

王仁刚,杨志晓,林世锋,等. 烟属野生种资源黑胫病抗性研究[J]. 江苏农业科学,2017,45(15):99-102.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.15.025

烟属野生种资源黑胫病抗性研究

王仁刚,杨志晓,林世锋,张吉顺,任学良

(贵州省烟草科学研究院,贵州贵阳 550000)

摘要:以64个烟属野生种(其中33个种为我国首次收集的野生种资源)、4个普通烟草栽培种为试验材料,采用黑胫病苗期接种鉴定和田间病圃鉴定2种方法,研究烟属野生种资源对黑胫病的抗病性。结果表明,2种鉴定方法得到的抗性鉴定结果一致性较高,其中54个参试材料鉴定结果相同,10个参试材料鉴定结果有差异,但抗性鉴定的结果差异都是在相近抗性水平上波动;在参试材料中共鉴定出高抗黑胫病野生种4个,抗黑胫病野生种14个,中抗黑胫病野生种13个;不同组的野生种黑胫病抗性有一定差异,圆锥烟草组、残波烟草组的野生种表现出对黑胫病较好的抗性。

关键词:烟属;野生种;黑胫病;抗病性鉴定;野生资源;抗黑胫病育种利用

中图分类号: S435.72 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)15-0099-04

烟属(*Nicotiana*)包含75种,我国烟草种质资源库中共保存烟属野生种资源35份(33个种)^[1-3]。栽培烟草主要来源于普通烟草,自然加倍和人工选择等因素导致现代栽培烟草遗传基因库的变窄,背景狭窄限制了烟草育种等诸多研究难以取得突破性进展。烟属野生种具有高度的遗传复杂性和异质性,具有栽培种所不具备的重要性状,如抗逆性、适应性、抗病性、雄性不育性及独特的品质特性等,是极具研究价值的战略资源^[4-5]。利用野生资源是解决栽培烟草遗传瓶颈、拓宽基因资源等最可靠、有效的途径之一。广泛收集、鉴定烟属野生种资源是开展研究利用必不可少的前提工作。在文献资料中可查询到一些野生种资源对各种病害抗性的介绍,但关于野生种资源对烟草黑胫病抗性的系统研究鲜有报导。烟草黑胫病是烟草生产上最具毁灭性的病害之一,在我国主要烟区都有发生^[6-7]。本研究采用苗期接种鉴定、田间病圃鉴定2种方法对烟属64份野生种资源进行黑胫病抗病性鉴定,筛选抗病资源,为野生种资源在抗黑胫病育种的应用提供基础材料。

1 材料与与方法

1.1 试验材料

参试材料共68份,包括了64份野生种资源和4个普通烟草种,涵盖了烟属全部13个组^[2-3]。参试野生种资源中33个种为我国首次收集的野生种资源^[2-3,5],2份资源为合成种、3份资源为变种;4个普通烟草种为烤烟黑胫病常用对照

品种,其中革新3号为抗病对照,K326、金星6007为中抗对照,小黄金1025为感病对照(表1)。

1.2 试验时间与地点

在本试验于2015年在贵州省福泉市贵州省烟草科学研究院试验基地进行。田间病圃鉴定于贵州省烟草科学研究院试验基地黑胫病圃内进行、苗期接种鉴定于贵州省烟草科学研究院试验基地温室内进行。

1.3 材料培养与处理方法

1.3.1 接种病原菌及菌谷培养 黑胫病菌为黑胫病1号小种,由贵州省烟草科学研究院鉴定、保存。菌谷制种方法参照GB/T 23224—2008《烟草品种抗病性鉴定》。

1.3.2 田间病圃鉴定 烟草黑胫病抗性鉴定采用田间病圃鉴定法。试验设4个重复,每重复1行,栽烟10株。采用漂浮育苗法,密度1 m×0.6 m,施纯氮90 kg/hm²。其他栽培管理措施同大田生产。设革新3号为抗病对照,金星6007为中抗对照,小黄金1025为感病对照。病害人工诱发:于移栽后20 d,对所有供试烟株进行茎基部的人工接种,每株接种病菌菌谷3 g。

1.3.3 苗期接种鉴定 将供试材料播种于56孔育苗托盘上培养供试烟苗到60 d苗龄用于试验。每份资源56株,设3个重复。接种:对所有供试烟株进行茎基部的人工接种,每株接种病菌菌谷0.5 g,保持温度26~28℃。

1.4 测定指标与方法

记载方法执行国家标准GB/T 23222—2008《烟草病虫害分级及调查方法》。苗期接种鉴定以黑胫菌谷接种10 d 1次病情指数为准,田间病圃鉴定以菌谷抗种后20、40、60 d 3次病情指数平均值为准。

1.5 数据统计分析

病情指数(D)计算公式:

$$D = \frac{\sum (\text{各级病株数} \times \text{该病级数}) \times 100}{(\text{调查总株数} \times \text{最高级数})}$$

抗性划分为6个级别:高抗(HR),病指为0;抗病(R),病指为0.1~20.0;中抗(MR),病指为20.1~40.0;中感(MS),

收稿日期:2016-09-21

基金项目:中国烟草总公司贵州省公司科技项目(编号:201301、200911);中国烟草总公司重点实验室项目(编号:110201503007)。

作者简介:王仁刚(1976—),男,辽宁营口人,副研究员,从事烤烟育种及烟草种质资源研究。E-mail: rengangwang@126.com。共同第一作者:杨志晓(1981—),男,河南临颖人,副研究员,从事烟草遗传育种研究。E-mail: linyingxian2006@126.com。

通信作者:林世锋,博士,副研究员,主要从事烟草病害研究。E-mail: linslifeng1978@163.com。

表1 参试材料

编号	拉丁名	分组
1	<i>N. forgetiana</i> Hemsl. *	<i>N. sect. Alatae</i> (具翼烟草组)
2	<i>N. langsdorffii</i> Weinm. *	
3	<i>N. alata</i> Link & Otto	
4	<i>N. bonariensis</i> Lehm.	
5	<i>N. longiflora</i> Cav.	
6	<i>N. plumbaginifolia</i> Viv.	
7	<i>N. glauca</i> Graham	<i>N. sect. Noctiflorae</i> (夜花烟草组)
8	<i>N. noctiflora</i> Hook.	
9	<i>N. petuniodes</i> (Griseb.) Millán.	
10	<i>N. cordifolia</i> Phil. *	<i>N. sect. Paniculatae</i> (圆锥烟草组)
11	<i>N. raimondii</i> J. F. Macbr. *	
12	<i>N. solanifolia</i> Walp. *	
13	<i>N. benavidesii</i> Goodsp.	
14	<i>N. knightiana</i> Goodsp.	
15	<i>N. paniculata</i> L.	
16	<i>N. attenuata</i> Torrey ex S. Watson *	<i>N. sect. Petunioides</i> (渐尖叶烟草组)
17	<i>N. miersii</i> J. Remy *	
18	<i>N. pauciflora</i> J. Remy *	
19	<i>N. corymbosa</i> J. Remy *	
20	<i>N. linearis</i> Phil.	
21	<i>N. acuminata</i> (Graham) Hook.	
22	<i>N. clevelandii</i> A. Gray	<i>N. sect. Polydichiae</i> (多室烟草组)
23	<i>N. quadrivalvis</i> Pursh	
24	<i>N. nudicaulis</i> S. Watson	<i>N. sect. Repandae</i> (残波烟草组)
25	<i>N. repanda</i> Willd.	
26	<i>N. stocktonii</i> Brandegee	
27	<i>N. nesophila</i> I. M. Johnston	
28	<i>N. rustica</i> L. *	<i>N. sect. Rusicae</i> (黄花烟草组)
29	<i>N. amplexicaulis</i> N. T. Burb. *	<i>N. sect. Suaveolentes</i> (香甜烟草组)
30	<i>N. benthamiana</i> Domin *	
31	<i>N. cavicola</i> N. T. Burb. *	
32	<i>N. excelsior</i> J. M. Black *	
33	<i>N. fragrans</i> Hooker *	
34	<i>N. maritima</i> H. - M. Wheeler *	
35	<i>N. megalosiphon</i> van Huerck & Miill. Arg. *	
36	<i>N. occidentalis</i> H. - M. Wheeler *	
37	<i>N. rosulata</i> (S. Moore) Domin *	
38	<i>N. rotundifolia</i> Lindl. *	
39	<i>N. simulans</i> N. T. Burb. *	
40	<i>N. velutina</i> H. - M. Wheeler *	
41	<i>N. africana</i> Merxm.	
42	<i>N. debneyi</i> Domin	
43	<i>N. suaveolens</i> Lenm.	
44	<i>N. exigua</i> H. - M. Wheeler	
45	<i>N. goodspeedii</i> H. - M. Wheeler	
46	<i>N. ingulba</i> J. M. Black	
47	<i>N. sylvestris</i> Speg. & Comes	<i>N. sect. Sylvestres</i> (林烟草组)
48	<i>N. setchellii</i> Goodsp. *	<i>N. sect. Tomentosae</i> (绒毛烟草组)
49	<i>N. otophora</i> Griseb.	
50	<i>N. tomentosa</i> Ruiz & Pav.	
51	<i>N. tomentosiformis</i> Goodsp.	
52	<i>N. kawakamii</i> Y. Ohashi	
53	<i>N. trigonophylla</i> Dunal *	<i>N. sect. Trigonophyllae</i> (三角叶烟草组)
54	<i>N. obtusifolia</i> M. Martens & Galeotti *	

续表 1

编号	拉丁名	分组
55	<i>N. palmeri</i> A. Gray *	
56	<i>N. arentsii</i> Goodsp. *	<i>N. sect. Undulatae</i> (波叶烟草组)
57	<i>N. wigandioides</i> Koch & Fintelm *	
58	<i>N. glutinosa</i> L.	
59	<i>N. undulata</i> Ruiz & Pav.	
60	<i>N. × sanderae</i> Hort. Ex Wats. *	\
61	<i>N. rustica</i> var. <i>brasillia</i> *	
62	<i>N. rustica</i> var. <i>pumila</i> *	
63	<i>N. suaveolens</i> subsp. <i>Eastii</i> *	
64	<i>N. digluta</i> *	
CK1	革新3号	<i>N. sect. Nicotiana.</i> (普通烟草组)
CK2	K326	
CK3	金星6007	
CK4	小黄金1025	

注：“*”为国内新引进烟属野生种资源，“\”表示现有分类方法中未包含。

病指为 40.1 ~ 60.0; 感(S), 病指为 60.1 ~ 80.0; 高感(HS), 病指为 80.1 ~ 100.0。

2 结果与分析

试验结果(表2)表明, 苗期鉴定所设抗病鉴定对照病情指数均在正常范围内, 抗病对照品种革新3号表现为抗, 中抗对照品种K326、金星6007表现为中抗, 感病对照小黄金1025表现高感; 田间鉴定所设抗病鉴定对照除抗病对照有小幅偏高, 其他对照病情指数属正常范围, 抗病对照品种革新3号表现为中抗, 中抗对照品种K326、金星6007表现为中抗, 感病对照小黄金1025表现高感。参试材料通过黑胫病苗期鉴定法鉴定出高抗黑胫病野生种4个, 抗黑胫病野生种14个, 中抗黑胫病野生种13个, 其他33个野生种资源为中感至高感。田间病圃鉴定法的结果与苗期鉴定有一定差异, 鉴定出高抗黑胫病野生种4个, 抗黑胫病野生种17个, 中抗黑胫病种16个。

2种方法共有10个野生种的鉴定结果有差异, 但抗性鉴定的结果差异都是在相近抗性水平上波动, 其中, *N. excelsior*、*N. suaveolens* 2个种在苗期鉴定为抗, 田间病圃中因病情指数略高而划分为中抗水平; *N. rustica*、*N. ingulba*、*N. sylvestris* 3个种苗期鉴定为中抗, 田间病圃中则表现为中感; *N. miersii*、*N. acuminata*、*N. amplexicaulis*、*N. setchellii*、*N. undulate* 5个种苗期鉴定为抗, 田间病圃病情指数达到感病水平。

采用苗期接种鉴定法和田间病圃鉴定法对野生种进行黑胫病抗性鉴定, 病情指数存在一定差异, 是野生种生育期、环境条件等因素造成的, 但其结果具有一定的一致性, 对抗性的判定虽有差异但都在相近抗性级别波动^[8-9]。田间病圃鉴定受土壤中病原分布不均匀、野生种移栽到田间后生育期差异较苗期更为明显、田间其他病害发生等因素影响, 影响误差相对较大; 苗期接种鉴定环境因素影响较少, 鉴定结果相对稳定, 因此本研究以苗期接种鉴定结果为准, 田间病圃鉴定结果为参考。

3 讨论

从烟属野生种分类来分析不同组野生种资源对烟草黑胫病的抗性发现, 分类地位属不同组的野生种对烟草黑胫病的抗性有一定差异。参试材料中圆锥烟草组、残波烟草组的野生种表现出对黑胫病较好的抗性, 绒毛烟草组的野生种对黑胫病的抗性较差, 其他组的野生种在同一组内的抗性差异较大。圆锥烟草组、残波烟草组的野生种黑胫病抗性明显优于其他组的野生种, 圆锥烟草组6个参试材料中, *N. cordifolia*表现为高抗黑胫病, *N. raimondii*、*N. benavidesii*、*N. solanifolia*、*N. knightiana*、*N. paniculata*等5个种表现为抗病。残波烟草组包括4个种, 其中*N. repanda*、*N. nesophila* 2个种表现为高抗黑胫病, *N. nudicaulis*、*N. stocktonii*表现为抗病。绒毛烟草组是栽培烟草的祖先种^[10-11], 该组所包含的参试材料黑胫病抗性均为中感至高感。绒毛烟草组包含5个野生种, 其中*N. tomentosiformis*表现为高感黑胫病, *N. otophora*、*N. tomentosa* 2个种均为感, *N. kawakamii*为中感黑胫病。栽培烟草的另1个祖先种林烟草组只有*N. sylvestris* 1个种, 对黑胫病抗性病圃鉴定表现为中感。

香甜烟草组在分类上共包含26个种, 参试材料为其中18个种。其中*N. megalosiphon*、*N. rotundifolia*、*N. debneyi* 3个种表现为抗病, *N. fragrans*、*N. occidentalis*、*N. simulans*、*N. velutina*、*N. exigua*、*N. goodspeedii*等6个种表现为中抗, *N. excelsior*、*N. suaveolens* 苗期接种鉴定为抗性, 病圃鉴定为中抗, *N. africana*表现为高感黑胫病, 其他材料为中感至感病。具翼烟草组包含的6个种对黑胫病抗性差异较大, *N. plumbaginifolia*表现为抗黑胫病, *N. forgetiana*为高感黑胫病, 其他4个种抗性在中抗至中感。在夜花烟草组中鉴定出*N. glauca*高抗黑胫病。

在研究中鉴定出的4个高抗黑胫病野生种中, *N. nesophila*、*N. repanda*为四倍体, 染色体数与普通烟草相同, *N. cordifolia*、*N. glauca*为二倍体。这些资源的利用具有很大困难, 需要在远缘杂交上有进一步的突破。黑胫病抗性鉴定结果受病原菌致病性不同、环境因素的影响等, 可能在不同地区有一定差异, 在研究与利用这些野生种资源时应考虑这些因素带来的误差。

表2 黑胫病抗性鉴定结果

编号	苗期接种鉴定		病圃鉴定		编号	苗期接种鉴定		病圃鉴定	
	病情指数	抗性	病情指数	抗性		病情指数	抗性	病情指数	抗性
1	89.3±4.2	HS	94.3±4.3	HS	35	17.0±3.7	R	18.4±4.5	R
2	38.8±4.1	MR	39.5±3.9	MR	36	33.8±4.7	MR	32.3±3.6	MR
3	55.6±6.8	MS	58.5±6.2	MS	37	61.8±5.0	S	71.4±4.1	S
4	56.5±4.4	MS	42.4±3.7	MS	38	13.7±5.0	R	18.5±3.9	R
5	22.6±4.7	MR	27.2±3.4	MR	39	24.2±3.2	MR	27.5±2.0	MR
6	3.5±3.0	R	1.2±1.7	R	40	25.3±1.6	MR	28.7±4.5	MR
7	0.0±0.0	HR	0.0±0.0	HR	41	87.9±5.7	HS	98.8±1.7	HS
8	37.6±3.8	MR	33.4±6.1	MR	42	14.8±3.8	R	17.7±5.0	R
9	74.3±5.5	S	69.7±4.2	S	43	18.3±6.3	R	23.1±3.9	MR*
10	0.0±0.0	HR	0.0±0.0	HR	44	25.9±6.5	MR	35.0±5.3	MR
11	3.0±2.2	R	1.1±1.6	R	45	23.3±4.5	MR	28.1±2.0	MR
12	3.7±2.9	R	6.9±5.7	R	46	37.0±4.4	MR	47.9±4.8	MS*
13	11.9±3.4	R	1.9±2.7	R	47	39.3±1.6	MR	43.9±5.4	MS*
14	9.0±4.4	R	18.3±3.8	R	48	59.4±2.2	MS	65.4±5.0	S*
15	4.6±3.4	R	4.3±3.8	R	49	69.4±7.9	S	78.9±6.8	S
16	46.9±4.5	MS	54.1±3.3	MS	50	63.9±4.9	S	65.1±5.4	S
17	53.7±3.1	MS	61.6±1.8	S*	51	90.7±4.5	HS	90.7±5.8	HS
18	45.8±3.5	MS	47.7±4.7	MS	52	48.3±2.2	MS	47.4±4.6	MS
19	53.3±5.7	MS	54.6±3.0	MS	53	54.5±1.3	MS	48.4±4.1	MS
20	66.8±3.5	S	68.7±5.0	S	54	45.5±2.9	MS	46.2±0.5	MS
21	52.9±2.4	MS	63.0±8.3	S*	55	15.0±3.2	R	17.5±2.9	R
22	48.6±7.0	MS	44.4±8.1	MS	56	47.7±3.7	MS	51.4±4.4	MS
23	15.6±3.2	R	19.0±5.2	R	57	67.1±3.9	S	68.8±6.9	S
24	12.9±3.2	R	6.9±3.6	R	58	23.5±3.7	MR	30.5±6.6	MR
25	0.0±0.0	HR	0.0±0.0	HR	59	57.6±3.5	MS	60.8±5.9	S*
26	5.2±3.9	R	11.5±8.3	R	60	18.3±3.6	R	15.1±3.3	R
27	0.0±0.0	HR	0.0±0.0	HR	61	54.0±4.9	MS	54.0±4.2	MS
28	39.7±4.3	MR	46.6±5.4	MS*	62	53.5±3.7	MS	48.2±3.0	MS
29	53.8±4.6	MS	63.7±1.3	S*	63	52.3±3.7	MS	53.1±4.3	MS
30	48.8±6.9	MS	51.7±4.9	MS	64	32.6±3.1	MR	38.2±4.8	MR
31	47.1±9.8	MS	48.0±5.3	MS	CK1	18.6±3.4	R	22.1±3.0	MR*
32	18.4±5.8	R	25.3±5.9	MR*	CK2	29.1±3.5	MR	31.3±2.9	MR
33	29.1±3.1	MR	34.5±2.0	MR	CK3	38.5±2.6	MR	38.8±3.4	MR
34	49.0±5.1	MS	55.7±2.6	MS	CK4	96.3±2.8	HS	98.5±2.2	HS

注：“*”表示病圃鉴定结果与苗期接种鉴定结果有差异。

参考文献:

- [1] Clarkson J J, Knapp S, Garcia V F, et al. Phylogenetic relationships in *Nicotiana* (Solanaceae) inferred from multiple plastid DNA regions[J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2004, 33(1): 75-90.
- [2] 王仁刚, 王云鹏, 任学良. 烟属植物学分类研究新进展[J]. *中国烟草学报*, 2010(2): 84-90.
- [3] 任民, 王志德, 牟建民, 等. 我国烟草种质资源的种类与分布概况[J]. *中国烟草科学*, 2009, 30(增刊1): 8-14.
- [4] 任学良, 李继新, 李明海. 美国烟草育种进展简况[J]. *中国烟草学报*, 2007, 6(13): 57-64.
- [5] 卢新雄, 崔聪淑, 陈贞, 等. 国家种质库保存的烟草种质资源[J]. *中国烟草*, 1992(2): 37-40.
- [6] 董瑜, 郭伟, 任浩, 等. 防治烟草黑胫病的微胶囊药剂制备及持效期[J]. *江苏农业科学*, 2016, 44(2): 166-170.
- [7] 刘畅, 许家来, 郭凯, 等. 烟草黑胫病生防菌的筛选鉴定及发酵条件优化[J]. *江苏农业科学*, 2016, 44(5): 167-170.
- [8] 于海芹, 焦芳婵, 李德团, 等. 烟草品种黑胫病抗性鉴定及不同接种方法间的相关性分析[J]. *内蒙古农业科技*, 2007, 9(6): 48-51.
- [9] 于海芹, 焦芳婵, 肖炳光, 等. 烟草种质资源苗期黑胫病抗性鉴定研究[J]. *中国农业科技导报*, 2008, 10(4): 70-75.
- [10] Knapp S, Chase M W, Clarkson J J. Nomenclatural changes and a new sectional classification in *Nicotiana* (Solanaceae) [J]. *Taxon*, 2004, 53(1): 73-82.
- [11] 王仁刚, 蔡刘体, 任学良. 烟属起源与分子系统进化的研究进展[J]. *贵州农业科学*, 2011, 39(1): 1-7.