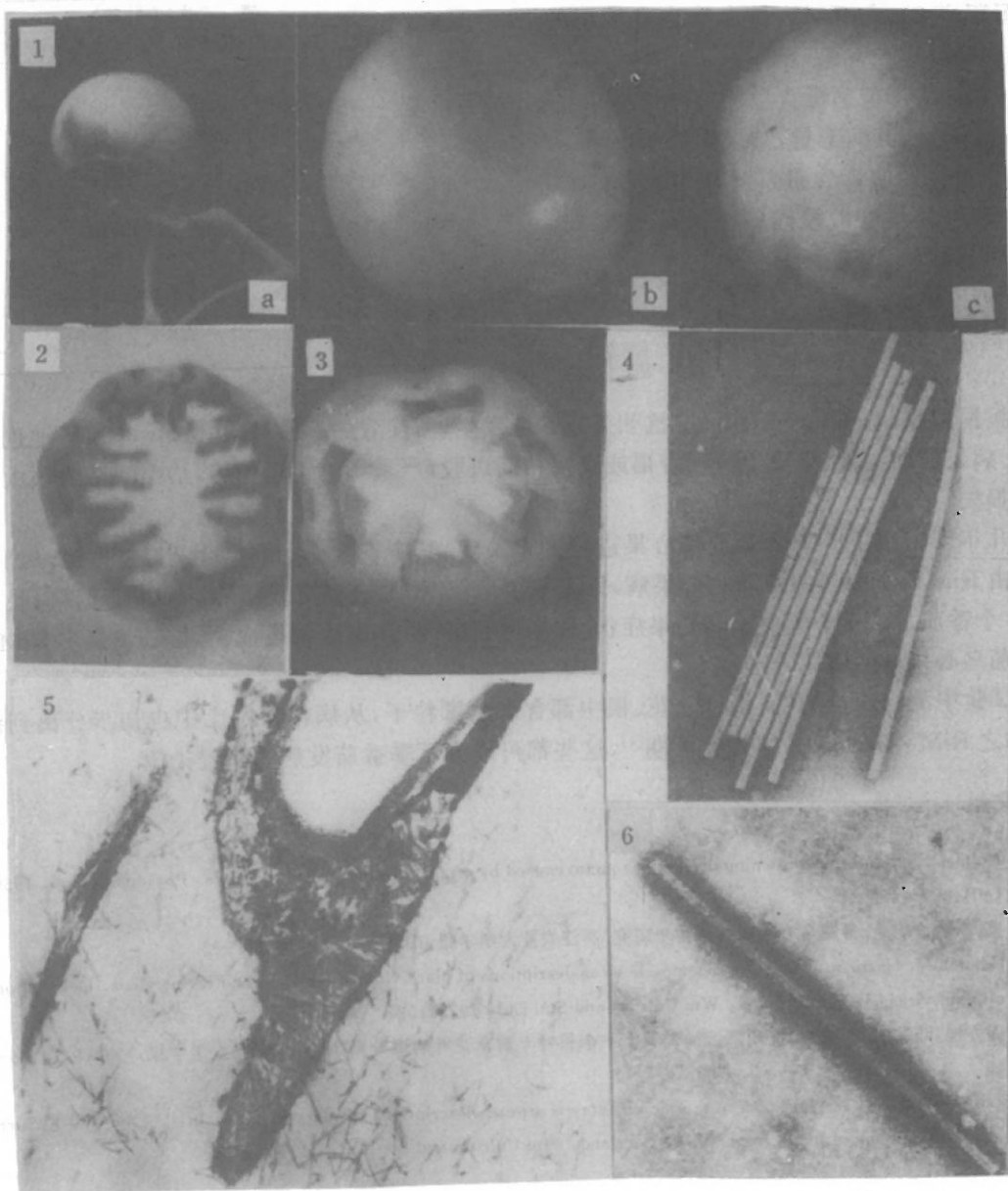
1.2.4 回接后的检测工作 ①病果汁液负染:磨取的汁液用1%磷钨酸(pH6.8)负染,置于 JEOL1200EX 型电子显微镜下观察病毒粒子。②超微结构观察:病果组织经戊二醛、锇酸双固定、丙酮系列脱水、EPON812 包埋、超薄切片经醋酸铀和柠檬酸铅双染后,置电镜下观察病毒粒子和组织病变。③血清学鉴定:应用免疫修饰电镜技术,从油冬儿菜 31 号毒源的 RiMV 抗血清<sup>[4]</sup>和 TMV 抗血清,检测乌心果病汁液,以直接负染法为对照。④病根、茎、叶、花、果实及病株根围土中病毒含量的测定。取病株各部位组织9份,剪碎混合,各称3g,加0.06 mol(pH7.0)的磷酸缓冲液6mL后研磨成糊状;取9株病株根围土,检除根之后混匀,称3g加6mL缓冲液浸泡,充分搅拌。然后将上述测试样品接种心叶烟,以其枯斑数多少而定病毒含量。以缓冲液接种为对照,取水稻田、果园土作为病株根围土的对照。

## 2 结果

2.1 在试验中接种叶片的共有103株番茄,结出番茄19只,其中表现乌心症状的有13只。病果中都可检查到病毒粒子。叶片上无病或偶而有一些退绿斑驳。以无症叶(包括非接种叶)的汁液接种心叶烟,可产生局部枯斑并与 RiMV 抗血清在琼脂双扩散试验中产生明显沉淀带,说明被检查的植株为隐症带毒<sup>[1]</sup>。

2.2 回接在果柄处30株。自1991年6~10月结出35个番茄,出现乌心果症状28个,病斑的大小为2.4~5.2mm。病果汁液接种在果柄处,第13天见果实基部变褐(图版之1);20天后出现大块青褐相间斑驳(图版之2);而后青色区域逐渐变红,褐色区不变,成为红褐相间斑驳(图版之3)。病果横切后见内果皮、维管束变褐,严重的可蔓延到胎座,引起心腐、缺籽(图版之4);健果横切见图版之5。

2.3 回接病果鉴定:①病果汁液粗提纯负染,在电镜下观察到杆状粒子(图版之6)。②病果组



## 图版说明

1. 回接番茄乌心果症状 a. 基部变褐 b. 青与褐色大块斑驳 c. 红与褐色相间斑驳
2. 回接番茄乌心果横切、维管束胎座变褐
3. 健果横切
4. 回接番茄乌心果汁液提纯病毒粒子长 320 nm、宽 18 nm( $\times 100\ 000$ )
5. 回接番茄乌心果超薄切片内成排杆状粒子( $\times 40\ 000$ )
6. 回接番茄乌心果汁液提纯病毒粒子与大白菜 RiMV 免疫修饰反应( $\times 100\ 000$ )

织超薄切片,电镜下见细胞质内杆状粒子(图版之 7)。③粗提纯病毒粒子与油冬儿菜 31" 分离的 RiMV 抗血清有强烈的免疫修饰反应(图版之 8)、与 TMV 抗血清也有较弱的免疫修饰反应。

2.4 病株各部位病毒含量测定:用在心叶烟上的枯斑数测其病毒量,结果如表 1。

表 1 说明病毒含量以叶片为最多,次为果实和茎。用缓冲液浸泡病株根围土也含少量病毒,对照无病毒。

### 3 讨论与结论

根据调查,番茄乌心果病已在杭州郊区普遍发生,浙江省的鄞县、江山县、金华市等地也有发生。病果前期僵硬,果皮上呈现青褐或红褐相间斑驳,严重影响市场销售,给菜农造成很大的经济损失。

几年来采集了 573 个番茄乌心果进行逐个鉴定。其中 529 个由 RiMV 引起,占 92.32%。说明由 RiMV 所引起的番茄乌心果病,已占主要地位。相继对温室栽培的番茄进行回接,长出的 54 个番茄,有 41 个类似于乌心果症状。取样再鉴定,经 RiMV 回接成功,进一步证实 RiMV 是番茄乌心果病的病原之一。

试验中测得病株的叶、果、茎、花、根中都含有病毒粒子,从病株根围土中也初步分离到病毒,加之 RiMV 有较长的体外保毒期<sup>[4]</sup>,这些都可成为下季番茄发病的初侵染源。

### 参考文献

- 1 Holmes F O. Internal-browning disease of tomato caused by strains of tobacco-mosaic virus. *Phytopathology*, 1950, (60):487~492
- 2 盛方镜,徐均焕. 番茄乌心果病原初步研究. *浙江农业大学学报*, 1990, 16(增刊 2):83~85
- 3 Oshima N, Harrison B D. Ribgrass mosaic virus descriptions of plant virus In: F Lant and K Surry eds. *Descriptions of plant virus*. U. K. Scotland: Wm Culross and Son Ltd, 1975. 152
- 4 盛方镜,陆关成,李德葆. 杭州郊区油青菜上一个长叶车前草花叶病毒分离物. *浙江农业大学学报*, 1983, 9(1):39~46
- 5 Zaiflin M, Iarael H W. Tobacco mosaic virus (type strain) descriptions of plant viruses. In: F Lant and K Surry eds. *Descriptions of plant virus*. U. K. Scotland: Wm Culross and Son Ltd., 1975. 151

表 1 病毒在病株和根围土中的分布

Table 1 The Distribution of virus in infected Plant and rhizosphere

病株部位	寄 生(心叶烟)				
	株数	接种叶	枯斑数	每叶枯斑数	病毒含量
叶	9	31	857	27.45	1
果实	9	28	624	22.28	2
茎	9	29	546	18.82	3
花	9	32	292	9.12	4
根	9	28	30	1.6	5
土	9	28	12	0.42	6
对照					
缓冲液	9	29			
水田土	9	30			
果园土	9	30			