

研究简报

普通烟草转基因株后代抗病性鉴定^{*}

林宝祥 焦慧彦 吕桂菊

(黑龙江省农科院园艺所)

TMV、CMV对烟草生产的危害是我国烟草生产中普遍存在的一种病害,目前生产中对病毒病的防治尚无非常有效的方法。选育利用抗病品种作为一种经济、有效的防治方法,无论在质量、效益方面,还是从综合治理烟草病毒病危害方面均有十分重要的地位。在目前尚无高抗TMV、CMV烟草品种以供生产之需的情况下,利用生物技术手段,通过转入TMV、CMV外壳蛋白基因到烟草体内并翻译表达,起到减轻或抗御TMV、CMV在烟草上的危害是现实的一种策略。而对转基因烟草抗病性进行早期人工接种鉴定能加快转基因株后代的筛选和利用进程。

1 材料与方法

- 1.1 供试鉴定材料 8611CK 8611- 8 8611- 10 8611- 11 8611- 12 8611- 13 8611- 14 G140- 15CK G140- 16 G140- 17 G14018 8409CK 8409- 20 8409- 21 8409- 22
- 1.2 供试毒源 TMV、CMV毒源保存于黑龙江省农业科学院园艺所植保室,接种鉴定前三周繁殖于寄主普通烟上。
- 1.3 方法 供试材料 1998年 2月份育苗,2叶期移苗入 8× 8cm营养钵中,每钵一株,试验用土壤经高压蒸汽灭菌,营养钵经新洁尔灭消毒。试验材料培养于 26~ 30℃(白天)的防虫温室内,生长至 4~ 5片新叶展开时,人工接种鉴定。接种时取新鲜病叶,去掉中脉后加入 4倍的 0.05M磷酸盐缓冲液研磨成浆,人工摩擦接种于供试材料,每株接种叶片 4片,每份材料接种 48株,接种后立即用水冲洗掉残留在接种叶片上的病汁液,两天后用同样方法重复接种一次。
- 1.4 接种后培养环境 接种后将试材培养于防虫玻璃温室内,白天温度控制在 26~ 30℃,夜间温度控制在 14~ 16℃,严格控制农事操作方法,避免农事操作接触侵染。
- 1.5 调查期与分级标准 接种后三周进行第一次调查,分级标准为 0 1 3 5 7 9级分级。

2 结果与分析

- 2.1 转基因烟草接种 TMV 后的抗性结果 转基因发病时期均有所推迟,且症状表现多为轻花叶,而对照材料感病症状多为重花叶,转基因烟草病情指数平均 26.63%,较对照材料降低了 30.63%。后期的田间调查表明,接种鉴定的转基因烟草后代植株在田间表现均一、稳定,同苗期人工接种鉴定结果相近似。
- 2.2 转基因烟草后代接种 CMV 后的抗性表现 转基因发病时期均有所推迟,且症状表现多为轻花叶,而对照材料感病症状多为重花叶,转基因烟草病情指数平均为 24.39%,较对照材料降低了 38.05%。后期的田间调查表明,接种鉴定的转基因烟草后代植株在田间表现均一、稳定,同苗期人工接种鉴定结果相近似。

^{*} 收稿日期 1999- 02- 08

表 转基因烟草抗性鉴定结果

材料	症状	CMV			症状	TMV		
		接种后发病 时间(天)	发病率 (%)	病情指数		接种后发病 时间(天)	发病率 (%)	病情指数
8611- 8	m, M	14	100	18. 02	m, M	10	100	32. 77
8611- 9	m, M	13	100	24. 63	m, M	11	100	22. 92
8611- 10	m, M	14	100	26. 86	m, M	12	100	26. 54
8611- 11	m, M	15	100	30. 20	m, M	11	100	22. 22
8611- 12	m, M	13	95	30. 04	M, m	11	100	27. 39
8611- 13	m, M	14	100	22. 22	m, M	11	100	28. 01
8611- 14	M, m	12	100	37. 24	M, m	11	100	23. 54
平均*				27. 10				26. 19
8611- CK	M, m	10	100	41. 41	M, m	9	100	40. 23
G 140- 16	m, M	13	100	17. 63	m, M	10	100	22. 22
G14- 17	m, M	13	100	26. 49	m, M	11	100	28. 36
G 140- 18	m	12	100	24. 31	m, M	11	100	23. 92
平均*				22. 81				24. 83
G140- CK	M, m	10	100	36. 25	M, m	9	100	34. 61
8409- 20	m, M	12	100	16. 89	m, M	11	100	28. 86
8409- 21	m, M	13	100	24. 86	m, M	12	100	31. 47
8409- 22	m, M	13	100	28. 06	m, M	11	100	26. 24
平均*				23. 27				28. 86
8409- CK	M, m	10	100	40. 44	M	8	100	40. 33

注: m 轻花叶, M 重花叶; * 系来源于同一材料获得的转基因株系,故取平均值。

3 讨论

通过对烟草转基因株后代进行苗期接种 TMV、CMV 抗性鉴定,表明转基因株的抗性水平有了明显提高。

通过对转入烟草植株中的 CMV、TMV 外壳蛋白基因在转基因烟草中的翻译水平,表达量 ELISA 分析(另文报道),证明转基因株中 TMV、CMV 外壳蛋白含量具有明显积累。也可能正是这种积累阻止了外来病毒在寄主作物体内的复制,从而减轻或降低了为害。本次试验的结果,转基因烟草对原病毒的抗性有了明显提高,虽然说这种抗病性的提高其原因有多种解释,但仍可认为这种方法为综合治理 TMV、CMV 对烟草的危害探索出一条可行的道路。

本试验所用攻击毒株同转入烟草植株中的 TMV、CMV 外壳蛋白基因为同一株系。据报道, TMV、CMV 外壳蛋白基因转入烟草植株后,其转基因株不仅对同一株系的抗性有所增强,对相关或相近株系的抗性亦有提高,对 TMV、CMV 这种分化复杂群体的验证工作有必要继续进行下去。