

小麦抗条锈新种质的创制

I. 外缘抗条锈基因的导入*

陈耀锋¹, 宋运贤¹, 李振岐², 陆和平², 郭东伟¹, 韩德俊¹, 李春莲¹, 任惠莉¹

(1 西北农林科技大学 农学院, 2 植保学院, 陕西 杨陵 712100)

[摘要] 通过普通小麦与六倍体小黑麦杂交、多元回交和花培纯合, 将小黑麦抗条锈基因导入普通小麦, 获得了12个在成株期对小麦条锈病菌流行小种免疫的新种质, 其中8个新种质在苗期对流行小种高抗。研究普通小麦与六倍体小黑麦的杂交特性结果表明, 六倍体小黑麦×普通小麦与普通小麦×六倍体小黑麦两种杂交方式都有较高的杂交结实率, 但前者种子发育好, 出苗率高, 后者种子胚乳发育不良, 出苗率低。用普通小麦进行回交, 可获得一定的结实率, 种子出苗率较好。

[关键词] 普通小麦; 小黑麦; 抗条锈; 基因导入; 回交

[中图分类号] S332.2; S512.103.4

[文献标识码] A **[文章编号]** 1671-9387(2003)04-0019-04

条锈病是由 *Puccinia striiformis* Westend 引起的普通小麦的重要病害, 是世界范围内危害小麦的重要病害之一^[1], 几乎在所有小麦产区都有此病发生^[2]。我国黄淮麦区、四川及陇南是小麦条锈病危害严重区域。条锈病引起小麦产量损失严重^[3], 生产上使用抗条锈病品种是最经济、也是对环境最安全的条锈病防治办法^[3,4]。但小麦品种对条锈病的抗性可能在它们被释放几年后, 由于新的毒性生理小种的迅速进化而使其失去抗病性^[5], 而单一抗原的利用可能在这种强的选择压力下, 更加剧了新毒性小种的进化过程, 因此小麦条锈病防治上, 抗性品种和多元化抗原的利用是重要的。近年来, 由于条锈病新生理小种的出现, 使我国运用了10多年的“洛类”抗原和一大批优良抗性品种和材料失去了抗性。因此, 创制小麦抗条锈新种质, 对于小麦抗条锈育种、稳定小麦生产意义重大。本研究主要研究了普通小麦与小黑麦杂交、复交, 并通过多元回交、花培纯合将小黑麦抗条锈基因定向导入普通小麦, 以及创制的普通小麦抗条锈新种质的抗性特性。

1 材料和方法

1.1 材料

供试材料为从中国农科院和中国科学院遗传所引进的六倍体小黑麦材料及西北农林科技大学细胞

工程实验室材料圃中的普通小麦优良品种和品系。

1.2 方法

试验设计了普通小麦×六倍体小黑麦及六倍体小黑麦×普通小麦多组合杂交试验。于始花期严格套袋、授粉, 统计分析正、反交子代结实率及种子发芽率, 用普通小麦与正、反交F₁代回交, 统计分析普通小麦回交子代的结实率与发芽率。选用对条锈病菌免疫的六倍体小黑麦WOH83Q AH2138分别与普通小麦优良品种或品系杂交、多元复交和花培纯合, 导入外缘抗条锈基因。选定向导入并花培纯合的优良抗性品系与高感品种辉县红同时种植在田间和室内, 通过条锈病菌单小种接种, 由本课题组和陕西省植保所分别进行2年抗条锈鉴定。鉴定分为免疫(O)、高抗(HR)、中抗(HR)、中感(MS)、高感(HS)5级。

2 结果与分析

2.1 六倍体小黑麦与普通小麦杂交特性

试验选用5个普通小麦优良品种(系)和5个小黑麦材料进行正、反杂交试验。结果(表1, 2)表明, 六倍体小黑麦×普通小麦的杂交组合中, 结实率从44.48%到77.11%。田间播种出苗率从61.50%到76.43%。这种杂交方式有比较高的结实率和出苗率。在普通小麦×六倍体小黑麦的杂交组合中, 结实

* [收稿日期] 2002-09-04

[基金项目] 国家973项目(G2000016202); 国家863项目(2001AA241037)

[作者简介] 陈耀锋(1956-), 男, 陕西岐山人, 教授, 博士生导师, 主要从事作物遗传育种研究。

率从 52.67% 到 90.55%, 而出苗率仅从 0.10% 到 5.88%, 这种杂交方式虽有比较高的杂交结实率, 但种子胚乳发育不良, 种子瘪瘦, 发芽出苗率低。试验同时表明, 同一组合中以小黑麦作母本杂交的结实率略低于以普通小麦作母本杂交的结实率, 但前者

的出苗率比较高, 后者出苗率非常低, 不同基因型之间均有这一趋势。同一普通小麦品种与不同小黑麦材料杂交, 或同一小黑麦材料与不同小麦品种(系)杂交, 子代结实率、发芽率有一定差异。

表 1 六倍体小黑麦 × 普通小麦杂交子代结实率与出苗率

Table 1 Percentage of seed set and seedling in cross *T. aestivum* × hexaploid

杂交组合 Mode of crossing	杂交花数 Flowers of crossing	结实粒数 No. of seed	结实率/% Percentage of seed set	出苗率/% Percentage of seedling
WOH648/花育 888 WOH648/Huayu 888	290	129	44.48	61.50
WOH648/89A 21-3-2	531	286	53.86	76.43
WOH668/89A 21-3-2	554	343	61.91	72.25
WOH830/矮 31 WOH830/A i 31	489	273	55.83	69.93
AH2138/89A 21-3-2	320	157	49.06	75.30
97467/矮 31 97467/A i 31	352	225	63.92	74.88
97467/89A 21-3-2	533	411	77.11	63.62

表 2 普通小麦 × 六倍体小黑麦杂交子代结实率与出苗率

Table 2 Percentage of seed set and seedling in cross hexaploid × *T. aestivum*

杂交组合 Mode of crossing	杂交花数 Flowers of crossing	结实粒数 No. of seed	结实率/% Percentage of seed set	出苗率/% Percentage of seedling
矮 31 × WOH648 A i 31 × WOH648	294	183	62.24	1.24
矮 31 × WOH830 A i 31 × WOH830	448	236	52.67	0.78
矮 31 × WOH668 A i 31 × WOH668	326	226	69.33	4.21
矮 31 × 97467 A i 31 × 97467	356	270	75.84	0.10
89A 21-3-2/WOH648	298	251	84.23	1.21
89A 21-3-2/WOH830	587	341	58.09	1.75
89A 21-3-2/WOH668	331	262	79.15	5.88
89A 21-3-2/97467	254	230	90.55	1.38
2208/WOH830	395	299	75.70	5.66
徐阳 1980/WOH830 Xuyang 1980/WOH830	387	249	64.34	1.89

2.2 普通小麦与六倍体小黑麦杂种 F_1 代回交特性
选用 7 个普通小麦品种(系)与六倍体小黑麦的杂种一代, 用普通小麦优良品种(系)回交, 研究了回交子代(BC_1F_1)的结实率和发芽率, 结果(表 3)表

明, 用普通小麦品种(系)或 F_1 代杂种与远缘杂种一代回交均有一定的结实率。结实率 0.6% ~ 16.34%, 出苗率 27.1% ~ 62.4%。

表 3 普通小麦和六倍体小黑麦 F_1 代回交特性

Table 3 Percentage of seed set and seedling in back crossing BC_1F_1

回交组合 Mode of back crossing	杂交花数 Flowers of crossing	结实粒数 No. of seed	结实率/% Percentage of seed set	出苗率/% Percentage of seedling
WOH648/888//383	306	50	16.34	45.3
WOH648/矮 31//383 WOH648/A i 31//383	240	20	8.33	51.9
AH ₂₁₃₈ /89A 21-3-2//西农 132 AH ₂₁₃₈ /89A 21-3-2//Xinong 132	288	29	10.07	62.4
WOH830/888//西农 85//W T 37 WOH830/888//Xinong 85//W T 37	208	7	3.37	48.3
WOH238/888//2208/89A 21-3-2	226	5	2.21	57.5
WOH238/888//383/西农 132 WOH238/888//383/Xinong 132	264	4	1.52	50.0
89A 21-3-2/WOH830//2208	250	23	9.20	43.2
矮 31/97467//西农 132 A i 31/97467//Xinong 132	312	45	1.44	27.1
37-2/H830//383/西农 132 37-2/H830//383/Xinong 132	336	2	0.60	50.0

2.3 外缘抗条锈基因的导入
通过多年抗条锈特性鉴定, 从引进的小黑麦材

料中筛选出两个对条锈病菌流行小种免疫的小黑麦材料 WOH830 和 AH2138, 分别用这两个材料与普

通小麦品种(系)杂交,并用普通小麦品种(系)或杂种 F_1 进行两次回交,通过田间条锈菌混合接种,定向筛选性状趋于普通小麦、综合性状好的抗条锈优良单株,并种成株系。对优良株系进行花培基因型纯合,共获得了430个优良纯合株系。

2.4 优良株系的抗条锈特性鉴定

对430个优良株系进行综合的田间农艺性状分析及抗条锈特性田间鉴定,筛选出28个对条锈病菌

混合生理小种有一定抗性、农艺性状好的优良品系。1999和2000年,对其中25个材料及对照材料辉县红进行了多小种成株期抗条锈特性鉴定,通过用条中29号、30号、31号、32号小种、水源11-5、水源11-3等6个条锈病菌生理小种接种鉴定,两年共有12个优良株系在成株期对鉴定的6个条锈菌生理小种全部免疫,表现出广谱性的抗条锈特性(表4),对照品种辉县表现高感。

表4 优良株系成株期抗条锈特性

Table 4 Stripe rust resistance of 12 pure strains at the adult stage

株系 Trains	条中 29 Tiaozhong 29	条中 30 Tiaozhong 30	条中 31 Tiaozhong 31	条中 32 Tiaozhong 32	水源 11-5 Shuiyuan 11-5	水源 11-3 Shuiyuan 11-3
WT343	0	0	0	0	0	0
WT20	0	0	0	0	0	0
WT212	0	0	0	0	0	0
WT312	0	0	0	0	0	0
WT257	0	0	0	0	0	0
WT252	0	0	0	0	0	0
WT152	0	0	0	0	0	0
WT3	0	0	0	0	0	0
WT313	0	0	0	0	0	0
WT427	0	0	0	0	0	0
WT429	0	0	0	0	0	0
WT372	0	0	0	0	0	0
辉县红(对照) Hui xianhong (CK)	HS	HS	HS	HS	HS	HS

2.5 抗条锈品系苗期抗条锈鉴定

2001年,对12个成株期抗条锈多小种的优良品系和对照品种辉县红,用条锈病菌流行小种条中30号和31号新小种进行了苗期抗条锈鉴定。结果(表5)表明,在成株期具有广谱性抗条锈的12个材料中,有8个优良品系对所鉴定的2个新小种完全免疫,3个品系表现中抗,1个品系表现中感,而对照品种辉县红在苗期同样表现高感。

表5 12个成株期抗条锈株系苗期抗病性鉴定

Table 5 Stripe rust resistance of 12 pure strains at the seedling stage

株系 Strains	条中 30 Tiaozhong 30	条中 31 Tiaozhong 31
WT343	0	0
WT20	0	0
WT212	0	0
WT312	0	0
WT257	0	0
WT252	0	0
WT152	0	0
WT3	0	0
WT313	MR	MR
WT427	MR	MR
WT429	MS	MS
WT372	MR	MR
辉县红 Huixianhong	HS	HS

3 讨论

已知的小麦抗条锈基因主要来自于普通小麦或普通小麦的近缘种^[6]。来自于黑麦的“洛类”抗原,曾在我国小麦抗条锈育种中起了重要作用,并培育了近百个抗性品种。但条中29号的出现,使带有“洛类”抗原的品种全部丧失了抗病性,目前流行的条中30号、31号、32号和水源系统小种,由于附加有新的毒性基因,因此,它们不仅可浸染条中29的“洛类”品种,同时还浸染含有繁6血缘品种及许多推广品种,毒性谱更宽。研究证明,在已命名的抗条锈基因中,除个别基因外,其他可利用的基因已失去或部分失去对目前流行小种的抗性,我国目前面临着条锈病抗原严重匮乏的危险。因此,通过远缘杂交,将远缘抗条锈基因导入普通小麦创制普通小麦抗条锈新类型是重要的。

通过普通小麦与六倍体小黑麦杂交、多元复交和花培纯合,将小黑麦抗条锈基因定向导入普通小麦中,创制普通小麦对条锈病流行小种全部免疫的新种质研究,还未见到报道。本研究证明,利用多元回交、花培纯合、定向的进行综合农艺性状和抗条锈性选择,能有效的获得抗条锈新种质。本研究从定向选择出的430个优良株系中,共鉴定出28个对条锈

病菌不同生理小种具有不同抗性的优良株系, 其中 12 个优良品系在成株期对 6 个条锈生理小种全部免疫, 在成株期抗多小种的 12 个优良品系中, 有 8 个优良株系在苗期对目前流行小种条中 30 号和 31 号小种免疫, 3 个表现中抗。表明创制的这一组新抗原是不同于 IB/1R“洛类”抗原的新的抗条锈种质材料。

六倍体小黑麦是人工合成的六倍体作物, 含有 4 倍体小麦 AABB 染色体组和黑麦 RR 染色体组, 用六倍体小黑麦与普通小麦杂交, 不用染色体加倍即可获得一定的种子。再通过多次回交和花培纯合, 就有可能将四倍体小麦和黑麦染色体上的优良基因通过基因重组或者易位等导入普通小麦中, 培育出

普通小麦新类型。本研究表明, 在这种基因导入方式中, 不同的杂交方式其结实率、出苗率差异较大, 六倍体小黑麦 × 普通小麦结实率和出苗率都比较高, 而普通小麦 × 六倍体小黑麦虽然获得了较高的结实率, 但杂种胚乳发育不良, 种子干瘦, 发芽率特别低。但两种杂交方式 F_1 都可获得一定的杂种个体。这点在供试的不同基因型中表现出毫无例外的一致, 这一特性是由于细胞质的影响, 还是由于胚乳基因组成的影响, 还需要进一步研究。用普通小麦的品种(系)或杂交 F_1 代对上述杂种 F_1 代进行回交, 回交结实率均远低于两种方式的杂交结实率, 但发芽率较好, 均能获得正常发育的后代。

[参考文献]

- [1] Stubbs R W. Diseases, distribution, epidemiology and control[A]. Roelfs A P, Bush W R. Stripe Rust[C]. New York: Academic Press, Inc., 1985. 61- 101.
- [2] Zadoks J C. Yellow rust of wheat studies in epidemiology and physiologic specialization[J]. Tijdschr Plantenziekten, 1961, 67: 69- 25.
- [3] Krupinsky J M, Sharp E L. Additive resistance in wheat to puccinia striiformis[J]. Phytopathology, 1978, 68(4): 1795- 1799.
- [4] Krupinsky J M, Sharp E L. Reselection for improved resistance of stripe rust[J]. Phytopathology, 1979, 69(4): 400- 404.
- [5] Chen X M, Roland F L. Gene action in wheat cultivars for Durable, high-Temperature, Adult-Plant Resistance and interaction with race-specific, seedling resistance to puccinia striiformis[J]. Genetics, 1995, 85(5): 567- 572.
- [6] 马渐新, 周荣华, 董玉琛, 等. 小麦抗条锈病基因定位及分子标记研究[J]. 生物技术通报, 1999, 15(1): 1- 6.

Development of wheat new germplasm with stripe rust resistance

I. Transfer of gene resistant to stripe rust new races from hexaploid *Triticale* into *T. aestivum*

CHEN Yao-feng¹, SONG Yun-xian¹, LI Zhen-qi², LU He-ping²,
GUO Dong-wei¹, HAN De-jun¹, LI Chun-lian¹, REN Hui-li¹

(1 College of Agronomy; 2 College of Plant Protection, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi, 712100, China)

Abstract: Transfer of gene resistant to stripe rust new races from hexaploid *Triticale* into *T. aestivum* by cross-fertilization between hexaploid *Triticale* and *T. aestivum* as well as multiple back-crossing was conducted. Twelve new germplasm with stripe rust new race resistance were developed and evaluated in experiments under field and greenhouse conditions. Eight new germplasm had better resistant to stripe rust new races in both seedling and adult plants. Crossing characteristic between *T. aestivum* and hexaploid *Triticale* was studied, the result showed that the percentage of seed set in reciprocal cross between *T. aestivum* and hexaploid *Triticale* was high, but the percentage of seedling in reciprocal cross was very significantly different. Percentage of seedling in hexaploid *Triticale* × *T. aestivum* was higher because endosperm developed very well than that in *T. aestivum* × hexaploid *Triticale* because endosperm developed bad. Many seeds and seedlings were obtained by back-crossing.

Key words: *T. aestivum*; hexaploid *Triticale*; stripe rust resistance; transfer of gene; back-crossing