22份中国小麦生产主栽品种抗条锈病基因解析

徐晓丹[1,2] 王明玉[1] 冯 晶[1*] 蔺瑞明[1] 王凤涛[1] 徐世昌[1]

（1. 中国农业科学院植物保护研究所，植物病虫害生物学国家重点实验室，北京 100193；
2. 哈尔滨医科大学(大庆)基础医学院，黑龙江 大庆 163319）

摘要：为挖掘新的小麦抗条锈病基因，掌握小麦生产主栽品种的抗条锈病基因携带情况，有效防控小麦条锈病，采用抗性鉴定、基因推导分析和分子标记技术对22份小麦生产上主栽品种进行了研究，通过抗性鉴定比较22份小麦主栽品种与已知基因载体品种的抗谱。结果显示，共推测出14份供试品种携带已知抗条锈基因，8份供试品种携带未知抗条锈基因，是新的抗锈基因资源；聚类分析结果显示，供试22份小麦品种可分为2个大类6个亚类；利用SSR分子标记检测抗条锈病基因*Yr1*、*Yr10*和*Yr24*的携带情况发现，11份品种携带*Yr1*基因，2份品种携带*Yr10*基因，22份品种均不携带*Yr24*基因。部分生产主栽品种携带新的抗条锈病基因，表明小麦品种选育中避免了抗性基因单一化，并加强了未知基因的利用。

关键词：小麦；条锈病；基因推导；聚类分析；分子检测

Analysis of the stripe rust resistant genes in 22 Chinese wheat cultivars

Xu Xiaodan[1,2] Wang Mingyu[1] Feng Jing[1*] Lin Ruiming[1] Wang Fengtao[1] Xu Shichang[1]

（1. State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China; 2. Department of Pathophysiology, Harbin Medical University-Daqing, Daqing 163319, Heilongjiang Province, China）

Abstract: In order to identify new resistance genes, understand the distribution of resistance gene to stripe rust in wheat cultivars and control wheat stripe rust, 22 wheat cultivars were studied by using resistance identification, gene postulation and molecular marker technique. Through resistance identification the resistance spectrums between the known genes-carriers and 22 wheat cultivars were tested and compared. The results showed that there were 14 cultivars with known resistance genes to stripe rust, and eight with unknown resistance genes, which were new rust resistant gene resources. The results of cluster analysis showed that 22 wheat cultivars were divided into two categories and six sub categories. *Yr1*, *Yr10* and *Yr24* genes in 22 cultivars were detected by SSR molecular markers. It was revealed that 11 cultivars carried *Yr1*, and two carried *Yr10*, while 22 did not carry *Yr24*. Some cultivars carried new resistance genes to stripe rust, which had important significance in avoiding the application of single resistance gene and enhancing use of unknown genes.

Key words: wheat; stripe rust; gene postulation; cluster analysis; molecular detection

小麦条锈病是一种由条形柄锈菌小麦专化型*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*引起的世界性小麦病害。该病在我国曾多次流行，严重威胁小麦生产安全，如1950、1964、1990和2002年的小麦条锈病大流行使小麦减产高达60亿、32亿、26.5亿和10亿kg，造成严重的经济和产量损失(万安民等，2003)。而对抗病基因进行合理布局，选育优良的抗病品种，可以在有效降低杀菌剂使用量的同时最大限度地减少

基金项目：国家“973”计划(2013CB127700)，国家自然科学基金(31272033)，国家重点研发计划(2016YFD0300705)

* 通信作者（Author for correspondence），E-mail：jingfeng@ippcaas.cn

收稿日期：2017-08-04

小麦产量损失，仍旧是目前已知的、防控小麦条锈病最经济、有效和环境友好的措施（Mallard et al.，2005）。目前，小麦抗条锈病基因研究已取得了较大进展，在普通小麦及其近缘种属中已定位抗条锈病基因位点70多个，正式命名编号的抗病基因包括从*Yr1*~*Yr78*（Lupton & Macer，1962；Lowe et al.，2011；Dong et al.，2017），这些研究在小麦抗条锈病育种中得到了广泛应用，对选育优质抗病良种、提高小麦生产质量都起到了重要的推动作用（Zheng et al.，2017）。

小麦条锈菌变异将产生新的毒性菌系，从而导致小麦品种丧失抗条锈性。在我国，1个抗病品种大面积推广后，快则3~5年，慢则8~10年就会失去抗病性（胡小平等，2014）。近些年，小麦条锈菌条中32号和条中33号一直是当前的优势生理小种（刘太国等，2012）。Liu et al.（2010）在川麦42上发现了对小麦抗条锈鉴别寄主贵农22具有毒性的新菌株（V26或G22致病类群），经过多年监测发现该菌株的出现频率呈逐年上升趋势，预测其今后可能成为我国小麦条锈菌的主要优势小种，并将其命名为条中34号（刘博等，2017）。因此，小麦条锈菌毒性变异要求挖掘新的小麦抗条锈病基因，并将其应用于培育新的抗病品种以及抗病基因合理布局，从而为防控小麦条锈病提供理论支撑。

小麦生产主栽品种的种植面积较大，如果其携带的抗病基因无效，往往更容易引起小麦条锈病流行，造成更为严重的经济损失。而目前关于我国小麦生产上主栽品种抗条锈病基因的研究还不够深入，其所含抗条锈基因的背景尚不明晰。因此，对小麦生产主栽品种的抗条锈情况进行深入研究，掌握其抗病基因的分布情况，对有针对性开展抗病育种和进行抗病基因的合理布局，保障我国小麦生产安全有着重要意义。基于此，本研究以我国22份小麦生产上主栽品种为测试品种，通过小麦抗条锈病基因推导、聚类分析和分子检测的方法解析其抗条锈基因，以期为小麦分子育种及条锈病防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试小麦品种及小麦条锈菌系：本研究使用小麦抗条锈病基因载体品种及感病对照共36份，分别为Chinese 166、Joss Cambier、Heines Kolben、Maris Huntsman、Heines VII、Strubes Dickkopf、Virmorin 23、Nord Desprez、Mega、Hybrid 46、*Triticum spelta album*、Lee、Reichersberg 42、Compire、Clement、Lovrin 13、Moro、VPM1、Fielcer、Lemhi、K733、Avocet S*6/*Yr15*、Tp981、Line R55、Selkirk、*T. tauschii* W-219、Carstens V、Spaldings Prolific、Resulka、C591、Avocet S*6/*Yr6*、Avocet S*6/*Yr7*、Avocet S*6/*Yr8*、Avocet S*6/*Yr9*以及感病对照铭贤169和Taichung 29；小麦生产上主栽品种共22份，分别为许麦9号、豫展9907、驻97039、B105、郑丰9962、群喜麦4号、郑麦2015、偃展4110、新麦139、泛麦06036、开020、偃师009、太学838、浚2016、国麦218、郑00524、豫教0504、濮兴1号、漯丰0618、洛99220、瑞星989和郑麦7698；选用19个小麦条锈菌系，并使用国际命名法给予命名，包括64E16、0E36、35E62、9E144、64E146、2E24、2E104、33E50、2E16、11E190、175E251、43E58、47E251、40E33、37E57、3E154、3E16、33E148和34E156。所有供试小麦品种及小麦条锈菌系均由中国农业科学院植物保护研究所提供。

试剂及仪器：CTAB、NaCl、EDTA、Tris-HCl、三氯甲烷、异戊醇、异丙醇、70%酒精、重蒸水、液氮，北京山承伟业科技有限公司。PTC-220型PCR仪，美国Bio-Rad公司；MRS3200A3L扫描仪，上海中晶科技有限公司；DYY-10C电泳仪、DYCZ-20C电泳槽，北京市六一仪器厂。

1.2 方法

1.2.1 小麦抗条锈病基因推导

依据Dubin et al.（1989）和Feng et al.（2009）的方法进行小麦抗条锈病基因推导。

小麦条锈菌的繁殖：使用直径为10 cm的泥盆，播种约3 g铭贤169的种子，当其第1片叶完全展开时，采用涂抹法接种初次繁殖的供试小麦条锈菌，之后将麦苗放置于10~14℃的温室中，黑暗保湿24 h，然后将麦苗转移至18~22℃温室培育。扩繁各菌系，麦苗种植方法同上，采用扫抹法进行接种，接种后处理方式同上。

试验材料接种小麦条锈菌系：当用于扩繁小麦条锈菌系的小麦幼苗出现病斑时，将35份基因载体品种（包括感病对照铭贤169）与22份待测品种作为一组，按编号顺序播种于35 cm×24 cm×10 cm的塑料白盒中，共种植19组，放置于18~22℃温室培育。当繁殖菌种的小麦幼苗充分发病，并且测试品种麦苗第1片叶片充分展开时，采用扫抹法接种小麦条锈菌系，每组材料分别接种1个菌系。接种后麦苗处理方式同上。

抗条锈病鉴定：接种小麦条锈菌系15 d后，参照中华人民共和国农业行业标准NY/T 1443.1—2007，

以11级标准调查反应型，即0、0;、0;$^{+}$、1、1^{+}、2、2^{+}、3^{-}、3、3^{+}、4，将0~2划分为抗病，2^{+}~4划分为感病，比较供试品种与基因载体品种的抗性谱，分析推导测试品种的抗条锈病基因。

1.2.2 小麦品种的抗条锈性聚类分析

以基因推导试验中记录的测试品种的反应型为基础，将抗病反应型记录为1，感病反应型记录为0，构成抗病品种与感病品种间的0、1矩阵，通过NTSYS 2.10软件（Rohlf，2000）的非加权成对平均数法（unweighted pair-group method with arithmetic means，UPGMA）进行聚类分析，对抗条锈性相近的小麦品种进行归类。

1.2.3 小麦抗条锈病基因分子标记检测

采用CTAB法提取小麦叶片基因组DNA。本研究利用与*Yr1*连锁的SSR分子标记Xgwm382（5′- GTCAGATAACGCCGTCCAAT- 3′/5′- CTACGTGCACCACCATTTTG-3′）（王海，2008；Bansal et al.，2009）、与*Yr10*连锁的SSR分子标记Xpsp3000（5′-GCAGACCTGTGTCATTGGTC-3′/5′-GATATAGTGGCAGCAGGATACG-3′）（Wang et al.，2002）以及与*Yr24*连锁的SSR分子标记Xgwm273（5′-ATTGGACGGACAGATGCTTT- 3′/5′- AGCAGTGAGGAAGGGGATC-3′）（刘亚萍等，2005）检测22份测试小麦品种中是否可能含有抗条锈病基因*Yr1*、*Yr10*和*Yr24*。SSR分子标记的引物序列信息来源于数据平台GrainGenes 2.0（http://wheat.pw.usda.gov/GG2/index.shtml），引物均由北京三博远志生物技术有限责任公司合成。PCR反应体系参照*Yr1*（王海，2008；Bansal et al.，2009）、*Yr10*（Wang et al.，2002）和*Yr24*（刘亚萍等，2005）的基因定位进行设定。PCR反应程序：94℃预变性5 min；94℃变性1 min，57℃（*Xgwm382*）/60℃（*Xpsp3000*）/57℃（*Xgwm273*）50 s，72℃延伸2 min；35个循环；最后72℃延伸10 min，4℃保存。PCR产物在6%聚丙烯酰胺凝胶上进行电泳检测。

2 结果与分析

2.1 小麦品种基因推导分析

通过已知基因载体品种与测试品种间反应型的比较，推导测试品种是否携带基因载体品种所含的抗条锈病基因。35份基因载体品种（包括感病对照铭贤169）和22份测试品种对19个小麦条锈菌系的反应型结果显示（表1），在22份测试品种中，只有小麦品种豫教0504对供试的19个小麦条锈菌系均表现抗性，与抗条锈病基因载体品种*T. spelta album*、More、Avocet S*6/*Yr15*、Line R55的抗性表现相同，说明小麦品种豫教0504可能含有抗条锈病基因*Yr5*、*Yr10*、*Mor*、*Yr15*、*Yr26*或者其它未知的抗病基因。

基因载体品种Compire抗小麦条锈菌系0E36、2E104和40E33，而群喜麦4号对小麦条锈菌系64E16、0E36、64E146、2E104、2E16、47E251、40E33、37E57、3E154、3E16均表现抗性，说明群喜麦4号的抗谱包含载体品种Compire的抗谱，因此，群喜麦4号可能含有载体品种Compire携带的抗条锈病基因组合*Yr8*+*Yr19*，并且还可能携带其它已知或未知的抗条锈病基因。

郑麦2015对小麦条锈菌系0E36和11E190表现为感病，对其它条锈菌表现为抗病；而Carstens V对0E36、11E190、40E33和37E57这4个条锈菌系表现为感病，对其它条锈菌表现为抗病；对比郑麦2015和Carstens V的抗谱，可以发现郑麦2015的抗谱范围大于Carstens V，因此郑麦2015可能含病基因*Yr32*，且还含有其它已知或未知的抗条锈病基因。基因载体品种Lemhi（携带*Yr21*基因）的抗谱为小麦抗条锈菌系64E16、9E144、33E50、11E190和3E154，而偃师009除对这5个菌系表现抗病外（偃师009对9E144和33E50反应型数据缺失），还对64E146、2E24、2E104、2E16、175E251、40E33、33E148、34E156表现抗病，如不考虑偃师009对9E144和33E50的反应型，则偃师009可能含有抗条锈病基因*Yr21*，还可能携带其它已知或者未知的抗条锈病基因。浚2016与基因载体品种*T. tauschii* W-219和Resulka的抗谱一致，因此，浚2016可能含有抗条锈病基因*Yr28*或者*YrRes*。许麦9号、驻97039、B105、郑丰9962、偃展4110、泛麦06036、国麦218、洛99220和郑麦7698共9份小麦品种只感染小麦条锈菌系175E251（许麦9号对11E190和37E57反应型数据缺失），同基因载体品种Clement、Lovrin 13和Avocet S*6/*Yr9*的抗谱一致，因此，这9个小麦品种可能携带抗条锈病基因*Yr9*。豫展9907、新麦139、开020、太学838、郑00524、濮兴1号、漯丰0618和瑞星989共8个小麦品种与供试基因载体品种（包括对照铭贤169）的抗谱均有差异，因此，这8个小麦品种可能有新的抗条锈病基因或基因组合。

2.2 小麦品种的抗条锈性聚类分析

将所有测试品种与反应型的组合转换为0、1矩阵，其中抗病反应型记录为1，感病反应型记录为0，通过UPGMA法聚类分析，将抗性相近的品种进行归类（图1），结果显示，供试的22个小麦品种可以分为Ⅰ和Ⅱ两大类。

表1 35份基因载体品种（包括对照铭贤169）及22份测试品种对19个小麦条锈菌系的反应型

Table 1 Infection types of 35 varieties of gene-carriers including the control Mingxian 169 and 22 tested wheat varieties to 19 races of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*

序号 No.	品种及 *Yr* 基因 Cultivar and *Yr* gene	小麦条锈菌系 *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*																		
		64E16	0E36	35E62	9E144	64E146	2E24	2E104	33E50	2E16	11E190	175E251	43E58	47E251	40E33	37E57	3E154	3E16	33E148	34E156
1	Chinese 166（*Yr1*）	0;$^{+}$	0;$^{+}$	4	3	0;$^{+}$	2	0;$^{+}$	4	0;	2^{+}	3	3	3^{-}	0;	3^{+}	3	2^{+}	4	1
2	Joss Cambier（*Yr2*）	1	2^{+}	1	2^{+}	1^{+}	2	1	0	1	2	2^{+}	1^{+}	2^{+}	1	0;$^{+}$	3^{-}	1	2	2
3	Heines Kolben（*Yr2,6*）	1	0;	0;$^{+}$	0;$^{+}$	1^{+}	2	0;	1	0;$^{+}$	0;	3^{-}	0;$^{+}$	2^{+}	1^{+}	3^{-}	0;	0;$^{+}$	0;$^{+}$	2
4	Maris Huntsman（*Yr2, 3, 4*）	3^{-}	3	1^{+}	2	0;$^{+}$	2	1^{+}	1	0;	3	3^{+}	0;$^{+}$	2^{+}	1^{+}	0;$^{+}$	3^{+}	0;$^{+}$	1^{+}	0;$^{+}$
5	Heines VII（*Yr2, HVII*）	2	0	2	2^{+}	2^{+}	2	1^{+}	2	2	2^{+}	3	2^{+}	3^{-}	2	2	3^{-}	2	2^{+}	2^{+}
6	Strubes Dickkopf（*YrSD*）	1^{+}	0	2^{+}	1	0;$^{+}$	0;	0	4	0	2	2^{+}	2^{+}	3	3	3	0;$^{+}$	0;$^{+}$	3	2^{+}
7	Virmorin 23（*Yr3,V23*）	0	1	2	2^{+}	1	1	0;$^{+}$	0;	0	2^{+}	3^{-}	2^{+}	3^{+}	3^{-}	1^{+}	0;$^{+}$	0;$^{+}$	0;	2
8	Nord Desprez（*Yr3*, +）	1^{+}	0	3	2	1^{+}	2^{+}	3	1	2	2^{+}	2^{+}	3^{-}	2^{+}	0;$^{+}$	3^{-}	3	0;$^{+}$	2	3
9	Mega（*Yr3, 4*）	2^{+}	0	1^{+}	2^{+}	0;$^{+}$	0;	0;$^{+}$	2^{+}	0;$^{+}$	2^{+}	3	1	3^{-}	1^{+}	3^{-}	0;$^{+}$	0;$^{+}$	1^{+}	2^{+}
10	Hybrid 46（*Yr4*,+）	1^{+}	1^{+}	1	2	0;$^{+}$	0;$^{+}$	0;$^{+}$	0;$^{+}$	0;$^{+}$	0	2^{+}	1^{+}	3^{-}	2^{+}	3^{-}	0;	0;$^{+}$	1^{+}	1
11	*T. spelta album*（*Yr5*）	0;	0	0;	0;	0;$^{+}$	0;$^{+}$	0;	1	0;	0;$^{+}$	0;	0;$^{+}$	0;$^{+}$	0;	0;$^{+}$	0	0	0;	0;$^{+}$
12	Lee（*Yr7, 22, 23*）	1	0	3	0;	3	3^{-}	2^{+}	1^{+}	3	2^{+}	2^{+}	3	3	1	1	2^{+}	2^{+}	2	3
13	Reichersberg 42（*Yr7*, +）	0;$^{+}$	1^{+}	3^{-}	0;	2^{+}	2	0;$^{+}$	3^{-}	2	3	4	2^{+}	3^{-}	0;$^{+}$	1^{+}	2^{+}	1^{+}	2	2
14	Compire（*Yr8, 19*）	3	2	3	3	2^{+}	3	1	2^{+}	3	3	4	3	4	1^{+}	3	2^{+}	3	4	3
15	Clement（*Yr9, Cle*）	0	0	0;	0	0;	0;	0;	0;	0	0;	3	0;	0;$^{+}$	0	0;	0	0	0	0
16	Lovrin 13（*Yr9*, +）	0;	0;	2	0	0;	0;	0;	0;	0	0;	3	0;	0;$^{+}$	0;	0;	0	0	0;	0
17	Moro（*Yr10, Mor*）	0;	0	0;$^{+}$	0	0;$^{+}$	0;	0	0	0;	0;	0;	0;	0;$^{+}$	0;	0	0	0;$^{+}$	0;	0
18	VPM1（*Yr17*）	1	2	3	2	0;$^{+}$	2	3	2^{+}	0;$^{+}$	2	3	3^{-}	2^{+}	0;$^{+}$	1^{+}	1	0;$^{+}$	0;$^{+}$	0
19	Fielcer（*Yr6, 20*）	0;$^{+}$	0;	3^{-}	0;$^{+}$	2	3	3^{-}	2^{+}	3^{+}	3	4	3^{-}	2^{+}	0;$^{+}$	0;$^{+}$	2	2^{+}	3^{-}	4
20	Lemhi（*Yr21*）	2	2^{+}	3	2	3	2^{+}	2^{+}	0	3^{+}	0;	4	3	3	2^{+}	3	2^{+}	2	3	4
21	K733（*Yr24*）	0;$^{+}$	2	3^{+}	3^{-}	2^{+}	2	0;$^{+}$	0;	2	2^{+}	3^{+}	0;$^{+}$	2	3	0;$^{+}$	0	1^{+}	2	0;
22	Avocet S*6/*Yr15*（*Yr15*）	0;	0	0;$^{+}$	0;	0	0	0;	0;	0;	0;	0	0;	0;$^{+}$	0	0;	0	0	0;	0
23	Tp981（*Yr25*）	0	0;	1	0;	0;	0;	0;	0;	0;$^{+}$	1	2^{+}	0;$^{+}$	0;$^{+}$	0;	0;$^{+}$	3	0	0;$^{+}$	0
24	Line R55（*Yr26*）	0;	1	0;	0;$^{+}$	0;$^{+}$	1	1^{+}	0;	1	0;$^{+}$	0;	0;$^{+}$	1	0;$^{+}$	0;$^{+}$	0	1	0;$^{+}$	0;$^{+}$
25	Selkirk（*Yr27*）	0;	2^{+}	2^{+}	2	3^{-}	1^{+}	3	0	0	0;	3	3^{-}	2	3	3	1^{+}	3	3^{+}	2
26	*T. tauschii* W-219（*Yr28*）	0;	0;'	0;'	0;'	0;'	0;	0;$^{+}$	1	0;	1^{+}	3^{-}	0;$^{+}$	0;	0;	3	0;$^{+}$	0;$^{+}$	0;	0
27	Carstens V（*Yr32*）	2	3	2^{+}	0;	1	1	2^{+}	2^{+}	1^{+}	3^{-}	2^{+}	1^{+}	2^{+}	3^{-}	3	0;$^{+}$	1	2	0;
28	Spaldings Prolific（*YrSpP*）	0;$^{+}$	0;$^{+}$	0;	0;	0;	0;	2^{+}	1	0	1^{+}	2^{+}	0;	2^{+}	1^{+}	0;$^{+}$	0	0;$^{+}$	1^{+}	2
29	Resulka（*YrRes*）	0	0;$^{+}$	2	0;	0;	0;	1^{+}	0;	0	2	3	0;	0;$^{+}$	2	3^{-}	0	0	0;	0

续表1 Continued

序号 No.	品种及*Yr*基因 Cultivar and *Yr* gene	小麦条锈菌系 *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*																		
		64E16	0E36	35E62	9E144	64E146	2E24	2E104	33E50	2E16	11E190	175E251	43E58	47E251	40E33	37E57	3E154	3E16	33E148	34E156
30	C591（*YrC591*）	1	2	0;$^{+}$	2^{+}	2	0	1	0;	1	2	1^{+}	2	2	1^{+}	2	1	0;$^{+}$	0;$^{+}$	0;
31	Avocet S*6/*Yr6*（*Yr6*）	0;$^{+}$	0;$^{+}$	0;$^{+}$	0;$^{+}$	1	2^{+}	3^{-}	2^{+}	3^{-}	2	2^{+}	3	2^{+}	0;$^{+}$	1^{+}	3	2	2	0
32	Avocet S*6/*Yr6*（*Yr7*）	1^{+}	1^{+}	1^{+}	2^{+}	3	2	3	3^{-}	2^{+}	3^{+}	2^{+}	4	3^{-}	1^{+}	1^{+}	4	2^{+}	3^{-}	4
33	Avocet S*6/*Yr8*（*Yr8*）	0;$^{+}$	0;$^{+}$	2	1^{+}	3	2	3	1^{+}	3	2	3	4	2	0;	1^{+}	0;$^{+}$	4	3^{-}	3
34	Avocet S*6/*Yr9*（*Yr9*）	0;	0;	0	0;	0;	0;$^{+}$	0	0	0;	0;	3^{-}	0;	0;$^{+}$	0	2	0	0	0;	0
35	铭贤169 Mingxian 169（None）	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
36	许麦9号 Xumai 9	0;	0;	0	0;	0;	0;	0;	0	0;	-	2^{+}	0;	0;	0;	-	0	0;	0;	0;
37	豫展9907 Yuzhan 9907	2	3^{-}	3^{+}	3^{-}	3	2^{+}	3^{-}	3	2^{+}	3^{-}	2^{+}	2	2^{+}	3^{-}	2	1^{+}	0;$^{+}$	2	1^{+}
38	驻97039 Zhu 97039	0	0;$^{+}$	0;	0;	0	0	0;	0;	0	0	2^{+}	0;	0;	0	0	0	0	0	0
39	B105	0;	0;$^{+}$	0;	0;	0	0	0;	0;$^{+}$	0;	0	3	0;	0;	0	0	0	0	0	0
40	郑丰9962 Zhengfeng 9962	0;	0	0;	0	0	0	0	0	0	0	3^{-}	0	0	0	0	0	0;	0;	0
41	群喜麦4号 Qunximai 4	0;	2	3^{+}	3	0;	3	0;	2^{+}	0;	3	2^{+}	3^{-}	1^{+}	0;	1^{+}	1^{+}	0;$^{+}$	3^{+}	3
42	郑麦2015 Zhengmai 2015	0;	3	2^{+}	0;	0;	0;	0;	0;	0;$^{+}$	3	2^{+}	2	2^{+}	0;	2	0	0;$^{+}$	0	0;
43	偃展4110 Yanzhan 4110	0	0;	0;	0;	0	0;	0;	0;	0;$^{+}$	0;	2^{+}	0;$^{+}$	0;$^{+}$	0;	0;	0;	0;	0;	0;
44	新麦139 Xinmai 139	2	1^{+}	3^{-}	0;	2^{+}	0;	3	2^{+}	2^{+}	2	0;$^{+}$	4	1^{+}	0;$^{+}$	2	1	4	4	3
45	泛麦06036 Fanmai 06036	0	0;$^{+}$	0;	0;	0	0	1	0	0	0;	3^{-}	0;	0;	0	0	0	0;$^{+}$	0	0
46	开020 Kai 020	1	3	2^{+}	3	2^{+}	3^{-}	3^{-}	3^{-}	3	3	4	2	4	2	3	3^{-}	3^{-}	3	2^{+}
47	偃师009 Yanshi 009	0;	3	3^{-}	-	0;	0;	0;	-	0;$^{+}$	2	1^{+}	2^{+}	4	0;	2^{+}	2^{+}	0;	2	0;
48	太学838 Taixue 838	0;$^{+}$	3^{+}	3	2^{+}	0;	0;	0;$^{+}$	3	0;	3	3	2^{+}	2^{+}	0	0	1^{+}	0;$^{+}$	0;	0;
49	浚2016 Jun 2016	0;	0;$^{+}$	0;$^{+}$	0;	0;	0;	0;$^{+}$	0;	0;$^{+}$	0;	3	0	0;$^{+}$	0;	2^{+}	0	0	0;	0;
50	国麦218 Guomai 218	0	0	0;	0;	0	0;	0;	0;	0	0;	4	0	0	0	0;	0	0;	0;	0
51	郑00524 Zheng 00524	2^{+}	3^{-}	3	4	2	3	3^{-}	3^{-}	3	3	3	4	3	3^{+}	3^{-}	1	1	2	4
52	豫教0504 Yujiao 0504	0	0	0;	0;	0	0	0;	0	0;	0	2	0;$^{+}$	0;	0;	0	0	0;	0;	0;
53	濮兴1号 Puxin 1	0	3	3	2^{+}	0;	0;	0	2	0;$^{+}$	2^{+}	3	3	2	0	3	2^{+}	0;	3	0
54	漯丰0618 Luofeng 0618	3^{-}	2^{+}	1	3^{-}	2^{+}	2	3^{-}	3^{-}	2	2^{+}	2	2	2^{+}	2	2	2^{+}	0;$^{+}$	2	3^{-}
55	洛99220 Luo 99220	0;	0	0;	0;	0	0	0	0	0;	0	3	0;	0;$^{+}$	0	0	0	0;	0	0;
56	瑞星989 Ruixing 989	2	2	2^{+}	3	2^{+}	2^{+}	4	2^{+}	2^{+}	2^{+}	3^{-}	1^{+}	3^{-}	3^{+}	3^{-}	0;$^{+}$	2^{+}	3	3
57	郑麦7698 Zhengmai 7698	0	0;	0;	0;	0;	0;	0;	0;	0	0;$^{+}$	4	0;	0;	0;	0;	0	0	0;	0

1~35: 已知基因载体品种; 36~57: 待测品种; None: 代表无抗病基因。1−35: Cultivars with known *Yr* gene (genes); 36−57: cultivars under test; None; no gene (genes).

I类包括许麦9号、驻97039、B105、郑丰9962、郑麦7698、偃展4110、洛99220、泛麦06036、国麦218、豫教0504、浚2016、群喜麦4号、郑麦2015、太学838、濮兴1号、偃师009共16份品种，均对小麦条锈菌系64E16、64E146、2E104、2E16、40E33和3E16表现抗性，除豫教0504对小麦条锈菌系175E251表现抗病外，其余15份品种对小麦条锈菌系175E251均表现感病。供试品种中I类品种抗谱较宽。驻97039、B105、郑丰9962、偃展4110、泛麦06036、国麦218、洛99220和郑麦7698共8份品种只感染小麦条锈菌系175E251；抗谱最窄的群喜麦4号也抗10个供试小麦条锈菌系。I类又分为I-a、I-b和I-c三个亚类，I-a类包括许麦9号、驻97039、B105、郑丰9962、郑麦7698、偃展4110、洛99220、泛麦06036、国麦218、豫教0504和浚2016共11个品种，此类品种除了对小麦条锈菌系11E19、175E251和37E57抗感表现有差异外，对其余小麦条锈菌系均表现抗病；I-b类包括群喜麦4号、郑麦2015、太学838和濮兴1号共4个品种，除了具有I类的特征外，均感染小麦条锈菌系35E62和11E190；偃师009的抗性谱区别于I类品其余品种，独自归为I-c类。

II类包括豫展9907、郑00524、开020、瑞星989、漯丰0618和新麦139共6份品种。II类品种均感染小麦条锈菌系2E104和33E50。II类也分为II-a、II-b和II-c三个亚类，其中豫展9907、郑00524、开020和瑞星989分为II-a类，此类品种除具有II类的特征外，还均感染条小麦锈菌系35E62、9E144、2E24、2E16、11E190、175E251、47E251；漯丰0618和新麦139两个品种在II类中，均有各自的抗性特点，分别划分为II-b类和II-c类。

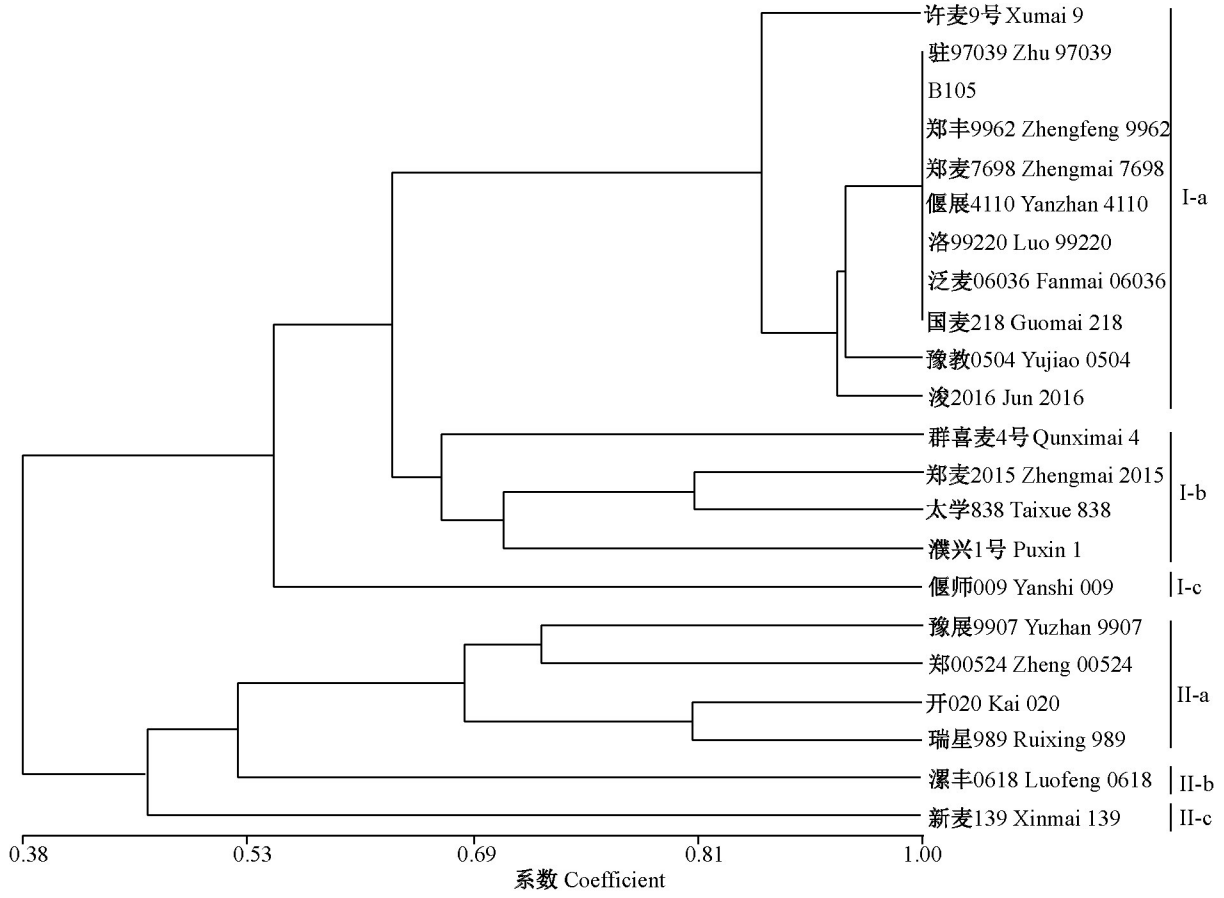


图1 采用UPGMA法构建22份小麦品种抗条锈性聚类分析树状图

Fig. 1 Dendrogram of cluster analysis by UPGMA for 22 wheat varieties based on the stripe rust resistance

2.3 小麦抗病基因分子检测

提取22份小麦品种、*Yr1*基因载体品种Chinses 166和Avocet S*6/*Yr1*、*Yr10*基因载体品种Moro和Avocet S*6/*Yr10*、*Yr24*基因载体品种K733和对照品种铭贤169、Taichung 29的基因组DNA，DNA纯度电泳检测结果显示，DNA的提取质量较理想，可以用于分子检测（图2）。

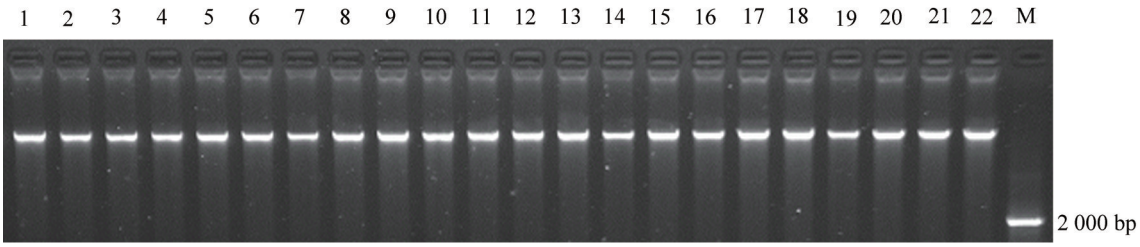


图2　利用琼脂糖电泳检测22份小麦品种基因DNA

Fig. 2 Genomic DNAs of 22 wheat cultivars detected by agarose electrophoresis

M：D2000 marker；1~22：许麦9号、豫展9907、驻97039、B105、郑丰9962、群喜麦4号、郑麦2015、偃展4110、新麦139、泛麦06036、开020、偃师009、太学838、浚2016、国麦218、郑00524、豫教0504、濮兴1号、漯丰0618、洛99220、瑞星989、郑麦7698. M：D2000 marker；1−22：Xumai 9, Yuzhan 9907, Zhu 97039, B105, Zhengfeng 9962, Qunximai 4, Zhengmai 2015, Yanzhan 4110, Xinmai 139, Fanmai 06036, Kai 020, Yanshi 009, Taixue 838, Jun 2016, Guomai 218, Zheng 00524, Yujiao 0504, Puxing 1, Luofeng 0618, Luo 99220, Ruixing 989 and Zhengmai 7698.

抗条锈病基因 *Yr1* 的基因载体品种是Chinese 166和Avocet S*6/*Yr1*，对照品种是铭贤169和Taichung 29，结果显示，以Chinese 166和Avocet S*6/*Yr1* 的DNA为模板的PCR产物中具有 *Yr1* 的特征带，而以铭贤169和Taichung 29的DNA为模板的PCR产物中不具有 *Yr1* 的特征带。以供试小麦品种的DNA为模板，PCR产物中具有 *Yr1* 的特征带的小麦品种包括豫展9907、驻97039、B105、郑丰9962、群喜麦4号、偃展4110、新麦139、太学838、郑00524、豫教0504和洛99220共11份（图3-A）。

抗条锈病基因 *Yr10* 的基因载体品种是Moro和Avocet S*6/*Yr10*，对照品种是铭贤169和Taichung 29，结果显示，以Moro和Avocet S*6/*Yr10* 的DNA为模板的PCR产物中具有 *Yr10* 的特征带，而以铭贤169和Taichung 29的DNA为模板的PCR产物中不具有 *Yr10* 的特征带。以供试品种的DNA为模板，PCR产物中具有 *Yr10* 的特征带的品种有开020和太学838（图3-B）。

抗条锈病基因 *Yr24* 的基因载体品种是K733，对照品种是铭贤169和Taichung 29，结果显示，以K733的DNA为模板的PCR产物中具有 *Yr24* 的特征带，而对照品种的DNA为模板的PCR产物中不具有 *Yr24* 的特征带。以供试品种的DNA为模板，22份品种DNA的PCR产物均不具有 *Yr24* 的特征带（图3-C）。

3 讨论

基因推导法具有鉴定新的抗条锈病基因或者未知抗病基因组合的优点（Singh et al.，2001）。Wang et al.（2009）通过基因推导法发现人工合成小麦CI142的小种特异性与21份已知抗条锈病基因品种不同；Feng et al.（2009）通过基因推导法发现7个测试小麦品种Atou、Flanders、Maris Huntsman、Bouquet、Holdfast、Elite Lepeuple和Vilmorin 27可能含有6个苗期抗条锈病基因或者基因组合（*Yr1*、*Yr2*、*Yr2*+*YrHVII*、*Yr3*+unknown、*Yr3*+*Yr4*、*YrAlba*）；Xu et al.（2011）通过基因推导法发现18个测试品种中含有 *Yr1*、*Yr2*、*Yr3*、*Yr4*、*Yr6*、*Yr7*、*Yr8*、*Yr9*、*Yr17*、*Yr20*、*Yr21*、*Yr22*、*Yr23*、*Yr24*、*Yr27*、*Yr32*、*YrHVII*、*YrSD*、*YrV23*、*YrRes*、*YrC591* 和 *YrCl*e共22个苗期抗条锈病基因或者基因组合。本研究通过基因推导分析发现，豫教0504可能含有抗条锈病基因 *Yr5*、*Yr10*、*Mor*、*Yr15*、*Yr26*；群喜麦4号可能含有抗条锈病基因组合 *Yr8*+*Yr19*；郑麦2015、偃师009和浚2016可能分别含有抗条锈病基因 *Yr32*、*Yr21* 和 *Yr28*（或者 *YrRes*）；许麦9号、驻97039、B105、郑丰9962、偃展4110、泛麦06036、国麦218、洛99220和郑麦7698共9份小麦品种可能携带抗条锈病基因 *Yr9*，聚类分析中除许麦9号外，也分在一个亚类中，说明品种选育过程中，存在抗源利用单一的问题。本试验结果还发现豫展9907、新麦139、开020、太学838、郑00524、濮兴1号、漯丰0618和瑞星989可能携带未知的抗病基因或基因组合，这些品种中除太学838和濮兴1号外均聚在第II类中，是新的抗锈基因资源，说明品种选育中为避免抗性单一，提高了未知抗性基因的利用。这些发现将为利用基因布局防控小麦条锈病及分子育种提供理论支撑。

尽管基因推导可以快速、简便测定大量材料的抗条锈病基因组成，但是由于不能排除基因互作以及基因与环境间的互作，其应用具有一定的局限性

（白玉路等，2010）。*Yr1*、*Yr10*和*Yr24*在我国小麦育种中利用率较高（张胜利等，2011；董淑静等，2012；张玉薇等，2014），因此研究中辅以SSR分子标记检测抗病基因*Yr1*、*Yr10*、*Yr24*，其结果可与基因推导分析相互印证。本试验利用SSR分子标记检测抗病基因发现，豫展9907、驻97039、B105、郑丰9962、群喜麦4号、偃展4110、新麦139、太学838、郑00524、豫教0504和洛99220共11份品种含有*Yr1*，其中驻97039、B105、郑丰9962、偃展4110、豫教0504和洛99220共7份小麦品种基因推导分析携带抗条锈病基因*Yr1*；而豫展9907、群喜麦4号、新麦139、太学838、郑00524这5份品种，通过基因推导显示不含有抗条锈病基因*Yr1*。造成这种差异的原因一方面可能是DNA分子标记容易出现假阳性，另一方面也可能是水分、温度等环境条件或基因间互作、菌株毒性对基因推导试验具有一定的影响（白玉路等，2010）。小麦品种开020和太学838通过SSR分子标记检测到抗条锈病基因*Yr10*，基因推导发现*Yr10*、*Mor*基因载体品种More的抗谱宽于开020和太学838的抗谱，因此小麦品种开020和太学838可能含有抗条锈病基因*Yr10*。SSR分子标记检测和基因推导分析均未检测出含*Yr24*的品种，表明测试品种可能不具有抗条锈病基因*Yr24*。但是基因推导中许麦9号、驻97039、B105、郑丰9962、偃展4110、泛麦06036、国麦218、豫教0504、洛99220和郑麦7698的抗谱宽于抗条锈病基因*Yr24*的载体品种K733。因此，这几个品种是否含有抗条锈病基因*Yr24*，还需要进一步深入研究。

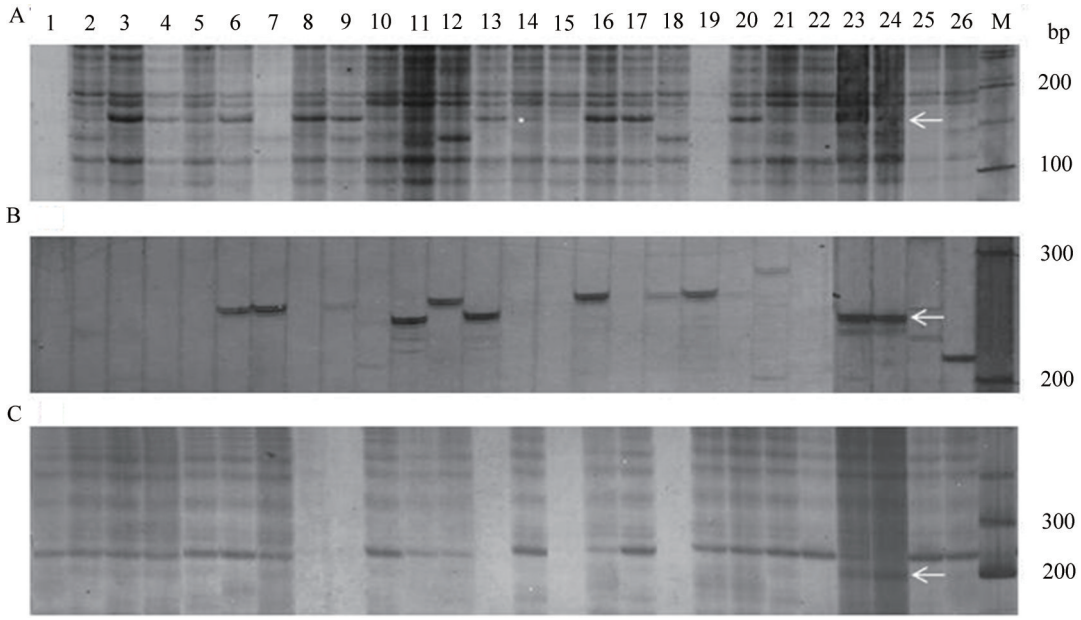


图3 22份测试小麦品种*Yr1*（A）、*Yr10*（B）和*Yr24*（C）分子检测

Fig. 3 Molecular detection of *Yr1*（A）, *Yr10*（B）and *Yr24*（C）for 22 tested wheat varieties

M：D2000 marker，1~22：许麦9号、豫展9907、驻97039、B105、郑丰9962、群喜麦4号、郑麦2015、偃展4110、新麦139、泛麦06036、开020、偃师009、太学838、浚2016、国麦218、郑00524、豫教0504、濮兴1号、漯丰0618、洛99220、瑞星989、郑麦7698；A图中23~26：Chinese 166、Avocet S*/*Yr1*、铭贤169、Taichung 29；B图中23~26：More、Avocet S*/*Yr10*、铭贤169、Taichung 29；C图中23~26：K733、K733、铭贤169、Taichung 29。箭头为特异性条带。1−22：Xumai 9，Yuzhan 9907，Zhu 97039，B105，Zhengfeng 9962，Qunximai 4，Zhengmai 2015，Yanzhan 4110，Xinmai 139，Fanmai 06036，Kai 020，Yanshi 009，Taixue 838，Jun 2016，Guomai 218，Zheng 00524，Yujiao 0504，Puxing 1，Luofeng 0618，Luo 99220，Ruixing 989，Zhengmai 7698; 23−26 in Fig.C：Chinese 166，Avocet S*/*Yr1*，Mingxian169 and Taichung 29；23−26 in Fig. B：More，Avocet S*/*Yr10*，Mingxian 169 and Taichung 29；23−26 in Fig. C：K733，K733，Mingxian 169 and Taichung 29. The arrow indicates specific bands.

抗条锈病基因*Yr10*和*Yr24*是对当前小麦条锈菌流行小种具有有效抗性的抗病基因，现在针对二者都出现了致病性的菌株（Chen et al.，2009；Liu et al.，2010），此情况需引起有关部门高度重视，适当减少含有*Yr10*和*Yr24*基因品种的大面积种植，避免条锈病流行；*Yr15*对当前小麦条锈菌流行小种具有有效抗性，并且未发现对*Yr15*基因致病性的菌系，因此*Yr15*应用潜力较大。本研究发现测试品种豫教0504可能含有抗条锈病基因*Yr15*，后续需对其进行抗条锈性遗传分析以及对其抗病基因进行定位，并分析其与基因*Yr15*的关系，以加强对此抗病种质的利用。

参 考 文 献（References）

Bai YL, Zhang ZY, Xu SC, Lin F. 2010. Advances in gene postulation in the wheat rust. Plant Protection, 36(4): 36−40 (in Chinese) [白玉路, 章振羽, 徐世昌, 林凤. 2010. 小麦锈病抗性基因推导研究进展. 植物保护, 36(4): 36−40]

Bansal UK, Hayden MJ, Keller B, Wellings CR, Park RF, Bariana HS. 2009. Relationship between wheat rust resistance genes *Yr1* and *Sr48* and a microsatellite marker. Plant Pathology, 58(6): 1039−1043

Chen WQ, Wu LR, Liu TG, Xu SC, Jin SL, Peng YL, Wang BT. 2009. Race dynamics, diversity and virulence evolution in *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*, the causal agent of wheat stripe rust in China from 2003 to 2007. Plant Disease, 93(11): 1093−1101

Dong SJ, Xu WG, Hu L, Dong HB, Zhang JZ, Zan XC, Li ZL. 2012. Molecular detection of stripe rust resistant genes in 43 wheat varieties planted in Henan Province. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 27(5): 157−162 (in Chinese) [董淑静, 许为钢, 胡琳, 董海滨, 张建周, 咎香存, 李正玲. 2012. 43个河南主推小麦品种抗条锈病基因的分子检测. 华北农学报, 27(5): 157−162]

Dong Z, Hegarty JM, Zhang J, Zhang W, Chao S, Chen X, Zhou Y, Dubcovsky J. 2017. Validation and characterization of a QTL for adult plant resistance to stripe rust on wheat chromosome arm 6BS (*Yr78*). Theoretical and Applied Genetics, 130(10): 2127−2137

Dubin HJ, Johnson R, Stubbs RW. 1989. Postulated genes for resistance to stripe rust in selected CIMMYT and related wheats. Plant Disease, 73(6): 472−475

Feng J, Zhang ZY, Lin RM, Xu SC. 2009. Postulation of seedling resistance genes in 20 wheat cultivars to yellow rust (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*). Agricultural Sciences in China, 8(12): 1429−1439

Hu XP, Wang BT, Kang ZS. 2014. Research progress on virulence variation of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in China. Journal of Triticeae Crops, 34(5): 709−716 (in Chinese) [胡小平, 王保通, 康振生. 2014. 中国小麦条锈菌毒性变异研究进展. 麦类作物学报, 34(5): 709−716]

Liu B, Liu TG, Zhang ZY, Jia QZ, Wang BT, Gao L, Peng YL, Jin SL, Chen WQ. 2017. Discovery and pathogenicity of CYR34, a new race of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in China. Acta Phytopathologica Sinica, 47(5): 681−687 (in Chinese) [刘博, 刘太国, 章振羽, 贾秋珍, 王保通, 高利, 彭云良, 金社林, 陈万权. 2017. 中国小麦条锈菌条中34号的发现及其致病特性. 植物病理学报, 47(5): 681−687]

Liu TG, Peng YL, Chen WQ, Zhang ZY. 2010. First detection of virulence in *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in China to resistance genes *Yr24*/*Yr26* present in wheat cultivar Chuanmai 42. Plant Disease, 94(9): 1163

Liu TG, Wang BT, Jia QZ, Zhang ZY, Li Q, Cao SQ, Peng YL, Jin SL, Li MJ, Liu B, et al. 2012. Physiologic specialization of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in China during 2010—2011. Journal of Triticeae Crops, 32(3): 574−578 (in Chinese) [刘太国, 王保通, 贾秋珍, 章振羽, 李强, 曹世勤, 彭云良, 金社林, 李明菊, 刘博, 等. 2012. 2010—2011年度我国小麦条锈菌生理专化研究. 麦类作物学报, 32(3): 574−578]

Liu YP, Cao SH, Wang XP, Xu ZB, Zhang XQ, Jing JX. 2005. Molecular mapping of stripe rust resistance gene *Yr24* in wheat. Acta Phytopathologica Sinica, 35(5): 478−480 (in Chinese) [刘亚萍, 曹双河, 王献平, 徐智斌, 张相岐, 井金学. 2005. 小麦抗条锈病基因*Yr24*的SSR标记. 植物病理学报, 35(5): 478−480]

Lowe I, Jankuloski L, Chao SM, Chen XM, See D, Dubcovsky J. 2011. Mapping and validation of QTL which confer partial resistance to broadly virulent post-2000 North American races of stripe rust in hexaploid wheat. Theoretical and Applied Genetics, 123: 143−157

Lupton FGH, Macer RCF. 1962. Inheritance of resistance to yellow rust (*Puccinia glumarum* Erikss. & Henn.) in seven varieties of wheat. Transaction British Mycological Society, 45(1): 21−45

Mallard S, Gaudet D, Aldeia A, Abelard C, Besnard AL, Sourdille P, Dedryver F. 2005. Genetic analysis of durable resistance to yellow rust in bread wheat. Theoretical and Applied Genetics, 110(8): 1401−1409

Rohlf F. 2000. NTSYS-pc numerical taxonomy and multivariate analysis system ver 2.11 L manual. New York: Applied Biostatistics

Singh D, Park RF, McIntosh RA. 2001. Postulation of leaf (brown) rust resistance genes in 70 cultivars grown in the United Kingdom. Euphytica, 120(2): 205−218

Wan AM, Zhao ZH, Wu LR. 2003. Reviews of occurrence of wheat stripe rust disease in 2002 in China. Plant Protection, 29(2): 5−8 (in Chinese) [万安民, 赵中华, 吴立人. 2003. 2002年我国小麦条锈病发生回顾. 植物保护, 29(2): 5−8]

Wang H. 2008. Molecular marker development and localization of the stripe rust resistance gene *Yr1* in Chinese 166. Master Thesis. Harbin: Northeast Agricultural University (in Chinese) [王海. 2008. Chinese 166抗条锈病基因*Yr1*分子标记建立及基因定位. 硕士学位论文. 哈尔滨: 东北农业大学]

Wang LF, Ma JX, Zhou RH, Wang XM, Jia JZ. 2002. Molecular tagging of the yellow rust resistance gene *Yr10* in common wheat, P. I.178383 (*Triticum aestivum* L.). Euphytica, 124: 71−73

Wang LM, Zhang ZY, Liu HJ, Xu SC, He MZ, Liu HX, Veise Q, Xin ZY. 2009. Identification, gene postulation and molecular tagging of a stripe rust resistance gene in synthetic wheat CI142. Cereal Research Communications, 37(2): 209−215

Xu XD, Feng J, Lin RM, Hussain K, Xu SC, Lin F. 2011. Postulation of stripe rust resistance genes in 44 Chinese wheat cultivars. International Journal of Agriculture & Biology, 13(5): 665−670

Zhang SL, Li DF, He J, Hu HY, Zhao JJ. 2011. Study on distribution of *Yr24* molecular marker among different resistance cultivars of wheat. Guangdong Agricultural Sciences, 38(7): 147−148 (in Chinese) [张胜利, 李东方, 贺杰, 胡海燕, 赵俊杰. 2011. 小麦不同抗性材料中抗条锈病基因*Yr24*分子标记分布研究. 广东农业科学, 38(7): 147−148]

Zhang YW, Liu B, Liu TG, Gao L, Chen WQ. 2014. Molecular detection of *Yrl0* and *Yrl8* genes and 1BL/1RS translocation in wheat cultivars. Plant Protection, 40(1): 54−59 (in Chinese) [张玉薇, 刘博, 刘太国, 高利, 陈万权. 2014. 小麦品种抗条锈病基因*Yr10*、*Yr18*及1BL/1RS易位的分子检测. 植物保护, 40(1): 54−59]

Zheng S, Li Y, Lu L, Liu Z, Zhang C, Zhang C, Ao D, Li L, Zhang C, Liu R, et al. 2017. Evaluating the contribution of *Yr* genes to stripe rust resistance breeding through marker-assisted detection in wheat. Euphytica, 213(2): 50

（责任编辑：王 璇）