

# 大豆病毒种类鉴定和检验技术研究\*

沈淑琳 舒秀珍 王树琴 陈燕芳

陆家珏 李晓芹 许宏冠

(农牧渔业部植物检疫实验所)

## 摘 要

我国大豆的主要产地,普遍发生病毒病,1985年调查,平均发病率达28.58%。

通过鉴别寄主反应,血清学和电镜等鉴定方法,从我国大豆上分离和鉴定出6种病毒,即大豆花叶病毒、大豆矮化病毒、花生轻性斑驳病毒、蚕豆萎蔫病毒、烟草坏死病毒和苜蓿花叶病毒,前三种最主要,田间病毒常发生复合侵染。大豆花叶和大豆矮化是大豆的主要种传病毒,二者也可复合种传。从其它豆类分离的种传病毒,经人工接种可侵染大豆的有番茄不孕病毒、菜豆普通花叶病毒和豇豆蚜传花叶病毒。国内在烟草上报导的烟草环斑病毒和番茄黑环病毒,华北花生上的花生矮化病毒,经室内接种,也可侵染大豆。以上,除大豆花叶病毒已普遍发生外,其它是局部发生或在田间大豆上尚未发生,但有潜在危险性。所以,在对内植物检疫方面应制止零星发生的种传病毒通过地区间调种而传播蔓延,在对外检疫方面,应严格防止国内尚未发生的大豆新病毒随引种传入我国。

本文提出的检验技术,可供检疫苗圃或产地使用。

## 前 言

据资料报道,侵染大豆的种传病毒有30多种,其中一半可经大豆种传,而且有些病毒的种传率高达100%。所以,随大豆引种传入病毒病的危险性严重存在。现每年都从国外引种,由于我国至今没有检疫苗圃,种子基本上没有经过严格检疫,而且往往分散到我国主要的大豆育种单位,常与我国的品种资源同田种植,这样,病毒一旦传入,再通

\* 本课题是在季良研究员指导下进行的,工作中得到了30多个单位的支持,提供病样和种子,山东病样是与山东农科院罗瑞梧、尚佑芬共同鉴定的;黑龙江病样与黑龙江省农科院原子能所耿迎春一同鉴定,并征得同意,本文应用了这些鉴定结果。微生物所和本所血清室承担了病毒提纯和制备抗血清,并提供了抗血清,王欣贞、杨洪涛和吴盼先后协助各项辅助工作,在此一并致谢。

本文于1987年2月13日收到。This paper was received in 13 Feb., 1987

过介体传播蔓延,便很难根除。据育种单位反映,过去我国的大豆病毒病并不重,发生也不普遍,自1975年从美国、日本等引进一批大豆品种资源,在一些育种单位种植后,发病很严重,致使这些单位的大豆病毒病严重起来。目前,育种单位已普遍发病,大多数单位病情相当严重,发病率达到90%以上。为了保护我国的大豆资源,开展大豆种子的检疫是十分必要的,为此,从1980年以来,进行了大豆病毒的系统调查和鉴定,并开展了检验技术的研究,本文综合报导了研究结果。

## 一、材料和方法

1. **病样:** 采集田间大豆和野生大豆病株的幼叶,根据不同症状类型,随机采样,每样1复叶,共鉴定1314份田间病样和126株种传病菌。

2. **采样地点:** 25个研究单位的试验圃和2块生产地。

3. **采集时间:** 每年6—8月,一般在发病盛期。

### 4. 鉴定或检验方法

(1) 电镜观察: 沾取或提纯液作电镜观察粒体的形状、大小。

(2) 血清检测: 丝状病毒用免疫电镜、酶联免疫法,球状或其它形状的病毒用琼脂双扩散法。

(3) 鉴别寄主反应: 不同病毒用不同寄主,常用的有菜豆 (*Phaseolus vulgaris* “Monroe”、“Topcrop”)、苋色藜 (*Chenopodium amaranticolor*)、本地矮牵牛、(*Petunias hybrida*)、大豆 (*Glycine max*) 和罗勒 (*Ocimum basilicum*) 等。

## 二、试验结果

### (一) 症状类型和发病率

由于调查的田块多半为品种资源圃,因品种多,品种间在发病率和症状上差异很大,所以,采用多点取样法,一般每田取30—50点,每点20—30株,逐株记载病株症状。

根据13省2个直辖市18个农业研究单位的18块试验田和2块生产地的调查结果,调查总株数为27,913,其中病株7978,平均发病率为28.58%,最高是中国农科院作物所的夏大豆生态区试圃,达90.50%;发病率在60%以上的有5块田,约占调查总田块的25%。

田间大豆病毒病的症状虽十分复杂,但可概括为斑驳花叶、皱缩花叶及黄斑枯斑、脉坏死3种主要类型。

### (二) 种传率和种传病毒种类

1. **种传率:** 从1980—85年,先后从19个研究单位和3个县的农业局征集大豆品种资源和生产用种子196份,经温室播种(因品种资源的种子少,每份播20粒,生产用种播100粒),于苗的第一张复叶展开时,用目测法检查有症病菌,计算种传率。

从196份种子，得到3511株苗，其中目测有症病苗325株，平均种传率为9.26%，最高的达25.23%。

2. 种传病毒的种类

从以上病苗中，选取126株，进行病毒种类鉴定，以鉴别寄主反应力为主，配合免疫电镜和血清测定。

从126株病苗，检出2种种传病毒，即大豆花叶病毒和大豆矮化病毒。

从检出率来看，大豆花叶病毒检出90苗，占71.43%，大豆矮化病毒检出25苗，占19.84%，二者复合种传的11苗，占8.73%，以大豆花叶病毒检出率最高。

从检出地点来看，11个种子来源地，全部检出大豆花叶病毒，占100%；有5个地点检出大豆矮化病毒，占45.45%，说明约有一半的地方的种子传带矮化病毒。

(三) 自然侵染大豆的病毒种类、分布及生物学特性

1. 病毒种类及其分布

从1980年至85年对全国13省2个直辖市25个研究单位的大豆试验圃和2块生产田进行调查，采集鉴定病样1314份，通过免疫电镜、酶联免疫、琼脂双扩散和鉴别寄主反应，对样品进行鉴定，共分离出6种可经汁液传播的病毒，结果见表1。

表1 自然侵染大豆的病毒种类、检出率(%)和分布

Table 1 Naturally infected viruses of soybean and their distributions			
自然侵染大豆的病毒 Soybean viruses naturally infected	检出次数* Times detected	检出率(%) Percentage detected	分 布 Distribution
大豆花叶病毒 SMV	1055	73.62	公主岭、哈尔滨、丹东、北京、武汉、济南、河南周口、安徽蒙城、南京、江苏淮阴、上海、武功、成都、贵阳、昆明、云南大理和广州等17市县全有发生
花生轻性斑驳病毒 PMMV	211	14.72	北京、济南、河南周口、安徽蒙城、南京、武汉、成都、昆明和云南大理、贵阳等10市县发生
大豆矮化病毒 SSV	144	10.05	公主岭、丹东、北京、济南、河南周口、安徽蒙城、南京、上海、昆明和云南大理等10市县
烟草坏死病毒 TNV	13	0.91	武汉
蚕豆萎蔫病毒 BBWV	5	0.35	公主岭、济南和北京
苜蓿花叶病毒 AMV	5	0.35	北京

\* 计算检出次数时，将复合侵染的各病毒，分别计入有关病毒的检出数中。如大豆花叶病毒和大豆矮化病毒复合侵染，检出2次，则以大豆花叶2次和大豆矮化2次分别计入。

表1结果表明，在自然侵染大豆的6种病毒中，大豆花叶病毒已经普遍发生，检出率高达73.62%；花生轻性斑驳和大豆矮化病毒分布未广，检出率在15%以下；苜蓿花叶、烟草坏死和蚕豆萎蔫仅见于个别地方，并且零星发生。

从不同地区检出的病毒来看：

北京检出最多，有大豆花叶、大豆矮化、花生轻性斑驳、蚕豆萎蔫和苜蓿花叶等5

种病毒。济南次之,检出4种,除苜蓿花叶病毒未检出外,其余同北京、公主岭、昆明、云南大理、南京、河南周口和安徽蒙城检出3种。丹东、上海、贵阳、武功、成都和武汉检出2种。哈尔滨、江苏淮阴和广州只检出大豆花叶病毒1种。

总之,多数地区是检出2—3种病毒。

## 2. 大豆病毒的生物学特性

通过对以上病毒的生物鉴定,对其生物学特性得到以下结果:

### (1) 大豆花叶病毒 (Soybean mosaic virus 简称 SMV<sup>[1]</sup>)

分离和症状\*: 种传病菌的单叶扭曲,复叶斑驳、花叶或小叶畸形。田间病株常表现皱缩花叶、斑驳花叶、黄斑脉坏死或幼叶黄化等。温室接种大豆“猴子毛”,先明脉,后花叶,不久隐症。大豆“合丰23”、“菏泽牛毛黄”均表现黄斑脉坏死,气温高于30℃时隐症。

寄主范围: 人工接种证明寄主范围较窄,可以系统侵染多种大豆,局部侵染(有症或无症)多种菜豆,决明和白肋烟等,有的毒株局部侵染苋色藜。

鉴别寄主反应:

菜豆“Monroe”: 是好的鉴别寄主,不受气温影响,在接种叶上均可出现局部坏死环斑、脉坏死,斑四周叶肉组织先变黄,最后枯死。

粒体: 长丝状,宽13毫微米。

血清检测: 以免疫电泳效果最好,也可使用酶联免疫和毛细管沉淀法检测。

(2) 大豆矮化病毒 (即黄瓜花叶病毒的大豆矮化株系, Soybean stunt virus, 简称 SSV), 国内张明厚 (1984)<sup>[2]</sup>最先报导,从大豆种子分离,鉴定为黄瓜花叶病毒。沈淑琳 (1985)<sup>[3]</sup>从江苏的毛豆种子中分离到2个毒株SS—30 (以下称SSV<sub>2</sub>) 和SS—49 (以下称SSV<sub>1</sub>), 前者系统侵染菜豆和棉豆, 后者对它们局部侵染。田间以SSV<sub>2</sub>为主, 经测定我们分离的两个毒株与张明厚的种传黄瓜花叶病毒血清学完全相同。

分离和症状: 种传病菌单叶扭, 复叶轻性斑驳, 症状不明显, 田间病株表现斑驳花叶和皱缩花叶或小叶, 畸形丛生。人工接种大豆“青仁乌豆”、“秋黄豆”等品种, 表现矮化、斑驳。

寄主范围: 汁液接种可侵染20多种植物, 系统侵染大豆、红小豆、豇豆、豌豆、烟草、番茄和矮牵牛等, 表现花叶、斑驳、矮化、环斑或斑点, 不侵染黄瓜和甜瓜。

鉴别寄主反应:

苋色藜 (*Chenopodium amaranticolor*): 接种后1—4天, 接种叶产生1毫米左右的局部退绿斑和枯斑。

菜豆 (*Phaseolus vulgaris* cv. “Monroe”): SSV<sub>2</sub>于接后4天, 幼叶扭, 系统斑驳花叶, 继而接种叶出现1.5毫米的枯斑, 大小不一, 分布不匀。SSV<sub>1</sub>于接后4天, 只在接种叶出现局部枯斑, 不系统侵染。

稳定性: 昆诺阿藜病汁, 接种同种幼苗, 测得SSV<sub>2</sub>和SSV<sub>1</sub>毒株的致死温度分别为60—65℃, 45—50℃。稀释终点各为 $10^{-3}$ — $10^{-4}$ ,  $10^{-2}$ — $10^{-3}$ ; 体外存活期4—5天,

\* 田间症状, 这里仅指从中分离到此病毒的病株症状, 由于复合侵染较普遍, 所以田间病株的症状, 不等于该病毒单独侵染时症状。

3—4 天(室温)。

粒体: 据胡伟贞电镜观察, 粒体为多面体, 直径约28—30毫微米。

血清检测方法: 琼脂双扩散法或酶联免疫法。

(3) **花生轻性斑驳病毒** (*Peanut mild mottle virus* 简称 **PMMV**), 许泽永等(1983)<sup>[4]</sup>首次报导, 是我国花生上新发现的种传病毒, 在华北花生上发生普遍, 并在武汉的大豆上分离到, 我们又证明在花生产区的大豆上常有发生。

分离和症状: 田间病株主要表现黄斑(或枯斑)、脉坏死, 部分为皱缩花叶和斑驳花叶。人工接种大豆“荷泽牛毛黄”, 中下部叶表现黄斑脉坏死, 幼叶先花叶后系统黄斑、脉坏死。

寄主范围: 初步测定, 寄主范围较窄, 可以系统侵染大豆, 局部或偶尔系统侵染菜豆“Topcrop”, 局部侵染苋色藜和望江南, 局部或不侵染番杏、墙生藜, 不侵染假酸浆、番茄“早粉2号”、龙葵、指尖椒、克利夫兰烟、白肋烟、甜菜、昆诺阿藜、千日红、老枪谷、商陆、蚕豆、豌豆“绿珠”、长豇豆“黑种三尺”和罗勒等。

鉴别寄主反应: 菜豆“Monroe”: 30℃以上时, 接种后3天, 于接种叶出现1毫米褐色枯斑, 2天后, 沿脉坏死, 以后四周叶肉枯黄。但枯斑黑褐色, 仍然轮廓清楚。

菜豆“Topcrop”: 气温在30℃以上时, 约于接后2天, 接种叶出现针尖大小枯斑, 后扩大到1毫米, 并沿脉坏死, 个别病株, 约于20天后, 发展成系统枯斑, 茎褐色条纹、顶枯芽枯。

粒体: 长丝状。

血清检测: 与SMV的抗血清经免疫电镜法检测为阴性反应。检验可用免疫电镜、酶联免疫和毛细管沉淀法。

(4) **苜蓿花叶病毒** (*Alfalfa mosaic virus* 简称 **AMV**), 由沈淑琳等(1981)<sup>[5]</sup>和胡伟贞等(1981)<sup>[6]</sup>首次报导, 证明在国内苜蓿、草木樨等豆科牧草上和大豆上自然发生, 并研究了生物学特性, 提纯和粒体等。

分离和症状: 田间病株表现系统鲜黄斑, 人工接种多种大豆均出现同样症状, 唯独“猴子毛”品种, 除上述症状外, 于病株后期, 叶背主脉上出现耳突。

寄主范围: 自然侵染大豆、豇豆、红小豆、棉豆、绿豆、扁豆、苜蓿、草木樨、三叶草、小冠花和马铃薯。人工接种可侵染豆科、茄科、藜科、葫芦科、苋科和菊科等6科70多种或品种的植物, 表现系统鲜黄斑、黄花叶、花叶丛生、枯斑、坏死栉叶和萎蔫等。

鉴别寄主反应:

罗勒 (*Ocimum basilicum*): 产生系统鲜黄斑驳。

菜豆“Monroe”: 接种叶局部枯斑。

稳定性: 白肋烟病汁在长豇豆“黑种三尺”上测定, 致死温度50—60℃, 稀释终点 $1/2 \times 10^{-1} - 10^{-3}$ , 体外存活期1—4天(17—19℃)。

粒体: 3种不同长度杆菌状和2种球状, 直径约18毫微米。

血清检测方法: 琼脂双扩散法或酶联免疫法。

(5) **蚕豆萎蔫病毒** (*Broadbean wilt virus* 简称 **BBWV**), 陈燕芳等(1985)<sup>[7]</sup>首

次发现自然侵染大豆，表现顶枯或芽枯，并研究其生物学特性和检验方法。

分离和症状：田间病株的顶部幼茎变深褐色，下弯，叶小而脆，腋芽枯死。人工接种大豆“猴子毛”、“晋豆84”等品种的幼苗（单叶期），第一复叶出现黄脉，后茎顶部下弯成倒钩状，茎黑褐色，最后顶枯。

寄主范围：自然侵染蚕豆、豌豆、豇豆、菜豆、红小豆、棉豆、鹰咀豆、兵豆、红豆草、百脉根和紫云英等豆科植物。人工接种可侵染豆科、茄科、藜科、菊科和苋科等35种或品种的植物。一般表现斑驳、花叶、顶枯、脉坏死和隐症带毒等。高温时常隐症。

鉴别寄主反应：

本地矮牵牛 (*Petunia hybrida*)：接种叶局部深褐色坏死环斑，幼叶斑驳，并有系统坏死环斑。

昆诺阿藜或苋色藜 (*Chenopodium quinoa* 或 *C. amaranticolor*)：接种叶局部退绿斑和枯斑，顶叶扭，顶枯。

稳定性：取白肋烟病汁，接种昆诺阿藜，测得致死温度为60—70℃，稀释终点 $10^{-1}$ — $10^{-2}$ ，体外存活期为7—10天（室温）。

粒体：多面体，直径约25毫微米。

血清检测法：琼脂双扩散或酶联免疫法。

(6) 烟草坏死病毒 (*Tobacco necrosis virus* 简称 TNV)，舒秀珍等 (1982)<sup>[8]</sup> 和胡伟贞等 (1982)<sup>[9]</sup> 国内首次报导，证明自然侵染大豆和桑，并研究了生物学特性和提纯等。

分离和症状：田间自然侵染大豆和桑苗，大豆的基部叶片有局部枯斑，桑苗表现系统退绿和锈色环斑，花叶和畸形。人工接种多种大豆，均表现局部深褐色坏死斑，沿脉坏死。

寄主范围：汁液接种可侵染14科37种植物，包括豆类、烟草、番茄、曼陀罗，多种藜科植物和玉米等重要经济作物，蔬菜和粮食，所接寄主均产生局部枯斑，有的还沿叶脉坏死。

鉴别寄主反应：

昆诺阿藜：接种2—4天，在接种叶先产生灰色后变枯褐色局部斑。

大豆：局部深褐斑，脉坏死。

稳定性：用昆诺阿藜病汁，接种在同种植物上，测得致死温度75—95℃，稀释终点 $10^{-9}$ — $10^{-14}$ ，体外存活期22—60天（室温）。

粒体：胡伟贞等 (1982)<sup>[9]</sup> 报导粒体为多面体，直径约26毫微米。

血清检测法：琼脂双扩散或酶联免疫法。

综上所述，自然侵染大豆的6种病毒中，苜蓿花叶和烟草坏死病毒在我国是第1次报导，并首次证明自然侵染大豆。蚕豆萎蔫病毒侵染大豆发生顶枯、芽枯，在国内外还属首次。

从检疫重要性来看，在内检方面，对分布未广的花生轻性斑驳，应采取有力的检疫

措施, 制止其继续随花生的调运而扩大病区。对零星发生的另一种种传病毒——苜蓿花叶病毒, 应严格禁止从苜蓿产地向非病区调出大豆种子, 大豆留种基地应远离苜蓿地, 以防止病区的扩大。在外检方面, 根据上述结果, 第一次比较详细地提供了国内发生情况, 才能有针对性地提出保护大豆的外检对象。

#### (四) 人工接种可以侵染大豆的其它豆类种传病毒

为了进一步摸清大豆的病毒, 从1980年来对20种其它豆类(包括作物、蔬菜、牧草和绿肥)的病毒进行调查鉴定, 共分离鉴定8种病毒<sup>[16]</sup>, 其中有3种种传病毒。人工接种证明可以侵染大豆, 但在我国田间的大豆上尚未分离到。据国外文献报导, 它们都对大豆自然侵染, 所以对我国大豆有潜在危险性。通过对3种种传病毒在大豆上的症状和生物学研究, 现将其结果, 列于表2。

表2 人工接种侵染大豆的其它豆类病毒的基本特性

Table 2 Viruses from other legumes which can infect soybean by artificial inoculations

病毒 Viruses	种传植物* Plants transmitted through seeds	大豆症状 Symptoms on soybean	为害寄主** Hosts	粒体 Particles
豇豆蚜传花叶病毒 <sup>[10]</sup> (CABMV)	豇豆 小豆	斑 驳	豇豆 <sup>*</sup> 、小豆 <sup>*</sup> 、菜豆、大豆、绿豆、苋色藜、昆诺阿藜、普通烟	长丝状; 720—770×15—20毫微米
菜豆普通花叶病毒 (BCMV)	菜豆	斑 驳	菜豆 <sup>*</sup> 、棉豆 <sup>*</sup> 、多花菜豆 <sup>*</sup> 、大豆、绿豆、小豆	长丝状
番茄不孕病毒 <sup>[11, 12]</sup> (TAV)	菜豆	花叶, 泡突	菜豆 <sup>*</sup> 、棉豆 <sup>*</sup> 、绿豆 <sup>*</sup> 、小冠花 <sup>*</sup> 、苜蓿 <sup>*</sup> 、大豆、豇豆、蚕豆、普通烟、心叶烟、黄花烟、矮牵牛、番茄、甜椒、曼陀罗、罗勒、百日菊等	多面体, 直径27—33毫微米

\* 种传植物, 仅指我们从该种植物的种传病毒中分离到该病毒。

\*\* 为害寄主的右上角有(‘)者, 为我们从田间病株上分离到该病毒。

我们从豇豆和小豆种子分到的豇豆蚜传花叶病毒都可以侵染大豆, 从菜豆上分离的番茄不孕病毒, 经试验, 证明可经菜豆种传。从菜豆种子分离的第2种病毒为菜豆普通花叶病毒, 也系统侵染大豆。以上3种病毒还可以侵染多种其它豆类, 鉴于其寄主植物分布广, 自然发病率又高, 所以, 自然侵染大豆的危险性是存在的, 应引起注意。

#### (五) 严格制止国内新近报导的其它3种种传病毒侵袭大豆

许泽永等(1983)<sup>[14]</sup>和胡宝珏等(1984)<sup>[15]</sup>相继报导花生矮化病毒(PSV), 在华北发生较普遍, 经我们室内接种证明可以侵染多种大豆。最近谢联辉等(1985)<sup>[18]</sup>报导在福建烟草上分离到烟草环斑(TRSV)和蕃茄黑环病毒(TBRV)。我们室内接种大豆“猴子毛”, 前者幼叶系统退绿, 顶枯; 后者产生系统退绿斑和坏死斑, 有的毒株也引起顶枯。以上3种病毒都可经大豆种传, 有的大豆种传率高达100%。TRSV和TBRV的种传寄主多达数十种。它们的寄生范围广, 所以对大豆有较大的危险性, 应尽早作出

防范措施。

### (六) 检验技术

通过单一病毒的鉴定工作和检验技术的对比试验,初步摸索出大豆自然侵染和具有潜在危险的12种病毒(仅限于我们已分离的毒株)的检验技术,并在1985年的普查中应用,经修改,特提出以下的方法和步骤,供检疫苗圃或产地检疫时参考使用。

#### (1) 在没有电镜的一般单位,可采取生物鉴定和抗血清检测两种方法:

(a) 生物鉴定:使用5种鉴别寄主按以下检索表检出各个病毒。

1. 在菜豆“Monroe”接种叶产生局部坏死环斑、脉坏死(图1)……………大豆花叶病毒
1. 在菜豆“Monroe”接种叶产生局部坏死斑,脉坏死(图2)……………2
2. 在菜豆“Topcrop”局部坏死斑,脉坏死或有时发展为系统坏死斑、茎条纹、顶枯、芽枯(图3)……………花生轻性斑驳病毒
2. 在菜豆“Topcrop”局部侵染或不侵染……………3
3. 在苋色藜局部侵染,先为退绿斑,后中心枯,边缘红色(图4)……………豇豆蚜传花叶病毒
3. 在苋色藜不侵染……………菜豆普通花叶病毒
1. 在菜豆“Monroe”产生局部坏死斑……………2
2. 在苋色藜表现局部斑……………3
3. 在大豆系统侵染表现轻性斑驳(见报告附图)……………大豆矮化株系1
3. 在大豆局部侵染表现坏死斑,脉坏死(见报告附图)……………烟草坏死病毒
2. 在苋色藜系统侵染,不顶枯,芽枯(见报告附图)……………苜蓿花叶病毒
2. 在苋色藜系统侵染,顶枯,芽枯(见报告附图)……………蚕豆萎蔫病毒
1. 在菜豆“Monroe”局部和系统坏死斑,顶枯……………2
2. 在长豇豆“红咀燕”,局部坏死斑,茎条纹,最后枯死……………烟草环斑病毒
2. 在长豇豆“红咀燕”系统侵染,先产生局部坏死斑,后系统坏死斑,斑驳……………番茄黑环病毒
1. 菜豆“Monroe”接种单叶有大小不一的局部枯斑,复叶系统斑驳……………大豆矮化病毒株系2
1. 在菜豆“Monroe”接种单叶坏死斑,复叶系统坏死斑和斑驳(图5)……………2
2. 苋色藜局部斑……………花生矮化病毒
2. 苋色藜局部斑,幼叶系统花叶……………番茄不孕病毒

#### (b) 抗血清检测

根据在鉴别寄主上的反应,采用相应的抗血清进行检测。对大豆花叶、花生轻性斑驳、菜豆普通花叶和豇豆蚜传花叶等丝状病毒,用酶联免疫法和毛细管沉淀法;对大豆矮化、蚕豆萎蔫、烟草坏死、苜蓿花叶、番茄黑环、烟草环斑、番茄不孕和花生矮化等球状或其它形状的病毒,可用琼脂双扩散和酶联免疫法。12种病毒之间无血清学的交叉反应。

#### (2) 有电镜的单位,进行电镜观察。采用沾取法和免疫电镜法,或两者结合进行。



第一步先用常规沾取；并用1/20的SMV抗血清修饰，用电镜观察粒体形状和检出 SMV 后。再分别按其它丝状和球状病毒进行相应的血清检测和生物鉴定。

为了便于检验时查找，特将大豆病毒的基本性状，列于表 3。

表3 12种大豆病毒的基本性状  
Table 3 Characteristics of 12 kinds of soybean virus

病 毒 Viruses	粒体形状 Particles	最适的鉴别寄主 Most suitable differential hosts	症 状 反 应 Symptoms	血清检测方法 Serological testing method
SMV	丝 状	菜豆“Monroe”	接后5—7天，产生局部褪绿环斑，或灰色水渍状斑，有的在后期有淡褐色细密的坏死轮纹斑，最后成坏死环斑，脉坏死（图2）	免疫电泳、 酶联免疫、 毛细管沉淀
PMMV	丝 状	菜豆“Topcrop”	接叶局部枯斑，脉坏死，少数沿茎坏死，发展为系统坏死斑，脉坏死，顶枯，芽枯（图4）（30℃以上反应最适）。	同 上
BCMV	丝 状	菜豆“Monroe”	接后5—7天，产生局部枯斑，脉坏死。	同 上
CABMV	丝 状	莧 色 藜	接后5—7天，接叶局部褪绿斑，后边缘鲜红色，中心枯（图5）。	同 上
AMV	多 质 粒	罗 勒	系统鲜黄斑驳（见报告附图）。	免疫电泳、琼脂 双扩散、酶联免 疫
SSV	多 面 体	莧 色 藜	接后4—5天，产生局部褪绿斑和枯斑，直径约1毫米（见报告附图）。	琼脂双扩散、 酶联免疫
INV	多 面 体	大 豆	接叶局部枯斑，脉坏死（见报告附图）。	同 上
BBWV	多 面 体	本地矮牵牛	接种叶深褐色坏死环斑，幼叶花叶间或有系统坏死环斑（见报告附图）	同 上
IBRV	多 面 体	长豇豆“红咀燕”	接叶局部枯斑，幼叶系统枯斑和斑驳	同 上
TRSV	多 面 体	长豇豆“红咀燕”	接叶局部坏死环斑，茎条纹	同 上
TAV	多 面 体	菜豆“Monroe”	接叶局部斑；后幼叶花叶并有系统小枯斑（图6）	同 上
PSV	多 面 体	美国棉豆	系统黄脉和系统坏死落叶	同 上

三、结 论 和 讨 论

1. 通过本课题研究，初步表明：我国可为害大豆的病毒共12种（表3），其中6种（大豆花叶、大豆矮化、花生轻性斑驳、苜蓿花叶、烟草坏死和蚕豆萎蔫病毒）已在大豆上发生，形成不同程度的为害。（苜蓿花叶、烟草坏死和蚕豆萎蔫病毒，是国内首次从大豆上分离到的。）其它6种（豇豆蚜传花叶、菜豆普通花叶、番茄不孕、花生矮化，番茄黑环和烟草环斑病毒）尽管尚未在田间大豆上发生，但接种可以侵染大豆，构成潜在威胁。

2. 在12种病毒中有10种可经种子传播。经试验证明，6种经豆类种传，其中可经大

豆种传的有大豆花叶和大豆矮化病毒；可经菜豆种传的有菜豆普通花叶和番茄不孕病毒（可经菜豆种传，为国内外首次报导）；可经豇豆种传的有豇豆蚜传花叶病毒；可经花生种传的有花生轻性斑驳病毒；其它4种病毒（苜蓿花叶、烟草环斑、蕃茄黑环和花生矮化）据资料记载也为种传病毒。经检测（从19个大豆研究单位和3个县采集169份大豆种子）大豆平均种传率为9.26%，最高为25.23%。

3. 通过1314份样的鉴定，查明：SMV已普遍发生，SSV和PMMV已有近半数地块发生，其它尚属零星发生。对其中分布未广和零星发生的种传病毒，在检疫上应予以注意。

4. 在调查中发现，与国内外品种资源交流频繁的研究单位比一般农家大田的病毒种类多、发病重。尤其北京地区比其它地区尤为严重，在检疫上对这些地区及单位尤应加强检疫，使这些地区的各单位不要成为传播扩散病毒的中心。

5. 通过试验，提出鉴别12种病毒的生物鉴定检索表、血清和电镜检验技术，经初步试用，效果良好，方法简便易行，可供检疫单位应用。

6. 在澄清我国大豆病毒病发生情况，并研究其检验技术的同时，还搜集了世界各地的大豆病毒的有关资料，并对其在检疫上的重要程度进行了分析，在此基础上，于中国动植物检疫总所召集的检疫对象审议会上，提出3种我国尚未发生的、可为害大豆的种传病毒（大豆和性花叶、番茄环斑和南芥菜花叶病毒）建议补入外检对象。只要检疫苗圃建成后，我国即可结束对病毒病不能检疫的落后局面。

7. 目前我国主要大豆产区，因病毒病的为害，不仅导致减产，而且形成褐斑粒，品质变劣，影响出口。

鉴于大豆主要种传病毒（SMV、SSV）的种传率达10%左右。这些种传病毒不但可随种子进行远距离传播，而且种子带毒也是田间发病的初次侵染源。为此，不论从植保和植检角度，建立大豆无病毒种子生产体系，以提高大豆的品质和产量，确保出口，是十分必要的。

## 参 考 文 献

- 〔1〕 马德芳等（1981）从京郊大豆上分离的大豆花叶病毒的鉴定（油印本）
- 〔2〕 张明厚（1984）东北农学院学报 1984, (3) 102
- 〔3〕 沈淑琳等（1985）大豆种传黄瓜花叶病毒的分离和鉴定 植物检疫研究报告 1985年5月
- 〔4〕 Xu、Z、Yu等（1983）Pl. Dis. 1983, 67(9) 1029—1032
- 〔5〕 沈淑琳等（1981）侵染大豆的苜蓿花叶病毒研究Ⅰ、病毒的分离和生物鉴定 植物检疫研究报告 1981年7月1—12页
- 〔6〕 胡伟贞等（1981）侵染大豆的苜蓿花叶病毒研究。Ⅱ分离物的提纯及电镜观察 植物检疫研究报告 1981年7月1—4页
- 〔7〕 陈燕芳等（1985）侵染豆类的蚕豆萎蔫病毒的分离和鉴定 植物检疫研究报告 1985年3月
- 〔8〕 舒秀珍等（1982）侵染大豆、桑的烟草坏死病毒研究。Ⅰ病毒的分离和生物鉴定 植物检疫研究报告 1982年3月1—8页
- 〔9〕 胡伟贞等（1982）侵染大豆、桑的烟草坏死病毒研究。Ⅱ病毒的提纯及特性 植物检疫研究报告 1982年3月9—12页
- 〔10〕 张霖等（1983）济南市农科所农业科技资料汇编（第五期）48—50. 1983
- 〔11〕 王树琴等（1982）菜豆种传的番茄不孕病毒的研究。Ⅰ病毒的分离和生物鉴定 植物检疫研究报告 1982年3月1—6页

- [12] 马德芳等 (1982) 菜豆种传的番茄不孕病毒的研究。Ⅱ病毒的理化性质及血清学测定 植物检疫研究报告 1982 年 3 月 7—12 页
- [13] 谢联辉等 (1985) 福建农学院学报 14(2) 116, 1985
- [14] 许泽永等 (1983) 我国北方花生产区病毒病类型的分布、流行和病毒的血清鉴定
- [15] 胡宝珏等 (1984) 花生科技 1984, 1, 11 页
- [16] 沈淑琳等 (1985) 从 13 种豆类作物和牧草上分离的病毒及检验技术研究初报 植物检疫研究报告 1985 年 3 月

## STUDIES ON THE IDENTIFICATION AND DETECTING METHODS OF SOYBEAN VIRUSES IN CHINA

Shen Shulin    Shu Suizen    Wang Shugin    Chen Yanfang

Lu Jiajue    Li Xiaoqin    Xu Hongguan

*(Institute of Plant Quarantine, Ministry of Agriculture,  
Animal Husbandry and Fishery)*

### Abstract

Six viruses are isolated from 1314 soybean samples. There are soybean mosaic(SMV), soybean stunt(SSV), peanut mild mottle(PMMV), alfalfa mosaic (AMV), broadbean wilt (BBWV) and tobacco necrosis viruses (TNV). SMV and SSV are two main seed-borne viruses transmitted through soybean seeds. PMMV and AMV are transmitted through the seeds of peanut and alfalfa, respectively.

On soybean, two or three viruses may cause composed infection. Two viruses may transmit through one seed.

SMV occurs commonly. SSV and PMMV are found in more than half of the locations where samples are collected. The others viruses occur locally.

In addition, six viruses can infect soybean under experimental conditions. They are occasionally or commonly found on other leguminous crops. They have potential dangers for soybean in China.

Detecting methods of soybean viruses that consist serological tests (ISEM, double agar diffusion or ELISA) and reactions of differential hosts,

沈淑琳等：“大豆病毒种类鉴定和检验技术研究”（图版）

“Studies on the Identification and Detecting Methods of  
Soybean Viruses in China”



## “大豆病毒种类鉴定和检验技术研究” 图版说明

### “Studies on the Identification and Detecting Methods of Soybean Viruses in China” (EXPLANATION of plate)

#### Plate

图 1 大豆花叶病毒在菜豆“Monroe”上表现局部坏死环斑和脉坏死。

Fig 1 Local necrotic ring spots and vein necrosis in *Phaseolus vulgaris* cv. Monroe (SMV)

图 2 花生轻性斑驳病毒在菜豆“Monroe”上出现局部深褐色斑，脉坏死。

Fig 2 Local necrotic spots and vein necrosis in *Phaseolus vulgaris* cv. Monroe (PMMV)

图 3 花生轻性斑驳病毒在菜豆“Topcrop”的接种叶上先产生局部坏死斑、脉坏死，后茎上出现系统条纹和顶芽坏死。

Fig 3 *Phaseolus vulgaris* cv. Topcrop with local necrotic spots, vein necrosis, systemic stem streak and shoot tip necrosis (PMMV)

图 4 豇豆蚜传花叶病毒在苋色藜的接种叶上表现局部退绿斑，直径约 3 毫米。

Fig 4 Local chlorotic spots (c. 3mm) in *Chenopodium amaranticolor* (CABMV)

图 5 花生矮化病毒在菜豆“Monroe”的接种叶上出现局部坏死斑，幼叶系统坏死斑和斑驳。

Fig 5 *Phaseolus vulgaris* cv. Monroe with local necrotic spots, systemic necrotic spots and mottle (PSV)