

小麦全蚀病抗性鉴定方法的优化及 抗源筛选研究

董建力¹, 惠红霞¹, 黄丽丽², 王敬东¹, 朱永兴¹, 陈孝³, 叶兴国³

(1 宁夏农林科学院 农业生物技术研究中心, 宁夏 银川 750002; 2 西北农林科技大学 植物保护学院, 陕西 杨凌 712100;

3 中国农业科学院 作物科学研究所, 北京 100081)

【摘要】 【目的】为小麦抗全蚀病育种提供更有有效的抗病鉴定方法和便于利用的抗源材料。【方法】以感病小麦品种宁春 4 号为供试材料, 将小麦全蚀病(*G. graminis* var *tritici*)菌种制成菌饼或菌粒, 设菌饼法、菌粒法、菌饼+菌粒法和空白对照 4 个处理, 调查统计病根率、严重度和病茎率, 用于筛选有效的抗病鉴定方法; 选择 22 个遗传背景不同的小麦材料, 采用优选出的抗病鉴定方法对其进行抗性鉴定, 筛选便于利用的抗源材料。【结果】菌饼+菌粒法对宁春 4 号的致病力明显高于菌饼法和菌粒法, 其病根率、严重度和病茎率分别达到 100.0%, 57.3% 和 28.6%。22 个遗传背景不同的小麦材料间抗病性差异较大, 其中小麦-簇毛麦易位系 Pm97033 的抗病性最强, 病根率和严重度分别为 11.3% 和 5.4%; 代换系 Wan7107 次之, 病根率和严重度分别为 21.4% 和 10.6%; 硬粒小麦-簇毛麦双二倍体 (TH1) 与普通小麦品种杂交后代的抗病性强于粗山羊草与普通小麦品种杂交后代。【结论】菌饼+菌粒法是较佳的小麦抗全蚀病鉴定方法; TH1 是一个很好的抗全蚀病育种材料。

【关键词】 小麦; 全蚀病菌; 抗病性; 病害严重度; 抗全蚀病易位系

【中图分类号】 S435.121.4⁺9

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2009)03-0159-04

Optimization of identification technique and germplasm screening of resistance to take-all in wheat

DONG Jian-li¹, HUI Hong-xia¹, HUANG Li-li², WANG Jing-dong¹,
ZHU Yong-xing¹, CHEN Xiao³, Ye Xing-guo³

(1 Agricultural Bio-Technology Research Center of Ningxia Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Yinchuan, Ningxia 750002, China; 2 College of Plant Protection, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

3 Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: 【Objective】 The purpose of this paper was to find an effective way to identify disease resistance and to screen materials resistant for breeding of resistance to take-all in wheat. 【Method】 Identification techniques for take-all were evaluated by using Ningchun 4 as material, and different wheat germplasms were identified by using disc and granule from the pathogen culture for the disease resistance by surveying the percentage of diseased stem and root, and severity level. Disease resistance to different heredity background in 22 wheat materials was identified for screening resistant materials. 【Result】 The results showed that the combination of the disc and granule of the fungus (disc+granule) was much better in effects to test take-all fungus to Ningchun 4 than to use the disc or granule separately. The percentage of diseased root, severity level and the percentage of diseased stem were 100.0%, 57.3% and 28.6%. There was big difference among the 22 different materials in the disease resistance. Translocation lines Pm97033

* [收稿日期] 2008-05-15

[基金项目] 宁夏自然科学基金项目(NZ0759)

[作者简介] 董建力(1956—), 男, 山西万荣人, 副研究员, 主要从事小麦生物技术育种研究。E-mail: jianli56@163.com

showed the highest resistance in reaction than others. The percentage of diseased root and severed level were 11.3% and 5.4%; substitution lines Wan7107 showed medium resistance to the fungus, the percentage of diseased root and severity level were 21.4% and 10.6%; F5 generation of common wheat with TH1 showed higher resistance to take-all fungus than the F5 progenies of common wheat with *Aegilops tauschii* or the other common wheat varieties. 【Conclusion】 The method of disc+granule is a better way to identify resistance to take-all in wheat; TH1 is a good material for the breeding of resistance to take-all in wheat.

Key words: wheat; take-all fungus; disease resistance; disease severity; translocation lines resistant to take-all

小麦全蚀病是一种典型的、毁灭性的土传根部病害,一旦发生就很难消除。虽然一些栽培措施及生物防治方法对该病有一定的控制作用,但效果均不理想。选育和种植抗病品种是解决小麦全蚀病危害的根本途径,而简便、经济、有效的抗病鉴定方法是筛选抗病材料及抗病品种的关键^[1-2]。

Laursen 研究表明,簇毛麦(*Haynaldia villosa*)对全蚀病有较强的抗性^[3];陈孝等^[4]对硬粒小麦-簇毛麦杂种幼胚和 F1 幼穗诱导的愈伤组织进行秋水仙素处理,获得硬粒小麦-簇毛麦双二倍体 TH1、TH2、TH1W、TH2W、TH3 和 TH3W。这些材料 1998 年经中国农业科学研究院植物保护研究所人工接种鉴定,发现 TH1、TH3 和簇毛麦对全蚀病抗性很强。有研究表明,方穗山羊草(*Triticum tauschii*)D 染色体组中有抗全蚀病菌基因,在小麦背景中抗病性表现较稳定^[5]。以往的抗病鉴定方法多采用菌饼法^[6-8]和菌粒法^[9-10],这些方法虽然有效,但是致病力不是很强,如用同一材料、同一方法,在同一时间、地点进行抗病鉴定,重复间的病根率和严重度相差较大。

为此,本研究欲对全蚀病抗性鉴定方法进行优化,并对遗传背景不同的小麦材料进行抗性鉴定,以期筛选出抗全蚀病的小麦新种质,为小麦抗全蚀病育种提供更有效的抗病鉴定方法和便于利用的抗源材料。

1 材料与方法

1.1 材料

供试小麦材料:(1)硬粒小麦-簇毛麦双二倍体(TH1)与宁春 4 号杂交 F₅ 代 10 个(07K4-314、07K4-315、……、07K4-323);(2)宁春 4 号与粗山羊草杂交 F₅ 代 8 个(074-49、074-50、……、074-58);(3)抗白粉病易位系 Pm97033、附加系 92R-179、异代换系 Wan7107、Rw15 及 TH1,均由中国农业科学院作物科学研究所陈孝研究员提供。TH1 为抗

病对照,宁春 4 号为感病对照。

1.2 方法

1.2.1 供试菌种的培养 小麦全蚀病纯化菌株由西北农林科技大学植物保护学院提供。小麦全蚀病菌饼和菌粒的培养按高小宁等^[10]的方法进行。

菌饼的制备:将小麦全蚀病纯化菌株按常规方法在 PDA 培养基上培养 30 d 后,切成 1 cm² 方块,用于菌饼接种。

菌粒的制备:将小麦与水按体积比 1:1.5 装于三角瓶中,每天高压灭菌 1 h,连续灭菌 3 d,待冷却后,将制备的小麦全蚀病菌饼与灭菌的小麦混匀,室温下培养 4~6 周,晾干备用。

1.2.2 不同接种体感病程度的比较 以感病小麦品种宁春 4 号为供试材料,用灭菌的河沙盆栽(直径 10 cm),设菌饼法、菌粒法、菌粒+菌饼法和对照 4 个处理,每个处理种 3 盆(重复 3 次),每盆种 7 株。

(1)菌饼法:每盆先放 7 块菌饼,每个菌饼上放 1 粒灭菌催芽(萌动)的麦粒,盖河沙 2 cm。

(2)菌粒法:取 20 g 培养好的菌粒均匀撒在河沙上,在菌粒上撒 1 cm 厚的河沙,播 7 粒灭菌催芽(萌动)的麦粒,盖河沙 2 cm。

(3)菌粒+菌饼法:在河沙上先放置 20 g 菌粒,菌粒上盖 2 cm 厚河沙,然后放 7 块菌饼,每个菌饼上放 1 粒灭菌催芽(萌动)的麦粒,盖 2 cm 厚河沙。

(4)对照:在河沙上播 7 粒发芽的麦粒,盖 2 cm 厚河沙。

全部盖河沙后每盆浇一纸杯水(100 mL),用塑料膜覆盖保湿,在 20~25 ℃、每天 8~10 h 太阳光照条件下培养,每隔 2 d 浇 1 次水,每盆每次浇水 100 mL。待幼苗长到 3 叶期(30 d 左右)后洗根,调查发病情况。

1.2.3 不同遗传背景材料的抗性鉴定 根据试验结果,选发病最重的菌粒+菌饼法,对 22 个遗传背景不同的小麦材料进行抗性鉴定,方法同 1.2.2 中的菌粒+菌饼法。

1.2.4 病害调查与统计方法 病害调查与统计参照王美南等^[6]和高小宁等^[10]的方法进行。以根皮层或中柱变褐或变黑为病根。病根率/%=(病根数/总根数)×100%,严重度/%=(变黑组织的面积/总根面积)×100%。以幼苗茎基部变褐或变黑者为病茎,病茎率/%=(病茎数/总茎数)×100%。

2 结果与分析

2.1 小麦全蚀病抗性鉴定方法的优化

从表 1 可以看出,3 种不同处理方法的发病程度有较大差异,菌饼法的病根率、严重度及病茎率均最低,分别为 75.3%,35.5%和 9.5%;其次是菌粒法,病根率、严重度及病茎率分别为 78.4%,36.2%和 18.3%;菌粒+菌饼法的病根率、严重度和病茎率最高,分别为 100.0%,57.3%和 28.6%,说明菌粒+菌饼法有很强的致病力。无菌对照的小麦根部正常,没有发病。

2.2 小麦远缘杂交后代对全蚀病的抗性鉴定结果

从表 2 可以看出,小麦不同远缘杂交后代材料

的发病程度有较大差异,硬粒小麦-簇毛麦双二倍体 (TH1) 与宁春 4 号杂交后代 (07K4-314、……、07K4-323) 的病根率在 25.6%~98.0%,严重度在 16.0%~37.3%,其中 07K4-320 的抗病性较强,病根率、严重度分别为 25.6%和 16.0%。粗山羊草与宁春 4 号杂交后代 (074-49、074-50、……、074-58) 病根率在 89.6%~98.6%,严重度在 34.1%~45.2%。TH1 后代的抗病性强于粗山羊草后代。TH1 的病根率和严重度最低,感病对照宁春 4 号的病根率和严重度最高。

表 1 小麦全蚀病抗性鉴定方法的优化

Table 1 Identification technique optimized to take-all in wheat %			
处理 Treatment	病根率 Rate of infected root	严重度 Severity	病茎率 Rate of infected stem
菌饼 Disc	75.3	35.5	9.5
菌粒 Granule	78.4	36.2	18.3
菌粒+菌饼 Disc and granule	100.0	57.3	28.6
对照 CK	0.0	0.0	0.0

表 2 小麦远缘杂交后代对全蚀病的抗性鉴定结果

Table 2 Identification of resistance in distant hybridization descendant of wheat to the take-all %					
材料 Material	病根率 Rate of infected root	严重度 Severity	材料 Material	病根率 Rate of infected root	严重度 Severity
07K4-314	86.4	32.5	074-49	95.3	35.6
07K4-315	87.3	25.4	074-50	91.2	34.1
07K4-316	92.1	32.7	074-51	98.6	38.4
07K4-317	94.4	30.2	074-52	93.4	37.1
07K4-318	87.6	37.3	074-53	96.1	45.2
07K4-319	88.2	26.4	074-55	89.6	39.2
07K4-320	25.6	16.0	074-56	91.2	35.1
07K4-321	87.4	33.6	074-58	95.6	37.2
07K4-322	98.0	24.3	Pm97033	11.3	5.4
07K4-323	85.6	27.8	RW15	42.2	26.5
TH1	11.2	5.3	92R-179	39.0	21.0
宁春 4 号 Ningchun 4	100.0	50.1	Wan7107	21.4	10.6

2.3 小麦易位系、代换系和附加系对小麦全蚀病的抗性

由表 2 还可以看出,小麦易位系 Pm97033 的病根率和严重度分别为 11.3%和 5.4%,抗病性最强;代换系 Wan7107 次之,病根率和严重度分别为 21.4%和 10.6%;附加系 92R-179 和代换系 RW15 的病根率分别为 39.0%和 42.2%,严重度分别为 21.0%和 26.5%。后 3 个材料的发病程度均介于抗病对照 (TH1) 和感病对照 (宁春 4 号) 之间,表现出一定的抗病性。从图 1 可以看到,易位系 Pm97033 根白色,表现正常;而感病对照宁春 4 号根发黑,且根短、叶短。

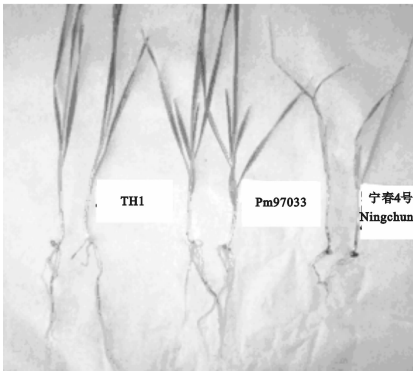


图 1 抗源材料对小麦全蚀病的抗病性
Fig. 1 Screening of resistant materials to disease resistance to the take-all of wheat

3 讨 论

在创建抗全蚀病小麦易位系过程中,有效的抗性鉴定方法是育种的关键。目前,小麦全蚀病抗性鉴定都采用菌饼法或菌粒法,虽能发病但致病力不强。本研究对全蚀病抗性鉴定方法进行了优化,即采用菌饼+菌粒法,使供试材料的根系经 2 次病菌感染,结果致病力明显高于 1 次病菌感染的菌饼法或菌粒法,为抗病鉴定提供了有效的新方法,利用该法可准确选出抗病强的材料,进一步提高育种效率。

本研究结果表明,硬粒小麦-簇毛麦双二倍体 (TH1)与宁夏灌区小麦品种宁春 4 号杂交后代的抗、感差异较大,TH1 与宁春 4 号小麦杂交后代的抗病性强于粗山羊草与宁春 4 号小麦杂交后代,说明 TH1 是一个很好的抗全蚀病材料,而且具抗白粉病和锈病等优点,在进行多抗育种中是一个不可多得的好材料,应得到重视并加以利用。

李辉等^[11]从硬粒小麦-簇毛麦双二倍体 TH3/4×Wan7107 的幼胚培养及花药培养后代中,选育出普通小麦-簇毛麦抗白粉病易位系 Pm97033 等,并利用白粉病抗性鉴定、细胞遗传学分析、生化标记、分子原位杂交等手段,鉴定出 Pm97033 为 6DL/6VS 臂间易位系。本研究利用菌饼+菌粒法对易位系、代换系等远缘杂交后代进行抗性鉴定,发现易位系 Pm97033(已知的抗白粉病易位系)和代换系 Wan7107(已知的代换系)还具有抗全蚀病的特性。这些材料的发现,将为小麦抗全蚀病育种提供便于利用的抗源,为进一步开展抗全蚀病基因的分子标记研究提供了试材。

Pm97033 的亲本组合为 TH3/4×Wan7107,TH3 的亲本组合为墨 75×簇毛麦,因此可以初步确定,Pm97033 的抗全蚀病基因可能来源于簇毛麦。Wan7107 从普通小麦阿夫(意大利)中系选而成,Wan7107 对全蚀病的抗性仅次于 Pm97033,也表现出较强的抗病性,其有可能也携带有抗全蚀病基因。究竟哪个对 Pm97033 的抗性起了主要作用或两者的抗性基因共同起作用,以及两者的抗性基因是否相同,还有待于进一步研究。

[参考文献]

[1] 张中鸽,彭于发. 小麦全蚀病的发生现状及防治措施探讨 [J]. 植物保护,1991,17(1):19-20.
Zhang Z G, Pen Y F. The arisedes actuality and prevention measure discussing of wheat take-all [J]. Plant Protection, 1991,17(1):19-20. (in Chinese)

[2] 刘常宏,商鸿生. 小麦抗全蚀病鉴定概述 [J]. 麦类作物,1998,18(3):61-64.
Liu C H, Shang H S. The appraisal summarize of wheat take-all [J]. Journal of Triticeae Crops,1991,17(1):19-20. (in Chinese)
[3] 黄大辉,陈 孝,林志珊,等. 小麦对全蚀病的抗性研究进展 [J]. 作物杂志,2005(1):25-28.
Huang D H, Chen X, Lin Z S, et al. The research evolution about resistance of wheat take-all [J]. Crop Magazine,2005(1):25-28. (in Chinese)
[4] 陈 孝,徐惠君,杜丽璞,等. 利用组织培养技术向普通小麦导入簇毛麦抗白粉病基因的研究 [J]. 中国农业科学,1996,29(5):1-8.
Chen X, Xu H J, Du L P, et al. Transfer of gene resistant to powdery mildew from *H. vittosa* to common wheat by tissue culture [J]. Scientia Agricultura Sinica,1996,29(5):1-8. (in Chinese)
[5] Scott P R. Variation in host susceptibility [C]//Asher M J C. Biology and control of take-all. London:Academic Press,1981:219-236.
[6] 王美南,商鸿生. 麦类作物对小麦全蚀病菌抗病性的研究 [J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2001,29(3):98-100.
Wang M N, Shang H S. Evaluation of resistance in cereals to *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* [J]. Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry: Natural Science Edition,2001,29(3):98-100. (in Chinese)
[7] 王殿波,王美南,井金学,等. 小麦远缘杂交后代对小麦全蚀病抗病性研究 [J]. 西北植物学报,2003,23(9):1617-1620.
Wang D B, Wang M N, Jing J X, et al. Study of resistance in distant hybridization descendant of wheat to the take-all [J]. Neta Botanica Boreali-occidentalia Sinica, 2003, 23 (9): 1617-1620. (in Chinese)
[8] 袁红旭,商鸿生,井金学,等. 小麦全蚀病菌不同致病力菌株的致病特点 [J]. 植物保护学报,2003,30(4):353-357.
Yuan H X, Shang H S, Jing J X, et al. Research on pathogenic characters of different virulence isolates of wheat take-all fungi [J]. Zhiwu Baohu Xuebao,2003,30(4):353-357. (in Chinese)
[9] 孙 虎,李洪连,袁虹霞,等. 不同小麦品种(系)对全蚀病的抗性鉴定和评价 [J]. 河南农业科学,2004(8):52-54.
Sun H, Li H L, Yuan H X, et al. Identification and evaluation on resistance of different wheat *Cultivars* to take-all [J]. 2004(8):52-54. (in Chinese)
[10] 高小宁,刘起丽,黄丽丽,等. 超高产小麦品种对全蚀病的抗性鉴定 [J]. 云南农业大学学报,2004,19(4):384-386.
Gao X N, Liu Q L, Huang L L, et al. Resistance assessments of high yield wheat cultivars to take all disease [J]. Journal of Yunnan Agricultura University,2004,19(4):384-386. (in Chinese)
[11] 李 辉,陈 孝,辛志勇,等. 普通小麦-簇毛麦 6DL/6VS 抗白粉病易位系的选育及鉴定 [J]. 中国农业科学,1999,32(5):9-15.
Li H, Chen X, Xin Z Y, et al. Development and identification of wheat-haynaldia villosa 6DL/6VS translocation lines with powdery mildew resistance [J]. Scientia Agricultura Sinica, 1999,32(5):9-15. (in Chinese)