

小麦品种辽春 10 抗叶锈病基因 *LrLC10* 的比较基因组学定位

吕欣迪 唐华山 耿妙苗 米阳阳 李映辉 李峰 刘培园 解超杰* 孙其信

(中国农业大学农学院/农业生物技术国家重点实验室/农业部作物基因组学与遗传改良重点开放实验室/
北京市作物遗传改良重点实验室/教育部作物杂种优势研究与利用重点实验室,北京 100193)

摘要 为明确小麦品种辽春 10 对叶锈菌小种 PHT 抗病的遗传基础,利用感病小麦材料 87-1 与抗病小麦材料辽春 10 构建的 $F_{2:3}$ 群体,对其进行成株期抗病性鉴定和遗传分析。结果表明,辽春 10 中含有 1 个显性抗叶锈病基因,暂命名为 *LrLC10*。利用 BSA 法和比较基因组学策略对该抗病基因进行分子标记分析,将 *LrLC10* 定位于小麦 2BS 染色体上。共构建了含有 8 个分子标记的 *LrLC10* 基因的连锁图,其中:CAUT253 位于 *LrLC10* 的远着丝粒侧,距离为 0.1 cM;CAUT163 和 CAUT131 与 *LrLC10* 共分离;CAUT239 位于 *LrLC10* 的近着丝粒侧,遗传距离为 0.5 cM。

关键词 小麦叶锈病;辽春 10;SSR;EST;比较基因组学

中图分类号 S512

文章编号 1007-4333(2017)04-0001-09

文献标志码 A

Comparative genomics analysis of leaf rust resistance gene *LrLC10* in common wheat cultivar Liaochun10

LV Xindi, TANG Huashan, GENG Miaomiao, MI Yangyang, LI Yinghui, LI Feng,
LIU Peiyuan, XIE Chaojie*, SUN Qixin

(College of Agronomy/State Key Laboratory of Agri-Biotechnology/Key Laboratory of Crop Genomics and Genetic Improvement,
Ministry of Agriculture/Beijing Key Laboratory of Crop Genetic Improvement/Key Laboratory of Crop Heterosis Research and Utilization,
Ministry of Education, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract Common wheat (*Triticum aestivum*) cultivar Liaochun10 is resistant to leaf rust (*Puccinia triticina*) race PHT. In order to identify the genetic basis of resistance, resistance test and genetic analysis are conducted on adult plants of $F_{2:3}$ populations derived from the cross between susceptible parent 87-1 and resistant cultivar Liaochun10. The results show that Liaochun10 carries a single dominant resistance gene, which is effective at adult stage, temporally designated *LrLC10*. Using bulked segregant analysis and comparative genomics analysis, genetic map of *LrLC10* was established with eight markers. Among these markers, CAUT253 were distal to *LrLC10* with a genetic distance of 0.1 cM; CAUT163 and CAUT131 were co-segregated with resistant gene; CAUT239 were proximal to *LrLC10*, the genetic distance is 0.5 cM.

Keywords wheat leaf rust; Liaochun 10; SSR; EST; comparative genomics

小麦是我国重要的粮食作物,其产量和品质直接影响我国的粮食安全和社会经济的发展。由小麦叶锈菌(*Puccinia triticina*)引起的小麦叶锈病,严重影响小麦生产^[1]。选育并合理利用抗病品种是防治麦类锈病最经济、安全和有效的方法之一^[2]。从

小麦品种中挖掘抗病基因及其连锁的分子标记,是抗病品种选育的基础性工作。

迄今为止,已发现 100 多个小麦抗叶锈病基因,正式命名的有 74 个,分布在小麦染色体 60 多个位点上,编号从 *Lr1* 到 *Lr74*^[3],有 33 个抗叶锈基因借

收稿日期:2016-03-27

基金项目:科技部仪器专项项目(2011YQ080052);国家自然科学基金项目(31271708)

第一作者:吕欣迪,硕士研究生,E-mail:lvxindi2010@163.com

通讯作者:解超杰,教授,主要从事小麦抗病遗传育种研究,E-mail:xiejc127@126.com

助 RFLP、RAPD、AFLP 和 SSR 等技术获得了与其紧密连锁的分子标记^[4-7]。SSR (simple sequence repeat) 标记即简单重复序列标记,具有多态性高,重复性好,检测方便等优点,在小麦抗叶锈基因定位中应用广泛^[8]。比较基因组学研究表明,禾本科近缘物种的基因组间存在良好的共线性关系。Thomas 等^[9]和 Girin 等^[10]指出小麦与大麦和短柄草的亲缘关系非常接近,将小麦的 EST 序列信息与短柄草与大麦的基因组序列结合开发基于小麦 EST 基础上的分子标记,对于小麦的基因组学研究意义重大,也为构建高密度的遗传连锁图谱提供一条有效途径。此外,在小麦中大量的 EST 已被定位到特定的染色体 Bin 区段,可根据这些 EST 序列中的简单串联重复序列开发出 SSR 标记 (EST-SSR)。EST-SSR 标记不仅特异性较高,而且可借此建立基因组间的共线性关系,对抗病基因的比较基因组学定位具有重要意义^[11-12]。

小麦品种辽春 10 号是辽宁省农业科学院选育的强筋春小麦品种,具有特早熟和适应性强等优点^[13]。辽春 10 号在苗期和成株期对小麦叶锈病表现出较好的抗病性,目前,尚没有关于辽春 10 号抗叶锈病的遗传分析和抗病基因鉴定的报道。本研究旨在构建辽春 10 号 $F_{2:3}$ 群体对其抗病性状进行遗传分析,并利用已有分子标记对其携带的抗病基因进行鉴定,为小麦抗叶锈病基因选择利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

抗病小麦亲本材料辽春 10 号,感病小麦亲本材料为 87-1,抗感亲本杂交得到 F_1 代,进一步自交获得 F_2 分离群体 145 个单株,其中 124 个单株收获了 $F_{2:3}$ 代种子,其余的 21 个 F_2 单株由于结实率低,没有获得足够的种子,故没有进行进一步的鉴定分析。

1.2 叶锈病抗性鉴定

利用北京地区流行的叶锈菌生理小种 PHT (由中国农业科学院植物保护研究所提供) 对辽春 10, 87-1, 87-1/辽春 10 的 F_1 代、 F_2 代单株和 $F_{2:3}$ 代株系在温室苗期和田间苗期进行接种。

在温室苗期接种时,待小麦第一叶片完全展开,喷洒叶锈菌生理小种 PHT 孢子和滑石粉混合物,黑暗培养保湿 16 h, 15~25 °C 温室培养,接种 15 d 左右发病充分时进行鉴定,鉴定标准与 Roelfs 等^[14]

相同,分为 0、0₁、1、2、3、4 等 6 级标准,0~2 级为抗病,3~4 级为感病。田间接种时,在所有的幼苗茎基部注射接种叶锈菌生理小种 PHT 孢子悬浮液,以感病材料 87-1 为对照,待植株拔节后发病充分时进行鉴定,鉴定标准参照温室苗期标准。

1.3 微卫星标记引物来源

首先利用小麦 SSR 标记引物 (<http://wheat.pw.usda.gov/GG2/index.shtml>) 在抗感池间筛选多态性标记,通过群体验证确定与目标基因连锁的标记;进一步利用比较基因组学策略开发与目的基因更近的分子标记。根据 Sourdille 等^[15]的研究结果,结合目的基因的初定位结果确定所在的染色体 Bin 区段,利用 Graingenes 2.0 提供的 Wheat Physical EST Maps 信息^[16],找到这一区段的所有 EST,并从 NCBI 中下载这些 EST 的相关序列。将其比对大麦和短柄草的基因组序列,确立其在大麦和短柄草基因组中对应的直系同源序列^[17]。然后利用相应直系同源序列附近基因的编码区序列搜索小麦的 EST 数据库,获取同源的小麦 EST 序列,设计 SSR 引物^[18]。

1.4 分子标记检测及分析

参照李丹^[19]的 CTAB 法提取小麦叶片的全基因组 DNA,并用 dd H₂O 稀释至所需浓度待用。按 Michelmor 等^[20]的集群分离分析法 (BSA),从 F_2 群体中随机选取 10 个纯合抗病单株和 10 个纯合感病单株,将其 DNA 等量混合,构建抗病池和感病池。PCR 体系 10 μ L,含 Genestar 2 \times Tag PCR StarMix with Loading Dye 5 μ L,去离子水 2 μ L, 10~100 ng/ μ L 基因组 DNA 1 μ L, 20 ng/ μ L 引物 2 μ L。扩增程序为:94 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 30 s, 50~62 °C (依据引物的退火温度) 复性 30 s, 72 °C 延伸 30~90 s (根据片段大小而定), 36 个循环; 72 °C 延伸 10 min。扩增产物采用 10% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳及硝酸银染色。用 Joinmap 4.0 软件计算分子标记与抗叶锈病基因的遗传距离, MapDraw V2.1 绘制遗传连锁图谱^[21-22]。

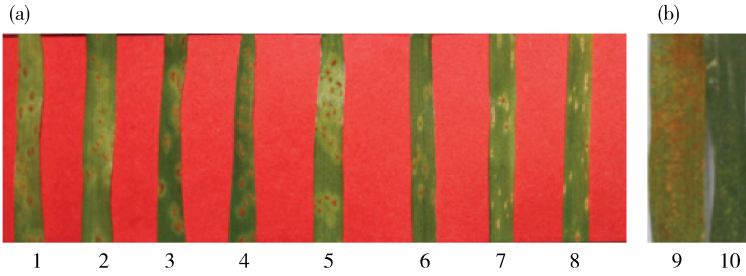
2 结果与分析

2.1 辽春 10 抗叶锈病基因的遗传分析

通过苗期鉴定发现,感病材料 87-1 的第一片叶到第四片叶均表现高感,抗病材料辽春 10 从第三片叶子开始表现出一定的抗病性,第四片叶子的抗病性更好,但仍有少数辽春 10 单株在三叶期仍表现为

感病,如图 1(a)所示,辽春 10 抗叶锈病表现随发育阶段而变化。因此,辽春 10 的杂交后代的分离群体

进行叶锈病抗性的表型鉴定需要在四叶期之后进行。



1~4 分别代表感病材料 87-1 第 1 至 4 叶龄的叶片;5~8 分别代表抗病材料辽春 10 第 1 至 4 叶龄的叶片;9,10 分别代表 87-1 和辽春 10 的成株期叶片。

1-4 represent 1st to 4th leaf stages in susceptible material 87-1;5-8 represent 1st to 4th leaf stages in resistant material Liaochun10;9 and 10 represent adult leaf in material 87-1 and Liaochun10, respectively.

图 1 叶锈菌生理小种 PHT 对 87-1 与辽春 10 的苗期侵染型(a)和成株期侵染型(b)

Fig.1 Seedling (a) and adult (b) infection symptoms of parents 87-1, Liaochun10 in response to *Puccinia triticina* pathotype PHT

田间成株期鉴定发现,感病材料 87-1 均表现高感(IT4),而辽春 10 表现良好的抗病性(图 1(b))。145 株 F_2 群体的抗病单株与感病单株的比例为 113 : 32,用卡方测验检验其适合度,其卡方值为 0.67,测验结果符合 3 : 1 的分离比。进一步对其中的 124 个 $F_{2:3}$ 家系进行鉴定发现,在全部 95 株抗病

单株中,约有 1/2 的家系(共 71 个)出现抗感分离,而感病家系均没有出现抗感分离,经卡方适合性测验表明,这些 $F_{2:3}$ 家系中纯合抗病,杂合抗病和纯合感病的比例符合 1 : 2 : 1(表 1),表明辽春 10 含有 1 个显性的抗叶锈病基因,暂时命名为 *LrLC10*。

表 1 87-1 与辽春 10 杂交后代群体的田间成株期表型鉴定

Table 1 Field performance of hybrid populations derived from the cross between 87-1 and Liaochun 10 at adult stage

组合 Cross	世代 Generation	抗病株系 Resistant plant	分离株系 Segregating plant	感病株系 Susceptible plant	总株数 Total	χ^2	期望比率 Expected ratio	$\chi^2_{0.05,1}$
87-1/辽春 10 87-1/Liaochun 10	F_2	113	—	32	145	0.67	3 : 1	3.84
87-1/辽春 10 87-1/Liaochun 10	$F_{2:3}$	24	71	29	124	3.01	1 : 2 : 1	3.84

2.2 辽春 10 抗叶锈病基因的分子标记

通过抗感池间标记筛选,发现有 4 个位于 2BS 染色体的 SSR 标记(*Xbarc55*, *Xbarc13*, *Xwmc477* 和 *Xbarc18*) 在抗感池间有多态性。为检测目的基因与有多态性的标记是否连锁,利用这 4 个标记在 F_2 分离群体中进行基因型检测,并结合 $F_{2:3}$ 的表型鉴定结果,发现这 4 个标记与抗病基因均连锁(图 2),进一步根据分子标记与目标基因的遗传距离绘制了

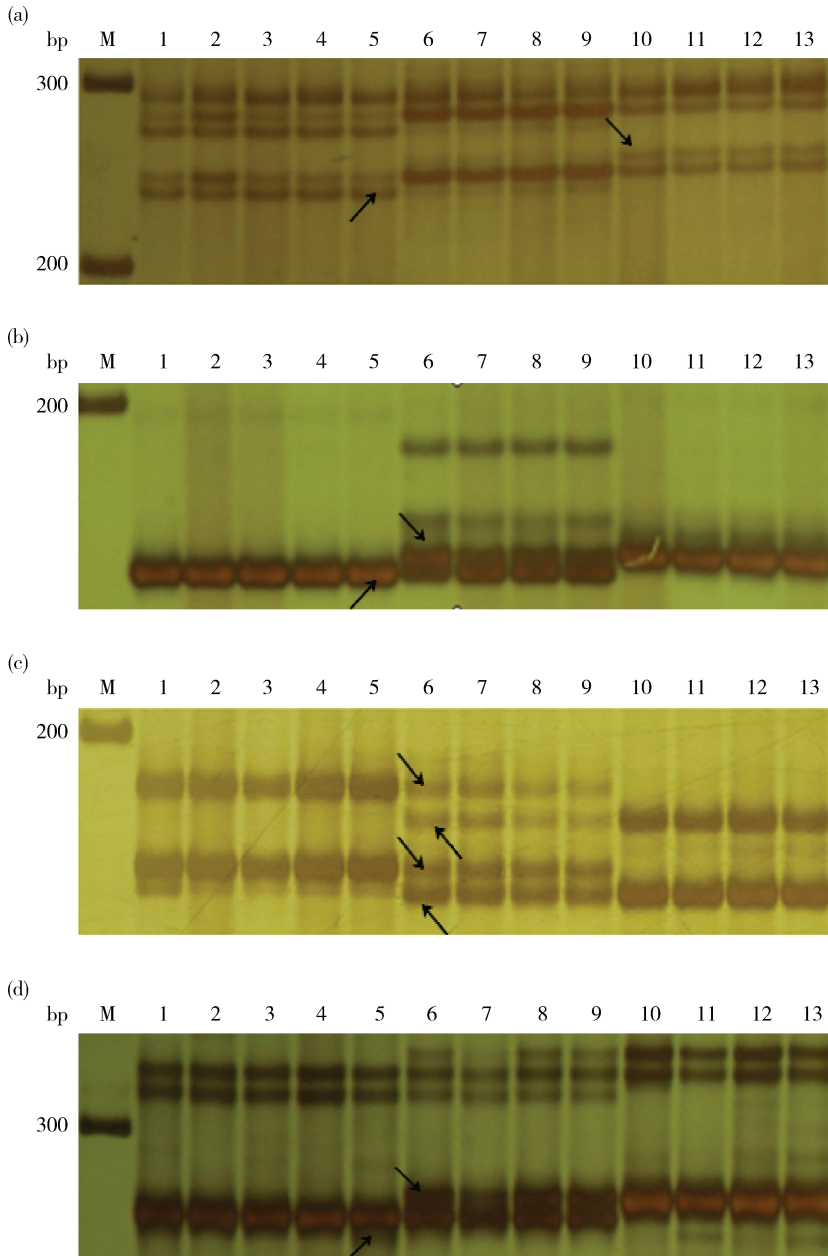
遗传连锁图谱(图 3),分子标记顺序及各标记之间的遗传距离如下:*Xbarc55*-2.5 cM-*Xbarc13*-0.3 cM-*LrLC10*-3.6 cM-*Xwmc477*-1.6 cM-*Xbarc18*,其中 *Xbarc55* 和 *Xbarc13* 位于 *LrLC10* 的远着丝粒侧,*Xwmc477* 和 *Xbarc18* 位于 *LrLC10* 的近着丝粒侧。

2.3 辽春 10 的比较基因组学分析

初定位结果表明,*LrLC10* 位于 *Xbarc13*(2BS1-

0.53-0.75 区段)和 *Xbarc18* (2BS1-0.53 区段)位点之间。利用这 2 个区段内的小麦 EST 序列在大麦和短柄草的基因组中进行同源序列比对,发现在 2BS1-0.53-0.75 区段内的 EST 序列在大麦和二穗短柄草中有较少的同源序列,但在 2BS1-0.53 区段

内所包含的 EST 有 57% 比对到大麦的 2 号染色体短臂上,68% 比对到短柄草的 1 号染色体上。说明 *LrLC10* 所在的 2BS1-0.53 区段与大麦的 2 号染色体和二穗短柄草的 1 号染色体具有较好的宏观共线性(图 4)。

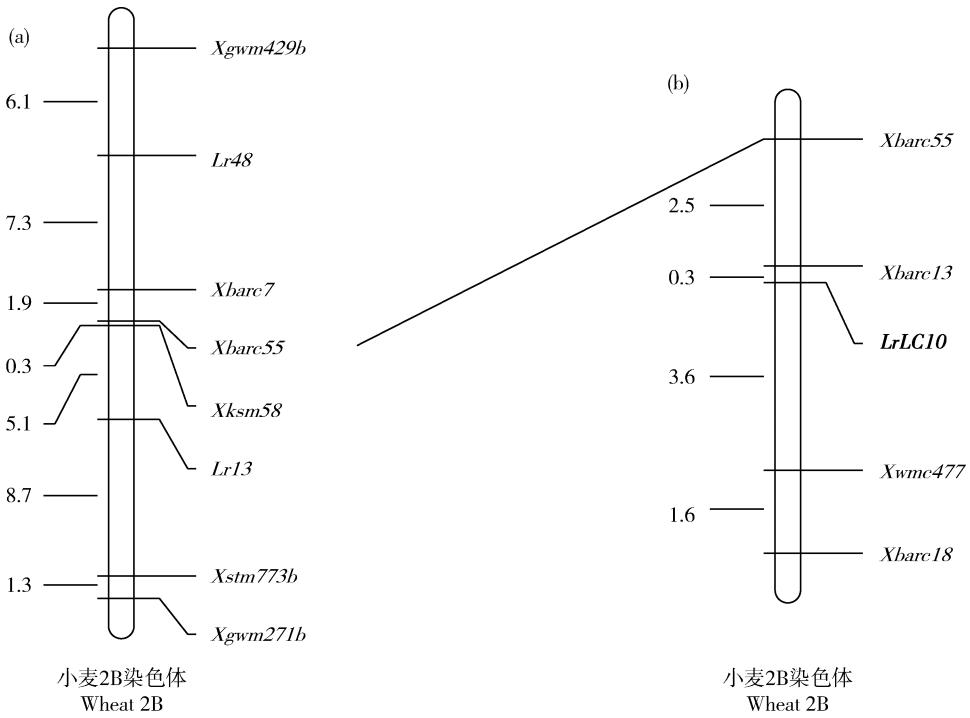


M, 100 bp DNA ladder; 1, 辽春 10; 2~5, 不同的纯合抗病家系; 6~9, 不同的分离家系; 10~13, 不同的感病家系。箭头所指为多态性条带。

M, 100 bp DNA ladder; 1, Liaochun10; 2-5, different homozygous resistant plants; 6-9, different segregating plants; 10-13, different susceptible plants. Arrows indicate DNA fragments polymorphic between resistant and susceptible plants.

图 2 与抗叶锈病基因 *LrLC10* 连锁的分子标记 *Xbarc55* (a)、*Xbarc13* (b)、*Xwmc477* (c) 和 *Xbarc18* (d) 的扩增结果

Fig. 2 Amplification patterns of *LrLC10*-linked markers *Xbarc55* (a), *Xbarc13* (b), *Xwmc477* (c) and *Xbarc18* (d)

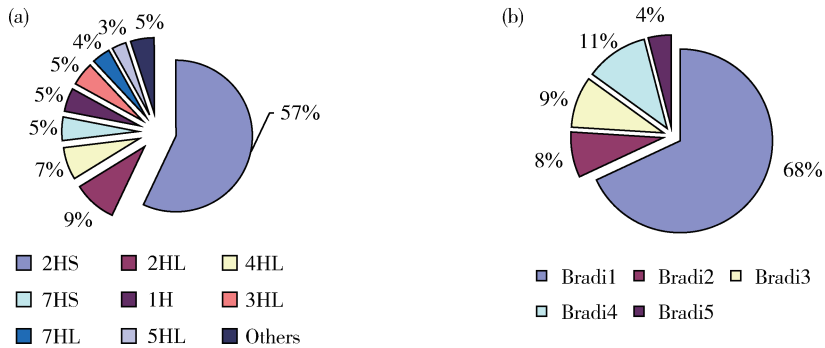


LrI3 遗传连锁图谱^[24]; *LrLC10* 遗传连锁图谱。在图中, 遗传图谱的左侧为 2 个相邻位点之间的遗传距离(cM), 右侧是分子标记和基因所在位置。

A genetic linkage map of *LrI3*^[24]; genetic linkage map of *LrLC10*. Numbers on the left indicate genetic distances(cM) of the linkage map and the right show the polymorphic markers.

图 3 抗叶锈病基因 *LrI3* (a) 和 *LrLC10* (b) 的遗传连锁图谱的比较

Fig. 3 Comparison of genetic linkage map of *LrLC10* (b) with *LrI3* (a)



2HS, 大麦 2 号染色体短臂; 2HL, 大麦 2 号染色体长臂; 4HL, 大麦 4 号染色体长臂; 7HS, 大麦 7 号染色体短臂; 1H, 大麦 1 号染色体; 3HL, 大麦 3 号染色体长臂; 7HL, 大麦 7 号染色体长臂; 5HL, 大麦 5 号染色体长臂; Others, 小麦 2BS1-0.53 区段内的 EST 没有比对到大麦中。

Bradi1, 短柄草 1 号染色体; Bradi2, 短柄草 2 号染色体; Bradi3, 短柄草 3 号染色体; Bradi4, 短柄草 4 号染色体; Bradi5, 短柄草 5 号染色体。

2HS represents the short arm of barely chromosome 2H; 2HL represents the long arm of barely chromosome 2H; 4HL represents the long arm of barely chromosome 4H; 7HS represents the short arm of barely chromosome 7H; 1H represents the barely chromosome 1H; 3HL represents the long arm of barely chromosome 3H; 7HL represents the long arm of barely chromosome 7H; 5HL represents the long arm of barely chromosome 5H; Others represent unmatched wheat 2BS1-0.53 ESTs in the CDSs of barely.

Bradi1 represents *Brachypodium* chromosome 1; Bradi2 represents *Brachypodium* chromosome 2; Bradi3 represents *Brachypodium* chromosome 3; Bradi4 represents *Brachypodium* chromosome 4; Bradi5 represents *Brachypodium* chromosome 5.

图 4 *LrLC10* 所在小麦区段 EST 与大麦 (a) 和短柄草 (b) 序列比对结果

Fig. 4 Alignment of wheat ESTs in wheat 2BS1-0.53 containing *LrLC10* locus with CDSs of barley (a) and *Brachypodium* (b)

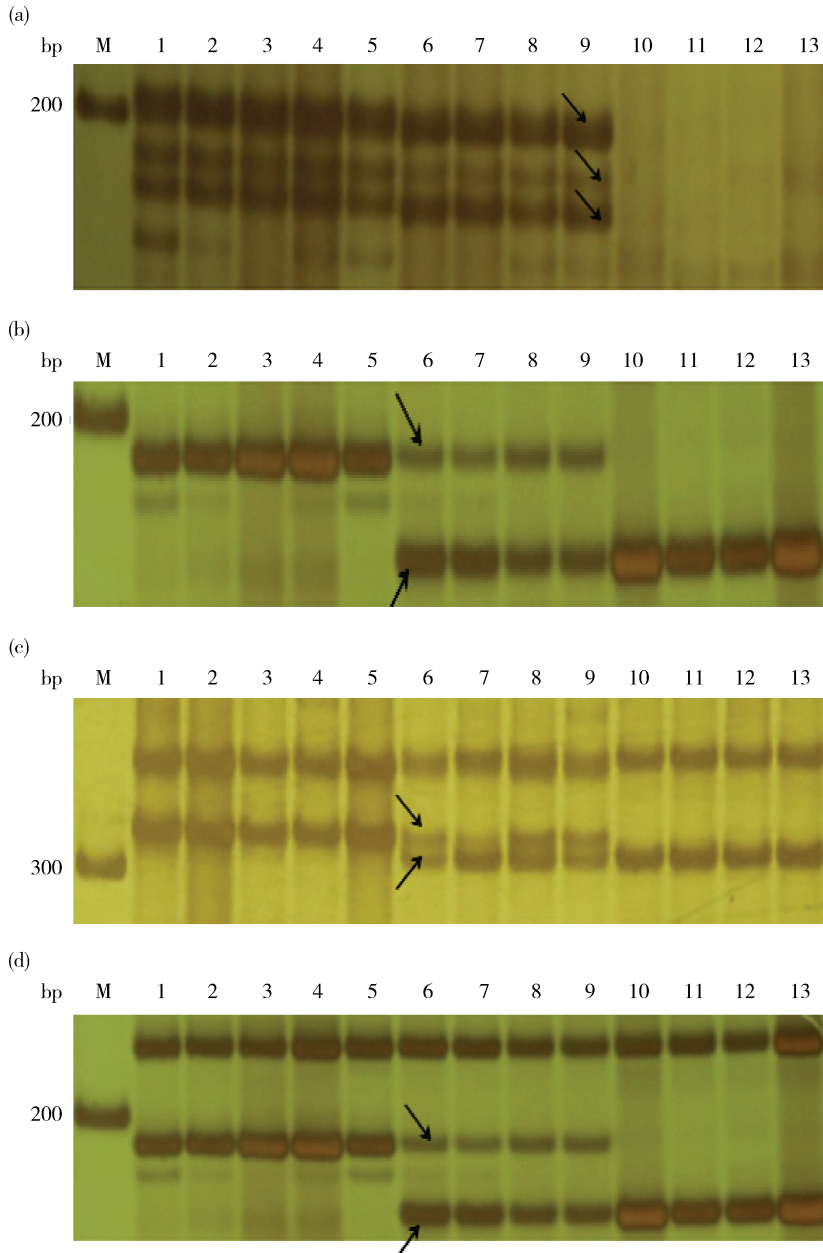
在确定了大麦和短柄草基因组中的直系同源区段的基础上, 利用小麦-大麦-短柄草基因组的共线

性, 进一步开发了 4 个与抗病基因紧密连锁的分子标记(表 2, 图 5), *CAUT131*, *CAUT163*, *CAUT253*,

表2 由比较基因组学策略建立的分子标记的相关信息

Table 2 Molecular markers developed using comparative mapping method

标记 Marker	标记类型 Marker type	正向引物 Forward primer(5'-3')	反向引物 Reverse primer(5'-3')
CAUT131	SSR	GCATTAGTGCCTTAATTTGTTC	CGGCAGAAGATGGGAGTGT
CAUT163	SSR	CGGTATGGGAAGGGTCTGC	GGGAGTACATCCGTTTGAGC
CAUT239	SSR	TGACGCCTGATGAGGTGGT	TCCGTCCTCTTCTCTTCTTT
CAUT253	SSR	CAAGATCCACAAGGCAATC	GAAGCGGAAGAACCAGAAG



M, 100 bp DNA ladder; 1, 辽春 10; 2~5, 不同的纯合抗病家系; 6~9, 不同的分离家系; 10~13, 不同的感病家系。箭头所指为多态性条带。

M, 100 bp DNA ladder; 1, Liaochun10; 2-5, different homozygous resistant plants; 6-9, different segregating plants; 10-13, different susceptible plants. Arrows on the picture indicate DNA fragments polymorphic between resistant and susceptible plants.

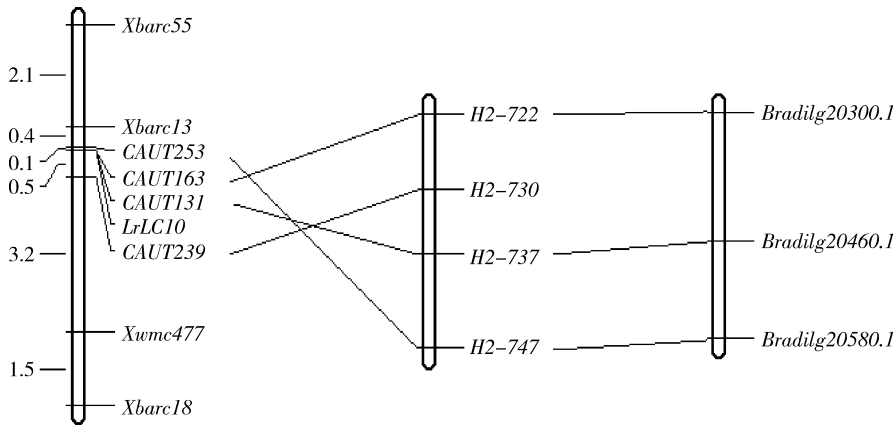
图5 与抗叶锈病基因 *LrLC10* 连锁的分子标记 CAUT253 (a)、CAUT163 (b)、CAUT131 (c) 和 CAUT239 (d) 的扩增结果

Fig. 5 Amplification patterns of *LrLC10*-linked markers CAUT253 (a), CAUT163 (b), CAUT131 (c) and CAUT239 (d)

CAUT239 的 EST 序列分别与大麦第 2 染色体的基因 *H2-737*, *H2-722*, *H2-747*, *H2-730* 和短柄草第 1 染色体的基因 *Bradilg20460.1*, *Bradilg20300.1*, *Bradilg20390.1* 和 *Bradilg20580.1* 存在同源关系。这些标记中,除 CAUT253 为显性标记外,其余均为共显性标记。

利用本研究得到的 8 个与目标基因紧密连锁的分子标记,构建了 *LrLC10* 基因的遗传连锁图并与大麦及短柄草同源染色体区段进行了比较,其中

CAUT253 位于 *LrLC10* 的远着丝粒侧,距离为 0.1 cM;CAUT163 和 CAUT131 与 *LrLC10* 共分离;CAUT239 位于 *LrLC10* 的近着丝粒侧,遗传距离为 0.5 cM(图 6)。从比较基因组学分析结果可以看出,*LrLC10* 所在的染色体区段与大麦基因组和短柄草基因组中的直系同源区段存在较好的共线性,同时也有少数位点显示三者之间存在着基因排列顺序的颠倒和不一致,可能由于小麦、大麦和短柄草基因组在独立进化过程中产生。



遗传图谱的左侧为 2 个相邻位点之间的遗传距离(cM),右侧是分子标记和基因所在位置。

Numbers on the left indicate genetic distances (cM) of the linkage map and the right show polymorphic markers.

图 6 抗叶锈病基因 *LrLC10* 的比较基因组学遗传位置连锁图谱

Fig. 6 Comparative genomics genetic linkage map of leaf rust resistance gene *LrLC10*

3 讨论

本研究发现小麦品种辽春 10 对小麦叶锈菌生理小种 PHT 具有良好的抗性,其抗病性从四叶期开始较明显和稳定。通过遗传分析表明辽春 10 对叶锈菌生理小种 PHT 的抗性由 1 个显性基因控制,进一步采用分子标记检测,将该抗病基因定位于小麦染色体 2B 短臂上,并建立了与目标基因紧密连锁的分子标记。

在小麦染色体 2BS 上已经正式命名的叶锈病基因有 *Lr13*, *Lr16*, *Lr23*, *Lr48* 和 *Lr73*。Dyck 等^[23]和 Bansal 等^[24]研究表明含有 *Lr13* 基因的植株在三叶期表现为抗病,在一叶期表现为感病,位于分子标记 *Xksm58* 和 *Xtsm773b* 之间,遗传距离分别为 5.1 和 8.7 cM,位于染色体 2BS1-0.53 区段。McCartney 等^[25]研究表明 *Lr16* 在幼苗期对叶锈菌生理小种 MBDS, MBRJ 和 MGBJ 有抗性,且通过分子标记 *Xwmc764* 将其定位于 2BS 染色体末端;

McIntosh 等^[26]报道 *Lr23* 表现为苗期抗性;Bansal 等^[24]将表现为隐性成株抗性基因 *Lr48* 定位于分子标记 *Xgwm429b* 和 *Xbarc7* 之间,与其分别相距 6.1 和 7.3 cM,且与 *Lr13* 相比,更接近染色体末端(图 3);Park 等^[27]研究表明 *Lr73* 也表现为苗期抗性。

小麦品种辽春 10 号抗颖枯病、锈病,耐干热风^[13]。辽春 10 号的母本是“1048 (克 71 F₄ 370-10/黑巴 66 // U P321)”,父本是“70181-2 (辽春 6 号/京红 1 号)”,其中辽春 6 号的直系亲属包括 Frontanan^[13,28]。He 等^[28]研究显示 U P321 和 Frontanan 含有显性成株期抗叶锈基因 *Lr13*,辽春 10 的抗叶锈病基因可能是从其亲本中继承而来的 *Lr13*。

本研究所发现的基因 *LrLC10* 是一个显性抗叶锈病基因,从四叶期后表现出较好的叶锈病抗性,这与 *Lr13* 相似。*LrLC10* 的遗传位置与 *Lr13* 非常接近,均位于染色体 2BS1-0.53 区段。通过比较

LrLC10 与 *Lr13* 的遗传图谱,发现二者的遗传位置相近,且有相同的标记 *Xbarc55*,如图 3 所示。

因此,综合对辽春 10 的系谱分析、*LrLC10* 基因的抗病表现和分子标记定位等相关的证据,我们认为 *LrLC10* 很可能是 *Lr13*。与杨文香^[29]通过基因推导的方法证明辽春 10 中可能含有成株抗性基因 *Lr13* 的结论一致。更确定的结论还需要生理小种鉴定和等位性测验。

培育抗性持久的品种已被公认为是防治小麦叶锈病最为经济、有效和安全的途径,而抗病品种的选育关键在于抗源的不断发掘和有效利用。以 DNA 多态性为基础的分子标记技术是鉴定抗病基因有效的手段,是构建高密度遗传连锁图谱,克隆抗病基因的重要工具。本研究结合系谱分析、遗传分析和分子标记检测明确了辽春 10 抗叶锈病基因位于小麦染色体 2BS1-0.53 区段,并通过比较基因组学的方法开发了距离目标基因更近的分子标记,这一结果在对该基因进行分子标记辅助选择(MAS)及跟踪品种系谱信息中有一定的应用价值。

参考文献 References

- [1] Ellis J G, Lagudah E S, Spielmeier W, Dodds P N. The past, present and future of breeding rust resistant wheat[J]. *Front Plant Science*, 2014, 24(5): 641
- [2] Chen X M. Synthese epidemiology and control of stripe rust [*Puccinia striiformis f sp tritici*] on wheat[J]. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 2005, 27(3): 314-337
- [3] McIntosh R A, Dubcovsky J, Rogers W J. Catalogue of gene symbols for wheat; 2013 - 2014 Supplement [EB/OL] (2013-09-08). <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/macgene/2013/GeneCatalogueIntroduction.pdf>
- [4] Gupta S K, Charpe A, Prabhu K V, Haque Q M R. Identification and validation of molecular markers linked to the leaf rust resistance gene *Lr19* in wheat[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2006, 113(6): 1027-1036
- [5] Singh A, Pallavi J K, Gupta P, Prabhu K V. Identification of microsatellite markers linked to leaf rust resistance gene *Lr25* in wheat[J]. *Journal of Applied Genetics*, 2012, 53(1): 19
- [6] Bansal U K, Forrest K L, Hayden M J, Miah H, Singh D, Bariana H S. Characterisation of a new stripe rust resistance gene *Yr47* and its genetic association with the leaf rust resistance gene *Lr52* [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2011, 122(8): 1461-1466
- [7] Warburton M, Skovmand B, Mujeeb K A. The molecular genetic characterization of the 'Bobwhite' bread wheat family using AFLPs and the effect of the T1BL 1RS translocation[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2002, 104(5): 868-873
- [8] Iqbal M J, Maqsood Y, Abdin Z U, Manzoor A, Hassan M, Jamil A. SSR markers associated with proline in drought tolerant wheat Germplasm [J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2016, 178(5): 1042-1052
- [9] Thomas W, Mayer K F X, Heidrun G, Mihaela M, Burkhard S, Uwe S, Hana S, Marie K, Frederic C, Stefan T, Matthias P, Catherine F, Tzion F, Hikmet B, Jaroslav D, Beat K, Nils S. Frequent gene movement and pseudogene evolution is common to the large and complex genomes of wheat, barley, and their relatives[J]. *Plant cell*, 2011, 23(5): 1706-1718
- [10] Girin T, David L C, Chardin C, Sibout R, Krapp A, Ferrario M S, Daniel V F. *Brachypodium*: A promising hub between model species and cereals [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2014, 65(19): 5683-5696
- [11] 谢皓, 陈学珍, 杨柳, 王建立. EST-SSR 标记的发展和在植物遗传研究中的应用[J]. 北京农学院学报, 2005, 20(4): 73-76
- [12] Xie H, Chen X Z, Yang L, Wang J L. Development and application of EST-SSR marker in plant genetic[J]. *Journal of Beijing Agricultural College*, 2005, 20(4): 73-76 (in Chinese)
- [13] 周江鸿, 赵素珍, 漆小泉. 短柄草与麦类作物的比较基因组学研究进展[J]. 植物生理学报, 2011, 47(5): 421-426
- [14] Zhou J H, Zhao S Z, Qi X Q. Development of comparative genomics in *Brachypodium* and wheat [J]. *Journal of Plant Physiology in Chinese*, 2011, 47(5): 421-426 (in Chinese)
- [15] 王德生. 优质面包小麦新品种辽春 10 号[J]. 作物品种资源, 1998, (2): 54
- [16] Wang D S. The new cultivar Liaochun10 in bread wheat [J]. *Institute of Crop Germplasm Resources in China*, 1998, (2): 54 (in Chinese)
- [17] Roelfs A P, Singh R P, Saari E E. *Resistance to Leaf and Stem rusts of Wheat: Concepts and Methods of Disease Management* [M]. Mexico: CIMMYT, 1992
- [18] Sourdile P, Singh S, Cadalen T, Brownguedira G L, Gay G, Qi L, Gill B S, Dufour P, Murigneux A, Bernard M. Microsatellite-based deletion bin system for the establishment of genetic-physical map relationships in wheat (*Triticum aestivum* L) [J]. *Functional and Integrative Genomics*, 2004, 4(1): 12-25
- [19] Qi L L, Echalié B, Chao S, Lazo G R, Butler G E, Anderson O D, Akhunov E D, Dvo J, Linkiewicz A M, Ratnasiri A, Dubcovsky J, Bermudez K C E, Greene R A, Kantety R, La R C M, Munkvold J D, Sorrells M E, Dilbirligi M, Sidhu D, Erayman M, Randhawa H S, Sandhu D, Bondareva S N, Gill K S, Mahmoud A A, Ma X F, Miftahudin, Gustafson J P, Conley E J, Nduati V, Gonzalez-Hernandez J L, Anderson J A, Peng J H, Lapitan N L, Hossain K G, Kalavacharla V, Kianian S F, Pathan M S, Zhang D S, Nguyen H T, Choi D W, Fenton R D, Close T J, McGuire P E, Qualset C O, Gill B S. A chromosome Bin map of 16000 expressed sequence Tag loci and distribution of genes among the three genomes of polyploid wheat [J]. *Genetics*, 2004, 168(2): 701-712

- [17] Bossolini E, Wicker T, Knobel P A, Beat K. Comparison of orthologous loci from small grass genomes *Brachypodium* and rice: Implications for wheat genomics and grass genome annotation[J]. *Plant Journal*, 2007, 49(4): 704-717
- [18] Talbert L E, Blake N K, Chee P W. Evaluation of “sequence-tagged-site” PCR products as molecular markers in wheat[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1994, 87(7): 789-794
- [19] 李丹. 小麦新品种(系)抗白粉病基因的鉴定和分子标记定位[D]. 北京: 中国农业大学, 2012
- Li D. The identification and molecular mapping of *Powdery mildew* resistance genes in common wheat cultivars (lines) [D]. Beijing: China Agricultural University, 2012 (in Chinese)
- [20] Michelmore R W, Paran I, Kesseli R V. Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: A rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 1991, 88(21): 9828-9832.
- [21] Van Ooijen J W. Joinmap 4 Software for the calculation of genetic linkage maps in experimental populations [R]. Wageningen: Plant Research International, 2006
- [22] Liu R H, Meng J L. MapDraw: A microsoft Excel macro for drawing genetic linkage maps based on given genetic linkage data[J]. *Hereditas*, 2003, 25(3): 317-321
- [23] Dyck P L, Samborski D J, Anderson R G. Inheritance of adult-plant leaf rust resistance derived from the common wheat varieties exchange and frontana[J]. *Genome*, 2011, 8(4): 665-671
- [24] Bansal U K, Hayden M J, Venkata B P, Khanna R, Saini R G, Bariana H S. Genetic mapping of adult plant leaf rust resistance genes *Lr48* and *Lr49* in common wheat [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2008, 117(3): 307-312
- [25] McCartney C A, Somers D J, McCallum B D, McCallum J, Thomas D G, Humphreys J G, Menzies. Brown P D. Microsatellite tagging of the leaf rust resistance gene *Lr16* on wheat chromosome 2BSc [J]. *Molecular Breeding*, 2005, 15(4): 329-337
- [26] McIntosh R A, Wellings C R, Park R F. Wheat rusts: An atlas of resistance genes[J]. *Australasian Plant Pathology*, 1996, 25(1): 70
- [27] Park R F, Mohler V, Nazari K, Singh D. Characterisation and mapping of gene *Lr73* conferring seedling resistance to *Puccinia triticina* in common wheat [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2014, 127(9): 2041-2049
- [28] He A H, Rajaram S, Xin Z Y, Huang G Z. A history of wheat Breeding in China[R]. Mexico: International Maize and Wheat Improvement Center, 2001
- [29] 杨文香. *Lr37*, *Lr44* AFLP 分子标记及 124 个小麦品种(系)抗叶锈基因鉴定[D]. 河北: 河北农业大学, 2003
- Yang W X. Molecular markers for *Lr37*, *Lr44* based on AFLP and detection of wheat leaf rust resistance genes in 124 wheat cultivars (lines) [D]. Hebei: Hebei Agriculture University, 2003 (in Chinese)

责任编辑: 吕晓梅