

研究简报

马铃薯抗病毒育种的研究

唐修文

(甘肃省农科院粮作所)

60年代的马铃薯育种工作着重选抗晚疫病的品种, 由于病毒病发病轻, 未列入育种目标。随着抗晚疫病品种的推广普及, 病毒病逐渐蔓延, 并波及全省。不仅气温高的河西及中部干旱地区发病严重, 就是在海拔3000米以上、气温冷凉的地区也有发生。粮作所会川马铃薯试验组种植的材料多, 病毒类型也多。经抗血清检测PVX、PVY呈凝聚沉淀的材料占80%以上; 马铃薯的卷叶病毒病及纺锤块茎类病毒如73—21—1的类病毒株率达94%, 病情指数为47.5%, 该病在我省其它地区及育种单位亦有发生。抗晚疫病品种一般感染多种病毒, 且病毒株率很高; 脱毒品种一般不抗晚疫病, 脱毒种薯在晚疫病常发区应用, 更加剧了晚疫病菌的危害, 造成块茎在田间和窖藏期间的大量腐烂。晚疫病与病毒病二者相互抑制的机制尚不清楚。

解决马铃薯生产上病毒危害的途径, 国内有的学者提倡茎尖脱毒, 脱毒薯采取隔离生产繁殖, 在晚疫病偶发区应用能发挥增产效益。笔者通过调查研究, 认为当前在生产上应用脱毒种薯虽然能够发挥增产效益, 但只能治标, 不能治本, 因为一是茎尖脱毒不净; 二是生产繁殖无毒微块茎成本昂贵, 隔离条件困难, 极易受病毒“强株系”侵染。为此, 提出抗病毒育种, 利用野生种、近缘栽培种开展种属间的有性杂交, 从中摄取抗源, 选择表型亲本组配, 使抗性基因累加, 以培育多抗性品种, 从根本上来解决我省不

同地区的主要病害问题。

2 材料与方法

2.1 材料

S. acaule, 抗癌肿、抗PVX、抗卷叶、耐寒。

S. demissum, 抗晚疫病、抗虫、耐寒等。

S. stoconiferum, 抗PVY、PVA、抗晚疫病。

S. chacoense, 抗PVY、抗早疫、疮痂、卷叶。

S. phureja, 抗细菌病、卷叶、抗PVA等。

S. microdontum, 抗PVS、抗PVY等。

S. megistacolum, 抗PVM。线虫等。

S. andigena, 抗PVX、PVA、卷叶、线虫等。

Dorifa自交系, 抗晚疫病。实58—3, 实1—26, 实59—3, 尖角22号, 抗晚疫病、属多薯型。

渭会4号, 抗晚疫病、丰产大薯型。

陇薯1号, PVX、PVY兼抗, 早熟、优质。

75—1—103, 抗PVY, 丰产大薯型。

2.2 方法

a. 利用马铃薯野生种、近缘栽培种、自交系以及普通栽培种组配, 开展种属间及品种间的有性杂交。

b. 人工擦接病毒结合抗血清检测 杂种实生苗及无性系第1次接毒, 一般于7月上

旬采用预繁的PVX、PVY病源菌的烟叶片, 榨取汁液用量等混合, 按1:1至1:100比例的磷酸缓冲液稀释, 并加少量400目金钢砂, 在参试材料的叶片上进行人工摩擦接种, 30天以后逐株检查, 汰除并统计各类型病株。8月上旬用同法进行第2次接毒, 对选留的抗病健株。再用内蒙古大学提供的PVX、PVY血清, 以微量凝聚法做抗血清沉淀检测。

c. 指示植物鉴定 经过反复接毒入选的健康无性系材料, 分别在会川、西宁(青海农科院), 用心叶烟、黄花烟、千日红、洋酸浆、刺果蔓陀萝等鉴别寄主材料进行鉴定。寄主材料在防虫温室室内用营养体育苗, 盆中土壤经高温灭菌, 每隔7天用乐果防蚜。当寄主小苗4~6片小叶时, 置于暗室避光处理24~48个小时; 再取参试材料的上部小叶4~6片, 榨成汁液, 用脱脂药棉球蘸汁液在寄主叶片预先放置的金钢砂上面, 轻轻擦接, 造成叶片微伤, 接种以后用蒸馏水冲刷叶面。每接种一个样品, 必须用3%磷酸三钠溶液将双手消毒, 同时将镊子在酒精灯上消毒。加强室内指示植物的管理, 经常保持室温为16~20℃, 定期做症状的检查。

d. 多点鉴定 经过抗病性鉴定的入选杂种材料, 建成无性系组, 每材料各取一部分薯块, 分别在我省阴湿地区的会川、大气干旱灌区的武威等生态点种植, 制定统一试验方案 and 标准, 以测定同一基因材料在不同生态地区的表现。

3 结果与分析

3.1 创造新的亲本资源

开展马铃薯种属间的有性杂交及自交系优良中间型材料的利用, 目的是为了摄取新的亲本抗原, 籍以丰富“基因库”。

a. 利用野生种[*(S. demissum* × *Katan-din*) × 实58—3]选出抗晚疫病的中间型材料种32—13, 其抗性基因来自野生种 *S. demissum*。

b. 利用野生种[*(S. chacoense* × *Katan-*

hdin) × 实51—26], 选出抗PVX的中间型材料种29—26, 其抗性基因来自自交系实51—26。

c. 利用陇薯1号与实51—59杂交, 选出表现PVX、PVY、兼抗材料48—1, 其抗性基因来自双亲的抗性累加。

d. 利用陇薯1号与实51—17杂交, 选出高淀粉材料47—1, 据测定其淀粉含量为22%。可作高淀粉育种亲本。

e. 利用渭会4号与NS78—3杂交, 选出高淀粉材料62—67, 62—167 及62—118, 其淀粉含量分别为26%, 22.4%及23%, 可作高淀粉育种亲本。

f. 利用(*Neo—Tub*, *S. ob*, *S. and*)杂交, 选出自交系实51—69, 实51—26、实51—59等, 表现具有多薯型及大薯丰产型。大薯丰产型基因来自栽培种 *S. tuberosum*; 多薯型来自近缘栽培种 *S. andigena* 或新型栽培种 *Neo—tuberosum*。

3.2 马铃薯品种间有性杂交

品种间杂交, 7年来共配制385个组合, 授粉78656朵花, 获杂交浆果30071个, 平均座果率为38%。由于杂交期间气象因素和父本花粉能育性的不同, 其座果情况亦有差异, 一般年座果率在30~40%之间。

3.2.1 育种材料的选择

鉴于保存的一部分国家品种资源, 由于受病毒病害侵染, 引起不开花结实而失去了利用价值。本试验选用的亲本材料, 都是从新创材料的早代无性系挑选的。

3.2.1.1 抗病亲本的选择

a. 抗晚疫病亲本 抗疫1号的晚疫病基因型为R₁R₁, 渭会2号渭会4号、陇薯1号均为R₁。鉴于这些品种已受毒力强的新生理小种的侵染, 致使我省每年8月下旬发生不同程度的晚疫病。所以, 根据晚疫病菌的特点, 应选择具有“R”基因型和兼有多基因型材料作为晚疫病亲本的抗原。

b. 抗病毒病亲本导入 R_X 、 R_Y 、及 R_S 基因, 以提供品种对PVX、PVY、PVS的抗性是抗病毒育种的关键。目前, 对杂种实生苗及无性系PVX、PVY的病源菌接种, 抗血清检测, 结合指示植物鉴定, 筛选具有抗PVX、PVY性系采基因材料作为亲本, 抗PVS及PVM的材料, 在栽培品种中尚未发现但是, 1984年赴民主德国考察马铃薯抗病育种期间, 引进了*S. microdontum*及*S. megistacrolobum*等野生种, 据报道对PVS、PVM具有抗性, 目前已获大量的回交材料正在鉴定之中。卷叶病系多基因控制, 从实生苗, 无性系一代选择抗PLRV是困难的, 利用带毒蚜对无性系材料人工接种比田间自然感病鉴定要准确可靠, 但鉴于设备、人力的有限, 此项工作未开展。

3.2.1.2 淀粉及丰产亲本选择

杂种实生苗当代受移栽的时间、土壤营养条件、雨量、温度等因素的影响, 对产量和淀粉含量的高低, 食味品质的好坏, 一时判断不准。无性系一代, 各种经济性状趋于稳定, 其优劣是取舍的依据, 所以淀粉含量及丰产性状是从本代开始试验选择的。对亲本选择的标准, 要求薯块整齐, 大小均匀, 产量高于标准品种的50%, 芽眼浅, 薯肉黄色, 干物质高, 淀粉含量在20%以上, 龙葵素含量低, 还原糖含量在0.5%以下, 适口性好, 品质选良者作为杂交亲本。

3.2.2 合理选配组合

对抗病亲本的选配, 采用了多种方式或亲本之一抗病、或双亲分别抗不同生理小种, 或双亲均具抗性。这样的组配意欲优抗性基因累加, 便于获得多抗材料。譬如我们以渭会4号与75—1—103(抗PVY)杂交, 选出79—11品系, 表现抗PVY用12—11抗(FVX)与73—21—1杂交, 选出139—125品系, 表现抗PVX。用29—41(抗PVX)与卡它丁(抗PVY)杂交, 选出144—14品系, 表现PVX、PVY兼抗。又如用陇薯1号(对PVX、PVY兼抗)与卡它丁杂交, 选出134—21品系, 表现

PVX、PVY兼抗, 选出的134—49品系, 表现对PVX、PVY及PVS多抗。同时, 我们还选用了抗不同病害的双亲进行组配, 如陇薯1号(对PVX、PVY兼抗)与实51—59(抗晚疫病)杂交, 选出了对PVX、PVY及晚疫病兼抗的48—1品系。

3.3 抗病性鉴定

3.3.1 杂种实生苗接种后的抗性表现

本试验对1983及1984两年来50个组合的53274株杂种实生苗, 于7月初采取PVX、PVY毒源, 榨取汁液混合接种, 30天以后逐株检查, 除表现花叶、皱缩坏死外, 尚有卷叶束顶、丛枝、黑斑等病毒类型。其中花叶型最普遍, 平均发病率79%; 卷叶、束顶(PSTV)、丛枝、黑斑型发病率依次为11.4%, 5.7%, 4.7%与2.1%。

组合之间的抗性亦有差异。146, 129等组合表现无束顶; 105, 107, 113, 117, 120, 121, 122, 129, 130等组合无从枝病; 129, 130等组合无卷叶病; 132, 133, 146等组合无黑斑病; 129组合表现抗PVY病毒; 101, 108, 112, 119及120等组合的PVY病毒发病率在1~2%之间。105, 102及103等组合的PVY发病率在1%以下。PVY病毒是我省发病最普遍、危害最严重的一种病毒病害。本试验通过接毒, 发病仍是很轻, 有的材料尚未显病, 说明大有希望从中选出抗PVY病毒的材料。

3.3.2 杂种实生苗抗血清鉴定结果

田间两次接毒, 经过抗性筛选, 保留健株材料1432份, 最后再经抗血清凝聚沉淀检测, 入选601份, 占总杂种实生苗的1.2%。其中抗PVY材料233份, 占总杂种实生苗的0.46%; 抗PVX材料225份, 占总杂种实生苗的0.42%; PVX、PVY兼抗材料143份, 占总杂种实生苗的0.29%。说明经过接毒, 选出PVX、PVY兼抗材料的机率是很小的。

3.3.3 杂种无性系接种及抗血清鉴定

无性系一代、二代经接毒抗性筛选, 仍表现花叶, 卷叶和其它类型的病毒, 无性系一

代花叶发病率占当代病株的33.9%, 低于无性系二代, 主要是无性系二代的材料在实生苗当代接毒后未经抗血清鉴定汰选的结果。无性系选留的健株再经抗血清检测, 无性系一代入选材料90份。占总杂种实生苗的0.29%; 二代入选材料92份, 占总入选材料的0.5%。其中抗PVX、抗PVY与PVX、PVY兼抗材料的入选率, 无性系一代依次分别为0.06%, 0.18%和0.05%; 无性系二代又依次分别为0.10%, 0.32%和0.06%。无性系PVX、PVY的兼抗材料入选率, 由杂种实生苗当代的0.29%下降为0.06%。

3.3.4 指示植物鉴定

几年来, 无性系经过反复接毒入选的高代材料, 分别在会川、西宁青海农科院用心叶烟、黄花烟、千日红、洋酸浆、刺果曼陀罗、毛曼陀罗等指示植物进行鉴定。1987年对历年经两地鉴定的不显症状的品系, 又在会川进行复鉴, 复鉴结果如下:

a. 感染PVY病毒的材料有136—16, 150—20, 149—8, 131—81, 139—12, 141—7, 135—3, 149—11, 139—125, 137—58, 161—96, 138—7, 160—21, 131—40, 131—44, 155—10, 113—5, 119—11, 119—6, 45—21, 35—156, 35—130 29—26共23个品系。

b. 感PVS病毒材料有48—1品系薯

c. 感PVY, PVS病毒材料有48—19品系。

d. 感PVX, PVY病毒材料有32—14, 501—183, 62—177, 139—112, 119—7, 119—15, 谓会4号, 49—15, 35—211, 35—247, 826—1, S.adg—3, 62—211, 142—18, 114—86, 66—1, 63—32等17个品系。

e. 对PVX, PVS兼抗材料有131—81。

f. 对PVX, PVY兼抗材料有134—21, 44—14, 79—11, 133—30, 48—1等5个品系。

g. PVX, PVY及PVS多抗材料有134

—49119—8, 147—8, 120—2及131—16等5个品系。

综上所述, 多抗入选率占总杂种实生苗的0.01%, 这一结果进一步印证了国外的马铃薯育种经验。

杂种实生苗及无性系早代接毒、反复抗性鉴定, 在国内马铃薯育和尚无报道。研究实践证明此项工作只要方法对头, 可以减少育种上的盲目性, 提高了选种效果。

3.4 多点鉴定

入选材料分别在会川、武威两地鉴定。以测定同一基因材料在不同生态地区的表现。

3.4.1 抗病性

同一材料在会川感某种病毒类型, 在武威亦有感染, 特别是卷叶病毒病在武威发病普遍而且严重; 许多材料在会川不显症状, 而武威有一种或两种以上的病毒复合侵染。武威降雨量少, 夏季干燥炎热, 有利于病毒增殖, 其发病毒株率及发病指数均高于会川, 是理想的病毒自然诱发鉴定点。在晚疫病问题上, 武威一般不显症状, 是晚疫病的偶发区; 会川降雨量多, 夏季低温多湿, 适合晚疫病菌的发生发展, 同一基因型材料每年均有不同程度的病, 是理想的晚疫病自然诱发鉴定点。

3.4.2 产量及适应性

从产量结果看, 同一材料不论在武威或会川, 第2年的产量均比第1年显著减少, 特别是武威尤其明显; 会川虽有减产, 但幅度小, 这种现象可能是异地引种优势的作用。有的材料在武威增产而会川表现减产, 或会川表现增产而武威又减产, 两地产量悬殊, 究其原因与品种抗病性和适应性有关。

抗病毒的品种在两地产量的表现也不一样, 如45—31, 45—41, 51—89及45—67等品系在两地均增产; 79—9、45—36、35—130等品系在武威增产, 而在会川平产;

45—21, 66—1, 48—14等品系在武威增产, 在会川减产, 这主要是品系在不同地区适应性的结果。鉴于两个生态点的雨量、气温、日照、土壤、病虫害及栽培条件的不同, 所以对品种的抗性、熟性及适应性等要求也不一样。1985年的试验指出: 32—14品系因抗晚疫病, 不抗病毒病, 该品种在会川阴湿多雨地区解决了晚疫病的主要矛盾, 比对照增产38.5%, 产量名列前茅; 而在武威因受卷叶病、皱缩花叶病的复合侵染, 致使基叶早衰, 比对照减产84.2%, 产量居于末尾。35—129品系耐旱、耐病毒, 但薯块不抗晚疫病, 故在武威生态点亩产2755公斤, 比对照增产2.9%, 居第1位; 在会川亩产2312.5公斤, 比对照减产5.1%, 年居第10位。该品系1986~1987年在会川原始材料圃比对照分别增产33.3%与69.2%, 小量繁殖亩产亦2227.5公斤; 而在武威两均比对照增产, 能适应河西灌区种植。45—21, 66—1等品系表现晚熟, 在无霜期长的武威, 生长充分, 成熟较好, 比对照增产, 但在会川因无霜期短, 有时晚疫病十分严重, 成熟不好, 故比对照减产。

综上所述, 多点鉴定能选出有同时能适应两个生态型的材料, 也有只适应一种生态型的材料, 加快了育种进程; 同时多点鉴定又为我们开展生态育种、品种推广提供科学依据。

4 讨论

4.1 加强马铃薯原始材料的研究

马铃薯种质资源贫乏, 给育种工作带来一定的困难。目前, 我们仅以几个野生种、近缘栽培种开展种属间的杂交, 筛选出一批优良中间材料作为亲本利用, 如果长期靠这批亲本材料组配。其杂种后代就会成为近亲繁殖的群体, 最终也难以达到育种的目

标。为此, 必须对现有不开花结实的抗源进行茎尖脱毒, 使其焕发青春达到开花结实的目的; 与此同时, 要广泛地从国内引进野生种、中间材料和其他各类型优良品种作为亲本, 开展有性杂交, 组织力量加强抗性接种鉴定, 新创许多不同血缘的种质资源, 丰马铃薯的“基因库”。

4.2 改进抗病性鉴定方法

马铃薯抗病育种因对抗性要求的不同, 其鉴定方法也不一样。当前我们采用早代接种病毒, 结合抗血清检测, 这样势必会汰除一些可能具有水平抗性的植株。据考察: 民主德国的抗病育种达到国际水平, 主要依赖于自然诱发鉴定, 结合人工接毒、抗血清检测及指示植物鉴定, 获得水抗效果显著。借鉴民德的育种经验, 我们也应考虑改进抗病性鉴定的方法, 实生苗当代及无性系一代放在会川晚疫病常发区进行抗晚疫病筛选; 无性二代放在河西病毒类型最多、发病最严重的地区进行自然诱发鉴定, 重复多年, 对不显症状材料进行人工接毒, 结合抗血清检测和指示植物鉴定, 以选出高水平抗性的品系。

4.3 加强开展潜隐组病毒鉴定

近年在我省马铃薯主产区及粮作所会川马铃薯试验组的育种试验田里, 发现马铃薯潜隐花叶PVSV及副皱缩花叶PVM已蔓延为害。据育种材料鉴定。感染PVSV及PVM花叶的有20%以上。潜隐花叶PVSV若与其他病毒混合侵染, 其症状难辨, 典型症状是叶片粗缩, 叶色变浅或青铜色, 叶脉变成紫色, 严重皱缩, 有的在叶面上出现坏死斑; 地下部分结形状不规则的小薯约20~30个, 丧失了种性和商品利用价值。副皱缩花叶PVM是1985年在无性系二代选种圃发现的, 以陇薯1号的亲缘组合后代发病株系最多。感PVM植株的症状, 主要在植株顶部叶片的小叶尖端扭

(下转第114页)

蔬菜上市供应, 经济效益高。

3 选种留种

在青枯病害区, 为了压低病源基数, 进行株选、块选无病薯留种, 具有一定的防效。马铃薯青枯病有潜伏侵染, 肉眼看不出来, 就是通过精选的种薯仍有部分带病。如通过一段时间高温贮藏, 潜伏侵染发展成明显病症, 以便清除和自然汰除病种薯, 我国南方一季作春薯留种春播具备这一条件。湖南省怀化地区农科所和龙山马铃薯研究所试验, 一季作春薯留种春播比二季作秋薯留种春播, 青枯病株率低4.5~14.5%, 0.6~35.7%。

为了防治青枯病和早熟高产, 新晃县近年的阿奎拉一季作春薯春播面积有所扩大, 约占春马铃薯面积60%。县农业技术推广中心于1988年设120亩示范, 青枯病株率2%, 亩产1511公斤。

4 调整生育期

青枯病与气候有密切关系, 温度在27℃内与病株率呈正相关。早熟栽培, 把常年的春马铃薯收获期6月中旬提前20余天, 从而减轻病害。我所1985年、1987年的怀薯6号于5月20日收获, 分别亩产1623公斤、1734公斤。秋马铃薯适于迟播, 我所1984年播期试验, 设8月25日、9月4日、9月14日, 青枯病株率

分别为15.7%, 6.5%, 2.3%, 亩产1407.5公斤、1480公斤、1592.5公斤。迟播因生育期处在较冷凉的条件下, 植株病害轻, 生长健壮而高产, 但不宜太迟, 常年湖南怀化以9月上旬为宜, 否则遇早霜死苗, 生育期不足65天而低产。

5 整薯播种

马铃薯青枯病菌危害维管束部位, 薯皮具有保护防病的性能, 同时切刀可传病, 故整薯播种有防病的效益。我所1959~1984年共进行9次整薯直播与切块催芽播对比, 平均切块催芽播青枯病株率21.1%, 亩产536公斤; 整薯直播青枯病株率低17.2%, 增产60.4%。

1978年以来, 我省在新晃、藏江、龙山等县推广整薯直播20.69万亩, 平均亩产762.6公斤, 比切块催芽播增产21.5%, 增产2610万公斤, 多收入521万元。

6 其它

合理的轮作复种, 旱土进行马铃薯与茄科作物3年不重地, 马铃薯与玉米、大豆等间作套种, 水田进行薯—稻—稻、薯—稻—油等水旱轮作。种薯切块时, 当切到病薯时, 切刀进行酒精消毒。生长期做好清沟排水等工作。

(上接93页)

曲向上卷, 小叶尖部脉间黄化花叶, 叶片不脆。此症状与民主德国的Limdenhok病毒站所考察的PVM症状相符。PVS及PVM均借蚜虫和接触传播, 其危害尚待研究, 此病毒过去未曾引起重视, 现要纳入抗病毒育种的一项重要内容。应组织力量, 改进鉴定设备和条件, 采用PVM、PVS病源菌早代反复接毒, 结合抗血清检测和指示植物鉴定筛选。

4.4 育种与保种相结合

任何一个抗病品种有其突出的抗病性, 但也有感病的一面, 在特定条件下欲育成多抗品种是比较困难的, 所以国外非常重视保种工作, 有的国家把育种与保种相结合, 建立健全良繁体系和繁育制度。民主德国把育种保种分开, 各地设有保种站, 采用一套完和整的保种综合技术措施。