

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2009.01791

从野生二粒小麦导入普通小麦的抗白粉病基因 *MIWE18* 分子标记定位

韩俊^{1,2} 张连松¹ 李根桥¹ 张宏涛¹ 解超杰¹ 杨作民¹ 孙其信¹
刘志勇^{1,*}

¹ 中国农业大学植物遗传育种系 / 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; ² 北京农学院植物科技学院, 北京 102206

摘要: 野生二粒小麦(*Triticum turgidum* var. *dicoccoides*)是小麦抗白粉病遗传改良的重要基因资源。利用野生二粒小麦 WE18 与普通小麦品种(系)连续多次杂交和自交, 育成对白粉病菌生理小种 E09 高度抵抗的小麦新品系 3D249 (京双 27//燕大 1817/WE18/3/温麦 4, F₇)。利用高感白粉病品系薛早和 3D249 组配杂交组合, 获得杂种 F₁ 代、F₂ 分离群体和 F₃ 代家系, 进行苗期白粉病抗性鉴定和遗传分析。结果表明, 小麦品系 3D249 对 E09 小种的抗性受显性单基因控制, 暂命名该基因为 *MIWE18*。利用集群分离分析法(BSA)和分子标记分析, 发现 4 个简单重复序列(SSR)标记 (*Xwmc525*、*Xwmc273*、*Xcfa2040* 和 *Xcfa2240*)、1 个 EST-STS 标记(*Xmag1759*)和 1 个 EST-STS 序列标记(*XE13-2*)与抗白粉病基因 *MIWE18* 连锁, 在遗传连锁图谱上的顺序为 *Xwmc525-Xcfa2040-Xwmc273-XE13-2-Xmag1759-MIWE18-Xcfa2240*。SSR 标记的染色体缺失系物理定位结果表明, 抗白粉病基因 *MIWE18* 位于小麦 7A 染色体长臂末端的 Bin 7AL 16–0.85–1.00。与已知定位于该染色体区域的 *Pm* 基因遗传连锁图谱比较表明, *MIWE18* 与抗白粉病基因 *Pm1*、*MLIW72*、*PmU*、*Mlm2033* 和 *Mlm80* 均位于 7AL 相同染色体区段。

关键词: 普通小麦品系 3D249; 野生二粒小麦; 抗白粉病基因; *MIWE18*; 分子标记

Molecular Mapping of Powdery Mildew Resistance Gene *MIWE18* in Wheat Originated from Wild Emmer (*Triticum turgidum* var. *dicoccoides*)

HAN Jun^{1,2}, ZHANG Lian-Song¹, LI Gen-Qiao¹, ZHANG Hong-Tao¹, XIE Chao-Jie¹, YANG Zuo-Min¹, SUN Qi-Xin¹, and LIU Zhi-Yong^{1,*}

¹ Department of Plant Genetics & Breeding, China Agricultural University / State Key Laboratory for Agrobiotechnology / Key Laboratory of Crop Genomics and Genetic Improvement, Ministry of Agriculture / Beijing Key Laboratory of Crop Genetic Improvement / Key Laboratory of Crop Heterosis Research & Utilization, Ministry of Education, Beijing 100193, China; ² College of Plant Science and Technology, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China

Abstract: Wild emmer (*Triticum turgidum* var. *dicoccoides*) is an important germplasm for wheat improvement especially for resistance to powdery mildew caused by *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*. Common wheat line 3D249 (Jingshuang 27//Yanda 1817/WE18/3/Wenmai 4, F₇), a derivative of wild emmer accession WE18 and susceptible elite common wheat lines, was found highly resistant to prevailing powdery mildew isolate E09 at both seedling and adult plant stages in Beijing, China. Genetic analyses of the F₁, F₂ segregating population and their F₃ progenies derived from a cross between susceptible line Xueza0 and resistant line 3D249 indicated that the powdery mildew resistance of line 3D249 was controlled by a single dominant gene, temporarily designated *MIWE18*. By bulked segregant analysis (BSA), four SSR markers (*Xwmc525*, *Xwmc273*, *Xcfa2040*, and *Xcfa2240*), one RFLP-derived STS marker (*Xmag1759*) and one EST-STS marker (*XE13-2*) were found to be linked to *MIWE18*, with an order of *Xwmc525-Xcfa2040-Xwmc273-XE13-2-Xmag1759-MIWE18-Xcfa2240* in the genetic linkage map. Using Chinese Spring nullisomic-tetrasomics, ditelosomics, and deletion lines, *MIWE18* was physically mapped on chromosome 7AL terminal bin 7AL 16–0.85–1.00. However, the allelism of wild emmer derived *MIWE18* to known powdery mildew resistance genes *Pm1*, *PmU*, *MLIW72*, *Mlm2033*, and *Mlm80*, all located on the same chromosome bin, need to be characterized in the future. The

本研究由国家高技术研究发展计划(863 计划)项目(2006AA100102, 2006AA10Z1E9, 2006AA10Z1C4, 2006BAD01A02), 国家自然科学基金项目(30425039, 30771341), 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)资助。

* 通讯作者(Corresponding author): 刘志勇, E-mail: zhiyongliu@cau.edu.cn

第一作者联系方式: E-mail: hanjun422@yahoo.com.cn

Received(收稿日期): 2009-02-23; Accepted(接受日期): 2009-04-30.

common wheat powdery mildew resistance line 3D249 provides useful new germplasm for disease resistance genes pyramiding and marker-assisted selection (MAS) in wheat breeding program.

Keywords: Common wheat line 3D249; Wild emmer (*Triticum turgidum* var. *dicoccoides*); Powdery mildew resistance genes; *MIWE18*; Molecular markers

小麦白粉病是由高度专化性寄生菌布氏禾白粉菌(*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*)引起的真菌性病害,是危害世界小麦生产的重要病害之一。近年来,随着水肥条件的改善、矮秆半矮秆品种的推广、种植密度的加大导致麦田过于郁蔽,加之推广品种“丧失”抗病性,小麦白粉病危害日趋严重,已成为威胁我国小麦生产的主要病害之一。国内外的育种和生产实践经验证明,培育和推广抗病品种,提高小麦品种的抗病性,是控制白粉病危害最经济、有效、并有利于环境保护的方法。由于单一化抗源对病原菌抗性的脆弱性,在抗病育种实践中提倡利用多样化的抗病资源。目前,在小麦中已经鉴定出41个主效抗白粉病基因位点(*Pm1*~*Pm43*,其中*Pm18*和*Pm22*已被取消),其中*Pm1*、*Pm3*、*Pm4*和*Pm5*等基因座上具有多个等位基因^[1],而*Pm3b*是目前唯一被图位克隆的小麦抗白粉病基因^[2]。由于小麦白粉病菌变异速度快,生理小种多,大面积推广单一抗源品种,增强了选择压力新的毒性生理小种的出现和流行,促使品种的抗病性“丧失”。因此,需要不断发掘新的抗病基因,实现基因多样化,实现小麦品种的持久抗性。

许多已定位的小麦抗白粉病基因来源于小麦的近缘种属。野生二粒小麦(*Triticum turgidum* var. *dicoccoides*, $2n = 4x = 28$, AABB)是硬粒小麦和普通小麦的四倍体祖先种^[3],也是普通小麦的二级基因源,在小麦遗传改良中有重要的应用潜力^[4]。野生二粒小麦与硬粒小麦和普通小麦很容易杂交,并含有优质、抗病、抗逆等优良性状,通过常规回交转育可很快将目标基因导入优良品种遗传背景^[5-7]。许多报道已证实野生二粒小麦是小麦抗白粉病基因的重要来源之一^[8-9]。目前已知来自野生二粒小麦的抗白粉病基因有*Pm16*、*Pm26*、*Pm30*、*Pm36*、*MIW72*和*MIZe1*,已被分别导入六倍体普通小麦和四倍体硬粒小麦中^[10-15]。野生二粒小麦对我国小麦白粉病菌优势生理小种具有良好的抗性^[9],充分发掘其中的抗白粉病基因资源并将其导入普通小麦优良品种的遗传背景中,对促进抗源多样化,培育抗病小麦新品种,实现小麦持久抗病性都具有实际意义。

近年来,分子标记技术的发展和利用极大地促

进了小麦抗病基因的发掘研究。目前,常用于小麦抗病基因研究的分子标记技术主要有RFLP、RAPD、AFLP、STS和SSR等。SSR标记由于具有多态性高、操作简单、重复性好、多为共显性、染色体位置已知等诸多优点,现已成为小麦抗病基因标记定位研究中的首选和最常用的一种方法。迄今,利用SSR标记的小麦抗白粉病基因有:*Pm1*、*Pm2*、*Pm3*、*Pm4*、*Pm5e*、*Pm12*、*Pm16*、*Pm23*、*Pm24*、*Pm30*、*Pm33*、*Pm34*、*Pm35*、*Pm36*、*Pm37*、*Pm38*、*Pm39*和*Pm41*等^[1,16]。最近,随着小麦EST测序和SNP标记的开发(<http://wheat.pw.usda.gov/SNP/>),在小麦EST序列基础上建立的分子标记已经被用于基因组作图与标记辅助选择中。

1993—1994年间,中国农业大学从以色列引进了多份野生二粒小麦材料,并开展了用普通小麦与部分高抗白粉病野生二粒小麦材料杂交和用优良品种回交转育工作,育成了一批农艺性状优良、便于育种利用的抗白粉病新品系。为了明确这些抗病材料中所含的抗病基因,便于在育种实践中利用,本研究对农艺性状优良,抗病性表现较为突出的品系3D249,进行了抗白粉病鉴定、遗传分析和分子标记研究,以期为该抗病材料的应用提供依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

小麦抗白粉病品系3D249是通过普通小麦地方品种燕大1817与野生二粒小麦WE18杂交,杂交后代用普通小麦品种温麦4号和京双27连续多次杂交选育成的高抗小麦白粉病新品系,其系谱为京双27//燕大1817/WE18/3/温麦4号(F_7 代)。普通小麦品系薛早为感白粉病对照。用薛早和3D249配制杂交组合,对其 F_1 、 F_2 代分离群体及 F_3 代家系进行抗白粉病鉴定和抗病基因遗传分析。

中国春第7部分同源群缺体-四体系、双端体系和缺失系(表1)定位材料由美国堪萨斯州立大学小麦遗传资源中心W. J. Raupp博士和B. S. Gill博士惠赠,其中缺体-四体系、双端体系用于分子标记的染色体和染色体臂定位,缺失系用于分子标记的染色体Bin物理定位。

表 1 中国春第 7 部分同源群染色体片段缺失的分布情况
Table 1 Distribution of deletion breakpoints in Chinese Spring homoeologous group 7 deletion lines

中国春缺失系 CS deletion line	缺失种类 Description	染色体臂片段长度 Fragment length
d7AS-1, 5BS-4	18"+1"[del5BS-4]+1"[del7AS-1]+1"[4B]	0.89
d7AS-8, 7AL-17	20"+1"[del7AS-8 del7AL-17]	0.45, 0.71
d7AL-1	20"+1"[del7AL-1]	0.39
d7AL-16, 3DS-3, 5AS-8	17"+1"[del3DS-3]+1"[del5AS-8]+1"[del7AL-16]+1"[del5BS-5]+1"[5B]	0.86
d7AL-21, 4AL-13	19"+1"[del4AL-13]+1"[del7AL-21]	0.74
d7BS-1	20"+1"[del7BS-1]	0.27
d7BL-6, 4AL-5	19"+1"[del4AL-5]+1"[del7BL-6]+1"[7B] or 20"+1"[del4AL-5]	
d7BL-7, 1DS-3	19"+1"[del7BL-7]+1"[del1DS-3]	0.63
d7BL-10, 3BS-8, 4AS-3	18"+1"[del3BS-8]+1"[del4AS-3]+1"[del7BL-10]	0.78
d7DS-4	20"+1"[del7DS-4]	0.61
d7DS-5	20"+1"[del7DS-5]	0.36
d7DL-2	20"+1"[del7DL-2]	0.61
d7DL-3	19"+1"[del7DL-3]+1"[del1BS-2]	0.82
d7DL-5	20"+1"[del7DL-5]	0.30

1.2 小麦白粉病抗性鉴定

利用北京地区流行白粉病菌小种 E09 对抗病亲本 3D249、感病亲本薛早、薛早/3D249 的 F₁ 代、F₂ 分离群体和 F₃ 家系进行苗期接种鉴定。将种子播于塑料培养盘, 每穴 20 粒, 待材料长至一叶一心期, 将病菌分生孢子充分发生的繁菌盆置于待鉴定幼苗培养盘的四周, 通过自然传播和人工拂掸等方法进行接种。接种后 15 d, 待感病对照材料充分发病时进行抗性记载, 3 d 后复查一次。按免疫(0)、过敏性坏死(0₁)、高抗(1)、中抗(2)、中感(3)和高感(4) 6 级标准, 其中 0~2 级为抗病, 3~4 级为感病^[17]。根据 F₁、F₂ 和 F₃ 苗期的鉴定结果, 将作图所用抗病分离群体中的各单株分为纯合抗病(RR)、杂合抗病(Rr)和纯合感病(rr)。

1.3 基因组 DNA 提取和抗、感池构建

采用 Sharp 等^[18]的 CTAB 法提取小麦基因组 DNA。根据 F₃ 家系苗期抗性鉴定结果, 结合 F₂ 代苗期抗性表现, 从薛早/3D249 F₂ 代抗病分离群体中随机选取 10 株纯合抗病株(IT 0)和 10 株纯合感病株(IT 4)的 DNA, 分别等量混合形成 DNA 抗病池和 DNA 感病池, 用于抗病基因连锁标记的筛选, 进一步将多态性引物在 F₂ 代分离群体中分析验证, 检测分子标记与抗病基因的连锁程度。

1.4 分子标记分析

使用的小麦 SSR 引物主要包括两大类, 一类是基因组 SSR 引物, 包括 GWM^[19-20]、GDM^[21]、BARC^[22]、CFD^[23]和 WMC^[24-25]系列引物; 另一类是

EST-SSR 引物, 包括 PK^[26]、KSUM^[27]和 CFA (<http://wheat.pw.usda.gov/>)系列引物。

反应体系为 10 μL, 包含 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。PCR 扩增程序为 94℃ 预变性 5 min; 然后 94℃ 变性 45 s, 50~60℃ (依引物而定) 退火 45 s, 72℃ 延伸 1.5 min, 40 个循环; 最后 72℃ 后延伸 10 min。扩增产物经 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳, 硝酸银染色后进行带型统计或扫描记录。

1.5 SSR 标记的染色体物理定位

利用与 3D249 抗白粉病基因连锁的 SSR 标记在中国春缺体—四体、双端体和缺失系 DNA 上进行 PCR 扩增, 通过比较中国春与其缺失系的扩增带型, 将每个连锁标记定位到某个特定的染色体 Bin 上, 再结合 Sourdille 等^[28]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。

1.6 数据统计及遗传分析

用 χ^2 测验对 F₂ 代群体抗感分离比例进行适合性检验。采用 MAPMAKER/EXP 3.0b 软件^[29]计算分子标记与抗白粉病基因之间的距离, LOD 值为 3.0。用 Mapdraw V2.1 软件^[30]绘制连锁图谱。

2 结果与分析

2.1 抗白粉病基因 *MIWE18* 遗传分析

利用白粉病菌 E09 小种苗期接种感病亲本薛早、抗病亲本 3D249, 以及薛早/3D249 F₁、F₂ 及 F₃

家系, 接种后 15 d 薛早完全感病(IT = 4), 3D249 表现高抗(IT = 0, 0); 薛早/3D249 F₁ 代也表现高抗(IT = 0, 0); 薛早/3D249 的 F₂ 群体 92 个单株中, 抗、感病单株分别为 64 和 28, 符合 3 : 1 的分离比例($\chi^2_{3:1} = 1.45$, $\chi^2_{0.05, 1} = 3.84$)(表 2)。F₂ 代 64 株抗病单株衍生的 F₃ 代家系中, 有 23 个表现纯合抗病(RR), 41 个表现抗病性分离(Rr); 而 28 株 F₂ 感病单株的 F₃ 代家系全部表现纯合感病(rr)。分离比例符合 1 : 2 : 1 ($\chi^2 = 1.63$, $\chi^2_{0.05, 2} = 5.99$)(表 1)。

2.2 与抗白粉病基因 *MIWE18* 连锁的 SSR 分子标记定位和染色体定位

随机选取分布在小麦基因组上的 150 对 SSR 引物在抗病亲本 3D249, 感病亲本薛早, 抗病池和感病池 DNA 上进行 PCR 扩增, 结果发现位于 7AL 上的 SSR 标记 *Xwmc525* 同时在亲本间和抗感池间扩增

出多态性 DNA 片段。为了验证 *MIWE18* 与 *Xwmc525* 之间的连锁关系, 用 *Xwmc525* 检测薛早/3D249 F₂ 代抗病分离群体中的 20 个 DNA 样品(包括 10 株纯合抗 RR 和 10 株纯合感 rr)。结果表明, *Xwmc525* 扩增出的多态性 DNA 片段确实与抗病基因 *MIWE18* 连锁。根据 Somers 等^[31]的定位结果可知, SSR 标记 *Xwmc525* 位于第 7 部分同源群的长臂上。继续用定位于小麦第 7 部分同源群长臂上的 SSR 标记筛选 DNA 抗、感池, 并对多态性标记进行小群体验证表明, 另有 3 个 SSR 标记 *Xwmc273*, *Xcfa2040* 和 *Xcfa2240* 与抗病基因 *MIWE18* 连锁。筛选到的 4 个与 *MIWE18* 基因连锁的 SSR 标记中, *Xwmc525* 为共显性标记(图 1), 而 *Xwmc273*, *Xcfa2040* 和 *Xcfa2240* 均为显性标记。通过在 F₂ 分离群体上验证, 构建了抗白粉病基因 *MIWE18* 的分子标记连锁图谱(图 2-A)。

表 2 小麦品系 3D249 中抗白粉病基因 *MIWE18* 的遗传分析

Table 2 Genetic analysis of powdery mildew resistance gene *MIWE18* in wheat line 3D249

亲本或组合 Parent or cross	抗病株数 No. of resistant plants	感病株数 No. of susceptible plants	总数 Total	χ^2	$\chi^2_{0.05}$
3D249	20	0	20		
薛早 Xuezao	0	20	20		
薛早/3D249 F ₁ Xuezao/3D249 F ₁	20	0	20		
薛早/3D249 F ₂ Xuezao/3D249 F ₂	64	28	92	1.45	3.84
薛早/3D249 F ₃ Xuezao/3D249 F ₃	23(RR) + 41(Rr)	28 (rr)	92	1.63	5.99

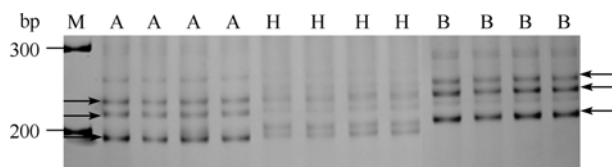


图 1 SSR 标记 *Xwmc525* 在 F₂ 代抗病、感病株上的扩增结果
Fig. 1 Polymorphic DNA fragments amplified by SSR marker *Xwmc525* between the resistant and susceptible plants of F₂ population

M: 100 bp DNA ladder; A: 纯合抗病株(RR); H: 杂合抗病株(Rr); B: 纯合感病株(rr)。采用 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳。箭头示多态性片段。

M: 100 bp DNA ladder. A: homozygous resistant plants; H: heterozygous resistant plants; B: homozygous susceptible plants. PCR products were separated by 8% nondenaturing PAGE. Arrows indicate the polymorphic DNA fragments.

根据已经发表的小麦 SSR 标记遗传连锁图谱和物理定位结果, 与 *MIWE18* 连锁的 4 个微卫星标记都位于小麦第 7 部分同源群。据此选择中国春第 7 部分同源群染色体的缺体-四体系(N7AT7B、N7AT7D、N7BT7A、N7BT7D、N7DT7A 和 N7DT7B)、双端体系(Dt7AS、Dt7AL、Dt7BS、Dt7BL、Dt7DS

和 Dt7DL)和 14 个缺失系对连锁标记进行染色体物理定位。结果表明, SSR 标记 *Xwmc525* 被定位到 7AL 末端的 Bin 7AL16-0.85-1.00 上(图 3-A); 标记 *Xcfa2240* 分别被定位于 7AL 末端的 Bin 7AL16-0.85-1.00 和 7DL 末端的 Bin7DL3-0.82-1.00(图 3-B); 而标记 *Xcfa2040* 则分别被定位到各染色体长臂末端的 Bin 7AL16-0.85-1.00、Bin 7BL10-0.78-1.00 和 Bin 7DL3-0.82-1.00 上(图 3-C)。据此推断, 抗病基因 *MIWE18* 位于 7AL 末端的染色体 Bin 7AL16-0.85-1.00 上(图 2-B)。

2.3 与抗白粉病基因 *MIWE18* 连锁的 STS 分子标记建立

为探讨本研究中的抗白粉病基因 *MIWE18* 与 Yao 等^[31]报道的来源于一粒小麦的抗白粉病基因 *Mlm80* 的位置关系, 筛选了与 *Mlm80* 连锁的 5 个 STS 引物, 发现 *Xmag1759* 与 *MIWE18* 基因连锁, 定位于抗病基因 *MIWE18* 和 SSR 标记 *Xwmc273* 之间, 与抗白粉病基因之间的遗传距离分别为 9.4 cM(图 2-A)。另外根据 7AL 染色体上的一个 EST 序列 DR736732

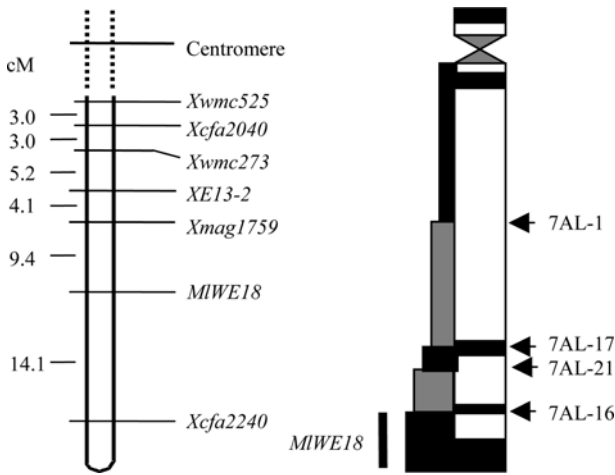


图 2 抗白粉病基因 *MIWE18* 的分子标记连锁图谱(A)和物理图谱(B)

Fig. 2 Linkage (A) and physical bin (B) maps of powdery mildew resistance gene *MIWE18*

开发了一个新的 STS 标记 *XE13-2*, 引物序列 E13-2F 为 5'-TTGATGCTGCCGTGTCTCTT-3'; E13-2R 为

5'-AGGTTGTGTGGTGGTTGTGG-3', 在抗病单株中可以扩增出单一的 DNA 条带(图 4), 与 *MIWE18* 基因之间的遗传距离为 13.5 cM(图 2-A)。

3 讨论

在已知的小麦抗白粉病基因中, 来源于野生二粒小麦的有 *Pm16*、*Pm26*、*Pm30*、*Pm36*、*PmAS846*、*MIW72* 和 *MIZec1*, 分别被定位在 4A 或 5BS^[10,32]、2BS^[11]、5BS^[12]、5BL^[15]、5BL^[33]、7AL^[14]和 2BL^[13] 染色体上。本研究首次报道利用 SSR 分子标记和缺失系物理定位将野生二粒小麦导入普通小麦遗传背景的抗白粉病基因 *MIWE18* 定位于 7AL 染色体。本实验室曾直接利用野生二粒小麦与硬粒小麦杂交, 在四倍体水平上定位了抗白粉病基因 *MIW72*, 与本研究定位的 *MIWE18* 位于相同的 7AL 染色体 Bin 上^[14]。目前, 我们正在将 *MIW72* 连续回交导入普通小麦遗传背景中, 以期与 *MIWE18* 进行等位性测验。

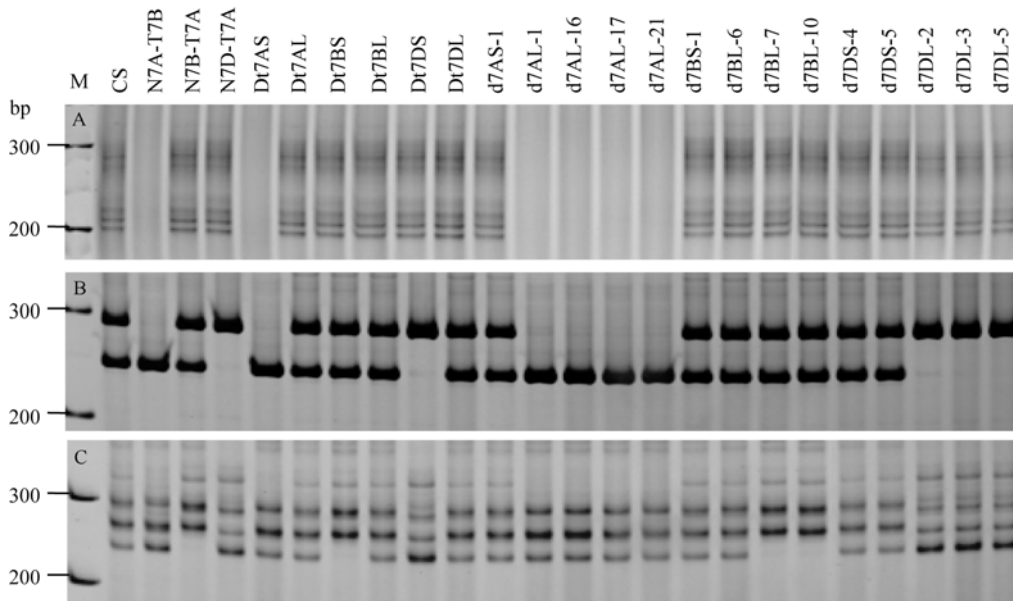


图 3 SSR 标记 *Xwmc525*(A)、*Xcfa2240*(B)和 *Xcfa2040*(C)在中国春第 7 部分同源群缺体-四体、双端体、缺失系上的扩增结果
Fig. 3 Amplification pattern of *Xwmc525* (A), *Xcfa2240* (B), and *Xcfa2040* (C) in Chinese Spring homoelogenous group 7 nullisomic-tetrasomics, ditelosomics, and deletion lines

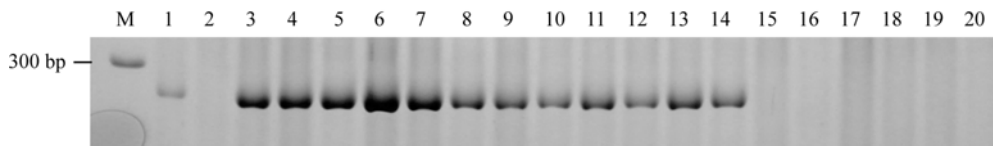


图 4 EST-STS 标记 *XE13-2* 在薛早/3D249F₂ 群体抗、感单株上的扩增结果
Fig. 4 Polymorphic DNA fragments detected by EST-STS marker *XE13-2* in Xuezao/3D249 F₂ segregating population

M: 100 bp DNA ladder; 1: 3D249; 2: 薛早; 3~8: 纯合抗病单株; 9~14: 杂合抗病单株; 15~20: 纯合感病单株。
M: 100 bp DNA ladder; 1: 3D249; 2: Xuezao; 3~8: homozygous resistant plants; 9~14: heterozygous resistant plants; 15~20: homozygous susceptible plants.

另外还有 9 个 *Pm* 基因被定位于 7A 染色体的长臂, 包括 *Pm1* (*Pm1a*、*Pm1b*、*Pm1c*、*Pm1d*、*Pm1e*)、*Pm9*、*Pm37*、*PmU*、*mLRD30*、*Mlm2033*、*Mlm80*、*MINCA4* 和 *MINCAG11*^[1]。其中 *Pm9* 和 *mLRD30* 为隐性抗病基因, *Pm9* 高度感染白粉病菌 E09 小种, *mLRD30* 来源于普通小麦品种 TA2682c, 距离 *Pm1* 基因 4 cM 左右^[34]; 在 *Pm1* 基因座, *Pm1a* 和 *Pm1b* 对白粉病菌 E09 小种表现感染, 源于一粒小麦的 *Pm1c* 表现高抗, 源于斯卑尔脱小麦的 *Pm1d* 抗病性尚不清楚; Yao 等^[31]从一粒小麦中鉴定出的 *Mlm2033* 和 *Mlm80* 是 *Pm1* 位点的等位基因, 对当地的白粉病菌小种表现良好的抗性, 但未知对白粉病菌 E09 的反应。来源于乌拉尔图小麦的 *PmU* 对白粉病菌 E09 小种表现高抗^[35], 而来源于提莫菲维小麦的 *Pm37* 对我国白粉病菌生理小种的反应有待于引进后进行鉴定^[36]。另外两个抗白粉病基因 *MINCA4* 和 *MINCAG11* 也被定位于 7AL 染色体, 分别来源于一粒小麦和提莫菲维小麦的 A 基因组, 苗期和成株期鉴定结果均表明对 E09 表现高抗(未发表数据)。从分子标记定位结果来看, *MINCA4* 和 *MINCAG11* 均定位于标记 *Xwmc525* 的近着丝粒一侧, 与 *MIWE18* 基因在位置上有所不同; *PmU* 位于 SSR 标记 *Xcfa2040* 远离着丝粒的一侧, *MIIW72*、*Mlm80* 和 *Mlm2033* 位于 STS 标记 *Xmag1759* 远离着丝粒的一侧, *Mlm80* 和 *Mlm2033* 与由 RFLP 标记 PSR680 转化而来的 STS 标记 *Xmag2185* 相距约 1 cM, 而 *Pm1* 与 RFLP 标记 PSR680 共分离。由此可见, *MIWE18*、*MIIW72*、*PmU*、*Mlm80*、*Mlm2033* 和 *Pm1* 这 6 个基因的染色体定位及其相邻的分子标记位置差别不大。由于不同的定位群体遗传背景的差异, 单纯从遗传距离尚难以推断这些抗白粉病基因位点间的等位性关系。深入的等位测验和多小种鉴定有助于区分这些位点的异同。但 7AL 染色体臂可能携带有较多的抗白粉病基因, 通过这些不同基因间的聚合和分子标记辅助选择, 可能创制出具有较为持久抗性的新种质。

4 结论

成功地将野生二粒小麦 WE18 中的抗白粉病基因导入普通小麦新品系 3D249 中。3D249 携带一个位于 7AL 染色体末端 Bin 0.85–1.00 的显性抗白粉病基因 *MIWE18*。建立了与 *MIWE18* 连锁的 SSR 和 STS 标记。这一普通小麦抗白粉病新种质资源的创制及其连锁分子标记的建立为小麦抗病基因分子标记辅助选择、基因积聚和分子育种提供了新的物质基础。

References

- [1] McIntosh R A, Yamazaki Y, Dubcovsky J, Rogers J, Morris C, Somers D J, Appels R, Devos K M. Catalogue of gene symbols for wheat. In: Appels R, Eastwood R, Lagudah E, Langridge P, Mackay M, McIntyre L, Sharp P, eds. Proc 11th Intl Wheat Genet Symp Sydney, Australia: Sydney University Press, 2008. pp 114–121
- [2] Yahiaoui N, Srichumpa P, Dudler R, Keller B. Genome analysis at different ploidy levels allows cloning of the powdery mildew resistance gene *Pm3b* from hexaploid wheat. *Plant J*, 2004, 37: 528–538
- [3] Feldman M, Millet E. Methodologies for identification, allocation and transfer of quantitative genes from wild emmer into cultivated wheat. In: Li Z S, Xin Z Y, eds. Proc 8th Intl Wheat Genet Symp. Beijing: China Agricultural Scientific and Technology Press, 1993. pp 19–27
- [4] Dong Y-C(董玉琛). Genepools of Common Wheat. *J Triticeae Crops* (麦类作物学报), 2000, 20(3): 78–81 (in Chinese with English abstract)
- [5] Levy A A, Feldman M. Increase in grain percentage in high-yielding common wheat breeding lines by genes from wild tetraploid wheat. *Euphytica*, 1987, 36: 353–359
- [6] Levy A A, Galili G, Feldman M. Polymorphism and genetic control of high molecular weight glutenin subunits in wild tetraploid wheat *Triticum turgidum* var. *dicoccoides*. *Heredity*, 1988, 61: 63–72
- [7] Nevo E, Payne P I. Wheat storage proteins: Diversity of HMW glutenin subunits in wild emmer from Israel. *Theor Appl Genet*, 1987, 74: 827–836
- [8] Nevo E, Korol A B, Beiles A, Fahima T. Evolution of Wild Emmer and Wheat Improvement. Population Genetics, Genetic Resources, and Genome Organization of Wheat's Progenitor, *Triticum dicoccoides*. Heidelberg, Germany: Springer-Verlag, 2002
- [9] Xie C-J(解超杰), Sun Q-X(孙其信), Yang Z-M(杨作民). Resistance of wild emmers from Israel to wheat rusts and powdery mildew at seedling stage. *J Triticeae Crops* (麦类作物学报), 2003, 23(2): 39–42 (in Chinese with English abstract)
- [10] Reader S M, Miller T E. The introduction into bread wheat of a major gene for resistance to powdery mildew from wild emmer wheat. *Euphytica*, 1991, 53: 57–60
- [11] Rong J K, Millet E, Manisterski J, Feldman M. A new powdery mildew resistance gene: Introgression from wild emmer into common wheat and RFLP-based mapping. *Euphytica*, 2000, 115: 121–126
- [12] Liu Z Y, Sun Q X, Ni Z F, Nevo E, Yang T M. Molecular characterization of a novel powdery mildew resistance gene *Pm30* in wheat originating from wild emmer. *Euphytica*, 2002, 123: 21–29
- [13] Mohler V, Zeller F J, Wenzel G, Hsam S L K. Chromosomal location of genes for resistance to powdery mildew in common wheat (*Triticum aestivum* L. em Thell.): 9. Gene *MIZe1* from the *Triticum dicoccoides*-derived wheat line Zecoi-1. *Euphytica*, 2005,

- 142: 161–167
- [14] Ji X L, Xie C J, Ni Z F, Yang T M, Nevo E, Fahima T, Liu Z Y, Sun Q X. Identification and genetic mapping of a powdery mildew resistance gene in wild emmer (*Triticum dicoccoides*) accession IW72 from Israel. *Euphytica*, 2008, 159: 385–390
- [15] Blanco A, Gadaleta A, Cenci A, Carluccio A V, Abdelbacki A M M, Simeone R. Molecular mapping of the novel powdery mildew resistance gene *Pm36* introgressed from *Triticum turgidum* var. *dicoccoides* in durum wheat. *Theor Appl Genet*, 2008, 116: 417–425
- [16] Huang X Q, Röder M S. Molecular mapping of powdery mildew resistance genes in wheat: A review. *Euphytica*, 2004, 137: 203–223
- [17] Liu Z, Sun Q, Ni Z, Yang T. Development of SCAR markers linked to the *Pm21* gene conferring resistance to powdery mildew in common wheat. *Plant Breed*, 1999, 118: 215–219
- [18] Sharp P G, Kreis M, Shewry P R, Gale M D. Resistance to *Puccinia recondite tritici* in synthetic hexaploid wheats. *Indian J Genet*, 1988, 58: 263–269
- [19] Röder M S, Korzun V, Gill B S, Ganal M W. The physical mapping of microsatellite markers in wheat. *Genome*, 1998, 41: 278–283
- [20] Röder M S, Korzun V, Wendehake K, Plaschke J, Tixier M H, Leroy P, Ganal M W. A microsatellite map of wheat. *Genetics*, 1998, 149: 2007–2023
- [21] 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
- [22] Song Q J, Fickus E W, Cregan P B. Characterization of trinucleotide SSR motifs in wheat. *Theor Appl Genet*, 2002, 104: 286–293
- [23] Guyomarc'h H, Sourdille P, Charmet G, Edwards K J, Bernard M. Characterization of polymorphic microsatellite markers from *Aegilops tauschii* and transferability to the D genome of bread wheat. *Theor Appl Genet*, 2002, 104: 1164–1172
- [24] 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
- [25] Gupta P K, Balyan H S, Edwards K J, Isaac P, Korzun V, Röder M S, Gautier M F, Joudrier P, Schlatter A R, Dubcovsky J, Dela Pena R C, Khairallah M, Penner G, Hayden M J, Sharp P, Keller B, Wang R C C, Hardouin J P, Jack P, Leroy P. Genetic mapping of 66 new microsatellite (SSR) loci in bread wheat. *Theor Appl Genet*, 2002, 105: 413–422
- [26] Gupta P K, Rustgi S R, Sharma S, Singh R, Kumar N, Balyan H S. Transferable EST-SSR markers for the study of polymorphism and genetic diversity in bread wheat. *Mol Gen Genomics*, 2003, 270: 315–323
- [27] Yu J K, Dake T M, Singh S, Benschler D, Li W L, Gill B, Sorrells M E. Development and mapping of EST-derived simple sequence repeat markers for hexaploid wheat. *Genome*, 2004, 47: 805–818
- [28] Sourdille P, Singh S, Cadalen T. Microsatellite-based deletion bin system for the establishment of genetic-physical map relationships in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Funct Integr Genomics*, 2004, 4: 12–25
- [29] 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
- [30] 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)
- [31] Yao G Q, Zhang J L, Yang L L, Xu H X, Jiang Y M, Xiong L, Zhang C Q, Zhang Z Z, Ma Z Q, Sorrells M E. Genetic mapping of two powdery mildew resistance genes in einkorn (*Triticum monococcum* L.) accession. *Theor Appl Genet*, 2007, 114: 351–358
- [32] Chen X M, Luo Y H, Xia X C, Xia L Q, Chen X, Ren Z L, He Z H, Jia J Z. Chromosomal location of powdery mildew resistance gene *Pm16* in wheat using SSR marker analysis. *Plant Breed*, 2005, 124: 225–228
- [33] Wang C-Y(王长有), Ji W-Q(吉万全), Zhang G-S(张改生), Wang Q-Y(王秋英), Cai D-M(蔡东明), Xue X-Z(薛秀庄). SSR markers and preliminary chromosomal location of a powdery mildew resistance gene in common wheat germplasm N9134. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2007, 33(1): 163–166 (in Chinese with English abstract)
- [34] Singrün C, Hsam S L K, Zeller F J, Wenzel G, Mohler V. Localization of a novel recessive powdery mildew resistance gene from common wheat line RD30 in the terminal region of chromosome 7AL. *Theor Appl Genet*, 2004, 109: 210–214
- [35] Qiu Y C, Zhou R H, Kong X Y, Zhang S S, Jia J Z. Microsatellite mapping of a *Triticum urartu* Tum derived powdery mildew resistance gene transferred to common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet*, 2005, 111: 1524–1531
- [36] Perugini L D, Murphy J P, Marshall D, Brown-Guedira G. *Pm37*, a new broadly effective powdery mildew resistance gene from *Triticum timopheevii*. *Theor Appl Genet*, 2005, 116: 417–425