

# 瓜蚜在西葫芦植株上传播获取西瓜花叶病毒的效率及西瓜花叶病毒病的发生规律

毛晓红<sup>1</sup> 刘国霞<sup>2</sup> 张秀霞<sup>1</sup> 李娇娇<sup>1</sup> 张安盛<sup>1\*</sup>

(1. 山东省农业科学院植物保护研究所, 山东省植物病毒学重点实验室, 济南 250100;

2. 山东省农业科学院生物研究中心, 济南 250100)

**摘要:** 为明确瓜蚜 *Aphis gossypii* Glover 成蚜对西瓜花叶病毒 (*Watermelon mosaic virus*, WMV) 的传毒特征, 应用 RT-PCR 技术检测了瓜蚜传播获取 WMV 的效率及其在成蚜体内的存留时间; 同时调查了 2015 年山东省日光温室西葫芦瓜蚜种群动态与西瓜花叶病毒病的发生规律。结果表明, 瓜蚜成蚜离开带毒西葫芦植株 0 h 后, 带毒率为 35.00%, 3 h 后成蚜带毒率随着时间的延长开始呈下降趋势, 24 h 后仅为 5.40%。26℃ 条件下, 健康瓜蚜取食带毒植株 5 min 后即可获毒, 0.5 h 后获毒率达到 62.50%; 带毒瓜蚜取食健康植株 0.5 h 后植株即可带毒, 24 h 后植株带毒率达到 94.44%。温度对瓜蚜成蚜的传毒率有一定影响, 在 21、26、31℃ 条件下, 瓜蚜成蚜 24 h 传毒率分别为 61.11%、94.44% 和 88.89%。调查发现, 温室西瓜花叶病毒病的发生率与瓜蚜种群数量呈正相关, 当温室瓜蚜成蚜种群数量为 1.06~1.73 头/叶时, 西葫芦开始发病, 当成蚜数量增至 18.22 头/叶时, 全田发病率可达 83.33%。表明瓜蚜成蚜具有较强的传播 WMV 的能力, 有效控制瓜蚜发生对减少 WMV 的扩散具有重要意义。

**关键词:** 西瓜花叶病毒; 瓜蚜成蚜; 获毒; 传毒; 带毒持效期

## Transmission and acquisition rate of *Watermelon mosaic virus* (WMV) by *Aphis gossypii* on the zucchini plant and its relations with the occurrence of WMV

Mao Xiaohong<sup>1</sup> Liu Guoxia<sup>2</sup> Zhang Xiuxia<sup>1</sup> Li Jiaojiao<sup>1</sup> Zhang Ansheng<sup>1\*</sup>

(1. Key Laboratory for Plant Virology of Shandong, Institute of Plant Protection, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100, Shandong Province, China; 2. Biological Research Center, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100, Shandong Province, China)

**Abstract:** In order to clarify the transmission characteristics of *Watermelon mosaic virus* (WMV) by *Aphis gossypii* Glover, the residence time of WMV in *A. gossypii* adult body, the WMV acquisition rate and transmission rate of *A. gossypii* adult were detected by using RT-PCR technology. At the same time, the population dynamics of *A. gossypii* on zucchini and the occurrence of WMV disease were also investigated in the greenhouse in Shandong Province. The results showed that the virus-carrying rate of *A. gossypii* adults reduced gradually with the time passing after they left the viruliferous zucchini plant for 3 h. The virus carrying rate was 35.00% at 0 h and only 5.40% after 24 h. At 26℃, the healthy *A. gossypii* could carry WMV when the aphids ate viruliferous plant for 5 min. The virus-carrying rate reached 62.50% after 0.5 h. The healthy plant could be infected when viruliferous *A. gossypii* ate the plant for 0.5 h. The virus-carrying rate of the plant was 94.44% after 24 h. The temperature had certain effect on

the virus transmission rate of *A. gossypii*. When the experimental temperature was 21, 26 and 31°C, the virus acquisition rate of *A. gossypii* adult was 61.11%, 94.44%, and 88.89%, respectively, after 24 h. The survey results showed that there was a positive correlation between the occurrence of WMV disease and the population dynamics of *A. gossypii*. The zucchini plant would fall ill when the number of *A. gossypii* was between 1.06 and 1.73 per leaf, and the incidence of the whole field reached 83.33% when the number of *A. gossypii* was 18.22 per leaf. It indicated that *A. gossypii* had strong acquisition rate and transmission rate for WMV and should be controlled effectively to prevent the diffusion of WMV disease.

**Key words:** *Watermelon mosaic virus*; cotton aphid of adult aphid; virus acquisition; virus transmission; virus-carrying duration

西瓜花叶病毒(*Watermelon mosaic virus*, WMV)是马铃薯Y病毒属成员(姜华等, 1993), 具有单链正义RNA基因组(张建新, 2007), 有30 111个碱基, 编码355~395个氨基酸(何丹等, 2015)。该病毒寄主范围广泛, 可侵染27属170多种植物(Shukla et al., 1994), 是世界范围内侵染葫芦科的重要病毒。植株被WMV侵染后, 首先表现为叶片脉间变黄, 而后叶片停止生长, 呈卷须状, 新叶扭曲, 整个植株生长受阻, 果实畸形。WMV于1954年最早在美国被发现(Anderson, 1954), 随后Webb & Scott(1965)在西瓜上最早分离得到该病毒, 该病毒主要分布于温带和地中海地区(任春梅等, 2013)。目前, 世界很多国家的葫芦科作物都受到了WMV不同程度的危害, 在我国山西(李大伟等, 2000)、广西(秦碧霞等, 2001)、天津(王惠哲等, 2004)、辽宁(陈红运等, 2006)、安徽(张大伟等, 2004)、陕西(张建新等, 2007)、山东(刘金亮等, 2010)及新疆(刘卫荣和向本春, 2008)等多个省区发现WMV, WMV引起的病毒病发生普遍且危害严重(周健等, 2012)。

WMV主要由蚜虫进行传播(朱红菊等, 2014), 其中最主要的是瓜蚜*Aphis gossypii* Glover和桃蚜*Myzus persicae* (Sulzer)以非持久性方式进行传播(Tien & Wu, 1991)。目前, 国内关于瓜蚜和桃蚜传播WMV的相关研究较少, 李向东等(1995)对WMV在西瓜上的传毒能力进行了研究, 结果显示桃蚜饲毒5 min后即可传毒; 赵荣乐(2006)针对桃蚜对WMV的传毒效率和获毒效率进行了相关研究, 结果显示桃蚜取食30 s即可获毒, 70 s获毒率达到100%, 取食0.25 h即可传毒, 2 h时传毒率达到100%; 桃蚜单头即可传毒, 15头传毒率达到100%。但瓜蚜在西葫芦上的传毒效率、获毒效率和带毒时间的研究至今还未见报道, 日光温室中WMV引起的西瓜花叶病毒病的发生规律及其与瓜蚜种群动态

的关系亦无相关研究。本试验拟通过反转录-聚合酶链式扩增(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)方法研究瓜蚜在西葫芦植株上对WMV传毒、获毒的效率及其带毒时间, 同时调查山东省日光温室内瓜蚜与西葫芦带毒率的关系, 以期揭示WMV在西葫芦上的发生规律和防治方法提供基础依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试毒源: 西葫芦植株病样采自山东省农业科学院植物保护研究所试验农场, 经室内ELISA检测, 病株只携带WMV而不携带小西葫芦黄花叶病毒(*Zucchini yellow mosaic virus*, ZYMV)、黄瓜花叶病毒(*Cucumber mosaic virus*, CMV)、黄瓜绿斑驳病毒(*Cucumber green mottle mosaic virus*, CGMMV)等病毒, 同时采用PCR检测对结果进行确认, 检测结果无误。将带毒植株取叶片放于-80°C冰箱内保存备用。

供试植物: 健康西葫芦品种为优美F1, 购自山东大江种业有限公司, 在36孔穴盘内育苗, 子叶期移栽到直径15 cm、高22 cm的花盆中, 在温度为26±1°C、相对湿度为(60±5)%、光照周期为16 L:8 D的人工气候箱中培养至1叶期, 选取部分植株经室内ELISA检测其不携带WMV、ZYMV、CMV、CGMMV, 备用; 将健康子叶期西葫芦苗用WMV毒源叶片摩擦接毒, 在上述条件人工气候箱中培养7 d, 经PCR检测确认其携带WMV, 作为带毒西葫芦苗备用。棉花品种为棉研37, 购自山东棉花研究中心, 在直径为15 cm、高22 cm的花盆中育苗, 在上述条件人工气候箱中培养15 d, 备用。

供试虫源: 健康瓜蚜采自山东省农业科学院植物保护研究所试验农场棉花植株上, 经室内PCR检

测,其不携带WMV。用毛笔取成蚜接到温度为 $26\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度为 $(60\pm 5)\%$ 、光照周期为16 L:8 D的人工气候箱中的棉花苗上饲养,8 h后移走成蚜,将若蚜在棉花苗上继续饲养,4 d后逐一取下初发育为成蚜的瓜蚜个体作为试验用健康成蚜;将健康瓜蚜成蚜接到带毒西葫芦苗上饲养,8 h后移走成蚜,将若蚜在西葫芦苗上继续饲养,4 d后逐一取下初发育为成蚜的瓜蚜个体作为试验用带毒成蚜。

试剂:植物RNA提取试剂盒、DL2000 Marker、反转录试剂盒,江苏溥博生物科技有限公司;Trizol,美国Invitrogen公司;Taq PCR Master Mix,天根生化科技(北京)有限公司;WMV特异性引物,深圳华大基因科技服务有限公司;硝酸纤维素(nitrocellulose filter, NC)膜,德国GE Healthcare Life Science公司;WMV、ZYMV、CMV、CGMMV单克隆抗体,山东农业大学;羊抗鼠IgG二抗,德国Sigma公司;显色底物氯化硝基四氮唑蓝(nitrotetrazolium blue chloride, NBT)与5-溴-4-氯-3-吲哚基-磷酸盐(5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate, BCIP),普洛麦格(北京)生物技术有限公司;其余试剂均为国产分析纯。

仪器:RXZ-280D-LED人工气候箱,宁波江南仪器厂;TP600 PCR仪,日本TaKaRa公司;FluorChem-Q凝胶成像仪,美国Alpha Innotech公司;DYY-6C电泳仪,北京市一仪器厂;微虫笼:用内径为2 cm、高0.5 cm的有机玻璃管自制,外部粘120目防虫网。

## 1.2 方法

### 1.2.1 WMV在瓜蚜成蚜体内存留时间的测定

试验在温度为 $26\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度为 $(60\pm 5)\%$ 、光照周期为16 L:8 D的人工气候箱中进行。将健康瓜蚜成蚜接到带毒西葫芦苗上,饲养8 h后移走成蚜,将若蚜继续饲养4 d,逐一取下初发育为成蚜的单头瓜蚜并分别置于含有棉花叶片的小培养皿中,以1%琼脂保湿。分别在饲养0、0.25、0.5、1、2、3、6、12、24、36 h后,PCR检测单头瓜蚜携带WMV情况,计算瓜蚜的带毒率及WMV在瓜蚜成蚜体内的存留时间。每处理3次重复,每重复8头瓜蚜。带毒率=带毒虫数(植株数)/检测总虫数(植株数) $\times 100\%$ ;存留时间=带毒率为零的时间-瓜蚜离开带毒叶片的时间。

单头瓜蚜基因组RNA提取参照高阳等(2013)方法并加以改进。首先将单头瓜蚜置于1.5 mL离心管中,用微型小研杵在液氮条件下研磨均匀,再加入250  $\mu\text{L}$  Trizol,混匀后室温放置5 min。加入50  $\mu\text{L}$  氯仿混合物(氯仿:异戊醇=24:1),剧烈振荡混匀

1 min,静止3 min, $4^{\circ}\text{C}$ 下12 000 r/min离心10 min,取上清液约100  $\mu\text{L}$ 转移至新的离心管中,加入等体积 $4^{\circ}\text{C}$ 保存的异丙醇,混匀, $-20^{\circ}\text{C}$ 冰箱放置30 min, $4^{\circ}\text{C}$ 下12 000 r/min离心10 min,弃上清液,加入250 mL 75%的预冷酒精洗涤, $4^{\circ}\text{C}$ 下12 000 r/min离心5 min后,用移液器取出酒精,待管内酒精挥发后加入10  $\mu\text{L}$  RNase-free ddH<sub>2</sub>O,待测。西葫芦植株基因组RNA提取参照植物基因组RNA提取试剂盒说明书进行。

20  $\mu\text{L}$ 反转录体系:模板RNA 10  $\mu\text{L}$ 、Buffer 4  $\mu\text{L}$ 、RNase-free ddH<sub>2</sub>O 3  $\mu\text{L}$ 、引物1  $\mu\text{L}$ 、dNTP 1  $\mu\text{L}$ 、反转录酶1  $\mu\text{L}$ ,将所有试剂轻轻混匀,按程序 $25^{\circ}\text{C}$ 退火10 min; $50^{\circ}\text{C}$ 合成DNA链45 min; $85^{\circ}\text{C}$ 使酶失活5 min进行反应。反转录后cDNA于 $-20^{\circ}\text{C}$ 冻存。PCR扩增使用WMV特异引物(上游引物:CGCAACAGTCTCAGAGTCTTCCAT,下游引物:ATGTC-CAACCATCAGGTAAACTCC),20  $\mu\text{L}$ 反应体系:cDNA 3  $\mu\text{L}$ 、2 $\times$ PCR MasterMix 10  $\mu\text{L}$ 、ddH<sub>2</sub>O 5  $\mu\text{L}$ 、上下游引物各1  $\mu\text{L}$ 。PCR反应程序: $94^{\circ}\text{C}$ 预变性3 min; $94^{\circ}\text{C}$ 变性30 s, $57^{\circ}\text{C}$ 退火30 s, $72^{\circ}\text{C}$ 延伸1 min,循环35次; $72^{\circ}\text{C}$ 延伸10 min。PCR扩增产物进行1.5%琼脂糖凝胶电泳检测并拍照。

### 1.2.2 瓜蚜对WMV的获毒能力测定

试验在温度为 $26\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度为 $(60\pm 5)\%$ 、光照周期为16 L:8 D的人工气候箱中进行。取带毒西葫芦叶片置于培养皿中,以1%琼脂保湿。每个培养皿中放健康瓜蚜成蚜1头,分别放置2、3、5、10、20、30、60 min后,将成蚜用毛笔轻轻扫下,PCR检测单头瓜蚜携带WMV的情况,计算瓜蚜的获毒率,以表征瓜蚜成蚜的获毒能力。方法同1.2.1。每处理3次重复,每重复12头成蚜。获毒率=带毒虫数/检测总虫数 $\times 100\%$ 。

### 1.2.3 瓜蚜对WMV的传毒能力测定

试验在温度为 $26\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度为 $(60\pm 5)\%$ 、光照周期为16 L:8 D的人工气候箱中进行。以5头带毒瓜蚜成蚜为1组,将每组成蚜置于微虫笼中,并固定在健康1叶期西葫芦植株真叶上,每株西葫芦苗固定微虫笼1个;分别在接虫后0.5、1、2、3、6、12、24、48 h移走微虫笼及笼内瓜蚜,15 d后对西葫芦植株进行PCR检测,方法同1.2.1。每处理3次重复,每重复12株西葫芦苗。因温度对蚜虫的传毒能力有一定的影响(林尤剑等,2001),参照上述方法,在21、26、 $31^{\circ}\text{C}$ 共3个温度条件下,分别对接毒48 h的西葫芦苗进行PCR检测,以确定西葫芦植株携带

WMV的情况,计算西葫芦植株的带毒率,即瓜蚜成蚜的传毒率,以表征瓜蚜成蚜的传毒能力。传毒率=带毒植株数/检测总植株数 $\times$ 100%。

### 1.2.4 病毒病发生规律与瓜蚜种群动态的关系

试验地点为山东省农业科学院植物保护研究所日光温室,试验地面积为1.0 hm<sup>2</sup>,西葫芦品种为优美F1。西葫芦苗定植时间为2015年9月4日,株行距60 cm $\times$ 100 cm,西葫芦苗长势良好。自西葫芦苗定植之日起,每10 d左右调查1次。采用定点定株调查法:定西葫芦苗4行,每行取西葫芦苗20株,每株挂牌标记位于上、中部的5片叶片。每次均调查所标记西葫芦苗的叶片,同时记录瓜蚜数量;采集挂牌标记西葫芦植株的叶片,于室内采用dot-ELISA法检测西葫芦植株携带WMV情况,明确西葫芦植株携带何种病毒,并计算其带毒率;每次田间调查时,采用五点取样法共采集30~50头瓜蚜,PCR检测单头瓜蚜携带WMV情况,计算瓜蚜带毒率。方法同1.2.1。

dot-ELISA血清学检测方法:植物叶片称重后,按重量体积比1:10~1:50(g/mL)加入0.01 mol/L磷酸盐缓冲液研磨;10 000 r/min离心5 min;取2  $\mu$ L上清液点到NC膜上,于室温下干燥10 min;再将NC膜浸入到含5%脱脂奶粉缓冲液封闭30 min;之后将NC膜在1:5 000倍稀释的单克隆抗体中室温孵育30~60 min;取出后用磷酸盐吐温缓冲液洗NC膜5 min,重复操作3次;在碱性磷酸酶标记羊抗鼠IgG二抗(1:8 000)中孵育30~60 min;用磷酸盐吐温缓冲液洗NC膜5 min,重复操作3次;再将显色底物NBT 66  $\mu$ L和BCIP 33  $\mu$ L加到10 mL底物缓冲液中混匀,底物显色5~20 min,观察并记录结果。

### 1.3 数据分析

采用SPSS 17.0软件对WMV在瓜蚜成蚜体内的存留时间、瓜蚜成蚜的带毒率和传毒率进行统计分析,应用Duncan氏新复极差法进行各处理间的差异显著性检验。

## 2 结果与分析

### 2.1 WMV在瓜蚜体内的存留时间

在26 $^{\circ}$ C下,瓜蚜成蚜的带毒率在其离开带毒西葫芦植株0~3 h后为35.00%~26.92%,处理间差异不显著;离开带毒西葫芦植株6 h时为11.90%,显著低于0~3 h处理;离开带毒西葫芦植株12~36 h为0~5.40%,与离开带毒西葫芦植株6 h的处理无显著差异(图1)。因此,离开带毒西葫芦植株3 h后,瓜蚜

带毒率开始随着时间延长而逐渐降低,部分瓜蚜成蚜带毒时间超过24 h,带毒率为5.4%。

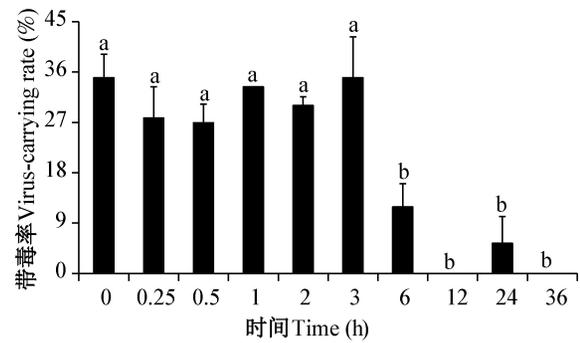


图1 26 $^{\circ}$ C下WMV在瓜蚜成蚜体内的存留时间

Fig. 1 The residence time of WMV in the body of *Aphis gossypii* adult at 26 $^{\circ}$ C

图中数据为平均数 $\pm$ 标准误。不同字母表示经Duncan氏新复极差法检验在 $P<0.01$ 水平差异显著。Data are mean $\pm$ SE. Different letters on the bars indicate significant difference at  $P<0.01$  level by Duncan's new multiple range test.

### 2.2 瓜蚜成蚜对WMV的获毒能力

在26 $^{\circ}$ C下,健康瓜蚜成蚜在带毒西葫芦植株上的获毒率随着取食时间的延长而提高,取食20 min后获毒率处于相对稳定的状态。瓜蚜成蚜取食带毒西葫芦植株2~3 min时其获毒率为0,取食5、10 min后获毒率有一定提高,分别为11.11%和33.33%;在其取食20、30、60 min时获毒率继续提高,分别为52.94%、62.50%和55.56%,三者间无显著差异,但均显著高于其余处理(图2)。

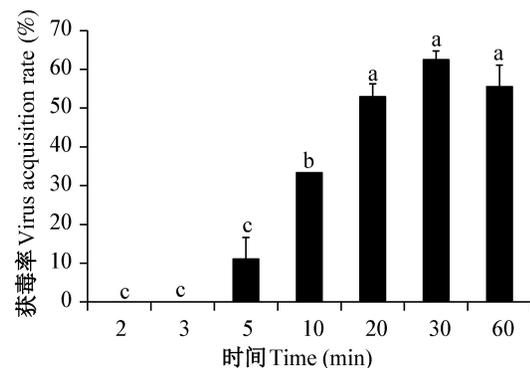


图2 26 $^{\circ}$ C下瓜蚜成蚜对WMV的获毒率

Fig. 2 The virus acquisition efficiency of WMV by *Aphis gossypii* adult at 26 $^{\circ}$ C

图中数据为平均数 $\pm$ 标准误。不同字母表示经Duncan氏新复极差法检验在 $P<0.01$ 水平差异显著。Data are mean $\pm$ SE. Different letters on the bars indicate significant difference at  $P<0.01$  level by Duncan's new multiple range test.

### 2.3 瓜蚜成蚜对WMV的传毒能力

在26 $^{\circ}$ C下,带毒瓜蚜成蚜的传毒率在0.5~12 h

内随着取食时间的增加而逐渐提高,12 h后处于相对稳定的状态。带毒成蚜取食健康西葫芦植株0.5~6 h,西葫芦植株带毒率为16.67%~38.89%,处理间无显著差异;取食12~48 h,西葫芦植株带毒率为88.89%~94.44%,其中24 h带毒率为94.44%,其后不

变,处理间无显著差异,但显著高于取食0.5~6 h处理(图3-A)。在不同温度条件下,带毒瓜蚜成蚜取食健康西葫芦苗48 h后植株带毒率随温度变化而变化,在21、26、31℃条件下,瓜蚜成蚜24 h获毒率分别为61.11%、94.44%和88.89%(图3-B)。

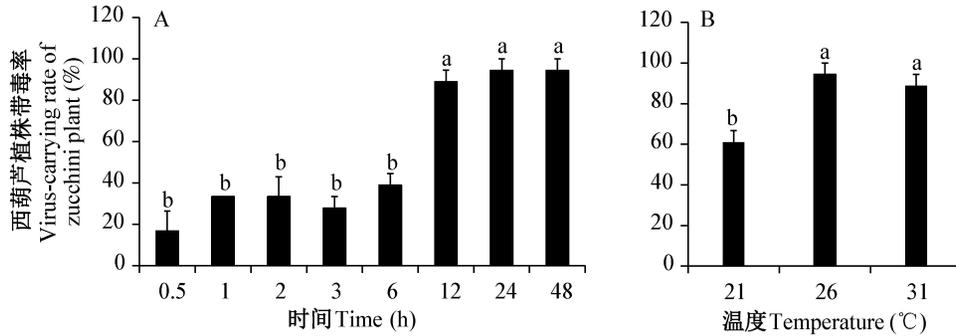


图3 不同条件下瓜蚜成蚜对WMV的传毒率

Fig. 3 The virus transmission efficiency of WMV by *Aphis gossypii* adult under different conditions

A: 26℃条件下瓜蚜成蚜的传毒率; B: 不同温度条件下瓜蚜成蚜的传毒率。图中数据为平均数±标准误。不同字母表示经Duncan氏新复极差法检验在 $P<0.01$ 水平差异显著。A: The virus transmission efficiency of *Aphis gossypii* adult at 26℃; B: the virus transmission efficiency of *Aphis gossypii* adult at different temperatures. Data are mean±SE. Different letters on the bars indicate significant difference at  $P<0.01$  level by Duncan's new multiple range test.

#### 2.4 病毒病发生规律与瓜蚜种群动态的关系

西葫芦植株带毒率与瓜蚜成蚜数量表现出一定的相关性。随着成蚜数量增多,西葫芦植株出现带毒现象且比例不断升高。瓜蚜开始发生时期为9月中

旬,发生数量为1.73头/叶,西葫芦带毒率为0;至9月下旬瓜蚜发生数量为1.06头/叶,西葫芦带毒率为23.91%;11月中旬调查结果显示,瓜蚜发生数量增加至18.22头/叶,西葫芦带毒率升高至83.33%(图4)。

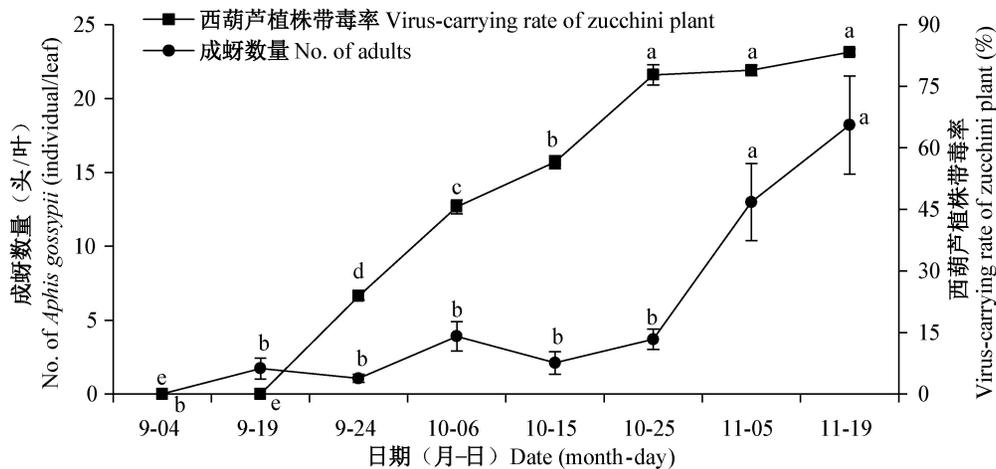


图4 山东省日光温室中瓜蚜种群动态与西葫芦植株带毒率的关系

Fig. 4 Relationships of *Aphis gossypii* populations with virus-carrying rate on zucchini plant in the greenhouse in Shandong Province

图中数据为平均数±标准误。同一条线上不同字母表示经Duncan氏新复极差法检验在 $P<0.01$ 水平差异显著。Data are mean±SE. Different letters above the same line indicate significant difference at  $P<0.01$  level by Duncan's new multiple range test.

### 3 讨论

传毒介体带毒时长是病毒病传播的关键因子。经吴云峰等(1996)研究结果表明,不同种类的蚜虫

带毒时间不同,棉蚜的带毒时间为25~40 min,较桃蚜能延长5~10 min,桃蚜的带毒时间为20~30 min。本研究结果显示,在26℃条件下,瓜蚜成蚜在3 h内带毒率保持相对稳定,在26.92%~35.00%之间,这可

能是由试验环境和温度等差异引起的,但瓜蚜带毒时长为后面研究瓜蚜的传毒能力打下了时间基础,同时对于西瓜花叶病毒病的传播提供了有利的优势。

李向东等(1995)在对山东省侵染西瓜的WMV-2和CMV的研究中发现,桃蚜饲毒5 min后其传毒效率为66.7%,随后传毒率保持不变。同时赵荣乐(2006)对WMV-2新疆株的桃蚜传播特性研究结果也表明,桃蚜在西葫芦上30 s即可获毒,70 s获毒率即达100%,同时0.25 h后可传毒,2 h后传毒率达到100%。本试验中瓜蚜初成蚜对WMV的获毒时间需要5 min,20 min后获毒率达到52.94%;瓜蚜初成蚜30 min后即可传毒,12 h传毒率达到88.89%,24、48 h传毒率均为94.44%;本研究结果相较于李向东等(1995)试验结果,所需传毒时间要长,较赵荣乐(2006)的研究结果传毒时间要短,获毒时间要长,但是获毒传毒规律一致。同时,Gera et al.(1979)和Owolabi & Ekpiken(2014)指出2种CMV菌株通过蚜虫的传毒效率是不同的;Castle et al.(1992)研究也发现不同蚜虫传播WMV-2的效率是不同的,可能与试验中植株和蚜虫种类不同有一定关系,且在虫口数量相同的情况下,植株带毒率可能与蚜虫感染强度也有关。本研究结果表明,瓜蚜成蚜5 min获毒、30 min传毒,增加了对WMV的传播效率,给西葫芦生产带来严重危害,因此田间高效防治瓜蚜和及时去除发病植株对于减轻西葫芦西瓜花叶病毒病至关重要。

林尤剑等(2001)研究了温度对棉蚜传播柑橘衰退病毒(*Citrus tristeza virus*,CTV)的影响,结果显示31℃下棉蚜的传毒率为12.2%,22℃下传毒率为60.8%,高温影响蚜虫的传毒率。本研究结果表明,在26~31℃下,瓜蚜对WMV的传毒率为88.89%~94.44%;在21℃下传毒率仅为61.11%,温度可能会影响蚜虫对植株的取食量或者取食频率,从而影响植株的带毒率;这与林尤剑等(2001)结果相反,可能是因为介体和病毒不同导致的。日光温室内秋冬季平均温度在26~31℃之间,有利于西瓜花叶病毒病的传播与流行。

Owolabi & Ekpiken(2014)研究发现,瓜蚜数量与传毒效率有一定的关系。本试验对温室大棚内西葫芦植株带毒率与瓜蚜发生规律关系的调查结果表明,9月中旬西葫芦开始携带WMV,带毒率为23.91%,随着时间的推移,西葫芦的带毒率迅速升高,到11月下旬达到83.33%,与Owolabi & Ekpiken

(2014)的研究结果一致。瓜蚜的发生为WMV传播提供了便利条件,易造成西瓜花叶病毒病的传播与蔓延。本研究结果表明,瓜蚜种群数量与西瓜花叶病毒病发生呈正相关,说明防治瓜蚜是控制西瓜花叶病毒病发生的关键因素之一。因此,加强对瓜蚜的防控,可以有效减轻日光温室西葫芦西瓜花叶病毒病的发生。当然不同蚜虫对WMV的传播特征及瓜蚜对WMV不同寄主的传毒、获毒能力仍需深入研究。

## 参 考 文 献 (References)

- Anderson CW. 1954. Two *Watermelon mosaic virus* strains from central Florida. *Phytopathology*, 44(4): 198-202
- Castle SJ, Perring TM, Farrar CA, Kishaba AN. 1992. Field and laboratory transmission of *Watermelon mosaic virus 2* and *Zucchini yellow mosaic virus* by various aphid species. *Phytopathology*, 82(2): 235-240
- Chen HY, Zhao WJ, Cheng Y, Li MF, Zhu SF. 2006. Molecular identification of the virus causing watermelon mosaic disease in Mid-Liaoning. *Acta Phytopathologica Sinica*, 36(4): 306-309 (in Chinese) [陈红运, 赵文军, 程毅, 李明福, 朱水芳. 2006. 辽中地区西瓜花叶病原的分子鉴定. *植物病理学报*, 36(4): 306-309]
- Gao Y, Zhu CH, Tan XQ, Liu Y, Peng J, Zhang DY. 2013. A modified protocol for extraction of total RNA from small insects. *Plant Protection*, 39(4): 90-93 (in Chinese) [高阳, 朱春晖, 谭新球, 刘勇, 彭静, 张德咏. 2013. 一种改良的快速提取小型昆虫总RNA的方法. *植物保护*, 39(4): 90-93]
- Gera A, Loebenstein G, Raccach B. 1979. Protein coats of two strains of *Cucumber mosaic virus* affect transmission of *Aphis gossypii*. *Phytopathology*, 69: 396-399
- He D, Halili · Kuerban, Yushanjiang · Maimaiti, Li JY, Yang D, Han S. 2015. Coat protein gene cloning and sequence analysis of *Watermelon mosaic virus* (WMV) in Xinjiang main planting areas. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 52(10): 1849-1858 (in Chinese) [何丹, 海利力·库尔班, 玉江山·麦麦提, 李继阳, 杨渡, 韩盛. 2015. 西瓜花叶病毒(WMV)外壳蛋白基因克隆及序列分析. *新疆农业科学*, 52(10): 1849-1858]
- Jiang H, Fang DC, Wei SQ, Pan WB, Ma ZT. 1993. On pathophysiology of the host of two strains of *Watermelon mosaic virus* (WMV-2). *Acta Phytopathologica Sinica*, 25(1): 73-76 (in Chinese) [姜华, 房德纯, 韦石泉, 潘文博, 马正潭. 1993. 西瓜花叶病毒(WMV-2)两株系寄主的病理生理研究. *植物病理学报*, 25(1): 73-76]
- Li DW, Niu SN, Han CG, Liu QY. 2000. Nucleotide sequence analysis of coat protein gene of *Watermelon mosaic virus-2* Shanxi isolate. *Journal of Henan Agricultural University*, 34(2): 337-340 (in Chinese) [李大伟, 牛胜鸟, 韩成贵, 刘庆元. 2000. 西瓜花叶病毒2号山西分离物外壳蛋白基因核苷酸序列分析. *河南农业大学学报*, 34(2): 337-340]
- Li XD, Zhu HC, Yan DY, Liu HT, Guo XQ. 1995. Identification of vi-

- ruses infecting watermelon (*Citrullus vulgaris*) in Shandong Province. Journal of Shandong Agricultural University, 26(3): 299–306 (in Chinese) [李向东, 朱汉城, 严敦余, 刘焕庭, 郭兴启. 1995. 山东省侵染西瓜的西瓜花叶病毒(WMV-2)和黄瓜花叶病毒(CMV)的研究. 山东农业大学学报, 26(3): 299–306]
- Lin YJ, Xie LH, Powell CA. 2001. Advances in *Citrus tristeza virus* transmission by brown citrus aphid. Journal of Fujian Agricultural University, 30(1): 59–66 (in Chinese) [林尤剑, 谢联辉, Powell CA. 2001. 橘蚜传播柑橘衰退病毒的研究进展. 福建农业大学学报, 30(1): 59–66]
- Liu JL, Wang FT, Wei Y, Zhang SH, Pan HY. 2010. Cloning and sequence analyses of the coat protein genes of *Watermelon mosaic virus* and *Cucumber mosaic virus* from one mix-infected squash plant. Chinese Agricultural Science Bulletin, 26(16): 262–266 (in Chinese) [刘金亮, 王凤婷, 魏毅, 张世宏, 潘洪玉. 2010. 侵染南瓜的西瓜花叶病毒和黄瓜花叶病毒 CP 基因的克隆和序列分析. 中国农学通报, 26(16): 262–266]
- Liu WR, Xiang BC. 2008. Nucleotide sequence analysis of coat protein gene of *Watermelon mosaic virus* 2 Xinjiang Changji isolates. Acta Phytopathologica Sinica, 38(6): 576–581 (in Chinese) [刘卫荣, 向本春. 2008. 西瓜花叶病毒 2 号新疆昌吉分离物外壳蛋白基因核苷酸序列分析. 植物病理学报, 38(6): 576–581]
- Owolabi AT, Ekpiken EE. 2014. Transmission efficiency of two strains of Moroccan *Watermelon mosaic virus* by two clones of *Aphis spiraeicola* (Patch). International Journal of Virology, 10(4): 253–262
- Qin BX, Cai JH, Liu ZM, Yu YB. 2001. Identification of watermelon mosaic disease in Guangxi. Guangxi Agricultural Sciences, (6): 296–297 (in Chinese) [秦碧霞, 蔡健和, 刘志明, 余玉冰. 2001. 广西西瓜花叶病病原病毒鉴定. 广西农业科学, (6): 296–297]
- Ren CM, Cheng ZB, Miao Q, Wei LH, Zhou YJ, Fan YJ. 2013. Molecular identification and sequence analysis for *Watermelon mosaic virus* in Jiangsu. Journal of Southern Agriculture, 44(9): 1464–1470 (in Chinese) [任春梅, 程兆榜, 缪倩, 魏利辉, 周益军, 范永坚. 2013. 江苏省葫芦科作物西瓜花叶病毒的分子鉴定和序列分析. 南方农业学报, 44(9): 1464–1470]
- Shukla DD, Ward CW, Brunt AA. 1994. The Potyviridae. Wallingford: CAB International
- Tien P, Wu GS. 1991. Satellite RNA for the bio-control of plant disease. Advance in Virus Research, 39: 321–339
- Wang HZ, Li SJ, Huo ZR, Pang JA, Zhang GX. 2004. Detection of watermelon mosaic viruses on cucumber by RT-PCR. Journal of Tianjin Agricultural College, 11(4): 20–22 (in Chinese) [王惠哲, 李淑菊, 霍振荣, 庞金安, 张桂霞. 2004. 利用 RT-PCR 检测黄瓜上的西瓜花叶病毒. 天津农学院学报, 11(4): 20–22]
- Webb RE, Scott HA. 1965. Isolation and identification of watermelon mosaic viruses 1 and 2. Phytopathology, 55(8): 895–900
- Wu YF, Du JH, Wei NS. 1996. Specificity of three non-persistent virus transmission by aphids. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 5(1): 39–42 (in Chinese) [吴云峰, 杜菊花, 魏宁生. 1996. 三种非持久性病毒蚜虫传播专化性研究. 西北农业学报, 5(1): 39–42]
- Zhang DW, Li SF, Fan WH, Cheng ZM, Wang J. 2004. Identification of watermelon mosaic disease in Hefei. Acta Phytopathologica Sinica, 34(5): 474–476 (in Chinese) [张大伟, 李世访, 范卫红, 成卓敏, 王杰. 2004. 合肥地区发生的西瓜花叶病的病原鉴定. 植物病理学报, 34(5): 474–476]
- Zhang JX, Wu YF, Wang R, Luo ZP. 2007. Complete nucleotide sequence of *Watermelon mosaic virus* China isolate. Chinese Journal of Virology, 23(2): 153–156 (in Chinese) [张建新, 吴云锋, 王睿, 罗朝鹏. 2007. 西瓜花叶病毒中国分离株全基因组核苷酸序列测定. 病毒学报, 23(2): 153–156]
- Zhao RL. 2006. Transmission of *Watermelon mosaic virus*-2-XJ by *Myzus persicae*. Journal of Kashgar Teachers College, 27(3): 51–53 (in Chinese) [赵荣乐. 2006. 西瓜花叶病毒-2 新疆株的桃蚜传播特性的研究. 喀什师范学院学报, 27(3): 51–53]
- Zhou J, Gu XF, Zhang SP, Miao H, Cheng F. 2012. Research progress in cucumber resistance to *Watermelon mosaic virus*. China Vegetables, 1(10): 7–13 (in Chinese) [周健, 顾兴芳, 张圣平, 苗晗, 程斐. 2012. 黄瓜对西瓜花叶病毒病抗性的研究进展. 中国蔬菜, 1(10): 7–13]
- Zhu HJ, Lu XQ, Liu WG, Zhao SJ, Yan ZH, He N, Dou JL, Gao L. 2014. Effect of WMV on the ultrastructure of tetraploid watermelon leaves. China Cucurbits and Vegetables, 27(3): 14–16 (in Chinese) [朱红菊, 路绪强, 刘文革, 赵胜杰, 闫志红, 何楠, 豆峻岭, 高磊. 2014. 西瓜花叶病毒对四倍体西瓜叶片细胞超微结构的影响. 中国瓜菜, 27(3): 14–16]

(责任编辑:李美娟)