

新疆小麦上分离到大麦条纹花叶病毒*

谢 浩

(新疆维吾尔自治区昌吉农垦局农业科学研究所, 五家渠)

王志民 李维琪 尼 沙

(中国科学院新疆分院化学研究所, 乌鲁木齐)

李国英 余俊杰

(新疆石河子农学院, 石河子)

在新疆五家渠奇台黑芒、奇春四号小麦品种的幼苗上观察到第1—2叶片有花叶和枯斑病状, 用病叶汁液接种麦苗后发病。将表面经消毒和不经消毒的病株种子分别播种在灭菌的土壤中, 在防虫条件下, 发病率分别为54%, 57%。在电子显微镜下都观察到杆状病毒颗粒。病毒传播方式和形态都与国外报道的大麦条纹花叶病毒相似。

一、病 状

麦苗接种汁液后, 6—7天发病, 首先在小麦心叶基部出现条纹, 叶背面较为明显, 病状向叶尖扩展。在新冬2号和奇春四号为深绿和浅绿相间的条纹, 在奇台黑芒上为黄绿相间的条纹。气温在15—25℃发病较好。

感病植株一般出现不同程度的矮化, 叶片不皱缩, 分蘖减少, 籽粒空秕, 千粒重降低30—60%, 单穗重降低30—70%。

二、病毒的体外抗性

将病株汁液分装在小试管(口径7毫米)内, 分别在50、55、60、65、70℃恒温水浴中加热10分钟, 分别贮存不同的天数, 再稀释成不同的倍数后, 接种在1—3叶期麦苗上, 每个处理15株小麦, 重复3次, 观察30—40天。

试验结果表明, 病毒的致死温度为60—65℃, 体外存活期为3—4天, 稀释终点1:3000—1:5000倍。

三、寄 主 范 围

病毒繁殖在小麦上, 供试验的寄主培育在防

虫温室内, 在1—3叶期每种寄主接种20株。结果表明, 该病毒可侵染大麦、小麦、玉米、糜子, 但在旱稗、高粱、黑麦草、普通烟、心叶烟、灰菜、菠菜上从未表现病状。

四、传 染 方 式

1. 土壤传染试验

病土传染: 将汁液接种后发病的12株小麦连根拔除, 再播种无病麦粒。

病株残体传染: 病株连根拔出, 用水冲洗干净, 剪碎, 混入灭菌土壤中, 拌匀后播种无病毒麦粒。

以上两种处理, 分别在25—28℃、16—24℃及15℃以下的气温观察60—80天, 重复3次。试验结果, 均未见发病。

2. 昆虫传染试验

将饲毒15天的条沙叶蝉和饲毒5天的灰飞虱各75头, 分别移入装有15株1—3叶期的健康小麦的防虫笼(50×50×60厘米)内, 前者接毒15天, 后者接毒5天, 重复2次。

将在病株上饲养24小时的麦二叉蚜, 接种到1—3叶期的健康小麦上, 每株5—10头, 共45株。

试验结果, 以上三种昆虫均不传病。

五、病毒颗粒形态

病叶汁液经聚乙二醇沉淀, 高速、低速离心,

本文于1979年5月8日收到。

* 承中国科学院微生物研究所周家炽先生、田波同志修稿, 特此致谢。

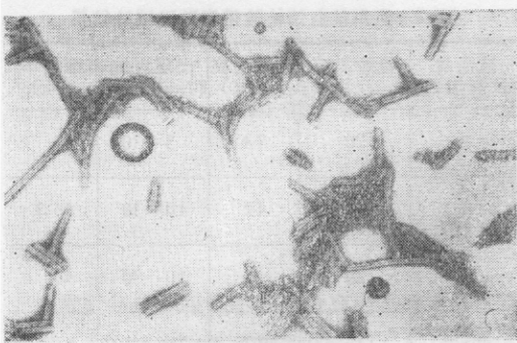


图 1 提纯后的病毒颗粒 (44,800×)

磷钨酸染色，电子显微镜观察到杆状颗粒的大小平均为 20×115 毫微米(统计 1000 个)，高峰值为 20×125 毫微米(图 1、2)。用浸出法统计 300 个颗粒，大小平均为 20×129 毫微米，高峰值为 20×135 毫微米。

六、血清反应

病毒在小麦上繁殖后,用下列方法提取抗原。

1. 聚乙二醇沉淀

取冰冻麦叶 100 克,加 100 毫升 pH7 的 0.03

M 磷酸缓冲液捣碎,经三层纱布过滤,滤液加 20% 的氯仿,振摇 20 分钟,经 4000 转/分钟离心 30 分钟。上清液加入 6% 聚乙二醇(分子量 12,000)及 3% 的氯化钠,充分搅拌至溶解为止。置 2—3℃ 24 小时,经 4000 转/分钟离心 30 分钟,沉淀物用 20 毫升生理盐水溶解,再经 3000 转/分钟离心 15 分钟,上清液再加入 6% 聚乙二醇及 3% 的氯化钠,重复以上过程后,取上清液,供免疫用。

2. 乙醇沉淀

病株汁液加 1/2 量(体积)的 95% 酒精,2 小时后低速离心 15 分钟(2500 转/分钟),取上清液,加入 2 倍量(体积)的 95% 酒精,搅拌 1 小时,静置 24 小时,3000 转/分钟离心 20 分钟,沉淀物加 pH7 的 0.03M 磷酸缓冲液溶解,3000 转/分钟离心 15 分钟,取上清液供免疫用。

选用体重 2 公斤左右的家兔进行耳静脉注射,全程 5 次,每次剂量为 2 毫升,隔日一次,在最后一次注射后第 9 天取血,制备血清,用试管反应法和玻片反应法测定抗体效价。

试验结果表明,用乙醇沉淀法提取的病毒注射家兔,不能形成抗体。而用聚乙二醇沉淀法提

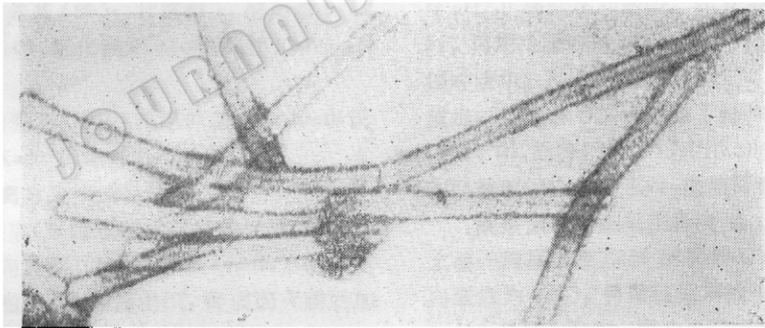


图 2 病毒在 VAC 负染中呈现出亚基螺旋,间距 = 23 Å(193,200×)

表 1 大麦条纹花叶病毒抗血清反应

反 应 抗 原	抗 血 清 稀 释 倍 数							
	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512
大麦条纹花叶病毒(自玉米)	++++	+++	+++	++	+	+	—	—
大麦条纹花叶病毒(自小麦)	++++	+++	+++	++	+	+	—	—
对照(健康玉米)	—	—	—	—	—	—	—	—
对照(健康小麦)	—	—	—	—	—	—	—	—

注:“++++”反应快,沉淀量多,上层液透明;“+++”反应快,沉淀量稍少,上层液基本透明;“++”反应较慢,沉淀量少,上层液较混浊;“+”反应慢,上层液混浊,沉淀量少或无沉淀;“—”无反应。

取的病毒,在家兔体内可以形成相应的抗体,效价为 128 倍,抗血清能与病叶汁液起反应,而不与健叶汁液起反应(表 1)。

由于该病毒的初侵染来源主要是病株种子,因此,淘汰带毒种子是预防病害的重要环节。我们初步探讨了应用抗血清检验带毒种子的技术问题。先将抗血清稀释成 2、4、8 倍,分别滴在载玻片上,每块玻片三滴,将浸泡 24 小时的种子的种胚取出,用镊子压碎,置于血清中,每滴一胚,然后置培养皿内保湿,在 37℃ 下观察沉淀出现的时间。以直接播种病籽,观察病状作对照。试验结果表明,应用抗血清玻片反应可以检验出带毒的种子,但抗血清稀释倍数不同,检出的效果也不一致(表 2)。

从新疆小麦上所分离的病毒,在形态、传播方式、体外抗性、寄主范围和症状特点等方面,都与国外报道的大麦条纹花叶病毒基本相同^[1]。

目前,该病仅发生在原始材料圃的少数品种

表 2 应用抗血清检验带毒种子试验结果

抗血清 稀释倍数	检查麦粒 数(粒)	带毒麦粒 数(粒)	出现沉淀 时间(分钟)	带毒率 (%)
2	20	13	5—30	65
4	26	12	10—30	46.1
8	20	8	10—30	40
对照(播种 观察病状)	134	72		53.7

上,大田的情况尚待调查研究。

参 考 文 献

- [1] Smith, K. M.: A Textbook of Plant Virus Diseases, Third edition, Little, Brown and Company, Boston, 1972, p. 52—55.