

38 份冬小麦品系抗条锈病基因 Yr5 和 Yr10 的分子检测

周喜旺¹, 岳维云¹, 宋建荣¹, 曹世勤², 张耀辉¹, 刘鸿燕¹, 王娜¹, 南海¹, 赵尚文¹, 魏志平¹

(1. 甘肃省天水市农业科学研究所, 甘肃 天水 741001; 2: 甘肃省农业科学院植物保护研究所, 甘肃兰州 730070)

摘要: 为了解甘肃天水近年育成品系中抗条锈病基因的分布情况, 选用与 Yr5 和 Yr10 基因紧密连锁的标记, 对 38 份冬小麦品系进行抗条锈病基因检测。结果表明, 38 份品系中, 有 15 份品系检测到 Yr5 基因, 有 1 份品系检测到 Yr10 基因, 分别占被检测品系的 39.5% 和 2.6%; 品系 0817-4 同时检测到 Yr5 和 Yr10 基因, 由于两基因对目前流行小种有较好的抗性, 建议品系 0817-4 可在甘肃天水小麦抗条锈病育种中合理利用。

关键词: 小麦; 品系; 条锈病抗病基因; 分子检测

中图分类号: S512.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1463(2017)05-0040-04

[doi:10.3969/j.issn.1001-1463.2017.05.013](https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1463.2017.05.013)

Molecular Detection of Stripe Rust Resistant Genes Yr5 and Yr10 in 38 Wheat Lines

ZHOU Xiwang¹, YUE Weiyun¹, SONG Jianrong¹, CAO Shiqin², ZHANG Yaohui¹, LIU Hongyan¹, WANG Na¹, NAN Hai¹, ZHAO Shangwen¹, WEI Zhiping¹

(1. Tianshui Institute of Agricultural Science, Tianshui Gansu 741001, China; 2. Institute of Plant Protection, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou Gansu 730070, China)

Abstract: In order to know the distribution of Yr5 and Yr10 genes in wheat lines in Tianshui of Gansu, using molecular markers tightly linked with Yr5 and Yr10, 38 wheat lines are detected the existence of stripe rust resistant genes Yr5 and Yr10. The result shows that there are 15 lines containing Yr5 gene, accounting for 39.5 of the total tested lines, 1 line with Yr10 gene accounting for 2.6% of the total tested lines. The line 0817-4 contained both Yr5 and Yr10 genes, which could be widely used in wheat breeding in Tianshui of Gansu.

Key words: Wheat; Line; Stripe rust resistant gene; Molecular detection

小麦条锈病是由小麦条锈菌 (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) 引起的一种世界范围的严重病害, 也是我国发生范围最广、危害程度最重的小麦病害之一^[1]。研究发现, 种植抗病品种是最经济、有效和对环境安全的措施。由于生理小种的高度变异性, 种植品种 3-5 a 便会丧失抗性。2003 年来, CYR32 和 CYR33 成为中国当前的优势小种^[2], 已有研究表明, 感染贵农 22 的致病

新菌系贵 22-9 和贵 22-14 的出现频率逐年上升^[3], 新菌系将对甘肃天水生产上含有 92R 和贵农血缘的品种构成极大威胁。

利用基因特异性标记对亲本或高代材料进行检测具有快速、方便等特点, 能为亲本或高代材料的有效利用提供重要信息。如李峰奇等^[4]、张玉薇等^[5]、王欣等^[6] 用与抗条锈病基因紧密连锁的标记对我国小麦品种中的抗条锈基因进行了检测, 明

收稿日期: 2017-01-09

基金项目: 甘肃省科技支撑计划-农业类(1504NKCE115)。

作者简介: 周喜旺(1977—), 女, 甘肃静宁人, 助理研究员, 硕士, 主要从事冬小麦育种研究工作。联系电话: (0)13739381152。E-mail: zhouxiwang1208@163.com。

通信作者: 宋建荣(1963—), 男, 甘肃天水人, 研究员, 主要从事冬小麦育种研究工作。E-mail: tskd228202@163.com。

确了抗条锈基因的分布情况，为抗条锈病基因的有效利用和合理布局提供了理论依据。我们利用 Yr5 和 Yr10 基因的特异分子标记，对甘肃天水近年育成的 38 份品系进行检测，旨在明确这两个基因在品系中的分布情况，为甘肃天水小麦抗条锈育种提供参考信息。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试的 38 份小麦品系见表1，分别由甘肃省天水市农业科学研究所中梁试验站和甘谷试验站提供。阳性对照为单基因系 Yr5/6*Avocet S、Yr10/6*Avocet S，阴性对照为 Avocet S，由甘肃省农业科学院植物保护研究所禾谷类病害研究室提供。

表1 38份小麦品系名称

编号	品系	编号	品系
1	99293	20	01-28-15-1-2-4-2-2
2	96289	21	S98531-1-1-1-2
3	05495-34-6-1-2	22	00134-1-1-1
4	05495-19-2-1-1	23	02-199-1-1-2-2-2
5	05184-8-1-1-4	24	01-228-2-1-1-2-1-1
6	0741-1-14	25	01-61-4-2-1-1-1
7	0817-4	26	9936-1-3-2-3-1-1
8	05495-34-5-1-4	27	999-1-2-1-1
9	天00127	28	03-41-1-1-2-1
10	天03-184-2	29	9931-2-1-1-2-1
11	天S98351	30	02-100-2-2-1-1
12	天03-165-6-2	31	02-156-1-1-1-2
13	天9524	32	03-61-1-3-1
14	9474-1-1-5-2-1-2C2	33	03-41-4-1-1
15	045-6-1-1	34	9727-1-2-2-1-3-1-1
16	97129-8-1-1-2-2	35	00102-2-2-1-1
17	043-7-3-1	36	0026-1-1
18	02-199-1-1-2-3-1	37	S98530-7-2-2-1-1-1
19	99211-1-1-4-1	38	00102-2-1-1-3-1-1

1.2 基因组 DNA 的提取

采用 CTAB 法，从幼嫩叶片提取小麦基因组 DNA，经紫外分光光度计检测其质量和浓度，

置 -20℃ 冰箱保存备用^[7-8]。

1.3 引物序列的合成

用于检测 Yr5 和 Yr10 基因的引物由北京赛百盛公司合成(表2)。

1.4 PCR 扩增及电泳检测

PCR 反应体系为 10 μL，其中 ddH₂O 2 μL、2 × Master Mix 5 μL、上下游引物各 1 μL、模板 DNA(50 ng/μL)1 μL。Yr5 的扩增程序为：94℃ 预变性 3.0 min；94℃ 变性 1.0 min，60℃ 退火 1.0 min，72℃ 延伸 1.0 min，共 35 个循环；72℃ 延伸 5.0 min。Yr10 的扩增程序为：94℃ 预变性 5.0 min；94℃ 变性 1.0 min，60℃ 退火 1.0 min，72℃ 延伸 1.5 min，共 35 个循环；72℃ 延伸 10.0 min。扩增产物经 8% 的非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳、硝酸银染色后置于胶片观察灯上拍照。

2 结果与分析

2.1 Yr5 基因的分子检测

用 Yr5 基因的特异引物 S1320 扩增的目标片段大小为 156 bp^[9]。本试验用此标记对 38 份品系进行检测的结果(图1)表明，在阳性对照 Yr5/6* Avocet S 上检测出 156 bp 的条带，而在阴性对照 Avocet S 上检测不到此条带。38 份品系中，有 15 份品系能够检测出与阳性对照一致的 156bp 条带，占参试品系的 39.5%，推测这些品系可能含有 Yr5 基因。其余品系未检测到 156 bp 的条带，推测这些品系可能不含有 Yr5 基因(表3)。

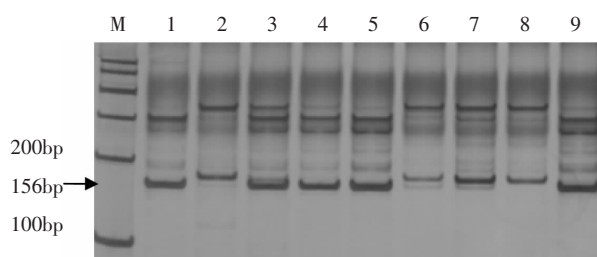


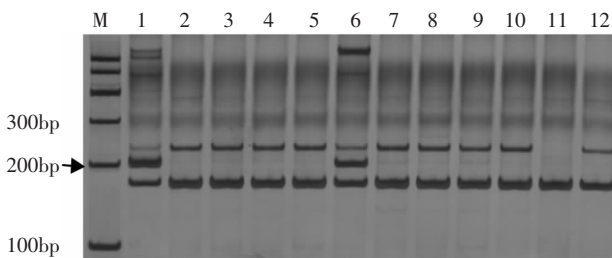
图1 部分供试品系 Yr5 基因的分子检测

表2 用于检测 Yr5 和 Yr10 基因的引物及序列

Yr基因	引物名称	引物序列(5' - 3')	参考文献
Yr5	S1320	CAATAGTTAGGCAAATTACATCG TGC AAAGTACCTCATTTTGAGAA	陈晓红 ^[9]
Yr10	SC200	CTGCAGAGTGACATCATACA TCGAACTAGTAGATGCTGGC	邵映田等 ^[10]

2.2 Yr10 基因的分子检测

邵映田等^[10]研究表明, Yr10 的引物 SC200 在含有 Yr10 的品种上检测到 200bp 和 180bp 2 条带, 而在不含 Yr10 的品种上, 只能检测到 180bp 1 条带。用 SC200 引物对 38 份品系进行检测(图2)的结果表明, 在阳性对照 Yr10/6*Avocet S 上能检测出 200 bp 和 180 bp 2 条带, 在阴性对照 Avocet S 上能检测出 180 bp 1 条带。38 份品系中, 仅有 0817-4 检测出 200 bp 和 180 bp 2 条带, 占参试品系的 2.6%, 推测这一品系可能含有 Yr10 基因。其余品系均未检测到 200bp 的抗性带, 推测这些品系可能不含有 Yr10 基因(表3)。



M 为分子量标准, DNA marker I; 1 为阳性对照 (Yr10/6*Avocet S); 2 为阴性对照 (Avocet S); 3 为 99293; 4 为 96289; 5 为 05495-34-6-1-2; 6 为 0817-4; 7 为 05495-34-5-1-4; 8 为天 00127; 9 为天 03-184-2; 10 为天 S98531; 11 为天 03-165-6-2; 12 为天 9524

图 2 部分品系 Yr10 基因分子检测结果

3 结论与讨论

Yr5 基因是由 Macer 最早在斯卑儿脱小麦中发现的, 被定位在 2BL 染色体上, 能抗条锈菌现有的所有生理小种^[11]。Yr10 来源于小麦品种 Moro, 位于 1B 染色体上, 对目前中国出现的大部分条锈菌生理小种具有良好的抗性^[4]。本研究用与 Yr5 和 Yr10 基因连锁的分子标记对 38 份育成品系进行抗条病基因检测, 从 38 份品系中鉴定出携带 Yr5 基因的品系 15 份、携带 Yr10 基因的品系 1 份。品系 0817-4 同时携带 Yr5 和 Yr10 基因, 建议可将品系 0817-4 作亲本资源在小麦条锈病抗病育种中加以利用。研究表明, Yr5 基因占被检测品系的 39.5%, 这一结果与董淑静等^[12]研究结果基本一致, 而与李峰奇等^[4]研究结果差异较大, 其主要原因可能是不同研究者所用材料的遗传背景不同, 标记也不同, 导致结果存在差异。

从研究结果可以看出, Yr5 基因在甘肃天水育成品系中的分布频率相对较高, 而 Yr10 基因的分布频率很低, 应加强抗条锈性表现良好的 Yr10 基因の利用。甘肃天水由于其特殊的地理位置和气候条件的原因, 在小麦抗病育种中, 一直以抗条锈育种作为首要目标。随着条锈菌生理小种的不断变异, 携带单一抗性基因的品种在生产上已逐

表 3 38 份小麦品系中 Yr5 和 Yr10 基因的分子检测^①

编号	品系	Yr5	Yr10	编号	品系	Yr5	Yr10
1	99293	+	-	20	01-28-15-1-2-4-2-2	-	-
2	96289	+	-	21	S98531-1-1-1-2	-	-
3	05495-34-6-1-2	-	-	22	00134-1-1-1	+	-
4	05495-19-2-1-1	-	-	23	02-199-1-1-2-2-2	+	-
5	05184-8-1-1-4	-	-	24	01-228-2-1-1-2-1-1	-	-
6	0741-1-14	-	-	25	01-61-4-2-1-1-1	-	-
7	0817-4	+	+	26	9936-1-3-2-3-1-1	+	-
8	05495-34-5-1-4	-	-	27	999-1-2-1-1	-	-
9	天 00127	+	-	28	03-41-1-1-2-1	-	-
10	天 03-184-2	+	-	29	9931-2-1-1-2-1	+	-
11	天 S98351	-	-	30	02-100-2-2-1-1	-	-
12	天 03-165-6-2	+	-	31	02-156-1-1-1-2	-	-
13	天 9524	+	-	32	03-61-1-3-1	-	-
14	9474-1-1-5-2-1-2C2	-	-	33	03-41-4-1-1	-	-
15	045-6-1-1	+	-	34	9727-1-2-2-1-3-1-1	+	-
16	97129-8-1-1-2-2	-	-	35	00102-2-2-1-1	-	-
17	043-7-3-1	-	-	36	0026-1-1	-	-
18	02-199-1-1-2-3-1	+	-	37	S98530-7-2-2-1-1-1	-	-
19	99211-1-1-4-1	+	-	38	00102-2-1-1-3-1-1	-	-

① “+”表示有抗性带; “-”表示没有抗性带。

静宁县谷子新品种(系)引种试验初报

杨富位, 李秉强

(甘肃省静宁县农业技术推广中心, 甘肃 静宁 743400)

摘要: 以陇谷 11 号为对照, 在静宁县对 7 个谷子新品种(系)进行了引种试验。结果表明, 在露地栽培条件下, 籽粒产量以 9410-4-2-2-1 最高, 达 4 768.52 kg/hm², 较对照品种陇谷 11 号增产 22.91%; 0416-2-1-1-1、0412-1-2-1、029-5-5-3 分别较对照增产 22.20%、11.22%、4.30%, 且综合表现优良。以上品种(系)适宜在静宁县山旱梯田地露地种植。

关键词: 谷子; 新品种(系); 引种试验; 静宁

中图分类号: S 515 **文献标志码:** A

文章编号: 1001-1463(2017)05-0043-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1463.2017.05.014

静宁县位于甘肃中东部, 六盘山西麓, 东经 105° 20' ~106° 05', 北纬 35° 01' ~35° 45', 境内海拔 1 600 ~ 2 245 m, 年均气温 7.1 °C, 无霜期 159 d, 年均日照时数 2 238 h, 耕地面积 9.82 万 hm²。谷子在当地栽培历史悠久, 20 世纪 90 年代种植面积曾达到 0.69 万 hm², 户均 0.07 hm², 之后

随着产业结构调整, 种植面积逐年下降, 2010 年以来, 年播种面积不足 0.067 万 hm² [1-2]。为了推广适合当地栽培的谷子新品种 [3-5], 探索旱地谷子栽培新模式, 我们从甘肃省农业科学院作物研究所引进了 7 个谷子新品种(系), 在八里镇靳坪村开展谷子新品种(系)对比试验, 现将试验结果初报

收稿日期: 2017-01-16

作者简介: 杨富位(1974—), 男, 甘肃静宁人, 高级农艺师, 主要从事农业技术推广工作。联系电话: (0)13919548879。E-mail: 940739441@qq.com。

渐失去抗性, 在今后的抗条锈育种中, 应结合分子标记进行辅助选择, 实现多基因聚合, 加快抗锈育种进程, 提高育种效率。

参考文献:

- [1] 李振歧, 曾士迈. 中国小麦锈病[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [2] 贾秋珍, 金社林, 曹世勤, 等. 警惕小麦条锈菌条中 33 号的流行与危害[J]. 甘肃农业科技, 2010(1): 31-34.
- [3] 黄瑾, 贾秋珍, 金社林, 等. 2010—2012 年甘肃省小麦条锈病菌生理小种变化动态监测[J]. 植物保护, 2014, 40(3): 101-105.
- [4] 李峰奇, 韩德俊, 魏国荣, 等. 黄淮麦区 126 个小麦品质(系)抗条锈病基因的分子检测[J]. 中国农业科学, 2008, 41(10): 3060-3069.
- [5] 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): 54-59.
- [6] 王欣, 张怀刚, 刘宝龙, 等. 青海省小麦品种中 Yr10 和 Yr15 基因及 1BL/1RS 易位的分子检测[J]. 西北植物学报, 2011, 31(1): 57-63.
- [7] PATERSON A H, BRUBAKER C L, WENDEL J F. A rapid method for extraction of cotton (*Gossypium spp.*) genomic DNA suitable for RFLP or PCR analysis [J]. Plant Molecular Biology Reporter, 1993, 11: 122-127.
- [8] POREBSKI S, BAILEY L G, BAUM B R. Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components [J]. Plant Molecular Biology Reporter, 1997, 15: 8-15.
- [9] 陈晓红. 小麦抗条锈病基因 Yr5 分子标记的鉴定[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2003.
- [10] 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(C辑), 2001, 46(8): 669-672.
- [11] CHEN X M, SORIA M A, YAN G P, 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: 2058-2064.
- [12] 董淑静, 许为钢, 胡琳, 等. 43 个河南主推小麦品种抗条锈病基因的分子检测[J]. 华北农学报, 2012, 27(5): 157-162.

(本文责编: 杨杰)