

植物病毒种传机制研究进展

杨洪一^{1,2}, 张娜娜¹, 郭世辉¹, 李丽丽^{3,4}

(1. 东北林业大学 生命科学学院, 黑龙江 哈尔滨 150040; 2. 东北农业大学, 黑龙江 哈尔滨 150030; 3. 黑龙江省林业科学研究所, 黑龙江 哈尔滨 150081; 4. 黑龙江省农业科学院, 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要:从种传病毒主要类型及特点、病毒在种子组织中定位技术、种传病毒研究策略及进展和种子处理措施等方面对病毒种传的研究进展进行了综述。基于国内外研究进展, 建议将最新的分子生物学、植物病理学技术引入到种传病毒研究领域, 提高病毒在种子中定位的精确性; 同时, 有必要从多个角度分析病毒种传机制。

关键词:植物病毒; 种传机制; 种子

中图分类号:S432.41

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2012)06-0150-03

病毒病造成减产是农业生产中的主要问题之一。早期人们普遍认为病毒主要经过病株汁液传播, 病毒粒子无法进入子房中的种子。Reddick等首次报道了菜豆普通花叶病毒(Bean common mosaic virus, BCMV)可经菜豆种子传播。目前已发现 160 余种种传病毒, 约占已知植物病毒的 18%^[1]。种传病毒一方面可作为初侵染源引起病毒大规模爆发, 另外种子也作为载体促进了病毒的远距离扩散。对于已广泛分布的病毒, 尽管并不需要完全无病毒种子, 但病毒在种子中的感染应保持在较低水平, 避免因带毒种子导致大规模减产, 因而要保持种子的相对无毒; 对于尚未广泛分布的病毒, 则须严格控制种子携带病毒。基于种传病毒在农业生产中的重要性, 对植物病毒种传机制最近进展进行介绍。

1 种传病毒主要类型

种传病毒被分为 2 种类型, 即胚外感染和胚内感染^[2]。病毒胚外感染主要指病毒分布于污染种子表面或种皮和胚乳内, 此类病毒相对较少; 仅仅是稳定性非常高的少数病毒, 能经得住种子脱水、收获和贮藏过程中的暴露而不致钝化, 并且幼

苗最初通过机械传播才可能传毒成功。烟草花叶病毒属(*Tobamovirus*)成员主要通过胚外感染侵入种子, 感染过程中病毒不侵入胚组织, 存在于种皮表面或侵入种皮和胚乳, 发芽时病毒通过机械微伤从根或芽侵染幼苗, 如黄瓜绿斑驳花叶病毒(*Cucumber green mottle mosaic virus*, CGMMV)^[3]。此类病毒具备高侵染性和稳定性, 在植物残体中可存活数年; 此类病毒不能进入胚, 种子侵染团也仅限于珠被和珠心组织^[4]; 病毒可由果肉残余表面污染种子, 通过种子处理技术可有效将病毒除去。较多种传病毒都位于胚内, 随种子萌发而进行增殖^[5]。病毒只有在卵细胞受精前侵染, 或更简单的在授粉之前侵染才能到达胚^[6], 此后, 胚和其母株之间通过胞间连丝的联系即告中断, 但这些病毒也可通过花粉而传到无毒母株种子胚中。在未成熟种子内, 其也可在种皮中被检测到, 但这些病毒不如第一类种传病毒稳定, 在种子长期贮存期间, 一些病毒可能失去活力^[1]。在玉米种传甘蔗花叶病毒(*Sugarcane mosaic virus*, SCMV)的研究中发现, SCMV 既可通过花粉带毒传播, 也可由雌株直接进入种胚, 但传毒效率上的差异表明病毒进入种胚的主要途径是由雌株直接进入, 且病毒在种子发育的较早时期进入种子^[7-8]。

2 病毒在种子组织中定位技术

明确病毒在种子内的分布是研究病毒种传机理的重要问题, 病毒在种子内分布部位的差异将直接导致种子传毒机制的差异^[4]。早期病毒组织定位多通过组织印迹、免疫胶体金、原位杂交等进

收稿日期: 2012-04-12

基金项目: 教育部博士点基金资助项目(20090062120009); 哈尔滨市科技创新人才基金资助项目(RC2008QN002060); 黑龙江省自然科学基金资助项目(QC2011C110); 黑龙江省教育厅科研资助项目(11541033)

第一作者简介: 杨洪一(1978-), 男, 吉林省九台市人, 博士, 副教授, 从事微生物学研究。E-mail: yhy11@sohu.com。

通讯作者: 李丽丽(1978-), 女, 辽宁省阜新市人, 博士, 助理研究员, 从事微生物学研究。

行,但其灵敏度和准确性较低,近来多通过免疫荧光^[4]和原位 PCR 技术进行^[9-10],灵敏度相对较高。原位 PCR 是刚发展起来的新技术,Hasse 等 1990 年在 PNAS 上首次报道了原位 PCR 技术,其结合了传统 PCR 高效扩增和原位杂交细胞定位的优点,既能在组织切片、细胞样品中检测到低拷贝 DNA 或 RNA,又能特异确定其细胞来源和细胞定位。原位 PCR 主要用于医学研究,在植物领域研究应用较少。Silva 等 2003 年首次将原位 PCR 应用于植物病毒学研究,在杏树组织中发现了大量李矮缩病毒(Prune dwarf virus, PDV)。此外,也有一些关于木本植物中病毒组织定位的研究报道,国内牛建新课题组近来也开始对梨树上的病毒和类病毒进行组织定位研究^[9-10]。

3 病毒种传机制研究进展

近年来病毒种传机理研究多数集中在豌豆种传花叶病毒(Pea seed-borne mosaic virus, PSb-MV)、烟草花叶病毒(Tobacco mosaic virus, TMV)、柏平缕瓜花叶病毒(Pepino mosaic virus, PeMV)、甘蔗花叶病毒(Sugarcane mosaic virus, SCMV)、大豆花叶病毒(Soybean mosaic virus, SMV)、樱桃卷叶病毒(Cherry leaf roll virus, CLRV)、苹果潜隐球形病毒(Apple latent spherical virus, ALSV)和 BCMV 等病毒^[1,4]。其中豌豆种传花叶病毒(PSbMV)的研究较为系统,其研究策略也具有一定代表性^[5,11]。Wang and Maule^[5,11]利用 ELISA、免疫组织化学标记和原位杂交技术对 PSbMV 的种传机制进行了研究,在授粉前的花粉和卵细胞内没有检测到病毒,在授粉后的种传豌豆品种的种皮、胚乳、胚柄则很容易检测到病毒;而在非种传豌豆品种上,病毒仅局限于种皮和胚乳上,认为种子传毒是授粉后病毒直接感染胚的结果。在胚发育的早期阶段,病毒通过胚柄进入胚,这一过程受寄主基因型的影响,因而不同作物品种种传率差异较大。受研究手段所限,目前还不知道病毒怎样从母体到胚柄的,推测病毒可能通过一种未知的机制穿过种皮和胚柄间的细胞壁,其不要求胞间连丝,或者能诱导新胞间连丝形成,这样病毒就能直接侵入胚。

4 种子处理措施

为了控制种传病毒危害,一些种子处理措施

被开发并应用于生产。种子处理方式主要包括温汤浸种、微波处理、干热空气处理和化学药剂处理(不同浓度盐酸、磷酸钠、病毒唑和高锰酸钾等)^[12]。病毒种传机制不同,则不同种子处理方式的有效性也不同。总体来讲,对于胚外感染的病毒,通过加热处理措施可有效将病毒除去,而对于胚内感染的病毒,有效灭活种子内病毒则较困难。

在各处理方式中,干热空气处理和磷酸钠处理是最常用的处理方式,其可对病毒起一定灭活作用,但不同病毒处理效果不同,且较多处理措施影响种子发芽率。Rast 和 Stijger 利用热空气处理、10%磷酸钠处理带有辣椒花叶病毒(Capsicum mosaic virus)的胡椒种子,结果表明,76℃处理 3 d 并贮存 3 个月后,可有效灭活种子中的病毒,但严重影响种子萌发;而磷酸钠(100 g·L⁻¹)处理 2 h 可基本灭活种子中的病毒且不影响种子萌发。与此类似,在灭活番茄中的 PeMV 研究中,磷酸钠起到了基本灭活病毒的作用,而干热空气处理(74℃处理 48 h 或 80℃处理 24 h)在钝化病毒的同时,也影响到了种子萌发^[13]。总体来看,灭活种子内病毒的相关处理措施较多,但多数是在对病毒分布和种传机理不甚了解的基础上进行的,也是在把病毒灭活作为“黑箱”处理的情况下进行的,仅表明这些作用因子可能对病毒灭活起到一定的作用。

5 结论及展望

种传病毒从感染植株侵入种子组织,又从种子组织侵入下一代幼苗,在此过程中,寄主生理特性、遗传特性和环境条件都发生了较大变化,使研究难度加大。另外,病毒种传是病毒与寄主在长期协同进化过程中相互作用的结果,病毒种传机制、传毒效率、种子处理灭活病毒效果不仅取决于病毒种类和株系类型,也受寄主基因型和环境等因素影响,从而使病毒种传机制成为植物病毒学上了解最少的一个领域。病毒种传机理是一项神秘而又具有重要科学意义和应用价值的研究内容,了解病毒种传机理是控制病毒危害最基础、最重要的工作之一。

随着分子病毒学新技术的发展,近年来国内外对植物病毒的研究日益增多,特别在病毒生物

学特性、株系分化、基因组结构及功能分析、病毒分子检测、弱毒株系生物防治和抗病毒转基因技术等方面已取得了较大进展^[1,4]。在病毒种传机制方面,近来也陆续有新报道出现,一些新的种传病毒被发现,且基于病毒组织定位技术对病毒在种子中的分布也进行了分析,但相关研究多数集中于不同作物中种传率分析及应用种子处理措施灭活种子中的病毒研究,而通过高精度的组织定位手段分析病毒在种子中的分布及传播路径,并结合杂交授粉系统分析病毒种传机制的相关研究较少。基于种传病毒在农业生产中的重要性,有必要将最新的分子生物学、植物病理学技术引入到种传病毒研究领域,提高病毒在种子中定位的精确性;同时,有必要从多个角度分析病毒种传机制,结合杂交授粉对不同作物、不同品种的种传率进行分析,了解杂交父本、杂交母本带毒对病毒种传的影响;此外,基于病毒种传机制,探索更有效的种子处理技术来灭活病毒,在不明显影响种子萌发率的基础上灭活种子内的病毒,从而有效降低种传病毒危害。

参考文献:

- [1] Hull R. 马修斯植物病毒学[M]. 范在丰,李怀方,韩成贵,等,译. 北京:科学出版社,2007.
- [2] Genda Y, Sato I, Nunomura O, et al. Immunolocalization of *Pepper mild mottle virus* in *Capsicum annuum* seeds[J]. J. Gen. Plant Pathol., 2005, 71: 238-242.
- [3] 吴会杰,秦碧霞,陈红运,等. 黄瓜绿斑驳花叶病毒西瓜、甜瓜种子的带毒率和传毒率[J]. 中国农业科学, 2011(7): 1527-1532.
- [4] Johansen E, Edwards M C, Hampton R O. Seed transmission of viruses; current perspectives[J]. Annu. Rev. phytopathol., 1994, 32: 363-386.
- [5] Wang Daowen, Maule A J. A model for seed transmission of a plant virus; genetic and structural analyses of pea embryo invasion by Pea seed-borne mosaic virus[J]. The Plant Cell, 1994, 6: 777-787.
- [6] 温孚江. 植物病毒种传的研究概况[J]. 中国农学通报, 1986(5): 3-4.
- [7] 李莉,王锡锋,周广和. 玉米种子传播甘蔗花叶病毒的研究简报[J]. 云南农业大学学报, 2003(4): 126-127.
- [8] Li Li, Wang Xifeng, Zhou Guanghe. Analyses of maize embryo invasion by *Sugarcane mosaic virus*[J]. Plant Science, 2007, 172: 131-138.
- [9] Zhao Ying, Niu Jianxin. A study of the distribution of *Apple stem pitting virus* in tissues of pear tree using *in situ* hybridization and *in situ* RT-PCR[J]. Agricultural Sciences in China, 2009, 8(11): 1351-1359.
- [10] Silva C, Tereso S, Nolasco G, et al. Cellular location of prune dwarf virus in almond sections by *in situ* reverse transcription-polymerase chain reaction[J]. Phytopathology, 2003, 93: 278-285.
- [11] Wang Daowen, Maule A J. Contrasting patterns in the spread of two seed-borne viruses in pea embryos[J]. The Plant Journal, 1997, 11: 1333-1340.
- [12] Ling Kaishu. Effectiveness of chemo- and thermotherapeutic treatments on *Pepino mosaic virus* in tomato seed[J]. Plant Disease, 2010, 94: 325-328.
- [13] Cordoba-Selles M C, Garcia-Randez A, Alfaro-Fernandez, et al. Seed transmission of *Pepino mosaic virus* and efficacy of tomato seed disinfection treatments[J]. Plant Disease, 2007, 91: 1250-1254.

Advances in Seed-borne Mechanism of Plant Virus

YANG Hong-yi^{1,2}, ZHANG Na-na¹, GUO Shi-hui¹, LI Li-li^{3,4}

(1. Life Science Collage of Northeast Forestry University, Harbin, Heilongjiang 150040; 2. Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030; 3. Forestry Science Institute of Heilongjiang Province, Harbin, Heilongjiang 150081; 4. Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086)

Abstract: The category and characteristic of seed-borne virus, localization of virus in seed, advances and research methods of seed-borne virus and methods of seed treatments were reviewed. Based on the advances in domestic and abroad, it suggested that introducing new methods of molecular biology and plant pathology to seed-borne virus study and improving the accuracy of viral localization. In addition, the seed-borne mechanism should be analyzed from more orientations.

Key words: plant virus; seed-borne mechanism; seed