



研究简报

马铃薯病毒病原种类电镜研究初报

张仲凯 李云海 张小雷 郑丽屏

(云南省农科院)

何廷飞

(云南省会泽县农技推广中心)

马铃薯是云南省高寒冷凉地区重要的粮食作物。在马铃薯生产中因病毒病引起的种质退化是产量损失的重要原因, 目前许多国家建立了脱毒快繁供种体系以解决这一问题^[1,2]。脱毒种薯的一个重要评价指标是脱毒率, 因此, 病毒的检测鉴定是生产过程中一个关键的环节。为调查收集本地马铃薯病毒病原, 1991年7月我们从会泽马铃薯苗圃、试验地、生产田中采集了部分表现症状的马铃薯病叶样品, 应用电镜技术进行了初步的检测, 在每个样品中都发现了病毒粒体, 首次从形态学上为这一地区马铃薯病原的存在提供了直观的依据, 现将结果初步报道如下, 有关系统的鉴定正在试验中。

种, 有较轻微的花叶。

91PV₇: 采自会泽大桥乡苗圃 83 号品种, 叶向内卷曲, 细小。

91PV₈: 采自会泽大桥乡苗圃 51 号品种, 叶色发蓝, 植株顶端叶片簇生。

1.2 方 法

负染电镜制样沾染法。将覆有 Formvar—碳膜的铜网膜面朝下漂浮于叶组织浸出液中, 约 10 分钟左右, 用滤纸将汁液吸去, 待其稍干, 再将铜网膜面朝下漂浮于 2% 钨酸铵 (pH=6.0) 染液上, 2 分钟后拈取铜网滤纸吸去染液, 晾干后置于 JEM100CX-II 型透射电子显微镜下观察, 具体方法参见文献^[3,4]。

1 材料和方法

1.1 材 料

91PV₁: 采自会泽土城 Mira 品种, 症状表现为深绿或浅绿相间的花叶, 有绿岛。

91PV₂: 采自会泽磨盘卡 51 号品种, 叶脆, 细小, 退绿, 内卷。

91PV₃: 采自会泽杨梅村 Mira 品种, 叶脆, 微卷, 微黄。

91PV₄: 采自会泽农科所试验田 I 1035 号品种, 叶皱缩, 坏死, 有花叶, 被叶蝉吃过。

91PV₅: 采自会泽大桥乡苗圃 83 号品种, 从叶基到叶缘有大块的黄化及退绿。

91PV₆: 采自会泽大桥乡苗圃 83 号品种, 有较轻微的花叶。

2 观察结果

在每个样品中都观察到了线状分体, 在个别样品中还有一类短杆状粒体, 分体形态特征大致可归为以下三类。

2.1 弯曲或较刚直的线状粒体

此类粒体约 560~616 nm × 13~15 nm 存在于 91PV₁, 91PV₃ 及 91PV₄, 91PV₆ 中。

91PV₁ 分离物中多数粒体为弯曲线状, 约 750 × 15 nm 左右 (见图版 A, 75 000 ×), 其中含有较多寄主杂蛋白 (如核糖体颗粒) 及寄主大分子的团聚体等。

91PV₃ 分离物中主要是弯曲线状粒体,

呈团状(图版D, 60 000×)及“8”字形(图版E, 120 000×)聚集, 因粒体密集聚集, 无法估测长度, 其宽度约为13~15nm。

91PV₄分离物中有较为刚直的线状粒体(图版F, 120 000×), 约616nm×15nm, 以弯曲线状粒体占多数(见图版G, 60 000×), 约600nm×15nm。

91PV₆中的粒体稍为刚直, 约560nm×13nm, (图版I, 75 000×)。

这一类粒体的宽度约13~15nm, 结合有关报道^[5]进行分析, 可能是马铃薯病毒X(Potato Virus X, PVX)。其中图版D和E可能是光学显微镜下可见内含体的一种特征, D中线团状聚集可能是球形内含体, E中“8”字形聚集可能是“8”字形内含体。

2.2 较刚直的线状内含体

该类粒体约700~720nm×11nm, 存在于91PV₂, 91PV₅, 91PV₇, 91PV₈中。

91PV₂中含有较多720nm×11nm的线状粒体, (见图版B, 60 000×), 有单个线状粒体存在; 有的粒体呈线状一束状聚集, 含有细胞残片及病汁液中大分子聚集体(见图版C, 30 000×)。

91PV₅中含有大量的线状粒体, 分散的单个粒体大小约700nm×11nm(见图版H, 30 000×), 其中含有大量的寄主核糖体及寄主杂质。

91PV₇中有大量线状粒体, 约700nm×11nm左右, 见图版J及K。其中J中单个线状粒体呈簇状聚集在细胞残片周围(3 000×); K中有4条清晰的线状粒体, 曲度极小, 头尾粗细均匀(75 000×)。

91PV₈中含量极少。

根据粒体的形态特征进行分析, 这类粒体可能是马铃薯病毒Y(Potato Virus Y, PVY)所属成员。

2.3 短杆状粒体

这类粒体存在于91PV₁, 91PV₂, 91PV₃

及91PV₈中。其中91PV₈含量最多, 见图版L(75 000×)及M(75 000×), 大小约90~250nm×25nm, 据有关报道^[5]分析, 可能是烟草脆裂病毒(Tobacco Rattle Virus, TRV)或其所属组成员。

3 结果分析

根据系统的电镜观察分析, 可初步推测在会泽一带马铃薯广泛存在着PVX, PVY或其所属组成员, 同时也存在着TRV或其所属组成员。这些病原很有可能来自周围的转主寄主中, 也有可能种薯本身带毒而增殖扩散, 有必要在生产中加以重视。目前会泽已初步建立了脱毒种薯的繁育体系, 对于降低种薯的病原量是行之有效的, 关键在于进一步建立准确、灵敏的脱毒检测鉴定方法。

作物受病毒感染危害而表现的症状反应因作物品种与病毒株系的不同而变化, 同时还随着环境的不同而有不同的变化, 因此, 症状作为诊断的价值是很低的。利用电镜技术可检测出存在于寄主中的主要病原。粗汁液负染可较好地保持病原的形态特征, 综合寄主症状反应及电镜下分离物的粒体形态观察分析, 可初步进行分类诊断, 并在一定数量的基础上确定引起病害的病原种类及主要病原, 对于少数病原—寄主关系较为专一的病害系统可在种的水平上初步诊断出病原, 这对于病毒病原的分离提纯和深入研究都是极有价值的。

参 考 文 献

- 1 汪伟成. 丹麦马铃薯脱毒种薯生产技术. 马铃薯杂志, 1990, 3
- 2 王安国, 朱世峰. 加拿大马铃薯育种及良种繁育体系的考察报告. 马铃薯杂志, 1989, 2: 2
- 3 朱丽霞等. 生物学中的电子显微镜技术. 北京大学出版社, 1983
- 4 张景强等. 生物电子显微镜技术. 中山大学出版社, 1987
- 5 W J Hooker. Editor Compendium of Potato Dises. The American Phytopathological Society, 1981



