

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2008.00355

小麦条锈病抗源 S2199 抗病基因分子标记及其与 *Yr5* 的关系

房体麟¹ 程颖¹ 李根桥¹ 徐世昌² 解超杰¹ 尤明山¹ 杨作民¹
孙其信¹ 刘志勇^{1,*}

(¹中国农业大学, 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 100094; ²中国农业科学院植物保护研究所, 北京 100094)

摘要: 选用含有小麦条锈病抗源S2199的杂交组合(3338/14119//S2199) F₄/2*陕354 F₂代519个单株和其F₃家系对S2199抗条锈病基因进行遗传分析和分子标记定位。结果表明, 来自条锈病抗源S2199的条锈病抗性为显性单基因控制, 暂命名该基因为 $YrS2199$ 。采用BSA法和SSR分子标记分析, 筛选到与抗条锈病基因 $YrS2199$ 连锁的SSR分子标记 $Xdp269$ 和 $Xgwm120$, 连锁距离分别为0.7 cM和11.0 cM, 并将其定位在2BL染色体末端上。这两个分子标记为S2199抗条锈病基因的分子标记辅助选择和抗病基因聚合提供了便利。通过等位性检测和14个条锈菌生理小种分小种鉴定, 初步明确了S2199含有的抗条锈病基因可能是 $Yr5$ 或其等位基因。抗源S2199是一个具有优良农艺性状的材料, 为小麦育种提供了一个新的 $Yr5$ 或其等位基因供体。

关键词: 小麦; 条锈病; SSR标记; S2199; $Yr5$

Molecular Characterization of a Stripe Rust Resistance Gene from Wheat Line S2199 and Its Allelism with *Yr5*

FANG Ti-Lin¹, CHENG Ying¹, LI Gen-Qiao¹, XU Shi-Chang², XIE Chao-Jie¹, YOU Ming-Shan¹, YANG Zuo-Min¹, SUN Qi-Xin¹, and LIU Zhi-Yong^{1,*}

(¹ State Key Laboratory of Agro-Biotechnology / Key Laboratory of Crop Genomics and Genetic Improvement, Ministry of Agriculture/ Beijing Key Laboratory of Crop Genetic Improvement / Key Laboratory of Crop Heterosis, Ministry of Education, China Agricultural University, Beijing 100094; ² Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100094, China)

Abstract: Yellow rust, caused by *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* (PST), is one of the most devastating diseases in common wheat (*Triticum aestivum* L.) worldwide. Molecular markers are powerful tools in marker-assisted selection, gene pyramiding and gene cloning of important crop traits, especially for disease resistance. The objectives of this study were to develop tightly linked molecular marker of a yellow rust resistance gene against the prevalent Chinese races of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in an improved wheat line S2199 and to characterize its allelism with *Yr5*. Genetic analysis indicated that a single dominant gene was responsible for the yellow rust resistance in S2199, temporarily designated $YrS2199$. By screening 1 856 pairs of SSR primers, two markers— $Xdp269$ and $Xgwm120$ were found to be linked to the yellow rust resistance gene, with genetic distance of 0.7 cM and 11.0 cM, respectively. SSR marker $Xgwm120$ has been genetically and physically mapped on 2BL chromosome arm in wheat. By using Chinese Spring nullisomic-tetrasomics, ditelosomics and deletion lines of homoeologous group 2, $Xdp269$ was physically mapped on the terminal bin (0.89–1.00) of chromosome arm 2BL. Both allelism test of 700 F₂ plants from the cross $YrS2199/Yr5$ and seedling tests of $YrS2199$ and $Yr5$ on 14 PST isolates indicated that $YrS2199$ and $Yr5$ are likely to be the same gene or allelic genes. The $YrS2199$ tightly linked SSR marker $Xdp269$ could be used as potential tool in cloning the yellow rust resistance gene or marker assisted breeding program.

Keywords: Wheat; Stripe rust; Simple sequence repeat (SSR); S2199; $Yr5$

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863计划)项目(2006AA100102, 2006AA10Z1E9, 2006AA10Z1C4, 2006BAD01A02); 国家杰出青年科学基金项目(30425039); 教育部长江学者和创新团队发展计划项目; 高等学校学科创新引智计划项目(111-2-03)

作者简介: 房体麟(1983–), 女, 山东人, 硕士研究生, 主要从事小麦基因组学方面的研究。

* 通讯作者(Corresponding author): 刘志勇, 教授, 博士生导师。E-mail: zhiyongliu@cau.edu.cn

Received(收稿日期): 2007-09-05; Accepted(接受日期): 2007-11-08.

小麦条锈病是由小麦条锈菌(*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*)引起的一种世界范围的严重病害,也是我国发生范围最广、危害程度最重的小麦病害之一。20世纪50年代至今,我国曾发生8次条锈病大流行,其中1950年、1964年、1990年和2002年的大流行,导致小麦产量分别损失60、32、18和13亿kg^[1-3]。2007年,据农业部统计,全国有371个县(市、区)发生小麦条锈病,累计发生面积169.3万hm²^[4]。选育抗病品种是防治小麦条锈病最经济、有效和环保的举措。

迄今为止,已发现60多个抗条锈病位点,其中40个位点上的43个基因已被正式命名^[5-9]。由于新的条锈菌生理小种的产生,特别是强毒性小种条中32(CYR32)出现以后,绝大部分抗条锈病基因在我国已经丧失了抗性,从而导致2002年条锈病大流行^[3]。现有的条锈病抗源中只有*Yr5*、*Yr10*、*Yr15*、*Yr24*、*Yr26*等少数基因还保持着对CYR32的抗性^[3,10]。因此,发掘新的抗病基因及其紧密连锁的分子标记、培育抗病基因聚合品种和多系品种,对条锈病的持久防治具有重要意义。

随着分子生物学和基因分子作图技术的日臻完善,目前已经出现了多种分子标记技术,其中,SSR是一种技术要求较低、方便可靠的分子标记,现已应用于许多作物的基因定位和分子作图研究。已经构建的很多高丰度小麦SSR标记遗传图谱^[11-14],为小麦抗条锈病基因的准确定位奠定了基础。

S2199是原北京农业大学选育的具有优良农艺性状的小麦条锈病抗源,对我国目前条锈菌强优势生理小种条中29、31和32号表现免疫或高度抵抗,是一个很有价值的条锈病抗源。本文报道了对来源于S2199的抗条锈病基因的鉴定、遗传分析、抗谱分析和分子标记研究结果。

1 材料与方法

1.1 供试材料

以含有条锈病抗源S2199的小麦(*Triticum aestivum*)杂交组合(3338/14119//S2199) F₄/2*陕354的F₂代和F₃代家系构建抗病性分离群体,其中3338、14119和陕354均为高感条锈病品种(系),感病对照为燕大1817。多小种鉴定所用材料为*Yr5*的载体斯卑尔托小麦(*T. speltta album*),感病对照为铭贤169。病原菌为14个条锈菌生理小种,均由中国农业科学院植物保护研究所提供。

1.2 抗病性鉴定

抗病性分6级,依次是免疫(0)、近免疫(0₁)、高

度抗病(1)、中度抗病(2)、中度感病(3)、高度感病(4),并用“+”、“-”表示轻重程度^[15]。

1.2.1 成株期鉴定 S2199 F₂代分离群体于2005年秋种植于中国农业大学昌平实验站田间。用含有*YrS2199*的纯合抗病材料与含有*Yr5*的纯合抗病材料杂交,得到F₁种子后,自交获得700粒F₂代种子,连同S2199 F₃代家系于2006年秋种植于中国农业大学上庄实验站田间,均在翌年春天返青期用扣盆法于拔节期注射法两次接种条中29、31和32号的混合菌种。待感病对照燕大1817充分发病后,调查供试材料的抗病性。

1.2.2 多小种苗期鉴定 为确定*YrS2199*与*Yr5*的可能关系,将含有S2199抗条锈病基因的纯合抗病材料、斯卑尔托小麦和感病对照铭贤169按顺序穴播于35 cm × 24 cm的塑料方盒内,每品种(系)播6~8粒已催芽种子。待麦苗长至一叶一心期时,用涂抹法接种新鲜菌种,每菌系接种一套品种(系)。在接种后15~17 d感病对照铭贤169发病充分时,进行抗病性鉴定。

1.3 基因组DNA提取和抗、感池构建

参照Rogers和Bendich的CTAB法^[16]提取小麦基因组DNA。从F₂抗感分离群体中分别提取10株抗病株和10株感病株的DNA,等量混合建立抗病池和感病池^[17]。

1.4 SSR分析

共选用1856对SSR引物,其中包括Röder等^[11]开发的WMS引物279对,Pestsova等^[12]报道的GDM引物48对,Eujayl等^[18]发表的EST-SSR引物(DuPw系列)207对,及http://wheat.pw.usda.gov上公布的cfd、cfa和BARC等微卫星引物^[19]1322对。

PCR反应在Applied Biosystems GeneAmp PCR System 9700上进行,参照Röder等^[11]的参数和程序,略有改动。反应体积为10 μL(含10×buffer 1 μL,15 mmol L⁻¹ MgCl₂ 1 μL,2 mmol L⁻¹ dNTP 1 μL,20 ng μL⁻¹引物 1 μL,1 U *Taq*酶,去离子水 4 μL,20 ng μL⁻¹基因组DNA 2 μL)。扩增程序为94℃变性4 min;94℃变性45 s,50℃、55℃或60℃复性45 s,72℃延伸1.5 min,40个循环;72℃延伸10 min。扩增产物加入3 μL上样缓冲液[含98%甲酰胺,10 mmol L⁻¹ EDTA (pH 8.0),0.25%溴酚蓝,0.25%二甲苯青]。取5 μL样品在8%非变性聚丙烯酰胺凝胶上以恒定电压100~150 V,电泳约4 h。经硝酸银染色后观察,照相。

1.5 遗传距离估算和连锁分析

用χ²测验对F₂代群体抗感分离比例进行适合性

检验。根据F₃家系的鉴定结果将F₂分离群体各单株划分为纯合抗病, 杂合抗病和感病 3 种类型, 用 Mapmaker 3.0b^[20]对SSR扩增带型数据进行标记与抗条锈病基因的连锁性分析。用Kosambi函数^[21]计算遗传距离(cM), 将阈值设为 $LOD = 3.0$ 。用Mapdraw V2.1 软件^[22]绘制连锁图谱。

1.6 抗条锈基因及其连锁的多态性标记染色体物理定位

多态性标记在中国春缺体-四体、双端体和缺失系DNA上进行扩增, 结合Sourdille等^[23]报道的小麦微卫星标记缺失系物理定位结果确定基因的染色体位置。

2 结果与分析

2.1 抗病性鉴定与遗传分析

用条锈菌生理小种条中 29、31 和 32 号多年温室鉴定结果表明, S2199 对这 3 个生理小种表现为高度抗病或免疫。F₂代群体 519 个单株中, 150 株表现纯合抗病, 257 株表现杂合抗病, 112 株表现感病(表 1)。经 χ^2 检验, 符合 1 : 2 : 1 的分离比例($\chi^2 = 3.3$, $\chi^2_{0.05} = 5.2$)。根据F₃家系鉴定结果推测F₂代群体的抗病情况, 表明条锈病抗源S2199 对条锈菌生理小

种条中 29、31 和 32 号的抗病性是由显性单基因控制的, 此基因暂定名为 *YrS2199*。

2.2 连锁分析与 *YrS2199* 的分子作图

1 856 对小麦微卫星引物中, 只有位于 2BL 上的引物DP269 和WMS120 扩增产物在抗病池和感病株池间表现出多态性。用这两个引物分别对 519 株F₂群体进行PCR扩增和电泳分析, 结果发现微卫星标记 *Xdp269* 和*Xgwm120* 与抗病基因*YrS2199* 连锁(表 1), 这两个标记均为共显性标记, 在F₂代分离群体中均符合 1 : 2 : 1 比例。图 1 显示*Xdp269* 在F₂群体部分单株中的分离情况。

用 Mapmaker3.0b 的两点测验法计算出 *YrS2199* 与 *Xdp269* 和 *Xgwm120* 的连锁距离分别为 0.7 cM 和 11.0 cM(图 2)。*Xgwm120* 已经定位于 2BL 染色体上, 为更准确定位 *YrS2199* 基因, 利用与其紧密连锁的 *Xdp269* 标记在中国春第 2 部分同源群缺体-四体、双端体和缺失系上进行检测, 在缺失系 2BL-4(FL 0.50) 和 2BL-6(FL 0.89)(图 3)上, DP269 的扩增带型缺失了抗病的特异带(图 4), 表明 *Xdp269* 位于 2BL-6 上, 即 2BL 的末端 Bin 0.89~1.00 区间。籍此可将抗条锈病基因 *YrS2199* 定位于 2BL 的末端 Bin 0.89~1.00 染色体区间。

表 1 *YrS2199* 基因连锁SSR标记在F₂抗病分离群体上的扩增结果
Table 1 Amplification results of *YrS2199* linked SSR markers on F₂ population

基因型 Genotype	总数 Total	<i>Xdp269</i>					χ^2	<i>Xgwm120</i>					χ^2
		A	H	B	—			A	H	B	—		
<i>RR</i>	150	143	0	2	5		101	32	11	6			
<i>Rr</i>	257	3	246	0	8		17	222	14	4			
<i>rr</i>	112	0	0	111	1		1	7	102	2			
总数 Total	519	146	246	113	14	3.2	119	261	127	12	0.5		

RR : F₃家系呈现全部抗病的F₂单株; *Rr* : F₃家系呈现抗感分离的F₂单株; *rr* : F₃家系呈现全部感病的F₂单株。A : 纯合抗病; H : 杂合抗病; B : 纯合感病; — : 扩增数据缺失。

RR : all plants of the F₃ progenies showed resistance with infection types (ITs) 0; to 2; *Rr* : segregating, ITs of seedlings in a family range from 0; to 4; *rr* : all plants in the F₃ progenies showed susceptibility with ITs from 3 to 4. A: homozygous resistant plants; H: heterozygous resistant plants; B: homozygous susceptible plants; —: missing data in amplification.

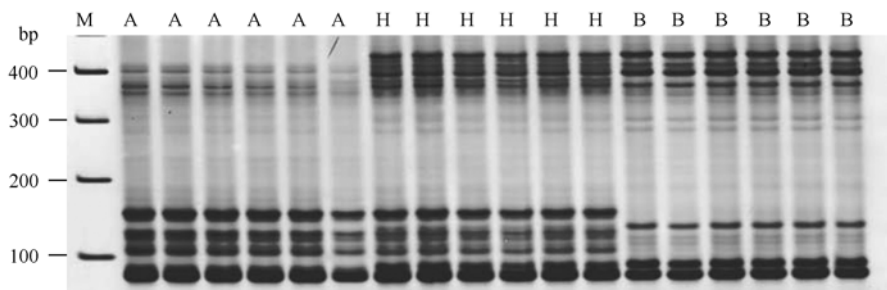


图 1 DP269 引物在S2199 抗条锈病基因F₂群体部分单株上的扩增结果

Fig. 1 Amplification pattern of SSR primer pair DP269 on F₂ individual plants of the segregation population
M: 100-bp DNA ladder; A: homozygous resistant plants; H: heterozygous resistant plants; B: homozygous susceptible plants.

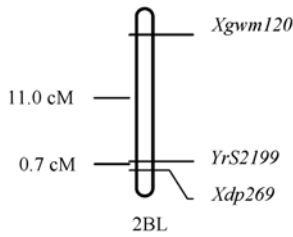


图 2 抗条锈病基因 *YrS2199* 的 SSR 连锁图
Fig. 2 SSR linkage map of stripe rust resistance gene *YrS2199*

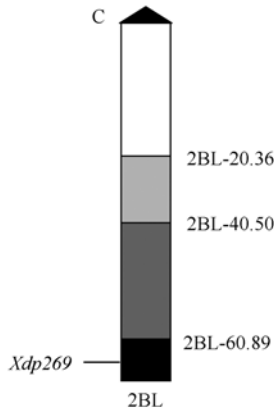


图 3 小麦抗条锈病基因 *YrS2199* 连锁分子标记 *Xdp269* 染色体缺失系定位图
Fig. 3 Deletion map of stripe rust resistance gene *YrS2199* linked SSR marker *Xdp269*

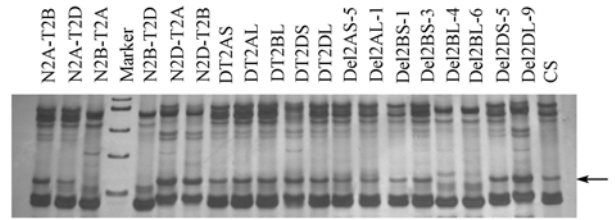


图 4 引物 DP269 在中国春第 2 部分同源群缺体—四体、双端体、缺失系上的扩增结果
Fig. 4 Amplification pattern of DP269 on Chinese Spring nullisomic-tetrasomic, ditelocentric and deletions lines of homoeologous group 2

2.3 *YrS2199* 与 *Yr5* 的等位性测验结果

已经定位于 2BL 上的抗条锈病基因有 *Yr5* 和 *Yr7*, 但目前仅 *Yr5* 仍保持对条中 29、31 和 32 号的抗性。用含有 *YrS2199* 的纯合抗病材料与含有 *Yr5* 的纯合抗病材料杂交, 得到 F_1 种子后, 自交获得 F_2 代种子。用条中 29、31、32 号生理小种混合接种进行田间成株期抗性鉴定结果表明, 在对照燕大 1817 充分发病时, 700 个 F_2 代单株均表现为高抗。

2.4 *YrS2199* 与 *Yr5* 的基因推导结果

S2199 抗条锈病基因与含有 *Yr5* 的斯卑尔托小麦对 14 个国内外生理小种的苗期反应型基本相同 (表 2), 均表现高抗 (ITs, 0-1)。

表 2 3 个小麦品种(系)对 14 个条锈菌生理小种的抗性反应

Table 2 Infection types of three wheat genotypes to 14 international and Chinese isolates of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*

生理小种 Isolate	来源 Origin	<i>YrS2199</i>	<i>T. speltta album</i> (<i>Yr5</i>)	铭贤 169 Mingxian 169
58893	Netherlands	0; (4) 0(1)	0; (2) 0; +(2)	4
59791	Netherlands	0;	0; +	4
61009	Netherlands	0;	1+	4
74187	Ecuador	0;	0; +	4
75078	Egypt	0;	0;	4
76088	Afghanistan	0;	0; +	4
76093	Pakistan	0;	0; + 0	4
86094	Kenya	0;	0;+(1) 0; (3)	4
CYR26	China	0;	0	4
CYR27	China	0;+	0	4
CYR29	China	0;	0;	4
CYR31	China	0;	0;	4
CYR32	China	0;	0;	4
CYR-Su-1	China	0;(1) 0(2)	0	4

3 讨论

3.1 *S2199* 抗条锈病基因的抗病性遗传

组合(3338/14119//*S2199*) $F_4/2$ *陕 354 中, 3338、14119 和陕 354 均为高感条锈病的小麦品种(系), 条

锈病抗源 *S2199* 为原北京农业大学选育的小麦条锈病抗源。 *S2199* 为长 3/BY16 后代选系, BY16 为原北京农业大学选育抗条锈中间材料, 系谱为 3B1 丙 /GR5422, 其中 3B1 丙为杂交组合 20074//4*03256/大拇指矮后代选系, 均不含抗条锈基因。因此推测

S2199 的抗条锈病基因来源于 GR5422, 但其所含抗条锈病基因不祥。经多年温室和田间抗病性鉴定, 抗源 S2199 对目前我国小麦条锈病优势小种具有良好的抗性, 杂交后代抗病性遗传分析分离群体的分离比例符合 1:2:1 的显性单基因孟德尔分离比率, 表明抗源 S2199 含有一个显性抗条锈病单基因。

3.2 *YrS2199* 的分子标记定位

利用 BSA 方法和 SSR 标记技术, 从 1 856 对小麦微卫星引物中筛选到与抗条锈病基因 *YrS2199* 连锁的微卫星标记 *Xdp269* 和 *Xgwm120*, 其中 *Xdp269* 与抗病基因紧密连锁, 遗传距离为 0.7 cM, *Xgwm120* 与抗病基因遗传距离较远, 为 11.0 cM。根据中国春缺体-四体、双端体和缺失系定位结果, 结合 Sourdille 等^[23]发表的小麦微卫星标记缺失系物理定位结果, 可确定来源于 S2199 的抗条锈病基因 *YrS2199* 位于染色体 2BL 的末端。

3.3 S2199 抗条锈病基因与其他抗条锈病基因的关系

目前在已正式命名和暂时命名的小麦抗条锈病基因中, 2BL 上已存在抗条锈病基因 *Yr5* 和 *Yr7*, 但 *Yr7* 对我国强优势生理小种条中 30、31 号表现感病^[10], 由此可推测 S2199 抗条锈病基因是不同于 *Yr7* 的基因。

Sun 等^[24]发现了与 *Yr5* 基因连锁的微卫星标记 *Xgwm501*, 但在 S2199 条锈病抗性分离群体中该微卫星标记未检测到多态性; 微卫星引物 DP269 在 Sun 等的 *Yr5* 抗病性分离群体中也未检测到多态性。Yan 等^[25]和 Chen 等^[26]曾报道与 *Yr5* 基因共分离的 RGA 和 STS 标记。但本研究用其报道的与 *Yr5* 基因连锁的 RGA 和 STS 标记也未在 S2199 分离群体上检测到多态性。这与这些标记均为与抗病基因连锁的分子标记而非功能性标记, 同时与所用遗传分析材料遗传背景均有关, 从而导致已有 *Yr5* 基因分子标记在 S2199 抗病性分离群体上检测不到多态性。但 *YrS2199* 与 *Yr5* 杂交组合 F₂ 代 700 单株全部表现高抗, 表明 *YrS2199* 与 *Yr5* 位点间未发生重组, *YrS2199* 和 *Yr5* 可能位于同一个基因位点上。同时多小种抗谱分析结果表明, *YrS2199* 和 *Yr5* 对 14 个条锈菌生理小种均表现高抗, 说明 S2199 携带的抗条锈病基因可能就是 *Yr5* 或者是其等位基因。

4 结论

通过对 S2199 携带的抗条锈病基因进行鉴定、

遗传分析和微卫星分子标记定位, 发现 S2199 携带的抗条锈病基因可能是 *Yr5* 或者是其等位基因, 为遗传育种提供了一个新的 *Yr5* 或其等位基因的供体。抗源 S2199 不但高抗条锈病, 而且具有优良的农艺性状, 可以直接应用在育种中。建立了与 *YrS2199* 连锁的微卫星标记, 进而将该抗条锈病基因定位于小麦 2BL 的末端, 为小麦抗条锈病分子标记辅助选择和抗病基因累加奠定了基础。

References

- [1] Li Z-Q(李振岐), Shang H-S(商鸿生). Yellow Rust in Wheat and Its Controlling (小麦条锈病及其防治). Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers, 1989 (in Chinese)
- [2] Li Z-Q(李振岐), Zeng S-M(曾士迈). Wheat Rusts in China (中国小麦锈病). Beijing: China Agriculture Press, 2002 (in Chinese)
- [3] Wan A, Zhao Z, Chen X, He Z, Jin S, Jia Q, Yao G, Yang J, Wang B, Li G, Bi Y, Yuan Z. Wheat stripe rust epidemic and virulence of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in China in 2002. *Plant Dis*, 2004, 88: 896-904
- [4] Ministry of Agriculture of China (农业部中国农业信息网), 2007-04-09[2007-08-30]. http://www.agri.gov.cn/xxlb/t20070409_799543.htm (in Chinese)
- [5] McIntosh R A, Yamazaki Y, Devos K M, Dubcinsky J, Rogers J, Appels R. Catalogue of gene symbols for wheat. In: Proceedings of the Tenth International Wheat Genetics Symposium. Paestum, Italy, 2003. Vol 5, pp 56-60
- [6] McIntosh R A, Hart G E, Devos K M, Rogers W J. Catalogue of gene symbols for wheat: 2004 supplement. GrainGenes Website. [2007-08-20]. <http://wheat.pw.usda.gov/ggpages/wgc/2004upd.html>
- [7] McIntosh R A, Devos K M, Dubcovsky J, Rogers W J, Morris C F, Appels R, Anderson O D. Catalogue of gene symbols for wheat: 2005 supplement. GrainGenes Website. [2007-08-20]. <http://wheat.pw.usda.gov/ggpages/wgc/2005upd.html>
- [8] McIntosh R A, Devos K M, Dubcovsky J, Rogers W J, Morris C F, Appels R, Anderson O A. Catalogue of gene symbols for wheat: 2006 supplement. Integrated Database of Wheat. [2007-08-20]. <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/macgene/supplement2006.pdf>
- [9] McIntosh R A, Devos K M, Dubcovsky J, Rogers W J, Morris C F, Appels R, Somers D J, Anderson O A. Catalogue of gene symbols for wheat: 2007 supplement. Netgrated Database of Wheat. [2007-08-20]. <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/macgene/supplement2007.pdf>
- [10] Yang Z-M(杨作民), Xie C-J(解超杰), Sun Q-X(孙其信). Situation of the sources of stripe rust resistance of wheat in the post-CY32 era in China. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2003, 29(2): 161-168 (in Chinese with English abstract)
- [11] Röder M S, Korzun V, Wendehake K. A microsatellite map of wheat. *Genetics*, 1998, 149: 2007-2023
- [12] Pestsova E, Ganal M W, Röder M S. Isolation and mapping of

- microsatellite markers specific for the D genome of bread wheat. *Genome*, 2000, 43: 689–697
- [13] Gupta P, Balyan H, Edwards K, Isaac P, Korzun V, Röder M, Gautier M F, Joudrier P, Schlatter A, Dubcovsky J, De la Pena R, Khairallah M, Penner G, Hayden M, Sharp P, Keller B, Wang R, Hardouin J, Jack P, Leroy P. Genetic mapping of 66 new microsatellite (SSR) loci in bread wheat. *Theor Appl Genet*, 2002, 105: 413–422
- [14] Somers D J, Isaac P, Edwards K. A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet*, 2004, 109: 1105–1114
- [15] McIntosh R A, Wellings C R, Park R F. Wheat Rusts: An Atlas of Rust Genes. East Melbourne, Australia: CSIRO Publication, 1995. pp 28–55
- [16] Rogers S O, Bendich A J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues. *Plant Mol Biol*, 1985, 5: 69–76
- [17] Michelmore R W, Paran I, Kesseli R V. Identification of markers linked to disease resistance genes by bulked segregating population. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, 88: 9828–9832
- [18] Eujayl I, Sorrells M E, Baum M, Wolters P, Powell W. Isolation of EST2 derived microsatellite markers for genotyping the A and B genomes of wheat. *Theor Appl Genet*, 2002, 104: 399–407
- [19] Song Q J, Shi J R, Singh S, Fickus E W, Costa JM, Lewis J, Gill B S, Ward R, Cregan P B. Development and mapping of microsatellite (SSR) markers in wheat. *Theor Appl Genet*, 2005, 110: 550–560
- [20] Lincoln S, Daly M, Lander E. Constructing Genetic Maps with Mapmaker/EXP3.0. Whitehead Institute Techn Rep, 3rd Edn. Whitehead Institute, Cambridge, Massachusetts, USA. 1992
- [21] Kosambi D D. The estimation of map distances from recombination values. *Ann Eugen*, 1944, 12: 172–175
- [22] Liu R-H(刘仁虎), Meng J-L(孟金陵). MapDraw: a Microsoft Excel macro for drawing genetic linkage maps based on given genetic linkage data. *Hereditas (遗传)*, 2003, 25 (3): 317–321 (in Chinese with English abstract)
- [23] Sourdille P, Singh S, Cadalen T, Brown, Guedira G L, Gay G, Qi L 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.). *Funt Integr Genomics*, 2004, 4: 12–25
- [24] Sun Q X, Wei Y L, Ni Z F, Xie C J, Yang T M. Microsatellite marker for yellow rust resistance gene *Yr5* in wheat introgressed from spelt wheat. *Plant Breed*, 2002, 121: 539–541
- [25] Yan G P, Chen X M, Line R F, Wellings C R. Resistance gene-analog polymorphism markers co-segregating with the *Yr5* gene for resistance to wheat stripe rust. *Theor Appl Genet*, 2003, 106: 636–643
- [26] Chen X M, Soria M A, Yan G P, Sun J, Dubcovsky J. Development of sequence tagged site and cleaved amplified polymorphic sequence markers for wheat stripe rust resistance gene *Yr5*. *Crop Sci*, 2003, 43: 2058–2064