

中图分类号: S532 文献标识码: A 文章编号: 1672-3636(2006)05-0288-02

马铃薯抗 X 病毒资源材料的鉴定与筛选

牛志敏¹, 李树军², 王立春¹

(1. 黑龙江省农科院马铃薯研究所, 黑龙江 克山 161606; 2. 吉林省农安县植保植检站, 吉林 农安 130200)

摘要:用千日红、苋色藜、毛蔓陀罗、指尖椒、白花刺果蔓陀罗、心叶烟 6 种指示植物汁液摩擦接种法, 对 58 份马铃薯普通栽培种进行 X 病毒的带毒鉴定试验, 选出 30 份不带马铃薯 X 病毒的材料; 用接过种的番茄为砧木, 以不带马铃薯 X 病毒的材料为接穗进行嫁接传毒试验; 对嫁接后能正常生长 30 d 以上的材料又回接了该种病毒病的寄主进行抗性鉴定试验。筛选出 16 份抗马铃薯 PVX 病毒的材料, 其中免疫的有 3 份, 过敏的有 13 份。

关键词:马铃薯; 抗 PVX; 接种鉴定; 筛选

马铃薯轻花叶病毒 (PVX) 是造成马铃薯病毒性退化的主要病毒之一, 这种病毒引起的病毒病在马铃薯各个品种之间分布广泛^[1]。目前对 PVX 进行诊断主要是应用血清学方法和指示植物接种鉴定法, 血清学方法快速灵敏, 但需大量高纯度的特异性抗血清。而利用鉴别寄主进行马铃薯 X 病毒鉴定, 是较为理想的一种鉴定法。虽然此病毒单一侵染时症状比较轻微或在温度过高、过低和高肥水条件下极易隐蔽, 但当马铃薯轻花叶病毒与其他能协生的病毒复合侵染抗耐病差的马铃薯品种, 常导致严重减产现象^[1-2]。因此进行马铃薯抗 PVX 病毒资源材料的鉴定和筛选, 可以为育种提供亲本材料, 为选育抗病品种奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料的准备

供鉴定材料 58 份, 由黑龙江省农业科学研究所马铃薯研究所提供的种薯。

指示植物有: 千日红 (*Gomphrena globosa*)、鲁特格尔斯番茄 (*Lycopersicon esculentum* cv. Rutgers)、苋色藜 (*Chenopodium amaranticolor*)、毛蔓陀罗 (*Datura metel*)、指尖椒 (*Capsicum annum*)、白花刺果蔓陀罗 (*Datura stramonium*)、心叶烟 (*Nicotiana glutinosa*)。

收稿日期: 2006-03-12

作者简介: 牛志敏 (1973-), 女, 助理研究员, 主要从事马铃薯育种及品质分析工作。

1.1.1 催芽播种

4 月初用 2~5 mg·l⁻¹ 的赤霉素 (九二〇) 对窖藏的种薯进行浸种催芽, 然后切块, 每块保留 1~2 个芽眼, 薯块重量为 15 g 以上。播种于育苗钵内, 育苗基质为草炭土和马粪 (1:1, v/v)。基质经高温蒸汽灭菌, 在日光温室里育苗, 在温室内常温 (20~25 ℃)、防虫条件下进行的。

1.1.2 指示植物的培养

在防蚜虫的日光温室内用小花盆种植鉴定马铃薯 X 病毒的指示植物, 土壤为草炭土和马粪 (1:1, v/v)。为了接种时指示植物具有 2~4 片真叶, 排开播种时间, 千日红、心叶烟发育较慢, 这就要比指尖椒早 7~10 d 播种, 而白花刺果蔓陀罗、毛蔓陀罗、苋色藜发育较快, 比千日红晚播 15~20 d。温室不低于 18~20 ℃, 必须严防昆虫, 常开的门窗要钉上纱布, 每隔 3~5 d 要喷洒一次杀虫剂。

1.1.3 毒源的制备和接种体的准备

接种毒源为分离自马铃薯的马铃薯 X 病毒, 在普通烟三生 (NN) (*Nicotiana tabacum*-Samsun NN) 上繁殖, 温度 20~28 ℃, 自然光照, 约 2~3 周后采摘发病叶片, 1 g 鲜病叶加入 50 mL 的 0.01 mol·L⁻¹ 磷酸缓冲溶液 (pH 7.0)。捣碎后用双层纱布过滤, 滤液立即用于接种。

取欲测定的马铃薯植株中上部叶片 3~5 g, 冲洗干净后, 放于塑料袋中, 加入 5 mL 0.01M 的磷酸缓冲溶液, 研磨后取其汁液准备接种。

1.1.4 接种方法

马铃薯轻花叶病毒是以摩擦接种方式进行传毒的。接种前 2~3 d, 指示植物放在散射光和凉爽的地方, 用喷粉器将 600 筛目的金刚砂均匀喷于待接种的指示植物的叶片上, 然后用已消毒的棉球沾取被鉴定的马铃薯叶汁, 沿叶脉按顺序轻轻摩擦, 在接种叶下面, 垫上用蒸汽消毒过的硬纸片。接种时用一个手掌托起叶片, 另一只手拿棉球蘸汁液轻轻摩擦接种, 用力程度以接种及叶片表面无严重损伤为度。接种后用洗瓶轻轻冲洗接种叶片表面上的杂物, 挂上标签, 标明样本编号、接种日期。

1.2 试验方法

试验于 2005 年在黑龙江省农业科学院马铃薯研究所的温室中进行。待指示植物长出 2~4 个叶片时, 以常规汁液摩擦接种法接种, 每一品种接种不同寄主, 同时, 设有不同毒源接种的一套寄主作对照。在接种后 2~3 d, 逐日观察记载症状反应; 将鉴定寄主上不反应症状的材料, 用接过的番茄为砧木, 供鉴定材料为接穗进行嫁接鉴定。对嫁接后能正常生长 30 d 以上的材料又回接了该种病毒病的寄主; 无表现症状的定为免疫材料; 表现顶端坏死的定为过敏材料; 表现有症状的定为感病材料。3~7 月间, 由于温室的温度过高, 湿度较大, 会抑制一些病毒病的症状反应, 必须人为的努力, 保证良好的通水通气条件, 才能达到理想的程度。

2 结果与分析

2.1 指示植物接种鉴定

根据鉴别寄主反应的典型症状来识别致病毒源, 马铃薯 X 病毒在主要鉴别寄主上发病的典型症状为: 千日红接种 3 d 时接种叶片开始出现灰白色小斑点似针尖状 (即侵染点), 接种 5~7 d 接种叶片呈现出紫红色环枯斑, 环斑中心为灰白色。指尖椒, 接种 10 d 后接种叶片出现褐色坏死斑。毛蔓陀罗, 接种 10 d 左右接种叶片出现淡褐色小圆枯斑, 以后发展为心叶花叶症状。苋色黎, 接种 10 d 左右接种叶片出现失绿斑点。白花刺果蔓陀罗, 接种 10 d 后接种叶片有时出现小坏死斑点, 以后发展呈系统花叶, 有时混有坏死反应。心叶烟, 接种 20 d 后, 所有叶片呈现花叶。

从鉴定结果看出, 在 58 份材料中, 有 30 份材料无马铃薯 PVX 病毒, 它们是: 374-128、克 718、

6108-17、沙列拉、Star、Schwan、Epoka、6717-24、Aquila、Hunter、Industrie、Argo、Wulkan、6403-2-219、克 6717-36、长薯 4 号、6302-2-28、Bintje、Olympia、虎头、黄花黑山药、Edelgard、S41956、燕子、波友 2 号、Capella、Mira、金苹果、艾皮库尔、Saco。28 份有马铃薯 PVX 病毒, 它们是: 台湾红皮、紫白花、克新 1 号、克新 13 号、J8028、J10683、J8012、春 11-16、金刚山、日本早丰、CIP61-9、中薯 2 号、会顺 88、春薯 2 号、Shepody、早大白、尤金、春薯 4 号、NS51-5、J10682、J8015、J10646、J10894、东农 33020、呼 H8262、Early Rose、Mcintyre、Red Gold。

2.2 嫁接传毒试验和回接鉴定试验

对鉴定无 PVX 的 30 份材料, 作了嫁接传毒试验, 嫁接成活了 21 份; 对这 21 份材料用千日红进行回接鉴定, 结果为抗 PVX 病毒的材料有 16 份, 其中对 PVX 免疫的有 Hunter、Saco、S41956, 过敏的有虎头、黄花黑山药、波友 2 号、Capella、Aquila、Schwan、Epoka、克 6717-36、6717-24、Bintje、沙列拉、Industrie、Argo, 感病的有长薯 4 号、燕子、Olympia、金苹果、Mira。

3 结论与讨论

用指示植物接种鉴定, 血清鉴定及电镜观察感病叶片汁液进行鉴定的方法可以进行马铃薯 X 病毒鉴定, 但指示植物接种鉴定以其操作简单、直观为首选。多种指示植物可以鉴定马铃薯 X 病毒, 但千日红、苋色黎、指尖椒三种指示植物以局部侵染方式的进行感染, 可直接看到枯斑症状, 易于观察。其中千日红发病时间短, 易观察, 是一种很好的鉴定马铃薯 PVX 病毒的指示植物。通过上述方法对 58 份材料进行接种鉴定, 筛选出抗马铃薯 X 病毒的材料 16 份; 其中 Hunter、Saco、S41956 这 3 份材料对 PVX 免疫; 过敏的有虎头、黄花黑山药、波友 2 号等 13 份, 为马铃薯抗 X 病毒育种提供亲本材料。

[参 考 文 献]

- [1] 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, 17(2): 82-83.
- [2] 李芝芳. 中国马铃薯主要病毒图鉴 [M]. 北京: 农业出版社, 2004.