

## 植物病毒弱株系及其应用

### III. 烟花叶病毒番茄株弱毒疫苗 N<sub>14</sub> 的安全性测定

覃秉益 张秀华 田 波

(中国科学院微生物研究所, 北京)

烟花叶病毒番茄株弱毒疫苗 N<sub>14</sub> 接种 17 科 54 种植物, 只能感染 7 科 20 种植物, 其中除矮牵牛 (*Petunia hybrida*) 表现轻花叶症状外, 其它植物均无症状。N<sub>14</sub> 与 CMV、PVX 和 PVY 混合接种番茄时的病情指数只与 CMV、PVX 和 PVY 单独接种番茄时的病情指数相等或略高。6 年来, N<sub>14</sub> 已连续传代 100 多次, 毒力无明显变化, 使用 N<sub>14</sub> 多年的地区未出现问题, 为使用 N<sub>14</sub> 的安全性提供了依据。

**关键词:** 植物病毒弱株系; 烟花叶病毒番茄株弱毒疫苗 N<sub>14</sub>

弱病毒疫苗已广泛应用于人和动物病毒病的预防, 成为重要和有效的防治手段。在植物方面, 自从 McKinney<sup>[1]</sup> 发现植物病毒株系间的干扰现象以后, 早在 1934 年 Kunkel<sup>[2]</sup> 提出利用弱株系保护强株侵染的可能性。后来在柑桔衰退病<sup>[3]</sup>、可可肿枝病<sup>[4]</sup> 和苹果花叶病<sup>[5]</sup> 上利用自然界分离的弱株系进行保护试验, 获得一定的效果。近年来, 日本和欧洲用人工诱变的烟花叶病毒 (TMV) 弱株系保护番茄, 防病增产效果明显, 已在生产上应用<sup>[6,7]</sup>。1977 年以来, 我们<sup>[8]</sup> 用亚硝酸诱变烟花叶病毒番茄株, 并于 1979 年得到了烟花叶病毒番茄株弱毒疫苗 N<sub>14</sub>。温室和田间试验的结果表明, 用它免疫过的番茄, 平均产量比对照增加 30% 左右, 病情指数比对照减低 50 左右。同时还有刺激生长和促进早熟的作用<sup>[9-11]</sup>, 因此是一种值得进一步深入探讨的植物病毒病防治方法。

该方法由于使用的是活疫苗, 作为弱毒疫苗的病毒基因组必须侵染到大多数细胞中才能使其获得免疫性, 可见这种免疫性的获得是带病毒的。这样, 在植物上使

用弱毒疫苗, 就必须考虑到它使用时的安全性。由于植物病毒的寄主范围广泛, 在一种植物上表现致病性弱的病毒, 在其它植物上可能是强的。在自然界, 植物往往受到两种以上病毒的混合侵染而改变或加剧原来的症状。用弱毒疫苗免疫的植物, 在受到另外的不相干病毒侵染后, 有可能产生复合症状和加剧危害。在使用过程中, 弱毒疫苗还有可能恢复毒力或突变成强毒病毒而造成危害。因此, 弱毒疫苗还必须具备在大多数植物上, 特别是能够感染的主要经济作物上不表现症状或只表现比相应的强毒株轻得多的症状。受到不相干病毒复合感染时症状不加剧以及自身性状稳定等特性。

为了确定烟花叶病毒番茄株弱毒疫苗 N<sub>14</sub> 的安全性, 进行了 N<sub>14</sub> 的寄主范围和反应测定、与其它不相干病毒 (系指 TMV 以外的病毒, 下同) 混合感染番茄时的症状以及自身性状稳定性的试验, 结果如下。

本文于 1985 年 9 月 18 日收到。

## 材料和方法

### (一) 病毒

烟花叶病毒番茄株 (TMV<sub>1</sub>)：从番茄上分离的烟花叶病毒。

烟花叶病毒番茄株弱毒疫苗 N<sub>1</sub>：从烟花叶病毒番茄株经亚硝酸诱变后得到，简称为 N<sub>1</sub><sup>[3]</sup>。

烟花叶病毒 (TMV)。

黄瓜花叶病毒 (CMV)。

马铃薯 X 病毒 (PVX)。

马铃薯 Y 病毒 (PVY)。

### (二) 供试植物

1. N<sub>1</sub> 的寄主范围和反应测定：选择常见的蔬菜、作物、花卉、杂草和一些常用的植物病毒鉴别寄主为材料。

2. N<sub>1</sub> 与其它不相干病毒混合感染番茄的症状测定：选用感病的番茄品种大黄 2 号。

种子经消毒 (10% 磷酸三钠浸泡 30 分钟，用水洗净) 后，播种在防虫温室内，育苗用的花盆和土壤均经高压灭菌。一般植物待长出 4 片真叶，瓜类植物待子叶展开后接种。番茄品种大黄 2 号于 4—6 片真叶时接种。

### (三) 病毒接种

将毒原 (及弱毒疫苗) 植物的叶片放在消毒研钵中，研碎，榨汁，稀释 20 倍左右，进行常规摩擦接种。

### (四) N<sub>1</sub> 的寄主范围和反应测定

用 N<sub>1</sub> 为毒原进行摩擦接种，每种植物接种 5 株，接种后置于 15—25℃ 的防虫温室中，定期检查 and 记录出现的症状和日期。接种 15 天左右，分别采集各鉴别寄主的接种叶和系统叶，在消毒研钵中研碎，回接枯斑三生烟 (*Nicotiana tabacum* var. *xanthi* N) 或心叶烟 (*N. glutinosa*)。回接后能够形成局部坏死斑的植物是 N<sub>1</sub> 的寄主。把经过鉴定证明是 N<sub>1</sub> 的寄主继续保留 20 天，观察其症状的发展。为了相互比较，同时以 TMV<sub>1</sub> 接种这些植物，并进行接种后的症状观察和回接鉴定。

### (五) N<sub>1</sub> 与其它不相干病毒混合感染时的症状测定

待番茄 (大黄 2 号品种) 的幼苗长出 4—6 片真叶，先留出不接种病毒的对照，再将 CMV、PVX

和 PVY 单独和分别与 N<sub>1</sub> 和 TMV 混合后接种，比较 CMV、PVX 和 PVY 单独感染番茄以及 N<sub>1</sub> 和 TMV 混合感染番茄时植株症状的差异。接种后置于 20—25℃ 的温室内，30 天后测量不同处理番茄的株高，按以下分级标准记录其症状级别，计算病情指数。0 级：无症状；1 级：轻花叶；2 级：重花叶；3 级：皱缩花叶；4 级：严重皱缩花叶，叶片枯死。

### (六) N<sub>1</sub> 的稳定性测定

N<sub>1</sub> 在番茄和普通烟上都不表现出可见症状，为了鉴定其稳定性，将 N<sub>1</sub> 接种到普通烟上，在温室内繁殖和进行反复传代，观察其毒力有无变化。连年在不同地区、不同品种和不同栽培条件下进行 N<sub>1</sub> 的保护试验，鉴定其保护效果。

## 结 果

### (一) N<sub>1</sub> 的寄主范围和反应测定

共接种 17 科 54 种 (67 个品种) 植物，结果如表 1。接种后的症状观察和枯斑寄主回接试验表明：N<sub>1</sub> 感染 7 科 20 种 (25 个品种) 植物。在心叶烟、枯斑三生烟、辣椒、豇豆、蔓陀罗和昆诺藜的接种叶上形成局部坏死斑，在系统感染叶上除矮牵牛表现轻微花叶外，在其它植物上没有可见的症状。TMV<sub>1</sub> 感染 8 科 22 种 (27 个品种) 植物，寄主范围比 N<sub>1</sub> 广，除与 N<sub>1</sub> 一样，在心叶烟等 6 种植物的接种叶上形成局部坏死斑外，还在千日红上形成黄褐色枯斑，在罗勒上形成退绿斑。在辣椒、番茄、克利夫兰烟、普通烟、酸浆、龙葵及矮牵牛的系统感染叶上表现较重的症状。甜菜、百日草、花椰菜虽然感染，但不表现症状。

N<sub>1</sub> 及 TMV<sub>1</sub> 在枯斑三生烟上形成局部枯斑的颜色及大小不同。前者黄褐色，直径 2—5mm，后者黑褐色，直径 5—10mm (图版 I-4-A、B)。

N<sub>1</sub> 在这些植物的系统感染叶上，除矮牵牛表现轻花叶外，在其它植物上没有可见症状。表明 N<sub>1</sub> 的应用在这些植物上是

表 1  $N_{14}$  与  $TMV_{11}$  的寄主范围及症状比较Table 1 Comparison of host range and symptom of  $N_{14}$  with  $TMV_{11}$ 

供试植物 Tested plant	$N_{14}$		$TMV_{11}$	
	接种叶 Inoculated leaves	系统叶 Systematic leaves	接种叶 Inoculated leaves	系统叶 Systematic leaves
茄科 Solanaceae				
茄子(六叶茄) <i>Solanum melongena</i>	0 (+)	0 (±)	0 (+)	0 (+)
辣椒(同丰37号) <i>Capiscum annuum</i>	Ns (+)	0 (±)	Ns (+)	N Sr (±)
(茄门)	Ns (+)	0 (+)	Ns (+)	N Sr (+)
番茄(加八) <i>Lycopersicon esculentum</i>	0 (+)	0 (+)	0 (+)	Gs Pu Cs (+)
(特洛皮克)	0 (+)	0 (+)	Ly (+)	Gs Pu Cs (+)
(强力米寿)	0 (+)	0 (+)	0 (+)	Gs Pu Cs (+)
(早粉2号)	0 (+)	0 (+)	0 (+)	Gs Pu Cs (+)
(强丰)	0 (+)	0 (+)	0 (+)	Gs Pu Cs (+)
克利夫兰烟 <i>Nicotiana clevelandii</i>	0 (+)	0 (+)	M (+)	Vc M Cr (-)
普通烟 <i>N. tabacum</i>	0 (+)	0 (+)	VcM(+)	Vc M Cr (+)
枯斑三生烟 <i>N. tabacum</i> var. <i>xanthi</i>	Ns (+)	0 (-)	Ns (+)	0 (-)
心叶烟 <i>N. glutinosa</i>	Ns (+)	0 (-)	Ns (-)	0 (-)
龙葵 <i>Solanum nigrum</i>	0 (+)	0 (+)	M (+)	M Cr (+)
曼陀罗 <i>Datura stramonium</i>	Ns (+)	0 (+)	Ns (-)	0 (-)
枸杞 <i>Lycium chinense</i>	0 (+)	0 (+)	0 (+)	0 (+)
酸浆 <i>Physalis floridana</i>	0 (+)	0 (+)	Ly (+)	M Pu Gs St (+)
矮牵牛 <i>Peunia hybrida</i>	0 (+)	Sm (+)	0 (+)	M Gs Pu (+)
豆科 Leguminosae				
绿豆 <i>Phaseolus aureus</i>	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
菜豆(美国豆) <i>P. vulgaris</i>	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
(法国豆)	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
豌豆(绿珠豌豆) <i>P. isumsativum</i>	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
豇豆(红咀艳) <i>Vigna sinensis</i>	Ns (+)	0 (-)	Ns (+)	0 (-)
(十八豆)	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
花生 <i>Arachis hypogaea</i>	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
苜蓿 <i>Medicago sativa</i>	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
蚕豆 <i>Vicia faba</i>	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
刀豆 <i>Canavallia ensiformis</i>	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
葫芦科 Cucurbitaceae				
倭瓜 <i>Cucumbita moschata</i>	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
西葫芦 <i>C. pepo</i>	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
西瓜(中育) <i>Citrullus vulgaris</i>	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
(早花)	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
苦瓜 <i>Momordica charantia</i>	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
黄瓜 <i>Cucumis sativus</i>	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
甜瓜(哈密瓜) <i>C. melo</i>	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
旋花科 Convolvulaceae				
小旋花 <i>Calystegia hederacea</i>	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
莠萝 <i>Quamoclit pennate</i>	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
茺蔚科 Nyctaginaceae				
紫茉莉 <i>Mirabilis jalapa</i>	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)

供试植物 Tested plant	N <sub>14</sub>		TMV <sub>11</sub>	
	接种叶 Inoculated leaves	系统叶 Systematic leaves	接种叶 Inoculated leaves	系统叶 Systematic leaves
十字花科 Cruciferae				
萝卜(心里美) <i>Paphanus sativus</i>	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
(象牙白)	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
甘蓝(京丰) <i>Brassica oleracea</i>	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
(报春)	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
白菜(中青麻叶) <i>B. chinensis</i>	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
(黄牙白)	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
(小青口)	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
芥菜 <i>B. juncea</i>	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
芜菁 <i>B. rapa</i>	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
花椰菜 <i>B. oleracea</i>	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
菊科 Compositae				
向日葵 <i>Helianthus annuus</i>	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
金盏菊 <i>Calendula officinallis</i>	0 (+)	0 (+)	0 (+)	0 (+)
矢车菊 <i>Centaurea cyannus</i>	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
莴苣 <i>Lactuca sativa</i>	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
百日草 <i>Zinnia elegans</i>	0 (+)	0 (+)	0 (+)	0 (+)
藜科 Chenopodiaceae				
昆诺藜 <i>Chenopodium quinea</i>	Ns (+)	0 (-)	Ns (+)	0 (-)
苋色紫 <i>C. amalanicolor</i>	0 (+)	0 (-)	0 (+)	0 (-)
甜菜 <i>Beta vulgaris</i>	0 (-)	0 (-)	0 (+)	0 (+)
菠菜 <i>Spinacea aleracea</i>	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
车前科 Plantaginaceae				
车前 <i>Plantago major</i>	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
锦葵科 Malvaceae				
棉花 <i>Gossypium herbaceum</i>	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
苋科 Amaranthaceae				
千日红 <i>Gomphrena gobosa</i>	0 (+)	0 (-)	Ns (+)	0 (-)
苋菜 <i>Amaranthus mangoslanus</i>	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
玄参科 Scrophulariaceae				
地黄 <i>Rehmannia glutinosa</i>	0 (+)	0 (+)	0 (+)	MCr(+)
伞形科 Umbellifere				
芹菜 <i>Apium graveolens</i>	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
唇形科 Labiatae				
罗勒 <i>Ocimum basilicum</i>	0 (-)	0 (-)	Cs (+)	0 (+)
凤仙花科 Balsaminaceae				
凤仙花 <i>Impatiens balsamina</i>	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
禾本科 Gramineaceae				
玉米 <i>Zea mays</i>	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
小麦 <i>Triticum aestivum</i>	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
石竹科 Caryophyllaceae				
石竹 <i>Dianthus chinensis</i>	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)

注: 0: 无症状; Cr: 叶皱缩; N: 坏死; St: 矮化; M: 花叶; Sm: 轻花叶; Ly: 叶黄化; Vc: 明脉; Ns: 坏死斑点; Cs: 退绿斑点; Gs: 绿色肿胀; Pu: 疱斑; (+) 回接阳性; (-) 回接阴性; (±) 回接稍有反应。植物种名后的括号内是品种名。

Note: 0: No symptom; Cr: Crinkling; N: Necrosis; St: Stunting; M: Mosaic; Sm: Slight mosaic; Ly: Leaf yellow; Vc: Vein-clearing; Ns: Necrotic spot; Cs: Chlorosis spot; Gs: Green swelling; Pu: Puckered; (+) Reinoculated positive; (-) Reinoculated negative; (±) Reinoculated slight positive; Following the name of plant species in the parentheses is it's variety.

安全的。

## (二) $N_{14}$ 与其它不相干病毒混合感染时的症状测定

用  $N_{14}$  进行保护接种的番茄, 由于不能干扰不相干病毒对它的侵染, 因此, 仍有可能受到经常危害番茄的 CMV、PVX 和 PVY 的侵染而导致复合感染。

1985 年春, 在防虫温室中将  $N_{14}$  及 TMV 分别与 CMV、PVX 和 PVY 混合后, 接种番茄大黄 2 号品种, 以及 CMV、PVX 和 PVY 单独接种番茄大黄 2 号品种和不接种病毒作对照, 在接种后 30 天观察不同处理的症状(图版 I-1, 2), 测量不

同处理的株高和病情指数。试验结果(表 2—4)表明, 弱毒疫苗  $N_{14}$  与 CMV、PVX 及 PVY 混合接种番茄时的病情指数与 CMV、PVX 及 PVY 单独接种番茄时的病情指数相近或略高。但 TMV 与 CMV、PVX 及 PVY 混合接种番茄时的病情指数均为 100, 较与  $N_{14}$  进行混合接种时的症状严重。这样, 用  $N_{14}$  进行保护接种的番茄, 如遇到 CMV、PVX 及 PVY 的混合感染, 估计不会使症状严重加剧而导致减产。

## (三) $N_{14}$ 的稳定性

1. 历年毒性测定: 从 1979 年诱变分离得到  $N_{14}$  以来, 进行低温干燥保存的  $N_{14}$

表 2  $N_{14}$  及 TMV 与 CMV 混合感染番茄的症状表现

Table 2 Symptoms of mixed inoculation of tomato by  $N_{14}$  and TMV with CMV

处 理 Treatment	CMV		$N_{14}$ + CMV		TMV + CMV		对 照 Control	
	平均株高 Average height of plant (cm)	病情指数 Disease index	平均株高 Average height of plant (cm)	病情指数 Disease index	平均株高 Average height of plant (cm)	病情指数 Disease index	平均株高 Average height of plant (cm)	病情指数 Disease index
结 果 Result	10.3	42.5	9.2	50.0	6.0	100	10.0	0

表 3  $N_{14}$  及 TMV 与 PVX 混合感染番茄的症状表现

Table 3 Symptoms of mixed inoculation of tomato by  $N_{14}$  and TMV with PVX

处 理 Treatment	PVX		$N_{14}$ + PVX		TMV + PVX		对 照 Control	
	平均株高 Average height of plant (cm)	病情指数 Disease index	平均株高 Average height of plant (cm)	病情指数 Disease index	平均株高 Average height of plant (cm)	病情指数 Disease index	平均株高 Average height of plant (cm)	病情指数 Disease index
结 果 Result	8.9	50.0	7.7	50.0	6.0	100	9.1	0

表 4  $N_{14}$  及 TMV 与 PVY 混合感染番茄的症状表现

Table 4 Symptoms of mixed inoculation of tomato by  $N_{14}$  and TMV with PVY

处 理 Treatment	PVY		$N_{14}$ + PVY		TMV + PVY		对 照 Control	
	平均株高 Average height of plant (cm)	病情指数 Disease index	平均株高 Average height of plant (cm)	病情指数 Disease index	平均株高 Average height of plant (cm)	病情指数 Disease index	平均株高 Average height of plant (cm)	病情指数 Disease index
结 果 Result	7.5	75.0	7.9	75.0	5.5	100	8.9	0

毒原已连续传代繁殖 5 次。每年在进行  $N_{14}$  的批量生产时,还要不断对  $N_{14}$  进行传代繁殖 15—20 次。如以每年平均 17 次计算,6 年共计传代 102 次,至今毒力无明显变化。温室试验证明,接种  $N_{14}$  的番茄保护效果明显(图版 I-3)。可见,  $N_{14}$  的性状稳定。

2. 使用  $N_{14}$  多年的地区未发现问题: 1979 年以来,先后在北京、上海、济南、保定、长春、兰州、杭州、张家口、石家庄、邯郸、青岛和烟台等地,在不同地理气候条件、不同品种和不同栽培方式进行  $N_{14}$  的保护试验<sup>[9-11]</sup>(图版 I-5, 6)。未发现番茄由于接种  $N_{14}$  而发生症状加剧现象。生长后期的症状加剧,是由于其它不相干的病毒混合感染后所造成的。从很多连续应用  $N_{14}$  5—6 年的地区,每年应用的效果良好,提供了  $N_{14}$  长期使用稳定、安全的直接证据。

## 讨 论

TMV 的寄主范围广,可侵染 33 科 236 种植物,推测  $N_{14}$  可能也有较广的寄主范围。我们将  $N_{14}$  接种到 17 科 54 种植物上,除在矮牵牛上呈现出比接种 TMV<sub>14</sub> 的症状轻得多的轻微花叶外,在其它植物上均未呈现可见症状。据此推断,  $N_{14}$  在一些未进行安全性测定的植物上,不太可能导致严重症状。

后藤忠则等(1971)<sup>[12]</sup>将热处理诱变得到的烟花叶病毒番茄株弱株系  $L_{11A}$  接种到 20 科 94 种植物上进行毒力测定。虽然有 10 科 54 种植物感染了  $L_{11A}$ ,但除矮牵牛和酸浆属植物表现症状外,其余都不表现症状。这一结果与我们的试验一致。

从毒原的种类上看,尽管除了 TMV 以外,CMV、PVX 和 PVY 都能感染番茄,但在不同栽培条件下对番茄造成主要

危害的毒原种类是不同的。一般春保护地以 TMV 为主;露地番茄则 TMV、CMV 并重,前期以 TMV 为主,后期以 CMV 为主;秋保护地则以 CMV 为主。而 PVX 和 PVY 一般较少见到,不是主要的毒原种类。而  $N_{14}$  一般都在春保护地或露地的番茄上使用,因此能使番茄在生长的早期免受强毒 TMV 的危害。尽管在生长后期部分植株有可能受到 CMV 的混合感染,但是由于番茄已由营养生长阶段转为生殖生长阶段(即座果期),植株已经长成,即使受到几种病毒的混合感染,也只是在幼嫩的心叶上显现花叶,已经长成的叶片不会表现症状,也不会明显影响番茄的产量。

除了连续传代繁殖和在不同地区连续用  $N_{14}$  保护番茄来验证它自身的稳定性以外,现在,应用单克隆抗体的技术,可找到病毒某一株系中特异的抗原决定簇,通过单克隆等手段,可以检测到该株系的存在。从烟花叶病毒番茄株弱疫苗及 TMV<sub>14</sub> 的外壳蛋白的氨基酸成份分析得知,它们之间发生了三个氨基酸的变换,氨基酸的数目也不一样<sup>[2]</sup>。张成良等(1985)<sup>[13]</sup>已制成烟花叶病毒 T<sub>2</sub> 单克隆抗体杂交瘤细胞株。因此,只要找到弱疫苗特有的抗原决定簇,就能建立和应用单克隆抗体的技术来检测弱疫苗的存在。可以设想,在制备出弱疫苗的单克隆抗体以后,一定能提供更多弱疫苗稳定性的可靠证据。

## 参 考 文 献

- [1] McKinney, H. H.: *Journal of Agricultural Research*, 39: 557—558, 1929.
- [2] Kunkel, L. O.: *Phytopathology*, 24: 437—446, 1934.
- [3] Grant, T. J. et al.: *ibid.*, 41: 114, 1951.
- [4] Posnette, A. F. et al.: *Ann. Appl. Biol.*, 43: 433—453, 1955.
- [5] Chamberlain, E. E. et al.: *New Zeal. J. Agri. Res.*, 7: 480—490, 1964.
- [6] Fletcher, J. T.: *Ann. App. Biol.*, 89: 110—114, 1978.

- [7] Oshima, N.: *Rev. of Plant Protection Res.*, 8: 126—135, 1975.
- [8] 张秀华等: 植物病理学报, 10(1): 49—54, 1980.
- [9] 田 波等: 同上, 10(2): 109—112, 1980.
- [10] 张秀华等: 中国农业科学, 6: 78—90, 1980.
- [11] 谭增亮等: 植物病理学报, 12(2): 59—61, 1981.
- [12] Goto, T. and M. Nemoto: *Hokkaido National Agricultural Experiment Station*, 99: 67—76, 1970.
- [13] 张成良等: 科学通报, 5: 399, 1985.

## THE AVIRULENT STRAIN OF PLANT VIRUS AND ITS APPLICATION

### III. SAFETY TEST OF VACCINE N<sub>14</sub> OF TMV<sub>ts</sub>

Qin Bingyi Zhang Xiuhua Tien Po

(Institute of Microbiology, Academia Sinica, Beijing)

Using the vaccine N<sub>14</sub> of TMV<sub>ts</sub>, an inoculation test was carried out with 54 species of plants belonging to 17 families. Twenty species of plants belonging to 7 families were found to be susceptible to this vaccine N<sub>14</sub>. Among them, the symptoms of infected plants were not observed but slight mosaic symptoms appeared on *Petunia hybrida*.

The disease index of mixed infection of tomato by N<sub>14</sub> with CMV, PVX or PVY was the same or slight higher than that of inoculated only by CMV, PVX or PVY. After

purification N<sub>14</sub> has been continuous propagated more than 100 times about 6 years and its avirulent property has not obviously changed. There is no problem for using many years N<sub>14</sub> in the same region. So it has been proved the safety for using vaccine N<sub>14</sub>.

#### Key words

Avirulent strain of plant virus; Vaccine N<sub>14</sub> of TMV<sub>ts</sub>

#### 图 版 说 明

##### Explanation of plate

1. 用 PVX、N<sub>14</sub> + PVX、TMV + PVX 接种番茄 40 天和 CK (不接种) 的番茄植株病状比较。2. 用 PVY、N<sub>14</sub> + PVY、TMV + PVY 接种番茄 40 天和 CK (不接种) 的番茄植株症状比较。3. N<sub>14</sub> 对番茄的保护效果。保护: 先接种 N<sub>14</sub> (15 天), 攻强毒 (TMV<sub>ts</sub>); 不保护: 攻强毒 (TMV<sub>ts</sub>); 对照: 不攻强毒 (TMV<sub>ts</sub>)。4. 枯斑三生烟上形成的局部枯斑。A: 接种 N<sub>14</sub> 3 天, 黄褐色斑, 直径 2—5mm; B: 接种 TMV<sub>ts</sub> 3 天, 黑褐色, 直径 5—10mm。5. 北京保护地接种 N<sub>14</sub>, 显示它对番茄生长的刺激作用。左: 对照; 右: 接种 N<sub>14</sub>。6. 北京露地接种 N<sub>14</sub>, 显示它防止 TMV<sub>ts</sub> 危害的保护作用。左: 接种 N<sub>14</sub>; 右: 对照。

1. Comparison of the symptoms on tomato plants after inoculation with PVX + N<sub>14</sub>, PVX + TMV or PVX 40 days. 2. Comparison of the symptoms on tomato plants after inoculation with PVY + N<sub>14</sub>, PVY + TMV or PVY 40 days. 3. Protective effect of tomato by N<sub>14</sub> from TMV<sub>ts</sub> infection. Left: Control; Middle: Protected after inoculation with N<sub>14</sub> 15 days, challenge inoculation with TMV<sub>ts</sub>; Right: Unprotected. 4. Local lesions on *Nicotiana tabacum* var. *xan-thi* N. A. After inoculation with N<sub>14</sub> 3 days. Blight brown colour spot, diameter 2—5mm; B: After inoculation with N<sub>14</sub> 3 days. Dark brown colour spot, diameter 5—10mm. 5. Stimulation of tomato growth by N<sub>14</sub> in the plastic film covered green house. Left: Control; Right: Inoculated with N<sub>14</sub>. 6. Protection from TMV<sub>ts</sub> infection by inoculation of N<sub>14</sub> in the field at Beijing. Left: Inoculated with N<sub>14</sub>; Right: Control.