

甘薯脱毒技术及增产效果研究*

杨崇良 尚佑芬 赵玖华 李长松

(山东省农业科学院植物保护研究所, 济南 250100)

摘要 作者于1988~1995年研究了甘薯病毒及甘薯脱毒技术,明确了侵染山东甘薯的主要病毒种类是甘薯羽状斑驳病毒和甘薯潜隐病毒,在国内首次分离出侵染甘薯的烟草花叶病毒,探明了其生物学特性。筛选出适合山东甘薯茎尖培养基的最佳激素配比、浓度、pH值。探索了脱毒薯的增产机理和增产效果,提出了组织培养、茎尖苗检测、脱毒薯速繁与推广应用的配套技术规程。培养出了徐薯18等12个品种的脱毒苗。平均增产42.9%,出干率提高1~3个百分点,对甘薯黑痣病、黑斑病、茎线虫病的防效明显。

关键词 甘薯病毒, 毒原鉴定, 脱毒技术, 病毒检测

甘薯病毒病已成为影响甘薯产量及品质改良的重要因素。利用茎尖组织不带病毒或带毒率低的原理,1960年Nielsen首次用甘薯茎尖分生组织培养获得无毒苗^[1],国内外已有脱毒苗培育成功和增产的报道^[2~4],但脱毒苗多限于品种资源保存和种质交换^[5],未能大面积应用于生产。作者就甘薯脱毒技术和增产效果进行了研究,结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 甘薯病毒调查与鉴定 在山东甘薯主产区苗床期、大田期调查取样,进行血清检测、病毒质粒电镜观察及蚜虫传毒试验。

1.2 甘薯茎尖成苗培养基及培养条件筛选 对甘薯茎尖苗培养基的最佳琼脂浓度、激素配比、pH值、培养温度、初次培养时间和剥离茎尖大小等进行试验筛选^[6]。

1.3 甘薯茎尖苗带毒率检测 应用目测法、指示植物法、血清法和电镜观察法进行^[7]。

1.4 脱毒甘薯生长指标测定 多点、多年田间测定脱毒甘薯的增产效果^[8]。

2 结果与分析

2.1 甘薯病毒调查与鉴定

2.1.1 甘薯病毒发生状况调查

在泰安、济宁、枣庄、烟台和济南地区调查表明,甘薯病毒病在山东发生普遍,田间病株率为5.0%~40.0%,育苗期病株率为6.9%~63.9%,平均31.03%。据136个病毒样品统计分析,明确山东甘薯病毒病症状以羽状斑驳、紫斑、皱缩花叶为主,还有黄斑、黄化、花叶、褪绿等症状。高温生长季节,多数症状潜隐。后期以紫环斑、羽状斑驳症状为主。

* 本课题为山东省计划委员会“八五”攻关项目。

2.1.2 甘薯病毒种类鉴定

血清检测用甘薯羽状斑驳病毒(SPFMV)、甘薯潜隐病毒(SPLV)、甘薯轻斑驳病毒(SPMNV)和甘薯花椰菜类病毒(SPCLV)抗血清,用 Dot-ELISA 法检测 28 份样品,检出带毒样品 16 份,其中甘薯羽状斑驳病毒样品 12 份,甘薯潜隐病毒 14 份。表明山东甘薯病毒病以甘薯羽状斑驳病毒和甘薯潜隐病毒为主。检测发现,同种病毒可引起几种症状,亦可造成复合侵染。从采集的标样中分离到一毒株,侵染普通烟(*Nicotiana tabacum*)表现花叶,在苋色藜(*Chenopodium amaranticolor*)上形成枯斑,与 SPFMV、SPLV 等血清无反应,和烟草花叶病毒(TMV)血清呈阳性反应,经病毒质粒观察、寄主范围测定和生物学特性测定,初步明确为 TMV。用 Dot-ELISA 法检测出只含 SPFMV 或 SPLV 的样品,制片电镜观察,SPFMV 样品中病毒粒体弯曲线状,长约为 800~850nm, SPLV 样品粒体线状,长约 750nm,烟草花叶病毒样品粒体直棒状,长约 339nm(图 1)。

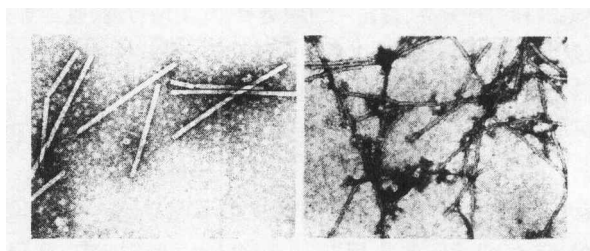


图 1 烟草花叶病毒(左)和甘薯羽状斑驳病毒(右)

2.1.3 甘薯病毒(SPFMV)传毒介体

将经 SDS-琼脂双扩散法确定为甘薯羽状斑驳病毒的毒株在普通牵牛上繁殖。以症状明显的叶片为毒源,用室内饲养的桃蚜(*Myzus persicae*)、绣线菊蚜(*Aphis citricola*)、棉蚜(*Aphis gossypii*)、豆蚜(*Aphis craccivora*)等无毒无翅成蚜为传毒介体,普通牵牛(*Ipomoea nil*)、苋色藜为供试寄主。结果表明,4 种蚜虫都能传播甘薯病毒,一般 10~15d 出现症状,桃蚜和豆蚜的传毒能力最强,桃蚜在普通牵牛上的传毒率为 83.3%,豆蚜在苋色藜上传毒率达 83.3%,其次是棉蚜和绣线菊蚜。

2.2 培养基及培养因子筛选

2.2.1 培养基筛选结果

琼脂浓度:3 个甘薯品种在 5 种琼脂浓度的培养基上培养,表明琼脂浓度 0.4%~0.7%适于甘薯茎尖培养成苗。

激素配比:甘薯品种不同,对培养基的激素种类和浓度反应亦不同,几组激素配比试验表明,MS+1mg/L 6-BA + 0.02mg/L NAA 和 MS+0.5mg/L 6-BA + 0.2mg/L NAA+5mg/L AD 2 种培养基效果最好。

培养基 pH 值:设 pH4.6、5.0、5.4、5.8、6.2、6.7 和 7.0 等 7 组处理,以 pH5.8 为标准处理,进行茎尖培养。试验结果经方差分析表明,pH4.6~7.0 对一般品种无明显影响,而较低 pH 值对较难培养成苗的品种有利。pH 值升高可增强琼脂凝固性。

2.2.2 培养因子筛选结果

培养温度:设 22、24、26、29、32、34℃ 6 组处理,以 29℃ 为标准处理。结果表明,甘薯

茎尖分生组织在 26~34℃ 条件下培养均可发育成苗,但 22、24℃ 培养的茎尖苗,仅为标准处理株高的 1/4、叶数的 1/2、节鲜重和节长的 1/2 左右。32℃ 处理比标准处理株高增加 12.8%、节鲜重低 10.3%。34℃ 处理比标准处理株高及叶数分别减少 49.2% 和 30.3%,长势较弱。28~30℃ 处理茎尖苗生物产量高,长势好。29℃ 成苗率最高。

初培养时间:试验设 6 种处理,多重比较法(LSR)分析结果(表 1)表明,茎尖培养 15~20d 后转第 2 次培养基成苗效果最好。

表 1 转 2 次培养基时间对成苗率的影响

品 种	培养时间(d)						平 均
	7	10	13	15	18	20	
鲁薯 3 号	33.3(60)	54.5(60)	37.5(54)	55.5(49)	77.3(44.0)	91.6(49)	58.3(52.7)
丰收白	78.1(57)	68.5(53)	75.0(55)	72.7(54)	83.3(46.0)	81.8(50)	76.6(52.5)
鲁薯 6 号	16.7(63)	30.1(55)	33.3(49)	64.2(47)	50.0(55.0)	36.3(51)	38.4(53.3)
平 均	42.7(60)	51.0(56)	48.6(52)	64.1(50)	70.2(48.3)	69.9(50)	57.2(52.7)

注:括号内数字为成苗所需总天数。

剥离茎尖大小与脱毒率和成苗率的关系:研究表明,剥离茎尖大小与获得脱毒苗比率呈负相关 $Y=50.3-11.2X$ ($r=-0.9875$),与成苗率呈正相关 $Y=25.6+13.7X$ ($r=0.9953$),剥离 0.2~0.4mm 长度的茎尖效果较好。

2.3 甘薯茎尖苗病毒检测

2.3.1 目测

脱毒茎尖苗和带毒茎尖苗形态、长势差异明显。前者生长快、叶色浓、叶片平展、植株健壮。后者长势弱、叶色淡、叶片上出现花叶、明脉、褪绿斑。

2.3.2 指示植物及血清检测

将茎尖苗挂牌标记后剪成两部分,上端继续扦插生长,下端作接穗嫁接巴西牵牛(*Ipomoea setosa* Ker.),20d 后调查指示植物出现花叶、明脉症状的为带毒苗。检测结果表明,丰收白茎尖苗带毒率 10%,徐薯 18 茎尖苗带毒率 40%。随机取样丰收白、鲁薯 7 号和徐薯 18 茎尖苗各 15 株摩接 *I. nil*,摩接后 15d 调查,丰收白和鲁薯 7 号茎尖苗带毒率分别为 13.3%、6.7%、徐薯 18 未发病。

将待检测的茎尖苗制样,用甘薯羽状斑驳病毒和甘薯潜隐病毒抗血清作 SDS 琼脂双扩散、酶联免疫(ELISA)或斑点酶联免疫(Dot-ELISA)检测。结果鲁薯 3 号茎尖苗的带毒率 13.3%,徐薯 18 为 26.7%,丰收白、鲁薯 8 号和鲁薯 7 号都是 20%。

2.3.3 电镜观察

电镜覆膜观察北京 553、济 86284、丰收 1 号、丰收白等品种共 37 株无症状茎尖苗,在 4 个样品中观察到弯曲线状粒体,长度约为 850nm,带毒率为 10.8%。

将经目测和电镜观察不带毒的茎尖苗室内快繁,每品种抽检 15 株,经 SDS 琼脂双扩散检测徐薯 18、鲁薯 7 号、鲁薯 8 号、鲁薯 3 号、北京 553 和丰收白,仅北京 553 有 1 株呈阳性反应,带毒率为 1.1%。

2.4 脱毒甘薯增产机理和效果

2.4.1 生长旺盛

在甘薯生长期定期挖株调查,每处理挖 5 株,测主茎长、叶面积、分枝数和茎叶重。脱毒苗田间春、夏栽均表现还苗快、长势旺且壮(表 2)。在春薯栽后 90d 测光合速率,每一处理取 5 株,每株取叶位相似的 3 片叶,用 LI-6200 型光合速率测定仪测光合速率。结果表明,7 个品种脱毒苗的田间光合速率较普通苗高 1.8%~94.2%,平均增加 22.0%。

表 2 甘薯脱毒苗与普通苗营养生长状况比较

(济南,1991~1993)

年份	栽后 天数	品种	主茎长(cm)		叶面积(cm ²)		茎分枝(个)		茎叶鲜重(g)		茎叶干重(g)	
			脱毒	CK	脱毒	CK	脱毒	CK	脱毒	CK	脱毒	CK
1991	15	新大紫	12.9	6.5	19.8	14.5			6.0*	3.0*	1.0*	0.5
		群力 2 号	11.0	9.3	30.2*	18.7			7.9*	4.3	1.2*	0.7
	46	新大紫	298.2**	147.8	72.4*	22.9	3.6	2.0	42.5**	15.2	49.4*	16.6
		群力 2 号	171.6	133.6	99.4**	55.7	5.0	4.2	600.0**	311.0	69.7**	39.0
	77	新大紫	453.2**	347.6	11931.6	12907.2	5.0	5.4	701.0	678.0	90.6	81.5
		群力 2 号	316.8**	249.8	19803.6**	8558.4	11.8**	6.8	1288.0*	912.0	148.1*	102.4
1992	89	徐薯 13 号	290.0	259.0	19803.6**	8558.4	11.8**	6.8	2040.0**	1065.0	182.9**	88.5
1993	68	泰薯 2 号	200.4**	147.4	7224.0	4790.0	4.8	3.0	816.8	515.0		
		济薯 13 号	224.4	153.2	7266.0	2948.0	9.6**	4.8	833.6**	399.2		
		济薯 12 号	130.2**	77.3	9835.0	1615.0	10.0**	2.8	849.2**	176.0		
		北京 553	138.0	116.0	4872.0	8032.0	7.2	5.8	544.6	204.0		

注: * 示差异达显著水平($P < 0.05$); ** 示差异达极显著水平($P < 0.01$)。

生长期定期挖根调查,每点挖 5 株,记载薯块数和薯重。脱毒苗各生育期块根鲜重较对照明显增加。在济南点新大紫和群力 2 号的脱毒苗薯重均极显著高于普通苗。莒县点调查 4 个品种,8 月 1 日调查脱毒苗,与对照相比,春栽增加 15.68%~175%,平均增加 101.97%,夏栽增加 21.41%~87.51%,平均增加 54.54%。9 月 1 日调查春栽平均增加 52.9%,夏栽平均增加 27.6%。9 月 24 日调查,春栽平均增加 72.77%,夏栽平均增加 20.40%。

2.4.2 增产明显

收获测大薯(单薯重大于 0.25kg)、中薯(单薯重 0.1~0.25kg)率,春薯增加 2.9%~13.6%,平均增加 7.65%,夏薯增加 6.8%~13.5%,平均增加 10.8%。烘干法测定脱毒薯出干率增加 0.4~2.9 个百分点,自然晾干法测定增加 0.2~1.3 个百分点。小区产量对比试验结果(表 3)表明:脱毒苗较对照均明显增产,增产幅度一般为 45.4%~60%,最高为 236.8%,平均增产 88.7%。种植时间长的感病品种增产幅度为 126.5%~236.8%,当前推广品种增产幅度为 27.0%~60.0%。1993 年用徐薯 18 等 5 个品种在 9 点示范,平均增产 42.9%,增产幅度为 16.7%~158.1%。

表 3 脱毒苗与普通苗产量比较

(济南,1993)

新大紫		群力 2 号		徐薯 18		鲁薯 7 号		济薯 12 号		北京 553		鲁薯 8 号	
脱毒	CK	脱毒	CK	脱毒	CK	脱毒	CK	脱毒	CK	脱毒	CK	脱毒	CK
22.9	6.8	22.2	9.8	22.7	15.8	28.8	18.0	40.9	23.1	25.3	17.4	24.9	19.6
236.8	—	126.5	—	48.4	—	60.0	—	77.1	—	45.4	—	27.0	—

2.4.3 防病效果明显

在临朐点,普通苗多数植株感染黑痣病,薯皮粗糙,布满黑痣,而脱毒苗植株极少感病,薯皮鲜艳、无病斑。鲁薯8号较易感染黑斑病,对照苗田间发病较重(病株率15.4%,病薯率为8.8%),脱毒苗全未感病。在历城点,对照区黑痣病病薯率达71.6%,脱毒区未发病。对照区茎线虫病病薯率达9.3%,脱毒苗病薯率为2.3%,减轻75.3%。在邹城点,徐薯18对照区黑斑病、茎线虫病病薯率分别为34%、69%,而脱毒苗区均未发病。防病原因主要是脱毒苗生长旺盛,增强了抗病性。脱毒苗由茎尖培养而成,一般不带土传病菌。

致谢 国际马铃薯中心驻京办事处、中国农科院生物中心及徐州甘薯研究中心给予大力支持和协助,辛相启、罗瑞梧、路兴波及张立明同志参加部分工作,一并致谢。

参 考 文 献

- 1 Nielsen L W. Elination of the internal cork virus by culturing apical meristems of infected sweet potatoes. *Phytopathology*, 1960, 50: 840~841
- 2 罗鸿源. 红薯茎尖脱毒试验初报. *湖南农业科学*, 1984, (1): 19~20
- 3 郑平等. 广东甘薯组培脱毒苗田间比较试验简报. *广东农业科学*, 1991, (5): 12~15
- 4 邢继英等. 脱毒甘薯的生产性能研究. *中国甘薯*, 1993, 33~39
- 5 辛淑英. 用组织培养法贮存甘薯种质. *作物品种资源*, 1985, (3): 24~26
- 6 尚佑芬等. 影响甘薯茎尖培养有关因素的研究. *山东农业科学*, 1995, (6): 20~23
- 7 赵玖华等. 甘薯脱毒苗的检测研究. *山东农业科学*, 1995, (5): 15~18
- 8 杨崇良等. 脱毒甘薯增产、机理及推广前景. *山东农业科学*, 1994, 增刊: 21~24

PRODUCE TECHNIQUES AND PRACTICE OF VIRUS-FREE SWEET POTATO

Yang Chongliang Shang Youfen Zhao Jiuhua Li Changsong

(Institute of Plant Protection, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan)

Abstract The sweet potato viruses and the techniques to get virus-free sweet potato was studied in 1988—1995. It was clarified that the main sweet potato viruses were SPFMV and SPLV in Shandong Province. TMV infecting sweet potato was isolated for the first time in China. The biological features were studied. The medium for culturing virus-free sweet potato was screened. The mechanism of yield increase of virus-free sweet potato and the effect of yield increase were investigated. A complete technique process for application of virus-free sweet potato including apical meristem culture, virus test of regenerated plants, virus-free sweet potato propagation was proposed. Twelve cultivars including Xushu 18 were cultivated. The yield of virus-free sweet potato increased 42.9% in average compared to the control, which was infected by the virus. The infection of *Monilochaetes infuscans*, *Ceratocystis fimbriata* and *Prathlenchus coffeae* decreased 90% in comparison with the control.

Key words sweet potato virus, virus identification, virus-free technique, virus test of apical meristem