

“AHO + 多肽保”组合剂诱导不同烤烟品种抗 TMV 的效果

董家红¹, 徐兴阳², 张廷金^{1,3}, 秦春丽⁴, 姚国友⁵, 李秀军⁶

(1. 云南省农科院 生物技术与种质资源研究所, 云南 昆明 650223; 2. 云南省烟草公司昆明市公司 技术中心, 云南 昆明 650051; 3. 云南大学 生命科学院, 云南 昆明 650091; 4. 昆明市烟草公司 寻甸科技试验基地, 云南 寻甸 655200; 5. 昆明市烟草公司 嵩明分公司, 云南 嵩明 651700; 6. 昆明保腾生化技术有限公司, 云南 昆明 650106)

摘要: 对不同烤烟品种施用“AHO + 多肽保”组合防控剂, 比较“AHO + 多肽保”组合防控剂诱导不同烤烟品种抗 TMV 效果的差异. 结果显示: “AHO + 多肽保”组合剂诱导不同品种抗 TMV 的效果差异有统计学意义; 对红大的诱导效果最好, 云 87 次之, 再次是 K326, 对云 97 和 KRK26 的诱导效果最差. 相关性分析结果显示: 不同品种移栽前发病率和苗期带毒率呈显著正相关; 不同品种大田移栽后病情指数与苗期带毒率也呈显著正相关.

关键词: TMV; AHO; 多肽保(DMP); 组合试剂; 诱导抗性

中图分类号: S572 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-5639(2012)03-0001-03

Effects of AHO Coupled with DMP Combination Reagent on TMV in Different Flue-cured Tobacco Varieties

DONG Jia-hong¹, XU Xing-yang², ZHANG Ting-jin^{1,3}, QIN Chun-li⁴, YAO Guo-you⁵, LI Xiu-jun⁶

(1. Yunnan Provincial Key Laboratory of Agri-Biotechnology, Institute of Biotechnology and Germplasm Resources, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Yunnan Kunming 650223, China; 2. Technical Centre of Yunnan Tobacco Company Kunming Branch, Yunnan Kunming 650051, China; 3. College of Life Sciences, Yunnan University, Yunnan Kunming 650091, China; 4. Xundian Science and Technology Test Base of Kunming Municipal Tobacco Company, Yunnan Xundian 655200, China; 5. Songming Branch of Kunming Municipal Tobacco Company, Yunnan Songming 651700, China; 6. Kunming Baoteng Biochemical Technology Limited Company, Yunnan Kunming 650106, China)

Abstract: The effects of AHO coupled with DMP combination reagent on TMV were compared among five different flue-cured tobacco varieties. The results show that; the effects of AHO coupled with DMP combination reagent on TMV in five different flue-cured tobacco varieties were significantly different. The combination reagent has a best effect on TMV in Honghuadajinyuan, Yun87 is the second one, and K326 followed Yun87, the combination reagent have no effect on Yun97 and KRK26. Correlation analysis shows that the incidence rate of five different flue-cured tobacco varieties before transplanting has a significant positive correlation with the infection rate of seedling, and the disease index of five different flue-cured tobacco varieties after transplanting also has a significant positive correlation with the infection rate of seedling.

Key words: Tobacco mosaic virus (TMV); 3-Acetyl-3-Hydroxyoxindole (AHO); devitalized mycelium of penicillium (DMP); combination reagent; induced resistance

一直以来,烟草花叶病毒(*Tobacco mosaic virus*, TMV)严重影响着云南省烟草的产量和质量,每年造成数亿美元的损失^[1]. 寻找能够有效控制 TMV 的防控药物和制剂一直是科研工作者们努力的方向. 生产上常用的宁南霉素^[2]和病毒必克^[3]在一段时期内显示了较好的防治病毒病的效果,但随着病毒的分子变异和病毒耐药性的增加,这些抗病毒药剂退化较快. 近年来,李艳梅^[4]、陈佳^[5]和闫晓慧^[6]等人从马蓝(*Strobilanthes cusia*)、苦木(*Picrasma quasiosoides* Benn.)、鸦胆子(*Brucea javanica* (L.) Merr.)等药用植物提取物中筛选到了 3-丙酮基-3-羟基吲哚^[4]、 β -carboline 生物碱^[5]和 C-20 型苦木

素^[6]等对 TMV 有较好抑制效果的天然产物及其衍生物,其中以 3-丙酮基-3-羟基吲哚(3-acetyl-3-hydroxyoxindole, AHO)对 TMV 的抑制效果最为突出. 李艳梅等^[4]人的研究证明了 AHO 的作用机理是通过作用于植物水杨酸途径介导的防御反应而激活了植物的系统获得性抗性,张廷金等^[7]人的研究证实了 AHO 在田间仍然具有显著的抗 TMV 的效果. 多肽保是云南大学植物科学研究所研制,昆明保腾生化技术有限公司生产的有机诱导抗病剂. 杨明^[8]的研究显示:多肽保(DMP)在大田生长的前期对病毒病具有十分显著的防效. 徐兴阳等^[9]人的田间试验也证实了多肽保具有非常显著的抗 TMV

收稿日期:2011-11-10

作者简介:董家红(1974—),男,云南富源人,研究员,主要从事植物病理研究.

效果.

为了获得更佳的防控效果,在2010年的田间筛选试验过程中,将AHO和多肽保进行了组合试验,结果显示:在相同的条件(带毒大棚内)下,“AHO+多肽保”组合剂对TMV的防效显著优于单独使用AHO或单独使用多肽保的防效^[10].前期的筛选试验选用了YK01和红花大金元两个品种,为了进一步考查该组合剂诱导其他烤烟品种抗TMV的效果,本试验采用K326、云烟87、云烟97、KRK26、红花大金元5个易感TMV品种进行了此项试验.

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试品种

红花大金元、K326、云烟87、云烟97、KRK26.

1.1.2 供试药物或制剂

5% AHO母液:本实验室自配.多肽保:昆明宝腾生化技术有限公司生产.

1.1.3 试验地点

寻甸科技试验基地(带毒大棚)

1.2 试验方法

1.2.1 试验设计

5个品种统一采用“AHO+多肽保”组合剂进行TMV防控.统一在大棚内采用旧漂盘进行育苗,每个品种育苗3盘,各品种分别在一个独立小池子内进行育苗.大田移栽到带毒大棚内,每个品种3个重复小区,各品种的3个小区随机区组排列,各小区株数不低于40株.

1.2.2 药剂施用方法

5% AHO施用方法:稀释5000倍使用,即5kg水中加入1mL 5% AHO. AHO从苗期第1次剪叶前1d施药,每隔7d喷施1次或每次剪叶前1d喷施,共喷施4次;大田期于移栽前1d喷施1次,移栽后每隔7d喷施1次,共喷施3次.

多肽保施用方法:苗期3.75 kg/hm²拌入基质,大田期7.50 kg/hm²放入烟塘内(大约相当于每株烟塘中放入0.5g).

1.2.3 病情调查方法

苗期:从第1次剪叶开始调查发病情况,每隔1周调查1次,共调查3次.

大田期:移栽后每隔1周调查1次发病情况,调查5~7次.

1.2.4 其他田间管理措施

试验期间除本组合剂外,不再施用其他抗病毒药物及制剂,其他病虫害防治及农事操作按当地优质烟叶生产措施进行.

2 结果与分析

2.1 各品种剪叶3次后带毒率检测结果

剪叶3次后(4月22日)各品种每盘取9个样,

共取27个样品进行TMV带毒率检测.检测结果为:红大未检测到阳性样品,云87阳性率为3.70%,K326阳性率为7.41%,云97阳性率为62.96%,KRK26阳性率为85.19%.由检测结果可知:“AHO+多肽保”组合防控剂在苗期诱导不同品种抗TMV的效果明显不同.各品种带毒情况见表1.

表1 各品种剪叶3次后TMV检测阳性率

品种	取样个数/个	阳性个数/个	剪叶次数/次	阳性率/%
红大	27	0	3	0
云87	27	1	3	3.70
K326	27	2	3	7.41
云97	27	17	3	62.96
KRK26	27	23	3	85.19

2.2 各品种移栽前发病率调查

移栽前(4月29日)对各品种发病情况调查结果:5个品种发病率差异有统计学意义.红大出现1株疑似病株,云87出现3株轻花叶病株,K326出现5株轻花叶病株,云97出现41株病株,KRK26出现89株病株.发病率的差异再次说明“AHO+多肽保”组合防控剂在苗期诱导不同品种抗TMV的效果明显不同.移栽前将已发病烟株拔除,选择未出现病症的烟苗进行移栽.各品种移栽前发病率调查结果见表2.

表2 各品种移栽前发病率

品种	红大	云87	K326	云97	KRK26
发病株数/株	1	3	5	41	89
调查株数/株	402	486	486	486	486
发病率/%	0.25	0.62	1.03	8.44	18.31

2.3 各品种移栽前发病率与苗期带毒率的关系

各品种移栽前(苗期)发病率与苗期带毒率相关性分析结果显示:移栽前发病率与苗期带毒率呈显著正相关,相关系数 $r^{**}=0.97$ (见表3).由相关性分析结果可知,移栽前发病率与苗期带毒率是密切相关的,苗期带毒率高的品种苗期发病率也较高.

表3 各品种移栽前发病率与苗期带毒率的关系

品种	红大	云87	K326	云97	KRK26
移栽前发病率/%	0.25	0.62	1.03	8.44	18.31
苗期带毒率/%	0	3.70	7.41	62.96	85.19
相关系数	$r^{**}=0.97$				

2.4 各品种移栽后病情调查结果

移栽后,各品种病情指数在每次调查中差异均有统计学意义.移栽30d后,红大病情指数为30.38,云87病情指数为31.98,K326病情指数为42.07,云97病情指数为58.46,KRK26病情指数为71.28;移栽57d后,红大病情指数为66.5,云87病

情指数为 73.9, K326 病情指数为 83.25, 云 97 病情指数为 98.26, KRK26 病情指数为 99.15. 病情指数调查数据见表 4.

表 4 移栽后病情指数调查数据

品种	移栽后调查时间及各品种病情指数					
	15 d	22 d	30 d	37 d	48 d	57 d
红大	1.62	16.37	30.38	41.49	54.45	66.5
云 87	1.70	12.31	31.98	46.99	64.60	73.90
K326	3.98	18.37	42.07	57.17	74.39	83.25
云 97	2.24	22.18	58.46	77.45	96.44	98.26
KRK26	6.98	42.83	71.28	84.87	97.78	99.15

2.5 各品种移栽后病情指数差异显著性分析

移栽后共进行了 6 次病情调查, DMRT 差异显著性分析结果显示: 各品种病情严重程度差异有统计学意义(见表 5). 综合 6 次病情指数调查结果可知, 各品种病情严重程度依次是: KRK26 > 云 97 > K326 > 云 87 > 红大.

表 5 各品种移栽后病情指数差异分析

品种	移栽 15 d	移栽 22 d	移栽 30 d	移栽 37 d	移栽 48 d	移栽 57 d	病指 平均值	差异显著性	
								$p = 0.05$	$p = 0.01$
红大	1.62	16.37	30.38	41.49	54.45	66.50	35.14	c	B
云 87	1.70	12.31	31.98	46.99	64.60	73.90	38.58	bc	B
K326	3.98	18.37	42.07	57.17	74.39	83.25	46.54	b	B
云 97	2.24	22.18	58.46	77.45	96.44	98.26	59.17	a	A
KRK26	6.98	42.83	71.28	84.87	97.78	99.15	67.15	a	A

2.6 各品种移栽后抗性差异显著性分析

用病情指数最大值 100 减去对应的病情指数, 将各品种病情指数换算成对应的抗性指标, 进行 DMRT 差异显著性分析, 结果显示: 各品种移栽后抗病性差异有统计学意义(见表 6). 各品种抗性大小依次是: 红大 > 云 87 > K326 > 云 97 > KRK26.

表 6 各品种抗性差异分析

品种	移栽 15 d	移栽 22 d	移栽 30 d	移栽 37 d	移栽 48 d	移栽 57 d	病指 平均值	差异显著性	
								$p = 0.05$	$p = 0.01$
红大	98.38	83.63	69.62	58.51	45.55	33.50	64.87	a	A
云 87	98.30	87.69	68.02	53.01	35.40	26.10	61.42	ab	A
K326	96.02	81.63	57.93	42.83	25.61	16.75	53.46	b	A
云 97	97.76	77.82	41.54	22.55	3.56	1.74	40.83	c	B
KRK26	93.02	57.17	28.72	15.13	2.22	0.85	32.85	c	B

2.7 各品种移栽后病情指数均值与苗期带毒率的关系

各品种移栽后病情指数均值与苗期带毒率相关性分析结果显示: 移栽后病情指数与苗期带毒率呈

显著正相关, 相关系数 $r^{**} = 0.97$ (见表 7). 相关性分析结果显示, 移栽后病情指数与苗期带毒率是正相关的, 即苗期带毒率高的品种移栽后病情指数也较高. 另外, 每次调查的病情指数与苗期带毒率均呈正相关, 相关系数分别为: 第 1 次 $r = 0.69$, 第 2 次 $r^* = 0.88$, 第 3 次 $r^{**} = 0.98$, 第 4 次 $r^{**} = 0.97$, 第 5 次 $r^{**} = 0.93$, 第 6 次 $r^{**} = 0.92$.

表 7 各品种移栽后病情指数均值与苗期带毒率的关系

品种	红大	云 87	K326	云 97	KRK26
病情指数均值	35.14	38.58	46.54	59.17	67.15
苗期带毒率/%	0	3.70	7.41	62.96	85.19
相关系数	$r^{**} = 0.97$				

3 讨论

试验结果表明: “AHO + 多肽保”组合剂诱导不同品种抗 TMV 的效果显著不同. 苗期结果和大田结果都显示: “AHO + 多肽保”组合剂对红大的诱导效果最好, 云 87 次之, 再次是 K326, 对云 97 和 KRK26 的诱导效果最差.

各品种移栽前发病率与苗期带毒率相关性分析可知: 苗期带毒率与苗期发病率呈显著正相关, 即苗期带毒率越高, 苗期发病率就越高, 发病的可能性就越大. 同样, 各品种移栽后病情指数与苗期带毒率的相关性分析结果显示: 移栽后病情指数与苗期带毒率也呈显著正相关, 即烟苗带毒率越高, 移栽到大田以后病情就越严重. 由此可见: 无论是苗期发病率还是大田期病情指数都与苗期带毒率的高低呈显著正相关, 苗期带毒率决定了病情的严重程度.

不同烤烟品种的抗性差异与它们自身的遗传特性相关. 潘建菁等^[11]人对几个烤烟种质的抗病性进行了比较鉴定, 结果显示: Coker176, NC567, CV85, CV87 几个品种高抗 TMV, 而 K326 很容易感染 TMV. 周玲红等^[12]人对 10 个烤烟品种的抗病性鉴定结果显示: 云烟 87、湘烟 1 号和晚花 K326 都对烟草花叶病毒表现出较强的抗性. 从美国引进的 NC102 和 NC297 高抗烟草花叶病毒病^[13].

其次, 不同烤烟品种的抗性差异与它们自身的生理生化代谢及生理生化物质的含量及活性密切相关. 本课题组的其他一些试验结果显示: 不同品种对 TMV 的抗性与其超氧化物歧化酶(SOD)的活性显著相关, 叶绿素含量、硝酸还原酶活性等都与品种的抗性直接相关.

另外, 植物的抗性还与病原物或其他物质的诱导相关. 植物寄主在首次接触病原物之后, 不仅仅是感染组织会产生防御反应, 防御信号还会传导到其他未受感染的组织, 以增强对相同或相似病原物的防御反应. 这种现象被 ROSS^[14]称为系统获得性抗

(下转第 10 页)

11种病原血清具有局限性,尚需进一步扩大病原范围,才能探索清楚当地烟草成熟期主要病毒病种类;

2)当地烟草成熟期的病毒病呈现以TMV单一侵染为主, TMV与其他病毒,或CMV与其他病毒的复合侵染为辅的特征.且此期病原危害种类以TMV为主, CMV次之,除此之外尚存在TEV, TVBMV等病毒;

3)当地烟草成熟期受害叶片症状呈现“复杂化与多样化”特征,难以从表观判断出病毒病种类.

由此可见,禄劝烟区烟草成熟期的病毒病具有从单一侵染向复合侵染演变趋势,要探索清楚危害烟草的病毒病种类,尚需借助更先进的检测手段、扩大病原血清种类,同时要将TMV, CMV两种病毒病列为重点防控对象,将TEV, TVBMV等病毒列为监测对象,有针对性地制定防控措施以减少当地烟叶生产可持续发展的障碍.

[参考文献]

- [1]朱贤朝,王彦亭,王智发,等.中国烟草病害[M].北京:中国农业出版社,2002.
- [2]苏德成,王元英,王树声,等.中国烟草栽培学[M].上海:科学技术出版社,2005.
- [3]刘勇,李应金.云南烟草漂浮苗主要病毒病种类的检测[J].烟草科技,2006(6):58-61.
- [4]杨丽琼,徐兴阳,董家红,等.昆明烟区苗期烟草普通花叶病的现状分析及对策研究[J].昆明学院学报,2011,33(3):39-41.
- [5]徐兴阳,欧阳进,杨明.几种防治烟草普通花叶病药剂的田间药效[J].烟草科技,2005(1):47-48.
- [6]张仲凯,丁铭,汪继玲,等.烟草花叶病毒云南分离物TAS-ELISA检测试剂盒及其制备方法:中国,200410033669[P].2005-05-04.
- [7]龙亚芹,王万东,左瑞娟,等.烟草丛顶病毒(TBTV)ORF3和ORF4的原核表达、抗血清制备及应用[J].农业生物技术学报,2011(2):356-362.
- [8]吴育鹏,王健华,冯团诚,等.辣椒脉斑驳病毒CP基因的原核表达及其抗血清的制备[J].园艺学报,2010,37(10):1598-1604.
- [9]杨建卿,江彤,承河元,等.烟草病理学[M].合肥:中国科学技术大学出版社,2003.
- [1]朱贤朝,王彦亭,王智发,等.中国烟草病害[M].北京:中国农业出版社,2002.
- [2]YAN Xiao-hui, CHEN Jia, DI Ying-tong, et al. Anti-Tobacco Mosaic Virus (TMV) quassinoids from *Brucea javanica* (L.) Merr. [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(3): 1572-1577.
- [3]张廷金,余青,莫笑晗,等.几种新型烟草花叶病毒抑制剂的田间药效试验[J].昆明学院学报,2010,32(6):20-22.
- [4]杨明.青霉菌灭活菌丝体对烟草大田病害的诱导抗病性研究[D].长沙:湖南农业大学,2009.
- [5]徐兴阳,端永明,董家红,等.植物有机诱导抗病剂“多肽保”对TMV的防控效果[J].昆明学院学报,2010,32(6):6-9.
- [6]杨丽琼,徐兴阳,董家红,等.昆明烟区苗期烟草普通花叶病的现状分析及对策研究[J].昆明学院学报,2011,33(3):39-41.
- [7]潘建青,巫升鑫,陈顺辉,等.几个烤烟种质的抗病性比较鉴定[J].中国烟草科学,2004(1):18-21.
- [8]周玲红,李小一,匡传富,等.不同烤烟品种抗病性比较鉴定[J].现代农业科技,2010(4):71-72.
- [9]常寿荣,徐兴阳,罗华元,等.美国引进烤烟新品种的筛选及利用[J].昆明学院学报,2008,30(4):50-54.
- [10]ROSS A F. Systemic acquired resistance induced by localized virus infections in plants[J]. Virology, 1961, 14(3): 340-358.
- [11]ZHAO H J, XUE Y F. Effects of exogenous salicylic acid on photosynthesis in wheat (*Triticum aestivum* L.) leaves under potoinhibition condition[J]. Plant Physiology Communications, 2005, 41(5): 613-615.

(上接第3页)

性.值得一提的是,水杨酸(SA)是植物的一种内源信号传导物质,外源SA同样能诱导植物激活免疫系统来对病原入侵产生防卫反应^[15].李艳梅等^[4]人的研究显示:AHO使植物体内的SA含量增加,抗性蛋白的表达量增加,从而激活了SA介导的系统获得性抗性.

综上所述,病毒病防控的关键在于降低移栽入田的烟苗的带毒率,防控剂能在一定程度上抑制病毒病的流行危害,但只能作为病毒病防控的辅助手段.而培育无毒健壮烟苗才是病毒病防控行之有效的途径,对于常年发病严重的烟区,应当种植对病毒病抗性较高的品种.

[参考文献]

- [1]张仲凯,李毅.云南植物病毒[M].北京:科学出版社,2001.
- [2]向固西,胡厚芝,陈家任,等.一种新型农用抗生素:宁南霉素[J].微生物学报,1995,35(5):368-374.
- [3]安德荣,李天飞,刘勇.3.95%病毒必克可湿性粉剂防治烟草病毒效果及其应用技术[J].中国烟草科学,2001(1):44-45.
- [4]LI Yan-mei, ZHANG Zhong-kai, JIA Yan-tao, et al. 3-Acetyl-3-hydroxyoxindole: a new inducer of systemic acquired resistance in plants[J]. Plant Biotechnology Journal, 2008, 6(3): 301-308.
- [5]CHEN Jia, Yan Xiao-hui, Dong Jia-hong, et al. Tobacco Mosaic Virus (TMV) inhibitors from *Picrasma quassioides* Benn. [J]. J Agric Food