

番茄抗晚疫病材料的鉴定及初步转育

李君明 杨宇红 宋 燕 徐和金 冯兰香 周永健 莫丽珂

(中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081)

摘 要: 对引入的 LA1033、LA2099、LA1777等 3份多毛番茄人工接种晚疫病, 证明其均高抗我国番茄晚疫病生理小种 T1,2,3, 其中 LA2099和 LA1777还高抗致病力极强的小种 T1,2,3,4。直播杂交转育 F₁ 种子可出苗, 但出苗率极低, 且不同母本遗传背景和多毛番茄材料组合间差异明显。与直播相比, 普通 MS 培养基培养成熟胚可更快速、有效地获得 F₁ 杂交种植株。人工辅助授粉 F₁ 自交, 田间坐果数也存在明显不同。

关键词: 番茄; 晚疫病; 育种

中图分类号: S 641.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2005) 05-0892-03

Identification of Tomato Wild Species Resistant to Late Blight (*Phytophthora infestans*) and Primary Introgression into Cultivars in China

Li Junming, Yang Yuhong, Song Yan, Xu Hejin, Feng Lanxiang, Zhou Yongjian, and Mo L like
(Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: The results from seedling inoculation on 3 accessions *Lycopersicon hirsutum* including LA1033, LA2099 and LA1777 proved that all of them gave a high resistance to *Phytophthora infestans* strains T1,2,3. Moreover, LA2099 and LA1777 also produced a high resistance to strain T1,2,3,4, which was much more pathogenicity for tomato in China. F₁ seeds from crossing these species with tomato lines were sowed in the greenhouse but gave very low germination rate. Significant difference was observed among different combinations, and it mainly depends on the different maternal genetic background and wild accessions. Comparing to direct sowing, mature embryo rescue in MS medium could provide more convenient, efficient and easy way to get F₁ plants. Fruit setting of F₁ pollinated by artificial pollination in the field indicated the great difference which was existed among the combinations. The above identified wild species and the introgression progenies would provide the potential use for tomato breeding resistant to *Phytophthora infestans* in China.

Key words: Tomato; *Phytophthora infestans*; Breeding

1 目的、材料与方法

番茄晚疫病 (*Phytophthora infestans*) 是一种世界性毁灭病害, 在我国许多省市均有发生^[1~3]。目前已鉴定出 *Ph-2*、*Ph-3*等抗晚疫病基因和位于不同染色体的抗病 QTL^[2~4]。作者从美国番茄遗传研究中心引入一些抗晚疫病材料, 就这些材料对我国番茄晚疫病致病性较强的生理小种 T1,2,3和 T1,2,3,4的抗性进行了鉴定, 并作了初步转育。

2001年春季以引入的多毛番茄 (*Lycopersicon hirsutum*) LA1033、LA1777、LA2099为试材, 以 99165、红杂 14、红杂 18为对照, 进行人工接种抗晚疫病鉴定。2001年秋季以 99165、96179-3、红 100、95148、95149、早粉 2号等优良品系为母本, 与上述材料进行了远缘杂交转育并获得了种子。

收稿日期: 2005 - 04 - 05; 修回日期: 2005 - 08 - 05

基金项目: 国家 '863' 计划项目 (2001AA244011); 农业部蔬菜遗传与生理重点开放实验室项目

为了克服远缘杂交不孕，同时采用了成熟胚培养获得 F_1 代植株。2002年春播种上述不同 F_1 种子，花期人工辅助授粉，对 F_1 种子的出苗及植株田间坐果情况进行调查。

成熟胚培养采用普通 MS培养基。成熟果用 70%乙醇和 10%次氯酸钠表面消毒，取出种子并挤压出胚，置于培养基。在温度 $25 \sim 27^\circ\text{C}$ ，光照 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ，光周期 $10 \sim 12 \text{ h}$ 的培养箱中培养。

接种及调查参照冯兰香等^[1]的方法。在番茄幼苗 7~8叶时分别接种 T1,2,3和 T1,2,3,4菌株。每一材料接种 30株，3次重复。依发病等级划分材料的抗感反应类型：0~2.5级为高抗；2.6~4.0级为中抗；4.1~6.0级为感病。

2 结果与分析

2.1 对致病力极强小种 T1,2,3,4高抗材料的鉴定

目前我国已发现晚疫病病菌至少有 8个生理小种，其中小种 T1,2,3和 T1,2,3,4致病力较强^[1]。苗期人工接种鉴定结果表明（表 1），引入的 3份多毛番茄材料，对小种 T1,2,3均表现高抗，尤其是 LA2099和 LA1777对致病力极强的小种 T1,2,3,4还表现高抗，而对照 99615、红杂 14、红杂 18 表现感病。Brouwer 等^[4]报道，LA2099高抗美国的对甲霜灵已产生抗性的晚疫病病菌生理小种。因此获得的 LA2099和 LA1777是我国番茄抗晚疫病育种的宝贵抗源材料。

2.2 胚培养获得远缘杂种

多毛番茄和普通番茄杂交通常存在杂交不亲和性，即不能受精结实或结籽率极低。本试验以 5份优良品系为母本，分别和 3个多毛番茄材料进行杂交，绝大多数杂种种皮呈现浅黑色。表 2 表明，直播杂种 F_1 可出苗，但不同 F_1 出苗率差异较大。有 LA1033参与杂交的组合，出苗率最低，说明其杂交不孕性较高，而与 LA1777杂交较容易获得杂种后代。

采用普通 MS培养基的胚培养克服了杂交不孕的障碍。杂交果实内只要种子外观发育良好，一般均有成熟胚，而且相当数量的成熟胚其胚芽发育良好。在相同母本条件下，LA1777和 LA2099较 LA1033更容易获得胚芽发育完整的成熟胚，说明不同野生材料配子受精过程中亲和性存在一定差异。上述 LA1033的 F_1 种子出苗率较低也说明这一结论。

2.3 远缘杂种特异表型性状

将远缘杂种 F_1 代播种于温室，观察发现，远缘杂种植株和多毛番茄植株极其相似，表现为生长势强，叶片及茎部均着生绒毛，植株有多毛番茄特殊异味。花序较长，开花后柱头外露，可育，但田间自然坐果能力极低，人工授粉后可以提高坐果率（表 3）。相同母本的不同组合间存在一定差异，

表 1 不同番茄材料晚疫病苗期人工接种抗病性鉴定结果

Table 1 The results from artificial inoculation during seedling in different germplasm s				
试材 Materials	T1,2,3		T1,2,3,4	
	平均病级 Disease index	抗病性 Resistant to disease	平均病级 Disease index	抗病性 Resistant to disease
LA1033	2.1	R	4.1	S
LA2099	1.3	R	1.1	R
LA1777	1.2	R	0.4	R
99615 (对照 Control)	5.2	S	4.9	S
红杂 14 Hongza 14 (对照 Control)	5.2	S	4.7	S
红杂 18 Hongza 18 (对照 Control)	5.2	S	4.8	S

注：R：抗病；S：感病。Note: R: resistibility; S: susceptibility

表 2 番茄不同组合及田间播种 F_1 代种子出苗情况

Table 2 The different combinations and the seedlings obtained from F_1 seeds				
母本 Female parents	父本 Male parents	F_1 种子数 Number of F_1 seeds	出苗数 Number of seedlings	出苗率 Rate of seedling(%)
早粉 2 Zaofen 2 99165	LA1033	378	1	0.265
	LA1033	452	0	0.000
	LA1777	445	28	6.292
	LA2099	490	1	0.204
96179-3	LA1033	595	0	0.000
	LA1777	621	6	0.966
	LA2099	1336	6	0.440
	LA1033	748	0	0.000
995148	LA1777	915	6	0.656
	LA2099	480	4	0.833
	LA1033	280	0	0.000
	LA1777	642	27	4.206
95149	LA2099	340	9	2.647
	LA1033	210	1	0.476
	LA1777	175	18	10.286
	LA2099	782	5	0.639

均出现一定比例的僵果，其中以 LA1033 为父本配制的组合坐果率仍然呈现较低的趋势，而以 LA1777 为父本的组合坐果较好。上述结果初步说明 F_1 代自交，自交不孕仍然存在。远缘杂种一代的果实和野生种果实相似，果皮着生较多绒毛，果实较小，果面有褐色条纹，但果实成熟后为黄绿色，单果 10 g 左右，果实内有成熟的种子。

表 3 远缘杂种 F_1 代田间人工授粉自交坐果情况

Table 3 The fruit setting of F_1 plants after artificial pollination

组合名称 Combinations	株数 Number of plants	授粉花朵数 Number of pollinated flowers	坐果数 Number of setting fruits	坐果率 Rate of fruit setting (%)	僵果数 Undeveloped fruits	僵果率 Rate of undeveloped fruit (%)
早粉 2 Zaofen 2 \times LA1033	12	847	5	0.59	1	0.12
99165 \times LA1777	23	1 623	204	12.57	8	0.48
99165 \times LA2099	1	300	150	2.00	0	0.00
96179-3 \times LA1777	5	507	35	6.90	6	1.18
96179-3 \times LA2099	6	59	530	11.13	9	1.70
95148 \times LA1777	4	337	95	28.19	31	9.20
95148 \times LA2099	4	477	97	20.34	3	0.63
95149 \times LA1777	14	1 228	235	19.14	39	3.18
95149 \times LA2099	8	678	122	17.99	0	0.00
红 100 Hong 100 \times LA1033	1	300	105	2.86	0	0.00
红 100 Hong 100 \times LA1777	5	454	50	11.01	5	1.10
红 100 Hong 100 \times LA2099	5	104	665	15.64	11	1.65

参考文献:

- 冯兰香, 杨宇红, 谢丙炎, 冯东昕, 杨翠荣. 中国 18 省市番茄晚疫病生理小种的鉴定. 园艺学报, 2004, 31 (6): 758 ~ 761
Feng L X, Yang Y H, Xie B Y, Feng D X, Yang C R. Identification of physiological race of *Phytophthora infestans* on tomato in eighteen provinces. Acta Horticulturae Sinica, 2004, 31 (6): 758 ~ 761 (in Chinese)
- Moreau P, Thoquet P, Olivier J, Laternot H, Gimbley N. Genetic mapping of *Ph-2*, a single locus controlling partial resistance to *Phytophthora infestans* in tomato. Molecular Plant-Microbe Interaction, 1998, 11: 259 ~ 269
- Chunwongse B J, Chunwongse C, Black L, Hanson P. Molecular mapping of the *Ph-3* gene for late blight in tomato. Journal of Horticultural and Biotechnology, 2002, 77 (3): 281 ~ 286
- Brouwer D J, Jones E S, St Clair D A. QTL analysis of quantitative resistance to *Phytophthora infestans* (late blight) in tomato and comparisons with potato. Genome, 2004, 47: 475 ~ 492

国际葡萄基因组学学术研讨会在美国圣路易斯市召开

国际葡萄基因组学学术研讨会 (International Grape Genomics Symposium) 于 2005 年 7 月 12 ~ 14 日在美国密苏里州圣路易斯市召开。本次会议由西南密苏里州立大学 (SMSU) 主办, 国际葡萄基因组计划 (International Grape Genome Program) 和美国葡萄栽培与酿酒学会东部分会 (ASEV-ES) 协办。与会代表 98 名, 分别来自 16 个国家。大会共收到论文 69 篇, 报告 31 篇, 其余论文以墙报形式交流。中国东北林业大学刘桂丰教授、王军教授和刘关君博士参会, 论文题目为“山葡萄遗传图谱的构建”。

大会分 7 个专题报告, 即葡萄基因组结构与品种改良的遗传学基础、抗病育种的遗传学基础、抗病性和经济性状的 QTL 分析。果实成熟过程中基因的表达、非生物胁迫下的基因表达、病毒侵染下的基因表达、发育过程中的基因表达和功能分析; 特邀美国、法国、意大利、德国、澳大利亚、加拿大、南非的科学家报告最新的研究成果, 部分代表根据自身研究内容在相关专题报告后做大会报告。从本次会议交流的论文内容可以看出, 胁迫下功能基因的表达、高密度连锁图 (抗病性和经济性状的 QTL 分析) 构建及辅助育种、发育过程调控的分子基础、文库的构建及 EST 序列分析、种质资源的遗传学管理、系统发育学研究等为葡萄基因组学研究的热点。

东北林业大学 (王军 供稿)

2005-9-1