

指示植物鉴定马铃薯病毒技术的研究与应用

徐洁

(绥芬河出入境检验检疫局, 黑龙江 绥芬河 157300)

摘要: 为了寻找一种能被广泛应用的马铃薯病毒鉴定技术, 研究了指示植物的种类及其培育方法和利用指示植物鉴定病毒的方法。结果表明: 指示植物可以广泛地应用于马铃薯的病毒鉴定中。

关键词: 指示植物; 病毒鉴定

中图分类号: S532

文献标识码: A

文章编号: 1001-0092 (2002) 02-073-03

1 前言

黑龙江省是主要的马铃薯种薯基地, 每年负责向全国各地供应种薯, 为了保证种薯的质量, 目前主要采用的是脱毒薯。要获得高质量的脱毒苗与脱毒薯, 就要有可以广泛应用的马铃薯病毒鉴定技术。

鉴定马铃薯病毒的方法有症状学法、指示植物

法、电镜技术、双链 RNA 分析、酶联免疫吸附实验法、核酸斑点杂交技术 (NASA)、逆转录聚合酶链式反应法。症状学不是灵敏度很高的鉴定病毒技术。电镜技术、双链 RNA 分析、酶联免疫吸附实验法、核酸斑点杂交技术 (NASA)、逆转录聚合酶链式反应法这些鉴定技术需要昂贵的仪器设备、药品、高深的理论知识, 不是一般的科研院所、个体经营者所能够做到的。而指示植物鉴定法简单、易行、不需要贵重的仪器药品, 一般的科研单位、种薯生产者都能掌握。指示植物鉴定法就是取鉴定的病株, 通过摩擦或媒介昆虫接种在指示植物上,

收稿日期: 2001-12-03

作者简介: 徐洁 (1967-), 女, 绥芬河出入境检验检疫局, 农艺师, 从事植物检疫工作。

RESISTANCE AND RESISTANT LEVEL OF PHYTOPHTHORA INFESTANS TO METALAXYL IN CHONGQING

BI Chao-wei¹, DU Xi-cui¹, CHE Xing-bi², MA Jin-cheng¹, WANG Zhong-kang¹

(1·Dept. of plant protection, Southwest Agri. Univ. Chongqing 400716, China;

2·Plant protection Station of Chongqing Municipality. Chongqing 400020, China)

ABSTRACT: The causal agent of Late Blight of Potato (*Phytophthora infestans*) was isolated from potato leaves collected from Beibei, Yunyang, Kaixian, Wanzhou, Wuxi and Zhongxian in 2001. Total 94 isolates were obtained and tested for fungicide resistance and resistant level to metalaxyl by measuring the growth of the fungal colony. Results showed that 20.2% isolates are resistant, 11.7% isolates are intermediate in resistance and 68.1% isolates are sensitive to metalaxyl. The resistant levels of the two tested resistant isolates are much higher than that of the metalaxyl-sensitive isolate (PBB-1102). The resistant occurrence of isolates from different places is closely interrelated to the use of metalaxyl in these areas. The strategy for applying pesticide was put forward in connection with these areas.

KEY WORDS: *Phytophthora infestans*, metalaxyl, fungicide resistance

观察其症状的反应, 确定马铃薯内有无病毒或带某种病毒的方法。

2 材料与方 法

2.1 材 料

心叶烟 (*Nicotiana tabacum* Var *glutinosa*)、德伯尼烟 (*Nicotiana debneyi*)、千日红 (*Gomphre globosa* L)、白花刺果曼陀罗 (*Datura Stramonium* L)、紫花球果曼陀罗 (*Datura tatula* L) (*Datura metel* L)、毛曼陀罗 (*Nicotiana tabacum* Var *samsum*)、枸杞 (*Lyciumbarbarum* L)、尖椒 (*CaPisicum annum* L)、洋酸浆 (*Physalis floridana*)、假酸浆 (*Nicondra physaloides*)、苋色藜 (*Chenopodium Amaranticolor*)、直房丛生番茄 (*Lycopersicum pimpinellifolium*)、鲁特格尔斯番茄 (*Lycopersicum esculentum* var)、天蓬子 (*Scopolia sinensis*)、A6、豇豆 (*Vigna Sinensis* End Var *Black*)、黄苗榆、白肋烟、黄花烟、小圆椒、黄姑娘、马铃薯病薯、马铃薯病株、马铃薯脱毒苗、花盆、洗衣粉、刷子、

洗衣盆、铁架子、钢化玻璃、马粪、黑土、金刚砂 (400 目)、小型喷粉器、喷壶、杀虫剂。

2.2 方 法

所有试验研究均在防虫害的温网室中进行。

2.2.1 指示植物的培育

一般情况下, 在每年 3 月下旬开始播指示种子, 一些指示植物在用前 75 d 播种, 也有一些指示植物在用前 60 d、45 d 或 20~30 d 播种, 最少也得在用前 10~15 d 播种。

所用的土和马粪均用土壤筛筛一遍, 二者再以 3:1 混匀, 装在大、中、小花盆中, 土距盆顶要有一定的距离, 花盆内的土壤要先灌透水, 然后将种子撒播于盆内湿土上, 覆土厚度 0.5~1.0 cm, 出苗后适时移苗, 在荫凉处育苗。

2.2.2 指示植物的摆组

用指示植物鉴定马铃薯病毒, 必须进行摆组鉴定, 弄清楚马铃薯病组织中带哪几种病毒。移苗成活后的指示植物进行摆组时, 将系统侵染的摆两盆, 局部侵染的摆一盆。

表 1 几种常见的马铃薯病毒在主要指示植物上的症状

马铃薯病毒	传染方式	接种指示植物上的症状
PVX	接触	毛曼陀罗: 汁液摩擦接种在 20℃ 条件下, 接种 10d 后, 叶片出现局部病斑, 心叶花叶。 千日红: 汁液摩擦接种 5~7d, 在接种叶片上出现紫红环枯斑。 白花刺果曼陀罗: 接种后 10d 心叶出现花叶病状。 尖椒: 接种 10~12d 接种叶片出现坏死斑点, 以后系统发病。
PVY	接触或昆虫 (桃蚜)	普通烟草: 汁液接种 7~10d 感病初期叶片明脉, 后期是沿脉绿带状。 洋酸浆: 汁液摩擦接种后, 在室温 16~18℃ 条件下, 经 10~15d, 在接种叶叶片上出现黄褐色不规则的枯斑, 以后落叶。 A6: 接种 5~10d 接种叶片出现褐色环状坏死枯斑。初侵染时呈绿色圆环斑, 逐渐坏死。
PVS	接触	千日红: 汁液摩擦接种 14~25d, 接种叶片出现红色小斑点, 略微凸出的圆环小斑点。 毛曼陀罗: 出现轻微花叶症。 苋色藜: 接种 20~25d 接种叶片出现局部黄色斑点。 德伯尼烟: 初期明脉以后是暗绿块斑花叶。
PVM	接触或昆虫 (桃蚜)	千日红: 汁液摩擦接种 12~24d, 接种叶片出现桔红色小圆枯斑。 毛曼陀罗: 汁液摩擦接种 10d 后, 接种叶片出现失绿病至褐病斑。
PVA	接触或昆虫 (桃蚜)	A6: 汁液摩擦接种叶片出现褐色星状斑点。 香料烟: 汁液摩擦接法, 接叶微明脉。
PVG	接触或昆虫	心叶烟: 汁液摩擦接种, 接种 20d 后, 出现系统明显花叶症或白斑。
PLRV	昆虫 (桃蚜)	白花刺果曼陀罗: 蚜虫接种后, 系统卷叶。
PSTV	接触、昆虫、种子	鲁特格尔斯番茄: 汁液摩擦接种在 27~35℃ 和强光 16h 以上条件下, 接种 20d 后上部叶片变窄而扭曲, 至全株。

2.2.3 马铃薯病组织的收集

利用指示植物鉴定生长季节中马铃薯植株的带毒情况,分三个时期到田间采植株叶片,即现蕾期、盛花期和茎叶枯黄前一周。一般情况以整个植株的中部叶片为鉴定材料,也可鉴定马铃薯块茎及脱毒苗的带毒情况。

2.2.4 指示植物接种鉴定病毒

将病组织采回后,放在用洗衣粉水洗过的研钵内,用小型喷粉器将400目的金刚砂喷洒在指示植物叶片上,将病组织摩擦接种在不同的指示植物上,接种后用清水洗掉接种叶片上的杂物,3~7 d后逐日观察发病症状。根据几年的实践发现,不同的病毒种类在同一指示植物上的症状不同,同一种病毒在不同种指示植物上的症状不同。

在春季、秋季花盆中的指示植物每天浇一次水,在炎热的夏季每天浇两次水。适时清除花盆中的杂草。每隔7~10 d喷施一次防蚜虫的药。种植指示植物的花盆都摆放在架子上。接种时采用过滤性指示植物,将不同病毒在主要指示植物上的症状表现列表1。

2.2.5 影响指示植物接种鉴定效果的环境因素

对于病毒侵染指示植物后,指示植物产生病斑的数量是否受环境的影响,我们做了施肥、光照、温度条件对比试验。

a. 在2000年接种鉴定的摆组试验中,每个鉴定组都设一次重复,一组在接种盆中撒入适量的氮肥,一组不施肥,接种3 d后,逐天调查指示植物发病情况及产生病斑的数量。

b. 将两组A6接种马铃薯病毒后,一组放置于2000 lx光照下经过短时间的培养;一组放置于1000 lx或500 lx光照下培养;接种5 d后,调查产生病斑的数量。

c. 将同样的两组指示植物鉴定组摆放好后,一组放在24℃条件下培养,一组放在20℃条件下培养,接种3 d后调查病斑的数量。

3 结果与讨论

以上研究证明,指示植物鉴定马铃薯病毒的技术可以推广应用,但在应用该技术时必须注意以下几点:

a. 在利用指示植物鉴定病毒时,所用的指示植物的年龄要保持一致,因不同的指示植物,从播种至出苗后的生长速度都有一定差别,如果同时播种,培育的苗子生育阶段会参差不齐,就无法应用。

b. 用于鉴定病毒用的指示植物在管理时一定要规范化。浇水时切忌干湿不均;摆组时,各指示植物不能互相接触,以免影响鉴定效果。

c. 应在接种盆加入适量的氮肥,有利于指示植物的生长和病斑的产生。

d. 温度和光照都能影响鉴定病毒的效果,病毒的症状也随着环境温度的不同而不同,有些症状需在特定的温度极限内表现,有些症状需在一定光照范围内表现。应根据指示植物的不同和病毒种类不同,采用不同的光照和温度培养。

THE STUDY AND APPLICATION OF INDICATOR PLANTS IN VIRUSES IDENTIFICATION

XU Jie

(Inspecting and Quarantine Office of Suifenhe, Suifenhe 157300)

ABSTRACT: In order to seek a method for identifying potato viruses, which can be used widely, some indicator plants were studied, in which screening planting and identifying methods were included. The result showed that indicator plants would be used for potato viruses identification widely in inspecting office.

KEY WORDS: indicator plant, viruses identification