2种不同类型病毒抑制剂防控TMV的田间药效比较

陈永对[1],李宏光[2],刘春明[2],董家红[1],张　洁[1],
张丽珍[1],张廷金[1],杨振兴[1],张仲凯[1]*
(1.云南省农业科学院 生物技术与种质资源研究所,云南省农业生物技术重点实验室,云南 昆明 650223;
2.云南省烟草公司 红河州公司 技术中心,云南 弥勒 652300)

摘要:为评价不同类型病毒抑制剂在不同发病条件下对烟草花叶病的防控效果,选用2种生物制剂(AHO、宁南霉素)和2种化学农药(吗胍·乙酸铜、烯·羟·硫酸铜)进行田间药效试验。大田接种烟草花叶病毒(TMV)的试验表明,AHO和吗胍·乙酸铜对TMV的平均防效较高,分别为41.8%和39.8%,宁南霉素和烯·羟·硫酸铜对TMV的平均防效较低,分别为25.4%和14.5%;在自然发病状态下,AHO对TMV的平均防效为45.5%,宁南霉素的平均防效次之,为36.6%,而烯·羟·硫酸铜和吗胍·乙酸铜的平均防效则分别为28.7%和16.2%。AHO在不同带毒环境下防控烟草花叶病的效果都优于其他3种市售药物,表明其具有开发成为绿色抗烟草花叶病新型农药的潜力。

关键词:烟草花叶病毒;病毒抑制剂;生物农药;药效试验;防效
中图分类号:S435.72　　**文献标志码**:A　　**文章编号**:1004-3268(2013)06-0080-05

Field Control Effect of Two Different Types of Virus Inhibitor on Tobacco Mosaic Virus

CHEN Yong-dui[1],LI Hong-guang[2],LIU Chun-ming[2],DONG Jia-hong[1],ZHANG Jie[1],
ZHANG Li-zhen[1],ZHANG Ting-jin[1],YANG Zhen-xing[1],ZHANG Zhong-kai[1]*
(1. Yunnan Provincial Key Laboratory of Agricultural Biotechnology, Biotechnology and Germplasm Resources Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650223, China;
2. Technology Center of Honghe Tobacco Company, Yunnan Tobacco Company, Mile 652300, China)

Abstract: To evaluate the effect of two different types of virus inhibitor on tobacco mosaic virus (TMV) under different conditions, two biological agents (AHO, Ningnanmycin) and two chemical pesticides (Moroxydine blue verdigris, Olefinic hydroxyl copper sulfate) were used to test their control effect on TMV in the field. The results showed that under the challenging inoculation condition, AHO and Moroxydine blue verdigris had better control effects on TMV with the average relative control effects of 41.8% and 39.8%, respectively. The average relative control effects of Ningnanmycin and Olefinic hydroxyl copper sulfate were 25.4% and 14.5%, respectively. In the natural disease state, AHO had an average control efficiency of 45.5% on TMV, followed by Ningnanmycin, whose average control effect was 36.6%. While Olefinic hydroxyl copper sulfate and Moroxydine blue verdigris had a lower average control effect of 28.7% and 16.2%, respectively. AHO had a better effect of prevention and control on TMV than the other three kinds of commercial pesticides under different disease conditions, suggesting that it has a potential to be developed into new green anti-TMV pesticide.

Key words: tobacco mosaic virus; virus inhibitor; biological agent; field test; control efficiency

收稿日期:2012-12-25
基金项目:云南省烟草公司红河州公司项目(HYSWZXY2011-19);云南民族大学国家民委—教育部重点实验室开放基金项目(MZY1106)
作者简介:陈永对(1976-),男,安徽宿州人,助理研究员,博士,主要从事植物病毒学研究。E-mail:chenyongdui@gmail.com
*通讯作者:张仲凯(1966-),男,云南保山人,研究员,主要从事植物病毒学研究。E-mail:zhongkai99@sina.com

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

由烟草花叶病毒(tobacco mosaic virus,TMV)引起的花叶病是世界各国烟区的主要病毒病害之一,我国各烟区也普遍发生。近年来,云南烟草上 TMV 的发生面积呈现逐年上升趋势[1]。对烟草苗期和移栽后团棵期的调查发现,危害云南烟草的主要病毒病是由 TMV 侵染引起的[2]。在目前的烤烟生产中,化学防治是烟草花叶病综合防治中的重要措施[3]。但化学防治效果有限,且易造成农残超标,因此,生物农药的开发逐渐成为抗病毒研究领域的热点。

近年来,本研究团队(云南省农业科学院作物病毒研究与应用省创新团队)已从马蓝(*Strobilanthes cusia*)、苦木(*Picrasma quassioides* Benn.)、鸦胆子[*Brucea javanica* (L.)Merr.]等药用植物中筛选到了一些对 TMV 有较好抑制效果的天然产物及其衍生物[4-6],其中 3-丙酮基-3-羟基羟吲哚(3-acetonyl-3-hydroxyoxindole,AHO)对 TMV 的抑制效果尤为突出。对其抑制机制的研究发现,AHO 是通过作用于植物水杨酸途径介导的防御反应激活了植物的系统获得性抗性[5]。然而,关于 AHO 在不同发病条件、不同生态类型烟区对烟草花叶病的防控效果尚未进行详细评价。

本研究选用生物制剂 AHO 和宁南霉素以及化学农药烯·羟·硫酸铜和吗胍·乙酸铜进行田间药效试验,旨在评价这 2 种不同类型的病毒抑制剂在不同发病条件下对 TMV 的防控效果,并筛选出对烟草花叶病具有较好防效的病毒抑制剂,为云南烟区烟草花叶病的防控提供参考依据。

1　材料和方法

1.1　试验材料及试验地概况

1.1.1　供试植物　烤烟(*Nicotiana tabacum* L.)品种 K326 由云南省烟草农业科学研究院提供。

1.1.2　接种用病毒　接种用 TMV 为云南省农业生物技术重点实验室保存的 TMV-U1 株系,接种时病毒液质量浓度为 25 μg/mL。

1.1.3　供试制剂和药剂　1%AHO 水剂由中国科学院昆明植物研究所郝小江研究员提供;8%宁南霉素水剂由黑龙江强尔生化技术开发有限公司生产(市售);20%吗胍·乙酸铜可湿性粉剂由山东玉成生化农药有限公司生产(市售);6%烯·羟·硫酸铜可湿性粉剂由河南倍尔农化有限公司生产(市售)。

1.1.4　接毒及施药工具　F-75 型油漆高压喷枪,上海岩田机械有限公司生产;无油润滑空气压缩机(ZBW-0.015/8),上海捷豹压缩机制造有限公司生产;3WBS-16 型手动式喷雾器,台州凯锋塑钢有限公司生产。

1.1.5　试验地概况　强制接毒试验在云南省烟草农业科学研究院研和试验基地(102°25′～102°35′E,24°8′～24°17′N,海拔 1 630 m,属于中亚热带半湿润凉冬高原季风气候)进行,试验田土壤肥力中等;自然发病试验在石林县台湾农民创业园(103°17′～103°19′E,24°49′～24°52′N,海拔 1 751 m,属亚热带高原季风气候)进行,试验田肥力中等偏下。

1.2　试验方法

1.2.1　试验设计　在研和试验基地,试验共设 6 个处理,包括:接毒不施药处理作为阳性对照(CK+),喷施 AHO 后接毒、喷施宁南霉素后接毒、喷施吗胍·乙酸铜后接毒、喷施烯·羟·硫酸铜后接毒 4 个处理,不接种病毒也不施药处理作为阴性对照(CK-)。每个处理设 3 个重复,随机排列,每小区约 30 m^2,种植 50 株左右 K326 烟株,并在基地周围设置烟株保护带对试验田进行保护隔离。在石林县台湾农民创业园,试验地块为往年植烟区,且烟草花叶病发生严重。在此烟区验证 AHO 以及各种药剂在自然发病状态下对 TMV 的防控效果,试验共设 5 个处理:分别喷施 AHO 等 4 种不同药剂处理和不喷施药剂处理(阳性对照)。AHO 处理组烟田约为 0.27 hm^2,其余各处理组的烟株数约为 180 株。

1.2.2　制剂和药剂使用方法　在研和试验基地,1%AHO 水剂稀释 1 000 倍喷雾施用;8%宁南霉素水剂稀释 1 000 倍喷雾施用;20%吗胍·乙酸铜可湿性粉剂溶于少量水后 500 倍液喷雾;6%烯·羟·硫酸铜可湿性粉剂溶于少量水后 1 500 倍液喷雾。移栽前 1 d,将烟苗按照试验设计分别施药并作标记,即带药移栽,于移栽还苗后 1 周再次喷施相应药剂,喷药 2 h 后用高压喷枪对接毒处理组烟株接种 TMV。接毒后每隔 7～10 d 施药 1 次,接毒后共施药 3 次。在石林县台湾农民创业园,烟苗移栽时间与研和试验基地同步,移栽还苗后 1 周再次施药,但不接毒,以后施药时间与研和试验基地同步。分别于烟苗移栽还苗后 3 周、5 周和 7 周(即接毒后2 周、4 周和 6 周)同步调查这 2 个基地各处理组所有烟株的发病情况。

1.2.3　试验期间田间管理方法　试验期间除按试验设计用抗病毒抑制剂外,不施用其他任何抗病毒剂,其他栽培、病虫害管理措施按当地优质烟叶生产标准进行。

1.2.4　病情分级标准及相对防效计算方法　病情分级参考国家标准 GB/T 23222-2008 进行。发病

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

率、病情指数、相对防效的计算方法如下：发病率＝发病株数/调查总株数×100%；病情指数＝∑(各级病株数×该病级值)/(调查总株数×最高病级值)×100；相对防效＝(阳性对照区病情指数－防治区病情指数)/阳性对照区病情指数×100%。

2 结果与分析

2.1 不同病毒抑制剂在田间对接种 TMV 烟株的防治效果

大田烟株接种 TMV 后发病情况有所差异，各试验组烟株的发病率均随着接毒后时间的延长而增长(图 1)。接毒后 2 周，阴性对照组烟株发病率不到 1%，而阳性对照组的烟株发病率已超过了 60%，经 AHO 和其他药剂处理的烟株发病率均小于 50%。接毒后 4 周，各处理组的烟株发病率均有所上升，但仍然低于阳性对照组烟株的发病率。此时，阴性对照组烟株发病率略有升高，但也仅有 2%。接毒后 6 周，宁南霉素处理组的烟株发病率接近了阳性对照组，达到了 85%。其余试验组的烟株发病率虽然仍在上升，但明显低于阳性对照组的烟株发病率。阴性对照组的烟株发病率在 6 周时也达到了 16.7%，可能是邻近烟株病毒传染引起。AHO 处理组的烟株发病率一直最低，表明 AHO 在大田小区试验中对 TMV 的抑制效果要优于其他几种病毒抑制剂。

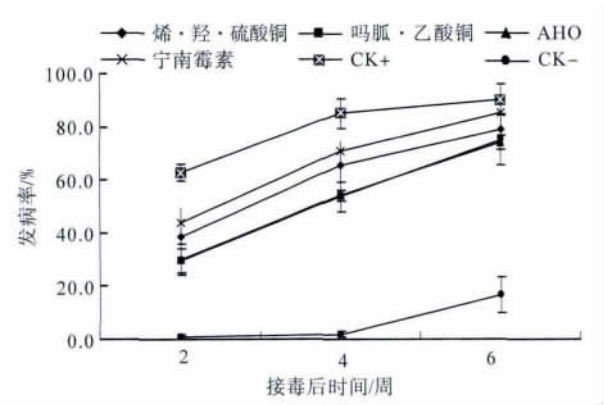


图 1 大田接种 TMV 的烟株发病率

从图 2 可以看出，各试验组烟株的病情指数同样随着接毒后时间的延长而增长。接毒后 2 周，各试验组烟株的病情指数均在 13 以下，其中阴性对照组的病情指数仅有 0.1。接毒后 4 周，阳性对照组的病情指数迅速上升到了 52.7，而 AHO 处理组烟株的病情指数为 30.9，低于其他药剂处理组的病情指数。接毒后 6 周，阳性对照组的病情指数上升到 63.7，AHO 组烟株的病情指数增长速度明显低于其他药剂组，而此时阴性对照组的病情指数仅有 6.9，这与其低发病率是一致的。

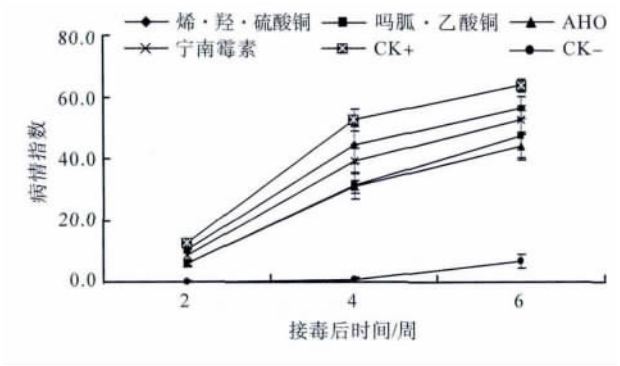


图 2 大田接种 TMV 的烟株病情指数

由表 1 可以看出，不同药剂对 TMV 的相对防效有所差异。接毒后 2 周，AHO 和吗胍·乙酸铜对 TMV 的相对防效均超过了 50%，烯·羟·硫酸铜的相对防效最低，只有 16.6%。接毒后 4 周，各病毒抑制剂对 TMV 的相对防效均呈下降趋势，但烯·羟·硫酸铜的相对防效下降速度相对缓慢。接毒后 6 周，吗胍·乙酸铜和 AHO 对 TMV 的相对防效分别为 25.3%和 30.9%，远高于宁南霉素和烯·羟·硫酸铜，表明它们对 TMV 的抑制效果持续时间更长。综合 3 次调查结果来看，AHO 对 TMV 的平均防效最高，为 41.8%；其次为吗胍·乙酸铜，平均防效为 39.8%，但两者之间无显著差异。宁南霉素和烯·羟·硫酸铜对 TMV 也有一定的防效，但防效较低，其平均防效分别为 25.4%和 14.5%，与 AHO 和吗胍·乙酸铜有显著性差异。

表 1 大田接种 TMV 时 4 种病毒抑制剂的相对防效

%

处理	接毒后时间/周			平均
	2	4	6	
烯·羟·硫酸铜	16.6	15.7	11.2	14.5±1.7a
吗胍·乙酸铜	53.4	40.7	25.3	39.8±8.1c
AHO	53.1	41.3	30.9	41.8±6.4c
宁南霉素	33.7	25.5	17.1	25.4±4.8b

注：同列数据后不同字母表示差异显著($P<0.05$)，下同。

2.2 不同病毒抑制剂在大田自然发病状态下对 TMV 的防治效果

在大田自然发病状态下，虽然各组烟株的发病率均随着烟苗移栽后时间的延长而不断增长，但总体发病率较低(图 3)。烟苗移栽还苗后 3 周，没有施用药剂的阳性对照组烟株发病率仅为 6.7%。烟苗移栽还苗后 5 周，各药剂处理组烟株发病率缓慢上升，但都低于对照组的 10.8%。烟苗移栽还苗后 7 周，阳性对照组烟株的发病率迅速上升到 25.3%，其次分别为吗胍·乙酸铜、烯·羟·硫酸铜和宁南

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

霉素,施用 AHO 的烟株发病率最低,为 13.2%,远远低于对照组的烟株发病率,表明 AHO 对 TMV 有很好的防控作用。

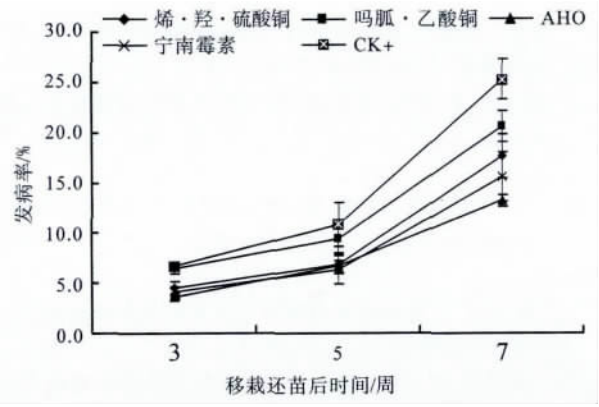


图 3　大田自然发病状态下烟株的发病率

与发病率一致,各处理组烟株的病情指数同样随着烟苗移栽后时间的延长而不断增长(图 4)。烟苗移栽还苗后 3 周,对照组烟株的病情指数最高,但也只有 6.2,而 AHO 组的病情指数只有 2.7。烟苗移栽还苗后 5 周,各组烟株的病情指数均略有上升,但增幅不大。烟苗移栽还苗后 7 周,虽然各组烟株的病情指数均迅速上升,但 AHO 组烟株的病情指数增幅明显低于其余各组,表明 AHO 在大田自然发病状态下对烟草花叶病病情指数的控制效果要优于其他 3 种药物。

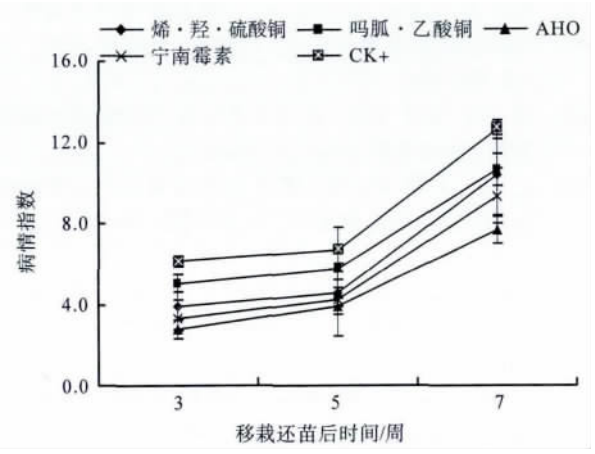


图 4　大田自然发病状态下烟株的病情指数

在大田自然发病状态下,烟苗移栽还苗后 3 周,只有 AHO 的相对防效超过了 50%。移栽还苗后 5 周,各病毒抑制剂的相对防效均有所下降。烟苗移栽还苗后 7 周,宁南霉素和烯·羟·硫酸铜对 TMV 的相对防效均急剧下降,只有 AHO 的相对防效仍然维持在较高的水平,为 39.2%。综合 3 次调查结果来看,AHO 对 TMV 的平均防效超过了 45%,明显高于其他药剂,而且随时间延长防效下降缓慢,而宁南霉素、烯·羟·硫酸铜和吗胍·乙酸铜的防效较低,平均防效分别为 36.6%、28.7%和 16.2%(表 2),表明 AHO 对 TMV 的抑制作用较强,且持续时间更长。

表 2　大田自然发病状态下 4 种病毒抑制剂对 TMV 的相对防效　%

处理	移栽还苗后时间/周			平均
	3	5	7	
烯·羟·硫酸铜	36.2	31.9	17.9	28.7±5.5b
吗胍·乙酸铜	18.4	14.6	15.5	16.2±1.1a
AHO	55.4	41.7	39.2	45.5±5.0c
宁南霉素	46.7	37.0	26.0	36.6±6.0bc

3　结论与讨论

本研究表明,新型抗病毒制剂 AHO 在不同发病条件下对 TMV 均有较好的抑制活性。田间药效试验证明,无论在人工接种 TMV 的烟株上还是自然发病状态下,AHO 对 TMV 的平均防效都超过了 40%。在强制接毒环境下,化学农药吗胍·乙酸铜对 TMV 的防效优于生物农药宁南霉素,但在大田自然发病状态下,宁南霉素的防效则明显优于吗胍·乙酸铜。

在人工接种 TMV 的大田小区试验中,本团队前期研究结果显示,AHO 对 TMV 的相对防效平均为 54%[7],而本次试验表明,AHO 对 TMV 的平均防效为 41.8%。AHO 对 TMV 的相对防效在年度间有所差异,可能是年度间不同的气候条件所致,也有可能与前茬作物是接种过 TMV 的烟田有关。4 种病毒抑制剂对 TMV 的防效均随着时间的延长而呈现下降趋势,表明它们对 TMV 引起的烟草花叶病的防控效果持续时间都不长,需要连续施药才行。

在大田自然发病的情况下,不同研究人员在不同地点的研究结果显示,宁南霉素对 TMV 引起的烟草花叶病的防效差异很大,介于 44.7%～95.2%[8-11]。本研究中,宁南霉素对 TMV 的平均防效仅有 36.6%,远远低于胡厚芝等[9]的研究结果。吗胍·乙酸铜对 TMV 的平均防效为 16.2%,也远低于张琼芬[11]的研究结果。造成差异的原因可能与不同地点、不同气候条件及当年不同的 TMV 发病率有关。

截至目前,对烟草花叶病的防治尚无特效药剂。虽然从天然产物中发掘抗 TMV 物质的研究取得了一定进展,主要有大分子蛋白质如核糖体失活蛋白以及小分子物质如苦木素,但能运用到生产实践上的天然产物少之又少[12-15]。本研究也表明,新型抗

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

病毒制剂 AHO 不能完全抑制 TMV 的发生发展，病毒抑制剂的使用只能作为综合防治中的辅助措施。但连续 2 a 的大田小区试验[7]表明，AHO 在不同发病条件下对 TMV 的防治效果都优于其他几种市售药物，表明它具有开发成抗烟草花叶病的新型绿色农药的潜力。

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] 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.

[3] 樊兵，吴云锋，袁耀锋. 植物源抗毒活性物质的初步筛选[J]. 西北农林科技大学学报：自然科学版，2005，33(增刊 1)：167-170.

[4] Yan X H，Chen J，Di Y T，*et al*. Anti-tobacco mosaic virus (TMV) quassinoids from *Brucea javanica* (L.) Merr[J]. J Agric Food Chem，2010，58：1572-1577.

[5] Li Y M，Zhang Z K，Jia Y T，*et al*. 3-acetonyl-3-hydroxyoxindole：a new inducer of systemic acquired resistance in plants[J]. Plant Biotechnol J，2008，6：301-308.

[6] Chen J，Yan X H，Dong J H，*et al*. Tobacco mosaic virus (TMV) inhibitors from *Picrasma quassioides* Benn [J]. J Agric Food Chem，2009，57：6590-6595.

[7] 张廷金，余青，莫笑晗，等. 三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.

[8] 陈丽，安德荣. 几种药剂防治烟草病毒病药效试验[J]. 植物保护，2004，30(3)：78-80.

[9] 胡厚芝，向固西，陈家任，等. 宁南霉素防治烟草花叶病的研究[J]. 应用与环境生物学报，1998，4(4)：390-395.

[10] 李宏光，钟权，张赛，等. 8 种农药防治烟草花叶病的田间药效试验[J]. 江西农业学报，2012，24(4)：100-101.

[11] 张琼芬. 几种病毒抑制剂对烟草花叶病防效试验[J]. 江西农业学报，2011，23(7)：141-142.

[12] 赵春颖，李兴红，商振清，等. VA 诱导烟草细胞内防御酶系统与 TMV 抗性的关系[J]. 华北农学报，2002，17(z1)：56-60.

[13] 刘华山，韩锦峰，张玉丰，等. 落葵提取液抑制普通烟草花叶病毒病的生理效应研究[J]. 华北农学报，2007，22(1)：184-187.

[14] 耿召良，商胜华，陈兴江，等. 植物源抗烟草花叶病毒天然产物研究进展[J]. 中国烟草科学，2011，32(1)：84-11.

[15] 杨爱娟，李宏光，谭济才，等. 天然产物抗烟草花叶病毒(TMV)研究进展[J]. 江西农业学报，2012，24(3)：80-82.

(上接第 79 页)

[3] 钟一铭，曹瑛杰. 土地利用方式对浙江省长潭水库富营养化程度的影响[J]. 江西农业学报，2010，22(5)：110-113.

[4] 徐红灯，席北斗，王京刚，等. 水生植物对农田排水沟渠中氮、磷的截留效应[J]. 环境科学研究，2007，20(2)：84-88.

[5] 薛晟岩，张春涛，程 翠，等. 沈阳地区 7 种水生植物对富营养化水体中磷吸收能力的研究[J]. 辽宁林业科技，2010(6)：34-35.

[6] Drizo A，Frosl C A，Smith K A，*et al*. Phosphate and ammonium removal by constructed wetlands with horizontal subsurface flow，using shale as a substrate[J]. Water Science & Technology，1997，35(5)：95-102.

[7] Farahbakhshazad N，Morrison G M，Filho E S. Nutrient removal in a vertical upflow wetland in Piracicaba，Brazil[J]. Ambio，2000，29(2)：74-77.

[8] 曹向东，王宝贞，蓝云兰，等. 强化塘-人工湿地复合生态塘系统中氮和磷的去除规律[J]. 环境科学研究，2000，13(2)：15-19.

[9] 王岩，成杰民. 南方农田灌溉水人工湿地处理工程设计研究[J]. 灌溉排水学报，2001，31(1)：138-140.

[10] 陈海生，王光华，宋仿根，等. 生态沟渠对农业面源污染物的截留效应研究[J]. 江西农业学报，2010，22(7)：121-124.

[11] 萧运峰，王锐，高洁，等. 五节芒生态-生物学特性的研究[J]. 四川草原，1995(1)：26-29.

[12] 任立民，刘鹏，郑启恩，等. 广西大新县锰矿区植物重金属污染的调查研究[J]. 亚热带植物科学，2006，35(3)：5-8.

[13] 孙健，铁柏清，秦普丰，等. 铅锌矿区土壤和植物重金属污染调查分析[J]. 植物资源与环境学报，2006，15(2)：63-67.

[14] Li H S，Sui Q，Zhao S J，*et al*. Experimental principle and technology of plant physiology and biochemistry [M]. Beijing：Higher Education Press，2000：134-138.

[15] Devi S R，Prasad M N V. Copper toxicity in *Ceratophyllum demersum* L. (Coontail)，a free floating macrophyte：responses of antioxidant enzymes and antioxidants[J]. Plant Science，1998，138：157-165.

[16] 周玉梅，韩士杰，胡艳玲，等. 高浓度 CO_2 对红松(*Pinus koraiensis*)针叶光合生理参数的影响[J]. 生态学报，2008，28(1)：423-429.

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net