



## 348 份小麦种质中抗条锈病基因 *Yr5*、*Yr10* 和 *Yr18* 的分子标记检测与分布

董娜, 胡海燕, 胡铁柱, 李淦, 李小军,  
陈向东, 张亚娟, 茹振钢

(河南科技学院 小麦中心, 现代生物育种河南省协同创新中心, 河南省高等学校作物分子  
育种重点开放实验室, 河南新乡 453003)

**摘要** 利用共分离或紧密连锁的分子标记 S1320、SC<sub>200</sub> 和 csLV34, 对收集于全国多个育种单位的 348 份小麦种质进行检测。结果表明: *Yr5* 连锁标记 S1320 阳性的种质有 122 份, *Yr10* 连锁标记 SC<sub>200</sub> 阳性的种质有 80 份, *Yr18* 连锁标记 csLV34 阳性的种质有 7 份, 检出率分别为 35.06%、22.99% 和 2.01%。分子标记阳性的种质中抗病性表现并不一致, 标记阳性且表现抗病的种质分别有 27 份、11 份和 3 份, 这些种质主要来自陕西、北京和江苏。抗病基因聚合种质抗病性鉴定结果表明, *Yr5* 和 *Yr18* 聚合时对条锈病表现高抗或免疫, *Yr10* 与 *Yr5* 或 *Yr18* 聚合则不能有效提高种质的条锈病抗性。此外, 有 10 份种质虽然未检出上述 3 个基因, 但是对条锈病表现近免疫, 是抗条锈病育种的重要资源。

**关键词** 小麦; 条锈病; 抗病基因; 分子标记

**中图分类号** S512.1

**文献标志码** A

**文章编号** 1004-1389(2019)12-1960-09

小麦条锈病是由条形柄锈菌小麦专化型 (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) 引起的真菌病害, 具有流行速度快、分布范围广等特点, 在中国曾发生多次大流行, 是严重影响小麦生产的重要常发病害之一<sup>[1]</sup>。一般流行年份小麦减产 10%~20%, 较大流行年份减产超过 30%, 严重的甚至颗粒无收。如 2002 年全国小麦条锈病大流行, 发病面积近 670 万 hm<sup>2</sup>, 遍及甘、陕、川、渝、云、贵、宁、鄂、豫、鲁、冀 11 个省(区), 小麦产量损失约 10 亿 kg<sup>[2]</sup>。

实践证明, 培育和利用抗病品种是控制小麦条锈病最经济、有效和环境安全的措施<sup>[3-5]</sup>。迄今, 国际上已发现 100 多个抗小麦条锈病基因, 正式命名编号至 *Yr79*<sup>[6-7]</sup>。然而, 由于小麦条锈菌群体结构复杂, 新毒性小种不断形成, 抗病基因会因为条锈病菌毒力频率变化或新的毒力型的出现而丧失抗性<sup>[8-9]</sup>。例如, *Yr1*、*Yr2*、*Yr6*、*Yr7*、*Yr8*、*Yr9*、*Yr17* 等在中国已丧失抗性, 最近几年由于条锈病菌新致病类型 V26(目前未正式命名)的出

现, *Yr24*/*Yr26* 类抗源也丧失抗性<sup>[10]</sup>。因此, 发掘新的抗条锈病基因, 拓宽抗性基因遗传资源, 对中国小麦抗条锈病育种至关重要。

国内学者在抗条锈病基因有效性评价和抗病种质资源筛选方面开展了大量基础性工作。王树和等<sup>[11]</sup>利用苗期抗病性鉴定和分子标记技术, 评价了 100 个四川省近年小麦生产品种和后备品种对条锈菌流行小种的抗性水平, 以及 *Yr5*、*Yr9* 等已知基因在该地区的分布状况。孙建鲁等<sup>[12]</sup>对 100 个小麦品种资源进行了抗条锈性鉴定和重要抗条锈病基因的 SSR 检测, 从中筛选出具有稳定抗病性的品种 8 个。侯璐等<sup>[13]</sup>通过苗期分小种接种和大田成株期自然诱发, 对 81 份春小麦种质资源的抗条锈性进行评价, 鉴定出全生育期抗性资源 7 份, 成株期抗性资源 39 份。曾庆东等<sup>[10]</sup>利用当前流行频率最高的条锈菌生理小种 CYR32 和 CYR33, 以及对 *Yr26* 有毒性的新菌系 V26/CM42, 通过对携带已知抗条锈病基因的小麦材料进行苗期和成株期抗病性鉴定, 评估了各

收稿日期:2019-04-23 修回日期:2019-05-24

基金项目:国家重点研发计划(2016YFD0101602);国家自然科学基金(31301002);河南省高校重点科研项目(18A210001)。

第一作者:董娜, 女, 博士, 讲师, 主要从事小麦分子遗传与育种研究。E-mail: dongnashi@163.com

通信作者:茹振钢, 男, 教授, 硕士生导师, 主要从事小麦遗传育种研究。E-mail: rzgh58@163.com

已知 *Yr* 基因在中国抗条锈病育种中的有效性。韩德俊等<sup>[14]</sup>通过对 1 980 份小麦地方品种和国外种质进行抗条锈性鉴定与评价,筛选出具有全生育期抗性的种质 8 份,具成株期抗性的种质 42 份。李峰奇等<sup>[15]</sup>通过对黄淮麦区 126 个小麦品种(系)进行条锈病抗性鉴定和抗病基因分子标记检测,发现黄淮麦区小麦品种对当前条锈菌流行小种的抗性水平较低,对新小种抗性良好的 *Yr5*、*Yr10* 等基因分布频率很低。这些研究对小麦抗条锈病育种具有重要意义。

小麦抗条锈病基因 *Yr5*、*Yr10* 和 *Yr18* 对当前条锈病流行小种仍保持一定抗性。因此,本研究利用与抗条锈病基因 *Yr5*、*Yr10* 和 *Yr18* 共分离或紧密连锁的分子标记 S1320<sup>[16]</sup>、SC<sub>200</sub><sup>[17]</sup> 和 csLV34<sup>[18]</sup>,对河南科技学院小麦中心收集的 348 份小麦种质进行检测,了解现有育种材料中抗性基因 *Yr5*、*Yr10* 和 *Yr18* 的分布状况,同时结合田

间鉴定对种质材料的抗病性进行评价,以期小麦抗条锈病材料的合理利用以及抗条锈病基因聚合育种提供参考依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

1.1.1 小麦种质与条锈病菌 348 份小麦种质均为育成品种(系),由河南科技学院小麦中心收集和保存,其中 114 份来源于河南省各育种单位,其余 234 份收集于全国多个麦区。条锈病菌为生产上流行小种 CYR32 和 CYR33 混合菌株,购自中国农科院植保所。

1.1.2 主要试剂与仪器  $2\times Taq$  Master Mix 购自北京康为世纪生物科技有限公司; Gene Amp PCR System 9700 型 PCR 仪购自 ABI; 试验所用的分子标记引物由北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司合成,其序列见表 1。

表 1 标记及序列

Table 1 Markers and their sequences used in this research

| 基因名称<br>Gene | 标记名称<br>Marker    | 引物序列<br>Primer sequence                | 退火温度/℃<br>Annealing temperature | 遗传距离/cM<br>Genetic distance |
|--------------|-------------------|----------------------------------------|---------------------------------|-----------------------------|
| <i>Yr5</i>   | S1320             | S1320-F; 5'-CAATAGTTAGGCAAATTACATCG-3' | 60                              | 0                           |
|              |                   | S1320-R; 5'-TGCAAAGTACCTCATTTTGAGAA-3' |                                 |                             |
| <i>Yr10</i>  | SC <sub>200</sub> | SC200-F; 5'-CTGCAGAGTGACATCATACA-3'    | 55                              | 0.5                         |
|              |                   | SC200-R; 5'-TCGAACTAGTAGATGCTGGC-3'    |                                 |                             |
| <i>Yr18</i>  | csLV34            | csLV34F; 5'-GTTGGTTAAGACTGGTGATGG-3'   | 55                              | 0.4                         |
|              |                   | csLV34R; 5'-TGCTTGCTATTGCTGAATAGT-3'   |                                 |                             |

### 1.2 方 法

1.2.1 小麦种质的种植及条锈病抗性调查 所有小麦种质均种植于河南科技学院小麦中心位于新乡市辉县的种质圃中,每份种质播种两行,行长 4 m,畦埂上种诱发行('石家庄 8 号'),常规田间管理,第二年春季小麦返青后取样检测。于 3 月中下旬小麦拔节期,采用孢子悬液注射法进行条锈菌接种,每行接种 1 个分蘖,灌浆初期调查条锈病发病情况,病级划分采用 0~4 级法<sup>[19]</sup>。条锈病抗性于 2014—2017 年连续调查 3 a,病级按发病最重的统计。

1.2.2 基因组 DNA 提取 取 0.2 g 左右小麦幼苗叶片放入 1.5 mL 离心管中,液氮冷冻研磨后,采用 CTAB 法<sup>[20]</sup>提取基因组 DNA, DNA 提取效果通过 10 g/L 琼脂糖凝胶电泳检测。

1.2.3 分子标记检测 PCR 反应体系为 20  $\mu$ L, 包括  $2\times Taq$  Master Mix 10  $\mu$ L, 10  $\mu$ mol/L 特异引物各 0.5  $\mu$ L, DNA 模板 50~100 ng, 剩下用 ddH<sub>2</sub>O 补足。S1320 的扩增程序为 94  $^{\circ}$ C 预变性

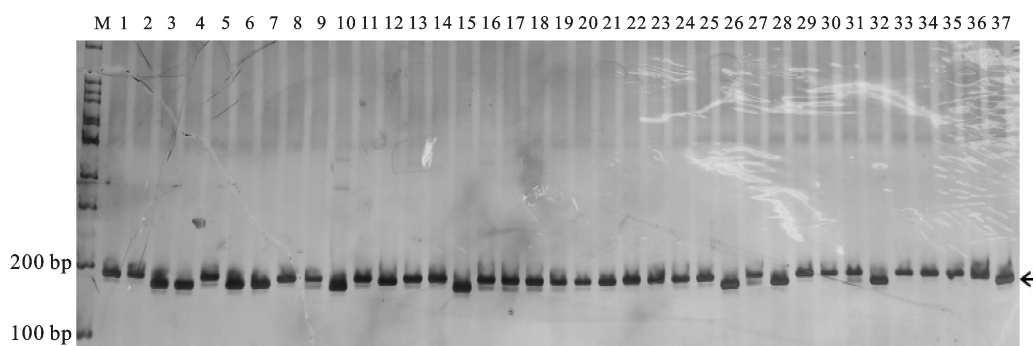
5 min, (94  $^{\circ}$ C 变性 50 s, 60  $^{\circ}$ C 退火 50 s, 72  $^{\circ}$ C 延伸 50 s)  $\times$  36, 72  $^{\circ}$ C 终延伸 10 min, 4  $^{\circ}$ C 保存; 扩增产物在 170 V 下经 12% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳 2 h 左右, 银染、显影后利用凝胶成像仪观察电泳结果并拍照保存。SC<sub>200</sub> 和 csLV34 的扩增程序为 94  $^{\circ}$ C 预变性 5 min, (94  $^{\circ}$ C 变性 50 s, 55  $^{\circ}$ C 退火 50 s, 72  $^{\circ}$ C 延伸 50 s)  $\times$  36, 72  $^{\circ}$ C 终延伸 10 min, 4  $^{\circ}$ C 保存。扩增产物在 110 V 下经 10 g/L 琼脂糖凝胶(含 goldview 染料)电泳 40 min 左右, 然后利用凝胶成像仪观察电泳结果并拍照保存。

## 2 结果与分析

### 2.1 *Yr5* 基因的分子标记检测

检测 *Yr5* 基因用的是与其共分离的 SCAR 标记 S1320, 携带 *Yr5* 基因的种质能够扩增出 156 bp 的 DNA 条带(图 1)。检测结果表明, 在 348 份小麦种质中能够扩增出目标 DNA 条带的有 122 份, 说明这 122 份种质携带有 *Yr5* 基因, 其余 226 份种质中未扩增出预期大小的 DNA 条带, 说

明这些种质未携带该基因,检出率为 35.06%。



M. 100 bp marker; 1~36. 部分检测样品 Partial samples detected; 37. 阳性对照 Positive control; 箭头所指为目标条带 The arrow shows the target band

图 1 *Yr5* 基因的分子标记检测结果

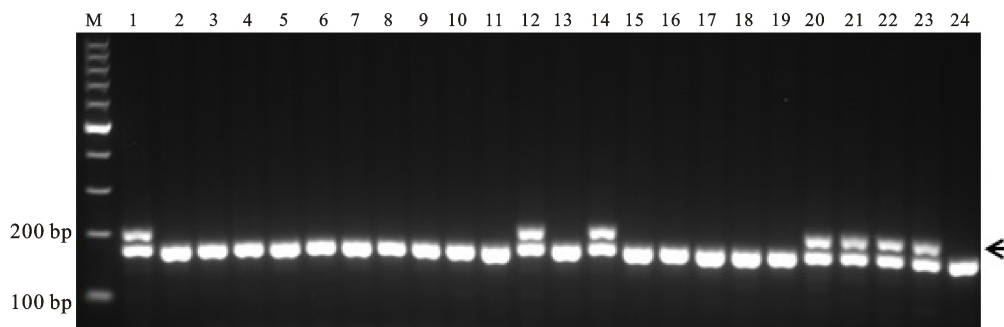
Fig. 1 PCR pattern amplified by SCAR marker of *Yr5*

## 2.2 *Yr10* 基因的分子标记检测

检测 *Yr10* 基因用的是与其紧密连锁的 SCAR 标记 SC<sub>200</sub>, 二者的连锁距离为 0.5 cM, 携带 *Yr10* 基因的种质能够扩增出大小约 200 bp 和 180 bp 的两条 DNA 条带, 未携带该基因的种质只能扩增出约 180 bp 的一条带(图 2)。在检测的 348 份小麦种质中, 能够扩增出目标 DNA 条带的有 80 份, 说明这 80 份种质携带有 *Yr10* 基因, 其余 268 份种质没有扩增出预期大小的 DNA 条带, 说明这些种质未携带该基因, 检出率为 22.99%。

## 2.3 *Yr18* 基因的分子标记检测

利用与 *Yr18* 基因紧密连锁的 STS 标记 cs-LV34 对其进行分子检测, 二者的连锁距离为 0.4 cM, 携带 *Yr18* 基因的种质能够扩增出 150 bp 的 DNA 条带, 未携带该基因的种质扩增的条带为 229 bp(图 3)。检测结果表明, 在 348 份小麦种质中能够扩增出目标 DNA 条带的有 7 份, 说明这 7 份种质携带有 *Yr18* 基因, 其余 341 份种质没有扩增出预期大小的 DNA 条带, 说明这些种质未携带该基因, 检出率为 2.01%。



M. 100 bp marker; 1. 阳性对照 Positive control; 2~24. 部分检测样品 Partial samples detected; 箭头所指为目标条带 The arrow shows the target band

图 2 *Yr10* 基因的分子标记检测结果

Fig. 2 PCR pattern amplified by SCAR marker of *Yr10*

## 2.4 含 *Yr5*、*Yr10* 和 *Yr18* 种质的条锈病抗性分析

条锈病抗性鉴定结果表明: 携带 *Yr5* 的 122 份种质中, 表现中抗及以上的有 27 份, 所占比例为 22.13%, 其中‘CP02-8-5-6-2-1’‘内麦 9 号’‘黔 9963-3’‘农大 189 选’‘CP20-38’‘07Bh032’和‘B70041-1-2’表现近免疫; 携带 *Yr10* 的 80 份种质中, 表现中抗及以上的有 11 份, 所占比例为

13.75%, 其中‘渝 0822’表现近免疫; 携带 *Yr18* 的 7 份种质中, 有 3 份表现中抗及以上, 所占比例为 42.86%, 其中‘07Bh032’和‘CA57’表现近免疫(表 2)。从这些结果可以看出, 携带抗病基因的种质中抗病性表现并不一致, *Yr18* 的抗性较为稳定, 其次为 *Yr5*, 而 *Yr10* 仅在少数遗传背景中具有抗性。

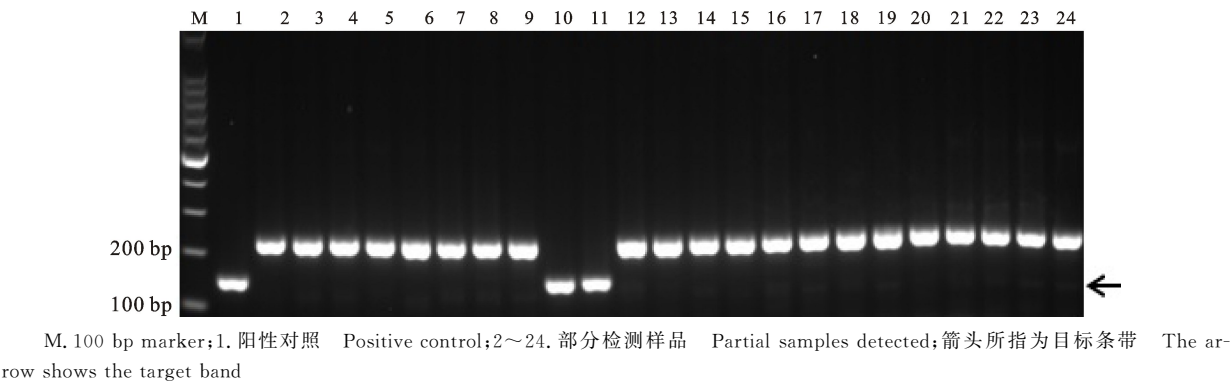


图 3 *Yr18* 基因的分子标记检测结果  
Fig.3 PCR pattern amplified by STS marker of *Yr18*

表 2 含 *Yr5*、*Yr10*、*Yr18* 而且抗病的种质

Table 2 The disease resistant wheat germplasms carrying *Yr5*, *Yr10* and *Yr18*

| 种质名称<br>Germplasm name   | 来源<br>Source                                            | <i>Yr5</i> | <i>Yr10</i> | <i>Yr18</i> | 条锈病病级<br>Degree of stripe rust |
|--------------------------|---------------------------------------------------------|------------|-------------|-------------|--------------------------------|
| CA57                     | 中国农业科学院<br>Chinese Academy of Agricultural Sciences     |            |             | ✓           | 0;                             |
| 07Bh032                  |                                                         | ✓          |             | ✓           | 0;                             |
| 09P131                   | 南京农业大学 Nanjing Agricultural University                  | ✓          |             | ✓           | 1—2                            |
| 09P283                   |                                                         | ✓          |             |             | 1—2                            |
| 06Y06                    |                                                         | ✓          |             |             | 1—2                            |
| 生选 5 号 Shengxuan No. 5   | 江苏省农业科学院<br>Jiangsu Academy of Agricultural Sciences    | ✓          |             |             | 1—2                            |
| CP20-38                  | 中国农业科学院<br>Chinese Academy of Agricultural Sciences     | ✓          |             |             | 0;                             |
| CP02-8-5-6-2-1           |                                                         | ✓          |             |             | 0;                             |
| CP01-21-3-1-1            |                                                         | ✓          |             |             | 1—2                            |
| CP02-14-1-1-2            |                                                         | ✓          |             |             | 2                              |
| 农大 189 选 Nongda 189 xuan | 中国农业大学<br>China Agricultural University                 | ✓          |             |             | 0;                             |
| 农大 8P297 Nongda 8P297    |                                                         | ✓          |             |             | 1—2                            |
| 黔 9963-3 Qian 9963-3     | 贵州省农业科学院<br>Guizhou Academy of Agricultural Sciences    | ✓          |             |             | 0;                             |
| 黔 9961-2 Qian 9961-2     |                                                         | ✓          |             |             | 2                              |
| 黔早麦 15-3 Qianzaomai 15-3 |                                                         | ✓          |             |             | 2                              |
| 内麦 9 号 Neimai No. 9      | 内江市农业科学院<br>Neijiang Academy of Agricultural Sciences   | ✓          |             |             | 0;                             |
| MR168                    | 绵阳市农业科学研究院<br>Mianyang Academy of Agricultural Sciences | ✓          |             |             | 1—2                            |
| ML2651                   | 襄阳市农业科学院<br>Xiangyang Academy of Agricultural Sciences  | ✓          |             |             | 1—2                            |
| N 秃 N tu                 |                                                         | ✓          |             |             | 1—2                            |
| 抗条温 6 Kangtiaowen 6      | 河南科技学院<br>Henan Institute of Science and Technology     | ✓          |             |             | 1—2                            |
| GSM2006                  | 安徽宿州 Suzhou, Anhui Province                             | ✓          |             |             | 2                              |
| B97010-1-1               | 宝鸡市农业科学研究院<br>Baoji Academy of Agricultural Sciences    | ✓          |             |             | 2                              |
| B70041-1-2               |                                                         | ✓          |             |             | 0;                             |
| 高区乙 6 号 Gaoquyi No. 6    | 西北农林科技大学 Northwest A&F University                       | ✓          |             |             | 2                              |
| M789                     |                                                         | ✓          |             |             | 2                              |
| 陕农 981 Shaannong 981     |                                                         | ✓          | ✓           |             | 2                              |
| 抗赤 6 号 Kangchi No. 6     |                                                         | ✓          | ✓           |             | 2                              |
| 抗白 3 号 Kangbai No. 3     |                                                         | ✓          | ✓           |             | 2                              |
| B70144-1-1               | 宝鸡市农业科学研究院<br>Baoji Academy of Agricultural Sciences    |            | ✓           |             | 1—2                            |
| BH0023-6-2               |                                                         |            | ✓           |             | 2                              |
| B50027-1-3               |                                                         |            | ✓           |             | 2                              |
| 新麦 9 号 Xinmai No. 9      | 新乡市农业科学院<br>Xinxiang Academy of Agricultural Sciences   |            | ✓           |             | 1—2                            |
| 新麦 19 Xinmai 19          |                                                         |            | ✓           |             | 2                              |
| 渝 0822 Yu 0822           | 重庆市农业科学院<br>Chongqing Academy of Agricultural Sciences  |            | ✓           |             | 0;                             |
| 中育 885 Zhongyu 885       | 中国农业科学院<br>Chinese Academy of Agricultural Sciences     |            | ✓           |             | 1—2                            |
| 洲元 9369 Zhouyuan 9369    | 山东洲元种业<br>Shandong Zhouyuan Seed Industry               |            | ✓           |             | 2                              |

注:“✓”代表阳性;下同。  
Note: “✓” represents positive; the same below.

在检测的 348 份种质中,抗病基因聚合种质有 37 份,其中 *Yr5*、*Yr10* 和 *Yr18* 3 基因聚合的种质 1 份, *Yr5* 和 *Yr10* 聚合的种质 32 份, *Yr5*、*Yr18* 聚合和 *Yr10*、*Yr18* 聚合的种质各 2 份(表 3)。抗病基因聚合种质的条锈病抗性鉴定结果表

明:在 *Yr5* 和 *Yr18* 聚合时,条锈病抗性表现较好,2 份种质中‘09P131’表现中至高抗,‘07Bh032’表现近免疫。含有 *Yr10* 的各类聚合种质共 35 份,其中 *Yr5* 和 *Yr10* 聚合的 32 份种质中仅‘陕农 981’‘抗赤 6 号’和‘抗白 3 号’表现中抗,其余表

表 3 抗病基因聚合种质及其抗病性

Table 3 The wheat germplasms carrying pyramiding disease resistant genes and their disease resistance

| 种质名称<br>Germplasm name                | 来源<br>Source                                                                                 | <i>Yr5</i> | <i>Yr10</i> | <i>Yr18</i> | 条锈病病级<br>Degree of stripe rust |
|---------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|------------|-------------|-------------|--------------------------------|
| 烟 3 Yan 3                             | 烟台农科院 Yantai Academy of Agricultural Sciences                                                | ✓          | ✓           | ✓           | 4                              |
| 藁优 9618 Gaoyou 9618                   | 河北省藁城市农科所<br>Gaocheng Institute of Agricultural Sciences in Hebei Province                   | ✓          | ✓           |             | 4                              |
| 藁优麦 6 号 Gaoyoumai No. 6               |                                                                                              | ✓          | ✓           |             | 4                              |
| 藁 1817 Gao 1817                       |                                                                                              | ✓          | ✓           |             | 4                              |
| 山农 12 Shannong 2                      | 山东农业大学 Shandong Agricultural University                                                      | ✓          | ✓           |             | 4                              |
| 烟 1 Yan 1                             | 烟台农科院 Yantai Academy of Agricultural Sciences                                                | ✓          | ✓           |             | 4                              |
| 烟 2 Yan 2                             |                                                                                              | ✓          | ✓           |             | 4                              |
| 烟 4 Yan 4                             |                                                                                              | ✓          | ✓           |             | 4                              |
| 鲁麦 14 Lumai 14                        |                                                                                              | ✓          | ✓           |             | 3—4                            |
| DH0159-5                              | 山东登海种业 Shandong Denghai Seed Industry                                                        | ✓          | ✓           |             | 3—4                            |
| QZG-2                                 | 泰安市农科院<br>Tai'an Academy of Agricultural Sciences                                            | ✓          | ✓           |             | 4                              |
| 荔丰 2 号-1 Lifeng No. 2-1               | 陕西 Shaanxi                                                                                   | ✓          | ✓           |             | 3—4                            |
| 陕优 225-47 Shaanyou 225-47             | 西北农林科技大学 Northwest A&F University                                                            | ✓          | ✓           |             | 3—4                            |
| 荔高 6 号 Ligao No. 6                    |                                                                                              | ✓          | ✓           |             | 3—4                            |
| 81-24                                 |                                                                                              | ✓          | ✓           |             | 3—4                            |
| 陕农 981 Shaannong 981                  |                                                                                              | ✓          | ✓           |             | 2                              |
| 小偃 81-54 Xiaoyan 81-54                |                                                                                              | ✓          | ✓           |             | 4                              |
| 小偃 66 号 Xiaoyan No. 66                |                                                                                              | ✓          | ✓           |             | 4                              |
| 878                                   |                                                                                              | ✓          | ✓           |             | 3—4                            |
| 抗赤 6 号 Kangchi No. 6                  |                                                                                              | ✓          | ✓           |             | 2                              |
| 抗白 3 号 Kangbai No. 3                  |                                                                                              | ✓          | ✓           |             | 2                              |
| B2152-1-1                             | 宝鸡市农业科学研究院<br>Baoji Academy of Agricultural Sciences                                         | ✓          | ✓           |             | 4                              |
| 皖麦 19 Wanmai 19                       | 安徽省宿县地区农科所<br>Institute of Agricultural Sciences of the Suxian District in Anhui Province    | ✓          | ✓           |             | 4                              |
| T21-6                                 | 安徽涡阳 Woyang, Anhui Province                                                                  | ✓          | ✓           |             | 4                              |
| 扬 00-126 Yang 00-126                  | 江苏里下河地区农科所<br>Institute of Agricultural Sciences of the Lixiahe District in Jiangsu Province | ✓          | ✓           |             | 4                              |
| 师 1 号 Shiluan No. 1                   | 河北师范大学 Hebei Normal University                                                               | ✓          | ✓           |             | 4                              |
| 徐 5124 Xu 5124                        | 江苏徐州 Xuzhou, Jiangsu Province                                                                | ✓          | ✓           |             | 4                              |
| 淮麦 0458 Huaimai 0458                  | 淮安农科所 Huaian Institute of Agricultural Sciences                                              | ✓          | ✓           |             | 4                              |
| 农大 211 Nongda 211                     | 中国农业大学 China Agricultural University                                                         | ✓          | ✓           |             | 4                              |
| 郑 9023 Zheng 9023                     | 河南农科院 Henan Academy of Agricultural Sciences                                                 | ✓          | ✓           |             | 4                              |
| 才智 98 矮系 Caizhi 98 aixi               | 河南省才智种子开发有限公司<br>Henan Caizhi Seed Development Co., Ltd                                      | ✓          | ✓           |             | 4                              |
| 内乡 03-36 Neixiang 03-36               | 河南省内乡农科所<br>Neixiang Institute of Agricultural Sciences in Henan Province                    | ✓          | ✓           |             | 3—4                            |
| 邓县(郑州试 1)<br>Dengxian(Zhengzhoushi 1) | 河南省邓州市农科所<br>Dengzhou Institute of Agricultural Sciences in Henan Province                   | ✓          | ✓           |             | 4                              |
| 07Bh032                               | 中国农业科学院 Chinese Academy of Agricultural Sciences                                             | ✓          |             | ✓           | 0;                             |
| 09P131                                | 南京农业大学 Nangjing Agricultural University                                                      | ✓          |             | ✓           | 1—2                            |
| NAU617                                |                                                                                              |            | ✓           | ✓           | 3—4                            |
| NAU618                                |                                                                                              |            | ✓           | ✓           | 4                              |

现中至高感, *Yr10*、*Yr18* 聚合的 2 份种质和 *Yr5*、*Yr10*、*Yr18* 3 基因聚合的 1 份种质均表现中至高感,说明 *Yr10* 和 *Yr5* 或 *Yr18* 聚合后没有有效提高这些种质的条锈病抗性。

此外,有 10 份种质‘内麦 836’‘丰优 7 号’‘川农 05152’‘W3734’‘09 品 E2’‘农大 8P593’‘CP02-9-2-2’‘CP02-3-5-5’‘04 中 77’和‘云麦 57’,虽然未检出上述 3 个基因,但是对条锈病表现近免疫,这些种质主要来自四川、北京和云南等地,是抗条锈病育种的重要资源,后续会进行深入研究。

2.5 348 份种质中 *Yr5*、*Yr10* 和 *Yr18* 的分布

共检测 3 个小麦抗条锈病基因 *Yr5*、*Yr10* 和

*Yr18*,在这 348 份小麦种质中, *Yr5* 的检出率最高,主要分布在安徽、宁夏、陕西、山东、江苏等省的种质中,安徽和宁夏种质中 *Yr5* 的检出率达到了 100%,可能跟这些地方搜集的种质较少有关;其次是 *Yr10*,主要分布在内蒙、安徽、山东、陕西、河北的种质中; *Yr18* 的检出率最低,仅有 7 份种质携带该基因,分布于江苏、北京和山东的种质中(表 4)。从 3 个基因的总体分布来看,陕西、河南、山东、江苏、河北和北京来源的种质中抗病基因分布较多,抗病基因聚合种质也较多,其中含抗病基因且表现抗病的种质则主要来自陕西、北京和江苏(表 2、3、4)。

表 4 348 份种质中 *Yr5*、*Yr10* 和 *Yr18* 的分布情况

Table 4 The distribution of *Yr5*, *Yr10* and *Yr18* among 348 wheat germplasms

| 来源<br>Area   | 数量<br>Number | 含 <i>Yr5</i> 的种质<br>Germplasms carrying <i>Yr5</i> |                   | 含 <i>Yr10</i> 的种质<br>Germplasms carrying <i>Yr10</i> |                   | 含 <i>Yr18</i> 的种质<br>Germplasms carrying <i>Yr18</i> |                   |
|--------------|--------------|----------------------------------------------------|-------------------|------------------------------------------------------|-------------------|------------------------------------------------------|-------------------|
|              |              | 数量<br>Number                                       | 频率/%<br>Frequency | 数量<br>Number                                         | 频率/%<br>Frequency | 数量<br>Number                                         | 频率/%<br>Frequency |
| 河南 Henan     | 114          | 22                                                 | 19.30             | 25                                                   | 21.93             | —                                                    | —                 |
| 陕西 Shaanxi   | 41           | 26                                                 | 63.41             | 16                                                   | 39.02             | —                                                    | —                 |
| 江苏 Jiangsu   | 37           | 16                                                 | 43.24             | 5                                                    | 13.51             | 4                                                    | 10.81             |
| 山东 Shandong  | 33           | 20                                                 | 60.61             | 13                                                   | 39.39             | 1                                                    | 3.03              |
| 北京 Beijing   | 32           | 10                                                 | 31.25             | 4                                                    | 12.5              | 2                                                    | 6.25              |
| 河北 Hebei     | 31           | 10                                                 | 32.26             | 9                                                    | 29.03             | —                                                    | —                 |
| 四川 Sichuan   | 23           | 5                                                  | 21.74             | 2                                                    | 8.70              | —                                                    | —                 |
| 湖北 Hubei     | 9            | 3                                                  | 33.33             | 2                                                    | 22.22             | —                                                    | —                 |
| 贵州 Guizhou   | 7            | 4                                                  | 57.14             | —                                                    | —                 | —                                                    | —                 |
| 安徽 Anhui     | 5            | 5                                                  | 100.00            | 2                                                    | 40.00             | —                                                    | —                 |
| 云南 Yunnan    | 4            | —                                                  | —                 | —                                                    | —                 | —                                                    | —                 |
| 广东 Guangdong | 4            | —                                                  | —                 | 1                                                    | 25.00             | —                                                    | —                 |
| 山西 Shanxi    | 3            | —                                                  | —                 | —                                                    | —                 | —                                                    | —                 |
| 内蒙 Neimeng   | 2            | —                                                  | —                 | 1                                                    | 50.00             | —                                                    | —                 |
| 新疆 Xinjiang  | 2            | —                                                  | —                 | —                                                    | —                 | —                                                    | —                 |
| 宁夏 Ningxia   | 1            | 1                                                  | 100.00            | —                                                    | —                 | —                                                    | —                 |
| 合计 Total     | 348          | 122                                                | —                 | 80                                                   | —                 | 7                                                    | —                 |

注:“—”代表无。  
Note: “—” represents none.

3 讨论与结论

种质资源抗病性的有效评价是小麦抗病育种的重要基础,基于 PCR 的分子标记技术的发展,为种质资源中抗病基因组成的快速鉴定提供了有效手段,在辅助育种中已有较多应用。本研究通过分子标记辅助检测,初步明确了河南科技学院

小麦中心保存的 348 份种质中抗条锈病基因 *Yr5*、*Yr10* 和 *Yr18* 的分布情况,并结合田间鉴定对这些种质的条锈病抗性进行了评价。

STS 标记 csLV34 在辅助检测抗条锈病基因 *Yr18* 中已有较多应用。杨文雄等<sup>[21]</sup>、白小军等<sup>[22]</sup>、任妍等<sup>[23]</sup>、伍玲等<sup>[24]</sup>用该标记从种质资源中鉴定携带 *Yr18* 的材料,分子标记检测阳性的种

质对条锈病具有较好的抗性。董娜等<sup>[19]</sup>也曾使用该标记从 39 份外引种质中鉴定出 6 份携带 *Yr18* 的种质,且对条锈病菌表现近免疫至中抗。但本研究中,标记 csLV34 阳性的 7 份种质抗病性表现并不一致,表现中抗及以上的只有 3 份。在用 SCAR 标记 S1320 和 SC<sub>200</sub> 检测 *Yr5* 和 *Yr10* 时,标记阳性的种质抗病性表现也不一致。标记 S1320 阳性的 122 份种质中表现中抗及以上的有 27 份,标记 SC<sub>200</sub> 阳性的 80 份种质中,表现中抗及以上的有 11 份,与之前用这些标记检测外引种质的结果类似。韩德俊等<sup>[14]</sup>在利用紧密连锁的分子标记 STS7/8 对抗条锈病基因 *Yr5* 进行检测,王树和等<sup>[11]</sup>在用 SCAR 标记 *Yr10*F/R 对 *Yr10* 基因进行检测时均发现标记阳性种质抗病性表现不同的情况。因此,利用这些分子标记进行辅助育种时,必须结合接种鉴定的结果综合判断。同时也期待随着分子标记技术的发展,开发出越来越多稳定可靠的抗病基因功能标记用于辅助育种。

在检测的 3 个抗条锈病基因中,慢锈性基因 *Yr18* 的检出率最低,348 份种质中仅有 7 份携带该基因,这与杨文雄等<sup>[21]</sup>、李敏州等<sup>[25]</sup>、Zeng 等<sup>[26]</sup>的研究结果基本一致。*Yr18* 在中国育成品种(系)分布频率低跟过去在品种选育中过分强调高抗或免疫的主效基因的选择,忽视了慢病基因的利用有关。从抗病基因聚合种质的抗病性鉴定结果来看,*Yr5* 和 *Yr18* 聚合时抗病性表现非常好,*Yr10* 与 *Yr5* 或 *Yr18* 聚合则不能有效提高种质的抗病性,在小麦抗条锈病育种中可以通过将 *Yr5* 与 *Yr18* 聚合来提高小麦品种的条锈病抗性以及延缓抗病品种的使用寿命。从抗病种质的分布来看,含抗条锈病基因 *Yr5*、*Yr10* 或 *Yr18* 且表现抗病的种质主要来自陕西、北京和江苏,收集于小麦主产区河南的种质最多,但含上述抗病基因且表现抗病的种质则较少,因此还需进一步加强适于小麦主产区的抗条锈病种质的创制与利用。

#### 参考文献 Reference:

- [1] 李振岐,曾士迈. 中国小麦锈病[M]. 北京:中国农业出版社,2002.  
LI ZH Q,ZENG SH M. Wheat Rusts in China [M]. Beijing:China Agriculture Press,2002.
- [2] WAN A M,ZHAO ZH H,CHEN X M,et al. Wheat stripe rust epidemic and virulence of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in China in 2002[J]. *Plant Disease*, 2004, 88(8):

896-904.

- [3] 吴立人,牛永春. 我国小麦条锈病持续控制的策略[J]. 中国农业科学,2000,33(5):46-54.  
WU L R,NIU Y CH. Strategies of sustainable control of wheat stripe rust in China[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2000,33(5):46-54.
- [4] LINE R F. Stripe rust of wheat and barley in North America:a retrospective historical review[J]. *Annual Review of Phytopathology*,2002,40:75-118.
- [5] WAN A M,CHEN X M,HE ZH H. Wheat stripe rust in China[J]. *Australian Journal of Agricultural Research*, 2007,58(6):605-619.
- [6] CHHETRI M,BARIANA H,KANDIAH P,et al. *Yr58*: a new stripe rust resistance gene and its interaction with *Yr46* for enhanced resistance [J]. *Phytopathology*, 2016, 106(12):1530-1534.
- [7] FENG J,WANG M,SEE D R,et al. Characterization of Novel Gene *Yr79* and four additional QTL for all-stage and high-temperature adult-plant resistance to stripe rust in spring wheat PI 182103 [J]. *Phytopathology*, 2018, 108(6):737-747.
- [8] CHEN W,WU L,LIU T,et al. 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[J]. *Plant Disease*,2009,93(11):1093-1101.
- [9] 李欣,畅志坚,詹海仙,等. 小麦抗条锈病基因来源及染色体定位的研究进展[J]. 中国农学通报,2015,31(5):92-95.  
LI X,CHANG ZH J,ZHAN H X,et al. The progress of sources and chromosomal locations of stripe rust resistance genes in wheat[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2015,31(5):92-95.
- [10] 曾庆东,沈川,袁凤平,等. 小麦抗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.  
ZENG Q D,SHEN CH,YUAN F P,et al. The resistance evaluation of the *Yr* genes to the main prevalent pathotypes of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in China[J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2015, 45(6):641-650.
- [11] 王树和,龚凯悦,初炳瑶,等. 四川省 100 个小麦品种(系)抗条锈病基因的分子检测[J]. 植物病理学报,2018,48(2):195-206.  
WANG SH H,GONG K Y,CHU B Y,et al. Molecular detection of stripe rust resistance gene(s) in 100 wheat cultivars(lines) from Sichuan province in China[J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2018, 48(2):195-206.
- [12] 孙建鲁,王吐虹,冯晶,等. 100 个小麦品种资源抗条锈性鉴定及重要抗条锈病基因的 SSR 检测[J]. 植物保护, 2017,43(2):64-72.  
SUN J L,WANG T H,FENG J,et al. Identification of resistance to wheat stripe rust and detection of known resistance genes in 100 wheat cultivars with SSR markers[J]. *Plant Protection*, 2017,43(2):64-72.

- [13] 侯 璐,闫佳会,姚 强,等. 81 份春小麦种质资源抗条锈病评价[J]. 植物保护, 2017, 43(3): 171-176.  
HOU L, YAN J H, YAO Q, *et al.* Identification and analysis of the resistance of 81 spring wheat germplasm resources to stripe rust[J]. *Plant Protection*, 2017, 43(3): 171-176.
- [14] 韩德俊,张培禹,王琪琳,等. 1980 份小麦地方品种和国外种质抗条锈性鉴定与评价[J]. 中国农业科学, 2012, 45(24): 5013-5023.  
HAN D J, ZHANG P Y, WANG Q L, *et al.* Identification and evaluation of resistance to stripe rust in 1980 wheat landraces and abroad germplasm[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2012, 45(24): 5013-5023.
- [15] 李峰奇,韩德俊,魏国荣,等. 黄淮麦区 126 个小麦品种(系)抗条锈病基因的分子检测[J]. 中国农业科学, 2008, 41(10): 3060-3069.  
LI F Q, HAN D J, WEI G R, *et al.* Molecular detection of stripe rust resistant genes in 126 winter wheat varieties from the Huanghuai wheat region[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2008, 41(10): 3060-3069.
- [16] 陈晓红,牛永春,胡宝忠. 用变性 PAGE-银染法鉴定小麦抗条锈基因 *Yr5* 的 RAPD 标记[J]. 遗传学报, 2004, 31(3): 270-274.  
CHEN X H, NIU Y CH, HU B ZH. Identification of RAPD markers linked to the resistance gene *Yr5* against wheat stripe rust with denaturing PAGE-silver staining[J]. *Acta Genetica Sinica*, 2004, 31(3): 270-274.
- [17] 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.  
SHAO Y T, NIU Y CH, ZHU L H, *et al.* AFLP marker of wheat stripe rust resistant gene *Yr10*[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2001, 46(8): 669-672.
- [18] 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.
- [19] 董 娜,陈向东,胡铁柱,等. 39 份外引小麦种质抗病基因的分子标记检测及其抗病性评价[J]. 华北农学报, 2018, 33(6): 49-55.  
DONG N, CHEN X D, HU T ZH, *et al.* Molecular detection and evaluation of disease resistance genes of 39 introduced wheat germplasms[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2018, 33(6): 49-55.
- [20] ZHANG X X, WANG L, SHOU L L. Modified CTAB method for extracting genomic DNA from wheat leaf[J]. *Agricultural Science & Technology*, 2013, 14(7): 946-949.
- [21] 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, 34(7): 1109-1113.  
YANG W X, YANG F P, LIANG D, *et al.* Molecular characterization of slow-rusting genes *Lr34/Yr18* in Chinese wheat cultivars [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2008, 34(7): 1109-1113.
- [22] 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.  
BAI X J, WANG X G, CHEN D SH. Molecular detection of the slow-rusting resistance gene *Lr34/Yr18* in Ningxia wheat cultivars [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2014, 34(11): 1480-1484.
- [23] 任 妍,邓跟望,刘理森,等. 168 份小麦不同病害抗性材料白粉病抗性鉴定及其 *Lr34/Yr18/Pm38* 位点的分子检测[J]. 麦类作物学报, 2015, 35(6): 759-767.  
REN Y, DENG G W, LIU L S, *et al.* Characterization of 168 wheat germplasms for the resistance to powdery mildew and the *Lr34/Yr18/Pm38* gene with molecular markers [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2015, 35(6): 759-767.
- [24] 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.  
WU L, XIA X CH, ZHU H ZH, *et al.* Molecular characterization of *Lr34/Yr18/Pm38* in 273 CIMMYT wheat cultivars and lines using functional markers [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2010, 43(22): 4553-4561.
- [25] 李敏州,李 强,巢凯翔,等. 陕西省 115 个小麦品种(系)抗条锈病基因的分子检测 [J]. 植物病理学报, 2015, 45(6): 632-640.  
LI M ZH, LI Q, CHAO K X, *et al.* Molecular detection of stripe rust resistance genes in 115 wheat varieties (lines) from Shaanxi province [J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2015, 45(6): 632-640.
- [26] ZENG Q D, HAN D J, WANG Q L, *et al.* Stripe rust resistance and genes in Chinese wheat cultivars and breeding lines [J]. *Euphytica*, 2014, 196(2): 271-284.

## Molecular Detection and Distribution of Stripe Rust Resistance Genes *Yr5*, *Yr10* and *Yr18* among 348 Wheat Germplasms

DONG Na, HU Haiyan, HU Tiezhu, LI Gan, LI Xiaojun,  
CHEN Xiangdong, ZHANG Yajuan and RU Zhengang

(Collaborative Innovation Center of Modern Biological Breeding/Henan Key Laboratory for Crop Molecular Breeding in Universities,  
Center of Wheat Breeding, Henan Institute of Science and Technology, Henan Province, Xinxing Henan 453003, China)

**Abstract** In order to determine the distribution of stripe rust resistance genes *Yr5*, *Yr10* and *Yr18* among 348 wheat germplasms which were collected from many breeding units all over the country, their co-segregated or closely linked molecular markers S1320, SC<sub>200</sub> and csLV34 were used to assist detection in this study. The results showed that 122 germplasms were positive for *Yr5*-linked marker S1320, 80 for *Yr10*-linked marker SC<sub>200</sub> and 7 for *Yr18*-linked marker csLV34. The positive rates were 35.06%, 22.99% and 2.01% respectively. But positive germplasms with the same marker showed differential disease resistant character. There were 27, 11 and 3 germplasms which were resistant to stripe rust among the marker positive ones accordingly. These stripe rust resistant germplasms with *Yr5*, *Yr10* or *Yr18* were mainly from Shaanxi, Beijing and Jiangsu province. The results of disease resistance identification showed that the germplasms pyramiding with *Yr5* and *Yr18* were highly resistant or immune to stripe rust, whereas *Yr10* pyramiding with *Yr5* or *Yr18* were not effective in improving stripe rust resistance. In addition, 10 germplasms carrying none of the above three genes showed immune to stripe rust, which were very useful resources for stripe rust resistant breeding and valuable to study further. The results of this study may provide an important reference for the effective utilization of stripe rust resistance gene resources.

**Key words** Wheat; Stripe rust; Disease resistant gene; Molecular marker

**Received** 2019-04-23

**Returned** 2019-05-24

**Foundation item** The National Key Research and Development Program of China (No. 2016YFD0101602); National Natural Science Foundation of China(No. 31301002); the Key Scientific Research Projects of Colleges and Universities in Henan Province(No. 18A210001).

**First author** DONG Na, female, Ph. D, lecturer. Research area: wheat molecular genetics and breeding. E-mail: dongnahi@163.com

**Corresponding author** RU Zhengang, male, professor, master supervisor. Research area: wheat genetics and breeding. E-mail: rzgh58@163.com

(责任编辑:郭柏寿 Responsible editor: GUO Baishou)