

重庆地区马铃薯上黄瓜花叶病毒的检测及亚组鉴定^①

吴 畏¹, 孙 森¹, 孙现超¹,
周常勇^{1,2}, 青 玲^{1,2}

1. 西南大学 植物保护学院 植物病害生物学重庆市高校级重点实验室, 重庆 400716;

2. 中国农业科学院 柑橘研究所, 重庆 400712

摘要: 采用抗原直接包被 ELISA 对采自重庆 11 个马铃薯主产区的 259 份马铃薯病毒病样品进行了黄瓜花叶病毒 *Cucumber mosaic virus*, CMV 的检测及亚组鉴定. 共有 233 份样品检测到 CMV, 总检出率达 91.60%; 其中属 CMV I 亚组的样品为 197 份, 占 84.55%; 另 36 份样品为 CMV II 亚组侵染, 占 15.45%; 未检测到 CMV I 和 CMV II 的复合侵染. 这些结果表明, CMV I 是重庆地区马铃薯上的优势 CMV 亚组类型.

关键词: 马铃薯; 黄瓜花叶病毒; 检测; 亚组

中图分类号: S632

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2014)7-0029-04

马铃薯在重庆有悠久的种植历史, 是其特色农作物之一, 目前种植面积近 350 万 hm^2 . 马铃薯病毒病是马铃薯的主要病害, 其分布广, 发生普遍, 通常引起块茎品质变劣, 产量可降低 20%~50%, 严重时减产 80% 以上^[1]. 侵染马铃薯的病毒种类很多, 在我国已报道的主要有马铃薯 X 病毒 *Potato virus X*, PVX、马铃薯 Y 病毒 *Potato virus Y*, PVY、马铃薯 S 病毒 *Potato virus S*, PVS、马铃薯 A 病毒 *Potato virus A*, PVA 及马铃薯卷叶病毒 *Potato leaf roll virus*, PLRV 等 5 种病毒, 以及马铃薯纺锤块茎类病毒 *Potato spindle tuber viroid*, PSTVd^[2-3].

黄瓜花叶病毒 *Cucumber mosaic virus*, CMV 是雀麦花叶病毒科 *Bromoviridae* 黄瓜花叶病毒属 *Cucumovirus* 的典型成员, 寄主范围极其广泛, 能引起多种作物和蔬菜严重危害和产量损失, 是最具经济重要性的植物病毒之一^[4]. 国内外许多学者根据其血清学关系及核苷酸序列差异将 CMV 划分为亚组 I 和 II, 且基于血清学的分型结果与利用分子生物学等方法所取得的结果基本一致, 表明根据血清学关系来鉴定 CMV 亚组是可靠的^[5-6]. 我国存在着大量的 CMV 分离物, 目前已从 38 科 120 多种植物上分离到 CMV^[7-11]. 由于 CMV 在多种作物、蔬菜和花卉上危害相当严重, 而重庆种植的马铃薯主要为菜用型马铃薯, 因此 CMV 对马铃薯的危害也不容忽视. 目前针对重庆马铃薯病毒病病原种类鉴定的相关研究较少, 国内也仅有一篇关于 CMV 自然侵染马铃薯的报道^[9]. 为了了解 CMV 在重庆地区马铃薯上的分布

① 收稿日期: 2013-04-12

基金项目: 农业部公益性行业科研专项资助项目(201303028); 国家自然科学基金资助项目(31272013).

作者简介: 吴 畏(1987-), 女, 重庆涪陵人, 硕士, 主要从事植物病理学研究.

通信作者: 青 玲, 教授.

及危害情况,以及明确 CMV 马铃薯分离物的亚组归属,从重庆 11 个马铃薯主产区采集了 259 份马铃薯病毒病样品,采用抗原直接包被 ELISA 对其进行了 CMV 的检测和亚类鉴定,本文将分析和报道所取得的研究结果.

1 材料和方法

1.1 样品采集

2012 年和 2013 年从重庆梁平、万州、云阳、巫溪、北碚、丰都、黔江、彭水、秀山、武隆和巫山等主要种植马铃薯的区县共采集 259 份马铃薯病毒病样品.病株主要表现为花叶、黄化、轻微皱缩、叶缘上卷、畸形及脉坏死等症状,采回的样品保存在-80℃冰箱.

1.2 标准抗原及抗体

CMV 亚组 I 和亚组 II 相应的抗原及单克隆抗体由浙江大学生物技术研究所周雪平教授惠赠,碱性磷酸酶标记的羊抗鼠 IgG 购于美国 Promega 公司.

1.3 病毒检测方法

参考青玲等^[12]的方法,采用抗原直接包被 ELISA 进行病毒检测.

2 结果与分析

2.1 CMV 的 ELISA 检测

分别利用 CMV 亚组 I 和亚组 II 相应的单克隆抗体对采自梁平等 11 个重庆马铃薯主产区的 259 份马铃薯病毒病样品进行了 ELISA 检测.检测结果表明,共有 233 份样品分别与 CMV 亚组 I 或 CMV 亚组 II 的单克隆抗体发生阳性反应,总检出率达 91.60%,表明 CMV 在马铃薯上的侵染相当普遍(表 1).且 CMV 在不同地区的分布也有差异,其中在梁平、万州、云阳、秀山和武隆等 5 个地区的样品中 CMV 的检出率都高达 100.00%;其次是巫溪和黔江,其检出率分别为 97.50%和 97.06%;在巫山的检出率为 85.71%;即使在侵染程度相对较轻的丰都、彭水和北碚,CMV 检出率也在 70%以上.由此可见,重庆马铃薯主产区 CMV 侵染普遍.

表 1 重庆地区侵染马铃薯的 CMV 检测

地点	样品数量	阳性样品数量	检出百分比/%	地点	样品数量	阳性样品数量	检出百分比/%
梁平	14	14	100.00	黔江	34	33	97.06
万州	4	4	100.00	彭水	4	3	75.00
云阳	9	9	100.00	秀山	46	46	100.00
巫溪	40	39	97.50	武隆	2	2	100.00
北碚	51	38	74.51	巫山	28	24	85.71
丰都	27	21	77.78	合计或平均	259	233	91.60

2.2 CMV 的亚组鉴定

对 233 份阳性样品进行 CMV 的亚类分析,结果表明有 197 份样品受 CMV I 侵染,仅 36 份样品为 CMV II 侵染,CMV I 和 CMV II 的检出率分别为 84.55%和 15.45%,表明在重庆受 CMV 侵染的马铃薯植株中 CMV I 属绝对的优势类型,CMV II 侵染较少.另外,CMV I 和 CMV II 在重庆不同地区的分布也有所不同,在万州、云阳、黔江、彭水、秀山和武隆 6 个区县的马铃薯样品中只检测到 CMV I,未发现 CMV II 侵染.而在梁平、巫溪、北碚、巫山和丰都等 5 个地区的马铃薯样品中均检测到 2 种 CMV 亚组侵染,其中 CMV I 的检出率分别为 92.86%,87.18%,78.95%,54.17%和 47.62%,但在这些样品中未发现 CMV I 和 CMV II 的复合侵染(图 1).

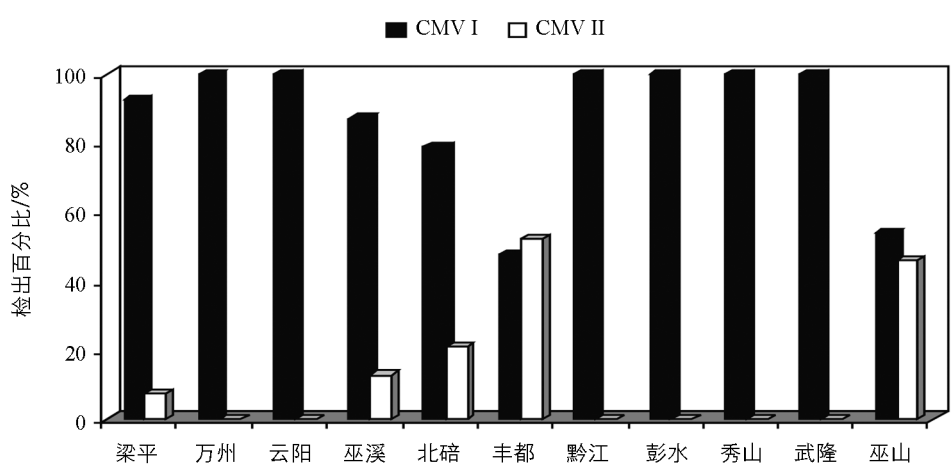


图 1 重庆不同地区马铃薯上 CMV I 和 CMV II 的检出率

3 讨 论

CMV 在我国发生普遍,尤其在蔬菜上危害相当严重.有关重庆马铃薯病毒病病原种类鉴定的报道较少,研究也仅针对几种主要的马铃薯病毒^[3,13].本研究对重庆不同区县的马铃薯病毒病样品进行检测发现,CMV 在重庆马铃薯上已普遍发生,检出率高达 90% 以上,在部分区县样品中的检出率甚至为 100%,表明 CMV 侵染马铃薯已相当严重.除已报道的国内发生普遍的几种主要马铃薯病毒外,CMV 可能已上升为一种优势病原,因而其在重庆的分布及潜在危害值得我们高度关注.

我国栽培的作物种类繁多,生态环境复杂,存在着大量的 CMV 分离物.已报道我国 CMV 分离物大多属亚组 I,但不同亚组分离物在 CMV 群体中的比例及对不同作物的侵染危害程度还不清楚^[7-8,10,14-15],因此加强重庆地区马铃薯及蔬菜上 CMV 亚组鉴定有着重要的意义.本研究首次开展了 CMV 马铃薯分离物的亚组鉴定,结果表明重庆地区马铃薯上存在 CMV 2 个亚组分离物,其中 CMV I 型占优势地位,检出率为 84.55%,这个结果与国内已报道 CMV 分离物以 CMV 亚组 I 为主相吻合.本研究为广泛开展重庆地区 CMV 侵染重要蔬菜、经济作物的调查和亚组鉴定奠定了良好的基础,研究结果可为 CMV 引起的马铃薯病毒病害的诊断及制定相应的防治措施提供科学依据.

参考文献:

[1] 韩学俭. 马铃薯病毒病的危害及防治 [J]. 植物医生, 2003, 16(1): 15.

[2] SALAZAR L F. 马铃薯病毒及其防治 [M]. 北京: 中国农业科学出版社, 2000: 139—156.

[3] 王中康, 夏玉先, 袁 青, 等. 马铃薯种苗复合感染病毒多重 RT-PCR 同步快速检测 [J]. 植物病理学报, 2005, 35(2): 109—115.

[4] PALUKAITIS P, ROOSSINCK M J, DIETZGEN R G, et al. *Cucumber mosaic virus*. In: Maramorosch K, Murphy F A, and Shatkin A J. Editors, *Advances in Virus Research* [M]. New York: Academic Press, 1992: 281—348.

[5] ANDERSON B J, BOYCC P M, BLANCHARD C L. RNA4 Sequences from *Cucumber mosaic virus* Subgroups I and II [J]. Gene, 1995, 161(2): 293—294.

[6] RIZOS H, GUMN V G, PARES R D, et al. Differentiation of *Cucumber mosaic vius* Isolates Using the Polymerase Chain Reaction [J]. Journal of General Virology, 1992, 73(8): 2099—2103.

[7] 徐平东, 李 梅, 林奇英, 等. 黄瓜花叶病毒两亚组分离物寄主反应和血清学性质比较研究 [J]. 植物病理学报, 1997, 27(4): 353—360.

[8] 李 凡, 周雪平, 戚益军, 等. 从云南烟草上检测到的黄瓜花叶病毒亚组 II 分离物 [J]. 微生物学报, 2000, 40(4): 346—351.

- [9] 刘洪义, 张洪祥, 李明福, 等. 黑龙江省马铃薯病毒病的普查及鉴定 [J]. 东北农业大学学报: 自然科学版, 2006, 37(3): 307—310.
- [10] 吴志明, 彭卫欣, 温春秀, 等. 黄瓜花叶病毒丹参分离物的鉴定和外壳蛋白基因序列分析 [J]. 植物病理学报, 2004, 34(5): 477—480.
- [11] 周雪平, 濮祖芹, 方中达. 豆科植物上分离的黄瓜花叶病毒(CMV)五个分离物的比较研究 [J]. 中国病毒学, 1994, 9(3): 232—238.
- [12] 青 玲, 刘映红, 马丽娜. 武隆烟区烟草病毒病的病原初步鉴定 [J]. 西南农业大学学报: 自然科学版, 2005, 27(3): 319—322.
- [13] 袁 青, 殷幼平, 王中康, 等. 二重 RT-PCR 快速检测马铃薯病毒的方法 [J]. 植物检疫, 2005, 19(3): 135—138.
- [14] 刘 勇, 莫笑晗, 余 清, 等. 云南、福建、湖南烟区烟草花叶病主要病毒种类检测及黄瓜花叶病毒亚组鉴定 [J]. 植物病理学报, 2006, 36(4): 310—313.
- [15] 田兆丰, 裘季燕, 刘伟成, 等. 我国部分省市甜椒黄瓜花叶病毒的亚组鉴定 [J]. 植物病理学报, 2004, 34(2): 190—192.

Detection and Subgrouping of *Cucumber Mosaic Virus* (CMV) Infecting Potato Plants in Chongqing

WU Wei¹, SUN Miao¹, SUN Xian-chao¹,
ZHOU Chang-yong^{1,2}, QING Ling^{1,2}

1. Chongqing Key Laboratory of Plant Disease Biology, School of Plant Protection,
Southwest University, Chongqing 400716, China;

2. Citrus Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Chongqing 400712, China

Abstract: Two hundred and fifty-nine potato leaf samples with viral symptoms were collected from eleven potato-growing counties in Chongqing and were tested for detecting *Cucumber mosaic virus* (CMV) and its subgroups by using direct antigen coated enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). Two hundred and thirty-three samples were shown to be infected by CMV, which was 91.60% of the total samples. Of the CMV-positive samples, 84.55% were infected by CMV subgroup I (CMV I) and 15.45% by CMV subgroup II (CMV II). No co-infection of CMV I and CMV II was detected. These results indicated that CMV I was the dominant subgroup of CMV infecting potato crops in Chongqing, China.

Key words: potato; *Cucumber mosaic virus* (CMV); detection; subgroup

责任编辑 夏 娟

