

400 份小麦品种(系)条锈病成株期抗性鉴定与评价

尉法刚,王光浩,王长有,张 宏,刘新伦,田增荣,朱建峰,陈春环,吉万全,王亚娟

(西北农林科技大学农学院/农业部作物基因资源与种质创制陕西科学观测实验站,陕西杨凌 712100)

摘要: 发掘新抗源,不断拓宽抗病遗传资源,是确保农业生产可持续发展的重要战略储备。为明确 400 个小麦品种(系)的抗条锈表现及抗条锈基因分布状况,本研究利用混合小种(CYR31、CYR32 和 CYR33)在田间进行成株期条锈病抗性鉴定,同时以 *Yr5*、*Yr9*、*Yr10*、*Yr15*、*Yr17*、*Yr18* 和 *Yr26* 已知抗条锈病基因的分子标记进行检测筛选,综合分析供试材料可能携带的抗病基因。结果表明,在 400 份材料中,成株期对混合菌种表现高抗至免疫(IT=0~1)的品种(系)有 177 份,占 44.25%;中抗(IT=2)品种(系)62 份,占 15.5%;中感或高感(IT=3/4)品种(系)161 份,占 40.25%。结合抗病表现和已知 *Yr* 基因分子检测结果表明:供试小麦中 121 份材料携带 *Yr5*,占 30.25%;96 份携带 *Yr9*,占 24%;10 份携带 *Yr10*,占 2.5%;19 份携带 *Yr15*,占 4.75%;150 份携带 *Yr17*,占 37.5%;15 份携带 *Yr18*,占 3.75%;127 份携带 *Yr26*,占 31.75%。其中定西 24、N7187 等 25 份材料未发现携带 *Yr5*、*Yr9*、*Yr10*、*Yr15*、*Yr17*、*Yr18* 和 *Yr26*,推测可能含有其他未知抗性基因或新基因。该研究结果建立了小麦条锈病抗源鉴定和评价体系,筛选出 177 份具有不同抗病性特征的抗源材料,其中 25 份可能含有新抗源,为进一步培育抗条锈病新品种奠定了基础。

关键词: 小麦;条锈病;成株期;抗病基因;分子检测

Evaluation and Identification of Adult Resistance to Stripe Rust from 400 Wheat Varieties (Lines)

YU Fa-gang, WANG Guang-hao, WANG Chang-you, ZHANG Hong, LIU Xin-lun, TIAN Zeng-rong, ZHU Jian-feng, CHEN Chun-huan, JI Wan-quan, WANG Ya-juan

(College of Agronomy, Northwest Agriculture and Forestry University /Ministry of Agriculture Crop Genetic Resources and

Seed Creation Shaanxi Scientific Observation And Experimental Station, Shaanxi Yangling 712100)

Abstract: Exploring new sources of resistance and widening genetic resources of disease resistance are important strategic reserves to ensure the sustainable development of agricultural production. In order to get it clear about the resistance to stripe rust and the distribution of stripe rust resistance genes in 400 wheat varieties (lines), the resistance to stripe rust was identified on adult plants in the field by using the dominant mixed races (CYR31, CYR32 and CYR33), and *Yr5*, *Yr9*, *Yr10*, *Yr15*, *Yr17*, *Yr18* and *Yr26* which are known as stripe rust resistance genes were detected and screened by molecular markers in this study for comprehensive analysis of resistance genes that may be carried by tested materials. The results showed that out of the 400 materials, 177 (44.25%) were highly resistance to immunity (IT=0-1) to mixed races at adult stage, 62 (15.5%) were moderate resistance (IT=2) and 161 (40.25%) were medium or high susceptible (IT=3/4). Combined with disease resistance performance and molecular analysis of known *Yr* gene, the results showed that *Yr5* was carried by 121 (30.25%) wheat materials, *Yr9* was carried by 96 (24%) materials, *Yr10* was carried by 10 (2.5%) materials,

收稿日期: 2019-10-09 修回日期: 2019-12-09 网络出版日期: 2020-01-17

URL: <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20191009001>

第一作者研究方向为小麦遗传育种, E-mail : yufagang2017@163.com

通信作者: 吉万全, 研究方向为小麦远缘杂交与分子染色体工程育种, E-mail : jiwanquan2003@126.com

王亚娟, 研究方向为作物遗传改良与种质创制, E-mail : wangyj7604@163.com

基金项目: 国家重点研发计划(2016YFD0100102); 作物种质资源保护项目(2019NWB036-02-1)

Foundation project: The National Key Research and Development Plan of China (2016YFD0100102), The Crop Germplasm Resources Protection Project (2019NWB036-02-1)

Yr15 was carried by 19 (4.75%) materials, *Yr17* was carried by 150 (37.5%) materials, *Yr18* was detected in 15 (3.75%) materials, and *Yr26* was detected in 127 (31.75%) materials, respectively. But *Yr5*, *Yr9*, *Yr10*, *Yr15*, *Yr17*, *Yr18* and *Yr26* were not found in 25 materials such as Dingxi 24 and N7187 among the 400, they might contain other unknown resistance genes or new genes. The results of the study established the identification and evaluation system of resistance to wheat stripe rust, and 177 resistant materials with different resistance characteristics were selected out, of which 25 might contain new resistance sources, which laid a foundation for further cultivation of new varieties resistant to stripe rust.

Key words: wheat; stripe rust; adult plant; resistance gene; molecular detection

小麦现为中国第三大粮食作物,其持续发展为保障国内粮食安全做出了重要贡献^[1]。小麦条锈病(病原菌 *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) 对小麦生产具有毁灭性危害,病害流行年份可导致小麦减产 40% 以上,甚至绝收^[2]。一般情况下,小麦品种在生产上使用 3~5 年便“丧失”其抗锈性,其中条锈病菌的不断变异和抗源品种的单一化种植是引起我国小麦品种抗锈性丧失的主要原因^[3-5]。1950–2010 年,先后有碧蚂 1 号(*Yr1*)、阿勃(*YrAbb1*、*YrAbb2*)、洛夫林(*Yr9*)及其衍生系、繁 6(*Yr3b*、*Yr4b*)系列、贵农 22(*Yr10*、*YrMor*)系列、川麦 42(*Yr24*)、Moro(*Yr10*)等众多品种“丧失”抗条锈性,导致小麦条锈病主流行区先后发生 7 次大规模的品种更替^[3]。实践证明,选育和种植抗病品种是防治小麦条锈病最为有效的措施^[3-5],这就需要育种家们广泛了解各个地区各个品种(系)抗条锈基因分布规律与状况,挖掘新的抗源材料,培育新的小麦抗病品种并进行推广,实现小麦品种抗性与条锈菌变异频率始终处于动态平衡,从而保障国内粮食稳产增收。

韩德俊等^[6]利用已知抗条锈基因的分子标记对 1980 份小麦地方品种和国外种质进行了抗条锈性鉴定与评价;白玉路等^[7]利用与 *Yr10*、*Yr15*、*Yr18* 和 *Yr39* 紧密连锁的分子标记对美国西北部 59 个小麦品种(系)进行了分子检测;薛文波等^[8]、李北等^[9]、孙建鲁等^[10]也进行过相关研究,这对今后小麦抗条锈病基因筛选、鉴定等工作具有重要的参考意义。本研究以 400 份小麦品种(系)为研究对象,利用混合小种(CYR31、CYR32 和 CYR33)在田间进行成株期条锈病抗性鉴定,同时以 *Yr5*、*Yr9*、*Yr10*、*Yr15*、*Yr17*、*Yr18* 和 *Yr26* 已知抗条锈病基因的分子标记进行检测筛查,综合分析筛选材料可能携带的抗病基因,为抗病品种(系)的合理布局提供必要参考,并挖掘一些新的抗条锈病基因的载体材料,以便丰富小麦抗病育种基因库。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2017–2018 年通过田间条锈病自然发病情况从 3034 份种质资源中筛选出 400 份表现高抗以上的种质,于 2018–2019 年继续种植,400 份种质分别来自中国西南冬麦区(208 份,占 52%)、黄淮等北方冬麦区(145 份,占 36.25%)、长江中下游麦区(3 份)、东北春麦区(1 份)、西北春麦区(1 份)以及国外地区(42 份,占 10.5%),材料原产地或来源见附表 1(详见 <http://doi.org.10.13430/j.cnki.jpgr.20191009001>)。5 个准确可靠的小麦抗条锈单基因系(*Yr5*、*Yr9*、*Yr10*、*Yr15* 及 *Yr26*)以及感病对照品种辉县红亦由本实验室繁殖并保存。

1.2 条锈菌种

条锈菌生理小种:CYR31、CYR32 和 CYR33,均由西北农林科技大学植物保护学院提供。各菌种都经寄主鉴定并繁殖的新鲜夏孢子。

1.3 成株期抗病表型鉴定

试验于 2018 年 10 月至 2019 年 6 月在西北农林科技大学小麦病圃实验地(杨凌)进行。将上述 400 份小麦品种(系)按照等距条播法种植,每份种植 2 行,行长 1 m,行距 0.25 m,每行播种约 20 粒种子。每隔 20 个品种(40 行)种植 2 行感病品种辉县红作为对照,在垂直于鉴定行的方向(即过道)间隔 1 m 穴播种植辉县红作诱发行,每穴种植 10~15 粒种子,种植重复 2 个区。3 月中旬在田间接种条中 31、32 和水源 11–14 混合菌种,接种采用抖粉法,即混合菌种与滑石粉按 1:50 比例混匀后抖在预湿的诱发株上并覆膜保湿 16 h 以上。于 5 月下旬,以符号 0、0₁、1、2、3 和 4 记载反应型(IT, infection type)^[5],其中 0 表示为免疫,0₁ 为近免疫,1 为高抗,2 为中抗,3、4 分别为中感和高感。调查 2 次,以最高鉴定结果为准。

1.4 抗病基因分子检测

采用改良的 CTAB 法^[11]提取 400 份供试小麦以及 5 个单基因系的幼叶基因组 DNA,用 1% 琼脂糖电泳检测 DNA 质量以及紫外分光光度仪测定其浓度。选用已开发的 *Yr5*、*Yr9*、*Yr10*、*Yr15*、*Yr17*、

Yr18 和 *Yr26* 共 7 个抗条锈基因的连锁标记(表 1)分别对供试材料进行分子检测,所有引物由北京奥科鼎盛生物科技有限公司合成。PCR 反应体系及扩增程序均参照各文献进行,扩增产物用 8% 或 10% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测。试验重复 2 次。

表 1 用于检测抗条锈病基因的分子标记及引物序列

Table 1 Molecular markers and primer sequences for stripe rust resistance genes

抗条锈基因 <i>Yr gene</i>	分子标记 Markers	引物序列 Primers sequence	遗传图距 (cM) Distance	片段大小 (bp) Size	退火温度(℃) Annealing temperature	参考文献 References
<i>Yr5</i>	S19M93-100	TAATTGGGACCGAGAGACG TTCTTGCAGCTCCAAAACCT	0.54	+100	62	[12]
	Xbarc349	CGAATAGCCGCTGCACAAG TATGCATGCCTTTCTTTACAAT	0.4	+105	46	[13]
<i>Yr9</i>	H20	GTTGGGCAGAAAGGTCGACATC GTTGGAAGGGAGCTCGAGCTG	*	+1598	60	[14]
	AF1/4	GGAGACATCATGAAACATTTG CTGTTGTTGGGCAGAAAG		+1500		[15]
<i>Yr10</i>	<i>Yr10</i> R1	GTGATGATTACCCACTTCCTC	*	+755	64	[16]
	<i>Yr10</i> F1	TTGGAATTGGCGACAAGCGT				
	<i>Yr10</i> R	TGGCCTACATGAACTCTGGAT		+543		
	<i>Yr10</i> F	TCAAAGACATCAAGAGCCGC				
<i>Yr15</i>	Y15K1-F2/ uhw301R	GGAGATAGAGCACATTACAGAC TTTCGCATCCCACCTACTG	*	+936	60	[17]
	Xbarc8	GCGGGGGCGAAACATACATAAAAAACA GCGGGAATCATGCATAGGAAAACAGAA	4.2	-280 +250	50	[13]
<i>Yr17</i>	VENTRIUP	AGGGGCTACTGACCAAGGCT	*	+262	65	[18]
	LN2	TGCAGCTACAGCAGTATGTACACAAAA				
	URIC/LN2	GGTCGCCCTGGCTTGACCTT TGCAGCTACAGCAGTATGTACACAAAA		+285 -275	64	
<i>Yr18</i>	L34DINT13R2	ACTTTCCTGAAAATAATACAAGCA	*	+751	58	[19]
	L34SPF	GGGAGCATTATTTTTTCCATCATG				
	csLV34	TGCTTGCTATTGCTGAATAGT GTTGGTTAAGACTGGTGATGG	0.4	-229 +150	57	[20]
<i>Yr26</i>	WE33	TAAACCAAGTCCCCCAA GGAGTCCATCTTCACCGA	1.47	+450	55	[21]
	WE173	GAGAGTTCCAAGCAGAACAC GGGACAAGGGGAGTTGAAGC	1.4	-780 +650		

*: 基因特异; +: 含有; -: 不含有

*: Gene specific, +: Have, -: No have

2 结果与分析

2.1 成株期抗病性鉴定

选用混合菌种对 400 份小麦品种(系)进行成株期抗性鉴定(详见 <http://doi.org.10.13430/j.cnki.jprg.20191009001>, 附表 1), 结果表明(表 2): 高抗至免疫的有 177 份, 占有品种(系)的 44.25%; 中抗的有 62 份, 占 15.50%; 有 40.25% 的品种(系)抗性表现为中感或高感。按所属麦区进

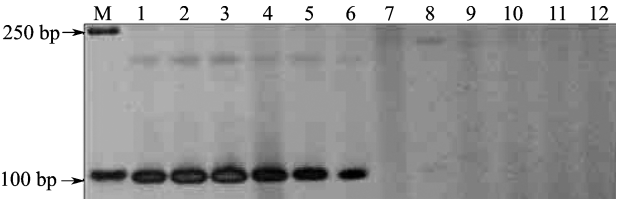
行统计分析,发现抗性在高抗至免疫的品种(系)中,中国西南冬麦区有 88 份、中国北方冬麦区有 66 份、引进品种有 21 份,所占比例均超过该地区的 42% 以上。另外,有 3 份中国长江中下游麦区品种(系)华麦 1168、华 2653 及华 2781 分别表现中感、高感及近免疫,1 份中国东北春麦区品种合作 2 号表现为高感,1 份中国西北春麦区品种定西 24 表现为免疫。2 个重复种植区抗性鉴定结果一致。

表 2 400 份小麦品种(系)成株期条锈病抗性评价
Table 2 Evaluation of resistance to stripe rust for 400 wheat varieties (lines) at adult stage

反应型 IT	中国西南冬麦区品种(系) Varieties (lines) of the Southwest China winter wheat area		中国北方冬麦区品种(系) Varieties (lines) of the Northern China winter wheat area		引进品种 Introduced varieties		总计 Total
	数量	占比(%)	数量	占比(%)	数量	占比(%)	
	Quantity	Proportion	Quantity	Proportion	Quantity	Proportion	
0、0 ₁ 、1	88	42.31	66	45.52	21	50.00	175
2	40	19.23	12	8.28	10	23.81	62
3	58	27.88	48	33.10	8	19.05	114
4	22	10.58	19	13.10	3	7.14	44

2.2 抗条锈基因分子检测

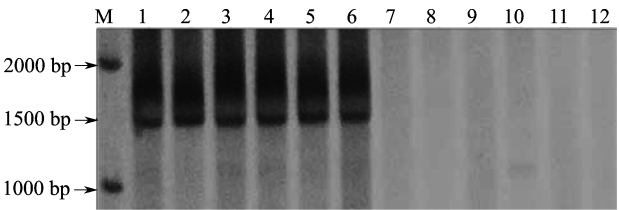
2.2.1 *Yr5* 分子检测 选用 STS 标记 S19M93-100 对所有材料进行 *Yr5* 基因检测,发现有川麦 62 等 122 份品种(系)可扩增出与 *Yr5/6*Avocet S* 一致的特征条带(图 1)。用共显性标记 Xbarc349 检测 *Yr5*,对照材料 *Yr5/6*Avocet S* 与含有 *Yr5* 的材料会扩增出 105 bp 的特征条带,结果有 126 份材料呈阳性反应。两标记共筛查出 121 份材料携带 *Yr5*,占 30.25%。



M: DL2000; 1: *Yr5/6*Avocet S*; 2: 川麦 62; 3: 慈优 2861; 4: 安麦 7 号; 5: 毕麦 18 号; 6: 昌麦 26; 7: 川麦 53; 8: 百农 3217; 9: 藁优 9415; 10: 定西 24; 11: 百农 4199; 12: 川育 6 号
M: DL2000, 1: *Yr5/6*Avocet S*, 2: Chuanmai62, 3: Hanyou2861, 4: Anmai7, 5: Bimai18, 6: Changmai26, 7: Chuanmai53, 8: Bainong3217, 9: Gaoyou9415, 10: Dingxi24, 11: Bainong4199, 12: Chuanyu6

图 1 引物 S19M93-100 检测 *Yr5* 的电泳图
Fig. 1 The PCR products of S19M93-100 for *Yr5* detection

2.2.2 *Yr9* 分子检测 利用 SCAR 标记 AF1/4^[15] 和引物 H20^[14] 进行 *Yr9* 的检测,在 *Yr9/6*Avocet S* 和含该基因的材料中可分别扩出大小为 1500 bp (图 2) 和 1598 bp 的阳性条带,不含 *Yr9* 基因则没有相应条带。两标记检测结果一致,共有 96 份品种(系)携带 *Yr9*,占 24%。

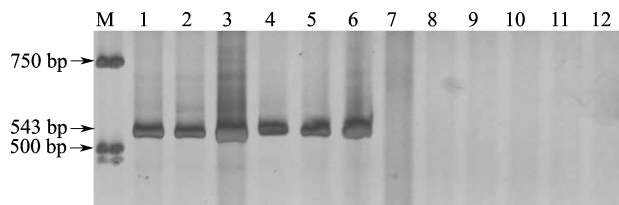


M: DL2000; 1: *Yr9/6*Avocet S*; 2: 矮抗 58; 3: 川育 24 号; 4: 机麦 211; 5: 河农 085; 6: 毕麦 18 号; 7: 川麦 53; 8: 百农 3217; 9: 藁优 9415; 10: 定西 24; 11: 百农 4199; 12: 川育 6 号
M: DL2000, 1: *Yr9/6*Avocet S*, 2: Aikang58, 3: Chuanyu24, 4: Jimai211, 5: Henong085, 6: Bimai18, 7: Chuanmai53, 8: Bainong3217, 9: Gaoyou9415, 10: Dingxi24, 11: Bainong4199, 12: Chuanyu6

图 2 引物 AF1/4 检测 *Yr9* 的电泳图
Fig. 2 The PCR products of AF1/4 for *Yr9* detection

2.2.3 *Yr10* 分子检测 利用两个与 *Yr10* 紧密连锁的特异性标记 *Yr10 F/R* 和 *Yr10-F1/R1*^[16] (表 1), 用其对供试小麦品种(系)进行分子检测,阳性对

照及阳性材料中可分别扩出一条 543 bp (图 3) 和 755 bp 的条带, 阴性对照及材料中不含任何条带。结果显示, 有 SW554 等 10 份品种 (系) 用两标记均能检测到特异带, 占 2.5%。品系 PZ15-5 和 N8256 仅 *Yr10* F/R 可检测到特征带, 而品系 CD0151829-3 和 15S2033-5 仅 *Yr10*-F1/R1 扩出了特征带, 因此这 4 个品系未算作含有 *Yr10* (详见 <http://doi.org.10.13430/j.cnki.jpgr.20191009001>, 附表 1)。



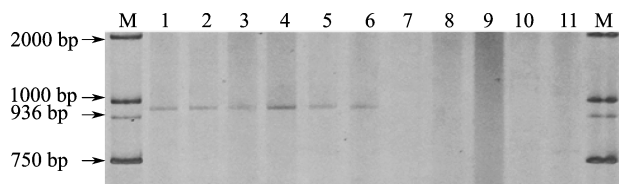
M: DL2000; 1: *Yr10*/6*Avocet S; 2: SW554; 3: Parsee; 4: Glenlea; 5: 红蚰子; 6: 红螭芒; 7: 川麦 53; 8: 百农 3217; 9: 藁优 9415; 10: 定西 24; 11: 百农 4199; 12: 川育 6 号

M: DL2000, 1: *Yr10*/6*Avocet S, 2: SW554, 3: Parsee, 4: Glenlea, 5: Hongyouzi, 6: Hongquanmang, 7: Chuanmai53, 8: Bainong3217, 9: Gaoyou9415, 10: Dingxi24, 11: Bainong4199, 12: Chuanyu6

图 3 用 *Yr10* F/R 检测 *Yr10* 电泳图

Fig. 3 The PCR products of *Yr10* F/R for *Yr10* detection

2.2.4 *Yr15* 分子检测 标记 Y15K1-F2/uhw301R^[17] 可用来筛查种质资源中 *Yr15* 基因。该标记在 *Yr15* 载体材料及 *Yr15*/6*Avocet S 中可扩增出大小 936 bp 的特征条带, 不含则没有该条带 (图 4), 最终检测到 65 份材料可能含有 *Yr15*, 而利用 SSR 标记 Xbarc8 检测时, 仅有 20 份材料符合 *Yr15*/6* Avocet S 标准带型。两标记共筛选出 19 份材料可能携带 *Yr15*, 占 4.75%。



M: DL2000; 1: *Yr15*/6*Avocet S; 2: 丰抗 2 号; 3: Gondveld; 4: 合作 2 号; 5: G15-14; 6: 14 展 26; 7: 川麦 53; 8: 百农 3217; 9: 藁优 9415; 10: 定西 24; 11: 百农 4199

M: DL2000, 1: *Yr15*/6*Avocet S, 2: Fengkang2, 3: Gondveld,

4: Hezuo2, 5: G15-14, 6: 14 zhan 26, 7: Chuanmai53,

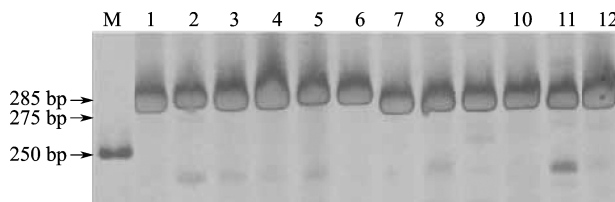
8: Bainong3217, 9: Gaoyou9415, 10: Dingxi24, 11: Bainong4199

图 4 用 Y15K1-F2/uhw301R 检测 *Yr15* 电泳图

Fig. 4 The PCR products of Y15K1-F2/uhw301R for *Yr15* detection

2.2.5 *Yr17* 分子检测 用特异标记 URIC/LN2 检测 *Yr17*, 含有该基因的材料可扩增出一条 285 bp 的

阳性条带, 不含 *Yr17* 的材料中则为一条 275 bp 大小的条带 (图 5); 另一标记 VENTRIUP/LN2 在阳性材料中可扩增出一条约 262 bp 的条带, 阴性对照中则没有条带。结果显示, 有川育 24 号等 150 份材料可能含有 *Yr17*, 占 37.5% (其中绝大多数材料来自西南冬麦区, 共计 134 份)。



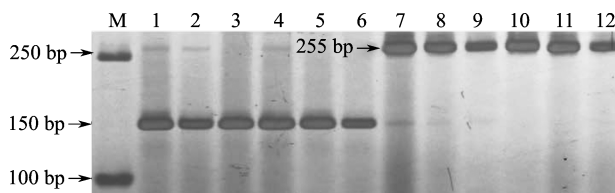
M: DL2000; 1: 川麦 62; 2: 川育 24 号; 3: 华麦 1168; 4: 河农 085; 5: 毕麦 18 号; 6: Eureka; 7: 川麦 53; 8: 百农 3217; 9: 藁优 9415; 10: 定西 24; 11: 百农 4199; 12: 川育 6 号

M: DL2000, 1: Chuanmai62, 2: Chuanyu24, 3: Huamai1168, 4: Henong085, 5: Bimai18, 6: Eureka, 7: Chuanmai53, 8: Bainong3217, 9: Gaoyou9415, 10: Dingxi24, 11: Bainong4199, 12: Chuanyu6

图 5 用 URIC/LN2 检测 *Yr17* 电泳图

Fig. 5 The PCR products of URIC/LN2 for *Yr17* detection

2.2.6 *Yr18* 分子检测 选用 STS 标记 csLV34 检测 *Yr18*, 若含此基因可扩增出 150 bp 大小的阳性条带, 不含则为 255 bp 大小的条带 (图 6), 最终检测到 15 份材料含有 *Yr18*。同时用标记 L34SPFL34DINT13R2 检测, 在阳性材料中可以扩增出一条约 750 bp 的特征条带, 阴性对照及材料中不含任何条带, 有 23 份材料可能含有 *Yr18*。综合分析, 15 份材料可能含有 *Yr18*, 占 3.75% (其中 8 份均来自国外麦区)。



M: DL2000; 1: Jupateco R; 2: Claudia; 3: Mexifen; 4: 矮粒多; 5: 白玉皮; 6: 采酱麦; 7: 川麦 53; 8: 百农 3217; 9: 藁优 9415; 10: 定西 24; 11: 百农 4199; 12: 川育 6 号

M: DL2000, 1: Jupateco R, 2: Claudia, 3: Mexifen, 4: Ailiduo,

5: Baiyupi, 6: Caijiangmai, 7: Chuanmai53, 8: Bainong3217,

9: Gaoyou9415, 10: Dingxi24, 11: Bainong4199, 12: Chuanyu6

图 6 用 csLV34 检测 *Yr18* 电泳图

Fig. 6 The PCR products of csLV34 for *Yr18* detection

2.2.7 *Yr26* 分子检测 WE173 以及 WE33 是与 *Yr26* 紧密连锁的标记^[21]。用 WE173 检测 *Yr26*, 在阳性对照 *Yr26*/6*Avocet S 以及含 *Yr26* 的材料中可检测到一条约 650 bp 的条带, 不含该基因的材料则为一条约 780 bp 条带 (图 7), 检测有 127 份

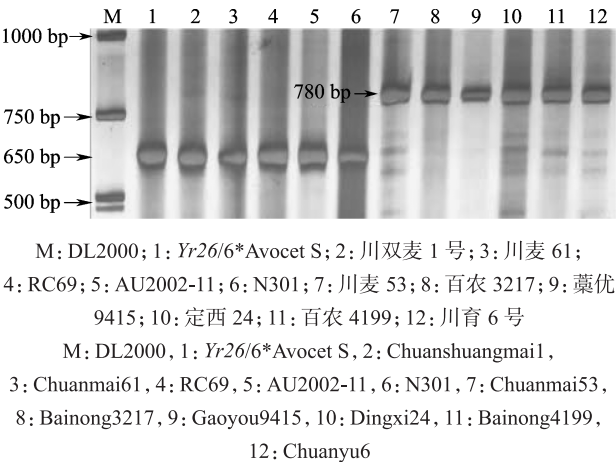


图 7 用 WE173 检测 *Yr26* 电泳图

Fig. 7 The PCR products of WE173 for *Yr26* detection

表 3 400 份小麦品种(系)抗性基因及基因组合

Table 3 Resistance genes and genetic combinations for 400 wheat varieties (lines)

抗病基因或组合 Resistance genes or gene combination	数量 Quantity	占比 (%) Proportion	抗病基因或组合 Resistance genes or gene combination	数量 Quantity	占比 (%) Proportion
<i>Yr5</i>	121	30.25	<i>Yr9+Yr17</i>	43	10.75
<i>Yr9</i>	96	24.00	<i>Yr10+Yr18</i>	1	0.25
<i>Yr10</i>	10	2.50	<i>Yr15+Yr17</i>	3	0.75
<i>Yr15</i>	19	4.75	<i>Yr17+Yr18</i>	1	0.25
<i>Yr17</i>	150	37.50	<i>Yr17+Yr26</i>	11	2.75
<i>Yr18</i>	15	3.75	<i>Yr5+Yr9+Yr15</i>	2	0.50
<i>Yr26</i>	127	31.75	<i>Yr5+Yr9+Yr17</i>	5	1.25
<i>Yr5+Yr9</i>	9	2.25	<i>Yr5+Yr10+Yr18</i>	1	0.25
<i>Yr5+Yr10</i>	2	0.50	<i>Yr5+Yr17+Yr26</i>	15	3.75
<i>Yr5+Yr15</i>	2	0.50	<i>Yr9+Yr15+Yr17</i>	3	0.75
<i>Yr5+Yr17</i>	9	2.25	<i>Yr9+Yr17+Yr26</i>	4	1.00
<i>Yr5+Yr18</i>	5	1.25	<i>Yr9+Yr15+Yr17+Yr26</i>	1	0.25
<i>Yr5+Yr26</i>	31	7.75	None	43	10.75
<i>Yr9+Yr15</i>	1	0.25	总计 Total	400	100.00

None: 不含 *Yr5*、*Yr9*、*Yr10*、*Yr15*、*Yr17*、*Yr18* 和 *Yr26*
None: Without *Yr5*, *Yr9*, *Yr10*, *Yr15*, *Yr17*, *Yr18* and *Yr26*

表 4 7 个抗条锈病基因在中国西南、北方冬麦区以及国外地区的数量分布及比例

Table 4 Distribution and proportion of 7 resistance genes to stripe rust in the Southwest/Northern winter wheat area of China and foreign regions

抗条锈基因 <i>Yr</i> gene	中国西南冬麦区品种(系) Varieties (lines) of the Southwest China winter wheat area		中国北方冬麦区品种(系) Varieties (lines) of the Northern China winter wheat area		引进品种 Introduced varieties	
	数量 Quantity	占比 (%) Proportion	数量 Quantity	占比 (%) Proportion	数量 Quantity	占比 (%) Proportion
<i>Yr5</i>	28	13.46	69	47.59	23	54.76
<i>Yr9</i>	57	27.40	35	24.14	3	7.14
<i>Yr10</i>	1	0.48	5	3.45	4	9.52
<i>Yr15</i>	13	6.25	3	2.07	2	4.76
<i>Yr17</i>	134	64.42	9	6.21	6	14.29
<i>Yr18</i>	2	0.96	5	3.45	8	19.05
<i>Yr26</i>	78	37.50	47	32.41	2	4.76

表 5 25 份可能含有未知抗条锈基因小麦品种(系)成株期抗病性表现及来源
Table 5 Performances of the adult-plant resistance and source for 25 wheat varieties (lines)

序号 No.	品种(系) Varieties (lines)	原产地或来源 Place of origin or source	成株期反应型 IT of the adult-plant
1	PZ15-2	中国四川农业大学	0
2	RC63	中国四川成都	2
3	CD0151944-2	中国科学院成都生物研究所	2
4	Cp02-23-1-1-1-2F11	中国农业科学院植物保护研究所	0
5	Cp06-66-1-2-2-3-1F9	中国农业科学院植物保护研究所	0
6	Cp06-73-2-2-1-1F6	中国农业科学院植物保护研究所	0;
7	Cp08-19-4-1-1-2F7	中国农业科学院植物保护研究所	2
8	Cp08-19-8-1-1-1F7	中国农业科学院植物保护研究所	0;
9	Cp09-35-1-2-4F7	中国农业科学院植物保护研究所	0
10	Cp09-3-1-1-2-1F7	中国农业科学院植物保护研究所	1
11	13YF349.1	中国河北省农林科学院粮油作物研究所	0
12	cau31	中国农业大学	0
13	LS117TL	中国山东泰安	0
14	百农 4199	中国河南新乡	0
15	N7187	中国陕西	0;
16	NB5118	中国陕西	0
17	NB8155	中国陕西	2
18	NB868	中国陕西	0
19	定西 24	中国甘肃	0
20	90921	CIMMYT-ICARD	0
21	SONMEZ	CIMMYT-ICARD	1
22	CADILLAC	加拿大	2
23	C591	印度	2
24	FG-1	法国	2
25	Jacui	巴西	0

3 讨论

抗源的筛选鉴定是小麦抗条锈育种的首要工作,小麦成株期抗病性鉴定能直观反映出筛选材料的抗病水平,能够为实际生产做出更好更真实的评价^[6]。试验结果表明,400 份供试材料中有近 60% 的品种(系)对条锈混合菌种抗性表现良好,并鉴定出 177 份成株期表现高抗至免疫的材料。

分子标记辅助检测是鉴定 *Yr* 基因存在的最常用方法^[23]。*Yr5*、*Yr9*、*Yr10*、*Yr15*、*Yr17*、*Yr18* 和 *Yr26* 是目前国内外仍广泛应用且研究较深入的主效抗条锈基因^[3],选用其相应标记进行筛查,发现所有品种(系)中 90% 的材料均可检测到一个或多个抗条锈基因,从中看出这批品种(系)所含抗条锈基因的丰富度较高,蕴含新抗性基因的概率较大,为

今后小麦抗病育种研究奠定了材料基础。

Yr5 是具有小种专化型的全生育期抗性基因^[12]。本试验中,*Yr5* 对照材料成株期鉴定结果为免疫 (IT=0),分子检测结果有 121 份材料疑似携带 *Yr5*。其中,仍有 NB9117 等 40 份材料成株期表现中 / 高感(附表 1),分析原因可能是某种表达抑制现象或基因重组导致基因未表达,但也不排除成株期鉴定有误以及分子检测假阳(阴)性现象的发生。*Yr9* 是源于黑麦且与 *Pm8*、*Lr26* 和 *Sr31* 连锁的 1B/1R 代换(易位)系,该类抗源对当前流行小种已丧失抗性^[24]。周阳等^[24]和李峰奇等^[22]曾分别对 1980-2002 年间黄淮冬麦区育成的 89 个主栽品种(系)和 2003-2007 年黄淮麦区生产上的 126 份主栽品种和后备品种检测,发现 *Yr9* 的分布频率分别为 42% 和 41.3%,此次检测的 145 份

黄淮等北方冬麦区品种(系)中有 35 份可能含有 *Yr9*, 占 24.14%, 比例有了明显降低。*Yr10* 和 *Yr15* 均为小种专业化全生育期抗性基因且抗病水平很高^[16-17]。庄巧生^[25]认为在中国小麦育种史上没有使用 *Yr10* 和 *Yr15* 的证据, 而此次检测到可能携带 *Yr10* 和 *Yr15* 的品种(系)分别为 10 份和 19 份, 分别占总数的 4.75% 和 2.5%, 比例确实很低, 建议今后可酌情将这些材料用于抗病育种, 以期实现基因聚合, 延长抗病年限。*Yr17* 是一个多抗基因簇, 兼抗叶锈与秆锈病^[26]。此前薛文波等^[8]从 2004-2014 年的 74 个全国小麦主栽品种中仅检测到 4 个品种携带 *Yr17*, 李北等^[9]在重庆 107 份主栽品种及高代品系中检测到 17 份含 *Yr17* 基因, 占比均不高, 而贾举庆等^[26]于 2010 年对 54 份四川育成品种(系)检测, 发现 27.8% 的材料(15 份)携带 *Yr17*, 说明 *Yr17* 在四川品种(系)中有较高分布, 而在北方麦区及引进品种占比很少, 这与本试验研究结果基本一致。基于 *Yr17* 已经完全丧失对 V26/CM42 的抗性^[9], 今后需对四川的 208 份高代品系或育成品种多加注意, 合理利用。*Yr18/Lr34/Pm38* 是一个慢锈抗性基因位点, 对小麦叶锈、白粉也具有部分抗性^[27]。本试验检测到携带 *Yr18* 的品种(系)仅有 15 份, 占 3.75%, 这与曾庆东等^[28]在“西北-华北-长江中下游”小麦条锈病流行区内收集的 495 份小麦品种(系)中仅有 10 份材料携带有 *Yr18* 基因, 占 2.02%; 杨文雄等^[29]对 2007 年以前我国 231 份小麦育成品种(系)检测, 仅有 14 份材料携带 *Lr34/Yr18* 基因和张玉薇等^[30]在 2006-2010 年 75 个国家审定小麦品种中只检测到西农 928 一份材料的情况也基本一致, 说明此基因在中国小麦育种中一直较少应用。相比白玉路等^[7]研究发现 *Yr18* 在美国西北部 59 个小麦品种(系)中出现的频率高达 56%, 此次检测的 42 份引进品种中就有 10 份含有 *Yr18*, 比例明显高于中国品种(系)。*Yr26* 亦为全生育期抗性基因, 广泛应用于四川、甘肃及贵州等地的小麦抗条锈育种当中, 且 *Yr26* 已对 V26 致病类群失去抗性^[31]。本研究发现, 该基因在中国西南和北方冬麦区品种(系)中比例较高, 分别达到 37.50% 和 32.41%, 对于这些品种(系)尤其成株期表现感病的材料, 育种家应充分考虑其抗病性, 避免推广后面临条锈病大范围爆发的风险。

参考文献

- [1] 刘志勇, 王道文, 张爱民, 梁翰文, 吕慧颖, 邓向东, 葛毅强, 魏珣, 杨维才. 小麦育种行业创新现状与发展趋势. 植物遗传资源学报, 2018, 19(3): 58-62
- [2] 杨进荣, 王成社, 刘俊, 邹淑芳, 黄小刚. 抗条锈病小麦品种 9365 在抗病育种中的利用与评价. 植物遗传资源学报, 2005, 6(2): 240-241
- [3] 康振生, 王晓杰, 赵杰, 汤春蕾, 黄丽丽. 小麦条锈菌致病性及其变异研究进展. 中国农业科学, 2015, 48(17): 3439-3453
- [4] 韩德俊, 康振生. 中国小麦品种抗条锈病现状及存在问题与对策. 植物保护, 2018, 44(5): 6-17
- [5] 李振岐, 曾士迈. 中国小麦锈病. 北京: 中国农业出版社, 2002: 362-373
- [6] 韩德俊, 张培禹, 王琪琳, 曾庆东, 吴建辉, 周新力, 王晓杰, 黄丽丽, 康振生. 1980 份小麦地方品种和国外种质抗条锈性鉴定与评价. 中国农业科学, 2012, 45(24): 5013-5023
- [7] 白玉路, 孙权, 张春宇, 崔娜, 林凤, 徐世昌, 章振羽, 高阳, 徐晓丹. 美国西北部 59 个小麦品种(系)抗条锈病基因分子检测及对中国条锈菌系抗性鉴定. 中国农业科学, 2010, 43(6): 1147-1155
- [8] 薛文波, 许鑫, 穆京妹, 王琪琳, 吴建辉, 黄丽丽, 康振生, 韩德俊. 中国小麦主栽品种抗条锈性评价与基因分析. 麦类作物学报, 2014, 34(8): 1054-1060
- [9] 李北, 徐琪, 杨宇衡, 王琪琳, 曾庆东, 吴建辉, 穆京妹, 黄丽丽, 康振生, 韩德俊. 重庆麦区小麦品种(系)抗条锈性评价与基因分析. 中国农业科学, 2017, 50(3): 413-425
- [10] 孙建鲁, 王吐虹, 冯晶, 蔺瑞明, 王凤涛, 姚强, 郭青云, 徐世昌. 100 个小麦品种资源抗条锈性鉴定及重要抗条锈病基因的 SSR 检测. 植物保护, 2017, 43(2): 64-72

- Sun J L, Wang T H, Feng J, Lin R M, Wang F T, Yao Q, Guo Q Y, Xu S C. Identification of resistance to wheat stripe rust and detection of known resistance genes in 100 wheat cultivars with SSR markers. *Plant Protection*, 2017, 43 (2): 64-72
- [11] Hillambroz K L, Brownuedira G L, Fellers J P. Modified rapid DNA extraction protocol for high throughput microsatellite analysis in wheat. *Crop Science*, 2002, 42 (6): 2088-2091
- [12] Smith P H, Hadfield J, Hart N J, Koebner R M D, Boyd L A. STS markers for the wheat yellow rust resistance gene *Yr5* suggest a NBS-LRR-type resistance gene cluster. *Genome*, 2007, 50 (3): 259-265
- [13] Murphy L R, Dipak S, Kimberlee K, Yan G P, Chen X M, Garland C K. Linkage maps of wheat stripe rust resistance genes and for use in marker-assisted selection. *Crop Science*, 2009, 49 (5): 1786-1790
- [14] Liu C, Yang Z J, Li G R, Zeng Z X, Zhang Y, Zhou J P, Liu Z H, Ren Z L. Isolation of a new repetitive DNA sequence from *Secale africanum* enables targeting of *Secale* chromatin in wheat background. *Euphytica*, 2008, 159 (1-2): 249-258
- [15] Francis H A, Leitch A R, Koebner R M D. Conversion of a RAPD-generated PCR product, containing a novel dispersed repetitive element, into a fast and robust assay for the presence of rye chromatin in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 1995, 90 (5): 636-642
- [16] Singh R, Datta D, Priyamvada, Singh S, Tiwari R. A diagnostic PCR based assay for stripe rust resistance gene *Yr10* in wheat. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 2009, 44 (1): 11-18
- [17] Klymiuk V, Yaniv E, Huang L, Raats D, Fatiukha A, Chen S S, Feng L H, Frenkel Z, Krugman T, Lidzbarsky G, Chang W, Jääskeläinen M J, Schudoma C, Paulin L, Laine P, Bariana H, Sela H, Saleem K, Sørensen C K, Hovmöller M S, Distelfeld A, Chalhouh B, Dubcovsky J, Korol A B, Schulman A H, Fahima T. Cloning of the wheat *Yr15* resistance gene sheds light on the plant tandem kinase-pseudokinase family. *Nature Communications*, 2018, 9: 3735
- [18] Helguera M, Khan I A, Kolmer J, Lijavetzky D, Zhong-qi L, Dubcovsky J. PCR assays for the *Lr37-Yr17-Sr38* cluster of rust resistance genes and their use to develop isogenic hard red spring wheat lines. *Crop Science*, 2003, 43 (5): 1839-1847
- [19] Lagudah E S, Mcfadden H, Singh R P, Huerta-Espino J, Bariana H S, Spielmeier W. Molecular genetic characterization of the *Lr34/Yr18* slow rusting resistance gene region in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 2006, 114 (1): 21-30
- [20] Lagudah E S, Krattinger S G, Herrera-Foessel S, Singh R P, Huerta-Espino J, Spielmeier W, Brown-Guedira G, Selter L L, Keller B. Gene-specific markers for the wheat gene *Lr34/Yr18/Pm38* which confers resistance to multiple fungal pathogens. *Theoretical and Applied Genetics*, 2009, 119 (5): 889-898
- [21] Zhang X J, Han D J, Zeng Q D, Duan Y H, Yuan F P, Shi J D, Wang Q L, Wu J H, Huang L L, Kang Z S. Fine mapping of wheat stripe rust resistance gene *Yr26* based on collinearity of wheat with *Brachypodium distachyon* and rice. *PLoS One*, 2013, 8 (3): e57885
- [22] 李峰奇, 韩德俊, 魏国荣, 曾庆东, 黄丽丽, 康振生. 黄淮麦区 126 个小麦品种 (系) 抗条锈病基因的分子检测. *中国农业科学*, 2008, 41 (10): 3060-3069
- Li F Q, Han D J, Wei G R, Zeng Q D, Huang L L, Kang Z S. Molecular detection of stripe rust resistant genes in 126 winter wheat varieties from the Huanghuai wheat region. *Scientia Agricultura Sinica*, 2008, 41 (10): 3060-3069
- [23] Umesh G, Sarvjeet K, Rakesh Y, Neha S, Kajal T, Goyal A K. Recent trends and perspectives of molecular markers against fungal diseases in wheat. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 861
- [24] 周阳, 何中虎, 张改生, 夏兰琴, 陈新民, 高永超, 井赵斌, 于广军. 1BL/1RS 易位系在我国小麦育种中的应用. *作物学报*, 2004, 30 (6): 531-535
- Zhou Y, He Z H, Zhang G S, Xia L Q, Chen X M, Gao Y C, Jing Z B, Yu G J. Utilization of 1BL/1RS translocation in wheat breeding in China. *Acta Agronomica Sinica*, 2004, 30 (6): 531-535
- [25] 庄巧生. 中国小麦品种改良及系谱分析. 北京: 中国农业出版社, 2003: 421-443
- Zhuang Q S. Chinese wheat improvement and pedigree analysis. Beijing: China Agriculture Press, 2003: 421-443
- [26] 贾举庆, 雷孟平, 刘成, 李光蓉, 杨足君. 小麦抗条锈基因 *Yr17* 的新 SCAR 标记的建立与应用. *麦类作物学报*, 2010, 30 (1): 11-16
- Jia J Q, Lei M P, Liu C, Li G R, Yang Z J. Exploitation and application of a new SCAR marker linked to strip rust resistance gene *Yr17* in wheat. *Journal of Triticeae Crops*, 2010, 30 (1): 11-16
- [27] 伍玲, 夏先春, 朱华忠, 李式昭, 郑有良, 何中虎. CIMMYT 273 个小麦品种抗病基因 *Lr34/Yr18/Pm38* 的分子标记检测. *中国农业科学*, 2010, 43 (22): 4553-4561
- Wu L, Xia X C, Zhu H Z, Li S Z, Zheng Y L, He Z H. Molecular characterization of *Lr34/Yr18/Pm38* in 273 CIMMYT wheat cultivars and lines using functional markers. *Scientia Agricultura Sinica*, 2010, 43 (22): 4553-4561
- [28] 曾庆东, 吴建辉, 王琪琳, 韩德俊, 康振生. 持久抗病基因 *Yr18* 在中国小麦抗条锈育种中的应用. *麦类作物学报*, 2012, 32 (1): 13-17
- Zeng Q D, Wu J H, Wang Q L, Han D J, Kang Z S. Application of durable resistance gene *Yr18* to stripe rust in Chinese wheat breeding. *Journal of Triticeae Crops*, 2012, 32 (1): 13-17
- [29] 杨文雄, 杨芳萍, 梁丹, 何中虎, 尚勋武, 夏先春. 中国小麦育成品种和农家种中慢锈基因 *Lr34/Yr18* 的分子检测. *作物学报*, 2008, 34 (7): 1109-1113
- Yang W X, Yang F P, Liang D, He Z H, Shang X W, Xia X C. Molecular characterization of slow-rusting genes *Lr34/Yr18* in Chinese wheat cultivars. *Acta Agronomica Sinica*, 2008, 34 (7): 1109-1113
- [30] 张玉薇, 刘博, 刘太国, 高利, 陈万权. 小麦品种抗条锈病基因 *Yr10*、*Yr18* 及 1BL/1RS 易位的分子检测. *植物保护*, 2014, 40 (1): 54-59, 94
- Zhang Y W, Liu B, Liu T G, Gao L, Chen W Q. Molecular detection of *Yr10* and *Yr18* genes and 1BL/1RS translocation in wheat cultivars. *Plant Protection*, 2014, 40 (1): 54-59, 94
- [31] 陈天青, 黄芳, 李文贞, 蒋选利, 王伟, 刘冬成, 阳文龙, 张爱民, 张立昇. 西南地区小麦抗条锈病种质的遗传多样性及群体结构分析. *植物遗传资源学报*, 2015, 16 (6): 1157-1167
- Chen T Q, Huang F, Li W Z, Jiang X L, Wang W, Liu D C, Yang W L, Zhang A M, Zhang L Y. Investigation and analysis of genetic diversity and population structure for wheat germplasm resistant to stripe rust in Southwest China. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2015, 16 (6): 1157-1167