

## 抗黄萎病番茄种质材料的筛选

王明耀<sup>1</sup>, 王学颖<sup>1</sup>, 鹿秀云<sup>2</sup>, 张桂海<sup>1</sup>, 张钊<sup>1</sup>, 黄志辉<sup>1</sup>, 田庆武<sup>1</sup>, 王长浩<sup>1</sup>, 马德明<sup>1</sup>

(1. 廊坊市农林科学院蔬菜研究所, 河北廊坊 065000; 2. 河北省农林科学院植物保护研究所, 河北保定 071000)

**摘要** 通过对 117 份番茄种质材料(品种或品系)断根后分别接种  $1 \times 10^7$  番茄黄萎病菌、 $1 \times 10^7$  茄子黄萎病菌、清水(对照), 并进行田间检测, 筛选出高抗黄萎病的番茄种质材料 15 份、感黄萎病的种质材料 2 份; 经对 17 份材料 29 个样本的 DNA 分子检测, 结果与田间抗性表现的吻合度为 75.86%。该研究为筛选适合茄子生产用抗黄萎病砧木(番茄)育种提供抗源材料, 并为实验室番茄抗性 DNA 分子检测提供理论依据。

**关键词** 番茄种质; 抗黄萎病筛选; DNA 抗性分子检测

中图分类号 S641.2 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2020)06-0048-02

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2020.06.014



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

## Screening of Tomato Germplasm against Verticillium Wilt

WANG Ming-yao<sup>1</sup>, WANG Xue-ying<sup>1</sup>, LU Xiu-yun<sup>2</sup> et al (1. Vegetable Research Institute of Langfang Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Langfang, Hebei 065000; 2. Plant Protection Institute, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Baoding, Hebei 071000)

**Abstract** 117 tomato germplasm materials (varieties or strains) were inoculated with  $1 \times 10^7$  tomato verticillium, wilt bacteria  $1 \times 10^7$  eggplant verticillium, wilt bacteria water (control) and field test, respectively, 15 tomato germplasm materials with high resistance to verticillium wilt and 2 tomato germplasm materials with high resistance to verticillium wilt were selected. Through the DNA molecular detection of 29 samples of 17 materials, the result and the resistance performance in the field were 75.86%. The study provides anti-source materials for screening root-stock breeding suitable for eggplant production, and theoretical basis for laboratory tomato resistant DNA molecular detection.

**Key words** Tomato germplasm; Resistance to verticillium wilt screening; DNA resistance molecular detection

茄子是我国主要蔬菜作物,栽培面积居世界前列<sup>[1]</sup>。生产中,因茄子抗黄萎病种质资源匮乏<sup>[2]</sup>和重茬、连作,茄子黄萎病发生普遍,一般减产 20%~30%,危害严重的达 60%<sup>[3]</sup>。茄子黄萎病属土传病害,其病菌在土壤中通常存活 4~5 年,一般常规植保方法很难根治,选用抗病品种能有效防治茄子黄萎病<sup>[4]</sup>。采用优良的抗病砧木嫁接茄子对黄萎病的防治效果显著<sup>[5]</sup>。

番茄与茄子同科异属,其抗黄萎病种质材料较多。我国在 20 世纪 90 年代以来陆续有以番茄品种作砧木与茄子嫁接进行栽培且有效防治茄子黄萎病,增加茄子产能的报道。目前,国内尚无茄子专用番茄抗黄萎病砧木育成的报道,菜农用于茄子嫁接砧木用的番茄多为自行留种或相互交换而来,存在混杂严重、种源和抗性不稳的难题,制约茄子产业发展<sup>[6]</sup>。为此,廊坊市农林科学院立项番茄属茄子抗病砧木种质资源创新课题,培育适合茄子嫁接用抗黄萎病的番茄品种,2018 年对 117 份番茄种质材料进行黄萎病抗性田间鉴定,并经实验室 DNA 分子检测,从中筛选出 15 份符合育种要求的种质材料,旨在为选育茄子嫁接用番茄抗黄萎病砧木品种提供了抗源材料。

## 1 材料与与方法

**1.1 材料** 番茄品种 8 个:中研红 2 号、东风一号、白果强丰、银剑 312、迪奥、银魅、科砧 1 号、科砧 2 号;番茄品系 109 个。

病原菌:茄子黄萎病病原菌,由北京市农林科学院惠赠;番茄黄萎病病原菌 ENAUTVD-1,由东北农业大学赠予。

**1.2 番茄秧苗培育** 在日光温室中,采用 50 孔塑料穴盘填装由草炭和蛭石混配的无土育苗基质育苗。2018 年 3 月 8 日播种,4 月 9 日育成有 3 片真叶的健壮秧苗。

**1.3 病原菌分生孢子悬浮液制备** 在超净工作台上,将茄子黄萎病病原菌和番茄黄萎病病原菌 ENAUTVD-1 分别接种在马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)平板上进行活化,25℃恒温培养 7 d,挑取菌落边缘的新鲜菌丝块(直径 5 mm)4~5 块分别转接于马铃薯葡萄糖培养液(PDB)中,25℃、180 r/min 条件下恒温振荡培养 5 d,培养液用 2 层灭菌纱布滤去菌丝得到分生孢子悬浮液<sup>[7]</sup>,在显微镜下用血球计数板检查滤液中分生孢子数量,并用灭菌水将其浓度调整为  $1.0 \times 10^7$  孢子/mL,备用。

**1.4 病原菌人工接种** 采用断根法<sup>[8]</sup>接种茄子黄萎病病原菌和番茄黄萎病病原菌。试验设置 3 个处理,同一个番茄种质材料秧苗分成数量相等的 3 份,每份 50 棵秧苗,其中一份接种茄子黄萎病病原菌分生孢子悬浮液,一份接种番茄黄萎病病原菌分生孢子悬浮液,另一份接种等量清水。接种时,先将长满番茄秧苗根系的苗坨逐棵从 50 孔穴盘中整体取出,随即用锋利的剪刀在距离苗坨底部 1/3 处横向将番茄根系和苗坨一并剪掉,将上部 2/3 苗坨连同秧苗一起栽到事先已经填充且压实 1.5 cm 厚无土育苗基质的 50 孔穴盘中,之后用注射器每穴加注 10 mL 的  $1.0 \times 10^7$  /mL 病原菌分生孢子悬浮液或清水。

**1.5 番茄苗栽植培养** 接种后放置 24 h,使接种番茄秧苗的根系和苗坨充分吸收加注的孢子悬浮液,之后取出秧苗和苗

**基金项目** 河北省科技计划项目“番茄属茄子抗病砧木种质资源创新”(1018072-8)。

**作者简介** 王明耀(1962—),男,河北廊坊人,研究员,硕士,从事茄子抗病砧木育种及优质高效栽培研究。

**收稿日期** 2019-09-19

坨整体定植在日光温室内的普通土壤中。在日光温室中栽植,每份番茄种质材料设置为一个小区,每个小区栽植3行,每个处理栽种1行,每行50株,平均行距0.7 m、株距0.1 m。其中,1行栽植接种番茄黄萎病菌的秧苗,1行栽植接种茄子黄萎病菌的秧苗,1行栽植清水处理的秧苗(对照)。

**1.6 番茄黄萎病调查方法与抗性评价标准** 自秧苗定植后第7天开始,采用6级分级法每7 d调查一次番茄黄萎病发病情况,计算病情指数,按照病情指数划分番茄对黄萎病的抗病性。番茄对黄萎病的抗病性划分标准见表1。

番茄黄萎病分级标准:0级,无病症;1级,发病株有≤10%的叶子发病,病叶现淡黄色病斑;2级,病株有11%~25%的病叶,发病叶显现淡黄色病斑;3级,病株上病叶达26%~50%,病斑淡黄色和黄褐色;4级,病株有50%以上的病叶,现淡黄色和黄褐色病斑;5级,病株叶片全部染病,植株萎蔫或死亡<sup>[9]</sup>。

病情指数 =  $100 \times \Sigma(\text{病级} \times \text{该病级株数}) / (\text{最高级值} \times \text{总株数})$

表1 番茄黄萎病抗病级别划分标准

Table 1 Classification criteria of tomato verticillium wilt resistance level

级别 Level	抗性型 Resistance type	英文缩写 English abbreviations	病情指数范围 Disease index
1	免疫	I	DI=0.0
2	高抗	HR	0.0<DI≤10.0
3	抗病	R	10.1<DI≤20.0
4	耐病	T	20.1<DI≤35.0
5	感病	S	DI>35.1

表2 番茄种质对2种黄萎病菌的抗性

Table 2 Resistance of tomato germplasm to two strains of verticillium wilt

品种或品系 Varieties or strain	接种茄子黄萎病 Inoculating eggplant verticillium wilt		接种番茄黄萎病 Inoculating tomato verticillium wilt		接种清水 Inoculating clear water	
	初发期 Incipient period	抗性评价 Resistant evaluation	初发期 Incipient period	抗性评价 Resistant evaluation	初发期 Incipient period	抗性评价 Resistant evaluation
FY-9-5-7-4-1		0/I		0/I	0	/
53-6-11-6-4-1	05-09	50.6/S	05-02	87.2/S	0	/
KC-2-10-6-7-2		0/I	05-30	6.3/HR	0	/
11-7-12-9-5-7	05-11	38.6/S	05-04	86.0/S	0	/
Z2-7-2-6-7-4		0/I		0/I	0	/
FY-6-7-6-4-2		0/I		0/I	0	/
WM2-4-5-9-3		0/I		0/I	0	/
17B-5-3-6-7-3	05-23	3.3/HR	05-16	9.6/HR	0	/
QX-4-10-9-5-2	05-23	5.3/HR	05-16	5.0/HR	0	/
LH-4-9-7-10-6	05-23	7.9/HR	05-23	9.8/HR	0	/
L9-7-4-1-9-2-4	05-23	3.3/HR	05-23	5.5/HR	0	/
KR-9-2-17-6-5-4	05-23	9.9/HR	05-23	10.5/HR	0	/
26-12-9-7-5-4		0/I		0/I	0	/
L8-6-3-11-6-5	05-23	5.4/HR	05-23	5.5/HR	0	/
XXA-6-12-8-6-4		0/I	05-30	5.1/HR	0	/
GPM6-6-5-7-9-1	05-11	8.2/HR	05-23	9.8/HR	0	/
KN-9-11-8-6-7-3		0/I	05-30	5.2/HR	0	/

**2.2 番茄种质抗黄萎病的DNA分子检测** 2018年11月,在3穗果膨大期从15份抗病番茄材料和2份感病番茄材料

**1.7 番茄植株黄萎病抗性检测** 2018年8月10日播种当年筛选的部分优异番茄种质材料41份,育成健壮秧苗,在秧苗达3片真叶时采用上述接种方法接种番茄黄萎病原菌ENAUTVD-1分生孢子悬浮液,当植株达3穗果膨大期,从其中的17份番茄种质材料中随机抽取29株,每株取嫩枝1份做样本分别标号后送河北科技大学进行番茄黄萎病抗性检测。

## 2 结果与分析

**2.1 番茄品种(品系)对2种病菌引发的黄萎病的抗性评价** 通过对117份栽植在日光温室中分别接种了茄子黄萎病菌、番茄黄萎病菌2种致病病菌的番茄种质材料的田间调查,筛选出对2种黄萎病免疫的种质材料5份:FY-9-5-7-4-1、FY-6-7-6-4-2、Z2-7-2-6-7-4、WM2-4-5-9-3、26-12-9-7-5-4;高抗材料10份:17B-5-3-6-7-3、QX-4-10-9-5-2、LH-4-9-7-10-6、L8-6-3-11-6-5、L9-7-4-1-9-2-4、KR-9-2-17-6-5-4、XXA-6-12-8-6-4、GPM6-6-5-7-9-1、KN-9-11-8-6-7-3、KC-2-10-6-7-2;感病材料2份:53-6-11-6-4-1、11-7-12-9-5-7(表2)。

**2.1.1 田间番茄种质材料对茄子黄萎病的抗性表现。**接种茄子黄萎病菌的117份番茄种质材料在日光温室中栽培,抗性表现可分5种类型。其中,免疫材料7份、高抗材料33份、中抗材料42份、耐病22份、感病材料13份。

**2.1.2 田间番茄种质材料对番茄黄萎病的抗性表现。**接种番茄黄萎病菌的117份番茄种质材料在日光温室中栽培,抗性表现也有5类。其中,免疫材料5份、高抗材料10份、中抗材料26份、耐病40份、感病材料36份。

中随机选取29株,每株取嫩枝1份送河北科技大学进行抗  
(下转第92页)

能,将项目类型重新定位为综合公园,并命名为湛江南亚奇园,设计主题是植物的“奇”。该方案深刻分析了南亚热带植物的分类、功能,并分析了场地现状,重新界定了其功能区。通过结合自然软质景观和人工硬质景观,配置绿色植物、调整植物色相等设计手法,构建形态各异的空间,彰显各个区的功能<sup>[9]</sup>。湛江南亚奇园为一个综合性公园,其以特色的植物分区轴线和每个区域独有的植物元素给游人带来穿梭于绿色世界中的感受,而且运用不同层次的植物配置、不同功能的分区对公园以及周边的环境进行改善,给游客带来愉悦和舒适,并体会设计带来的巨大魅力。奇园还融合了湛江源远流长的文化,发展前景广阔,为湛江甚至广东的旅游产业作出了贡献<sup>[10]</sup>,并成为一个植物多样性的承载和标志,从而为游客在湛江奇园提供植物文化展示、滨海植物观赏、生态环保、耕作体验、休闲度假、观光摄影、科普教育基地等为一体的复合型综合公园的现代游园场所。

(上接第49页)

黄萎病 DNA 分子检测,其结果与在日光温室中的田间调查结果吻合度达 75.86%(表 3)。

表 3 番茄种质黄萎病抗性 DNA 分子检测与田间检测对照

Table 3 Comparison between resistance DNA molecular detection and field detection

品种或品系 Varieties or strain	样本 编号 Sample number	DNA 分子 检测结果 DNA molecular test results	田间检 测结果 Field test results	2 种检测结 果是否吻合 Whether the two test results are consistent	吻合度 Align- ment // %
FY-9-5-7-4-1	01	抗	抗	√	75.86
	05	抗	抗	√	
	07	抗	抗	√	
	10	抗	抗	√	
FY-6-7-6-4-2	02	抗	抗	√	
	09	抗	抗	√	
	06	抗	抗	√	
KL-2-8-3-9-2	11	感	抗	×	
	15	抗	抗	√	
	19	感	感	√	
KC-2-10-6-7-2	12	抗	抗	√	
	14	抗	抗	√	
	17	杂	感	×	
53-6-11-6-4-1	22	感	感	√	
	25	感	感	√	
	27	感	抗	×	
FG77-6-7-9-3-2	16	抗	感	×	
	18	抗	感	×	
26-7-6-3-9-1	03	抗	抗	√	
Z2-7-2-6-7-4	04	抗	抗	√	
WM2-4-5-9-3	08	抗	抗	√	
GPM6-6-5-7-9-1	13	抗	抗	√	
LH-4-9-7-10-6	20	抗	抗	√	
L8-6-3-11-6-5	21	抗	抗	√	
L9-7-4-1-9-2-4	23	杂	抗	×	
QX-4-10-9-5-2	24	抗	抗	√	
17B-5-3-6-7-3	26	抗	抗	√	
XXA-6-12-8-6-4	28	感	抗	×	
KR-9-2-17-6-5-4	29	抗	抗	√	

注:√表示结果相同;×表示结果不同

Note:√ means the same result; X means different results

## 参考文献

- [1] 刘福瑞.雷州半岛民歌在保护与发展中存在的问题及对策[J].艺术教育,2014(7):142-143.
- [2] VUJIC M,TOMICEVIC-DUBLJEVIC J.Urban forest benefits to the younger population:The case study of the city of Belgrade, Serbia[J].Forest policy and economics,2018,96:54-62.
- [3] 陈惠陆,黄艺文.湛江:生态环境“高颜值”经济发展“高素质”[J].环境,2019(4):35-37.
- [4] GREY G W, DENEKE F J.Urban forestry[M].New Yorks:John Wiley and Sons,1978:2-3.
- [5] 西安洋渭河谷湿地公园项目概念性规划方案[EB/OL].[2019-04-05].http://max.book118.com/html/2013/1216/5253080.shtm.
- [6] 谭玛丽,周方斌.适合儿童的公园与花园——儿童友好型公园的设计与研究[J].中国园林,2008(9):43-48.
- [7] 潘明慧,刘付东标,夏春华.湛江儿童公园景观设计[J].安徽农业科学,2015,43(23):184-187,228.
- [8] 吴体焕.福建省连江体育公园景观设计之初探[J].福建建设科技,2015(4):56-57.
- [9] 杨扬.校园景观空间格局的优化设计研究[J].吉林农业,2019(11):90-91.
- [10] 苏红.湛江市“港湾游”现状及对策研究[J].现代经济信息,2019(6):482,484.

## 3 结论与讨论

(1) 抗番茄黄萎病的番茄种质材料全部抗茄子黄萎病;抗茄子黄萎病的番茄种质材料中只有部分材料表现抗番茄黄萎病。感病番茄黄萎病的番茄种质材料,全部感病茄子黄萎病;感病茄子黄萎病的番茄种质材料,多数感病番茄黄萎病。该试验结果表明番茄种质中仅有部分材料表现抗黄萎病,抗性表现因染病病原菌的不同而有所不同。

(2) 抗性 DNA 检测对田间筛选抗性番茄材料有较强的引导作用,可缩减田间筛选范围和数量,提高筛选精度,加速选育速度<sup>[10]</sup>。因 DNA 检测结果与田间调查结果吻合度尚未达到 100%,故经 DNA 检测出的番茄抗性材料仍需经田间接种检验证明具有相应的抗性后才能作为抗性育种种质材料使用。

## 参考文献

- [1] 于淼.河北省茄子黄萎病菌的分离鉴定及抗性资源筛选[D].保定:河北农业大学,2013.
- [2] 胡建坤,黄蓉,方荣,等.茄子种质资源对黄萎病的抗性鉴定[J].江西农业大学学报,2019,41(1):68-73.
- [3] 苏春森.茄子黄萎病发生规律及综防技术[J].长江蔬菜,2000(5):23-24.
- [4] 刘晶晶.茄子黄萎病病原菌分化、检测及生物防治的研究[D].杭州:浙江大学,2019.
- [5] 赵青春,赵娜,张力,等.嫁接对茄子生长发育和黄萎病抗性的影响[J].中国蔬菜,1997(6):7-9.
- [6] 董灵迪,石琳琪,焦永刚,等.嫁接防治茄子黄萎病砧木筛选及效果研究[J].河北农业科学,2010,14(10):46-47.
- [7] 宋敏丽.茄子砧木黄萎病抗性的苗期室内接种鉴定[J].太原师范学院学报(自然科学版),2007,6(1):128-130.
- [8] 李颖仪,司雨,王怡玫,等.抗青枯病番茄嫁接砧木的筛选[J].长江蔬菜,2016(12):48-51.
- [9] 黄婷婷,金玉玲,王媛,等.茄子抗黄萎病砧木 97-16 的嫁接抗病研究[J].中国农学通报,1999(4):69-70,72.
- [10] 荆子桓,王先裕,龙安四,等.广西番茄砧木多抗材料筛选[J].中国蔬菜,2016(10):28-32.