

河南省 16 个主栽小麦品种抗叶锈基因分析

张 林, 王 静, 张梦雅, 许换平, 闫红飞, 刘大群

(河北农业大学植物保护学院/国家北方山区农业工程技术研究中心/河北省农作物病虫害生物防治工程技术研究中心, 保定 071000)

摘要: 为了明确河南省小麦品种的抗叶锈性及抗叶锈基因的分布, 为小麦品种推广与合理布局、叶锈病防治及抗病育种提供依据, 本研究利用 2015 年采自河南省的 5 个小麦叶锈菌流行小种混合菌株, 对近几年河南省 16 个主栽小麦品种进行了苗期抗性鉴定, 然后选用 12 个小麦叶锈菌生理小种对这些品种进行苗期基因推导, 同时利用与 24 个小麦抗叶锈基因紧密连锁(或共分离)的 30 个分子标记对该 16 个品种进行了抗叶锈基因分子检测。结果显示, 供试品种苗期对小麦叶锈菌混合流行小种均表现高度感病; 基因推导与分子检测结果表明, 供试品种可能含有 *Lr1*、*Lr16*、*Lr26* 和 *Lr30* 这 4 个抗叶锈基因, 其中先麦 8 号含有 *Lr1* 和 *Lr26*; 郑麦 366 和郑麦 9023 含有 *Lr1*; 西农 979 和怀川 916 含有 *Lr16*; 中麦 895、偃展 4110、郑麦 7698、平安 8 号、众麦 1 号、周麦 16、衡观 35 和矮抗 58 含有 *Lr26*; 周麦 22 中含有 *Lr26*, 还可能含有 *Lr1* 和 *Lr30*; 豫麦 49-198 和洛麦 23 可能含有本研究中检测以外的其他抗叶锈基因。因此, 河南省主栽小麦品种的抗叶锈基因丰富度较低, 今后育种工作应注重引入其他抗叶锈性基因, 提高抗叶锈性, 有效控制小麦叶锈病。

关键词: 小麦; 叶锈病; 抗叶锈基因; 基因推导; 分子检测

Analysis of Wheat Leaf Rust Resistance Genes in 16 Main Wheat Cultivars in Henan

ZHANG Lin, WANG Jing, ZHANG Meng-ya, XU Huan-ping, YAN Hong-fei, LIU Da-qun

(College of Plant Protection, Agricultural University of Hebei/ National Engineering Research Center for Agriculture in Northern Mountainous Areas/Biological Control Center of Plant Diseases and Plant Pests of Hebei Province, Baoding 071000)

Abstract: In order to identify the resistance and distribution of leaf rust resistance genes of wheat cultivars in Henan Province to provide theoretical basis for the promotion and reasonable layout, leaf rust control and resistance breeding, the resistance evaluation of 16 main wheat cultivars of Henan was carried out using five mixed races of *Puccinia triticina* at the seedling stage. In addition, the resistance genes of the 16 wheat cultivars at seedling stage were postulated by inoculating 12 races of *P. triticina*. Meanwhile, 30 molecular markers closely linked or co-segregated with 24 wheat leaf rust resistance genes were used to detect these cultivars. The results showed that these cultivars were highly susceptible to the mixed races examined. The data of gene postulation and molecular detection indicated that 4 leaf rust resistance genes, *Lr1*, *Lr16*, *Lr26* and *Lr30*, were found in these cultivars. Among them, Xianmai 8 carried *Lr1* and *Lr26*, Zhengmai 366 and Zhengmai 9023 carried *Lr1*, Xinong 979 and Huaichuan 916 carried *Lr16*. Zhongmai 895, Yanzhan 4110, Zhengmai 7698, Ping'an 8, Zhongmai 1, Zhoumai 16, Hengguan 35 and Aikang 58 carried *Lr26*. The gene *Lr26* was detected in Zhoumai 22, and *Lr1* and *Lr30* were also postulated in Zhoumai 22. Besides, Yumai 49-198 and Luomai 23 might carry unknown or untested resistance genes. Therefore, the abundance of leaf rust resistance genes in the main wheat cultivars of Henan was low, and the new leaf rust resistance genes should be introduced into new wheat cultivars to improve the leaf rust resistance and control wheat leaf rust effectively.

收稿日期: 2016-08-03 修回日期: 2016-11-30 网络出版日期: 2017-04-17

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20170417.0847.010.html>

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(2013CB127700); 河北省自然科学基金项目(C2015204105)

第一作者研究方向为分子植物病理学。E-mail: zhanglin42@163.com; 王静为共同第一作者

通信作者: 闫红飞, 研究方向为植物病害生物防治与分子植物病理学。E-mail: hongfeiyang2006@163.com

刘大群, 研究方向为植物病害生物防治与分子植物病理学。E-mail: ldq@hebau.edu.cn

Key words: *Triticum aestivum*; wheat leaf rust; resistance genes; gene postulation; molecular detection

小麦叶锈病是由小麦叶锈菌(*Puccinia triticina*)引起的一种严重危害小麦的真菌性病害,在世界各小麦主产区普遍发生^[1],根据小麦品种和发病时期的不同,可造成 7%~30% 的产量损失,严重时甚至可达 50% 以上^[2]。我国历史上,该病害在 20 世纪 60~70 年代的华北冬麦区曾发生大流行,70~80 年代曾在东北春麦区发生中度流行,均造成了很大的经济损失^[3]。2008~2009 年小麦叶锈病在我国发生较为严重,2010 年有所下降,2011 年轻度发生,2012 年在全国范围内严重发生,2013 年山东、河南和新疆局部地区发生严重^[4],2015 年在黄淮海区和河北南部等地大流行^[5]。小麦叶锈菌已知生理小种的毒性变化、新毒性生理小种的出现、叶锈菌群体中毒性小种的组成与数量变化^[4]和抗病品种的单一化长期种植等,是造成品种抗性丧失进而导致叶锈病暴发流行的主要原因^[6],而培育和种植抗病品种是防控该病害最经济、有效和安全的方法^[7],因此培育、推广优良的抗病品种,对预防和控制小麦叶锈病起着至关重要的作用。目前,在我国仍具有较好抗性的抗叶锈基因主要有 *Lr9*、*Lr19*、*Lr24* 和 *Lr38* 等^[8],它们对小麦叶锈菌普遍表现为高抗或免疫,在小麦育种工作中合理引入这些基因对小麦叶锈病的防控具有重要意义。

对小麦推广品种的抗性基因进行分析与鉴定,可以为杂交亲本选配提供理论依据。最常用的鉴定分析小麦抗叶锈基因的方法是基因推导和分子辅助鉴定。基因推导是利用已有的一套小麦抗叶锈近等基因系或单基因系对品种中的抗叶锈基因进行推导鉴定,该方法方便快捷,但易受遗传背景、环境条件和人为因素的影响^[9]。相比基因推导方法,分子标记辅助筛选鉴定是采用与抗叶锈基因紧密连锁的分子标记对相应基因进行有效追踪的方法,具有快速、准确和不受环境条件限制的特点^[10],已被广泛应用于分子标记辅助育种工作中。目前,与小麦抗叶锈基因 *Lr1*^[11]、*Lr2c*^[12]、*Lr9*^[13-14]、*Lr10*^[15]、*Lr12*^[16]、*Lr14a*^[17]、*Lr16*^[18]、*Lr19*^[19]、*Lr20*^[20]、*Lr21*^[21]、*Lr24*^[22-23]、*Lr25*^[24]、*Lr26*^[25-26]、*Lr28*^[27]、*Lr29*^[28]、*Lr32*^[29]、*Lr34*^[30-31]、*Lr35*^[32]、*Lr37*^[33]、*Lr38*^[34]、*Lr41*^[35]、*Lr42*^[36]、*Lr47*^[37] 和 *Lr50*^[38] 等紧密连锁或共分离的 STS(Sequence Tagged Site)、SCAR(Sequence Characterized Amplified Regions)、SSR(Simple Sequence Repeats)和 RAPD(Random Amplified Polymorphic DNA)标记均可用于抗叶锈基因的快速、准

确鉴定。因此,将基因推导法与分子标记检测法结合起来使用会使鉴定结果更加准确可靠^[39]。

河南省是我国小麦主产区之一,属于黄淮海麦区,其小麦种植面积、总产量和商品量均处于全国首位^[40],是我国的粮食大省。自 2012 年以来,小麦叶锈病已在河南地区严重发生,且有逐年加重的趋势,该地区小麦叶锈菌出现频率超过 2.0% 的优势生理小种有 THTT、THTS、THKT、PHTT、PHKT、THSS 和 THTK 等,但主要的流行小种为 THTT 和 THTS。而近年来河南地区小麦叶锈病不断发生大流行,这其中与种植品种和品种布局等有一定的关系,因此全面了解分析河南省主栽小麦品种抗叶锈表现及其所含有的抗叶锈基因,对指导品种的合理布局和抗病育种,进而保证河南省小麦的稳产增产有重要意义。本研究所选用的 16 个小麦品种为河南省近年来大面积推广的主栽品种,种植面积分别占 2013、2014 和 2015 年河南省小麦总种植面积的 81%、86% 和 83% 以上^[41-43]。近几年,尤其 2015 年这些主栽品种均表现出对叶锈病较高的感病表型,造成该现象的原因除与合适的环境条件相关外,与品种抗性也有很大关系,但目前这些主栽推广品种所含抗叶锈基因尚不明确。因此,本研究利用 2015 年采自河南地区的 5 个小麦叶锈菌流行小种的混合菌株,对这 16 个主栽品种的苗期抗叶锈性进行鉴定,并采用基因推导与分子标记辅助鉴定相结合的方法分析其抗叶锈基因,以明确其所含抗叶锈基因,为河南省小麦品种合理布局、叶锈病防治及分子抗病育种提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

16 个河南省主栽小麦品种:周麦 22、西农 979、郑麦 366、中麦 895、偃展 4110、郑麦 7698、先麦 8 号、怀川 916、平安 8 号、众麦 1 号、豫麦 49-198、周麦 16、郑麦 9023、洛麦 23、衡观 35 和矮抗 58,由河南农业大学生命科学学院刘文轩教授提供。40 个以 Thatcher 为遗传背景的小麦抗叶锈基因近等基因系(或单基因系)、感病材料郑州 5389、Thatcher 及供试 5 个小麦叶锈菌流行生理小种(THTT、THTS、PHTT、THKT 和 THKS)均由河北农业大学小麦叶锈病研究中心提供。

1.2 苗期的抗叶锈鉴定及基因推导

将所有供试品种及近等基因系(或单基因系)

表 1(续)

品种(系) Cultivar(Line)	致病类型 Pathotype											
	THKT	FHTT	PHTS	PHJT	MHTS	PHST	THTT	FHJT	FHKT	PHTT	PHKT	FHST
TcLr28-RL6079(<i>Lr28</i>)	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;
KS91WGRC11(<i>Lr42</i>)	;	;	;	3	;	;	3	;1	3	;	;	;
TcLr2b-RL6019(<i>Lr2b</i>)	3	3	3	3	;	3	3	3	3	;1	3	3
TcLr3bg-RL6042(<i>Lr3bg</i>)	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
TcLr14b-RL6006(<i>Lr14b</i>)	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
TcLr15-RL6052(<i>Lr15</i>)	3	;1	;1	3	;1	;1	3	;1	;1	;1	;	;
TcLr19-RL6040(<i>Lr19</i>)	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;
TcLr20-RL6092(<i>Lr20</i>)	3	;1	;1	3	3	;1	3	;	;1	;	;	;1
TcLr23-RL6012(<i>Lr23</i>)	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
TcLr25-RL6084(<i>Lr25</i>)	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;
TcLr29-RL6080(<i>Lr29</i>)	;1	;1	;1	;1	;1	;1	;1	;1	3	;1	3	3
TcLr32-RL5479(<i>Lr32</i>)	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
TcLr33-RL6057(<i>Lr33</i>)	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
TcLr36-E84018(<i>Lr36</i>)	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
TcLr38-RL6097(<i>Lr38</i>)	;1	;1	;1	;1	;1	;1	;1	;1	;1	;	;1	;
KS90WGRC10(<i>Lr41</i>)	;	;1	;	;	;1	;	;1	;	;1	;1	;	;
TcLr44-RL6147(<i>Lr44</i>)	;1	3	3	;1	;	3	3	3	3	3	3	3
TcLr45-RL6144(<i>Lr45</i>)	;1	;1	;1	;1	;1	;1	;1	;1	;1	;1	;	;1
90H450(<i>Lr47</i>)	;	;	;1	;	;	;	;	;	;1	;	;	;
KS96WGRC36(<i>Lr50</i>)	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
C78.5(<i>Lr51</i>)	;1	;1	;1	;1	;1	;1	;1	;1	;1	;1	;1	;1
-98M71(<i>Lr53</i>)	;	;1	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;
TcLr37-RL6081(<i>Lr37</i>)	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Thatcher	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
周麦 22	3	;1	3	;1	3	;1	3	;1	;1	;1	;1	;1
西农 979	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
郑麦 366	3	;1	3	3	3	;1	3	;1	;	;	3	;1
中麦 895	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
偃展 4110	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
郑麦 7698	3	3	3	;1	3	3	3	3	3	3	3	3
先麦 8 号	3	;	3	;1	3	;1	3	;	;1	;	3	3
怀川 916	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
平安 8 号	3	;1	3	;1	3	3	3	3	3	3	3	3
众麦 1 号	3	3	3	;1	3	3	3	3	3	3	3	3
豫麦 49-198	3	3	3	3	3	3	3	3	;1	;	3	3
周麦 16	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
郑麦 9023	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
洛麦 23	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
衡观 35	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
矮抗 58	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3

“0”:无褪绿斑或夏孢子堆;“;”:无夏孢子堆,但有坏死斑点或失绿反应;“1”:夏孢子堆很小,且周围有枯死反应;“3”:夏孢子堆中等大小,具轻微失绿

“0”:No chlorotic flecks or uredinia,“;”:No uredinia,but there were necrotic flecks or chlorosis,“1”:Small uredinia with necrosis,“3”:Moderate size uredinia with chlorosis slightly

表 2 16 个主栽小麦品种抗叶锈性鉴定和分子检测结果

Table 2 The results of leaf rust resistance identification and molecular detection of the 16 wheat cultivars

品种 Cultivars	审定年份 Approval year	系谱 Pedigree	混合小种 侵染型 Infection type of mixed races	抗叶锈性 Leaf rust resistance	苗期基因推导 Gene postulation at seedling stage	分子标记 检测结果 Results tested with molecular markers	综合结果 Final result
周麦 22	2007	周麦 12/温麦 6 号//周麦 13	3	感病	<i>Lr1</i> 、 <i>Lr30</i>	<i>Lr26</i>	<i>Lr1</i> 、 <i>Lr26</i> 、 <i>Lr30</i>
西农 979	2005	西农 2611/(918×95 选 1) F1	3	感病	N	<i>Lr16</i>	<i>Lr16</i>
郑麦 366	2005	豫麦 47/PH82-2-2	3	感病	<i>Lr1</i>	<i>Lr1</i>	<i>Lr1</i>
中麦 895	2012	周麦 16/荔垦 4 号	3;	感病	N	<i>Lr26</i>	<i>Lr26</i>
偃展 4110	2003	89(35)-14/矮早 781-4	3	感病	N	<i>Lr26</i>	<i>Lr26</i>
郑麦 7698	2011	郑麦 9405/4B269//周麦 16	3;1	感病	+	<i>Lr26</i>	<i>Lr26</i>
先麦 8 号	2011	宛麦 369/郑麦 9023	3	感病	+	<i>Lr1</i> 、 <i>Lr26</i>	<i>Lr1</i> 、 <i>Lr26</i>
怀川 916	2011	豫麦 47/小偃 54	3	感病	N	<i>Lr16</i>	<i>Lr16</i>
平安 8 号	2011	豫麦 2 号/周麦 13	3	感病	+	<i>Lr26</i>	<i>Lr26</i>
众麦 1 号	2004	漯麦 4 号/西北矮秆选系(97-26)	3	感病	+	<i>Lr26</i>	<i>Lr26</i>
豫麦 49-198	2005	394A/豫麦 2 号	3	感病	+	N	+
周麦 16	2002	周麦 9 号/周 8425B	3	感病	N	<i>Lr26</i>	<i>Lr26</i>
郑麦 9023	2001	(小偃 6 号/西农 65)//[83(2)- 3-3/84(14)43]/3/陕 213	3	感病	N	<i>Lr1</i>	<i>Lr1</i>
洛麦 23	2009	豫麦 18/淮麦 18	3	感病	N	N	+
衡观 35	2004	84 观 749/衡 87-4263	3	感病	N	<i>Lr26</i>	<i>Lr26</i>
矮抗 58	2005	豫麦 49/郑州 8960//周麦 11	3	感病	N	<i>Lr26</i>	<i>Lr26</i>

N:未能推出;+:含有未知基因

N:Unknown wheat leaf rust resistance gene,+:Presence of unknown resistance gene

通过分小种鉴定发现,有 7 个品种对供试的 12 个小麦叶锈菌表现出不同的抗性。其中郑麦 7698、先麦 8 号、平安 8 号、众麦 1 号和豫麦 49-198 与供试的任何一个近等基因系(或单基因系)表现的侵染型均不同,因此推测这 5 个品种可能含有其他未知的抗叶锈基因。西农 979、中麦 895、偃展 4110、怀川 916、周麦 16、郑麦 9023、洛麦 23、衡观 35 和矮抗 58 对供试的 12 个菌株均表现出高反应型,因此这些品种中不含有对这些菌株表现抗性的抗叶锈基因,而近等基因系 *TcLr3*、*TcLr16*、*TcLr26*、*TcLr11*、*TcLr17*、*TcLrB*、*TcLr10*、*TcLr14a*、*TcLr21*、*TcLr3bg*、*TcLr14b*、*TcLr23*、*TcLr32*、*TcLr33*、*TcLr36*、KS96WGRC36(*Lr50*)和 *TcLr37* 对供试菌株也表现出高反应型,因此不能排除在这 9 个品种中可能含有这 17 个抗叶锈基因。

周麦 22 对 THKT、PHTS、MHTS 和 THTT 表现高

反应型,对其他菌株表现低反应型,近等基因系 *TcLr1* 除了对 PHJT、PHST、PHTT 和 PHKT 表现高反应型外,对其他菌株的反应型与周麦 22 的反应型一致;*TcLr30* 除了对 FHHT、FHKT、PHTT 和 PHKT 表现高反应型外,对其他菌株的反应型与周麦 22 一致,因此推测周麦 22 中可能含有 *Lr1* 和 *Lr30*。

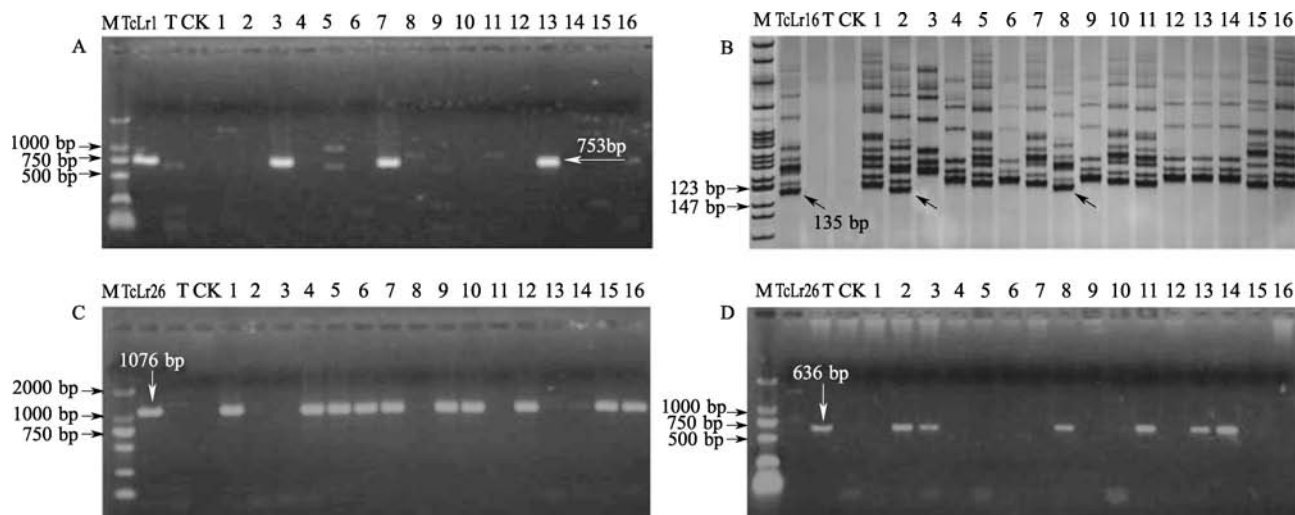
郑麦 366 对 THKT、PHTS、PHJT、MHTS、THTT 和 PHKT 表现高反应型外,对其他菌株均表现低反应型,近等基因系 *TcLr1* 除了对 PHST 和 PHTT 表现高反应型外,对其他菌株的反应型与郑麦 366 一致,因此推测郑麦 366 中可能含有 *Lr1*。

2.2 16 个主栽小麦品种抗叶锈基因的分子检测

24 个抗叶锈基因紧密连锁或共分离的 30 个分子标记在供试 16 个河南省主栽小麦品种中仅扩增出 3 个抗叶锈基因 *Lr1*、*Lr16* 和 *Lr26* 的特异性条带(图 1),其中 *Lr26* 出现频率最高,为 62.5%。郑麦

366、先麦 8 号和郑麦 9023 中扩增出 *Lr1* 的 753 bp 特异条带(图 1A),表明这 3 个品种可能含有抗叶锈基因 *Lr1*;西农 979 和怀川 916 中检测到了 *Lr16* 的大小为 135 bp 的特异条带(图 1B),表明这两个品种中可能含有抗叶锈基因 *Lr16*;周麦 22、中麦 895、偃展 4110、郑麦 7698、先麦 8 号、平安 8 号、众麦 1 号、周麦 16、衡观 35 和矮抗 58 利用 *Lr26* 正相关分子标记扩增出 1076 bp 的特异条带(图 1C),而负相关分子标记(不能在含有目的基因的品种中扩增出目的条带的分子标记)未在这些品种中扩增出 636

bp 的条带(图 1D),表明这 10 个品种可能含有 *Lr26* 基因;除先麦 8 号同时含有 *Lr1* 和 *Lr26* 外,其他品种(周麦 22、西农 979、郑麦 366、中麦 895、偃展 4110、郑麦 7698、怀川 916、平安 8 号、众麦 1 号、周麦 16、郑麦 9023、衡观 35 和矮抗 58)均含有单一基因,而且在豫麦 49-198 和洛麦 23 这两个品种中未检测到供试基因片段,这表明河南主栽品种所含有的抗叶锈基因比较单一。16 个主栽品种的抗叶锈性、系谱和分子标记检测结果见表 2。



M:DM2000 marker or pBR322 DNA marker;T:Thatcher;CK:H₂O;1-16:Zhoumai 22, Xinong 979, Zhengmai 366, Zhongmai 895, Yanzhan 4110, Zhengmai 7698, Xianmai 8, Huaichuan 916, Ping'an 8, Zhongmai 1, Yumai 49-198, Zhoumai 16, Zhengmai 9023, Luomai 23, Hengguan 35, and Aikang 58

图 1 *Lr1* (A)、*Lr16* (B) 和 *Lr26* (C、D) 的分子标记在 16 个主栽小麦品种中的扩增结果

Fig. 1 Banding patterns amplified by specific markers for *Lr1* (A), *Lr16* (B) and *Lr26* (C and D) genes in 16 wheat cultivars

3 讨论

目前,国际上已发现 100 多个小麦抗叶锈基因,正式命名至 *Lr73*^[46],部分抗叶锈基因紧密连锁或共分离的 STS、SCAR、SSR 和 RAPD 分子标记已建立^[9]。L. Stepień 等^[47]、R. Singh 等^[48]、丁艳红等^[10]、师丽红^[49]、任晓利等^[50]、赵丽娜等^[51]、彭昕等^[52]、胡亚亚等^[9]均利用分子标记对相应实验材料进行了检测,而且检测结果均显示抗叶锈基因 *Lr1* 和 *Lr26* 的出现频率比较高,与本研究结果一致。造成该现象的原因可能是:(1)小麦-黑麦 1BL/1RS 易位系使用过多(*Lr26* 来源于黑麦,位于小麦 1RS 染色体^[53]);(2)*Lr1* 分布较广,存在于很多小麦品种中^[54-55];(3)目前所获得的用于检测抗叶锈基因的分子标记还很有限,尚不能确定是否存在现有分

子标记所检测基因以外的其他抗叶锈基因。本研究通过基因推导与分子辅助鉴定发现,在河南省 16 个主栽小麦品种中可能存在 4 个抗叶锈基因,且以 *Lr26* 所占比率最高,说明河南省主推小麦品种所含抗叶锈基因丰富度低。而在豫麦 49-198 和洛麦 23 中未检测到供试抗叶锈基因,推测其可能不含有本研究中所检测的 24 个供试基因,但尚不能确定其是否含有其他抗叶锈基因。本研究中,除所推导或检测的基因外,供试品种中是否还含有其他抗叶锈基因尚不能明确,需进一步分析与验证。

Lr1 最初是在六倍体小麦品种 Malakoff 中发现的^[54],并在很多小麦品种中均发现了该基因的存在^[55]。*Lr16* 是一个苗期抗叶锈基因^[18],且与 *Lr34* 复合存在时表现出更高的抗性^[56];2011 年袁军海

等^[57]发现该基因单独应用已基本失效,但与 *Lr13* 和 *Lr34* 等基因组合应用表现出残余抗病作用。*Lr26* 来源于黑麦,位于小麦 1RS 染色体上^[53]。供试 16 个主栽品种大多数只含有单一基因,其中 *Lr26* 出现频率最高,为 62.5%。2004 年,周阳等^[58]对我国近 30 年来小麦主产区的 179 份主栽品种(黄淮冬麦区 98 个)进行了 1BL/1RS 鉴定,结果显示,*Lr26* 在全国主要麦区育成品种中所占比例平均为 38% (黄淮冬麦区出现频率为 42%);2011 年,潘阳等^[59]对新疆的 104 个小麦品种和高代品系的抗叶锈基因进行了鉴定,结果发现 *Lr26* 的基因频率为 20.2%;2012 年,任晓利等^[50]发现中国小麦主产区 116 个小麦品种(系)中 *Lr26* 基因频率为 40.5%;2015 年,张亚琦^[45]则报道小麦主产区小麦品种中 *Lr26* 基因出现频率为 33.6%。本研究中河南省主栽品种中 *Lr26* 基因出现频率高达 62.5%,可能与只对 16 个主栽品种进行了分析,样本量较小,以及这些品种可能背景来源比较单一或一致有关。

经过系谱分析发现,河南省 16 个主栽推广品种中周麦 22、中麦 895、郑麦 7698、平安 8 号和周麦 16 的亲本周麦 13、周麦 16 和周麦 9 号具有山前麦或牛朱特的遗传背景^[60-61],而山前麦和牛朱特是我国在 1971 年从罗马尼亚引入的含有 *Lr26* 抗叶锈基因的 1BL/1RS 易位系品种^[62],因此这 5 个品种中可能含有 *Lr26*;先麦 8 号的亲本宛麦 369 据报道携带有 *Lr26* 抗叶锈基因^[50];矮抗 58 的亲本周麦 11 是由豫麦 17 和周 8425B 杂交而来^[61],据报道周 8425B 和周麦 11 中均携带有 *Lr26* 抗叶锈基因^[63],推测在矮抗 58 中很有可能含有该基因。在本研究中上述品种分子标记结果或推导结果与系谱分析结果一致,表明周麦 22、中麦 895、郑麦 7698、平安 8 号和周麦 16 中的 *Lr26* 基因可能来源于山前麦或牛朱特;先麦 8 号的 *Lr26* 基因可能来源于宛麦 369,矮抗 58 中的 *Lr26* 基因可能来源于周麦 11 或周 8425B。偃展 4110 由 89(35)-14/矮早 781-4 选育而成,众麦 1 号由漯麦 4 号/西北矮秆选系(97-26)杂交而成,经分子检测二者均含有 *Lr26*,而 *Lr26* 主要来源于 1BL/1RS 易位系,但根据系谱分析未推导出二者与 1BL/1RS 易位系的关系,故这些材料 *Lr26* 的基因来源尚需进一步验证。经系谱分析未推测出衡观 35 中 *Lr26* 基因的来源,但据报道衡观 35 存在 1BL/1RS 易位系^[64],亦与本试验结果一致。

郑麦 366 的亲本豫麦 47 携带 *Lr1*,且其可能来源于百泉 3199,百泉 3199 的亲本是小麦骨干亲本

阿夫^[65],而阿夫存在 *Lr1* 基因且在其衍生后代中出现频率为 78.1%^[66],因此郑麦 366 中的 *Lr1* 可能来源于阿夫。本研究中检测到郑麦 9023 和先麦 8 号中均可能含有 *Lr1*,而先麦 8 号的亲本之一即为郑麦 9023,推测二者 *Lr1* 基因可能具有相同的来源。

经分子检测显示西农 979 与怀川 916 均含有 *Lr16*,西农 979 亲本西农 2611 的母本陕 229 是由陕 7853//TB902/小偃 6 号复合杂交而成^[50],怀川 916 的亲本小偃 54 是从小偃 6 号中系选而成^[67],二者具有来源相同的亲本,但未推导出其是否含有 *Lr16* 基因,因此这两个品种的 *Lr16* 基因来源尚需进一步确定。

在本研究中鉴定出的 *Lr1*、*Lr16* 和 *Lr26* 这 3 个基因对河南省小麦叶锈菌的毒性频率均在 93% 以上甚至到 100%^[68-69],说明这 3 个抗叶锈基因对河南地区流行的绝大部分小麦叶锈菌生理小种已基本丧失抗性,在小麦叶锈菌大流行的年份可能会对河南地区小麦生产造成严重危害。因此,鉴定河南省小麦主栽品种的抗叶锈性,并分析其所含抗叶锈基因对这些品种的推广与合理布局、叶锈病防治具有重要意义。不同地区小麦叶锈菌的流行小种会有所不同,且其毒性也可能会随着年份和地区的不同发生一些变化。鉴于此,早在 1985 年赵兰波等^[70]提出应该利用本省的叶锈菌流行小种鉴定本省的小麦品种,为了具有代表性还应根据品种推广的范围,将该范围内出现的流行生理小种混合后再进行接种鉴定。本研究利用 2015 年河南省的 5 个小麦叶锈菌流行小种的混合菌株对该省近年来 16 个主栽品种进行了抗叶锈性鉴定,结果发现供试品种均表现出较高的侵染型,与当年大田发病情况基本一致。但个别品种表现为高侵染型与低侵染型混合出现且高侵染型占优势的现象,表明个别品种可能只对叶锈菌个别生理小种具有抗性。因此,建议育种工作者在今后的育种工作中须将这些品种尽量不要作为抗叶锈资源应用,可在新品种中引入其他抗性更好的基因,比如可从山羊草、偃麦草和黑麦等一些小麦近缘植物中筛选新抗源并将其转移至小麦中^[71];或在已有抗性基因的基础上引入与其有协同作用的其他抗叶锈基因来提高品种的抗叶锈性,比如 *Lr16* 与 *Lr34* 和 *Lr13* 的协同作用^[56-57]。另外,在品种推广种植上要根据不同地区的具体情况进行合理布局避免品种抗叶锈性过早退化或丧失。

参考文献

- [1] Bolton M D, Kolmer J A, Garvin D F. Wheat leaf rust caused by *Puccinia triticina* [J]. Mol Plant Pathol, 2008, 9(5): 563-575
- [2] Huerta-Espino J, Singh R P, Germán S, et al. Status of wheat leaf rust caused by *Puccinia triticina* [J]. Euphytica, 2011, 179(1): 143-160
- [3] 董金皋. 农业植物病理学[M], 2 版. 北京: 中国农业出版社, 2007: 57-61
- [4] 张林亚, 孟庆芳, 康健, 等. 隐匿柄锈菌(小麦叶锈病菌) UP-PCR 遗传多样性分析[J]. 菌物学报, 2015, 34(2): 215-226
- [5] 彭红, 吕国强, 王江蓉. 河南省 2015 年小麦主要病害发生特点及原因分析[J]. 中国植保导刊, 2016, 36(4): 29-33
- [6] 王佳真, 师令智, 朱琳, 等. 小麦品种潍麦 8 号成株抗叶锈 QTL 定位[J]. 植物遗传资源学报, 2015, 16(4): 868-871
- [7] 胡亚亚, 张娜, 李林懋, 等. 14 个小麦品种(系)抗叶锈性分析[J]. 作物学报, 2011, 37(12): 2158-2166
- [8] 师令智, 朱琳, 任志宽, 等. 小麦品系 19HRWSN-76 的抗叶锈性研究[J]. 植物遗传资源学报, 2016, 17(4): 696-700
- [9] 胡亚亚, 孙一, 张河山, 等. 8 个小麦育种亲本抗叶锈基因分析[J]. 植物遗传资源学报, 2014, 15(4): 802-809
- [10] 丁艳红, 刘欢, 师丽红, 等. 28 个小麦微核心种质抗叶锈性分析[J]. 作物学报, 2010, 36(7): 1126-1134
- [11] Qiu J W, Schürch A C, Yahiaoui N, et al. Physical mapping and identification of a candidate for the leaf rust resistance gene *Lr1* of wheat[J]. Theor Appl Genet, 2007, 115(2): 159-168
- [12] 张娜, 闫红飞, 张英春, 等. 小麦抗叶锈病基因 *Lr2c* 的 SSR 标记[J]. 农业生物技术学报, 2009, 17(1): 148-152
- [13] Gupta S K, Charpe A, Koul S, et al. Development and validation of molecular markers linked to an *Aegilops umbellulata*-derived leaf rust-resistance gene, *Lr9*, for marker-assisted selection in bread wheat[J]. Genome, 2005, 48(5): 823-830
- [14] Schachermayr G, Siedler H, Gale M D, et al. Identification and localization of molecular markers linked to the *Lr9* leaf rust resistance gene of wheat [J]. Theor Appl Genet, 1994, 88(1): 110-115
- [15] Schachermayr G, Feuillet C, Keller B. Molecular markers for the detection of the wheat leaf rust resistance gene *Lr10* in diverse genetic backgrounds[J]. Mol Breeding, 1997, 3(1): 65-74
- [16] Singh S, Bowden R L. Molecular mapping of adult-plant race-specific leaf rust resistance gene *Lr12* in bread wheat[J]. Mol Breeding, 2010, 28(2): 137-142
- [17] Terracciano I, Maccafri M, Bassi F, et al. Development of COS-SNP and HRM markers for high-throughput and reliable haplotype-based detection of *Lr14a* in durum wheat (*Triticum durum* Desf) [J]. Theor Appl Genet, 2013, 126(4): 1077-1101
- [18] McCartney C A, Somers D J, McCallum B D, et al. Microsatellite tagging of the leaf rust resistance gene *Lr16* on wheat chromosome 2BSc[J]. Mol Breeding, 2005, 15(4): 329-337
- [19] Gupta S K, Charpe A, Prabhu K V, et al. Identification and validation of molecular markers linked to the leaf rust resistance gene *Lr19* in wheat[J]. Theor Appl Genet, 2006, 113(6): 1027-1036
- [20] Autrique E, Tanksley S D, Sorrells M E, et al. Molecular markers for four leaf rust resistance genes introgressed into wheat from wild relatives[J]. Genome, 1995, 38(1): 75-83
- [21] Huang L, Gill B S. An RGA-like marker detects all known *Lr21* leaf rust resistance gene family members in *Aegilops tauschii* and wheat[J]. Theor Appl Genet, 2001, 103(6): 1007-1013
- [22] Schachermayr G M, Messmer M M, Feuillet C, et al. Identification of molecular markers linked to the *Agropyron elongatum*-derived leaf rust resistance gene *Lr24* in wheat[J]. Theor Appl Genet, 1995, 90(7-8): 982-990
- [23] Gupta S K, Charpe A, Koul S, et al. Development and validation of SCAR markers co-segregating with an *Agropyron elongatum* derived leaf rust resistance gene *Lr24* in wheat[J]. Euphytica, 2006, 150(1-2): 233-240
- [24] Singh A, Pallavi J K, Gupta P, et al. Identification of microsatellite markers linked to leaf rust resistance gene *Lr25* in wheat[J]. J Appl Genet, 2012, 53(1): 19-25
- [25] Chai J F, Zhou R H, Jia J Z, et al. Development and application of a new co-dominant PCR marker for detecting 1BL·1RS wheat-rye chromosome translocations [J]. Plant Breeding, 2006, 125(3): 302-304
- [26] Froidmont D D. A co-dominant marker for the 1BL/1RS wheat-rye translocation via multiplex PCR[J]. J Cereal Sci, 1998, 27(3): 229-232
- [27] Cherukuri D P, Gupta S K, Charpe A, et al. Molecular mapping of *Aegilops speltoides* derived leaf rust resistance gene *Lr28* in wheat[J]. Euphytica, 2005, 143(1-2): 19-26
- [28] Tar M, Purnhauser L, Csösz L, et al. Identification of molecular markers for an efficient leaf rust resistance gene (*Lr29*) in wheat [J]. Acta Biologica Szegediensis, 2002, 46(3-4): 133-134
- [29] Thomas J, Nilmalgoda S, Hiebert C, et al. Genetic markers and leaf rust resistance of the wheat gene *Lr32* [J]. Crop Sci, 2010, 50(6): 2310-2317
- [30] Lagudah E S, McFadden H, Singh R P, et al. Molecular genetic characterization of the *Lr34/Yr18* slow rusting resistance gene region in wheat[J]. Theor Appl Genet, 2007, 114(1): 21-30
- [31] Lagudah E S, Krattinger S G, Herrera-Foessel S, et al. Gene-specific markers for the wheat gene *Lr34/Yr18/Pm38* which confers resistance to multiple fungal pathogens [J]. Theor Appl Genet, 2009, 119(5): 889-898
- [32] Gold J, Harder D, Townleysmith F, et al. Development of a molecular marker for rust resistance genes *Sr39* and *Lr35* in wheat breeding lines[J]. Electron J Biotechnol, 1999, 2(1): 1-2
- [33] Helguera M, Khan I A, Kolmer J, et al. PCR assays for the *Lr37-Yr17-Sr38* cluster of rust resistance genes and their use to develop isogenic hard red spring wheat lines[J]. Crop Sci, 2003, 43(5): 1839-1847
- [34] 闫红飞, 杨文香, 褚栋, 等. 小麦抗叶锈病基因 *Lr38* 的一个新标记[J]. 中国农业科学, 2008, 41(11): 3604-3609
- [35] Sun X C, Bai G H, Carver B F. Molecular markers for wheat leaf rust resistance gene *Lr41* [J]. Mol Breeding, 2009, 23(2): 311-321
- [36] Sun X C, Bai G H, Carver B F, et al. Molecular mapping of wheat leaf rust resistance gene *Lr42* [J]. Crop Sci, 2010, 50(1): 59-66
- [37] Helguera M, Khen I N, Dubcovsky J. Development of PCR markers for the wheat leaf rust resistance gene *Lr47* [J]. Theor Appl Genet, 2000, 100(1): 1137-1143
- [38] Brown-Guedira G L, Singh S, Fritz A K. Performance and mapping of leaf rust resistance transferred to wheat from *Triticum timopheevii* subsp. *Armeniacum* [J]. Phytopathology, 2003, 93(7): 784-789
- [39] 王佳真, 李在峰, 李星, 等. 小麦品系 5R618 抗叶锈病基因的初步定位[J]. 植物遗传资源学报, 2014, 15(6): 1348-1351
- [40] 王西成, 赵虹, 曹廷杰, 等. 2014 年河南省小麦品种发展趋势及利用建议[J]. 河南农业科学, 2014, 43(9): 11-17
- [41] 毛景英, 常平. 2013 年河南省小麦品种利用暨秋播布局意见[J]. 种业导刊, 2013(9): 5-9
- [42] 马运粮, 霍晓妮. 2014 年河南省小麦品种利用及秋播布局意见[J]. 种业导刊, 2014(9): 5-7
- [43] 霍晓妮. 2015 年河南省小麦品种利用及秋播布局意见[J]. 种业导刊, 2015(10): 5-8
- [44] Roelfs A P. Race specificity and methods of study [J]. Cereal Rust, 1984, 4(2): 131-164
- [45] 张亚琦. 460 个小麦品种抗叶锈性鉴定及 *Libellula* 成株抗叶锈 QTL 作图[D]. 保定: 河北农业大学, 2015
- [46] Park R F, Mohler V, Nazari K, et al. Characterisation and mapping of gene *Lr73* conferring seedling resistance to *Puccinia triticina* in common wheat [J]. Theor Appl Genet, 2014, 127(9): 2041-2049

- [47] Stepień L, Golka L, Chekłowski J. Leaf rust resistance genes of wheat; identification in cultivars and resistance sources[J]. J Appl Genet, 2003, 44(2): 139-149
- [48] Singh R, Datta D, Singh S, et al. Marker-assisted selection for leaf rust resistance genes *Lr19* and *Lr24* in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. J Appl Genet, 2004, 45(4): 399-404
- [49] 师丽红. 60 个中国小麦品种抗叶锈性分析[D]. 保定: 河北农业大学, 2010
- [50] 任晓利, 刘太国, 刘博, 等. 116 个小麦品种(系)抗叶锈基因 *Lr9-Lr26*、*Lr19-Lr20* 的复合 PCR 检测[J]. 植物保护, 2012, 38(2): 29-36
- [51] 赵丽娜, 任晓娣, 胡亚亚, 等. 23 份中国小麦微核心种质抗叶锈性评价[J]. 中国农业科学, 2013, 46(3): 441-450
- [52] 彭昕, 任明见, 张珊珊, 等. 小麦抗叶锈基因 *Lr34* 及 *Lr37* 的分子检测[J]. 贵州农业科学, 2013, 41(12): 13-16
- [53] 师丽红, 张娜, 胡亚亚, 等. 10 个小麦新品种(系)抗小麦叶锈性评价[J]. 中国农业科学, 2011, 44(14): 2900-2908
- [54] Harrington J B, Reitz L P, Worzella W W, et al. Summary of genetic studies in hexaploid and tetraploid wheats[J]. J Am Soc Agron, 1946, 38: 1083-1099
- [55] McIntosh R A, Wellings C R, Park R F. Wheat Rusts: An atlas of resistance genes[M]. Dordrecht: East Melbourne, 1995
- [56] German S E, Kolmer J A. Effect of gene *Lr34* in the enhancement of resistance to leaf rust of wheat[J]. Theor Appl Genet, 1992, 84(1-2): 97-105
- [57] 袁军海, 陈万权. 中国小麦主要抗叶锈病基因的有效性评价[J]. 麦类作物学报, 2011, 31(5): 994-999
- [58] 周阳, 何中虎, 张改生, 等. 1BL/1RS 易位系在我国小麦育种中的应用[J]. 作物学报, 2004, 30(6): 531-535
- [59] 潘阳, 聂迎彬, 穆培源, 等. 新疆的小麦品种(系)苗期和成株期抗叶锈性鉴定[J]. 植物遗传资源学报, 2011, 12(2): 203-210
- [60] 杨春玲, 侯军红, 宋志均, 等. 河南省主要小麦品种系谱研究及核心种质利用[J]. 山东农业科学, 2009(1): 27-31
- [61] 张莉莉, 韩芳, 马守才, 等. 小麦品种豫麦 2 号及其衍生系的遗传差异分析[J]. 中国农业大学学报, 2015, 20(4): 1-11
- [62] 李硕碧, 裴阿卫, 董宝云, 等. 1BL/1RS 易位系对陕西小麦品质育种的影响[J]. 麦类作物学报, 2005, 25(6): 40-43
- [63] Li Z F, Xia X C, He Z H, et al. Seedling and slow rusting resistance to leaf rust in Chinese wheat cultivars[J]. Plant Dis, 2010, 94(1): 45-53
- [64] 杨玉双, 李强, 王道文, 等. 国审小麦品种‘衡观 35’中重要农艺性状控制基因的检测和分析[J]. 中国农学通报, 2014, 30(9): 105-112
- [65] 任晓利. 我国小麦主栽品种(系)抗叶锈基因分析[D]. 北京: 中国农业科学院, 2011
- [66] 刘新春, 赖运平, 刘仙俊, 等. *Lr1* 基因在四个小麦骨干亲本衍生系中的分布及选择效应[J]. 麦类作物学报, 2014, 34(5): 597-602
- [67] 周新力, 王保通, 尹军良, 等. 小偃 54 高温抗条锈病基因的遗传分析[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2011, 39(12): 129-133
- [68] 安亚娟. 2013 年我国小麦叶锈菌生理小种鉴定及毒性分析[D]. 保定: 河北农业大学, 2015
- [69] 肖宇. 2012 年我国小麦叶锈菌生理小种鉴定及毒性分析[D]. 保定: 河北农业大学, 2014
- [70] 赵兰波, 王焕如. 小麦叶锈菌同小种致病异质性研究[J]. 河北农业大学学报, 1986, 9(1): 57-65
- [71] 刘成, 闫红飞, 宫文萍, 等. 小麦叶锈病新抗源筛选[J]. 植物遗传资源学报, 2013, 14(5): 936-944