

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2010.00721

人工合成小麦 CI191 抗条锈病基因的鉴定及分子标记定位

任 强^{1,2} 刘慧娟^{1,**} 陈 洋¹ 徐世昌³ 何名召¹ 辛志勇¹ 张增艳^{1,*}

¹ 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 / 农业部作物遗传育种重点开放实验室, 北京 100081; ² 甘肃农业大学农学院, 甘肃兰州 730070; ³ 中国农业科学院植物保护研究所 / 植物病虫害生物学国家重点实验室, 北京 100193

摘 要: 抗病性鉴定结果表明, 硬粒小麦-粗山羊草人工合成小麦 CI191(CPI/GEDIZ/3/GOO//JO69/CRA/4/AE.SQ629), 对我国曾经或现在流行的小麦条锈菌生理小种 CY28、CY29、CY30、CY31、CY32 和水源 11 致病类型 4 表现免疫或近免疫。基因推导结果显示, CI191 对条锈菌的反应型不同于 24 份已知抗条锈病基因品种(系), 对 21 个条锈菌生理小种表现抗性, 对条锈病菌生理小种 86107 表现感病反应型(IT 3)。对 CI191/铭贤 169 杂交组合的正交、反交的 F₁ 材料以及 F₂ 代群体进行抗病鉴定与遗传分析, 结果表明, CI191 对条锈菌小种 CY31 的抗性受细胞核内的显性单基因控制。利用集群分离分析法(BSA)和简单重复序列(SSR)分子标记分析, 发现 7 个 SSR 标记与 *YrC191* 连锁。构建了包含 *YrC191* 的 SSR 标记遗传图谱, 其中 *Xbarc240* 与 *YrC191* 共分离, *Xcfd65*、*Xbarc187*、*Xgwm18*、*Xgwm11* 位于 *Xbarc8* 与 *YrC191* 的同侧, 与 *YrC191* 间遗传距离 3.2 cM, *Xbarc8* 与 *YrC191* 间遗传距离为 1.6 cM, *Xwmc419* 位于 *YrC191* 另一侧、遗传距离为 3.1 cM。根据 SSR 分子标记的遗传图谱和在中国春的缺体-四体和双端体的定位结果, 将 *YrC191* 定位到小麦染色体 1BS 上。*YrC191* 基因的 4 个 SSR 标记和 *Yr26* 的 1 个 STS 标记可以明显地区分 *YrC191* 与染色体 1BS 上的其他抗条锈病基因, 如 *Yr24*、*Yr26/YrCH42*、*Yr10*、*Yr15* 和 *YrC142* 等。

关键词: 合成小麦; 条锈病抗性基因; 基因推导; 遗传分析; SSR 标记

Molecular Tagging of a Stripe Rust Resistance Gene in a *Triticum durum-Aegilops squarrosa* Synthetic Wheat CI191

REN Qiang^{1,2}, LIU Hui-Juan^{1,**}, CHEN Yang¹, XU Shi-Chang³, HE Ming-Zhao¹, XIN Zhi-Yong¹, and ZHANG Zeng-Yan^{1,*}

¹ National Key Facility for Crop Gene Resources and Genetic Improvement / Key Laboratory of Crop Genetic and Breeding, Ministry of Agriculture / Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China; ² College of Agronomy, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China; ³ Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100094, China

Abstract: Stripe rust, caused by *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* (*Pst*), is one of the most serious fungal diseases in wheat world-wide. To diversify the resistance resources, a resistance synthetic wheat CI191 (CPI/GEDIZ/3/GOO//JO69/CRA/4/AE.SQ629) has been mined from 94 accessions of *Triticum durum-Aegilops squarrosa* synthetic wheat introduced from CIMMYT. CI191 show highly resistant to six *Pst* races prevailing in Chinese, such as CY28, CY29, CY30, CY31, CY32, and CY-Su11-4. Based on the responses of CI191 and 24 wheat materials possessing known stripe rust resistance genes to 22 *Pst* races, we postulated CI191 was different from all the known resistant genes. According to analysis of inherited mode, the resistance gene in CI191 was controlled by a single dominate gene, tentatively designated *YrC191*. Using the cross between CI191 and Mingxian 169 (a sensitive wheat cultivar to *Pst* races), the F₂ segregation population and the bulked segregant pools were established to screen the simple sequence repeat (SSR) markers linked to *YrC191*. Seven SSR markers were found to be linked with *YrC191* in the alignment of *Xwmc419*-*YrC191*/*Xbarc240*-*Xbarc8*-*Xcfd65*/*Xbarc187*/*Xgwm18*/*Xgwm11*. *YrC191* was cosegregated with the marker *Xbarc240*, flanked by the closest linked markers *Xbarc8* and *Xwmc419* with the relative genetic distances of 1.6 cM and 3.1 cM, respectively. Using Chinese Spring nullisomic-tetrasomics and ditelosomic lines of homoeologous group 1, *Xcfd65*, *Xgwm18*, *Xgwm11*,

本研究由国家高技术研究发展计划(863 计划)项目(2006AA100102, 2006AA10Z1C7)和引进国际先进农业科学技术计划(948 计划)项目(2006-G2)资助。

* 通讯作者(Corresponding author): 张增艳, E-mail: zhangzy@mail.caas.net.cn; Tel: 010-82108781

** 共同第一作者

Received(收稿日期): 2009-11-24; Accepted(接受日期): 2010-02-07.

Xbarc187, and *Xwmc419* markers were physically mapped on the chromosome arm 1BS, and *YrC191* was also located on 1BS. Four SSR markers linked tightly with *YrC191* and 1 sequence tagged site (STS) marker for *Yr26* could discriminate *YrC191* from the other resistant genes on 1BS, such as *Yr24*, *Yr26*, *Yr10*, *Yr15*, *YrCH42*, and *YrC142*. The results suggested that *YrC191* may be a novel resistance gene to *Pst*.

Keywords: *Triticum durum*-*Aegilops tauschii* synthetic wheat; Stripe rust; Resistance gene; Gene postulation; SSR marker

小麦条锈病是由条锈菌(*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*)引起的一种世界范围的小麦重要病害,也是我国发生范围最广、危害程度最重的小麦主要病害之一。20世纪50年代至今,我国曾发生8次小麦条锈病的大规模流行,其中1950年、1964年、1990年和2002年条锈病的大流行,导致我国小麦产量分别损失6.0、3.2、1.8和1.3百万吨^[1-2]。培育和推广抗病品种是防治小麦条锈病最为经济、有效和环保的方法。

优异的小麦条锈病抗源及抗病基因是小麦抗病育种的基础。迄今为止,已有近90个抗条锈病基因被发现或利用,其中41个位点上的44个基因已被正式命名^[3-5],这些基因大部分表现小种特异型。由于小麦条锈病菌的高度变异性,众多的曾在小麦生产上发挥重大作用的抗病基因已丧失抗性。目前,对我国条锈病流行小种条中32(CY32)和条中33(CY33)表现抗性的主效基因仅剩*Yr5*、*Yr15*、*Yr24*、*Yr26*(与*Yr24*等位)和*YrH52*^[5]。为了创新小麦抗病遗传资源,国际玉米小麦改良中心(CIMMYT)创制了一系列硬粒小麦—粗山羊草人工合成小麦新种质^[6]。国内外多个实验室,从上述人工合成小麦中鉴定出抗小麦印度腥黑穗病菌人工合成小麦^[7-8]、抗叶锈病材料^[9]、抗条锈病材料^[10-13]和抗白粉病材料^[14]。抗病新基因的发掘一般基于对病原菌多个生理小种的反应型与基因推导结果。近年发展起来的各种分子标记技术,如RFLP、RAPD、SSR、AFLP等,为小麦新基因鉴定、性状辅助选择和分子作图提供了有力工具。利用分子标记技术,已将37个小麦抗条锈病基因定位在不同的染色体区段^[5, 12-13, 15-17]。在这些分子标记中,SSR因多态性高、重复性好、实验成本低、已定位的SSR序列丰富等优点而应用最为广泛^[5, 13]。

本研究对硬粒小麦—粗山羊草人工合成小麦新种质CI191中抗条锈病基因进行基因推导、遗传分析和SSR分子标记分析,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 材料与方法

1.1 材料和条锈病菌

抗条锈病的硬粒小麦—粗山羊草人工合成小麦CI191(系谱为CPI/GEDIZ/3/GOO//JO69/CRA/4/AE.SQ629)及其父本粗山羊草AE.SQ629(AE629)由国际玉米小麦改良中心(CIMMYT)提供,系从引自CIMMYT的94份硬粒小麦—粗山羊草人工合成小麦鉴定出来;感病小麦品种铭贤169和24份含已知抗条锈病基因的小麦品种(表1),由中国农业科学院植物保护研究所徐世昌研究员提供。CI191×铭贤169、铭贤169×CI191杂交种F₁及其自交后代F₂群体,均由中国农业科学院作物科学研究所小麦分子育种课题组创制。中国春(CS)缺体-四体和双端体材料,由中国农业科学院作物科学研究所张学勇研究员提供。我国曾经或现在流行的小麦条锈菌生理小种条中28~条中32(CY28, CY29, CY30, CY31, CY32)和水源11致病类型4(CY-Su11-4)以及基因推导所用22个条锈菌生理小种(表1),由中国农业科学院植物保护研究所徐世昌研究员提供。

1.2 抗病性鉴定及基因推导

抗病性鉴定于温室中进行。用扫抹法分别对CI191及感病对照品种铭贤169、CI191与铭贤169杂交、自交的F₁、F₂代的一叶期小麦材料接种条中31(CY31)小种。感病对照铭贤169充分发病时调查抗病性,参照文献[12]和[13]对反应型分级:免疫(0)、近免疫(0₊)、高抗(0₊⁺, 1)、中抗(2)、中感(3)和高感(4),其中0~2级为抗病,3~4级为感病。遗传分析采用卡方(χ^2)适合性测验。

参照牛永春等^[18]的方法进行CI191中抗条锈病基因的推导,在温室中培养CI191与24份含已知抗条锈病基因品种(系),用扫抹法把22个条锈菌生理小种(系)接种到一叶期麦苗上,感病对照铭贤169充分发病时调查反应型。

1.3 DNA提取及抗病池和感病池的构建

采用改良的苯酚-氯仿法提取基因组DNA^[19]。

选取10株反应型为0; ~ 0₊的F₂抗病单株的DNA等量混合构成抗病池(Rb),10株F₂感病(3⁺ ~

表 1 CI191 和 24 份含已知抗条锈病基因小麦品种对 22 个条锈病菌系的反应型
Table 1 Response of CI191 and 24 wheat cultivars possessing stripe rust resistance genes to 22 isolates of *P. striiformis*

| Cultivar/line | <i>Yr</i> gene | 58893 | 59791 | 60105 | 61009 | 68009 | 72107 | 74187 | 75078 | 76088 | 76093 | 78028 | 78080 | 80551 | 82061 | 82517 | 85019 | 85107 | 86036 | 86094 | 86106 | 86107 | PE92 |
|--------------------------|--------------------|---------------------|----------------------|---------------------|----------------------------------|-------------------|----------------------------------|-----------------|---------------------|---------------------|--------------------|---------------------|----------------------------------|---------------------|----------------------------------|-------------------|-------------------|-----------------|-----------------|---------------------|-------------------|----------------|----------------------------------|
| CI191 | <i>CI191</i> | 1 | 0; ⁺ | 2 ⁻ | 1 ⁺ | 2 | 1 ⁺ | 2 | 2 | 2 | 1 ⁺ | 0; ⁺ | 2 ⁺ | 2 ⁻ | 0 | 1 | 2 | 0 | 1 | 0; ⁺ | 3 | 1 ⁺ | 0; ⁺ |
| Moro | <i>10, Mor</i> | 0, 0; | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 0 | 3 ⁺ , 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0, 0; | 0; | 0 | 0, 0; | 0; |
| <i>Yr15/6</i> *Avocet S | <i>15</i> | 0 | 0 | 0 | 0; | 0; | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0; | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>Yr24/3</i> *Acocet S | <i>24</i> | 0; | 0;, 1 | 0; ⁺ | 0; | 0; | 0; ⁺ , 1 ⁺ | 0; | 2 ⁺ | 0 | 0;, 1 ⁺ | 0; | 0; | 0; | 0; | 0; ⁺ | 0; | 0 | 0; ⁺ | 0;, 1 | 0; ⁺ | 0; | 0; ⁺ |
| <i>Yr26/3</i> *Avocet S | <i>26</i> | 0; ⁺ | 0,1 | 0; ⁺ | 0; | 0; | 0; ⁺ , 1 | 0; | 2 ⁺ , 3 | 0; | 0; | 0; | 0; | 0; | 0; | 0; ⁺ | 0,1 | 0 | 0; ⁺ | 0; | 0; ⁺ | 0; | 0; |
| Chuanmai 42 | <i>CH42</i> | 0; | 0 | 0; | 0, 0; | 0; | 0; ⁺ , 1 | 0; | 2 ⁺ , 3 | 0; | 0; | 0, 0; | 0; | 0; | 0; | 0; ⁺ | 0;, 1 | 0 | 0; | 0; | 0; ⁺ | 0; | 0; ⁺ |
| CI142 | <i>CI142</i> | 0; ⁺ | 1 | 1 | 2 | 2 ⁺ | 1 | 1 ⁺ | 3 | 0; ⁺ | 1 ⁺ | 0; ⁺ | 2 ⁻ | 1 | 1 | 0; ⁺ | 2 ⁻ | 0; ⁺ | 1 ⁺ | 1 | 1 | 1 ⁺ | 2 ⁻ |
| CI108 | <i>CI108</i> | 2 | 1 ⁺ | 1 ⁺ | 2 ⁻ | 2 | 1 | 2 ⁻ | 2 | 2 ⁻ | 1 ⁺ | 1 ⁺ | 2 ⁻ | 0; ⁺ | 2 ⁻ | 0; ⁺ | 2 ⁻ | 0; ⁺ | 1 | 2 ⁻ | 2 ⁻ | 2 ⁻ | 2 ⁻ |
| Chinese 166 | <i>1</i> | 0; | 0; | 4 | 0; ⁺ | 4 | 3 | 0; ⁺ | 0; ⁺ | 0; | 4 | 0; | 0; ⁺ | 4 | 0 | 0; ⁺ | 4 | 0 | 0; | 4 | 3 | 0 | 0; |
| Heines Peko | <i>2,6</i> | 4 | 4 | 4 | — | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 0 | 4 | 4 | — | 3 | 4 | 0 | 0; ⁺ | 3 | 0 | 0 | 0; |
| Son alike | <i>2, A</i> | 2 | 3 | 3, 4 | 3 | 4 | 3 | 4 | 4 | 3 | 3 | 3 | 4 | 4 | 0 | 0, 2 ⁺ | 3 | 3 | 3 ⁺ | 4 | 3 | 0 | 3 |
| Heines VII | <i>2, HVII</i> | 0; ⁺ , 1 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 3 | 3, 4 | 3 | 3 ⁻ | 3 | 4 | 3 ⁺ | 0 | 3 | 4 | 0 | 3 ⁻ | 4 | 4 | 0 | 3, 4 |
| Vimorin 23 | <i>3a, V23</i> | 0; | 4 | 0; ⁺ , 2 | 3 | 0; | 0; | 4 | 3 | 0; | 0; ⁺ | 0; ⁺ | 3 ⁻ , 4 | 0;, 1 | 4 | 3 | 4 | 0 | 0; | 3 | 2, 2 ⁺ | 0 | 0; ⁺ |
| Hybrid 46 | <i>3b, 4b, H46</i> | 0; ⁺ | 0; ⁺ | 0; ⁺ | 3 | 0; | 0; ⁺ , 2 | 3 | 0; | 0; | 2 | 0; ⁺ | 3, 4 | 0;, 2 | 0 | 0, 0; | 4 | 0 | 0; | 0; ⁺ , 1 | 0; | 0 | 0; ⁺ |
| <i>T. spelta album</i> | <i>5</i> | 0 | 0; | 0, 2 ⁻ | 0; ⁺ , 2 ⁻ | 0 | — | 0; | 0; ⁺ , 1 | — | 0; | 0; | 0 | 0;, 0; ⁺ | 0, 1 ⁺ | 0 | 0; ⁺ | 0 | 0; | 1, 2 | 0, 1 | — | 0; ⁺ |
| Lee | <i>7, 22, 23</i> | 0; ⁺ , 1 | 0; ⁺ , 1, | 1 ⁺ | 0; ⁺ | 4 | 1 | 1 ⁺ | 0; ⁺ , 1 | 0; ⁺ | 3 | 3 ⁺ | 0; ⁺ , 2 ⁻ | 4 | 0; ⁺ | 0; ⁺ | 0; ⁺ | 0 | 4 | 2 ⁻ | 3 | — | 3, 4 |
| Compair | <i>8, 19</i> | 0 | 3, 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 3 ⁺ | 4 | 4 | 4 | 4 | — | 4 | 0 | 4 | 0 | 4 | 4 | 3, 4 | — | 4 |
| Clement | <i>9, Cle</i> | 0 | 0; | 0 | 0, 0; | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 4 | 0; | 0; | 0 | 0 | 3 | 0 | 4 | 0 |
| Maris Huntsman | <i>13</i> | 0; ⁺ | 3 ⁺ | 3 | 4 | 1, 2 ⁻ | 2, 3 | 3 ⁻ | 3, 4 | 0; ⁺ , 1 | 2 | 0; ⁺ , 1 | 3 | 3 ⁻ | 4 | 3 | 4 | 0 | 0; | 2 ⁺ | 3 | 0 | 3 |
| VPM1 | <i>17</i> | 0; ⁺ | 3 ⁺ | 2, 2 ⁺ | 4 | 1 ⁺ | 3 | 2 | 3, 4 | 0; ⁺ , 1 | 4 | 3 | 4 | 4 | 0, 1 | 4 | 2, 2 ⁻ | 0 | 0; | 3, 4 | 3 | 0 | 0; ⁺ , 1 ⁺ |
| Selkirk | <i>27</i> | 4 | 3, 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 4 | 4 | 3 | 0 | 4 | 4 | 3 | 0 | 3 |
| <i>T. tauschii</i> W-219 | <i>28</i> | 0 | 0; | 0; ⁺ | 0; ⁺ | 0; | 0; ⁺ | 0; | 0; | 0; ⁺ | 0; | 3 ⁻ | — | 0; | 0; ⁺ , 2 ⁻ | 0; ⁺ | 0; ⁺ | 0 | 0 | 0; | 0 | 0 | 0, 0; ⁺ |
| Carstens V | <i>32</i> | 0 | 0 | 4 | 4 | 3, 4 | 4 | 4 | 3, 4 | 4 | 4 | 0; | 4 | 3, 4 | 0 | 0 | 3, 4 | 0 | 0;, 1 | 4 | 3 | 0 | 0, 2 ⁺ |
| Gaby | <i>Gaby</i> | 0; | 3 | 0; ⁺ | 2 ⁺ , 2 | 4 | 0; ⁺ | 3 | 1, 2 ⁻ | 0 | 0; | 3 ⁺ | 0; ⁺ , 1 | 3 | 3, 4 | 0; | 4 | 0 | 0 | 0; ⁺ | 4 | 0 | 0; ⁺ , 0 |
| Avocet S | | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |

N: 未测试。N: not tested.

4)单株的DNA等量混合构成感病池(Sb)。

1.4 SSR和STS标记分析

根据 Röder 等^[20]、Somers 等^[21]和 <http://wheat.pw.usda.gov/>的报道,选取248对SSR引物(奥科公司合成),其中1B染色体上44个。PCR反应体系含1×buffer, 1.8 mmol L⁻¹ MgCl₂, 4种dNTP各0.2 mmol L⁻¹, 正向和反向SSR引物各0.25 μmol L⁻¹, 1 U Taq DNA聚合酶, 100 ng DNA, 参照Wang等^[13]提供的程序进行PCR扩增。PCR产物经6%聚丙烯酰胺凝胶电泳、银染后,统计SSR分析结果。用Mapmaker 3.0b^[22]对SSR扩增带型数据进行标记与抗条锈病基因的连锁性分析。用Kosambi函数^[23]计算遗传距离(cM),将阈值设为LOD = 3.0。

合成Yr26连锁的STS引物^[17]。PCR扩增程序: 95℃预变性3 min; 94℃变性1 min, 60℃退火1 min, 72℃延伸1 min, 循环3次; 然后94℃变性1 min, 55℃退火1 min, 72℃延伸1 min, 循环5次; 接着94℃变性1 min, 50℃退火1 min, 72℃延伸1 min, 循环30次; 最后72℃延伸7 min。PCR产物经6%聚丙烯酰胺凝胶电泳、银染序列胶后,检测结果。

2 结果与分析

2.1 人工合成小麦条锈病抗性鉴定及基因推导

抗病性鉴定结果表明, CI191对CY28、CY30、CY32和水源11-致病类型4(CY-Su11-4)表现免疫(IT 0), 对CY29、CY31表现高抗(IT 0; +)。比对CI191和24个含已知抗条锈病基因的小麦品种(系)对22个条锈菌生理小种的反应型结果(表1), 发现除对条锈菌生理小种86107表现感病反应型(IT 3)外, CI191对其他21个条锈菌生理小种(系)表现高或中

抗(IT 0至2级), 其抗谱不同于24份已知抗条锈病基因品种(系), 因此, 推断CI191可能含有抗条锈病新基因或新基因组合。

2.2 CI191抗条锈病基因的遗传分析

抗病鉴定结果表明, CI191及其父本粗山羊草AE.SQ629(AE629)均对小麦条锈菌生理小种CY31表现近免疫反应(ITs 0; 至0; +), 据此推测CI191携带的抗病基因YrCI191可能来自父本粗山羊草AE629。CI191与铭贤169正交的F₁单株(10株)与反交的F₁单株(10株)均对CY31表现高抗, 说明CI191中的条锈病抗性是由显性核基因控制的。F₂群体(CI191×铭贤169)111个单株中, 有84株抗病, 27株感病, 经 χ^2 检验, 符合3:1的分离比($\chi^2_{3:1} = 0.003$, $df = 1$, $P = 0.96$), 表明CI191对CY31的抗性是由单个显性核基因控制, 暂命名为YrCI191。

2.3 CI191中抗条锈病基因的SSR标记及染色体定位

248对SSR引物分子检测结果表明, 小麦染色体1BS上的7对SSR引物(Xwmc419、Xcfd65、Xbarc187、Xgwm18、Xgwm11、Xbarc8和Xbarc240)可在CI191与铭贤169之间以及抗病池与感病池之间同时扩增出稳定的多态性产物。用上述7个引物分别检测F₂单株的结果表明, 上述7个SSR标记与抗病基因YrCI191遗传连锁(图1和图2), 其中Xbarc240与YrCI191共分离, Xcfd65、Xbarc187、Xgwm18、Xgwm11、Xbarc8位于YrCI191一侧, Xcfd65、Xbarc187、Xgwm18、Xgwm11与YrCI191间遗传距离为3.2 cM, Xbarc8与YrCI191间遗传距离为1.6 cM, 而Xwmc419与YrCI191间遗传距离为3.1 cM, 位于该基因另一侧, YrCI191应该位于小麦染色体1B短臂(1BS)上。

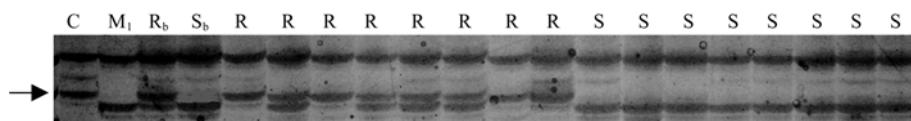


图1 Xcfd65引物PCR扩增CI191抗条锈病基因F₂群体部分单株的电泳图谱

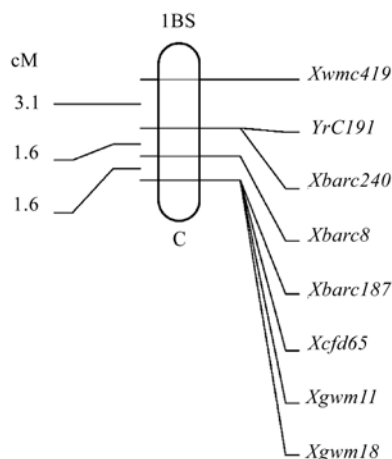
Fig. 1 Amplification pattern of SSR primer Xcfd65 on F₂ partial individuals derived from CI191/Mingxian 169

C: CI191; M₁: 铭贤169; R_b: 抗病池; S_b: 感病池; R: 部分抗病单株; S: 部分感病单株; 箭头: YrCI191特异带。

C: CI191; M₁: Mingxian 169; R_b: resistant pool; S_b: susceptible pool; R: resistant plant; S: susceptible plant. Arrow: YrCI191 specific band.

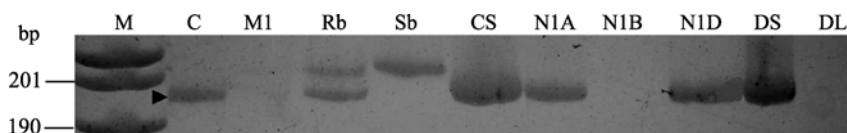
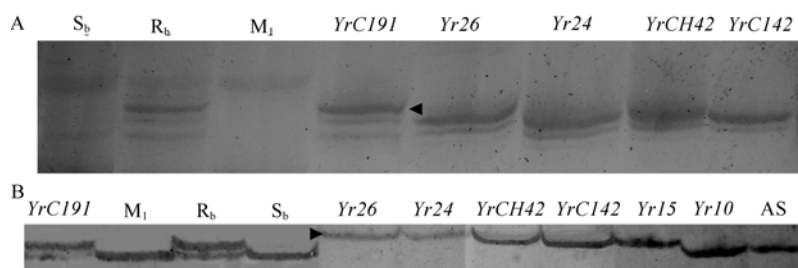
为了进一步明确YrCI191在小麦染色体的物理位置, 利用YrCI191紧密连锁的SSR标记Xcfd65、Xgwm18、Xgwm11、Xbarc187和Xwmc419, 在中国春及其第1部分同源群缺体-四体和双端体材料上进行染色体定位。结果显示, Xcfd65、Xgwm18、Xgwm11、

Xbarc187和Xwmc419扩增的特异带型出现在中国春、CS N1A-T1B、CS N1D-T1B和CS DT1BS, 而CS N1B-T1D和CS DT1BL缺失了抗病特异带(图3)。由此证明抗条锈病基因YrCI191的确位于小麦染色体1B短臂(1BS)上。

图 2 抗条锈病基因 *YrC191* 的 SSR 连锁图Fig. 2 Linkage map harboring stripe rust resistance *YrC191* constructed with SSR markers on chromosome 1BS

C: 着丝点; 1BS: 小麦染色体 1B 短臂。

C: centromere; 1BS: short arm of wheat chromosome 1B.

图 3 SSR 标记 *Xgwm18* 在中国春第 1 部分同源群缺体-四体、双端体上的扩增结果Fig. 3 PCR pattern of SSR marker *Xgwm18* on Chinese Spring nullisomic-tetrasomic, ditelosomic lines of homoeologous group 1M: pBR322 DNA/*Msp* I 分子量标记; C: CI191; M₁: 铭贤 169; R_b: 抗病池; S_b: 感病池; CS: 中国春; N1A: CS N1A-T1B; N1B: CS N1B-T1B; N1D: CS N1D-T1B; DS: 1BS 双端体; DL: 1BL 双端体。箭头: 1BS 特异带。M: pBR322 DNA/*Msp* I markers; C: CI191; M₁: Mingxian 169; R_b: resistant pool; S_b: susceptible pool; CS: Chinese Spring; N1A: CS N1A-T1B; N1B: CS N1B-T1B; N1D: CS N1D-T1B; DS: CS DT1BS; DL: CS DT1BL. Arrow indicates 1BS specific band.图 4 以 SSR 标记 *Xbarc240*(A)和 STS(B)分析 1BS 上的抗条锈病基因Fig. 4 Analysis on the resistant genes on 1BS by SSR markers *Xbarc240* (A) and STS marker (B)M: pBR322 DNA/*Msp* I 分子量标记; S_b: 感病池; R_b: 抗病池; M₁: 铭贤 169; AS: Avocet S; 箭头: *YrC191* 特异带。M: pBR322 DNA/*Msp* I markers; S_b: susceptible pool; R_b: resistant pool; M₁: Mingxian 169; AS: Avocet S. Arrow indicates *YrC191* specific band.

类群占优势的新阶段。预测在以后的相当时间内这些致病类群将成为我国的主要流行小种^[1]。本研究发现硬粒小麦-粗山羊草人工合成小麦 CI19 对 CY28、CY29、CY30、CY31、CY32 和水源 11 致病类型 4 表现免疫或近免疫, 而且 CI191 所携带的抗病基因为一个显性核基因。因此, 该基因不仅丰富了我国小麦抗条锈病的基因资源, 而且有望应用于小麦抗病育种。

2.4 用分子标记区分 1BS 抗条锈病基因

用与 *YrC191* 紧密连锁的 SSR 标记 *Xbarc240*、*Xgwm18*、*Xgwm11*、*Xbarc187* 鉴别 *YrC191* 与 1B 染色体上其他抗条锈病基因 *Yr24*、*Yr26*、*YrCH42* 和 *YrC142*。结果表明, *YrC191* 特异带不同于 *Yr24*、*Yr26*、*YrCH42* 和 *YrC142* (图 4-A)。用 *Yr26* 的 1 个 STS 标记对 1B 染色体上的抗条锈病基因进行分析, 结果如图 4-B 所示, *YrC191* 特异带也不同于 *Yr26*、*Yr24*、*YrCH42*、*Yr15* 和 *Yr10*。这些结果也暗示 *YrC191* 可能不同于 1BS 上这些已知抗条锈病基因。

3 讨论

目前我国小麦条锈菌正处于一个活跃变化和向多极化方向发展的过程, 进入了以 CY30、CY31 和 CY32 为代表的 Hybrid46 致病类群和水源 11 致病

本研究利用 BSA 方法与 SSR 标记分析技术, 从 248 对 SSR 引物中, 筛选出与抗条锈病基因 *YrC191* 连锁的 SSR (微卫星) 标记 7 个, 构建了连锁图谱, 包括与 *YrC191* 共分离的标记 *Xbarc240* 以及该基因双侧遗传距离均小于 4 cM 的 6 个 SSR 标记。利用中国春第 1 部分同源群缺体-四体、双端体材料进一步分析, 将 *YrC191* 定位在小麦 1BS 染色体上。利用上述紧密连锁的分子标记, 能够区分 *YrC191* 与 1BS

上的其他抗条锈病基因,表明这些 SSR 标记可以准确地选择 *YrC191*,作为小麦抗条锈病育种中的有力选择工具。

根据系谱分析和 CIMMYT 提供的材料,用 CY31 对 CI191 及其父本粗山羊草 AE.SQ629(AE629)进行条锈病抗性鉴定,以期了解 CI191 中抗条锈病基因 *YrC191* 的来源。结果发现,CI191 和 AE629 均高抗 CY31,由此推测 *YrC191* 可能来自父本粗山羊草 AE629。由于粗山羊草是 D 基因组的供体,*YrC191* 似乎应位于 D 基因组染色体上。然而,分子标记和染色体定位分析结果却显示,*YrC191* 位于 1BS 上。我们推测主要原因一是 CI191 的系谱可能有误;二是在 CI191 的选育过程中染色体发生过易位,致使源自粗山羊草 AE629 的 *YrC191* 基因转移到 1BS 上。

为了解 *YrC191* 与其他抗条锈病基因的关系,本研究采用了 22 个条锈菌生理小种(系)和 24 份含已知抗病基因小麦品系对 *YrC191* 进行基因推导,其中已知抗病基因包含 *Yr1*、*Yr2*、*Yr3*、*Yr3b*、*Yr4b*、*Yr5*、*Yr6*、*Yr7*、*Yr8*、*Yr9*、*Yr10*、*Yr15*、*Yr17*、*Yr19*、*Yr22*、*Yr23*、*Yr24*、*Yr27*、*Yr28*、*Yr32*、*YrH46*、*YrCle*、*YrHVII*、*YrSu*、*YrSD*、*YrSpP*、*YrGaby*、*YrCH42*、*YrC142* 和 *YrC108*^[24]。结果表明,*YrC191* 的反应型不同于上述已知抗病基因小麦品系,如 *YrC191* 对条锈病菌生理小种 86107 表现感病反应型(IT 3),而 1BS 上 *Yr10*、*Yr15*、*Yr24*、*Yr26*、*YrCH42*、*YrC142* 对条锈病菌生理小种 86107 表现抗病反应型(ITs 0 至 2)。基因推导结果结合系谱分析表明,抗条锈病基因 *YrC191* 可能是不同于上述 1BS 上已知抗条锈病基因。另外,本文用 *YrC191* 的 4 个 SSR 标记和 *Yr26* 的 1 个 STS 标记对 1B 染色体上的抗条锈病基因进行鉴别,结果表明,*YrC191* 的抗病特异带型不同于 *Yr24*、*Yr26*、*Yr10*、*Yr15*、*YrCH42* 和 *YrC142*,又从另一侧面暗示 *YrC191* 可能不同于 1BS 上这些已知抗条锈病基因。当然,较精确的结论还有待于今后进行大群体的等位基因测验分析结果的验证。

4 结论

硬粒小麦-粗山羊草人工合成小麦新种质 CI191,对我国曾经或现在流行的 6 个小麦条锈菌生理小种表现高抗。CI191 携带的显性抗条锈病基因 *YrC191*,被定位于小麦染色体 1BS,与 SSR 标记 *Xbarc240* 共分离,与 *Xbarc240*、*Xgwm18*、*Xgwm11*、*Xbarc187*

与 *Xwmc419* 紧密连锁。*YrC191* 的特异分子标记可以区分该基因与 1BS 上的其他抗条锈病基因。*YrC191* 可能是一个新的抗条锈病基因。

References

- [1] Xie H(谢皓), Niu Y-C(牛永春), Chen X(陈孝), Ma Y-Z(马有志), Wu L-R(吴立人), Lin Z-S(林志珊). Assessment and genetic analysis on the resistance of a new wheat line YW243 to stripe rust. *Acta Phytopathol Sin* (植物病理学报), 2003, 33(3): 243–247 (in Chinese with English abstract)
- [2] Fang T L(房体麟), Cheng Y(程颖), Li G-Q(李根桥), Xu S-C(徐世昌), Xie C-J(解超杰), You M-S(尤明山), Yang Z-M(杨作民), Sun Q-X(孙其信), Liu Z-Y(刘志勇). Molecular characterization of a stripe rust resistance gene from wheat line S2199 and its allelism with *Yr5*. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2008, 34(3): 355–360 (in Chinese with English abstract)
- [3] McIntosh R A, Yamazaki Y, Devos K M, Dubcovsky J, Rogers W J, Appels R. Catalogue of gene symbols for wheat. In: Pogna N E, Romano N, Pogna E A, Galterio G, eds. Proceedings of the Tenth International Wheat Genetics Symposium. Vol. 4. Rome: Istituto Sperimentale per la Cerealicoltura, 2003. p 8
- [4] McIntosh R A, Devos K M, Dubcovsky J, Rogers W J, Morris C F, Appels R, Anderson O D. Catalogue of gene symbols for wheat: 2007 supplement. <http://www.wheat.pw.usda.gov/ggpages/macgene/supplement2007.htm>
- [5] Zhang H(张宏), Ren Z-L(任志龙), Hu Y-G(胡银岗), Wang C-Y(王长有), Ji W-Q(吉万全). Characterization of wheat stripe rust resistance genes in Shaanmai 139. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2010, 36: 109–114 (in Chinese with English abstract)
- [6] Mujeeb-Kazi A, Rosas V, Roland S. Conservation of the genetic variation of *Triticum tauschii* (Coss.) Schmalh. (*Aegilops aquarosa* L.) in synthetic hexaploid wheats (*T. turgidum* L. × *T. tauschii*, $2n = 6x = 42$, AABBDD) and its potential utilization for wheat improvement. *Genet Reours Crop Evol*, 1996, 43: 129–134
- [7] Multani D S, Daliwal H S, Singh P, Gill K S. Synthetic amphiploids of wheat as a source of resistance to Karnal bunt (*Neovossia indica*). *Plant Breed*, 100: 122–125
- [8] Mujeeb-Kazi A, Fuentes-Davila G, Villareal R L, Cortes A, Rosas V, Delgado R. Registration of 10 synthetic hexaploid wheat and six bread wheat germplasms resistant to Karnal bunt. *Crop Sci*, 41: 1652–1653
- [9] Singh R P, Mujeeb-Kazi A, Huerta-Espino J. *Lr46*: a gene conferring slow-rusting resistance to leaf rust in wheat. *Phytopathology*, 1998, 88: 890–894
- [10] Ma H, Singh R P, Mujeeb-Kazi A. Resistance to stripe rust in *Triticum turgidum*, *T. tauschii* and their synthetic hexaploids. *Euphytica*, 1995, 82: 117–124
- [11] Ma H, Singh R P, Mujeeb-Kazi A. Resistance to stripe rust in durum wheats, A-genome diploids and their amphiploids.

- Euphytica*, 1997, 94: 279–286
- [12] Li G Q, Li Z F, Yang W Y, Zhang Y, He Z H, Xu S C, Singh R P, Qu Y Y, Xia X C. Molecular mapping of stripe rust resistance gene *YrCH42* in Chinese wheat cultivar Chuanmai 42 and its allelism with *Yr24* and *Yr26*. *Theor Appl Genet*, 2006, 112: 1434–1440
- [13] Wang L M, Zhang Z Y, Liu H J, Xu S C, He M Z, Liu H X, Veisz O, Xin Z Y. Identification, gene postulation and molecular tagging of a stripe rust resistance gene in synthetic wheat CI142. *Cereal Res Commun*, 2009, 37: 209–215
- [14] Li T(李韬), Zhang Z-Y(张增艳), Lin Z-S(林志珊), Chen X(陈孝), Gao S(高珊), Xin Z-Y(辛志勇). Mapping of a novel gene conferring resistance to wheat powdery mildew using AFLP and SSR markers. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2005, 31: 1105–1109 (in Chinese with English abstract)
- [15] Shao Y T, Niu Y C, Zhu L H, Zhai W X, Xu S C, Wu L R. Identification of an AFLP marker linked to the stripe rust resistance gene *Yr10* in wheat. *Chin Sci Bull*, 2001, 46: 1466–1469
- [16] Wang L F, Ma J X, Zhou R H, Wang X M, Jia J Z. Molecular tagging of the yellow rust resistance gene *Yr10* in common wheat, P.I. 178383 (*Triticum aestivum* L.). *Euphytica*, 2002, 124: 71–73
- [17] Wen W E, Li G Q, He Z H, Yang W Y, Xu M L, Xia X C. Development of an STS marker tightly linked to *Yr26* against wheat stripe rust using the resistance gene-analog polymorphism (RGAP) technique. *Mol Breed*, 2008 22: 507–515
- [18] Niu Y-C(牛永春), Qiao Q(乔奇), Wu L-R(吴立人). Postulation of resistance genes to stripe rust in commercial wheat cultivars from Henan, Shandong and Anhui provinces. *Phytopathol Sin* (植物病理学报), 2000, 30(2): 122–128 (in Chinese with English abstract)
- [19] Sharp P G, Kreis M, Shewry P R, Gale M D. Location of β -amylase sequence in wheat and its relatives. *Theor Appl Genet*, 1988, 75: 289–290
- [20] Röder M S, Korzun V, Wendehake K, Plaschke J, Tixier M H, Leroy P, Ganal M W. A microsatellite map of wheat. *Genetics*, 1998, 149: 2007–2023
- [21] Somers D J, Isaac P, Edwards K. A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet*, 2004, 109: 1105–1114
- [22] Lincoln S, Daly M, Lander E. Constructing Genetic Maps with Mapmaker/EXP3.0. Whitehead Institute Techn Rep, 3rd edn. Whitehead Institute, Cambridge, Massachusetts, USA. 1992
- [23] Kosambi D D. The estimation of map distances from recombination values. *Ann Eugen*, 1944, 12: 172–175
- [24] He M-Z(何名召), Wang L-M(王丽敏), Zhang Z-Y(张增艳), Xu S-C(徐世昌), Xin Z-Y(辛志勇). Identification and molecular mapping of a novel stripe rust resistance gene in a *Triticum durum-Aegilops tauschii* amphiploid CI108. *Acta Agron Sin* (作物学报), 33: 1045–1050 (in Chinese with English abstract)