

番茄枯萎病抗病育种研究进展

王全华 李景富 李永镐 徐向阳 葛晨辉

(东北农业大学园艺系·哈尔滨)

自本世纪初(1905)发现番茄枯萎病以来,现已遍及世界各地,并成为番茄生产上的重要问题。由于此病为土壤传播病害,该病菌抗逆性非常强,药剂防治效果并不理想;况且药剂防治易造成环境污染,且病菌易产生抗药性,因此,选育和利用抗病品种是番茄枯萎病的主要防治方法。本文将国内外有关番茄枯萎病的研究作一简要综述。

一、番茄枯萎病菌生理小种:番茄枯萎病菌属半知菌亚门、镰孢属的尖孢镰刀菌、番茄老化型(*Fusarium* *Oysporum* *fsp.* *Lycopersici* *snial* & Hans)。

番茄枯萎病菌的生理小种最早是由 Wellman (1940) 发现,番茄枯萎病菌不同分离物的生长特征及致病性存在差异。据 Alexander 和 Tucker (1945) 报道,来自美国俄亥俄州的枯萎病菌分离物能使具有 *L. Pimpinellifolium* 抗病基因的番茄感病,认为这一分离物—Ohio—39 是一新的生理小种。Gerdeman 和 Finley (1950) 根据番茄枯萎病菌对含有 *L. Pimpinellifolium* 抗病基因的番茄的致病性定义了小种 1 和小种 2。对含有 *L. Pimpinellifolium* 抗病基因的番茄不具致病性,而对缺乏这种抗病基因的番茄具有致病性的分离物定义为生理小种 1,而把那些对无论是否含有抗病基因的番茄都具有致病性的病菌分离物定义为生理小种 2。

生理小种 1 和 2 广泛分布于美国大部分地区,以色列、日本、加拿大、澳大利亚等地也有报道。另外 Jarvis 等 (1978) 在美国, Sato 和 Yaramoto (1974) 在日本, Grattidge (1982) 在澳大利亚又发现了一种新的生理小种,它能使抗生理小种 1 和 2 的番茄品种感病,认为是生理小种 3。

我国对番茄枯萎病菌生理小种的研究起步较晚,陈卫东 (1982) 首次研究了北京、湖北等地区的番茄枯

萎病,鉴定结果认为这些地区的病菌为生理小种 1。刘晖、郑是琳等 (1991) 将来自山东省 8 个地市及四川省重庆分离和采集到的病菌分离物进行鉴定,结果这些地区的病菌也为生理小种 1。西安市蔬菜研究所对西安地区的枯萎病株鉴定,结果与陈卫东、刘晖相同。

由于他们都采用的是国际上目前较为流行的小种鉴定方法——近等位基因系品种 *Inprsvd pearson* (*Ip*) 和 *Pearson VF-11* (*VF-11*) 鉴定小种法,因此可初步认为我国番茄枯萎病以生理小种 1 为主。当然这只是部分地区的鉴定结果,并不是我国的普遍情况,应该广泛收集病株,特别是没有研究过的地区,以便弄清我国番茄枯萎病生理小种的种类及分布情况。

利用鉴别寄主鉴定生理小种是世界上普遍采用的方法,其鉴定结果比较准确可靠,但是由于费工费时,人们开始探索其它方法,以求即快速又准确地鉴定。Paul 等 (1987) 首先将同工酶分析用于番茄枯萎病的小种鉴定上,认为生理小种 1 和 2 确实可在酯酶同工酶的 $E_{4,3}$ 上区分开。Manicon 等 (1987) 研究发现自由 DNA 探针和 RFLPs (*Restriction Fragment Lergld Polymorphism*) 技术可用于真菌的分类和生理小种的鉴定。因此利用同工酶和 RFLPs 等生物技术来鉴别生理小种,可弥补人工接种的缺陷,对加快这一领域的研究进程具有重要的现实意义。

二、番茄枯萎病抗性鉴定方法:抗病育种离不开抗病性鉴定。主要采用室内苗期接种鉴定和田间接种鉴定。Elnstrom (1981) 和 Briam (1985) 研究发现室内苗期接种鉴定与田间接种鉴定结果是一致的。又因苗期鉴定能节约时间、空间和费用,因此目前大多采用苗期鉴定。

苗期抗性鉴定方法有四种:浸根法、土壤接种法、灌根法和病原菌毒素滤液浸苗法。

北方园艺 (总 109) 53

1. 浸根法: 用无菌土培育的番茄苗连根拔起, 用自来水冲去根部土粒, 然后用无菌剪子将主根根基部 0.2cm 处切断, 在已配好的孢子悬浮液 (10^6 个孢子/ml) 中浸泡 20 分钟后, 转移到装有无菌土的营养钵中定植, 置温度为 $25\sim 30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的温室中培养。

2. 土壤接种法: 1 份小麦煮沸半小时掺砂 2 份拌匀装广口瓶内, 在 20 磅压力下高压灭菌 1 小时备用。将菌种接入瓶内, 在 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温箱内培养 10 天, 然后将此扩大繁殖的菌体与灭菌土按一定比例混合均匀装钵后定植番茄幼苗, 在 $22\sim 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 温室内培养。

3. 灌根法: 将以灭菌土为基质温室内育的苗, 至两片真叶时, 定植到营养钵中, 用事先配好的孢子悬浮液 (10^6 孢子/ml) 均匀倒入苗基部周围, 每钵灌苗液 50ml。置 $25\sim 30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 温室内培养。

4. 病原菌毒素滤液浸苗法: 制作 PSA。培养液 200ml 装入三角瓶内, 接种经平板培养一周的菌圆片, 于 $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ 振荡培养 15 天, 然后先用沙布过滤, 再用三层滤纸过滤, 滤液用 3000 转/分离心 15 分钟, 取上清液配制成 25% 的稀释液, 放在大试管中浸入幼苗, 置 $25\sim 30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 温室及光照下, 浸苗经 4 小时观察记载其萎蔫始期。

自从 1975 年 Gailuann 在番茄枯萎病菌中测到其毒素——萎蔫酸 (Fusaric acid) 以来, 人们开始用病原菌毒素液鉴定法, 此法手续简便、发病快、省工省时, 可用于抗病育种中的大量杂交后代的初筛工作。

比较以上四种方法, 浸根法比土壤接种法发病快, 且能导致更高的发病率, 试验结果较稳定。目前国内外在番茄枯萎病鉴定上主要采用此法。Wellman 等 (1940)、Gerdemann 等 (1955)、Elgersma (1972)、刘晖 (1991) 和陈卫东等 (1982) 都采用浸根法进行番茄枯萎病生理小种和抗性鉴定。

三、番茄枯萎病抗性机制: 关于番茄枯萎病抗性机制的研究。很多研究者从解剖结构和内部生理生化特性方面进行了研究。早在 1962 年 Dawsan 等发现番茄的感病品种中果胶酶、果胶裂解酶、果胶转甲基酶的活性比抗病品种中高。Alberto 等 (1963) 也发现了多酚氧化酶的活性在抗感品种中的差异。Beckman (1968) 提出番茄抗枯萎病的表现是下胚轴处侵填体形成的速度。在抗病品种中侵填体的形成速度明显比感病品种中的快。

Mace 等 (1971)、Elgersma 等 (1972) 和 Beckman 等 (1972) 认为在抗感品种中分生孢子分配并无差异, 只是侵染程度不同, 在抗病品种中受到限制, 而在感病品种中所有维管束都逐渐被侵染。Gardsed 和 Cannon

(1969) 认为番茄植物的抗病机制有两种: 一种是植物和病原之间非亲和的被动抗病性机制; 另一种为抗菌物质产生的主动抗病性机制。另外当抗病的番茄接种 *F. Spconghctiness* 时病菌迅速被钝化, 认为杀菌毒素的产生是一种因素。Hammer 和 Mace (1975) 确实从番茄根系中提取出真菌毒素—— α 番茄素 (α -tomatine), 它具有抗菌活性, 在抗病品种中的根系中 α 番茄素活性是感病品种的二倍。

Stomberg 和 Corde (1978) 认为一旦主根下胚轴区机械限制过程受阻, 病菌就可定植扩散到基部, 即使植株基轴中有抗菌活性物质, 也会产生枯萎症状。因此 Commay 等 (1978) 认为在限制病原菌侵染过程中, 机械阻力和抗菌物质都发挥作用。首先是病原菌在导管壁的繁殖由于机械阻碍因素 (凝胶和侵填体) 的快速形成而受阻, 不能进一步扩散, 使抗菌物质得以积累, 继续阻碍病菌的发展和扩散。

另外研究者们还研究了当病菌侵入后其体内化学物质的变化。Daris 等 (1953) 和 Gotherskar (1955) 发现感染枯萎病的番茄导管内酚类含量比健株高得多。进而 Baterman (1966、1967)、Carrasco 等 (1977) 和 chet (1978) 认为健株内酚类化合物是先天存在的抑制因子, 对病菌具有抗性。这说明酚类化合物包含于一种抗病机制之内。Sarhan 等 (1982) 和 Cajcome (1983) 认为 N 素可减轻枯萎病程度, 提高抗性。Hany 等 (1970) 报道在感病番茄中多聚半乳糖醛酸比抗病品种的高, 认为多聚半乳糖醛酸对真菌发病机理有一定作用。

四、番茄对枯萎病菌的抗性基因及遗传: 番茄抗病育种起步较早, 1905 年美国就已经育成了“迈球 (Marghebe)”、“番里加 (prichard)”等抗枯萎病品种, 它们是多基因支配, 具有水平抗性。1929 年在秘鲁采集到的番茄属野生型亚种 *L. Pinpinellifolium* 的另一系统 P. I79522 (Missori Accessionibo) 上发现了单个显性抗病基因, 后来定名为 I 基因, 并用它育成世界上第一个垂直抗病性的抗枯萎病品种“全美洲” (pam America) (Porte, 1941)。此后日本也用 I 基因育成了兴津 1—6 号、秋光、强力玲光等抗病品种。

从 1960 年起生理小种又在美国、摩洛哥、日本、以色列等国不断发展起来, 并成为番茄生产的危害。为了探索抗生理小种 2 的抗病基因, Stall 和 Walter (1965) 从番茄属一野生型亚种 (*F. Pimpinellifolium*) 和番茄属一普通番茄 (*L. esculeritum*) 的种间杂交种 P. I126915 中发现了抗病个体, 经选择育成对生理小种 1 和 2 都具抗性的稳定系统。Bohn 和 Tucker (1939) 和

兰椒1号田间性状调查

井彩巧 王秀珍 庄健 宋学栋

兰州地区辣椒栽培历史悠久,亦是我省辣椒主要产区。近年来,由于本地辣椒品种单一、退化、抗病性减弱,加之本地消费习惯制约外地优良品种的引进推广,造成辣椒栽培面积逐年减少,为此,我所在利用本地辣椒品种,引进外地优良品种的基础上,培育出适宜当地消费习惯的杂一代新品种兰椒1号,经过几年的田间观察,表现良好。于1993年进行的田间性状调查,1995年通过省品种审定委员会审定定名。

材料和方法:1. 供试材料:兰椒1号系本所选配,天水线三为对照。2. 试验方法:试验在市农科所进行,田间试验采用随机排列,三次重复,小区面积6.6m²,小区株数60株,双苗定植,株行距33×66cm,在温室采用育苗盘育苗,2月初播种,4月底定植于大田,露地起垄,定植后覆盖地膜。以小区为单位,随机取20株或20果定期调查植株性状,果实性状,统计小区产量,进行统计分析。

结果与分析:1. 植株性状:5月10日到5月15日调查兰椒1号苗期生长势介于双亲之间,株高比对照低7.2%,植株茎粗比对照高0.8%,生长势与对照相比差

Stall认为此抗性是由显性单基因控制的,而Grulli和Alexander(1966)则认为对两个生理小种的抗病性是不同的抗病基因,把抗生理小种2的基因命名为I—2,利用I—2基因育成了Water和Florade MH—1抗生理小种2的品种。

关于对生理小种3的抗病基因是驹田(1974)在番茄属—秘鲁番茄(LiPerurianum)的一个系统P. I126944中发现的。山川帮夫(1975)等将该系统与栽培番茄进行杂交育种,于1972年育成对生理小种3具有稳定抗病性的系统“IRB302—30, IRB301—31, IRB301—32”且这一抗病性是受显性单基因控制。后来研究者们利用“IRB”系统育成了强力玲光等若干个品种。Bohn(1939)早就得出结论:对番茄枯萎病的抗性取决于显性单基因,抗性因素在杂交中应保持,在回交多代及其后代中也不降低。由此看出番茄枯萎病的遗传规律较清晰,即可以通过杂交、回交和选择等手段来获得抗枯萎病的亲本和品种。(东北农业大学 83# 邮编:150030)

异不明显。当植株进入营养生长旺盛时期,兰椒1号表现了很显著的杂交优势,植株高较父本增加6.9%,较母本增加40.3%,较对照增加13.4%,开展度较父本增加35.4%,较母本增加25.7%,较对照增加32.6%,茎粗较父本增加20.3%,较母本增加10.3%,较对照增加12.8%,旺盛的营养生长为生殖生长奠定了良好的物质基础。生殖生长后期作第三次调查,兰椒1号仍保持较强的生长势(见表1),无论是株高、茎粗、开展度、抗逆性、还是叶长、叶宽等指标均显著高于对照。2. 花期:兰椒1号花期早,开花期比母本早7天,比父本早14天,比对照早9天。果实始收期较双亲及对照早6天以上。3. 产量:果实于7月12号始收,10月10日采收结束。早期产量指7月底以前的产量,方差分析见表2。由表2可知:杂一代组合兰椒1号早期产量,总产量在a=0.05、A=0.01水平上显著高于母本、父本及对照,平均亩产高于对照82.7%。4. 果实性状:兰椒1号果实形状介于双亲之间,为长羊角形,表面多褶、绿色而有光泽,个大、味辣、肉厚,商品性好,适应兰州地区栽培及消费习惯。详见表3。

表1 植株生殖生长期发育一览表 (单位: cm)

项目	株高	株幅	茎粗	座果最大习性	叶长	叶宽	抗逆性	生长势	分枝力
兰椒1号	76.6	79.8	4.8	强	8.4	4.1	中	强	强
母本	56.1	61.0	4.0	中	7.1	3.8	差	中	中
父本	66.3	57.4	3.8	中	6.7	3.1	中	中	差
CK	67.1	56.8	3.9	中	7.2	3.5	差	中	差

表2 小区产量方差分析结果

	早期产量 (kg)	差异显著性		总产量 (kg)	差异显著性		平均亩产 (kg)
		5%	1%		5%	1%	
兰椒1号	6.6	a	A	36.8	a	A	3721.4
母本	4.4	b	B	22.7	b	B	2293.0
对照	4.0	b	B	20.2	b	B	2036.5
父本	3.7	b	B	20.1	b	B	2039.5

表3 杂交组合兰椒1号果实性状调查

	果色	果形	果长 (cm)	果粗 (φcm)	单果重 (g)	肉厚 (cm)	风味	果皮
兰椒1号	绿	长羊角	24.9	3.6	32.5	0.36	辣	多褶
母本	绿	羊角	24.5	3.1	30.1	0.3	辣	多褶
父本	淡绿	线椒	25.3	1.9	21.4	0.22	微辣	少褶
对照	暗绿	线椒	25.8	2.5	25.3	0.28	微辣	少褶

结论:辣椒杂一代组合兰椒1号生长势强,生长发育速度快,在高温强日照来临前能及时封垄,决定了其丰产的特性。早熟、抗逆性强、商品性优良,综合性状超过父母本及对照,适于露地、保护地栽培,可鲜食,亦可制干。(兰州市农业科学研究所 邮编:730000)