

研究简报

马铃薯无 PSTV 资源材料的鉴定筛选初报*

王仁贵 滕丽伟 付国栋

(黑龙江省农业科学院马铃薯研究所)

1 前言

马铃薯纺锤块茎类病毒(PSTV)是极易引起马铃薯育种后代感染退化的重要因素^[1],它不仅通过接触传播,还可经实生种子从亲代传给子代。因此在育种中一旦应用带有PSTV的材料做亲本,就会加速PSTV在育种后代的蔓延和传播。1988年Dr. Singh等对我国的主要马铃薯育种圃场调查发现,杂交亲本及其后代PSTV的感染率在20%~50%。感染PSTV的亲本材料不适于做杂交,否则严重地影响新品系的选育效果及优良种薯的扩繁^[2]。虽然国外曾有人报道利用低温与茎尖组织培养相结合可汰除马铃薯块茎内的PSTV,但因脱毒效率低而不能被广泛应用。国内育种学专家们一致认为采用不含PSTV的资源做亲本是防止PSTV传播和提高育种效率的关键^[3]。

我国马铃薯品种资源经50年代以来多次大规模的国外引种与国内育成品种和地方品种的收集,现共有品种材料700余份,并全部采用了离体试管苗保存。为了研究清楚资源材料的PSTV感染状况,充分发挥亲本材料应用的潜力,“八五”期间,国家科委和农业部要求对我国马铃薯资源保存材料加快开

展鉴定筛选工作,以期弄清资源库内PSTV的感染程度,造出不含PSTV的材料供给育种家应用。现将我所研究结果初报如下。

2 材料及方法

2.1 材料

由克山马铃薯研究所承担保存的马铃薯资源试管苗715份。其中育成品种72份,引进鉴定推广品种24份,优良品系64份,野生种18份,引进国际马铃薯中心278份。保存方法采用MS琼脂培养基,在15~18℃,光强度2000~3000lux的条件下保存,每份保存5管并定期更新转管。

2.2 鉴定筛选程序

试管苗 $\xrightarrow{\text{重复鉴定三次}}$ 结果呈阴性的试管苗 $\xrightarrow[\text{在苗内}]{\text{移栽到温室}}$ 成苗 $\xrightarrow{\text{鉴定一次}}$ 结果呈阳性的材料收获块茎 $\xrightarrow{\text{第二年种于网棚}}$ 成苗 $\xrightarrow{\text{鉴定一次}}$ 确定无PSTV材料

每份材料取1管试管苗,取其上部节段用于转管繁殖,下部节段用于PSTV鉴定。待新转管的节段成苗后再按此法进行第二及第三次鉴定。1991年和1992年将鉴定呈阳性的和部分用于对比的PSTV呈阴性的材料分别移栽或种植于温室花盆和网棚内,在

*本部分内容在《马铃薯》1993(4)专题之一

幼苗长到 25 ~ 35 cm 时取上部叶片用于鉴定。

2.3 PSTV 鉴定方法

利用 Singh 等报道的往复聚丙烯酰胺凝胶电泳法 (R-PAGE) 鉴定 PSTV。应用加拿大 Brinkman 公司进口的板电泳仪, 每次可检测 80 个样品 (含 4 个阴性和阳性对照), 用硝酸银染色, 拍照记录。

3 结果与分析

3.1 试管苗的鉴定结果与分析

经过 3 次重复转管鉴定, 由 715 份资源试管苗中初步筛选出无 PSTV 的材料 (结果呈阴性) 558 份, 带有 PSTV 的材料 (呈阳性) 157 份。从 PSTV 侵染分布来看, 以国内育成品种的侵染率为最高 38.1%, 引进 CIP 资源侵染率为最低 10.3% (见表 1)。

表 1 应用 R-PAGE 法对马铃薯资源
试管苗鉴定结果

资源类别	品种 (系) 试管苗		
	鉴定试管苗 份数	含有 PSTV 份数	侵染率 %
国内育成品种	63	24	38.1
引进品种	16	3	18.7
地方品种	67	17	25.3
优良品系	44	12	27.3
引进品种	203	74	36.7
引进 CIP 资源	262	27	10.3

我国马铃薯资源材料包括国内育成品种、国外引进品种等。从 70 年代末期相继转育成试管苗保存, 当时由于技术和设备条件限制了做鉴定, 所以感染 PSTV 的资源随之进入试管, 这可能是国内育成品种等 PSTV

感染率较高的原因。从 CIP 引进的资源在引进时均鉴定为无 PSTV 的材料, 经几年的保存也被 PSTV 所侵染, 此现象说明, 试管苗在保存过程中如不注意隔离和充分消毒灭菌, PSTV 可在试管苗内扩散。

3.2 温室或网棚内的植株鉴定结果与分析

由 R-PAGE 鉴定呈阴性的试管苗 200 份和 10 份带有 PSTV 的材料, 于 1991 年春季定植在温室内的花盆里, 由于 15 份无 PSTV 试管苗未成活, 秋季只收获 185 份材料的块茎。两年的 PSTV 鉴定结果见表 2。在试管苗阶段鉴定呈阴性的 185 份材料仍然表现稳定的阴性, 而 10 份带有 PSTV 的材料无论在温室还是在网棚, 鉴定结果均呈阳性。由此可以确定所鉴定的 185 份材料的块茎及试管苗是不含 PSTV 的, 能够用于资源交换和提供育种做亲本材料。

在国内外, R-PAGE 被认为是比较准确的 PSTV 检测手段, 并已广泛地应用于植株叶片、休眠块茎及实生种子、花粉粒的 PSTV 检测。我们在资源鉴定筛选过程中, 为验证直接用 R-PAGE 鉴定试管苗节段的可靠性, 对鉴定过的试管苗在温室和网棚进行两代种植, 以增加类病毒的可鉴浓度。鉴定结果表明, 一般采用 R-PAGE 法能准确地直接鉴定出试管苗的 PSTV 侵染状况。

4 结 语

通过鉴定, 我们已了解所保存的马铃薯种质资源试管苗与 PSTV 的分布和侵染状况, 并筛选出一批无 PSTV 的资源材料供育种家利用。依据本项研究结果, 已将无 PSTV 的资源试管苗与带 PSTV 的材料分开保存, 从而避免 PSTV 的再度传播感染, 提高保存质量。对新引进的资源应先鉴定 PSTV 后, 再决定保存方式。

表2 马铃薯种质资源材料在3个不同阶段对PSTV的鉴定结果

编号	品种(系)名称	试管苗	1991年 温室移栽	1992年 网棚种植	编号	品种(系)名称	试管苗	1991年 温室移栽	1992年 网棚种植
4	万薯9号	—	—	—	63	临薯2号	—	—	—
5	乌盟601	—	—	—	66	临薯3号	—	—	—
6	376-85	—	—	—	69	292-20	—	—	—
12	辽铃1号	—	—	—	72	719-2	—	—	—
16	安农5号	—	—	—	74	Houma	—	—	—
18	同薯9号	—	—	—	76	Katahdin	—	—	—
20	克新2号	—	—	—	77	白头翁	—	—	—
22	克新4号	—	—	—	78	Bintje	—	—	—
23	克新5号	—	—	—	79	Sebago	—	—	—
25	克新7号	—	—	—	80	Red warba	—	—	—
27	沙杂15号	—	—	—	82	Warba	—	—	—
32	坝丰收	—	—	—	83	农林1号	—	—	—
33	坝薯5号	—	—	—	328	Jemseg	++	++	++
41	胜利1号	—	—	—	311	Flava	+	+	+
42	高原1号	—	—	—	195	同薯10号	++	++	++
43	高原2号	—	—	—	202	克6503-77	+	+	+
45	高原4号	—	—	—	248	Alpha	+	+	+
46	高原5号	—	—	—	172	371-36	+	+	+
49	高原8号	—	—	—	219	青772	+	+	+
50	晋薯1号	—	—	—	267	Bison	+	+	+
54	晋薯5号	—	—	—	196	同7405-177	+	+	+
60	雁平1号	—	—	—	189	龙761-B	+	+	+

* 由于篇幅限制,筛选出的185份无PSTV材料仅列出34份的鉴定结果;

“—”代表鉴定结果为阴性,“+”结果为阳性,并以“+”的多少示PSTV在泳带上的浓度

参 考 文 献

- 1 李其文、王仁贵. 中国马铃薯种质资源的研究现状. 中加马铃薯国际项目研讨会论文集, 1991, 116
- 2 滕宗琦等. 我国近期马铃薯科学技术发展战略的设想. 马铃薯杂志, 1988, 3
- 3 程天庆. 中国马铃薯育种的任务与取向. 中加项目合作论文集, 1991, 118 ~ 120
- 4 Singh R P, A Boucher and R G Wang. Detection distribution and long-term persistence of PSTV in true potato seed from Heilongjiang, China. Am P J. 1991, 66: 65 ~ 74
- 5 PADCH-CICHAL E, KRYOZYNSKI S. A low temperature therapy and meristem-tip culture for eliminating four viroids from infected plants. J of Phytopathology, 1987, 118(4): 341 ~ 346