

低,这不仅与寄主植物营养的变差有关,而且有温度降低的重要影响。本研究发现,低温处理后灰飞虱的存活率明显降低。春季灰飞虱种群的迅速上升,这与气温等环境条件变好有直接关系,不过,这也与灰飞虱受低温胁迫后其繁殖力没有下降,反而有所提高的特性有关。另外,3~4龄若虫期受低温胁迫后,其成虫的产卵前期缩短、成虫寿命延长,这增长了灰飞虱的产卵期,从而产卵量提高,因此越冬后种群数量增长较快。同时,3~4龄若虫低温处理后,其发育出的雌成虫短翅比率以及性比均提高,这无疑将提高其繁殖率,从而引起种群数量的迅速上升。因此,灰飞虱3~4龄期经受-6~2℃的低温,不仅不会抑制其后代的种群数量,反而会致使种群数量的急增。不过,低温处理后,灰飞虱繁殖力与适应性提高的生理机制等,还值得继续研究。

参考文献 (References)

- Addo-Bediako A, Chown SL, Gaston KJ, 2002. Metabolic cold adaptation in insects: a large-scale perspective. *Functional Ecology*, 16(3): 332—338.
- Bae SD, Song YH, Park KB, 1995. Study on the bionomics of overwintering small brown planthopper, *Laodelphax striatellus* Fallén, in Milyang. *Korean Journal of Applied Entomology*, 34(4): 321—327.
- Bale JS, 1989. Cold hardiness and over-wintering of insects. *Agricultural Zoology Reviews*, 3: 157—192.
- Bale JS, 1991. Insects at low temperature: a predictable relationship. *Functional Ecology*, 5(2): 91—298.
- Bale JS, 2002. Insects and low temperatures: from molecular biology to distributions and abundance. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 357(1423): 849—862.
- Block W, 1982. Cold hardiness in invertebrate poikilotherms. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 73(4): 581—593.
- 陈兵,康乐, 2005. 昆虫对环境温度胁迫的适应与种群分化. *自然科学进展*, 15(3): 261—271.
- 蔡邦华,黄复生,冯维熊,傅亿荣,董其芬, 1964. 华北稻区灰稻虱的研究. *昆虫学报*, 13(4): 552—571.
- 郝丹青,顾才东,洪波, 1995. 灰飞虱发生规律与防治. *宁夏农学院学报*, 16(1): 74—78.
- Hoffman AA, Sorensen JG, Loeschcke V, 2003. Adaptation of *Drosophila* to temperature extremes: bringing together quantitative and molecular approaches. *Journal of Thermal Biology*, 28(3): 175—213.
- Kisimoto R, 1989. Flexible Diapause response to photoperiod of a laboratory selected line in the small brown planthopper, *Laodelphax striatellus* Fallén. *Appl. Entomol. Zool.*, 24(1): 157—159.
- 林莉,刘玉彬,包绍永,李晓铭, 1990. 灰飞虱生物学特性及传毒特性研究初报. *云南农业科技*, 3: 16—20.
- 林志伟,刘洋,辛惠, 2004. 寒地稻田灰飞虱生物学特性初步研究. *黑龙江八一农垦大学学报*, 16(2): 15—18.
- 刘芹轩,张桂芬,孙万启, 1982. 河南省三种稻飞虱的发生和生物学特性. *昆虫知识*, 19(5): 1—5.
- 刘向东,翟保平,胡自强, 2007. 高温及水稻类型对灰飞虱种群的影响. *昆虫知识*, 44(3): 348—352.
- Mishiro K, Fujisaki K, Nakasuji F, 1994. Comparison of female reproductive effort and male mating success between macropterous and brachypterous forms. *Appl. Entomol. Zool.*, 29(2): 211—217.
- 浦茂华, 1963. 苏南灰稻虱(*Delphacodes striatella* Fallén)的初步研究. *昆虫学报*, 12(2): 117—135.
- Sorensen JG, Kristensen TN, Loeschcke V, 2003. The evolutionary and ecological role of heat shock proteins. *Ecological Letters*, 6(11): 1025—1037.
- 夏温澍, 1962. 武昌灰稻虱的初步研究. *昆虫学报*, 11(2): 105—117.
- Zachariassen KE, 1985. Physiology of cold tolerance in insects. *Physiological Reviews*, 65(4): 799—832.
- 张爱民,刘向东, 2010. 灰飞虱的种群特性及其与温度的关系. *昆虫知识*, 47(2): 326—330.
- 张爱民,刘向东,翟保平,顾晓莹, 2008. 温度对灰飞虱生物学特性的影响. *昆虫学报*, 51(6): 640—645.

南方水稻黑条矮缩病毒介体昆虫 白背飞虱的传毒特性*

曹 杨¹ 潘 峰² 周 倩¹ 李冠华¹ 刘双清¹ 黄志农³ 李有志^{1**}

(1. 湖南农业大学生物安全科技学院植物病虫害生物学与防控湖南省重点实验室 长沙 410128;

2. 湖南省永顺县植物保护站 永顺 416700; 3. 湖南省植物保护研究所 长沙 410126)

摘 要 白背飞虱 *Sogatella furcifera* (Horváth) 为传播南方水稻黑条矮缩病毒 (SRBSDV) 的媒介昆虫, 阐明其传毒特性将有助于了解南方水稻黑条矮缩病的发生流行规律和建立相应的防治方法。本研究通过 RT-PCR 技术测定了白背飞虱的传毒参数。结果表明, 白背飞虱初孵若虫、3 龄若虫、5 龄若虫、长翅型成虫和短翅型成虫的最短获毒时间分别是 11、6、3、2 和 2 min, 最长获毒时间分别是 19、12、9、8 和 8 min。在 26℃ 时, SRBSDV 在不同虫态 (初孵若虫、3 龄若虫、5 龄若虫、长翅型成虫和短翅型成虫) 的白背飞虱体内的循环期分别是 7~11、5~8、3~7、4~8 和 3~6 d。5 龄若虫、长翅型和短翅型成虫在三叶一心稻苗的最短接毒时间为 4、5 和 6 min, 最长接毒时间为 8、10 和 11 min; 它们在分蘖初期稻苗上的最短接毒时间分别是 5、7 和 7 min, 最长接毒时间分别是 10、12 和 12 min。白背飞虱获毒后可终身传毒, 但不能经白背飞虱卵传毒, 单虫最多传毒株数为 87 株, 平均传毒 48.3 ± 0.8 株。可见, 该虫具有较强的获毒能力和传毒能力, 秧苗易感染 SRBSDV。因此, 在防治上应尽量清除田间 SRBSDV 毒源植物, 减少白背飞虱获毒的机会, 在秧田期和移栽初期应重点防治飞虱。

关键词 白背飞虱, 南方水稻黑条矮缩病毒, 获毒饲养时间, 循环期, 接毒取食时间

Transmission characteristics of *Sogatella furcifera*: A vector of the Southern rice black-streaked dwarf virus

CAO Yang¹ PAN Feng² ZHOU Qian¹ LI Guan-Hua¹ LIU Shuang-Qing¹
HUANG Zhi-Nong² LI You-Zhi^{1**}

(1. Hunan Provincial Key Laboratory for Biology and Control of Plant Diseases and Insect Pests, College of Biosafety Science & Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China;

2. Plant Protection Station of Yongshun County, Yongshun 410650, China;

3. Institute of Hunan Provincial Plant Protection, Changsha 410125, China)

Abstract *Sogatella furcifera* (Horváth) is an important vector of the Southern rice black-streaked dwarf virus (SRBSDV). Establishing the transmission characteristics of this species is therefore important to determining the periodicity of this disease and developing effective control methods for it. The presence or absence of SRBSDV in different life-stages of *S. furcifera* was determined using RT-PCR. The results show that the viral acquisition periods of first instar nymphae, third instar nymphae, fifth instar nymphae, macropters and brachypters were 11–19 min, 6–12 min, 3–9 min, 2–8 min and 2–8 min, respectively. At 26°C, the circulative period of SRBSDV in the body of these different life-stages was 7–11 d, 5–8 d, 3–7 d, 4–8 d and 3–6 d, respectively. The shortest periods required for the transmission of the virus to rice seedlings at the three-leaf stage by each of these developmental stages were 4 min, 5 min and 6 min, respectively, whereas the longest were 8 min, 10 min, and 11 min, respectively. The shortest period required for infection of rice seedlings at the early tillering stage by fifth instar nymphae and macropter and brachypter stages were 5 min, 7 min and 7 min, respectively, whereas the longest were 10 min, 12 min and 12 min, respectively. Once infected with the virus, individual *S. furcifera* can remain infectious for life. However, the virus is not passed on to the egg stage. The maximum

* 资助项目: 湖南省水稻产业技术体系专项资助(2010–2014)、湖南省研究生创新项目资助(CX2010B297)

**通讯作者, E-mail: liyouzhi2008@sina.com

收稿日期: 2011-08-01, 接受日期: 2011-09-01

number of rice plants infected with SRBSDV by a single *S. furcifera* was 87 and the average was 48.3 ± 0.8 . The results indicate that *S. furcifera* has a strong capacity for both the acquisition and transmission of SRBSDV, and that rice seedlings are highly susceptible to SRBSDV. The prevention and control of SRBSDV requires both effective control of *S. furcifera* in rice seedling beds and the weeding out of infected rice plants.

Key words *Sogatella furcifera*, Southern rice black-streaked dwarf virus, acquisition period, circulative period, inoculative periods

南方水稻黑条矮缩病是近年来流行于南方稻区的一种水稻新病害,南方水稻黑条矮缩病毒(Southern rice black-streaked dwarf virus, SRBSDV)是该病病原(Zhang *et al.*, 2008; Zhou *et al.*, 2008)。水稻在秧苗期感染该病毒后出现矮缩、不抽穗,严重影响产量,甚至绝收(刘万才等, 2010)。现已确定白背飞虱 *Sogatella furcifera* (Horváth) (WBPH) 为传播该病毒的主要介体(Zhou *et al.*, 2008; 郭荣等, 2010)。白背飞虱是危害水稻的一种迁飞性害虫(沈君辉等, 2003; 汪远坤和翟保平, 2004; 包云轩等, 2007), 该虫本身也是南方水稻黑条矮缩病毒的寄主(Zhou *et al.*, 2008)。目前该病毒病的发生地涉及到国内的海南、两广、湖南、江西、江浙以及国外的越南等地(Zhou *et al.*, 2008; Ha *et al.*, 2009; 陈卓等, 2010; 郭荣等, 2010; 刘万才等, 2010; 张松柏等, 2010; 周倩等, 2010)。据湖南省植保站统计,湖南省 2009 年水稻大面积出现矮缩,成灾面积近 2 万 km^2 ; 2010 年该病在湖南进一步扩散、蔓延,发生面积近千万亩。

作为一种病毒病,目前市场上缺少可有效防治该病的药剂,田间调查也没有发现抗病水稻品种。因此,当前对该病的防治主要依赖于治虫防病(刘万才等, 2010)。由于湖南省白背飞虱的迁入批次多,虫源地不明,迁入时间难以把握,而且该虫的传毒特性还不十分清楚。基础研究的缺失使得对 SRBSDV 测报困难、防控盲目性大、可用措施不多、长期防控效果不佳(翟保平等, 2011)。

本研究拟针对南方水稻黑条矮缩病毒介体昆虫白背飞虱传毒特性不十分清楚现状,试图探明 SRBSDV 介体昆虫白背飞虱在毒源植物稻苗上的获毒饲育时间、SRBSDV 在其体内的循环期、该介体在不同生育期水稻上接毒取食时间以及该虫在稻田终身最大传毒株数。阐明白背飞虱的这些传毒参数,不仅有助于评估该虫的传毒能力,而且有助于了解南方水稻黑条矮缩病的发生流行规

律,更重要的是为揭示其灾变规律,制定有效防治措施提供依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

水稻品种为陵两优 268(湖南亚华种子有限公司生产);白背飞虱为室内连续多代饲养,寄主植物为水稻苗;毒苗为事先经 RT-PCR 检测带有 SRBSDV 的盆栽水稻苗。

TRIzol Total RNA Reagent 由 Invitrogen 公司提供; M-MLV 逆转录酶、Taq DNA Polymerase 和 dNTPs 由贝博生物试剂公司提供; 氯仿、异戊醇、异丙醇和无水酒精由国药集团化学试剂有限公司提供; 引物参照文献(周倩等, 2010)中设计的一对引物, S10F (5'-TTAAGTTTATTTCGCAACTTCGAAG-3'), S10R (5'-GTGATTTGTCAGCATCTAAAGCG-3') 扩增产物约 500 bp。

1.2 水稻中 SRBSDV 的检测方法

总 RNA 提取: 取待测水稻叶片 50 ~ 100 mg 左右, 在液氮中充分研磨后, 加 1 000 μL TRIzol。混匀后转入 1.5 mL 离心管中, 加 500 μL 氯仿/异戊醇 ($v/v = 24:1$) 涡旋振荡后冰浴 15 min。12 000 r/min 4°C 离心 15 min, 取上层水相, 加 500 μL 异丙醇, 冰盒中放置 15 min。12 000 r/min 4°C 离心 10 min, 弃上清。用 1 000 μL 80% 乙醇洗涤沉淀, 12 000 r/min 4°C 离心 5 min。去上清液后真空干燥 3 ~ 5 min, 再用 20 μL DEPC 水(ddH_2O) 溶解沉淀, -20°C 保存。

cDNA 链的合成: 取 RNA 样品 3.0 μL , ddH_2O 7.0 μL , 引物 S10F 和 S10R (10 mmol/L) 各 1.0 μL , 65°C 变性 5 min。加入 M-MLV Buffer 4.0 μL , dNTP (10 mmol/L) 2.0 μL , 30°C 10 min。再加入 M-MLV 1 μL , 42°C 20 min。然后 99°C 5 min, 自然冷却至室温后, -20°C 保存。

PCR 扩增: 取 cDNA 2.0 μL , 引物 S10F 和 S10R (10 mmol/L) 各 1.0 μL , Taq Buffer 2.5 μL ,

dNTP (2.5 mmol/L) 2.0 μ L, 2.5 U/ μ L Taq 0.5 μ L, 反应总体积为 25.0 μ L。94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 55 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 35 个循环; 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。取反应产物 5.0 μ L, 加 1.0 μ L 上样缓冲液。经 1% 琼脂糖凝胶电泳, EB 染色后, 在凝胶成像系统中照相并观察。

1.3 传毒介体获毒时间的测定

供试昆虫: 首先在培养皿内装有约 0.5 cm 厚的琼脂培养基, 然后在培养基上放置半透膜, 再在膜上放置即将孵化的卵。孵化后的若虫在该培养皿内继续放置 3~5 h。这样获得的若虫被视为饥饿 3~5 h 的若虫。其它虫态的白背飞虱为无毒稻苗饲养, 然后转移至养虫缸内饥饿 3~5 h 后供进一步试验用。

测定方法参考《植物病毒鉴定》(《植物病毒鉴定》编写组, 1980), 并稍作改动。分别在不同的盆栽带毒稻苗上接入饥饿 3~5 h 的相同龄期若虫或相同翅型成虫(初孵若虫、3 龄若虫、5 龄若虫、长翅型成虫和短翅型成虫)各 800 头(无毒虫)。接虫后每隔 1 min 取一批(30 头以上)相同龄期若虫或相同翅型的白背飞虱, 分别将这批虫转移至盆栽稻苗上(1 株/盆, 稻苗上套有纱网), 每苗接虫 1 头。接虫后继续观察, 接虫 4 d 后该虫在稻苗上正常活动则认为该苗接虫成功。25 d 后每批检测 30 株接虫成功的稻苗是否感染病毒, 单苗检测, 检测方法见 1.2。如果某稻苗检测出带毒, 则认定该苗上所接飞虱在其饲毒期内成功获毒。最早检出带毒稻苗上的那一批白背飞虱的饲毒时间为最短获毒时间; 病毒检出率为 100% 的那一批白背飞虱饲毒的时间为最长获毒时间。试验时养虫室内温度为(26 \pm 1) $^{\circ}$ C。稻苗生育期为三叶一心。

1.4 病毒在传毒介体体内的循环期测定

分别测定环境温度为 20、26、30 $^{\circ}$ C 时的循环期。测定方法参考《植物病毒鉴定》(《植物病毒鉴定》编写组, 1980), 并稍作改动。具体是测定前分批播种, 获得数批生育期、长势相同的盆栽水稻幼苗(1 苗/盆)。接虫时稻苗生育期为三叶一心。盆栽稻苗在接虫前后均套有防虫网。

将 3 龄无毒若虫在毒苗上饲毒 24 h 后, 将其转移至无毒稻苗上, 每苗 1 头, 24 h 后转移至下批苗(晚播 24 h)上, 接毒 24 h 后再将其转移至下一批的稻苗上, 依此类推直至该虫衰老死亡为止。

在连续转移接虫的过程中, 尽量确保每头虫在稻苗上接虫成功。接虫 12 h 后, 飞虱仍能在稻苗上正常活动则视为此次接虫成功。如果某头飞虱在衰老死亡前多次转移接虫均成功, 则该虫取食过的不同批次的所有稻苗均需经 RT-PCR 检测是否感染 SRBSDV, 然后根据稻苗是否感染 SRBSDV, 接虫日期以及试虫饲毒日期计算循环期; 否则, 该虫及被该虫取食过的稻苗将不会被用于循环期的测定。最终确保可用于测定循环期的试虫数为 25 头。接虫 25 d 后检测每株稻苗是否带毒, 检测方法见 1.2。分别记录每虫的饲毒日期以及该虫在每株稻苗上的接虫日期。该病毒在 3 龄白背飞虱若虫体内循环期的计算方法: 在这 25 头有效试虫中, 最先导致稻苗染毒的某头飞虱的饲毒日期与接虫日期之间的相隔天数为最短循环期; 最迟导致稻苗染毒某飞虱的饲毒日期与接虫日期之间的相隔天数为最长循环期。

SRBSDV 在其它龄期若虫、长翅型成虫和短翅型成虫体内循环期的测定方法同该病毒在 3 龄若虫体内循环期的测定方法。

1.5 传毒持久性测定

测定方法见《植物病毒鉴定》(《植物病毒鉴定》编写组, 1980), 结合循环期测定进行观察。如果带毒虫只有在第 1 或第 1、2 两次转移时传毒, 以后均不传毒, 判定这种传毒关系为非持久性的; 如果毒虫从开始转移到中间若干次都能传毒, 而后不能传毒, 则判定为半持久性传毒; 如果毒虫从开始转移传毒, 且一直持续到介体昆虫死亡为止, 则判定为持久性传毒。

1.6 寄主植物接毒时间测定

测定方法参考《植物病毒鉴定》(《植物病毒鉴定》编写组, 1980), 并稍作改动。将一批三叶一心和分蘖初期的水稻单苗连根放入试管内, 试管底部加入少量水, 然后塞入适量棉花, 并确保棉花在水的上方保证飞虱不掉入水中。毒虫为室内连续多代在带毒水稻苗上饲养的白背飞虱, 将发育一致的 5 龄若虫、长翅型成虫、短翅型成虫接入试管内的稻苗上。每管接虫一头, 饲育不同时间(以分钟为单位)后取出稻苗移栽。移栽后正常管理, 20 d 后检测每株稻苗是否感染病毒, 检测方法见 1.2。分别记录每株稻苗的接虫时间、接虫虫态。每处理重复 30 次。最后统计染毒稻苗的接毒时间。

1.7 经卵传毒测定

从带毒稻苗组织内获得白背飞虱卵,用蒸馏水漂洗后置于培养皿内保湿培养直至其孵化,在其取食前转移至盆栽无毒稻苗饲养,25 d 后检测稻苗是否带毒,检测方法见 1.2。检测稻苗株数不少于 30。如果有稻苗被检出带毒则认定该病毒经卵传毒,否则认定不能经卵传毒。

1.8 单虫最多传毒株数

传毒虫为孵化后并在毒苗上取食 2 d 的若虫。将每头若虫分别转移至不同的网室内。每个网室内放置盆栽 3 叶期稻苗,150 ~ 200 株/网室。温度为(26 ± 1) °C。接虫后,正常肥水管理,在稻苗进入分蘖期后,用剪刀在水稻分蘖株出水前及时剪除,确保水稻始终为单株单苗。待网室内飞虱自由取食,自然死亡 15 d 后,检测每个网室内感染 SRBSDV 的稻苗,单苗检测。检测方法见 1.2。如果网室内有 1 株稻苗感染 SRBSDV,则判定该网室内稻苗接虫成功。最后分别统计 30 个接虫成功的网室中的染病株数,即 30 头飞虱中每头虫的传毒株数。

2 结果与分析

2.1 白背飞虱获毒时间

由于试虫,特别是低龄若虫,在转移过程中易受损伤而死亡。通过大量移虫,确保在不同饲毒期、不同龄期若虫和不同翅型成虫的有效样本达到 30 头。从表 1 可知,初孵若虫饲毒 11 min 后,成功转移 30 头虫至 30 株稻苗(1 虫/苗),25 d 后经 RT-PCR 检测发现这 30 株稻苗中感染 SRBSDV 的比例为 20.0%;饲毒 19 min 时,30 株稻苗感染 SRBSDV 的比例为 100%。据此可知,白背飞虱初孵若虫被转移至毒苗上后,该虫最短获毒时间为 11 min,最长获毒时间 19 min。同样的道理,3 龄若虫最短获毒时间为 6 min,最长获毒时间 12 min;5 龄若虫最短获毒时间为 3 min,最长获毒时间 9 min;长翅型成虫和短翅型成虫的最短获毒时间和最长获毒时间相同,分别为 2 和 8 min。可见,不同龄期若虫的获毒能力不同,该若虫龄期越高获毒能力越强;长翅型成虫和短翅型成虫的获毒能力相同。

表 1 不同时间内白背飞虱从毒源植物水稻成功获毒的比例

Table 1 Infection rate of WBPH after the vectors were transferred to the viruliferous rice seedlings

白背飞虱转移至毒苗后,不同时间内白背飞虱成功获毒的比例(%)

Rate of WBPH infected with SRBSDV after the vectors fed on the viruliferous rice seedlings

白背飞虱 WBPH	1 min	2 min	3 min	4 min	5 min	6 min	7 min	8 min	9 min	10 min	11 min	12 min	13 min	14 min	15 min	16 min	17 min	18 min	19 min	20 min
初孵若虫 1st instar nymphae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20.0	46.7	60.3	70.0	76.7	83.3	86.7	90.3	100.0	100.0
3 龄若虫 3rd instar of nymphae	0	0	0	0	0	10.0	43.3	50.0	76.7	83.3	93.3	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
5 龄若虫 5th instar nymphae	0	0	26.7	43.3	60.3	83.3	86.7	90.3	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
长翅型 成虫 Macropter	0	13.3	46.7	60.3	76.7	86.7	93.3	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
短翅型 成虫 Brachypter	0	16.7	36.7	53.3	63.3	76.7	86.7	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

2.2 SRBSDV 在白背飞虱体内的循回期

从表 2 可知,在 26 °C 时,不同虫态(初孵若虫、3 龄若虫、5 龄若虫、长翅型成虫和短翅型成虫)的

白背飞虱获毒后,SRBSDV 在其体内的循回期分别是 7 ~ 11、5 ~ 8、3 ~ 7、4 ~ 8 和 3 ~ 6 d。可见,白背飞虱在不同发育阶段获毒后,SRBSDV 在白背飞虱

体内循环期不同。若虫期获毒时龄期越大,循环期越短;长翅型成虫期获毒后,SRBSDV 在长翅型成虫体内的循环期比在短翅型成虫体内的循环期稍长。这表明不同发育阶段的白背飞虱从获毒至

可传毒的时间间隔不同。

在不同温度(20、26 和 32℃)时,相同虫态的最短循环期、最长循环期也不相同。这表明温度对 SRBSDV 在白背飞虱体内的循环期也有影响。

表 2 不同环境温度下白背飞虱不同龄期若虫和不同翅型成虫阶段获毒后的循环期
Table 2 Circulative period of SRBSDV in the body of WBPH at the different developmental stage under the different environmental temperature

传毒介体白背飞虱 WBPH	温度(℃) Temperature	最短循环期(d) The minimum of circulative period	最长循环期(d) The maximum of circulative period
初孵若虫 1st instar nymphae	20	11	19
3 龄若虫 3rd instar nymphae		10	17
5 龄若虫 5th instar nymphae		8	16
长翅型成虫 Macropter		6	14
短翅型成虫 Brachypter		5	12
初孵若虫 1st instar nymphae		6	9
3 龄若虫 3rd instar nymphae	26	5	7
5 龄若虫 5th instar nymphae		3	6
长翅型成虫 Macropter		4	8
短翅型成虫 Brachypter		3	6
初孵若虫 1st instar nymphae		11	17
3 龄若虫 3rd instar nymphae		10	16
5 龄若虫 5th instar nymphae	32	9	16
长翅型成虫 Macropter		4	6
短翅型成虫 Brachypter		4	5

2.3 传毒持久性

26℃ 的检测结果表明,白背飞虱获毒后,从第 1 次传毒成功到该虫死亡之前均能多次传毒,其中 25 头 3 龄若虫获毒后最多连续传毒导致 21 株稻苗感染 SRBSDV;长翅型和短翅型成虫最多连续导致 13 和 15 株稻苗感染该病毒。由此可见,该虫的传毒关系属于持久性传毒,即白背飞虱获毒后可终身传毒。

2.4 接毒取食时间

30 头带毒的 5 龄若虫分别在 30 株三叶一心稻苗饲育 1~3 min,接虫 25 d 后 RT-PCR 检测发现这些稻苗均没有感染 SRBSDV,即感染率为 0;30 头带毒的 5 龄若虫分别在 30 株三叶一心稻苗饲育 4 min,接虫 25 d 后检测结果表明这 30 株稻苗的感染率为 13.3%;30 头带毒的 5 龄若虫分别

在 30 株三叶一心稻苗饲育时间达 8 min 后,25 d 后检测结果表明 30 株稻苗全部感染 SRBSDV,感染率为 100.0%(表 3)。由此可知,5 龄若虫在三叶一心稻苗的最短接毒时间为 4 min,最长接毒时间为 8 min。同理可知,长翅型和短翅型成虫在三叶一心稻苗上的最短接毒时间分别是 5 和 6 min,最长接毒时间分别是 10 和 11 min。5 龄若虫、长翅型和短翅型成虫在分蘖初期稻苗上的最短接毒时间分别是 5、7 和 7 min,最长接毒时间分别是 10、12 和 12 min。

2.5 经卵传毒结果

从毒苗上获得 13 批卵,孵化后共得 243 头若虫。将这些若虫转移至 243 株健康稻苗上饲育。25 d 后从这 243 株稻苗内未检出 SRBSDV。由此可见 SRBSDV 不经白背飞虱卵传毒。

表 3 带毒白背飞虱在稻苗上饲育不同时间导致稻苗感染 SRBSDV 的比率 (%)
 Table 3 Infection rate of rice seedlings caused by the viruliferous WBPH during the different inoculative periods

不同生育期的水稻 Rice at different developmental stage	白背飞虱 WBPH	带毒白背飞虱在稻苗上饲育不同时间导致稻苗感染 SRBSDV 的比率 (%) Infection rate of rice seedlings caused by the viruliferous WBPH during the different inoculative periods												
		1 min	2 min	3 min	4 min	5 min	6 min	7 min	8 min	9 min	10 min	11 min	12 min	13 min
三叶一心水稻 Rice plant at the three-leaf stage	5 龄若虫 5th instar nymphae	0	0	0	13.3	40.0	80.3	96.7	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
	长翅型成虫 Macropter	0	0	0	0	8.3	20.0	43.3	76.7	93.3	100.0	100.0	100.0	100.0
	短翅型成虫 Brachypter	0	0	0	0	0	7.3	46.7	66.7	83.3	96.7	100.0	100.0	100.0
分蘖初期水稻 Rice plant at the early tillering stage	5 龄若虫 5th instar nymphae	0	0	0	0	0.3	16.7	43.3	76.7	83.3	100.0	100.0	100.0	100.0
	长翅型成虫 Macropter	0	0	0	0	0	0	6.7	36.6	63.3	83.3	93.3	100.0	100.0
	短翅型成虫 Brachypter	0	0	0	0	0	0	10.0	23.3	46.7	86.7	96.7	100.0	100.0

2.6 单虫最多传毒株数

经 RT-PCR 检测表明,白背飞虱单虫导致各网室中稻苗感染 SRBSDV 株数最少的是 22 株,最多 87 株。30 个网室稻苗平均染毒株数为 (48.3 ± 0.8) 株。

3 讨论

3.1 影响白背飞虱传毒特性的因素分析

无毒虫从病株上获得病毒所需的取食时间为获毒时间(《植物病毒鉴定》编写组,1981)。获毒时间代表白背飞虱穿透表皮、经过软组织细胞及到达富含 SRBSDV 的韧皮部的最短时间,并获得足够的病毒粒子得以有效传播。而接毒时间则是指毒虫在健康苗上取食多少时间能导致植物染毒,其实质就是在昆虫取食过程中将足够数量的病毒粒子转移至稻苗所需时间。昆虫降落到寄主植物表面后,首先会对寄主植物表面物质进行识别,以判断是否进行下一步的刺探(刘向东等,2004)。可见,植物组织结构特性和植物成分必然影响其刺吸取食行为(苗进等,2011),对获毒时间和接毒时间有着直接或间接的影响。这暗示发育阶段相同的介体昆虫在生育期不同的水稻上的获

毒时间和接毒时间不同。本研究结果(表 1-3)为该推测提供了有力的证据支持。

白背飞虱获取 SRBSDV 后,病毒粒子在其体内增殖到一定数量后才能具备传毒能力。SRBSDV 在该虫体内增值的这个过程所需时间即传毒循环期。表 2 结果表明该病毒在不同发育阶段的白背飞虱体内的循环期不同。SRBSDV 利用寄主细胞内物质复制自身遗传物质、合成衣壳蛋白后完成子代病毒粒子的装配。因此,SRBSDV 在白背飞虱体内增值过程中所需物质均来源于寄主细胞,白背飞虱的生理状态可能成为影响病毒在该虫体内循环期时间长短的因素。环境温度不仅可能影响 SRBSDV 利用寄主细胞内的成分复制自身遗传物质、合成衣壳蛋白和装配子代病毒粒子的速度(许志刚,2008),而且直接影响白背飞虱的生理状态(冯炳灿等,1985;叶正襄等,1994)。这可能是表 2 中相同龄期白背飞虱若虫在不同环境温度时循环期不同的原因。

可见,白背飞虱的传毒能力涉及介体本身 - SRBSDV - 寄主植物三者间互作关系,这是三者本身遗传特性固有的。因此,影响白背飞虱传毒的因素首先涉及到这 3 个层面。除此之外,外界因

素如环境温度、施肥水平等通过影响介体本身 - SRBSDV - 寄主植物的代谢速度和生长发育状况来影响白背飞虱传毒特性。

3.2 白背飞虱的传毒特性在南方水稻黑条矮缩病防治上的利用

白背飞虱的传毒特性与该虫的传毒效率密切相关。本研究结果表明 SRBSDV 不能经卵传毒, 尽管该虫的获毒能力较强, 如初孵若虫最短获毒时间分别 11 min (表 1), 但初孵若虫的最短循环期长达 11 d (表 2)。因此, 即使初孵若虫成功获毒, SRBSDV 需经一段时间才能在其体内完成循环期后, 此时才具备传毒能力。可见, 在防治上应尽量清除田间 SRBSDV 寄主植物, 减少白背飞虱的获毒机会。同时, 将白背飞虱杀死在 3 龄期以前, 可有效减少该病毒病的田间感染率。此外, 从稻苗接毒取食时间来看 (表 3), 水稻生育期越早, 接毒取食时间越短。这暗示水稻在秧苗期易感染 SRBSDV。因此, 对于该病的防治, 在秧田期和移栽初期应重点防治飞虱。

参考文献 (References)

- 包云轩, 徐希燕, 王建强, 王翠花, 缪启龙, 翟保平, 2007. 白背飞虱重大迁入过程的大气动力背景. *生态学报*, 27(11): 4527—4535.
- 陈卓, 刘家驹, 宋宝安, 郭荣, 钟玲, 邱高辉, 范会涛, 李向阳, 2010. 2010 年南方水稻黑条矮缩病应急防控试验探究. *贵州大学学报(自然科学版)*, 27(5): 38—41.
- 冯炳灿, 黄次伟, 王焕弟, 姚静, 宋丽君, 1985. 温度对白背飞虱种群增长的影响. *昆虫学报*, 28(4): 390—397.
- 郭荣, 周国辉, 张曙光, 2010. 水稻南方黑条矮缩病发生规律及防控对策初探. *中国植保导刊*, 30(8): 17—19.
- Ha VC, Nguyen VH, Vu TM, Masaru M, 2009. Rice dwarf disease in north Vietnam in 2009 is caused by southern rice

- black-streaked dwarf virus (SRBSDV). *Bull. Inst. Trop. Agr., Kyushu Univ.*, 32: 85—92.
- 刘万才, 刘宇, 郭荣, 2010. 南方水稻黑条矮缩病发生现状及防控对策. *中国植保导刊*, 30(3): 17—18.
- 刘向东, 张孝羲, 翟保平, 2005. 蚜虫寄主专业化及其成因. *昆虫学报*, 47(4): 499—506.
- 苗进, 武予清, 郁振兴, 段云, 蒋月丽, 李国平, 2011. 基于 EPG 的麦长管蚜、麦二叉蚜和禾谷缢管蚜取食行为比较. *生态学报*, 31(1): 175—182.
- 沈君辉, 尚金梅, 刘光杰, 2003. 中国的白背飞虱研究概况. *中国水稻科学*, 17(S1): 7—22.
- 汪远坤, 翟保平, 2004. 白背飞虱的再迁飞能力. *生态学报*, 47(4): 467—473.
- 许志刚主编, 2008. 普通植物病理学. 北京: 中国农业出版社. 178—215.
- 叶正襄, 秦厚国, 李华, 1994. 温度、食料条件对白背飞虱种群增长的影响. *植物保护学报*, 21(3): 209—213.
- 翟保平, 周国辉, 陶小荣, 陈晓, 沈慧梅, 2011. 稻飞虱暴发与南方水稻黑条矮缩病流行的宏观规律和微观机制. *应用昆虫学报* 48(3): 480—487.
- Zhang HM, Yang J, Chen JP, Adams MJ, 2008. A black-streaked dwarf disease on rice in China is caused by a novel *Fijivirus*. *Archives of Virology*, 153: 1893—1898.
- 张松柏, 彭兆普, 刘勇, 张德咏, 成飞雪, 罗源华, 马明勇, 2010. 2009 年湖南省南方水稻黑条矮缩病暴发原因初步分析. *植物保护*, 36(6): 121—124.
- 《植物病毒鉴定》编写组, 1980. 植物病毒鉴定. 北京: 中国农业出版社. 38—42.
- Zhou GH, Wen JJ, Cai DJ, Li P, Xu DL, Zhang SG, 2008. Southern rice black-streaked dwarf virus: A new proposed *Fijivirus* species in the family Reoviridae. *Chinese Science Bulletin*, 53(23): 3677—3685.
- 周倩, 朱俊子, 梁晋刚, 陈欣怡, 高必达, 2010. 南方水稻黑条矮缩病毒快速检测. *基因组学与应用生物学*, 2010 29(5): 1009—1012.

江西上犹 2009、2010 年南方水稻 黑条矮缩病的毒源地分析*

赵悦** 张孝羲 翟保平***

(南京农业大学昆虫学系 农作物生物灾害综合治理教育部和农业部重点实验室 南京 210095)

摘要 通过灯下诱虫情况调查、毒源地分析、轨迹模拟、ArcGIS 技术以及天气学背景分析,阐释了 2009、2010 年江西省上犹县发现的南方水稻黑条矮缩病 (SRBSDV) 的供毒源地情况,以及白背飞虱 *Sogatella furcifera* (Horváth) 携毒的传递路径。结果显示:(1) 通过对白背飞虱迁入上犹的虫源地与经鉴定的南方水稻黑条矮缩病发病区域的叠加分析,明确了传入上犹的毒源地分布于广东、广西、海南 3 省区境内。(2) 西南低空急流及偏南气流是白背飞虱将我国南方的病毒远距离传送到上犹县境内的动力源。(3) 白背飞虱随下沉气流和降雨在上犹境内的集中降落是 SRBSDV 在当地暴发的触发条件。

关键词 南方水稻黑条矮缩病,白背飞虱,迁飞轨迹,毒源区

Identifying the source regions of *Southern rice black-streaked dwarf virus* transmitted by *Sogatella furcifera* (Horváth) in Shangyou, Jiangxi Province

ZHAO Yue** ZHANG Xiao-Xi ZHAI Bao-Ping***

(Department of Entomology, College of Plant Protection, Nanjing Agricultural University, Key Laboratory of Integrated Management of Crop Diseases and Insect Pests, Ministry of Education, Ministry of Agriculture of China, Nanjing 210095, China)

Abstract The source regions of the *Southern rice black-streaked dwarf virus* (SRBSDV) transmitted by its vector, the white-backed planthopper, *Sogatella furcifera* (Horváth) (WBPH), were analyzed in Shangyou, Jiangxi in 2009 and 2010. Coincidence in the migratory pathways of WBPH and virus source regions were identified through light trap catches, identification of areas affected by the virus, migration trajectory analysis, synoptic weather and ArcGIS tech. The results indicate that: (1) The source areas of the virus in Shangyou were mainly in Guangdong, Guangxi, and Hainan Provinces. (2) Riding on the prevailing southwest or south wind, WBPH transmitted this virus from southern China to Shangyou. (3) The immigration of concentrated airborne WBPH under climatic conditions of downdraft and rainfall triggered the epidemic outbreak of SRBSDV in Shangyou in 2009 and 2010.

Key words *Southern rice black-streaked dwarf virus*, *Sogatella furcifera*, migration trajectory, source regions of virus

南方水稻黑条矮缩病毒 (*Southern rice black-streaked dwarf virus*, SRBSDV) 属呼肠孤病毒科 (Reoviridae) 斐济病毒属 (*Fijivirus*)。2001 年在广东阳西首次发现,是近年来在越南北部和我国南方稻区危害严重的一种新型病毒 (Zhang *et al.*, 2008; 周国辉等, 2008; Wang *et al.*, 2010)。当带

毒的白背飞虱 *Sogatella furcifera* (Horváth) (WBPH) 使健康水稻感染病毒后,病毒就会为害水稻生长点,使水稻立即停止生长。水稻各生育期均可感染该病,但主要染病时期为秧苗期,染病后的共同症状表现为植株矮缩、叶色浓绿且基部有皱褶、叶背及茎秆出现条状乳白色或深褐色小

* 资助项目: 国家“973”项目 (2010CB126200)、农业公益性行业科研专项 (200903051)、国家水稻产业技术体系建设专项 (nycytx-001)

**E-mail: 2008102113@njau.edu.cn

***通讯作者, E-mail: bpzhai@njau.edu.cn

收稿日期: 2011-04-18, 接受日期: 2011-07-05

突起、高位分蘖及茎节部倒生气生须根,秧苗期感病的稻株严重矮缩(不及正常株高 1/3),不能拔节,重病株早枯死亡;大田初期感病的稻株明显矮缩(约为正常株高 1/2),不抽穗或仅抽包颈穗,大面积感染后可达颗粒无收的严重程度。通过田间调查及室内传毒实验发现,白背飞虱 *Sogatella furcifera*(Horváth) 是 SRBSDV 的主要传递媒介,且一旦获毒可终身带毒,其若虫和成虫均可传毒(周国辉等,2008)。

该病害从 2001 年被发现到 2008 年间,主要在华南局部地区零星为害(周国辉等,2010)。但在 2009 年春,越南义安省水稻上 SRBSDV 突然大面积流行。随着白背飞虱的向北迁飞,SRBSDV 扩散到越南北方 19 个省,造成 4.2 万 hm^2 水稻受害,部分田块失收。越南北方病区的白背飞虱进一步北迁,SRBSDV 在我国的广东、广西、海南、福建、江西、湖南、湖北、浙江、安徽 9 省区也普遍发生,全国发生面积约 40 万 hm^2 ,基本失收面积 0.67 万 hm^2 。越南有关专家认为,义安省的 SRBSDV 毒源来自我国海南省,海南南部稻区为白背飞虱终年繁殖区,同时也是 SRBSDV 的发生地之一,当地携毒白背飞虱被台风席卷到义安而使得 SRBSDV 流行并增殖扩散至我国东部稻区^①。我国发病稻区的白背飞虱秋季南迁,又将更多的携毒个体送返越南境内,致使 2010 年 SRBSDV 在越南北部和中部稻区 29 个省大流行(6 万多公顷水稻受害,许多田块失收),进而又在我国南方 13 个省超过 130 万 hm^2 水稻上大暴发。而截止到 2011 年 3 月上旬,海南约 5 万 hm^2 (周国辉,未发表资料)、越南 38 个省(Vien,私人通讯)冬春稻见病;据测,2011 年该病害将对我国南方稻区超过 200 万 hm^2 水稻构成威胁(全国农业技术推广服务中心植物病虫害情报 2011 年第 3 期)。

目前,我国尚未发现明显抗病的水稻主栽品种,而杂交籼稻又极易受到白背飞虱的危害,我国和东南亚北部稻区田间已积累大量毒源,传毒媒介白背飞虱在我国各稻区大范围发生且南北往返迁飞周年循环,使得我国和越南北部及中部稻区互为虫源毒源并不断累积,SRBSDV 在我国大范围

流行且逐年加重的风险极大。显然,厘清我国各稻区白背飞虱和 SRBSDV 的虫源毒源关系,是开展 SRBSDV 联防联控的基本前提。

为此,本文以江西上犹为个例,应用轨迹分析平台 HYSPLIT 分析 2009、2010 年该县白背飞虱迁入始期至晚稻秧苗期(6 月初至 7 月末)的迁飞轨迹,明确虫源地和毒源地的可能分布范围,以期揭示 SRBSDV 流行的宏观规律,为 SRBSDV 的防控提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 虫情及气象资料

虫情资料:江西省植保站提供的上犹 2009、2010 年白背飞虱灯诱资料(<http://zhibao.jxagri.gov.cn>)。

病情资料:2009、2010 年南方黑条矮缩病发病区域的资料由江苏省农科院植保所周益军研究员和华南农业大学周国辉教授提供。据此应用 GIS 技术制成全国发病区域图(图 2.5)。

气象资料:美国环境预报中心(NCEP)和国家大气研究中心(NCAR)的全球再分析数据(全球 6 h 1 次, $1^\circ \times 1^\circ$, 26 个高度层, GRIB 格式)。国家气象局共享数据网提供精度为 0.25° 的全国每 24 h 降水分布图。

地图资料:中国省级行政区图(1:4 000 000)从国家基础地理信息中心(<http://nsdi.gov.cn>)下载。

1.2 分析方法

采用美国国家海洋和大气管理局 NOAA(<http://www.arl.noaa.gov>)开发的 HYSPLIT 轨迹分析平台和我们通过数值试验确定的白背飞虱迁飞模拟生物学参数(赵悦等,2011)进行白背飞虱迁飞路径的轨迹分析。通过该平台计算不同高度上白背飞虱的运动轨迹,生成图形文件得到各迹点的地理坐标(经纬度)并经 Visual Foxpro 转换成属性数据库,再在 ArcGIS 中与发病区域分布图叠加,显示 SRBSDV 的可能毒源地分布范围。

^① Ngo Vinh Vien, 2009. The occurrence of new rice virus disease in Northern Vietnam. International Workshop on RICE VIRUS AND VECTOR INSECTS. HANOI-VIETNAM, 28 November, 2009. Workshop Report.

在轨迹分析时假定:(1)白背飞虱是顺风迁移的(陈若簾和程遐年,1980;邓望喜等,1981);(2)白背飞虱在日出前或日落后 1 h 内起飞(邓望喜,1981;陈若簾等,1984);(3)白背飞虱在春夏季北迁高度在 850 hPa 等压面上(邓望喜等,1981;Riley *et al.*,1991,1994;封传红等,2002,2003)。

回推轨迹模拟中各生物学参数的设定:(1)根据迁入期不同高度层的温度选择距地面 1 000、1 500、2 000 m 为回推轨迹的起始高度;(2)回推轨迹以降虫区为起点,以降虫区诱虫灯自傍晚亮起至凌晨熄灭的各整点时刻为降虫时刻(即降虫区傍晚 19:00 至次日凌晨 06:00),即回推轨迹的起始时刻,降落日期即灯诱高峰期,回推轨迹中各起始时刻的间隔时间为 2 h;(3)轨迹分析的最长续航时间按照傍晚起飞型和凌晨起飞型分为 30 h 和 25 h (Rosenberg and Magor,1983,1987)。

有效轨迹判定依据:回推轨迹的落点时刻均为当地稻飞虱的起飞时间,即虫源地的傍晚 19:00 和凌晨 5:00 (翟保平和张孝羲,1993;翟保平,2004);虫源地(轨迹落点)为水稻种植区,且客观上存在迁出虫源。

虫汇区白背飞虱传毒主要时期的判定依据:(1)虫汇区的白背飞虱灯诱虫量出现高峰期;(2)轨迹模拟所得的虫源地确为 SRBSDV 发病稻区,且当地存在白背飞虱迁出虫群;(3)携毒白背飞虱进入虫汇区期间,当地确有生育期在秧苗期至分蘖期的水稻。

天气学背景分析的气象资料为美国环境预报中心(NCEP)和国家大气研究中心(NCAC)的全球再分析数据(水平分辨率 1°×1°,时间间隔 6 h)中

850 hPa 高空的水平气流、垂直速度等变量数据,结合相应时间段对迁入过程的天气背景进行分析。

2 结果与分析

回推轨迹分析结果表明,广东、广西和海南 3 稻区均可为上犹县提供白背飞虱虫源(表 1、2),而这 3 省区都在 2009、2010 年全国 SRBSDV 发病区域范围之内。

2.1 上犹县 2009、2010 年白背飞虱灯诱情况调查

上犹县 2009 年 4 月底至 5 月初灯下已有零星上灯虫量,此后,从 5 月中旬至 6 月末,共出现 3 个迁入峰段,即 5 月中旬(5 月 9—11 日、5 月 14—17 日)、5 月末至 6 月初(5 月 26 日—6 月 2 日)、6 月上中旬(6 月 6—11 日),6 月下旬以后,当地白背飞虱灯下虫量锐减且持续为 0(图 1)。

2010 年,上犹县 5 月中旬始见灯下白背飞虱,5 月 16 日上灯虫量为 3 头,白背飞虱始迁入时间较 2009 年略晚。白背飞虱迁入峰段共有 4 个,即 5 月下旬(5 月 26—29 日)、6 月上旬(6 月 7—9 日)、6 月中旬(6 月 11—20 日)、6 月末至 7 月初(6 月 27 日—7 月 2 日)。7 月中旬以后,当地白背飞虱灯下虫量全部为 0。2010 年与 2009 年相比,白背飞虱始见期略晚,但发生时间基本持平(图 1)。

2009、2010 年上犹县均有 SRBSDV 的发病记录。该病毒只能通过白背飞虱成虫和若虫取食传毒且主要侵染早期水稻,秧苗期感病的水稻症状明显且受害严重。5 月中旬,上犹县早稻已进入分蘖拔节期,单季稻尚处在育秧期,故此时当地单季

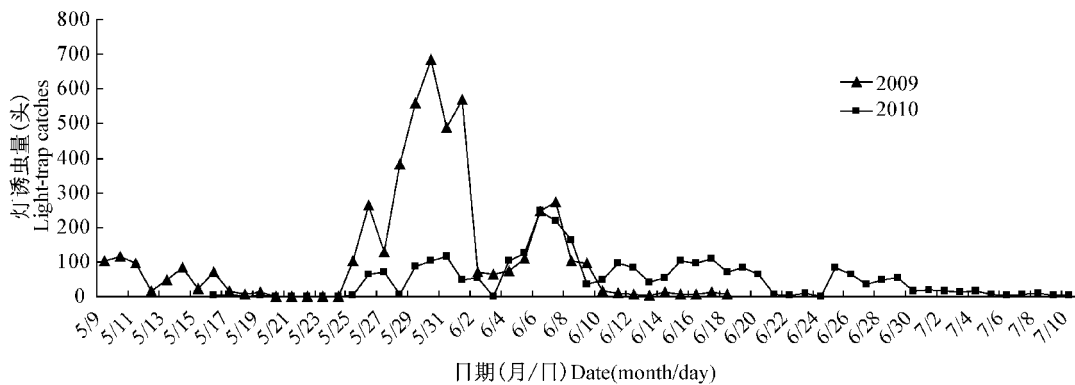


图 1 上犹县 2009 和 2010 年白背飞虱灯下虫量

Fig. 1 Light-trap catches of WBPH in Shangyou in 2009 and 2010