

马铃薯带毒种薯生理变化的研究*

刘梦芸 刘奎彬 门福义

(内蒙古农牧学院马铃薯研究室, 呼和浩特 010018)

摘 要 本文研究了萌芽期间的带毒种薯和无毒种薯在超弱发光强度、过氧化物酶同功酶活性、细胞色素氧化酶活性、碳氮代谢等方面的生理变化以及植株生育和块茎形成等指标。结果表明, 带毒种薯和无毒种薯对上述生理指标具有显著或极显著的差异, 带毒种薯在生产能力上表现了显著的弱势。在高温贮藏条件下, 带毒种薯和无毒种薯的上述差异更为明显。可见种薯萌芽期的生理变化对病毒的感应十分敏感, 因此根据种薯生理变化进行病毒的早期鉴定和优质种薯的选择也许是可行的。

关键词 马铃薯种薯 带毒种薯 生理鉴定

马铃薯受到病毒侵染之后, 最先受到干扰的是寄主细胞的代谢过程, 进而导致组织和个别细胞的不正常现象的出现, 最终引起肉眼所见到的各种病状。我们可以根据病状来确定寄主感病和耐病的程度; 还可根据抗原和抗体间的反应, 运用种种血清来检查病毒; 病毒引起细胞内胼胝质的大量形成和病毒包含体的产生等也已广泛研究^[1]。病毒引起寄主生理生化的变化, 目前, 主要着重于地上部影响产量形成的光合系统和生理代谢方面的研究^[2, 3]。本文就地上部尚无病状的带毒块茎(种薯), 进行一些生理生化分析, 根据带毒种薯出现的异常生理生化变化, 企图在病状出现之前了解病毒侵染的状况, 这对病毒病理的研究及优质种薯的选择具有重要意义。

材料和方法

一、材料

以晋薯2号品种为材料, 头年在田间选择地上部无任何病状的健康植株100株的块茎, 收获后贮于4~7℃的窖内。块茎经病毒鉴定后分为无毒(A)和带毒(B)两组。文中所指带毒块茎(B), 至少带有PVX、PVY、PLRV和PSTV四种病毒之一, 无毒块茎系指不带以上四种病毒的块茎。

二、处理

在块茎解除休眠之际(顶芽出现白点), 将块茎从窖内取出(1990年3月6日), 从顶端纵切两半对应编号, 在室温下(16~19℃)放置一周使伤口愈合, 然后将A、B两组的两半

分别放入冰箱 4~7℃ 下贮藏 (简称 AL 和 BL) 和保温箱 25~28℃ (简称 AH 和 BH) 内贮藏, 处理一个月, 相对湿度均保持在 80~90%, 带毒块茎与无毒块茎分别隔离放置, 到期后, 同时取出, 在室温下散光催芽, 10 天后播于大田 (4 月 23 日)。播种时将来自同一块茎的高低温处理的二切块分行对应种植。以后分期取样, 各处理每次取样 10 株, 进行各项测定。

三、测定方法

过氧化物同功酶谱分析——用聚丙烯酰胺凝胶电泳法。

超弱发光强度测定——用 SD-5801 液体闪烁仪 (Backman 公司)。

还原糖含量——用砷钼酸比色法。

蛋白氮与非蛋白氮含量——用奈氏比色法。

细胞色素氧化酶活性——用每小时酶蛋白耗氧微升数表示酶活性。酶蛋白含量测定用紫外分光法、呼吸强度用微量吸收检压法 (瓦氏呼吸法)。

病毒测定——用酶联免疫吸附法, 由内蒙古大学生物系测定。

结果与分析

一、带毒种薯超弱发光强度的变化

生物体超弱发光现象, 可以反映活体细胞物理化学反应的信息, 以及各种因素作用于有机体所感应的变化情况^[5]。从表 1 结果可以看出, 贮藏温度和种薯带毒与否与发光强度有极显著的相关性。病毒与高温都极显著地降低了发光强度, 可见马铃薯块茎内病毒和高温对超弱发光的感应有极度的敏感性, 由此可以根据这一重要信息来鉴定是否感染病毒。

表 1 种薯超弱发光强度 (测定时间 3 月 17 日 (萌芽期))

处 理	发光强度光子数 (个/分)	SSR 显 著 性		变异来源	F
		0.05	0.01		
AL	7742.5	a	A	种 薯	19.84**
BL	6481.0	b	AB	贮 温	38.10**
AH	5742	b	B	互 作	1.51
BH	3530	c	C		

$F_{0.05,9}=5.12$

$F_{0.01,9}=10.56$

二、带毒种薯过氧化物酶同功酶活性的变化

由表 2 结果可以看出, 带毒种薯的过氧化物同功酶谱的带数变化并不受种薯带毒和贮温的影响, 但酶谱的活力指数却因种薯带毒而降低, 尤其是贮藏在高温下的带毒种薯, 酶活性下降幅度更大。且不同时期影响的程度和影响的 Rf 值的带位不同; 种薯萌动期 A 和 B 没有差异, 到萌芽期 BL 的活力指数比 AL 下降了 1.25, 降低的带位是 Rf₈; BH 比 AH 下降了 2.5, 降低的带位是 Rf₅ 和 Rf₇, 而 Rf₁₁ 却有增强; 在出苗期 BH 比 AH, BL 比 AL 都下降了 0.63, 前者降低的带位是 Rf₂、Rf₈ 和 Rf₉, 后者下降的带位是 Rf₇ 和 Rf₈, 可见病毒和高温都会降低过氧化物酶的活性, 且影响的带位不同。如果不同种类的病毒影响的带位不同, 这可将作为鉴

表2 种薯过氧化物酶同工酶的变化

测定时间 (月·日)	处 理	不同 Rf 值 处 的 酶 级 数												酶带数	酶活力 指数
		0.081	0.258	0.300	0.342	0.426	0.449	0.542	0.605	0.637	0.671	0.726	0.768	0.829	0.858
萌动期 (2.23)	A	1.5	1.5	1.5	1.0	3.0		4.0	2.0	2.0		0.5	0.5	9	40.00
	B	1.5	1.5	1.5	1.0	3.0		4.0	2.0	2.0		0.5	0.5	9	40.00
萌芽期 (4.18)	AL	2.0			2.0	3.0		4.0	1.0	1.5		1.5	1.5	10	43.75
	BL	2.0			2.0	3.0		4.0	1.0	1.0		1.5	1.5	10	42.50
	AH	0.5			0.5	3.0		3.0	1.0	1.0		1.0	1.0	10	30.00
	BH	0.5			0.5	2.0		2.0	1.0	1.0		1.5	1.5	10	27.50
出苗期 (5.24)	AL	1.5	1.5		0.5	1.5	0.5	3.0	3.0	3.0	0.5	1.0	1.0	11	42.50
	BL	1.5	1.0		0.5	1.5	0.5	3.0	2.0	2.0	0.5	1.0	1.0	11	36.20
	AH	1.5	1.0		0.5	1.5	0.5	3.0	3.0	2.0	0.5	1.0	1.0	11	38.75
	BH	1.5	1.0		0.5	1.0	0.5	2.0	2.0	2.0	0.5	1.0	1.0	11	32.50

定病毒种类的手段。

三、带毒种薯细胞色素氧化酶活性的变化

细胞色素氧化酶是糖分代谢的主要催化剂,其活性的高低不仅关系到糖分代谢的速度,同时关系着呼吸酶强弱。由表3结果可以看出,带毒种薯的细胞色素氧化酶活性极显著地高于无毒种薯,其活性是无毒种薯的二倍。

四、带毒种薯还原糖含量变化

从表4结果可以看出,病毒和高温对种薯内还原糖含量变化,具有极显著的影响。在萌动期带毒种薯还原糖显著高于无毒种薯,萌芽期各处理还原糖含量明显少于萌动期,这时糖分已向芽条转移。通常只有块茎糖分的增加多于芽条的吸取才有糖分累积〔4〕,这期间带毒种薯的还原糖含量显著低于无毒种薯,高温贮藏种薯相对都低于低温贮藏,这显然与病毒和高温呼吸消耗增加和糖分向芽条转移多有关。到出苗期糖分显著增加,表明种薯已进入衰老糖化阶段。高温和病毒都加速了衰老糖化的进程。且高温病毒造成呼吸消耗的增加,使得种薯内还原糖含量形成这样的顺序: $AH > BL > BH \sim AL$ 。由于种薯内还原糖的积累既受病毒高温引起呼吸消耗的影响,又受芽条生长所控制,并且还有衰老糖化特性的干扰,因此用糖分变化指标来衡量种薯带毒状况,更增加了复杂性。

五、带毒种薯内非蛋白氮的变化

从表5可以看出,种薯内非蛋白氮含量的变化,在萌动期不因种薯带毒与否而异;而在萌芽期,带毒种薯的非蛋白氮含量明显高于无毒种薯,且这种差异在高温贮藏下更为显著;而到出苗期,则与萌芽期的变化完全相反,带毒种薯的非蛋白氮

表3 种薯细胞色素氧化酶活性变化 (3月17日测)

处 理	酶 的 活 性 (25℃ 下 酶 耗 氧 $\mu\text{l} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)			
	1	2	3	平 均
B	75.32	87.00	89.23	84.19
A	38.29	42.29	42.29	42.50

表4 种薯内还原糖含量的变化 单位: mg/g DW

测 定 时 间 (月·日)	种 薯 发 育 时 期	变 异 来 源	F	处 理	含 量	SSR差异显著性	
						0.05	0.01
温 度 处理前 (2.23)	萌动期			AL	9.7	a	A
				BL	14.1	b	A
温度处 理末期 (4.18)	萌芽期	种 薯	142.80**	AL	8.0	a	A
		贮 温	35.20**	AH	6.0	b	A
		互 作	2.65	BL	3.4	c	B
				BH	0	d	C
播 于 田间后 (5.24)	出苗期	种 薯	112.30**	AH	97.1	a	A
		贮 温	137.60**	BL	68.2	b	B
		互 作	363.30**	BH	58.7	c	C
				AL	57.3	c	C

F_{0.05}, 6=5.99 F_{0.01}, 6=13.74

表5 种薯内非蛋白氮含量变化 单位: mg/g DW

测 定 时 间 (月·日)	种 薯 发 育 时 期	变 异 来 源	F	处 理	含 量	SSR差异显著性	
						0.05	0.01
温 度 处理前 (2.23)	萌动期			A	36.2	a	A
				B	32.4	a	A
温 度 处 理 末 期 (4.18)	萌芽期	种 薯	8.76*	BH	58.1	a	A
		贮 温	30.05**	AH	51.7	b	A
		互 作	1.92	BL	48.0	bc	A
				AL	45.6	c	A
播 于 田间后 (5.24)	出苗期	种 薯	141.50**	AL	10.8	a	A
		贮 温	365.90**	BL	6.5	b	B
		互 作	78.20**	AH	5.0	c	C
				BH	4.4	c	C

含量显著低于无毒种薯, 在低温贮藏下, 二者差异更为显著。这一结果表明, 病毒的侵染使寄主细胞遭到破坏, 特别在高温下更增强了病毒的侵染力, 使细胞结构破坏加重。且高温可提高蛋白酶的活性, 也使蛋白质降解加速, 从而使非蛋白氮含量增加。但病毒和高温也加速了种薯养分的提早枯竭, 造成了出苗期非蛋白氮的迅速减少。

六、带毒种薯芽条发育及出苗状况

高温贮藏的种薯,在播种时已有充分发育的芽条,从芽条发育程度看,带毒种薯每块茎萌发芽数显著少于无毒种薯,但最长芽粗则极显著地大于无毒种薯,最长芽长和不定根数,二者没有明显差异;高温贮藏的带毒种薯表现出苗晚,而且慢,出苗指数低于无毒种薯,可是在低温贮藏下的却是带毒种薯出苗早,而且快,出苗指数高于无毒种薯(见表6)。以上结果与马厚强等^[3]的研究结果基本一致,并与前面种薯营养的变化相一致,即病毒刺激营养提早释放,同时也使消耗增加。

表6 种薯芽条发育及出苗状况

处 理	每块茎萌芽数	最长芽长(cm)	最长芽粗(mm)	最长芽不定根数(条)	出苗指数(%)	出苗率(%)
AH	6.6 a	10.5 a	7.9 B	6.5 a	50.2	100
BH	5.0 b	12.2 a	9.1 A	6.9 a	47.9	100
AL	—	—	—	—	37.3	100
BL	—	—	—	—	40.4	100

七、带毒种薯植株生育状况

从表7可以看出,生育早期(6月17日),低温贮藏下的带毒种薯,叶面积、株高和茎叶比等指标都高于无毒种薯,而高温贮藏下的带毒种薯的上述指标却低于无毒种薯。到了中期后这种病毒的影响已愈见显著,无论是高温贮藏还是低温贮藏下的有毒种薯,其植株的生育都逐渐落后于无毒种薯,且植株衰老明显提早。

表7 种薯植株生育状况

测 定 期 (月·日)	项 目	处 理			
		AL	BL	AH	BH
6.17	株高 (cm)	16.2	16.7	15.7	12.3
	叶面积 (cm ² /株)	1624	1874	1775	1624
7.25	株高 (cm)	72.7	69.7	73.0	70.2
	叶面积 (cm ² /株)	11565	10978	15708	11440
8.13	叶面积 (cm ² /株)	15126	7380	13247	11283

八、带毒种薯产量的变化

由表8可见,产量形成的早期,块茎产量不因种薯带毒与否而异,只随贮温的不同而变化,高温贮藏极显著地促进块茎的提早形成。但到块茎增长期,高温贮藏的带毒种薯的块茎产量已极显著地低于无毒种薯,可见高温与病毒的互作已严重影响到块茎产量的形成,到淀粉积累期,不仅在高温贮藏下的带毒种薯极显著地低于同贮温的无毒种薯,而且在低温贮藏下的有毒种薯的块茎产量也显著低于高温贮藏的无毒种薯的块茎产量。带毒种薯块茎增长速率的明显降低,说明了病毒已影响到产量潜力的发挥。

表8 高低温处理种薯后代产量的变化 单位: g/株

生育时期(月·日)	变异来源	F	种 薯	产 量	SSR检验差异显著性	
块茎形成初期 (6.9)	种 薯	< 1	AH	29.7	a	A
	萌 温	88.07**	BH	23.8	a	A
	互 作	8.07*	BL	11.2	b	B
			AL	6.1	b	B
块茎增长期 (7.15)	种 薯	19.26**	AH	630	a	A
	萌 温	1.13	BL	510	b	B
	互 作	21.30**	AL	505	b	B
			BH	432	c	B
淀粉积累期 (8.13)	种 薯	14.32**	AH	931	a	A
	萌 温	1.78	AL	842	a	AB
	互 作	< 1	BL	662	b	AB
			BH	556	b	B
(9.4)	F _{0.05} , 9=5.12		AL	1170	a	A
	F _{0.01} , 9=10.56		BL	870	b	B

结果与讨论

一、根据对带毒种薯和无毒种薯几个不同发育时期所测的几项生理指标变化情况可以看出, 种薯萌芽期间, 生理指标的变化最为显著也最规律, 因此以这个时期的生理指标来衡量种薯活性水平和带毒种薯生理特点较合适。

二、带毒种薯的生物超弱发光强度和过氧化物酶同功酶活性, 都显著低于无毒种薯, 但细胞色素氧化酶活性极显著高于无毒种薯的变化。这是带毒种薯的生理特点, 也是种薯生理活性衰弱的具体反映。如果对不同种类的病毒引起的对上述指标的反应作进一步探索, 或许可作为生理生化鉴定病毒成员的一种手段加以利用。

三、从种薯还原糖和非蛋白氮含量的变化中可以看到, 带毒种薯的碳氮代谢开始活化的起始期早, 消耗快, 衰老早, 且高温与病毒的互作使这种变化更为显著。

四、尽管植株没有任何病症, 外表尚是很健康的植株, 应用酶联免疫法检定出带毒种薯作种, 在子代植株生育已开始表现长势较弱, 衰老提早, 产量下降。由此可以看出, 根据肉眼可以看到病症和植株长势进行选留种薯固然有减轻病毒危害的效果, 但用种薯生理生化变化状况进行病毒的鉴定和优质种薯的选择, 则更准确, 更有效。

参 考 文 献

- 1 德波克琴斯 JA 主编, 张鹤林等译. 马铃薯病毒和种薯生产. 北京: 农业出版社, 1981, 5~10
- 2 马厚强等. 马铃薯泰山号脱毒与带毒植株生长、生理特性和产量的比较. 马铃薯杂志, 1987, (1): 34~35
- 3 柯曼琴. 马铃薯脱毒与未脱毒植株叶片解剖研究. 马铃薯杂志, 1987 (3): 28~29
- 4 杨颐康等. 理化因子对发光细菌发光强度的影响. 生物物理和生物化学进展, 1981 (1): 69
- 5 Bajaj Y P S. Potato Springer-Verlag. In: Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol 3 1987

Physiological Changes in Virus-infested and Virus-free Potato Seed Tubers in Sprouting Period

Liu Mengyun Liu Kuibin Men Fuyi

(Potato Research Section, Inner Mongolia Agriculture and Animal Husbandry College, Hohhot 010018)

Abstract The physiological changes in the ultra-low luminescent intensity, the activity of peroxidase, isoenzyme and cytochrome oxidase, and the carbon-nitrogen metabolism in the sprouting period as well as their subsequent effects on plant-growth and tuberization were studied in virus-infested and virus-free potato seed tubers. The results indicated that there were significant or very significant differences in physiological indices between virus-infested and virus-free seed tubers, thus demonstrating a possibility of an early physiological diagnosis and selection of quality seed tubers.

Key words, Potato seed tuber, Virus-infested, Physiological diagnosis