①31-34

第28卷 第2期
2000年4月西北农业大学学报
Acta Univ. Agric. Boreali-occidentalisVol. 28 No. 2
Apr. 2000

[文章编号]1000-3782(2000)02-0031-04

陕西省玉米矮花叶病毒原的检测

高文臣¹, 魏宁生²

(1 北京师范大学生命科学学院, 北京 100875)

(2 西北农林科技大学植物保护系, 陕西杨陵 712100)

S435.131.4

S432.41

[摘要] 采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定了采自陕西省杨陵、武功、大荔、太白等地的玉米品种及玉米自交系毒原标样共 58 份, 结果表明, 毒原均为 SCMV-MDB。

[关键词] 玉米矮花叶病; 植物病毒; 毒原检测; ELISA. 抗病育种. 病毒病

[中图分类号] S432.41 [文献标识码] A

玉米矮花叶病(Maize dwarf mosaic, MDM)首先发现于美国的俄亥俄州, 现已成为世界性的玉米病害^[1,2]。我国玉米矮花叶病于 1968 年在河南省新乡、安阳首次被发现, 目前在我国的 18 个省(市)已有分布, 而且危害十分严重。引起玉米矮花叶病的病毒及株系很多^[3,4], 我国已报道的毒原有 MDMV-B, SCMV, 白草花叶病毒(FPMV)和 MDMV-G^[5~8]。本研究对陕西省具有矮花叶症状的玉米品种及玉米自交系毒原标样进行了检测, 旨在确定陕西省玉米矮花叶病的毒原种类, 以便为抗病育种提供依据。

1 材料和方法

1.1 毒原标样

从陕西省杨陵、武功、大荔及太白等地玉米田间采集具有典型矮花叶症状的玉米品种及玉米自交系叶片共 58 份, 其中玉米品种毒原 36 份, 玉米自交系毒原 22 份, 每份标样附以标签(注明采集地点、日期及寄主), 分别存放, 并于当日磨擦接种于防虫温室内 3 叶 1 心的天玉 1 号玉米上, 3 d 后观察记录发病情况, 发病 10 d 后采收病叶, 分别保存在 -60℃ 低温冰柜中备用。

1.2 酶标抗体

SAR-IgG-HRP 为华美生物工程公司产品。

1.3 抗血清

SCMV-MDB 抗血清由美国伊利诺斯大学的 Richard E. Ford 教授惠赠。

1.4 ELISA 检测

试验采用间接 ELISA 法进行检测。称取病叶各 1 g, 分别加入 5 mL 包被缓冲液 (0.05 mol · L⁻¹ pH 9.5 的碳酸盐缓冲液)于灭菌的研钵中研磨, 离心后用包被缓冲液稀释其上清液, 其中玉米自交系稀释为 20, 40, 80 和 160 倍, 玉米品种稀释为 20 和 60 倍, 分别加入 96 孔反应板孔穴内, 每孔 150 μL, 同时设阳性对照(提纯的 SCMV-MDB)、阴性

[收稿日期] 1999-02-04

[作者简介] 高文臣(1963-), 男, 讲师, 博士

对照(健康玉米汁液)和空白对照(包被缓冲液)。反应板置于 4℃ 冰箱过夜,次日倒出样品液,用冲洗缓冲液(0.01 mol · L⁻¹ pH 7.4 的 PBS,内含质量分数 0.05% Tween-20-PBST)冲洗 3 次,每次 3 min。每孔加入 200 μL 封闭液(含质量分数 1% BSA 的 PBST),置 37℃ 恒温箱内 1 h,倾去孔内封闭液,同样方法冲洗 3 次。每孔加入 150 μL 200 倍 SCMV-MDB 兔抗血清(用 PBST 稀释),37℃ 孵育 2 h,再洗 3 次,每孔加入 150 μL PBST 稀释 2 500 倍的辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG (SAR-IgG-HRP),37℃ 孵育 2 h, PBST 冲洗 3 次,蒸馏水洗 2 次,除净孔内水分,每孔加入邻苯二胺(OPD)底物溶液 150 μL,反应 5~10 min,加 2 mol · L⁻¹ H₂SO₄ 终止反应,用 DG3022A 型酶联免疫测定仪测定波长 490 nm 时各孔的吸光值(A),当 $A_P/A_N \geq 2.0$ 时为阳性, $A_P/A_N < 2.0$ 时为阴性。

2 结果与分析

ELISA 法测定陕西省玉米品种及玉米自交系带毒情况分别见表 1,2。

表 1 玉米品种带毒情况的 ELISA 测定值

品 种	稀释倍数		品 种	稀释倍数		品 种	稀释倍数	
	20	60		20	60		20	60
杨陵玉米 1	1.15	0.98	武功玉米 6	0.78	0.65	武功玉米 19	0.67	0.63
杨陵玉米 2	1.54	1.50	武功玉米 7	0.97	0.93	武功玉米 20	1.20	1.19
杨陵玉米 3	1.29	1.05	武功玉米 8	1.41	1.31	武功玉米 21	1.05	0.83
杨陵玉米 4	1.01	1.00	武功玉米 9	1.30	1.25	西农玉米 1	1.30	1.17
杨陵玉米 5	1.52	1.40	武功玉米 10	0.69	0.58	西农玉米 2	1.37	1.07
杨陵玉米 6	1.64	0.93	武功玉米 11	1.58	1.21	西农玉米 3	1.22	1.35
杨陵玉米 7	1.28	1.13	武功玉米 12	0.81	0.70	西农玉米 4	1.06	0.99
杨陵玉米 8	0.91	0.72	武功玉米 13	1.25	1.09	大荔玉米 1	1.42	1.44
武功玉米 1	1.24	1.27	武功玉米 14	0.47	0.41	大荔玉米 2	1.50	1.47
武功玉米 2	1.24	1.27	武功玉米 15	0.93	0.80	太白玉米	1.54	1.54
武功玉米 3	1.11	0.68	武功玉米 16	0.62	0.72	阴性对照	0.20	
武功玉米 4	0.76	0.75	武功玉米 17	1.13	1.00	阳性对照	1.37	
武功玉米 5	1.20	0.99	武功玉米 18	1.40	1.17			

表 2 玉米自交系带毒情况的 ELISA 测定值

序号	稀释倍数				序号	稀释倍数			
	20	40	80	160		20	40	80	160
1	1.50	1.39	1.30	1.04	13	1.26	1.16	0.85	0.68
2	1.06	0.90	0.70	0.53	14	1.03	0.84	0.81	0.81
3	1.52	1.42	1.26	1.20	15	1.05	1.02	0.92	0.89
4	1.45	1.18	1.10	0.88	16	1.27	0.93	1.07	0.43
5	1.28	0.92	0.89	0.83	17	1.29	0.93	0.79	0.69
6	1.20	0.96	1.13	0.70	18	1.11	0.96	0.84	0.73
7	1.14	1.03	0.96	0.76	19	1.15	0.87	0.90	0.72
8	1.17	1.16	1.05	0.99	20	0.84	0.62	0.50	0.46
9	1.00	0.91	0.71	0.53	21	1.35	1.35	1.19	1.11
10	1.33	1.26	0.81	0.69	22	1.43	1.24	1.24	0.92
11	1.14	0.82	0.80	0.84	阴性对照	0.18			
12	0.99	1.05	0.76	0.70	阳性对照	1.39			

由表 1 及表 2 知,ELISA 测定的玉米品种和玉米自交系毒原标样均为阳性,说明陕

西省杨陵、武功、大荔和太白等地的玉米品种及玉米自交系的矮花叶病均由 SCMV-MDB 引起。

3 讨 论

玉米病毒病种类很多,在我国以玉米为主要寄主或人工接种能够侵染玉米的病毒病有 12 种,陕西省已报道的有 3 种^[9~11],其中玉米矮花叶病毒和玉米粗缩病毒分布最广,危害最为严重。关于玉米矮花叶病的毒原问题,史春霖等^[5]对京郊玉米及高粱上的毒原鉴定为玉米矮花叶病毒 B 株系(MDMV-B);杨士华等^[12]将山西省玉米花叶条纹病的毒原诊断为玉米矮花叶病毒;邓汀钦^[13]鉴定台湾玉米矮花叶病毒为 B 株系(MDMV-B);朱福成等^[7]对采自甘肃、陕西、山西、山东、四川、广西、浙江和北京等 8 省市的玉米毒原鉴定为 MDMV-B,SCMV 和 FPMV,其中陕西省 18 个玉米标样毒原均为 MDMV-B;石银鹿等^[8]鉴定山西省引起玉米矮花叶病的白草分离物为玉米矮花叶病毒 G 株系;杨家秀等^[6]鉴定四川省玉米矮花叶的毒原为 SCMV 和 MDMV-B。从地域分布上看,SCMV 只分布于我国南方,FPMV(或 MDMV-G)只分布于北方,而 MDMV-B 南北方均有。作者测定了陕西省玉米矮花叶 58 个毒原标样,磨擦接种天玉 1 号玉米后均产生典型花叶症状,ELISA 检测时都与美国的 SCMV-MDB 抗血清呈阳性反应,其值随稀释倍数的增加而变小。鉴别寄主天玉 1 号上的典型症状反应表明并没有其他病毒的混合侵染,ELISA 阳性反应结果表明陕西省玉米矮花叶毒原是 SCMV-MDB,其结果与朱福成等^[7]对陕西省毒原鉴定结论一致。由于作者采集毒原的数量及地域有限,陕西省是否存在有引起玉米矮花叶病的其他病毒及株系,仍需进一步研究。

[参考文献]

- [1] Mikel M A, D'arcy C J, Rhodes A M, et al. Yield response of sweet corn to maize dwarf mosaic virus[J]. Plant Disease, 1981, 65(11): 900~901.
- [2] Scott G E, Darrah L L, Wallin J R, et al. Yield losses caused by maize dwarf mosaic virus in maize[J]. Crop Science, 1988, 28(4): 691~694.
- [3] Louie K, Knoke J K. Strains of maize dwarf mosaic virus[J]. Plant Disease Reporter, 1975, 59(6): 518~522.
- [4] McDaniel L L, Gordon D T. Identification of a new strain of maize dwarf mosaic virus[J]. Plant Disease, 1985, 69(7): 602~607.
- [5] 史春霖,徐绍华.北京玉米和高粱上的玉米矮花叶病毒[J].植物病理学报,1979,9(1):35~40.
- [6] 杨家秀,李 晓,杨晓蓉,等.四川玉米矮花叶病毒株系及分布研究[J].四川农业大学学报,1993,11(4):574~578.
- [7] 朱福成,陈雨天,蔡永宁,等.玉米矮花叶病毒株系和相关病毒侵染玉米的分离鉴定[J].甘肃农业科技,1986,(12):24~27.
- [8] 石银鹿,张 琦,王富荣,等.玉米矮花叶病毒的株系鉴定[J].植物病理学报,1986,16(2):99~104.
- [9] 安德荣,魏宁生,慕小倩,等.玉米矮花叶病毒原鉴定和受侵叶片的超微结构[J].西北农业大学学报,1992,20(2):67~72.
- [10] 陈志杰,张淑莲,张美荣,等.陕西省玉米病毒病发生调查简报[J].植物保护,1995,21(2):14~15.
- [11] 张秦凤,赵玉侠,杨 英,等.玉米感染小麦黄矮病(BYDV)初步研究[J].中国病毒学,1992,7(2):192~196.
- [12] 杨士华,杨伦伦,张 琦,等.玉米矮花叶病研究初报[A].中国植物病理学会 1981 年会论文摘要集[C],1982.

147~148.

[13] 邓汀钦. 玉米矮化嵌纹病毒 B 型系统之鉴定与抗病检定[J]. 中华农业研究, 1985, 34(2): 195~206.

Detection of maize dwarf mosaic pathogenicity in Shaanxi Province

GAO Wen-chen¹, WEI Ning-sheng²

(1 College of Life Science, Beijing Normal University, Beijing 100875, China)

(2 Department of Plant Protection, Northwest Science and Technology University of
Agriculture and Forestry, Yongling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: ELISA was used to detect the fifty-eight virus samples of maize cultivars and maize inbred lines which came from Yangling, Wugong, Dali and Taibai counties in Shaanxi Province and the result indicated that the virus causing maize dwarf mosaic disease was sugarcane mosaic virus MDB strain.

Key words: maize dwarf mosaic disease; plant virus; detection of plant virus

· 简 讯 ·

复配农药新品种 32% 辛硫·异丙乳油研制成功

由西北农林科技大学无公害农药研究服务中心和西安硫酸厂合作进行的“高效棉铃虫防治剂研究”课题,日前通过陕西省石化局和省教委组织的成果鉴定,复配农药新品种“32% 辛硫·异丙乳油”随之问世。

西北农林科技大学无公害农药研究服务中心从 1990 年开始陕西棉花害虫的抗药性监测及治理研究,先后研究出 30% 胺·西·氯氰乳油等混配药剂。在此基础上,科研人员在前期对棉铃虫等害虫抗药性系统监测和大量生物活性测试的基础上,选定害虫敏感的杀虫剂异丙威,与杀虫机制不同的杀虫剂辛硫磷以科学方法混配,经过 2 年多努力,终于研制出复配农药新品种 32% 辛硫·异丙乳油。

室内、室外药剂试验研究表明,32% 辛硫·异丙乳油对抗性棉铃虫、棉蚜、桃蚜及小菜蛾等主要作物害虫均有良好防效,且毒性低,是一种广谱杀虫剂。该药剂不但适用于棉铃虫、棉蚜等抗性害虫,对蔬菜、果树、烟草及其他多种农作物害虫也可使用。

由于 32% 辛硫·异丙乳油低毒,对人畜、环境危害小,因而符合“高效、低毒、经济、安全”的发展方向,具有广阔的市场开发前景。

(温晓平 收稿)