

# 马铃薯野生种 (*Stoloniferum*) 与栽培种 (*Tuberosum*) 的杂种回交后代对 PVY 的反应

王仁贵 洪霞

(黑龙江省农科院马铃薯研究所 161606)

## 1 引言

马铃薯 Y 病毒是引起马铃薯退化的主要病毒之一, 可使马铃薯减产 24% ~ 50%。美国、加拿大等许多国家均把抗 PVY 列入其马铃薯育种目标之中, 我国从 50 年代开始也对 PVY 及抗 PVY 品种筛选进行了广泛的研究。人们发现由于栽培品种缺乏高抗 PVY 的遗传因子, 仅凭传统的品种间杂交很难培育出抗 PVY 的新品种, Ross 和 East 报道马铃薯野生种 (*Stoloniferum*, *Chacoense*) 及新型栽培种 (*Andigena*) 中含有对 PVY 免疫或过敏的基因, 因此我国“七五”期间将利用野生种进行亲本筛选及创新纳入国家攻关项目, 并通过种间杂交, 从 (*Stoloniferum* × *Tuberosum*) 杂交后代中鉴定筛选出一批高抗 PVY 的材料。由于这些材料仍带有野生种的许多不利性状, 如匍匐茎长、芽眼深、淀粉含量低等, 必须经栽培种回交克服不良性状后才能做亲本利用。本试验的目的是了解 (*Stoloniferum* × *Tuberosum*) 抗 PVY 后代与 *Tuberosum* 回交, 其后代抗 PVY 的分离比率; 同时探讨回交后代株系对 PVY 的反应。

## 2 材料及方法

### 2.1 材料

1983 年克山马铃薯研究所利用秋水仙碱加倍法处理 *Stoloniferum* 后与 *Tuberosum* 杂交, 获得高抗 PVY 的无性系 ST301、ST29、ST33。1987 年我们用上述 3 个无性系分别与 Katandin 回交配制 3 个组合。1990 年 3 月末从 3 个组合中各取两份实生籽浸种, 播于育苗箱内, 其中一份植于温室内的塑料育苗钵内 (直径 7cm) 用于接种鉴定观察 PVY 分离比率; 另一份 6 月中旬定植于网棚内 (株行距 35cm × 70cm), 秋天单株收获。第二年春季, 每株系播种 1 行, 每行 8 株, 用于接种鉴定对 PVY 的反应。

### 2.2 接种方法

取保存在马铃薯品种 Red Pentiac 上 PVY 毒源, 在蒸馏水中研磨 (叶片: 水 = 1:10), 然后与 400 目金钢砂混合制成悬浮液。利用喷枪人工喷射叶面接种。接种时间是在实生苗于 7 ~ 8cm 高时, 网棚内的株系播种 5 周后进行。接种数量见表 1。

表 1 接种数量

| 种类 (时间)    | 组 合        |           |           |
|------------|------------|-----------|-----------|
|            | ST301 × Ka | ST29 × Ka | ST33 × Ka |
| 实生苗 (1990) | 450        | 710       | 736       |
| (株系数)      | (5)        | (85)      | (92)      |
| 株数 (1991)  | 400        | 680       | 736       |

2.3 病毒鉴定方法

- a. 实生苗接种 4 周后, 调查每一单株出现的症状。同时按单株取样, 用 ELISA 法检测, 步骤同下, 凡 ELISA 读数 A 低于 0.4 的单株为抗 PVY 的植株。
- b. 株系接种 3 周后, 调查各株系单株发病症状, 记载标准如下; ① 无症状; ② 花叶; ③ 坏死; ④ 其它。接种 4 周后取单株叶片用 DAS-ELISA 鉴定 PVY 含量。具体步骤按 Singh 和 McDonald 描述的方法进行。检测结果采用加拿大进口的 ELISA 读数仪在 405nm 下测定其消光值 A。在检测样品之前, 经平行实验测定不含 PVY 的阴性对照样品的消光值 A(405nm) 大多数情况下都低于 0.2, 且从不超过 0.4。所以我们认定: 接种过的植株, 如其消光值 A 等于或低于 0.2, PVY 就不存在或浓度达不到目前所

能检测的水平; 如消光值 A 在 0.21 ~ 0.4 之间, PVY 就有可能存在; 消光值 A>0.4, PVY 就一定存在。

3 试验结果

3.1 *Stoloniferum* × *Tuberosum* 杂种回交后代抗 PVY 的分离比率

实生苗接种后, 大部分出现了明显的坏死症状, 也有花叶及少量的系统坏死。ELISA 检测抗病与不抗病结果列于表 2。3 个组合抗 PVY 的分离情况明显不同, 从组合 ST301 × Ka 看出, 亲本抗 PVY 的性状由单显性基因所控制。参照两个期望的分离比率 1:1 和 3:4, 组合 ST29 × Ka 和 ST33 × Ka 更接近 3:4。而 ST301 × Ka 比较适合 1:1 的分离比率。

表 2 回交后代抗 PVY 的分离比率

| 组 合        | 抗病株数 | 感病株数 | 期望值 * | $\chi^2$ | P            |
|------------|------|------|-------|----------|--------------|
| ST301 × Ka | 422  | 428  | 1 : 1 | 0.925    | 0.9 ~ 0.75   |
|            |      |      | 3 : 4 | 3.250    | 0.1 ~ 0.5    |
| ST29 × Ka  | 317  | 387  | 1 : 1 | 8.270    | 0.005        |
|            |      |      | 3 : 4 | 0.667    | 0.5 ~ 0.25   |
| ST33 × Ka  | 333  | 403  | 1 : 1 | 6.460    | 0.025 ~ 0.01 |
|            |      |      | 3 : 4 | 1.706    | 0.25 ~ 0.10  |

\* 为假定的分离比率

3.2 3 个不同组合各株系对 PVY 侵染的反应

3 个组合共计 227 个株系, 依接种 PVY 后植株的外部症状及消光值 A>0.4 的植株频率进行分组, 标准如下: 株系内 A>0.4 的植株数: ① 0 ~ 2; ② 3 ~ 5; ③ 6 ~ 8; 株系内含有花叶或坏死的植株数: ① 0 ~ 2; ② 3 ~ 5; ③ 6 ~ 8。

从表 3 可以看出, 各组合在不同组别内株系出现的频率及 3 个组合混合后株系的表现。按照 Bagnall 和 Tai 报道的症状抗性分级法, 并结合 ELISA 检测结果 A 值, 我们将

3 个组合的无性株系分为 5 个抗性水平, A、B、C、D、E, 用来表示从 A 到 E 抗性逐渐降低。

3.3 不同抗性水平与 PVY 浓度及症状的相关性

上述的 5 个抗性水平的单株外部症状表现及 ELISA 检测结果 A 列于表 4。并由此看出各抗性水平内单株反应。

A 水平; 包括 20 个株系的 160 个植株, 其中 87.5% 的植株无症状, 且除 24 株外, A 值均在 0.4 以下。有 16 个株系的全部植株

表 3 3 个组合不同株系的外部症状及病毒浓度综合表现

| 组 合        | 株系内 A>0.4<br>的植株数 | 株系内带有花叶<br>或坏死症状株数 |       |       |
|------------|-------------------|--------------------|-------|-------|
|            |                   | 0 ~ 2              | 3 ~ 5 | 6 ~ 8 |
| ST301 × Ka | 0 ~ 2             | 8                  | 3     | 0     |
|            | 3 ~ 5             | 4                  | 5     | 5     |
|            | 6 ~ 8             | 4                  | 9     | 12    |
| ST29 × Ka  | 0 ~ 2             | 5                  | 2     | 2     |
|            | 3 ~ 5             | 6                  | 10    | 9     |
|            | 6 ~ 8             | 12                 | 14    | 25    |
| ST33 × Ka  | 0 ~ 2             | 7                  | 4     | 6     |
|            | 3 ~ 5             | 10                 | 8     | 15    |
|            | 6 ~ 8             | 12                 | 10    | 20    |
| 合计         | 0 ~ 2             | 20A                | 9C    | 8B    |
|            | 3 ~ 5             | 20C                | 23C   | 29C   |
|            | 6 ~ 8             | 28D                | 33C   | 57E   |

\* 3 个组合的株系混合分组, 同一字母的为—抗性水平

都无症状, 且 A 值在 0.1 ~ 0.4 之间。

B 水平: 包括 8 个株系的 64 个单株, 除 9 个植株的 A 值超过 0.4 外, 其余的植株均在 0.4 以下, 然而 87.5% 的个体出现了花叶症状, 表现症状的单株中有 85.7% 的植株的 A 值在 0.21 ~ 0.4 之间。

C 水平: 包括 94 个株系 752 个单株, 占总体接种株系 1/3 还多, 植株的反应为混合型。同一株系内既有表现症状的植株, 也有无症状的植株, ELISA 检测 A>0.4 的植株与低于 0.4 的植株大体相似。

D 水平: 包含 28 个株系 224 个单株, 其中 ELISA 检测 A 值高于 0.4 的株率为 78.1%, 而仅有 20 个单株表现明显的花叶症状, 不足总株数的 10%。

E 水平: 包括 57 个株系 456 个单株, 其中 443 个植株的 A 值在 0.4 以上, 且 81.8% 的植株浓度 A 超过 0.8。除 1 株外, 442 个单株均出现了花叶。另有两株 A 值在 0.2 ~ 0.4

范围内, 叶片也产生了坏死。有 54 个株系的所有植株既表现外部症状, A 值亦在 0.4 上。

各抗性水平内单株病毒浓度及症状表现见表 4。

## 4 讨 论

前人研究表明, *Stoloniferum* × *S. Tuberosum* 杂种后代与 *Tuberosum* 回交时, 其后代中抗 PVY 与不抗病的分离比率大体为 1:1, 而本试验中有两个组合的分离比率趋于 3:4, 这可能由于回交杂种的染色体不平衡, 而导致杂种不抗病个体增加的倾向。在实生苗当代接种, 应用 ELISA 法检测抗病毒的植株, 已被人们证明是可行的。本试验发现; 采用同一组合的实生种子, 在无性系世代(株系)接种 PVY, 鉴定筛选出的抗病个体的数量低于实生苗当代接种。

依各株系对接种 PVY 的反应程度, 我们人为地将其分为 5 个抗性组别(表 3、表 4), 应用卡平方 ( $\chi^2$ ) 试验对组合与植株 PVY 浓度、外部症状进行独立性测验表明, 由机误所引起的概率  $P < 0.05$ 。由病毒浓度和外部症状表现分成的 5 个抗性水平是有遗传基础的。现将其分别定名: A. 高抗或免疫型; B. 过敏型; C. 田间抗性型或混合类型; D. 耐病型; E. 感病型。A、B 与感病类型 E 在病毒浓度上(A405nm)有较大的差异, 而其它水平组间无太大区别, 这与 Singh 等报道的相似。

从株系接种看, 初次感染 PVY 的植株, 仅凭外部症状是很难准确地鉴定出其抗病类型的, 如 D 水平组, 由于其耐病, 多数植株未出现症状, 但 ELISA 检测 77.7% 的植株 A 在 0.4 以上。因此, 在筛选过程中应将 ELISA 检测与肉眼观察相结合。

表 4 各抗性水平内单株病毒浓度及症状表现

| 接种后植株的反应    |       | 各抗性水平内植株数(株系数) |      |       |       |       |
|-------------|-------|----------------|------|-------|-------|-------|
| A 值         | 外部症状  | A(20)          | B(8) | C(94) | D(28) | E(57) |
| ≤0.2        | 无症状   | 49             | 3    | 70    | 0     | 0     |
|             | 花叶或坏死 | 0              | 4    | 10    | 0     | 0     |
|             | 其它    | 1              | 0    | 14    | 2     | 3     |
| 0.21 ~ 0.40 | 无症状   | 80             | 1    | 172   | 36    | 8     |
|             | 花叶或坏死 | 2              | 48   | 7     | 10    | 2     |
|             | 其它    | 4              | 0    | 26    | 1     | 0     |
| 0.41 ~ 0.80 | 无症状   | 10             | 2    | 41    | 162   | 1     |
|             | 花叶或坏死 | 6              | 4    | 231   | 6     | 80    |
|             | 其它    | 1              | 2    | 2     | 0     | 0     |
| 0.80 ~ 1.0  | 无症状   | 1              | 0    | 15    | 3     | 0     |
|             | 花叶或坏死 | 6              | 0    | 102   | 2     | 251   |
|             | 其它    | 0              | 0    | 3     | 0     | 0     |
| ≥1.0        | 无症状   | 0              | 0    | 0     | 0     | 0     |
|             | 花叶或坏死 | 0              | 0    | 59    | 2     | 111   |
|             | 其它    | 0              | 0    | 0     | 0     | 0     |
| A 值合计       | 无症状   | 140            | 6    | 298   | 201   | 9     |
|             | 花叶或坏死 | 14             | 56   | 409   | 20    | 444   |
|             | 其它    | 6              | 2    | 45    | 3     | 3     |
|             | 无症状   | 87.5           | 9.3  | 39.6  | 89.7  | 1.9   |
| 百分率(%)      | 花叶或坏死 | 8.7            | 87.5 | 54.4  | 8.9   | 97.4  |
|             | 其它    | 3.8            | 3.2  | 6.0   | 1.4   | 0.7   |

参 考 文 献

1975, 52: 107 ~ 114

4 Bagnall R H and Tai G C C. Plant Dis. 1986, 70: 301 ~ 304

1 李芝芳等, 关于黑龙江省致病病毒群发生状况与分离鉴定的研究. 马铃薯科学, 1982, 1

5 Singh R P and Somerville T H. Plant Dis. 1983, 67: 1133 ~ 1136

2 中国农业科学院情报所. 国外家业科技资料. 1977, 6

6 Singh R P and Somerville T H. Am P J. 1987, 64: 69 ~ 80

3 Munoz F J, Plaisted R L and Thuiston H D. Am P J.