

辣(甜)椒TMV和CMV抗源筛选与利用

王慧 杨永林 阎素珍

(吉林省蔬菜科学研究所)

提 要

采用“金字塔”筛选法, 1980~1990年, 人工接种辣椒品种资源1003份(次), (其中CMV478份, TMV436份, CMV+TMV89份); 筛选出的抗(耐)素材221份(次), 其中抗TMV84份, 抗(耐)CMV101份, 兼抗(耐)两种病毒的材料36份。P2005584044、P2006683-4和PRTC-1、PRTC-2四个抗源经“65”和“75”攻关组统一验收鉴定, 是较好的抗源亲本, 已提供全国攻关协作组应用。还初筛出具有优良园艺学性状的F₁组合和抗源品系各8个, 是有希望直接利用的优良材料。利用筛选出的抗源, 先后配制了54个组合, 经组合力测定, 3个组合的病情指数明显低于对照而产量高于对照(吉农方椒)。

关键词: 辣椒、病毒病、抗源

前 言

辣椒病毒病是一种世界性的病害, 严重地影响辣椒品质和产量。发生普遍, 并造成中度以上损失的病毒有: 黄瓜花叶病毒(CMV)、烟草花叶病毒(TMV)、烟草蚀纹病毒、马铃薯Y病毒(PVY)等十几种。吉林省境内以CMV、TMV为主, 我们在1978~1990年对吉林省辣椒病毒原进行鉴定结果表明, 六月中旬前TMV比重较大, 六月中下旬后逐渐增多。盛发期CMV占60%以上, TMV占30%左右。此外还有PVY、BBWV等病毒。

目前, 国内外防治辣椒病毒病尚无理想措施, 而选育抗病毒病新品种是一个被国内外普遍重视的有效途径。因此自1983年以

来, 我国就将蔬菜抗病育种技术研究, 列为国家重点科技攻关项目, 为配合抗病育种, 提供理想的抗(耐)TMV、CMV抗源, 我们采用室内人工接种、病圃人工接种及田间自然诱发感染的联合筛选方法, 现已筛选出一批较好的辣(甜)椒抗源材料: 抗TMV84份, 抗(耐)CMV101份, 抗(耐)TMV、CMV36份, 并在抗病育种中得到初步利用。

材料与方 法

1. 病毒病原及其纯化与繁殖: 选用吉林省境内两种主要毒病原的主导株系TMV-PM和CMV-PNF为接种源。使用前用枯斑寄主(TMV用心叶烟、CMV用蚕豆)单斑分离纯化三次, 纯化后在系统寄主(TMV用普通烟, CMV用心叶烟)上繁殖, 接种后

* 本所青椒育种课题时桂媛、王学国、曲景伟同志参与协作。

在25℃条件下培育,经15天左右(显症初期)采收。

2. 接种源配制及接种方法:采收繁殖好的病叶研磨匀浆。每克鲜叶加5(CMV)~10(TMV)毫升0.01M磷酸缓冲液(0.1MKH₂PO₄+0.01M铜试剂pH=7.0),双层纱布过滤或3000转/分的离心机离心,去渣,即为接种液。接种时加适量600~800目金刚砂的磨料。(1)室内鉴定:试材种子播前用10%磷酸三钠水溶液浸泡20~30分钟消毒处理,再用清水洗净,泡24小时,在25℃恒温箱中催芽3~5天,播种育苗。育苗土为常规苗床土,经高温消毒处理,装入育苗筐,厚度约10cm并均匀一致,幼苗3叶(CMV)~5叶(TMV)期接种,每株接种3片叶(1子叶,2真叶),三次重复,每次重复都保留一行不接种的健苗做对照。(2)病圃鉴定:用喷枪(2千克/厘米²压力,喷嘴至苗间距离2厘米)接种。接种5~7天如不发病,再重复接种一次,或打顶观察腋芽症状。

3. 供试材料来源及鉴定方法:试验材料由本所青椒育种课题及由国内外引进。试材的抗病性鉴定,采用室内接种单一病毒原,鉴定垂直抗病性;病圃接种和田间自然诱发复合感染,鉴定水平抗病性。具体步骤是:第一年在病圃内播种试材,每份材料50~60株,3~5叶期喷枪接种TMV,然后自然条件下任其感染其他病毒(蚜传病毒为主),选留抗病株并采种。第二年在防虫网室内播种上年选留的抗病单株,每个材料30~50株,2~3叶期分别人工接种CMV、TMV及CMV+TMV混合病毒,选留抗(耐)CMV、抗TMV及抗(耐)CMV+TMV单株并采种。第三年将选留的抗病单株再播种田间,每份试材50~60株,自然诱发感病,调查抗病性及生物学特性,选留抗病自交系单株,提供进一步筛选、纯化和利用。

4. 病害、抗性分散标准和调查方法:

接种3~7天内调查局部症状,10~15天内调查系统症状,20~25天调查病情指数。收果期和采种期,调查田间抗病性(每行随机20株)和园艺学性状。

病害分级标准:0级:无症状或反接种叶有坏死点。1级:心叶明脉或轻花叶。3级:心叶和中上部叶均中度花叶,但无皱缩畸形。5级:中、上部重花叶和皱缩,并轻度矮化。7级:全株重花叶,有疱斑或畸形,厥叶明显矮化(健株的2/3~1/2)或茎条斑。9级:严重畸形、丛枝矮化(低于健株1/2),茎重条斑或生长点坏死,秃顶至全株枯死。抗病类型分级标准:HR:(免疫或高抗型)病情指数低于2,人工接种无症状(-)或少数接种叶上局部小枯斑(-/L·SP)。R:(抗病型)病情指数2.1~15,人工接种接种叶症状为-/L·SP,少数也有mM。T:(耐病型)病情指数15.1~30,人工接种多数症状为mM少数Cb或Ri。S:(感病型)病情指数>30,人工接种症状多数为M·F或Str·N-SN。

筛选结果与利用初报

1. 单抗抗源筛选结果:①TMV抗源的筛选:1980~1990年间,其人工接种辣(甜)椒品种(系)436份,虽然未发现免疫型抗源,但筛选出过敏型抗病材料84份占19.3%,其中抗性较稳定的有RTP-81001、RTP20066-84044, PRT-82-43, RTP-贵阳菜椒、RT-P-洛阳线椒、RTP-草椒一号, RTP-满天星, RTP-伏地尖, RTP-黑壳、RTP-什那等,其抗性表现型为局部枯斑,为过敏性完全抗性抗源。②抗源CMV的筛选:1980~1990年共接种辣(甜)椒品种(系)478份(次),筛选出具有不完全抗病性的保毒型抗源材料8份,占1.7%(隐症或轻花叶)即:PRC20066-84, PRC-C26, FRC20055-83, PRC83026, PRC20066-1,南

6、南38、南45；耐病型抗源材料93份，占19.5%。

2. 多抗性 (TMV+CMV) 抗源的筛选：1980—1985年筛选出的130份单抗TMV或抗(耐)CMV材料，1986年用TMV和CMV混合接种42份，筛出6份具有复合抗病性抗源。1987年经田间自交纯化后，用两种病毒的四个株系 (CMV—PF, CMV—PN, TMV—PM, TMV—PN)，分别接种6份抗(耐)材料，结果筛选出兼抗(耐)4个株系的材料3份。1988—89年又从抗TMV或抗

(耐)CMV的材料中选出32份不同果型的材料 (其中尖椒型21份，大果型8份，其他型3份)，分别接种TMV—PN和CMV—PN两种病害的两个株系。经两年重复筛选，结果筛选出高抗(HR)和抗病(R)两种材料7份。1990年又从抗(耐)CMV—PN株系的材料中选出7份，在室内分别接种吉林省辣椒CMV的五个株系，进一步鉴定这些抗材对不同株系的抗病性表现，结果如表1。

综上所述，10年来人工接种品种(系)

表 1 多抗性抗源筛选结果

鉴定年份	接种材料数	接种毒病原种类及株系	筛选抗源数	抗源抵抗对象						
				TMV		CMV				
				PM	PN	PF	PN	PYM	PRi	Pm
1986	41	CMV—PN TMV—PN	6		△		△			
1987	6	CMV—PN CMV—PF TMV—PN TMV—PM	3	△	△	△	△			
1988	32	CMV—PN TMV—PN	13		△		△			
1989	10	CMV—PN TMV—PN	7		△		△			
1990	7	CMV—PN CMV—PF CMV—PYM CMV—PRi CMV—Pm	7			△	△	△	△	△
合计	99	7	36	2			5			

资源数共1003份，其中接种CMV478份，接种TMV436份，接种CMV+TMV89份。从中筛出抗源素材211份，其中抗TMV的81份，

抗(耐)CMV的101份，兼抗(耐)两种病毒的材料36份，见表2。

其中，P2005584044和P2006683—4两个

表 2 辣椒品种资源人工接种鉴定及抗源筛选结果

鉴定年份	人工接种资源数				筛出抗源数		
	CMV	TMV	CMV+TMV	合计	抗TMV	抗(耐)CMV	抗(耐)TMV·CMV
65期间合计	370	332		702	46	83	
1986	57	60	41	158	12	6	6
1987	28	28	6	62	14	3	3
1988			32	32			13
1989	16	16	10	42	12	9	7
1990	7			7			7
75期间合计	108	104	89	301	38	18	36
总计	478	436	89	1003	84	101	36

抗源，用国内5个地区的TMV和CMV接种联合鉴定结果，P2005584044抗3个地区CMV和14个地区TMV；P2006683—4兼抗4个地区

的CMV和TMV。“65”期间已通过验收并提供全国“甜(辣)椒丰产、抗病、优质新品种选育及多抗性育种技术研究”攻关协作

组利用。PRT.C-1和PRT.C-2两个抗源，1989年用国内三个地区的TMV和CMV接种联合鉴定，结果是，PRT.C-1兼抗3个地区

的CMV和TMV，PRT.C-2抗3个地区的TMV，并兼抗1个地区耐两个地区的CMV。通过专家组验收（见表3）。

表 3 四个抗源对国内五个地区辣椒病毒的抗病性

抗源	吉 林		辽 宁		北 京		江 苏		新 疆		R出现频率		鉴定地点
	CMV	TMV	CMV	TMV									
P2005584044	R	R	R	T	T	R	T	R	R	R	3/5	4/5	南 京
P2006683-4	R	R	R	R	T	R	R	T	R	R	4/5	4/5	
PRT.C-1	R	R	-	-	-	-	R	R	R	R	3/3	3/3	北 京
PRT.C-2	T	R	-	-	-	-	T	R	R	R	1/3	3/3	

3. 抗源的利用，①做为亲本配制杂交组合，研究TMV抗性遗传规律。1986年选出抗病性好，但园艺性状较差的材料R₃(PRCT30-4-1)、R₄(PRTLS815)、R₅(PTC20066-1)做抗病亲本；抗病性较差，但果型较好的材料S₁(PS085074)、S₄(PSC-T8605)、

S₅(麻辣三道筋)、S₆(PT82005-1)做感病亲本，经1987年在田间自交纯化后，1988年配制正、反交组合18个，获5个正、反交组合，7个正交组合的F₁种子。1989年将其种子田间，选留F₂种子和测定一代优势，筛选优势组合8份（见表4）。

表 4 具有优良园艺学性状的F₁组合

F ₁ 代号	株型	叶色	果型	果色	果皮厚	辣性	结果性	熟性	抗病性	病指	果长×宽cm
R ₃ ×S ₆	中立	深绿	短牛角	中绿	3mm	中辣	多	中	R	10.0	8.5×3
S ₆ ×R ₃	中开	深绿	短牛角	中绿	2.5mm	中辣	多	中	R	6.7	10×2.3
S ₄ ×R ₄	中立	绿	灯笼	中绿	2mm	甜	多	中	R	12.2	6.5×5.5
R ₃ ×S ₄	中立	墨绿	长灯笼	中绿	2mm	甜	多	中	R	8.9	8.5×5.6
R ₄ ×S ₃	中开	绿	牛角	中绿	3mm	中辣	特多	中	R+	3.3	9.2×3.5
R ₄ ×S ₆	中开	深绿	长牛角	中绿	2mm	中辣	特多	中	R+	0	13.5×2.5
S ₆ ×R ₃	中开	绿	大灯笼	绿	4mm	麻辣	中多	中	R+	2.2	7.5×5.5
R ₃ ×S ₃	中开	绿	羊角	绿	1.3mm	特辣	中多	早	R	16.7	13.1×2

其中R₃×S₆不仅熟性早，而且果型长，果味特辣，再经精选很有直接利用前途；R₄×S₆、R₄×S₃结果特多，而且抗病毒病性极强，果型为牛角型，果味中辣，熟性中，也比较有希望。获得的F₁和F₂种子，连同R和S双亲，1990年在防虫室内同时播种，苗期人工接种TMV，测定抗性变化，分析抗性遗传方式。②利用抗源杂交配组，培育抗病新品种。1987年前人工接种筛选出的抗源素材21份，1987年配制组合12个，1988年复制组合4个，新配制组合10个。并从1987年配制的组合中选出8704、8706、8708 3个优势组合，经1988年组合力测定结果：病情指数分别为11.7、5.0、20.0，比对照品种吉农方

根分别低15%、21.7%、6.7%。早期产量分别为：1200公斤/亩、1166.7公斤/亩、1100公斤/亩，比对照分别增产89.5%、84.2%、73.7%，总产量分别为2577.9公斤/亩、2644.6公斤/亩、2577.5公斤/亩，比对照增产17.2%和20.2%。8706早熟，生育期为100天；8708中早熟，生育期为105天；8704中熟，生育期为108天。③筛选抗性与经济性状均好的新品系直接利用。经苗期人工接种筛选的抗病品系，在田间自然诱发感染的条件下，继续筛选田间抗病性及园艺学性状兼优的新品系，直接利用生产或提供杂交亲本。1988年选出10个品系，均抗病毒病，而对照品种麻辣发病率100%，几乎绝

产。从果型上看,5个为大、中果型,5个为长尖果型。其中SPR₀-26, SPR₀-31果型、株型均好,座果率也高,只果皮皱纹多,再经继续系选纯化,可直接用于生产;SPR₀-16、SPRT-5、SPRC-12结果数多,但果色稍浅些,抗性较强,适做亲本材料。

1989年筛选出8份兼具优良园艺学性状的抗源品系,其中PRTC-18、PRTC-21、PRTC-22三个品系有直接用于生产的希望。PRTC-43,抗性强,结果数特多,是优良的亲本材料(见表5)。

上述较好材料,1990年继续进行系选。

表 5 具有优良园艺学性状的抗源品系

代 号	病 指	株 型	叶 色	果 型	果 色	辣 性	结果数	熟 性
PRTC-18	17.8	高开	深绿	羊角	浅绿	辣	多	中
PRTC-19	4.4	中矮开	墨绿	小灯笼	中绿	辣	多	中
PRTC-21	3.3	中立	深绿	大长灯笼	深绿	辣	中	中
PRTC-22	3.3	中立	深绿	大长灯笼	深绿	甜	多	中
PRTC-39	20.0	矮立	中绿	大方椒	中绿	甜	少	中
PRTC-42	2.2	中立	中绿	大灯笼	浅绿	甜	多	中晚
PRTC-43	2.8	矮开	浅绿	大灯笼	浅绿	中辣	特多	中
PRTC-47	10.0	高开	深绿	中灯笼	浅绿	中辣	多	中

结果与讨论

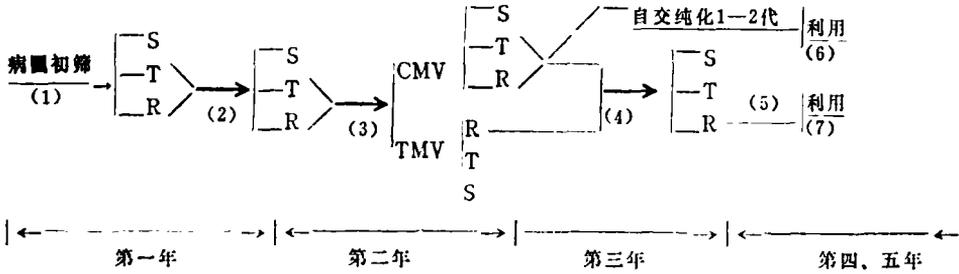
1. 人工接种辣(甜)椒筛选结果表明,我国辣(甜)椒资源中过敏型抗TMV材料较多,约占鉴定材料的20%。抗CMV材料较少,仅占鉴定材料的1.7%,且属保毒型不完全抗性,但耐CMV材料较多,约占鉴定材料的20%。采用混合或单独分别接种两种病毒的不同株系,结果筛出16份兼抗两种病毒两个株系(1986—89),占接种的单抗材料的21.6%,3份兼抗两种病毒的4个株系(1987),占接种的单抗材料的3.4%。

关于抗源的遗传基因及其与病毒原株系的关系,虽未做深入研究,但在鉴定中发现:TMV抗源有两种表现型,一种是接种TMV-PM(侵染辣椒的普通系)和TMV-PN(侵染辣椒的番茄系),均不能系统侵染,只在接种叶上产生过敏型坏死斑点;另一种接种TMV-PM呈轻花叶(mM),接种TMV-PN呈茎基部坏死或系统坏死,表现出不完全抗性。与国外发现的辣椒TMV抗性基因相比,前者含有L²L²(LL)基因,后者含L¹L¹(L¹L¹)基因。尚未发现日本报道的L³L³基因。CMV抗源的表现型均为不

完全抗性的保毒型,属耐病性或隐性抗病抗源。未发现免疫型或过敏型抗源,其遗传基因有待进一步研究,但鉴定中发现在高抗TMV的材料中,有一些也兼抗CMV,可能与singh等人(1978)描述的CMV隐性抗病基因与TMV单隐性抗病基因有“联偶状”连锁相似。

2. 抗源的抗病性,受鉴定方法和鉴定条件影响较大,尤其对抗源影响更大。本试验接种源浓度采用5倍(CMV)和10倍(TMV),鉴定苗龄为3叶(CMV)和5叶(TMV)期,如果改变接种源浓度则接种苗龄也需做相应改变,否则抗性将受影响。试验表明,接种源浓度最大倍数,CMV不得大于20倍,TMV不得大于80倍。苗龄最大不得超过7叶期。筛选复合抗性抗源时,以先接CMV,后接TMV或两种病毒同时混合接种。接种后在20—25℃下培育为宜,最高不得超过30℃。疏松、肥沃和湿润的育苗基质,是培育肥壮幼苗的基础,肥壮的幼苗接种后,易充分反应抗性表现型。为筛选出苗期和成株期抗性基本一致的优良抗源,采用室内和病圃联合接种鉴定,并配合田间自然诱发交替筛选是可行的抗源筛选方法(见抗源筛选示意图)。

辣(甜)椒病毒病抗源筛选过程示意图



说明: (1)人工苗期接种TMV自然诱发CMV(蚜传为主),或TMV+CMV同时混合接种鉴定。(2)选择抗性好的移至田间,进行田间水平抗性鉴定(自然诱发感染筛选)。(3)室内苗期人工接种,筛选垂直单抗性抗源。(4)3叶期接种CMV,4-5叶期接种TMV。(5)多抗性抗源自交纯化1-2代。(6)亲本利用;抗性强,经济性状较差。(7)生产利用;抗性强,经济性状优良。

3. 抗源的利用:自1987年以来,利用抗源共配制正、反交组合49个,从中选出11个组合,经组合力测定,8份抗性较强,病情指数为0-16.7%之间;3份抗性及产量均优,病情指数为5.0-20.0%之间,比对照品

种降低6.7-21.7%,且比对照增产17.2-20.2%,除配制组合外,并在抗源中通过系选,选出抗病、质优的新品系10个;其中3个有直接利用希望,其他为优良亲本。为保持抗源纯度,用前需进行自交纯化2-3代。
(收稿时间1990年8月11日)

温室蔬菜多茬栽培

温室蔬菜多茬栽培技术,系指在温室内早春进行喜温性蔬菜的促成栽培;夏季利用遮阳、浇水等降温措施,使耐热性蔬菜顺利越冬;晚秋进行延迟栽培;冬季进行耐寒性蔬菜的越冬栽培。这样可使温室蔬菜一年三作三收、四作四收或两年七作七收,显著提高温室的利用率和经济效益。其技术要点是:

一、合理安排茬口,选择适宜品种。多茬栽培可以越冬茬为第一茬,种植耐寒性蔬菜,如芹菜、菠菜、甘蓝等,越冬品种应具有抗寒性、抗病性等特点。第二茬为早春促成栽培,种喜温性的甜椒、西红柿、黄瓜、茄子、菜花等蔬菜,所用品种以抗低温、早熟、高产、抗病为主,如长春密刺黄瓜、上海茄门甜椒、青岛早红和早粉二号西红柿等。第三茬越冬栽培应种生长期短的芸豆、豆角等,所栽品种应具备抗高温、抗病的特点,如丰收1号、芸丰1号等。第四茬晚秋栽培蔬菜种类与第二茬相似,其品种要求苗期抗高温,后期耐低温,如津研4号黄瓜、强丰西红柿等。现以芹菜、西红柿、豆角、黄瓜一年四作四收茬品种为例列表供参考。

二、间作套种,适龄定植,适期扣棚。多茬栽培前后茬应衔接紧密,空茬时间越短越好。因此,以间套种植和适龄大苗定植为好。可在黄瓜生长中

后期套种芹菜,西红柿采摘后套种豆角等。定植时,要求春西红柿苗龄70天,带蕾定植;春黄瓜苗龄40天,四叶一心为定植最佳期;豆角可育苗移栽,也可间作直播。温室的扣棚时间以菜苗不受冻害为原则,一般在11月下旬,并盖地膜或小拱棚。

三、增施有机肥。为弥补温室内二氧化碳不足,应多施有机肥。四作四收的芹菜可亩施腐熟有机肥4方,西红柿亩施7方(整地时撒施4方,定植时沟施3方);豆角生长期短,可不施有机肥;第四茬的黄瓜地撒施4方。越冬芹菜定植后至扣棚前,可适当灌溉人粪尿。

四、及时防治病虫害。温室内多茬栽培易发生病虫害。对土壤病害,可在7-8月份第三茬蔬菜收获后,每平方米畦面用5-7克多菌灵粉剂,翻入土壤,盖膜5天加温灭菌。虫害一经发现,可喷用80%敌敌畏并加硫磺粉烟雰熏蒸。

芹菜、西红柿、豆角、黄瓜茬口安排时间表

茬号	名称	育苗时间	定植时间	收获时间
一	芹菜	8月下旬后	10月中下旬	翌年3月中下旬
二	西红柿	12月下旬后	3月中下旬	4月下旬-7月上旬
三	豆角	6月下旬后	7月上中旬	8月中下旬
四	黄瓜	7月下旬后	8月中下旬	10月中下旬

米景舟