

# 西藏大麦黄矮病病毒株系鉴定及介体蚜虫传毒能力分析

姚小波<sup>1</sup>, 王文峰<sup>2\*</sup>, 李 杨<sup>1</sup>, 刘何春<sup>1</sup>, 雷雪萍<sup>1</sup>, 庞 博<sup>1</sup>, 次仁央拉<sup>1</sup>

(1. 西藏自治区农牧科学院农业研究所, 西藏 拉萨 850032; 2. 西藏自治区农牧科学院, 西藏 拉萨 850000)

**摘要:**从西藏青稞发病田采集黄矮病株10份,经生物学分离并用BYDV-GAV、PAV、RPV、SGV 4种抗血清进行酶联免疫吸附(即EILSA法)测定和RT-PCR法验证。拉萨曲水6份标样与GAV抗血清有强反应,而与PAV、RPV、SGV抗血清无反应,说明拉萨曲水大麦黄矮病毒的主要株系为GAV株系。采用无毒麦无网长管蚜、麦长管蚜、禾谷缢管蚜传毒,麦长管蚜对GAV株系病毒传毒强,拉萨、山南两地的麦长管蚜传毒力无明显差异。

**关键词:**西藏;大麦黄矮病;病毒株系;蚜虫;传毒能力

中图分类号:S435

文献标识码:A

## Identification of Strain of Tibet Barley Yellow Dwarf Virus and Analysis of Transmission Capabilities of Mediating Aphid

YAO Xiao-bo<sup>1</sup>, WANG Wen-feng<sup>2\*</sup>, LI Yang<sup>1</sup>, LIU He-chun<sup>1</sup>, LEI Xue-ping<sup>1</sup>, PANG Bo<sup>1</sup>, Cirennyangla<sup>1</sup>

(1. Agricultural Research Institute, Tibet Academy of Agricultural and Animal Husbandry Sciences, Tibet Lhasa 850032, China; 2. Tibet Academy of Agricultural and Animal Husbandry Sciences, Tibet Lhasa 850000, China)

**Abstract:** Ten barley with yellow dwarf diseases were collected from the infected field of Tibetan highland barley, and were isolated biologically and enzyme-linked immunosorbent assay (EILSA) with BYDV-GAV, PAV, RPV and SGV. Moreover, RT-PCR method was used for verification. Six standard samples of Lhasa Qushui have a strong reaction with GAV antiserum. However, they have no reaction with PAV, RPV and SGV antiserum. This means that the main strain of Lhasa Qushui barley yellow dwarf virus is GAV strain, which uses the non-toxic Metopolophium dirhodum (Walker), Sitobion avenae (Fabricius) and Rhopalosiphum padi (Linnaeus) to transmit virus. Moreover, Sitobion avenae (Fabricius) has the strongest ability of the virus transmission for GAV strains, and the ability of the virus transmission of Sitobion avenae (Fabricius) in Lhasa and Shannan has no obvious difference.

**Key words:** Tibet; Barley yellow dwarf disease; Virus strain; Aphid; Virus transmission ability

大麦黄矮病(Barley Yellow Dwarf Virus,简称BYDV)是最重要、分布最广的禾谷类病毒<sup>[1]</sup>,包括小麦和燕麦等禾谷类作物的主要病害之一。大麦黄矮病病毒由蚜虫以持续性方式传播,病毒在蚜虫体内可存活2~3周,感染植株的韧皮部组织后,细胞大量增殖<sup>[2]</sup>,引起叶片增厚、发黄。依据蚜虫传播效率与介体专化性,将BYDV划分成PAV、MAV、RMV、SGV、RPV 5个株系,不同株系由不同种类麦

蚜传播<sup>[3]</sup>。每种蚜虫只对其中的1个株系最有效,麦二叉蚜专化性传播SGV分离物,麦长管蚜专化性传播MAV分离物,禾谷缢管蚜专化性传播RPV分离物,禾谷缢管蚜和麦长管蚜两种蚜虫均能有效传播PAV分离物,玉米蚜能有效传播RMV分离物<sup>[4]</sup>。在我国,Zhou等<sup>[5]</sup>鉴定出GPV、GAV、PAV和RMV 4种株系。我国大麦黄矮病株系主要有RPV、GAV、PAV 3种,禾谷级管蚜传播的RPV株系;麦二叉蚜、麦长管蚜传播的GAV株系;禾谷缢管蚜和麦长管蚜传播的PAV株系<sup>[6]</sup>,近几年我国的主流株系为GAV株系。青稞是禾本科大麦属的一种禾谷类作物,内外颖壳分离,籽粒裸露,又称裸大麦,生产上大部分品种对BYDV抗性差,在西藏各冬、春青稞种植区均有不同程度的发生,拉萨、山南尤为严重。黄

收稿日期:2018-08-10

基金项目:植物病虫害生物学国家重点实验室开放基金资助课题“西藏青稞黄矮病病毒鉴定”(SKLOF201714)

作者简介:姚小波(1983-),男,副研究员,主要从事作物病害研究,E-mail:yaobol031@163.com; \*为通讯作者:王文峰(1979-),男,研究员,主要从事有害生物治理与蜜蜂养殖,E-mail:wwfhenjie@163.com。

矮病一般造成青稞减产 15 % 左右,青稞早期发生黄矮病试验记载平均损失为 55 %,甚至可达 100 %。

利用系统性杀虫剂控制蚜虫是减轻黄矮病传播流行的重要方法,使用耐病或抗病品种是防治大麦黄矮病最有效的措施,因此明确不同地区大麦黄矮病毒株系,有针对性地培育抗耐病品种是十分必要的。近年来,西藏拉萨、山南麦黄矮病发生日趋严重,而关于该地区大麦黄矮病毒株系类型、介体蚜虫传毒能力尚未见报道。本文对西藏青稞的黄矮病病株进行了血清学鉴定和介体蚜虫传毒能力分析,以期明确该区域的大麦黄矮病毒株系类型和蚜虫传毒能力,为我区青稞抗黄矮病育种工作和田间防控提供理论参考。

# 1 材料与方法

## 1.1 青稞田蚜虫种类调查

从秋季开始至第 2 年夏结束,从拉萨曲水县、山南桑日县青稞黄矮病发生区定点系统调查。5 点取样,不定期从田间采集蚜虫,实验室隔离标记饲养,进行种类鉴定。

## 1.2 病株采集与保存

2016 年 5 月 10 ~ 15 日,从拉萨、山南不同发病区采集典型新鲜病株,选取山南桑日县冬青稞(冬青 18)疑似病株 4 份,编号 sn1、sn2、sn3、sn4;选取拉萨曲水县冬青稞(冬青 18)疑似病株 6 份,编号 ls1、ls2、ls3、ls4、ls5、ls6,用于病毒株系鉴定。

## 1.3 生物学测定

1.3.1 传毒蚜虫及毒源 在无毒青稞苗上饲养试验蚜虫,所产若蚜连续多代饲养获得无毒蚜虫,作为实验蚜虫。BYDV-GAV 毒源由课题组采集、分离、保存。

1.3.2 饲毒与接种 试验盆种植冬青稞冬青 18,养虫笼隔离培植无毒苗。用无毒蚜取食感毒青稞,在 15 ℃、黑暗条件下,培养 2 d 获毒,幼苗 2 叶期接

种感毒成蚜虫 3 头,传毒 3 d,喷洒杀虫剂吡虫啉彻底杀死接种麦苗上蚜虫,以不接虫为对照(CK),充分发病后调查病株率。

## 1.4 酶联免疫吸附测定

PAV、SGV、RPV、GAV 抗血清由中国农业科学院植物保护研究所病毒组提供,饱和硫酸铵法提纯 IgG,用碱性磷酸酯酶标记 IgG,采用双夹心酶联免疫吸附方法(即 DAS-ELISA 法)<sup>[7]</sup>。接种 PAV 和 GAV 株系的青稞感病品种“冬青 18”为阳性对照,它们的健株为阴性对照。

# 2 结果与分析

## 2.1 大麦黄矮病的田间症状及蚜虫种类鉴定

感病植株叶片从叶边缘、叶尖或叶片中间出现不均匀退色斑,褪色区域呈鲜黄色,点片状不均匀褪色是黄矮病最典型特征之一<sup>[8]</sup>。一般从新叶下 1 ~ 2 片叶开始黄化,自上而下,自叶尖沿叶脉向叶身扩展,逐渐变窄、变厚、质脆,叶背有蜡质光泽。拔节期发病,植株不矮化。孕穗期发病,仅叶发黄,自尖端向下逐渐延伸,根系不健全,主根短,次生根少(图 1)。

经拉萨、山南多点、多次田间采样及室内饲养,通过体形、体色、腹管、翅中脉、尾片毛(根)等形态特征鉴别,主要有麦长管蚜[*Sitobion avenae*(Fabricius)]、禾谷缢管蚜[*Rhopalosiphumpadi*(Linnaeus)]和麦无网长管蚜[*Metopolophiumdirhodum*(Walker)] 3 种(图 2)。

## 2.2 大麦黄矮病毒株系血清学鉴定

利用 BYDV-PAV、GAV、RPV 抗血清对待测 10 份标样株系测定,以毒源 GAV、RPV、PAV 分离物为阳性对照,健康麦叶作为阴性对照。经鉴定,拉萨曲水 6 份样本与 GAV 抗血清有强反应,OD 值在 0.031 ~ 2.331 之间,平均为 1.102,阴性健株对照值 0.027, GAV 阳性对照 1.034,而与 RPV、PAV 2 种抗

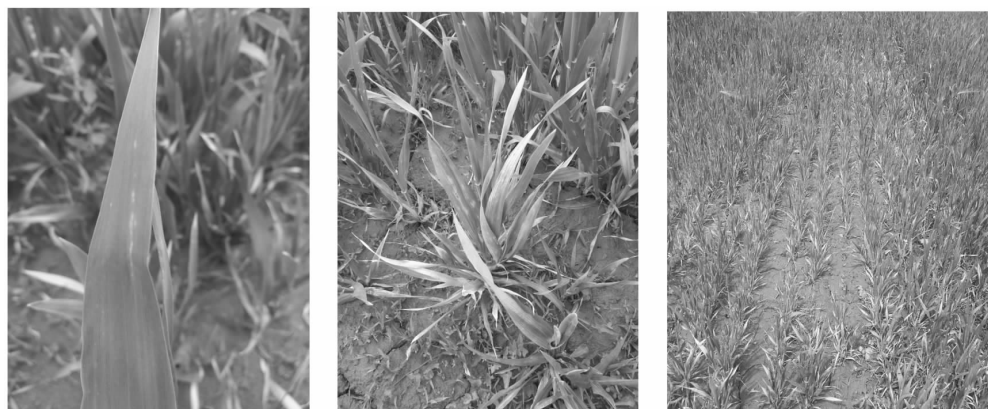


图 1 西藏大麦黄矮病的田间症状

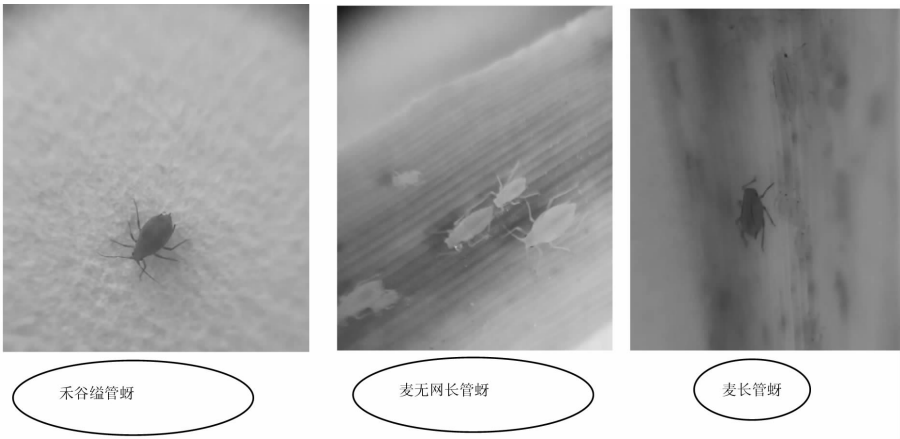


图 2 西藏常见 3 种麦蚜

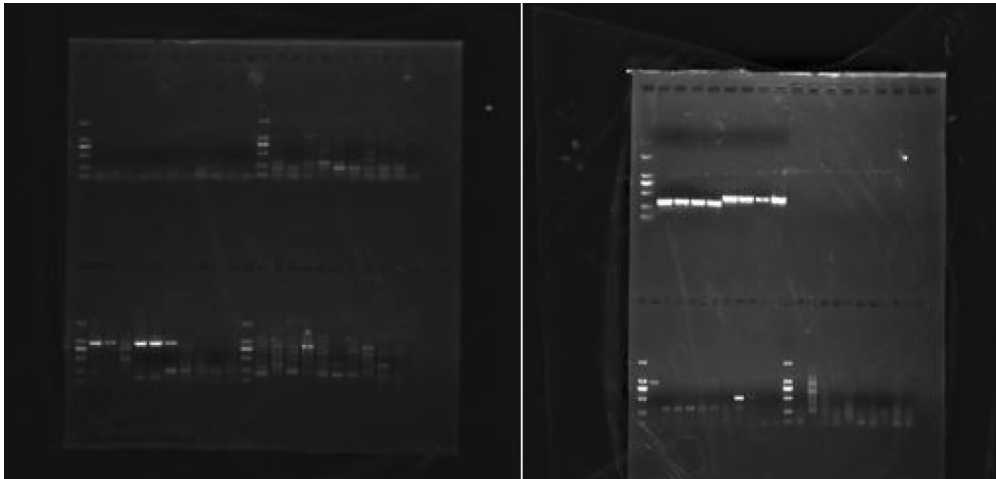


图 3 电泳检测结果

血清无反应,曲水青稞上黄矮病病毒流行株系为 GAV。山南桑日县 4 份标样与毒源 GAV、RPV、PAV 分离物抗血清无特异反应,标样无我国大麦黄矮病流行株系。

2.3 RT-PCR 验证

以标样总 RNA 为模板,阳性对照为阳性质粒,阴性对照为无菌水,设计大麦黄矮病 GAV CP 基因特异引物,进行 RT-PCR 扩增,扩增产物琼脂糖凝胶电泳,样品和阳性对照呈现条带,阴性对照无此条带的出现(图 3),BYDV ELISA 检测与 RT-PCR 验证结果相符,GAV 株系是拉萨大麦黄矮病主要株系。

2.4 蚜虫传毒能力比较

拉萨、山南 3 种蚜经纯化后,获得无毒的麦无网长管蚜、麦长管蚜、禾谷缢管蚜,在相同的条件下,饲

毒接种,第 25 天开始发病到第 40 天病症明显。拉萨、山南两地的麦无网长管蚜、禾谷缢管蚜不传播 GAV 株系黄矮病病毒。麦长管蚜对黄矮病 GAV 株系的传毒能力强,拉萨、山南两地麦长管蚜传 GAV 株系的能力无差异。

3 结 论

我们对西藏地区的 10 份样品经血清学鉴定,拉萨曲水采集 6 份冬青 18 样本为黄矮病,经 DAS-ELISA 法检测,RT-PCR 法验证,拉萨曲水青稞黄矮病病毒株系为 GAV 株系。西藏拉萨、山南麦蚜种群田间调查,该地区蚜虫种群为麦无网长管蚜、麦长管蚜、禾谷缢管蚜。传播的 GAV 株系的媒介昆虫是麦长管蚜,田间调查发现大量的禾谷缢管蚜、麦无网长

表 1 常见麦蚜的鉴别特征

形态特征	体色 体形	腹管	翅中脉	尾片毛(根)
麦长管蚜	淡绿色、背中深绿色,卵圆形,	短圆筒形,顶端黑色	分 2 叉	4
麦无网 长管蚜	淡绿色,长卵形	绿色,长圆筒形,端部无网纹	3 叉	8
禾谷缢管蚜	绿色至墨绿色,卵圆形。后端黑色斑	短圆筒形,端部缢缩为瓶口状	3 叉	7~8

表 2 ELISA 检测结果

OD 值	ck	Gav 对照	RPV 对照	PAV 对照	Ls1	Ls2	Ls3
GAV	0.027	1.034	0.039	-0.013	0.208	0.301	1.184
RPV	0.405	0.049	0.005	0.021	0.092	0.182	0.111
PAV	0.082	0.146	0.334	0.315	0.370	0.211	0.189
OD 值	Ls4	Ls5	Ls6	Sn1	Sn2	Sn3	Sn4
GAV	1.496	2.331	1.364	-0.019	-0.031	-0.049	0.001
RPV	0.120	0.084	0.086	0.029	0.034	0.049	0.073
PAV	0.288	0.456	0.334	0.071	0.012	0.001	0.009

表 3 拉萨、山南 3 种蚜虫成蚜传播 GAV 株系能力比较表

蚜虫种类	麦无网长管蚜			麦长管蚜			禾谷缢管蚜		
	接种 苗数	发病 苗数	病株率 ( % )	接种 苗数	发病 苗数	病株率 ( % )	接种 苗数	发病 苗数	病株率 ( % )
Ls	25	0	0	28	15	53.57	26	0	0
sn	27	0	0	29	16	55.17	23	0	0
不接蚜	0	0	0	0	0	0	0	0	0

注:传毒能力用发病株数与接种总株数的比值表示。

管蚜,是大麦黄矮病其它株系媒介昆虫,是否存在其它病毒株系,尚需多点采样进一步分离鉴定。

参考文献:

[1]D'Arcy C J, Burnett P A. Barley yellow dwarf: 40 years of progress [M]. St. Paul: APS Press, 1995.

[2]Miller A W, Liu S J, Beckett R. Barley yellow dwarf virus: Luteoviridae or Tombusviridae [J]. Molecular Plant Pathology, 2002, 3 (4): 177 - 183.

[3]刘艳. BYDV-GPV 与 GAV 混合侵染蚜传专化性研究[D]. 北京: 中国农业科学院硕士学位论文,2005.

[4]Zhou G H, Zhang S X, Qian Y T. Identification andpplications of

four strains of wheat yellow dwarf virus( in Chinese) [J]. Scientia Agricultura Sinica, 1987, 20: 70 - 72.

[5]Rochow W F. Biological properties of four isolates of barley yellow dwarf virus. [J]. Phytopathology, 1969, 59(11):1580.

[6]周广和,张淑香,钱幼亭. 小麦黄矮病毒 4 种株系鉴定与应用 [J]. 中国农业科学,1987,20(4):7 - 12.

[7]钱幼亭,周广和,周希明. 从麦类种质资源中筛选大麦黄矮病毒 (BYDV) 抗原[J]. 植物保护学报,1993,20(1):71 - 75.

[8]蔺瑞明,冯晶,陈万全,等. 大麦病害概略[M]. 北京:中国农业科学技术出版社,2014.