

# 利用弱毒防治毒病

龟谷 满朗 (日)

在植物病毒上有干涉作用(Cross Protection)的现象已被 McKinneg (1929) 所明确, Salaman (1933) 在马铃薯 x 病毒上显示出这种干涉作用能应用于毒病的防治。同时, Holmens (1934) 通过热处理, 作出了烟草花叶病毒(TMV)的弱毒株系, 并通过事先接种弱毒株系, 显示出它能抑制强毒感染的可能性。而且, 把它实用化的是大岛等(1965), 可以说弱毒利用实用化的历史约30年。在此之前, Grant 和 Costa (1951) 在受柑桔萎缩病(CTM)危害的柑桔园中, 发现长势好的植株, 从而明确了它们显示了对强毒CTV感染的强烈的干涉作用和弱毒感染等事实。但选择弱毒株系进行干涉试验的应是 Muller 和 Costa (1968)。

以后, 利用弱毒进行防病试验除柑桔的CTV之外, 可以说仅在我国取得了进展。在国外, 荷兰的 Rast (1972) 用亚硝酸钠处理作出了TMV的弱毒系(M11-16)并应用于田间, 但有时引起强毒的恢复, 目前不作利用。而且, 自十年前, 国外也开始作了一些关于黄瓜花叶病毒(CMV)、木瓜轮纹病毒(PRSV)的广泛试验, 特别是最近法国、台湾、英国就スッキーニ黄斑花叶病毒(ZYMV)也进行了试验。关于弱毒的制作和利用的来龙去脉等, 本刊于64卷1号(1989年)已经介绍了, 因此, 这里想以弱毒利用的现状 & 最近作出并广泛试验的弱毒的特性等为中心予以阐述。

## 弱毒利用现状

在实用上最先有进展的番茄, TMV的弱毒株系L11A是非常优秀的株系, 它的防治效果好并被广泛的利用。据长井(1984)报导, 在千叶县一个时期利用面积达保护地面积的1/5(表1), 同时在关东东海的其他县也被广泛利用(表2)。这些县以外, 虽多少有别, 但多数县利用了。如北海道, 1978年最长达53.8ha, 广岛县1988年为3.7ha, 可是如表1那样, 在这之后随着番茄引入了TMV抗性基因、抗病品种的普及, 弱毒利用却减少下来了。现在福岛县为87ha, 千叶县为7.5ha, 在超小

型番茄上的利用也在福岛县(最多8ha)、大分县(最多8ha)等也被推广, 但这也随抗TMV品种的引入而使弱毒利用减少了。

表1 千叶县不同年份番茄栽培面积、保护地面积和弱毒利用面积

年份	栽培面积 (ha)	保护地面积 (ha)	弱毒利用面积 (ha)
1977	985	875	99
1978	992	697	146
1979	1010	724	157
1980	1080	734	94
1981	1080	799	94
1982	1080	808	83
1983	—	—	74

注: 栽培和保护地面积引自农林水产统计数

表2 关东东海地区1983年番茄利用弱毒状况

县名	栽培面积 (ha)	保护地面积 (ha)	弱毒利用面积 (ha)
栃木	670	211	0
千叶	1080	808	74
埼玉	242	153	2
静岡	428	247	40
岐阜	320	197	0
爱知	743	396	38
三重	288	114	23

注: 番茄的栽培面积和保护地面积引自第58次农林水产统计数。

关于青椒, TMV-P系统的蔓延, 又没有对TMV-P实用的抗病品种, 所以, 迫切期待弱毒的利用。实际上, 在北海道(1987年最多18ha)、茨城县(1988年最多0.8ha)、千叶县(1990年最多20ha)、宫崎县(1989年最多40.1ha)等地已经在相当大的面积上使用了弱毒, 可是, 是因弱毒化不充分化, 还是因季节不同而发生病症使之在健康植株在生育上受到相当的抑制呢, 除千叶和宫崎县外, 其他很多地方中止了使用。在

千叶县虽然有花叶出现,但因有强烈的要求,还是在13ha上使用了弱毒。宫崎县由于弱毒接种后的管理状况不同,在品质和产量上可能出现很大差异,其效果也不同,但这些年来每年都有10~15ha利用弱毒。为防治保护地网纹甜瓜的坏死圆斑病,利用毒源黄瓜绿斑花叶病毒(CGMMV)的弱毒株系SH33b,但弱毒接种后苗稍有徒长,难于管理,故其利用受挫,但因坏死圆斑发生激烈,且没有别的防治法,处于必须用弱毒的局面,现在静冈县每年有30ha利用弱毒。

京都府丹后地区特产黑大豆上,由于大豆花叶病毒(SMV)的危害相当重,又无抗病品种,不可能期待仅靠防蚜来达到防治效果。因此,进行了预先接种SMV弱毒株系Aa15—M<sub>1</sub>的防病试验。其防病效果非常好,特别是在种子生产上有效果,每年在6ha采种田使用,可以说是在京都府全部栽培的面积上都应用了。因为黑大豆进行移栽,所以在弱毒利用上也很合适。

关于柑桔的CTV,在广岛县发现了弱毒株系(HM—55)(佐佐木1967),为防治八朔柑萎缩病,放发了县有弱毒的苗木,经过30年广泛地普及,到目前为止,向县内外供给数达83万株,广岛县的八朔柑类全部都是具有弱毒的苗。

另外,爱媛县为防治伊予柑的CTV引入了弱毒,自1989年至今已移入5万以上的弱毒株。在德岛县每年提供几万株柚子等10数种县有弱毒的柑桔类苗木。最近已作出适应各类柑桔的CTV弱毒株系,并将得到更大的普及。

### 最近制出弱毒

受到TMVL11A高防效的激发,大量的弱毒株系被制了出来。最近(约10年)以农林水产省的地方生物工程事业为中心,制出了多种弱毒株系。下面想介绍一下它们的来路和特征。

(1)通过热处理制出的弱毒株系。Holmes(1934)制出TMV弱毒株系的热处理法(35℃上下),在TMVL-11(大岛等1965)、TMVPa18(俊藤等1984)、TMVC1421(长井等1986)等弱毒株系的制作上也很适用,可以认为,热处理是制备TMV弱毒株系的有效方法。作为通过热处理而制出的弱毒株系制作的最近的例子,橘等(1990)对用强毒CTV作嫁接接种的柑桔植株,进行了热处理,处理后切除嫁接部,使其生育,在这种情况下,35℃50天、37.5℃10天处理区中获得了ME37C等毒株系。CGMMV也是通过2次热处理(35℃2周和3周)和RNA的紫外线照射(UV)处理(10秒),热处理一次后,选择局部病斑,获得了GA30—31弱毒株系(中山等1991)。CMV也是把接种

病毒的网纹甜瓜植株进行20℃1天、35℃16天、37℃9天的处理,或者在网纹甜瓜的茎上接种CMV,进行25℃2天、35℃18天处理后,选择局部病斑,获得了SH208弱毒株系(四中等1992)。到目前为止,一般是通过热处理后的选择而获得弱毒株系,但通过低温处理后的选择制出弱毒来也是可能的。小坂等(1988)把接种了大豆花叶病毒(SMV)的大豆置于10℃、12℃、15℃条件下,令其生长14~55天,之后,选择局部病斑,在15℃14天处理区,获得了Aa15M<sub>1</sub>、Aa15M<sub>2</sub>弱毒株系。

(2)亚硝酸钠处理制作弱毒株系。最初是由荷兰的Rast(1972)在制备TMV的弱毒系M11—16时用的方法,是个变异率很高的方法。那之后,本吉等(1984)在CGMMV弱毒系SG33b的制作上、Yeh及Gonsales(1984)在PRSV的弱毒系HGA5—1、HA6—1的制作上应用了本法。笔者等(1992)在南瓜花叶病毒(WMV—2)的弱毒化过程中,进行了亚硝酸钠处理(0.8M20℃30~120分),但未获得稳定的弱毒系。本藏等(1992)也在SMV的弱毒化上用了本处理,也未获得稳定的弱毒系。

(3)紫外线照射(UV)制弱毒株系。是个容易产生变异株的处理方法,常同别的处理结合而用。本吉等(1984)通过UC和亚硝酸钠结合处理,制出了弱毒系SG33b。河野等(1989)纯化CMV,对其核酸(RNA)进行UC处理后,再进行选择,制出了KU<sub>12</sub>弱毒系(当时称为大U<sub>12</sub>)。中山等(1991)对(CMMV)通过热处理和UV处理相结合,制出了GA30—31弱毒系。著者等(1992)对WMV—2通过亚硝酸钠和UV处理(15W杀菌灯30cm下5~30分)相结合,制出了弱毒系WI—9。UV处理后选出来的弱毒化了的致病性等方面有较稳定的倾向。

(4)通过核酸的引入,交换制弱毒。众所周知,有的CMV株系是含有随体RNA的,在这个随体RNA中,有激化番茄病症的(产生坏死),有轻微病症的,也有没什么影响等种种基因。通过这个轻微病症的随体RNA与轻微病症的CMV之间的组合,所以制出弱毒株系。这个例子已有吉田等(1985)的报导。吉田等(1992)还认为通过参与组合的随体RNA的选拔,可以制出更好的弱毒株系。Sayama. et al(1993)、佐山等(1993)也通过选择在番茄上不产生坏死斑的随体RNA,再组入CMV中,作出了弱毒株系KO<sub>2</sub>和NDM—1。另外,还进行了通过核酸的交换制作弱毒的工作。CMV具有3条染色体组RNA, RNA<sub>1</sub>和RNA<sub>2</sub>支配致病性和复制, RNA<sub>3</sub>支配血清学性状和蚜虫的携带性。在CMV

里有很多性质不同的分离株系,在大豆上发生的 CMV 大豆萎缩株系,对茄科、葫芦科植物致病性非常弱。另外还知道,对大豆的系统侵染受 RNA<sub>3</sub> 支配。因此,以制出在大豆上不系统侵染、在茄科、葫芦科作物上致病性弱为目的,把大豆萎缩系 RNA<sub>1</sub>、2 和从瓜类上引来的 CMV 的 RNA<sub>3</sub> 相重组,通过选择,得到了对番茄、网纹甜瓜、青椒等致病性弱的株系,其中 G1 对青椒致病性弱并有实用性(俊藤 1993)。

(5)从自然界中分离弱毒株系。自然界中产生的病毒,是在各种场合经过淘汰了的,所以,可以认为遗传上是比较稳定的。如果能从中选出弱毒株系的话,可以说就是比较稳定的弱毒株系。作为例子就有在巴西被发现的 CTV 的弱毒系(Grant 和 Costa 1951)、日本的 CMVHM-55(佐佐木 1967)。另外,CMV-SR 虽是番茄的弱毒系,但却是从菠菜中分离出来的(善林等 1983)。最近河野等(1993)在常发生 CMV 的黄瓜田里,从无病株上分离出弱毒株系深 4-4。外间等(1989)也从自然界分离出 ZYMV 的弱毒系 ZS142a6,本藏等(1992)也分离出 SMV 的弱毒系 MG16。在国外也报导过 Lecog 和 Lemaire(1991)把 ZYMV 的弱毒株系 WK 从蚜虫难于传播的 ZYMV 中分离出来。ZYMV-WK 在南瓜上(Lecog 和 Lemaire 1991)、在黄瓜、网纹甜瓜、南瓜上(Wang 1991)显示出对强毒强烈的干涉作用,防治效果很好。

(6)其他。岡田等(1990)报告称:把缺失变异引入 TMV 的 RNA<sub>3</sub> 非翻译领域,可能作出弱毒来,这个方法作为制备弱毒的新方法而被世人瞩目。

今后新的方法虽然也有可能被开发出来,但在把从前用的弱毒化的方法与其作物及病毒结合,重组上下功夫,可以认为,弱毒的制作是可能的。

#### 最近制出的弱毒的特性

ZYMV<sub>251422a</sub>(外间等 1989;河野等 1990;外间等 1990)。在南瓜上虽有轻微花叶,但不产生畸形果。蚜虫难于传播。对强毒 ZYMV 的汁液接种和蚜虫传毒显示强的干涉效果。在南瓜的子叶期接弱毒,13 天后(第 5 叶展开)定植于田间时,未接弱毒的对照区一部分出现严重的花叶和畸形叶,产生瘤形果,但弱毒接种区生育良好,没见到瘤形果。该弱毒最初被认为是 WMV-2,但血清检验定为 ZYMV。

CMV 深 4-4, KV12(河野等 1989;庄司·善林 1992)。深 4-4 在黄瓜上无病症,但在番茄、菠菜、豆类等上表现病症。KV12 在多种作物的叶上接种感病,但在黄瓜、番茄上系统感染而无病症,在心叶烟和子<sub>2</sub>=ア上出现病症。两株系都显示对强毒 CMV 的干涉效

果,即使发病,也晚。另外,能抑制在南瓜砧上的黄瓜所产生的萎凋病。

CGMMVGA30-31(中山等 1991)。只在葫芦上产生相当轻的褪绿斑,对生长很少有影响。把弱毒接在第 1 片真叶时,对强毒 CGMMV 显示强的干涉作用。在 6 科 16 种葫芦科作物上汁液接种时,虽在西瓜的 2 个品种上产生轻花叶,其他则无病症。弱毒对葫芦接种。真叶比子叶感病率高,用手提式喷雾器接种也感病。

SMVA<sub>2</sub>15-M<sub>1</sub>(Kosaka 和 Fukunishi 1991)。在大豆(新丹波黑)上产生轻花叶,对另外的 8 个品种,只在十胜长叶和刘羽潼谷 28 上系统感染,出现非常轻的花叶,十胜长叶上产生褐斑。蚜虫的传播率很低,同时种子传染率非常低。对强毒的 B、C、D 系统显示强烈的干涉作用。把第 1 片真叶期接种的苗置于温室 8~9 天,移到田间时,对照 100%发病,弱毒接种区则发病率非常低,种子产量提高 15%,种子传染率也非常低。

WMV-2WI-a(龟谷等,1992)。接在南瓜(芳香青皮栗)的子叶上,在第 1 片真叶上只产生轻微褪绿斑,对生育也没什么影响。在葫芦科 8 种 17 品种上汁液接种时,南瓜(7 品种)和西瓜上产生轻度失绿或明脉,其余皆无病症。能被蚜虫传播。在南瓜、黄瓜、网纹甜瓜、西瓜上对强毒 WMV-2 的汁液接种和蚜虫接种显示强的干涉作用。在葫芦弱毒接种区比健全区表现出生育和产量上的若干劣势,但比强毒接种区强得多(中山等 1992)。

SMVMG16(本藏等 1992)。从大豆品种的反应看,早生品种奥原 1 号产生褐斑,札幌绿产生缩叶且生育受抑制。中一晚生品种则只在生育初期产生轻度缩叶,并未见有生育、产量的抑制和褐斑的发生。接弱毒 2 日后,对强毒 SMV 显示强烈的干涉作用。MG16 原属 B 系统,但对 A、B、C、D、E 系统都有干涉效果。接种弱毒 2 天后定植于田间时,在部分植株上只能见到轻度缩叶,并未见到褐斑。作为弱毒的大量接种方法,在 3-5kgf/cm<sup>2</sup> 的压力下用喷枪和压缩器是可能让它高感的。

CMVSH<sub>20a</sub>(田中等 1992;山川等 1992)。只在网纹甜瓜上产生褪绿斑及轻度花叶,对强毒 CMV 显示强的干涉作用。把在网纹甜瓜上繁殖了的弱毒液接在刚具第 1 真叶的子叶上,10 天后对强毒 CMV 接种的干涉效果虽不明显,但 20 日后接种强毒时,显示强的干涉效果。另外,弱毒接种 10 天后置于田间,调查对自然感染的防除效果时,没有见到明显的病症,认为有较高的防除效果。

CMVME27C 等(橘三好 1992)。热处理制出来的

弱毒系对强毒系统显示了强的干涉效应。

CMVKO<sub>2</sub>, NDM-1 (Sagama, 1993, 佐山等 1993)。两弱毒系都在番茄上无病症,体内浓度也低,但对强毒 CM 显示出强的干涉作用。由于先接这些弱毒, KO<sub>2</sub> 增产 20~300%, NDM-1 也增产 19~118%。蚜虫不能传播 KO<sub>2</sub>, 同时, KO<sub>2</sub> 即便与 TMV 及 PVY 重复感染,也未见到病症的严重差别。

CMVG1(俊藤等 1993)。在青椒上低浓度接种,就能有弱毒性,对强毒 CMV 显出强烈的干涉作用。

### 结语

一个时期被广泛利用于番茄上的 TMVL11A,由于抗性品种的普及而减少下来了。但最近侵害其抗病品种的病毒系统在各地时有发生,有必要加以注意。其他的弱毒有时产生病症,还有引起生育障害的,希望能进一步加以改良。特别是对青椒的 TMV-P 的弱毒利用的要求更强烈,经济上损失也大,故希望尽快改良。

现今,处于对毒病没有实用的防治药物的状态,今后,防除露地作物的毒病的弱毒利用,虽然也很迫切,但在露地的情况下,多受 2 种以上病毒的重复感染,为此,有必要多种弱毒同时接种。农林水产省各区域的生物工程事业如前述已作出各种弱毒系,以防治多数病毒为目的进行了特殊的研究,但与单一的弱毒利用不同,还有不少问题。另一方面,详细调查发生毒病的生态,就会发现,时期不同,只限于主要病毒发生。例如在鹿儿岛县的葫芦科作物上发生的病毒有 WMV-2, ZYMV, CMV, 但从春至夏的栽培中主要发生 WMV-2, 从夏到秋栽培中主要发生 ZYMV(岛越等 1991), 为此,可以认为,根据季节不同分开使用弱毒是可能的。

在利用弱毒时,最担心的是强毒的恢复。毒病虽说是产生变异,但到目前为止,在日本作出的以 TMVL11A(作出后约 30 年)为首的弱毒,没有哪一个已恢复强毒的报告。这固然是我个人的看法,但经过充分选择的弱毒,一般不怎么引起强毒的恢复。另外,利用弱毒时,必须注意的是毒源的繁殖问题。虽不能混入强毒,但即使强毒 CMV,其弱毒系也不很稳定,所以有必要准备感染力高的毒源。弱毒系感染力低,感染率也就低,干涉效果就不充分,恐怕就要招致发病了。同时,大面积利用时,由于费工和时间的关系,毒源的准备等就不得不放在现场,那种场合下就要具备充分的专业知识以与之适应。最后期待作出更多的弱毒系并广为利用。(参考文献 40 篇略 刘永香 郭风鸣 赵福顺

译自《农业おてび园艺》69 卷 1 号(1994)137~142  
长春市自由大路 200 号 邮编:13003)

## 齐齐哈尔华夏西瓜沙棘育种研究所

### 最新育成抗病高产优质西瓜系列杂交种

#### 所长马正潭欢迎瓜友试种开发

继齐红、齐露、齐抗 901 华夏新红宝杂交西瓜在全国推广之后,马正潭同志又育成一批抗病为主要特点的最新西瓜系列杂交种。经过 1995~1996 年两年在黑龙江、辽宁、北京、山东、广西、湖南、浙江、内蒙、海南等省市试种,表现高抗枯萎病、高抗炭疽病、兼抗其它某些病害,具有多抗、高产、质优、耐贮运,综合性状优良。并且早熟、中熟、中晚熟、圆形、长形、椭圆形、不同皮色、类型齐全,可以选种。各地一致反映,应加速扩大试种示范、早日与瓜农见面,为瓜友服务。

1. 免费试种,每品种 50g 以下,来信即邮。
2. 每品种 500g 左右,按成本价收费。
3. 包装的比同类型的西瓜种子优惠 20%。
4. 年初预约繁殖,冬季供种,优惠 30%。
5. 长期合作开发、销售地包装经销,利益共均。

### 果树拉枝产生缢痕如何补救

拉枝是果树整形修剪的方法之一,被广泛采用。然而,有些果农对果树进行拉枝时,往往由于绳索过细或绳扣在枝条上未留有足够的余地,平时又没注意检查、松套和移位,随着枝条的生长增粗,绳套便镶嵌在枝条内,产生很深的环状沟槽,4~5 年不易复原,这类枝条一遇大风、降雨或枝条生长结果增重,极易从缢痕处折断,所以要及时补救,减少损失。

当解除拉枝的材料时,发现有缢痕,做好标记,于果树旺盛生长的 6~7 月份,用刀将沟槽内的皮层切去一圈,把沟槽边沿去皮少许,然后用黄泥糊到伤口上,再用塑料薄膜包扎好。使伤口保持一定的湿度,利于愈合。处理后一般 15~20 天即可愈合。经试验,不但愈合率达 98% 以上,而且还起到了环剥作用,促花效果明显。(磐石市长崴子乡多种经营办公室 高占民)