

网络出版时间:2024-10-30

网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/61.1359.S.20241029.1634.006

小麦抗条锈基因 $Yr5$ 、 $Yr9$ 和 $Yr18$ 分子标记的特异性评估

孙振宇¹, 黄亮², 黄苗苗³, 刘太国²

(1. 甘肃省农业科学院植物保护研究所, 甘肃兰州 730070; 2. 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; 3. 青海大学农林科学院, 青海西宁 810016)

摘要: $Yr5$ 、 $Yr9(1B/1R)$ 、 $Yr18$ 基因的自身性状或连锁性状在中国小麦育种中具有重要的应用前景。本研究运用以 Avocet S 为背景的单基因近等基因系及其对应基因的载体品种, 对 $Yr5$ 基因的连锁标记 STS9/10, $Yr9(1B/1R)$ 基因的分子标记 AF1/4、D15、20H, $Yr18$ 基因的分子标记 csLV34、cssfr1~cssfr5 进行有效性验证。结果表明, $Yr5$ 基因的特异性分子标记 STS9/10, $Yr9(1B/1R)$ 基因的特异性分子标记 AF1/4、D15 和 20H 均能够准确识别不同遗传背景材料中的相应抗性基因; $Yr18$ 基因分子标记 cssfr2 能够准确检测 $Yr18$ 的非载体材料, 并检测出 Avocet S * 6/ $Yr5$ 、Avocet S * 6/ $Yr24$ 、Avocet S * 6/ $Yr27$ 三个材料具有 $Yr18$ 的等位变异。这说明 $Yr5$ 基因的连锁标记 STS9/10, $Yr9(1B/1R)$ 基因的分子标记 AF1/4、D15、20H 能对目的基因进行有效检测, $Yr18$ 基因的几个分子标记结合使用不仅能够对目的基因进行有效检测, 而且能够识别该位点的等位变异。

关键词: 抗条锈基因; 分子标记; 特异性

中图分类号: S512.1; S330

文献标识码: A

文章编号: 1009-1041(2025)01-0045-07

Evaluation of Molecular Markers for Wheat Stripe Rust Resistance Genes $Yr5$, $Yr9$ and $Yr18$

SUN Zhenyu¹, HUANG Liang², HUANG Miaomiao³, LIU Taiguo²

(1. Institute of Plant Protection, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou, Gansu 730070 China; 2. State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193 China; 3. Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Qinghai University, Xining, Qinghai 810016, China)

Abstract: The traits of $Yr5$, $Yr9(1B/1R)$, and $Yr18$ genes play an important role in wheat breeding in China, and the molecular markers STS9/10 of $Yr5$, AF1/4, D15, 20H of $Yr9(1B/1R)$ and csLV34, cssfr1~cssfr5 of $Yr18$ were effectively tested by applying near isogenic lines under background of Avocet S and lines with known Yr genes. The results showed that the specific molecular markers of $Yr5$ gene STS9/10, $Yr9(1B/1R)$ gene AF1/4, D15 and 20H could accurately identify the corresponding resistance genes in different genetic background materials. $Yr18$ gene molecular marker cssfr2 could accurately detect the materials not-carrying $Yr18$, and detect allelic variation of $Yr18$ in Avocet S * 6/ $Yr5$, Avocet S * 6/ $Yr24$, and Avocet S * 6/ $Yr27$. Therefore, the linkage marker STS9/10 of $Yr5$ gene, the molecular markers AF1/4, D15 and 20H of $Yr9(1B/1R)$ gene can effectively detect the target gene, and the combination of several molecular markers of $Yr18$ gene not only effectively detected the target gene but also identified the allelic variation of this site.

Keywords: Stripe rust resistance genes; Molecular markers; Specificity verification

收稿日期: 2024-06-13

修回日期: 2024-09-18

基金项目: 国家自然科学基金项目(31660498); 国家小麦产业技术体系项目(CARS-03); 青海省自然科学基金项目(2022-ZJ-978Q)

第一作者 E-mail: sunzhy@gsagr.cn(孙振宇)

通讯作者 E-mail: tgliu@ippcaas.cn(刘太国)

小麦条锈病是中国小麦生产中最主要的流行性病害之一,易造成严重的产量损失^[1],选育并合理运用抗病品种是生产中防控该病害的有效措施之一^[2]。但是,由于小麦条锈菌的高变异性,可导致小麦品种的抗性丧失,从而引发新的条锈病害流行。2009 年研究发现,对重要抗条锈病基因 *Yr26* 和 *Yr10* 具有联合毒性的 G22 致病类群,导致贵农系、92R 系和 Moro 等主要抗锈病材料的抗性丧失^[3-4]。2016 年,全国小麦锈病和白粉病研究协作组将 G22 致病类群中分布范围最广、流行频率最高的小麦条锈菌 G22-9 致病类型正式定名为 CYR34 生理小种。因此,深入研究小麦抗条锈性遗传及进行抗条锈基因育种,对小麦品种抗性基因累加,优化小麦生产结构,保障小麦生产安全,具有十分重要的意义。

来自六倍体斯卑尔脱小麦 (*Triticum spelta* L.) 中的小麦抗条锈基因 *Yr5* 兼抗中国乃至世界范围内多个条锈菌生理小种^[5];是中国小麦抗条锈新形势下仅存的几个已知有效抗源之一,20 世纪 90 年代被转移到商业品种中推广应用^[6]。*Yr9* 基因位于小麦 1B/1R 易位系上,是由黑麦 1R 染色体臂取代小麦 1B 染色体短臂时从黑麦转移到小麦中的,该易位系因具有抗病性、丰产性和稳产性而得到广泛应用^[7],20 世纪 70 年代初中国引进后在小麦育种中大量运用。*Yr18* 基因是一个位于 7D 染色体上具有成株抗性的慢条锈性基因^[8];在抗性上呈现加性效应,当其单独存在时抗性较低,但与 2~3 个其他慢锈基因联合作用时其抗性得到显著提高甚至完全免疫,其与抗叶锈基因 *Lr34*、抗白粉基因 *Pm38*、抗黄矮病基因 *Bdv1* 和控制叶尖坏死基因 *Ltn1* 紧密连锁^[9-10],在中国小麦抗性育种中仍有广阔的应用前景。

分子标记由于其独特的高效性、稳定性等优点,被广泛应用于小麦抗条锈病育种,加速育种进程,提高育种效率^[11]。通过利用分子标记辅助选择,云麦 53^[12]、观 4^[13] 以及山农 6343^[14] 等一批优良品种被成功培育,并在生产上发挥了重要作用。但是不同的分子标记在非分离群体中应用时,可能会导致在不携带抗性基因的品种中检测到标记基因存在的假阳性情况发生^[15],所以,在使用分子标记时应先对其在同一遗传背景的实验材料上进行验证。本研究通过在以 Avocet S 为背景的近等基因系和已知基因的载体品种上测试 *Yr5* 基因的连锁标记 STS9/10^[16], *Yr9* 基因 (1B/1R) 的

分子标记 AF1/4^[17]、D15^[18]、20H^[19], *Yr18* 基因的分子标记 csLV34^[20]、cssfr1~cssfr5^[21],以验证这些标记的可靠性和准确性,旨在建立适合上述基因快速聚合的分子标记辅助选择体系,为育种工作者更好的运用这些抗病基因提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试小麦

Avocet S、Avocet S * 6/*Yr1*、Avocet S * 6/*Yr5*、Avocet S * 6/*Yr6*、Avocet S * 6/*Yr7*、Avocet S * 6/*Yr8*、Avocet S * 6/*Yr9*、Avocet S * 6/*Yr10*、Avocet S * 6/*Yr17*、Avocet S * 6/*Yr18*、Avocet S * 6/*Yr24*、Avocet S * 6/*Yr26*、Avocet S * 6/*Yr27*、Avocet S * 6/*Yr32*、Tsa (*Triticum spelta* album) (*Yr5*)、Clement (*Yr9*)、Jupateco R (*Yr18*)、洛夫林 10 (*Yr9*) 等由中国农业科学院植物保护研究所麦类病害实验室保存;安 0817 (*Yr5*)、绵阳 28 (*Yr18*) 两个品种由西北农林科技大学植保学院李强老师馈赠。

1.2 引物序列

引物(表 1)均由上海生工生物工程技术服务有限公司北京分公司合成。

1.3 基因组提取

小麦室内盆栽种植,于一叶一心期取小麦叶片,采用 CTAB 法提取基因组 DNA,将基因组 DNA 稀释至 100 ng · μL⁻¹ 备用。

1.4 PCR 检测

PCR 检测采用 25 μL 体系,包含 12.5 μL EasyTaq[®] PCR SuperMix, 10 ng · μL⁻¹ 上下游引物根据表 1 中设计量添加,100 ng · μL⁻¹ 模板 DNA 1 μL, ddH₂O 补足 25 μL。

Yr5 基因分子标记 STS9/10 的 PCR 扩增程序为:94 °C 预变性 5 min;94 °C 变性 30 s,41 °C 退火 45 s,72 °C 延伸 45 s,循环 35 次;72 °C 延伸 7 min,4 °C 保存。

Yr9 基因分子标记 AF1/4 的 PCR 扩增程序为:94 °C 预变性 3 min;94 °C 变性 1 min,60 °C 退火 1 min,72 °C 延伸 1 min,循环 45 次;72 °C 延伸 10 min,4 °C 保存。

Yr9 基因分子标记 D15 的 PCR 扩增程序为:94 °C 预变性 5 min;94 °C 变性 1 min,64 °C 退火 1 min,72 °C 延伸 45 s,循环 40 次;72 °C 延伸 10 min,4 °C 保存。

表 1 小麦抗条锈病基因 *Yr5*、*Yr9* (*1B/1R*) 和 *Yr18* 的特异性引物序列
Table 1 Specific primer sequences for yellow rust resistance gene *Yr5*, *Yr9* (*1B/1R*) and *Yr18*

Yr 基因 Yr gene	标记 Marker	引物 Primer	引物序列(5'-3') Primer sequence	引物用量 Amount of primers used/ μ L	PCR 产物 PCR products/bp		参考文献 Reference	
					+	-		
<i>Yr5</i>	STS9/10	STS 9	AAAGAATACTTTAATGAA	1	289	182	[16]	
		STS 10	CAAACCTTATCAGGATTAC	1				
<i>Yr9</i> (<i>1B/1S</i>)	AF1/4	AF1	GGAGACATCATGAAACATTTG	1	1 500		[17]	
		AF4	CTGTTGTTGGGCAGAAAAG	1				
	D15	D15-F	CCGGCGTGTGACACCCGTGATA	1	887		[18]	
		D15-R	CATCCGTGCTCCGTGTGCATC	1				
	20H	20H F	GTTGGAAGGGAGCTCGAGCTG	1	1 494		[19]	
		20H R	GTTGGGCAGAAAAGGTCGACATC	1				
<i>Lr34/Yr18/Pm38</i>	csLV34	csLV34F	GTTGGTTAAGACTGGTGATGG	1	150	229	[20]	
		csLV34R	TGCTTGCTATTGCTGAATAGT	1				
	cssfr1	Lr34DINT9F	TTGATGAAACCAGTTTTTTTTTCTA	1	517			
		Lr34PLUSR	GCCATTTAACATAATCATGATGGA	1				
	cssfr2	Lr34DINT9F	TTGATGAAACCAGTTTTTTTTTCTA	1		523		
		Lr34MINUSR	TATGCCATTTAACATAATCATGAA	1				
	cssfr3	Lr34DINT9F	TTGATGAAACCAGTTTTTTTTTCTA	0.5	517 150	229	[21]	
		Lr34PLUSR	GCCATTTAACATAATCATGATGGA	0.5				
		csLV34F	GTTGGTTAAGACTGGTGATGG	0.5				
		csLV34R	TGCTTGCTATTGCTGAATAGT	0.5				
	cssfr4	Lr34DINT9F	TTGATGAAACCAGTTTTTTTTTCTA	0.5	150	523 229		
		Lr34MINUSR	TATGCCATTTAACATAATCATGAA	0.5				
		csLV34F	GTTGGTTAAGACTGGTGATGG	0.5				
		csLV34R	TGCTTGCTATTGCTGAATAGT	0.5				
	cssfr5	Lr34DINT9F	TTGATGAAACCAGTTTTTTTTTCTA	0.5	751	523		
		Lr34MINUSR	TATGCCATTTAACATAATCATGAA	0.5				
			Lr34SPF	GGGAGCATTATTTTTTCCATCATG	0.5			
			Lr34DINT13R2	CTTTCCTGAAAATAATAACAAGCA	0.5			

Yr9 基因分子标记 20H 的 PCR 扩增程序为:94 °C 预变性 5 min;94 °C 变性 1 min,64 °C 退火 1 min,72 °C 延伸 1 min,循环 35 次;72 °C 延伸 10 min,4 °C 保存。

Yr18 基因分子标记的 PCR 扩增程序为:94 °C 预变性 5 min;94 °C 变性 1 min,59 °C 退火 1 min,72 °C 延伸 1 min,循环 40 次;72 °C 延伸 10 min,4 °C 保存。

产物均用 2.0 % 的琼脂糖凝胶进行检测,其中 STS9/10 的 PCR 产物需加入 0.7 μ L *Dpn* II (New England Biolabs) 和 2.8 μ L 10 \times buffer,37 °C 水浴 2 h 之后进行检测,在 WSE-5200 一体式凝胶成像系统上观察拍照。

2 结果与分析

2.1 *Yr5* 基因的分子标记验证

PCR 结果(图 1、表 2)显示,Avocet S * 6/

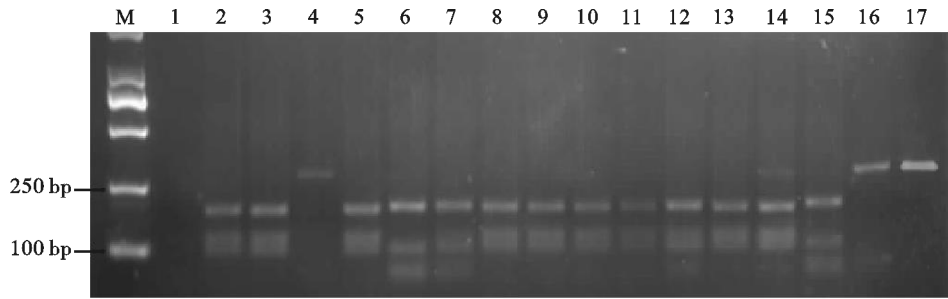
Yr5、Tsa、安 0817 共 3 个携带 *Yr5* 基因的小麦品种(系)能够得到 289 bp 的特征条带,其余不含 *Yr5* 基因的小麦品种(系)出现 182 bp 特征条带。

2.2 *Yr9* (*1B/1R*) 基因的分子标记验证

利用显性标记 AF1/4、20H 和 D15 在 *Yr9* (*1B/1R*) 基因的载体品种(系)中能分别扩增到一条 1 500 bp、1 494 bp 和 887 bp 的特征条带,在 *Yr9* 基因的非载体品种(系)中没有任何扩增条带。Avocet S * 6/*Yr9*、Clement、洛夫林 10 共 3 个携带 *Yr9* 基因的小麦品种(系)在使用 AF1/4、D15 和 20H 分别进行 PCR 扩增时,能分别得到 1 500 bp、887 bp 和 1 494 bp 的特征条带,在不携带 *Yr9* 基因的其他品种(系)中没有得到任何扩增条带(图 2、表 2)。

2.3 *Yr18* 基因的分子标记验证

与 *Yr18* 基因紧密连锁的共显性标记 csLV34



M: DL2000; 1: ddH₂O; 2: Avocet S; 3: Avocet S * 6/Yr1; 4: Avocet S * 6/Yr5; 5: Avocet S * 6/Yr6; 6: Avocet S * 6/Yr7; 7: Avocet S * 6/Yr8; 8: Avocet S * 6/Yr9; 9: Avocet S * 6/Yr10; 10: Avocet S * 6/Yr17; 11: Avocet S * 6/Yr18; 12: Avocet S * 6/Yr24; 13: Avocet S * 6/Yr26; 14: Avocet S * 6/Yr27; 15: Avocet S * 6/Yr32; 16: Tsa; 17: 安 0817 (An 0817).

图 1 Yr5 基因分子标记验证

Fig. 1 Test results of molecular markers Yr5

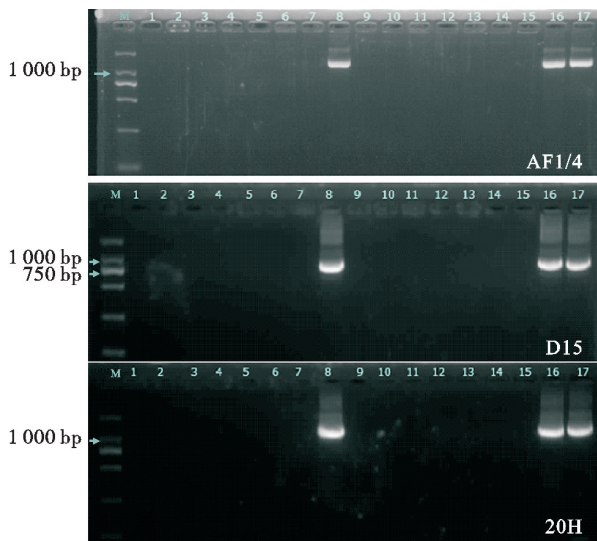
表 2 Yr5、Yr9 (1B/1R)、Yr18 基因分子标记验证结果

Table 2 Test results of molecular markers Yr5, Yr9 (1B/1R), and Yr18

项目 Item	STS9/10		AF1/4	D15	20H	csLV34	cssfr1	cssfr2	cssfr3			cssfr4			cssfr4		
	289 bp	182 bp	1500 bp	887 bp	1494 bp	229 bp	150 bp	517 bp	523 bp	517 bp	229 bp	150 bp	523 bp	229 bp	150 bp	751 bp	523 bp
CK(ddH ₂ O)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Avocet S	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	+
Avocet S * 6/ Yr1	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	+
Avocet S * 6/ Yr5	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Avocet S * 6/ Yr6	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	+
Avocet S * 6/ Yr7	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	+
Avocet S * 6/ Yr8	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	+
Avocet S * 6/ Yr9	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	+
Avocet S * 6/ Yr10	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	+
Avocet S * 6/ Yr17	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	+
Avocet S * 6/ Yr18	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	-
Avocet S * 6/ Yr24	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Avocet S * 6/ Yr26	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	+
Avocet S * 6/ Yr27	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Avocet S * 6/ Yr32	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	+
Tsa(Yr5)	+	-															
An 0817(Yr5)	+	-															
Clement(Yr9)			+	+	+												
Luo 10(Yr9)			+	+	+												
Jupateco R (Yr18)						-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	-
Mianyang 28 (Yr18)						-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	-

+ : 有; - : 无。

+ : Present; - : Absent.



M: DL2000; 1: ddH₂O; 2: Avocet S; 3: Avocet S * 6/*Yr1*; 4: Avocet S * 6/*Yr5*; 5: Avocet S * 6/*Yr6*; 6: Avocet S * 6/*Yr7*; 7: Avocet S * 6/*Yr8*; 8: Avocet S * 6/*Yr9*; 9: Avocet S * 6/*Yr10*; 10: Avocet S * 6/*Yr17*; 11: Avocet S * 6/*Yr18*; 12: Avocet S * 6/*Yr24*; 13: Avocet S * 6/*Yr26*; 14: Avocet S * 6/*Yr27*; 15: Avocet S * 6/*Yr32*; 16: Clement; 17: 洛 10 (Luo 10).

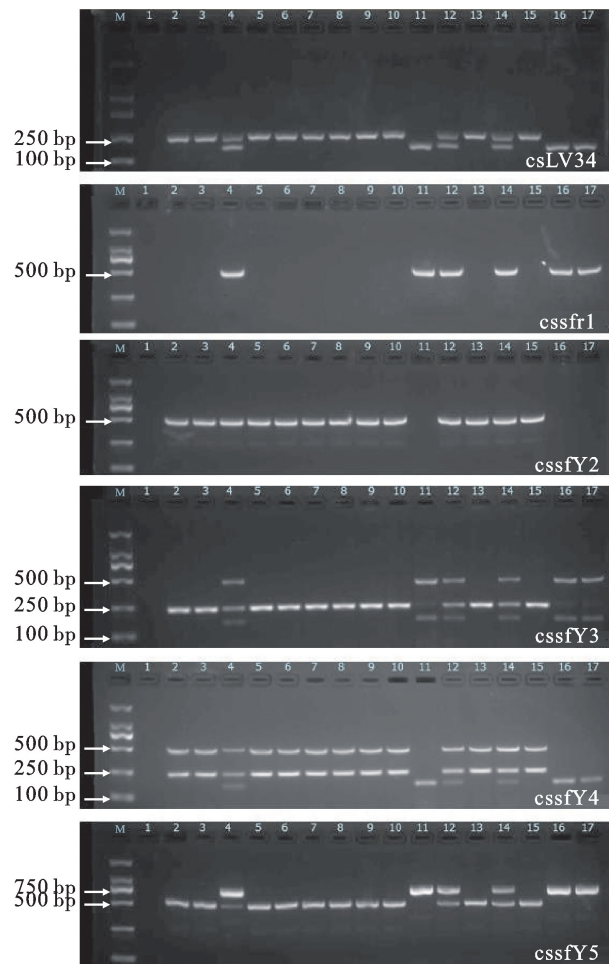
图 2 *Yr9* (1B/1R) 基因分子标记验证

Fig. 2 Test results of molecular markers *Yr9* (1B/1R)

和功能标记 *cssfr1*~*cssfr5* 是 Lagudah 等分别于 2006 年^[20] 和 2009 年^[21] 开发报道的, 通过使用不同标记经过 PCR 扩增后特异性条带的有无以及扩增条带大小(表 1) 来区分相应基因的载体品种和非载体品种。结果(图 3、表 2) 显示, Avocet S * 6/*Yr18*、Jupateco R、绵阳 28 共 3 个携带 *Yr18* 基因的小麦品种中能够扩增出代表携带 *Yr18* 基因的对应条带; 功能标记 *cssfr2* 能够准确检测 Avocet S、Avocet S * 6/*Yr1*、Avocet S * 6/*Yr5*、Avocet S * 6/*Yr6*、Avocet S * 6/*Yr7*、Avocet S * 6/*Yr8*、Avocet S * 6/*Yr9*、Avocet S * 6/*Yr10*、Avocet S * 6/*Yr17*、Avocet S * 6/*Yr24*、Avocet S * 6/*Yr26*、Avocet S * 6/*Yr27* 及 Avocet S * 6/*Yr32* 等 13 个小麦品种不携带 *Yr18* 基因; 但是分子标记 *csLV34* 和功能标记 *cssfr1*、*cssfr3*~*cssfr5* 在 Avocet S * 6/*Yr5*、Avocet S * 6/*Yr24*、Avocet S * 6/*Yr27* 3 个不携带 *Yr18* 基因的小麦品种中却能扩增出代表携带 *Yr18* 基因的条带, 表现为假阳性扩增。

3 讨论

选育并合理应用抗病品种是防治小麦条锈病最经济、有效的办法, 分子标记辅助选择育种具有



M: DL2000; 1: ddH₂O; 2: Avocet S; 3: Avocet S * 6/*Yr1*; 4: Avocet S * 6/*Yr5*; 5: Avocet S * 6/*Yr6*; 6: Avocet S * 6/*Yr7*; 7: Avocet S * 6/*Yr8*; 8: Avocet S * 6/*Yr9*; 9: Avocet S * 6/*Yr10*; 10: Avocet S * 6/*Yr17*; 11: Avocet S * 6/*Yr18*; 12: Avocet S * 6/*Yr24*; 13: Avocet S * 6/*Yr26*; 14: Avocet S * 6/*Yr27*; 15: Avocet S * 6/*Yr32*; 16: Jupateco R; 17: 绵阳 28 Mianyang 28.

图 3 *Yr18* 基因分子标记验证

Fig. 3 Test results of molecular markers *Yr18*

快速、高效的特点, 可缩短育种年限, 加速育种进程。

Yan 等^[22] 开发了两个 RGAP 标记 *Xwgp-17* 和 *Xwgp-18* 与 *Yr5* 基因紧密连锁, 但是其对于非同源的遗传群体来说多态性较差; Chen 等^[16] 根据这两个标记开发出了两个 STS 标记, 并为增加其适用范围进一步开发成了一个 CAPS 标记; 伍玲等^[15]、李峰奇等^[23] 分别运用该标记进行 *Yr5* 基因的分子标记检测并验证。本实验对该标记进一步系统性验证表明, 分子标记 STS9/10 不仅能够不同遗传背景的 *Yr5* 载体品种 Tsa 和安 0817 上检测到 *Yr5* 基因, 而且在以 Avocet S 为背景的近等基因系系列品种中也能够准确识别 *Yr5* 基

因,与前人研究结果一致。

Yr9 基因来源于黑麦 1R 染色体,在分子标记的开发过程中通常是以黑麦 1R 染色体为目标片段进行引物的设计,认为只要黑麦 1R 染色体存在,那么上面的所有基因则同样存在于小麦基因组中,所以目前 *Yr9* 基因的特异性分子标记大多为检测黑麦 1R 染色体的显性标记。张玉薇等^[24]、李敏州等^[25]认为该标记能够用于检测 1B/1R 易位系。本实验将 AF1/4、D15、20H 这 3 个标记放在具有相同遗传背景的小麦品系中进行验证,发现这 3 个标记均能准确识别 *Yr9* 基因,在非 *Yr9* 基因的载体品种中并没有出现假阳性扩增,在两个不同遗传背景的 *Yr9* 基因载体品种 Clement 和洛 10 上也能得到显性扩增,并且这 3 个标记作为显性标记在实验过程中便于区分,更有利于实验后期的数据处理。

Lagudah 等^[20]利用 EST 标签得到的克隆作为探针进行 RFLP 分析,并成功开发了一个 STS 标记 csLV34,尽管标记 csLV34 与 *Yr18* 基因遗传距离仅有 0.4 cM,但仍有发生低频率遗传重组的可能。Kolmer 等^[26]在使用标记 csLV34 对收集于全球各地不同遗传背景的上千份小麦品种进行检测,发现部分品种存在遗传重组的现象;Krattinger 等^[27]对 *Yr18* 基因进行了克隆,发现该位点只存在两个等位基因。2009 年 Lagudah 等^[21]进一步根据该位点等位基因 exon 11 中 TTC 缺失,开发了 5 个功能标记 cssfr1~cssfr5,其中标记 cssfr1 和 cssfr2 具有相同的上游引物 Lr34DINT9F,这两对标记属于显性标记且二者互补,然而这两个标记无法判断该位点的杂合型,所以在这两个标记中加入标记 csLV34 构成标记 cssfr3 和 cssfr4 来准确识别该位点的杂合型。伍玲等^[28]使用这些标记对 CIMMYT 小麦品种进行了分子检测,认为功能标记能够准确鉴定 *Yr18* 基因位点的等位变异,并且 cssfr3、cssfr4、cssfr5 三个标记可直接用于分子标记进行辅助选择。本试验结果显示,利用 cssfr2 能够准确检测 *Yr18* 的非载体材料,csLV34 和 cssfr3~cssfr5 检测结果完全相同,结合 cssfr1 的检测结果,检测出 Avocet S * 6/*Yr5*、Avocet S * 6/*Yr24*、Avocet S * 6/*Yr27* 三个材料具有 *Yr18* 的等位变异。

小麦抗条锈育种一直是小麦抗病育种的一个重要方向,通过分子标记辅助选择的方式将抗病基因整合到小麦品种中可缩短育种年限,加快育

种效率。本研究结果显示,*Yr5* 基因的连锁标记 STS9/10,*Yr9*(1B/1R) 基因的分子标记 AF1/4、D15、20H 能对目的基因进行有效的检测,并且结果稳定、条带清晰,*Yr18* 基因的几个分子标记结合使用不仅能够准确检测而且能够识别该位点的等位变异。在今后的育种过程中可以合理运用这些分子标记,将小麦抗条锈基因导入小麦生产品种中,育成多基因聚合的长效持久抗病品种。

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.
CHEN W Q,KANG Z S,MA Z H,*et al.* Integrated management of wheat stripe rust caused by *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in China [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2013, 46 (20):4254.
- [2]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.
WU L R,NIU Y C. Strategies of sustainable control of wheat stripe rust in China [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2000, 33 (5):46.
- [3]LIU T G,PENG Y L,CHEN W Q,*et al.* First detection of virulence in *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in China to resistance genes *Yr24*(=*Yr26*) present in wheat cultivar Chuanmai 42 [J]. *Plant Disease*, 2010, 94(9):1163.
- [4]刘太国,章振羽,刘博,等.小麦抗条锈病基因 *Yr26* 毒性小种的发现及其对我国小麦主栽品种苗期致病性分析[J].植物病理学报,2015,45(1):41.
LIU T G,ZHANG Z Y,LIU B,*et al.* Detection of virulence to *Yr26* and pathogenicity to Chinese commercial winter wheat cultivars at seedling stage [J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2015, 45(1):41
- [5]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.
ZENG Q D,SHEN C,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.
- [6]KEMA G H J. Resistance in spelt wheat to yellow rust [J]. *Euphytica*, 1992, 63(3):207.
- [7]WIESER H,KIEFFER R,LELLEY T. The influence of 1B/1R chromosome translocation on gluten protein composition and technological properties of bread wheat [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2000, 80(11):1640.
- [8]DYCK P L. Genetics of leaf rust reaction in three introductions of common wheat [J]. *Canadian Journal of Genetics and Cytology*, 1977, 19(4):711.
- [9]SINGH R P. Genetic association of leaf rust resistance gene *Lr34* with adult plant resistance to stripe rust in bread wheat [J]. *Phytopathology*, 1992, 82(8):835.

- [10] SPIELMEYER W, MCINTOSH R A, KOLMER J, *et al.* Powdery mildew resistance and *Lr34/Yr18* genes for durable resistance to leaf and stripe rust cosegregate at a locus on the short arm of chromosome 7D of wheat [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2005, 111(4): 731.
- [11] 周喜旺, 刘鸿燕, 王娜, 等. DNA 分子标记技术在小麦遗传育种中的应用综述[J]. 甘肃农业科技, 2017, 48(5): 64.
ZHOU X W, LIU H Y, WANG N, *et al.* Application review of DNA molecular markers technique in wheat genetic breeding [J]. *Gansu Agricultural Science and Technology*, 2017, 48(5): 64.
- [12] 刘鹏, 陈璨, 卢家玲, 等. 小麦品种云麦 53 抗条锈基因的分子标记定位[J]. 麦类作物学报, 2015, 35(11): 1483.
LIU P, CHEN C, LU J L, *et al.* Molecular mapping of stripe rust resistance gene in wheat cultivar Yunmai 53 [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2015, 35(11): 1483.
- [13] 王薇, 李连城, 陈明, 等. 兼抗条锈、白粉病小麦新种质观 4 的分子标记鉴定[J]. 麦类作物学报, 2009, 29(5): 798.
WANG W, LI L C, CHEN M, *et al.* Characterization of wheat line Guan 4 resistant to stripe rust and powdery mildew by molecular markers [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2009, 29(5): 798.
- [14] 王金平, 王洪刚. 兼抗白粉和条锈病小滨麦种质系山农 6343 的细胞学和 SSR 鉴定[J]. 植物遗传资源学报, 2009, 10(1): 46.
WANG J P, WANG H G. Cytological and SSR analysis of tritileymus germplasm line Shannong 6343 with resistance to both powdery mildew and yellow rust [J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2009, 10(1): 46.
- [15] 伍玲, 谭君, 朱华忠, 等. 四川近年小麦区试品系中 *Yr5*、*Yr10* 和 *Yr15* 的分子标记检测[J]. 西南农业学报, 2007, 20(2): 316.
WU L, TAN J, ZHU H Z, *et al.* Detection of stripe rust resistant genes of *Yr5*, *Yr10* and *Yr15* in some Sichuan wheat lines by molecular markers [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2007, 20(2): 316.
- [16] CHEN X, SORIA M A, YAN G, *et al.* Development of sequence tagged site and cleaved amplified polymorphic sequence markers for wheat stripe rust resistance gene *Yr5* [J]. *Crop Science*, 2003, 43(6): 2058.
- [17] FRANCIS H A, LEITCH A R, KOEBNER R M. Conversion of a RAPD-generated PCR product, containing a novel dispersed repetitive element, into a fast and robust assay for the presence of rye chromatin in wheat [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1995, 90(5): 636.
- [18] LIU C, YANG Z J, LI G R, *et al.* Isolation of a new repetitive DNA sequence from *Secale africanum* enables targeting of *Secale* chromatin in wheat background [J]. *Euphytica*, 2008, 159(1): 249.
- [19] 万雪秋, 杨足君, 冯娟, 等. 黑麦染色体组特异 PCR 标记的建立[J]. 西南农业学报, 2005, 18(增刊): 50.
WAN X Q, YANG Z J, FENG J, *et al.* Generation of a PCR-based rye chromosomes specific marker [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2005, 18(S): 50.
- [20] 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(1): 21.
- [21] LAGUDAH E S, KRATTINGER S G, HERRERA-FOESEL S, *et al.* Gene-specific markers for the wheat gene *Lr34/Yr18/Pm38* which confers resistance to multiple fungal pathogens [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2009, 119(5): 889.
- [22] YANG P, CHEN X M, LINE R F, *et al.* Resistance gene-analog polymorphism markers co-segregating with the *YR5* gene for resistance to wheat stripe rust [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2003, 106(4): 636.
- [23] 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.
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.
- [24] 张玉薇, 刘博, 刘太国, 等. 小麦品种抗条锈病基因 *Yr10*、*Yr18* 及 1BL/1RS 易位的分子检测[J]. 植物保护, 2014, 40(1): 54.
ZHANG Y W, LIU B, LIU T G, *et al.* Molecular detection of *Yr10* and *Yr18* genes and 1BL/1RS translocation in wheat cultivars [J]. *Plant Protection*, 2014, 40(1): 54.
- [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.
LI M Z, 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.
- [26] KOLMER J A, SINGH R P, GARVIN D F, *et al.* Analysis of the *Lr34/Yr18* rust resistance region in wheat germplasm [J]. *Crop Science*, 2008, 48(5): 1841.
- [27] KRATTINGER S G, LAGUDAH E S, SPIELMEYER W, *et al.* A putative ABC transporter confers durable resistance to multiple fungal pathogens in wheat [J]. *Science*, 2009, 323(5919): 1360.
- [28] 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.
WU L, XIA X C, ZHU H Z, *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.