

番茄斑萎病毒 TSWV 的鉴定及抗病种质的筛选

邱树亮, 王孝宣, 杜永臣*, 高建昌, 国艳梅, 朱德蔚, 胡 鸿, 李宝聚, 石延霞

(中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081)

摘 要: 在北京顺义地区番茄栽培温室中随机抽取了 15 份疑似感染番茄斑萎病毒 (TSWV) 的植株叶片和果实, 利用 TSWV 试剂盒进行 DAS-ELISA 检测, 结果均为阳性, 表明其感染了 TSWV。利用来自秘鲁番茄的抗 TSWV 基因 *Sw-5* 的共显性 SCAR 标记, 对 442 份番茄材料进行分析, 筛选出 24 份含有 *Sw-5* 的材料, 其中 4 份为野生番茄, 1 份为杂交种, 16 份为高代育种自交系, 3 份为野生潘那利番茄渐渗系。4 份野生番茄综合农艺性状较差, 如果实小、产量低、品质和风味差等, 不能直接应用于育种; 其余 20 份含 *Sw-5* 的材料综合农艺性状较好, 可作为番茄抗 TSWV 的育种材料。

关键词: 番茄; 番茄斑萎病毒; *Sw-5*; 抗病育种

中图分类号: S 641.2

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2012) 06-1107-08

Identification of *Tomato spotted wilt virus* and Screening for Resistant Sources in Tomato

QIU Shu-liang, WANG Xiao-xuan, DU Yong-chen*, GAO Jian-chang, GUO Yan-mei, ZHU De-wei, HU Hong, LI Bao-ju, and SHI Yan-xia

(Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: Fifteen tomato plants which seemed infected *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) were selected randomly from the tomato cultivation greenhouse of Shunyi District, Beijing. Then the leaves and fruits were obtained from each plant and tested for the presence of TSWV using a DAS-ELISA kit. The results showed positive, indicating that 15 tomato materials had been infected with TSWV. A genetic analysis of 442 tomato materials with co-dominant SCAR markers developed from *Sw-5*, TSWV resistance gene originated from *Solanum peruvianum*, was issued and identified 24 resistant materials, which including 4 wild tomatoes, 1 hybrid, 16 breeding inbred lines and 3 *S. pennellii* introgression lines. Those 4 wild tomatoes are not suitable as breeding materials because of the poor agronomic characters, i.e. small fruits, low production, poor quality and bad flavor, while the other 20 tomato materials can be used for developing cultivars resistant to TSWV due to their better agronomic characters.

Key words: tomato; *Tomato spotted wilt virus*; *Sw-5*; resistance breeding

收稿日期: 2012-03-05; 修回日期: 2012-05-18

基金项目: 国家‘973’计划项目 (2011CB100605); 国家自然科学基金项目 (31171963); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项 (1610032011011); ‘十二五’国家科技支撑计划项目 (2011BAD12B04); 农业部园艺作物生物学与种质创制重点实验室项目

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: yongchen.du@mail.caas.net.cn)

番茄斑萎病毒 (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV) 最早于 1915 年在澳大利亚发现 (Brittlebank, 1919), 已在巴西、阿根廷、法国、西班牙、意大利、澳大利亚、美国等番茄生产中造成了严重损失 (Soler et al., 2003)。番茄斑萎病毒属于布尼亚病毒科 (Bunyaviridae) 番茄斑萎病毒属 (*Tospovirus*), 寄主植物非常广泛, 可侵染 84 个科 1 090 种植物。该病毒以蓟马为媒介传播, 可在蓟马体内自行复制增殖。在所有的蓟马中, 西花蓟马是传播效率最高的传媒。中国于 2003 年检测出西花蓟马 (张友军等, 2003), 之后随着西花蓟马危害范围逐年扩大, 番茄斑萎病毒在四川、云南、广州等地多种园艺植物上发现 (丁铭等, 2004; 饶雪琴等, 2010; 方琦等, 2011), 笔者在山东寿光, 云南昆明, 河北廊坊, 北京的顺义、南口、海淀等地均发现该病害, 部分大棚和温室番茄受损, 严重时产量损失可超过 80% 甚至绝收。目前, 该病毒的危害日趋严重。

在栽培番茄和野生番茄中均有抗 TSWV 的遗传资源。Finlay (1953) 在不同栽培番茄中鉴定出了 *Swal*、*Swb1*、*sw2*、*sw3* 和 *sw4* 等抗性基因。这些基因对 TSWV 具有小种特异抗性, 抗性很快被克服 (Stevens et al., 1992; Boiteux & Giordano, 1993)。在醋栗番茄 (Paterson et al., 1989; Maluf et al., 1991) 和多毛番茄 (Maluf et al., 1991; Kumar & Irulappan, 1992) 中也发现一些抗性材料, 但抗性效果不够理想。Krishna-Kumar 等 (1993) 采用机械和蓟马介导的方法对智利番茄 LA2931 进行接种, 该材料表现为免疫, 但其免疫遗传基础尚不清楚; Canady 等 (2001) 发现从智利番茄 LA1938 和栽培番茄杂交后代中选育出的育种系 Y118 表现出田间抗性, 随后 Price 等 (2007) 利用该材料鉴定出 *Sw-7* 显性抗病基因, 该基因的抗病毒效果较强, 其基因的分子标记开发和基因的克隆工作尚在进行中, 尚未应用于育种。

秘鲁番茄被证明是最佳的 TSWV 抗性遗传资源, 许多材料对 TSWV 表现出抗病或免疫。Paterson 等 (1989) 鉴定出 8 份具有田间抗性的秘鲁番茄材料, Stevens 等 (1992) 从这些材料中鉴定出显性抗病基因 *Sw-5*。该基因对 TSWV 不同小种具有高水平的广谱抗性, 而且对其它斑萎病毒如 TCSV 和 GRSV 等也有抵抗作用 (Boiteux & Giordano, 1993)。含有 *Sw-5* 的番茄可以限制病毒在体内的广泛传播, 仅表现为轻微的过敏性反应。*Sw-5* 位于 9 号染色体长臂端粒区域, 并被 Brommonschenkel 等 (2000) 和 Spassova 等 (2001) 采用图位克隆法克隆。*Sw-5* 与 *Mi* (抗根结线虫基因)、*RPM1* (抗假单胞菌基因) 同属于一类抗性基因, 均为 CC-(NB-ARC)-LRR 结构, 富含亮氨酸重复和一个高度保守的核苷酸结合位点。van Zijl 等 (1986) 和 Stevens 等 (1992) 已将 *Sw-5* 转育到栽培番茄品种 Stevens 中。

为了将 *Sw-5* 高效率地应用于番茄育种, 众多研究者开发了该基因的分子标记, 其中以 Dianese 等 (2010) 的工作最为有效, 利用 *Sw-5* 序列开发了一个共显性 SCAR 标记 *Sw-5-2*, 其多态性来源于插入/删除突变, 利用该标记筛选的结果与田间实际抗性鉴定的结果符合较好, 因此可用于抗 TSWV 的分子标记辅助选择中。

本试验中对北京顺义地区发生的番茄斑萎病进行了鉴定, 并利用 SCAR 标记 *Sw-5-2* 对 442 份番茄材料进行了筛选, 以期能为番茄抗 TSWV 育种提供材料。

1 材料与方 法

1.1 材 料

试验于 2011 年 8 月至 2012 年 1 月在中国农业科学院蔬菜花卉研究所顺义试验农场内进行。供试材料共 442 份, 包括 6 份野生番茄 (对照)、10 份潘那利番茄 9 号染色体渐渗系 (编号 131 ~ 140)、18 份栽培番茄 F₁ 代杂交种 (编号 1001 ~ 1018) 和 408 份栽培番茄高代育种自交系。6 份野生番茄

为秘鲁番茄 *Solanum peruvianum* LA3858、潘那利番茄 *S. pennellii* LA0716、切梅留斯基番茄 *S. chmielewskii* LA1028、智利番茄 *S. chilense* LA1969、契斯曼尼番茄 *S. cheesmaniae* LA0317、醋栗番茄 *S. pimpinellifolium* T0937; 10 份潘那利 9 号染色体渐渗系由 *S. lycopersicum* 1052 与 *S. pennellii* LA0716 杂交后再以 1052 为轮回亲本通过连续回交 5 代, 并借助苗期分子标记辅助选择获得; 18 份 F₁ 代杂交种购买于种子市场; 其余 408 份为中国农业科学院蔬菜花卉研究所鲜食番茄课题组选育的高代育种自交系。所有材料于 2011 年 8 月 8 日浸种, 8 月 12 日播种, 9 月 6 日定植。每份材料种植 13 株, 采用常规田间管理。

1.2 感病植株的 DAS-ELISA 检测

2011 年 12 月在北京顺义试验农场番茄栽培温室出现疑似 TSWV 侵染的植株。随机采取 15 份感病植株的叶片及果实, 利用 NEOGEN-ADGEN 公司的 TSWV 试剂盒, 采用 DAS-ELISA 方法进行病毒检测。

1.3 待筛选番茄材料的农艺性状、抗 TYLCV 基因 *Ty1* 和 *Ty3* 及抗 TSWV 基因 *Sw-5* 的检测

调查 7 个农艺性状, 包括植株生长习性、果色、果实大小、果形、果肩、硬度和熟性。

抗性基因的检测: 采取两片幼嫩叶片, 用改良的 CTAB 法 (Boiteux et al., 1999) 提取 DNA, 调节 DNA 浓度至 $100 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 备用。10 μL PCR 反应体系中含 5 μL GoTaq[®] GreenMaster Mix (2X) (购于 Promega 公司), DNA 100 ng, 引物各 15 ng, 其余用 ddH₂O 补齐。反应程序为 94 °C 预变性 2 min; 94 °C 变性 30 min, 50 °C 退火 1 min, 72 °C 延伸 30 s, 29 个循环; 72 °C 延伸 5 min。4 °C 保存。PCR 产物用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测。依据 PCR 产物片段大小鉴定植株是否含抗病基因。*Ty1* 和 *Ty3* 检测引物分别用 de Castro 等 (2007) 和 Ji 等 (2007) 设计的 TY1、TY3 引物; *Sw-5* 检测引物用 Dianese 等 (2010) 设计的 SCAR 标记 Sw-5-2。

1.4 *Sw-5* 特异区分析

PCR 扩增产物经胶回收纯化后, 以自身引物进行双向测序, 由北京三博远志生物技术有限责任公司完成。拼接后进行 Blast 比对。

2 结果与分析

2.1 感病植株 DAS-ELISA 检测

顺义农场的番茄材料在果实绿熟期开始感病, 植株的茎和叶片正常, 但果实表面僵硬、皱缩, 并出现褐色轮纹, 到果实转色和成熟期, 叶片出现褐色轮纹病斑, 果实表面坏死, 严重的茎部出现褐化坏死, 部分果实腐烂, 甚至整株枯萎坏死, 整个温室感病植株数超过 80%, 约 1/4 的植株死亡。对其中 15 份材料的叶片和果实进行 DAS-ELISA 检测, 结果均为阳性反应, 表明该温室番茄材料严重感染了番茄斑萎病毒。

2.2 番茄材料抗性基因鉴定和农艺性状调查结果

Sw-5 的 SCAR 标记 Sw-5-2 在含 *Sw-5* 的抗病材料上能扩增出 574 bp 的特异谱带, 而不含 *Sw-5* 的感病材料则扩增出 510 bp 或 464 bp 的谱带 (图 1), 由于该标记为共显性 SCAR 标记, 因而利用该标记可以检测出纯合抗性、杂合抗性和纯合感病 3 种基因型。

利用该标记对 442 份番茄材料进行了鉴定, 结果共检测出 24 份含 *Sw-5* 的材料。这 24 份材料

在 TSWV 自然发生情况下均表现出较强抗性, 其农艺性状调查及抗病基因鉴定结果见表 1。

6 份野生材料中, 秘鲁番茄 LA3858、潘那利番茄 LA0716、切梅留斯基番茄 LA1028、智利番茄 LA1969 含 *Sw-5* 基因, 为抗性种质, 但这 4 份野生种质的果实小, 产量低, 风味品质较差, 总体农艺性状离育种目标较远, 直接将抗病基因应用于育种过程需要很长时间。契斯曼尼番茄 LA0317 和醋栗番茄 T0937 未检测出 *Sw-5*。

18 份栽培番茄 F₁ 代杂交种中, 只有 1006 号扩增出 574 bp 和 464 bp 谱带, 表明含 *Sw-5* 杂合基因。该材料表现为无限生长型, 果实红色, 圆球形, 硬度好, 单果质量 170 g 左右, 熟性中等, 同时含 *Ty1* 和 *Ty3* 杂合基因, 总体农艺性状较好, 可作为同时抗 TSWV 和 TYLCV 的育种资源。其余 F₁ 代杂交种不含抗病基因。

408 份栽培番茄高代育种自交系中, 1 份材料 974-1 扩增出 *Sw-5* 杂合基因型谱带, 分子量为 574 bp 和 464 bp; 15 份材料检测出含 *Sw-5* 纯合基因的 574 bp 特异谱带, 分别为 966-1、967-1、973-1、975-1、1099-1、1107-1、1127-1、1127-2、1128-1、1128-2、1129-1、1130-1、1137-1、1139-1、1140-2。

966-1、967-1、973-1、974-1 和 975-1 为同一家系后代的 5 个姊妹系, 总体农艺性状较好, 其中 966-1 还含有 *Ty1* 杂合基因。1099-1 单果质量 210 g 左右, 硬度好, 圆球形, 早熟, 可以作为早熟抗 TSWV 育种资源。1107-1 单果质量 220 g 左右, 硬度好, 连续坐果能力强, 耐低温弱光。1127-1、1127-2、1128-1、1128-2、1129-1 和 1130-1 为同一家系后代的 6 个姊妹系, 硬度好, 单果质量 200 g 左右, 其中 1127-1、1127-2 含有 *Ty1* 纯合基因, 1128-1、1128-2、1129-1 含有 *Ty1* 杂合基因。1137-1、1139-1、1140-2 为同一家系后代的 3 个姊妹系, 其中 1137-1 含有 *Ty1* 纯合基因, 1140-2 含有 *Ty1* 杂合基因。上述 16 份材料除含有 *Sw-5* 外, 还有 8 份材料含有 *Ty1*, 同时这些材料的总体农艺性状较好, 可作为抗 TSWV 的优良育种材料。

在 10 份潘那利番茄 9 号染色体渐渗系中, 有 3 份材料即 138、139、140 号, 含潘那利 9 号染色体长臂的 1 个小片段, 而且检测出含 *Sw-5* 的 574 bp 特异谱带。这 3 份渐渗系均以栽培番茄亲本 1052 为遗传背景, 在所有鉴定出含有抗病基因的材料中仅有这 3 份材料为粉红色, 可用于抗 TSWV 的粉红色番茄品种的选育。

其余育种材料均不含 *Sw-5*, 但其果实大小、颜色、硬度、果形、熟性等综合农艺性状较好, 其中单果质量在 150~200 g 之间的材料有 183 份, 在 200~250 g 之间的有 194 份, 大于 250 g 的材料 22 份; 含有 *Ty1* 抗性基因的材料有 201 份, 同时含有 *Ty1* 和 *Ty3* 抗性基因的材料有 133 份。这些材料可以根据优势互补的原则作为亲本之一配制成抗 TSWV 的不同果实大小的番茄新组合, 还可配制成一批同时抗 TYLCV 和 TSWV 两种病毒病的杂交组合。

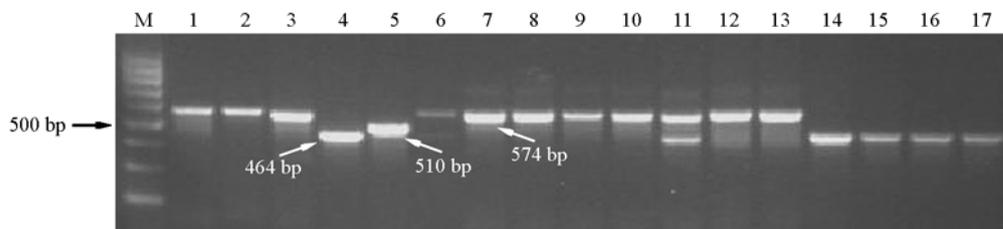


图 1 部分番茄材料的 *Sw-5-2* PCR 扩增图

M: 100 bp marker; 1: 秘鲁番茄 LA3858; 2: 潘那利番茄 LA0716; 3: 切梅留斯基番茄 LA1028; 4: 契斯曼尼番茄 LA0317; 5: 醋栗番茄 T0937; 6: 智利番茄 LA1969; 7: 966-1; 8: 967-1; 9: 973-1; 10: 975-1; 11: 1006; 12: 1127-2; 13: 1128-1; 14: 823-2; 15: 849-1; 16: 922-1; 17: 949-1。

Fig. 1 PCR amplification profile obtained with the *Sw-5-2* primer pair in part materials

M: 100 bp marker; 1: *S. peruvianum* LA3858; 2: *S. pennellii* LA0716; 3: *S. chmielewskii* LA1028; 4: *S. cheesmaniae* LA0317; 5: *S. pimpinellifolium* T0937; 6: *S. chilense* LA1969; 7: 966-1; 8: 967-1; 9: 973-1; 10: 975-1; 11: 1006; 12: 1127-2; 13: 1128-1; 14: 823-2; 15: 849-1; 16: 922-1; 17: 949-1.

表 1 筛选出的 24 份抗病材料的性状

Table 1 Characters of 24 identified resistance materials

种类代号 Name	生长习性 Grow habit	果色 Fruit color	单果质量/ g Fruit weight	果形 Fruit shape	果肩 Fruit shoulder	硬度 Fruit firmness	熟性 Maturity	抗病基因 Resistance gene		
								TY1	TY3	Sw-5
秘鲁番茄 <i>S. peruvianum</i> LA3858	无限 Unlimited	绿 Green	< 5	圆球 Pellet	无 No	硬 Hard	晚熟 Late	未知 Unknown	未知 Unknown	
潘那利番茄 <i>S. pennellii</i> LA0716	无限 Unlimited	绿 Green	< 5	圆球 Pellet	无 No	硬 Hard	中晚熟 Middle-late	+	+	+
切梅留斯基番茄 <i>S. chmielewskii</i> LA1028	无限 Unlimited	灰绿 Celadon	< 5	圆球 Pellet	无 No	硬 Hard	中晚熟 Middle-late	未知 Unknown	未知 Unknown	+
智利番茄 <i>S. chilense</i> LA1969	无限 Unlimited	绿 Green	< 5	圆球 Pellet	无 No	硬 Hard	晚熟 Late	未知 Unknown	未知 Unknown	+
栽培番茄 Cultivated tomato										
138	无限 Unlimited	粉红 Pink	180	圆球 Pellet	无 No	硬 Hard	中熟 Middle	-	-	±
139	无限 Unlimited	粉红 Pink	180	圆球 Pellet	无 No	硬 Hard	中熟 Middle	-	-	±
140	无限 Unlimited	粉红 Pink	190	圆球 Pellet	无 No	硬 Hard	中熟 Middle	-	-	±
966-1	无限 Unlimited	红 Red	230	扁圆 Oblate	无 No	硬 Hard	中熟 Middle	±	-	+
967-1	无限 Unlimited	红 Red	220	圆球 Pellet	无 No	硬 Hard	中熟 Middle	-	-	+
973-1	无限 Unlimited	红 Red	190	圆球 Pellet	无 No	硬 Hard	中熟 Middle	-	-	+
974-1	无限 Unlimited	红 Red	200	圆球 Pellet	无 No	硬 Hard	中熟 Middle	-	-	±
975-1	无限 Unlimited	红 Red	200	圆球 Pellet	无 No	硬 Hard	中熟 Middle	-	-	+
1006	无限 Unlimited	红 Red	170	圆球 Pellet	无 No	硬 Hard	中熟 Middle	±	±	±
1099-1	无限 Unlimited	红 Red	210	圆球 Pellet	无 No	硬 Hard	早熟 Early	-	-	+
1107-1	无限 Unlimited	红 Red	220	扁圆 Oblate	无 No	硬 Hard	中熟 Middle	-	-	+
1127-1	无限 Unlimited	红 Red	180	圆球 Pellet	无 No	硬 Hard	中熟 Middle	+	-	+
1127-2	无限 Unlimited	红 Red	200	圆球 Pellet	无 No	硬 Hard	中熟 Middle	+	-	+
1128-1	无限 Unlimited	红 Red	190	圆球 Pellet	无 No	硬 Hard	中熟 Middle	±	-	+
1128-2	无限 Unlimited	红 Red	200	圆球 Pellet	无 No	硬 Hard	中熟 Middle	±	-	+
1129-1	无限 Unlimited	红 Red	200	圆球 Pellet	无 No	硬 Hard	中熟 Middle	±	-	+
1130-1	无限 Unlimited	红 Red	190	扁圆 Oblate	无 No	硬 Hard	中熟 Middle	-	-	+
1137-1	无限 Unlimited	红 Red	230	圆球 Pellet	无 No	硬 Hard	中熟 Middle	+	-	+
1139-1	无限 Unlimited	红 Red	240	圆球 Pellet	无 No	硬 Hard	中熟 Middle	-	-	+
1140-2	无限 Unlimited	红 Red	210	圆球 Pellet	无 No	硬 Hard	中熟 Middle	±	-	+

注: +. 含纯合抗性基因; -. 不含抗性基因; ±. 含杂合抗性基因。

Note: +. Homozygous resistance gene; -. No resistance gene; ±. Heterozygous resistance gene.

2.3 Sw-5 特异区分析

对 6 份野生番茄、1 份 F₁ 代杂交种 (抗性谱带) 及 6 份不同家系番茄材料 (823-1、966-1、1099-1、1107-1、1127-1、1137-1) 的 Sw-5-2 扩增序列进行比对, 结果如表 2, 图 2。

表 2 ‘Sw-5-2’ PCR 扩增序列相似性比较

Table 2 Homology matrix of the segment of the cloned ‘Sw-5-2’ PCR amplicons

/%

种类代号 Name	<i>S. per.</i>	<i>S. pen.</i>	<i>S. chm.</i>	<i>S. chi.</i>	966-1	1006	1099-1	1107-1	1127-1	1137-1	<i>S. pim.</i>	<i>S. che.</i>	823-1
秘鲁番茄 <i>S. peruvianum</i>	100.0												
潘那利番茄 <i>S. pennellii</i>	95.1	100.0											
切梅留斯基 <i>S. chmielewskii</i>	96.5	95.2	100.0										
智利番茄 <i>S. chilense</i>	95.1	92.9	92.6	100.0									
966-1	99.5	95.0	96.4	94.6	100.0								
1006	99.5	95.3	96.4	94.6	99.3	100.0							
1099-1	99.5	95.3	96.4	94.6	99.6	99.6	100.0						
1107-1	99.6	95.1	96.5	94.8	99.8	99.5	99.6	100.0					
1127-1	99.6	95.1	96.5	94.8	99.8	99.5	99.5	99.6	100.0				
1137-1	99.1	95.0	96.0	94.2	99.6	99.6	99.6	99.5	99.5	100.0			
醋栗番茄 <i>S. pimpinellifolium</i>	89.6	90.7	89.1	88.2	89.4	89.6	89.4	89.6	89.6	89.2	100.0		
契斯曼尼番茄 <i>S. cheesmaniae</i>	88.9	88.9	88.2	87.0	88.6	88.9	88.6	88.9	88.9	88.4	94.0	100.0	
823-1	89.1	89.1	88.4	87.2	88.8	89.1	88.8	89.1	89.1	88.6	94.2	98.7	100.0



特征区域一 Feature area I



特征区域二 Feature area II



图 2 ‘Sw-5-2’ PCR 扩增序列比对

Fig. 2 Sequence comparison of the segment of the cloned ‘Sw-5-2’ PCR amplicons

Dianese 等 (2010) 研究发现利用 Sw-5-2 扩增的抗病材料序列比感病材料多两个插入序列, 如图 2 红色框区域所示。从图 2 可知潘那利番茄 LA0716、切梅留斯基番茄 LA1028、智利番茄 LA1969 与秘鲁番茄 LA3858 在两个特征区域均保持较好的一致性, 全基因中仅有几个位点的点突变和插入/删除。醋栗番茄 T0937 缺失特征区域二, 契斯曼尼番茄 LA0317 与感病材料 823-1 在两个特征区域均缺失。抗病材料 966-1、1099-1、1107-1、1127-1、1137-1 与秘鲁番茄 LA3858 相似性高达 99%, 这些番茄 Sw-5 基因来源于秘鲁番茄。

3 讨论

随着 Sw-5 的克隆, 特别是分子标记辅助手段在番茄育种中的广泛应用, 国外很快育成了一批抗 TSWV 的品种。这些品种多数为加工番茄和樱桃番茄, 如 Crista、Red Defender、Mt Glory、Primo Red、Nico、Plum Regal、Mt Magic、Fletcher、Bella Rosa、Quincy、Talladega、Redline、Mountain Glory、Finish Line 等 (Funderburk et al., 2011), 使得番茄斑萎病毒在这些国家得到了较好的控制。番茄斑萎病毒在我国出现较晚, 但随着蓟马特别是西花蓟马的危害范围逐年扩大, 番茄斑萎病毒也开始发生, 而且危害日趋严重。因此, 选育适合我国保护地和露地栽培的抗 TSWV 番茄品种将是我国番茄育种的重要目标。

本试验中利用 Sw-5 的 SCAR 标记检测出了 16 份含有 Sw-5 同时农艺性状优良的材料。这 16 份材料在 TSWV 自然发生时均表现出较强抗性, 可以用于抗 TSWV 番茄的育种中。

从育种需求获得的这些含有 Sw-5 的材料类型还不丰富, 例如获得的材料单果质量均在 150 ~ 240 g 之间, 没有超过 250 g 的大果类型的材料, 而粉红色果的材料更是较少。因此, 在随后的育种工作中需要利用分子标记辅助育种手段, 将 Sw-5 导入更多的骨干亲本材料中, 以创造更多的抗 TSWV 的育种材料。

本研究中在秘鲁番茄 *S. peruvianum* LA3858、潘那利番茄 *S. pennellii* LA0716、切梅留斯基番茄 *S. chmielewskii* LA1028、智利番茄 *S. chilense* LA1969 中均检测出了 Sw-5, 尽管这些野生番茄果实小, 产量低, 风味品质差, 总体农艺性状离育种目标较远, 但其中包含了许多有益的基因, 特别是许多尚未开发的基因。最近 Price 等 (2007) 从智利番茄 LA1938 中鉴定出抗 TSWV 的 Sw-7 显性抗病基因, 该基因与 Sw-5 不连锁, 对那些能克服 Sw-5 的病毒株系有抗性, 抗病毒效果较强, 因此, 为了充分发掘和利用野生番茄中的有益基因, 需要系统地构建一批这些野生番茄渐渗系群体, 从而为今后的抗病育种、抗逆育种、品质育种等奠定基础。

References

- Boiteux L S, Fonseca M E N, Simon P W. 1999. Effects of plant tissue and DNA purification method on randomly amplified polymorphic DNA-based genetic fingerprinting analysis in carrot. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 124 (1): 32 - 38.
- Boiteux L S, Giordano L B. 1993. Genetic basis of resistance against two *Tospovirus* species in tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Euphytica*, 71: 151 - 154.
- Brittlebank C C. 1919. Tomato diseases. *Journal of Agriculture*, 17: 213 - 235.
- Brommonschenkel S H, Frary A, Tanksley S D. 2000. The broad-spectrum *Tospovirus* resistance gene Sw-5 of tomato is a homolog of the root-knot nematode resistance gene *Mi*. *Mol Plant Microbe Interact*, 13: 1130 - 1138.
- Canady M A, Stevens M R, Barineau M S, Scott J W. 2001. *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) resistance in tomato derived from *Lycopersicon chilense* Dun. LA1938. *Euphytica*, 117 (1): 19 - 25.
- de Castro A P, Blanca J M, Diez M J, Vinals F N. 2007. Identification of a CAPS marker tightly linked to the tomato yellow leaf curl disease

- resistance gene *Ty-1* in tomato. *European Journal of Plant Pathology*, 117: 347 - 356.
- Dianese E C, de Fonseca M E N, Goldbach R, Kormelink R, Inoue-Nagata A K, Resende R O, Boiteux L S. 2010. Development of a locus-specific, co-dominant SCAR marker for assisted-selection of the *Sw-5* (*Tospovirus* resistance) gene cluster in a wide range of tomato accessions. *Molecular Breeding*, 25 (1): 133 - 142.
- Ding Ming, Zhang Li-zhen, Fang Qi, Li Ting-ting, Su Xiao-xia, Li Zhan, Zhang Zhong-kai. 2004. Identification, purification and antiserum preparation of *Tospovirus* isolate affecting potato. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 17 (Supplement): 160 - 162. (in Chinese)
丁 铭, 张丽珍, 方 琦, 李婷婷, 苏晓霞, 李 展, 张仲凯. 2004. 侵染马铃薯的一个 *Tospovirus* 混合分离物的鉴定、纯化及多抗血清制备. *西南农业学报*, 17 (增刊): 160 - 162.
- Fang Qi, Dong Jia-hong, Ding Ming, Yin Yue-yan, Zhang Li-zhen, Li Ting-ting, Su Xiao-xia, Li Zhan, Zhang Zhong-kai. 2011. DAS-ELISA and electron microscopic diagnosis of *Tospoviruses* infecting *Hymenocallis littoraris* and *Hippeastrum vittatum* in Kunming. *Acta Horticulturae Sinica*, 38 (10): 2005 - 2009. (in Chinese)
方 琦, 董家红, 丁 铭, 尹跃艳, 张丽珍, 李婷婷, 苏晓霞, 李 展, 张仲凯. 2011. 侵染水鬼蕉和花朱顶红的番茄斑萎病毒属病毒的电镜和 DAS-ELISA 诊断. *园艺学报*, 38 (10): 2005 - 2009.
- Finlay K. 1953. Inheritance of spotted wilt resistance in the tomato II. Five genes controlling spotted wilt resistance in four tomato types. *Australian Journal of Biological Sciences*, 6 (2): 153 - 163.
- Funderburk J, Reitz S, Olson S, Stansly P, Smith H, Meavoy G, Demirozer O, Snodgrass C, Paret M, Leppla N. 2011. Managing thrips and *Tospoviruses* in tomato. University of Florida Cooperative Extension Service Institute of Food and Agriculture Science.
- Ji Y, Schuster D J, Scott J W. 2007. *Ty-3*, a begomovirus resistance locus near the *Tomato yellow leaf curl virus* resistance locus *Ty-1* on chromosome 6 of tomato. *Molecular Breeding*, 20: 271 - 284.
- Krishna-Kumar N K, Ullman D E, Cho J J. 1993. Evaluation of *Lycopersicon* germplasm for *Tomato spotted wilt tospovirus* resistance by mechanical and thrips transmission. *Plant Disease*, 77 (9): 938 - 941.
- Kumar N, Irulappan I. 1992. Inheritance of resistance to spotted wilt virus in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Journal of Genetics and Breeding*, 46 (2): 113 - 117.
- Maluf W R, Toma B M, Corte R D. 1991. Progress in breeding tomatoes for resistance to tomato spotted wilt. *Revista Brasileira de Genetica*, 14 (2): 509 - 525.
- Paterson R G, Scott S J, Gergerich R C. 1989. Resistance in two *Lycopersicon* species to an Arkansas isolate of *Tomato spotted wilt virus*. *Euphytica*, 43 (1 - 2): 173 - 178.
- Price D L, Memmott F D, Scott J W, Olson S M, Stevens M R. 2007. Identification of molecular markers linked to a new *Tomato spotted wilt virus* resistance source in tomato. *Tomato Genetics Coop Rep*, 57.
- Rao Xue-qin, Liu Yong, Li Yuan-yuan, Wu Zhu-yan. 2010. Detection of *Tospovirus* on tomato in Guangdong. *Acta Phytopathologica Sinica*, 40 (4): 430 - 432. (in Chinese)
饶雪琴, 刘 勇, 李媛媛, 吴竹妍. 2010. 广东番茄上检测到 *Tospovirus* 病毒. *植物病理学报*, 40 (4): 430 - 432.
- Soler S J, Cebolla-Cornejo J, Nuez F. 2003. Control of disease induced by tospoviruses in tomato: An update of the genetic approach. *Phytopathologia Mediterranea*, 42 (3): 207 - 219.
- Spassova M I, Prins T W, Folkertsma R T, Klein-Lankhorst R M, Hille J, Goldbach R W, Prins M. 2001. The tomato gene *SW5* is a member of the coiled coil, nucleotide binding, leucine-rich repeat class of plant resistance gene and confers resistance to TSWV in tobacco. *Mol Breed*, 7: 151 - 161.
- Stevens M R, Scott S J, Gergerich R C. 1992. Inheritance of a gene for resistance to *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) from *Lycopersicon peruvianum* Mill. *Euphytica*, 59: 9 - 17.
- van Zijl J J B, Bosh S E, Coetzee C P J. 1986. Breeding tomatoes for processing in South Africa. *Acta Hort*, 194: 67 - 75.
- Zhang You-jun, Wu Qing-jun, Xu Bao-yun, Zhu Guo-ren. 2003. The invasive pest, *Frankliniella occidentalis* was found in Beijing. *Plant Protection*, 29 (4): 58 - 59. (in Chinese)
张友军, 吴青君, 徐宝云, 朱国仁. 2003. 危险性外来入侵生物——西花蓟马在北京发生为害. *植物保护*, 29 (4): 58 - 59.