

侵染大豆的三种病毒病的鉴定*

许志纲

(南京农业大学植保系)

J. E. Polston, R. M. Goodman

(美国伊利诺斯大学植病系)

提 要

在温室和实验室条件下,接种并鉴定了采自东北、华北和华东地区具有病毒病症状的大豆样本30个。根据它们在不同鉴别寄主上的症状表现,血清学反应和电镜下病毒粒体的形态特征,大多数标样被鉴定为大豆花叶病毒(SMV),有四个标样是南方菜豆花叶病毒(SBMV),有一个标样是烟草环斑病毒(TRSV)。南方菜豆花叶病毒在中国危害大豆是第一次报导。

大豆是世界上分布最广,富含油脂和蛋白质的食用豆类作物。危害大豆的病毒病种类很多,据 Irwin、Ford 和 Goodman 1976 年的估计,在大豆上的病毒病约有 50 种^[13, 14]。在中国,有关病毒病的调查和研究也早有记载^[1, 17, 18],但大多为大豆花叶病毒一种^[1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 18],直至最近几年,才有关于烟坏死病毒、烟草环斑病毒和黄瓜花叶病毒危害大豆的报导^[8, 9]。

材 料 和 方 法

1. 病毒病样本的来源: 试验所用的大豆病叶样本是由 Goodman 博士在 1981 年秋季访华时采集的,采样的地点包括黑龙江、辽宁、吉林、北京、河北、山东和上海等五省二市的大豆种植区。样本经干燥以后保存在冰箱中,直到 1982 年春季才开始在温室和实验室中接种并鉴定。病叶样本的来源和代号如表 1 所示。

2. 病毒的接种与分离 干燥的病叶材料,放在预冷的研钵中,加入预冷的磷酸缓冲液(0.01M, pH7.0)研碎,再加入少量金刚砂粉(600 目/吋²),接种到感病的大豆品种“Williams”上,在温室中培养 7~11 天后,观察发病情况。在接种到大豆苗的同时,还接种到心叶烟和莧色藜的苗上,当接种寄主表现不同症状时,再进行蚜传试验

* 大部分的鉴定试验是第一作者在美国伊利诺斯大学进修期间完成的,部分是在南京农业大学进行的。Dr. R. E. Ford 给予热情指导,谨致谢意。

本文于 1985 年 6 月 21 日收到。

或其他进一步试验。

3. 病毒种类的鉴定 (1) 鉴别寄主和鉴别品种 供接种用的鉴别寄主有曼陀罗

表 1 病叶标样来源及代号

样 本 号	地 点	经接种回收到的病毒株
1~3	黑龙江省	0
4~8	吉林省	5
9~13	辽宁省	2
14~16	北京市	3
17~23	河北省	6
24~28	山东省	4
29~30	上海市	1

(*Datura stramonium*)、莧色藜 (*Chenopodium amaranticolor*) 黄瓜 (*Cucumis sativus* L.)、普通烟 (*Nicotiana tabacum* L.)、心叶烟 (*N. glutinosa* L.)、菜豆 (*Phaseolus vulgaris* L.)、绿豆 (*P. radiatus* L.) 和豇豆 (*Vigna sinensis* Endl)等, 以及作为大豆花叶病毒株系鉴别的大豆 (*Glycine max* Merr.) 品种 Williams、York、

Mashell、Ogden、Kwanggyo 和 Buffalo 等。SMV 的枯斑反应是在菜豆品种“Top crop”的离体叶上测定的^[15]。

(2) 血清学检验 除了大豆花叶病毒的血清学检验还有 ELISA 分析之外, 所有各种抗血清的血清学反应都采用凝胶双扩散方法。供试的抗血清有苜蓿花叶病毒 (AMV)、菜豆荚斑驳病毒 (BPMV)、豇豆普通花叶病毒 (CPMV), 南方菜豆花叶病毒 (SBMV)、大豆花叶病毒 (SMV)、蕃茄环斑病毒 (TomRSV)、烟环斑病毒 (TRSV) 的抗血清等七种。配制凝胶用磷酸盐缓冲液 (0.01M, pH7.0), SDS (0.1%SDS) 等^[16], 琼脂的浓度为 0.8—1.0%, 反应板放在保湿的盒内, 室温 (20℃) 下孵育16小时后观察沉淀线的有无。

(3) 电镜下病毒粒体形态的观察 病叶样本用叶滴法制备涂片, 经 2 % PTA 负染后在电镜 (H—300型) 下观察。

试 验 结 果

(一) 大豆花叶病毒是分布最广的主要病毒, 从 7 个省市 30 个样本中共分离到 22 个病毒株, 根据它们在鉴别寄主和离体菜豆叶 (Top crop) 上反应的特征 (见表 2)、以及能与大豆花叶病毒抗血清发生特异性凝集反应和酶联免疫吸附反应等 (见表 3) 特征, 有 19 个样本被鉴定为大豆花叶病毒, 它们在各省市都有分布。具有杆状的病毒粒体, 长度为 750 毫微米

(二) 在东北大豆标样中发现有南方菜豆花叶病毒 (SBMV) 吉林和辽宁省的 4 个样本接种到豇豆幼苗上以后, 都引起产生紫红色的枯斑, 直径约 1 毫米, 接种到离体的菜豆叶 (Top crop) 上以后也产生枯斑反应。三个样本 (4、8、11) 除了能与大豆花叶病毒抗血清产生沉淀反应之外, 还能与南方菜豆花叶病毒的抗血清发生沉淀反应。电镜下可见到有较多的圆球状粒体, 直径约 28 毫微米。因此, 5 号样本为南方菜豆花叶病毒, 而 4, 8, 11 号样本为大豆花叶病毒和南方菜豆花叶病毒复合侵染所致。

(三) 在华北的病叶样本中发现有烟环斑病毒 (TRSV), 从河北省采集的 18 号样

表 2 22个病毒株在鉴别寄主上的反应

样本号	苋 色 藜	大 豆	黄瓜	心叶烟	绿 豆	豇 豆	菜豆 (Top crop)
4	—	M	—	—		ns	nll
5	—	M	—	—		ns	—
6		M					nll
7		M					nll
8	—	M	—	—		ns	nll
11	—	M	—	—		ns	nll
13		M					nll
14		M					nll
15	—	M					nll
16		M					nll
17		M					nll
18—1		M					nll
18—2	nll/(MF)*	M. str. st.	RS	RS	nll/nll MF	nll/str.	(nll)
20		M					nll
21	—	M					nll
23		M					nll
24		M					nll
25		M					nll
26		M					nll
28		M					nll
30	—	M					nll

* nll 为坏死性枯斑，ns 为坏死斑，M 为花叶，MF 为畸形，str 为条状斑，RS 为环斑。

本接种到大豆苗上以后，豆苗明显矮化，顶端出现坏死症状，叶片花叶，色深，生长迟缓。除了大豆之外，18号样本还能侵染苋色藜、黄瓜、心叶烟、绿豆和豇豆等，大多表现环斑症状，在菜豆叶片上为枯斑症状。我们把从心叶烟的环斑上分离到的毒株另行编号为18—2，而从花叶症状的大豆上用桃蚜把病毒转接到健康大豆苗上，分离出来的毒株称18—1。根据这两个毒株在不同鉴别寄主上的反应，以及血清学反应的差异，标样18—1被鉴定为大豆花叶病毒，而18—2则被鉴定为烟草环斑病毒。18—2具有球状的粒体，直径约30毫微米。

讨 论

在这次采集的 6 个省市的22个样本中，有19株是大豆花叶病毒，这充分表明它的分布之广和发生的普遍程度。

引起大豆表现花叶症状的病毒种类很多，除了大豆花叶病毒之外，还有十多种病毒也能使大豆引起花叶症状，这次分离鉴定出来的南方菜豆花叶病毒就是其中之一，因此，表现花叶症状的不一定都是大豆花叶病毒病，应该作进一步的分析或鉴定。相反，同一种病毒病，它们在不同的品种上，由于寄主品种的抗性差异不一，表现的症状也就有较大的差异，如大豆花叶病毒的症状就可以是不同程度的从花叶到枯斑甚至坏死或

表 3

22个病毒株的血清学反应

样 本 号	ELISA (SMV-AS)	双扩散试验的抗血清						
		A*	B	C	D	E	F	G
1, 2, 3	—					—		
4	+				+	+		
5	—				+	—		
6, 7	+				—	+		
8	+				+	+		
9, 10	—	—	—	—	—	—		
11	+				+	+		
12	—				—	—		
13, 14, 15	+				—	+		
16, 17, 18—1	+				—	+		
18—2	—				—	—	—	+
19	—				—	—		
20, 21	+				—	+		
22	—	—	—	—	—	—		
23, 24, 25, 26	+				—	+		
27	—	—	—	—	—	—		
28	+				—	+		
29	—	—	—	—	—	—		
30	+				—	+		

A=AMV, B=BPMV, C=CPMV, D=SBMV, E=SMV, F=TomRSV, G=TRSV.

顶枯等多种[6, 7]。

混合感染在自然界也是经常发生的, 两种或两种以上的病毒同时侵染在一株植物上, 除了发生拮抗或干涉作用之外, 还可能发生协生效应, 因此, 当两种或数种病毒侵染在同一株寄主上, 就可能使寄主的症状出现种种变化, 而不再是某一种病毒的典型症状, 这次的18号样本就是一种复合侵染引起的症状。

由于所采集的样本数有限, 这次仅分离鉴定出三个病毒, 如果从更大范围内采集更多的样本来测定, 就可能会鉴定出更多的病毒种类。

参 考 文 献

- [1] 裘维蕃 (1950) 科学, 32: 217.
- [2] 周家炽、蔡淑莲 (1950) 植病学报, 5: 7—12.
- [3] 刘仪 (1963) 植病学报, 6: 209—213.
- [4] 张明厚等, (1980) 植病学报, 10: 113—118.
- [5] 陈永萱等, (1981) 植病学报, 11: 31—36.
- [6] 濮祖芹等, (1982) 植保学报, 9: 15—20.
- [7] 许志纲等, (1983) 南京农学院学报 (3): 36—40.
- [8] 舒秀珍等, (1983) 植保学报, 10: 71—72.
- [9] 沈淑琳等, (1984) 植病学报, 14: 251.
- [10] 胡吉成等, (1984) 植病学报, 14: 122.

- [11] Bos. L. (1972) CMI/AAB Descriptions of plant viruses No. 93.
- [12] Boswell, K. F., and Gibbs, A. J. (1983) Viruses of legumes 1983 Descriptions and keys from VIDE Australia.
- [13] Ford, R. E. and R. M. Goodman (1976) In "World Soybean Research" p. 561—512.
- [14] Irwin, M. E. (1981) FAO Plant protection Bulletin 29, 41—45.
- [15] Milbrath, G. et al (1976) Phytopath. Z. 87 : 255—259.
- [16] Purcifull, D. E. and D. L. Batchelor (1977) Bulletin 738, 39pp Agricultural Experiment Stations, University of Florida, USA.
- [17] Yu. T. F. (1939) Phytopathology 24 : 459—461.

IDENTIFICATION OF THREE SOYBEAN VIRUSES IN CHINA

Xu Zhigang

(*Nanjing Agri. University*)

J. E. Polston R. M. Goodman

(*University of Illinois, USA*)

Thirty samples of soybean with virus-like symptoms were collected from five provinces and two cities in China. Samples were dried and brought to Illinois University in 1981, and mechanically inoculated to soybean and other host plants. Yielding twenty-two virus isolates.

The identities of the virus isolates were determined by symptomology, serology and host range. Seventeen isolates were identified as soybean mosaic virus (SMV), one as tobacco ringspot virus (TRSV), one isolate as southern bean mosaic virus (SBMV), and three isolates as double infections of soybean mosaic virus and southern bean mosaic virus. The sample 18 was double infected by SMV and TRSV.

This is the first report of the occurrence of tobacco ringspot virus and southern bean mosaic virus in China.

Most research works were done at University of Illinois, U. S. A. in 1982. Some done at Nanjing Agricultural University.