

木尔坦棉花曲叶病毒在新疆的发生分布及烟粉虱带毒检测

高国龙, 张兴旺, 姜子健, 黄家风*, 都业娟*

(石河子大学农学院, 新疆绿洲农业病虫害治理与植保资源利用重点实验室, 石河子 832003)

摘要 为了明确木尔坦棉花曲叶病毒 cotton leaf curl Multan virus (CLCuMuV) 在新疆的发生分布, 对采自新疆 13 个地(州)的 1 166 份蜀葵、苘麻、棉花疑似病株进行 CLCuMuV 分子鉴定和带毒检测, 并对 3 种寄主上同期采集的 1 588 头烟粉虱进行隐种鉴定和带毒检测。结果显示, CLCuMuV DNA-A 组分及其伴随的 DNA β 卫星分子均可侵染蜀葵、苘麻、棉花; 基于 DNA-A 及 DNA β 组分的进化分析表明, 新疆 3 种寄主上发生的 CLCuMuV 与国内已报道的 CLCuMuV 进化关系一致; 蜀葵、苘麻、棉花上 CLCuMuV 带毒率存在差异, 分别为 27.87%、33.33% 和 14.95%; MEAM1 和 MED 隐种为新疆烟粉虱主要种群, 分别占 26.70% 和 66.44%, 带毒率分别为 21.46% 和 17.63%, 说明 MED 隐种为新疆烟粉虱优势种群, 2 个隐种均可携带 CLCuMuV 且带毒率相近; MEAM1 隐种在蜀葵、苘麻、棉花上带毒率分别为 21.39%、0 和 28.21%, MED 隐种分别为 19.61%、8.47% 和 11.18%, 表明 2 个隐种在不同寄主上的带毒率存在差异。本研究明确了新疆地区侵染蜀葵、苘麻和棉花的 CLCuMuV 发生及分布情况, 并明确新疆烟粉虱主要种群 MEAM1 和 MED 隐种在 3 种寄主上的分布及带毒情况, 为新疆棉区防控 CLCuMuV 发生严重危害提供科学依据。

关键词 CLCuMuV; 棉花; 蜀葵; 苘麻; 烟粉虱

中图分类号: S435.61 **文献标识码:** A **DOI:** 10.16688/j.zwbh.2021154

Distribution of cotton leaf curl Multan virus and detection of viruliferous rate of *Bemisia tabaci* in Xinjiang

GAO Guolong, ZHANG Xingwang, JIANG Zijian, HUANG Jiafeng*, DU Yajuan*

(Agricultural College of Shihezi University, Key Laboratory of Oasis Agricultural Pest Management and Plant Protection Resources Utilization, Shihezi 832003, China)

Abstract In order to determine the distribution of cotton leaf curl Multan virus (CLCuMuV) in Xinjiang, 1 166 suspected plants of *Alcea rosea*, *Abutilon theophrasti* and cotton collected from 13 prefectures (autonomous prefectures) in Xinjiang were investigated by molecular identification and CLCuMuV detection, and the total of 1 588 *Bemisia tabaci* were also collected from the three hosts to determine the cryptic species of *B. tabaci* and their viruliferous rate of CLCuMuV by PCR. The results showed that *A. rosea*, *A. theophrasti* and cotton could be infected by CLCuMuV DNA-A and its beta satellite DNA β . CLCuMuV DNA-A and its DNA β from the three hosts in Xinjiang were closely related to the CLCuMuV isolates from other provinces in China based on phylogenetic tree analysis. The rate of CLCuMuV infection in *A. rosea*, *A. theophrasti* and cotton was 27.87%, 33.33% and 14.95%, respectively. The population of *B. tabaci* in Xinjiang was mainly comprised of MEAM1 and MED cryptic species. MEAM1 accounted for 26.70% with 21.46% viruliferous rate, and MED accounted for 66.44% with 17.63% viruliferous rate, indicating that MED cryptic species is the dominant population of *B. tabaci* in Xinjiang. Both MEAM1 and MED could carry CLCuMuV with similar viruliferous rate, the viruliferous rate of MEAM1 in *A. rosea*, *A. theophrasti* and cotton was 21.39%, 0 and 28.21%, respectively, and that of

收稿日期: 2021-03-12 修订日期: 2021-04-25

基金项目: 国家自然科学基金(31860496); 新疆生产建设兵团区域创新引导计划(2018BB403); 国家大学生创新创业训练计划(202010759002)

* 通信作者 E-mail: 黄家风 jiafeng_huang@163.com; 都业娟 dyjagr@sina.com

MED was 19.61%, 8.47% and 11.18%, respectively. The results showed that the viruliferous rates of MEAM1 and MED on different hosts were different. In conclusion, the occurrence and distribution of CLCuMuV in *A. rosea*, *A. theophrasti* and cotton in Xinjiang were determined, and the distribution and viruliferous rates of MEAM1 and MED on the three hosts were also determined, which provides scientific basis for the prevention and control of CLCuMuV in Xinjiang.

Key words CLCuMuV; cotton; *Alcea rosea*; *Abutilon theophrasti*; *Bemisia tabaci*

棉花曲叶病 cotton leaf curl disease (CLCuD) 是棉花生长期的毁灭性病害, 不仅造成棉纤维长度、细度等品质下降, 还严重影响产量, 造成的产量损失可达 10%~90%^[1]。该病害是由烟粉虱 *Bemisia tabaci* (Gennadius) 传播的双生病毒科 *Geminiviridae* 菜豆金色花叶病毒属 *Begomovirus* 的多种病毒引起, 通常统称为棉花曲叶病毒 cotton leaf curl virus (CLCuV)。CLCuV 可侵染其他寄主, 并通过烟粉虱传播到棉花上^[1], 因此烟粉虱和其他寄主的分布和带毒情况对该病害的传播及流行具有重要作用。

烟粉虱是由多个隐种组成的物种复合体, 也是传播 CLCuV 的唯一昆虫介体^[2]。其中 Middle East-Asia Minor 1 (MEAM1) 和 Mediterranean (MED) 2 个隐种入侵性强、分布广泛, 在我国最为常见且为害严重^[3-4]。新疆烟粉虱隐种鉴定显示 2010 年前均为 MEAM1 隐种^[4-5], 自 2011 年首次报道 MED 隐种入侵新疆后^[6], 不同区域烟粉虱种群组成呈动态变化: 南疆和田地区烟粉虱种群由 MEAM1 隐种发展为 MED 隐种和 MEAM1 隐种混发, 以 MED 隐种为优势种群^[7]; 东疆鄯善县和北疆克拉玛依市两区域由 MED 隐种发展为 2 个隐种混发, 但以 MED 隐种为优势种群^[7-8]; 石河子市检测结果表明, 由 MEAM1 隐种转变为 2 个隐种混发, 无明显优势种群^[7-9]; 乌鲁木齐市烟粉虱仅检测到 MED 隐种^[7-9]; 库尔勒市检测到 Asia II 7 隐种^[9]。由于不同隐种烟粉虱对 CLCuV 的传播能力差异显著, 因此及时监控烟粉虱隐种动态变化趋势及带毒情况是预防该病害暴发流行的有力措施。

CLCuV 严重危害棉花的同时, 还能以多种观赏花卉和杂草作为寄主。苏丹已报道锦葵科 *Malvaceae* 的棉属 *Gossypium*、木槿属 *Hibiscus*、悬铃花属 *Malvaviscus*、蜀葵属 *Alcea*、苘麻属 *Abutilon* 等 9 个属植物可受到 CLCuV 危害^[10]; 巴基斯坦在茄科 *Solanaceae*、葫芦科 *Cucurbitaceae*、旋花科 *Convolvulaceae*、豆科 *Fabaceae* 及锦葵科的蜀葵 *Alcea rosea* (L.) Cavan.、苘麻 *Abutilon theophrasti* Medicus.、

木槿 *Hibiscus syriacus* L. 等寄主上观察到了 CLCuV 危害的曲叶症状^[11]; 印度则报道了通过传毒试验和 ELISA 检测, 明确菜豆、辣椒、番茄和烟草中存在 CLCuV^[12]。上述报道明确了 CLCuV 除了危害棉花之外, 还存在广泛的寄主, 尤其是锦葵科中多个属均可受到侵染, 但受限于早期试验条件的限制, 并未明确病毒的具体种名。

木尔坦棉花曲叶病毒 cotton leaf curl Multan virus (CLCuMuV) 是 CLCuV 中危害最重、分布最广的种类^[13], 由 DNA-A 组分及其伴随的 DNA β 卫星分子组成。DNA β 只能依赖辅助病毒进行复制, 对病毒侵入寄主后的显症具有重要作用^[14]。CLCuMuV 是导致 20 世纪 90 年代巴基斯坦 CLCuD 大流行的主要病原^[14], 并在印度^[15]、菲律宾^[16]等国家都有危害。我国继 2006 年在广东省首次发现 CLCuMuV 侵染朱槿 *H. rosa-sinensis* L. 后^[17], 广西、福建、江苏、海南、云南、内蒙古和新疆等地均报道该病毒的入侵^[9]。寄主除棉花外^[18-19], 还包括秋葵属 *Abelmoschus* 的黄秋葵 *A. esculentus* (L.) Moench^[20]、悬铃花属的垂花悬铃花 *M. arboreus* var. *penduliflorus*^[21]、木槿属的朱槿^[22] 和红麻 *H. cannabinus* L.^[23] 等锦葵科寄主, 但无侵染蜀葵属和苘麻属寄主的报道。蜀葵是锦葵科蜀葵属多年生观赏性花卉植物, 在新疆城市和农村的房前屋后及田间地头都有成片的分布; 苘麻为锦葵科蜀葵属草本植物, 在世界范围广泛分布^[24], 也是棉田中最为常见的杂草, CLCuMuV 能否侵染二者, 与其能否在新疆棉田扩散危害直接相关。

新疆作为我国重要棉区, 2019 年棉花产量占全国 84.90%, 伴随携毒朱槿苗木和烟粉虱的跨区调运, CLCuMuV 向新疆棉区传播的潜在风险急剧增大; CLCuMuV 潜在寄主蜀葵和苘麻等在新疆的广泛分布为病毒的扩散和持续危害提供了有利条件; 而烟粉虱隐种组成动态变化又为病害的有效监控增加了难度。因此, 本研究对全疆主要棉区开展棉花和其他寄主 CLCuMuV 侵染情况的普查, 并对烟粉

虱隐种的发生分布及带毒情况进行检测,明确该病毒和带毒烟粉虱隐种的发生情况,以期为新疆棉花曲叶病的早期监测防控提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试蜀葵、苘麻、棉花样品共 1 166 份,为 2017 年至 2020 年采自新疆东疆、南疆和北疆 13 个地(州):其中 778 份为表现植株矮缩、叶片卷曲皱缩等症状的蜀葵、苘麻疑似病株叶片;388 份棉花样品无典型症状,但均采自表现曲叶症状的蜀葵、苘麻附近。供试烟粉虱 1 588 头为同期采集自蜀葵、苘麻和棉花。

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取

植物样品 DNA 的提取使用天根生化科技(北京)有限公司的新型植物基因组 DNA 提取试剂盒(DP305-03),并将 DNA 于-20℃保存。烟粉虱总 DNA 的提取^[25],将单头烟粉虱置于 1.5 mL 的离心管中,吸取 20 μL 裂解液[10 mmol/L Tris (pH 8.4),50 mmol/L 氯化钾,0.2% 明胶,0.45% 吐温-20,0.45% NP-40,60 mg/mL 蛋白酶 K]并用研

棒将其充分研磨匀浆,吸取 20 μL 裂解液清洗研棒并将清洗液与匀浆混合,65℃水浴 1 h,接着沸水浴 10 min,经短暂离心后即可用于 PCR 反应,DNA 保存于-20℃。

1.2.2 CLCuMuV 检测及烟粉虱隐种鉴定

分别利用 2 对特异引物 AF/AR^[19]和 βF/DNA-βR 对 CLCuMuV DNA-A 及伴随的 DNAβ 卫星分子进行 PCR 检测;利用烟粉虱 *mtCO I* 基因通用引物 C1-J-2195/R-BQ-2819^[26]进行烟粉虱鉴定,再通过 B-F/B-R、Q-F/Q-R^[27]对烟粉虱 MEAM1 和 MED 隐种进行鉴定(表 1)。

1.2.3 CLCuMuV DNA-A 及 DNAβ 组分的克隆测序及序列分析

分别在蜀葵、苘麻和棉花样品中选取代表性病株,以其基因组 DNA 为模板,利用 CLCuMuV 特异性引物 AF/AR 和 βF/DNA-βR 对 CLCuMuV DNA-A 及伴随的 DNAβ 卫星分子进行 PCR 扩增(表 1),克隆并测序。序列测定由生工生物工程(上海)股份有限公司完成,测序结果使用 DNAMAN 软件进行序列拼接及相似性分析,利用 MEGA-X 软件的邻接法(neighbor-joining)完成聚类分析及进化树构建。

表 1 CLCuMuV 及烟粉虱检测所用的特异引物序列
Table 1 Sequences of primers for detection of CLCuMuV and whitefly

引物 Primer	引物序列(5'-3') Primer sequence	退火温度/℃ Annealing temperature	扩增基因 Gene of amplification	扩增片段大小/bp Size of amplified fragment
AF AR βF DNA-βR	CAGGAAGCAGGAAAATACGAGA TGGCAGTCCAACACAAAATACG AAGTCGAATGGAACGTGAATGT GTCTTTCCTCTTCAGTTCCG	55	AC2、AC3 βC1	831 433
C1-J-2195 R-BQ-2819	TTGATTTTTTGGTCATCCAGAAGT CTGAATATCGRCGAG CATTCC	55	<i>mtCO I</i>	620
B-F B-R Q-F Q-R	CTAGGGTTTATTGTTTGAGGTCATCATATATTC AATATCGACGAGGCATTCCCCCT CTTGGTAACTCTTCTGTAGATGTGTGTT CCTTCCCGCAGAAGAAATTTTGTTCT	63 63	COX1 COX1	478 303

2 结果与分析

2.1 侵染蜀葵、苘麻和棉花的 CLCuMuV 的分子鉴定

首先对蜀葵、苘麻疑似病株中的 CLCuMuV 进行分子鉴定,结果显示,4 株蜀葵样品和 3 株苘麻样品均能扩增到 CLCuMuV DNA-A 832~834 bp 的目标片段,7 个片段之间的核苷酸序列相似性为 99.16%~100.00%;BLAST 检索结果显示,7 个序

列与 CLCuMuV 分离物 DNA-A 序列的相似性为 89.95%~99.88%。表明疑似感病蜀葵和苘麻均被 CLCuMuV 侵染。再对 2 株蜀葵和 2 株苘麻病株中 CLCuMuV 伴随的 DNAβ 分子进行鉴定,均能扩增到 432~433 bp 的目标 DNAβ 片段,4 个片段之间的核苷酸序列相似性为 99.08%~100.00%,与 CLCuMuV DNAβ 序列的相似性为 85.19%~99.77%,表明侵染蜀葵和苘麻的 CLCuMuV 伴随有 DNAβ 分子。

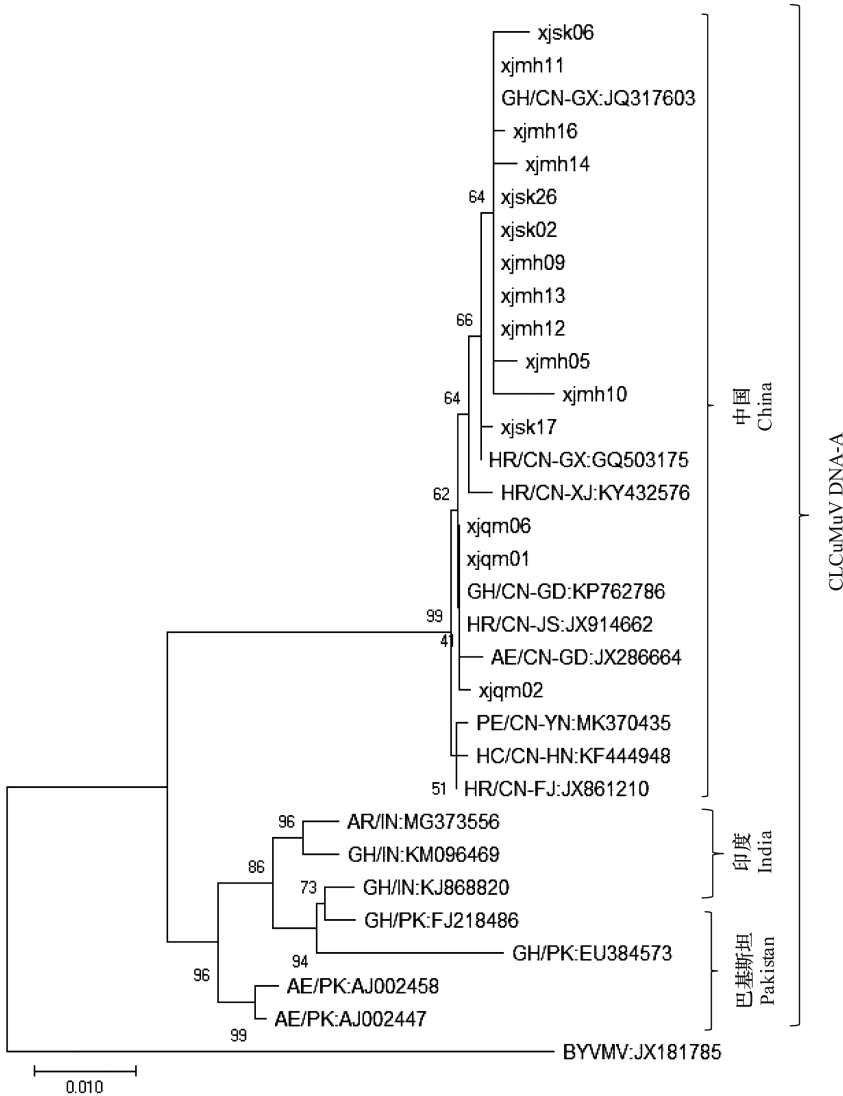
对 20 份采集自感病蜀葵和苘麻附近的棉花样

品进行 CLCuMuV 鉴定,结果从 8 株棉花中扩增到 CLCuMuV DNA-A 目标片段,序列大小均为 832 bp,且核苷酸序列相似性为 99.16%~100.00%;8 个序列与 CLCuMuV 分离物 DNA-A 序列相似性为 91.95%~100.00%,表明 8 株棉花均被 CLCuMuV 侵染;对其中 3 份样品中 CLCuMuV 伴随的 DNA β 分子进行鉴定,均可获得约 400 bp 的预期目标片段,测序结果表明其均为 433 bp,3 个片段之间的序列相似性为 99.54%~99.77%,与 CLCuMuV 卫星分子 DNA β 的序列的

相似性为 85.19%~99.77%,表明侵染棉花的 CLCuMuV 伴随有 DNA β 卫星分子。进一步比对分析发现,棉花中的 CLCuMuV 与蜀葵和苘麻病株中 DNA-A 序列间的相似性均超过 98.56%,其伴随的 DNA β 卫星分子序列间的相似性也均超过 99.62%。

2.2 侵染蜀葵、苘麻和棉花的 CLCuMuV DNA-A 及 DNA β 组分进化分析

基于蜀葵、苘麻和棉花中获得的 CLCuMuV DNA-A 序列构建系统发育树,结果如图 1 所示,所



xjsk02,06,17,26: 蜀葵分离物; xjqm01,02,06: 苘麻分离物; xjmh05,09,10,11,12,13,14,16: 棉花分离物; GH: 陆地棉; HR: 朱槿; AE: 秋葵; PE: 西番莲; HC: 红麻; AR: 蜀葵; CN-GD: 中国-广东; CN-GX: 中国-广西; CN-XJ: 中国-新疆; CN-JS: 中国-江苏; CN-YN: 中国-云南; CN-HN: 中国-海南; CN-FJ: 中国-福建; IN: 印度; PK: 巴基斯坦
xjsk02,06,17,26: Isolate of *Alcea rosea*; xjqm01,02,06: Isolate of *Abutilon theophrasti*; xjmh05,09,10,11,12,13,14,16: Isolate of *Gossypium hirsutum*; GH: *G. hirsutum*; HR: *Hibiscus rosa-sinensis*; AE: *Abelmoschus esculentus*; PE: *Passiflora edulis*; HC: *Hibiscus cannabinus*; AR: *Alcea rosea*; CN-GD: China-Guangdong; CN-GX: China-Guangxi; CN-XJ: China-Xinjiang; CN-JS: China-Jiangsu; CN-YN: China-Yunnan; CN-HN: China-Hainan; CN-FJ: China-Fujian; IN: India; PK: Pakistan

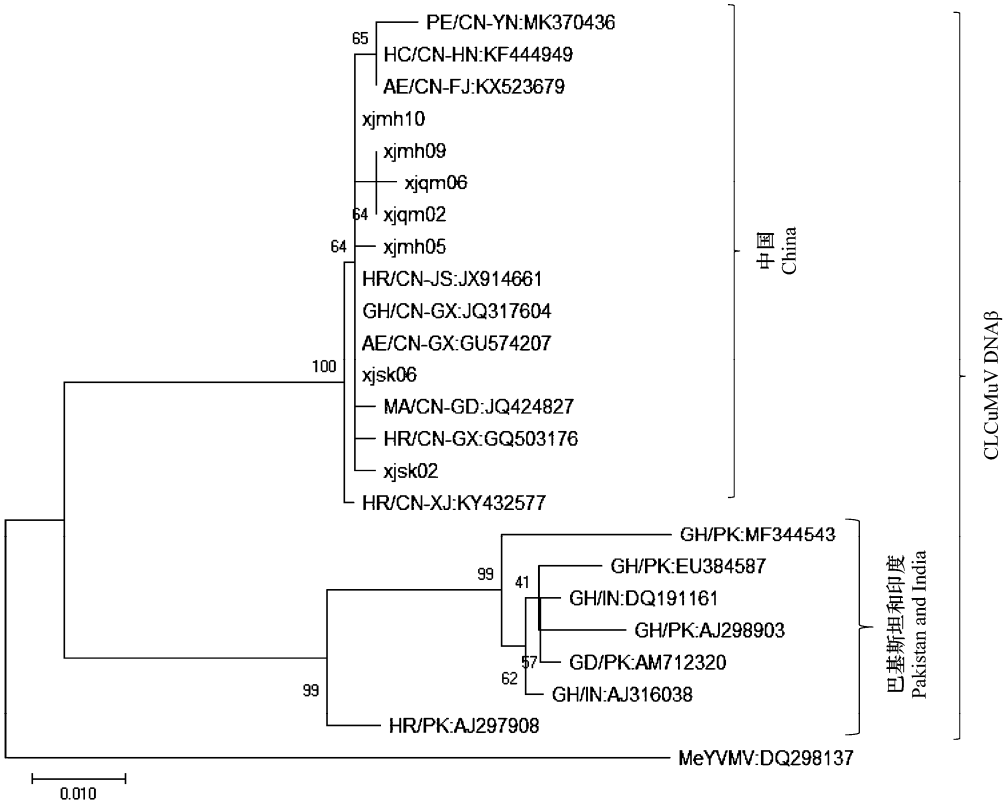
图 1 基于 CLCuMuV DNA-A 组分序列片段构建的系统发育树

Fig. 1 Phylogenetic tree based on the sequence of CLCuMuV DNA-A fragments

有 CLCuMuV 聚类在一个大的进化分支上,中国来源的 CLCuMuV 聚在一个亚分支上,其中新疆蜀葵 3 个分离物 xjsk02、xjsk06 和 xjsk26 及 8 个棉花分离物 xjmh05、xjmh09、xjmh10、xjmh11、xjmh12、xjmh13、xjmh14 和 xjmh16 与侵染广西棉花的 CLCuMuV(登录号:JQ317603)进化关系最近;蜀葵分离物 xjsk17 与侵染广西朱槿的 CLCuMuV 进化关系最近;苘麻分离物 xjqm01、xjqm02 和 xjqm06 与侵染广东棉花、秋葵及江苏朱槿的 CLCuMuV 进化关系最近。而来自巴基斯坦、印度的 CLCuMuV 则聚类在另外 1 个亚分支上。以上结果表明,新疆蜀葵、棉花上发生的 CLCuMuV 与广西棉花上的 CLCuMuV 具有相同的进化关系;新疆苘麻上发生的 CLCuMuV 与广东和江苏锦葵科植物上的 CLCuMuV 具有相同的进化关系。

基于蜀葵、苘麻和棉花中获得的 CLCuMuV

DNA β 序列构建系统发育树,结果如图 2 所示,所有 CLCuMuV 伴随的 DNA β 聚类在一个大的进化分支上,中国来源的 CLCuMuV 伴随的 DNA β 聚在一个亚分支上,其中新疆蜀葵 2 个分离物 xjsk02、xjsk06 伴随的 DNA β 与侵染广西朱槿和侵染广东垂花悬铃花的 CLCuMuV 伴随的 DNA β 进化关系最近;苘麻分离物 xjqm02、xjqm06 伴随的 DNA β 和棉花分离物 xjmh05、xjmh09 及 xjmh10 与侵染江苏朱槿和侵染广西棉花的 CLCuMuV 伴随的 DNA β 进化关系最近。而来自巴基斯坦、印度的 CLCuMuV 伴随的 DNA β 则聚类在另一个亚分支上。以上结果表明,新疆蜀葵、苘麻和棉花上发生的 DNA β 分子在进化上与其辅助病毒 CLCuMuV 具有一致性,即新疆发生的 CLCuMuV 及其卫星分子 DNA β 与来源于广东、广西及江苏的锦葵科植物上的 CLCuMuV 及其卫星 DNA β 具有相同的进化关系。



xjsk02,06: 蜀葵分离物; xjqm02,06: 苘麻分离物; xjmh05,09,10: 棉花分离物; GH: 陆地棉; HR: 朱槿; AE: 秋葵; PE: 西番莲; HC: 红麻; MA: 垂花悬铃花; GD: 海岛棉; CN-GD: 中国-广东; CN-GX: 中国-广西; CN-XJ: 中国-新疆; CN-JS: 中国-江苏; CN-YN: 中国-云南; CN-HN: 中国-海南; CN-FJ: 中国-福建; IN: 印度; PK: 巴基斯坦
xjsk02,06: Isolate of *Alcea rosea*; xjqm02,06: Isolate of *Abutilon theophrasti*; xjmh05,09,10: Isolate of *Gossypium hirsutum*; GH: *G. hirsutum*; HR: *Hibiscus rosasinensis*; AE: *Abelmoschus esculentus*; PE: *Passiflora edulis*; HC: *Hibiscus cannabinus*; MA: *Malvaviscus arboreus*; GD: *Gossypium barbadense*; CN-GD: China-Guangdong; CN-GX: China-Guangxi; CN-XJ: China-Xinjiang; CN-JS: China-Jiangsu; CN-YN: China-Yunnan; CN-HN: China-Hainan; CN-FJ: China-Fujian; IN: India; PK: Pakistan

图 2 基于 CLCuMuV DNA β 组分序列片段构建的系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree based on the sequence of CLCuMuV DNA β fragments

2.3 蜀葵、苘麻及棉花携带 CLCuMuV 的检测结果

为了明确 CLCuMuV 在全疆的发生分布,对采集自新疆 13 个地州的 1 166 份样品进行 PCR 带毒检测,结果显示(表 2),276 份样品感染 CLCuMuV,且均伴随 DNA β 卫星分子,带毒率为 23.67%。对 3 种寄主的带毒情况进行分析,757 份蜀葵样品中 211 份样品检测到病毒,带毒率为 27.87%,其中东疆 18 份样品中,15 份检测到病毒,检出率为 83.33%;北疆 214 份样品中,105 份检测到病毒,检出率为 49.07%;南疆 525 份样品中,91 份检测到病毒,检出率为 17.33%。21 份苘麻样品中 7 份检测到病毒,检出率为 33.33%,其

中南疆 13 份样品中,4 份检测到病毒,带毒率为 30.77%;北疆 8 份样品中,3 份检测到病毒,检出率为 37.50%。388 份棉花样品中 58 份检测到 CLCuMuV,检出率为 14.95%,其中东疆 16 份样品中,10 份检测到病毒,检出率为 62.50%;南疆 22 份样品中,5 份检测到病毒,检出率为 22.73%;北疆 350 份样品中,43 份检测到病毒,检出率为 12.29%。上述结果表明,蜀葵和苘麻带毒率分别为 27.87%和 33.33%,均高于棉花 14.95%的带毒率;蜀葵带毒率表现为东疆>北疆>南疆,苘麻带毒率表现为北疆>南疆,棉花带毒率表现为东疆>南疆>北疆。

表 2 新疆不同区域蜀葵、苘麻和棉花中 CLCuMuV 的检测结果

Table 2 Detection of CLCuMuV in <i>Alcea rosea</i> , <i>Abutilon theophrasti</i> and cotton in different regions of Xinjiang					
区域 Area	采样地点 Location	寄主 Host	采样数/株 Numbers of samples	阳性株数/株 Numbers of positive plants	检出率/% Positive rate
东疆 Eastern Xinjiang	吐鲁番地区	蜀葵	11	9	81.82
	哈密地区	蜀葵	7	6	85.71
		棉花	16	10	62.50
南疆 Southern Xinjiang	和田地区	蜀葵	54	13	24.07
	喀什地区	蜀葵	270	40	14.81
		苘麻	11	4	36.36
		棉花	22	5	22.73
	阿克苏地区	蜀葵	120	25	20.83
		苘麻	2	0	0.00
	克孜勒苏柯尔克孜自治州	蜀葵	29	5	17.24
	巴音郭楞蒙古自治州	蜀葵	41	7	17.07
	图木舒克地区	蜀葵	11	1	9.09
北疆 Northern Xinjiang	乌鲁木齐地区	蜀葵	15	8	53.33
	石河子地区	蜀葵	78	65	83.33
		苘麻	8	3	37.50
		棉花	297	33	11.11
	塔城地区	蜀葵	30	13	43.33
		棉花	51	10	19.61
	伊犁哈萨克自治州	蜀葵	63	19	30.16
	博尔塔拉蒙古自治州	蜀葵	28	0	0.00
		棉花	2	0	0.00
全疆 Xinjiang		蜀葵	757	211	27.87
		苘麻	21	7	33.33
		棉花	388	58	14.95
总计 Total			1 166	276	23.67

2.4 蜀葵、苘麻及棉花上烟粉虱隐种及 CLCuMuV 带毒率的检测

利用烟粉虱 *mtCOI* 基因片段通用引物对病株上的粉虱进行种类鉴定,明确病株上采集的 1 588 头粉虱均为烟粉虱;进而利用隐种特异性引物对烟粉虱进行隐种鉴定,结果显示 MEAM1 隐种为 424

头,占 26.70%,MED 隐种 1 055 头,占 66.44%,另有 109 头未确定隐种,占 6.86%(表 3)。对烟粉虱带毒情况进行检测,结果显示,MEAM1 隐种带毒率为 21.46%,东疆、南疆和北疆的带毒率分别为 18.75%、7.98%和 40.59%;MED 隐种带毒率为 17.63%,东疆、南疆和北疆的带毒率分别为 13.45%、18.32%和

16.83%；未确定种烟粉虱均不带毒。对 3 种寄主上的烟粉虱隐种及其带毒率进行分析,蜀葵上 1 303 头烟粉虱,检测到 242 头携带 CLCuMuV,带毒率为 18.57%,其中 MEAM1 隐种占 28.70%,带毒率为 21.39%,MED 隐种占 63.39%,带毒率为 19.61%；苘麻上 73 头烟粉虱中,MED 隐种占 80.82%,带毒率为 8.47%；MEAM1 隐种占 15.07%,未检测到携带 CLCuMuV；棉花上 212 头烟粉虱中,30 头检测到病毒,带毒率为 14.15%,其中 MEAM1 隐

种占 18.40%,带毒率为 28.21%,MED 隐种占 80.19%,带毒率为 11.18%。上述结果表明,烟粉虱 MEAM1 和 MED 隐种均可携带 CLCuMuV,平均带毒率差异不大；但从区域分布来看,MEAM1 隐种的带毒率在东疆(18.75%)、南疆(7.98%)和北疆(40.59%)差异较大,而 MED 隐种在上述三个区域带毒率差异不大；从烟粉虱寄主来看,蜀葵上的烟粉虱带毒率(18.57%)高于苘麻(6.85%)和棉花(14.15%)的带毒率。

表 3 新疆不同区域蜀葵、苘麻和棉花上的烟粉虱隐种鉴定及 CLCuMuV 的检测

Table 3 Identification of cryptic species and CLCuMuV detection of *Bemisia tabaci* from *Alcea rosea*, *Abutilon theophrasti* and cotton in different regions of Xinjiang

区域 Area	采样地点 Location	寄主 Host	总量/头 Total number	MEAM1 隐种 MEAM1 cryptic species			MED 隐种 MED cryptic species		
				数量/头 Number	检出数量/头 Number of positive insects	带毒率/% Viruliferous rate	数量/头 Number	检出数量/头 Number of positive insects	带毒率/% Viruliferous rate
东疆 Eastern Xinjiang	吐鲁番地区	蜀葵	49	5	1	20.00	44	6	13.64
	哈密地区	蜀葵	118	11	2	18.18	75	10	13.33
南疆 Southern Xinjiang	和田地区	蜀葵	90	0	0	0.00	89	4	4.49
	喀什地区	蜀葵	441	111	9	8.11	321	69	21.50
		苘麻	47	11	0	0.00	36	5	13.89
		棉花	177	13	1	7.69	161	16	9.94
	阿克苏地区	蜀葵	201	67	5	7.46	131	42	32.06
	克孜勒苏柯尔克孜自治州	蜀葵	19	5	0	0.00	13	3	23.08
		苘麻	26	0	0	0.00	23	0	0.00
	巴音郭楞蒙古自治州	蜀葵	41	8	1	12.50	33	9	27.27
	图木舒克市	蜀葵	52	23	3	13.04	28	5	17.86
北疆 Northern Xinjiang	乌鲁木齐地区	蜀葵	20	6	3	50.00	14	6	42.86
	石河子地区	蜀葵	56	46	27	58.70	10	2	20.00
		棉花	35	26	10	38.46	9	3	33.33
	塔城地区	蜀葵	37	19	14	73.68	13	6	46.15
	伊犁哈萨克自治州	蜀葵	77	11	7	63.64	55	0	0.00
	博尔塔拉蒙古自治州	蜀葵	102	62	8	12.90	0	0	0.00
全疆 Xinjiang		蜀葵	1 303	374	80	21.39	826	162	19.61
		苘麻	73	11	0	0.00	59	5	8.47
		棉花	212	39	11	28.21	170	19	11.18
总计 Total			1 588	424	91	21.46	1 055	186	17.63

3 结论与讨论

本研究针对 CLCuMuV 入侵新疆的寄主开展了研究,明确 CLCuMuV 可侵染蜀葵和苘麻,并伴随 DNA β 卫星分子,这是我国首次报道。分子检测结果表明,蜀葵带毒率为 27.87%,苘麻带毒率为 33.33%,说明 CLCuMuV 通过花卉携带传

入新疆后,已经在东疆、南疆和北疆借助多年生花卉及棉田杂草定殖下来,成为田间扩散的初侵染源。

对感病寄主附近的棉花进行 CLCuMuV 分子鉴定,明确 CLCuMuV 能够侵染棉花,并伴随卫星分子 DNA β ,感病寄主附近的棉花带毒率为 14.95%。因目前检测的感病棉花均无明显的受害

症状,表明新疆棉花隐症带毒。对于隐症带毒是否与棉花品种有关,或是与病毒侵入时期过晚有关,还有待深入研究。

烟粉虱是 CLCuMuV 的唯一昆虫传播介体。本研究对感病蜀葵、苘麻、棉花上采集的烟粉虱进行隐种鉴定及带毒检测,结果显示,新疆烟粉虱主要由 MEAM1 和 MED 隐种组成, MED 隐种为优势种群; MEAM1 隐种带毒率为 21.46%, MED 隐种带毒率 17.63%。虽然在不同的地理区域烟粉虱隐种的分布及带毒率存在差异,但二者均具有潜在的传毒风险。林林等的研究表明 MEAM1 可将 CLCuMuV 传播到棉花上^[28], Pan 等的研究表明 MED 隐种具有将 CLCuMuV 传到烟草上的能力^[29]。鉴于本研究在田间棉花植株上已检测到 CLCuMuV 的侵染,关于 MEAM1 隐种和 MED 隐种传毒能力还有待进一步深入研究。

作者前期的调查发现,在新疆多个地区的花卉植物朱槿携带 CLCuMuV,因气候寒冷,朱槿在新疆主要以室内盆栽模式进行种植,不利于烟粉虱传播 CLCuMuV,而蜀葵属于多年生花卉,因其花色艳丽,易于种植,是新疆各地主要的庭院花卉;苘麻作为棉田主要杂草,在新疆亦有广泛分布。已有的研究表明,田间杂草就像双生病毒 *Begomovirus* 的储文库,可以作为其生存和传播的寄主或替代寄主,能同时被多种该属病毒及卫星复合侵染从而增加病毒重组的几率^[30-31]。本研究从田间症状和分子检测水平进一步明确了 CLCuV 中的 CLCuMuV 可侵染蜀葵和苘麻。棉花为一年生喜温草本植物,在寒冷的冬季不能生长,而中间寄主不仅为病毒提供越冬场所,并为次年棉花生长期烟粉虱传播病毒提供毒源,还可借远距离调运将病毒及烟粉虱传播到新的区域,因此中间寄主在棉花曲叶病的传播中起重要作用,务必引起重视。

参考文献

- [1] MAHARSHI A, YADAV N K, KUMAR P, et al. An overview on cotton leaf curl disease: An emerging potential threat to cotton [J]. *International Journal of Current Microbiology Applied Sciences*, 2017, 6(10): 2154 - 2162.
- [2] 刘银泉, 刘树生. 烟粉虱的分类地位及在中国的分布[J]. *生物安全学报*, 2012, 21(4): 247 - 255.
- [3] LIU Shusheng, COLVIN J, DE BARRO P. Species concepts as applied to the whitefly *Bemisia tabaci* systematics: how many species are there? [J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2012, 11(2): 176 - 186.
- [4] TENG Xi, WAN Fanghao, CHU Dong. *Bemisia tabaci* biotype Q dominates other biotypes across China [J]. *Florida Entomologist*, 2010, 93(3): 363 - 368.
- [5] 罗晨, 姚远, 王戎疆, 等. 利用 *mtDNA COI* 基因序列鉴定我国烟粉虱的生物型[J]. *昆虫学报*, 2003, 45(6): 759 - 763.
- [6] 段晓东, 马丽娟, 姚正培, 等. 新疆地区烟粉虱类群 *mtDNA COI* 基因序列分析[J]. *生物安全学报*, 2011, 20(1): 50 - 55.
- [7] 韩畅, 张兴旺, 高国龙, 等. 新疆番茄黄化曲叶病毒与烟粉虱隐种的区域分布检测[J]. *石河子大学学报(自然科学版)*, 2020, 38(2): 160 - 165.
- [8] 曹骞, 李晶, 买热木古丽·克依木, 等. 新疆地区烟粉虱生物型的区域分布及其携带的番茄黄化曲叶病毒检测[J]. *昆虫学报*, 2013, 56(6): 652 - 664.
- [9] 陈婷, 汤亚飞, 何自福, 等. 我国朱槿曲叶病毒病及其传播介体烟粉虱分布调查[J]. *南方农业学报*, 2020, 51(11): 2697 - 2705.
- [10] NUR E E, SALIH H S A. Cotton leaf curl virus disease [J]. *International Journal of Pest Management*, 1970, 16(1): 121 - 131.
- [11] SINGH J, SOHI A S, MANN H S, et al. Studies on whitefly *Bemisia tabaci* (Genn.) transmitted cotton leaf curl disease in Punjab [J]. *Journal of Insect Science*, 1994, 7: 194 - 198.
- [12] NATESHAN H M, MUNIYAPPA V, SWANSON M M, et al. Host range, vector relations and serological relationships of cotton leaf curl virus from southern India [J]. *Annals of Applied Biology*, 1996, 128(2): 233 - 244.
- [13] BRIDDON R W, MARKHAM P G. Cotton leaf curl virus disease [J]. *Virus Research*, 2000, 71(1/2): 151 - 159.
- [14] ZHOU Xueping, LIU Yule, ROBINSON D J, et al. Four DNA-A variants among Pakistani isolates of cotton leaf curl virus and their affinities to DNA-A of geminivirus isolates from Okra [J]. *The Journal of General Virology*, 1998, 79(4): 915 - 923.
- [15] ZAFFALON V, MUKHERJEE S, REDDY V, et al. A survey of geminiviruses and associated satellite DNAs in the cotton-growing areas of northwestern India [J]. *Archives of Virology*, 2012, 157(3): 483 - 495.
- [16] SHE Xiaoman, TANG Yafei, HE Zifu, et al. Molecular characterization of cotton leaf curl Multan virus and its associated betasatellite infecting *Hibiscus rosa-sinensis* in the Philippines [J]. *Journal of Plant Pathology*, 2017, 99(3): 765 - 768.
- [17] 毛明杰, 何自福, 虞皓, 等. 侵染朱槿的木尔坦棉花曲叶病毒及其卫星 DNA 全基因组结构特征[J]. *病毒学报*, 2008, 24(1): 64 - 68.
- [18] CAI Jianhe, XIE Ke, LIN Lin, et al. Cotton leaf curl Multan vi-

- rus newly reported to be associated with cotton leaf curl disease in China [J]. *Plant Pathology*, 2010, 59(4): 794–795.
- [19] 汤亚飞,何自福,杜振国,等. 木尔坦棉花曲叶病毒及其伴随的 β 卫星分子复合侵染引起广东棉花曲叶病[J]. *中国农业科学*, 2015, 48(16): 3166–3175.
- [20] 董迪,何自福,柴兆祥. 广东黄秋葵黄脉曲叶病样中检测到烟粉虱传双生病毒[J]. *植物保护*, 2010, 36(1): 65–68.
- [21] 汤亚飞,何自福,杜振国,等. 侵染垂花悬铃花的木尔坦棉花曲叶病毒分子特征研究[J]. *植物病理学报*, 2013, 43(2): 120–127.
- [22] 章松柏,夏宣喜,张洁,等. 福州市发生由木尔坦棉花曲叶病毒引起的朱槿曲叶病[J]. *植物保护*, 2013, 39(2): 196–200.
- [23] 汤亚飞,何自福,杜振国,等. 海南红麻曲叶病的病原检测与鉴定[J]. *植物病理学报*, 2015, 45(6): 561–568.
- [24] YETURUA S, JENTZSCHAB P V, CIOBOTĂ V, et al. Hand-held Raman spectroscopy for the early detection of plant diseases: Abutilon mosaic virus infecting *Abutilon* sp. [J]. *Analytical Methods*, 2016, 8(17): 3450–3457.
- [25] 秦丽,王佳,邴孝利,等. 利用 *mtCOI* PCR-RFLP 技术鉴定中国境内九个烟粉虱隐种[J]. *昆虫学报*, 2013, 56(2): 186–194.
- [26] 刘国霞,高长生,付海滨,等. 烟粉虱 Q 与 B 隐种 *mtCOI* 基因的遗传变异及其对利用 CAPS 标记进行隐种鉴别的影响[J]. (上接 247 页)
- [2] 郭业先,柳军,杨绍伟,等. 广宁红花油茶林土壤理化性质、植物养分初步研究[J]. *林业与环境科学*, 2020, 36(6): 52–57.
- [3] 中国科学院植物志委员会. 中国植物志: 第二十四卷[M]. 北京: 科学出版社, 1988.
- [4] 李开祥,梁晓静,覃平,等. 桑寄生研究进展[J]. *广西林业科学*, 2011, 40(4): 311–314.
- [5] 傅立国,陈潭清,郎楷永,等. 中国高等植物第七卷[M]. 青岛: 青岛出版社, 2001.
- [6] 朱开听,卢栋,裴河欢,等. 桑寄生在广西的分布及其寄主状况调查[J]. *广西中医药*, 2010, 33(2): 59–61.
- [7] 王文通,周厚高. 广州城区行道树受桑寄生侵害的调查研究[J]. *中国园林*, 2003(12): 68–70.
- [8] 罗莹,徐锡流. 广州几种寄生植物的危害情况及其防治[J]. *广东园林*, 2000(4): 18–20.
- [9] COCOLETZI E, ANGELES G, CECCANTINI G, et al. Bidirectional anatomical effects in a mistletoe-host relationship: *Psittacanthus schiedeana* Mistletoe and its hosts *Liquidambar styraciflua* and *Quercus germana* [J]. *American Journal of Botany*, 2016, 103(6): 986–997.
- [10] SCALON M C, WRIGHT I J. Leaf trait adaptations of xylem-tapping mistletoes and their hosts in sites of contrasting aridity [J]. *Plant & Soil*, 2016, 415(1/2): 1–14.
- [11] 陈守常. 油茶桑寄生的防除[J]. *林业实用技术*, 1966(8): 11.
- [12] 彭华达. 树叉打孔注射农达防治橡胶树桑寄生研究[J]. *热带农业工程*, 2010, 34(5): 40–42.
- [13] 夏博,田呈明,骆有庆,等. 云杉矮槲寄生开花特性及化学防控[J]. *林业科学*, 2010, 46(4): 98–102.
- [14] 周在豹,许志春,田呈明,等. 除草剂防治云杉矮槲寄生效果初报[J]. *植物保护*, 2014, 40(4): 198–200.
- [15] 梁国校,王芳,梁乃鹏,等. 广西油茶桑寄生发病情况调查及清除成效分析[J]. *广西林业科学*, 2017, 46(1): 107–110.
- [16] REID N. Dispersal of mistletoes by honeyeaters and flower-peckers: components of seed dispersal quality [J]. *Ecology*, 1989, 70(1): 137–145.
- [17] LUO Yahuang, SUI Yi, GAN Jianmin, et al. Host compatibility interacts with seed dispersal to determine small-scale distribution of a mistletoe in Xishuangbanna, Southwest China [J]. *Journal of Plant Ecology*, 2015, 9(1): 77–86.
- [18] AMICO G C, SASAL Y, VIDAL-RUSSELL R, et al. Consequences of disperser behaviour for seedling establishment of a mistletoe species [J]. *Austral Ecology*, 2017, 42(8): 900–907.

(责任编辑: 田 喆)

(责任编辑: 田 喆)