



在靠近茎端或根尖的一个变化的长度内不含有病毒或仅含有极少量的病毒<sup>[4-6]</sup>, 因而可以通过茎尖离体培养来脱除病毒。但同样大小的茎尖对去除不同马铃薯病毒的效果不同, 根据多数试验结果, 脱除病毒的难易顺序为 PLRV、PVA、PVY、PAMV、PVM、PVX、PVS、PSTVd, 以 PSTVd 最难脱除, 在病毒中以 PVX 和 PVS 最难脱除<sup>[7]</sup>。

在高温下 (35~40 ℃) 培养一段时间已经在几种无性繁殖植物中证明可以脱毒<sup>[8]</sup>。这一方法被认为是获得无病毒材料的最有效的方法<sup>[9]</sup>。当热处理与组织培养结合使用时, 效果更加明显。茎尖组织培养汰除 PVY 和 PVA 的成功率达 85%~90%, 但 PVX 和 PVS 的脱毒率却小于 1%, 当从热处理的植株上剥取茎尖培养时, PVS 的脱毒率提高至 11.4%<sup>[10]</sup>。这种热处理使植株内病毒的浓度下降是由于高温抑制了植株内病毒的增殖。由于 PSTVd 在植株内复制和积累要求高温, 因而不能通过热处理脱除, 用低温 (5~10 ℃) 处理块茎继而剥离茎尖分生组织培养可以脱除 PSTVd<sup>[11]</sup>。此外, 在茎尖培养前进行电处理也可脱除马铃薯的 PVX<sup>[12]</sup>。

## 1.2 传毒媒介的控制

大量马铃薯病毒包括 PLRV 和 PVY 是通过蚜虫传播<sup>[13]</sup>。因此控制蚜虫对这些病毒的控制和健康种薯的繁育是至关重要的。不同种类的蚜虫传播病毒的能力也不尽相同。PLRV 能被一些烟蚜 (*Myzus persicae*), 大戟长管蚜 (*Macrosiphum euphorbiae*) 以及鼠李蚜虫 (*Aphis nasturtii*) 以可持续循环的持久性方式进行传播; 而其他蚜传马铃薯病毒是通过非持久性方式进行传播的<sup>[13-14]</sup>, PVY 能被 50 多种蚜虫以这种非持久性方式传播, 其中包括一些不能栖息于马铃薯上的蚜虫<sup>[13]</sup>。最近, 豆蚜 (*Aphis glycines* Matsumura) 这种北美的外来物种已经被确认为 PVY 带毒蚜虫, 可以 14%~75% 的传播率传播不同的 PVY 种群病毒 (如 PVY<sup>O</sup>, PVY<sup>NO</sup>, PVY<sup>N</sup>, PVY<sup>NY</sup>)<sup>[15]</sup>, 虽然豆蚜以及一些传播效率稍低的蚜虫如禾谷缢管蚜 (*Rhopalosiphum padi*), 其传播 PVY 的效率为 11.5%, 低于烟蚜<sup>[16]</sup>, 但在一定的年份, 在某些地区也能大量的传播 PVY<sup>[15,16]</sup>。

监控蚜虫的行为, 迁徙, 以及动态数量是控制蚜虫传播病毒的重要组成部分<sup>[17]</sup>。评估病毒传播的潜在危险可以通过标识带毒蚜虫, 这对采取适当的行动如矿物油的应用, 杀虫剂的使用和灭秧提供更

为精确的指导<sup>[2]</sup>。荷兰等种薯大量出口的国家, 非常重视蚜虫迁飞测报, 其使用方形的黄皿诱蚜器测定有翅桃蚜迁飞高峰, 当一个地区每日每皿平均诱到 2 头有翅桃蚜时, 7 d 内必须实施药剂灭秧, 以保证种薯质量。目前, RT-PCR 已经运用于检测 PLRV 和 PVY 来源于混种或单个的蚜虫<sup>[18]</sup>。这种技术和其他基于核酸的检测方法如实时 RT-PCR 和基因芯片等将来可以在控制蚜虫和蚜虫传播病毒方面发挥重要的作用。

向作物喷涂矿物油是控制非持久性病毒在田间传播的非常有效的方法, 但至今对于此种机制的原理还不是很清楚。有可能是由于矿物油阻止了病毒附着在植株上或对蚜虫口器的洗提作用<sup>[19]</sup>, 也有人认为是对马铃薯 Y 病毒属病毒编码的蛋白质“协助成分”所涉及的一些过程的有效调节<sup>[20]</sup>。

灭秧对于繁育高质量的马铃薯种薯是非常重要的, 一方面, 它可以有效阻止蚜虫传播的病毒往薯块中转移, 另外一方面也可以促进薯块表皮的木栓化, 避免收获时损伤<sup>[21]</sup>。

## 1.3 种薯认证

马铃薯种薯认证在病毒病控制方面发挥了核心的作用, 也是目前控制马铃薯病毒传播的最有效的途径。种薯认证程序是指国家 (或地方政府) 制定的由相关的检验检疫部门管理实施, 以保证马铃薯种薯的健康和纯度, 并对生产用种进行规范的法律程序。目前, 已有大量文章对此进行过讨论<sup>[22-24]</sup>, 并且还可以从中找到详细的步骤和应用方法。我国的马铃薯种薯认证工作还刚刚起步, 迫切需要在各区域成立专业的种薯质量检测机构, 完善相关的法律法规文件, 逐步建立适合于我国的马铃薯种薯质量认证体系。

## 2 马铃薯抗病毒品种选育

### 2.1 利用已有的抗源材料

植物抗源可来自栽培种、野生种及相关近缘种、属等。使用抗性栽培品种或许是病毒控制的最经济和最可靠的办法<sup>[25-27]</sup>。马铃薯抗病毒反应存在过敏性抗性和极端抗性两种不同的抗性类型, 对抗性的理解在近十年中已取得了相当大的进展。到目前为止, 两种抗性基因譬如抗 PVX 的 Rx-1 和 Rx-2 已被分离出来以及一些抗 PVY 的 R 基因包括的 Ry 基因 (Ry<sub>adp</sub>, Ry<sub>sd</sub>, Ry-f<sub>sd</sub>), 抗 PVS 的 Ns 和抗

PVA 的  $R_{a_{0.5}}$  都已经被标识出<sup>[28-34]</sup>。可以预测, 随着 R 基因当中可获取被标识的分子数量的增多, 它在马铃薯品种选育中选择特定的抗性育种方面将占据重要的地位。

## 2.2 马铃薯抗病基因工程

另一个培育马铃薯抗病毒品种的方法就是转基因工程。20 世纪 90 年代我国马铃薯抗病毒基因工程已取得长足进展。我国已合成克隆出用于转化马铃薯的病毒外壳蛋白基因、复制酶基因、蛋白酶基因、基因调控区序列、核酶 cDNA 以及其他各种基因约 20 余种, 建立完善了致瘤农杆菌介导的马铃薯转化技术; 通过外壳蛋白介导、复制酶基因介导、表达基因调控区、表达该酶等多种途径, 获得一批抗 PVX, 抗 PVY, 抗 PVX 和 PVY, 抗 PVY 和 PLRV, 抗 PLRV, 抗 PSTV 的转基因马铃薯栽培种<sup>[35]</sup>。病毒诱导转基因显示出对抵抗同种病毒提供了足够的保护<sup>[36]</sup>。特别是当宿主的抗性基因缺乏时, 病毒诱导转基因是非常有用的, 譬如说, 对 PMTV 的抗性<sup>[27,37]</sup>, 或者这种抗性被多基因控制的, 例如对 PLRV 的抗性同非病原性诱导系列的转化, 如克隆寄主抗性基因也能产生更好的抗性用来抵抗一些特殊的病毒或者一些广普性的病毒<sup>[27]</sup>。值得注意的是, 在不改变作物品种的其他特性的情况下, 通过转基因的方法对一个已认证的品种添加病毒抗性以获取独特的优势取得的巨大成就, 已经超越传统的育种方法<sup>[38]</sup>。

## 3 利用抗病毒物质控制马铃薯病毒

迄今为止, 已发现了多种化合物具有抑制植物病毒活性。其中杂环类植物抗病毒剂因其活性高、用量少、抑制效果明显, 近年来成为人们研究和开发的热点。一些核酸中嘌呤和嘧啶碱基的合成类似物显示出对一些植物病毒的抑制活性。8-氮杂腺嘌呤、8-氮杂鸟嘌呤和 6-丙基-2-硫代尿嘧啶具有明显的抑制 PVX 活性能力<sup>[39]</sup>。6-氨基尿嘧啶、6-氨基胸腺嘧啶和 9-(2,3-二羟基丙基)腺嘌呤能够抑制 TMV 和 PVX 的复制酶活性, 从而抑制病毒复制<sup>[40]</sup>。咪唑衍生物在一些系统中已知是嘌呤环的前身, 也显示出对一些植物病毒的抑制活性, 30 mg·L<sup>-1</sup> 浓度下即可完全抑制马铃薯茎培养物中 PVX 的增殖, 这种化合物在实验动物病毒系统中具有广谱的抑制活性, 被命名为病毒唑(三氮

唑核苷), 病毒唑对十种植物病毒有抗病毒活性, 其中包括 PVX、PVY 等多种常见植物病毒<sup>[41]</sup>。三嗪类衍生物 DHT(2,4-二酮-六氢化 1,3,5-三嗪)及从 DHT 的衍生物中筛选出的 DA·DHT(1,3-二乙酰-2,4-二酮-六氢化 1,3,5-三嗪)对 PVX 有很好的抑制作用<sup>[42-44]</sup>, 同时对 PVY、PVA、PVS、PVM、PLRV 等病毒也都有不同程度的治疗效果。

许多高等植物中也含有抑制病毒活性物质。当商陆蛋白与病毒混合接种时, 对好几种机械传播的 RNA 和 DNA 病毒, 如烟草花叶病毒(TMV)、黄瓜花叶病毒(CMV)、PVY、PVX 和非洲木薯花叶病毒(ACMV)都能表现出抑制作用<sup>[45]</sup>。通过克隆编码商陆蛋白的基因, 并将其已编码 PAP 的基因进行克隆, 并导入烟草植株中培育出转基因植株, 这种转基因植株对 PVX, PVY 和 CMV 的机械接种和蚜虫传毒都表现出抗性<sup>[46]</sup>。此外, 槲皮素(3,5,7,3,4-五羟基黄酮), 桑色素(3,5,7,2,4-五羟基黄酮)和 3-O-高姜黄素在低浓度(1 μg·mL<sup>-1</sup>)下可强烈地抑制 PVX 在昆诺藜上形成枯斑<sup>[47]</sup>。

外源应用水杨酸(SA)可诱导植物产生系统获得抗病性(SAR)已被许多研究所证实<sup>[48-49]</sup>, 这种诱导抗性具有广谱抗病性的特点<sup>[50]</sup>。经 SA 处理的感染马铃薯 Y 病毒的烟草作物, PVY 的积累在早期的感病阶段受到抑制。SA 诱导使得感染 TMV 的烟草也获得了一定抗病毒性。同样, 用 SA 处理 PVX 与 CMV 所得结果基本一致。

植物抗病毒物质的研究虽然取得了一些成果, 但还远不能满足实际生产的需要, 这主要是由于现有筛选出的植物病毒抑制剂中, 绝大多数是病毒侵染抑制物, 这些抑制物只在施药部位起一定的抑制作用, 容易被雨水冲洗, 有效期短; 而具有治疗作用的物质大部分是碱基类似物, 这些碱基类似物对植物病毒具有治疗作用的同时, 往往对植物也有毒害作用。同时, 由于大多数植物源抗病毒剂的成分复杂, 受环境因素影响变化大, 常导致药效不稳定, 且难以对各成分的抗病毒机制进行研究, 因而限制了这类药剂的进一步完善。

## 4 展望

综上所述, 在控制马铃薯病毒病研究的各个方面已经取得显著成效。在马铃薯生产中控制马铃薯病毒病最有成效的手段仍然是脱毒种薯的生产和应

用, 为此, 我国应该逐步建立完整的脱毒种薯认证体系, 促进生产中脱毒种薯普及率的提高。现阶段马铃薯病毒防治策略仍然要高度重视选育马铃薯抗病毒品种, 必须加强抗病毒病遗传研究和抗病毒病资源改良方面的工作, 充分利用现有种质资源拓宽育种材料的遗传背景。同时, 常规抗病育种应该与现代分子生物学技术手段相结合, 从依靠表现型选择向基因型选择发展, 以提高现有马铃薯抗病毒病育种的效率。

#### [ 参 考 文 献 ]

- [ 1 ] Salazar L F. Potato viruses and their control[M]. Lima, Peru: International Potato Center (CIP), 1996.
- [ 2 ] Singh R P. Development of the molecular methods for potato virus and viroid detection and prevention[J]. *Genome*, 1999, 42: 592-604.
- [ 3 ] De Bokx J A. Viruses of potato and seed potato production[M]. Wageningen, The Netherlands: Pudoc, 1972, 233.
- [ 4 ] Mori K, Hosokawa D, Watanabe M. Studies on multiplication and distribution of viruses in plants by the use of fluorescent antibody technique 1. Multiplication and distribution of viruses in shoot apices[J]. *Ann Phytopathol Soc Jpn*, 1982, 48, 433-443.
- [ 5 ] Faccioli G, Rubies- Autonell C, Resca R. Potato leafroll virus distribution in potato meristem-tips and production of virus-free plants [J]. *Potato Res*, 1988, 31: 511-520.
- [ 6 ] Lizárraga R, Panta A, Jayasinghe U, et al. Tissue culture for elimination of pathogens. CIP Research Guide 3 [M]. Lima, Peru: International Potato Center (CIP), 1991, 21.
- [ 7 ] 安颖蔚, 孟令文, 张辉. 马铃薯脱毒及微型薯繁育技术体系的研究与应用[J]. *杂粮作物*, 2006, 26(3): 197-199.
- [ 8 ] Dodds J H, Lizárraga R, Griffiths H, et al. Methods of virus eradication[M]. Control of virus and virus-like disease of potato and sweet potato (Report of the Third Planning Conference, Lima, Peru). Lima, Peru: International of Potato Center (CIP), 1990: 197-202.
- [ 9 ] Roger Hull. *Matthew's Plant Virology*, 4th ed. [M]. New York, United States: Academic Press, 2002: 680.
- [ 10 ] Morel G, Martin C, Muller J F. La guérison des pommes de terre atteints de maladies à virus [J]. *Ann Physiol Veg*, 1968, 10: 113-119.
- [ 11 ] Salazar L F. Potato viruses and their control [M]. Lima, Peru: International of Potato Center (CIP), 1996, 183.
- [ 12 ] Lozoya-Saldana H, Abello F, Garcia G. Electrotherapy and shoot tip culture eliminate potato virus X in potatoes[J]. *Am Potato J*, 1996, 73, 149-154.
- [ 13 ] Raddcliffe E B, Ragsdale D W. Aphid-transmitted potato viruses: The importance of understanding vector biology[J]. *Amer J Potato Res*, 2002, 79: 353-386.
- [ 14 ] Harrison B D, Robinson D J. Another quarter century of great progress in understanding the biological properties of plant viruses[J]. *Ann Appl Biol*, 2005, 146:15-37.
- [ 15 ] Davis J A, Raddcliffe E B, Ragsdale D W. Soybean aphid, *Aphis glycines* Matusumura, a new vector of potato virus Y in potato[J]. *Am J Potato Res*, 2005, 82: 197-201.
- [ 16 ] DiFonzo C D, Ragsdale D W, Raddcliffe E B, et al. Seasonal abundance of aphid vectors of potato virus Y in the Red River Valley of Minnesota and North Dakota [J]. *J Econ Entomol*, 1997, 90: 824-831.
- [ 17 ] Thomas P E, Pike K S, Reed G L. Role of green peach aphid flights in the epidemiology of potato leaf roll disease in the Columbia Basin[J]. *Plant Dis*, 1997, 81: 1311-1316.
- [ 18 ] Singh M, Singh R P. Factors affecting detection of PVY in dormant tubers by reverse transcription polymerase chain reaction and nucleic acid spot hybridization [J]. *J Virol Methods*, 1996, 60: 47-57.
- [ 19 ] Bradley R H E. Some ways in which a paraffin oil impedes aphid transmission of potato virus Y[J]. *Canadian J Microbiol*, 1963, 9: 369-380.
- [ 20 ] Berger P H, Pirone T P. The effect of helper component on the uptake and localization of potyviruses in *Myzus persicae*[J]. *Virology*, 1986, 153: 256-261.
- [ 21 ] Stark J C, Love S L. Potato production systems [M]. Idaho, United States: Educational communications university of Idaho, 2003, 58.
- [ 22 ] Shepard J F, Clifton L E. Critical analyses of the principles of seed potato certification[J]. *Annu Rev Phytopathology*, 1975, 13: 271-293.
- [ 23 ] Slack S A, Singh R P. Control of viruses affecting potatoes through seed potato certification programs //Hadidi A, Khetarpal R K, Koganezawa H. Plant virus disease control [M]. St. Paul, MN: American Phytopathological Society Press, 1998: 249-260.
- [ 24 ] Love S L, Nolte P, Corsini D L, et al. Seed production and certification// Stark J C, Love S L. Potato Production Systems[M].

- Moscow, Idaho: University of Idaho Agricultural Communications, 2003: 49- 68.
- [25] Kang B C, Yeam I, Jahn M M. Genetics of plant virus resistance [J]. *Annu Rev Phytopathol*, 2005, 43: 581- 621.
- [26] Solomon- Blackburn R M, Barker H. A review of host major- gene resistance to potato viruses X, Y, A and V in potato: genes, genetics and mapped locations [J]. *Heredity*, 2001, 86: 8- 16.
- [27] Solomon- Blackburn R M, Barker H. Breeding virus resistant potatoes (*Solanum tuberosum*): a review of traditional and molecular approaches [J]. *Heredity*, 2001, 86: 17- 35.
- [28] Bendahmane A, Querci M, Kanyuka K, et al. Agrobacterium transient expression system as a tool for the isolation of disease resistance genes: application to the Rx2 locus in potato [J]. *Plant J*, 2000, 21: 73- 81.
- [29] Blanco- Urgoiti B, Tribodet M, Leclere S, et al. Characterization of potato potyvirus Y (PVY) isolates from seed potato batches. Situation of the NTN, Wilga and Z isolates [J]. *Eur J Plant Pathology*, 1998, 104: 1- 9.
- [30] Kasai K, Morikawa Y, Sorri V A, et al. Development of SCAR markers to the PVY resistance gene  $Ry_{ab}$  based on a common feature of plant disease resistance genes [J]. *Genome*, 2000, 43: 1- 8.
- [31] Brigneti G, Garcia- Mas J, Baulcombe D C. Molecular mapping of the potato virus Y resistance gene  $Ry_{so}$  in potato [J]. *Theor Appl Genet*, 1997, 94: 198- 203.
- [32] Flis B, Henning J, Strzelczyk- Zyta D, et al. The  $Ry-f_{so}$  gene from *Solanum stoloniferum* for extreme resistance to potato virus Y maps to potato chromosome XII and is diagnosed by PCR marker GP122<sub>718</sub> in PVY resistant potato cultivars [J]. *Mol Breeding*, 2005, 15: 95- 101.
- [33] Marczewski W, Hennig J, Gebhardt C. The Potato virus S resistance gene  $Ns$  maps to potato chromosome VIII [J]. *Theor Appl Genet*, 2002, 105: 564- 567.
- [34] Hämmäläinen J H, Sorri V A, Watanabe K N, et al. Molecular examination of a chromosome region that controls resistance to potato Y and a potyvirus in potato [J]. *Theor Appl Genet*, 1998, 96: 1 036- 1 043.
- [35] 张鹤龄. 我国马铃薯抗病毒基因工程研究进展 [J]. *中国马铃薯*, 2000, 14(1): 26- 30.
- [36] Lindbo J A, Dougherty W G. Plant pathology and RNAi: A brief history [J]. *Annu Rev Phytopathol*, 2005, 43: 191- 204.
- [37] Melander M, Lee M, Sandgren M. Reduction of potato mop- top virus accumulation and incidence in tubers of potato transformed with modified triple gene block gene of PMTV [J]. *Mol Breed*, 2001, 8: 197- 206.
- [38] Thomas P E, Kaniewski W K, Lawson E C. Reduced field spread of potato leafroll virus in potatoes transformed with the potato leafroll virus coat protein gene [J]. *Plant Dis*, 1997, 81: 1 447- 1 453.
- [39] Huber S, Schuster G. Investigations on the inhibitory activities of purine and pyrimidine base analogues against potato virus X as well as on the site of action in the virus replication cycle [J]. *Z Pflanzenkrankh Pflanzenschutz*, 1992, 99(3): 319- 329.
- [40] Schulze S, Kluge S. The mode of inhibition of TMV and PVX induced RNA- dependent RNA polymerases by some antiphy- toviral drugs [J]. *Journal of Phytopathology (Germany)*, 1994, 141 (1): 77- 85.
- [41] 江山, 韩熹莱. 植物病毒病化学防治的研究进展 [J]. *中国病毒学*, 1995, 10(1): 1- 7.
- [42] Schuster G, Horiglee W, Winter H. Dioxo- hexa- hydrotriazine, eneneuevol synthetische antiphytovirale Verbindung [J]. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg*, 1979, 134: 64- 69.
- [43] Schuster G, Horiglee W, Winter H. Antiphytoviral activity of 2, 4- dioxo- hexahydrotriazine [J]. *Acta Virol*, 1979, 23: 412- 420.
- [44] Schuster G, Huber S, Kintin (6- Furfuraminopurine) inhibits the replication cycle of potato virus X at a distinct event [J]. *Biochem Physiol Pflanzen*, 1990, 186: 403- 407.
- [45] Chen Z C, White R F, Antoniow J F, et al. Effect of pokeweed antiviral protein on the infection of plant viruses [J]. *Plant pathol*, 1991, 40: 612- 620.
- [46] Lodge J K, Kaniewski W K, Turner N E. Broad- spectrum virus resistance in transgenic plants expressing pokeweed antiviral protein [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90: 7 089- 7 093.
- [47] French C J, Elder M, Leggett F, et al. Flavonoids inhibit infectivity of tobacco mosaic virus [J]. *Can J Plant Pathology*, 1991, 13: 1- 8.
- [48] 褚明杰, 岳永德. 植物系统获得抗病性与抗病诱导剂 [J]. *安徽农业大学学报*, 2004, 31(1): 54- 57.
- [49] 张晓燕. 水杨酸诱导植物抗病性机制的研究进展 [J]. *河北林果研究*, 2000, 15(3): 288- 291.
- [50] 赵淑清, 郭剑波. 植物系统性获得抗性及其信号转导途径 [J]. *中国农业科学*, 2003, 36(7): 781- 787.