

山东省 12 个主栽小麦品种(系)抗叶锈性分析

张 林¹, 张梦雅¹, 高 颖¹, 许换平¹, 刘 成², 刘建军², 闫红飞¹, 刘大群¹

(¹ 河北农业大学植物保护学院/国家北方山区农业工程技术研究中心/河北省农作物病虫害生物防治工程技术研究中心, 保定 071000;

² 山东省农业科学院作物研究所/农业部黄淮北部小麦生物学与遗传育种重点实验室/小麦玉米国家工程实验室, 济南 250100)

摘要: 本研究旨在明确山东省 12 个小麦主栽品种(系)抗叶锈性及抗叶锈基因, 为小麦品种推广与合理布局、叶锈病防治及抗病育种提供依据。利用 2015 年采自山东省的 5 个小麦叶锈菌流行小种的混合小种对这些材料进行苗期抗性鉴定, 然后选用 15 个小麦叶锈菌生理小种对这些品种(系)进行苗期基因推导, 并利用与 24 个小麦抗叶锈基因紧密连锁(或共分离)的 30 个分子标记对其进行抗叶锈基因分子检测。结果显示, 山东省 12 个主栽小麦品种(系)苗期对该省 2015 年的 5 个小麦叶锈菌混合流行小种均表现高度感病。通过基因推导与分子检测发现, 济南 17 含有 *Lr16*, 矮抗 58 和山农 20 含有 *Lr26*, 其余济麦系列、烟农系列、良星系列等 9 个品种(系)均未检测到所供试标记片段。此外, 本研究还对山东省 3 个非主栽品种进行了检测, 结果发现, 中麦 175 含有抗叶锈基因 *Lr1* 和 *Lr37*, 含有成株抗性基因; 皖麦 38 只检测到 *Lr26*, 济麦 20 未检测到所供试标记片段。综合以上结果, 山东省主栽小麦品种(系)所含抗叶锈基因丰富度较低, 尤其不含有对我国小麦叶锈菌流行小种有效的抗锈基因, 应该引起高度重视, 今后育种工作应注重引入其他抗叶锈基因, 提高抗叶锈性。

关键词: 小麦; 叶锈病; 抗叶锈基因; 基因推导; 分子检测

Analysis of Leaf Rust Resistance in 12 Main Wheat Cultivars(Lines) in Shandong

ZHANG Lin¹, ZHANG Meng-ya¹, GAO Ying¹, XU Huan-ping¹, LIU Cheng²,
LIU Jian-jun², YAN Hong-fei¹, LIU Da-qun¹

(¹ College of Plant Protection, Agricultural University of Hebei/National Engineering Research Center for Agriculture in Northern Mountainous Areas/Biological Control Center of Plant Diseases and Plant Pests of Hebei Province, Baoding 071000;
² Crop Research Institute, Shandong Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Wheat Biology and Genetic Improvement in the North Yellow & Huai River Valley, Ministry of Agriculture/National Engineering Laboratory for Wheat & Maize, Jinan 250100)

Abstract: The objective of this study was to determine the leaf rust resistance and leaf rust resistance genes of twelve main wheat cultivars(lines) in Shandong Province to provide theoretical basis for the promotion and reasonable layout, leaf rust control and resistance breeding. The resistance evaluation of twelve main wheat cultivars(lines) was carried out by using five mixed races of *Puccinia triticina* at the seedling stage. Meanwhile, fifteen *Puccinia triticina* races with different virulence patterns were used for gene postulation in seedling stage. In addition, thirty molecular markers closely linked or co-segregated with 24 wheat leaf rust resistance genes were used to detect these wheat cultivars(lines). The results showed that these cultivars(lines) were highly susceptible to the mixed races. Gene postulation and molecular detection indicated that Ji'nan 17 carried *Lr16*, Aikang 58 and Shannong 20 carried *Lr26*. However, leaf rust resistance genes were not detected in the remaining nine cultivars(lines). In addition, this study

收稿日期: 2016-11-30 修回日期: 2016-12-15 网络出版日期: 2017-06-13

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20170613.0919.034.html>

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(2013CB127700); 河北省自然科学基金项目(C2015204105); 山东省农业科学院农业科技创新工程(CXGC2016B01); 泰山学者种业计划

第一作者研究方向为分子植物病理学。E-mail: zhanglin42@163.com

通信作者: 闫红飞, 研究方向为植物病害生物防治与分子植物病理学。E-mail: hongfeiyang2006@163.com

刘大群, 研究方向为植物病害生物防治与分子植物病理学。E-mail: ldq@hebau.edu.cn

also carried out the detection of three non main cultivars in Shandong. And the results showed that Zhongmai 175 carried *Lr1* and the adult-plant resistance gene *Lr37*, Wanmai 38 carried *Lr26*. And leaf rust resistance genes were not detected in Jimai 20. Comprehensive above results, the abundance of leaf rust resistance genes in these main wheat cultivars (lines) was low, and no effective resistance genes were detected in them to against the main races of *P. triticina* in China, which need to be paid more attention. New leaf rust resistance genes should be introduced into new wheat cultivars to improve the leaf rust resistance.

Key words: *Triticum aestivum*; wheat leaf rust; resistance genes; gene postulation; molecular detection

由小麦叶锈菌(*Puccinia triticina*)引起的小麦叶锈病是影响小麦生产的重要病害之一,在世界各麦区普遍发生^[1],根据小麦品种布局、气候条件和发病时期的不同,可造成不同程度的产量损失,严重时甚至可达 50% 以上^[2]。在我国,该病害曾在 20 世纪 60-80 年代发生过多次大流行,造成了很大的经济损失^[3]。自 2012 年开始小麦叶锈病在我国的发生呈逐年加重的趋势^[4],尤其是 2015 年,该病害在黄淮麦区、河北南部等地发生大流行^[5-6]。造成该病害大流行的原因除小麦叶锈菌小种及毒性变化外,抗性品种长期化单一种植造成的品种抗性丧失也是其主要原因^[7]。因此培育、推广优良的抗病品种,对预防和控制该病害起着至关重要的作用,一直被认为是防控小麦叶锈病最为经济、有效和安全的方法^[8]。目前,在我国抗性较好、有潜在利用价值的抗叶锈基因主要有 *Lr9*、*Lr19*、*Lr24* 和 *Lr38* 等^[9],这些基因对小麦叶锈菌普遍表现为高抗或免疫,在小麦育种工作中适当引入这些基因将对有效控制小麦叶锈病起到重要作用。

分析鉴定小麦推广品种的抗叶锈基因,可以指导杂交亲本的选配。目前,基因推导和分子辅助鉴定是鉴定小麦抗叶锈基因最常用的方法。基因推导由 Browder 于 1972 年提出后经不断补充与完善^[10],因其方便、快捷的特点,已广泛应用于小麦品种抗叶锈基因的研究^[11-15]。分子辅助鉴定是利用与抗叶锈基因紧密连锁的分子标记对相应基因进行有效追踪的方法,目前已有 30 余个可用于检测小麦抗叶锈基因的分子标记,为抗叶锈基因快速、准确检测提供了方法,为分子标记辅助育种工作提供了便捷的途径。而将这两种方法相结合进行小麦品种的抗叶锈基因鉴定会使结果更具准确性^[16]。丁艳红等^[17]、Z. F. Li 等^[18]、师丽红等^[19]、胡亚亚等^[8,20]、任晓利等^[21]、赵丽娜等^[22]、彭昕等^[23]、隋建枢等^[24]均对部分生产品种及育种材料的抗叶锈基因进行了推导检测分析,明确了这些品种材料的抗叶锈性及所含抗叶锈基因,为今后品种的合理布局和抗病育种提供

了指导。

山东省是我国小麦的主产区之一,位于黄淮冬麦区的东部,具有十分适合小麦生长的土壤条件与气候生态条件^[25]。小麦作为该省的主要粮食作物,其常年种植面积在 360 万 hm^2 左右,总产量约占粮食总产量的 48%^[26],且其平均单产一直居于中国首位^[27]。2012 年以来小麦叶锈病在山东地区的发生与为害有逐年加重的趋势,该地区小麦叶锈菌出现频率超过 2.0% 的优势生理小种有 THTT、THTS、THSS、THKS、PHTT、PHKS、THKT 等,但主要流行小种为 THTS 和 THSS。造成该地区小麦叶锈病流行的原因不仅与叶锈菌小种毒性变化有关,与当地种植小麦品种的抗性亦有很大的关系。本研究中所用 12 个小麦材料(烟农 1212、鲁原 502、矮抗 58、山农 20、泰农 18、济麦 21、济南 17、烟农 999、山农 21、良星 99、良星 66 和济麦 22)为山东省近年来种植面积较大的主栽品种(系),此外,本研究还检测了中麦 175、济麦 20 和皖麦 38 共 3 个材料,为在山东种植面积较小但品质性状较好的品种,这些品种(系)近几年尤其是 2015 年对叶锈病都表现出较高的感病表型,而其所含的抗叶锈基因尚不明确。因此全面了解分析山东省主栽小麦品种(系)抗叶锈性及其所含有的抗叶锈基因,对指导该地区小麦品种的合理布局和抗病育种,进而保证山东省小麦的稳产增产有重要意义。

由于小麦叶锈病菌在冬麦秋播以后可以从自生麦苗转移到秋苗上为害,并以菌丝体潜伏在叶片组织内越冬,为次年继续为害提供菌原,也是造成第 2 年严重发生的一个重要因素。而小麦抗叶锈类型有两种,(1)是苗期抗病类型,该类型为小麦全生育期抗病类型;(2)是成株抗病类型,该类型在苗期表现感病,在成株期才表现出相应的抗病性。苗期抗病性的鉴定对于抗性基因的推导是必不可少的,在此基础上通过基因推导与分子检测进一步鉴定品种中所含抗叶锈基因(包括是否存在成株抗叶锈基因),这对于预测成株期抗病性 also 具有重要意义。

因此,本研究首先利用 2015 年采自山东地区的 5 个小麦叶锈菌流行小种的混合小种对 15 份小麦材料进行苗期抗叶锈性鉴定,然后利用苗期基因推导结合分子辅助鉴定来明确这些品种(系)所含的抗叶锈基因,为山东省小麦品种合理布局、叶锈病防治及抗病育种提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

12 个山东省主栽小麦品种(系):烟农 1212、鲁原 502、矮抗 58、山农 20、泰农 18、济麦 21、济南 17、烟农 999、山农 21、良星 99、良星 66 和济麦 22; 3 个在山东地区种植的品质性状优良的品种:中麦 175、济麦 20 和皖麦 38,均由山东省农业科学院作物研究所小麦研究室提供。40 个以 Thatcher 为遗传背景的小麦抗叶锈近等基因系(或单基因系)、感病材料 Thatcher、郑州 5389、供试的 5 个小麦叶锈菌流行生理小种(THTT、THTS、THSS、PHTT 和 THKS)及 15 个小麦叶锈菌生理小种单孢菌系(表 1)均由河北农业大学小麦叶锈病研究中心提供。

1.2 苗期抗叶锈性鉴定及基因推导

将 15 个供试品种(系)、40 个近等基因系(或单基因系)、感病材料 Thatcher 和郑州 5389 按次序种植于穴盘中,每个材料播种 5~7 粒,共播种 16 套。待其长至 1 心 1 叶时,其中 1 套采用扫苗法进行 5 个混合流行小种的接种,其余 15 套分别采用 15 个叶锈菌生理小种进行分小种接种,接种后黑暗保湿 16 h,再移至光照 12~14 h、20±5℃ 温室内培养。接种 12~14 d 后,待感病对照充分发病时按 A. P. Roelfs^[28] 的 9 级鉴定标准进行抗叶锈性鉴定,并根据 H. L. Dubin 等^[29] 提出的方法进行基因推导。

1.3 小麦抗叶锈基因的分子检测

采用 CTAB 法^[30] 提取 15 个小麦品种(系)、Thatcher 及 40 个近等基因系的基因组 DNA,用紫外分光光度仪检测样品的浓度和纯度。用 1×TE 稀释至 50 ng/μL 备用。利用与 24 个抗叶锈基因紧密连锁或共分离的 30 个分子标记,包括 *Lr1*-WR003^[31]、*Lr2c*-gwm261^[32]、*Lr9*-SCS5-550^[33]、*Lr9*-J13^[34]、*Lr10*-Fl.2245/6/r2^[35]、*Lr12*-Xgwm251^[36]、*Lr14a*-gwm146^[37]、*Lr14a*-gwm344^[37]、*Lr16*-wmc764^[38]、*Lr19*-SCS265^[39]、*Lr19*-SCS253^[39]、*Lr20*-STS638^[40]、*Lr21*-D14^[41]、*Lr24*-J9/1/2^[42]、*Lr24*-S1302-609^[43]、*Lr25*-Xgwm538^[44]、*Lr26*-ω-

secalin^[45]、*Lr26*-IB^[46]、*Lr28*-SCS421₅₇₀^[47]、*Lr29*-OPY10/1/2^[48]、*Lr32*-barc135^[49]、*Lr34*-csLv34^[50]、*Lr34*-cssfr1^[51]、*Lr35*-Sr39R3/F2^[52]、*Lr37*-VENTRIUP/N2^[53]、*Lr38*-Y₃₈SCAR₉₈₂^[54]、*Lr41*-Xbarc124^[55]、*Lr42*-Wmc432^[56]、*Lr47*-PS10R/L^[57]、*Lr50*-gwm382^[58],对供试小麦品种(系)抗叶锈基因进行分子检测。引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

PCR 反应体系为 10 μL,其中模板 DNA 1 μL (50 ng/μL),Taq 酶 0.1 μL,上、下游引物(10 μmol/L)各 0.2 μL, dNTPs (10 mmol/L) 0.2 μL, 10×PCR Buffer 1 μL,用无菌超纯水补充反应体系至 10 μL;参照相应文献设定扩增反应程序,PCR 产物用浓度为 1%~2% (w/v) 的琼脂糖凝胶电泳或 10% 的非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测。

2 结果与分析

2.1 小麦品种(系)的苗期抗叶锈性鉴定及基因推导

15 个品种(系)对 2015 年山东地区的 5 个小麦叶锈菌流行小种混合小种表现高感,与当年田间发病表现一致,苗期分小种和混合小种鉴定结果见表 1 和表 2。造成这种情况的原因可能是这些品种(系)所含抗叶锈基因已丧失抗性或仅对个别叶锈菌小种具有抗性。

经分小种鉴定发现,这 15 个品种(系)对 15 个生理小种中的大部分小种均表现出高反应型,说明这些品种(系)对小麦叶锈菌普遍具有较低的抗性。其中烟农 1212、鲁原 502、矮抗 58、山农 20、泰农 18、济南 17、山农 21、良星 99、济麦 22 和中麦 175 这 10 个品种(系)对供试的 15 个小种均表现出高反应型,说明这些品种(系)不含对这些小种具有抗性的抗叶锈基因,而近等基因系 TcLr3、TcLr16、TcLr26、TcLrB、TcLr10、TcLr14a、TcLr21、TcLr3bg、TcLr14b、TcLr32、TcLr33、TcLr37 和 KS96WGRC36(*Lr50*)对供试小种也表现出高反应型,与上述 10 个品种(系)的反应型相同,因此不排除在这 10 个品种(系)中可能含有这些抗叶锈基因。

另外,济麦 21、烟农 999、良星 66、济麦 20 和皖麦 38 仅对供试 15 个小种中的个别小种表现出低反应型,但其与供试的所有近等基因系反应型均不相同,因此推测这 5 个品种可能含有推导或检测以外其他未知的抗叶锈基因。

2.2 小麦抗叶锈基因的分子检测

与 24 个抗叶锈基因紧密连锁或共分离的 30 个

表 1(续)

品种(系) Cultivar(line)	致病类型 Pathotype														
	THSS	PHJT	FHLS	THKT	PHTS	MHTS	PHST	THTT	FHJT	FHNS	PHTT	PHRT	PHQT	FHST	THJT
山农 20	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
泰农 18	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
济麦 21	3	3	3	3	3	3	3	3	;1	;	3	3	3	3	3
济南 17	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
烟农 999	3	3	3	3	3	3	;1	3	3	3	1 +	3	3	3	3
山农 21	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
良星 99	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
良星 66	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	;1	3	3	3	3
济麦 22	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
中麦 175	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
济麦 20	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	;1	3	2	3
皖麦 38	3	3	3	3	3	3	3	3	;1	3	3	3	3	3	3

0:无症状; ; :不产生夏孢子堆,产生枯死斑点或失绿反应; 1 :夏孢子堆很小,且周围有枯死反应; 3 :夏孢子堆中等大小,具轻微失绿
0:No chlorotic flecks or uredinia; ; :No uredinia,but flecks or chlorosis, 1 :Small uredinia with necrosis, 3 :Moderate size uredinia with slight chlorosis

表 2 15 个小麦品种(系) 抗叶锈性鉴定和分子检测结果

Table 2 The results of leaf rust resistance identification and molecular detection of the 15 wheat cultivars(lines)

品种(系) Cultivar(line)	系谱 Pedigree	混合小种侵染型 Infection type of mixed races	抗叶锈性 Leaf rust resistance	苗期基因推导 Gene postulation at seedling stage	分子标记检测结果 Results tested with molecular markers	综合结果 Final result
烟农 1212	—	3	感病	N	N	+
鲁原 502	9940168/济麦 19	3	感病	N	N	+
矮抗 58	豫麦 49/郑州 8960//周麦 11	3	感病	N	Lr26	Lr26
山农 20	PH82-2-2/954072	3	感病	N	Lr26	Lr26
泰农 18	莱州 137/烟 369-7	3	感病	N	N	+
济麦 21	865186/川农大 84-1109//冀 84-5418	3	感病	+	N	+
济南 17	临汾 5064/鲁麦 13	3	感病	N	Lr16	Lr16
烟农 999	烟航选 2 号/临 9511F ₁ //烟 BLU14-15	3;1	感病	+	N	+
山农 21	莱州 137/烟辐 188	3	感病	N	N	+
良星 99	济 91102/鲁麦 14//PH85-16	3	感病	N	N	+
良星 66	济 91102/济 935031	3	感病	+	N	+
济麦 22	935024/935106	3	感病	N	N	+
中麦 175	BPM27/京 411	3	感病	N	Lr1、Lr37	Lr1、Lr37
济麦 20	鲁麦 14/鲁麦 884187	3	感病	+	N	+
皖麦 38	烟中 144/85-15-9	3	感病	+	Lr26	Lr26

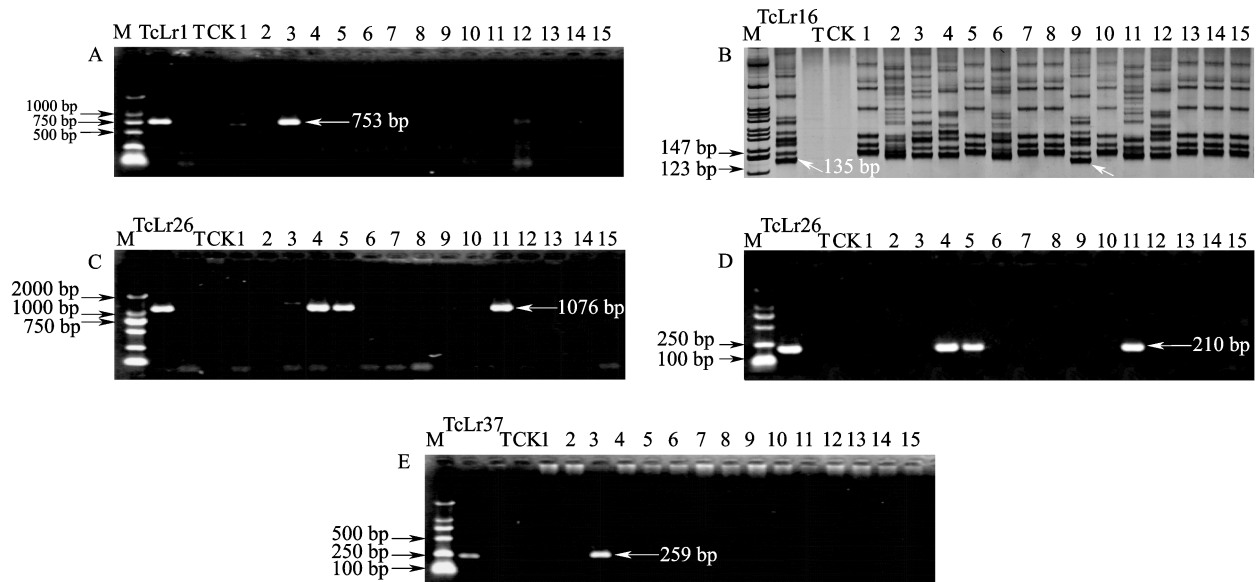
N:未能推出或检测到抗性基因; + :可能含有未知基因
N :Failed to postulate or detect resistance genes, + :Presence of unknown resistance gene

分子标记在供试 15 个小麦材料中仅扩增出 4 个抗叶锈基因 *Lr1*、*Lr16*、*Lr26* 和 *Lr37* 的特异条带(图 1),其中 *Lr26* 出现频率最高,为 20%。中麦 175 中扩增出了 *Lr1* 标记大小为 753 bp(图 1A)和 *Lr37* 标记大小为 259 bp 的特异片段(图 1E),表明该品种可能同时含有两个抗叶锈基因 *Lr1* 和 *Lr37*;在济南 17 中检

测到了 *Lr16* 标记大小为 135 bp 的特异条带(图 1B),表明该品种中可能含有抗叶锈基因 *Lr16*;利用 *Lr26* 的分子标记 ω -secalin-F/R 在矮抗 58、山农 20 和皖麦 38 中扩增出了 1076 bp 的特异条带(图 1C),而 *Lr26* 的另一分子标记 IB-F/R 亦在这 3 个品种中扩增出 210 bp 的特异条带(图 1D),两个分子标记结果一

致,表明这 3 个品种可能含有该基因;除上述品种外,其余品种(系)(烟农 1212、鲁原 502、泰农 18、济麦 21、烟农 999、山农 21、良星 99、良星 66、济麦 22

和济麦 20)均未检测到供试标记,因此山东小麦品种的抗叶锈基因种类还有待丰富。15 个小麦品种(系)的系谱、抗叶锈性和分子标记检测结果见表 2。



M:DM2000 marker 或 pBR322 DNA marker; T:Thatcher; CK:H₂O; 1~15:烟农 1212、鲁原 502、中麦 175、矮抗 58、山农 20、泰农 18、济麦 20、济麦 21、济南 17、烟农 999、皖麦 38、山农 21、良星 99、良星 66 和济麦 22
M:DM2000 marker or pBR322 DNA marker; T:Thatcher; CK:H₂O; 1-15:Yannong 1212, Luyuan 502, Zhongmai 175, Aikang 58, Shannong 20, Tainong 18, Jimai 20, Jimai 21, Jinan 17, Yannong 999, Wanmai 38, Shannong 21, Liangxing 99, Liangxing 66 and Jimai 22

图 1 *Lr1* (A)、*Lr16* (B)、*Lr26* (C、D) 和 *Lr37* (E) 的分子标记在 15 个小麦品种(系)中的扩增结果

Fig. 1 Banding patterns amplified by specific markers for *Lr1* (A), *Lr16* (B), *Lr26* (C, D) and *Lr37* (E) genes in 15 wheat cultivars (lines)

3 讨论

基因推导作为鉴定小麦品种抗叶锈基因的一种方法,因其具有简单、方便的特点而被广泛应用,但该方法容易受环境条件、人为因素和遗传背景的干扰^[20],鉴定用的小麦叶锈菌小种毒性变化也会影响鉴定结果,而且在待测小麦品种对叶锈菌各小种的反应型普遍高感或与近等基因系反应型不一致的情况下往往不能推导出其具体含有哪些抗叶锈基因,因此这些原因都会使最终鉴定结果的准确性受到影响。而分子辅助鉴定则具有快速、准确和不受环境条件限制的特点^[17]。目前,国际上发现的小麦抗叶锈基因已达 100 多个,正式命名至 *Lr75*^[59],其中部分抗叶锈基因紧密连锁或共分离的 STS、SCAR、SSR 和 RAPD 分子标记已建立^[31-58],但相对于抗叶锈基因的数量来说这些可用于抗叶锈基因检测的分子标记还是很有限的,因此无论是为了互相补充或是提高准确性,将基因推导和分子辅助鉴定两种方法结合起来分析小麦品种的抗叶锈基因都是十分必要的。另外,在鉴定小麦品种抗性方面,由于不同地区

小麦叶锈菌流行小种的种类会有所不同,其毒性也可能随着年份和地区的不同发生一些变化,而且早在 1985 年赵兰波等^[60]就提出应该根据品种推广的范围,利用本省出现的叶锈菌流行小种的混合小种接种鉴定本省的小麦品种。因此在进行小麦品种抗叶锈性鉴定时应该有针对性的选择供试品种种植地区最近一年所流行的小麦叶锈菌生理小种,若选择往年的或供试品种种植地区以外其他地区流行的生理小种,可能会对品种抗性鉴定结果的准确性产生一定的影响。

本研究通过基因推导与分子检测,在山东省 12 个主栽小麦品种(系)和 3 个小麦材料中仅发现 4 个已知抗叶锈基因,这说明山东省小麦品种(系)所含抗叶锈基因丰富度较低,其中以 *Lr26* 所占比率最高,这也与前人研究结果一致^[17,20-24,61-63]。造成该现象的原因可能是小麦-黑麦 1BL/1RS 易位系的频繁使用或者是由于目前所获得的用于检测抗叶锈基因的分子标记还很有限,尚不能确定是否存在检测基因以外的其他抗叶锈基因。而在烟农 1212、鲁原 502、泰农 18、济麦 21、烟农 999、山农 21、良星 99、良

星 66、济麦 22 和济麦 20 这 10 个品种(系)中未检测到供试抗叶锈基因,推测其可能不含有本研究中检测到的 24 个抗叶锈基因。而经基因推导发现中麦 175 对 *Lr1* 低毒力的小种表现出高反应型,推测其可能不含 *Lr1* 基因,但经分子检测其含有抗叶锈基因 *Lr1*,原因可能是该品种 *Lr1* 基因的作用受到了遗传背景、基因间互作或抑制因子的影响^[19];此外,所用分子标记仅为与抗叶锈基因紧密连锁的标记,标记与抗叶锈基因间存在物理距离,即标记并非抗叶锈基因本身,也是其一个原因。本研究中,除所检测与推导的基因外,供试品种(系)是否还含有其他未知的抗叶锈基因尚不能确定,需进一步分析与验证。

Lr1 最初是在六倍体小麦品种 Malakoff 中发现的^[64],在很多小麦品种均存在该基因^[65]。*Lr16* 是一个苗期抗叶锈基因^[66],1992 年 S. E. German 等^[67]发现当该基因与 *Lr34* 复合存在时要比两个基因单独存在时表现出更高的抗性;而 2011 年袁军海等^[68]发现该基因单独应用已基本失效,但与 *Lr13* 与 *Lr34* 等合适的基因组合起来能够表现出残余的抗病作用。*Lr26* 来源于小黑麦,位于小麦 1RS 染色体上^[19]; *Lr37* 来源于偏凸山羊草,该基因被定位在 2AS 染色体上,是一个成株抗性基因^[23]。据报道,近年来山东省小麦叶锈菌对 *Lr1*、*Lr16*、*Lr26* 和 *Lr37* 这 4 个基因的毒性频率在 95% 以上甚至到 100%^[69-70],说明这些抗叶锈基因对山东地区流行的绝大部分小麦叶锈菌生理小种已经基本丧失抗性,在小麦叶锈菌大流行的年份可能会对山东地区小麦的生产造成严重危害。供试 15 个小麦材料中能检测到抗叶锈基因的品种大多只含有单一基因,且以 *Lr26* 出现频率最高,为 20%。周阳等^[71]、潘阳等^[72]、任晓利等^[21]、张亚琦^[30] 等通过鉴定发现 *Lr26* 的出现频率在 20.2% ~ 38%。而本研究中小麦品种(系)中 *Lr26* 基因出现频率为 20%,该结果与以上各研究的结果较为一致。

通过对这 15 个小麦品种(系)的系谱分析发现,皖麦 38 的亲本烟中 144 是以 74(11)组合[洛夫林 13 × 71(17)6-1]的高代品系 74(11)混 1-1-3 为母本,以莱阳 584 作父本有性杂交而来^[73],故皖麦 38 具有洛夫林 13 的遗传背景,洛夫林 13 是我国在 1971 年从罗马尼亚引入的含有 *Lr26* 抗叶锈基因的 1BL/1RS 易位系品种^[74],而据报道烟中 144(鲁麦 13^[75])也携带 *Lr26*^[30],因此推测在皖麦 38 中很可能含有 *Lr26*;矮抗 58 具有豫麦 2 号和周 8425B 的遗

传背景^[76],周 8425B 携带有 *Lr26* 抗叶锈基因,其亲本周麦 11 中也携带有该基因^[18],因此推测在矮抗 58 中很有可能含有 *Lr26*;山农 20 的亲本为 PH82-2-2 和 954072,这两个亲本均含有 *Lr26* 基因^[77],因此推测在山农 20 中有可能含有 *Lr26*。在本研究中上述品种分子标记结果与系谱分析结果一致,表明皖麦 38 中的 *Lr26* 基因可能来源于洛夫林 13,矮抗 58 的 *Lr26* 基因可能来源于周麦 11 或周 8425B,山农 20 中的 *Lr26* 基因可能来源于其亲本 PH82-2-2 或 954072。

济南 17 的亲本鲁麦 13 具有欧柔的血统^[78],而欧柔含有 *Lr16*^[17],因此推测济南 17 中可能携带 *Lr16*,与本研究分子检测结果一致。因此,济南 17 中的 *Lr16* 基因可能来源于欧柔。

中麦 175 是由 BPM27/京 411 杂交而成,京 411 由长丰 1 号/丰抗 2 号选育而成^[79],其中丰抗 2 号的亲本洛夫林 10 具有阿勃的血统^[78],而阿勃含有 *Lr1*^[30],推测中麦 175 也含有 *Lr1*,本研究分子检测也验证了该推测,故中麦 175 中的 *Lr1* 可能来源于阿勃。分子检测显示中麦 175 中还含有 *Lr37*,该基因来源于偏凸山羊草,兰考 906 在我国是其传播途径之一^[23],但经过系谱分析未推导出中麦 175 与兰考 906 的关系,因此中麦 175 中 *Lr37* 的来源尚需进一步验证。

本研究通过对山东省 12 个小麦主栽品种(系)和 3 个小麦材料的抗叶锈性分析发现,这些品种(系)对当地小麦叶锈菌流行小种表现出高度感病,且这些品种(系)中仅含有已丧失抗性的抗叶锈基因 *Lr1*、*Lr16*、*Lr26* 和 *Lr37*,说明这些品种(系)对小麦叶锈菌抗性较差,其所含抗叶锈基因丰富度较低。建议育种工作者在今后的育种工作中尽量不要将这些品种(系)作为抗叶锈资源应用,可在新品种中引入其他抗性更好的基因,比如可将在山羊草、偃麦草和黑麦等一些小麦近缘植物中筛选获得的新抗源转移至小麦中^[80];或在已有抗性基因的基础上合理引入与其有协同作用的其他抗叶锈基因来提高品种的抗叶锈性,比如 *Lr16* 与 *Lr13* 和 *Lr34* 的协同作用^[67-68]。

参考文献

- [1] Bolton M D, Kolmer J A, Garvin D F. Wheat leaf rust caused by *Puccinia triticens* [J]. Mol Plant Pathol, 2008, 9(5): 563-575
- [2] Huerta-Espino J, Singh R P, Germán S, et al. Global status of wheat leaf rust caused by *Puccinia triticens* [J]. Euphytica, 2011, 179(1): 143-160
- [3] 董金皋. 农业植物病理学[M], 2 版. 北京: 中国农业出版社,

- 2007;57-61
- [4] 张林亚,孟庆芳,康健,等. 隐匿柄锈菌(小麦叶锈病菌)UP-PCR 遗传多样性分析[J]. 菌物学报,2015,34(2):215-226
 - [5] 张林,王静,张梦雅,等. 河南省 16 个主栽小麦品种抗叶锈基因分析[J]. 植物遗传资源学报,2017,18(3):546-554
 - [6] 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[J]. 中国植保导刊,2016,36(4):29-33
 - [7] 王佳真,师令智,朱琳,等. 小麦品种潍麦 8 号成株抗叶锈 QTL 定位[J]. 植物遗传资源学报,2015,16(4):868-871
 - [8] 胡亚亚,张娜,李林懋,等. 14 个小麦品种(系)抗叶锈性分析[J]. 作物学报,2011,37(12):2158-2166
 - [9] 师令智,朱琳,任志宽,等. 小麦品系 19HRWSN-76 的抗叶锈性研究[J]. 植物遗传资源学报,2016,17(4):696-700
 - [10] Dubin H J, Johnson R, Stubbs R W. Postulated genes for resistance to stripe rust in selected CIMMYT and related wheats[J]. Plant Dis, 1989, 73(6):472-475
 - [11] Singh R P, Gupta A K. Genes for leaf rust resistance in Indian and Pakistani wheats tested with Mexican pathotypes of *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* [J]. Euphytica, 1991, 57(1):27-36
 - [12] Kolmer J A. Postulation of leaf rust resistance genes in selected softred winter wheats[J]. Crop Sci, 2003, 43(4):1266-1274
 - [13] Oelke L M, Kolmer J A. Characterization of leaf rust resistance in hard red spring wheat cultivars [J]. Plant Dis, 2004, 88(10):1127-1133
 - [14] Mebrate S A, Dehne H W, Pillen K, et al. Postulation of seedling leaf rust resistance genes in selected Ethiopian and German bread wheat cultivars [J]. Crop Sci, 2008, 48(2):507-516
 - [15] 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[J]. 中国农业科学,2007,40(9):1925-1935
 - [16] 王佳真,李在峰,李星,等. 小麦品系 5R618 抗叶锈病基因的初步定位[J]. 植物遗传资源学报,2014,15(6):1348-1351
 - [17] 丁艳丽,刘欢,师丽红,等. 28 个小麦微核心种质抗叶锈性分析[J]. 作物学报,2010,36(7):1126-1134
 - [18] Li Z F, Xia X C, He Z H, et al. Seedling and slow rusting resistance to leaf rust in Chinese wheat cultivars [J]. Plant Dis, 2010, 94(1):45-53
 - [19] 师丽红,张娜,胡亚亚,等. 10 个小麦新品种(系)抗小麦叶锈性评价[J]. 中国农业科学,2011,44(14):2900-2908
 - [20] 胡亚亚,孙一,张河山,等. 8 个小麦育种亲本抗叶锈基因分析[J]. 植物遗传资源学报,2014,15(4):802-809
 - [21] 任晓利,刘太国,刘博,等. 116 个小麦品种(系)抗叶锈基因 *Lr9-Lr26*、*Lr19-Lr20* 的复合 PCR 检测[J]. 植物保护,2012,38(2):29-36
 - [22] 赵丽娜,任晓娣,胡亚亚,等. 23 份中国小麦微核心种质抗叶锈性评价[J]. 中国农业科学,2013,46(3):441-450
 - [23] 彭昕,任明见,张珊珊,等. 小麦抗叶锈基因 *Lr34* 及 *Lr37* 的分子检测[J]. 贵州农业科学,2013,41(12):13-16
 - [24] 隋建枢,王化陆,辛智海,等. 122 份小麦品种(系)抗叶锈病基因 *Lr26*、*Lr34*、*Lr38* 分子标记检测[J]. 种子,2016,35(5):41-45
 - [25] 侯晓磊. 山东小麦生产预警系统研究[D]. 北京:中国农业科学院,2012
 - [26] 王东,鞠正春. 山东小麦生产发展潜力分析[J]. 山东农业科学,2013,45(12):99-103
 - [27] 杨洁,李明川,杨萍,等. 山东省小麦生产现状的实证分析[J]. 农学报,2014,4(2):7-11
 - [28] Roelfs A P. Race specificity and methods of study [J]. Cereal Rust, 1984, 4(2):131-164
 - [29] Dubin H J, Johnson R. Postulated genes for resistance to strip rust in selected CIMMYT and related wheats [J]. Plant Dis, 1989, 73(6):472-475
 - [30] 张亚琦. 460 个小麦品种抗叶锈性鉴定及 *Libellula* 成株抗叶锈 QTL 作图[D]. 保定:河北农业大学,2015
 - [31] Qiu J W, Schürch A C, Yahiaoui N, et al. Physical mapping and identification of a candidate for the leaf rust resistance gene *Lr1* of wheat [J]. Theor Appl Genet, 2007, 115(2):159-168
 - [32] 张娜,闫红飞,张英春,等. 小麦抗叶锈病基因 *Lr2c* 的 SSR 标记[J]. 农业生物技术学报,2009,17(1):148-152
 - [33] Gupta S K, Charpe A, Koul S, et al. Development and validation of molecular markers linked to an *Aegilops umbellulata*-derived leaf rust-resistance gene, *Lr9*, for marker-assisted selection in bread wheat [J]. Genome, 2005, 48(5):823-830
 - [34] Schachermayr G, Siedler H, Gale M D, et al. Identification and localization of molecular markers linked to the *Lr9* leaf rust resistance gene of wheat [J]. Theor Appl Genet, 1994, 88(1):110-115
 - [35] Schachermayr G, Feuillet C, Keller B. Molecular markers for the detection of the wheat leaf rust resistance gene *Lr10* in diverse genetic backgrounds [J]. Mol Breeding, 1997, 3(1):65-74
 - [36] Singh S, Bowden R L. Molecular mapping of adult-plant race-specific leaf rust resistance gene *Lr12* in bread wheat [J]. Mol Breeding, 2010, 28(2):137-142
 - [37] Terracciano I, Maccafrri M, Bassi F, et al. Development of COS-SNP and HRM markers for high-throughput and reliable haplotype-based detection of *Lr14a* in durum wheat (*Triticum durum* Desf) [J]. Theor Appl Genet, 2013, 126(4):1077-1101
 - [38] McCartney C A, Somers D J, McCallum B D, et al. Microsatellite tagging of the leaf rust resistance gene *Lr16* on wheat chromosome 2BSc [J]. Mol Breeding, 2005, 15(4):329-337
 - [39] Gupta S K, Charpe A, Prabhu K V, et al. Identification and validation of molecular markers linked to the leaf rust resistance gene *Lr19* in wheat [J]. Theor Appl Genet, 2006, 113(6):1027-1036
 - [40] Autrique E, Tanksley S D, Sorrells M E, et al. Molecular markers for four leaf rust resistance genes introgressed into wheat from wild relatives [J]. Genome, 1995, 38(1):75-83
 - [41] Huang L, Gill B S. An RGA-like marker detects all known *Lr21* leaf rust resistance gene family members in *Aegilops tauschii* and wheat [J]. Theor Appl Genet, 2001, 103(6):1007-1013
 - [42] Schachermayr G M, Messmer M M, Feuillet C, et al. Identification of molecular markers linked to the *Agropyron elongatum*-derived leaf rust resistance gene *Lr24* in wheat [J]. Theor Appl Genet, 1995, 90(7-8):982-990
 - [43] Gupta S K, Charpe A, Koul S, et al. Development and validation of SCAR markers co-segregating with an *Agropyron elongatum* derived leaf rust resistance gene *Lr24* in wheat [J]. Euphytica, 2006, 150(1-2):233-240
 - [44] Singh A, Pallavi J K, Gupta P, et al. Identification of microsatellite markers linked to leaf rust resistance gene *Lr25* in wheat [J]. J Appl Genet, 2012, 53(1):19-25
 - [45] Chai J F, Zhou R H, Jia J Z, et al. Development and application of a new co-dominant PCR marker for detecting 1BL·1RS wheat-rye chromosome translocations [J]. Plant Breeding, 2006, 125(3):302-304
 - [46] Froidmont D D. A co-dominant marker for the 1BL/1RS wheat-rye translocation via multiplex PCR [J]. J Cereal Sci, 1998, 27(3):229-232
 - [47] Cherukuri D P, Gupta S K, Charpe A, et al. Molecular mapping of *Aegilops speltoides* derived leaf rust resistance gene *Lr28* in wheat [J]. Euphytica, 2005, 143(1-2):19-26
 - [48] Tar M, Purnhauser L, Csösz L, et al. Identification of molecular markers for an efficient leaf rust resistance gene (*Lr29*) in wheat [J]. Acta Biol Szeged, 2002, 46(3-4):133-134
 - [49] Thomas J, Nilmalgoda S, Hiebert C, et al. Genetic markers and leaf rust resistance of the wheat gene *Lr32* [J]. Crop Sci, 2010, 50(6):2310-2317
 - [50] 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]. Theor Appl Genet, 2007, 114(1):21-30
 - [51] Lagudah E S, Krattinger S G, Herrera-Foessel S, et al. Gene-specific markers for the wheat gene *Lr34/Yr18/Pm38* which confers

- resistance to multiple fungal pathogens [J]. Theor Appl Genet, 2009, 119(5): 889-898
- [52] Gold J, Harder D, Townleysmith F, et al. Development of a molecular marker for rust resistance genes *Sr39* and *Lr35* in wheat breeding lines [J]. Electron J Biotechnol, 1999, 2(1): 1-2
- [53] Helguera M, Khan I A, Kolmer J, et al. PCR assays for the *Lr37-Yr17-Sr38* cluster of rust resistance genes and their use to develop isogenic hard red spring wheat lines [J]. Crop Sci, 2003, 43(5): 1839-1847
- [54] 闫红飞, 杨文香, 褚栋, 等. 小麦抗叶锈病基因 *Lr38* 的一个新标记 [J]. 中国农业科学, 2008, 41(11): 3604-3609
- [55] Sun X C, Bai G H, Carver B F. Molecular markers for wheat leaf rust resistance gene *Lr41* [J]. Mol Breeding, 2009, 23(2): 311-321
- [56] Sun X C, Bai G H, Carver B F, et al. Molecular mapping of wheat leaf rust resistance gene *Lr42* [J]. Crop Sci, 2010, 50(1): 59-66
- [57] Helguera M, Khen I N, Dubcovsky J. Development of PCR markers for the wheat leaf rust resistance gene *Lr47* [J]. Theor Appl Genet, 2000, 100(1): 1137-1143
- [58] Brown-Guedira G L, Singh S, Fritz A K. Performance and mapping of leaf rust resistance transferred to wheat from *Triticum timopheevii* subsp. *armeniicum* [J]. Phytopathology, 2003, 93(7): 784-789
- [59] Singla J, Lüthi L, Wicker T, et al. Characterization of *Lr75*: a partial, broad-spectrum leaf rust resistance gene in wheat [J]. Theor Appl Genet, 2017, 130(1): 1-12
- [60] 赵兰波, 王焕如. 小麦叶锈菌同小种致病异质性研究 [J]. 河北农业大学学报, 1986, 9(1): 57-65
- [61] Stepień L, Golka L, Cheklowski J. Leaf rust resistance genes of wheat: identification in cultivars and resistance sources [J]. J Appl Genet, 2003, 44(2): 139-149
- [62] Singh R, Datta D, Priyamvada, et al. Marker-assisted selection for leaf rust resistance genes *Lr19* and *Lr24* in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. J Appl Genet, 2004, 45(4): 399-403
- [63] 师丽红. 60 个中国小麦品种抗叶锈性分析 [D]. 保定: 河北农业大学, 2010
- [64] Harrington J B, Reitz L P, Worzella W W, et al. Summary of genetic studies in hexaploid and tetraploid wheats [J]. J Am Soc Agron, 1946, 38: 1083-1099
- [65] McIntosh R A, Wellings C R, Park R F. Wheat rusts: an atlas of resistance genes [J]. Australas Plant Path, 1996, 25(1): 70
- [66] McCartney CA, Somers D J, Mccallum B D, et al. Microsatellite tagging of the leaf rust resistance gene *Lr16* on wheat chromosome 2BSc [J]. Mol Breeding, 2005, 15(4): 329-337
- [67] German S E, Kolmer J A. Effect of gene *Lr34* in the enhancement of resistance to leaf rust of wheat [J]. Theor Appl Genet, 1992, 84(1-2): 97-105
- [68] 袁军海, 陈万权. 中国小麦主要抗叶锈病基因的有效性评价 [J]. 麦类作物学报, 2011, 31(5): 994-999
- [69] 安亚娟. 2013 年我国小麦叶锈菌生理小种鉴定及毒性分析 [D]. 保定: 河北农业大学, 2015
- [70] 肖宇. 2012 年我国小麦叶锈菌生理小种鉴定及毒性分析 [D]. 保定: 河北农业大学, 2014
- [71] 周阳, 何中虎, 张改生, 等. 1BL/1RS 易位系在我国小麦育种中的应用 [J]. 作物学报, 2004, 30(6): 531-535
- [72] 潘阳, 聂迎彬, 穆培源, 等. 新疆的小麦品种(系)苗期和成株期抗叶锈性鉴定 [J]. 植物遗传资源学报, 2011, 12(2): 203-210
- [73] 刘照辉. 鲁麦 13 号 [J]. 农业科技通讯, 1991(8): 35-36
- [74] 李硕碧, 裴阿卫, 董宝云, 等. 1BL/1RS 易位系对陕西小麦品质育种的影响 [J]. 麦类作物学报, 2005, 25(6): 40-43
- [75] 刘兆晔, 于经川, 孙妮娜, 等. 骨干亲本鲁麦 13、鲁麦 14 在山东小麦育种中的应用 [J]. 农业科技通讯, 2015(1): 87-90
- [76] 张莉莉, 韩芳, 马守才, 等. 小麦品种豫麦 2 号及其衍生系的遗传差异分析 [J]. 中国农业大学学报, 2015, 20(4): 1-11
- [77] 李继发, 邓志英, 孙福来, 等. 小麦新品种“山农 20”抗病基因的分子检测 [J]. 作物学报, 2014, 40(4): 611-621
- [78] 王江春. 建国以来山东省小麦品种的遗传多样性分析 [D]. 泰安: 山东农业大学, 2006
- [79] 李瑞奇. 河北省冬小麦品种遗传分析和超高产特征研究 [D]. 保定: 河北农业大学, 2014
- [80] 刘成, 闫红飞, 宫文萍, 等. 小麦叶锈病新抗源筛选 [J]. 植物遗传资源学报, 2013, 14(5): 936-944