

文献著录格式: 吴新义, 吴晓花, 徐沛, 等. 瓠瓜 CGMMV 的综合防控策略 [J]. 浙江农业科学, 2016, 57 (6): 895-898.

DOI: 10.16178/j.issn.0528-9017.20160632

## 瓠瓜 CGMMV 的综合防控策略

吴新义, 吴晓花, 徐沛, 汪宝根, 鲁忠富, 李国景\*

(浙江省农业科学院 蔬菜研究所, 浙江 杭州 310021)

**摘要:** 黄瓜绿斑驳花叶病毒 (CGMMV) 是瓠瓜生产中的重要病害。本文从 CGMMV 的发病特点及当前防治该病的研究现状出发, 提出瓠瓜上针对 CGMMV 的综合防控策略。即选育抗 CGMMV 的瓠瓜品种; 从源头控制, 确保生产中使用的种子和种苗无毒; 加强田间操作管理, 避免接触性传染。

**关键词:** 瓠瓜; CGMMV; 综合防控

**中图分类号:** S436 **文献标志码:** B **文章编号:** 0528-9017(2016)06-0895-04

瓠瓜 [*Lagenaria siceraria* (Molina) Standl.], 又名瓠子、长瓜、蒲瓜、夜开花、葫芦等, 隶属葫芦科葫芦属, 为一年生攀缘性草本植物。瓠瓜是我国南方地区夏季重要的瓜类蔬菜作物, 也是嫁接西瓜、黄瓜首选的砧木。黄瓜绿斑驳花叶病毒 (Cucumber green mottle mosaic virus, CGMMV) 是近年来新传入我国的有害生物, 由于该病毒传播迅速、为害严重, 因此对瓠瓜生产造成极大的威胁。本文提出了一套综合防控 CGMMV 的策略, 为我国瓠瓜乃至葫芦科作物防治 CGMMV 提供理论参考。

### 1 CGMMV 基本情况

CGMMV 属于芜菁花叶病毒科烟草花叶病毒属的一种, 主要侵染黄瓜、西瓜、甜瓜、瓠瓜、南瓜等葫芦科作物, 对产量损失高达 15% 以上<sup>[1]</sup>。CGMMV 为杆状病毒, 长约 300 nm, 直径约 18 nm, 包含一个 6.4 kb 的正链基因组 RNA<sup>[2-3]</sup>。CGMMV 适生性和抗逆性极强, 所有株系都是极端稳定的, 其致死温度为 90~100℃, 稀释限点  $10^{-6}$ ~ $10^{-7}$ , 常温下病毒侵染力可保持数月, 在 0℃ 下可保持数

收稿日期: 2016-03-10

基金项目: 浙江省公益性项目 (2015C32042); 农业部公益性行业 (农业) 科研专项 (201403032)

作者简介: 吴新义 (1984—), 男, 河南南阳人, 助理研究员, 博士, 从事瓠瓜、豇豆基因组学及分子育种研究工作, E-mail: wuxinyi@mail.zaas.ac.cn。

通信作者: 李国景 (1966—), 男, 浙江东阳人, 研究员, 博士, 从事蔬菜育种与栽培技术研究工作, E-mail: ligj@mail.zaas.ac.cn。

而对阔叶杂草的控制, 因本试验发生量较轻, 其效果如何还有待再验证, 因此建议以上药剂在禾本科杂草为主的麦田上使用比较适宜。

另外本试验发现, 冬小麦在喷施均加助剂的二磺·甲磺隆或甲基二磺隆后也会出现临时性的黄化或矮化蹲苗现象<sup>[1-2]</sup>, 且不同的时期施药产生药害的程度不同, 早期施药产生的黄化或矮化现象, 过一段时间会自然消失, 且不影响小麦新叶的抽出与小麦的生长, 但对生长较弱的麦苗进行施药尤其是开春后使用会造成较重的药害甚至死苗, 苗势不同结果不同。为避免严重药害的产生, 要求尽量早播并加强田间管理增强麦苗抗药力和防止麦田积水而造成长势偏弱, 同时也要尽量选择在冬前杂草基本出齐时施药为好<sup>[3]</sup>。

### 参考文献:

- [1] 张开朗, 谷爱娣, 张成之, 等. 3.6% 甲基磺隆钠盐·甲基二磺隆水分散粒剂防除小麦田杂草药效试验 [J]. 农药科学与管理, 2006 (3): 33-34.
- [2] 艾尔肯·伊布拉依木, 杨宏顺. 防除冬小麦田恶性禾本科杂草药效试验总结 [J]. 新农村 (黑龙江), 2010 (7): 12-13.
- [3] 周小刚, 张辉, 陈庆华, 等. 阔世玛 3.6% WG 防除冬小麦田杂草试验及对四川省不同类型的冬小麦品种的安全性研究 [J]. 西南农业学报, 2006, 19 (3): 446-448.
- [4] 高飞, 周琳, 张晓婷. 3.6% 阔世玛水分散剂对冬小麦田间杂草防除效果研究 [J]. 安徽农业科学, 2010, 38 (11): 5696-5697.

(责任编辑: 张瑞麟)

年<sup>[4]</sup>。CGMMV 侵染植株后, 主要引起叶片斑驳褪绿、花叶, 果实出现水渍、纤维化<sup>[5]</sup>。该病最早于 1935 年在英国黄瓜上发现, 随后在德国、芬兰等许多国家都有报道<sup>[6-7]</sup>。CGMMV 曾在日本和韩国大面积爆发, 对两国的西瓜和甜瓜生产造成毁灭性打击, 至今仍是生产中的严重问题<sup>[5, 8]</sup>。目前, 该病已经在欧洲、中亚、东亚、南亚等 30 多个国家和地区发现, 被许多国家列为葫芦科植物上的重要检疫性病毒<sup>[4]</sup>。

## 2 CGMMV 在中国的发生与研究

我国最早于 2002 年从日本进口的种苗中截获到 CGMMV, 随后检疫部门多次在进境的葫芦科种子中检测到 CGMMV 病毒<sup>[9-12]</sup>。2003 年, 该病在我国东北地区的西瓜和黄瓜田间首次发现, 2005 年在辽宁省爆发, 造成西瓜产量大面积减产<sup>[13]</sup>。在瓠瓜上, 任春梅等<sup>[14]</sup>报道在江苏仪征的露地瓠瓜病叶上检测到 CGMMV 病毒; 赵慧茹等<sup>[15-16]</sup>在嫁接西瓜使用的砧木种子上也检测到 CGMMV 病毒。目前, 在我国十多个省份的葫芦科作物上都检测到 CGMMV 病害<sup>[15]</sup>。鉴于 CGMMV 对我国葫芦科作物的严重为害, 农业部已将 CGMMV 确定为全国农业植物检疫性有害生物, 属国家三类检疫性病害 (农业部第 788 号公告)<sup>[17]</sup>。

自 CGMMV 病毒在我国发现以来, 我国学者从植物保护、植物病理、遗传育种等多个角度对该病毒进行了研究。在 CGMMV 病毒的检测方面, Shang 等<sup>[18]</sup>比较了 ACP-ELISA, TAS-ELISA, DBIA, DTBIA, IC-RT-PCR 等 5 种血清学方法检测 CGMMV 病毒的专化性和灵敏性, 发现前 4 种方法适合于常规、大批量检测, 而 IC-RT-PCR 的灵敏性最高, 适合于获取病毒基因组信息。此外, 我国学者还发表了基于一步法的反转录环介导等温扩增法 (RT-LAMP) 用于快速检测 CGMMV 病毒<sup>[19]</sup>。在病毒分子生物学研究方面, 陈红运等<sup>[20]</sup>首先利用 RT-PCR 方法克隆了辽中地区西瓜 CGMMV 分离物, 并进行了全基因组测序与分析; 田永蕾等<sup>[21-23]</sup>也对北京、山东、海南的西瓜上 CGMMV 分离物进行了全基因组测序, 系统进化分析显示我国的 CGMMV 分离物与韩国的同源性最高, 因此我国西瓜上出现的 CGMMV 病毒可能是从韩国种子传入的。最近, 浙江省农业科学院分离和测定了浙北地区侵染瓠瓜的 1 个 CGMMV 病毒株系全序列, 其基因组全长为 6 423 bp, 并构建了农杆菌介导的

CGMMV 侵染性克隆<sup>[24]</sup>。在 CGMMV 的传播方面, 多个研究报道显示, CGMMV 在葫芦科作物上以种子表面带毒为主, 带毒率高, 但传毒率很低<sup>[16, 25]</sup>。

## 3 CGMMV 的防治策略研究

CGMMV 是葫芦科作物上的世界性难题, 目前没有有效的化学药剂可防治 CGMMV。通过保守的方法可以在一定程度上减轻 CGMMV 的为害, 如使用消毒种子、通过改进栽培技术培育健壮植株、田间及时铲除发病单株、使用抗病品种、利用杀虫剂切断病毒的传播载体等<sup>[26]</sup>。带毒种子是 CGMMV 远距离传播的主要途径, 因此加强种子管理是当前防治该病害最切实可行的办法。日本和韩国在防治 CGMMV 方面的经验表明, 干热处理可大大减轻发病程度、甚至不发病, 是钝化 CGMMV 最有效的方法, 但其钝化病毒的原理还不清楚<sup>[27-28]</sup>。在我国, 蔡明等<sup>[27, 29]</sup>研究了干热处理和药剂处理对种子中 CGMMV 病毒的钝化效果, 并报道干热处理会引起种子的发芽率下降, 对不同品种和同一品种在不同生产条件下生产的种子影响不同。马凯慧等<sup>[30]</sup>研究了瓠瓜种子干热处理对 CGMMV 的钝化效果及发芽率的影响, 认为 72 °C 是处理瓠瓜种子最佳的温度; 宋顺华等<sup>[16]</sup>的研究也取得了相同的结果。此外, 李俊香等<sup>[31]</sup>还研究了化学诱抗剂对 CGMMV 的防治效果, 发现 2, 1, 3-苯并噻二唑 (2, 1, 3-Benzothiadiazole, BTH)、芸薹素内酯 (Brassinolide, BL)、壳聚糖 (Chitosan Oligosaccharide, CTS) 和水杨酸 (Salicylic Acid, SA) 均能诱导瓠瓜对 CGMMV 产生抗性, 其抗性差异与诱抗剂种类、浓度及诱导时间相关。

转基因技术是防治 CGMMV 的另一重要策略, 该方法是将一段病毒的基因序列转入植物基因组, 通过转录后基因沉默、RNA 干扰等方法使转基因植株获得对病毒的抗性<sup>[32-33]</sup>。如 Park 等<sup>[34]</sup>向嫁接西瓜转入单拷贝的 CGMMV 衣壳蛋白基因, 获得的转基因植株对 CGMMV 具有抗性; Emran 等<sup>[35]</sup>利用农杆菌介导的方法将 CGMMV 的运动蛋白基因转入甜瓜中并获得对 CGMMV 抗性提高的转基因后代。采用类似方法, Lin 等<sup>[36]</sup>向西瓜转入一个包含有西瓜银色斑驳病毒 (WSMoV) 和 CGMMV 衣壳蛋白基因片段的杂合病毒, 也获得了抗 CGMMV 的转基因后代。

## 4 瓠瓜 CGMMV 综合防控策略

现阶段, 瓠瓜上 CGMMV 的发生尚处于萌芽阶

段。根据 CGMMV 的传播特点及现有的研究知识, 本文提出一套 CGMMV 综合防控的策略, 为瓠瓜生产中 CGMMV 的防治提供参考。

#### 4.1 选育抗 CGMMV 的瓠瓜品种

选育抗病品种是防治病害最经济有效的方法。目前国内还没有抗 CGMMV 的瓠瓜品种或砧木品种, 因此育种工作者应将选育抗 CGMMV 品种列为重要的育种目标。育种工作者可利用已构建好的基于农杆菌介导的 CGMMV 侵染性单克隆<sup>[24]</sup>, 对国内外瓠瓜种质 CGMMV 抗性进行大规模鉴定, 筛选抗 CGMMV 的种质, 通过常规的回交转育, 培育抗病品种。此外, 多个 CGMMV 分离物的全基因组序列已公布, 利用转基因技术将其中的 *mp* 和 *cp* 基因片段转入瓠瓜中, 有望获得提高抗性的转基因后代, 进而结合传统育种手段选育出抗病品种。

#### 4.2 从源头控制, 确保种子和种苗无毒

CGMMV 主要以种子传播为主, 确保使用无毒的种子可从源头阻断该病毒的传播。从以下几个措施做起。(1) 瓠瓜种子制种基地应选择无 CGMMV 侵染的田块, 种植前应对土壤进行消毒。(2) 原种应进行干热处理或药剂处理以钝化病毒, 并对消毒后的种子进行生物学检测, 确保原种不带毒。(3) 种子生产过程中应加强田间管理, 培育健壮植株; 严格监视制种过程的 CGMMV 病株, 一经发现立即销毁, 并对周围植株进行后续观察。(4) 种子应分级采收, 有疑似 CGMMV 病症的瓠瓜应特殊标记, 确保不同等级的种子不混杂。(5) 种子播种前必须进行干热处理和药剂处理, 干热处理的标淮程序为: 加热至 35 °C 恒温处理 24 h, 加热升温至 50 °C 处理 24 h, 再次加热至 72 °C 处理 72 h, 最后自然降温至室温后结束处理。药剂处理可以选择 10% 磷酸三钠、1.25% Tsunami 水溶液等消毒剂, 将种子浸泡 20 ~ 60 min., 自然晒干即可。消毒后的种子应使用 DAS-ELISA 检测处理效果, 特别是检测实生苗真叶中是否含有 CGMMV, 若在实生苗中检测到阳性 CGMMV, 则对应批次的种子应重新消毒、重新检测, 直至确保整批种子无毒为止。

#### 4.3 加强田间管理, 避免接触性传染

重视土壤消毒。CGMMV 的所有株系都极其稳定, 病株的残体及根系中的 CGMMV 可在土壤中长期保持活力, 对土壤进行消毒可以防止 CGMMV 传播到无毒的种子或种苗上。土壤消毒一般采用施加生石灰、市售土壤消毒剂等, 结合高温天气加快土

壤中残渣的分解, 降低 CGMMV 的传染几率。已发现病情的田块最好不要连续种植葫芦科作物, 尤其是西瓜, 有条件的应实施水旱轮作。

规范农事操作。瓠瓜整个生产过程涉及到播种、移苗、绑蔓、整枝、授粉、采瓜等农事操作, 各环节操作时应特别小心, 防止接触到 CGMMV 侵染的病叶造成交叉感染。若接触到病叶或结束一批操作后, 都应洗手并对农具消毒, 可用肥皂水、10% 脱脂奶粉液洗手, 用 10% 脱脂奶粉液、10% 磷酸三钠、肥皂水和杀菌剂等对农具消毒。

改善栽培措施。加强肥水管理, 培育健壮苗, 提高瓠瓜植株自身对 CGMMV 的抵抗力。田间一旦发现病植株, 应连根拔起, 在瓠瓜种植区外集中销毁。从苗期开始, 通过喷施农药及时防治病虫害, 避免蚜虫、甲虫等昆虫带来的病毒传播。

#### 参考文献:

- [1] ANTIGNUS Y, PEARLSMAN M, BEN Y R, et al. Occurrence of a variant of cucumber green mottle mosaic virus in Israel [J]. *Phytoparasitica*, 1990, 18: 50-56. doi: 10.1007/BF02980826.
- [2] TAN S H, NISHIGUCHI M, MURATA M, et al. The genome structure of kyuri green mottle mosaic tobamovirus and its comparison with that of cucumber green mottle mosaic tobamovirus [J]. *Arch Virol*, 2000, 145: 1067-1079. doi: 10.1007/s007050070110.
- [3] UGAKI U, TOMIYAMA M, KAKUTANI T, et al. The complete nucleotide sequence of cucumber green mottle mosaic virus (SH strain) genomic RNA [J]. *J Gen Virol*, 1991, 72: 1487-1495. doi: 10.1099/0022-1317-72-7-1487.
- [4] 吴元华, 李立梅, 赵秀香, 等. 黄瓜绿斑驳花叶病毒在我国定殖和扩散的风险性分析 [J]. *植物保护*, 2010, 36 (1): 33-36.
- [5] KOMURO Y. Cucumber green mottle mosaic virus on cucumber and watermelon and melon necrotic spot virus on muskmelon [J]. *Japanese Agricultural Research Quarterly*, 1971, 6: 41-45.
- [6] AINSWORTH G C. Mosaic diseases of the cucumber [J]. *Annals of Applied Biology*, 1935, 22: 55-67.
- [7] KOMURO Y, TOCHIHARA H, FUKATSU R, et al. Cucumber green mottle mosaic virus on watermelon in Chiba and Ibaraki Prefectures (in Japanese) [J]. *Ann Phytopathol Soc Jpn*, 1968, 34: 377.
- [8] LEE K W, LEE B C, PARK H C, et al. Occurrence of cucumber green mottle mosaic virus disease of watermelon in Korea [J]. *Korean J Plant Pathol*, 1990, 6: 250-255.
- [9] 陈京, 李明福. 新入侵的有害生物—黄瓜绿斑驳花叶病毒 [J]. *植物检疫*, 2007, 21 (2): 94-96.
- [10] 秦碧霞, 蔡健和, 刘志明, 等. 侵染观赏南瓜的黄瓜绿斑

- 驳花叶病毒的初步鉴定 [J]. 植物检疫, 2005 (4): 198-200.
- [11] 黄静, 廖富荣, 林石明, 等. 黄瓜绿斑驳花叶病毒的鉴定及分子检测 [J]. 中国农学通报, 2007, 23 (4): 318-322.
- [12] 赵世恒, 李明福, 张永江, 等. 引进种质西瓜中黄瓜绿斑驳花叶病毒的检测 [J]. 北京农学院学报, 2007, 22 (2): 32-33.
- [13] 陈红运, 赵文军, 程毅, 等. 辽中地区西瓜花叶病病原的分子鉴定 [J]. 植物病理学报, 2006, 36 (4): 306-309.
- [14] 任春梅, 程兆榜, 缪倩, 等. 江苏黄瓜绿斑驳花叶病毒的鉴定 [J]. 江苏农业学报, 2013, 29 (1): 65-70.
- [15] 赵慧茹, 林振亚, 朱俊子, 等. 湖南首次检测到黄瓜绿斑驳花叶病毒 [J]. 植物病理学报, 2013, 43 (2): 219-221.
- [16] 宋顺华, 吴萍, 宫国义, 等. 黄瓜绿斑驳花叶病毒在葫芦上的种传规律及热处理效果评价 [J]. 植物保护学报, 2015, 42 (5): 841-847.
- [17] 农业部. 中华人民共和国农业部第 788 号公告 (EB/OL). (2006-12-21). [http://www.moa.gov.cn/ztl/zwjy\\_1/200612/120061225\\_745522.htm](http://www.moa.gov.cn/ztl/zwjy_1/200612/120061225_745522.htm).
- [18] SHANG H L, XIE Y, ZHOU X P, et al. Monoclonal antibody-based serological methods for detection of cucumber green mottle mosaic virus [J]. Virology Journal, 2011, 8: 228.
- [19] LI J Y, WEI Q W, LIU Y, et al. One-step reverse transcription loop-mediated isothermal amplification for the rapid detection of cucumber green mottle mosaic virus [J]. Journal of Virological Methods, 2013, 193: 583-588.
- [20] 陈红运, 赵文军, 程毅, 等. 辽中地区西瓜花叶病病原的分子鉴定 [J]. 植物病理学报, 2006, 36 (4): 306-309.
- [21] 田永蕾, 刘冬梅, 张永江, 等. 黄瓜绿斑驳花叶病毒北京和山东分离物的生物学测定及其基因组比较 [J]. 植物检疫, 2009, 23 (6): 16.
- [22] 陈红运, 林石明, 陈青, 等. 黄瓜绿斑驳花叶病毒辽宁分离物全基因组序列测定 [J]. 病毒学报, 2009, 25 (1): 68-72.
- [23] 王峰, 任春梅, 季英华, 等. 黄瓜绿斑驳花叶病毒海南分离物基因组测定与毒源分析 [J]. 植物保护, 2014, 40 (6): 75-81.
- [24] ZHENG H Y, XIAO C L, HAN K L, et al. Development of an agroinoculation system for full-length and GFP-tagged cDNA clones of cucumber green mottle mosaic virus [J]. Arch Virol, 2015, 160: 2867-2872.
- [25] 吴会杰, 秦碧霞, 陈红运, 等. 黄瓜绿斑驳花叶病毒西瓜、甜瓜种子的带毒率和传毒率 [J]. 中国农业科学, 2011, 44 (7): 1527-1532.
- [26] HULL R. Matthew's plant virology [M]. New York: Academic Press, 2012.
- [27] 蔡明, 李明福, 江东. 日本、韩国黄瓜绿斑驳花叶病毒发生及防控策略 [J]. 植物检疫, 2010, 24 (4): 65-68.
- [28] KIM S M, NAM S H, LEE J M, et al. Destruction of cucumber green mottle mosaic virus by heat treatment and rapid detection of virus inactivation by RT-PCR [J]. Molecules and Cells, 2003, 16 (3): 338-342.
- [29] 蔡明, 江冬, 张丽英, 等. 黄瓜绿斑驳花叶病毒种子处理试验研究 [J]. 植物检疫, 2011, 25 (1): 62-63.
- [30] 马凯慧, 王毓洪, 严蕾艳, 等. 葫芦种子干热处理对黄瓜绿斑驳花叶病毒及发芽率的影响 [J]. 长江蔬菜, 2013 (24): 50-51.
- [31] 李俊香, 古勤生. 四种化学诱抗剂防治黄瓜绿斑驳花叶病毒病的试验初报 [J]. 中国蔬菜, 2015 (7): 40-44.
- [32] FUCHS M. Plant resistance to viruses: engineered resistance [G] // MAHY BRIAN W J. Desk Encyclopedia of Plant and Fungal Virology. New York: Academic Press, 2008: 44-52.
- [33] WATERHOUSE P M, WANG M B, LOUGH T. Gene silencing as an adaptive defence against viruses [J]. Nature, 2001, 411: 834-842.
- [34] PARK S M, LEE J S, JEGAL S, et al. Transgenic watermelon rootstock resistant to CGMMV (cucumber green mottle mosaic virus) infection [J]. Plant Cell Rep, 2005, 24: 350-356.
- [35] EMRAN A D, TABELI Y, KOBAYASHI K, et al. Molecular analysis of transgenic melon plants showing virus resistance conferred by direct repeat of movement gene of Cucumber green mottle mosaic virus [J]. Plant Cell Rep, 2012, 31: 1371-1377.
- [36] LIN C Y, KU H M, CHIANG Y H, et al. Development of transgenic watermelon resistant to cucumber mosaic virus and watermelon mosaic virus by using a single chimeric transgene construct [J]. Transgenic Res, 2012, 21: 983-993.

(责任编辑: 张瑞麟)