

几种药剂对烟草漂浮苗干根中烟草花叶病毒的失活效果

刘 勇

云南省烟草科学研究所, 玉溪红塔南祥路 653100

摘 要: 为了提出烟草漂浮育苗旧苗盘残留物中烟草花叶病毒(Tobacco mosaic virus, TMV)的消毒方法, 采用接种枯斑寄主和接种普通烟K326方法, 测定了几种药剂对病苗干根中TMV的失活效果。结果表明, 98%磷酸三钠25 g/L和50 g/L溶液浸湿后塑料膜覆盖2~3 d可使病苗干根中的TMV彻底失活, 40%育宝6.7 g/L溶液浸湿后塑料膜覆盖3~4 d对病苗干根中TMV失活效果高, 推荐这两种药剂用于旧苗盘TMV消毒。下列消毒溶液处理对病苗干根中TMV不能完全失活: 美国消毒剂20 g/L溶液浸湿后塑料膜覆盖5 d, 2%二氧化氯10 g/L溶液、7%有效氯次氯酸钠10 g/L溶液、高锰酸钾3.3 g/L溶液和30%有效氯漂白粉50 g/L溶液浸湿后塑料膜覆盖7 d。上述药剂消毒旧苗盘TMV的浓度和处理方法需要进一步试验。抗病毒剂2%菌克毒克1.7 g/L溶液、3.95%病毒必克2.0 g/L溶液、24%毒消1.7 g/L溶液都不适宜于旧苗盘TMV浸泡法消毒。与药剂浸湿后塑料膜覆盖方法相比, 药剂浸泡法的可操作性差。三抗体夹心法和TMV试纸条检测结果表明, 上述药剂浸泡30~120 min和浸湿后塑料膜覆盖8 h~7 d后, 不能有效破坏干病根样品中TMV抗原。

关键词: 烟草; 漂浮苗; 干根; 烟草花叶病毒; 消毒

中图分类号: S48

文献标识码: A

文章编号: 1004-5708(2008)04-0033-06

The inactivation effects of chemicals to Tobacco mosaic virus in dry roots of tobacco float seedling

LIU Yong

Yunnan Institute of Tobacco Science, Yuxi 653100, China

Abstract: In order to develop methods of inactive tobacco mosaic virus in residues of float tray, the inactivation effects of chemicals to TMV in dry roots of tobacco float seedling were evaluated by local lesion assay and inoculation to tobacco variety K326. Results showed that TMV can be fully inactivated by mulching of plastic film soaked with 98% trisodium phosphate at 25 g/L and 50 g/L for 2 to 3 days, and can be highly inactivated by film soaked with 40% Yubao at 6.7 g/L for 3 to 4 days. Thus, trisodium phosphate was recommended to be applied in disinfection of float tray with mosaic disease, and Yubao in disinfection of float tray without mosaic disease. Chemicals can not highly inactivate TMV in dry roots of tobacco float seedling were as follows: 20 g/L anonymous disinfectant for 5 days, 10 g/L 2% chlorine dioxide, 10 g/L 7% sodium hypochlorite, 3.3 g/L potassium permanganate, and 50 g/L 30% chloride of lime for 7 days. The treatment dosage and time of above chemicals should be further evaluated. Furthermore, 1.7 g/L 2% Junkeduke, 2.0 g/L 3.95% Bingdubike, and 1.7 g/L 24% Duxiao were not feasible in float tray TMV disinfection by soaking method. Compared with mulch after soaking method, chemical solution soaking method was not convenient to operate. Results of TAS-ELISA and TMV-Imunostrip tests showed that chemical solution soaked for 30 min to 120 min or mulch after soaking for 8 hours to 7 days can not destroy TMV antigen in dry tobacco seedling roots.

Key words: tobacco; float seedling; roots; TMV; disinfect

作者简介: 刘 勇, 男, 博士, 主要从事烟草病害和抗病育种研究。Tel: 0877-2075026, E-mail: yliu@yntsti.com

基金项目: 云南省烟草公司基金项目(04A15)

收稿日期: 2007-05-24

由烟草花叶病毒(Tobacco mosaic virus, TMV)引起的烟草花叶病毒病,是为害漂浮苗的最重要病害之一^[1-3]。目前广泛使用的聚苯乙烯泡沫苗盘的密度和机械强度较小,表面较粗糙,清洗消毒比较困难,清洗不彻底的苗盘表面经常粘附残根和基质^[3]。TMV 的稳定性强,在干残体中可存活多年^[4]。因此,有发病史的旧苗盘可能成为漂浮育苗花叶病毒病的一个主要初侵染源。为有效防治该病害,生产上必须对旧苗盘消毒。目前市场上针对烟草育苗用的消毒剂较多,消毒

时间长短不一。有关漂浮育苗用药剂的消毒效果的研究较少^[5-9]。本文选用较常见的几种药剂,模拟旧苗盘消毒,比较其失活烟苗干根中 TMV 的效果,为旧苗盘消毒剂科学使用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 药剂

供试药剂及其使用剂量见表 1,按标签推荐方法配制药液。

表 1 供试药剂及其使用剂量

药剂通用名 (商品名)	厂商	商品稀 释倍数	商品用量/ (g/L)	有效成份 含量/(g/L)
2%二氧化氯水剂	西安维绿环保科技有限公司	100	10.0	0.2
7%有效氯次氯酸钠水剂(消毒王)	广州精博生物技术有限公司	100	10.0	0.7
5 2%有效氯次氯酸钠(化学试剂)	成都化学试剂厂	6.7	150.0	7.8
30%有效氯漂白粉	云南省嵩明县四营化工厂	20	50.0	15.0
40%N-羟乙基亚甲胺多聚物水剂(育宝)	山东鸿汇烟草用药有限公司	150	6.7	2.68
美国消毒剂	云南省烟草公司陈光宏高级农艺师提供	50	20.0	—
98%磷酸三钠(无水,食品级)	云南贝克吉利尼天创磷酸盐有限公司	20	50.0	49.0
98%高锰酸钾(化学纯试剂)	成都化学试剂厂	300	3.3	3.2
2%宁南霉素(菌克毒克)	黑龙江强生生化技术有限公司	600	1.7	0.034
3 95%三氮唑核苷·铜·烷醇·锌可湿性粉剂(病毒必克)	陕西省西安海浪化工有限公司	500	2.0	0.079
24%混脂酸·铜水乳剂(东旺毒消)	北京东旺农药厂	600	1.7	0.40

1.2 病根样品制备与消毒

取烤烟品种 K326(*Nicotiana tabacum* L. cv. K326)包衣种子,按常规方法用漂浮盘育苗。在第 2 次剪叶时,用剪刀蘸取 TMV 病叶汁液 1000 倍稀释液剪叶接种。接种后 20~25 d,将典型花叶病毒病株的根部冲洗干净,剪碎后晾干,混合均匀。将 TMV 病苗干根分装成 0.10 g 每份,用 40 目尼龙网包成小包,室温保存备用。浸泡消毒方法:将小包的 TMV 病苗干根在供试消毒液中分别浸泡 30 min、60 min 和 120 min 后,用自来水洗净消毒液,晾干备用。以清水为对照。浸湿后塑料膜覆盖消毒方法:将小包的 TMV 病苗干根在供试消毒液中浸湿后(约 3 min),稍沥干,分别置于封口塑料袋中密封保湿,室温静置。分别于处理后第 8 h、1 d、2 d、3 d、4 d、5 d、6 d、7 d 取出 1 组干根,自来水洗净消毒液,晾干。以清水浸湿后塑料膜覆盖 8 h~7 d 的干根作为消毒液对应处理时间的对照。药剂浸湿后塑料膜覆盖试验重复 2 次。试验 1 于 2006 年 1~2 月进行,试验 2 于 2006 年 6~7 月进行。

将处理后的 TMV 病苗干根,加入液氮充分研磨,按 0.1 g/4 ml(W/V)量加入 PBST 缓冲液,浸泡过夜后

研磨,10000 g 离心 10 min,取上清液 4 ℃保存,用于 TMV 抗原和侵染性检测。

1.3 抗原检测

对试验 2 样品进行抗原检测。三抗体夹心法(TAS-ELISA),参考刘勇等^[7]和于翠等^[8]的方法,每个样品重复 2~3 孔。试纸条检测法,采用 Agdia 公司(www.agdia.com)的 TMV Immunostrip,参考试剂说明书。每个样品重复 2 次。

1.4 枯斑抑制率测定

对试验 2 样品进行枯斑抑制率测定。心叶烟(*Nicotiana glauca* L.)防虫网室内盆栽,7~8 片叶时用于接种,接种前打顶,保留大小较一致的 3~5 片叶,打掉其他叶片。半叶法接种,接种叶片洒上约 600 目的二氧化硅,用医用脱脂棉签摩擦接种。右半叶接种清水处理的 TMV 病苗干根(对照),左半叶接种药剂消毒的 TMV 病苗干根样品。每半片叶接种 100 μ L。接种后清水喷雾冲洗叶面,减少药剂对叶片的伤害。每处理接种 2~3 株,共 9~10 片叶。接种第 7 d 或 10 d 后统计枯斑数,计算枯斑抑制率。

枯斑抑制率%=[1-处理平均枯斑数/对照平均

枯斑数 × 100

1.5 失活效果评价标准

无效果：枯斑抑制率< 50%；低效：50%≤枯斑抑制率< 80%；中效：80%≤枯斑抑制率< 90%；高效：枯斑抑制率≥90%。

1.6 侵染性测定

对试验 1 的全部样品和试验 2 的部分样品进行侵染性测定。烤烟品种 K326 漂浮苗防虫塑料大棚温室盆栽,成活后保留 3~4 片叶用于接种。用医用脱脂棉签摩擦接种药剂消毒的 TMV 病苗干根样品,每株接种 2 片最大叶,100 μL/株,每处理接种 10 株。接种后定期观察烟草花叶病毒病发病情况,计算发病率。

2 结果与分析

2.1 药剂浸泡对病苗干根中 TMV 的失活效果

30%有效氯漂白粉 50 g/L 溶液浸泡 120 min,对病苗干根中 TMV 的失活效果中等,枯斑抑制率为

83.8%; 浸泡 30 min 和 60 min 无失活效果。5.2%有效氯次氯酸钠 150 g/L 溶液浸泡 30 min、60 min 和 120 min 对病苗干根中 TMV 的失活效果高,枯斑抑制率分别为 93.9%、90.4%和 97.9%。98%磷酸三钠 50 g/L 溶液浸泡 30 min、60 min 和 120 min 对病苗干根中 TMV 无失活效果,枯斑抑制率都低于 50%。2%二氧化氯 10 g/L 溶液浸泡 30 min、60 min 和 120 min 对病苗干根中 TMV 失活效果低,枯斑抑制率 50%~80%。抗病毒剂 2%菌克毒克 1.7 g/L 溶液、3.95%病毒必克 2.0 g/L 溶液、24%毒消 1.7 g/L 溶液浸泡 30 min、60 min 和 120 min 对病苗干根中 TMV 都无失活效果,枯斑抑制率都低于 50%(表 2)。

TMV 干病根样品用药剂浸泡 30 min、60 min 和 120 min 后, TAS-ELISA 和试纸条都能检测出 TMV 阳性,各处理的 OD 值与清水对照的差异不明显,表明药剂浸泡 30 min~120 min 不能有效破坏干病根中 TMV 抗原(表 2)。

表 2 药剂浸泡对病苗干根中 TMV 的失活效果

药剂	剂量/(g/L) 商品/有效成份	浸泡时间/min	TMV 抗原检测 *		枯斑寄主测定 **		
			OD405 值	试纸条	处理枯斑数	对照枯斑数	抑制率/%
30%有效氯漂白粉	50.0/15.0	30	1.456	+	28.3	26.7	-6.0
		60	1.183	+	7.2	6.3	-14.3
		120	1.297	+	1.3	8.0	83.8
5.2%次氯酸钠	150.0/7.8	30	1.275	+	2	32.7	93.9
		60	1.234	+	3	31.4	90.4
		120	0.815	+	0.7	34.0	97.9
98%磷酸三钠	50.0/49.0	30	1.392	+	31	26	-19.2
		60	1.384	+	31.5	28.5	-10.5
		120	1.283	+	26	48.5	46.4
2%二氧化氯	10.0/0.2	30	1.248	+	10	43.7	77.1
		60	1.312	+	21.3	36.0	40.8
		120	1.309	+	25.3	54.3	53.4
2%菌克毒克	1.7/0.034	30	1.572	+	7.7	6.7	-14.9
		60	1.420	+	18.7	23.0	18.7
		120	1.386	+	24	43.0	44.2
3.95%病毒必克	2.0/0.079	30	1.373	+	19.3	11.0	-75.5
		60	1.413	+	19.7	13.7	-43.8
		120	1.297	+	9.3	11.3	17.7
24%毒消	1.7/0.40	30	1.353	+	30	12.7	-136.2
		60	1.247	+	12	6.0	-100.0
		120	1.209	+	24.5	11.0	-122.7

注：*：OD405 吸光值为采用 TAS-ELISA 检测,显色 30 min,重复 2 孔平均值;阴性对照 OD405= 0.086,清水浸泡 30 min、60 min 和 120 min 的 OD405 值分别为 1.481、1.423 和 1.379。试纸条为 TMV Immunostrip,+: 阳性。

**：半叶法接种,每半叶接种 100 μL,9 个半叶平均值

2.2 药剂浸湿后塑料膜覆盖对病苗干根中 TMV 的失活效果

根据药剂浸泡处理对病苗干根中 TMV 的失活效果和文献报道,选择部分失活效果相对较高的药剂和几种常用药剂用于浸湿后塑料膜覆盖处理。结果表明(表 3):30%有效氯漂白粉 50 g/L 溶液浸湿后塑料膜覆盖处理 8 h~7 d,对病苗干根中 TMV 无失活效果,处理后病根样品接种 K326 试验 1 发病率为 10%~30%、试验 2 接种后 12 d 和 26 d 发病率分别为 70%~100%和 80%~100%。7%有效氯次氯酸钠 10 g/L 溶液浸湿后塑料膜覆盖 8 h~5 d,对病苗干根中 TMV 的失活效果低,枯斑抑制率在 60%左右;浸湿后塑料膜覆盖 6 d 和 7 d,失活效果分别为高和中,枯斑抑制率分别为 95.0%和 86.7%,处理后病根样品接种 K326 发病率都为 20%。98%磷酸三钠 50 g/L 溶液浸湿后塑料膜覆盖 8 h 和 1 d 对病苗干根中 TMV 的失活效果分别为中和高,枯斑抑制率分别达 80.0%和 100%,处理后病根样品接种 K326 试验 1 发病率均为 10%~20%、覆盖 1 d 处理试验 2 接种后 12 d 和 26 d 的发病率分别为 0%和 20%;浸湿后塑料膜覆盖 2~7 d,对病苗干根中 TMV 的失活效果高,枯斑抑制率均达 100%,处理后病根样品接种 K326 试验 1 和试验 2 的发病率都为 0,其中覆盖 2 d 处理接种的烟苗,试纸条检测为 TMV 阴性(未列出数据)。表明 98%磷酸三钠 50 g/L 溶液浸湿后塑料膜覆盖 2~7 d 可彻底失活病苗干根中 TMV。2%二氧化氯 10 g/L 溶液浸湿后塑料膜覆盖 8 h~4 d 对病苗干根中 TMV 失活效果低。浸湿后塑料膜覆盖 5 d、6 d 和 7 d,对病苗干根中 TMV 的失活效果分别为中、高、高,枯斑抑制率分别达 81.4%、93.3%和 94.4%,处理后病根样品接种 K326 发病率为 30%、10%和 30%。美国消毒剂 20 g/L 溶液浸湿后塑料膜覆盖 8 h~2 d 对病苗干根中 TMV 无失活效果;浸湿后塑料膜覆盖 3 d、4 d、5 d,对病苗干根中 TMV 的失活效果为中、中、高,枯斑抑制率分别达 85.0%、84.4%和 94.3%,处理后病根样品接种 K326 发病率为 50%、30%和 30%。98%高锰酸钾 3.3 g/L 溶液浸湿后塑料膜覆盖 8 h~6 d 对病苗干根中 TMV 无失活效果,枯斑抑制率为 32.0%~50%;处理后样品接种 K326 试验 1、试验 2 接种后 12 d 和 26 d 的发病率分别为 10%~20%、20%~80%和 40%~90%;浸湿后塑料膜覆盖 7 d 对病苗干根中 TMV 的失活效果中,枯斑抑制率为 85%,处理后样品接种 K326 试验 1 和试验 2 第 12 d 和 26 d 的发病率分别为 10%、20%和 40%。40%育宝 6.7

g/L 溶液浸湿后塑料膜覆盖 8 h~1 d 对病苗干根中 TMV 无失活效果;浸湿后塑料膜覆盖 2 d~6 d,失活效果高,枯斑抑制率为 86.7%~93.3%,处理后样品接种 K326 试验 1 发病率都为 0、试验 2 接种后 12 d 和 26 d 的发病率分别为 20%~40%和 70%~90%。表明 40%育宝 6.7 g/L 溶液浸湿后塑料膜覆盖 2~6 d 后,对病苗干根中的 TMV 失活效果高,但不能彻底失活。高浓度的 TMV 病根样品处理后可能残存具有侵染活性的病毒粒子。

TMV 病根样品用药剂浸湿后塑料膜覆盖 8 h~7 d 后, TAS-ELISA 和试纸条都能检测出 TMV 阳性,各处理的 OD 值与清水对照的差异不明显,表明药剂不能有效破坏 TMV 抗原(表 3)。

为降低成本,进一步试验了低浓度磷酸三钠的消毒效果(表 4)。结果表明 98%磷酸三钠 5 g/L 溶液浸湿后塑料膜覆盖处理 1~3 d,对病苗干根中 TMV 失活效果中,处理后病根样品接种 K326 发病率为 37.5%~50%。98%磷酸三钠 10 g/L 溶液浸湿后塑料膜覆盖处理 2~3 d,对病苗干根中 TMV 失活效果高,处理后病根样品接种 K326 发病率都为 12.5%。25 g/L 溶液浸湿后塑料膜覆盖处理 2~3 d,对病苗干根中 TMV 失活效果高,枯斑抑制率均为 100%,处理后病根样品接种 K326 发病率均为 0%。

3 结论与讨论

聚苯乙烯泡沫苗盘密度小,体积较大,浮力大(1 个苗盘的浮力约 10 kg)。生产上苗盘数量很大,移栽 1 hm² 大田,需要苗盘约 120 个(以 200 孔盘计,下同)。浸泡消毒需要较大的消毒池、大量的消毒液和砖块等压盘物,因此,浸泡消毒旧苗盘的可操作性差。采用浸湿或喷淋方法将药剂溶液湿润苗盘,堆码后塑料膜覆盖密封保湿,可提高操作性、节省药剂。

本研究采用人工接种 TMV 的漂浮苗干根模拟旧苗盘 TMV 消毒,这些干病根较粗、TMV 浓度较高。清洗后的旧苗盘上粘附的苗根相对较细嫩、数量通常很少,残根中的 TMV 浓度通常较低。因此,相同药剂溶液消毒旧苗盘 TMV 的实际效果可能比本试验消毒干病根 TMV 的效果更高。研究表明,98%磷酸三钠 50 g/L 溶液浸湿后塑料膜覆盖对病苗干根中 TMV 失活效果最好,40%育宝 6.7 g/L 溶液其次。根据室内试验结果,推荐:98%磷酸三钠 25~50 g/L 溶液浸湿后塑料膜覆盖 2~3 d 用于有或无发病史的旧苗盘 TMV 消毒;40%育宝 6.7 g/L 溶液浸湿后塑料膜覆盖 3~4 d

表 3 药剂浸湿后塑料膜覆盖对病苗干根中 TMV 的生活效果

药剂剂量, 商品/有效成份 /(g/L)	浸湿后 塑料膜 覆盖时间	试验 2, TMV 抗原检测 *		试验 2, 枯斑 寄主测定 **			试验 2, 系统 侵染寄主 测定 ***	试验 1, 系统 侵染寄主 测定 ***
		OD405 值	试纸条	处理 枯斑数	对照 枯斑数	枯斑抑 制率/%	K326 发病 率/%	K326 发病 率/%
30%有效氯漂白粉, 50.0/15.0	8 h	1.247	+	6.1	1.5	—306.7	100/100	20
	1 d	1.202	+	1.8	1.5	—20.0	70/90	30
	2 d	1.138	+	5.7	2.5	—128.0	100/100	20
	3 d	1.172	+	2.1	3	30.0	80/90	10
	4 d	1.172	+	5.4	3	—80.0	70/100	20
	5 d	1.199	+	7.9	6	—31.7	100/100	20
	6 d	1.154	+	9.7	2.5	—288.0	90/100	10
	7 d	1.206	+	7.7	2	—285.0	90/100	10
7%有效氯次氯酸钠, 10.0/0.7	8 h	1.275	+	0.8	1.5	46.7	ND	20
	1 d	1.228	+	0.4	1	60.0	ND	20
	2 d	1.202	+	1.6	5	68.0	ND	30
	3 d	1.211	+	2.1	5.0	58.0	ND	10
	4 d	1.172	+	3.5	7	50.0	ND	40
	5 d	1.254	+	3.1	7	55.7	ND	10
	6 d	1.143	+	0.1	2	95.0	ND	20
	7 d	1.181	+	0.2	1.5	86.7	ND	20
98%磷酸三钠, 50.0/49.0	8 h	1.254	+	0.4	2	80.0	ND	20
	1 d	1.103	+	0	1	100.0	0/20	10
	2 d	1.154	+	0	3	100.0	0/0	0
	3 d	1.181	+	0	2.5	100.0	0/0	0
	4 d	1.192	+	0	1.5	100.0	0/0	0
	5 d	1.211	+	0	7.5	100.0	ND	0
	6 d	1.314	+	0	4	100.0	ND	0
	7 d	1.079	+	0	1.5	100.0	ND	0
2%二氧化氯, 10.0/0.2	8 h	1.278	+	2	2.5	20.0	ND	10
	1 d	1.250	+	0.5	1	50.0	ND	40
	2 d	1.292	+	3.3	5.1	34.4	ND	30
	3 d	1.176	+	9.5	16.7	43.1	ND	40
	4 d	1.180	+	0.5	1.5	66.7	ND	10
	5 d	1.039	+	1.3	7	81.4	ND	30
	6 d	0.943	+	0.1	1.5	93.3	ND	10
	7 d	1.123	+	0.2	3.6	94.4	ND	30
美国消毒剂, 20.0/—	8 h	1.221	+	1.7	2	15.0	ND	10
	1 d	1.648	+	1.3	1.5	13.3	ND	10
	2 d	1.484	+	1	2	50.0	ND	20
	3 d	1.181	+	0.3	2	85.0	ND	50
	4 d	1.202	+	0.7	4.5	84.4	ND	30
	5 d	1.335	+	0.2	3.5	94.3	ND	30
98%高锰酸钾, 3.3/3.2	8 h	1.136	+	0.6	1	40.0	30/60	10
	1 d	1.211	+	1.7	2.5	32.0	20/70	30
	2 d	1.225	+	1.6	2.5	36.0	40/60	10
	3 d	1.290	+	0.7	1	30.0	20/40	10
	4 d	1.278	+	0.6	1	40.0	80/90	10
	5 d	1.285	+	0.5	1	50.0	80/90	10
	6 d	1.308	+	0.9	1.5	40.0	60/90	10
	7 d	1.323	+	0.3	2	85.0	20/40	10
40%育宝, 6.7/2.68	8 h	1.205	+	4.0	5.9	32.3	40/90	20
	1 d	1.281	+	0.8	1	20.0	80/100	30
	2 d	1.272	+	0.4	3	86.7	20/70	0
	3 d	1.269	+	0.3	3	90.0	40/90	0
	4 d	1.278	+	0.1	1	90.0	20/70	0
	5 d	1.246	+	0.3	3	90.0	30/80	0
	6 d	1.207	+	0.3	4.5	93.3	30/80	0

注: *: 试验 2 样品。OD405 吸光值为显色 30 min 后 2 孔平均值; 阴性对照 OD405=0.086, 清水浸泡塑料膜覆盖 8 h、1 d、2 d、3 d、4 d、5 d、6 d 和 7 d 的 OD405 值分别为 0.717、0.818、0.713、0.875、0.883、1.124、0.727 和 0.892。试纸条为 TMV Immunostrip, +: 表示阳性。

**: 半叶法接种, 每半叶接种 100 μL, 10 个半叶平均值。

***: 摩擦接种, 每处理接种 10 株, 试验 2 于 2006 年 11 月 2 日接种, 接种后 15 d 和 26 d 烟草花叶病毒病发病率; 试验 1 于 2006 年 1 月 23 日接种, 接种后 23 d 烟草花叶病毒病发病率。ND: 表示未检测。

表 4 不同浓度磷酸三钠浸湿后塑料膜覆盖对病苗干根中 TMV 的失活效果

药剂剂量/(g/L), 商品/有效成份	浸湿后塑料 膜覆盖时间	处理平均 枯斑数	对照平均 枯斑数	枯斑抑制 率 ^{**} /%	K326 发病 率 ^{***} /%
98% 磷酸三钠 5.0/4.9	1 d	1.29	5.21	75.3	50.0
	2 d	0.21	1.00	78.6	37.5
	3 d	0.79	4.14	81.0	37.5
98% 磷酸三钠 10.0/9.8	1 d	0.29	2.07	86.2	18.8
	2 d	0.07	0.71	90.0	12.5
	3 d	0.07	2.71	97.4	12.5
98% 磷酸三钠 25.0/24.5	1 d	0.00	1.43	100.0	18.8
	2 d	0.00	0.21	100.0	0.0
	3 d	0.00	1.36	100.0	0.0

注: ** : 枯斑抑制率测定采用半叶法接种, 每半叶接种 100 μ L, 10 个半叶平均值。

*** : 摩擦接种, 每处理接种 16 株。

4 d 用于无发病史的旧苗盘 TMV 消毒。2 种方法的田间应用效果需要进一步验证。

枯斑寄主测定和 K326 接种结果表明, 下列消毒溶液处理对病苗干根中 TMV 不能完全失活: 美国消毒剂 20 g/L 溶液浸湿后塑料膜覆盖 5 d、2% 二氧化氯 10 g/L 溶液、7% 有效氯次氯酸钠 10 g/L 溶液和 98% 高锰酸钾 3.3 g/L 溶液浸湿后塑料膜覆盖 7 d。上述药剂消毒旧苗盘 TMV 的浓度和处理方法需要进一步试验。本试验 30% 有效氯漂白粉 50 g/L 溶液的对病苗干根中 TMV 的失活效果最差, 需要补充试验, 排除漂白粉部分失效的可能性之后, 才能明确漂白粉是否适宜旧苗盘 TMV 消毒。刘勇等^[9-10]研究表明美国消毒剂、二氧化氯、次氯酸钠、高锰酸钾和漂白粉溶液低剂量短时间处理对病叶汁液中的 TMV 的失活效果很高, 研究表明这些消毒剂高剂量长时间接触, 对病苗干根中的 TMV 的失活效果低, 可能原因有: 受根组织的保护, 消毒溶液的有效成份难以接触到 TMV 粒子; 根组织中的蛋白质等有机物消耗了消毒溶液的有效成份, 降低了消毒效果; 消毒溶液不稳定, 易失效。

本研究表明 5.2% 有效氯次氯酸钠 150 g/L 溶液, 浸泡 2 h 对病苗干根中的 TMV 的枯斑抑制率为 97.9%, 在浸泡消毒供试药剂中失活效果最高, 但不能彻底失活 TMV。因此, 综合消毒药剂成本、消毒效果和可操作性, 30% 有效氯漂白粉、5.2% 有效氯次氯酸钠、98% 磷酸三钠、2% 二氧化氯和抗病毒剂 2% 菌克毒克、3.95% 病毒必克、24% 毒消都不适宜用于浸泡法消毒旧泡沫苗盘携带的 TMV。

TMV 干病根样品用药剂浸湿 30~120 min 和浸湿后塑料膜覆盖 8 h~12 d 后, TAS-ELISA 和试纸条都能检测出 TMV 阳性, 处理之间 OD 值差异很小, 而处理

之间 TMV 的侵染性差异很大, 表明药剂处理可失活病毒但不能有效破坏 TMV 抗原。因此, 旧苗盘上 TMV 的药剂消毒效果评价需要测定 TMV 侵染性, 而不能采用 TAS-ELISA 和试纸条检测抗原。

致谢: 云南省烟草科学研究所夏玉珍硕士研究生、李正凤硕士研究生和云南农业大学植物保护学院 2003 级本科实习生杨华兵提供大力帮助, 特此致谢。

参考文献

- [1] 刘勇, 李应金. 云南省烟草漂浮苗主要病毒种类的检测[J]. 烟草科技, 2006(11): 58-61.
- [2] 史宏志, 王佳. 美国烟草漂浮育苗技术(二)[J]. 作物研究, 2000(3): 33-34.
- [3] 刘勇, 段玉琪. 烟草漂浮育苗剪叶传播烟草花叶病毒的特点[J]. 云南农业大学学报(自然科学版), 2007, 22(1): 45-48, 60.
- [4] 朱贤朝, 王彦亭, 王智发, 等. 中国烟草病害[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002, 193-203.
- [5] 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, 19(1): 136-139.
- [6] 曾嵘, 滕永忠, 张庆刚, 等. 污染 TMV 的烤烟漂浮育苗盘和育苗池的消毒方法研究[J]. 云南农业大学学报, 2004, (18)6: 692-695.
- [7] 刘勇, 李天飞, 杨龙普, 等. 烟草 TMV、CMV、PVY 的酶联免疫检测技术[J]. 福建农业大学学报, 2001, 30(增刊): 182-187.
- [8] 于翠, 吴建祥, 周雪平. 番茄花叶病毒单克隆抗体的制备及其检测应用[J]. 微生物学报, 2002, 22(44): 453-457.
- [9] 刘勇. 消毒剂对水体中 TMV 的灭活效果和烟草漂浮育苗及生长的影响[J]. 农业现代化研究, 2006, 27(专刊): 152-155.
- [10] 刘勇, 杨宇虹, 陈学军, 等. 烟草漂浮育苗中剪叶工具消毒剂的检测[J]. 中国烟草学报, 2007, 13(1): 41-43.