

番茄枯萎病抗性鉴定方法及种质资源抗性鉴定研究

王全华

李永镐

王富

(山东省烟台市农科所)

(东北农业大学园艺系)

(山东省烟台市农科所)

李景富

葛晨辉

(东北农大园艺系)

(佳木斯市蔬菜良种场)

摘要 采用有重复的正交试验设计,对番茄枯萎病苗期抗性鉴定方法进行了筛选。结果表明,当番茄幼苗生长至二片真叶时,采用孢子悬浮液浸根接种法,接种浓度为 10^2 孢子/ML,移栽在温度为 25°C 左右温室中培养为最适鉴定方法。采用此方法发病快,方法简便,能达到最佳鉴定结果,可真实反映出番茄种质资源的抗感情况。并利用此方法鉴定了 66 份番茄种质资源材料,其中高抗材料 12 份,抗病材料 25 份。

关键词: 番茄枯萎病 抗性 鉴定方法 种质资源

番茄枯萎病近几年在黑龙江省各地均有发生,在当前保护地生产上为害较大。据报道,番茄枯萎病是由尖孢镰刀菌番茄专化型 [*Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* Sngd & Hans (FoL)] 为害引起的。是一种土传性病害,生活力极强,病菌在土壤中可存活十年以上,药剂防治和轮作效果都不理想,且易造成环境污染。因此选育和利用抗病品种是防治该病较为经济有效的方法。目前关于该病抗性鉴定方法的研究还未见报道。本试验试图采用有重复的正交试验设计,初步筛选出适合番茄枯萎病抗性鉴定的最佳鉴定方法,为该病的抗性鉴定提供理论依据和实验技术。并利用此方法对国内外引入的 66 份材料进行了抗性鉴定。

材料与方 法

1. 供试菌株 本试验所用菌株为作者于 1994 年从东北农业大学园艺试验站番茄大棚内采集、经单孢分离后在 PSA 培养基上培养 10 天备用。

2. 供试番茄幼苗 将感病的番茄品种早粉 2 号种子先用 0.1% 升汞浸种 10 分钟进行表面消毒,然后用清水洗净,再用 60°C 温水浸种 12 小时,置于 28°C ~

30°C 恒温箱内催芽,播种在无菌土中,至 1~2 片真叶展平时备用。

3. 实验方法 (1) 实验设计。本试验采用正交设计、四个因素、每个因素三个水平,详见表 1 (2) 接种方法。a. 土壤接种法:将病苗接种麦粒砂培养基(麦粒 1 份、细砂 2 份搅拌均匀后装在广口瓶或罐头瓶中,在 20 磅压力下灭菌 1 小时备用)中,在 25°C 恒温箱中培养 10 天,并隔 1 天振动培养瓶,然后将此扩大繁殖的菌体与灭菌土按 3:97 比例混合均匀装钵。将 1~2 片真叶的供试植株移植到营养钵中,置于光照培养箱中培养,待症状出现后进行观察记载,看统计发病程度。b. 孢子悬浮液浸根接种法:种子消毒、育苗同供试番茄幼苗部分,至 1~2 片真叶展平时;将苗连根挖起,用自来水洗净根部土粒,用滤纸轻轻吸干表面水分,然后用无菌解剖刀将主根根尖 0.2cm 处切断,浸泡在事先配制好的孢子悬浮液中,20 分钟后移栽到装好消毒土的营养钵中,置于培养箱中培养,待症状出现时,统计调查发病情况。c. 灌根接种法:种子消毒、育苗同供试番茄幼苗部分,将长至 1~2 片真叶的幼苗移栽于装有无菌土的营养钵中,每钵栽二株,每钵灌事先配好的孢子悬浮液 10ml,置于光照培养箱中培养,待

症状出现时进行观察记载,并统计发病程度。(3)试验实施方案 本试验是在 20℃、25℃、30℃三个有光照的恒温生长箱内进行,三次重复,试验用品种为早粉二号,试验用菌株为 F-O-4,每处理每重复接种 15株。待症状出现时调查发病情况,统计发病程度。本试验采用 $L_9(3^4)$ 正交表,实施方案见表 2

4. 番茄种质资源对枯萎病的抗性鉴定。通过上述方法的研究,最后确定最佳人工接种鉴定方法是采用浸根接种法,接种浓度为 10^7 孢子 /ML,培养温度 25℃,苗令为 2片真叶,接种体的制备,幼苗的准备同浸根接种法,供鉴定用材料 66 份,以瓦尔特 (Walter) 和早粉二号分别做抗病、感病对照品种。待症状出现时调查发病情况。

表 1 番茄枯萎病苗期抗性鉴定试验因素水平

因素	水平		
	1	2	3
接种方法 (A)	土壤接种法	浸根法	灌根法
温度 (B)	20℃	25℃	30℃
菌液浓度 (C)	10^6 孢子 /ml	10^7 孢子 /ml	10^8 孢子 /ml
苗龄 (D)	2片真叶	4片真叶	6片真叶

表 2 番茄枯萎病苗期抗性鉴定实施方案

列号 试验号	1	2	3	4
1	1(土接)	1(20℃)	1(10^6)	1(2叶)
2	1(土接)	2(25℃)	2(10^6)	2(4叶)
3	1(土接)	3(30℃)	3(10^7)	3(6叶)
4	2(浸根)	1(20℃)	2(10^6)	3(6叶)
5	2(浸根)	2(25℃)	3(10^7)	1(2叶)
6	2(浸根)	3(30℃)	1(10^6)	2(4叶)
7	3(灌根)	1(20℃)	3(10^7)	2(4叶)
8	3(灌根)	2(25℃)	1(10^6)	3(6叶)
9	3(灌根)	3(30℃)	2(10^6)	1(2叶)

5. 病情分级标准: 0级: 无症状; 1级: 1片或 2片子叶明显变黄,以致脱落; 2级: 1~ 2片真叶变黄或全株发黄、叶萎蔫下垂; 3级: 全株明显萎蔫或真叶严重变黄,生长受抑制、矮化。4级: 全株严重萎蔫,以致枯死。

6. 群体抗病性划分标准: 病情指数 < 10为高抗; 10 < 病情指数 < 30为抗病; 病情指数 > 30为感病。

结果与分析

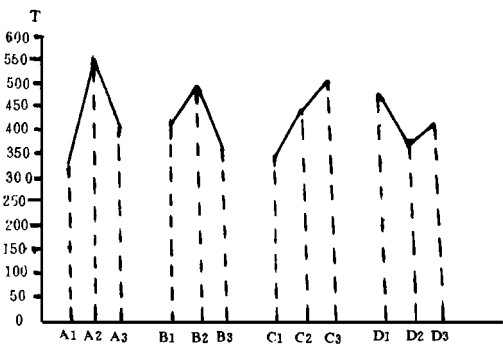
1. 极差分析。由图可知: 接种方法 (A 因素) 的极差最大,说明该因子的主效应也最大; 接种浓度 (B 因素) 的效应次之,温度 (C 因素) 的效应再次之,而苗令 (D 因素) 的极差最小,因此可先进行 A B C 三因素的方

差分析。从单个因子的极差分析看,浸根接种法即 A_2 , 温度 25℃即 B_2 ,接种浓度 10^7 孢子 /ML即 C_3 ,苗龄二片真叶即 D_1 时发病效果最好。

2. 方差分析。将早粉 2号枯萎病病情指数经整理后进行方差分析,结果四因素均近极显著水平 (表 3) 从各处理组间的显著性测验结果来看: 9个处理中以第 5个处理为最好,即组合 $A_2 B_2 C_3 D_1$,它与其它 8个处理间均达极显著差异,第 5个处理各因素水平为: A 因素浸根接种法, B 因素培养温度 25℃, C 因素接种浓度 10^7 , D 因素苗龄二片真叶,这与前面极差分析和单因素分析结果相一致。综合极差分析和方差分析结果,我们认为: 在番茄种质资源抗枯萎病鉴定中采用浸根接种法,温度为 23~ 30℃,以 25℃左右最佳、接种体浓度为 10^7 ,苗龄为二片真叶时可达最佳鉴定结果,能真实反映出番茄种质资源的抗感情况。

表 3 各处理组间的显著性测验

处理组合	T_i (总和)	显著水平	
		$\alpha = 0.05$	$\alpha = 0.01$
$A_2 B_2 C_3 D_1$	241.3	a	A
$A_2 B_1 C_2 D_3$	188.3	b	B
$A_3 B_1 C_3 D_2$	154.7	c	BC
$A_3 B_3 C_2 D_1$	135.5	cd	CD
$A_3 B_2 C_1 D_3$	125.1	d	CD
$A_2 B_3 C_1 D_2$	122.5	d	CD
$A_1 B_2 C_2 D_2$	117.0	d	CD
$A_1 B_3 C_3 D_3$	110.0	d	D
$A_1 B_1 C_1 D_1$	105.0	d	D



接种因素与病情指数的关系图

3. 番茄种质资源对枯萎病的抗病性鉴定。鉴定结果表明: 66份供试材料中对枯萎病表现高抗的有 12份,表现抗病的有 29份,表现感病的有 25份。高抗和抗病材料中大多来自美国,日本也有一些材料是抗病类型,而我国材料绝大多数是感病类型,但某些材料也存在抗病类型,可望从中培育出抗病亲本,以供杂交育种用。

结论与讨论

抗病性鉴定是抗病育种的基础,而抗性鉴定方法则又是此项基础工作的关键,制定出准确可靠、简便、快速的鉴定方法,可以提高抗病育种的效率,加快育种进程。国内外学者在多种作物上开展过这方面研究,但到目前为止仍未见关于番茄枯萎病抗性鉴定方法的研究。从接种方法的研究结果看浸根法有发病快、结果可靠,且接种浓度可人为控制等优点,这与 Wellman 的研究结果呈一致的。

关于接种浓度,据文献记载,国内外研究者使用的浓度不一,据我们研究认为接种体浓度为 10^7 孢子 / mL 是番茄枯萎病抗性鉴定比较适宜的接种浓度,能较准确地表现每个材料的抗病能力,并把不同材料的抗病类型区分开。接种浓度过大过小都不能反映出材料的真实抗性水平。

温度是影响病害发生的重要环境因素。研究发现温度低或温度太高发病率都低,达不到预期的鉴定目的,温度适宜时病苗感染快,且能达到较好的效果。因此,我们认为 25°C 是进行抗性鉴定较适宜的温度,这与 Randall (1977) 研究结果是一致的。此外研究还发现苗龄对材料的抗性鉴定也存在显著的差异,二片真叶时根尖分生组织分生能力强,新生侧根发育快,且易造成破裂,因而病苗可在新生侧根的破裂处感染。另外二叶期比四叶和六叶期更能节省空间和菌液,因此我们认为二片真叶期为最适接种苗龄。

综上所述,我们认为正交试验中所做四因素均对抗性鉴定有很大影响。因此选择各因素的最佳组合才会使鉴定结果更准确、可靠,从而不同抗性的材料充分表现其抗感特性,以达到抗性鉴定的目的。

种质资源抗性鉴定结果表明:我国的材料大多为感病类型,而美国的则为抗病类型,这与美国很早就重视抗病育种有关,因此我们应该广引外源抗病基因,加速我们的抗病育种工作,提高育种效率。(参考文献 7 篇略 王全华邮编: 265500)

无公害蔬菜生产中 如何使用化学农药

李 辉

1. 选用高效低毒低残留农药。无公害蔬菜:是蔬菜中有毒农药的含量控制在国家规定的残留标准以下。在目前使用的各种农药中,有 27 种农药在商品蔬菜中的残留量均低于国家标准。这些农药的安全间隔期,夏秋季为 7~10 天,冬春季为 5 天。(1)杀虫剂 14 种: 90% 敌百虫晶体、40% 乐果乳油、80% 敌敌畏乳油、25% 杀虫双水剂、50% 辛硫磷乳油、50% 乙酰甲胺磷乳油、73% 克螨特乳油、25% 马拉松乳油、50% 辟蚜雾可湿性粉剂、20% 速灭杀丁乳油、20% 氯氰菊酯乳油、2.5% 溴氰菊酯乳油、20% 杀灭净乳油、2.5% 功夫乳油。(2)杀菌剂 10 种: 50% 多菌灵可湿性粉剂、70% 托布津可湿性粉剂、75% 敌克松可溶性粉剂、10% 双效灵水剂、75% 百菌清可湿性粉剂、25% 叶枯灵可湿性粉剂、DT 波尔多液。(3)除草剂 3 种: 48% 氟乐灵乳油、48% 拉索乳油、10% 草甘磷水剂。

2. 合理使用农药。(1)了解农药的性能和防治对象,对症下药。(2)搞好病虫害测报,适时用药。防治害虫,不能见虫就治,应按予測得出的“防治指标”施药;防治病害的施药适期,大多在病害将要发生或发病初期开始施药,使用保护性杀菌剂,应在蔬菜发病施药。(3)掌握有效用药量,适量用药。要达到安全、有效、经济防治病虫害的目的,一定要严格按照各种农药的使用规定,掌握好用药量和施药浓度。(4)根据各农药的性质,严格在安全间隔期内施药。(5)严格禁用甲基 1605 甲胺磷等剧毒高残留农药。(6)能点片挑治的病虫害不普治,尽量减少使用化学农药。(7)合理轮换和混用农药。长期单一使用某种农药,容易造成病菌或害虫产生抗药性,合理轮换或混用农药,则可克服或延缓抗药性的产生,提高防治效果,但不可盲目混用。大力提倡生物农药最为安全。(山东省济宁农校 邮编: 272100)

出售优质寒地果树苗

吉林省松原市宁江区北八家子寒地果树试验站姜万顺 保湿邮寄:

葡萄苗: 乍那、巨峰(长条苗)、京优、无核白鸡心、24 号等。

海棠: 黄太平、一串铃、新苹、抗寒苹果

李子: 绿香蕉李、晚李、5 号大李等

邮编: 131239 电话: (0438) 3127607