

人工合成小麦 CI184 条锈病成株抗性基因的鉴定及分子标记定位

张 森^{1,2}, 张增艳², 蒲宗君³, 叶兴国², 郑建敏³, 徐世昌⁴,
冯 晶⁴, 魏学宁², 马翎健^{1*}

(1 西北农林科技大学 农学院, 陕西杨陵 712100; 2 中国农业科学院作物科学研究所/农作物基因资源与基因改良国家重大科学工程/农业部麦类生物学与遗传育种重点实验室, 北京 100081; 3 四川省农业科学院作物研究所, 成都 610066; 4 中国农业科学院植物保护研究所, 北京 100094)

摘 要:以硬粒小麦-粗山羊草人工合成小麦 CI184、感病品种‘铭贤 169’及其杂交组合的正反交 F_1 以及 CI184/‘铭贤 169’ F_2 、 $F_{2,3}$ 家系为材料, 鉴定其条锈病抗性, 对 CI184 条锈病抗性进行遗传分析; 采用 SSR 分子标记技术和集群分离分析法进行多态性筛选, 以 F_3 抗病鉴定数据为依据, 对 CI184 中条锈病抗性基因进行分子标记定位。结果显示: (1) CI184 在苗期抗性鉴定中, 对 30 种小麦条锈菌生理小种表现抗性, 但对中国四川新出现的条锈菌生理小种 V26 表现苗期感病; 在田间成株抗性接种鉴定中, CI184 对中国流行的小麦条锈菌生理小种条中 32、条中 33、水源 4、水源 5、水源 7 和 V26 等表现出成株抗性。 (2) CI184 中条锈病抗性由隐性基因位点控制。 (3) 仅检测到一个控制条锈病抗性的 QTL 位点, 位于 1B 染色体上 Xgwm18 和 Xwmc626 之间, 暂时命名为 *Qyr.zz_1B*, 在四川和北京 2 个环境中可分别解释 CI184 中 13.36% 和 18.07% 的成株抗性贡献率。 (4) *Qyr.zz_1B* 位点的 3 个 SSR 标记和 *Yr15* 的 1 个 SSR 标记可以区分该位点与 1B 染色体上的其他抗条锈病基因, 如 *Yr15*、*Yr24* 和 *Yr26/YrCH42*。表明 *Qyr.zz_1B* 位点在小麦条锈病的抗病育种中具有潜在的应用价值。

关键词: 合成小麦; 条锈菌; 条锈病抗性基因; 隐性基因位点; SSR 标记

中图分类号: Q789

文献标志码: A

Identification and Molecular Mapping of Adult-plant Stripe Rust Resistance in Synthetic Wheat CI184

ZHANG Miao^{1,2}, ZHANG Zengyan², PU Zongjun³, YE Xingguo², ZHENG Jianmin³,
XU Shichang⁴, FENG Jing⁴, WEI Xuening², MA Lingjian^{1*}

(1 College of Agronomy, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China; 2 The National Key Facility for Crop Gene Resources and Genetic Improvement, Institute of Crop Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China; 3 Crop Research Institute, Sichuan Academy of Agricultural Sciences, Chengdu 610066, China; 4 Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100094, China)

Abstract: A synthetic wheat line CI184, susceptible wheat cultivar Mingxian169, the F_1 reciprocal crosses between CI184 and Mingxian169, F_2 and $F_{2,3}$ populations originated from the cross CI184/Mingxian169 were used as the plant materials to explore the genetic basis of the resistance in CI184. Simple sequence repeat (SSR), bulked segregant analysis (BSA) and the F_3 population's disease data were used to map the re-

收稿日期: 2014-03-26; 修改稿收到日期: 2014-06-17

基金项目: 国家高技术研究发展计划 (2012AA101105)

作者简介: 张 森 (1988—), 女, 在读硕士研究生, 主要从事小麦遗传育种研究工作。E-mail: shuimuzm@126.com

* 通信作者: 马翎健, 博士, 教授, 主要从事小麦抗病分子育种及雄性不育机理研究工作。E-mail: malingjian@nwsuaf.edu.cn

sistance gene/locus in CI184. (1) The result of resistance test indicated that CI184 showed resistance to 30 isolates of *Pst* except V26 at seedling stage and showed resistance to Chinese prevailing isolates of *Pst*, including CYR32, CYR33, CY-Su4, CY-Su5, CY-Su7 and V26 at adult-stage. (2) The genetic analysis indicated that the stripe rust resistance in CI184 was mainly controlled by a recessive locus. (3) In this study, only one QTL was found on chromosome 1B, named Qyr. zz_1B, explaining 13.36% of phenotypic variance in Sichuan Province and 18.07% in Beijing. It was flanked by Xgwm18 and Xwmc626. (4) Three SSR markers linked with Qyr. zz_1B and one SSR marker for Yr15 could discriminate Qyr. zz_1B from the other resistant genes on 1B, such as Yr15, Yr24 and Yr26/YrCH42. This locus maybe potentially applied in wheat resistance breeding to stripe rust.

Key words: synthetic wheat; *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*; stripe rust resistance gene; recessive gene locus; simple sequence repeat (SSR) marker

小麦条锈病是由条形柄锈菌小麦专化型 (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) 引起的一种全球分布最广、最具毁灭性的小麦病害, 也是中国小麦生产上最重要的病害之一, 主要危害中国西北、西南、华北和淮北冬麦区以及西北春麦区的小麦生产^[1]。其孢子可借助风力传播数百甚至数千公里, 造成条锈病菌的广泛蔓延, 甚至在严重的年份导致条锈病的大流行^[2]。条锈病常引起籽粒皱缩及植物生长发育减弱, 从而降低小麦的产量和质量^[3]。2002 年发生在中国的条锈病大流行感染了 11 个省大约 660 万公顷的小麦, 致使当年粮食产量减产 130 万吨^[4-5]。近年来, 中国条锈病流行程度较 2002 年大流行相比偏轻, 2009~2013 年, 平均每年发生面积约 230 万公顷^[6-10], 但仍是危害中国小麦生产的严重病害之一。

实践证明, 筛选、培育和种植抗条锈病品种才是最为经济有效且环保的防治方法^[11-12]。小麦条锈病抗性主要分为两类, 一类是全生育期抗性, 另一类是成株抗性, 这 2 种抗性都已经在小麦育种项目中得到应用。全生育期抗性一般都具有生理小种专化性并且很容易被毒性更强的生理小种克服, 从而导致短期内抗性丧失, 这类抗病性既不持久也不稳定。而成株期抗性无小种专化性或专化性弱, 减少了品种对病原菌生理小种的选择压力, 具有抗病性持久并稳定的特点^[13]。但是成株期抗性经常受到植株生长阶段、气温、湿度和接菌量等因素的影响^[2, 13]。若合理利用这 2 种抗病性基因, 聚合不同基因, 有助于提高品种的抗性和抗谱, 能够为小麦抗病育种提供一个水平更高、抗性相对持久的抗病性^[14]。迄今为止, 位于 54 个基因位点上的 57 个小麦抗条锈病基因在国际上已被正式命名, 均来自于普通小麦及其野生近缘种 (<http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/download.jsp>), 还有许多暂时命名的抗性基因被发掘出来^[15-16]。其中大多数抗

性基因表现为全生育期抗性和生理小种专化性, 其抗谱窄, 较易被毒性谱广的毒性小种克服^[17]。由于条锈病菌生理小种的高变异性, 许多曾经在小麦生产中发挥重要作用的抗性基因已经丧失抵抗力^[18-19]。例如条中 32 毒性小种的出现, 使携带 Yr9 抗性基因的小麦栽培品种和‘繁 6’的衍生品种均表现感病, 导致了 2002 年条锈病的大流行^[4]。Yr-5、Yr15、Yr24 和 Yr26/YrCH42 等一些全生育期抗病基因, 对中国的条锈病流行小种条中 32 表现抗性, 然而, 2010 年新毒性突变株 V26 在四川、甘肃等多个省区出现^[20], 表现出更强的致病力, 使含有 YrCH42 的主栽品种‘川麦 42’和其它含有 Yr26 的小麦品种都失去抗性^[21]。至今, 仍然没有对 V26 有效的抗性资源报道出现。

为创新小麦抗病遗传资源, 国际玉米小麦改良中心 (CIMMYT) 利用不同品种硬粒小麦的 AB 基因组和山羊草属的 D 基因组, 人工合成、创制一系列硬粒小麦-粗山羊草人工合成小麦新种质, 国内外多个实验室已从上述人工合成小麦中鉴定出多个抗性材料^[18, 21-22]。本实验室从引自 CIMMYT 的 102 份硬粒小麦-粗山羊草人工合成小麦中, 鉴定出 CI184 对中国的流行生理小种条中 32、条中 33、水源 4、水源 5、水源 7 和 V26 表现出成株抗性。

本研究对硬粒小麦-粗山羊草人工合成小麦新种质 CI184 中抗条锈病基因进行遗传分析和 SSR 标记分析, 筛选与该基因紧密连锁的 SSR 标记, 为小麦抗条锈病育种提供新的抗性基因资源以及辅助选择的标记。

1 材料和方法

1.1 供试材料

抗条锈病的硬粒小麦-粗山羊草人工合成小麦 CI184 (系谱为 YAR/*Aegilops tauschii* 493) 由国际

玉米小麦改良中心(CIMMYT)提供,系从引自 CIMMYT 的 102 份硬粒小麦-粗山羊草人工合成小麦中鉴定出来。感病小麦品种‘铭贤 169’由中国农业科学院植物保护研究所徐世昌研究员提供。CI184、‘铭贤 169’及其杂交种正反交 F_1 以及 CI184/‘铭贤 169’自交后代 $F_{2,3}$ 家系均在四川和北京种植,CI184/‘铭贤 169’ F_2 群体在四川省种植,用于对 CI184 中抗性基因的分析。Yr15/6 $\times$ AvocetS (AvS)、Yr24/3 $\times$ AvS、Yr26/3 $\times$ AvS 和‘川麦 42’分别含有位于 1B 染色体上的 Yr15、Yr24、Yr26 和 YrCH42 这 4 个全生育期抗性基因^[15],这 4 种材料用于比较 CI184 及其他材料的抗病程度的表现型。

1.2 条锈病菌和条锈病接菌试验

将 31 个条锈病生理小种用于 CI184、Yr15/6 $\times$ AvS、Yr24/3 $\times$ AvS、Yr26/3 $\times$ AvS、‘川麦 42’、‘铭贤 169’和 AvS 的苗期接菌试验。待小麦长至一叶一心期进行接菌,并将接菌后的幼苗放置在温度为 9 $^{\circ}\text{C}$ ~11 $^{\circ}\text{C}$ 、湿度为 100% 的露水室 24 h,然后转移到温度为 14 $^{\circ}\text{C}$ ~16 $^{\circ}\text{C}$ 、16 h 光照/8 h 黑暗光周期的温室;14~15 d 后,当条锈病在‘铭贤 169’叶片上充分发病时,按照反应型 0~4 划分等级。反应型被简化为 2 个等级:0~2 级为抗病,3~4 级为感病^[23]。

在田间成株抗性鉴定试验中,混合小种(含有条中 32、条中 33、水源 4、水源 5、水源 7 和 V26)被用于鉴定材料的成株抗性。在三叶期,对 CI184、‘铭贤 169’及其正反交 F_1 代以及 CI184/‘铭贤 169’的 F_2 群体、 $F_{2,3}$ 家系进行第一次接菌,为保证条锈菌充分接种,试验材料发病完全,10 d 之后再行第二次接菌。

1.3 DNA 提取和 SSR 标记分析

参照 Sharp 等^[24]描述的基因组 DNA 的提取方法,提取 CI184、‘铭贤 169’和 $F_{2,3}$ 家系小麦植株的叶片基因组 DNA。选取 5 个高抗 $F_{2,3}$ 家系的 DNA 等量混合构成抗病池(B_R),5 个高感 $F_{2,3}$ 家系的 DNA 等量混合构成感病池(B_S)。采用集群分离分析(BSA)法和 SSR 分子标记进行多态性筛选^[11,25]。

根据 Röder 等^[26]、Somers 等^[27]和 <http://wheat.pw.usda.gov/> 的报道,选取 554 对 SSR 引物(奥科公司合成)用于筛选与 CI184 中抗性基因连锁的标记。20 μL PCR 反应体系含 2 $\times$ Taq MasterMix (由 Taq DNA Polymerase、PCR Buffer、 Mg^{2+} 和 dNTPs 以及 PCR 稳定剂和增强剂组成的预混体系)、5 pmol 上下游引物和 100 ng 模板

DNA,参照 Wang 等^[18]提供的程序进行 PCR 扩增。PCR 产物经 12% 聚丙烯酰胺凝胶电泳、银染后,统计 SSR 分析结果。

1.4 统计分析及遗传图谱构建

调查 F_2 群体的感病反应型(infection type, IT)和 $F_{2,3}$ 家系的最大严重度(maximum disease severity, MDS)。运用 SPSS 统计软件对 MDS 进行相关和方差分析,明确表现型数据的有效性。广义遗传力公式为: $h^2 = \sigma_g^2 / (\sigma_g^2 + \sigma_{ge}^2 / e + \sigma_e^2 / re)$, 其中, σ_g^2 表示基因型方差, σ_{ge}^2 表示基因和环境互作效应, σ_e^2 表示误差。e 表示环境的个数, r 表示每个环境内重复的次数。根据分子标记基因型和 114 个 $F_{2,3}$ 家系的最大严重度进行 QTL 作图。通过 QTL IciMapping 软件对获得的表现型与分子标记所检测到的基因型之间进行关联分析,确定 QTL 位点在染色体上的位置及贡献率。公式 $\text{LOD} = \log_{10} [L(r) / L_{(0.5)}]$ 用于检测 QTL 存在的可靠性, QTL IciMapping 软件通常所用阈值(LOD 值)为 2.5^[28]。

2 结果与分析

2.1 人工合成小麦 CI184 条锈病抗性鉴定

用 31 个条锈病生理小种对 CI184、Yr15/6 $\times$ AvS、Yr24/3 $\times$ AvS、Yr26/3 $\times$ AvS、‘川麦 42’、‘铭贤 169’和 AvS 进行苗期抗病鉴定,调查其感病反应型,结果见表 1。对上述 7 个材料对 31 个生理小种的感病反应型进行分析,发现人工合成小麦材料 CI184 和‘川麦 42’在苗期对 V26 表现感病,而对其它 30 个小种均表现抗病,感病对照品种‘铭贤 169’和 AvS 对 31 个小种均表现感病。

用条锈菌混合小种对 CI184、Yr15/6 $\times$ AvS、Yr24/3 $\times$ AvS、Yr26/3 $\times$ AvS、‘川麦 42’和‘铭贤 169’等材料进行接菌,调查其成株期抗性,结果见表 2。分析调查结果(表 2)发现人工合成小麦材料 CI184 对混合小种表现抗病,而‘川麦 42’、Yr15/6 $\times$ AvS、Yr24/3 $\times$ AvS 和 Yr26/3 $\times$ AvS 等材料对该混合小种均表现感病。

所有 CI184 和‘铭贤 169’的正、反交 F_1 单株均对混合小种表现为感病,114 株 F_2 植株中有 36 株抗病植株和 78 株感病植株,说明 CI184 中成株期抗性可能由隐性基因决定。

2.2 最大严重度的分布和相关性分析

利用 SPSS 软件进行相关性分析显示, CI184/‘铭贤 169’的 $F_{2,3}$ 家系在北京和四川 2 个环境下,其 MDS 的相关系数为 0.22, 达到显著水平 ($P < 0.05$)。

表 1 7 个小麦材料对 31 个条锈病菌系的反应

Table 1 Infection types of 7 wheat cultivars/lines to 31 races of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*

条锈病生理小种 Pst isolate/race	材料 Cultivar/line					
	CI184	Yr15/6×AvS	Yr24/3×AvS	Yr26/3×AvS	川麦 42 Chuanmai 42	AvS 和 铭贤 169 AvS and Mingxian169
58893	0 ⁺	0	0 _;	0 _; ⁺	0 _;	4
59791	0 _; ⁺	0	0 _; ,1	0,1	0	4
60105	1	0	0 _; ⁺	0 _; ⁺	0 _;	4
61009	2 ⁻	0 _;	0 _;	0 _;	0,0 _;	4
68009	2	0 _;	0 _;	0 _;	0 _;	4
72107	0 _; ⁺	0	0 _; ⁺ ,1 ⁺	0 _; ⁺ ,1	0 _; ⁺ ,1	4
74187	1	0	0 _;	0 _;	0 _;	4
75078	2 ⁻	0	2 ⁺	2 ⁺ ,3	2 ⁺ ,3	4
76088	1	0	0	0 _;	0 _;	4
76093	1	0	0;1 ⁺	0 _;	0 _;	4
78028	0 _; ⁺	0	0 _;	0 _;	0,0 _;	4
78080	1	0	0 _;	0 _;	0 _;	4
80551	0 _; ⁺	0	0 _;	0 _;	0 _;	4
82061	2 ⁺	0 _;	0 _;	0 _;	0 _;	4
82517	0 _; ⁺	0	0 _; ⁺	0 _; ⁺	0 _; ⁺	4
85019	2 ⁻	0	0 _;	0,1	0 _; ,1	4
86036	1 ⁺	0	0 _; ⁺	0 _; ⁺	0 _;	4
86094	0 _; ⁺	0	0 _; ,1	0 _;	0 _;	4
86106	2 ⁻	0	0 _; ⁺	0 _; ⁺	0 _; ⁺	4
86107	2 ⁻	0	0 _;	0 _;	0 _;	4
PE92	0 _; ⁺	0	0 _; ⁺	0 _;	0 _; ⁺	4
CYR17	1	N	0	N	0 _; ⁺	4
CYR26	2 ⁻	0	0	0 _;	0	4
CYR27	0 _; ⁺	0 _;	0 _;	0 _;	0,0 _;	4
CYR28	0 _; ⁺	N	0	0	0 _;	4
CYR29	0 _; ⁺	0	0 _;	0 _;	0 _;	4
CYR30	0,0 _; ⁺	0	0	0	0	4
CYR31	0,0 _; ⁺	1	1	1	0 _;	4
CYR32	0,0 _; ⁺	0	0 _;	0 _; ⁺	0 _; ⁺	4
CYR-Su-1	1	0	0	0,0 _;	0 _;	4
V26	4	0 _;	3,4	0 _; ,2	4	4

表 2 成株期 6 个小麦材料对条锈病混合小种的反应

Table 2 Infection types of 6 wheat cultivars/lines to mix races of *P. striiformis* f. sp. *tritici* at adult-stage

材料 Cultivar/line	反应型 Infection type	抗性 Resistibility
CI184	1	抗 Resistant
Yr15/6×AvS	2~3	感 Susceptible
Yr24/3×AvS	4	感 Susceptible
Yr26/3×AvS	4	感 Susceptible
川麦 42 Chuanmai 42	4	感 Susceptible
铭贤 169 Mingxian 169	4	感 Susceptible

此外,方差分析表明,该群体植株表现型(MDS)在不同株系、不同环境及基因型与环境互作间差异均达到极显著水平(表 3),条锈病最大严重度(MDS)的广义遗传力为 0.78,说明该群体田间表现型数据的有效性。

在苗期,人工合成小麦 CI184 对条锈菌生理小种 V26 均表现感病,而成株期则表现抗病,表明 CI184 是一个典型的条锈病成株抗性小麦材料。由图 1 可知,CI184 在所有的种植环境下其 MDS 均在 5%左右,而‘铭贤 169’则相对较高,在 85%左右。

图 1 显示,含有 114 个家系的 CI184/‘铭贤 169’ F_{2,3} 群体,其 MDS 在多个环境条件下均呈现出连续性分布,表明 CI184 所含成株抗性基因属于典型的数量性状遗传。

表 3 CI184/铭贤 169 F_{2,3} 家系田间
最大严重度方差分析

Table 3 Analysis of variance of MDS scores for F _{2,3} lines derived from CI184/Mingxian169			
变异来源 Source of variation	自由度 df	均值 MS	F
基因型 Gene	113	1210	5.76 **
环境 Environment	1	4550	21.67 **
重复 Replication	1	5423	25.82 **
基因型×环境 Gene×environment	113	1338	6.37 **
误差 Error	226	210	

注: ** 代表 $P<0.01$ 的显著水平。
Note: ** represent the significance level at $P<0.01$.

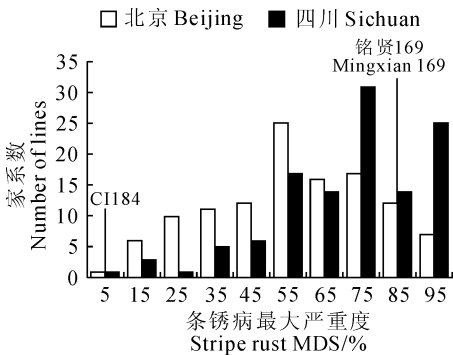


图 1 CI184/铭贤 169 F_{2,3} 家系在北京和四川 2 个环境中条锈病最大严重度田间分布频率图
Fig.1 Frequency distribution of stripe rust maximum disease severities(MDS) for F_{2,3} lines from the cross CI184/Mingxian169 in Beijing and Sichuan

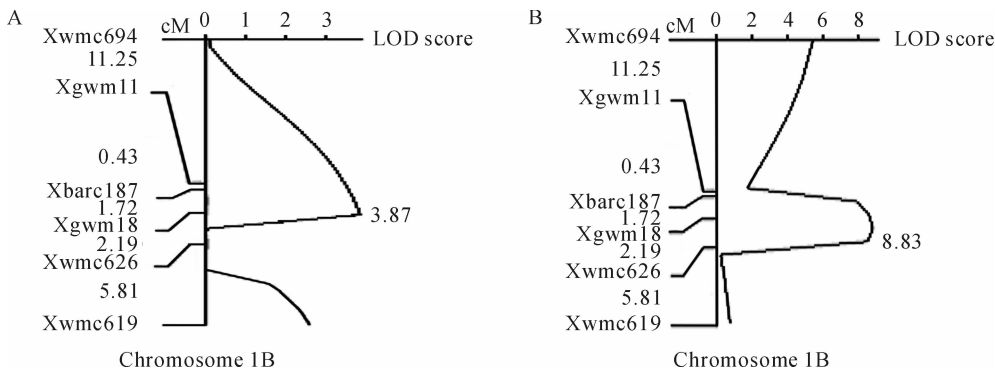


图 2 CI184/铭贤 169 F_{2,3} 家系 QTL 分析结果(LOD 值为 2.5)
利用复合区间作图法(CIM)对 CI184/铭贤 169 F_{2,3} 家系进行条锈病抗性 QTL 检测;A. 四川省;B. 北京
Fig.2 Logarithm of odds(LOD) contours of CI184/Mingxian169 F_{2,3} lines(LOD thresholds is 2.5)
Composite interval mapping(CIM) for quantitative traits locus(QTL) that reduce stripe rust severities in CI184/Mingxian169 F_{2,3} lines; A. Sichuan Province; B. Beijing

2.3 成株抗性 QTL 分析

研究共选用 554 对 SSR 引物用于 CI184 和‘铭贤 169’双亲间多态性筛选。其中,有 83 对引物在抗感两亲本间有多态性,而只有 6 对引物在抗感池及抗感亲本间有一致的多态性,这 6 对引物均位于 1B 染色体上,分别是 Xwmc694、Xgwm11、Xbarc187、Xgwm18、Xwmc626 和 Xwmc619。用这 6 对引物检测 114 个 F_{2,3} 家系获取其基因型,以平均的最大严重度和标记的基因型为作图依据,运用 QTL Ici-Mapping 软件对 Qyr. zz_1B 进行作图(图 2)。Qyr. zz_1B(LOD>2.5)位于 Xgwm18 和 Xwmc626 之间。Qyr. zz_1B 解释了 13.36%(四川)和 18.07%(北京)成株抗性贡献率。其紧密连锁标记 Xgwm18 和 Xwmc626 进行扩增对应的电泳图如图 3 所示。

2.4 用分子标记区分 1B 抗条锈病基因

用与 Qyr. zz_1B 紧密连锁的 SSR 标记 Xg-

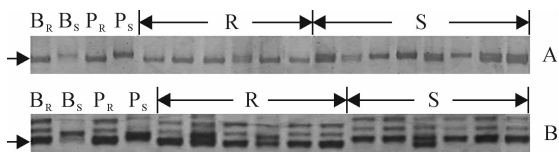


图 3 紧密连锁分子标记 Xgwm18(A)和 Xwmc626(B)扩增结果
箭头为抗病目标带;B_R. 抗病池;B_S. 感病池;P_R. 抗病亲本(CI184);P_S. 感病亲本(铭贤 169);R. 抗病株系;S. 感病株系
Fig.3 Electrophoresis of PCR products of Xgwm18(A) and Xwmc626(B) markers closely linked to the resistance gene The arrow indicates the target band for resistance;B_R. Resistant bulk; B_S. Susceptible bulk;P_R. Resistant parent(CI184); P_S. Susceptible parent(Mingxian169); R. Resistant line; S. Susceptible line

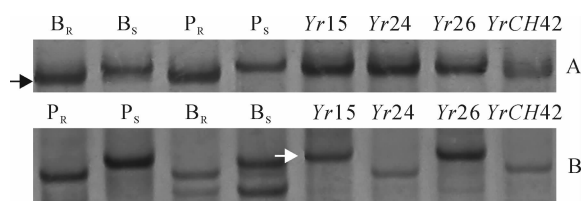


图 4 以 SSR 标记 Xgwm18(A)和 Xgwm33(B) 分析 1B 上的抗条锈病基因

B_R. 抗病池; B_S. 感病池; P_R. 抗病亲本(CI184); P_S. 感病亲本(铭贤 169); 箭头分别为 Qyr. zz_1B(A)和 Yr15(B)特异带

Fig. 4 Analysis on the resistant genes on 1B by SSR marker Xgwm18(A) and Xgwm33(B)

B_R. Resistant bulk; B_S. Susceptible bulk; P_R. Resistant parent(CI184); P_S. Susceptible parent(Mingxian169); Arrow indicates Qyr. zz_1B(A) and Yr15(B) specific band, respectively
wm18、Xgwm11、Xbarcl87 鉴别 Qyr. zz_1B 与 1B 染色体上其他抗条锈病基因 Yr15、Yr24 和 Yr26/YrCH42 关系(图 4, A)。结果表明, Qyr. zz_1B 特异带不同于 Yr15、Yr24 和 Yr26/YrCH42。用与 Yr15 紧密连锁 SSR 标记 Xgwm33 对 1B 染色体上其他抗条锈病基因进行分析, 结果如图 4, B 所示, Qyr. zz_1B 特异带不同于 Yr15 和 Yr26/YrCH42。这些结果也暗示 Qyr. zz_1B 可能不同于 1B 上的这些已知抗条锈病基因。

3 讨 论

小麦条锈病菌毒性小种的变异非常迅速^[2,4]。如‘川麦 42’在四川省不仅是作为抗病品种广泛种植, 也一度被育种家们用作抗病亲本/抗源, 曾在小麦抗条锈病育种中发挥了重要作用。然而, 自 2010 年小麦条锈病菌毒性新小种 V26 出现以来, ‘川麦 42’已对其表现感病^[20]。迄今为止, 尚未见关于抗 V26 小麦材料的报道。因此, 抗 V26 新毒性小种基因的发现, 对于小麦抗条锈病育种非常重要。本研究中, 鉴定出一个 CIMMYT 人工合成小麦 CI184, 对中国当前的流行小种条中 32、条中 33 以及水源 4、水源 5、水源 7 和 V26 表现成株抗性。利用 BSA 法、SSR 标记在 CI184/‘铭贤 169’的 F₃ 群体进行作图分析, 鉴定出 1 个 QTL 位点 Qyr. zz_1B, 并定位于 1B 染色体 SSR 标记 Xgwm18 和 Xwmc626 之

间。Qyr. zz_1B 可解释 CI184 中 13.36%(四川)和 18.07%(北京)的贡献率。CI184 的成株抗性位点可能会在小麦抗条锈病育种中发挥重要的作用。

利用 BSA 法检测与抗病基因紧密连锁的分子标记, 构建抗、感池的后代株系数目不可太多, 一般 5~10 个最佳, 若是选用的株系数目过多, 分子标记在抗、感池间多态性太低, 抗病基因较易丢失; 若是选用的株系数目过少, 工作量将会加大, 达不到对目标基因的筛选^[13]。本研究在 F₂ 代分别选用 10 株极抗和极感植株构建抗、感池, 仅检测到一个抗性位点。故此, 在 F₃ 代分别选用 5 个极抗和极感株系构建抗、感池, 且同时构建 2 个抗、感池, 仍然仅检测到一个抗性位点, 且该位点的遗传贡献率均小于 20%。这可能是由于筛选的引物数量还不够多, 其它可能存在的微效 QTL 位点丢失, 还有待于进一步筛选确认。

研究表明, 成株抗性一般是非小种专化性的, 由一个或几个基因控制^[2,11]。而且, 成株抗性往往表现出更持久的抗性, 其抗性经常在挑旗期才开始表达, 这一时期正是小麦产量积累的重要阶段, 有利于小麦产量的稳定。因此, 相对于苗期抗性, 成株抗性在应用方面具有更高的利用价值。由于四川省是中国条锈病发生和流行很重要的区域, 因此, 本研究选取混合小种对 CI184、‘铭贤 169’及其正反交 F₁ 代、CI184/‘铭贤 169’ F₂ 群体和 F_{2,3} 家系, 同时在四川和北京 2 点的大田进行成株抗性鉴定, 其中 F₂ 仅种植于四川。遗传分析发现, CI184 和‘铭贤 169’的正、反交 F₁ 单株均对包含条中 32、条中 33、水源 4、水源 5、水源 7 和 V26 的混合小种表现为感病, 114 株 F₂ 植株共有 36 株抗病植株和 78 株感病植株, 说明 CI184 的成株抗性可能由一个隐性位点 Qyr. zz_1B 控制。因该位点与 Yr15、Yr24 和 Yr26/YrCH42 都位于 1B 染色体上, 且位置比较接近, 本实验用 Qyr. zz_1B 的 3 个 SSR 标记和 Yr15 的 1 个 SSR 标记对 1B 染色体上的抗条锈病基因进行鉴别, 结果表明, Qyr. zz_1B 的抗病特异带型不同于 Yr15、Yr24 和 Yr26/YrCH42, 这个结果暗示 Qyr. zz_1B 可能不同于这些 1BS 上已知的抗条锈病基因。但是, 更精确的结论还需后续实验验证。

参考文献:

- [1] WEI G R(魏国荣), WANG X J(王晓杰). Wheat stripe rust fungus purification and preservation methods[J]. *Journal of Henan Agricultural Sciences*(河南农业科学), 2011, 40(2): 90-92(in Chinese).
- [2] CHEN X M. Epidemiology and control of stripe rust (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) on wheat[J]. *Canadian Journal of Plant Pathol-*

- ogy, 2005, **27**(3): 314—337.
- [3] WANG J(王 晋), XU M H(许孟会), XUE D Y(薛东洋), *et al.* The characteristics of wheat stripe rust and its relationship with climate [J]. *Technology Trend* (科技风), 2008, **6**: 67 (in Chinese).
- [4] WAN A M, ZHAO ZH H, CHEN X M, *et al.* Wheat stripe rust epidemic and virulence of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in China in 2002 [J]. *Plant Disease*, 2004, **88**(8): 896—904.
- [5] WAN A M, CHEN X M, HE Z H. Wheat stripe rust in China [J]. *Crop and Pasture Science*, 2007, **58**(6): 605—619.
- [6] ZENG J(曾 娟). Analysis of the wheat principal pests' occurrence traits in China in 2012 and forecasting suggestions [J]. *Plant Protection* (植物保护), 2013, **39**(6): 78—85 (in Chinese).
- [7] ZHANG Y J(张跃进), JIANG Y Y(姜玉英), FENG X D(冯晓东), *et al.* Occurrence trend of the major disease and insect pests of crop in China in 2009 [J]. *China Plant Protection* (中国植保导刊), 2009, **29**(3): 33—36 (in Chinese).
- [8] LIU W C(刘万才), JIANG Y Y(姜玉英), FENG X D(冯晓东), *et al.* Occurrence trend of the major disease and insect pests of crop in China in 2010 [J]. *China Plant Protection* (中国植保导刊), 2010, **30**(3): 32—35 (in Chinese).
- [9] JIANG Y Y(姜玉英), ZENG J(曾 娟), LU M H(陆明红), *et al.* Occurrence trend of the major disease and insect pests of crop in China in 2012 [J]. *China Plant Protection* (中国植保导刊), 2012, **32**(2): 43—46 (in Chinese).
- [10] JIANG Y Y(姜玉英), ZENG J(曾 娟), LU M H(陆明红), *et al.* Occurrence trend of the major disease and insect pests of crop in China in 2013 [J]. *Plant Protection* (植物保护), 2013, **39**(2): 1—49 (in Chinese).
- [11] LAN C X, LIANG SH SH, ZHOU X CH, *et al.* Identification of genomic regions controlling adult-plant stripe rust resistance in Chinese landrace Pingyuan 50 through bulked segregant analysis [J]. *Phytopathology*, 2010, **100**(4): 313—318.
- [12] REN Q, LIU H J, ZHANG Z Y, *et al.* Characterization and molecular mapping of a stripe rust resistance gene in synthetic wheat CI110 [J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2012, **11**(4): 521—527.
- [13] 兰彩霞. 普通小麦条锈病和白粉病成株抗性 QTL 定位 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2010.
- [14] YUE Y L(岳艳丽), YAO ZH J(姚占军), SUN X R(孙祥瑞). Advances on the wheat stripe rust resistance genes [J]. *Seed* (种子), 2009, **28**(10): 58—63 (in Chinese).
- [15] MCINTOSH R A, YAMAZAKI Y Y, DUBCOVSKY J, *et al.* Catalogue of gene symbols for wheat [http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes]. in 12th International Wheat Genetics Symposium. 2013. Yokohama, Japan.
- [16] BASNET B R, SINGH R P, IBRAHIM A M H, *et al.* Characterization of Yr54 and other genes associated with adult plant resistance to yellow rust and leaf rust in common wheat Quaiu 3 [J]. *Molecular Breeding*, 2014, **33**(2): 385—399.
- [17] SANTRA D K, CHEN X M, SANTRA M, *et al.* Identification and mapping QTL for high-temperature adult-plant resistance to stripe rust in winter wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivar 'Stephens' [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2008, **117**(5): 793—802.
- [18] WANG L M, ZHANG Z Y, LIU H J, *et al.* Identification, gene potulation and molecular tagging of a stripe rust resistance gene in synthetic wheat CI142 [J]. *Cereal Research Communications*, 2009, **37**(2): 209—215.
- [19] REN Q(任 强), LIU H J(刘慧娟), CHEN Y(陈 洋), *et al.* Molecular tagging of a stripe rust resistance gene in a *Triticum durum*-*Aegilops squarrosa* synthetic wheat CI191 [J]. *Acta Agronomica Sinica* (作物学报), 2010, **36**(5): 721—727 (in Chinese).
- [20] 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): 1 163—1 163.
- [21] LI G Q, LI Z F, YANG W Y, *et al.* Molecular mapping of stripe rust resistance gene YrCH42 in Chinese wheat cultivar Chuanmai 42 and its allelism with Yr24 and Yr26 [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2006, **112**(8): 1 434—1 440.
- [22] MUJEEB-KAZI A, ROSAS V, ROLDAN S. Conservation of the genetic variation of *Triticum tauschii* (Coss.) Schmalh. (*Aegilops squarrosa* auct. non L.) in synthetic hexaploid wheats (*T. turgidum* L. s. lat. $\times$ *T. tauschii*; 2n=6x=42, AABBDD) and its potential utilization for wheat improvement [J]. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 1996, **43**(2): 129—134.
- [23] WAN A M, NIU Y CH, XU SH CH, *et al.* Characteristics of cultivars with durable resistance to stripe rust and its potential in China [J]. *Acta Agron. Sin.*, 1999, **26**(6): 751—755.
- [24] SHARP P J, KREIS M, SHEWRY P R, *et al.* Location of β -amylase sequences in wheat and its relatives [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1988, **75**(2): 286—290.
- [25] MICHELMORE R W, PARAN I, KESSELI R V. Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: a rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1991, **88**(21): 9 828—9 832.
- [26] RÖDER M S, KORZUN V, WENDEHAKE K, *et al.* A microsatellite map of wheat [J]. *Genetics*, 1998, **149**(4): 2 007—2 023.
- [27] SOMERS D J, ISAAC P, EDWARDS K. A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2004, **109**(6): 1 105—1 114.
- [28] WANG J K. QTL IciMapping: integrated software for building linkage maps and mapping quantitative trait genes [http://pag13.mapyourshow.com]. in Plant and Animal Genome XXI Conference. 2013. San Diego, USA.