

唐超,陈远超,朱春晖,等.小西葫芦黄花叶病毒研究进展[J].江苏农业科学,2016,44(9):18-20.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.09.005

小西葫芦黄花叶病毒研究进展

唐超^{1,2},陈远超²,朱春晖²,刘勇²,张德咏^{1,2}

(1.湖南农业大学植物保护学院,湖南长沙 410128; 2.湖南省植物保护研究所,湖南长沙 410125)

摘要:小西葫芦黄花叶病毒(zucchini yellow mosaic virus,ZYMV)属于马铃薯 Y 病毒科(Potyviridae)马铃薯 Y 病毒属(Potyvirus),同时也是一种侵染葫芦科植物的主要病毒,近年来该病毒的危害愈加严重,如何防控 ZYMV 已经成为种植户和社会高度关注的问题。本研究就 ZYMV 的分类地位、传播途径、检测方法、防治方法等进行综述,并进行展望。

关键词:小西葫芦黄花叶病毒;分类;传播途径;检测方法;防治方法

中图分类号:S432.4⁺1 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2016)09-0018-03

小西葫芦黄花叶病毒(zucchini yellow mosaic virus,ZYMV)最早是由 Lisa 等^[1]在意大利和法国的小西葫芦上发现的一种严重危害生产的病毒。ZYMV 属于马铃薯 Y 病毒科(Potyviridae)马铃薯 Y 病毒属(Potyvirus),同时也是一种侵染葫芦科植物的主要病毒。整个病毒粒子大小约为 750 nm × 11 nm,无包膜,由 4.5%~7%的核苷酸和 93%~95%的蛋白质组成,基因组大小为 9.6 kb,是单个 ORF,编码 10 个功能蛋白^[2]。ZYMV 能够侵染葫芦科、苋科、藜科、豆科在内的 11 个属的植物。在自然环境下,葫芦科植物感染病毒后会产生严重的系统性叶缘坏死、花叶、斑驳、褪绿黄化等症状;造成瓜类作物产量降低,果实出现不同程度的畸形,果实口感僵硬,味道苦涩,商品价值降低^[3]。苗期感染将会对葫芦科作物造成 95%~100%的损失,同时感病植株所收获种子的发芽率大大降低^[4]。

随着葫芦科作物种植面积扩大,如何防控 ZYMV 已经成为种植户和社会高度关注的问题。因此,本研究就 ZYMV 的分类地位、传播途径、检测方法、防治方法等进行综述,并就相关方面进行展望,以期对葫芦科作物生产中防控 ZYMV 提供相关的基础知识。

1 ZYMV 的分类与分布

ZYMV 的分类:目前 ZYMV 主要有 3 种分类方法:症状学分类、血清学分类以及分子生物学分类。症状学分类方法主要通过寄主症状来分类,但存在无法区分多种病毒复合侵染的现象。血清学分类主要是利用病毒外壳蛋白与特异性抗体发生特殊免疫反应来进行分类,目前可以将 ZYMV 分为 15 种血清学型,Ⅰ型最为常见,而我国的 ZYMV 血清学型主要为Ⅵ型^[5]。由于病毒与寄主存在协同进化,病毒基因组可能发

生变异,导致血清学分类不准确,为此分子生物学分类得到广泛应用,通常以 CP 基因核苷酸序列多样性为基础进行分类。Lin 等将 11 个来源于不同地区的 ZYMV 分为 4 个不同的 Groups^[6],而 Gu 等将世界 ZYMV 分为 5 个或 6 个 Groups^[7],其中有个别中国分离物属于独特的 Groups;Chen 等利用 CP 基因相对保守的氨基酸核心区域和 C 端序列把 25 个 ZYMV 分离物划分为 5 个 Groups^[8];Coutts 等利用 ZYMV 分离物 CP 基因全基因序列比对分析将来自 5 大洲的 143 个 ZYMV 分离物划分为 A、B、C 3 个 Groups^[9],其中 Groups A 中又细化分为 4 个 subgroups,分别为 A-I、A-II、A-III、A-IV,Groups B 分为 2 个 subgroups,分别为 B-I、B-II,随后 Vučurović 等^[10]和秦碧霞等^[4]以不同的分型标准得出相似的结果。

ZYMV 的分布:该病毒自首次在法国以及意大利发现并报道以来,相继在地中海、东欧、南美洲、澳洲以及亚洲的中部和南部也发现了 ZYMV 的分布,经过短短几十年的时间已经遍布全球 50 多个国家与地区^[11],主要处在热带、亚热带以及温带地区。我国 1991 年由郑光宇等首次在新疆西瓜上发现了 ZYMV,此后相继在华北、华南、西南和华东地区也发现 ZYMV 的分布。

2 ZYMV 传播途径

在自然条件下,ZYMV 可以通过 3 种方式进行传播:介体传播、种子传播和机械接触传播。

介体传播主要通过蚜虫以非持久性方式传毒。目前已报道桃蚜(*Myzus persicae*)、棉蚜(*Aphis gossypii*)等多种蚜虫可以传播 ZYMV 病毒,传毒效率在 10%~100%,不同蚜虫的传毒效率不一致,而且蚜虫的传毒率与蚜虫取食的时间成正相关^[12-13],同时需要指出的是蚜虫在获毒后 30 h,带毒率仍能保持在 1%~1.9%。研究表明,在蚜虫、植株与病毒之间的互作关系中发现感染 ZYMV 的植株相对于蚜虫来说更有吸引力,尤其是黄色的叶片,同时带毒蚜虫群体寿命将更长,更加活跃,有翅蚜的数量相对来说也会增加,这些改变导致 ZYMV 能够传播到更远的地方。

早年由于检测技术的限制,ZYMV 的种子传毒方式一直存在争议,近年来越来越多的研究结果证明 ZYMV 能够通过

收稿日期:2016-03-17

基金项目:公益性行业(农业)科研专项(编号:201303028)。

作者简介:唐超(1988—),男,湖南常德人,硕士研究生,从事微生物与植物分子互作研究。E-mail:794335524@qq.com。

通信作者:张德咏,博士,研究员,主要从事植物病理学研究。
E-mail:dzyzhang73@hotmail.com。

种子进行传播,但是种子带毒率普遍不高,一般为 0 ~ 18.9%^[14]。有研究者发现带毒种子的第一代与第二代传毒效率存在一定的差异,通过相关研究发现,带毒的种子的低发芽率导致了这种差异的存在^[15]。

机械传播是 ZYMV 一种重要的传播途径。由于 ZYMV 病毒粒子存在于表皮细胞中浓度高、稳定性强,所以它能够通过植株间叶片的接触、农机具及修剪工具污染、人和动物的活动等方式在不同的植株之间进行传播,Simmons 等的研究结果证明人类活动对于 ZYMV 的传播起到关键作用^[16]。

ZYMV 短时间内扩散至全球与其多样的传播方式有关。随着全球化贸易的加强,地区间瓜类水果蔬菜的贸易越来越频繁,带毒的种子与瓜果将会随着贸易带入其他地区,因此如何加强监测是防控 ZYMV 的重要手段。

3 ZYMV 检测方法

随着检测技术的发展,ZYMV 的检测方法主要有生物学检测、电子显微检测、血清学检测和分子生物学检测 4 种方法。生物学检测方法是一种传统的检测手段,同时也是研究纯化病毒与其危害必不可少的手段,成本低且操作简单,但是检测周期长,同时还会出现多种病毒复合侵染干扰的现象。ZYMV 在细胞中可以形成独特的内含体,这使得使用电子显微镜来检测 ZYMV 成为可能,但是由于高昂的设备费用以及对检测人员的专业需求却限制了这种检测手段的广泛应用。血清学方法因成本低廉、检测周期较短、灵敏度高等特点被普遍用于 ZYMV 的检测,在此基础上已经衍生出来的免疫胶体金试纸条检测技术,使得这种技术更加贴近大众化。目前国内已有 ZYMV 试剂盒开发成功^[17],尚无 ZYMV 试纸条的研发与销售。以 PCR 技术为基础的分子生物学检测方法因其重复性好、检测时间短、灵敏度和精确度高等特点被广泛应用于 ZYMV 的检测,一般根据 ZYMV 相对保守的 CP 序列设计引物进行 RT-PCR,随后又开发出了能够同时检测多个病毒的多重 RT-PCR^[18]。此后基于 ZYMV 保守基因核苷酸片段的差异性而相继开发出来的基因芯片技术^[19]、分子杂交技术^[20]以及一维电泳指纹技术等^[21]提高了对 ZYMV 种群内部的辨识度和灵敏度。

ZYMV 的快速暴发以及巨大危害性引起了国内外越来越多的关注,同时 ZYMV 的检测技术也受到了国内外的重视,经过多年的研究发展,随着对 ZYMV 检测灵敏度和精确性要求的提高,ZYMV 的检测技术从传统的生物学检测发展到现在被广泛应用的分子生物学技术。但是,目前现有的各种检测手段存在一定的限制,不适用于大规模检测和大众化推广应用,因此开发大规模检测和大众化快速检测手段势在必行。

4 ZYMV 防治方法

4.1 控制或避开传毒介体

随着全球气候变暖,自然传播介体的流行导致 ZYMV 危害越来越严重,因此控制或避开蚜虫对于 ZYMV 的防治来说至关重要。控制蚜虫的方法主要有:使用药剂、套种、物理覆盖、天敌昆虫以及 RNAi 技术。施用农药直接控制蚜虫数量是最直接与简便的方式,目前常用的药剂有烟酰亚胺类、合成除虫菊酯类,但是长期使用将无法避免蚜虫抗性增强,从而对

农作物造成更大的危害,因此具有杀虫活性的植物源农药^[22]、蚜虫信息素^[23]以及微生物农药等新型农药的开发受到国内外越来越多的重视。

葫芦科作物与小麦、玉米或者芸薹属作物套种能够在一定程度上减轻 ZYMV 的危害;银灰色铝箔或地膜对蚜虫均有趋避作用。利用介体天敌防治蚜虫符合当前可持续农业要求,通过繁殖蚜茧蜂(*Asaphes vulgaris* Walker)、蚜小蜂(*Aphytis* sp.)来防治三叶草彩斑蚜(*Therioaphis trifolii*)、麦二叉蚜(*Schizaphis graminum*)等均取得成功^[24]。

上述防治蚜虫介导的病毒病方法存在着污染环境、高成本以及蚜虫易产生抗性缺陷,而近年来发现的基因沉默现象为解决蚜虫传毒提供了新思路。利用 RNA 干扰技术(RNA interference, RNAi)阻断病毒与其传毒介体的特异性互作从而减少蚜虫的带毒率,阻止病毒在植株间的水平传播^[25]。Whyard 等设计特异性的双链 RNA 通过注射和饲喂等方法在蚜虫中实现了靶基因的高效沉默^[26],Xu 等的研究也发现蚜虫中存在与 dsRNA 跨膜转运摄入方式相关蛋白 SID-1,为外源 dsRNA 诱导昆虫 RNAi 引起其靶基因沉默来控制蚜虫传毒提供了可能^[27]。

4.2 选育抗病品种

抗病抗虫育种是防治 ZYMV 最经济有效的途径,也是最具有应用前景的防治方法。主要包括抗性种质资源的筛选、利用和创制。Pitrat 和 Lecoq 发现来自印度的甜瓜品系 PI414723 对棉蚜具有抗性;来自津巴布韦收的 4 个西瓜(*Citrullus lanatus*)地方品种对于 ZYMV-FL、药西瓜(*Citrullus colocynthis*)品系 PI494528、PI494532 对 ZYMV 均具有抗性,现已在多个国家和地区进行推广。在抗性资源创制方面:Gal-Lerani 等培育了 2 个杂交西葫芦品种 Sofia、Linia,拥有 3 种病毒病 ZYMV、CMV、WMV-2 的抗性;另外,物理化学诱变育种、转基因、分子标记等新技术的引入为抗病种植资源的创制提供了便利。

4.3 弱毒株系保护(交叉保护)

McKinney 发现侵染植物后引起轻微症状的一种病毒株系(也叫弱毒株系)可保护植株免受挑战病毒株系的侵染,因此可以有目的地让植株感染一种弱毒株系,来保护其免受严重的病毒入侵。1934 年美国学者 Kunkel 提出了利用弱毒株系防治植物病毒病的设想,1955 年 Posnett 和 Todd 利用交叉保护防治可可肿枝病获得成功,我国在利用交叉保护防治 CMV 方面获得一定的成功。对于 ZYMV,土耳其、美国和以色列已经实现了 ZYMV 弱毒株系的商品化,在夏威夷 90% 农民利用商品化的 ZYMV-WK 来防治小西葫芦黄花叶病毒取得良好的效果;对于弱毒株系的获得研究者们也做了相关的研究,Desbiez 等发现通过对 ZYMV HC-Pro 的点突变可以获得弱毒株系^[28]。

4.4 化学防治

化学防治以见效快、效率高受到广大农户的欢迎,目前许多从植物以及其他有机体分离得到的物质以及一些复合有机化合物已经被证明具有抵抗植物病毒的活性,如葡聚糖、橘霉素、DHT 和水杨酸等能够在一定程度上减轻 ZYMV 的病症^[29],但遗憾的是对于化学防治 ZYMV 的机制并不是很清楚,使得尚未广泛使用,因此加强化学物质抗病毒病的机制研

究,有助于化学防治方法的广泛应用。

5 展望

随着 ZYMV 对葫芦科作物危害的加重,研究认为关于 ZYMV 的研究可以从以下几个重要的方向来展开:一是开发高效、快速的检测方法如实时荧光定量 PCR 技术等,加强对 ZYMV 的监控力度;二是研究 ZYMV 的传播方式、新的传播途径,ZYMV 的种传问题以及蚜虫介体传毒的分子机制,为开发新型防治方法奠定基础;三是研究 ZYMV 与寄主以及传毒介体之间的互作,进一步阐述 ZYMV 的致病机制和植物抗病的分子机制;四是加强化学防治机制的研究;五是加强抗 ZYMV 遗传研究,重视抗病资源收集与抗病基因的挖掘,结合物理化学诱变育种、转基因、分子标记等新技术来加快抗病资源的改良与抗病品种的选育。

参考文献:

- [1] Lisa V, Occardo G, Dellavalle G, et al. Characterization of a potyvirus that causes zucchini yellow mosaic [J]. *Phytopathology*, 1981, 71 (7): 667–672.
- [2] Gal-On A. Zucchini yellow mosaic virus: insect transmission and pathogen – city – the tails of two proteins [J]. *Molecular Plant Pathology*, 2007, 8(2): 139–150.
- [3] Coutts B A, Kehoe M A, Jones R A C. Minimising losses caused by zucchini yellow mosaic virus in vegetable cucurbit crops in tropical, sub-tropical and Mediterranean environments through cultural methods and host resistance [J]. *Virus Research*, 2011, 159(2): 141–160.
- [4] 秦碧霞, 蔡健和, 刘志明, 等. 小西葫芦黄花叶病毒在广西瓜类作物上的发生情况初报 [J]. *广西农业科学*, 2004, 35(4): 309–310.
- [5] 古勤生, Roggero P, Ciuffo M, 等. 我国北方地区葫芦科作物病毒病的调查与病原鉴定 [C]. 第三次全国植物病毒和病毒防治学术研讨会论文集, 2003.
- [6] Lin S S, Wu H W, Jan F J, et al. Modifications of the helper component – protease of zucchini yellow mosaic for generation of attenuated mutants for cross protection against severe infection [J]. *Phytopathology*, 2007, 97(3): 287–296.
- [7] Gu Q S, Fan Z F, Roggero P, et al. Cloning and sequence analysis of the coat protein gene of zucchini yellow mosaic virus from China [J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2003, 33(6): 498–502.
- [8] Chen Y K, Hong Y H. First report of *Begonia* chlorotic ringspot caused by zucchini yellow mosaic virus in Taiwan [J]. *Plant Disease*, 2008, 92(8): 1247.
- [9] Coutts B A, Kehoe M A, Webster C G, et al. Zucchini yellow mosaic virus: biological properties, detection procedures and comparison of coat protein gene sequences [J]. *Archives of Virology*, 2011, 156 (12): 2119–2131.
- [10] Vučković A, Bulajić A, Stanković I, et al. Non – persistently aphid – borne viruses infecting pumpkin and squash in Serbia and partial characterization of zucchini yellow mosaic virus isolates [J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2012, 133(4): 935–947.
- [11] Lecoq H C, Wipf – Scheibel C, Nozeran K, et al. Comparative molecular epidemiology provides new insights into zucchini yellow mosaic virus occurrence in France [J]. *Virus Research*, 2014, 186: 135–143.
- [12] Katis N I, Tsitsipis J A, Lykouressis D P, et al. Transmission of zucchini yellow mosaic virus by colonizing and non – colonizing aphids in Greece and new aphid vectors of the virus [J]. *Journal of Phytopathology*, 2006, 154(5): 293–302.
- [13] 赵荣乐, 郑光宇. 桃蚜可高效率地传播小西葫芦黄化花叶病毒新疆株 [J]. *北京师范大学学报*, 2003, 39(3): 382–385.
- [14] Simmons H E, Holmes E C, Gildow F E, et al. Experimental verification of seed transmission of zucchini yellow mosaic virus [J]. *Plant Disease*, 2011, 95(6): 751–754.
- [15] Simmons H E, Dunham J P, Zinn B, et al. Zucchini yellow mosaic virus (ZYMV, *Potyvirus*): vertical transmission, seed infection and cryptic infections [J]. *Virus Research*, 2013, 176(1/2): 259–264.
- [16] Simmons H E, Holmes E C, Stephenson A G. Rapid evolutionary dynamics of zucchini yellow mosaic virus [J]. *Journal of General Virology*, 2008, 89(4): 1081–1085.
- [17] 祈伟. 小西葫芦黄花叶病毒 ZYMV 和大豆花叶病毒 SMV 检测试剂盒的研制 [D]. 安徽: 安徽大学, 2009: 1–51.
- [18] 王威麟, 张昊, 于祥泉, 等. 侵染西瓜的 5 种病毒 ZYMV、WMV、TMV、SqMV 和 CMV 的多重 RT – PCR 检测体系的建立与检测应用 [J]. *植物病理学报*, 2010(1): 27–32.
- [19] Ting W, Michael N, Dietmar B, et al. Development of a short oligonucleotide microarray for the detection and identification of multiple potyviruses [J]. *Journal of Virological Methods*, 2009, 162(1): 109–118.
- [20] Meng J, Gu Q S, Lin S M, et al. Dot – blot hybridization for detection of five cucurbit viruses by digoxigenin – labelled cDNA probes [J]. *Agricultural Sciences in China*, 2007, 6(12): 1450–1455.
- [21] Luo H, Wylie S J, Jones M G K. Identification of plant viruses using one – dimensional gel electrophoresis and peptide mass fingerprints [J]. *Journal of Virological Methods*, 2010, 165(2): 297–301.
- [22] 周琼, 梁广文, 曾玲, 等. 植物提取物和药剂对蔬菜蚜虫种群的联合控制作用 [J]. *应用生态学报*, 2005, 16(7): 1317–1321.
- [23] Birkett M A, Hassanal A, Hoglund S, et al. Repellent activity of catmint, *Nepeta cataria*, and iridoid nepetalactone isomers against Afro – tropical mosquitoes, ixodid ticks and red poultry mites [J]. *Phytochemistry*, 2011, 72(1): 109–114.
- [24] 韩宝瑜, 崔林. 茶蚜及其主要天敌的种群动态和捕食效应观察 [J]. *福建茶叶*, 2003(1): 13–14.
- [25] Price D R G, Gatehouse J A. RNAi – mediated crop protection against insects [J]. *Trends in Biotechnology*, 2008, 26(7): 393–400.
- [26] Whyard S, Singh A D, Wong S. Ingested double – stranded RNAs can act as species specific insecticides [J]. *Insect Biochemistry and Molecular biology*, 2009, 39(11): 824–832.
- [27] Xu W, Han Z. Cloning and phylogenetic analysis of sid – 1 – like genes from aphids [J]. *Journal of Insect Science*, 2008, 8: 1–6.
- [28] Desbiez C, Girard M, Lecoq H. A novel natural mutation in HC – Pro responsible for mild symptomatology of zucchini yellow mosaic virus (ZYMV, *Potyvirus*) in cucurbits [J]. *Archives of Virology*, 2010, 155(3): 397–401.
- [29] Radwan D E M, Fayed K A, Mahmoud S Y, et al. Physiological and metabolic changes of *Cucurbita pepo* leaves in response to zucchini yellow mosaic virus (ZYMV) infection and salicylic acid treatments [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2007, 45(6): 480–489.