

大麦抗条纹病基因的定位分析

司二静^{1,2} 张宇^{1,3} 孟亚雄^{1,2} 李葆春^{1,4} 马小乐^{1,2} 王化俊^{1,2*}

(1. 甘肃农业大学, 甘肃省作物遗传改良与种质创新重点实验室, 甘肃省干旱生境作物学重点实验室, 兰州 730070;
2. 甘肃农业大学农学院, 兰州 730070; 3. 甘肃省种子管理局, 兰州 730020;
4. 甘肃农业大学生命科学技术学院, 兰州 730070)

摘要: 为发掘大麦中抗条纹病的新基因, 采用三明治法通过人工接种大麦条纹病菌 *Pyrenophora graminea* 强致病力菌株 QWC 对甘啤 2 号(免疫)与 Alexis(高感)杂交 F₁ 代及 F₂ 代分离群体进行抗性遗传分析, 利用群体分离分析法鉴定与抗病基因连锁的 SSR 标记, 并通过 QTL IciMapping 软件构建遗传连锁图谱完成对抗病基因的定位。结果显示, 甘啤 2 号与 Alexis 杂交 F₁ 代对大麦条纹病菌强致病力菌株 QWC 表现为免疫, F₂ 代表现 3:1 抗感分离, 表明甘啤 2 号对菌株 QWC 的抗性由 1 个显性抗性基因控制, 将该抗病基因暂命名为 *Rdg3*; 该基因位于大麦 7H 染色体上的 SSR 标记 Bmag206 和 Bmag7 之间, 与二者的遗传距离分别为 1.78 cM 和 2.86 cM。经与已定位于 7H 染色体上的抗病基因比较, 发现 *Rdg3* 是一个新的抗条纹病基因, 可作为大麦抗病育种的新种质资源。

关键词: 大麦条纹病; 分子标记; 抗病基因; 基因定位

Molecular mapping of a gene for resistance to barley leaf stripe

Si Erjing^{1,2} Zhang Yu^{1,3} Meng Yaxiong^{1,2} Li Baochun^{1,4} Ma Xiaole^{1,2} Wang Huajun^{1,2*}

(1. Gansu Key Laboratory of Crop Important & Germplasm Enhancement, Gansu Provincial Key Laboratory of Aridland and Crop Science, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, Gansu Province, China; 2. College of Agronomy, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, Gansu Province, China; 3. Gansu Plant Seed Administrative Station, Lanzhou 730020, Gansu Province, China; 4. College of Life Science and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, Gansu Province, China)

Abstract: In order to identify new resistance genes to *Pyrenophora graminea* in barley, the resistance evaluation of F₁ and F₂ generations from the crosses between Ganpi 2 (immune) and Alexis (high susceptible), as well as the parents, were carried out with sandwich method. Based on bulk segregation analysis and microsatellite markers analysis, SSR marker linked with resistance genes was identified, and then QTL IciMapping software was used to calculate the genetic distance, construct genetic linkage map, and map resistance gene. The results of resistance evaluation showed that F₁ population was immune, and the ratio of resistance/susceptible was 3:1 in F₂ generation. This indicated that the barley leaf stripe resistance in Ganpi 2 was conferred by a single dominant gene, which was designated as *Rdg3* temporarily. The resistance gene *Rdg3* located on chromosome 7H was between SSR markers Bmag206 and Bmag7, and the genetic distance was 1.78 cM to Bmag206 and 2.86 cM to Bmag7. Furthermore, based on the comparison with resistance gene mapped on 7H, *Rdg3* was a novel barley leaf stripe resistance gene, which might serve as a new germplasm in barley resistance breeding.

Key words: barley leaf stripe; molecular marker; resistance gene; gene mapping

大麦作为全球第4大禾谷类作物,在我国一直作为小杂粮种植,但随着啤酒工业的迅速发展,啤酒大麦的重要性日益凸显,从2002年起我国成为世界第一大啤酒消费国以来,大麦贸易一直处于净进口状态(李先德等,2015),90%的进口大麦用于啤酒酿造(李先德等,2014),占我国啤酒酿造大麦的85%。为解决国内啤酒大麦严重不足的问题,国内育种工作者先后育成了甘啤、浙皮、扬啤、垦啤等系列品种,极大缓解了我国啤酒大麦的市场供求矛盾。但由麦类核腔菌 *Pyrenophora graminea* (无性态 *Drechslera graminea*) 引起的条纹病给大麦生产造成了严重影响,该病害的流行和发生受总降雨量、相对湿度和种子萌发温度的影响较大(Teviotdale & Hall, 1976),发病率较高时会导致大麦严重减产(Porta-Puglia et al., 1986; Arabi et al., 2004),如2009年甘肃省大麦条纹病高发地区发病率高达70%(杨瑞等,2010);发病率每升高1%则会引起大麦减产0.9%~1.0%(Porta-Puglia et al., 1986),该病害一旦流行必将引起大幅度减产,因此寻找有效防治大麦条纹病的措施迫在眉睫。

目前,大麦条纹病的防治主要以药剂防治和选育抗病品种为主,药剂防治虽然效果较好,但会污染环境,增加劳动成本,而利用大麦自身携带的抗病基因进行抗病品种选育是防治该病害经济且有效的途径(Kavak, 2004),亦不会造成环境污染。目前大麦条纹病抗病育种面临抗性资源匮乏的问题。关于大麦抗病遗传的分析已有报道,如Suneson(1950)通过将麦类核腔菌的孢子接种于大麦叶鞘,将大麦的抗病性划分为显性、不完全显性和隐性;Boulif & Wilcoxson(1988)通过在不同大麦群体及亲本上人工接种麦类核腔菌3株菌株进行抗病性鉴定,表明抗性由显性单基因、基因累积及少数抗病基因控制;Tacconi et al.(2001)通过大麦高抗品种Thibaut和高感品种Mirco杂交构建的F₂代分离群体进行抗病性遗传分析,表明Thibaut的抗病性由显性单基因控制。目前在大麦中已鉴定的抗病基因仅包括*Rdg1a*和*Rdg2a*,其中*Rdg1a*(Thomsen et al., 1997; Biselli et al., 2010)位于2H染色体上,在限制性片段长度多态性标记(restricted fragment length polymorphisms, RFLP)MSU21和Xris45b之间,与二者的遗传距离分别为0.2 cM和4.0 cM;*Rdg2a*(Tacconi et al., 2001)位于7H染色体上,在随机扩增多态性DNA标记(random amplified polymorphic DNA, RAPD)OPQ-9700和RFLP标记MWG2018之间,与二者的遗传

距离分别为3.1 cM和2.5 cM。而关于大麦抗性数量性状位点(quantitative trait locus, QTL)也有报道,Pecchioni et al.(1996)在大麦1H和2H染色体上检测到变异解释率分别为58.5%和29.3%的2个抗病性QTL;Arru et al.(2002)在大麦L94×Vada群体中检测到1个主效QTL(2H)和1个微效QTL(7H),对表型的变异解释率分别为29.2%和9.2%,在大麦L94×C123群体中检测到2个变异解释率依次为11.7%和15.7%的抗病性QTL;Arru et al.(2003)在大麦2H染色体上检测到1个QTL,对菌株Dg2和Dg5的变异解释率分别为18.3%和30.9%;司二静等(2015)运用关联分析中的一般线性模型和混合线性模型在大麦自然群体中分别检测到5个和3个与抗大麦条纹病相关联的简单序列重复(simple sequence repeat, SSR)标记。目前国内还未见关于大麦抗条纹病基因定位研究的报道。

本研究利用前期本课题组筛选到的对大麦条纹病菌强致病力菌株QWC表现免疫的甘啤2号和表现高感的Alexis大麦品种构建杂交组合,并利用强致病力菌株QWC对甘啤2号、Alexis及其F₁代和F₂代分离群体进行抗病性评价,通过抗病性遗传分析和SSR标记分析对抗病基因进行初步定位,以期为进一步开展抗大麦条纹病资源挖掘、抗病性品种选育以及抗病机制研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

供试大麦及病菌:甘啤2号、Alexis及用于新开发SSR标记多态性筛选的48份大麦材料(表1)均由甘肃省农业科学院大麦研究所和甘肃农业大学甘肃省干旱生境作物学重点实验室/甘肃省作物遗传改良与种质创新重点实验室麦类种质创新课题组提供,大麦条纹病菌强致病力菌株QWC(司二静等,2017)也由后者提供。

培养基:马铃薯葡萄糖琼脂(potato dextrose agar, PDA)培养基:马铃薯200 g、葡萄糖10 g、琼脂17 g,蒸馏水定容至1 L,灭菌后备用。

试剂及仪器:2×Master Mix, 中科瑞泰(北京)生物科技有限公司;Marker I, 天根生化科技(北京)有限公司;其它试剂均为国产分析纯。070-951 PCR仪,德国Analytik Jena公司;JY04S-3E凝胶成像分析系统,北京君意华鑫科技有限公司;041BR94395型电泳仪,美国Bio-Rad公司;SPX-260型智能生化培养箱,浙江托普仪器有限公司;P100/P100+超微量

分光光度计,美国Pultton科技有限公司。

表1 48份供试大麦材料名称及来源

Table 1 Names and origins of 48 barley varieties in the study

编号 No.	品种名称 Name of variety	来源 Origin	编号 No.	品种名称 Name of variety	来源 Origin
1	芑村 Wancun	澳大利亚 Australia	25	牛古特 Niugute	日本 Japan
2	安特 13 Ante 13	丹麦 Denmark	26	甘木二条 Ganmuertiao	日本 Japan
3	Chariot	丹麦 Denmark	27	Raxana	匈牙利 Hungary
4	Lina	丹麦 Denmark	28	Pusadena	匈牙利 Hungary
5	99德9 99De9	德国 Germany	29	S-3	叙利亚 Syria
6	99德6 99De6	德国 Germany	30	舟曲扁二棱 Zhouqubianerleng	中国甘肃 Gansu, China
7	99德2 99De2	德国 Germany	31	0020-4	中国甘肃 Gansu, China
8	99德余-2 99Deyu-2	德国 Germany	32	9910-49	中国甘肃 Gansu, China
9	99德7 99De7	德国 Germany	33	8810-3-1-3	中国甘肃 Gansu, China
10	TRADITON	德国 Germany	34	苏盐005 Suyan 005	中国江苏 Jiangsu, China
11	Empress	德国 Germany	35	奥比黑 Aobihei	中国江苏 Jiangsu, China
12	Prestge	德国 Germany	36	农牧27 Nongmu 27	中国内蒙古 Inner Mongolia, China
13	Tremoiss	法国 France	37	内08PJ-36 Nei 08PJ-36	中国内蒙古 Inner Mongolia, China
14	Podie	法国 France	38	农牧36 Nongmu 36	中国内蒙古 Inner Mongolia, China
15	费格斯 Fegus	加拿大 Canada	39	青啤21 Qingpi 21	中国山东 Shandong, China
16	SD426	加拿大 Canada	40	ZYM0001	中国西藏 Tibet, China
17	Z07190489	美国 America	41	ZYM6953	中国西藏 Tibet, China
18	G0615119T	美国 America	42	ZYM0217	中国西藏 Tibet, China
19	Z140V015W	美国 America	43	ZYM0482	中国西藏 Tibet, China
20	G033T008U	美国 America	44	ZYM0305	中国西藏 Tibet, China
21	BARI274	美国 America	45	ZYM0031	中国西藏 Tibet, China
22	Z172U022V	美国 America	46	西-野大麦 Xi-wild barley	中国西藏 Tibet, China
23	BARI193	美国 America	47	ZYM0207	中国西藏 Tibet, China
24	G033T034U	美国 America	48	永55 Yong 55	中国 China

1.2 方法

1.2.1 甘啤2号的抗病性遗传分析

甘啤2号、Alexis、F₁代和F₂代分离群体抗病性鉴定采用三明治法(Pecchioni et al., 1996)。将在无菌石蜡油下封存的菌株QWC菌丝挑取少许置于新PDA平板上,在22℃暗培养7 d后,在菌落边缘打取直径5 mm的菌饼,置于新PDA平板22℃暗培养7 d后用于接种。供试种子经70%乙醇表面消毒30 s,再用5%次氯酸钠处理5 min,用无菌蒸馏水冲洗3次后彻底晾干,置于菌丝生长7 d的PDA平板上,然后在种子上倒置另一个含有生长7 d的菌丝的PDA平板,使种子处于2层菌落中间,以种子置于未接菌的2个PDA平板中间作对照,6℃黑暗放置20 d后,将接种后的种子移栽至直径30 cm花盆中,放置在人工气候室中光照12 h/黑暗12 h交替培养,温度为黑暗条件下12℃和光照条件下20℃,培养45 d后待病斑完全显现时以叶片有无黄色条纹作为抗感标准进行统计,并记录鉴定结果。用 χ^2 测验法确定抗

感分离比例,以明确甘啤2号对大麦条纹病菌强致病力菌株QWC的抗条纹病基因数目。

1.2.2 大麦SSR标记的遗传连锁性分析

采用CTAB法(Paterson et al., 1993; Porebski et al., 1997)提取抗感亲本、F₁代及F₂代分离群体的基因组DNA,经分光光度计检测其质量和浓度,于-20℃冰箱保存。SSR标记的筛选参考Grain Genes 2.0 (<http://wheat.pw.usda.gov/>)网站遗传图谱及von Korff et al. (2004)构建的遗传图谱,选取525对均匀分布于大麦1H~7H染色体上的SSR标记供试。

SSR标记分析的PCR扩增体系:模板DNA 1 μ L、Master Mix 5 μ L、上下游SSR引物各0.5 μ L,超纯水补至10 μ L; SSR标记分析的PCR扩增程序:95℃预变性5 min; 94℃变性50 s, 64~55℃(touch-down PCR)退火50 s, 72℃延伸50 s, 10个循环; 94℃变性50 s, 55℃退火50 s, 72℃延伸50 s, 30个循环; 最后72℃延伸10 min, 4℃保存; 扩增产物经8%聚丙烯酰胺凝胶电泳,银染显色后照相。

首先以甘啤2号和Alexis为材料,从525对分布于大麦1H~7H染色体的SSR标记中筛选在2个亲本间表现多态性的SSR标记;采用群体分离分析法(Michelmore et al., 1991)筛选与抗病基因连锁的SSR标记,首先在F₂代分离群体中随机选取10个抗病单株和10个感病单株,分别作为抗池和感池,然后利用抗感亲本、抗池和感池对分布于大麦1H~7H染色体上且在抗感亲本间表现多态性的SSR标记进行与抗病基因连锁的SSR标记筛选,初步将抗病基因定位到染色体上。

1.2.3 SSR标记的开发及多态性检测

在抗病基因初步定位区间内进行标记图谱加密,选取在2亲本间无多态性的SSR引物序列,在NCBI中已公布大麦基因组序列中进行搜寻,将引物序列定位到所对应的测序Contig上面,并利用SSR Hunter软件搜寻微卫星重复单元小于等于6的SSR位点,然后运用Primer Premier 5.0软件在SSR位点两侧150 bp序列进行SSR引物设计,共设计45对SSR引物,命名为Bmg1~Bmg45,并用Alexis检测新设计引物是否能扩增出目的条带。

选取48份大麦对新开发的45对SSR引物进行多态性检测,并利用PowerMarker 3.25软件(Liu & Muse, 2005)计算等位变异位点、主基因频率、基因多样性、杂合度和多态信息含量(polymorphism information content, PIC),若 $PIC \geq 0.5$,为高度多态性位点, $0.25 < PIC < 0.5$ 为中度多态性位点, $PIC \leq 0.25$ 为低度多态性位点(Botstein et al., 1980)。

1.2.4 大麦抗条纹病基因的定位

利用位于7H染色体上且在2个亲本甘啤2号和Alexis间表现多态性的SSR标记扫描F₂代分离群体。与甘啤2号(免疫)带型一致的记为A,与Alexis(高感)带型一致的记为B,杂合带型记为H,缺失带型记为X,利用QTL IciMapping分析软件计算SSR标记与大麦抗病基因的遗传距离,并基于2个遗传位点连锁的概率与不连锁的概率的比值的常用对数(logarithm of odds, LOD)临界值3.0来构建遗传连锁图谱,对抗病基因进行初步定位。

2 结果与分析

2.1 甘啤2号的抗病性遗传分析

免疫品种甘啤2号和高感品种Alexis杂交所得F₁代及F₂代分离群体经三明治法接种大麦条纹病菌强致病力菌株QWC后,F₁代全部表现为抗病,在

F₂代分离群体的276株单株中,有197株表现为抗病,有79株表现为感病。经卡方检验, $\chi^2 = 1.74 < \chi^2_{0.05} = 3.85$,符合3:1的显性单基因分离规律,表明甘啤2号的抗性由1个显性单基因控制,将该基因暂命名为Rdg3。

2.2 大麦SSR标记的遗传连锁分析

利用525对SSR引物对亲本间多态性进行筛选,结果显示有513对SSR引物能扩增出清晰条带,其中揭示亲本多态性的SSR引物共103对,占所用引物的19.62%。

选取抗、感亲本间表现多态性的103对SSR引物,利用抗/感池进行抗病基因连锁标记筛选,得到3对在抗/感池间表现多态性的SSR引物,依次为位于7H染色体的scssr07970、Bmag7和Bmag206,运用SSR标记scssr07970、Bmag7、Bmag206对F₂代分离群体的276株单株进行标记检测,标记scssr07970、Bmag206和Bmag7在197株抗病单株中分别扩增出9、9、11个与感病亲本一致的带型,而在79株感病单株中,标记scssr07970扩增出5个与抗病亲本一致的带型及3个杂合带型,标记Bmag206扩增出4个与抗病亲本一致的带型以及4个杂合带型,标记Bmag7扩增出4个与抗病亲本一致的带型以及3个杂合带型。基于此,初步将抗病基因Rdg3定位到大麦7H染色体上,其中位于7H染色体上且在Alexis和甘啤2号2个亲本间表现多态性的SSR引物共有11对,将被用于遗传图谱构建。

2.3 SSR标记开发及多态性筛选

利用48份大麦材料对新开发的45对分布在大麦基因组7H染色体短臂上的SSR引物进行多态性分析,有29对SSR引物在48份供试大麦材料间表现多态性。这29对SSR引物共检测到125个等位变异位点,每对SSR引物检测到的等位变异位点在2~9之间波动,平均等位变异位点为4.3个;主基因频率和基因多样性分别为0.2326~0.9130和0.1588~0.8420,平均值分别为0.5630和0.5596;杂合度检测结果表明有8对SSR引物存在杂合度,杂合度最高的SSR标记为Bmg20,而其余21个标记杂合度均为0,杂合度平均值为0.0298;PIC介于0.1462~0.8234之间,平均值为0.5132,标记Bmg25的PIC最高,标记Bmg43的PIC最低(表2)。PIC ≥ 0.5 的SSR标记有15个,占总SSR标记的51.72%,属于高度多态性位点。其中在甘啤2号和Alexis间表现多态性的6个SSR标记Bmg1~Bmg6将被用于遗传图谱构建。

表2 29个SSR标记在48份大麦材料中的多态性检测

Table 2 Polymorphism detection of 29 SSR markers in 48 barley varieties

标记 Marker	等位变异位点 Allelic variation	主基因频率 Major-allele frequency	基因多样性 Gene diversity	杂合度 Heterozygosity	多态信息含量 Polymorphism information content
Bmg1	8	0.2979	0.8031	0.0000	0.7759
Bmg2	5	0.3333	0.7575	0.0000	0.7188
Bmg3	6	0.4167	0.6840	0.0000	0.6302
Bmg4	3	0.6905	0.4410	0.0952	0.3626
Bmg5	2	0.7907	0.3310	0.0465	0.2762
Bmg6	4	0.5238	0.6156	0.0000	0.5506
Bmg7	4	0.7045	0.4638	0.0000	0.4239
Bmg11	6	0.2917	0.7734	0.0000	0.7381
Bmg14	2	0.8370	0.2729	0.1087	0.2357
Bmg16	6	0.5111	0.6815	0.0000	0.6495
Bmg18	5	0.6630	0.5274	0.0435	0.4978
Bmg20	2	0.6915	0.4267	0.3191	0.3356
Bmg22	5	0.3784	0.7568	0.0000	0.7209
Bmg24	9	0.2326	0.8167	0.0000	0.7913
Bmg25	9	0.2553	0.8420	0.0000	0.8234
Bmg27	3	0.7083	0.4479	0.0417	0.3968
Bmg28	2	0.8542	0.2491	0.0000	0.2181
Bmg29	5	0.6042	0.5888	0.1875	0.5538
Bmg30	3	0.6304	0.4943	0.0000	0.4079
Bmg31	3	0.4792	0.6241	0.0000	0.5492
Bmg33	6	0.2955	0.7955	0.0000	0.7661
Bmg34	3	0.6889	0.4523	0.0000	0.3827
Bmg36	3	0.5319	0.5749	0.0000	0.4915
Bmg38	5	0.4615	0.6772	0.0000	0.6253
Bmg39	3	0.7292	0.4297	0.0000	0.3880
Bmg40	4	0.5106	0.6537	0.0000	0.6048
Bmg41	5	0.4043	0.7053	0.0000	0.6544
Bmg43	2	0.9130	0.1588	0.0000	0.1462
Bmg45	2	0.8977	0.1836	0.0227	0.1668
平均数 Average	4.3	0.5630	0.5596	0.0298	0.5132

2.4 大麦抗条纹病基因的定位

利用7H染色体上17对在抗感亲本间表现多态性的SSR引物扫描F₂代分离群体,结合F₂代分离群体276株单株表型和分子标记基因型,经QTL Ici-Mapping软件分析,抗病基因*Rdg3*被定位在7H染色体短臂上,位于SSR标记Bmag206与Bmag7之间(图1),标记Bmag206距抗病基因*Rdg3*的遗传距离为1.78 cM,标记Bmag7、*scssr07970*和Bmg5距抗病基因*Rdg3*的遗传距离分别为2.86、5.43、12.12 cM。

3 讨论

目前已开发的SSR标记在不同来源大麦中的多态性差异较大(何智宏等,2013; Lamara et al., 2013),本研究虽然选取了525对SSR引物用于抗感

亲本间多态性标记的筛选,然而在7H染色体上仅筛选到11对SSR引物在2个亲本间表现出多态性,为了对7H染色体遗传图谱进行加密,本研究尝试通过开发新的SSR标记并筛选亲本间表现多态性的SSR标记对遗传图谱进行加密。此外本试验还对新开发的SSR标记进行了多态性检测,所得结果与Lamara et al.(2013)研究结果相比,等位变异位点较少,PIC较低,原因可能是本研究选用的48份大麦材料遗传差异较小,而Lamara et al.(2013)选用的大麦种质资源可能存在较大的遗传差异;与何智宏等(2013)研究结果相比,本研所得等位变异位点较多,究其原因可能是何智宏等(2013)所用亲本主要来自美国和中国,而本研究中所用材料来源丰富,包含部分野生大麦材料。SSR标记的多态性与标记本身密切相

关,因此大麦材料的选择和合适的标记类型对SSR

标记的多态性研究至关重要。

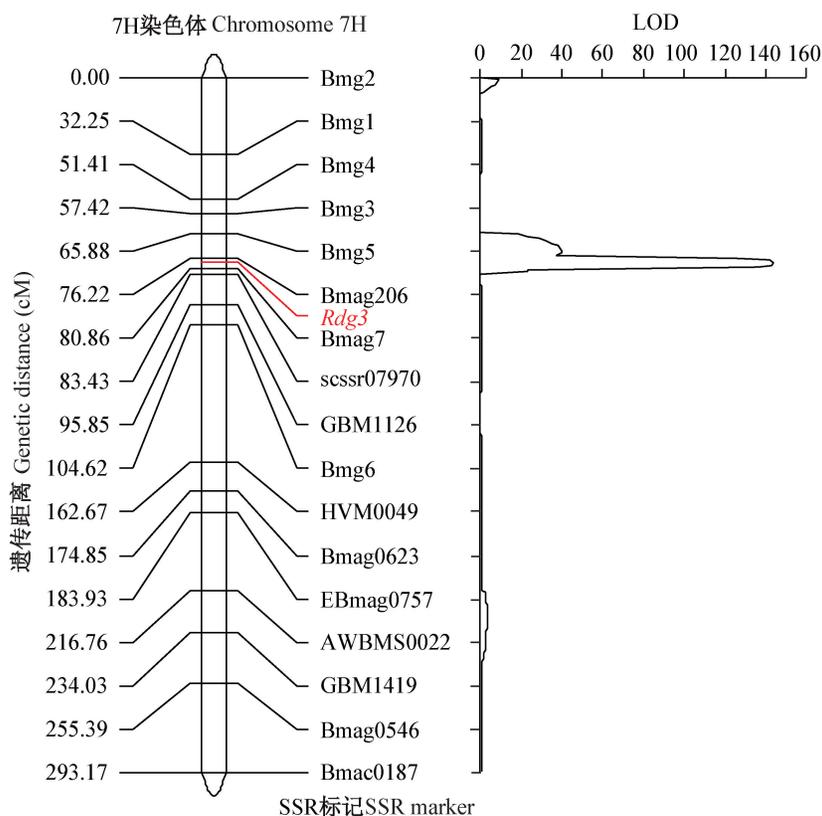


图1 位于7H染色体上的抗大麦条纹病基因 *Rdg3* 的遗传连锁图

Fig. 1 Genetic linkage map of barley leaf stripe resistance gene *Rdg3* on chromosome 7H

LOD: 基于2个遗传位点连锁的概率与不连锁的概率的比值的常用对数。LOD: Logarithm of odds.

发掘和鉴定抗条纹病基因是大麦抗病育种中的重要工作,不仅可以为大麦抗病育种提供优质抗源,而且决定了抗病育种的效率。迄今为止,已经发现并初步定位的大麦条纹病抗病基因仅有 *Rdg1a* (Thomsen et al., 1997; Biselliet al., 2010) 和 *Rdg2a* (Tacconi et al., 2001), 分别位于2H染色体和7H染色体上。本研究利用 F_1 代、 F_2 代分离群体,以群体分离分析法结合SSR分子标记进行抗病基因定位,发现甘啤2号的抗病性是由显性单基因控制,并将其定位在大麦7H染色体短臂上,与标记Bmag206与Bmag7的遗传距离分别为1.78 cM和2.86 cM。利用与抗病基因紧密连锁的分子标记有利于从基因型水平上对大麦种质资源进行深入评价和鉴定,同时通过分子标记辅助还可以实现多基因的累加,为培育多抗或广谱的品种奠定基础(马东方等, 2015)。本试验筛选到的与 *Rdg3* 紧密连锁的标记Bmag206可在抗病育种中作为间接工具用于抗病性状的选择。鉴于菌株QWC是从甘肃省大麦产区分离到的强致病性菌株(司二静等, 2017),因此甘啤2号的抗性可考虑用于抗条纹病育种。此外,本研究所定位

的抗病基因 *Rdg3* 位于7H染色体上,与 Tacconi et al. (2001)发现的7H染色体上存在抗病基因簇的结论一致。目前,只有 Tacconi et al. (2001)研究结果显示 *Rdg2a* 定位在7H染色体短臂上。经抗性基因连锁标记在公共图谱上的遗传距离比较显示, *Rdg2a* 和 *Rdg3* 不是同一个基因。本研究中发现的抗病基因 *Rdg3* 是国内首次被定位的大麦抗条纹病基因,也是世界上第3个被定位的大麦抗条纹病基因。下一步的工作是扩大遗传群体,寻找与抗病基因 *Rdg3* 连锁更紧密的分子标记,便于该基因的克隆和功能验证。本研究结果将为大麦分子育种提供抗病基因资源,对未来通过抗病基因聚合培育大麦抗条纹病新品种、降低农药使用和减轻环境污染具有重要意义。

参考文献 (References)

- Arabi MIE, Jawhar M, Al-Safadi B, Mirali N. 2004. Yield responses of barley to leaf stripe (*Pyrenophora graminea*) under experimental conditions in southern Syria. *Journal of Phytopathology*, 152(8/9): 519-523
- Arru L, Francia E, Pecchioni N. 2003. Isolate-specific QTLs of resistance to leaf stripe (*Pyrenophora graminea*) in the 'Steptoe' ×

- 'Morex' spring barley cross. *Theoretical and Applied Genetics*, 106(4): 668–675
- Arru L, Niks RE, Lindhout P, Valé G, Francia E, Pecchioni N. 2002. Genomic regions determining resistance to leaf stripe (*Pyrenophora graminea*) in barley. *Genome*, 45(3): 460–466
- Biselli C, Urso S, Bernardo L, Tondelli A, Tacconi G, Martino V, Grandi S, Vale G. 2010. Identification and mapping of the leaf stripe resistance gene *Rdgl1a* in *Hordeum spontaneum*. *Theoretical and Applied Genetics*, 120(6): 1207–1218
- Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*, 32(3): 314–331
- Boulif M, Wilcoxson RD. 1988. Inheritance of resistance to *Pyrenophora graminea* in barley. *Plant Disease*, 72(3): 233–238
- He ZH, Si EJ, Lai Y, Wang PX, Meng YX, Li BC, Ma XL, Shang XW, Wang HJ. 2013. Genetic diversity and population structure in barley parent materials using SSR markers. *Journal of Triticeae Crops*, 33(5): 894–900 (in Chinese) [何智宏, 司二静, 赖勇, 王鹏喜, 孟亚雄, 李葆春, 马小乐, 尚勋武, 王化俊. 2013. 大麦亲本材料 SSR 标记遗传多样性及群体结构分析. 麦类作物学报, 33(5): 894–900]
- Kavak H. 2004. *Pyrenophora graminea* in fields sown-spring barley Angora in arid district of Turkey. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 7(7): 1225–1228
- Lamara M, Zhang LY, Marchand S, Tinker NA, Belzile F. 2013. Comparative analysis of genetic diversity in Canadian barley assessed by SSR, DarT, and pedigree data. *Genome*, 56(6): 351–358
- Li XD, Sun ZL, Zhang J. 2014. Development status in 2013 and outlook in 2014 for barley industry in the world and China. *Food and Nutrition in China*, 20(5): 21–23 (in Chinese) [李先德, 孙致陆, 张京. 2014. 2013年世界与我国大麦产业发展形势及2014年展望. 中国食物与营养, 20(5): 21–23]
- Li XD, Sun ZL, Zhang J. 2015. Barley production and trade in the world and China in 2014 and their prospects for 2015. *Agricultural Outlook*, 11(2): 43–47 (in Chinese) [李先德, 孙致陆, 张京. 2015. 2014年世界和中国大麦生产与贸易形势及2015年展望. 农业展望, 11(2): 43–47]
- Liu K, Muse SV. 2005. PowerMarker: integrated analysis environment for genetic marker data. *Bioinformatics*, 21(9): 2128–2129
- Ma DF, Yin JL, Liu SY, Wang WK, Fang ZW, Jing JX. 2015. Genetic and molecular mapping of stripe rust resistance gene in wheat-*Psathyrostachys huashanica* translocation line 9020-17-25-6. *Journal of Plant Protection*, 42(3): 327–333 (in Chinese) [马东方, 尹军良, 刘曙艳, 王文凯, 方正武, 井金学. 2015. 普通小麦-华山新麦草易位系 9020-17-25-6 抗条锈性遗传分析及分子标记. 植物保护学报, 42(3): 327–333]
- Michelmore RW, Paran I, Kesseli RV. 1991. 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. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 88(21): 9828–9832
- Paterson AH, Brubaker CL, Wendel JF. 1993. A rapid method for extraction of cotton (*Gossypium* spp.) genomic DNA suitable for RFLP or PCR analysis. *Plant Molecular Biology Reporter*, 11(2): 122–127
- Pecchioni N, Faccioli P, Toubia-Rahme H, Valé G, Terzi V. 1996. Quantitative resistance to barley leaf stripe (*Pyrenophora graminea*) is dominated by one major locus. *Theoretical and Applied Genetics*, 93(1/2): 97–101
- Porebski S, Bailey LG, Baum BR. 1997. Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. *Plant Molecular Biology Reporter*, 15(1): 8–15
- Porta-Puglia A, Delogu G, Vannacci G. 1986. *Pyrenophora graminea* on winter barley seed: effect on disease incidence and yield losses. *Journal of Phytopathology*, 117(1): 26–33
- Si EJ, Lai Y, Meng YX, Li BC, Ma XL, Shang XW, Wang HJ. 2015. Genetic diversity and association analysis of SSR markers with leaf stripe resistance in barley (*Hordeum vulgare*). *Journal of Agricultural Biotechnology*, 23(2): 193–202 (in Chinese) [司二静, 赖勇, 孟亚雄, 李葆春, 马小乐, 尚勋武, 王化俊. 2015. 大麦遗传多样性及 SSR 标记与大麦条纹病抗性关联分析. 农业生物技术学报, 23(2): 193–202]
- Si EJ, Yang SL, Li BC, Ma XL, Wang SR, Wang HJ. 2017. Pathogenic analysis, rDNA-ITS and genetic diversity of *Pyrenophora graminea* in Gansu Province. *Journal of Plant Protection*, 44(1): 84–92 (in Chinese) [司二静, 杨淑莲, 李葆春, 马小乐, 王生荣, 王化俊. 2017. 甘肃省大麦条纹病病原菌致病力分化、rDNA-ITS 及遗传多样性分析. 植物保护学报, 44(1): 84–92]
- Suneson CA. 1950. Physiologic and genetic studies with the stripe disease in barley. *Hilgardia*, 20(2): 29–36
- Tacconi G, Cattivelli L, Faccini N, Pecchioni N, Stanca AM, Vale G. 2001. Identification and mapping of a new leaf stripe resistance gene in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 102(8): 1286–1291
- Teviotdale BL, Hall DH. 1976. Factors affecting inoculum development and seed transmission of *Helminthosporium gramineum*. *Phytopathology*, 66(3): 295–301
- Thomsen SB, Jensen HP, Jensen J, Skou JP, Jørgensen JH. 1997. Localization of a resistance gene and identification of sources of resistance to barley leaf stripe. *Plant Breeding*, 116(5): 455–459
- von Korff M, Wang H, Léon J, Pillen K. 2004. Development of candidate introgression lines using an exotic barley accession (*Hordeum vulgare* ssp. *spontaneum*) as donor. *Theoretical and Applied Genetics*, 109(8): 1736–1745
- Yang R, Zheng G, Wang SR. 2010. Biological characteristics of pathogenic fungus causing barley stripe. *Guizhou Agricultural Sciences*, 38(9): 106–109 (in Chinese) [杨瑞, 郑果, 王生荣. 2010. 大麦条纹病病原菌的生物学特性研究. 贵州农业科学, 38(9): 106–109]