

# 分蘖洋葱病毒病检测及脱毒技术的研究综述

苏雪娇<sup>1</sup>, 王学国<sup>2</sup>, 王秀峰<sup>2</sup>, 张悦<sup>2</sup>, 王健鹏<sup>2</sup>, 滕巍<sup>2</sup>, 张露文<sup>1</sup>, 宋述尧<sup>1\*</sup>

(1. 吉林农业大学园艺学院, 长春 130118; 2. 吉林省蔬菜花卉科学研究所, 长春 130033)

**摘要:** 病毒病侵染是导致分蘖洋葱产量和品质下降的主要原因之一, 因此关于分蘖洋葱病毒病检测和脱毒技术方面的研究极为重要。本文对分蘖洋葱感染的病毒类型及特征、病毒的检测方法和脱毒方法三个方面进行综述, 以为分蘖洋葱病毒病的研究和高产栽培提供一定理论参考。

**关键词:** 分蘖洋葱; 病毒检测; 脱毒; 洋葱黄矮病毒

中图分类号: S633.2

文献标识码: A

文章编号: 2096-5877(2021)06-0078-05

## Review on Detection and Detoxification Technology of Tiller Onion Virus

SU Xuejiao<sup>1</sup>, WANG Xueguo<sup>2</sup>, WANG Xiufeng<sup>2</sup>, ZHANG Yue<sup>2</sup>, WANG Jianli<sup>2</sup>, TENG wei<sup>2</sup>, ZHANG Luwen<sup>1</sup>, SONG Shuyao<sup>1\*</sup>

(1. College of Horticulture, Jilin Agricultural University, Changchun 130118; 2. Jilin Institute of Vegetable and Flower Science, Changchun 130033, China)

**Abstract:** Virus infection is one of the main reasons for the yield and quality of tiller onion. Therefore, it is very important to study virus disease detection and virus detoxification technology of tiller onion. This paper reviews the virus types and characteristics of virus infection, detection and detoxification methods of tiller onion in order to provide some theoretical reference for the future research and high-yield cultivation.

**Key words:** Tiller onion; Virus detection; Detoxification; Onion Yellow Dwarf Virus

分蘖洋葱 (*Allium cepa* L. var. *agregatum* Don.) 别名毛葱、鬼子葱、珠葱等, 为百合科葱属植物, 是洋葱的一个变种<sup>[1-3]</sup>。分蘖洋葱的植株抗寒能力强, 适合北方地区栽培, 是吉林省重要的特色蔬菜品种, 产品远销上海、深圳等地, 出口美国、俄罗斯、日本等国家<sup>[4-5]</sup>。分蘖洋葱很少会抽薹开花并产生种子, 它主要利用蘖生小鳞茎进行无性繁殖, 鳞茎为狭卵形或卵形, 聚生, 由鳞芽与肉质鳞片构成。目前分蘖洋葱由于长期利用鳞茎无性繁殖导致一种病毒单独侵染或几种病毒复合侵染, 所引发的病毒病广泛存在<sup>[6]</sup>。分蘖洋葱感病后品种退化, 产量与品质严重下降, 很大程度影响分蘖洋葱产业的发展<sup>[7]</sup>。因此分蘖洋葱病毒病技术方面的研究引起广泛关注, 最早于1999年徐启江等开始进行分蘖洋葱病毒病的调查研究, 利用传统生物学法、电子显微镜观察法以及 ELISA

法(酶联免疫吸附测定法)初步鉴定分蘖洋葱所感染的病毒病病原种类, 同时还进行组培脱毒技术的研究<sup>[8-10]</sup>。2017年王永志等首次从分蘖洋葱上分离出洋葱黄矮病毒, 并分离鉴定出3株可以识别洋葱黄矮病毒的单克隆抗体, 提供检测分蘖洋葱病毒病的抗体材料<sup>[11]</sup>。本文将对近些年关于分蘖洋葱感染的病毒类型及特征、病毒检测方法、主要的脱毒方法这三方面内容作以综述, 以为分蘖洋葱的病毒病研究和高产栽培提供一定借鉴。

### 1 分蘖洋葱感染的病毒类型及特征

分蘖洋葱所感的病毒病为复合性感染, 由于抗血清种类的限制及其他原因, 分蘖洋葱所感染的全部病毒类型还不能完全明确。目前已明确的病毒病病原主要为洋葱黄矮病毒, 其次初步确定分蘖洋葱还可能感染韭葱黄条纹病毒和大蒜复合病毒<sup>[6]</sup>。洋葱黄矮病毒(OYDV)是葱蒜类的主要危害病毒, 于1932年首次在美国爱荷华州的洋葱上被发现, 随后在全世界范围内传播<sup>[12-16]</sup>。在我国1988年对石河子地区的大葱进行病毒病原鉴定发现, 此地区大葱所发生的病毒病主要由洋葱

收稿日期: 2019-12-02

基金项目: 吉林省现代农业产业技术体系建设专项(2013026)

作者简介: 苏雪娇(1996-), 女, 在读硕士, 研究方向: 设施园艺工程及蔬菜生态生理。

通讯作者: 宋述尧, 男, 硕士, 教授, E-mail: sysongjlau@126.com

黄矮病毒或洋葱黄矮病毒的一个株系所致,且此病毒可感染洋葱、韭菜和大蒜等百合科植物<sup>[17]</sup>。徐启江通过对黑龙江省分蘖洋葱主产区田间调查和病毒病原鉴定发现分蘖洋葱感染 OYDV<sup>[6]</sup>。分蘖洋葱感染 OYDV 病毒后会生长停滞,叶片变细并发生扭曲,叶面凹凸不平,且叶尖逐步变黄,严重的会导致整个植株萎缩矮化。韭葱黄条纹病毒(LYSV)是马铃薯 Y 病毒属的成员之一,最初由 Kupk 发现,而后由 Bos 等进行病毒鉴定并命名<sup>[18]</sup>。于 2001 年利用韭葱黄条纹抗血清对分蘖洋葱进行间接 ELISA 检测,结果显示为阳性,因此分蘖洋葱可能感染韭葱黄条纹病毒<sup>[5]</sup>。感染韭葱黄条纹病毒强毒株系的症状表现为黄条纹连片,病斑面积可占 70% 以上;感染弱毒株系的症状一般表现为条纹较少且颜色较淡<sup>[19]</sup>。大蒜复合病毒主要包括大蒜普通潜隐病毒、大蒜 X 病毒和大蒜潜隐病毒等,利用大蒜复合病毒抗血清对分蘖洋葱进行酶联免疫测试结果呈阳性<sup>[5]</sup>,因此分蘖洋葱可能感染大蒜复合病毒,但具体是否感染、感染的是哪种病毒还需进一步研究。

## 2 分蘖洋葱病毒病的检测方法

分蘖洋葱病毒病害是导致其产量与品质降低的主要原因之一,很大程度影响分蘖洋葱的产业发展,造成极大经济损失<sup>[20-21]</sup>。因此怎样能够准确、高效、经济地检测分蘖洋葱病毒是学者研究的难点之一。目前,分蘖洋葱病毒的检测已从最初的传统生物学法通过表象进行宏观鉴定发展到通过分子生物学法进行深层次的研究。

### 2.1 传统生物学方法

传统生物学方法主要有目测法和指示植物法,它主要通过观察染病植株的表现症状进行表象的宏观鉴定,此方法最早为 1929 年美国病毒学家 Holmes 发现<sup>[22]</sup>。目测法为病毒病检测的初步诊断方法,分蘖洋葱病毒病主要表现为叶扭曲、矮化、出现黄色条纹等症状,依据以上症状在田间能够直接剔除染病植株。但此方法不适用于症状不明显的潜隐病毒。指示植物法是指病毒感染指示植物后会产生代表性的症状,用来初步鉴定病毒病类型的方法,感染特定病毒后能产生对应症状的寄主为指示植物<sup>[23-25]</sup>。周桂珍将感病的大蒜汁接种在指示植物上,蚕豆、苜蓿和千日红会被局部侵染<sup>[26]</sup>。徐启江经过研究发现分蘖洋葱病毒能够系统侵染大蒜、大葱、洋葱和蚕豆;并且部分侵染苜蓿和千日红<sup>[6]</sup>。传统生物学方法操作

简单,结果直观,但灵敏度一般,同时容易受到一些其他因素的影响,比如季节、环境以及栽培方式等<sup>[27-28]</sup>。同时由于不同病毒在同种植物上可能产生相同症状、同种病毒在不同发育阶段产生的症状可能会有所差异和病毒常会存在潜隐侵染等原因会导致结果难以判断,因此传统生物学方法目前只能提供一定参考,病毒的最终鉴定结果还需要参考其他鉴定方法。

### 2.2 电子显微镜观察法

电子显微镜的发明,加快对微观世界的了解,其应用领域广泛,如病毒学、生物学和免疫学等<sup>[29]</sup>。在植物病毒检测研究中,利用电子显微镜能够鉴定出病毒的种类,直接观察到有无病毒颗粒及颗粒的大小和结构等细微方面,为病毒病鉴定的一种重要方法<sup>[30-31]</sup>。目前鉴定植物病毒最常用的电镜检测法主要是电镜超薄切片检测法、免疫电镜检测法和电镜负染检测法<sup>[32]</sup>。洪健于 1990 年利用电镜检测发现 4 种大蒜的各个部位都含大量线形病毒粒子,长度主要集中在 750 nm 和 600 nm 范围内,病毒粒子散布在细胞质中,细胞核中观察不到病毒粒子<sup>[33]</sup>。2003 年利用电镜复染检测法能够看到分蘖洋葱病体细胞中含有很多线状病毒颗粒,其直径为 11~12 nm,长度范围多集中在 550~800 nm,叶肉细胞的细胞质中能够看到很多环状、束状和风轮状的内含体,且能观察到感病细胞的变化过程<sup>[6]</sup>。马雯用电镜检测观察到未进行茎尖脱毒前,成县迟蒜被四种病毒属的病毒侵染;鲁蒜王 II 号被一些长线病毒和两个病毒属的病毒侵染;茎尖脱毒处理后,两种大蒜都只观察到少量的病毒感染<sup>[34]</sup>。电子显微镜观察法鉴定植物病毒具有操作方法简单、结果直观可靠等优点,但其操作技术要求较高,且依照目前电镜的分辨率,病毒科属以下的分类无法判定<sup>[35]</sup>。

### 2.3 血清学方法

血清学方法为目前最常用且有效的病毒检测鉴定方法之一,其原理为使用抗原与特异性抗体结合,产生不同的抗血清来检测植物病毒,主要包括免疫 PCR、酶联免疫吸附法和快速免疫滤纸法等技术<sup>[36]</sup>。酶联免疫吸附法为应用最广泛的血清学方法,可以用于检测植物病毒,进行医疗化验等。此方法最早由 Clark 等于 1977 年应用于植物病毒检测,主要有间接细胞法、直接竞争法和双抗体夹心法等<sup>[37-39]</sup>。2001 年利用洋葱黄矮病毒抗血清和大蒜复合病毒抗血清对分蘖洋葱进行间接 ELISA 测定,初步判定侵染分蘖洋葱的病毒有

洋葱黄矮病毒和大蒜复合病毒<sup>[5]</sup>。郑耘利用 DAS-ELISA 法(双抗体夹心酶联免疫吸附法)从印度进口的洋葱中检出了洋葱黄矮病毒<sup>[40]</sup>。白艳菊利用 DAS-ELISA 检测症状明显的大蒜叶片,在表现为花叶症状的大蒜样品中检测到大蒜潜隐病毒和 LYSV;表现黄化症状的大蒜样品中检测到大蒜普通潜隐病毒和 OYDV<sup>[41]</sup>。血清学检测方法具有仪器简单、特异性强等优点,但仍有一定的局限性,如一些植物病毒有时会缺乏外壳蛋白、病毒在植株中分布不均匀和交叉反应和季节变化等原因导致检测结果出现假阳性和假阴性等情况都会导致血清学方法难以检测<sup>[32,42]</sup>。

## 2.4 分子生物学方法

分子生物学方法是以病毒的遗传物质核酸为基础,在分子水平上进行的检测方法。此方法主要包括核酸分子杂交技术、PCR 技术(聚合酶链式反应)和实时荧光定量 PCR 技术等<sup>[43]</sup>。其中 PCR 技术应用最广泛,发展最快,是由 Mullis 等发明<sup>[37]</sup>。PCR 技术是利用 DNA(脱氧核糖核酸)为模板,但植物病毒 90% 为 RNA(核糖核酸)病毒,所以需要先将 RNA 反转录为 cDNA(互补脱氧核糖核酸)分子,然后再进行扩增检测,这一方法为反转录 PCR 技术,其灵敏度极高,是 DAS-ELISA 灵敏度的 1 000 倍<sup>[44]</sup>。郭炎等建立洋葱黄矮病毒的 RT-PCR(反转录 PCR)检测方法<sup>[45]</sup>。由于植物一般被多种病毒侵染因此发明多重 PCR 技术,可以一起检测几种病毒,检测速度加快。许蕊等建立能够检测大蒜潜隐病毒和洋葱黄矮病毒两种病毒的多重 RT-PCR 技术体系,对甘肃“成县迟蒜”进行两种病毒的检测<sup>[46]</sup>。孙新艳利用 RT-PCR 方法对染病后矮缩的大蒜进行检测,在大蒜样品中同时检测到洋葱黄矮病毒、青葱潜隐病毒和韭葱黄条病毒 3 种病毒<sup>[47]</sup>。分子生物学方法比血清学方法特异性强、灵敏度高、检测病毒范围广,但其成本较高且需要一定的专业技术。

## 3 分蘖洋葱脱毒技术

常用的植物脱毒法主要有茎尖培养脱毒法和物理化学脱毒法。茎尖培养脱毒法的理论依据为病毒在鳞茎中分布不均匀,通过微管系统在植物体内传播,而茎尖中没有微管系统,且在茎尖分生组织中有较高含量的内源生长激素,对病毒有一定的钝化作用,因此一般来说茎尖分生组织中极少甚至没有病毒分布,且病毒的繁殖速度低于分生组织细胞的分裂速度<sup>[48-51]</sup>。茎尖培养脱毒法

最早于 1952 年由 Morel 使用,培养出大丽花的无毒材料<sup>[9]</sup>。目前茎尖脱毒培养法广泛在大蒜、分蘖洋葱和草莓等植物上均有应用<sup>[8,52-54]</sup>。

物理化学脱毒法主要是利用一些物理方法或化学药剂来抑制植物病毒的活性。化学脱毒法一般是利用化学药剂浸泡外植体或将化学药剂添加至培养基中,使病毒 RNA 的帽子结构无法形成,从而达到脱毒的目的<sup>[5,46]</sup>。目前国内外常用的抗病毒药物主要有植物灵、病毒唑和 5-二氢尿嘧啶等。刘艳妮发现当病毒唑浓度为 15 mg/L 时脱毒效果最好,百合 CMV 脱毒率为 85.7%,成活率为 42.9%<sup>[55]</sup>。物理脱毒法主要有热处理、冷冻处理和紫外线等。其中热处理法最为常用,热处理法主要是使病毒在高温下钝化,让植株的生长速度比病毒的扩散速度快,得到部分无病毒分生组织,时间和温度是影响热处理法的主要因素。黄晓梅研究结果表明利用 75 °C 高温处理大葱茎尖 10 min 后脱毒效率能够达到 100%,成活率也较高<sup>[56]</sup>。

以上三种方法都各有局限性,单独使用一种方法有些病毒难以去除且操作困难,因此热处理法、化学药剂法都往往与茎尖培养脱毒法相结合,这样不仅可以提高植物的脱毒效率、植株的成活率,同时可以操作简单化。热处理能够使原植物生长点的顶端免疫区变大,化学药剂对病毒有一定的抑制作用,因此在与茎尖脱毒法结合时都能够一定程度地延长茎尖大小,提高成活率。徐启江研究发现切取 0.15~0.3 mm 的分蘖洋葱茎尖能够完全脱除病毒,然而成活率低,操作难,但将分蘖洋葱鳞茎先进行 80 °C 高温处理 10 min,再切取 0.3~0.5 mm 的茎尖培养,脱毒率可以达到 100% 且提高成苗率<sup>[5]</sup>。王健鹏研究发现分蘖洋葱鳞茎 80 °C 高温处理 10 min 后将茎尖大小增大到 0.5~1.0 mm,不同品种的分蘖洋葱处理后脱毒率均高于 93.3%,成活率也高达 90% 以上<sup>[57]</sup>。

## 4 总 结

目前国内外在分蘖洋葱病毒病方面的研究还较少,且存在很多问题,主要包括:(1)目前分蘖洋葱所感染的病毒全部类型还不能明确;(2)病毒检测的抗血清类型较少;(3)还没有完善的分子检测体系;(4)脱毒效率和植株的成活率还有待提高。因此在分蘖洋葱病毒病的研究上还需进一步探索。

### 参考文献:

[1] 崔崇士,傅喜山.黑龙江蔬菜常用品种大全[M].哈尔滨:黑

- 龙江科学技术出版社,2000:272-273,276.
- [ 2 ] Jones H A, Mann L K. Onions and their allies [M]. London: Leonard Hill, 1963:31.
- [ 3 ] 张德纯.分蘖洋葱[J].中国蔬菜,2013(19):26.
- [ 4 ] 赵 靖.分蘖洋葱产量形成机理及调控技术的研究[D].长春:吉林农业大学,2014.
- [ 5 ] 徐启江.分蘖洋葱病毒病原鉴定及脱毒苗培养·增殖技术的研究[D].哈尔滨:东北农业大学,2001.
- [ 6 ] 徐启江,丁国华,陈 典.黑龙江省分蘖洋葱病毒病原的初步鉴定[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2003(2):55-58.
- [ 7 ] 徐启江,陈 典,李桂英.分蘖洋葱组织培养染色体数目变化[J].东北农业大学学报,2001(4):336-339.
- [ 8 ] 徐启江,陈 典,张云修.分蘖洋葱茎尖培养脱毒苗技术研究[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2002(2):101-106.
- [ 9 ] 徐启江,陈 典.茎尖分生组织培养在植物病毒防治中的应用[J].生物学教学,2001(9):4-5.
- [ 10 ] 徐启江,崔维山,丁国华,等.黑龙江省分蘖洋葱病毒病及综合防治[J].中国蔬菜,2002(3):41-42.
- [ 11 ] 王永志,万 千,李小宇,等.OYDV衣壳蛋白表达及其单克隆抗体分析[J].东北农业科学,2018,43(2):26-29.
- [ 12 ] Melhus I E, Reddy C, Shenderson W J, et al. A new virus disease epidemic on onions[J]. Phytopathology, 1929, 19: 73-77.
- [ 13 ] Dovas C I, Hatziloukas E, Salomon R, et al. Incidence of viruses infecting Allium Spp. in Greece Eur [J]. European Journal of Plant Pathology, 2001, 107(7): 677-684.
- [ 14 ] Katis N I, Maliogka V I, Dovas C I. Chapter 5 - Viruses of the Genus Allium in the Mediterranean Region[J]. Advances in Virus Research, 2012, 84: 163-208.
- [ 15 ] Kumar P, Dhawan P, Mehra R. Symptoms and losses caused by Onion yellow dwarf virus and Iris yellow spot virus diseases of onion crop in Northern India [J]. Mycol. Plant Pathol, 2012, 42 (1): 153-160.
- [ 16 ] Sevik M A, Akcura C. Viruses occurring in onion crop in amasya province, the major onion producing region in Turkey[J]. Indian Journal of Virology, 2013, 24(1): 78-81.
- [ 17 ] Li Guoying, Zhao Denke. 石河子地区大葱病毒病原的鉴定[J].石河子农学院学报,1988(2):47-50.
- [ 18 ] 董 瑞.新疆大蒜病毒脱除及快速繁殖技术研究[D].乌鲁木齐:新疆农业大学,2013.
- [ 19 ] Van Dijk P. Survey and characterization of potyviruses and their strains of Allium species[J]. Neth plant Pathol, 1993, 99: 1-48.
- [ 20 ] 施曼玲,周雪平.植物病毒病的诊断技术[J].微生物学通报,2000(2):149-151.
- [ 21 ] 娄 虎,徐 熔,王海竹,等.植物病毒病检测及防治的研究进展[J].江苏农业科学,2017,45(24):25-31.
- [ 22 ] 张仲凯,李 毅.云南植物病毒[M].北京:科学出版社,2001:82-83.
- [ 23 ] 吴凌娟,张雅奎,董传民,等.用指示植物分离鉴定马铃薯轻花叶病毒(PVX)的技术[J].中国马铃薯,2003(2):82-83.
- [ 24 ] 王凯娜.番茄、马铃薯及西瓜病毒病的病原鉴定[D].北京:中国农业科学院,2018.
- [ 25 ] 魏宁生,吴云峰.大蒜病毒病原的鉴定及组培脱毒研究[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),1992(1):76-81.
- [ 26 ] 周桂珍,裘季燕,孙东玲,等.大蒜病毒病的毒源鉴定研究初报[J].北京农业科学,1986(6):29-30.
- [ 27 ] 杜 琳,钟先锋,陈剑泓,等.植物病毒检测技术研究进展[J].农产品加工(学刊),2007(7):48-51,58.
- [ 28 ] 刘 华.环境条件对马铃薯病毒生物测定结果的影响[J].山西农业科学,2003(2):72-74.
- [ 29 ] 金 羽,文景芝.植物病毒检测方法研究进展[J].黑龙江农业科学,2005(3):37-40.
- [ 30 ] 朱光新,郭福寰,肖志敏,等.应用免疫电镜对几种马铃薯病毒毒源的鉴定研究[J].中国马铃薯,1992(2):67-71.
- [ 31 ] 洪 健,陈集双,周雪平,等.植物病毒的电镜诊断[J].电子显微学报,1999(3):274-289.
- [ 32 ] 吴琪瑶.侵染大蒜12种病毒CP基因的原核表达·抗血清制备及其病毒检测[D].合肥:安徽大学,2013.
- [ 33 ] 洪 健,陆关成,李德葆.大蒜病毒原与其寄主细胞病理变化的电镜研究[J].电子显微学报,1990(1):17-23.
- [ 34 ] 马 雯.大蒜茎尖脱毒体系的建立与病毒电镜检测分析[D].兰州:甘肃农业大学,2011.
- [ 35 ] 许 蕊.三种大蒜病毒的RT-PCR及多重RT-PCR检测研究[D].兰州:甘肃农业大学,2012.
- [ 36 ] 陈辉麟.大蒜病毒 Real Time PCR 定量检测方法的建立及其应用[D].兰州:甘肃农业大学,2014.
- [ 37 ] 袁小环,李 青.血清学方法和分子生物学方法检测植物病毒研究进展[J].热带农业科学,2001(6):63-68.
- [ 38 ] 胡昌勤.酶联免疫吸附法的新进展[J].生物化学与生物物理进展,1993(2):85-89.
- [ 39 ] 商明清,魏梅生.植物病毒检测新技术研究进展[J].植物检疫,2004(4):236-240.
- [ 40 ] 郑 耘,陈枝楠,杨伟东,等.从印度进口的洋葱中检出洋葱黄矮病毒[J].植物检疫,2007(4):212-214.
- [ 41 ] 张 威,白艳菊,申 宇,等.黑龙江省大蒜病毒病原鉴定及病毒病发生情况调查[J].东北农业大学学报,2010,41(7):21-26.
- [ 42 ] 李小宇,张春雨,张 伟,等.大豆花叶病毒间接ELISA检测方法的建立及应用[J].东北农业科学,2019,44(1):22-27.
- [ 43 ] 王健华,王运勤,吉训聪,等.植物病毒检测技术研究进展[J].热带农业科学,2005(3):71-75.
- [ 44 ] 卢圣栋.现代分子生物学实验技术(第二版)[M].北京:中国协和医科大学出版社,1999:388.
- [ 45 ] 郭 炎,李小宇,苏 颖,等.洋葱黄矮病毒RT-PCR和ELISA检测方法的建立[J].植物保护学报,2019,46(2):495-496.
- [ 46 ] 许 蕊,栗孟飞,王雅琳,等.应用多重RT-PCR检测甘肃‘成县迟蒜’中的大蒜潜隐病毒和洋葱黄矮病毒[J].甘肃农业大学学报,2013,48(2):46-49,54.
- [ 47 ] 孙新艳,史亚娟,王振跃,等.河南省大蒜病毒病的分子检测[J].河南农业科学,2016,45(3):102-105.
- [ 48 ] 焦朝霞.河北省苹果潜隐性病毒的分布特征[D].保定:河北农业大学,2010.
- [ 49 ] Lizárraga A, Ascacíbar J, González M L. Fast and Effective Thermotherapy Treatment for In Vitro Virus Eradication in Apple and Pear Trees[J]. American Journal of Plant Sciences,

- 2017, 8(10): 2474-2482.
- [50] 高昌勇, 尚宏芹. 大蒜脱毒及病毒检测技术研究进展[J]. 蔬菜, 2004(10): 24-25.
- [51] Hu G, Dong Y, Zhang Z, et al. Virus elimination from in vitro apple by thermotherapy combined with chemotherapy[J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 2015, 121(2): 435-443.
- [52] 董伟清, 闭志强, 何铁光. 玉林大蒜茎尖脱毒与繁殖技术研究[J]. 广西农业科学, 2009, 40(10): 1289-1291.
- [53] 宋淑敏, 刘伟伟, 王云云, 等. 大蒜茎尖离体再生体系的建立[J]. 黑龙江科学, 2013(9): 38-41.
- [54] 聂园军, 李瑞珍, 张春芬, 等. 草莓茎尖脱毒技术研究[J]. 黑龙江农业科学, 2019(3): 29-32, 35.
- [55] 刘艳妮. 香水百合脱毒技术研究[J]. 宁夏农林科技, 2015, 56(11): 12-14.
- [56] 黄晓梅, 陈典, 梁艳, 等. 热处理对大葱茎尖脱毒效果的影响[J]. 东北农业大学学报, 2005, 36(3): 306-309.
- [57] 王健鹏, 张悦, 王秀峰, 等. 不同培养条件对分蘖洋葱茎尖脱毒效果的影响[J]. 辣椒杂志, 2017, 15(4): 31-35.

(责任编辑: 王 昱)

(上接第73页) BHLH家族基因近几年研究发现可以直接调控花青苷结构基因的蛋白复合体, 确认该蛋白是由MYB、BHLH转录因子及WD<sub>40</sub>蛋白形成, 在苹果中*MdbHLH3*、*MdbHLH33*与*MdMYB10*共同作用诱导花青苷的积累<sup>[21]</sup>, 也有相关基因抑制着花青苷合成<sup>[22]</sup>。本实验中*Myb4-like1*、*bHLH130-like*在遮光的条件下表达量明显增加, 而*Myb4-like1*基因转化到番茄中花青苷的含量并无明显差异, 一方面可能因为*Myb4-like1*基因受其他条件的影响或者与其他的相关蛋白共同来调节花青苷的含量, 另一方面可能与光敏色素有关。*WDR*基因表达量在光的诱导下出现先下降后增加的状态, 在梨的转录组分析该基因为上调基因, 可能光照对该基因有直接作用从而促进花青苷的合成, 有待于进一步研究验证。

#### 参考文献:

- [1] 王甜元, 曲柏宏, 孟义淳, 等. 套袋苹果梨解袋后果皮花色苷组分及含量的变化[J]. 东北农业科学, 2020, 45(1): 35-38.
- [2] David W. Regulation of flower Pigmentation and growth: Multiple signaling Pathways Control anthocyanin synthesis in expanding petals [J]. *physiologia-plantarum*, 2000, 110(2): 152-157.
- [3] 崔道雷. 云南红梨果皮转录因子MYB、bHLH和WD40互作及调控果皮着色机理研究[D]. 昆明: 昆明理工大学, 2013.
- [4] 孟义淳. 苹果梨MYB108基因的克隆与序列分析[J]. 东北农业科学, 2020, 45(2): 60-63.
- [5] 王智敏. 红梨果皮着色相关R<sub>2</sub>R<sub>3</sub>型MYB转录因子基因功能分析[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2016.
- [6] Takos A M, Jaffe F W, Jacob S R, et al. Light-induced expression of a MYB gene regulates anthocyanin biosynthesis in red apples[J]. *Plant Physiology*, 2006, 142(3): 1216-1232.
- [7] Gonzalez A. Pigment loss in response to the environment: a new role for the WD/bHLH/MYB anthocyanin regulatory complex[J]. *New Phytologist*, 2009: 182: 1-3.
- [8] 孟富宣. 云南红皮梨bHLH转录因子的生物信息学分析[J]. 基因组学与应用生物学, 2013: 32(5): 652-659.
- [9] 冯守千. 红梨着色机理的研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2011.
- [10] LI Xiaofen, LIU Fang, YIN Xueren, et al. Recent advances in the transcriptional regulation of anthocyanin biosynthesis[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2013, 40(11): 2295-2306.
- [11] De Vetten N, Quattrocchio F, Mol J, et al. The an11 locus controlling flower pigmentation in petunia encodes a novel WD-repeat protein conserved in yeast, plants, and animals[J]. *Genes & Development*, 1997, 11: 1422-1434.
- [12] YANG Yanan, YAO Gaifang, ZHENG Danman, et al. Expression differences of anthocyanin biosynthesis genes reveal regulation patterns for red pear coloration[J]. *Plant Cell Reports*, 2015, 34(2): 189-198.
- [13] 王惠聪, 黄旭明, 胡桂兵, 等. 惠枝果皮花青苷合成与相关酶的关系研究[J]. 中国农业科学, 2004, 37(12): 2028-2032.
- [14] 孙百灵, 曲柏宏, 杨宏霞, 等. 苹果梨果实CHI基因cDNA克隆及表达分析[J]. 安徽农业科学, 2014, 42(34): 12043-12045.
- [15] 杨林先, 李伟, 曲柏宏. 不同时期解袋对苹果梨果实着色的影响[J]. 河南农业科学, 2010(1): 106-107.
- [16] 宁云山. 光照对着色期苹果梨果实花色苷组分含量的影响[D]. 延吉: 延边大学, 2018.
- [17] 柯凡君. 不同皮色梨品种果袋筛选和套袋对果实品质及糖积累相关酶活性的影响[D]. 南京: 南京农业大学, 2011.
- [18] Kanei-Ishii C, Sarai A, Sawazaki T, et al. The tryptophan cluster: a hypothetical structure of the DNA-binding domain of the myb proto oncogene product[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1990, 265(32): 19990-19995.
- [19] 刘冰雁. 苹果梨果实解袋后花青苷生物合成相关基因的挖掘与分析[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2019.
- [20] Leivar P, Quail P H. PIFs: Pivotal components in a cellular signaling hub[J]. *Trends in Plant Science*, 2011, 16: 1-28.
- [21] Espley R V, Helliens R P, Putterill J, et al. Red colouration in apple fruit is due to the activity of the MYB transcription factor MdMYB10[J]. *The Plant Journal*, 2007, 49(3): 414-427.
- [22] 薛华柏, 王芳芳, 杨健, 等. 红皮梨研究进展[J]. 果树学报, 2016, 33(S1): 24-33.

(责任编辑: 王 昱)