

烟草抗病毒病种质资源的鉴定与评价

刘艳华, 王志德*, 钱玉梅, 牟建民, 陈德鑫, 申莉莉

(中国农业科学院烟草研究所, 山东 青岛 266101)

摘要: 2005-2006年采用温室苗期接种鉴定的方法对202份烟草种质进行了TMV、CMV以及PVY三种病毒病的抗性鉴定。结果表明:在供试种质中,对TMV表现免疫(21份)、抗病(1份)和中抗(30份)的材料共52份,表现中感(130份)和感病(20份)的材料共150份;对CMV表现抗性(4份)和中抗(20份)的材料共24份,表现中感(79份)和感病(99份)的种质共178份;对PVY表现免疫(1份)、抗病(2份)和中抗(33份)的材料共36份,表现中感(96份)和感病(70份)的材料共166份。所筛选的优质、抗病烤烟引进品种白色种、晒烟大るま以及香料烟KoKulu izmir可直接应用于烟草生产,另外对TMV表现免疫的材料白肋烟8301、黄筋莧、抗3种病毒病的种质黄花烟阳高小兰花以及兼抗两种病毒病的种质可为烟草抗病毒病育种的亲本选择提供抗源。

关键词: 种质资源; 烟草; 病毒病; 抗性; 鉴定与评价

中图分类号: S572.024 **文献标识码:** A **文章编号:** 1007-5119(2007)05-0001-05

Resistance Identification and Evaluation of Tobacco Germplasm to Tobacco Virus Diseases

LIU Yanhua, WANG Zhide*, QIAN Yumei, MOU Jianmin, CHEN Dexin, SHEN Lili

(Tobacco Research Institute of CAAS, Qingdao 266101, China)

Abstract: The identification and evaluation of 202 germplasm resistant to three tobacco viruses: tobacco mosaic virus (TMV), cucumber mosaic virus (CMV) and potato virus Y(PVY), were carried out in greenhouse from 2005 to 2006. The results are as follows. To TMV, 21 germplasm were immune, one was resistant, 30 were medium resistant, 130 were medium sensitive and 20 were sensitive. To CMV, 4 were resistant, 20 were medium resistant, 79 were medium sensitive and 99 were sensitive. To PVY, one was immune, 2 were resistant, 33 were medium resistant, 96 were medium sensitive and 70 were sensitive. For superior quality and resistance, Baisezhong (flue-cured tobacco), Big るま (sun-cured tobacco) and KoKulu izmir (oriental tobacco) can be used directly. The other germplasm including 8301 and Huangjindou (both are burley), immune to TMV, and Yanggaoxiaolanhua (*N. rustica* L.), resistant to three virus diseases, may be utilized as parent materials in breeding for virus resistance.

Keywords: germplasm resource; tobacco; virus disease; resistance; identification and evaluation

目前,在我国已发现的烟草病毒病有16种。据1989-1991年统计,仅花叶型病毒病(TMV、CMV、PVY及TEV)所造成的烟草经济损失就达37%^[1]。近几年烟草病毒病在我国主产区日趋严重。20世纪60年代以前,为害最重的只有烟草普通花叶病毒病(TMV);从60年代后期开始,在黄淮烟区尤其是山东烟区,烟草黄瓜花叶病毒病(CMV)迅速上升,80年代以后在中、南部烟区

的为害继续上升,且烟草马铃薯Y病毒病(PVY)开始蔓延,逐渐上升为主要病毒病种类^[2]。近年来,我国烟草病毒病的种类和为害发生了很大变化,即种类逐年增加,混合发生现象普遍^[3-4]。20世纪90年代初期,贵州省烟草研究所就启动了烟草抗病毒病育种的研究,对TMV进行了较多的探索,并取得了一定成效,而对PVY、CMV的研究甚少,其主要原因是缺乏抗源;中国烟草东北试验站对PVY

研究较多,但所用抗源较少,应用最多的是 Coker176,其后代材料尽管对 PVY 具有抗性,但农艺性状不良,应用效果并不理想^[5]。到目前为止,在生产上应用的抗多个病毒病的品种几乎没有,抗源遗传基础狭窄是制约抗病毒病育种研究的关键因素之一。因此,当务之急是充分发掘、利用烟草抗病毒病种质资源,丰富其遗传基础,将现代生物技术与常规育种相结合,以加快烟草多抗育种进程,培育出具有突破性的品种。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试种质 2005~2006年在中国农业科学院烟草研究所温室(山东青州)对202份烟草种质进行抗病毒病(TMV、CMV、PVY)鉴定,其中包括烤烟70份、晒烟99份,白肋烟7份,黄花烟22份,香料烟3份和雪茄烟1份。TMV的抗病对照为枯三生,中抗对照为革新三号,感病对照为G140;CMV的抗病对照为T.L.245和铁把子,G28、亮黄为感病对照;PVY的抗病对照为VAM,感病对照为NC95和NCTG52。

1.1.2 供试病毒株系 TMV、CMV、PVY^N(坏死株系)纯毒源由中国农业科学院烟草研究所进行分离提纯。

1.2 试验方法^[6]

1.2.1 接种体的制备 在当地主栽烟草品种上采集感染 CMV 或 PVY^N的病叶,经过鉴别寄主谱法鉴定,确认是 CMV 或 PVY^N病毒后,把 CMV、PVY^N分别接种到三生-NN(*Nicotiana tabacum* var. Samsun NN)烟苗上繁殖保存,为了防止保存期病毒致病性发生变异,在使用前 15 d 转接到三生-NN 烟苗上复壮 1 次,备用。

在当地主栽烟草品种上采集感染 TMV 的病叶,在枯斑寄主上单斑分离 3~5 次,经鉴别寄主谱法鉴定,确认是 TMV 病毒后,接种到 NC89 烟苗上繁殖保存备用。

1.2.2 鉴定方法 在 25 cm×15 cm 的塑料盘内播种,待烟苗长至 2~3 片真叶时,假植在 38 孔联体聚乙烯塑料托盘(59 cm×33 cm,圆锥形孔高 9 cm,

孔径 6.5 cm,底部小孔径 1 cm)内,重复 3 次;当烟苗长至 5~6 片真叶时,剔除托盘内长势较弱的烟苗,采用汁液摩擦法进行接种。第 1 批次在当年的 3 月 20 日播种,4 月 18 日假植,5 月 28 日接种,接种后第 7、14、21 d 调查所有烟株发病情况;第 2 批次在当年的 8 月 5 日播种,9 月 11 日假植,9 月 25 日接种,调查时间及方法同上。

1.2.3 分级与调查方法 待接种烟苗充分发病后,按照参考文献[7]逐株调查每一盘内发病情况,计算出各参试材料的平均病情指数(D)和相对抗性指数(RI)。鉴定结果计算公式和表示如下:

病情计算公式:

病情指数(D) = \sum (各级病株或病叶数×该病级数) × 100 / (调查总株或叶数×最高级数)

相对抗性指数(RI) = $\frac{\ln \frac{DI}{1-DI} - \ln \frac{DI_0}{1-DI_0}}$

其中,DI 为各品种的病指,DI₀ 为感病对照的病指。))

相对抗性指数(RI)划分如下。

TMV: 抗病, <-1.0; 中抗, -1.0~-0.4; 中感, -0.4~0.0; 感病, >0.0。

CMV: 抗病: <-2.0; 中抗: -2.0~-1.0; 中感: -1.0~0.0; 感病: >0.0。

PVY: 抗病, <-2.0; 中抗, -2.0~-1.0; 中感, -1.0~0.0; 感病, >0.0。

抗性表示: I, 免疫; R, 抗病; MR, 中抗; MS, 中感; S, 感病。

2 结果

由供试种质的抗病性鉴定结果可知,对 TMV 表现免疫的材料 21 份,抗性 1 份,中抗 30 份,中感 130 份,感病 20 份;对 CMV 表现抗性的材料 4 份,中抗 20 份,中感 79 份,感病 99 份;对 PVY 表现免疫的材料 1 份,抗性 2 份,中抗 33 份,中感 96 份,感病 70 份。

2.1 抗 TMV 种质

在所有鉴定材料中,对 TMV 抗病的种质共 52 份,占 25.7% (表 1)。其中表现免疫的种质 21 份,包括阳高小兰花、长治小叶烟、临猗小叶烟等 13 份黄花烟;两份白肋烟,8301 和黄筋萁;3 份烤烟,

即龙烟一号,台烟七号(T.T.7),B22;3份晒烟,即牡单82-2-7,穆棱日本烟,大るま。对TMV表现抗性的材料为引进烤烟朝鲜抗赤;另外,平烟2号、云花一号、Hingory等30份种质对TMV均达中抗水平。

2.2 抗CMV种质

在所有鉴定材料中,对CMV抗病的种质共24份,占11.9%(表2)。其中无免疫材料;表现抗病的有4份,均为地方晒烟品种,其中朝刀、高秆晒烟以及平坝辣烟等的病情指数较低,对CMV的抗性较好;表现中抗的有20份,其中引进香料烟品种特齐别勒237的抗性指数低,抗性好。所以在烤烟抗CMV育种中,从晒烟或香料烟中寻找抗源是有效的。

2.3 抗PVY种质

在所有供试材料中,对PVY抗病的种质共36份,占17.8%(表3)。其中,引进烤烟白色种表现

免疫,结合其品质试验结果,该品种可直接应用于烟草生产;地方晒烟大护脖香和黄花烟牛耳烟的抗性指数较低,对PVY有较好的抗性;表现中抗的种质比较多,占总抗病种质的91.7%,可结合综合性状评价直接应用于生产,或作为抗病毒病育种的抗源。

3 讨论

在对病毒病表现免疫或抗性的种质材料中,大部分为黄花烟,这一方面说明黄花烟中可能含有抗病基因;另一方面也提示,其抗性可能与特殊的生育期或形态有关。黄花烟的播种时间比普通烟草栽培种大约晚20d,生育期也较普通烟草短;其叶片较厚,有些材料的叶片表面有少量不规则腺体或较长的腺毛,这些都为烟草形态学避蚜提供了良好的条件。因此适时早栽或培育叶面有较长腺毛的品种可有效防治烟草病毒病。

研究证明,烟草温室苗期抗病毒病鉴定与田间

表1 抗TMV种质
Table 1 Resistance of tobacco germplasms to TMV

编号	种质	TMV			编号	种质	TMV		
		病情指数	抗性指数	抗病性			病情指数	抗性指数	抗病性
1	阳高小兰花	NL	—	I	27	临县小叶烟	47.50	-0.48	MR
2	长治小叶烟	NL	—	I	28	河曲小烟叶	45.45	-0.57	MR
3	临猗小叶烟	NL	—	I	29	贝拉烟	47.92	-0.47	MR
4	蛤蟆烟1488	NL	—	I	30	KoKulu izmir	45.45	-0.57	MR
5	达子烟	NL	—	I	31	Komotini Basma	37.50	-0.89	MR
6	老青烟	NL	—	I	32	齐市大叶	41.75	-1.29	MR
7	自来红	NL	—	I	33	太康晒烟	44.05	-1.20	MR
8	牛耳烟	NL	—	I	34	讷河大护脖香-2	42.28	-1.28	MR
9	定襄小叶烟	NL	—	I	35	大青筋	39.51	-1.39	MR
10	工布爬路丁	NL	—	I	36	八朵香	41.97	-1.29	MR
11	8301	NL	—	I	37	风林一号	35.36	-1.57	MR
12	二转子	NL	—	I	38	小黄烟二号	37.51	-1.47	MR
13	敦煌莫合烟-2	NL	—	I	39	护脖香1368	43.48	-1.23	MR
14	岢岚小兰花	NL	—	I	40	铺背青梗	43.09	-1.24	MR
15	黄筋菟	NL	—	I	41	柳叶尖1324	38.97	-1.41	MR
16	龙烟一号	NL	—	I	42	来凤大柳	41.22	-0.46	MR
17	牡单82-2-7	NL	—	I	43	柳林晒烟	46.43	-0.53	MR
18	台烟七号(T.T.7)	NL	—	I	44	黄旱烟	48.91	-0.43	MR
19	B22	NL	—	I	45	新乡牛耳朵	44.32	-0.61	MR
20	穆棱日本烟	NL	—	I	46	王家棚毛烟-2	48.44	-0.45	MR
21	大るま	NL	—	I	47	含瑞小瓢把烟	47.92	-0.47	MR
22	朝鲜抗赤	25.00	-2.06	R	48	双店乌烟	45.00	-0.58	MR
23	平烟2号	44.05	-1.20	MR	49	大香烟	47.22	-0.49	MR
24	云花一号	42.13	-1.28	MR	50	邵黄一号	40.38	-0.77	MR
25	Hingory	41.97	-1.29	MR	51	苗市多叶	48.61	-0.44	MR
26	バインハルト	39.47	-1.39	MR	52	黄芪烟	42.79	-1.26	MR

注:NL为枯斑

表 2 抗 CMV 种质
Table 2 Resistance of tobacco germplasms to CMV

编号	种质	CMV			编号	种质	CMV		
		病情指数	抗性指数	抗性			病情指数	抗性指数	抗性
1	朝刀	3.38	-2.97	R	13	歙圆二号	44.90	-0.31	MR
2	宿松杀猪刀	5.92	-2.38	R	14	歙圆三号	48.47	-0.17	MR
3	平坝辣烟	1.43	-3.85	R	15	歙县满茎	44.39	-0.33	MR
4	高杆晒烟	1.43	-3.85	R	16	大宁大叶烟	45.50	-0.29	MR
5	龙舌	23.68	-1.02	MR	17	方山晒烟	48.00	-0.19	MR
6	听城晒烟	19.41	-1.04	MR	18	含瑞小瓢把烟	20.45	-1.56	MR
7	阳高小兰花	18.42	-1.10	MR	19	T.I.245	17.76	-1.74	MR
8	长顺兰花烟	19.74	-1.02	MR	20	大苗黄	22.92	-1.06	MR
9	牡晒-82-38-5	18.09	-1.12	MR	21	竖把黄苗 2201	23.04	-1.10	MR
10	特齐别勒 237	10.14	-1.80	MR	22	黄苗歪筋	16.13	-1.51	MR
11	红峰毛烟	19.74	-1.02	MR	23	南常晒烟	17.23	-1.18	MR
12	陈河金堂烟	13.82	-1.44	MR	24	SH.86-1	16.48	-1.48	MR

表 3 抗 PVY 种质
Table 3 Resistance of tobacco germplasms to PVY

编号	种质	PVY			编号	种质	PVY		
		病情指数	抗性指数	抗性			病情指数	抗性指数	抗性
1	白色种	0.00		I	19	清塘牛利	13.16	-1.25	MR
2	大护脖香	8.12	-1.82	R	20	大柳叶骨骨密	10.26	-1.53	MR
3	牛耳烟	5.81	-2.15	R	21	晋太 33-3	14.29	-1.15	MR
4	龙烟一号	25.21	-1.18	MR	22	苛岚小兰花	12.50	-1.31	MR
5	乔庄多叶	27.50	-1.05	MR	23	临猗晒烟	8.78	-1.70	MR
6	B22	12.51	-1.34	MR	24	方山晒烟	15.54	-1.05	MR
7	护耳	15.32	-1.10	MR	25	黄旱烟	44.05	-0.59	MR
8	小尖梢	24.23	-1.23	MR	26	象柴烟	45.39	-0.54	MR
9	涠潭小黑烟	16.74	-1.01	MR	27	土烟-1	39.58	-0.78	MR
10	仍尔土烟	12.59	-1.33	MR	28	邵黄一号	44.23	-0.59	MR
11	朝刀	14.47	-1.14	MR	29	寸三皮	45.31	-0.54	MR
12	阳高小兰花	14.71	-1.12	MR	30	曲靖二号	41.96	-0.68	MR
13	蛤蟆烟 1488	12.15	-1.34	MR	31	棉柳乡兰花烟	41.67	-0.69	MR
14	圆叶烟	22.05	-1.35	MR	32	临县小叶烟	40.91	-0.72	MR
15	定襄小叶烟	7.24	-1.91	MR	33	偏关小兰花	41.00	-0.72	MR
16	宿松杀猪刀	11.82	-1.37	MR	34	浑源小兰花	45.59	-0.53	MR
17	石佛山晒烟	13.49	-1.22	MR	35	五台小兰花	45.00	-0.56	MR
18	松香种	12.17	-1.34	MR	36	KoKulu izmir	40.18	-0.75	MR

表现 90% 比较一致, 但终究存在差异, 因此对种质材料, 尤其是表现优异的抗病种质材料进行重复、多点鉴定是很必要的; 另外各种质材料对烟草病毒病的抗性表现为多种形式, 其机理也较复杂, 有生理生化机制抗病毒病, 也有形态学抗蚜虫来预防病毒病, 因此对于各抗性材料的抗病机理、机制等有待于更深入的研究, 以期充分发掘利用种质的各方面抗病机制, 筛选出更多更好的抗源材料, 为烟草抗病毒病育种提供更好的资源基础。利用现代生物学技术将多个抗性基因聚合到一个品种中, 不但能提高该品种使用年限, 更能延长抗病基因的应用周期, 避免出现抗性基因匮乏的局面。

4 结 论

综上所述, 在表现抗病的种质资源中, 以抗

TMV 种质居多, 抗 CMV 和 PVY 的种质比较少。其中有 13 份种质兼抗两种病毒病, 其中 B22 和龙烟 1 号对 TMV 表现免疫, 对 PVY 表现中抗, 均为烤烟选育品种, 说明自 20 世纪 90 年代以来, 我国烟草病毒病育种已取得了一定的成效; 苛岚小兰花、定襄小叶烟以及蛤蟆烟 1488 不但对 TMV 表现免疫, 对 PVY 也达中抗水平; 牛耳烟对 TMV 免疫, 对 PVY 表现抗性; 引进香料烟 KoKulu izmir、黄花烟临县小叶烟以及地方晒烟品种邵黄一号、黄旱烟同时对 TMV 和 PVY 表现中抗; 地方晒烟品种含瑞小瓢把烟中抗 TMV 和 CMV; 地方晒烟品种方山晒烟、宿松杀猪刀中抗 CMV 和 PVY。另外, 黄花烟阳高小兰花对 TMV 表现免疫, 且对 CMV 和 PVY

(下转第 8 页)

致谢: 本研究方法得到了原合肥经济技术学院方宇澄先生的支持, 在此深表谢意。

参考文献

- [1] 朱贤朝, 王彦亭, 王智发. 中国烟草病害[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002.
- [2] 李清飞, 郭桥燕, 李红丽, 等. 烟草黑胫病拮抗菌的筛选及其抑制作用研究[J]. 河南农业科学, 2006 (3): 57-59.
- [3] 王万能, 全学军, 肖崇刚. 烟草内生细菌对烟草病害的拮抗和防治作用[J]. 烟草科技, 2006 (01): 54-57.
- [4] 周向平, 肖启明, 罗宽, 等. 烟草黑胫病菌拮抗内生细菌的筛选和鉴定[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2004 (5): 450-452.
- [5] 方敦煌, 顾金刚, 李江涛, 等. 烟草黑胫病菌的拮抗根际细菌的筛选[J]. 云南农业大学学报, 2001, 16 (2): 93-98.
- [6] 安德荣, 幕小倩, 刘翠娟. 土壤拮抗放线菌的分离和筛选[J]. 微生物学杂志, 2002, 22 (5): 1-3.
- [7] 谈文, 吴元华. 烟草病理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003.
- [8] 方中达. 植病研究方法[M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [9] 刘翠娟. 土壤颞颥放线菌的分离发酵及活性产物研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2004.
- [10] 朱桂宁, 黄福新. 几种选择性培养基对致病疫霉和烟草疫霉分离及培养比较研究[J]. 云南农业大学学报, 2002, 17 (4): 436.
- [11] 马国胜. 烟草黑胫病菌生理生态及对甲霜灵抗性监测与遗传研究[D]. 安徽农业大学, 2002.
- [12] 国家烟草专卖局. YC/T 39-1996 烟草病害分级及调查方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 1996.
- [13] 王春霞. 棉花 PGPR 菌株的分离、筛选、鉴定、作用机制及其分子生态学的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 1997.

(责任编辑 迟立鹏)

(上接第4页)

均达中抗水平。在表现抗性的种质材料中, 大多为地方或引进品种。我国地域辽阔, 气候多样, 多年来形成了一批优异的抗病种质资源, 但对我国烟草抗病毒育种的贡献却很低, 究其根源与对现有烟草种质资源的挖掘和利用不够有很大的关系。因此, 大力开展烟草种质资源的病毒病抗性鉴定研究, 可为烟草抗病毒病基因的研究提供遗传材料, 并为烟草抗病毒病育种者选择抗源提供物质基础。

参考文献

- [1] 朱贤朝. 中国烟草病害[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002.
- [2] 高正良. 烟草马铃薯 Y 病毒 (PVY) 的研究现状与防治对策[J]. 安徽农学通报, 2003, 9 (5): 75-77.
- [3] 韩晓东, 陈瑞泰, 姜仁杰, 等. CMV 和 PVY 复合感染引起的烟草叶脉坏死病[J]. 生物化学与生物物理进展, 1983(3): 89-92.
- [4] 陈德鑫, 王凤龙, 李多川, 等. 山东烟草病毒病发生特点及防治对策[J]. 中国烟草科学, 2007, 28(1): 28-31.
- [5] 陈荣平. 烟草抗 PVY 育种材料的筛选与应用 [J]. 中国烟草科学, 2000, 21(1): 1-4.
- [6] 方中达. 植病研究方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [7] 国家烟草专卖局. YC/T39-1996 烟草病害分级及调查方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 1996.

(责任编辑 王颖)