

安顺地区烤烟漂浮育苗 TMV 发生现状及致病因素分析

范成平¹, 左锐^{2*}, 刘学辉³

(1. 贵州省烟草公司安顺市公司, 贵州安顺 561000; 2. 贵州省生物技术研究所, 贵州贵阳 550006; 3. 贵州省植物保护研究所, 贵州贵阳 550006)

摘要 [目的] 了解安顺地区漂浮育苗 TMV 病毒发生规律以及导致大棚内发生大面积侵染的原因。[方法] 于 2011~2013 年对安顺市主要烤烟种植区(县)病毒检出率、育苗点不同大棚烟苗带毒率以及 TMV 高发大棚周边环境进行调查。[结果] 安顺市各烟区所有检测批次的样品均有一定的带毒率, 不同烟区烟苗风险样品率及高风险样品率不同, 其中紫云县烟苗 TMV 阳性检出率为历年最高。漂浮苗带毒率与育苗棚管理水平密切相关。随着育苗集约化程度提高, 烟苗 TMV 阳性检出率提高, 感染 TMV 的风险增大。设施不齐全、周边环境、育苗管理操作不到位为 TMV 传播提供了初侵染源和重要途径, 导致烟苗带毒率大大增加。[结论] 为防治烟草普通花叶病及提高烤烟的产量及品质提供了理论依据。

关键词 烟草普通花叶病; 发生规律; 原因分析

中图分类号 S572 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2014)33-11784-02

Occurring Situation and Pathogenic Factors of TMV for Tobacco Float Seedling Production in Anshun Area

FAN Cheng-ping¹, ZUO Rui^{2*}, LIU Xue-hui³ (1. Anshun Company of Guizhou Tobacco Company, Anshun, Guizhou 561000; 2. Guizhou Institute of Biotechnology, Guiyang, Guizhou 550006; 3. Guizhou Institute of Plant Protection, Guiyang, Guizhou 550006)

Abstract [Objective] The occurring law and pathogenic factors of TMV for tobacco float seedling production in Anshun area were understood. [Method] The detection rate of TMV from main flue-cured tobacco planting areas, virus carried rate of seedlings in different greenhouses of seedling points and the surrounding environment of TMV high-incidence greenhouse in Anshun were investigated from 2011 to 2013. [Result] All the samples from each tobacco planting area of Anshun had certain virus carried rate; the risk sample rate and high risk sample rate of seedlings were different in different areas, among them the positive detection rate of seedlings TMV from Ziyun County was the highest for each year. The virus carried rate of float seedlings was closely related with management level of greenhouse. With the improvement of seedling intensive degree, the positive detection rate of seedlings TMV increased, and then the risk of TMV infecting increased. The lack of facilities, surrounding environment and the lack of seedling management provided initial infective source and important way for TMV so as to lead the increase of virus carried rate of seedlings. [Conclusion] The results provide theoretical basis for control of TMV and improvement of tobacco yield and quality.

Key words TMV; Occurring law; Cause analysis

烟草普通花叶病(TMV)是世界各国烟草生产上的一类主要病害,在我国烟叶生产中,尤以贵州、云南、河南等省区受害较重,给烟叶生产带来严重损失^[1]。烟草病毒病直接影响烟叶的产量、质量和种植效益,幼苗期感染或大田初期感染,损失可达 30%~50%^[2]。发生严重时,甚至可能造成烟田绝收。近年来,在贵州省大部分烟区, TMV 的发生流行呈较快的上升趋势,安顺地区尤其严重。根据张崑等对安顺市烟草普通花叶病的调查,田间株发病率一般为 30%~50%,部分田块烟草花叶病毒病的发生率高达 90%以上^[3]。它的发生及危害已成为烤烟生产向优质、适产、高效目标迈进的一个主要障碍^[4-5]。

烟草普通花叶病为系统侵染性病害,烟株根、茎、叶均可带毒,通过机械接触传播, TMV 具有较广泛的寄主范围,可感染 36 个科的 350 多种植物^[6],且在常温条件下致病力可达数十年,在干燥病组织内存活 30 年以上^[7]。据报道,剪叶是漂浮育苗中 TMV 引起的烟草普通花叶病在苗期传播的最主要、最有效的途径^[8-9]。在苗盘、基质和池水中加入的 TMV 病叶汁液,在育苗过程中也可通过根部侵染烟苗^[9]。研究表明,受 TMV 污染的水源、漂浮盘、营养液、基质及周边杂草不

是 TMV 在漂浮育苗期间传播的主要途径,但却是病毒病传播的主要初侵染源,是 TMV 在漂浮育苗中传播的主要初侵染源^[9-11],剪叶过程中极少量的病苗就会导致烟草普通花叶病毒病的迅速传播^[9]。笔者近 3 年来对安顺地区 1 区 3 县主要育苗点共计 4 980 个烟草样品进行了病毒检测,并对发病严重的大棚进行了致病原因分析,以期为提高烤烟的产量和品质提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料 TMV 检测试剂盒(含 TMV 包被抗血清、TMV 碱性磷酸酶标记的酶标二抗、显色底物 PNP、阳性质控物、ECI 缓冲液、PBST 缓冲液、GEB 缓冲液、Tween-20、96 孔酶标板)和阴性质控物均为美国 Agdia 公司产品; ELX800 酶标仪为美国 BioTeK 公司产品。

1.2 方法

1.2.1 取样方法 2011~2013 年对安顺烟区各个烤烟育苗点进行取样,其中,每个育苗点按小棚数量的 10%~20% 进行随机取样,单体大棚按每个棚育苗池数量的 50% 进行随机取样,联体大棚每个棚育苗池数量的 100% 进行随机取样。采用 5 点定点取样,每个点周围取样 5 片中上部整叶,混合为 1 个烟样,共计 25 片。采用统一样品袋和记号笔,采集人员进入棚群必须使用一次性塑料袋套脚和一次性塑料手套,每采集完 1 个样必须更换一次手套。样品于移栽前 2~7 d 进行大规模取样,样品烟叶平铺于样品袋中并封口保存(若 24 h 送样,样品于 4~6 ℃ 保存)。

基金项目 烟草病毒病防治体系的建立(201118)。

作者简介 范成平(1980-),男,贵州安顺人,助理农艺师,从事烟草种植收购工作。*通讯作者,副研究员,从事植物保护及农药剂型研究。

收稿日期 2014-10-17

1.2.2 TMV 检测方法。参考 Agdia 试剂盒的说明书,采用抗原直接包被 ELISA 法进行病毒检测。在加入 PNP 底物显色后,用酶标仪在 405 nm 波长下测量 OD 值;当样品 OD 值/阴性对照 OD 值 ≥ 2 为阳性结果。每批样品于采样后 3 d 内检测完毕。

1.2.3 TMV 高发大棚调查。在 TMV 高发大棚进行实地调研,对大棚周围环境、水源进行勘察,最后取水样及周边植物样本进行 TMV 病毒检测。

2 结果与分析

2.1 安顺烟区烟苗带毒率检测分析 2011~2013 年,安顺市 1 区 3 县共计检测样品 4 980 个,2011 年 1 276 个样品,

表 1 2011~2013 年安顺地区各烤烟种植县区样品检测结果

地点	2011 年			2012 年			2013 年		
	检测样品数//个	阳性样品数//个	带毒率//%	检测样品数//个	阳性样品数//个	带毒率//%	检测样品数//个	阳性样品数//个	带毒率//%
平坝县	411	25	6.08	388	103	26.55	613	77	12.56
西秀区	467	59	12.63	578	81	14.01	583	71	12.18
紫云县	363	94	25.90	477	143	29.98	622	197	31.67
普定县	35	9	25.71	191	21	10.99	252	48	19.05
合计	1 276	187	14.66	1 634	348	21.30	2 070	393	18.99

2.2 不同大棚烟苗带毒率检测分析 2011~2013 年安顺烤烟种植区育苗点包括育苗工场、小拱棚以及插地大棚。对不同棚型烟苗 TMV 检测结果表明,不同棚型培育烟苗 TMV 带毒率有明显差异,小拱棚及插地大棚烟苗 TMV 阳性检出率最低,随着育苗集中度的提高,烟苗感染 TMV 的风险增大。小拱棚以及插地大棚覆盖面积小,规模化程度低,基本不进行剪叶,病毒检出率相对较低。育苗工场烟苗覆盖整个安顺烤烟种植区的 70%,规模化程度高,在烟苗移栽前一般要进行 2~3 次剪叶,大大提高了 TMV 病毒的感染几率,是重点检

2012 年 1 634 个样品,2013 年 2 070 个样品,TMV 阳性检出率分别为 14.66%、21.30% 和 18.99%。安顺市各烟区所有检测批次的样品均有一定的带毒率,不同烟区烟苗风险样品率及高风险样品率不同。紫云县烟苗 TMV 阳性检出率为历年最高,分别为 25.90%、29.98%、31.67%;阳性检出率最低的分别为 2011 年平坝县的 6.08%、2012 年普定县的 10.99%、2013 年西秀区的 12.18%。各县(区)烟苗 TMV 阳性检出率年间有较大差异,紫云县病毒检出率呈现逐年增加的趋势,平坝县与西秀区 2012 年病毒检出率高于其他 2 年,普定县 2012 年病毒检出率最低。总体而言,2012 年平均 TMV 阳性检出率高于各年度平均值(表 1)。

测对象。3 年来,对 10 个主要烤烟育苗工场的样品检测结果显示,天龙育苗工场历年来病毒检出率最低,分别为 3.13%、4.55%、2.33%。2011 年白石岩育苗工场病毒检出率最高,为 36.26%;2012 年马场育苗工场、白石岩育苗工场均出现严重问题,病毒检出率均超过 68%,所育种苗全部作废;2013 年十字育苗工场和茅坡育苗工场出现较大问题,病毒检出率高达 41.79% 和 46.15%(表 2)。总体而言,2011 年病毒检出率最低,2012 年病毒检出率最高,主要原因是 2012 及 2013 年均出现 TMV 病毒毁灭性侵染的大棚。

表 2 安顺主要烟区育苗工场样品检测结果

地点	育苗工场	2011 年			2012 年			2013 年		
		检测样品数//个	阳性样品数//个	带毒率//%	检测样品数//个	阳性样品数//个	带毒率//%	检测样品数//个	阳性样品数//个	带毒率//%
平坝县	天龙育苗工场	192	6	3.13	132	6	4.55	129	3	2.33
	十字育苗工场	165	9	5.45	65	4	6.15	67	28	41.79
	马场育苗工场	-	-	-	109	75	68.81	62	10	16.13
	白云育苗工场	-	-	-	-	-	-	80	5	6.25
西秀区	毛栗哨育苗工场	152	30	19.74	229	37	16.16	112	15	13.39
	茅坡育苗工场	66	4	6.06	53	12	22.64	26	12	46.15
	云盘育苗工场	118	13	11.02	62	4	6.45	49	12	24.49
	梅旗育苗工场	-	-	-	57	12	21.05	48	2	4.17
紫云县	黄土育苗工场	60	7	11.67	113	35	30.97	58	16	27.59
	白石岩育苗工场	171	62	36.26	82	59	71.95	61	2	3.28
合计		924	131	14.18	902	244	27.05	692	105	15.17

注:“-”表示无烟草样品检测。

2.3 TMV 高发大棚周边环境调查分析 调研分析的大棚有:2011 年的白石岩育苗工场、毛栗哨育苗工场;2012 年的马场育苗工场、毛栗哨育苗工场、茅坡育苗工场、梅旗育苗工场、黄土育苗工场、白石岩育苗工场;2013 年的十字育苗工场、马场育苗工场、毛栗哨育苗工场、茅坡育苗工场、云盘育

苗工场、黄土育苗工场。

经实地调研结果分析显示,2011 年白石岩育苗工场及 2012 年的梅旗育苗工场属于当年建设的新育苗点,育苗时大棚尚未完全竣工就草草投入使用,环境比较零乱,消毒设施(下转第 11841 页)

感^[8],也是产甲烷气的限速步骤,除温度外,物料的 pH、物料的碳氮比及其氮的形态^[9],以及反应器中溶解氧的浓度都是影响甲烷生产的主要因素。试验中得到的最适厌氧发酵温度 35 ℃ 与众多文献报道的一致^[9-14],选用牛粪发酵残余物作为接种物在最适的发酵温度下可实现零时间启动,故可大大缩短发酵周期。虽然如此,天然饲料也会因水体、土壤等的污染导致某些抑制甲烷气体产生的物质存在,从而使最适碳氮比和发酵条件下的产气量不高,因此有必要对物料中其他抑制性化学物质进行适当的检测和处理,以减少其造成的不利影响。

参考文献

- [1] 程一鸣,徐杰明,吴瑶,等. 完全混合厌氧反应器(CSRT)在农村沼气发电工程中的应用[J]. 能源研究与利用,2014(1):42-45.
- [2] 陈小华,朱洪光. 农作物秸秆产沼气研究进展与展望[J]. 农业工程学报,2007(3):279-283.
- [3] 张翠丽,李轶冰,卜东升,等. 牲畜粪便与麦秆混合厌氧发酵的产气量、

- 发酵时间及最优温度[J]. 应用生态学报,2008(8):1817-1822.
- [4] 于颖,王宏燕,周东兴. 畜禽粪便的资源化利用[J]. 东北农业大学学报,2009(8):140-144.
- [5] 赵云飞,刘晓玲,李十中,等. 餐厨垃圾与污泥高固体联合厌氧产沼气的特性[J]. 农业工程学报,2011(10):255-260.
- [6] 程序,梁近光,郑恒受,等. 中国“产业沼气”的开发及其应用前景[J]. 农业工程学报,2010(5):1-6.
- [7] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京:农业出版社,1981.
- [8] 马诗淳. 沼气发酵微生物代谢调控技术研究[D]. 北京:中国农业科学院,2009.
- [9] 史金才,廖新伟,吴银宝. 4种畜禽粪便厌氧发酵产甲烷特性研究[J]. 中国生态农业学报,2010(3):632-636.
- [10] 傅建辉. 牛粪高效沼气发酵工艺的探讨[J]. 中国沼气,1991(4):48-49.
- [11] 于晓章,彭晓英,周朴华. 温度对厌氧嗜热菌群产甲烷能力的影响[J]. 湖南农业大学学报:自然科学版,2005(4):422-426.
- [12] 黄岳海,赵伟. 沼气发酵的基本条件(一)[J]. 新农业,2006(8):61.
- [13] 黄岳海. 常温发酵大中型沼气池启动步骤与方法(上)[J]. 新农业,2007(3):61.
- [14] 南艳艳,邹华,严群,等. 秸秆厌氧发酵产沼气的初步研究[J]. 食品与生物技术学报,2007(6):64-68.

(上接第 11785 页)

不完善,管理不到位,导致 TMV 大面积侵染。2012 年的马场育苗工场和白石岩育苗工场均不具备独立的供水系统,从周边小河道引水,在河道附近堆积大量上年剩余的烟杆,造成水体污染,水源取样检测结果呈阳性,同时马场育苗工场还是当年新建大棚,管理不到位,导致 TMV 毁灭性侵染所育苗全部报废。2012~2013 年的茅坡育苗工场、黄土育苗工场管理不到位,大棚周围杂草丛生,经采样检测部分杂草呈阳性结果。十字育苗工场与云盘育苗工场 2013 年病毒检出率大幅提高,其主要原因可能是技术人员更替,苗期管理出现问题,如剪叶过程剪叶机消毒不彻底,导致大面积感染。天龙育苗工厂管理严格,大棚周围无杂草,育苗过程严把质量关,每一步均做到严格消毒,病毒检出率一直保持较低水平。毛栗哨育苗工场随着管理人员意识的提高,以及对周围环境及育苗过程的各个环节要求的不断提高,病毒检出率呈逐年下降趋势。

3 结论与讨论

通过对 2011~2013 年安顺市烟区 4 980 个烟苗样品进行 TMV 阳性检测分析显示,所有检测批次的样品均有一定的带毒率,不同年度间烟苗 TMV 阳性检出率有较大差异,特别是 2012 年,有 2 个育苗工场水源出现问题,导致整个工场的烟苗报废,损失巨大。

对不同大棚烟苗 TMV 检测结果表明,不同棚型培育烟苗 TMV 带毒率有明显差异,小拱棚及插地大棚烟苗 TMV 阳性检出率最低,育苗工场病毒检出率普遍偏高,随着育苗集中度的提高,烟苗感染 TMV 的风险增大。烟苗带毒率与育苗集约化程度有密切关系。小拱棚及插地大棚覆盖面积小,规模化程度低,基本不进行剪叶,病毒检出率相对较低。育苗工场烟苗覆盖整个安顺烤烟种植区的 70%,规模化程度

高,在烟苗移栽前一般要进行 2~3 次剪叶,大大提高了 TMV 病毒的感染几率。

通过对各年 TMV 高发大棚进行实地调研,发现漂浮苗带毒率与育苗棚管理水平密切相关。2011 年白石岩育苗工场及 2012 年的梅旗育苗工场和马场育苗工场属于新建育苗点,管理不到位,设施不齐全,导致烟苗带毒率大大增加。供水设施应独立,否则,一旦水源污染,将导致整个育苗工场的烟苗报废。清理周围环境,去除杂草减少初侵染原。剪叶等育苗管理操作是烟草普通花叶病毒病的传播的重要途径。随着剪叶次数增加,烟苗 OD 值增大,烟苗带毒率增加。减少剪叶次数是降低烟苗带毒率的有效措施。

参考文献

- [1] 孟建玉,耿召良,曹毅,等. 贵州烟草漂浮苗的花叶病毒带毒率[J]. 贵州农业科学,2011,39(11):107-109.
- [2] 云南省烟草科学研究所. 烟草栽培学[M]. 昆明:云南科技出版社,1993:174-175.
- [3] 张崑,胡宁贵,王修林. 安顺市烟草主要病毒病原鉴定[J]. 贵州农业科学,2010,38(11):133-134.
- [4] 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.
- [5] 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(11):58-61.
- [6] 吴艳兵,颜振敏,谢荔岩,等. 天然抗烟草花叶病毒大分子物质研究进展[J]. 微生物学通报,2008,35(7):1096-1101.
- [7] 洪健,李德葆,周雪平. 植物病毒分类图谱[M]. 北京:科学出版社,2001:189-192.
- [8] 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[J]. 云南农业大学学报,2005,20(1):136-139.
- [9] 李凡,王钰丽,吴德喜,等. 烤烟漂浮育苗中普通花叶病的主要传播途径[J]. 烟草科技,2006(10):53-55.
- [10] 刘勇,江红甲,布云红,等. 烟草漂浮苗花叶病毒病重要初侵染源的探讨[J]. 浙江农业科学,2008(4):483-492.
- [11] 尹跃艳,端永明,徐兴阳,等. 昆明烟区育苗点烟草花叶病毒初侵染源的检测与分析[J]. 西南农业学报,2012,25(1):166-168.