

研究报告

哈尔滨地区大麦黄矮病毒株系鉴定

刘 艳 钱幼亭 梁影屏

苗洪芹

(中国农业科学院植物保护研究所)

(河北省农林科学院植物保护研究所)

摘要 从黑龙江省哈尔滨地区田间采集典型小麦黄矮病株 25 份,用无毒麦二叉蚜 (*Shizaphis graminum*)、麦长管蚜 (*Macrosiphum avenae*)、禾谷缢管蚜 (*Rhopalosiphum padi*) 传毒,经生物学分离并用 BYDV-GAV、PAV、RPV、SGV 四种抗血清进行酶联免疫吸附(即 ELISA 法)测定。结果表明:25 份标样中由麦长管蚜(Ma)和麦二叉蚜(Sg)传播的有 22 份,与 GAV 抗血清有强反应,而与 PAV、RPV、SGV 抗血清无反应。表明 GAV 株系是哈尔滨地区大麦黄矮病毒的主要株系。

关键词 哈尔滨地区 大麦黄矮病毒株系 酶联免疫吸附

中图分类号 S512.3

由大麦黄矮病毒(Barley Yellow Dwarf Virus,简称 BYDV)引起的小麦黄矮病是一种分布最广的禾谷类病毒病,在我国各冬、春麦区均有不同程度的发生。小麦黄矮病只能由麦蚜以持久性方式传播。根据不同种的麦蚜传播能力的不同分为不同的株系,美国学者 W. F. Rochow 将美国的大麦黄矮病毒分为五种分离物,即由禾谷缢管蚜专化性传播的 RPV 分离物,麦长管蚜专化性传播的 MAV 分离物,禾谷缢管蚜和麦长管蚜都能传播的非专化性 PAV 分离物,玉米蚜专化性传播的 RMV 分离物,麦二叉蚜专化性传播的 SGV 分离物^[1]。而我国主要有以下三种株系:由麦二叉蚜、禾谷缢管蚜传播的 GPV 株系;麦二叉蚜、麦长管蚜传播的 GAV 株系;禾谷缢管蚜、麦长管蚜传播的 PAGV 株系^[2]。

抗病品种的选育和应用是控制小麦黄矮病最经济有效的措施,因此明确不同地区大麦黄矮病毒株系类型,有针对性地培育抗耐品种是十分必要的。近年东北地区小麦黄矮病发生日趋严重,而关于该地区大麦黄矮病毒株系类型尚未见明确报道。本文对哈尔滨地区的典型黄矮病株进行了生物学与血清学鉴定,以期明确该地区的株系类型,为当地育种工作提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 标样的采集与保存

田间采集典型新鲜病株 25 株,编号 H₁₋₂₅。每株剪取已黄化 1/3、发病明显的叶片,分成两份,一份用于生物学分离,另一份放入 -20℃ 冰箱中保存,以备做 ELISA 试验。

1.2 生物学测定

1.2.1 传毒介体及毒源 无毒麦二叉蚜(Sg)、麦长管蚜(Ma)、禾谷缢管蚜(Rp),均采自北京

* 本研究为“八六三”资助项目。感谢黑龙江省农科院作物所祁适雨先生协助采样。
收稿日期 1996-06-26

地区,纯化后饲养在 18℃,人工光照培养箱中。BYDV-GAV、PAV 毒源由本组分离、保存。

1.2.2 饲毒与接种 待测病株的叶片剪成三段放入保湿的培养皿中,在 15℃、黑暗条件下,用三种无毒蚜虫分别进行离体叶片饲毒两天,接种到二叶期岸黑燕麦上,每株接种 5~10 头蚜虫。3 天后,用 1:1 000 的敌敌畏喷洒去虫,移至 18℃,25 000Lux 的环境箱中。

1.3 酶联免疫吸附测定

PAV、SGV、RPV 抗血清由美国普渡大学提供,GAV 株系抗血清由本所病毒组制备,饱和硫酸铵法提纯 IgG,用碱性磷酸酯酶标记 IgG。

酶联免疫吸附法(ELISA)采用双夹心法^[3]。接种 PAV 和 GAV 株系的岸黑燕麦和小麦感病品种“中 7902”为 ELISA 试验的阳性对照,它们的健株为阴性对照。

2 结果

2.1 哈尔滨地区和北京地区蚜虫传毒能力比较

表 1 哈尔滨地区与北京地区三种蚜虫传播 GAV 株系能力比较

蚜虫来源	Sg	Ma	Rp
哈尔滨地区	5/10	9/10	0/10
北京地区	4/10	9/10	0/10

注:分子为发病株数,分母为接种总株数(下同)。哈尔滨地区和北京地区的 Sg、Rp、Ma 三种无毒蚜的接种发病率分别为 0/10。

哈尔滨地区采集来的蚜虫经纯化后,得到无毒 Ma、Sg 和 Rp,在相同条件下饲毒、接种,结果表明,哈尔滨地区与北京地区的 Ma、Sg 和 Rp 无毒蚜对 GAV 株系的传毒能力无明显差异。

2.2 哈尔滨地区田间标样生物学鉴定结果

用北京地区三种蚜虫对 25 株待测标样在同样条件下饲毒后接种在二叶期岸黑燕麦上。第 11 天开始发病,第 13 天病症相当明显。调查结果表明:25 株标样中 22 株的 Rp

蚜虫回接株未发病,而 Ma、Sg 蚜虫回接株发病率分别为 87.4%,45.8%。从 22 株中随机取出 10 株做蚜虫连续传毒试验,累计结果如表 2。Ma、Sg、Rp 回接总株数均为 99,发病株数分别为 45、80 和 0。

表 2 哈尔滨地区 10 个标样的生测结果

标样号	传毒介体		
	Sg	Ma	Rp
H1	5/10	9/9	0/9
H3	4/10	9/10	0/10
H4	5/10	9/10	0/10
H5	4/10	9/10	0/9
H11	3/9	6/10	0/10
H14	4/10	9/10	0/11
H16	6/11	8/10	0/10
H20	5/10	9/10	0/10
H22	4/9	9/10	0/10
H24	5/10	7/10	0/10
累计	45/99	80/99	0/99

注:无毒的 Sg、Ma、Rp 发病率均为 0。

结果表明哈尔滨地区小麦黄矮病毒株系主要为:由 Ma、Sg 非专化性传播的 GAV 株系^[4]。

2.3 血清学鉴定结果

2.3.1 25 株待测样品血清学鉴定结果 待测的 25 株样品分别与 PAV、GAV、SGV、RPV 四种抗血清鉴定结果为:25 株样品中,20 株与 GAV 抗血清有强反应,ELISA O、D 值在 0.576~1.015 之间,平均为 0.728,阴性对照值 0.026,而与 PAV、RPV、SGV 三种抗血清无反应^[5]。

2.3.2 10 个标样回接株的酶联测定结果 对 H1、H3、H4、H11、H14、H16、H20、H22、H24 的回接株进行平行血清学测定。结果见表 3:10 株标样均与 GAV 抗血清有强反应,ELISA O、D 值平均为 0.768,而与 PAV、SGV、RPV 抗血清无反应。

血清学鉴定结果与生物学测定结果基本相符,进一步证明该地区大麦黄矮病毒主要株系为 GAV 株系。

表 3 哈尔滨地区 10 个标样与 PAV、GAV、SGV、RPV 抗血清的酶联测定结果

标样号	PAV	GAV	SGV	RPV	标样号	PAV	GAV	SGV	RPV
H1	0.052	0.824	0.096	0.028	H16	0.077	0.690	0.097	0.024
H3	0.098	0.792	0.088	0.030	H20	0.082	0.699	0.067	0.040
H4	0.064	0.595	0.073	0.039	H22	0.057	0.913	0.090	0.034
H5	0.058	0.746	0.072	0.032	H24	0.061	0.797	0.079	0.041
H11	0.047	0.671	0.100	0.04	阳性对照	0.755	0.677	—	—
H14	0.059	0.948	0.071	0.035	阴性对照	0.041	0.024	0.063	0.010

3 讨论

我们对哈尔滨地区的 25 株样品经生物学与血清学鉴定表明:该地区的主要株系是由麦二叉蚜、麦长管蚜非专化性传播的 GAV 株系,生物学鉴定的 25 份标样中,有 3 份不是 GAV 株系。经血清学鉴定,其中 1 份与 RPV 抗血清有强反应。另外两份经生物学测定,三种蚜虫传毒介体的回接株均发病。

哈尔滨地区的种群田间调查发现,该地区蚜虫种群以麦长管蚜为主,并且存在大量禾谷缢管蚜。因此,哈尔滨地区除 GAV 株系外,还可能存在其它株系,尚需进一步分离鉴定。

参 考 文 献

- 1 Rochow, W. F. Biological properties of four isolates of BYDV Phytopathology, 1969, (59): 1580~1589
- 2 周广和等. 小麦黄矮病毒 4 种株系鉴定与应用. 中国农业科学, 1987, 20(4): 7~12
- 3 钱幼亭等. 从麦类种质资源中筛选大麦黄矮病毒(BYDV)抗原. 植物保护学报, 1993, 20(1): 71~75
- 4 周广和、张淑香. 一种由麦二叉蚜和麦长管蚜传播的小麦黄矮病毒株系鉴定. 植物病理学报, 1986, 16(1): 17~22
- 5 Zhou Guanghe, Chengzhuomin, et al. Serological identification of luteoviruses of small grains in China. Plant Disease, 1984 (68): 710~713

Identification of Strains of Barley Yellow Dwarf Virus in Harbin Area

Liu Yan Qian Youting Liang Yingping Miao Hongqin

(Institute of plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences)

Abstract Samples of 25 plants of wheat with symptoms of barley yellow dwarf were collected from Harbin area, Heilongjiang province. Each sample was tested by enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) using antisera for GAV, PAV, RPV, SGV and identified by a series of biological experiments involving comparative transmission by *Schizaphis graminum*, *Rhopalosiphum padi* and *Macrosiphum avenae*. Results indicated that 22 of 25 samples were transmitted non-specifically by *S. avenae* and *S. graminum*, and reacted very strongly with GAV-globulin and not at all with PAV, RPV and SGV globulins. These results pointed that GAV is the major strain of Barley Yellow Dwarf Virus in Harbin area.

Key words Harbin area, Barley yellow dwarf virus strain, ELISA