

小麦重要抗源 Holdfast 抗条锈性遗传分析

章振羽^{1,2} 冯晶¹ 白玉路² 蔺瑞明¹ 彭云良² 徐世昌^{1*}

(1. 中国农业科学院 植物保护研究所/植物病虫害生物学国家重点实验室,北京 100193;

2. 四川省农业科学院 植物保护研究所,成都 610066)

摘要 本研究在苗期对小麦品种 Holdfast 进行抗病性鉴定和温敏微效基因检测,并构建 Holdfast 和铭贤 169 的杂交群体,对其成株抗条锈病基因进行遗传分析。结果表明:Holdfast 苗期常温下对中国流行小种 CYR29、CYR31、CYR32 和 CYR33 高度感病,高温下可诱导温敏微效基因表达;成株期大田条件下 Holdfast 对 CYR32 免疫,由 1 对显性和 2 对隐性基因互补控制。综合已有研究结果确认,Holdfast 至少含有 2 对显性主效全生育期抗病基因、1 对显性成株抗病基因和 2 对隐性温敏微效抗病基因。建议将其作为抗源在育种中加以利用。

关键词 小麦; 条锈病; 成株抗病基因; 遗传分析

中图分类号 S 435.121.4⁺2

文章编号 1007-4333(2011)05-0001-05

文献标志码 A

Genetic analysis of resistance to stripe rust in wheat cultivar Holdfast

ZHANG Zhen-yu^{1,2}, FENG Jing¹, BAI Yu-lu², LIN Rui-ming¹,
PENG Yun-liang², XU Shi-chang^{1*}

(1. State Key Laboratory for Biology of Plant Disease and Insect Pests,

Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China;

2. Institute of Plant Protection, Sichuan Academy of Agricultural Sciences, Chengdu 610066, China)

Abstract The wheat cultivar Holdfast introduced from England, was reported to be durably resistant to stripe (yellow) rust (*Puccinia striiformis*). In this work, Holdfast was evaluated for seedlings in greenhouse and adult stage in field, and also tested temperature sensitive gene. The genetic analysis of the cross between Holdfast and the susceptible cultivar Ming Xian 169 was conducted to identify the resistance character. The results showed that Holdfast was susceptible to the Chinese popular race CYR29, CYR31, CYR32 and CYR33 of *Puccinia striiformis* in seedlings, and had sensitive resistance to the race CYR32 in high temperature. The genetic analysis showed that the resistance to the race CYR32 was controlled by one dominant gene and two recessive genes complementarily. Considering the previous studies, it was confirmed that Holdfast had two dominant major genes in all stages, one dominant gene in adult and two recessive temperature-sensitive genes at least. Our results showed that Holdfast could be utilized in wheat resistance breeding.

Key words wheat; stripe (yellow) rust; adult resistance gene; genetic analysis

小麦条锈病是由小麦条锈菌 (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) 引起的世界性气传病害,是我国小麦生产上的主要病害。培育和推广抗病品种是持续控制病害流行的最经济、安全、易行、有效的

措施。由于抗病基因的单一化大面积种植给条锈菌带来极大的选择压力,促使病菌生理小种变异,直接导致品种抗病性丧失^[1]。为此,植病学者和育种家提出了诸如基因轮换、基因布局、采用多基因屏障^[2]

收稿日期: 2011-01-23

基金项目: 农业公益性行业科研专项经费项目(200903035); 中国博士后科学基金特别资助项目(200902156); 四川省财政育种工程青年基金项目(2008QNJJ-013)

第一作者: 章振羽, 助理研究员, 硕士研究生, 主要从事小麦抗病性遗传育种研究, E-mail: zhzyu1982@yahoo.com.cn

通讯作者: 徐世昌, 研究员, 博士, 主要从事小麦抗病遗传与育种研究, E-mail: shichangxu317@163.com

和利用水平抗性^[3]等策略。然而以往育种家大多重视主效基因抗性和全生育期抗性,追求免疫型抗病品种,导致抗病品种选育过程中微效基因及成株抗性基因的丢失。目前国内利用的有效已知主效全生育期抗条锈病基因越来越少,只有 *Yr5*、*Yr10*、*Yr15*,迫切需要发掘新基因^[4-6]。

自 Johnson 提出了持久抗病性的概念以来,国内外已经报道许多持久抗条锈病品种,包括 Cappelle Desprez、Hybride de Bersee、Holdfast、Flinor 和 Vilmorin 27 等^[7],高温成株抗病性小麦品种 Gaines、Nugaines、Luke、Stephens、Druchamp、Alpowa、Express 和 Louise^[8-12]等。持久抗病性品种具有成株期抗谱宽,田间病情动态消长慢,病斑面积小,潜育期长,苗期感病的抗性特征,成株抗性和温敏微效基因抗性是持久抗性的重要组分^[13]。解析其持久抗病品种抗条锈病基因及抗病性特点和遗传特点,可进一步充实抗病基因资源库,并为基因布

局和合理利用持久抗病性资源提供依据。

引自英国的 Holdfast 是国际公认的持久抗条锈性品种。已报道 Holdfast 在苗期对 CY17 的抗性由 2 对显性互补基因控制,并含有 2 对隐性温敏微效基因^[14]。本研究进一步对其成株抗性进行遗传分析,明确其成株抗条锈病基因组成及遗传特点和抗性特点,促进其有效合理利用。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试小麦品种 Holdfast 和感病品种铭贤 169 及其杂交后代 F_1 、 F_2 和 F_3 代种子均由中国农业科学院植物保护研究所麦类病害组提供。Holdfast 引自英国,其系谱为 Yeoman/White Fife。

供试条锈菌系(表 1)均为单孢菌系,由中国农业科学院植物保护研究所麦类病害组提供,在感病品种铭贤 169 上繁殖待用。

表 1 Holdfast 苗期对 28 个菌系的抗性表现

Table 1 Breeding resistance of Holdfast to twenty eight stripe rust races

菌株	品种		菌株	品种		菌株	品种	
	Holdfast	MX 169 ¹⁾		Holdfast	MX 169		Holdfast	MX 169
3E152	0	4	35E150	0	4	33E184	0	4
32E48	0;	4	41E176	3	4	225E254	3	4
35E158	0	4	67E150	3	4	67E22	0	4
67E22	0	4	32E0	0	4	2E16	0	4
32E16	0;	4	104E26	0	4	108E157	0	4
13E184	0	4	40E176	0	4	33E52	0	4
79E157	0	4	40E152	0	4	97E148	0	4
9E220	0	4	41E176	0;	4	82E20	0	4
199E223	3	4	171E191	3	4			
3E156	0;	4	108E221	0	4			

注:MX 169 为铭贤 169,下同。

1.2 方法

1.2.1 抗性鉴定

Holdfast 和铭贤 169 以 1% 体积分数 H_2O_2 浸种催芽后播 6 粒于口径 10 cm 营养钵中,待麦苗第一片叶展开时扫抹法接种供试菌系,在 7~11 °C 下黑暗保湿 24 h,置于自控低温温室(昼 15~18 °C/夜 10~14 °C)潜育发病,待铭贤 169 充分发病后调查

侵染型。抗性鉴定采用 11 级分级标准,即 0、0⁻、1、1⁺、2⁻、2、2⁺、3⁻、3、3⁺ 和 4 型。

1.2.2 温敏微效抗病基因检测

Holdfast 和铭贤 169 接种 CYR32 小种后(方法同上)各分出一半分别置于常温(昼 15 °C/夜 10 °C)、高温(昼 24 °C/夜 15 °C)^[15-16] 2 种温度设置的自控植物生长箱潜育发病,2 箱除温度外其他参数

设置相同, 即相对湿度 80%, 光照时间 14 h/d, 光强 20 000 lx, 温、光转换同步。调查鉴定方法同抗性鉴定。

1.2.3 成株抗条锈性遗传分析

供试小麦品种 Holdfast 和感病品种铭贤 169 (MX169) 及其杂交(正反交)组合 F_1 、 F_2 和 F_3 代种子种植于中国农业科学院植物保护研究所廊坊基地试验田, 行长 3 m, 行距 33 cm, 株距 10 cm, 大田点播, 亲本及 F_1 代各种植 1 行, F_2 代种植 40 行, F_3 代共种 72 个家系, 每家系 1 行。畦边种植诱发品种铭贤 169。4 月上旬喷雾接种 CYR32 诱发行, 待铭贤 169 充分发病、普遍率 100%、严重度 80% 时, 逐株调查记载侵染型。采用 11 级分级标准, 按刘孝坤^[17]的方法, 即根据双亲、 F_1 、 F_2 和 F_3 代反应型级别及各级反应型数目确定抗、感类型。采用卡方法对其分离后代进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 抗性鉴定

采用 28 个供试条锈菌系对 Holdfast 进行抗性鉴定与评价(表 1)。结果显示: 对照品种铭贤 169 苗期对所有菌系均表现感病, Holdfast 只对菌系 171E191 (CYR29)、67E150 (CYR31)、199E223 (CYR32)、225E254 (CYR33) 和 41E176 表现感病, 对其他 23 个菌系均表现免疫或近免疫。说明 Holdfast 不具有抗我国当前主要流行小种 CYR31、CYR32 和 CYR33 的全生育期主效抗条锈病基因。

2.2 温敏微效基因检测

用 CYR32 对铭贤 169 和 Holdfast 进行抗性鉴定(表 2), 结果表明: 铭贤 169 在常温和高温 2 种温域下侵染型均为 4 型; Holdfast 则在常温条件下

表 2 Holdfast 在常温和高温条件下对 CYR32 的抗性表现

Table 2 Resistance of Holdfast to pathotype CYR32 in normal temperature and high temperature

处理	品种	侵染型										总计
		0	0;	1	1 ⁺	2 ⁻	2	2 ⁺	3 ⁻	3	3 ⁺	
常温	Holdfast									8	32	40
	MX 169										44	44
高温	Holdfast	7	14	4	11	5	1	1				43
	MX 169									19	25	44

高度感病, 侵染型为 3⁺~4 型, 高温条件下抗病, 侵染型为 0~2⁺ 型, 即 Holdfast 对 CYR32 的抗性是从常温下的高侵染型(4 型)向高温下的低侵染型转变, 表现为明显的高温诱导抗条锈性, 说明 Holdfast 对生理小种 CYR32 小种含有高温诱导表达的微效抗条锈病基因。

2.3 Holdfast 成株抗条锈病基因的遗传分析

用 CYR32 对供试品种 Holdfast 和感病品种铭贤 169 及其杂交后代进行抗性鉴定和统计分析。结果显示: 对 CYR32, Holdfast 抗病, 铭贤 169 及其杂交的 F_1 代感病, 正反交的 F_2 代均发生了抗感分离。根据双亲、 F_1 、 F_2 和 F_3 代植株侵染型级别及数目, 将 0~2⁻ 型划为抗病类, 2~4 型划为感病类, 在铭贤 169/Holdfast 组合正交的 F_2 代分离群体中有 17 株抗病, 304 株感病, 卡方检验符合 3R : 61S 的理论

比例($\chi^2\{3 : 61\} = 0.271 < 3.841$), Holdfast/铭贤 169 组合反交的 F_2 代分离群体中有 21 株抗病, 324 株感病, 卡方检验符合 3R : 61S 的理论比例($\chi^2\{3 : 61\} = 3.370 < 3.841$)(表 3)。72 个 F_3 代家系中有 2 个家系抗病, 29 个家系抗感分离, 41 个家系感病, 卡方检验符合 1R : 26seg : 37S 的理论比例($\chi^2\{1 : 26 : 37\} = 0.692 < 5.991$)(表 4)。按经典遗传学推导由 1 对显性基因和 2 对隐性基因互补控制的抗性其 F_3 代植株的抗感分离比为 45R : 467S, 本实验铭贤 169/Holdfast 组合的 1 257 株 F_3 代中按 0~2⁻ 型划为抗病类, 2~4 型划为感病类标准, 有 115 株抗病, 1 142 株感病, 卡方检验符合 45R : 467S 的理论比例($\chi^2\{45 : 467\} = 0.20 < 3.841$)(表 4)。以上结果表明 Holdfast 成株期对 CYR32 小种的抗性由 1 对显性基因和 2 对隐性基因互补控制, 属核遗传。

表3 Holdfast与铭贤169杂交组合双亲, F₁, F₂对CYR32的成株抗性表现Table 3 Adult resistance of the parents, F₁, F₂ generations from Ming Xian 169/Holdfast to CYR32

亲本或组合	世代	反应型										理论比例 (R:S)	χ^2	P	
		0	0;	1	1 ⁺	2 ⁻	2	2 ⁺	3 ⁻	3	3 ⁺				4
MX169	P ₁											25			
Holdfast	P ₂	6													
MX169/Holdfast	F ₁											6	0:1		
	F ₂	1	1	15		39		8	115	3	139		3:61	0.271	0.25~0.75
Holdfast/MX169	F ₁									2	3		0:1		
	F ₂		4	17		33		11	136		144		3:61	3.370	0.05~0.10

表4 铭贤169/Holdfast组合F₃株系对CYR32的成株抗性表现Table 4 Adult resistance of the F₃ generations from Ming Xian 169/Holdfast to pathotype CYR32

抗性表现	F ₃ 株系		F ₃ 植株		χ^2 (45:467)	P
	观察值	理论值	R	S		
All R	2	1.125	28	0		
抗性分 Segregating	29	29.250	87	441		
All S	41	41.625	0	701		
合计 Total	72	72.000	115	1142	0.200	0.250~0.750
$\chi^2(1:26:37)$		0.692				
P		0.250~0.750				

注:R 抗病;S 感病;All R 纯合抗病;All S 纯合感病。

3 讨论

Holdfast 是国际上公认的具有持久抗条锈性特点的小麦品种,在苗期常温下对中国流行小种 CYR29、CYR31、CYR32 和 CYR33 高度感病,高温下可诱导温敏微效基因表达,抗 CYR32;成株期大田条件下对 CYR32 免疫,说明 Holdfast 含有成株抗条锈病基因和高温诱导表达的温敏微效基因;遗传分析表明 Holdfast 成株期对 CYR32 的抗性由 1 对显性基因和 2 对隐性基因互补控制。已有报道 Holdfast 在苗期对 CYR17 的抗性由 2 对显性互补基因控制,并含有 2 对隐性温敏微效基因^[14]。已有研究认为温敏微效基因呈隐性具累加效应,常与主效基因互补控制抗性,受高温诱导表达,可以控制较高抗性为一般抗性^[17],该抗性最易在成株期表现,其次为高温下苗期,受环境影响较大^[18]。据 Dynamet 型科研级自动气象站(廊坊试验基地)观测,2008 年 5 月份试验田地内连续 10 d 平均温度超

过 22 °C,连续 5 d 平均温度超过 24 °C(周益林研究员提供),满足温敏微效基因表达的高温诱导条件。因此说,Holdfast 在成株期对 CYR32 表现抗性的 2 对隐性基因为温敏微效基因,与仝淑玫等^[14]检测的 2 对温敏微效基因相同。按照基因的表达时期与特点,小麦对条锈菌的抗性一般包含 3 方面,即全生育期抗性、成株抗性和温敏微效基因抗性。苗期抗病,说明有全生育期抗性;苗期感病成株期抗病,说明有成株抗性;多数主效基因对微效基因有上位性,常使微效基因的抗性在侵染型上的微小差异被掩盖,难以对微效基因进行有效的检测和选择,需要采用相应毒性菌系克服品种中主效基因的掩盖作用^[19]。本研究在苗期用一毒性小种克服主效基因抗性高温诱导温敏微效基因抗性表达且表现隐性遗传,说明有温敏微效基因抗性。这意味着 Holdfast 至少含有 2 对显性主效全生育期抗病基因、1 对显性成株抗病基因和 2 对隐性温敏微效抗病基因。

Holdfast 的亲本之一 Yeoman 含成株抗性基因

Yr13^[20], 本研究结果显示 Holdfast 含有 1 对显性基因, 故而推测 Holdfast 可能含有成株抗病基因 *Yr13*, 有待进一步验证。

许多育种实践证明, 育种工作中利用具有累加效应的微效基因, 选择具有中间抗性的材料, 获得持久抗病性的几率较大^[7]。小麦持久抗病品种的遗传背景复杂, 育种工作难度大。本研究为持久抗性的利用提供信息, 并推动 Holdfast 在抗病育种中有效利用。

参 考 文 献

- [1] 白玉路, 章振羽, 徐世昌, 等. 小麦锈病抗性基因推导研究进展 [J]. 植物保护, 2010, 36(4): 36-40
- [2] 万安民, 袁文焕. 1991—1996 年我国小麦条锈菌生理专化研究 [J]. 植物病理学报, 1999, 29(1): 15-20
- [3] Jacobs T H, Parlevliet J E. 抗病性的持久性 [M]. 杨作民, 曾士迈, 译. 北京: 中国农业大学出版社, 1997: 19-20, 99-107
- [4] Bai Y L, Sun Q, Zhang C Y, et al. Molecular detection and resistance evaluation of 59 cultivars from the Northwest of the United States to Chinese stripe rust races [J]. Agricultural Sciences in China, 2010, 9(10): 101-105
- [5] Li Z F, Xia X C. Seedling and slow rusting resistance to stripe rust in Chinese common wheats [J]. Plant Disease, 2006, 90(10): 1302-1312
- [6] McIntosh R A, Lagudah E S. Cytogenetic studies in wheat X VIII. Gene *Yr24* for resistance to stripe rust [J]. Plant Breeding, 2000, 119(1): 81-93
- [7] Johnson R. Reflection of a plant pathologist on breeding for disease resistance, with emphasis on yellow rust and eyespot of wheat [J]. Plant Disease, 1992, 41: 239-254
- [8] Chen X M, Jones S S, Line R F. Chromosomal location of genes for stripe rust resistance in spring wheat cultivars Compair, Fielder, Lee, and Lemhi and interactions of aneuploid wheats with races of *Puccinia striiformis* [J]. Phytopathology, 1995, 85: 375-381
- [9] Santra D K, Chen X M, Santra M, et al. Identification and mapping QTL for high-temperature adult-plant resistance to stripe rust in winter wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivar 'Stephens' [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2008, 117: 793-802
- [10] Lin F, Chen X M. Genetics and molecular mapping of genes for race-specific all-stage resistance and non-race-specific high-temperature adult-plant resistance to stripe rust in spring wheat cultivar Alpowa [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2007, 114: 1277-1287
- [11] Lin F, Chen X M. Molecular mapping of genes for race-specific overall resistance to stripe rust in wheat cultivar express [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2008, 116: 797-806
- [12] Arron H C, Chen X M, Garland C K, et al. Identifying QTL for high-temperature adult-plant resistance to stripe rust (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) in the spring wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivar 'Louise' [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2009, 119: 1119-1128
- [13] 赖世龙, 谢水仙. 小麦持久抗性品种对中国条锈菌(系)抗病性特点的分析 [J]. 植物保护学报, 2002, 29(1): 36-40
- [14] 全淑玫, 蔺瑞明, 何月秋, 等. 小麦抗源 Holdfast 和 Flinor 抗条锈病主效、微效基因的遗传分析 [J]. 中国农业科学, 2006, 39(11): 2243-2249
- [15] 何家泌. 植物抗病遗传学. [M] 北京: 中国农业出版社, 1994
- [16] 徐世昌, 张敬原, 赵文生, 等. 小麦京核 891-1 抗条锈病主效、微效基因的遗传分析 [J]. 中国农业科学, 2001, 34: 272-276
- [17] 刘孝坤. 小麦抗源对条锈病的抗性遗传研究初报 [J]. 植物保护学报, 1988, 15(1): 33-39
- [18] Sharp E L. Prepenetration and postpenetration environment and development of *Puccinia striiformis* on wheat [J]. Phytopathology, 1965, 55: 198
- [19] 王凤乐, 吴立人, 徐世昌. 植物保护研究进展 [M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1995, 17-19
- [20] McIntosh R A, Hart G E, Gale M D. Catalogue of gene symbols for wheat [J]. Proceedings of the 9th International Wheat Genetics Symposium, 1998, 5: 139-141

(责任编辑: 王燕华)