

小麦赤霉病与 DON 积累的抗性及其相关 SSR 位点差异

张凯鸣^{1,3} 马鸿翔^{1,*} 陆维忠¹ 蔡志翔¹ 陈怀谷² 袁生³

(¹江苏省农业科学院农业生物技术研究所,江苏南京 210014; ²江苏省农业科学院植保研究所,江苏南京 210014; ³南京师范大学生命科学学院,江苏南京 210097)

摘要:以禾谷镰刀菌 (*Fusarium graminearum* Schwabe) 菌株进行穗部喷雾和单花滴注接种,评价了 10 个小麦抗源的赤霉病和脱氧雪腐镰刀菌烯醇(DON)积累抗性。结果表明,望水白、苏麦 3 号、延岗坊主、繁 60096 属于高抗品种,Frontana 表现感病,其余品种表现中抗。除 Frontana 外,所有抗源 DON 含量在 3 mg/kg 以下。不同接种方法间、不同致病菌株间的病小穗率和 DON 含量以及同一处理内的病小穗率和 DON 含量间呈极显著相关。利用与已报道的赤霉病抗性 QTL 相关 SSR 引物对供试材料进行 PCR 扩增,比较扩增产物等位点的差异,除 4B 染色体的 GWM113 标记外,其余标记在品种间具有 2~8 个等位点,多态信息含量为 0.14~0.85。单倍型分析表明,延岗坊主具有与望水白一致的 3B 主效 QTL 的 SSR 标记位点,扬麦 158 和新中长发分别在 2D 和 4B 上具有多个与武汉 1 号一致的抗性 QTL 相关 SSR 位点,翻山小麦在 3B 和 6B 上具有多个与苏麦 3 号或望水白一致的抗性 QTL 相关 SSR 位点,繁 60096 在 2D 上有多个与武汉 1 号一致的 QTL 相关 SSR 标记,而镇麦 7459 和温州红和尚与已报道的小麦赤霉病抗性多数 SSR 位点不一致,可能具有不同的抗性基因。

关键词:小麦;赤霉病;脱氧雪腐镰刀菌烯醇(DON);SSR

中图分类号: S512

Resistance to *Fusarium* Head Blight and Deoxynivalenol Accumulation and Allele Variation of Related SSR Markers in Wheat

ZHANG Kai-Ming^{1,2}, MA Hong-Xiang^{1,*}, LU Wei-Zhong¹, CAI Zhi-Xiang¹, CHEN Huai-Gu² and YUAN Sheng³

(¹Institute of Biotechnology, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, Jiangsu; ²Institute of Plant Protection, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, Jiangsu; ³College of Life Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, Jiangsu, China)

Abstract: *Fusarium* head blight (FHB), caused by *Fusarium graminearum* Schwabe, is an important worldwide wheat disease. Negative effects of the disease include not only reduction of grain yield quality, but also contamination with deoxynivalenol (DON) resulting in potential toxicity to human and livestock. Developing cultivars with FHB resistance is an effective measure to control the disease. Ten cultivars selected from the breeding program for FHB resistance in China were employed in the study for evaluating the resistance to FHB and DON accumulation by using different isolates and inoculation methods. In comparing with susceptible control Ningmai 6 and Annong 8455, the ten cultivars were classified to three groups with different resistance to FHB, including high resistant group (Wangshuibai, Sumai 3, Nobeokoubouzu and Fan 60096), moderate resistant group (Fanshanxiaomai, Wenzhouhongshang, Shinchunaga, Yangmai 158 and Zhen 7459) and susceptible cultivar (Frontana). The DON contents of all except Frontana were lower than 3 mg/kg. There were significant correlations between different isolates and inoculation methods for the scabbed spikelet rate and DON content. The scabbed spikelet rate was also significantly correlated to DON content in the same isolate and inoculation method. The selective cultivars were genotyped with SSR markers linked to FHB resistance QTL on chromosomes 2D, 3B, 4B, 5A and 6B identified previously. The SSR markers except GWM133 from 4B chromosome had PIC values of 0.14 to 0.85 and detected 2 to 8 alleles among 13 cultivars. The haplotype showed the same allele of related SSR on chromosome 3B was shared by Nobeokoubouzu and Wangshuibai. Yangmai 158 and Shinchunaga had similar SSR alleles to Wuhan 1 on chromosomes 2D and 4B, respectively. Most alleles from Fanshanxiaomai were the same as those from Sumai 3 or Wangshuibai. Most alleles of SSR related to QTL on 2D from Fan 60096 were similar to those from Wuhan 1. However,

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863 计划)(2003AA211040, 2002AA207003)和科技部国际合作重点项目(2004DFA01100)。

作者简介: 张凯鸣(1979-),男,硕士,从事抗小麦赤霉病遗传育种研究。

* 通讯作者(Corresponding author): 马鸿翔。E-mail: mahx@jass.ac.cn

Received(收稿日期): 2005-12-30; Accepted(接受日期): 2006-05-26.

only one or two alleles in Zhenmai 7459 and Wengzhouhongshang were the same as those of reported SSR markers associated with FHB resistance. The resistances in such cultivars were most likely derived from independent origin instead of Sumai 3, Wangshuibai and Wuhan 1.

Key words: *Triticum aestivum* L.; *Fusarium* head blight; Deoxynivalenol (DON); SSR

赤霉病是由禾谷镰刀菌 (*Fusarium graminearum* Schwabe) 引起的世界性病害。我国长江中下游、华南冬麦区及东北春麦区东部发病严重, 几乎每 4 年重发一次, 重发年份减产 20% ~ 40% 以上。黄淮麦区赤霉病的发生也日趋严重。目前我国小麦赤霉病发病面积已达全国小麦种植总面积的 1/4, 是全世界受害面积最大的国家^[1]。在北美平原, 20 世纪 90 年代以来由于气候和耕作制度的变化, 连续遭到大面积赤霉病的袭击, 损失达 10 亿美元以上^[2]。赤霉病后不仅严重影响小麦产量和品质, 而且感病麦粒还会受到以脱氧雪腐镰刀菌烯醇 (deoxynivalenol, DON) 为主的真菌毒素污染, 进而危害人畜安全^[3-4]。应用抗性品种是控制赤霉病危害的主要途径, 正确评价抗源对小麦赤霉病和 DON 积累的抗性对抗赤霉病品种选育具有重要意义。

近年来对苏麦 3 号、望水白等抗源的抗性 QTL 定位已有报道, 2D、3B、4B、5A、6B 染色体上存在效应不同的 QTL^[5-10]。利用 DNA 分子标记可以较好地探明全基因组或特定染色体区段的遗传变异, Bai 等^[11]、Liu 和 Anderson 等^[12]用 3B 短臂 QTL 附近的分子标记研究其他抗性品种是否带有类似 QTL, 以探讨不同抗源的抗性基因异同。我国赤霉病育种中常用的抗源是否与报道的赤霉病抗性 QTL 一致尚不明确。

研究选用目前在我国赤霉病抗性育种程序中应用较多的 10 个小麦抗源, 以致病力不同的禾谷镰刀菌菌株采用穗部喷雾和单花滴注接种, 鉴定接种后病小穗率和 DON 含量, 以系统了解这些材料在不同接种方法和致病菌株作用下赤霉病及 DON 积累抗性。同时, 利用赤霉病抗性 QTL 相关 SSR 引物对供试材料进行 PCR 扩增, 比较其等位位点的差异, 以探讨抗性基因的异同。从而为抗小麦赤霉病育种中抗性鉴定及抗源筛选提供依据。

1 材料与与方法

1.1 供试材料

选用我国育种中常用的 10 个赤霉病抗源为试验材料, 即望水白 (江苏地方品种)、温州红和尚 (浙

江地方品种)、翻山小麦 (福建地方品种)、苏麦 3 号 (Funoi/台湾小麦)、扬麦 158 (ND2419/Triumph//Axuan 2/3/St1472/506)、镇麦 7495 (复穗黄/友谊麦)、繁 60096 (荆州 1 号/苏麦 2 号)、延岗坊主 (日本地方品种)、新中 (Nakanaga 选系)、Funotana (Fronteira/Mentana), 以感病品种宁麦 6 号 (St1472/506//Funo) 和安农 8455 (NPFP73/安农 1 号) 为对照。

1.2 赤霉病评价及 DON 测定

将 F15 和 F34 禾谷镰刀菌菌株培养的分生孢子液过滤后稀释成含 5×10^3 孢子/mL 的溶液。采用两种接种方式, 单花滴注是在小麦初花期, 取第 7 小穗左侧注入 10 μ L 孢子液, 喷雾接种是在小麦盛花期用小型喷雾器向麦穗部均匀喷洒孢子液到饱和。接种时用塑料薄膜将接种麦穗与其他麦穗隔离, 接种后利用塑料大棚覆盖后弥雾保湿 3 d。于接种后第 7、14 和 21 天, 调查 3 次病小穗率。

取接种后 25 d 的麦穗, 保存在 -20°C , 进行 DON 毒素的测定。新鲜冷冻的病麦穗粉碎后在样品中加入 2 倍样品重量的乙腈水溶液 ($V_{\text{乙腈}}:V_{\text{水}} = 84 \text{ mL}/16$), 浸泡 2 h。各取 2 mL 上清液, 加入已平衡的活性炭、氧化铝、硅藻土柱 (1 cm \times 5 cm), 用 2 mL 乙腈水洗涤 2 次。从中取 2 mL 溶液封闭冷冻保存, 留待色谱分析。

色谱分析仪为 HP1100, 色谱柱为 Waters S5 ODS2 分析柱 (4.6 mm \times 250 mm), 进样量 10 μ L, 以不同量的纯品 DON (Sigma) 作标准曲线, 根据所测样品的吸光值计算其 DON 浓度。用甲醇水 (20/80) 作流动相, 流速 1 mL/min。紫外检测波长为 220 nm。

1.3 SSR 分析

DNA 的抽提参照文献 [13] 的 CTAB 法, DNA 浓度用 Hoefer TKO 100 Fluorometer 定量仪测定。武汉 1 号 DNA 由美国堪萨斯州立大学提供。

选用位于 2D、3B、4B、5A 和 6B 染色体上与小麦赤霉病抗性 QTL 相关的 33 对 SSR 引物作 PCR 扩增, 其中包括 BARC 引物 5 对^[14]、GWM 引物 15 对^[15] 和 WMC 引物 13 对^[16]。

PCR 反应总体积为 25 μ L, 含 1 \times buffer, 15 mmol/L MgCl_2 , 20 mmol/L dNTPs, 250 μ mol/L 引

物,40 ng DNA, 1 U *Taq* 酶。PCR反应在 MJ Research Thermal Cycler PTC 100PCR 仪上进行,样品 94℃ 预变性 2 min; 94℃ 变性 30 s, 49℃ 或 61℃ 退火 40 s, 72℃ 延伸 1 min, 35 个循环; 72℃ 延伸 5 min。扩增产物用 6% 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离, 银染观察。

每个样品相关 SSR 位点的不同等位变异在聚丙烯酰胺凝胶上表现为谱带, 统计相关 SSR 变异物不同等位位点数, 计算每个 SSR 位点的多态信息含量 (PIC)^[17], 公式为 $PIC = 1 - \sum P_i^2$ 。其中 P_i 为某个 SSR 位点的第 i 个等位变异出现频率占该位点全部等位变异出现频率。

2 结果与分析

2.1 单花滴注和孢子喷雾接种后的病小穗率及 DON 毒素含量

以单花滴注接种后第 21 天的病小穗率作为小麦品种对赤霉病的抗性指标, 品种间存在显著差异

(表 1)。不同菌株接种结果均以望水白抗性最强, 接种后 21 d 的病小穗率仅为 2.8% ~ 3.3%, 而安农 8455 病小穗率则达到 70.5% ~ 90.2%。我国和日本起源的抗源都显示较好的赤霉病抗性, 而巴西品种 Frontana 则与感病对照一样, 表现感赤霉病。对于致病力, F15 菌株显著强于 F34 菌株, 但供试品种间抗性高低在不同菌株间表现一致, 说明此 2 菌株对供试品种无致病特异性。供试品种赤霉病抗性高低顺序依次为望水白、苏麦 3 号、繁 60096、延岗坊主、翻山小麦、温州红和尚、新中长、镇 7495、扬麦 158、宁麦 6 号、Frontana 和安农 8455。从发病进程看, 抗感品种接种后第 7 天的病小穗率差异不明显。而此后 14 d 内感病品种的病小穗率迅速提高, 至 21 d 已达 51.6% ~ 90.2%, 而抗病品种则增加缓慢, 特别是望水白和苏麦 3 号在接种后 21 d 仅由 2.4% 和 2.7% 提高至 3.3% 和 3.5%。供试品种接种穗的 DON 含量为 0 ~ 41.1 mg/kg。

表 1 不同菌株单花滴注和孢子喷雾接种小麦病小穗率及 DON 含量
Table 1 Scabbed spikelet rate and DON content under SFI and SS inoculation with different isolates

接种方法 Inoculation method	品种 Cultivar	病小穗率 Scabbed spikelet rate (%)						DON 含量 DON content (mg/kg)	
		F15			F34			F15	F34
		7*	14	21	7	14	21		
SFI	望水白 Wangshuibai	2.4	3.1	3.3	2.2	2.3	2.8	0.79	0.00
	苏麦 3 号 Sumai 3	2.7	3.1	3.5	2.7	2.9	2.9	1.15	1.79
	延岗坊主 Nobeokabouzu	0.8	2.7	5.3	0.6	2.5	4.3	1.36	1.07
	繁 60096 Fan 60096	0.7	2.4	4.1	0.1	1.9	3.5	0.30	0.76
	翻山小麦 Fanshanxiaomai	2.4	3.1	5.4	2.2	2.9	4.5	2.66	1.07
	温州红和尚 Wenzhouhongshang	2.0	3.9	5.8	2.3	3.3	4.8	0.83	0.42
	新中长 Shinchunaga	6.0	6.8	11.0	1.4	3.3	5.4	0.97	1.14
	扬麦 158 Yangmai 158	4.5	15.7	22.9	2.3	3.2	8.1	0.80	0.82
	镇麦 7495 Zhenmai 7495	4.3	13.7	21.6	1.3	4.6	7.4	0.64	0.94
	Frontana	5.3	34.3	71.7	2.8	16.6	31.2	39.18	10.08
	宁麦 6 号 Ningmai 6	4.6	30.1	51.6	3.9	15.2	19.9	7.74	0.00
	安农 8455 Anong 8455	6.4	60.1	90.2	3.9	50.5	75.5	41.10	19.26
	SS	望水白 Wangshuibai	2.6	22.5	28.3	0.9	9.8	19.3	5.63
苏麦 3 号 Sumai 3		6.3	21.4	35.4	3.7	13.4	29.3	0.62	6.06
延岗坊主 Nobeokabouzu		8.7	28.0	44.6	8.2	22.2	31.0	1.04	0.00
繁 60096 Fan 60096		15.8	27.4	45.0	4.1	19.8	31.3	0.82	4.39
翻山小麦 Fanshanxiaomai		5.0	27.8	55.3	0.8	19.0	40.0	1.13	1.25
温州红和尚 Wenzhouhongshang		4.7	61.3	72.7	1.7	30.1	47.1	8.64	0.26
新中长 Shinchunaga		5.8	25.3	53.0	2.5	18.3	38.8	2.65	0.44
扬麦 158 Yangmai 158		6.6	34.4	59.3	2.1	19.7	41.5	5.98	3.16
镇麦 7495 Zhenmai 7495		7.4	27.9	47.1	4.1	14.0	32.7	8.82	1.28
Frontana		4.0	61.5	86.8	1.0	24.8	59.0	49.98	19.56
宁麦 6 号 Ningmai 6		5.9	42.1	82.9	3.9	19.4	57.0	41.40	16.44
安农 8455 Anong 8455		3.2	44.0	92.4	3.2	45.9	92.7	48.36	23.64

Note: SFI = single floret injection; SS = Spore spray. * The day after inoculation.

以孢子喷雾方法接种也以望水白抗性最强, 接种后第 21 天的病小穗率仅为 19.3% ~ 28.3%, 而感病品种安农 8455 达到了 92.4% ~ 92.7%。除

Frontana 外, 其余抗源的病小穗率均低于感病对照, 但病小穗率高于用单花滴注发生的。赤霉病抗性仍以望水白和苏麦 3 号抗性最好, 其余品种抗性强弱

的顺序依次为延岗坊主、繁 60096、镇 7495、新中长、翻山小麦、扬麦 158、温州红和尚。与单花滴注接种方法一样, F15 菌株的致病力强于 F34 菌株。从发病进程看, 抗感品种在 F15 接种后第 7 天病小穗率为 2.6% ~ 15.8%, 不同品种的病小穗率排序与第 21 天的鉴定结果有很大差异, 部分抗性品种的病小穗率高于感病品种。此后 14 d 内, 特别是最后 1 周感病品种的病小穗率迅速增加。而抗病品种的发病速度则较之缓慢。供试品种接种穗的 DON 含量为 0 ~ 49.98 mg/kg。

表 2 不同菌株、不同接种方法的病小穗率及 DON 值的相关

Table 2 Correlation coefficients between scabbed spikelet rate and DON content using different isolates and inoculation methods

性状 Trait	菌株 Isolate	单花滴注病小穗率 Scabbed spikelet rate by single floret injection	孢子喷雾 DON 含量 DON content by spore sprayed
单花滴注 DON 含量	F15	0.9338	0.8774
DON content by single floret injection	F34	0.9615	0.8076
孢子喷雾病小穗率	F15	0.8474	0.8805
Scabbed spikelet rate by spore sprayed	F34	0.9316	0.9615

Note: Correlation coefficients are significant at $P < 0.01$.

由表 2 还可以看出, 用同一菌株和相同接种方法, 接种后第 21 天的病小穗率和 DON 含量间也存在明显的相关。从 F15 和 F34 菌株及单花滴注和孢子喷雾接种方法的病小穗率和 DON 含量平均值看 (图 1), 接种后第 21 天赤霉病病小穗率鉴定中表现为感病的品种安农 8455、宁麦 6 号和 Frontana 与其他品种相比都具有较高的 DON 含量, 其他抗性品种的

2.2 不同接种方法、病小穗率及 DON 含量的关系

表 2 列出了同一性状在不同菌株或不同接种方式间以及同一菌株和同一接种方法下病小穗率和 DON 毒素含量的直线相关系数。接种后第 21 天病小穗率及病穗 DON 含量在接种方法之间均存在明显正相关。此结果表明, 尽管在发病严重程度上存在差异, 接种后 21 d 品种间相对抗性强弱在 2 种接种方法间表现一致, 即在单花滴注接种条件下表现出抗赤霉病的品种在孢子喷雾接种条件下同样也表现出类似的赤霉病抗性。

DON 含量均在 3 mg/kg 以下。所以通过对品种病小穗率的鉴定可大体上区分开对 DON 积累的抗性。但在对赤霉病表现为抗病的品种之间其病小穗率高低与 DON 含量表现则不尽一致, 繁 60096、延岗坊主、翻山小麦和新中长品种的病小穗率为 20% ~ 30%, 高于苏麦 3 号, 但其 DON 含量却低于苏麦 3 号。

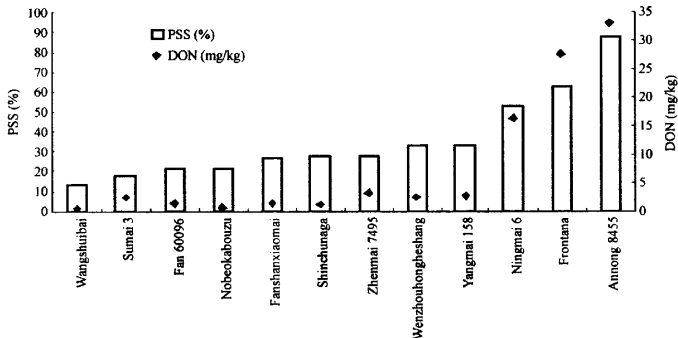


图 1 不同菌株和接种方法的病小穗率及 DON 值的综合表现

Fig. 1 Averages of scabbed spikelet rate and DON content in 12 wheat cultivars using two isolates and two inoculation methods

2.3 不同品种抗性 QTL 相关 SSR 标记等位点差异

以 2D、3B、4B、5A 和 6B 染色体上与赤霉病抗性

相关染色体区段的 SSR 标记在 13 个品种中扩增, 除 GWM113 外, 其余标记共扩增出 28 个等位点, 多

态信息含量 PIC 为 0.14 ~ 0.85(表 3)。以苏麦 3 号、望水白和武汉 1 号与赤霉病抗性相关 SSR 标记为对照,记载各品种相关带的出现与否,分析各品种单倍型(感病对照宁麦 6 号和安农 8455 未列入)。2D 染色体上 6 个标记将品种区别为 9 个单倍型,繁 60096 有 5 个标记与武汉 1 号一致,扬麦 158 有 4 个标记与其位点一致,其他品种仅有 2 或 2 个以下标记与其位点一致。3B 染色体的 6 个标记中,除延岗坊主与望水白表现一致外,其余品种间都不一致,尽管苏麦 3 号和望水白在此染色体都检测到抗性主效 QTL,但两者除 BARC075 外的 SSR 引物都扩增出不同的等位点。在其他品种中,翻山小麦有 4 个标记与苏麦 3 号一致。4B 染色体的 7 个标记将抗源

区分为 5 个单倍型,其中新中 4 号与武汉 1 号一致,其他品种多数标记与武汉 1 号不同。5A 染色体上的 6 个标记将供试品种区分为 6 个单倍型,其中翻山小麦有 5 个标记与苏麦 3 号一致,望水白、新中 4 号有 4 个标记与其一致。6B 染色体上的 8 个标记中,各品种的单倍型均不一致,5 个 SSR 标记的位点为望水白和苏麦 3 号共有,以此 5 个 SSR 引物对其他品种进行扩增,仅发现翻山小麦有 4 个与苏麦 3 号及望水白一致,而其余品种与其一致的标记都在 2 个以下。由表 3 还可以看出,Furontana 扩增的 SSR 带绝大多数与苏麦 3 号、望水白和武汉 1 号赤霉病抗性相关位点不同。

表 3 供试小麦品种赤霉病抗性相关 SSR 标记单倍型分析
Table 3 Haplotype of wheat cultivars at SSR alleles associated with FHB resistance

Chr.	Primer	Number of allele	PIC	Sumai 3	Wangshuibai	Wuhan 1	Noheokabouzu	Shinchunaga	Wenzhouhong-heshang	Fanshanxiaosmai	Zhen Yangmai 7495 158	Fan 60096	Frontana
2D	WMC144	3	0.54	—	—	Wu	—	—	—	—	—	Wu	—
	WMC245	2	0.43	—	—	Wu	—	—	—	—	—	Wu	—
	WMC601	6	0.72	—	—	Wu	—	Wu	Wu	—	—	Wu	Wu
	GWM157	4	0.56	—	Wu	Wu	Wu	—	—	—	Wu	Wu	—
	BARC228	2	0.26	Wu	Wu	Wu	Wu	—	—	Wu	Wu	Wu	Wu
	GWM539	5	0.70	Wu	—	Wu	—	Wu	—	—	—	Wu	Wu
3B	BARC075	3	0.38	SuWa	SuWa	—	SuWa	—	SuWa	SuWa	SuWa	—	SuWa
	GWM389	5	0.76	Su	Wa	—	Wa	—	Wa	Su	—	—	Wa
	GWM533	5	0.76	Su	Wa	—	Wa	—	—	Su	—	—	—
	BARC147	4	0.63	Su	Wa	Su	Wa	Wa	Wa	Su	Su	—	—
	GWM493	6	0.79	Su	Wa	—	Wa	—	—	Wa	—	Wa	—
	WMC754	6	0.80	Su	Wa	Su	Wa	—	—	—	Wa	—	—
4B	WMC710	2	0.14	Wu	Wu	Wu	Wu	Wu	Wu	Wu	Wu	—	Wu
	GWM165	4	0.69	—	—	Wu	—	Wu	Wu	—	Wu	—	Wu
	WMC238	8	0.83	—	—	Wu	—	Wu	—	—	—	—	—
	GWM113	—	—	Wu	Wu	Wu	Wu	Wu	Wu	Wu	Wu	Wu	Wu
	WMC048	4	0.70	—	—	Wu	—	—	—	—	—	—	—
	BARC020	8	0.84	—	—	Wu	—	—	—	—	—	—	—
GWM513	5	0.58	—	—	Wu	—	—	—	—	—	—	—	
5A	GWM304	3	0.27	Su	Su	—	Su	Su	Su	Su	Su	Su	—
	BARC117	6	0.80	Su	—	Su	—	—	—	—	—	—	—
	GWM129	4	0.60	Su	Su	—	—	Su	—	Su	—	—	—
	WMC705	8	0.85	Su	—	—	—	—	—	Su	—	—	—
	GWM415	3	0.27	Su	Su	Su	Su	Su	Su	—	Su	Su	—
	GWM293	3	0.46	Su	Su	—	Su	Su	Su	Su	Su	Su	—
6B	GWM518	8	0.84	Su	Wa	—	Su	—	—	Su	—	—	Wa
	WMC494	7	0.73	—	Wa	Su	Su	—	—	—	—	—	—
	GWM508	3	0.27	SuWa	SuWa	—	SuWa	—	SuWa	SuWa	SuWa	SuWa	—
	WMC398	5	0.73	SuWa	SuWa	SuWa	SuWa	—	—	SuWa	SuWa	—	—
	WMC105	6	0.79	SuWa	SuWa	—	—	—	—	SuWa	—	SuWa	—
	WMC397	6	0.80	SuWa	SuWa	—	—	—	—	SuWa	—	—	—
	WMC152	8	0.84	SuWa	SuWa	—	—	—	—	—	—	—	—
	GWM219	5	0.67	Su	Wa	Su	—	—	—	—	—	Su	Su

注: Su、Wa 和 Wu 分别代表相关 SSR 引物在苏麦 3 号、5A 和 6B 染色体上、望水白 3B 和 6B 染色体上及武汉 1 号 2D、4B 染色体上的扩增位点。

Note: Su, Wa and Wu represent the alleles of SSR from related regions on chromosomes 3B, 5A and 6B of Sumai 3, chromosomes 3B and 6B of Wangshuibai and chromosome 2D and 4B of Wuhan 1, respectively.

3 讨论

3.1 小麦赤霉病接种方法与抗初侵染及抗扩展

小麦品种对赤霉病的抗性至少涉及初期侵染的建立和病原菌侵占组织的速度。Schroeder 和 Christensen^[18]将小麦品种对赤霉病的抗性分为抗初侵染和抗扩展 2 种类型。王裕中等^[19]认为在生育期相似的品种间病穗率的差异显示小麦品种对赤霉病有不同程度的抗侵染力,而品种间对病害反应级大小则显示品种对病原菌抗扩展能力的强弱。后来的研究认为,区分这 2 种抗性类型取决于赤霉病的接种和评价方法,单花滴注以及在接种后若干天鉴定病小穗数或病小穗率是评价抗扩展类型的可靠手段,而孢子喷雾及统计若干天后的病小穗率可作为抗初侵染的鉴定方法,但至今尚未形成可靠的抗初侵染鉴定程序^[2]。本试验采用单花滴注和孢子喷雾 2 种接种方法,以了解小麦品种在不同处理下赤霉病发生进程及发病程度,试图以 2 种接种方法区分抗扩展和抗初侵染 2 种抗性类型。以接种后第 21 天的病小穗率为品种抗性指标,尽管孢子喷雾的病小穗率高于单花滴注接种处理,但在品种间并未表现出明显抗性差异,即无法区分抗扩展和抗初侵染。孢子喷雾接种后第 21 天的病小穗率不仅受小麦抗初侵染能力的影响,而且更重要的是受抗扩展能力影响,实质为 2 种抗性综合作用的结果。孢子喷雾接种后短期内的病小穗率是否可以作为初侵染的指标?从本试验对抗感品种接种后的第 7 天的病小穗率来看,孢子喷雾与单花滴注接种方法间存在较大差异,孢子喷雾在接种后第 7 天的病小穗率与接种后第 21 天相比,品种间表现出明显差异,因此孢子喷雾接种后短期内病小穗率可能反应品种的初侵染抗性,但仍需进一步试验孢子浓度和鉴定时间。事实上,小麦田间表现的赤霉病抗性是抗初侵染和抗扩展的综合作用结果,花期至收获有较长的发病时期,因此抗扩展性显得更为重要^[2]。小麦抗性育种中重要的是建立一套可靠的鉴定方法以确定品种或品系对赤霉病抗性,并且与田间的抗性表现一致。本试验通过不同菌株和孢子喷雾、单花滴注 2 种不同接种方法的研究,认为利用强致病菌株采用单花滴注方法在接种后第 21 天鉴定病小穗率可以较好地分开不同程度抗性的材料,采用孢子喷雾方法所得的发病率过高,不易区分高抗和中抗类型,采用弱致病菌株则会将会中抗或中感材料混入高抗材料。

3.2 小麦品种对赤霉病及 DON 毒素积累的抗性

综合不同菌株接种方法的赤霉病抗性鉴定结果,包括对照在内的 12 个供试品种可以分为 3 类,望水白、苏麦 3 号、延岗坊主和繁 60096 属于高抗品种;翻山小麦、温州红和尚、新中长、扬麦 158 和镇 7495 属于中抗品种;Frontana、宁麦 6 号、安农 8455 则属于感病品种。高抗品种以不同菌株和接种方法接种其赤霉病抗性顺序在供试品种中均居前 4 位,中抗品种的病小穗率顺序在不同处理中有所不同。Frontana 为引自巴西的抗赤霉病品种,Steiner 等^[20]报道其具有抗侵染特性。王裕中等^[19]认为其田间小穗发病率不高,但病菌一旦侵入,在穗内扩展迅速,不具备对病原菌的抗扩展能力。本研究以 2 个不同致病力的禾谷镰刀菌菌株在 2 种接种方式下都未表现出对赤霉病的抗性,Bai 等在美国 Kansas State University 对 200 多份来源于世界各地的抗赤霉病小麦品种接种鉴定也发现 Frontana 表现为感病(个人通讯)。对 Frontana 开花习性观察表明,其从抽穗到开花时间较短,小花开颖到闭颖时间较短,开花时颖角张度较小,因而在田间孢子密度不大的情况下发病轻,而在人工接种时则难以表现出赤霉病的抗性。对 Frontana 的抗性评价仍有待不同条件下的重复试验才能得出可靠的结论。

感染赤霉病麦粒受到 DON 污染后,会对人畜健康产生不良影响,抗 DON 毒素积累在小麦赤霉病育种中的地位越来越重要,美国、加拿大和欧洲国家确定的食用麦粒 DON 最高值为 0.5~2 mg/kg^[21],但这一标准在包括中国在内的发展中国家仍未受到应有的重视。已往研究表明 DON 毒素积累在品种间存在大的遗传变异^[4,21-22]。在本试验中,供试品种在不同菌株和不同接种方法条件下 DON 含量为 0~49.98 mg/kg,品种间表现出较大的差异,病小穗率较低的抗赤霉病品种也表现出抗 DON 毒素积累,其 DON 积累值均在 3 mg/kg 以下,明显区别于感病品种,试验所确定的我国和日本起源的赤霉病抗源同样可在抗 DON 毒素积累育种中加以应用。Miller 等^[22]报道感病品种的 DON 含量较抗病品种高 80%,Mirocha 等^[4]认为抗性品种具有较低的 DON 值,Bai 等^[22]也认为品种病小穗率与 DON 积累呈正相关。由于 DON 测定较为繁琐和费力,而病小穗率与 DON 积累的存在明显相关关系,因此在小麦抗赤霉病育种中对低病小穗率的选择实质上也是对低 DON 毒素积累的间接选择。抗赤霉病品种之间的

病小穗率高低与 DON 积累表现可能不一致,中抗品种可能具有较低 DON 值,但并不影响以低病小穗率作为 DON 间接选择指标在育种过程中的应用。

3.3 不同品种赤霉病抗性基因的异同

近年来已对苏麦 3 号、望水白、武汉 1 号等我国起源小麦赤霉病抗源的抗性 QTL 进行了分子标记定位,苏麦 3 号是江苏省农业科学院太湖地区农科所利用 Funo/台湾小麦育成的抗赤霉病品种,其 3B、5A 和 6B 染色体上分别带有抗性 QTL^[5-6]。望水白是江苏溧阳的地方品种,其 3B 和 6B 上带有抗性 QTL^[8-10]。武汉 1 号是自武汉引入国际玉米小麦改良中心(CIMMYT)经复合杂交并鉴定选出的抗赤霉病材料,其染色体 2D 和 4B 上带有抗性 QTL^[7]。本试验利用与上述赤霉病抗性 QTL 所在染色体区段相关的 33 个 SSR 分子标记分析了供试品种的 SSR 等位点差异及各品种的单倍型,以探讨小麦品种是否携有相似的抗性基因或 QTL。SSR 标记单倍型一致的品种很可能携有相同的抗性基因或抗性 QTL^[12],延岗坊主 3B 染色体主效 QTL 相关 SSR 标记扩增结果显示,其具有与望水白完全一致的等位点,表明延岗坊主在 3B 上很可能带有与望水白一致的赤霉病抗性基因。扬麦 158 在 2D 染色体上 SSR 引物扩增产物有 4 个与武汉 1 号一致,可能在 2D 染色体上带有与武汉 1 号一致的抗性基因。新中长在 4B 染色体 QTL 上有 4 个 SSR 标记与武汉 1 号一致,说明可能具有与武汉 1 号类似 4B 抗性基因。翻山小麦在染色体 3B 上有 4 个 SSR 标记与苏麦 3 号抗性 QTL 相关标记位点一致,在 6B 上有 4 个标记与苏麦 3 号及望水白抗性 QTL 相关标记具一致的扩增位点,说明在染色体 3B 上有可能带有与苏麦 3 号一致的抗性基因,6B 上带有与苏麦 3 号、望水白一致的抗性基因。繁 60096 在 2D 上有 5 个与武汉 1 号一致的标记,可能在 2D 染色体上带有与武汉 1 号一致的抗性基因。镇麦 7459 和温州红和尚虽然表现出较好的赤霉病抗性,但在 2D、3B、4B、5A 和 6B 上抗性 QTL 相关 SSR 位点分析中,每条染色体上与抗性位点相同的标记均不超过 3 个,因此其抗性基因可能不同于苏麦 3 号、望水白或武汉 1 号。此外,已报道的武汉 1 号 2D 和 4B 上的 QTL 效应值低于 3B、5A 和 6B 上的 QTL,仅能解释较低的表现变异,其 R^2 分别为 9% 和 12%,而且并未同时在温室和田间检测出^[7],因此扬麦 158、繁 60096 和新中长还可能带有其他抗性基因。

4 结论

供试品种中,望水白、苏麦 3 号、延岗坊主、繁 60096 属于高抗,Frontana 表现感病,其余表现中抗。除 Frontata 外,所有抗源 DON 含量在 3 mg/kg 以下。不同接种方法间、不同致病菌株间的病小穗率和 DON 含量以及同一处理内的病小穗率和 DON 含量间呈极显著相关。利用与已报道的赤霉病抗性 QTL 相关 SSR 引物对供试材料进行 PCR 扩增,比较扩增产物等位点的差异,除 4B 染色体的 GWM113 标记外,其余标记在品种间具有 2~8 个等位点,多态信息含量为 0.14~0.85。单倍型分析表明,延岗坊主具有与望水白一致的 3B 主效 QTL 的 SSR 标记位点,扬麦 158 和新中长在 2D 和 4B 上具有多个与武汉 1 号一致的抗性 QTL 相关 SSR 位点,翻山小麦在 3B 和 6B 上具有多个与苏麦 3 号或望水白一致的抗性 QTL 相关 SSR 位点,繁 60096 在 2D 上有多个与武汉 1 号一致的 QTL 相关 SSR 标记,而镇麦 7459 和温州红和尚与已报道的小麦赤霉病抗性多数 SSR 位点不一致。

References

- [1] Yao J-B (姚金保), Lu W-Z (陆维忠). Progress on the breeding for wheat scab resistance in China. *J Jiangsu Agric* (江苏农业学报), 2000, 16(4): 242-248 (in Chinese with English abstract)
- [2] Bai G H, Shaner G. Management and resistance in wheat and barley to fusarium head blight. *Annu Rev Phytopathol*, 2004, 42: 135-161
- [3] McMullen M, Jones R, Gallenberg D. Scab of wheat and barley: a re-emerging disease of devastating impact. *Plant Dis*, 1997, 81: 1340-1348
- [4] Mirocha C J, Xie W P, Xu Y C, Wilcoxson R D, Woodward R H, Eteberia R H, Begele G. Production of trichothecene mycotoxins by *Fusarium graminearum* and *Fusarium culmorum* on barley and wheat. *Mycopathologia*, 1994, 128: 19-23
- [5] Anderson J A, Stack R W, Liu S, Waldron B L, Field A D, Coyne C, Moreno-Sevilla B, Mitchell Fetch J, Song Q J, Cregan P B, Froberg R C. DNA markers for Fusarium head blight resistance QTLs in two wheat populations. *Theor Appl Genet*, 2001, 102: 1164-1168
- [6] Buerstmayr H, Lemmens M, Hartl L, Doldi L, Steiner B, Stierschneider M, P Ruckebauer. Molecular mapping of QTLs for Fusarium head blight resistance in spring wheat: I. Resistance to fungal spread (type II resistance). *Theor Appl Genet*, 2002, 104: 84-91
- [7] Somers D J, Fedak G, Savard M. Molecular mapping of novel genes controlling Fusarium head blight resistance and deoxynivalenol accumulation in spring wheat. *Genome*, 2003, 46: 555-564
- [8] Zhou W C, Kolb F L, Bai G H, Shaner G E, Dozier L L. Genetic

- analysis of scab resistance QTL in wheat with microsatellite and AFLP markers. *Genome*, 2002, 45:719-727
- [9] Zhang X, Zhou M, Ren L, Bai G, Ma H, Scholten O E, Guo P, Lu W. Molecular characterization of Fusarium head blight resistance from wheat cultivar Wangshuibai. *Euphytica*, 2004, 139: 59-64
- [10] Lin F, Kong Z X, Zhu H L, Xu S L, Wu J Z, Tian D G, Wei J B, Zhang C Q, Ma Z Q. Mapping QTL associated with resistance to Fusarium head blight in the Nanda 2419 × Wangshuibai population: I. Type II resistance. *Theor Appl Genet*, 2004, 109: 1504-1511
- [11] Bai G H, Guo P G, Kolb F L. Genetic relationships among head blight resistant cultivars of wheat assessed on the basis of molecular markers. *Crop Sci*, 2003, 43:498-507
- [12] Liu S, Anderson J A. Marker assisted evaluation of Fusarium head blight resistant wheat germplasm. *Crop Sci*, 2003, 43:760-766
- [13] Saghai-Marouf M A, Solima K M, Jorgenson R A, Allard R W. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1984, 81: 8014-8018
- [14] Song Q J, Shi J R, Singh S, Firkus E W, Costa J M, Lewis J, Gill B S, Ward R, Cregan P B. Development and mapping of microsatellite (SSR) markers in wheat. *Theor Appl Genet*, 2005, 110: 550-560
- [15] Röder M S, Korzun V, Wendehake K, Plaschke J, Tixier M H, Leroy P, Galal M W. A microsatellite map of wheat. *Genetics*, 1998, 149: 2007-2023
- [16] Somers D J, Isaac P, Edwards K. A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet*, 2004, 109: 1105-1114
- [17] Bostein D, White R L, Skolnick M, Davis R W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am J Hum Genet*, 1980, 32:314-331
- [18] Schroeder H W, Christeussen J J. Factors affecting resistance of wheat to scab caused by *Gibberella zeae*. *Phytopathology*, 1963, 53:831-838
- [19] Wang Y-Z (王裕中), Yang X-N (杨新宁), Xiao Q-P (肖庆璞). The improvement of identification technique of scab resistance of wheat and the development of resistance sources. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 1982, 15(4): 67-77 (in Chinese with English abstract)
- [20] Steiner B, Lemmens M, Griesser M, Scholz U, Schondelmaier J, Buerstmayr H. Molecular mapping of resistance to Fusarium head blight in the spring wheat cultivar Frontana. *Theor Appl Genet*, 2004, 109: 215-224
- [21] Snijders C H A. Fusarium head blight and mycotoxin contamination of wheat: a review. *Neth J Plant Pathol*, 1990, 96: 187-198
- [22] Miller J D, Young J C, Sampson D R. Deoxynivalenol and Fusarium head blight resistance in spring cereals. *Phytopathology*, 1985, 113: 359-367
- [23] Bai G H, Plattner R, Desjardins A, Kolb F. Resistance to Fusarium head blight and deoxynivalenol accumulation in wheat. *Plant Breed*, 2001, 120: 1-6

欢迎订阅 2007 年《作物学报》

《作物学报》是中国科学技术协会主管、中国作物学会和中国农业科学院作物科学研究所共同主办、科学出版社出版的有关作物科学的全国性学术刊物。前身可追溯到 1950 年中国农业科学院的前身华北农业科学研究所创办的《中国农业研究》，1952 年更名为《农业学报》，1962 年改名为《作物学报》。主要刊登农作物遗传育种、耕作栽培、生理生化、生态、种质资源、谷物化学、贮藏加工以及与农作物有关的生物技术、生物数学、生物物理、农业气象等领域以第一手资料撰写的学术论文、研究报告、简报以及专题综述、评述等。读者对象是从事农作物科学研究的科技工作者、大专院校师生和具有同等水平的专业人士。

《作物学报》从 2000 年起连续 3 次获“国家自然科学基金重点学术期刊专项基金”的资助，是我国连续 3 次获得资助的 15 种期刊之一。从 1997 年起连续 9 年获得中国科协“择优支持基础性和高科技学术期刊专项资助经费”的资助。2006 年获“中国科协精品科技期刊工程项目(B类)”资助。从 2002 年起连续 4 年被中国科技信息研究所授予“百种中国杰出学术期刊”称号。2005 年 2 月获“第三届国家期刊奖提名奖”。据北京大学图书馆编著的《中文核心期刊要目总览(2004 年版)》登载,《作物学报》被列在“农学、农作物类核心期刊表”的首位。

《作物学报》为月刊,2007 年 176 页/期,定价:38 元/册,全年 456 元。可通过全国各地邮局订阅,刊号:ISSN 0496-3490, CN 11-1809/S, 邮发代号:82-336。也可向编辑部直接订购。

编辑部地址:北京市海淀区中关村南大街 12 号 中国农科院作物所《作物学报》编辑部(邮编 100081)

联系电话:010-68918548;传真:010-68975562;E-mail:xbzw@chinajournal.net.cn

《作物学报》网址: <http://www.chinacrops.org/zwb/>, 向读者免费提供“最新录用”、“下期”、“当期”及“过刊”全文, 有在线投稿、在线审稿、作者在线查询、远程编辑和在线订阅等功能。