

介体蚜虫个体带毒 (BYDV) 免疫 电泳测试技术初步研究

张秦凤 赵玉侠 朱象三

(陕西省植物保护研究所, 杨陵 712100)

提 要

经对小麦黄矮病 (BYDV) 介体蚜虫同一带毒个体, 进行一苗一虫接种传毒后, 用免疫电泳双重测试, 室内人工饲毒蚜虫接种传毒发病与免疫电泳阳性反应完全一致, 由接种传毒发病试验证明免疫电泳测试介体蚜虫个体带毒具有可行性。这是介体蚜虫传播小麦黄矮病个体带毒快速检测技术首次获得成功。

关键词: 小麦黄矮病 介体 免疫电泳

小麦黄矮病是我国北方麦区间歇流行危害的一个主要病毒病^[1,2]。由大麦黄矮病毒 (BYDV) 所引起。传毒介体蚜虫带毒率的血清学检测, 是病害预测 预报研究急需攻克的关键性技术。Gera等1978年报道了应用ELISA检测棉蚜传播 CMV 蚜传株系的个体带毒^[3], 我们对于大麦黄矮病介体蚜虫个体带毒免疫电泳测试技术进行了研究, 并且取得初步成效。

材料及方法

介体蚜虫来源及无毒蚜繁殖 麦二岔蚜、麦长管蚜、禾谷缢蚜和玉米叶蚜采自杨陵麦田, 麦无网蚜采自太白高寒山区自生麦苗。其无毒蚜各由一头初产若蚜转接无病麦苗, 转辗接种繁殖成无毒蚜群。田间带毒蚜虫, 采自麦田病株。

无毒蚜接种 接种在毒源病株新鲜病叶上, 经取食饲毒48小时。

发病指示品种 采用岸黑燕麦。叶片色变症状特征, 呈现鲜艳紫红色。

接种传毒试验 一苗一虫微罩 (打孔塑料微湿室) 隔离接种, 经取食传毒48小时。

薄膜饲毒 用瓶口直径2.5厘米的塑料瓶, 瓶壁等距开3个贴尼龙纱的气孔, 瓶口紧糊一层拉薄的 parafilm 膜, 加病毒汁液少许, 于支撑架上重松糊一层此膜, 瓶内投入无毒蚜, 经取食获毒48小时。

小麦黄矮病毒抗血清制备 经3次注射含完全福氏佐剂的纯化病毒于家兔进行免疫。抗血清效价为1:64。

免疫电泳技术 采用略改进的孟广震报道方法^[4], 蚜虫个体置琼脂板穴内, 加微量0.1mol/L

的pH6.0的磷酸缓冲液,彻底捣烂,电泳缓冲液为0.06mol/L的pH8.5的巴比妥盐酸缓冲液,进行免疫电泳45分钟。

结 果

(一)抗血清专化性的测定

在探索调试小麦黄矮病介体蚜虫个体带毒免疫电泳测试呈现阳性反应的基础上,对小麦黄矮病抗血清专化特异性,首先进行了多次重复测定(表1),标准毒源岸黑燕麦新鲜病株和冰箱(-30℃)贮存病株汁液,免疫电泳均呈强阳性反应,而岸黑燕麦,秦

表 1. 抗血清专化免疫电泳测试

Table 1. Test of antiserum specialty by immune electrophoresis

处 理	测试标样数	带毒标样数	%	反应型
岸黑燕麦病株	30	30	100.0	+++
岸黑燕麦冰箱贮存病株	2	2	100.0	+++
岸黑燕麦无病株	9	0	0.0	-
秦麦6号小麦无病株	8	0	0.0	-
磷酸缓冲液	4	0	0.0	-

注:免疫电泳反应分级: -, 阴性反应; +, 阳性反应弱; ++, 阳性反应较弱到中等; +++, 阳性反应强

麦6号小麦无病健株汁液和磷酸缓冲液则均呈阴性反应。证明制备的小麦黄矮病毒抗血清具有专化特异性。可用于小麦黄矮病介体蚜虫个体带毒免疫电泳测试。

(二)美国 PAV 抗血清免疫电泳测试

为了检验自制抗血清进行免疫电泳测试介体蚜虫个体带毒的结果,引用美国大麦黄矮病毒禾谷缢蚜麦长管蚜株系(PAV)抗血清,对室内人工取食获毒和麦田带毒的麦二岔蚜和禾谷缢蚜有翅成蚜带毒个体,进行免疫电泳测试结果(表2),与自制抗血清进行

表 2. 美国PAV抗血清免疫电泳测试

Table 2. PAV antiserum specialty by immune electrophoresis

处 理	测试标样数	带毒标样数	%	反应型
麦田带毒麦二岔蚜有翅成蚜	16	14	87.5	± - +
麦田带毒禾谷缢蚜有翅成蚜	12	11	91.7	± - +
室内饲毒麦二岔蚜有翅成蚜	14	14	100.0	± - ++
室内饲毒禾谷缢蚜有翅成蚜	13	13	100.0	± - +
室内无毒麦二岔蚜有翅成蚜	4	0	0.0	-
室内无毒禾谷缢蚜有翅成蚜	2	0	0.0	-
岸黑燕麦毒源	3	3	100.0	+++

免疫电泳测试结果一致,唯对室内无毒麦二岔蚜有翅成蚜取食获毒个体阳性反应更明显。

(三)介体蚜虫个体带毒免疫电泳测试技术的验证

在小麦黄矮病毒抗血清专化特异性测定的基础上,为了证明免疫电泳测试技术测定介体蚜虫个体带毒的可行性,对同一带毒个体,进行了接种传毒后进行免疫电泳的双重测试。测试结果(表3)同一带毒蚜虫个体,接种传毒发病与免疫电泳反应完全相符。人工取食获毒麦二岔蚜,禾谷缢蚜无翅成蚜,有翅成蚜和岸黑燕麦毒源,接种传毒均完全发病,免疫电泳均呈阳性反应,而无毒麦二岔蚜、禾谷缢蚜无翅成蚜、有翅成蚜接种

表 3. 介体蚜虫同一个体带毒接种传毒免疫电泳双重测试

Table 3. Duplex test of immune electrophoresis and inoculation transmission by vector aphids from the same vector carrying individual

处 理	无翅成蚜		有翅成蚜	
	免疫电泳	接种传毒	免疫电泳	接种传毒
室内饲毒麦二岔蚜	5(± - +)/5	10/10	60(± - +)/60	20/20
室内饲毒禾谷缢蚜	6(± - +)/6	10/10	50(± - +)/50	20/20
室内无毒麦二岔蚜	0/2	0/10	0/10	0/10
室内无毒禾谷缢蚜	0/2	0/10	0/10	0/10
岸黑燕麦毒源	2(++)/2		10(++)/10	20/20

注:免疫电泳阳性反应或接种传毒发病的传毒蚜虫或毒源个体(份)数/测试蚜虫或毒源个体(份)数; ± - + : 隐约呈现阳性反应到阳性反应弱。以下相同。

传毒则均不发病,免疫电泳则为均为阴性反应。由接种传毒试验证明免疫电泳测试技术测试介体蚜虫个体带毒可靠。

(四)不同种类介体蚜虫个体带毒免疫电泳测试

在验证介体蚜虫个体带毒免疫电泳测试的具有可行性的条件下,对小麦黄矮病不同种类介体蚜虫,室内无毒无翅成蚜取食获毒和麦田无翅蚜带毒个体进行了重复测试(表4以及图1、图2),在对照无毒无翅蚜呈阴性反应,而且岸黑燕麦毒源呈强阳性反应

表 4. 不同种类介体蚜虫个体带毒免疫电泳测试

Table 4. Immune electrophoresis of vector carrying aphids of different species

处 理	室内蚜虫				麦田蚜虫			
	测试 标样数	带毒 标样数	反应型	%	测试 标样数	带毒 标样数	反应型	%
带毒麦二岔蚜无翅成蚜	36	35	+	97.2	35	28	± - ++	80.0
带毒麦长管蚜无翅成蚜	19	15	+	78.9	20	12	±	60.0
带毒麦无网蚜无翅成蚜	34	34	+	100.0				
带毒禾谷缢蚜无翅成蚜	20	20	+	100.0	35	30	± - +	85.9
带毒玉米叶蚜无翅成蚜	5	2	+	36.4				
无毒麦二岔蚜无翅成蚜	32	0	-	0.0				
无毒麦长管蚜无翅成蚜	5	0	-	0.0				
无毒麦无网蚜无翅成蚜	5	0	-	0.0				
无毒禾谷缢蚜无翅成蚜	5	0	-	0.0	16	0	-	0.0
无毒玉米叶蚜无翅成蚜								
岸黑燕麦毒源	14	14	+++	100.0	10	10	+++	100.0

的先决条件下, 不同种类蚜虫, 无论是室内无毒无翅成蚜人工取食获毒, 还是麦田无翅成蚜带毒个体均呈阳性反应。除玉米叶蚜外, 禾谷缢蚜、麦无网蚜、麦二岔蚜和麦长管



图 1. 蚜虫个体带毒免疫电泳反应

Fig 1. Reaction of immune electrophoresis of vector carrying individual aphids

图 2. 免疫电泳对照

左1~4为无毒蚜个体; 5~6为岸黑燕麦毒源; 7为岸黑燕麦无毒病健株

Fig 2. Immune electrophoresis 1~4 left; aphids free from vector 5~6 left; coast black oat as vector resorcee 7 left; healthy plant free from virus of coast black oat

无翅成蚜带毒率均极显著, 并且室内无毒蚜人工取食获毒的高于麦田带毒的。麦田病株上的禾谷缢蚜、麦二岔蚜和麦长管蚜无翅成蚜带毒率均相当高。说明应用免疫电泳测试技术检测麦田介体蚜虫带毒率具有可行性。

(五)不同虫态介体蚜虫个体带毒免疫电泳测试

对人工取食获毒的、不同虫态介体蚜虫个体带毒进行免疫电泳测试(表5), 麦二

表 5. 不同虫态介体蚜虫个体带毒测试

Table 5. Immune electrophoresis of vector carrying aphids of different ages

虫 态 类 型	麦二岔蚜				禾谷缢蚜			
	测 试 标 样 数	带 毒 标 样 数	反 应 型	%	测 试 标 样 数	带 毒 标 样 数	反 应 型	%
室内饲毒若蚜	17	17	+	100.0	18	18	++	100.0
室内饲毒无翅成蚜	25	25	+	100.0	25	25	++	100.0
室内饲毒有翅成蚜	18	18	+	100.0	17	17	++	100.0

岔蚜和禾谷缢蚜无论若蚜还是无翅成蚜和有翅成蚜均呈阳性反应, 带毒率均达100%, 而且禾谷缢蚜的阳性反应强于麦二岔蚜。

(六)介体蚜虫饲毒纯化病毒个体带毒免疫电泳测试

表 6. 介体蚜虫饲毒纯化病毒个体带毒免疫电泳测试

Table 6. Immune electrophoresis of vector carrying aphids fed with purifying vector

处 理	测 试 标 样 数	带 毒 标 样 数	反 应 型	%
饲毒麦二岔蚜有翅成蚜	10	10	+ - ++	100.0
饲毒禾谷缢蚜有翅成蚜	15	15	+ - ++	100.0
饲毒麦长管蚜有翅成蚜	8	8	+ - ++	100.0
岸黑燕麦毒源	2	2	++	100.0

经测试结果(表6),麦二盆蚜、禾谷缢蚜和麦长管蚜有翅成蚜,经薄膜饲毒纯化病毒带毒个体,免疫电泳阳性反应均明显加强,说明介体蚜虫个体含毒量不同,可以影响其免疫电泳反应,这是麦田病株上部分蚜虫个体带毒测试为阴性反应的主要原因之一。

讨 论 及 结 论

小麦黄矮病介体蚜虫同一个体带毒免疫电泳测试阳性反应与接种传毒发病完全一致,由接种传毒发病证明免疫电泳测试其介体蚜虫个体带毒具有可行性。不同虫态带毒个体免疫电泳测试结果,与其接种传毒测定结果一致^[5]。介体蚜虫饲毒纯化病毒个体带毒免疫电泳阳性反应明显加强。

免疫电泳测试技术之所以能够测试出小麦黄矮病介体蚜虫个体带毒,是与我国小麦黄矮病介体蚜虫个体带毒量不同有密切关系。乃是由我国小麦黄矮病的特殊生态系所决定的^[1],均有待于进一步研究明确。

参 考 文 献

- [1] 周广和等, 1987, 中国农业科学 20(4): 7—12。
- [2] 张秦风等, 1983, (美国)植物病害 67(8): 895—899。
- [3] Gera, A.C.B., 1978, Virology 86: 542—555。
- [4] 孟广震, 1974, 微生物通报 1: 32—35。
- [5] 张秦风等, 1986, 植物保护 8: 21。
- [6] 张秦风等, 1984, 植物保护 2: 6—7。

Study on Technique of Immune Electrophoresis of BYDV Carrying Vector Aphids

Zhang Qin-feng Zhao Yun-xia Chu Xiang-san

(Shaanxi Institute of Plant Protection, Yangling, Shaanxi 712100)

Virus transmission was conducted through inoculation of aphids from the same virus carrying individuals with BYDV which was one insect per seeding. The result showed that the duplex immune electrophoresis showed positive reaction coinciding with the disease incidence induced by aphids fed with virus artificially at the laboratory. Through the experiment of inoculation and transmission, it was manifested that it was possible to test the virus carrying potential of the vector aphids through immune electrophoresis method. This is the first report in the field.

Key words, Wheat yellow dwarf virus (BYDV) Vector
Immuno-electrophoresis