

大豆花叶病毒的株系划分 及株系间的交互保护作用*

吕文清 李延华**

(东北农学院)

自1985年将大豆花叶病毒(SMV)分为三个株系群后,最近几年又收集了149个毒株继续研究,发现原为一个株系群的毒株间在某些重要大豆品种上的症状反应有很大差别,症状严重度可相差三个级别。因此,有必要将原来的一个株系群再分为两个株系。SMV毒株间的理化稳定性有一些差异,即使在一个株系内也不一样。

作者对SMV株系间的交互保护反应进行了多次试验,株系间不一定都有交互保护反应。

关键词 大豆花叶病毒;株系;毒株;交互保护作用

(一)大豆花叶病毒的株系划分

自从1985年(吕文清等,1985)根据391个毒株在大豆栽培品种上毒力范围的差异,将我国东北的大豆花叶病毒初步划分为三个株系群后,始终遗留着一个问题,即同属一个株系群的毒株在某些重要品种上的症状有的一出现就是系统枯斑,最后枯死,往往不能或极少结荚,有的毒株则前期花叶,后来产生顶枯,而有的只产生花叶,对产量影响不大,从它们侵染后的症状反应及对寄主正常生活的破坏力来看差别是很大的。作者一直认为应当再进一步划分,因此,1985年后又陆续采集和鉴定了149个毒株与本研究室一直保留的12个毒株进行了比较研究。整个试验的条件及方法和以前(吕文清等,1985)基本相同。研究鉴定的结果认为三个株系群都应当再划分成两个株系,分别用 S_1 , S_2 , S_3 表示株系群, TN , SN 表示在主要鉴别寄主上的症状特点,根据这特点把每个株系群再分为两个株系(表1)。

* 本研究为国家自然科学基金资助项目

** 现在黑龙江省植保站

本文于1991年10月7日收到。This paper was received on Oct. 7, 1991.

表 1 大豆花叶病毒(SMV)各株系在鉴别寄主上的反应
Table 1 Reactions of SMV strains on differential hosts

鉴 别 寄 主 Differential hosts	株 系 群 Strains groups 株 系 Strains	S ₁		S ₂		S ₃	
		S ₁ -M	S ₁ -TN	S ₁ -M	S ₁ -SN	S ₂ -M	S ₂ -SN
合丰 23 (或合丰 25) Hefeng 23(or Hefeng 25)		SM	TN	SM	ST, RM	SM	SN, TN
铁丰 18 (或铁 6815) Tiefeng 18(or Tie 6915)		—	—	SM	SN, TN	SM	SN, TN
诱变 30(或科系 8 号) Youbian 30(or Kexi 8)		—	—	—	—	SM	SN, TN

注: SM—系统花叶 TN—顶枯 ST—矮化
SN—系统枯斑 RM—皱缩花叶 —不侵染
(不侵染指无症或仅在接种叶上有局部枯斑而无系统侵染)

(二)各株系的稀释限点、钝化温度及体外保毒期

1. 材料和方法:

毒株及所属株系:

- 119、86—9, 87—31 (属 S₁-M)
- 245 (属 S₁-TN)
- 87—02, 88—1 (属 S₁-SN)
- 82—11, 173, 87—44, 89—27 (属 S₂-M)
- 89—4 (属 S₂-SN)

试验大豆品种:合丰 23,合丰 25,绥农 8 号。

方法:将上述各毒株接种到合丰 23 或合丰 25、绥农 8 号大豆幼苗上,20--35 天后取病叶以 1:10 稀释。钝化温度设 50、55、60、65、70、75℃六个处理;稀释限点第一次试验为 1×10⁻³、2×10⁻³、3×10⁻³、4×10⁻³、5×10⁻³、6×10⁻³。第二次试验为 1×10⁻³、3×10⁻³、5×10⁻³、10×10⁻³、15×10⁻³及 20×10⁻³;体外保毒期第一次试验病汁液保持在 15—23℃室温下,第二次试验 96 小时前保存于 20℃恒温箱内,96 小时后置 15—16℃室温下,按计划接种到大豆幼苗,并用半叶法随机排列接种到 SMV 枯斑寄主菜豆 Top—crop 上,观察记录结果。

2. 试验结果:

(1)钝化温度(TDP):两次试验结果比较一致,60℃以上均不能发病,表 2 所列的 50℃—65℃下大豆发病率为第二次试验结果:

从表 2 说明 87—02、82—11 和 119 三个毒株比较耐热,87—44 次之,245 和 86—9 较易受高温钝化。

表2 SMV各毒株的钝化温度

Table 2 TDP of SMV isolates

毒 株 Isolates	处 理 温 度 Temperature			
	50℃	55℃	60℃	65℃
245	4/7*	0/7	0/8	0/7
119	7/7	3/9	0/8	0/6
86-9	3/7	0/7	0/6	0/12
88-1	6/7	0/11	0/11	0/13
87-02	7/7	2/7	0/7	0/6
87-44	6/7	1/9	0/12	0/7
82-11	7/7	3/10	0/9	0/7

* 发病株数/接种株数

(2) 稀释限点(DEP): 见表3

表3 SMV各毒株的稀释限点

Table 3 DEP of SMV isolates

毒 株 Isolates	接 种 发 病 率 Infections					
	稀 释 倍 数 Dilutions					
	1×10^{-3}	3×10^{-3}	5×10^{-3}	10×10^{-3}	15×10^{-3}	20×10^{-3}
245	6/6	5/9	2/8	0/4	0/4	0/5
119	6/6	7/7	3/6	3/6	1/5	0/5
86-9	5/6	2/7	4/8	1/6	0/4	0/4
87-02	7/7	13/13	4/7	2/6	1/6	0/5
88-1	9/9	6/9	1/10	—	—	—
87-44	3/6	4/7	3/5	1/6	1/6	0/6
82-11	7/7	6/6	3/6	6/6	1/6	1/6
89-4	6/6	6/6	5/5	6/8	6/6	1/5

* 发病株数/接种株数

表中结果为89-4最稳定,在稀释1万5千倍的情况下发病率仍为100%,2万倍时才下降至20%,其次是82-11,最不稳定的是245。

(3) 体外保毒期(LIV): 见表4

表 4 SMV 各毒株体外保毒时数与侵染率
Table 4 Longevity of SMV isolates in vitro

毒 株 Isolates	体 外 保 毒 时 数 In Vitro									
	24hrs		72hrs		96hrs		120hrs		144hrs	240hrs
	绥农 8 号 Suinong8	菜 豆 Top-crop	绥农 8 号 Suinong8	菜 豆 Top-crop	绥农 8 号 Suinong8	菜 豆 Top-crop	绥农 8 号 Suinong	菜 豆 Top-crop	绥农 8 号 Suinong8	菜 豆 Top-crop
245	6/6	++ ++	1/9	+ ---	0/5	+ ---	0/7	---	0/6	---
119	7/7	+++ +++	6/6	+++ +++	2/5	+++ +++	1/4	+- ---	1/10	+++
86---9	5/8	+++ +++	3/6	++ +-	1/5	+ ---	2/9	---	0/7	---
88---1	7/8	++ ++	5/7	++ ++	0/7	-- ---	0/7	---	0/4	---
87---02	10/11	++ ++	9/9	+++ +++	3/7	++ ++	3/7	++ ++	1/7	+++ ++
87---44	3/6	+++ +++	3/9	++ ++	1/7	++ ---	0/5	+- ---	1/10	++ ---
89---4	6/6	+++ +++	4/6	+++ +++	1/7	+ ---	4/6	++ ---	0/9	

* : 4 片半叶上的反应: 一无枯斑, + 5 个枯斑以下
++ 6-10 个枯斑, +++ 11 个枯斑以上

从表中可看出: (i) 各毒株在体外置 96 小时后侵染率明显下降, 但 89-4, 87-02 及 119 仍保持 40% 以上的侵染率。245 和 88-1 最容易失去侵染力。 (ii) 枯斑寄主, 菜豆品种 Top-crop 上的枯斑数可能有试验误差, 但肯定与毒株有密切关系, 在我们许多次有关试验中发现 119、87-02 和 89-4 几乎每次都是产生的枯斑最多, 245 却一直很少。 (iii) 第二次试验中直至 240 小时在 Top-crop 上接种后 119、87-02 和 87-44 仍有侵染力。

综合以上结果 (见表 5) 可见: SMV 各株系的钝化温度、稀释限点及体外保毒期不存在明显的差别, 这些差别在同一株系内也存在。过去在植物病毒研究中这三个性质曾在鉴定中利用, 实际上除 TDP 外, 其它两个性质受其它很多条件的影响较大, 所以意义不大。从 SMV 的毒株看 TDP 相差较小, 基本属同一级, 因此更说明对 SMV 的研究有划分株系的必要。

表5 SMV株系和毒株的TDP、DEP及LIV
Table 5 TDP, DEP and LIV of SMV-isolates and strains

株系 Strains	毒株 Isolates	TDP(℃)	DEP(倍)	LIV(hrs)
S ₁ -TN	245	50	5×10 ⁻³	72
S ₁ -M	119	55	15×10 ⁻³	240
S ₁ -M	86-9	50	10×10 ⁻³	120
S ₁ -SN	88-1	50	5-10×10 ⁻³	72
S ₁ -SN	87-02	55	15×10 ⁻³	240
S ₁ --M	87-44	55	15×10 ⁻³	240
S ₁ -M	82-11	55	20×10 ⁻³	--
S ₁ --SN	89-4	--	20×10 ⁻³	120

(三)SMV株系间交互保护作用的研究

1. S₁-M(或S₁--M)与S₁--TN间的交互保护作用

毒株及所属株系:119(S₁-M),173(S₁--M),245(S₁-TN)

方法:盆播大豆,於真叶期接种119或173毒株,5-7天已显症状,再接245,利用后者在合丰23上产生顶枯这一特点,於第二次接种后20-50天观察记录,设单接119或173和单接245作对照,在大豆品种黑农26、合丰23、合丰25上共进行过6次试验,每次规模大小不一,最多的每处理约200株,对照各50株,最少的每处理10株。

结果:无论是接119或173后再接245,没有产生过一株顶枯,症状与单接119和173的完全一样,而单接种245的对照,每次结果顶枯株数为30-100%。

2. S₁-M和S₁-SN间的交互保护作用

毒株及所属株系:119,87-31(S₁-M)

87-02(S₁--SN)

方法:合丰25真叶期用三种方法接种:

- (1)先接119(或87-31)7天后(已显症)再接种87-02;
- (2)119(或87-31)和87-02按1:1混合接种;
- (3)一片真叶接119(或87-31),同时另一片真叶接87-02。

每处理10-15株,设对照,重复3次。

结果:119(或87-31)系统侵染合丰25后能阻止第二接种物87-02的侵染,植株不仅全部显示出119(或87-31)的症状,而且用莫诺豆检查植株中的87-02(应为局部实心枯死斑)为阴性,只产生局部斑斑及叶脉坏死。但用(2)、(3)方法同时接种两个毒株则显示出第二次接种毒株(87-02)的症状,说明第一次接种的119(或87-31)不能抑制87-02。

3. S₁-SN和S₁--M间的交互保护作用

毒株及所属株系:87-02(S₁--SN),87-44(S₁-M)。

方法:同上,即两个毒株(1)间隔7天接种;(2)混合接种;(3)各接一片真叶。

结果:见表 6。

表 6 S_1 -SN 和 S_1 -SM 在合丰 25、铁丰 18 上的交互保护作用

Table 6 Cross protection between S_1 -SN and S_1 -M

毒 株 Isolates	处 理 Treatment	大豆品种 Cultivars	症状反应 Symptoms	严重度 Severity	交互保护作用 Cross protection
87-02, 87-44	间隔 7 天	合丰 25	ST, SN, TN	4	+
		铁丰 18	SM, R, SN	3	/
87-44, 87-02	间隔 7 天	合丰 25	SM, Mot, RM	1	++
		铁丰 18	SM, RM	3	+++
87-02, 87-44	混合接种	合丰 25	ST, SN, TN	4	-
		铁丰 18	SM, RM	3	+++
87-02, 87-44	各接一片真叶	合丰 25	ST, SN, TN	4	-
		铁丰 18	SM, RM 个别 SN	3	/
87-02(对照)	常规接种	合丰 25	SM, RM, ST	4	/
		铁丰 18	SN, TN	5	/
87-44(对照)	常规接种	合丰 25	SM, Mot	1	/
		铁丰 18	SM, RM	3	/

注:ST,矮化 SN,系统枯斑 TN,顶枯 SM,系统花叶 RM,皱缩花叶 Mot,斑驳

* 用铁丰 18 检测 87-44 的结果

** 用 Monroe 检测 87-02 的结果

由表中结果说明 S_1 -SN 和 S_1 -M 之间在不同品种上,交互保护作用的程度不同,在合丰 25 上是双向完全交互保护作用,在铁丰 18 上先接的 87-02 对 87-44 无抑制作用,而先接 87-44 对 87-02 有一定抑制作用,为单向完全交互保护作用。

两个株系的毒株混合接种或同时各接种一片真叶均无交互保护作用。

4. S_1 -M 对 S_1 -M、 S_1 -SN 间的保护作用

毒株及所属株系:119、86-9(S_1 -M)

87-44(S_1 -M)

89-4(S_1 -SN)

方法:盆播合丰 23、吉林 20、绥农 8 号大豆品种,真叶期接种 119 或 86-9,接种后 1 天和 7 天再接种 87-44 或 89-4,每个品种每个处理 20-30 株,第二次接种后 30 天左右每个处理随机取样 5-7 株接种到真叶期的检测品种(铁丰 18、齐黄 1 号、诱变 30 及科黄 8 号)上,出现症状者说明第二次接种的 III 号株系群不受 I 号株系群的 S_1 -M 的抑制。有怀疑的异常情况(如轻微花叶、轻微黄化、叶片略有皱缩等)时用酶联检测确定,方法见《中国病毒学》1991 年第 3 期。

结果:见表 7。

从表中看出株系 S_1 -M 对 S_1 -M 及 S_1 -SN 有明显的保护作用,但并不彻底,在检测寄主上接种后 15-40 天之内总有少数植株发病,症状十分典型,而且接种到株系鉴别

寄主上证明为第二接种物。这种现象在多次重复试验及专设的验证试验中都出现。

表 7 S_1 -M 和 S_2 -M, S_2 -SN 间的交互保护作用

Table 7 Cross protection among S_1 -M and S_2 -M, S_2 -SN strains

毒株及株系 Isolates and strains		大豆品种 Cultivars	接种间隔时间 Intervals	检 测 结 果 Results			
				铁丰 18 Tiefeng 18	齐黄 1 号 Qihuang 1	诱变 30 Youbian 30	科黄 8 号 Kehuang 8
86-9 (S_1 -M)	87-44 (S_2 -M)	合丰 23	1	1/4	0/4	1/4	2/5
		合丰 23	7	1/5	0/5	1/5	0/5
		绥农 8	1	0/5	0/5	1/5	1/4
		绥农 8	7	1/5	3/5	1/5	1/5
119 (S_1 -M)	87-44 (S_2 -M)	合丰 23	1	1/14	—	—	2/11
		吉林 20	1	0/15	—	—	2/4
119 (S_1 -M)	87-02 (S_1 -SN)	合丰 23	1	2/6	—	—	3/6
		吉林 20	1	1/5	—	—	2/3
119 (S_1 -M)	87-44 (S_2 -M)	合丰 23	7	0/11	—	—	—
		绥农 8	7	0/16	—	—	—
119 (S_1 -M)	89-4 (S_2 -SN)	合丰 23	7	0/16	—	—	—
		绥农 8	7	0/16	—	—	—

总结以上各株系间的交互保护试验结果如下(表 8)

表 8 SMV 株系间的交互保护作用

Table 8 Cross protection among SMV-strains

株 系 Strains	交互保护作用 Cross protection
S_1 -M 对 S_1 -TN	+
S_1 -M 对 S_1 -SN	— 有部分抑制作用
S_1 -M 对 S_2 -M	— 有部分抑制作用
S_1 -M 对 S_2 -SN	— 有部分抑制作用
S_1 -SN 对 S_2 -M	+
S_2 -M 对 S_1 -TN	+
S_2 -M 对 S_1 -SN	+

可见,SMV 各株系之间有的有完全交互保护作用,有的只有部分保护作用,有的则没有保护作用。

讨 论

1. 分株系的目的主要是弄清病原物对当前生产上用的主栽品种及育种材料的毒力是

否有明显差异,并考虑工作中应用方便,因此株系的划分尽可能简单。1985 年我们即本着这个原则将 SMV 初步划分为三个株系群。以后陆续发现同一株系群的毒株在不同重要品种上的症状严重程度差异太大,对产量的影响也大不一样,因此作者认为有必要把一个株系群中形成单纯花叶及系统坏死造成顶枯的毒株区分为两个株系。

2. 以上 SMV 株系的划分仍然存在一些缺点,同一株系内的毒株之间还有一些明显的差异,在扩大鉴别寄主品种范围时,如在 Marshall 上 86—9 产生系统大型枯斑和顶枯,但在合丰 23 上为花叶。在美国 Marshall 为鉴定 SMV 株系的重要鉴别品种,但这个品种在国内应用并不多,所以仍根据国内主栽品种上的反应,把在 Marshall 上产生系统枯斑和不产生系统枯斑的毒株归入同一株系。

3. I 号株系群中的 S₁—M 株系最不稳定、易变,保留的 83—03,83—05 毒株 2—3 年后变成了 S₁—M,106,303 变成了 S₁—M。最近三年没有采到属 S₁—M 的毒株,其原因未能弄清。至今没有发现保留的 II 号株系群毒株中毒力有变化的现象。

4. 本课题组曾在菜豆品种 Monroe 上鉴定 30 多个 SMV 毒株,均产生局部环斑及叶脉坏死,但 87—02 经多次接种在 Monroe 上产生局部实心枯死斑点,潜育期比其它毒株短 3—4 天,在表 5 中我们利用这一特点来检测 87—02。

5. 几年来采集的 SMV 标样中没有发现能感染 Buffalo 品种的毒株,在菜豆品种家雀蛋上均为局部大斑及叶脉坏死症状,没有发现产生系统花叶的,因此东北的 SMV 株系种类和江苏、山东的有所不同。

6. 病毒往往能抵抗与之相关的另一个病毒,因此常把交互保护作用用于证明两种病毒是相关的,在多种情况下多次试验时会出现一些不同于简单结论的现象,本试验经多次重复,可以肯定:SMV 株系间不一定都有交互保护作用。现在株系的划分多根据其对品种的毒性,而其它方面的性质不一定完全相同,因此在交互保护作用方面完全可能有不一致的情况。

参 考 文 献

- [1] 吕文清等,1985,植物病理学报(4):225—229
- [2] 濮祖芹等,1982,植物保护学报(1):15—20
- [3] 许志信等,1983,南京农学院学报(3):36—40
- [4] 魏培义等,1991,中国病毒学(3):267—270
- [5] Eui—Kyo Cho 等,1979,Phytopathology (5):467—470
- [6] Knight C. A 著 方荣祥译,1980,分子病毒学 171—176,科学出版社
- [7] Matthews R. E. F. 1981,Plant Virology (2ed) P. P. 496—499,502—507,516—518,533,698,Academic Press

IDENTIFICATION OF STRAINS OF SMV AND CROSS PROTECTION AMONG THE STRAINS

Lu Wenqing Li Yanhua

(Northeast Agricultural College, Harbin)

Abstract

Since SMV was classified into 3 groups in 1985 we have found that isolates in one strain group had significant differences in symptoms, their severities may differed as great as 3 grades. Additional 149 isolates had been collected recently and studied. The results showed that each strain group had to be divided into two strains.

There was obvious cross protection among strains, but not all of them. The degree of cross protection varied with different treatments of inoculations and different combinations of isolates.

Key words SMV; Strain; Isolate; Cross protection

新型大豆药肥—重迎茬乐

黑龙江省大豆重迎茬面积占大豆生产总面积的 1/3 以上,因重迎茬造成的减产幅度一般在 20% 以上,严重地区减产幅度更大。随着大豆种植面积不断增加,重迎茬面积将逐年扩大。

黑龙江省农科院牡丹江农科所针对大豆重迎茬减产的主要原因,研制出既可满足大豆一生对营养元素的需求,又能有效防治近根区域病虫害的专用药肥—大豆重迎茬乐。经 1988~1992 年多年试验和多点示范,取得了稳定而有效的增产效果。1989~1991 年在林口、宁安等县 2,758 户,26,000 多亩重迎茬大豆地试验示范,结果表明:每亩施用大豆重迎茬乐 10~15 公斤,比施用等量有效成分的二铵平均增产 27.6%,每亩纯增产大豆 28.4 公斤,扣除亩施“重迎茬乐”成本费 15.5~23.3 元,每亩可净增收入 16.5~24.3 元。而且施用“重迎茬乐”的效果,随大豆重迎茬年限的延长,其增产幅度呈明显递增的趋势,重茬 1、2、3 年的豆田,分别增产 12.0%、19.0% 和 28.0%,每亩净增产大豆 10.7 公斤、19.6 公斤和 33.6 公斤。大豆“重迎茬乐”具有成本低、使用方便、安全,增产幅度大,经济效益显著的优点,深受广大农民欢迎。

崔文馥

“大豆科学”编辑部