



番茄黄化曲叶病毒病的室内外检测鉴定方法

田兆丰, 裘季燕

(北京市农林科学院植物保护环境保护研究所, 100097)

番茄黄化曲叶病毒(TYLCV)2002年传入我国南方,随后由南到北蔓延开来,2009年在北京地区已经普遍发生。该病是由双生病毒科病毒侵染所致,主要危害番茄、烟草等茄科植物,造成植株叶片枯黄、植株矮化、产量降低、品质变差,甚至绝产。本文对该病毒病的检测鉴定技术作了简要介绍。

1 根据田间症状鉴定

番茄黄化曲叶病毒由烟粉虱传播,只要有病原植株和烟粉虱活动繁殖的地块,该病就会很快繁殖和蔓延开来。苗龄越小越易染病,染病越早,发病率和发病症状越严重。发病初期新生叶由叶缘开始黄化,随后黄化区域向中脉扩展,最后整个叶片枯黄并向上卷曲,同时还伴随植株矮化,影响开花结果。早期染病的植株除上述症状外常伴随生长缓慢或停滞,坐果减少或不坐果。后期染病的植株仅上部叶片和新芽表现症状,植株矮化不明显,下部叶片易脱落,能结果但结果数量减少,果实变小。病株所结果实大多着色不均匀,严重降低商品价值^[1]。

各种番茄病毒病的田间症状虽然各有特征,如番茄烟草花叶病毒病和番茄黄瓜花叶病毒病的特征分别为花叶和叶片畸形,可区别于番茄黄化曲叶病毒病的黄化和卷曲,但共同的特征是植株矮化和后期坏死。所以,田间症状的识别仅是初步的经验性判断,进一步的确定还需要对样品进行室内的分子生物学检测或免疫学检测。

2 病原样品的室内鉴定

2.1 聚合酶链式反应(PCR)分子鉴定

聚合酶链式反应原理类似于基因的天然复制过程,其特异性依赖于与靶序列两端互补的寡核苷酸引物,通过基因扩增获得目的片段。番茄黄化曲

叶病毒属于DNA病毒,首先提取病叶总DNA,以提取的总DNA为模板,由该病毒特有的保守序列设计并合成引物,进行聚合酶链式反应,结果可扩增出与阳性样品一致的相应大小的DNA条带。将PCR扩增得到的片段回收,克隆到特定的质粒载体,并进行基因序列测定,可以了解该病毒株系的变异情况。该方法的优点是灵敏度高,在感染初期症状未显现或症状不明显时就可以检测到病毒^[2,3]。

2.2 酶联免疫法(ELISA)鉴定

酶联免疫法(ELISA)鉴定是建立在免疫学基础之上的检测方法,该方法是以样品中的某物质或病毒作为抗原,将抗原、抗体的特异性反应与酶对底物的高效催化作用结合起来的一种敏感性很高的试验技术。由于抗原、抗体的反应是在一种固相载体——聚苯乙烯微量滴定板的孔中进行,每加入一种试剂孵育后,可通过洗涤除去多余的游离反应物,最后结合在固相载体上的酶量与标本中受检物质的量成一定的比例。所以,加入酶反应的底物后,底物被酶催化变为有色产物,产物的量与标本中受检物质的量直接相关,故可根据颜色反应的深浅进行定性或定量分析。由于酶的催化频率很高,故可极大地放大反应效果,从而使测定方法达到很高的敏感度,保证了试验结果的特异性与稳定性。在实际应用中,通过不同的设计,具体的方法步骤可有多种。即:用于检测抗体的间接法、用于检测抗原的双抗体夹心法以及用于检测小分子抗原或半抗原的抗原竞争法等等。比较常用的是ELISA双抗体夹心法及ELISA间接法。该方法的优点是特异性强,并可以定量检测,适合大量不同样品的筛查^[4]。

3 讨论

番茄黄化曲叶病毒病作为一种传播性很强的病毒病害,其扩散及危害对我国番茄及其他茄科蔬菜

蔬菜病害测报技术与识别

周志德

(黑龙江省北安市农业科学技术推广中心, 164000)

摘要: 主要从黄瓜霜霉病和番茄的早疫病症状识别、病原物、病害循环、发病因素以及监测和预报方法等方面进行阐述, 为从事植物有害生物预测预报工作的同行提供理论依据。

关键词: 蔬菜; 病害; 症状识别; 发病条件; 测报技术

1 黄瓜霜霉病

1.1 症状识别

主要危害叶片, 也可危害茎、卷须和梗。发病初期, 叶正面出现淡黄色病斑, 背面出现水渍状多角形病斑, 或者叶片正反两面均出现多角形水渍状病斑, 病斑发展后叶正面为褐色多角形病斑, 外圈仍为黄绿色, 病健交界模糊, 潮湿时叶背病斑处产生紫黑色霉层, 后期变成黑色霉层。

1.2 病原物

病原物为古巴假霜霉, 鞭毛菌亚门假霜霉菌属。

1.3 病害循环

在北方寒冷地区, 病菌不能在露地越冬, 植株

枯萎后即死亡。种子不带菌, 主要靠气流和雨水传播。传播的途径主要是从温室黄瓜传到大田黄瓜, 再从大田传播到夏秋黄瓜, 然后再传播到温室黄瓜。

1.4 发病因素

1.4.1 气候条件

黄瓜生长期间的温度一般能够满足发病要求, 因此, 高湿是黄瓜霜霉病发生的重要条件。病菌产生的孢子囊需要83%以上的相对湿度, 孢子囊萌发和侵入都需要有水滴或水膜。叶面干燥, 孢子囊不能萌发, 2~3 d即死亡。

1.4.2 栽培管理措施

通常, 靠近温室、大棚及苗床附近的黄瓜发病早且病重; 地势低洼、栽培过密、通风透光不良、肥料不足、浇水过多、植株徒长、地表潮湿等发病重; 保护地管理操作不当, 放风排湿时间不够, 叶面水膜形成多, 霜霉病发生也重。

1.4.3 品种抗病性

黄瓜不同品种对霜霉病的抗性差异很大, 一般早熟品种、品质好的品种抗病性差。

产业的发展造成了巨大的威胁, 已经引起广泛的重视和研究。建立一套完整、灵敏的, 在病原分子生物学基础之上的检测鉴定技术和指标, 对无毒苗繁育技术、防治技术的研究及抗病品种的选育^[1], 具有重要理论和实践意义。

参考文献

- [1] 曹华. 防番茄黄化曲叶病毒病刻不容缓[J]. 北京农业, 2010 (3):19-20.
- [2] 纪文磊, 李文丽, 王 富. 山东寿光地区番茄黄化曲叶病毒

株系的分子鉴定[J]. 青岛农业大学学报(自然科学版), 2010, 27(3): 216-219.

- [3] 周涛, 师迎春, 陈笑瑜, 等. 北京地区番茄黄化曲叶病毒病的鉴定及防治对策[J]. 植物保护, 2010, 36(2) 116-118.
- [4] 张爱红, 张书敏, 刘帅, 等. 2009年河北省番茄黄化曲叶病毒病发生危害和分布[J]. 植物保护, 2010, 36(4): 127-129.
- [5] 郑积荣, 王慧俐. 番茄黄化曲叶病毒病抗性鉴定与遗传分析[J]. 浙江农业学报, 2010, 22(4):444-447. 图