

幽影病毒引起的几种主要植物病害*

李 凡^{1,2} 林奇英² 陈海如¹ 谢联辉²

(云南农业大学农业生物多样性与病虫害控制教育部重点实验室 昆明 650201)¹

(福建农林大学植物病毒研究所 福州 350002)²

摘要: 幽影病毒的基因组不编码外壳蛋白, 不形成通常的病毒粒体结构。这类病毒往往和黄症病毒复合侵染引起植物病害, 蚜虫传播是病害在田间传播流行的主要方式。对幽影病毒引起的胡萝卜杂色矮缩病、花生丛簇病以及烟草丛顶病等几种主要病害的症状、发生与危害、病原物特性以及病害的控制等进行了综述。

关键词: 幽影病毒, 胡萝卜杂色矮缩病, 花生丛簇病, 烟草丛顶病

中图分类号: S432.41 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2006) 03-0151-06

Main Plant Diseases Caused by Umbravirus*

LI Fan^{1,2} LIN Qi-Ying² CHEN Hai-Ru¹ XIE Lian-Hui²

(Key Laboratory for Agricultural Biodiversity for Pest Management of Education Ministry,
Yunnan Agricultural University, Kunming 650201)¹

(Institute of Plant Virology, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002)²

Abstract: The genomes of umbraviruses do not encode a coat protein, and thus no conventional virus particles are formed in infected plants. Umbraviruses are always coinfecting with an assistant virus, which is always a member of the family *Luteoviridae*, to cause most devastating diseases in some areas. The epidemiology of the umbravirus-caused disease is largely depended on aphid transmission. The symptomatology, occurrence, characteristics of the causal agents, disease control of carrot motley dwarf, groundnut rosette and tobacco bushy top were reviewed detailedly in this article.

Key words: Umbravirus, Carrot motley dwarf, Groundnut rosette, Tobacco bushy top

幽影病毒 (umbraviruses) 是一类较为特殊的植物病毒, 这类病毒的基因组不含编码外壳蛋白的基因, 在感病植株体内不形成常规的病毒粒体结构^[1]。自然条件下, 幽影病毒往往和黄症病毒 (luteoviruses) 复合侵染引起植物病害, 如幽影病毒的胡萝卜斑驳病毒 (*Carrot mottle virus*, CMoV) 与黄症病毒的胡萝卜红叶病毒 (*Carrot red leaf virus*, CRLV) 复合侵染引起胡萝卜杂色矮缩病, 幽影病毒的花生丛簇病毒 (*Groundnut rosette virus*, GRV) 和黄症病毒的花生丛簇协助病毒 (*Groundnut rosette assistant virus*, GRAV) 复合侵染引起花生丛簇病, 幽影病毒的烟草丛顶病毒 (*Tobacco bushy top virus*, TBTv) 与黄症病毒的烟草扭脉病毒 (*Tobacco vein distorting virus*, TVDV) 复合侵染引起烟草丛顶病等。由烟草斑驳病毒 (*Tobacco mottle virus*, TMoV) 和 TVDV 复合侵染引

* 国家自然科学基金资助项目 (No. 30060052)

Project Granted by Chinese National Natural Science Foundation (No. 30060052)

云南省自然科学基金资助项目 (No. 2000C0013Q)

通讯作者 Tel: 0871-5227096, E-mail: fanlikm@126.com

收稿日期: 2005-08-24, 修回日期: 2005-09-28

起的烟草丛簇病是第一个报道的由幽影病毒引起的病害, 该病仅在津巴布韦和马拉维发现, 目前该病已很少发现。胡萝卜杂色矮缩病和豌豆耳突花叶病等在大多数国家均有发生, 花生丛簇病和烟草丛顶病等仅在少数几个国家发现, 而烟草丛顶病是目前我国报道的由幽影病毒引起的唯一病害, 另外, 莴苣小斑驳病目前仅在美国的加利福尼亚发生。虽然幽影病毒属的成员不多, 有些幽影病毒仅局限在一定地区发生, 但病毒的感染往往引起较大的损失, 有些地区甚至引起作物绝收, 如 1975 年花生丛簇病在尼日利亚北部流行, 造成 700,000 hm^2 花生绝产, 经济损失高达 2.5 亿美元^[2]; 烟草丛顶病自 1993 年在云南爆发流行以来, 截至 2001 年, 全省累计发病面积达 51,300 hm^2 , 其中 8,700 hm^2 绝收, 1,400 hm^2 改种, 直接经济损失高达 2.1 亿元, 烟草丛顶病已成为云南省 20 世纪 90 年代以来唯一导致大面积绝产的烟草病害。国内对幽影病毒及其所致病害的报道不多, 鉴于这些病原物的特殊性以及病害的危害性, 本文对幽影病毒所引起的几种主要病害的症状、发生与危害、病原物特性以及病害的控制等进行了综述。

1 幽影病毒的基本特征

自然条件下, 幽影病毒感染的植物体内常常发现有黄症病毒复合侵染, 幽影病毒必须依靠黄症病毒作为辅助病毒进行蚜虫传播; 另外, 虽然幽影病毒的基因组为单体的 ssRNA, 但在被其感染的植物体内含有丰富的两条分子量约为 4.5kb 和 1.4kb 的 dsRNA, 根据这些特征, 1995 年起将这类特殊的植物病毒归为幽影病毒属 (*Umbravirus*, 本文统称为“幽影病毒”)^[3]。幽影病毒属病毒有胡萝卜拟斑驳病毒 (*Carrot mottle mimic virus*, CMoMV)、胡萝卜斑驳病毒 (CMoV)、花生丛簇病毒 (GRV)、莴苣小斑驳病毒 (*Lettuce speckles mottle virus*, LSMV)、豌豆耳突花叶病毒 2 号 (*Pea enation mosaic virus - 2*, PEMV - 2)、烟草丛顶病毒 (TBTv) 和烟草斑驳病毒 (TMoV) 等 7 个确定成员, 胡萝卜斑驳病毒为该属代表种; 而向日葵皱缩病毒 (*Sunflower crinkle virus*, SuCV)、向日葵黄斑病毒 (*Sunflower yellow blotch virus*, SuYBV) 和烟草黄脉病毒 (*Tobacco yellow vein virus*, TYVV) 为幽影病毒属的暂定成员^[4]。目前幽影病毒尚未确定科的归属。

幽影病毒可以通过机械接种传播, 虽然单独的幽影病毒不能通过蚜虫传播, 但在其辅助病毒——黄症病毒的帮助下可以通过蚜虫传播, 蚜虫传播对幽影病毒在自然界的存活及扩散是至关重要的。幽影病毒的 RNA 必须被黄症病毒的外壳蛋白异源包裹后, 形成能被蚜虫识别的杂合病毒体才能被蚜虫传播。而幽影病毒在寄主植物体内的增殖和移动并不需要黄症病毒的参与。幽影病毒的寄主范围较窄, 体外抗性也较差。幽影病毒属病毒的基因组结构比较相似, 都包含 4 个 ORF, 但缺乏编码外壳蛋白的 ORF, 不形成通常的病毒粒体结构。

2 胡萝卜杂色矮缩病

胡萝卜杂色矮缩病 (*carrot motley dwarf*, CMD) 是冷凉气候条件下发生在胡萝卜及伞形花科其它植物上的一种重要的病毒病, 在胡萝卜种植区都有发生并引起重要损失。CMD 最早由 Stubbs (1948) 报道在澳大利亚发生, 苗期感病的植株严重矮缩, 叶片颜色表现黄色到红色, 类似营养缺乏症; 生长后期感病的植株有的矮化有的不变矮, 但

叶片变红或黄化,或红黄结合,有些可能保持正常的绿色。最初 Stubbs 认为 CMD 是由单一病毒引起的病害,后来发现 CMD 是由两个不相关的病毒——CMoV 和 CRLV 复合侵染引起。单独感染 CMoV 的植株不表现任何症状,而单独感染 CRLV 的胡萝卜表现为叶片发红或黄化且植株轻微矮化。CMoV 是幽影病毒属的代表种,可以通过汁液摩擦传播,CMoV 也可以被柳胡萝卜蚜传播,但只有 CMoV 和 CRLV 共同感染的植株才能被蚜虫传播。CRLV 是一种黄症病毒,病毒粒体球形,直径约 25nm,通过柳胡萝卜蚜以持久性(循环型、非增殖)传播,不能通过机械摩擦传播^[5]。

近年来的研究表明,引起 CMD 的病原物较为复杂。Gibbs 等从表现 CMD 症状的胡萝卜上分离到幽影病毒属的另一个成员——胡萝卜拟斑驳病毒(CMoMV)^[6]。无论是 CMoV 还是 CMoMV,与 CRLV 复合侵染后都会引起胡萝卜杂色矮缩病。研究还发现,来自新西兰和美国加利福尼亚(太平洋周边国家)的 CMD 感染 CMoMV,而来自英国和摩洛哥(大西洋周边国家)的 CMD 感染 CMoV,而有些地区的 CMD 可能同时感染了 CMoV、CMoMV 及 CRLV。Waston 等还发现,来自美国加利福尼亚的 CMD 病株中除了感染 CMoMV 及 CRLV 外,还感染了第 3 种病毒,即一种分子量约 2.8kb 的 dsRNA^[5],此 2.8kb RNA 依赖于 CRLV 的包衣壳作用进行蚜虫传播,被命名为 CRLV 相关的 RNA (CRLV-associated RNA, CRLVaRNA)。CRLVaRNA 不含编码 CP 的 ORF,而且依赖 CRLV 进行蚜虫传播,但序列分析结果显示 CRLVaRNA 可能不是一种幽影病毒^[5,7],尚不清楚 CRLVaRNA 在病害中的作用。胡萝卜杂色矮缩病病原物的复杂性表明,相同的感病症状可能由不同的幽影病毒引起,而同一感病样品中也可能存在由两种以上病毒复合侵染的现象。

3 花生丛簇病

花生丛簇病(groundnut rosette)于 1907 年首次报道在坦桑尼亚发生,此后该病逐渐在亚撒哈拉非洲(sub-Saharan African, SSA)国家及周边岛屿如马达加斯加发生^[2]。感病花生有两种主要症状,即褪绿丛簇和绿丛簇,褪绿丛簇是整个 SSA 地区的主要症状类型,而绿丛簇仅部分西部、南部及东部非洲国家有报道。无论是感染绿丛簇还是褪绿丛簇的花生植株均表现为严重矮缩,并由于节间缩短和叶片变小而成浓密的灌木状。感染绿丛簇的植株叶色深绿,有的叶片出现亮绿或深绿的花叶;感染褪绿丛簇的植株叶片卷曲和皱缩,有明亮的褪绿,通常还会出现一些绿岛。早期感病植株往往整株表现丛簇症状,而生长后期感病植株仅部分枝条表现为丛簇症状。除了绿丛簇和褪绿丛簇症外,在东部和南部非洲地区还通常出现发病率较低的花叶丛簇症状。

花生丛簇病由 GRV、GRV 的卫星 RNA(sat RNA)以及 GRAV 等多种病原复合侵染引起^[2]。GRV 是幽影病毒属成员,GRAV 为黄症病毒科成员。花生丛簇病的 3 种病原物在病害的发生发展和传播过程中存在着极为密切的相互依赖和相互作用的关系:卫星 RNA 必须依赖 GRV 进行复制,而 GRV 依赖卫星 RNA 进行蚜虫传播,但 GRV 和卫星 RNA 都必须依赖 GRAV 的 CP 进行 RNA 的包衣壳作用才能由蚜虫(主要是黑豆蚜)传播,缺少 GRAV 时蚜虫无法传播丛簇病,缺少 GRV 及其卫星 RNA 时花生植株不表现丛簇症状。显然,3 种致病因子对病害的生物学和病害的传播都起着重要的作

用。自然条件下,三者的共同存在是花生丛簇病能够通过蚜虫进行有效传播的必要条件,而 GRV 及其卫星 RNA 的存活除了必须依赖 GRAV 外,GRV 及其卫星 RNA 也是一种相互依赖的关系,这就是为什么自然条件下感染了 GRV 的病株中总是发现还同时含有卫星 RNA 的原因。

GRV 的卫星 RNA 除了对 GRV 的蚜虫传播有重要作用外,对花生丛簇病不同症状类型的表现同样起着至关重要的作用^[8]。GRV 或 GRAV 单独侵染花生时都不产生或仅产生很轻微的症状,但不同的卫星 RNA 分离物却可以在花生上产生不同的症状,如有的卫星 RNA 在花生上产生褪绿丛簇,有的卫星 RNA 产生绿丛簇,而有的卫星 RNA 仅产生轻微褪绿或斑驳症状^[9]。对 GRV 卫星 RNA 不同分离物的序列分析表明,不同的卫星分离物核苷酸序列长度不一(895~903 nt),各卫星分离物之间存在一定的变异,但至少有 87% 的一致性^[10]。卫星 RNA 对症状的作用可能是通过一种 RNA 介导的方式来进行的,控制卫星 RNA 复制的功能域可以对 GRV 的复制和症状的产生进行负调节作用。

相对于绿丛簇来说,蚜虫传播褪绿丛簇似乎更为有效,如蚜虫在传播褪绿丛簇和绿丛簇时,最短获毒时间分别为 4 h 和 8 h,最短传毒时间均少于 10 min,平均潜育期分别为 26.4 h 和 38.4 h^[11]。由于 GRAV 分布于韧皮部组织,而 GRV 及其卫星 RNA 主要分布于叶肉细胞,GRAV、GRV 及其卫星 RNA 不可能总是在同一组织中出现,相对较长的饲毒时间对于蚜虫分别在叶肉细胞和韧皮部组织获取 GRV 及其卫星 RNA 和 GRAV 是非常必要的,而且 GRV 的 RNA 及其卫星 RNA 必须被 GRAV 的 CP 包裹成一定的粒体结构才能被蚜虫传播,因此,蚜虫的最短获毒时间都明显比最短传毒时间要长得多。值得注意的是,在研究丛簇病的蚜虫传毒特性以及病害的流行时,由于 GRAV 在花生植株上并不表现明显的症状,表现丛簇症状的植株并不一定表示 GRAV 的存在。当蚜虫在花生植株上试探性取食时,蚜虫的口针刺穿在叶肉细胞上并不需要很长时间就完全可以将 GRAV、GRV 及其卫星 RNA 传入花生植株,但只有 GRV 及其卫星 RNA 可以在叶肉细胞中复制和增殖(GRAV 只能在韧皮部细胞中增殖),植株上表现出来的丛簇症状实际上只是 GRV 及其卫星 RNA 在缺少 GRAV 的情况下产生的结果,这样的植株因此也不能再被蚜虫传播。同样的,由于 GRAV 必须被传入韧皮部才能进行复制和增殖,在传毒时间(inoculation access period, IAP)方面,GRAV 比 GRV 及其卫星 RNA 要长。如果 IAP 短于 120 min,只有少数蚜虫的口针到达韧皮部,40% 的接种植物可以表现丛簇症状,但这些表现症状的植株都不含 GRAV,说明蚜虫释放到植物中的 GRAV 量太少时,可能不足以启动 GRAV 的 RNA 进行复制;而当 IAP 达到 48 h 时,95% 的接种植物都可以表现丛簇症状,但只有 50% 表现症状的植株含 GRAV^[8]。

4 烟草丛顶病

烟草丛顶病(tobacco bushy top)最早于 1957 年在津巴布韦北部春克旺里发生,在终年种植烟草的赞比西河峡谷地区发病较重^[12]。烟草丛顶病为系统侵染病害,烟草整个生育期均可感染。感病烟株腋芽过度生长,产生许多过细的枝条和脆弱的叶子,花小但能正常结籽,苗期感染导致严重矮化和畸形。目前该病已在津巴布韦及其邻国南

非、马拉维、赞比亚等非洲南部地区,以及亚洲的巴基斯坦、泰国和中国的云南发现,主要在非洲的赞比西河峡谷地区以及云南的怒江、澜沧江和金沙江等三江流域烟区流行危害,而其它烟区只是零星发生^[13]。烟草丛顶病由 TBTv 及 TVDV 复合侵染引起。近年来,随着对烟草丛顶病病原物分子生物学研究的深入^[14,15],TBTv 和 TVDV 的分类地位已得到确认,2005 年 ICTV 的第 8 次病毒分类报告,已正式将 TBTv 归为幽影病毒属的确定成员,TVDV 归为黄症病毒科的正式成员^[4]。TBTv 可以通过摩擦接种传播,当同时感染 TBTv 和 TVDV 时,TBTv 也可以通过蚜虫(主要是烟蚜)传播;而 TVDV 只能通过蚜虫传播,不经机械传播^[16]。从烟草丛顶病感病烟株中可以检测到多条与病害相关的 dsRNA,其中分子量 4.0 ~ 5.0 kb、1.5 ~ 2.0 kb 及 0.75 ~ 1.00 kb 的 dsRNA 经常出现。在烟草丛顶病病株细胞质和液泡中还发现许多直径约 100 nm ~ 200 nm 内含纤维状物的多呈球形、卵圆形或椭圆形小囊泡,小囊泡内的纤维状物可能是病毒基因组 RNA 的 dsRNA 复制型^[16,17],这些小囊泡结构可能与病毒的复制和/或对裸露的病毒 RNA 提供保护有关。

烟草丛顶病在田间主要靠蚜虫传播,烟蚜迁飞高峰期是造成病害流行的重要时期,尤其是在烤烟苗期及大田移栽初期烟蚜的迁飞和消长量将严重影响病害的流行及危害程度^[17,18]。日前生产上主要采取“预防为主,治(避)虫防病”为中心的综合防治措施,以防治媒介昆虫、培育无毒烟苗和控制大田流行为主,其次从保健栽培及淘汰病苗方面入手,通过控制传播源、切断传播途径和增强烟株抗病性以达到病害的有效防治目的^[12]。

5 问题和展望

幽影病毒引起的病害是一类特殊的植物病害,目前国内仅云南发现有烟草丛顶病的发生。由于幽影病毒不编码外壳蛋白,不形成病毒粒体结构,因此传统的电镜技术和血清学方法不适用于这类病毒的检测。另外,由于幽影病毒引起病害的症状与植原体等病原引起的病害有一定的相似性,加之感病植株在电镜下检测不到病毒粒体,给病害的准确诊断和有效控制带来了不少困难,如我国云南发生的烟草丛顶病在早期就曾被误认为是植原体引起的烟草丛枝病。近年来,随着对幽影病毒引起病害研究的深入,一些快速、准确的病害诊断和鉴定方法已被用于幽影病毒引起病害的研究。首先,通过 dsRNA 技术,分析感染植株的 dsRNA 谱,可以初步判断病害是否由幽影病毒所致;其次,利用幽影病毒通用引物 Umbra - NNS/Umbra - FDQH,通过 RT - PCR 方法可以准确判断感染植株是否含有幽影病毒,对 RT - PCR 扩增产物进行序列分析即可断定病害由哪一种幽影病毒引起。另外,自然条件下幽影病毒总是伴随其相应的辅助病毒(黄症病毒)复合感染植株,可以通过制备幽影病毒相应辅助病毒的抗血清,对田间发病植株进行血清学检测而达到病害的早期诊断目的。两种甚至多种植物病毒复合体引起同一种植物病害的现象虽然不常见,但由于这些病原物的特殊性,加之病害在局部地区几度流行并造成严重危害,进一步深入开展病害的生物学及流行病学、病原物的分子生物学等研究,探明幽影病毒的致病机理、传播介体的传毒机制等,将对这类病害的深入研究和有效控制提供重要的理论基础。

参考文献

- [1] Taliany M E, Robinson D J. *J Gen Virol*, 2003, **84**: 1951 ~ 1960.
- [2] Naidu R A, Kimmins F M, Deom C M, *et al.* *Plant Dis*, 1999, **83** (8): 700 ~ 709.
- [3] Murrant A F, Robinson D J, Gibbs M J. Genus Umbravirus. In: Murphy F A, Fauquet C M, Bishop D H L, *et al* (eds). *Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses. Sixth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Vienna: Springer-Verlag, 1995. 388 ~ 391.
- [4] Fauquet C M, Mayo M A, Maniloff J, *et al* [eds], *Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses, Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. New York: Elsevier Academic Press, 2005.
- [5] Watson M T, Tian T, Estabrook E, *et al.* *Phytopathology*, 1998, **88**: 164 ~ 170.
- [6] Gibbs M J, Cooper J I, Waterhouse P M. *Virology*, 1996, **224** (1): 310 ~ 313.
- [7] Vercauteren P, Gibbs M, Tirry L, *et al.* *J Virol Methods*, 2000, **88**: 153 ~ 161.
- [8] Kumar I K, Murrant A F, Robinson D J. *Ann Appl Biol*, 1991, **118**: 555 ~ 564.
- [9] Murrant A F, Kumar I K. *Ann Appl Biol*, 1990, **117**: 85 ~ 92.
- [10] Blok V C, Ziegler A, Robinson D J, *et al.* *Virology*, 1994, **202**: 25 ~ 32.
- [11] Misari S M, Abraham J M, Demski J W, *et al.* *Plant Dis*, 1988, **72**: 250 ~ 253.
- [12] 杨程. 烟草科技, 2003, 2: 43 ~ 45.
- [13] 李凡, 吴建宇, 陈海如. 植物病理学报, 2005, **35** (5): 385 ~ 391.
- [14] Mo X H, Qin X Y, Wu J Y, *et al.* *Arch Virol*, 2003, **148** (2): 389 ~ 397.
- [15] 李凡, 钱宁刚, 杨根华, 等. 云南农业大学学报, 2002, **17** (4): 440 ~ 441.
- [16] 李凡, 周雪平, 蔡红, 等. 植物病理学报, 2001, **31** (4): 372.
- [17] 李凡, 洪健, 周雪平, 等. 云南烟草丛枝症病害病株的细胞超微结构变化研究. 朱有勇, 李健强, 王惠敏. 植物病理学研究进展——中国植物病理学会第四届青年学术研讨会论文选编. 昆明: 云南科技出版社, 1999. 170 ~ 171.
- [18] 秦西云, 杨铭, 段玉琪, 等. 云南农业大学学报, 1999, **14** (1): 87 ~ 90.