

2 个辣椒疫病抗性资源的抗性遗传分析

李智军^{1,2}, 龙卫平¹, 郑锦荣¹, 雷建军², 张衍荣¹, 李春艳¹

(1 广东省农业科学院 良种苗木中心, 广东 广州 510640; 2 华南农业大学 园艺学院, 广东 广州 510642)

摘要:采用经典遗传分析方法,对来源于泰国和印度的 2 个辣椒疫病抗性资源 Bangchang 和 P038 的疫病抗性遗传规律进行了研究. 试验将 2 个抗性资源分别与高感疫病自交系 020 和 L23-9 配对组合,建立各自的抗感亲本、F₁ (正反交)、F₂ 及 BC₁ (回交)4 个世代群体,选用分离自广东的辣椒疫霉菌菌株 ZLT0566 作为侵染病原菌,用苗期灌根接种法对其各世代群体植株进行抗性鉴定,F₂ 及 BC₁ 群体的抗感植株分离比例采用 χ^2 测验进行适合性检测,结果表明:Bangchang 对广东辣椒疫霉菌菌株 ZLT0566 的抗性遗传符合 1 对不完全显性基因控制模式,而 P038 的抗性遗传符合 2 对相互独立的不完全显性互补基因控制模式.

关键词:辣椒; 疫病; 抗性; 遗传分析

中图分类号:S432. 21

文献标识码:A

文章编号:1001-411X(2008)02-0030-04

Genetic Analysis of the Resistance to *Phytophthora capsici* in Two *Phytophthora* Blight Resistant Varieties of Pepper

LI Zhi-jun^{1,2}, LONG Wei-ping¹, ZHENG Jin-rong¹, LEI Jian-jun², ZHANG Yan-rong¹, LI Chun-yan¹

(1 Seed and Seedling Centre, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China;

2 College of Horticulture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: The inheritances of resistance to *Phytophthora capsici* in two phytophthora blight resistant varieties, a pepper cultivar Bangchang from Thailand and a wild pepper P038 from India were studied by the traditional genetic analysis method. In the present study, the F₁, F₂ and reciprocal cross (BC₁) populations were developed by two phytophthora blight resistant varieties hybridization with highly susceptible inbred line 020 and L23-9, respectively. The resistance of plants of each population was evaluated by irrigating method using a Guangdong isolate ZLT0566 of *P. capsici* as inoculum. The segregation ratios of the resistant to susceptible plants in F₂ and BC₁ populations were analyzed by χ^2 test. The results showed that Bangchang carries a single incomplete dominant gene controlling the resistance to Guangdong isolate ZLT0566, and the resistance of P038 is governed by two incomplete dominant complementary genes.

Key words: pepper; phytophthora blight; resistance; genetic analysis

辣椒疫病(phytophthora blight)是我国辣椒生产上重要的病害之一,由辣椒疫霉菌 *Phytophthora capsici* Leonian 侵染引起. 近年来,该病在广东、广西、海南等华南地区发生日趋频繁,给辣椒生产带来了严重的损失^[1-4]. 目前,培育和推广抗病品种依然是防御该病的一条安全和经济有效的途径,而广泛搜集辣椒资源、筛选疫病抗性资源及对其进行抗性遗传分析是进行辣椒抗性基因转育和培育疫病抗性品

种的基础. 对于辣椒疫病抗性的遗传分析,至今国外已有较多的研究报道,但结果不一,这与不同研究者所使用的抗性资源、病原菌菌株、抗性鉴定方法及抗性判定标准等有关^[5-13]. 广东省农科集团良种苗木中心从泰国和印度引进了 2 个高抗病资源材料 Bangchang 和 P038,为了有效利用它们的抗病性和建立合理的抗性基因转育体系,本研究采用传统遗传分析方法对其抗性遗传进行了分析.

收稿日期:2007-03-12

作者简介:李智军(1965-),男,副研究员,博士,E-mail:lizhijun04@yahoo.com.cn

基金项目:广东省科技计划项目(2004A20103001);广州市科技攻关重点项目(2005Z2-E0071);广东省农业厅引进项目(粤财农(2006)436号)

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试的2个辣椒疫病抗性资源 Bangchang 和 P038 分别来源于泰国和印度。前者为泰国的一个栽培品种,该品种叶长椭圆形,果实羊角形,果长11~13 cm,果皮墨绿色;后者是印度的一个野生种,叶近卵圆形,果实羊角形、朝天,果长约3 cm,果皮浅绿色。为了分析它们的抗性遗传规律,分别选用2个高感疫病自交系 020 和 L23-9 与之配组,020 为大果型青皮椒,L23-9 为大果型黄皮椒;接种病原菌选用分离自广东地区的辣椒疫霉优势菌株 ZLT0566^[14]。

1.2 亲本抗性鉴定

对2个抗性资源亲本的疫病抗性分别进行了苗期灌根接种和田间自然发病鉴定。苗期灌根接种鉴定于2005年8—9月进行,以高感疫病甜椒品种茄门作为对照。种子直播于塑料育苗盘($h \times d = 7 \text{ cm} \times 5 \text{ cm}$,100穴),基质使用消毒草炭土和蛭石(体积比为3:1)的混合物,当幼苗生长至6~7叶龄(35~40 d)时,按郑小波^[15]叙述的方法配制游动孢子接种液,接种游动孢子浓度为 $2 \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$,接种量为3 mL/株,于距植株根际1~2 cm处用针筒小心注入接种液。接种后第7 d,按文献[16]的分级标准记载发病级别。田间自然发病鉴定于2006年2—5月进行,同样用高感疫病甜椒茄门作为对照,于对照种充分发病时调查发病情况。田间病级划分:0级,无发病症状;1级,个别的枝条分叉处或幼嫩茎叶出现褐变病斑;2级,植株1/3分枝因发生疫病凋萎或枯死;3级,植株1/2分枝因发生疫病凋萎或枯死;4级,植株2/3分枝因发生疫病凋萎或枯死;5级,全株枯死。

1.3 杂交组合配制

2005年4月,用人工去雄蕾期授粉的杂交方法,

分别进行 Bangchang 与 020 和 P038 与 L23-9 的正反交,获得各自正反交 F_1 ;2005年9月,用网纱罩住 Bangchang \times 020 和 P038 \times L23-9 F_1 植株让其自然授粉留种,得到 F_2 ;用正交 F_1 与各自感病亲本进行人工去雄杂交,获得回交种 BC_1 。

1.4 群体植株抗性反应鉴定与统计分析

Bangchang \times 020 组合的亲本、 F_1 (正反交)及 P038 \times L23-9 组合的亲本、 F_1 (正反交)和 F_2 群体的抗性鉴定于2006年3—5月进行, Bangchang \times 020 组合的 F_2 、 BC_1 及 P038 \times L23-9 组合的 BC_1 于2006年7—9月鉴定。2抗感组合的亲本及正反交 F_1 播种40~45粒, F_2 及 BC_1 播种200粒。为了尽可能避免植株因阶段性抗性表达而引起抗性判定错误,接种于幼苗生长至具有7~8展开叶(苗龄45~50 d)时进行。接种病原菌菌株、接种游动孢子浓度及接种量等同1.2。接种后,每3~4 d调查1次发病情况,当2对组合各自感病亲本植株充分发病(病级达4级以上)时,记载各植株的发病级别。本试验中,2组感病亲本的所有个体病级在接种后10 d均达到了4~5级,因此凡发病病级在4级以下(0~3级)的植株均认定为抗病株,而发病达4~5级者则划分为感病株。 F_2 及 BC_1 群体的抗感植株分离比例采用 χ^2 测验进行适合性分析。

2 结果与分析

2.1 亲本抗性表现

从表1可以看出,无论是苗期接种鉴定还是田间自然发病鉴定均表明来源于泰国和印度的2个疫病抗原 Bangchang 和 P038 对广东辣椒疫霉菌菌株 ZLT0566 都表现出极高的抗性,相反用于与其配组的自交系 020 和 L23-9 则高感疫病,其敏感程度几乎等同于对照种,这说明抗感亲本之间的疫病抗性差异显著。

表1 亲本疫病抗性的评价

Tab.1 Evaluation of the resistance to *Phytophthora capsici* in parents

亲本 parent	苗期接种鉴定 identified by irrigating method		田间鉴定 assessment in field		抗性评价 resistance evaluation
	平均病级 disease rating	变幅 range	平均病级 disease rating	变幅 range	
	Bangchang	0.3	0~1	0.2	
020	4.6	4~5	4.4	3~5	高感 HS
P038	0.1	0~1	0.2	0~1	高抗 HR
L23-9	4.9	4~5	4.1	3~5	高感 HS
茄门(CK)	4.7	4~5	4.9	3~5	高感 HS

2.2 泰国栽培种 Bangchang 的抗性遗传

用广东辣椒疫霉菌菌株 ZLT0566 对栽培种 Bangchang 与高感自交系 020 组合的亲本、 F_1 、 F_2 及 BC_1 各群体植株进行了苗期抗性鉴定,结果见表2。

Bangchang \times 020 的 F_1 群体植株的病级处于0~3级,平均病级为1.90,低于亲本病级中亲值的2.50,其抗性表现偏向于抗性亲本,反交 F_1 群体的抗性表现与正交 F_1 类似,表明 Bangchang 的疫病抗性由细胞

核的不完全显性基因所控制. 在 F_2 代分离群体中, 鉴定的 183 株幼苗植株有 130 株为抗病型, 53 株为感病型, 经 χ^2 测验其抗感植株分离比例符合 3R:1S 理论比例 ($\chi^2_{\{3:1\}} = 1.328 < 3.48$), 而从 F_1 与感病亲本回交的 BC_1 代分离情况看, 在鉴定的 182 株

之中分离出了 94 株抗病型植株, 感病株 88 株, 经 χ^2 测验其抗感比例符合 1R:1S 的理论比例 ($\chi^2_{\{1:1\}} = 0.137 < 3.48$), 说明其抗性遗传符合 1 对显性基因控制模式.

表 2 Bangchang \times 020 组合亲本、 F_1 、 F_2 及 BC_1 群体的疫病抗性反应

Tab. 2 The resistance to *Phytophthora capsici* in the parents, F_1 , F_2 and BC_1 populations of Bangchang \times 020

亲本或组合 parent or cross combination	世代 generation	株数 number of plants						抗感比 ratio of R to S	理论比例 theoretical ratio(R: S)	χ^2 ($\chi^2_{0.05,1.00} = 3.84$)
		抗(R)			感(S)					
		0	1	2	3	4	5			
Bangchang	P_1	28	2	0	0	0	0	1:0		
020	P_2	0	0	0	0	6	24	0:1		
Bangchang \times 020	F_1	2	5	18	5	0	0	1:0		
反交 reciprocal cross	F_1	3	2	17	8	0	0	1:0		
	F_2	75	26	25	4	5	48	130:53	1.328	
(Bangchang \times 020) \times 020	BC_1	79	3	9	3	33	55	94:88	0.137	

2.3 印度野生种 P038 的抗性遗传

P038 \times L23-9 的亲本、 F_1 、 F_2 及 BC_1 群体植株对广东辣椒疫霉菌菌株 ZLT0566 的抗性表现见表 3. 正交 F_1 群体的植株病级处于 0~3 级, 平均为 1.90, 介于抗、感亲本之间, 其抗性水平偏向于抗性亲本, 反交 F_1 群体的抗性表现与正交 F_1 类似, 表明 P038 的疫病抗性由核基因所控制, 表现为不完全显性. 从 F_2 代分离群体的抗性分析, 在检测的 174 株中有 106

株为抗病型, 68 株为感病型, 经 χ^2 测验其抗感植株分离比例符合 9R:7S 理论比例 ($\chi^2_{\{9:7\}} = 1.358 < 3.48$). 另外, 在正交 F_1 与感病亲本的回交 BC_1 代群体中, 分离出了 52 株抗病型植株和 133 株感病型植株, 经 χ^2 测验抗感植株分离比例符合 1R:3S 的理论比例 ($\chi^2_{\{1:3\}} = 0.795 < 3.48$). 因此, 认为 P038 对菌株 ZLT0566 的抗性遗传符合 2 对显性互补基因控制模式.

表 3 P038 \times L23-9 组合亲本、 F_1 、 F_2 及 BC_1 群体的抗性反应

Tab. 3 The resistance to *Phytophthora capsici* in the parents, F_1 , F_2 and BC_1 populations of P038 \times L23-9

亲本组合 cross combination	世代 generation	株数 number of plants						抗感比 ratio of R to S	理论比例 theoretical ratio(R: S)	χ^2 ($\chi^2_{0.05,1.00} = 3.84$)
		抗(R)			感(S)					
		0	1	2	3	4	5			
P038	P_1	26	4	0	0	0	0	1:0		
L23-9	P_2	0	0	0	0	2	28	0:1		
P038 \times L23-9	F_1	2	9	9	10	0	0	1:0		
反交 reciprocal cross	F_1	3	5	10	11	1	0	1:0		
	F_2	58	17	14	17	35	33	106:68	1.358	
(P038 \times L23-9) \times L23-9	BC_1	29	8	6	6	66	67	52:133	0.795	

3 讨论

迄今为止, 利用传统遗传分析方法对辣椒疫病抗性遗传进行研究的报道不少, 归纳起来辣椒疫病的抗性遗传有单基因^[5-7]、寡基因^[8-11]和多基因控制等多种模式^[12-13], 而且对于一些相同的抗性资源或其自交系的抗性遗传分析结果还因研究者的不同而有很大的差异. 如 Barksdale 等^[7]报道选自墨西哥辣椒疫病抗性资源 PI201234 的自交系 Fyuco 和 P51 的抗性受单显性基因和少数修饰基因控制, 而 Kim 等^[8]的研究则证明 PI201234 的疫病抗性遗传是由 1 个显性基因控制的. Guerrero-Moreno 等^[9]的研究表

明墨西哥野生种 SCM334 的抗性遗传受 2 个非连锁的隐性基因控制, 但 Gil Ortega 等^[10]对 SCM334 和 Linea 29 的抗性遗传进行了分析认为这 2 个抗性资源中存在 3 个抗性等位基因位点, 只有当这些位点同时具有 3 个抗性基因或任何位点上有 4 个抗性等位基因时才表现抗性, 然而 Reifschneider 等^[11]利用灌根接种法对 SCM334 的自交系 CNPH148 的抗性遗传进行分析却表明其抗性受 1 个显性基因和 1 个上位基因控制. 这些抗性遗传分析结果一方面说明在辣椒基因组中本身存在着丰富多样的抗病性基因, 另一方面也表明辣椒疫病抗性的表达具有较为复杂的机制, 由此而导致因使用的病原菌株、鉴定方法及抗性

判定标准等的不同而得出不尽相同的结论。

在影响辣椒疫病抗性遗传分析结果的因素当中,植株苗龄是一个重要的影响因子。据 Kim^[8]等的研究报告,辣椒疫病抗性表达与株龄的大小明显有关,感病品种和抗病品种的抗性均随株龄增加而增大,但感抗品种之间的抗性差异用灌根接种法鉴定比用茎接种或叶片喷雾接种鉴定更加明显和更可靠。笔者之前的一些预备试验结果也显示出这一倾向。由于灌根接种法比较接近辣椒疫霉菌在自然条件下的侵染过程,因此本研究采用该法对来源于泰国和印度的2个抗性资源对广东疫霉菌菌株 ZLT0566 的抗性和抗性遗传规律进行鉴定和分析。根据对各世代群体的抗性反应分析结果,来源于泰国的 Bangchang 栽培种对广东辣椒疫霉菌菌株 ZLT0566 的抗性遗传符合1对不完全显性基因控制模式。这一结果与 Yamakawa 等^[17]对抗病品系 LS279 进行的抗性遗传分析结果相同;而来源于印度的野生种 P038 的抗性遗传则符合2对不完全显性互补基因控制模式,与 Pochard 等^[18]根据对抗病 PM217 和感病 Yolo Wonder 杂交后代抗性分离进行分析得出的结果一致。由于这2个抗性资源的抗性遗传是由少数基因控制的,因此相对容易通过遗传改良方法将其抗性基因转育到具有优良商品性状的品种或育种材料中去,其中泰国栽培种 Bangchang 的抗性遗传仅由1对显性基因决定,且果实形状远优于印度野生种 B038,可以说在目前的育种技术条件下 Bangchang 的利用价值较高。至于集合两者的抗性基因能否产生出更高的抗性,则是下一步研究的主要内容之一。

近年,利用分子标记技术对辣椒疫病抗性基因进行的研究表明,参与疫病抗性反应有多个基因位点^[19]。在本试验中,2个外来抗性资源对广东辣椒疫霉优势菌株均有很好的抗性,其抗性水平近乎达到免疫程度。从它们的抗性遗传模式看,对广东菌株 ZLT0566 的抗性符合1个或2个核基因控制模式,但是从它们与高感自交系杂交的 F₁、F₂ 和 BC₁ 群体的植株抗性表现分析,植株的抗性表现并不像一般质量性状遗传那样可明显划分界线,而是有较大的变幅。除了植株生理年龄的不同会导致抗性的阶段性表达差异外,似乎一些微效基因也参与了抗性表达,有关微效基因有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 鲁占魁,樊仲庆,黄刚.我国辣椒疫病的发生及防治研究[J].宁夏农林科技,1995(2):22-25.
- [2] 张超冲,陈盛强.广西辣椒疫病的发生与防治[J].中国蔬菜,1995(6):28-29.
- [3] 王得元,安康,王汝贤.广州市辣椒疫病病原鉴定[J].广东农业科学,2001(2):37-39.
- [4] 贺春萍,曾会才,郑服丛,等.海南植物疫霉菌种类鉴定

[J].广西植保,2002,15(2):6-8.

- [5] SMITH P G, KIMBLE K A, GROGAN R G, et al. Inheritance of resistance in peppers to phytophthora root rot [J]. Phytopathology, 1967,57:377-379.
- [6] SAINI S S, SHARMA P P. Inheritance of resistance to fruit rot(*Phytophthora capsici* Leon.) and induction of resistance in bell pepper(*Capsicum annuum* L.) [J]. Euphytica, 1978, 27:721-723.
- [7] BARKSDALE T H, PAPAIVIZAS G S, JOHNSTON S A, et al. Resistance to foliar blight and crown rot of pepper caused by *Phytophthora capsici* [J]. Plant Dis, 1984,68(6):506-509.
- [8] KIM Y J, HWANG B K, PARK K W. Expression of age-related resistance in pepper plants infected with *Phytophthora capsici*[J]. Plant Dis, 1989,73(9):745-747.
- [9] GUERRERO-MORENO A, LABORDE J A. Current status of pepper breeding for resistance to *Phytophthora capsici* in Mexico;Proc. IVth Eucarpia Meeting on Capsicum, Wageningen (The Netherlands), October 14-16[C]. Wageningen;Eucarpia Capsicum Working Group,1980:52-56.
- [10] GIL ORTEGA R, ESPAÑOL P C, ZUECO J C. Genetics of resistance to *Phytophthora capsici* in the Mexican pepper 'Linea 29' [J]. EPPO Bulletin,1990,20(1):117-122.
- [11] REIFSCHNEIDER F J B, BOITEUX L S, VECCHIA P T D, et al. Inheritance of adult-plant resistance to *Phytophthora capsici* in pepper[J]. Euphytica,1992,62:45-49.
- [12] POCHARD E, DAUBEZE A M. Study and evaluation of the components of a case of polygenic resistance;The resistance of red pepper to *Phytophthora capsici*[J]. Ann Amelior Plant, 1980, 30:377-398.
- [13] 易图永,谢丙炎,张宝玺,等.辣椒 93-100-17-1-0 抗病病遗传规律的初步研究[J].石河子大学学报:自然科学版,2004,22(增刊):75-77.
- [14] 李智军,龙卫平,郑锦荣,等.广东辣椒疫霉菌分离鉴定及其致病力和生理小种分化研究[J].华南农业大学学报,2007,28(1):50-54.
- [15] 郑小波.疫霉菌及其研究技术[M].北京:中国农业出版社,1997:10-132.
- [16] 易图永,张宝玺,谢丙炎,等.辣椒疫病三种接种方法的比较[J].中国蔬菜,2003(2):16-18.
- [17] YAMAKAWA K, MOCHIZUKI T, YASUI H. Screening cultivated and wild red peppers for *Phytophthora capsici* resistance and its inheritance [J]. Bull Veg Orn Crops Res, 1979,6:29-37.
- [18] POCHARD E, CHAMBONNET D. Méthodes de sélection du piment pour la résistance au *Phytophthora capsici* et au virus du concombre[J]. Ann Facol Scien Agric Univ Torino, 1971, 7: 270-281.
- [19] LEFEBVRE V, PALLOIX A. Both epistatic and additive effects of QTLs are involved in polygenic induced resistance to disease: a case study, the interaction pepper-*Phytophthora capsici* Leonian [J]. Theor Appl Genet, 1996, 93(4):503-511.