

网络出版时间:2012-12-21 17:30
网络出版地址:<http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20121221.1730.019.html>

陕西省烟草主要病毒病种类及植物带毒的检测

李金岭¹, 罗 晶¹, 牛小义¹, 成巨龙², 陈德鑫³, 安德荣¹

(1 西北农林科技大学 植物保护学院/旱区作物逆境生物学国家重点实验室, 陕西 杨凌 712100;
2 陕西省烟草研究所, 陕西 西安 710000; 3 中国烟草总公司青州烟草研究所, 山东 青岛 266001)

【摘 要】 【目的】明确陕西省烟区烟草主要病毒病种类及烟田周围携带病毒植物的种类及带毒情况。**【方法】**采用酶联免疫吸附法(Enzyme linked immunosorbent assay, ELISA), 对从安康、宝鸡、商洛、延安、咸阳、汉中和铜川烟区采集感染病毒病的 167 个烟草样品以及烟田周边 7 科 23 种植物的 279 个植物样品进行了检测。**【结果】**从感染病毒烟草样品中检测到烟草花叶病毒(*Tobacco mosaic virus*, TMV)、黄瓜花叶病毒(*Cucumber mosaic virus*, CMV)、烟草蚀纹病毒(*Tobacco etch virus*, TEV)、马铃薯 Y 病毒(*Potato virus Y*, PVY)和烟草脉带花叶病毒(*Tobacco vein banding mosaic virus*, TVBMV)5 种病毒。其中 CMV 的侵染最普遍, 总检出率达 74.34%; PVY、TMV、TEV、TVBMV 的总检出率分别为 58.16%, 47.29%, 21.59% 和 18.87%。在 156 个烟草阳性样品中, 有 28 个样品受 CMV、TMV、PVY 或 TVBMV 单独侵染, 其检出率分别为 4.78%, 10.09%, 1.66% 和 1.18%, 未检测出 TEV 单独侵染; 其余样品均受 2 种以上病毒复合侵染, 总检出率为 82.05%。烟田周边 279 个植物样品中, 176 个植物样品被检测出携带有包括 TMV、CMV 和 PVY 等在内的烟草病毒, 病毒检出率占 63.08%。毒源植物样品中病毒检出率最高的植物为刺儿菜, 其病毒检出率高达 92.86%, 其次为番茄、茄子、辣椒、蚕豆, 其病毒检出率分别为 90.91%, 87.50%, 86.67 和 78.57%。**【结论】**CMV 取代 TMV 和 TEV 已成为当前陕西烟区的优势毒种, PVY 检出率在部分烟区有明显上升的趋势。田间烟草病毒复合侵染现象严重, 值得高度重视。烟田周围植物是烟草病毒病防治的重要考虑因素。

【关键词】 烟草; 病毒种类; 毒源植物; 酶联免疫吸附法 ; 陕西省

【中图分类号】 S435.72 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1671-9387(2013)01-0078-07

Detection and analysis of main tobacco viruses and viruliferous plants in Shaanxi Province

LI Jin-ling¹, LUO Jing¹, NIU Xiao-yi¹, CHENG Ju-long²,
CHEN De-xin³, AN De-rong¹

(1 College of Plant Protection/State Key Laboratory of Crop Stress Biology for Arid Areas, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China; 2 Shaanxi Tobacco Institute, Xi'an, Shaanxi 710000, China; 3 Qingzhou Tobacco Research Institute of China National Tobacco Crop, Qingdao, Shandong 266001, China)

Abstract: 【Objective】 This research aimed to identify the main types of tobacco viruses and detect plants carrying viruses in area surrounding tobacco fields at main tobacco growing areas in Shaanxi Province. **【Method】** 167 tobacco leaf samples with viral disease symptoms and 279 samples of 23 species plants that belonged to 7 families collected from tobacco fields in Ankang, Baoji, Yan'an, Shangluo, Tongchuang, Xianyang, and Hanzhong were tested by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **【Result】** *Tobacco mosaic virus* (TMV), *cucumber mosaic virus* (CMV), *tobacco etch virus* (TEV), *potato virus Y* (PVY), and

〔收稿日期〕 2011-05-04
〔基金项目〕 全国烟草有害生物调查研究项目(KJ-2010-14); 新型杀菌剂真菌多糖在烟草病害防治中的研究和应用(110201002024)
〔作者简介〕 李金岭(1987—), 男, 新疆乌苏人, 在读硕士, 主要从事微生物资源利用研究。E-mail: linglj@163.com
〔通信作者〕 安德荣(1963—), 男, 陕西大荔人, 教授, 博士生导师, 主要从事微生物资源利用及植物病理研究。E-mail: anderson323@163.com

tobacco vein banding mosaic virus (TVBMV) were detected in infected tobacco leaf samples. The infection percentage (74.34%) of CMV was the highest, and that of PVY, TMV, TEV and TVBMV were 58.16%, 47.29%, 21.59% and 18.87%, respectively. Of the 156 positive tobacco leaf samples, 28 cases were infected by CMV (4.78%), TMV (10.09%), PVY (1.66%) and TVBMV (1.18%). Other positive tobacco leaf samples infected by two or more viruses accounted for 82.05%. Among the 279 samples of plants from areas surrounding tobacco fields, 176 cases were detected with TMV, CMV and PVY, the virus detection rate was 63.08%. *Cephalanoplos* (*Cirsium seputum*) had the highest virus detection rate (92.83%), and that of tomato (*Solanum lycopersicum*), eggplant (*Solanum melongena*), peppers (*Capsicum frutescens*), and broad bean (*Vicia faba*) were 90.91%, 87.50%, 86.67%, and 78.57%, respectively. 【Conclusion】 CMV had replaced TMV and TEV as the dominating virus in some tobacco-growing areas in Shaanxi Province, and the infection of PVY increased obviously in some regions. It is highly notable that mixed-virus infections occurred severely in tobacco fields. The plants from areas surrounding tobacco fields should be considered as an important factor to prevent tobacco virus disease.

Key words: tobacco; virus species; virus host plant; enzyme linked immunosorbent assay (ELISA); Shaanxi Province

烟草在我国具有悠久的种植历史,是一种广泛栽培的经济作物,在国民经济中占有重要地位。但同时烟草病毒病在我国南北烟区发生普遍,危害严重,在我国部分烟区已成为威胁烟草生产的首要病害,对烟叶的产量及质量造成了极大影响^[1]。目前我国已报道造成田间危害的烟草病毒病种类有近 20 种^[2-3],田间危害较为严重的病毒种类主要有 6 种:烟草花叶病毒(*Tobacco mosaic virus*, TMV)、烟草黄瓜花叶病毒(*Cucumber mosaic virus*, CMV)、烟草马铃薯 X 病毒(*Potato virus X*, PVX)、烟草马铃薯 Y 病毒(*Potato virus Y*, PVY)、烟草蚀纹病毒(*Tobacco etch virus*, TEV)和烟草脉带花叶病毒(*Tobacco vein banding mosaic virus*, TVBMV)^[1,4]。这 6 种病毒在我国田间烟草病毒中所占比例最大,造成危害和损失也最严重^[1,5-7]。

烟草在陕西省的种植面积较大,是陕西省主要的经济作物之一,且烟叶产量在全国占有重要地位。由于耕作栽培制度、烟草品种变化等因素的影响,陕西省烟草病毒病的发生程度日趋严重,其在一般年份的田间发病率均在 30% 以上,而病毒病流行年份部分地块发病率可达 100%,烟草病毒病不仅造成了烟叶产量严重下降,同时极大地降低了烟叶品质,烟草病毒病目前已成为对陕西省烟草生产危害最大的一类病害^[8]。20 世纪 90 年代初,李惠琴^[9]报道陕西省烟草上发生的病毒病主要有 CMV、TEV,局部发生的有 PVY、TMV 等。2005 年王秀敏等^[10]曾对陕西烟草病毒病进行过毒原鉴定及种群区系分布研究,明确了 TMV、CMV、TEV 和 PVY 是陕西省

烟草主要病毒病害。但近几年以来,陕西省烟草病毒病种类是否发生了变化,尚无系统调查及鉴定结果。笔者在进行“全国烟草有害生物调查”项目过程中发现,近几年陕西烟区病毒种群又有了很大变化,且这种变化给烟草病毒病害的防治工作带来了很大困难。

在田间引起病害的烟草病毒种类中,除 TMV 等个别病毒种类可在烟草种子或土壤中的病株残体上存活外^[11],CMV、TEV、PVY 等病毒均需在活体植物内越冬^[12]。烟田周边的农作物、蔬菜及杂草往往是这些病毒的重要寄主,也是来年病毒病发生的重要潜在初侵染源^[13]。为明确当前陕西烟区烟草病毒种类和变化趋势,以及陕西烟田病毒病初侵染源的植物种类,本研究于 2011 年进行了烟草病毒病的调查和取样,针对多种病毒,利用酶联免疫吸附法(ELISA)对烟草样品进行检测,并对烟田周围的农作物、蔬菜及杂草的种类和携带病毒情况进行了调查和检测,旨在为确定陕西省烟草病毒病的病原种类提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品采集 2011-04—10,在陕西省安康(平利县)、商洛(洛南县)、宝鸡(陇县)、延安(富县)、咸阳(泾阳县)、汉中(南郑县)和铜川 7 个地市(县)烟田采集典型病毒病症状的烟叶样品。在烟田烟叶采收后,调查上述烟叶样品采集地区烟田周围的农作物、蔬菜、田边杂草病毒病发生情况,采集有代表性

花叶、斑驳、茎坏死等病毒病症状的植物叶片、茎秆或者嫩梢,取样时对所采集的植物样品进行统一编号、照相、症状记载,将所采集的植物样品分别装入标记自封袋(20 cm×25 cm)中,放入冰盒中保存。在实验室内将采集到的烟叶样品和植物病叶、茎秆或嫩梢切成细丝状,用吸水纸包裹后放在无水氯化钙中,−20 ℃的冰箱中冷冻干燥,保存备用^[14]。在上述 7 个地市采集了 167 个烟叶样品,同时采集了 7 科 23 种植物,共计 279 个植物样品。

1.1.2 标准抗原及抗体 TMV 和 CMV 抗原由农业部植物检疫实验所提供,PVY 和 TEV 抗原由西北农林科技大学病毒室提供,TVBMV 抗原由山东农业大学提供。CMV 及 PVY 的多克隆抗体由本实验制备,TMV 和 TEV 的单克隆及多克隆抗体购自中国烟草总公司青州烟草研究所,TVBMV 的单克隆及多克隆抗体均购自山东农业大学。碱性磷酸酶标记的羊抗鼠 IgG 及羊抗兔 IgG 购自美国 Promega 公司。

1.2 方 法

1.2.1 样品制备 取 1.0 g 烟叶样品(或 1.0 g 植物样品),加入 10 mL 磷酸盐缓冲液研磨,4 ℃、4 000 r/min 离心 5 min,取上清液进行检测。

1.2.2 间接 ELISA 法检测 CMV 和 PVY 检测采用间接 ELISA 法,具体参考青玲等^[15]的方法进行。试验显色底物为硝基苯磷酸酯钠盐 pNPP

(Promega 公司生产),加入底物后 50 min 在酶标仪(Benchmark 型,Bio-Rad 公司)上测 405 nm 处的 OD 值,分别以 CMV 及 PVY 的标准抗原为阳性对照,OD 值大于或等于阴性对照 2 倍的判断为阳性,OD 值小于阴性对照 2 倍的判断为阴性。间接 ELISA 测定时每个样品均设 3 次重复。统计烟叶及植物样品中检测呈阳性样品数,并计算病毒检出率。病毒检出率=病毒阳性样品数/总样品数×100%。

1.2.3 三抗体夹心 ELISA 法(TAS-ELISA)检测 TMV、TEV 及 TVBMV 检测采用三抗体夹心法,具体参考青玲等^[16]的方法。试验显色底物为硝基苯磷酸酯钠盐 pNPP,加入底物后 50 min 在酶标仪上测 405 nm 处的 OD 值,分别以 TMV、TEV 及 TVBMV 的标准抗原为阳性对照,OD 值大于或等于阴性对照 2 倍的判断为阳性,OD 值小于阴性对照 2 倍的判断为阴性。间接 ELISA 测定时每个样品均设 3 次重复。统计烟叶及植物样品中检测呈阳性的样品数,并计算病毒检出率。

2 结果与分析

2.1 烟草主要病毒病种类及侵染类型

采用间接 ELISA 法和三抗体夹心 ELISA 法对本研究采集到的 167 个烟叶样品进行检测,结果见表 1。

表 1 陕西省烟草主要病毒种类及地区分布

项目 Item	病毒检出率/% Percentages of viruses detected							
	延安 Yanan	宝鸡 Baoji	咸阳 Xianyang	商洛 Shangluo	安康 Ankang	铜川 Tongchuan	汉中 Hanzhong	平均值 Average
TMV	0	15.83	0	0	23.53	0	31.44	10.09
CMV	0	8.36	16.49	0	8.62	0	0	4.78
TEV	0	0	0	0	0	0	0	0
PVY	1.22	0.98	0	1.02	8.37	0	0	1.66
TVBMV	8.23	0	0	0	0	0	0	1.18
TMV+CMV	21.85	0	26.17	0	32.53	0	0	11.51
CMV+TEV	0	23.48	8.75	0	0	0	0	4.60
TMV+PVY	0	0	0	1.12	31.24	24.74	31.67	12.68
CMV+PVY	19.25	8.13	23.46	17.38	0	33.36	0	14.51
CMV+TVBMV	6.71	28.33	0	0	0	0	27.89	8.94
TMV+CMV+PVY	0	0	0	26.13	0	21.67	43.33	13.01
CMV+TEV+PVY	15.34	0	14.98	27.33	0	0	0	8.24
CMV+TEV+TVBMV	0	0	4.83	0	0	0	0	0.69
CMV+TEV+PVY+TVBMV	23.36	0	5.23	0	27.83	0	0	8.06
样品数 Number of sample	23	27	22	19	26	24	26	—

由表 1 可见,共有 156 个烟叶样品与 5 种供试抗原中的 1 种或多种抗原发生不同程度的阳性反

应,表明所采集烟叶样品中存在 CMV、TMV、PVY、TEV、TVBMV 5 种病毒。在已检测出的 5 种病毒中,以 CMV 侵染率最高,其单独侵染检出率为 4.78%,复合侵染检出率为 69.56%,总检出率为 74.34%;其次是 PVY,其单独侵染检出率为 1.66%,复合侵染检出率为 56.50%,总检出率为 58.16%;TMV 的总检出率为 47.29%,说明 CMV、PVY、TMV 这 3 种病毒仍然是当前陕西烟区的主要病毒种类。另外,TEV、TVBMV 的总检出率分别为 21.59%,18.87%,表明这 2 种病毒在陕西省也有不同程度的发生。

对 156 个烟草病毒阳性样品进行病毒侵染类型分析,其中有 28 个阳性样品检测出为单一病毒侵染,病毒总检出率为 17.95%。在单一病毒侵染的烟叶样品中,发现了 TMV、CMV、PVY 及 TVBMV 病毒,其检出率分别为 10.09%,4.78%,1.66%,1.18%,未检测出 TEV 病毒单独侵染。

在 156 个烟草病毒阳性样品中,有 128 个烟草病毒阳性样品被检测到了 2 种以上病毒的复合侵染,共有 9 种复合侵染类型,病毒总检出率为 82.05%。其中 2 种病毒复合侵染的类型包括 TMV+CMV、TMV+PVY、CMV+TEV、CMV+PVY、CMV+TVBMV,其侵染检出率分别为 11.51%,12.68%,4.60%,14.51%和 8.94%;3 种复合病毒侵染类型包括 TMV+CMV+PVY、CMV+TEV+PVY、CMV+TEV+TVBMV,其侵染检出率分别为 13.01%,8.24%和 0.69%;4 种病毒侵染类型为 CMV+TEV+PVY+TVBMV,其侵染检出率为 8.06%。

2.2 烟草主要病毒种类的地区分布

由表 1 可以看出,从地区分布来看,陕西省烟草病毒病的病毒种类及其发生频率的地理差异较为明显。安康市的 26 份标样(烟草品种为 NC89)中, TMV、CMV、PVY 的单独检出率分别为 23.53%, 8.62%,8.37%;TMV+CMV、TMV+PVY 2 种病毒复合侵染的检测率分别为 32.53%,31.24%,说明 TMV、CMV 是当地的主要病毒类群,且两者复合侵染严重;PVY 在该地也有一定程度发生。在汉中市 26 份标样(烟草品种为 CT862)中, TMV 单独侵染检出率为 31.44%; TMV+PVY、TMV+CMV+PVY 复合侵染检出率分别为 31.67%, 43.33%,说明 TMV 是当地的主要病毒种类。延安市 23 份样品(烟草品种为 K326)中,TVBMV 检

率为 8.23%; TMV+CMV、CMV+PVY、CMV+TVBMV、CMV+TEV+PVY、CMV+TEV+PVY+TVBMV 复合侵染检出率分别为 21.85%, 19.25%,6.71%,15.34%,23.36%,CMV 的总检出率达 77.01%,说明 CMV 是当地主要病毒种类,且与其他病毒形成了严重的复合侵染。宝鸡市 27 份标样(烟草品种为 K326)中, TMV、CMV 的单独检出率分别为 15.83%,8.36%,CMV+TEV、CMV+PVY、CMV+TVBMV 的复合检出率分别为 23.48%,8.13%,28.33%,CMV 的总检出率为 68.30%,表明 CMV 是当地主要病毒种类。铜川市 24 份标样(烟草品种为 NC89)中, TMV+PVY、CMV+PVY、TMV+CMV+PVY 复合侵染检出率分别为 24.74%,33.36%,21.67%,说明 PVY 是主要的病毒类群,其次是 TMV 和 CMV。商洛市烟区 19 份样品(烟草品种分别为 GO1、951-4)中, CMV+PVY、TMV+CMV+PVY、CMV+TEV+PVY 的复合侵染检出率分别为 17.38%,26.13%, 27.33%,说明 CMV、PVY 这 2 种病毒是当地主要病毒种类。

2.3 田间烟草病毒病症状的多样性

对采自安康、宝鸡等 7 个地市部分烟草病毒病样品进行症状观察,并结合 ELISA 法进行检测,结果(表 2)发现,田间烟草样品表现出复杂的病毒病症状。单一病毒侵染类型在不同地区引起的症状表现不同,PVY 单独侵染在宝鸡、安康、延安、商洛等地分别表现典型花叶,茎部坏死,叶脉坏死,叶片皱缩、扭曲、变狭长等不同外部症状,说明同一病毒侵染类型表现出了症状多样性特点。几种病毒复合侵染时引起的症状也具有多样性,PVY、CMV、TMV 这 3 种病毒复合侵染在田间发生较为普遍,其中 CMV+PVY 复合侵染烟草在不同地区表现出植株丛枝、曲顶,出现叶片“橡树纹”,叶脉坏死,叶片皱缩、扭曲,植物矮化等不同症状。

2.4 烟田周围植物样品携带病毒情况

对安康、宝鸡等 7 个地市(县)烟草种植区烟田周围的 7 科 23 种共计 279 个植物样品进行 ELISA 鉴定,共检测出 176 个植物样品携带烟草病毒,病毒检出率为 63.08%。烟田周围植物样品中病毒检出率最高为刺儿菜,其病毒检出率高达 92.86%;其次为番茄、茄子、辣椒、蚕豆,其病毒检出率分别为 90.91%,87.50%,86.67%,78.57%(表 3)。

表 2 感染病毒烟草部分样品的症状特征

Table 2 Symptom characteristics of some tobacco virus diseases

病毒种类 Virus types	地点 Location	症状特征 Symptom characteristics
PVY	宝鸡 Baoji	典型花叶 Typical mosaic symptom
	安康 Ankang	茎部坏死 Stem necrosis
	延安 Yanan	典型花叶,叶片皱缩、扭曲、狭长,茎部坏死 Leaves were very narrow,twisted and elongated,stem necrosis
TMV+PVY	商洛 Shangluo	黄斑,叶脉坏死 Yellowing spot,vein necrosis
	汉中 Hanzhong	叶片皱缩、黄化 Leaves were crinkled and yellowing
	铜川 Tongchuan	叶片皱缩、畸形,植株矮化 Infected leaves were crinkled,distorted,Infected plants were dwarfed
	安康 Ankang	叶片斑驳,叶脉坏死 Mottling,vein necrosis
CMV+PVY	延安 Yanan	植株丛枝、曲顶 The plant were phyllody,curly top
	商洛 Shangluo	叶片出现“橡树纹” The leave showed “oak leaf” pattern
	安康 Ankang	叶片皱缩、扭曲、变狭长 Leave appeared puckered,distortive elongated
	宝鸡 Baoji	叶缘扭曲上卷黄化 Leaves curl downward,yellowing
TMV+CMV+PVY	商洛 Shangluo	叶片皱缩、黄化 Leaves crinkled and yellowing
	汉中 Hanzhong	叶片变狭长且严重皱缩,茎部坏死 Leaves were elongated,and severely shriveled,stem necrosis

表 3 烟田周围植物携带烟草病毒情况的调查结果

Table 3 Test results of plants carrying virus in areas surrounding tobacco fields

植物种类 Plant species	田间症状 Field symptoms	病毒病样品数 Number sample with virus				样品总数 Total samples	病毒检出率/% Percentages of viruses detected
		TMV	CMV	PVY	合计 Total		
茄科 Sloanaceae							
番茄 <i>Solanum lycopersicum</i>	M	11	9	0	20	22	90.91
茄子 <i>Solanum melongena</i>	M	6	8	0	14	16	87.50
黄果茄 <i>Solanum xanthocarpum</i>	M	—	4	6	10	15	66.67
枸杞 <i>Lycium chinense</i>	M	1	—	2	3	5	60.00
辣椒 <i>Capsicum frutescens</i>	M	3	5	5	13	15	86.67
马铃薯 <i>Solanum tuberosum</i>	M	—	—	13	13	25	52.00
龙葵 <i>Solanum nigrum</i>	M	—	2	—	2	4	50.00
曼陀罗 <i>Datura stramonium</i>	VN,Dis	—	5	—	5	10	50.00
洋酸浆 <i>Physalis floridana</i>	VN	2	—	3	5	12	41.67
菊 科 Compositae							
刺儿菜 <i>Cirsium seputum</i>	VN	21	3	2	26	28	92.86
野苘蒿 <i>Gynura crepidioides</i>	Dis	4	—	—	4	8	50.00
莴苣 <i>Lactuca sativa</i>	M	2	6	2	10	17	58.82
豆科 Leguminosae							
蚕豆 <i>Vicia faba</i>	M	—	5	6	11	14	78.57
豇豆 <i>Vigna sinensis</i>	M	1	2	—	3	10	33.33
藜科 Chenopodiaceae							
千日红 <i>Gomphrena globosa</i>	VN	3	1	—	4	11	36.36
灰绿藜 <i>Chenopodium amaranticolor</i>	LN	—	1	—	1	3	33.33
菠菜 <i>Spinacia oleracea</i>	Dis	—	3	—	3	8	37.5
十字花科 Cruciferae							
油菜 <i>Brassica campestris</i>	M	3	3	3	9	20	45.00
萝卜 <i>Raphanus sativus</i>	LN	5	3	—	8	12	66.67
白菜 <i>Brassica chinensis</i>	M	2	—	1	3	10	33.33
蝶形花科 Papilionaceae							
苜蓿 <i>Medicago Sativa</i>	M	1	4	—	5	11	45.45
菜豆 <i>Phaseolus vulgaris</i>	M	—	2	—	2	7	28.57
伞形科 Umbelliferae							
芹菜 <i>Apium graveolens dulce</i>	LN	2	—	—	2	6	33.33
合计 Total		67	66	43	176	279	63.08

注:Dis. 畸形;M. 花叶. LN. 局部坏死;VN. 叶脉坏死。

Note;M. Mosaic; Dis. Distortion; LN. Local necrosis ;VN. Vein necrosis.

2.5 烟田周围植物样品携带病毒种类

在 176 个检测出携带有烟草病毒的植物样品中,共检测到 TMV、CMV 和 PVY 3 种病毒,未检测出 TEV 和 TVBMV,其中 TMV 的检出率最高,有 67 个样品检测出携带 TMV 病毒;其次是 CMV,有 66 个样品携带 CMV;PVY 检出率相对较低,有 43 个样品检测出携带 PVY 病毒。另外, TMV、CMV 和 PVY 3 种病毒复合侵染较为普遍,检测出的 176 个携带烟草病毒植物样品中,144 个植物样品可同时被检测出 TMV、CMV 和 PVY 3 种病毒中的 2 种或 2 种以上;其中在陕西省烟田常见杂草刺儿菜、茄科蔬菜辣椒、菊科蔬菜莴苣及十字花科作物油菜 4 种植物共 58 个样品同时检出了 TMV、CMV 和 PVY 3 种病毒,在马铃薯、龙葵、曼陀罗、野茼蒿、灰绿藜、菠菜、菜豆和芹菜 8 种植物 32 个样品中仅检测出了 1 种病毒,在其余 11 种植物 86 个样品中均检测到 TMV、CMV 和 PVY 3 种病毒中的任意 2 种(表 3)。

3 讨 论

本研究结果表明,CMV、TMV、PVY 是当前陕西省烟草上的 3 大主要病毒,其次是 TEV 和 TVBMV,这与 2005 年王秀敏等^[10]的研究结果有一定差异。表明 2005—2011 年的 6 年间,陕西省烟草病毒主要类群发生了较为明显的变化。本研究发现,在陕西大部分烟草种植区 CMV 已取代 TMV 和 TEV 成为新的优势毒种,同时 PVY 检出率在部分烟区(铜川、商洛)有明显上升趋势,而 TEV 的检出率有所下降。陕西省烟草产区优势毒原的变化给烟草病毒病的防治工作带来了极大困难,值得高度重视。针对这种情况,建议烟草种植区在利用抗病品种、调整烟苗移栽期、覆盖纱网育苗等已有的农业防治技术的基础上,应结合新的化学、生物防治技术,制定烟草病毒病的综合防治措施。

据 Roggero 等^[4]2000 年报道,在陕西烟区首次发现 TVBMV,该病害在陕西省发生程度较轻。在近几年由于烟草品种改变、气候等因素的影响,TVBMV 在陕西烟区有逐年上升的趋势^[17]。在本研究中,其在延安市的单独检测率为 8.23%,同时该病毒还可与 CMV、TEV、PVY 形成复合侵染类型,其总检出率为 18.87%。目前,在烟草栽培种和野生种中还没有发现对 TVBMV 有抗性的品种,因而 TVBMV 具有快速传播蔓延,造成烟草严重损失的潜在危险^[18]。

李惠琴^[9]、王秀敏等^[10]分别在对陕西烟草病毒病调查研究时发现,在陕西烟区除 TMV、CMV、TEV 及 PVY 4 种主要病毒病外,PVX、烟草环斑病毒(*Tobacco ringspot virus*, TRSV)在陕西部分地区也有不同程度发生。本研究由于没有制备 PVX、TRSV 这 2 种病毒的标准抗原及抗体,未对烟草样品进行这 2 种病毒的检测,故不能排除烟草样品感染这 2 种病毒的可能性。在此次检测的烟草样品中,有 11 个烟草样品中未检测到 TMV、CMV、TEV、PVY 及 TVBMV 5 种病毒,但烟草样品却表现出明显的病毒病症状,说明这些样品中可能含有其他未检测到的病毒种类,田间烟草感病样品症状的复杂性可能与此有关。

本研究发现,田间烟草病毒复合侵染现象严重,156 个烟草阳性样品中,128 个烟草阳性样品检测到 2 种以上病毒的复合侵染,总检出率为 82.05%。共检测出 9 种复合侵染类型,感染病毒的烟草样品表现出了复杂的病毒病症状,其中 TMV+CMV、TMV+PVY、CMM+PVY 的复合侵染检出率分别为 11.51%,12.68%,14.51%,TMV+CMV+PVY 复合侵染检出率为 13.01%,这 3 种病毒的复合侵染在田间发生较为普遍,同时在田间表现出典型花叶、茎部坏死、叶脉坏死、叶片皱缩、植物矮化等不同症状,对烟株正常生长造成了严重威胁,是当前生产上亟待解决的主要问题。

本研究利用 ELISA 测定的植物样品主要为烟田周边的农作物、蔬菜及田间杂草,从所检测的 7 科 23 种植物中均检测出了 TMV、CMV 和 PVY 3 种病毒中的 1 种或 2 种。说明烟田周边的部分农作物、蔬菜及田间杂草等植物是这些病毒病重要的初侵染源,尤其以部分茄科蔬菜和田间杂草的病毒携带率较高,这些植物所携带的病毒往往成为来年烟田病毒病发生的重要初侵染源。为有效控制烟草病毒病的传播危害,可对烟草种植区内的作物种植结构进行适当调整和重新规划布局,部分茄科作物应与烟草在地理位置上间错种植;同时应加强烟田卫生,及时铲除烟田周边杂草,清除潜在毒源。此次试验结果中没有检出 TEV,这与张满良等^[19]的结果不一致。这可能与采样地点不同及样品数量偏少有一定的关系,致使在田间未能采集到携带有 TEV 的植物样品。

[参考文献]

[1] 陈瑞泰,朱贤朝,王智发,等. 全国 16 个主产烟省(区)烟草侵染

性病害调研报告 [J]. 中国烟草科学,1997(4):1-7.

Chen R T,Zhu X C,Wang Z F,et al. A report of investigating and studying tobacco infectious diseases of 16 main tobacco producing provinces (regions) in China [J]. Chinese Tobacco Science,1997(4):1-7. (in Chinese)

[2] 彭曙光. 我国烟草病毒病的发生及综合防治研究进展 [J]. 江西农业学报,2011,23(1):115-117.

Peng S G. Research advance in occurrence and integrated control of tobacco virus diseases in China [J]. Acta Agriculturae Jiangxi,2011,23(1):115-117. (in Chinese)

[3] 马国胜,何博如. 烟草病毒病的发生与防治研究进展 [J]. 河南农业科学,2005(2):42-46.

Ma G S,He B R. Research advance on occurrence and control of virus diseases in tobacco [J]. Journal of Henan Agricultural Sciences,2005(2):42-46. (in Chinese)

[4] Roggero P,Accotto G P,Ciufo M,et al. First report of *Tobacco vein banding mosaic virus* in China(Xi'an,Shaanxi Province)in *Datura stramonium* and tobacco [J]. Plant Disease,2000,84(10):1151-1156.

[5] 李 凡,陈海如. 引起烟草病害的病毒种类研究 [J]. 云南农业大学学报,2001,16(2):160-166.

Li F,Chen R H. Studies on plant viruses associated with tobacco diseases [J]. Journal of Yunnan Agricultural University,2001,16(2):160-166. (in Chinese)

[6] 马国胜,何博如. 烟草病毒研究现状与展望 [J]. 中国生态农业学报,2006,14(2):150-153.

Ma G S,He B R. Current status and recent advances on the tobacco viruses [J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture,2006,14(2):150-153. (in Chinese)

[7] 朱贤朝,王彦亭,王智发. 中国烟草病害 [M]. 北京:中国农业出版社,2002:85.

Zhu X C,Wang Y T,Wang Z F. Tobacco diseases of China [M]. Beijing:China Agricultural Science,2002:85. (in Chinese)

[8] 张满让,成巨龙,安德荣,等. 陕西烟草主要蚜传病毒病发生及预测预报研究 [J]. 西北农业学报,2000,9(2):49-53.

Zhang M R,Chen J L,An D R,et al. The occurring and developing regularity, the establishment of the primary forecasting model of tobacco virus spread by aphids in Shaanxi [J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica,2000,9(2):49-53. (in Chinese)

[9] 李惠琴. 陕西省烟草侵染性病害调查研究 [J]. 陕西农业科学,1994(5):25-27.

Li H Q. Research on tobacco infectious disease in in Shaanxi [J]. Journal of Shaanxi Agricultural Sciences,1994(5):25-27. (in Chinese)

[10] 王秀敏,吴云锋,成巨龙,等. 陕西烟草病毒病原鉴定及种群区系分布 [J]. 烟草科技,2005(8):38-42.

Wang X M,Wu Y F,Chen J L,et al. Identification of tobacco virus diseases pathogen and distribution of virus community in Shaanxi Province [J]. Tobacco Science,2005(8):38-42. (in Chinese)

[11] 杨 松. 烟草种传烟草花叶病毒(TMV)的初步研究 [D]. 杭州:浙江大学,2005.

Yang S. Preliminary study on seed-borne transmission of tobacco mosaic virus in tobacco [D]. Hangzhou:Zhejiang University,2005. (in Chinese)

[12] 佟 英,鲁世军,张务水. 烟草病毒感染机理及其综合防治 [J]. 中国烟草学报,2003,6(9):39-42.

Tong Y,Lu S J,Zhang W S. On the mechanism of tobacco virus infection and its prevention and control [J]. Acta Tabacaria Sinica,2003,6(9):39-42. (in Chinese)

[13] 张宏瑞,李正跃. 媒介昆虫与烟草病毒病关系的研究 [J]. 云南农业大学学报,2001,16(3):231-235.

Zhang H R,Li Z Y. Studies on the relationship between transmission insect vectors and tobacco virus diseases [J]. Journal of Yunnan Agricultural University,2001,16(3):231-235. (in Chinese)

[14] 汪 莹,夏先全,杨 建,等. 四川烟草病毒毒源植物检测及分析 [J]. 西南农业学报,2011,24(5):2217-2220.

Wang Y,Xia X Q,Yang J,et al. Dermination and analysis of tobacco virus host plant in Sichuan [J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences,2011,24(5):2217-2220. (in Chinese)

[15] 青 玲,刘映红,马丽娜. 武隆烟区烟草病毒病的病原初步鉴定 [J]. 西南农业大学学报,2005,27(5):319-322.

Qing L,Liu Y H,Ma L N. Preliminary identification of tobacco virus types in Wulong county [J]. Journal of Southwest Agricultural University,2005,27(5):319-322. (in Chinese)

[16] 青 玲,吴建祥,戚益军,等. 蚕豆萎蔫病毒单克隆抗体制备及检测应用 [J]. 微生物学报,2000,40(2):166-173.

Qing L,Wu J X,Qi Y J,et al. Production of monoclonal antibodies to broad bean wilt virus and application in virus detection [J]. Acta Microbiologica Sinica,2000,40(2):166-173. (in Chinese)

[17] 刘 萍,纪玲玲,郝兴安,等. 陕西烟区烟草脉带花叶病毒外壳蛋白基因的克隆和原核表达 [J]. 中国烟草学报,2011,10(17):86-89.

Liu P,ji L L,Hao X A,et al. Cloning and prokaryotic expression of the coat protein gene of *Tobacco vein banding mosaic virus* from Shaanxi Province [J]. Acta Tabacaria Sinica,2011,10(17):86-89. (in Chinese)

[18] Habera L F,Berger P H,Reddick B. Molecular evidence from 3'-terminus sequence analysis that tobacco vein-banding mosaic virus is a distinct member of the potyvirus group [J]. Arch Virol,1994(138):27-38.

[19] 张满良,魏宁生. 渭北烟区烟草蚀纹病毒和黄瓜花叶病毒感染循环的研究 [J]. 中国烟草学报,1992(1):53-60.

Zhang M L,Wei N S. Studies on the infection cycle of *Tobacco etch virus* and *cucumber mosaic virus* in the regions north to the Wei river in Shanxi [J]. Acta Tabacaria Sinica,1992(1):53-60. (in Chinese)