

不同烟草品种对云南烟草野火病菌的抗性鉴定*

黄杏娥¹, 刘雅婷^{1**}, 李永忠², 陈赞娟¹, 饶省和¹, 王瑞建¹

(1. 云南农业大学农学与生物技术学院, 云南 昆明 650201; 2. 云南农业大学烟草学院, 云南 昆明 650201)

摘要: 采用采自云南省不同地点、不同生理小种的24株烟草野火病菌对24个不同烟草品种及两个野生种黄花烟和长花烟进行抗病性鉴定分析。结果表明,不同抗性品种对不同生理小种的抗性反应差异显著,根据接种后不同烟草品种的形成的病斑直径,将其划分为4个等级:高抗、中抗、中感、高感。辽烟15, G28对于烟草野火病菌0,1号生理小种均表现为高感,而云南省大面积栽培的K326、红花大金元、云烟87等对于两个生理小种均表现为中感,而两个野生种黄花烟和长花烟均表现为高抗,可以作为烟草野火病抗性育种优先利用的种质资源。

关键词: 烟草品种; 烟草野火病; 烟草野火病菌; 抗病性

中图分类号: S 435.72 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-390X(2007)06-0813-04

Identification of Tobacco Cultivars Resistance to *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* of Yunnan

HUANG Xing-e¹, LIU Ya-ting¹, LI Yong-zhong², CHEN Yun-juan¹,
RAO Sheng-he¹, WANG Rui-jian¹

(1. Faculty of Agronomy and Biotechnology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;
2. Faculty of Tobacco Science, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract: A total of 24 tobacco cultivars and two wild tobaccos (*Nicotiana longiflora* Cav and *Nicotiana rustica*) were analyzed to study their resistance to tobacco wildfire by inoculated different physiology races of *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*. The result indicated that the resistance of different tobacco cultivars was significantly correlated with different physiology races. The 24 tobacco cultivars and two wild tobaccos were divided into 4 levels according to diameter of spot, that is high-susceptibility, middle-susceptibility, middle-resistance and high-resistance. Liaoyan 15 and G28 are high-susceptibility to physiology race 0 and 1. K326, Hongda and Yunyan 87, which are main planting cultivars, are middle-susceptibility. The two wild tobaccos were high-resistance, which should be given priorities in tobacco wildfire-resistance breeding.

Key words: tobacco cultivars; tobacco wildfire disease; *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*; resistance to disease

烟草野火病是由烟草假单胞杆菌 (*Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*) 引起的细菌性病害,最早由 WOLF FOSE (1917) 报道^[1]。而据美国研究,野火病早在 1917 年前就已经发生了许多年,直

到 1917 年在佛吉尼亚和北卡罗来纳州成为危害最严重的病害,1921 年佛吉尼亚州因野火病造成烟草减产 1 000 万 kg。20 世纪 20 年代以后,澳大利亚、哥伦比亚、法国、加拿大、意大利、日本、朝鲜、新

收稿日期: 2007-01-05 修回日期: 2007-04-09

* 基金项目: 云南省教育厅基金项目资助(02QY055); 云南农业大学青年基金项目资助(02QY055)。

** 通讯作者 Email: liuyating999@yahoo.com.cn

作者简介: 黄杏娥(1980-), 女, 云南大理人, 在读硕士研究生, 主要从事药用植物资源评价与利用研究。

西兰、菲律宾、波兰、前苏联等相继报道发生该病。现在,所有主要产烟国均有发生^[1,2]。继后 A C BRAUM. ALLINGTON 也有报道^[5]。在我国贵州、四川、湖北、山东、河南、安徽、辽宁、黑龙江等省野火病发生也比较普遍。据全国烟草侵染性病害普查组 1989~1993 年调查,此病在所有种烟区都有发生,尤以辽宁、黑龙江、山东、云南、四川、陕西等省发病最为严重^[3,4]。云南省是我国重要的产烟区,1983~1984 年此病开始流行,1986 年以来,此病已成为云南烟草的主要病害之一,年发病面积达 6 700 多 hm^2 。近几年,烟草野火病的发生在云南烟区逐年上升,现已扩张到曲靖、昭通、玉溪、保山、昆明等烟草主产区。烟草感病后严重影响烟草产量及品质,已成为生产上急待解决的问题^[5]。云南省作为中国烟草生产的主要地区,1998 年其烟草种植面积达 30.5 万 hm^2 ,实现工商税利约 380 亿元,占全国烟草行业 40%^[6]。因此有效地控制烟草野火病及进行有针对性的抗病育种是很有必要的。

1 材料和方法

1.1 病原菌的分离和纯化

从云南各大烟区采集的具有典型烟草野火病病症的标样,通过分离、纯化和鉴定,获得 24 个烟草野火病菌株,并建立一套鉴别寄主将其划分为 2 个生理小种,即 Race 0, Race 1 (见表 1)^[7]。

1.2 病原菌的保存

将从烟草叶片上分离得到的菌株进行保存,主要采取 3 种方法保存:(1)菌株在 KBA 斜面上繁殖(26~28℃),冰箱保存(4~8℃),定期(15 d)转移。(2)挑取单菌落于灭菌超纯水中,超低温冰箱保存(-20℃),定期(1 年)转移^[8]。(3)挑取单菌落于灭菌超纯水和甘油混合液(15%甘油)中,超低温冰箱保存(-70℃),定期(2 年)复壮、活化。

1.3 烟草的栽培

云南省烟草研究院提供的 24 个普通烟草品种(*Nicotiana tabacum*)和 2 个野生品种(包括长花烟 *Nicotiana longiflora* Cav. 和黄花烟 *Nicotiana rustica*),通过漂浮育苗,再移栽到花盆中种植,长到 5~6 片叶片时,进行接种。

1.4 致病性测定

1.4.1 生物接种

将分离、纯化得到的菌株移至 KBA 斜面培养

基上培养 24 h,加无菌水制成 3.0×10^8 cfu/mL 的菌悬液,采用针刺法接种,将 24 个菌株接在 26 个烟草品种上,每一个菌株在一个烟草品种上接 3 次,每次接 3 株,分别接种于 3 个叶片上。

1.4.2 抗病性划分标准

根据接种后形成枯斑的直径(M)、枯斑和晕圈的直径(S),(S-M)之差即为晕圈的直径,将抗病性划分为 4 个等级,即高抗、中抗、中感、高感^[7]。

1.4.3 聚类分析

根据供试品种对 24 个菌株的抗感反应,用欧式距离(Euclidean distance)计算品种间距离,进行聚类分析。

表 1 供试烟草野火病菌株及来源

Tab. 1 The isolates of *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* and their sources

生理小种 ^[7] physiology race	菌株名称 isolates	寄主 host cultivars	采集地 place
Race 0	Sb	Yunyan 85	Shizong
	Xj	Yunyan 85	Xuanwei
	Qd ₁	K326	Qujing
	X ₁₀	K326	Xundian
	Jx	Yunyan 87	Jiangchuan
	ZI ₂	Hongda	Zhanyi
	Sd ₂	Yunyan 85	Shizong
	Sw	Yunyan 85	Shizong
	A ₈	K326	Yuxi
	Mw ₂	Yunyan 85	Malong
	Cx ₂	Yunyan 85	Chuxiong
	Q ₁₅	K326	Qujing
	X ₄	K326	Xundian
	L ₁	K326	Luliang
	Race 1	Ly ₂	K326
B		K326	Baoshan
4 [#]		K326	Anning
Mu		Yunyan 85	Malong
Q ₁₁		K326	Yuxi
Th		K326	Tonghai
Y ₅		K326	Yuxi
X ₉		K326	Xundian
Z ₄		K326	Zhaotong
M	K326	Baoshan	

2 结果与分析

2.1 统计分析

将 26 个烟草品种的发病情况(病斑直径)采用 SPSS 统计分析软件进行方差分析,结果见表 2。

从方差分析表看出,烟草品种间、菌株间存在着极显著的差异,说明烟草品种间的抗性差异以及菌株间的致病力差异是真实存在的。

以烟草野火病的 2 个生理小种 24 个菌株接种 26 个烟草品种得到的病斑平均直径为依据,根据抗病性划分标准,将 26 个烟草品种划分为 4 个水平(见表 3,4)

表 2 方差分析表

Tab.2 Table of analysis of variation

source	type III Sum of squares	df	mean square	F	Sig.
model	374358.551(a)	624	599.934	91.997	0.000
品种 cultivars	27946.372	25	1117.855	171.418	0.000
菌株 isolates	1612.613	23	70.114	10.752	0.000
品种 * 菌株 (cultivars * isolates)	13461.621	575	23.412	3.590	0.000
error	64018.699	9817	6.521		
total	438377.250	10441			

Dependent Variable: 病斑直径 a R Squared = 0.854 (Adjusted R Squared = 0.845)

表 3 烟草野火病菌 0 号生理小种对 26 个烟草品种的抗病性鉴定

Tab.3 Identification resistance of tobacco cultivars to race 0 of *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*

编号 No.	烟草品种名称 the name of tobacco cultivars	S - M 之差的平均值 the average of S - M	抗病性 resistance
1	G28	7.87	Gaogan
2	Yunyan 317	7.47	Gaogan
3	Jiyan 7 hao	7.35	Gaogan
4	Yongding 1 hao	7.31	Gaogan
5	Liaoyan 15	7.11	Gaogan
6	Guiyan 11	7.05	Gaogan
7	RG11	6.96	Gaogan
8	RG17	6.95	Gaogan
9	NC82	6.11	Gaogan
10	Cuibi 1 hao	6.11	Gaogan
11	KY 14	6.11	Gaigan
12	Baile 21	5.98	Zhonggan
13	Zhongyan 92037	5.47	Zhonggan
14	Hongda	5.44	Zhonggan
15	Changbohuang	5.20	Zhonggan
16	K358	5.14	Zhonggan
17	NC89	5.11	Zhonggan
18	KY15	4.93	Zhonggan
19	V2	4.93	Zhonggan
20	K346	4.80	Zhonggan
21	Yunyan 85	4.72	Zhonggan
22	K326	4.37	Zhonggan
23	Zunyan 1 hao	4.05	Zhonggan
24	Yunyan 87	3.97	Zhonggan
25	Changhuayan	0.13	Gaokang
26	Huanghuayan	0.08	Gaokang

表 4 烟草野火病菌 1 号生理小种对 26 个烟草品种的抗病性鉴定

Tab.4 Identification resistance of tobacco cultivars to race 1 of *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*

编号 No.	烟草品种名称 the name of tobacco cultivars	S - M 之差的平均值 the average of S - M	抗病性 resistance
1	Liaoyan 15	8.08	Gaogan
2	G28	8.06	Gaogan
3	Yongding 1 hao	7.44	Gaogan
4	Jiyan 7 hao	6.98	Gaogan
5	NC 82	6.78	Gaogan
6	RG 11	6.41	Gaogan
7	RG 17	6.33	Gaogan
8	Cuibi 1 hao	6.02	Gaogan
9	Guiyan 11	6.00	Zhonggan
10	Yunyan 317	5.93	Zhonggan
11	KY 14	5.54	Zhonggan
12	Baile 21	5.19	Zhonggan
13	Hongda	5.14	Zhonggan
14	K326	4.95	Zhonggan
15	K358	4.93	Zhonggan
16	K346	4.92	Zhonggan
17	Zhongyan 92037	4.38	Zhonggan
18	Zunyan 1 hao	4.36	Zhonggan
19	NC 89	4.29	Zhonggan
20	Yunyan 87	4.26	Zhonggan
21	V2	4.20	Zhonggan
22	KY15	4.12	Zhonggan
23	Changbohuang	3.60	Zhonggan
24	Yunyan 85	2.49	Zhongkang
25	Huanghuayan	0.1	Gaokang
26	Changhuayan	0	Gaokang

2.2 抗性资源抗烟草野火病聚类分析

26 份烟草品种资源分别对 Race 0 和 Race 1 的抗病性的系统聚类结果如图 1 和图 2 所示。

依据图 1,以连锁距离 15 为域值,把 26 个烟草品种聚为 3 类。T1:G28,永定 1 号,吉烟 7 号, RG11,贵烟 11,辽烟 15, RG17,翠碧 1 号,云烟 317。T2: NC82, KY14, 白肋 21, 红花大金元, KY15,长脖黄, K358,中烟 92037, K346, V2, NC89, 云烟 85, K326,遵烟 1 号,云烟 87。T3:黄花烟和长花烟。

依据图 2,以连锁距离 15 为域值,把 26 个烟草品种聚为 3 类。T1:G28,永定 1 号,吉烟 7 号, NC82, RG11, RG17, 云烟 317, 翠碧 1 号, 贵烟 11, 辽烟 15。T2: KY14, 红花大金元, K346, KY15, 云烟 87, 白肋 21, 遵烟 1 号, K358, K326, 中烟 92037, NC89, V2, 长脖黄, 云烟 85。T3: 黄花烟和长花烟。

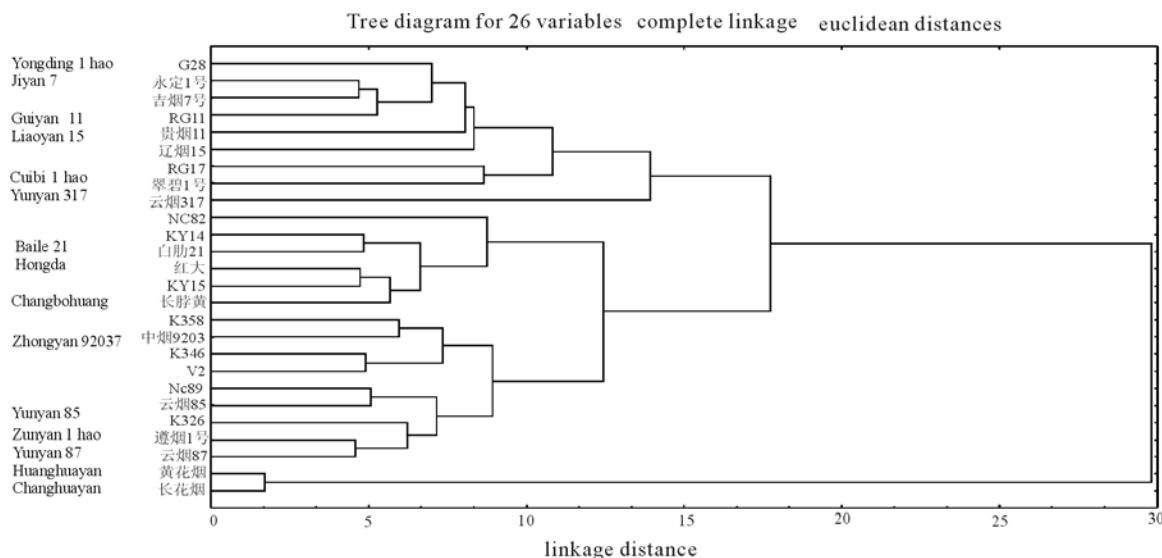


图 1 烟草野火病菌0号生理小种对26个烟草品种的抗病性鉴定

Fig. 1 Dendrogram of tobacco cultivars generated to race 0 by UPGMA cluster analysis

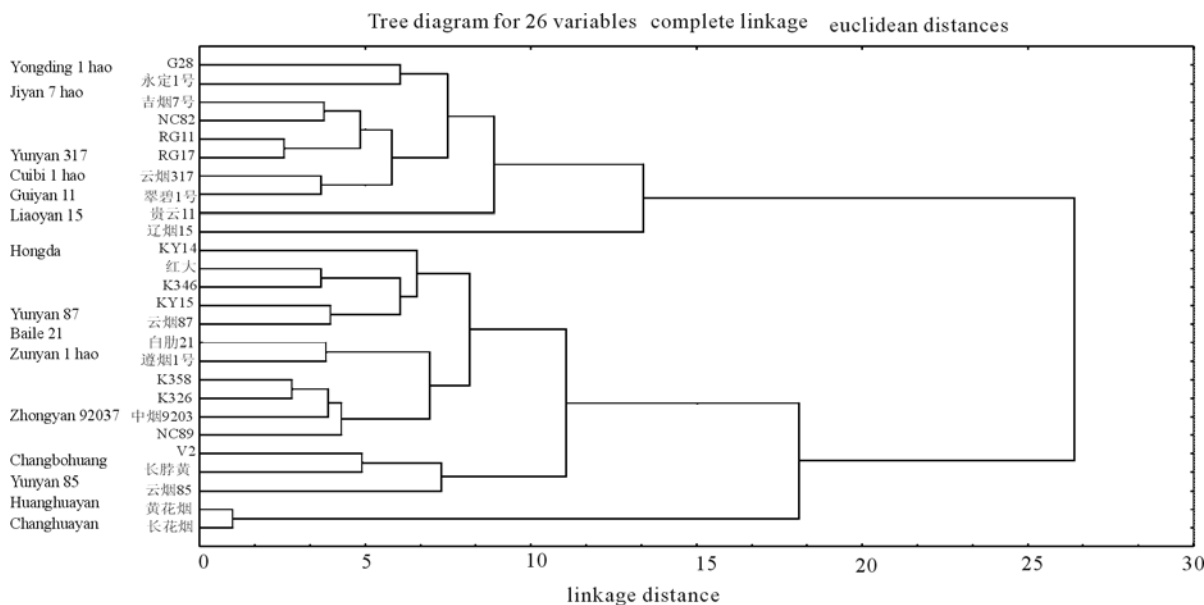


图 2 烟草野火病菌1号生理小种对26个烟草品种的抗病性鉴定

Fig. 2 Dendrogram of tobacco cultivars generated to race 1 by UPGMA cluster analysis

3 讨论

从表 1 供试烟草野火病菌的原始寄主来看, K326 占总的寄主的 66.7%, 云烟 85 占 25.9%。因此云南烟草种植面积比较广的烟草品种如 K326, 云烟 85, NC82, 红花大金元等对野火病的抗性比较低。这是烟草野火病流行的主要原因之一。细菌性病害的发生还与气候条件等关系较为密切, 但品种抗病性是基础, 因此对于防治某一病害来说, 种植抗病品

种是关键。烟草品种对野火病的抗性机制涉及 3 个方面: (1) 病菌不能侵入或者即使侵入也不能建立起寄生关系而不产生症状, 如黄花烟和长花烟。(2) 抑制病斑扩展速度, 阻止病斑面积增大。例如高抗品种黄花烟, 虽然接种后也表现症状, 但是病斑扩展速度极为缓慢, 病斑仅局限在接种点周围很小的面积内。(3) 延长潜育期, 推迟病害发生^[4]。品种的抗病性有一定的差异, 可根据品种的抗病性, 结合其他综合性状来选择不同的种植品种^[10]。

(下转第 823 页)

抗性及交互抗性、提高药效、保护生态环境的效果。

[参考文献]

- [1] 王永卫,王旭疆,袁丽萍,等. 罗宾根螨的初步研究[J]. 蛛形学报,1997,6(1):53-57.
- [2] 任月萍,刘生祥. 苦参素农药对枸杞刺皮瘿螨的室内毒力测定及药效试验[J]. 农业科学研究,2005,26(3):36-38.
- [3] 刘慧平,韩巨才,徐琴,等. 杀虫剂对甘蓝蚜与七星瓢虫的毒力及选择性研究[J]. 中国生态农业学报,2006,14(3):160-162.
- [4] 宾淑英,林进添. 几种化学药剂对菜蚜的活性研究[J]. 佛山科学技术学院学报,1999,17(3):39-42.
- [5] 李孟楼,邹远奋,吴定坤. 落叶松叶蜂的化学防治及室内药效试验[J]. 西北林学院学报,1994,9(2):44-49.
- [6] 王开运,赵卫东,姜兴印,等. 二斑叶螨对常用杀螨剂的抗药性测定[J]. 农药学学报,2001,3(3):

86-88.

- [7] 朴春树,周玉书,张平,等. 果园主要杀螨剂对苹果全爪螨的毒力测定[J]. 农药,2001,40(4):29-30.
- [8] 赵玉伟,周玉书,任健. 二斑叶螨和朱砂叶螨对常用杀螨剂的敏感性比较[J]. 农药,2006,45(6):418-419.
- [9] 周玉书,朴春树,仇贵生,等. 苹果园3种害螨对7种杀螨剂敏感性鉴定[J]. 中国果树,2005,(3):29-31.
- [10] Finny D. J. Probit Analysis[M]. London:Cambridge University Press. 1971.
- [11] 张志祥,徐汉虹,程东美. EXCEL在毒力回归计算中的应用[J]. 昆虫知识,2002,39(1):67-70.
- [12] STONE B S. Imidacloprid toxicity to insecticide resistant and susceptible strains of the greenbug, *Schizaphis graminum* (Rondani) (Homoptera: Aphididae) [J]. Journal of Kansas Entomological Society, 1999,72(2):248-250.

(上接第816页)

将2个生理小种(Race 0, Race 1)根据表1中所列的菌株来源地进行了分析,1号生理小种取自罗平、保山、安宁、马龙、玉溪、寻甸、昭通。0号生理小种来自师宗、宣威、曲靖、寻甸、江川、楚雄、陆良等地。针对这一实际情况,对云南省烟草种植布局提出新的思路,对于感病性比较强的品种G28,云烟317,NC82和红花大金元等的栽培应较为慎重。因此应该在烟草野火病的高发地区适当选种有抗性的品种,另外应尽量避免大面积集中种植感病的单一品种,应当采取适当措施抑制烟草野火病的发生,如(1)利用抗病良种(2)实行轮作(3)合理施肥(4)药剂防治^[10],以防止该病害的大面积爆发,影响烟草的产量和质量,避免造成经济损失。

[参考文献]

- [1] LUCAS G B. Diseases of Tobacco[M]. (Third edition) Raleigh North Carolina USA, 1975.

- [2] 河南农业大学,云南农业大学. 烟草病理学教程[M]. 北京:中国科技出版社,1995.
- [3] 王绍坤,钟树强,李敏. 烟草品种对野火病的抗性鉴定[J]. 中国烟草,1998,(1):21-22.
- [4] 刘秋,吴元华,于基成. 烟草野火病的研究进展[J]. 沈阳农业大学学报,1999,30(3):354-360.
- [5] 张世光. 烟草野火病病原鉴定及品种抗病性的研究[J]. 云南农业大学学报,1990,5(3):185-187.
- [6] 刘雅婷. 云南烟草野火病的发生规律研究[D]. 云南农业大学,2001.
- [7] 陈赞娟,刘雅婷,李永忠,等. 云南烟草野火病菌菌系分化研究[J]. 云南农业大学学报,2007,22(4):491-494.
- [8] 刘雅婷,张世光,李永忠,等. 云南烟草野火病病原细菌鉴定[J]. 云南农业大学学报,2002,17(1):4-9.
- [9] 阚光锋. 烟草品种对野火病的抗性鉴定与生化抗病机制研究[D]. 山东农业大学,2001.