

烟草青枯病抗性的研究进展

季学军, 竟丽丽, 马称心, 孙学永*

(1. 安徽皖南烟叶有限责任公司, 安徽宣城 242000; 2. 安徽省农业科学院烟草所, 安徽合肥 230031)

摘要 青枯病是烟草的重要毁灭性病害, 最近几年皖南优质烟区青枯病的发生面积及发病程度有逐年加重的趋势, 选育抗病品种是防治烟草青枯病的一项根本、有效、经济的措施。综述了烟草青枯病的抗源、抗性遗传规律、抗病育种及抗性标记的研究成果, 并分析了以后的研究方向。

关键词 烟草; 青枯病; 抗性

中图分类号 S435.72 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)10-04158-02

烟草青枯病是一种由青枯菌(*Ralstonia solanacearum*)引起的细菌性病害, 是典型的维管束病害, 最显著的病状是枯萎, 一旦发病即可造成全株死亡, 对烟草的产量和质量影响极大, 是烟草上一大毁灭性病害。该病广泛分布于全世界的热带、亚热带和一些温暖的地区, 在我国安徽、福建、江苏、云南、广西、河北、湖南、广东等地普遍发生^[1]。特别是最近几年, 皖南优质烟区青枯病的发生面积及发病程度有逐年加重的趋势。据皖南烟叶公司调查, 2006年受害面积520.2 hm², 直接和间接损失达2 938 438.13元。烟草青枯病已严重威胁老烟区种植面积的稳定以及新烟区的发展。选育抗病品种是防治烟草青枯病的一项根本、有效、经济的措施, 如何快速准确的鉴定烟草对青枯病的抗性是高效育种的关键。笔者对烟草青枯病抗性的研究进展进行了综述。

1 烟草青枯病抗源及其抗性遗传规律

1.1 烟草青枯病抗源 烟草青枯病有几种不同水平的抗源。最初的抗源包括美国的几份地方品种, 已鉴定出微抗, 其中典型的代表是 Davis Special、Hinkney Arthur 和 DSPA。400 和 II S 系南美引进品种, 表现为中抗以下, 但在重发条件下, 完全感病这些品种的抗性不可能在杂交中全部恢复, 因而没有与感病品种杂交的育种价值。中抗青枯病的品系包括引自爪哇的 II79A、香料烟 Xanthi、Sunatra C 和印度尼西亚的雪茄型品种及日本地方品种 Awa、Htano、Kokubu 与 Odaruna, 除日本的品系外, 其他品系还没有在烤烟上成功地利用其抗性。很少几个品系高抗青枯病, 由 II79A 和 Xanthi 2 个中抗品系杂交育成的高抗青枯病品种 79X, 抗性高于任何一个亲本, 表现出青枯病抗性的加性遗传特征, 像 Xanthi 一样, 该品系在烤烟育种中作为抗源时, 抗性常与小叶及质量差连锁。人们在 II448A 中找到了更具实用性的抗源, 它在田间一直保持高抗性, 但该品系与烤烟品种杂交, 其后代抗性分离很大, 且缺乏目标质量性状。它是美国育成品种青枯病的主要抗源, 1945 年育成第一个抗青枯病烤烟品种 Oxford26, 进而育成 20 多个抗青枯病品种, 其抗性相当或优于 II448A, 如 NC95、NC729、Coker86、K149 和 G28。Matsuda(1977) 鉴定出了日本地方品种中的中高抗资源, 如 Enshu、Htanodaruna 已经在烤烟和晾烟育种上应用。日本育种家还试图通过与中抗品种杂交积累抗性, 如 Awa 和 Odaruna, 但至今美国、日本都

没有一个品种对青枯病免疫。在任何一个野生烟属种中也未鉴定出抗病性^[1]。

在国内, 顾钢等(2002) 在烟草青枯病型菌系占优势的自然病圃内对 13 个主栽品种病情观察, 属感病型的 8 个, 中感型的 1 个, 中抗型的 4 个; 抗、感品种在田间病害始见期和日增长速率上有明显差异。用 3 个菌系对 8 个品种进行接种鉴定, 结果表明, 2 个感病型品种对 3 个菌系皆表现感病 高感, 而 6 个中抗型和中感型品种仅对型菌表现中抗 低抗, 对型菌除抗病对照外皆表现中感 高感, 对型菌则均表现感病 高感。在 12 个病区调查 8 个品种发病情况与菌系分布的关系, 发现抗、感病品种在不同烟区对该病表现出很大的抗性差异, 这种差异与其所在地的菌系分布型有密切关系, 占优势的毒性菌系在田间控制着品种的抗、感表现型^[2]。匡传富等(2002) 为探讨烟草品种对青枯病的抗病性及抗性机制, 为烟草的抗病育种提供抗源和鉴定方法, 室内鉴定了 54 个烟草品种对青枯病的抗性, 发现不同品种间抗性有明显差异, 抗病品种有 6 个, 分别是 II448A、贵烟、CV91、大晒烟、香烟、K326, 中抗品种有 9 个, 分别是大幅、D101、G28、安流晒烟、子州羊角大烟、G28 × MD609、小样无烟、清间羊角大烟、N326, 其余均为感病品种, 没有免疫品种^[3]。巫升鑫等(2004) 对 260 份烟草品种的青枯病抗性进行了自然病圃的初筛鉴定, 从中选取表现 R-LR 和部分优质感病品种共 113 份, 然后分菌系接种。结果表明, 对青枯病 I、II、III 型菌系反应 R-LR 的抗病品种有 3 份, 分别为 G3、反帝 3 号和 G6, 这是迄今所发现的抗病谱广且能抗强菌系的种质资源; 抗 I、II 型菌反应 R-MR, 感 III 型菌的品种有 SPG117、OX2028 和岩烟 97 等 12 份; 抗 I 型菌反应 R-MR, 感 II、III 型菌的品种有 K326、K346、G80、RG11 和 Coker176 等 50 份; 对 I 型菌反应为 MS-HS 的感病品种有中烟 15、云烟 87、春雷 3 号、大叶密目、大黄金和革新 3 号等 195 份, 包括目前生产上的主栽品种 NC89、云烟 85、翠碧一号和红花大金元等^[4]。潘建菁等(2004) 在对 85 份烟草种质及 46 份烤烟 F₁ 组合进行的青枯病抗性鉴定中, 未发现免疫或高抗材料, 但不同材料对青枯病的抗性不同。感病材料发病早, 病情指数上升速度快; 抗病材料发病迟, 病情指数上升速度慢; 85 份种质中筛选出了 OX2028、RG17、K358 等 10 份抗病种质及岩烟 97、RG11、OX940 等 24 份中抗青枯病种质。杂交组合的抗病性总体上优于烟草种质, 以抗或中抗为主, 但没有明显的优势, 因为其抗性多偏向于抗病性弱的亲本^[5]。

1.2 烟草青枯病抗性遗传规律 烟草青枯病抗性遗传表现

基金项目 安徽省烟草专卖局项目资助(AHKJ2007-11)。

作者简介 季学军(1969-), 男, 安徽宣城人, 硕士, 农艺师, 从事烟草技术研发与推广工作。* 通讯作者。

收稿日期 2008-01-16

为不同的抗源抗性遗传方式不同。Smith 和 Clayton (1948) 用 TI448A 与几个烤烟品种杂交, 其 F_1 与感病品种一样感病, 表明其抗性为隐性基因遗传, 需要通过5个世代的连续选择才能恢复到 TI448A 的抗性水平, 但超过第5代抗性并不增加, 由此他们于1967年得出结论, 该抗性由隐性多基因控制。79X 的抗性也遵循此规律, 但是 TI448A 与 79X 之间的遗传关系至今未确定, 因为2个抗源的杂种 F_1 比任何一个亲本都感病。Matsuda 和 Ohashi (1973) 报道 Awa、Hatan、Kokubu 与 Odaruna 等中抗品种的抗性受部分显性基因 R_{ps} 控制, 高抗品种 Enshu、Hatanodaruna 的抗性不仅受 R_{ps} 基因控制, 还受多基因影响。用来自 TI448A 抗源的抗病品种 DB101 与日本地方品种杂交, 结果表明, 两者抗性遗传方式不同。DSPA 的抗性是多基因遗传, 但遗传因子及 R_{ps} 基因均未检测出来; Xanthi 的抗性是由与日本地方品种的 R_{ps} 基因不同的部分显性基因控制, Matsuda 把它称为 R_{xa} , 指出 Xanthi 的抗性还包括多基因影响的因素; 在 Sumatra C 和 Awa 杂种 F_2 代没有出现抗性遗传分离, 由此得出这2个品种具有相同的抗性基因。值得注意的是, 烟草青枯病抗性为不同的遗传系统控制, 因此, 通过不同抗源遗传物质积累, 选育比目前抗性更高的品种是可行的^[1]。

我国在这方面的研究较少。杨友才等(2005)为探明烟草青枯病抗性的遗传规律, 选用高感青枯病品种红花大金元作母本与高抗青枯病品种 TI448A 作父本进行杂交, 对两亲本及其杂交后代 F_1 、 F_2 、 BC_1P_1 代采用温室苗期叶片人工注射接种法进行了青枯病抗性的鉴定。结果表明, 抗病亲本材料 TI448A 的抗病性由一对显性基因控制^[6]。这与前面叙述的国外的研究结果不一致。下一步研究工作就是明确国内外研究结果差异的原因, 验证已发表的抗性品种在皖南烟区的表现, 这对抗青枯病育种及分子标记的研究具有重要的意义。

2 烟草青枯病抗性品种的选育

烟草抗青枯病育种最早是在美国进行的, 所有育成品种的抗性皆来自 TI448A。自1945年育成第一个抗病品种 Oxford26 以来, 先后育成了 DB101、DB102、NC73、NC75 和 Coker139, 由 Coker139 进而育成的 NC95、G28、Coker319 是20世纪60、70年代的主要抗病品种, 同时也是抗青枯病育种的主体亲本。由 NC95 育成的 Coker258、Coker347、PD279、K326、NC729 等主栽品种, 由 Coker319 育成的 NC82、VA116、K399、Coker86 等, 由 G28 育成的 C80、NC60、NC50、Oxford940 等一系列品种, 在美国烤烟区控制青枯病的危害方面起到了重要作用。在美国进行成功的探索后, 世界的其他地方也开展了烟草抗青枯病的育种计划, 如津巴布韦用 TI448A、Oxford26、DB101、DB102 作为抗源(1966), 日本把 Coker139 作为抗源(1967)。我国抗青枯病育种较晚, 可利用的抗源有 Oxford26、DB101、Coker319、G28、K326、C80 等^[1]。现在国内已选育出的品种以岩烟 97 的抗性较强, 但其在皖南烟区的表现尚未见报道。每年都有因青枯病的发生而对烟叶生产造成损失的现象, 而目前对青枯病没有有效的防治方法, 因此, 选育抗青枯病的优质品种迫在眉睫。

3 青枯病抗性的分子标记

传统育种方法是通过表现型间接对基因型进行选择, 由

于试验规模的限制和环境的影响, 最终育种效率一般不超过百万分之一。选择是育种工作中最重要的环节之一, 最有效的选择方法是依据个体基因型进行直接选择, 分子标记的出现为这种直接选择提供了可能。现代分子生物学的迅速发展为作物育种提供了大量分子标记技术和多种多样的检测手段, 使得 MAS 应用于作物遗传改良已成为现实, 在基因聚合(gene pyramiding)、基因转移(gene transfer) 或称基因渗入(gene transgression) 等方面已有一些成功应用的实例。

3.1 非烟作物青枯病抗性的分子标记 姜慧芳(2006)用抗青枯病花生品种远杂9102与感病品种中花5号、Chico 杂交, 从 F_2 代起用单粒传法构建了花生重组近交系群体(RILS)2个, 在 F_6 代按株行混合收获, 并在 F_6 和 F_7 代重复进行抗性鉴定。应用 AFLP 技术和 BSA 分析方法, 用224对 AFLP 引物组合对亲本中花5号和远杂9102进行鉴定, 筛选出45对能显示2个亲本差异的引物, 进一步扩增由群体中极端抗病和感病个体组成的抗池和感池基因组 DNA, 筛选出2对能显示抗池和感池差异的引物, 并以此鉴定中花5号与远杂9102构建的重组近交系 F_6 群体, 获得了与青枯病抗性基因连锁的2个 AFLP 标记 P3M59-500 和 H1M58-500。根据群体抗性鉴定的结果, 结合 AFLP 分析数据并经两点测验, 表明这2个标记与抗性基因间的交换值分别为 8.13%、3.01%, 换算后2个标记与抗性基因间的遗传距离分别为 8.73、13.93 cM。应用 SSR 技术和 354 对引物鉴定亲本远杂9102与 Chico 间的差异, 获得能检测双亲多态性的引物45对, 并以此扩增远杂9102与 Chico 杂交构建的重组近交系 F_6 群体基因组 DNA, 结合重组近交系群体 F_6 和 F_7 的青枯病抗性鉴定结果, 应用相关软件统计分析, 绘制了栽培种花生的部分遗传连锁图, 图谱总长度为 6 039 cM, 含 29 个标记 28 个 SSR 标记和 1 个形态标记, 共 8 个连锁群, 另有 17 个独立的 SSR 标记未进入任何连锁, 进而获得了与青枯病抗性相关的 2 个 SSR 标记 7G02 和 PM137, 它们位于该图谱的第 1 连锁群(G1), 与青枯病抗性基因间的遗传距离分别为 10.9、13.8 cM^[7]。该抗青枯病的 SSR 和 AFLP 标记均是国际上首次报道。高玉梅(2006)以中国农业科学院蔬菜花卉研究所从我国地方品种中筛选出的抗青枯病茄子材料 509 和感青枯病茄子材料 533 及其 F_2 、 F_3 代为材料, 采用幼苗伤根蘸菌法进行抗病性鉴定, 并用 AFLP 分子标记进行分析研究。结果表明, 抗青枯病茄子材料和感青枯病茄子材料杂交 F_1 代属抗病, 在 78 株 F_2 代群体中, 抗病植株数为 64 棵, 感病植株数为 14 棵, 抗病和感病植株的比例符合 3:1, 茄子对青枯病的抗性遗传是单基因控制的显性遗传性状; 采用 Mse 和 EcoR 双酶切的 AFLP 分子标记, 对抗病、感病亲本以及它们的 F_2 代进行分析。从 426 对引物组合中, 筛选出 49 对引物组合在亲本间表现出多态性, 双亲间共有 97 条多态性带, 引物组合的特异带为 1~5, 将筛选出的引物组合在 F_2 代分离群体中检测并结合抗性鉴定结果, 得到与茄子青枯病的抗性基因连锁标记 E42M18, 该特异片段约为 320 bp, 与抗性性状的交换率为 7.69%, 换算出该标记与抗病基因的遗传距离为 7.75 cM^[8]。

3.2 烟草青枯病抗性的分子标记 国内外关于烟草青枯病 (下转第4161页)

为中感(MS),大于30.1为感病(S)。

表2 引进烤烟新品种赤星病抗性鉴定结果

Table 2 Identification results of newly introduced flue-cured tobacco varieties to brown spots disease

品种	平均病情指数	抗性评价
Variety	Average disease index	Resistance
CF209	60.94 aA	S
CF964	54.63 abA	S
NC89	54.22 abA	S
8504	47.44 abAB	L
云烟97 Yunyan 97	47.42 abAB	L
K326	35.07 bcAB	L
39511	33.90 bcAB	L
YH2	32.99 bcAB	L
9717	15.02 cB	MR
8902-42	11.60 cB	R

表3 引进烤烟新品种黑胫病抗性鉴定结果

Table 3 Identification results of newly introduced flue-cured tobacco varieties to black shank disease

品种	平均病情指数	抗性评价
Variety	Average disease index	Resistance
8504	25.00 aA	MS
CF209	21.70 abA	MS
8902-42	19.80 abA	MR
9717	17.50 abA	MR
39511	15.00 abA	MR
CF964	14.20 abA	MR
云烟97 Yunyan 97	9.70 abA	R
YH2	8.90 abA	R
NC89	7.50 abA	R
K326	6.70 bA	R

2.4 引进烤烟新品种对3种病害抗性的综合评价 从引进10个烤烟新品种对以上3种病害的鉴定结果看,综合抗性较

(上接第4159页)

抗性分子标记的研究较少。杨友才等(2006)选用高感青枯病品种红花大金元与高抗青枯病品种II448A配制杂交组合,采用温室苗期叶片人工注射法接种鉴定两亲本及其杂交后代 F_1 、 F_2 、 BC_1P_1 代的青枯病抗性表现,结果表明抗病亲本材料II448的抗病性由一对显性基因控制;采用混合群体分组分析法(BSA)建立了抗青枯病基因池和感青枯病基因池,通过RAPD试验,从近200个随机引物中筛选出一个在两池间具有多态性的引物S503。用双亲、 F_1 、 F_2 单株DNA进行RAPD试验,证明了该引物扩增出的特异性片段S503-750是一个与抗青枯病基因连锁的RAPD标记。利用JGINMAP(version 114)软件计算出此标记与抗青枯病基因间的重组率为5.984%,连锁距离为6.261 cM。

综上所述,在分子标记研究中,已有较为成熟的方法,也有标记研制成果发表,但未见在育种上应用的报道。开

好即兼抗或中抗3种病害的品种有3个,分别是YH2、8902-42、39511,详见表4。

表4 引进烤烟新品种抗病性鉴定结果

Table 4 Identification results of newly introduced flue-cured tobacco varieties to diseases

品种	TMV		黑胫病		赤星病	
	病情指数	抗性评价	Back shank disease		Brown spots disease	
			病情指数	抗性评价	病情指数	抗性评价
Variety	Disease index	Resistance Evaluation	Disease index	Resistance Evaluation	Disease index	Resistance Evaluation
8504	78.70	S	25.00	MS	47.44	L
CF209	75.00	S	21.67	MS	60.94	S
8902-42	0	R	19.77	MR	11.66	R
9717	39.24	MR	17.50	MR	15.02	MR
39511	0	R	15.00	MR	33.90	L
CF964	76.97	S	11.67	MR	54.63	S
云烟97 Yunyan 97	76.85	S	9.70	R	47.42	L
YH2	0	R	8.94	R	32.99	L
NC89	75.93	S	7.50	R	54.22	S
K326	75.93	S	6.67	R	35.07	L

3 讨论

从烟草黑胫病的抗病性鉴定结果看,新品种对烟草黑胫病的抗感反应与病原的致病力、接种量和接种时的温度、湿度以及土壤水分含量关系很大,因此,鉴定时应将以上几个因素考虑在内。从烟草赤星病的抗病性鉴定结果看,8902-42对烟草赤星病表现较好的抗病性,其他品种表现都较差,说明抗烟草赤星病的育种仍然是烟草育种工作的一个难点。

参考文献

- [1] 刘雅婷,张世珏.云南烟草野火病原细菌鉴定[J].云南农业大学学报,2002,17(1):4-9.
- [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,1995:149-152.
- [3] 王志德.烟草细胞及原生质体对烟草赤星病菌毒素AT毒素的抗性表现[J].中国烟草科学,1990(3):43-48.

展分子标记的研究,并将其成功应用到育种程序中将是常规育种与分子生物学方法相结合的发展方向,也为烟草育种开辟了一条全新的理念和思路。

参考文献

- [1] 佟道儒.烟草育种学[M].北京:中国农业出版社,1997:446-453.
- [2] 顾钢,纪成灿,方树民,等.烟草主栽品种对青枯病抗性反应[J].云南农业大学学报,2002,17(2):130-136.
- [3] 匡传富,罗宽.烟草品种对青枯病抗病性及抗性机制的研究[J].湖南农业大学学报,2002,28(5):395-399.
- [4] 巫升鑫,方树民,潘建菁,等.烟草种质资源抗青枯病筛选鉴定[J].中国烟草学报,2004,10(1):22-24,40.
- [5] 潘建菁,巫升鑫,谢小丹,等.烟草种质资源及烤烟杂交组合对青枯病的抗性评价[J].种子,2004,23(7):13-16.
- [6] 杨友才,周清明,朱列书.烟草品种青枯病抗病性及抗性遗传研究[J].湖南农业大学学报:自然科学版,2005,31(4):381-381.
- [7] 姜慧芳.花生抗青枯病种质的遗传多样性及抗性分子标记[D].武汉:华中农业大学,2006.
- [8] 高玉梅.茄子青枯病抗性的遗传规律分析及抗性基因的AFLP分子标记[D].北京:中国农业科学院,2006.
- [9] 杨友才,周清明,朱列书.烟草青枯病抗性基因的遗传分析及RAPD标记[J].中国烟草学报,2006,12(2):38-42.