

中国小麦条锈菌鉴别寄主维尔对条锈病的温敏抗性研究

陈峰^{1,2}, 蔺瑞明¹, 高乾坤², 何月秋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. 云南农业大学分子植物病理实验室, 昆明 650201)

摘要 维尔是中国小麦条锈菌重要鉴别寄主, 通过潜育期变温处理对其进行温敏抗性检测和基因推导分析。本研究发现, 维尔对小麦条锈菌流行小种条中 32 号的抗性表现为侵染型由常温下的高侵染型向高温下的低侵染型转变, 侵染指数降低, 呈现高温诱导抗条锈性; 通过与已知的微效基因品系比较及方差分析, 推测维尔对条中 32 号的温敏抗性可能是由 2 对高温诱导表达的温敏微效基因控制。建议将维尔作为温敏微效基因资源在抗病育种中利用, 作为鉴别寄主用于小种鉴定时, 要严格控制鉴定温度, 不要超过 18 °C。

关键词 小麦条锈病; 鉴别寄主维尔; 温敏抗性

中图分类号 S 435.121.42

Temperature sensitive reaction of the differential variety Virgilio of Chinese wheat to stripe rust

Chen Feng^{1,2}, Lin Ruiming¹, Gao Qiankun², He Yueqiu², Xu Shichang¹

(1. State Key Laboratory for Biology of Plant Disease and Insect Pest, Institute of Plant Protection, CAAS, Beijing 100193, China;

2. Laboratory of Molecular Plant Pathology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract The variety Virgilio was one of the differential hosts of Chinese wheat for *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. It was found that the infection rate and index of Virgilio by the pathotype CY32 were lower compared with that under lower temperature, indicating the presence of a high temperature-induced resistance to stripe rust. Through comparisons of known temperature-sensitive minor-gene and analysis of variance, it was indicated that the temperature-sensitive resistance of Virgilio to CY32 was probably controlled by two temperature-sensitive minor-genes. Virgilio as a temperature-sensitive minor-gene resource is useful in breeding for resistance to stripe rust, but when it is used as one of the differential hosts, it is necessary to strictly control the temperature without exceeding 18 °C, since the relative infection type may differ depending upon the temperature.

Key words wheat stripe rust; differential host Virgilio; temperature-sensitive resistance

小麦条锈病是由小麦条锈菌 (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) 引起的气传叶部病害, 在全世界小麦种植区均有不同程度发生。我国是世界上最大的小麦条锈病流行区之一, 条锈病也是我国小麦生产受害最严重的病害之一^[1]。利用鉴别寄主监测小麦条锈菌小种消长及变异动态, 是病害预测预报和抗病育种的重要基础。鉴别寄主不仅能准确地反

映条锈菌的毒性差异, 而且其中很多鉴别寄主还是抗病育种的重要抗源。因此, 开展鉴别寄主的抗条锈性遗传基础研究, 明确其抗性基因及遗传特点和抗性特点, 可将条锈菌生理专化研究和抗病性分析提高到基因水平。维尔是我国小麦条锈菌重要鉴别寄主之一, 对当前的小麦条锈菌生理小种仍具很强的鉴别力, 遗传分析表明维尔中至少含有 2 对全生

收稿日期: 2008-05-25 修订日期: 2008-02-12

基金项目: 国家“973”计划项目 (2006CB100200); 国家自然科学基金 (30671343); 国家科技支撑计划 (2006BAD08A05, 2006BAD02A16)

* 通讯作者 E-mail: shichangxu317@163.com

育期主效抗条锈病基因,即 *YrVir1* 和 *YrVir2*^[2]。但在以往小麦条锈菌小种测定试验中发现维尔的反应型不稳定,有时已认定对其有毒性的小种却表现出抗性反应。Lewellen 和 Sharp 等在研究小麦对条锈菌抗性的主效和微效基因以及对温度变化的反应时证明,当时被广泛用作抗源的品系 P. I. 178383 中除含 1 对主效显性抗条锈基因外,还有 3 对微效隐性基因,微效基因在较高温度下比在较低温度下表现出较好的抗性^[3]。为此,本研究采用潜育期变温处理方法^[4],在苗期用一毒性小种克服维尔中的主效基因,分析不同温度下维尔抗条锈病的变化,明确其是否存在温敏抗性。

1 材料与方法

1.1 供试小麦品种

供试小麦品种为分别含有 1~3 对温敏微效抗条锈基因的小麦品种 S111、S112、S113 和感病品种铭贤 169 及待测品种维尔,均由中国农业科学院植物保护研究所条锈组繁殖保存。

1.2 菌系来源及选择

测定用的小麦条锈菌单孢系来自中国农业科学院植物保护研究所锈病组。根据抗性鉴定和毒谱分析,选用能克服供试品种中主效抗病基因的条锈菌系 CY32。CY32 对抗病基因 *Yr1*、*Yr2*、*Yr3*、*Yr4*、*Yr6*、*Yr7*、*Yr9*、*Yr17*、*Yr22*、*Yr23*、*Yr27*、*YrA*、*YrCV1*、*YrCV2*、*YrCV3*、*YrG*、*YrSD* 和 *YrSO* 均具有毒性^[5],是我国目前的优势小种。

1.3 测定方法

采用潜育期变温处理方法^[4],根据小麦抗条锈病微效基因的温敏性特点,在苗期抗性鉴定中设置常温和高温两种温域的不同温度水平,其中,常温分设 3 种温度水平,即昼 15 °C/夜 10 °C、昼 16 °C/夜 10 °C、昼 15 °C/夜 12 °C;高温分设 3 种温度水平,即昼 23 °C/夜 18 °C、昼 24 °C/夜 15 °C、昼 24 °C/夜 18 °C,其他参数设置相同,即 RH75%,光照时间 14 h/d,光强 20 000 lx,且温光转换同步^[6]。

将供试种子先用 1% H₂O₂ 在室温下浸种 24 h,并发芽,点播 10 cm 口径塑料钵内,每钵 15~20 粒,置育苗间。所选条锈菌系在铭贤 169 上繁殖备用。待

第 1 片叶全展时,扫抹法接种,置 10 °C 接种间黑暗保湿 24 h 后,根据试验设置要求分别转入上述常温箱和高温箱。生长箱采用日本三洋 351H 环境箱。

1.4 病情记载与数据处理

待铭贤 169 充分发病后调查侵染型。侵染型划分参照 Lewellen 等的标准^[7],并进一步详细分为 12 级,即 0、0⁺、1、1⁺、2⁻、2、2⁺、3⁻、3、3⁺、4^[8]。

为了便于使用统计软件进行计算分析,首先转化各原始数据,即把各株的侵染型转化为侵染指数。参照 Sharp 等的方法^[9],根据本研究的特点,将侵染指数划分为 6 级,即侵染指数指定侵染型 0 和 0⁺ 为侵染指数等级 1(很抗病=VR);侵染型 1 和 1⁺ 为侵染指数等级 2(抗病=R);侵染型 2⁻ 和 2 为侵染指数等级 3(中度抗病=MR);侵染型 2⁺ 和 3⁻ 为侵染指数等级 4(中感=MS);侵染型 3 和 3⁺ 为侵染指数等级 5(感病=S);侵染型 4 为侵染指数等级 6(很感病=VS)。使用 PC SAS(SAS Version 8.0) 进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 维尔温敏抗性测定

采用潜育期变温处理方法,以对维尔主效抗条锈基因有毒性的当前流行小种 CY32 接种,克服主效基因抗性,在常温、高温两种温域下观测供试材料的抗性变化,明确其是否具有温敏抗性。结果表明,接种 CY32,供试鉴别寄主维尔的侵染型由常温下的高侵染型向高温下的相对较低的侵染型转变,其侵染指数降低。而感病对照铭贤 169 的侵染型及其转化后的侵染指数在两种温域下没有变化,这就排除了因试验高温抑制条锈菌而使致病性降低的可能性。t 测验结果显示,与常温相比,高温下维尔的侵染指数降低达极显著水平,表明维尔在接种条件下对高温敏感,存在高温诱导表达的抗条锈性(表 1,图 1)。鉴定结果还显示,维尔在试验设定的常温范围内,昼/夜温度分别为 15 °C/10 °C、15 °C/12 °C、16 °C/10 °C 3 个水平,其侵染指数分别为 5.31、5.08、5.07,未发生显著变化;而在高温范围内,昼/夜温度分别为 23 °C/18 °C 和 24 °C/18 °C 下的侵染指数有显著差异,表明昼/夜温度为 24 °C/18 °C 下温敏抗性的诱导效果更好。

表 1 小麦品种维尔温敏抗性测定结果

品种	平均侵染指数 ¹⁾					
	昼 15 °C/夜 10 °C	昼 15 °C/夜 12 °C	昼 16 °C/夜 10 °C	昼 23 °C/夜 18 °C	昼 24 °C/夜 15 °C	昼 24 °C/夜 18 °C
维尔	5.31 b	5.08 b	5.07 b	3.80 c	3.34 cd	3.32 d
铭贤 169	6.00 a	6.00 a	6.00 a	6.00 a	6.00 a	6.00 a

1) 每一平均侵染指数后相同字母表示不同处理间在 $p=0.05$ 不存在显著差异。

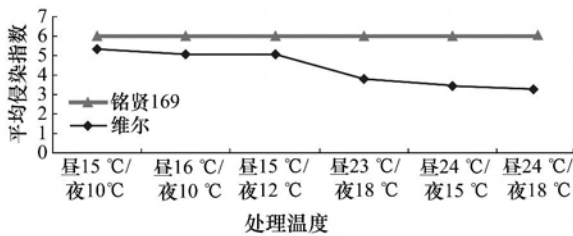


图1 小麦品种维尔和铭贤169不同
温域下平均侵染指数比较

2.2 温敏微效基因推导分析

采用基因推导分析方法,以分别含1、2、3对温敏微效抗条锈基因的小麦品系S111、S112、S113为参照系,以对温度不敏感的感病品种铭贤169为对照,推导分析维尔所含的温敏微效基因及抗性特点。结果显示,在昼24℃/夜18℃的高温下,对温度不敏感的感病对照品种铭贤169的侵染指数为6.00,而含有1、2、3对抗条锈病温敏微效基因的小麦品系S111、S112、S113的侵染指数分别为4.22、3.60、2.93,且3个品系间侵染指数均达到显著差异,并随着品系中含有的微效基因对数增加其侵染指数下降,这说明作为参照系的微效基因品系在高温下侵染指数下降是由于高温诱导其温敏微效基因表达并呈累加效应导致抗性增强的结果。与此同时,表现有温敏抗性的供试品种维尔在高温下侵染指数下降,也说明维尔中含有高温诱导表达的温敏微效基因。通过对维尔与微效基因品系S111、S112、S113侵染指数比对及方差分析显示,高温下维尔和含有2对温敏微效基因的S112的侵染指数均下降到同一水平,方差分析差异不显著;而与含有1对温敏微效基因的S111和含有3对温敏微效基因的S113相比其侵染指数的差异达显著水平,根据抗条锈病微效基因的遗传特点和抗性特点,由此推导维尔中可能含有2对对高温敏感的微效抗条锈病基因(表2)。

表2 小麦品种维尔温敏微效基因测定结果

温度/℃ (昼/夜)	平均侵染指数 ¹⁾				
	铭贤169	维尔	S111	S112	S113
24/18	6.00 a	3.32 c	4.22 b	3.60 c	2.93 d

1) 侵染指数后相同字母表示处理间在 $p = 0.05$ 不存在显著差异。

3 讨论

高温抗性的产生应至少从以下几个方面来考虑:(1)病原物本身就不适于高温;(2)高温导致环境中其他因子的改变而限制病害的发展;(3)寄主植物本身的变化导致的高温抗性。本试验对照感病品种铭贤169在高温和常温两种温域下均感病,侵染型为4型,故排除了因前两种因素导致维尔侵染型降

低的可能性。因此可以说,维尔在高温下侵染型降低是其高温诱导抗性表达的结果。

作为鉴别寄主的品种必须具有明确的鉴别力,能准确反映条锈菌的毒性差异及其在生产上的作用,并对病菌反应比较稳定,不易受环境条件如温度和光照等的影响^[9]。维尔是中国小麦条锈菌鉴别寄主,由于其具有温敏抗性,利用其作为鉴别寄主进行小种鉴定时,易导致抗性鉴定结果不稳定。因此,用于小种鉴定时,应严格控制鉴定温度,不要超过18℃。

利用已明确分别含有1~3对温敏微效基因的S111、S112和S113品系和不具有温敏抗性的铭贤169作参照系,通过对供试品种与参照系侵染型及其转化的侵染指数比对及方差分析,推导供试品种是否含有对温度敏感的微效抗条锈病基因及基因数量。但由于温度敏感型的抗条锈基因包括高温成株抗性^[10]、高温抗性^[11]和温敏微效抗条锈基因,因此在本方法中易于将多个具有累加效应控制中抗水平的微效基因和控制中抗水平的高温抗性主效基因混淆;另因微效基因的抗性并非完全等效,微效基因也有小种专化性^[12],故在利用毒性小种克服主效基因的同时也可能克服了微效基因;再加上温度、湿度和光照条件等环境条件控制的差异,以及主效基因与微效基因间互作^[7],均可能影响基因推导的准确性。因此在利用该方法进行微效基因推导分析时要注意主效基因与微效基因的区别,并严格控制环境温度。此方法是一种分析温敏微效基因的尝试,对推导的温敏微效基因数目,有待于通过常规杂交分析进一步确定。

目前,由于主效基因易被克服常引起品种抗性“丧失”,而微效基因对品种的持久抗性有协助作用^[13],使之对温敏抗病基因的研究和利用备受重视。本研究发现的对高温敏感的微效抗条锈病基因对我国当前流行小种条中32号表现抗病,建议作为温敏微效基因资源在抗病育种中利用。

参考文献

- [1] 赵中华. 2003年全国小麦条锈病的流行特点及治理策略[J]. 中国植保导刊, 2004, 24(2): 16-18.
- [2] 赵文生, 徐世昌. 中国小麦条锈菌鉴别寄主维尔抗条锈性遗传分析[J]. 植物保护学报, 2005, 32(4): 348-352.
- [3] Lewellen R T, Sharp E L. Inheritance of minor reaction gene combinations in wheat to *Puccinia striiformis* at two temperature profiles[J]. Canadian Journal of Botany, 1968, 46: 21-26.
- [4] 王凤乐, 吴立人, 徐世昌, 等. 持久抗条锈小麦品种抗病性特点分析[J]. 植物保护, 1997, 23(3): 3-6.
- [5] Wan A, Zhao Z, Chen X, et al. Wheat stripe rust epidemic and virulence of *Puccinia striiformis* f. sp. tritici in China in 2002[J]. Plant Disease, 2004, 88: 896-904.

- [6] 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(3): 272-276.
- [7] Lewellen R T, Sharp E L, Hehn E R. Major and minor genes in wheat for resistance to *Puccinia striiformis* and their responses to temperature changes[J]. Canadian Journal of Botany, 1967, 45: 2155-2172.
- [8] 徐世昌, 张敬原, 赵文生, 等. 小麦条锈病重要抗源京核 8811 品系抗性遗传机制[J]. 植物保护学报, 2001, 28(4): 289-293.
- [9] 李振岐, 曾士迈. 中国小麦条锈病[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002.
- [10] Qayoum A H, Line R F. High temperature, adult-plant resistance to stripe rust of wheat[J]. Phytopathology, 1985, 75: 1121-1125.
- [11] 王利国, 商鸿生, 井金学. 高温抗条锈性小麦品种的筛选和鉴定[J]. 西北农业学报, 1995(1): 35-38.
- [12] Gerechter-Amitai Z K, van Silfhout C H. Race-specificity of temperature-sensitive genes for resistance to *Puccinia striiformis* in *Triticum dicoccoides*[J]. Euphytica, 1989, 43: 7-14.
- [13] Brown J F, Sharp E L. The relative survival ability of pathogenic types of *Puccinia striiformis* in mixtures[J]. Phytopathology, 1970, 60(7): 529-533.