

小麦农家品种武都白茧儿抗条锈病基因遗传定位

董亚超^{1,2}, 董艳³, 赵聪², 李雷², 商航¹, 肖永贵², 白斌⁴, 夏先春^{1,2}, 刘金栋², 耿洪伟¹

(¹新疆农业大学农学院, 乌鲁木齐 830052; ²中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081; ³宁夏农林科学院

农作物研究所, 银川 750002; ⁴甘肃农业科学院小麦研究所, 兰州 730030)

摘要:小麦条锈病是由条形柄锈菌(*Pst*, *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*)引起的一种全球性重要真菌病害,严重影响小麦生产安全。发掘抗病基因,培育抗病品种是防治条锈病最为经济有效和安全的方法。武都白茧儿是甘肃陇南小麦农家品种,在整个生育期都表现出中到高抗条锈病,但其抗性基因尚不明晰。为解析武都白茧儿的条锈病抗性遗传机制,本研究利用抗病亲本武都白茧儿和感病亲本辉县红配制杂交组合,利用条锈菌生理小种V31/lab对其F₂和F_{2,3}群体进行苗期接种鉴定,结合混池测序和连锁分析定位抗性基因。结果表明,武都白茧儿对V31/lab抗性由一对隐性基因控制,暂命名为*yrWUD*。根据F₂群体的混池外显子捕获测序和混池转录组测序结果,开发了12个高通量的KASP标记;通过连锁分析,将*yrWUD*定位在4AL染色体的2.6 cM遗传区间内,与侧翼标记4AL36和4AL11的遗传距离分别为0.9 cM和1.7 cM,对应13 Mb的物理区间(4A: 610.26~623.35 Mb),其中3个抗病相关基因*TraesCS4A02G329100*、*TraesCS4A02G330000*和*TraesCS4A02G330100*在抗感池中差异表达,推测为*yrWUD*的候选基因。本研究定位了武都白茧儿的抗性基因*yrWUD*,用KASP标记4AL36在自然群体中检测了该基因的等位基因,研究结果为小麦抗条锈病育种提供了新基因和分子标记。

关键词:小麦;条锈病;基因定位;分子标记;BSE-seq;BSR-Seq

Genetic Mapping of Stripe Rust Resistance Gene/Locus in Landrace Wheat Wudubaijianer

DONG Yachao^{1,2}, DONG Yan³, ZHAO Cong², LI Lei², SHANG Hang¹, XIAO Yonggui²,

BAI Bin⁴, XIA Xianchun^{1,2}, LIU Jindong², GENG Hongwei¹

(¹College of Agronomy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052; ²Institute of Crop Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081; ³Crop Research Institute, Ningxia Academy of Agricultural and Forestry Sciences,

Yinchuan 750002; ⁴Wheat Research Institute, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730030)

Abstract: Stripe rust, caused by *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* (*Pst*), is a global devastating fungal disease that severely affects wheat production. Exploring resistance genes and their use in breeding are the most economical and effective method for controlling stripe rust. Wudubaijianer, a wheat landrace from Longnan region, Gansu province, China, showed moderate to high resistance to stripe rust in the lifecycle, but the resistance basis remains unclear. To decipher its genetic mechanism of stripe rust resistance, the F₂ and F_{2,3} populations derived from a cross between Wudubaijianer and a susceptible parent Huixianhong were inoculated with the *Pst* race V31/lab at the seedling stage, and were sampled for BSE-Seq (Bulked segregant exome capture sequencing), BSR-Seq (Bulked segregant RNA-Seq) and linkage analysis. The results indicated that resistance to V31/lab in Wudubaijianer was conferred by a recessive locus, tentatively designated *yrWUD*. Based on BSE-Seq and BSR-Seq, 12 KASP (Kompetitive allele-specific PCR) markers were developed. The linkage analysis

收稿日期: 2024-01-02 网络出版日期: 2024-05-22

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20240102002>

第一作者研究方向为作物遗传育种, E-mail: 1669626641@qq.com

通信作者: 耿洪伟, 研究方向为作物遗传育种, E-mail: hw-geng@163.com

刘金栋, 研究方向为作物遗传育种, E-mail: liujindong@caas.cn

基金项目: 中国科学技术协会青年人才托举工程计划(2020QNRC001); 国家自然科学基金(32272186); 中国农业科学院南繁研究专项(YBXM2303)

Foundation projects: The Young Elite Scientists Sponsorship Program by China Association for Science and Technology (2020QNRC001); National Natural Science Foundation of China (32272186); Nanfan Special Project, Chinese Academy of Agricultural Sciences (YBXM2303)

mapped *yrWUD* to a 2.6 cM genetic interval on chromosome 4AL, flanked by markers *4AL36* and *4AL11* with genetic distance of 0.9 and 1.7 cM, respectively, corresponding to a physical interval of 13 Mb (4A: 610.26-623.35Mb) harboring three disease-resistance related genes, *TraesCS4A02G329100*, *TraesCS4A02G330000* and *TraesCS4A02G330100*. These three genes were detected with differential expression between the resistant and susceptible pools, and were proposed as candidate genes for *yrWUD*. Additionally, the KASP marker *4AL36* was validated in a natural population. Collectively, this study identified a stripe rust resistance locus *yrWUD* in Wudubaijiaener and validated its effect in a natural population, providing a new resistance gene and molecular markers for selecting stripe rust resistance in wheat breeding.

Key words: wheat; stripe rust; gene mapping; molecular markers; BSE-seq; BSR-Seq

小麦(*Triticum aestivum* L.)是世界上最重要的粮食作物之一。因其广泛的适应性,在世界各地均有种植,年产量逾6.2亿吨,全世界30%以上的人口以小麦为主粮^[1-2]。我国是小麦生产和消费大国,小麦种植面积和产量仅次于玉米和水稻^[3]。小麦生育期较长,常受到多种病害威胁。由条形柄锈菌小麦专化型(*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*)引起的小麦条锈病是气传性叶部真菌病害^[4],可导致区域性减产0.1%~5%,严重时减产可达5~25%^[5],具有传播快、易流行爆发、防控难度大的特点^[6]。我国一直是条锈病发病范围最广、受害最重的国家,平均每年发生面积约400万公顷^[7]。培育抗病品种是防治条锈病最为经济、有效和绿色的策略^[8-9]。然而,近年来由于新的条锈菌生理小种和致病类型不断出现和变化,导致我国大部分地区小麦主栽品种丧失抗性^[10]。因此挖掘新的抗条锈病基因,对实现小麦品种抗性的遗传多样性具有重要意义^[11-12]。小麦抗条锈病类型可以分为成株抗性(APR, adult-plant resistance)和全生育期抗性(ASR, all-stage resistance)2种类型^[13]。全生育期抗性多数由单基因或寡基因控制,在整个生育期表现抗病,易因小种变化丧失抗性。目前,国际上正式命名的小麦抗条锈病基因有86个(*Yr1*~*Yr86*)^[14-15],位于除1A染色体外的所有染色体上,另有60多个暂时命名的抗条锈病基因、300多个抗条锈病数量遗传位点(QTL, quantitative trait loci)被报道。这些抗条锈基因主要来源于普通小麦,还有一部分来自于小麦的近缘属种,如六倍体斯卑尔脱小麦(*Triticum spelta* L., *Yr5*)、四倍体硬粒小麦(*Triticum turgidum* spp. *durum*, *Yr7*)、野生二粒小麦(*Triticum dicoccoides*, *Yr15*、*Yr35*和*Yr36*)和圆锥小麦(*Triticum turgidum* L., *Yr24*/*Yr26*)等^[16]。在已正式命名的基因中,绝大多数基因属于全生育期抗性类型。目前有7个ASR基因被克隆:*Yr5*/*Yr7*/*YrSP*、*Yr10*、*Yr15*、*YrAS2388* (*Yr28*)、*YrUI*^[17-23]。Liu等^[18]成功克隆了*Yr10*,发现

其编码卷曲螺旋结构域的核苷酸结合位点和富亮氨酸重复结构域蛋白(CC-NBS-LRR, coiled-coil and nucleotide-binding site and leucine-rich repeat)。Marchal等^[19]利用MutRenSeq技术克隆了*Yr5*、*Yr7*和*YrSP*基因,这3个基因成簇分布在小麦2B染色体上,虽然三者都是编码核苷酸结合位点和富亮氨酸重复结构域(NBS-LRR, nucleotide-binding site and leucine-rich repeat)结构的基因,但是在羟基端还包含一个非典型锌指结构的DNA结合域。Klymiuk等^[20]从野生二粒小麦中克隆了*Yr15*,编码串联激酶结构域蛋白。Zhang等^[21]在节节麦中克隆了*YrAS2388*,该基因编码一个N端具有四螺旋束的核苷酸寡聚结构域类受体蛋白。Wang等^[22]在乌拉尔图中克隆了*YrUI*,该基因编码一个特殊的核苷酸结合位点富含亮氨酸重复序列(NLR, nucleotide-binding leucine-rich repeat)蛋白,与已经报道的NLR蛋白都不同,其N端连接一个额外的N端锚蛋白(ANK)结构域,C端连接一个额外的WRKY结构域,这种类型的蛋白只存在于小麦属作物中。

小麦农家品种中蕴藏着丰富的抗病基因,是挖掘新的抗性基因的宝贵资源^[23-24]。武都白茧儿是甘肃陇南地区的小麦农家品种,在整个生育期对条锈病表现出中到高抗,是当地条锈病抗性育种的优异抗源。本研究利用条锈菌小种V31/lab对武都白茧儿和辉县红杂交后代群体进行苗期抗病鉴定,解析武都白茧儿的条锈病抗性遗传,对抗病基因进行定位并开发分子标记,最终为小麦抗条锈病育种提供新的抗性基因和育种可用的分子标记。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究构建了抗病亲本武都白茧儿与感病亲本辉县红的F₂和F_{2,3}群体。146份黄淮麦区骨干品种(系),用于验证*yrWUD*的遗传效应。铭贤169不

含抗条锈病基因,全生育期高感条锈病,用作繁殖材料和感病对照。所有实验材料均由中国农业科学院国家小麦改良中心提供。条锈菌生理小种 V31/lab, CYR32 和 V26 由西北农林科技大学农学院吴建辉博士提供。菌种繁殖和材料鉴定均于 2022-2023 和 2023-2024 年度在中国农业科学院作物科学研究所国家小麦改良中心可控温室进行。将武都白茧儿、辉县红及其 F_1 、 F_2 和 $F_{2,3}$ 的种子种在 $8 \times 8 \times 8 \text{ cm}^3$ 的塑料培育盆中,对于两个亲本及 F_1 、 F_2 每盆均匀点播 12 粒,对于 $F_{2,3}$ 家系每盆种 20 粒左右并设置一个重复以确保鉴定结果的可靠性。待幼苗长至两叶一心时开始接种。按照六级分级标准(0、0;、1、2、3、4)记载实验材料的侵染类型(IT, infection type),侵染类型为 0~2 划为抗病(R, resistance)类型,其中近免疫表现为叶片上产生枯死斑点或失绿反应,不产生夏孢子堆(IT=0;), 3~4 划为感病(S, susceptible)类型,其中高感表现为夏孢子堆大面多,周围的叶片组织不褪绿(IT=4)^[25]。采用 PVP40 的方法,提取植物基因组 DNA。

1.2 混池测序分析

根据苗期鉴定结果,从武都白茧儿×辉县红 F_2 的群体中选取 104 个抗病单株和 104 个感病单株构建抗池和感池,分别命名为 21WHF-R 和 21WHF-S, 进行混池外显子捕获测序(BSE-Seq, bulked segregant exome capture sequencing)和混池转录组测序(BSR-Seq, bulked segregant RNA-Seq)分析。外显子捕获测序及数据分析由成都天成未来科技有限公司完成,对于 BSE-Seq, 每个混池测序数据量为 20.0 G。抗池和感池最大杂合率为 0.1, 最小 Reads depth 设置为 5。应用 ED 算法获得最显著的变异连锁区段,通过计算不同混池间各突变型的频率距离,采用距离差异来反映标记与目标区域的连锁强度。其中, mut 与 wt 分别代表突变型混池(21WHF-S)、野生型混池(21WHF-R), A、C、G、T 表示标记位点各突变型所占测序 Reads 的比例。根据得到的混池间的 SNP 位点集及基因型的深度信息,计算混池间的突变频率差异,即欧几里得距离(ED, euclidean distance)值。为降低单个 SNP 位点计算带来的偏差,需要对得到的结果进行拟合^[26]。

BSR-Seq 及数据分析由诺禾致源完成,对于 BSR-Seq, 每混池测序数据量为 10.0 G。通过计算抗池和感池间 SNP index 的差值,获得与抗病基因紧密连锁的核苷酸多态性位点。

1.3 标记开发与验证

根据 BSE-Seq 和 BSR-Seq 提供的候选 SNP 设

计测序引物。对于真实存在且在双亲间有差异的 SNP, 将其侧翼序列提交至 PolyMarker (<http://www.polymarker.info/>), 选取符合条件的引物, 加上 FAM 和 HEX 接头进行合成; 使用 24 个 DNA 样品对竞争性等位基因特异性 PCR (KASP, kompetitive allele-specific PCR) 标记引物进行初筛, 包括 9 个纯合抗病和 9 个纯合感病 F_2 单株, 武都白茧儿(2 个样品), 辉县红(2 个样品)和武都白茧儿×辉县红 F_1 (2 个样品)。选取纯合抗病与武都白茧儿分型一致, 纯合感病与辉县红分型一致的 KASP 标记检测 F_2 和 $F_{2,3}$ 群体。

KASP 反应总体系为 5 μL , 包含 2×KASP Master Mix (北京嘉程生物科技有限公司) 2.5 μL 、KASP Assay Mix (引物混合液: 100 $\mu\text{mol/L}$ 的引物 A、B 各 12 μL , 引物 C 30 μL , 水 46 μL) 0.07 μL 、浓度为 20 ng/ μL 的模板 DNA 2.43 μL 。KASP 反应程序为 94 $^{\circ}\text{C}$, 15 min; 94 $^{\circ}\text{C}$, 20 s, 61~55 $^{\circ}\text{C}$, 1 min, 每个循环降低 0.6 $^{\circ}\text{C}$, 共 10 个循环; 94 $^{\circ}\text{C}$, 20 s, 55 $^{\circ}\text{C}$, 1 min, 共 26 个循环。使用 PHERAstarplus 扫描仪 (Laboratory of the Government Chemist, 英国) 对 PCR 产物进行扫描读取荧光值, 使用 KlusterCallerTM 软件进行 SNP 结果分型。带有 FAM 接头引物扩增产物发蓝色荧光, 带有 HEX 接头引物扩增产物发红色荧光, 杂合体对应的产物为绿色荧光, 没有扩增的显示为粉红色。

1.4 数据分析及遗传作图

根据武都白茧儿和辉县红后代 F_1 、 F_2 和 $F_{2,3}$ 的抗性表现判断武都白茧儿携带抗病基因的个数及显隐性。使用 SAS 9.2 (https://www.sas.com/zh_cn/home.html) 对 F_2 和 $F_{2,3}$ 群体中抗感单株个数进行卡方检验, 使用 Mapmarker 3.0 计算标记和抗病基因间的遗传距离^[27], 使用 Mapchart 绘制遗传连锁图^[28]。

2 结果与分析

2.1 条锈病苗期抗性鉴定与遗传分析

武都白茧儿对 CYR32 和 V26 表现感病, 对 V31/lab 表现为近免疫(IT=0;), 辉县红对 V31/lab 表现为高感(IT=4)(图 1)。后续研究利用 V31/lab 对武都白茧儿和辉县红后代群体进行苗期抗病性鉴定。利用条锈菌小种 V31/lab 对 22 株 F_1 、2190 株 F_2 、59 个 $F_{2,3}$ 家系进行苗期抗性鉴定。结果显示, 在 F_2 群体中, 581 株表现为抗病(IT=0~2), 1609 株表现感病(IT=3~4), 经卡方检测抗病单株和感病单株个数符合 1:3 分离比($\chi^2_{1,3}=2.73$, $\text{df}=1$, $P=0.10$)。 $F_{2,3}$ 群体中包含 10 个纯合抗病家系, 32 个抗感分离家系, 17 个纯合感病家系, 经卡方检测抗病家系、分离家系和感病家系符合 1:2:1 分离比($\chi^2_{1,2,1}=2.08$, $\text{df}=2$, $P=$

0.35)(表1)。以上结果表明,武都白茧儿对V31/lab的抗性是由一个隐性基因控制,暂命名为 $yrWUD$ 。

2.2 BSE-Seq和BSR-Seq数据分析

BSE-Seq分析统计了每条染色体所有SNP拟合前的ED值和拟合后的ED值,拟合前SNP ED⁴值的曼哈顿图显示,在4AL染色体末端SNP成簇分布(图2)。随后利用拟合后4A染色体SNP的ED⁴值做进一步的分析。4A染色体拟合后SNP的ED⁴变异范围为0.01~0.46,均值为0.08,其余20条染色体拟合后SNP的ED⁴变异范围为0.005~0.021,均值为0.02。其中位于4A染色体上的797个SNP的ED⁴值大于0.4,且均富集在609.8 Mb~620.9 Mb,表明基因很有可能位于4AL染色体末端。

BSR-Seq分析结果显示抗池测序共产生Raw data 24.76 G,过滤后的Clean data 23.21G,测序质量高(Q20≥97.45%、Q30≥93.24%);感池测序共产生Raw data 21.44 G,过滤后的Clean data 20.07 G,测

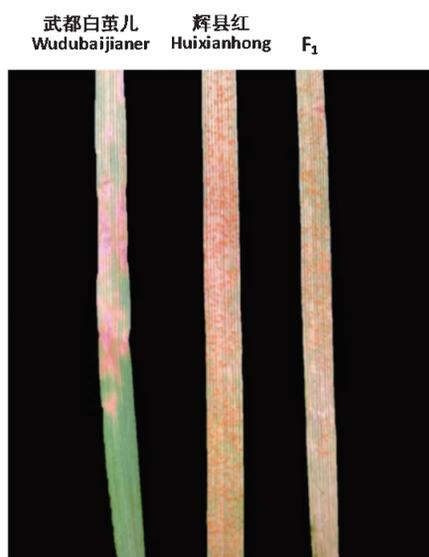


图1 武都白茧儿、辉县红和F₁接种V31/lab后的抗病反应
Fig. 1 Disease resistance responses of Wudubaijianer, Huixianhong and F₁ inoculated with V31/lab

表1 武都白茧儿、辉县红和F₁、F₂苗期接种V31/lab抗病反应

Table 1 Disease resistance responses of Wudubaijianer, Huixianhong and F₁、F₂ populations inoculated with V31/lab

材料 Material	侵染型 Infection type						总株数 Total number	期望比例 Expected ratio	卡方值 χ^2	P值 P value
	0	0;	1	2	3	4				
武都白茧儿 Wudubaijianer	0	43	0	0	0	0	43			
辉县红 Huixianhong	0	0	0	0	0	43	43			
F ₁	0	0	0	0	7	15	22			
F ₂	0	301	136	144	641	968	2190	1:3	2.73	0.10

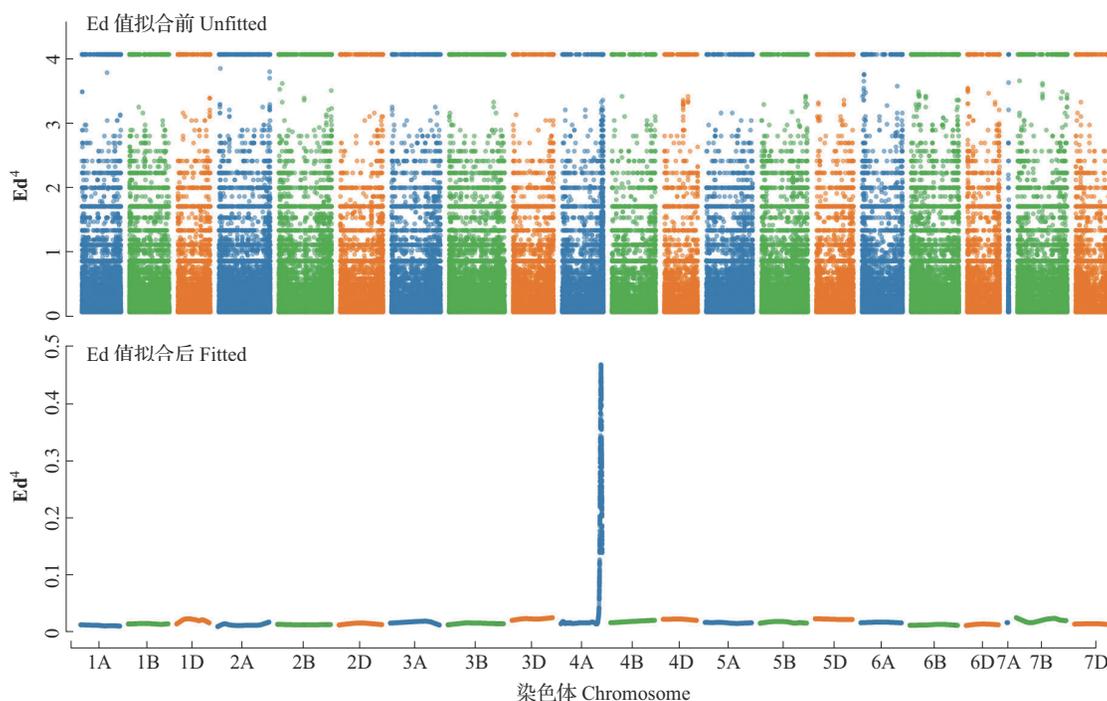
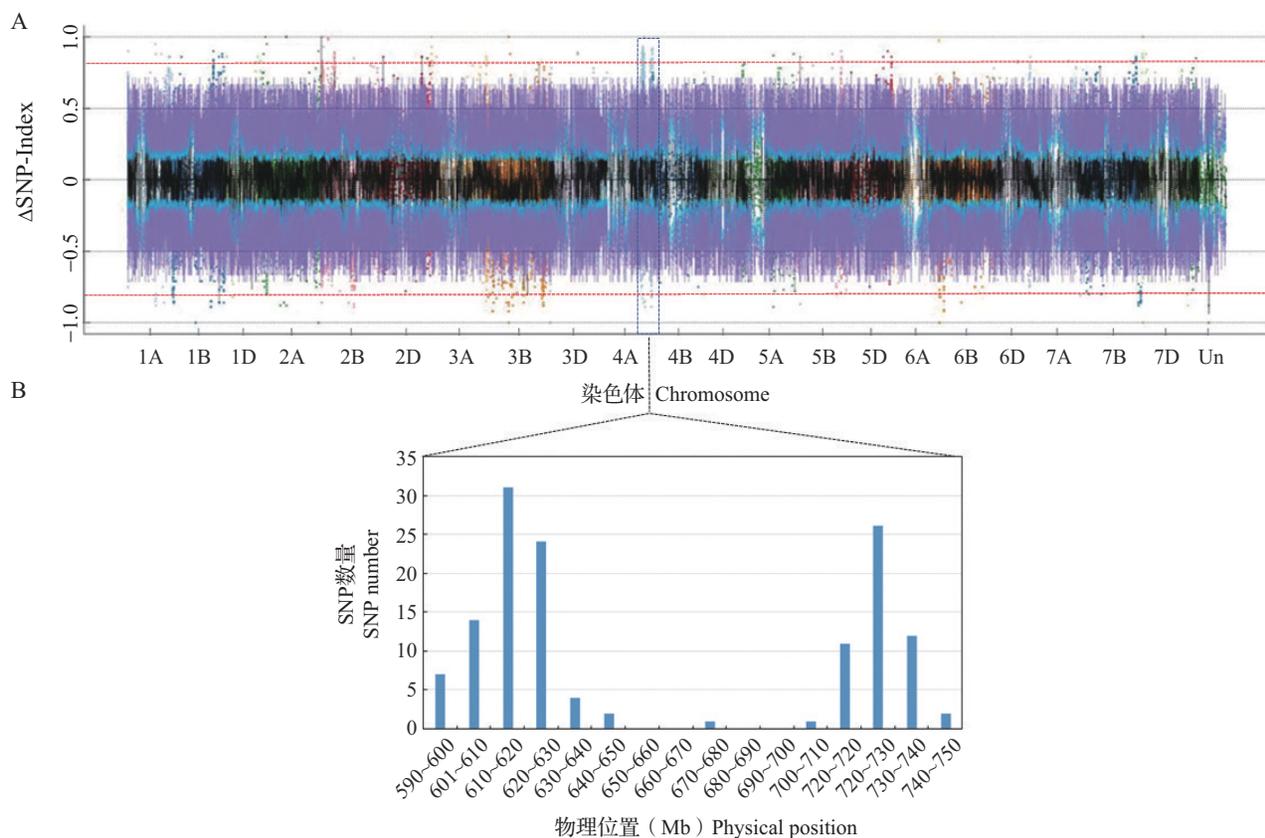


图2 基于BSE-Seq的混池21WHF-R和21WHF-S多态性SNP染色体分布

Fig. 2 Distribution of polymorphic SNPs on the wheat genome between bulks of 21WHF-R and 21WHF-S based on BSE-seq

序质量高(Q20 \geq 97.24%、Q30 \geq 92.87%)。采用BWA软件比对,抗池与中国春参考基因组v1.1(IWGSC 2018, https://urgi.versailles.inra.fr/blast_iwgsc/)比对率93.81%,感池比对率为91.57%。以中国春参考基因组作为参考,分别计算两个子代池的index值;然后划窗统计每个窗口的index平均值,计算两个子

代池间的 Δ SNP-index, Δ SNP-index绝对值设置为0.8,即混池间 Δ SNP-index大于0.8的SNP所在区段推测为 $yrWUD$ 的候选区间。根据BSR-Seq分析结果,筛选出686个SNP候选位点,这些SNP主要富集在4AL染色体末端590~640 Mb和710~750 Mb,表明 $yrWUD$ 可能位于4A染色体末端(图3)。



A: 混池21WHF-R和21WHF-S的 Δ SNP-index;红色虚线:与抗病基因显著关联的SNP的阈值;

B: 混池21WHF-R和21WHF-S间SNP在4AL染色体上频率分布

A: The Δ SNP-index between bulks of 21WHF-R and 21WHF-S; Red dotted line: The threshold for the SNP for significant association with disease resistance genes; B: The frequency distributions of SNPs on chromosome 4AL detected from bulks of 21WHF-R and 21WHF-S

图3 混池21WHF-R和21WHF-S BSR-Seq分析结果

Fig.3 BSR-Seq results of bulks of 21WHF-R and 21WHF-S

2.3 分子标记开发与 $yrWUD$ 遗传作图

基于BSR-Seq和BSE-Seq提供的候选SNP设计168对引物,使用24个DNA样品对KASP引物进行初筛,有助于评估引物的特异性和效率。样品包括纯合抗病和纯合感病的 F_2 单株,武都白蚬儿、辉县红及其 F_1 。通过比较这些样品在KASP反应中的分型结果,可以初步判断引物的有效性。选取纯合抗病与武都白蚬儿分型一致,纯合感病与辉县红分型一致的KASP标记继续检测 F_2 和 $F_{2:3}$ 群体。

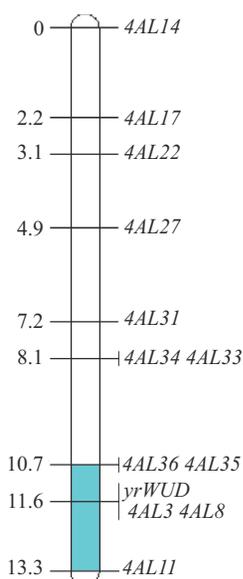
2190个武都白蚬儿和辉县红 F_2 单株包括581个抗病单株和1609个感病单株。利用12个KASP标记(表2)检测 F_2 抗病单株并进行遗传作图绘制,遗传图谱上的12个KASP标记遗传位置与物理位置共线性良好,按照593~623 Mb线性依次排列,将 $yrWUD$ 定位到2.6 cM区间(图4),与标记4AL3和4AL8呈共分离,与侧翼标记4AL36和4AL11间的遗传距离分别是0.9 cM和1.7 cM,对应的物理区间为610.26~623.35 Mb。

表 2 定位 *yrWUD* 的 KASP 引物序列Table 2 KASP primer sequences used for *yrWUD* mapping

引物编号 Primer code	引物名称 Primer name	物理位置(Mb) Physical position	引物序列(5'-3') Primer sequence (5'-3')
<i>4AL14</i>	4AL14A	593.35	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTAGTACATTGTTACACATGGTCCTAG
	4AL14B	593.35	GAAGGTCTGGAGTCAACGGATTAGTACATTGTTACACATGGTCCTAA
	4AL14C	593.35	GTGCTCTGCTAGATTTTCAGC
<i>4AL17</i>	4AL17A	594.21	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTTCCTCTCCCTACTTGCAAGAA
	4AL17B	594.21	GAAGGTCTGGAGTCAACGGATTTCCTCTCCCTACTTGCAAGAC
	4AL17C	594.21	GCTACGTAGTTCAGAAATAAGGTC
<i>4AL22</i>	4AL22A	597.69	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTTCTTGAATGAAGCCAGTGT
	4AL22B	597.69	GAAGGTCTGGAGTCAACGGATTTCCTTGAATGAAGCCAGTGC
	4AL22C	597.69	TGCAGTTGACAAGATCATCATAAAG
<i>4AL27</i>	4AL27A	600.90	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTTGAACCTCAAACACCAGGTTTCG
	4AL27B	600.90	GAAGGTCTGGAGTCAACGGATTTCGAACCTCAAACACCAGGTTCT
	4AL27C	600.90	TTGATCTGCTGCTAGATGCG
<i>4AL31</i>	4AL31A	603.64	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTCCGCATCATCCCGGGCTC
	4AL31B	603.64	GAAGGTCTGGAGTCAACGGATTCCGCATCATCCCGGGCTT
	4AL31C	603.64	AGTTCTCGTCGGCGAACTTTTG
<i>4AL33</i>	4AL33A	607.28	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTGACAACCTCCATCTCTGGCACA
	4AL33B	607.28	GAAGGTCTGGAGTCAACGGATTGACAACCTCCATCTCTGGCACC
	4AL33C	607.28	GATCTCAGTTTGCAACAACGAAGA
<i>4AL34</i>	4AL34A	608.83	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTGGGGTATTGCCATGAAAATACTT
	4AL34B	608.83	GAAGGTCTGGAGTCAACGGATTGGGGTATTGCCATGAAAATACTC
	4AL34C	608.83	TGATGACGATGAATAGATGATTGGT
<i>4AL35</i>	4AL35A	609.81	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTACAGAGGAGAAAAGATAAGCAGGC
	4AL35B	609.81	GAAGGTCTGGAGTCAACGGATTACAGAGGAGAAAAGATAAGCAGGA
	4AL35C	609.81	GACGATCTGTCTTAGTCGTCC
<i>4AL36</i>	4AL36A	610.26	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTTCAAGAAGAAAAGTGAAGAGGCTG
	4AL36B	610.26	GAAGGTCTGGAGTCAACGGATTTCAGAAGAAAAGTGAAGAGGCTA
	4AL36C	610.26	CATTGGTGGCAGTGGATGTG
<i>4AL3</i>	4AL3A	614.23	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTTGGATCAGTCTGTGGTTTGG
	4AL3B	614.23	GAAGGTCTGGAGTCAACGGATTGGATCAGTCTGTGGTTTGC
	4AL3C	614.23	TTGAGCAATGGTGTCTGGA
<i>4AL8</i>	4AL8A	617.10	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTCGCAAACCTTCTCTGCCCTG
	4AL8B	617.10	GAAGGTCTGGAGTCAACGGATTTCGCAAACCTTCTCTGCCCTA
	4AL8C	617.10	TGTCCATCTATGTGTGTGTTCT
<i>4AL11</i>	4AL11A	623.35	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTGGTCCACCTCTAGAACACAGT
	4AL11B	623.35	GAAGGTCTGGAGTCAACGGATTGGTCCACCTCTAGAACACAGA
	4AL11C	623.35	GCTCCATGGAAGATAGATGCA

对于 KASP 标记, A 和 B 表示等位基因特异引物, C 表示通用反向引物; FAM 和 HEX 荧光接头用粗体表示

For KASP labeling, A and B indicate allele-specific primers and C indicates the common reverse primer; FAM and HEX fluorescent adaptors are indicated in bold



蓝色区域为包括 $yrWUD$ 在内的2.6 cM遗传区间,
标记 $4AL3$ 和 $4AL8$ 与 $yrWUD$ 共分离

The interval marked in blue represents 2.6 cM genetic interval
spanning $yrWUD$. $4AL3$ and $4AL8$ co-segregated with $yrWUD$

图4 条锈病抗性基因 $yrWUD$ 连锁图谱

Fig. 4 Linkage map of stripe rust resistance gene $yrWUD$

2.4 $yrWUD$ 候选基因预测

根据中国春参考基因组,在 $yrWUD$ 定位的物理区间610.26~623.35 Mb内,包括215个高置信度注释基因,其中有23个是与抗病相关的基因。根据混池BSR-Seq结果,定位区间抗感池间差异表达基因有13个,与抗病相关并且抗池表达量高于感池的基因只有3个, $TraesCS4A02G329100$ 、 $TraesCS4A02G330000$ 和 $TraesCS4A02G330100$,分别编码假定抗病蛋白RPP13样蛋白(NB-ARC),受体激酶样蛋白Xa21(PKinase)和富含亮氨酸重复N端结构域的蛋白(LRRNT_2),推测为 $yrWUD$ 的候选基因(表3)。

2.5 $yrWUD$ 在小麦品种中的抗性分析

利用与 $yrWUD$ 连锁距离最近的KASP标记 $4AL36$ 对146份小麦品种进行了基因分型,存在明显分型(图5A)。经相关性分析, $4AL36$ 基因型与抗病程度显著相关(图5B),其中83.6%的品种携带与武都白茧儿相同类型的等位基因,说明 $yrWUD$ 在育种中已在一定程度上被选择。

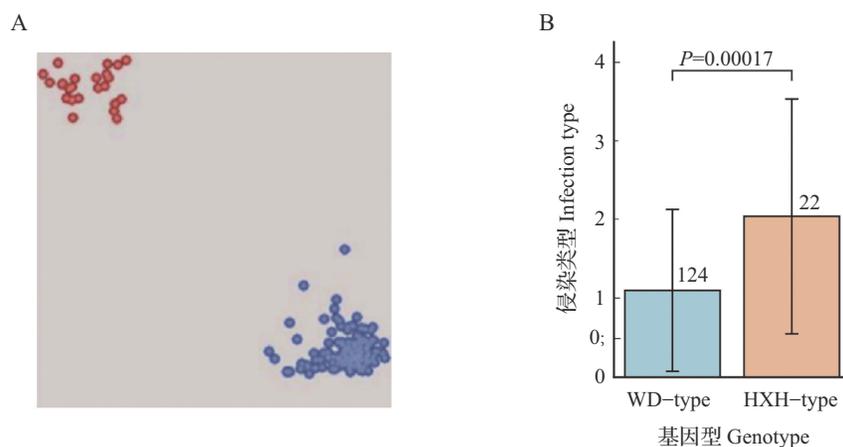
表3 $yrWUD$ 预测候选基因

Table 3 Predicted candidate genes for $yrWUD$

基因ID Gen ID	抗病池 FPKM 值 FPKM of resistance-pool	感病池 FPKM 值 FPKM of sensible-pool	差异表达倍数 log2 fold change	起始位置 (bp) Starting location	终止位置(bp) Termination position	基因注释 Gene annotation
$TraesCS4A02G324600$	1.85	45.24	-4.52	612072716	612078621	-
$TraesCS4A02G325800$	64.99	14.01	2.20	613366832	613368026	-
$TraesCS4A02G326400$	81.70	0.00	9.36	613543124	613544389	AP2
$TraesCS4A02G329100$	491.16	86.17	2.51	614251593	614258300	NB-ARC
$TraesCS4A02G330000$	219.12	22.62	3.27	615104066	615106167	PKinase
$TraesCS4A02G330100$	87.27	9.70	3.15	615106331	615107512	LRRNT_2
$TraesCS4A02G331100$	3809.57	100.17	5.25	615693852	615702428	ABC2_membrane
$TraesCS4A02G333900$	275.75	700.07	-1.34	617227996	617235045	KH_1
$TraesCS4A02G335200$	204.26	547.13	-1.42	617933283	617940601	Pkinase_Tyr
$TraesCS4A02G335900$	506.95	17.24	4.87	618411671	618412941	-
$TraesCS4A02G336000$	20.42	0.00	7.37	618417529	618419227	-
$TraesCS4A02G336100$	49.20	5.39	3.16	618463055	618464687	-
$TraesCS4A02G341100$	382.53	66.78	2.52	621784829	621792600	-

-: 在中国春参考基因组 v1.1 中无相应基因注释信息

-: indicates no gene annotation according to Chinese Spring reference genome v1.1



A: 146份小麦品种的分型结果,红色为辉县红等位基因类型,蓝色为武都白蚩儿等位基因类型;B:4AL36检测146份小麦品种条锈病抗性,WD-type表示武都白蚩儿类型,HXH-type表示辉县红类型

A: The genotype of 146 wheat varieties, red is Huixianhong allele type, blue is Wudubaijiaer allele type; B: 4AL36 detected stripe rust resistance in 146 wheat varieties, WD-type: Wudubaijiaer type, HXH-type: Huixianhong type

图5 4AL36标记基因型及其条锈病抗性验证

Fig. 5 The genotype of the 4AL36 and its association with stripe rust resistance

3 讨论

武都白蚩儿在甘肃陇南条锈病流行区种植有50年之久,对条锈病仍保持着稳定的抗性^[29-30]。Chao等^[31]利用169个武都白蚩儿和铭贤169的F_{2:3}家系对武都白蚩儿携带的成株抗性基因进行定位,在5A和2B染色体定位到2个稳定的QTL,指出5A位点需与其他抗性位点相互作用才能发挥抗病作用。此外,在1B、2A、2D、3A、4B、5B、6B和6D染色体也有显著关联位点,表明武都白蚩儿遗传背景比较复杂。2016年陈璨^[32]在武都白蚩儿中定位到一个对CYR32小种表现抗性的显性基因 $YrWd$,位于4AL染色体上,与SSR标记 $barc236$ 连锁距离为17.7 cM。在本研究中,武都白蚩儿在苗期对CYR32小种感病,对V31/lab(西北农林科技大学吴建辉老师新分离出的条锈菌小种CYR31的变种,该小种毒性和毒谱与CYR31接近)小种表现抗病。为了定位武都白蚩儿苗期抗病基因,本研究采用V31/lab小种对武都白蚩儿和辉县红衍生的后代群体进行苗期抗病性鉴定。结果表明,武都白蚩儿对V31/lab的抗性由一个隐性抗病基因控制,定位在4AL染色体上2.6 cM遗传区间,对应中国春参考基因组610.26~623.35 Mb区段。目前只有 $Yr51$ 和 $Yr60$ 被定位到4AL染色体上。 $Yr51$ 在小麦地方品种Aus27858中被发现,为隐性基因,且该基因只存在于澳大利亚小麦品种AUS52878中,与标记 $sun104$ 的遗传距离为2.5 cM,对应的物理位置为733.0 Mb^[33]。 $Yr60$ 在墨西哥小麦品种Almop中被

发现,为显性基因,与标记 $wmc219$ 和 $wmc313$ 的遗传距离均为0.6 cM,对应的物理位置为748.0 Mb^[34]。 $yrWUD$ 定位在610.26~623.35 Mb区间内,与两个已知基因距离较远,且 $yrWUD$ 为隐性基因,推测 $yrWUD$ 是一个新的抗条锈病基因。由于抗条锈病基因定位采用的多是混合生理小种,而非单孢菌系,菌种名称一致而致病性却存在差异,这可能是本研究与2016年陈璨^[32]在武都白蚩儿中定位到两个不同基因($yrWUD$ 和 $YrWd$)的主要原因。因此,在抗病基因定位研究中,最好使用单孢菌系并保存最开始定位用的菌系,这对小种专业化抗病基因定位来说至关重要。

通过混池BSR-Seq结果预测TraesCS4A02G329100、TraesCS4A02G330000和TraesCS4A02G330100为 $yrWUD$ 的候选基因。其中,TraesCS4A02G329100编码一个与抗病性相关的RPP13蛋白。RPP13蛋白是植物抗病机制的重要组成部分,该蛋白负责调控对不同外部刺激的反应,包括生物胁迫和非生物胁迫^[35-36]。TraesCS4A02G330000编码受体激酶样蛋白Xa21,受体激酶蛋白在植物系统中起着细胞信号传递的作用,在植物抗病方面起着媒介传导的作用^[37]。TraesCS4A02G330100编码富含亮氨酸的重复序列N末端结构域,在蛋白质功能中起着重要作用,在参与植物抗逆性反应、发育调控及激素的信号转导等过程中的发挥着重要的生物学功能^[38]。

利用BSE-Seq和BSR-Seq两种混池测序方法来检测抗感池中对对应基因的碱基变异,并通过评估抗感池中碱基变异的频率差异进行定位,相较于全基

基因组测序,这两种方法更加经济有效,故被广泛应用于抗病基因定位中。例如Jin等^[39]利用BSE-Seq在大红袍×Avocet S杂交群体中定位到一个6AS上的条锈病抗性位点。张怀志等^[40]利用BSR-Seq在小麦品种郑麦103中定位到抗条锈病基因*YrZMI03*。其中BSE-Seq是对混池DNA的外显子进行测序,BSR-Seq则是对抗感池中的mRNA(cDNA)进行测序。由于部分基因在组织或器官中存在表达差异,故BSR-Seq能够提供的碱基变异数目不及BSE-Seq,但是它可以提供目标区段中基因的表达水平,为挑选候选基因缩小范围。在该研究中,610.26~623.35 Mb区间为两种方法的共同定位区间,而BSE-Seq所获得的其他区间可能由于只在碱基变异而不在叶片中表达,故没在BSR-Seq中检测到。

在本研究中,146份黄淮麦区骨干品种中鉴定到83.6%的品种携带与武都白蚩儿相同类型的等位基因,说明该基因已被大量利用,表明其利用潜力有限,但另一方面也表明该基因确实有较好的条锈病抗性,可以在育种中发挥较大作用。因此,可以采用以下两种方式将*yrWUD*应用到条锈病抗性育种中:(1)通过常规育种和分子标记辅助选择将*yrWUD*导入生产上没有该优异等位基因的主推品种中,提升其条锈病抗性;(2)在含有该优异等位基因的品种中,进一步引入其他微效基因,聚合多基因来降低条锈病发生严重度。同时,由于采用的是多个微效水平抗性基因聚合的方式,抗性一般为中抗至高抗水平,可以一定程度上减轻对病原菌生理小种的选择压力,降低生理小种进化速度,从而达到减缓抗性丧失的目的。整体来看,抗病基因丧失抗性多是由于进化出毒性更强的生理小种,在小麦生产中应注意含有不同抗病基因品种合理布局。

KASP标记是一种基于PCR技术的分子标记方法,广泛应用于基因定位和基因分型研究中。相比传统的简单重复序列(SSR, simple sequence repeat)、序列标签位点(STS, sequence tag site)等标记具有高度的灵敏性、快速性和经济性等特点。在基因定位研究中,KASP标记可以用于确定连锁群体、构建遗传图谱和遗传位点的精确定位,也可以用于检测个体间单核苷酸多态性的SNP和InDel等。通过KASP标记,可以对特定的基因进行定位,进而研究基因与表型之间的关联。例如,Song等^[41]利用小麦50K SNP芯片结合两年8个环境的株高表型鉴定,定位到一个稳定的株高位点*QPH.caas-*

3DL,并通过构建次级作图群体和加密定位区间内KASP标记,将其定位至约1.4 Mb的物理区间内并正式命名为*Rht26*。Dong等^[42]使用基于3个基因开发的KASP标记、90K芯片及SSR标记构建了3BS遗传图谱,将*QPM.caas-3BS*定位在标记*KASP14800*和*snp_50465*之间0.3 cM区间内。Rasheed等^[43]开发并验证了70个KASP功能标记,有效促进了小麦高代品系高产、优质、抗逆、广适等性状遗传改良。本研究也通过BSE-Seq和BSR-seq提供的SNP信息将其转化为KASP标记,进而检测F₂群体,构建了*yrWUD*遗传图谱,并利用与*yrWUD*连锁距离最近的KASP标记*4AL36*在146份小麦品种中进行了验证。*4AL36*可以有效地应用于小麦抗病基因检测和抗条锈病分子标记辅助育种。

4 结论

本研究发现了一个新的抗条锈病基因*yrWUD*,将其定位在610.26~623.35 Mb的区段内。开发了育种可用的KASP标记*4AL36*,并在146份小麦品种中进行了验证。本研究鉴定的抗性基因及其相应的KASP标记可用于小麦分子标记辅助育种。

参考文献

- [1] Gupta P K, Mir R R, Mohan A, Kumar J. Wheat genomics: Present status and future prospects. *International Journal of Plant Genomics*, 2008: 896541
- [2] Chen C, He Z H, Lu J L, Li J, Ren Y, Ma C X, Xia X C. Molecular mapping of stripe rust resistance gene *YrJ22* in Chinese wheat cultivar Jimai 22. *Molecular Breeding*, 2016, 36(8): 1-8
- [3] 中华人民共和国国家统计局. 中国统计年鉴. 北京: 中国统计出版社, 2021
National Bureau of Statistics of the People's Republic of China. *China statistical Yearbook*. Beijing: China Statistics Press, 2021
- [4] 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. *中国农业科学*, 2015, 48(17): 3439-3453
Kang Z S, Wang X J, Zhao J, Tang C L, Huang L L. *Advances in research of pathogenicity and virulence variation of the wheat stripe rust fungus Puccinia striiformis f. sp. tritici*. *Scientia Agricultura Sinica*, 2015, 48(17): 3493-3453
- [5] Wellings C R. Global status of stripe rust: A review of historical and current threats. *Euphytica*, 2011, 179(1): 129-141
- [6] 孔令让. 另辟蹊径破解小麦条锈病的基因密码. *植物学报*, 2022, 57(4): 405-408
Kong L R. Breaking the gene code conferring broad-spectrum

- resistance to rust fungi. Chinese Bulletin of Botany, 2022, 57 (4): 405-408
- [7] 李振岐, 曾士迈. 中国小麦锈病. 北京: 中国农业出版社, 2002
Li Z Q, Zeng S M. Chinese wheat rust. Beijing: China Agricultural Press, 2002
- [8] 吴彦利. 小麦-黑麦易位系抗条锈病基因初定位. 雅安: 四川农业大学, 2019
Wu Y L. Preliminary mapping of stripe rust resistance genes in wheat-rye chromosome translocation line. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2019
- [9] Zeng Q D, Zhao J, Wu J H, Zhan G M, Han D J, Kang Z S. Wheat stripe rust and integration of sustainable control strategies in China. Frontiers of Agricultural Science and Engineering, 2022, 9(1): 37-51
- [10] 任妍. 普通小麦抗条锈病基因分子定位. 北京: 中国农业科学院, 2012
Ren Y. Molecular mapping of stripe rust resistance genes in common wheat. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2012
- [11] 何雨. 野生二粒小麦条锈病抗性鉴定与 *Yr15* 遗传多样性分析. 杨凌: 西北农林科技大学, 2020
He Y. Characterization of stripe rust resistance in wild emmer populations and the nucleotide diversity of *Yr15*. Yangling: Northwest Agricultural and Forestry University, 2020
- [12] 李强. 几个重要小麦品种(系)全生育期抗条锈病基因的遗传分析和分子作图. 杨凌: 西北农林科技大学, 2010
Li Q. Inheritance and molecular mapping of gene(s) for all-stage resistance to stripe rust in several wheat cultivars (lines). Yangling: Northwest Agricultural and Forestry University, 2010
- [13] Chen X M. Epidemiology and control of stripe rust *Puccinia striiformis* f. sp. Tritici. on wheat. Canadian Journal of Plant Pathology, 2005, 27(3): 314-337
- [14] Qureshi N, Bariana H S, Zhang P, McIntosh R, Bansal U. K, Wong D, Hayden M J, Dubcovsky J, Shankar M. Genetic relationship of stripe rust resistance genes *Yr34* and *Yr48* in wheat and identification of linked KASP markers. Plant Disease, 2018, 102(2): 413-420
- [15] 王晓婷. 国外小麦种质抗条锈性全基因组关联分析. 杨凌: 西北农林科技大学, 2020
Wang X T. Genome-wide association study of resistance to stripe rust in foreign wheat germplasm. Yangling: Northwest Agricultural and Forestry University, 2020
- [16] 刘胜杰. 四个小麦品种(系)的抗条锈病遗传解析与 *QYrnp.nwafu-2BS(YrNP63)* 的图位克隆. 杨凌: 西北农林科技大学, 2022
Liu S J. Genetic dissection of stripe rust resistance in four wheat cultivars (lines) and map-based cloning of *QYrnp.nwafu-2BS(YrNP63)*. Yangling: Northwest Agricultural and Forestry University, 2022
- [17] Fu D L, Uauy C, Distelfelf A, Blechl A, Epstein L, Chen X M, Sela H, Fahima T, Dubcovsky J A. A Kinase-START gene confers temperature-dependent resistance to wheat stripe rust. Science, 2009, 232(6): 1357-1359
- [18] Liu W, Frick M, Huel R, Nykiforuk C L, Wang X M, Gaudet D A, Eudes F, Conner R L, Kuzyk A, Chen Q, Kang Z S, Laroche A. The stripe rust resistance gene *Yr10* encodes an evolutionary-conserved and unique CC-NBS-LRR sequence in wheat. Molecular Plant, 2014, 12(7): 1740-1755
- [19] Marchal C, Zhang J P, Zhang P, Fenwick P, Steuernagel B, Adamski N M, Boyd L, McIntosh R, Wulff B B H, Berry S, Lagudah E, Uauy C. BED-domain containing immune receptors confer diverse resistance spectra to yellow rust. Nature Plants, 2018, 236(4): 662-668
- [20] Klymiuk V, Yaniv E, Huang L, Raats D, Fatiukha A, Chen S, Feng L, Frenkel Z, Lidzbarsky G, Chang W, Jääskeläinen M J, Schudoma C, Paulin L, Laine P, Bariana H, Sela H, Saleem K, Sørensen C K, Hovmöller M S, Distelfeld A, Chalhoub B, Dubcovsky J, Korol A B, Schulman A H, Fahima T. Cloning of the wheat *Yr15* resistance gene sheds light on the plant tandem kinase-pseudokinase family. Nature Communications, 2018, 9(1): 3735-3747
- [21] Zhang C Z, Huang L, Zhang H F, Hao Q Q, Lyu B, Wang M B, Epstein L, Liu M, Kou C L, Qi J, Chen F J, Li M K, Gao G, Ni F, Zhang L Q, Hao M, Wang J R, Chen X M, Luo M C, Zheng Y L, Wu J J, Liu D C, Fu D L. An ancestral NB-LRR with duplicated 3'UTRs confers stripe rust resistance in wheat and barley. Nature Communications, 2019, 10(9): 4023-4035
- [22] Wang H, Zou S H, Li Y W, Lin F Y, Tang D Z. An ankyrin-repeat and WRKY-domain-containing immune receptor confers stripe rust resistance in wheat. Nature Communications, 2020, 11(1): 1353
- [23] 吴竞争. 小麦抗条锈病基因 *Yr10* 的遗传分析. 泰安: 山东农业大学, 2018
Wu J Z. Genetic analysis of the wheat stripe rust resistance gene *Yr10* in common wheat. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2018
- [24] 王明玉. 小麦农家品种大白麦和中间偃麦草导入材料 P54 的抗条锈病基因定位. 北京: 中国农业科学院, 2018
Wang M Y. Mapping of resistance genes to stripe rust in wheat landrace Dabaimai and wheat-Thinopyrum intermedium substitution line P54. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2018
- [25] Bariana H S, McIntosh R A. Cytogenetic studies in wheat. XV. Location of rust resistance genes in VP1 and their genetic linkage with other disease resistance genes in chromosome 2A. Genome, 1993, 36(3): 476-482
- [26] Gorski B, Yost H J, Demarest B L, Bisgrove B W, Hill J T, Su Y C. MMAPPR: Mutation mapping analysis pipeline for pooled RNA-seq. Genome Research, 2013, 23(4): 687-697
- [27] Lincoln S E, Daly M J, Lander E S. Constructing genetic

- linkage maps with MAPMAKER/EXP Version 3.0: A tutorial and reference manual. Cambridge: Whitehead Institute, 1993
- [28] Voorrips R E. MapChart: Software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. *Journal of Heredity*, 2002, 93(1), 77-78
- [29] 王吐虹. 小麦不同类型品种对条锈菌的抗性组成及遗传特点研究. 西宁: 青海大学, 2015
- Wang T H. Study on resistance composition and genetic characteristics of different types wheat cultivars to *Puccinia striiformis* f.sp.tritici. Xining: Qinghai University, 2015
- [30] 徐新玉, 段振盈, 张晓玲, 姚占军. 15 个小麦农家品种抗叶锈基因分析. *植物遗传资源学报*, 2020, 21(2): 409-417
- Xu X Y, Duan Z Y, Zhang X L, Yao Z J. Analysis of leaf rust resistance genes in 15 wheat landraces. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2020, 21(2): 409-417
- [31] Chao K X, Wu C J, Li J, Wang W L, Waang B T, Li Q. Genetic analysis of adult plant, quantitative resistance to stripe rust in wheat landrace Wudubaijianer in multi-environment trials. *Journal of Integrative Agriculture*, 2022, 21(8): 2305-2318
- [32] 陈璨. 普通小麦抗条锈病基因分子定位. 合肥: 安徽农业大学, 2016
- Chen C. Molecular mapping of stripe rust resistance genes in common wheat. Hefei: Anhui Agricultural University, 2016
- [33] Randhawa M, Bansal U, Valárik M, Klocová B, Doležel J, Bariana H. Molecular mapping of stripe rust resistance gene *Yr51* in chromosome 4AL of wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 2014, 127(2): 317-324
- [34] Herrera-Foessel S A, Singh R P, Lan C X, Huerta-Espino J, Calvo-Salazar V, Bansal U K, Bariana H S, Lagudah E S. *Yr60*, a gene conferring moderate resistance to stripe rust in wheat. *Plant Disease*, 2015, 99(4): 508-511
- [35] Yang F P, Liu J D, Guo Y, He Z H, Rasheed A, Wu L, Cao S, Nan H, Xia X C. Genome-wide association mapping of adult-plant resistance to stripe rust in common wheat (*Triticum aestivum*). *Plant Disease*, 2020, 104(8): 2174-2180
- [36] Ramachandran S R, Yin C, Kud J, Tanaka K, Mahoney A K, Xiao F M, Hulbert S H. Effectors from wheat rust fungi suppress multiple plant defense responses. *Phytopathology*, 2017, 107(1): 75-83
- [37] 陈升. 水稻抗病基因 *Xa21* 编码的一种受体激酶类蛋白. *福建稻麦科技*, 1996 14(2): 63-65
- Chen S. A receptor kinase-like protein encoded by the rice disease resistance gene *Xa21*. *Fujian Rice and Wheat Technology*, 1996, 14(2): 63-65
- [38] 马媛媛, 甘睿, 王宁宁. 植物富含亮氨酸重复序列型类受体蛋白激酶的生物学功能. *植物生理与分子生物学学报*, 2005, 31(4): 331-339
- Ma Y Y, Gan R, Wang N N. Biological functions of leucine-rich repeat class of receptor-like protein kinases in plants. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2005, 31(4): 331-339
- [39] Jin H L, Zhang H P, Zhao X Y, Long L, Guan F N, Wang Y P, Huang L Y, Zhang X Y, Wang Y Q, Li H, Li W, Pu Z E, Zhang Y Z, Xu Q, Jiang Q T, Wei Y M, Ma J, Qi P F, Deng M, Kang H Y, Zheng Y L, Chen G Y, Jiang Y F. Identification of a suppressor for the wheat stripe rust resistance gene *Yr81* in Chinese wheat landrace Dahongpao. *Theoretical and Applied Genetics*, 2023, 136(4): 67-80
- [40] 张怀志, 谢菁忠, 陈永兴, 刘旭, 王勇, 闫素红, 杨兆生, 赵虹, 王西成, 贾联合, 曹廷杰, 刘志勇. 利用 BSR-Seq 定位小麦品种郑麦 103 抗条锈病基因 *YrZM103*. *作物学报*, 2017, 43(11): 1643-1649
- Zhang H Z, Xie J Z, Chen Y X, Liu X, Wang Y, Yan S H, Yang Z S, Zhao H, Wang X C, Jia L H, Can T J, Liu Z Y. Mapping stripe rust resistance gene *YrZM103* in wheat cultivar Zhengmai 103 by BSR-Seq. *Acta Agronomica Sinica*, 2017, 43(11): 1643-1649.
- [41] Song J, Li L, Liu B Y, Dong Y, Dong Y C, Li F J, Liu S Y, Luo X M, Sun M J, Ni Z Q, Fei S P, Xia X C, Ni Z F, He Z H, Cao S H. Fine mapping of reduced height locus *RHT26* in common wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 2023, 136(3): 1-10
- [42] Dong Y, Xu D A, Xu X W, Ren Y, Gao F M, Song J, Jia A L, Hao Y F, He Z H, Xia X C. Fine mapping of *QPm.caas-3BS*, a stable QTL for adult-plant resistance to powdery mildew in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 2022, 135(3): 1083-1099
- [43] Rasheed A, Wen W E, Gao F M, Zhai S N, Jin H, Liu J D, Guo Q, Zhang Y J, Dreisigacker S, Xia X C, He Z H. Development and validation of KASP assays for genes underpinning key economic traits in bread wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 2016, 129(10): 1843-1860