



# 新鉴定高抗 TMV 普通烟草枯斑资源的 *N* 导入片段长度多样性

刘勇, 李梅云, 于海芹, 黄昌军, 李永平

云南省烟草农业科学研究院/烟草行业烟草生物技术育种重点实验室/国家烟草基因工程研究中心 昆明, 650021

**摘要:** 为了解我国普通烟草 (*Nicotiana tabacum*) 资源对烟草花叶病毒 (*Tobacco mosaic virus*, TMV) 的抗性基因状况, 为烟草抗病育种的亲本选择提供信息, 利用 *N* 基因特异分子标记鉴定出携带 *N* 基因的普通烟草资源, 并采用 *N* 导入片段的特异分子标记鉴定了 *N* 导入片段的长度。结果表明, 供试的 63 份接种 TMV 表现枯斑的普通烟草 (简称普通烟草枯斑资源) 可划分为 3 大类型, 分别为 Coker176 类型: GL3.50 和 GL4.06 标记阴性、TN4.39、TN5.226、TN5.51 标记阳性; Samsun NN 类型: GL3.50、GL4.06、TN4.39、TN5.226 标记阳性, TN5.51 阴性; Xanthi nc 类型: GL3.50、GL4.06、TN4.39、TN5.226、TN5.51 标记阳性。402 等 51 份资源的 *N* 导入片段长度属于 Coker176 类型, Ky160 等 2 份资源的 *N* 导入片段长度属于 Samsun NN 类型。Ky52 等 10 份资源的 *N* 导入片段长度属于 Xanthi nc 类型。*N* 导入片段较短的枯斑资源, 推测其连锁累赘可能较小, 育种利用潜力较大。本文较系统地鉴定了普通烟草抗 TMV 的枯斑资源的 *N* 导入片段长度, 可为抗 TMV 种质资源的育种利用提供参考。

**关键词:** 普通烟草; *N* 导入片段; 长度

**引用本文:** 刘勇, 李梅云, 于海芹, 等. 新鉴定高抗 TMV 普通烟草枯斑资源的 *N* 导入片段长度多样性 [J]. 中国烟草学报, 2017, 23 (6)

烟草花叶病毒病 (TMV) 是我国烟草的重要病害, 每年造成的损失位列十大烟草侵染性病害名单前列<sup>[1-2]</sup>。种植抗病品种是防控 TMV 最根本和最经济有效的手段, 我国已经选育 10 多个高抗 TMV 的常规品种<sup>[3-4]</sup>和杂种 1 代品种<sup>[5-9]</sup>, 但这些高抗 TMV 品种的推广面积不大。优良抗源是选育高抗且丰产优质品种的关键之一。烤烟品种 TMV 抗性主要来源于烟草野生种心叶烟 (*Nicotiana glutiosa*), 其抗性由一个显性单基因 (*N*) 控制<sup>[10]</sup>。通过一系列的常规杂交和回交转育, *N* 基因抗性从心叶烟转育至香料烟中, 然后转育至白肋烟和烤烟品种中<sup>[11-14]</sup>。常规杂交和回交转育的是携带 *N* 基因的心叶烟染色体片段, 简称 *N* 导入片段。*N* 导入片段上与 *N* 基因紧密连锁的心叶烟基因在烤烟品种中导致连锁累赘, 表现为产量较低、初烤烟叶外观质量稍差<sup>[15-17]</sup>。*N* 导入片段较短的资源, 推测其连锁累赘可能较小, 育种利用潜力较大。

目前我国用于选育抗 TMV 烤烟品种的抗病亲本数量少, 主要有 9501、8022、Coker176、Ky56、Coker86、CV58、CV87、KX13 等<sup>[6-8,18]</sup>。我国收集

保存了 4000 多份烟草种质资源, 据不完全统计, 至 2016 年对约 2000 份种质资源 (包含重复鉴定资源) 开展过 TMV 抗性鉴定<sup>[19-28]</sup>, 2016 年云南省烟草农业科学研究院采用人工接种鉴定出 94 份国外新引的高抗 TMV 的种质资源, 其中大部分属于接种 TMV 表现枯斑的普通烟草 (简称普通烟草枯斑资源)<sup>[28]</sup>。普通烟草资源包括烤烟、白肋烟、香料烟、晒烟、雪茄烟, 不包括黄花烟、野生烟和种间杂交种。这些新鉴定高抗 TMV 抗源的育种利用, 需要明确是否携带 *N* 基因以及 *N* 导入片段长度。刘勇等基于番茄的基因组物理图谱开发了定位 *N* 导入片段的分子标记<sup>[29]</sup>。本文利用分子标记对 63 份普通烟草枯斑资源的 *N* 导入片段长度进行了鉴定, 可为抗 TMV 种质资源的育种利用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

普通烟草枯斑资源 63 份 (表 1), 来源于云南省烟草农业科学研究院 2016 年新鉴定出高抗 TMV 的

**基金项目:** 中国烟草总公司云南省公司科技项目 (2014YN02), 中国烟草总公司科技项目 (110201401001)

**作者简介:** 刘勇 (1970—), 博士, 副研究员, 主要从事烟草抗病育种研究, Tel: 0871-65106352, Email: 645312752@qq.com

**通讯作者:** 李永平 (1966—), 硕士, 研究员, 主要从事烟草育种研究, Email: 1303046997@qq.com

**收稿日期:** 2017-03-23; **网络出版日期:** 2017-09-06

烟草资源<sup>[27-28]</sup>。每份资源挑选 3 株采集幼叶, -80℃ 保存, 分别用于提取 DNA。以 *N* 基因阴性的 K326 为 *N* 导入片段阴性对照。

### 1.2 DNA 提取

采用 QIAGEN DNeasy Plant Mini 试剂盒提取烟草总基因组 DNA。采用紫外分光光度法 (Nanodrop) 和琼脂糖凝胶电泳法初步检测 DNA 质量。质量合格的 DNA 样品, 用 0.5×TE 溶液稀释至 30 ~ 50 ng/μL, 保存备用。

### 1.3 分子标记检测与 *N* 导入片段大小估算

分子标记检测: PCR 反应体系总体积均为 20 μL, 其中 30 ~ 50 ng/μL DNA 样品 2.5 μL、10×PCR buffer 2.0 μL, dNTPs 1.2 μL, 分子标记引物各 1.5 μL, rTaq 酶 0.3 μL, ddH<sub>2</sub>O 11.0 μL。所用试剂购自宝生物公司。PCR 反应在 Eppendorf 梯度扩增仪上 (Master Cycler) 上进行。扩增程序为: 94℃ 预变性 5 min; 94℃ 变性 30 s, 55℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 1 min, 共 35 个循环, 72℃ 延伸 10 min, 4℃ 保存; 采用 2% 的琼脂糖凝胶进行检测。

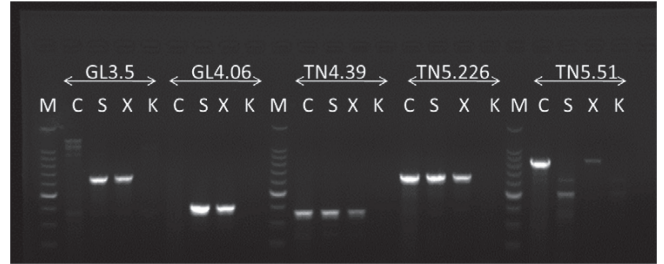
首先采用 *N* 基因的特异分子标记 N1N2 鉴定出携带 *N* 基因的普通烟草资源<sup>[30]</sup>。然后采用 *N* 导入片段的分子标记 (GL3.50, GL4.06, N1N2, TN5.226, TN5.51) 检测 *N* 导入片段的长度<sup>[29]</sup>。N1N2 标记对应于番茄 11 号染色体 4.39Mb 处的 *N* 基因同源体, 在估算 *N* 导入片段长度时, 本文以 TN4.39 表示。根据 *N* 导入片段特异分子标记检测结果 (阴性或阳性), 判断 *N* 导入片段缺失或者携带该标记对应的 DNA 片段。利用 *N* 导入片段的左右末端邻近的两个标记扩增结果估算导入片段长度。若距离 *N* 基因近的一侧标记为阳性, 距离 *N* 基因远的一侧标记检测为阴性, 表明该资源的 *N* 导入片段末端位于这两个标记之间。由于 *N* 导入片段的基因组尚未组装为可计算物理距离的染色体, 烟草 *N* 导入片段的长度用其左右末端阳性标记对应番茄 11 号染色体的物理距离表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 普通烟草中 *N* 导入片段长度的类型

对文献报道的普通烟草枯斑资源, 首先采用 *N* 基因特异分子标记筛选出携带 *N* 基因的资源, 然后检测 *N* 导入片段的长度。根据 *N* 基因和 *N* 导入片段的分子标记的检测结果, 供试的 63 份普通烟草枯斑资源可划分为 3 大类型, 以最常见的代表种质命名为: Coker176 类型: GL3.50 和 GL4.06 检测阴性、

TN4.39、TN5.226、TN5.51 检测阳性; Samsun NN 类型: GL3.50、GL4.06、TN4.39、TN5.226 检测阳性, TN5.51 检测阴性; Xanthi nc 类型: GL3.50、GL4.06、TN4.39、TN5.226、TN5.51 检测阳性, 其中 TN5.77 为普通烟草的标记, TN5.77 检测阳性表明 *N* 导入片段对应的标记为阴性 (图 1, 图 2)。



注: M: DL2000 分子量标准; C: Coker 176; S: Samsun NN; X: Xanthi nc; K: K326, 阴性对照。

Note: M: DL2000 marker; C: Coker 176; S: Samsun NN; X: Xanthi nc; K: K326, negative control.

图 1 3 种类型资源的 *N* 导入片段分子标记检测

Fig. 1 Three types of germplasm tested by molecular marker of *N* introgression segment

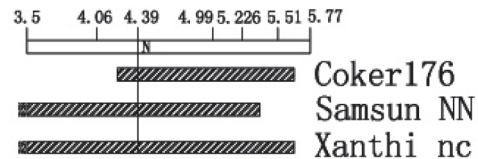


图 2 3 种 *N* 导入片段长度类型示意图

Fig. 2 Diagram of three length types of *N* introgression segment

### 2.2 普通烟草枯斑资源的 *N* 导入片段长度多样性

*N* 导入片段的长度用其左右末端阳性标记的基因组物理距离表示。63 份普通烟草枯斑资源采用 *N* 基因分子标记 N1N2 检测都为阳性, 5 个 *N* 导入片段特异的分子标记检测结果表明 (表 1): 402 等 51 份资源的 *N* 导入片段长度属于 Coker176 类型, 为 GL4.06 阴性、TN4.39、TN5.51 和 TN5.77 阳性。GL4.06 标记和 TN4.39 标记在番茄 11 号染色体上为位置分别为 4.06 Mb 和 4.39 Mb, TN5.51 标记和 TN5.77 标记在番茄 11 号染色体上为位置分别为 5.51 Mb 和 5.77 Mb。TN4.39 与 TN5.51 标记对应于番茄染色体的物理距离为 1.12 Mb, GL4.06 和 TN5.77 对应于番茄染色体的物理距离为 1.71 Mb。因此, Coker176 的 *N* 导入片段的相对长度范围为 1.12 Mb~1.71 Mb (参比番茄 11 号染色体, 图 2)。

Ky160 等 2 份资源的 *N* 导入片段长度属于 Samsun NN 类型, GL3.50 标记和 TN5.226 标记检

测为阳性, TN5.51 标记为阴性。GL3.50 标记和 TN5.226 标记在番茄 11 号染色体上为位置分别为 3.50 Mb 和 5.226 Mb, 二者的物理距离为 1.726 Mb, 因此 Samsun NN 的 *N* 导入片段相对长度为大于 1.726 Mb 小于 2.01 Mb (参比番茄 11 号染色体, 图 2)。

Ky52 等 10 份资源的 *N* 导入片段长度属于 Xanthi

nc 类型。Xanthi nc 和 Xanthi-parental 的 *N* 导入片段较长, GL3.50 标记和 TN5.51 标记检测 Xanthi nc 为阳性, GL3.50 标记和 TN5.51 标记在番茄 11 号染色体上为位置分别为 3.50 Mb 和 5.51 Mb, 二者的物理距离为 2.01 Mb, 因此 Xanthi nc 的 *N* 导入片段相对长度为大于 2.01 Mb (参比番茄 11 号染色体, 图 2)。

表 1 部分桔斑资源的 *N* 导入片段长度多样性

Tab. 1 *N* introgression segment length polymorphism of local germplasm

| 代表类型<br>Type | 资源名称<br>Germplasm name   | 数量 / 份<br>Number |
|--------------|--|------------------|
| Coker176     | 402, 521, 911, 8358, Blue star100, Burley mammoth ky16, Burley21, C6160, CCC-h, CCC-L, Coker51, Ex12, Gen164, Gen224, Gr38a, Havana 425, Havana 426, Havana 503b, Havanan 503, Holmes breeding line-1, KHD926, KY10, KY12, KY21, KY22, KY35, KY8654, lancaster seed, M-1, Massck-1, MD A30, MD B100, MD40, MD402, Metacomet, MRS-1, MRS-3, NC102, NC297, NC-BMR 90, NIC 112, NIC 112B(PL10), NIC 112b(PL11), NIC 112C-G(PL37), NIC 117D-1B, OS 802, Poquonock, Southern beauty, Vamorr48, WB68, 辽烟 9 号 | 51               |
| Samsun NN    | KY160, KY165   | 2                |
| Xanthi nc    | KY52, KY54, Harouova, Mos Res little Crittenden, Mos Res little wood, Nance, Nic 1122c-g(PL271), TI1473, Xanthi-parental, Xanthi(Mitchell-Mor)   | 10               |

### 3 讨论与结论

本文将 30℃ 条件下接种 TMV 表现为桔斑的普通烟草资源简称为“普通烟草桔斑资源”。我国利用人工接种鉴定出的高抗 TMV 种质资源分布于整个烟草属 (*Nicotiana*)<sup>[19-28]</sup>。烟草属种质资源包括普通烟草 (*N. tabacum*)、黄花烟 (*N. rustica*)、野生种和种间杂交种。根据调制模式和工业用途不同, 普通烟草又分为烤烟、白肋烟、晒烟和雪茄烟等类型。由于种间生殖隔离, 黄花烟和野生种的 TMV 抗源难以应用于普通烟草育种, 黄花烟和部分野生种的 TMV 抗性与 *N* 导入片段无关。因此, 本文重点鉴定普通烟草桔斑资源的 *N* 导入片段长度。

目前, 菲利普·莫里斯公司公开了包含 *N* 导入片段的 TN90 的基因组草图数据<sup>[31]</sup>, 由于尚未组装为可计算物理距离的染色体, 利用 *N* 基因序列只能调取到大小为 40.5 Kb 的一个 Scaffold (未列出数据)。而和烟草同属于茄科的番茄公开了染色体基因组数据<sup>[32]</sup>, 该番茄基因组 11 号染色体包含 *N* 基因的同源体, 番茄 11 号染色体上 *N* 基因同源体两侧的基因具有明确的物理距离。本文 *N* 导入片段特异分子标记是根据番茄 11 号染色体上 *N* 基因同源体两侧的共线性基因

开发的, 标记名称中的数字对应于番茄 11 号染色体上的物理距离。因此, 烟草 *N* 导入片段的相对长度以参比番茄 11 号染色体上标记间的物理距离表示。番茄的基因组大小为 0.8 Gb<sup>[32]</sup>, 二倍体烟草祖先种的基因组大小约为 2.5 Gb<sup>[31]</sup>。烟草二倍体祖先种基因组大小为番茄的 3 倍左右, 烟草 *N* 导入片段的长度可按照番茄物理距离的 3 倍粗略估算。

本文鉴定的 51 份属于 Coker176 类型的大部分资源为烤烟、白肋烟和雪茄烟, 10 份属于 Xanthi nc 类型的大部分资源为香料烟, 只有 2 份资源属于 Samsun NN 类型。*N* 导入片段的长度多样性分布与普通烟草抗 TMV 育种历史吻合。Holmes 首先将心叶烟的整条 H 染色体转育至香料烟 Samsun 中<sup>[10]</sup>。整条心叶烟 H 染色体导入普通烟草中带来较大的连锁累赘。育种研究人员通过多次回交选择, 逐渐将心叶烟 H 染色体片段缩短, 逐渐将较短的 *N* 导入片段在烤烟和白肋烟中育种利用。因此, 在较古老的香料烟种质资源中保留了较长的 *N* 导入片段, 而烤烟和白肋烟资源中的 *N* 导入片段较短。较早选育的一个抗 TMV 烤烟品种为 1949 年登记的 Vamorr 48, Vamorr 48 的 *N* 导入片段属于较短的 Coker176 类型。从 1949 年登记的 Vamorr 48 至最近选育的烤烟和白肋烟品种的 *N*



导入片段都属于 Coker176 类型<sup>[33]</sup>, 可见, 在选育出 Vamorr 48 之后的近 65 年中, 育种研究人员选育了大量抗 TMV 品种, 但未能将 Coker176 类型的 N 导入片段缩短。可能原因有两点, 一是 N 导入片段与普通烟草的对应染色体的同源性较低, 减数分裂时不容易发生交换, 因此, 育种过程中发生染色体交换的频率很低<sup>[30]</sup>。二是烤烟中 Coker176 类型的 N 导入片段的连锁累赘表型在田间表现为产量稍低、新鲜叶片外观相对平滑僵硬(木质化 woody)<sup>[15-16]</sup>, 累赘表型容易受氮肥、土壤等环境因素影响, 在田间难以肉眼观察和测量。因此, 即使在育种群体中发生了交换, 交换单株也难以被挑选出来。

根据 N 导入片段交换频率低和累赘表型难以观测的特点, 可采用以下策略筛选短 N 导入片段的育种材料: 选择一个 Coker176 类型的烤烟资源, 与优良感病亲本回交, 构建包含上千个单株的回交群体, 利用 N 导入片段的分子标记从中筛选 N 导入片段的交换单株。

#### 参考文献:

- [1] 陈瑞泰, 朱贤朝, 王智发, 等. 全国 16 个主产烟省(区)烟草侵染性病害调研报告[J]. 中国烟草科学, 1997, (4):1-7.  
CHEN Ruitai, ZHU Xianchao, WANG Zhifa, et al. A report of investigating and studying tobacco infectious diseases of 16 main tobacco producing provinces (regions) in China[J]. Chinese Tobacco Science, 1997, (4):1-7.
- [2] 刘勇, 莫笑晗, 余清, 等. 云南、福建、湖南烟区烟草花叶病主要病毒种类检测及黄瓜花叶病毒亚组鉴定[J]. 植物病理学报, 2006,36(4):310-313.  
LIU Yong, MO Xiaohan, YU Qing, et al. Virus detection of tobacco mosaic disease and subgrouping of Cucumber mosaic virus (CMV) in Yunnan, Fujian and Hunan Provinces. Acta Phytopathologica Sinica, 2006,36(4):310-313.
- [3] 赵钢, 烤烟优良新品种 CV87、CV85 简介[J]. 上海烟业, 1996,2:16-17.  
ZHAO Gang. Brief introduction of CV87 and CV85 of a new flue cured tobacco variety[J]. Shanghai tobacco industry, 1996,2:16-17.
- [4] 王春军, 陈荣平, 邱恩建, 等. 烤烟新品种龙江 912 的选育及其特征特性[J]. 中国烟草科学, 2010,31(5):25-28.  
WANG Chunjun, CHEN Rongping, QIU Enjian, et al. Breeding of a new flue-cured tobacco variety longjiang 912 and its characteristics[J]. Chinese Tobacco Science, 2010,31(5):25-28.
- [5] 申艳霞, 范景清, 许亚贤, 等. 烤烟雄性不育一代杂交种辽烟 15 号的选育及其特征特性[J]. 中国烟草, 1996,1:6-9.  
SHEN Yanxia, FAN Jinqing, XU Yaxian, et al. Breeding and characteristics of flue-cured tobacco male sterile F1 hybrid tobacco Liaoyan15[J]. Chinese Tobacco, 1996,1:6-9.
- [6] 李永平, 卢秀萍, 王颖宽. 烤烟新品种云烟 202 的选育及特征特性[J]. 中国烟草科学, 2005, 26(4):16-18.  
LI Yongping, LU Xiuping, WANG Yinkuan. Breeding and selecting of flue-cured tobacco variety Yunyan202 and its characteristics[J]. Chinese Tobacco Science, 2005, 26(4):16-18.
- [7] 卢秀萍, 李永平. 烤烟新品种云烟 201 的选育及其特征特性[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2006, 32(4):378-381.  
LU Xiuping, LI Yongping. Selection and breeding of Yunyan 201 A new variety flue-cured tobacco and its characteristics[J]. Journal of Hunan Agricultural University, 2006, 32(4):378-381.
- [8] 焦芳婵, 肖炳光, 李永平, 等. 烤烟新品种“云烟 203”的选育及特征特性[J]. 西南农业学报, 2010,23(3): 625-628.  
JIAO Fangchan, XIAO Bingguang, LI yongping, et al. Breeding and characteristics of Yunyan203, A new variety of flue-cured tobacco[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2010,23(3): 625-628.
- [9] 杨洪雄, 徐兴阳, 罗华元, 等. 云南烟区推广种植 NC102 与 NC297 品种的良区良法配套方案探索[J]. 昆明学院学报, 2011,33(6):23-26.  
YANG Hongxiong, XU Xingyang, LUO Huayuan, et al. Discu on the supporting measures of regions and methods in planting NC102 and NC297 varieties in Yunnan. Journal of Kunming Teachers College, 2011,33(6):23-26.
- [10] Holmes F O. Inheritance in tobacco of an improved resistance to infection by tobacco mosaic virus[J]. Virology, 1960,12(1): 59-67.
- [11] Chaplin J F, Gooding G V. Reaction of diverse Nicotiana tabacum germplasm to tobacco mosaic virus [J]. Tobacco Science. 1969,13:130-133.
- [12] Chaplin J F, Mann T J. Evaluation of tobacco mosaic resistance factor transferred from burley to flue-cured tobacco [J]. Journal. Heredity. 1978,69:175-178.
- [13] Beekwilder K M. The inheritance of resistance to tobacco mosaic virus in tobacco introductions. M.S. thesis. 1999, Virginia Polytechnic Inst. and State Univ., Blacksburg, VA.
- [14] Bagley C A. Controlling tobacco mosaic virus in tobacco through resistance. M.S. thesis. 2002, Virginia Polytechnic Inst. and State Univ., Blacksburg, VA.
- [15] Chaplin J F, Matzinger D F, Mann T J. Influence of the homozygous and heterozygous mosaic-resistance factor on quantitative character of flue-cured tobacco[J]. Tobacco Science. 1966,10:81-84.
- [16] Chaplin J F, Mann T J, Apple J L. Some effects of the Nicotianaglutinosatype of mosaic resistance on agronomic characters of flue-cured tobacco[J]. Tobacco Science. 1961,5:80-83.
- [17] Legg P D, Collins G B, Litton C C. Effects of the N mosaic resistance factor on agronomic and chemical traits in burley tobacco[J]. Crop Science. 1979,19:455-457.
- [18] 许石剑, 肖炳光, 李永平. 烟草抗 TMV 育种研究进展[J]. 中国农学通报, 2009,25(16):91-94.  
XU Shijian, XIAO Bingguang, LI Yongping. Progress on TMV resistant breeding of tobacco[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2009,25(16):91-94.
- [19] 许美玲, 赵立红, 段玉琪, 等. 抗 TMV 烟草种质资源材料的筛选和综合评价[J]. 植物遗传资源学报, 2004,5(2):142-146.  
XU Meiling, ZHAO Lihong, DUAN Yuqi, et al. Comprehensive evaluation and selection of tobacco germplasm resources resistant to TMV[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2004,5(2):142-146.
- [20] 许美玲, 赵立红, 杨彦明, 等. 抗主要病害烟草种质资源的筛选[J]. 种子, 2005, 24(7):59-61.  
XU Meiling, ZHAO Lihong, YANG Yanming, et al. Screening of tobacco germplasms to tobacco major diseases. Seed, 2005, 24(7):59-61.
- [21] 刘艳华, 王志德, 钱玉梅, 等. 烟草抗病毒种质资源的鉴定与评价[J]. 中国烟草科学, 2007,28(5):1-4,8.  
LIU Yanhua, WANG Zhide, QIAN Yumei, et al. Resistance

- identification and evaluation of tobacco germplasms to tobacco virus diseases[J].Chinese Tobacco Science, 2007,28(5):1-4,8.
- [22] 姜洪甲,邢世东,马维广. 抗 TMV 烤烟种质资源材料筛选与利用研究初报[J]. 中国烟草科学,2009,30(S1):53-55. JIANG Hongjia,XING Shidong, MA Weiguang. Selection and utilization of germplasm material for anti-TMV flue-cured tobacco[J].Chinese Tobacco Science, 2009,30(S1):53-55.
- [23] 黄婷,吴云锋,陈伟,等. 烟草品种对烟草花叶病毒和黄瓜花叶病毒的抗性鉴定[J]. 植物病理学报,2013,43 (1): 50-57. HUANG Ting, WU Yunfeng, CHEN Wei, et al. Identification of the resistance of tobacco varieties to Tobacco mosaic virus(TMV) and Cucumber mosaic virus (CMV)[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2013,43 (1): 50-57.
- [24] 高玉龙,肖炳光,童治军,等. 烟草抗 TMV 基因连锁分子标记的筛选及在抗病资源筛选中的应用[J]. 分子植物育种,2011,9(5):585-591. GAO Yulong, XIAO Bingguang, TONG Zhijun, et al. Identification of molecular markers linked to TMV resistance gene in tobacco and its application in screening resistance varieties[J].Molecular Plant Breeding, 2011, 9(5):585-591.
- [25] 李梅云,冷晓东,肖炳光,等. 烟草抗黑胫病和 TMV 种质资源的鉴定与评价[J]. 安徽农业科学, 2012,40( 23): 11678-11680. LI Meiyun, LENG Xiaodong, XIAO Bingguang, et al. Resistance identification and evaluation of tobacco germplasms to tobacco Black Shank and TMV disease[J].Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2012,40( 23): 11678-11680.
- [26] 许美玲. 烟草种质库种子清理与重新入库[J]. 中国农学通报, 2006,(9): 425-428. XU Meiling. Cleaning up the tobacco seeds and re-storage[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2006,(9): 425-428.
- [27] 刘勇,许美玲,黄昌军,等. 高抗烟草花叶病毒的烟草种质资源筛选[J]. 种子,2016, 35(12). LIU Yong, XU Meiling, HUANG Changjun, et al. Identification of tobacco germplasm with resistance to Tobacco mosaic virus(TMV) [J]. Seed, 2016, 35(12).
- [28] 李梅云,许美玲,焦芳婵,等. 不同类型烟草种质资源对 TMV 的抗性鉴定[J]. 烟草科技, 2016, 49(11):23-30. LI Meiyun, XU Meiling, JIAO Fangchan, et al. Tobacco mosaic virus (TMV) resistance characterization in new tobacco germplasm resources[J].Tobacco Science & Technology, 2016, 49(11):23-30.
- [29] 刘勇,陈姝敏,李永平,等. 估算烟草 N 导入片段右端长度的分子标记、引物及方法: 云南, CN105200149A[P].2015-12-30. LIU Yong, CHEN Shuming, LI Yongping, et al. Molecular markers, primers and methods for estimating the right length of tobacco N introgression fragments. Yunnan,CN105200149A[P].2015-12-30.
- [30] Lewis R S, Milla S R, Levin J S . Molecular and genetic characterization of *Nicotiana glutinosa* L. chromosome segments in tobacco mosaic virus-resistant tobacco accessions. Crop Science. 2005,45:2355-2362.
- [31] Sierra N, Battey J N D, Ouadi S, et al. The tobacco genome sequence and its comparison with those of tomato and potato[J]. Nature Communications, 2014, 5(5):3833.
- [32] Consortium T T G. The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution[J]. Nature, 2012, 485(7400):635-641.
- [33] Henderson R G. Vamorr 48 and 50. Two new flue-cured varieties of tobacco resistant to mosaic and root rot. Va. Agr. Exp. Sta., Bull. 427. 1949.

## *N* introgression segment length polymorphism of newly tested *Nicotiana tabacum* germplasm highly resistant to tobacco mosaic virus

LIU Yong, LI Meiyun, YU Haiqin, HUANG Changjun, LI Yongping\*

Yunnan Academy of Tobacco Agricultural Sciences, Key Laboratory of Tobacco Biotechnological Breeding, National Tobacco Genetic Engineering Research Center, Kunming, 650021, China

**Abstract:** In order to understand the status of *Nicotiana tabacum* germplasm highly resistant to tobacco mosaic virus (TMV), to provide information for highly resistant parents selection in tobacco breeding, tobacco germplasm with *N* gene were selected by using *N* gene-specific molecular markers, and their *N* introgression segment lengths were tested by using *N* introgression segment specific molecular markers. Results showed that 63 tested tobacco germplasm could be divided into three main categories, Coker176 type: GL3.50 and GL4.06 marker negative, TN4.39, TN5.226, TN5.51 marker positive; Samsun NN type: GL3.50, GL4.06, TN4.39, TN5.226 marker positive, TN5.51 marker negative; Xanthi NC type: GL3.50, GL4.06, TN4.39, TN5.226, TN5.51 marker positive. The *N* introgression segment length of 402 and other 51 germplasm belonged to Coker176 type. The *N* introgression segment length of Ky160 and other 1 germplasm belonged to Samsun NN type. The *N* introgression segment length of Ky52 and other 9 germplasms belonged to Xanthi NC type. Germplasm with short *N* introgression segment may have less linkage drag, and are of greater breeding potential. The *N* introgression segment lengths of TMV highly resistant germplasm were evaluated in this paper, which could provide information for selecting highly resistant parents in variety development.

**Keywords:** *Nicotiana tabacum*; *N* introgression segment; length

**Citation:** LIU Yong, LI Meiyun, YU Haiqin, et al. *N* introgression segment length polymorphism of newly tested *Nicotiana tabacum* germplasm highly resistant to tobacco mosaic virus [J]. Acta Tabacaria Sinica, 2017, 23(6)