

中图分类号: S532 文献标识码: B 文章编号: 1672-3635(2016)01-0039-04

马铃薯纺锤块茎类病毒对马铃薯育种工作的影响

邱彩玲, 范国权, 高艳玲, 张 威, 张 抒, 申 宇, 王绍鹏, 刘尚武, 吕典秋*, 白艳菊*

(黑龙江省农业科学院植物脱毒苗木研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要: 简要介绍了马铃薯纺锤块茎类病毒(Potato spindle tuber viroid, PSTVd)的危害和发生情况, 重点阐述了 PSTVd 对马铃薯育种工作的影响, 并针对该问题进行了分析, 最后提出了一些建议, 如做好隔离防护, 彻底进行 PSTVd 检验, 对环境及器具进行消毒处理以及实生种子经贮藏 3~5 年后再次播种。

关键词: 马铃薯纺锤块茎类病毒(PSTVd); 马铃薯育种; 影响

Effects of Potato Spindle Tuber Viroid on Potato Breeding Work

QIU Cailing, FAN Guoquan, GAO Yanling, ZHANG Wei, ZHANG Shu, SHEN Yu,

WANG Shaopeng, LIU Shangwu, LU Dianqiu*, BAI Yanju*

(Institute of Virus-free Seedling Research, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086, China)

Abstract: The occurrence and hazard of potato spindle tuber viroid (PSTVd) was briefly introduced. The influence of the viroid on potato breeding work was expounded in details. At last, some suggestions were put forward, such as isolation protection, PSTVd detection, disinfecting environments and tools, and planting true potato seed after 3-5 years of storage.

Key Words: potato spindle tuber viroid (PSTVd); potato breeding; effect

1 概 述

马铃薯纺锤块茎类病毒(Potato spindle tuber viroid, PSTVd)是马铃薯纺锤块茎类病毒科马铃薯纺锤块茎类病毒属的代表种。该病害早在 1922 年就已经被发现, 但直到 1971 年才被 Diener^[1]首次分离出来, 并称作马铃薯纺锤块茎类病毒。此后, 凡是类似马铃薯纺锤块茎病原的其他高等植物病害的病原都通称为类病毒^[2]。PSTVd 是一种单链、环状、无蛋白质外壳的 RNA, 碱基高度配对, 具有非常稳定的棒状二级结构, 能够在寄主体内自我复制, 一般为 359 nt, 少数为 358 或 360 nt^[3]。PSTVd 的自然寄主范围比较小, 能够侵染马铃薯、番茄、鳄梨和辣椒^[4-7], 但

在实验室条件下, PSTVd 可侵染 31 个科的 94 个种^[8]。感染 PSTVd 的马铃薯, 植株生长受到抑制, 植株矮化, 叶片向上竖起, 叶柄角度成锐角, 茎秆硬化, 块茎由圆形变为长形或畸形, 多呈纺锤状, 芽眼变深或凸起, 有时表皮有裂纹, 减产幅度 10%~50%, 另有报道称 PSTVd 强系可引起减产 60%, 弱系减产 20%~35%, 早期文献曾报道强系减产 64% 或 65% 等。总之, PSTVd 是马铃薯产量提高的极大障碍^[9-11]。此外, 随着 PSTVd 的累积, 其块茎的发芽能力也下降。

2 发生情况

2.1 在中国的总体发生情况

在中国, 最早关于 PSTVd 的报道是 1960 年,

收稿日期: 2015-09-19

基金项目: 哈尔滨市应用技术与开发项目(2013AE6AW059); 现代农业产业技术体系专项资金资助项目(CARS-10-P14); 黑龙江省杰出青年基金项目(JC201018)。

作者简介: 邱彩玲(1976-), 女, 博士研究生, 助理研究员, 主要从事马铃薯纺锤块茎类病毒检测技术及其遗传多样性研究。

***通信作者(Corresponding author):** 吕典秋, 研究员, 主要从事马铃薯纺锤块茎类病毒、马铃薯栽培生理等相关内容的研究, E-mail: smallpotatoes@126.com; 白艳菊, 研究员, 主要从事马铃薯种薯质量检测技术研究, E-mail: yanjubai@163.com。

发生在黑龙江省的‘Irish Cobbler’(‘早熟白’)品种上^[2,10]。随后,其他地区也相继报道 PSTVd 的发生情况。目前, PSTVd 在中国已经发生比较普遍,在新疆、内蒙古、河北、山西、福建、北京和甘肃等地都有发生的报道^[12~17]。此外,在黑龙江、吉林、辽宁、山东和陕西等地的样品中也检测到了 PSTVd 的存在。目前,已经在 12 个马铃薯主产区发现了 PSTVd 的存在。

2.2 在马铃薯种质资源及育种材料上的发生情况

PSTVd 不仅发生在马铃薯种薯和商品薯上,在马铃薯育种材料中发生的比例也很大。刘喜才^[18]利用双向聚丙烯酰胺凝胶电泳法(Return-polyacrylamide gel electrophoresis, R-PAGE)对保存的 898 份马铃薯种质资源试管苗进行了 PSTVd 检测,其中有 157 份材料为阳性,检出率为 17.40%,而且国内试管苗的带毒率高于国外的试管苗。Singh 等^[19]曾经对黑龙

江省农业科学院克山马铃薯研究所(现黑龙江省农业科学院克山分院)的 1 700 余份马铃薯实生子进行 PSTVd 检测,结果表明,52.17%的材料感染了 PSTVd。19 世纪 80 年代,也曾检测出有 40%~60% 的育种材料感染了 PSTVd^[20]。

虽然人们早就发现 PSTVd 已经侵染了马铃薯育种材料,但 PSTVd 可能对马铃薯育种工作带来的影响并没有引起人们足够的重视。人们并没有采取强有力的措施去避免这种影响的扩大。因此,在近些年的马铃薯育种材料中仍然发现了许多被 PSTVd 感染的育种材料,大大阻碍了马铃薯育种工作的顺利开展。曾试验利用核酸斑点杂交法(Nucleic acid spot hybridization, NASH)对 2012~2015 年的部分马铃薯育种材料进行了 PSTVd 检测,结果显示 PSTVd 的平均感染率为 58.3%,其中 2014 年的感染率高达 87.3%(表 1)。

表 1 马铃薯育种材料 PSTVd 感染率
Table 1 PSTVd infection rate of potato breeding materials

项目 Item	年份 Year				平均 Average
	2012	2013	2014	2015	
感染率(%) Infection rate	57.1(8/14)*	56.5(26/46)	87.3(48/55)	33.3(20/60)	58.3(102/175)

注: *阳性样品数/总样品数。

Note: * No. of positive samples/No. of all detected samples.

3 对马铃薯育种工作的影响

3.1 马铃薯育种材料中 PSTVd 的来源

一般情况下 PSTVd 有以下几个方面的来源。

(1) 育种材料本身携带 PSTVd

通常每个马铃薯育种单位都保存有大量的育种材料,如种质资源、无性系、实生子、育成的品系等,这些材料中有很多是早期保存下来的,其来历已经无从追溯,其中就不排除携带 PSTVd 的可能性。

(2) 种质资源交换

为了拓宽种质资源的遗传基础,提高杂交后代的杂种优势,国内外马铃薯育种单位之间经常进行种质资源的交换。但是,在交换的过程中往往忽略了检验检疫的环节,尤其是早期的种质资源交换工作,更没有检验检疫的意识,检测手段也相对落后。因此, PSTVd 可能随着资源的交换而被引入育种单位。

(3) 没有隔离措施或隔离不到位

目前国内许多马铃薯育种单位的资源保存或田间杂交都是在没有隔离措施的情况下进行的。因此,一旦其中某些材料携带 PSTVd,便很容易通过机械传播传染其他材料,久而久之,就会有越来越多的马铃薯育种材料感染 PSTVd,造成不可挽回的后果。

(4) 杂交亲本携带 PSTVd

由于 PSTVd 可以通过花粉和实生种子传播,因此,如果亲本带毒,则很容易将 PSTVd 传递给下一代。

3.2 对马铃薯育种工作的危害

3.2.1 通过杂交育种传递给后代,无法选育出健康的后代

由于 PSTVd 不仅可以通过机械和无性繁殖材料传播,还可以通过花粉或种子传播,因此,如果杂交育种中使用的亲本材料带有 PSTVd,则其杂交或自交的后代就很可能携带 PSTVd。所以,如果用

于育种的马铃薯种质资源或育种材料感染了 PSTVd, 则利用这些材料杂/自交得到的后代便极有可能携带 PSTVd, 很难从中选到健康的后代进行培育, 更无法推广应用。

3.2.2 PSTVd 迅速传播, 导致育种资源感染

一旦育种材料中出现携带 PSTVd 的资源, 则很容易在农事操作或者杂交育种过程中传播, 不仅无法获得健康的后代, 还会导致更多的材料受到 PSTVd 的污染。即使采用试管苗的方式保存资源, 在扩繁的过程中如果消毒不彻底, 也可能使 PSTVd 扩散。

4 建 议

4.1 交换种质资源时做好检验检疫工作

种质资源交换对于马铃薯育种工作来讲十分重要, 所以在进行交换之前做好检验检疫工作是非常必要的。不仅 PSTVd 需要检验, 其他的危险性较高的病害也有必要进行检验, 免除后患。

4.2 对育种材料进行全面筛查

为了彻底解决 PSTVd 对马铃薯育种工作的干扰, 对马铃薯育种材料进行全面的检测十分必要。由于 PSTVd 可以不显性侵染, 所以, 仅凭植株或块茎的症状不能彻底找出携带 PSTVd 的材料, 因此, 在进行目测的基础上, 还有必要进行实验室检测, 彻底筛查育种单位保存的各种资源, 包括实生子、种质资源、无性系和品系等, 对于感染 PSTVd 的材料应立即淘汰, 避免进一步扩散。只有确保杂交亲本健康, 才可能获得健康的杂交后代, 使马铃薯育种工作顺利进行。

4.3 做好隔离

由于 PSTVd 容易通过机械传播, 因此, 在保存资源和杂交育种时, 将不同来源的材料分开保存是非常必要的, 尤其是未经检测的材料更应该做好防护措施, 避免 PSTVd 扩散。

4.4 卫生防疫

许多研究已经表明漂白剂 (Clorox regular bleach) 对马铃薯纺锤块茎类病毒科具有很好的消毒作用^[21-24]。Olivier 等^[25]使用 5 种消毒剂 (Virkon®, Hyprelva™SL, Jet 5®, MENNO® clean 和 Viroid™) 对 PSTVd 消毒效果的研究时以漂白剂 (Clorox regular bleach) 作为对照, 进一步表明漂白剂对 PSTVd 具有很好的消毒效果; 同时, 该研究还发现一些欧洲国家唯一普遍认可的消毒剂—MENNO® clean 在使用

最小推荐浓度、最小推荐接触时间和中等接触时间时对 PSTVd 基本没有消毒效果。Li 等^[26]分别采用 16 种消毒剂对凤果花叶病毒 (Pepino mosaic virus, PepMV)、PSTVd、番茄花叶病毒 (Tomato mosaic virus, ToMV) 和烟草花叶病毒 (Tobacco mosaic virus, TMV) 在机械传播过程中的消毒效率进行了研究。结果显示, 2 种消毒剂—2% Virkon S 和 10% 的漂白剂 (10% Clorox regular bleach) 对 PepMV、PSTVd、ToMV 和 TMV 机械传播的消毒效率最高。

根据上述研究结果, 在预防 PSTVd 机械传播时, 可使用漂白剂对 PSTVd 污染过的物品、切刀、设备等进行表面消毒, 减少 PSTVd 通过机械传播的几率。而且漂白剂对于其他常见病毒或类病毒也具有一定的防治效果, 因此可用于温室等的消毒处理, 防止常规病毒、类病毒的机械传播。

4.5 实生种子贮藏几年后播种

据报道, 贮藏 3 年较贮藏 1 年的带毒种子感病株率可降低 20% 以上。因此, 对于重要且可能感病的实生子经贮藏 3~5 年后再播种, 可以取得降低种子带毒率的显著效果^[27]。

5 结 论

目前, 国内部分马铃薯育种单位已经发现了 PSTVd 的存在, 只是没有进行系统的研究、统计和报道。而感染 PSTVd 的材料又很难通过常规手段去脱除, 因此, PSTVd 对马铃薯育种工作已经造成和即将造成的影响不容小觑。

现阶段, 中国马铃薯育种工作仍然以常规的杂交育种为主, 因此, 如果马铃薯育种单位的育种材料经常受到 PSTVd 的威胁, 无疑对马铃薯育种工作是一个巨大的阻碍。此外, 马铃薯育种材料经常在各个育种单位之间流动、共享, 因此, PSTVd 很容易随着种质资源在育种单位之间传播, 这将可能导致更多的资源被感染, 后果将更加严重。

[参 考 文 献]

- [1] Diener T O. Potato spindle tuber virus. VI. A replicating, low molecular weight RNA [J]. Virology, 1971, 45(2): 411-428.
- [2] 刘艾生. 类病毒 [J]. 自然杂志, 1979, 2(7): 23-26.
- [3] Gross H J, Domdey H, Lossow C, et al. Nucleotide sequence and secondary structure of potato spindle tuber viroid [J]. Nature, 1978, 273(5659): 203-208.

- [4] Puchta H, Herold T, Verhoeven K, *et al.* A new strain of potato spindle tuber viroid (PSTVd-N) exhibits major sequence differences as compared to all other strains sequenced so far [J]. *Plant Molecular Biology*, 1990, 15(3): 509–511.
- [5] Verhoeven J T J, Roenhorst J W. Virological risks accompanying the increased interest in pepino (*Solanum muricatum*) [C]// *Proceedings of the 8th Conference on Virus Diseases of Vegetables*, Prague (CZ), 1995: 109–112.
- [6] Querci M, Owens R A, Vargas C, *et al.* Detection of potato spindle tuber viroid in avocado growing in Peru [J]. *Plant Disease*, 1995, 79(2): 196–202.
- [7] Shamloul A M, Hadidi A, Zhu S F, *et al.* Sensitive detection of potato spindle tuber viroid using RT-PCR and identification of a viroid variant naturally infecting pepino plants [J]. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 1997, 19(1): 89–96.
- [8] Jeffries G J. FAO/IPGRI technical guidelines for the safe movement of potato germplasm No. 19 [M]//Potato. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1998: 33–96.
- [9] Singh R P, Finnie R E, Bagnall R H, *et al.* Losses due to the potato spindle tuber virus [J]. *American Potato Journal*, 1971, 48(48): 262–267.
- [10] 李芝芳, 张生, 朱光新, 等. 利用主要鉴别寄主对于马铃薯纺锤块茎类病毒(Potato spindle tuber virus)鉴定效果的研究初报 [J]. *黑龙江农业科学*, 1979(3): 26–31.
- [11] Salzar L F. Potato spindle tuber viroid [J]. *Plant Protection and Quarantine*, 1989, 2: 155–167.
- [12] 白云凤, 闫建俊, 张耀, 等. 马铃薯纺锤块茎类病毒山西分离物侵染性克隆的构建 [J]. *山西农业科学*, 2012, 40(7): 701–704.
- [13] 谷宇, 杜志游, 郎秋蕾, 等. 基于RNA杂交的马铃薯纺锤块茎类病毒检测芯片 [J]. *高等学校化学学报*, 2006, 27(11): 2106–2110.
- [14] 董代幸, 罗明, 王丽丽. 乌鲁木齐地区马铃薯纺锤块茎类病毒的检测与序列分析 [J]. *西北农业学报*, 2010(9): 38–42, 65.
- [15] 马秀芬, 刘莉, 张鹤龄, 等. 中国流行的马铃薯纺锤块茎类病毒(PSTVd)株系鉴定及其对产量的影响 [J]. *蒙古大学学报: 自然科学版*, 1996, 27(4): 562–567.
- [16] 马秀芬, 贺玉良, 张鹤龄. 应用变性电泳检测马铃薯“虎头”植株中的PSTVd [J]. *内蒙古大学学报: 自然科学版*, 1987, 18(3): 556–562.
- [17] 康修文. 马铃薯抗病毒育种的研究 [J]. *马铃薯杂志*, 1990, 4(2): 89–93, 114.
- [18] 刘喜才. 马铃薯种质资源研究与利用进展 [J]. *中国蔬菜*, 2006 (B10): 25–27.
- [19] Singh R P, Boucher A, Wang R G, *et al.* Detection, distribution and long-term persistence of potato spindle tuber viroid in true potato seed from Heilongjiang, China [J]. *American Potato Journal*, 1991, 68(1): 65–74.
- [20] Bao C, Zhang S. Progress on the potato breeding research work of KPRI [C]//Workshop for Chinese and Canadian Potato Project, Harbin, 1991: 104–107.
- [21] Garnsey S M, Jones J W. Mechanical transmission of exocortis virus with contaminated budding tools [J]. *Plant Dis Rep*, 1967, 51: 410–413.
- [22] Garnsey S M, Whidden R. Decontamination treatments to reduce the spread of citrus exocortis virus (CEV) by contaminated tools [J]. *Proc Fla State Hort Soc*, 1971, 84: 63–67.
- [23] Singh R P, Boucher A, Somerville T H, *et al.* Evaluation of chemicals for disinfection of laboratory equipment exposed to potato spindle tuber viroid [J]. *Am Potato J*, 1989, 66: 239–245.
- [24] Matsuura S, Matsushita Y, Kozuka R, *et al.* Transmission of tomato chlorotic dwarf viroid by bumble bees (*Bombus ignitus*) in tomato plants [J]. *Eur J Plant Pathol*, 2010, 126: 111–115.
- [25] Olivier T, Sveikauskas V, Grausgruber-Groger S, *et al.* Efficacy of five disinfectants against potato spindle tuber viroid [J]. *Crop Protection*, 2015, 67: 257–260.
- [26] Li R G, Baysal-Gurel F, Abdo Z, *et al.* Evaluation of disinfectants to prevent mechanical transmission of viruses and a viroid in greenhouse tomato production [J]. *Virology Journal*, 2015, 12: 1–10.
- [27] 刘华, 杜珍. 马铃薯纺锤块茎病的发生与防治 [J]. *中国马铃薯*, 2003, 17(5): 316.