

小麦条锈病抗性基因定位及分子标记技术研究进展

杨芳萍^{1,2}, 曹世勤², 郭莹², 杜久元², 鲁清林², 吕迎春³, 白斌², 周刚²,
张文涛², 马瑞², 何瑞²

(1. 甘肃省农业科学院农业经济与信息研究所, 甘肃 兰州 730070; 2. 甘肃省农业科学院小麦研究所, 甘肃 兰州 730070; 3. 甘肃省农业科学院, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 条锈病流行对小麦生产造成巨大损失, 选育和种植持久抗性品种是防治小麦条锈病最经济有效的策略。为达到多基因聚合培育持久抗病品种的目标, 必须不断发掘抗病种质、解析其抗病遗传机制并开发分子标记。基于文献, 对条锈病抗性基因发掘涉及的抗病性、分子标记、基因定位方法和定位进展及其在育种中的应用进行了综述, 明确了小麦条锈病基因定位涉及技术的现状、局限性及优势, 从而为后续的条锈病抗性基因发掘、多基因聚合和持久抗性小麦品种的选育与生产布局提供技术指导, 以降低西北麦区和小麦主产区条锈病流行的频率, 进一步促进国家粮食安全。

关键词: 小麦; 抗条锈基因; 分子标记; 连锁和关联分析; 测序技术; 育种应用

中图分类号: S512.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 2097-2172(2024)01-0001-10

doi: 10.3969/j.issn.2097-2172.2024.01.001

Research Progresses on Mapping of Wheat Stripe Rust Resistance Genes and Molecular Markers

YANG Fangping^{1,2}, CAO Shiqin², GUO Ying², DU Jiuyuan², LU Qinglin², LV Yingchun³, BAI Bin²,
ZHOU Gang², ZHANG Wentao², MA Rui², HE Rui²

(1. Institute of Agricultural Economics and Information, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou Gansu 730070, China;
2. Wheat Research Institute, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou Gansu 730070, China;
3. Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou Gansu 730070, China)

Abstract: The epidemics of stripe rust cause significant yield losses in wheat production. Breeding and cultivation of durably resistant varieties are the most cost-effective strategy for controlling wheat stripe rust. To achieve the goal of breeding durably resistant varieties through multi-gene pyramiding, it is necessary to continuously explore disease-resistant germplasms, decipher their resistant genetic mechanisms and develop molecular markers. This paper summarized the research progresses of stripe rust resistance, molecular markers, gene mapping methods, and their application in breeding related to the identification of stripe rust resistant genes to further clarify the status, limitations, and advantages of association mapping technologies for mapping of stripe rust resistance genes. This paper aims to provide technical guidance for the subsequent discovery of stripe rust resistance genes, multi-gene pyramiding, and the breeding and production arrangement of durably resistant wheat varieties to reduce the frequency of stripe rust epidemics in the northwestern wheat region and major wheat producing areas to further guarantee national food security.

Key words: Wheat; Resistance gene to stripe rust; Molecular marker; Linkage and association analysis; Sequencing technique; Breeding application

小麦是世界上分布最广、种植面积最大、总贸易额最多的粮食作物, 为人类提供了 20% 的热量和 25% 的蛋白质。在我国, 小麦是仅次于水稻

和玉米的第三大粮食作物, 小麦高产稳产对于保证国家粮食安全和社会稳定意义重大。小麦条锈病由小麦条锈菌 (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) 引

收稿日期: 2023-10-28

基金项目: 甘国家自然科学基金(32060481); 甘肃省农业科学院揭榜挂帅项目(2021GAAS03); 甘肃省科技厅重点研发计划(23YFNA0033)。

作者简介: 杨芳萍(1969—), 女, 甘肃甘谷人, 研究员, 博士, 研究方向为麦类种质资源创新及应用。Email: yfp1023@163.com。

起,是气传病害,低温高湿是发病的必要条件之一,充足的菌源量和种植感病品种可促进病害的大规模流行。条锈病具流行频率高、爆发性强、发生范围广、危害大的特点,严重威胁小麦的高产和稳产。自20世纪50年代以来,我国经历了15次大规模的条锈病流行,给小麦生产造成了巨大的经济损失。尽管可利用杀菌剂来控制条锈病的流行,但培育并合理利用抗病品种是控制该病害最经济有效且环保的重要途径。抗病种质资源是培育抗病品种的基础,携带单一抗病基因的品种抗性易丧失。培育和种植持久抗性品种可延缓抗性丧失,并提高生产效益。因此,大规模鉴定小麦种质、持续发掘抗病资源、解析其遗传机制和开发分子标记,对于抗病基因在育种中的精确应用至关重要。这些工作可为基因聚合提供材料和方法,加快多抗和兼抗小麦品种的培育进程,在一定程度上缩短育种时间,提高育种效率。

1 小麦条锈病的抗性类型

小麦的抗病性分为全生育期抗性(All-stage resistance, ASR)和成株抗性(Adult-plant resistance, APR)。

1.1 ASR

ASR在小麦全生育期都能表达,一般由单个或少数主效基因控制,表现为高抗或免疫。因生理小种的变化,抗性易丧失。在生产上广泛应用的ASR抗性品种,其抗病性一般只能保持2~3 a。加之条锈菌极复杂、变异快,易导致品种ASR抗性不持久和不稳定,在生产中存在极大的隐患。例如,广谱、强毒性小种CYR29的出现及其蔓延,携带Yr9的品种感病,导致了1990年的条锈病大流行^[1];CYR30、CYR31和CYR32等毒性小种的出现,繁6及其衍生系抗性丧失,引发了2002年的条锈病大流行^[1];小麦条锈菌新小种CYR34的出现,导致携带Yr24/Yr26/YrCH42和Yr10的推广品种或高代品系的抗性丧失^[2],使得2017年和2022年条锈病大流行,引发大量小麦品种的更新换代^[3-4]。

1.2 APR

相对于ASR,APR的遗传研究较晚。在20世纪60年代,Zadoks^[5]发现一些小麦品种在被新出现的条锈菌克服后仍然表现出一定程度的“残留抗

性”。随着分子标记的广泛应用,Singh等^[6]和Börner等^[7]分别首次对小麦品系Opata85和Lgst.79-74进行了APR分析,在Opata85品系中检测到4个位于3BS、3DS、5DS和7DS(Yr18)染色体上的成株抗性QTL,在Lgst.79-74的3BS染色体上发现了1个成株抗性基因Yrns-B1。APR在小麦分蘖期开始表达,在孕穗期或抽穗期达到高峰。APR通常由多个微效基因或微效基因+主效基因的组所控制。单一小种或混合菌接种时,APR在苗期表现感病,在成株期表现抗病或慢病;APR抗性具有潜育期长、孢子堆小和产孢量少等特点;APR无小种专化性或专化性较弱,抗病谱广,抗性持久稳定。在生产上广泛使用的APR品种,在很大程度上延缓了抗性的丧失,其抗性可保持3~5 a。多抗性位点Yr18/Lr34/Sr57/Pm38的抗病性表现稳定,迄今为止还没有发现其致病小种,1973年引入甘肃的意大利品种Strampelli和Libellula,均携带Yr18/Lr34/Sr57/Pm38基因,种植了40 a以上,仍表现出良好的抗病性。此外,还存在一类特殊的抗病性,称为高温成株抗性(High temperature adult-plant resistance, HATP),这类抗性在小麦生长后期高温条件下表达,如Yr36、Yr39和Yr62等基因。因此,在抗病育种中增加APR类抗病基因或聚合ASR和APR抗病基因可增强抗病水平,实现持久抗性的目标。

2 分子标记

分子标记包括扩增片段长度多态性(Restriction fragment length polymorphism, RFLP)、随机扩增片段长度多态性(Random amplified polymorphic DNA, RAPD)、简单重复序列(Simple sequence repeat, SSR)、抗病基因类似多态性(Resistance gene analogs polymorphism, RGAP)、扩增片段长度多态性(Amplified fragment length polymorphism, AFLP)、标记序列标签(Sequence-tagged site, STS)、表达序列标签(Expressed sequence tag, EST)、差异性芯片杂交技术(Diversity arrays technology, DAiT)和单核苷酸序列多态性(Single nucleotide polymorphisms, SNP)等。根据其核心技术不同,以上标记分为三类:第一类是以Southern杂交为核心RFLP标记;第二类是基于PCR技术的RAPD、SSR、AFLP、STS、RGAP等标记;第三类是基于DNA

序列的标记(EST、DArT 和 SNP 等)。以上标记在不同阶段的作物遗传性状差异分析、基因标记定位、遗传图谱构建、基因克隆以及分子标记辅助选择育种中发挥了重要作用。

2.1 以 Southern 杂交为核心的 RFLP 标记

RFLP 是第一代分子标记技术, 属于限制性酶切产生的片段长度多态性标记, 可通过 Southern 杂交和电泳观察到核基因组或叶绿体基因组的多态性。RFLP 方法省去了许多 DNA 序列分析的复杂过程, 只对基因组的单拷贝序列进行鉴定。然而, RFLP 方法耗时、费力, 需要进行酶切、转膜及探针制备等多个步骤, 还需使用放射性同位素等操作。因此, 在植物抗性研究方面 RFLP 的应用较少, 并很快被操作简便的 PCR 标记所取代。

2.2 PCR 为核心的分子标记技术

PCR 是一种用于扩增特定 DNA 片段的分子生物学技术, 最大特点是在体外将微量的 DNA 大幅度扩增。常见的 PCR 技术包括 RAPD、AFLP、STS、RGAP、SSR 等标记。其中, 因 SSR 标记具有多态性高、稳定性好、共显性等优点, 多年来被广泛用于基因定位和遗传图谱构建。RAPD、AFLP、RGAP 等标记存在一定的缺点, 如 RAPD 的稳定性差, AFLP 需要进行连接接头和特异酶切位点的操作较为繁琐且成本较高, 而 RGAP 的开发需要将标记转化为 SCAR(Sequence characterized amplified regions, SCAR)标记, 故这些标记的应用并不普遍。

2.3 以 DNA 序列为基础的标记

DArT 是用限制性酶切 DNA 后, 与芯片杂交来识别不同基因组的多态性标记。DArT 标记具有高通量、低成本和不需要已知序列信息等优点, 在农作物分子标记辅助育种等领域应用。因其需要特异性的内切酶切、连接接头和与芯片进行杂交等复杂步骤, 尚未得到广泛应用。EST 标记反映各组织中基因的表达水平, 因其来自转录区, 编码蛋白质的基因序列具有高度的保守性, 对亲缘关系较远物种间的基因组比较非常有用。在小麦领域 EST 位点定位到小麦各条染色体的物理区间, 建立了较完善的小麦 EST 位点的 Bin 图谱, 随后大量的 EST 被定位到小麦相应的染色体, 如位于 1B 染色体的 *Yr24/Yr26/YrCH42*, 与其紧密连

锁的标记 WE173 成为检测小麦品种(系)是否携带 *Yr24/Yr26/YrCH42* 的有效标记。

SNP 是单个核苷酸变异引起的 DNA 序列多态性, 是一种二态标记, 由单个碱基的转换或颠换引起, 也可以由碱基的插入或缺失引起。SNP 既可以出现在基因内, 也可以出现在基因外的非编码序列。作物基因组中已经检测到了大量的 SNP, 并成功应用于全基因组的连锁和关联分析研究。尽管小麦基因组庞大且包含大量的重复序列, 导致 SNP 标记的开发相对滞后, 但近年来已成为解析数量性状的重要工具, 尤其自 2012 年之后, Wheat 90K iSelect SNP 等芯片的发布为小麦抗病、抗旱等数量性状的解析奠定了基础。

3 数量性状基因(QTL)定位方法

具备抗病遗传知识和先进的工具是实现抗源多元化、保持持久抗性的基础^[8]。分子标记是进行抗病基因定位的最有效方法。自 20 世纪 80 年代以来, 分子标记在双亲群体中对抗病基因进行连锁定位中发挥了重要作用。随着第三代分子标记技术如 SNP 芯片的出现和发展, 自然群体全基因组关联分析在成株抗性 QTL 定位方面得到广泛应用。基因组和转录组测序技术的出现及小麦基因组参考序列的完成, 使得基于双亲分离群体的基因组和转录组技术(包括 BSA-Seq 和 BSR-Seq)、外显子测序(WES)、重测序技术(即全基因组测序, WAS)等广泛应用于不同作物的抗病基因研究。

3.1 连锁和关联分析技术

双亲群体连锁定位(Family-based linkage mapping)和自然群体关联分析(Natural population association analysis)是解析作物数量性状基因型的主要方法。QTL 定位区间的大小与重组率密切相关, 双亲群体的重组率有限, 仅涉及一个基因座的两个等位基因, 且 QTL 定位的精度较低。关联分析利用自然群体, 基于基因组范围内保留的基因(位点)间连锁不平衡(Linkage disequilibrium, LD), 通过全基因组变异位点分析, 具有更高的解析率, 可进行 QTL 精细定位或直接定位到基因本身, 并能够同时考察一个基因座的多个等位基因。鉴于关联分析的优势, 已被广泛应用于多种重要作物性状的研究, 例如马铃薯、水稻、玉米和番茄等^[9-12]。Thornberry 等^[13]首次利用 92 个玉米自交系进行关

联分析,探究与 Dwarf8 相关的等位变异,发现 Dwarf8 不仅控制株高,而且与开花期相关。Maccaferri 等^[14]对 189 份优质硬粒小麦进行抗旱性和籽粒产量的关联分析,发现了以前的 QTL 映射到的物候期位点和抗旱性相关的 QTL 位点,验证了 LD 技术对于双亲群体连锁定位的补充作用。关联分析也在小麦籽粒大小、磨粉品质和早熟性等研究中得到应用^[15-16]。Hao 等^[17]通过 42 个分子标记对比,对欧洲和亚洲小麦品种的赤霉病抗性表型特征及 3B 染色体 3.1-Mb 区段的关联分析结果显示, *cfb6059* 与小麦的赤霉病抗性显著相关,且与广泛应用于赤霉病抗性选择的 *umn10* 标记非常接近。另外,也有利用 SNP 标记与表型进行关联分析来定位小麦条锈病成株抗性基因/QTL 的许多报道^[18-20]。

尽管如此,传统的双亲群体连锁定位法仍然具有重要意义,对于遗传多样性较低的物种,连锁分析比 LD 作图更具优势^[21]。此外,对玉米的开花期和抗旱性 QTL 进行定位表明,同时利用连锁定位和关联分析可提高关联标记的覆盖密度和解释表型变异的能力^[11,22],也表明整合 LD 作图和传统 QTL 作图对于深入探究数量性状具有更好的效果,在 QTL 精细定位中更为有效。

3.2 转录组测序定位技术

近年来,随着小麦参考基因组序列的公布和测序成本的降低^[23-26],BSR-Seq (Bulked segregant RNA sequencing)已成为小麦抗病基因快速定位的常规方法,并为高通量检测 DNA 变异和全基因组重测序等技术的应用奠定了基础。BSR-Seq 的发展和运用极大地提高了抗病 QTL 定位的效率^[27]。利用 BSR-Seq 技术从小麦中克隆出影响籽粒蛋白含量的基因 *Gpc-B1*,并开发了多个与 *Yr15* 紧密连锁的分子标记,最终完成对 *GPC-B1* 基因的克隆^[28-30]。康振生院士团队利用 BSR-Seq 技术从国内外收集的小麦种质资源中发现了许多成株抗性位点^[18-20]。

3.3 基因组测序定位技术

3.3.1 简化基因组测序 (Reduced-representation genome sequencing, RRGs) RRGs 是指利用限制性内切酶切断基因组 DNA,对特定片段进行高通量测序,获得多态性标签序列来代表目标物种全基

因组信息的测序策略。此方法操作简单、成本低,可不依赖参考基因组,就能获得全基因组多态性标签。该方法涉及的覆盖深度和覆盖率分别反映分子标记的代表性和准确性,要求分子标记均匀地分布于全基因组,在不同个体间有特异性。Elshrie 等^[31]开发的 GBS (Genotyping by sequencing) 技术为植物中比较有代表性的简化基因组测序,需选择适合不同作物的内切酶,可简化片段筛选等步骤,适用于大群体。

3.3.2 全外显子和全基因组测序 全外显子测序 (Whole-exome sequencing, WES) 是高频应用基因组测序方法,外显子是真核生物基因的一部分,是表达序列,既存在于最初的转录产物中,也存在于成熟的 RNA 分子中。相比于全基因组测序 (Whole genome sequencing, WGS),外显子占比小 (约 1%),更易检测到低频和罕见变异,降低测序费用;外显子测序,50M 的捕获区域,测序数据量 10~12 Gb 就可以得到 100X 的有效测序深度,这个特性决定了 WES 在遗传性研究中的重要地位。WGS 研究揭示了小麦基因组进化、育种选择效应及小麦趋异适应性^[32-34],并对小麦白粉病成株抗性和籽粒性状重要 QTL 进行了精细定位^[35-36]。WGS 可检测到大量的单碱基变异和少量的结构变异;应用 WGS 和 WES 技术,发现 SNP 和 Indel 在小麦染色体上分布不均匀,编码区域 SNP 的分布频率高于非编码区域,而 Indel 的分布频率则相反^[37]。WGS 是一个非常有效的平台,但因小麦基因组大 (17 Gb) 和高度重复序列,WGS 的成本依旧昂贵,加之庞大的数据处理流程,在一定程度上限制了其广泛应用。相比之下 WES 可极大降低成本,并快速获得基因编码序列,故在大基因组作物研究中得到较广泛应用^[38-41]。

另外, RNA-Seq 和 WES 虽然都是针对基因组转录区域,但 WES 是针对有基因组信息的物种, RNA-Seq 对是否需要参考基因组信息未要求; WES 只需把测序结果比对到参考基因组, RNA-Seq 既可以比对到参考基因组,也可从头 (Denovo) 组装,不仅可获得已知序列的变异信息和新的转录本信息,还可得到基因表达信息。此外,因 RNA-Seq 对环境的敏感性,会导致 SNP 的数量和质量下降,影响研究基因的表达水平^[42];加之

RNA-Seq 获得的短的 read 长度(1.5 kb)会显著提高错误率(13%)^[43], 利用短的 read 构建转录本会导致末端外显子缺失的错误注释^[44]。可见, RNA-Seq 和 WES 技术结合可进一步提高所获信息数据的准确性。

综上所述, 多种技术的融合为作物数量性状(QTL)精细定位和克隆提供了技术保障。基于连锁分析和全基因组关联分析, 采用 BSR-Seq 和 WES 等多种技术手段是发掘抗病数量性状基因的有效方法, 该方法不受作图群体和性状的限制, 能够大大加速普通小麦重要 APR 基因的发掘进程。

4 成株抗性基因研究进展

目前共有 86 个小麦抗条锈病基因(*Yr1*-*Yr86*)被正式命名, 分布在 21 条染色体。其中, 58 个为全生育期抗病基因, 其余 28 个为成株期抗性基因^[8, 45]; 9 个基因被克隆(包括 *Yr5*、*Yrsp*、*Yr7*、*Yr10*、*Yr15*、*Yr36*、*Yr18*、*YrU1* 和 *Yr46*)^[46]; 4 个基因具备兼抗性, 分别是 *Yr18/Lr34/Pm38/Sr57*、*Yr29/Lr46/Pm39/Sr58*、*Yr30/Lr27/Pmx/Sr2*、*Yr46/Lr67/Pm46/Sr55*^[47-51]; 仅有 *Yr5*、*Yr15*、*Yr32* 和 *Yr76* 等对 V26(CYR34)致病类群有效^[52]。2017 年由于大量 CYR34 和 CYR32 等优势小种的存在, 导致条锈病在我国黄淮海小麦主产区大范围流行, 全国发生面积约 556 万 hm^2 , 是自 2002 年以来发病最严重年份; 广泛种植携带 *Yr26/Yr24/YrCH42* 的品种是导致该年度条锈病流行的一个重要原因^[3]。2022 年, 条锈病在陕西、鄂和豫南地区再次大规模流行^[4]。*Yr24/Yr26/Yr10* 等抗性丧失的事实再次说明广泛应用小种专业化抗性基因会对病原菌群体产生很强的选择压力, 从而导致出现强致病力的新小种(如致病类型 V26)。

非小种专业化或 APR 的研究始于 20 世纪 60 年代, 一般由微效基因控制, 具有持久抗性, 但其遗传机制更为复杂, 研究难度较大。随着新一代测序技术的发展, 如基因组测序、SNP 芯片及 BSE-Seq (Bulked segregant exome capture sequencing) 或 BSR-Seq 等方法已广泛应用于小麦条锈病成株抗性 QTL 检测。目前已报道了 350 个左右抗条锈病 QTL^[53-54], 但对于条锈病成株抗性 QTL 的精细定位和克隆较少, 严重限制了该类抗性在小麦育种中的应用。

随着 SNP 分子标记的广泛应用, 小麦染色体的分子标记密度大大增加, QTL 定位的准确性得到提高^[55]。通过多态性 SNP 的使用, 全基因组关联分析(GWAS)、简化基因组测序(GBS)及 BSE-Seq 结合 RNA-Seq 等技术的应用, 极大地提高了抗病 QTL 的发现和定位效率^[53, 55-56]。Cristobal Uauy 团队利用 BSR-Seq 技术在小麦上克隆了籽粒蛋白含量基因 *Gpc-B1*^[28]; Ramirez-Gonzalez 等^[29]利用 BSR-Seq 成功开发了多个与抗条锈病基因 *Yr15* 紧密连锁的分子标记, 并将该基因定位在 0.77 cM 的遗传区间内并最终克隆^[30]。康振生院士团队从国内外收集的小麦种质资源中挖掘出许多具有成株抗性的位点, 如 *QYr.nwafu-2BS(YrNP63)*、*QYr.nwafu-7BL(YrCEN)*、*QYrto.swust-3AS* 和 *QYrto.swust-3BS* 等^[18-20, 57]。此外, 国内外其他研究团队也对小麦抗病种质资源进行了成株抗性 QTL 的定位^[58-60]。随着小麦参考基因组序列的公布以及测序成本的进一步降低, BSR-Seq 已成为小麦基因快速定位的常规方法。

近年来, 六倍体小麦中国春(AABBDD)、Fielder、Zang1817、矮抗 58 和野生二粒小麦 Zavitán(AABB)的全基因组参考序列已公布^[26, 61-62], 粗山羊草、乌拉尔图小麦和其他面包小麦等的基因组也已完成深度测序并用于图谱构建^[23-26]。这些参考基因组的研究成果为高通量的 DNA 变异检测技术提供了基础, 进一步促进了 SNP 标记的开发^[63], 对作物重要性状的研究变得更加快捷和准确, 使得聚合多个抗病基因进行分子标记辅助选择成为可能^[64-66]。

5 小麦条锈病成株抗性基因应用

目前, 对条锈菌小种 CYR34 和其他优势小种, 仅有少数基因如 *Yr5* 和 *Yr15* 表现抗性。在对甘肃省的 400 多份育成品种和抗源进行基因检测时, 并未发现携带 *Yr5* 和 *Yr15* 的材料, 有近 30% 的品种表现出成株抗性, 包括兰天 215、兰天 653、兰天 131 以及兰航选 151 和兰航选 121 等(本课题组尚未发表数据)。可见, 利用分子标记聚合多个抗病基因培育持久抗性品种非常有必要。分子标记辅助选择能够加速持久抗性品种选育进程和提高育种效率^[67-69]。过去几十年国内已经开始重视成株抗性基因的作用, 并在 21 世纪初取得

了重要进展,包括成株抗性 QTL 定位及在抗病品种培育中的应用,四川省农业科学院和云南省农业科学院培育出了数个慢病性小麦品种^[70]。甘肃省农业科学院最近几年利用携带 *Yr30/Lr27/Pmx/Sr2*、*Yr18/Lr34/Pm38/Sr57*、*Yr29/Lr46/Pm39/Sr58* 和周 8425B 等材料进行基因聚合育种,通过田间病害接种表型鉴定和分子标记辅助选择等方法,培育出了一批抗性优异的新品系,其抗性遗传机制正在研究中。国际上,许多国家早已将成株抗性的利用作为小麦抗病育种的主要方向。国际玉米小麦改良中心(CIMMYT)在成株抗性的应用方面取得了重要进展,CIMMYT 材料中约 60%携带成株抗性基因,携带 *Yr18/Lr34/Sr57/Pm38* 基因的材料在世界各地得到广泛种植,并聚合了多个成株抗性基因,如 *Yr18/Lr34/Sr57/Pm38*、*Yr29/Lr46/Sr58/Pm39* 和 *Yr46/Lr67/Sr55/Pm46*,获得了抗几种病害的持久抗性品种^[70-74]。美国将高温成株抗性用于育种和生产实践^[75-76],澳大利亚和欧洲也采用类似方法^[77-78]。育种和生产实践证明,成株抗性品种的选育和应用对于延缓抗性丧失、控制条锈病流行和确保国家粮食安全具有重要意义。

6 小结与建议

条锈病是我国小麦生产上严重影响产量的气传病害,培育和种植持久抗病品种是防治该病害最经济有效的策略。发掘丰产抗病小麦种质、解析其遗传机制、开发分子标记是以基因聚合培育持久抗病品种的重要基础。我们对小麦的抗病性、分子标记、抗病基因定位方法、抗条锈基因/QTL 定位进展及条锈病成株抗性基因在育种中的应用进行了综述。小麦抗病性分为 ASR 和 APR,ASR 为全生育期抗性、具小种专业化性、抗性容易丧失,在生产中一般可保持抗性 2~3 a;APR 一般表现苗期感病,成株期抗病,在生产中抗性可保持多年,有利于延缓品种抗性丧失。甘肃陇南地区夏季冷凉,是小麦条锈菌的核心越冬区和新小种的发源地,在我国条锈病综合防控中居战略性地位,该地区需种植 ASR 品种,否则,如大量种植 APR 品种,甘肃陇南等地的苗期发病程度可能会加重,从而为我国小麦主产区提供大量的菌源,导致小麦主产区条锈病大流行。继续挖掘小麦本身及其近缘种的有效抗病基因,强化抗源的多元化,注

重多个抗病基因的累加,制定精确的慢病性鉴定标准,培育持久稳定的抗病品种,合理布局不同抗源类型,降低品种对病原菌生理小种的选择压力,对延缓品种抗性的丧失、控制条锈病流行及保障国家粮食安全具有重要意义。

分子标记种类多,根据其核心技术分为三类。第一类以 Southern 杂交为核心的 RFLP 技术;第二类是基于 PCR 的 RAPD、SSR、AFLP、STS、RGAP 等技术;第三类是基于 DNA 序列的 EST、DArT 和 SNP 等技术。目前抗病基因定位主要依赖于双亲连锁分析和全基因组关联分析等,随着小麦基因组参考序列的释放,基因组分型(GBS)、外显子捕获(WES)、全基因组重测序(WAS)和转录组测序(RNA-Seq)等技术广泛地应用于抗病基因定位及其遗传机制的解析。到目前为止已正式定位的条锈病基因 86 个,58 个为全生育期抗性基因,28 个为成株期抗性基因;另外,还有众多未正式命名的基因。目前部分抗病基因已应用于国内外小麦育种,为持久抗性小麦新品种培育和条锈病持续控制发挥了重要作用。正式命名和暂时定名的基因可在小麦育种和生产中选择性应用,基因本身及分子标记的发掘使结合多基因聚合和分子标记辅助选择培育持久抗病、兼抗性品种成为可能。

参考文献:

- [1] WAN A M, ZHAO Z 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: 896-904.
- [2] HAN D J, WANG Q L, CHEN X M, et al. Emerging Yr26-virulent races of *Puccinia striiformis* f. triticiare threatening wheat production in the Sichuan basin, China[J]. *PlantDisease*, 2015, 99(6): 754-760.
- [3] 黄冲,姜玉英,李佩玲,等. 2017 年我国小麦条锈病流行特点及重发原因分析[J]. *植物保护*, 2017, 43(2): 162-166.
- [4] 刘万才,王保通,赵中华,等. 2022 年我国小麦条锈病历史大流行的历史回顾与对策建议[J]. *中国植保导刊*, 2022, 42(6): 21-27; 41.
- [5] ZADOKS J C. Yellow rust on wheat: Studies in epidemiology and physiologic specialization[J]. *Tijdschrift Over Planteziekten*, 1961, 67: 69-256.

- [6] SINGH R P, NELSON J C, SORRELLS M E. Mapping Yr28 and other genes for resistance to stripe rust in wheat [J]. *Crop Science*, 2000, 40: 1148–1155.
- [7] BÖRNER A, RÖDER M S, UNGER O, et al. The detection and molecular mapping of a major gene for non-specific adult-plant disease resistance against stripe rust (*Puccinia striiformis*) in wheat [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2000, 100: 1095–1099.
- [8] MCINTOSH R, MU J M, HAN D J, et al. Wheat stripe rust resistance gene *Yr24/Yr26*: A retrospective review [J]. *The Crop Journal*, 2018, 6: 321–329.
- [9] SIMKO I, COSTANZO S, HAYNES K G, et al. Linkage disequilibrium mapping of a *Verticillium dahliae* resistance quantitative trait locus in tetraploid potato (*Solanum tuberosum*) through a candidate gene approach [J]. *Theor Appl Genet*, 2004, 108: 217–224.
- [10] HUANG X H, WEI X H, SANG T, et al. Genome-wide association studies of 14 agronomic traits in rice landraces [J]. *Nature*, 2010, 42(11): 961–967
- [11] LU Y L, ZHANG S H, SHAH T, et al. Joint linkage-linkage disequilibrium mapping is a powerful approach to detecting quantitative trait loci underlying drought tolerance in maize [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(45): 19585–19590.
- [12] MATTHEW D ROBBINS, SUNG-CHUR SIM, WENCAI YANG, et al. Mapping and linkage disequilibrium analysis with a genome-wide collection of SNPs that detect polymorphism in cultivated tomato [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2011, (62) 6: 1831–1845.
- [13] THORNSBERRY J M, GOODMAN M M, DOEBLEY J, et al. Dwarf8 polymorphisms associated with variation in flowering time [J]. *Nat Genet*, 2001, 28(3): 286–289.
- [14] MACCAFERRI M, SANGUINETI M C, DEMONTIS A, et al. Association mapping in durum wheat grown across a broad range of water regimes [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2011, (62)2: 409–438.
- [15] BRESEGHELLO F, SORRELLS M E. Association mapping of kernel size and milling quality in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars [J]. *Genetics*, 2006, 172: 1165–1177.
- [16] LE GOUIS J, BORDES J, RAVEL C, et al. Genome-wide association analysis to identify chromosomal regions determining components of earliness in wheat [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2012, 124(3): 597–611.
- [17] HAO C Y, WANG Y Q, HOU J, et al. Association mapping and haplotype analysis of a 3.1-Mb genomic region involved in fusarium head blight resistance on wheat chromosome 3BS [J]. *PLOS ONE*, 2012, 7(10): e46444.
- [18] WU J H, WANG Q L, LIU S J, et al. Saturation mapping of a major effect QTL for stripe rust resistance on wheat chromosome 2B in cultivar Napo 63 using SNP genotyping arrays [J]. *Frontiers in plant science*, 2017, 8: 653.
- [19] MU J M, HUANG S, LIU S J, et al. Genetic architecture of wheat stripe rust resistance revealed by combining QTL mapping using SNP based genetic maps and bulked segregant analysis [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2019, 132(2): 443–455.
- [20] ZHOU X L, HU T, LI X, et al. Genome wide mapping of adult plant stripe rust resistance in wheat cultivar Toni [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2019, 132 (7): 1693.
- [21] FLINT-GARCIA S A, THUILLET A C, YU J M, et al. Maize association population: a high-resolution platform for quantitative trait locus dissection [J]. *Plant J*, 2005, 44: 1054–1064.
- [22] DUCROCQ S, GIAUFFRET C, MADUR D, et al. Fine mapping and haplotype structure analysis of a major flowering time quantitative trait locus on maize chromosome 10 [J]. *Genetics* 2009, 183: 1555–1563.
- [23] JIA J, ZHAO S, KONG X, et al. *Aegilops tauschii* draft genome sequence reveals a gene repertoire for wheat adaptation [J]. *Nature*, 2013, 496(7443): 91–95.
- [24] LING H Q, ZHAO S, LIU D, et al. Draft genome of the wheat A-genome progenitor *Triticum urartu* [J]. *Nature*, 2013, 496(7443): 87–90.
- [25] CHAPMAN J A, MASCHER M, BULUC A, et al. A whole-genome shotgun approach for assembling and anchoring the hexaploid bread wheat genome [J]. *Genome Biology*, 2015, 16(1): 26.
- [26] AVNI R, NAVE M, BARAD O, et al. Wild emmer genome architecture and diversity elucidate wheat evolution and domestication [J]. *Science*, 2017, 357(6346): 93–97.
- [27] VARSHNEY R K, TERAUCHI R, McCouch S R. Harvesting the Promising Fruits of Genomics: Applying Genome Sequencing Technologies to Crop Breeding [J]. *PLoS Biol*, 2014, 12(6): e1001883.
- [28] TRICK M, ADAMSKI N, MUGFORD S G, 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 Biology*, 2012, 12(1): 1–17.
- [29] RAMIREZ-GONZALEZ R H, SEGOVIA V, BIRD N, et al. RNA-Seq bulked segregant analysis enables the identification of high-resolution genetic markers for breeding in hexaploid wheat[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2015, 13 (5): 613–624.
- [30] KLYMIUK V, YANIV E, HUANG L, et al. Cloning of the wheat Yr15 resistance gene sheds light on the plant tandem kinase-pseudokinase family[J]. *Nature Communications*, 2018, 9:3735.
- [31] ELSHIRE R J, GLAUBITZ J C, SUN Q, et al. A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species[J]. *PLOS ONE*, 2011, 6(5): e19379.
- [32] GUO W L, XIN M M, WANG Z H. et al. Origin and adaptation to high altitude of Tibetan semi-wild wheat [J]. *Nature Communications*, 2020, 11: 5085
- [33] HAO C, JIAO C, HOU J, et al. Resequencing of 145 cultivars reveals asymmetric sub-genome selection and strong founder genotype effects on wheat breeding in China. *Molecular Plant*, 2020, 13(12): 1733–1751.
- [34] ZHOU Y, ZHAO X B, LI Y W, et al. Triticum population sequencing provides insights into wheat adaptation [J]. *Nature Genetics*. 2020,52: 1412–1422.
- [35] DONG Y, XU D A, XU X W, et al. Fine mapping of QPm.caas 3BS, a stable QTL for adult⁺ plant resistance to powdery mildew in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2022, 135(3): 1083–1099.
- [36] ZHAO D H, YANG L, LIU D, et al. Fine mapping and validation of a major QTL for grain weight on chromosome 5B in bread wheat[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2021, 134(9): 3731–3741.
- [37] LI, Y T, XIONG H C, ZHANG J Z, et al. Genome-wide and exome-capturing sequencing of a gamma-ray-induced mutant reveals biased variations in common wheat [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022,12: 793496
- [38] COSART T, BEJA-PEREIRA A, CHEN S Y, et al. Exome-wide DNA capture and next generation sequencing in domestic and wild species[J]. *BMC Genomics* 2011, 12:347.
- [39] GUO Y, LONG J R, HE J, et al. Exome sequencing generates high quality data in non-target regions[J]. *BMC Genomics*, 2012, 13: 194.
- [40] HENRY I M, NAGALAKSHMI U, LIEBERMAN M C, et al. Efficient genome-wide detection and cataloging of EMS-induced mutations using exome capture and next-generation sequencing[J]. *The Plant Cell*, 2014, 26: 1382–1397.
- [41] KAUR P, GAIKWAD K. From Genomes to GENE-omes: exome sequencing concept and applications in crop improvement [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 2164.
- [42] SCHUIERER S, CARBONE W, KNEHR J, et al. A comprehensive assessment of RNA-seq protocols for degraded and low-quantity samples[J]. *BMC Genomics*, 2017, 18: 442.
- [43] QUAIL M A, SMITH M, COUPLAND P, et al. A tale of three next generation sequencing platforms: comparison of Ion Torrent, Pacific Biosciences and Illumina MiSeq sequencers[J]. *BMC Genomics*, 2012, 13: 341.
- [44] STEIJGER T, ABRIL J F, ENGSTRÖM P G, et al. Assessment of transcript reconstruction methods for RNA-seq[J]. *Nature Methods*, 2013, 10(12): 1177–1184.
- [45] ZHU Z, CAO Q, HAN D, et al. Molecular characterization and validation of adult-plant stripe rust resistance gene *Yr86* in Chinese wheat cultivar Zhongmai 895[J]. *Theor Appl Genet*, 2023, 136(6): 142–150.
- [46] JAN I, SARIPALLI G, KUMAR K, et al. Meta-QTLs and candidate genes for stripe rust resistance in wheat [J]. *Scientific Reports*, 2021, 11: 22923.
- [47] KRATTINGER S G, LAGUDAH E S, SPIELMEYER W, et al. A putative ABC transporter confers durable resistance to multiple fungal pathogens in wheat[J]. *Science*, 2009, 323(5919): 1360–1363.
- [48] SINGH R P, MUJEEB-KAZI A, HUERTA-ESPINO J. Lr46: a gene conferring slow-rusting resistance to leaf rust in wheat[J]. *Phytopathology*, 1998, 88: 890–894.
- [49] SINGH R P, NELSON J C, SORRELLS M E. Mapping Yr28 and other genes for resistance to stripe rust in wheat[J]. *Crop Science*, 2000, 40: 1148–1155.
- [50] MAGO R, TABE L, MCINTOSH R A, et al. A multiple resistance locus on chromosome arm 3BS in wheat confers resistance to stem rust (Sr2), leaf rust (Lr27) and powdery mildew[J]. *Theor Appl Genet*, 2011,123: 615–623.
- [51] MOORE J W, HERRERA-FOESSEL S, LAN C, et al. Recent evolution of a hexose transporter variant confers resistance to multiple pathogens in wheat[J]. *Nature Ge-*

- netics, 2015, 47: 1494–1498.
- [52] ZENG Q D, SHEN C, YUAN F P, et al. The resistance evaluation of the Yr genes to the main prevalent pathotypes of *Puccinia striiformis* f. sp. tritici in China [J]. *Acta Physica Sinica*, 2015, 45: 641–650.
- [53] WANG M N, CHEN X M. Stripe rust resistance, in: stripe rust [M]. Dordrecht, the Netherlands: Springer, 2017.
- [54] SINGH K, BATRA R, SHARMA S. et al. WheatQTLdb: A QTL database for wheat. *Mol [J]. Genet. Genom*, 2021, 296: 1051–1056.
- [55] XU Y B, CROUCH J H. Marker-assisted selection in plant breeding: from publications to practice [J]. *Crop Science*, 2008, 48: 391–407.
- [56] VARSHNEY R K, TERAUCHI R, MCCOUCH S R. Harvesting the promising fruits of genomics: applying genome sequencing technologies to crop breeding [J]. *PLoS Biology*, 2014, 12(6): e1001883.
- [57] WU J H, WANG Q L, LIU S J, et al. Saturation mapping of a major effect QTL for stripe rust resistance on wheat chromosome 2B in cultivar Napo 63 using SNP genotyping arrays [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 653.
- [58] DONG Z Z, HEGARTY JOSHUA M, ZHANG J L, et al. Validation and characterization of a QTL for adult plant resistance to stripe rust on wheat chromosome arm 6BS (*Yr78*) [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2017, 130: 2127–2137.
- [59] COBO N, WANJUGI H, LAGUDAH E, et al. A high-resolution map of wheat QYr.ucw-1BL, an adult plant stripe rust resistance locus in the same chromosomal region as *Yr29* [J]. *Plant Genome*, 2018, 12: 1–15
- [60] YANG F P, LIU J D, GUO Y, et al. Genome-wide association mapping of adult-plant resistance to stripe rust in common wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Plant disease*, 2020, 104(8): 2174–2180.
- [61] K SATO, F ABE, M MASCHER, et al. Chromosome-scale genome assembly of the transformation-amenable common wheat cultivar 'Fielder' [J]. *DNA Research*, 2021, 28(3): dsab008.
- [62] GUO W, XIN M, WANG Z, et al. Origin and adaptation to high altitude of semi-wild wheat [J]. *Nature communications*, 2020, 11: 5085
- [63] ALLEN A M, BARKER G L, BERRY S T, et al. Transcript-specific, single-nucleotide polymorphism discovery and linkage analysis in hexaploid bread wheat (*Triticum aestivum* L.). [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2011, 9(9): 1086–1099.
- [64] CHEN X M. Review Article: High-temperature adult-plant resistance, key for sustainable control of stripe rust [J]. *American Journal of Plant Sciences*, 2013, 4(3): 608–627.
- [65] ELLIS J G, Lagudah E S, Spielmeier W, et al. The past, present and future of breeding rust resistant wheat [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2014, 5: 1–13.
- [66] RASHEED A, WEN W E, GAO F M, et al. Development and validation of KASP assays for genes underpinning key economic traits in bread wheat [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2016, 129: 1843–1860.
- [67] SINGH R P, HUERTA-ESPINO J, RAJARAM S. Achieving near-immunity to leaf and stripe rusts in wheat by combining slow rusting resistance genes [J]. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica Hungary*, 2000, 35(1): 133–139.
- [68] CHHUNEJA P, KAUR S, GARG T, et al. Mapping of adult plant stripe rust resistance genes in diploid A genome wheat species and their transfer to bread wheat [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2008, 116: 313–324.
- [69] LU Y M, LAN C X, LIANG S S, et al. QTL mapping for adult-plant resistance to stripe rust in Italian common wheat cultivars Libellula and Strampelli [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2009, 119: 1349–1359.
- [70] 何中虎, 兰彩霞, 陈新民, 等. 小麦条锈病和白粉病成株抗性研究进展与展望 [J]. *中国农业科学*, 2011, 44(11): 2193–2215.
- [71] SINGH R P, HUERTA-ESPINO J, WILLIAM H M. Genetics and breeding for durable resistance to leaf and stripe rusts in wheat [J]. *Turk Journal of Agriculture Forestry*, 2005, 29: 121–127.
- [72] MARASAS C N, SMALE M, SINGH R P. The impact of agricultural maintenance research: The case of leaf rust resistance breeding in CIMMYT-related spring bread wheat. In: CD-ROM proceeding internal congress on impacts of agricultural research and development [C]. Mexico: CIMMYT, 2002.
- [73] SINGH R P, WILLIAM H M, HUERTA-ESPINO J, et al. Wheat rust in Asia: Meeting the challenges with old and new technologies. In: New directions for a diverse planet. proceedings of the 4th international crop science congress [C]. Brisbane: Australia, 2004.

- [74] WILLIAM H M, SINGH R P, HUERTA-ESPINO J, et al. Molecular marker mapping of leaf rust resistance gene Lr46 and its association with stripe rust resistance gene Yr29 in wheat[J]. *Phytopathology*, 2003, 93: 153-159.
- [75] CHEN X M, LINE R F. Gene action in wheat cultivars for durable, high-temperature, adult-plant resistance and interaction with race-specific, seedling resistance to *Puccinia striiformis*[J]. *Phytopathology* 1995, 85: 567-572.
- [76] 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: 793-802.
- [77] BARIANA H S, KAILASAPILLAI S, BROWN G N, et al. Marker assisted identification of Sr2 in the national cereal rust control program in Australia/Slinkard A E. proceedings of 9th international wheat and genetic symposium[M]. Saskatoon: University of Extension Press, University of, 1998, 3: 83-91.
- [78] BOUKHATEM N, BARET P V, MINGEOT D, et al. Quantitative trait loci for resistance against yellow rust in two wheat-derived recombinant inbred line populations[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2002, 104: 111-118.