

DOI: 10.3969/j.issn.2095-1787.2016.03.009

广东朱槿曲叶病发生及传播介体烟粉虱种群组成调查

陈婷¹, 赵蕊^{1,2}, 齐国君¹, 何自福¹, 吕利华^{1*}

¹广东省农业科学院植物保护研究所, 广东省植物保护新技术重点实验室, 广东 广州 510640;

²华南农业大学农学院, 广东 广州 510642

摘要:【背景】2006年我国广东地区发现由木尔坦棉花曲叶病毒(CLCuMuV)侵染引起的朱槿曲叶病,但有关该病害在朱槿植物上的发病率、传播介体——烟粉虱隐种的组成尚未见报道。【方法】在广东省广州和清远地区对感染CLCuMuV的朱槿植株进行抽样调查;利用 $mtCOI$ 引物扩增鉴定烟粉虱隐种种群组成。【结果】调查表明,广州和清远地区朱槿上CLCuMuV的发病率分别为53.98%~71.78%和38.42%~45.27%。烟粉虱种群均为MEAM1和Asia II 7隐种的混合种群;广州地区烟粉虱种群中Asia II 7隐种的比例为6.25%~17.71%,清远地区Asia II 7隐种的比例为76.25%~89.17%。【结论与意义】随着带病植株种植范围的扩大以及可传毒烟粉虱隐种的扩散,CLCuMuV很有可能大范围扩散流行,应做好防控监测工作。

关键词: 广东省; 朱槿曲叶病; 烟粉虱

Incidence of leaf curl disease and the composition of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) population on *Hibiscus rosa-sinensis* in Guangdong Province, China

Ting CHEN¹, Rui ZHAO^{1,2}, Guo-jun QI¹, Zi-fu HE¹, Li-hua LÜ^{1*}

¹Guangdong Provincial Key Laboratory of High Technology for Plant Protection, Plant Protection Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou, Guangdong 510640, China; ²College of Agriculture, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642, China

Abstract: 【Background】The Cotton leaf curl Multan virus (CLCuMuV), transmitted by the whitefly *Bemisia tabaci* was first reported in Guangdong Province in 2006. Due to the cryptic species structure of the *B. tabaci* complex, the interaction between the CLCuMuV and the whitefly in southern China is not clear. 【Method】We investigated the CLCuMuV infection rates and identified the cryptic species of *B. tabaci* in Guangzhou and Qingyuan cities in Guangdong Province. 【Result】The percentage of China rose plants (*Hibiscus rosa-sinensis*) infected with CLCuMuV was 53.98%~71.78% in Guangzhou and 38.42%~45.27% in Qingyuan. The whiteflies were a mixture of MEAM1 and Asia II 7, with the latter being in the minority (6.25%~17.71%) in Guangzhou but forming the majority (76.25%~89.17%) in Qingyuan. 【Conclusion and significance】With the sick plants range expansion and poison cryptic species of *B. tabaci* diffusion, CLCuMuV is may spread in large scale, prevention and monitoring work should be developed.

Key words: Guangdong Province; *Hibiscus rosa-sinensis* leaf curl disease; *Bemisia tabaci*

由烟粉虱 *Bemisia tabaci* Gennadius 传播的棉花曲叶病是巴基斯坦和印度棉花生产的头号病害 (Bridson & Markham, 2000; Mansoor *et al.*, 2003; Rishi & Chauhan, 1994), 其主要病原为木尔坦棉花

曲叶病毒 (Cotton leaf curl Multan virus, CLCuMuV)。2006年我国广东首次发现了由CLCuMuV侵染引起的朱槿曲叶病(毛明杰等, 2008); 2010年广西发现该病毒侵染棉花并引起棉花曲叶病 (Cai *et al.*,

收稿日期 (Received): 2016-05-21 接受日期 (Accepted): 2016-07-05

基金项目: “十二五”国家科技支撑计划 (2015BAD08B02); 国家国际科技合作计划 (2011DFB30040); 科技部科技伙伴计划 (KY201402015)

作者简介: 陈婷, 女, 助理研究员。研究方向: 入侵生物学。E-mail: ch.t120@126.com

* 通讯作者 (Author for correspondence), E-mail: lhlu@gdppri.com

2010);此后陆续在福建、江苏等地区发现其侵染为害朱槿、红麻、棉花等(何自福等,2012;林林等,2011;汤亚飞等,2015;张晖等,2015;章松柏等,2013)。

据报道,烟粉虱是一种复合种,由30个以上的隐种组成(刘银泉和刘树生,2012; De Barro *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2012),且不同隐种传播双生病毒的种类及效率存在明显差异(Jiu *et al.*, 2006; Li *et al.*, 2010)。在巴基斯坦和印度棉花曲叶病的流行区域,烟粉虱隐种种群由MEAM1和AsiaⅢ1、AsiaⅠ、AsiaⅡ5、AsiaⅡ7组成(Ahmed *et al.*, 2011; Ashfaq *et al.*, 2014),该病害给当地棉花生产造成了巨大经济损失(Briddon & Markham, 2000; Mansoor *et al.*, 2003)。陈婷等(2016)研究表明,引起棉花曲叶病的CLCuMuV不是由广泛存在的入侵隐种MEAM1(生物型B)而为,而是由土著隐种AsiaⅡ7、AsiaⅡ1传播并引起红麻及黄秋葵罹病;而林林等(2011)和Cai *et al.* (2010)研究认为,引起棉花曲叶病的CLCuMuV的传播介体为MEAM1隐种(B生物型)。明确传播CLCuMuV的烟粉虱隐种种群组成对于预防该病的迅速传播至关重要。目前,华南地区广泛种植的朱槿受到该病毒的严重侵染,这种病毒可通过介体在朱槿间传播,甚至传播到红麻及黄秋葵植株上(陈婷等,2016)。但有关华南地区朱槿曲叶病的发生情况及其传播介体种群组成尚不明确,因此本文对此进行调查研究,以期为CLCuMuV的流行病学研究和预防监测提供依据。

1 材料与方法

1.1 调查地点及取样方法

调查时间为2014年8—11月,调查地点位于广东省广州市的南沙区天后宫和万顷沙镇、清远市佛冈县汤塘镇和龙山镇。

1.1.1 朱槿曲叶病发病率调查及叶片取样 广州市南沙区公园绿化区的朱槿,调查面积为100 m²;清远市2个调查点,以道路绿化朱槿为对象,调查长度约100 m。在每个调查点,选取3~5个取样点,记录朱槿的发病株及健康株。调查标准:朱槿全株叶片黄化、向上卷曲,叶脉肿大明显,且产生叶耳,开花少或不开花,视为发病株;全株叶片无上述症状即为健康株。在每个调查点,分别采集7株显症朱槿叶片和未显症叶片,放入塑料密封袋中,标

记采集地点及时间;带回实验室,放入-80℃超低温冰箱保存,备用。

1.1.2 朱槿上烟粉虱成虫的采集 在调查朱槿曲叶病的同时,用吸虫器随机采集烟粉虱成虫,每个地区采集50头成虫作为烟粉虱隐种鉴定样本。将采集的标本浸泡于装有2 mL 95%乙醇的离心管中,带回实验室,保存于-20℃冰箱中,备用。

1.2 朱槿叶片 CLCuMuV 的检测

从-80℃超低温冰箱中取出样本,采用植物细胞组织基因组试剂盒EF111-12提取朱槿植株叶片总DNA,具体操作方法参照试剂盒说明。分别采用CLCuMuV特异引物AF(5'-CAGGAAGCAG-GAAAATACGAGA-3')/AR(5'-TGGCAGTCCAACA-CAAAATACG-3')和β卫星分子特异引物βF(5'-AAGTCGAATGGAACCTGAATGT-3')/βR(5'-GGAGAC-CAAAAGAGGAGAGAGA-3')进行PCR扩增(汤亚飞等,2015)。PCR反应体系及反应条件参见陈婷等(2016)。

1.3 烟粉虱隐种的鉴定

将保存的烟粉虱样本取出,采用DP304-03试剂盒提取单头烟粉虱DNA,具体操作方法参照试剂盒说明书。利用烟粉虱*mtCOI*基因通用引物C1-J-2195(5-TTGATTTTTTGGTCATCCAGAAGT-3')和TL2N-3014(5-TCCAATGCACTAATCTGCCATATTA-3')(Simon *et al.*, 1994),对单头烟粉虱DNA进行PCR检测,PCR反应体系及反应条件参见陈婷等(2016)。

利用DNASTAR软件对获得的烟粉虱*mtCOI*基因序列进行序列拼接,并利用BLAST程序搜索序列相似性。

2 结果与分析

2.1 朱槿上 CLCuMuV 的发生情况

2.1.1 朱槿上 CLCuMuV 的 PCR 检测 PCR检测结果显示,显症病株叶片总DNA中均能扩增出CLCuMuV的831 bp特异条带及其β卫星分子的837 bp的特异条带(图1),不显症叶片样本不能扩增出预期的目的条带。这说明显症的朱槿叶片样本含有CLCuMuV及其β卫星分子,未显症的朱槿叶片样本不含有CLCuMuV及其β卫星分子。

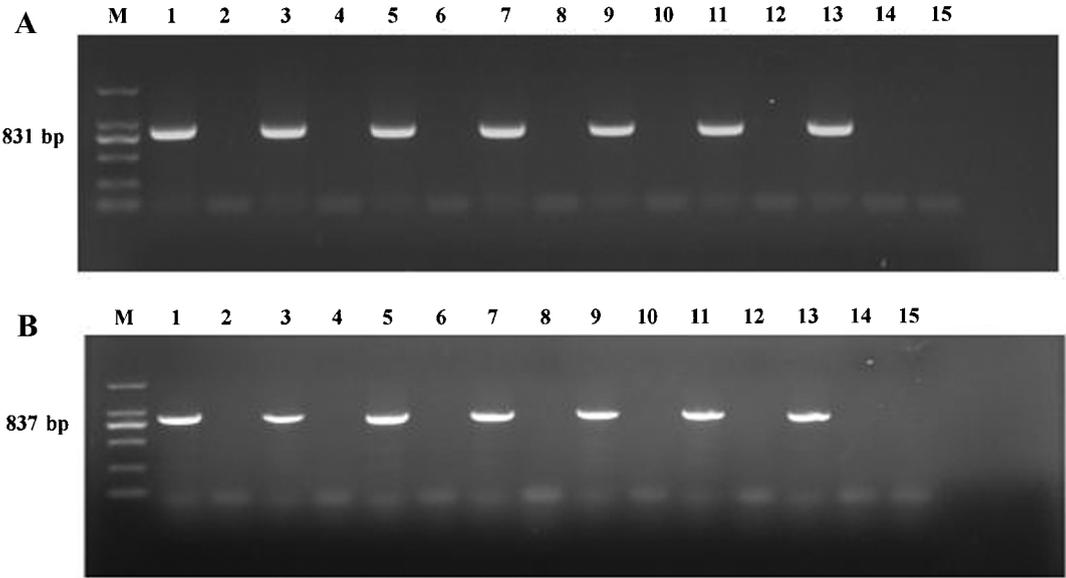


图 1 朱槿植株上 CLCuMuV 的 PCR 检测

Fig.1 Detection of the presence of the CLCuMuV in China rose (*Hibiscus rosa-sinensis*) plants by PCR

M;Marker; A;CLCuMuV; B; β 卫星分子; 1,3,5,7,9,11,13: 显症朱槿植株; 2,4,6,8,10,12,14: 未显症朱槿植株; 15:空白对照。

M; Marker; A: CLCuMuV; B: β -satellite; 1,3,5,7,9,11,13: Diseased China rose plants infected by CLCuMuV; 2,4,6,8,10,12,14: Healthy plants; 15: Blank control.

2.1.2 朱槿曲叶病的发病率 调查结果表明,广州市南沙区与清远市佛冈县均发现了感染 CLCuMuV 的朱槿植株;广州地区朱槿上 CLCuMuV 的发病率

为 53.98%~71.78%,清远地区朱槿上 CLCuMuV 的发病率为 38.42%~45.27%(表 1)。

表 1 广州市南沙区和清远市佛冈县的朱槿曲叶病发病率

Table 1 The percentage of *Hibiscus rosa-sinensis* infected with CLCuMuV in the cities of Guangzhou and Qingyuan

调查地点 Location	总株数 Total of plants tested	病株数 No. of infected plants	发病率 Morbidity (%)	平均发病率 $X \pm SD$ (%)	
广州市南沙区 Nansha District, Guangzhou City	天后宫 Tian Hou Temple	60	48	80.00	71.78 \pm 11.69
		60	35	58.33	
		63	55	87.30	
		66	45	68.18	
		43	28	65.12	
	万顷沙镇 Wanqingsha District	72	36	50.00	
		85	40	47.06	
		65	32	49.23	
		65	40	61.53	
		66	41	62.12	
清远市佛冈县 Fogang County, Qingyuan City	汤塘镇 Tangtang District	70	32	45.71	38.42 \pm 18.35
		57	10	17.54	
		50	26	52.00	
	龙山镇 Longshan District	72	42	58.30	
		60	36	60.00	
		40	7	17.50	

2.2 朱槿上烟粉虱隐种种群组成

烟粉虱 mtCOI基因片段序列比较结果表明,广州市南沙区和清远市佛冈县的烟粉虱均为 MEAM1 和 Asia II 7隐种的混合种群,但不同地区 2 种隐种的比例存在差异。南沙区天后宫和万顷沙镇的 MEAM1 隐种的

比例分别为(93.75 \pm 10.83)%和(82.29 \pm 15.41)%,Asia II 7 隐种比例分别为(6.25 \pm 10.83)%和(17.71 \pm 15.41)%;佛冈县汤塘镇和龙山镇的 MEAM1 隐种的比例分别为(10.83 \pm 10.10)%和(23.75 \pm 21.03)%,Asia II 7 隐种比例分别为(89.17 \pm 10.10)%和(76.25 \pm 21.03)%(表 2)。

表2 广州市南沙区和清远市佛冈县朱槿上烟粉虱隐种的比例

Table 2 Proportion of cryptic whitefly species collected from *Hibiscus rosa-sinensis* plants in the cities of Guangzhou and Qingyuan

采集地点 Location		样本量(头) No. of whiteflies		隐种百分比 Percentage of cryptic species (%)			
		MEAM1	Asia II 7	MEAM1	平均值 Mean±SD	Asia II 7	平均值 Mean±SD
广州市南沙区 Nansha District, Guangzhou City	天后宫 Tian Hou Temple	1	16	100	93.75±10.83	0	6.25±10.83
		2	16	100		0	
		3	16	81.25		18.75	
	万顷沙镇 Wanqingsha District	1	16	75	82.29±15.41	25	17.71±15.41
		2	16	71.88		28.12	
		3	16	100		0	
清远市佛冈县 Fogang County, Qingyuan City	汤塘镇 Tangtang District	1	16	0	10.83±10.10	100	89.17±10.10
		2	16	20		80	
		3	16	12.5		87.5	
	龙山镇 Longshan District	1	16	0	23.75±21.03	100	76.25±21.03
		2	16	40		60	
		3	16	31.25		68.75	

3 讨论

本研究表明,广州市南沙区与清远市佛冈县的调查点均发现朱槿植株感染 CLCuMuV,前者发病率高于后者;朱槿上烟粉虱隐种为入侵种 MEAM1 与土著种 Asia II 7 的混合种群,清远市佛冈县 Asia II 7 隐种比例高于广州市南沙区。由 CLCuMuV 引起的朱槿曲叶病通过插枝繁殖(未发表数据)和 Asia II 7 转染(陈婷等,2016)得以传播,推测这种差异可能与人为干扰程度相关。佛冈县调查点位于农田区,虽然在短期内土著隐种 Asia II 7 种群高,但因移植朱槿数量较少且移植时间较短,尚未能引起较多朱槿植株染病;在广州南沙区的调查点,朱槿发病时间约 10 年之久,且朱槿种植面积较大,有的可能通过插枝繁殖感染病毒,虽然在调查时段内 Asia II 7 种群数量较低,但长期循环侵染导致发病率较高。

我国 CLCuMuV 的来源途径:(1)通过带毒烟粉虱随东南亚进口的花卉或水果等农产品传入并定殖;(2)随朱槿、黄秋葵等寄主植物直接带毒入侵我国(何自福等,2010)。对广东省某实验基地 CLCuMuV 发生地块、野外的朱槿曲叶病发病植株,以及健康朱槿植株上的烟粉虱进行检测,均有携带 CLCuMuV 的烟粉虱个体(未发表数据)。烟粉虱入侵隐种 MEAM1 和土著隐种具有不同的取食偏好性。据报道,MEAM1 在棉花、甘蓝、黄瓜和番茄等 4 种寄主植物上的适合度没有差异,而 Asia II 1 对棉花的适合度高于其他寄主植物(Ashfaq *et al.*, 2014);MEAM1 隐种在蔬菜上的内禀增长率高于观

赏植物,Asia II 7 隐种则在观赏植物上的内禀增长率高于蔬菜(Qiu *et al.*, 2011)。由此推断,Asia II 7 的寄主适生性与朱槿曲叶病发病存在相关性,今后仍需在更大范围内对更多寄主植物种类进行连续调查,并通过开展室内传染试验来验证。

朱槿是一种在广东、广西、海南、福建、台湾、云南等地广泛种植的园林植物(刘小冬等,2008),而华南地区朱槿普遍感染 CLCuMuV,加上我国大部分地区种植的黄秋葵极易感染曲叶病(陈婷等,2016),这些带毒植株已成为该病毒长期稳定的毒源库(何自福等,2012; Du *et al.*, 2015);同时,可传播 CLCuMuV 的土著烟粉虱隐种在我国广泛分布,随着带病植株种植范围的扩大以及可传毒土著烟粉虱隐种的扩散,CLCuMuV 很有可能大范围扩散流行。因此,今后仍需对华南地区携带 CLCuMuV 的更多锦葵科寄主上的烟粉虱隐种进行调查鉴定。

参考文献

- 陈婷,汤亚飞,赵蕊,何自福,吕利华,2016. 传播木尔坦棉花曲叶病毒的烟粉虱隐种鉴定. 植物保护学报, 43(1): 91-98.
- 何自福,董迪,李世访,余小漫,罗方芳,2010. 木尔坦棉花曲叶病毒已对我国棉花生产构成严重威胁. 植物保护, 36(2): 147-149.
- 何自福,余小漫,汤亚飞,2012. 入侵我国的木尔坦棉花曲叶病毒及其为害. 生物安全学报, 21(2): 87-92.
- 林林,蔡健和,罗恩波,秦碧霞,胡冬梅,蒙姣荣,陈保善,农恒志,2011. 南宁市朱槿曲叶病毒病原分子鉴定和寄主范围研究. 植物保护, 37(4): 44-47.

- 刘小冬, 姜卫兵, 翁忙玲, 2008. 论木槿属树种及其在园林绿化中的应用. *中国农学通报*, 24(8): 315-320.
- 刘银泉, 刘树生, 2012. 烟粉虱的分类地位及在中国的分布. *生物安全学报*, 21(4): 247-255.
- 毛明杰, 何自福, 虞皓, 李华平, 2008. 侵染朱槿的木尔坦棉花曲叶病毒及其卫星 DNA 全基因组结构特征. *病毒学报*, 24(1): 64-68.
- 汤亚飞, 何自福, 杜振国, 余小漫, 蓝国兵, 2015. 木尔坦棉花曲叶病毒及其伴随的 β 卫星分子复合侵染引起广东棉花曲叶病. *中国农业科学*, 48(16): 3166-3175.
- 张晖, 季英华, 吴淑华, 赵文浩, 周彤, 周益军, 2015. 江苏朱槿上分离到的木尔坦棉花曲叶病毒基因组结构特征分析. *植物病理学报*, 45(4): 361-369.
- 章松柏, 夏宣喜, 张洁, 张友军, 吴祖建, 2013. 福州市发生由木尔坦棉花曲叶病毒引起的朱槿曲叶病. *植物保护*, 39(2): 196-200.
- Ahmed M Z, De Barro P J, Greeff J M, Ren S X, Naveed M and Qiu B L, 2011. Genetic identity of the *Bemisia tabaci* species complex and association with high cotton leaf curl disease (CLCuD) incidence in Pakistan. *Pest Management Science*, 67(3): 307-317.
- Ashfaq M, Hebert P D N, Mirza M S, Khan A M, Mansoor S, Shah G S and Zafar Y, 2014. DNA barcoding of *Bemisia tabaci* complex (Hemiptera: Aleyrodidae) reveals southerly expansion of the dominant whitefly species on cotton in Pakistan. *PLoS ONE*, 9(8): e104485.
- Briddon R W and Markham P G, 2000. Cotton leaf curl virus disease. *Virus Research*, 71(1/2): 151-159.
- Cai J H, Xie K, Lin L, Qin B X, Chen B S, Meng J R and Liu Y L, 2010. *Cotton leaf curl Multan virus* newly reported to be associated with cotton leaf curl disease in China. *Plant Pathology*, 59(4): 794-795.
- De Barro P J, Liu S S, Boykin L M and Dinsdale A B, 2011. *Bemisia tabaci*: a statement of species status. *Annual Review of Entomology*, 56: 1-19.
- Du Z G, Tang Y F, He Z F and She X M, 2015. High genetic homogeneity points to a single introduction event responsible for invasion of *Cotton leaf curl Multan virus* and its associated betasatellite into China. *Virology Journal*, 12: 163.
- Jiu M, Zhou X P and Liu S S, 2006. Acquisition and transmission of two begomoviruses by the B and a non-B biotype of *Bemisia tabaci* from Zhejiang, China. *Journal of Phytopathology*, 154(10): 587-591.
- Li M, Hu J, Xu F C and Liu S S, 2010. Transmission of *Tomato yellow leaf curl virus* by two invasive biotypes and a Chinese indigenous biotype of the whitefly *Bemisia tabaci*. *International Journal of Pest Management*, 56(3): 275-280.
- Liu S S, Colvin J and De Barro P J, 2012. Species concepts as applied to the whitefly *Bemisia tabaci* systematics: how many species are there?. *Journal of Integrative Agriculture*, 11(2): 176-186.
- Mansoor S, Briddon R W, Bull S E, Bedford I D, Bashir A, Hussain M, Saeed M, Zafar Y, Malik K A, Fauguet C and Markham P G, 2003. Cotton leaf curl disease is associated with multiple monopartite begomoviruses supported by single DNA β . *Archives of Virology*, 148(10): 1969-1986.
- Qiu B L, Dang F, Li S J, Ahmed M Z, Jin F L, Ren S X and Cuthbertson A G S, 2011. Comparison of biological parameters between the invasive B biotype and a new defined Cv biotype of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyradidae) in China. *Journal of Pest Science*, 84(4): 419-427.
- Rishi N and Chauhan M S, 1994. Appearance of leaf curl disease of cotton in Northern India. *Journal of Cotton Research and Development*, 8: 179-180.
- Simon C, Frati F, Beckenbach A, Crespi B, Liu H and Floors P, 1994. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Annals of the Entomological Society of America*, 87(6): 651-701.

(责任编辑: 杨郁霞)