



黑龙江省番茄根结线虫病病原鉴定及抗病种质资源筛选

于秋菊 李景富 许向阳 王 富 王傲雪

(东北农业大学蔬菜园艺系 哈尔滨 150030)

摘 要 对黑龙江省大庆市温室内的番茄根结线虫进行形态鉴定和苗期抗病性鉴定技术研究,结果表明该线虫为南方根结线虫;采用接种苗龄 30 d(天),接种深度 10 cm,接种量 5 000 条·株⁻¹,接种天数 50 d(天)为最佳组合。用该鉴定方法对 18 份番茄材料进行苗期抗根结线虫病鉴定,筛选出免疫材料 2 份,高抗材料 4 份,强抗材料 4 份,中抗材料 2 份,微抗材料 1 份,其余 5 份为易感材料。

关键词 番茄 根结线虫病 病原鉴定 抗源筛选

根结线虫是分布最广,危害最重的植物寄生线虫,可使世界农业年平均减产 24.5%^[1],故相继引起世界各国的关注。目前已报道的根结线虫约有 70 种,寄主植物达 2 000 种以上^[2]。我国热带、亚热带地区的省份及寒带温室蔬菜都有根结线虫病发生,一般造成减产 10%~20%;在一些南方省份根结线虫病已成为蔬菜生产的严重障碍。北方由于气候原因,多在保护地中发生,但大有发展、蔓延的趋势。番茄是根结线虫较为普遍的蔬菜寄主,但大多数现有番茄品种对根结线虫均缺乏抗性。因此加强对番茄根结线虫病的研究,选育(选用)抗性(耐性)品种具有重要的现实意义。

1 材料与方 法

1.1 供试材料

1.1.1 供试根结线虫 1997~1998 年在大庆农工商全光(玻璃)温室内划分病区,每区分 5 点取样(根样加根际土壤),共取样品 40 份,每份 500 g 左右,装入塑料袋密封带回,部分于 4℃ 下冰箱保存,其余接于感病品种上。进行抗性鉴定方法筛选及抗源筛选时,

用营养液法大量繁殖根结线虫。

1.1.2 供试番茄材料 繁殖线虫和抗性鉴定方法筛选用感病品种齐研矮粉,抗源筛选为本课题组提供的 18 份番茄高代材料,抗性评定的标准品种为北卡罗来纳州立大学提供的 Rutgers。

1.2 试验方法

1.2.1 形态鉴定 线虫分离:根样采用直接解剖法、培养法及贝曼漏斗法;土样采用贝曼漏斗法及过筛法。线虫固定:将分离到的线虫放入热的 TAF 液中杀死、固定,在青霉素小瓶中保存。会阴花纹制备:将新鲜的根结放在沸腾的棉兰乳酚油中染色,在乳酚油中去掉植物组织颜色并挑拨雌虫,于 Olympus 解剖镜下切取会阴部,移置纯甘油中封片,在光学显微镜下观察、测量,在 Olympus 显微镜下摄影。虫体观察测量:幼虫、雄虫、雌虫杀死固定后在光学显微镜下观察、测量。并用德曼氏公式(De Man)计算^[4]。其中 L = 虫体长度, a = 体长(L)/虫体最大宽度, b = 体长(L)/自头顶至食道末长度, b = 体长(L)/自头顶至中食道球长度, c = 体长(L)/尾长(肛门至尾尖), o = 吻针基球至背食道腺开

口的长度/吻针长度。 种类鉴定:参照文献 [5,6]进行。

1.2.2 抗病性鉴定方法筛选 采用 $L_9(3^4)$ 正交设计,3次重复,随机区组排列,盆栽。基质为沙质土壤,用高压灭菌。番茄分期播种,接种后按常规方法管理,各处理到既定接种天数时,小心地倒出盆土,用清水冲去根上沙土,调查根结数,并进行分级(表2),计算根结指数。

表1 番茄根结线虫病抗性鉴定试验因素与水平

因素	水平1	水平2	水平3
接种苗龄 A/d	A ₁ 30	A ₂ 40	A ₃ 50
接种深度 B/cm	B ₁ 0+10	B ₂ 5	B ₃ 10
接种量 C/条·株 ⁻¹	C ₁ 1000	C ₂ 3000	C ₃ 5000
接种天数 D/d	D ₁ 30	D ₂ 40	D ₃ 50

表2 抗性鉴定分级标准^[4]

级别	根结数
0级	没有根结
1级	1~15个
2级	16~25个
3级	26~50个
4级	51~75个
5级	76个以上

1.2.3 抗原材料筛选 采用筛选出的最佳方法,对供试材料进行抗性鉴定,3次重复,随机区组排列,每个处理5株,对照为通用的易感品种 Rutgers,根结分级标准同表2,而材料抗感性划分如下。易感:线虫在其上可以正常生殖;微抗:线虫在其上的生殖率是易感品种的25%~50%;中抗:线虫在其上的生殖率是易感品种的10%~25%;强抗:线虫在其上的生殖率是易感品种的1%~10%;高抗:线虫在其上也能生殖,但小于在易感品种上的1%;免疫:线虫在其上不能生殖。

2 结果与结论

2.1 形态鉴定结果

根据主要形态特征与测量数据以及根结性状,黑龙江省番茄根结线虫为南方根结线虫(*Meloidogyne incognita*)。

雌虫:L = 837.96 μm(522.5 ~ 1 196.76), W = 505.83 μm(346.30 ~ 697.69),颈长 = 24.38 μm(15.278 ~ 37.685),a = 1.656 6,b = 9.330 4,o = 38.34。

雌虫体白呈卵圆形或鸭梨形,体形不对称,颈部通常向腹面弯曲,排泄孔位于口针基部球处,会阴花纹呈卵圆形或椭圆形,背弓纹明显的高,弓顶平或稍圆,背纹紧密或稀疏,由平滑到波浪形的线纹组成,一些线纹向侧面分叉,但无明显侧线,无翼,无刻点,腹纹较平或圆,光滑。

雄虫:L = 535.537 μm(430.83 ~ 845.37), a = 16.332,b = 3.912 7,b = 6.688 3,c = 11.898 0,o = 43.949。

雄虫细长,虫体透明,在样品中存在极少,交合刺细长,末端尖,弯曲成弓状。

二龄幼虫长为375 μm,尾长32 μm,头部渐细锐圆,尾尖渐尖,中间体段为柱形。

番茄根上的根结初期白色,圆形,微透明。后期变褐,严重时多个根结连在一起,形成直径大小不等的肿瘤。晚期腐烂。根结上不再生出小侧根。

2.2 抗性鉴定方法筛选结果

根结指数的方差分析结果表明,接种苗龄、接种深度和接种量对根结指数均有极显著的影响,而接种天数对根结指数有显著影响。

表3 番茄根结线虫病根结指数方差分析

变因	df	SS	Ms	F	F _{0.05}	F _{0.01}
区组	2	32.00	16.00	1.04	3.63	6.23
A	2	458.67	229.34	14.94**		
B	2	920.89	460.45	30.04**		
C	2	1 112.89	556.45	36.30**		
D	2	184.89	92.45	6.03*		
误差	16	245.33	15.33			
总变异	26					

各处理组合的多重比较表明,接种苗龄30 d(天),接种深度10 cm,接种量5 000条·株⁻¹,接种天数50 d(天)为最佳组合,也是本实验确认的抗性鉴定方法(表4)。

表 4 不同处理组合的根结指数 Duncan 氏测验

处理组合	根结指数累加值	差异显著性	
		0.05	0.01
A ₁ B ₃ C ₃ D ₃	296	a	A
A ₂ B ₁ C ₂ D ₃	292	ab	A
A ₃ B ₁ C ₃ D ₂	272	b	AB
A ₂ B ₂ C ₃ D ₁	248	c	BC
A ₁ B ₁ C ₁ D ₁	248	c	BC
A ₁ B ₂ C ₂ D ₂	240	c	C
A ₃ B ₃ C ₂ D ₁	232	c	C
A ₂ B ₃ C ₁ D ₂	232	c	C
A ₃ B ₂ C ₁ D ₃	196	d	D

2.3 抗源材料筛选结果

以 Rutgers 为易感对照品种,用上述最佳组合进行抗性鉴定,对 18 份材料的抗性鉴定结果如下:免疫材料 2 份、高抗材料 4 份、强抗材料 4 份、中抗材料 2 份、微抗材料 1 份、易感材料 5 份。对各材料进行根结指数方差分析表明:在免疫、高抗和强抗材料之间,根结指数无显著差异(表 5)。

表 5 抗源材料筛选结果

材料	平均每株根结数	根结数占 CK 百分比/%	抗性鉴定分级	差异显著性	
				0.05	0.01
N ₁₇	233.33	118.644	易感	a	A
N ₁₀	209.78	106.670	易感	b	B
CK	196.67	—	易感	c	B
N ₃₂	176.44	89.717	易感	d	C
N ₃₄	137.67	70.000	易感	e	D
N ₁	130.78	66.497	易感	e	D
N ₁₁	93.22	47.402	微抗	f	E
N ₆	41.22	20.961	中抗	g	F
N ₅	39.89	20.170	中抗	g	F
N ₂	10.67	5.424	强抗	h	G
N ₂₃	6.33	3.220	强抗	h	G
N ₂₂	3.78	1.920	强抗	h	G
N ₂₀	2.78	1.412	强抗	h	G
N ₃	1.55	0.792	高抗	h	G
N ₃₆	1.00	0.509	高抗	h	G
N ₃₀	0.33	0.170	高抗	h	G
N ₃₈	0.11	0.056	高抗	h	G
N ₂₉	0	0	免疫	h	G
N ₄₀	0	0	免疫	h	G

3 讨论

对于根结线虫的种类鉴定,目前我国

绝大多数学者均采用形态特征鉴定,当虫体形态稳定时,这一鉴定方法准确,但当虫体形态不稳定时,由于根结线虫不同种类之间存在着鉴定指标的重叠现象,而且同一种的不同个体之间又存在着差异,所以使形态特征鉴定的准确性降低,此时最好采用国际根结线虫协作组(IMP)应用的一套综合鉴定法。

在进行抗性育种时,首先要对现有的番茄品种进行抗性鉴定,国外学者早在 1940 年即开始,但是不同的研究者有不同的抗性鉴定方法,主要差别在于使用不同的接种源、接种苗龄、接种量和接种天数,而这些因素对植株的根结数均有很大影响,因此笔者认为选出一套适合的抗性鉴定方法是极为必要的,从本实验正交法得出的结果来看,以最小苗龄,最大接种量,最深接种部位,最长接种时间接种为最佳组合。另外,由于当时没有抗感性差异明显的番茄品种,于是在因素选择上并没有加入品种因素,因此此方法的适用性有待于进一步实验证明。

南方根结线虫有 4 个生理小种,小种具有寄主专化性,而且不同小种对同一植株(品种)的致病力也不同,因此进一步将本地区南方根结线虫鉴定到生理小种在育种上是非常必要的。

南方根结线虫在我国应存在于温暖地带,而现在在寒冷的北方保护地内(辽宁、黑龙江)都已出现,因此查明南方根结线虫传播到本地区的主要途径并予以高度重视具有重要的现实意义。目前许多常规蔬菜对根结线虫高度感病,而且在同一棚室内又经常出现连作现象,所以,在目前尚无抗病品种的情况下,利用杀线虫剂并结合轮作是适宜的防治措施;但从长远来看,利用筛选出的材料进行抗性育种,是最经济最有效的防治方法。

参考文献

- 1 泰勒 AL, 萨塞 JN. 植物根结线虫(生物学、分类鉴定和防治). 北京:科学出版社,1983,3

豇豆锈菌夏孢子接种条件的研究^{*}

曾永三^{1**} 王振中¹ 赵琛²

(¹ 华南农业大学资源环境学院 广州 510642; ² 仲恺农业技术学院植物保护系)

摘要 对影响豇豆锈菌夏孢子萌发的基质、温度、光照及接种方法、接种物浓度、接种保湿时间和温度等条件进行了研究。结果表明,豇豆锈菌(*Uromyces vignae*)夏孢子在灭菌清水、蒸馏水、1%葡萄糖液、1%蔗糖液、豇豆叶煎煮液和豇豆叶表面均能萌发,结果没有明显差异;在无菌水中25℃下,最易萌发且以半暗半光条件萌发最好;喷雾法接种效果稍优于浸蘸法,且操作更方便;在26~28℃下,发病程度与接种保湿时间呈正相关,以18~24 h(小时)为佳;接种孢子浓度以 3.24×10^5 个 mL^{-1} 为宜,接种最适温度为23~26℃。

关键词 豇豆锈菌 萌发 接种

豇豆锈病(*Uromyces vignae* Barc1)是豇豆上的一种重要病害,常导致叶片早衰甚至枯萎,影响后期产量。对于该病,国外研究较多的是其病原物的侵染结构及豇豆对侵染的生理生化反应^[1~4];国内近年对部分豇豆品种

进行了抗性鉴定^[5]。笔者1997年开展了有关此病菌孢子萌发和接种条件方面的探讨,以期为该病的深入研究提供参考。

1 材料与方法

收稿日期:1998-08-07

* 广东省“千百十工程”优秀人才基金资助项目

** 现在仲恺农业技术学院植物保护系工作

- 胡先奇,喻盛. 利用性反转特性大量获取四种常见根结线虫雄虫. 云南农业大学学报,1997,12(1):7~10
- Lambert kn, Ec, Tedford Et. A System for continuous production of root-knot nematode juveniles in Hydroponic culture. Phytopathology 1992, 82(5):512~515
- 方中达. 植病研究方法. 北京:农业出版社,1979,298~299

- Jepson S.B. Identification of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species). Aberystwyth: CAB. International, 1987, 45~191
- Eisenback J.D., Hirschmann H., Triantaphyllou A.C. Morphological comparison of *Meloidogyne* Female Head structures, perineal patterns and stylets. Journal of Nematology. 1980, 12(4):300~313

Identification of Root-knot Nematode (*M. spp*) on Tomato in Heilongjiang Province and the Screening of Resistant Materials Yu Qiuju, Li Jingfu, Xu Xiangyang, et al. (Northeast Agricultural University, Harbin 150030)

Abstract This experiment investigated root-knot nematodes on tomato in Heilongjiang province in 1997-1998. Nematodes happened seriously only in greenhouse in Daqing. Morphological identification showed that this nematode was *Meloidogyne incognita*. The identifying technique of tomato's seedling resistance to root-knot nematode is that 30 days' seedling inoculated 5 000 individuals per plant in 10 cm deep. Data were recorded in 50 days after inoculation. By adopting this identifying technique, two immune, four highly resistant, four strongly resistant, one slightly resistant and five susceptible materials were identified.

Key words Tomato, Root-knot nematode, Identification of pathogen, Screening of resistant source