

和田地区烟粉虱种群生物型及番茄病毒病的检测

褚继萍, 史芳芳, 郑剑超, 金玉华* (新疆生产建设兵团第十二师农业科学研究所, 新疆乌鲁木齐 830088)

摘要 为了明确和田地区设施温棚烟粉虱种群的生物型及设施番茄黄化曲叶病的病毒种类, 采集 47 团温棚 7 种寄主作物上的烟粉虱, 利用特异性引物, 通过普通 PCR 方法鉴定其生物型; 对温棚采集的番茄病株, 利用番茄黄化曲叶病毒、番茄褪绿病毒的特异性引物, 通过 RT-PCR 检测确定番茄病毒种类。结果显示, 和田地区温棚烟粉虱种群生物型均为 Q 型, 番茄黄化曲叶病的病毒种类均为番茄黄化曲叶病毒 (tomato yellow leaf curl virus, TYLCV), 由此得出和田地区番茄黄化曲叶病由 Q 型烟粉虱传毒, 并提出病虫绿色防控措施。

关键词 烟粉虱; 生物型; 番茄病毒病; 检测

中图分类号 S436.412.1 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2021)19-0133-02

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2021.19.034

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Biotype of *Bemisia tabaci* Population and Detection of Tomato Virus Disease in Hotan Area

CHU Ji-ping, SHI Fang-fang, ZHENG Jian-chao et al (Agricultural Science Research Institute of the 12th Division of Xinjiang Production and Construction Corps, Urumqi, Xinjiang 830088)

Abstract The biological types of *Bemisia tabaci* population and the virus species of tomato yellow and curve leaf disease in the greenhouse in Hotan area were identified. The biological types of *Bemisia tabaci* on 7 kinds of host crops in 47 groups of greenhouse were identified by using specific primers and common PCR method. The specific primers of tomato yellow-leaf curling virus and tomato chlorosis virus were used to determine the tomato virus species of infected tomato strains collected in the greenhouse by RT-PCR. The results showed that the biological type of *Bemisia tabaci* population in Hotan area was Q type, and the virus type of tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) was tomato yellow leaf curl virus. It was concluded that *Bemisia tabaci* was transmitted by Q type, and the green control measures of *Bemisia tabaci* disease and insect were proposed.

Key words *Bemisia tabaci*; Biological type; Tomato virus disease; Detection

随着新疆向南发展战略实施, 国家大力扶持南疆设施农业的发展, 新疆和田地区 47 团、224 团及和田其他地县立足当地资源优势, 建成使用几千座设施大棚, 重点打造沙漠经济和优质、绿色、无公害特色农产品, 重点培育蔬菜、瓜果、花卉苗木等主导产业。和田地区属暖温带极端干旱的荒漠气候, 田间主要种植作物为枣树。近几年根据农作物结构调整和市场需求大力发展蔬菜大棚, 为烟粉虱提供了适宜的环境条件和充沛的食物来源, 造成烟粉虱在和田地区危害严重。烟粉虱 (*Bemisia tabaci*) 隶属于半翅目 (Hemiptera) 粉虱科 (Aleyrodidae) 小粉虱属 (*Bemisia*)^[1-2], 是番茄黄化曲叶病毒 (tomato yellow leaf curl virus, TYLCV) 和番茄褪绿病毒 (tomato chlorosis virus, ToCV) 的传播介体, 包含至少 35 个隐种, 其中 Q 型和 B 型是入侵我国的重要烟粉虱隐种^[3]。目前对和田地区烟粉虱种群生物型分布研究较少, 2011 年段晓东等^[4]首次报道 Q 型烟粉虱入侵新疆, 随后迅速蔓延, 在新疆一些地区已呈现出 Q 型烟粉虱逐渐取代 B 型烟粉虱成为当地优势种群的趋势^[5]。

TYLCV、ToCV 病毒在自然条件下能由烟粉虱以持久方式传播, 2011 年 11 月首次在新疆喀什地区发现 TYLCV, 并造成局部区域的暴发流行^[5]。2013 年 12 月造成吐鲁番市温室番茄黄化曲叶病的病毒种类经 PCR 检测和 DNA 测序表明为 TYLCV^[3]。2018 年 9 月和田地区 47 团秋延晚番茄表现黄

化、褪绿、花叶、矮化等症状, 且温棚内烟粉虱发生严重, 种植的大棚番茄全部毁种绝收, 番茄黄化曲叶病几年来愈加严重, 已成为制约南疆番茄产业的瓶颈因素。笔者采集 47 团温棚 7 种作物上的烟粉虱进行研究, 以明确目前和田地区温棚烟粉虱种群的生物型组成及分布, 并对 47 团番茄病株进行病毒种类的分子检测, 进一步明确和田地区温棚番茄黄化曲叶病的病原种类, 明确烟粉虱与 TYLCV 的关系, 旨在为有效防控病虫提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 昆虫 2019 年 6 月在和田地区 47 团设施温棚辣椒、番茄、西葫芦、甜瓜、西瓜、萝卜、黄瓜 7 种寄主作物上采集烟粉虱成虫, 储存于 -20 °C 冰箱备用。

1.2 番茄样品 2019 年 8 月在 47 团番茄大棚采集黄化、褪绿、花叶、矮化的番茄叶片, 于 -80 °C 低温保存备用。

1.3 试验方法

1.3.1 烟粉虱生物型鉴定。 使用 KAPADNA 提取试剂盒提取烟粉虱总 DNA, 酶切反应体系: ddH₂O 26.5 μL, 10×Buffer 3.0 μL, 酶 0.5 μL, 共 30 μL。反应产物置于 -20 °C 冰箱长期保存并作为后续 PCR 试验的模板。利用引物 Cl-J-2195 (5'-TTGATTTTTGGTCATCCAGAAGT-3') 和引物 R-BQ-2819 (5'-CTGAATATCGRCGAGGCATTCC-3')^[6] 进行扩增, PCR 反应体系: PCR Mix 10.0 μL, DNA 模板 1.0 μL, 上下游引物 (10 μmol/L) 各 1.0 μL, ddH₂O 7.0 μL, 共 20 μL。扩增条件: 94 °C, 5 min, 94 °C, 30 s, 55 °C, 30 s, 72 °C, 1 min; 72 °C, 10 min, 35 个循环。将上述得到的 PCR 产物片段用限制性内切酶 AseI 在 37 °C 条件下酶切 2 h, 通过电泳检测酶切产物片段的大小来鉴定烟粉虱生物型。酶切反应体系: ddH₂O

基金项目 新疆生产建设兵团第十二师向南发展项目 (SR2018035); 第十二师科技攻关项目 (SR2019010)。

作者简介 褚继萍 (1970—), 女, 山东巨野人, 高级农艺师, 从事蔬菜栽培及病虫害研究。* 通信作者, 推广研究员, 从事作物病虫害研究。

收稿日期 2021-02-07

15.5 μL , 10xBuffer 2.0 μL , AseI 内切酶 0.5 μL , PCR 产物 2.0 μL , 共 20 μL 。酶切产物以 1.5% 琼脂糖凝胶 (含 Gel-view) 电泳分离, 在凝胶成像系统上观察结果。

1.3.2 番茄病株 TYLCV 和 ToCV 的 PCR 检测。 采用上海生工试剂盒从番茄叶片样品中提取总 RNA。TYLCV 和 ToCV 的检测采用 RT-PCR 两步法, 番茄病株检测采用 TYLCV 特异性引物 TYLCV-F (5'-TAATCTGTTGTAAGGGC-CCGTGACT-3')/TYLCV-R (5'-ATGTAATCAGAGCAGTT-GATCATG-3') 和 ToCV 特异性引物 ToCV-F (5'-GGTTTG-GATTTTGGTACTACATTCAGT)/ToCV-R (5'-AAACTGCCTG-CATGAAAAGTCTC-3')^[7] 扩增, PCR 反应体系 (25 μL): cDNA 1.0 μL , Taq 酶 1 μL (5 U/ μL), 上下游引物 (10 $\mu\text{mol/L}$) 各 1 μL , 10xbuffer 2.5 μL , MgCl₂ (25 mmol/L) 1.2 μL , dNTP Mix (10 mmol/L) 0.4 μL , 其余补水。扩增条件: 94 $^{\circ}\text{C}$, 5 min, 94 $^{\circ}\text{C}$, 30 s, 55 $^{\circ}\text{C}$, 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$, 1 min, 72 $^{\circ}\text{C}$, 10 min, 30 个循环。扩增结束后, 取 5 μL PCR 产物于 1.0% 琼脂糖凝胶电泳中检测扩增产物, 并用伯乐全自动凝胶成像系统记录结果。

2 结果与分析

2.1 烟粉虱基因型鉴定结果 鉴定和田地区 47 团 7 个烟粉虱种群, 应用限制性内切酶 AseI 酶切已扩增到的 620 bp mtCOI 基因片段, Q 型烟粉虱的 mtCOI 基因片段存在一个 AseI 酶切位点, 因而可以被酶切成 2 个片段 (498 和 122 bp) (图 1), 而 B 型烟粉虱的 mtCOI 基因由于不存在 AseI 酶切位点, 因此不能被切开。结果表明, 7 个田间烟粉虱种群皆为 Q 型, 表明 Q 型烟粉虱已成为和田地区优势生物型种群。

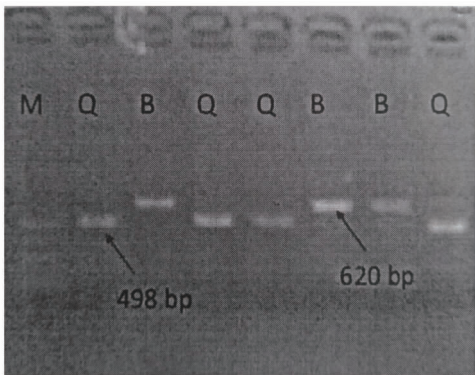


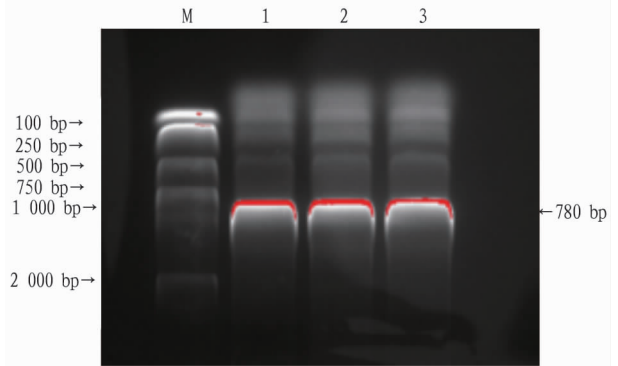
图 1 Q 型和 B 型烟粉虱酶切检测结果

Fig. 1 Results of enzyme digestion of *Bemisia tabaci* type Q and type B

2.2 番茄病毒病检测结果 对在 47 团采集的番茄病株分别提取 RNA, 利用 TYLCV 和 ToCV 特异性引物对样品进行 RT-PCR 扩增, 其中, TYLCV 特异性引物扩增到约 780 bp 的目的条带 (图 2), 此条带与 TYLCV 条带大小一致, 说明样品受到 TYLCV 侵染。利用 ToCV 的特异性引物对样品进行 RT-PCR 扩增, 所有样品均未扩增出目的条带, 说明样品未受到 ToCV 侵染。

3 结论与讨论

3.1 和田地区优势生物型种群 Q 型烟粉虱 北京、河北、江



注: M. 2000 DL Marker; 1~3. 番茄待测样品

Note: M. 2000DL Marker; 1-3. Tomato samples to be tested

图 2 番茄病株样品 TYLCV 的 PCR 检测

Fig. 2 PCR detection of TYLCV in tomato infected strains

苏等多个地区烟粉虱的生物型监测发现, Q 型烟粉虱有逐渐代替 B 型烟粉虱的趋势^[8]。曹赛等^[5]调查表明新疆和田地区烟粉虱均为 B 型, 贾尊尊等^[6]研究表明和田地区为 B、Q 型烟粉虱混合型。该研究于 2019 年在和田地区 47 团调查 7 个烟粉虱种群, 通过 mtCOI 基因序列分析, 鉴定其生物型均为 Q 型, 与此前报道存在一定差异。韩畅等^[9]研究和田地区烟粉虱优势种群为 Q 型, 与该研究相同, 表明和田地区烟粉虱的生物型演替变化与其他省市地区种群相一致, Q 型烟粉虱已取代 B 型烟粉虱成为当地优势种群。究其原因: 首先, 年均温度可影响 Q 型烟粉虱对 B 型烟粉虱的种群替代^[10-11], 和田地区常年高温干旱, Q 型烟粉虱比 B 型烟粉虱对高温具有更强的适应性。其次, 研究发现 Q 型烟粉虱对药剂的抗性往往高于 B 型烟粉虱, 且在杀虫剂高选择压下具有更强的生存优势^[12]。第三, 和田地区主要种植作物枣树和设施蔬菜, 虫害发生严重, 用药相似, 频繁用药导致 Q 型烟粉虱逐渐取代 B 型烟粉虱。

3.2 烟粉虱与 TYLCV 的关系 烟粉虱种群的暴发往往伴随着 TYLCV 的流行, 该研究结果表明目前 47 团温棚番茄 TYLCV 均由 Q 型烟粉虱传毒侵染。和田地区设施温棚烟粉虱常年发生, 通过悬挂黄板监测发现, 1—2 月烟粉虱种群数量较少, 3 月随着棚室内温度升高, 烟粉虱数量逐渐增加, 4—10 月是发生危害高峰期, 温棚烟粉虱均保持较高的种群密度, 11 月以后, 随着气温的下降, 棚室内虫口数量开始减少。TYLCV 的发病高峰与烟粉虱的种群数量、发生期、番茄茬口安排密切相关^[13], 从近几年 47 团番茄种植茬口比较, 7、8 月定植的秋延晚番茄, 育苗定植均在烟粉虱发生高峰期, 发病重时病株率可达 70%~100%。1 月定植的早春茬育苗、定植、生长期均能避开烟粉虱的高峰时段, 发病轻或不发病。基于烟粉虱种群动态变化规律和 TYLCV 的发生特点, 在保证番茄正常生长的条件下早春茬提早定植, 秋延茬推迟定植, 避开烟粉虱发生高峰期, 以减轻 TYLCV 的危害。

3.3 烟粉虱及 TYLCV 的防控策略 种植番茄抗病品种, 是目前控制 TYLCV 最安全、有效的途径。早春茬以品种的

(下转第 138 页)

有机态锌和氧化锰结合态锌,通常土壤中有效锌的含量只有全锌含量的1%左右。故此,土壤锌含量不能以土壤全锌含量来评价其对农作物的有效性,常以有效态锌含量作为评价标准。

刘铮^[13]研究表明,用DTPA(四乙三胺五醋酸)溶液提取土壤有效态锌,测定其含量,若小于0.5 mg/kg为很低锌土壤,在0.5~1.0 mg/kg为低锌土壤,在1.1~2.0 mg/kg为中等含锌土壤,在2.1~5.0 mg/kg为高锌土壤,大于5.0 mg/kg为很高锌土壤。由此可知,丹寨县南泉乡马喜、乌必、南泉村,排调镇的也改、茶荣村稻田土有效态锌在3.00~5.00 mg/kg,属于高锌土壤,其他各乡镇稻田土壤有效态锌均大于5.0 mg/kg,属于很高锌土壤,其中杨武镇牛棚村、朱砂村土壤锌含量很高,其土壤耕作层有效态锌含量达91.33 mg/kg,耕底层有效态锌含量达65.21 mg/kg。结果表明,丹寨县各乡镇稻田土壤除少数为高锌土壤外,绝大多数土壤为很高锌土壤。

4 结论

(1)该县稻田土壤耕作层硒含量在0.09~0.45 mg/kg,平均值为0.25 mg/kg;土壤耕底层硒含量在0.04~0.68 mg/kg,平均值为0.27 mg/kg。即丹寨县域内稻田土壤以足硒土壤为主,有少量高硒、缺硒和少硒土壤,没有过硒土壤。

(2)该县稻田土壤耕作层有效态锌含量在3.12~91.33 mg/kg,平均值为15.33 mg/kg;土壤耕底层有效态锌含量在3.00~65.21 mg/kg,平均值为11.15 mg/kg,除少数稻田土壤有效态锌含量在3.0~5.0 mg/kg外,其余稻田土壤有

效态锌含量均大于5.0 mg/kg。表明丹寨县各乡镇稻田土绝大多数为很高锌土壤,少数为高锌土壤。理论上栽培农作物不应存在缺锌,但由于农作物对土壤锌的吸收受土壤pH、有机质等环境因素影响较大,生产实践中根据作物生长情况给予综合考虑。

参考文献

- [1] 王志武,孙建钢,孙锐锋,等.微量元素锌的生物学功能及其应用进展[J].饲料研究,2005(8):12-16.
- [2] 刘学剑.微量元素锌的生物学功能及其应用进展[J].饲料工业,1995,16(8):29-31.
- [3] OHLENDORF H M. Bioaccumulation and effects of selenium in wildlife [M]//Selenium in agriculture and the environment Madison, WI: Soil Science Society of America and American Society of Agronomy,1989:133-177.
- [4] WANG J, LI H R, LI Y H, et al. Speciation, distribution, and bioavailability of soil selenium in the Tibetan Plateau Kashin-Beck Disease area—A case study in Songpa County, Sichuan Province, China [J]. Biological trace element research,2013,156:367-375.
- [5] 许学宏,余云飞,高芹,等.富硒农产品开发现状与发展对策[J].江苏农业科学,2010,38(1):311-313.
- [6] 徐辉碧.硒的化学、生物化学及其在生命科学中的应用[M].武汉:华中理工大学出版社,1994.
- [7] 王景怀,施辰子.富硒农产品开发及含硒量标准的探讨[J].天津农林科技,2005(3):15-17.
- [8] 李以暖,薛立文.富硒保健食品硒含量标准的探讨[J].广东微量元素科学,2000,7(5):18-21.
- [9] 王云,魏复盛.土壤环境元素化学[M].北京:中国环境科学出版社,1995.
- [10] 中国环境监测总站.中国土壤元素背景值[M].北京:中国环境科学出版社,1990:134-137,370-373.
- [11] 谭见安.环境生命元素与克山病:生态化学地理研究[M].北京:中国医药科技出版社,1996.
- [12] 蒋廷惠,胡黛堂.土壤锌的形态和分级方法[J].土壤通报,1989,20(2):86-89.
- [13] 刘铮.我国土壤中锌含量的分布规律[J].中国农业科学,1994,27(1):30-37.
- [3] 蔡菲,都业娟,黄家凤.吐鲁番温室番茄病株及传毒烟粉虱的双生病毒检测与鉴定[J].石河子大学学报(自然科学版),2014,32(5):646-649.
- [4] 段晓东,马丽娟,姚正培,等.新疆地区烟粉虱类群 mtDNA COI 基因序列分析[J].生物安全学报,2011,20(1):50-55.
- [5] 曹骞,李晶,买热木古丽·克依木,等.新疆地区烟粉虱生物型的区域分布及其携带的番茄黄化曲叶病毒检测[J].昆虫学报,2013,56(6):652-664.
- [6] 贾尊尊,王小武,付开赞,等.新疆主要农区烟粉虱生物型鉴定及其对11种常用杀虫剂的抗性监测[J].新疆农业科学,2017,54(2):304-312.
- [7] 万秀娟,胡京昂,李自娟,等.河南省烟粉虱传播的番茄病毒分子鉴定[J].中国瓜菜,2018,31(8):14-17.
- [8] 潘慧鹏,戈大庆,王少丽,等.在北京和河北局部地区Q型烟粉虱取代了B型烟粉虱[J].植物保护,2010,36(6):40-44.
- [9] 韩畅,张兴旺,高国龙,等.新疆番茄黄化曲叶病毒与烟粉虱隐种的区域分布检测[J].石河子大学学报(自然科学版),2020,38(2):160-165.
- [10] 赵瑞华.内生菌对烟粉虱种群形成与发展的影响及其作用机制[D].北京:中国农业科学院,2011.
- [11] 肖娜.两种入侵烟粉虱对不利低温和高温的耐受力比较研究[D].杭州:浙江大学,2015.
- [12] 刘国霞,高长生,付海滨,等.烟粉虱Q与B隐种 mtCOI 基因的遗传变异及其对利用CAPS标记进行隐种鉴别的影响[J].昆虫学报,2014,57(10):1238-1244.
- [13] 李英梅,白青,王周平,等.烟粉虱与番茄黄化曲叶病毒病发生关系研究[J].中国农学通报,2019,35(4):102-107.

(上接第134页)

丰产性、早熟性等商品特性为主,是否抗TYLCV不必作为首要条件,47团近年多种植金鹏系列,如金鹏M6088、金棚10号等,而秋延茬品种以抗TYLCV为首选,多种植东风199、东风299等抗性品种。其次采用绿色防控措施,首先要及时清除棚内外病残体及杂草,减少棚内虫源量。定植前高温闷棚、熏蒸消毒,杀灭棚内残留的烟粉虱各种虫态。其次是上下风口均设置60目防虫网,防止外来虫源进入大棚,同时利用烟粉虱强烈的趋黄性,悬挂黄色诱虫板进行监测和防控,也可释放人工饲养的丽蚜小峰寄生烟粉虱若虫。三是定植前后用化学药剂喷施,使用药剂有甲氨基阿维菌素苯甲酸盐、阿维菌素、氟啶虫胺腈、柠蒙烯等,药剂轮换施用,可有效降低烟粉虱基数,减轻病毒病的发生。

参考文献

- [1] 褚栋,毕玉平,张友军,等.烟粉虱生物型研究进展[J].生态学报,2005,25(12):3398-3405.
- [2] 张秀霞,毛晓红,高强,等.3种生物杀虫剂防治烟草烟粉虱的室内毒力及田间药效试验[J].中国农学通报,2019,35(20):99-103.