

白背飞虱群体接毒条件的优化及抗病毒药剂对南方水稻黑条矮缩病的防效

杨迎青¹ 兰波¹ 徐沛东^{1,2} 钟玲³ 李湘民^{1*}

(1. 江西省农业科学院植物保护研究所, 南昌 330200; 2. 江西农业大学生物科学与工程学院, 南昌 330045; 3. 江西省植保植检局, 南昌 330096)

摘要: 为比较氨基寡糖素等抗病毒诱导剂和嘧肽霉素等抗病毒剂对南方水稻黑条矮缩病的防效, 从稻苗生育期、饲毒与接毒时间等方面优化白背飞虱群体接毒条件, 对不同药剂处理的稻苗进行人工接毒, 并分别于接毒前后喷施抗病毒诱导剂和抗病毒剂, 比较不同药剂防效的差异。结果显示, 3叶1心期稻苗分别饲毒与接毒12 h较适合室内白背飞虱的群体接毒。抗病毒诱导剂中, 100 mg/kg 氨基寡糖素和60 mg/kg 超敏蛋白的效果较好, 病情指数分别为54.86和52.86, 防效分别为22.17%和24.99%。抗病毒剂中, 240 mg/kg 嘧肽霉素的效果较好, 病情指数为50.95, 防效为28.67%; 其次为120 mg/kg 嘧肽霉素和600 mg/kg 毒氟磷, 病情指数分别为55.71和59.05, 防效为22.00%和17.34%。

关键词: 南方水稻黑条矮缩病毒; 白背飞虱; 群体接毒; 条件优化; 药剂防效

Optimized conditions for group inoculation of white backed planthoppers and control effects of antiviral agents on Southern rice black-streaked dwarf virus

Yang Yingqing¹ Lan Bo¹ Xu Peidong^{1,2} Zhong Ling³ Li Xiangmin^{1*}

(1. Institute of Plant Protection, Jiangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanchang 330200, Jiangxi Province, China; 2. College of Bioscience and Engineering, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, Jiangxi Province, China; 3. Plant Protection and Quarantine Bureau of Jiangxi Province, Nanchang 330096, Jiangxi Province, China)

Abstract: To compare the control effects of antiviral and antiviral agents on *Southern rice black-streaked dwarf virus* (SRBSDV), the group inoculation conditions were firstly optimized in three aspects, *i. e.* rice seedling stage, feeding and inoculation times. The artificial inoculation on rice seedlings with different treatments was carried out according to the optimized conditions, and the antiviral and antiviral agents were sprayed respectively, followed by the comparison of disease indexes and control effects on different agents. The results revealed that the optimized conditions were rice seedlings at three-leaf stage, simultaneously feeding and inoculating virus for 12 hours. Different antiviral and antiviral agents expressed different control effects on SRBSDV to different degrees. In antiviral agents, 100 mg/kg oligosaccharins and 60 mg/kg harpin proteins expressed better effects. Their disease indexes were 54.86 and 52.86, respectively. The control effects were 22.17% and 24.99%, respectively. In antiviral agents, 240 mg/kg cytosinpeptidemycin expressed better effect. The disease index was 50.95, and the control effect was 28.67%. Furthermore, 120 mg/kg cytosinpeptidemycin and 600 mg/kg dufulin

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项(201003031, 201303021), 江西省科技支撑计划重点项目(2010BNA03500)

作者简介: 杨迎青, 男, 1981年生, 副研究员, 研究方向为植物病理与分子生物学, E-mail: yyq8295@163.com

* 通讯作者(Author for correspondence), E-mail: xmli1025@aliyun.com

收稿日期: 2013-07-15

expressed better effects. Their disease indexes were 55.71 and 59.05, respectively, and the control effects were 22.00% and 17.34%, respectively.

Key words: *Southern rice black-streaked dwarf virus*; white backed planthoppers; group inoculation; condition optimization; control effects

南方水稻黑条矮缩病毒 (*Southern rice black-streaked dwarf virus*, SRBSDV) 是呼肠孤病毒科 *Reoviridae* 斐济病毒属 *Fijivirus* 的一个种^[1-2], 与水稻黑条矮缩病毒 (*Rice black-streaked dwarf virus*, RBSDV) 同属不同种^[3-4]。由水稻黑条矮缩病毒引起的水稻黑条矮缩病主要由灰飞虱以持久性方式传播, 自然寄主包括玉米、水稻和小麦等禾本科作物^[5-6]。而由南方水稻黑条矮缩病毒引起的南方水稻黑条矮缩病主要由白背飞虱带毒传播, 是近年来造成越南北部和我国南方省区水稻矮缩病的主要病原^[1-2]。白背飞虱在我国中部与北部地区不能越冬^[7-8], 所以该病局限在我国南方省区^[9-10]。近年来, 南方水稻黑条矮缩病在我国江西、湖南、广东、湖北和海南等省暴发成灾, 据不完全统计, 2009 年受害面积超过 30 万 hm^2 , 约 6500 hm^2 水稻失收^[11]。

目前, 南方水稻黑条矮缩病的防控主要采用“治虫防病”的措施, 通常是早期采用杀虫剂杀灭稻飞虱以阻断传毒环节^[12-13]。但是, 白背飞虱迁飞的不确定性, 给“治虫防病”造成了一定困难。因此, 探索杀虫剂以外的其它有效药剂具有重要意义。在植物病毒病的防治中, 使用抗病毒剂是可供选择的途径之一^[14]。抗病毒诱导剂是能激活植物一系列抗病防卫反应的物质, 在植物病毒的防治方面已受到广泛重视^[15]。由于南方水稻黑条矮缩病是由白背飞虱带毒传播的, 各个小区的自然发病情况很难一致, 同一处理不同小区的重复性较差, 试验数据难以分析。因此, 该病的人工接种在药剂筛选中尤为重要。曹杨等^[16]研究了南方水稻黑条矮缩病毒介体昆虫白背飞虱的传毒特性, 但仅限于单虫的接毒试验, 尚不能满足大规模人工接种的需要。为此, 本研究拟建立白背飞虱的群体接毒方法, 并测定几种主要抗病毒诱导剂和抗病毒剂的防治效果, 以期为更好地防治南方水稻黑条矮缩病提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

供试水稻品种: 奥龙优 282 (感病品种)。

SRBSDV 病株: 采集于江西省大余县水稻田, 将

其移栽到网室内种植, 并用双重 RT-PCR 方法^[7-8]进行鉴定, 证明携带 SRBSDV。

抗病毒诱导剂: 5% 氨基寡糖素 (oligosaccharin) 水剂, 海南正业中农高科股份有限公司; 3% 超敏蛋白 (harpin protein) 颗粒剂, 上海农乐公司; 1% 香菇多糖 (lentinan) 水剂, 北京燕化永乐农药有限公司。

抗病毒剂: 6% 嘧肽霉素 (cytosinpeptidemycin) 水剂, 大连奥德生物有限公司; 30% 毒氟磷 (dufulin) 可湿性粉剂, 广西田园生化股份有限公司; 8% 宁南霉素 (ningnanmycin) 水剂, 德强生物股份有限公司; 80% 盐酸吗啉胍 (moroxydine hydrochloride) 水分散粒剂, 陕西美邦农药有限公司。

1.2 方法

1.2.1 接毒条件优化

水稻生育期对接毒效率的影响: 在 25 °C 室内恒温养虫箱内, 12 h/12 h 日光灯暗交替下, 进行接毒试验。下同。白背飞虱 3 龄若虫饲毒 12 h 后, 转入健康苗, 继续培养 8 d。按 2 头/株的接虫量接于 2 叶 1 心期、3 叶 1 心期、4 叶 1 心期、5 叶 1 心期、6 叶 1 心期的稻苗上, 每隔 6 h 赶虫 1 次, 使均匀获毒。12 h 后移到室外防虫网内, 自然光照下生长, 20 d 后用 RT-PCR 方法检测带毒率^[10]。

饲毒时间对接毒效率的影响: 白背飞虱 3 龄若虫分别饲毒 6、12、24、36 和 48 h 后, 转入健康苗, 继续培养 8 d。按 2 头/株的接虫量接于 3 叶 1 心期的稻苗上, 每隔 6 h 赶虫 1 次, 使均匀获毒。接毒 12 h 后, 移到室外防虫网内, 自然光照下生长, 20 d 后用 RT-PCR 方法检测带毒率^[10]。

接毒时间对接毒效率的影响: 白背飞虱 3 龄若虫饲毒 12 h 后, 转入健康苗, 继续培养 8 d。按 2 头/株的接虫量接于 3 叶 1 心期的稻苗上, 每隔 6 h 赶虫 1 次, 使均匀获毒。分别接毒 6、12、24、36、48 h 后, 移到室外防虫网内, 自然光照下生长, 20 d 后用 RT-PCR 方法检测带毒率^[8-9]。

1.2.2 抗病毒诱导剂处理

水稻浸种催芽后播种在 40 cm × 28 cm × 8 cm 的白色塑料盒内, 每盒播 40 ~ 50 粒种子, 3 次重复。将不同处理的 3 叶 1 心期水稻苗分别喷施 50、100 mg/kg 5% 氨基寡糖素 (有效成分, 下同), 30、

60 mg/kg 3% 超敏蛋白和 20、40 mg/kg 1% 香菇多糖,对照喷施相同体积的无菌水。24 h 后转到养虫室内,用饲毒 12 h 的白背飞虱对各处理 3 叶 1 心期稻苗接毒 12 h 后,将稻苗移栽到覆有防虫网的水田内,每种药剂 3 个小区,每小区 30 丛,稻田按正常管理。

1.2.3 抗病毒剂处理

水稻浸种催芽后播种在 40 cm × 28 cm × 8 cm 的白色塑料盒内,每盒播 40 ~ 50 粒种子,3 次重复。用饲毒 12 h 的白背飞虱对各处理 3 叶 1 心期稻苗接毒 12 h 后,将育苗盆移出养虫室,将不同处理的 3 叶 1 心期水稻苗分别喷施 120、240 mg/kg 6% 嘧肽霉素,300、600 mg/kg 30% 毒氟磷,160、320 mg/kg 8% 宁南霉素,以及 1 600、3 200 mg/kg 80% 盐酸吗啉胍,对照喷施相同体积的无菌水。喷药 24 h 后将稻苗移栽到覆有防虫网的水田内,每种药剂设 3 个小区,每小区 30 丛,稻田按正常管理。

1.2.4 病害调查与统计

所有小区在水稻齐穗后调查 1 次,共调查 30 丛,按 0 ~ 7 级标准进行分级。0 级:植株无病叶;1 级:植株无明显矮缩,高度比健株矮 20% 以下;3 级:植株矮缩,高度比健株矮 21% ~ 35%;5 级:植株严重矮缩,高度比健株矮 36% ~ 50%;7 级:植株矮缩 50% 以上。分别计算各处理的平均病情指数和防

效。病情指数 = \sum (各级病株数 × 各级代表值) / (调查总株数 × 最高级代表值) × 100;防治效果 (%) = (对照区病情指数 - 药剂处理区病情指数) / 对照区病情指数 × 100。

1.3 数据分析

采用 SAS 9.0 对试验数据进行统计分析, Duncan 氏新复极差法检验差异显著性。

2 结果与分析

2.1 接毒条件优化

随着水稻的生长,其带毒率逐渐减小。2 叶 1 心期和 3 叶 1 心期的带毒率较高,分别为 86.67% 和 82.22%;其次是 4 叶 1 心期和 5 叶 1 心期,分别为 73.33% 和 68.89%;6 叶 1 心期的接毒效率明显降低,带毒率仅为 64.44%。由于 2 叶 1 心期幼苗接毒后的成活率较低,因此选取 3 叶 1 心期水稻苗进行接毒。饲毒时间达到 12 h 时,带毒率为 81.11%;继续增加饲毒时间,带毒率提高不明显,饲毒时间延长到 48 h,带毒率为 85.78%。随着接毒时间的延长,接毒效率逐渐提高,在 12 h 时带毒率达到较高水平,为 82.22%;继续增加接毒时间,带毒率提高不明显,接毒时间达到 48 h,带毒率为 87.78% (图 1)。

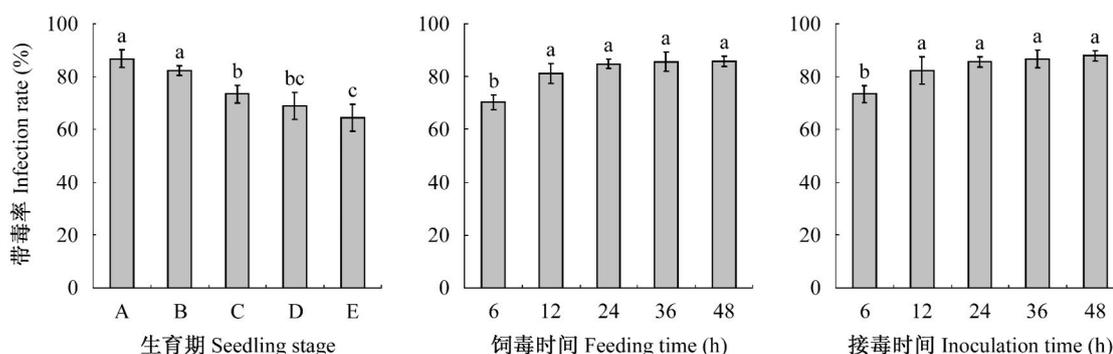


图 1 接毒条件的优化

Fig. 1 Optimization of inoculation conditions

A: 2 叶 1 心期; B: 3 叶 1 心期; C: 4 叶 1 心期; D: 5 叶 1 心期; E: 6 叶 1 心期。图中数据为 3 次重复的平均值 ± 标准误。不同小写字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验在 5% 水平差异显著。A: 2-leaf stage; B: 3-leaf stage; C: 4-leaf stage; D: 5-leaf stage; E: 6-leaf stage. Data are mean ± SE of three replicates. Different lowercase letters indicate significant difference at 5% level by Duncan's new multiple range test.

2.2 抗病毒诱导剂防治效果

不同抗病毒诱导剂处理的南方水稻黑条矮缩病病情指数差异显著。其中,100 mg/kg 氨基寡糖素和 60 mg/kg 超敏蛋白的效果较好,病情指数分别为

54.86 和 52.86,远低于对照,防效分别为 22.17% 和 24.99%;香菇多糖的防治效果欠佳,20 mg/kg 和 40 mg/kg 两个浓度下的病情指数分别为 65.53 和 62.86,防效分别为 7.02% 和 10.82% (表 1)。

表 1 温室条件下抗病毒诱导剂对南方水稻黑条矮缩病的防治效果

Table 1 Interior control effects of antiviral agents on *Southern rice black-streaked dwarf virus*

处理 Treatment	病情指数 Disease index	防治效果 Control effect (%)
CK	70.48 ± 1.65 a	—
50 mg/kg 氨基寡糖素 Oligosaccharin	60.71 ± 2.86 c	13.86 ± 4.06 bc
100 mg/kg 氨基寡糖素 Oligosaccharin	54.86 ± 3.46 d	22.17 ± 4.91 ab
30 mg/kg 超敏蛋白 Harpin protein	59.71 ± 1.86 c	15.28 ± 2.64 abc
60 mg/kg 超敏蛋白 Harpin protein	52.86 ± 3.86 d	24.99 ± 5.47 a
20 mg/kg 香菇多糖 Lentinan	65.53 ± 4.14 b	7.02 ± 5.88 c
40 mg/kg 香菇多糖 Lentinan	62.86 ± 5.07 bc	10.82 ± 7.19 c

表中数据为 3 次重复的平均值 ± 标准误。同列数据后不同字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验在 5% 水平差异显著。Data are mean ± SE of three replicates. Different letters indicate significant difference at 5% level by Duncan's new multiple range test.

2.3 抗病毒剂防治效果

不同抗病毒剂处理的南方水稻黑条矮缩病病情指数差异显著。其中,240 mg/kg 嘧肽霉素的效果较好,病情指数为 50.95,防效为 28.67%;其次是 120 mg/kg 嘧肽霉素和 600 mg/kg 毒氟磷,病情指数

分别为 55.71 和 59.05,防效分别为 22.00% 和 17.34%。上述 3 个处理的病情指数明显低于对照。盐酸吗啉胍的防治效果欠佳,1600 mg/kg 和 3200 mg/kg 两个浓度下的病情指数分别为 66.66 和 63.81,防效仅分别为 6.67% 和 10.67% (表 2)。

表 2 温室条件下抗病毒剂对南方水稻黑条矮缩病的防治效果

Table 2 Interior control effects of antiviral agents on *Southern rice black-streaked dwarf virus*

处理 Treatment	病情指数 Disease index	防治效果 Control effect (%)
CK	71.43 ± 1.00 a	—
120 mg/kg 嘧肽霉素 Cytosinepeptidemycin	55.71 ± 2.86 e	22.00 ± 4.00 ab
240 mg/kg 嘧肽霉素 Cytosinepeptidemycin	50.95 ± 1.65 f	28.67 ± 2.31 a
300 mg/kg 毒氟磷 Dufulin	62.86 ± 2.86 bc	12.00 ± 4.00 cd
600 mg/kg 毒氟磷 Dufulin	59.05 ± 1.65 de	17.34 ± 2.32 bc
160 mg/kg 宁南霉素 Ningnanmycin	65.71 ± 3.86 b	8.00 ± 5.40 d
320 mg/kg 宁南霉素 Ningnanmycin	60.95 ± 1.65 cd	14.67 ± 2.31 bcd
1600 mg/kg 盐酸吗啉胍 Moroxydine hydrochloride	66.66 ± 3.53 b	6.67 ± 4.94 d
3200 mg/kg 盐酸吗啉胍 Moroxydine hydrochloride	63.81 ± 4.50 bc	10.67 ± 6.30 cd

表中数据为 3 次重复的平均值 ± 标准误。同列数据后不同字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验在 5% 水平差异显著。Data are mean ± SE of three replicates. Different letters indicate significant difference at 5% level by Duncan's new multiple range test.

3 讨论

探讨白背飞虱的传毒规律,对于开展室内药剂筛选与抗病品种鉴定具有重要意义。曹杨等^[16]通过对饥饿处理后单头白背飞虱进行传毒试验,明确了不同虫龄白背飞虱的传毒特性,即白背飞虱初孵若虫、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;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,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。而本研究认为白背飞虱饲毒时间为 12 h 时,其获毒效果较好;

白背飞虱的接毒时间为 12 h 时,其接毒效率较高。这与曹杨等^[16]的结果存在较大差异。究其原因主要有两点:一是试验目的不同,曹杨等^[16]测定的是饥饿状态下单头白背飞虱的传毒能力,而本研究测定的是白背飞虱群体饲毒及传毒的效率;二是试验对象不同,曹杨等^[16]的试验对象是饥饿状态下的单头白背飞虱,本研究则是未经饥饿处理的白背飞虱群体。

目前,“治虫防病”是防治南方水稻黑条矮缩病的主要途径,但也有些学者试图通过对多种药剂组合来达到提高防效的目的。陈卓等^[13]对杀虫剂、抗病毒剂、生长调节剂、免疫激活剂和生物肥料进行系列组合,通过田间试验,探讨了不同处理的防治效果,发现某些药剂之间存在相互抑制作用,导

致防治效果不佳,甚至一些处理出现负防效。本研究建立了室内白背飞虱群体接毒方法,比较了几种常见抗病毒诱导剂和抗病毒剂的防效,弥补了田间试验的随机性和不确定性的缺陷。

同时,以往关于南方水稻黑条矮缩病的防治试验多集中于杀虫剂的防效测定与筛选,且多限于田间药效试验^[13]。本研究在温室条件对抗病毒诱导剂及抗病毒剂的防效进行了测定,筛选到了有效的抗病毒诱导剂及抗病毒剂,在一定意义上对“治虫防病”策略进行了补充和完善。

参 考 文 献 (References)

- [1] 周国辉,温锦君,蔡德江,等. 呼肠孤病毒科斐济病毒属一新种:南方水稻黑条矮缩病毒. 科学通报, 2008, 53(20): 2500 - 2508
- [2] Zhou G H, Wen J J, Cai D J, et al. *Southern rice black-streaked dwarf virus*: a new proposed *Fijivirus* species in the family *Reoviridae*. *Chinese Science Bulletin*, 2008, 53 (23): 3677 - 3685
- [3] 羊健,张恒木,陈剑平,等. 水稻黑条矮缩病毒 p8 蛋白的原核表达、抗血清制备及其特性. 植物保护学报, 2007, 34(3): 252 - 256
- [4] 陈声祥,张巧艳. 我国水稻黑条矮缩病和玉米粗缩病研究进展. 植物保护学报, 2005, 32(1): 97 - 103
- [5] Fang S, Yu J, Feng J, et al. Identification of *Rice black-streaked dwarf Fijivirus* in maize with rough dwarf disease in China. *Archives of Virology*, 2001, 146(1): 167 - 170
- [6] Wang Z H, Fang S G, Xu J L, et al. Sequence analysis of the complete genome of *rice black-streaked dwarf virus* isolated from maize with rough dwarf disease. *Virus Genes*, 2003, 27(2): 163 - 168
- [7] 沈君辉,尚金梅,刘光杰. 中国的白背飞虱研究概况. 中国水稻科学, 2003, 17(增): 7 - 22
- [8] 秦厚国,叶正襄,舒畅,等. 白背飞虱种群治理理论与实践. 南昌:江西科学技术出版社, 2003
- [9] Wang Q, Yang J, Zhou G H, et al. The complete genome sequence of two isolates of *Southern rice black-streaked dwarf virus*, a new member of the genus *Fijivirus*. *Journal of Phytopathology*, 2010, 158(11/12): 733 - 737
- [10] 杨迎青,周国辉,蒲玲玲,等. 2种水稻矮缩病毒一步检测方法的建立. 华中农业大学学报, 2012, 31(3): 337 - 340
- [11] 周国辉,张曙光,邹寿发,等. 水稻新病害南方水稻黑条矮缩病发生特点及危害趋势分析. 植物保护, 2010, 36(2): 144 - 146
- [12] 郭荣,周国辉,张曙光. 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, 2010, 30(8): 17 - 20
- [13] 陈卓,刘家驹,宋宝安,等. 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), 2010, 27(5): 38 - 40
- [14] 任春梅,程兆榜,邢卫锋,等. 抗病毒剂对水稻条纹叶枯病的防效. 植物保护, 2010, 36(6): 155 - 158
- [15] 张雪芹,郑明琼,赖瑞云,等. 诱导剂对番木瓜环斑病毒病的防治效果. 植物保护, 2012, 38(2): 178 - 181
- [16] 曹杨,潘峰,周倩,等. 南方水稻黑条矮缩病毒介体昆虫白背飞虱的传毒特性. 应用昆虫学报, 2011, 48(5): 1314 - 1320

(责任编辑:吴竞一)