

小麦抗条锈病分子标记辅助育种研究进展

畅喜云^{1,2}, 陈志国^{1*}, 窦全文¹, 刘瑞娟^{1,2}

(1. 中国科学院西北高原生物研究所, 青海西宁 810001; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100039)

摘要 小麦条锈病是小麦生产的主要病害之一。在中国, 尤其是西北麦区, 小麦条锈病是小麦生产面临的最严重问题。筛选和培育抗锈基因是防治小麦条锈病最为经济、安全、有效的方法。综述了分子标记辅助育种技术在小麦抗条锈病育种上的研究概况和发展运用。

关键词 小麦; 抗条锈基因(Yr 基因); 分子标记辅助育种(MAS); 微卫星标记(SSR); 数量性状基因座(QTL)

中图分类号 S512.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2005)09-1695-03

Survey of the Wheat Variety with the Resistance to Stripe Rust Disease

CHANG Xi-yun et al (Northwest Plateau Institute of Biology, the Chinese Academy of Sciences, Xining, Qinghai 810001)

Abstract Stripe rust (yellow rust) is one of the most devastating disease of wheat in the world. In China, especially western China, the stripe rust disease is the most serious problem for wheat production. Selecting and pyramiding resistance genes to stripe rust is the most economical, effective and safety way in breeding programme. The study on the development of molecular assistant marker in wheat breeding was mainly summarized in this paper.

Key words Wheat; Resistant genes (Yr genes); Stripe rust; Molecular marker assistant selection; SSR; QTL

小麦条锈病(*Puccinia striiformis* West. f. sp. *Tritici*)是小麦主要病害之一。筛选和培育抗病品种是防治小麦条锈病最为经济、安全和有效的方法。采用常规育种方法培育抗病品种虽然可以有效控制该病的发生与流行, 但耗时耗力, 难以适应条锈菌生理小种的变化速度。而分子标记辅助育种可有效缩短育种进程, 加快新品种的培育和利用, 从而达到有效控制小麦条锈病发生的目的。

1 小麦条锈病危害程度及流行趋势

小麦条锈病是由条形柄锈菌[小麦条锈菌(*Puccinia striiformis*)]引起的, 属真菌病害。条锈菌以夏孢子世代危害小麦, 主要在小麦叶片上重复侵染并迅速扩大危害范围, 导致植物养分消耗, 叶片干枯死亡, 从而失去光合作用能力, 最终影响小麦产量。据统计, 2002年小麦条锈病在我国大流行, 受灾面积约660万hm², 造成小麦大面积严重减产, 有些地区甚至颗粒无收。

自20世纪50年代以来, 我国条锈病流行区的主栽品种由于抗性的丧失, 已经进行了5~7次品种更替。1991~1993年, 在四川、甘肃等地区发现条中30、条中31小种以及H46和水源致病类型等生理小种, 使一些主栽品种丧失了抗病性。近年来产生的条中32生理小种, 毒性谱宽, 致病性强, 分布范围广, 出现频率高, 已成为目前小麦条锈病菌的优势小种^[1]。条中32对含Yr1, Yr2, Yr25, YrVII, Yr3a, Yr4a, Yr6, YrHK, Yr1, Yr22, Yr23, Yr9, YrCle, Yr17, Yr27, YrA, YrCV1, YrCV2, YrCV3, YrG, YrSO等基因的品种均具有毒性, 只有Yr5(*Triticum spelta album*), 中4, Mbro (Yr10, YrMbr)等基因能有效抵抗条中32。根据中国农业科学院植物保护研究所小种监测结果, 1997~2000年条中32所占比重在14%~24%, 2001年上升到28.79%, 成为目前唯一的优势小种, 也是毒力最强的小种。

2 小麦抗条锈病分子标记育种方法与手段

生产实践证明, 小麦育种是防治小麦条锈病最为经济、安全、有效的方法。传统育种是从分离后代中通过表型观察选择理想的重组基因型, 具有直观、简单的优点, 但费时费力, 需具备丰富的田间育种经验; 而且小麦大多数重要的性状都是数量性状, 容易受环境条件的影响, 选择的准确率较低。分子标记则通过是否与目标基因共分离或紧密连锁来判断目标基因是否存在, 直接以DNA的形式表现, 无组织特异性, 不受季节、环境限制, 数量多, 遍及整个基因组, 多态性高, 能够区分纯合基因型和杂合基因型, 不需要考虑作物生长条件和环境条件, 同时减少来自同一位点不同等位基因或不同位点的非等位基因间的互作干扰作用。分子标记在小麦育种的各个方面都得到广泛地应用, 并取得了较好的效果。但由于近年来小麦群体抗病基因严重的单一化, 抗病品种种植后, 虽然抑制原有病原菌生理小种的发展, 同时也诱导新的变异生理小种, 使其成为竞争优势和毒性更强、更广的新优势小种, 导致原有抗病品种失去抗性。在生产中尽快培育和利用新的持久抗病品种是防治该病的关键, 而分子标记技术为其提供了可能。分子标记可以通过遗传作图来发现基因或是控制重要特征的QTL, 同时结合两者来培育新品种。

分子标记辅助选择育种(molecular assisted selection, MAS)是现代分子生物学与传统遗传育种相结合的新育种方式和手段。通过分子标记辅助的回交转育可以减少回交次数和回交群体, 有利于快速累积目标基因, 明确育种目标, 提高选择效率, 可以创造具有多个抗病基因的持久抗性品系。分子标记辅助育种可以选择转基因作物的后代, 用于目标质量性状的选择和数量性状的选择(QTL)。目前在小麦分子标记研究中, 应用较多的是RFLP、RAPD、ISSR、SSR和AFLP技术。RFLP稳定性好, 技术复杂, 需要放射性同位素, 成本高, 在小麦上的多态性低; SSR需要预先测序, 合成特异引物; AFLP多态性高, 但具有RFLP类似的问题。RAPD技术相对操作简单, 不需预先测序, 引物可以通用, 检测位点多, 但重复性差; ISSR的引物不需要预先的DNA测序, 但可能在特定基因组中没有配对区域, 也没有扩增产物。由于SSR的简单

基金项目 中国科学院创新领域课题(CXL Y2002-6); 中国科学院、中共中央组织部“西部之光”人才培养计划专题; 青海省重点科技攻关项目。

作者简介 畅喜云(1976-), 女, 河南许昌人, 在读硕士生, 从事植物分子育种学研究。*通讯作者, E-mail: zgchen@mwipb.ac.cn。

收稿日期 2005-04-11

和高效,已经取代 RFLP 应用于大多数的植物杂交育种中。

微卫星 (micro-satellite or SSR) 在小麦抗病育种中应用广泛,尤其是分子连锁图谱的构建为标记和定位基因提供了便捷,而对于未知的基因可用 BSK (bulk segregant analysis) 的方法快速定位和标记。SSR 分布在小麦的整个基因组中,存在着较大的遗传变异性,能够检测到很高的多态性,而且是共显性分子标记,能够揭示等位基因位点的遗传差异。SSR 的显著特点在于其精确性,很适合小麦这样基因组庞大,而且只有 1/3 的同源位点被精确标记的植物。Roder 等^[2]在 1998 年构建了包含 279 个标记位点的小麦微卫星图谱,为小麦目的基因的定位和标记建立,特别是已知基因的标记建立提供了极大的方便。目前在已建立分子标记的抗条锈病基因中,8 个是由 SSR 分子标记构建的^[3~10]。近年来增加了对 ESTs (expressed sequence tags) 的利用,并已经用于许多植物的 SSR 标记。由于这些 SSR 是在 ESTs 基因中得到的,所以 EST-SSRs 展示了更大的潜力^[11~13]。EST-SSR 标记的引物设计遵

循 2 个原则:一是在超群分析的基础上设计多物种引物;二是物种特异引物设计的原则^[13]。ESTs 在小麦中应用的有效性为 DNA 分子标记提供了价值很高的资源,为进一步挖掘新的抗病资源提供了方便。

2.1 单基因控制的小麦条锈病抗病基因 小麦抗条锈病基因主要有 2 个来源:普通小麦;普通小麦的近缘属种。在已经发现命名的 32 个抗条锈病基因位点 Yr1 ~ Yr32 中,除了 Yr5, Yr8, Yr9, Yr15 来源于小麦近缘种 (Yr5, Yr8 Yr9 和 Yr15 分别来自斯卑尔脱小麦、顶芒山羊草、黑麦和野生二粒小麦),其他都来自于普通小麦,其中 Yr11, Yr12, Yr13, Yr14, Yr16, Yr18, Yr19, Yr20, Yr29, Yr30, Yr31, Yr32 为成株期抗病基因,其余为全生育期抗病基因,并发现在 Yr3、Yr4 位点上存在复等位基因现象 (表 1)。YrH52 是从六倍体小麦的祖先 *Triticum dicoccoides* 中得来的,被认为是一种新型的抗性基因,定位在 1B 染色体上^[14]。YrSp, YrSk, YrA, YrC591, YrGaby, YrH52 等基因发现和利用也提供了很好的小麦抗病资源。

表 1

小麦抗条锈基因

Yr 基因	染色体定位	连锁基因	基因来源	检测品种	检测品种中的其他基因
1	2A		Chinese 166	Chinese 166	
2	7B		Heines V 11	Heines V 11	H V 11
3a	1B		Vilmorin23	Vilmorin23	V 23
3b	1B		Hybrid 46	Hybrid 46	4b H 46
3c	1B		Minister	Minister	M in
4a	6B		Capelle-Desprez	Capelle-Desprez	3a ,16
4b	6B		Hybrid 46	Hybrid 46	4b ,H 46
5	2BL		L'itricum spelta album	T. spelta album	
6	7BS		Heines K6ben	Heines K6ben	2 , HK
7	2BL	Sr9 8	Lumillo durum	Lee	Lel Le2
8	2D	Sr3 4	T. comsa	Compair	Com
9	2BL	Sr31 Lr26	Imperial rye	Riebesel 47/ 51	
10	1BS		Moro	Moro	Mor
11			Joss Chambier	Joss Chambier	
12			Carbo	Mega	
13			Ibis	Maris Huntsman	
14			Falco	Maris Bibo	
15	1BS		Dippes T riump	T. dicoccoides G25	
16	2DS		Capelle-Desprez	Capelle-Desprez	3a ,4a
17	2AS		T. ventricosa	VPM 1	
18	7D		Frontana		
19	5B		Compare		
20	6D		Felder		
21	1B		Lemhi		
22	4D		Lee	Lee	7 , 23
23	6D		Lee	Lee	7 , 23
24	1B		K733 (durum)		
25	1D		TP1295	Strubes Dickkopf	
26	6AS		Haynaldia villosa (Daspyrum illosum)	扬麦 5 号 Yangmai 5	
27	2BS	Lr13	Selkirk		
28	4DS		T. tauschii W219		
29	1BL	Lr46	Lalbahadur	Lalbahadur	
30	3BS		Opata 85		

2.2 多基因控制的小麦 QIL 研究进展 QIL (quantative trait loci) 定位是分析整个染色体组的 DNA 标记与数量性状表型值的关系,从而将 QIL 定位到染色体的相应位置,并估计其遗传效应。其遗传原理是当标记与特定性状的 QIL 连锁,不同标记基因型个体的表型值将存在显著差异。QIL 分析工具能用来发掘决定性的 QR (quantitative genes)。QIL 的分子标记使用较少基因因素就可决定小麦复杂的特性——QR。有研究证明,QIL 等位基因的附加效应以及在杂交环境下具有表现一致的特点。在不同的基因背景下,定位决定性的 QR 基因,积累抗性基因在 QIL 位点上,可以产生持久抗性,分析 QIL 间的相互作用,从而可以提供独立有效的 QIL。自

从 1988 年 Paterson 等应用 RFLP 连锁图在番茄中定位 QIL 后,QIL 的研究取得了突破性的进展。有染色体工作组已在小麦 21 对染色体上得到 1 000 多个 RFLP 分子标记。小麦条锈病是无宿主的大麦攻击型的真菌类病害,即大多数大麦基因型对于小麦条锈病是有抗性的。有研究报道,在小麦 Lemhi 与 Chinese166 杂交实验中,发现 2 个主效的抗性 QIL 和次效的 2 个 QIL,分别位于染色体 1D,2B,5A,6A 上^[15];小麦条锈病成年期抗性主要是有 3 个以上位点控制的,小麦 Kariega 中,有 2 个主要的 QIL,分别位于 7D (QYr. sgi-7D),2B (QYr. sgi-2B₁) 染色体上。而且 (QYr. sgi-7D) 的抗性代表的是持久抗性基因,抗性比 2B (QYr. sgi-2B₁) 强,被认为是 Yr18^[16]。

在对 Yr32 的定位研究中在 Carstens V 和 Senat 品种都存在,其抗条锈性强。QTL 定位于染色体 1BL,4D,7DS^[17]。Yr15、YrH52 均与染色体 1B 上的 1 个 RFLP 标记(Nor1B)紧密连锁^[18]。

在大多数小麦 QTL 研究中主要采用 RFLP 标记,少数研究使用 AFLP、RAPD 等。RFLP 在小麦中的多态性不高,研究发展应用受到一定限制。在小麦等多种植物中 SSR 的多态性比 RFLP 高,因此 SSR 应用广泛。SSR 对于标记小麦,是一种非常有效的方法,而且一些 SSR 位点已经被标记在原有的 RFLP 分子连锁图上,这将更有利于发挥 SSR 在小麦遗传研究中的作用。

3 小麦抗条锈基因的生产利用情况

生产中,由于抗小麦条锈病基因具有很强的专化性,一个品种推广后快则 2~3 年,甚至当年,慢则 4~5 年就丧失抗条锈性。品种抗条锈性的丧失是导致我国小麦条锈病周期性大流行的最重要原因^[19,20]。对于品种丧失抗条锈性的原因,归结起来有 3 个方面:其一,抗病品种经过基因突变,由纯合抗病(RR)变为杂合抗病(Rr),再经自交重组,变为纯合感病(rr),使感病个体在群体中占有一定的比例,造成群体抗条锈性分化。其二,生产上所用小麦品种很少是严格的同质纯合体,这种遗传上细微的差异遇到某些病菌的毒性基因时,会出现表型上的差异;同时这种遗传上的差异提供了杂交重组的机会。其三,某些品种间发生了天然杂交,从而引起了抗条锈性的分化^[21]。

由于国内抗病品种布局的严重单一化,导致许多抗性基因的抗性很快丧失。目前只有 YR5、YR10 等极少数抗条锈病基因对我国强优势生理小种条中 30、31 号仍表现免疫或高度抵抗^[22],而且小麦抗条锈病基因 yr10 可抵抗我国目前出现的所有条锈菌生理小种,但在生产上还基本上没有被利用^[23]。为此,应加强对这些抗源材料的研究与利用;同时寻找新的抗源并有效的利用垂直抗病基因;导入外源抗病新基因,选育具有多个抗性基因的新品种。通过抗源多样化来减少病原菌的选择压力,也是防止或延缓抗病性丧失的有效途径。目前 YW243^[24](定位在 3AL 上)和 Yr5 基因都来自于 *T. spelta* var. *album*,它们抗谱相同。YW243 兼抗小麦黄矮病、白粉病、条锈病、秆锈病和叶锈病等 5 种病害,是一个优良多抗材料,已被广泛应用于抗病育种中。

4 展望

小麦条锈病菌生理小种多,常多个小种并存,混合发生,适应范围广,变异快,而且单基因控制的抗性易丧失,导致培育的小麦品种抗性不断被新出现的小种所破坏。所以加强小麦条锈菌生理小种的监测工作,并结合合理布局抗病基因,从而选育具有多个抗病基因组合的持久抗性品种,有目的的将多个抗病基因聚合在同一个品种中,实现抗原累积,从而更快的培育抗病新品种,提高抗病品种的使用年限^[25]。为实现抗病品种的持久抗性,就要减缓病原物生理变化和延缓抗病性丧失过程,采用抗源轮换、抗源布局、抗源多样化、抗源积累和培育多系品种,应用水平抗性品种等方法来实现,同时加强对现有抗源材料的利用。虽然有些抗性基因无法单独利用,但可以与其他抗性较好的基因组合使用,拓宽

抗性谱,培育多抗性的品种。同时进一步挖掘小麦本身资源(尤其是抗性较好的地方品种和农家品种)和小麦的近缘属种,对其含有的抗条锈病基因,进行标记定位转育,尽快应用于生产品种中,以此拓宽小麦抗谱,培育抗性更加持久而稳定的品种。

参考文献

- 李振岐,曾士迈. 中国小麦锈病[M]. 北京:中国农业出版社,2002.
- Robert O Abeland, C Dedyryer F. Identification of molecular markers for the detection of the yellow rust resistance gene Yr17 in wheat[J]. *Molecular Breeding*, 1999, 56:167-175.
- 马渐新. 小麦抗条锈病新基因的鉴定、定位及分子作图[D]. 北京:中国农业科学院,1999.
- 王兰芬. 小麦白粉病、条锈病抗性基因的遗传分析及分子标记[D]. 北京:中国农业科学院,1999.
- Robert O Abeland, C Dedyryer F. Identification of molecular markers for the detection of the yellow rust resistance gene Yr17 in wheat[J]. *Molecular Breeding*, 1999, 56:167-175.
- Sun G L, Fahima T, Korol A B, et al. Identification of molecular markers linked to the Yr15 stripe rust resistance gene of wheat originate in wild emmer wheat, *Triticum dicoccoides*[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1997, 95:622-628.
- Peng J H, Fahima T, Roder M S, et al. Microsatellite tagging of the stripe - rust resistance gene yrH52 derive from wild emmer wheat, *Triticum dicoccoides*, and suggestive negative crossover interference on chromosome 1B[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1999, 98:862-872.
- 魏艳玲,倪中福,解超杰,等. 来自斯卑尔脱小麦新的抗条锈病基因 Yr-Sp 的分子标记定位[J]. 农业生物技术学报,2003, 11(1):30-33.
- 林凤,徐世昌,张力军,等. 小麦抗条锈病基因 Yr2 的 SSR 标记[J]. 麦粒作物学报,2005, 25(1):17-19.
- M Irtiaz. Detection of molecular markers linked to the durable adult plant stripe rust resistance gene Yr18 in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Plant Breeding*, 2004, 123(5):401-404.
- Gao L F, Jing R L, Huo N X, et al. One hundred and one microsatellite loci derived from ESTs (EST-SSRs) in bread wheat [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2004, 5(7):1392-1400.
- Gupta P K, Rustgi S, Sharma S, et al. Transferable EST-SSR markers for the study of polymorphism and genetic diversity in breeding wheat [J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2003, 270(4):315-323.
- Yu J K, La Rota M, Kantety R V, et al. EST derived SSR markers for comparative mapping in wheat and rice [J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2004, 27(6):742-751.
- Peng J H, Fahima M S Roder, Y C Li, et al. SSR tagging of the stripe rust gene YrH52 derived from wild emmer wheat, *Triticum*, *dicoccoides* and suggestive negatives crossover interference on chromosome 1B[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1999, 98(6):862-872.
- Rodrigues P, Garrod J M. The genetics of non-host disease resistance in wheat to barley yellow rust [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2004, 109(2):425-432.
- Ramburan V P, Pretorius Z A, Louw J H, et al. A genetic analysis of adult plant resistance to stripe rust in the wheat cultivar Kariega [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2004, 108(7):1426-1433.
- Gupta P K, Varshney R K, Sharma P C, et al. Molecular markers and their applications in wheat breeding [J]. *Plant breeding*, 1999, 118:369-390.
- Eriksen L, Afshari F, Christiansen M J, et al. Yr32 for resistance to stripe rust present in the wheat cultivar Carsten [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2004, 108(3):567-576.
- 王凤乐. 中国小麦条锈菌毒性变异研究[J]. 中国农业科学, 1995, 28(1):8-14.
- 杨华安, 吴立仁. 我国小麦条锈菌生理小种毒性基因及致病特点分析[J]. 植物病理学报, 1990, 20(3):213-217.
- 井金学, 商鸿生, 李振岐, 等. 小麦品种抗条锈分化的初步研究[J]. 植物病理学报, 1997, 27(1):9-16.
- 王凤乐, 吴立仁, 徐世昌, 等. 5 绵阳系小麦抗条锈病变异的系统调查[J]. 植物病理学报, 1996, 26:105-109.
- 邵映田, 牛永春, 朱立煌, 等. 小麦抗条锈病基因 yr10 的 AFLP 标记[J]. 科学通报, 2001, 46(8):669-672.
- 刘朝辉, 林志珊, 陈孝, 等. 小麦新种质 YW243 抗条锈病基因的染色体定位[J]. 麦粒作物学报, 2005, 25(1):13-16.
- 李振岐. 我国小麦品种抗条锈性丧失原因及其解决途径[J]. 中国农业科学, 1980, 13(3):72-76.