

小麦品种莱州 137 抗叶锈病鉴定及基因检测

杨华丽, 张晓玲, 赵艳博, 徐新玉, 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 0710011)

摘要: 叶锈病是小麦生产中的重要病害, 培育持久抗性品种可以有效控制该病害。本研究以抗病品种莱州 137、感病对照品种郑州 5389、慢锈性品种 SAAR 以及 36 个已知抗叶锈病基因的载体品种为材料, 在苗期和成株期进行了 2 年 2 点的接种鉴定, 通过系谱分析、基因推导和 12 个与抗叶锈病基因连锁的分子标记检测, 发现莱州 137 携带 *Lr26*、*Lr10*、*Lr14b* 以及其他未知抗叶锈病基因, 且表现成株抗性的特点, 说明其可能含有未知的成株抗性基因, 可作为新的小麦抗叶锈病抗源加以利用。

关键词: 小麦; 品种; 莱州 137; 叶锈病; 成株抗性; 基因检测; 新抗源

Identification and Detection of Leaf Rust Resistance Genes on Wheat Cultivar Laizhou 137

YANG Hua-li, ZHANG Xiao-ling, ZHAO Yan-bo, XU Xin-yu, YAO Zhan-jun

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

Abstract: Leaf rust is an important wheat disease which has a great influence on yield. Breeding for durable resistant cultivars can effectively and economically control the disease. In the present study, the cultivar Laizhou 137, susceptible control Zhengzhou 5389, delayed rusting cultivar SAAR and 36 donor lines were tested for leaf rust resistance at the seedling and adult plant stage during the 2014-2015 and 2015-2016 cropping seasons. The gene postulation, markers-assisted detection in combination with pedigree analysis showed that Laizhou 137 contained *Lr26*, *Lr10*, *Lr14b* and additional unknown resistance genes; and it had unknown adult-plant resistance gene because of expressing slow rusting resistance. Therefore, this line can be new resistant resource and utilized for wheat breeding.

Key words: wheat cultivar Laizhou 137; leaf rust; adult-plant resistance; gene detection; new resistant resource

由小麦叶锈菌 (*Puccinia triticina*) 引起的叶锈病是小麦生产中的重要病害, 影响叶片的光合作用从而降低小麦的产量和品质, 发生严重时, 可导致减产 40% 甚至绝收^[1]。叶锈病曾在中国北方发生过 4 次 (1969 年、1973 年、1975 年和 1979 年) 中度以上的大流行^[2], 并且近年来在多个小麦主产区又有局部爆发流行, 造成小麦产量损失严重^[3-4]。虽然叶锈病的化学防治快速有效, 但成本高, 污染环境; 选育并推广抗叶锈病品种对于广大农户是最为经济、安全的措施^[5]。因此, 快速并准

确地鉴定出推广品种在苗期和成株期的抗叶锈病及所含基因、发掘新基因, 有利于小麦品种合理布局和新抗源利用。

当前, 国际上对小麦叶锈病的研究较多, 自 1946 年 E. R. Ausemus 等^[6]首次用 *Lr* 正式命名抗叶锈病基因以来, 在小麦染色体上已发现了 100 多个抗叶锈病基因, 正式命名了 76 个^[7]。鉴定抗叶锈病基因的方法很多, 其中基因推导法可以快速对大量材料进行基因或基因型分析, 但其对环境 and 前期载体品种的开发要求比较严格, 且结果具有一定的推

收稿日期: 2017-08-07 修回日期: 2017-09-16 网络出版日期: 2018-03-06

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20180306.1117.002.html>

基金项目: 国家重点研发计划 (2017YFD300901)

第一作者主要从事小麦抗锈病遗传。E-mail: yanghuali19920504@126.com

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

测性,因此需结合系谱分析和分子检测的结果加以分析和验证。Z. F. Li 等^[1]利用基因推导方法在 65 份材料中发现 *Lr1*, *Lr3bg*, *Lr26* 以及 *Lr34*, *LrZH84* 等 13 个基因以单基因或多基因聚合形式存在。潘阳等^[8]在我国新疆小麦品种中推导出 *Lr1*, *Lr3ka*, *Lr26* 等 6 个抗叶锈病基因。近年来,随着分子标记的快速发展,已经开发了越来越多与抗叶锈病基因共分离或紧密连锁的分子标记,随后转化为方便应用的 CAPs、STS 和 SCAR 标记,被广泛应用于分子标记检测中。伍玲等^[9]用 *csLv34* 以及 5 对功能标记 *css-fr1-cssfr5* 对 CIMMYT 小麦材料成株抗性基因 *Lr34/Yr18/Pm38* 进行检测,进一步验证了功能标记的有效性。张林等^[10]利用与 24 个小麦抗叶锈病基因紧密连锁或共分离的 STS 或 SCAR 分子标记对 12 个山东主栽品种进行分子检测。因此,将基因推导及系谱分析和分子标记检测相结合,可有效地提高鉴定小麦品种抗叶锈病基因的鉴定效率。

供试小麦品种莱州 137 为山东的生产品种,利用 20 个小麦叶锈菌生理小种和田间混合小种分别对莱州 137 进行苗期和成株期抗病性鉴定和基因推导分析,并配合抗叶锈病基因的分子检测,解析其抗叶锈病特点及基因组成。

1 材料与方法

1.1 试验材料

小麦品种莱州 137,其系谱为[(974-1253 × 掖选 1 号) × (有 7 × 洛夫林 10)] × 鲁麦 14;36 个已知抗叶锈病基因的载体品种、感病对照品种郑州 5389 和慢锈性品种 SAAR^[11]由河北农业大学叶锈病研究室提供;基因推导所用的 20 个叶锈菌生理小种均采自中国小麦主产区并进行单孢分离纯化,各生理小种的命名方法采用 D. L. Long^[12]提出的密码命名系统,上述所有菌种由河北农业大学叶锈病研究室保存。

1.2 苗期叶锈病抗性鉴定

基因推导试验于 2016 年 11-12 月在温室进行,将 36 个已知抗叶锈病基因载体品种、供试品种莱州 137 以及感病对照品种郑州 5389 依次播种于育苗盘中。当小麦第 1 片叶完全展开时,采用扫抹法^[13]分别接种 20 个不同毒性谱的叶锈菌生理小种,接种后置于覆盖塑料薄膜的接种桶中进行保湿,在 100% 相对湿度、18 ℃ 黑暗保湿 24 h 后,置温室(约 25 ℃)中培养 15 d,待发病充分后进行侵染型^[14]调查。根据常规抗性鉴定标准,将 0~2 型划为抗病

类,3~4 型为感病类,并按照 H. J. Dubin 等^[15]提出的基因推导原则和方法,推导分析待测品种莱州 137 所含抗叶锈病基因或基因组合。

1.3 田间试验和成株期抗叶锈病鉴定

2014-2015 年度和 2015-2016 年度将供试品种莱州 137、慢锈性品种 SAAR 和感病对照品种郑州 5389 种植于河北保定河北农业大学小麦试验田(115.47°E, 38.85°N)和河南周口黄泛区试验田(114.53°E, 33.80°N),采用随机区组设计,2 次重复,行长 1 m,行距 0.25 m,每 10 行种植 1 行感病对照品种郑州 5389,且试验材料与诱发行垂直种植,当感病对照品种充分发病时,参考 Z. F. Li 等^[1]提出的方法进行田间调查。

1.4 抗叶锈病基因的分子检测

当小麦幼苗长至 2 叶时,利用改良的 CTAB 法^[16]提取新鲜叶片 DNA,并以分光光度计检测 DNA 浓度和纯度。与 10 个已知抗叶锈病基因紧密连锁的 12 个分子标记引物由上海生工生物公司合成(表 1),PCR 体系均为 20 μL,含 10 × 缓冲液 2 μL,10 mmol/L dNTP 0.4 μL,4 μmol/L 引物 2 μL,100 ng/μL DNA 模板 2 μL,Taq 酶 2U,ddH₂O 13.4 μL。反应程序为:94 ℃ 预变性 5 min;94 ℃ 变性 45 s,57 ℃ (退火温度依引物所定)退火 45 s,72 ℃ 延伸 1 min,35 个循环;最后 72 ℃ 延伸 10 min,4 ℃ 保存。根据扩增产物的分子量大小分别用 1.5% 琼脂糖或者 12% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳进行检测分析。

2 结果与分析

2.1 莱州 137 抗叶锈病基因推导分析

利用 20 个叶锈菌系对 36 个已知抗叶锈病基因载体品种和供试品种在苗期进行抗性鉴定,其中携带 *Lr9*, *Lr24*, *Lr19*, *Lr28*, *Lr29*, *Lr42*, *Lr47*, *Lr51* 和 *Lr53* 的载体品种对供试小种均表现抗病,而携带 *Lr2c*, *Lr16*, *Lr11*, *LrB*, *Lr13*, *Lr33* 和 *Lr45* 的载体品种对供试小种均表现感病,故上述 16 个抗叶锈病基因无法通过抗性谱比较分析进行基因推导;其余 20 个携带抗叶锈病基因的材料对 20 个叶锈菌系表现出不同的抗性谱,可以通过苗期鉴定进行基因推导(表 2)。结果显示,莱州 137 对小种 FGBQ、PGJQ、TGTT、THSM、PHGM、PHST 表现抗病,而 *Lr26* 对 FGBQ、PGJQ 和 TGTT 中高抗,*Lr10* 对小种 THSM、PHGM 表现中抗,*Lr14b* 对小种 PHST、PHGM、TGTT 表现低中抗,通过抗性谱比较分析初步认为莱州 137 可能含有抗叶锈病基因 *Lr26*, *Lr10* 和 *Lr14b*;此外,莱州 137 还对

表 1 用于抗叶锈病基因鉴定的分子标记

Table 1 PCR primers and conditions for detecting *Lr* genes used in this study

基因 <i>Lr</i> gene	标记类型 Marker type	引物 Primer	引物序列 Sequence of primer(5'→3')	退火温度 (℃) Annealing temp.	片段大小 (bp) Size	文献 Reference
<i>Lr1</i>	STS	WR003F	GGGACAGAGACCTTGCTGGA	65	760	[17]
		WR003R	GACGATGATGATTTGCTGCTGG			
<i>Lr9</i>	STS	J13/1	TCCTTTTATTCCGCACGCCGG	66	1100	[18]
		J13/2	CCACACTACCCCAAAGAGAG			
<i>Lr10</i>	STS	Lrk10D1	GAAGCCCTTCGTCTCATCTG	58	282	[19]
		Lrk10D2	TTGATTCATTGCAGATGAGATCACG			
<i>Lr19</i>	SCAR	SCS265 F	GGCGGATAAGCAGAGCAGAG	65	512	[20]
<i>Lr19</i>	SCAR	SCS265 R	GGCGGATAAGTGCGTTATGG	60	736	[20]
		SCS253 F	GCTGGTTCCACAAAGCAAA			
		SCS253 R	GGCTGGTTTCCTTAGATAGGTG			
<i>Lr20</i>	STS	STS638-L	ACAGCGATGAAGCAATGAAA	60	542	[21]
		STS638-R	GTCCAGTTGGTTGATGGAAT			
<i>Lr24</i>	STS	Lr24 J 9/1	TCTAGTCTGTACATGGGGGC	57	310	[22]
		Lr24 J 9/2	TGGCACATGAACTCCATACG			
<i>Lr26</i>	STS	Glu-B3F	GGTACCAACAACAACAACCC	65	210	[23]
		Glu-B3R	GTTGCTGCTGAGGTGGTTC			
<i>Lr26</i>	STS	ω-secalinF	ACC TTCCTCATCTTTTGCTCT	65	1076	[24]
		ω-secalinR	CCGATGCCTATACCACTACT			
<i>Lr34</i>	STS	csLV34F	GTGGTTAAGACTGGTGATGG	58	150	[25]
		csLV34R	TGCTTGCTATTGCTGAATACT			
<i>Lr37</i>	STS	VENTRIUP	AGGGGCTACTGACCAAGGCT	65	259	[26]
		LN2	TGCAGCTACAGCAGTATGTACACAAAA			
<i>Lr46</i>	STS	csLV46G22F	AGGGAAAAGACATCTTTTTTTTC	58	335	[27]
		csLV46G22R	CGACCGACTTCGGGTTC			

FHJS^①、FHJS^②、FHCQ^①、FHCQ^③、FNTQ、PRSQ 和 KHGQ 生理小种表现抗性,说明莱州 137 中还含有抗这些菌系的未知抗叶锈病基因(表 2)。

2.2 莱州 137 抗叶锈病基因分子检测

利用与抗叶锈病基因 *Lr1*、*Lr9*、*Lr10*、*Lr19*、*Lr20*、*Lr24*、*Lr26*、*Lr34*、*Lr37* 和 *Lr46* 连锁的分子标记对供试品种莱州 137 进行分子检测(表 3),进一步解析供试品种的抗叶锈病基因组成。利用与 8 个抗叶锈病基因(*Lr1*、*Lr9*、*Lr19*、*Lr20*、*Lr24*、*Lr34*、*Lr37* 和 *Lr46*)紧密连锁的特异性 STS 或 SCAR 标记对莱州 137 进行检测,结果均显示只在相应基因的载体品种中扩增出目的条带,而在莱州 137 中均未检测到 8 个基因的目的条带;而用与 *Lr10* 和 *Lr26* 连锁的标记进行检测,在相应的基因载体品种和莱州 137 中

均扩增出目的片段,表明莱州 137 中含有 *Lr10* 和 *Lr26*(表 3)。

2.3 莱州 137 田间成株期抗性鉴定

2014-2015 年度、2015-2016 年度分别在河北保定和河南周口两地对供试品种莱州 137 进行了成株期田间抗叶锈病鉴定。在 2 年 2 点田间试验中,感病对照品种郑州 5389 的严重度均不低于 85%,慢锈性品种 SAAR 的严重度为 1%~5%,表现明显的慢锈性(表 4),说明田间发病充分,可保证鉴定结果的可靠性。在苗期供试品种莱州 137 对混合小种(FHRT、THTT、THJT)表现感病,而在成株期生长季的平均严重度为 15%,表现潜育期长、孢子堆小、产孢量低等^[28]慢锈性特点,表明莱州 137 具有成株抗叶锈病特点。

Table 2 Seedling resistance types of 36 wheat lines with known leaf rust resistance genes and tested cultivars Laizhou 137 inoculated with 20 *Puccinia triticina* isolates

品系 Lines	基因 Genes	侵染型 Infection types to <i>Pt</i> pathotypes																			
		FHJS ^①	FHJS ^②	FCBQ	SHJT	FHCQ ^①	FHCQ ^②	FHCQ ^③	PCJQ	PHTT ^①	PHTT ^②	THSM	FHSQ	FNTQ	PHST	PHJS	PHGM	PRSQ	NHHT	KHCQ	TCYT
LrRL6003	<i>Lr1</i>	0	1	0	3	0	0	0	3	3	4	3	1	1	4	3	4	3	3	0	3
LrRL6016	<i>Lr2a</i>	1	1	1	3	1	1	0	1	1	1	3	1	1	1	;	1	1	2	3	4
LrRL6047	<i>Lr2c</i>	3	3	3	3	3	3	3	3+	3	3+	3+	3	3	3	3	3+	3+	3	3	3+
LrRL6002	<i>Lr3</i>	3	4	3+	2	3	3	3	3+	3	4	3+	3	3+	3+	3	3+	3+	2	3	4
LrRL6010	<i>Lr9</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
LrRL6005	<i>Lr16</i>	3	3+	3	3+	3	3+	3+	3+	3	3+	3+	3	3	3	3	3	3	3	4	4
LrRL6064	<i>Lr24</i>	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;
LrRL6078	<i>Lr26</i>	3	3	0	3	3	3	3	1	3	4	3	3+	3	3+	3+	3	3	3	3	0
LrRL6007	<i>Lr3ka</i>	1	2+	2	1	1	2	2	2	3	3	3	3	3	3	1	;	3	2	2	3
LrRL6053	<i>Lr11</i>	3	3	2	3	3	3+	3	3+	3+	3	3	3+	3	3	3	3+	3	3	4	3+
LrRL6008	<i>Lr17</i>	3	3+	2	3	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	2	2+	4
LrRL6049	<i>Lr30</i>	2	2+	1	1	2	1	1	2	3	3	2	2+	3+	2	2	2	1	3	1	3+
LrRL6051	<i>LrB</i>	3+	3+	3+	3	3	3+	3	3+	3+	3	3	3	3	3	3+	3	3	3	3+	4
LrRL6004	<i>Lr10</i>	3	3+	3	3	3	3	3	3+	3	3+	2	3	3	3	3+	1,2	3+	3	3	4
LrRL6013	<i>Lr14a</i>	3	3	X	3	X	2	X	X	3+	3	X	X	X	3	3+	X	X	3	X	3
LrRL6009	<i>Lr18</i>	1	2+	1	3	2	1	2	2	3	3	3	2	2	3	2	3+	2	3	2	3+
LrRL6019	<i>Lr2b</i>	2	3	3	3	3	3	3	2+	2	3	3	3	2+	1	2	2	3	1+	3	3
LrRL6042	<i>Lr3bg</i>	3	3+	3	2	3	3+	3	3	3	3+	3	3	3	3	3	1,2	3	1+	3+	3
LrRL4031	<i>Lr13</i>	3	3+	3	3	3	3	3	3	3	3+	3	3	3	3	3	3+	3	3	3+	3+
LrRL6006	<i>Lr14b</i>	3	3	3	3+	3+	3	3	3+	3	3+	3+	3+	3+	2+	3	X	3+	3+	3+	X
LrRL6052	<i>Lr15</i>	1	1	1	1	3	;	1	1	1	1	3	2	2+	3	3	3	1	0	1	4

表 2(续)

品系 Lines	基因 Genes	侵染型 Infection types to <i>Pt</i> pathotypes																			
		FHJS ^①	FHJS ^②	FCBQ	SHJT	FHGQ ^①	FHGQ ^②	FHGQ ^③	PCJQ	PHTT ^①	PHTT ^②	THSM	FHSQ	FNTQ	PHST	PHJS	PHCM	PRSQ	NHHT	KHGQ	TCCT
RL6040	<i>Lr19</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
RL6092	<i>Lr20</i>	；	；	1	；	2	1	；	；	；1	1	；	1	；	3+	3	；	；	；	1	；
RL6043	<i>Lr21</i>	3	3	2	2+	3	3	3	3	1	3	1	3	3	2	1	3	2	3	2	4
RL6012	<i>Lr23</i>	3	3	3	2	3	3	3	3+	3	3	2	3	3+	3	1	2	3	3	2+	3+
RL6079	<i>Lr28</i>	0	；	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	；	0	0	0	0	0	0	0
RL6080	<i>Lr29</i>	1	1	；1	2	1	2+	2	2	1	2	1	2	1+	1	1	1	2	1	1	0
RL6057	<i>Lr33</i>	3	3	3	3+	3	3+	3	3+	3	3	3	3	3+	3	3+	3+	3	3	3+	4
E84018	<i>Lr36</i>	3	1+	3	3	3	3	3	2	3	2	1	3	2	3	3+	2	1	3	1+	；
KS86NGRC02	<i>Lr39</i>	1	1	1	3+	3	2	2	1,2	3+	3	3	2	2	3	3+	3	2	3	2	4
KS91WGRC11	<i>Lr42</i>	1	1	2	2	2	2	0	1	；	0	1	0	2	0	；	1	2	0	0	2
RL6147	<i>Lr44</i>	3	3	2+	3	3	2	3+	2	3+	2	2	2	3	；1	1	1	1	3	2	；1
RL6144	<i>Lr45</i>	3	3	3+	3	3	3	3	3+	3+	3+	3+	3	4	3	3+	3	；	3+	3+	4
PAVON76	<i>Lr47</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C78.5	<i>Lr51</i>	；	；	0	；	；	1	0	0	0	；	0	；	；	1	0	；	；	；	；	0
98M71	<i>Lr53</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	；	0	0	0	；	0	0	0	；	0	0
莱州 137	<i>Lr26^a</i>																				
Laizhou 137	<i>Lr10^a</i>	1+	1	0	4	2	3	2	2	4	3	2	3	2	2	4	2	2	3	1	0
	<i>Lr14b^b</i> +																				

侵染型:0 = 免疫; ; = 高抗无孢子堆;1 = 孢子堆小且有坏死斑;2 = 孢子堆小且有坏死斑或伴随褪绿;3 = 孢子堆中等且伴随褪绿;4 = 孢子堆大且无坏死或褪绿;X = 混合侵染型,即在同一叶片上分布有多种侵染型,属于中抗

a: 基因推导和标记检测同时推导出该基因;b: 仅基因推导推导出该基因;+ : 未知抗叶锈病基因;①、②、③: 相同命名的不同毒性的生理小种
ITs: 0 = immune, ; = hypersensitive fleck with no sporulation, 1 = small uredinia with necrosis, 2 = small uredinia with chlorosis, 3 = moderate size uredinia without chlorosis or necrosis, 4 = large uredinia without chlorosis or necrosis, X = heterogeneous infection that appears several its in one leaf, moderate resistance, a: gene postulated by gene postulation and molecular detection, b: gene just postulated by gene postulation, + : have unknown resistance gene. ①, ②, ③: the same naming of different *Pt* pathotypes

表 3 分子标记检测已知抗性基因的结果

Table 3 Marker-assisted detection for known leaf rust resistant genes

品种 Cultivar	基因 Genes									
	<i>Lr1</i>	<i>Lr9</i>	<i>Lr10</i>	<i>Lr19</i>	<i>Lr20</i>	<i>Lr24</i>	<i>Lr26</i>	<i>Lr34</i>	<i>Lr37</i>	<i>Lr46</i>
基因载体 differential line	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
莱州 137 Laizhou 137	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-

+ : 扩增出已知标记基因; - : 未扩增出已知标记基因

+ : have amplified known gene, - : have not amplified known gene

表 4 莱州 137 和对照品种对混合小种的侵染型和成株期在 2014-2015 年和 2015-2016 年的最终严重度

Table 4 Infection types(IT) in the seedling test with mixed races and final disease severity(FDS) in the 2014-2015 and 2015-2016 growing seasons for Laizhou137

品种 Cultivar	苗期对混合小种抗性 Seedling IT to mix races	2014-2015 年严重度(%)		2015-2016 年严重度(%)		严重度均值(%) Average FDS
		FDS in 2014-2015		FDS in 2015-2016		
		保定 Baoding	周口 Zhoukou	保定 Baoding	周口 Zhoukou	
SAAR	4	3	5	1	1	2.5
莱州 137 Laizhou 137	4	10	15	15	20	15
郑州 5389 Zhengzhou 5389	4	90	85	85	90	87.5

3 讨论

3.1 抗叶锈病基因鉴定

小麦品种抗叶锈病鉴定最经典的方法是基因推导,此方法周期短,不受生长季节限制,在短时间内可对大量材料进行鉴定分析,但易受生理小种和遗传背景的影响;分子标记可以快速准确地鉴定且不受环境变化影响,且能够弥补基因推导的不足,但是需要受特异性标记的限制。本研究利用 20 个生理小种进行苗期基因推导,虽然可以鉴定多个抗叶锈病基因,但结果显示基因载体品种 RL6010、RL6064、RL6040、RL6079、RL6080、KS91WGRC11、PAVON76、C78.5 和 98M71 均表现低反应型,因此不能确定莱州 137 中是否含有 *Lr9*, *Lr24*, *Lr19*, *Lr28*, *Lr29*, *Lr42*, *Lr47*, *Lr51* 和 *Lr53*;且载体品种 RL6047、RL6005、RL6053、RL6051、RL4031、RL6057 和 RL6144 均表现高反应型,故也不能对 *Lr2c*, *Lr16*, *Lr11*, *LrB*, *Lr13*, *Lr33* 和 *Lr45* 进行推导。为弥补基因推导的不足,本试验选用了 12 个特异性强的分子标记,进一步进行抗病基因的检测,说明莱州 137 含有 *Lr26*, *Lr10*, *Lr14b* 以及其他未知基因。

Lr26 来源于黑麦的 1RS 染色体,于 20 世纪 80 年代作为新一代抗源成为我国的主要抗源材料^[29],

广泛存在于洛夫林 10 号^[30]中,但由于此抗源单一品种的大面积种植和生理小种的逐渐变异,加快了叶锈病菌定向选择,使 *Lr26* 逐渐失去抗性,与张小村等^[31]提出 *Lr26* 和 *Lr10* 因新生理小种的产生而丧失抗性的结论相一致;且该抗病基因单独存在时已经基本失去抗性,但与其他基因聚合时,仍表现一定的抗病性。莱州 137 的系谱为[(974-1253 × 掖选 1 号) × (有 7 × 洛夫林 10)] × 鲁麦 14,其携带的 *Lr26* 可能来自洛夫林 10,因此更加证实莱州 137 含有 *Lr26*。据基因推导鉴定,莱州 137 中可能含有 *Lr14b*,其准确性需今后开发相应的分子标记进行验证。

3.2 成株抗性

成株抗性也称为慢锈性,一般在成株期表现,该类抗性对病原菌生理小种专化性较弱,减少对各生理小种的选择压力,表现潜育期长、孢子堆小和产孢量少^[28]。莱州 137 在苗期对田间混合小种表现感病,而成株期有较低的 FDS(15%),具有慢锈性特点。*Lr34* 和 *Lr46* 是我国非常重要且典型的慢锈性基因,*Lr34* 单独应用时仍有一定程度的发病^[32],但与 *Lr26*, *Lr1* 或 *Lr13* 这些几乎丧失抗性的基因共同存在时,可明显提高它自身的抗性作用,抗病性一般都大于其单独存在时的效果^[33-34]。经分子检测结

果可知,莱州 137 中未发现 *Lr34* 和 *Lr46*,因此可能含有其他未知的成株抗叶锈病基因,接下来就是利用其构建遗传群体进行成株抗叶锈病 QTL 作图,为培育持久抗性品种提供理论依据。

参考文献

- [1] 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: 45-53
- [2] 董金皋. 农业植物病理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001: 44-45
- [3] Zhou H X, Xia X C, He Z H, et al. Molecular mapping of leaf rust resistance gene *LrNJ97* in Chinese wheat line Neijiang 977671[J]. Theor Appl Genet, 2013, 126(8): 2141-2147
- [4] 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
- [5] Line R F. Stripe rust of wheat and barely in North America: A retrospective historical review[J]. Annu Rev Phytopathol, 2002, 40: 75-118
- [6] Ausemus E R, Harrington J B, Reitz L P, et al. A summary of genetic studies in hexaploid and tetraploid wheats[J]. J Amsoc Agron, 1946, 38: 1082-1099
- [7] Takele W G, Yao Z J, Yan X C, et al. Identification of leaf rust resistance genes in Chinese common wheat cultivars[J]. Plant Dis, 2017, 101: 1729-1737
- [8] 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病鉴定[J]. 植物遗传资源学报, 2011, 12(2): 203-210
- [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] 张林, 张梦雅, 高颖, 等. 山东省 12 个主栽小麦品种(系)抗叶锈病分析[J]. 植物遗传资源学报, 2017, 18(4): 676-684
- [11] 张利军, 李在峰, Lillemo M, 等. CIMMYT 小麦品种 Saar 的叶锈成株抗 QTL 分析[J]. 中国农业科学, 2009, 42(2): 388-397
- [12] Long D L, Kolmer J A. A North American system of nomenclature for *Puccinia triticina*[J]. Phytopathology, 1989, 79: 525-529
- [13] 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
- [14] Roelfs A P, Singh R P, Saari E E. Resistance to leaf and stem rusts of wheat: concepts and methods of disease management[M]. Edo. DE Mexico: CIMMYT, Mexico D F, 1992: 42-45
- [15] Dubin H J, Torres E. Causes and consequences of the 1976-1977 wheat leaf rust epidemic in North west Mexico[J]. Annu Rev Phytopathol, 1981, 19: 41-49
- [16] Sharp P J, Kreis M, Shewry P R, et al. Location of β -amylase sequence in wheat and its relatives[J]. Theor Appl Genet, 1998, 75(2): 286-290
- [17] Qiu J W, Schvrch 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
- [18] 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
- [19] 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 Breed, 1997, 39(1): 65-74
- [20] 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, 114(6): 1027-1036
- [21] Neu C, Stein N, Keller B. Genetic mapping of the *Lr20-Pm1* resistance locus reveals suppressed recombination on chromosome arm 7AL in hexaploid wheat[J]. Genome, 2002, 45(4): 737-744
- [22] 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): 982-990
- [23] de Froidmont D. A codominant marker for the 1BL/1RS wheat-rye translocation via multiplex PCR[J]. J Cereal Sci, 1998, 27(3): 229-232
- [24] Chai J F, Zhou R H, Jia J Z, et al. Development and application of a new codominant PCR marker for detecting 1BL. 1RS wheat-rye chromosome translocations[J]. Plant Breed, 2006, 125(3): 302-304
- [25] 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, 2006, 114(1): 21-30
- [26] Helguera M, Khan I A, Kolmer J, et al. PCR assay 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: 1839-1847
- [27] Kazuhiro S, Singh R P, Manilal H M. Tagging of leaf rust resistance genes, *Lr34* and *Lr46*, using microsatellite markers in wheat[J]. JIRCAS Research Highlights, 2001: 8-9
- [28] Singh R P, Huerta-Espino J, William H M. Genetics and breeding for durable resistance to leaf and stripe rusts in wheat. Turkish Journal of Agriculture and breeding programmes[J]. Plant Pathol, 1984, 33: 297-300
- [29] 郝晨阳, 王兰芬, 张学勇, 等. 我国育成小麦品种的遗传多样性演变[J]. 中国科学(C 辑), 2005, 35(5): 408-415
- [30] 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[J]. 遗传学报, 1993, 20(4): 312-316
- [31] 张小村, 李斯深, 赵新华, 等. 小麦纹枯病抗性的 QTL 分析和抗病基因的分子标记[J]. 植物遗传资源学报, 2005, 6(3): 276-279
- [32] 陈万权, 秦庆明. 国际上已知小麦抗叶锈病基因在中国的可利用性研究[J]. 中国农业科学, 2002, 35(7): 794-801
- [33] Kolmer J A. Enhanced leaf rust resistance in wheat conditioned by resistance gene pairs with *Lr13*[J]. Euphytica, 1992, 61: 123-130
- [34] 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: 97-105