

番茄抗黄萎病育种研究进展

尤海波, 李景富, 许向阳, 李桂英

摘要:综述了番茄抗黄萎病育种在病原菌生理特性、番茄对黄萎病抗病性以及抗病育种工作取得的研究进展, 并对我国番茄抗黄萎病育种的现状提出了几点思考。

关键词:番茄; 黄萎病; 抗病育种

中图分类号: S641.203.4 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2003)01-0060-03

番茄是一种重要的蔬菜作物, 其适应范围广, 广泛分布于世界各地, 被列为全世界产量最高的 30 种农作物之一。其产量高, 营养丰富, 富含维生素类和糖类, 既可生食又可作加工之用, 因而深受人们喜爱。在番茄生产中, 由于病虫害, 经常造成大面积减产。目前在番茄生产上经常发生的病害已达 40 多种,^[1] 因此如何提高番茄产量, 改进品质、提高抗病性已成为番茄育种的重要课题。

番茄黄萎病是保护地和露地番茄生产的重要病害之一。可大幅度降低番茄的产量和品质, 是番茄生产的一个主要限制因素。希腊番茄黄萎病严重, 有时会使番茄产量下降 50% 甚至更多 (Thanassouloupoulos CC, 1972)。南非、加拿大、意大利、法国、美国等都有报道, 产量损失 23% 以上。近年来在我国保护地番茄生产中此病害有加重蔓延的趋势。陕西关中地区曾发现此种病害, 黑龙江省也有报道。选育抗病品种是减轻病害经济有效的对策, 国外开展的番茄抗黄萎病育种起步早, 成果显著。

1 番茄黄萎病及病原菌生理特性

性

1.1 番茄黄萎病症状

此病多发生于番茄生长后期, 叶片由下向上逐渐变黄, 首先是叶缘变色, 变色沿叶脉扩大, 轮廓清晰, 成为“V”形黄斑, 以后下部叶片明显枯死。发病重的结果小或不能结果, 剖开病株茎部, 维管束变浅褐色, 病株并不迅速枯死, 而是逐渐落叶, 表现慢性的向上枯死, 别于枯萎病。对植株两侧叶片同时表现症状, 还是出现半边风现象报道不一, 北迟健治 (1980)^[4]、五十岚文雄 (1979)^[7] 报道有半边风现象出现; 远藤忠光 (1980)^[8] 的报道则没有此现象的描述。

1.2 病原菌生物学特性

轮枝孢属 (*Verticillium*) 的大丽轮枝菌 (*Verticillium dahliae* Kleb.) 和黑白轮枝菌 (*Verticillium albo-atrum* Reinke and Berth.) 是引发多种植物黄萎病的病原菌, 可侵染 660 多种植物, 包括多种农作物, 两个种都侵染番茄, 但由黑白轮枝菌引起的较少, 只在美国等少数几个国家有报道, 主要以大丽轮枝菌危害严重。

1.2.1 大丽轮枝菌的形态特征 该病原菌早在 1913 年由 Klebahn 命名为 *Verticillium dahliae*。称大丽轮枝孢, 属半知

菌亚门真菌。菌丝体无色, 有隔膜, 所有菌株可产生轮枝分生孢子梗, 孢子梗直立, 基部无色, 孢子梗上有 1~5 个轮枝层, 每层有 2~3 枝轮枝。分生孢子椭圆形, 单孢, 无色透明, 单生于分枝末端, 湿度大时成假头状, 在培养基上形成黑色微菌核及串生厚垣孢子。

菌落形态可分为三种类型: (1) A 型: 产生气生菌丝和大量微菌核, 菌落中间为白色气生菌丝团, 基质内布满黑色微菌核; (2) B 型: 气生菌丝发达, 呈绒毛状或棉絮状, 培养两周未见产生微菌核; (3) C 型: 菌丝体匍匐生长, 无色, 不产生或极少产生气生菌丝, 不产生孢子和微菌核。三种菌落形态不稳定, 可以相互转化。

1.2.2 番茄黄萎病病原菌致病力分化 番茄黄萎菌属非专性寄生菌, 分布范围极广, 寄主十分广泛, 但不同菌系之间的致病力变异很大。K. D. Baergen 等 (1993) 研究表明, 番茄黄萎病菌致病力存在显著差异, 毒性低的种群只引起了轻度矮化, 毒性最强的引起严重矮化, 甚至使苗龄小的番茄导致死亡。其他的毒性居中。Tiamos, E. C. 从广泛分布于希腊的 27 种植物上分离的菌株对感病番茄品种 Early Pak 的致病性从不致病到高度致病不等, 对番茄的致病性的强弱与采集分离物的种类的关系不大, 采自非单作寄主茄科的分离物对番茄无致病性或中等致病性, 而采自原为番茄和其他蔬菜作物轮作地区, 寄主的分离物一般都有高度的致病性。

番茄黄萎病菌的生理小种 番茄黄萎病菌已发现两个生理小种, 生理小种 1 发生较早, 分布广泛; 在 30 年代就有发生。1957 年在加拿大发现生理小种 2 (Baergen and Hewitt, 1988), 加利福尼亚 (Robinson et al, 1957; Alexander, 1962; Hall et al, 1972), 法国南部 (Iatierot, 1968, as cited by Hubbeling et al, 1971), 意大利 (Campania, Liguria and puglia), 罗马尼亚 (Costache and Tonmescu, 1987), 智利 (De Badilla, 1974, as cited by Okie and Garder, 1982), 和南非 (Ferreira et al, 1990), 希腊 (E. K. Ligoigakis and D. J. Vakalounakis, 1992) 先后报道了生理小种 2 的存在。

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。番茄黄萎病的两个小种已被鉴别: 小种 1 只侵染缺乏抗性基因 *Ve* 的品种, 小种 2 则侵染所有栽培品种。国际上通用的鉴别寄主为 ACE VF 和 Early Pak, Early Pak 对生理小种 1、2 都感病, ACE VF 则只对生理小种 2 感病。

1.3 防治方法

土壤中微菌核的密度与发病关系密切, 因此防治上提出了病株处理、土壤消毒、晒土或采取轮作的方法。日本勉^[10, 11] 等认为合理的栽培条件和一些浸透性杀菌剂、生长调节剂也有一定的防治作用。Dutta, B. K.^[5] 研究了番茄幼苗以生长调节物质作预处理后对番茄黄萎病发病、植株长势及产量的影响。结果 GA、NOA 能有效地抑制病害。IAA 无防病效果。作者认为生长调节剂对番茄黄萎病发病的抑制主要是因为生长物质增强了植株对病菌的抗病性。过去国外曾依靠抗病的砧木进行嫁接栽培, 但番茄生长后期发病相当严重, 因而效果不够理想 (远藤忠光 1983)^[9]。D. P. Morgan 等 (1991) 报道, 在加利福尼亚州, 利用晒土减少黄萎病菌的生存

量。但必须在夏季进行, 因此使用上受限制。他们采用在生长季节早期应用聚乙烯覆盖物作为防治樱桃番茄黄萎病的有效方法。E. C. T. Jamos(1980)也认为晒土对于黄萎病是个有效的防治方法。在希腊主要采用甲基溴化物熏蒸土壤的方法来控制温室番茄黄萎病的发生, 而在露地生产中培育抗病品种是最经济而有效的防病方法(E. K. Ligoxigakis 等, 1992)。

1.4 番茄黄萎病致病机理

研究表明, 番茄黄萎病的致病机理与茄子黄萎病菌的致病机理类似。当前主要有两种学说, 其一为阻塞学说, 黄萎病原菌侵入木质部导管后, 微菌核萌发, 生成孢囊孢子, 伸长后由番茄根侵入, 在导管里繁殖, 菌丝侵入导管组织, 新生成的孢子阻塞了导管, 进而阻碍了水分输导, 致使植株萎蔫, 并由于水分供应短缺, 而引发生理代谢连带变化, 产生叶片黄化、植株矮化变形等多种症状表现(内田勉 1981)^[11]。另一种假说为毒素假说, Orenstein, J. (1989)^[9]认为病原菌侵入番茄植株后, 其代谢过程中产生的糖蛋白毒素破坏了寄主组织结构。毒素抑制了细胞的伸长而引起矮化, 同时, 研究表明在感病番茄的根中, 毒素还抑制了[¹⁴C]-谷氨酸和[¹⁴C]-尿苷参入用三氯乙酸可沉淀的物质, 但在抗病番茄的根中则不然。

大丽轮枝菌侵染棉花的致病机理研究得较多, 已分析出毒素的成分为 PLP, 它是一种蛋白质脂多糖复合物, 进一步研究表明, 强致病力菌系分泌糖蛋白含量高于弱致病力菌系; 不同致病力菌系分泌的糖蛋白毒素的致萎性与病菌致病性相同, 糖蛋白毒素的致萎性不仅取决于其含量, 而且取决于其活性, 糖基化程度可能与致病类型相关(景忆莲等, 1999)^[1]。

2 番茄对黄萎病的抗性

2.1 番茄抗病机制

番茄抗黄萎病的机制尚不清楚。有人认为, 病原菌在维管束中的定殖与扩展与品种抗性关系密切, 品种抗性表现为黄萎菌定殖扩展时的一系列保卫反应, 主要表现为物理阻碍, 主要指凝胶、树胶或侵填体对病菌的包围(Griffiths, D. A., 1973)。有人认为, 番茄受病原菌侵染后维管表皮栓化, 加固细胞壁, 限制了病原菌进入寄主。细胞壁上含有酚成分的聚合物沉积作用是对病菌侵染植物的一个普遍反应, 在大多数情况下, 这种沉积只能通过显微技术来检查, 并被不同的称为木质素、木栓质或木质素木栓体等(Royce Mohan 等, 1990)。而 Roycemohan 等研究发现, 染病的维管表皮细胞壁的物质沉积与一个单显性孟德尔式基因紧密相关, 并且已经检测出沉积物为木栓质。Pegg, G. F. 等(1986)^[3]则认为黄萎病病原菌入侵前, 茄子本身含有的 α -番茄素对致病菌有抑菌、杀伤能力。这两种说法都有待于进一步证实。

2.2 抗性鉴定

2.2.1 抗性鉴定方法 田间病圃鉴定: 此法应用较早, 至今在抗病育种工作中应用最为普遍, 发挥着不可替代的作用, 具有简单、经济、能真实反映抗性强弱等优点, 适于苗期及成株期抗性鉴定。浸根接种鉴定: 目前此法应用最为广泛, 即在一叶一心期或两片真叶期, 人为伤根后浸入一定浓度的病原菌孢子悬浮液中 10 min~20 min(分钟)。此种方法快速、准确。E. K. Ligoxigakis 等(1994)、Okie, W. L.(1982)在他们的品种抗性鉴定中应用的都是这种方法, 而其他方法少见应用。毒素鉴定: 利用病原菌毒素蘸根或浸苗代替孢子悬浮液接种, 通过观察毒素的致萎情况进行抗病鉴定, 其鉴定结果与大田病圃和病原菌接种呈显著正相关。Orenstein, J. 等(1989)^[9]建议用毒素的抑制试验来作为筛选抗病性的可靠依据。

2.2.2 在抗性鉴定中, 病情分级标准及抗、感类型划分指标直接影响鉴定结果的准确性, 也必然影响此而形成的一系列抗性分析结果。在具体鉴定工作中, 一般以番茄苗的外部症状, 尤其是叶片发病轻重及多少或以维管束病变程度、植株矮化确定病级。萎黄只能在病情发展的后期阶段作为黄萎菌侵染寄主的标准。矮化则更不易发觉, Thanassouloupoulos 和 Kit-sos(1974)认为茎的变短并不是一个持久的特征, 不应用于评估之中。Ben-Yephet 和 Pilousk(1979)^[12]认为矮化只是建立于未接种对照植物平均高度上的一个相对方法。S. Visser 和 M. J. Hattin(1998)研究认为枯萎和维管束变色是最容易识别的症状, 这两个症状都被认为是可靠的寄主感染后的反应标准。虽然维管束变色是一种可靠的标准, 但要毁掉植株, 而枯萎症状能多次重复在同一植株上进行评价。任何一种症状都不能总是同时出现在同一植株上, 研究发认为接种植株也具有症状有效反应, 则具有这一反应的症状就是不可靠的, 不应作为标准。实验结果表明, 枯萎是寄主番茄感染黄萎病最可靠、最敏感、最实用的标准。

2.2.3 品种或材料的群体抗性, 在调查发病株率和严重程度的基础上, 广泛以病情指数进行评价。

不同鉴定方法及其相应病级标准及抗、感指标, 对相同材料的抗性评价结果不尽相同; 由于鉴定中试验条件的随机变异, 对单株抗性评价影响更为突出, 直接影响抗性材料的育种应用和理论分析。目前尚缺乏一套试验条件控制严格、操作规范性好、鉴别灵敏度高、结果稳定性强、适应性广的良好鉴定方法。

2.3 抗性遗传研究

番茄对黄萎病抗性的遗传研究, 对深入了解抗病机理和培育抗病品种至关重要。番茄抗黄萎病生理小种 1 的强弱或取决于一个多基因系统或取决于一个单个控制基因 V_e , V_e 是由一个名为 peruvian 的野生番茄衍生而来(Schaibil, L. 1951)。

2.3.1 关于 V_e 的基因 利用 RFLP 进行 V_e 的制图, 认为 V_e 基因位于番茄的第 9 染色体的短臂上, 单位点紧密地与 RFLP 基因标记 GP39 相连, 这就排除了黄萎病抗性被一个多位点系统控制的可能性, 这一点也体现在番茄的 BW 抗性和 TYLCV 耐性。同时, 也不能排除黄萎病抗性反应的基因修饰因子位于番茄染色体组的其它位置。(N. Diwan 等, 1999)。最近, SCAR 基因标记和 RFLP 基因标记被应用到对 V_e 基因的克隆中。 V_e 基因的克隆可以为诱导其它易感作物品种的抗性提供一种特殊的技术(L. M. Kawchuk 等, 1998)。

2.3.2 多基因抗性遗传 在抗性遗传方面, 美国加利福尼亚大学的 Okie, W. R. 与(Gardner, R. G.)在 1971~1979 年间作了大量的工作。田间观察 F1 代发现, V_e 基因纯合品系具有对小种 1 更强抗性。 V_{eve} 杂和体发病率非常小, 除非花粉感染 $veve$ 基因型才能发生高度感病。说明 V_e 基因并不完全控制这个疾病(Okie, W. R. and Gardner, R. G., 1980)。在以后的研究中, 他们用亲本、F1、F2 和 MEL 及 WA 品系的回交世代中筛选秧苗的抗性, 接种后 5.5 周有许多真叶和子叶表现症状。MEL 中的抗性表现为隐性, 而且狭义遗传力至多为 0.25, 病的严重程度以至于在早期世代中误选出退化植物。通过 F3 后代的分析表明, 至多有 3 个基因控制这一遗传。小种 2 抗性能够通过选择清除高度敏感植株和在后代中进行抗性鉴定而发现抗性强的个体(Okie, W. R. and Gardner, R. G., 1982)。

2.4 品种选育

各国培育的抗性品种有 Garuso, Dombo, Menglo, Mereto 等。日本品种“丰福”中含有“Ve”基因(勉等, 1981)^[11]。

3 抗病育种工作的关键问题

由于番茄生产呈产业化、规模化发展, 大面积集中栽培使品种单一化和高度设施化, 过度连作及设施栽培的不良环境, 利于黄萎病的迅速蔓延, 很容易成为番茄生产的重要障碍, 抗病育种则是克服病害的经济、有效的首选对策。

3.1 抗源材料的创新和利用

对国内现存番茄品种资源进行多年抗性鉴定, 充分利用野生番茄资源, 对表现好的抗源材料充分研究利用, 进一步进行重复鉴定、异地鉴定、多菌系鉴定, 确切了解其抗性程度、抗性稳定性、适应性及遗传特征, 并注意兼抗或多抗材料的鉴定筛选。在鉴定抗性特征的基础上, 做好抗源材料的综合性状改育及利用工作, 高度重视抗源材料的丰产性及品质表现。采用常规育种与生物技术相结合的多种育种方法, 将抗黄萎病外源基因转育到性状优良的品系中, 创造新型抗源材料。

3.2 深入研究抗性遗传规律

深入研究黄萎病菌抗性遗传, 采用多菌系多试验条件进行接种鉴定, 可能有助于揭示抗性遗传方式。建立操作规范性好, 鉴定灵敏度高、结果稳定性强、适应性广的理想抗性鉴定方法。

参考文献

- [1] 景亿莲等, 棉花黄萎病及其抗性育种研究进展[J]. 西北农业学报, 1999, 8(3): 106~110.
- [2] 杜永臣, 番茄育种研究主要进展一文献综述[J]. 园艺学报, 1999, 26(3): 161~169.
- [3] Pegg G. F. 与对黄萎病菌的抗性有关的 α -番茄素在番茄进等基因品系中的合成与代谢[J]. Physiologica and Molecular Plant Pathology, 1986, 28(2): 187~201.
- [4] 北沢建治等, 由 Verticillium dahliae Klebahn 侵染引起的植物半身凋萎病[J]. 日本植物病理学报, 1980, 46, NO2, 267~270.
- [5] Dutta, B. K. 番茄黄萎病防治中生长物质的应用[J]. Indian Phytopathology, 1981, 34, NO4, 421~425.
- [6] 远藤忠光, 番茄黄萎病的发生与防治[J]. 植物防疫, 1983, 37, NO3, 106~110.
- [7] 五十岗文雄等, 关于番茄半边萎蔫病[J]. 日本植物病理学报, 1979, 45, NO1, 118.
- [8] 远藤忠光, 关于番茄黄萎病的发生与防治措施[J]. 今月の农业, 1980, 24, NO2, 72~77.
- [9] Orenstein J. 大丽轮枝孢对培养的番茄根生长的抑制作用[J]. Phytoparasitica, 1989, 17(4), 269~278.
- [10] 饭 勉黄萎病的研究现状和今后的问题[J]. 植物防疫, 1981, 35, NO3, 137~140.
- [11] 内田 勉, 番茄黄萎病的轮作防治[J]. 今月の农业, 1981, 25, NO5, 32~35. (东北农业大学, 哈尔滨 150030)

泡沫箱生产黑豆苗技术

黑豆有“药王”之称, 用它生产的芽苗又叫“绿色大豆瓣菜”, 有一定的药用价值。采用泡沫箱生产, 并活体销售, 与沙培相比省工省料, 操作简单、周期短、质量好、产量高, 并且在产出后可保鲜数天不腐烂变质, 不萎蔫损耗。

黑豆市场价每公斤 2 元左右, 每箱下黑豆 0.35 公斤, 可出黑豆苗 5.5~7 公斤, 黑豆苗市场价 1 元以上, 每天出 5 公斤黑豆的苗菜, 售后其纯利润 100 元左右。是一条较好的致富门路。

1 工具和生产场所的要求

1.1 泡沫箱: 泡沫箱的规格一般为长 56 cm×宽 40 cm×高 17 cm。重量约 250 g(克)。泡沫箱每个 4.8 元, 日产 10 箱豆瓣菜, 约需 110 个箱(含周转用箱)。

1.2 场所要求: 生产黑豆苗, 可利用闲置的房屋、封闭的阳台或冬暖式大棚。温度要求 18℃~25℃, 湿度要求 85%~95%。光照要求弱光, 或在完全黑暗的条件下生产, 利用白炽灯或生物效应灯进行人工补充。

2 生产技术

2.1 选豆: 主要品种有赶牛料黑豆和平顶黑, 这两个品种用于生产, 萌芽快、生长周期短、粗细均匀、整齐一致、抗病力强, 适口性好。当然无论选用哪种黑豆, 其外观必须籽粒饱满、无碎烂破粒, 尤其是最好用当年采收的黑豆。

2.2 产前处理: 首先对黑豆进行风选、水漂, 剔除机械碾轧损伤的豆种及虫蛀、残破、腐烂霉粒、偏小粒种子。水漂时要用手轻稳地反复搓洗, 并进行搅拌撇捞, 尽量将杂质劣豆打捞净, 然后将黑豆倒入沥水的竹筛中, 将水分控干净。

2.3 泡豆: 将控干净水分的黑豆倒入 50℃左右的温水中进

行烫豆, 以便消毒灭菌和启动萌发, 要注意不停地快速搅拌。这个过程大约需要 15 min(分钟), 然后加入适当的冷水, 降温到 25℃~30℃进行浸泡, 同时加入一袋水溶 AB 粉(5 公斤种豆), 以抑制毛须侧根的出现, 并促使绿色豆瓣菜粗壮旺长, 鲜嫩脆香, 提高其品质和产量。泡豆时间约需 24 h(小时), 等黑豆充分吸水膨胀变大后, 再用清水将种豆淘洗 2~3 遍, 然后倒入竹筛中控净水分, 准备催芽。

2.4 催芽: 将泡沫箱底铺上一层纸, 并用 25℃温水喷湿。然后将黑豆均匀地豆粒挨豆粒的密布一层在箱底, 铺好后, 喷 20℃左右的温水。喷水量以喷湿后泡沫箱中不滴水、不存水为好, 以免种子腐烂发臭。然后地面垫砖, 每六盘为一摞, 进行叠盘催芽。

2.5 生产: 约经过 30 h(小时), 箱中的黑豆苗就可达到 3 cm~4 cm(厘米), 此时可将泡沫箱摆放到支架上或地面上, 取一支大豆素, 兑水 1~2 公斤, 用喷雾器对芽苗进行喷淋, 以抑制根系的生长发育, 减少侧根和根毛的产生, 并加大子叶面积。黑豆苗高 8 cm~9 cm(厘米)时, 取一支增粗剂, 兑水 1~1.5 公斤, 用喷雾器对芽苗进行喷雾, 以抑制茎叶生长点的伸长, 使茎增粗变得脆嫩, 减少纤维素的含量, 并促使豆瓣又大又黑绿发亮。整个生产过程, 每天需喷水 2~4 次, 用喷雾器喷淋。气温高、湿度小时多喷淋; 气温低, 湿度大时, 少喷淋, 生长前期少喷淋; 生长后期多喷淋。生产过程中要注意及时将烂的种子剔除, 以免感染好菜, 影响生长。

2.6 出售标准: 苗高约 20 cm(厘米), 整齐无烂根, 无毛须侧根, 仅有 1 cm(厘米)的细白主根, 无异味, 清脆鲜嫩无纤维, 下胚轴乳白透明, 上胚轴浅绿发亮, 漂亮诱人, 尤其是两个豆瓣似展非展, 肥厚黑绿。

泡沫箱再用时, 要用腐菌清彻底消毒, 否则易出现病菌感染。(赵宝聚 河北省宁晋县北河庄乡豆芽总坊)