

小麦 Hussar 衍生品系抗叶锈病基因分析

赵欣雨¹, 王羽², 李艳艳¹, 高维芳¹, 李星¹, 康占海¹

(¹河北农业大学植物保护学院, 保定 071000; ²河北农业大学食品科技学院, 保定 071000)

摘要: 以抗叶锈病小麦品系 Hussar 的衍生品系 H103P 为抗病亲本, 郑州 5389 为感病亲本杂交得到的 234 个 F₄ 家系群体为材料, 进行抗叶锈病基因定位分析。利用带有不同毒力的 16 个叶锈菌生理小种进行苗期抗叶锈性鉴定, 结果表明周麦 22 及携带 *Lr13*、*Lr23* 和 *Lr16* 单基因的载体品种对 16 个叶锈菌生理小种均表现感病, H103P 对除 PHKT 外的所有小种表现抗病, 表明 H103P 抗叶锈性与携带 *Lr13*、*Lr23* 和 *Lr16* 单基因的载体品种不同。利用 5 种强毒力混合菌种 (THTT、PHTT^②、FHJS^②、PHKS、PHTT^①) 进行田间抗叶锈性鉴定, 结果表明 H103P、SAAR、周麦 22 以及 *Lr13* 载体品种田间表现均为高抗, 234 个 F₄ 家系群体抗性呈连续性分布, 在田间表现出良好的成株期抗性。抗叶锈病基因定位分析结果表明, 在小麦品系 H103P 中定位到 1 个位于小麦 2BS 染色体上的抗叶锈病基因, 暂命名为 *LrHu*。利用含有 *Lr13* 的特异性引物对 H103P 和郑州 5389 的扩增产物进行特异性酶切, 结果发现小麦品系 H103P 含有抗叶锈病基因 *Lr13*。小麦抗叶锈病基因 *LrHu* 与 *Lr13* 的关系还需进一步研究验证。

关键词: 小麦叶锈病; 主效基因定位; 分子标记

Location of Resistance to Leaf Rust in Wheat Line Derived from Hussar

ZHAO Xinyu¹, WANG Yu², LI Yanyan¹, GAO Weifang¹, LI Xing¹, KANG Zhanhai¹

(¹College of Plant Protection, Hebei Agricultural University, Baoding 071000; ²College of Food Science and Technology, Hebei Agricultural University, Baoding 071000)

Abstract: This study used the derivative line H103P of the wheat line Hussar, which has resistance to leaf rust, as the resistant parent and Zhengzhou 5389 as the susceptible parent to hybridize and obtain 234 F₄ family populations as materials for leaf rust resistance gene mapping analysis. Identification of leaf rust resistance during seedling stage using 16 physiological races of leaf rust fungus with different virulence. The results showed that Zhoumai 22 and vector varieties carrying *Lr13*, *Lr23* and *Lr16* single gene were susceptible to 16 physiological races of leaf rust. Except for one race (PHKT), H103P showed resistance to all other races. The resistance of H103P is different from the vector varieties corresponding to these three genes (*Lr13*, *Lr23* and *Lr16*). Use 5 highly virulent mixed strains (THTT, PHTT^②, FHJS^②, PHKS, PHTT^①) for field identification of leaf rust resistance. The results showed that H103P, SAAR, Zhoumai 22 and *Lr13* vector variety exhibited high resistance in the field. 234 F₄ family populations are distributed continuously and exhibit good resistance during the mature stage in the field. The results of leaf rust resistance gene mapping analysis indicate that H103P is located as a disease resistance gene on the 2BS chromosome of wheat, temporarily named *LrHu*. Using specific primers containing *Lr13* for specific cleavage of H103P and amplification products of Zhengzhou 5389, it is

收稿日期: 2023-07-08 修回日期: 2023-11-26 网络出版日期: 2023-12-09

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20230708002>

第一作者研究方向为分子植物病理学, E-mail: 1456143811@qq.com

通信作者: 康占海, 研究方向为农药学, E-mail: kangzhanhai@hebau.edu.cn

李星, 研究方向为分子植物病理学, E-mail: lxkzh@163.com

基金项目: 国家自然科学基金(32001890); 2023 年度河北省引进留学人员资助项目(C20230107)

Foundation projects: National Natural Science Foundation of China (32001890); 2023 Scholarship Program for Introducing Overseas Students of Hebei (C20230107)

showed that the wheat leaf rust resistance gene *Lr13* is contained in H103P. The relationship between the wheat leaf rust resistance gene *LrHu* and *Lr13* is needed to verify by the further research.

Key words: wheat leaf rust; major gene mapping; molecular marker

小麦叶锈病分布范围广泛,其病原菌为叶锈菌(*Puccinia triticina*)^[1],该病原菌属于柄锈菌科,在转主寄主唐松草(*Thalictrum speciosissimum*)中进行有性生殖^[2]。小麦叶锈病病原菌积累、偏施氮肥、大水漫灌、气候因素以及主栽品种抗性丧失等综合因素,营造了叶锈菌生存的适宜环境,使其由次要病害上升为主要病害^[3]。因叶锈病流行迅速,且初期症状隐蔽,响应不及时会使病害严重爆发,严重影响小麦产量,若在苗期感病可造成小麦减产50%^[4]。深入研究抗病机制^[5]、选育抗病品种、合理基因布局和多基因聚合,是绿色安全、经济有效、利于持续性发展的措施^[6]。利用抗源库培育并种植多基因聚合的抗病品种有利于降低叶锈病的流行^[7-8]。目前已有100多个抗叶锈基因被报道,这些基因中已有近一半用于小麦育种事业,其中已被正式命名的有83个^[9],且大部分都是小种专化抗性基因^[10]。在已被命名的基因中表现成株抗性的有*Lr12*、*Lr13*、*Lr77*、*Lr22b*、*Lr23*、*Lr67*、*Lr34*、*Lr46*、*Lr48*、*Lr49*、*Lr68*、*Lr74*、*Lr75*、*Lr35*、*Lr22a*和*Lr78*^[11]。我国已知且仍保持着高抗的抗病基因目前非常少,只有*Lr9*、*Lr19*、*Lr24*、*Lr38*、*Lr47*、*Lr51*和*Lr53*^[12]。由于叶锈菌小种很容易发生变异,慢锈性抗性持久但受环境影响较大^[13]。目前检测到且被正式命名的慢锈性基因仅有位于7DS上的*Lr34*、1BL上的*Lr46*、4DL上的*Lr67*^[14]和7BL上的*Lr68*^[15]。

Hussar是来自英格兰的普通小麦品种,其亲本组合为Squadron/Rendezvous^[16]。已有研究报道Hussar对北欧小麦叶锈菌种表现高抗,其中含有*Lr26*和*Lr37*基因^[17],目前*Lr26*对中国多数小种已丧失抗性,*Lr37*为成株抗性基因。课题组前期利用*Lr37*的特异性引物对Hussar和中国小麦品种偃展1号(亲本组合为C39/西北78(6)9-2//冀麦30/3/豫麦18)杂交获得的重组自交系群体(中国农业科学院植物保护研究所惠赠)进行分子检测,筛选获得了4个不含有*Lr37*的衍生品系,分别为H69P、H72P、H103P、H113P。为了确定Hussar的抗叶锈基因,本研究选取Hussar衍生品系H103P和郑州5389构建的234个F₄家系群体,对该群体用SSR分子标记得到F₄群体基因型数据并结合苗期和成株期接菌调查分析得到的表型数据,初步定位该品种的抗叶锈

病基因,以丰富抗叶锈病基因库,挖掘新的基因,为小麦抗叶锈病育种提供新的抗源。

1 材料与方法

1.1 试验材料

小麦材料:抗病亲本H103P和感病亲本郑州5389以及二者杂交后所得的234个F₄家系群体、周麦22(含抗性基因*LrZH22*)、携带*Lr13*、*Lr16*、*Lr23*单基因载体品种、慢锈对照品种SAAR。以上所有的小麦材料均由河北农业大学生防与分子植病实验室提供。

菌种材料:苗期鉴定所用的16种不同毒力的叶锈菌生理小种:FHJS^①、FHJT^①、FHKT^①、PHTT^①、FHJT、THPS、THDP、KGTT、FHKT^②、THTT、NHKP、PHKS、FHJT^②、PHTT^②、FHJS^②、PHKT;大田成株期鉴定所用的是混合叶锈菌生理小种,选取5个强毒力的田间流行小种THTT、PHTT^②、FHJS^②、PHKS和PHTT^①制成混合菌种。以上所有的菌种材料均由河北农业大学生防与分子植病实验室保存。

1.2 苗期侵染型鉴定

将H103P、郑州5389、周麦22、*Lr13*载体品种、*Lr16*载体品种、*Lr23*载体品种种于高度、直径均为9.5cm的花盆中,每盆每个品种15粒,每品种各种植16套置于河北农业大学温室内,待小麦材料长至一叶一心时,采用扫抹法^[18]将16种不同毒力的叶锈菌生理小种均匀地接种于16套小麦材料叶片上,将接种后的小麦苗置于黑暗的保湿桶内大约15h,次日将其置于25℃温室内。约15d后,郑州5389侵染型达到4级时进行抗性鉴定。侵染型级别采用Roelfs等^[19]提出的6级鉴定标准,其中0级为免疫、1级和“;”为高抗,2级为中抗,3级和4级为感病。

1.3 成株期抗叶锈性鉴定

2021年10月中旬将H103P和郑州5389以及二者杂交后所得的234个F₄家系群体、慢锈对照品种SAAR、周麦22及*Lr13*载体品种种植于河北省保定市试验田,行距25cm,行长75cm,每个材料播种1行,每10行材料种植1行郑州5389便于鉴定,并将郑州5389垂直于播种行种植作为诱发行。保护行种植黑麦,可以有效的防止周围田地被传染,常规田间管理。

2022年4月中旬,小麦拔节期时将5种强毒力混合菌种孢子配置成0.05%浓度的孢子悬浮液,均匀喷洒至诱发行,常规田间管理。诱发行发病后会自然传染待测材料,待郑州5389严重度达到80%时进行第1次病害调查;之后每隔1周进行1次病害调查;直至郑州5389发病100%时进行最后1次调查。并以最后1次调查的严重度最高值作为成株期叶锈病最终严重度。参照Peterson等^[20]提出的方法,鉴定叶片发病严重度,即叶片发病面积的百分比,分为12个等级:1%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%和100%。抗性等级为:高抗:严重度<5%;慢锈性:严重度5%~20%;中抗:严重度20%~40%;中感:严重度40%~80%;高感:严重度80%~100%。

1.4 F₄家系SSR标记筛选

参考Sharp等^[21]的CTAB法稍加改良提取DNA。根据分离群体分组分析法(BSA, bulked segregation analysis)的要求,依据234个F₄家系群体田间严重度,选取5个高抗家系(严重度<5%)和5个高感家系(严重度80%~100%),提取DNA后稀释至相同浓度并混合,构建抗、感池,作为初步筛选抗、感小群体。根据660K SNP检测结果,首先使用分布于小麦8条染色体上的481对SSR引物(生工生物工程(上海)股份有限公司合成),对亲本H103P和郑州5389之间的多态性进行筛选,用抗、感小群体对筛选出的分子标记进一步验证,挑选出小群体抗感带型交换个数在30%以下的分子标记,进而对234个F₄家系群体扩增获得基因型数据。根据苗期接菌鉴定获得的表型数据,将两个数据导入软件JoinMap 4.0 (LOD值大于3,使用kosambi

作图函数),构建该抗病基因的遗传图谱。用聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE, polyacrylamide gel electrophoresis)进行引物的多态性筛选。SSR引物PCR反应总体系为10 μL:引物共(5 μmol/L)1 μL、模板DNA(50 ng/μL)1 μL、ddH₂O 3 μL、2×Taq PCR Mix(康为世纪生物科技股份有限公司)5 μL。SSR引物PCR反应程序为:94 °C预变性5 min;94 °C变性30 s,55~60 °C退火30 s,72 °C延伸30 s,35个循环;72 °C延伸7 min;4 °C保存备用。

1.5 抗叶锈病基因 *LrZH22/Lr13* 与 H103P 片段比对

LrZH22 和 *Lr13* 是同一个基因,为检测H103P中含有的抗叶锈病基因与*Lr13*的关系,利用*Lr13*的特异性引物(上游引物:TGCACATGGATATGCGGAGA;下游引物:GCTTTGAGTTGCCCATGCTC)对H103P和郑州5389的扩增产物进行特异性酶切,引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。SSR引物PCR反应总体系和反应程序同1.4。

SSR引物酶切反应体系:SSR引物PCR产物8 μL、*Hind* III酶0.5 μL(New England Biolabs(NEB)购买)、buffer 1 μL。SSR引物酶切反应:37 °C 90 min;10 °C保存。

2 结果与分析

2.1 苗期侵染型鉴定结果

苗期接菌鉴定结果表明,郑州5389、周麦22以及*Lr13*、*Lr16*和*Lr23*载体品种对16个生理小种均感病,H103P对除PHKT以外的所有小种表现抗病。表明H103P的抗叶锈性比郑州5389、周麦22以及*Lr13*、*Lr16*和*Lr23*载体品种更好(表1,图1)。

表1 16个小麦叶锈菌生理小种苗期侵染型鉴定结果

Table 1 Identification results of infection types of 16 physiological races of wheat leaf rust during seedling stage

品种 Varieties	基因 Gene	叶锈菌侵染型 Leaf rust fungus infection type															
		FH JS ^①	FH TT ^①	FH KT ^①	PH TT ^①	FH JT	TH PS	TH DP	KG TT	FH KT ^②	TH TT	NH KP	PH KS	FH TT ^②	PH TT ^②	FH JS ^②	PH KT
H103P		2+	2+	2+	2+	2+	1	1	2	2+	2	2	2	2	2	2	3
郑州5389 Zhengzhou 5389		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
周麦22 Zhoumai 22		3	3	4	4	4	4	4	3	3	3	3	3	4	4	3	4
载体品种 Carrier variety	<i>Lr13</i>	4	3	3	3	3	3	3	4	4	4	3	4	4	4	3	3
	<i>Lr16</i>	4	3	4	3	3	4	3	4	4	3	4	4	3	4	4	3
	<i>Lr23</i>	4	4	4	4	4	4	3	3	4	3	4	3	4	3	4	3

+表示小麦材料侵染程度比该等级的正常水平高

+indicates that the degree of infection of wheat materials is higher than the normal level of this grade

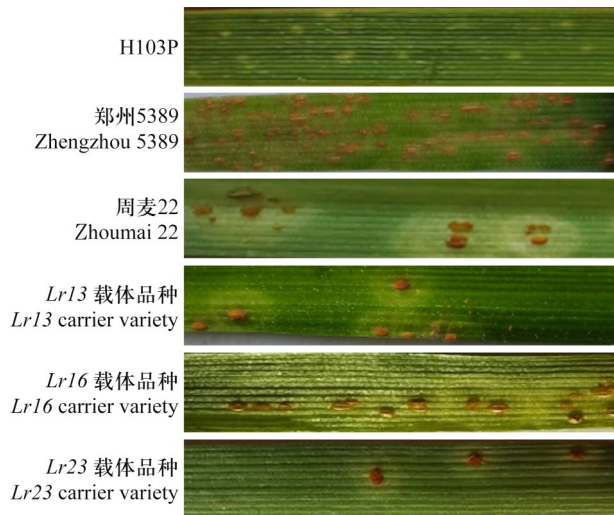


图1 不同品种对叶锈菌生理小种 THDP 的侵染型

Fig.1 Infection type of different varieties on the physiological race THDP of leaf rust fungus

2.2 成株期抗叶锈性鉴定结果

Hussar 的衍生品系 H103P、郑州 5389、慢锈对照品种 SAAR、周麦 22 以及 *Lr13* 载体品种田间鉴定结果表明, H103P、SAAR、周麦 22 以及 *Lr13* 载体品种田间表现型均为慢锈性(表 2)。

表 2 H103P、郑州 5389、周麦 22 和 *Lr13* 载体品种的严重度
Table 2 The severity of H103P, Zhengzhou 5389, Zhoumai 22, and *Lr13* carrier varieties

品种 Varieties	最终严重度(%) Final disease severity	抗性 Resistance
H103P	10	慢锈性
郑州 5389 Zhengzhou 5389	100	高感
周麦 22 Zhoumai 22	15	慢锈性
<i>Lr13</i> 载体品种 <i>Lr13</i> carrier variety	18	慢锈性
SAAR	5	慢锈性

H103P 和郑州 5389 以及二者杂交后所得的 234 个 F_4 家系群体田间抗叶锈性鉴定结果表明, H103P 严重度为 10%, 郑州 5389 严重度为 100%, 234 个 F_4 家系群体最终严重度在 5%~100% 范围(图 2), 呈连续性分布, 该群体在田间表现出良好的成株期抗性。

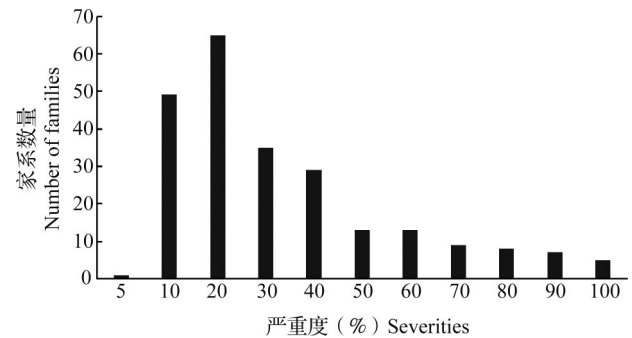


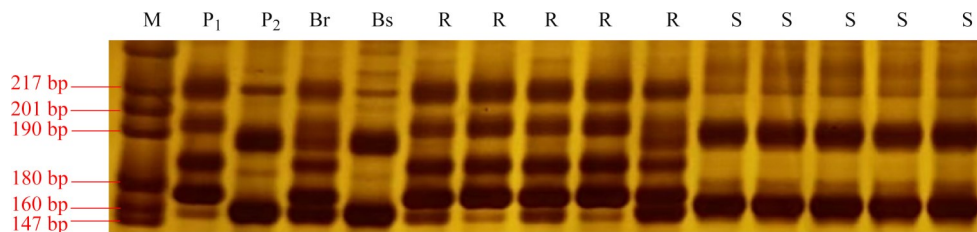
图 2 F_4 家系群体田间严重度分布

Fig.2 Severity distribution of F_4 family populations in the field

2.3 H103P 抗叶锈病基因定位结果

在亲本间筛选了小麦染色体上的 481 对 SSR 引物, 其中在 2B 染色体上的引物多态性占比最大, 为 77%, 因此使用 2B 染色体上的 SSR 引物, 筛选在亲本间表现多态性的引物, 再将这些引物在构建好的抗感池进行筛选, 最终筛选到 *Xgwm148* (F: GTGA GGCAGCAAGAGAGAAA; R: CAAAGCTTGACT CAGACCAA) 、*Xgwm374* (F: ATAGTGTGTTGC ATGCTGTGTG; R: TCTAATTAGCGTTGGCTGCC) 及 *Xgwm474* (F: ATGCTATTAAGTAGCATGTGTC G; R: AGTGAAACATCATTCTGGTA) 共 3 个标记与 Hussar 衍生品系 H103P 中的抗叶锈病基因连锁。

通过 Joinmap 4.0 软件分析, 发现 1 个位于 2BS 染色体上的小麦抗叶锈病基因, 暂命名为 *LrHu*。距离 *LrHu* 最近的标记为 *Xgwm148*, *LrHu* 在其一侧 15.6 cM 处(图 3、图 4)。



M: PBR322/Msp I Marker; P₁: H103P; P₂: 郑州 5389; Br: 抗病池; Bs: 感病池; R: 抗病 F_4 家系; S: 感病 F_4 家系
P₁: H103P; P₂: Zhengzhou5389; Br: Resistant bulk; Bs: Susceptible bulk; R: Resistant F_4 pedigree; S: Susceptible F_4 pedigree

图 3 *Xgwm148* 引物扩增 F_4 家系 PCR 产物的聚丙烯酰胺凝胶电泳部分结果

Fig. 3 Electrophoresis of PCR products amplified with SSR marker *Xgwm148* on polyacrylamide gels

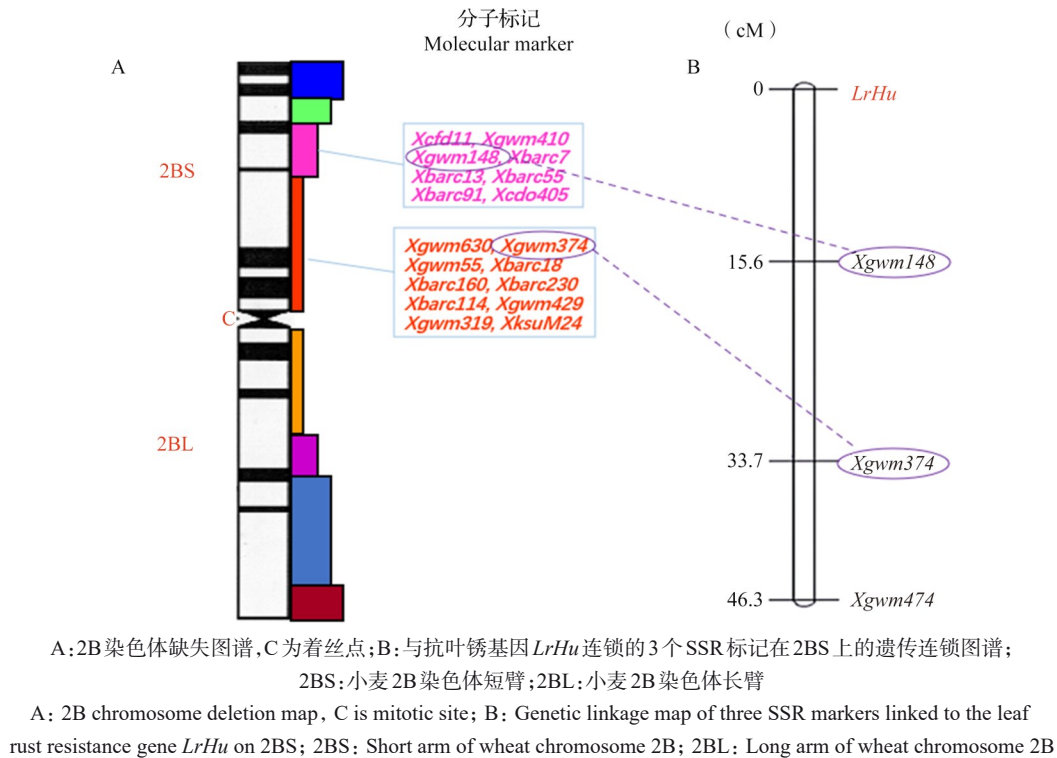


图4 *LrHu*在2BS染色体上构建的遗传连锁图谱

Fig. 4 Genetic linkage mapping of *LrHu* constructed on chromosome 2BS

2.4 抗叶锈病基因 *Lr13* 与 H103P 片段比对结果

Lr13 是1个具有温敏性的成株抗叶锈病基因^[22],但也表现出一定的苗期抗性。结合苗期鉴定和成株期鉴定结果综合分析,表明 *LrHu* 是1个全生育期的抗叶锈病基因。对 *Lr13* 的特异性引物^[22]的扩增产物进行特异性酶切,结果表明, *Lr13* 载体品种、H103P、周麦22被酶切后的DNA片段是297 bp和134 bp,而不能被酶切的郑州5389的DNA片段是413 bp(图5)。检测结果表明H103P中

含有小麦抗叶锈病基因 *Lr13*,但 *LrHu* 与 *Lr13* 之间的关系还需进一步研究。

3 讨论

本研究在苗期用毒力有差异的16个小种鉴定H103P、周麦22及携带 *Lr13*、*Lr23*、*Lr16* 的单基因载体品种的抗叶锈性,结果表明周麦22及 *Lr13*、*Lr16* 和 *Lr23* 载体品种对所有菌种均表现感病,但H103P对除PHKT之外的所有小种表现抗病,表明H103P比周麦22及 *Lr13*、*Lr16* 和 *Lr23* 的载体品种抗叶锈性好。本研究结合基因型数据和表型数据对Hussar的衍生品系H103P和郑州5389的234个F₄家系群体进行抗叶锈病基因定位分析,在2BS染色体上定位到1个抗叶锈病基因,暂命名为 *LrHu*。目前在2BS上定位到的抗病基因有 *Lr48*^[23]、*Lr35*^[24]、*Lr13*^[25]、*Lr23*^[26]、*Lr16*^[27]和 *Lr73*^[28],通过与2BS上的已知抗叶锈基因比较,进而推测 *LrHu* 是否为同一基因。*Lr73* 虽然也是一个苗期抗叶锈病基因,但是它定位在距离 *Lr16* 很近的地方,二者距离约10 cM,且 *Lr73* 和 *Lr16* 这两个基因都位于2BS顶端^[27-28],位置与 *LrHu* 不同。*Lr48* 与 *Lr35* 为成株抗病基因,而 *LrHu* 表现为全生育期抗性。利用2B染色体上的

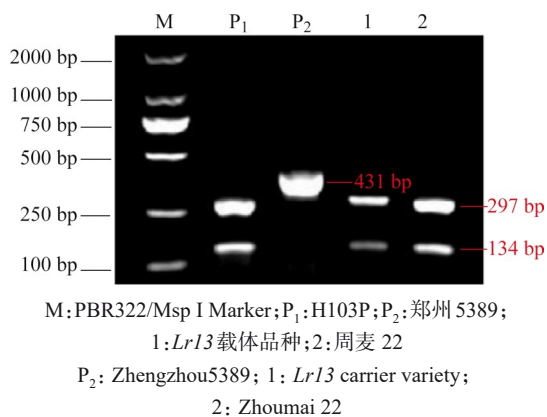


图5 *Lr13* 特异性引物扩增产物酶切电泳图

Fig.5 Enzyme digestion electrophoresis of *Lr13* specific primer amplification products

SSR引物对 H103P 和郑州 5389 以及抗、感池进行筛选,共筛选出 3 个与 *LrHu* 连锁的 SSR 标记。利用 3 个标记检测 234 个 F_4 家系,对群体进行基因分型,结合表型数据构建 *LrHu* 连锁图。根据 Somers 等^[29]构建的遗传连锁图可知与 *LrHu* 连锁的分子标记 *Xgwm148*、*Xgwm374* 及 *Xgwm474* 位于 2BS 上,所以 *LrHu* 被定位于 2BS 上。3 个 SSR 分子标记的排列顺序基本与 Somers 等^[29]构建的连锁图一致。

通过对比 H103P 与 *Lr13* 载体品种, H103P 的侵染型要比 *Lr13* 载体品种低,表明 H103P 的抗叶锈性比 *Lr13* 载体品种好。分子标记检测得知 H103P 含有 *Lr13* 抗叶锈病基因,推测 H103P 除了含有抗病基因 *Lr13* 外可能还含有其他抗叶锈病基因。

距离 *LrHu* 最近的标记是 *Xgwm148*, 遗传距离为 15.6 cM, 遗传距离较大。分析原因有二,其一是 SSR 分子标记密度不够大,导致标记与基因间的距离较大;其二是利用 F_4 家系不如 F_2 及 $F_{2,3}$ 结果精确,因为随机抽取尽可能多的家系单株虽在理论上可代表 F_2 单株的基因组成,但也可能只选到了分离单株的同一性状的后代,导致重组率高,遗传距离大。

下一步将构建尽可能大的 F_2 单株结合 $F_{2,3}$ 家系,精准鉴定表现型,利用其他标记如 KASP 标记,或利用 SNP 芯片获得多态性位点,结合已公开的基因组序列设计引物,来构建高密度遗传图谱,以缩短遗传距离,进行精细定位,为利用此基因达到基因聚合的目的奠定基础;并通过基因克隆等下一步实验正式命名 *LrHu*。此外还将对该群体进行其他农艺性状鉴别,如对赤霉病、纹枯病、秆锈病等的抗性,来确定是否具有对多种病害的兼抗性。

参考文献

- [1] Bolton M D, Kolmer J A, Garvin D F. Wheat leaf rust caused by *Puccinia triticina*. *Molecular Plant Pathology*, 2008, 9(5): 563-575
- [2] 赵杰, 杜志敏, 刘尧, 梁晓飞, 陈俐, 康振生. 两种唐松草鉴定为小麦叶锈菌的转主寄主. *植物病理学报*, 2021, 51(1): 70-84
Zhao J, Du Z M, Liu Y, Liang X F, Chen L, Kang Z S. Identification of two thalictrum species as alternate hosts for *Puccinia triticina*, the wheat leaf rust pathogen. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2021, 51(1):70-84
- [3] 张传伟, 巩中军, 郭姝辰, 于思勤. 近 30 年河南省小麦病虫草害发生演变特点分析. *中国植保导刊*, 2022, 42(3):29-38
Zhang C W, Gong Z J, Guo S C, Yu S Q. Spatial patterns and temporal trends of wheat pests in Henan province in the past 30 years. *China Plant Protection*, 2022, 42(3):29-38
- [4] 武文月, 孙新康, 秦臻, 马秋颖, 韩茜, 王亚敏, 刘大群, 王海燕. 小麦叶锈菌生理小种 PHNT 候选效应蛋白的筛选及分析. *农业生物技术学报*, 2021, 29(8):1463-1472
Wu W Y, Sun X K, Qin Z, Ma Q Y, Han Q, Wang Y M, Liu D Q, Wang H Y. Screening and analysis of effector candidates in physiological race PHNT of *Puccinia triticina* on wheat (*Triticum aestivum*). *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2021, 29(8):1463-1472
- [5] 汤文倩, 王冬梅. 小麦与叶锈菌互作过程中 TaSnRK1 的表达分析及其亚细胞定位. *河北农业大学学报*, 2021, 44(4): 7-12
Tang W Q, Wang D M. Expression analysis and subcellular localization of TaSnRK1 during the interaction between wheat and *Puccinia triticina*. *Journal of Hebei Agricultural University*, 2021, 44(4):7-12
- [6] Lin G, Chen H, Tian B, Sehgal S K, Singh L, Xie J, Rawat N, Juliana P, Singh N, Shrestha S, Wilson D L, Shult H, Lee H, Schoen A W, Tiwari VK, Singh R P, Guttieri M J, Trick H N, Poland J, Bowden R L, Bai G, Gill B, Liu S. Cloning of the broadly effective wheat leaf rust resistance gene *Lr42* transferred from *Aegilops tauschii*. *Nature Communications*, 2022, 13(1):3044
- [7] 王思曼, 张静, 张培培, Gebrewahid Takele Weldu, 闫晓翠, 刘大群, 李在峰. 69 份国外小麦品种(系)抗叶锈性鉴定及基因分析. *麦类作物学报*, 2020, 40(10):1166-1174
Wang S M, Zhang J, Zhang P P, Weldu G T, Yan X C, Liu D Q, Li Z F. Leaf rust resistance identification and gene analysis of 69 foreign wheat varieties (lines). *Journal of Triticeae Crops*, 2020, 40(10):1166-1174
- [8] Ordonez M E, German S E, Kolmer J A. Genetic differentiation within the *Puccinia triticina* population in south America and comparison with the north American population suggests common ancestry and intercontinental migration. *Phytopathology*, 2010, 100(4):376-383
- [9] Kolmer J A, Bajgain P, Rouse M N, Li J, Zhang P. Mapping and characterization of the recessive leaf rust resistance gene *Lr83* on wheat chromosome arm 1DS. *Theoretical and Applied Genetics*, 2023, 136(5):115
- [10] Subodh K, Subhash C B, Om P G, Akanksha S, Naeela, Q, Vikas, V K, Hanif K, Pramod P, Hanif M, Gyanendra P S, Kiran S, Hemlata V, Kerrie L F, Richard M T, Harbans S B, Urmil K B. *Lr80*: A new and widely effective source of leaf rust resistance of wheat for enhancing diversity of resistance among modern cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*, 2021, 134(3):1-10
- [11] Kolmer J A, Bernardo A, Bai G, Hayden M J, Chao S. Adult plant leaf rust resistance derived from toropi wheat is conditioned by *Lr78* and three minor QTL. *Phytopathology*, 2018, 108(2):246-253
- [12] Wu H, Kang Z H, Li X, Li Y Y. Identification of wheat leaf rust resistance genes in Chinese wheat cultivars and the

- improved germplasm. *Plant Disease*, 2020, 104:2669-2680
- [13] 董海焦, 贺钟锐, 张继朝, 齐爱勇, 张培培, 李在峰. 小麦慢叶锈QTL位点 *QLr.hebau-3DS* 的SSR标记开发. *河北农业大学学报*, 2023, 46(1):16-21,96
Dong H J, He Z R, Zhang J C, Qi A Y, Zhang P P, Li Z F. Development of SSR markers linked with wheat leaf rust gene *QLr.hebau-3DS*. *Journal of Hebei Agricultural University*, 2023, 46(1):16-21,96
- [14] Forrest K, Pujol V, Bulli P, Pumphrey M. Development of a SNP marker assay for the *Lr67* gene of wheat using a genotyping by sequencing approach. *Molecular Breeding*, 2014, 34(4):2109-2118
- [15] Herrera F S, Singh R P, Huerta E J, Rosewarne G M, Periyannan S K, Viccars L, Calvo S V, Lan C, Lagudah E S. *Lr68*: A new gene conferring slow rusting resistance to leaf rust in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 2012, 124(8):1475-1486
- [16] Zheleva D, Todorovska E, Jacquemin J M, Atanassov A, Christov N K, Panayotov L, Tsenov N. Allele distribution at microsatellite locus *Xgwm 261* marking the dwarfing gene *Rht8* in hexaploid wheat from Bulgarian and Belgian gene bank collections and its application in breeding programs. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 2006, 20(2):45-56
- [17] Cristina D, Turcu A G, Ciuca M. Molecular detection of resistance genes to leaf rust *Lr34* And *Lr37* in wheat germplasm. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 2015, 6:533-537
- [18] 王佳真, 李在峰, 李星, 刘大群. 小麦品系5R618抗叶锈病基因的初步定位. *植物遗传资源学报*, 2014, 15(6):1348-1351
Wang J Z, Li Z F, Li X, Liu D Q. Preliminary mapping of leaf rust resistance gene in wheat line 5R618. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2014, 15(6):1348-1351
- [19] Roelfs A P, Singh R P, Saari E E. Rust diseases of wheat: Concepts and methods of disease management. *Plant Diseases*, 1992, 123(1):21-29
- [20] Peterson R F, Campbell A B, Hannah A E. A diagrammatic scale for estimating rust intensity on leaves and stems of cereals. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 1948, 26(5):496-500
- [21] Sharp P, Kreis M, Shewry P R, Gale M D. Location of β -amylase sequences in wheat and its relatives. *Theoretical and Applied Genetics*, 1988, 75(2):286-290
- [22] 闫晓翠. 小麦温敏抗叶锈病基因 *LrZH22/Lr13* 的克隆及功能验证. 保定:河北农业大学, 2021
Yan X C. Cloning and functional analysis of the temperature-sensitive gene *LrZH22/Lr13* for leaf rust resistance in common wheat. Baoding: Hebei Agricultural University, 2021
- [23] Singh A, Pallavi J K, Gupta P, Prabhu K. Identification of microsatellite markers linked to leaf rust adult plant resistance (APR) gene *Lr48* in wheat. *Plant Breeding*, 2011, 130(3):31-34
- [24] Liang F, Du X, Zhang J, Li X Y, Wang F, Wang H Y, Liu D Q. Wheat *TaLr35PR2* gene is required for *Lr35*-mediated adult plant resistance against leaf rust fungus. *Functional Plant Biology*, 2019, 47(1):26-37
- [25] Qiu L, Wang H, Li Y, Wang W, Liu Y, Mu J, Geng M, Guo W, Hu Z, Ma J, Sun Q, Xie C. Fine mapping of the wheat leaf rust resistance gene *LrLC10 (Lr13)* and validation of its co-segregation markers. *Frontiers in Plant Science*, 2020, 11:470
- [26] Chhetri M, Bariana H, Wong D, Sohail Y, Hayden M, Bansal U. Development of robust molecular markers for marker-assisted selection of leaf rust resistance gene *Lr23* in common and durum wheat breeding programs. *Molecular Breeding*, 2017, 37(3):21
- [27] McCartney C A, Somers D J, Mccallum B D, Thomas J, Humphreys D G, Menzies J G, Brown P D. Microsatellite tagging of the leaf rust resistance gene *Lr16* on wheat chromosome 2BSc. *Molecular Breeding*, 2005, 15(4):329-337
- [28] Park R, Mohler V, Nazari K, Singh D. Characterisation and mapping of gene *Lr73* conferring seedling resistance to *Puccinia triticina* in common wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 2014, 127(9):2041-2049
- [29] Somers D J, Isaac P, Edwards K. A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 2004, 109(6):1105-1114