

30 个重要小麦生产品种抗叶锈性基因分析

闫晓翠¹, 李在峰², 杨华丽¹, 张换换¹, Gebrewahid Takele Weldu¹, 姚占军¹, 刘大群², 周悦³

(¹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, 河北保定 071001; ²河北农业大学植物保护学院/河北省农作物病虫害生物防治工程技术研究中心, 河北保定 071001; ³保定学院生物化学系, 河北保定 071001)

摘要:【目的】小麦叶锈病是影响中国小麦产量的重要病害之一, 培育持久抗病品种可以经济、有效地控制该病害。论文通过基因推导结合系谱分析、分子标记及成株抗病鉴定对小麦生产品种中抗病基因进行鉴定, 从而确定小麦品种中所携带的抗病基因。【方法】选用 18 个小麦叶锈菌菌系 (PHGQ、THJT、PHJT、KHJS、PHJS、THTT①、KHHT、FHRT、FHJQ、PHTT、THTT②、PHTT、FHTR、FHHT①、FHHT②、TGGT、FHHT、FGMT) 接种 36 个已知抗叶锈病基因载体品种和中国的 30 个小麦生产品种进行苗期抗叶锈病基因推导, 进一步利用 9 个与已知抗病基因紧密连锁的特异性标记进行标记检测, 同时系谱分析法确定供试小麦品种中所携带的已知抗叶锈病基因。为了鉴定小麦品种的成株抗性基因, 在 2014—2015 和 2015—2016 年度将 30 个小麦品种、慢锈对照品种 SAAR 和感病对照品种郑州 5389 种植于河北农业大学小麦试验田和河南周口黄泛区农场试验田, 田间用混合生理小种 (FHRT、THTT、THJT) 接种进行成株抗叶锈性鉴定, 进一步运用软件 IBM SPSS Statistics 19.0 进行方差分析 (ANOVA), 根据苗期与成株期的侵染型排除具有主效抗性基因的品种, 将田间最终严重度 (当达到发病高峰时调查的严重度为最终严重度, final disease severity, FDS) 明显小于或与慢锈对照 SAAR 无显著差异的作为慢锈品种, 从而筛选出表现慢锈的小麦品种。【结果】基因推导、系谱分析结合标记检测结果表明, 30 个小麦生产品种中有 4 个品种 (鄂恩 5 号、鄂麦 14、陕 229 和西农 979) 含有抗病基因 *Lr1*, 10 个品种 (鄂恩 1 号、鄂恩 5 号、鄂恩 6 号、贵农 16、陕 225、陕 354、陕 715、陕合 6 号、陕麦 509 和陕农 7859) 携带有抗病基因 *Lr26*, 2 个品种 (陕 225 和小偃 81) 经分子标记检测含有慢锈抗病基因 *Lr46*, 另外还有 3 个品种 (西农 979、陕 229 和贵农 16) 可能含有基因 *Lr13*, 所有供试品种均不含 *Lr9*、*Lr10*、*Lr19*、*Lr20*、*Lr24* 和 *Lr34* 抗病基因。根据 2 年 2 点的田间抗叶锈病鉴定筛选出 18 个表现慢锈的品种, 且方差分析结果表明各品种间和地点间差异均极显著, 年份间差异显著, 品种与地点间、品种与年份间差异均极显著, 而品种与重复间和重复间均不显著, 这表明小麦叶锈病抗性的表达受基因型和环境互作共同影响。【结论】30 个小麦品种中共检测到 *Lr1*、*Lr26*、*Lr13* 和 *Lr46* 等 4 个抗叶锈病基因, 其中 *Lr46* 为成株抗病基因, 通过田间抗性鉴定共检测出 18 个品种可能携带成株慢锈基因, 所有慢锈材料中可能含有未知成株抗叶锈病基因, 需要进一步进行遗传鉴定。

关键词: 小麦叶锈病; 基因推导; 成株抗病鉴定; 分子标记辅助选择

Analysis of Wheat Leaf Rust Resistance Genes in 30 Important Wheat Cultivars

YAN XiaoCui¹, LI ZaiFeng², YANG HuaLi¹, ZHANG HuanHuan¹, GEBREWAHID Takele Weldu¹,
YAO ZhanJun¹, LIU DaQun², ZHOU Yue³

收稿日期: 2016-08-22; 接受日期: 2016-10-19

基金项目: 国家自然科学基金 (31361140367, 31571662)、河北省应用基础研究计划重点基础研究项目 (11960145D)、河北省高等学校自然科学基金项目 (QN2016316)

联系方式: 闫晓翠, Tel: 15933976327; E-mail: yanxiaocui101412@126.com. 通信作者姚占军, Tel: 0312-7528121; E-mail: yzhj201@aliyun.com. 通信作者刘大群, E-mail: ldq@hebau.edu.cn

(¹College of Agronomy, Agricultural University of Hebei/North China Key Laboratory for Germplasm Resources of Education Ministry, Baoding 071001, Hebei; ²College of Plant Protection, Agricultural University of Hebei/Biological Control Center for Plant Disease Pests of Hebei Province, Baoding 071001, Hebei; ³Department of Biochemistry, Baoding University, Baoding 071001, Hebei)

Abstract: 【Objective】 Leaf rust is an important wheat disease and it has a great influence on wheat yield. Breeding durable resistant cultivars can economically and effectively control the disease. The objective of this study is to identify leaf rust resistance genes in 30 wheat cultivars from China by gene postulation, molecular marker-assisted selection, adult plant resistance identification and pedigree analysis. 【Method】 The cultivars were tested for seedling responses in the greenhouse to 18 *Puccinia triticina* pathotypes (PHGQ, THJT, PHJT, KHJS, PHJS, THTT①, KHHT, FHRT, FHJQ, PHTT, THTT②, PHTT, FHTR, FHHT①, FHHT②, TGGT, FHHT, FGMT) and to a mixed pathotypes (FHRT, THTT, THJT) for slow leaf rusting resistance in the field in 2014-2015 and 2015-2016 cropping seasons in Zhoukou, Henan Province and Baoding, Hebei Province. CIMMYT line SAAR, with typical slow rusting resistance and Zhengzhou 5389, a highly susceptible line were used as slow rusting and susceptible checks, respectively. Differential sets containing 36 near-isogenic lines (NILs) in a background of Thatcher with known leaf rust resistance genes were used to compare the infection types of the cultivars at seedling stage. The software IBM SPSS Statistics 19.0 was used for analysis of variance (ANOVA) and for determining least standard deviations (LSDs) for comparing the FDS (the final diseases severity) among the wheat cultivars. Cultivars which were susceptible to the mixed pathotypes and had lower or non-significantly higher values of FDS than those of the slow rusting check in field trials were considered to be slow rusting cultivars. 【Result】 Gene postulation combined with pedigree analysis, and markers detection results showed that four cultivars, viz. Een 5, Emai 14, Shaan 229, and Xinong 979 contained *Lr1*; 10 cultivars (Een 1, Een 5, Een 6, Guinong 16, Shaan 225, Shaan 354, Shaan 715, Shaanhe 6, Shaanmai 509 and Shaanong 7859) carried *Lr26*, two cultivars (Shaan 225 and Xiaoyan 81) contained slow rust resistance gene *Lr46* by molecular marker detection; three varieties (Xinong 979, Shaan 229, and Guinong 16) might contain *Lr13*. All cultivars didn't carry resistance genes, viz. *Lr9*, *Lr10*, *Lr19*, *Lr20*, *Lr24*, and *Lr34*. Based on the leaf rust resistance phenotype data in the field through four environments, a total of 18 cultivars showed slow rusting resistance. The variance analysis results showed that the genotypes-years interactions and the genotypes-locations were highly significant differences but genotypes-replicates interaction was not significant. At the same time, highly significant differences were found for wheat genotypes and environment (seasons and locations) for FDS in the field trials, but its effect on variation was much less than the genotypic differences. Therefore, these suggested that the expression of wheat leaf rust resistance was mainly influenced by genotypes and environments. 【Conclusion】 Four resistance genes, viz. *Lr1*, *Lr26*, *Lr13*, and *Lr46* were found in 14 wheat cultivars among 30 released winter wheat cultivars in China, but known leaf resistance genes could not be detected in other 16 cultivars. A total of 18 cultivars might carry slow rust resistance genes according to the field resistance data. All slow rusting materials may contain unknown plant leaf rust resistance genes, which need further genetic identification.

Key words: wheat leaf rust; gene postulation; adult plant resistance; molecular marker-assisted selection

0 引言

【研究意义】小麦叶锈病是由小麦叶锈菌 (*Puccinia triticina*) 侵染引起的真菌性气传小麦病害, 是危害中国小麦产量的重要因素之一, 病害严重流行年份可导致产量损失达 40% 以上^[1]。叶锈病发生范围广泛, 20 世纪 70 年代在墨西哥西北部发生叶锈病大流行, 据估计造成产量损失高达 70%^[2]。中国北方麦区曾在 1969、1973、1975 和 1979 年发生过中度以上病害流行^[3], 2012 年和 2015 年在多个小麦主产区暴发了小麦叶锈病, 对小麦生产造成了严重危害^[4-5]。因此不断发掘和

定位小麦抗叶锈病基因对丰富中国小麦抗病基因库和培育抗病品种具有重要意义。【前人研究进展】小麦对叶锈病的抗性分为两种: 垂直抗性和水平抗性。垂直抗性受单基因控制, 表现为小种专化抗性, 常因小种变异而丧失; 水平抗性大多数受微效多基因控制, 具有数量遗传特性, 为非小种专化抗性。微效多基因一般具有加性效应和上位效应, 不易引起抗病性丧失, 表现为持久抗性, 比如水平抗病品种 Pavon76 在生产上利用多年仍保持较好抗性, 经分子检测品种 Pavon76 中携带有多个微效抗病基因^[6]。目前国际上发现的 100 多个小麦抗叶锈病基因中大多数为苗期抗病

基因, 仅有 *Lr12*、*Lr13*、*Lr22* (等位基因 a 和 b)、*Lr34*、*Lr35*、*Lr37*、*Lr46*、*Lr48*、*Lr49*、*Lr67* 和 *Lr68* 等 12 个为成株抗叶锈病基因, 其中 *Lr34*、*Lr46*、*Lr67* 和 *Lr68* 为成株微效基因, 具有持久抗病性^[7]。抗病基因的研究方法主要有常规杂交法、基因推导法和分子标记等。基因推导法的应用原理是 Flor 提出的基因对基因假说^[8], 依据一套小麦抗叶锈病基因载体品种的表现型推导出供试材料中可能携带的抗病基因。1973 年, BROWDER^[9]首次应用 13 个近等基因系作为对照品种推导出了 *Lr1* 和 *Lr10*; 胡长程等^[10]在中国生产品种中推导出了 *Lr1*、*Lr2c*、*Lr10*、*Lr18* 和 *Lr26* 等抗病基因; 袁军海等^[11]在中国 47 个小麦新品种 (系) 中推导出 *Lr1*、*Lr3*、*Lr3bg*、*Lr9*、*Lr10*、*Lr13*、*Lr16*、*Lr23*、*Lr26* 和 *Lr34* 等 10 个抗叶锈病基因。由于基因推导法在小麦抗叶锈病遗传研究中普遍应用, 有利于小麦抗叶锈病基因的发掘与利用, 但基因推导容易受到小种鉴别力的影响, 导致某些基因推导不出来, 因此在对抗病基因鉴定时, 常使用基因推导与分子标记法互相验证获得可靠结果。刘志勇等^[12]在 48 份抗叶锈育种圃高代品系材料中鉴定出 *Lr9* 和 *Lr24*; 胡亚亚等^[13]在 14 份小麦材料中鉴定出 *Lr1*、*Lr10*、*Lr26* 和 *Lr34* 等抗病基因; 韩焯等^[14]在来自 CIMMYT 品种鉴定出抗病基因 *Lr26*、*Lr34*、*Lr42* 和 *Lr47* 等; 潘阳等^[15]对来自 104 份新疆品种、高代品系中鉴定出 *Lr26*、*Lr34*、*Lr50*、*Lr3ka*、*Lr1* 和 *Lr14a* 等抗病基因; 同时 LI 等^[16]也应用基因推导法结合标记检测在中国小麦材料中发现了抗叶锈 *Lr1*、*Lr2a*、*Lr3bg*、*Lr3ka*、*Lr14a*、*Lr16*、*Lr17a*、*Lr18*、*Lr20*、*Lr23*、*Lr24*、*Lr26*、*Lr34* 和 *LrZH84*^[17]等 14 个抗病基因。【本研究切入点】选用中国 30 个小麦生产品种进行苗期基因推导、成株期抗叶锈性鉴定及分子标记检测。【拟解决的关键问题】确定这些材料可能含有的抗病基因并筛选慢锈品种, 从而为作物育种和遗传研究提供有效遗传信息并为进一步抗病育种提供依据。

1 材料与方 法

1.1 供试品种及叶锈菌系

供试材料为陕西、贵州和湖北等 3 个小麦主产区的 30 个重要小麦生产品种, 其名称、系谱及来源见表 1。基因推导所用的 36 个已知抗叶锈病基因的载体品种和感病对照郑州 5389 及成株慢锈对照品种 SAAR 均由河北农业大学小麦叶锈病研究室提供^[18]; 基因推导所用的 18 个中国小麦叶锈菌小种 (PHGQ、THJT、PHJT、KHJS、PHJS、THTT[⊙]、KHHT、FHRT、FHJQ、

PHTT、THTT[⊙]、PHTT、FHTR、FHHT[⊙]、FHHT[⊙]、TGGT、FHHT、FGMT) 以及成株期所用的混合生理小种 (FHRT、THTT、THJT) 均采集于中国小麦主产区并进行单孢分离纯化, 其小种命名参照 LONG 等^[19]提出的三字母密码命名系统及后来扩展成的四字母命名法 (http://www.ars.usda.gov/SP2_User_Files/ad_hoc/36400500_Cerealrusts/pt_nomen.pdf)。所有菌种均保存于河北农业大学小麦锈病研究室。

1.2 苗期基因推导及侵染性鉴定

将对照感病品种郑州 5389、36 个携带已知抗叶锈病基因的载体品种和供试的 30 个小麦品种共 67 份材料, 按顺序播种于温室中育苗盘内。待小麦第一片叶片完全展开, 采用扫抹法将 18 个不同毒力的叶锈菌生理小种分别接于 18 套小麦叶片上。大约两周后待感病对照品种郑州 5389 充分发病时进行抗叶锈鉴定, 参照 ROELFS 等^[20]的 6 级侵染性标准, 对每套小麦品种 (系) 进行抗叶锈病侵染型鉴定, 并根据 DUBIN 等^[21]提出的基因推导原则进行抗病基因推导。

1.3 田间接种及成株期抗叶锈性鉴定

2014—2015 年和 2015—2016 年度将 32 份小麦品种 (包括慢锈对照品种 SAAR 和感病对照品种郑州 5389) 分别播种于河北保定河北农业大学小麦试验田和河南周口黄泛区农场试验田, 种植方式采用完全随机区组设计、2 次重复、行距 25 cm、行长 1.5 m, 每 10 行种植一个高感对照品种郑州 5389, 并且将郑州 5389 垂直种植作为接种行。田间接种和成株抗叶锈菌鉴定可参照 LI 等^[16]的方法。运用 IBM SPSS Statistics 19.0 软件进行方差分析 (ANOVA), 根据苗期与成株期的侵染型排除具有苗期抗性基因的品种, 将田间最终严重度明显小于或与慢锈对照 SAAR 无显著差异的作为慢锈品种。

1.4 已知抗叶锈病基因的分子检测

用 CTAB 法^[22]提取小麦叶片基因组 DNA, 用 TE 稀释成 50 μL 备用, 并利用分光光度计对 DNA 浓度和纯度进行检测。同时用 ddH₂O 稀释 DNA 至终浓度 40 $\text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ 作为 PCR 工作液使用。采用与已知抗叶锈病 *Lr* 基因紧密连锁的 11 个分子标记进行分子检测。所有引物的 PCR 体系为 20 μL , 含 10 μL 2 \times Taq PCR Mix、6 μL ddH₂O、2 μL 4 $\text{mol}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ 引物、2 μL 40 $\text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ DNA 模板, 各引物标记扩增程序见表 2, 扩增后以 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测 (*Lr46* 除外); 但 *Lr46* 的引物 *csLV46-G22* 对供试材料扩增后, 需将其产物酶切后用 12% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测。

表 1 30 个小麦品种来源、系谱及可能含有抗叶锈性基因的鉴定

Table 1 Origins, pedigree and probable genes for leaf rust resistance in 30 wheat cultivars

品系 Cultivars (Lines)	来源 Origin	系谱 Pedigree	基因推导结果 <i>Lr</i> gene based on gene postulation	标记检测结果 <i>Lr</i> gene based on gene marker detection	综合结果 Comprehensive result
鄂恩 1 号 Een 1	湖北 Hubei	(洛夫林 10/761) F ₁ /苏麦 3 号 (Luofulin 10/761) F ₁ /Sumai 3	<i>Lr26</i> , +	<i>Lr26</i>	<i>Lr26</i> , +
鄂恩 5 号 Een 5	湖北 Hubei	881-66/1097	<i>Lr1</i> , <i>Lr26</i> , +	<i>Lr1</i> , <i>Lr26</i>	<i>Lr1</i> , <i>Lr26</i> , +
鄂恩 6 号 Een 6	湖北 Hubei	“89-289”母本, “89-1012”父本杂交育成, 组号为“91101” ♀(89-289)/(89-1012) ♂	<i>Lr26</i> , +	<i>Lr26</i>	<i>Lr26</i> , +
鄂麦 11 Emai 11	湖北 Hubei	太谷显性核不育小麦作母本, 进行多亲本聚合杂交经系谱法选育 TaiGu sterile lines	+	None	+
鄂麦 14 Emai 14	湖北 Hubei	繁 6/偃大 72-629 Fan 6/Yanda 72-629	<i>Lr1</i> , +	<i>Lr1</i>	<i>Lr1</i> , +
鄂麦 15 Emai 15	湖北 Hubei	[882-852/(鄂恩 1 号/Nppp-2)]/贵农 11 号 [882-852/(Een 1/Nppp-2)]/Guinong 11	+	None	+
鄂麦 21 Emai 21	湖北 Hubei	由“黄冈 150”系选育成 From ‘Huanggang 150’ breeding	+	None	+
鄂麦 23 Emai 23	湖北 Hubei	2078/川农 8539//百农 64 2078/Chuannong 8539//Bainong 64	+	None	+
鄂麦 27 Emai 27	湖北 Hubei	扬 00-123/鄂麦 25 Yang 00-123/Emai 25	+	None	+
鄂麦 352 Emai 352	湖北 Hubei	缩 89-46/72103//华麦 8 号 Mian 89-46/72103//Huamai 8	+	None	+
鄂麦 596 Emai 596	湖北 Hubei	郑麦 9023/鄂麦 12//丰优 7 号 Zhengmai 9023/Emai 12//Fengyou 7	+	None	+
贵农 16 Guinong 16	贵州 Guizhou	苏麦 3 号×外引 C39 作母本、外引 P38 父本 Sumai3×(♀C39/P38 ♂)	<i>Lr13</i> , <i>Lr26</i> , +	<i>Lr26</i>	<i>Lr13</i> , <i>Lr26</i> , +
陕 225 Shaan 225	陕西 Shaanxi		<i>Lr26</i> , +	<i>Lr26</i> , <i>Lr46</i>	<i>Lr26</i> , <i>Lr46</i> , +
陕 229 Shaan 229	陕西 Shaanxi	陕 7853/80356 Shaan 7853/80356	<i>Lr1</i> , <i>Lr13</i> , +	<i>Lr1</i>	<i>Lr1</i> , <i>Lr13</i> , +
陕 354 Shaan 354	陕西 Shaanxi	陕 213 作母本、冬小麦 167-6-4 作父本杂交 F ₆ (♀Shaan213×163-6-4 ♂) F ₆	<i>Lr26</i> , +	<i>Lr26</i>	<i>Lr26</i> , +
陕 715 Shaan 715	陕西 Shaanxi	88119-19-3-5-10/wx8911	<i>Lr26</i> , +	<i>Lr26</i>	<i>Lr26</i> , +
陕 89150 Shaan 89150	陕西 Shaanxi		+	None	+
陕 89150 Shaan 89150	陕西 Shaanxi		+	None	+
陕早 8675 Shaanhan 8675	陕西 Shaanxi	长武 131×西植 81206 Changwu 131×Xizhi 81206	+	None	+
陕合 6 号 Shaanhe 6	陕西 Shaanxi	郑州 24 变异株 Zhengzhou 24 variants	<i>Lr26</i> , +	<i>Lr26</i>	<i>Lr26</i> , +
陕麦 509 Shaanmai 509	陕西 Shaanxi	母本 Vp145、86585 父本(小偃 693×普通小麦) ♀Vp145/♂86585 (Xiaooyan 693×Common wheat)	<i>Lr26</i> , +	<i>Lr26</i>	<i>Lr26</i> , +
陕麦 94 Shaanmai 94	陕西 Shaanxi	9229-2-2-3//中优杂交 9229-2-2-3//The optimal hybridization	+	None	+
陕农 7859 Shaannong 7859	陕西 Shaanxi	7576/327/68811(2)-2	<i>Lr26</i> , +	<i>Lr26</i>	<i>Lr26</i> , +
陕优 225 Shaanyou 225	陕西 Shaanxi	小偃 6 号/NS2761 Xiaooyan 6/NS2761	+	None	+
西农 1376 Xinong 1376	陕西 Shaanxi	西农 84G6 作母本、比 16 作父本杂交 ♀Xinong84G6/♂Bi16	+	None	+
西农 881 Xinong 881	陕西 Shaanxi	小偃 6/西农 65/83(2)-3-3 Xiaooyan 6/Xinong 65/83(2)-3-3	+	None	+
西农 979 Xinong 979	陕西 Shaanxi	西农 2611 作母本, (918×95 选 1) F ₁ 作父本 ♀Xinong 2611/(918×95) F ₁ ♂	<i>Lr1</i> , <i>Lr13</i> , +	<i>Lr1</i>	<i>Lr1</i> , <i>Lr13</i> , +
襄麦 55 Xiangmai 55	湖北 Hubei	8811/贵农 24-7//鄂麦 19 8811/Guinong 24-7//Emai 19	+	None	+
小偃 6 号 Xiaooyan 6	陕西 Shaanxi	(ST2422/464)/小偃 96 (ST2422/464)/Xiaooyan 96	+	None	+
小偃 81 Xiaooyan 81	陕西 Shaanxi	小偃 54×8602	+	<i>Lr46</i>	<i>Lr46</i> , +
长武 134 Changwu 134	陕西 Shaanxi	长武 131/小黑麦代 96/F ₁ /长武 131/F ₄ /京花 3 号/NS2761/F ₁	+	None	+
Changwu 134	陕西 Shaanxi	Changwu 131/Triticale 96/F ₁ /Changwu 131/F ₄ /Jinghua 3/NS2761/F ₁	+	None	+

+: 未知基因 Unknown resistance genes

表 2 分子标记的引物序列及 PCR 扩增程序

Table 2 Primer sequences and PCR amplification programs for different primer combinations

Lr	引物 Primer		反应程序 Cycle condition	参考文献 Reference
	名称 Name	序列 Sequence (5'-3')		
Lr1	WR003F	GGGACAGAGACCTTGGTGGGA	94°C 5 min; 35 cycles (94°C 1 min; 55°C 1 min; 72°C 1 min); 72°C 10 min; 10°C forever	QIU <i>et al.</i> ^[23]
	WR003R	GACGATGATGATTTGCTGCTGG		
Lr9	J13/1	TCCTTTTATTCGCACGCCGG	94°C 6 min; 35 cycles (94°C 1 min; 68.5°C 1 min; 72°C 2 min); 72°C 10 min; 10°C forever	SCHACHERMAYR <i>et al.</i> ^[24]
	J13/2	CCACACTACCCCAAAGAGACG		
Lr10	FL2245	GTGTAATGCATGCAGTTCC	94°C 3 min; 35 cycles (94°C 45 s; 60°C 45 s; 72°C 30 s); 72°C 3 min; 10°C forever	SCHACHERMAYR <i>et al.</i> ^[25]
	Lr10-6/r2	AGGTGTGAGTGAGTTATGTT		
Lr19	SCS265-F	GGCGGATAAGCAGAGCAGAG	94°C 5 min; 35 cycles (94°C 1 min; 65°C 1 min; 72°C 2 min); 72°C 10 min; 10°C forever	GUPTA <i>et al.</i> ^[26]
	SCS265-R	GGCGGATAAGTGGGTTATGG		
Lr19	SCS253-F	GCTGGTTCACAAAGCAAA	94°C 5 min; 35 cycles (94°C 1 min; 60°C 1 min; 72°C 2 min); 72°C 10 min; 10°C forever	GUPTA <i>et al.</i> ^[26]
	SCS253-R	GGCTGGTTCCTTAGATAGGTG		
Lr20	STS638-L	ACAGCGATGAAGCAATGAAA	94°C 5 min; 35 cycles (94°C 1 min; 60°C 1 min; 72°C 2 min); 72°C 10 min; 10°C forever	NEU <i>et al.</i> ^[27]
	STS638-R	GTCCAGTTGGTTGATGGAAT		
Lr24	J09/1	TCTAGTCTGTACATGGGGGC	94°C 5 min; 35 cycles (94°C 1 min; 60°C 1 min; 72°C 2 min); 72°C 10 min; 10°C forever	SCHACHERMAYR <i>et al.</i> ^[28]
	J09/2	TGGCACATGAACTCCATACG		
Lr26	ω-secalinF	ACCTTCCTCATCTTTGTCCT	94°C 5 min; 35 cycles (94°C 1 min; 65°C 1 min; 72°C 2 min); 72°C 10 min; 10°C forever	CHAI <i>et al.</i> ^[29]
	ω-secalinR	CCGATGCCTATACCACTACT		
Lr26	O11B5	GGTACCAACAACAACAACCC	94°C 5 min; 35 cycles (94°C 1 min; 65°C 1 min; 72°C 2 min); 72°C 10 min; 10°C forever	FROIDMONT ^[30]
	O11B3	GTTGCTGCTGAGGTTGGTTC		
Lr34	csLv34F	GTTGGTTAAGACTGGTGATGG	94°C 5 min; 35 cycles (94°C 1 min; 55°C 1 min; 72°C 2 min); 72°C 10 min; 10°C forever	LAGUDAH <i>et al.</i> ^[31]
	csLv34R	TGCTTGCTATTGCTGAATAGT		
Lr46	csLV46G22-F	TCGACTTTGGAATGGAGTTGC	94°C 5 min; 35 cycles (94°C 1 min; 60°C 1 min; 72°C 2 min); 72°C 10 min; 10°C Forever	SUENAGA <i>et al.</i> ^[32]
	csLV46G22-R	GGCGAAGATGCCATCATCCACCAG		

2 结果

2.1 苗期抗病性鉴定与基因推导分析

接种 36 个小麦抗叶锈病载体品种 (系)、30 个供试小麦生产品种及感病对照品种郑州 5389 的反应型 (IT) 列于表 3。感病对照郑州 5389 对所测试的生理小种均表现高感 (IT 4)。36 个已知抗叶锈病载体品种 (系) 中, 携带 *Lr9*、*Lr19*、*Lr24*、*Lr28*、*Lr47*、*Lr51* 和 *Lr53* 的载体品种对所有供试叶锈菌种均表现高抗 (IT 0); 而携带 *Lr2c*、*Lr3*、*Lr16*、*LrB*、*Lr10*、*Lr3bg*、*Lr14b*、*Lr33* 和 *Lr44* 的载体品种对 18 个供试叶锈菌生理小种均表现为高感 (IT 3 或 4), 因此上述 16 个抗叶锈病基因无法通过苗期接种鉴定而推导出来, 其余 20 个抗叶锈病基因均可以通过苗期鉴定推导出来 (表 1)。*Lr2b* 只对 PHGQ 和 FHRT 两个小种表现抗病, 对其余 16 个小种表现感病; *Lr36* 只对 PHTT

和 TGGT 两个小种表现感病, 对其余 16 个小种表现抗病; *Lr29* 对 4 个小种表现感病, 分别为 PHJS、FHHT①、FHHT②和 FHTT 号小种; 另外, *Lr21* 对 PHGQ、FHRT、TGGT 和 FGMT 这 4 个小种表现抗病, 对其余小种表现感病; *Lr45* 对小种 FHRT 和 TGGT 表现感病, 而对其他小种表现抗病。30 个小麦生产品种对 18 个小麦叶锈菌种表现出不同的抗性 (表 3)。推导结果表明鄂麦 23、鄂麦 15、襄麦 55、鄂麦 352、陕 89150、鄂麦 21、鄂麦 11 和陕早 8675 等 8 个小麦品种对所有菌系均表现高感型, 因此这些材料不含有已知抗叶锈病基因或携带未知抗病基因; *Lr1* 对小种 KHJS、KHHT、FHRT、FHJQ、FHTR、FHHT①、FHHT②、FHTT 和 FGMT 表现低侵染型 (;1), 而小麦品种陕 229、鄂麦 14、鄂恩 5 号、西农 979 对所有 *Lr1* 无毒的小种均表现抗性, 表明这些材料中携带 *Lr1*; *Lr13* 对编号 PHTT、FHHT①、FHTT 和 FGMT

表 3 30 个已知抗叶锈病基因对 18 个叶锈菌生理小种的苗期侵染型

Table 3 Seedling infection types on 30 wheat lines with known leaf rust resistance genes when tested with 18 pathotypes of *P. triticina*

Line (gene)	对叶锈菌生理小种的侵染型 Infection types to <i>P. triticina</i> race																	
	PHGQ	THJT	PHJT	KHJS	PHJS	THTT①	KHHT	FHRT	FHJQ	PHTT	THTT②	PHTT	FHTR	FHHT①	FHHT②	TGGT	FHHT	FGMT
RL6003 (<i>Lr1</i>)	4	3+	3+	;	4	4	1	1	1	4	4	4	1	1	1	4	1	1
RL6016 (<i>Lr2a</i>)	1	3+	2+	3	1	4	4	1	1	1	4	1	0;	1	1	4	;	1
RL6047 (<i>Lr2C</i>)	4	4	4	3+	4	4	3+	4	4	4	4	4	3+	4	4	3+	3+	4
RL6002 (<i>Lr3</i>)	4	4	4	3+	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	4	4
RL6010 (<i>Lr9</i>)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
RL6005 (<i>Lr16</i>)	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3+	4	3	3	3	3	3	3+	3+
RL6064 (<i>Lr24</i>)	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;	0
RL6078 (<i>Lr26</i>)	3+	3+	4	4	4	4	4	4	4	3	3	3	3	3	3+	2	3+	2
RL6007 (<i>Lr3ka</i>)	1	1	1	2	;	3	1	4	1	3	3	3c	3+	2	2	1	3	3
RL6053 (<i>Lr11</i>)	4	4	3+	3	3	4	3	4	4	4	4	3c	4	3+	3	3+	3+	2+
RL6008 (<i>Lr17</i>)	2	3c	2+	1	3	4	1	1	1	3+	4	3	3	2+	1	2+	3	2
RL6049 (<i>Lr30</i>)	1	1	2+	1	1	3+	3c	3	1	3+	4	4	4	3+	4	1	3	4
RL6051 (<i>LrB</i>)	4	3+	4	4	4	4	3+	4	4	4	4	3	4	4	4	4	3+	4
RL6004 (<i>Lr10</i>)	3+	4	4	4	4	4	3+	4	4	4	3c	4	3	3	3	4	4	4
RL6013 (<i>Lr14a</i>)	x	4	3+	4	3+	4	4	3+	x	4	3+	4	X	3+	3	3+	3+	3+
RL6009 (<i>Lr18</i>)	1	3+	3	1	2	3	3+	3	2	4	4	4	3	4	4	3+	4	3+
RL6019 (<i>Lr2b</i>)	2	4	3+	4	3+	3+	3+	2+	3	3+	4	3	3+	3+	3	3+	4	3+
RL6042 (<i>Lr3bg</i>)	4	4	3+	4	4	4	3+	3+	3+	4	4	3+	3	3+	3	3+	4	4
RL4031 (<i>Lr13</i>)	3	3	3	3	4	3	3+	3	3	3	4	2	3	2	3	3+	2	2
RL6006 (<i>Lr14b</i>)	4	4	4	4	4	4	3+	4	4	4	4	3	4	4	3	4	4	4
RL6052 (<i>Lr15</i>)	4	1	1	1	3+	4	1	1	1	1	4	1	3	1	1	1	2	1,2
RL6040 (<i>Lr19</i>)	0	;	0	0	0	0	0	;	0	0;	0	;	0	;	0	0	0	0
RL6043 (<i>Lr21</i>)	2	4	3	3	4	3	3	;	4	3+	3	3	3	4	3	2	3+	2+

续表 3 Continued table 3

品系 (基因)		对叶锈菌生理小种的侵染型 Infection types to <i>P. triticina</i> race																	
Line (gene)		PHGQ	THIT	PHIT	KHJS	PHJS	THIT①	KHHT	FHRT	FHJQ	PHIT	THIT②	PHIT	FHTR	FHHT①	FHHT②	TGGT	FHTT	FGMT
RL6012 (<i>Lr23</i>)		1,2	1	3	1	1	3	3	2+	3	3	1	1	1	1	1	3+	1	1
RL6079 (<i>Lr28</i>)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	;	0	;	0	;	0	0	;	;
RL6080 (<i>Lr29</i>)		1	1	1	2	3	1	2	2	2	1	2	;	2	3	3	1	3	2
RL6057 (<i>Lr33</i>)		3+	3+	3+	3+	3+	4	3+	4	3+	4	4	4	3	3+	3+	3+	3+	3
E84018 (<i>Lr36</i>)		1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	1	2	1	1	1	3	1	1
KS86NGRC02 (<i>Lr39</i>)		3	2+	2+	2	3+	3	1	2	1	4	4	3	3	2	2	4	1	1
KS91WGRCl1 (<i>Lr42</i>)		3	3	3	2	1	2	3	3+	3	1	1	2	2	2	3	1	3+	3
RL6147 (<i>Lr44</i>)		4	4	4	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3+	3	4
RL6144 (<i>Lr45</i>)		1	1	1	;	1	1	1	3	;	1	1	1	1	1	1	3+	1	1
PAVON76 (<i>Lr47</i>)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	;	0	;	;	;	;	;	0	;
C78.5 (<i>Lr51</i>)		;	;	;	0	;	;	;	;	;	1	1	;	1	1	1	1	1	;
98M71 (<i>Lr53</i>)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	;	0	;	;	;	;	;	0;	;
1 鄂麦 23 (Emai 23)		4	4	4	4	4	4	3	4	4	4	3	4	4	3	3	3	3	4
2 鄂麦 15 (Emai 15)		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3+	3	3+	4	4	3	3	3+
3 鄂恩 6 号 (Een 6)		4	4	4	4	4	4	4	4	4	2+	4	3+	3	3+	2+	4	4	2+
4 襄麦 55 (Xiangmai55)		4	4	3	4	4	4	4	4	4	4	4	3	4	4	3+	3+	3+	3+
5 陕麦 94 (Shaanmai 94)		4	4	3	4	4	4	4	4	4	4	3	2+	3	3	4	4	3	2+
6 西农 881 (Xinong 881)		4	4	3	3	4	4	4	4	4	2+	2+	2+	2+	3	3+	3+	4	2
7 鄂麦 352 (Emai 352)		4	4	3	4	4	4	4	4	4	4	3	4	3+	4	4	4	4	3+
8 鄂麦 27 (Emai 27)		4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3+	2+	2+	3	3+	3+	4	2
9 陕 229 (Shaan 229)		4	4	4	;	4	4	1	2	1	3	3	2+	2+	2+	2+	3	2	2+
10 西农 1376 (Xinong 1376)		1	;	1	;	4	;	1	4	1	1	2+	2	3	2	1	3	3	2+

表现低侵染型(1), 陕 229、贵农 16 和西农 979 等 3 个品种对此 4 个小种也表现相似的低侵染型, 说明这些材料中可能含有 *Lr13*; *Lr26* 对小种 TGGT 和 FGMT 表现低侵染型(2), 而小麦品种(系)鄂恩 1 号、鄂恩 5 号、鄂恩 6 号、贵农 16、陕 225、陕 354、陕 715、陕合 6 号、陕麦 509 和陕农 7859 对所有 *Lr26* 无毒的小种均表现抗性, 表明这些材料可能携带有 *Lr26* (表 1)。

2.2 田间成株抗病性鉴定

2014—2015 和 2015—2016 年度连续 2 年在河北保定和河南周口 2 个试验点对这些材料进行了成株抗叶锈鉴定, 方差分析结果表明各品种间和地点间差异均极显著, 年份间差异显著, 品种与地点间和品种与年份间差异均极显著, 而品种与重复间和重复间均不显著, 这表明小麦叶锈病抗性的表达受基因型和环境交互共同影响(表 4)。此外, 根据 2 年 2 点田间鉴定, 慢锈对照 SAAR 均表现明显的慢锈性(表 5)。

表 4 30 个小麦品种及慢锈 SAAR 和感病对照在 2014—2015 和 2015—2016 年分别在保定与周口最终病害严重度的方差分析
Table 4 Analysis of variance of relative area final disease severity (FDS) in 30 wheat cultivars including slow rusting cultivar SAAR and susceptible checks tested in the 2014-2015 and 2015-2016 growing seasons

变异来源 Source of variation	平方 SS	自由度 df	方差 MS	F 值 F value	P 值 P value
品种 Cultivar	63178.500	31	2038.016	18.823**	<0.001
地点 Location	11489.160	1	11489.160	106.115**	<0.001
年份 Season	475.785	1	475.785	4.394*	0.038
重复 Replicate	4.000	1	4.000	0.037	0.848
品种×地点 Cultivar×Location	17750.527	31	572.598	5.289**	<0.001
品种×年份 Cultivar×Season	11587.777	31	373.799	3.452**	<0.001
品种×重复 Cultivar×Replicate	922.062	31	29.744	0.275	1.000
误差 Error	13858.625	128	108.271		
总计 Total	293364.000	256			
校正总计 Corrected total	119266.438	255			

$R^2=0.884$ (调整 $R^2=0.769$); **表示差异达 0.01 显著水平 Significance at the 0.01 probability

3 讨论

本研究结合基因推导和标记检测, 共鉴定出 *Lr1*、*Lr13*、*Lr26* 和 *Lr46* 等少数几个抗病基因, 说明中国小麦材料中抗病基因单一, 而且缺乏有效的抗病基因。目前只有少数几个抗病基因如 *Lr9*、*Lr19*、*Lr24*、*Lr28*、*Lr47*、*Lr51* 和 *Lr53* 等对所有供试小种表现高抗, 但这些基因在生产品种中尚未广泛应用, 因此今后应进一步加强抗病育种工作, 在生产品种中转化更多的有

效抗病基因来抑制小麦叶锈病流行。本研究中陕 225 和小偃 81 经标记检测携带有 *Lr46*, 但其田间严重度分别为 15%和 57%, 表现中度抗病及高度感病, 表明 *Lr46* 单独存在时, 效应比较微弱, 需聚合更多的微效基因, 才能达到高水平的成株抗病性。

2.3 分子检测

30 个小麦品种进一步利用 11 个分子标记进行检测(表 2), 共检测到 *Lr1*、*Lr26* 和 *Lr46* 的特异目的片段(图 1、图 2), 而未检测到 *Lr9*、*Lr10*、*Lr19*、*Lr20*、*Lr24* 和 *Lr34* 相应的特异条带(图 1)。鄂麦 14、陕 229、西农 979 和鄂恩 5 号等品种中检测出 *Lr1*, 鄂恩 1 号、鄂恩 5 号、鄂恩 6 号、陕合 6 号、贵农 16、陕 225、陕 354、陕 715、陕麦 509 和陕农 7859 等品种中检测到与 *Lr26* 相同的带型, 陕 225 和小偃 81 两个品种检测出与 *Lr46* 基因相同的带型, 其余的品种均未检测出 *Lr46* (图 2)。分子标记检测结果见表 1, 另外结果显示分子标记与基因推导鉴定结果表现一致。

效抗病基因来抑制小麦叶锈病流行。本研究中陕 225 和小偃 81 经标记检测携带有 *Lr46*, 但其田间严重度分别为 15%和 57%, 表现中度抗病及高度感病, 表明 *Lr46* 单独存在时, 效应比较微弱, 需聚合更多的微效基因, 才能达到高水平的成株抗病性。

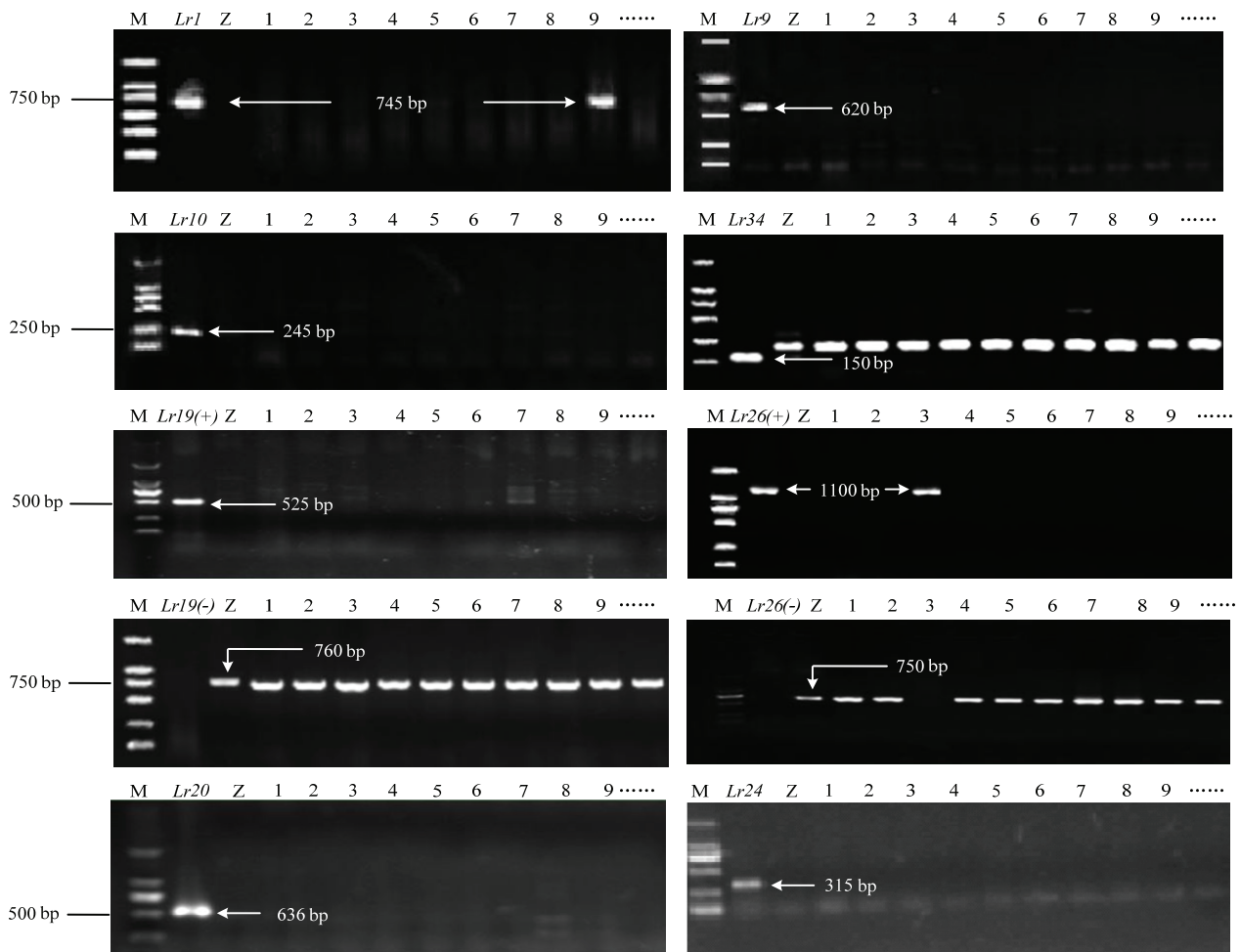
鄂恩 1 号由(洛夫林 10/761) F_1 与苏麦 3 号杂交选育而来, 亲本洛夫林 10 含有抗病基因 *Lr26*^[33], 说明鄂麦 1 号中携带的 *Lr26* 可能来自于洛夫林 10; 鄂麦 14 由繁 6/偃大 72-629 杂交选育而成, 其亲本繁 6

表 5 32 个小麦品种、慢锈品种及对照品种苗期对混合小种的反应型和成株期在 2014—2015 年和 2015—2016 年的最终病害严重度

Table 5 Infection types (IT) in the seedling test with *P. triticina* pathotype mixed species and mean final disease severity (FDS) in the field experiments with the same pathotype in the 2014-2015 and 2015-2016 growing seasons for 32 wheat genotypes with slow rusting resistance to leaf rust

编号 Code	品种名 Cultivar	苗期对混合小种 抗性 Seedling IT to mix species	2014—2015 保定严重度 FDS of Baoding (%)	2015—2016 保定严重度 FDS of Baoding (%)	2014—2015 周口严重度 FDS of Zhoukou (%)	2015—2016 周口严重度 FDS of Zhoukou (%)	严重度平均值 Average FDS (%)
1	SAAR ^a	4	3.00	5.00	1.00	1.00	2.50
2	陕 354 ^d Shaan 354 ^d	4	6.25	17.50	12.50	15.00	12.81
3	鄂麦 15 ^d Emai 15 ^d	4	3.75	20.00	8.75	20.00	13.13
4	鄂恩 5 号 ^d Een 5 ^d	4	3.00	25.00	13.75	16.25	14.50
5	陕麦 94 ^d Shaanmai 94 ^d	4	10.00	27.50	12.50	8.75	14.69
6	陕 225 ^d Shaan 225 ^d	4	12.50	15.00	15.00	17.50	15.00
7	襄麦 55 ^d Xiangmai 55 ^d	4	20.00	18.75	11.25	12.50	15.63
8	鄂恩 6 号 ^d Een 6 ^d	4	17.50	16.25	15.00	15.00	15.94
9	陕麦 509 ^d Shaanmai 509 ^d	4	15.00	16.25	22.50	16.25	17.50
10	陕 715 ^d Shaan 715 ^d	4	8.75	37.50	12.50	12.50	17.81
11	陕优 225 ^d Shaanyou 225 ^d	4	22.50	16.25	16.25	17.50	18.13
12	鄂麦 352 ^d Emai 352 ^d	4	16.25	27.50	12.50	17.50	18.44
13	鄂麦 11 ^d Emai 11 ^d	4	23.75	18.75	22.50	10.00	18.75
14	陕 229 ^d Shaan 229 ^d	4	11.25	28.75	15.00	22.50	19.38
15	西农 979 ^d Xinong 979 ^d	4	10.00	40.00	12.50	15.00	19.38
16	贵农 16 ^d Guinong 16 ^d	4	10.00	13.75	22.50	32.50	19.69
17	鄂麦 27 ^d Emai 27 ^d	4	11.25	25.00	20.00	25.00	20.31
18	西农 881 ^d Xinong 881 ^d	4	22.50	27.50	12.50	20.00	20.63
19	鄂麦 596 ^d Emai 596 ^d	4	15.00	28.75	18.75	25.00	21.88
20	鄂麦 14 Emai 14	4	15.00	57.50	16.25	5.00	23.44
21	陕 89150 Shaan 89150	4	20.00	40.00	20.00	15.00	23.75
22	鄂麦 21 Emai 21	4	12.50	50.00	22.50	17.50	25.63
23	西农 1376 Xinong 1376	4	35.00	47.50	8.75	13.75	26.25
24	鄂麦 23 Emai 23	4	7.50	57.50	25.00	16.25	26.56
25	小偃 6 号 Xiaoyan 6	3	10.00	80.00	17.50	18.75	31.56
26	鄂恩 1 号 Een 1	4	55.00	40.00	17.50	30.00	35.63
27	陕农 7859 Shaanong 7859	4	13.75	40.00	22.50	80.00	39.06
28	陕合 6 号 Shaanhe 6	3	6.25	70.00	3.00	90.00	42.31
29	长武 134 Changwu 134	4	20.00	60.00	52.50	77.50	52.50
30	陕旱 8675 Shaanhan 8675	4	27.50	60.00	67.50	60.00	53.75
31	小偃 81 Xiaoyan 81	4	17.50	80.00	50.00	80.00	56.88
32	郑州 5389 ^b Zhengzhou 5389 ^b	4	75.00	90.00	80.00	75.00	80.00
LSD							20.60

a: 慢锈对照 Slow rusting control; b: 感病对照 Susceptible control; d: 含慢锈品种 Slow rusting cultivars



M: DL 2000; Z: 郑州 5389 Zhengzhou 5389; 1: 鄂麦 23 Emai 23; 2: 鄂麦 15 Emai 15; 3: 鄂恩 6 号 Een 6; 4: 襄麦 55 Xiangmai 55; 5: 陕麦 94 Shaanmai 94; 6: 西农 881 Xinong 881; 7: 鄂麦 352 Emai 352; 8: 鄂麦 27 Emai 27; 9: 陕 229 Shaan 229; 10: 西农 1376 Xinong 1376; 11: 陕合 6 号 Shaanhe 6; 12: 小偃 81 Xiaoyan 81; 13: 陕 225 Shaan 225; 14: 陕麦 509 Shaanmai 509; 15: 贵农 16 Guinong 16; 16: 鄂麦 596 Emai 596; 17: 鄂麦 14 Emai 14; 18: 陕农 7859 Shaannong 7859; 19: 小偃 6 号 Xiaoyan 6; 20: 陕 89150 Shaan 89150; 21: 鄂恩 5 Een 5; 22: 鄂麦 21 号 Emai 21; 23: 陕 354 Shaan 354; 24: 鄂麦 11 Emai 11; 25: 陕 715 Shaan 715; 26: 陕早 8675 Shaanhan 8675; 27: 陕优 225 Shaanyou 225; 28: 长武 134 Changwu 134; 29: 鄂恩 1 号 Een 1; 30: 西农 979 Xinong 979

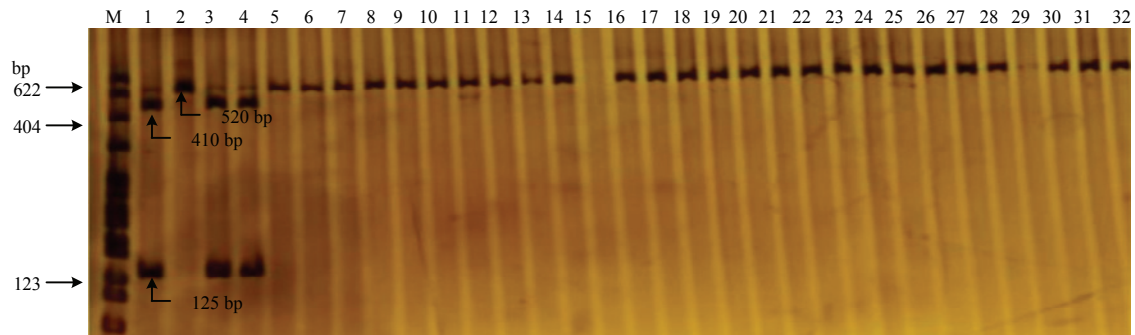
图 1 用 *Lr1*、*Lr9*、*Lr10*、*Lr19*、*Lr20*、*Lr24*、*Lr26* 和 *Lr34* 标记检测 30 个小麦品种的部分电泳结果

Fig. 1 Part of PCR amplification of 30 Chinese wheat cultivars with the markers *Lr1*, *Lr9*, *Lr10*, *Lr19*, *Lr20*, *Lr24*, *Lr26*, and *Lr34*

的系谱为 I413B01828/NP824/3/五一麦/成都光头分枝麦/中农 483/4/中农 2813 分枝/阿夫, 其中阿夫含有 *Lr1*^[34], 说明鄂麦 14 中的抗病基因 *Lr1* 可能来自于阿夫; 西农 979 的亲本西农 2611 是以陕 229 作母本、(84<14>43×83<2>3)×(西农 65×小偃 6 号) 作父本杂交选育而成, 虽然陕 229 中的 *Lr1* 无法经系谱推出, 但很明显西农 979 的 *Lr1* 来自于陕 229。庄巧生^[35]在 2003 年指出洛夫林、毕加索、山前草和阿芙乐尔等骨干品种均含有抗叶锈病基因 *Lr26*, 本研究中携带 *Lr26* 的 4 个品种陕农 7859、陕麦 509、陕 354 和陕 715, 其亲本均有携带 *Lr26* 的骨干亲本。经基因推导可知西

农 979、陕 229 和贵农 16 可能携带有 *Lr13*, 此 3 个品种在田间严重度为 19%, 表现为慢锈品种; *Lr13* 的载体品系 RL4031 在田间的严重度为 5%, 西农 979、陕 229 和贵农 16 是否携带 *Lr13* 有待进一步试验验证。本研究中还鉴定到 18 个表现成株慢锈的品种, 这些材料中可能携带未知的成株慢锈基因, 今后应利用遗传分析结合分子标记明确其成株抗性的抗病机理, 同时这些材料也可将来用于持久抗性品种的选育。

基因推导及标记检测各有优缺点: 分子标记快速、准确且不受环境条件的限制, 但易扩增出非特异性带型, 出现假阳性, 影响结果检测的准确性; 基因推导



M: PBR322/Msp I Marker; 1: *Lr46*; 2: 郑州 5389 Zhengzhou 5389; 3: 陕 225 Shaan 225; 4: 小偃 81 Xiaoyan 81; 5: 鄂麦 23 Emai 23; 6: 鄂麦 15 Emai 15; 7: 鄂恩 6 号 Een 6; 8: 襄麦 55 Xiangmai 55; 9: 陕麦 94 Shaanmai 94; 10: 西农 881 Xinong 881; 11: 鄂麦 352 Emai 352; 12: 鄂麦 27 Emai 27; 13: 陕 229 Shaan 229; 14: 西农 1376 Xinong 1376; 15: 陕合 6 号 Shaanhe 6; 16: 陕麦 509 Shaanmai 509; 17: 贵农 16 Guinong 16; 18: 鄂麦 596 Emai 596; 19: 鄂麦 14 Emai 14; 20: 陕农 7859 Shaannong 7859; 21: 小偃 6 号 Xiaoyan 6; 22: 陕 89150 Shaan 89150; 23: 鄂恩 5 Een 5; 24: 鄂麦 21 号 Emai 21; 25: 陕 354 Shaan 354; 26: 鄂麦 11 Emai 11; 27: 陕 715 Shaan 715; 28: 陕早 8675 Shaanhan 8675; 29: 陕优 225 Shaanyou 225; 30: 长武 134 Changwu 134; 31: 鄂恩 1 号 Een 1; 32: 西农 979 Xinong 979

图 2 用 *cslv46-G22* 标记检测 30 个小麦品种的电泳结果

Fig. 2 The PCR amplification of 30 Chinese wheat cultivars with the CAPS marker *cslv46-G22*

法周期短、不受生长季节限制、在短期内可对大量品种进行分析且结果准确,但易受小种鉴别力不足或遗传背景等因素影响,使鉴定结果受到限制。在本研究中所选分子标记特异性强,能准确地检测出抗病基因,而且苗期基因推导与标记检测结果一致,更加验证了结果的可靠性。部分材料由于含有未知抗病基因没有推导出已知抗叶锈病基因,用其与感病品种配置杂交组合,进一步利用遗传分析和分子定位对未知基因进行鉴定有望发现一些新的抗病基因,目前本课题组中共发现了 *LrZH84*^[17]、*LrG98*^[36]、*LrXi*^[37]、*LrBi16*^[38]、*LrNJ97*^[4]、*LrFun*^[39]、*LrZH22*^[40]等 7 个新的抗叶锈病基因,都是通过此方法进行鉴定和定位的。另外,本研究采用苗期基因推导和成株抗性鉴定相结合,苗期鉴定能够检测出苗期主效抗病基因,而不能检测出成株微效抗病基因,而田间通过接种强毒性生理小种进行鉴定,能够检测出成株慢锈基因。在本研究中筛选出 18 个品种可能携带成株慢锈抗病基因,这些材料可应用于小麦生产培育持久抗病品种来防治小麦叶锈病。

4 结论

根据苗期基因推导和分子标记检测结果,在 30 个小麦品种(系)中有 14 个品种(系)中可能携带有 4 个已知抗叶锈病基因,即 *Lr1*、*Lr13*、*Lr26* 和 *Lr46*。检测到 10 个品种(系)含有 *Lr26*,其中鄂恩 5 号携带 *Lr26* 和 *Lr1*,贵农 16 携带 *Lr26* 和 *Lr13*,另外 *Lr26* 和 *Lr46* 共同存在于陕 225 中,检测到含有 *Lr1* 的共有

4 个品种(系),除了上述鄂恩 5 号外,*Lr1* 和 *Lr13* 共同存在于陕 229 和西农 979 中,品种鄂麦 14 仅含有 *Lr1*;含有 *Lr46* 的有 2 个品种(系),除了陕 225 外,小偃 81 仅携带 *Lr46*。通过田间抗性鉴定共检测出 18 个品种(系)可能携带成株慢锈基因。

References

- [1] KHAN M H, BUKHARI A, DAR Z A, RIZVI S M. Status and strategies in breeding for rust resistance in wheat. *Agriculture Science*, 2013, 4(6): 292-301.
- [2] DUBIN H J, TORRES E. Causes and consequences of the 1976-1977 wheat leaf rust epidemic in North west Mexico. *Annual Review of Phytopathology*, 1981, 19: 41-49.
- [3] 董金皋. 农业植物病理学. 北京: 中国农业出版社, 2001. DONG J G. *Agricultural Plant Pathology*. Beijing: China Agriculture Press, 2001. (in Chinese)
- [4] ZHOU H X, XIA X C, HE Z H, LI X, WANG C F, LI Z F, LIU D Q. Molecular mapping of leaf rust resistance gene *LrNJ97* in Chinese wheat line Neijiang 977671. *Theoretical and Applied Genetics*, 2013, 126(8): 2141-2147.
- [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. *中国植保导刊*, 2016, 36(4): 29-33. PENG H, LÜ G Q, WANG J R. Analysis on the characteristics and causes of main diseases of wheat in Henan Province in 2015. *China Plant Protection*, 2016, 36(4): 29-33. (in Chinese)
- [6] 王竹林, 刘曙东, 王辉, 何中虎, 夏先春, 陈新民, 段霞瑜, 周益林.

- 小麦慢病性的遗传育种研究进展. 麦类作物学报, 2006, 26(1): 129-134.
- WANG Z L, LIU S D, WANG H, HE Z H, XIA X C, CHEN X M, DUAN X Y, ZHOU Y L. Advance of study on adult-plant resistance in bread wheat. *Journal of Triticeae Crops*, 2006, 26(1): 129-134. (in Chinese)
- [7] MCINTOSH R A, YAMAZAKI Y, DUDCOVSKY K, ROGERS K M, MORRIS C, APPEIS R. Catalogue of gene symbols for wheat// *Proceedings of the 10th International Wheat Genetics Symposium*. Paestum, Italy, 2003, 4: 1-6.
- [8] FLOR H H. Host-parasite interaction in flax rust-its genetics and other implications. *Phytopathology*, 1955, 45: 680-685.
- [9] BROWDER L E. Probable genotype of some *Triticum aestivum* 'Agent' derivatives for reaction to *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*. *Crop Science*, 1973, 13(2): 203-206.
- [10] 胡长程, 陈万权. 我国 25 个小麦品种抗秆、叶锈基因初步分析. 植物病理学报, 1992, 22(4): 369-375.
- HU C C, CHEN W Q. Preliminary analysis of genes for stem and leaf rust resistance of 25 important wheat cultivars in China. *Acta Phytopathologica Sinica*, 1992, 22(4): 369-375. (in Chinese)
- [11] 袁军海, 刘太国, 陈万权. 中国 47 个小麦新品种 (系) 苗期抗叶锈基因推导. 中国农业科学, 2007, 40(9): 1925-1935.
- YUAN J H, LIU T G, CHEN W Q. Postulation of leaf rust resistance genes in 47 new wheat cultivars (lines) at seeding stage. *Scientia Agriculture Sinica*, 2007, 40(9): 1925-1935. (in Chinese)
- [12] 刘志勇, 王晓玲, 倪中福, 杨爱冬, 孙其信, 杨作民. 小麦抗叶锈基因 *Lr9*、*Lr24* 的分子标记辅助选择研究. 农业生物技术学报, 2000, 8(1): 14-16.
- LIU Z Y, WANG X L, NI Z F, YANG A D, SUN Q X, YANG Z M. Molecular marker assisted selection (MAS) of leaf rust (*Puccinia recondita* f. sp. *tritici*) resistance genes *Lr9* and *Lr24*, in wheat. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2000, 8(1): 14-16. (in Chinese)
- [13] 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. (in Chinese)
- [14] 韩焯, 何中虎, 夏先春, 李星, 李在峰, 刘大群. CIMMYT 小麦材料的苗期和成株抗叶锈病鉴定. 作物学报, 2011, 37(7): 1125-1133.
- HAN Y, HE Z H, XIA X C, LI X, LI Z F, LIU D Q. Seedling and slow rusting resistance to leaf rust in CIMMYT wheat lines. *Acta Agronomica Sinica*, 2011, 37(7): 1125-1133. (in Chinese)
- [15] 潘阳, 聂迎彬, 穆培源, 姚占军, 李星, 周悦, 李在峰, 刘大群. 新疆的小麦品种 (系) 苗期和成株期抗叶锈性鉴定. 植物遗传资源学报, 2011, 12(2): 203-210.
- PAN Y, NIE Y B, MU P Y, YAO Z J, LI X, ZHOU Y, LI Z F, LIU D Q. Seedling and slow rusting resistance to leaf rust of wheat cultivars in Xinjiang. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2011, 12(2): 203-210. (in Chinese)
- [16] 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.
- [17] ZHAO X L, ZHENG T C, XIA X C, HE Z H, LIU D Q, YANG W X, YIN G H, LI Z F. Molecular mapping of leaf rust resistance gene *LrZH84* in Chinese wheat line Zhou8425B. *Theoretical and Applied Genetics*, 2008, 117(7): 1069-1075.
- [18] 张利军, 李在峰, MORTEN LILLEMO, 夏先春, 刘大群, 杨文香, 罗佳家, 王海燕. CIMMYT 小麦品种 Saar 的叶锈成株抗性 QTL 分析. 中国农业科学, 2009, 42(2): 388-397.
- ZHANG L J, LI Z F, MORTEN L, XIA X C, LIU D Q, YANG W X, LUO J J, WANG H Y. QTL mapping for adult-plant resistance to leaf rust in CIMMYT wheat cultivar Saar. *Scientia Agriculture Sinica*, 2009, 42(2): 388-397. (in Chinese)
- [19] LONG D L, KOLMER J A. A North American system of nomenclature for *Puccinia triticina*. *Phytopathology*, 1989, 79: 525-529.
- [20] ROELFS A P, SINGH R P, SAARI E E. *Resistance to Leaf and Stem Rusts of Wheat. Breeding Strategies for Resistance to the Rusts of Wheat*. CIMMYT, Mexico D F, 1988: 10-22.
- [21] DUBIN H J, JOHNOSON R, STUBBS R W. Postulated genes for resistance to strip rust in selected CIMMYT and related wheats. *Plant Disease*, 1989, 73(6): 472-475.
- [22] SHARP P J, KREIS M, SHEWRY P R, GALE M D. Location of β -amylase sequence in wheat and its relatives. *Theoretical and Applied Genetics*, 1988, 75(2): 286-290.
- [23] QIU J W, SCHVARCH A C, YAHIAOUI N, DONG L L, FAN H J, ZHANG Z J, KELLER B, LING H Q. Physical mapping and identification of a candidate for the leaf rust resistance gene *Lr1* of wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 2007, 115(2): 159-168.
- [24] SCHACHERMAYR G, SIEDLER H, GALE M D, WINZELER H, WINZELER M, KELLER B. Identification and localization of molecular markers linked to the *Lr9* leaf rust resistance gene of wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 1994, 88(1): 110-115.
- [25] SCHACHERMAYR G, FEUILLET C, KELLER B. Molecular markers for the detection of the wheat leaf rust resistance gene *Lr10* in

- diverse genetic backgrounds. *Molecular Breeding*, 1997, 3(1): 65-74.
- [26] GUPTA S K, CHARPE A, PRABHU K V, HAQUE Q M R. Identification and validation of molecular markers linked to the leaf rust resistance gene *Lr19* in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 2006, 113(6): 1027-1036.
- [27] NEU C, STEIN N, KELLER B. Genetic mapping of the *Lr20-Pm1* resistance locus reveals suppressed recombination on chromosome arm 7AL in hexaploid wheat. *Genome*, 2002, 45(4): 737-744.
- [28] SCHACHERMAYR G M, MESSMER M M, FEUILLET C, WINZELER H, WINZELER M, KELLER B. Identification of molecular markers linked to the *Agropyron elongatum*-derived leaf rust resistance gene *Lr24* in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 1995, 90(7): 982-990.
- [29] CHAI J F, ZHOU R H, JIA J Z, LIU X. Development and application of a new codominant PCR marker for detecting 1BL-1RS wheat-rye chromosome translocations. *Plant Breeding*, 2006, 125(3): 302-304.
- [30] DE FROIDMONT D. A codominant marker for the 1BL/1RS wheat-rye translocation via multiplex PCR. *Journal of Cereal Science*, 1998, 27(3): 229-232.
- [31] LAGUDAH E S, MCFADDEN H, SINGH R P, HUERTA-ESPINO J, BARIANA H S, SPIELMEYER W. Molecular genetic characterization of the *Lr34/Yr18* slow rusting resistance gene region in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 2006, 114(1): 21-30.
- [32] SUENAGA K, SINGH R P, MANILAL H M. Tagging of leaf rust resistance genes, *Lr34* and *Lr46*, using microsatellite markers in wheat. *JIRCAS Research Highlights*. http://www.jircas.affrc.go.jp/english/publication/highlights/2001/2001_04.html.
- [33] 任正隆. 小麦遗传背景对黑麦抗叶锈基因 *Lr26* 的抗性表达的影响. *遗传学报*, 1993, 20(4): 312-316.
- REN Z L. Effect of wheat genetic background on resistance expression of rye leaf rust resistance gene *Lr26*. *Acta Genetica Sinica*, 1993, 20(4): 312-316. (in Chinese)
- [34] 刘新春, 赖运平, 刘仙俊, 李俊, 袁金娥, 王洪深, 冯子云, 杨武云. *Lr1* 基因在四个小麦骨干亲本衍生系中的分布及选择效应. *麦类作物学报*, 2014, 34(5): 597-602.
- LIU X C, LAI Y P, LIU X J, LI J, YUAN J E, WANG H S, FENG Z Y, YANG W Y. Distribution and selective effects of *Lr1* gene in the wheat varieties derived from four founder breeding parents in China. *Journal of Triticeae Crops*, 2014, 34(5): 597-602. (in Chinese)
- [35] 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.
- ZHUANG Q S. *Chinese Wheat Improvement and Pedigree Analysis*. Beijing: China Agriculture Press, 2003. (in Chinese)
- [36] 陈现朝, 李星, 李在峰, 张海, 陈欢, 高敏, 刘大群. 中国小麦贵州 98-18 中抗叶锈基因的分子定位. *植物病理学报*, 2010, 40(5): 489-494.
- CHEN X C, LI X, LI Z F, ZHANG H, CHEN H, GAO M, LIU D Q. Molecular mapping of leaf rust resistance gene *LrG98* in Chinese wheat line Guizhou 98-18. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2010, 40(5): 489-494. (in Chinese)
- [37] 李星, 李在峰, 李亚宁, 赵志泉, 刘大群, 王翠芬, 高丽娇, 孙道杰. 小麦品系西农 1163-4 抗叶锈病基因的遗传分析和分子作图. *中国农业科学*, 2010, 43(12): 2397-2402.
- LI X, LI Z F, LI Y N, ZHAO Z Q, LIU D Q, WANG C F, GAO L J, SUN D J. Genetic analysis and molecular mapping of leaf rust resistance gene in wheat line Xi'nong 1163-4. *Scientia Agriculture Sinica*, 2010, 43(12): 2397-2402. (in Chinese)
- [38] ZHANG H, XIA X C, HE Z H, LI X, WANG C F, LI Z F, LIU D Q. Molecular mapping of leaf rust resistance gene *LrBi16* in Chinese wheat cultivar Bimai 16. *Molecular Breeding*, 2011, 28(4): 527-534.
- [39] XING L F, WANG C F, XIA X C, HE Z H, CHEN W Q, LIU T G, LI Z F, LIU D Q. Molecular mapping of leaf rust resistance gene *LrFun* in Romanian wheat line Fundulea 900. *Molecular Breeding*, 2014, 33(4): 931-937.
- [40] WANG C F, YIN G H, XIA X C, HE Z H, ZHANG P P, YAO Z J, QIN J Y, LI Z F, LIU D Q. Molecular mapping of a new temperature-sensitive gene *LrZH22* for leaf rust resistance in Chinese wheat cultivar Zhoumai 22. *Molecular Breeding*, 2016, 36: 18.

(责任编辑 岳梅)