

河北省番茄病毒病种类鉴定及分布

张爱红¹, 杨菲¹, 李希望¹, 邸垫平^{1*}, 苗洪芹^{1*}, 潘阳², 孙祥瑞³, 张尚卿⁴, 孙茜¹

(1. 河北省农林科学院植物保护研究所, 河北省农业有害生物综合防治工程技术研究中心, 华北北部作物有害生物综合治理重点实验室, 河北保定 071000; 2. 河北农业大学, 河北保定 071001; 3. 邢台现代职业学校, 河北邢台 054000; 4. 唐山市农业科学研究院, 河北唐山 063000)

摘要 [目的] 鉴定河北省番茄上主要病毒病种类, 明确病原和分布。[方法] 采用分子生物学技术及免疫试纸条技术, 对 2016—2018 年采自河北省 8 个县市 18 个番茄主产区的番茄样品进行病毒病种类鉴定。[结果] 采集的番茄样品中共检出 3 种病毒, 分别为番茄黄化曲叶病毒(tomato yellow leaf curl virus)、番茄褪绿病毒(tomato chlorosis virus)、番茄花叶病毒(tomato mosaic virus)。其中 TYLCV 是目前河北省危害最严重、分布最广泛的一种病毒, 各调查地区均能检出, 检出率为 63.29%, 其次为 ToCV, 检出率为 17.19%, 田间主要表现为番茄黄化曲叶病毒混合感染; ToMV 检出率仅为 0.09%, 为零星发生。[结论] 河北省番茄病毒病的主要种类为粉虱传播的番茄黄化曲叶病毒和番茄褪绿病毒。

关键词 番茄; 病毒病; 鉴定; 分布

中图分类号 S436.412.1⁺1 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2019)14-0139-03

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2019.14.041

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Identification and Distribution of Tomato Viruses in Hebei Province

ZHANG Ai-hong, YANG Fei, LI Xi-wang et al (Plant Protection Institute of Hebei Academy of Agricultural and Forestry Sciences, IPM Center of Hebei Province, Key Laboratory of Integrated Pest Management on Crops in Northern Region of North China, Ministry of Agriculture, Baoding, Hebei 071000)

Abstract [Objective] To determine the pathogens and distribution of tomato viral diseases in Hebei Province. [Method] In 2016–2018, a total of 346 infected tomato plant samples were collected from 18 main production areas of tomato in Hebei Province. Molecular biology and immunostrip techniques were used to detect the pathogens of tomato samples. [Result] Three kinds of tomato viruses were identified in the samples, they were tomato yellow leaf curl virus (TYLCV), tomato chlorosis virus (ToCV) and tomato mosaic virus (ToMV). TYLCV could be detected at every sampling site with the highest detection rate of 63.29%. The detection rate of ToCV was 17.19%, and all the positive samples were mix-infected with TYLCV. ToMV occurred sporadically in Hebei Province with a detection rate of only 0.09%. [Conclusion] Three virus were detected, TYLCV and ToCV which transmitted by whiteflies were the main types of tomato viruses in Hebei Province.

Key words Tomato; Virus disease; Identification; Distribution

番茄是一种种植广泛的蔬菜作物。目前, 已发现的番茄病毒种类约 40 种, 其中在我国发生并报道的病毒病有 18 种, 较常见的包括烟草花叶病毒(Tobacco mosaic virus)、黄瓜花叶病毒(Cucumber mosaic virus)、番茄花叶病毒(Tomato mosaic virus)等^[1-2]。在不同环境、栽培模式的影响下, 番茄病毒病的种类有所差别, 且各地的优势病毒种类会随环境及种植模式的改变而发生变化。20 世纪 70 年代, 我国番茄病毒病以烟草花叶病毒(TMV)为绝对优势种群, 黄瓜花叶病毒(CMV)发生相对较轻^[1]。20 世纪 80 年代以来, 随着大面积推广抗 TMV 品种, 我国部分地区田间番茄病毒种群发生变化^[2]。20 世纪 90 年代, 随着气候变化及种植模式的改变, 烟粉虱传播的病毒病在全球范围内暴发、扩展和蔓延。2008 年, 粉虱传播的番茄黄化曲叶病毒(Tomato yellow leaf curl virus)在河北省首次被发现^[3], 2014 年番茄褪绿病毒(Tomato chlorosis virus)在河北省检出^[4]。番茄病毒病病原种类较多, 田间发病症状较为复杂, 不同的病毒传播方式不同, 因而防治的关键点也不同。近年来, 河北省番茄种植面积不断扩大, 因此, 明确不同地区番茄病毒病的病原种类对控制病害

的发生和流行具有重要意义。笔者于 2016—2018 年对河北省番茄主产区保护地番茄病毒病的发生情况进行较为系统的调查, 以期对番茄病毒病症状识别、防治提供指导。

1 材料与方法

1.1 番茄病毒病的调查及样品采集 2016 年 1 月至 2018 年 8 月, 在河北省石家庄高邑、藁城、栾城、保定定州、清苑、定兴、博野、雄安新区、唐山滦南、丰南、乐亭、沧州献县、肃宁、衡水饶阳、邯郸永年、肥乡、邢台临城、邢台市区 18 个县区调查番茄病毒病发生情况, 采集表现黄化、褪绿、卷曲、花叶、矮化等症状的叶片, 分别装在采集袋中, 标明采集时间、地点、品种、症状, 保存于 -70 ℃ 冰箱中待测。以温室培养的网箱内健康的番茄叶片作为阴性对照。

1.2 总 RNA 和 DNA 的提取、RT-PCR 和 PCR 分别根据试剂盒说明从番茄叶片样品中提取总 RNA、DNA。TMV、CMV、ToMV、ToCV 的检测采用一步法 RT-PCR 方法, TYLCV 的检测采用 PCR 方法, 检测过程参照试剂盒说明书进行, 病毒的引物信息见表 1^[5-8]。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 G:BOX SYNGENE 全自动凝胶成像系统记录结果, 取部分扩增产物送上海生物工程有限公司测序。DNA、RNA 提取试剂盒购自 TIAN-GEN 公司, 一步法 RT-PCR 反应试剂盒购自康为世纪生物技术公司。

1.3 番茄斑萎病毒的免疫试纸条检测 对表现卷叶、黑斑、

基金项目 河北省农科院现代农业科技创新工程项目(F18C10001); 河北省现代农业产业技术体系项目(HBCT20180302)。

作者简介 张爱红(1981—), 女, 河北保定人, 副研究员, 硕士, 从事植物病毒研究。*通信作者: 邸垫平, 研究员, 博士, 从事植物病毒研究; 苗洪芹, 研究员, 硕士, 从事植物病毒研究。

收稿日期 2019-02-21

环斑等症状的样品,应用免疫试纸条方法进行 TSWV 的检测。番茄斑萎病毒试纸条购自北京中检葆泰生物技术有限

公司,检测步骤参照试剂盒说明进行。

表 1 河北省番茄病毒病检测所用引物
Table 1 Primers used for detecting virus of the tomato virus diseases in Hebei Province

病毒 Virus	引物名称 Primer name	序列 Sequence(5'—3')	退火温度 Annealing temperature//℃	扩增产物 Fragment size//bp
TYLCV	TYLCV-F	CTGAGGCTGTAATGTCGTCCAAA	60.2	304
	TYLCV-R	CCAATAAGGCGTAAGCGTGTAGA		
ToCV	ToCV-F	GGTTTGGATTTTGGTACTACATTCAGT	53.8	463
	ToCV-R	AAACTGCCTGCATGAAAAAGTCTC		
ToMV	ToMV-F	GCAACCGAAGCAGAAACTGG	52.0	565
	ToMV-R	ATCGGGATACTCACAACCTCT		
CMV	CMV-F	CTCCGCGGACATAACGTACA	59.0	572
	CMV-R	GCGTGAATAACACAACGCTCA		
TMV	TMV-F	AAAATGCCGTCATTGCGCTT	57.0	375
	TMV-R	GCGCAATGGCATAACACTCTG		

2 结果与分析

2.1 番茄病毒病田间症状 2016—2018 年调查河北省番茄病毒病发生情况,样品采集区番茄病毒病发病较严重,田间

症状大部分表现为植株矮化,叶片边缘黄化,沿叶脉褪绿(图 1a、b)、叶片上卷(图 1c),个别植株矮化不明显,叶片表现褪绿、花叶(图 1d)。



图 1 河北省番茄病毒病田间症状

Fig.1 Symptoms of suspected virus infection tomato in filed

2.2 侵染河北省番茄的主要病毒种类 对采自 18 个番茄主产区的 346 份样品进行 PCR 及 RT-PCR 检测,结果表明,大部分样品中能扩增到约 304 bp 的特异性条带,经测序比对结果显示,与 GenBank 中 TYLCV 序列的相似性高达 99.9%,确定该序列为 TYLCV 的片段;部分样品能扩增出 463 bp 的特异性条带,经测序比对结果显示,与 GenBank 中 ToCV 序列的相似性高达 99.48%,确定该序列为 ToCV 片段;仅博野采集的 1 份样品中检测到 565 bp 的特异性条带,经测序比对结果显示,与 GenBank 中 ToMV 序列的相似性高达 99.8%,确定该序列为 ToMV 片段。免疫试纸条检测结果表明,该次检测样品中暂未检测到 TSWV 的阳性样品。

以上结果表明,该次采样共检测出 3 种番茄病毒,分别为番茄黄化曲叶病毒(TYLCV)、番茄褪绿病毒(ToCV)、番茄花叶病毒(ToMV),暂未检测到烟草花叶病毒(TMV)、黄瓜花叶病毒(CMV)和番茄斑萎病毒(TSWV)。其中 TYLCV 的检出率最高,为 63.29%,其次为 ToCV,检出率为 17.19%,ToMV 检出率仅为 0.09%(表 2)。

2.3 河北省番茄病毒病发生和分布及复合侵染 在河北省 8 县市 18 个地区采集的样品中,各调查点均能检测到 TYLCV,检出率最高为 100%,最低为 33.3%;除石家庄栾城、唐山滦南、乐亭、永年外,其他 14 个地区样品中均检测到 ToCV,

最高检出率为 50%,最低 4.17%,所有 ToCV 均与 TYLCV 复合侵染,暂未发现 ToCV 单独侵染的样品。该次检测到的 ToMV 为单独侵染,仅在保定博野发现 1 株阳性样品,说明 ToMV 在河北省发生较轻,仅为零星发生。

3 结论与讨论

该研究对采自河北省 8 个县市 18 个番茄主产区的 346 份样品进行了 6 种番茄病毒种类的检测,发现目前河北省番茄主产区主要存在 3 种病毒,分别为 TYLCV、ToCV 和 ToMV,其中 TYLCV 是分布最广、发生最严重的一种病毒病,田间 ToCV 主要表现为与 TYLCV 混合侵染,在不同地区的发病率差异较大,可能与种苗来源有关。TYLCV 和 ToCV 通过烟粉虱传播,因此目前番茄病毒病的防治重点应在于控制烟粉虱的暴发与流行,并加强种苗检疫,减少病毒初侵染源。

该次检测样品中未检测到 TMV、CMV、ToMV 的检出率仅为 0.09%,为零星发生,考虑其原因可能有 2 个:①以上 3 种病毒的田间症状主要表现为花叶、蕨叶等症状,在生产过程中,农民对这种症状比较容易辨认,一旦发病会立即拔除,降低了此类病害在番茄产区的流行;②目前大部分主推的番茄品种对 TMV、CMV、ToMV 的抗性较好,随着这些抗病品种的应用,这类病毒的发生率处于较低水平。

表 2 河北省番茄病毒病原鉴定
Tab 2 Identification of tomato virus disease in Hebei

采集地点 Sample origin	样品数 Sample quantity	ToCV 侵染率 Infections of ToCV // %	TYLCV 侵染率 Infections of TYLCV // %	ToCV+TYLCV 混合侵染率 Mixed infection of ToCV+TYLCV // %	ToMV 侵染率 Infections of ToMV // %
高邑 Gaoyi	10	50.00	50.00	50.00	0.00
藁城 Gaocheng	20	40.00	40.00	40.00	0.00
栾城 Luancheng	5	0.00	80.00	0.00	0.00
博野 Boye	65	30.77	33.67	30.77	1.54
定州 Dingzhou	15	40.00	60.00	40.00	0.00
清苑 Qingyuan	33	19.65	57.13	19.65	0.00
定兴 Dingxing	20	20.00	65.00	20.00	0.00
雄安 Xiong'an	18	5.56	38.89	5.56	0.00
滦南 Luannan	4	0.00	100	0.00	0.00
丰南 Fengnan	24	4.17	95.80	4.17	0.00
乐亭 Leting	27	0.00	100.00	0.00	0.00
献县 Xianxian	20	5.00	85.00	5.00	0.00
肃宁 Suning	16	25.00	62.50	25.00	0.00
饶阳 Raoyang	29	13.79	37.93	13.79	0.00
永年 Yongnian	13	0.00	100.00	0.00	0.00
肥乡 Feixiang	9	11.11	33.30	11.11	0.00
临城 Lincheng	9	11.11	44.44	11.11	0.00
邢台 Xingtai	9	33.30	55.56	33.30	0.00
总计 Total	346	17.19	63.29	17.19	0.09

除了以上几种病毒外,TSWV 也是该次检测的重点。TSWV 可以侵染茄科、葫芦科、豆科、菊科等多种植物,是番茄上一种重要的病毒,目前云南^[9]、广州^[10]、北京^[11]、山东^[12]、宁夏^[13]等地已有报道。受采样范围所限,该次调查中暂未检测到该病毒在河北省发生。鉴于各地区种子、种苗调运日益频繁,该病毒的传播介体西花蓟马寄主广泛,繁殖力强,田间防治难以有效控制,TSWV 传播范围有可能进一步扩大,因此还应加强监测力度,警惕该病毒在河北省的发生。

参考文献

[1] 冯兰香,蔡少华,郑贵彬,等.我国番茄病毒病的主要毒原种类和番茄上烟草花叶病毒株系的鉴定[J].中国农业科学,1987,20(3):60-66.
[2] 赵世民,李秀生,谈文.番茄病毒病调查及其毒源种类的鉴定[J].河南农业大学学报,1991,25(4):407-414.
[3] 邸垫平,攻焕然,张书敏,等.河北省发生一种番茄新病害-番茄黄化曲叶病毒病[C]//成卓敏.粮食安全与植保科技创新.北京:中国农业科学技术出版社,2009:207-209.

(上接第 66 页)

城市不透水面覆盖度变化会对地表径流、城市热环境等有一定影响,并与城市化进程有一定关系。因此,对于不透水面提取的研究,能够为城市生态健康状况评价、土地利用变化和城市化监测以及城市规划建设等提供一些辅助信息,具有一定的实际应用价值。

参考文献

[1] ARNOLD C L,Jr,GIBBONS C J.Impervious surface coverage:The emergence of a key environmental indicator [J].Journal of the American planning association,1996,62(2):243-258.
[2] 王浩,卢善龙,吴炳方,等.不透水面遥感提取及应用研究进展[J].地球科学进展,2013,28(3):327-336.
[3] 姜增琛,张继贤,梁勇,等.泰安市区不透水面覆盖度遥感估算研究[J].测绘科学,2017,42(5):76-81.
[4] 徐涵秋,王美雅.地表不透水面信息遥感的主要方法分析[J].遥感学报,2016,20(5):1270-1289.
[5] RIDD M K.Exploring a V-I-S (vegetation-impervious surface-soil) model for urban ecosystem analysis through remote sensing:Comparative anatomy for cities[J].International journal of remote sensing,1995,16(12):2165-

[4] 孙国珍,高利利,陆文利,等.河北省设施番茄褪绿病毒分子检测和鉴定研究[J].北方园艺,2015(9):95-98.
[5] 刘玉乐,蔡健和,李冬玲,等.中国番茄黄化曲叶病毒——双生病毒的一个新种[J].中国科学(C 辑),1998,28(2):148-153.
[6] 周莹,尚巧霞,罗晨,等.番茄黄化曲叶病毒的鉴定与群体进化分析[J].植物保护 2016,42(1):106-111.
[7] 于翠.番茄花叶病毒(ToMV)和黄瓜花叶病毒(CMV)单克隆抗体制备及 ToMV 在烟草上致病分子机理研究[D].杭州:浙江大学,2004.
[8] 姜玉霞.新疆加工番茄上番茄花叶病毒的分子检测及全序列测定[D].石河子:石河子大学,2008.
[9] 朱敏,王泊婷,黄莹,等.云南天竺葵上发现番茄斑萎病毒[J].南京农业大学学报,2017,40(3):450-456.
[10] 刘勇,李媛媛,吴竹妍,等.广州辣椒上番茄斑萎病毒属病毒的鉴定[J].植物保护学报,2010,37(4):383-384.
[11] 李飞,吴青君,徐宝云,等.北京地区发现番茄斑萎病毒[J].植物保护,2012,38(6):186-188.
[12] 李洁,迟胜起,杨勤民,等.山东烟台地区发生番茄斑萎病毒病危害[J].植物保护,2017,43(1):228-232.
[13] 曹金强,谢学文,柴阿丽,等.李宝聚博士门诊手记(九十三) 番茄斑萎病毒病在宁夏的发现与防治[J].中国蔬菜,2016(4):87-89.

2185.
[6] WU C S,MURRAY A T.Estimating impervious surface distribution by spectral mixture analysis[J].Remote sensing of environment,2003,84(4):493-505.
[7] 岳文泽,吴次芳.基于混合光谱分解的城市不透水面分布估算[J].遥感学报,2007,11(6):914-922.
[8] 程熙,沈占锋,骆剑承,等.利用混合光谱分解与 SVM 估算不透水面覆盖度[J].遥感学报,2011,15(6):1228-1241.
[9] 徐涵秋.一种快速提取不透水面的新型遥感指数[J].武汉大学学报(信息科学版),2008,33(11):1150-1153.
[10] BROMN M,LEWIS H G,GUNN S R.Linear spectral mixture models and support vector machines for remote sensing[J].IEEE Transaction Geoscience and Remote Sensing,2000,38(5):2346-2360.
[11] 黄艳妮,查良松,陈健.基于线性光谱混合模型的混合像元分解研究:以合肥市为例[J].安徽师范大学学报(自然科学版),2012,35(3):258-263.
[12] 邓蕾,赵小锋,王慧娜,等.城市混合像元分解中土壤与不透水面纯像元选取方法的对比研究:以厦门为例[J].遥感技术与应用,2013,28(6):1039-1045.
[13] 赵怡,许剑辉,钟凯文,等.ISMA 结合 NDBI 提取广州市部分城区不透水面的方法[J].地理空间信息,2018,16(3):90-93.