

大豆花叶病毒的株系鉴定

耿迎春 李默然 李 勇

(黑龙江省农业科学院植保研究所)

摘 要

根据八个大豆鉴别品种对 87 个大豆花叶病毒毒株的反应划分成三个类型。只侵染感病品种 (Rampage、里外青、黑农28), 不侵染中抗和高抗品种的毒株属于类型 1; 完全侵染感病品种, 并侵染中抗品种之一 (Marshall、丹×太、东农16), 不侵染高抗品种的属于类型 2; 对感病品种及中抗品种都能侵染, 并能侵染高抗品种之一 (Kwanggyo及雷电), 属于类型 3。类型 2 型有可能是分布较广的株系; 类型 3 是毒力较强的株系, 应给予重视。

供试毒株经鉴别寄主症状、寄主范围、汁液稳定性、传毒介体、菜豆Top Crop检索、血清检测、病毒提纯、电镜观察病毒粒子形态等测定确认是SMV。

前 言

大豆花叶病毒病广泛分布于世界各大豆产区, 并随着大豆种质材料的交换, 有扩大蔓延趋势。国内俞大绂 (1939)、裘维番 (1950)、周家炽 (1957—1959) 等人早就有关大豆花叶病毒发生的报道。关于大豆花叶病毒 (SMV) 株系的研究, 日本高桥幸吉 (1965) 及美国Ross (1969、1975) 等先后发表了有关研究结果; 尤以南朝鲜因SMV-N坏死株系的出现 (1974—1976), 导致抗SMV品种 Kwanggyo 丧失抗性给生产造成严重损失, 更引起有关方面的重视。美国 Cho及Goodman (1979) 用一套抗性基因不同的大豆品种作为鉴别寄主, 将 SMV分成七个株系⁽⁵⁾。国内张明厚 (1980)⁽¹⁾、陈永萱 (1981)、濮祖芹 (1982)⁽²⁾ 等也相继报道了国内进行SMV 株系鉴定的研究结果。

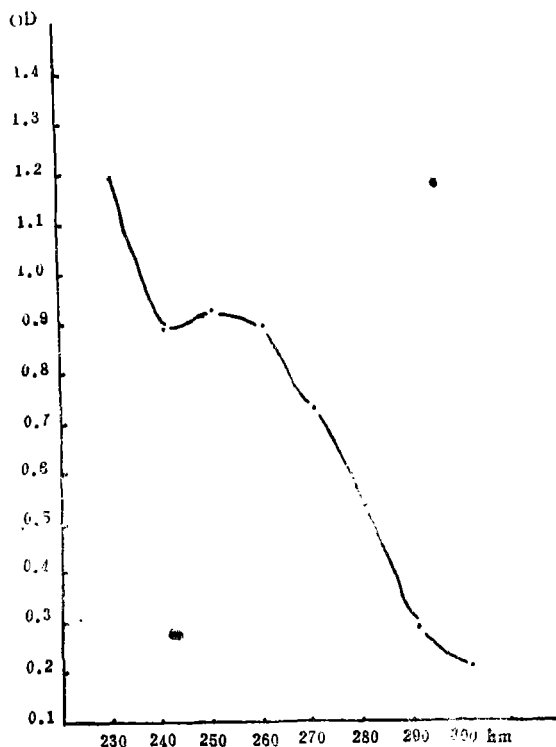
为了研究黑龙江省 SMV 的株系组成, 我们从1982年开始结合品种抗病性鉴定进行了鉴别品种的选择, 1983—1984年分别采集了一批毒株进行株系鉴定, 1984年并参加了东北三省 SMV 株系鉴定的协作研究, 共同得出初步研究结果, 本文仅作为我们在有关黑龙江省株系研究方面的补充报道。

* 本项研究系由黑龙江省农科院植保所黄桂潮副研究员主持, 并经审阅修改, 特此致谢, 本文于1985年4月27日收到。

材料与方 法

一、供试毒株：1983—84年在大豆苗期和成株期分别从省内绥化、牡丹江、佳木斯、克山、齐齐哈尔、哈尔滨等大豆产区采集表现典型症状的毒株共87个。

供试毒株均在25种植物上进行了寄主范围测定，证明仅系统侵染豆科植物的大豆，不侵染灰藜、心叶烟、白肋烟（普通烟）、千日红、草决明、矮牵牛、蔓陀罗、黄瓜、蚕豆、豌豆、豇豆等（仅一个毒株在莧色藜上产生针尖大小的枯死点）。所有毒株在四季豆“金时无蔓”的接种叶上产生局部黄色沿叶脉坏死斑。菜豆 Top Crop 的离体叶片上出现针尖大小的枯死点。根据发病症状选取代表性毒株进行性状测定结果均表现为：纯化温度 50—55℃；稀释终点 10^{-3} 左右；体外保毒期 2—3 天。用带毒大豆蚜接种，产生的症状与摩擦法接种相同。提纯病毒对紫外的吸收峰，最高值为 250—260nm，最低值为 240—243nm（见图 1）。用美国伊利诺斯的 SMV 抗血清与病毒提纯液（由 83—50 毒株制得）作毛细管沉淀试验呈絮状沉淀。用 2% 磷钨酸负染，日立 H-300 透射电镜下观察病毒的粒体为线状，平均长 729nm。上述结果可以认为供试毒株确属 SMV。



提纯病毒（83—50毒株）对
紫外光的吸收曲线

Fig 1 Ultraviolet-absorption spectra of SMV preparation

季豆“金时无蔓”的接种叶上产生局部黄色沿叶脉坏死斑。菜豆 Top Crop 的离体叶片上出现针尖大小的枯死点。根据发病症状选取代表性毒株进行性状测定结果均表现为：纯化温度 50—55℃；稀释终点 10^{-3} 左右；体外保毒期 2—3 天。用带毒大豆蚜接种，产生的症状与摩擦法接种相同。提纯病毒对紫外的吸收峰，最高值为 250—260nm，最低值为 240—243nm（见图 1）。用美国伊利诺斯的 SMV 抗血清与病毒提纯液（由 83—50 毒株制得）作毛细管沉淀试验呈絮状沉淀。用 2% 磷钨酸负染，日立 H-300 透射电镜下观察病毒的粒体为线状，平均长 729nm。上述结果可以认为供试毒株确属 SMV。

二、鉴别寄主的选择：大豆品种资源主要由本院品种资源室及大豆所提供，共363份材料，包括国外品种、国内及省内生产品种、农家品种以及美国 Cho 和 Goodman 系统的一套鉴别品种。根据不同毒株在各品种上的反应逐步选取适宜的鉴别寄主。在选择过程中，力求选择症状明显，反应稳定，苗期与成株期症状一致，

并能在北方正常成熟以便获得种籽的品种作为鉴别寄主。并尽可能用国内品种代替国外品种。根据上述原则，1982年初步选出20个品种，1983—84年从中再选取8个品种作为供试鉴别寄主。它们是：Rampage、里外青、黑农26、Marshall、丹×太、东农16、Kwanggyo 及雷电。其中 Rampage、里外青、黑农26属感病品种，Marshall、丹×太、东农16为中度抗病品种，Kwanggyo、雷电为抗病品种。根据供试毒株在鉴别品种上

的反应，可以划分为毒力分别属于强中弱三个类型或株系群。

三、接种鉴定方法 鉴别品种播种在直径9—11厘米的花盆中，每盆播3—5粒种子。待豆苗真叶充分展开时，按常规方法用研棒蘸取用0.02M (pH7.0) 磷酸缓冲液提取的病毒汁液涂抹在先撒好金刚砂的真叶上。

鉴 定 结 果

一、供试毒株株系鉴定结果

用87个毒株进行鉴定的结果表明，Rampage、里外青和黑农26对所有接种毒株均表现感染；Marshall、丹×太和东农16对不同毒株表现感染或抵抗；Kwanggyo和雷电仅对个别毒株表现感染。

Rampage 属于 Cho 等系统的鉴别品种之一，对所有接种毒株均表现感染，接种叶表现明显的沿叶脉坏死，未接种的复叶为系统的典型花叶，其症状表现稳定且典型。

里外青是由吉林农科院引入的农家品种，苗期及成株期都呈顶枯症状，是抗病性最弱的品种，接种叶呈黑褐色枯死斑，非接种叶由黑色小枯死点，逐渐扩大成大枯死斑，有时伴随有系统花叶，最后形成顶枯，症状出现快，是这个品种的特点。

黑农26的症状表现是接种叶为黄斑坏死，非接种叶为系统花叶，最后呈黄斑坏死，作为生产品种的代表予以试用。

Marshall为Cho等系统的鉴别品种之一，对某些毒株表现为感染时，接种叶出现清晰的黄色沿叶脉坏死斑，未接种复叶为系统花叶，后扩展成不规则黄色块状枯死斑，最后呈黄色顶枯。田间人工接种的情况下，成株期症状与苗期相同，也产生顶枯。根据 G. R. Bryant等^[8]用固相放射免疫吸附法检测种子中的大豆花叶病毒，在接种试验的15个品种中，唯有 Marshall品种中未测出 SMV，是比较抗病的品种，但在我们的试验中，较多毒株能侵染这个品种，并产生顶枯症状，推测侵染 Marshall 的株系有可能是省内分布较广而且毒力较强的株系。

丹×太来源于山西，1982—1984年三年鉴定结果病情指数及褐斑粒率较低。室内苗期鉴定对毒株为抗病反应时，接种真叶无症状，只在未接种的复叶上出现针尖大小的褪绿点，最后形成褐色枯死点；表现为感病反应时，接种叶和非接种叶都出现高粱米粒大小的园形枯死斑，有时为系统花叶。

东农16接种叶为黄斑坏死，非接种叶为系统花叶。

品种Kwanggyo及“雷电”对大多数毒株均呈抗性反应，仅毒株84—17、84—56、84—55能感染 Kwanggyo；毒株84—17除感染 Kwanggyo 外，还能使“雷电”发病。Kwaoggyo 与“雷电”发病症状相同，接种叶和非接种叶都产生黄斑坏死或花叶。

根据大豆鉴别品种的不同症状，供试87个毒株可分成三个类型：只侵染感病品种，

不侵染中抗和高抗品种的毒株属于类型 1；完全侵染感病品种，并侵染中抗品种之一，不侵染高抗品种的属于类型 2；对感病品种及中抗品种都能侵染，并能侵染高抗品种之一的属于类型 3。结果见表 1、表 2 及表 3。

表 1 鉴别寄主对SMV不同毒株的反应

Table 1. Reaction of soybean differentials to SMV isolates

毒株类型Group		寄主反应 Symptoms						
大豆品种soybean cultivars		类型 3 SMV-3		类型 2 SMV-2			类型 1 SMV-1	
感病 Susceptible cultivars	Rampage	YN/M	YN/M	YN/M	YN/M	YN/M	YN/M	
	里外青	N/TN M	N/TN M	N/TN M	N/TN M	N/TN M	N/TN M	
	黑农26	YN/N M	YN/N M	YN/N M	YN/N M	YN/N M	YN/N M	
中感 Moderately resistant cultivars	Marshall	YN/YN TN	YN/YN TN	-/-	-/-	YN/YN TN	-/-	
	丹×太	N/N M	N/N M	-/-	N/N M	-/-	-/-	
	东农16	YN/M	YN/M	YN/M	-/-	-/-	-/-	
抗病 Highly resistant Cultivars	Kwanggyo	-/-	YN/YN M	-/-	-/-	-/-	-/-	
	雷电	YN/YN M	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	

Note: -/-=Reaction on inoculated primary leaves/reaction on noninoculated trifoliolate leaves.
注：-/-=接种真叶反应/未接种复叶反应； y=黄斑； N=坏死； M=花叶； TN=顶枯； --=无症状 --=symptomless； y=yellow lesions； N=nectosis； M=Mosaic symptoms， TN=Top necrosis

表 2 SMV不同毒株类型在鉴别寄主上的抗感反应

Table 2. Susceptible and resistant reaction of soybean differentials to SMV isolates

毒株类型Classification of SMM isolates		类型 3 SMV-3		类型 2 SMV-2			类型 1 SMV-1	
鉴别寄主Differentials		SMV-3		SMV-2			SMV-1	
感 病 Susceptible cultivars	Rampage	S	S	S	S	S	S	
	里外青	S	S	S	S	S	S	
	黑农26	S	S	S	S	S	S	
中感 Moderately resistant cultivars	Marshall	S	S	R	R	S	R	
	丹×太	S	S	R	S	R	R	
	东农16	S	S	S	R	R	R	
抗病 Highly resistant cultivars	Kwanggyo	R	S	R	R	R	R	
	雷 电	S	R	R	R	R	R	

注：S表示豆苗接种后出现系统症状；
R表示仅接种叶出现局部症状或无症状。
Note: S=Systemic symptoms on noninoculated trifoliolate leaves;
R=Local symptoms on inoculated primary leaves.

表 3 供试毒株株系鉴定结果统计

Table 3, Results of experimental isolates

年代 Year	毒 株 数 No. isolates	类 型 1 SMV-1	类 型 2 SMV-2	类 型 3 SMV-3
1983	65	41	24	0
1984	22	2	17	3
合计 Total	87	43	41	3
%of total 占鉴定毒株总数的 %		49.4	47.1	3.5

表 4 Cho等的鉴别寄主对大豆花叶病毒21个毒株的反应

Table4. Reaction of soybean differentials to 21 SMV isolates(by Cho and Goodman)

类型Group	毒株代号 Isolates	寄主反应Symptoms						Cho系统株系 组群SMV strain (by Cho and Goodman)
		Rampage	Davis	Marshall	Ogden	Kwanggyo	Buffalo	
SMV- 1 { SMV- 2 {	84-41 84-44 84-46 84-19	S	R	R	R	R	R	G ₁
SMV- 2	84-13 84-18 84-21	S	R	S	R	R	※	G ₂
SMV- 2	84-52 84-16 84-51 84-50 84-36 84-49 84-54	S	R	S	S	R		G ₃
SMV- 2	84-23	S	S	S	R	R		G ₄
SMV- 3	84-17	S	S	S	S	S	S	G ₇
SMV- 3	84- 56 84-55(皱)	S S	R R	R S	S S	S S		
SMV- 2	84-55 84-45 84-11	S S S	R R R	R R R	S S S	R R R		

Note, S=susceptible; R=resistant
※因无种子，未作但不影响除G₇以外的分类。

二、黑龙江省大豆花叶病毒株与美国株系的比较

用分别属于三个类型的21个毒株接种在Cho等系统一套鉴别品种上进行株系鉴定，结果如表4。

根据以上结果，在供比较的21个毒株中，除有5个毒株与Cho等的模式反应不一致未列入外，其它分别属于G₁、G₂、G₃、G₄和G₇，无G₅及G₆，按着我们的分类系统，除G₇属于类型3外，划入G₁-G₄的毒株多数属于类型2，其中有2个为类型1；供试毒株中

有3个毒株能侵染Kwanggyo, 而且出现了能侵染全部鉴别寄主的G₇。

讨 论

1. 国内外的研究结果证实大豆花叶病毒的毒性存在着差异, 由于株系不同, 大豆品种在各地的抗性反应也就不同, 只有在查明各地 SMV 流行株系及其组成之后, 才能更有成效地选育抗病良种。南京农学院徐志刚报道用Cho等系统鉴别寄主不能完全区分中国的SMV株系^[3], 我们的鉴定工作也说明这点, 如G₇的出现。因此, 选择一套能区分本国株系的鉴别品种实属必要。目前我们所采用的八个品种力求选用生产上的抗病品种, 注意苗期与成株期寄主反应的一致性, 在未找到更为合适的国内品种之前。引用Cho系统中反应稳定, 症状明显的三个品种(Rampage、Marshall、Kwanggyo)作为鉴别寄主。

2. 关于中国SMV株系毒力强弱问题, 经与美国株系比较未遇到与模式反应一致的G₅株系, 但却有3个毒株(属于类型3)与南朝鲜SMV-N坏死株系有可能相似, 能够侵染抗病品种Kwanggyo, 由于参加比较的毒株量不够大, 有待继续验证。此外, 毒株84—17(类型3)不仅侵染现用的八个鉴别品种, 还侵染Cho系统的所有品种, 属于G₇, 应提出的是84—17这一毒力比较强的毒株能侵染抗病品种“雷电”, 除“雷电”外, 还侵染其它省份的一些生产品种, 如九农9、铁丰18、科黄8号、诱变30等, 据 R.I. Buzzell and T. C. Tu 报道雷电(代号PI360844), 含抗SMV的显性基因RRV₂, 抗美国G₁—G_{7A}所有株系。根据美国的七个株系都不能侵染雷电, 而我们的84—17毒株能侵染来分析, 似乎我国存在毒力较强于美国的株系, 对这一强株系的出现应给予关注。(参考文献略)

STUDIES ON STRAINS OF SOYBEAN MOSAIC VIRUS

Geng Ying-chun Li Mo-ran Li Yong

(Institute of Plant Protection, Heilongjiang Academy
of Agricultural Sciences)

Abstract

Eighty seven isolates of soybean mosaic virus from field-grown SMV-infected plants were classified into 3 strains based on reaction of 8 soybean differentials(5 from our own selection and 3 used by Cho and Goodman)

The SMV₂ virulent to moderately resistant cultivars may be regarded as the prevailing strain. Attention must be paid to highly virulent strains which may infect Kwanggyo and Raidian.

Based on the characteristics tested such as symptomatology, host range, vectors, stability in sap, serology and particle structure, the virus is identified to be soybean mosaic virus.