

文章编号: 1005-0906(2007)05-0128-05

山东省玉米病毒病病原鉴定与防治研究

尚佑芬, 赵玖华, 王升吉, 路兴波, 孙红炜, 杨崇良

(山东省农业科学院植物保护研究所, 济南 250100)

摘要: 利用基因组核苷酸全序列测定、电镜观察、血清学测定、传播介体传毒试验等方法对山东省田间发生的玉米病毒病进行了病原鉴定。结果表明, 山东省玉米病毒病病原主要是甘蔗花叶病毒山东株系(SCMV-SD)和玉米粗缩病毒(MDMV)。田间试验 5 种防治植物病毒病专用药剂对玉米病毒病均有一定的防病效果, 最高防效在 60% 左右。采用种植抗病品种、苗期拔除病苗、药剂拌种防虫和适期施用农药等综合防治措施, 防病效果达 61.35% ~ 85.75%, 增产率 6.25% ~ 13.99%。

关键词: 玉米病毒病; 病原鉴定; 综合防治

中图分类号: S435.131

文献标识码: A

Study on Pathogens and Control of Maize Virus Diseases in Shandong Province

SHANG You-fen, ZHAO Jiu-hua, WANG Sheng-ji, et al.

(Plant Protection Institute, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100, China)

Abstract: Identification on pathogens of maize viral diseases in Shandong province was conducted by whole genomic sequencing, electron microscope observation, serological analysis and vector transmitting test. The result showed that the main pathogens were Shandong strain of sugarcane mosaic virus(SCMV-SD) and maize rough dwarf virus(MRDV). SCMV-SD was mainly transmitted by aphids, and MRDV was transmitted by laodelphax striatellus. The diseases control had some effect in trial by 5 chemicals for plant viral disease, the higher was about 60%. The integrate control method included of using varieties that resistant to maize viral diseases, eradicating disease seedlings during seedling stage, maize seed dressing with pesticide before sowing seeds for pest control and spraying chemicals for plant viral disease in good time etc. The effects of diseases control were 61.35% - 85.75% and the amount of increase in production was 6.25% - 13.99%.

Key words: Maize viral diseases; Identification; Integrate control

世界上有 40 多种病毒危害玉米^[1]。玉米粗缩病毒(MRDV)、水稻黑条矮缩病毒(RBSDV)、甘蔗花叶病毒(SCMV)、玉米矮化病毒(MSDV)、玉米矮花叶病毒(MDMV)、玉米条纹矮缩病毒(MSDV)和玉米枯斑病毒(MFV)等均在生产上有不同程度的危害。近年来, 随着农田生态条件的改变, 玉米病毒病流行频率增加, 危害加重, 发病率一般田块达 3.5% ~ 12.2%, 个别重病地块在 30% 以上。本文对山东省发生的玉米

病毒病在病原鉴定、发生规律及防治等方面进行了系统研究。

1 材料与方法

1.1 玉米品种和药剂

玉米品种由山东省农科院玉米研究所和原子能应用研究所提供, 试验用掖单 20 为本所繁育的无毒种子, 种传率测定所用种子为上年收获的 36 个品种的病株种子; 20% 病毒 A、50% 消菌灵、植病灵、病毒 K、7.5% 克毒灵、25% 辛福种衣剂均为市场销售产品。

1.2 病原粒体形态观察

将 2 ~ 3 cm² 病叶剪成连丝状, 在 PBS 缓冲液 (pH 7.2) 中浸泡 10 min, 铜网在病液滴上孵育 5 ~ 10

收稿日期: 2007-01-09

基金项目: 山东省自然科学基金项目(Y2002D16)

作者简介: 尚佑芬(1950-), 女, 研究员, 主要从事植物病毒病发生规律与防治研究。Tel: 0531-83179646

E-mail: shangyoufen@163.com

min,蒸馏水冲洗,0.1%醋酸双氧铀负染,置电镜下观察。

1.3 血清学测定

SCMV-SD 抗血清由本课题组制备,检测方法采用酶联免疫吸附双抗体间接法和琼脂双扩散法,按常规程序进行。

1.4 病原基因组序列测定

病毒 RNA 的抽提用 RNA 抽提试剂盒(RNA easy Plant Mini Kit,QIAGEN) 按提供的流程操作。cDNA 第一链的合成采用 AMV 逆转录酶(TaKaRa 公司),根据 SCMV 杭州分离物序列^[9](EMBL 登录号:AJ297628)设计引物,采用 ExTaq DNA 聚合酶(TaKaRa 公司)进行 PCR 扩增。PCR 产物经切胶纯化后直接克隆到 pGEM-T(Promega 公司)载体中,CaCl₂ 法转化大肠杆菌 TG1 菌株。序列测定由上海博亚公司完成,序列分析采用 GCG 软件。

1.5 田间药效试验设计

选择地力均匀、管理条件一致的地块,小区面积 100 m²,各试验处理随机排列。在病害发生初期开始喷药,按常规方法进行喷雾,每隔 7 d 喷 1 次药,连续用药 4 次。末次施药后 7~10 d 调查,每小区 4 点取样,每点调查 20 株。

1.6 综合防治试验设计

试验设 4 个处理,分别为抗病品种鲁单 50+ 其他措施、抗病品种鲁单 50、感病品种掖单 13+ 其他措施、感病品种掖单 13。其他措施包括播种前用 25% 辛福种衣剂按药种比 1:40 拌种,玉米生长期用 7.5% 克毒灵水剂 600 倍液面喷施,3~4 叶期第 1 次喷施,隔 7~10 d 喷 1 次,共喷 4 次;苗期结合定苗拔除感病植株。常规田间管理,及时锄草、施肥浇水和灭蚜。每处理 350~500 m²,重复 4 次,顺序排列。喷药前调查发病基数,抽雄后调查发病结果,每一处理调查 4 点,随机调查 100 株以上,记载调查株数、病株数、病情严重程度。收获期以玉米穗鲜重测产。

1.7 试验点

试验点分别设在泰安市泰山职业技术学院试验农场、新泰市农业高新技术开发中心农场。

2 结果与分析

2.1 症状与危害

2.1.1 玉米矮花叶病

受侵染的植株首先在心叶基部的脉间出现椭圆形小斑点,断续排列,呈条点花叶状,可引起整个叶片褪绿,继而形成全株叶片褪绿斑驳,呈典型的花叶

条斑状。有的老叶叶尖变红紫色,并逐渐干枯。抗性品种的植株一般生长到抽雄期病情减轻,在背光观察时可见不均匀褪绿斑驳。重病株株高降低 1/3~1/2,雄穗扭曲或抽不出,花粉少或无花粉。雌穗不能抽出或秃顶,花丝抽不出或抽出很少。到灌浆后期,轻病株叶片提早变黄、变脆,延迟成熟,子粒变小,千粒重降低(图 1)。



图 1 玉米矮花叶病病株症状

Fig.1 The symptoms of SCMV-SD on maize seedlings

2.1.2 玉米粗缩病

早期矮缩症状不明显,在植株的叶背、叶鞘上出现粗细不等的蜡白色条状突起,有粗糙感。继续发展叶片宽短僵直,叶色加深成浓绿色。节间缩短,秸秆变粗,植株矮化,状如君子兰。轻病植株稍有矮缩,雄穗发育不良、散粉少,雌穗短、花丝少、结籽少;重病株矮化 1/2 以上,雄穗不能抽出或无花粉,雌穗畸形不结实或子粒很少(图 2)。



图 2 玉米粗缩病病株症状

Fig.2 The symptoms of MDMV on maize seedlings

2.2 玉米矮花叶病病原基因组全序列测定

玉米矮花叶病病原基因组全序列由 9 596 个核

苷酸组成,编码一个 3063 氨基酸的多聚蛋白。该分离物与甘蔗花叶病毒杭州玉米毒株(sugarcane mosaic virus, SCMV, 登录号:AJ297628)^[2]的核苷酸、氨基酸同源性分别为 93.6%和 97.4%,CP 基因氨基酸同源性为 98.0%,3'-UTR 核苷酸同源性为 97.6%。与玉米矮花叶病毒保加利亚分离物(maize dwarf mosaic virus, MDMV-Bg, 登录号:AJ001691)^[3]核苷酸、氨基酸全序列同源性分别为 67.8%和 73.9%,CP 基因氨基酸同源性为 70.0%,3'-UTR 核苷酸同源性为 47.3%,与 MDMV B 株系(A34974)CP 基因氨基酸同源性为 82.3%。系统进化树分析也表明,该病毒与 SCMV 玉米分离物位于同一进化簇,而与 MDMV 进化关系很远。根据植物病毒分类标准:基因组全序列核苷酸同源性低于 85%、3'-UTR 核苷酸同源性低于 75%、CP 基因氨基酸同源性低于 90%应为不同的病毒。因此,将发生在山东省的玉米矮花叶病病原鉴定为甘蔗花叶病毒山东玉米株系 (SCMV-SD),其基因组序列被 GenBank 数据库收录,登录号为 AY149118。

2.3 病原粒体形态

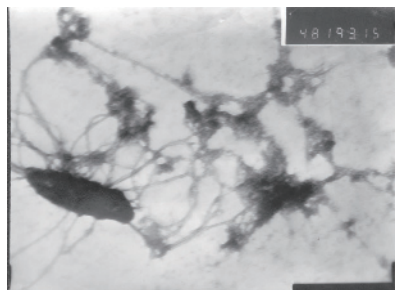


图3 SCMV-SD 粒体形态(4.8 万 X)

Fig.3 The particles of SCMV-SD(48 thousands X)

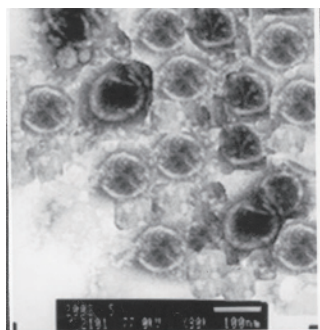


图4 MRDV 粒体形态(8 万 X)

Fig.4 The particles of MRDV(80 thousands X)

电镜观察了 39 个病株样品,表现矮花叶症状的样品其病原为线条状粒体,大小(720~750)nm×(13~

15)nm。粗缩症状的样品病原为球状粒体,直径 70~75 nm,具有斐济病毒属病毒粒子双层外壳、A 型突起的特点,与文献报道的一致^[4,5](图 3、图 4)。

2.4 病毒传播途径

2.4.1 玉米粗缩病毒(MRDV)

用田间捕捉的灰飞虱成虫(*Laodelphax striatellus* Fallen)在防虫网棚中接种玉米幼苗,产生的症状与田间发生的症状相同,与文献报道的一致,灰飞虱是 MRDV 的传播介体。

2.4.2 甘蔗花叶病毒玉米株系(SCMV-SD)

(1)蚜虫传毒。8 种蚜虫的传毒试验结果表明,能够传播 SCMV-SD 的蚜虫有玉米蚜(*Rhopalosiphum maidis*)、禾缢管蚜(*Rhopalosiphum padi*)、桃蚜(*Myzus persicae*)、麦长管蚜(*Macrosiphum avenae*)、棉蚜(*Aphis gossypii*)和麦二叉蚜(*Schizaphis graminum*),甘蓝蚜和豆蚜不能传播 SCMV-SD。

(2)汁液传毒。常规摩擦接毒掖单 13、掖单 20 品种的两叶期幼苗,摩接株均表现病症。

(3)种子传毒。苗期接毒感病的 36 个品种的病株种子,收获单株单穗置室温保存,第二年 5~6 月将单穗病株种子播于防蚜网棚内,每品种 200 株以上,3~4 叶期目测调查种传病苗,6~7 叶期逐株拔苗调查,采集显症植株和部分无症状植株,采用血清学方法,进一步确定种传病苗。在 36 个品种中有 3 个品种种子传毒,515、8112 和登海 1 号的种传率分别为 0.43%、0.59%和 2.56%。

2.5 化学药剂田间防病效果

5 种植物病毒专用药剂用于防治玉米粗缩病和玉米矮花叶病均有一定的防治效果,对玉米粗缩病的防效 44.57%~62.88%,对玉米矮花叶病的防效在 30.83%~57.97%(表 1)。药后玉米粗缩病的病株率和病情指数均有上升,但与对照比上升幅度小;玉米矮花叶病的病株率和病情指数均有不同程度的降低,这可能是玉米成株期抗性和药剂共同作用的结果。施用药剂减轻了两种病害的发生,达到抑制病毒繁殖危害的作用。

2.6 玉米病毒病综合防治效果

两地试验结果表明,采取综合防治措施对两种玉米病毒病均取得明显的防治效果。掖单 13 和鲁单 50 两个品种对玉米矮花叶病的防效在 62.59%~85.75%,对玉米粗缩病的防效在 61.35%~81.31%,较单用化学药剂有明显提高。抗病品种与感病品种比较,玉米矮花叶病、粗缩病病株率分别减少 80.5%和 48.8%,病情指数降低 67.7%和 72.1%。泰安试验

点测产结果, 掖单 13 品种平均鲜重 33.4 kg/ 株, 对照平均鲜重 29.3 kg/ 株, 增产率 13.99%; 鲁单 50 处理区平均鲜重 27.2 kg/ 株, 对照区平均鲜重 25.6 kg/ 株, 增产率 6.25%。鲁单 50 增产率相对较低, 表明抗病品种发病轻, 造成的损失相对也少。两种病害在两

个试验点发生程度有差异, 泰安点发生轻, 新泰点发生较重, 与试验地的环境条件有关。泰安试验点四周以玉米为主, 种植作物单一, 新泰试验点四周种植作物复杂, 除了玉米以外还有多种蔬菜。

表 1 化学药剂防治玉米病毒病田间效果(新泰市)
Table 1 The result of chemicals control maize viral diseases in filed

病害种类 Viral diseases	处 理 Treatment	施药前 Before treatment		施药后 After treatment		
		病株率(%)	病情指数	病株率(%)	病情指数	相对防效(%)
		Diseased plant index	Disease index	Diseased plant incidence	Disease index	Relative cure effect
矮花叶病	消毒灵	9.79	3.97	10.00	3.87	31.88
	病毒 A	8.12	2.95	8.24	2.92	30.83
	病毒 K	13.60	5.14	11.45	4.49	38.96
	植病灵	9.27	3.95	6.35	3.17	43.92
	克毒灵	8.05	2.54	4.52	1.37	57.97
	CK	9.81	4.06	11.72	5.81	
粗缩病	消毒灵	3.67	1.69	9.80	6.09	53.21
	病毒 A	4.70	2.53	11.33	7.93	59.30
	病毒 K	5.00	2.46	10.23	8.75	53.82
	植病灵	3.27	2.10	13.27	9.45	44.57
	克毒灵	7.33	2.77	6.78	7.92	62.88
	CK	4.15	1.14	9.76	8.78	

表 2 玉米病毒病综合防治效果
Table 2 The result of integrate control maize viral diseases in filed

病害种类 Viral diseases	处 理 Treatment	试验点 Location	病株率(%) Diseased plant index	病情指数 Disease index	相对防效(%) Relative cure effect
矮花叶病	掖单 13	泰安	3.33	0.59	79.77
	掖单 13(CK)	泰安	9.67	2.93	
	鲁单 50	泰安	0.67	0.07	85.75
	鲁单 50(CK)	泰安	2.67	0.52	
	掖单 13	新泰	9.00	1.69	62.59
	掖单 13(CK)	新泰	12.67	4.72	
	鲁单 50	新泰	1.67	0.42	70.91
	鲁单 50(CK)	新泰	3.33	0.89	
粗缩病	掖单 13	泰安	1.33	0.33	64.54
	掖单 13(CK)	泰安	2.00	0.94	
	鲁单 50	泰安	1.00	0.33	67.95
	鲁单 50(CK)	泰安	2.67	1.04	
	掖单 13	新泰	11.00	2.08	61.35
	掖单 13(CK)	新泰	15.33	5.39	
	鲁单 50	新泰	3.00	0.58	81.13
	鲁单 50(CK)	新泰	3.93	1.49	

3 结 论

通过系统研究明确了山东省玉米病毒病病原主要是甘蔗花叶病毒山东株系(SCMV-SD)和玉米粗缩

病毒(MDMV)。蚜虫是 SCMV-SD 的主要传毒介体, 经汁液和种子传毒; 灰飞虱是 MRMV 的传毒介体。两种病毒在田间可复合侵染玉米, 加重了对玉米的危害。

长期以来一直认为我国玉米矮花叶病病原为MDMV。Chen等首次对国内玉米矮花叶病病原基因组全序列测定分析表明,这些病毒序列与已报道的侵染玉米SCMV同源性极高,明显不同于MDMV,首次揭示了我国玉米矮花叶病流行病原为SCMV而不是MDMV。本研究结果表明,山东省发生的玉米矮花叶病病原基因组全序列与Chen等报道的SCMV的同源性很高,应为同一病毒。

本研究中的几种植物病毒专用药剂对玉米病毒病均有一定的防效,施用时应病害发生初期,选择适宜的药剂,连续用药3~4次。病毒病的流行是寄主抗病性、初始毒源、传播介体和环境因素综合作用的结果。本文采用的综合防治措施中,连片种植抗病品种,病株率、病情指数较感病品种均有明显降低;种子包衣防除虫害降低了传毒介体的数量;苗期结

合定苗拔除感病植株、田间地头及时锄草,减少了初期侵染源。因此,采取综合防治措施明显提高了防治效果。

参考文献:

- [1] 周广和,等. 我国玉米病毒病防治研究中有待解决的问题[J]. 植物保护,1996,22(1):32-34.
- [2] Chen J, Chen J P, Adams M J. Characterisation of potyviruses from sugarcane and maize in China[J]. Archives of Virology, 2002, 147(6): 1237-1246.
- [3] Kong P, Steinbiss H H. Complete nucleotide sequence and analysis of the putative polyprotein of maize dwarf mosaic virus genomic RNA (Bulgarian isolate)[J]. Archives of Virology, 1998, 143: 1791-1799.
- [4] 龚祖坝,等. 我国禾谷类病毒病的病原问题 VIII. 玉米粗缩病病原研究[J]. 生物化学与生物物理学报,1981,13(1):55-59.

(责任编辑:张 英)