

青海高原 197 份小麦品种(系) 及种质资源抗条锈分子鉴定

袁飞敏^{1 2 3} 权有娟^{1 2 3} 刘德梅^{1 3} 陈志国^{1 3*}

(1. 中国科学院西北高原生物研究所, 青海 西宁 810008; 2. 中国科学院大学, 北京 100049; 3. 中国科学院高原生物适应与进化重点实验室, 青海 西宁 810008)

摘要:【目的】通过鉴定青海省近年来春小麦主栽品种、后备品种及高代育种材料对我国当前条锈流行小种的抗性水平、检测其可能携带的抗病基因, 为培育春小麦抗条锈病新品种、开展抗源品种的合理布局及种质利用提供参考。【方法】利用小麦条锈菌 CYR29、CYR32 和 CYR34 等流行生理小种苗期温室人工接种, 对 197 份春小麦品种(系)及资源进行抗性鉴定; 同时利用抗条锈病基因 *Yr5*、*Yr9* (*IBL/IRS*)、*Yr10*、*Yr15*、*Yr18* 和 *Yr26* 等两侧紧密连锁的标记进行分子检测, 并结合系谱推测供试材料可能携带的抗性基因。【结果】苗期对 CYR29、CYR32 和 CYR34 小种表现抗性的材料分别有 174 份(占 88.3%)、86 份(占 43.6%)和 122 份(占 61.9%)。对三者均表现抗性的材料有 74 份(占 37.5%); 分子鉴定可能含 *Yr5*、*Yr9*、*Yr10*、*Yr15*、*Yr18* 和 *Yr26* 抗性基因的材料分别有 21 份(占 10.6%)、33 份(占 16.7%)、3 份(占 1.5%)、28 份(占 14.2%)、6 份(占 3.0%)和 7 份(占 3.5%)。其中有 20 份材料可能同时携带 2 种以上条锈病抗性基因, 推测其余未检测出的抗性材料可能含有其它未知抗性基因。【结论】当前青海高原春小麦品种(系)及种质资源条锈病抗性整体水平较低, 抗源较为单一; 对检测中抗性表现良好的材料应加强与其他抗锈基因材料的聚合, 并将其应用到生产中。

关键词: 春小麦; 小麦条锈病; 抗性鉴定; *Yr* 基因; 分子检测

中图分类号: S435.12 文献标识码: A

Molecular Identification of Resistance to Strip Rust in 197 Wheat Cultivars (Lines) and Germplasm Resources from Qinghai Plateau

YUAN Fei-min^{1 2 3}, QUAN You-juan^{1 2 3}, LIU De-mei^{1 3}, CHEN Zhi-guo^{1 3*}

(1. Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Qinghai Xining 810008, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. Key Laboratory of Adaptation and Evolution of Plateau Biota, Northwest Institute of Plateau Biology, China Academy of Sciences, Qinghai Xining 810008, China)

Abstract 【Objective】The study aimed to identify the level of resistance of spring wheat main cultivars, candidate cultivars and advanced-generation breeding resources against the Chinese strip rust current epidemic races, find out the distributions of resistance genes and provide a reference for breeding new varieties of resistance to strip rust, their rational distribution and germplasm selection. 【Method】For strip rust resistance identification of 197 spring wheat cultivars and germplasm resources from Qinghai plateau, the prevalent Chinese predominant stripe rust races CYR29, CYR32 and CYR34 at seedling stage in greenhouse were artificially inoculated and screened these cultivars with the closely linked molecular marker of wheat strip rust resistance genes *Yr5*, *Yr9* (*IBL/IRS*), *Yr10*, *Yr15*, *Yr18* and *Yr26*. 【Result】174 (88.3%), 86 (43.6%), 122 (61.9%) had resistance to CYR29, CYR32 and CYR34, respectively, and 74 (37.5%) resource indicated resistance to all the three races; Molecular tests showed that *Yr5*, *Yr9*, *Yr10*, *Yr15*, *Yr18* and *Yr26* were detected in 21 (10.6%), 33 (16.7%), 3 (1.5%), 28 (14.2%), 6 (3.0%) and 7 (3.5%), respectively, of which 20 (10.1%) were detected with two or more genes, and there were some unknown resistance genes in other resources. 【Conclusion】The resistance level of spring wheat breeding germplasm resources was lower overall, and the resistance of resources was relatively single; The well-behaved genes in the detection should be strengthened with other *Yr* genes, and these resistance genes should be applied to production practice.

Key words: Spring wheat; Wheat stripe rust; Resistance identification; *Yr* genes; Molecular detection

收稿日期: 2018-01-20

基金项目: 中国科学院战略性先导科技专项(A类)子课题任务“高产优质小麦新品种分子设计与培育——西北高产抗病分子设计育种”(XDA08030106-2); 青海省作物分子育种重点实验室作者简介: 袁飞敏(1991-), 女, 陕西兴平人, 硕士研究生, 研究方向小麦遗传育种, E-mail: yuanfeimin830@163.com; * 为通讯作者: 陈志国(1963-), 男, 吉林公主岭人, 研究员, 博士生导师, 研究方向小麦遗传育种, E-mail: zgchen@nwipb.cas.cn.

【研究意义】小麦条锈病是由条形柄锈菌小

麦专化型 (*Puccinia striiformis* West. f. sp. *tritici* Erikss. et Henn., *Pst*) 引起的小麦叶部气传病害, 是世界小麦生产上最重要的病害之一。中国小麦产区作为小麦条锈病最大的流行区域, 也是小麦条锈病发生面积最大、受危害最严重的国家之一^[1]。小麦条锈病的防治涉及多方面的措施, 包括农业栽培管理、化学防治及抗病品种的利用等。通常培育和推广抗病品种被认为是最经济、最有效和对环境友好的一种举措^[2]。目前生产上利用的品种多为高抗或免疫的单基因抗性品种, 由于抗源单一、小种选择压力增加、条锈菌高度变异性等原因, 造成抗病品种在生产上种植 3~5 年后便“丧失”了抗性, 引起条锈病流行, 甚至大暴发, 导致大幅减产, 从而失去利用价值^[3]。通过收集和鉴定小麦种质资源的抗条锈性, 挖掘新的全生育期抗性 (all stage resistance, ASR) 基因和成株期抗性 (adult plant resistance, APR) 基因^[4], 采取多基因聚合、整合微效基因等方法, 使小麦品种具有更广谱或持久的抗条锈特性, 也是目前行之有效的减轻小麦条锈病危害的重要途径^[5]。因此, 明确当前小麦主栽品种及种质资源的抗条锈性及其所携带的抗条锈病基因, 可为小麦抗病育种和品种合理利用提供参考。【前人研究进展】目前, 正式命名的小麦抗条锈病基因有 78 个, 暂命名基因和 QTLs 位点 100 多个^[6-7]。研究表明, ASR 基因 *Yr5* 和 *Yr15* 对当前条锈菌的流行小种均表现一定的抗性^[8]; 1BL/1RS 易位系携带抗条锈 (*Yr9*)、抗白粉 (*Pm8*)、抗秆锈 (*Sr31*)、抗叶锈 (*Lr26*) 及抗飞虱 (*Gb2*) 等多个抗病、虫基因及含增加小穗数等众多优良性状相关的 QTLs; *Yr18* 是 APR 基因, 被广泛用于抗病育种, 该基因与抗秆锈基因 *Sr34*、抗叶锈基因 *Lr34*、抗白粉基因 *Pm38* 等多个抗病相关基因连锁, 表现相对持久的抗条锈性^[9-10]。随着分子标记技术的不断发展, 该技术相继用于抗病基因的挖掘与鉴定。迄今为止, 与已知抗条锈基因 *Yr5*、*Yr9*、*Yr10*、*Yr15*、*Yr18* 和 *Yr26* (= *Yr24*) 等紧密连锁的 RAPD、SCAR、SSR 和 SNP 等标记相继被开发报道, 这为通过分子标记进行快速检测小麦品种所携带的抗条锈病基因提供了便利。【本研究切入点】为明确青海高原春小麦主栽品种 (系) 及种质资源抗条锈病基因分布现状, 选用目前小麦条锈菌流行小种 CYR29、CYR32 和 CYR34 对 197 份材料进行了苗期室内接种鉴定, 以明确其抗条锈性。同时, 利用已知抗条锈病基因 *Yr5*、*Yr9*、*Yr10*、*Yr15*、*Yr18* 和 *Yr26* 侧翼特异性分子标记对供试材料进行分子检测, 结合遗传系谱进行抗病性综合评价。【拟解决的关键问题】通过抗病性鉴定, 解析当前青海省春

小麦主栽品种、后备品种及高代育种材料所携带的抗条锈病基因, 筛选出含有上述抗病基因的品种资源, 为青海春小麦抗病育种、抗病品种的合理布局 and 抗性基因资源的有效利用提供依据。本研究结果对“丧失”抗条锈小麦品种的改良, 培育持久抗病新品种和对小麦条锈病持续控制具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

参试小麦品种 (系) 及资源材料共 197 份, 含春性材料 142 份, 冬性、半冬性和弱冬性材料 (已驯化为春性) 55 份。这些材料包括青海历年审定品种 57 份 (含目前主栽品种, 1960-2015 年), 近年来参加青海省区试 (水、旱地组) 品种 12 份, 参加国家西北春麦水地组区试品种 26 份 (甘肃、宁夏、内蒙古等多家育种单位提供, 2004-2017 年), 北方冬春麦区的新疆、山西、河北、辽宁、河南、江苏、四川、北京等地材料 100 份, 本单位育种高代材料 12 份, 品种基本覆盖我国北方春麦区。

抗条锈病近等基因系分别是: Avocet S* 6/Yr5、Avocet S* 6/Yr9、Avocet S* 6/Yr10、Avocet S* 6/Yr15、Avocet S* 6/Yr18 和 Avocet S* 6/Yr26, 由青海农林科学院植物保护科学研究所提供, 用于分子检测阳性对照; 高感条锈病对照品种铭贤 169 用于繁殖、感病对照和分子检测阴性对照。

1.2 试验方法

1.2.1 苗期接种鉴定 苗期接种鉴定在西北农林科技大学植物保护学院小麦抗病种质资源创制与利用研究中心进行, 条锈菌小种由该中心提供。

苗期鉴定菌种用中国条锈生理小种条中 29 (CYR29)、条中 32 (CYR32) 和条中 34 (CYR34)。采用“抖粉法”^[11] 在一叶一心至二叶期的待鉴定小麦叶片上接种。接种之后, 将所有鉴定小麦幼苗放置于相对湿度 100%、温度 8~10℃ 的黑暗保湿桶中保湿 24 h。随后移至低温温室潜育发病, 期间温度控制在 15~18℃, 光照 16 h/d, 光强 9000 lx, 相对湿度 70%~80%, 以铭贤 169 为感病对照。接种后 15~18 d, 待铭贤 169 表现较高的感病性, 发病充分, 按照 0~9 级标准^[12] 读取并记录各材料的反应型 (infection type, IT), 侵染型 0~6 级为抗病, 7~9 级为感病。所有材料设 2 个独立的重复。

1.2.2 分子检测 分子检测在西宁西北高原生物研究所内中国科学院高原生物适应与进化重点实验室进行。将参试材料播种于营养钵中, 待出苗后, 每品种取幼苗叶片约 100 mg, 用改良的 2 × CTAB 法^[13] 提取液提取叶片基因组 DNA。用紫外/可见

表 1 *Yr* 基因的侧翼标记名称及序列Table 1 Name and sequence of flanking markers for *Yr* genes used in this study

<i>Yr</i> 基因 <i>Yr</i> gene	引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequence (5'→3')	遗传距离(cM) Genetic distances	参考文献 Reference
<i>Yr5</i>	Xbarc167	AAAGGCCCATCAACATGCAAGTACC CGCAGTATTCTTAGTCCCTCAT	2.6	[14]
	Xbarc349	CGAATAGCCGCTGCACAAG TATGCATGCCTTTCITTAACAAT	0.4	[15]
<i>Yr9</i>	AF1/AF4	GGAGACATCATGAAACATTTG CTGTGTTGGCAGAAAG	0	[16]
	Xgwm582	AAGCACTACGAAAATATGAC TCTTAAGGGGTGTTATCATA	3.7	[17]
<i>Yr10</i>	SC200	CTGCGAGTGACATCATA TCGAACTAGTAGATGCTGGC	0.5	[18]
	Xpsp3000	GCAGACCTGTGTCATTGGTC GATATAGTGGCAGCAGGATACC	1.2	[19]
<i>Yr15</i>	XBarc8	GCGGGAATCATGCATAGGAAAACAGAA GCGGGGGCGAAACATACACATAAAAAACA	9	[15]
	Xgwm413	TGCTTGTCTAGATTGCTTGGG GATCGTCTCGTCTTGGCA	2.5	[15]
<i>Yr18</i>	Cslv34	CTGGTTAAGACTGCTGATGG TGCTTGCTATTGCTGAATAGT	0.4	[21]
	Xgwm295	GTGAAGCAGACCCACAACAC GACGGCTCGCAGCTAGAG	2.7	[22-23]
<i>Yr26</i>	Xbarc181	CGCTGGAGGGGTAAGTCATCAC CGCAAATCAAGAACACGGGAGAAAGAA	6.7	[24]
	Xgwm11	GGATAGTCAGACAATTCTTGTG GTGAATTGTGCTTGTATGCTTCC	1.9	[25]

分光光度计测定 DNA 浓度及纯度,并稀释成 50 ng/ μ l,置于 4 °C 冰箱保存备用。

利用 *Yr5*、*Yr9*、*Yr10*、*Yr15*、*Yr18* 和 *Yr 26* 侧翼分子标记进行检测^[14-24]。所有引物均由上海生物工程有限公司合成(表 1)。

PCR 反应体系(总体积 10 μ l): 5 μ l 2 \times PCR Master Mix(Sangon Biotech, 中国上海); DNA 模板 0.2 μ l; 10 mM/L 的上、下游引物各 0.4 μ l; ddH₂O 4 μ l。PCR 扩增程序: 扩增反应在 Applied Biosystems PCR 仪(Applied Biosystems 美国) 上进行 94 °C 预变性 3 min; 94 °C 变性 30 s, 退火温度参考 Grain Genes 2.0 (<https://wheat.pw.usda.gov/GG3/>) 72 °C 延伸 1 min, 35 个循环; 72 °C 延伸 10 min; 扩增产物 4 °C 冰箱保存。

标记 AF1/AF4 的 PCR 产物采用 1% (w/v) 琼脂糖凝胶电泳; 标记 SC200、Xpsp3000、Xbarc8、Cslv34、Xgwm295 的 PCR 产物采用 3% (w/v) 琼脂糖凝胶电泳; 其余标记的 PCR 产物采用 8% (w/v) 非

变性丙烯酰胺凝胶电泳,后经溴化乙锭染色检测,利用紫外成像系统(Bio-Rad, 美国) 观察并拍照,其中 *Xgwm413* 采用毛细管电泳进行检测(委托上海生物工程有限公司完成)。

2 结果与分析

2.1 苗期抗病性鉴定

苗期接种鉴定结果表明: 对 CYR29 菌系表现抗性的材料有 174 份(占 88.3%) ,对 CYR32 菌系表现抗性的材料有 86 份(占 43.6%) ,对 CYR34 菌系表现抗性的材料有 122 份(占 61.9%) ; 对 CYR29 和 CYR32 同时表现抗性的材料有 81 份(占 41.1%) ,对 CYR29 和 CYR34 同时表现抗性的材料有 119 份(占 60.4%) ,对 CYR32 和 CYR34 同时表现抗性的材料有 75 份(占 38.0%) ; 对这 3 个生理小种均表现抗病的材料有 74 份(占 37.5%) ,其余 73 份参试材料对 CYR29、CYR32 和 CYR34 表现感病



图1 部分供试材料条锈病抗病基因的分子检测

Fig. 1 Detection of molecular markers linked to the strip rust resistance genes in some of tested cultivars

(表2)。

抗病鉴定结果表明,参试小麦在苗期对当前条锈菌流行小种具有较好的抗病性,但整体抗性水平较低。条锈菌小种 CYR34 致病的有 75 份, CYR29 致病的有 23 份, CYR32 致病的有 111 份。对 CYR32 表现感病的小麦品种(系)的数量最多。

2.2 分子检测结果与分析

2.2.1 *Yr5* 的分子检测 利用 Somers D J^[14] 和 Murphy^[15] 开发的 *Yr5* 的侧翼标记 SSR 标记 XBarc167 和 XBarc349 对供试材料进行检测,含有 *Yr5* 的材料分别可以扩增出 260 和 105 bp 的特征条带。结果表明:青麦 1 号、周 91177 等 21 份材料可检测出与 *Yr5* 近等基因系 Avocet S* 6/*Yr5* 大小相似

的特征条带,占供试材料的 10.6%(表 2 图 1)。

2.2.2 *Yr9* 的分子检测 利用 Francis^[16] 开发的 SCAR 标记 AF1/AF4 和 Weng^[17] 开发的标记 Xgwm582 分别进行检测。结果表明:高原 182、高原 356、民和 588 等 33 份材料检测出与 *Yr9* 近等基因系 Avocet S* 6/*Yr9* 大小相似的特异性条带,占供试材料的 16.7%(表 2 图 1)。

2.2.3 *Yr10* 的分子检测 利用 SCAR 标记 SC200 和 Xpsp3000(Shao 等^[18], Wang 等^[19]) 进行 *Yr10* 检测,结果表明,仅大麦子、定西 24 和德抗 961 等几个品种被检测出与 *Yr10* 的近等基因系 Avocet S* 6/*Yr10* 相似大小的特征带,占供试材料的 1.5%(表 2 图 1)。

表 2 青海高原 197 个份春小麦品种种质资源苗期、成株期对流行小种 CYR29、CYR32、CYR34 的抗性表现及 Yr 基因的分子检测

Table 2 Identification of the resistance to CYR29, CYR32 and CYR34, and the detection of Yr genes by molecular markers in 197 Spring Wheat Breeding Resources from Qinghai plateau

编号 Code	种质资源 Breeding resources	来源 Origin	冬、春性 Winter/ Spring	苗期感染类型 Seedling infection types				分子鉴定 Molecular detection										Postulated Yr gene								
				CYR29	CYR32	CYR34	Yr5	Yr9	Yr10	Yr15	Yr18	Yr26	Yr 基因													
													Xbarcl167	Xbarcl349	AF1/AF4	Xgwm582	SC200		Xpsp3000	Xbarcl8	Xgwm314	Cslv34	Xgwm295	Xbarcl81	Xgwm11	
1	青春6号 Qingchun No.6	青海 Qinghai	春	4	7	8	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	/	
2	青春37 Qingchun 37	青海 Qinghai	春	0	9	0	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	/
3	青春40 Qingchun 40	青海 Qinghai	春	0	4	0	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Yr26、?
4	青春144 Qingchun 144	青海 Qinghai	春	9	9	9	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	/
5	青春254 Qingchun 254	青海 Qinghai	春	1	1	0	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Yr15
6	青春415 Qingchun 415	青海 Qinghai	春	1	8	0	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	/
7	青春570 Qingchun 570	青海 Qinghai	春	0	8	9	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Yr26
8	青春587 Qingchun 587	青海 Qinghai	春	0	9	9	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	/
9	青春891 Qingchun 891	青海 Qinghai	春	1	0	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	?
10	青春952 Qingchun 952	青海 Qinghai	春	4	9	3	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	/
11	张春811 Zhangchun 811	青海 Qinghai	春	3	7	4	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	/
12	青加1号 Qingjia No.1	青海 Qinghai	春	4	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	?
13	青加2号 Qingjia No.2	青海 Qinghai	春	0	1	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	?
14	青农469 Qingnong 469	青海 Qinghai	春	0	8	9	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	/
15	青农524 Qingnong 524	青海 Qinghai	春	0	7	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	/
16	青紫1号 Qingzi No.1	青海 Qinghai	春	2	9	0	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	/
17	高原V028 Plateau V028	青海 Qinghai	春	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Yr15
18	高原115 Plateau 115	青海 Qinghai	春	1	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	?
19	高原158 Plateau 158	青海 Qinghai	春	0	9	3	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Yr15
20	高原175 Plateau 175	青海 Qinghai	春	0	0	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	/
21	高原182 Plateau 182	青海 Qinghai	春	0	0	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Yr9、Yr18
22	高原205 Plateau 205	青海 Qinghai	春	0	0	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	?
23	高原314 Plateau 314	青海 Qinghai	春	3	3	9	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Yr5
24	高原356 Plateau 356	青海 Qinghai	春	0	0	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Yr9
25	高原363 Plateau 363	青海 Qinghai	春	0	0	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Yr18、Yr26、?
26	高原437 Plateau 437	青海 Qinghai	春	0	1	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	?
27	高原446 Plateau 446	青海 Qinghai	春	2	0	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	/

2.2.4 *Yr15* 的分子检测 用 *Yr15* 的 SSR 标记^[15] 检测结果表明,宁春 26、高原 V028、青春 524、高原 158 等 28 份小麦材料可检测出与 *Yr15* 的近等基因系 Avocet S* 6/*Yr15* 大小相似的特征条带,占供试材料的 14.2% (表 2 图 1)。

2.2.5 *Yr18* 的分子检测 *Yr18* 是与 *Sr34*、*Lr34*、*Pm38* 紧密连锁的慢锈性基因^[20]。用 STS、SSR 标记 Cslv34^[21] 和 Xgwm295^[22-23] 检测,结果表明:高原 182、高原 363、永 3388、定西 87-17、永良 15 和关东 107 等 6 份材料检有与 Avocet S* 6/*Yr18* 大小相似的特征条带,占供试材料的 3.0% (表 2 图 1)。

2.2.6 *Yr26* 的分子检测 利用 SSR 标记 Xbarc181^[24]、Xgwm11^[25] 检测高原 363、高原 448、青春 570、青春 40、E32-1、科农 9204 和轮选 701 等含有与 *Yr26* 的近等基因系 Avocet S* 6/*Yr26* 大小相似的特征条带,占供试材料的 3.5% (表 2 图 1)。

3 讨论

青海高原地处我国甘陕川青冬春麦交替种植区,条锈病常年流行,也是条锈病生理小种极易发生变化的区域。春小麦作为青海省的主要粮食作物,占播种面积的 70% 左右^[26-27]。开展抗条锈病育种和品种合理布局对控制条锈病流行和生理小种变化具有重要意义。

苗期鉴定表明,新致病类型 CYR34 对供试材料毒性已经超过 CYR29,但尚未超过当前优势小种 CYR32。分子检测表明,197 份供试材料中可能含有抗性基因 *Yr5* (21 份)、*Yr9* (33 份)、*Yr10* (3 份)、*Yr15* (28 份)、*Yr18* (6 份) 和 *Yr26* (7 份) 等基因的材料 76 份,另外 20 份材料含有 2~3 个抗性基因。

综合苗期鉴定和分子鉴定结果,苗期对 CYR29、CYR29 和 CYR34 均表现抗性的 74 份材料中,检测到含有 *Yr5*、*Yr9*、*Yr10*、*Yr15*、*Yr18* 和 *Yr26* 等基因的材料共 38 份(占含有抗性基因材料的 50%);15 份材料可能含有 2~3 个抗性基因(占含有抗性基因材料的 19.7%,占供试材料多个基因的 75%);其余未检测到这 6 个抗性基因的 36 份材料可能含有其它抗性基因。

(1) 青海省历年审定品种、现有种植品种抗病水平。通过对青海省历年审定品种、现有大面积种植品种及后备品种等 71 份小麦材料的分子检测(表 2, 1-71 号):含抗病基因的品种(系)共有 20 份,约占 28.1%,其中青春 254(含 *Yr15*)、青春 40(含 *Yr26*)、高原 V₀28(含 *Yr15*)、高原 182(含 *Yr9* 和 *Yr18*)、高原 356(含 *Yr9*)、高原 363(含 *Yr18* 和 *Yr26*)、青麦 1 号(含 *Yr5*)、民和 853(含 *Yr15*)、都选

001(含 *Yr5*) 和山旱 901(含 *Yr9*) 苗期对 CYR29、CYR29 和 CYR34 均表现抗性。经溯源,抗源主要来源于墨西哥品种、远缘亲本和外引材料,并且抗源单一。就目前育种中正在普遍应用的 *Yr5*、*Yr10* 和 *Yr15* 抗病基因来看,含这些基因的品种(系)仅 10 份材料,抗源也多为外引品种和来自远缘成分。例如,青春 254 采用多父本聚合杂交,父本来源中含有墨西哥小麦,而高原 V₀28 品种则是直接引自 CCM-MYT 的高代材料,高原 158、高原 182 分别是普通小麦与多年生 1 号(主要外源基因供体亲本为八倍体小偃麦品种中 3) 和小偃系列品种后代(含偃麦草血缘)杂交的后代。青海现有品种和资源中聚合 2 个以上抗病基因的材料仅有 4 个。无论是历年审定品种、现有品种还是后备品种,都存在抗性基因单一,抗源单一的情况。因此,对于青海高原小麦育种来说,不但要利用好现有的抗病资源,更要注意引进和聚合新的抗病基因。

(2) 西北水地参试品种抗病水平。西北春麦区春小麦水地区域试验是展示这一地区育种水平的国家级试验,试验地域包括内蒙古、甘肃、宁夏、青海、新疆等五省区,位于我国西北春麦带,宁夏培育的宁春 4 号成为这一地区的主栽品种之一。近年来参试品种主要来自宁夏农科院、内蒙古农科院、甘肃农科院及一些地区农科院等单位。通过对 2004-2017 年参加区试、生试的 27 份小麦品种(表 2 中第 72~98 号材料)的分子检测结果表明,在 10 个品种中含有 *Yr5*、*Yr15*、*Yr9*、*Yr18*、*Yr26* 等 5 个抗病基因,约占 37.04%,但据田间多年观测,表现抗病的品种只有巴 09-520 和巴丰 6 号,占 7.4%,其余参试品种大多田间表现高感,表明这些地区仍需加强抗锈品种的培育。

(3) 多抗基因 *Yr18* 的发掘利用。*Yr18* 基因具有良好慢锈性,一般在苗期呈感病而在成株期表现抗性,并且抗性更为持久,它与秆锈(*Sr34*)、叶锈(*Lr34*)、白粉(*Pm38*)等^[20]多个抗性基因连锁,属“一因多效”的优良基因。对 197 份小麦材料的检测结果,含该基因的材料有 6 份(占 3.0%),比例极低。*Yr18* 与小麦白粉病成株期抗性基因 *Pm38* 相连锁,在参试材料中检测到含有 *Yr18* 的 6 份材料田间对白粉病均呈现良好的抗性。有研究表明,*Yr18* 在农家品种中的分布频率远高于育成品种和引进品种^[28]。因此,在加大对该基因的利用时应注意对农家种的有效利用。

致谢:本实验苗期抗病性鉴定是在西北农林科技大学植物保护学院小麦抗病种质资源创制与利用研究中心完成,期间得到了詹刚明副教授的大力支持

和帮助,谨致谢忱!

参考文献:

- [1] 康振生, 王晓杰, 赵杰等. 小麦条锈菌致病性及其变异研究进展[J]. 中国农业科学, 2015(17): 3439-3453.
- [2] Line R F, Chen X. Successes in breeding for and managing durable resistance to wheat rusts[J]. Plant Disease, 1995, 79(12): 1254-1255.
- [3] 汪可宁, 洪锡午, 吴立人, 等. 1951-1983年我国小麦品种抗条锈性变异分析[J]. 植物保护学报, 1986(2): 117-124.
- [4] 李振岐, 商鸿生. 小麦锈病及其防治[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1989: 214.
- [5] 赵文生, 徐世昌, 张敬原, 等. 小麦品种温度互作中抗条锈微效基因的表达[J]. 植物保护, 2000(4): 4-6.
- [6] McIntosh R A. Catalogue of Gene Symbols for Wheat[J]. Cereal Research Communications, 1975, 3(1): 69-71.
- [7] Dong Z, Hegarty J M, Zhang J, et al. Validation and characterization of a QTL for adult plant resistance to stripe rust on wheat chromosome arm 6BS (Yr78) [J]. Theoretical & Applied Genetics, 2017, 130(10): 2127-2137.
- [8] 曾庆东, 沈川, 袁凤平, 等. 小麦抗条锈病已知基因对中国当前流行小种的有效性分析[J]. 植物病理学报, 2015, 45(6): 641-650.
- [9] 伍玲, 夏先春, 朱华忠, 等. CIMMYT 273 个小麦品种抗病基因 *Lr34/Yr18/Pm38* 的分子标记检测[J]. 中国农业科学, 2010, 43(22): 4553-4561.
- [10] Singh R P, Huertaespino J, Rajaram S, et al. Achieving near-immunity to leaf and stripe rusts in wheat by combining slow rusting resistance genes[J]. Acta Phytopathologica Et Entomologica Hungarica, 2000, 35(1): 133-139.
- [11] 韩德俊, 王琪琳, 张立, 等. “西北-华北-长江中下游”条锈病流行区系当前小麦品种(系)抗条锈病性评价[J]. 中国农业科学, 2010(14): 2889-2896.
- [12] Line R F, Qayoum A. Virulence, aggressiveness, evolution and distribution of races of *Puccinia striiformis* (the cause of stripe rust of wheat) in North America, 1968-87 [R]. Technical Bulletin (USA), 1992.
- [13] Hillambroz K L, Brownquedira G L, Fellers J P. Modified rapid DNA extraction protocol for high throughput microsatellite analysis in wheat[J]. Crop Science, 2002, 42(6): 2088-2091.
- [14] Somers D J, Isaac P, Edwards K. A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. Theoretical & Applied Genetics, 2004, 109(6): 1105-1114.
- [15] Murphy L R, Santra D, Kidwell K, et al. Linkage maps of wheat stripe rust resistance genes *Yr5* and *Yr15* for use in marker-assisted selection[J]. Crop Science, 2009, 49(5): 1786-1790.
- [16] Francis H A, Leitch A R, Koebner R M. 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[J]. Theoretical & Applied Genetics, 1995, 90(5): 636.
- [17] Weng D X, Xu S C, Lin R M, et al. Microsatellite marker linked with stripe rust resistant gene *Yr9* in wheat[J]. Acta Genetica Sinica, 2005, 32(9): 937-941.
- [18] 邵映田, 牛永春, 朱立煌, 等. 小麦抗条锈病基因 *Yr10* 的 AFLP 标记[J]. 科学通报, 2001, 46(8): 669-672.
- [19] Wang L F, Ma J X, Zhou R H, et al. Molecular tagging of the yellow rust resistance gene *Yr10* in common wheat, P. I. 178383 (*Triticum aestivum* L.) [J]. Euphytica, 2002, 124(1): 71-73.
- [20] 杨文雄, 杨芳萍, 梁丹, 等. 中国小麦育成品种和农家种中慢锈基因 *Lr34/Yr18* 的分子检测[J]. 作物学报, 2008(7): 1109-1113.
- [21] Lagudah E S, McFadden H, Singh R P, et al. Molecular genetic characterization of the *Lr34/Yr18* slow rusting resistance gene region in wheat[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2006, 114: 21-30.
- [22] Suenaga K, Singh R P, Huerta-Espino J, et al. Microsatellite markers for genes *Lr34/Yr18* and other quantitative trait loci for leaf rust and stripe rust resistance in bread wheat [J]. Phytopathology, 2003, 93: 881-890.
- [23] Spielmeier W, McIntosh R A, Kolmer J, et al. Powdery mildew resistance and *Lr34/Yr18* genes for durable resistance to leaf and stripe rust cosegregate at a locus on the short arm of chromosome 7D of wheat[J]. Theoretical & Applied Genetics, 2005, 111(4): 731-735.
- [24] Wang C, Zhang Y, Han D, et al. SSR and STS markers for wheat stripe rust resistance gene *Yr26* [J]. Euphytica, 2008, 159(3): 359-366.
- [25] Ma J, Zhou R, Dong Y, et al. Molecular mapping and detection of the yellow rust resistance gene *Yr26* in wheat transferred from *Triticum turgidum* L. using microsatellite markers [J]. Euphytica, 2001, 120(2): 219-226.
- [26] 金善宝. 中国小麦品种及其系谱[M]. 北京: 农业出版社, 1983: 240-295.
- [27] 王焕强. 青海省农作物品种志 2006-2015[M]. 西宁: 青海民族出版社, 2016: 1-7.
- [28] 白小军, 王宪国, 陈东升. 宁夏小麦品种慢锈基因 *Lr34/Yr18* 的分子检测[J]. 麦类作物学报, 2014, 34(11): 1480-1484.

(责任编辑 陈虹)