

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2009.00761

来自野生二粒小麦 IW3 和 IW10 的两个抗白粉病基因的鉴定及 SSR 标记定位

李根桥 房体麟** 张宏涛 解超杰 杨作民 孙其信 刘志勇*

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

摘要: 野生二粒小麦(*Triticum dicoccoides*)是小麦抗病育种的重要资源库之一。来自以色列 Mount Hermon 的野生二粒小麦材料 IW3 和 IW10 对我国小麦白粉病菌生理小种 E09 表现高抗。对硬粒小麦 Langdon 与 IW3 和 IW10 两个杂交组合 F₂ 分离群体和 F₃ 家系的遗传分析表明, IW3 和 IW10 对小麦白粉菌 E09 的抗性均受显性单基因控制, 暂被命名为 *MIIW3* 和 *MIIW10*。采用 BSA 法和 SSR 标记分析, 筛选到与抗白粉病基因 *MIIW3* 和 *MIIW10* 连锁的 5 个 SSR 标记, 这两个基因均位于 *Xbarc84* 和 *Xwmc326* 之间, 顺序为 *Xbarc84*-4.6 cM-*MIIW3*-1.6 cM-*Xwmc326* 和 *Xbarc84*-6.6 cM-*MIIW10*-0.6 cM-*Xwmc326*。根据 SSR 分子标记的遗传图谱和在中国春的缺体-四体、双端体和缺失系的定位结果, 这两个抗白粉病基因被定位在 3BL 染色体的末端。根据 *MIIW3* 和 *MIIW10* 的来源和分子标记定位结果, 推断这两个基因可能是小麦抗白粉病基因 *Pm41* 或其等位基因或位于同一个基因簇中。

关键词: 野生二粒小麦; 抗白粉病基因; SSR 标记

Identification and SSR Mapping of Two Powdery Mildew Resistance Genes in Wild Emmer (*Triticum dicoccoides*) Accessions IW3 and IW10

LI Gen-Qiao, FANG Ti-Lin**, Zhang Hong-Tao, XIE Chao-Jie, YANG Zuo-Min, SUN Qi-Xin, and LIU Zhi-Yong*

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

Abstract: Powdery mildew, caused by *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* (Bgt), is a major wheat disease in the world. Deployment of resistant varieties is considered the most economical and effective way for controlling the disease. Wild emmer is one of the important genetic resources for wheat disease resistance genes. Two wild emmer accessions, IW3 and IW10, collected from Mount Hermon, Israel, are highly resistant to prevailing Bgt isolate E09. Genetic analyses of the F₂ populations and F₃ progenies derived from the crosses between *Triticum durum* cultivar Langdon and IW3 or IW10 indicated that each accession possessed a single dominant gene, temporarily designated *MIIW3* and *MIIW10*, respectively, conferred resistance to Bgt isolate E09. Bulk segregant analysis (BSA) and SSR mapping revealed that both *MIIW3* and *MIIW10* were flanked by SSR markers *Xbarc84* and *Xwmc326* with genetic distances of *Xbarc84*-4.6 cM-*MIIW3*-1.6 cM-*Xwmc326* and *Xbarc84*-6.6 cM-*MIIW10*-0.6 cM-*Xwmc326*. Both *MIIW3* and *MIIW10* were physically mapped on the distal bin of chromosome 3BL using Chinese Spring nulli-tetrasomic, ditelosomic, and deletion lines. According to the collecting geographic sites of IW3 and IW10 in Israel and the SSR mapping data, *MIIW3* and *MIIW10* appear to be the same or allelic to wild emmer derived powdery mildew resistance gene *Pm41* or in the same cluster with it.

Keywords: Wild emmer; Powdery mildew resistance genes; SSR marker

小麦白粉病(*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*)是世界小麦生产的主要病害之一, 主要在冷凉高湿地区暴发, 造成严重损失^[1]。小麦白粉病广泛分布于我国各小麦主要产区, 以四川、云南、贵州、河南、山

本研究由国家高技术研究发展计划(863计划)项目(2006AA100102, 2006AA10Z1E9, 2006AA10Z1C4, 2006BAD01A02), 国家杰出青年科学基金项目(30425039), 北京市自然科学基金项目(6061003), 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

** 现通讯地址: Department of Plant Soil Sciences, Oklahoma State University, Stillwater, OK 74078, USA

Received(收稿日期): 2008-12-04; Accepted(接受日期): 2009-02-17.

东发生最为普遍,近年在东北、华北、西北有加重趋势。1990年,小麦白粉病大流行造成全国小麦损失 14 亿千克^[2]。近年来,每年的危害面积都在 600 万公顷以上(<http://www.agri.gov.cn>)。选育抗病品种是防治小麦白粉病最为经济有效和安全的手段^[3]。不断发掘小麦抗白粉病基因,并应用于育种实践对小麦抗病品种的培育具有重要意义。目前,已经正式命名的小麦抗白粉病基因分布在 43 个位点上(*Pm1~Pm43*)^[4](McIntosh R A, 个人交流)。其中 *Pm1*、*Pm3*、*Pm4*、*Pm5* 和 *Pm8* 位点上含有多个等位基因。目前对我国各麦区小麦白粉病菌优势小种具有抗性的主效基因主要为 *Pm4*、*Pm12*、*Pm13*、*Pm16*、*Pm20* 和 *Pm21* 等^[5]。由于普通小麦抗病基因资源多样性较低,外缘和近缘种属优异基因的发掘将极大地丰富普通小麦的抗病基因资源。野生二粒小麦(*Triticum dicoccoides*, AABB, $2n = 4x = 28$)是普通小麦的野生四倍体祖先,与普通小麦杂交比较容易,杂种后代与普通小麦回交的结实率较高,而且对小麦白粉病具有良好的抗性,是小麦抗病育种的重要基因资源^[6-7]。目前,已经发现多个来自野生二粒小麦的抗白粉病基因并定位在不同的染色体上。如位于 4A 染色体上的 *Pm16*^[8], 2BS 染色体上的 *Pm26*^[9], 5BS 上的 *Pm30*^[10], 5BL 上的 *Pm36*^[11], 3BL 上的 *Pm41*^[12], 2BS 上的 *Pm42*^[13], 2BL 上的 *MLZec1*^[14] 和 7AL 上的 *MIW72*^[15] 等。

近年来,分子标记技术的发展和利用为小麦抗病基因的研究提供了极大的便利。育种工作者利用分子标记技术可以摆脱对表型抗性的依赖,方便准确地鉴定、发掘、定位不同的抗病基因,从而丰富小麦的抗病资源。通过建立与抗病基因紧密连锁的分子标记,进行分子标记辅助选择和抗源累加,可以大大提高育种效率和抗病性的持久性。SSR 标记具有随机分布于小麦基因组,等位性变异较多,多数是共显性标记等特点,在小麦基因定位和遗传作图方面有着广泛的用途。至今,已开发几千个小麦 SSR 标记(<http://wheat.pw.usda.gov>),并构建多个小麦基因组的遗传图谱,为小麦新基因的发掘提供了强有力的工具。已经通过 SSR 标记定位的小麦抗白粉病基因有 *Pm1e*、*Pm3g*、*Pm3h*、*Pm3j*、*Pm4a*、*Pm5e*、*Pm12*、*Pm27*、*Pm30*、*Pm31*、*Pm33*、*Pm35*、*Pm37~Pm43*^[4] 等(McIntosh R A, 个人交流)。

中国农业大学引进了来自以色列 16 个不同地区的 152 份野生二粒小麦材料,苗期对我国白粉病表

现良好的抗性^[6]。本研究拟通过对 IW3 和 IW10 的白粉病抗性遗传分析,利用 SSR 标记对其抗性基因进行染色体定位和物理定位,为将其抗白粉病基因向普通小麦转移提供分子标记辅助选择的工具。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

野生二粒小麦材料 IW3 和 IW10 来源于以色列的 Mount Hermon 地区,对小麦白粉菌 E09 小种表现高抗^[11]。硬粒小麦(*T. durum*)品种 Langdon 为高度感病的材料。用 Langdon 分别与抗病材料 IW3 和 IW10 组配杂交组合, F₁ 代自交获得 F₂ 种子,构建 F₂ 代分离群体及其 F₃ 代衍生系,进行白粉病抗性鉴定和遗传图谱的构建。中国春缺体-四体、双端体系和缺失系材料由美国堪萨斯州立大学小麦遗传资源中心 Raupp 和 Gill 博士惠赠。小麦白粉菌 E09 小种为北京地区流行的生理小种,由中国农业科学院植物保护研究所段霞瑜研究员提供。

1.2 抗病性鉴定

利用 E09 小种分别对亲本 IW3、IW10 和 Langdon 及其 F₁ 代、F₂ 代分离群体和 F₃ 代衍生系进行苗期接种抗病性鉴定。待鉴定的材料生长至一叶一心期时,将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,当对照感病品种薛早充分发病时进行抗病性鉴定和记载。采用苗期反应型 6 级分级标准鉴定,即 0、0₁、1、2、3、4; 0~2 级为抗病,3~4 级为感病^[16]。

1.3 基因组 DNA 的提取和抗、感池的构建

采用 Sharp 等^[17]的 CTAB 法提取小麦基因组 DNA,略有改进。根据 F₃ 家系的鉴定结果,从 F₂ 代抗感分离群体中随机选取 10 株纯合抗病株和 10 株纯合感病株的 DNA,等量混合建立抗病池(B_R)和感病池(B_S),以抗病和感病池为模板进行 PCR 扩增,寻找抗感池之间有多态性的引物,进一步将多态性引物在 F₂ 代分离群体中分析验证,检测 SSR 标记与抗病基因的连锁程度。

1.4 SSR 分析

小麦 SSR 引物选自 Röder 等^[18]开发的 WMS 引物, Pestsova 等^[19]报道的 GDM 引物, Eujayl 等^[20]发表的 EST-SSR 引物(DuPw 系列),及 <http://wheat.pw.usda.gov> 上公布的 CFD、CFA 和 BARC 系列引物等。首先从合成的引物中选取随机分布在每一条染色体上的 100 对引物,用于多态性标记的初步筛选。待

确定抗病基因所在染色体位置后, 再选取位于其所在基因组区域的其他 SSR 标记进一步筛选多态性。

PCR 在 Applied Biosystems GeneAmp PCR System 9700 上进行, 参照 Röder 等^[18]的参数和程序, 略有改动。反应体积为 10 μ L, 含 10 \times buffer 1 μ L, 15 mmol L⁻¹ MgCl₂ 1 μ L, 2 mmol L⁻¹ dNTP 1 μ L, 20 ng μ L⁻¹ 引物 1 μ L, 1 U *Taq* 酶, 去离子水 4 μ L, 20 ng μ L⁻¹ 基因组 DNA 2 μ L。扩增程序为 94 变性 4 min; 94 变性 45 s, 50~60 (根据引物的退火温度)复性 45 s, 72 延伸 1.5 min, 40 个循环; 72 延伸 10 min。PCR 产物保存于 4 $^{\circ}$ C。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 数据分析

用 χ^2 测验对 F₂ 代群体抗感分离比例进行适合性检验。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, 杂合抗病和纯合感病 3 种类型, 用 Mapmaker 3.0b 对 SSR 扩增带型数据进行标记与抗白粉病基因的连锁性分析^[21]。用 Kosambi 函数计算遗传距离(cM), 将阈值设为 LOD = 3.0, 最大连锁交换频率为 0.5。

1.6 抗白粉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, 根据带型的缺失与否, 再结合 Sourdille 等^[22]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

野生二粒小麦 IW3、IW10 及 F₁ 杂种 Langdon/IW3 和 Langdon/IW10 均表现高抗白粉病, 而硬粒小麦

Langdon 表现高度感病(表 1)。94 株来自 Langdon/IW3 组合的 F₂ 代群体苗期鉴定结果表明, 64 株表现抗病 (IT : 0~2), 30 株表现感病(IT : 3~4)。经 χ^2 检验, 符合 3 : 1 的分离比例($\chi^2 = 2.3, \chi^2_{0.05, 1} = 3.8$)。F₃ 家系中, 来自 F₂ 代的 64 株抗病株中, 有 19 个 F₃ 代家系表现纯合抗病, 45 个 F₃ 代家系出现抗感分离, 而 F₂ 代 30 株感病株的 F₃ 代家系均表现感病, 符合 1 : 2 : 1 的分离比例($\chi^2 = 2.7, \chi^2_{0.05, 2} = 5.99$)(表 1)。结合 F₁、F₂ 和 F₃ 代的鉴定结果, 野生二粒小麦 IW3 对 E09 的抗性受 1 对显性基因控制, 暂定名为 *MIIW3*。

Langdon/IW10 组合 F₂ 代群体的 83 株抗病性鉴定结果表明, 65 株表现抗病, 18 株表现感病。分离比例符合 3 : 1(表 1)。F₃ 代家系中, F₂ 代的 65 株抗病单株中有 25 个 F₃ 家系表现纯合抗病, 40 个 F₃ 代家系出现抗感分离, 而 18 株感病单株的 F₃ 代家系全表现纯合感病。分离比例符合 1 : 2 : 1 ($\chi^2 = 1.3, \chi^2_{0.05, 2} = 5.99$)(表 1)。结合 F₁、F₂ 和 F₃ 代的鉴定结果, 野生二粒小麦 IW10 对 E09 的抗性受显性单基因控制, 暂定名为 *MIIW10*。

2.2 抗白粉病基因 *MIIW3* 和 *MIIW10* 的分子标记定位

从已经发表的 SSR 遗传图谱中选取分布在整个小麦基因组的 100 对 SSR 引物, 分别在供试亲本和抗感池之间扩增。结果发现位于 3BL 的 SSR 标记 *Xbarc77* 在 2 个杂交组合的亲本和抗感池之间都有多态性, 分别在 10 株纯合抗病和 10 株纯合感病小群体上验证, 发现 *Xbarc77* 与 *MIIW3* 和 *MIIW10* 均有连锁关系。选取其他位于 3BL 染色体上的 SSR 标记进行检测, 发现 *Xbarc84*、*Xwmc326*、*Xwmc687* 和 *Xwmc236* 均有多态性。分别将这 5 个 SSR 引物在

表 1 IW3、IW10 和 Langdon 及其 F₂、F₃ 分离群体对小麦白粉菌 E09 小种的反应
Table 1 Reaction of IW3, IW10, Langdon and their F₂ population, F₃ progenies to powdery mildew isolate E09

| 亲本或组合 Parent or cross | 总株数 Total plants | F ₂ | | | | F _{2,3} | | | | |
|-------------------------------|---------------------|----------------|----|-------|----------|------------------|----|----|-------|----------|
| | | R | r | Ratio | χ^2 | RR | Rr | rr | Ratio | χ^2 |
| IW3 | 30 | 30 | | | | | | | | |
| IW10 | 30 | 30 | | | | | | | | |
| Langdon | 30 | | 30 | | | | | | | |
| F ₁ (Langdon/IW3) | | 30 | | | | | | | | |
| F ₁ (Langdon/IW10) | | 30 | | | | | | | | |
| Langdon/IW3 | 94 | 64 | 30 | 3:1 | 2.3 | 19 | 45 | 30 | 1:2:1 | 2.7 |
| Langdon/IW10 | 83 | 65 | 18 | 3:1 | 0.5 | 25 | 40 | 18 | 1:2:1 | 1.3 |

$\chi^2_{0.05, 1} = 3.84$; $\chi^2_{0.05, 2} = 5.99$ 。R: 抗病株; r: 感病株; RR : 纯合抗病家系; Rr : 抗感杂合家系; rr : 纯合感病家系。

R: resistant plants; r: susceptible plants; RR: homozygous resistant progenies; Rr: heterozygous resistant and susceptible progenies; rr: homozygous susceptible progenies.

Langdon/IW3 和 Langdon/IW10 的 F₂ 群体上进行检测, 发现均与 *MIIW3* 和 *MIIW10* 具有连锁关系。SSR 标记 *Xwmc326* 在 Langdon/IW3 F₂ 分离群体部分单株上的扩增结果如图 1。

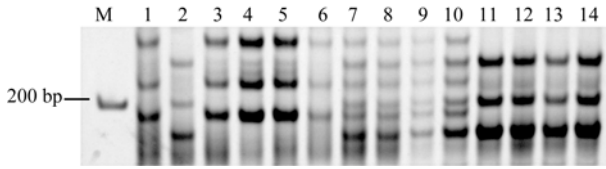


图 1 多态性 SSR 标记 *Xwmc326* 在 Langdon/IW3 F₂ 分离群体部分单株上的 PCR 扩增结果

Fig. 1 Polymorphic DNA fragments detected by SSR marker *Xwmc326* in plants of Langdon/IW3 F₂ segregating population
 M: 100 bp DNA ladder; 1: IW3; 2: Langdon; 3-6: 纯合抗病单株; 7-10: 杂合抗病单株; 11-14: 纯合感病单株。
 M: 100 bp DNA ladder; 1: IW3; 2: Langdon; 3-6: homozygous resistant plants; 7-10: heterozygous resistant plants; 11-14: homozygous susceptible plants.

分析多态性 SSR 引物在两个分离群体上的扩增结果, 显示 *Xbarc84*、*Xwmc326*、*Xwmc687* 和 *Xbarc77* 为共显性标记, 而 *Xwmc236* 为显性标记, 这些标记

在 F₂ 代群体上的分离均符合 1 : 2 : 1 或 3 : 1 的孟德尔遗传(表 2 和表 3)。利用 Mapmaker 3.0b 的两点测验对这 5 个 SSR 标记和抗白粉病基因 *MIIW3* 和 *MIIW10* 分别进行分析, 发现这 5 个 SSR 标记位点均与抗白粉病基因 *MIIW3* 和 *MIIW10* 紧密连锁, 连锁距离在 0.6~19.6 cM 之间(表 2 和表 3)。通过多点测验程序, 分别构建了 5 个 SSR 标记位点与 *MIIW3* 和 *MIIW10* 基因连锁图谱。*MIIW3* 和 *MIIW10* 均位于 *Xbarc84* 和 *Xwmc326* 之间(图 2-A 和 2-B)。这 5 个 SSR 标记均被定位于 3BL 染色体臂(<http://wheat.pw.usda.gov>), 因此, 抗白粉病基因 *MIIW3* 和 *MIIW10* 也被定位于 3BL 染色体臂上。

2.3 *MIIW3* 和 *MIIW10* 的染色体物理定位

利用 SSR 标记 *Xbarc84* 和 *Xbarc77* 在中国春缺体-四体、双端体和缺失系上进行验证。*Xbarc84* 在中国春、N3A-T3B、N3A-T3D、Dt3AL 和 Dt3BL 都有相应的扩增条带, 而在 N3B-T3A、N3B-T3D、D3BL-2、D3BL-7 上都没有相应的扩增条带(图 3), 说明 *Xbarc84* 位于 3BL 末端 D3BL-7(0.63~1.00)区段

表 2 SSR 标记在 Langdon/IW3 组合 F₂ 代群体的分离及与 *MIIW3* 基因的遗传距离
 Table 2 Segregation ratios and linkageship to *MIIW3* of SSR markers in Langdon/IW3 F₂ population

| 引物 Maker | 总株数 Total plants | A(D) | H | B | 期望比 Expected ratio(A:H:B) | χ^2 | 与 <i>MIIW3</i> 遗传距离 Linkage to <i>MIIW3</i> (cM) |
|------------------------------|---------------------|------|-------|---|------------------------------|----------|---|
| <i>Xbarc84</i> | 94 | 17 | 47 30 | | 1:2:1 | 3.6 | 4.6 |
| <i>MIIW3</i> | 94 | 19 | 45 30 | | 1:2:1 | 2.7 | — |
| <i>Xwmc326</i> | 94 | 18 | 46 30 | | 1:2:1 | 3.1 | 1.6 |
| <i>Xwmc687</i> | 94 | 18 | 45 31 | | 1:2:1 | 3.7 | 2.2 |
| <i>Xbarc77</i> | 94 | 19 | 44 31 | | 1:2:1 | 3.4 | 4.5 |
| <i>Xwmc236</i> ^{a)} | 94 | 65 | 29 | | 3:1 | 1.7 | 14.9 |

A(D): IW3 具有相同带型的株数; B: 与 Langdon 具有相同带型的株数; H: 杂合带型株数。 $\chi^2_{0.05,1} = 3.84$; $\chi^2_{0.05,2} = 5.99$ 。 ^{a)} 显性标记, 期望比为 D:B。

A(D): homozygous for the allele from IW3; B: homozygous for the allele from Langdon; H: heterozygous. $\chi^2_{0.05,1} = 3.84$; $\chi^2_{0.05,2} = 5.99$.
^{a)} Dominant marker, and the expected ratio is shown as D:B.

表 3 SSR 标记在 Langdon/IW10 组合 F₂ 代群体分离情况及与基因 *MIIW10* 的遗传距离
 Table 3 Segregation ratios and linkageship to *MIIW10* of SSR markers in Langdon/IW10 F₂ population

| 引物 Maker | 总株数 Total plants | A(D) | H | B | 期望比 Expected ratio (A:H:B) | χ^2 | 与 <i>MIIW10</i> 遗传距离 Linkage to <i>MIIW10</i> (cM) |
|------------------------------|---------------------|------|----|----|-------------------------------|----------|---|
| <i>Xbarc84</i> | 83 | 27 | 38 | 18 | 1:2:1 | 2.1 | 6.6 |
| <i>MIIW10</i> | 83 | 25 | 40 | 18 | 1:2:1 | 1.3 | — |
| <i>Xwmc326</i> | 83 | 25 | 41 | 17 | 1:2:1 | 1.6 | 0.6 |
| <i>Xwmc687</i> | 83 | 25 | 42 | 16 | 1:2:1 | 2.0 | 1.2 |
| <i>Xbarc77</i> | 83 | 26 | 40 | 17 | 1:2:1 | 2.1 | 5.2 |
| <i>Xwmc236</i> ^{a)} | 83 | 65 | | 18 | 3:1 | 0.5 | 19.6 |

A(D): IW10 具有相同带型的株数; B: 与 Langdon 具有相同带型的株数; H: 杂合带型株数。 $\chi^2_{0.05,1} = 3.84$; $\chi^2_{0.05,2} = 5.99$ 。 ^{a)} 显性标记, 期望比为 D:B。

A(D): homozygous for the allele from IW10; B: homozygous for the allele from Langdon; H: heterozygous. $\chi^2_{0.05,1} = 3.84$; $\chi^2_{0.05,2} = 5.99$. ^{a)} Dominant marker, and the expected ratio is shown as D:B.

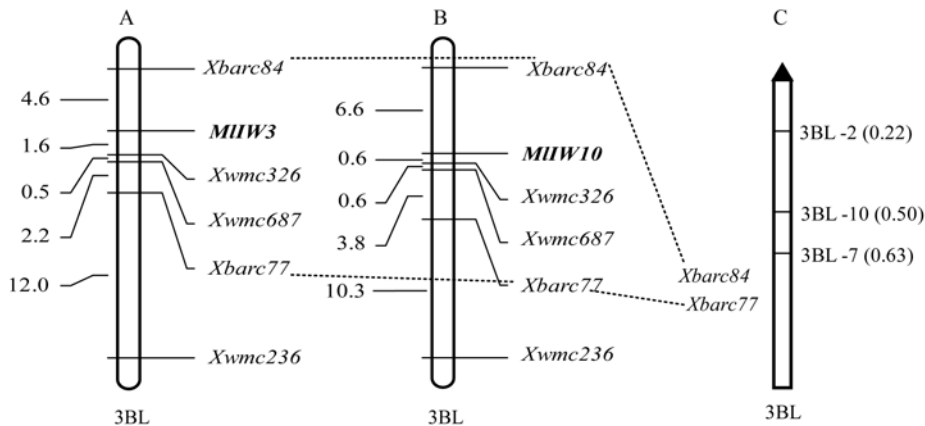


图 2 抗白粉病基因 *MIIW3* 和 *MIIW10* 分子标记连锁图谱和物理图谱

Fig. 2 Linage maps and physical bin map of *MIIW3* and *MIIW10* with their linked markers

图谱的右侧是标记, 图谱的左侧为两标记之间的遗传距离(cM)。

Locus names are indicated on the right side of the map. Kosambi map distances (cM) are shown on the left side.

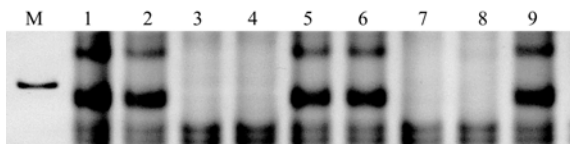


图 3 SSR 标记 *Xbarc84* 在中国春及其缺体四体系、双端体和位于 3BL 上的缺失系的扩增结果

Fig. 3 Amplification pattern of *Xbarc84* in Chinese Spring homoeologous group 3 nulli-tetrasomics, ditelosomics and chromosome 3BL deletion lines

M: 100 bp DNA ladder; 1: N3A-T3B; 2: N3A-T3D; 3: N3B-T3A; 4: N3B-T3D; 5: Dt3AL; 6: Dt3BL; 7: 3BL-2; 8: 3BL-7; 9: CS.

(图 2-C)。同样 *Xbarc77* 也被定位于这个区段上(图 2-C)。由于 *MIIW3* 和 *MIIW10* 均位于 *Xbarc84* 和 *Xbarc77* 之间, 由此可将抗白粉病基因 *MIIW3* 和 *MIIW10* 定位于 3BL 的末端 Bin 0.63~1.00 染色体区间(图 2)。

3 讨论

3.1 *MIIW3* 和 *MIIW10* 基因的抗病性及其分子标记

野生二粒小麦是小麦遗传改良重要基因资源, 蕴含丰富的抗白粉病基因^[23-25]。解超杰等^[6]鉴定发现, 来源于以色列的野生二粒小麦对我国白粉病菌优势生理小种 E09 具有优良的抗性。其中来自 Mount Hermon 的 IW3 和 IW10 不但高抗小麦白粉菌 E09 小种, 同时对小麦条锈菌 CY29、CY31 和 CY32 小种都具有高抗性。本研究通过遗传和分子标记连锁分析, 发现 IW3 和 IW10 对小麦白粉菌 E09 小种的抗性分别受显性单基因控制, 分别暂命名为 *MIIW3* 和 *MIIW10*。

利用 BSA 方法和 SSR 标记技术, 筛选出与 *MIIW3*

和 *MIIW10* 基因紧密连锁的 SSR 标记, 其中, 距两个基因较近的标记 *Xwmc326* 分别与 *MIIW3* 和 *MIIW10* 的遗传距离为 1.6 cM 和 0.6 cM, 这些标记可以作为 *MIIW3* 和 *MIIW10* 从野生二粒小麦向普通小麦转移及其以后的分子标记辅助选择育种的标记。

3.2 *MIIW3* 和 *MIIW10* 与已知抗白粉病基因的关系

根据缺失系物理定位结果, 结合 Sourdille 等^[22]发表的小麦微卫星标记缺失系物理定位结果, 可确定 *MIIW3* 和 *MIIW10* 位于染色体 3BL 的末端。这两个基因的供体材料 IW3 和 IW10 均是采自以色列 Mount Hermon 地区的野生二粒小麦, 可能具有较近的地理距离和亲缘关系。与抗病基因连锁的 5 对 SSR 引物在 IW3 和 IW10 上的扩增产物没有差异, 说明这两个亲本在该染色体区域可能具有很小的遗传差异或相似的遗传构成。这两个基因距最近的 SSR 标记的关系分别是: *Xbarc84*-4.6 cM-*MIIW3*-1.6 cM-*Xwmc326* 和 *Xbarc84*-6.6 cM-*MIIW10*-0.6 cM-*Xwmc326*, 不同作图群体遗传背景的差异可能导致分子标记与两个基因之间的遗传距离略微不同。推测这两个基因很可能是同一个基因或者是等位基因。目前, 位于 3B 染色体上的抗白粉病基因有 *Pm13* 和 *Pm41*。*Pm13* 来源于高大山羊草^[26], 定位在 T3BL.3BS-3S¹ 上^[27], 与标记 *Xcdo-460-3BS* 连锁。故 *MIIW3* 和 *MIIW10* 这 2 个基因不同于 *Pm13*。来源于野生二粒小麦的 *Pm41* 基因与 *MIIW3* 和 *MIIW10* 均来自于 Mount Hermon 地区, 也位于 3BL 末端, 也位于 *Xbarc84* 和 *Xwmc326* 之间, 遗传距离分别是 3.7 cM 和 2.0 cM^[12]。运用 5 个连锁的 SSR 标记在 IW2、IW3

和 IW10 上的检测发现具有相同的带型, 表明这 3 个野生二粒小麦材料间具有较小的遗传差异。因此, *MIW3* 和 *MIW10* 很可能是与 *Pm41* 相同的抗白粉病基因或等位基因, 或者位于同一个基因簇中。

在已经报道的抗白粉病基因中, 有 *Pm16*^[8]、*Pm26*^[9]、*Pm30*^[10]、*Pm36*^[11]、*Pm41*^[12]、*Pm42*^[13]、*MLZec1*^[14]、*MIW72*^[15]和 *PmAs864*^[28]等 9 个基因位点来源于野生二粒小麦, 分别位于 4A、2BS、5BS、5BL、3BL、2BS、2BL、7AL 和 5BL 染色体上, 其中 *Pm26* 和 *Pm42* 是隐性基因位点。*Pm16*、*Pm26*、*Pm30*、*Pm41*、*Pm42* 和 *MLZec1* 已经转移到普通小麦遗传背景中, *Pm36* 和 *MIW72* 已经导入硬粒小麦遗传背景中。Chen 等^[29]通过分子标记定位将 *Pm16* 重新定位到 5BS 上, 与 SSR 标记 *Xgwm159* 连锁, 推断 *Pm16* 与 *Pm30* 可能是同一个基因。但多小种鉴定结果表明, *Pm16* 抗所有 21 个白粉病菌生理小种, 而 *Pm30* 抗其中的 17 个生理小种^[18], 说明 *Pm16* 和 *Pm30* 拟或是同一基因座位的不同等位基因, 或者是紧密连锁抗病基因簇中的不同成员, 又或者是 *Pm16* 载体品种 Brigand 中还含有其他的抗白粉病基因。目前, 这些来源于野生二粒小麦的抗白粉病基因部分已导入农艺性状优良的小麦品种, 如 *Pm16/3**北京 837^[29]、*Pm30/6**郑麦 9023、*Pm30/6**郑 98、*Pm30/8**京冬 8 号、*Pm30/8**京 411、*Pm41/4**87-1、*Pm42/3**87-1 等(中国农业大学, 数据未发表)。这些抗白粉病基因对北京、河北、河南和四川等地的部分白粉病菌系具有良好的抗性, 应加快其在育种上的应用。此外, 野生二粒小麦还是条锈病^[30-31]和叶锈病^[32]的重要基因资源, 还含有很多优良的比如大粒、高籽粒蛋白质含量等基因^[33]。因此, 进一步发掘野生二粒小麦抗病、优质等优异基因, 并应用分子标记辅助选择加快向普通小麦的转移, 将进一步丰富我国小麦的抗病和优质育种资源。

4 结论

野生二粒小麦材料 IW3 和 IW10 对小麦白粉菌 E09 的抗性均受显性单基因控制, 暂被命名为 *MIW3* 和 *MIW10*。分别建立了 *MIW3* 和 *MIW10* 的 SSR 分子标记连锁图谱, 其中, *Xwmc326* 分别与 *MIW3* 和 *MIW10* 的遗传距离为 1.6 cM 和 0.6 cM, 可以作为 *MIW3* 和 *MIW10* 从野生二粒小麦向普通小麦转移及其以后的分子标记辅助选择和抗病基因累加的有效工具。推测 *MIW3* 和 *MIW10* 很可能与 *Pm41* 相同, 或等位或是同一个基因簇中的不同基因。

References

- [1] Bennett F G A. Resistance to powdery mildew in wheat: A review of its use in agriculture and breeding programmes. *Plant Pathol*, 1984, 33: 279–300
- [2] Zhuang Q-S(庄巧生). Chinese Wheat Improvement and Pedigree Analysis (中国小麦品种改良及系谱分析). Beijing: China Agriculture Press, 2003. pp 469–487 (in Chinese)
- [3] Huang X Q, Hsa m S L K, Zeller F J. Chromosomal location of genes for resistance to powdery mildew in common wheat (*Triticum aestivum* L. em. Thell.): 4. Gene *Pm24* in Chinese landrace Chiyacao. *Theor Appl Genet*, 1997, 95: 950–953
- [4] McIntosh R A, Yamazaki Y, Dubcovsky J, Rogers J, Morris C, Somers D J, Apples R, Devos K M. Catalogue of gene symbols for wheat. In Appels R, Eastwood R, Lagudah E. eds. Proc 11th Int Wheat Genet Symp, Sydney University Press, Sydney, Australia, 2008
- [5] Zhang Z-Y(张增艳), Chen X(陈孝), Zhang C(张超), Xin Z-Y(辛志勇), Chen X-M(陈新民). Selecting the py ramids of powdery mildew resistance genes *Pm4b*, *Pm13* and *Pm21* in wheat assisted by molecular marker. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 2002, 35(7): 789–793 (in Chinese with English abstract)
- [6] 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)
- [7] Nevo E. Genetic resources of wild emmer, *Triticum dicoccoides* for wheat improvement: news and views. In: Li Z S, Xin Z Y, eds. Proc 8th Int Wheat Symp. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 1995. pp 79–87
- [8] 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
- [9] Rong J K, Millet E, Manisterski J. A new powdery mildew resistance gene: Introgression from wild emmer into common wheat and RFLP-based mapping. *Euphytica*, 2000, 115: 121–126
- [10] 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
- [11] 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, 117: 135–142
- [12] Li G Q, Fang T L, Xie C J, Yang T M, Nevo E, Fahima T, Sun Q X, Liu Z Y. Molecular identification of a new powder y mildew resistance gene *Pm41* on chromosome 3BL derived from wild emmer (*Triticum turgidum* var. *dicoccoides*). *Theor Appl Genet* 2009 (in press)
- [13] Hua W, Liu Z, Zhu J, Xie C, Yang T, Zhou Y, Duan X, Sun Q, Liu Z. Identification and genetic mapping of a new recessive powdery mildew resistance gene *Pm42* in wheat derived from wild

- emmer (*Triticum turgidum* var. *dicoccoides*). *Theor Appl Genet* 2009 (in press)
- [14] 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 *MIZec1* from the *Triticum dicoccoides*-derived wheat line Z ecoi-1. *Euphytica*, 2005, 142: 161–167
- [15] 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
- [16] 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
- [17] 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
- [18] Röder M S, Korzun V, Wendehake K A. Microsatellite map of wheat. *Genetics*, 1998, 149: 2007–2023
- [19] 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
- [20] Eujayl I, Sorrells M E, Baum M. Isolation of EST derived microsatellite markers for genotyping the A and B genomes of wheat. *Theor Appl Genet*, 2002, 104: 399–407
- [21] Lincoln S, Daly M, Lander E. Constructing genetic maps with Mapmaker/EXP3.0. Whitehead Institute Tech Rep, 3rd edn. Cambridge, Massachusetts, USA: Whitehead Institute, 1992
- [22] 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
- [23] Moseman J G, Nevo E, El-Morshidy M A, Zohary D. Resistance of *Triticum dicoccoides* collected in Israel to infection with *Erysiphe graminis tritici*. *Euphytica*, 1984, 33: 41–47
- [24] 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*. Berlin/Heidelberg, Germany: Springer, 2002
- [25] Xie W L, Nevo E. Wild emmer: Genetic resources, gene mapping and potential for wheat improvement. *Euphytica*, 2008, 164: 603–614
- [26] Ceoloni C, Del Signore G, Pasquini M, Testa A. Transfer of mildew resistance from *Triticum longissimum* into wheat by ph1 induced homoeologous recombination. In: Miller T E, Koebner R M D, eds. Proc 7th Intl Wheat Genetics Symp IPSR, Cambridge, UK, 1988. pp 221–226
- [27] Cenci A, D'Ovidio R, Tanzarella O A, Ceoloni C, Porceddu E. Identification of molecular markers linked to *Pm13*, an *Aegilops longissima* gene conferring resistance to powdery mildew in wheat. *Theor Appl Genet*, 1999, 98: 448–454
- [28] Wang C Y, Ji W Q, Zhang G S, Wang Q Y, Cai D M, Xue X Z. SSR marker and preliminary chromosomal location of a powdery mildew resistance gene in common wheat germ plasm N9134. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2007, 33(1): 163–166
- [29] 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
- [30] Nevo E, Gerechter-Amitai Z K, Beiles A, Golenberg E M. Resistance of wild wheat to stripe rust: Predictive method by ecology and allozyme genotypes. *Plant Syst Evol*, 1986, 153: 13–30
- [31] Fahima T, Röder M, Grama A, Nevo E. Microsatellite DNA polymorphism divergence in *Triticum dicoccoides* accessions highly resistant to yellow rust. *Theor Appl Genet*, 1998, 96: 187–195
- [32] Nevo E, Gerechter-Amitai Z K, Beiles A. Resistance of wild emmer wheat to stem rust: Ecological, pathological and allozyme associations. *Euphytica*, 1991, 153: 121–130
- [33] Avivi L. High grain protein content in wild tetraploid wheat *Triticum dicoccoides* Korn. In: Ramanujam S ed. Proc 5th Intl Wheat Genet Symp. Vol.1. New Delhi, India, 1979. pp 372–380