

马铃薯抗病毒育种的研究进展

吕晓波¹, 刘丹宁²

(¹ 黑龙江省农科院生物技术中心, 哈尔滨 150086; ² 黑龙江中医药大学药学院, 哈尔滨 150010)

中图分类号: S532; S332.9

文献标识码: A

文章编号: 1001-0092- (2001) 01-0031-03

1 马铃薯抗病毒育种的意义

马铃薯是世界上继小麦、玉米和水稻之后的第四大粮食作物^[1]。其单位面积和单位时间的产量高于其它三种作物。又因其蛋白质富含多种人体必须的氨基酸, 因此, 马铃薯的生产是相当重要的, 尤其在发展中国家。可是, 马铃薯种薯退化问题严重。现已明确造成退化的主要原因是病毒危害。据估计, 每年世界上马铃薯生产由病毒造成的减产至少为 20%, 同时, 病毒也影响马铃薯的质量^[2,3]。

马铃薯茎尖脱毒可生产病毒含量很低的种薯, 在严格的检测技术和程序化的繁种条件下, 生产“无毒”种薯提供给大田生产^[4], 这在发达国家已成为法规制度。但在发展中国家, 受经济条件的限制还未能全面应用于生产。而且, 脱毒种薯也存在质量问题, 如德国研究发现, 用不标准的种子(含毒)第一年减产到 77%, 第二年减产到 44%^[2,5]。我国的脱毒种薯繁育体系存在许多问题, 且农民的素质和经济条件制约着脱毒种薯的发展。

应用实生种子生产马铃薯可避免主要病毒病的传播, 成本较低, 但产量也低。这种方式适宜我国经济和交通落后地区的马铃薯生产, 加速贫困地区脱贫。所以, 选育抗病毒病的品种仍是一条防治病毒的最佳途径。

2 马铃薯抗病毒机制

抗性即寄主与病原菌之间的关系, 也就是寄主

收稿日期: 2000-09-22

作者简介: 吕晓波 (1964-), 女, 副研究员, 从事马铃薯等植物的生物技术育种研究。

努力使病原菌的危害达到最低或最后将病原菌完全排除。为达到这些目的, 植物在进化过程中发展许多种策略和机制, 这些防御机制归纳为: 避病、抗病和耐病^[6]。

2.1 避病

避病意为减少与病原菌接触的可能性, 这种类型抗性在马铃薯上经常被发现。实际上, 许多病毒是由昆虫传播, 如 PVY、PVX 和 PLRV 等^[5]。如果品种对传播昆虫(如蚜虫等)有抗性, 这些品种的马铃薯将避免被病毒侵染。然而, 这类型的马铃薯一旦被病毒侵染, 病毒繁殖、传播和积累的速度同敏感品种是一样的。另外, Salazar 等 (1988) 偶然发现野生种 *Solanum acaule* 机械接种 PSTVd 病毒表现抗性^[7,3]。

2.2 抗病

抗病是植物在与病原微生物接触或被侵染后, 其有能力减少病原微生物的生长或抑制病情的发展。控制机制是多样的, 在马铃薯, 抗病类型的主要表现之一是过敏反应, 其特点是侵染点周围的细胞在病毒发育的早期就坏死。过敏反应的机理目前还不十分清楚, 已发现这一反应与组织的一些生理、生化变化相关, 如植保素的产生等^[5,10]。另外把抗病性分为免疫和高抗类型, 但免疫和高抗有时难以区分, 如马铃薯 *S. andigena* USDA 41956 曾被认为对 PVX 病毒免疫, 但后来在其植株的根、茎和薯块中分离到该病毒, 因此免疫改为高抗^[2,5]。抗病类型的材料在育种中的应用价值最大, 育种者要留意收集。

2.3 耐病

与抗病和避病相比, 耐病不减小感染程度, 植

株体内可带有大量的病毒, 但相对较小的产量损失或不表现得病症状。生产中已发现, 有些品种在田间表现正常, 但检测时测到大量的病毒在植株体内。如马铃薯株系 LT-1 被认为对病毒 PLRV 是免疫的, 因田间整个生育期未见任何病症。可是, ELISA 检测发现植株体内的 PLRV 病毒含量同敏感品种一样^[3]。耐病品种虽不影响自己的产量, 其却很易成为敏感品种的毒源, 因此最好不作为育种的抗源材料。

3 抗病毒病育种途径

抗病育种类似于其它性状育种, 但抗病育种更复杂, 因为生物压力使微生物多样化, 病原微生物遗传类型至少与作物种类一样丰富, 甚至更多。经调查, 约有 23 个病毒和类病毒可侵染马铃薯^[9], 但实际上, 不是所有的病毒都导致严重的病害, 造成产量损失。国际上, 一般认为卷叶病毒, 马铃薯 Y 病毒 (PVY), 马铃薯 X 病毒 (PVX), 马铃薯 S 病毒 (PVS), 马铃薯 A 病毒 (PVA), 马铃薯 M 病毒 (PVM), 马铃薯卷叶病毒 (PLRV) 和纺锤块茎类病毒 (PSTV) 是马铃薯的主要病毒病^[4,5,10]。但不同地区, 常发生的病毒病害也不同。我国在育种目标中提到的是北方地区需抗 PVX, PVY 和 PSTV, 中原北区为 PVX, PVY 和 PLRV, 南方与中原地区相同^[11]。抗病育种一般有两种途径, 利用植物抗源和创造抗病性种质资源^[6]。

3.1 利用植物抗源

Niks 等 (1993) 指出, 植物抗源可来自: 栽培种本身、商业性栽培种、地方品种、野生种后代, 相关近缘种、相关属等^[8]。由于马铃薯遗传背景复杂, 多数性状的特点和遗传来源还不清楚。幸运的是有些抗源已被进行了深入的遗传和应用研究。

今天的许多抗 PLRV 的栽培种的抗源可追溯到 *S. demissum*, 荷兰的许多抗 PLRV 的品种都来自 MPI1926。另一个高抗的育种材料如 MPI44.1016/10 的抗性来自 *S. acaule* X ssp。可是欧洲的多数高抗 PLRV 的品种不仅开花少, 且花药育性差, 不适合作育种材料。高抗的新种质很可能来自 *S. etuberosum* 和 *S. brevidens* 等的杂交后代材料^[5,12]。育种上应用的抗 PVY 的抗性是主基因控制的, 即基因 *N* 和 *R*。*N* 基因存在产生局部坏死

反应或系统过敏, *R* 基因表现为免疫或高抗。在 *S. stoloniferum* 上对 PVY 产生免疫或高抗性状的基因是显性单基因, 已被定位在四倍体基因组的 XI 染色体上^[3,13]。抗 PVX 育种中常用 CPC1673 的抗性基因是来自 *S. andigena*, 但德国品种中的抗性多来自 *S. acaule*, 品种 Cara 中的抗性基因已被定位于 XIII 染色体上^[5,1]。抗 PVM 基因源较多, 除 *S. ploytrichom* 和 *S. microdontum* 外, 来自 *S. megistacrolobum* 的 EBS1787 带有显性主基因, 对 PVM 产生过敏反应, 目前认为更有希望的替代抗源或许是 *S. goulayi*, 它与敏感栽培种的杂交后代表现出显著的抗 PVM 侵染的特征^[3,5]。PVS 的病症与 PVM 类似, 德国品种 Adretta 对 PVS 有抗性, 美国 Saco 在田间条件下几乎不被 PVS 侵染, 目前发现控制 PVS 抗性的多为隐性主基因和微效多基因, 但玻利维亚一栽培种 P. I. 258907 带有一显性主基因。PVA 是一多生理小种的家族, 幸运的是绝大多数品种带有局部过敏抗性基因。另 PVA 的生物化学特征与 PVY 的类似, 抗 PVY 的一些材料也抗 PVA^[3,13]。抗 TRV 的也有一些品种, 如 Stormont Enterprise 不表现 TRV 的病症, 其与敏感亲本杂交后, 59% 的后代对 TRV 有抗性^[5]。目前栽培种中, 未发现有过敏反应抗 PSTV 的种源^[2,15], 野生种 *S. guerreroense* 和 *S. acaule* 带有抗性。在这方面, Salazar 博士归纳已研究的马铃薯抗病毒基因的来源和抗病类型等资料值得参考^[3]。

植物抗源可通过杂交转育。如克山马铃薯所采用秋水仙碱加倍方法, 将野生种 *S. chacoense*, *S. demissum*, *S. stoloniferum* 和 *S. acaule* 内抗病基因转育到四倍体栽培种中并经 3~4 代轮回选择选育出抗 PVY 材料 40 份, 抗 PVX 材料 35 份, 抗晚疫病材料 16 份^[14,16]。为克服马铃薯的有性不亲和障碍, 避免不良农艺性状的大量伴随转入等问题, 原生质体融合技术被应用。Austin 等获得了 *S. phureja* 和 *S. phureja*/ *S. stenotomum* 的原生质体融合杂种并筛选到抗 PLRV 的个体^[17]。可是体细胞种间杂交也带有育性问题及不需要的野生性状, 这种矛盾也许会被解决, 如利用部分基因组转移技术, 即不对称原生质体融合^[18]等。

3.2 获得性抗源

诱变育种在营养繁殖的作物育种中具有优势。

马铃薯的自发突变现象在 19 世纪已被认识。实际上诱变处理可以使敏感型成为抗性, 如克隆 19268 抗卷叶病毒^[2,5,19]。如果突变是点突变除抗性外, 其它性状与原栽培种一致, 可是诱变剂处理后, 经常伴有不需要的变异。另活体上有嵌合体不易被发现而丢失好材料, 因此离体筛选相对于活体更有效, 随着离体培养技术的发展, 大量文献报道应用花培、小孢子培养、体细胞或原生质体再生选育抗病毒的材料^[3,19]。

近 20 多年来抗病毒的基因工程发展迅速, 转基因技术是获得性抗病毒马铃薯的又一途径。在抗病毒上应用的主要策略有外壳蛋白、病毒转移蛋白、RNA 沉默、卫星 RNA、核糖酶、及动、植物抗病毒基因和非致病基因等。例如, PVX 的外壳蛋白基因已转移到马铃薯中, 且检测到该蛋白在植株体内积累和抗此病毒^[3,13,20]。我国在该领域发展也很迅速, 近 10 年来已合成克隆了外壳蛋白基因、复制酶基因、蛋白酶基因、基因调控序列核酶等。利用农杆菌介导等方法获得了一批不同程度上抗的转基因马铃薯栽培种, 且大部分材料已进入田间试验^[21]。

总之, 选育抗病毒马铃薯品种不仅是生产上必须的, 而且随着对其抗病毒机理研究的深入, 加之新的理论和技术的不断完善, 快速高效培育马铃薯抗病毒新品种将成为可能。

参 考 文 献

- [1] Ancora G and A Sonnino, In vitro induction of mutation in potato. In Bajaj Y P S (ed) *Biotechnology in Agriculture and Forestry 3: Potato*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany. 1987. IV. 12
- [2] Rich A E. *Potato diseases*. Published by Academic Press, Inc. New York, 1983, 92—148.
- [3] Salazar L F. Ecology, epidemiology, and control of virus disease. In Salazar L F (ed) *Potato Viruses and Their Control*. International Potato Center, Peru, 1996, 167—198.
- [4] Hooker W J (ed). *Compendium of potato diseases*. Am Phytopathol Soc, St. Paul, Minnesota. 1981
- [5] Ross H. Potato breeding problems and perspectives. In Horn W. et al (ed) *Advances in plant breeding (supplement 13 to Journal of plant Breeding)*. Verlag Paul Parey Berlin and Hamburg, 1986, 31—81.
- [6] Parlevliet J E. Disease resistance in plants and its consequences for breeding. *Proc. Plant Breeding symp. II*, Frey, K J (ed), Iowa State Uni, Ames, 1998a, 309—364.
- [7] Querci M, R A Owens and L F Salazar. Encapsulation of PSTVd in PLRV particles and its transmission by aphids. *International Potato Center—program Report 1995—1996*. 1997, 150—155.
- [8] Niks R E, P R Ellis and J E Parlevliet. Resistance to parasites. In M D Hayward et al. (ed), *Plant Breeding—Principles and Prospects*. Chapman and Hall, UK. 1993, 422—442.
- [9] Brown C R, E N Fernandez-Northcote et al. Breeding virus-resistant potato cvs. for developing countries. *CIP—Circular, Intern. Pot. Center*, Lima, 1984c, 12 (3): 1—4.
- [10] De Boer S H, S A Slack et al. A role for pathogen indexing procedures in potato certification. *Advances in Botanical Research*, 1996, 23, 217—242.
- [11] 王新伟. 我国马铃薯育种的回顾及今后的发展方向 [J]. 中国马铃薯, 2000, 14 (3): 161—164.
- [12] Brigneti G, J Garcia-Mas and D C Baulcombe. Molecular mapping of the potato virus Y resistance gene Rysto in potato. *Theor Appl Genet*. 1997, 94, 198—203.
- [13] Querci M, G brigneti, and et al. Use of natural resistance genes for transgenic resistance to potato viruses. *International Potato Center—program Report 1995—1996*. 1997, 156—158.
- [14] Bendahmane A, K Kanyuka and D C Baulcombe. High-resolution genetical and physical mapping of the Rx gene for extreme resistance to potato virus X in tetraploid potato. *Theor Appl Genet*. 1997, 95, 153—162.
- [15] 夏平, 2000. 国外种质资源在我国马铃薯生产中的应用 [J]. 中国马铃薯, 2000, 14 (1): 41—43
- [16] Hehl R, E Faurie, et al. TMV resistance gene N homologues are linked to *Synchytrium endobioticum* resistance in potato. *Theor Appl Genet*, 1999, 98, 379—386.
- [17] Austin, Sandra et al. Transfer of resistance to potato leaf roll virus from *Solanum brevidens* into *Solanum tuberosum* by somatic fusion. *Pl. Sc. Lett.* 1985, 39, 75—81.
- [18] Rasmussen J O, S Waara and O S Rasmussen. Regeneration and analysis of interspecific asymmetric potato-Solanum ssp hybrid plants selected by micromanipulation or fluorescence-activated by micromanipulation or fluorescence-activated cell sorting (FACS). *Theor Appl Genet*. 1997, 95, 41—49.
- [19] Gopal J. In vitro versus in vivo genetic divergence in potato. *Theor Appl Genet*, 1999, 98, 299—304.
- [20] Truve E, Kelve M et al. Principles and background for the construction of transgenic plants displaying multiple virus resistance. *Arch. Virol. (Suppl)* 1994, 9, 41—50.
- [21] 张鹤龄. 我国马铃薯抗病基因工程研究进展 [J]. 中国马铃薯, 2000, 14 (1): 25—30.