

网络出版日期:2017-03-30

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1220.S.20170330.1508.012.html>

# 66 份青海审定小麦及 86 份人工合成小麦抗秆锈病小种 Ug99 的基因组成分析

刘 韬<sup>1,3</sup>, 尚 玥<sup>1</sup>, 张 波<sup>1</sup>, 刘宝龙<sup>1</sup>, 陈文杰<sup>1</sup>,

张连全<sup>2</sup>, 刘登才<sup>1,2</sup>, 张怀刚<sup>1</sup>

(1. 中国科学院 西北高原生物研究所, 西宁 810008; 2. 四川农业大学 小麦研究所, 成都 611130; 3. 中国科学院大学, 北京 100049)

**摘 要** 为了分析抗秆锈病小种 Ug99 的基因在青海审定小麦和新合成的人工小麦中的分布状况, 采用 6 个抗 Ug99 基因 (*Sr33*, *Sr36*, *Sr39*, *Sr40*, *Sr42*, *Sr43*) 的分子标记对青海省审定的 66 个小麦品种及 86 份人工合成小麦材料进行检测。结果表明: 在青海审定的 66 个小麦品种中, 有 4 个品种含 *Sr33*, 占检测品种数的 6.06%; 1 个品种含 *Sr39*, 占检测品种数的 1.52%; 5 个品种含 *Sr40*, 占检测品种数的 7.58%; 4 个品种含 *Sr42*, 占检测品种数的 6.06%; 3 个品种含 *Sr43*, 占检测品种数的 4.55%; 同时含有 2 个抗性基因的品种仅有 2 个, 占检测品种数的 3.03%。在 86 份合成小麦材料中, 有 38 份材料含 *Sr33*, 占检测材料的 44.19%; 31 份材料含 *Sr39*, 占检测材料的 36.05%; 9 份材料含 *Sr40*, 占检测材料的 10.47%; 3 份材料含 *Sr42*, 占检测材料的 3.49%; 6 份材料含 *Sr43*, 占检测材料的 6.98%; 同时含有 2 种抗性基因的材料有 17 份, 占检测材料的 19.77%。在 66 个小麦品种和 86 份人工合成小麦材料均未检测出 *Sr36*。人工合成小麦提供 Ug99 抗病基因资源, 对改良普通小麦 Ug99 抗病性具有潜在价值。

**关键词** 普通小麦; 人工合成小麦; Ug99 抗性基因

**中图分类号** S512.1; S326

**文献标志码** A

**文章编号** 1004-1389(2017)04-0523-10

小麦秆锈病 (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*) 是全球范围的小麦病害, 对小麦破坏性极大, 曾在大多数种植小麦的国家和地区出现过毁灭性的灾难<sup>[1]</sup>。秆锈病可使小麦减产高达 75%, 一些地区甚至绝收。而中国恰好处于小麦秆锈病流行的特定区域内<sup>[2]</sup>。20 世纪 30 至 60 年代曾在中国爆发过的几次秆锈病, 造成几乎毁灭性的减产。抗秆锈病基因 *Sr31* 在育种中的广泛应用使得秆锈病在过去的 40 多年没有大面积爆发<sup>[2]</sup>。

但是 *Sr31* 基因对 1999 年在乌干达出现的新致病小种 Ug99 不具抗性, 秆锈病再次对小麦的生产产生巨大的威胁。按北美秆锈菌小种命名法则 Ug99 被命名为 TTKS<sup>[3]</sup>, 按照现在新的鉴别寄主的体系该命名为 TTKSK<sup>[4]</sup>。同时随着孢子的不断传播, 变种也在不断产生, 2006 年和 2007 年人们又发现了对抗性基因 *Sr24* 和 *Sr36* 具有高

毒力的新变异株<sup>[5,12]</sup>。Ug99 被发现的随后几年, 其夏孢子借助盛行西风的高空气流, 于 2001 年传到东非的肯尼亚, 2003 年突破东非的防线传入北非的埃塞俄比亚、苏丹等国, 2007 年越过红海传到也门, 目前已传播至伊朗的部分地区<sup>[6]</sup>。如今, Ug99 及其小种的传播速度比条锈病菌传播更快。专家们预计, 由于 Ug99 及其小种突破了红海这道屏障, 其在未来几年或几十年中, 传播到世界各地将更加容易, 甚至速度将更加迅速。当今世界 90% 以上的小麦对 Ug99 不具抗性<sup>[7]</sup>, 2006 年对中国 118 个小麦主栽品种在肯尼亚进行 Ug99 抗性鉴定, 结果表明高感病品种占 98.3%<sup>[8]</sup>。中国作为全世界的人口及粮食大国, 所面临的潜在威胁将远超其他地区国家。而青海地处中国的西部, 如果 Ug99 突破中国的边界, 将是首当其冲的几个省份之一。

收稿日期: 2016-05-11 修回日期: 2016-06-28

基金项目: 中国科学院战略性 A 类先导科技专项子课题 (XDA08030106); 青海省重点研发与转化计划项目 (2016-HZ-808)。

第一作者: 刘 韬, 男, 硕士研究生, 从事小麦抗病遗传育种研究。E-mail: liutao415@mails.ucas.ac.cn

通信作者: 张怀刚, 男, 研究员, 博士生导师, 主要从事小麦遗传育种研究。E-mail: hgzhang@nwipb.cas.cn

张 波, 男, 副研究员, 硕士生导师, 主要从事麦类作物遗传育种研究。E-mail: zhangbo@nwipb.cas.cn

本研究利用与 Ug99 抗病基因紧密连锁的分子标记,对 66 份青海省审定的小麦品种和 86 份人工合成小麦材料进行抗性基因的组成鉴定,了解普通小麦品种及人工合成小麦的抗性基因分布现状,希望从人工合成小麦中发现 Ug99 抗性资源,为 Ug99 抗性基因分子聚合育种提供理论依据及材料信息。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 供试材料

青海审定小麦品种 66 份(表 1)及人工合成小麦 86 份(表 2), Ug99 抗性基因的材料: RL5405(*Sr33* )、Lang (*Sr36* )、RL5711 (*Sr39* )、RL6087(*Sr40* )、Ac-Cadillac(*Sr42* )、*Sr43*(*Sr43* ) 共 6 份材料。

### 1.2 试验方法

1.2.1 DNA 提取 采集 66 份青海审定小麦、86 份人工合成麦以及抗病亲本适量的新鲜叶片,在

液氮中冷冻研磨后,用 CTAB 法<sup>[10]</sup>提取基因组 DNA,用微量紫外检测仪 NANODROP2000C (Thermo)测量 DNA 质量浓度。将 DNA 均稀释到 200 mg/L,用 10 g/L 的琼脂糖胶在 110 V 电压下电泳 30 min,检测 DNA 的质量。

1.2.2 特异性引物的选择 *Sr33*、*Sr36*、*Sr39*、*Sr40*、*Sr42*、*Sr43* 是目前发现能有效抵抗 Ug99 及其绝大部分毒力变种的秆锈菌抗性基因<sup>[9,11-14]</sup>。上述基因已分别在小麦染色体上定位:*Sr33* 定位到 1DL<sup>[11]</sup>,*Sr36* 定位到 2BS<sup>[15]</sup>,*Sr39* 定位到 2B<sup>[12]</sup>,*Sr40* 定位到 2BS<sup>[15]</sup>,*Sr42* 定位到 6DS<sup>[13]</sup>,*Sr43* 定位到 7D<sup>[15]</sup>。根据查阅相关 NCBI 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)、参考文献以及 GrainGenes 2. 0 (<http://wheat.pw.usda.gov>)得到相应的引物序列,通过试验对比选取稳定性较高的 6 对引物(表 3),引物均由奥科鼎盛生物公司合成。

表 1 66 份青海省审定小麦品种

Table 1 66 wheat cultivars released in Qinghai province

品种名称 Cultivar name	审定年份 Registered year	品种名称 Cultivar name	审定年份 Registered year
阿勃 Abo	1957	民和 853 Minhe 853	1998
高原 182 Plateau 182	1969	高原 175 Plateau 175	1998
香农 3 号 Xiangnong 3	1970	高原 584 Plateau 584	1999
墨波 Mobo	1976	高原 363 Plateau 363	1999
高原 506 Plateau 506	1978	民和 588 Minhe 588	1999
互助红 Huzhu red	1979	高原 932 Plateau 932	1999
高原 338 Plateau 338	1981	高原 448 Plateau 448	1999
青农 469 Qingnong 469	1984	青春 587 Qingchun 587	2000
青农 524 Qingnong 524	1984	互麦 13 Humai 13	2000
瀚海 304 Hanhai 304	1986	高原 671 Plateau 671	2000
宁春 9 号 Ningchun 9	1986	高原 314 Plateau 314	2001
高原 602 Plateau 602	1987	兰天 3 号 Lantian 3	2001
青春 533 Qingchun 533	1988	高原 115 Plateau 115	2001
互麦 12 Humai 12	1988	青春 952 Qingchun 952	2001
柴春 236 Chaichun 236	1988	民和 665 Minhe 665	2001
新哲 9 号 Xinzhe 9	1988	高原 142 Plateau 142	2002
柴春 018 Chaichun 018	1988	青春 144 Qingchun 144	2003
柴春 044 Chaichun 044	1988	墨引 1 号 Moyin 1	2003
互麦 11 Humai 11	1988	宁春 26 Ningchun 26	2003
高原 465 Plateau 465	1990	乐麦 6 号 Lemai 6	2003
高原 466 Plateau 466	1990	墨引 2 号 Moyin 2	2003
青春 415 Qingchun 415	1993	互麦 14 Humai 14	2004
东春 1 号 Dongchun 1	1994	甘春 20 Ganchun 20	2004
柴春 901 Chaichun 901	1994	青春 39 Qingchun 39	2005
高原 356 Plateau 356	1994	青春 37 Qingchun 37	2005
高原 158 Plateau 158	1994	互麦 15 Humai 15	2005
青春 891 Qingchun 891	1994	通麦 1 号 Tongmai 1	2005
青春 254 Qingchun 254	1996	青春 38 Qingchun 38	2005
青春 570 Qingchun 570	1996	山旱 901 Shanhan 901	2005
高原 V028 Plateau V028	1997	源卓 3 号 Yuanzhuo 3	2005
乐麦 5 号 Lemai 5	1998	曹选 5 号 Caoxuan 5	2007
高原 205 Plateau 205	1998	高原 437 Plateau 437	2008
高原 913 Plateau 913	1998	高原 412 Plateau 412	2009

表 2 86 份人工合成小麦  
Table 2 86 synthetic hexaploid wheat lines

合成小麦 Synthetic wheat	杂交组合 Cross combinations	合成小麦 Synthetic wheat	杂交组合 Cross combinations	合成小麦 Synthetic wheat	杂交组合 Cross combinations
Syn-SAU-1	AS2255×AS60	Syn-SAU-31	AS286×AS2399	Syn-SAU-69	PI1415152×AS60
Syn-SAU-2	AS313×AS60	Syn-SAU-32	AS286×AS2404	Syn-SAU-70	PI434998×AS2386
Syn-SAU-2	AS285×AS60	Syn-SAU-33	AS286×AS2407	Syn-SAU-73	PI184543×AS2386
Syn-SAU-4	AS286×AS60	Syn-SAU-34	PI94614×AS2405	Syn-SAU-74	PI211691×AS2386
Syn-SAU-5	Langdon×AS60	Syn-SAU-35	PI94627×AS2386	Syn-SAU-77	PI532136×AS65
Syn-SAU-6	Langdon×AS65	Syn-SAU-36	PI94650×AS2404	Syn-SAU-78	AS2240×AS84
Syn-SAU-7	Langdon×AS77	Syn-SAU-37	PI94655×AS2404	Syn-SAU-79	AS2295×AS76
Syn-SAU-8	Langdon×AS2386	Syn-SAU-38	PI94655×AS2407	Syn-SAU-80	AS2296×AS2388
Syn-SAU-9	Langdon×AS2399	Syn-SAU-39	PI94666×AS2407	Syn-SAU-81	AS2298×AS79
Syn-SAU-10	Langdon×AS2404	Syn-SAU-40	PI94670×AS2386	Syn-SAU-82	AS2299×AS79
Syn-SAU-11	Langdon×AS2407	Syn-SAU-41	PI94670×AS2404	Syn-SAU-83	AS2308×AS72
Syn-SAU-12	AS2255×AS93	Syn-SAU-42	PI94675×AS2405	Syn-SAU-84	AS2308×AS81
Syn-SAU-13	AS2255×AS2395	Syn-SAU-43	PI113961×AS2404	Syn-SAU-85	AS2310×AS60
Syn-SAU-14	AS2255×AS2393	Syn-SAU-44	PI113963×AS2386	Syn-SAU-86	AS2313×AS2388
Syn-SAU-16	AS313×AS77	Syn-SAU-45	PI154582×AS2395	Syn-SAU-87	AS2326×AS2388
Syn-SAU-17	AS2231-2×AS77	Syn-SAU-46	PI191781×AS2399	Syn-SAU-88	AS2334×AS2388
Syn-SAU-18	AS2236-1×AS77	Syn-SAU-48	PI221403×AS2399	Syn-SAU-89	AS2351×AS67
Syn-SAU-19	AS2236-2×AS82	Syn-SAU-49	PI221403×AS2404	Syn-SAU-90	AS2378×AS82
Syn-SAU-20	AS2238×AS77	Syn-SAU-50	PI306533×AS2405	Syn-SAU-91	AS2380×AS77
Syn-SAU-21	AS2239×AS2395	Syn-SAU-51	PI350001×AS2405	Syn-SAU-92	AS2381×AS65
Syn-SAU-22	AS2240×AS77	Syn-SAU-54	PI352335×AS2386	Syn-SAU-93	AS2382×AS2388
Syn-SAU-23	AS2285×AS77	Syn-SAU-55	PI352358×AS65	Syn-SAU-95	PI154582×AS95
Syn-SAU-24	AS2291×AS2404	Syn-SAU-57	PI352367×AS2386	Syn-SAU-96	PI221403×AS2397
Syn-SAU-25	AS285×AS66	Syn-SAU-59	PI352369×AS60	Syn-SAU-98	PI355507×AS2386
Syn-SAU-26	AS285×AS2386	Syn-SAU-60	PI355465×AS2405	Syn-SAU-99	PI377655×AS2407
Syn-SAU-27	AS285×AS2404	Syn-SAU-61	PI355476×AS2404	Syn-SAU-103	AS2380×AS95
Syn-SAU-28	AS285×AS2405	Syn-SAU-66	PI355527×AS2399	Syn-SAU-106	AS2291×AS2388
Syn-SAU-29	AS286×AS66	Syn-SAU-67	PI377655×AS2399	Syn-SAU-107	PI113961×AS2403
Syn-SAU-30	AS286×AS2386	Syn-SAU-68	PI377655×AS2386		

表 3 微卫星引物  
Table 3 SSR markers

抗性基因 Resistance gene	引物名称 Primers name	正向引物序列(5'→3') Forward primer sequence	反向引物序列(5'→3') Reverse primer sequence	退火温度/℃ Annealing temperature
<i>Sr33</i>	Xcfd15	CTCCCGTATTGAGCAGGAAG	GGCAGGTGTGGTGATGATCT	62
<i>Sr36</i>	STM773-2	ATGGTTTGTGTGTTGTGTGTAGG	AAACGCCCAACCACCTCTCTC	61
<i>Sr39</i>	Sr39 # 2r	AGAGAAGATAAGCAGTAAACATG	TGCTGTCATGAGAGGAACTCTG	56
<i>Sr40</i>	WMC-661	CCACCATGGTGCTAATAGTGTC	AGCTCGTAACGTAATGCAACTG	56
<i>Sr42</i>	FSD-RSA	GTTTTATCTTTTTATTTTC	CTCCTCCCCCA	47
<i>Sr43</i>	Cfa2040	TCAATGATTTTCAGGTAACCACTA	TTCCTGATCCCACCAAACAT	58

1.2.3 PCR 扩增及电泳检测 用 6 对引物对 66 份青海审定小麦品种以及 86 份人工合成麦的基因组进行 PCR 扩增分析。PCR 扩增体系 (20  $\mu\text{L}$ ) 为:  $10 \times \text{Taq}$  buffer (200 mmol/L Tris-HCl; 200 mmol/L KCl; 15 mmol/L  $\text{MgCl}_2$ ) 2  $\mu\text{L}$ , 2.5 mmol/L dNTPs 1.6  $\mu\text{L}$ , 2.5 U/ $\mu\text{L}$   $\text{Taq}$  DNA polymerase 0.4  $\mu\text{L}$ , 各引物 (除 FSD-RSA 为 FSD 12 pmol, RSA 3.5 pmol) 正反序列均为 5 pmol, DNA 200 ng。PCR 程序为: 95  $^\circ\text{C}$  变性 4 min, 然后 35 个循环的 95  $^\circ\text{C}$  变性 30 s, 47~62  $^\circ\text{C}$  复性 (各引物根据试验前期摸索的最适退火温度确定) 30 s, 72  $^\circ\text{C}$  延伸 20 s, 最后 72  $^\circ\text{C}$  延伸 10 min。不同的 PCR 产物根据 *Sr33*、*Sr36*、*Sr39*、*Sr40*、*Sr42*、*Sr43* 的目的条带大小, 制作各自的琼脂糖分离胶浓度; 然后在 TAE 缓冲液中, 110 V 电压下, 电泳 30 min; 取出后在凝胶成像仪中拍照保存。

### 1.3 遗传组成分析

对 66 份青海审定的小麦品种和 86 份人工合成小麦的 6 个抗病基因进行统计分析, 并对抗病基因在 2 个群体中的存在频率。

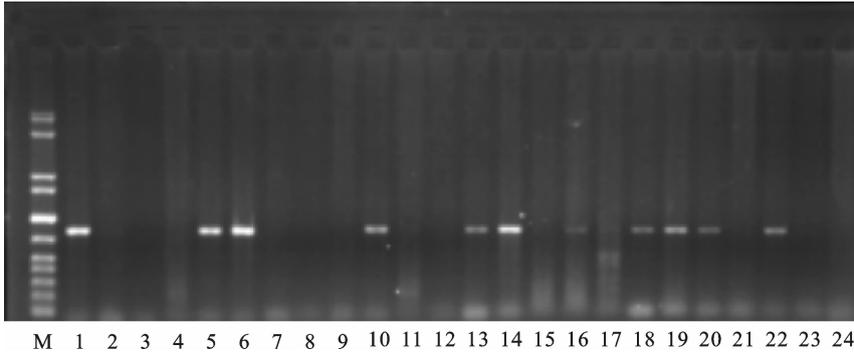
## 2 结果与分析

### 2.1 SSR 引物的筛选及最适退火温度的确定

由于参考文献和数据库中给出的引物有多对, 最终筛选到最适合的 6 对引物和其最适退火温度 (表 3): *Sr33* 的引物 Xcfd15, 62  $^\circ\text{C}$ ; *Sr36* 的引物 STM773-2, 61  $^\circ\text{C}$ ; *Sr39* 的引物 Sr39 # 2r, 56  $^\circ\text{C}$ ; *Sr40* 的引物 WMC-661, 56  $^\circ\text{C}$ ; *Sr42* 的引物 FSD-RSA, 47  $^\circ\text{C}$ ; *Sr43* 的引物 Cfa2040, 58  $^\circ\text{C}$ 。

### 2.2 各抗性基因在普通小麦及人工合成小麦中的分布

用确定的 6 对引物和最适退火温度对 66 份青海审定的小麦品种和 86 份人工合成小麦共 152 份材料分别进行 PCR 扩增检测, 部分电泳结果见图 1。结果发现 (表 4), 在青海审定的 66 小麦品种中, 有 4 个品种含抗性基因 *Sr33*, 所占比例为 6.06%; 1 个品种含 *Sr39*, 所占比例为 1.52%; 5 份品种含 *Sr40*, 占检测品种数的 7.58%; 4 份材料含 *Sr42*, 所占比例为 6.06%; 3 份含 *Sr43*, 占检测品种数的 4.55%。



M. 1 kb plus DNA ladder; 1. 阳性对照 RL5711 Positive control RL5711; 2. 阴性对照 Ps4-1 Negative control Ps4-1; 3. 空白对照 Blank; 4~24. 部分检测样品 Some detected samples

图 1 引物 Sr39 # 2r 对部分合成麦的检测

Fig. 1 Molecular identification of some synthetic hexaploid wheats with marker Sr39 # 2r

86 份人工合成小麦的检测结果 (表 5) 发现, 有 38 份含抗性基因 *Sr33*, 比例高达 44.19%; 31 份材料含 *Sr39*, 占 36.05%; 9 份含 *Sr40*, 占检测材料的 10.47%; 3 份材料含 *Sr42*, 占 3.49%; 6 份材料含 *Sr43*, 占检测材料的 6.98%。

在 66 个小麦品种和 86 份合成麦材料均未检测出 *Sr36* 抗性基因。结果还发现, 在检测的小麦品种中同时含有 2 个抗性基因的品种仅有 2 个 (表 4), 占检测品种数的 3.03%; 而在检测的合成

麦中同时含有 2 种抗性基因的材料有 17 份 (表 5), 占检测材料的 19.77%; 在普通小麦品种和人工合成麦中均未检测到同时含有 3 个及以上抗性基因的材料 (表 4、5)。

以上结果说明合成麦中的抗性基因分布明显要高于现有的小麦品种中的抗性基因分布 (图 2), 也表明同时聚合多个抗性基因的品种很少, 每个品种的抗性基因过于单一。

表 4 66 份青海审定小麦品种抗 Ug99 基因检测结果统计(阳性 +, 阴性 -)  
Table 4 Molecular detection results of stem rust resistance genes in 66 wheat cultivars released in Qinghai province (presence +, absence -)

品种 Cultivar	抗 Ug99 基因 Ug99 resistance gene					
	Sr33	Sr36	Sr39	Sr40	Sr42	Sr43
乐麦 5 号 Lemai 5	-	-	-	-	-	-
互麦 13 Humai 13	-	-	-	-	+	-
高原 205 Plateau 205	-	-	-	-	+	-
高原 314 Plateau 314	-	-	-	-	-	-
兰天 3 号 Lantian 3	-	-	-	-	-	-
高原 913 Plateau 913	-	-	-	-	-	-
瀚海 304 Hanhai 304	-	-	-	-	-	-
高原 V028 Plateau V028	-	-	-	-	-	-
高原 671 Plateau 671	+	-	-	-	-	-
高原 115 Plateau 115	-	-	-	-	-	-
高原 437 Plateau 437	-	-	-	-	-	-
高原 412 Plateau 412	-	-	-	-	-	-
青春 533 Qingchun 533	-	-	-	+	-	-
高原 465 Plateau 465	+	-	-	-	-	-
高原 182 Plateau 182	-	-	-	-	-	-
高原 356 Plateau 356	-	-	-	-	-	-
青春 254 Qingchun 254	-	-	-	-	-	-
高原 338 Plateau 338	-	-	-	-	-	-
青春 144 Qingchun 114	-	-	-	-	-	-
互麦 12 Humai 12	-	-	-	-	-	-
墨波 Mobo	-	-	-	-	-	-
互麦 14 Humai 14	-	-	-	+	-	-
青春 39 Qingchun 39	-	-	-	-	-	-
宁春 9 号 Ningchun 9	-	-	-	-	-	-
青农 524 Qingnong 524	-	-	-	-	-	-
青春 37 Qingchun 37	-	-	-	+	-	-
高原 506 Plateau 506	-	-	-	-	-	-
高原 142 Plateau 142	-	-	-	-	-	-
青春 415 Qingchun 415	-	-	-	-	-	-
柴春 236 Chaichun 236	-	-	-	-	-	-
墨引 1 号 Moyin 1	+	-	-	-	-	+
高原 584 Plateau 584	-	-	-	-	-	-
新哲 9 号 Xinzhe 9	-	-	-	-	+	-
互麦 15 Humai 15	-	-	-	-	-	-
民和 853 Minhe 853	-	-	-	-	-	-
高原 602 Plateau 602	-	-	-	-	-	-
东春 1 号 Dongchun 1	-	-	+	-	-	-
香农 3 号 Xiangnong 3	-	-	-	-	-	-
青春 952 Qingchun 952	-	-	-	-	-	-
通麦 1 号 Tongmai 1	-	-	-	-	-	-
青春 38 Qingchun 38	-	-	-	-	+	+
宁春 26 Ningchun 26	-	-	-	-	-	-
山早 901 Shanhan 901	-	-	-	-	-	-
高原 363 Plateau 363	-	-	-	-	-	-
高原 175 Plateau 175	-	-	-	-	-	-
源卓 3 号 Yuanzhuo 3	-	-	-	-	-	-
青农 469 Qingnong 469	-	-	-	-	-	-
柴春 901 Chaichun 901	-	-	-	-	-	-
阿勃 Abo	-	-	-	-	-	-
柴春 018 Chaichun 018	-	-	-	-	-	-
互助红 Huzhu red	-	-	-	-	-	-
甘春 20 Ganchun 20	-	-	-	-	-	-
民和 588 Minhe 588	-	-	-	-	-	-
曹选 5 号 Caoxuan 5	-	-	-	-	-	-
民和 665 Minhe 665	-	-	-	-	-	+
乐麦 6 号 Lemai 6	-	-	-	-	-	-
柴春 044 Chaichun 044	-	-	-	-	-	-
高原 932 Plateau 932	-	-	-	-	-	-
墨引 2 号 Moyin 2	-	-	-	-	-	-
高原 158 Plateau 158	-	-	-	-	-	-
青春 891 Qingchun 891	-	-	-	-	-	-
互麦 11 Humai 11	-	-	-	-	-	-
青春 570 Qingchun 570	-	-	-	+	-	-
高原 466 Plateau 466	+	-	-	-	-	-
青春 587 Qingchun 587	-	-	-	+	-	-
高原 448 Plateau 448	-	-	-	-	-	-

表 5 86 份人工合成小麦抗秆锈基因检测结果统计(阳性 +, 阴性 -)

Table 5 The detection results of stem rust resistance genes in 86 synthetic hexaploid wheat lines (presence +, absence -)

样品名称 Sample name	杂交组合 Cross combinations	抗秆锈基因 Stem rust resistance gene					
		<i>Sr33</i>	<i>Sr36</i>	<i>Sr39</i>	<i>Sr40</i>	<i>Sr42</i>	<i>Sr43</i>
Syn-SAU-1	AS2255×AS60	-	-	+	-	-	-
Syn-SAU-2	AS313×AS60	-	-	+	-	-	-
Syn-SAU-2	AS285×AS60	-	-	+	-	-	-
Syn-SAU-4	AS286×AS60	-	-	+	-	-	-
Syn-SAU-5	Langdon×AS60	-	-	+	+	-	-
Syn-SAU-6	Langdon×AS65	-	-	-	-	-	-
Syn-SAU-7	Langdon×AS77	-	-	-	-	-	-
Syn-SAU-8	Langdon×AS2386	+	-	-	-	-	-
Syn-SAU-9	Langdon×AS2399	+	-	-	-	-	-
Syn-SAU-10	Langdon×AS2404	+	-	-	-	-	-
Syn-SAU-11	Langdon×AS2407	+	-	-	-	-	-
Syn-SAU-12	AS2255×AS93	-	-	+	-	-	-
Syn-SAU-13	AS2255×AS2395	-	-	-	-	-	-
Syn-SAU-14	AS2255×AS2393	+	-	+	-	-	-
Syn-SAU-16	AS313×AS77	-	-	-	-	-	-
Syn-SAU-17	AS2231-2×AS77	-	-	-	-	-	-
Syn-SAU-18	AS2236-1×AS77	-	-	+	-	-	-
Syn-SAU-19	Syn-SAU-20	-	-	+	-	-	-
AS2236-2×AS82	AS2238×AS77	-	-	-	-	-	+
Syn-SAU-21	AS2239×AS2395	-	-	+	-	-	-
Syn-SAU-22	AS2240×AS77	-	-	-	-	-	-
Syn-SAU-23	AS2285×AS77	-	-	-	-	-	-
Syn-SAU-24	AS2291×AS2404	+	-	-	-	-	-
Syn-SAU-25	AS285×AS66	-	-	-	+	-	-
Syn-SAU-26	AS285×AS2386	-	-	-	-	-	-
Syn-SAU-27	AS285×AS2404	-	-	+	-	-	-
Syn-SAU-28	AS285×AS2405	+	-	-	-	-	-
Syn-SAU-29	AS286×AS66	-	-	-	-	-	-
Syn-SAU-30	AS286×AS2386	+	-	+	-	-	-
Syn-SAU-31	AS286×AS2399	-	-	+	-	-	-
Syn-SAU-32	AS286×AS2404	+	-	-	+	-	-
Syn-SAU-33	AS286×AS2407	+	-	-	-	-	-
Syn-SAU-34	PI94614×AS2405	+	-	-	+	-	-
Syn-SAU-35	PI94627×AS2386	+	-	-	-	-	-
Syn-SAU-36	PI94650×AS2404	-	-	-	+	+	-
Syn-SAU-37	PI94655×AS2404	+	-	-	-	-	-
Syn-SAU-38	PI94655×AS2407	+	-	-	-	-	-
Syn-SAU-39	PI94666×AS2407	+	-	-	-	-	-
Syn-SAU-40	PI94670×AS2386	-	-	+	-	-	-
Syn-SAU-41	PI94670×AS2404	+	-	-	-	-	-
Syn-SAU-42	PI94675×AS2405	+	-	+	-	-	-
Syn-SAU-43	PI113961×AS2404	+	-	+	-	-	-
Syn-SAU-44	PI113963×AS2386	+	-	-	-	-	-
Syn-SAU-45	PI154582×AS2395	+	-	+	-	-	-

(续表 5 Continued table 5)

样品名称 Sample name	杂交组合 Cross combinations	抗秆锈基因 Stem rust resistance gene					
		<i>Sr33</i>	<i>Sr36</i>	<i>Sr39</i>	<i>Sr40</i>	<i>Sr42</i>	<i>Sr43</i>
Syn-SAU-46	PI191781×AS2399	+	—	—	—	—	—
Syn-SAU-48	PI221403×AS2399	—	—	—	—	—	—
Syn-SAU-49	PI221403×AS2404	+	—	—	—	—	—
Syn-SAU-50	PI306533×AS2405	—	—	+	—	—	—
Syn-SAU-51	PI350001×AS2405	+	—	—	—	—	—
Syn-SAU-54	PI352335×AS2386	+	—	—	—	—	—
Syn-SAU-55	PI352358×AS65	—	—	—	—	—	—
Syn-SAU-57	PI352367×AS2386	—	—	+	—	—	+
Syn-SAU-59	PI352369×AS60	—	—	+	—	—	+
Syn-SAU-60	PI355465×AS2405	+	—	—	—	—	—
Syn-SAU-61	PI355476×AS2404	+	—	—	—	—	—
Syn-SAU-66	PI355527×AS2399	+	—	—	—	—	—
Syn-SAU-67	PI377655×AS2399	+	—	—	—	—	—
Syn-SAU-68	PI377655×AS2386	+	—	—	—	—	—
Syn-SAU-69	PI415152×AS60	—	—	+	+	—	—
Syn-SAU-70	PI434998×AS2386	—	—	—	—	—	—
Syn-SAU-73	PI184543×AS2386	+	—	—	—	—	—
Syn-SAU-74	PI211691×AS2386	—	—	—	—	—	—
Syn-SAU-77	PI532136×AS65	—	—	—	—	—	+
Syn-SAU-78	AS2240×AS84	—	—	+	—	—	—
Syn-SAU-79	AS2295×AS76	—	—	—	+	—	—
Syn-SAU-80	AS2296×AS2388	+	—	—	—	—	—
Syn-SAU-81	AS2298×AS79	—	—	+	—	—	—
Syn-SAU-82	AS2299×AS79	—	—	+	—	+	—
Syn-SAU-83	AS2308×AS72	—	—	+	—	—	—
Syn-SAU-84	AS2308×AS81	—	—	—	—	—	—
Syn-SAU-85	AS2310×AS60	—	—	+	—	—	—
Syn-SAU-86	AS2313×AS2388	+	—	—	—	—	+
Syn-SAU-87	AS2326×AS2388	—	—	+	—	—	—
Syn-SAU-88	AS2334×AS2388	—	—	+	—	—	—
Syn-SAU-89	AS2351×AS67	—	—	+	—	—	+
Syn-SAU-90	AS2378×AS82	—	—	—	—	—	—
Syn-SAU-91	AS2380×AS77	—	—	+	—	—	—
Syn-SAU-92	AS2381×AS65	—	—	—	—	—	—
Syn-SAU-93	AS2382×AS2388	+	—	—	—	—	—
Syn-SAU-95	PI154582×AS95	—	—	+	—	—	—
Syn-SAU-96	PI221403×AS2397	+	—	—	—	—	+
Syn-SAU-98	PI355507×AS2386	+	—	—	+	—	—
Syn-SAU-99	PI377655×AS2407	+	—	—	+	—	—
Syn-SAU-103	AS2380×AS95	—	—	—	—	—	—
Syn-SAU-106	AS2291×AS2388	+	—	—	—	—	—
Syn-SAU-107	PI113961×AS2403	+	—	—	—	—	—

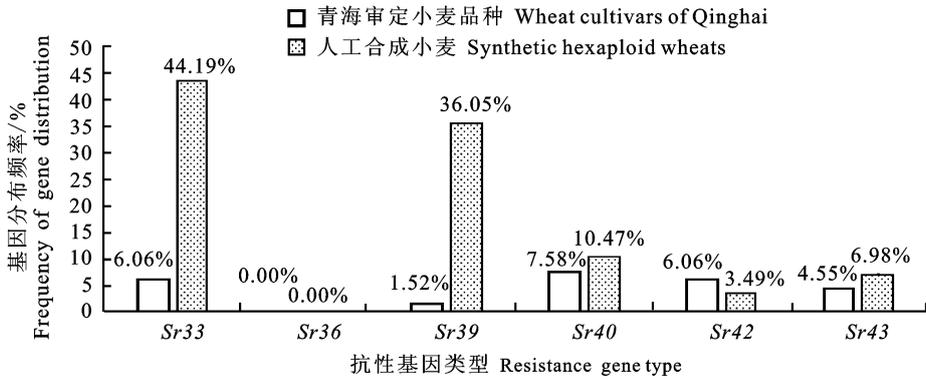


图 2 各抗性基因在小麦品种和合成麦中的分布

Fig. 2 The distribution of each resistance gene in common wheats and SHW lines

### 3 讨论

自从 1B/1R 易位系中的抗秆锈基因 *Sr31* 在全球范围大量引入后,秆锈菌引起的大面积减产或绝收现象得到了有力的控制<sup>[5,8]</sup>。在过去的 40 多年里,小麦秆锈病也未在中国出现大流行。因此,除东北及内蒙古北部的春麦区外,其他麦区育种部门均不再重视秆锈病,致使主栽品种的抗秆锈病基因单一,仍以 1BL/1RS 为主,总体抗病水平下降<sup>[16]</sup>。Ug99 爆发后,以其迅猛的速度传播,越过红海后势头更甚,严重威胁着世界各地的小麦生产,其传播路线与国际玉米小麦改良中心 (CIMMYT) 的地理信息系统 (GIS) 所预测的路线基本吻合<sup>[17]</sup>。据 CIMMYT 的 GIS 数据显示: 2008 年 1 月至 7 月曾有连续 72 h 的伊朗哈马达麦区上空的气流传入中国藏北、青海及甘肃的天气现象<sup>[18]</sup>。本试验研究青海审定的 66 份小麦品种,发现仅 4 份含抗性基因 *Sr33*, 1 份含抗性基因 *Sr39*, 5 份含抗性基因 *Sr40*, 4 份含抗性基因 *Sr42*, 3 份含抗性基因 *Sr43*。据调查和研究结果表明: 作为青海省春小麦主栽品种的‘高原 448’和‘阿勃’,均不带有以上 6 个抗秆锈基因中的任何一个(表 4)。或许这将是一个极大的危险信号,一旦秆锈孢子借助夏季盛行的西风传入青海,极有可能会出现区域性的秆锈病区,以至中国内地省份逐渐爆发秆锈病,造成粮食减产甚至部分地区绝收,引发恐慌。本结论也可能存在不准确性,因为目前抗秆锈的基因还未完全发现,这些小麦品种中可能还含有本试验未检测的其他抗秆锈的微效基因。

本研究还表明,各个品种中含有的抗性基因极其单一。66 份青海审定的小麦品种中仅 2 份

含 2 个抗性基因。Ug99 的爆发表现出秆锈病菌对 *Sr31* 的抗性,单基因的存在也许能防一时之危,一旦病菌出现抗性变异,危害将令人措手不及。所以发掘、引进和合理利用优良的种质资源,在一个品种中聚合多个抗性基因,使得小麦抗性多样化,才是长久防治秆锈危害的重要手段。本试验同时也对 86 份人工合成小麦进行相应的抗性基因分布检测。结果显示,人工合成麦的抗性基因分布频率明显高于现有小麦品种。

人工合成小麦是利用小麦近缘物种远缘杂交创制而成。人工合成小麦的创制将近缘物种中的优良基因带入小麦的六倍体水平上,使得优良基因直接导入普通小麦中成为可能,极大地丰富小麦的基因库,从而为小麦引入更多可能的抗性基因。Ug99 跨越红海进入伊朗后,对于中国西北地区小麦生产的潜在危害正与日俱增,因此,作为中国内陆小麦作物区域大门的青海,研究当地小麦品种的抗性基因分布,将人工合成麦的抗性基因导入普通小麦,通过基因聚合培育出含有多个抗性基因的优质抗病品种,防范于未然,是防止 Ug99 在中国爆发区域性流行和出现粮食安全问题的有效措施。

#### 参考文献 Reference:

[1] 王广金,赵远玲,王永斌. 小麦秆锈病的危害与防治研究综述[J]. 黑龙江农业科学, 2010(12): 169-171.  
WANG G J, ZHAO Y L, WANG Y B. Reviews on harm and prevention of stem rust in wheat [J]. *Heilongjiang Agricultural Sciences*, 2010(12): 169-171 (in Chinese with English abstract).

[2] 马勇,邵立刚,王岩,等. 春小麦品种抗秆锈病基因 *Sr33* 的分子检测[J]. 麦类作物学报, 2013, 33(1): 34-38.  
MA Y, SHAO L G, WANG Y, et al. Molecular detection of

- the stem rust resistant gene *Sr33* in spring wheat cultivar [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2013, 33(1): 34-38 (in Chinese with English abstract).
- [3] PRETORIUS Z A, SINGH R P, WAGORE W W, *et al.* Detection of virulence to wheat stem rust resistance gene *Sr31* in *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* in Uganda [J]. *Plant Disease*, 2000, 84(2): 203.
- [4] WANYERA R, KINYUA M G, KENYA. The spread of stem rust caused by *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* with virulence on *Sr31* in wheat in Eastern Africa [J]. *Plant Disease*, 2006, 90(1): 113.
- [5] JIN Y, PRETORIUS Z A, SINGH R P. New virulence within race TTKS (Ug99) of the stem rust pathogen and effective resistance genes [J]. *Phytopathology*, 2007, 97: 137.
- [6] 曹远银, 韩建东, 朱桂清, 等. 小麦秆锈菌新小种 Ug99 及其对我国的影响分析 [J]. *植物保护*, 2007, 33(6): 86-89.
- CAO Y Y, HAN J D, ZHU G Q, *et al.* Ug99, a new virulent race of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*, and its effect on China [J]. *Plant Protection*, 2007, 33(6): 86-89 (in Chinese with English abstract).
- [7] SINGH R P, HODSON D P, HUERTA E J, *et al.* The emergence of Ug99 races of the stem rust fungus is a threat to world wheat production [J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2011, 49(1): 465-481.
- [8] 何中虎, 夏先春, 陈万权. 小麦对秆锈菌新小种 Ug99 的抗性研究进展 [J]. *麦类作物学报*, 2008, 28(1): 170-173.
- HE ZH H, XIA X CH, CHEN W Q. Breeding for resistance to new race Ug99 of stem rust pathogen [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2008, 28(1): 170-173 (in Chinese with English abstract).
- [9] WU S, PUMPHREY M, BAI G. Molecular mapping of stem-rust-resistance gene *Sr40* in wheat [J]. *Crop Science*, 2008, 49(5): 1681-1686.
- [10] 张晓祥, 王 玲, 寿路路. 一种快速提取小麦基因组 DNA 的改良 CTAB 方法 [J]. *中国农业通报*, 2012, 28(36): 46-49.
- ZHANG X X, WANG L, SHOU L L. A rapid modified CTAB method of extracting genomic DNA from wheat leaf [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2012, 28(36): 46-49 (in Chinese with English abstract).
- [11] SAMBASIVAM P K, BANSAL U K, HAYDEN M J, *et al.* Identification of markers linked with stem rust resistance genes *Sr33* and *Sr45* [C]. Brisbane: Proceedings of the 11th International Wheat Genetics Symposium, 2008.
- [12] ROHIT M, ZHANG P, BARIANA H S, *et al.* Development of wheat lines carrying stem rust resistance gene *Sr39* with reduced *Aegilops speltoides* chromatin and simple PCR markers for marker-assisted selection [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2009, 119(8): 1441-1450.
- [13] COLIN W H, TOM G F, TAYE Z, *et al.* Genetics and mapping of seedling resistance to Ug99 stem rust in Canadian wheat cultivars 'Peace' and 'AC Cadillac' [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2011, 122(1): 143-149.
- [14] RAVI P S, DAVID P H. Current status, likely migration and strategies to mitigate the threat to wheat production from race Ug99 (TTKS) of stem rust pathogen [J]. *CAB Reviews*, 2006, 54(1): 1-13.
- [15] LONG X Y, LIU S X, JAMES A, *et al.* Haplotype diversity of stem rust resistance loci in uncharacterized wheat lines [J]. *Mol Breeding*, 2010, 26: 667-680.
- [16] 韩建东, 曹远银, 万鲁长, 等. 国外抗 Ug99 小麦种质及国内品种抗秆锈性鉴定与评价 [J]. *植物保护报*, 2013, 40(4): 289-295.
- HAN J D, CAO Y Y, WANG L CH, *et al.* Identification and evaluation of resistance to stem rust in exotic Ug99-resistant wheat germplasm and domestic varieties [J]. *Acta Phytophylacica Sinica*, 2013, 40(4): 289-295 (in Chinese with English abstract).
- [17] 达龙珠, 燕照玲. 小麦秆锈菌新小种 Ug99 及其抗病育种研究进展 [J]. *中国农学通报*, 2011, 27(30): 197-203.
- DA L ZH, YAN ZH L. Research advances in new race Ug99 of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2011, 27(30): 197-203 (in Chinese with English abstract).
- [18] 李伟华. 我国小麦秆锈菌兼 Ug99 监测新体系建立及其品种抗病基因分析 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2012.
- LI W H. Establishment of new surveillance stem for Chinese races and Ug99 of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*, resistant genes defection in commercial wheat varieties and distinct proteins display analysis of complementary host minn2761 [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2012 (in Chinese with English abstract).

# Distribution of Stem Rust Race Ug99 Resistance Gene in 66 Bread Wheat Cultivars Released in Qinghai Province and 86 Synthetic Hexaploid Wheat Lines

LIU Tao<sup>1,3</sup>, SHANG Yue<sup>1</sup>, ZHANG Bo<sup>1</sup>, LIU Baolong<sup>1</sup>, CHEN Wenjie<sup>1</sup>,  
ZHANG Lianquan<sup>2</sup>, LIU Dengcai<sup>1,2</sup> and ZHANG Huaigang<sup>1</sup>

(1. Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810008, China;

2. Triticeae Research Institute, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China;

3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

**Abstract** To analyze the distribution of stem rust race Ug99 resistance genes in spring wheat cultivars which were released in Qinghai province and the new synthetic hexaploid wheat lines, six molecular markers of Ug99 resistant genes (*Sr33*, *Sr36*, *Sr39*, *Sr40*, *Sr42*, *Sr43*) were applied to test sixty-six wheat cultivars which were released in Qinghai province and eighty-six synthetic hexaploid wheat lines. Of the sixty-six Qinghai released cultivars, four cultivars carry *Sr33*, one cultivars carry *Sr39*, five cultivars carry *Sr40*, four cultivars carry *Sr42*, and three cultivars carry *Sr43*, accounting for 6.06%, 1.52%, 7.58%, 6.06%, and 4.55% of the detected samples, respectively. Only two cultivars contain two resistance genes, accounting for 3.03% of the number of detected cultivars. In eighty-six synthetic hexaploid wheats, thirty-eight lines contain *Sr33*, accounting for 44.19%. Thirty-one lines contain *Sr39*, accounting for 36.05%. Nine lines contain *Sr40*, accounting for 10.47%. Three lines contain *Sr42*, accounting for 3.49%. Six lines contain *Sr43*, accounting for 6.98%. Meanwhile, seventeen of eighty-six synthetic hexaploid wheat lines contain two resistance genes, accounting for 19.77%. *Sr36* was not detected in both sixty-six bread wheat cultivars and eighty-six synthetic hexaploid wheat lines. The results indicated that synthetic hexaploid wheat could be a potential germplasm for wheat Ug99 resistance improvement.

**Key words** Bread wheat; Synthetic hexaploid wheat; Ug99 resistance genes

**Received** 2016-05-11 **Returned** 2016-06-28

**Foundation item** The Strategic Priority Research Program of Chinese Academy of Sciences (No. XDA08030106); the Key Research Program of Qinghai Province (No. 2016-HZ-808).

**First author** LIU Tao, male, master student. Research area: wheat disease resistance genetics and breeding. E-mail: liutao415@mails.ucas.ac.cn

**Corresponding author** ZHANG Huaigang, male, researcher, doctoral supervisor. Research area: wheat genetics and breeding. E-mail: hgzhang@nwipb.cas.cn

ZHANG Bo, male, associate researcher, master supervisor. Research area: wheat genetics and breeding. E-mail: zhangbo@nwipb.cas.cn

(责任编辑: 成敏 Responsible editor: CHENG Min)