

β -罗勒烯对烟草普通花叶病毒防控效果的研究

曾维爱^{1*}, 黄生林^{2*}, 翟争光¹, 蔡海林¹, 周世民¹, 谢鹏飞¹, 李帆¹, 阮颖², 刘春林^{2#}

¹湖南省烟草公司长沙市公司, 湖南 长沙

²湖南农业大学农学院, 湖南 长沙

收稿日期: 2024年10月26日; 录用日期: 2024年12月11日; 发布日期: 2024年12月19日

摘要

β -罗勒烯作为一种在植物生理生态系统中起着关键通讯作用的信号分子, 在防控烤烟烟草普通花叶病毒病(TMV)方面展现出了极为明显的效果。室内盆栽试验中, 处理组发病率比对照组低49.6%, 病情指数下降65.21%。大田试验中, β -罗勒烯效果优于化学农药, 控制效果达57.67%至64.71%。病情上升率统计显示, β -罗勒烯诱导的植株病情指数仅上升18.68%, 远低于化学农药和对照组。这表明 β -罗勒烯不仅在初始阶段有效防控TMV, 还能持续抑制病情恶化。这一系列数据表明, β -罗勒烯为大田防控TMV提供了一种创新、高效的方法, 减少化学农药依赖, 推动绿色农业发展, 为农业现代化提供支撑。

关键词

β -罗勒烯, 信号分子, 烟草普通花叶病毒, 发病率, 病情指数

Research on the Control Effect of β -Ocimene on Tobacco Mosaic Virus

Wei'ai Zeng^{1*}, Shenglin Huang^{2*}, Zhengguang Zhai¹, Hailin Cai¹, Shimin Zhou¹, Pengfei Xie¹, Fan Li¹, Ying Ruan², Chunlin Liu^{2#}

¹Hunan Tobacco Company Changsha Company, Changsha Hunan

²College of Agriculture, Hunan Agricultural University, Changsha Hunan

Received: Oct. 26th, 2024; accepted: Dec. 11th, 2024; published: Dec. 19th, 2024

Abstract

β -Ocimene, as a signal molecule that plays a key communication role in the plant physiological

*同等贡献。

#通讯作者。

文章引用: 曾维爱, 黄生林, 翟争光, 蔡海林, 周世民, 谢鹏飞, 李帆, 阮颖, 刘春林. β -罗勒烯对烟草普通花叶病毒防控效果的研究[J]. 生物过程, 2024, 14(4): 218-224. DOI: 10.12677/bp.2024.144027

ecosystem, has shown extremely obvious effects in the prevention and control of common Tobacco mosaic virus disease (TMV) in flue-cured tobacco. In the indoor pot experiment, the incidence rate of the treatment group was 49.6% lower than that of the control group, and the disease index decreased by 65.21%. In the field experiment, the effect of β -ocimene was better than that of chemical pesticides, and the control effect reached 57.67% to 64.71%. The statistics of the disease increase rate showed that the disease index of the plants induced by β -ocimene only increased by 18.68%, which was much lower than that of chemical pesticides and the control group. This indicates that β -ocimene not only effectively prevents and controls TMV in the initial stage, but also continuously inhibits the deterioration of the disease. This series of data shows that β -ocimene provides an innovative and efficient method for the field prevention and control of TMV, reduces the dependence on chemical pesticides, promotes the development of green agriculture, and provides support for agricultural modernization.

Keywords

β -Ocimene, Signal Molecule, Tobacco Mosaic Virus, Incidence, Disease Index

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

烟草普通花叶病毒病是世界烟草生产上危害最严重的病害之一[1]。烟草普通花叶病毒(Tobacco Mosaic Virus, TMV)具有寄主范围广、抗逆性强、危害大等特点,在全世界烟草主产区均有分布,造成烟草和其他农作物的产量降低甚至绝收[2]。它主要感染烟草,但也能影响其他多种植物,包括蔬菜、花卉和一些观赏植物。烟草普通花叶病毒对烟草的危害主要表现在叶片上。感染 TMV 的烟草叶片会出现黄绿相间的斑驳,随着病情的发展,叶片会变得粗糙、皱缩并出现深绿色的条纹或斑点[3] [4]。这些症状会导致叶片的光合作用能力下降,从而影响植株的生长和发育。此外,受感染的植株生长速度会减慢,严重时会导致植株矮化。由于叶片受损和生长受阻,烟草的产量会显著减少。同时,受感染的叶片中的尼古丁含量可能会增加,这会影响烟草的品质和口感[5]。

因此,控制烟草花叶病的危害已成为当前烟草生产中的主要难题。目前,烟草花叶病的防治方法主要有农业防治、物理防治、生物防治和化学防治。农业防治包括选用抗病品种和加强栽培管理[6] [7],但是缺点周期长且推广难,传统的杂交育种培育出一个既具有优良农艺性状又对烟草花叶病毒有高抗性的烟草品种,通常需要经过 5~15 年甚至更长时间的杂交、回交和筛选过程。目前,物理防治成本高且实施难度大,如 20 世纪 80 年代我国就有银灰色薄膜覆盖避蚜防病技术,不过未能大面积推广,其中最重要的原因就是成本过高[8]。生物防治效果不稳定且技术复杂,化学防治会导致环境污染和农药残留问题,威胁人类的健康[9]-[11]。所以,寻找一种新的防治烟草普通花叶病毒的方法就受到了越来越多的关注,而利用诱导植物抗性来防治烟草病毒病逐渐走进了人们的视野。

植物防御反应在感染部位被激活后,通常会在远端部分触发系统防御反应,这种抗病性叫系统获得性抗(SAR),特征是特定 PR 基因协同激活,可由 PTI 和 ETI 触发,与 SA 水平增加相关[12] [13]。SA 信号传导受损的植物不能发展 SAR 且无 PR 基因激活,表明 SA 是必要中间体。调节蛋白 NPR1 是 SA 信号转导子,被 SA 激活后作为转录共激活因子。现有研究表明 β -罗勒烯可以刺激植物产生获得性抗性(SAR) [14]。

β -罗勒烯作为一种能够诱导植物产生防御反应的植物通讯信号分子, 已有研究报道它可以解除植物水杨酸(SA)途径和茉莉酸(JA)途径之间的拮抗作用, 促进抗性基因 *PR1* 基因和 *PDF1.2* 基因表达水平的同时增加, 从而达到使植物既抗虫又抗病的效果[15][16]。简而言之, β -罗勒烯在抵抗烟草病毒病方面具有巨大潜力。现在, 使用 β -罗勒烯作为试剂, 深入研究其在防控普通烟草花叶病毒方面的有效性, 旨在为普通烟草花叶病毒病的防控开辟新的思路。

2. 材料与方法

2.1. 实验材料

烤烟品种: “云烟 87”(湖南农业大学农学院烟草科学重点实验室馈赠)。采用漂浮育苗的方法育苗, 待烟苗长至两叶一心时挑选长势一致且未受胁迫的烟苗移栽至直径 10 cm, 深度为 15 cm 的钵子中, 长至五叶一心后待用。

2.2. 试剂

β -罗勒烯, 购自西格玛公司; 10 L 干燥罐; 玻片; 化学农药: 烯烯醇(有效成分含量 0.06%)。

2.3. 试验地点与时间

湖南农业大学作物代谢调控与代谢工程实验室, 长沙市浏阳烟草试验基地(经度: 113.85°, 纬度: 28.29°)。

试验时间: 2024.03~2024.08。

2.4. 试验设计

该试验设计并涵盖了室内盆栽试验和大田试验这两个部分, 旨在全面、系统地研究 β -罗勒烯对烟草相关特性的影响以及其在实际应用中的效果。

在室内盆栽试验中, 为了确保试验结果的准确性和可靠性, 设置两个处理组。每个处理都进行三次重复操作, 而每次重复均包含三株烟苗, 以此增加样本数量, 减少误差。其中, 经过 β -罗勒烯诱导的烤烟被明确设定为处理组, 这些烟苗在特定的条件下接受 β -罗勒烯的处理, 以观察其在病毒抗性等方面的变化。而未经 β -罗勒烯诱导的烤烟则作为对照组, 需要注意的是, 除了未接受 β -罗勒烯诱导这一关键差异外, 对照组的其他操作条件, 包括光照、温度、水分、土壤肥力等方面, 均与处理组保持严格一致, 以便更准确地评估 β -罗勒烯的作用效果。

在大田试验中, 为了进一步探究 β -罗勒烯在实际田间环境中的表现, 并与传统防治方法进行对比, 设置了三个处理类别。将施用 β -罗勒烯的田块明确划分为处理组, 未施用 β -罗勒烯且未施用化学农药的田块作为对照组。同时, 还设置了施用化学农药的田块为化学农药组, 用于与 β -罗勒烯处理组进行对比, 分析不同防治手段在大田环境中的优劣。在进行病害调查时, 各组均采用五点取样法, 即在每个田块中选取五个具有代表性的点进行调查。在每个取样点, 随机调查 50 株烤烟, 以获取足够的数据进行统计分析。此外, 为了防止各处理之间因气流、水流、土壤传播等因素产生相互影响, 各处理之间使用黑色薄膜进行阻隔, 并且间隔距离达到 5 米, 这样可以有效避免不同处理之间的交叉干扰, 使每个处理都能在相对独立的环境中进行。

2.5. 调查内容及方法

在室内培育烟苗的过程中, 需密切关注烟苗的生长状态。当烟苗逐渐生长至五叶一心的关键阶段时, 从中仔细挑选出那些长势均匀一致的烟苗。这些烟苗的叶片大小、茎干粗细等生长指标应较为相近, 以

保证试验的一致性。同时,所选烟苗必须具备健壮的生长态势,而且,这些烟苗在整个培育过程中未曾遭受过任何诸如干旱、病虫害等胁迫因素的影响,为试验结果的准确性和可靠性奠定基础。

在对烟苗进行 β -罗勒烯诱导处理时,处理完成后,将 TMV 病毒接种到处理组和对照组的烟株上时,要精确控制接种量,保证两组烟株所接受的病毒量完全相同,避免因接种量的差异而影响试验结果。同时,接种的部位也需保持一致,且接种面积也要精确控制,使处理组和对照组在这一方面不存在任何差异。为了进一步提高试验的可靠性,每个处理都要设置三个重复,以减少偶然因素对试验结果的影响。在烟株发病后,要及时、准确地统计不同处理下的发病率和病情指数。

进一步在大田实验中,从移栽后的第 15 天开始,每隔两周对各处理分别施加罗勒烯和化学农药。在施加过程中,要严格控制剂量和施加方式,确保每个处理区域都能接受到准确的处理。在烤烟旺长期和初花期这两个关键的生长阶段,采用五点取样法对 TMV 发病率和病情指数进行调查。在选取取样点时,要保证其具有代表性,能够涵盖大田不同位置的情况。在每一个取样点,调查 50 株烤烟,对每株烤烟的发病症状进行准确判断和记录,包括叶片上的病斑数量、大小、形状以及分布情况等。

对于发病指标进行调查,参照国家标准 GB/T23222-2008 评估病害等级。病毒病病情指数及发病率计算公式如下:

$$\text{病情指数} = \frac{\sum(\text{各级病株(叶)数} \times \text{相对级值})}{\text{调查总株(叶)数} \times \text{最大级值}} \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{发病率}(\%) = \frac{\text{发病株(叶)数}}{\text{调查总株(叶)数}} \times 100\% \quad (2)$$

$$\text{防治效果}(\%) = \frac{\text{对照病情指数} - \text{处理病情指数}}{\text{对照病情指数}} \times 100\% \quad (3)$$

$$\text{防治效果}(\%) = \frac{\text{对照病情指数} - \text{处理病情指数}}{\text{对照病情指数}} \times 100\% \quad (4)$$

3. 结果与分析

3.1. β -罗勒烯诱导烟株防御烟草普通花叶病毒病

外源施加 β -罗勒烯显著诱导烤烟植株对 TMV 产生抗性。接种 TMV 后,处理组烟株发病情况显著低于对照组(图 1)。对照组发病率高达 81.6%,而处理组仅为 32.0%,降幅达 60.7%。从病情指数看,对照组为 76.67,处理组仅为 26.67,降幅达 65.21%(表 1)。这表明 β -罗勒烯有效控制了 TMV 病毒传播和增殖,这种良好的防控效果为后续的大田实验提供了坚实的依据。



Figure 1. Effect of indoor prevention and control of TMV in β -ocimene (A): Control (CK); (B): β -ocimene

图 1. β -罗勒烯室内防控 TMV 的效果(A): 对照(CK); (B): β -罗勒烯处理

Table 1. The prevention and control effect of A β -ocimene TMV
表 1. β -罗勒烯对 TMV 的防控效果

处理	发病率(%)	病情指数	防治效果(%)
对照	81.6 \pm 7.6a	76.67 \pm 9.4a	—
罗勒烯	32.0 \pm 4.4b	26.67 \pm 3.7b	65.21

注：不同处理对应的各项数值中不同的小写字母表示单因素方差分析在 0.05 水平下，差异显著。

外源施加 β -罗勒烯显著减轻了 TMV 在植株上的危害症状，通过直观观察即可辨别(图 2)。接种 TMV 病毒后，对照组烟株 7 天后开始显现花叶症状，而处理组烟株未出现花叶情况。对照组新叶出现褪绿斑点，随后逐渐扩大形成花叶，处理组新叶几乎未受侵害。这表明 β -罗勒烯有效抑制了 TMV 的增殖与转运，使烟株展现出强抗性。室内盆栽试验证实， β -罗勒烯作为植物通讯信号分子，具备诱导烟株抗 TMV 的独特能力，为其实际应用提供了理论支持和实践依据。

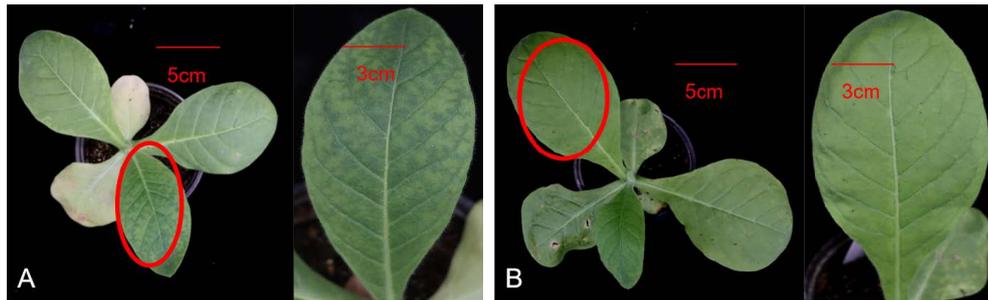


Figure 2. Effect of β -ocimene induced treatment on the accumulation of TMV in tobacco plants (A): Control (CK); (B): β -ocimene

图 2. 经 β -罗勒烯诱导处理后对 TMV 在烟株上发病情况(A): 对照(CK); (B): β -罗勒烯处理

3.2. 大田施用 β -罗勒烯对烟草普通花叶病毒病的防治效果

在自然状况下，于旺长期开展首次针对 TMV 的发病率及病情指数的调查(图 3)。

在对照组烟田中，TMV 发病率较高，达 10.5%，病情指数为 2.15。相比之下，施用 β -罗勒烯的烟田显著改善，发病率降至 5.3%，病情指数仅为 0.91。化学农药组发病率为 6.0%，病情指数为 1.40。数据分析显示， β -罗勒烯防治效果达 57.76%，优于化学农药的 34.88%。初花期第二次调查中，各处理发病率及病情指数均上升，但 β -罗勒烯组上升趋势较平缓，病情指数上升幅度极小。最终， β -罗勒烯防治效果上升至 64.71%，显著优于化学农药的 38.86% (表 2)。大田实验证明， β -罗勒烯凭借显著的抗病毒效果和独特机制，可作为防控烟草普通花叶病毒病的新型试剂。

Table 2. Effect of different field treatments on the prevention and control of TMV
表 2. 大田不同处理对 TMV 的防控效果

处理	旺长期			初花期		
	发病率%	病情指数	防效%	发病率%	病情指数	防效%
对照	10.5 \pm 2.1a	2.15 \pm 0.46a	—	13.1 \pm 2.6a	3.06 \pm 0.63a	—
罗勒烯	5.2 \pm 0.9b	0.91 \pm 0.27c	57.67	7.5 \pm 1.8b	1.08 \pm 0.56c	64.71
化学农药	6.0 \pm 1.2b	1.32 \pm 0.52b	34.88	8.2 \pm 2.2b	1.84 \pm 0.60b	39.86

注：不同处理对应的各项数值中不同的小写字母表示单因素方差分析 p 值在 0.05 水平下，差异显著。



Figure 3. The incidence of TMV with different treatments (A): Control (CK); (B): B: Chemical pesticides; (C): β -ocimene
图 3. 不同处理 TMV 的发病情况(A): 对照(CK) (B): 化学农药(C): β -罗勒烯

4. 结论

本研究采用室内盆栽试验与大田试验相结合的方式，在室内盆栽实验中，可以精确控制各种环境因素，观察 β -罗勒烯对烟草植株感染 TMV 的初期反应和微观变化，为后续的田间实验提供理论依据和技术参数。而田间实验则更贴近实际生产环境，能够全面了解 β -罗勒烯在复杂田间条件下对 TMV 的防控效果，通过对不同处理的发病率和病情指数的统计，发现罗勒烯对烟草普通花叶病毒有着显著的防控能力。

这有助于开发一种高效、新型、绿色且无残留的烤烟 TMV 防控新方法。该方法将突破传统防治手段的局限性，显著提高对烟草花叶病毒的防治效率，减少病毒对烟草产量和质量的损害。同时，其创新性的特点将为烟草病虫害防治领域带来新的活力和发展方向，推动相关技术的不断进步。

5. 讨论

到目前为止，针对烟草普通花叶病毒(TMV)依然没有有效的防治手段。而利用 β -罗勒烯防治烟草花叶病毒的方法具有显著的优势，其操作流程简单，不需要复杂的技术和设备支持，无论是专业的农业技术人员还是普通的烟农，都能够轻松掌握并实施。在使用 β -罗勒烯制成的产品时需要注意的是：应该均匀撒施，避免形成堆积在植株一处，以免产生药害。同时，施用时要避免雨天与大风天气。该方法易于在广大的烟草种植区域进行推广，不受地域、种植规模等因素的限制，能够快速地应用到实际生产中。

这不仅为 TMV 的防控提供了崭新的思路和切实可行的方法，拓宽了烟草病虫害防治的研究视野和实践路径，还为推动烤烟产业的可持续发展奠定了坚实的基础。通过减少病毒危害，保障烟草的稳定生

产和优质供应, 促进烤烟产业在经济、社会和生态环境等多方面实现协调发展, 提升烤烟产业的整体竞争力和可持续发展能力, 为烟草行业的长远发展注入新的动力。

基金项目

本研究由湖南省烟草公司长沙市公司项目(CS2023KJ02)资助。

致谢

本文在撰写和修改过程中, 感谢杨忠龙、陈庆龙、肖亚琴参与实验设计及实验结果分析。

参考文献

- [1] Melton, T.A., Broadwell, A. and Wilson, J. (2005) Disease Management. In: Coop, N.C., Ed., *Flue-Cured Tobacco Information*, North Carolina State University, 150-171.
- [2] 李梅云, 许美玲, 焦芳婵, 等. 不同类型烟草种质资源对 TMV 的抗性鉴定[J]. 烟草科技, 2016, 49(11): 7-13.
- [3] 彭建斐, 莫其会, 邓泽征, 等. 芷江县烟草花叶病的发生与防控药剂筛选[J]. 南方农业, 2024, 18(1): 165-168.
- [4] 田维强, 邢月, 夏秋兰, 等. 贵州省烟草病毒病的发生及综合防治措施[J]. 植物医学, 2022, 1(6): 110-116.
- [5] 白静科, 何雷, 吴彦辉, 等. 河南烟草主要病毒发生种类及侵染类型分析[J]. 中国烟草科学, 2022, 43(1): 49-54.
- [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.
- [7] 黄文川. 论我国烟草抗病毒基因工程[J]. 安徽师范大学学报(自然科学版), 1999, 22(3): 283-285.
- [8] 杨德廉, 王凤龙, 钱玉梅, 等. 我国烟草病毒病的防治研究策略[J]. 中国烟草科学, 2001, 22(1): 48-50.
- [9] 高玉龙, 肖炳光, 童治军, 等. 烟草抗 TMV 基因连锁分子标记的筛选及在抗病资源筛选中的应用[J]. 分子植物育种, 2011, 9(5): 585-591.
- [10] 刘艳华, 王志德, 钱玉梅, 等. 烟草抗病毒病种质资源的鉴定与评价[J]. 中国烟草科学, 2007, 28(5): 1-48.
- [11] 黄婷, 吴云锋, 陈伟, 等. 烟草品种对烟草花叶病毒和黄瓜花叶病毒的抗性鉴定[J]. 植物病理学报, 2013, 43(1): 50-57.
- [12] 谢鑫, 桑维钧, 张新强, 等. 水杨酸诱导烟草抗 TMV 作用的研究[J]. 江苏农业科学, 2011, 39(2): 151-153.
- [13] Morel, J. and Dangel, J.L. (1997) The Hypersensitive Response and the Induction of Cell Death in Plants. *Cell Death & Differentiation*, 4, 671-683. <https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4400309>
- [14] 肖牧. 罗勒烯诱导植物防御反应的分子机制研究[D]: [博士学位论文]. 长沙: 湖南农业大学, 2019.
- [15] Liu, C.L., Ruan, Y., Guan, C.Y., et al. (2004) β -Ocimene Gene Expression Pattern Induced by Ocimene Signaling Molecule. *Science Bulletin*, No. 22, 2373-2374.
- [16] 刘武, 阮颖, 刘春林. 植物防御信号分子 β -罗勒烯的研究进展[J]. 植物生理学报, 2012, 48(2): 103-110.