春小麦品种沈免2063抗叶锈性遗传分析

袁军海* 沈凤英 吴伟刚 张爱香

(河北北方学院植物保护系, 宣化 075131)

摘要: 为明确春小麦品种沈免2063所含抗叶锈病基因的对数、身份、显隐性和互作关系,以沈免2063为父本,分别与感病品种Thatcher及小麦抗叶锈病近等基因系Lr9、Lr19、Lr24、Lr25、Lr28、Lr42和Lr43的载体品系杂交,获得F₁、F₂和F₃代群体后,分别在苗期和成株期进行抗病性测定。结果表明:沈免2063含有3对显性遗传且相互独立作用的抗叶锈病基因Lr9、Lr19和Lr25,在苗期,沈免2063对致病类型CBG/QQ的抗病性由Lr9和Lr25控制,对PHT/RP的抗病性由上述3对抗叶锈病基因控制;在成株期,沈免2063对优势致病类型PHT/RP和THT/TP等比混合菌种的抗病性由上述3对抗叶锈病基因控制。Lr9、Lr19和Lr25在育成品种中出现频率很低,目前尚很有效,但这3个基因均为典型的垂直抗病性基因,应进行基因布局、基因轮换等科学组配,才能延长其使用寿命。

关键词: 小麦; 沈免2063; 叶锈病; 遗传分析; 等位性验证

Genetic analysis for leaf rust resistance on spring wheat Shenmian 2063

Yuan Junhai* Shen Fengying Wu Weigang Zhang Aixiang

(Department of Plant Protection, Hebei North University, Xuanhua 075131, Hebei Province, China)

Abstract: The objective of this study was to determine the number, identity, dominant or recessive and interaction of leaf rust resistance genes in spring wheat Shenmian 2063. Shenmian 2063 was used as the pollen parent and crossed with the leaf rust susceptible cultivar Thatcher and Thatcher backcross lines near-isogenic for leaf rust resistance genes *Lr9*, *Lr19*, *Lr24*, *Lr25*, *Lr28*, *Lr42* and *Lr43* respectively. The F₁, F₂ and F₃ plants were evaluated both as seedlings and at adult-plant stage with different pathotypes of *Puccinia triticina* that differed for virulence to specific leaf rust resistance genes. The results of inheritance and allelic verification indicated the presence of three dominant and independent genes *Lr9*, *Lr19* and *Lr25* in Shenmian 2063. Seedling plant leaf rust resistance of Shenmian 2063 to pathotype CBG/QQ was controlled by *Lr9* and *Lr25*, while the combination of *Lr9*, *Lr19* and *Lr25* accounted for the resistance to pathotype PHT/RP. At adult-plant stage, all three leaf rust resistance genes was responsible for the effective field resistance to equal proportion mixing isolate of predominant pathotypes PHT/RP and THT/TP. *Lr9*, *Lr19* and *Lr25*, typical vertical resistance genes for wheat leaf rust, are all very effective at present because of their low frequency in wheat cultivars in China, and rational rearrangement, such as proper redistribution and alternation, is essential to their resistance prolongation.

Key words: wheat; Shenmian 2063; leaf rust; genetics; allelic verification

由小麦柄锈菌小麦专化型 *Puccinia triticina* f. *sp. tritici* 引起的叶锈病,是我国小麦的主要病害,一般减产5%~10%,重者可达30%以上。小麦叶锈病

的防治措施有选用抗病品种、药剂防治和加强栽培管理等。相对而言,选用抗病品种最经济、有效,对环境最安全。遗传分析可明确抗病基因的数目、显

基金项目: 河北省自然科学基金(C2014405014),河北北方学院创新人才项目(CXRC1312)

* 通信作者 (Author for correspondence), E-mail: yuanjunhai@163.com

收稿日期: 2017-03-10

隐性和互作关系,因此一直是抗病育种的基础,一般需经过3个世代,周期较长,故更适合对重要抗源材料进行深入分析。但截至目前,我国在这方面的研究还较少,且研究方法尚有不足之处(袁军海和陈万权,2013)。首先,遗传分析仅在苗期进行且所用菌种多为次要甚至罕见致病类型,所发现的往往是抗病性易丧失的垂直抗病性基因,难以发现 *Lr12*、*Lr13* 和 *Lr34* 等主要在成株期表达且具有持久抗病性潜质的基因。如含有 *Lr10*、*Lr13* 和 *Lr34* 的春小麦品种 Era,自1972年在美国明尼苏达州大面积种植以来,一直保持着中度抗病性(Ezzahiri & Roelfs, 1989);含有 *Lr12*、*Lr31* 和 *Lr34* 的中国春,自1900年后被世界各地广泛引种并作为育种材料,至今仍保持着高度的抗病性(Dyck, 1991);巴西小麦品种 Frontana,含有 *Lr13*、*Lr34* 和 *LrT3*,自1943年推广至今,也保持着稳定的抗病性(Singh & Rajaram, 2011);类似现象在 Oelke & Kolmer(2005)和 Kolmer(2010)等的研究中也报道。故 Sawhney et al.(1989)提出,将苗期抗叶锈病基因与 *Lr13* 和 *Lr34* 等主要在成株期表达的抗叶锈病基因组合起来,可获得较为持久的抗叶锈性。Kolmer(1992)和 German & Kolmer(1992)则进一步证实, *Lr13* 和 *Lr34* 还可明显提高苗期抗叶锈病基因的抗病性。但目前发现,仅 *Lr13* 在苗期高温条件下对某些致病类型表现低反应型(Pretorius et al., 1984), *Lr12* 和 *Lr34* 等均难以在苗期表达。当然,垂直抗病性基因如果利用合理,也可以比较持久,且其抗病性即使最终丧失也有个过程,在丧失之前能起到很好的抗病作用。但长期大量的类似研究易使整个抗病育种工作失之偏颇(袁军海和陈万权,2011)。其次,遗传分析未与基因推导、等位性验证和系谱分析等方法结合,无法确定基因的身份(赤国彤等,1991)。再次,遗传分析多用于抗病基因分子的定位,仅涉及 F_1 和 F_2 代,未经 F_3 或测交 F_2 代验证,影响了结果的可信度(张庆等,2007;周悦等,2012;王翠芬等,2013)。沈免2063是沈阳农业大学植物免疫室培育的春小麦品种,系谱为“沈免96091/SY38//沈免96/L252/3/沈免96/SY39/4/辽春10号”,2003—2009年经多点鉴定,对叶锈病一直表现为免疫。因此,本试验通过改进后的遗传分析方法,并结合等位性验证等,对沈免2063进行分析,明确沈免2063所含抗叶锈病基因的对数、身份、显隐性、互作关系和有效性,以期小麦抗叶锈病品种的培育及其合理运用等提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 材料

供试小麦品种(系)和菌种:小麦品种沈免2063来自原育种单位沈阳农业大学植物免疫室,小麦抗叶锈病近等基因系 *Lr9*、*Lr19*、*Lr24*、*Lr25*、*Lr28*、*Lr42* 和 *Lr43* 的载体品系及感病品种 Thatcher,引自国际小麦玉米改良中心,均由中国农业科学院植物保护研究所麦类真菌病害研究组繁殖、保存并提供。3个小麦叶锈病菌致病类型 CBG/QQ、PHT/RP 和 THT/TP,由中国农业科学院植物保护研究所麦类真菌病害研究组提供,按 Long & Kolmer(1989)和 Singh(1991)提出的密码系统命名,应用前均经过单孢子堆分离;其中 PHT/RP 和 THT/TP 一直是我国小麦叶锈菌优势致病类型(陈万权等,1993;Liu & Chen, 2012;葛润静等,2015)。沈免2063和 Thatcher 为新种子熏蒸后室温下袋装保存, *Lr9* 等近等基因系的载体品系为袋装低温冰箱保存,小麦叶锈病菌为小型真空玻璃试管超低温冰箱保存。

仪器:RXZ-280B 人工气候箱,宁波江南仪器厂;DW-86L205 超低温冰箱,广州傲雪制冷设备有限公司。

1.2 方法

1.2.1 杂交组合的配制及后代的获得

配制以下杂交组合:Thatcher×沈免2063、Tc*6/Transfer (*Lr9*)×沈免2063、Tc*6/Tr (*Lr19*)×沈免2063、Tc*6/Agent(*Lr24*)×沈免2063、Transec(*Lr25*)×沈免2063、CS2D-2M (*Lr28*)×沈免2063、KS91WGRC11 (*Lr42*)×沈免2063、KS91WGRC16 (*Lr43*)×沈免2063;获得 F_1 代种子后,每个杂交组合随机选取5粒播种,花期套袋自交,获得的5株的种子混合,作为 F_2 代群体;然后从中随机选取200粒种子播种,花期套袋自交,每粒种子的后代作为1个 F_3 代株系。

1.2.2 苗期抗病性测定

苗期抗病性测定在长35 cm、宽20 cm、高10 cm的塑料盒内进行,播种前预先放入3~4 cm营养土。杂交组合各世代播种量: F_1 代10粒, F_2 代600粒, F_3 代180个株系、每个株系70粒;接种致病类型 PHT/RP 进行等位性验证时, F_2 代播种量为1000粒。 F_1 和 F_2 代种子穴播,穴深1 cm,穴距5 cm×5 cm,40穴/盒,5~7粒种子/穴; F_3 代株系条播,行距5 cm,行长约9 cm,16行/盒,每株系1行。感病对照品种为 Thatcher。播种前20 d左右开始繁菌,待麦苗1叶1心时接种新鲜菌种。接种前先将麦苗用清水去蜡,然后喷洒含有0.05%吐温20的夏孢子粉悬浮液,置于保湿桶内,在20℃黑暗条件下保湿16~20 h。

最后置于人工气候箱中,在18℃下培养,每天光照14 h,光照强度12 000 lx。10~12 d后,待感病对照充分发病时,按Roelfs(1985)提出的侵染型分级标准调查。根据调查结果进行遗传分析和等位性验证,一般将0~2归为抗病类型,3~4归为感病类型。

1.2.3 成株期抗病性测定

成株期抗病性测定在河北北方学院南校区农场进行。小区长11 m,宽2.2 m;行距0.33 m,每小区34行,第1行和第34行为保护行,第12行和第23行为诱发行;除保护行和诱发行外,其余各行横向分为3部分:左右各1 m,称为“半行”,播种待鉴定材料,中间约0.2 m与各行垂直方向纵向播种1行诱发行。保护行和诱发行品种均为Thatcher。遗传分析的材料,F₁代10粒,点播,株距10 cm,每个杂交组合的F₁代占1个“半行”;F₂代500粒,点播,株距10 cm,每个“半行”10粒,共50个“半行”;F₃代180个株系,每个株系约70粒,条播,占1个“半行”。等位性验证的材料,F₂代播种800~900粒,点播,余同上。4月中旬,约小麦起身期,用致病类型PHT/RP和THT/TP的等比混合菌种对诱发行接种。方法为:2~3 m设1个接种点,选无风的傍晚,先对接种点小麦基部浇水至土壤含水量饱和,然后用清水将叶片去蜡,再喷洒含有0.05%吐温20的夏孢子粉悬浮液,最后盖膜并保湿一夜,次晨揭膜。7月上中旬,待Thatcher旗叶叶锈病严重度达60%~80%时,以旗叶为准,调查各植株

的抗感反应和严重度。抗感反应根据Roelfs(1985)提出的分级标准调查后判断:0为免疫(immunity, I)、;为近免疫(near immunity, NI)、1为抗病(resistant, R)、2和X为中度抗病(moderately resistant, MR)、3为中度感病(moderately susceptible, MS)、4为感病(susceptible, S),各类型可附加“+”或“-”,以表示偏重或偏轻。严重度按照Peterson et al.(1948)提出的“改良Cobb标准”目测,按照孢子堆面积总和占叶片总面积的0.37%、1.85%、3.7%、7.4%、11.1%、14.8%、18.5%、22.2%、25.9%、29.6%、33.3%、37%左右时,分别定义为1%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%和100%等不同级别。

2 结果与分析

2.1 供试小麦品种(系)的抗叶锈性

小麦苗期抗叶锈性测定结果表明,Lr19的载体品系Tc*6/Tr对致病类型CBG/QQ表现高度感病,对其它致病类型表现免疫或近免疫;沈免2063及Lr9等其它抗叶锈病基因的载体品系对3个致病类型均表现免疫或近免疫;Thatcher对测定的致病类型均表现高度感病。成株期,除感病对照Thatcher表现高度感病,Lr43的载体品系KS91 WGRC16表现中度抗病至中度感病且严重度不高于65%外,其它供试品种(系)均表现免疫或近免疫(表1)。

表1 供试小麦品种(系)苗期和成株期抗叶锈性

Table 1 Seedling and adult-plant resistance to *Puccinia triticina* in the tested wheat cultivars or lines

供试品种(系) Tested cultivar or line	苗期抗病性 Seedling resistance			成株期抗病性 Adult-plant resistance	
	CBG/QQ	PHT/RP	THT/TP	严重度 Severity (%)	抗感反应 Resistant response
沈免2063 Shenmian 2063	;-	;	0	0	I
Tc*6/Transfer(Lr9)	;-	;	0	0	I
Tc*6/Tr(Lr19)	3+	;	0	0	I
Tc*6/Agent(Lr24)	;	;	;	0	NI
Transec(Lr25)	0	;	0	0	I
CS2D-2M(Lr28)	0	;	0	0	I
KS91 WGRC11(Lr42)	0	;,1-	;	0	I
KS91 WGRC16(Lr43)	0	;,1-	;	≤65	MR-MS
Thatcher	3+	3+	3+	≥80	S

I: 免疫; NI: 近免疫; MR-MS: 中度抗病至中度感病; S: 感病。I: Immunity; NI: near immunity; MR-MS: moderately resistant to moderately susceptible; S: susceptible.

2.2 苗期抗叶锈性遗传分析

对Thatcher×沈免2063杂交组合接种致病类型CBG/QQ,F₁代植株均表现免疫;F₂代植株中,482株抗病,39株感病,能较好地符合15抗病:1感病的期

望比例;F₃代株系中,62个表现全部抗病、90个抗感分离、10个全部感病,符合7全部抗病:8抗感分离:1全部感病的期望比例,且90个抗感分离株系均表现为抗病植株多而感病植株少,共4 685株抗病、926株

感病,符合27抗病:5感病的期望比例。表明沈免2063对致病类型CBG/QQ的抗病性由2对独立遗传的显性抗叶锈病基因控制。同样条件下,对Tc*6/Transfer(Lr9)×沈免2063杂交组合,F₂代共测定511株,均表现为免疫或近免疫,与Tc*6/Transfer(Lr9)很接近(表1),说明沈免2063含有Lr9;同理,沈免2063含有Lr25,不含Lr24、Lr28、Lr42和Lr43。综上所述表明,除Lr9和Lr25外,沈免2063不含其它抗致病类型CBG/QQ的基因。Tc*6/Agent(Lr24)×沈免2063等4个杂交组合的分离能够符合3对显性抗叶锈病基因独立遗传的期望比例,Tc*6/Tr(Lr19)×沈免2063杂交组合的分离符合2对显性抗叶锈病基因独立遗传的期望比例,均可验证,同时后者也可验证Tc*6/Tr(Lr19)对致病类型CBG/QQ高度感病(表1)。结果表明,沈免2063中控制对致病类型CBG/QQ抗病性的2对显性抗叶锈病基因分别是Lr9和Lr25。同理,沈免2063中控制对致病类型PHT/RP抗病性的3对显性抗叶锈病基因分别是Lr9、Lr19和Lr25(表2)。

2.3 成株期抗叶锈性遗传分析

在Thatcher×沈免2063杂交组合中,F₁代植株均表现免疫;F₂代植株中,354株抗病(其中341株免疫、13株抗病至中度抗病且严重度1%~30%),5株

感病(其中4株感病且严重度≥81%,1株中度感病至感病且严重度61%~80%),符合63抗病:1感病的期望比例。表明在成株期,沈免2063的抗叶锈性由3对独立遗传的显性抗叶锈病基因控制。同样条件下,对Tc*6/Transfer(Lr9)×沈免2063杂交组合,F₂代测定645株,627株表现免疫、18株表现抗病至中度抗病,且严重度1%~30%,均为抗病类型,无抗感分离,证实沈免2063含有Lr9。同理,沈免2063含有Lr19和Lr25,不含Lr24、Lr28、Lr42和Lr43,并可与苗期鉴定结果相互验证。综合分析表明,在成株期,沈免2063的抗叶锈性由Lr9、Lr19和Lr25这3对独立遗传的显性抗叶锈病基因控制。但对Thatcher×沈免2063杂交组合的F₃代,共测定143个株系,107个全部抗病、34个抗感分离、2个全部感病,不符合37全部抗病:26抗感分离:1全部感病的期望比例。考虑到在上述期望比例的26份抗感分离中,有8份为63抗病:1感病,12份为15抗病:1感病,6份为3抗病:1感病,而本试验成株期抗病性测定时F₃代株系的总株数偏少,则8份63抗病:1感病可能不会出现感病植株,也表现全部抗病,亦即总的期望比例可能变为45全部抗病:18抗感分离:1全部感病,而107个株系全部抗病、34个抗感分离、2个全部感病,能较好地符合此期望比例(表3)。

表2 沈免2063苗期抗叶锈性遗传分析

Table 2 Genetics of leaf rust resistance at seedling stage in Shenmian 2063

杂交组合 Cross	致病类型 Patho- type	世代 Gene- ration	侵染型分布 Distribution of infection type							总数 No. of total	植株或系统数 No. of plant or family			期望 比例 Expected ratio	χ^2	P	
											抗病 Re	分离 Se	感病 Su				
			0	1	2	X	3	3 ⁺	4								
Thatcher×沈免2063	CBG/ QQ	F ₁	7							7	7	-	0				
Thatcher×Shenmian 2063	QQ	F ₂	363	75	44				7	32	521	482	-	39	15:1	1.1548	0.25- 0.50
		F ₃	2 187	1 215	357				51		3 810	62	-	-	7:8:1	2.1128	0.25- 0.50
			2 863	1 385	437				47	116	763	5 611	-	90	(27:5)	(3.2169)	0.05- 0.10
Tc*6/Transfer(Lr9)× 沈免2063	CBG/ QQ	F ₂	258	253						511	511	-	0	1:0			
Tc*6/Transfer(Lr9)× Shenmian 2063	CBG/ QQ	F ₂	286	113	91				7	37	534	490	-	44	15:1	3.2764	0.05- 0.10
Tc*6/Agent(Lr24)× 沈免2063	CBG/ QQ	F ₂	413	143	14				8	578	570	-	8	63:1	0.0317	0.75- 0.90	
Tc*6/Agent(Lr24)× Shenmian 2063	CBG/ QQ	F ₂	413	143	14				8	578	570	-	8	63:1	0.0317	0.75- 0.90	

续表 2 Continued

杂交组合 Cross	致病 类型 Path- otype	世代 Gene- ration	侵染型分布 Distribution of infection type							总数 No. of total	植株或系统数 No. of plant or family			期望 比例 Expected ratio	χ^2	P	
			0	;	; 1	1	2	X	3		3 ⁺ 4	抗病 Re	分离 Se				感病 Su
Transec(Lr25)× 沈免2063	CBG/ QQ	F ₂	453	90	7				550	550	-	0	1:0				
Transec(Lr25)× Shenmian 2063																	
CS2D-2M(Lr28)× 沈免2063	CBG/ QQ	F ₂	515	52			1	13	581	567	-	14	63:1	2.1880	0.10- 0.25		
CS2D-2M(Lr28)× Shenmian 2063																	
KS91 WGR11 (Lr42)×沈免2063	CBG/ QQ	F ₂	367	152	7			5	9	525	511	-	14	63:1	3.4746	0.05- 0.10	
KS91 WGR11 (Lr42)×Shenmian 2063																	
KS91 WGR16 (Lr43)×沈免2063	CBG/ QQ	F ₂	438	77	23				11	549	538	-	11	63:1	0.4374	0.75- 0.90	
KS91 WGR16 (Lr43)×Shenmian 2063																	
Thatcher×沈免2063	PHT/ RP	F ₁	8							8	8	-	0				
Thatcher×Shenmian 2063																	
		F ₂	377	161	18				12	568	556	-	12	63:1	0.7887	0.25- 0.50	
		F ₃	4 973	1 162	540					6 675	106	-	-	37:26:1	1.7346	0.25- 0.50	
			2 864	563	173			37	324	3 961	-	63	-				
								17	236	253	-	-	4				
Tc*6/Transfer(Lr9)× 沈免2063	PHT/ RP	F ₂	749	209						958	958	-	0	1:0			
Tc*6/Transfer(Lr9)× Shenmian 2063																	
Tc*6/Tr(Lr19)× 沈免2063	PHT/ RP	F ₂	777	160	4					941	941	-	0	1:0			
Tc*6/Tr(Lr19)× Shenmian 2063																	
Tc*6/Agent(Lr24)× 沈免2063	PHT/ RP	F ₂	629	243	39				6	917	911	-	6	255:1	1.0310	0.25- 0.50	
Tc*6/Agent(Lr24)× Shenmian 2063																	
Transec(Lr25)× 沈免2063	PHT/ RP	F ₂	830	84	11					925	925	-	0	1:0			
Transec(Lr25)× Shenmian 2063																	
CS2D-2M(Lr28)× 沈免2063	PHT/ RP	F ₂	682	233	65			1	5	986	980	-	6	255:1	0.7083	0.25- 0.50	
CS2D-2M(Lr28)× Shenmian 2063																	
KS91 WGR11 (Lr42)×沈免2063	PHT/ RP	F ₂	638	245	56				6	945	939	-	6	255:1	0.8896	0.25- 0.50	
KS91 WGR11 (Lr42)×Shenmian 2063																	
KS91 WGR16 (Lr43)×沈免2063	PHT/ RP	F ₂	698	189	58				5	950	945	-	5	255:1	0.1684	0.50- 0.75	
KS91 WGR16 (Lr43)×Shenmian 2063																	

Re: Resistant; Se: segregate; Su: susceptible.

表3 沈免2063成株期抗叶锈性遗传分析
Table 3 Genetics of leaf rust resistance at adult-plant stage in Shenmian 2063

杂交组合 Cross	世代 Generation	严重度(%) 和抗感反应分布 Distribution of field rust severity (%) and response								植株或系统数 No. of plant or family			期望 比例 Expected ratio	χ^2	P	
		1-	31-	61-	≥81	1-	31-	61-	≥81	总数 No. of total	抗病 Re	分离 Se				感病 Su
		0	30	60	80	30	60	80	≥81							
		I	R-	R-	R-	R-	MS-	MS-	MS-	S						
	MR	MR	MR	MR	S	S	S									
Thatcher×沈免2063	F ₁	5							5	5	-	0				
Thatcher×Shenmian 2063	F ₂	341	13					1	4	359	354	-	5	63:1	0.2229 0.50-	
	F ₃										107	34	2	37:26:1 45:18:1	17.1763 1.4003 <0.001	
Tc*6/Transfer (Lr9)×沈免2063	F ₂	627	18							645	645	-	0	1:0		
Tc*6/Transfer(Lr9)× Shenmian 2063	F ₂	675	39	3						717	717	-	0	1:0		
Tc*6/Tr(Lr19)× 沈免2063	F ₂	606	22	1				5		634	629	-	5	255:1	1.6597 0.10-	
Tc*6/Agent(Lr24)× Shenmian 2063	F ₂	583	36							619	619	-	0	1:0	0.25	
Transec(Lr25)× 沈免2063	F ₂	677	51	4				6		738	732	-	6	255:1	2.3854 0.10-	
CS2D-2M(Lr28)× 沈免2063	F ₂	583	38	3				1	1	626	624	-	2	255:1	0.0012 0.90-	
CS2D-2M(Lr28)× Shenmian 2063	F ₂	584	47	1				2		634	632	-	2	255:1	0.0002 >0.95	
KS91 WGRC11 (Lr42)×沈免2063	F ₂															
KS91 WGRC11 (Lr42)×Shenmian 2063	F ₂															
KS91 WGRC16 (Lr43)×沈免2063	F ₂															
KS91 WGRC16 (Lr43)×Shenmian 2063	F ₂															

I: 免疫; NI: 近免疫; MR-MS: 中度抗病至中度感病; S: 感病。I: Immunity; NI: near immunity; MR-MS: moderately resistant to moderately susceptible; S: susceptible. Re: Resistant; Se: segregate; Su: susceptible.

3 讨论

袁军海等(2007)通过基因推导和系谱分析认为,如果沈免2063含有1对抗叶锈病基因,则此基因很可能是Lr9,该试验未找到相应的毒性致病类型,故Lr9的抗病性完全掩盖了其它几乎所有抗病基因的抗病性,无法判断是否含有其它抗叶锈病基因。

本试验在上述工作基础上,通过遗传分析和等位性验证发现,除Lr9外,沈免2063还含有Lr19和Lr25。所以,将遗传分析、等位性验证、基因推导和系谱分析等方法结合起来,结果更全面、可信度更高。

总结1991年以来与我国小麦品种(系)抗叶锈病基因有关的基因推导、分子鉴定和遗传分析等方面的文献,作者粗略统计,Lr9、Lr19和Lr25的出现

频率分别约为2.6%、3.6%和0.4%，其中多为小麦抗叶锈病种质资源，育成品种很少(作者未发表资料)。而在2000—2006年我国小麦叶锈菌群体中，*Lr9*、*Lr19*和*Lr25*的毒性频率分别为0.2%、1.5%和0.3%(Liu & Chen, 2012)，在2011—2102年我国6省小麦叶锈菌群体中，3对基因的毒性频率分别为0、0和1.4%(葛润静等, 2015)，均可验证这3对基因很少在国内应用。所以，用我国小麦叶锈病菌优势致病类型进行抗病性测定，在成株期，*Lr9*、*Lr19*和*Lr25*的载体品系 Tc*6/Transfer、Tc*6/Tr 和 Transec 均表现免疫，有很大的应用价值(陈万权和秦庆明, 2002)。但这3对基因均表现为有高度的致病类型专化性、呈显性遗传和受环境条件影响小等，可能正是典型的垂直抗病性基因，如果大面积单一化应用，其抗病性可能很快丧失(袁军海和陈万权, 2011)。如20世纪90年代后期，在美国东南部大面积推广的软红冬小麦品种中，许多含有抗叶锈病基因 *Lr9* (Kolmer, 2003)。相应地，在小麦叶锈菌群体中，*Lr9*的毒性频率由1999年的4.8%很快上升到2001年的45.8%，造成含有 *Lr9* 的 Coker 9663 等品种，在2000年还高度抗病，到2003年则逐渐变得比较感病，因而推广面积逐渐下降，而同样与之相应，到2006年，*Lr9*的毒性频率又逐渐回落到9.8%(Kolmer et al., 2008; Kolmer, 2010)。所以，应根据这3对基因的特点科学组配，如在不同时间和空间上进行合理布局或轮换、培育聚合品种或多系品种等，才能充分发挥其抗病作用，减缓抗病性丧失，延长使用寿命(曾士迈和杨演, 1986)。

还有一点需要特别指出，在许多关于我国小麦叶锈菌群体毒性的研究中，这3对基因的毒性频率明显异常偏高。如1986—1991年间 *Lr9* 和 *Lr25* 的毒性频率分别为30.3%和42.4%(陈万权等, 1993)，1992—1996年间 *Lr25* 的毒性频率为45.7%(陈万权等, 1998)，1999年3对基因的毒性频率分别为31.3%、17.3%和23.8%(杨文香等, 2004)，而在张全宝等(2006)、武延超等(2009)和赵盼盼等(2013)的研究中，*Lr25* 的毒性频率甚至分别高达93.97%、93.67%和95.65%。在基因对基因病害中，若某抗病基因在生产上应用较广泛，则与之对应的病原物群体中毒性基因的频率可能由于抗病品种的更迭轮换，在不同年份或地区间出现较大波动，属正常现象。但现在的问题是，3对基因均极少在生产中应用，相应的毒性基因的频率居然也出现了较大甚至剧烈波动，很令人费解。究其原因，抗病品种在不同

地区的分布可能有较大差异，相应的毒性基因也可能有其它特殊的变异机制，但是，不同课题组所用3对抗叶锈病基因的载体品系不一致或相互引种时出现混杂甚至错误，也有很大可能。

本试验成株期抗病性测定于2013年进行，该年度小麦苗期干旱少雨，加之未能及时浇水，约有1/4~1/5的植株死亡，故 Thatcher×沈免 2063 杂交组合的各F₃代株系仅保留50株左右，则抗感分离株系中63抗病:1感病的期望比例实际可能表现全部抗病，造成全部抗病的株系偏多、抗感分离的株系偏少，影响了对整体分离比例的判断。此外，因工作量过大，上述杂交组合的F₃代也仅调查了整个株系的全部抗病、全部感病或抗感分离情况，未做单株调查。

致谢: 中国农业科学院植物保护研究所刘太国研究员和冯晶副研究员参与部分工作, 特此致谢!

参 考 文 献 (References)

- Chen WQ, Hu CC, Zhang SX. 1993. Analysis of virulence genes of *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* population in China. *Scientia Agricultura Sinica*, 26(2): 17–23 (in Chinese) [陈万权, 胡长程, 张淑香. 1993. 中国小麦叶锈菌群体的毒性基因分析. *中国农业科学*, 26(2): 17–23]
- Chen WQ, Qin QM. 2002. Studies on utilization of worldwide known genes for leaf rust resistance of wheat in China. *Scientia Agricultura Sinica*, 35(7): 794–801 (in Chinese) [陈万权, 秦庆明. 2002. 国际上已知小麦抗叶锈病基因在中国的可利用性研究. *中国农业科学*, 35(7): 794–801]
- Chen WQ, Qin QM, Chen YL, Yan SB. 1998. Virulence dynamics of *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* in China during 1992—1996. *Acta Phytopathologica Sinica*, 28(2): 101–106 (in Chinese) [陈万权, 秦庆明, 陈扬林, 晏思白. 1998. 1992—1996年我国小麦叶锈菌毒性动态. *植物病理学报*, 28(2): 101–106]
- Chi GT, Wang HR, Zhu ZY. 1991. Genetic analysis of leaf rust resistance in seven varieties of wheat. *Journal of Hebei Agricultural University*, 14(4): 76–78 (in Chinese) [赤国彤, 王焕如, 朱之培. 1991. 7个小麦品种抗叶锈性遗传研究初报. *河北农业大学学报*, 14(4): 76–78]
- Dyck PL. 1991. Genetics of adult-plant leaf rust resistance in “Chinese Spring” and “Sturdy” wheat. *Crop Science*, 31: 309–311
- Ezzahiri B, Roelfs AP. 1989. Inheritance and expression of adult plant resistance to leaf rust in Era wheat. *Plant Disease*, 73: 549–551
- Ge RJ, Liu TG, Gao L, Liu B, Chen WQ. 2015. Virulence of *Puccinia recondita* from 6 provinces in China in 2011—2012. *Acta Phytopathologica Sinica*, 45(2): 175–180 (in Chinese) [葛润静, 刘太国, 高利, 刘博, 陈万权. 2015. 2011—2012年度中国六省小麦叶锈菌群体毒性分析. *植物病理学报*, 45(2): 175–180]
- German SE, Kolmer JA. 1992. Effect of gene *Lr34* in the enhancement of resistance to leaf rust of wheat. *Theoretical and Applied Genet-*

- ics, 84(2): 97-105
- Kolmer JA. 1992. Enhanced leaf rust resistance in wheat conditioned by resistance gene pairs with *Lr13*. *Euphytica*, 61(2): 123-130
- Kolmer JA. 2003. Postulation of leaf rust resistance genes in selected soft red winter wheats. *Crop Science*, 43: 1266-1274
- Kolmer JA. 2010. Genetics of leaf rust resistance in the soft red winter wheat cultivars Coker 9663 and Pioneer 26R61. *Plant Disease*, 94(5): 628-632
- Kolmer JA, Long DL, Hughes ME. 2008. Physiologic specialization of *Puccinia triticina* on wheat in the United States in 2006. *Plant Disease*, 92: 1241-1246
- Liu TG, Chen WQ. 2012. Race and virulence dynamics of *Puccinia triticina* in China during 2000-2006. *Plant Disease*, 96(11): 1601-1607
- Long DL, Kolmer JA. 1989. A North American system of nomenclature for *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*. *Phytopathology*, 79(5): 525-529
- Oelke LM, Kolmer JA. 2005. Genetics of leaf rust resistance in spring wheat cultivars Alsen and Norm. *Phytopathology*, 95(7): 773-778
- Peterson RF, Campbell AB, Hannah AE. 1948. A diagrammatic scale for estimating rust intensity on leaves and stems of cereals. *Canadian Journal of Research (Section C)*, 26(5): 496-500
- Pretorius ZA, Wilcoxson RD, Long DL, Schafer JF. 1984. Detecting wheat leaf rust resistance gene *Lr13* in seedlings. *Plant Disease*, 68: 585-586
- Roelfs AP. 1985. Race specificity and methods of study.//Bushnell WR, Roelfs AP. *The cereal rust I. Origins, specificity, structure, and physiology*. New York: Academic Press, pp. 134
- Sawhney RN, Nayar SK, Sharma JB, Bedi R. 1989. Mechanism of durable resistance: a new approach. *Theoretical and Applied Genetics*, 78(2): 229-232
- Singh RP. 1991. Pathogenicity variations of *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* and *P. graminis* f. sp. *tritici* in wheat-growing areas of Mexico during 1988 and 1989. *Plant Disease*, 75(8): 790-794
- Singh RP, Rajaram S. 2011. Genetics of adult-plant resistance of leaf rust in 'Frontana' and three CIMMYT wheats. *Genome*, 35(1): 24-31
- Wang CF, Li H, Zheng MM, Fan LL, Li ZF, Liu DQ. 2013. Postulation and molecular mapping of leaf rust resistance gene in wheat line Jumai 6. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 42(5): 92-96 (in Chinese) [王翠芬, 李欢, 郑嫚嫚, 范林林, 李在峰, 刘大群. 2013. 巨麦6号抗叶锈病基因的推导和分子定位. *河南农业科学*, 42(5): 92-96]
- Wu YC, Meng QF, Yang WX, Wen XL, Liu DQ. 2009. Virulence of *Puccinia triticina* on wheat at seedling stage in Shaanxi, Hubei and Sichuan provinces of China in 2007. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 25(17): 195-198 (in Chinese) [武延超, 孟庆芳, 杨文香, 温晓蕾, 刘大群. 2009. 2007年陕西、湖北和四川三省小麦叶锈菌苗期毒性分析. *中国农学通报*, 25(17): 195-198]
- Yang WX, Meng QF, Feng SD, Liu DQ. 2004. Virulence of *Puccinia triticina* on wheat in China in 1999. *Journal of Plant Protection*, 31(1): 45-50 (in Chinese) [杨文香, 孟庆芳, 冯圣东, 刘大群. 2004. 1999年我国小麦叶锈菌毒性监测. *植物保护学报*, 31(1): 45-50]
- Yuan JH, Chen WQ. 2011. Estimates on the effectiveness of main resistant genes for leaf rust in Chinese wheat. *Journal of Triticeae Crops*, 35(5): 994-999 (in Chinese) [袁军海, 陈万权. 2011. 中国小麦主要抗叶锈病基因的有效性评价. *麦类作物学报*, 35(5): 994-999]
- Yuan JH, Chen WQ. 2013. Genetics of leaf rust resistance in spring wheat Qingchun 221. *Journal of Plant Protection*, 40(1): 20-26 (in Chinese) [袁军海, 陈万权. 2013. 春小麦品种青春221抗叶锈性遗传分析研究. *植物保护学报*, 40(1): 20-26]
- Yuan JH, Liu TG, Chen WQ. 2007. Postulation of leaf rust resistance genes in 47 new wheat cultivars (lines) at seedling stage. *Scientia Agricultura Sinica*, 40(9): 1925-1935 (in Chinese) [袁军海, 刘太国, 陈万权. 2007. 中国47个小麦品种(系)苗期抗叶锈病基因推导. *中国农业科学*, 40(9): 1925-1935]
- Zeng SM, Yang Y. 1986. *Plant disease epidemiology*. Beijing: Agricultural Press, pp. 52-53 (in Chinese) [曾士迈, 杨演. 1986. *植物病害流行病学*. 北京: 农业出版社, pp. 52-53]
- Zhang Q, Liu TG, Zhang M, Chen WQ. 2007. Genetics and SSR marker of gene for leaf rust resistance in winter wheat line Sw92. *Journal of Plant Protection*, 34(5): 515-518 (in Chinese) [张庆, 刘太国, 张敏, 陈万权. 2007. 小麦抗源Sw92抗叶锈病基因遗传及其分子标记. *植物保护学报*, 34(5): 515-518]
- Zhang QB, Meng QF, Yang WX, Liu DQ. 2006. Physiologic specialization at seedling stage and virulence of wheat leaf rust (*Puccinia triticina*) in China during 2003-2004. *Journal of Agricultural University of Hebei*, 29(5): 60-64 (in Chinese) [张全宝, 孟庆芳, 杨文香, 刘大群. 2006. 2003-2004年我国小麦叶锈菌致病类型苗期鉴定及毒性分析. *河北农业大学学报*, 29(5): 60-64]
- Zhao PP, Meng QF, Guo N, Zhang LY, Yan HF, Liu DQ. 2013. Analysis of virulence patterns of *Puccinia triticina* in Henan Province in 2009-2011. *Journal of Henan Agricultural Science*, 42(4): 91-94 (in Chinese) [赵盼盼, 孟庆芳, 郭楠, 张林亚, 闫红飞, 刘大群. 2013. 2009-2011年河南省小麦叶锈菌毒性结构分析. *河南农业科学*, 42(4): 91-94]
- Zhou Y, Wu Y, Li X, Li ZF, Liu DQ. 2012. Genetic analysis and molecular mapping of leaf rust resistance genes in two Chinese wheat lines. *Scientia Agricultura Sinica*, 45(16): 3273-3280 (in Chinese) [周悦, 吴娱, 李星, 李在峰, 刘大群. 2012. 两个中国小麦品种中抗叶锈基因的遗传分析和基因定位. *中国农业科学*, 45(16): 3273-3280]