

心叶烟和三生烟对 TMV 的过敏性差异

刘开全, 马学萍, 陆伟东, 秦留云

(曲靖师范学院生物资源与环境科学学院, 云南 曲靖 655011)

摘要: 以 5 个浓度的 TMV 溶液分别接种三生烟和心叶烟, 对其产生枯斑的形态、数目和大小进行了分析比较。结果显示, 两烟草接种 TMV 后产生的枯斑在形态上没有差异; 心叶烟产生的全叶平均枯斑数多于三生烟, 且与接种病毒浓度的相关性显著 ($r=0.958$, $p<0.05$); 在同一浓度下, 三生烟叶片上形成的小枯斑数多于心叶烟、形成的大枯斑数少于心叶烟, 且差异极显著 ($p<0.01$)。

关键词: 心叶烟; 三生烟; TMV; 过敏性差异

中图分类号: S435.72

文章编号: 1007-5119 (2010) 04-0025-03

DOI: 10.3969/j.issn.1007-5119.2010.04.005

Difference of Micro-HR to Tobacco Mosaic Virus between *Nicotiana Glutinosa* and *N. tabacum* var. *Samsun* NN

LIU Kaiquan, MA Xueping, LU Weidong, QIN Liuyun

(College of Biological Resources and Environment Science, Qujing Normal University, Qujing, Yunnan 655011, China)

Abstract: *Nicotiana glutinosa* and *N. tabacum* var. *Samsun* (NN) were inoculated with TMV solution in five different concentrations, respectively. Then the shape, number and size of local necrotic lesions in different treatments were recorded and analyzed. The results showed that the shape of local necrotic lesions formed in two tobacco varieties had no difference, and there was significant difference between average number of local necrotic lesions on the leaf of *N. glutinosa* and virus concentration ($r=0.958$, $p<0.05$). There were more small local necrotic lesions and less large local necrotic lesions on the leaf of *N. Tabacum* var. *Samsun* (NN) than that of *N. glutinosa*, and the difference was very significant ($p<0.01$).

Keywords: *Nicotiana glutinosa*; *Nicotiana Tabacum* var. *Samsun* NN; tobacco mosaic virus; difference of micro-HR

心叶烟 (*Nicotiana glutinosa*) 和三生烟 (*N. tabacum* var. *Samsun* NN) 同为带 N 基因的烟草, 二者都被广泛用作抗 TMV 的枯斑寄主实验材料。张晓燕等以三生烟为材料, 用细胞的化学沉淀法测定了 TMV 侵染对烟草叶片细胞中 Ca^{2+} 分布的影响^[1]; 翟梅枝等以心叶烟为材料, 对 26 种植物样品进行了抗病毒(TMV)活性测定^[2]。N 基因介导的抗 TMV 的一个显著特点是 TMV 侵染后会发生过敏反应, 即在侵染点部位产生枯斑, 且枯斑的形态、数目、大小与接种浓度有关^[3]。本研究以 5 个浓度的 TMV 溶液分别接种三生烟和心叶烟, 对其产生枯斑的形

态、数目、大小等进行分析比较, 旨在初步探讨心叶烟和三生烟对 TMV 侵染是否存在过敏性差异, 为抗病品种的选育及抗病机理研究提供试验参考依据。

1 材料与方法

TMV 在普通烟 K326 扩繁后提纯, 测得其质量浓度为 0.3178 mg/mL ^[4]。取以上病毒液, 用蒸馏水稀释成 5 个浓度分别为 1.589×10^{-2} , 3.178×10^{-2} , 4.767×10^{-2} , 6.356×10^{-2} , $7.945 \times 10^{-2} \text{ mg/mL}$ 的病毒接种液, $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存备用。

基金项目: 云南省教育厅科研基金项目“烟田土壤与烟草花叶病发生相关性研究”(07C41607); 曲靖师院青年科研基金项目“烟草感染 TMV 后根系的生长及生理变化研究”(2008QN033)

作者简介: 刘开全, 男, 在读硕士, 实验师, 主要从事植物病理学研究。E-mail: lkqjnc@163.com

收稿日期: 2009-09-01

选取健康8叶期心叶烟和三生烟打顶,留下3~4片真叶,培育1周后每半叶接种上述各病毒液0.10 mL,每个浓度接种两品种各5株烟苗,共15片叶子。接种后在温室中培育1周,比较两个品种烟草上形成枯斑的形状,并参照陈学平等^[5]方法记录各处理组烟叶枯斑数量及大小。试验数据整理后,用软件SPSS13.0进行统计分析,用GraphPad Prism 4软件作图。

2 结果

心叶烟和三生烟接种病毒后形成的枯斑在形态上并无差异,其枯斑都为瓜型。随着接种病毒质量浓度的增加,心叶烟和三生烟产生的枯斑数也随之增加;在同一个浓度下,心叶烟产生的全叶平均枯斑数明显多于三生烟(表1)。二因素方差分析(two-ways ANOVA)表明,两品种间有极显著差异($p < 0.01$),各处理浓度之间也有极显著差异($p < 0.01$)。心叶烟接种病毒后产生的枯斑数与处理浓度显著相关($r=0.958$, $p=0.010 < 0.05$),三生烟接种病毒后产生的枯斑数与处理浓度之间相关性不强($r=0.867$, $p=0.057$)。

表1 两种烟草接种5个浓度的TMV后形成的全叶平均枯斑数

Table 1 Mean of localized necrotic lesions on the leaf of two tobacco varieties in five treatments

品种	接种质量浓度/(mg·mL ⁻¹)	全叶平均枯斑数($\bar{X} \pm S.E.$)
心叶烟	1.589×10 ⁻²	35.13 ± 6.1504
	3.178×10 ⁻²	42.13 ± 6.6166
	4.767×10 ⁻²	61.93 ± 8.3115
	6.356×10 ⁻²	59.53 ± 7.2440
	7.945×10 ⁻²	75.53 ± 7.5460
三生烟	1.589×10 ⁻²	30.67 ± 5.7152
	3.178×10 ⁻²	21.80 ± 5.4074
	4.767×10 ⁻²	31.27 ± 6.2621
	6.356×10 ⁻²	45.40 ± 9.6495
	7.945×10 ⁻²	57.27 ± 12.5677

两种烟草产生的大中小三种枯斑^[4]数目(表2)和比例(数据表未列出)相差较大,心叶烟的中等枯斑占70%~80%,小枯斑都少于10%,大枯斑多数占15%~20%;而三生烟中等枯斑只占50%~70%,小枯斑多数占25%~40%,大枯斑多数少于15%。分别用各浓度下两个品种的大中小枯斑平均数做独立性检验(R×C列联表),以及5个浓度合

并后两品种的3种枯斑数做独立性检验,结果表明(表3),除1.589×10⁻² mg/mL浓度外,两品种间的3种枯斑数都有显著差异($p < 0.01$)。

表2 两种烟草接种不同浓度病毒后形成的小、中和大枯斑全叶平均数

Table 2 Mean of small, middle and large localized necrotic lesions on the leaf of two tobacco varieties inoculated TMV in five concentration

品种	病毒浓度/(mg·mL ⁻¹)	小枯斑全叶平均数	中枯斑全叶平均数	大枯斑全叶平均数
心叶烟	1.589×10 ⁻²	3.07	25.47	6.60
	3.178×10 ⁻²	3.87	34.07	4.20
	4.767×10 ⁻²	1.53	47.53	12.87
	6.356×10 ⁻²	3.73	46.93	8.87
	7.945×10 ⁻²	2.53	61.53	11.47
三生烟	1.589×10 ⁻²	4.07	22.33	4.27
	3.178×10 ⁻²	7.80	12.33	1.67
	4.767×10 ⁻²	12.67	14.67	3.93
	6.356×10 ⁻²	12.47	22.53	10.40
	7.945×10 ⁻²	23.40	30.80	3.07

表3 两种烟草小、中和大枯斑全叶平均数的独立性检验结果

Table 3 The results of Chi-Square Tests of two tobacco varieties (depend on the mean of small, middle and large localized necrotic lesions on the leaf)

组别	卡方值(Pearson Chi-Square)	自由度df	概率p(两尾)
浓度1	0.772*	2	0.680
浓度2	6.950**	2	0.031
浓度3	22.385	2	0.000
浓度4	10.350	2	0.006
浓度5	28.150	2	0.000
合并	58.613	2	0.000

注:浓度1~5分别代表0.015 89, 0.031 78, 0.047 67, 0.063 56, 0.079 45 mg/mL,合并指两种烟草的枯斑数不分浓度一起纳入计算;*最小的理论次数为3.23;**最小的理论次数为2.06。

两种烟草接种不同质量浓度病毒后形成的小枯斑和大枯斑平均数变化趋势并不一致。三生烟产生的小枯斑平均数在各接种病毒浓度下都比心叶烟的多;而对于大枯斑平均数,除了6.356×10⁻² mg/mL处理组外,三生烟的在各接种病毒浓度下都比心叶烟的少(表2)。心叶烟接种病毒后产生的小枯斑平均数在各接种病毒浓度之间没有太大变化,三生烟接种病毒后产生的小枯斑平均数有随接种病毒质量浓度增加而增加的趋势。二因素方差分析结果表明,两种烟草间大小枯斑数都有极显著差异($p < 0.01$),且各处理浓度的效应也极显著($p < 0.01$);三生烟接种病毒后产生的小枯斑数与处理浓度显著相关($r=0.943$, $p=0.016 < 0.05$)。

3 小 结

试验结果表明,两种烟草接种病毒后形成的枯斑在形态上并无差异,心叶烟接种病毒后产生的全叶平均枯斑数与接种浓度显著相关,因此可以认为,心叶烟更适合用于抗TMV的枯斑寄主实验材料。

本试验中,在同一个浓度下,三生烟叶片上形成的小枯斑数显著多于心叶烟,且三生烟叶片上形成的大枯斑数显著少于心叶烟,这进一步证明二者的过敏反应存在差异。于翠等认为N基因介导的过敏反应所产生的枯斑大小是病毒在寄主体内复制、运动与植物防御病毒侵染的综合作用结果^[6]。关于含N基因烟草接种TMV后形成枯斑大小的机制很复杂。一般认为过敏反应形成的枯斑较小,病毒被局限在较小的范围内,表明寄主植物对病毒侵染的响应反应迅速,间接说明寄主植物对病毒侵染有较好的抗性;反之,过敏反应形成的枯斑较大,有的甚至是枯斑连片,导致寄主植物叶片较大面积枯死,以至严重影响到其正常生理,表明病毒在寄主植物细胞中扩散速度较快,同时间接说明寄主植物

对病毒的侵染抗性较差。因此,本实验表明,三生烟比心叶烟有更好的抗TMV扩展效果。

参考文献

- [1] 张晓燕,商振清,李兴红,等. TMV 侵染对三生烟叶片中 Ca^{2+} 分布的影响[J]. 河北林果研究, 2005, 20(3): 239-241.
- [2] 翟梅枝,高芳奎,沈建国,等. 抗 TMV 的植物筛选及提取条件对抗病毒物质活性的影响[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2004, 32(7): 45-49.
- [3] Otsuki Y, Shimono T, Tabkebe I. Tobacco mosaic virus multiplication and expression of the N gene in necrotic responding tobacco varieties[J]. Virology, 1972, 50: 45-50.
- [4] Googing G V, Hebert T T. A simple technique for purification of tobacco mosaic virus in large quantities [J]. Phytopathology, 1967, 57(11):1285.
- [5] 陈学平,夏凯,孔繁明,等. 烟草品种对 TMV 抗性差异的比较研究[J]. 中国烟草科学, 2001, 22(1): 1-3.
- [6] 于翠,胡东维,董家红,等. 烟草花叶病毒和番茄花叶病毒在含 N 基因烟草上的症状差异是由运动蛋白基因决定的[J]. 中国科学 C 辑 生命科学, 2004, 34(3): 210-215.