

六个 SMV 毒株在大豆不同品种上 病毒浓度的变化与比较*

吕文清 魏培文

(东北农学院植保系)

摘 要

分属于三个株系群的 SMV119、245、86-9、87-02、87-44 及 173 毒株,接种到大豆不同品种上,於接种后 48 小时、10、15、20、25、30、35、40、50、60 天用酶联检测植株体内的病毒浓度。结果证明:条件适宜时,接种后 48 小时各毒株都能在部分顶芽内测出病毒。接种后 25 天及 50 天为植株体内病毒浓度含量的两个高峰。一个植株内以第一复叶的浓度最高。各毒株以 87-02 浓度最高,119 次之,245 最低。病株的病毒浓度并不和外观症状严重程度成正相关。

关键词 大豆花叶病毒;酶联检测法;病毒浓度

目前我国绝大多数主栽品种都能被 SMV I 号株系群的毒株所侵染,但从各品种田间表现的症状来看,轻重程度相差很远,而且不同时期有变化,许多品种后期症状有减轻的趋势,但也有些品种从发病到成熟前症状一直较重。不同毒株在大豆品种上引起的症状严重程度也有相当大的差异。这些主栽品种被 II 号株系群、III 号株系群的毒株感染后发病情况不一定比感染 I 号株系群的重。这些现象与植株体内的病毒浓度是否有关,毒株对大豆品种有多大影响,尚不清楚。为此,我们进行了以下试验:

方法与结果

一、接种后不同时间顶芽内的病毒检测

1. 材料和方法:

(1)毒株:119、245、86-9 (属 SMV I 号株系群)

* 本课题属国家自然科学基金资助项目。

本文于 1991 年 1 月 7 日收到。 This paper was received on Jan. 7, 1991.

87-02 (属 SMV II 号株系群)

173,87-44, (属 SMV III 号株系群)

(2)大豆品种:合丰 23、黑农 33

(3)SMV 抗血清:课题组制备

试验方法:在防虫网室内将上述大豆品种播於 9 公分塑料盆内,真叶展开后用上述 6 个 SMV 毒株的病叶分别以 1 : 20W/V 磷酸缓冲液(0.02M pH7.0)稀释,接种两片真叶,每品种每毒株 5 盆(约 30 株),接种后 48 小时和 72 小时取样测定病毒,每处理取 3 株刚抽出的顶芽(约 0.02 毫克),用碳酸缓冲液稀释 80 倍,分别用酶联测定。第二次重复於接种后置 22~23℃ 生长箱内,48 小时后检测。酶联用辣根过氧化物酶标记羊抗兔结合物,磷苯二胺底物,DG3022 酶联检测仪测 OD 值。以合丰 23 无病株为负对照,接种 87-44 的发病株为正对照(以下试验中检测方法均与此同)。

2. 试验结果:

由表 1 可知:接种初期顶芽内病毒的浓度很接近,无论哪个毒株在这两个品种上 48

表 1 大豆真叶期接种不同毒株 48,72

Table 1 Virus concentration of the soybean

品种 Cultivars		合 丰 23 He Feng 23					
毒株	接种 日期	接种后 48 小时			接种后 72 小时		
		OD 值 OD value	反应 Reaction	带毒芽比例 Rate of + buds	OD 值 OD value	反应 Reaction	带毒芽比例 Rate of + buds
119	7.24	0.02,0.05,0.11	- - +	1/3	0.04,0.02,0.06	+ - +	2/3
245	7.24	0.113,0.06,0.03	+ - -	1/3	0.06,0.04,0.05	+ + +	3/3
	12.9	—	—	—	—	—	—
86-9	7.24	0.18,0.04,0.10	+ - +	2/3	0.05,0.27,0.16	+ + +	3/3
	12.9	—	—	—	—	—	—
87-44	7.24	0.03,0.19,0.20	- + +	2/3	0.02,0.03,0.16	- + +	2/3
	12.9	—	—	—	—	—	—
173	7.24	0.04,0.02,0.06	- - -	0/3	0.03,0.10,0.25	+ + +	3/3
	12.9	0.06,0.02,0.04	- - -	2/6	—	—	—
		0.08,0.12,0.10	- + +				
87-02	7.24	0.18	+	1/1	0.07	+	1/1
	12.9	—	—	—	—	—	—
+CK	7.24	0.17			0.12		
-CK		0.03			0.01		
+CK	12.9	0.11					
-CK		0.01					

小时都有一部分已达到顶芽,72 小时绝大多数已达到顶芽,毒株 173 在黑衣 33 上,第一次试验 72 小时未测出病毒,48 小时 1/3 株测出了病毒,但病毒浓度很低。

二、SMV 不同毒株在大豆植株内的浓度

1. 材料和方法:

毒株与大豆品种同上。

试验方法同上法。分别将各毒株接种后 10、15、20、25、30、35、40、50、60 天的样品用酶联法测病毒浓度。采样时注意选各生育期及生长情况一致、症状明显的植株 3 株,每株用打孔器在叶片上取相同面积的园片(每园片面积为 19.6 毫米²),接种 10 天的在第 1~2 复叶上取样,15、20 天在第 1、2、3 复叶取,25~40 天在同株同部位的复叶取样,接种 50、60 天在第 1、2、3、4 复叶取样,每个处理 3 株所采得的园片混合研磨测定。

2. 试验结果:见图 1、图 2。6 个毒株在两个大豆品种上浓度变化总的趋势是一致的,高峰期大致在接种后 25 天及 50 天。

小时顶芽内的病毒浓度
terminal buds, 48 and 72 hrs

品种 Cultivars		黑 农 33 Hei Nong 33					
		接种后 48 小时			接种后 72 小时		
毒株	接种日期	OD 值 OD value	反应 Reaction	带毒芽比例 Rate of + buds	OD 值 OD value	反应 Reaction	带毒芽比例 Rate of + buds
119	7.24	0.19,0.03,0.03	+ - -	1/3	0.07,0.02,0.10	+ - +	2/3
245	7.24	0.04,0.06,0.04	- - -	0/3	0.07,0.02,0.03	+ - +	2/3
	12.9	0.11,0.06,0.14 0.04,0.14,0.09	+ - + - + +	4/6	—	—	—
86—9	7.24	0.04,0.04,0.04	- - -	0/3	0.04,0.08,0.10	+ + +	3/3
	12.9	0.14,0.05,0.12 0.06,0.16,0.12	+ - + - + +	4/6	—	—	—
87—44	7.24	0.08,0.05,0.10	- - +	1/3	0.07,0.07,0.20	- + -	2/3
	12.9	0.07,0.06,0.08 0.09,0.18,0.08	- - - + + -	2/6	—	—	—
173	7.24	0.04,0.19,0.04	- + -	1/3	0.02,0.02,0.01	- - -	0/3
	12.9	—	—	—	—	—	—
87—02	7.24	0.04,0.08,0.07	- - -	0/3	0.05,0.04,0.07, 0.04,0.12	+ + + + +	5/5
	12.9	0.09,0.11,0.04 0.15,0.15,0.14	+ - + + + +	5/6	—	—	—

注:测定值为负对照的三倍以上为+反应;—未进行测验

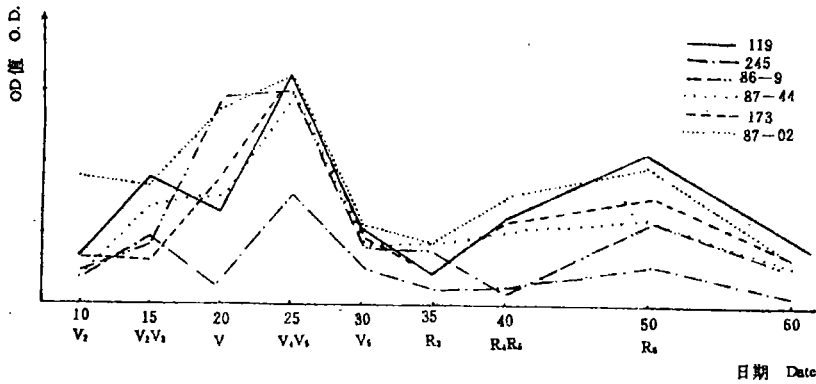


图 1 不同毒株在黑衣 33 的浓度

Fig 1. Virus concentration of different isolates in leaves of Hei Nong 33

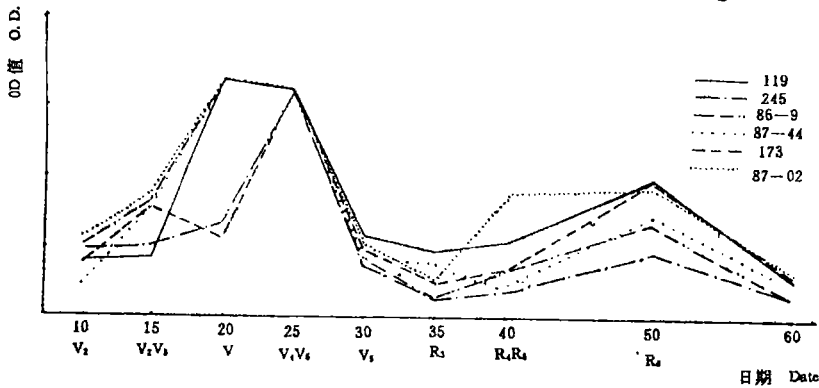


图 2 不同毒株在合丰 23 的浓度

Fig 2. Virus concentration of different isolates in leaves of He Feng 23

三、不同毒株在大豆植株不同叶位上的浓度

1. 材料和方法:

毒株:119、87-44、173。

大豆品种:合丰 23、铁丰 18、诱变 30。

试验方法:(1)於网室内直接将合丰 23、铁丰 18、诱变 30 播在垅上,真叶期用 87-44 (1:15W/V、磷酸缓冲液稀释)接种,用 119 接种合丰 23(因 119 属 I 号株系群,不能侵染铁丰 18 和诱变 30)。(2)以 1:2000W/V 稀释病汁液 119 和 173 接种盆播合丰 23,24 天后测浓度。采样时每处理选一株,在每复叶上取一打孔器面积,分别研磨做酶联检测(方法同前)。

2. 试验结果:见表 2

从表 2 结果可看出,第一和第二复叶的病毒浓度最高,越向上越低,但顶叶的病毒浓度又比它下面相邻的复叶浓度高。

表 2 SMV119、87—44、173 在大豆不同叶位上的浓度比较

Table 2 Concentration of SMV isolates in different leaf position

接种日期 Date of inoculation	6 月 11 日			6 月 9 日		
毒株 Isolates	87—44			119	173	119
接种浓度	1 : 15			1 : 15	1 : 2000	1 : 2000
品种 Cultivars	合丰 23 He Feng 23	铁丰 18 Tie Feng 18	诱变 30 You Bian 30	合丰 23 He Feng 23	合丰 23 He Feng 23	合丰 23 He Feng 23
叶位 Leaf position	OD 值					
单 叶	0.43	0.14	0.11	0.03	0.26	0.17
第 1 复叶	0.38	0.03	0.29	0.28	0.05	0.72
第 2 复叶	0.23	0.31	0.20	0.21	0.23	0.26
第 3 复叶	0.04	0.24	0.09	0.02	0.05	0.13
第 4 复叶	0.08	0.02	0.15	0.07	0.07	0.13
第 5 复叶	/	0.05	/	/	/	/

注:正对照 OD 值 0.11,负对照 OD 值 0.01

四、植株外观症状严重程度与体内病毒浓度的关系

1. 轻病株与重病株所含病毒浓度比较

(1)材料和方法

毒株:86—9,245,107(属 SMV I 号株系群)

87—02,87—44

大豆品种:黑衣 33

试验方法:将上述 5 个毒株接种真叶期的黑衣 33 上,每个毒株约 20 株,接种后 20 天每处理选症状严重的和轻微的植株各一,在顶叶相邻的复叶上用打孔器取一园片测定病毒浓度。

大豆花叶病毒严重度分级标准如下:

0 级:无肉眼可见症状。

I 级:轻微花叶,有轻微明脉斑驳,植株生长正常。

Ⅱ级:重花叶,叶片斑驳明显,轻皱缩花叶或褐脉,植株生长无明显异常。

Ⅲ级:皱缩花叶,叶片有泡状突起,皱缩、畸形,叶缘卷缩,植株稍矮化。

Ⅳ级:叶片皱缩畸形,呈鸡爪状,全株僵缩矮化。

V 级:植株矮化,叶片产生系统枯斑,芽枯或顶枯。

(2)试验结果:表 3

从表中看出:同一毒株在同一品种上即使症状轻重有明显差异的植株,其体内的病毒含量相差不远,而不同毒株接种后即使选症状严重度较接近的植株,其病毒含量相差十分显著。

表3 症状轻重与病毒浓度的关系

Table 3 Relationship between symptom severity and virus concentration in plant

症状和病级 毒株 Isolates					
	86—9	245	107	87—02	87—44
花叶、皱缩、卷曲 Mosaic, crinkle, leaf rolling	OD 值				
	0.13	0.22	0.79	0.89	0.60
明脉,轻花叶 Vein clearing, mild mosaic	I 级				
	0.26	0.10	0.68	0.86	0.62

2. 两个毒株在 7 个感病品种(能被所有毒株侵染)植株体内病毒浓度的比较。

(1)材料和方法

毒株:119,173

品种:合丰 23、黑农 33、北丰 3 号、嫩丰 11、北呼豆、绥农 8 号、吉林 20。

试验方法:上述 7 个品种盆播於防虫网室内,真叶期接种(7 月 4—6 日),接种后 14~16 天采样,每处理选 3 株,在其第 1、2 复叶上打孔,共取得 6 个园片,混合研磨,酶联测定。采样时记录病株的严重度级别。

(2)试验结果:见表 4

表4 SMV119 及 173 在 7 个感病品种上的浓度

Table 4 Concentration of isolates 119 and 173 on 7 susceptible cultivars

毒株 Isolates 品种 Cultivars	119		173	
	OD 值 OD value	病害级别 Rating	OD 值 OD value	病害级别 Rating
合 丰 23 He Feng 23	0.16	I	0.09	I
黑 农 33 Hei Nong 33		I		I
北 丰 3 Bei Feng 3	0.01	I	0.27	I
嫩 丰 11 Nen Feng 11	0.06	II	0.13	I
北 呼 豆 Bei Hu Dou	0.08	I	0.10	I
吉 林 20 Ji Lin 20	0.13	I	0.27	I
绥 农 8 Sui Nong 8	0.08	I	0.03	I

由表 3、表 4 可知:在同样条件下无论在同一品种上或不同品种上,所表现症状的严重度与植株叶片内含病毒浓度的高低无相关性。而毒株间的差异倒较明显,87—02、107、87—44 的浓度远远高於 86—9 与 245。

结 论 与 讨 论

1. 植物病毒的浓度受毒株、寄主及环境的影响,有的病毒如 CMV 在植株体内达高峰后很快下降,有的如 BSMV(大麦条纹花叶病毒)则在接种两周后一直维持高浓度。大豆花叶病毒则属于前者。本试验用 6 个毒株在两个大豆品种上接种后,整个生育期内浓度有明显变化,6 个毒株的变化规律比较一致,可出现 2 个峰,浓度最高是在接种后 25 天前,最低在 30~40 天。第二个峰都在 50 天前,有的毒株如 173 在合丰 23 上、119 及 245 在黑豆 33 上在 15 天左右还出现一个小峰。繁殖提纯病毒时,采收时间很重要。如大豆花叶病毒这 6 个毒株叶片内浓度最高和最低时能相差 6~10 倍,在浓度最高时采收,对提高病毒提纯的获得率是重要保证。本试验证明在适宜条件下接种后 25 天左右为最佳时期,而且这时各毒株的浓度相差甚微。只有 245 毒株浓度较低,但对这一毒株而言,25 天也是最高峰。而到 50 天的第二高峰,各毒株的浓度差异就很明显了。

2. 不同毒株在同一大豆品种内的浓度有一定差异,如前所述只有高峰期 6 个毒株浓度相接近。整个生育期中,两个品种体内病毒浓度都是以 87-02 最高,245 最低,87-44 和 173 同属 III 号株系群则较为相似。而同属 I 号株系群的 119、245、86-9 浓度差别很大,事实上,这个株系群是 SMV 最大的群体,包含了许多差异较为明显的毒株,如 119 只产生系统花叶,245 在合丰 23 上稳定地出现顶枯,86-9 在马歇尔上产生系统枯斑,在寄主上的症状反应差别很大,作者认为有必要进一步调整划分株系(待发表)。

3. 从一个植株不同叶序来看,第一复叶和第二复叶的病毒浓度最高,越向上越低,邻近顶叶的复叶浓度最低。但顶叶的浓度却比其邻近的复叶浓度高。本试验中的植株除铁丰 18 外都只有 4 个复叶,第 4 复叶病毒的浓度均比第三复叶高的现象,铁丰 18 有 5 个复叶,第五复叶比其第四复叶浓度高,却比第三复叶低。

4. 病毒侵入植株后的浓度与植株表现的症状严重度没有相关性,如表 4 中被 119 毒株侵染后症状较重的嫩丰 11 植株内病毒浓度并不高。病情都属于 II 级的黑豆 33 及北丰 3 号植株内病毒浓度却相差 20 多倍。属 III 号株系群的 173 毒株从其对大豆品种毒力的强弱来讲应为强毒株,但对这 7 个大豆品种(表 4)的症状严重度却均为 I 级,而植株体内所含病毒浓度则有的品种高于 119 毒株,有的品种上又低于 119,从这里可以看出,同一毒株在株系抗性水平相同的品种上浓度可以相差很大,强毒株在田间抗性水平低的品种上并不一定比在田间抗性水平高的品种上病毒含量高。毒株和寄主品种之间有一种特异的相互作用,在研究抗病性和进行抗病性鉴定时应当考虑这个问题。目前,我们对大豆花叶病毒的抗性基因研究还很不够的情况下,应采用当地分布最广和最有代表性的毒株方能效果明显。

参 考 文 献

- [1] 吕文清等,1985,东北三省大豆花叶病毒株系的种类和分布,植物病理学报,15 卷(4) 225~229

- [2] 裴维蕃, 1982, 植物病毒学, 147~149 388~405, 农业出版社
- [3] Hunger, R. M. , 1985, Use of Symptomatology and Virus Concentration for Evaluating Resistance to Wheat Soilborne Mosaic Virus. *Plant Disease* 69: 848~850
- [4] Kuhn, C. W. , 1986, Resistance Responses in Cowpea to Southern Bean Mosaic Based on Virus Accumulation and Symptomatology, *Phytopathology* 76:795~799
- [5] Moore, D. L. , 1982, Evaluation of Virus Contents in Soybean by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay *Plant Disease* 66:790~793
- [6] Paguio, O.R. , 1987, Disease Resistance, Virus Concentration and Agronomic Performance of Soybean Infected with Cowpea Chlorotic Mottle Virus. *Phytopathology* 77:703~707
- [7] Skaria, M. , 1985, Virus Content as an Index of Symptomatic Resistance to Barley Yellow Dwarf Virus in Cereals. *Phytopathology* 75:212~216

THE VIRUS CONCENTRATION OF SIX SMV ISOLATES IN SOYBEAN CULTIVARS

Lu Wenqing Wei Peiwen

(Department of Plant Protection, Northeast Agricultural College)

The virus concentration of 6 SMV — isolates belonging to 3 strain groups was detected by ELISA 2, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60 days after inoculation. And its relation to leaf position and symptom severity were also tested. The highest virus concentration appeared 25 days after inoculation.

The virus of all the tested SMV isolates could be detected 48hrs after inoculation in the terminal buds. No correlation between severity and virus concentration was found. The second trifoliate from the apical had lowest concentration, and the lower trifoliate near the true leaf had highest.

Key Words SMV isolates; ELISA; Virus concentration