

北京番茄黄化曲叶病毒病的发生及分子检测

李常保 柴 敏 李 季 郑建秋

番茄黄化曲叶病毒 (Tomato yellow leaf curl virus, TYLCV) 为菜豆金色花叶病毒属 (Begomovirus-es) 的一种双生病毒, 由媒介昆虫烟粉虱传播 (Zhang Hui et al. 2009)。该病毒可以侵染茄科、豆科等多种植物, 主要为害番茄、辣椒、茄子、甘蓝和黄瓜等蔬菜以及烟草等经济作物, 特别是在番茄上为害更重。受害植物表现为生长缓慢, 植株明显矮化, 顶部叶片皱缩、叶周边向上卷曲, 叶片变厚变小, 叶片区域性黄化, 病株顶端似菜花状, 坐果少, 果实硬、小, 不能正常转色, 丧失商品性; 为害严重时不能开花坐果, 造成绝产 (褚云霞和朱为民 2009; 冯兰香等 2009)。

番茄黄化曲叶病毒是近几年新传入我国的有害生物, 1964 年最早在以色列发生, 之后迅速扩散到中东、地中海沿岸、东亚、南亚、非洲、欧洲、美国、中美洲、澳大利亚等众多国家和地区 (Momol et al. 1999)。2002 年传入我国南方省份, 2005 年秋在广西番茄主产区百色市田阳县大面积暴发, 同年传入江浙一带, 2007 年传入河南和山东, 2008 年该病在全国多个省市发展蔓延 (蔡健和等 2006; 何自福等 2007; 赵统敏等 2007; 吴永汉等 2007; 于力等 2009)。2009 年该病在河北局部地区和山东大爆发 (龚一帆

2009), 发生面积逾 1.3 万 hm^2 , 给番茄生产造成巨大损失。

1 病害发生情况

近几年, 番茄黄化曲叶病毒病在我国由南向北迅速蔓延, 笔者一直密切关注着北京 TYLCV 病情及其传毒媒介烟粉虱的变化。2008 年秋冬之际, 在北京蔬菜研究中心番茄育种试验地温室选种时, 笔者观察到体型较小的烟粉虱, 同时在大兴、顺义区的试验基地也看到了同样的现象。2009 年 8 月中旬, 北京大兴、顺义、通州区多个农民来电话反映, 自家秋棚番茄生产田病毒病特别严重、粉虱难防等, 这些信息引起了笔者的警觉。8 月 17 日在本中心的试验地里, 发现了几株疑似病株, 经本院植病专家李兴红老师取样检测, 9 月初确认被检样含有 TYLCV 病毒。随着疑似病样被确诊, 本中心的试验棚中 TYLCV 典型症状株越来越多。鉴于 TYLCV 是初次在北京发现且潜在为害甚大, 而京郊各区县的农业技术推广人员和广大农民大多缺乏对这一新病害的了解和防控知识, 北京市果类蔬菜创新团队组织了 TYLCV 防控应急培训。通过此次应急培训, 使 TYLCV 为害的严重性得到了重视, 对其防控策略达成了共识, 为下一步的具体防控起到了指导和预警作用。

2 病原分子检测

2.1 样本采集 通过创新团队在京郊的网络体系, 安排部署了对京郊 TYLCV 发生情况调查和取样检测任务。取样范围包括顺义、大兴、通州、密云、房山和延庆 6 个区县的番茄主产乡镇, 还有朝阳、平谷、昌平、怀柔及北京蔬菜研究中心, 共采集番茄样本 337 份。经过专家对各区县采集的样本进行甄别, 发现有些病样症状不典型, 表现为普通花叶或蕨叶病毒病症状。

李常保, 博士, 研究员, 北京市农林科学院蔬菜研究中心, 北京 2443 信箱, 100097, 电话 010-51503486, E-mail lichangbao@nervc.org
柴敏 (通讯作者), 研究员, 北京市农林科学院蔬菜研究中心, 北京 2443 信箱, 100097, 电话 010-51503009, E-mail zhaimin@nervc.org

李季, 北京市农业技术推广站

郑建秋, 北京市植物保护站

收稿日期 2009-12-04 接受日期 2009-12-11

基金项目: 现代农业技术体系北京创新团队建设项目, “863” 计划 (2006AA10Z1A6-2), “863” 计划 (2006AA100108), 北京市科委项目 (Z09090501040902)

2.2 分子检测方法 首先根据 TYLCV 病毒全序列特异区自主设计 PCR 引物,研发出对于检测 TYLCV 具有专一性、高效性和特异性的引物对序列。也就是说通过 PCR 扩增反应,只有感染 TYLCV 的植物才能扩增出条带,而没有感染该病的健康植株以及感染其他病毒的植物都扩增不出该条带,根据 PCR 扩增产物的条带有无从而判断出植物体内是否含有 TYLCV。经过典型症状植物 PCR 验证以及扩增条带测序检验,该对引物检测 TYLCV 具有专一性、高效性和特异性(图 1)。在此基础上,结合植物 DNA 快速提取技

术和平板琼脂糖快速电泳技术,建立并完善了 TYLCV 快速高效的分子检测平台,用于番茄育苗和番茄育种材料带毒性检测。

2.3 分子检测结果 采用笔者建立的 TYLCV 快速高效的分子检测技术检测样本 337 份,其中 163 份带有 TYLCV 病毒,占总样本数的 48 %;171 份未检测出 TYLCV。对于所有样本进行发病症状确认,检测出带有病毒的样本均具有 TYLCV 典型症状,进一步证明该分子检测真实有效(图 2)。京郊番茄黄化曲叶病毒样本病原的分子检测结果见表 1。

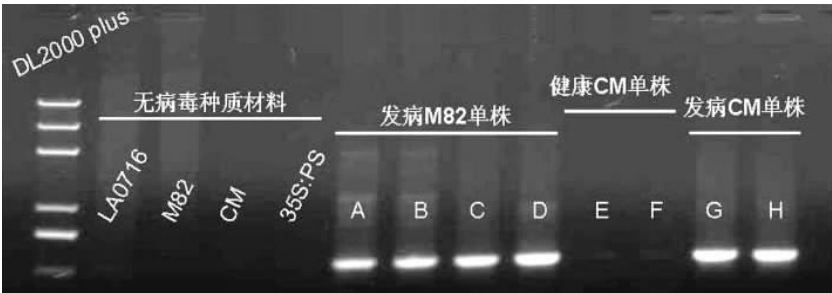


图 1 番茄黄化曲叶病毒特异引物的 PCR 分子验证

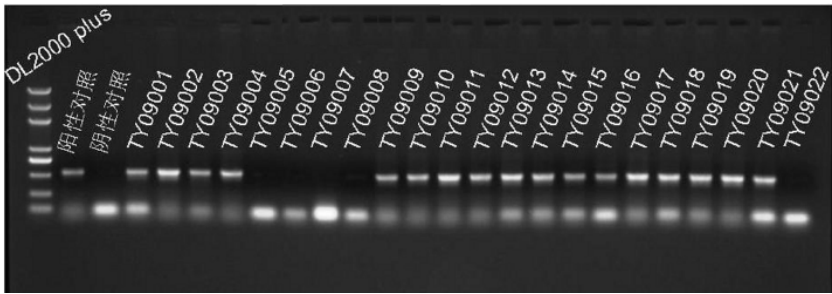


图 2 番茄黄化曲叶病毒田间取样的分子检测电泳图

注:阳性对照为 TYLCV 病毒 DNA,阴性对照为健康植株,TY09001~TY09022 为检测样本编号。

表 1 京郊番茄黄化曲叶病毒病样本病原分子检测结果

序号	区县	样本数 份	检测结果	
			TYLCV 样本数/份	非 TYLCV 样本数/份
1	顺义	81	34	47
2	大兴	95	45	50
3	通州	48	21	27
4	密云	30	5	25
5	房山	18	11	7
6	平谷	14	8	6
7	怀柔	0	0	0
8	朝阳	17	16	1
9	延庆	8	2	6
10	蔬菜中心	25	20	5
11	昌平	1	1	0
合计		337	163	171

检测出带毒的 163 份样本遍及通州、大兴、顺义、平谷、密云、延庆、昌平、房山、怀柔、丰台、海淀

等区县的 60 多个乡镇。所调查的发病棚室占调查棚室的 45.7 %,一般病株率 5 %~10 %,重病棚室病株率 20 %左右,个别棚室发病率达 90 %以上。在发生该病的区县中以大兴区发生较为普遍,发病棚室约占种植棚室的 80 %左右。在京郊番茄生产中种植的品种多达 60 个,常见品种有:阿鲁娜、白奇帝王、百奇、倍盈、菜都 3 号、大红粉、大秦粉、东胜、繁荣系列、福乐、改良印第安、格瑞斯、瑰丽 100、合作 918、合作 928、红天珠、吉朋达、佳丽系列、佳誉、金粉 1 号、金冠 18 号、金冠 28 号、金冠 5 号、金棚 1 号、金鹏赛欧、京丹小黄玉、京丹 8 号、京丹绿宝石、千禧、魁贯、美粉 1 号、蒙特卡罗、农大 128、农大 1 号、欧顿、棚友、热带、三星新秀、胜宝、太宝、天福 501、仙客 1 号、仙客 5

李宝聚博士诊病手记(二十)

如何利用显微镜简易诊断蔬菜细菌病害

张珊珊 李宝聚 王相晶 谢学文 石延霞

在生产实践中,基层农民和相关从业人员,对蔬菜细菌病害的田间识别主要是通过发病症状进行诊断,但植物病害的发生是致病菌、寄主和环境共同作用的产物,土壤、温湿度、轮作物等环境条件的差别可能导致病原物积累、发病症状甚至致病菌自身发生变化,这样,一种病害表现的症状就不一而足。单是凭借症状识别细菌病害不准确,容易误诊。在很多时候,人

们的传统认识还拘泥在病斑水浸状、流脓、腐烂等就是细菌病害的固定模式中,实际上,这种认识是不科学的。我们在广泛采集标本镜检、鉴定的基础上发现,很多生理性病害也会有细菌病害的常见症状,比较可靠的方法是利用显微镜对病部进行显微诊断,根据有无病原细菌菌体溢出(简称菌溢,切开感病组织后,组织液中大量繁殖的细菌溢出)来判别细菌病害,这是比较科学的方法,也很简单易行。

在蔬菜生产中,茄果类青枯病、瓜类细菌性果腐病、十字花科软腐病及马铃薯环腐病都是常见的为害性很强的细菌病害,也是世界性的重要病害,造成了巨大的经济损失。仅2009年8、9月发生在贵州省修文县的番茄溃疡病造成的番茄绝产就达66.7 hm²。所以在农业生产中,对细菌病害的正确识别尤为重要,早期发现,对症下药,可减少一定的经济损失。

细菌病害主要侵染植株的叶片、果实和根茎

张珊珊,硕士研究生,东北农业大学生命科学学院,黑龙江哈尔滨,150030

李宝聚(通讯作者),研究员,E-mail libj@mail.caas.net.cn,谢学文,石延霞,中国农业科学院蔬菜花卉研究所

王相晶,通讯作者,教授,东北农业大学生命科学学院,黑龙江哈尔滨,150030

收稿日期:2009-12-10

基金项目:“十一五”国家“863”课题(2006AA10Z210),大宗蔬菜产业技术体系建设专项

号、仙客6号、硬粉8号、硬特粒、元粒、跃佳、浙粉202、指航、卓越等。此次普查和检测的结果表明,目前京郊种植的番茄品种尚没有对TYLCV表现抗病的品种。但是品种间对TYLCV的敏感性差异较大,多数特色樱桃类型的番茄品种如京丹绿宝石、京丹8号、09-CG-71和千禧等对TYLCV耐病性较强,而大多数主栽的粉色大果番茄品种对该病毒敏感,发病严重。由此可见番茄黄化曲叶病毒已经在京郊番茄主产区以及主栽品种上普遍发生,必须引起高度重视。

参考文献

- 蔡健和,秦碧霞,朱桂宁,黄福新,陈永惠,李焜华.2006.番茄黄曲叶病毒病在广西爆发的原因和防治策略.中国蔬菜(7):47-48.
褚云霞,朱为民.2009.番茄抗黄化曲叶病毒育种研究进展.基因组学与应用生物学28(3):563-568.
冯兰香,谢丙炎,杨宇红.2009.浅谈番茄黄曲叶病毒病.中国蔬菜,(5):17-21.

龚一帆.2009.威胁番茄生产的新病害——番茄黄化曲叶病毒病.中国蔬菜(21):1-4.

何自福,虞皓,毛明杰,罗方芳,林奕韩,王穗涛.2007.中国台湾番茄曲叶病毒侵染引起广东番茄黄化曲叶病.农业生物技术学报,15(1):119-123.

吴永汉,张纯霄,许方程,李芳芳,陈为康,卢启强,夏万青.2007.温州地区番茄曲叶病毒病发生与防治.中国蔬菜(5):57-58.

于力,朱龙英,万延慧,杨少军,张辉,朱为民.2009.上海地区番茄黄化曲叶病毒病的鉴定及嫁接接种法研究.基因组学与应用生物学28(1):115-118.

赵统敏,余文贵,周益军,季英华.2007.江苏省番茄黄化曲叶病毒病(TYLCV)的发生与诊断初报.江苏农业学报,23(6):654-655.

Momol M T, Simone G W, Dankers W, Sprengel R K, Olson S M, Momol E A, Polston J E, Hiebert E.1999.First report of tomato yellow leaf curl virus in tomato in South Georgia.Plant Disease 83:487.

Zhang Hui, Gong Huanran, Zhou Xueping.2009.Molecular characterization and pathogenicity of tomato yellow leaf curl virus in China. Virus Genes 39:249-255.