

# 抗青枯病番茄砧木的筛选

张余洋<sup>1</sup> 李红君<sup>2</sup> 沈跃辉<sup>2</sup> 李汉霞<sup>2\*</sup>

(<sup>1</sup>华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室, 湖北武汉 430070 <sup>2</sup>华中农业大校园艺林学院, 国家蔬菜改良中心华中分中心, 湖北武汉 430070)

**摘要:** 以从美国番茄遗传资源中心引进的 3 个抗青枯病番茄材料 LA2701、LA3202 和 LA3526 为砧木, 以番茄栽培品种早冠 30 为接穗, 采用劈接法进行嫁接试验。对嫁接苗和自嫁苗利用伤根灌注法接种青枯病菌, 3 个嫁接砧木均明显提高了番茄的抗青枯病水平。对嫁接植株活体内青枯病菌数量进行调查, 结果表明抗性砧木有效地抑制了青枯病菌在体内的增殖。

**关键词:** 嫁接; 砧木; 青枯病; 番茄

**中图分类号:** S436.412.1<sup>+</sup>5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-6346(2010)02-0068-03

## Screening of Tomato Rootstocks with Resistance to Bacterial Wilt

ZHANG Yu-yang, LI Hong-jun, SHEN Yue-hui, LI Han-xia\*

(<sup>1</sup>National Key Laboratory of Crop Genetic Improvement, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, Hubei, China;  
<sup>2</sup>Huazhong Branch of National Vegetable Improvement Center, College of Horticulture and Forestry, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, Hubei, China)

**Abstract:** Grafting analysis was carried out using three tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) lines introduced from Tomato Genetics Resource Center USA (TGRC): LA2701, LA3202 and LA3526 with high resistance to bacterial wilt as rootstocks and ‘Zaoguan 30’ as scions. Grafted plants were inoculated with *Ralstonia solanacearum* and bacterial wilt resistance was investigated. Results indicated that the three tomato lines could improve the bacterial wilt resistance obviously. *Ralstonia solanacearum* in vivo analysis indicated the grafting with bacterial wilt resistant rootstocks could effectively inhibit the propagation of bacterial cells in tomato stem.

**Key words:** Grafting; Rootstock; Bacterial wilt; Tomato

青枯病是番茄 (*Lycopersicon esculentum* Mill.) 的一种典型土传细菌性病害。番茄嫁接栽培可有效防治青枯病发生, 提高番茄产量 (司玉芹和郑红玲, 2005), 在华南地区番茄抗青枯病嫁接苗已经实现规模化生产 (黎振兴等, 2006)。番茄抗病嫁接栽培中, 抗病砧木筛选和鉴定尤为重要。经过国内不同地区的栽培试验和国外抗性资源引进, 已经获得了一批抗青枯病番茄砧木品种 (熊德桃等, 2006)。一些重要的抗青枯病番茄品种如 Hawaii7997 (LA3202) 和 L04012 (LA3526) 等已应用于番茄杂交育种 (Hanson et al., 1998)。本试验通过从美国番茄

收稿日期: 2009-07-08 接受日期: 2009-09-15

基金项目: 国家自然科学基金 (30800756) 新疆兵团博士资金 (2008K04)

作者简介: 张余洋, 博士, 副教授, 专业方向: 蔬菜生物技术, E-mail: yzyhan@maij.hzau.edu.cn

\*通讯作者 (Corresponding author): 李汉霞, 教授, 专业方向: 蔬菜生物技术与遗传育种, E-mail: hxi@maij.hzau.edu.cn

遗传资源中心 (Tomato Genetics Resource Center, TGRC) 引进一批经过鉴定的携带抗病基因的抗青枯病番茄材料 (林明宝等, 2008), 进行嫁接栽培试验, 以期为番茄抗青枯病嫁接栽培砧木选择提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试砧木为抗青枯病番茄材料 LA2701、LA3202和 LA3526, 由美国 TGRC提供。接穗为番茄栽培品种早冠 30 由天津市津北蔬菜研究所提供。

青枯病菌 (*Ralstonia solanaceum*) 由华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室从华中农业大学蔬菜基地番茄病株中分离并保存。

### 1.2 方法

试验在华中农业大学蔬菜基地进行。2008年 6月 5、13日分别进行砧木和接穗穴盘育苗。7月 4日采用劈接法嫁接 (黎振兴等, 2006), 同时以砧木和接穗自嫁苗作为对照, 7月 18日统计成活率。嫁接成活植株利用伤根灌注法接种青枯病菌, 每处理接种 14~25株, 2次重复 (表 1)。

伤根灌注法接种: 在 TZC培养基上划线培养后, 移入蛋白胨牛肉膏液体培养基中, 用 1 000 mL三角瓶接种 1环菌液, 放置摇床上, 恒温 30 °C下振荡培养 48 h。将增殖培养后的菌液稀释 10倍, 用显微镜测菌液浓度, 调菌液浓度至  $4 \times 10^8$  cfu·mL<sup>-1</sup>悬浊液。接种青枯病菌前, 在根部一侧, 距根 1 cm处用刀划 3~5 cm深伤根, 用 25 mL注射器定量取菌液, 在断根侧灌注菌液, 接种后喷清水洗净叶面, 以后每天浇水 1~2次保持土壤湿润, 土温 30 °C左右。

抗病性调查: 在进行青枯病病情调查时, 幼苗一旦发病后容易发生全株萎蔫, 很快枯死, 较难进行病情分级, 所以未调查病情指数, 而调查健全株数, 计算健全株率和抗性指数。接种青枯病菌后每 7 d调查 1次, 连续调查 3次。接种青枯病菌后 7 d枯死的植株得分为 0, 7~14 d枯死的植株得分为 2分, 14~21 d枯死的植株得分为 4分, 21~28 d仍然存活的植株得分为 6分。统计时, 先计算单株相应得分, 按照李海涛等 (2001) 的方法计算抗性指数。

$$\text{抗性指数} = \frac{\sum (\text{株数} \times \text{相应得分})}{\text{总株数}}$$

活体内细菌数量调查按照 Balaj等 (2008) 的方法进行。接种青枯病菌后 2、4、6、8、10、12、14 d取砧木、接穗及嫁接苗上部接穗相同部位茎段 1 cm, 75%酒精表面消毒 30 s, 蒸馏水清洗 2次, 在 1 mL灭菌蒸馏水中研磨, 研磨液 10倍逐级稀释, 最后分别取 100 μL涂皿于含 TZC培养基的培养皿中, 恒温 30 °C静置培养 48 h, 计数细菌斑点, 4次重复。连续测定天数视实际情况而定, 直至植株活体内细菌增长达到饱和为止。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同番茄砧木对嫁接苗青枯病抗性的影响

从接种青枯病菌后健全株率和抗性指数来看 (表 1), 3个砧木嫁接苗的健全株率和抗性指数明显高于早冠 30自嫁苗。嫁接苗早冠 30/LA2701和早冠 30/LA3526的抗性指数较高, 分别为 5.0和 4.8。早冠 30自嫁苗抗性指数最低。LA2701、LA3202和 LA3526自嫁苗的健全株率和抗性指数均高于早冠 30自嫁苗, 说明引进的 3个番茄材料对青枯病具有明显的抗性, 3个砧木均可明显提高早冠 30对青枯病的抗性。

表1 不同番茄砧木嫁接苗对青枯病的抗性鉴定

嫁接苗 (接穗/砧木)	接种株 数/株	7月25日		8月1日		8月8日		抗性 指数
		健全株数/株	健全株率/%	健全株数/株	健全株率/%	健全株数/株	健全株率/%	
早冠 30/LA2701	16	15	94	13	81	12	75	5.0
早冠 30/LA3202	14	11	79	10	71	9	64	4.3
早冠 30/LA3526	21	18	86	16	76	16	76	4.8
早冠 30/早冠 30	25	12	48	7	28	4	16	1.8
LA2701/LA2701	17	15	88	14	82	12	71	4.8
LA3202/LA3202	17	14	82	13	76	13	76	4.7
LA3526/LA3526	19	17	89	17	89	15	79	5.2

注: 抗性指数范围在 0~6 之间。

## 2.2 番茄抗性砧木对青枯病菌增殖的影响

接种青枯病菌 4 d 左右番茄嫁接植株体内细菌增殖量达到最高值, 之后呈现不同程度的下降趋势。接种青枯病菌 8 d 后, 早冠 30 体内细菌增殖量 ( $3 \times 10^{12}$  cfu) 远远大于抗性砧木 LA3526 的细菌增殖量 ( $1 \times 10^6$  cfu); 而以 LA3526 为砧木、以早冠 30 为接穗的嫁接植株体内细菌增殖量 ( $7 \times 10^6$  cfu) 稍大于 LA3526 但远小于早冠 30, 说明通过嫁接抗性砧木有效地抑制了青枯病菌在体内的增殖(图 1)。

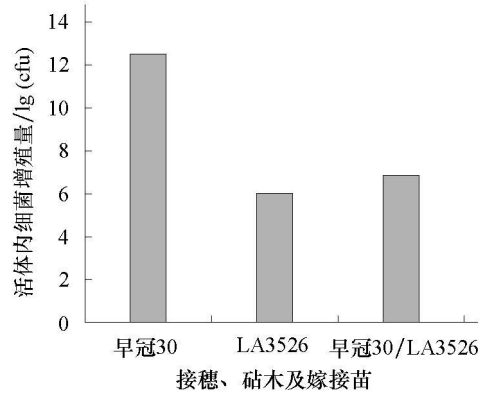


图 1 青枯病菌接种 8 d 后在番茄植株活体内的增殖量

## 3 结论与讨论

以感青枯病材料早冠 30 为接穗, 以抗青枯病材料 LA2701、LA3202 和 LA3526 为砧木进行嫁接, 能有效地提高番茄嫁接苗对青枯病的抗性。其中, 早冠 30/LA2701 和早冠 30/LA3526 嫁接苗抗病性较好。活体内细菌数量分析表明, 抗病砧木有效地抑制了青枯病菌在体内的增殖, 从而提高了嫁接苗对青枯病的抗性。本试验中不同砧木嫁接对番茄产量和果实品质的影响有待进一步分析, 因为嫁接虽然能够促进作物的生长, 提高抗病性和产量, 但可能对果实品质具有负面影响(许传强等, 2005)。

在试验中发现, 接种青枯病菌 4 d 后, 抗病材料 LA3526 和感病材料早冠 30 植株体内的细菌增殖量均达到最高值。是否可将细菌增殖的最高数值作为评判植株抗青枯病的依据, 值得进一步探讨。

### 参考文献

- 李海涛, 邹庆道, 吕书文, 穆欣, 许文奎. 2001 番茄抗青枯病的最适鉴定方法研究. 辽宁农业科学, (4): 1-7.
- 黎振兴, 孙保娟, 李植良. 2006 番茄抗青枯病嫁接苗的规模化生产. 中国蔬菜, (12): 40-41.
- 林明宝, 汪国平, 卢婷, 梁树南, 乐素菊. 2008 番茄抗青枯病材料及抗病基因 SSR 标记的初步筛选. 安徽农业科学, 36 (9): 3538-3539.
- 司玉芹, 郑红玲. 2005 防治番茄青枯病最根本的方法——嫁接育苗. 蔬菜, (4): 22.
- 熊德桃, 缪南生, 胡新龙. 2006 番茄嫁接专用砧木新品种——赣番茄砧 1 号. 蔬菜, (12): 6-7.
- 许传强, 李天来, 齐红岩, 王浩. 2005 嫁接对网纹甜瓜生长发育、产量及品质的影响. 中国蔬菜, (6): 12-14.
- Balaji V, Mayrose M, Sherif Q, Jacob H, Irshch J, Eichenlaub R, Iraki N, Manujis, Sasson S, Rechavi G, Barash J, Sessa G. 2008 Tomato transcriptional changes in response to *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* reveal a role for ethylene in disease development. Plant Physiology 146 (4): 1797-1809.
- Hanson PM, Licaño Q, Hanudip, Wang JF, Chen JT. 1998. Diallel analysis of bacterial wilt resistance in tomato derived from different sources. Plant Disease 82 (1): 74-78.