

交互保护作用及其在植物病毒病防治上的应用

肖火根 范怀忠

(华南农业大学植保系, 广州 510642)

Cross-Protection and Its Use on the Control of Plant Virus Disease

Xiao Huogen Faan Hweichung

(South China Agricultural University, Guangzhou 510642)

S432.41

关键词 交互保护作用, 植物病毒病防治

Key words Cross-protection, Control of plant virus disease

植物系统性地感染病毒的某一株系后, 可以免受同种病毒其它株系侵染的现象一般称为交互保护作用(也曾称为干扰作用、交互干扰作用、获得性免疫、获得性耐病性和预免疫等)。这个现象是由 McKinney 于 1929 年首先发现的, 他观察到烟草感染了烟草花叶病毒(TMV)的绿色花叶株系后, 再接种黄色株系就不能产生黄色株系的症状。此后, 很多病毒株系间都发现有交互保护作用, 因而交互保护作用可用于病毒株系的鉴定上。在生产实践上, 利用弱株系预防强株系的设想首先是由 Kunkel(1934)提出的。近二十年来弱株系已较成功地用以防治番茄花叶病(ToMV)^[1]、柑桔衰退病(CTV)^[2]和番木瓜环斑病(PRV)^[3]的强株系的危害。

迄今有关交互保护作用应用的综述文章很多^[4-8]。本文在这些综述文章的基础上结合近五年来有关文献, 对交互保护作用及其在植物病毒病防治上的应用问题作进一步的研讨。

1 交互保护作用在病毒株系鉴定上的应用

如上所述, 交保护作用一般发生于相关病毒(或类病毒)株系之间, 但也有少数报道同一病毒(或类病毒)不同株系间没有交互保护作用或只有部分交互保护作用。例如甜菜曲顶病毒(BtCTV)^[9]、毒麦花叶病毒(RMV)^[10]、玉米矮缩花叶病毒(MDMV)^[11]、甘蔗花叶病毒(SCMV)^[12]和柑桔裂皮类病毒(CEV)^[13]。但随后又发现 MDMV 株系之间及与相关病毒 SCMV 间有部分交互保护作用。CEV 株系间也有交互保护作用^[15]。此外, 在不同病毒株系-寄主组合间也存在不同程度的交互保护作用。如 Fulton^[16]测定了烟草条纹病毒(TSV)的 8 个株系间的 28 对组合中有 8 对具有交互保护作用, 8 对只有单向的保护作用, 另外 12 对完全没有保护作用。

不相关病毒之间也报道有不同程度的交互保护作用。烟草感染了烟草环斑病毒(TmRSV)不再感染樱桃叶卷病毒(CLRV)^[7]。烟草蚀纹病毒(TEV)对马铃薯 Y 病毒(PVY)有交互保护作用^[18]。白菜黑色环斑病毒(CBRV)或马铃薯 X 病毒(PVX)接种在系统性感染了 CMV、PVY、

• 本文于 1993 年 7 月 5 日收到, 9 月 17 日修回

TMV 或烟草蚀纹病毒(TEV)的烟草植株上所产生的枯斑数减少 50%以上^[19]。

由于上述例外情况,曾用于病毒株系鉴定和分类的交互保护作用在七十年代到八十年代中期就未受到足够重视,直至八十年代末这个局面才得到扭转。

Shukla 和 Ward(1989)^[20]发现马铃薯 Y 病毒组病毒(如 MDMV 和 SCMV)在交互保护作用中出现的例外情况很可能是由于所用的病毒或株系的错误鉴定所致。现已证明所谓 SCMV 是由包括 MDMV 在内的四种病毒组成的^[21],以前用这些株系进行的交互保护作用的研究结果也正好证明了这一结论。柑桔裂皮病也已发现是由多种类病毒复合感染的结果^[22]。所以同种病毒或类病毒的株系配对时表现有一定的交互保护作用,而不同种病毒或类病毒株系配对时则没有交互保护作用。

另一方面,Wen 等(1991)^[23]在研究大麦黄矮病(BYTV)株系间的交互保护作用时还进一步发现,交互保护作用的程度一般与株系间的血清学相关程度呈正相关。我们^[24]在研究番木瓜环斑病毒株系间的交互保护作用中也同样发现,株系间的亲缘关系愈密切,则交互保护作用程度愈强。因此,交互保护作用是能够反映株系间的相关性的。由于上述这些发现,交互保护作用在病毒鉴定上的作用重新受到重视。

2 交互保护作用在植物病毒病防治上的应用

2.1 交互保护作用应用成功的例子

弱株系可从病毒的自然群体中分离^[2]或通过人工化学诱变^[1]和高温诱变^[25]获得。

弱株系的保护作用曾较成功地应用于防治番茄花叶病(ToMV)^[1, 25]。近年来由于抗 ToMV 的番茄品种的出现,ToMV 弱株系保护作用的重要性有所降低。现在弱株系的保护作用主要用于防治柑桔类衰退病(CTV)和番木瓜环斑病(PRV)。

柑桔衰退病(CTV)是柑桔产区的一种严重病害。在严重感染衰退病果园里从树势良好的树体上不难分离到弱株系^[26],在巴西已成功地利利用弱株系来减轻衰退病毒的严重茎陷点株系对某几个品种的危害^[2, 27]。CTV 弱株系的保护作用也应用于保护澳大利亚的葡萄柚、日本的甜橙、印度的酸橙、美国加利福尼亚州的甜橙和非洲南部的葡萄柚和甜橙^[5, 28],在以酸橙作砧木的美国佛罗里达州和德克萨斯州、以色列和墨西哥都将会是重要的防治手段^[28]。

番木瓜环斑病(PRV)是热带和亚热带地区番木瓜生产上一个主要限制因素。由于选育抗病或抗病品种的方法不很理想,所以利用交互保护作用是一个较为可行的防治措施。但在田间选择自然存在的弱株系未能成功^[29],我们近十年来的努力也没有结果。通过亚硝酸诱变处理,Yeh 和 Gonsalves(1984)^[28]获得两株在番木瓜上无症状的突变株,即 PRV_{HA5-1}和 PRV_{HA6-1}。温室试验结果表明:在保护接种 26—30 天后摩擦接种强株系,这两个弱株系能保护番木瓜免受强株系的侵染。在保护接种 14 天后用蚜虫传病来攻击接种,约有 14% 仍出现攻击株系的症状;在保护接种 28 天后进行攻击接种,未见保护作用崩溃的现象。我国台湾的田间试验结果^[3]表明:如果在受到 HA5-1 弱株系保护的植株周围有发病很严重的病株,则受到保护的植株仅比未受到保护的推迟 1—2 个月发病。但拔除病株的则可增产 80%,且由于品质较好,可增收 110%,此技术从 1989 年至今已推广应用于 300 万株番木瓜上^[30]。

交互保护作用也很有希望应用于防治葫芦科作物上的重要病毒病——西葫芦黄色花叶病(ZYMV)。Lecoq(1986)^[31]从蚜传能力很差的 ZYMV 株系(E15-PAT)中获得一个 WK 弱株系,此弱株系在南瓜和甜瓜植株上引起轻斑驳,果实不产生症状。西葫芦在苗期接种此株系后,其

果实产量仅稍微降低^[32]。1988—1989年法国的田间试验^[32]表明:即使在病害压力很高的条件下,此弱株系也能有效地保护两个西葫芦品种免受强株系的危害,保护区的果实产量比对照区提高14.7倍。我国台湾也进行了同样的试验^[33]:在温室条件下,此弱株系能保护黄瓜、甜瓜和西葫芦免受来自美国康涅格州和佛罗里达州、法国和我国台湾四个严重株系的侵染;在中度和高度田间病害压力下,此弱株系对台湾株系有很好的保护效果,其果实产量分别比对照高2.2和40倍。

2.2 交互保护作用应用中存在的问题

尽管弱株系保护作用的应用在一些作物的病毒病中取得了较明显的效果,但还存在不少问题未能解决。

2.2.1 株系专化性问题

由于株系间交互保护作用的程度与株系间的亲缘关系呈正相关^[23,24],因此弱株系的保护作用是具有株系专化性的^[30]。PRV_{HAS-1}弱株系对其野生株系PRV_{HA}的保护作用效果比在台湾株系的好^[3],而对泰国株系基本没有保护效果^[30],对华南株系的保护效果也很差^[24]。同样,ZYMV-WK弱株系对其野生株系的保护作用比在台湾株系的好^[33]。ToMV-L₁₁弱株系能保护Ohio IV株系,但对其它一些株系只有部分保护作用^[26]。由于上述问题,各个国家和地区要利用弱株系来防治植物病毒病,必须从当地的病毒株系中选择一个优势株系进行诱变来筛选弱株系,这样的弱株系在大田才能够有较理想的保护效果^[24]。

2.2.2 作物和品种问题

弱株系的保护作用效果还因作物或品种的不同而有差异。在温室条件下,ZYMV-WK弱株系在甜瓜上对ZYMV-CT和ZYMV-FR强株系有完全的保护作用,而对ZYMV-FL和ZYMV-TW强株系只有80%的保护作用;可是在黄瓜和南瓜上,这个弱株系对上述几个强株系的保护作用效果只有50—90%^[33]。马铃薯纺锤块茎类病毒弱株系(MF-PSTV)在马铃薯上的保护作用效果比在番茄上的要好^[34,35]。MF-PSTV在高度感病马铃薯品种Russet Burbank上的保护作用是完全的,而在抗病品种Belkus上是不完全的^[35]。在田间鉴定的45个CTV弱株系中,有3个适用于甜橙,2个适用于Galego酸橙,1个适用于红宝石葡萄柚^[27]。ToMV-L11A弱株系能有效地保护很多番茄品种,但不能保护含有Tm-1抗病基因的番茄品种^[25]。由于亲缘关系的PRV株系间的交互保护作用的强弱是由它们相对的株系病毒在植株体内的运转和增殖速率以及增殖量的大小(即植株组织内的病毒浓度)所决定^[24],又由于弱株系及其所保护的株系的运转和增殖速率以及增殖量的大小因作物或品种的不同而有差异。所以,弱株系的保护作用因作物或品种的不同就会有所不同。

2.2.3 温度问题

温度对弱株系保护作用效果的影响是通过对病毒的运转和增殖的影响而起作用的^[24]。在15—20℃,ToMV弱株系能阻止严重株系的增殖;而在25—30℃则不能^[36]。此外,在高温(30—35℃)下,PRV_{HAS-1}弱株系的接种率很低,其保护作用的效果很差^[30]。

2.2.4 弱株系保护作用崩溃的问题

弱株系保护作用的崩溃现象时有发生。在番茄生长后期,受到ToMV-MIL-16弱株系保护的一些植株出现明显的花叶症状^[37]。CTV弱株系在甜橙上的保护作用是不完全的^[38]。PRV弱株系的应用也没能使番木瓜恢复为多年生果树^[30]。

弱株系保护作用发生崩溃的原因:一是有些植株也许未能感染上弱株系^[39];二是弱株系保护作用具有株系专化性^[23,24,30];三是弱株系对严重株系的保护作用是不完全的^[24,39]。一般来说,弱株系比强株系增殖速度慢,增殖量少^[24,39,40],因而竞争不过强株系。至于弱株系突变为强株系的问题,迄今未见有实例报道。

3 基因工程保护作用

根据试验研究和理论推测,前人提出了不少假说来解释交互保护作用特异性现象(有关这方面的问题在 Sherwood^[4]的综述文章中有详细论述,本文不再讨论),其中被大多数人接受的一个假说认为:由保护病毒侵染而产生的外壳蛋白(CP)阻止了攻击病毒粒子的脱壳或被它脱壳出来的RNA,从而干扰了攻击病毒的复制^[41]。根据这个假说,一些研究者就设想将保护株系的CP基因引入植物基因组中以产生类似交互保护作用的现象。Abel等(1986)^[42]首先成功地获得了表达TMV-CP基因的抗TMV侵染的转化烟草植株。随后 Turner等(1987)^[43]获得了抗苜蓿花叶病毒(AIMV)的烟草和番茄植株。在过去5年里,由于CP基因的表达而产生的抗病性(即基因工程保护作用)已在植物病毒7个组的十几种病毒中有较成功的报道^[44]。

迄今已报道的基因工程保护作用的主要特点是:(1)表达CP基因的转化植株接种相应病毒后推迟表现症状,甚至不表现症状,病毒的增殖也受到一定程度的抑制^[42,43];(2)CP传递的保护作用与攻击株系的接种浓度有关,接种浓度越高,转化植株阻止或推迟症状表现的能力就越弱^[42]。但是,对于AIMV^[43]、PVX^[45]和PVY^[46],即使接种浓度高达50 μ g/ml,CP传递的保护作用几乎仍是免疫反应;(3)转化植株的抗病程度与植株中的CP含量呈正相关^[46];(4)转化植株不能抵抗病毒强株系核酸的接种^[47,48]。但由PVX和PVS的CP基因的转化植株例外^[45,49],上述基因工程保护作用的特点与交互保护作用的特点^[6]相似,而前者优于后者的特点为:(1)受保护的植株不含有侵染性病毒粒子;(2)不存在弱株系突变为强株系的可能性;(3)保护作用是可以遗传的^[44]。

由于基因工程保护作用的很多特点和交互保护作用相似,又由于外壳蛋白在交互保护作用中起着重要作用^[50,51],所以,基因工程保护作用机理看来与弱株系保护作用机理在相当程度上有共同之处^[24]。例如,Nelson等(1988)^[52]报道含有U1-TMV CP的转化番茄对U1-TMV株系的抗病力比对其它严重株系如PV230和ToMV-L株系的要强。此外,含有PRV_{HA} CP的转化番木瓜对PRV-HA株系高度抵抗,而对泰国株系和中国台湾株系则无抗性(夏威夷大学胡晋生博士,私人通讯)。根据株系间交互保护作用的程度与株系间的亲缘关系呈正相关的这一特点^[23,24],我们认为在生产实践上应用外壳蛋白进行基因工程时,应选用该病毒在当地的优势株系,其保护作用较为理想。

4 结束语

植物病毒株系间的交互保护作用是很普遍的。应当肯定它可作为病毒株系亲缘关系鉴定的一个重要依据。而在病害防治方面,有两个重要因素支持着弱株系交互保护作用的应用而吸引人们对它的重视:一是严重的经济损失(通常是长期的);二是缺乏其它防治措施。它的应用也有其局限性,其解决办法还有待进一步研究。基因工程保护作用虽能克服弱株系交互保护作用的某些缺点,但其效果还不够理想,还有待提高。此外,弱株系交互保护作用机理的进一步研究也很有必要,这有助于新类型的基因工程抗病植株的研究应用和发展。

参 考 文 献

- 1 Rast A T B. Mill-16, An artificial symptomless mutant of tobacco mosaic virus for seedling inoculation of tomato crops. *Neeth J Plant Pathol*, 1972; 78:110—112
- 2 Muller G W, Costa A S. Tristeza control in Brazil by preimmunization with mild strains. *Proc In Soc Citricult*, 1977; 3:868—872
- 3 Wang H L, Yeh S D, Chiu R J, et al. Effectiveness of cross protection by mild mutants of papaya ringspot disease of papaya in Taiwan. *Plant Disease*, 1987; 71:491—497
- 4 Sherwood J L. Mechanisms of cross protection between plant virus strains. *Plant resistance to viruses*. Wiley, Chichester (Ciba Foundation Symposium 133), 1987, 136—150
- 5 Fulton R W. Practices and precautions in the use of cross protection for plant virus disease control. *Ann Rev Phytopathol*, 1986; 24:67—81
- 6 Ponz F, Bruening G. Mechanisms of resistance to plant viruses. *Ann Rev Phytopathol*, 1986; 24:355—381
- 7 Palukaitis P, Zaitlin M. A model to explain the “cross-protection” phenomenon shown by plant viruses and viroids. In: *Plant-Microbe Interactions; Molecular and Genetic Perspectives*, Kosuge T, Nester E W ed. New York; Macmillan, 1984; 420—429
- 8 Hamilton R L. Defenses triggered by previous invaders viruses. In: *Plant Disease, An Advanced Treatise*, Horsfall J G, Cowling E R ed. New York; Academic, 1980; 279—303
- 9 Bennett C W. Recovery of water piempernel from curly top and the reaction of recovered plants to reinoculation with different virus strains. *Phytopathology*, 1955; 45:531—536
- 10 Wilkins P W, Catherall P L. The effect of some isolates of ryegrass mosaic virus on different genotypes of *Lolium multiflorum*. *Ann Appl Biol*, 1974; 76:209—216
- 11 Paulsen A Q, Sill W H. Absence of cross protection between maize dwarf virus strains A and B in grain sorghums. *Plant Disease Reporter*, 1970; 54:627—629
- 12 Abett E V. Cross-protection experiments with sugarcane mosaic virus (SMV). *Phytopathology*, 1963; 53:869
- 13 Kapur S P, Weathers L G, Calavan E C. *Proc Int Organi Virologists*, 1974; 6:21—28
- 14 Tosic M. Cross protection among some strains of sugarcane mosaic virus and maize dwarf mosaic virus. *Agronomie*, 1981; 1:83—85
- 15 Duran-Vila N, Semancik J S. Variation in the “cross-protection” effect between two strains of citrus exocortis viroid. *Ann Appl Biol*, 1990; 117:367—377
- 16 Fulton R W. Superinfection by strains of tobacco streak virus. *Virology*, 1978; 85:1—8
- 17 Jones A T. Serological specificity of isolates of cherry leaf roll virus from different natural hosts. *Agric Conspectus Sci*, 1976; 39: 527—532
- 18 Bawden F C, Fassanis B. The suppression of one plant virus by another. *Ann Appl Biol*, 1945; 32:52—53
- 19 Thomson A D. Interference between plant viruses. *Nature (London)*, 1958; 181:1547—1548
- 20 Shukla D D, Ward C W. Identification and classification of potyviruses on the basis of coat protein sequence data and serology. *Arch Virol*, 1989; 106:171—200
- 21 Shukla D D, Gough K H, Ward C W. Coat protein of potyviruses. 3. Comparison of amino acid sequences of the coat proteins of four Australian strains of sugarcane mosaic virus. *Arch Virol*, 1987; 9:59—74
- 22 Duran-Vila N, Pina J A, Ballester J F, et al. The citrus exocortis disease; a complex of viroid RNAs. *Proc Int Organi Citrus Virologists*, 1988; 10:152—164
- 23 Wen F, Lister R M, Fattorh. Cross-protection among strains of barley yellow dwarf virus. *J Gen Virology*, 1991; 72:791—799
- 24 肖火根. 番木瓜环斑病毒株系间的交互保护作用及其机理研究. [博士学位论文], 广州: 华南农业大学植保系, 1992
- 25 Oshima N. The control of tomato mosaic disease with attenuated virus of tomato strain of TMV. *Rev Plant Prot*, 1975; 10: 771—778
- 26 Muller G W, Costa A S. Search for outstanding plants in tristeza infected citrus orchards; The best approach to control the disease by preimmunization. *Phytophylatica*, 1987; 19:197—198
- 27 Costa A S, Muller Q W. Tristeza control by cross protection; A USA-Brazil cooperative success. *Plant Dis Rep*, 1980; 54:893—895

- 28 Yodomi R K, Garnsey S M, Lee R F, *et al.* Use of insect vectors to screen for protecting effects of mild citrus tristeza virus isolates in Florida. *Phytophylactica*, 1987; 19:169—172
- 29 Yeh S D, Gonsalves D. Evaluation of induced mutants of papaya ringspot virus for control by cross protection. *Phytopathology*, 1984; 74:1086—1091
- 30 Yeh S D. Control of ringspot diseases of papaya by induced mild virus strains. *Acta Horticulturae*. 1990; 275:753—760
- 31 Leocq H. A poorly aphid transmissible variant of zucchini yellow mosaic virus (Abstr.). *Phytopathology*, 1986; 76:1063
- 32 Leocq H, Lemaire J M, Wipf-Scheibel C. Control of zucchini yellow mosaic virus in squash by cross protection. *Plant Disease*, 1991; 75:208—211
- 33 Wang H L, Gonsalves D, Providenti R, *et al.* Effectiveness of cross protection by a mild strains of zucchini yellow mosaic virus in cucumber, melon and squash. *Plant Disease*, 1991; 75:203—207
- 34 Khoury J, Singh R P, Boucher A, *et al.* Concentration and distribution of mild and severe strains of potato tuber viroid on cross-protection tomato plants. *Phytopathology*, 1988; 78:1311—1316
- 35 Singh R P, Voucher A, Somerville T H, *et al.* Characteristics of cross-protection with potato spindle tuber viroid strains in tomato plants. *Can J Plant Pathol*, 1989; 11:263—267
- 36 Thomas B J. Tomato mosaic virus. *Ann Rept Glasshouse Crops Res Instr*, 1973, 20-31
- 37 Cassells A C, Herrick C C. Cross protection between severe and mild strains of tobacco mosaic virus in doubly infected tomato plants. *Virology*, 1977; 78:253—260
- 38 Bar-Joseph M. Cross-protection incompleteness, A possible cause for natural spread of citrus tristeza virus after a prolonged lag period in Israel. *Phytopathology*, 1978; 68:1110—1111
- 39 Fletcher J T, Rowe J W. Observations and experiments on the use of avirulent mutant strain of tobacco mosaic virus as a means of controlling tomato mosaic. *Ann Appl Biol*, 1975, 81, 171—179
- 40 Nishiguchi M, Motoyoshi F, Oshima N. Comparison of virus production in infected plants between an artificial tomato strain (L11A) and its wild strain (L) of tobacco mosaic virus. *Ann Phytopath Soc Japan*, 1991; 56:691—694
- 41 Dezoeten G A, Fulton R W. Understanding generates possibilities. *Phytopathology*, 1975; 65:221—222
- 42 Abel P P, Nelson R S, De B, *et al.* Delay of disease development in transgenic plants that express the tobacco mosaic virus coat protein gene. *Science (Wash D. D.)*, 1986; 232:738—743
- 43 Tumer N E, O'connell K M, Nelson R S, *et al.* Expression of alfalfa mosaic virus coat protein gene confers cross protection in transgenic tobacco and tomato plants. *EMBO J*, 1987; 6:1181—1188
- 44 Beachy R N, Loesch-Fries S, Tumer N E. Coat protein-mediated resistance against virus infection. *Ann Rev Phytopathology*, 1990; 28:451—474
- 45 Hemenway C, Fang R X, Kaniewski J J, *et al.* Analysis of the mechanism of protection in transgenic plants expressing the potato virus X coat protein or its antisense RNA. *EMBO J*, 1988; 7:1273—1280
- 46 Stark D M, Beachy R N. Protection against potyvirus infection in transgenic plants; Evidence for broad spectrum resistance. *Biotechnology*, 1989; 7:1257—1261
- 47 Loesch-Fries S, Halk E, Merlo D, *et al.* Expression of alfalfa mosaic virus coat protein gene and antisense DNA in transformed tobacco tissues. *Mol Cell Biol*, 1987; 48:221—234
- 48 van Dun C M P, Bol J F, van Vloten-Doting. Expression of alfalfa mosaic virus and tobacco rattle virus protein genes in transgenic tobacco plants. *Virology*, 1987; 159:299—305
- 49 Mackenzie D J, Tremaine J H. Transgenic *Nicotiana glauca* expressing viral coat protein are resistant to potato virus S infection. *J. Gen Virology*, 1990; 71:2167—2170
- 50 Sherwood J L, Fulton R W. The specific involvement of coat protein in tobacco mosaic virus (TMV) cross protection. *Virology*, 1982; 119:150—158
- 51 Dodds J A, Lee S Q, Tiffany M. Cross protection between strains of cucumber mosaic virus, effect of host and type of inoculum on accumulation of virions and double stranded RNA of the challenge strain. *Virology*, 1985; 188:235—240
- 52 Nelson R S, McCormick S M, Delannay X, *et al.* Virus tolerance, plant growth, and field performance of transgenic tomato plants expressing coat protein from tobacco mosaic virus. *Biotechnology*, 1988; 6:403—409