

大豆花叶病毒引发大豆症状类型的研究

张 镨^{1,2}, 任 锐¹, 王 宇², 李 凯¹, 仲勇坤¹, 高 乐¹, 宋普文¹, 智海剑¹

(1. 南京农业大学 国家大豆改良中心/作物遗传与种质创新国家重点实验室, 江苏 南京 210095; 2. 河北科技师范学院, 河北 秦皇岛 066000)

摘要:为明确大豆花叶病毒侵染大豆后引发病状的不同类型及比例,对726个大豆品种接种SMV弱毒株系SC3和强毒株系SC7后引发病状进行了调查。结果显示:SC3可系统侵染726个供试大豆品种中的643个,有313个表现花叶和坏死混合症状,275个表现花叶症状,57个表现坏死症状。在坏死症状中,有154个表现为枯斑坏死症状,156个表现叶脉坏死症状,60个表现叶脉和枯斑混合坏死症状;SC7可系统侵染726个供试大豆品种中的607个,有359个表现花叶和坏死混合症状,203个表现花叶症状,45个表现坏死症状。在坏死症状中,有167个表现为枯斑坏死症状,152个表现叶脉坏死症状,70个表现叶脉和枯斑混合坏死症状,15个表现顶端坏死症状。结果说明SMV引发的症状以花叶和坏死混合症状为主,花叶症状次之,坏死症状最少;而坏死症状多以单独类型出现,混合坏死症状出现比例较低,顶端坏死出现比例最低。

关键词:大豆花叶病毒;症状;大豆

中图分类号:S565.1

文献标识码:A

DOI:10.11861/j.issn.1000-9841.2015.06.1011

The Symptoms Types in Soybean Leaves Caused by Soybean Mosaic Virus

ZHANG Kai^{1,2}, REN Rui¹, WANG Yu², LI Kai¹, ZHONG Yong-kun¹, GAO Le¹, SONG Pu-wen¹, ZHI Hai-jian¹

(1. National Center for Soybean Improvement of Nanjing Agricultural University/National Key Laboratory for Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing 210095, China; 2. Hebei Normal University of Science and Technology, Qinhuangdao 066000, China)

Abstract: We investigated the symptoms on 726 soybean varieties leaves inoculated by soybean mosaic virus (SMV) strains SC3 and SC7 to determine the different types and proportions of the symptoms on soybean leaves infected by SMV. SC3 systematic infected 643 out of 726 soybean varieties, among these, 313 showed mosaic and necrotic mixing symptoms, 272 showed mosaic and 57 showed necrosis. In the necrosis, there were 154 spots necrosis, 156 vein necrosis and 60 vein and spots necrotic mixing symptoms. SC7 systematic infected 607 out of 726 soybean varieties, among these, 359 showed mosaic and necrotic mixing symptoms, 203 showed mosaic and 45 showed necrosis. In the necrosis, there were 167 spots necrosis, 152 vein necrosis, 79 vein and spots necrotic mixing symptoms and 15 dieback necrosis. The results showed that the primary symptom caused by SMV was mosaic and necrotic mixing symptoms, followed by mosaic, and the ratio of necrosis was the lowest; the necrotic symptoms usually showed as spots necrosis or vein necrosis, followed by vein and spots necrotic mixing symptoms, the ratio of dieback necrosis was the lowest.

Keywords: Soybean; Soybean mosaic virus; Symptoms

大豆花叶病毒(SMV)系统侵染常引发大豆表现花叶或坏死症状^[1-2]。花叶症状的叶片常表现褪绿发黄,斑驳或皱缩;坏死症状的叶片常表现枯斑坏死,叶脉坏死或顶端坏死。其中,枯斑坏死呈圆形或近圆形,褐色或深褐色,大小、数量和颜色均与SMV株系、大豆品种和环境条件有关;叶脉坏死是叶片主脉或支脉处细胞死亡产生的坏死,坏死的叶脉呈黑色,在叶片背面观察尤为明显,其坏死长度和面积也受SMV株系、大豆品种和环境条件影响;顶端坏死是坏死症状较严重的一种,表现为顶端分生组织的死亡进而造成植株严重矮化、不分枝、结荚少、贪青,产量损失在50%以上^[3]。

对于SMV引发的坏死症状的抗感归属问题,国内外学者持不同意见。国外学者认为坏死症状属于超敏反应(HR)而将其归入抗病反应^[4-5],而国内学者一般因为其对大豆产量的影响较花叶更为严重而将其归为感病^[6-7]。智海剑等^[8]提出只在接种叶出现坏死症状而上位叶正常的属于抗病反应,如果SMV可以系统侵染,上位叶也出现坏死症状甚至芽枯、顶枯等则属于感病症状。

当前,对SMV引发大豆症状的类型,尤其是坏死症状的类型还缺少系统的研究和调查,制约了人们对SMV的深入了解。本研究对2013~2014年来自全国不同地区的726个大豆品种接种致病力不同

收稿日期:2015-03-15

基金项目:国家自然科学基金(31171574,31371646);国家现代农业产业技术体系(CARS-004);转基因专项(2008ZX08004-004);河北省高校科学技术研究项目(QN2015097);河北科技师范学院博士启动基金;江苏省现代作物生产协同创新中心项目。

第一作者简介:张镨(1987-),男,博士,主要从事大豆抗病遗传育种研究。E-mail:13373350779@163.com。

通讯作者:智海剑(1957-),男,教授,博导,主要从事大豆抗病遗传育种研究。E-mail:zhj@njau.edu.cn。

的 SMV 株系 SC3 和 SC7 后引发的症状进行调查,其中 SC3 是黄淮海和长江流域大豆产区的弱毒优势株系,SC7 是黄淮海、长江流域以及北方春大豆产区的强毒优势株系,重点研究了坏死症状的类型和病级,为深入了解 SMV 的坏死症状打下了基础。

1 材料与方法

1.1 供试大豆品种

来自全国 726 份新育成大豆品种,由南京农业大学国家大豆改良中心提供。

1.2 供试 SMV 株系

选取国内大豆产区主要 SMV 流行株系 SC3 和 SC7,其中 SC3 是黄淮海和长江流域大豆产区的弱毒优势株系,SC7 是黄淮海、长江流域以及北方春大豆产区的强毒优势株系^[9]。

1.3 接种方法

供试品种种植于南京农业大学牌楼试验站。接种前将 SMV 株系 SC3、SC7 的毒源接种于感病品种南农 1138-2 上,接种时取发病严重植株的上位叶在磷酸缓冲液 (pH7.4) 中研磨成匀浆,以保证所接种病毒的活力。

接种在第一对真叶完全展开时进行,采用人工摩擦接种,以南农 1138-2 为感病对照品种,以检测接种操作和环境条件是否适合感病品种充分发病。防虫网室定期喷药杀灭蚜虫,以防止蚜虫对 SMV 的传播而造成不同株系之间的交叉感染。

1.4 症状调查

于 V3 期对 SMV 接种后的大豆各品种接种叶和上位叶症状进行调查。SMV 引发的症状分为花叶症状和坏死症状,重点研究了坏死症状的类型和病级。

1.4.1 坏死症状类型 坏死症状按其在侵染植株上位叶上引发病状类型分为枯斑坏死,叶脉坏死和顶端坏死,一个叶片上同时出现枯斑坏死和叶脉坏死时则记录为混合坏死症状。

(1) 枯斑坏死:枯斑坏死呈圆形或近圆形,深褐色或褐色,并按其大小和数量的不同划为不同的病级(图 1 左)。

(2) 叶脉坏死:叶片主脉或支脉处处细胞死亡造成叶脉发黑,在叶片背面尤为明显,根据叶脉坏死的长度和面积划为不同的病级(图 1 右)。

1.4.2 症状分级 坏死症状的分级根据 Zhi 等^[10]的方法分为 5 级,依次为:

0 级:上位叶无症状,对病毒侵染表现免疫;

1 级:部分叶片有坏死斑出现,直径较小;

2 级:坏死斑直径在 5 mm 以下,叶脉坏死较小;

3 级:坏死斑连片或坏死叶脉长度在 20 mm 以上;

4 级:叶片因坏死脱落,或坏死面积超过叶片总面积 50%,或出现顶枯,不能继续生长。

调查时有部分症状位于两种病级之间,如位于 1 级和 2 级之间,则记录为 1~2 级。



图 1 SMV 引发的枯斑坏死(左)和叶脉坏死(右)

Fig. 1 The necrotic spots (left) and vein necrosis (right) caused by SMV

2 结果与分析

2.1 SMV 在大豆上的侵染类型

SMV 弱毒株系 SC3 可系统侵染 726 个供试大豆品种中的 643 个,40 个只在接种叶引发病状而上位叶无症状(局部侵染),43 个在接种叶和上位叶都无症状;强度株系 SC7 可系统侵染 726 个供试大豆品种中的 607 个,60 个表现局部侵染,59 个在接种叶和上位叶都无症状(图 2)。

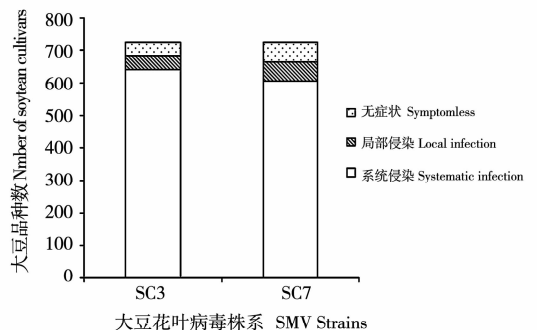
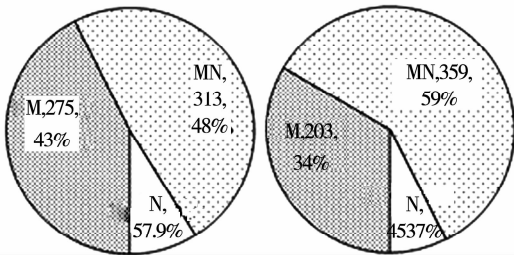


图 2 大豆花叶病毒侵染后表现系统侵染、局部侵染和无症状的大豆品种数

Fig. 2 The number of soybean cultivars of systemic infection, local infection and symptomless after SMV infection

2.2 SMV 引发的症状类型

SMV 的系统侵染可引发花叶症状和/或坏死症状,两种症状可单独或混合出现。弱毒株系系统侵染后有 313 个表现花叶和坏死混合症状,275 个表现花叶症状,57 个表现坏死症状;强毒株系系统侵染后有 359 个表现花叶和坏死混合症状,203 个表现花叶症状,45 个表现坏死症状(图 3)。



M: 花叶症状; N: 坏死症状; MN: 花叶和坏死混合症状。
M: Mosaic; N: Necrosis; MN: Mosaic + necrosis.

图3 弱毒株系(左)和强毒株系(右)系统侵染引发的症状及数量

Fig. 3 The number and proportion of symptoms after SC3 (left) and SC7 (right) infection

2.3 SMV 引发坏死症状的类型

SMV 引发的坏死症状分为枯斑坏死、叶脉坏死和顶端坏死,各种症状可单独或混合出现。弱毒株系 SC3 侵染植株后引发的坏死症状中(坏死症状和花叶坏死混合症状)有 154 个表现为枯斑坏死症状,有 156 个表现叶脉坏死症状,60 个表现叶脉坏死和枯斑坏死混合症状,没有顶端坏死症状产生;强毒株系 SC7 侵染后有 167 个表现为枯斑坏死症状,有 152 个表现叶脉坏死症状,70 个表现叶脉坏死和枯斑坏死混合症状,15 个表现顶端坏死症状(图 4)。

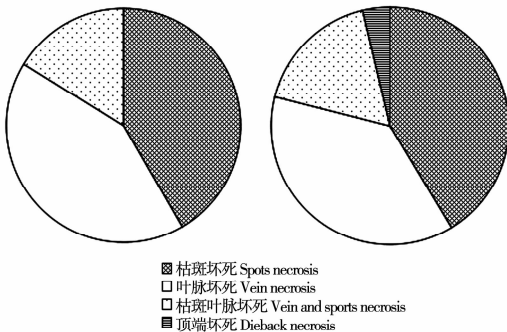


图4 SC3(左)和SC7(右)引发的坏死症状的类型及比例

Fig. 4 The types and proportion of necrotic symptoms after infection of SC3 (left) and SC7 (right) strains

2.4 SMV 坏死症状的病级

弱毒株系引发的枯斑坏死症状的平均病级为 1.83,叶脉坏死症状的平均病级为 2.20,叶脉坏死和枯斑坏死混合症状的平均病级为 2.14,叶脉坏死症状病级最高,枯斑坏死症状病级最低;强毒株系引发的枯斑坏死症状的平均病级为 1.91,叶脉坏死症状的平均病级为 2.16,叶脉坏死和枯斑坏死混合症状的平均病级为 2.82,顶端坏死症状的平均病级为 4.00,顶端坏死症状病级最高,枯斑坏死症状病级最低(图 5)。

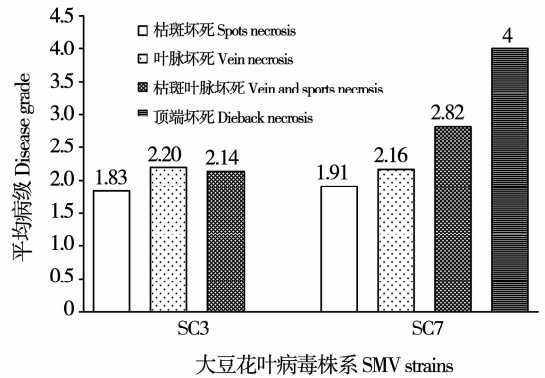


图5 SMV 弱毒株系 SC3(左)和强毒株系 SC7(右)侵染大豆后产生坏死症状的病级

Fig. 5 Disease grade of necrotic symptoms caused by SC3 (left) and SC7 (right) strains

3 讨论

本研究对来自全国不同地区的 726 个大豆品种(系)接种弱毒株系 SC3 和强毒株系 SC7 后引发的症状进行了调查。结果显示,弱毒株系 SC3 可以系统侵染 726 份材料中的 643 份,而强毒株系 SC7 可以系统侵染 726 份材料中的 607 份。弱毒株系可侵染的材料比强毒株系多,这与王大刚等^[11]在 2013 年的研究结果一致,他们对 300 个大豆品种进行抗 SMV 流行株系 SC3 和 SC7 的鉴定,结果表明 SC3 可系统侵染的品种数占总数的 72%,SC7 可系统侵染的品种数占总数的 65%。但杨华等^[12]和王大刚等^[13]的研究均发现对弱毒株系表现抗病的品种(系)数明显多于对强毒株系表现抗病的品种(系)数。这可能是由于本试验中大豆品种数量少,所得结果不能反映真实情况,也有可能是由于近些年新品种(系)选育加强了针对 SC7 的抗性筛选。

关于 SMV 侵染大豆后的症状研究报道较少,本试验表明,SMV 系统侵染后的症状以花叶和坏死混合症状最多,花叶症状次之,坏死症状最少。现在一般认为坏死症状是植株细胞中的 R 基因特异识别病毒中的无毒基因(*avr* 基因)所引发的 HR 导致的细胞死亡所致。只产生坏死症状的材料中可能含有对应的 R 基因,这与含有 N 基因的烟草受 TMV 侵染后引发的系统性坏死症状情况相似^[14]。产生花叶和坏死混合症状的原因还不清楚,需要进一步的研究。

本试验首次对 SMV 侵染大豆后引发的坏死症状进行了分类,并对不同类型的坏死症状的病级进行了调查。坏死症状分为枯斑坏死,叶脉坏死和顶端坏死,在调查中发现 3 种症状有单独或混合出现的现象。在弱毒株系引发的坏死症状中,枯斑坏死、叶脉坏死最多,枯斑坏死和叶脉坏死混合症状

较少,没有出现顶端坏死症状;强毒株系坏死症状类型与弱毒株系相似,但有15个品种表现顶端坏死症状。本研究表明,SMV引发的坏死症状以单一症状类型出现较多,混合症状出现相对较少,顶端坏死最少,只在受强毒株系感染后才能产生,这可能是长期品种选育的结果,因为顶端坏死对大豆植株造成的影响最大,对产量的损失在50%以上甚至绝产,在选育新品种时应尽量避免这种症状的产生。

在坏死症状的病级方面,强毒株系坏死症状各个类型的平均病级均比弱毒株系高。枯斑坏死病级最低,而叶脉坏死病级较高。目前关于病毒引发的叶脉坏死症状研究最多的是马铃薯Y病毒(PVY)的烟草叶脉坏死型(PVYN)感染烟草引发的叶脉坏死。吴元华等^[15]对PVYN感染烟草后引发的叶脉坏死的研究发现,叶脉坏死可能与叶片中的酚类物质和类黄酮的含量增加有关,王芳^[16]指出导致烟草叶脉坏死症状的相关核苷酸序列位于病毒基因组5 540~6 491 nt。SMV感染后引发的叶脉坏死症状可能与病毒侵入叶脉造成叶脉细胞死亡有关,但是其产生的内部原因以及与花叶症状的区别还有待进一步研究。

参考文献

- [1] 廖林,马淑时,张志权,等. 初析大豆花叶病若干症状类型生理、生化性状变化[J]. 植物病理学报,1992, 3(22): 81-85. (Liao L, Ma S S, Zhang Z Q, et al. Preliminary analysis on changes of physicochemical properties of several symptoms in soybean plants infected by SMV[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 1992, 3(22): 81-85.)
- [2] 廖林,王金陵,吴忠璞,等. 大豆花叶病(SMV)症状与大豆品种、病毒毒株及环境条件关系的研究[J]. 大豆科学,1990, 9(2): 149-156. (Liao L, Wang J L, Wu Z P, et al. Studies on the relationship of symptoms of soybean mosaic virus (SMV) disease with soybean varieties, SMV isolation and environmental conditions[J]. Soybean Science, 1990, 9(2): 149-156.)
- [3] 张明厚,吕文清,钟兆西. 大豆病毒病的类型及其病原鉴定[J]. 植物病理学报,1980, 10(2): 113-118. (Zhang M H, Lyu W Q, Zhong Z X. Types and identification of the pathogen of soybean virus diseases [J]. Acta Phytopathologica Sinica, 1980, 10(2): 113-118.)
- [4] Morel J B, Dangl J L. The hypersensitive response and the induction of cell death in plants [J]. Cell Death and Differentiation, 1997, 4(8): 671-683.
- [5] Bowers G, Paschal E H, Bernard R L, et al. Inheritance of resistance to soybean mosaic virus in 'Buffalo' and HLS soybean[J]. Crop Science, 1992, 32(1): 67-72.
- [6] Kwon S H, Oh J H. Resistance to a necrotic strain of soybean mo-

- saic virus in soybean [J]. Crop Science, 1980, 20(3): 403-404.
- [7] 廖林,刘玉芝,孙大敏,等. 大豆花叶病引起的大豆顶端坏死症[J]. 作物学报,1995,21(6):707-710. (Liao L, Liu Y Z, Sun D M, et al. Top necrosis symptom of soybean plants infected by soybean mosaic virus (SMV)[J]. Acta Agronomica Sinica, 1995, 21(6):707-710.)
- [8] 智海剑,盖钧镒. 大豆花叶病毒症状反应的遗传研究[J]. 中国农业科学,2005(5): 944-949. (Zhi H J, Gai J Y. Studies on inheritance of symptom reaction to soybean mosaic virus in soybean [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2005(5): 944-949.)
- [9] 王修强,盖钧镒,濮祖芹. 黄淮和长江中下游地区大豆花叶病毒株系鉴定与分布[J]. 大豆科学,2003, 22(2):102-107. (Wang X Q, Gai J Y, Pu Z Q. Classification and distribution of strain groups of soybean mosaic virus in middle and lower huang-huai and changjiang valleys [J]. Soybean Science, 2003, 22(2): 102-107.)
- [10] 智海剑,盖钧镒,何小红. 大豆对SMV数量(程度)抗性的分级方法研究[J]. 大豆科学,2005,24(2):5-11. (Zhi H J, Gai J Y, He X H. Study on methods of classification of quantitative resistance to soybean mosaic virus in soybean [J]. Soybean Science, 2005, 24(2): 5-11.)
- [11] 王大刚,胡国玉,黄志平,等. 大豆种质资源抗大豆花叶病毒的鉴定[J]. 作物杂志,2013(2):32-36. (Wang D G, Hu G Y, Huang Z P, et al. Identification of soybean germplasm resources resistance to soybean mosaic virus [J]. Crops, 2013(2): 32-36.)
- [12] 杨华,李凯,杨清华,等. 国内部分新品种对大豆花叶病毒抗性的鉴定[J]. 华北农学报,2008,23(S2):253-255. (Yang H, Li K, Yang Q H, et al. Evaluation of resistance to SMV of cultivars from soybean national and local regional test in 2004-2006 [J]. Acta Agricultural Boreali-Sinica, 2008, 23(S2): 253-255.)
- [13] 王大刚,卢为国,马莹,等. 新育成大豆品种对SMV和SCN抗性评价[J]. 大豆科学,2009,28(6):949-953. (Wang D G, Lu W G, Ma Y, et al. Evaluation of resistance of soybean cultivars to soybean mosaic virus and soybean Cyst Nematode [J]. Soybean Science, 2009, 28(6): 949-953.)
- [14] Whitham S, Dinesh-Kumar S P, Choi D, et al. The product of the tobacco mosaic virus resistance gene N: Similarity to toll and the interleukin-1 receptor [J]. Cell, 1994, 78(6): 1101-1115.
- [15] 吴元华,钟丽娟,赵秀香. 烟草感染PVY^N后叶脉坏死与总酚、类黄酮及PPO关系研究[J]. 植物病理学报,2007,37(4):398-402. (Wu Y H, Zhong L J, Zhao X X. Relationship among total phenol, flavonoid and PPO activity with the necrosis of tobacco infected by PVY^N[J]. Acta Phytopathologica, 2007, 37(4): 398-402)
- [16] 王芳. 烟草PVY坏死株系感染性克隆构建及致病机理研究[D]. 沈阳:沈阳农业大学,2013. (Wang F. Construction of the infectious cDNA clone of potato virus Y Liaoning isolate and studies on its pathogenic molecular mechanism [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2013.)