

Screening and Evaluation of Germplasm Resources Resistant to *Phytophthora blight* of Pepper at Seedling Stage

Yuling Qin, Longbin Shen, Gongfu Du, Zhenmu Cao*

Tropical Crops Genetic Resources Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou Hainan
Email: yulingqin021@163.com, *caozhenmu2007@163.com

Received: Dec. 22nd, 2019; accepted: Jan. 3rd, 2020; published: Jan. 10th, 2020

Abstract

Phytophthora blight is one of the factors that cause quality decline, yield decrease and benefit decrease, which limits the healthy development of pepper industry. To meet the needs of breeders in breeding resistant varieties, 32 germplasms of pepper from different sources were identified and evaluated for disease resistance at seedling stage in this experiment, which contained 6 sweet peppers, 2 hot peppers, 2 bell peppers, 7 cattle horn peppers, 6 alstonia peppers, 2 line peppers, 2 cherry peppers, 3 pickled peppers and 2 screw peppers. The results showed that there were no pepper varieties immune to *Phytophthora blight*. Thirteen materials with high resistance to capsicum blight were identified by artificial inoculation at seedling stage, accounting for 40.6% of the materials in the experiment, 7 materials with resistance to capsicum blight, 2 materials with medium resistance to capsicum blight, 5 materials with sensitivity to capsicum blight and 5 materials with high sensitivity to capsicum blight.

Keywords

Pepper Germplasms, *Phytophthora blight*, Resistance Evaluation

辣椒苗期疫病抗性种质资源的筛选与评价

秦于玲, 申龙斌, 杜公福, 曹振木*

中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所, 海南 海口
Email: yulingqin021@163.com, *caozhenmu2007@163.com

收稿日期: 2019年12月22日; 录用日期: 2020年1月3日; 发布日期: 2020年1月10日

*通讯作者。

摘要

辣椒疫病是引起品质下降、产量降低和效益减少的因素之一，限制辣椒产业的健康发展。为满足育种者选育抗病品种所需亲本材料的需求，本试验对32份不同来源的辣椒种质进行了苗期疫病抗性鉴定和评价，这些材料中有甜椒6份，朝天椒2份，灯笼椒2份，牛角椒7份，羊角椒6份，线椒2份，樱桃椒2份，泡椒3份，螺丝椒2份。结果表明，供试种质中没有辣椒疫病免疫的品种。苗期人工接种法鉴定出高抗辣椒疫病材料13份，占参试材料40.6%；抗病材料7份，中抗材料2份，感病材料5份，高感材料5份。

关键词

辣椒种质，疫病，抗性评价

Copyright © 2020 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

辣椒是海南省冬季瓜菜的第一大蔬菜品种，是全国人民的冬季“菜篮子”，作为最大的调味料作物，也是我国人民餐桌上不可或缺的一种蔬菜。2016年，海南省的辣椒种植面积占瓜菜生产总面积的15.7%，产量占瓜菜总产量的16.2% [1]。目前，辣椒产业已发展成为海南能够规模化生产的热带农业支柱产业之一，有力支撑了海南经济的快速发展[2]。然而我国辣椒品质与国际水平相比还有很大的差距，随着经济的发展和人们生活水平的逐步提高，现有的辣椒品种的品质已不能满足人们的需求[3] [4] [5]，为增强辣椒销售市场的竞争力，这就要求育种家们应不断培育出新品种以满足市场的需求。

辣椒疫病是由辣椒疫霉菌引起的一种土传病害，在我国辣椒种植区发生普遍，其传播方式多样，并且发病迅速，一旦条件适宜极易爆发成灾，严重影响辣椒的品质和产量，阻碍辣椒产业的健康发展[6] [7] [8] [9] [10]。目前防治辣椒疫病用的最多的方法是化学农药的喷施，然而长期的施用带来农药残留超标和生态环境的破坏等一系列未解决的难题[11]，因此抗病品种的选育与利用是国内外公认的最经济、最有效、最简便的病害防治途径，选育抗性品种已迫在眉睫。

辣椒疫病是我国辣椒生产过程中的重要病害，培育和利用抗病品种是解决生产实际的主要手段[3] [12] [13] [14] [15]。于海龙等[16]指出扩大抗病种质资源的挖掘，筛选高抗的种质材料，并将多个抗性基因聚合育种，才能育成具有光谱性和持久性的高抗性品种。因此开展筛选和评价适合海南辣椒生产的抗性种质，对后续品种适宜推广范围和培育新品种提供较高的生产和理论指导价值。

2. 材料与方法

2.1. 试验材料

2.1.1. 参试辣椒种质材料

参试的32份辣椒种质均由中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所蔬菜研究室收集和保存的(表1)。

Table 1. *Capsicum* germplasms tested
表 1. 参试的辣椒种质

序号	种质名称	种质类型	来源地	序号	种质名称	种质类型	来源地
1	17ca45M	樱桃椒	海南	17	SP68	甜椒	山西
2	17ca9M	中朝天椒	海南	18	中椒 6 号	泡椒	北京
3	17ca6M	牛角椒	海南	19	湘 02 (F1)	羊角椒	湖南
4	17ca3M	牛角椒	海南	20	GF208	牛角椒	山西
5	17ca46M	樱桃椒	海南	21	1485	泡椒	山西
6	17ca1M	牛角椒	海南	22	S05	泡椒	山西
7	17ca5M	羊角椒	海南	23	新超级 16 号	羊角椒	山西
8	17ca7M	牛角椒	海南	24	0591	甜椒	湖南
9	488 牛椒	牛角椒	山西	25	45 号螺丝椒	螺丝椒	山西
10	中椒 107	甜椒	北京	26	SF19	甜椒	山西
11	22 号螺丝椒	螺丝椒	山西	27	019	朝天椒	四川
12	072 (羊椒)	羊角椒	山西	28	热辣 4 号	线椒	海南
13	SP011	甜椒	海南	29	热辣 2 号 1	灯笼椒	海南
14	09	羊角椒	山西	30	热辣 3 号	牛角椒	海南
15	晋甜椒 4 号	甜椒	山西	31	热辣 6 号	灯笼椒	海南
16	早椒(三老虎)	羊角椒	湖南	32	辣丰 33 号	线椒	深圳

注：参试材料中灯笼椒为中国辣椒。

2.1.2. 疫霉菌株

辣椒疫霉菌由中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所蔬菜实验室保存，培养于 PDA 培养基上 25℃ 培养箱中备用。

2.2. 试验方法

2.2.1. 播种育苗

将种子放入 55℃ 温水中浸泡 20 分钟，并不断搅拌，捞出后用 25℃~30℃ 清水冲洗干净，用透气性好、用沸水消毒过的湿布包好，置于 25℃~30℃，湿度 80%~90% 的环境下催芽，待 70% 种子露白时即可播种。育苗基质为蛭石、草炭和营养土(2:1:1)，在大棚内育苗，棚内温度 23℃~30℃。

2.2.2. 菌种的准备

将试管保存的辣椒疫霉菌接种在 PDA 培养基(马铃薯:琼脂:葡萄糖 = 200 g:20 g:20 g)上，并将平板置于生化培养箱中 25℃ 条件下培养 7 d，待到产生大量孢子囊后，加入少量无菌水，洗刷菌丝并收集起来，连续做 3 次，用双层尼龙布过滤孢子囊悬浮液，其滤液放置于 4℃ 冰箱中预冷 1 h，以促进游动孢子的释放，取出预冷的菌液用血球计数板计算游动孢子的数量，最后配制成每毫升 10^3 个游动孢子的接种液，立即用于接种。

2.2.3. 接种方法

参照何烈干、马辉刚和李锡香等的方法[6] [7] [17]，即当参试的 32 份辣椒幼苗长至 6 片真叶展平时，选壮苗进行接种。接种前 1 天将营养钵灌透水，接种前在幼苗根部土壤内扎一孔，孔距根部 2~2.5 cm，

将 3 mL 游动孢子悬浮液注入孔内。每个品种重复 3 次，每个重复接种 10 株幼苗。接种后保湿 12 h，以后适时浇水以保持土壤湿度近饱和状态，温度保持在 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 。接种后 10 d 调查病情，记录病株率、病情指数及抗性评价。

2.2.4. 调查分级及计算病情指数

按照李锡香等的辣椒疫病的调查标准进行[17]，0 级：无任何症状；1 级：幼苗根茎部轻微水渍状发褐，叶片不萎蔫或可恢复性萎蔫；2 级：幼苗根茎部变水渍状褐色，发病部位长度 1~2 cm，叶片不可恢复性萎蔫，下部叶片偶有脱落；3 级：幼苗根茎部变水渍状褐色，发病部位长度超过 2 cm，叶片明显萎蔫或落叶明显；4 级：幼苗根茎部变水渍状褐色，并且茎秆有溢缩现象，除生长点外全部落叶或植株萎蔫；5 级：植株枯死。

病情指数计算公式[17]：

病情指数= $[\sum(\text{病级数值} \times \text{该病级病株数}) \times 100] / (\text{病级最高数} \times \text{调查株数})$ 。

种质抗病性划分标准[17]：

免疫：(I)病情指数 = 0，无侵染；高抗(HR)：0 < 病情指数 ≤ 15；抗病(R)：15 < 病情指数 ≤ 35；中抗(MR)：35 < 病情指数 ≤ 50；感病(S)：50 < 病情指数 ≤ 75；高感(HS)：75 < 病情指数 ≤ 100。

3. 结果与分析

3.1. 疫霉菌的准备

前期收集的辣椒疫霉菌保存在无菌水中，待辣椒幼苗长至 6 片真叶时，活化保存的疫霉菌，菌落呈绒毛状，菌丝较疏松(图 1)。显微镜下观察到的游动孢子囊活力较好(图 2)，适于下一步的接种试验。



Figure 1. *Phytophthora capsici* cultured
图 1. 培养的辣椒疫霉菌

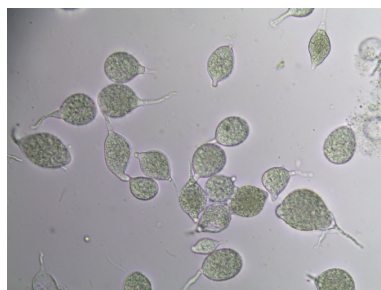


Figure 2. Microscopically observed zoosporangium (magnification: 400×)
图 2. 显微镜下观察到的游动孢子囊 (放大倍数：400 倍)

3.2. 辣椒种质资源疫病抗性鉴定结果

通过对 32 份辣椒种质进行了疫病抗性鉴定, 鉴定结果表明(表 2), 各种质的发病率为 10%~100%和病情指数 5~100, 存在较大差异。根据辣椒种质抗病性划分标准表明(表 3), 高感种质 5 份, 占 15.6%, 感病种质 5 份, 占 15.6%, 中抗材料 2 份, 占 6.2%, 抗病材料 7 份, 占 21.8%, 高抗材料 13 份, 占 40.6%。有本课题组曹振木选育的热辣 2 号(灯笼椒)、热辣 4 号(线椒)和热辣 6 号(灯笼椒)品种疫病抗性较强。而晋甜椒 4 号(甜椒)、SP011 (甜椒)和 45 号螺丝椒(螺丝椒)疫病抗性较差, 疫霉菌接种 4~5 天就出现茎秆变褐。

Table 2. Identification of pepper germplasms by root irrigation at seedling stage

表 2. 参试辣椒种质苗期灌根法鉴定结果

序号	种质名称	发病率(%)	病情指数	序号	种质名称	发病率(%)	病情指数
1	17ca45M	100	100	17	SP68	50	32
2	17ca9M	36	14	18	中椒 6 号	50	30
3	17ca6M	20	8	19	湘 02 (F1)	20	8
4	17ca3M	73	58	20	GF208	66	40
5	17ca46M	30	12	21	1485	43	17
6	17ca1M	83	66	22	S05	86	69
7	17ca8M	93	90	23	新超级 16 号	50	30
8	17ca7M	50	30	24	0591	33	13
9	488 牛椒	60	36	25	45 号螺丝椒	100	100
10	中椒 107	33	13	26	SF19	43	17
11	22 号螺丝椒	93	74	27	019	20	9
12	072 (羊椒)	86	52	28	热辣 4 号	20	6
13	SP011	100	100	29	热辣 2 号	20	8
14	09	20	8	30	热辣 3 号	30	12
15	晋甜椒 4 号	100	100	31	热辣 6 号	30	13
16	早椒(三老虎)	40	16	32	辣丰 33 号	10	5

Table 3. Evaluation of the resistance of *Capsicum germplasms* to *Phytophthora blight*

表 3. 参试种质对疫病的抗性评价

抗性评价(份数)	种质名称	抗性评价(份数)	种质名称
HS (5)	17ca45M; 17ca8M; SP011; 晋甜椒 4 号; 45 号螺丝椒	R (7)	17ca7M; 早椒(三老虎); SP68; 中椒 6 号; 1485; 新超级 16 号; SF19
S (5)	17ca3M; 17ca1M; S05; 22 号螺丝椒; 072 (羊椒)	HR (13)	17ca9M; 17ca6M; 17ca46M; 09; 019; 0591; 中椒 107; 湘 02 (F1); 热辣 4 号; 热辣 2 号; 热辣 3 号; 热辣 6 号; 辣丰 33 号
MR (2)	488 牛椒; GF208		

4. 讨论与结论

辣椒疫病是辣椒产业化生产的重要病害, 危害较大, 该病害传播速度较快, 严重时会造成辣椒绝产。化学防治是生产中最常用的方法, 但该方法既提高了生产成本也对环境造成了危害, 因此选用抗

病品种是最经济有效的防治方法。筛选高抗疫病材料成为一切研究的基础。本研究通过对 32 份辣椒种质进行疫病抗性鉴定, 筛选出 13 份高抗种质和 7 份抗性种质。这些材料的抗性基因可以通过不同的育种方法转移到农艺性状优良但抗性差的辣椒品种中, 从而选育出优良品种, 促进辣椒产业的健康发展。

雷阳等[18]研究发现, 辣椒抗疫病是一个高度复杂的过程, 它由多个交叉通路调节, 包括新陈代谢过程、酶活性调节、结合蛋白代谢、防御反应及激素调节等, 弄清抗性机理, 有助于加快育种进程。李屹[19]对 63 份不同辣椒种质类型进行了疫病性鉴定, 发现线椒材料的整体抗病性强于牛角椒和羊角椒。何烈干等[5]通过对 70 份辣椒材料进行疫病抗性鉴定, 筛选到高抗材料 13 份, 其中 VC42-1、VC48-1、线边 H、中 21 × X8F 等材料具有极高抗性, 达到免疫级别, 参试的所有辣椒类型中, 朝天椒类种质抗病性强, 而甜椒和灯笼椒类型的种质抗病性较弱, 而本研究中所参试的来源海南的灯笼椒类型抗病性较强, 可能来源、种类不同的辣椒种质抗病性不同所致。

关于辣椒对疫病抗性的研究, 目前国内外还仅局限于资源的筛选与鉴定, 缺乏抗性基因的挖掘和分子功能等方面的研究。随着测序技术的发展[20][21], 以及分子遗传图谱的构建, 利用分子标记辅助选择手段, 采用聚合育种, 使培育具有持久抗性的新品种成为可能。

本研究仅对辣椒种质苗期进行了疫病抗性鉴定, 接下来将结合田间的辣椒种质疫病抗性综合评判这 32 份种质的抗病能力, 筛选优良的抗疫病种质用于下一步辣椒新品种的培育。

基金项目

海南省重点研发计划(ZDYF2018238-1)、中国热带农业科学院基本科研业务费(1630032018016, 1630032019019)。

参考文献

- [1] 丁莉, 刘海清. 海南省辣椒产业 SWOT 分析及展望[J]. 农业展望, 2018, 14(2): 65-68.
- [2] 简玮, 朱月季. 海南辣椒产销模式存在的问题与对策[J]. 中国蔬菜, 2019(9): 12-17.
- [3] 王立浩, 张正海, 曹亚从, 等. “十二五”我国辣椒遗传育种研究进展及其展望[J]. 中国蔬菜, 2016(1): 1-7.
- [4] 王田利. 我国辣椒产业存在问题与对策建议[J]. 西北园艺, 2014(7): 4-5.
- [5] 杨中周. 我国辣椒品种选育进展与展望[J]. 中国瓜菜, 2017, 30(5): 1-6.
- [6] 何烈干, 马辉刚, 陈学军, 等. 辣椒种质疫病抗性鉴定及防治药剂是筛选[J]. 江西农业大学学报, 2014, 36(5): 1054-1060.
- [7] 马辉刚, 何烈干, 陈学军, 等. 两种方法鉴定辣椒疫病抗性研究[J]. 江西农业大学学报, 2013, 35(3): 536-542.
- [8] 沈会芳, 蒲小明, 周佳暖, 等. 辣椒品种对疫病的抗性鉴定[J]. 广东农业科学, 2012(1): 46-47.
- [9] 关天舒, 刘长远, 王丽萍, 等. 辣椒抗疫病材料的筛选[J]. 江西农业学报, 2011, 23(11): 100-102.
- [10] 韩帅, 张河庆, 吴婕, 等. 四川主要辣椒栽培品种对疫病的抗性鉴定及评价[J]. 中国蔬菜, 2019(7): 56-61.
- [11] 周耀. 辣椒疫病拮抗菌株筛选及防治效果研究[J]. 新农业, 2019(20): 32-35.
- [12] Wang, G.F., Govinden, R., Chenia, H.Y., et al. (2019) Suppression of *Phytophthora blight* of Pepper by Biochar Amendment Is Associated with Improved Soil Bacterial Properties. *Biology and Fertility Soils*, 55, 813-824. <https://doi.org/10.1007/s00374-019-01391-6>
- [13] 郝卫, 张慧, 贲海燕, 等. 辣椒疫病抗性与形态学性状相关分析[J]. 北方园艺, 2018(13): 1-6.
- [14] 吴石平, 杨学辉, 何海永, 等. 贵州部分辣椒品种对疫病的抗性鉴定[J]. 贵州农业科学, 2010, 38(2): 89-90.
- [15] 隋益虎, 胡能兵, 张子学, 等. 辣椒 4 种病害病原鉴定及 26 份种质资源的抗性聚类分析[J]. 种子, 2013, 32(6): 59-63.
- [16] 于海龙, 张正海, 曹亚从, 等. 辣椒抗黄瓜花叶病毒病研究进展[J]. 园艺学报, 2019, 46(9): 1813-1824.

-
- [17] 李锡香, 张宝玺, 沈镐, 等. 辣椒种质资源描述规范和数据标准[M]. 北京: 中国农业出版社, 2006.
- [18] 雷阳, 成妍, 乔宁, 等. 辣椒苗期抗感疫病比较转录组学分析[J]. 华北农学报, 2019, 34(3): 194-202.
- [19] 李屹, 田晓丽. 辣椒资源材料抗疫病鉴定及主要农艺性状评价[J]. 北方园艺, 2012(14): 138-141.
- [20] Kim, S., Park, M., Yeom, S.I., *et al.* (2014) Genome Sequence of the Hot Pepper Provides Insights into the Evolution of Pungency in Capsicum Species. *Nature Genetics*, **46**, 270-278. <https://doi.org/10.1038/ng.2877>
- [21] Qin, C., Yu, C., Shen, Y., *et al.* (2014) Whole-Genome Sequencing of Cultivated and Wild Peppers Provides Insights into *Capsicum* Domestication and Specialization. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **111**, 5135-5140. <https://doi.org/10.1073/pnas.1400975111>