

215 份小麦材料抗条锈病基因分子检测初报

王 兰,张永鹏,梁艳华,余明寨

(西藏自治区农牧科学院农业研究所,西藏 拉萨 850032)

摘 要:【目的】了解 215 个小麦品种(系)5 个重要的 *Yr* 基因分布情况,为选育抗条锈病资源提供依据。【方法】利用与 5 个抗性 *Yr* 基因紧密连锁的分子标记对供试材料进行分子检测。【结果】发现含有 *Yr5*、*Yr9*、*Yr10*、*Yr18*、*Yr26* 的材料分别为 105、41、38、54 和 42 份,37 份材料均不含以上 5 个 *Yr* 基因。【结论】明确了 5 个 *Yr* 基因在供试材料中的分布,合理布局抗性基因,避免单一抗性基因使用,减少条锈菌选择压力。

关键词:小麦;条锈病;分子标记;*Yr* 基因

中图分类号:S432.21 文献标识码:A

Report on Molecular Detection of 215 Wheat Materials to Resist Stripe Rust

WANG Lan,ZHANG Yong-peng,LIANG Yan-hua,YU Ming-zhai

(Agricultural Research Institute, Tibet Academy of Agricultural and Animal Husbandry Sciences, Tibet Lhasa 850032, China)

Abstract:【Objective】The present paper was conducted to know the distribution of five important *Yr* genes among 215 wheat cultivars (lines), thus to provide the basis of breeding resistance materials. 【Method】Molecular markers tightly linked to five resistance *Yr* genes were screened. 【Result】Based on the molecular screening, there were 105, 41, 38, 54 and 42 materials positive of linked makers to *Yr5*, *Yr9*, *Yr10*, *Yr18* and *Yr26*. 37 materials had none of those 5 genes. 【Conclision】The distribution of 5 *Yr* genes in the tested materials was determined. By avoiding single resistance gene, we could reduce the selection pressure of rust bacteria.

Key words:Wheat;Stripe rust;Molecular marker;*Yr* genes

目前,国际上已正式命名了 60 多个小麦抗条锈基因,而且这些基因都有可供检测的分子标记,利用分子标记可以快速检测到对应的抗条锈基因。当前,只有 *Yr5*、*Yr9*、*Yr10*、*Yr18*、和 *Yr26* 等少数基因对西藏乃至全国的条锈菌流行小种 CYr32 和 CYr33 有效^[1]。本研究以 215 份小麦品种(系)为研究对象,通过分子标记检测这些材料的几个主要抗条锈 *Yr* 基因,了解适合我区种植的小麦品种(系) *Yr* 基因分布,避免单一抗病基因的大面积推广使用,减少条锈菌的选择压力,进而为西藏小麦抗锈品种的合理布局、抗源材料的引进及育种亲本的选育提供科学的参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

215 份小麦材料包括大田推广的农家品种、育成品种、高代品系以及引进品种,由西藏自治区农牧科学院农业研究所收集。

1.2 抗条锈病 *Yr* 基因的分子检测

在小麦幼苗期时取其嫩叶,放入液氮中迅速冷冻,再放入 -70℃ 超低温冰箱备用。基因组 DNA 提取参照 Doyle 等^[2] 的 2×CTAB 法。5 个抗性 *Yr* 基因紧密连锁的分子标记对供试材料进行分子检测;用于检测基因 *Yr5*、*Yr9*、*Yr10*、*Yr18*、和 *Yr26* 的特异分子标记及序列见表 1。引物由成都擎科梓熙生物技术有限公司合成。

收稿日期:2018-10-12

基金项目:西藏自治区自然科学基金项目(2016ZR-NK-01)

作者简介:王 兰(1989-),女,硕士,助理研究员,主要从事小麦栽培与育种研究,E-mail:155286500@qq.com。

表 1 用于分子检测的基因标记及序列

基因名称	标记名称	标记类型	引物序列	扩增片段大小(bp)	参考文献
Yr5	barc349	SSR	CGAATAGCCGCTGCACAAG TATGCATGCCTTTCTTTACAAT	105	Murphy et al. (2009)
Yr9	P6M12-P	STS	GTACTAGTATCCAGAGGTCACAAG CAGACAAACAGAGTACGGGC	250/350	Mago et al. (2005)
Yr10	Yr10 F Yr10R	Gene specific	TCAAAGACATCAAGAGCCGC TGGCCTACATGAACTCTGGAT	543	Liu et al. (2014)
Yr18	csLV34	STS	GTTGGTTAAGACTGGTGATGG TGCTTGCTATTGCTGAATAGT	150	Krattinger et al. (2009)
Yr26	STS-CD77 ^a	STS	CGACGAAGCCGTTGTTAT TCAAGCAAAGACGAGAGGAT	481	Zhang et al. (2013)

2 结果与分析

2.1 Yr5 检测结果

如果小麦品种(系)中具有 Yr5 基因,则会扩增出 1 条 105 bp 的片段^[3],如图 1 所示。

利用标记 barc349 检测 Yr5,共有 105 份材料对该标记呈阳性反应。

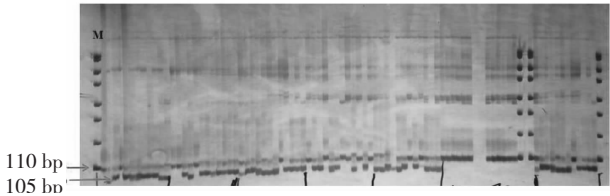
2.2 Yr9 检测结果

如果小麦品种(系)中具有 Yr9 基因,则会扩增出 1 条 250 或 350 bp 的片段^[4],如图 2 所示。

利用标记 P6M12-P 检测 Yr9,共有 41 份材料对该标记呈阳性反应。

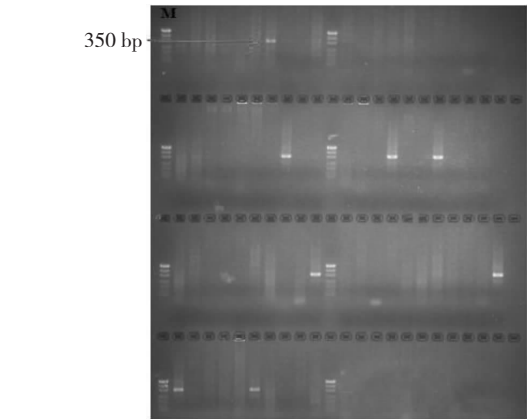
2.3 Yr10 检测结果

如果小麦品种(系)中具有 Yr10 基因,则会扩增



标记名称:barc349,标记类型:SSR 标记,片段大小:105 bp(+)

图 1 Yr5 基因检测结果



标记名称:P6M12-P,标记类型:STS 标记,片段大小:250/350 bp (+)

图 2 Yr9 基因检测结果

出 1 条 543 bp 的明亮片段^[5],如图 3 所示。

利用标记 Yr10 检测 Yr10,共有 38 份材料对该标记呈阳性反应。

2.4 Yr18 检测结果

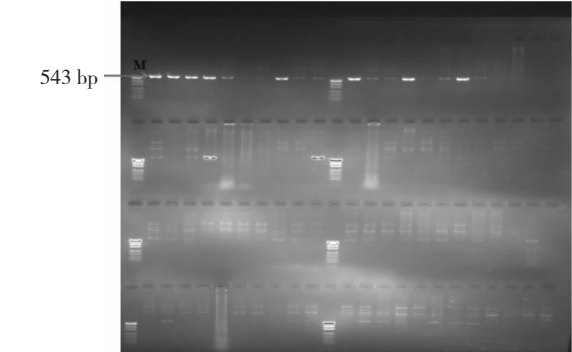
如果小麦品种(系)中具有 Yr18 基因,则会扩增出 1 条 150 bp 的片段^[6],如图 4 所示。

利用标记 csLV34 检测 Yr18,共有 54 份材料对该标记呈阳性反应。

2.5 Yr26 检测结果

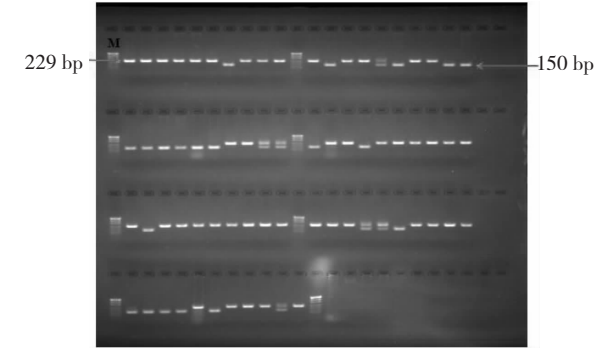
如果小麦品种(系)中具有 Yr26 基因,则会扩增出 1 条 481 bp 的片段^[7],如图 5 所示。

利用标记 STS-CD77 检测 Yr26,共有 42 份材料



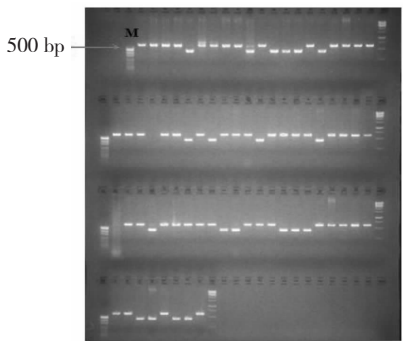
标记名称:Yr10,标记类型:Gene specific,片段大小:543 bp(+)

图 3 Yr10 基因检测结果



标记名称:CsLV34,标记类型:STS 标记,片段大小:150 bp(+)
229 bp(-)

图 4 Yr18 基因检测结果



标记名称:STS-CD77,标记类型:STS 标记,片段大小:481 bp(+)

图5 Yr26 基因检测结果

对该标记呈阳性反应。

215 份供试材料中,有 37 份材料未检测出这 5 个 *Yr* 基因;*Yr5*、*Yr9*、*Yr10*、*Yr18* 和 *Yr26* 出现频率分别是 48.84 %、19.07 %、17.67 %、25.12 % 和 19.53 %。有 19 份材料兼并含有 3 个抗条锈基因的特征条带,其中 *Yr5* + *Yr9* + *Yr26*、*Yr5* + *Yr10* + *Yr26*、*Yr5* + *Yr9* + *Yr18*、*Yr5* + *Yr18* + *Yr26* 组合各 4 份,*Yr5* + *Yr10* + *Yr18* 组合 2 份,*Yr10* + *Yr18* + *Yr26* 组合 1 份。有 39 份材料兼并含有 2 个抗条锈基因的特征条带,其中 *Yr5* + *Yr9* 组合 14 份,*Yr5* + *Yr10*、*Yr5* + *Yr26* 组合各 6 份,*Yr5* + *Yr18*、*Yr18* + *Yr26* 组合各 3 份,*Yr9* + *Yr18*、*Yr9* + *Yr26* 组合各 2 份,*Yr9* + *Yr10*、*Yr10* + *Yr18*、*Yr10* + *Yr26* 组合各 1 份。

3 讨 论

抗条锈 *Yr* 基因的分子标记检测只是抗性评价的标准之一,检测结果只能说明这些材料对相应的分子标记呈阳性反应;而另外还需要对这些供试材料在田间自然发病的抗性水平进行鉴定。下一步还需要将田间抗病性评价和分子标记检测结合对材料进行综合评价,筛选出抗性稳定的材料,加以利用。

4 结 论

本文利用分子标记检测了 5 个重要的抗条锈 *Yr* 基因,初步了解适合我区种植的小麦材料中 *Yr* 基因的分布情况。如果使用单一的抗病基因,面对新的生理小种,品种将会很快丧失抗病性,会增加条锈菌的选择压力。多个抗病基因有效组合,将会提高品种的抗病水平,使抗病性表现更持久。根据检测结果,在利用这些材料作为抗病育种亲本资源时,就要避免使用单一的抗性基因,减少条锈菌的选择压力,这对于选育出提高抗病持久性新的抗病品种具有较好的参考作用。

参考文献:

[1]彭岳林,杨敏娜,旦巴,等. 西藏 41 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(2):211 – 215.

[2]Doyle J J, Doyle J L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue[J]. Phytochemical Bulletin, 1987, 19: 11 – 15.

[3]Murphy L R, Santra D, Kidwell K, et al. Linkage maps of wheat stripe rust resistancegenes *Yr5* and *Yr15* for use in marker-assisted selection. Crop Sci, 2009, 49:1786 – 1790.

[4]Mago R, Miah H, Lawrence G J, et al. High-resolution mapping and mutation analysis separate the rustresistance genes *Sr31*, *Lr26* and *Yr9* on the short arm of ryechromosome [J]. Theor Appl Genet, 2005, 112:41 – 50.

[5]Liu W, Frick M, Huel R, et al. Stripe rust resistance gene *Yr10* encodes anevolutionary-conserved and unique CC-NBS-LRRsequence in wheat[J]. Mol Plant, 2014, 7:1740 – 1755.

[6]Kuraparthi V, Sood S, See D R, et al. Development ofa PCR assay and marker-assisted transfer of leaf rust andstripe rust resistance genes *Lr57* and *Yr40* into hard redwinter wheats [J]. Crop Sci, 2009, 49:120 – 126.

[7]Zhang X, Han D, Zeng Q, et al. Fine mapping of wheat stripe rust resistance gene *Yr26* based on collinearity of wheat with *Brachypodium distachyon* and rice[J]. PLoS One, 2013, 8:e57885.