

马铃薯 Y 病毒株系分化研究进展

陈士华, 时 妍, 吴兴泉

(河南工业大学 生物工程学院, 河南 郑州 450001)

摘要: 马铃薯 Y 病毒(PVY)是我国马铃薯上最重要的病毒之一, 分布广泛, 危害严重。PVY 株系分化现象明显, 已被广泛认同的 PVY 株系种类包括 3 种: PVY^O 株系、PVY^N 株系和 PVY^C 株系。近年来, 有很多研究表明, PVY 可通过基因突变或基因重组等方式分化出多种不同类型的株系, 引致更为严重的症状。鉴此, 从 PVY 各株系的特征、产生的分子机制、检测与鉴定方法、我国 PVY 株系分化情况等方面对目前 PVY 株系分化方面已取得的研究进展进行了综述。

关键词: 马铃薯 Y 病毒; 株系; 分化; 鉴定方法

中图分类号: Q933 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-3268(2011)10-0010-03

Progress on Differentiation of Potato Virus Y Strains

CHEN Shi hua, SHI Yan, WU Xing quan

(College of Biotechnology, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: Potato virus Y (PVY) is one of the most important viruses on potato in China, which distributed widely. The differentiation of PVY strains is obvious and there are three PVY strains including PVY^O, PVY^N and PVY^C, which have been widely recognized. In recent years, many studies have shown that a quantity of new PVY strains has generated by genetic mutation or recombination, and they could cause more serious symptoms. The progress on the differentiation of PVY strains are reviewed in this paper from the aspects of characteristics, molecular mechanisms and detection methods of each strain, as well as differentiation conditions in our country.

Key words: Potato virus Y (PVY); Strain; Differentiation; Detection method

马铃薯是世界第四大粮食作物, 也是重要的经济作物。中国是马铃薯第一生产大国, 其安全生产对促进我国经济建设和维持社会稳定非常重要。马铃薯 Y 病毒(potato virus Y, PVY)是马铃薯上最常见、危害最重的病毒之一, 发生严重时可致减产达到 80%。PVY 是 RNA 病毒, 在自然条件下极易发生基因重组或突变而产生具有不同致病性的变异株系, 例如近年来相继发现的 PVY^{NTN}、PVY^{N⁺O} 株系均可使马铃薯块茎产生坏死环斑, 严重影响马铃薯的食用品质和经济价值。这些新的 PVY 株系类型一经发现就引起了研究者的高度重视, 关于 PVY 各新株系间致病力变异的分子机制也一直是研究热点。鉴此, 对目前 PVY 株系分化方面已取得的研究进展进行了综述。

1 PVY 株系种类及各株系的主要特征

目前, 已被广泛认同的 PVY 株系种类包括 3 种: PVY^O 株系、PVY^N 株系和 PVY^C 株系。PVY^O 株系发现最早、分布最广, 可引起烟草产生系统性的斑驳或花叶症状, 导致马铃薯产生中度至严重的系统斑驳或花叶, 马铃薯块茎退化严重。PVY^N 株系于 1950 年在欧洲最早发现, 目前在世界范围内广泛分布。该株系可使烟草产生系统性叶脉坏死和茎秆病斑, 在马铃薯地上部有时不引起症状, 有时导致产生较轻的花叶症状, 可引起马铃薯退化。PVY^C 株系分布范围较小, 仅在欧洲、澳大利亚、新西兰、美洲和南非有报道。

自 20 世纪 80 年代以来, 在欧洲、美洲等地区陆续发现具有不同生物学特性的 PVY 新株系, 主要包

收稿日期: 2011-04-21

基金项目: 河南省教育厅自然科学基金研究项目(2006210003); 河南工业大学校科研基金项目(07XJC008)

作者简介: 陈士华(1972), 女, 黑龙江克东人, 副教授, 硕士, 主要从事分子生物学与生物信息学研究。

E-mail: wuxingquan2002@yahoo.com.cn

括: PVY^{NTN} 株系^[1]、PVY^{NW} 株系^[2]、PVY^{N:O} 株系^[3]、PVY^{NA NTN} 株系^[4]、PVY^{nmp} 株系^[5]等。PVY^{NTN} 株系具有 PVY^N 株系的血清学特征, 在烟草和马铃薯地上部引起的症状表现与 PVY^N 株系相似。但是, PVY^{NTN} 株系可引起马铃薯块茎坏死环斑病(potato tuber necrotic ringspot disease, PTNRD), 这是 PVY^O、PVY^N 和 PVY^C 株系不具有的。PVY^{NW} 株系(分离于欧洲)和 PVY^{N:O} 株系(分离于美洲)在烟草和马铃薯上也可产生与 PVY^N 株系相似的症状, 但这 2 种株系却具有 PVY^O 株系典型的外壳蛋白基因, 以及 PVY^O 株系的血清型。现在普遍认为这 2 种株系可能是同一株系, 只是两者起源地不同。近来有研究表明, 一些 PVY^{N:O} 株系分离物也可引起非典型的马铃薯块茎坏死症状, 但与 PVY^{NTN} 株系相比症状较轻^[4, 6]。上述 PVY 新变异株系可引起马铃薯块茎环状坏死, 不但降低马铃薯产量, 而且严重影响马铃薯的品质, 因此这些株系一经发现即引起人们的普遍关注, 相关研究也迅速开展。Lorenzen 等^[7]对最初鉴定为 PVY^{NA NTN} 株系的 PVY^{NE 11} 分离物进行全基因组序列分析, 证明该分离物基因组具有自己独特的分子特征, 可能是 PVY 又一个新的株系类型。PVY^{nmp} 株系是侵染辣椒的 PVY 类型, 可使辣椒产生叶脉坏死症状。其与 PVY^C 株系具有血清学关系, 而与 PVY^N 株系和 PVY^O 株系则没有血清学关系。对基因序列分析发现, 该株系具有明确的重组特征, 可能是 PVY^O 株系与 PVY^{NP} 分离物重组产生, 重组位点发生在 P1 基因区, 全基因组的第 603 核苷酸处^[8]。

2 PVY 新株系产生的分子机制

PVY 新株系产生的分子机制可分为 2 种类型, 一种是通过原有株系间的基因重组产生, 另一种是原有 PVY 株系通过基因突变产生。PVY^{nmp} 株系具有明确的重组特征, 可能是 PVY^O 株系与 PVY^{NP} 分离物重组产生, 重组位点发生在 P1 基因区^[5]。PVY^{NTN} 株系和 PVY^{N:O} 株系可由 PVY^O 株系和 PVY^N 株系通过基因重组产生^[8, 9], 也可由 PVY^O 株系和 PVY^N 株系通过基因突变产生^[10]。PVY 不同株系具有不同的血清型, 可使寄主产生不同类型的症状特征, 而这些生物学特性差异的分子基础可能是仅由 1 个基因的突变所引发。例如, Tribodet 等^[11]通过对 PVY 基因组进行人工重组、构建系列 PVY cDNA 侵染性克隆的方法, 证明 PVY^{N(NTN)} 株系引致烟草叶脉坏死是由 HC-Pro 蛋白 C 端的 2 个氨基酸残基 K(400) 和 E(419) 控制。Rolland 等^[12]通过基因定点诱变技术, 进一步证明 PVY^N 株系的这一致病性不是在烟草上获得的。Chikh 等^[13]证明, CP 蛋白 N 端第 29 位氨基酸

由 Glu 变成 Gly, 可导致病毒血清型的改变。Ogawa 等^[14]研究表明, PVY^{NTN} 株系已在日本出现, 并发现 PVY^{NTN} 株系的日本分离物、欧洲分离物、美洲分离物彼此间均存在明显的分子变异, 证明 PVY^{NTN} 的系统进化存在明显的地域特征, 即不同地区的 PVY^{NTN} 株系都是由当地的 PVY 原始株系演化而来。

3 PVY 株系的检测与鉴定方法

PVY 的各种新株系不但致病力更强, 而且传播更为迅速, 导致新的流行疫区不断出现, 因而在一些国家已经成为 PVY 的主要流行株系^[14-15]。因此, 建立 PVY 各株系的准确检测方法十分必要。常规的鉴定方法是接种鉴别寄主和利用株系特异性单克隆抗体进行鉴定^[16], 但由于 PVY 很多株系间具有相同的血清型或生物学特性, 单独利用免疫学技术或鉴别寄主对各株系均无法进行准确地鉴定。例如, PVY^N 株系和 PVY^{NTN} 株系均可使烟草产生叶脉坏死症状, 并具有相同的血清型, 无法利用常规的方法进行鉴定。因此, 很多学者一直致力于利用 RT-PCR 技术检测 PVY 新株系类型的研究。PCR 对株系鉴定的主要依据是引物与模板 DNA 间的特异性结合, 这需要明确各株系特异性的分子变异位点, 依据这些特异性位点设计针对各株系的特异性引物。然而, 引致 PTNRD 的关键基因位点尚未明确, 致使以 RT-PCR 为代表的分子鉴定技术也可能在 PVY^{NTN} 株系和 PVY^{N:O} 株系鉴定中出现误判。由此可见, 目前对 PVY 株系鉴定的各种方法均不能单独使用, 必须多种方法结合才能使鉴定结果准确无误。

4 我国 PVY 株系分化情况

马铃薯在中国已有上百年的种植历史, 因此 PVY 在我国分布广泛, 且存在株系分化现象。目前在我国已有报道的 PVY 株系类型有: PVY^N 株系、PVY^O 株系、PVY^{N:O} 株系、PVY^{NW} 株系等。郭启兴^[17]和李鹏^[18]对我国的 PVY^N 株系进行了鉴定, 克隆其 *cp* 基因并研究了转 *cp* 基因烟草对 PVY 产生的抗病性。王秀芳等^[9]和吴志明等^[20]分别对 PVY 山东和河北分离物进行了鉴定, 证明 2 个分离物均为 PVY^O 株系。石鹏君^[21]对 PVY^N 株系和 PVY^O 株系的 HC-Pro 基因进行了克隆和分析。田延平^[22]和刘金亮^[23]对烟草上的 PVY 株系进行了鉴定, 发现 PVY^{N:O} 和 PVY^{NTN} 株系在我国烟草上均有发生, 而且 PVY^{N:O} 是烟草上最流行的株系。陈士华等^[24]利用 PVY *pl* 基因序列和 *cp* 基因序列联合分析, 对河南省马铃薯田间的 PVY 株系种类进行了鉴定, 发现 PVY^{NW} 株系和 PVY^{N:O} 株系在河南省已有分布, 证明 PVY^{NW} 的系统进化存在明显的地域

特征,即不同地区的 PVY^{NW} 株系都是由我国当地的 PVY 原始株系演化而来。

5 问题与展望

导致 PVY 株系类型发生改变的分子基础还需要深入研究,目前许多研究结果显示,一些氨基酸改变即可能使 PVY 的致病性发生改变,基因重组对 PVY 生物学特性的影响也有待明确。随着更多 PVY 分离物全基因组序列的测定,一些前期建立的对 PVY 株系进行分子鉴定的方法可能被证实不可靠。迄今有关 PVY^{NTN} 株系和 PVY^{N⁺O} 株系引致 PTNRD 的关键基因位点及其分子变异机制尚未明确,已成为限制 PVY 分子变异规律研究进程的关键问题之一。

马铃薯在中国已有上百年的种植历史, PVY 在我国分布广泛,作为 RNA 病毒的一种,其在我国通过原始株系自然演化产生新变异株系的可能性很大。PVY 各新株系在我国马铃薯上的发生情况、分子特征、致病性强弱等方面,尚未见到系统的研究报道,这对有效开展 PVY 的综合防治工作极为不利。例如,由于对新株系缺乏了解,采用常规的血清学方法和接种鉴别寄主等方法进行马铃薯种薯中 PVY 的检测,很可能出现漏检、误判,这将会导致病害大面积流行。因此,探明 PVY 株系间分子变异规律、建立快速准确的鉴定方法,将对促进马铃薯产业健康发展、保证粮食生产安全具有重要意义。

参考文献:

[1] Beczner L, Horvath H, Romhanyi L, *et al.* Etiology of tuber ringspot disease in potato[J]. *Potato Res*, 1984, 27: 339-351.

[2] Chrzanoska M. New isolates of the necrotic strain of potato virus Y (PVY^N) found recently in Poland[J]. *Potato Res*, 1991, 34: 179-182.

[3] Nie X, Singh R P. A new approach for the simultaneous differentiation of biological and geographical strains of potato virus Y by uniplex and multiplex RT-PCR[J]. *J Virol Methods*, 2002, 104: 41-54.

[4] Lorenzen J H, Meacham T, Berger P H, *et al.* Whole genome characterization of potato virus Y isolates collected in the western USA and their comparison to isolates from Europe and Canada[J]. *Archives of Virology*, 2006, 151: 1055-1074.

[5] Fanigliulo A, Comes S, Pacella R, *et al.* Characterization of potato virus Y nnp strain inducing veinal necrosis in pepper; a naturally occurring recombinant strain of PVY[J]. *Archive of Virology*, 2005, 150: 709-720.

[6] Piche L M, Singh R P, Nie X, *et al.* Diversity among PVY field isolates obtained from potatoes grown in the United States[J]. *Phytopath*, 2004, 94: 1368-1375.

[7] Lorenzen J H, Nolte P, Martin D. NE 11 represents a new strain variant class of potato virus Y[J]. *Archives of Virology*, 2008, 153: 517-525.

[8] Glais L, Tribodet M, Kerlan C. Genomic variability in potato potyvirus Y (PVY): evidence that PVY^{NW} and PVY^{NTN} variants are single to multiple recombinants between PVY^O and PVY^N isolates[J]. *Arch Virol*, 2002, 147: 363-378.

[9] Nie X, Singh R P. Probable geographical grouping of PVY (N) and PVY(NTN) based on sequence variation in P1 and 5' UTR of PVY genome and methods for differentiating North American PVY(NTN)[J]. *J Virol Meth*, 2002, 103: 145-156.

[10] Nie X, Singh R P. Evolution of North American PVY^{NTN} strain Tu 660 by mutation rather than recombination[J]. *Virus Genes*, 2003, 26: 39-47.

[11] Tribodet M, Glais L, Kerlan C, *et al.* Characterization of potato virus Y (PVY) molecular determinants involved in the vein necrosis symptom induced by PVY^N isolates in infected *Nicotiana tabacum* cv. Xanthi[J]. *J Gen Virol*, 2005, 86: 2101-2105.

[12] Rolland M, Kerlan C, Jacquot E. The acquisition of molecular determinants involved in potato virus Y necrosis capacity leads to fitness reduction in tobacco plants[J]. *J Gen Virol*, 2009, 90: 244-252.

[13] Chikh A M, Maoka T, Natsuaki K T. A point mutation changes the serotype of a potato virus Y isolate; genomic determination of the serotype of PVY strains[J]. *Virus Genes*, 2007, 35: 359-367.

[14] Ogawa T, Tomitaka Y, Nakagawa A. Genetic structure of a population of potato virus Y inducing potato tuber necrotic ringspot disease in Japan; comparison with North American and European populations[J]. *Virus Res*, 2008, 131: 199-212.

[15] Ramirez Rodriguez V R, Frias Treviño G, Avña Padilla K, *et al.* Presence of necrotic strains of potato virus Y in Mexican potatoes[J]. *Virol J*, 2009, 6: 48-59.

[16] 吴兴泉. 马铃薯病毒的检测与防治技术[M]. 郑州: 郑州大学出版社, 2009.

[17] 郭兴启. 翻译与非翻译马铃薯 Y 病毒外壳蛋白基因介导的抗病性比较[D]. 杭州: 浙江大学, 2001.

[18] 李鹏. 马铃薯 Y 病毒 CP 基因 5' 端和 3' 端反向重复结构介导的抗病性研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2006.

[19] 王秀芳, 朱常香, 温孚江, 等. 一个马铃薯 Y 病毒山东分离物的分离与鉴定[J]. *植物病理学报*, 2003, 33(3): 203-208.

[20] 吴志明, 董志茹, 刘小娟, 等. 马铃薯 Y 病毒河北分离物外壳蛋白基因序列分析和株系鉴定[J]. *园艺学报*, 2005, 32(2): 324-326.

[21] 石鹏君. 马铃薯 Y 病毒 HG-Pro 和甘蔗花叶病毒 CP 基因的克隆、原核表达与抗血清制备[D]. 泰安: 山东农业大学, 2004.

[22] 田延平. 三种马铃薯 Y 病毒属病毒的分子特性[D]. 泰安: 山东农业大学, 2006.

[23] 刘金亮. 四种马铃薯 Y 病毒属病毒的分子变异及 HG-Pro 结构对抑制 RNA 沉默的影响[D]. 泰安: 山东农业大学, 2007.

[24] 陈士华, 刘晓磊, 张晓婷, 等. 河南 PVY 高致病性株系的发现及分子特征研究[J]. *河南农业大学学报*, 2010, 44(4): 443-447.