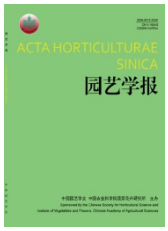

园艺学报
Acta Horticulturae Sinica
ISSN 0513-353X,CN 11-1924/S

《园艺学报》网络首发论文

题目：番茄抗青枯病种质 TK083 的筛选和鉴定
作者：方俊仪，巫伟峰，陆乔，凌宏清，孔丹宇
DOI：10.16420/j.issn.0513-353x.2024-0084
收稿日期：2024-01-14
网络首发日期：2025-04-22
引用格式：方俊仪，巫伟峰，陆乔，凌宏清，孔丹宇．番茄抗青枯病种质 TK083 的筛选和鉴定[J/OL]．园艺学报. https://doi.org/10.16420/j.issn.0513-353x.2024-0084

doi：10.16420/j.issn.0513-353x.2024-0084

番茄抗青枯病种质 TK083 的筛选和鉴定

方俊仪[1,2]，巫伟峰[1]，陆　乔[3,4]，凌宏清[3,4]，孔丹宇[1,2,*]

（[1]江西省、中国科学院庐山植物园，江西九江 332800；[2]南昌大学生命科学学院，南昌 330031；[3]海南省种业实验室，海南三亚 572024；[4]中国科学院遗传与发育生物学研究所，北京 100101）

摘　要：在江西省北部地区对 130 份番茄种质进行青枯病抗性田间自然筛选，并验证了这些种质对当地优势青枯病菌菌株 RS100 的苗期抗性，发现 TK083 为优异的番茄抗青枯病种质。接种青枯病菌后，TK083 木质部汁液中的青枯病菌数远低于易感型番茄‘Moneymaker’；TK083 叶片中 SOD 和 POD 活性明显上升，MDA 含量在接种后初期小幅上升；几丁质酶和 β-1，3-GA 活性分别在接种前期和后期上升，表明它们参与不同阶段的免疫反应；定量 PCR 结果显示参与青枯病免疫调控的 *SlNAP1*、*SlERF2a* 和 *SlERF3* 的表达量在 TK083 根中显著被青枯病菌诱导上调。以上结果表明 TK083 可能通过多个途径协同应对青枯病菌对番茄的侵染。

关键词：番茄；青枯病；青枯雷尔氏菌；种质；抗性；鉴定

Screening and Identification for Bacterial Wilt Resistance Accession TK083 in Tomato

FANG Junyi[1,2]，WU Weifeng[1]，LU Qiao[3,4]，LING Hongqing[3,4]，and KONG Danyu[1,2,*]

（[1]*Lushan Botanical Garden，Jiangxi Province and Chinese Academy of Sciences，Jiujiang，Jiangxi* 332800，*China*；[2]*School of Life Sciences，Nanchang University，Nanchang* 330031，*China*；[3]*Hainan Seed Industry Laboratory，Sanya，Hainan* 572024，*China*；[4]*Institute of Genetics and Developmental Biology，Chinese Academy of Sciences，Beijing* 100101，*China*）

Abstract: In the northern part of Jiangxi Province，130 tomato accessions were naturally screened for bacterial wilt resistance，and the seedling resistance of these accessions to the local dominant *Ralstonia solanacearum* strain RS100 was verified，and TK083 was found to be an excellent tomato resistant to bacterial wilt accessions. After inoculation with *Ralstonia solanacearum*，the concentration of the pathogen in the xylem sap of TK083 was much lower than that of susceptible tomato‘Moneymaker’. The activities of SOD and POD in the leaves of TK083 increased markedly，while the MDA content showed a slight increase in the early stages post-inoculation. The activity of chitinase and β-1，3-GA increased in the early and late stages of inoculation respectively，indicating that they were involved in different stages of immune response. RT-qPCR results revealed that the expression levels of *SlNAP1*，*SlERF2a* and *SlERF3*，which are involved in the immune regulation of bacterial wilt，were significantly up-regulated by *Ralstonia solanacearum* in TK083 roots. These results suggest that TK083 likely employs multiple pathways to

收稿日期：2024－01－14；**修回日期：**2025－03－03

基金项目：国家自然科学基金地区基金项目（32260768）；江西省人才项目（jxsq2020101088）；九江市人才项目（jjsbsq2020005）；九江市基础研究计划（S2024KXJJ0001）

* 通信作者 Author for correspondence（E-mail：kongdy@lsbg.cn）

coordinately combat the infection of *Ralstonia solanacearum*.

Keywords：tomato；bacterial wilt；*Ralstonia solanacearum*；accession；resistance；identification

青枯病是一种由青枯雷尔氏菌（*Ralstonia solanacearum*）引起的植物土传性病害。青枯霍尔氏菌的寄主范围较广，可侵染 54 科 450 余种植物，其中包括许多重要的作物，如烟草、番茄、辣椒、茄子、马铃薯等（Hayward，1991；Zhang et al.，2017；Xiao et al.，2018；Habe et al.，2019；Wang et al.，2019；王亦栖 等，2023）。番茄青枯病在世界各地均有发生，在中国华南地区发生较为普遍，严重时可导致番茄绝收，造成严重经济损失（汪国平 等，2004；任敏华 等，2022；王荣波 等，2024）。青枯病菌通过植物根部的伤口、根尖和侧根部位入侵，进入皮层组织并侵入根部维管束，通过木质部扩散至植物体全身，快速增殖的菌体往往会堵塞维管组织致使叶片发生失水萎蔫（Allen，2007；Xue et al.，2020）。

近年来，对青枯病抗病相关机理的研究取得一些重要进展。研究发现，在木麻黄中青枯病菌诱导两种活性氧（reactive oxygen species，ROS）相关酶活性变化，其中超氧化物歧化酶（superoxide dismutase，SOD）活性增加，过氧化物酶（peroxidase，POD）活性被抑制（许秀玉 等，2017）。为了响应病原体感染诱导的 ROS 爆发，植物激活其抗氧化系统以消除过量的 ROS（Wang et al.，2024）。接种青枯病菌后，番茄抗病品种 BT-10 植株中超氧化物歧化酶和过氧化氢酶的活性一直保持在很高的水平，而在感病品种‘Arka Meghali’植株中这些酶的活性在后期降低；两者根中愈创木酚过氧化物酶活性受青枯病侵染诱导，但在 BT-10 中的活性远高于感病品种（Mandal et al.，2011）。高等植物普遍存在的 β-1，3－葡聚糖酶（β-1，3-glucanase，β-1，3-GA）和几丁质酶（chitinase）定位于细胞间隙和液泡中，二者可以降解病菌细胞壁大分子和毒素，增强植物的抗病性（Benhamou et al.，1990；申姗娜和侯喜林，2009；欧秀玲 等，2013；Rawat et al.，2017；Li et al.，2023）。在青枯病抗性分子机制方面，研究人员在辣椒中发现了 CaWRKY6 等 WRKY 家族转录因子对青枯病抗性具有正调控作用（Dang et al.，2013；Cai et al.，2015；Ifnan Khan et al.，2018）。在番茄中也发现了参与青枯病免疫调节的 WRKY 家族成员，转录因子 SlWRKY30 和 SlWRKY81 通过直接调节 SlPR-STH2 参与番茄青枯病抗性的调控，*SlWRKY33* 受青枯病菌诱导表达（Wang et al.，2017；Ke et al.，2023）。同时与植物抗逆、抗病机制密切相关的乙烯响应蛋白中，*SlERF2a*，*SlERF2b* 的表达受到青枯病菌免疫激发因子 PehC 的诱导（Ke et al.，2023）。另外过表达 *SlERF3* 的 ERF 模块缺失突变基因 *SlERF3 ΔRD* 或者过表达 NAC 家族转录因子 SlNAP1 均能够提高番茄植株的青枯病抗性（Pan et al.，2010；Wang et al.，2020），说明两者在青枯病免疫调节中发挥重要作用。

目前尚无有效的青枯病防治药剂，生物防治效果的稳定性也需进一步提高（方树民 等，2013；Jiang et al.，2017；Dong et al.，2022）。选育抗病品种是防治青枯病的关键手段。国内外先后在花生、马铃薯、番茄、辣椒和茄子中培育出了抗青枯病的品种（Sequeira & Rowe，1969；Grimault et al.，1995；汪国平 等，2003）。但是青枯病菌遗传多样性丰富，导致抗病品种的抗病性地域效应明显（Huet，2014；Li et al.，2016；Jiang et al.，2017），因此，针对特定种植区域，筛选优质、稳定的抗青枯病种质对品种选育具有重要意义。本研究中在青枯病高发区对 130 份番茄种质进行大田抗性鉴定筛选以及幼苗的抗性验证，筛选出抗青枯病种质 TK083 并对其免疫相关生理指标以及相关基因的表达进行检测，初步探究了 TK083 对青枯病的免疫调节机制。

1　材料与方法

1.1　试验材料和栽培条件

130 份番茄种质含普通栽培番茄 *Solanum lycopersicum* var. *lycopersicum*（SLL）、樱桃番茄 *S. lycopersicum* var. *cerasiforme*（SLC）和醋栗番茄 *S. pimpinellifolium*（SP）3 个种或变种（图 1，A）。接种所用青枯病菌为当地青枯病高发区分离到的优势菌株 RS100，经鉴定确认为青枯病菌Ⅰ型。感病番茄 Moneymaker 是番茄研究中的常用模式品种，其遗传背景清晰、易于栽培和繁殖，抗病性较弱，常被用于研究番茄与病原菌的互作机制（Milc et al.，2019）。抗青枯病种质大田筛选试验地位于江西省南昌市溪霞国家农业园青枯病高发试验地，该地为亚热带季风性气候。在该区设立番茄种植试验田。春季最低日温达到 11 ℃以上时，将 130 份种质的番茄幼苗移栽到试验田中，每份种质不少于 20 株，分别种植在试验田不同区域。从第 1 棵植株出现青枯病症状时开始记录，统计发病率，筛选出抗青枯病的番茄种质。根据栽种后第 50 天的发病情况，将 130 份番茄种质分为 4 类：Ⅰ类，青枯病发病率 ≤ 5%；Ⅱ类，5% < 发病率 ≤ 30%；Ⅲ类，30% < 发病率 ≤ 75%；Ⅳ类，75% < 发病率。

1.2　番茄苗期青枯病抗性评估

种子消毒（75%乙醇浸泡 5 min，蒸馏水冲洗；20% NaClO 浸泡 10 min，蒸馏水充分冲洗）后放入垫有蒸馏水湿润滤纸的培养皿内，放至 28 ℃，相对湿度 55%的培养箱避光萌发，期间及时补水。发芽幼苗移栽进土壤中，并在 25 ℃，湿度 55%，光照强度 15 000 lx 的条件下培养 20 d。在 Modified SMSA 半筛选固体培养基（Denny & Hayward，2001）平板上挑取青枯病菌 RS100 菌株单克隆，28 ℃，200 r · min^{-1} 摇床过夜培养，蒸馏水重悬菌液调整到 OD_{600} = 0.1，灌根接种。接种后于温度 28 ℃，湿度 80%，光照强度 15 000 lx 条件下培养，并观察记录各个种质的发病情况。

1.3　青枯病菌的分离和鉴定

从番茄栽培地选取处于青枯病感病初期或中期的植株（25% ~ 50%叶片萎蔫），切取约 5 cm 茎段（以上部带节最佳），上端平切，下端斜切；茎段悬挂在玻璃试管上，确保下端斜切面浸入无菌水中，静置约 3 ~ 5 min 可观察到乳白色液体从茎段渗出，即为青枯病菌液。蘸取所收集的菌液，在 Modified SMSA 半筛选固体培养基平板上划线，正置放入 28 ℃生化培养箱避光培养 48 h。挑单克隆进行分子鉴定，16S rRNA 测序比对进一步确认为青枯病菌菌株。对筛选出的抗性种质 TK083 和感病番茄‘Moneymaker’各灌根接菌 12 株，4 株木质部汁液混为 1 份样品，每份种质 3 次重复。青枯病菌定量分析采用茎段伤流法（Wang et al.，2021）。利用 RS100 16S rRNA 序列及 GenBank 数据库中的 *Ralstonia* 代表序列构建进化树（邻接法）。

1.4　生理生化指标测定

在接种青枯病菌前（0 d）和接菌后 3、5、7、9 d 共 5 个时间点取样，每个样取 8 棵植株叶片混为 1 个重复，3 个重复，取样后液氮速冻 - 80 ℃保存。H_2O_2、丙二醛（malondialdehyde，MDA）含量，过氧化物酶（POD）、超氧化物歧化酶（SOD）、几丁质酶和 β-1，3 - 葡聚糖酶（β-1，3-GA）活性分别使用检测试剂盒（索莱宝，中国）进行检测，测定过程按各试剂盒说明书进行。

1.5　番茄根、茎、叶总 RNA 的提取

将番茄根、茎、叶样品在液氮中研磨成粉末，加入 TRIzol（赛默飞，美国）1 mL，振荡溶解后

置于冰上，随后加入 200 μL 氯仿，4 ℃ 12 753 r · min^{-1} 离心 15 min，取上清液于无 RNA 酶的离心管中，并加入 50%上清液体积的异丙醇，冰上静置 10 min 后，4 ℃ 12 753 r · min^{-1} 离心 10 min，倒掉上清液，加入 75%乙醇清洗沉淀，吸去乙醇将沉淀晾至半透明，加入 20 μL RNase free 水溶解沉淀。

1.6 实时荧光定量 PCR

分别提取番茄根、茎、叶总 RNA，反转录合成 cDNA。cDNA 的合成使用 RevertAid First Strand cDNA Synshesis Kit（赛默飞，美国）。使用 TB Green® Premix Ex Taq™（Tli RNaseH Plus）（TaKaRa）和 Bio-RADCFX Connect（伯乐，美国）进行荧光定量 PCR 分析。引物信息见表 1。总反应体系 10 μL，具体为：cDNA 模板 1 μL，正、反向引物各 0.2 μL，TB Green Premix Ex Tap（Tli RNaseH）（2×）5 μL，ddH_2O 3.6 μL。qRT-PCR 程序如下：95 ℃预变性 30 s；95 ℃变性 5 s，60 ℃退火和延伸 30 s，40 次循环。引物信息见表 1。使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算相对表达量。

表 1　qRT-PCR 所用引物

Table 1 Primers for qRT-PCR

引物名称 Primer name	正向引物（5′－3′） Forward primer	反向引物（5′－3′） Reverse primer	片段/bp Fragment length	参考文献 Reference
qSlNAP1	CCAAATAGAGCAGCTGTGTCA	TTGGTGGTTTGCCTTTGTAA	121	Wang et al.，2020
qSlERF2a	TATGCACAATTACTTCGCGATG	GCTTGTTGTTGTTGTTGTTG	155	Ke et al.，2023
qSlERF2b	CGACGATACAGAGGAGTTAGAC	AAAAGTACCTAACCAAACACGC	96	Ke et al.，2023
qSlERF3	GGTGCAGTTACAGCTATGGC	CTAGCAGCGTTATCATAAGC	191	Pan et al.，2010
qSlWRKY33	AAGGCAACAACAGACCACTG	CCATCTTCCGCCTTCTGTTC	162	Ke et al.，2023
qSlUBI	TCGTAAGGAGTGCCCTAATGCTGA	CAATCGCCTCCAGCCTTGTTGTAA	119	姜静 等，2017

2 结果与分析

2.1 130 份番茄种质青枯病田间自然发病情况

对 130 份种质（图 1，A）进行田间观察发现，大部分种质在 30 d 时发病，50 d 后发病率基本

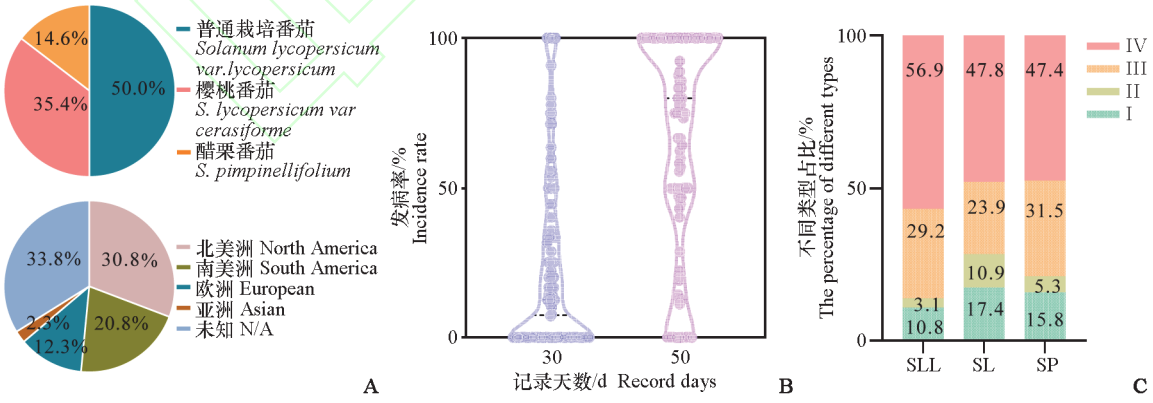

图 1　130 份番茄种质青枯病的田间自然发病情况

Ⅰ类：发病率 ≤ 5%；Ⅱ类：5% < 发病率 ≤ 30%；Ⅲ类：30% < 发病率 ≤ 75%；Ⅳ类：75% < 发病率。SLL：普通栽培番茄；SLC：樱桃番茄；SP：醋栗番茄。

Fig. 1　The natural incidence of bacterial wilt in 130 tomato accessions under field conditions

ClassⅠ：Incidence ≤5%；ClassⅡ：5% < incidence ≤ 30%；ClassⅢ：30%< incidence ≤ 75%；ClassⅣ：75% < Incidence. SLL：*Solanum lycopersicum* var. *lycopersicum*；SLC：*S. lycopersicum* var. *cerasiforme*；SP：*S. pimpinellifolium*.

不变。随着时间推移，大部分番茄种质的青枯病发病率逐渐上升；定植后 30 d 发病率达到 100%的有 8 个种质，发病率为 0 的有 64 个；定植后 50 d 发病率为 100%的上升到 54 个，发病率为 0 的只有 18 个（图 1，B）。定植 50 d 后 130 份番茄种质中Ⅰ类（发病率 ≤ 5%）有 18 种，Ⅱ类（5% < 发病率 ≤ 30%）有 8 种，Ⅲ类（30% < 发病率 ≤ 75%）有 36 种，Ⅳ类（发病率 > 75%）有 68 种。普通栽培番茄中Ⅳ类的比例稍高，樱桃番茄中Ⅰ类的比例稍高，但普通栽培番茄、樱桃番茄和醋栗番茄中 4 种类型的番茄均存在（图 1，C）。

2.2　青枯病菌优势菌株及番茄种质苗期青枯病抗性筛选

从试验田感病番茄植株中分离到了当地青枯病菌优势菌株 RS100。对 RS100 及 *Ralstonia* 代表序列构建进化树，图 2 显示 RS100 与 GMI1000 聚在同一分支，bootstrap 值为 99。此外，RS100、GMI1000、*Ralstonia solanacearum* LMG2299/UQRS461、3 条 *Ralstonia syzygii* 代表菌株聚在同一分支，表明 RS100 是一种与 GMI1000 较近缘的青枯病菌菌株。

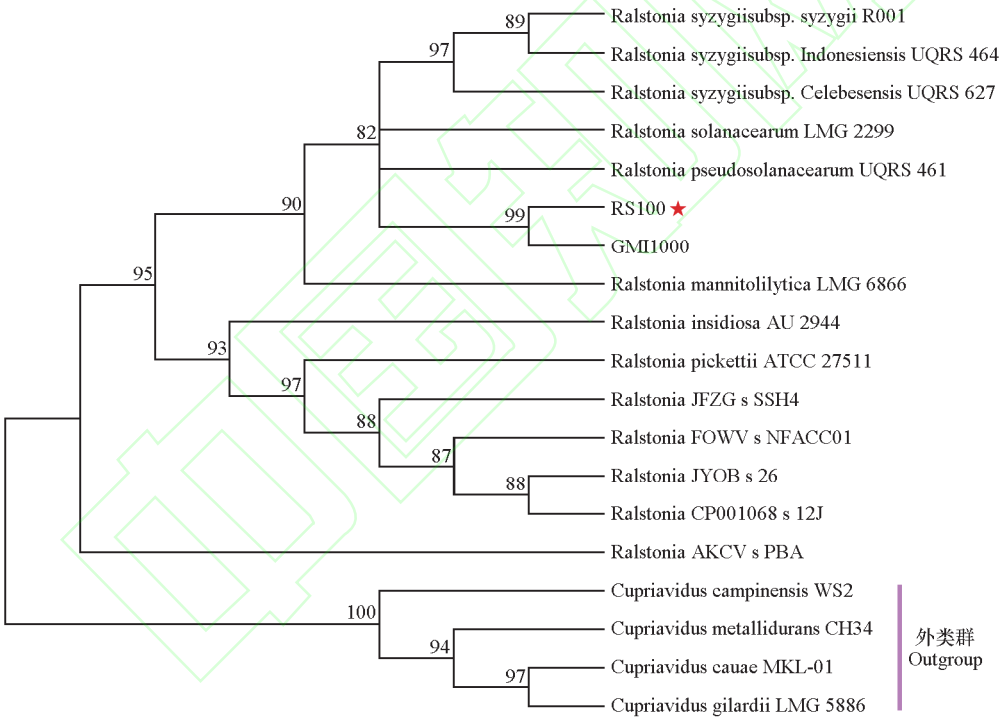

图 2　青枯病菌菌株 RS100 与其他 *Ralstonia* 代表序列的系统进化树

Fig. 2　Evolutionary tree of *Ralstonia solanacearum* strain RS100 with other *Ralstonia* representative sequences

利用当地青枯病菌优势菌株 RS100 对 130 份番种质进行苗期抗性筛选。图 3，A 显示随着时间推移发病种质数量逐渐增多。灌根接种后 12 d 整体发病率明显上升，18 d 时大部分种质发病，24 d 之后大部分种质发病率基本不变。接种后 24 d 时发病率 > 75%的有 15 种，在 30% ~ 75%之间有 59 种，0 < 30%的有 37 种，发病率为 0 的有 19 种。

由图 3，B 可知，在田间自然筛选试验第 50 天和幼苗接种青枯病菌筛选第 24 天发病率均为 0 的种质仅有 TK083（樱桃番茄，来源地南美洲厄瓜多尔）。之后将 TK083 在试验田中连续种植 2 年，其青枯病发病率均小于 5%。

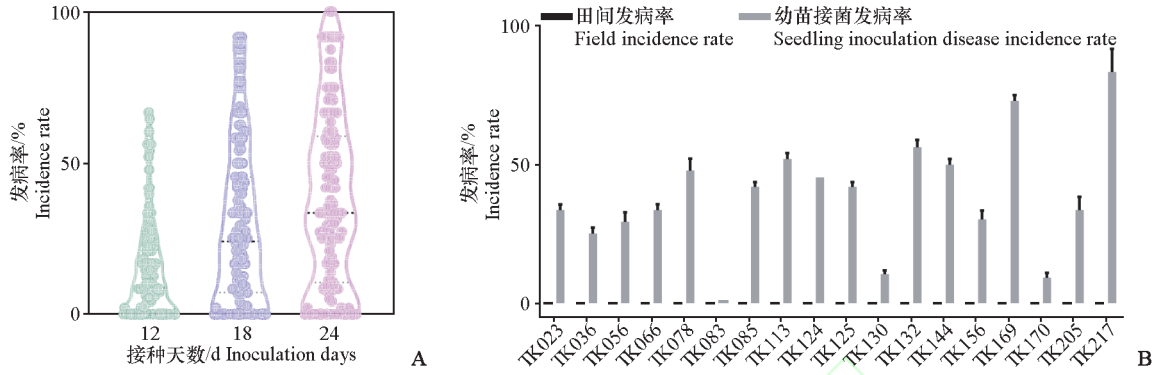

图 3　番茄种质青枯病菌抗性筛选

A：幼苗接菌发病率；B：田间自然筛选与幼苗接菌筛选青枯发病率

Fig. 3 Screening of tomato accession for resistance to *Ralstonia solanacearum*

A：Incidence of seedling inoculation；B：Comparison of bacterial wilt incidence between natural screening in the field and seedling inoculation screening

2.3　抗青枯病种质 TK083 的表型

在灌根接种青枯病菌后 5 d，Moneymaker 幼苗开始出现青枯病感染症状，叶片发生失水萎蔫，TK083 的幼苗并无感染症状（图 4，A）。接种 5 d 的幼苗木质部汁液中青枯病菌数 TK083 为 0.36×10^6 CFU · mL^{-1}，远低于 Moneymaker 的 9.41×10^8 CFU · mL^{-1}（图 4，B），并且 TK083 的发病率在接种后 24 d 仍为 0（图 4，C），说明青枯病菌虽然可以侵染 TK083，但其在 TK083 体内的繁殖受到了显著抑制。

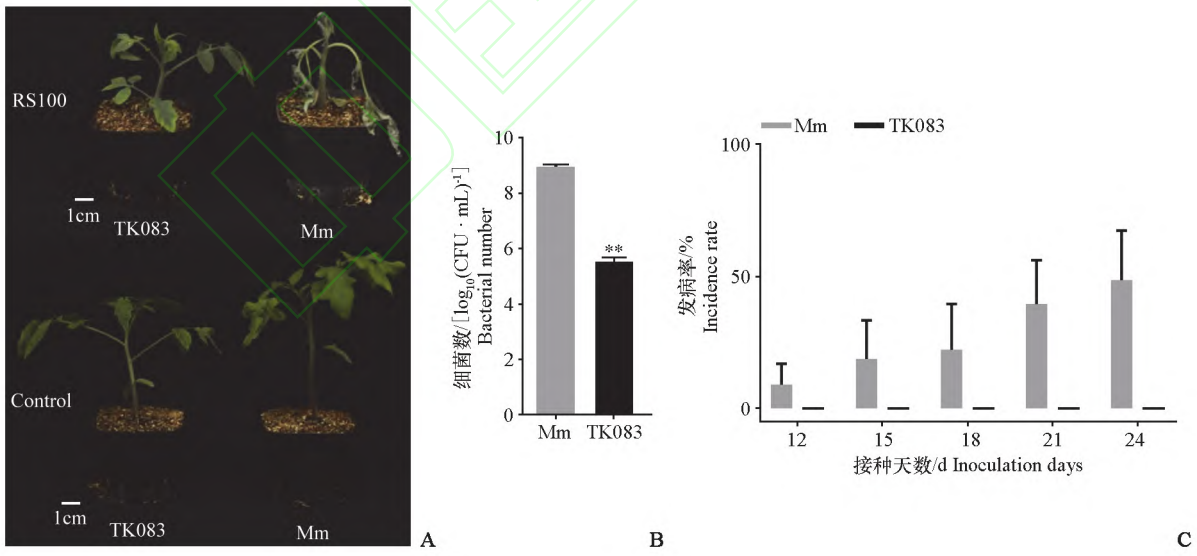

图 4　抗病种质 TK083 和感病种质 Moneymaker（Mm）幼苗在接种青枯病菌 5 d 后的表型（A）、木质部细菌数（B）和 24 d 内的发病率（C）

t 检验，** 表示在 $P < 0.01$ 水平上差异显著

Fig. 4　Phenotype（A），number of xylem bacteria（B）and incidence rate（C）within 24 days of inoculation of resistant accession TK083 and susceptible accession Moneymaker（Mm）seedlings 5 days after inoculation with *Ralstonia solanacearum*

t-Test，** indicates significantly difference at $P < 0.01$ level

2.4　TK083 在接种青枯病菌后的相关生理变化

检测结果（图 5）表明，接种青枯病菌后 TK083 叶片 SOD 和 POD 酶活性均出现明显上升，而 Moneymaker 并无类似变化，活性氧是植物免疫调控的重要信号分子，说明 TK083 中活性氧相关酶快速响应青枯病菌侵染，迅速启动防御机制；MDA 是膜脂过氧化程度的重要指标，TK083 中 MDA 含量在接菌初期小幅上升之后变化较小，而 Moneymaker 中前 5 d 持续上升，说明与 Mm 相比，TK083 在受到侵染时其胞内活性氧较为稳定。另外两个与植物免疫相关的酶 β-1，3-GA 和几丁质酶活性在 TK083 接种青枯病菌后也出现变化，几丁质酶活性在前 7 d 总体呈上升趋势，而 β-1，3-GA 在接种初期表现为波动的趋势，但 5 d 后呈上升趋势。Mm 的 β-1，3-GA 和几丁质酶活性变化趋势与 TK083 基本一致，但是 TK083 中酶活性增加更多。

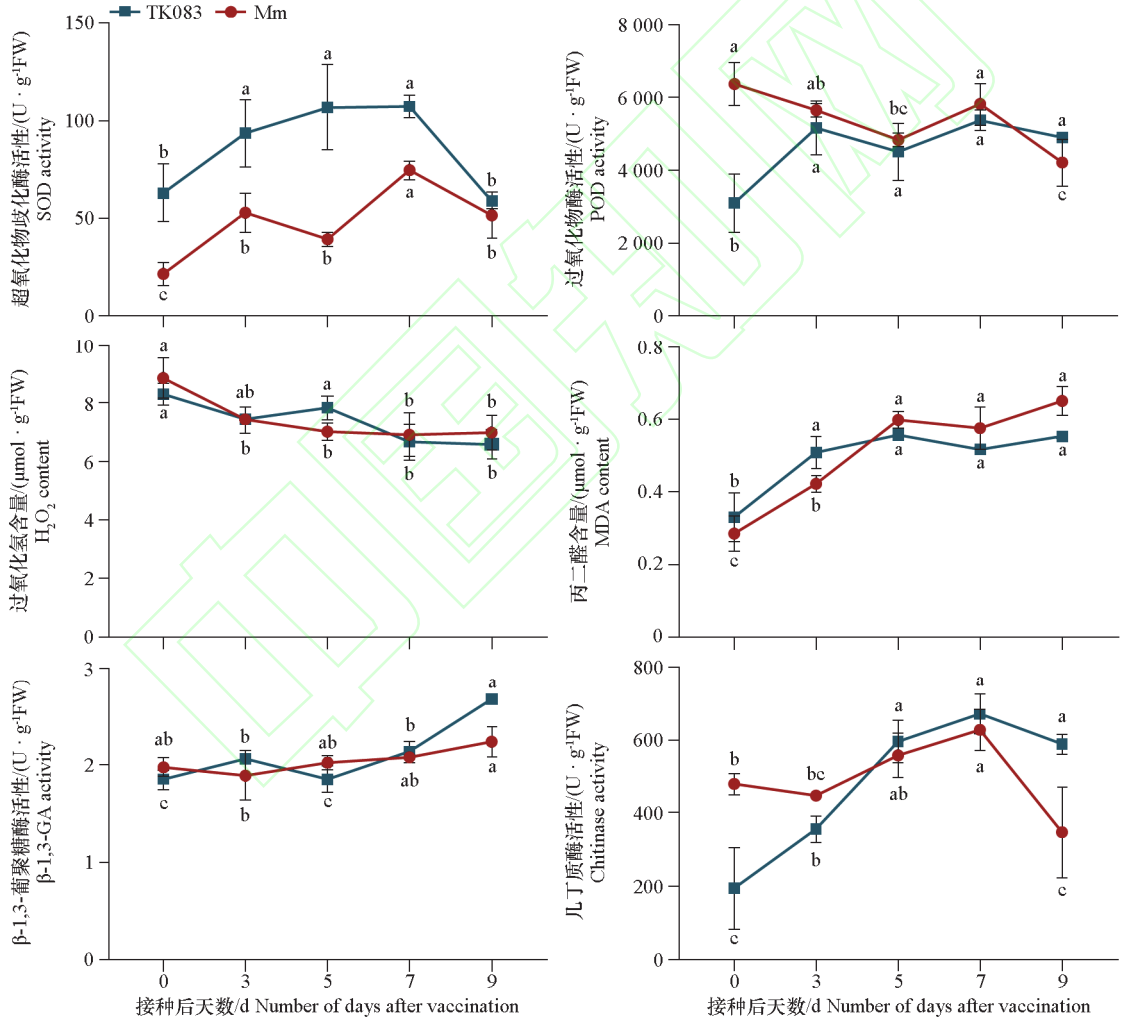

图 5　抗病种质 TK083 和感病种质 Moneymaker（Mm）幼苗在接种青枯病菌后的生理指标变化

差异显著性分析采用 Duncan's 检验，不同小写字母表示同一种质不同时间差异显著（$P < 0.05$）

Fig. 5　Changes of physiological indexes in seedlings of resistant accession TK083 and susceptible accession Moneymaker（Mm）after inoculation with *Ralstonia solanacearum*

Significant difference analysis used Duncan's test，different lowercase letters indicate significant differences in the same accession at different times（$P < 0.05$）

2.5 抗感番茄接种青枯病菌后青枯病免疫相关基因的表达模式

接种青枯病菌后 5 d，NAC 转录因子基因 *SlNAP1* 在 TK083 的根和茎中的表达被强烈诱导，其表达量远高于感病品种 Moneymaker，说明 TK083 可能通过 *SlNAP1* 所在通路调节青枯病抗性；乙烯响应因子 *SlERF2a*、*SlERF2b* 和 *SlERF3* 在 TK083 中的表达模式与 Moneymaker 存在差异，接种后 TK083 根中 *SlERF2a* 和 *SlERF3* 的表达显著升高，*SlERF2b* 无明显变化，而在 Moneymake 中 *SlERF2a* 则显著下调，*SlERF2b* 被强烈诱导表达，*SlERF3* 无明显变化；WRKY 家族基因 *SlWRKY33* 在二者的根中都被强烈诱导，但是在 TK083 的叶片中表达被抑制（图 6）。

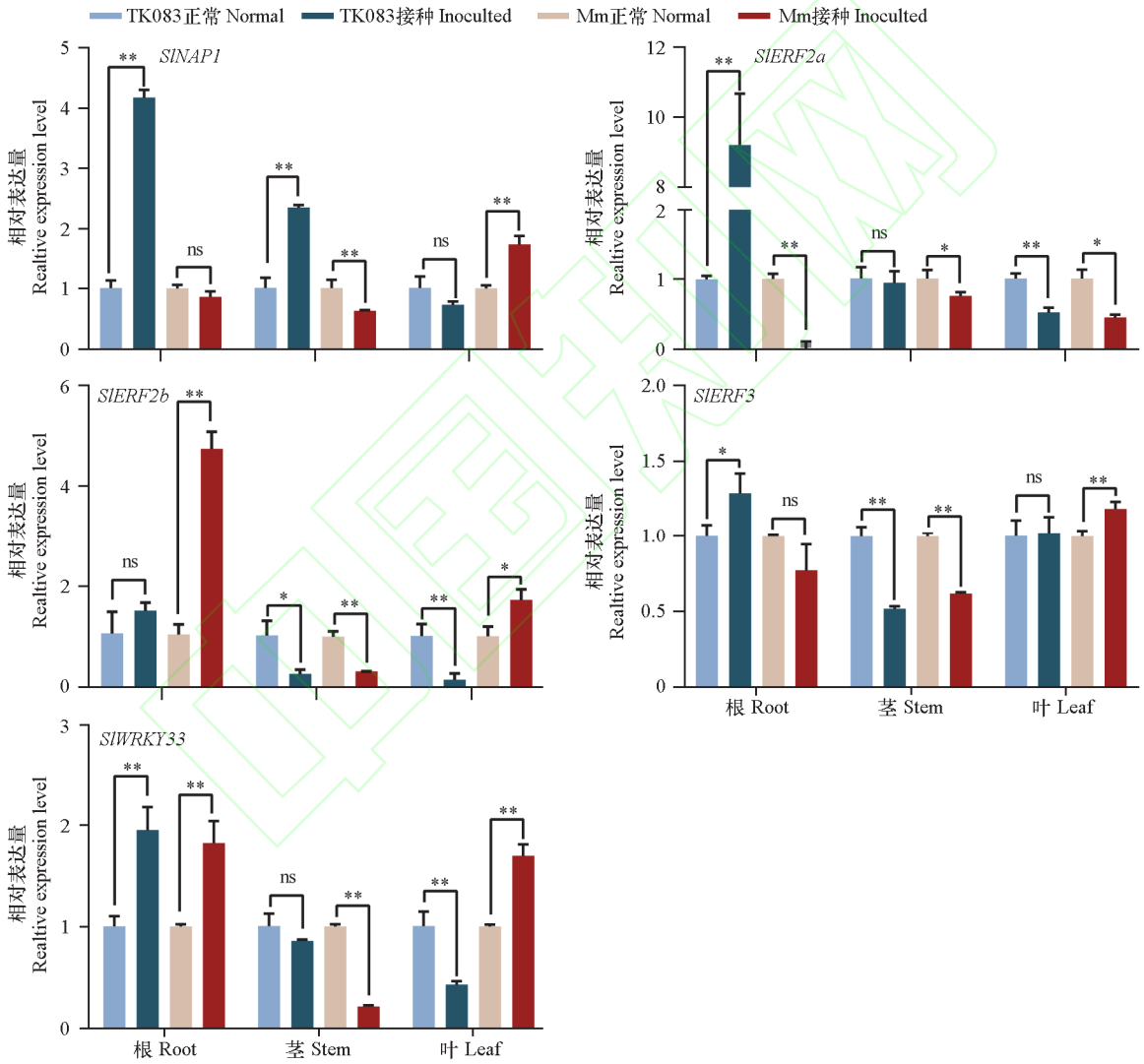

图 6　抗病种质 TK083 和感病种质 Moneymaker（Mm）幼苗在接种青枯病菌 5 d 后相关免疫应答基因的表达模式

t 检验，* 表示在 $P < 0.05$ 水平上差异显著，** 表示在 $P < 0.01$ 水平上差异显著，ns 表示差异不显著。

Fig.6　Expression patterns of related immune response genes in resistant accession TK083 and susceptible accession Moneymaker（Mm）seedlings 5 days after inoculation with *Ralstonia solanacearum*

t-Test，* indicates significantly difference at $P < 0.05$ level，** indicates significantly difference at $P < 0.01$ level，ns indicates no significant difference.

3　讨论

使用抗性品种来识别病原体抗性基因是可持续控制病害的方法（Xu et al.，2022），本研究中获得了一个番茄抗性种质 TK083，在接菌后表型正常的 TK083 茎中能够检测到青枯病菌，但是青枯病菌数明显少于感病品种 Moneymaker，说明 TK083 虽不能避免青枯病菌侵染，但可能存在某种机制显著抑制其在维管束中的繁殖，使青枯病不能爆发，实现与青枯病菌共存。

微生物侵染可诱发植物体产生活性氧迸发（ROS burst）反应，诱导植物体内产生活性氧，少量的活性氧作为信号分子激活进一步的应激反应，同时局部积累的高浓度活性氧可直接杀灭病原体，而大量长时间堆积的活性氧则会使植物体产生细胞凋亡，不利于植物健康（Kadota et al.，2015）。有研究表明，辣椒接种青枯病菌后 SOD 活性越高，材料抗青枯病能力越强（严希　等，2022）。TK083 被侵染后叶片中 SOD 和 POD 活性明显上升，表明 TK083 受到侵染时对活性氧的还原机制更为敏感和迅速，与此对应的是其叶片 MDA 含量仅在前 3 d 小幅上升，之后较稳定，而 Moneymaker 的叶片 MDA 含量则一直呈现上升趋势。另外，TK083 的几丁质酶活性在侵染前期、β-1，3-GA 在侵染后期出现明显上升，说明两者主要参与在不同时期的免疫反应。以往研究表明一些转录因子参与了植物对青枯病菌的免疫反应，例如 WRKY、ERF 和 NAC 等家族（Pan et al.，2010；Wang et al.，2020；Ke et al.，2023）。本研究中发现 TK083 中这些免疫相关转录因子基因的表达模式与易感的 Moneymaker 存在差异，例如 *SlNAP1*、*SlERF2a* 和 *SlERF3* 在 TK083 的根中被青枯病菌侵染强烈诱导，但在 Moneymaker 中没有被诱导甚至被抑制，说明二者抗青枯病的策略有所不同，并且 TK083 可能通过多个信号通路协同实现抗病，但具体的分子机制有待进一步研究。

References

Allen C. 2007. Strategies for managing bacterial wilt diseases of tomato，potato，and export ornamentals. Phytopathology，97 (7)：148－149.

Benhamou N，Joosten M H，de Wit P J. 1990. Subcellular localization of chitinase and of its potential substrate in tomato root tissues infected by *Fusarium Oxysporum* f. Sp. *Radicis-Lycopersici*. Plant Physiology，92 (4)：1108－1120.

Cai H Y，Yang S，Yan Y，Xiao Z L，Cheng J B，Wu J，Qiu A L，Lai Y，Mou S L，Guan D Y，Huang R H，He S L. 2015. CaWRKY6 transcriptionally activates CaWRKY40，regulates *Ralstonia solanacearum* resistance，and confers high-temperature and high-humidity tolerance in pepper. Journal of Experimental Botany，66 (11)：3163－3174.

Dang F F，Wang Y N，Yu L，Eulgem T，Lai Y，Liu ZQ，Wang X，Qiu A L，Zhang T X，Lin J，Chen Y S，Guan D Y，Cai H Y，Mou S L，He S L. 2013. CaWRKY40，a WRKY protein of pepper，plays an important role in the regulation of　tolerance to heat stress and resistance to *Ralstonia solanacearum* infection. Plant Cell Environment，36 (4)：757－774.

Denny T P，Hayward A C. 2001. Gram-negative bacteria：*Ralstonia*.//Schaad N W，Jones J B，Chun W. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria，third edition. USA：American Phytopathological Society Press：151－174.

Dong H H，Xu X，Gao R X，Li Y Q，Li A Z，Yao Q，Zhu H H. 2022. *Myxococcus xanthus* R31 suppresses tomato bacterial wilt by inhibiting the pathogen *Ralstonia Solanacearum* with secreted proteins. Frontiers in Microbiology，12 (2)：801091.

Fang Shumin，Gu Gang，Chen Yusen，Huang Chunmei，Chen Shunhui. 2013. Colonization and infection of *Ralstonia Solanacearum* in weed roots. Acta Tabacaria Sinica，19 (5)：72－81，88. (in Chinese)
方树民，顾　钢，陈玉森，黄春梅，陈顺辉. 2013. 烟草青枯菌在杂草根部的定殖和传病作用. 中国烟草学报，19 (5)：72－81，88.

Grimault V，Prior P，Anaïs G. 1995. A monogenic dominant resistance of tomato to bacterial wilt in Hawaii 7996 is associated with plant colonization by *Pseudomonas Solanacearum*. Journal of Phytopathology，143 (6)：349－352.

Habe I，Miyatake K，Nunome T，Yamasaki M，Hayashi T. 2019. QTL analysis of resistance to bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* in potato.Breeding Science，69 (4)：592－600.

Hayward A C. 1991. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas Solanacearum*. Annual Review of Phytopathology，29：65－87.

Huet G. 2014. Breeding for resistances to *Ralstonia Solanacearum*. Frontiers in Plant Science，5 (12)：715.

Ifnan Khan M，Zhang Y W，Liu Z Q，Hu J，Liu C，Yang S，Hussain A，Furqan Ashraf M，Noman A，Shen L，Xia X Q，Yang F，Guan D Y，He S L. 2018. CaWRKY40b in pepper acts as a negative regulator in response to *Ralstonia solanacearum* by directly modulating defense genes including CaWRKY40. International Journal of Molecular Sciences，19 (5)：1403.

Jiang G F，Wei Z，Xu J，Chen H L，Zhang Y，She X M，Macho A P，Ding W，Liao B S. 2017. Bacterial wilt in China：history，current status，and future perspectives. Frontiers in Plant Science，8 (9)：1549.

Jiang Jing，Wang Yinlei，Zhao Liping，Zhou Rong，Li Yaru，Zhao Tongmin，Yu Wengui. 2017. Selection of tomato reference genes for qRT-PCR. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences，33 (2)：389－396. (in Chinese)

姜　静，王银磊，赵丽萍，周　蓉，李亚茹，赵统敏，余文贵. 2017.番茄 qRT-PCR 内参基因的筛选. 江苏农业学报，33 (2)：389－396.

Kadota Y，Shirasu K，Zipfel C. 2015. Regulation of the NADPH Oxidase RBOHD during plant immunity. Plant Cell Physiology，56 (8)：1472－1480.

Ke J J，Zhu W T，Yuan Y，Du X Y，Xu A，Zhang D，Cao S，Chen W，Lin Y，Xie J T，Cheng J S，Fu Y P，Jiang D H，Yu X，Li B. 2023. Duality of immune recognition by tomato and virulence activity of the *Ralstonia solanacearum* exo-polygalacturonase PehC. The Plant Cell，35 (7)：2552－2569.

Li X Y，Xu B，Xu J Q，Li Z S，Jiang C Q，Zhou Y，Yang Z G，Deng M H，Lv J H，Zhao K .2023. Tomato-thaumatin-like protein genes and confer resistance to five soil-borne diseases by enhancing β-1，3-glucanase activity. Genes，14 (8)：1622.

Li Y Y，Feng J，Liu H L，Wang L，Hsiang T，Li X H，Huang J B. 2016. Genetic diversity and pathogenicity of *Ralstonia solanacearum* causing tobacco bacterial wilt in China. Plant Disease，100 (7)：1288－1296.

Mandal S，Das R K，Mishra S. 2011. Differential occurrence of oxidative burst and antioxidative mechanism in compatible and incompatible interactions of *Solanum Lycopersicum* and *Ralstonia Solanacearum*. Plant Physiology and Biochemistry，49 (2)：117－123.

Milc J，Bagnaresi P，Aragona M，Valente M T，Biselli C，Infantino A，Francia E，Pecchioni N. 2019. Comparative transcriptome profiling of the response to *Pyrenochaeta lycopersici* in resistant tomato cultivar Mogeor and its background genotype—susceptible Moneymaker. Functional & Integrative Genomics，19：811－826.

Ou Xiuling，Geng Yawen，Li Feng，Li Caolong，Zhu Jianbo，Wang Aiying. 2013. The effect of physiological traits of transgenic cotton induced by *Verticillium* wilt Pathogen. Biotechnology Bulletin，6：94－98. (in Chinese)

欧秀玲，耿雅文，李　凤，李曹龙，祝建波，王爱英. 2013. 棉花黄萎病病原菌诱导侵染对转基因抗病棉花生理性状的影响. 生物技术通报，6：94－98.

Pan I C，Li C W，Su R C，Cheng C P，Lin C S，Chan M T. 2010. Ectopic expression of an EAR motif deletion mutant of *SlERF3* enhances tolerance to salt stress and *Ralstonia solanacearum* in tomato. Planta，232 (5)：1075－1086.

Rawat S，Ali S，Mittra B，Grover A. 2017. Expression analysis of chitinase upon challenge inoculation to *Alternaria* wounding and defense inducers in brassica juncea. Biotechnology Reports，13 (3)：72－79.

Ren Minhua，Zhang Jingyan，Cui Xiaodong，Chen Ronghua，Liu Qiongguang. 2022. Diversity of *Ralstonia solanacearum* strains from tomato in the south of Jiangxi Province. Journal of South China Agricultural University，43(1)：67－76.(in Chinese)

任敏华，张静燕，崔晓东，陈荣华，刘琼光. 2022. 赣南地区番茄青枯菌菌系多样性分析. 华南农业大学学报，43 (1)：67－76.

Sequeira L，Rowe P R. 1969. Selection and utilization of *Solanum Phureja* clones with high resistance to different strains of *Pseudomonas Solanacearum*. American Potato Journal，46 (12)：451－462.

Shen Shanna，Hou Xilin. 2009. Changes of protective substances and enzymes in non-heading Chinese cabbage after infection by downy mildew. Journal of Nanjing Agricultural University，32 (1)：23－26. (in Chinese)

申姗娜，侯喜林. 2009. 不结球白菜感染霜霉病菌后防御物质及酶的变化. 南京农业大学学报，32 (1)：23－26.

Wang Guoping，Li ZhenXing，Lin Mingbao. 2003. A new tomato germplasm resistance to *Ralstonia solanacearum* AS52. Acta Horticulturae Sinica，30 (6)：706. (in Chinese)

汪国平，黎振兴，林明宝. 2003. 番茄抗青枯病新资源材料 AS52. 园艺学报，30 (6)：706.

Wang Guoping，Lin Mingbao，Wu Dinghua. 2004. Classical and molecular genetics of bacterial wilt resistance in tomato. Acta Horticulturae Sinica，

31 (3)：403－407. (in Chinese)
汪国平，林明宝，吴定华. 2004. 番茄青枯病抗性遗传研究进展. 园艺学报，31 (3)：403－407.

Wang J，Zheng C F，Shao X Q，Hu Z J，Li J X，Wang P，Wang A R，Yu J Q，Shi K . 2020. Transcriptomic and genetic approaches reveal an essential role of the NAC transcription factor SlNAP1 in the growth and defense response of tomato. Horticulture Research，7 (1)：209.

Wang L，Zhang X L，Wang L，Tian Y N，Jia N，Chen S Z，Shi N B，Huang X M，Zhou C，Yu Y W，Zhang Z Q，Pang X Q. 2017. Regulation of ethylene-responsive *SlWRKYs* involved in color change during tomato fruit ripening. Scientific Reports，7 (1)：16674.

Wang Q，Huang D，Tu W Y，Ma F W，Liu C H. 2024. Overexpression of auxin/indole-3-acetic acid gene *MdIAA24* enhances *Glomerella* leaf spot resistance in apple（*Malus domestica*）. Horticultural Plant Journal，10 (1)：15－24.

Wang Rongbo，Wang Haiyun，Zhang Qianrong，Cai Songling，Li Benjin，Zhang Meixiang，Liu Peiqing. 2024. Genetic diversity of *Ralstonia solanacearum* strains isolated from Fujian Province and evaluation of tomato rootstocks for resistance to bacterial wilt. Acta Horticulturae Sinica，51 (11)：2540－2554. (in Chinese)
王荣波，王海云，张前荣，蔡松龄，李本金，张美祥，刘裴清. 2024. 福建省番茄青枯病菌遗传多样性分析及其抗性砧木的筛选. 园艺学报，51 (11)：2540－2554.

Wang X F，Wei Z，Yang K M，Wang J N，Jousset A，Xu Y C，Shen Q R，Friman V P. 2019. Phage combination therapies for bacterial wilt disease in tomato. Nature Biotechnology，37 (12)：1513－1520.

Wang Y R，Xian L，Yu G，Macho A P. 2021. Tomato stem injection for the precise assessment of *Ralstonia solanacearum* fitness in planta. Bio-Protocol Journal，11 (16)：e4134.

Wang Yixi，Yan Shuangshuang，Yu Bingwei，Gan Yuwei，Qiu Zhengkun，Zhu Zhangsheng，Chen Changming，Cao Bihao. 2023. Screening and identification of E3 ubiquitin ligase genes relate to bacterial wilt resistance in eggplant. Acta Horticulturae Sinica，50 (10)：2271－2287. (in Chinese)
王亦栖，颜爽爽，余炳伟，甘雨薇，邱正坤，朱张生，陈长明，曹必好. 2023. 茄子青枯病抗性相关的 E3 泛素连接酶基因的筛选及鉴定. 园艺学报，50 (10)：2271－2287.

Xiao Y H，Liu X D，Meng D L，Tao J M，Gu Y B，Yin H Q，Li J. 2018. The role of soil bacterial community during winter fallow period in the incidence of tobacco bacterial wilt disease. Applied Microbiology and Biotechnology，102 (5)：2399－2412.

Xue H，Lozano-Durán R，Macho A P. 2020. Insights into the root invasion by the plant pathogenic bacterium *Ralstonia Solanacearum*. Plants，9 (4)：516.

Xu Xiuyu，Wang Minghuai，Zhang Weiqiang，Xu Bin. 2017. Effect of *Ralstonia solanacearum* on activities of protective enzymes and soluble protein content in *Casuarina equisetifolia*. Journal of Southwest Forestry University，37 (3)：107－112. (in Chinese)
许秀玉，王明怀，张卫强，徐　斌. 2017. 青枯菌对木麻黄防御酶活性及可溶性蛋白含量的影响. 西南林业大学学报（自然科学），37 (3)：107－112.

Xu J，Xian Q Q，Wang K，Dong J P，Zhang C Y，Du S L，Xu X W，Chen X H. 2022. Screening and identification of candidate *Fusarium* wilt-resistance genes from pumpkin. Horticultural Plant Journal，8 (5)：583－592.

Yan Xi，He Lei，Yang Hong，Lai Wei，Liu Chongzheng. 2022. Establishment of evacuation model for bacterial wilt resistance based on physiological indexes in *Capsicum annuum L*. Molecular Plant Breeding，http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220221.1702.011.html. (in Chinese)
严　希，何　磊，杨　红，赖　卫，刘崇政. 2022. 辣椒抗青枯病生理指标评估模型的构建. 分子植物育种，http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220221.1702.011.html.

Zhang C，Chen H，Cai T C，Deng Y，Zhuang R R，Zhang N，Zeng Y，Zheng Y H，Tang R H，Pan R L，Zhuang W J. 2017. Overexpression of a novel peanut *NBS-LRR* gene *AhRRS5* enhances disease resistance to *Ralstonia solanacearum* in tobacco. Plant Biotechnology Journal，15 (1)：39－55.