

# 湖北省蔬菜病毒病主要毒原种类检测

张艳超<sup>1,2</sup> 侯明生<sup>1</sup> 蔡丽<sup>1</sup>

1.华中农业大学植物科学技术学院,武汉 430070; 2.江阴苏利化学股份有限公司,江阴 214444

**摘要** 采用斑点酶联免疫吸附法(Dot-ELISA)和 RT-PCR 法对采自湖北省 7 个地区的 966 份疑似感染病毒的蔬菜样本进行黄瓜花叶病毒(*Cucumber mosaic virus*, CMV)、烟草花叶病毒(*Tobacco mosaic virus*, TMV)、番茄斑萎病毒(*Tomato spotted wilt virus*, TSWV)、番茄花叶病毒(*Tomato mosaic virus*, ToMV)、芜菁花叶病毒(*Turnip mosaic virus*, TuMV)、蚕豆萎蔫病毒(*Broad bean wilt virus*, BBWV)、黄瓜绿斑驳花叶病毒(*Cucumber green mottle mosaic virus*, CGMMV)共 7 种病毒的检测。结果显示检出阳性样本 695 份,占总样本数的 71.9%。其中,十字花科蔬菜上主要毒原为 TuMV, 检出率高达 86.4%,其次为 CMV, 检出率为 26.7%;茄科、葫芦科和豆科蔬菜上主要毒原均为 CMV, 检出率分别为 34.3%、59.2% 和 56.2%。CMV 几乎能侵染所有蔬菜,为湖北省蔬菜病毒病的主要毒原。在检出的 6 种病毒中,存在 TuMV+CMV、TuMV+BBWV、TuMV+CMV+BBWV、CMV+BBWV、CMV+ToMV 和 CMV+BBWV+TSWV+TMV 等 6 种复合侵染类型,其中 TuMV+CMV 为十字花科蔬菜上的主要复合侵染类型,复合侵染率为 23.8%,其他蔬菜上主要侵染类型为 CMV+BBWV, 复合侵染率为 28.0%。

**关键词** 蔬菜; 病毒病; Dot-ELISA; RT-PCR; 检测

**中图分类号** S 432.4<sup>+1</sup> **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2017)06-0031-08

病毒病是我国蔬菜产区的重要病害之一,对蔬菜的产量和品质影响较为严重。湖北省是蔬菜种植大省,常年种植萝卜、白菜、番茄、辣椒、豇豆、蚕豆、四季豆、黄瓜、南瓜等蔬菜,尤其是恩施、宜昌等地具有地方特色的高山蔬菜种植面积很大。但由于湖北省不同地区气候条件和生态环境的差异,以及蔬菜种植品种的多样化,蔬菜病毒病发生严重且毒原复杂,难以有效防治。

目前,以省市为单位的大面积蔬菜病毒病发生情况的普查较少,近年来,贵州<sup>[1]</sup>、云南<sup>[2-3]</sup>、海南<sup>[4]</sup>、辽宁<sup>[5]</sup>、浙江和江西<sup>[6]</sup>先后报道了相关普查结果。局部地区部分蔬菜病毒病的调查,如广西<sup>[7]</sup>、新疆<sup>[8]</sup>、天津<sup>[9]</sup>、西安<sup>[10]</sup>等地区对十字花科蔬菜病毒病原进行了鉴定,以及云南、重庆<sup>[11]</sup>、黑龙江<sup>[12]</sup>等地区鉴定了葫芦科蔬菜病毒病主要毒原。本研究主要针对湖北省茄科、十字花科、葫芦科和豆科等四大科蔬菜,以严重威胁我国蔬菜生产的黄瓜花叶病毒(*Cucumber mosaic virus*, CMV)、烟草花叶病毒(*Tobacco mosaic virus*, TMV)、番茄斑萎病毒(*Tomato spotted wilt virus*, TSWV)、番茄花叶病毒

(*Tomato mosaic virus*, ToMV)、芜菁花叶病毒(*Turnip mosaic virus*, TuMV)、蚕豆萎蔫病毒(*Broad bean wilt virus*, BBWV)、黄瓜绿斑驳花叶病毒(*Cucumber green mottle mosaic virus*, CGMMV)等 7 种代表性病毒为研究对象,普查这 7 种病毒在湖北省主要蔬菜种植区的发生和危害情况,以期为湖北省蔬菜病毒的防治和抗病育种提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 田间调查及病样采集

2013—2014 年在湖北省武汉市、恩施州利川市、宜昌市长阳县、荆州市、孝感市、十堰市和黄冈市等地区蔬菜种植区选取代表性田块,采取对角线五点取样法进行调查,按田块大小分别调查 50 到 100 株蔬菜,计算发病率。调查结束后采集疑似病毒侵染的蔬菜样品,带回实验室采用血清学和 RT-PCR 法进行病毒种类检测。

### 1.2 主要试剂

CMV、TMV、TuMV、BBWV、TSWV、CGMMV、ToMV 抗血清由浙江大学谢艳老师提供;碱性

收稿日期: 2017-04-19

基金项目: 国家公益行业(农业)科研专项(201303028)

张艳超,硕士。研究方向:植物病理学。E-mail: yanchaozhang123@163.com

通信作者: 蔡丽,博士,讲师。研究方向:植物病理学。E-mail: caili@mail.hzau.edu.cn

磷酸酶标记羊抗鼠 IgG 二抗购自美国 Sigma 公司; 显色底物 NBT 和 BCIP 购自 Promega 公司; RNAPrep pure 试剂盒、第一链 cDNA 合成试剂盒购自艾德莱生物有限公司; 克隆载体 PMD18-T 购自宝生物公司; 大肠杆菌 DH5 $\alpha$  感受态细胞购自博迈德生物基因技术有限公司; 常规化学试剂购自武汉友媛生物科技有限公司。

### 1.3 血清学检测

蔬菜病毒病主要毒原种类血清学检测采用 Dot-ELISA 法, 检测步骤如下:(1)植物叶片按质量体积比 1:10~1:50(g/mL)加入 0.01 mol/L PBS 研磨;(2)8 000 r/min 离心 3 min;(3)取 2  $\mu$ L 上清点到硝酸纤维素膜(简称 NC 膜)上;(4)室温干燥 10 min;(5)NC 膜浸入到含 5% 脱脂奶粉的 PBST 中室温封闭 30 min;(6)NC 膜放入 5% 的脱脂奶粉

1:5 000 倍稀释的单抗中室温孵育 30~60 min;(7)PBST 洗膜 3~4 次,每次 3 min;(8)NC 膜放入用 5% 的脱脂奶粉 1:8 000 倍稀释的碱性磷酸酶标记羊抗鼠 IgG 二抗中,室温孵育 30~60 min;(9)PBST 洗膜 5~6 次,每次 3 min;(10)显色底物 NBT 66  $\mu$ L 和 BCIP 33  $\mu$ L 加到 10 mL 底物缓冲液中混匀,洗好的膜用滤纸吸干后放入底物显色液中反应,待阳性对照显色明显,而阴性没有任何显色时终止反应(显色 5~20 min),在自来水中漂洗后,肉眼观察并记录结果。

### 1.4 RT-PCR 检测

发病叶片总 RNA 提取参照 RNAPrep pure 试剂盒说明,反转录参照第一链 cDNA 合成试剂盒说明。病毒 RT-PCR 特异性检测引物由上海生工生物工程有限公司合成,引物信息如表 1 所示。

表 1 病毒 RT-PCR 检测引物信息表

Table 1 Primers' information of viruses RT-PCR detection

病毒种类 Type of virus	引物名称及序列 (5'-3') Primers' name and sequence	退火温度/℃ Annealing temperature	片段长度/bp Fragment length
TuMV	TuMV-F: TAAACCGGAATGTGGGTGATGATGG TuMV-R: GTCCTCGGTCGTATGCCTTTCC	56	333
CMV	CMV-F: ATGGACAAATCTGRATCWMCC CMV-R: CTGGATGGACAACCCGTTTC	55	764
BBWV	BBWV-F: AGAAAYAGGAAGGTGCGTGC BBWV-R: TCTRTTGCACATGGCATACC	53	1 656
CGMMV	CGMMV-F: CCACGAGTTGTTCTTAATGCTG CGMMV-R: TTTGCTAGGCGTGATCGGATTGT	55	870
TSWV	TSWV-F: CTGCTTTYAAGCAAGTTCTGC TSWV-R: ATCATCATGTCATAAGGTTAAGCTC	50	800
TMV	TMV-F: CGGTCAGTGCCGAACAAGAA TMV-R: ATTAAAGTGGASGGAAAACACT	57	690
ToMV	ToMV-F: TCTCAAGAATGTTACACGGGAAG ToMV-R: CGCATTCTCCGTAATTTGATC	51	980

## 2 结果与分析

### 2.1 蔬菜病毒病发生情况

2013—2014 年在湖北省 7 个地区蔬菜种植区选取代表性田块,对蔬菜病毒病发生情况进行调查,共采集样品 966 份。结果显示,十字花科、豆科、茄科和葫芦科蔬菜病毒病普遍发生,且造成了一定产量损失,田间自然发病率在 2%~82%(表 2)。感病植株主要表现为花叶、皱缩、畸形、矮化等症状(图 1)。因地理环境和种植的蔬菜种类有所不同,不同地区蔬菜病毒病发生率、病毒种类及检出率有较大差异(表 3)。

其中发病较为严重的是蚕豆和南瓜等,采集的 438 份病样中检测出 4 种病毒。其中,十字花科蔬菜 355 份,TuMV 的检出率高达 94.4%,其他地区 TuMV 的检出率远低于武汉市。但十字花科蔬菜的 BBWV 仅在武汉市的样品上检出,豆科蔬菜上的 BBWV 仅在武汉市和十堰市检出,其他地区未检出。

恩施州蔬菜病毒病株发病率在 2%~20%,以十字花科甘蓝发病较为严重,39 份病样检测出 2 种病毒。7 个地区的十字花科蔬菜中,只有此地区以 CMV 为主要病毒,检出率为 53.3%,高于 TuMV 的检出率,除恩施州外,TuMV 仍是其他地区十字花科蔬菜上的主要病毒。

武汉地区蔬菜病毒病株发病率在 2%~30%,



图1 不同种类蔬菜病毒病症状

Fig.1 Symptoms of various vegetable viral diseases

表2 湖北省蔬菜病毒病的调查情况

Table 2 Investigation of vegetable virus diseases in Hubei Province

地点 Site	蔬菜种类 Variety of vegetable	调查田块 Survey field number	发病率/% Incidence	发病严重的蔬菜 Vegetables seriously infected by viruses
武汉市	白菜薹、红菜薹、白菜、芥菜、萝卜、蚕豆、四季豆、番茄、黄瓜、南瓜	20	2~50	蚕豆、南瓜
恩施州利川市	甘蓝、白菜、萝卜、南瓜、番茄	5	2~20	甘蓝
宜昌市长阳县	甘蓝、花椰菜、白菜、四季豆、豇豆、番茄、辣椒、黄瓜、南瓜	21	5~68	南瓜、四季豆
荆州市	豇豆、长豆角、辣椒、茄子、丝瓜、苦瓜、黄瓜	16	4~82	辣椒、黄瓜、丝瓜
孝感市	番茄、辣椒、马铃薯	3	2~10	辣椒
十堰市	甘蓝、白菜、小白菜、萝卜、蚕豆、四季豆	11	5~45	蚕豆
黄冈市	番茄、茄子、辣椒	5	5~60	辣椒

宜昌市长阳县蔬菜病毒病株发病率在 5%~68%，其中南瓜、四季豆、马铃薯等发病率分别高达 68%、46% 和 34%，180 份病样检测出 4 种病毒。十字花科蔬菜只检测出 TuMV，茄科蔬菜上检测出 3 种病毒(CMV、BBWV 和 ToMV)，其中 CMV 检出率最高，为当地茄科蔬菜上主要毒原，豆科蔬菜上 CMV 检出率为 82.5%，高于其他地区豆科蔬菜的检出率。

荆州市蔬菜病毒病株发病率在 4%~82%，其中丝瓜、黄瓜、辣椒发病率均在 65% 以上。荆州市除十字花科蔬菜外共采集 168 份病毒样品，检测出 2 种病毒，其中 47 份茄科蔬菜样品中 ToMV 检出率最高，为 72.3%，在茄科、豆科和葫芦科蔬菜上均检测出 CMV，其他 5 种病毒未检出。

孝感地区蔬菜病毒病株发病率在 2%~10%，辣椒发病率相对较高。孝感市只采集 6 个茄科蔬菜样品，样品中 CMV、BBWV、TSWV 和 TMV 4 种病

毒的检出率均为 100%，即 6 个样品为 4 种病毒复合侵染，TSWV 和 TMV 只在该地区有检出，在其他地区均未检测到。

十堰市蔬菜病毒病株发病率在 2%~20%，蚕豆发病最严重。采集的 77 份病样中检测出 2 种病毒，其中 35 份十字花科蔬菜样品 TuMV 的检出率为 68.6%，42 份豆科蔬菜样品 BBWV 的检出率为 42.9%，未采集到茄科和葫芦科蔬菜病毒样品。

黄冈市茄科蔬菜株发病率在 5%~70%，辣椒病毒病发生严重。采集的 58 份茄科蔬菜样品中，CMV 和 BBWV 的检出率分别为 36.2% 和 32.8%。

## 2.2 不同种类蔬菜病毒发生情况分析

2013—2014 年在湖北省 7 个县市共采集 966 份疑似蔬菜病毒样品。其中十字花科蔬菜 449 份病样主要采自油菜、菜薹、白菜、萝卜、甘蓝、花椰菜等，豆科蔬菜 194 份病样主要采自蚕豆、四季豆、豇豆等，茄科蔬菜 181 份病样主要采自茄子、辣椒、番茄

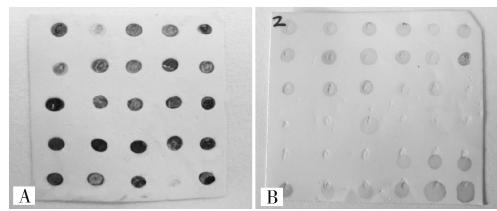
表3 湖北省不同地区蔬菜病害检测结果

Table 3 The detection results of vegetable viral diseases in different regions of Hubei Province

采集地 Collection sites	蔬菜种类 Variety of vegetable	样品采集数 Number of sample	检测病毒种类、阳性样品数(检出率/%)					
			TuMV	CMV	BBWV	TSWV	TMV	ToMV
武汉市 Wuhan	十字花科 Cruciferae	355	335(94.4)	104(29.3)	40(11.3)	/	/	/
	茄科 Solanaceae	5	/	0	0	0	0	1(20.0)
	葫芦科 Cucurbitaceae	13	/	8(64.5)	/	/	/	/
	豆科 Leguminosae	65	/	49(75.4)	29(44.6)	/	/	0
	小计 Total	438	335(76.5)	161(36.8)	69(15.8)	0	0	1(0.3)
恩施州 Enshi	十字花科 Cruciferae	30	12(40.0)	16(53.3)	0	/	/	/
	茄科 Solanaceae	2	/	0	0	0	0	/
	葫芦科 Cucurbitaceae	7	/	3(42.9)	/	/	/	0
	豆科 Leguminosae	0	/	0	0	/	/	/
	小计 Total	39	12(30.8)	19(48.7)	0	0	0	0
宜昌市 Yichang	十字花科 Cruciferae	29	17(58.6)	0	0	/	/	/
	茄科 Solanaceae	63	/	30(47.6)	13(20.6)	0	0	10(15.9)
	葫芦科 Cucurbitaceae	31	/	19(61.3)	/	/	/	/
	豆科 Leguminosae	57	/	47(82.5)	0	/	/	0
	小计 Total	180	17(9.4)	96(53.3)	13(7.2)	0	0	10(5.6)
荆州市 Jingzhou	十字花科 Cruciferae	0	0	0	0	/	/	/
	茄科 Solanaceae	47	/	5(10.6)	0	0	0	34(72.3)
	葫芦科 Cucurbitaceae	91	/	54(59.3)	/	/	/	0
	豆科 Leguminosae	30	/	13(43.3)	0	/	/	/
	小计 Total	168	0	72(42.9)	0	0	0	34(20.2)
孝感市 Xiaogan	十字花科 Cruciferae	0	0	0	0	/	/	/
	茄科 Solanaceae	6	/	6(100)	6(100)	6(100)	6(100)	0
	葫芦科 Cucurbitaceae	0	/	0	/	/	/	0
	豆科 Leguminosae	0	/	0	0	/	/	0
	小计 Total	6	0	6(100)	6(100)	6(100)	6(100)	0
十堰市 Shiyan	十字花科 Cruciferae	35	24(68.6)	0	0	/	/	/
	茄科 Solanaceae	0	/	0	0	0	0	/
	葫芦科 Cucurbitaceae	0	/	0	/	/	/	0
	豆科 Leguminosae	42	/	0	18(42.9)	/	/	/
	小计 Total	77	24(31.2)	0	18(23.4)	0	0	0
黄冈市 Huanggang	十字花科 Cruciferae	0	0	0	0	/	/	/
	茄科 Solanaceae	58	/	21(36.2)	19(32.8)	0	0	0
	葫芦科 Cucurbitaceae	0	/	0	/	/	/	/
	豆科 Leguminosae	0	/	0	/	/	/	/
	小计 Total	58	0	21(36.2)	19(32.8)	0	0	0
合计 Total		966	388	375	125	6	45	0

等,葫芦科蔬菜 142 份样品主要采自南瓜、黄瓜、瓠子、西葫芦、苦瓜、丝瓜等。十字花科和豆科蔬菜分别检测 CMV、TuMV、BBWV 等 3 种病毒和 CMV、BBWV 等 2 种病毒;茄科蔬菜主要检测 CMV、TMV、BBWV、TSWV 和 ToMV 等 5 种病毒,葫芦科蔬菜重点检测 CMV 和 CGMMV 2 种病毒。

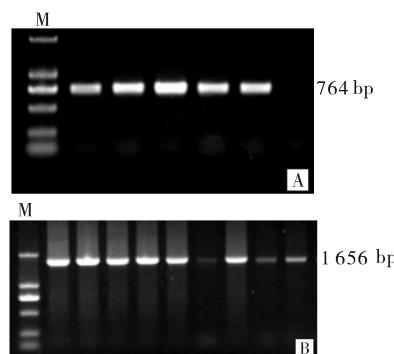
病害样品先采用血清学 Dot-ELISA 法检测(图 2),部分样品再进行 RT-PCR 检测(图 3)。检测结果表明:十字花科蔬菜主要毒原为 TuMV,病毒总的检出率为 86.4%,其次是 CMV,检出率为 26.7%,BBWV 的检出率只有 8.9%。在检测的 7 种十字花科蔬菜中,3 种病毒的检出情况略有不同,虽然主要毒原都是 TuMV,但是 TuMV 检出率从 32.6%~100% 不等,其中甘蓝的 TuMV 检出率最低。BBWV 只在白菜薹、白菜薹和白菜中检测出,其中在白菜薹中检出率最高为 36.7%,高于 CMV,在其他十字花科蔬菜中未能检测到(表 4)。



A:CMV; B: BBWV.

图 2 蔬菜病毒部分样品 Dot-ELISA 检测结果

Fig.2 The detection result of Dot-ELISA for partial samples



M:DL2 000 DNA marker; A:CMV; B:BBWV.

图 3 部分蔬菜病毒 RT-PCR 检测结果

Fig.3 The results of RT-PCR for partial samples

茄科蔬菜上毒原复杂,待测的 5 种病毒均有检出,病害样品中 CMV 是主要毒原,总的检出率为 34.3%,其次是 ToMV 和 BBWV,检出率分别为 24.9% 和 21.0%,TSWV 和 TMV 检出率最低,均为 3.3%。但是辣椒、茄子和番茄中病毒种类和检出率

有较大差异,其中茄子上只检测出 CMV 和 BBWV,检出率分别为 69.2% 和 46.2%;辣椒上 ToMV 的检出率最高,89 个辣椒病样中 44 个检出 ToMV,检出率为 49.4%,高于其他病毒(表 4)。

葫芦科 142 份病毒样品中,CMV 总的检出率为 59.2%,未检出 CGMMV。除在西葫芦上未检测出待测病毒外,其他葫芦科蔬菜上 CMV 检出率均高于 50%。豆科蔬菜 194 份病样中,除在豇豆中没有检测出 BBWV 外,其他 3 种蔬菜均有 CMV 和 BBWV 感染,主要毒原为 CMV,在采集的 4 种豆科蔬菜上 CMV 的检出率均高于 50%。由此可以看出,CMV 寄主范围非常广泛,在 4 大科蔬菜中检出率都很高,是湖北省蔬菜病毒病的主要毒原(表 4)。

### 2.3 蔬菜病毒的复合侵染情况

在湖北省 7 个地区采集的 966 份蔬菜疑似病毒样品中,检测出的病毒阳性样品 695 份,在检测出的 6 种病毒中,存在 6 种复合侵染形式(表 5),复合侵染类型最多的是十字花科蔬菜和茄科蔬菜,分别包括 3 种复合侵染类型。在十字花科蔬菜上检测 TuMV、CMV 和 BBWV 3 种病毒,TuMV 和另外 2 种或 3 种病毒复合侵染现象普遍,其中 TuMV+CMV 复合侵染率最高,为 23.84%,其次是 TuMV+BBWV,仅有 1 个样品检测到 3 种病毒复合侵染。茄科蔬菜上则以 CMV+BBWV 复合侵染为主,CMV+ToMV 复合侵染仅发生在宜昌市的辣椒上,CMV+BBWV+TSWV+TMV 复合侵染仅发生在孝感市,在当地采集的 6 份辣椒和番茄 4 种病毒复合侵染检出率为 100%。豆科蔬菜上仅检测出 CMV+BBWV 复合侵染类型,葫芦科蔬菜上未检测出复合侵染。从病样采集地来看,武汉市的蔬菜病毒复合侵染现象最复杂,存在 4 种复合侵染类型。

## 3 讨论

湖北省蔬菜病毒病发生情况普查结果表明:病毒病在本省发生较为普遍,已成为影响蔬菜生产的重要病害,在所调查的蔬菜中,辣椒、蚕豆、南瓜等蔬菜发病较为严重。在检测的 966 份疑似蔬菜病毒样本中,病毒阳性样本 695 份,检出率为 71.95%。其中,十字花科蔬菜病毒以 TuMV 为主,其次为 CMV 和 BBWV,复合侵染现象普遍,主要类型是 TuMV+CMV,复合侵染率为 23.84%。这与李丽丽等<sup>[13]</sup>和李

表 4 湖北省不同种类蔬菜病害检测结果

Table 4 The detection results of various vegetable viral diseases in Hubei Province

样品种类 Sample type	样品采集数 Number of sample	阳性样品数 Number of positive sample	不同病毒的检出率/%						不同病毒的检出率/%	Different virus detection rate
			TuMV	CMV	BBWV	TSWV	TMV	ToMV		
萝卜 <i>Raphanus sativus</i>	51	51	100.0	43.1	0.0	/	/	/	/	/
红菜薹 <i>Brassica campestris</i> var. <i>purpuraria</i>	185	165	89.2	27.0	1.6	/	/	/	/	/
白菜薹 <i>Cabbage sprouts</i>	79	79	100.0	15.2	36.7	/	/	/	/	/
十字花科 Cruciferae	49	37	75.5	20.4	16.3	/	/	/	/	/
白菜 <i>B. pekinensis</i>	43	26	32.6	27.9	0.0	/	/	/	/	/
甘蓝 <i>B. oleracea</i> var. <i>capitata</i>	5	5	100.0	0.0	0.0	/	/	/	/	/
花椰菜 <i>B. oleracea</i> var. <i>hortynis</i>	37	37	100.0	37.8	0.0	/	/	/	/	/
芥菜 <i>B. juncea</i>	449	400	86.4	26.7	8.9	/	/	/	/	/
小计 Total										
辣椒 <i>Capsicum annuum</i>	89	68	/	32.6	21.4	5.6	5.6	49.4	/	/
茄科 Solanaceae	66	16	/	22.7	10.6	1.5	1.5	1.5	/	/
番茄 <i>Lycopersicon esculentum</i>	26	18	/	69.2	46.2	0.0	0.0	0.0	/	/
茄子 <i>Solanum melongena</i>	181	102	/	34.3	21.0	3.3	3.3	24.9	/	/
小计 Total										
黄瓜 <i>Cucumis sativus</i>	43	23	/	53.5	/	/	/	/	0.0	0.0
南瓜 <i>Cucurbita moschata</i>	40	24	/	60.0	/	/	/	/	0.0	0.0
葫芦科 Cucurbitaceae	14	7	/	50.0	/	/	/	/	0.0	0.0
苦瓜 <i>Momordica charantia</i>	36	26	/	72.2	/	/	/	/	0.0	0.0
丝瓜 <i>Luffa cylindrica</i>	3	0	/	0.0	/	/	/	/	0.0	0.0
西葫芦 <i>Cucurbita pepo</i>	6	4	/	66.7	/	/	/	/	0.0	0.0
瓠子 <i>Lagenaria siceraria</i> var. <i>hispida</i>	142	84	/	59.2	/	/	/	/	0.0	0.0
小计 Total										
豇豆 <i>Vigna unguiculata</i>	34	19	/	55.9	0.0	/	/	/	/	/
四季豆 <i>Phaseolus vulgaris</i>	69	45	/	65.2	18.8	/	/	/	/	/
豆科 Leguminosae	89	45	/	50.6	38.2	/	/	/	/	/
蚕豆 <i>Vicia faba</i>	2	0	/	0.0	0.0	/	/	/	/	/
扁豆 <i>Lablab purpureus</i>	194	109	/	56.2	24.2	/	/	/	/	/
小计 Total										
合计 Total	966	695	40.2	38.8	12.9	6.0	6.0	45.0	0.0	

表 5 湖北省蔬菜病毒的复合侵染情况

Table 5 The mixed infection of vegetable viral diseases in Hubei Province

复合侵染类型 Mixed infection type	复合侵染样品数 Number of mixed infection sample	采集地 Collection site	来源的蔬菜种类 Sources of vegetable species	复合侵染率/% Mixed infection rate
TuMV+CMV	107	武汉市、恩施州	十字花科蔬菜(萝卜、白菜、红菜薹、白菜薹、芥菜)	23.84
TuMV+BBWV	39	武汉市	十字花科蔬菜(白菜、红菜薹、白菜薹)	8.69
TuMV+CMV+BBWV	1	武汉市	十字花科蔬菜(红菜薹)	0.22
CMV+BBWV	52	武汉市、宜昌市、黄冈市	豆科、茄科蔬菜(蚕豆、辣椒、番茄、茄子)	27.96
CMV+ToMV	9	宜昌市	茄科蔬菜(辣椒)	14.29
CMV+BBWV+TSWV+TMV	6	孝感市	茄科蔬菜(辣椒、番茄)	100

经略等<sup>[10]</sup>报道的湖北、湖南、广西、西安等 8 个省市十字花科蔬菜主要病毒检测结果一致,但他们报道的病毒检出率较低,说明病毒病的发生与过去相比呈上升趋势。而王莉爽等<sup>[1]</sup>报道的贵州省十字花科蔬菜病毒主要毒原虽也是 TuMV 和 CMV,但贵阳市近郊正季蔬菜区无复合侵染现象。

茄科蔬菜病毒种类繁多,侵染类型复杂,各地报道的优势病毒种类也有所不同。贵州省茄科蔬菜上检测出 CMV、BBWV、TSWV、TMV 和 TuMV 5 种病毒,以 CMV 为主要毒原,存在 4 种复合侵染类型<sup>[1]</sup>;海南辣椒优势毒原为 CMV 和 TMV,番茄上优势毒原为番茄黄化曲叶病毒 (*Tomato yellow leaf curl virus*, TYLCV) 和 CMV<sup>[14]</sup>,有 10 种复合侵染类型,也有报道海南辣椒优势毒原为 CMV 和辣椒轻斑驳病毒 (*Pepper mild mottle virus*, PM-MoV)<sup>[15]</sup>。张建云<sup>[16]</sup>在新疆地区的茄子上也检测出 TYLCV,刘勇<sup>[17]</sup>报道广州辣椒上含有 TSWV;郭思瑶等<sup>[18]</sup>和黄娅<sup>[19]</sup>首次报道 TuMV 和 ToMV 侵染重庆地区的辣椒。徐千惠<sup>[5]</sup>在辽宁省茄科蔬菜上检测出 TMV、CMV、PVY、BBWV、TSWV、TYLCV 和 PMMoV 等 7 种病毒,主要病毒为 TMV 和 CMV。湖北省茄科蔬菜病毒种类和复合侵染情况与已报道的其他地区有所不同。我们在湖北省茄科蔬菜上检测出 CMV、BBWV、ToMV、TSWV 和 TMV 5 种病毒,不同蔬菜种类上的主要毒原却有差别,辣椒上 ToMV 检出率最高,有 CMV+BBWV、CMV+ToMV 和 CMV+BBWV+TSWV+TMV 3 种复合侵染类型;番茄和茄子上以 CMV 检出率最高,有 CMV+BBWV 和 CMV+BBWV+TSWV+TMV 2 种复合侵染类型,其中茄子上只有 CMV 和 BBWV 2 种病毒,未检测出 ToMV、TSWV 和 TMV,在所有样本中 TSWV 和 TMV 仅在孝感市少数样品中检测到。

葫芦科蔬菜病毒检出率为 59.15%,仅检测出

CMV 为害,未检测出 CGMMV,但是肖彩利等<sup>[20]</sup>报道,CGMMV 是浙江省和上海市等地葫芦科蔬菜上的主要病毒。豆科蔬菜上检测出 CMV 和 BBWV,病毒检出率为 56.19%,不同地区 CMV 的检出率均高于 BBWV。葫芦科和豆科蔬菜病毒种类繁杂,不同地区病毒种类差别较大。古勤生等<sup>[21]</sup>对北方地区葫芦科蔬菜病毒病进行了调查研究,结果表明西瓜花叶病毒 (*Watermelon mosaic virus*, WMV) 和小西葫芦黄花叶病毒 (*Zucchini yellow mosaic virus*, ZYMV) 是葫芦科蔬菜上的主要病毒。刘欢<sup>[22]</sup>报道陕西省和甘肃省蔬菜病毒检测结果表明,侵染葫芦科蔬菜的病毒有 TMV、CMV、BBWV、CGMMV、ZYMV 和南瓜花叶病毒 (*Squash mosaic virus*, SqMV),主要病毒为 CMV 和 ZYMV,但是病毒发生有明显的季节性,夏季以 CMV 为主,秋季以 ZYMV 为主;豆科蔬菜上检测出 TMV、CMV、BBWV 和菜豆金色黄花叶病毒 (*Bean golden yellow mosaic virus*, BGYMV),TMV 和 CMV 为主要病毒。

本研究对湖北省主要蔬菜种植区的四大科蔬菜进行了病毒的检测,明确了主要病毒种类及分布,各地应结合当地不同蔬菜上主要病毒种类及传播途径,因地制宜地采取有效防治措施,控制病毒病的传播与扩散。从本研究的检测结果来看,CMV 几乎能侵染所有调查的蔬菜种类,分布及寄主范围非常广泛,是蔬菜病毒病的主要毒原。但检测仅局限于 7 种已知病毒,所采集的疑似蔬菜病毒病样本都带有明显病毒侵染症状,但有些样品却未检测出病毒,说明样本中可能还存在其他未知病毒种类,尚有待进一步研究。

## 参 考 文 献

- 王莉爽,陈小均,陈文,等.贵州蔬菜病毒病主要病毒种类检测[J].广东农业科学,2015(20):63-67.
- 李月月,肖龙,谭冠林,等.云南主要茄科、十字花科、葫芦科及豆科蔬菜病毒病病原鉴定[C].中国植物病理学会 2015 年学术

- 年会论文集.北京:中国农业出版社,2015;294.
- [3] 张仲凯,丁铭,董家红,等.云南冬季蔬菜病毒的主要种类[C].科技创新与绿色植保——中国植物保护学会2006学术年会论文集.北京:中国农业科学技术出版社,2006;163-170.
- [4] 车海彦,曹学仁,刘培培,等.海南省冬季蔬菜病毒病发生情况调查[J].热带农业科学,2017,37(1):71-74.
- [5] 徐千惠.辽宁蔬菜病毒病调查与鉴定[D].沈阳:沈阳农业大学,2016.
- [6] 刘雪建.浙江省和江西省蔬菜病毒鉴定与变异研究[D].杭州:浙江大学,2015.
- [7] 李丽丽.广西十字花科蔬菜病毒病原的血清学检测[J].广西农学,1992(2):75-77.
- [8] 谢浩,杨秀荣.北疆十字花科蔬菜病毒类型鉴定[J].植物保护,1994(6):13-15.
- [9] 丁金城,左必余.天津地区十字花科蔬菜病毒类型及其消长规律的研究[J].华北农学报,1986,1(3):74-77.
- [10] 李经略,赵玉霞,赵稚雅,等.西安十字花科蔬菜病毒种群鉴定及其动态分析[J].陕西农业科学,1985(6):30-31.
- [11] 杨国慧,张仲凯,崔崇士,等.云南、黑龙江两省南瓜主要病毒病原种类鉴定[J].东北农林大学学报,2007,38(1):23-26.
- [12] 青玲,包凌云,周常勇,等.重庆南瓜病毒病病原ELISA检测及CMV变异分析[J].园艺学报,2010,37(3):405-412.
- [13] 李丽丽,黄早花,王圣玉,等.十字花科蔬菜病毒毒原的检测[J].植物保护,1981(1):11-12.
- [14] 严婉容,赵志祥,肖敏,等.海南省辣椒、番茄病毒病病原DAS-ELISA定性检测[J].广东农业科学,2015(18):68-72.
- [15] 姚玉荣,陈国华,冯兰香,等.北运蔬菜基地辣椒病毒病病原种类的分子检测[J].中国蔬菜,2013(10):84-89.
- [16] 张建云.新疆辣椒和茄子上两种病毒的分子鉴定[D].石河子:石河子大学,2013.
- [17] 刘勇.广州辣椒上番茄斑萎病毒属病毒的鉴定[J].植物保护学报,2010,37(4):383-384.
- [18] 郭思瑶,童艳,黄娅,等.重庆辣椒病毒病病原初步鉴定和分析[J].园艺学报,2015,42(2):263-270.
- [19] 黄娅.重庆辣椒病毒病的病原鉴定及多重RT-PCR检测体系的构建[D].重庆:西南大学,2015.
- [20] 肖彩利,郑红英,吴晓花,等.黄瓜绿斑驳花叶病毒基因组全序列分析及病害的田间调查[J].植物保护学报,2016,43(4):529-536.
- [21] 古勤生,PIERO R,CIUFFO M,等.我国北方地区葫芦科作物病毒病的调查与病原鉴定[J].云南农业大学学报,2003,18(4):88-89.
- [22] 刘欢.常见蔬菜病毒病病原鉴定及多重RT-PCR的建立与应用[D].杨凌:西北农林科技大学,2016.

## Detection of main viral species of vegetable virus diseases in Hubei Province

ZHANG Yanchao<sup>1,2</sup> HOU Mingsheng<sup>1</sup> CAI Li<sup>1</sup>

1. College of Plant Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;  
2. Jiangyin Suli Chemical Limited-liability Company, Jiangyin 214444, China

**Abstract** Nine hundred and sixty-six suspected vegetable samples were collected from seven regions in Hubei Province. Seven viruses including *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Tobacco mosaic virus* (TMV), *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), *Tomato mosaic virus* (ToMV), *Turnip mosaic virus* (TuMV), *Broad bean wilt virus* (BBWV) and *Cucumber green mottle mosaic virus* (CGMMV) were detected by Dot-ELISA and RT-PCR. The results showed that 695 of the 966 samples were positive for virus infection, accounting for an incidence of 71.9%. Of which, TuMV ranked the highest with an incidence of 86.4%, followed by CMV with an incidence of 26.7%, in brassicaceous vegetables. CMV infected solanaceous, cucurbitaceous and leguminous vegetables with an incidence of 34.3%, 59.2% and 56.2%, respectively. CMV, which infected almost all vegetable plants, was the major virus infecting vegetables in Hubei province. For the six viruses detected, they infected plants in six mixed patterns, including TuMV+CMV, TuMV+BBWV, TuMV+CMV+BBWV, CMV+BBWV, CMV+ToMV and CMV+BBWV+TSWV+TMV. Of which, TuMV+CMV and CMV+BBWV were the major combination of the mixed infection in brassicaceous vegetables and the other vegetables, accounting for an incidence of 23.8% and 28.0%, respectively.

**Keywords** vegetable; virus disease; Dot-ELISA; RT-PCR; detection

(责任编辑:边书京)