

万文涛, 赵霏泽, 陈甜甜, 等. 含抗白粉病基因 *PmV* 小麦-簇毛麦补偿性插入易位系 Dv6-IT2 的创制与鉴定[J]. 江苏农业学报, 2024, 40(11): 2013-2020.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2024.11.004

## 含抗白粉病基因 *PmV* 小麦-簇毛麦补偿性插入易位系 Dv6-IT2 的创制与鉴定

万文涛<sup>1</sup>, 赵霏泽<sup>1,2</sup>, 陈甜甜<sup>1</sup>, 王玲<sup>1</sup>, 汪尊杰<sup>1</sup>, 张旭<sup>3</sup>, 陈一鸣<sup>3</sup>, 别同德<sup>1</sup>, 赵仁慧<sup>1</sup>

(1. 农业农村部长江中下游小麦生物学与遗传育种重点实验室/江苏里下河地区农业科学研究所, 江苏 扬州 225007; 2. 云南农业大学农学与生物技术学院, 云南 昆明 650000; 3. 南京农业大学作物遗传与种质创新利用国家重点实验室, 江苏 南京 210095)

**摘要:** 白粉病是中国小麦主要病害之一。抗白粉病基因 *PmV* 和 *Pm21* 是来自不同簇毛麦种质的同源基因, 分别以 T6V#4S · 6DL 和 T6V#2S · 6AL 易位系的形式被育种利用。*Pm21* 基因在中国已得到广泛应用, 而作为其后备抗源的 *PmV* 基因却极少被利用, 主要原因是 T6V#4S · 6DL 易位染色体的外源片段过大, 在亲子代传递率低, 育种利用困难。创制含 *PmV* 的补偿性小片段易位是提高传递率、减少外源基因冗余的重要途径。本研究利用均携带 *PmV* 基因的顶端易位系 Dv6T25 与近着丝粒易位系 Dv6T36 杂交, 根据外源重叠区重组原理, 在 F<sub>2</sub> 代分离群体中筛选出 1 个携 *PmV* 基因的补偿性中间插入易位系 Dv6-IT2。利用簇毛麦参考基因组序列信息进行标记加密分析, 结果表明易位片段双侧断裂重接位点分别介于 35.1~36.3 Mb 和 85.1~85.3 Mb, 外源易位片段长度约为 50 Mb。将 Dv6-IT2 与大面积推广品种扬麦 23 杂交构建 F<sub>2</sub> 分离群体, 标记结果显示, 抗感比符合 3:1 分离比, 说明 *PmV* 基因在新型易位中可正常传递。本研究成功创制了 Dv6-IT2, 将促进 *PmV* 基因在小麦抗白粉病育种中的利用。

**关键词:** 小麦; 簇毛麦; 抗白粉病基因 *PmV*; 插入易位

**中图分类号:** S512.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2024)11-2013-08

## Creation and identification of compensating intercalary translocation line Dv6-IT2 carrying the powdery mildew resistance gene *PmV* from *Dasyprum villosum*

WAN Wentao<sup>1</sup>, ZHAO Peize<sup>1,2</sup>, CHEN Tiantian<sup>1</sup>, WANG Ling<sup>1</sup>, WANG Zunjie<sup>1</sup>, ZHANG Xu<sup>3</sup>, CHEN Yiming<sup>3</sup>, BIE Tongde<sup>1</sup>, ZHAO Renhui<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Wheat Biology and Genetic Improvement for Low Middle Yangtze Valley, Ministry of Agriculture and Rural Affairs/Institute of Agricultural Sciences of the Lixiahe District in Jiangsu Province, Yangzhou 225007, China; 2. College of Agronomy and Biotechnology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650000, China; 3. State Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

收稿日期: 2024-03-13

基金项目: 国家自然科学基金项目(32072065, 32201808); 江苏省重点研发计划项目(BE2022346); 扬州市“绿扬金凤计划”优秀博士项目

作者简介: 万文涛(1991-), 男, 江苏连云港人, 博士, 助理研究员, 主要从事小麦遗传育种研究。(E-mail) wentaowan2021@126.com

通讯作者: 赵仁慧, (E-mail) zhaorh86@163.com

**Abstract:** Powdery mildew is one of the main diseases of wheat in China. The powdery mildew resistance genes *PmV* and *Pm21* are homologous genes from different *Dasyprum villosum* germplasm resources, which are used in breeding in the form of T6V#4S · 6DL and T6V#2S ·

6AL translocation lines, respectively. *Pm21* gene has been widely used in China, while *PmV* gene is rarely used. The main reason is that the exogenous fragment of T6V#4S · 6DL translocation chromosome is too large, the transmission rate in the parent-offspring generation is low, and it is difficult to use in breeding. The creation of compensating small fragment translocation containing *PmV* is an important way to improve the transmission rate and reduce the redundancy of exogenous genes. In this study, we crossed the distal translocation line Dv6T25 carrying *PmV* with the proximal translocation line Dv6T36 carrying *PmV*. According to the principle of exogenous overlap region recombination, a compensatory intercalary translocation line Dv6-IT2 carrying *PmV* was screened in the  $F_2$  segregating population. Marker encryption analysis was performed using the reference genome sequence information of *D. villosum*. The results showed that the double-sided breakpoints of the translocation fragments were 35.1–36.3 Mb and 85.1–85.3 Mb, respectively, and the length of the exogenous translocation fragment was about 50 Mb. The  $F_2$  segregating population was constructed by crossing Dv6-IT2 with Yangmai 23. The marker results indicated that the ratio of resistance to susceptibility was consistent with the segregation ratio of 3 : 1, indicating that the *PmV* gene could be transmitted normally in the new translocation. In this study, Dv6-IT2 was successfully created, which promoted the utilization of *PmV* gene in wheat powdery mildew resistance breeding.

**Key words:** wheat; *Dasyprum villosum*; powdery mildew resistance gene *PmV*; intercalary translocation

小麦白粉病是由禾本科布氏白粉菌小麦专化型 (*Blumeriagraminis* f. sp. *tritici*, *Bgt*) 引起的一种真菌性病害, 是中国小麦主要病害之一, 会引起小麦叶片枯萎、茎秆变软、灌浆不足等症状, 进而导致减产和品质下降<sup>[1]</sup>。迄今已有 100 多个小麦抗白粉病主效基因以及 140 多个成株期抗白粉病数量性状基因座 (QTL) 被相继报道, 分布在小麦全部 21 条染色体上<sup>[2-3]</sup>。尽管已报道的小麦抗白粉病基因有很多, 但实际育种利用的抗源却很少。一方面是由于很多抗病基因来源于小麦近缘物种, 携带不同程度的外源基因冗余, 在导入小麦遗传背景后往往带来一些野生性状, 给育成小麦品种农艺性状和品质造成不利影响。另一方面, 大多数抗病基因是病原菌生理小种专化抗性, 单一抗病基因的大面积利用会加速病原菌优势小种变异, 导致抗性丧失, 如抗病基因 *Pm8*<sup>[4]</sup> 和 *Pm4a*<sup>[5]</sup>。

长江中下游麦区春季多雨潮湿, 具有白粉菌繁殖的天然有利条件, 是中国白粉病发生程度最严重的麦区。20 世纪 90 年代以来, 由于 *Pm8* 基因丧失抗性, 小麦白粉病发展成为中国第一大病害, 严重威胁长江中下游小麦生产安全。21 世纪初以来, 扬麦 11 号 (具有抗病基因 *Pm4a*)、扬麦 13 号 (具有抗病基因 *Pm2+Mld*) 等抗白粉病小麦品种得到快速推广应用, 有效缓解了生产上白粉病的危害。但 2010 年前后, 随着上述品种大范围推广种植, 抗白粉病基因 *Pm2a*、*Pm4a* 的抗性逐渐被新出现的毒性菌株克服, 导致一度无抗白粉病小麦品种可用。生产上仅有含簇毛麦抗白粉病基因 *Pm21* 的扬麦 18 和镇麦 9 号

具有抗白粉病特性。

*Pm21* 基因来源于小麦野生近缘种二倍体簇毛麦 (*Dasyprum villosa*,  $2n = 14, VV$ ), 位于 6V 染色体短臂, 几乎对所有白粉菌菌株表现免疫或高抗<sup>[6-7]</sup>。随着 *Pm2a* 和 *Pm4a* 的抗性在长江中下游麦区逐步丧失, *Pm21* 跃升为该麦区最主要的抗白粉病基因源, 相继育成了“扬麦”系列、“镇麦”系列、“宁麦”系列及盐麦 1 号等抗白粉病品种近 50 个。然而, 由于缺乏具有育种价值的后备抗源, 利用 *Pm21* 育成的品种及参试品系的数量急剧上升。本团队统计了过去 5 年长江中下游麦区国家区试和江苏省区试材料的白粉病抗性表型和基因型, 结果显示 42.0% 的参试品系表现为高抗白粉病, 其中含 *Pm21* 基因的品系占比高达 95.9%, *Pm21* 基因存在过度利用风险<sup>[8]</sup>。此外, 现有的 *Pm21* 基因供体小麦-簇毛麦 T6V#2S · 6AL 易位系会带来株高增加、穗数减少、叶片增大等不利效应<sup>[9]</sup>, 限制了该基因在黄淮等多穗型麦区的利用。

来自 T6V#4S · 6DL 易位系的 *PmV* 是 *Pm21* 的等位基因, 同样具有广谱抗白粉病特性。由于其亲代传递率低, 目前仅育成扬麦 22、扬辐麦 19 等几个品种。本团队前期在扬麦 18 (T6V#2S · 6AL) 和扬麦 22 (T6V#4S · 6DL) 为双亲构建的 RIL 群体中筛选出 1 个携 *PmV* 基因的重组型易位系 RIL12401 (T6V#4S-6V#2S · 6AL), 一定程度上解决了 *PmV* 基因传递率低的问题, 但未能改善对穗数、株高等农艺性状的不良影响, 与原始 T6V#2S · 6AL 易位系类似<sup>[9]</sup>。为打破不良连锁, 利用自主培育的农艺性状

优良的新型 *ph1b* 突变系扬麦 23-*ph1b* 诱导 RIL12401 中 6VS 重组易位染色体与小麦第 6 部分同源群染色体重组,创制了一系列含 *PmV* 基因的初级易位系,易位片段大小介于 90~200 Mb<sup>[8]</sup>。在此基础上,本研究选取两个含 *PmV* 基因的互补型初级易位系 Dv6T25 和 Dv6T36 为材料,通过外源片段重叠区的同源重组,创制外源片段更小的中间插入补偿性抗白粉病易位系,为促进 *PmV* 基因在小麦抗白粉病育种中的应用奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

Dv6T25 和 Dv6T36 是本团队前期利用扬麦 23-*ph1b* 与 RIL12401 为亲本,通过 *ph1b* 基因诱导 6VS 与 6AS 部分同源重组得到的含 *PmV* 的互补型初级易位系<sup>[8]</sup>。Dv6T25 的易位形式为 T6VS-6AS·6AL,易位断点介于标记 *MBH1* (80.0 Mb) 和 *CINAU2593* (89.9 Mb) 之间。Dv6T36 的易位形式为 T6AS-6VS·6AL,易位断点介于标记 *CINAU2710* (35.1 Mb) 和 *CINAU2713* (56.1 Mb) 之间。

### 1.2 杂交组合与标记分析

以初级易位系 Dv6T25 和 Dv6T36 为双亲进行杂交并构建 F<sub>2</sub> 群体。由于双亲在 *ph1b* 位点均为隐性纯合,在杂交后代群体中不需要再检测。6VS 染色体顶端和近着丝粒区分别利用共显性标记 6VS-*GX4* 和 6VS-*GX17* 进行检测<sup>[8]</sup>,抗白粉病基因 *PmV* 利用基因功能标记 *MBH1* 检测<sup>[5]</sup>,标记序列见表 1。

表 1 中间插入易位筛选标记引物序列

Table 1 Primer sequences of molecular markers used for selection of intercalary translocation

标记名称	引物序列 (5'→3')	基因/位点
6VS- <i>GX4</i>	F:GAGGAGCACGAGGACTACAA	6VS 染色体顶端
	R:CCAAGAAGAGCCATGCCAAG	
6VS- <i>GX17</i>	F:CCATGGTCGTCGATCAGAAG	6VS 染色体末端
	R:CCGGGATCTTCACCACGAA	
<i>MBH1</i>	F:AGGCTCCTCTCTGTTCTCCAATGCT	<i>PmV</i>
	R:GCCATTATAGTCAAGATGGCACTAGCTGT	

小麦叶片 DNA 提取采用 CTAB 法。PCR 反应体系为 10 μL,包括 50 ng DNA 模板,上、下游引物各 0.2 μL (10 μmol/L), 2×*Taq* Plus Master Mix 试剂

(诺唯赞公司产品) 5.0 μL,剩余体积用 ddH<sub>2</sub>O 补足。PCR 程序:95 ℃ 预变性 3 min;95 ℃ 变性 30 s,根据引物要求 55~58 ℃ 退火 45 s,72 ℃ 延伸 1 min,33 个循环;72 ℃ 延伸 5 min。PCR 产物采用 8% 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,最终利用 AgNO<sub>3</sub> 溶液显色检测 PCR 产物。

### 1.3 6VS 特异分子标记开发与鉴定

簇毛麦基因组序列的公布<sup>[10]</sup>,为本研究 6VS 特异分子标记开发提供了重要的参考序列。为明确中间插入小片段易位断点,本研究基于内含子大小差异开发了 IT (Intron-Targeting) 标记和 SSR 标记。

IT 标记开发:根据易位断点侧翼标记在中国春参考基因组上的物理位置,提取区间内注释基因的编码序列,将编码序列与中国春参考基因组以及簇毛麦参考基因组进行序列比对,计算区间内所有注释基因中内含子的大小,筛选适合开发标记的内含子作为靶点设计引物。具体靶点筛选以及引物设计参考 Wang 等<sup>[11]</sup>方法。

SSR 标记开发:根据易位断点侧翼标记在簇毛麦参考基因组上的物理位置,提取区间内基因组序列进行重复序列分析。根据 2 个碱基重复次数 ≥ 6、3 个碱基重复次数 ≥ 5、4 个碱基重复次数 ≥ 4、5 个碱基重复次数 ≥ 3 为标准,设计 SSR 标记引物。重复序列的鉴定及引物的设计利用在线软件 BatchPrimer3 (<http://wheat.pw.usda.gov/demos/BatchPrimer3/>) 完成。

标记特异性验证以扬麦 23、扬麦 18 和扬麦 22 为对照,其第 6 群短臂染色体构成分别为 6AS/6BS/6DS、6V#2S/6BS/6DS 和 6AS/6BS/6V#4S。筛选在扬麦 18 和扬麦 22 中有特异性扩增条带同时在扬麦 23 中无相同扩增的标记,用于中间插入小片段易位断点的鉴定。

## 2 结果与分析

### 2.1 含 *PmV* 中间插入补偿性易位系的创制

通过 Dv6T25 和 Dv6T36 杂交,获得 F<sub>1</sub> 代杂交种。利用背景标记 6VS-*GX4*、6VS-*GX17* 和 *MBH1* 对 5 个 F<sub>1</sub> 代植株进行鉴定。结果表明,F<sub>1</sub> 代植株中 6VS 染色体顶端和近着丝粒区均为杂合,*PmV* 基因为纯合(图 1)。Dv6T25 和 Dv6T36 杂交 F<sub>1</sub> 代杂交种在抗病区段上存在重叠区,为增进同源重组率提供了有利条件。

利用 *6VS-GX4*、*MBH1* 和 *6VS-GX17* 3 个标记继续对  $F_2$  代群体进行基因型鉴定, 筛选 3 个标记连锁不平衡单株, 即“*6VS-GX4* 杂合-*MBH1* 纯合-无 *6VS-GX17*”和“*6VS-GX17* 杂合-*MBH1* 纯合-无 *6VS-GX4*”, 视为含有中间插入易位片段。结果在 200 个单株中鉴定出 2 个单株含有中间插入易位片段(图 2)。单株 13 基因型为“*6VS-GX4* 杂合-*MBH1* 纯合-无 *6VS-GX17*”, 理论上为含有 1 个中间小片段易位和 1 个顶端易位染色体的杂合株。单株 19 基因型为“*6VS-GX17* 杂合-*MBH1* 纯合-无 *6VS-GX4*”, 理论

上为含有 1 个中间小片段易位和 1 个近着丝粒区易位染色体的杂合株。

利用标记 *6VS-GX4*、*MBH1* 和 *6VS-GX17* 对单株 13 和单株 19 自交产生的  $F_3$  代群体进行基因型鉴定, 筛选出基因型为“*MBH1* 纯合-无 *6VS-GX4*-无 *6VS-GX17*”的目标单株, 显示其保留了纯合的 *PmV* 基因区段, 外源顶端区段和外源着丝粒侧区段均发生了缺失, 被小麦 6AS 相应染色体替代, 为纯合的中间插入易位系, 命名为“Dv6-IT2”。标记结果显示, 其后代不再分离(图 3)。

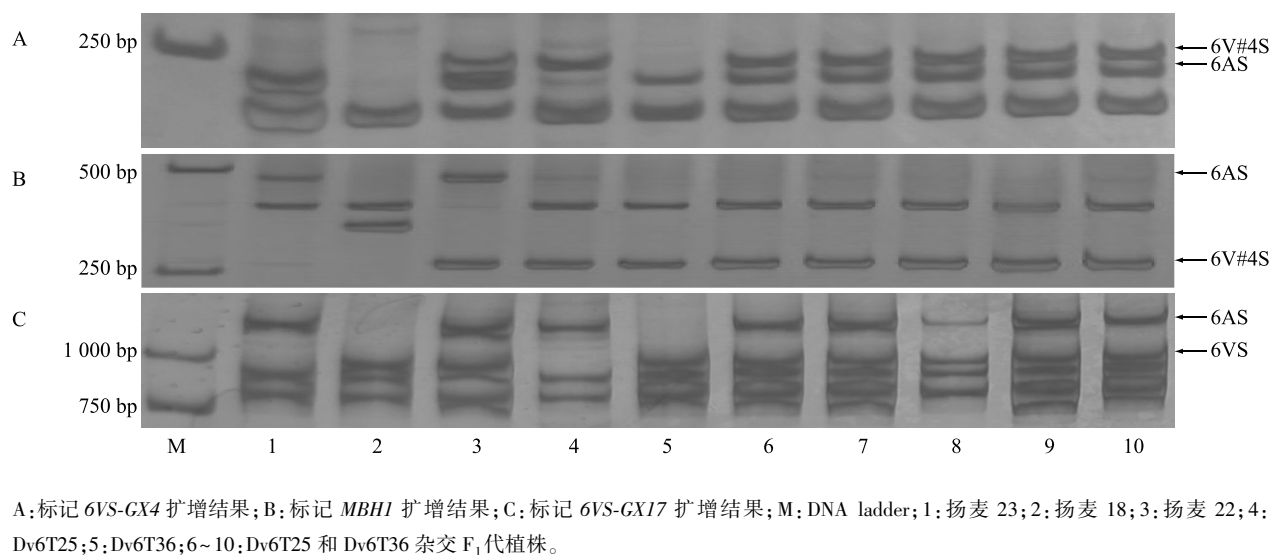


图 1 Dv6T25 和 Dv6T36 杂交  $F_1$  代分子标记检测

Fig.1 Molecular marker detection results of  $F_1$  progeny derived from the cross of Dv6T25 and Dv6T36

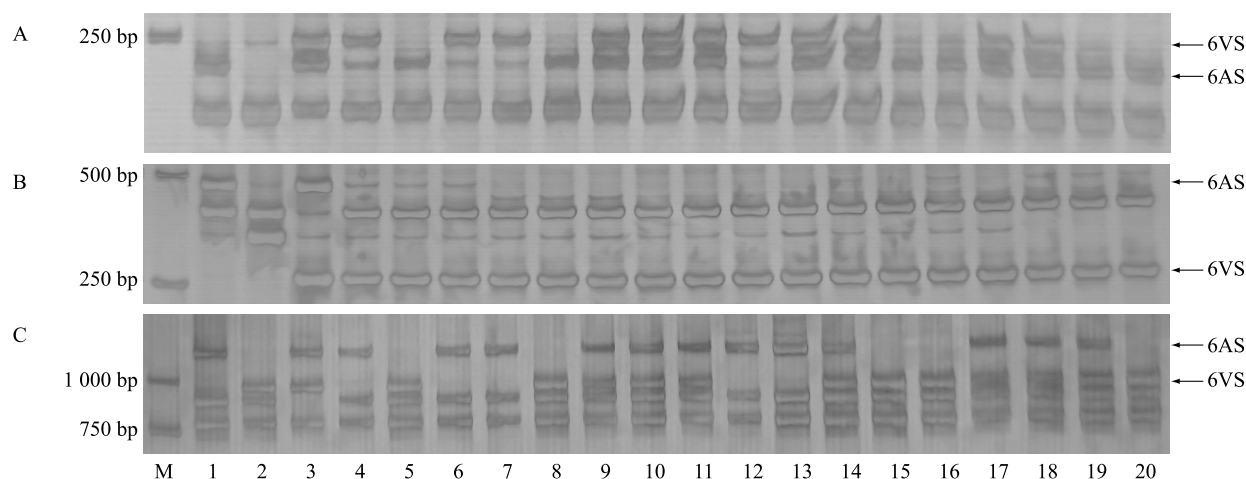
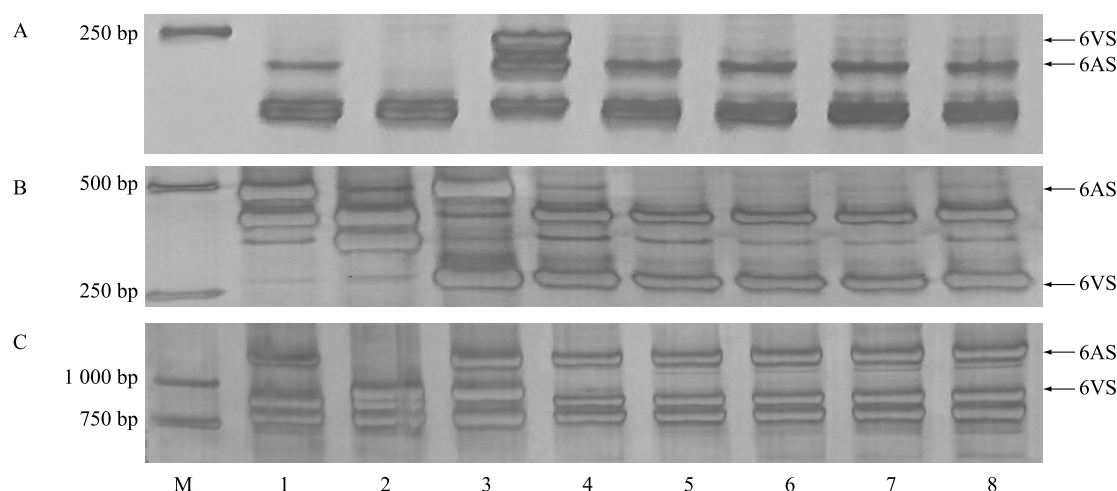


图 2 部分  $F_2$  代植株的分子标记检测结果

Fig.2 Molecular marker detection results of some  $F_2$  generation plants





A: 标记 6VS-GX4 扩增结果; B: 标记 MBH1 扩增结果; C: 标记 6VS-GX17 扩增结果; M: DNA ladder; 1: 扬麦 23; 2: 扬麦 18; 3: 扬麦 22; 4~8: 中间插入易位系 Dv6-IT2。

图 3 中间插入易位系 Dv6-IT2 分子标记检测

Fig.3 Molecular marker detection results of intercalary translocation Dv6-IT2

## 2.2 Dv6-IT2 外源插入片段边界位置鉴定

前期研究结果表明, Dv6T25 外源顶端易位片段的断裂重接点位于标记 *MBH1* 和 *CINAU2593* 之间, 对应于簇毛麦 6VS 染色体的 80.0 Mb 至 89.9 Mb 区间, Dv6T36 外源易位片段的断裂重接点位于标记 *CINAU2710* 和 *CINAU2713* 之间, 对应于簇毛麦 6VS 染色体的 35.1 Mb 至 56.1 Mb 区间。

根据簇毛麦参考基因组序列信息, 分别提取两

个断点侧翼标记间的序列开发分子标记。共设计了 8 对 IT 引物和 78 对 SSR 引物, 经多态性验证, 共有 4 个 IT 标记和 13 个 SSR 标记能够特异扩增 6VS 条带(表 2)。利用新开发的 6VS 特异标记对中间插入易位系进行标记加密, 结果表明, 中间插入易位片段的上边界位于 6VS 染色体的 35.1 Mb 至 36.3 Mb 区间, 下边界位于 85.1 Mb 至 85.3 Mb 区间, 从而得出中间插入易位片段的大小约为 50.0 Mb(图 4)。

表 2 6VS 染色体特异分子标记开发

Table 2 Development of specific molecular marker of chromosome 6VS

标记名称	引物序列(5'→3')		6VS 染色体位置(bp)
6VS-IT1	F: GCTGCTTTGGAGGATATGGC	R: AGCACCTTCCTCACCTCATC	36 210 412
6VS-IT2	F: TGCATCTACCCTCTCCTTGG	R: GGGTTGCTCTCCACATTCCT	36 491 286
6VS-GX19	F: CGCACCCGTAGTAGTTCTTG	R: CTCGGCTCTAGGTTCCCAAG	45 522 954
6VS-GX20	F: GTCGGAAGGATTGGAGGCT	R: AGAGGCATTGAGTGAAAGCT	54 962 434
6VS-SSR79	F: TGCCCAAAGTGAACCATGGT	R: TCATGTGCCTCAAGAGCCTG	84 431 884
6VS-SSR8	F: TTACTACAACACCAGATGCAG	R: TCAAACGAAAAACAAGAC	84 470 284
6VS-SSR9	F: ACTGAAGAAAAAGGAAAGGAA	R: ACTTCAAGTAACTCGGAGAGG	84 476 704
6VS-SSR62	F: AACACACGTACAGCCCAGAG	R: GGCTGGACACACGTTTACCT	85 144 614
6VS-SSR63	F: TTTGGGTCTTCGCATCGAA	R: ACGCCTAAAAATCCCCAGGG	85 265 366
6VS-SSR64	F: TTTTCGTCAACTTTTCGGCCG	R: GAACGCGAAAAACGGACTCC	85 297 956
6VS-SSR67	F: CCCTTCCTTGTGAGTTTGCA	R: GGAATCCCGATTACCGCACT	85 426 708
6VS-SSR85	F: CTGATCCGGATCGTGGAGAC	R: AGAAACTCCCTCCGGTGAT	85 441 884
6VS-SSR70	F: ATTCTAACCCACGGCACCAG	R: AGGCCATCGTAATTGTCGCT	85 521 425
6VS-SSR86	F: TGCTGTACCTTTAGGCCCG	R: CCTCTGCTGTTGTTGGAT	85 616 782
6VS-SSR71	F: TGGTCATTTCTATGCCCGG	R: ACCCATAGAAACGCGTGGT	85 623 576
6VS-SSR74	F: GGTGGAGAGTCGTACAAGGC	R: CGTGAAGCCCCGAGTGTAAT	85 703 681
6VS-SSR52	F: CCCGCCTAATTAATATGAT	R: CCAGTAGTCAGTCATGTTAG	85 895 501

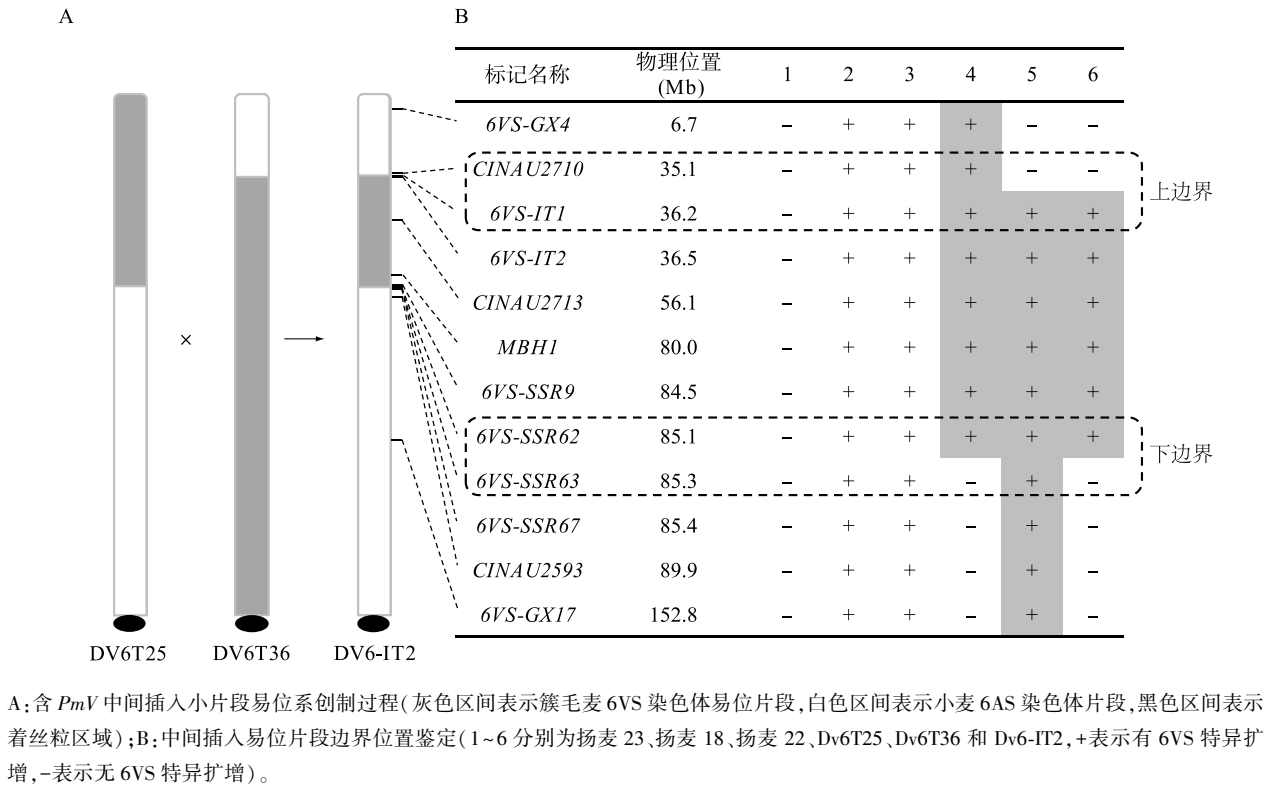


图 4 中间插入易位片段标记分析  
Fig.4 Marker analysis of intermediate insertion translocation fragments

2.3 *PmV* 传递率分析

为分析 *PmV* 基因遗传传递率,本研究利用中间插入易位系与扬麦 23 杂交,构建遗传分离群体。对 148 个  $F_2$  代单株进行基因型检测,结果发现 119 个单株携带 *PmV* 基因,29 个单株不携带 *PmV* 基因,符合 3 : 1 分离比( $\chi^2=0.62, P_1>0.05$ ),说明携带 *PmV* 基因的中间插入片段能够在后代正常传递。

3 讨论

通过对近 5 年长江中下游麦区国家区试的参试材料系谱和基因型进行分析,结果发现超过 95% 的抗白粉病小麦品系中携带 *Pm21* 基因。在育成的含有 *Pm21* 基因的品种中,仅扬麦 38 的抗病基因供体为 92R137,其他品种的抗病基因供体多为扬麦 18 和镇麦 9 号 2 个骨干亲本<sup>[12]</sup>。由于二者均具有多抗高产特征,育种家对其利用率较高,因此也带来了抗病基因单一化和遗传基础同质化的双重问题。不仅如此,根据对主栽小麦品种面积比例的估算,携 *Pm21* 基因的抗白粉病品种年推广面积已超过  $6.67 \times 10^5 \text{ hm}^2$ 。单一抗源小麦品种的大面积推广给白粉病菌群带来过高的选择压,加速了毒性菌株的出现。

基因克隆研究结果表明, *Pm21* 基因编码的蛋白质是典型的 CC-NBS-LRR 类抗病蛋白质,这类抗病基因具有小种专化抗性特点,容易被新的毒性菌株克服造成抗性丧失。尽管目前尚没有 *Pm21* 基因毒性株的报道,但后备抗源的改良与育种应用已刻不容缓。同时,在省和国家各类区域试验材料中,每年均出现数量较多的含 *Pm21* 基因的品种,一方面会因系统选择造成指纹图谱相似度高,另一方面现有骨干亲本的过度利用造成育成品种遗传基础狭窄,突破性品种难出现。因此,加快对抗白粉病新基因资源的转育利用,创制具有农艺性状优良和较高产量水平且抗病基因多样化的新型育种亲本及抗病骨干亲本对于解决当前白粉病抗源单一化及品种同质化问题具有重要意义。

小麦近缘属种蕴藏大量优质、抗病、抗逆等基因,是小麦遗传改良的重要基因库。通过远缘杂交,诱导小麦-外源染色体易位系是外源优异基因利用的最重要途径。常用的易位系诱导方法中,杀配子染色体和电离辐射诱导易位大多是非补偿性易位,易导致背景混乱,难以直接进行育种应用。利用部分同源配对控制体系诱导易位,同源补偿性好,遗传

稳定性高,在育种中利用价值更大。但利用此方法创制的易位系在育种应用上还存在两个局限:一是常用诱导材料 *CSph1b* 农艺性状差,创制的易位系需要进行连续多轮回交来改良其基本农艺性状,费时费力;二是创制的易位系中外源染色体片段太大,往往携带一些育种连锁累赘,并且这种不良性状难以通过常规育种方法剔除。

针对 *CSph1b* 农艺性状差的问题,目前已有报道称,可以通过回交转育或利用辐射方法创制 *ph1b* 突变系,如蜀麦 126 *ph1b*<sup>[13]</sup>、Pavon *ph1b*<sup>[14]</sup>、Mv9kr1 *ph1b*<sup>[15]</sup>,以及本研究所用的扬麦 23-*ph1b*<sup>[8]</sup>,等等。这些材料的应用,将有效促进外源易位系的创制及遗传效应评价,加快外源优异基因的育种利用。

针对外源染色体片段太大存在连锁累赘的问题,Sears<sup>[16]</sup>创造性地提出外源小片段插入易位的创制策略,即利用具有目标基因重叠区的远侧端和近侧端易位系的同源重组来获得中间小片段易位。Lukaszewski<sup>[17]</sup>展示了这一策略的经典工作:以 *CSph1b* 和 T1RS.1BL 构建大规模 BC<sub>1</sub>F<sub>2</sub> 群体,在获得一级易位基础上诱导二级和三级易位,将小麦 1BS 上的优质醇溶蛋白、谷蛋白位点 *Gli-1/Glu-3* 与黑小麦 1RS 上抗病基因簇 *Lr26/Sr31/Yr9* 和抗白粉病基因 *Pm8* 聚合,同时剔除了对小麦面粉品质不利的黑小麦碱基基因 *Sec-1*,为黑小麦 1RS 上多抗基因的高效利用提供了优异种质。张蓝月等<sup>[18]</sup>利用两个 6VS 初级易位系创制了含 *Pm21* 基因的中间插入小片段易位系,将 6VS 易位片段缩小至 36.9 Mb 至 39.1 Mb 之间。

*PmV* 是 *Pm21* 同源基因,二者具有 96% 核苷酸相似性和 92% 氨基酸相似性,因其在子代的传递率低( $F_2$  代分离比仅为 1.61 : 1.00),目前在育种中应用较少。因此,解决 *PmV* 传递率问题,对促进 *PmV* 育种利用及缓解目前抗源单一化问题具有重要意义。本团队前期在扬麦 18 和扬麦 22 的 RIL 群体中鉴定出 1 个携带 *PmV* 基因的重组型易位系 RIL12401(T6V#4S-6V#2S.6AL),其在  $F_2$  代中的分离比为 2.26 : 1.00,较原始 *PmV* 基因传递率有所提高,但却继承了 T6V#2S.6AL 易位的不良农艺性状,亟须对其进行改造。

本团队前期利用分子标记辅助回交转育方法,创制了以扬麦 23 为遗传背景的 *ph1b* 突变系扬麦 23-*ph1b*,综合农艺性状较 *CSph1b* 有巨大提升,为外

源易位/渐渗系的创制提供了优异新材料<sup>[8]</sup>。在此基础上,利用扬麦 23-*ph1b* 与 RIL12401 构建诱导群体,创制了系列外源片段大小不同的携带 *PmV* 基因的初级易位系。以此为基础,本研究利用 2 个含 *PmV* 重叠区的互补型初级易位系 Dv6T25 和 Dv6T36,创制了外源染色体片段大幅度减少的补偿性中间插入易位系,将抗病外源片段大小从约 230 Mb 缩小至约 50 Mb,解决了 *PmV* 基因传递率低的问题,为促进 *PmV* 基因在抗白粉病育种中的利用提供重要的材料。

为破除亲本同质化问题,本研究团队正在将该小片段易位导入到长江中下游麦区具有代表性的优异品种和亲本中,培育可直接育种利用的新型抗白粉病骨干亲本。一方面可以拓宽栽培小麦遗传基础,增加遗传多样性以及育种选择性,缓解品种同质化问题;另一方面新抗源的利用可以缓解 *Pm21* 基因单一化利用问题,保障小麦生产持久安全。

## 4 结论

创制小麦-外源染色体补偿性小片段易位系对于打破连锁累赘、促进目的基因育种利用具有重要意义。本研究在创制两个携抗白粉病基因 *PmV* 的小麦-簇毛麦互补型初级易位基础上,利用外源片段重叠区同源重组原理,创制了携 *PmV* 基因的补偿性中间插入型小片段易位系 Dv6-IT2,解决了 *PmV* 基因传递率低的育种瓶颈,为促进 *PmV* 基因在抗白粉病小麦育种中的利用提供了重要材料,同时为缓解长江中下游麦区抗白粉病小麦基因 *Pm21* 单一化利用问题提供了优异的后备基因资源。

## 参考文献:

- [1] HUANG X Q, RÖDER M S. Molecular mapping of powdery mildew resistance genes in wheat; a review[J]. Euphytica, 2004, 137: 203-223.
- [2] GUO J, LIU C, ZHAI S N, et al. Molecular and physical mapping of *Pm* resistance genes-A review[J]. Agricultural Science & Technology, 2017, 18(6): 965-970.
- [3] HE H G, LIU R K, MA P T, et al. Characterization of *Pm68*, a new powdery mildew resistance gene on chromosome 2BS of Greek durum wheat TRI 1796[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2021, 134(1): 53-62.
- [4] SINGH R P, SINGH P K, RUTKOSKI J, et al. Disease impact on wheat yield potential and prospects of genetic control[J]. Annual Review Phytopathology, 2016, 54: 303-322.

- [5] BIE T D, ZHAO R H, ZHU S Y, et al. Development and characterization of marker *MBH1* simultaneously tagging genes *Pm21* and *PmV* conferring resistance to powdery mildew in wheat[J]. Molecular Breeding, 2015, 35: 189.
- [6] CHEN P D, QI L L, ZHOU B, et al. Development and molecular cytogenetic analysis of wheat-*Haynaldia villosa* 6VS/6AL translocation lines specifying resistance to powdery mildew[J]. Theoretical and Applied Genetics, 1995, 91(6/7): 1125-1128.
- [7] HE H G, ZHU S Y, ZHAO R H, et al. *Pm21*, encoding a typical CC-NBS-LRR protein, confers broad-spectrum resistance to wheat powdery mildew disease[J]. Molecular Plant, 2018, 11(6): 879-882.
- [8] WAN W T, ZHAO R H, CHEN T T, et al. Rapid development of wheat-*Dasypyrum villosum* compensating translocations resistant to powdery mildew using a triple marker strategy conducted on a large *ph1b*-induced population[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2023, 136: 148.
- [9] ZHAO R H, LIU B L, JIANG Z N, et al. Comparative analysis of genetic effects of wheat *Dasypyrum villosum* translocations T6V#2S · 6AL and T6V#4S · 6DL[J]. Plant Breeding, 2019, 138(5): 503-512.
- [10] ZHANG X, WANG H Y, SUN H J, et al. A chromosome-scale genome assembly of *Dasypyrum villosum* provides insights into its application as a broad-spectrum disease resistance resource for wheat improvement[J]. Molecular Plant, 2023, 16(2): 432-451.
- [11] WANG H Y, DAI K L, XIAO J, et al. Development of intron targeting (IT) markers specific for chromosome arm 4VS of *Haynaldia villosa* by chromosome sorting and next-generation sequencing[J]. BMC Genomics, 2017, 18(1): 167.
- [12] 吕国锋, 别同德, 王 慧, 等. 长江下游麦区新育成品种(系) 3种主要病害的抗性鉴定及抗病基因/QTL 的分子检测[J]. 作物学报, 2021, 47(12): 2335-2347.
- [13] LI Y, LI Q, LAN J, et al. Transfer of the *ph1b* gene of Chinese Spring into a common wheat cultivar with excellent traits[J]. Cereal Research Communications, 2020, 48: 283-291.
- [14] FAN C L, HAO M, JIA Z Y, et al. Some characteristics of crossing over in induced recombination between chromosomes of wheat and rye[J]. The Plant Journal, 2021, 105(6): 1665-1676.
- [15] TÜRKOŞI E, IVANIZS L, FARKAS A, et al. Transfer of the *ph1b* deletion chromosome 5B from Chinese Spring wheat into a winter wheat line and induction of chromosome rearrangements in wheat-*Aegilops biuncialis* hybrids[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 875676.
- [16] SEARS E R, EVANS L T, PEACOCK W. Transfer of alien genetic material to wheat [M]. Cambridgeshire: Cambridge University Press, 1981.
- [17] LUKASZEWSKI A. Manipulation of the 1RS.1BL translocation in wheat by induced homoeologous recombination[J]. Crop Science, 2000, 40(1): 216-225.
- [18] 张蓝月, 罗江陶, 范超兰, 等. 含 *Pm21* 基因的次级易位创制及鉴定[J]. 作物学报, 2023, 49(10): 2603-2612.

(责任编辑:黄克玲)