

热区植物植原体病害检测技术研发及多样性研究*

于少帅¹, 车海彦², 潘英文³, 宋薇薇¹

(1. 中国热带农业科学院椰子研究所 文昌 571339; 2. 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所 海口 571101; 3. 海口海关热带植物隔离检疫中心 海口 570311)

摘 要: 植原体是一类尚难分离培养的原核致病菌, 由植原体引起的植物病害被称为植物“癌症”。植原体于 1967 年首次报道, 基于植原体保守基因及国际植原体分类鉴定标准, 已鉴定 37 个植原体 16Sr 组和 48 个植原体候选种, 引起全球 1000 多种植物病害, 其中我国已报道植原体病害约 200 种。我国热区植原体病害丰富, 约占我国植原体病害 60%, 海南岛是我国典型的热带岛屿省份, 植原体病害约占我国植原体病害 26%。槟榔、椰子是海南“六棵树”之一, 重要的热带经济作物, 国内外研究报道表明由植原体引起的槟榔、椰子病害是致死性的, 给海南乃至全球热区相关产业造成沉重打击。目前我国已报道由植原体引起的槟榔黄化病。在国家“一带一路”、海南自由贸易港、全球动植物种质资源引进中转基地等建设的背景下, 植原体等外来有害生物入侵与国内有害生物扩散的风险极大增加, 一旦入侵, 会像槟榔黄化病一样, 给海南椰子产业带来灭顶之灾。快速高效的检测诊断技术对于预防相关病害的发生流行、降低经济损失等具有重要意义。因此, 针对槟榔、椰子等棕榈作物植原体病害研究难点及其产业卡脖子问题, 研发其病原快速、高效检测技术体系。针对我国槟榔黄化植原体序列特征, 建立了其 LAMP 快速可视化检测技术, 该技术操作简便、检测时间短 (40 min 内可完成), 检测结果肉眼可视, 适用于田间诊断与推广应用; 全球率先将微滴式数字 PCR 技术应用于槟榔黄化病研究中, 建立了槟榔黄化植原体高灵敏检测技术, 灵敏度数量级达 10^{-2} copies/ μ L, 与已报道的检测技术相比, 灵敏度提高了约 1000 倍; 建立了全球椰子致死性植原体通用型 LAMP 快速可视化检测技术, 该技术一个反应体系可同时检测全球已知的 6 类椰子致死性植原体, 且检测反应仅需 40 min, 极大提高了这一全球重大检疫性病害的检测效率。相关技术已在海南槟榔黄化病等棕榈作物植原体病害定期检测监测、病害发生流行规律及机制等方面进行应用。目前在海南岛已鉴定、报道引起植物病害的植原体有 4 个组, 分别为 16SrI、16SrII、16SrV、16SrXXXII, 其中 16SrI、16SrII 所占比例较高。本团队前期在海南岛已鉴定植原体病害 30 余种, 其中 20 余种植原体病害及 9 个植原体 16Sr 分类亚组为首次鉴定报道。经同源比对、变异位点分析等表明不同植物寄主中的植原体同源性极高, 有的株系间甚至高达 100%。植原体不能分离培养, 目前研究表明其传播主要通过寄主植物与媒介昆虫。植原体不同寄主间植原体高同源性, 可能导致该类病原在不同寄主间植原体存在互传现象。国内外已有多项研究表明, 植原体可能不同寄主植物中相互传播, 导致不同寄主植物植原体病害的发生流行。本团队前期在槟榔黄化病发病园内及周围, 已鉴定苦楝等 7 种寄主植物的植原体与海南槟榔黄化植原体保守基因序列同源性为 100%, 结合槟榔园植原体病害发生、病情发展等情况调查, 推测植原体可能在其高同源性植物寄主间相互传播。在植原体等难培养微生物病害的监测、防控过程中, 中间寄主是一个不

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项 (No. 1630152024009); 海南省自然科学基金高层次人才项目 (No. 323RC524); 海南省院士创新平台专项 (No. YSPTZX202138)。

可忽视的问题。植原体寄主的多样性，导致其传播流行的复杂性与检测防控的困难性。国外一些致死性棕榈作物病害，如椰子、油棕等，国内虽未见发病报道，但经基因数据比对分析发现，高同源性（甚至 100%）的植原体株系国内已存在，传播风险极大。因此，基于已研发的热区植物植原体检测技术定期开展海南岛内关键作物植原体等病原物“项目”的定期“体检”，明确植原体等在自然条件下的寄主多样性及特征，对降低外来有害生物入侵风险、防止国内相关病害扩散流行、精准监测预警与有效防控管理相关病害等具有重要意义。

关键词：植原体；系统分类；棕榈植物；病原快速高效检测；中间寄主；监测预警