

应用组培脱毒苗微型薯体系鉴定马铃薯 不同品种的 PSTV 抗性研究

刘声远¹, 洪 治¹, 冯治洋¹, 王仁晓¹
刘震宇¹, 马国达¹, 柳洪卫¹, 吕仕宏²

(1. 东北大学生物工程研究所, 沈阳 110006; 2. 沈阳农业大学农工系)

摘 要: 应用人工接种 PSTV, 侵染健康脱毒组培扦插苗, 建立了以微型薯产量为依据鉴定 PSTV 抗性的系统。该系统具有简便、快速、准确的特点。

关键词: PSTV; 脱毒组培苗; 微型薯; 抗性

中图分类号: S532

文献标识码: A

文章编号: 1001-0092 (2001) 06-0335-02

1 前 言

随着我国改革开放形势的深入发展, 国际间合作不断加强, 大量马铃薯新品种引进我国。如何控制病毒传播, 筛选高产优质抗病的新品种是当前马铃薯生产面临的重要问题。

马铃薯纺锤型块茎类病毒 (PSTV) 是由 359 个核苷酸组成的裸 RNA 病毒。分子量较小, 大约 120000。极易在植株间传播。弱系可引起减产达 20%~30%, 强系造成 60% 以上减产。至今应用茎尖组培脱毒方法很难脱去 PSTV。只好应用 RT-PSTV 方法筛选无毒株, 淘汰病株, 扩繁大量生产。无疑, 鉴定筛选抗 PSTV 品种是解决 PSTV 问题的重要手段。

本文建立了鉴定 PSTV 抗性的组织脱毒苗微型薯体系, 实现了快速准确地抗性鉴定。

2 材料与方 法

2.1 实验材料

马铃薯品种 RNL、H₂、H₁₀ 是我所从美国、荷兰引进; PSTV (强系) 由美国 ADI 公司提供。

2.2 实验仪器

DYY-III-5.5.1 型电泳仪 (北京六一仪器厂); CS501-SP 超级恒温水浴 (重庆四达实验仪器厂)。

2.3 实验方法

2.3.1 无毒体系的建立

通过茎尖脱毒组培 ELISA 检测, 无 X、Y、S、M、A、PLRV 病毒, 又经 RT-PAGE 检测 PSTV 呈阴性反应的组培苗体系。

在无菌超净工作台内, 取健壮试管苗的生长点, 接种于 MS 固体培养基中, 每瓶接 4 段。在 18 ℃, 16 h 光照下培养 15 d, 去封口膜, 在自然光照条件下炼苗 3 d, 去根, 在 100 mg/L 生根剂中浸泡 20 min, 移栽入蛭石基质中 (事先调好肥料、水分)。第一周遮光保湿, 待苗成活后, 在温室条件下 (23 ℃, 光照 8 h), 加防虫网敞开培养。

2.3.2 PSTV 接种侵染株系的建立

PSTV 病原液的提取: 分别用蒸馏水, 提取缓冲液 (0.53 mol/L NH₃ - H₂O, 0.013 mol/L EDTA·Na, 4 mol/L LiCl), 酚提取液加入病原叶片中, 研磨, 浸提。

侵染方法: 石英砂喷施, 叶面轻摩擦。

培养条件: 采用一致条件, 尼龙纱网隔离培养, 每周浇 3‰。营养液一次, 两周后, 计算成活率。

PSTV 的检测: 用 R-PAGE 法, 取中部叶片, 随机取样

收稿日期: 2001-09-27

作者简介: 刘声远 (1942—), 男, 东北大学工程研究所教授、所长, 从事生物工程、基因转化、分子农业研究。

3 结果与分析

3.1 不同侵染液对植株侵染的影响

用蒸馏水与酚提取缓冲液抽液分别侵染健康植株, 两周后的状况如表 1。

表 1 各种浸提液的侵染效果比较

侵染液	品种	接种数 (棵)	成活数 (棵)	成活率 (%)
蒸馏水	RNL	46	43	93.5
	H ₂	26	26	100
酚提液	RNL	32	18	56.3
	H ₂	35	14	40

PSTV 的蒸馏水侵染液对叶片损伤较小, 对植株正常的生长影响不大; 而酚提液以 NH₄OH、EDTA、LiCl 为主要成分, 接种后第二天叶片有大量坏死现象发生, 成活率较低。相比之下, 我们采取了蒸馏水提取 PSTV。

3.2 PSTV 侵染对微型薯产量的影响

选取 RNL、H₂、H₁₀ 的健康植株, 分成两大组。其一为对照组, 其二于 9 月 12 日用 PSTV 侵染, 隔离培养, 观察生长情况, 于 11 月 19 日收获微型薯, 称重分析。

表 2 PSTV 侵染对不同的品种微型薯产量的影响

处 理	品 种	株 数	总重量 (g)	单株产量 (g)	减产率 (%)
对 照	RNL	17	60.9	3.6±1.2	
	H ₂	18	90.0	5.6±1.3	
	H ₁₀	19	57.6	3.0±1.1	
侵 染	RNL	17	57.1	3.4±1.1*	5
	H ₂	19	59.9	3.2±0.9**	36
	H ₁₀	18	49.8	2.8±0.8*	6

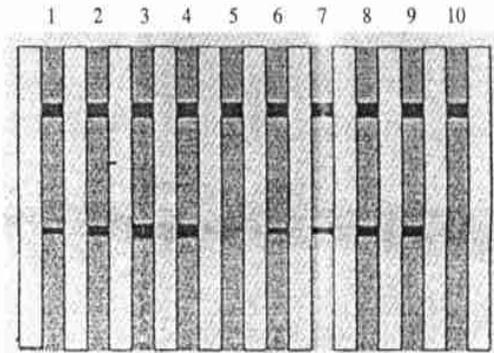
* 为 P<0.05 差异显著; ** 为 P<0.01 差异极显著。

从表 2 可见, H₂ 品种的微型薯产量最高, RNL 和 H₁₀ 相近似。侵染 PSTV 后, H₂ 微型薯产量下降 36%, RNL 和 H₁₀ 下降分别为 5%、6%。因此可以断定, H₂ 虽然产量高但不抗 PSTV。

实验观察到侵染 PSTV 结薯时间较对照组晚 1 周左右。

3.3 PSTV 在受侵染植株中分布的部位 (R-PAGE 法检测)

取等量的受侵染叶片 (上数第 4 片叶), 嫩茎, 须根, 块茎为试材, 在结薯后两周用 R-PAGE 法检测, 见图 1。



1、6 为须根; 2、7 为嫩茎; 3、8 为叶片; 4、9 为块茎

图 1 PSTV 在受侵染植株中分布的部位

其中块茎, 叶片中 PSTV 累积浓度最高, 其次为嫩茎, 根系中含量最低。因此, 通过块茎留种, 必然会造成马铃薯产量和质量严重下降。

4 结 论

a. 以脱毒组育苗微型薯为对照, 人工感染 PSTV 组培微型薯体系的产量可以作为鉴定品种 PSTV 抗性的重要依据。

b. 叶片、块茎积累 PSTV 浓度高, 是检测 PSTV 灵敏部位。

c. PSTV 的蒸馏水浸提液侵染效果较好, 成活率高。

致谢: 本文得到了崔荣昌老师热情指导, 在此表示感谢。

参 考 文 献

[1] 崔荣昌, 李芝芳等. 马铃薯纺锤块茎类病毒的检测和防治 [J]. 植物保护学报, 1992, 19 (3): 263-269.
 [2] 崔荣昌, 李小龙. 马铃薯纺锤块茎类病毒不同株系及不同接种方法对产量的影响 [J]. 马铃薯杂志, 1990, 4 (3): 129-137.
 [3] IO. M. 谢里奇柯. 类病毒 [M]. 科学出版社, 1995.
 [4] Branch A. D., and Robertson H. D. Science. 1984, 223, 450-455.