

漂浮育苗剪叶传播烟草丛顶病风险研究

祝明亮^{1*} 莫笑晗¹ 白江兰¹ 夏振远¹ 胡 坚¹ 汪安云¹ 杨 程²

(1. 云南省烟草科学研究所 玉溪 653100)

(2. 云南省烟草大理州公司 大理 671000)

摘 要: 为了评估漂浮育苗剪叶传播烟草丛顶病的风险, 以剪刀剪病叶后再剪苗和剪刀蘸取病烟汁液后再剪苗 2 种剪叶方法研究了漂浮育苗剪叶对烟草丛顶病和烟草普通花叶病的传播效果。调查数据显示, 2 种剪叶方法均不能传播烟草丛顶病, 但能传播烟草普通花叶病, 其平均发病率分别为 36.67% 和 63.33%。实验结果表明, 漂浮育苗剪叶不易传播烟草丛顶病, 但易于传播烟草普通花叶病。

关键词: 漂浮育苗, 剪叶, 烟草丛顶病, 烟草普通花叶病, 传播

Studies on the Risk of Clipping Treatment to Transmitting Tobacco Bushy Top Disease in Floating System

ZHU Ming-Liang^{1*} MO Xiao-Han¹ BAI Jiang-Lan¹ XIA Zhen-Yuan¹ HU Jian¹
WANG An-Yun¹ YANG Cheng²

(1. Yunnan Tobacco Science Research Institute, Yuxi 653100)

(2. Dali Tobacco Company in Yunnan, Dali 671000)

Abstract: To evaluate the risk of clipping-leaves to transmitting tobacco bushy top disease in floating system, tobacco seedling were clipped using scissors clipped the leaves with tobacco bushy top virus(TBTV) and tobacco mosaic virus(TMV) and dipped the two virus solution, respectively. The incidence of TBTV and TMV were investigated after 28 days, the data indicated that the two clipping treatment methods in floating system can not transmitted TBTV, but the average incidence of TMV were 36.67% and 63.33%, respectively. The results suggested that clipping treatment in floating system is not easy to transmit TBTV, but is easy to transmit TMV.

Keywords: Floating System, Clipping Treatment, TBTV, TMV, Transmission

烟草丛顶病是由烟草丛顶病毒(Tobacco bushy top virus, TBTV)和烟草脉扭病毒(Tobacco vein distorting virus, TVDV)复合侵染引起的一种毁灭性烟草病害, 其中TBTV可以经汁液摩擦传播, 而TVDV

主要靠蚜虫持久性传播, 不能经汁液摩擦传播^[1~4]。以“治避虫媒, 控制传播途径, 培育无病壮苗”为主的综合防治技术是目前防治该病害的有效途径。目前烟草生产上普遍推广的漂浮育苗技术需要进行多

次剪叶操作,为苗期烟草丛顶病的发生带来了潜在的风险,但烟草丛顶病在漂浮育苗剪叶操作过程中的传播情况尚不清楚,也未见相关研究报道。本实验采用剪刀先剪带病烟叶和剪刀蘸取病烟汁液后再剪健康烟苗2种方式确定漂浮育苗剪叶后烟草丛顶病的发生情况,同时以相同方法处理烟草普通花叶病和剪刀消毒常规剪叶作为对照,以期确定烟草漂浮育苗剪叶操作传播丛顶病的风险,为预防该病的发生为害提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试烤烟品种

烤烟品种 K326, 易感烟草丛顶病和烟草花叶病毒。

1.2 供试消毒剂及配制方法

兆冠消毒剂[10%±0.8%二氧化氯(W/W)], 山东潍坊兆冠化工有限公司生产。使用时先称 10g 消毒剂溶于 100 mL 自来水中, 再加入 100 mL 自来水充分混匀, 配成 200 倍液的兆冠消毒剂备用。

1.3 供试烟苗

按照烤烟漂浮育苗技术方法^[6], 在云南省烟草科学研究所研和实验基地大棚内培育 6~7 叶期的健康漂浮育苗作为实验用苗。实验时将 162 穴漂盘连同烟苗重新分割成小盘供各实验处理用。

1.4 供试毒源

烟草丛顶病和烟草普通花叶病毒源均为云南省烟草科学研究所研和实验基地纯化培养保存的活体发病烟株, 实验前通过试纸条或 PCR 方法检测其带毒情况和纯度后使用。

1.5 带毒液制备

分别称取 1.326 g KH_2PO_4 和 1.781 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 各溶于 1 L 蒸馏水, 然后取 49 mL KH_2PO_4 溶液和 51 mL $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 混匀即成为 10 mmol/L 的磷酸缓冲液(PBS)。实验前分别取病症状明显的烟草丛顶病和烟草普通花叶嫩叶, 用 PBS 研磨制备成 100 倍带毒液备用。

1.6 剪叶工具

普通剪刀, 使用前和各处理之间采用 200 倍液的兆冠消毒剂浸泡消毒 5 min。

1.7 实验处理和方法

实验共设 6 个处理, 每处理 3 个重复。

处理 1: 剪刀消毒后先剪烟草丛顶病病叶 10 次以上, 再剪健康烟苗, 每株烟苗剪 5 片叶以上, 共剪 30 株。

处理 2: 用棉花蘸取烟草丛顶病带毒液后反复擦洗剪刀刀口周围使其带毒, 然后用剪刀剪健康烟苗, 每株烟苗剪 5 片叶以上, 共剪 30 株。

处理 3: 带毒液摩擦接种健康烟苗。其操作方法是在烟苗心叶以下第 2~3 片上放少量金刚砂, 用手指蘸带毒液后轻微摩擦叶片, 使叶表皮组织形成微伤口, 待接种处晾干后用自来水冲洗金刚砂。每株烟苗处理 1 片叶, 共处理 30 株烟苗。

处理 4: 剪刀消毒后先剪烟草普通花叶病病叶 10 次以上, 再剪健康烟苗, 每株烟苗剪 5 片叶以上, 共剪 30 株。

处理 5: 用棉花蘸取烟草普通花叶病带毒液后反复擦洗剪刀刀口周围使其带毒, 然后用剪刀剪健康烟苗, 每株烟苗剪 5 片叶以上, 共剪 30 株。

处理 6: 常规对照。用 200 倍液的兆冠消毒剂对剪刀消毒 5 min 后直接剪健康烟苗, 每株烟苗剪 5 片叶以上, 共剪 30 株。

1.8 实验结果调查

剪叶后各处理烟苗按常规漂浮育苗技术管理, 并观察各处理烟苗发病情况, 以剪叶后第 28 天的发病情况作为剪叶传播烟草丛顶病和普通花叶病的最终结果, 记录各处理发病株数, 分别计算发病率。

2 结果与分析

2.1 不同剪叶处理后烟草丛顶病发病情况

实验结果见表 1, 不管是剪刀先剪丛顶病病叶再剪健康烟苗(处理 1), 还是剪刀接种丛顶病带毒液后再剪健康烟苗(处理 2), 各处理的烟草丛顶病发病率均为 0, 而摩擦接种带毒液(处理 3)的发病率为 100%, 说明本实验供试毒源符合实验要求。

2.2 不同剪叶处理后烟草普通花叶病发病情况

实验结果见表 1, 剪刀先剪普通花叶病病叶再剪健康烟苗(处理 4)后, 3 个重复处理的发病率在 30%~40%之间, 平均发病率为 36.67%; 剪刀接种普通花叶病带毒液后再剪健康烟苗(处理 5)后, 3 个重复处理的发病率在 60%~66.67%之间, 平均发病率为 63.33%。结果表明, 烟草普通花叶病可以通过漂浮育苗剪叶操作进行传播蔓延, 并且发病率较高。

表 1 不同剪叶处理后烟草丛顶病和普通花叶病发病情况
Table 1 Incidence of tobacco bushy top disease and tobacco mosaic disease on tobacco seedlings treated by different leaf-clipping methods

处理 Treatment	重复 Repeat	处理苗数 Total seedling count (株/plant)	发病苗数 Disease seedling count (株/plant)	发病率 Incidence (%)	平均发病率 Average incidence (%)
处理 1 Treatment 1	II	30	0	0	0
		30	0	0	
		30	0	0	
处理 2 Treatment 2		30	0	0	0
		30	0	0	
		30	0	0	
处理 3 Treatment 3		30	30	100	100
		30	30	100	
		30	30	100	
处理 4 Treatment 4	30	12	40	36.67	
	30	9	30		
	30	12	40		
处理 5 Treatment 5	30	18	60	63.33	
	30	20	66.67		
	30	19	63.33		
处理 6 Treatment 6	30	0	0	0	
	30	0	0		
	30	0	0		

2.3 剪刀常规消毒处理后烟苗发病情况

实验结果见表 1，用 200 倍液的兆冠消毒剂对剪刀消毒 5 min 后直接剪健康烟苗(处理 6)后, 3 个重复处理的发病率均为 0，说明本实验设置的空白对照合理可靠。

3 讨论

烟草丛顶病 2 种病原病毒中的 TBTV 主要依靠 TVDV 作为辅助病毒进行蚜虫持久性传播，同时也可以经汁液摩擦接种进行传播，而 TVDV 主要靠蚜虫持久性传播，但不能经汁液摩擦传播。前期研究发现摩擦接种发病的烟草丛顶病烟株不能再经蚜虫传染，说明摩擦接种丢失了蚜虫的辅助因子(TVDV)，只传染了其中的 TBTV，表明 TBTV 能单独诱导烟草表现出丛顶病症状。

本实验中通过 2 种方式处理使剪刀带毒后剪叶都没有引起烟草丛顶病的发生，但用相同带毒液摩擦接种处理后发病率为 100%。实验中用剪刀剪病叶 10 次以上和用带毒液反复擦洗剪刀刀口 2 种方式所导致的剪叶“刀口”带毒浓度远比生产实际中正常的剪刀、弹力剪叶器、剪叶机等剪叶方式高，因此，

用该方法确定烟草丛顶病在漂浮育苗剪叶操作过程中的传播风险是可靠的。而且在相同处理条件下，烟草普通花叶病表现出较高的发病率，也进一步说明本实验处理方法的可靠性。至于为什么相同方法处理剪刀后剪叶，烟草丛顶病不发病而普通花叶病发病的原因，应该是不同种类的病毒在烟草组织中的带毒浓度不同所致。不管是 TBTV 还是 TMV 都是靠一定浓度成功侵染进入烟株活体细胞才引致烟草发病的。不同带毒浓度的剪刀剪叶，发病率不同，即便带毒浓度相同的剪刀，也受剪叶过程和病毒侵入机会影响，发病率也不一定相同，如本实验中剪刀先剪普通花叶病病叶再剪健康烟苗处理的平均发病率为 36.67%，剪刀接种普通花叶病带毒液后再剪健康烟苗处理的平均发病率为 63.33%，即表明病毒浓度对发病率的影响。据有关研究表明，引起烟草丛顶病的病毒在烟草组织中的浓度较 TMV 相差 1000 至 10000 倍。因此，尽管理论上存在漂浮育苗剪叶操作传播烟草丛顶病的风险，但实际上由于 TBTV 在烟草组织中的浓度较低而使这种风险大大降低。

漂浮育苗具有集约化管理的特点，适于烟叶生

产的专业化和规模化,同时也为培育无病壮苗提供了保证,因而成为目前烟草生产上最重要的育苗技术得到大力推广和应用^[5~8]。但剪叶是漂浮育苗中不可缺少的环节,通过剪叶可以调节烟苗生长,使烟苗均匀一致,增加茎粗,促进根系生长发育,提高移栽苗的数量和移栽成活率,还可避免漂浮苗的生长失控,减少移栽苗的叶面积,限制真菌病害,减少发生早花的可能性^[9]。但是剪叶也为通过汁液传播的病毒类病害的发生蔓延提供了更多机会,一旦剪叶操作消毒措施达不到要求,将造成这类病害的严重发生,甚至导致一个消毒间隔区内烟苗全部发病的可能。因此,确定漂浮育苗剪叶传播烟草丛顶病的风险对生产上控制该病害具有十分重要的指导意义。

本实验结果表明漂浮育苗剪叶操作不易传播烟草丛顶病,而且漂浮育苗较常规育苗技术更容易控制传媒昆虫对烟草丛顶病的传播,因此,生产上可将漂浮育苗技术作为控制苗期烟草丛顶病的一项有效技术。特别在烟草丛顶病重发区推广应用漂浮育苗技术对防控烟草丛顶病具有重要作用。从烟草丛顶病发生的历史看,该病害自上世纪 80 年代以来,就在云南各烟区零星发生,1993、1996 和 1998 年在保山、大理和楚雄烟区的金沙江、怒江、澜沧江等三江流域烟区爆发流行,对烟草生产造成巨大损失^[10]。近年来,这些烟区大力推广烟草漂浮育苗技术后,烟草丛顶病得到了有效的控制,而且漂浮育苗技术已经在这些烟区得到广泛的推广应用,目前这些烟区已成为漂浮育苗技术应用最普及、管理水平最高的烟区。

此外,本实验结果也进一步表明漂浮育苗剪叶传播 TMV 的巨大风险。烟草苗期被 TMV 感染后,可能引起 100% 烟叶损失的毁灭性后果^[11~13]。由于对漂浮育苗中病毒病的发生流行规律缺少研究,再加上管理和消毒不善,病毒病如烟草花叶病在一些地

区的育苗棚里流行,已严重威胁到后期的烤烟大田生产,成为烤烟飘浮育苗的主要风险^[14]。因此,烟草漂浮育苗中,特别是剪叶操作必须严格各项消毒措施,最大限度避免 TMV 等病毒病的传播危害。

参 考 文 献

- [1] 李 凡, 吴建宇, 陈海如. 烟草丛顶病研究进展. 植物病理学报, 2005, **35**(5): 385–391.
- [2] Mo XH, Qin XY, Tan ZX, *et al.* First report of tobacco bushy top disease in China. *Plant Disease*, 2002, **86**(1): 74.
- [3] Mo XH, Qin XY, Wu J, *et al.* Complete nucleotide sequence and genome organization of a Chinese isolate of tobacco bushy top virus. *Archives of Virology*, 2003, **148**(2): 389–397.
- [4] 莫笑晗, 秦西云, 杨 程, 等. 烟草脉扭病毒基因组部分序列的克隆和分析. 中国病毒学, 2003, **18**(1): 58–62.
- [5] 甄焕菊, 袁志永, 李富欣. 美国烟草大棚温室漂浮育苗技术. 烟草科技, 1999, **137**(4): 39–42.
- [6] 宏 志, 王 佳. 美国的烟草工厂化漂浮育苗. 世界农业, 1999, **247**(11): 38–40.
- [7] 李全林. 烤烟工厂化育苗技术介绍. 烟草科技, 1995, **2**: 28–29.
- [8] 韦成材. 烤烟工厂化育苗. 中国烟草科学, 1997, **2**: 12–14.
- [9] 刘国顺, 习向银, 时向东, 等. 剪叶处理对烤烟漂浮育苗中烟苗生长及生理特性的影响. 中国烟草科学, 2003, **1**: 25–27.
- [10] 秦西云, 段玉琪. 云南烟草丛枝症病原及传媒研究初报. 西南农业学报, 2001, **14**(4): 67–70.
- [11] 旗庆全, 李顺光, 陆松柏. 烤烟病毒病对烤烟经济性状的影响. 中国植保导报, 2005, **25**(1): 30.
- [12] 李淑君, 王海涛, 陈玉国, 等. 2000 年烟草病毒病大发生概况与原因分析. 烟草科技, 2001, **152**(1): 44.
- [13] 李 凡, 陈海如. 引起烟草病害的病毒种类研究. 云南农业大学学报, 2001, **16**(2): 160–168.
- [14] 曾 嵘, 滕永忠, 张庆刚, 等. 烤烟漂浮育苗中 TMV 的发生及预防研究. 云南农业大学学报, 2005, **20**(1): 136–139.