

剑麻紫色卷叶病田间调查和其传病因子的分析

刘后伟¹, 廖章鹏^{1,2}, 李瑞莹¹, 洪利鹤^{1,2}, 李霖枫^{1,2}, 黄标³, 姚小华^{1*} (1. 广东农工商职业技术学院热带农林学院, 广东广州 511368; 2. 嘉应学院生命科学学院, 广东梅州 514011; 3. 广东湛江农垦东方红农场农科所, 广东湛江 524251)

摘要 对湛江农垦成龄和幼龄剑麻紫色卷叶病田间调查发现, 一般抗病苗与普通苗发病率为18%~33%, 之间无显著差异, 而高抗病苗能有效对抗紫色卷叶病(发病率近0); 列联表分析表明剑麻的抗病、发病、死亡等现象不是相互独立的随机事件, 存在未知关联; 根据田间剑麻种植布局, 每株周围剑麻分为直接接触和非直接接触两类, 调查发现直接接触生病剑麻数量水平决定了发病率高(相关系数为0.976), 每增加一株病麻, 剑麻发病率提高13.6%, 而非直接接触生病剑麻数对发病率的影响呈弥散状, 说明直接接触传染是紫色卷叶病扩散的重要因素; 无论是单块成龄或幼龄剑麻田, 还是二者合并, 紫色卷叶病发病率分布都存在不发病和高发病2个峰, 推测存在2种以上的因子影响剑麻发病, 为此提出抗病因子和非抗病因子2个因子共同决定剑麻紫色卷叶病的双因子模型, 这2类因子的相互作用决定了剑麻染病、恢复、再染病、再恢复的循环, 能够解释目前紫色卷叶病表现。

关键词 田间调查; 紫色卷叶病; 发病率; 直接接触传染; 传病因子

中图分类号 S435.63 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2021)11-0132-07

doi:10.3969/j.issn.0517-6611.2021.11.037

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Field Investigation of Sisal Purple Leaf Roll Disease and Its Disease-carried Factor Analysis

LIU Hou-wei¹, LIAO Zhang-peng^{1,2}, LI Rui-ying¹ et al (1. College of Tropical Agriculture and Forestry, Guangdong AIB Polytechnic, Guangzhou, Guangdong 511368; 2. School of Life Sciences, Jiaying University, Meizhou, Guangdong 514011)

Abstract Field investigations of purple leaf curl disease of sisal in Zhanjiang, Guangdong of China revealed that the incidence rates of plants grown from common resistant seedlings or non-resistant seedlings fluctuate were between 18% and 33%, and there were no significant differences between them. The high resistant seedlings were effectively against purple leaf curl disease, the incidence rate was nearly 0. Contingency table analysis showed that disease resistance, disease incidence and death of sisal were not independent random events, but had unknown associations; according to the planting layout of sisal in the field, each plant around the sisal was divided into direct contact and non-direct contact two categories. The survey found that the number of sick sisal within direct contact sisal determined the incidence of purple leaf curl disease (correlation coefficient = 0.976, slope = 13.6%), but the influences of the number of sick sisal within non-direct contact sisal were much weak, which indicated that direct contact infection should be an important route in the spread of purple leaf curl disease. For the distribution of the incidence rate of purple leaf disease had two peaks with zero incidence and the highest incidence, it was speculated that there were more than two factors affecting the incidence. The two-factors model was proposed to explain the cycle of infection, recovery, re-infection, and re-recovery at all stages of sisal's life. Therefore, we put forward the two-factors model of sisal purple leaf curl disease, which was jointly determined by the interaction of disease-resistant factors and non-disease-resistant factors. The interaction of these two kinds of factors determined the cycle of infection, recovery, re-infection and recovery of sisal hemp, and could explain the current performance of purple leaf curl disease in field.

Key words Field investigation; Purple leaf curl disease; Incidence rate; Direct contact infection; Disease-carried factor

剑麻(*Agave Sisalana* Perr. Ex Engelm.)紫色卷叶病由剑麻新菠萝灰粉蚧(简称为粉蚧)伤害所致^[1],但在多年反复感染粉蚧病死的老麻田长出的新苗,虽也能被粉蚧所伤,但不会出现紫色卷叶病症状(这些苗也称为抗病苗),实践发现,抗病性只能在无性繁殖的腋苗和走茎苗之间传递2~3代,且随着种植时间的延长,抗病效果会逐渐减弱,适度传染粉蚧反而可以维持这种抗病性^[2-3],这表明抗病性的获得不是剑麻遗传物质的改变,更可能是某种适应性的变化。王桂花等^[4]通过巢式PCR技术,从新菠萝灰粉蚧分离到与紫色卷叶病含有的植原体相同的1.2 kd DNA片段,剑麻紫色卷叶病是否由植原体所致还需更多的证据,黄标等^[5]排除了紫色卷叶病由真菌、细菌、线虫病害等引起,到目前为止,剑麻紫

色卷叶病病因仍是一个未解之谜。

2019年,对湛江雷州英利镇东风红农场的15块种植时间为1.5~8.0年的剑麻地进行抽样调查,发现发病株在田间呈斑块状,以田间同一畦相邻20株为一组,比较不同地块之间发病率的差异,统计发病率分布,发现除高抗病田外,其他剑麻田发病率分布都存在2个峰;通过按坐标方位位置标记正常、紫色卷叶病、死亡的剑麻株,统计每株直接接触剑麻中有病株数量(简称直接病麻数),非直接接触剑麻中有病株数量(简称非直接病麻数),分析直接病麻数和非直接病麻数与剑麻发病率的关系,实证紫色卷叶病存在直接接触传播的途径。上述2种方法,结合植株坐标位置信息进行性状变量的分类统计,有一定的普适性,可以应用于多年生密集种植作物的传染病调查,为植物传染病调查提出新的思路。

1 材料与方法

1.1 试验材料 湛江农垦种植剑麻品种为H.11648,系多年生植物,生长周期8~12年,开花然后死亡。第1~2年剑麻为幼苗,2年后为成龄剑麻,移种大田。

1.2 调查方法 在幼龄剑麻田(抗性苗)、成龄剑麻田(高抗性苗、抗性苗、非抗性苗)随机取相邻的4~12行,设定起始位

基金项目 广东农垦产业链末端有机固废高值利用核心技术协同创新中心项目(粤教取函[2019]109号);2020广东省科技创新战略专项资金(大学生科技创新培育)(pdjh2020b10-74);广东省教育厅2020年度普通高校重点科研平台和项目(20202DZX2091)。

作者简介 刘后伟(1964—),男,湖南冷水江人,副教授,硕士,从事微生物和植物病害防治研究。*通信作者,硕士,从事植物功能成分分析和生物防控研究。

收稿日期 2020-09-21;修回日期 2020-10-28

置,从起始位开始,逐株记录剑麻状况,标记坐标纸上,0 为未病株,1 为紫色卷叶病株,-1 代表死亡株。

调查 15 块地,分散在东方红农场剑麻种植园区,8 块为成龄剑麻田,种植时间为 5~8 年;幼苗剑麻田 7 块,种植时间

1.5 年;剑麻总数为 9 052 株,非抗性剑麻 1 200 株,高抗疫苗 1 200 株,成龄抗病剑麻 2 544 株,抗病幼苗 4 112 株,抗疫苗发病率最低 0.0%,最高 63%,非抗疫苗发病率为 28%~37%,未见明显规律,调查田块的信息和数量见表 1。

表 1 湛江雷州英利镇剑麻紫色卷叶病的田间基本情况

Table 1 Field investigation of sisal purple leaf roll disease in Yingli Town, Leizhou, Zhanjiang

序号 No.	品种 Variety	位置或编号 Position or number	死亡 Death	无病 Disease-free	有病 Disease	麻龄 Age//年	状况 Condition
1	非抗疫苗	科研所 5#地	15	366	219	8	除草,施肥
2	非抗疫苗	科研所 6#地	21	410	169	8	除草,施肥
3	高抗疫苗	科研所 3-2 地	2	598	0	8	除草,施肥
4	高抗疫苗	科研所 3-3 地	4	596	0	8	除草,施肥
5	抗疫苗	九队 11-2 地	2	444	154	5	除草,中耕
6	抗疫苗	九队 13-3 地	4	262	334	5	未除草,有垃圾
7	抗疫苗	九队 11-3 地	2	297	421	5	部分除草
8	抗疫苗	九队 6-4 地	17	476	107	5	套种假花生,中耕
9	抗病幼苗	科研所 G1	16	402	182	1.5	正常管理
10	抗病幼苗	科研所 G2	21	383	196	1.5	正常管理
11	抗病幼苗	科研所 G3	20	394	186	1.5	正常管理
12	抗病幼苗	科研所 G4	26	377	197	1.5	正常管理
13	抗病幼苗	科研所 G5	22	397	181	1.5	正常管理
14	抗病幼苗	科研所 G6	13	404	183	1.5	正常管理
15	抗病幼苗	科研所 G6	6	311	143	1.5	正常管理

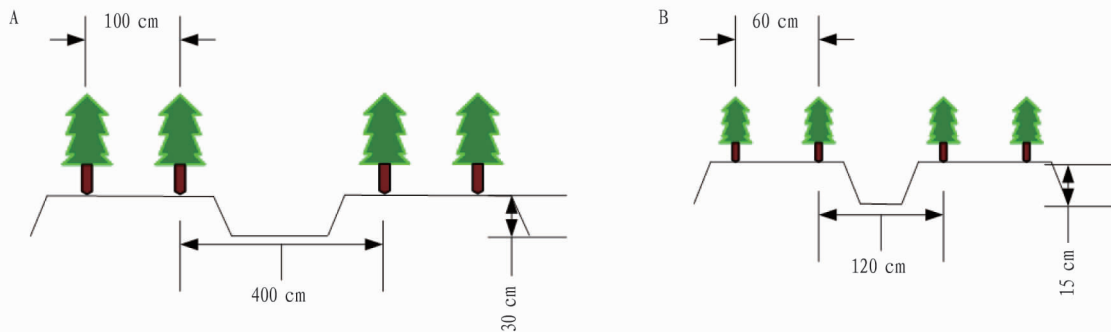
1.3 数据处理方法

1.3.1 不同地块发病率比较方法及其验证。不同种苗、不同地块的紫色卷叶病发病情况,采用 2 种方法进行分析:第一种方法将地块的剑麻按一畦上 10 行为一小组(20 株/组),统计其中正常、发病、死亡的数量,得出每小组的发病率、死亡率,被调查的田地有 23~36 小组(绝大部分为 30 小组),计算方差,进行地块之间的 F 检验和 t 检验;第二种方法采用列量表分析,剑麻有高抗疫苗、抗疫苗和普通苗,根据无病、有病、死亡 3 种情况形成 3×3 矩阵,矩阵 (i, j) 单元田间调查值(频数)为 n_{ij} ,如果所有因素两两独立,通过边缘分布概率计算出频数期望值为 $\mu_{ij} = n_{i+} \times n_{+j} / n$ (n_{i+} 为第 i 行频数和, n_{+j} 为第 j 列频数和, n 为所有频数和),理论计算值 μ_{ij} 与实际值 n_{ij} 偏离的程度可由 χ^2 值判断,其 χ^2 值计算公式:

$$\chi^2 = \sum \frac{(\mu_{ij} - n_{ij})^2}{\mu_{ij}}$$

χ^2 自由度为 $(3-1) \times (3-1) = 4$, $\alpha = 0.05$ 和 $\alpha = 0.01$ 的 χ^2 临界值为 9.488 和 13.277,如果实际 χ^2 值大于这 2 个值,有 95% 或 99% 的可能性认定高抗疫苗、抗疫苗和普通苗与无病、有病、死亡不是两两没有关联的(拒绝 H_0 假设,就受 H_1 假设)^[6]。

1.3.2 剑麻紫色卷叶病传染方式分析的原理和方法。剑麻采用双行长种植,成龄剑麻种在宽 1.6 m 畦上,植株间相间 1.0 m \times 1.0 m,畦高 25~30 cm,畦间有 4 m 的沟;幼龄剑麻的畦宽 90 cm,畦高 15~20 cm,畦间有 50 cm 的沟,苗种植相间 50 cm \times 50 cm,其截面相对位置见图 1。



注:A 为成龄剑麻田间种植截面图,B 为幼龄剑麻的田间种植截面图,剑麻种植在隆起畦上,畦与畦之间间隔 400 cm(幼苗间隔 120 cm)

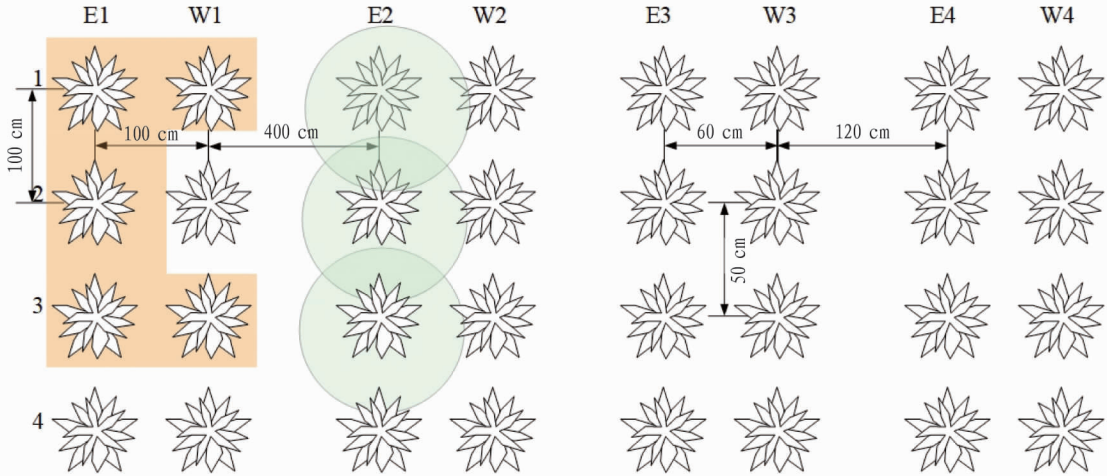
Note: A is the field planting cross section of adult sisal, and B is the field planting cross section of young sisal. The sisal is planted on the raised bed with an interval of 400 cm between the beds (seedling interval of 120 cm)

图 1 成龄剑麻和幼龄剑麻相对截面位置

Fig. 1 Relative sectional position of adult and juvenile sisal

成龄剑麻底层叶长 1.0~1.2 m, 大致 45°角向四周生长, 投射地面相当于半径 70~85 cm 的圆(图 2 浅绿的圆), 相邻的剑麻茎叶之间相互重叠, 但不同畦之间不会相互接触; 幼龄剑麻叶长 30~50 cm, 以 45°~60°夹角向四周生长, 投影地

面相当于 21~43 cm 的圆(图 2 中浅红色的圆), 同样, 同畦幼龄剑麻苗叶片之间会相互接触, 不同畦之间剑麻间隔 1.2 m, 有 50 cm 的作业走道, 剑麻叶不会重叠^[7-8]。



注:横坐标 E1、W1、E2、W2、E3、W3、E4、W4, 其中的阿拉伯数字表示畦的编号, E 和 W 表示同一畦上左边株和右边株;纵坐标上 1、2、3、4 表示种植的行数。图中左边为成龄剑麻田间俯视图, 右边为幼龄剑麻田间俯视图, 把 2 种不同生长阶段的剑麻放在一个坐标系中, 只是为了方便, 在实际生产中, 它们种在不同地块上。图中圆表示剑麻向外伸出的范围, U 型的浅黄色阴影区域为中间剑麻(2W1)直接接触剑麻, 3 个浅绿色阴影圆区(1E2、2E2、3E2), 表示田间 2W1 剑麻非直接接触剑麻

Note: The abscisses E1, W1, E2, W2, E3, W3, E4, W4 were the number of the bed, E and W were the left plant and the right plant on the same bed; The vertical axis 1, 2, 3, and 4 indicated the number of rows planted. In the figure, the left side was the field view of adult sisal and the right side was the field view of young sisal. The two kinds of sisal at different growth stages were placed in the same coordinate system, just for convenience, in the actual production, they were planted in different plots. The circles in the figure represented the areas of sisal extending outward. The U-shaped light yellow shaded area was the middle sisal (2W1) directly contacting sisal, and the three light green shaded circles (1E2, 2E2, 3E2) represented the 2W1 sisal in the field not directly contacting sisal

图 2 田间种植剑麻的俯视坐标

Fig. 2 Top view coordinates of sisal in the field

任何一株剑麻, 与其直接接触相邻植株有 5 株(图 2 中的浅黄色 U 型区域), 而边缘种植的剑麻相邻的为 3 株; 非直接接触相邻剑麻有 3 株, 为相邻畦上同行剑麻, 及其上下剑麻(图 2 中浅绿色的 3 个圆), 边缘剑麻非直接接触相邻剑麻为 0 或 2 株。

假定剑麻紫色卷叶病是一种传染病, 单独分析直接接触剑麻与间接接触剑麻对其发病(率)的影响可以用来判断该病是否通过直接接触传染或非直接接触传染, 该研究通过 2 个侧面来反映这种影响, 方法一, 按直接病麻数(或非直接病麻数)对剑麻进行分类, 统计具有相同直接病麻数的不同地块剑麻总数和病麻数(边缘的剑麻不纳入统计, 忽略), 和相同非直接病麻数的不同地块剑麻总数和病麻数(为了消除直接接触有病剑麻对分析的干扰, 只统计直接病麻数=0 的情况), 做散点图, 不同地块对应散点图中不同的点, 分析点之间的关系, 判断发病率(斜率)是否一致(所有点聚集在一条直线周边), 以此推断该疾病是随机发病(呈发散状)还是通过传染发病(有接近的发病率); 方法二, 通过 Pearson 相关分析^[6, 9-10], 分析剑麻紫色卷叶病的概率(发病率)与直接接触相邻(非直接相邻)的有病剑麻数是否存在强烈正相关, 来推导有病剑麻传病能力是否有叠加性和能否影响周边剑麻染

病, 推断紫色卷叶病的传病原因。

1.3.3 数据采集和处理软件。田间调查起始位置随机指派, 数据采集由东方红农场科研所工作人员和广东农工商职业技术学院的学生完成, 录入电脑进行分析处理, 数据采用 Excel 和 SPSS 软件处理^[10]。

2 结果与分析

2.1 不同地块抗病性剑麻品种紫色卷叶病发病率比较 剑麻的种苗分为高抗种苗、抗病苗和普通苗, 在调查中, 3 种剑麻在被新菠萝粉蚧感染后平均发病率分别 0、0.408、0.325, 抗病苗的平均发病率反而高于普通苗, 其原因值得进一步探讨。地块发病率分布见表 2。

对地块进行 ANOVA 单因素方差分析, 结果表明, 组间和组内方差为 10.806 和 18.717, F 值为 17.773, 存在显著差异, 说明不同地块的发病率差异明显。Tukey 统计^[10]分析将地块分为 3 组: 3-2#、3-3#高抗植株(发病率为 0); 13-3#、11-3#抗病苗(发病率为 0.56%、0.63%); 其他地块为一组(发病率为 0.18%~0.37%)。普通苗和抗病苗之间的发病率无显著差异。

新菠萝灰粉蚧感染剑麻, 蚕食剑麻新叶生长部位, 对剑麻造成伤害, 粉蚧通过蚂蚁搬运至周边的剑麻, 似乎可以解

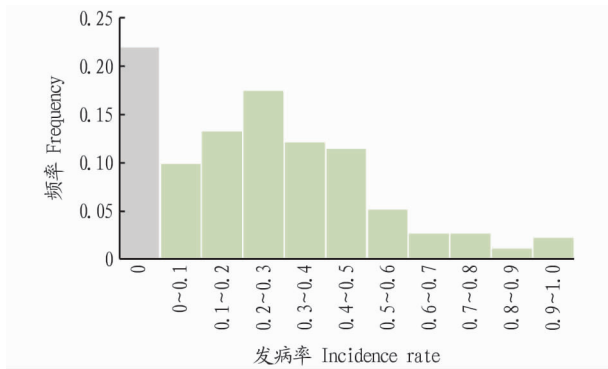
释剑麻通过密切接触传病,但感染粉蚧不一定导致紫色卷叶病,实际上在大田,几乎所有的剑麻都有粉蚧的感染迹象,仍存在一定剑麻不会出现紫色卷叶病的症状(20%左右,图3灰色的柱),表明还有其他因子阻止紫色卷叶病的产生。由

此可知,剑麻发病率分布存在2个峰:在0的位置和均值位置。对单块田地剑麻分析,都呈相似形状。说明存在不同的因子影响剑麻的紫色卷叶病。

表2 不同地块发病率分布、发病率平均值和标准差

Table 2 Incidence rate, average incidence rate and standard deviation of different plots

发病率 Incidence rate	5#	6#	3-2#	3-3#	11-2#	13-3#	11-3#	6-4#	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7
0	0	0	0	30	30	7	1	7	7	3	3	4	4	1	1
0~0.1	2	5	5	0	0	5	0	5	4	4	5	1	2	5	1
0.1~0.2	6	5	5	0	0	3	5	6	2	6	2	2	6	5	6
0.2~0.3	4	10	10	0	0	6	4	8	2	7	5	7	6	7	2
0.3~0.4	8	5	5	0	0	2	3	2	2	1	6	8	4	3	5
0.4~0.5	6	2	2	0	0	2	3	1	8	3	6	3	4	7	4
0.5~0.6	1	3	3	0	0	2	2	1	2	2	2	2	1	1	1
0.6~0.7	1	0	0	0	0	1	4	0	2	1	0	3	0	0	0
0.7~0.8	2	0	0	0	0	1	4	0	0	1	0	0	3	1	0
0.8~0.9	0	0	0	0	0	1	3	0	0	0	1	0	0	0	0
0.9~1.0	0	0	0	0	0	0	7	0	1	2	0	0	0	0	0
合计 Total	30	30	30	30	30	30	36	30	30	30	30	30	30	30	20
平均 Average//%	37	28	0	0	26	56	63	18	30	33	31	33	30	31	31



注:所有剑麻发病数据合并后的发病率分布

Note: Data in the figure were the incidence distribution of all sisal incidence data combined

图3 田间剑麻紫色卷叶病发病率的分布

Fig. 3 Incidence rate distribution of purple leaf roll disease in sisal field

2.2 列联表统计和 Gamma 等级相关分析 列联表分析,可以判断各种因素之间是否存在关联。列联表统计仅限于成龄剑麻。横向分为无病、有病(特指紫色卷叶病)、死亡3种情形,纵向分为高抗性苗、抗性苗、普通苗,组成3×3的列联表,假设上述6个因素对剑麻的影响是两两相互独立,由此得到期望频数值(表3格括号中值),计算出 χ^2 值和为703.60,自由度df=4,显著性水平 $\alpha=0.005$, χ^2 值为14.86,存在显著差异,说明剑麻有病、死亡不是随机出现的,其后存在导致剑麻生病、死亡的不明因素(表3)。

Gamma 等级相关系数^[10]为-0.125,接近0, Gamma 系数显示大田剑麻是否染病与抗病苗的关系复杂,需要深入剖析。

2.3 直接病麻数与紫色卷叶病的关系

2.3.1 不同直接病麻数水平下不同地块剑麻总数与病麻数的关系。统计成龄剑麻和幼龄剑麻每株的直接病麻数(高抗

疫苗没有病麻未纳入统计),然后按直接病麻数分类,结果见表4。

表3 不同品种剑麻与剑麻生长状况的列联表

Table 3 Contingency table of different varieties of sisal and growth status of sisal

剑麻品种 Variety	无病 Disease-free	有病 Disease	死亡 Death	合计 Total
高抗性苗 Highly resistant seedling	1 194 (841.2)	0 (342.4)	6 (16.3)	1 200
抗病苗 Resistant seedling	1 479 (1 766.6)	1 016 (719.1)	25 (34.3)	2 520
普通苗 Common seedling	776 (841.2)	388 (342.4)	36 (16.3)	1 200
合计 Total	3 449	1 404	67	4 920

注:只统计成龄剑麻,分为无病、有病、死亡3类,剑麻品种分为高抗性苗、抗病苗和普通苗,其组合田间调查数量(频数)见表格,括号数字为期望频数

Note: The table only counted adult sisal, which could be divided into three categories: disease-free, disease-resistant and dead. Sisal varieties could be divided into high-resistance seedlings, disease-resistant seedlings and ordinary seedlings. The number (frequency) of the combinations investigated in the field was shown in the table, and the data in brackets were the expected frequency

将不同直接病麻数水平的剑麻数与病麻数绘制散点图(图4),结果表明,当直接病麻数水平低,点分布较分散,随着水平增加,分布越来越集中一条直线上;直接病麻数水平低时,点集中在靠近X轴,随着水平增加,点越来越远离X轴,病剑麻的传病能力是可以叠加的。

剑麻总数与病麻数 Pearson 相关系数及其t检验(H_0 :相关系数=0; H_1 :相关系数 $\neq 0$)见表5,直接病麻数为0时,剑麻总数与病麻数相关系数接近0,说明田间剑麻在感染新菠萝灰粉蚧后,不同地块上剑麻单独发病率是波动的、没有规律,导致紫色卷叶病的致病因子随机作用;而当直接病麻数

为5时,相关系数为0.995,感染率为79.9%,并未100%染病,显示存在某种未知的因素,阻止剑麻生病。

表4 不同直接病麻数水平下地块剑麻数和病麻数

Table 4 The number of normal and sick sisal hemp on plots at different levels of number of sick sisal hemp in immediate vicinity

地块编号 Plot number	直接病麻数0 Zero sick sisal hemp in immediate vicinity		直接病麻数1 One sick sisal hemp in immediate vicinity		直接病麻数2 Two sick sisal hemp in immediate vicinity		直接病麻数3 Three sick sisal hemp in immediate vicinity		直接病麻数4 Four sick sisal hemp in immediate vicinity		直接病麻数5 Five sick sisal hemp in immediate vicinity	
	总数 Subtotal	病数 Number of sick sisal	总数 Subtotal	病数 Number of sick sisal	总数 Subtotal	病数 Number of sick sisal	总数 Subtotal	病数 Number of sick sisal	总数 Subtotal	病数 Number of sick sisal	总数 Subtotal	病数 Number of sick sisal
11-3#	71	11	109	26	93	41	101	60	103	79	195	180
6-4#	259	17	174	39	82	25	33	8	9	7	3	2
5#	82	30	165	43	143	52	106	48	49	27	15	10
11-2#	257	13	110	25	56	21	72	35	47	36	18	12
13-2#	76	8	63	25	90	45	107	58	125	93	99	84
6#	150	32	197	37	112	37	76	27	16	11	9	8
G1	217	13	103	40	109	31	67	40	47	25	37	30
G2	196	24	131	27	106	35	82	45	42	25	43	40
G3	191	19	143	50	111	35	69	32	54	22	32	28
G4	175	11	122	53	133	42	109	55	39	18	22	18
G5	209	15	114	45	124	43	90	39	42	21	21	18
G6	183	17	146	61	147	30	65	29	29	20	30	26
G7	114	10	108	34	121	29	62	45	21	10	14	8
感染率 Infection rate	0.119		0.311		0.335		0.492		0.612		0.799	
标准差 Standard deviation	0.086		0.090		0.077		0.119		0.132		0.116	

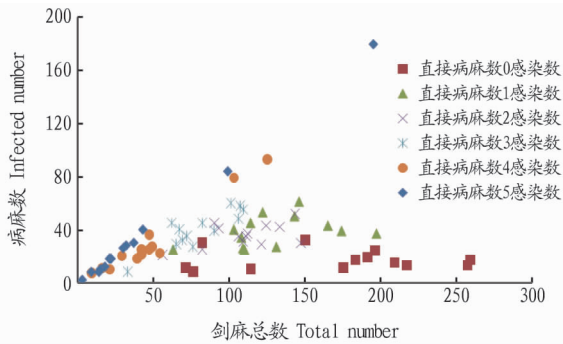


图4 不同直接病麻数水平下田间剑麻总数与染病数散点图

Fig. 4 Scatter plot of total and infected number of sisal under different levels of directly diseased sisal

表5 不同直接病麻数水平 Pearson 相关系数及其 t 检验

Table 5 Pearson correlation coefficient and t test of different levels of directly diseased sisal

直接病麻数 Number of directly disease anaesthesia	Pearson 相关系数 Pearson correlation coefficient	t 统计量 t statistic	自由度 Degree of freedom	$\alpha=0.05$ t 值(双侧) $\alpha=0.05$ t (two sides)	斜率 Slope
0	0.000	0.000	11	2.201	0
1	0.381	1.605	11	2.201	0.124
2	0.502*	2.359	11	2.201	0.172
3	0.865*	7.825	11	2.201	0.558
4	0.972*	19.306	11	2.201	0.776
5	0.998*	85.474	11	2.201	0.925

注: * 表示差异显著(P<0.05)

Note: * indicated significant difference at 0.05 level

2.3.2 不同直接病麻数水平下的紫色卷叶病发病率。直接病麻数水平从0到5,紫色卷叶病发病率从0.119提升到0.799,每增加1株直接接触有病剑麻,剑麻生病概率增加13.6%,在不同直接病麻数水平下,紫色卷叶病的发病率见

图5,发病率的均值分布在斜率为0.136直线周边(采用最小二乘估计的线性回归得到),Pearson 相关系数为0.976,与0值的t检验值为9.19,存在显著差异,说明直接接触的有病剑麻能显著影响周围剑麻发病,田间调查也发现紫色卷叶病呈斑块状分布,直接接触病麻传染是紫色卷叶病可证实的传染途径。

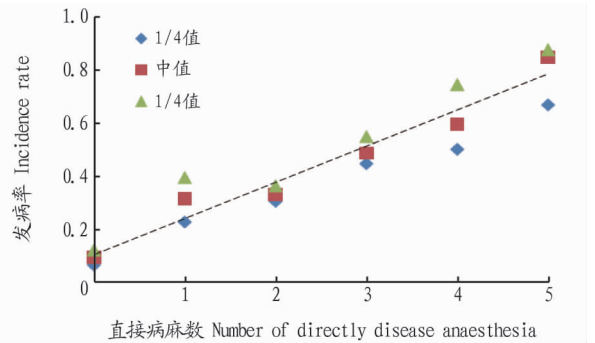


图5 紫色卷叶病发病率与直接接触病株数关系

Fig. 5 Relationship between incidence rate of purple leaf roll and quantity of directly contact with infected plants

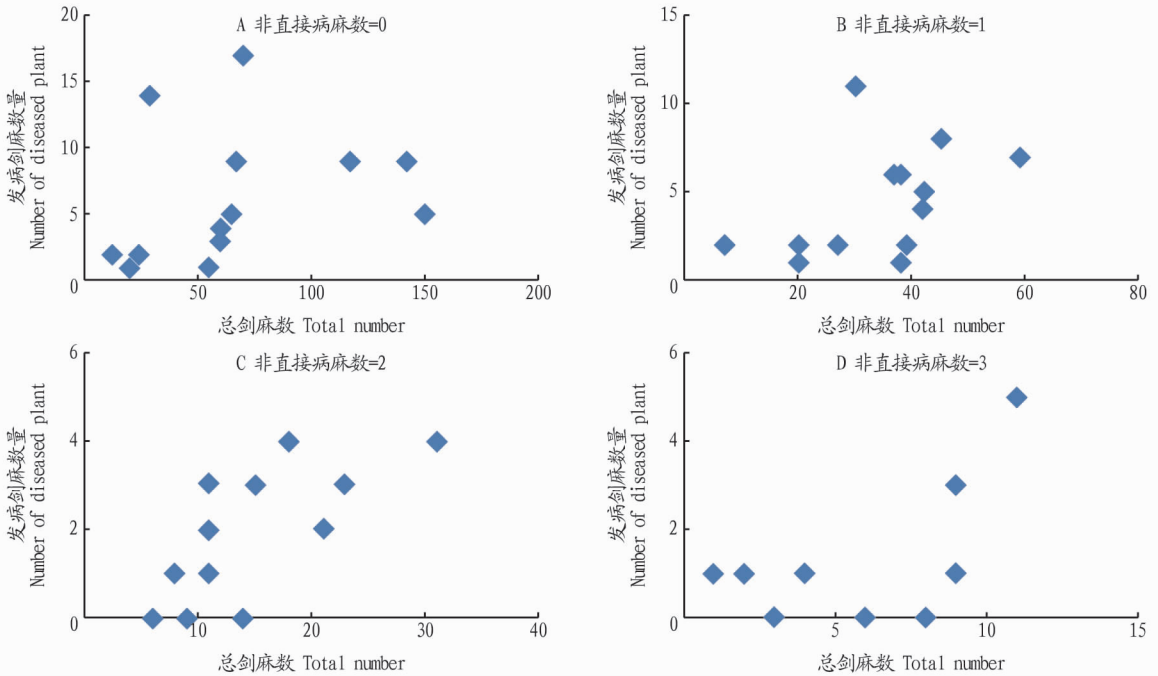
2.4 非直接病麻数与紫色卷叶病的关系 分析非直接病麻数与剑麻染病的关系需要排除直接接触有病的剑麻对结果的干扰,为此只选用直接病麻数=0剑麻数据进行统计分析。13块地不同非直接病麻数水平下剑麻总数与病麻数、发病率与标准差见表6,平均发病率随非直接病麻数变化不明显,且标准差较大,t检验分析表明它们之间不存在显著差异。

非直接病麻数不同水平(0~3)的剑麻总数与病株之间的散点图见图6,呈发散、随机分布,不存在明显的相关性,表明非直接病麻数与剑麻生病关系不明显,非直接接触的病麻传染不是紫色卷叶病传染的主要途径。

表 6 剑麻发病率与非直接病麻数的关系

Table 6 Relationship between sisal incidence rate and quantity of non direct diseased sisal

地块 Plot	非直接病麻数 0 Zero sick sisal hems not directly in contact		非直接病麻数 1 One sick sisal hems not directly in contact		非直接病麻数 2 Two sick sisal hems not directly in contact		非直接病麻数 3 Three sick sisal hems not directly in contact	
	总数 Subtotal	病株 Number of sick sisal	总数 Subtotal	病株 Number of sick sisal	总数 Subtotal	病株 Number of sick sisal	总数 Subtotal	病株 Number of sick sisal
11-3#	12	2	7	2	11	1	8	0
6-4#	142	9	59	7	9	0	4	1
5#	29	14	30	11	6	0	1	1
11-2#	150	5	39	2	18	4	6	0
13-2#	20	1	20	1	21	2	9	3
6#	70	17	45	8	11	3	1	1
G1	117	9	20	2	8	1	3	0
G2	67	9	37	6	23	3	6	0
G3	65	5	38	6	14	0	11	5
G4	60	3	42	4	11	2	2	1
G5	60	4	38	1	31	4	11	5
G6	55	1	42	5	15	3	9	1
G7	24	2	27	2	21	2	6	0
感染率 Infection rate	0.119		0.137		0.119		0.316	
标准差 Standard deviation	0.125		0.097		0.086		0.360	



注：A、B、C、D 分别表示不同非直接病麻数水平下剑麻发病情况

Note: A, B, C and D respectively represent the incidence of sisal hemp at different levels of indirect disease numbers

图 6 不同非直接病麻数水平下剑麻总数与病麻数散点图

Fig. 6 Scatter plot of total number of sisal and number of non-directly diseased sisal at different levels

2.5 双因子模型 猜想剑麻紫色卷叶病是由 2 种作用相反的因素——抗病因子和非抗病因子共同作用所引起,当抗病因子占优势时,剑麻呈抗病状态;当非抗病因子占优势时,剑麻呈敏感状态。这些因子可以受限传递,不能遗传,在一定条件下消失,也可重新出现,它们的波动导致剑麻会多次出现染病、恢复、再染病、再恢复的循环。为此,提出剑麻紫色卷叶病发病和抗病的双因子模型,粉蚧、抗病苗、非抗病苗、抗病因子和非抗病因子等与剑麻紫色卷叶病的关系见图 7,模型将抗病因子和非抗病因子认为是剑麻之外的因素,剑麻

的抗病状态和非抗病状态是由这两类因子相互作用引起,很好解释抗病性不能遗传和粉蚧的感染可以强化剑麻抗病性等问题,但模型中提出的抗病因子和非抗病因子是什么不得而知,一项迫切任务就区分剑麻的抗病因子和非抗病因子,找出和分离抗病因子,通过抗病因子在剑麻内的扩增解决剑麻紫色卷叶病问题。

3 结论与讨论

剑麻紫色卷叶病自 21 世纪初从海南传到湛江,逐渐在广东、广西、福建等主要产麻区扩散,成为剑麻产业发展的难

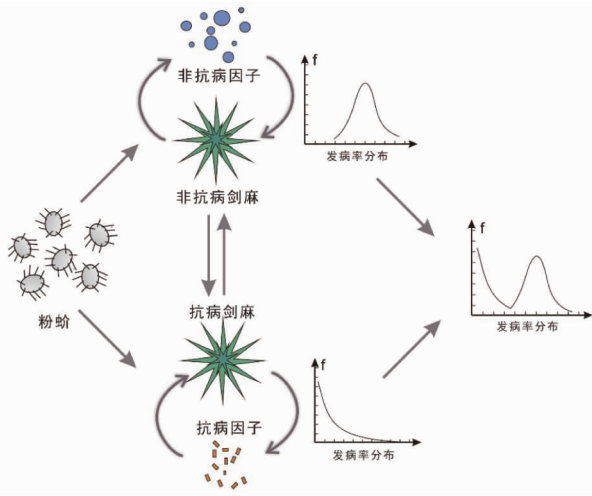


图7 剑麻紫色卷叶病双因子模型

Fig. 7 Two factor model of sisal purple leaf roll

疾,其致病机理至今没有阐明,对此也缺乏有效的防控手段。当常规的研究手段难以解开病因,通过田间传播的特点来推断其传病原因不失为一种有效的手段,在这点上剑麻有独特的优势:与生命周期短的作物不同,剑麻为多年生植物,剑麻之间的相对位置长期固定,剑麻受到周边其他剑麻影响,也影响周边别的剑麻,相互关系稳定,为分析剑麻紫色卷叶病的传播方式提供了便利。

非直接病麻对剑麻生病的影响是在直接病麻数为0的水平进行,排除了直接接触的有病剑麻对分析结果的影响。直接病麻数0水平下,剑麻发病率随非直接病麻数呈随机分布,它们间相关系数接近0,随着直接病麻数水平增加,相关性增加,在直接病麻数5水平上,相关系数为0.998,在同一个直接病麻数水平,所有非直接病麻数的增加值(斜率)十分

(上接第95页)

理时间以及透明剂的选择与处理时间均较为重要。若实质性器官太厚,会影响后续步骤的处理;若固定不好,则会影响细胞结构;脱水时间尤其是高浓度乙醇处理时间过长会导致组织块硬化,切片时易碎;浸蜡前透明处理是整个过程中最关键的步骤,传统制片法中二甲苯的透明效果较好,但需要操作者根据制片经验判断透明要求,容易造成菲薄组织(如小肠等)的浆膜透明过度,从而造成该层结构的碎裂或缺失。

为了解决传统浸蜡前苯类透明剂的健康危害、环境污染、不同样品同批次制片难、组织易透明过度等缺陷,国内外学者报道了较多的苯类透明剂替代试剂。它们主要是以松节油或含萜烯组分为代表的植物精油类^[6-8]、叔(正)丁醇与异丙醇为代表的醇类^[9-10]、汽油、Van-Clear商品试剂为代表的烷烃或烷烃衍生物类^[11-12]。虽然这些替代试剂低毒或无毒,但也存在透明速度慢、溶蜡能力弱、有刺激气味、价格昂贵以及透明时间严格等问题,因而未得到推广应用。该试验中使用的异构硬脂酸硬脂醇性质温和,与石蜡混合后处理样品,既可以置换脱水剂,又能增加石蜡的浸入时间并减少硬

接近,说明这种增加是由直接病麻数带来的,而不是非直接病麻变动所致,从另一个方面证明非直接接触有病剑麻对剑麻是否染上紫色卷叶病作用很小,紫色卷叶病是通过直接接触的有病剑麻传播的。

直接病麻数(近距离)和非直接病麻数(长距离)2种数据的区分对于剑麻这种种在畦上、且有中间作业通道的农作物合理,类似的研究方法可以应用于密集种植、多年生植物的传染病调查,如火龙果、香蕉、多年生果园等。剑麻是浅根系植物,自然生长剑麻根可以向四周扩张5m,不同畦的植物地下根可能会接触,但考虑到每年有施肥、中耕、除草和采收,加之套种假花生等植物,实际上接触可能性不大。至于在直接接触外围剑麻,它们的影响需要通过跨越直接接触剑麻,在该研究中没有考虑,希望今后的研究中能够弥补。

参考文献

- [1] 黄标,杨荣,夏李虹,等.紫色卷叶病病因·病原鉴定和抗性苗应用研究[J].安徽农业科学,2015,43(34):177-179.
- [2] 黄标,赵家流,夏李虹,等.剑麻主要病虫害监测与防控技术研究[J].安徽农业科学,2015,43(33):214-217.
- [3] 杨荣,黄标,夏李虹,等.剑麻抗病种苗的引进试种及抗病效应研究[J].安徽农业科学,2015,43(31):101-104,110.
- [4] 王桂花,吴伟怀,汪涵,等.源自剑麻紫色卷叶病病株新菠萝灰粉蚧体内植原体分子检测与鉴定[C]//绿色植保与乡村振兴——中国植物保护学会2018年学术年会论文集.北京:中国农业科学技术出版社,2018.
- [5] 黄标,夏李虹,李江平,等.几种营养液药液及脱毒粉蚧对剑麻紫色卷叶病的影响[J].热带农业科学,2017,37(7):41-45,50.
- [6] MUSIOL G. An introduction to categorical data analysis[J]. Computational statistics & data analysis,1997,23(4):565.
- [7] 农业部人事劳动司,农业职业技能培训教材编审委员会.剑麻栽培[M].北京:中国农业出版社,2007:35-46.
- [8] KARLSSON A. Introduction to linear regression analysis[J]. Journal of the royal statistical society; Series A,2007,170(3):856-857.
- [9] RABINOWITZ L. Mathematical statistics and data analysis[J]. Technometrics,1989,31(3):390-391.
- [10] 薛薇.统计分析与SPSS的应用[M].2版.北京:中国人民大学出版社,2008:65-80.

蜡的处理时间,因而组织块容易成功切片。

参考文献

- [1] 汤金梁,叶明福.硬脂酸硬蜡混合液及硬蜡二步浸蜡法在石蜡切片中的应用[J].第三军医大学学报,2003,25(19):1727-1730.
- [2] 郭以河,张闽峰,孟加榕,等.硬脂酸替代二甲苯在组织透明浸蜡过程中的应用[J].实用医技杂志,2008,15(9):1124-1126.
- [3] 魏永敬,汪兆亮.硬脂酸代替二甲苯透明在石蜡切片中的应用[J].西南军医,2007,9(1):57.
- [4] 张晓宇.异硬脂醇[J].精细化工,1984,1(1):74-75.
- [5] 徐步,良平.性能优异的化妆品新原料——异硬脂酸及其衍生物[J].中国化妆品,2001(3):68,70.
- [6] 李海鹤,万明辉,谭东海,等.松节油替代二甲苯在家禽组织制片中的应用[J].中国家禽,2013,35(19):51-52.
- [7] 刘浩,梁景星,钟胜华,等.环保透明剂替代二甲苯用于病理组织石蜡制片的可行性[J].深圳中西医结合杂志,2019,29(9):86-88.
- [8] 付小一,张子雯.911柔性生物制片透明脱蜡剂在石蜡制片中的应用[J].宜春学院学报,2005,27(4):113.
- [9] 杨世明,李和.正丁醇替代无水乙醇和二甲苯在制作大鼠全胚切片中的应用[J].解剖学报,2012,43(6):864-867.
- [10] 赵亚林,闫青地,冯佳佳,等.石蜡切片方法的改良[J].安徽农业科学,2017,45(32):6-8.
- [11] 李璐,吴民华,陈景锋.皮肤组织教学石蜡切片的制作技术[J].临床与实验病理学杂志,2015,31(7):827-828.
- [12] 王伟.一种针对人皮肤组织的快速、低毒石蜡切片方法[D].上海:复旦大学,2013.