

15 个小麦农家品种抗叶锈基因分析

徐新玉, 段振盈, 张晓玲, 姚占军

(河北农业大学农学院 / 华北作物种质资源研究与利用教育部重点实验室, 保定 071001)

摘要: 本研究旨在明确小麦农家品种中可能含有的抗叶锈病基因, 为抗源的选择和利用提供理论依据。以 15 个小麦农家品种、感病对照品种郑州 5389 和 36 个含有已知抗叶锈病基因的载体品种为材料, 苗期接种 19 个具有鉴别力的叶锈菌生理小种进行基因推导, 同时利用 12 个与抗叶锈病基因紧密连锁的分子标记进行分析。为明确其成株期抗性, 分别于 2016-2017 年和 2017-2018 年在河北保定对小麦农家品种、感病对照品种郑州 5389 与慢锈品种 SAAR 进行田间接种, 调查并记录田间严重度及普遍率。基因推导和分子标记检测结果显示, 在 15 个小麦农家品种中共检测到 7 个抗叶锈病基因, 其中部分品种还有多个抗性基因, 如红狗豆含有 *Lr1* 和 *Lr46*; 黄花麦含有 *Lr13* 和 *Lr34*; 大白麦含有 *Lr14b* 和 *Lr26*; 洋麦含有 *Lr37* 和 *Lr46*; 成都光头含有 *Lr34* 和 *Lr46*; 墨脱麦和西山扁穗含有 *Lr26* 和 *Lr46*。部分品种含有 1 个成株期慢叶锈病抗性基因, 如同家坝小麦、武都白茧儿、边巴春麦-6、白花麦含有 *Lr34*; 红枪麦、白扁穗和白火麦含有 *Lr46*。这些携带有效抗叶锈病基因的农家品种, 可为小麦抗叶锈病育种提供抗源。

关键词: 小麦农家品种; 叶锈病; 基因推导; 分子检测; 慢锈品种

Analysis of Leaf Rust Resistance Genes in 15 Wheat Landraces

XU Xin-yu, DUAN Zhen-ying, ZHANG Xiao-ling, YAO Zhan-jun

(College of Agronomy, Agricultural University of Hebei/North China Key Laboratory for
Germplasm Resources of China Education Ministry, Baoding 071001)

Abstract: The objective of this study is to determine the potential resistance genes in wheat landraces and provide reference information for the selection and utilization of leaf rust resistance resources. In this study, 15 wheat landraces, susceptible control Zhengzhou 5389 and 36 resistance donor lines were tested for leaf rust resistance. The genotypes were tested in the greenhouse to 19 *Puccinia triticina* pathotypes for a seedling resistance, and in the field to a mixed pathotypes for slow rusting resistance in two cropping seasons (2016-2017 and 2017-2018) in Baoding, Hebei province. Meanwhile, twelve molecular markers targeting the resistance loci were used for genotyping in wheat cultivars. Resulted from the resistance spectra and marker analysis, seven leaf rust resistance genes were detected in 15 landraces. For instance, the landrace Honggoudou may contain both *Lr1* and *Lr46*; Huanghuamai may have both *Lr13* and *Lr34*; Dabaimai may carry *Lr14b* and *Lr26*; Yangmai may carry *Lr37* and *Lr46*; Chengduguangtou may carry *Lr34* and *Lr46*. Two resistance genes *Lr26* and *Lr46* were found to be present in genotypes Motuomai and Xishanbiansui. Furthermore, the slowing rust resistance gene *Lr34* was detected in Tongjiabaxiaomai, Wudubaijianer, Bianbachunmai-6 and Baihuamai, while another partial resistance gene *Lr46* was detected in Hongqiangmai, Baibiansui and Baihuomai. These genotypes effective against leaf rust might provide resistance genes for disease-resistant breeding in hexaploid wheat.

Key words: wheat landraces; leaf rust; gene postulation; molecular detection; slow rusting cultivar

收稿日期: 2019-05-27 修回日期: 2019-07-10 网络出版日期: 2019-08-06

URL: <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20190527003>

第一作者主要从事小麦抗锈病遗传, E-mail: 18432729059@163.com

通信作者: 姚占军, 主要从事小麦抗病育种, E-mail: yzhj201@aliyun.com

基金项目: 国家重点研发计划 (2017YFD300901); 河北省在读研究生创新资助项目 (CXZZSS2019059)

Foundation project: National Key Research and Development Program (2017YFD300901), The Innovation Subsidy Project for Post-Graduate Students in Hebei Province (CXZZSS2019059)

小麦叶锈病是小麦锈病中分布范围最广、发病频率最高的一种病害^[1],是由小麦叶锈菌(*Puccinia tirticina*)引起的,主要危害小麦叶片,影响植物的光合作用,从而导致小麦产量的降低,通常减产 5%~15%,严重时减产高达 40%^[2]。小麦叶锈病主要发生在我国长江中下游冬麦区、黄淮海冬麦区和西南冬麦区^[3]。防治小麦叶锈病的方法主要为化学防治和种植抗病品种,化学防治虽然效果好,但成本高且污染环境。

种植抗病品种是防治小麦叶锈病最经济、安全、有效的措施^[4]。目前小麦抗叶锈病基因正式命名至 *Lr79*^[5],但由于叶锈菌生理小种的不断变异和单一抗病品种的大量种植,大部分小麦抗叶锈基因已经丧失抗性,仅有 *Lr9*、*Lr19*、*Lr24*、*Lr38* 等基因在我国仍具有高效抗叶锈性^[6]。

我国小麦农家品种资源丰富,是重要作物遗传资源,具有较高的研究价值。王吐虹等^[7]利用基因推导法对比农家品种与甘肃南部的生产品种的抗条锈性,发现相较于生产品种,农家品种具有更加丰富的遗传多样性和有效的抗条锈病基因。代君丽等^[8]在我国 51 份小麦农家品种中共检测出 14 个抗条锈病基因。黄苗苗等^[9]在 233 份小麦农家品种中筛选出 99 份慢锈品种。可见,农家品种比现代杂交品种拥有更广泛的遗传基础,具有丰富的抗病基因和等位基因变异^[10]。因此对农家品种进行抗叶锈病基因分析对小麦抗病育种具有重要意义。

根据 Brown^[11]提出的核心种质的策略,本试验从 95 个小麦农家品种中,选取综合农艺性状优良,成株期表现高、中、低抗叶锈病的 15 个小麦品种,对其进行苗期基因推导、分子标记检测以及成株期田间抗性鉴定,明确待测品种的抗性及其可能含有的抗病基因,可为小麦抗病育种提供优异抗源。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料为 15 个小麦农家品种、36 个载体品种、感病对照品种郑州 5389 及成株慢锈对照品种 SAAR; 基因推导所用的 19 个叶锈菌小种以及田间接种所用的混合生理小种(THTT、THTS 和 PHTT),均由河北农业大学小麦叶锈病研究室提供。小种命名参照 Long^[12]提出的密码命名系统。

1.2 苗期侵染型鉴定及基因推导

将经过催芽的 15 个供试小麦农家品种、36 个含有已知抗叶锈病基因的载体品种及感病对照郑州 5389 共 52 份材料依次播种于温室育苗盘中。待小麦长至一叶一心时,采用扫抹法分别将叶锈菌菌种均匀接种到小麦叶片上,黑暗保湿 14~16 h 后,将其移入光照 12~14 h 的温室内培育,待感病对照品种郑州 5389 充分发病后(约 14 d),参照 Roelfs^[13]的标准进行侵染型鉴定,并按照 Dubin 等^[14]的基因推导原则和方法,分析供试小麦农家品种所含的抗叶锈病基因。

1.3 成株抗叶锈病遗传分析

分别于 2016 年、2017 年 10 月中下旬将 15 个供试小麦农家品种、慢锈对照品种 SAAR 和感病对照品种郑州 5389 播种于河北农业大学实验田(115.47°E、38.85°N)。种植方式采用条播法,行长约 1 m,行距约 0.25 m,每 10 行种植 1 行感病对照品种郑州 5389,并将郑州 5389 与供试品种垂直种植作为接种行。于次年 4 月上旬采用喷雾法接种叶锈菌混合生理小种,待感病对照发病充分时,根据 Li 等^[15]的方法进行田间调查。记录最终严重度(FDS, final disease severity)、侵染型(IT, infection types)和普遍率(GR, general rate),并计算其发病指数(DI, disease index)。

1.4 已知抗叶锈基因的分子检测

小麦基因组 DNA 的提取采用改良的 CTAB 法^[16],并用分光光度计检测样品 DNA 的浓度和纯度。使用 12 个与抗叶锈病基因连锁的分子标记进行检测。PCR 体系为 20 μ L,含 2 μ L 40 ng/ μ L DNA 模板、2 μ L 4 mol/ μ L 引物、10 μ L 2 \times Tap PCR Mix 和 6 μ L ddH₂O。*Lr46* 扩增产物用 12% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳进行检测分析,其余扩增产物均用浓度为 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳检测。

2 结果与分析

2.1 成株期抗性鉴定

分别于 2016-2017 年、2017-2018 年在河北保定对 15 个小麦农家品种进行成株抗性鉴定(表 1)。根据中华人民共和国行业标准(NY/ZB592.2-2007),苗期侵染型在 3 级及以上且病情指数小于 30% 的品种为慢锈品种。在供试的 15 个小麦农家品种中,筛选出黄花麦、大白麦、武都白茧儿、边巴春麦-6、成都光头和白火麦共 6 个慢锈品种。

表 1 15 个小麦农家品种成株期抗叶锈病鉴定结果统计

Table 1 The disease index of 15 wheat landrace cultivars at adult stage

品种 Cultivar	混合小种侵染型 Infection types of mixed races	2016-2017 年严重度 2016-2017 FDS	2017-2018 年严重度 2017-2018 FDS	平均严重度 Average FDS	普遍率 (%) GR	病情指数 (%) DI
SAAR	3	2	2	2	100	2
红狗豆 Honggoudou	3+	45	60	52.5	100	52.5
黄花麦 Huanghuamai	3	5	1	3	100	3
大白麦 Dabaimai	3	1	1	1	100	1
墨脱麦 Motuomai	3+	40	60	50	100	50
西山扁穗 Xishanbiansui	4	45	35	40	100	40
同家坝小麦 Tongjiabaxiaomai	3	35	50	42.5	100	42.5
武都白茧儿 Wudubaijianer	3+	1	1	1	100	1
边巴春麦 -6Bianbachunmai-6	3	5	1	3	100	3
白花麦 Baihuamai	3	50	40	45	100	45
洋麦 Yangmai	3	35	40	37.5	100	37.5
红抢麦 Hongqiangmai	3	50	55	52.5	98	51.45
白齐麦 Baiqimai	3	80	70	75	100	75
成都光头 Chengduguangtou	3+	10	10	10	100	10
白扁穗 Baibiansui	3	80	80	80	100	80
白火麦 Baihuomai	3	5	5	5	100	5
郑州 5389Zhengzhou 5389	4	100	90	95	100	95

FDS: Final Disease Severity, GR: General Rate, DI: Disease Index

2.2 苗期抗叶锈病基因推导分析

19 个叶锈菌生理小种对 36 个载体品种、15 个小麦农家品种及感病对照品种郑州 5389 的苗期抗性鉴定结果见表 2。在 36 个载体品种中有 9 个品种 (RL6010、RL6064、RL6040、RL6079、RL6080、KS91WGEC11、RAVON76、C78.5、98M71) 对 19 个叶锈菌生理小种均表现为抗病, 7 个品种 (RL6047、RL6002、RL6005、RL6051、RL6042、RL6012、RL6057) 对 19 个叶锈菌生理小种均表现为感病, 因此这 16 个品种所携带的抗病基因无法通过基因推导方法检测; 其余 20 个品种对供试生理小种表现出不同抗性, 可利用基因推导法进行分析。结果显示, 待测品种红狗豆与含有 *Lr1* 的载体品种具有相同的抗性谱, 表明该小麦品种中可能携带 *Lr1*。黄花麦和含有 *Lr13* 的载体品种均对测试菌株 FHGQ^①、PHGN、FHJR 和 FHBR 表现为抗性, 表明该品种中可能含有抗叶锈病基因 *Lr13*; 大白麦和携带 *Lr14b* 的载体品种均对 PHGL 和 TGKS 表现抗性, 推测该品种中可能含有 *Lr14b*; 供试品种大白麦、墨脱麦、西山扁穗和含有 *Lr26* 的载体品种均

对叶锈菌生理小种 FGKQ、FHBQ 和 TGKS 表现低侵染型, 表明这 3 个品种可能含有 *Lr26*。同家坝小麦、武都白茧儿、边巴春麦 -6、白花麦、洋麦、红抢麦和白齐麦的抗性谱与供试的所有载体品种的抗性谱均有差异, 因此推测上述 7 个品种中可能含有未知抗病基因。成都光头、白扁穗和白火麦对 19 个叶锈菌生理小种均表现为高侵染型, 因此推测这 3 个品种不含已知抗叶锈病基因或携带未知抗病基因。

2.3 抗叶锈病基因分子检测

为弥补基因推导方法的不足同时提高试验结果的准确性, 进一步利用 12 个与已知抗叶锈病基因紧密连锁的分子标记对 15 个小麦农家品种进行检测, 结果见图 1。检测到 *Lr1* (760 bp)、*Lr26* (1076 bp)、*Lr34* (150 bp)、*Lr37* (259 bp) 和 *Lr46* (520 bp) 共 5 个基因的特异性片段。未检测到 *Lr9* (1100 bp)、*Lr10* (310 bp)、*Lr19* (525 bp)、*Lr20* (542 bp) 和 *Lr24* (315 bp) 相应的特异性片段, 且利用基因推导方法也未检测出上述 5 个基因, 说明供试小麦品种中可能均不含有上述基因。红狗豆扩增出与载体品种 *Lr1* 相同的特异性片段, 表明该品种中可能含有

表 2 15 个小麦农家品种和 36 个抗性供体材料的苗期抗性谱分析

Table 2 The resistance spectra of 15 wheat landraces and 36 resistance donor lines at the seedling stage

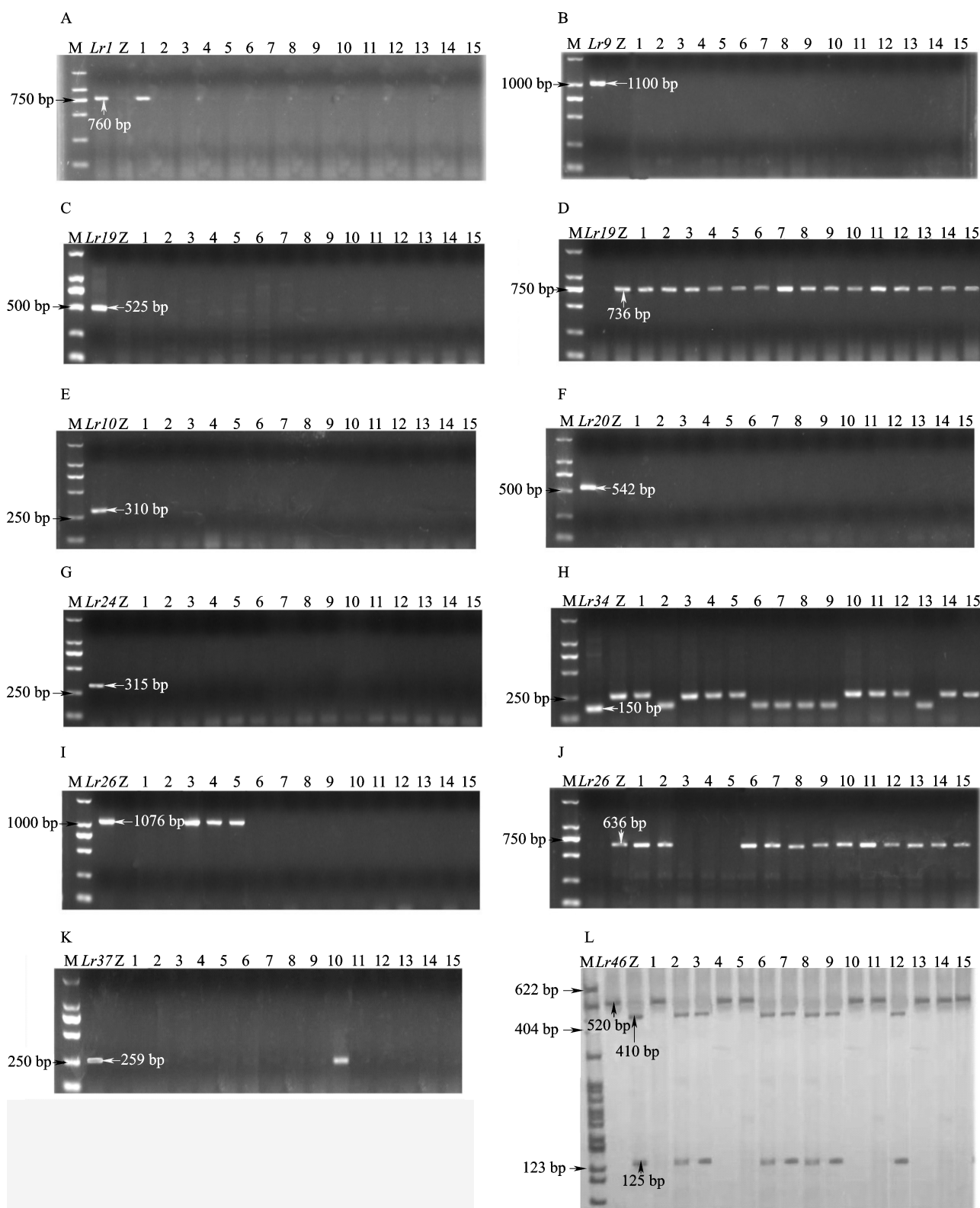
品种 (系)	侵染型 Infection types to <i>Pt</i> pathotypes														
	FHDR	FHJS ^①	FHQQ ^①	PHGN	FHJR	FHSQ	FGKQ	PHDQ	PHGL	FHJQ	FHBR	FGBQ	FHDQ ^①	FHQQ ^②	FHJT
RL6003 (<i>Lr1</i>)	;	;	1	3+	1	;	1	4	4	;	;	;	1	;	1
RL6016 (<i>Lr2a</i>)	;	1	1	1	1	;	;	;	;	;	;	;	1	1	;
RL6047 (<i>Lr2c</i>)	4	3+	3	3	3+	3	3+	4	3	4	3	3	3	3+	3+
RL6002 (<i>Lr3</i>)	4	3+	4	3	4	3+	3+	4	3+	4	3+	3+	3+	4	4
RL6010 (<i>Lr9</i>)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
RL6005 (<i>Lr16</i>)	4	4	3+	3+	3+	3+	4	4	3+	4	3+	3+	3	3+	4
RL6064 (<i>Lr24</i>)	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;
RL6078 (<i>Lr26</i>)	3+	3	3+	3	3+	3+	1	4	3	3+	3+	1	3+	3	4
RL6007 (<i>Lr3ka</i>)	2	1	2	1	1	3	2	2	1	1	1	2	1	2	2
RL6053 (<i>Lr11</i>)	2	3+	3	3+	3+	3	3	2	3+	3	1	1	1	3	3
RL6008 (<i>Lr17</i>)	3+	3+	1+	2	3	3	3	3	2	3+	2	2+	3	1	3+
RL6049 (<i>Lr30</i>)	1	2	2	1	1	2	3	1	1	1	1	1	1	1	1
RL6051 (<i>LrB</i>)	3+	3+	3+	3	3+	4	3+	3+	3+	3+	4	4	3+	4	3
RL6004 (<i>Lr10</i>)	4	3+	3+	2	3+	3+	3+	3	1	3	4	4	3+	4	4
RL6013 (<i>Lr14a</i>)	X	3	X	3+	X	X	1	2	1	1	X	1+	1	2	3
RL6009 (<i>Lr18</i>)	3	1	1	2	3	1	1	1	1	1+	3	1	1	1	3
RL6019 (<i>Lr2b</i>)	2	3	1+	1	3	3	2	2	1	3	1	2	2	2	3
RL6042 (<i>Lr3bg</i>)	3+	4	3	3	3+	3+	3+	4	3+	3+	3+	4	3+	3+	4
RL4031 (<i>Lr13</i>)	3+	3+	2	2	2	3+	3	3+	3	3+	2	3+	3	3	3
RL6006 (<i>Lr14b</i>)	4	4	3+	3	3+	3+	3+	4	2	3+	4	4	4	3+	4
RL6052 (<i>Lr15</i>)	1	1	;	1	0	;	0	4	4	3	;	0	;	;	1
RL6040 (<i>Lr19</i>)	;	0	0	0	0	;	0	;	0	;	0	;	0	0	0
RL6092 (<i>Lr20</i>)	;	1	;	3	1	3+	1	3	3+	1	1	;	1	;	1
RL6043 (<i>Lr21</i>)	3	2	1+	1	3	3+	2	1	1	2	1	1	1	1	2
RL6012 (<i>Lr23</i>)	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3	3+	3	3+	3+	3+	3	3	3
RL6079 (<i>Lr28</i>)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
RL6080 (<i>Lr29</i>)	1	1	1+	1+	1	1	1	2	1	1	1+	;	2	;	1
RL6057 (<i>Lr33</i>)	3+	3	3+	3	3+	3+	3	3+	3+	3+	3+	4	3+	3+	3

表 2 (续)

品种 (系)	侵染型 Infection types to <i>Pt</i> pathotypes														
	FHDR	FHJS ^①	FHQ ^①	PHGN	FHJR	FHSQ	FGKQ	PHDQ	PHGL	FHJQ	FHBR	FGBQ	FHDQ ^①	FHQ ^②	FHJT
E84018 (Lr36)	1	1+	1+	1+	1	2	1+	2+	2	2	1	1	1	1	3
KS86NGRC02 (Lr39)	3	2	2	2	2	2	3	3	2	2	3+	3+	3	3	2
KS91WGRC11 (Lr42)	2	2	1+	1	1	0	1	1+	1	2	1	1	1	1+	1
RL6147 (Lr44)	;	3+	3	3	3	3	3	2	1	3	3	3+	3	2	3+
RL6144 (Lr45)	2	3+	2	4	1	4	2	4	3+	3	1	2	2+	2	3
PAVON76 (Lr47)	0	0	0	0	;	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C78.5 (Lr51)	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;	1	;	1	;	;
98M71 (Lr53)	0	0	0	0	0	0	0	0	;	0	;	0	0	0	0
红狗豆 Honggoudou	1	1	1	3+	1	;	1	4	4	2	1	;	1	1	1
黄花香 Huanghuamai	2+	3	2	2	1	;	3	4	3+	2	1	1	1	;	2
大白麦 Dabaimai	1	3	;	3+	;	1	1	4	1	;	1	1	;	;	1
墨脱麦 Motuomai	1	;	1	3	1	2	;	3	3	3	;	;	1	1	1
西山扁穗 Xishanbiansui	3+	4	3+	3+	3+	3+	1	4	3+	3+	3+	1	3+	3+	4
同家坝小麦 Tongjiabaxiaomai	3+	3+	3+	3+	3	3+	3	4	3	3+	3	1	3+	2	3+
武都白蚩儿 Wudubaijianer	3+	3+	3	3	3+	3+	3+	3+	3	3+	3	2	3	3	3+
边巴春麦 -6 Bianbachunmai-6	3	3	3+	3+	3	3	3	3+	3	3	3	2	2	2+	3
白花麦 Baihuamai	3+	3	3+	3+	3+	3+	3	4	4	3+	2	3	3	3	3
洋麦 Yangmai	3	3+	1	3+	1	;	3	4	4	1	1	;	2	1	1
红抢麦 Hongqiangmai	3+	3+	3+	3	3	3+	3+	3+	4	3+	3	3	3+	3	3+
白齐麦 Baiqimai	3+	3+	3	3+	3	3	3	4	3+	2	2	2	1+	1	2
成都光头 Chengduguangtou	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	4	4	3+	3+	3	3+	3+	3+
白扁穗 Baibiansui	3	3+	3+	3+	3	3	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3	3	3+
白火麦 Baihuomai	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3	4	4	4	3	3	3	3	3+
郑州 5389 Zhengzhou 5389	3	3	3	3	4	4	4	4	4	4	3+	4	4	4	4

侵染型: 0: 免疫, 无褪绿斑; “ ”: 高抗, 无夏孢子堆, 有褪绿斑; 1: 夏孢子堆小且少, 周围有坏死斑; 2: 夏孢子堆小或中等, 周围有坏死斑或伴褪绿; 3: 夏孢子堆中等, 无褪绿斑; 4: 夏孢子堆大, 常有卫星孢子堆, 无坏死或褪绿; +: 夏孢子堆较正常大; -: 夏孢子堆较正常小; X: 不同大小的夏孢子堆随机分布, 属于中抗; ①和②: 命名相同但毒性不同的叶锈菌生理小种

ITs: 0: immune, no chlorotic fleck, “ ”: hypersensitive fleck with no sporulation, 1: small and less uredinia with necrosis, 2: small or medium uredinia with chlorosis, 3: moderate size uredinia without chlorosis, 4: large uredinia without chlorosis or necrosis, +: uredinia somewhat larger than normal, -: uredinia somewhat smaller than normal, X: heterogeneous infection that appears several it's in one leaf, moderate resistance, ① and ②: the same naming of different *Pt* pathotypes



M: DM2000marker 或 pBR322DNAMarker; Z: 郑州 5389; 1-15: 红狗豆、黄花麦、大白麦、墨脱麦、西山扁穗、同家坝小麦、武都白茧儿、边巴春麦-6、白花麦、洋麦、红抢麦、白齐麦、成都光头、白扁穗、白火麦
M: DM2000marker or pBR322DNAMarker, Z: Zhengzhou5389, 1-15: Honggoudou、Huanghuamai、Dabaimai、Motuomai、Xishanbiansui、Tongjiabaxiaomai、Wudubaijianer、Bianbachunmai-6、Baihuamai、Yangmai、Hongqiangmai、Baiqimai、Chengduguangtou、Baibiansui、Baihuomai,
A: *Lr1*, B: *Lr9*, C and D: *Lr19*, E: *Lr10*, F: *Lr20*, G: *Lr24*, H: *Lr34*, I and J: *Lr26*, K: *Lr37*, L: *Lr46*

图 1 分子标记在 15 个小麦农家品种中的检测结果

Fig.1 PCR amplification of 15 landrace cultivars with the markers

抗病基因 *Lr1*, 且与基因推导结果一致 (图 1A); 大白麦、墨脱麦和西山扁穗经与抗叶锈病基因 *Lr26* 相连锁的正负分子标记检测, 表明上述 3 个品种可能含有 *Lr26*, 且与基因推导结果一致 (图 1I 和图 1J); 黄花麦、同家坝小麦、武都白茧儿、边巴春麦 -6、白花麦和成都光头 6 个品种检测到与 *Lr34* 相同的带型, 表明上述 6 个品种中可能含有抗锈病基因 *Lr34* (图 1H); 洋麦中扩增出与 *Lr37* 相同的片段, 表明该品种中可能含有抗病基因 *Lr37* (图 1K); 红狗豆、墨脱麦、西山扁穗、洋麦、红枪麦、成都光头、白扁穗和白火麦均扩增出与 *Lr46* 载体品种一致的目的片段, 表明上述 8 个小麦品种中含有抗叶锈病基因 *Lr46* (图 1L)。待测小麦品种白齐麦未检测到供试标记, 综合基因推导结果表明该品种中可能含有未知抗叶锈病基因。目前, 小麦抗叶锈病基因 *Lr13* 与 *Lr14b* 没有开发与之相连锁的标记, 因此上述基因仅能通过基因推导的方法检测。

3 讨论

小麦农家品种对我国小麦育种研究曾做出重大贡献, 是我国现代品种改良的起点。农家品种具备了对当地生态环境的最好适应性和与之相应的生产潜力^[17], 可能含有育成品种所缺乏的、具有重要价值的基因。基因推导法是目前研究小麦抗叶锈病遗传基础最简单、高效的方法, 可在短时间内对大量材料进行抗性鉴定。但由于试验材料受遗传背景和基因互作等因素的影响, 往往使鉴定结果不够准确。为了弥补基因推导法的不足, 本试验选用 12 个与已知抗叶锈病基因紧密连锁的分子标记对试验材料进行标记检测, 该方法能够快速检测出试验材料所含有的抗病基因, 但易受到特异性标记的限制。田间成株期抗性往往代表其真实的抗病水平, 采用人工接种并结合自然诱发的方法对试验材料进行抗病性鉴定和评价, 具有极好的代表性^[18]。本试验选用 3 个当前我国叶锈菌优势小种 (THTT、THTS、PHTT)^[19], 对试验材料进行了 2 年的抗性鉴定。综合使用基因推导、分子检测与成株期抗性 3 种方法, 使试验结果更加准确、可信。

本试验结合基因推导与分子标记检测方法, 在 15 个农家品种中检测出抗病基因 *Lr1*、*Lr13*、*Lr14b*、*Lr26*、*Lr34*、*Lr37* 和 *Lr46*, 且两种方法获得的结果一致。*Lr1* 最初是在小麦品种 Malakoff 中发现, 位于小麦 5DL 染色体上。目前该基因对我国多数小麦叶锈菌生理小种已丧失抗性, 但与其他基因同时

存在时可提高寄主抗性^[20], 可通过基因聚合的方式应用于抗病育种。*Lr13* 来自于小麦品种 Frontana, 位于小麦 2BS 染色体上^[21], 为成株抗性基因。该基因在世界分布广泛, 单独存在时抗性几乎丧失, 但与其他基因复合存在可增强抗性, 仍具有一定的研究价值。*Lr14b* 来源于普通小麦 Bowie, 位于 7BL 染色体上^[22], 其是否是成株抗性基因有待进一步确认。*Lr26* 位于黑麦 1RS 染色体或普通小麦 1BL 染色体上, 与 *Yr9*、*Sr31*、*Pm8* 和 *Lr33* 连锁, 是我国 20 世纪 80 年代的主要抗源。*Lr34* 是第 1 个被发现的慢锈基因, 在世界范围分布广泛且保持较好的抗性, 最早从小麦品种 Frontana 和 Terenzio 中检测到^[23], 位于 7DS 染色体上。该基因与 *Yr18*、*Pm38* 和 *Sr37* 紧密连锁, 目前已被成功克隆。*Lr37* 来源于小麦栽培品种 VPM1, 为成株抗性基因, 位于 2AS 染色体上。该基因与 *Yr17* 和 *Sr38* 紧密连锁, 但与 *Lr17* 相斥^[24]。*Lr46* 最早从墨西哥种植品种 Pavon76 中发现, 位于 1BL 染色体上^[25], 为慢锈基因。该基因目前仍保持良好的抗性, 与其他抗病基因同时存在时可大大提高寄主抗性。因农家品种不是通过常规杂交育种而来, 其遗传背景比较复杂, 系谱已无从考察, 所以只能通过查询基因载体品种的系谱来确定推导品种是否所含目的基因。本试验推导出的 4 个抗叶锈病基因 (*Lr1*、*Lr13*、*Lr14b* 和 *Lr26*) 的载体品系均是以加拿大小麦品种 Thatcher 为遗传背景的近等基因系, 与我国农家品种无联系, 因此通过系谱分析法不能确定以上 4 个抗病基因一定存在于农家品种中。

我国在 20 世纪 80 年代引进了综合性状优良的小麦 - 黑麦 1BL/1RS 易位系种质, 被育种家广泛使用, 导致目前我国育成品种中 *Lr26* 出现频率很高。张林等^[26]、张晓玲等^[27]、张林等^[28] 分别对山东省、河北省和河南省的主栽小麦品种 (系) 进行了鉴定, 结果显示这 3 个省份的主栽小麦品种抗叶锈基因丰富度较低, 且 *Lr26* 出现频率最高。由于叶锈菌生理小种毒性的变异和单一抗病品种的大量种植, 目前 *Lr26* 已逐渐失去抗性^[29]。因此今后育种工作中应引入其他有效的抗叶锈病基因, 预防叶锈病大流行。本研究从 15 个农家小麦品种中共检测到 7 个抗叶锈基因, 其中慢锈基因 *Lr34* 和 *Lr46* 出现频率分别为 40% 和 53%, 可见小麦农家品种中具有丰富的、可发掘利用的有效抗叶锈基因, 将来可作为抗源在小麦抗病育种中加以利用。

通过田间抗性鉴定, 在 15 个小麦农家品种中

共筛选出 6 个慢锈性品种,分别为黄花麦、大白麦、武都白茧儿、边巴春麦 -6、成都光头和白火麦。综合基因推导与分子标记检测结果,黄花麦、武都白茧儿、边巴春麦 -6 和成都光头中均含有慢锈基因 *Lr34* 及其他基因,其抗性可能是由抗病基因 *Lr34* 与其他具有加性效应的微效基因结合提供。丁艳红等^[30]分子检测结果显示,成都光头中含有抗叶锈病基因 *Lr34*,与本试验结果一致。大白麦中检测到抗叶锈病基因 *Lr14b*、*Lr26* 和其他未知基因。目前 *Lr26* 单独存在时已基本丧失抗性,且 *Lr14b* 与 *Lr26* 均不是成株抗病基因,因此大白麦的成株抗性可能来源于其他未知成株抗性基因。黄苗苗等^[9]在大白麦中检测到抗条锈病基因 *Yr5* 和 *Yr15*,表明大白麦对条锈病也具备一定的抗性,可在今后的育种工作中加以使用。小麦品种成都光头和白火麦中均检测到慢锈基因 *Lr46*,该基因抗性目前仍表现良好,且与其他抗病基因共同存在时可提高抗病性。黄苗苗等^[9]在白火麦中检测到抗条锈病基因 *Yr15* 与 *Yr26*,表明白火麦兼抗叶锈病与条锈病,可作为良好的抗病亲本在抗病育种中加以应用。同家坝小麦和白花麦均含有慢锈基因 *Lr34*;红狗豆、墨脱麦、西山扁穗、红抢麦、洋麦和白扁穗均含有慢锈基因 *Lr46*。但以上品种成株期均不表现慢锈性,可能是由于分子标记与目的基因之间还存在一定的距离,致使检测结果存在一定的偏差,或存在基因互作,具体原因有待进一步确认。

本试验通过苗期基因推导与分子标记检测,从 15 个小麦农家品种中共检测到 7 个已知抗叶锈病基因,其中慢锈基因 *Lr34* 和 *Lr46* 所占比例分别为 40% 与 53%,可作为抗源在小麦抗病育种工作中加以应用。通过田间成株期抗性鉴定,筛选出黄花麦、大白麦、武都白茧儿、边巴春麦 -6、成都光头和白火麦共 6 个慢锈品种,可用于下一步进行遗传分析。

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] Khan M H, Bukhari A, Dar Z A, Rizvi S M. Status and strategies in breeding for rust resistance in wheat. *Agricultural Sciences*, 2013, 4 (6): 292-301
- [3] 金夏红,冯国华,刘东涛,马红勃,张会云. 小麦抗叶锈病遗传研究进展. *麦类作物学报*, 2017, 37 (4): 504-512
Jin X H, Feng G H, Liu D T, Ma H B, Zhang H Y. Review on genetic research on leaf rust in wheat. *Journal of Triticeae Crops*, 2017, 37 (4): 504-512
- [4] 胡亚亚,张娜,李林懋,杨文香,刘大群. 14 个小麦品种 (系) 抗叶锈性分析. *作物学报*, 2011, 37 (12): 2158-2166
Hu Y Y, Zhang N, Li L M, Yang W X, Liu D Q. Analysis of wheat leaf rust resistance genes in 14 wheat cultivars or lines. *Acta Agronomica Sinica*, 2011, 37 (12): 2158-2166
- [5] Qureshi N, Bariana H, Kumran V V, Muruga S, Forrest K L, Hayden M J. A new leaf rust resistance gene *Lr79* mapped in chromosome 3BL from the durum wheat landrace Aus26582. *Theoretical and Applied Genetics*, 2018, 131 (2): 1-8
- [6] 师令智,朱琳,任志宽,康占海,李星,刘大群. 小麦品系 19HRWSN-76 的抗叶锈性研究. *植物遗传资源学报*, 2016, 17 (4): 696-700
Shi L Z, Zhu L, Ren Z K, Kang Z H, Li X, Liu D Q. Study of leaf rust resistance gene in wheat line 19HRWSN-76. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2016, 17 (4): 696-700
- [7] 王吐虹,郭青云,蔺瑞明,姚强,冯晶,王凤涛,陈万权,徐世昌. 中国 40 个小麦农家品种和甘肃南部 40 个生产品种抗条锈病基因推导. *中国农业科学*, 2015, 48 (19): 3834-3847
Wang T H, Guo Q Y, Lin R M, Yao Q, Feng J, Wang F T, Chen W Q, Xu S C. Postulation of stripe rust resistance genes in Chinese 40 wheat landraces and 40 commercial cultivars in the southern region of Gansu province. *Scientia Agricultura Sinica*, 2015, 48 (19): 3834-3847
- [8] 代君丽,刘珂,牛永春,李洪连. 中国小麦地方品种抗条锈病基因推导. *河南农业科学*, 2010, 39 (12): 83-87
Dai J L, Liu K, Niu Y C, Li H L. Postulation of resistance genes to stripe rust in local wheat varieties from China. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2010, 39 (12): 83-87
- [9] 黄苗苗,孙振宇,曹世勤,贾秋珍,刘太国,陈万权. 223 份小麦农家品种田间抗条锈病性评价及抗病基因分子检测. *植物保护学报*, 2018, 45 (1): 90-100
Huang M M, Sun Z Y, Cao S Q, Jia Q Z, Liu T G, Chen W Q. Evaluation of the resistance of 223 wheat landraces in Gansu province to stripe rust and molecular detection. *Journal of Plant Protection*, 2018, 45 (1): 90-100
- [10] Smale M, Meng E, Brennan J P, Hu R. Determinants of spatial diversity in modern wheat: examples from Australia and China. *Agricultural Economics*, 2003, 28 (1): 13-26
- [11] Brown A H D. Core collections: a practical approach to genetic resources management. *Genome*, 1989, 31 (2): 818-824
- [12] Long D L. A north American system of nomenclature for *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*. *Phytopathology*, 1989, 79 (5): 525-529
- [13] Roelfs A P. Race specificity and methods of study. *Cereal Rust*, 1984, 4 (2): 131-164
- [14] Dubin H J, Torres E. Causes and consequences of the 1976-1977 wheat leaf rust epidemic in northwest Mexico. *Annual Review of Phytopathology*, 1981, 19 (1): 41-49
- [15] Li Z F, Xia X C, He Z H, Li X, Zhang L J, Wang H Y, Meng Q F, Yang W X, Li G Q, Liu D Q. Seedling and slow rusting resistance to leaf rust in Chinese wheat cultivars. *Plant Disease*, 2010, 94 (1): 45-53
- [16] Sharp P J, 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
- [17] 沈裕琥,王海庆,杨天育,张怀刚,黄相国. 甘、青两省春小麦

- 遗传多样性演变. 西北植物学报, 2002, 22(4): 731-740
- Shen Y H, Wang H Q, Yang T Y, Zhang H G, Huang X G. Evolvement of genetic diversity of spring wheat varieties in Gansu and Qinghai provinces. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2002, 22(4): 731-740
- [18] Liu T G, Chen W Q. Race and virulence dynamics of *Puccinia triticina* in China during 2000-2006. *Plant Disease*, 2012, 96: 1601-1607
- [19] 贾诗雅, 郭惠杰, 郭鹏, 闫红飞, 孟庆芳, 刘大群. 2017 年我国小麦叶锈菌生理小种的鉴定. 中国植物病理学会 2018 年学术年会论文集. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2018: 49
- Jia S Y, Guo H J, Guo P, Yan H F, Meng Q F, Liu D Q. Identification of physiological species of wheat leaf rust in China in 2017. *Proceedings of the annual meeting of Chinese society for plant pathology* (2018). Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2018: 49
- [20] 赵丽娜, 任晓娣, 胡亚亚, 张涛, 张娜, 杨文香, 刘大群. 23 份中国小麦微核心种质抗叶锈性评价. 中国农业科学, 2013, 46(3): 441-450
- Zhao L N, Ren X D, Hu Y Y, Zhang T, Zhang N, Yang W X, Liu D Q. Evaluation of wheat leaf rust resistance of 23 Chinese wheat mini-core collections. *Scientia Agricultura Sinica*, 2013, 46(3): 441-450
- [21] Dyck P L, Samborski D J, Anderson R G. Inheritance of adult plant resistance derived from the common wheat varieties exchange and frontana. *Genome*, 2011, 8(4): 665-671
- [22] Dyck P L, Samborski D J. The genetics of two alleles for leaf rust resistance at the *Lr14* locus in wheat. *Canadian Journal of Genetics and Cytology*, 1970, 12(4): 689-694
- [23] Dyck P L, Samborski D J. Adult-plant leaf rust resistance in PI 250413, an introduction of common wheat. *Canadian Journal of Plant Science*, 1979, 59(2): 329-332
- [24] Bariana H S, McIntosh R A. Characterisation and origin of rust and powdery mildew resistance genes in VPM1 wheat. *Euphytica*, 1994, 76(1-2): 53-61
- [25] Singh R P, Mujeeb-Kazi A, Huerta-Espino J. *Lr46*: a gene conferring slow-rusting resistance to leaf rust in wheat. *Phytopathology*, 1998, 88(9): 890-894
- [26] 张林, 张梦雅, 高颖, 许换平, 刘成, 刘建军, 闫红飞, 刘大群. 山东省 12 个主栽小麦品种(系)抗叶锈性分析. 植物遗传资源学报, 2017, 18(4): 676-684
- Zhang L, Zhang M Y, Gao Y, Xu H P, Liu C, Liu J J, Yan H F, Liu D Q. Analysis of leaf rust resistance in 12 main wheat cultivars (lines) in Shandong. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2017, 18(4): 676-684
- [27] 张晓玲, 张换换, 徐新玉, 段振盈, 姚占军. 河北省 12 个小麦主栽品种(系)抗叶锈性鉴定及基因分析. 植物遗传资源学报, 2019, 20(4): 982-990
- Zhang X L, Zhang H H, Xu X Y, Duan Z Y, Yao Z J. Identification and analysis of leaf rust resistance genes in 12 main wheat cultivars (lines) from Hebei province. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2019, 20(4): 982-990
- [28] 张林, 王静, 张梦雅, 许换平, 闫红飞, 刘大群. 河南省 16 个主栽小麦品种抗叶锈基因分析. 植物遗传资源学报, 2017, 18(3): 546-554
- Zhang L, Wang J, Zhang M Y, Xu H P, Yan H F, Liu D Q. Analysis of leaf rust resistance genes in 16 main wheat cultivars in Henan. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2017, 18(3): 546-554
- [29] 张小村, 李斯深, 赵新华, 范玉顶, 李瑞军. 小麦纹枯病抗性的 QTL 分析和抗病基因的分子标记. 植物遗传资源学报, 2005, 6(3): 276-279
- Zhang X C, Li S S, Zhao X H, Fan Y D, Li R J. QTL and molecular markers for resistance gene of wheat sharp eyespot. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2005, 6(3): 276-279
- [30] 丁艳红, 刘欢, 师丽红, 温晓蕾, 张娜, 杨文香, 刘大群. 28 个小麦微核心种质抗叶锈性分析. 作物学报, 2010, 36(7): 1126-1134
- Ding Y H, Liu H, Shi L H, Wen X L, Zhang N, Yang W X, Liu D Q. Wheat leaf rust resistance in 28 Chinese wheat mini-core collections. *Acta Agronomica Sinica*, 2010, 36(7): 1126-1134