

生物技术

烟草 PVY 隐性抗病基因的分子标记及其适用性

刘勇, 宋中邦, 童治军, 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: 马铃薯 Y 病毒 (Potato virus Y, PVY) 是危害烟草的重要病害, 种植抗病品种是经济有效的防治措施。分子标记辅助选择可提高抗病育种效率。来源于 X-射线诱变的 Virgin A Mutante (VAM) 的隐性抗 PVY 基因位点 (*va*) 被广泛应用于烟草抗病育种。为了提高 *va* 位点的育种利用效率, 根据烟草隐性抗 PVY 基因 (感病基因) *eIF4E-1* 基因序列, 设计特异扩增的引物 CF2GR11, 开发 *eIF4E-1* 基因的分子标记, 并检测了该标记与抗性的遗传距离和在常见烟草资源中的适用性。CF2GR11 在云烟 87、红花大金元和 K326 等感 PVY 品种可扩增出 500 bp 产物, 在 NC102、NC55 和 K326PVY 等抗病品种无扩增条带。以抗、感 PVY 亲本构建的 101 个 F₂ 单株为定位群体, 遗传连锁分析表明, CF2GR11 标记与烟草 PVY 感病基因的遗传距离为 0.99 cM。对 46 份 PVY 抗性明确的栽培烟草资源的检测表明, 供试资源的标记检测结果与抗性的吻合度为 100%, 表明 CF2GR11 标记适用性高。该目的基因标记可用于抗 PVY 育种的辅助选择和抗 PVY 资源的鉴定。

关键词: 烟草; 马铃薯 Y 病毒; 抗性; 分子标记

引用本文: 刘勇, 宋中邦, 童治军, 等. 烟草 PVY 隐性抗病基因的分子标记及其适用性 [J]. 中国烟草学报, 2015, 21 (1)

烟草马铃薯 Y 病毒病, 又称为脉斑病, 是由马铃薯 Y 病毒 (Potato virus Y, PVY) 引起的蚜传病毒病, 在中国北方烟区危害严重, 在南方烟区的危害呈上升趋势^[1-3]。缺乏抗病主栽烟草品种是导致 PVY 危害严重的主要原因之一^[4]。为选育抗病烟草品种, 国内外鉴定出多个抗 PVY 的种质资源, 如 VAM (TI1406)、V.SCR 等, 并育成抗病白肋烟品种 TN86、TN90 和烤烟品种 NC55、NC102 等, 并对几个抗源的抗性遗传特性、抗性相关的分子标记进行了研究^[5-7]。大部分 PVY 抗源的抗性表现为隐性基因位点 (*va*) 控制。与 PVY 抗性相关的分子标记, 如 Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) 和 Sequence Characterized Amplified Region (SCAR) 标记也有报道^[8-10]。现有分子标记与抗性的遗传距离相对较远。Noguchis 等^[8] (1999) 认为 *va* 基因型烟草植株的抗性是由于对 PVY 感病的基因片段的缺失造成的, Chikara 等^[11] (1999) 认为 VAM 的抗性机理为抑制病毒粒子细胞间移动和胞内复制。云南省烟草农业科学院克隆了 *va* 基因位点的一个隐性抗 PVY 基因 *eIF4E-1* (待发表), 也就是感 PVY 基因, 该基因属于真核生物翻译起始因子 (Eucaryotic initiation factor, 简称为 *eIF*) 的一种类型。

利用该抗病基因序列开发紧密连锁的特异分子标记, 可为抗病育种提供新的标记。本文根据烟草 *eIF4E-1* 基因及其家族基因的序列信息, 开发出一个新的与 PVY 抗性紧密连锁的分子标记, 并检验了该标记在部分品种和种质资源中的适用性。

1 材料和方法

1.1 植物材料

抗 PVY 烤烟种质 NC55 和感 PVY 烤烟种质 Coker176 为云南省烟草农业科学院保存。以抗病亲本 (P_R) 和感病亲本 (P_s) 杂交得到的 F₂ 群体, 用于分子标记与抗性的遗传距离分析。该群体的抗性数据和 SCAR 标记分型数据来源于文献^[10]。验证标记适用性的烟草资源, 包括常用烤烟品种见表 2, PVY 抗性根据文献确定, 为云南省烟草农业科学院保存。

1.2 抗性鉴定

PVY 坏死株系分离物 ZT-5 由云南省烟草农业科学研究院分离, 在防虫网室内的烟草种质 Samsun NN 繁殖备用。防虫塑料大棚内常规方法漂浮育苗, 烟苗第 1 次剪叶后 (播种后 40 ~ 45 d) 移栽至直径 20 cm 的花盆, 成活后采用高压喷枪摩擦接种^[12], 接种

基金项目: 中国烟草总公司云南省公司科技项目 (2012YN02); 中国烟草总公司科技项目 (110201301010)

作者简介: 刘勇 (1970—), 博士, 副研究员, 主要从事烟草病害防治与抗病育种研究, Tel: 0871-65106352, Email: yliu@yntsti.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: liyongping@yntsti.com

收稿日期: 2014-03-28

浓度为病叶汁液稀释 200 倍。烟苗接种后, 每 7 d 左右调查发病情况, 连续调查 3 次, 记载单株是否表现 PVY 症状。挑选抗性明确的单株用于基因型分型。抗性划分标准为: 3 次调查均无症状, 划分为抗病; 第 1 次或第 2 次调查表现 PVY 症状, 划分为感病。

1.3 烟草总 DNA 的提取与质量检测

取烟草新鲜嫩叶, -80°C 保存。F₂ 群体样品采用 CTAB 法^[13] 提取烟草总基因组 DNA。种质资源样品采用 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, 去掉 DNA 浓度低于 $8\text{ ng}/\mu\text{L}$ 的样品。质量合格的 DNA 样品, 用 $0.5\times\text{TE}$ 溶液稀释至 $30\sim 50\text{ ng}/\mu\text{L}$, 保存备用。采用扩增烟草内参基因 Actin 检测 DNA 是否可用于 PCR 扩增。淘汰 Actin 基因扩增阴性的单株 DNA。挑选 Actin 基因扩增阳性的单株 DNA 用于 CF2GR11 引物扩增。

1.4 标记引物设计

根据烟草 *eIF4E-1* 基因序列和 *eIF4E* 家族成员的序列, 设计特异引物对 CF2: 5'-TTTGGTTTGATAATCCTATGGCT-3', GR11: 5'-GAAGGCAAGATATTCAGGAGCT-3'; 扩增片段大小为 446bp, 退火温度 51°C 。CF2GR3 扩增片段大小为 1800bp, 退火温度 55°C 。扩增烟草内参基因 Actin 的特异引物为 Actin-F: 5'-AAGGGATGCGAGGATGGA-3', Actin-R: 5'-CAAGGAAATCACCGCTTTGG-3', 扩增片段大小为 160bp, 退火温度 58°C 。引物由大连宝生物公司合成。

1.5 PCR 扩增和电泳检测

PCR 反应体系总体积均为 $20\mu\text{L}$, 其中 $30\sim 50\text{ ng}/\mu\text{L}$ DNA 样品 $2.5\mu\text{L}$ 、 $10\times\text{PCR buffer}$ $2.0\mu\text{L}$, dNTPs $1.2\mu\text{L}$, 引物各 $1.5\mu\text{L}$, rTaq DNA 酶 $0.3\mu\text{L}$, ddH₂O $12.6\mu\text{L}$ 。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。扩增的程序为: 1) 94°C 预变性 5 min; 94°C 变性 30 s, 退火温度退火 30 s, 72°C 延伸 1 min, 共 28 个循环, 72°C 延伸 10 min, 4°C 保存; 采用 2% 的琼脂糖凝胶进行检测。

1.6 数据统计与分析

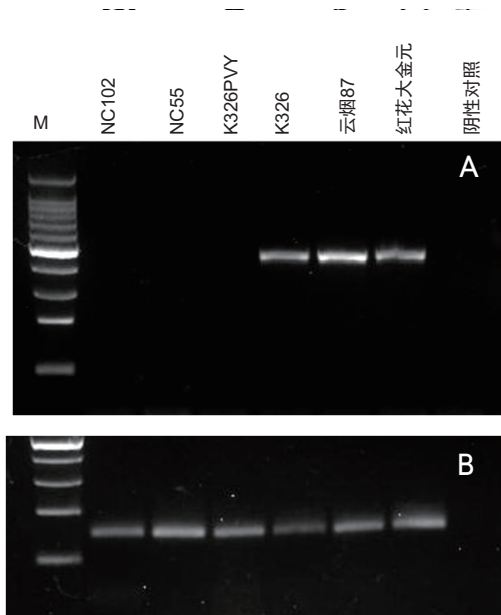
PCR 扩增的带型统计方法参考文献^[14, 15]。对首次 CF2GR11 扩增结果显示为交换单株的样品, 则重复扩增 1-2 次, 以验证交换单株的结果。保留 2-3 次扩增中有两次结果一致的样品数据, 用于标记的遗传距离计算。卡方检验采用 SPSS 12.0 软件。遗传图距

(D) 的计算方法为: (1) 计算交换值, 交换值 $(r)=(\text{交换配子数}/\text{总配子数})\times 100\%$; (2) 根据 Kosambi 函数计算遗传图距^[16] (D, 单位 cM), $D=0.25\times\ln((1+2r)/(1-2r))\times 100$ 。

2 结果与分析

2.1 候选分子标记的确定

根据 *eIF4E-1* 的基因组序列和 *eIF4E* 家族成员的序列, 设计特异引物 CF2GR11 和 CF2GR3。检测已知抗性的烟草材料的基因组 DNA, 验证抗性是否与 *eIF4E-1* 的目标片段吻合。结果表明: 感病品种 K326、云烟 87 和红花大金元的 *eIF4E-1* 目标片段检测为阳性, 而抗病品种 NC102、NC55、K326PVY 的 *eIF4E-1* 目标片段检测为阴性 (图 1)。6 个品种对 PVY 的抗性与 CF2GR11 的 PCR 检测结果吻合。引物 CF2GR3 在感病品种云烟 87 中多次扩增结果为阴性 (未列出数据)。因此, 将 CF2GR11 特异扩增的 *eIF4E-1* 基因片段作为候选分子标记, 用于在抗性分离群体中验证。



注: NC102、NC55、K326PVY 抗 PVY; K326、云烟 87 和红花大金元感 PVY, 阴性对照: 水; M: 宝生物 DL-2000 分子量标准; A: CF2GR11 扩增结果; B: 内参基因 Actin 扩增结果。Note: NC102、NC55、K326PVY resistance to PVY; K326、Yunyan 87 and Honghuadajinyuan susceptible to PVY, Negative control: Water; M: Takara DL-2000 marker). A: CF2GR11 amplification; B: housekeeping gene Actin amplification.

图 1 引物 CF2GR11 在抗感品种间的多态性

Fig.1 Polymorphism of primer CF2GR11 among resistance cultivars and susceptible cultivars

2.2 标记与抗性的遗传距离分析

对抗病品种 NC55 与感病品种 Coker176 配制的 F₂ 群体进行抗性鉴定与基因分型。前期结果表明, 该群体苗期接种后 21 d 的统计结果显示, 在 309 个单株中, 感病株和抗病株的实际比例为 230:79, 理论分离比为 232:77。卡方检验表明该群体代的实测分离值与理论分离值无显著差异性 ($P=0.8696$)^[10]。根据 DNA 的浓度与内参 *Actin* 基因的扩增结果, 挑选

出 42 份感病单株 DNA 和 59 份抗病单株 DNA, 用于 CF2GR11 基因分型。对感病单株第 1 次扩增阴性的样品, 重复扩增 1 次。将 2 次扩增结果一致的样品数据作为有效数据, 用于遗传距离分析。获得 F₂ 代遗传群体 101 个单株的 CF2GR11 扩增的有效数据 (表 1)。利用 3.6 中的公式计算重组率及遗传距离, 结果表明标记 CF2GR11 与 PVY 感病性的遗传距离为 0.99 cM (图 2)。

表 1 标记与抗性在 F₂ 群体中的独立性检验

Tab. 1 Independence test between marker and resistance in the F₂ population

标记 Marker	群体数目 Number of plants	观测值 ^a Observed ^a	期望值 Expected	卡平方检验 Chi-square test
CF2GR11	101	40[S1]2[S0]0[R1]59[R0]	42[S1]:59[R0])	$X_{0.05}^2=0.94<3.841$

注: ^a R 代表抗, S 代表感, 0 表示无目标条带, 1 表示有目标条带。^a R for resistant, S for susceptible, 0 for absence of the target band, and 1 for presence of the target band.

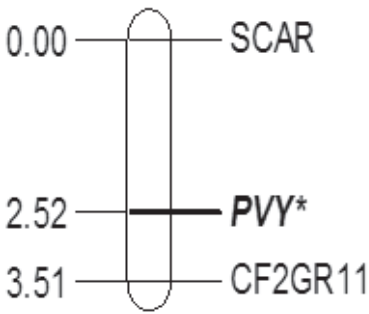


图 2 基于 CF2GR11 标记的 Va 基因位点的遗传连锁图 (cM)
Fig.2 Genetic linkage map of Va locus based on SCAR markers(cM)

2.3 标记在抗感 PVY 烟草资源中的适用性

根据文献挑选对 PVY 抗性明确的栽培烟草资源 46 份, 检测 CF2GR11 标记的适用性。结果表明 (表 2)。NC102、NC55 和 TN86 等 9 个抗病品种的标记检测为阴性。云烟 87 和 K326 等 37 个感病品种的 CF2GR11 的标记检测为阳性, 供试品种的标记检测与抗性的吻合度为 100%。表明 CF2GR11 标记在供试烟草资源中的适用性高, 可用于转育 va 基因位点抗性的辅助选择。

表 2 CF2GR11 标记检测与 PVY 抗性比较

Tab. 2 CF2GR11 marker detection compared to PVY resistance of germplasm

资源名称 Entries	来源 Origin	PVY 抗性 ¹ Resistance	标记 ² CF2GR11	资源名称 Entries	来源 Origin	PVY 抗性 Resistance	标记 CF2GR11
ITB6154	法国	R	-	PVH2110	巴西	S	+
ITB667T	法国	R	-	PVH2299	巴西	S	+
ITB689	法国	R	-	RGH04	美国	S	+
K326PVY	美国	R	-	SC71	美国	S	+
NC102	美国	R	-	SC72	美国	S	+
NC55	美国	R	-	T64	津巴布韦	S	+
PVH2306	巴西	R	-	T66	津巴布韦	S	+
TN86	美国	R	-	Burley 21	美国	S	+

续表 2

TN90	美国	R	-	大白筋 2518	中国	S	+
Coker371-Gold	美国	S	+	红花大金元	中国	S	+
CV87	中国	S	+	辽烟 13 号	中国	S	+
G28	美国	S	+	辽烟 14 号	中国	S	+
K326	美国	S	+	辽烟 9 号	中国	S	+
KRK26	津巴布韦	S	+	牡单 80-7	中国	S	+
NC297	美国	S	+	台烟 5 号	中国	S	+
NC567	美国	S	+	台烟 6 号	中国	S	+
NC71	美国	S	+	云烟 100	中国	S	+
NC82	美国	S	+	云烟 105	中国	S	+
NC89	美国	S	+	云烟 87	中国	S	+
PVH02	巴西	S	+	云烟 97	中国	S	+
PVH06	巴西	S	+	云烟 99	中国	S	+
PVH08	巴西	S	+	中烟 100	中国	S	+
PVH1452	巴西	S	+	筑波 1 号	日本	S	+

注：1：R：抗病，S：感病；2：-：Va 标记 CF2GR11 阴性，+：Va 标记 CF2GR11 阳性。

3 讨论

3.1 基于 *eIF4E-1* 基因的标记设计

前期研究表明 *eIF4E-1* 缺失可赋予烟草对 PVY 的抗性。栽培烟草为异源四倍体，*eIF4E-1* 的家族成员较多，序列相似率高。设计特异扩增与 PVY 抗性相关的 *eIF4E-1* 分子标记难度较大。*eIF4E-1* 的基因组大小约 5.3kb。本文通过在 *eIF4E-1* 基因的第 1 个外显子内设计上游引物，在内含子区域设计下游引物，获得在抗病品种中无扩增条带，而在感病品种中有特异条带的引物对。

3.2 与 PVY 抗性连锁的分子标记

Noguchi 等^[8]对只在 PVY 抗性上有差异的近等基因系（PVY 抗性来源于 Perevi）及其 F₂ 代进行 RAPD 分析，找到 10 个与 Va 连锁的 RAPD 标记，这些标记在 8 个感病品种中都存在，至少有 1 个标记在 8 个抗病品种中不存在。Tajima 等^[14]将这些 RAPD 标记转化为 STS 标记，成功用于回交后代的育种选择。Julio 等^[9]（2006）将 PVY 抗性相关的 AFLP 标记，转化成 SCAR 标记，找到与 TN86 中 *va* 的等位基因 Va 连锁标记 PVYME1（遗传距离为 5.1cM）。王贵等^[10]

检测了 PVY 抗源 NC55 中 RAPD 标记和 SCAR 标记的存在情况，获得了两个与 NC55 的 PVY 抗病对应的等位基因 Va 连锁的标记 O12V3₆₉₅ 和 PVYME1，与 Va 的遗传距离分别为 2.10 cM 和 2.52cM。上述分子标记都是通过抗性分离群体的大量差异标记分型获得的。标记与抗性的连锁距离相对较远。本文根据烟草资源 NC55 等的隐性抗病基因的序列开发分子标记 CF2GR11，该标记与抗性紧密连锁，遗传距离为 0.99cM。

3.3 CF2GR11 标记在 PVY 抗源类型划分中的潜力

根据现有文献，烟草抗 PVY 的抗源主要有两大类：一类是以 VAM 为代表的隐性基因位点 (*va*) 控制的抗性，包括 Perevi、Kerti No.1、PBD6、Wislica、NC744、NC745、TN86、TN90 等种质^[8-9]。另一类是以野生种 *N. africana* 为代表的对 PVY 免疫的抗性，包括 *N. africana* 的衍生种质 NC152、K326/Naf 等^[17]。目前育种利用的抗源主要为 *va* 基因位点。Acosta-Leal 等^[18]提出 VAM 对 PVY^N 的抗性由两对隐性基因 *va*¹ 和 *va*² 控制，*va*¹ 限制病毒细胞间运动和阻断病

毒进入维管束, va^2 抑制病毒细胞内积累。利用本文的 CF2GR11 可初步划分烟草 PVY 抗性的类型。表型鉴定为抗 PVY 的资源, 若 CF2GR11 标记阴性, 则表明该资源的 PVY 抗性与 *eIF4E-1* 基因缺失有关, 属于隐性基因位点 (va) 控制的抗性; 若 CF2GR11 标记阳性, 则表明该资源的 PVY 抗性与 *eIF4E-1* 基因缺失无关, 属于 *eIF4E-1* 基因突变或其他抗病机制。通过简单快速的标记划分抗性类型, 有助于发现新的烟草 PVY 抗源。

3.3 CF2GR11 标记的适用性

栽培烟草的基因组约 4.5G, 具有巨大而且复杂等特点。根据少数品种验证的分子标记, 在多大范围内的种质资源适用, 需要实验验证。本文结果表明, CF2GR11 标记在供试 46 个品种资源中都适用, 包括常见 va 基因座的抗病资源与常见烟草品种。可利用该标记辅助选择 *eIF4E-1* 基因介导的 PVY 抗性。

3.4 结论

根据烟草抗 PVY 的隐性基因开发的分子标记未见其他文献报道, CF2GR11 标记与 va 基因位点控制的抗性紧密连锁, 检测的稳定性高, 在常见烟草种质资源中的适用性高。在抗 PVY 育种的辅助选择和抗病资源鉴定中具有较大的应用前景。

致谢: 感谢杨华兵协助完成遗传群体抗性鉴定、黄昌军博士提供数据分析支持。

参考文献

- [1] 李淑君, 王海涛, 陈玉国, 等. 2000 年烟草病毒病大发生概况及原因分析 [J]. 烟草科技, 2001(1):44-46.
- [2] 李义强, 王凤龙, 程云吉, 等. 黄淮烟区烟草病毒病发生种类、发病规律研究, 中国烟叶学术论文集, 科学技术文献出版社, 北京: 2004: 438-442.
- [3] 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.
- [4] Burk L.G., Gooding G.V., and Chaplin J.F. Reaction of *Nicotiana* species and cultivars or breeding lines of *Nicotiana tabacum* to three strains of potato virus Y[J]. Tobacco Science, 1982, 26: 85-88.
- [5] 陈荣平, 焦庆明, 兰荣利, 等. 烟草抗 PVY 育种材料的筛选与应用 [J]. 中国烟草科学, 2000 (1):1-4.
- [6] 周显升, 钱玉梅, 陈德鑫, 等. 烟草品种对马铃薯 Y 病毒的抗性遗传分析 [J]. 中国烟草学报 [J]. 2005,13 (1):31-36.
- [7] 陈万胜. 烟草马铃薯 Y 病毒病抗性遗传及分子标记 [D], 中国农业科学院研究生院, 2008.
- [8] Noguchi S, Tajima T, Yamamoto Y, et al. Deletion of a large genomic segment in tobacco varieties that are resistant to potato virus Y (PVY) [J]. Mol Gen Genet, 1999, 262: 822-829.
- [9] Julio E, Denoyes-Rothan B, Verrier JL, et al. Detection of QTLs linked to leaf and smoke properties in *Nicotiana tabacum* based on a study of 114 recombinant inbred lines[J]. Mol Breeding, 2006, 14:114-123.
- [10] 王贵, 刘勇, 卢秀萍, 等. 烟草 PVY 抗性的遗传分析与分子标记筛选 [J]. 分子植物育种, 2012,10(1):97-103.
- [11] Chikara M, Hiroshi M, Tatsuji H, et al. A single amino acid change in viral genome-associated protein of potato virus Y correlates with resistance breeding in "Virgin A Mutant" tobacco[J]. Phytopathology, 1999,89(2):118-123.
- [12] 林志文, 刘勇, 李梅云, 等. 烟草种质资源抗马铃薯 Y 病毒病鉴定方法比较 [J]. 中国农学通报 2010, 26 (19): 269-274.
- [13] Murry HG, Thomspson WF. Rapid isolation of weight DNA[J]. Nucleic Acids Res, 1980,8: 4321-4322.
- [14] Tajima T, Noguchi S, Tanoue W, et al. Background selection using DNA markers in backcross breeding program for potato virus Y resistance of tobacco [J]. Breeding Science, 2002, 52: 253-257.
- [15] 肖炳光, 高玉龙, 吴为人. 23 份烟草品种遗传关系的 SSR 分析 [J]. 分子植物育种 (网络版), 2011,4(9):1297-1304.
- [16] Kosambi D D. The estimation of map distances from recombination values[J]. Ann Eugen, 1944, 12:172-175.
- [17] Lewis R S. Transfer of resistance to potato virus Y (PVY) from *Nicotiana Africana* to *Nicotiana tabacum*: possible influence of tissue culture on the rate of introgression[J]. Theor Appl Genet, 2005,110: 678-687.
- [18] Acosta-Leal R, Xiong Z. Complementary functions of two recessive R-genes determine resistance durability of tobacco 'Virgin A Mutant' (VAM) to Potato virus Y[J]. Virology, 2008,379 (2):275-283.

Molecular marker from recessive gene resistant to potato virus Y of tobacco and its suitability

LIU Yong, SONG Zhongbang, TONG Zhijun, LI Yongping

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

Abstract: Potato virus Y (PVY) is a serious disease of tobacco. To plant resistant varieties is an economical and effective control measure. Molecular marker-assisted selection could improve breeding efficiency. A gene locus *va* of Virgin A Mutante (VAM) induced by X-ray irradiation is widely used in tobacco breeding. In order to improve *va* locus breeding utilization efficiency, specific amplification primer CF2GR11 was developed based on recessive resistance gene *eIF4E-1* (susceptible gene) to PVY of tobacco, and genetic distance between CF2GR11 and resistance gene, as well as its suitability of CF2GR11 in tobacco germplasm were evaluated. In PVY susceptible varieties Yunyan87, Honghuadajinyuan and K326, CF2GR11 can produce a 446bp product as amplifier, while in PVY resistant varieties NC102, NC55 and K326PVY no product came out. Genetic linkage analysis with F2 population from a PVY resistant and a susceptible parent as locus point showed that genetic distance between CF2GR11 marker and resistance gene was 0.99cM. CF2GR11 proved suitable in 46 tested tobacco germplasm. This target gene marker could be used as an assisted selection tool for PVY resistant cultivars breeding and germplasm identification.

Keywords: tobacco; potato virus Y; resistance; molecular marker

Citation: LIU Yong, SONG Zhongbang, TONG Zhijun, et al. Molecular marker from recessive gene resistant to potato virus Y of tobacco and its suitability [J]. Acta Tabacaria Sinica, 2015,21(1)

◇ 相关论文推荐

烟草 PVY 抗性的遗传分析与分子标记筛选

【作者】 王贵; 刘勇; 卢秀萍; 李昆志

分子植物育种, 2012 年 01 期

【摘要】 本文以抗马铃薯 Y 病毒 (简称 PVY) 的烟草品种 RY5, 感病品种 Coker176 为亲本, 构建 F1、正反交 F2 和正反交 BC1 群体, 苗期摩擦接种 PVY 的抗性遗传分析结果表明, 接种后第 21d 群体 PVY 抗性数据符合孟德尔单基因隐性质量性状的遗传模型。接种后第 28d 群体 PVY 抗性数据偏离孟德尔单基因隐性质量性状的遗传模型。提取 F2 代群体中抗病和感病单株 DNA, 从多条 RAPD 引物和一对 SCAR 引物中, 筛选出两个紧密连锁的分子标记。RAPD 标记 O12V3695 与 RY5 的抗病基因对应的显性等位基因位点 (Va) 间的遗传距离为 2.10cM, 而 SCAR 标记与 Va 间的遗传距离为 2.52cM, 这两个分子标记可用于抗 PVY 抗性育种。

【关键词】 烟草; 马铃薯 Y 病毒; 抗性遗传分析; RAPD; SCAR