

## 研究报告

## Research Reports

## 217 份一粒系小麦苗期抗条锈病鉴定及抗病基因检测

赵小倩<sup>1</sup>, 冯 晶<sup>1,2\*</sup>, 王凤涛<sup>1,2</sup>, 徐晓伟<sup>1</sup>, 童朝阳<sup>1</sup>,  
蔺瑞明<sup>1,2\*</sup>, 徐世昌<sup>1</sup>

(1. 中国农业科学院植物保护研究所, 植物病虫害综合治理全国重点实验室, 北京 100193;

2. 农业农村部国家植物保护甘谷观测实验站, 天水 741000)

**摘要** 小麦条锈病是影响小麦生产的重要病害之一。发掘新的抗病基因, 培育新的抗病品种是防治小麦条锈病最经济有效的措施。一粒系小麦作为普通小麦的二级基因源, 蕴含了丰富的抗病资源。为了从一粒系小麦中发掘新抗病基因, 促进其利用, 本文对 217 份一粒系小麦材料进行了苗期抗条锈病鉴定和 A 基因组的部分抗条锈病基因检测。结果表明, 共有 55 份材料在苗期对 CYR32 表现抗病, 占 25.35%; 抗病基因分子标记检测显示, 携带 Yr1、Yr34/Yr48、Yr69、Yr76 抗性基因的材料分别有 26、22、16、34 份。共有 4 份表现高抗或免疫的材料同时携带 2 个抗性基因; 2 份材料携带 Yr69 和 Yr34, 2 份携带 Yr1 和 Yr34。所有供试材料中均未检测到 Yr17。此外, 有 23 份抗病材料未检测到以上抗病基因, 其中 7 份表现高抗及免疫, 可能携带其他已知或新的抗条锈病基因。本研究为一粒系小麦的利用提供了参考信息。

**关键词** 一粒系小麦; 条锈病; 分子标记; 抗性鉴定; 苗期抗性

**中图分类号:** S 435.121.42 **文献标识码:** A **DOI:** 10.16688/j.zwbh.2022709

## Identification of stripe rust resistance in the seedling and detection of resistance genes in 217 einkorn wheats

ZHAO Xiaoqian<sup>1</sup>, FENG Jing<sup>1,2\*</sup>, WANG Fengtao<sup>1,2</sup>, XU Xiaowei<sup>1</sup>, TONG Chaoyang<sup>1</sup>,  
LIN Ruiming<sup>1,2\*</sup>, XU Shichang<sup>1</sup>

(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. National Agricultural Experimental Station for Plant Protection at Gangu, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Tianshui 741000, China)

**Abstract** Wheat stripe rust is one of the important diseases affecting wheat production. Exploring new disease-resistant genes and cultivating new disease-resistant varieties are green and effective measures. As the secondary gene pool of common wheat (*Triticum aestivum* L.), einkorn wheat also contains rich disease-resistance resources. In order to discover new disease-resistant genes and promote the utilization of einkorn wheat, the resistance of 217 accessions to stripe rust were identified at the seedling stage and disease-resistant genes on A genome were detected using molecular markers. The results showed that 55 materials exhibited resistance to CYR32 at the seedling stage, accounting for 25.35%, and there were 26, 22, 16 and 34 materials carrying Yr1, Yr34/Yr48, Yr69 and Yr76, respectively. A total of four materials with immune or high resistance carried two resistance genes simultaneously; two materials carried Yr69 and Yr34, and two materials carried Yr1 and Yr34. The gene Yr17 was not detected in the test materials. In addition, 23 materials were not detected for any of the five resistance genes, seven of which showed high resistance or immunity, and might carry other known or new stripe rust resistance genes. This study provides reference information for the utilization of einkorn wheat.

**Key words** einkorn wheat; stripe rust; molecular marker; resistance identification; seedling stage resistance

收稿日期: 2022-11-09

修订日期: 2022-12-23

基金项目: 国家自然科学基金(31871923); 国家重点研发计划(2021YFD1401000); 中国农业科学院科技创新工程(CAAS-ZDRW202002)

\* 通信作者 E-mail: 冯晶 jingfeng@ippcaas.cn; 蔺瑞明 linruiming@caas.cn

小麦条锈病是由条形柄锈菌小麦专化型 *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* 引起的一种叶部病害,其发生和危害具有长期性、暴发性、流行性和变异性等特点,是世界性气传真菌病害<sup>[1]</sup>。病害流行年份可使小麦减产 5%~25%,严重时甚至绝收,对我国粮食安全生产具有重大威胁<sup>[2]</sup>。小麦条锈菌专化性强、生理小种变异快,随着新的生理小种不断产生,已有的抗病基因不能满足生产需要,目前已经正式命名的 83 个抗条锈病基因中,对于当前的流行小种 CYR32、CYR33、CYR34,大多数已经丧失抗性,只有 Yr5、Yr15、Yr36、Yr45、Yr62 等极少数基因仍保持抗性<sup>[3]</sup>。因此急需发掘新的抗病基因,培育新的抗病品种。

一粒系小麦(einkorn wheat)是六倍体普通小麦 *Triticum aestivum* L. 基因组 A 的供体,根据其形态特征可以分为乌拉尔图小麦 *T. urartu*、野生一粒小麦 *T. boeoticum* 和栽培一粒小麦 *T. monococcum* 3 个种<sup>[4]</sup>。与普通小麦相比,一粒系小麦具有较高的叶绿素含量和较多的叶绿体基粒片层数目,有更高的光合速率,光合特性与 C<sub>4</sub> 植物相似<sup>[5]</sup>。*Wx* 基因是影响小麦淀粉品质的关键基因,Ortega 等<sup>[6]</sup>在乌拉尔图小麦中发现了 4 个新的等位基因,且一粒系小麦中含有较高的蛋白质与赖氨酸含量,是改良小麦品质的优质资源。一粒系小麦还具有优良的抗旱性,是改善小麦品种耐旱性的潜在基因库<sup>[7]</sup>。

一粒系小麦中还蕴藏着丰富的抗病基因,是改良普通小麦的重要基因资源。目前已有部分抗病基因成功转移到普通小麦中,如来源于栽培一粒小麦的抗白粉病基因 *Pm25*<sup>[8]</sup>、抗秆锈病基因 *Sr22*<sup>[9]</sup>、抗条锈病基因 *Yr34/Yr48*<sup>[10]</sup> 以及来自野生一粒小麦的抗白粉病基因 *PmTb7A.1* 和 *PmTb7A.2*<sup>[11]</sup>、抗条锈病基因 *YrZ15-1370*<sup>[12]</sup>、*QYrtb. pau-5A*<sup>[13]</sup>。但关于一粒系小麦中的抗条锈病基因的发掘研究仍然较少,本研究对 217 份一粒系小麦材料进行了抗条锈病鉴定,并对 A 基因组部分抗条锈病基因进行了检测,为一粒系小麦的抗病基因的发掘和利用提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试一粒系小麦材料 217 份,已知基因载体品

系‘AvSYr1NIL’(Yr1)、“AvSYr17NIL”(Yr17)、小麦品种‘CH7086’(Yr69)、“Tyee”(Yr76)和感病对照‘铭贤 169’,苗期抗性鉴定所用菌种为 CYR32。以上材料均由中国农业科学院植物保护研究所麦类真菌病害研究组提供。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 苗期抗条锈病鉴定

苗期抗性鉴定在中国农业科学院植物保护研究所低温室进行,供试材料播种在 35 cm×24 cm×10 cm 的方盒中,每盒播种 40 份材料,每份材料播种 20 粒左右。将方盒置于光周期 L//D=12 h//12 h,温度昼 15~18℃/夜 11~14℃ 的温室内培养。于一叶一心期采用喷菌法将条锈菌 CYR32(1 mL Novec™ 7200 电子氟化液中含 2 mg 孢子)均匀喷洒于叶片上,10℃ 下黑暗保湿 24 h,然后转于温室内潜育发病,光周期 L//D=12 h//12 h,温度昼 15~18℃/夜 11~14℃。接种后 15~18 d,待‘铭贤 169’充分感病后调查记录反应型,依据农业行业标准(NY/T 2953-2016)《小麦区域试验品种抗条锈病鉴定技术规程》的 0~4 级标准<sup>[14]</sup>。

#### 1.2.2 A 染色体组部分抗病基因检测

采用 CTAB 法<sup>[15]</sup>提取小麦基因组 DNA,0.8% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量,并稀释为 100 ng/μL,−20℃ 保存备用。利用 Yr1、Yr17、Yr34/Yr48、Yr69 和 Yr76 共 5 个抗条锈基因的连锁标记(表 1)对供试材料进行分子检测。检测 Yr17、Yr34/Yr48 和 Yr76 的 PCR 反应程序为:98℃ 预变性 2 min;98℃ 变性 10 s,50~65℃ 退火 10 s,72℃ 延伸 15 s,30~35 个循环;72℃ 延伸 2 min,4℃ 保存;10 μL 反应体系:1.1×T3 Super PCR Mix 8 μL;上、下游引物(10 μmol/L)各 0.5 μL,模板 DNA 1 μL;产物进行 1%~3% 琼脂糖凝胶电泳检测。检测 Yr1 和 Yr69 的 PCR 反应程序为:95℃ 预变性 3 min;95℃ 变性 15 s,50~65℃ 退火 15 s,72℃ 延伸 1 min,30~35 个循环;72℃ 延伸 5 min,4℃ 保存;10 μL 反应体系:2×Taq DNA Master Mix for PAGE 5 μL;上、下游引物(10 μmol/L)各 0.4 μL,模板 DNA 1 μL,ddH<sub>2</sub>O 3.2 μL;产物用 8% 聚丙烯酰胺凝胶电泳检测。

表 1 小麦抗条锈病基因的分子标记及引物序列

Table 1 Molecular markers and primer sequences for detection of stripe rust resistance genes

| Yr 基因<br>Yr gene          | 引物名称<br>Primer name | 引物类型<br>Primer type | 引物序列 (5'-3')<br>Primer sequence                  | 片段大小/bp<br>Fragment size | 退火温度/℃<br>Annealing temperature |
|---------------------------|---------------------|---------------------|--------------------------------------------------|--------------------------|---------------------------------|
| Yr1 <sup>[16]</sup>       | Xgwm311             | SSR                 | TCACGTGGAAGACGCTCC<br>CTACGTGCACCACCATTTTG       | 120                      | 60                              |
| Yr17 <sup>[17]</sup>      | SC-385              | SCAR                | CTGAATACAAACAGCAAACCAG<br>ACAGAAAGTGATCATTTCATC  | 385                      | 53                              |
| Yr34/Yr48 <sup>[18]</sup> | sun712              | STS                 | AGAGAAGCGAGCAACTGAGG<br>GGGTGGGGAGTATTGGAAAT     | 900                      | 56                              |
| Yr69 <sup>[19]</sup>      | 2AS111              | EST                 | TCCTGTCCGCTGTATGATCG<br>TTGTGGCTCTGGTGTGTGAATC   | 286                      | 57                              |
| Yr76 <sup>[20]</sup>      | Xwmc532             | SSR                 | GATACATCAAGATCGTGCCAAA<br>GGGAGAAATCATTAACGAAGGG | 176                      | 62                              |

2 结果与分析

2.1 供试材料苗期抗条锈病鉴定

利用 CYR32 对 217 份供试材料进行苗期抗性鉴

定,结果如表 2 所示。共有 55 份材料对条锈病表现抗病,占供试材料的 25. 35%,其中分别有 8、4、13、30 份材料对 CYR32 表现为免疫、近免疫、高抗、中抗,所占比例分别为 3. 69%、1. 84%、5. 99%、13. 82%。

表 2 部分供试材料苗期抗条锈病鉴定及抗病基因检测结果<sup>1)</sup>

Table 2 Identification of stripe rust resistance and Yr gene detection in some test materials

| 编号<br>Code | 名称<br>Name  | 抗性水平<br>Resistance level | 抗病基因检测<br>Detection of resistance genes |      |           |      |      |
|------------|-------------|--------------------------|-----------------------------------------|------|-----------|------|------|
|            |             |                          | Yr1                                     | Yr17 | Yr34/Yr48 | Yr69 | Yr76 |
| 1          | PI 428186   | HS                       | +                                       | —    | —         | —    | —    |
| 2          | PI 428196   | MR                       | —                                       | —    | —         | —    | +    |
| 3          | PI 428198   | HR                       | —                                       | —    | —         | —    | +    |
| 4          | PI 428200   | MS                       | —                                       | —    | —         | —    | +    |
| 5          | PI 428201   | MS                       | —                                       | —    | —         | —    | +    |
| 6          | PI 428203   | MR                       | —                                       | —    | —         | —    | —    |
| 7          | PI 428209   | HS                       | —                                       | —    | —         | —    | +    |
| 8          | PI 428214   | MS                       | —                                       | —    | —         | —    | +    |
| 9          | PI 428218   | MR                       | +                                       | —    | —         | —    | —    |
| 10         | PI 428219   | HS                       | +                                       | —    | —         | —    | +    |
| 11         | PI 428225   | MR                       | —                                       | —    | —         | —    | +    |
| 12         | PI 428227   | MS                       | —                                       | —    | —         | —    | +    |
| 13         | PI 428232   | HR                       | —                                       | —    | —         | —    | +    |
| 14         | PI 428233   | HS                       | —                                       | —    | —         | —    | +    |
| 15         | PI 428240   | MR                       | —                                       | —    | —         | —    | —    |
| 16         | PI 428245   | HS                       | +                                       | —    | —         | —    | —    |
| 17         | PI 428246   | MR                       | —                                       | —    | —         | —    | —    |
| 18         | PI 428249   | HS                       | —                                       | —    | —         | —    | +    |
| 19         | PI 428252   | I                        | +                                       | —    | —         | —    | —    |
| 20         | PI 428255   | I                        | —                                       | —    | —         | —    | —    |
| 21         | PI 428257   | MR                       | +                                       | —    | —         | —    | —    |
| 22         | PI 428261   | HS                       | —                                       | —    | —         | —    | +    |
| 23         | PI 428262   | MS                       | —                                       | —    | —         | —    | +    |
| 24         | PI 428263-1 | MR                       | —                                       | —    | —         | —    | +    |
| 25         | PI 428265   | MR                       | —                                       | —    | —         | —    | —    |
| 26         | PI 428274   | HS                       | —                                       | —    | —         | —    | +    |
| 27         | PI 428283   | I                        | —                                       | —    | —         | —    | +    |
| 28         | PI 428284   | HS                       | —                                       | —    | —         | —    | +    |
| 29         | PI 428292   | MS                       | —                                       | —    | —         | —    | +    |
| 30         | PI 428294   | MS                       | —                                       | —    | —         | —    | +    |

续表 2 Table 2(Continued)

| 编号<br>Code | 名称<br>Name   | 抗性水平<br>Resistance level | 抗病基因检测<br>Detection of resistance genes |      |           |      |      |
|------------|--------------|--------------------------|-----------------------------------------|------|-----------|------|------|
|            |              |                          | Yr1                                     | Yr17 | Yr34/Yr48 | Yr69 | Yr76 |
| 31         | PI 428299    | MS                       | —                                       | —    | —         | —    | +    |
| 32         | PI 428303    | MS                       | —                                       | —    | —         | —    | +    |
| 33         | PI 428305    | HS                       | —                                       | —    | —         | —    | +    |
| 34         | PI 428309    | HS                       | —                                       | —    | —         | —    | +    |
| 35         | PI 428310    | HS                       | —                                       | —    | +         | —    | —    |
| 36         | PI 428318    | HS                       | +                                       | —    | —         | —    | +    |
| 37         | PI 428338    | HS                       | +                                       | —    | —         | —    | —    |
| 38         | PI 428339    | MR                       | —                                       | —    | —         | +    | —    |
| 39         | PI 487266    | MS                       | —                                       | —    | +         | —    | —    |
| 40         | PI 538724    | MR                       | —                                       | —    | +         | +    | —    |
| 41         | PI 538730    | HS                       | +                                       | —    | —         | —    | —    |
| 42         | PI 538732    | HS                       | +                                       | —    | —         | —    | —    |
| 43         | PI 538733    | MS                       | +                                       | —    | —         | —    | —    |
| 44         | PI 538735    | HS                       | +                                       | —    | —         | —    | —    |
| 45         | PI 538742    | HS                       | +                                       | —    | —         | —    | —    |
| 46         | PI 554599    | HS                       | +                                       | —    | —         | —    | —    |
| 47         | PI 538744-1  | MS                       | —                                       | —    | —         | —    | +    |
| 48         | PI 428325    | MR                       | —                                       | —    | —         | —    | —    |
| 49         | PI 662227    | MS                       | —                                       | —    | +         | —    | —    |
| 50         | PI 538744-2  | HS                       | —                                       | —    | —         | —    | +    |
| 51         | CITR 17672   | MS                       | —                                       | —    | +         | —    | —    |
| 52         | PI 272519    | MS                       | —                                       | —    | +         | —    | —    |
| 53         | PI 277123-1  | I                        | —                                       | —    | +         | —    | —    |
| 54         | PI 306526    | MR                       | —                                       | —    | —         | —    | —    |
| 55         | PI 352504    | MR                       | —                                       | —    | —         | —    | —    |
| 56         | PI 352505    | HR                       | —                                       | —    | —         | +    | —    |
| 57         | PI 381063    | HR                       | —                                       | —    | —         | +    | —    |
| 58         | PI 401408    | I                        | —                                       | —    | —         | +    | —    |
| 59         | PI 401412    | MS                       | —                                       | —    | +         | +    | —    |
| 60         | PI 401416    | HR                       | —                                       | —    | —         | +    | —    |
| 61         | PI 418580    | HR                       | —                                       | —    | —         | —    | —    |
| 62         | PI 427948    | NIM                      | —                                       | —    | —         | —    | —    |
| 63         | PI 427996    | HR                       | —                                       | —    | —         | +    | —    |
| 64         | PI 427999    | I                        | —                                       | —    | +         | +    | —    |
| 65         | PI 487249    | MR                       | —                                       | —    | —         | +    | —    |
| 66         | PI 471744    | MR                       | —                                       | —    | —         | —    | —    |
| 67         | PI 428010    | MR                       | —                                       | —    | +         | +    | —    |
| 68         | PI 503578    | HR                       | —                                       | —    | —         | —    | —    |
| 69         | PI 554518    | MR                       | —                                       | —    | —         | —    | —    |
| 70         | PI 554519    | MR                       | —                                       | —    | —         | —    | —    |
| 71         | PI 542475    | MR                       | —                                       | —    | +         | —    | —    |
| 72         | PI 427760    | HR                       | —                                       | —    | —         | +    | —    |
| 73         | PI 428204    | HS                       | —                                       | —    | +         | —    | —    |
| 74         | PI 428321    | I                        | +                                       | —    | —         | —    | —    |
| 75         | CITR 17741-1 | MR                       | —                                       | —    | +         | —    | —    |
| 76         | PI 272520    | MR                       | —                                       | —    | —         | +    | —    |
| 77         | PI 277121    | HR                       | —                                       | —    | +         | +    | —    |
| 78         | PI 277123-2  | MR                       | —                                       | —    | +         | —    | —    |
| 79         | PI 330527-1  | MR                       | —                                       | —    | —         | —    | —    |
| 80         | PI 306532    | HR                       | +                                       | —    | +         | —    | —    |
| 81         | PI 352269-1  | HR                       | +                                       | —    | —         | —    | —    |
| 82         | PI 352501-1  | MR                       | —                                       | —    | —         | —    | —    |

续表 2 Table 2(Continued)

| 编号<br>Code | 名称<br>Name   | 抗性水平<br>Resistance level | 抗病基因检测<br>Detection of resistance genes |      |           |      |      |
|------------|--------------|--------------------------|-----------------------------------------|------|-----------|------|------|
|            |              |                          | Yr1                                     | Yr17 | Yr34/Yr48 | Yr69 | Yr76 |
| 83         | PI 352501-2  | MR                       | —                                       | —    | —         | —    | —    |
| 84         | PI 355453    | NIM                      | —                                       | —    | —         | —    | —    |
| 85         | PI 427990    | NIM                      | —                                       | —    | —         | —    | —    |
| 86         | PI 428002-1  | HS                       | +                                       | —    | +         | —    | —    |
| 87         | PI 614650-1  | I                        | —                                       | —    | —         | —    | —    |
| 88         | PI 428189    | MR                       | —                                       | —    | —         | —    | —    |
| 89         | PI 428212    | MS                       | +                                       | —    | —         | —    | +    |
| 90         | PI 428213-1  | HS                       | —                                       | —    | —         | —    | +    |
| 91         | PI 428215    | HS                       | —                                       | —    | —         | —    | +    |
| 92         | PI 428238    | HS                       | —                                       | —    | +         | —    | —    |
| 93         | PI 428254-2  | HS                       | —                                       | —    | —         | +    | —    |
| 94         | PI 428278-1  | MS                       | —                                       | —    | —         | —    | +    |
| 95         | PI 428286    | HS                       | —                                       | —    | —         | —    | +    |
| 96         | PI 428296-1  | MS                       | —                                       | —    | —         | —    | +    |
| 97         | PI 428301    | HS                       | +                                       | —    | —         | —    | —    |
| 98         | PI 428311-2  | MS                       | —                                       | —    | —         | —    | +    |
| 99         | PI 428340-2  | HS                       | +                                       | —    | —         | —    | —    |
| 100        | CITR 17741-2 | MR                       | +                                       | —    | +         | —    | —    |
| 101        | PI 352269-2  | HS                       | —                                       | —    | +         | +    | —    |
| 102        | PI 427992    | MS                       | +                                       | —    | +         | —    | —    |
| 103        | PI 428002-2  | HS                       | +                                       | —    | —         | —    | —    |
| 104        | PI 614650-2  | NIM                      | +                                       | —    | —         | —    | —    |
| 105        | PI 330527-2  | HR                       | +                                       | —    | +         | —    | —    |
| 106        | PI 352269-3  | MR                       | —                                       | —    | —         | —    | —    |
| 107        | PI 428278-2  | MR                       | —                                       | —    | —         | —    | —    |

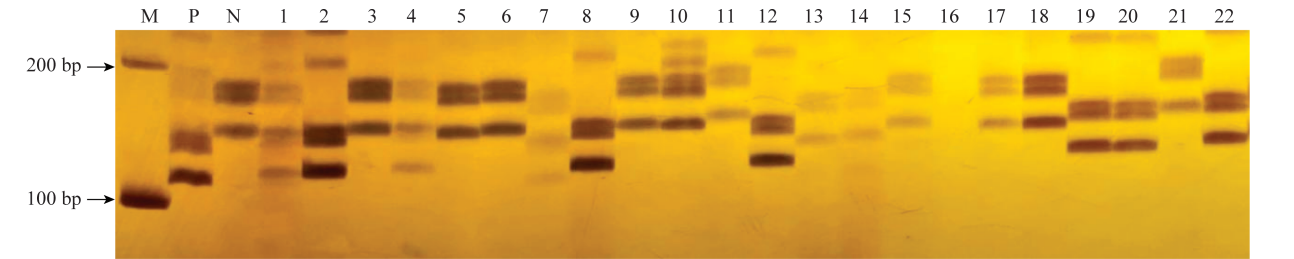
1) 该表所示为 217 份材料中苗期抗条锈病和检测出有抗病基因的品种。+: 存在抗病基因特征带; —: 不存在抗病基因特征带; I: 免疫; NIM: 近免疫; HR: 高抗; MR: 中抗; MS: 中感; HS: 高感。  
In the table, 217 materials with resistance to stripe rust at seedling stage and resistance genes detected are shown. +: Specific resistant band is present; —: Specific resistance band is absent; I: Immune; NIM: Nearly immune; HR: Highly resistant; MR: Moderately resistant; MS: Moderately susceptible; HS: Highly susceptible.

2.2 抗病基因分子标记检测

2.2.1 Yr1 分子检测

利用 SSR 标记 Xgwm311 检测供试材料中 Yr1 的

携带情况(图 1),AvsYr1NIL(Yr1)可以扩增出 120 bp 的阳性条带,检测的材料中共有 26 份可以扩增出目的条带(表 2),可能携带 Yr1,占供试材料的 11.98%。



M: DNA Marker I (For Page); P: AvSYr1NIL (Yr1); N: 铭贤 169 (Mingxian 169); 1: PI 538732; 2: PI 538733; 3: PI 538734; 4: PI 538735; 5: PI 538738; 6: PI 538739; 7: PI 538740; 8: PI 538742; 9: PI 538743; 10: PI 538744-1; 11: PI 538749; 12: PI 554599; 13: PI 428319; 14: PI 428325; 15: PI 662222; 16: PI 662224; 17: PI 662226-1; 18: PI 662227; 19: CITR 17672; 20: PI 272519; 21: PI 277123-1; 22: PI 306526.

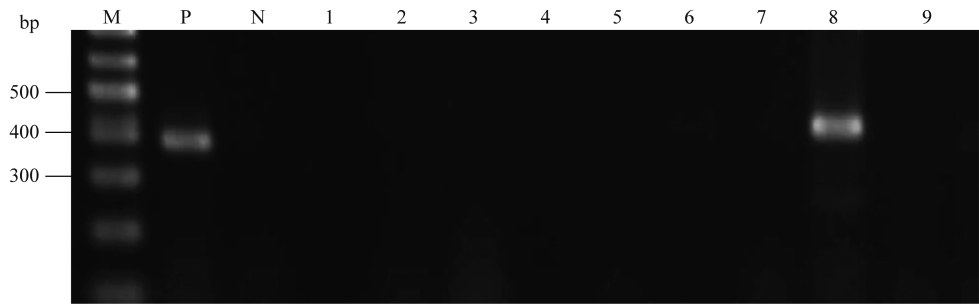
图 1 引物 Xgwm311 检测 Yr1 的部分电泳结果  
Fig. 1 Partial electrophoresis result from primer Xgwm311 for Yr1

2.2.2 Yr17 分子检测

利用 SCAR 标记 SC-385 检测 Yr17 在一粒系

小麦中的携带情况(图 2),AvSYr17NIL(Yr17)可以扩增出 385 bp 的阳性条带,所检测的材料中均未扩

增出该片段大小的条带(表 2),说明所检测材料可能不携带 Yr17 基因。



M: DNA Marker I ; P: AvSYr17NIL (Yr17); N: 铭贤 169 (Mingxian 169); 1: PI 381063; 2: PI 401408; 3: PI 401412; 4: PI 401416; 5: PI 427996; 6: PI 427999; 7: PI 487249; 8: PI 471744; 9: PI 428010。

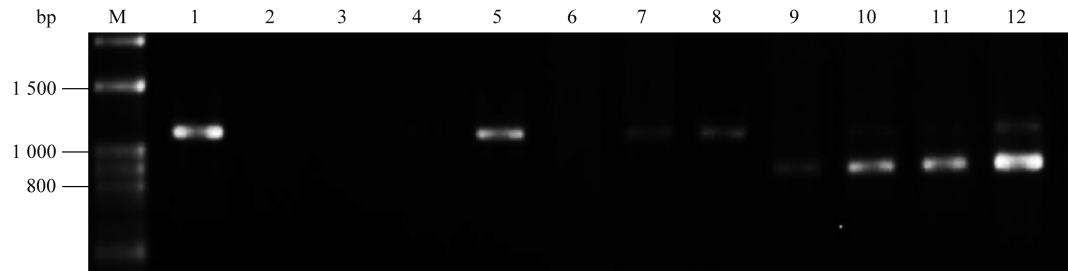
图 2 引物 SC-385 检测 Yr17 的部分电泳结果

Fig. 2 Partial electrophoresis result of Yr17 detected by primer SC-385

2.2.3 Yr34/Yr48 分子检测

利用 STS 标记 sun712 检测 Yr34/Yr48 在一粒系小麦中的携带情况(图 3),携带该基因的材料可

以扩增出 900 bp 的阳性条带,检测的材料中共有 22 份可以扩增出目的条带(表 2),可能携带 Yr34/Yr48,占供试材料的 10. 14%。



M: 100 bp Plus II DNA Ladder; 1: PI 538743; 2: PI 538744-1; 3: PI 538749; 4: PI 554599; 5: PI 428319; 6: PI 428325; 7: PI 662222; 8: PI 662224; 9: PI 662227; 10: CITR 17672; 11: PI 272519; 12: PI 277123-1.

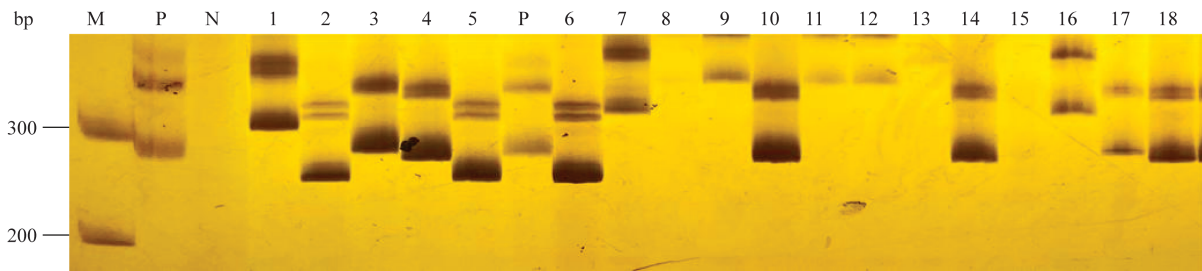
图 3 引物 sun712 检测 Yr34/Yr48 的部分电泳结果

Fig. 3 Partial electrophoresis result of Yr34/Yr48 detected by primer sun712

2.2.4 Yr69 分子检测

利用 EST 标记 2AS111 检测 Yr69 在一粒系小麦中的携带情况(图 4),Yr69 的载体品种‘CH7086’

可以扩增出 286 bp 的阳性条带,检测的材料中共有 16 份可以扩增出目的条带(表 2),可能携带 Yr69,占供试材料的 7. 37%。



M: 100 bp DNA Marker I (For Page); P: CH7086 (Yr69); N: 铭贤 169 (Mingxian 169); 1: PI 662225-2; 2: CITR 17741-2; 3: PI 352269-2; 4: PI 427992; 5: PI 330527-2; 6: PI 352269-3; 7: PI 428213-2; 8: PI 428275; 9: PI 428276; 10: PI 428278-2; 11: PI 428263-2; 12: PI 428296-2; 13: PI 487268-2; 14: PI 352271; 15: PI 418580; 16: PI 427948; 17: PI 428254-2; 18: PI 428002-2.

图 4 引物 2AS111 检测 Yr69 的部分电泳结果

Fig. 4 Partial electrophoresis result of Yr69 detected by primer 2AS111

2.2.5 Yr76 分子检测

利用 SSR 标记 Xwmc532 检测 Yr76 在一粒系

小麦中的携带情况(图 5),Yr76 的载体品种‘Tyee’可以扩增出 176 bp 的阳性条带,检测的材料中共有

34 份可以扩增出目的条带(表 2),可能携带 Yr76, 占供试材料的 15.67%。

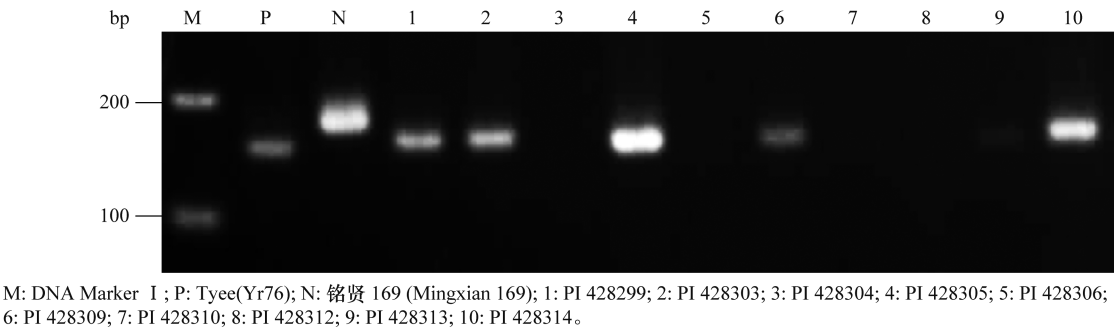


图 5 引物 Xwmc532 检测 Yr76 的部分电泳结果  
Fig. 5 Partial electrophoresis result of Yr76 detected by primer Xwmc532

在所有检测的材料中,共有 14 份材料含有不止一种抗病基因,其中同时含有 Yr69 和 Yr34 的共有 6 份,同时含有 Yr1 和 Yr76 的有 3 份材料,另外有 5 份材料同时含有 Yr34 和 Yr1。55 份抗病材料中有 23 份材料未检测到上述 5 个基因,可能含有其他已知或者新的抗病基因,需要进一步检测。

3 结论与讨论

挖掘新的抗病基因,增加主栽品种抗病基因的多样性能有效解决因条锈菌频繁变异而导致抗病品种抗性丧失的问题。本研究利用 CYR32 对 217 份一粒系小麦进行抗条锈病鉴定,共有 55 份表现抗病,占供试材料的 25.35%,分别有 8、4、13 份材料对 CYR32 表现为免疫、近免疫、高抗,具有较高的抗性水平,其中有 23 份抗病材料未检测到抗病基因 Yr1、Yr17、Yr34/Yr48、Yr69 和 Yr76,这些种质可能含有已知的或未知的抗条锈病基因或组合,说明一粒系小麦中含有丰富的抗条锈病资源,

本研究对 A 基因组上的 Yr1、Yr17、Yr34/Yr48、Yr69 和 Yr76 等 5 个基因进行了分子检测。Yr1 来源于‘Chinese 166’,曾经在我国育成品种中应用广泛,目前对我国当前的条锈病流行小种 CYR32、CYR33 和 CYR34 已失去抗性,使用频率有所下降。徐琪等<sup>[21]</sup>在 181 份小麦高代系材料中检出 10 份携带 Yr1 基因的小麦品种,仅占 5.52%。在本研究中,检测到 Yr1 的频率较高,为 11.98%。Yr1 与其他基因聚合使用,可以提高抗病性。如同时携带 Yr1 和 Yr2 的多基因聚合种质‘Ibis’的抗条锈性水平高于单独含有 Yr1 和 Yr2 的材料<sup>[22]</sup>,同时聚合了 Yr1、Yr2、Yr9 和 Yr32 的材料‘Savannah’也

具有较好的抗性表现<sup>[23]</sup>。在本研究中,检测到 Yr1 的 26 份材料中有 18 份未检测到其余 4 个 Yr 基因,其中 12 份材料表现感病,6 份材料表现抗病;抗病材料中有 4 份材料 (PI 428252、PI 428321、PI 352269-1 和 PI 614650-2) 表现为高抗及免疫,抗性表现良好,说明这 4 份材料中含有除本研究检测的 5 个基因以外的其他抗病基因。

Yr17 是来源于偏凸山羊草 *Aegilops ventricosa* 的全生育期抗病基因,对当前的条锈菌生理小种仍具有一定抗性<sup>[24]</sup>。在张小娟等<sup>[25]</sup>检测的 95 份青海省小麦品种中,有 78% 的材料中含有 Yr17。78 份四川小麦育成品种中也有近 58% 的材料可能携带 Yr17<sup>[26]</sup>。Yr17 与其他基因聚合常常能提高小麦抗病性<sup>[27]</sup>。本研究在供试一粒系小麦中未检测到 Yr17。

抗条锈病基因 Yr34 和 Yr48 来自栽培一粒小麦 *T. monococcum*,通过染色体易位进入到普通小麦,是同一个抗病基因<sup>[10]</sup>,这两个基因数十年来一直对美国、澳大利亚、墨西哥等多个国家的条锈菌小种表现出广谱抗性。但已丧失对中国当前流行小种 CYR32、CYR33、CYR34 的抗性<sup>[3]</sup>。赵旭阳等<sup>[28]</sup>通过分子检测发现,93 份来自青藏春冬麦区的小麦地方种质中有 40 份(43%)可能携带 Yr48。在本次检测中 22 份材料含有 Yr34/Yr48,其中有 11 份材料只检测到 Yr34/Yr48,7 份表现感病,证实了 Yr34/Yr48 已失去对 CYR32 的抗性,另外 4 份表现抗病的材料,可能含有除 Yr1、Yr17、Yr69 和 Yr76 外其他已知或未知的 Yr 基因;其他 11 份材料检测到 2 对抗病基因。Yr48 与其他检测的基因组合出现频率最高,在检测到 2 个基因的材料中 78.57% 的材

料含有 Yr48 基因。

Yr69 来源于彭梯卡偃麦草 *Thinopyrum ponticum*, 对我国目前多个条锈菌生理小种表现高抗或免疫, 是中国条锈菌优势流行小种的有效抗病基因。本研究利用 Yr69 的连锁标记 2AS111 在 217 份材料中检测到 16 份材料扩增出与目的片段相同大小的片段, 结合苗期抗条锈病鉴定结果, 有 3 份材料表现感病的原因可能是 Yr69 为专化抗性, 对不同条锈菌生理小种的抗感反应不同造成的, 其他携带 Yr69 的 13 份材料可以应用于后期的抗病育种中。

Yr76 是来源于普通小麦的全生育期抗病基因, 不同国家的不同条锈生理小种对其毒性频率也不同, 在加拿大、厄瓜多尔等地, Yr76 仍有较高的抗性水平, 而对于中国目前的大部分条锈菌生理小种, 包括 CYR32、CYR33 和 CYR34, 已失去其抗性<sup>[29]</sup>。在 217 份供试一粒系小麦中有 34 份材料被检测到 Yr76, 其中 3 份检测到含有 2 个基因(Yr1+Yr76); 31 份未检测到其余 4 个 Yr 基因, 6 份材料表现抗病, 其中 3 份材料(PI 428198、PI 428232 和 PI 428283)表现为高抗, 推测这 6 份材料中含有除本研究检测的 5 个基因以外的其他抗病基因。

在小麦育种中对主效抗病基因进行有目的累加或聚合不同类型的抗性基因有利于获得持久抗病性<sup>[30]</sup>。董娜等<sup>[31]</sup>的研究也表明, Yr5 与慢病基因 Yr18 聚合能显著增强抗病性。张一博<sup>[32]</sup>通过对 110 份多基因聚合材料的抗性鉴定与抗病基因分子检测分析发现, 材料的抗病水平随着条锈病抗性基因的聚合数目与类型的增加显著上升, 二者之间呈正相关。即使是已经对当前小种失去抗性的基因, 通过聚合也可能会增强品种的抗病性, 如 Yr9+Yr17<sup>[33]</sup>。本研究中共有 14 份材料含有 2 个基因, 其中 3 份材料同时含有 Yr1 和 Yr76, 但均表现感病, 说明 Yr1 和 Yr76 聚合不能增强抗病性; 同时含有 Yr69 和 Yr34 的材料共有 6 份, 2 份(PI 427999 和 PI 277121)表现高抗; 5 份材料同时含有 Yr1 和 Yr34, 3 份(PI 306532、CITR 17741-2 和 PI 330527-2)表现抗病。通过分子检测手段明确抗病基因分布情况, 有效聚合抗病基因, 提高抗病基因利用率是解决当前抗病基因数量有限问题的有效策略。

## 参考文献

[1] 陈万权, 康振生, 马占鸿, 等. 中国小麦条锈病综合治理理论

与实践[J]. 中国农业科学, 2013, 46(20): 4254-4262.

- [2] WELLINGS C R. Global status of stripe rust: a review of historical and current threats [J]. Euphytica, 2011, 179(1): 129-141.
- [3] 胡朝月, 王凤涛, 郎晓威, 等. 小麦抗条锈病基因对中国条锈菌主要流行小种的抗性分析[J]. 中国农业科学, 2022, 55(3): 491-502.
- [4] 马昭才, 郑有良, 魏育明. 一粒系小麦种质资源研究进展[J]. 麦类作物学报, 2005, 25(3): 93-99.
- [5] 魏爱丽, 王志敏, 张俊平, 等. 野生一粒麦与普通小麦不同绿色器官光合特性和叶绿体结构特征[J]. 作物学报, 2002, 28(3): 351-354.
- [6] ORTEGA R, GUZMÁN C, ALVAREZ J B. Wx gene in diploid wheat: molecular characterization of five novel alleles from einkorn (*Triticum monococcum* L. ssp. *monococcum*) and *T. urartu* [J]. Molecular Breeding, 2011, 34(3): 1137-1146.
- [7] 李鲜花, 刘永华, 刘辉, 等. 野生一粒小麦根干早响应蛋白的筛选与鉴定[J]. 麦类作物学报, 2016, 36(6): 721-727.
- [8] SHI A N, LEATH S, MURPHY J P. A major gene for powdery mildew resistance transferred to common wheat from wild einkorn wheat [J]. Phytopathology, 1998, 88(2): 144-147.
- [9] OLSON E L, BROWN-GUEDIRA G, MARSHALL D, et al. Development of wheat lines having a small introgressed segment carrying stem rust resistance gene Sr22 [J]. Crop Science, 2010, 50(5): 1823-1830.
- [10] CHEN Shisheng, HEGARTY J, SHEN Tao, et al. Stripe rust resistance gene Yr34 (synonym Yr48) is located within a distal translocation of *Triticum monococcum* chromosome 5A<sup>m</sup>L into common wheat [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2021, 134(7): 2197-2211.
- [11] ELKOT A F A, CHHUNEJA P, KAUR S, et al. Marker assisted transfer of two powdery mildew resistance genes *PmTb7A.1* and *PmTb7A.2* from *Triticum boeoticum* (Boiss.) to *Triticum aestivum* (L.) [J/OL]. PLoS ONE, 2017, 10(6): e0128297. DOI: 10.1371/journal.pone.0128297.
- [12] ZHANG Minghu, LIU Xin, PENG Ting, et al. Identification of a recessive gene YrZ15-1370 conferring adult plant resistance to stripe rust in wheat - *Triticum boeoticum* introgression line [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2021, 134(9): 2891-2900.
- [13] AHMED S, BUX H, RASHEED A, et al. Stripe rust resistance in *Triticum durum* - *T. monococcum* and *T. durum* - *T. urartu* amphiploids [J]. Australasian Plant Pathology, 2014, 43(2): 109-113.
- [14] 中华人民共和国农业部. 小麦区域试验品种抗条锈病鉴定技术规程: NY/T 2953-2016 [S]. 北京: 中国农业出版社, 2016.
- [15] ALLEN G C, FLORES-VERGARA M A, KRASYNANSKI S, et al. A modified protocol for rapid DNA isolation from plant tissues using cetyltrimethylammonium bromide [J]. Na-

- ture Protocols, 2006, 1(5): 2320–2325.
- [16] BANSAL U K, HAYDEN M J, KELLER B, et al. Relationship between wheat rust resistance genes *Yr1* and *Sr48* and a microsatellite marker [J]. *Plant Pathology*, 2009, 58(6): 1039–1043.
- [17] JIA Juqing, LI Guangrong, LIU Cheng, et al. Characterization of wheat yellow rust resistance gene *Yr17* using EST-SSR and rice syntenic region [J]. *Cereal Research Communications*, 2011, 39(1): 65–70.
- [18] BARIANA H S, PARRY N, BARCLAY I R, et al. Identification and characterization of stripe rust resistance gene *Yr34* in common wheat [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2006, 112(6): 1143–1148.
- [19] 杨文静, 乔麟铁, 李欣, 等. 小麦抗条锈基因 *Yr69* 的连锁标记开发[J]. *植物科学学报*, 2022, 40(2): 197–204.
- [20] XIANG Chun, FENG Jianying, WANG Ming, et al. Molecular mapping of stripe rust resistance gene *Yr76* in winter club wheat cultivar Tyee [J]. *Phytopathology*, 2016, 106(10): 1186–1193.
- [21] 徐琪, 李北, 薛文波, 等. 小麦抗条锈基因 *Yr1* 和 *Yr2* 分子检测体系研究[J]. *麦类作物学报*, 2016, 36(12): 1605–1610.
- [22] 曾庆东, 沈川, 袁凤平, 等. 小麦抗条锈病已知基因对中国当前流行小种的有效性分析[J]. *植物病理学报*, 2015, 45(6): 641–650.
- [23] ERIKSEN L, AFSHARI F, CHRISTIANSEN M J, et al. *Yr32* for resistance to stripe (yellow) rust present in the wheat cultivar Carstens V [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2004, 108(3): 567–575.
- [24] 张帅, 朱浩, 李春莲, 等. 小麦品种(系)条锈病成株期抗性检测及抗病基因分析[J]. *分子植物育种*, 2022, 20(15): 5044–5054.
- [25] 张小娟, 侯万伟. 青海省小麦种质资源抗条锈鉴定和抗病基因筛选[J]. *西南农业学报*, 2021, 34(6): 1156–1166.
- [26] 习玲, 王昱琦, 朱微, 等. 78 份四川小麦育成品种(系)条锈病抗性鉴定与抗条锈病基因分子检测[J]. *作物学报*, 2021, 47(7): 1309–1323.
- [27] 蔚睿, 金彦刚, 吴舒舒, 等. 黄淮麦区小麦新品种(系)抗条锈水平与抗病基因分析[J]. *麦类作物学报*, 2020, 40(3): 278–284.
- [28] 赵旭阳, 姚方杰, 龙黎, 等. 青藏春冬麦区 93 份小麦地方种质条锈病抗性评价及抗病基因分子鉴定[J]. *作物学报*, 2021, 47(10): 2053–2063.
- [29] CHEN Xianming, WANG Meinan, WAN Anmin, et al. Virulence characterization of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* collections from six countries in 2013 to 2020 [J]. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 2021, 43(S2): S308–S322.
- [30] 何中虎, 夏先春, 陈新民, 等. 中国小麦育种进展与展望[J]. *作物学报*, 2011, 37(2): 202–215.
- [31] 董娜, 胡海燕, 胡铁柱, 等. 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[J]. *西北农业学报*, 2019, 28(12): 1960–1968.
- [32] 张一博. 中国冬小麦主产区候选品种条锈病抗病性评价与基因检测[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2022.
- [33] 韩德俊, 康振生. 中国小麦品种抗条锈病现状及存在问题与对策[J]. *植物保护*, 2018, 44(5): 1–12.

(责任编辑: 杨明丽)

(上接 8 页)

- [26] 李新芳, 周仲芳, 梁刚, 等. 美国紫花苜蓿主要害虫发生情况[J]. *植物检疫*, 2015, 29(5): 82–87.
- [27] 兴安盟饲料草种监督检验站. 紫花苜蓿常见虫害及防治方法[EB/OL]. (2020–06–08) [2023–10–10]. <http://nmj.xam.gov.cn/xamagri/kjzc/zzy/3420905/index.html>.
- [28] 刘慧, 金富强, 刘亚朋, 等. 8 种生物农药对苜蓿叶象甲的室内毒力测定及田间防效[J]. *草地学报*, 2022, 30(2): 426–431.
- [29] MCCLURE M, HERREID J, JABBOUR R. Insecticide application timing effects on alfalfa insect communities [J]. *Journal of Economic Entomology*, 2023, 116(3): 815–822.
- [30] RODBELL E A, HENDRICK M L, GRETTEMBERGER I M, et al. Alfalfa weevil (Coleoptera: Curculionidae) resistance to lambda-cyhalothrin in the Western United States [J]. *Journal of Economic Entomology*, 2022, 115(6): 2029–2040.
- [31] RAND T A. Host density drives spatial variation in parasitism of the alfalfa weevil, *Hypera postica*, across dryland and irrigated alfalfa cropping systems [J]. *Environment Entomology*, 2013, 42(1): 116–122.
- [32] KUHAR T P, YOUNGMAN R R, LAUB C A. Alfalfa weevil (Coleoptera: Curculionidae) pest status and incidence of *Bathyplectes* spp. (Hymenoptera: Ichneumonidae) and *Zoophtora phytonomi* (Zygomycetes: Entomophthorales) in Virginia [J]. *Journal of Economic Entomology*, 1999, 92(5): 1184–1189.
- [33] YUCEL B, GOZUACIK C, GENCER D, et al. Determination of fungal pathogens of *Hypera postica* (Gyllenhal) (Coleoptera: Curculionidae): isolation, characterization, and susceptibility [J/OL]. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 2018, 28: 39. DOI: 10.1186/s41938-018-0043-2.
- [34] SHRESTHA G, REDDY G C P, JARONSKI S T. Field efficacy of *Bacillus thuringiensis* galleriae strain SDS-502 for the management of alfalfa weevil and its impact on *Bathyplectes* spp. parasitization rate [J]. *Journal of Invertebrate Pathology*, 2018, 153: 6–11.
- [35] HSIAO T H. Alfalfa weevil biotype problem in relation to biological control [C]// Report 30th North American Alfalfa Improvement Conference, 1986: 34.

(责任编辑: 杨明丽)