

黄淮麦区小麦品种 *Lr37-Yr17-Sr38* 基因簇的分子检测

李峰奇^a, 韩德俊^{a,b}, 魏国荣^a, 曾庆东^{a,b}, 康振生^a

(西北农林科技大学 a. 植物保护学院, b. 农学院, 陕西 杨凌 712100)

【摘要】 【目的】在分子水平上评价黄淮麦区小麦品种中抗病基因簇 *Lr37-Yr17-Sr38* 的存在状况, 为培育抗病新品种及抗病品种合理布局提供材料和依据。【方法】利用 N 基因组特异标记和 CAPS 标记, 结合品种系谱对黄淮麦区 126 个小麦品种(系)进行分析。【结果】12 个小麦品种(系)(兰考 906、郑 2062、西农 739、陕 872、小偃 216、陕 538、陕 515、大唐 991、户麦 928、0020-332、2871 和 378)中含有 *Lr37-Yr17-Sr38*。【结论】*Lr37-Yr17-Sr38* 在黄淮麦区小麦中有一定分布, 初步推测兰考 906 可能是我国小麦品种中 *Lr37-Yr17-Sr38* 抗源的主要传播途径之一。

【关键词】 黄淮麦区; 抗病基因分子检测; *Lr37-Yr17-Sr38* 基因簇

【中图分类号】 S512.102.4

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2009)03-0151-08

Identification of *Lr37-Yr17-Sr38* in wheat cultivars of Huanghuai wheat region using molecular markers

LI Feng-qi^a, HAN De-jun^{a,b}, WEI Guo-rong^a, ZENG Qing-dong^{a,b}, KANG Zhen-sheng^a

(a. College of Plant Protection, b. College of Agronomy, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】 The objective of this work was to identify the wheat cultivars containing the *Lr37-Yr17-Sr38* using molecular makers, providing materials and theory for new cultivars breeding. 【Method】 The *Lr37-Yr17-Sr38* cluster was detected by PCR marker specific for the N genome, CAPS marker and pedigree and 126 wheat cultivars were analyzed. 【Result】 Out of 126 cultivars, 12 cultivars (Lankao 906, Zheng 2062, Xinong 739, Shan 872, Xiaoyan 216, Shan 538, Shan 515, Datang 991, 0020-332, 2871 and 378) were identified to contain the *Lr37-Yr17-Sr38*. 【Conclusion】 To some extent, *Yr17-Lr37-Sr38* cluster exists in Huanghuai wheat region. It's presumed Lankao 906 is one of the most important mainly diffuse cultivars of *Lr37-Yr17-Sr38* in China.

Key words: Huanghuai wheat region; marker-assisted selection; *Lr37-Yr17-Sr38* resistance gene cluster

黄淮麦区是我国最重要的小麦生产基地, 小麦播种面积和产量分别占全国的 45% 和 51%。小麦条锈、叶锈和秆锈病是影响小麦产量和品质的主要病害, 尤其是小麦条锈病和叶锈病, 在黄淮麦区每年都有不同程度发生, 给小麦的稳产、高产造成了一定

影响。新抗源的筛选、鉴定和利用, 是控制锈病流行的有效手段, 但必须缩短新毒性小种出现与抗病品种育成间的时差, 并能将多个抗病基因组合到同一品种中。这在以自然发病鉴定和人工诱发鉴定为基础的常规育种体系中很难实现。分子标记辅助选择

* [收稿日期] 2008-05-08

[基金项目] 国家“十一五”科技支撑计划项目(2006BAD08A05); 农业部行业计划项目(2008326001); 教育部长江学者和创新团队发展计划项目(IRT0558); 高等学校学科创新引智计划项目(B07049)

[作者简介] 李峰奇(1983—), 男, 河南新乡人, 在读硕士, 主要从事植物免疫学研究。E-mail: pandit@163.com

[通信作者] 康振生(1957—), 男, 四川安岳人, 教授, 主要从事植物与病原物的互作关系研究。E-mail: kangzs@nwsuaf.edu.cn

技术,可以在实验室完成抗病基因的鉴定和选择,摆脱小麦生长季节和发病条件对育种进程的限制,能在较短时间内完成抗病基因的转移和累加。

在国外,Maia^[1]于 1967 年育成了具有偏凸山羊草(*Aegilops ventricosa*) 2NS 染色体片断(25~38 cM)的普通小麦易位系 VPM1;该片段带有 3 个抗锈基因,即抗叶锈基因 *Lr37*、抗杆锈基因 *Sr38* 和抗条锈基因 *Yr17*,这 3 个基因已被世界各地的育种者广泛使用^[2]。这些连锁的抗性基因最初都是从偏凸山羊草转育到冬小麦即面包小麦“VPM1”中的,且都定位在 2NS/2AS 易位上。其中 *Lr37* 为成株抗病基因,其所控制的成株抗病性在田间和温室都能得到表达^[3],但对 *Sr38* 的抗病效果尚未广泛鉴定。目前已经鉴定出对 *Yr17* 和 *Lr37* 具有致病力的锈病小种^[4],但这些基因的聚集仍提供了一系列锈病小种的抗性,且对结合其他锈病抗性基因依然很有用。

为了促进这些基因转移到商用小麦品种中,1999 年,Robert 等^[4]构建了一个显性 SCAR 标记,它与 *Yr17* 紧密连锁,遗传距离为(0.8±0.7) cM,但与 *Lr37* 和 *Sr38* 的关系不明确。2001 年,Seah 等^[5]在 2NS 染色体片断上构建了 1 个 PCR 标记,该显性标记与 14 个等基因系中的锈病抗性基因 *Yr17*、*Lr37* 和 *Sr38* 完全连锁。2003 年,Helguera 等^[6]建立了一套在小麦育种计划中有效筛选抗性基因 *Lr37*-*Yr17*-*Sr38* 聚积的 PCR 分析方法,评价了不同类型的标记,包括以 PCR 为基础的标记、CAPS 和 TaqMan 系统。该系统已在分子辅助育种(MAS)中发挥了重大作用^[7]。

目前,对于 *Lr37*-*Yr17*-*Sr38* 在我国小麦中的存在状况尚未见报道,本研究用 Helguera 等^[6]所建立的方法,检测了黄淮麦区当前小麦生产推广品种和后备品种中 *Lr37*-*Yr17*-*Sr38* 基因簇的存在状态,以期在分子水平上评价该区小麦品种所携带的抗锈病基因,为培育小麦抗病新品种和抗病品种合理布局提供材料和依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试小麦品种为黄淮麦区当前生产上使用的品种和品系共计 126 份,其中包括审定品种 44 份,参加区试品系 61 份,育种材料 21 份,以 *Yr17* 的单基因系材料 *Yr17/6** *Avocet S* 和 VPM1 作阳性对照,以 *Avocet S* 作阴性对照。

1.2 方 法

1.2.1 DNA 的提取 取小麦种子,在室温下发芽,待有 2 片叶时剪取幼叶,采用改良的 CTAB 法^[8]提取基因组 DNA。

1.2.2 N 基因组特异的 PCR 检测 PCR 检测所用引物参照 Helguera 等^[6]开发的 VENTRIUP-LN2 标记。该标记的引物序列为 VENTRIUP:5'-AGG GGC TAC TGA CCA AGG CT-3'和 LN2 5'-TGC AGC TAC AGC AGT ATG TAC ACA AAA-3'。引物由上海捷瑞生物工程有限公司合成。

PCR 反应体系共 25 μ L,内含 10×PCR 缓冲液 2.5 μ L,dNTP 200 μ mol/L,MgCl₂ 2.0 mmol/L,每个引物 0.2 μ mol/L,Taq 酶 1.0 U,模板 DNA 120 ng。PCR 反应程序为:94℃预变性 3 min;94℃变性 45 s,65℃退火 30 s,72℃延伸 60 s,共 35 个循环;最后 72℃延伸 7 min,4℃保存。

电泳检测:在 20 g/L 琼脂糖凝胶中电泳,EB 染色,在伯乐公司生产的凝胶成像系统中观察并拍照。根据 Helguera 等^[6]所描述的方法,这 2 个引物能在含有 1 份或 2 份 2NS 易位系的材料中扩增出一条 259 bp 的片段。

1.2.3 酶切扩增多态性序列(CAPS)的标记检测 对 N 基因组进行检测的 PCR 标记为显性标记,不能检测出 2NS 个体中的杂合型,可参照 Helguera 等^[6]开发的对 A 基因组特异的 CAPS 标记来检测,该引物序列为 URIC 5'-GGT CGC CCT GGC TTG CAC CT-3'和 LN2 5'-TGC AGC TAC AGC AGT ATG TAC ACA AAA-3'。引物由上海捷瑞生物工程有限公司合成。

PCR 反应体系同 1.2.2,PCR 反应程序为:94℃预变性 3 min;94℃变性 45 s,65℃退火 30 s,72℃延伸 60 s,38 个循环;72℃延伸 7 min。

限制性酶切与电泳检测:向 5 μ L PCR 产物中加 5 U *Dpn* II 酶切 2 h,然后在 20 g/L 琼脂糖凝胶中电泳,EB 染色,在伯乐公司生产的凝胶成像系统中观察并拍照。根据 Helguera 等^[6]所描述的方法,285 bp 带对应的为 N 基因组的 PCR 产物,166 和 109 bp 带对应的为 A 基因组经过酶切的 PCR 产物。内切酶 *Dpn* II 购自美国 NEB 公司。

2 结果与分析

2.1 黄淮麦区参试小麦品种 N 基因组特异标记的检测结果

用偏凸山羊草 N 基因组上与 *Lr37*-*Yr17*-*Sr38*

基因簇连锁的分子标记特异 PCR 引物 VENTRI-UP-LN2,对参试的 126 个小麦品种(系)进行分子

检测,结果见表 1 和图 1。

表 1 黄淮麦区小麦品种 *Lr37-Yr17-Sr38* 的检测结果

Table 1 Detected results of *Lr37-Yr17-Sr38* in Huanghuai wheat region

编号 Number	品 种 Cultivar	育种地区 Breeding area	<i>Lr37-Yr17-Sr38</i>	
			VENTRIUP-LN2	URIC-LN2
审定品种 Authorized cultivars	1 豫麦 18 Yumai 18	河南 Henan	—	—
	2 周麦 17 Zhoumai 17	河南 Henan	—	—
	3 淮麦 20 Huaimai 20	江苏 Jiangsu	—	—
	4 郑育麦 031 Zhengyumai 031	河南 Henan	—	—
	5 郑育麦 032 Zhengyumai 032	河南 Henan	—	—
	6 豫农 949 Yunong 949	河南 Henan	—	—
	7 豫麦 34 Yumai 34	河南 Henan	—	—
	8 周麦 16 Zhoumai 16	河南 Henan	—	—
	9 项城 986 Xiangcheng 986	河南 Henan	—	—
	10 皖麦 53 号 Wanmai 53	安徽 Anhui	—	—
	11 丰华 8829 Fenghua 8829	安徽 Anhui	—	—
	12 新麦 18 Xinmai 18	河南 Henan	—	—
	13 新麦 9817 Xinmai 9817	河南 Henan	—	—
	14 花培 5 号 Huapei 5	河南 Henan	—	—
	15 藁麦 8901 Gaomai 8901	河北 Hebei	—	—
	16 新麦 19 Xinmai 19	河南 Henan	—	—
	17 矮抗 58 Aikang 58	河南 Henan	—	—
	18 周麦 18 Zhoumai 18	河南 Henan	—	—
	19 郑麦 366 Zhengmai 366	河南 Henan	—	—
	20 矮大早 2 号 Aidazao 2	河南 Henan	—	—
	21 豫麦 43 Yumai 43	河南 Henan	—	—
	22 豫麦 49 Yumai 49	河南 Henan	—	—
	23 陕麦 139 Shanmai 139	陕西 Shaanxi	—	—
	24 偃展 4110 Yanzhan 4110	河南 Henan	—	—
	25 漯丰 0501 Luofeng 0501	河南 Henan	—	—
	26 漯 9908 Luo 9908	河南 Henan	—	—
	27 许农 5 号 Xunong 5	河南 Henan	—	—
	28 淮麦 0454 Huaimai 0454	江苏 Jiangsu	—	—
	29 郑麦 9023 Zhengmai 9023	河南 Henan	—	—
	30 淮麦 0320 Huaimai 0320	江苏 Jiangsu	—	—
	31 西农 2611 Xinong 2611	陕西 Shaanxi	—	—
	32 西农 979 Xinong 979	陕西 Shaanxi	—	—
	33 西农 9718 Xinong 9718	陕西 Shaanxi	—	—
	34 西农 928 Xinong 928	陕西 Shaanxi	—	—
	35 远丰 175 Yuanfeng 175	陕西 Shaanxi	—	—
	36 秦农 142 Qinnong 142	陕西 Shaanxi	—	—
	37 陕农 757 Shannong 757	陕西 Shaanxi	—	—
	38 陕农 78 Shannong 78	陕西 Shaanxi	—	—
	39 小偃 22 Xiaoyan 22	陕西 Shaanxi	—	—
	40 普冰 143 Pubing 143	陕西 Shaanxi	—	—
	41 兰考 906 Lankao 906	河南 Henan	+	+
	42 陕农 138 Shannong 138	陕西 Shaanxi	—	—
	43 小偃 216 Xiaoyan 216	陕西 Shaanxi	+	+
	44 西农 9871 Xinong 9871	陕西 Shaanxi	—	—
参加区试 的品系 Regional test cultivars (lines)	45 石家庄 15 号 Shijiazhuang 15	河北 Hebei	—	—
	46 石家庄 8 号 Shijiazhuang 8	河北 Hebei	—	—
	47 石 03-Y119 Shi 03-Y119	河北 Hebei	—	—
	48 石 02-6207 Shi 02-6207	河北 Hebei	—	—
	49 郑丰 6 号 Zhengfeng 6	河南 Henan	—	—
	50 Ta 5430	河南 Henan	—	—

续表 1 Continue table 1

编号 Number	品 种 Cultivar	育种地区 Breeding area	Lr37-Yr17-Sr38	
			VENTRIUP-LN2	URIC-LN2
参加区试 的品系 Regional test cultivars (lines)	51 郑农 20 Zhengnong 20	河南 Henan	—	—
	52 郑农 99013-3 Zhengnong 99013-3	河南 Henan	—	—
	53 新 89019 Xin 89019	河南 Henan	—	—
	54 新 9852 Xin 9852	河南 Henan	—	—
	55 新 9944 Xin 9944	河南 Henan	—	—
	56 山农 14 Shannong 14	山东 Shandong	—	—
	57 泰山 4606 Taishan 4606	山东 Shandong	—	—
	58 泰山 6016 Taishan 6016	山东 Shandong	—	—
	59 烟 0428 Yan 0428	山东 Shandong	—	—
	60 郑 2062 Zheng 2062	河南 Henan	+	+
	61 陕农 139 Shannong 139	陕西 Shaanxi	—	—
	62 淮 0559 Huai 0559	江苏 Jiangsu	—	—
	63 淮 05155 Huai 05155	江苏 Jiangsu	—	—
	64 安农 0487 Annong 0487	河南 Henan	—	—
	65 普冰 202 Pubing 202	陕西 Shaanxi	—	—
	66 普冰 151 Pubing 151	陕西 Shaanxi	—	—
	67 西农 889-2 Xinong 889-2	陕西 Shaanxi	—	—
	68 西农 739 Xinong 739	陕西 Shaanxi	+	+
	69 西农 389 Xinong 389	陕西 Shaanxi	—	—
	70 小偃 328 Xiaoyan 328	陕西 Shaanxi	—	—
	71 小偃 296 Xiaoyan 296	陕西 Shaanxi	—	—
	72 小偃 99-2 Xiaoyan 99-2	陕西 Shaanxi	—	—
	73 秦农 161 Qinnong 161	陕西 Shaanxi	—	—
	74 武农 986 Wunong 986	陕西 Shaanxi	—	—
	75 陕 481 Shan 481	陕西 Shaanxi	—	—
	76 陕 872 Shan 872	陕西 Shaanxi	+	+
	77 陕农 138 Shannong 138	陕西 Shaanxi	—	—
	78 小偃 153 Xiaoyan 153	陕西 Shaanxi	—	—
	79 陕 534 Shan 534	陕西 Shaanxi	—	—
	80 陕麦 94 Shanmai 94	陕西 Shaanxi	—	—
	81 陕糯 1 号 Shannuo 1	陕西 Shaanxi	—	—
	82 轮选 069 Lunxuan 069	陕西 Shaanxi	—	—
	83 西农 1029 Xinong 1029	陕西 Shaanxi	—	—
	84 长武 612 Changwu 612	陕西 Shaanxi	—	—
	85 荔高 8 号 Ligao 8	陕西 Shaanxi	—	—
	86 西农 2000-10 Xinong 2000-10	陕西 Shaanxi	—	—
	87 陕麦 107 Shanmai 107	陕西 Shaanxi	—	—
	88 西农 4211 Xinong 4211	陕西 Shaanxi	—	—
	89 西农 318 Xinong 318	陕西 Shaanxi	—	—
	90 轮选 061 Lunxuan 061	河北 Hebei	—	—
	91 轮选 506 Lunxuan 506	河北 Hebei	—	—
	92 长武 318 Changwu 318	陕西 Shaanxi	—	—
	93 陕麦 168 Shanmai 168	陕西 Shaanxi	—	—
	94 陕 538 Shan 538	陕西 Shaanxi	+	+
	95 陕 515 Shan 515	陕西 Shaanxi	+	+
	96 内乡 203 Neixiang 203	河南 Henan	—	—
	97 豫教 0388 Yujiao 0388	河南 Henan	—	—
	98 周麦 9823 Zhoumai 9823	河南 Henan	—	—
	99 周麦 98165 Zhoumai 98165	河南 Henan	—	—
	100 西农 4421 Xinong 4421	陕西 Shaanxi	—	—
	101 明天 0420 Mingtian 0420	江苏 Jiangsu	—	—
	102 大唐 991 Datang 991	陕西 Shaanxi	+	+
	103 户麦 928 Humai 928	河南 Henan	+	+
	104 植 200 Zhi 200	陕西 Shaanxi	—	—
	105 西农 3517 Xinong 3517	陕西 Shaanxi	—	—

续表 1 Continue table 1

编号 Number	品 种 Cultivar	育种地区 Breeding area	<i>Lr37-Yr17-Sr38</i>	
			VENTRIUP-LN2	URIC-LN2
育种材料 Breeding materials	106	9907	—	—
	107	H-101	—	—
	108	XC-3669	—	—
	109	8983	—	—
	110	2122	—	—
	111	1254	—	—
	112	2871	+	+
	113	213	—	—
	114	8006	—	—
	115	XZ5-1	—	—
	116	378	+	+
	117	1821	—	—
	118	N19	—	—
	119	N20	—	—
	120	06D10	—	—
	121	06D48	—	—
	122	2006E-34	—	—
	123	2006E-35	—	—
	124	2595	—	—
	125	0020-332	+	+
	126	23-1	—	—

注: +表示存在, —表示不存在。
Note: + means presence, — means presence absent.

图 1 表明,供试小麦品种(系)中有 12 份具有该标记,分别为兰考 906、陕 872、小偃 216、陕 538、陕 515、郑 2062、西农 739、大唐 991、户麦 928、0020-332、2871 和 378,占供试材料的 9. 5%。这说明 *Lr37-Yr17-Sr38* 在黄淮麦区小麦中有一定分布。

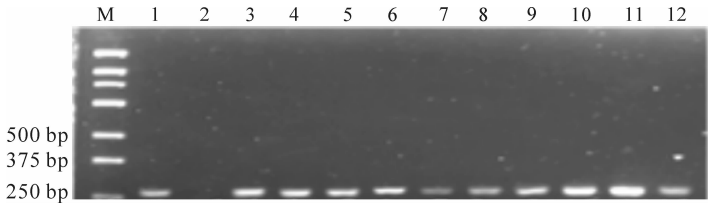


图 1 黄淮麦区部分小麦品种的 VENTRIUP-LN2 扩增结果

M. DL2000 125 bp maker;1. *Yr17/6* Avocet S*;2. *Avocet S*;3. 兰考 906;4. 郑 2062;5. 西农 739;6. 陕 872;7. 小偃 216;8. 陕 538;9. 陕 515;10. 大唐 991;11. 户麦 928;12. 0020-332

Fig. 1 The PCR products of VENTRIUP-LN2 in part of wheat cultivars of Huanghuai wheat region

M. DL2000 125 bp maker;1. *Yr17/6* Avocet S*;2. *Avocet S*;3. Lankao 906;4. Zheng 2062;5. Xinong 739;6. Shan 872;7. Xiaoyan 216;8. Shan 538;9. Shan 515;10. Datang 991;11. Humai 928;12. 0020-332

2.2 黄淮麦区参试小麦品种酶切扩增多态性序列 (CAPS) 标记的检测结果

用小麦 A 基因组特异引物 URIC-LN2,对 126 份小麦材料进行扫描,结果见表 1 和图 2。由图 2

可知,只有 N 基因组 285 bp 带的品种有兰考 906、郑 2062、西农 739、陕 872、小偃 216、陕 538、陕 515、大唐 991、户麦 928、0020-332、2871 和 378 共 12 份,与引物 VENTRIUP-LN2 的检测结果完全一致。

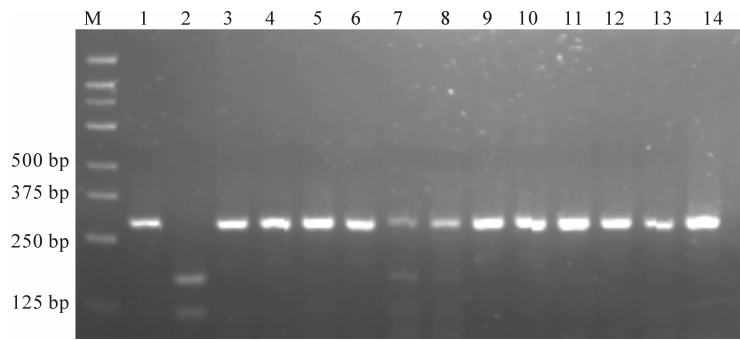


图 2 黄淮麦区部分小麦品种的 URIC-LN2 扩增结果

M. DL2000 125 bp maker;1. Yr17/6* Avocet S;2. Avocet S;3. 兰考 906;4. 郑 2062;5. 西农 739;6. 陕 872;7. 小偃 216;
8. 陕 538;9. 陕 515;10. 大唐 991;11. 户麦 928;12. 0020-332;13. 2871;14. 378

Fig. 2 The PCR products of URIC-LN2 in part of wheat cultivars of Huanghuai wheat region
M. DL2000 125 bp maker;1 Yr17/6* Avocet S;2. Avocet S;3. Lankao 906;4. Zheng 2062;5. Xinong 739;6. Shan 872;
7. Xiaoyan 216;8. Shan 538;9. Shan 515;10. Datang 991;11. Humai 928;12. 0020-332;13. 2871;14. 378

2.3 黄淮麦区小麦品种中 *Lr37-Yr17-Sr38* 抗源的来源分析

检测到携带 *Lr37-Yr17-Sr38* 基因簇的 12 个小麦品种(系)中,有 7 个品种(系)获得了系谱(表 2)。系谱分析表明,参试品种中,兰考 906 及其衍生品种,如陕 872、小偃 216、陕 538 和陕 515,都能检测到 *Lr37-Yr17-Sr38* 基因簇的存在,因此推测黄淮麦区小麦品种 *Lr37-Yr17-Sr38* 基因簇可能主要来自兰考 906。对于其他系谱中不含兰考 906 和系谱不明的品种,有待进一步研究。

表 2 黄淮麦区部分携带 *Lr37-Yr17-Sr38* 基因簇的小麦品种(系)的系谱

品种 Cultivar	系谱 Pedigree
兰考 906 Lankao 906	MZAlconcl Beer/豫麦 2 号//90 选系 MZAleconcl Beer/Yumai 2//90 series
陕 872 Shan 872	陕 354/兰考 906 Shan 354/Lankao 906
小偃 216 Xiaoyan 216	小偃 22/兰考 906 Xiaoyan 22/Lankao 906
陕 538 Shan 538	兰考 906//小偃 6 号/淮海 9412 Lankao 906//Xiaoyan 6/Huaihai 9412
陕 515 Shan 515	陕 354/兰考 906//西农 2208 Shan 354/Lankao 906//Xinong 2208
西农 739 Xinong 739	[73(36)/中四//小偃 693]/83352//小偃 6 号 [73 (36)/Zhongsi//Xiaoyan 693]/83352// Xiaoyan 6
0020-332	陕农 468//日本 1 号/9062 Shannong 468//Japan 1/9062

3 讨 论

3.1 抗性基因分子检测与基因推导法的比较

目前,对于小麦品种所携带抗病基因的评价多采用基因推导法,但该方法易受环境条件和小种鉴

别能力等因素的影响。此外,基因间互作、寄主或病原菌小种的杂合性和对照品种复杂的遗传背景,也会影响到基因推导的准确性,因此用基因推导法时,需要建立一套完整、可靠的抗条锈单基因系或近等基因系,并拥有更多的具有较强鉴别能力的条锈病菌系,还需要保持相对稳定的环境条件,才能得到可靠的信息。Bartos 等^[9]指出,基因推导只能说明这些品种中可能存在的抗病基因,而不能确定具有这些抗病基因,要得到确切结果还要结合系谱分析及遗传分析等。袁军海等^[10]指出,在涉及的 650 个小麦品种(系)或抗源材料中,有 95 个出现在 2 篇或 2 篇以上文献中,然而,基因推导结果完全一致的只有 11 个,16 个仅未知基因不同或涉及难以在苗期推导出来的基因,可归为基本一致,其余均有较大差异,这给基因推导应用带来很大困难。分子标记检测很好地解决了上述问题,但分子标记辅助选择由于受到分子标记连锁程度、性状遗传力、分子标记数目、性状差异(质量性状或数量性状)及选择目的等因素的影响,其选择效率不尽相同^[11-14],最好的结果可达到选择准确率为 100%,但目前达到完美的标记很少。

3.2 *Lr37-Yr17-Sr38* 分子检测体系评价

1999 年,Robert 等^[4]构建了一个与 Yr17 紧密连锁((0.8±0.7) cM)的显性 Scar 标记,但该标记与 *Lr37* 和 *Sr38* 的关系不明确。2001 年,Seah 等^[5]在偏凸山羊草 2NS 染色体片断上构建了 1 个 PCR 标记。Helguera 等^[6]开发了 N 基因组检测所用的 PCR 特异性标记,由于该标记是显性标记,无法区分杂合体和纯合体,但可通过使用小麦 A 基因组特

异的 CAPS 标记来解决,经用 18 个品种证实,CAPS 标记是可用的,且建立了 TaqMan 系统,以提高该标记在分子辅助育种中的效率。该分子检测体系已在分子辅助育种中得到了有效使用,Mariano 等^[15]用该 N 基因组特异性标记(VENTRIUP-LN2)分析了 88 个阿根廷小麦品种,在 4 个品种中检测到了 2NS-2AS 易位系,且这 4 个品种是同一家公司注册的品种,这是对南美小麦品种中 *Lr37* 出现的首次报道。本试验使用偏凸山羊草 N 基因组特异性标记和普通小麦 A 基因组特异的 CAPS 标记,对 126 份供试小麦材料进行了检测,结果发现,这 2 个标记检测的结果完全一致,且这 2 个标记都容易操作,重复性好,结果稳定。其中 N 基因组特异性标记可在含有 2NS 易位系的材料中扩增出一条 259 bp 的片段,且检测过程不需要 CAPS 标记的酶切,因而更易操作和使用。这 2 个标记可在今后的分子辅助育种与抗性基因检测中使用。

3.3 *Lr37-Yr17-Sr38* 基因簇在小麦生产中的应用

Lr37-Yr17-Sr38 是偏凸山羊草 2NS 染色体片断与普通小麦 2A 染色体易位系上所携带的 3 个连锁的抗锈病基因簇,其中 *Lr37* 为成株抗病基因,它所控制的成株抗病性在田间和温室都能得到表达^[3],据 Park 等^[16]报道,该基因在苗期温度低于 20℃时表现出一定的抗性,在温度高于 20℃时不起作用,而在成株阶段起作用。Kolmer 等^[17-18]研究发现,该基因较成株抗性基因 *Lr12*、*Lr16* 具有更好的抗性。因此目前来看,该抗病基因簇依然十分有用,但应在育种中将该基因与其他抗条锈基因聚合使用。Labuschagne 等^[19]报道,*Lr29*、*Lr34*、*Lr35*、*Lr37* 基因对小麦籽粒蛋白质提高及水分吸收有显著的增强效果;*Sr38* 的抗病效果尚未广泛鉴定;Jahier 等^[20]报道,该基因簇上还含有抗线虫基因 *Cre5*。由于该基因簇含有多种抗性基因并有较好的品质,因此对种质资源有很大利用价值,可加强该类品种在黄淮麦区甚至全国的推广和使用,并可作为优良育种材料使用。

3.4 中国小麦品种中 *Lr37-Yr17-Sr38* 抗源的来源

本研究在 126 份黄淮麦区供试材料中检测到 12 个品种(系)含有 *Lr37-Yr17-Sr38* 基因簇,占 9.5%。其中 0020-332、2871 和 378 为育种材料,兰考 906、小偃 216 为当前生产品种,其他均为参加区试品系。0020-332 中可能含有不同于已知抗条锈基因的新基因,在育种和生产中可加强该品种的推广

和使用。

对检测有 *Lr37-Yr17-Sr38* 的 12 份材料的系谱分析发现,有 4 个区试品种的系谱中都含有兰考 906,并且在兰考 906 中也检测到了该基因簇,这一结果与井长勤等^[21]通过基因推导得出兰考 906 中含有 *Yr17* 的结果一致。可以推测,这 4 个品种中的 *Lr37-Yr17-Sr38* 来自于兰考 906,兰考 906 可能是我国小麦品种中 *Lr37-Yr17-Sr38* 抗源的主要传播途径之一。在具有兰考 906 血统的供试品种中,只有内乡 203(兰考 906 变异株/汾 33)未检测到 *Lr37-Yr17-Sr38*,这可能是由于其亲本为兰考 906 的变异株所致。从 0020-332 和西农 739 的系谱来看,我国小麦品种中 *Lr37-Yr17-Sr38* 的来源可能还存在其他途径。目前,尚不能通过系谱推测出兰考 906 与 VPM1 的关系,对于我国小麦品种中 *Lr37-Yr17-Sr38* 抗源的来源,还有待于进一步研究。

[参考文献]

- [1] Maia N. Obtention des bles tendres résistants au piétin-verse par croisements interspécifiques bles *Aegilops* [J]. C R Acad Agric(Fr),1967,53:149-154.
- [2] McIntosh R A, Wellings C R, Park R F. Wheat rusts an atlas of resistance genes [M]. Melbourne, Australia: CSIRO Publications,1995.
- [3] Dyck P L, Lukow O M. The genetic analysis of two interspecific sources of leaf rust resistance and their effect on the quality of common wheat [J]. Can J Plant Sci,1988,68:633-639.
- [4] Robert O, Abelard C, Dedryver F. Identification of molecular markers for the detection of the yellow rust resistance gene *Yr17* in wheat [J]. Mol Breed,1999,5:167-175.
- [5] Seah S, Bariana H, Jahier J, et al. The introgressed segment carrying rust resistance genes *Yr17*, *Lr37* and *Sr38* in wheat can be assayed by a cloned disease resistance gene-like sequence [J]. Theor Appl Genet,2001,102:600-605.
- [6] Helguera M, Khan I A, Kolmer J, et al. PCR assays for the *Lr37-Yr17-Sr38* cluster of rust resistance genes and their use to develop isogenic hard red spring wheat lines [J]. Crop Science,2003,43(5):1839-1847.
- [7] Haydn Kuchel, Guoyou Ye, Rebecca Fox, et al. Genetic and economic analysis of a targeted marker-assisted wheat breeding strategy [J]. Molecular Breeding,2005,16:67-78.
- [8] Kristi L, Hill-Ambroz, Gina L, et al. Modified rapid DNA extraction protocol for high throughput microsatellite analysis in wheat [J]. Crop Sci,2002,42:2088-2091.
- [9] Bartos P, Johnson R, Stubbs R W. Postulated genes for resistance to yellow rust in Czechoslovakian wheat cultivars [J]. Cereal Rusts Bulletin,1987,15:79-84.
- [10] 袁军海,刘太国,陈万权. 中国 47 个小麦新品种(系)苗期抗叶

锈基因推导 [J]. 中国农业科学, 2007, 40(9): 1925-1935.

Yuan H J, Liu T G, Chen W Q. Postulation of leaf rust resistance genes in 47 new wheat cultivars (lines) at seedling stage [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2007, 40(9): 1925-1935. (in Chinese)

[11] Tanksley S D. Molecular markers in plant breeding plant [J]. Molecular Biology Reporter, 1983, 1: 3-8.

[12] Hittal mani S, Foolad M R, Mew Rodriguez R L, et al. Development of PCR-based markers to identify rice blast resistance gene Pi-2(t), in a segregating population [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1995, 91: 9-14.

[13] Landry B S, Kesseli R V, Farrara B, et al. A genetic map of lettuce (*Lactuca sativa* L.) with restriction fragment length polymorphisms, isozymes, disease resistance genes and morphological markers [J]. Genetics, 1987, 116: 331-337.

[14] Dyck P L, Samborski D J. Inheritance of virulence in *Puccinia recondita* on alleles at the *Lr2* locus for resistance in wheat [J]. Canadian Journal Genetics and Cytology, 1974, 16: 323-332.

[15] Mariano Bulos, Mariel Echarte, Carlos Sala. Occurrence of the rust resistance gene *Lr37* from *Aegilops ventricosa* in Argentine cultivars of wheat [J]. Plant Biotechnology, 2006, 9(5): 580-585.

[16] Park R F, Mcingosh R A. Adult plant resistances to *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* in wheat [J]. New Zealand Journal of Crop and Horticulture Science, 1994, 22: 151-158.

[17] Kolmer J A. Virulence in *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* isolates from Canada to genes for adult-plant resistance to wheat leaf rust [J]. Plant Disease, 1997, 81(3)3: 267-271.

[18] Kolmer J A, Long D L, Hughes M E. Physiologic specialization of *Puccinia triticina* on wheat in the United States in 2003 [J]. Plant Disease, 2005, 89(11): 1201-1206.

[19] Labuschagne M T, Pretorius Z A, Grobbelaar B. The influence of leaf rust resistance genes *Lr29*, *Lr34*, *Lr35* and *Lr37* on bread making quality in wheat [J]. Euphytica, 2002, 124: 65-70.

[20] Jahier J, Abelard P, Tanguy A M, et al. The *Aegilops ventricosa* segment on chromosome 2AS of the wheat cultivar ‘VPM1’ carries the cereal cyst nematode resistance gene *crs* [J]. Plant Breeding, 2001, 120: 125-128.

[21] 井长勤, 陈荣振, 冯国华, 等. 52 个重要小麦品种抗条锈基因的推导 [J]. 江苏农业学报, 2005, 21(1): 30-34.

Jing C Q, Chen R Z, Feng G H, et al. Analyses of resistance genes to stripe rust in 52 important wheat cultivars [J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2005, 21(1): 30-34. (in Chinese)

(上接第 150 页)

[7] 舍珠花, 刘大川, 潭蓓玉. 麻疯树籽油甲酯化工艺的研究 [J]. 中国油脂, 2005, 30(9): 34-36.

She Z H, Liu D C, Tan B Y. Methylation of *Jatropha curcas* L. seed oil [J]. China Oil, 2005, 30(9): 34-36. (in Chinese)

[8] 雷 猛, 许世海, 魏小平. 菜籽油制备生物柴油及其理化性能的研究 [J]. 后勤工程学院学报, 2004(4): 59-63.

Lei M, Xu S H, Wei X P. Biodiesel produced by vegetable seeds oil and its properties [J]. Journal of Logistical Engineering University, 2004(4): 59-63. (in Chinese)

[9] 罗 文, 袁震宏, 廖翠萍. 生物柴油标准及质量评价 [J]. 可再生能源, 2006, 128: 33-37.

Luo W, Yuan Z H, Liao C P. Biodiesel standard and quality assessment [J]. Renewable Energy Resources, 2006, 128: 33-37. (in Chinese)

[10] 杨芳霞. 花椒籽油和水冬瓜籽油制备生物柴油的研究 [D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2006.

Yang F X. Research on biodiesel productions from Chinese Prickly Ashseed oil and Shuidonggua oil [D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University, 2006. (in Chinese)

[11] 毛绍春, 李竹英, 李 聪. 麻疯树籽油制备生物柴油及应用研究 [J]. 中国油脂, 2007, 32(7): 40-42.

Mao S C, Li Z Y, Li C. Application of biodiesel produced from *Jatropha curcas* L. seed oil [J]. China Oil, 2007, 32(7): 40-42. (in Chinese)