Hans Journal of Agricultural Sciences 农业科学, 2023, 13(12), 1100-1107
Published Online December 2023 in Hans. https://www.hanspub.org/journal/hjas
https://doi.org/10.12677/hjas.2023.1312150

Hans汉斯

β-罗勒烯对烟草马铃薯Y病毒防控效果的研究

曾维爱[1*]，李宏江[2*]，翟争光[1]，蔡海林[1]，林　钢[2]，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：2023年11月1日；录用日期：2023年11月29日；发布日期：2023年12月5日

摘　要

β-罗勒烯是一种能诱导植物产生防御反应的植物通讯信号分子。本文为了探究β-罗勒烯对烤烟马铃薯Y病毒病(PVY)的控制效果，在室内条件下，分析了β-罗勒烯对PVY的发病率及病情指数的影响；在大田条件下，同时分析了β-罗勒烯与常规化学农药对PVY的防控效果。试验结果如下：通过室内盆栽试验分析，β-罗勒烯对PVY具有显著的防控效果，相比于对照发病率下降了67.10%，病情指数下降了70.60%，病毒积累量减少了1.7倍。大田试验结果显示，β-罗勒烯对PVY的控制效果显著优于化学农药，对PVY的控制效果达到58.23%~64.12%；进一步对PVY病情上升率进行统计，结果表明，经β-罗勒烯诱导后PVY的病情指数仅上升了10.0%，显著高于化学农药及对照。以上结果均表明，β-罗勒烯在防控PVY方面具有显著功效。本研究为大田防控PVY提供了新的途径。

关键词

β-罗勒烯，植物通讯，马铃薯Y病毒，发病率，病情指数

Research on the Prevention and Control Effect of β-Ocimene on Tobacco *Potato virus Y*

Wei'ai Zeng[1*], Hongjiang Li[2*], Zhengguang Zhai[1], Hailin Cai[1], Gang Lin[2], Shimin Zhou[1], Pengfei Xie[1], Fan Li[1], Ying Ruan[2], Chunlin Liu[2#]

[1]Hunan Tobacco Company Changsha Company, Changsha Hunan
[2]College of Agronomy, Hunan Agricultural University, Changsha Hunan

Received: Nov. 1st, 2023; accepted: Nov. 29th, 2023; published: Dec. 5th, 2023

*同等贡献。
#通讯作者。

文章引用: 曾维爱, 李宏江, 翟争光, 蔡海林, 林钢, 周世民, 谢鹏飞, 李帆, 阮颖, 刘春林. β-罗勒烯对烟草马铃薯 Y 病毒防控效果的研究[J]. 农业科学, 2023, 13(12): 1100-1107. DOI: 10.12677/hjas.2023.1312150

Abstract

β-ocimene is a plant communication signaling molecule that can induce plant defense responses. In this paper, in order to investigate the control effect of β-ocimene on tobacco *Potato virus Y* (PVY) disease, under indoor conditions, the influence of β-ocimene on the incidence rate and disease index of PVY was analyzed; under field conditions, the prevention and control effects of β-ocimene and conventional chemical pesticides on PVY were analyzed simultaneously. The test results are as follows: According to the analysis of indoor pot experiment, β-ocimene has a significant prevention and control effect on PVY. Compared with the control, the incidence rate decreased by 67.10%, the disease index decreased by 70.60%, and the virus accumulation decreased by 1.7 times. The results of field experiments showed that the control effect of β-ocimene on PVY was significantly better than that of chemical pesticides, with a control effect of 58.23%~64.12% on PVY; further statistical analysis of the increase rate of PVY showed that the disease index of PVY induced by β-ocimene only increased by 10.0%, significantly higher than that of chemical pesticides and controls. The above results all indicate that β-ocimene has significant efficacy in preventing and controlling PVY. This study provides a new approach to the prevention and control of PVY in the field.

Keywords

β-Ocimene, Plant Communication, *Potato virus Y*, Incidence Rate, Disease Index

Copyright © 2023 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

由马铃薯 Y 病毒(*Potato virus Y*, PVY)引起的病毒病是烟草生产过程中所面临的最严重的病害之一，严重影响烤烟的产量和质量[1] [2] [3]。目前，烟草病毒病造成的经济损失已大大超过了烟草真菌性病害[4] [5]。在烤烟生产过程中防治马铃薯 Y 病毒的方法主要以化学农药防控为主，但这种方法不仅防治效果不佳，还会造成农药残留以及环境污染等问题[6]。除此之外，近年来通过培育抗病品种来避免病毒病的发生，虽然能有效预防马铃薯 Y 病毒的发生，但育种周期长，新品种审定缓慢，烟农对新品种特性不明确，从而导致一系列的问题，使该方法难以在短时间内得到推广[7] [8] [9]。

已有研究发现，一些生物试剂能够诱导植物对病毒危害产生抗性，植株经诱导后，在面临病原入侵时，仅在侵染部位产生病斑而不会扩散至整个植株，这种植物自身保护性坏死被称为过敏反应(Hypersensitive Reaction, HR) [10]。HR 反应产生的信号分子通过植物韧皮部传至整个植株，从而使植株产生持续抵御多种病原侵染的能力[11]，这就是植物的系统获得抗性(Systemic Acquired Resistance, SAR)。SAR 具有广谱性并且能诱导病程相关基因(PR 基因)及蛋白(PR 蛋白)的表达，已有研究表明，β-罗勒烯能激发植物产生获得抗性(SAR) [12]。

β-罗勒烯是一种能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，β-罗勒烯能够解除植株水杨酸(Salicylic Acid, SA)途径与茉莉酸(Jasmonic Acid, JA)途径之间的拮抗，诱导抗性基因 *PR*1 基因以及 *PDF*1.2 基因表达量同时上升，并改变次生代谢物图谱[13]。以上研究均表明，β-罗勒烯在防控马铃薯 Y 病毒上有着巨大潜力，现以 β-罗勒烯为试剂研究其对马铃薯 Y 病毒的防控效果，为马铃薯 Y 病毒病的防控提供新思路。

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。

β-罗勒烯：购自西格玛公司；10 L 干燥罐；玻片；总 RNA 试剂盒(普洛麦格)，反转录试剂盒(ThermoFisher Scientific, Shanghai)、Luminaris Color HiGreen High ROX Qpcr Master Mix (ThermoFisher Scientific, Beijing)。

化学农药：盐酸吗啉呱(有效成分含量 30%)。

试验地点：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：2022.07~2023.08。

2.2. 试验设计

该试验由两个部分组成，分别为室内盆栽试验及大田试验。其中，室内盆栽试验设置了两个处理，每个处理设置 3 个重复，每个重复 3 株烟。分别以经 *β*-罗勒烯诱导的烤烟作为处理组，未经 *β*-罗勒烯诱导的烤烟作为对照，对照除未经 *β*-罗勒烯诱导外，其他操作条件均与处理组一致。大田试验设置了三个处理，分别以施用 *β*-罗勒烯的田块作为处理组，未施用 *β*-罗勒烯及化学农药的田块作为对照组，施用化学农药的田块作为化学农药组，各组别均采用五点取样的方式进行病害调查，每个点随机调查 50 株烤烟。各个处理之间用黑色薄膜阻隔，且间隔 5 m 避免相互影响。为了进一步探究 *β*-罗勒烯对 PVY 的控制效果，本试验挑选了一块面积为 1 亩、PVY 大面积爆发的烟田作为试验地，初次调查时发现该田块 PVY 的发病率达到了 30.5%。现将该烟田平均分为三个部分，分别作为对照组(不施加 *β*-罗勒烯以及化学农药)、*β*-罗勒烯处理组以及化学农药防控组。处理前采用五点取样的方式，每个点随机调查 50 株烤烟，分别调查三个处理田块 PVY 的发病率及病情指数。随后对三部分田块进行相应的处理，15 天后再次采用五点取样的调查的方式，每个点随机调查 50 株烤烟，对三部分田块 PVY 的发病率以及病情指数进行统计。观察不同处理前后两次调查，分析 PVY 的发病率及病情指数的变化差异。

2.3. 调查内容及方法

在室内培育烟苗待其长至五叶一心时挑选长势一致健壮且未受胁迫的烟苗用于室内试验，经 *β*-罗勒烯诱导处理后分别在处理组及对照组烟株上接种 PVY 病毒，接种量及接种部位、接种面积均一致，每个处理设置 3 个重复。待烟株发病后统计不同处理的发病率及病情指数，并通过分子水平检测不同处理病毒量。进一步进行大田实验，于移栽后 15 天开始对各处理烟田施加罗勒烯和化学农药，间隔两周。待烤烟长至旺长期及初花期时对各处理分别进行一次 PVY 发病率及病情指数的调查，调查时均采用五点取样的方式进行统计，每个点调查 50 株烤烟。除此之外，对已出现马铃薯 Y 病毒的田块施用 *β*-罗勒烯及化学农药，分析不同处理对病毒病的蔓延及传播是否有抑制作用，处理前后各组别均采用五点取样的方式进行调查，每个点随机抽取 50 株烤烟。对发病指标进行调查时，参照国家标准 GB/T 23222-2008 评估病害等级。

病毒病病情指数及发病率计算公式如下：

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

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

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

$$病情上升率(\%)=\frac{后期病情指数-前期病情指数}{前期病情指数}\times 100\% \tag{4}$$

3. 结果与分析

3.1. β-罗勒烯诱导烟株防御马铃薯 Y 病毒病

如图 1 所示，外源施加 β-罗勒烯能够诱导烤烟植株对 PVY 产生抗性，接种 PVY 后，经罗勒烯处理的烟株发病情况显著低于对照组，对照组植株生长发育严重受阻，植株大小与处理组相比下降了 1/3~1/2。如表 1 所示，具体表现为：对照组发病率为 76.9%，处理组发病率仅为 25.3%，处理组发病率下降了 51.6%，下降率达到 67.10%；对照组烟株病情指数为 62.96，处理组烟株病情指数为 18.51，病情指数下降了 44.45，下降率达到 70.60%。

(A) (B)

注：(A)：对照(CK)；(B)：β-罗勒烯处理。

Figure 1. Effect of indoor prevention and control of PVY in β-ocimene
图 1. β-罗勒烯室内防治 PVY 的效果

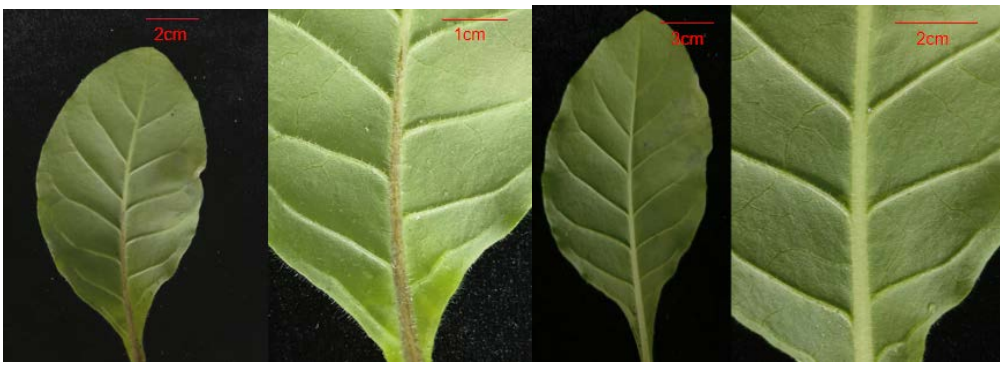
Table 1. Prevention and control effect of β-ocimene on PVY
表 1. β-罗勒烯对 PVY 的防控效果

处理	发病率(%)	病情指数	防治效果(%)
对照	76.9 ± 8.6 a	62.96 ± 8.9 a	
罗勒烯	25.3 ± 4.5 b	18.51 ± 3.8 b	70.60

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。

如图 2 所示，外源施加 β-罗勒烯能够显著减轻 PVY 在植株叶脉上的传播和积累，具体表现为，处理组烟株在接种 PVY 病毒 10 天后叶脉开始变黑，叶脉组织坏死，而处理组烟株没有出现叶脉坏死的情况。据统计对照组叶脉坏死的叶片达到 7 片，而处理组烟株则没有出现叶脉坏死的情况。综上所述，β-罗勒

烯对 PVY 在烟株上的积累与传播具有显著的控制作用，经罗勒烯诱导处理后，烟株对 PVY 展现出了极强的抗性。根据室内盆栽试验得出的结论进行分析得出，*β*-罗勒烯作为一种植物通讯信号分子，其能诱导烟株对 PVY 产生抗性，就此分析罗勒烯完全能够作为一种防控马铃薯 Y 病毒病的新型试剂用于烤烟大田生产当中。

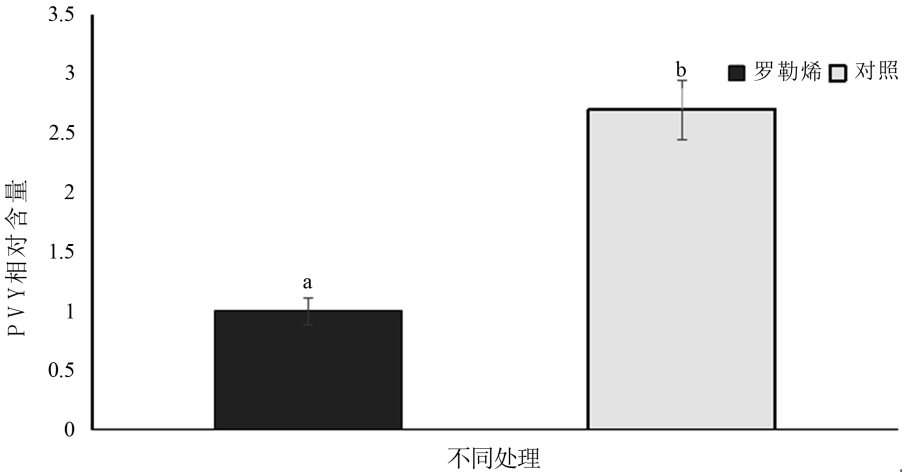


(A) (B)

注：(A)：对照(CK)；(B)：*β*-罗勒烯处理。

Figure 2. Influence of *β*-ocimene induced treatment on the accumulation of PVY in tobacco plants
图 2. 经 *β*-罗勒烯诱导处理后对 PVY 在烟株上积累情况的影响

进一步通过分子水平检测不同处理烤烟植株中 PVY 的含量，结果如图 3 所示，经 *β*-罗勒烯诱导后，处理组烤烟植株中 PVY 含量显著低于对照组植株，病毒在处理组植株中的复制被显著抑制，对照组烟株 PVY 含量相比于处理组升高了近 2.7 倍。因此，可以进一步得出结论，*β*-罗勒烯可以诱导烟株增强自身抵御 PVY 的能力，通过降低烟株内 PVY 的含量，减轻 PVY 对烤烟自身的危害。



注：图中不同处理图注上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。

Figure 3. Influence of *β*-ocimene on the accumulation of PVY
图 3. *β*-罗勒烯对 PVY 积累量的影响

3.2. 大田施用 *β*-罗勒烯对马铃薯 Y 病毒病的防治效果

大田试验结果如表 2 和图 4 所示，在自然条件下于旺长期第一次对 PVY 的发病率及病情指数进行调

查，发现对照组烟田 PVY 的发病率较高，达到了 8.4%，但病害程度都较低，大多数病害等级仅为“一级”，病情指数为 2.13；施用 *β*-罗勒烯的烟田发病率显著下降仅为 4.8%，病情指数仅为 0.89，显著低于自然状态下的发病率及病情指数；施用化学农药的田块发病率为 5.0%，病情指数为 1.20，相比于对照均显著下降，但下降幅度低于施用 *β*-罗勒烯的田块。通过进一步分析得出，施用 *β*-罗勒烯对 PVY 的防效达到了 58.23%，施用化学农药后对 PVY 的防效为 43.66%。于初花期第二次对各处理烟田 PVY 的发病率及病情指数进行调查，经过统计发现，各处理的发病率及病情指数均有不同程度的上升，其中对照组发病率上升了 2.8 个百分点，*β*-罗勒烯组发病率上升 1.2 个百分点，化学农药组发病率上升了 2.6 个百分点；对照组病情指数上升了 0.7，*β*-罗勒烯组病情指数上升了 0.22，化学农药组病情指数上升了 0.36；施用 *β*-罗勒烯后对 PVY 的防效上升了 5.89%，达到 64.12%，施用化学农药后 PVY 的防效上升了 3.1%，达到 46.76%。综上所述，*β*-罗勒烯对 PVY 具有显著的防控效果，且防控效果显著高于化学农药。

Table 2. Effect of different field treatments on the prevention and control of PVY
表 2. 大田不同处理对 PVY 的防治效果

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	8.4 ± 1.9 a	2.13 ± 0.53 a		11.2 ± 2.3 a	2.93 ± 0.95 a	
罗勒烯	4.8 ± 0.7 b	0.89 ± 0.31 c	58.23	6.0 ± 1.6 c	1.11 ± 0.32 c	64.12
化学农药	5.0 ± 1.2 b	1.20 ± 0.59 b	43.66	7.6 ± 2.1 b	1.56 ± 0.25 b	46.76

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。

(A) (B) (C)

注：(A)：对照(CK)；(B)：化学农药；(C)：*β*-罗勒烯。

Figure 4. Incidence of PVY with different treatments
图 4. 不同处理 PVY 的发病情况

3.3. 大田施用 *β*-罗勒烯对马铃薯 Y 病毒病传播的影响

试验结果如表 3 所示：*β*-罗勒烯对 PVY 的传播及在植株体内的扩散具有显著的控制效果，化学农药

对 PVY 的传播及扩散的控制效果不佳。通过数据统计发现，对照组相比于第一次调查，PVY 的发病率上升了 11%；施用 *β*-罗勒烯后相比于第一次调查，PVY 的发病率仅上升了 3.2%；施用化学农药后相较于第一次调查，PVY 的发病率上升了 6.7%。对照组病情指数上升了 5.08，罗勒烯组病情指数上升了 1.05，化学农药组病情指数上升了 2.98；对照组病情上升率达到了 47.61%，罗勒烯组病情上升率仅为 10%，化学农药组病情上升率为 28.79%。相比于对照，罗勒烯组病情上升率减少了 78.99%，化学农药组病情上升率减少了 39.53%。综上所述，*β*-罗勒烯能够激活烟株自身防御系统，增强自身对 PVY 的抗性。施用 *β*-罗勒烯能显著降低 PVY 的发病率，且控制效果显著高于施用化学农药；另一方面发病烟株经 *β*-罗勒烯诱导后，PVY 在烟株上的蔓延得到有效控制，因此病情指数也得了到有效控制。

Table 3. Effect of different treatments in the field on the propagation and diffusion of PVY
表 3. 大田不同处理对 PVY 的传播及扩散的影响

处理	第一次调查		第二次调查		
	发病率(%)	病情指数	发病率(%)	病情指数	病情上升率(%)
对照	30.5 ± 6.8 a	10.67 ± 2.8 a	41.5 ± 7.8 a	15.75 ± 3.5 a	47.61 ± 10.5 a
罗勒烯	28.3 ± 5.4 a	10.50 ± 3.1 a	31.5 ± 5.8 c	11.55 ± 2.8 c	10.00 ± 2.7 c
化学农药	29.8 ± 6.7 a	10.35 ± 2.9 a	36.5 ± 6.8 b	13.33 ± 3.6 b	28.79 ± 5.5 b

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；第一次调查方式与第二次调查方式相同。

4. 结论

本研究运用室内盆栽试验与大田试验相结合的方法探究了 *β*-罗勒烯对 PVY 的防控效果。通过室内盆栽试验发现，*β*-罗勒烯对 PVY 具有显著的防控效果，接种病毒后，烤烟的发病率、病情指数都显著下降；分子水平检测显示，经 *β*-罗勒烯诱导后的烟株在接种 PVY 10 天后，烟株体内病毒的积累量显著低于对照组。通过大田实验进一步发现，烤烟经 *β*-罗勒烯诱导后，PVY 在大田自然状态下的发病率以及病情指数均显著降低，防治效果相较于使用传统化学农药显著提升；除此之外，本试验对已严重发生 PVY 的烟田进行防控，发现，经 *β*-罗勒烯诱导后发病烟田的病情得到了有效的控制，相比于施用化学农药控制效果更佳，具体表现为病株的病情指数得到了更有效的控制，健康植株被持续感染的数量显著减少。以上结果都说明，*β*-罗勒烯在防控 PVY 上具有巨大的潜力，可以成为一种防控 PVY 的新方法。

5. 讨论

截至目前为止，针对 PVY 都没有有效的防治手段。通过培育抗病品种防控 PVY 是目前最有效的防控方法，但是育种年限较长，且育成品种的各项重要指标是否达到行业要求还无法预料，种种原因都制约着其推广与应用[7] [8] [9]。现在针对 PVY，近些年兴起了一种利用病毒诱导的基因沉默(Virus Induced Gene Silencing, VIGS)，促使植株产生对病毒的抗性，从而达到防控 PVY 的效果[14]。这种方法对 PVY 具有显著的防治效果，但这种方法操作复杂，很难大面积推广，在落后山区更加难以推广。如今，市面上针对 PVY 的化学农药层出不穷，一方面实际效果达不到满意烟农的需求，另一方面，过度施用化学农药还会造成药害，这情况不符合烤烟绿色生产的理念，种种原因都表明，依靠化学农药对 PVY 进行防控的效果不佳[6]。针对以上情况，现用 *β*-罗勒烯防控 PVY 能达到良好的防控效果，且这种方法不仅操作简单易于推广，而且还能满足烤烟绿色生产的理念，完全不存在农药残留的情况。通过室内盆栽试验及大田试验研究 *β*-罗勒烯对 PVY 的防控效果，有利于开发一种有效、新型、绿色、无残留的烤烟 PVY 防控新方法，为防控 PVY 提供新的思路及方法打下坚实基础。

致　谢

本文在设计、撰写和修改过程中，感谢刘春林教授、阮颖教授、周世民主任给出的宝贵意见，同时也感谢李宏江、林钢参与实验设计及实验结果分析。本研究由湖南省烟草公司长沙市公司项目(CS2023KJ02)资助。

参考文献

[1] Chen, S., Li, F.X., Liu, D., *et al*. (2017) Dynamic Expression Analysis of Early Response Genes Induced by *Potato virus Y* in PVY-Resistant *Nicotiana tabacum*. *Plant Cell Reports*, **36**, 297-311. https://doi.org/10.1007/s00299-016-2080-1

[2] 张凤桐, 程林发, 耿超, 等. 一株 PVY[NTN-NW]黑龙江马铃薯分离物的检测鉴定[J]. 植物病理学报, 2019, 49(4): 512-519.

[3] 夏范讲, 郭玉双, 贾蒙骜. 贵州烟田马铃薯 Y 病毒优势株系全序列克隆及系统进化分析[J]. 中国农业大学学报, 2017, 22(7): 512-519.

[4] 谈文, 刘骏. 烟草病毒病发生流行概况及综合治理的建议[J]. 烟草科技, 1987(2): 33-36.

[5] 段丽娟. 烟草病毒病的发生与防治技术[J]. 现代化农业, 2006(2): 15-16.

[6] 蔡海林, 何命军, 谢鹏飞, 等. 烟草马铃薯 Y 病毒病的生物防治研究进展[J]. 湖南农业科学, 2012(8): 76-79.

[7] 周佳, 李凤霞, 陈帅, 等. 烟草抗马铃薯 Y 病毒病相关基因 *NtPsaN* 的克隆及表达分析[J]. 中国农业科学, 2010, 43(16): 3323-3330.

[8] 饶思莲, 陶永萍, 赵声春, 等. 烟草抗 PVY 新品系比较试验[J]. 分子植物育种, 2018, 16(10): 3401-3411.

[9] 刘勇, 许美玲, 黄昌军, 等. 抗马铃薯 Y 病毒病的烟草种质资源抗性分析[J]. 分子植物育种, 2016, 14(5): 1212-1216.

[10] Morel, J.-B. and Dang, J.L. (1997) The Hypersensitive Response and the Induction of Cell Death in Plants. *Cell Death and Differentiation*, **4**, 671-683. https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4400309

[11] Durrant, W.E. and Dong, X. (2004) Systemic Acquired Resistance. *Annual Review of Phytopathology*, **42**, 185-209. https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.42.040803.140421

[12] 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.

[13] Liu, C.L., Ruan, Y., Guan, C.Y., *et al*. (2004) *β*-Ocimene Gene Expression Pattern Induced by Ocimene Signaling Molecule. *Science Bulletin*, **22**, 2373-2374.

[14] Ramegowda, V., Mysore, K.S. and Senthi-Kumar, M. (2014) Virus-Induced Gene Silencing Is a Versatile Tool for Unraveling the Functional Relevance of Multiple Abiotic-Stress-Responsive Genes in Crop Plants. *Frontiers in Plant Science*, **5**, Article 323. https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00323