

感染南瓜花叶病毒的哈密瓜种子的 ELZSA 检测和热处理

谢 浩*

(新疆五家渠农科所)

赵 长 生 邱 并 生 田 波

(中国科学院新疆生物土壤研究所) (中国科学院微生物研究所)

在新疆危害哈密瓜的病毒主要有西瓜花叶病毒 2 号 (WMV-2)、黄瓜花叶病毒 (CMV) 和南瓜花叶病毒 (SqMV)^[1]。其中 SqMV 是通过种子传染影响哈密瓜生产的重要因素之一。据 1981—1982 年调查, SqMV 在鄯善、吐鲁番、阿克苏、喀什、安宁渠和五家渠的发病率分别为 45—61%, 36—64%, 50%, 58%, 42—82% 和 6—16%。大多数是与其它病毒共同引起的复合感染。瓜秧感染南瓜花叶病毒后, 叶绿素下降 10—23%, 可溶性物质含量减少 13—17%, 单株产量减少 12—20%, 不同的品种所受影响的程度也不同。

该病害的最初侵染源主要是病株上带毒的瓜种子, 因此, 研究一种既能有效地抑制种子内的病毒; 又对种子发芽率无较大影响的种子消毒技术, 是防治该病害的主要途径。本文报道了病毒的检测技术和种子消毒效果的初步研究。

材 料 和 方 法

(一) 病种子

SqMV 毒源于 1981 年采自五家渠甜瓜品种——香梨黄病株上。分离纯化后摩擦接种在 6 叶期的哈密瓜 (品种为炮弹瓜、谢克苏、网纹香和黄旦子) 健苗上, 分别采收病株上的瓜留种, 待测。病种子在 $28 \pm 1^\circ\text{C}$ 温箱内催芽后, 播

种在具有防虫笼的花盆内, 观察从出芽到 5、6 叶期的幼苗, 并定期统计发病率 (即病瓜种子的病苗率)。

(二) 种子热处理

干燥种子在 $40 \pm 1^\circ\text{C}$ 恒温箱内放 24 小时, 使种子含水量由 5.41% 下降到 3.78%, 又经 45°C 放 24 小时, 含水量下降到 2.9%, 分别放在 $55 \pm 1^\circ\text{C}$ 、 $60 \pm 1^\circ\text{C}$ 、 $65 \pm 1^\circ\text{C}$ 、 $70 \pm 1^\circ\text{C}$ 、 $75 \pm 1^\circ\text{C}$ 、 $80 \pm 1^\circ\text{C}$ 温箱内干热处理 1—7 天后, 进行发芽率测定; 将病种子分别在 $70 \pm 1^\circ\text{C}$ 温箱内处理 4—11 天后, 播种在防虫笼内, 调查其消毒效果。

(三) ELISA 检测

按照裴美云等^[1]的方法提取病毒, 加等量福氏半佐剂乳化后免疫家兔, 每周肌肉注射一次, 每次注射病毒 1ml (7mg/ml), 共 3 次, 最后一次注射 10 天后采血, 制备抗血清, 试管沉淀法测定抗血清效价为 512—1024, 用硫酸铵沉淀法提取 IgG, 经 DEAE-32 纤维素柱纯化, 用过碘酸钠氧化法把辣根过氧化物酶 ($R_1=29$) 标记到提纯的 IgG 上去, 采用双抗体夹心法检测病毒^[2]。

试 验 结 果

(一) SqMV 在花和种子中的分布

* 现在新疆农科院微生物研究所工作。

SqMV 在哈密瓜上引起系统侵染, 用 ELI-SA 检测了 6 叶期人工感染 SqMV 的病株雄花、雌花、幼瓜、成熟后的瓜瓢、瓜皮、种皮、胚芽和胚乳等部位的带毒情况。以琼脂双扩散反应和用上述材料制备的接种液接种于子叶期哈密瓜幼苗为对照。结果表明, 用 ELISA 检测出哈密瓜各部位都带有 SqMV。琼脂双扩散反应和人工接种的仅在雄花、雌花、幼瓜和成熟瓜皮出现阳性反应。说明酶联反应的灵敏度较后者高(表 1)。

表 1 SqMV 在哈密瓜花和种子中的分布

检测部位	检测方法		
	酶联反应	琼脂双扩散	摩擦接种
雄花	+	+	+
雌花	+	+	+
幼瓜	+	+	+
瓜瓢	+	-	-
瓜皮	+	+	+
种皮	+	-	-
胚芽	+	-	-
胚乳	+	-	-
病叶对照	+	+	+
健叶对照	-	-	-

用酶联反应法检测 49 粒感染 SqMV 的哈密瓜(品种为黄旦子)种子, 有 38 粒表现阳性反应, 占种子数的 80% 左右。

(二) 直播法调查不同品种种子的病苗率

调查的哈密瓜品种有网纹香、黄旦子、炮弹瓜、谢克苏。种子分别直播在防虫笼内, 出苗后 5、6 叶期人工感染 SqMV, 定期观察瓜苗的发病情况, 其发病率依次为网纹香 24.07%、黄旦子 19.86%、炮弹瓜 9.5%、谢克苏 6.9% (表 2), 结果说明不同品种的哈密瓜病苗率有一定的差

表 2 不同品种的哈密瓜种子病苗率

品 种	四次试验结果(病苗数/播种数)					发病率(%)
	1	2	3	4	合计	
黄旦子	18/51	2/66	26/109	12/60	58/286	19.58
谢克苏	10/50	6/64	3/101	1/75	20/290	6.9
炮弹瓜	11/47	5/40	8/120	2/67	26/274	9.5
网纹香	13/54				13/54	24.07

异。

(三) 热处理对种子内 SqMV 的抑制作用

1. 干热处理对种子发芽力的影响: 当年采收的哈密瓜种子分别在 55—75±1℃ 条件下干热处理 1—7 天, 发芽率不受影响, 在 80±1℃ 下干热处理 24 小时后, 发芽率明显下降, 处理

表 3 干热处理种子对发芽率的影响

处理温度 ℃	处理不同天数的发芽率(%)						
	1	2	3	4	5	6	7
55	90	93	90	97	77	70	97
60	90	90	80	83	97	87	80
65	97	80	100	80	83	100	97
70	100	60	83.2	70	67	67	90
75	70	86	67.2	69	58	73.9	85.7
80	56	30	5	0	0	/	/

注: 重复 3 次的平均值, 对照为 76—98%。

表 4 干热处理种子对 SqMV 的抑制效果

调查项目	处理天数									
	0	4	5	6	7	8	9	10	11	
发芽率 (%)	91.7	100	89	95	95.7	97.3	93	88.4	100	
发病率 (%)	8.9	7.05	5	2.1	1.77	1.2	0	1.5	1.75	
消毒效果 (%)		20.8	43.8	76.4	80.1	86.5	100	83.1	80.3	

注: 每个处理种子数为 107—127 粒, 对照为 146 粒。

表 5 干热处理种子七天内对 SqMV 的抑制作用

调查项目	1980		1981		1982		1983		1984	
	处理	对照	处理	对照	处理	对照	处理	对照	处理	对照
种子数	106	146	470	490	145	165	133	141	170	120
病苗数	4	13	12	48	3	20	4	18	8	20
发病率%	3.77	8.9	2.6	9.7	2.1	12.1	3	12.77	4.7	16.7
消毒效果%	57.6		73.2		82.7		76.5		71.86	

4天后则全部失去发芽能力(表3)。

2. 干热处理对种子内 SqMV 的抑制作用: 用人工感染 SqMV 的哈密瓜(品种为黄旦子)种子, 在 $70 \pm 1^\circ\text{C}$ 干热处理 4—11 天, 消毒效果随着处理时间的增加而提高, 但处理 7 天以上则无规律可循(表 4)。

从 1980—1984 年先后用感染 SqMV 的病瓜种子在 $70 \pm 1^\circ\text{C}$ 干热处理 7 天的结果看, 其消毒效果分别为 57.6%、73.2%、82.7%、76.5% 和 71.86% (表 5)。

讨 论

自 1980—1982 年先后有人对黄瓜、西葫芦、马铃薯种子进行不同温度的干热处理和温水处理, 结果均有一定的灭菌消毒效果, 而且对种子的发芽率影响也较轻微^[3-5]。本试验亦证明, 病瓜种子用 $70 \pm 1^\circ\text{C}$ 干热处理 7 天, 对发芽

率无影响, 抑制病毒效果为 57—82%。同时, 对角斑病、叶斑病、蔓枯病和枯萎病有较好的灭菌效果, 其方法简单易行, 有推广价值。

用 ELISA 检测病瓜种子带毒率为 80% 以上, 但用同样的种子直播观察, 其发病率不超过 20%, 说明种子带毒和种子传毒不是完全统一的, 带毒的种子不一定都有传毒能力。选用无病株上的瓜留种, 是一种有效的较彻底的防病措施。

参 考 文 献

- [1] 裴美云等: 植物病理学报, 12(4): 27—32, 1982。
- [2] 邱并生等: 植物病理学报, 12(3): 29—33, 1982。
- [3] Umekawa, M. and Watanabe, Y.: R. P. P., 59(4): 1946, 1980。
- [4] 国安克人: 植物防疫(日), 36(2), 1982。
- [5] Kaiser, W. J.: *Phytopathology*, 70: 1119—1122, 1980。