

DOI:10.11913/PSJ.2095-0837.2022.20197

杨文静, 乔麟轶, 李欣, 郭慧娟, 陈芳, 张树伟, 常利芳, 贾举庆, 畅志坚, 张晓军. 小麦抗条锈基因 *Yr69* 的连锁标记开发[J]. 植物科学学报, 2022, 40(2): 197-204Yang WJ, Qiao LY, Li X, Guo HJ, Chen F, Zhang SW, Chang LF, Jia JQ, Chang ZJ, Zhang XJ. Development of linkage markers for stripe rust resistance gene *Yr69* in *Triticum aestivum* L.[J]. *Plant Science Journal*, 2022, 40(2): 197-204

小麦抗条锈基因 *Yr69* 的连锁标记开发

杨文静¹, 乔麟轶^{1,2}, 李欣^{1,2}, 郭慧娟¹, 陈芳¹, 张树伟¹,
常利芳¹, 贾举庆¹, 畅志坚^{1,2}, 张晓军^{1,2*}

(1. 山西农业大学农学院, 作物遗传与分子改良山西省重点实验室, 太原 030031;

2. 山西农业大学省部共建有机旱作农业国家重点实验室(筹), 太原 030031)

摘要: 抗条锈病基因 *Yr69* 对我国小麦条锈菌 (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) 小种具有广谱抗性, 在小麦抗条锈病育种中具有重要价值。为提高分子标记辅助选择育种的效率, 加快 *Yr69* 在小麦抗病育种中的应用, 本研究利用条锈菌小种 CYR34 对包含 340 个小麦家系的‘Taichung29/CH7086’F₉ 代 RIL (Recombinant inbred line) 群体进行接种鉴定, 并利用 BSA-SNP (Bulked segregant analysis-single nucleotide polymorphism) 技术对其抗条锈病基因进行了重新定位。抗病鉴定结果显示, RIL 群体中抗感病家系的数量呈双峰分布, ‘CH7086’的条锈病抗性受一个主效位点控制。BSA-SNP 基因分型结果表明, 多态性 SNP 主要集中于小麦 2AS 染色体末端 0 ~ 30 Mb 的染色体区段。在该基因组区段开发了 208 个 SSR 分子标记, 利用抗感病小群体从中筛选到 14 个与 *Yr69* 连锁的分子标记。利用 14 个标记对 340 个 RIL 家系进行 PCR 扩增和分子作图, 将 *Yr69* 定位于 2AS111 和 2AS171 之间约 7.76 Mb 的染色体区段, 两侧连锁标记 2AS111、2AS171 与 *Yr69* 的连锁距离均为 0.4 cM, 并获得 2 个与 *Yr69* 共分离的分子标记 2AS117 和 2AS127, 可用于 *Yr69* 的分子标记辅助选择。

关键词: 小麦; SNP; 抗条锈病基因; 连锁标记; 分子标记辅助选择

中图分类号: Q943.2

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2022)02-0197-08

Development of linkage markers for stripe rust resistance gene *Yr69* in *Triticum aestivum* L.

Yang Wen-Jing¹, Qiao Lin-Yi^{1,2}, Li Xin^{1,2}, Guo Hui-Juan¹, Chen Fang¹, Zhang Shu-Wei¹,
Chang Li-Fang¹, Jia Ju-Qing¹, Chang Zhi-Jian^{1,2}, Zhang Xiao-Jun^{1,2*}

(1. College of Agronomy, Shanxi Agricultural University/Key Laboratory of Crop Genetics and Molecular Improvement of Shanxi Province, Taiyuan 030031, China; 2. State Key Laboratory of Integrative Sustainable Dryland Agriculture (in preparation), Shanxi Agricultural University, Taiyuan 030031, China)

Abstract: Stripe rust, caused by *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* (*Pst*), is one of the most devastating wheat diseases in China. The *Yr69* gene confers resistance to almost all Chinese *P. striiformis* stripe rust races, and thus has important value in the breeding of *Triticum aestivum* L. stripe rust resistance. To improve the efficiency of molecular marker-assisted selection and accelerate the application of *Yr69* in wheat resistance breeding, this study used

收稿日期: 2021-09-05, 修回日期: 2021-10-11。

基金项目: 山西农业大学省部共建有机旱作农业国家重点实验室自主研发项目(202002-3); 山西省重点研发计划项目(201903D211003); 山西农业大学生物育种工程项目(YZGC093)。

This work was supported by grants from the State Key Laboratory of Sustainable Dryland Agriculture (in preparation) of Shanxi Agricultural University (202002-3), Key Science & Technology Project in Shanxi Province (201903D211003), and Biological Breeding Engineering of Shanxi Agricultural University (YZGC093)。

作者简介: 杨文静(1995-), 女, 硕士研究生, 研究方向为作物遗传与育种(E-mail: 1541084128@qq.com)。

* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: zxjemail@163.com)。

stripe rust race CYR34 to inoculate and identify the F_9 recombinant inbred line (RIL) population of ‘Taichung29/CH7086’ containing 340 families. Bulk segregant analysis-single nucleotide polymorphism (BSA-SNP) was used to remap the stripe rust resistance gene in ‘CH7086’. Based on the disease resistance identification results, the number of resistant families and susceptible families in the RIL population exhibited a bimodal distribution, suggesting that the resistance of ‘CH7086’ to stripe rust was controlled by a major locus. The BSA-SNP results showed that the polymorphic SNPs were mainly concentrated in a 0 – 30 Mb section at the end of the wheat 2AS chromosome. In this segment, 208 simple sequence repeat (SSR) molecular markers were identified. Among these, 14 molecular markers linked to *Yr69* were screened using a small population of resistant plants and susceptible plants. The 14 linked markers were used for linkage mapping with 340 F_9 RIL population, with two markers found to be co-segregated with the *Yr69* gene. Based on the Chinese spring wheat genome IWGSC Ref Seq v1.0, *Yr69* was mapped to a 7.76 Mb interval between the two molecular markers 2AS111 and 2AS171, and their linkage distances with *Yr69* were both 0.4 cM. Thus, two molecular markers (2AS117 and 2AS127) co-segregated with *Yr69* were obtained, which not only can be used for molecular marker-assisted selection of *Yr69*, but also have important significance for fine mapping and cloning of the gene.

Key words: *Triticum aestivum*; SNP; Stripe rust resistance gene; Linkage markers; Molecular marker-assisted selection

由专化型病原真菌条形柄锈菌 (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*, Pst) 引起的小麦条锈病是制约我国小麦 (*Triticum aestivum* L.) 安全生产的重大病害之一^[1], 主要发生在我国西北、西南和中部等冷凉潮湿地区。其病原菌可随大气流动远距离传播, 具有传播速度快、发生范围广、变异频率高、危害损失大等特点^[2]。病原菌成功侵染小麦植株后, 不仅吸收寄主养分, 其产生的条状病斑还会阻碍小麦叶片的光合作用, 严重时可使小麦植株快速死亡, 从而造成粮食减产^[3]。我国是世界上小麦条锈病发病面积最大、危害损失最严重的国家^[1]。一般年份, 我国小麦条锈病发病面积约为 6.0×10^6 hm^2 , 可对发病田块造成 5% ~ 20% 的产量损失^[4]。在温度和湿度适宜的气候条件下, 条锈病极易发生大规模爆发, 病害严重时可使小麦减产 40% ~ 60%, 对我国粮食安全生产具有重大威胁^[5]。1949 年以来, 我国发生过多次条锈病大流行, 特别是 1950、1964、1990、2002 和 2017 年, 条锈病发病面积均超过 7.0×10^6 hm^2 , 粮食损失达 1.38×10^9 kg^[6]。随着条锈菌毒性小种 ‘CYR32’、‘CYR33’ 和 ‘CYR34’ 的相继出现与流行, 原有的抗源 ‘水源 11’、‘繁 6’ (*Yr3b*、

Yr4b)、‘贵农 22’ (*Yr10*、*Yr24/Yr26*) 和 ‘92R137’ (*Yr26*) 等先后丧失了对条锈病的抗性^[7], 导致我国 90% 以上的生产品种丧失抗性, 这对小麦生产构成了严重威胁。因此, 挖掘有效抗病基因并选育抗病品种, 是控制条锈病危害和保障粮食安全的重要举措。

迄今, 国际上已从小麦及其近缘种属中发现并定位了 83 个正式命名的抗条锈病基因 (*Yr1-Yr83*^[8]) 和许多暂时命名的抗性基因以及 QTL 位点。为了应用这些抗条锈病基因, 国内外学者进行了大量研究, 其中 *Yr5*、*Yr7*、*Yr10*、*Yr15*、*Yr18*、*Yr36*、*Yr46* 和 *YrSP* 已被克隆^[9–15]。然而, 仍有许多抗条锈病基因未能在小麦抗病育种中得到有效利用, 一个重要原因是缺乏准确鉴定抗病基因的诊断性标记。*Yr69* 是 Hou 等^[16] 利用分子标记从小偃麦渗入系 ‘CH7086’ 中鉴定出来的一个抗条锈病新基因, 其供体品系 ‘CH7086’ 是由山西省农业科学院作物科学研究所利用普通小麦与来源于十倍体长穗偃麦草 (*Thinopyrum ponticum* (Popd.) Barkworth & D. R. Dewey) 的部分双二倍体 ‘小偃 7430’ 杂交 BC_2F_7 选育出的小麦新品系, 对我国多个条锈菌流行小种包括 ‘CYR23’、‘CYR29’、‘CYR31’、

‘CYR32’、‘CYR33’和‘CYR34’均表现出优良抗性。但 Hou 等^[16]开发的标记较少,仅有一个 EST-SSR 标记 X2AS33 与 *Yr69* 连锁距离较近,严重限制了 *Yr69* 在育种上的应用。随着小麦基因组测序的完成和基因组序列的释放^[17-19],利用小麦基因组序列在 *Yr69* 附近开发大量分子标记对其进行精细定位成为可能。

为了促进 *Yr69* 在小麦抗条锈病育种和生产上的应用,本研究利用感病品种‘Taichung29’与‘CH7086’构建的 F_9 代重组自交系(Recombinant inbred line, RIL)群体,采用集群分离分析(Bulk segregation analysis, BSA)结合 SNP 芯片基因分型的方法,开发与 *Yr69* 紧密连锁的分子标记或共分离标记,旨在为实现 *Yr69* 的精细定位或图位克隆以及有效利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

供试材料包括 340 个由‘Taichung29’和‘CH7086’构建的 F_9 代 RIL 群体,其中‘CH7086’是由山西农业大学农学院从‘中 8701/小偃 7430//冀麦 26//冀麦 26’的 F_7 代自交后代中选育出的抗条锈病新品系,含有抗条锈病基因 *Yr69*^[16],对我国目前广泛流行的条锈菌小种均表现为免疫;‘Taichung29’高感小麦条锈病。‘Taichung29’和‘CH7086’均来自山西农业大学农学院。条锈病田间诱发品种‘川育 12’和条锈菌生理小种‘CYR34’来自四川省农业科学院作物研究所。

1.2 抗病性鉴定

于 2020 年在四川省农业科学院现代农业科技创新示范园对实验材料进行成株期人工接种鉴定。将抗病亲本‘CH7086’、感病亲本‘Taichung29’和 340 个 F_9 代 RIL 家系按行播种于大田,每个 RIL 家系播种 2 行,每行单粒点播 20 粒,行长 1.6 m,行距 0.25 m,每隔 10 行播种 1 行‘Taichung29’作为感病对照。为确保鉴定材料充分发病,把高感条锈病品种‘川育 12’垂直播种行种植于实验材料两侧。在小麦拔节前,采用孢子悬液喷雾法^[20]接种条锈菌,将新鲜的条锈菌孢子用清水稀释成 3.0×10^{-5} g/mL 的淡桔黄色溶

液,均匀喷洒在诱发品种上进行接种,当感病对照‘Taichung29’充分发病后,按照 1~9 共 9 级分级标准^[21, 22],记载亲本及 340 个 RIL 家系的侵染型。其中 1 为免疫;2 为高抗;3 为抗病;4 为中抗到抗病;5 为中抗;6 为中感;7 为中感到感病;8 为感病;9 为高感^[21]。

1.3 抗感病池的构建及 SNP 芯片扫描

在幼苗三叶期,剪取长约 3 cm 的幼嫩单个植株叶片,在液氮中冷冻后用高速震荡器磨成粉末,采用改良 CTAB 法提取基因组总 DNA^[23]。根据抗病性鉴定结果,分别选取 30 个极端抗病家系(反应型为 1)和 30 个极端感病家系(反应型为 9),每个家系取等量 DNA 混合成抗病池和感病池^[24],由北京中玉金标记公司进行 iSelect 90K SNP(共 81587 个 SNP 标记)芯片扫描。

1.4 连锁标记开发与遗传图谱构建

根据 SNP 芯片扫描结果分析抗病基因所在染色体物理区段,参考中国春小麦基因组数据 IWG-SC Ref Seq v1.0,从 Triticeae Multi-omics Center 网站(<http://202.194.139.32/getfasta/index.html>)获取 *Yr69* 所在染色体区段小麦基因组序列,利用 SSR Hunter v1.3 和 Primer Premier v6.0 软件设计 SSR 引物(表 1)。利用 PCR 扩增筛选在亲本‘CH7086’和‘Taichung29’之间存在多态性的分子标记,利用筛选到的多态性分子标记在抗感小群体中进行扩增,筛选与抗病基因连锁的标记,即抗病单株与抗亲一致、感病单株与感亲一致的多态性 SSR 标记。

PCR 反应体系总体积为 15 μ L,包括:10 \times buffer 1.5 μ L, 2.5 mmol/L dNTP 1.0 μ L, 25 mmol/L $MgCl_2$ 1.0 μ L, 模板 DNA 2.0 μ L, 50 μ mol/L 引物 1.0 μ L, 5 U/ μ L *Taq* DNA 聚合酶 0.2 μ L, ddH₂O 8.3 μ L。PCR 反应程序为:94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min;94 $^{\circ}$ C 变性 1 min,退火 45 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min,35 个循环;72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min;4 $^{\circ}$ C 保存备用。扩增完成后采用 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分离扩增产物,硝酸银染色后拍照。

利用筛选到的连锁标记对 340 个 RIL 家系进行 PCR 扩增并读带,获得分子标记检测结果,其中与抗病亲本‘CH7086’一致的带型,读作 A(纯合抗病),与感病亲本‘Taichung29’一致的带型,读

表 1 与抗条锈病基因 *Yr69* 连锁的分子标记信息
Table 1 Molecular markers linked with stripe rust resistance gene *Yr69*

标记名称 Marker name	正向引物 Forward primer (5' – 3')	反向引物 Reverse primer (5' – 3')	退火温度 Annealing temperature / °C	片段大小 Fragment size / bp
T04S47	TCCAACCTCCAACGCTGTC	TAGTGGCGATGATGCTCTCC	58	136
T06S07	TTGCTGGAATCAGTCCAAGTT	ACGCCATTCATAGCCTCCT	58	208
2AS47	GCGTCTTCTCTAGAATGCTCTT	TGGTGGCGATGTGCTTCA	62	109
2AS77	AGGAATACAGGACTGCAATGGA	CAACATGGCTTCAACTGGAGAA	62	138
2AS97	AGGGAAAGTCGTCGCCTTG	TCATCACTGAGCCAACATCCA	58	185
2AS111	TCCTGTCCGCTGTATGATCG	TTGTGGCTCTGGTGTGTAATC	57	286
2AS117	AGTTCGTCTGTCGTCGTTCA	TGGATTGCTACTGCACTGGA	58	103
2AS127	TTCTCTGGCGTGTGGTTGA	TGCAATGCGGGTAACATCTTT	58	234
2AS171	GACAACAATCACAAGCAGCAA	CCAATAACTCTTCTCGGTCTC	58	181
2AS193	GTAATCCAGGATGACGAATAGC	AAAGTTGTACTAACGGGTTGGA	58	128
2AS196	GTCATGTTGGTACTGGAGGATG	GAAGTATGGTCAGAGGGTCTTG	58	202
2AS206	CTTGACGACCACAGGGATG	CGTGTATTCTCATAACAGAGC	58	241
2AS01	AAATCGGCGTGAAAGGTGAAA	CCTGGACCAAAGCCCTGTT	58	220
2AS03	CGAATATCCACCGACCTGCTA	TCCAACCTCCTCCACTCACT	58	254

作 B (纯合感病)，同时具有 A 和 B 两种带型的读作 H (杂合)。利用 Join map v4.0 软件计算连锁标记与抗病基因 *Yr69* 之间的遗传距离，并用 Map-Draw v2.1 软件绘制遗传连锁图。

2 结果与分析

2.1 抗病性遗传分析

本研究利用条锈菌生理小种 ‘CYR34’ 对 ‘CH7086’、‘Taichung29’ 和 340 个 F_2 代 RIL 家系接种鉴定，结果表明，‘CH7086’ 表现为免疫，侵染型为 1 级，感病亲本 ‘Taichung29’ 表现为高感，侵染型为 9 级。340 个家系的侵染型中有 176 个家系为纯合抗病型，159 个家系为纯合感病型，抗感分离的家系为 5 个 (图 1)。由 RILs 群体抗、感病家系的数量呈双峰分布可知，‘CH7086’ 中可能存在 1 对主效抗条锈病基因。

2.2 SNP 结果分析及抗病基因的染色体定位

根据 SNP 芯片扫描结果，筛选出抗亲和感亲间具有多态性的 SNP 标记，进一步筛选出在抗、感病池间具有多态性的 SNP 标记，去除信号缺失的标记和等位位点为杂合型的 SNP 的标记。对 SNP 标记进行分析，根据 SNP 标记的富集区域确定抗病基因所在染色体位置。SNP 芯片扫描结果表明，在 iSelect 90K SNP 芯片的 81 587 个标记

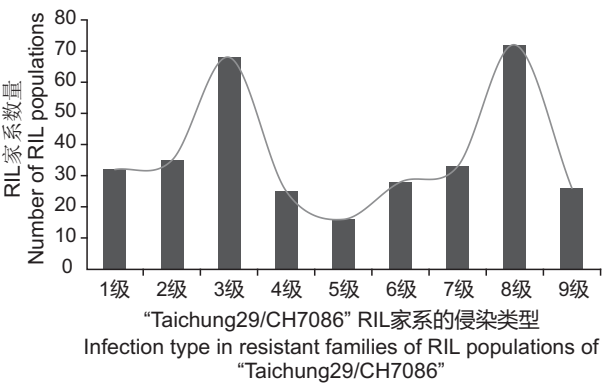


图 1 ‘Taichung29/CH7086’ RIL 群体抗感家系数量分布
Fig. 1 Distribution in resistant families of RIL populations of ‘Taichung29/CH7086’

位点中，有 9531 个 SNP 在抗、感亲本间具有多态性，占总标记数的 11.68%；其中有 3209 个 SNP 在抗、感病池间具有多态性，占总标记数的 3.93%；进一步筛选抗亲与抗病池一致、感亲与感病池一致，并去除信号缺失或等位位点为杂合型 SNP 的标记，共获得 112 个多态性 SNP 标记。根据 SNP 标记所在物理位置信息，推断抗病基因 *Yr69* 位于 2AS 染色体上 0~30 Mb 的物理区间内 (图 2: A、B)。

2.3 连锁标记的分析

本研究在小麦 2AS 染色体上 0~30 Mb 的物理区间内设计了 208 对引物，其中 116 对引物可在

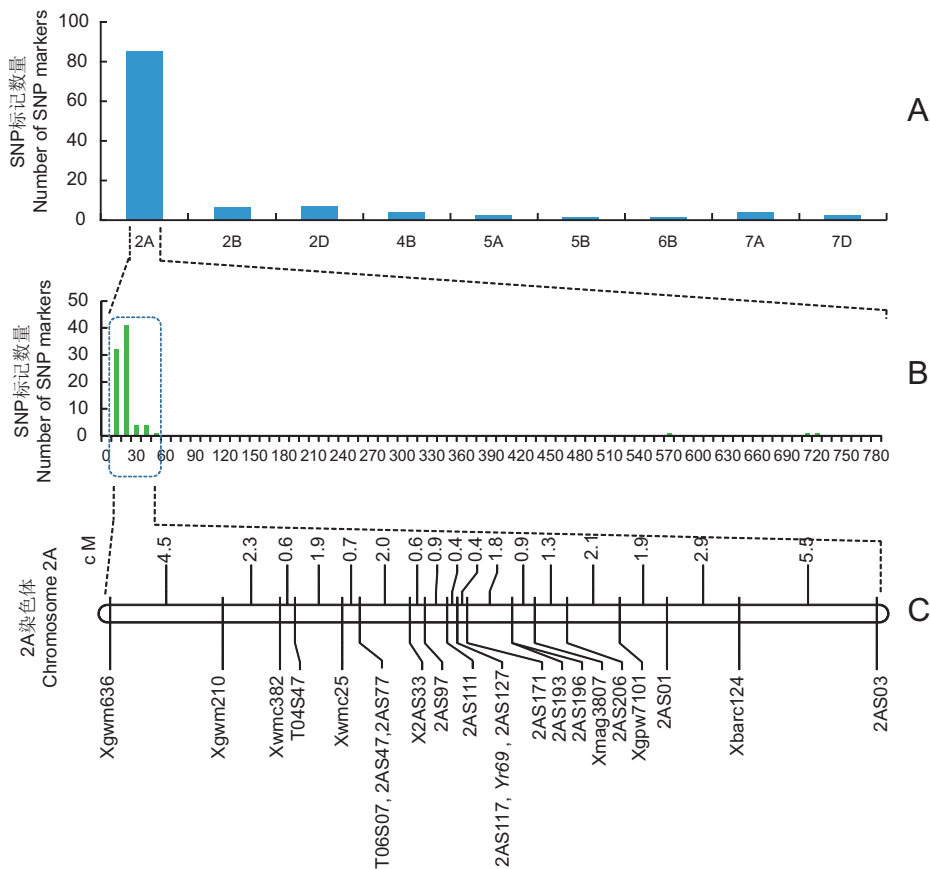


图 2 多态性 SNP 结果分析及抗病基因 *Yr69* 的染色体定位
Fig. 2 Distribution of polymorphic SNPs and mapping of resistance gene *Yr69*

亲本‘CH7086’和‘Taichung29’间扩增出多态性。利用 11 个抗病单株和 11 个感病单株组成的抗、感病小群体对亲本间具有多态性的分子标记进行筛选，根据扩增的目标条带在抗感小群体间的片段大小差异，共筛选到与抗病基因连锁的共显性标记 14 个。利用 14 个共显性标记(表 1)对 340 个 RIL 家系进行 PCR 扩增，读带数据采用 Joinmap v4.0 计算连锁距离。结果表明，14 个连锁标记中有 2 个与 *Yr69* 共分离，分别为 2AS117 和 2AS127。*Yr69* 两侧最近的连锁标记分别为 2AS111 和 2AS171，与 *Yr69* 的连锁距离均为 0.4 cM，结合 Hou 等^[16]筛选的连锁标记构建了 *Yr69* 的遗传连锁图(图 2: C)。

3 讨论

分子标记辅助选择 (Marker-assisted selection, MAS) 作为一种高效育种技术，已在现代生物育种研究中获得广泛应用，其核心内容是利用分

子标记对目标基因进行追踪与选择，从而获得与目标基因对应的有益农艺性状。因此，广泛挖掘有益基因并获得与其紧密连锁的分子标记是分子育种技术发展的重要基础。早在 2003 年，Yan 等^[25]利用 RGAP (Resistance gene-analog polymorphism) 技术发现了与 *Yr5* 共分离的两个 EST 标记 Xwgp17 和 Xwgp18。2009 年，Fu 等^[9]采用图位克隆方法克隆了来源于野生二粒小麦的成株期抗条锈病基因 *Yr36*，并开发了其特异分子标记 Yr3E6E1a。目前，国内外已从小麦及其近缘属中挖掘出 83 个苗期或成株期抗条锈病基因，并获得大量与条锈病抗性相关的分子标记，但除 *Yr5/Yr7*^[10]、*Yr10*^[11]、*Yr15*^[12]、*Yr18/Lr34*^[13]、*Yr28*^[14]、*Yr36*^[9]和 *Yr46/Lr67*^[15]等少数基因已得到克隆并获得功能标记或共分离标记外，大多数分子标记是基于特定遗传群体进行抗病基因的染色体定位而获得的连锁标记。这些连锁标记普遍与目标基因存在一定的遗传距离，在抗病品种与感病品种杂交后代的遗传分

离中会产生重组,从而降低了分子标记的选择效率^[26-28]。

2016 年, Hou 等^[16] 将利用分子标记从小麦-彭梯卡偃麦草渗入系‘CH7086’中鉴定出一个广谱抗条锈病基因 *Yr69*, 并利用‘中国春’缺体、双端体和缺失系将其定位于小麦 2AS 染色体 0.78 ~ 1.00 区段, 其最近的连锁标记为 EST-SSR 标记 2AS33, 与 *Yr69* 的遗传距离为 1.9 cM。张晓军等^[29, 30] 通过使用 2AS33 在‘长 4738/CH7086’的 F_2 群体与‘烟农 999/CH7086’和‘长 4738/CH7086’的 F_6 后代品系进行检测后发现, 2AS33 对抗条锈病基因 *Yr69* 的选择效率在 95.2% ~ 96.7%。Hou 等^[16] 利用‘Taichung29/CH7086’的 F_2 群体接种‘CYR32’小种进行遗传分析认为, ‘CH7086’对‘CYR32’的抗性受 1 对显性基因控制。由于条锈菌生理小种的变异, ‘CYR34’已成为生产上对小麦威胁最大的条锈菌生理小种。本研究利用‘CH7086’和‘Taichung29’构建的 F_9 代 RIL 群体接种‘CYR34’后的结果发现, ‘CH7086’对‘CYR34’的抗性受 1 对主效抗条锈病基因控制, 与 Hou 等^[16] 的研究结果基本一致。为了提高分子标记对抗病基因 *Yr69* 的选择效率, 较理想的方法是对目标基因进行精细定位或克隆, 在目标基因区段或该区段附近开发与抗病基因连锁更加紧密的分子标记或共分离标记。

近年来 SNP 芯片技术的发展为加速普通小麦基因的精细定位和克隆提供了新的技术手段。Trick 等^[31] 首次尝试用 BSR-Seq 技术定位了四倍体小麦高蛋白含量基因 *GPC-B1*。Ramirez-Gonzalez 等^[32] 使用同样的方法定位了抗条锈病基因 *Yr15*。随后以 BSR 或 BSA 为基础的 SNP 定位基因技术得到了大量应用, 但这种技术通常只能提供目标基因的一个大致位置, 还需要在该区域开发标记来缩小与准确定位目标基因所在染色体区段^[33]。本研究利用‘Taichung29/CH7086’的 F_9 代 RIL 群体对‘CH7086’含有的抗条锈病基因进行了重新定位, SNP 芯片分析结果表明, *Yr69* 位于小麦 2AS 染色体 0 ~ 30 Mb 的物理区段附近, 即 2AS 染色体末端。在该区段内设计的 208 对引物进一步将 *Yr69* 定位于 2AS111 和 2AS171 之间, 其中 2AS111 的物理位置为 2AS-14 061 120, 2AS171

的物理位置为 2AS-21 821 668, 2AS111 和 2AS171 与 *Yr69* 的遗传连锁距离均为 0.4 cM。同时还获得了 2 个与 *Yr69* 表现为共分离的分子标记 2AS117 和 2AS127, 其物理位置分别为 2AS-15 280 464 和 2AS-15 814 388。研究结果显示, 在基因定位中, 高代 RIL 群体比 F_2 群体具有更高的重组率, 表型鉴定更准确, 容易获得更多的重组株与遗传距离更近的重组位点^[34]。但本研究利用 RIL 群体仅将 *Yr69* 定位于 2AS111 和 2AS171 之间约 7.76 Mb 的染色体区段, 2 个共分离标记 2AS117 和 2AS127 可能是受到样品数量的限制, 与 *Yr69* 之间未发生重组。因此, *Yr69* 的进一步精细定位还需要扩大群体数量, 在目标区段开发更多的分子标记, 筛选更多的重组体, 为 *Yr69* 的克隆与有效利用奠定基础。

参考文献:

- [1] 李汉杰, 马晓路, 刘青. 盐山县小麦条锈病的发病原因及防治措施[J]. 现代农村科技, 2022(1): 38-39.
- [2] 许彦平, 万信, 金社林, 韩兰英, 姚晓红, 等. 甘肃河东地区小麦条锈病菌 (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) 越冬气候区划[J]. 干旱地区农业研究, 2021, 39(2): 236-240.
Xu YP, Wan X, Jin SL, Han LY, Yao XH, et al. Climatic zoning of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* over-summering in hedong area of Gansu Province[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2021, 39(2): 236-240.
- [3] Jia MJ, Yang LJ, Zhang W, Garry R, Li JH, et al. Genome-wide association analysis of stripe rust resistance in modern Chinese wheat [J]. *BMC Plant Biol*, 2020, 20(1): 1-13.
- [4] 陈文, 吴石平, 詹刚明, 王伟, 何庆才. 贵州小麦条锈菌生理小种鉴定分析[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(9): 155-157.
Chen W, Wu SP, Zhan GM, Wang W, He QC. Identification and analysis of physiological races of wheat stripe rust in Guizhou [J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2016, 44(9): 155-157.
- [5] 康振生, 王晓杰, 赵杰, 汤春蕾, 黄丽丽. 小麦条锈菌致病性及其变异研究进展 [J]. 中国农业科学, 2015, 48(17): 3439-3453.
Kang ZS, Wang XJ, Zhao J, Tang CL, Huang LL. Advances in research of pathogen city and virulence variation of the wheat stripe rust fungus *Puccinias triiformis* f. sp. *tritici* [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2015, 48(17): 3439-3453.
- [6] 马占鸿. 中国小麦条锈病研究与防控 [J]. 植物保护学报, 2018, 45(1): 1-6.

- Ma ZH. Researches and control of wheat stripe rust in China[J]. *Journal of Plant Protection*, 2018, 45(1): 1–6.
- [7] 刘博, 刘天国, 章振羽, 贾秋珍, 王保通, 等. 中国小麦条锈菌条中 34 号的发现及其致病特性[J]. *植物病理学报*, 2017, 47(5): 681–687.
- Liu B, Liu TG, Zhang ZY, Jia QZ, Wang BT, *et al.* Discovery and pathogenicity of CYR34, a new race of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in China[J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2017, 47(5): 681–687.
- [8] Li JB, Dundas L, Dong CM, Li GR, Trethowan R, *et al.* Identification and characterization of a new stripe rust resistance gene *Yr83* on rye chromosome 6R in wheat[J]. *Theor Appl Genet*, 2020, 133(4): 1095–1107.
- [9] Fu DL, Uauy C, Distelfeld A, Blechl A, Epstein L, *et al.* A kinase-START gene confers temperature-dependent resistance to wheat stripe rust[J]. *Science*, 2009, 323(5919): 1357–1360.
- [10] Marchal C, Zhang JP, Phang P, Fenwick P, Steuernagel B, *et al.* BED-domain containing immune receptors confer diverse resistance spectra to yellow rust[J]. *Nat Plants*, 2018, 4(9): 662–668.
- [11] Liu W, Frick M, Huel R, Nykiforuk CL, Wang XM, *et al.* The stripe rust resistance gene *Yr10* encodes an evolutionary-conserved and unique CC-NBS-LRR sequence in wheat[J]. *Mol Plant*, 2014, 7(12): 1740–1755.
- [12] Klymiuk V, Yaniv E, Huang L, Raats D, Fatiukha A, *et al.* Cloning of the wheat *Yr15* resistance gene sheds light on the plant tandem kinase-pseudokinase family[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 1–12.
- [13] Krattinger SG, Lagudah ES, Spielmeyer W, Singh RP, Huerta-Espino J, *et al.* A putative ABC transporter confers durable resistance to multiple fungal pathogens in wheat[J]. *Science*, 2009, 323(5919): 1360–1363.
- [14] Zheng SG, Wu Y, Zhou M, Zeng L, Liu R, *et al.* Characterization and diagnostic marker development for *Yr28-rga1* conferring stripe rust resistance in wheat[J]. *Eur J Plant Pathol*, 2019, 156(2): 623–634.
- [15] Moore JW, Herrera-Foessel S, Lan CX, Schnippenkoetter W, Ayliffe M, *et al.* A recently evolved hexose transporter variant confers resistance to multiple pathogens in wheat[J]. *Nat Genet*, 2015, 47(12): 1494–1498.
- [16] Hou LY, Jia JQ, Zhang XJ, Li X, Yang ZJ, *et al.* Molecular mapping of the stripe rust resistance gene *Yr69* on wheat chromosome 2AS[J]. *Plant Dis*, 2016, 100(8): 1717–1724.
- [17] 凌宏清. 小麦及其近缘种基因组测序研究进展与发展趋势[J]. *麦类作物学报*, 2016, 36(4): 397–403.
- Ling HQ. Progress and perspectives of the genome sequencing in wheat and its relatives[J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2016, 36(4): 397–403.
- [18] Luo MC, Gu YQ, Puiu D, Wang H, Twardziok SO, *et al.* Genome sequence of the progenitor of the wheat D genome *Aegilops tauschii*[J]. *Nature*, 2017, 551(7681): 498–502.
- [19] International Wheat Genome Sequencing Consortium (IWGSC). Shifting the limits in wheat research and breeding using a fully annotated reference genome[J]. *Science*, 2018, 361(6403): eaar7191.
- [20] 黄苗苗, 孙振宇, 曹世勤, 贾秋珍, 刘天国, 等. 223 份小麦农家品种田间抗条锈病性评价及抗病基因分子检测[J]. *植物保护学报*, 2018, 45(1): 90–100.
- Huang MM, Sun ZY, Cao SQ, Jia QZ, Liu TG, *et al.* Evaluation of the resistance of 223 wheat landraces in Gansu Province to stripe rust and molecular detection[J]. *Journal of Plant Protection*, 2018, 45(1): 90–100.
- [21] Wellings CR, Bariana H. Assessment scale for recording stripe rust responses in field trials[J]. *Cer Rust Rep Season*, 2004, 2: 1–2.
- [22] Ma J, Qin N, Cai B, Chen GY, Ding PY, *et al.* Identification and validation of a novel major QTL for all-stage stripe rust resistance on 1BL in the winter wheat line 20828[J]. *Theor Appl Genet*, 2019, 132(5): 1363–1373.
- [23] 谭小艳, 马耀华, 郝兆祥. 4 种改良 CTAB 法提取石榴成熟叶片 DNA 的比较研究[J]. *中国南方果树*, 2021, 50(3): 122–125.
- Tan XY, Ma YH, Hao ZX. Comparative study on DNA extraction from mature leaves of pomegranate by four modified CTAB methods[J]. *South China Fruits*, 2021, 50(3): 122–125.
- [24] Wu JH, Liu SJ, Wang QL, Zeng QD, Mu JM, *et al.* Rapid identification of an adult plant stripe rust resistance gene in hexaploid wheat by high-throughput SNP array genotyping of pooled extremes[J]. *Theor Appl Genet*, 2018, 131(1): 43–58.
- [25] Yan GP, Chen XM, Line RF, Wellings CR. Resistance gene-analog polymorphism markers co-segregating with the *Yr5* gene for resistance to wheat stripe rust[J]. *Theor Appl Genet*, 2003, 106(4): 636–643.
- [26] 杨梯丰, 张子怡, 董景芳, 周炼, 张少红, 等. 水稻低温发芽力 QTL qLTG3-1 基因内分子标记的开发及其在华南籼稻中的应用评价[J]. *广东农业科学*, 2021, 48(10): 32–41.
- Yang TF, Zhang ZY, Dong JF, Zhou L, Zhang SH, *et al.* Development of intragenic molecular marker in QTL qLTG3-1 related to low temperature germinability of rice and evaluation of its application in Indica rice of South China[J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2021, 48(10): 32–41.
- [27] 宋茂兴, 翟会, 闫伟, 张旷野, 李凤海, 等. 2 个玉米抗矮花

- 叶病分子标记的有效性评价[J]. 植物遗传资源学报, 2016, 17(3): 555–561.
- Song MX, Zhai H, Yan W, Zhang KY, Li FH, *et al.* Efficiency evaluation of two molecular markers linked with resistance to maize dwarf mosaic disease[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2016, 17(3): 555–561.
- [28] 陈芳, 李欣, 乔麟轶, 李锐, 郭慧娟, 等. 抗白粉病基因 *PmCH1357* 相关分子标记验证与评价[J]. 麦类作物学报, 2020, 40(1): 41–48.
- Chen F, Li X, Qiao LY, Li R, Guo HJ, *et al.* Evaluation and validation of molecular markers associated with powdery mildew resistance gene *PmCH1357*[J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2020, 40(1): 41–48.
- [29] 张晓军, 杨文静, 畅志坚, 常利芳, 闫贵云, 等. 小麦抗条锈病基因 *Yr69* 连锁标记在育种中的应用评价[J]. 麦类作物学报, 2021, 41(4): 417–423.
- Zhang XJ, Yang WJ, Chang ZJ, Chang LF, Yan GY, *et al.* Evaluation on the application of molecular markers linked with the wheat stripe rust resistance gene *Yr69* in wheat breeding[J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2021, 41(4): 417–423.
- [30] 张晓军, 杨文静, 郭慧娟, 闫贵云, 李欣, 等. 小麦高代品系中抗条锈病基因 *Yr69* 的分子标记检测[J]. 植物遗传资源学报, 2020, 21(5): 1295–1300.
- Zhang XJ, Yang WJ, Guo HJ, Yan GY, Li X, *et al.* Molecular marker detection of stripe rust resistance gene *Yr69* in advanced-generation lines of wheat[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2020, 21(5): 1295–1300.
- [31] Trick M, Adamski NM, Mugford SG, Jiang CC, Febrer M, *et al.* Combining SNP discovery from next-generation sequencing data with bulked segregant analysis (BSA) to fine-map genes in polyploid wheat[J]. *BMC Plant Biol*, 2012, 12(1): 1–17.
- [32] Ramirez-Gonzalez RH, Segovia V, Bird N, Fenwick P, Holdgate S, *et al.* RNA-Seq bulked segregant analysis enables the identification of high-resolution genetic markers for breeding in hexaploid wheat[J]. *Plant Biotechnol J*, 2015, 13(5): 613–624.
- [33] Wu JH, Zeng QD, Wang QL, Liu SJ, Yu SZ, *et al.* SNP-based pool genotyping and haplotype analysis accelerate fine-mapping of the wheat genomic region containing stripe rust resistance gene *Yr26*[J]. *Theor Appl Genet*, 2018, 131(7): 1481–1496.
- [34] 朱艳, 乔麟轶, 张晓军, 李欣, 杨足君, 等. 小麦成株期抗条锈病基因 *YrCH7056* 的定位及其抗源分析[J]. 华北农学报, 2018, 33(1): 20–24.
- Zhu Y, Qiao LY, Zhang XJ, Li X, Yang ZJ, *et al.* Location and resistance analysis of stripe rust resistance gene *YrCH7056* in adult plant stage of wheat[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2018, 33(1): 20–24.

(责任编辑: 周媛)