

紫花苜蓿病毒病病株空间分布型及抽样技术研究

梁巧兰, 魏列新, 陈应娥, 田龙, 张国印, 周建玲, 王存颖

(甘肃农业大学植物保护学院, 甘肃省农作物病虫害生物防治工程实验室, 甘肃 兰州 730070)

摘要:【目的】明确紫花苜蓿病毒病病株空间分布型及其适合的抽样方法。【方法】通过扩散型指标 I_0 及其偏离度显著性 F_0 检验、聚集指标($C, M^*, M^*/\bar{x}, I, K$ 与 C)和Iwao回归分析法研究了紫花苜蓿病毒病病株空间分布型。【结果】紫花苜蓿病毒病病株空间分布型为聚集分布, 分布的基本成分为个体群, 个体群之间分布是聚集的; 分析并确定了在不同病株率下保证抽样质量的理论抽样数量; 通过对采用平行线、“Z”字型、“W”型、五点式、单对角线、双对角线6种抽样方法获得的调查数据统计分析、比较, 发现平行线抽样方法变异系数最小, 更适合苜蓿病毒病病株空间分布型的调查。【结论】紫花苜蓿病毒病病株空间分布型为聚集分布, 适合的抽样方法为平行线法。

关键词:紫花苜蓿病毒病; 病株; 空间分布型; 抽样技术

中图分类号:S541 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-5500(2023)06-0051-07

DOI:10.13817/j.cnki.cyyep.2023.06.008



苜蓿(*Medicago sativa*)有“牧草之王”之称^[1], 在全世界牧草中占有重要位置。苜蓿不仅产量高, 而且草的品质优异, 各种禽畜都喜欢食用。苜蓿具备营养丰富、大规模种植、禽畜喜食等优点, 大力发展苜蓿产业化, 对节粮畜牧业的拓展具有重要意义^[2-4]。由于苜蓿的多种优势, 使其在农牧业生产中发挥着重要的作用, 尤其甘肃省种植面积大, 草产品远销国内外^[5]。但是, 随着种植年限的延长、刈割次数的增多, 苜蓿病毒病发生日趋严重, 使草产品的产量和质量明显下降, 严重影响了当地牧草产业的发展。据报道苜蓿病毒病的田间发病率高达80%以上, 造成苜蓿蛋白质含量下降, 田间苜蓿干重下降37%~66%、根瘤数下降31%~67%、苜蓿花粉的萌发率下降21.5%^[6]; 苜蓿病毒病发生后, 叶片出现皱缩、卷叶、斑驳花叶、花叶、植株矮化等症状, 最终叶片黄化、脱落, 使光合作用难以进行, 蛋白质含量和固氮能力下降、干重降低, 给牧草的品质、产量带来严重影响^[6-8], 造成严重的经济损

失^[9], 使其经济价值难以发挥。通过对苜蓿病毒病害田间分布型进行研究, 可明确其发生流行情况, 对监测苜蓿病毒病的发生, 做好预测预报和有效防治以及提高经济效益具有重要意义。

1 材料和方法

1.1 田间调查

参照梁巧兰等^[10-12]的方法进行, 于2020年5月20日, 在甘肃农业大学苜蓿试验田及周边选择苜蓿病毒病发生具有代表性的10块地, 采用平行线随机抽样调查法, 按苜蓿有病和无病两级标准对病株田间分布型进行了调查, 随机取15个样点/块地, 调查50株/样点, 共750株, 记录病株数/样点。

1.2 苜蓿病毒病病株空间分布型测定方法

1.2.1 种群扩散型指数法 扩散型指数(I_0)是计算分布型最优方式。通过整理, 将每块地每个样点的病株数带入下式, 计算得到扩散型指数(I_0), 然后带入 F_0 计算公式, 对每块地病毒病扩散指数偏离度的显著性进行 F_0 检验^[13]。按照表1中 I_0 的判定标准, 确定苜蓿病毒病株的分布型, 同时结合 F_0 值是否大于 $F=1(u_1=u_2=\infty, 0.05)$ 的指标, 判断聚集分布类型及其是否显著。

$$I_0 = n(\sum fx^2 - \sum fx) / [\sum fx(\sum fx - 1)], F_0 = [I_0(\sum fx -$$

收稿日期:2022-08-12; 修回日期:2022-09-25

基金项目:国家自然科学基金(31860039)资助

作者简介:梁巧兰(1968-), 女, 甘肃崇信人, 教授, 博士生导师, 研究方向为农药学和植物病害防治。

E-mail:liangql@gsau.edu.cn

表1 空间分布型各指标判定标准
Table 1 Criteria for each index of spatial distribution

聚集指标	判定标准	分布类型
扩散型指数(I_b)	$I_b > 1$	聚集分布
	$I_b = 1$	随机分布
	$I_b < 1$	均匀分布
扩散系数C	$C > 1$	聚集分布
	$C = 1$	随机分布
	$C < 1$	均匀分布
平均拥挤度 M^* 平均数/M	$M^*/M > 1$	聚集分布
	$M^*/M = 1$	随机分布
	$M^*/M < 1$	均匀分布
Ca	$Ca > 0$	聚集分布
	$Ca = 0$	随机分布
	$Ca < 0$	均匀分布
K值	$K > 0$	聚集分布
	$K = 0$	随机分布
	$K < 0$	均匀分布
M*-M 回归分析($M^* = \alpha + \beta M$)	$\alpha > 0$	个体相互吸引, 分布的成分是个体群
	$\alpha = 0$	分布的成分是单个个体群
	$\alpha < 0$	个体间相互排斥
	$\beta > 0$	聚集分布
	$\beta < 0$	均匀分布

$1) + N - \sum fx / (N - 1)$

式中: n 为抽样数/样点, X 为病株数/样点, N 为调查总株数/块地。

1.2.2 聚集度指标和空间分布型的测定 通过对扩散系数C、M、I、Ca、 M^*/m 和K计算,确定苜蓿病毒病株的空间分布型,各个聚集度指的计算采用DPS(7.05)软件进行,根据表1中各分布型指标判定标准,确定分布型。

1.2.3 M*-M 回归分析法(Iwao) M*-M 回归分析中根据 α 值是否大于或小于0分析种群基本成分是群体,还是个体。根据 β 值是否大于、等于、小于1来确定基本成分的分布方式,具体标准见表1^[13-20],M*-M 回归式:

$$M^* = \alpha + \beta M$$

1.3 理论抽样方法的确定

理论抽样数是确定试验成功条件下,取的最小样

本数。样本太少,试验误差大,而使试验失败,样本太大会浪费大量的人力物力和时间^[13]。因此,理论抽样的计算显得十分重要,该试验参考刘逸卿等^[21]的方法进行。

$$N' = [t^2 w(1-w)N] / [Nd^2 + t^2 w(1-w)]$$
式中: N' =理论抽样数量; N =实际抽样数量(500、750、1000); t 为可靠概率为95%时的 t 值($t=1.96$); $d=1\%$ (人为误差); w 为每个抽样小区的病株百分率。

1.4 抽样方法的比较

在明确苜蓿病毒病病株田间分布型的基础上,分别采用单、双对角线法、平行线法、五点型、“Z”字型、“W”型6种方法,按照1.1中的方法对10块苜蓿地抽样调查,记录病株数/样点,将病株数/样点进行统计并计算出变异系数,通过比较选出最好的抽样方法^[19-20]。

2 结果与分析

2.1 苜蓿病毒病病株空间分布型

2.1.1 扩散型指标 I_0 及其偏离度显著性 F_0 检验

过统计分析发现10块苜蓿地的扩散型指标 I_0 均大于3,为聚集分布;各聚集分布的 F_0 值均在1.62~2.31之间,均大于1($u_1=u_2=\infty, 0.05$),说明聚集分布显著(表2)。

表2 种群扩散指数(I_0)、 F_0 值及分布型

Table 2 Population diffusion index, F_0 value and aggregation distribution

田号	平均病株率%	扩散型指数 I_0	F_0 值	分布型
1	53.02	3.47	2.31	聚集分布
2	43.29	3.48	2.07	聚集分布
3	45.56	3.43	2.11	聚集分布
4	38.22	3.64	2.01	聚集分布
5	39.56	3.45	1.97	聚集分布
6	26.22	3.66	1.70	聚集分布
7	24.67	3.70	1.66	聚集分布
8	26.67	3.61	1.69	聚集分布
9	23.73	3.61	1.62	聚集分布
10	26.67	3.39	1.64	聚集分布

2.1.2 聚集度指标和空间分布型的测定 通过对各种聚集指标($C, M^*, M^*/\bar{x}, I, K$ 与 C_a)的计算,结果表明(表3)在调查的10块地中, $C>1, M^*/\bar{x}>1, I>0, C_a>$

$0, K>0$,为聚集分布,与扩散型指数(I_0)分析测定的结果相同,说明苜蓿病毒病病株的空间分布型为聚集分布。

表3 苜蓿病毒病病株田间分布型聚集度指标测定结果

Table 3 Test of the aggregation of alfalfa virus diseased plant and aggregation distribution

田号	平均病株数	方差	扩散系数C	拥挤度 M^*	M^*/\bar{x} 指标	I 指标	C_a 指标	K 指标	分布型
1	26.51	53.85	1.99	27.99	1.04	0.99	0.04	27.15	聚集分布
2	21.64	41.34	1.88	22.88	1.04	0.88	0.04	25.03	聚集分布
3	22.78	57.70	2.51	24.51	1.07	1.51	0.07	15.25	聚集分布
4	19.11	51.43	2.71	20.71	1.09	1.71	0.09	11.13	聚集分布
5	19.78	31.80	1.59	20.59	1.03	0.59	0.03	33.89	聚集分布
6	13.11	29.21	2.25	14.25	1.10	1.25	0.10	10.43	聚集分布
7	12.33	28.07	2.34	13.34	1.11	1.34	0.11	8.96	聚集分布
8	13.33	27.04	2.08	14.08	1.08	1.08	0.08	12.04	聚集分布
9	11.87	22.71	1.89	12.89	1.07	0.89	0.07	13.45	聚集分布
10	13.33	15.56	1.20	13.20	1.02	0.20	0.02	66.13	聚集分布

2.1.3 M^*-M 回归分析法(Iwao) 通过 M^*-M 回归分析法分析,发现10块地中苜蓿病毒病病株的拥挤度(M^*)和样点平均病株数 M 的回归方程为 $M^* = 0.019 + 1.060M$,其中 $\alpha = 0.019 > 0$,个体间相互吸

引,分布的基本成分为个体群; $\beta = 1.060 > 1$,个体群之间的分布是聚集的(图1),相关系数 $r = 0.994$,大于 $r(0.018) = 0.735$ 。所以,在0.01水平上的 M^* 与 M 二者之间相关关系极显著^[17-18]。

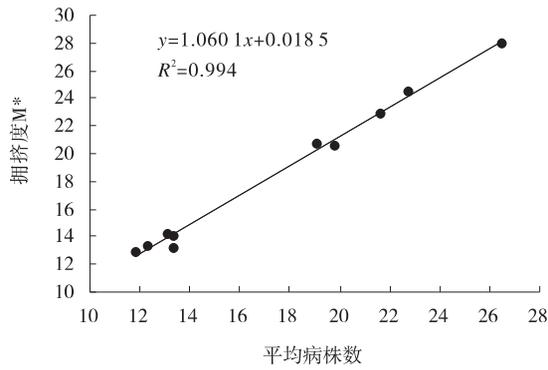


图1 M*-M回归线

Fig1 M*-M regression curve

2.2 苜蓿病毒病病株理论抽样数的确定

经过计算,发现当病株率在11.87%~26.51%范围内,苜蓿的实际抽样数量分别为500株、750株、

1 000株时,其理论抽样数量分别为445~469株、632~682株、801~8 822株。随着苜蓿病毒病发病株率的增加,苜蓿病毒病病株的理论抽样系数也在逐渐增加(表4)。

2.3 不同抽样方法的比较

通过对10块苜蓿地采用6种不同抽样方法所得到的病株数,进行统计分析,计算变异系数(表5),发现平行线抽样法变异系数最小,为34.28%,单对角线抽样法的变异系数最大,为38.25%,其余4种抽样方法的变异系数介于二者之间,由此可见,平行线抽样方法不仅代表性强,而且样本在田间分布比较合理,所以在实际调查中宜选用平行线抽样法。

表4 不同病株率下的理论抽样数量

Table 4 The number of the theoretical sampling in the rates of different alfalfa virus diseased plants

田号	病株率%	理论抽样数量/株		
		500*	750*	1 000*
1	26.51	469	682	882
2	21.64	464	673	867
3	22.78	466	675	871
4	19.11	461	666	856
5	19.78	462	668	859
6	13.11	449	640	814
7	12.33	446	635	806
8	13.33	449	642	816
9	11.87	445	632	801
10	13.33	449	642	816

注:*实际抽样数量

3 讨论

通过对扩散型指标(I_0)和偏离度显著性(F_0)以及6种聚集指标(C, M^* , M^*/M , K, Ca 与 I)的测定,探明了聚集分布是苜蓿病毒病病株的空间分布型M*-M回归关系极显著($r=0.994$),苜蓿病株个体之间结构紧密,而且以个体群为分布的基本成分;在空间分布中,病株个体之间是聚集的。造成这种现象的主要原因可能与苜蓿种子及植株自身带有病毒及多次刈割增加了病株与健株接触的机会,导致相邻植株发病严重,使得苜蓿病毒病病株在田间聚集成团,以个体群出现,在田间表现为明显的发病中心。这与白三叶

草、观赏百合病毒病株田间分布型的研究结果相一致^[10-12]。

为了使苜蓿病毒病田间发生的预测预报结果更加准确,抽样方法和抽样数量起决定作用,只有在样本容量大于或等于理论抽样数量时,才使抽样结果有较好的代表性。所以,为了提高苜蓿病毒病病株田间抽样的准确性,不仅要采用适宜的抽样方法—平行线法,还需要保证一定的抽样数量,只有这样才能更加有效的解释病害的发生发展规律,为有效防治和提高苜蓿产量及品质奠定基础。

紫花苜蓿是一种多年生草本植物,分蘖多,枝叶

表5 苜蓿病毒病田间调查不同抽样方法的比较

Table 5 Comparison of different sampling methods of alfalfa virus diseased plants in the field

田号	抽样方法								
	平行线			“Z”字形取样法			“W”形取样法		
	x	sx	CV/%	x	sx	CV/%	x	sx	CV/%
1	26.51	7.34		22.78	6.90		22.18	7.15	
2	21.64	6.43		24.60	9.79		24.62	9.74	
3	22.78	6.03		25.78	9.33		25.38	9.58	
4	19.11	7.17		25.53	7.86		22.82	9.83	
5	19.78	5.64	34.28	27.22	8.44	35.77	28.78	9.17	36.82
6	13.11	5.40		27.58	5.42		25.04	8.84	
7	12.33	5.30		22.49	9.99		25.89	9.98	
8	13.33	5.20		27.71	14.48		24.36	9.06	
9	11.87	4.77		24.49	7.39		26.27	9.46	
10	13.33	3.97		15.33	6.62		18.67	6.58	

田号	抽样方法								
	五点式			单对角线			双对角线		
	x	sx	CV/%	x	sx	CV/%	x	sx	CV/%
1	22.67	8.43		20.91	7.72		22.18	8.34	
2	25.18	9.50		23.22	8.37		24.80	9.01	
3	26.69	11.76		22.98	8.00		25.51	9.33	
4	24.40	8.70		20.87	8.90		25.29	9.12	
5	26.22	9.26	37.13	25.02	8.96	38.25	27.29	9.08	35.60
6	28.18	8.35		23.22	9.53		25.40	12.32	
7	23.22	10.44		24.27	9.01		26.20	8.48	
8	21.76	9.88		21.31	9.01		25.38	10.08	
9	22.76	7.19		24.11	8.88		26.49	7.09	
10	24.67	7.33		17.11	6.67		19.78	5.67	

注:*实际抽样数量

盛,产量高,再生性强,刈割次数多^[22],近年来,甘肃省苜蓿草产业发展迅猛,在促进种植业结构调整,推动农牧业发展,增加农牧民收入,改善生态环境,防灾减灾等发挥了十分重要的作用^[23]。据报道侵染苜蓿的病毒至少有31种,国内检测到的病原有苜蓿花叶病毒(*Alfalfa mosaic virus*, AMV)、番茄花叶病毒(*Tomato mosaic virus*, ToMV)、白三叶草花叶病毒(*White clover mosaic virus*, WCMV)、菜豆黄花叶病毒(*Bean yellow mosaic virus*, BYMV)、豇豆花叶病毒(*Cowpea mosaic virus*, CPMV),其中AMV和ToMV、WCMV存在复合侵染现象,且AMV为主要病毒病原^[7-8,24-26],这进一步加重了病毒对苜蓿的危害;同时病毒在苜蓿种子内至少可存活10年,种子带毒率一般为2%~4%,有时可高达17%,从单株病株获得的种子传毒率

高达50%,是苜蓿病毒病远距离传播的主要途径^[27],近距离传播主要由蚜虫、飞虱、蓟马和白粉花粉虱及农事操作传播^[28],经过田间调查发现,受上述害虫危害的苜蓿病毒病株症状加重,由于这些害虫的扩散危害能力较弱,在取食了带毒植株后,只是向病株周围扩散为害,造成病毒病有明显的发病中心而呈聚集分布。而有关种植年限不同的苜蓿病毒病病株田间分布型变化、种子带毒率大小、植株分蘖程度、蓟马等害虫发生以及高温(30℃)会造成白三叶草、苜蓿病毒病的隐症现象等对苜蓿病毒病病株田间分布型的影响等问题尚未涉及,还有待于进一步研究。

4 结论

通过对紫花苜蓿病毒病病株田间分布型研究发现,

苜蓿病毒病病株的空间分布型为聚集分布,病株个体之间结构紧密,分布的基本成分为个体群;病株个体之间的空间分布是聚集分布。苜蓿病毒病病株在田间聚集成团,个体间相互吸引,田间有明显的发病中心。

参考文献:

- [1] 戚志强,王永雄,胡跃高,等. 当前我国苜蓿产业发展的形势与任务[J]. 草业学报,2008,17(1):107-113.
- [2] 万志平,郭继晓,苏金文. 紫花苜蓿青贮制作试验[J]. 中国奶牛,2011(15):50-52.
- [3] 王雪,李志萍,孙建军,等. 中国苜蓿品种的选育与研究[J]. 草业科学,2014,31(3):512-518.
- [4] 江影舟,张洁冰,南志标. 中国苜蓿国际贸易竞争力分析[J]. 草业科学,2016,33(2):322-329.
- [5] 甘肃省苜蓿草面积稳居全国第一[J]. 甘肃畜牧兽医,2014,44(3):73.
- [6] 南志标. 我国的苜蓿病害及其综合防治体系[J]. 动物科学与动物医学,2001,18(4):81-84.
- [7] 文朝慧,南志标. 甘肃省张掖地区苜蓿花叶病病原的检测[J]. 草业学报,2015,24(4):121-126.
- [8] 周其宇,梁巧兰,韩亮. 紫花苜蓿病毒病症状类型及病原检测[J]. 草业科学,2016,33(7):1297-1305.
- [9] 赵桂琴,慕平. 苜蓿花叶病毒外壳蛋白基因对红三叶的遗传转化及转基因植株的抗病性分析[J]. 西北植物学报,2004(10):1850-1855.
- [10] 梁巧兰,魏列新,徐秉良. 观赏百合病毒病病株空间分布型及抽样技术研究[J]. 植物保护. 2006, 32(6) 113-116.
- [11] 梁巧兰,魏列新,徐秉良. 白三叶草病毒病病株空间分布型及抽样技术研究[J]. 中国草地学报,2013,2(35):48-51.
- [12] 梁巧兰. 百合病毒病发病因素与病毒检测方法的研究[D]. 兰州:甘肃农业大学,2004.
- [13] 丁岩钦. 昆虫种群数学生态学原理与应用[M]. 北京:科学出版社,1980.
- [14] 徐汝梅. 昆虫种群生态学[M]. 北京:北京师范大学出版社,1987:7-43.
- [15] 唐启义,冯明光. 实用统计分析及其DPS数据处理系统[M]. 北京:科学出版社,2002:205-208.
- [16] Iwao S. A new regression method for analyzing the aggregation pattern of animal population [J]. Researches on population ecology,1968,10(1):1-20.
- [17] Iwao S. Application of the m^*-m method to the analysis of spatial patterns by changing the quadrat size [J]. Researches on population ecology,1972,14(1):97-128.
- [18] 于良斌,张园园,崔进,等. 紫花苜蓿霜霉病病株空间分布型研究[J]. 黑龙江畜牧兽医,2022(7):92-96.
- [19] 肖悦岩,季博衡,杨之为,等. 植物病害流行与预测[M]. 北京:中国农业大学出版社,1998.
- [20] 牟吉元,徐洪富. 昆虫生态与农业害虫预测预报[M]. 北京:中国农业科技出版社,1997.
- [21] 刘逸卿,汤其豹. 小麦白粉病田间分布型的初步研究[J]. 植物保护学报,1984,11(2):91-94.
- [22] 吕先召,郭璐明,赵骥. 紫花苜蓿的种植技术及在畜牧生产中的应用[J]. 今日畜牧兽医,2020,36(9):76.
- [23] 甘肃省草原技术推广总站. 甘肃草产业发展概况[J]. 甘肃农业,2017(11):8-11.
- [24] Liang Qianlan, Wei Liexin, Xu BingLiang, et al. Study of viruses co-infecting white clover (*Trifolium repens*) in China [J]. Journal of Integrative Agriculture 2017, 16(9):1990-1998.
- [25] 程守丰,梁巧兰,魏列新,等. 苜蓿不同品种 AMV 和 WCMV 带毒检测及生理生化特性研究[J]. 草业学报,2020,29(12):140-149.
- [26] 相栋. 兰州市三叶草病毒病主要毒源种类鉴定及分子检测[D]. 兰州:甘肃农业大学,2013.
- [27] 周俗. 四川草原有害生物与防治[M]. 成都:四川科学技术出版社,2017
- [28] 洪健,李德葆,周雪平. 植物病毒分类图谱. 北京:科学出版社,2001

The spatial distribution pattern and sampling methodology of alfalfa virus-diseased plant in fields

LIANG Qiao-lan, WEI Lie-xin, CHEN Ying-e, TIAN Long, ZHANG Guo-yin,
ZHOU Jian-ling, WANG Cun-ying

(College of Plant Protection, Gansu Agricultural University, Biocontrol Engineering Laboratory of Crop Diseases and Pests of Gansu Province, Lanzhou 730070, China)

Abstract: 【Objective】 The objective was to ascertain the spatial distribution pattern of alfalfa virus disease strain and identify an appropriate sampling method. 【Method】 The spatial distribution pattern of alfalfa virus-diseased plants were studied using the diffusion index, its deviation significance (F_0), aggregation indices, and the Iwao method. 【Result】 The results indicated that the spatial distribution pattern of alfalfa virus-diseased plants were aggregate distribution, with the basic component of distribution being individual groups. Their distribution was aggregated, showing a noticeable center of disease. The theoretical sampling quantity was determined under different diseased plant rates. Through statistical analysis and comparison of survey data obtained using six sampling methods (parallel line, Z-shaped, W-shaped, five-point, single-diagonal and double-diagonal), it was found that the parallel-line sampling method had the smallest coefficient of variation and was more suitable for investigation the spatial distribution of alfalfa virus-disease plants. 【Conclusion】 Alfalfa virus-diseased plants exhibited an aggregated spatial distribution, and the parallel-line method was identified as the appropriate sampling technique for assessing spatial distribution patterns.

Key words: alfalfa virus diseases; diseased plant; spatial distribution pattern; sampling method