

蔡瑾,张巧凤,付必胜,等. 优质高产抗病小麦新品种宁麦资 518 的选育与分子鉴定[J]. 江苏农业科学,2023,51(21):50-54.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2023.21.008

优质高产抗病小麦新品种宁麦资 518 的选育与分子鉴定

蔡瑾,张巧凤,付必胜,郭炜,翟文玲,刘颖,吴小有,吴纪中

(江苏省农业科学院种质资源与生物技术研究所,江苏南京 210014)

摘要:针对淮南麦区小麦品种同质化日趋严重的现状,本研究配制了资 02-193/扬麦 15//Tabasco 的复交组合,利用分子标记辅助育种与常规育种相结合的方法,经系谱法培育出了优质高产抗病小麦新品种——宁麦资 518(参试名:宁麦资 15318)。通过紧密连锁的分子标记鉴定到该品种中含有白粉病抗性基因 *Pm48* 和赤霉病抗性基因 *QFhs.crc-2DL*。2017—2019 年在江苏省淮南组区域试验中,2 年区试平均产量 508.39 kg/667 m²,较对照扬麦 20 增产 5.83%。宁麦资 518 株高 81 cm 左右,有效穗数为 32.0 万穗/667 m²,穗粒数 36.1 粒,千粒质量 48.4 g。该品种春性、中熟,分蘖能力较强,穗密度较高,结实率高,千粒质量较高,产量三要素协调,产量高,综合抗病性较强。宁麦资 518 分别于 2020 年和 2021 年通过江苏省审定,并获得国家植物新品种权,该品种适合在江苏省淮南麦区种植。

关键词:小麦;产量;抗病;分子标记辅助育种;宁麦资 518

中图分类号:S512.103 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2023)21-0050-05

江苏的麦作区以淮河为界分为淮北和淮南 2 个麦区,从 20 世纪 60 年代以来,小麦品种均经历了至少 7 次更换,产量潜力和抗虫抗病水平不断提升^[1-2]。然而,近阶段淮南麦区育成小麦品种同质化愈发突出,这主要归咎于育种亲本的选用上。目前,育种家主要采用育成品种或品系,以及其中间材料作为育种亲本,然而由于难以克服的“连锁累赘”等原因,甚少涉及小麦地方品种、国外引进品种或近缘野生种等特异性种质。育种中在亲本选用上主要以宁麦 13、镇麦 168 等骨干亲本及其育种中间材料为亲本,导致遗传基础日趋狭窄^[3]。因此,特异性种质的运用是解决淮南麦区小麦育种同质化的重要手段之一。

小麦赤霉病又被称为“小麦癌症”,是由禾谷镰刀菌(*Fusarium graminearum* Schwabe)引起的小麦穗部主要病害之一,不仅会引起小麦的严重减产,而且能产生对人畜健康构成严重危害的呕吐毒素[以脱氧雪腐镰刀菌烯醇(DON)为主],从而对小麦

的生产和食品安全构成严重威胁。利用赤霉病抗病基因,通过分子育种法培育小麦赤霉病抗性品种是目前最经济、环保且持续有效的赤霉病防治措施^[2,4-5]。小麦白粉病也是生产中最常见的病害之一,病害主要发生于叶片,由布氏白粉菌引起,会造成小麦的产量显著下降,然而由于其生理小种众多,毒性变异频率快等原因,造成大部分抗病品种在几年的大规模推广与生产后丧失抗性^[3]。近年来在生产上较受欢迎的小麦品种不仅成穗偏多,穗粒数和千粒质量较高,株高较矮,也需要具有较强的抗病性^[6-8]。本研究采用分子标记辅助选择与常规育种相结合的方法,运用引自德国的超高产、抗叶锈病、白粉病小麦品种 Tabasco,育成了高产抗病广适性的小麦新品种宁麦资 518(曾用名:宁麦资 15318),在淮南小麦新品种中间试验中表现出高产稳产、抗病、综合农艺性状好、适应范围广等特点,符合目前淮南麦区小麦生产的需求,于 2020 年 12 月通过江苏省农作物审定委员会批准审定(审定编号:苏审麦 20200001),于 2021 年 6 月获得国家植物新品种权。本研究介绍了该品种的选育过程,特征特性及其高产栽培技术,以期充分利用其优点,加快推广应用,促进江苏省淮南麦区小麦产业的发展。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

资 02-193(陕 1868//Comptan/扬麦 6 号)是笔

收稿日期:2022-01-11

基金项目:国家重点研发计划(编号:2021YFD1200601-05);国家自然科学基金青年基金项目(编号:32101792);江苏省农业科技自主创新资金[编号:CX(20)3001]。

作者简介:蔡瑾(1985—),女,江苏南京人,博士,副研究员,主要从事小麦种质资源研究。E-mail:caijin@jaas.ac.cn。

通信作者:吴纪中,硕士,研究员,主要从事小麦种质资源研究。

E-mail:wujz@jaas.ac.cn。

者所在单位 2002 年通过常规育种方法创制的抗赤霉病新种质,其株型形态较紧凑,抗倒伏性较好,熟期较早且熟相佳,籽粒半角质、红粒、饱满,赤霉病发病较轻,但不抗白粉病和纹枯病。扬麦 15 是江苏省里下河研究所于 2000 年育成的小麦品种,其株型紧凑,坚韧抗倒,曾是长江中下游地区主推的弱筋小麦品种,该品种分蘖力强,耐肥抗倒,但抗病性稍弱^[9-11]。Tabasco 是笔者所在单位引自德国的高产、抗白粉病的冬小麦品种,其携带有抗白粉病基因 *Pm48*,但其生育期迟且感赤霉病^[3]。

1.2 DNA 提取与基因型分析

植株 3 叶期时,每个单株取适量叶片组织,采用十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)法,提取叶片组织 DNA。再利用与白粉病抗性基因 *Pm48* 紧密连锁的分子标记 *cfld1* (F: 5' - TATccccAATccccTcTTTc - 3'; R: 5' - gTcAATTgTggcTTgTcccT - 3')^[3],对杂交后代进行前景选择;以及与赤霉病抗性位点 *QFhs.crc - 2DL* 紧密连锁的分子标记 *Xgwm539* (F: 5' - cTgcTcTAAgATTcATgcAAcc - 3'; R: 5' - gAggcTTgTgcvcTcvTgTAg - 3')^[10-11]对亲本及杂交后代进行分析。PCR 反应体系为 10 μ L,包含 5 μ L 2 \times TSINGKE[®] T5 Super PCR Mix、各 0.4 μ L 10 μ mol/L 上下游引物,20 ng DNA 模板,用 ddH₂O 补足至 10 μ L。PCR 扩增程序:95 $^{\circ}$ C 预加热 3 min,使模板充分变性;然后进入 3 步循环法:95 $^{\circ}$ C 变性 30 s,退火温度 30 s,72 $^{\circ}$ C 保持 30 s(延伸),循环 35 次;最后 72 $^{\circ}$ C 保持 10 min,使产物延伸完整。采用 8% 聚丙烯酰胺凝胶电泳检测 PCR 产物。

2 结果与分析

2.1 抗白粉病单株的分子标记辅助选择

用与白粉病抗性基因 *Pm48* 紧密连锁的分子标记 *Xcfld1* 对杂交 F₂ 代育种材料进行筛选^[3],F₂ 单株的扩增结果显示具有 *Pm48* 基因的 F₂ 代单株在 259 bp 处有 DNA 特异性扩增条带。在 1 763 株 F₂ 代单株中,筛选到含有 *Pm48* 的抗病单株 1 192 株(包含抗性纯合与杂合),对无 *Pm48* 抗性条带的单株予以淘汰。基因型分析结果表明,F₂ 代植株的白粉病抗感比例约为 3 : 1,符合单基因遗传规律。将筛选到的 1 192 个含有 *Pm48* 基因的抗病单株移入大田进行白粉病抗性鉴定,其中 18 个植株感白粉病,予以淘汰。然后严格按照矮秆、早熟、丰产、兼抗等标准对余下的 1 174 个抗病单株进行综合评

价,共选择了 505 个综合性状良好的单株进入下一轮选择。2011 年 10 月,将选中的 F₂ 代单株以穗行播种,按编号将 F₃ 代系与 F₂ 代单株一一对应,并对 F₃ 代穗行进行 *Pm48* 基因的分子标记检测,对于不含有 *Pm48* 基因的品系予以淘汰,而含有 *Pm48* 基因的品系(包括纯合与杂合)予以保留。结合农艺性状和兼抗性,共选出 202 个 F₃ 代品系进行夏播加代。2012—2014 年,运用系谱法从分离世代中选择丰产且抗病的优异分离后代,于 2014 年通过分子标记选择 *Pm48* 纯合抗性植株,并于 2014 年、2015 年连续 2 年对这些材料进行品质检测、抗病性鉴定与农艺性状考察,从中鉴定出抗病、品质优、丰产性好的小麦创新种质 4 份,其中,田间编号为 318 的品系表现较为突出,其增产幅度大、综合抗病性好,于 2016 年推荐参加江苏省淮南小麦新品种预备试验以及随后的中间试验,其参试名称为宁麦资 15318。2020 年 6 月份完成所有中间试验环节,12 月通过江苏省农作物品种审定委员会审定并定名为宁麦资 518。2021 年 6 月获得国家植物新品种权。其品种选育过程见图 1。



图1 宁麦资 518 的选育过程

2.2 宁麦资 518 及其系谱抗白粉病、赤霉病分子标记的检测

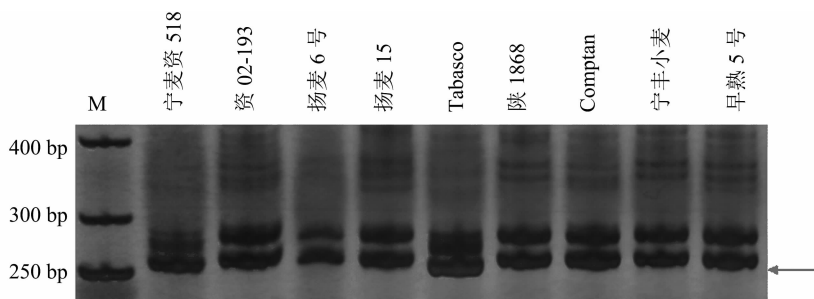
本研究通过与白粉病抗性基因 *Pm48* 紧密连锁

的分子标记,和与赤霉病抗性基因 *QFhs.crc-2DL* 紧密连锁的分子标记,对宁麦资 518 及其系谱品种进行抗原基因来源的分析(表 1、图 2)。使用 *Pm48* 基因紧密连锁的分子标记 *Xcfd81* 对宁麦资 518 及其系谱进行检测发现,宁麦资 518 与其白粉病抗原亲本 Tabasco 均在 259 bp 处扩增出目标片段(图 2-a),而其他系谱亲本均不含有此目标片段,说明宁麦资 518 含有 *Pm48* 基因,且来源于 Tabasco。使用 *QFhs.crc-2DL* 紧密连锁的分子标记 *Xgwm539* 对宁麦资 518 及其系谱以及抗病对照苏

麦 3 号进行检测发现,宁麦资 518 和扬麦 15 均能够扩增出 *QFhs.crc-2DL* 基因的特异性条带,而亲本资 02-193 和 Tabasco 均未扩增出 *QFhs.crc-2DL* 基因的目标片段(图 2-b),因此,宁麦资 518 含有 *QFhs.crc-2DL* 基因,且来源于亲本扬麦 15。

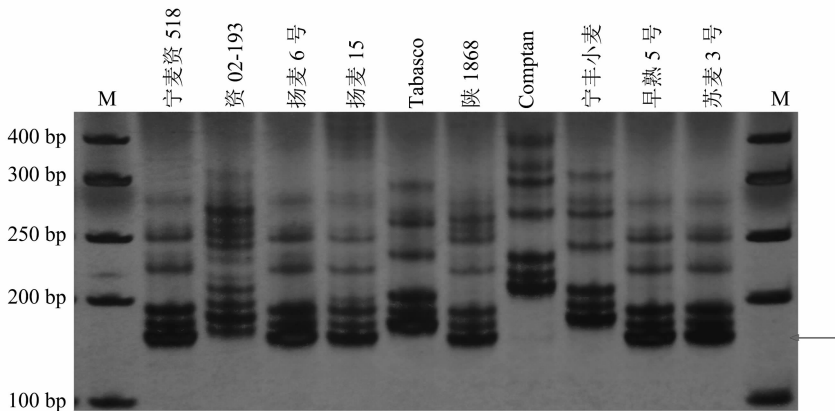
表 1 宁麦资 518 的系谱及其相关亲本

品种	系谱
宁麦资 518	资 02-193/扬麦 15//Tabasco
资 02-193	陕 1868//Comptan/扬麦 6 号
扬麦 6 号	宁丰小麦/早熟 5 号



M—DNA marker; 箭头表示 *Pm48* 基因的特异性扩增条带

a. 与白粉病抗性基因 *Pm48* 紧密连锁的分子标记 *Xcfd81* 在宁麦资 518 及其系谱亲本中的扩增结果



箭头表示 *QFhs.crc-2DL* 基因的特异性扩增条带

b. 与赤霉病抗性基因 *QFhs.crc-2DL* 紧密连锁的分子标记 *Xgwm539* 在宁麦资 518 及其系谱亲本中的扩增条带

图 2 宁麦资 518 系谱品种分子标记检测结果

2.3 宁麦资 518 品种特征

宁麦资 518 属春性中熟类型,幼苗半直立,叶片宽窄中等,叶色绿。株高约 81 cm,株型为紧凑型,茎秆粗壮且有弹性、抗倒伏性较好,整体穗层整齐。护颖白色、椭圆形、无绒毛。穗状呈纺锤形,芒长、壳白、籽粒红色、半角质、饱满。区试平均结果为全生育期 208.7 d,较对照扬麦 20 早熟 1 d,有效穗数为 32.0 万穗/667 m²,每穗 36.1 粒,千粒质量为 48.4 g,成穗率为 48.1%。

2.4 宁麦资 518 综合抗性

宁麦资 518 在 2017—2019 年江苏省淮南小麦区域试验中,田间表现赤霉病轻、抗穗发芽、生育期中熟偏早。依托江苏省农业科学院植物保护研究所对宁麦资 518 2 年的接种鉴定,结果表明:2017 年该品种对白粉病免疫(IM)、高抗条锈病(HR)、中抗赤霉病(严重度为 1.0;自然发病病情指数为 4.5)、中抗黄花叶病(MR)、中感叶锈病(MS)、感纹枯病(S);2018 年中抗赤霉病(严重度为 2.2;自然发病

病情指数为 0.0)、感黄花叶病(S)、高感纹枯病(HS)、高感白粉病(HS)、高感条锈病(HS)、高感叶锈病(HS)(表 2)。经江苏省农业科学院种质资源与生物技术研究所 2 年抗穗发芽鉴定,结果表明:

2017 年抗穗发芽(R)、2018 年高抗穗发芽(HR)。2 年综合抗性鉴定试验结果表明,宁麦资 518 中抗赤霉病、抗穗发芽、感黄花叶病毒病,对纹枯病、白粉病、条锈病、叶锈病高感(表 2)。

表 2 宁麦资 518 和对照品种扬麦 20 的病害鉴定抗性评价结果

年份	品种	抗性等级						
		赤霉病	纹枯病	白粉病	黄花叶病	穗发芽	条锈病	叶锈病
2016—2017	宁麦资 518	MR	S	IM	MR	R	HR	MS
	扬麦 20	MR	MS	HS	MR	HR	HR	MS
2017—2018	宁麦资 518	MR	HS	HS	S	HR	HS	HS
	扬麦 20	MR	S	S	MS	HR	MS	MS
2 年综合评价	宁麦资 518	MR	HS	HS	S	R	HS	HS
	扬麦 20	MR	S	S	MS	HR	MS	MS

注:IM 为免疫;HR 为高抗;R 为抗;MR 为中抗;MS 为中感;S 为感病;HS 为高感。

2.5 宁麦资 518 的籽粒品质

在江苏省小麦区域试验中,由种子管理站统一抽取样本,送农业农村部谷物及制品质量监督检验测试中心(哈尔滨)进行品质鉴定。经检验,宁麦资 518 2 年容重分别为 794、818 g/L,粗蛋白(干基)含量分别为 14.9%、14.0%,湿面筋含量分别为

30.0%、29.4%,稳定时间分别为 4.2、3.6 min,吸水量为 56.7、58.5 mL/100 g,最大拉伸阻力分别为 236(Rm,135)、215(Rm,135) E. U.,拉伸面积分别为 56、47 cm²,硬度指数分别为 50.8、53.9(表 3)。2018 年与 2019 年 2 年检测结果均达国家级品种审定优质中筋小麦品种标准。

表 3 宁麦资 518 和对照品种扬麦 20 的品质检测结果

年份	品种	容重(g/L)	粗蛋白含量(干基,%)	湿面筋含量(%)	吸水量(mL/100 g)	稳定时间(min)	最大拉伸阻力(E. U.)	拉伸面积(cm ²)	硬度指数
2017—2018	宁麦资 518	794.0	14.9	30.0	56.7	4.2	236.0	56.0	50.8
	扬麦 20	794.0	13.7	28.0	55.6	3.2	252.0	59.0	48.6
2018—2019	宁麦资 518	818.0	14.0	29.4	58.5	3.6	215.0	47.0	53.9
	扬麦 20	815.0	13.1	28.4	51.5	2.6	158.0	37.0	50.0
2 年结果平均值	宁麦资 518	806.0	14.5	29.7	57.6	3.9	225.5	51.5	52.4
	扬麦 20	804.5	13.4	28.2	53.6	2.9	205.0	48.0	49.3

2.6 产量及其适应范围

宁麦资 518 于 2017—2019 年参加江苏省小麦区域试验(淮南组),其中,2017—2018 年,平均产量为 478.00 kg/667 m²,与对照品种扬麦 20 相比增产 7.65%,差异极显著,11 个试点全部增产,增产点占比为 100.00%;2018—2019 年,平均产量为 538.78 kg/667 m²,比对照扬麦 20 增产 4.01%,差

异极显著,12 个试点 9 个增产 3 个减产。宁麦资 518 2 年区试的平均产量为 508.39 kg/667 m²,较对照品种扬麦 20 增产 5.83%,高产稳产特性突出(表 4)。

2019—2020 年参加江苏省淮南生产试验,13 个试点中 12 个增产 1 个减产,平均产量为 517.56 kg/667 m²,比对照品种扬麦 20 增产 5.67%(表 4)。

表 4 宁麦资 518 在江苏省淮南区小麦新品种中间试验产量情况汇总

年份	试验组别	产量(kg/667 m ²)	较对照增产比例(%)	中间试点点数(个)	增产点数(个)	增产点占比(%)
2017—2018	区域试验	478.00	7.65	11	11	100.00
2018—2019	区域试验	538.78	4.01	12	9	75.00
2019—2020	生产试验	517.56	5.67	13	12	92.31

综上所述,宁麦资 518 具有优异的产量适应性和高产潜力、熟期中等偏早且籽粒外观品质优、抗穗发芽、中抗赤霉病。株高适中,茎秆粗壮弹性好,抗倒伏性强,熟相佳,适合江苏省淮南麦区推广种植。

2.7 栽培技术设计

宁麦资 518 每年最适播期为 10 月 25 日至 11 月 5 日之间。该品种较耐密植,符合当前生产上多撒密播的种植需求。在肥水条件好的地块,适期播种量控制在 $12.5 \text{ kg}/667 \text{ m}^2$,基本苗数为 20 万株/ 667 m^2 左右,迟播、肥力低且出苗差的田块可采取适当密播。一般施氮量为 $18 \text{ kg}/667 \text{ m}^2$,在肥料运筹上应采取氮肥后移(拔节后增施氮肥),节氮增磷钾的原则,前期足肥促早发,中期严格控制氮肥使用量。所施用的氮肥中,基苗肥六成、拔节孕穗肥四成,结合施用磷钾等微量元素肥,适时适量喷撒叶面肥。冬初春前,应及时控制田间杂草,抓准时机对地方性流行病害进行防治,尤其对纹枯病和蚜虫等病虫害。

3 讨论

迄今为止,已在小麦及其近缘野生种中发现了超过 80 个白粉病抗性基因。但是,随着小麦白粉病生理小种的变化,许多白粉病抗性基因在逐渐失去抗性,这说明病原菌小种的毒性与宿主的抗病性有着较强的协同进化。因此,挖掘和运用新的白粉病抗病基因在育种中具有重要意义。将笔者所在研究团队前期在引进品种 Tabasco 中发掘的白粉病抗病新基因 *Pm48*,运用分子标记辅助育种法将其转入优质品系资 02-193 中,创制了抗白粉病优质新品种宁麦资 518。本研究在宁麦资 518 的创制过程中, F_2 代和 F_3 代 *Pm48* 基因一直保持杂合状态,而在 F_6 代才选择了抗性纯合的基因型,是为了通过杂合状态 *Pm48* 的后续反复自交,让抗病基因的染色体片段被充分重组,从而获得含有抗病基因且较小的染色体片段,减少连锁累赘对品种农艺性状的影响。本研究使用的 *Pm48* 对白粉病生理小种 Bgt19 具有持久稳定的抗性,但是 2017—2019 年,江苏省农业科学院植物保护研究所对参试品种统一进行白粉病抗病鉴定时,所使用的生理小种与 Bgt19 并不相同,出现了 1 年免疫,1 年感病的表型。

本研究通过赤霉病抗性基因 *QFhs.crc-2DL* 紧密连锁的分子标记,对宁麦资 518 及其系谱品种进行抗原基因来源的分析。结果表明,宁麦资 518 及

其系谱亲本中的扬麦 15 中含有 *QFhs.crc-2DL* 基因的特异性条带,而资 02-193 和 Tabasco 均不含有该特异性条带,说明宁麦资 518 中的 *QFhs.crc-2DL* 基因来源于其亲本扬麦 15,这与前人的研究结果^[10-11]相吻合。亲本扬麦 15 与宁麦资 518 都仅含有 *QFhs.crc-2DL* 基因,而赤霉病抗性却优于其亲本扬麦 15,达到中抗水平,原因可能是宁麦资 518 携带 *QFhs.crc-2DL* 之外的其他赤霉病抗性基因(QTL)。

分子标记辅助育种较传统育种而言是一项高效且准确的育种技术,能通过关键基因功能标记(或紧密连锁的分子标记)在育种早期锁定目标性状,从而减小育种周期,排除连锁累赘,提高育种效率。本研究中,亲本 Tabasco 不仅高抗白粉病,而且是超高产品种,但是生育期迟且感赤霉病。本研究通过分子标记辅助育种,与传统杂交、复交、表型选择相结合,培育出了高产稳产、兼抗、综合农艺性状好、适应范围广的小麦品种宁麦资 518。

参考文献:

- [1]程顺和,郭文善,王龙俊. 中国南方小麦[M]. 南京:江苏科学技术出版社,2012.
- [2]王才林. 江苏省稻麦品种志[M]. 北京:中国农业科学技术出版社,2009:1-4.
- [3]冷苏凤,李燕,许明,等. 江苏省小麦育种现状及建议[J]. 农业科技通讯,2011(5):5-8.
- [4]Bai G. Scab of wheat: prospects for control[J]. Plant Disease,1994,78(8):760.
- [5]吴纪中,吴小有,张巧凤,等. 优质高产抗病小麦新品种宁麦资 126 的选育及栽培技术[J]. 江苏农业科学,2019,47(21):157-159.
- [6]Gao H D,Zhu F F,Jiang Y J,et al. Genetic analysis and molecular mapping of a new powdery mildew resistant gene *Pm46* in common wheat[J]. Theoretical and Applied Genetics,2012,125(5):967-973.
- [7]吴兆苏,魏燮中. 长江下游地区小麦品种更替中产量及有关性状的演变与发展方向[J]. 中国农业科学,1984,17(3):14-22.
- [8]李海泳,殷贵鸿. 从国家粮食安全角度探讨我国小麦育种发展趋势[J]. 江苏农业科学,2022,50(18):36-41.
- [9]姚国才,马鸿翔,张鹏,等. 优良小麦新品种宁麦 26 的选育及其应用[J]. 江苏农业科学,2020,48(10):94-97.
- [10]廖森,方正武,胡文静,等. 59 份江苏小麦品种(系)的抗赤霉病评价与农艺性状分析[J]. 麦类作物学报,2022,42(3):297-305.
- [11]Somers D J,Fedak G,Savard M. Molecular mapping of novel genes controlling *Fusarium* head blight resistance and deoxynivalenol accumulation in spring wheat[J]. Genome,2003,46(4):555-564.