

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2009.01425

## 小麦新品种济麦 22 抗白粉病基因的分子标记定位

殷贵鸿<sup>1,2,3</sup> 李根英<sup>4</sup> 何中虎<sup>2,5</sup> 刘建军<sup>4</sup> 王 辉<sup>1</sup> 夏先春<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup>西北农林科技大学农学院, 陕西杨凌 712100; <sup>2</sup>中国农业科学院作物科学研究所 / 国家小麦改良中心 / 国家农作物基因资源与基因改良重大科学工程, 北京 100081; <sup>3</sup>周口市农业科学院, 河南周口 466001; <sup>4</sup>山东省农业科学院作物研究所, 山东济南 250100; <sup>5</sup>CIMMYT 中国办事处, 北京 100081

**摘要:** 为明确济麦 22 携带抗白粉病基因的染色体位置, 利用济麦 22 与感病亲本中国春杂交, 用小麦白粉菌 (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*) 强毒性小种 E20 对 F<sub>2</sub> 抗、感分离群体和 F<sub>2:3</sub> 家系进行抗病鉴定和遗传分析。结果表明, 济麦 22 携带 1 个显性抗白粉病基因, 暂被命名为 *PmJM22*。运用 SSR 和 EST 标记及分离群体分组分析法 (bulked segregant analysis, BSA), 将其定位在 2BL 染色体上, 与 4 个 SSR 和 5 个 EST 标记间的连锁距离为 7.7 cM (*Xwmc149*) 到 31.3 cM (*Xbarc101*)。通过分析 2BL 上其他抗白粉病基因的来源、染色体位置和抗性反应, 认为 *PmJM22* 不同于 *Pm6*、*Pm26*、*Pm33* 和 *MlZec1*。

**关键词:** 普通小麦; 白粉病; 抗病基因; 分子标记

## Molecular Mapping of Powdery Mildew Resistance Gene in Wheat Cultivar Jimai 22

YIN Gui-Hong<sup>1,2,3</sup>, LI Gen-Ying<sup>4</sup>, HE Zhong-Hu<sup>2,5</sup>, LIU Jian-Jun<sup>4</sup>, WANG Hui<sup>1</sup>, and XIA Xian-Chun<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup>College of Agronomy, Northwest A&F University, Yangling 712100, China; <sup>2</sup>Institute of Crop Sciences / National Wheat Improvement Center / National Key Facility for Crop Gene Resources and Genetic Improvement, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China; <sup>3</sup>Zhoukou Academy of Agricultural Sciences, Zhoukou 466001, China; <sup>4</sup>Crop Research Institute, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100, China; <sup>5</sup>CIMMYT China Office, Beijing 100081, China

**Abstract:** Wheat powdery mildew, caused by *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*, is one of the most important diseases of wheat (*Triticum aestivum* L.) worldwide. Breeding resistant wheat cultivars is the most economical and effective approach to control the disease. Jimai 22, a newly released wheat cultivar with high yield, broad adaptability, and good quality, is related to broad-spectrum resistance to the isolates of *B. graminis* f. sp. *tritici* at both seedling and adult plant stages. To map the resistance gene of Jimai 22 on wheat chromosome, we used a highly virulent isolate E20 to screen the F<sub>2</sub> plants and F<sub>2:3</sub> lines derived from the cross of Jimai 22/Chinese Spring. Genetic analysis indicated that Jimai 22 carried a single dominant gene for resistance to powdery mildew, designated *PmJM22* tentatively. Using bulked segregant analysis (BSA) with SSR and STS markers, *PmJM22* was located to chromosome 2BL. Linkage analysis indicated that the resistance gene was linked to four SSR and five EST markers, with genetic distances from 7.7 (*Xwmc149*) to 31.3 cM (*Xbarc101*). Based on the origins, chromosome locations, and reaction patterns, *PmJM22* is different from all the known powdery mildew resistance genes *Pm6*, *Pm26*, *Pm33*, and *MlZec1* on chromosome 2BL.

**Keywords:** Common wheat; Powdery mildew; Resistance gene; Molecular markers

近 20 年来, 随着小麦种植密度增加、肥水投入逐年加大、全球气候变暖和大面积推广单一抗病基因品种, 再加上小麦白粉菌 (*Blumeria graminis* f. sp.

*tritici*) 生理小种的高度变异<sup>[1]</sup>, 小麦白粉病已从次要病害跃升为主要病害且常年发生。据统计, 2004—2008 年白粉病在全国危害面积 600~730 万公顷,

本研究由国家高技术研究发展计划(863 计划)项目(2006AA10Z1A7, 2006AA100102)和国家自然科学基金项目(30810214)资助。

\* 通讯作者(Corresponding author): 夏先春, E-mail: xiaxianchun@caas.net.cn; Tel: 010-82108610

Received(收稿日期): 2009-03-13; Accepted(接受日期): 2009-04-24.

平均每年危害 678 万公顷,严重影响我国小麦的稳产<sup>[2-6]</sup>。育种与生产实践证明,选育和科学利用抗病品种是防治小麦白粉病最为经济、安全、有效的措施。目前,已经正式命名的小麦抗白粉病基因有 41 个(*Pm1*~*Pm43*, *Pm18* 和 *Pm22* 已被取消),其中 *Pm1*、*Pm3*、*Pm4* 和 *Pm5* 等位点上具有多个等位基因,主要来源于普通小麦及其近缘种属<sup>[7]</sup>。从抗病基因利用角度来看,综合农艺性状优良的推广品种所携带的抗病基因往往是育种家的首选<sup>[8]</sup>,因为它们可被直接利用、遗传背景好且遗传稳定,更容易在育种和生产上得到应用。因此,发掘和鉴定小麦育成品种中的抗白粉病基因,深入研究其遗传特性,对于抗白粉病育种和品种合理布局都具有重要意义。

分子标记技术已成为小麦抗病新基因发掘和定位的主要技术手段,目前已被广泛地应用于抗白粉病基因的研究,特别是 SSR 标记,因其在染色体上具明确的位置、具共显性、多态性好且稳定,在小麦基因定位和遗传作图领域应用广泛,是小麦抗白粉病基因定位的主要标记之一,目前已有 18 个正式定名的抗白粉病基因是采用 SSR 标记技术被定位于相应染色体上<sup>[7,9-14]</sup>。利用来源于 cDNA 片段的 EST 作为遗传标记,可以真实并直接地反映基因在染色体上的位置。随着小麦 EST (expressed sequence tagged)测序和标记的开发,在小麦 EST 序列基础上建立的分子标记已经被用于基因定位和遗传作图,如抗白粉病基因 *Pm36*<sup>[12]</sup>、*PmYm66*<sup>[8]</sup>和 *PmTm4*<sup>[15]</sup>就是通过 EST 标记定位的。

济麦 22 是山东省农业科学院作物研究所培育的小麦新品种,2007 年通过国家审定,具有高产、稳产、广适、抗逆性强和品质优良等突出优点,在山东省曾创造了 10 911.5 kg hm<sup>-2</sup> 的超高产记录,在我国黄淮北片麦区推广前景广阔<sup>[16]</sup>。该品种在苗期和成株期对小麦白粉病具有良好的抗性。本研究旨在利用分子标记确定济麦 22 携带的抗白粉病基因的染色体位置,为小麦抗白粉病育种提供实用的分子标记。

## 1 材料与方 法

### 1.1 植物材料和小麦白粉菌株

利用抗白粉病品种济麦 22 与感病品种中国春配制杂交组合,自交得到 F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub> 代群体和 F<sub>2:3</sub> 家系,以双亲、8 个 F<sub>1</sub> 代单株、228 个 F<sub>2</sub> 单株和 99 个 F<sub>2:3</sub> 家系用于苗期抗性鉴定和遗传分析;用于苗期鉴定

的小麦白粉菌种 E20 是国内目前毒力最强的流行小种,由中国农业科学院植物保护研究所周益林研究员提供,该小种对 *Pm1*、*Pm2*、*Pm3a*、*Pm3d*、*Pm3e*、*Pm3f*、*Pm4a*、*Pm4b*、*Pm5*、*Pm6*、*Pm7*、*Pm8*、*Pm17*、*Pm2+6*、*Pm4+8* 等抗白粉病基因都有毒性,但对济麦 22 无毒性<sup>[17]</sup>。*Pm33* 的载体品种波斯小麦 PS5 由中国农业科学院作物科学所贾继增研究员惠赠,鲁麦 14、鲁麦大穗由国家种质资源库提供,St2422-464 由四川省农业科学院作物研究所作物品种资源研究保护中心提供。

### 1.2 济麦 22 抗白粉病鉴定及遗传分析

在国家小麦改良中心温室,用小麦白粉菌种 E20 接种两个亲本及其杂交后代 8 个 F<sub>1</sub> 单株、228 个 F<sub>2</sub> 单株和 99 个 F<sub>2:3</sub> 家系进行抗病性鉴定。每塑料钵均匀种植 10 株鉴定材料及感病对照京双 16,将塑料钵置于接种塑料盒中,自然光照,温度 15~24 ℃。待第一片叶完全展开后,用扫拂法充分接种小麦白粉菌孢子。当接种 13~15 d 后感病对照充分发病时,记载反应型。采用 6 级标准调查第一片叶的反应型(IT),其中 0 级植株无病,0<sub>1</sub> 级有过敏性坏死斑,1、2、3 和 4 级分别代表高抗、抗、感和高感 4 种类型;0~2 级为抗病,3~4 级为感病<sup>[17]</sup>。根据 F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub> 和 F<sub>2:3</sub> 家系植株的抗性表现和分离比例,确定济麦 22 中所含抗白粉病基因的遗传,用卡方测验检验其适合度。

### 1.3 基因组 DNA 提取及 SSR 和 EST 分析

以 CTAB 法<sup>[18]</sup>提取亲本、F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub> 单株和 F<sub>2:3</sub> 家系的 DNA。采用 BSA 法分别取 10 株抗病 F<sub>2</sub> 单株(IT=1)的 DNA 和 10 株感病 F<sub>2</sub> 单株(IT=4)的 DNA 构建抗、感池<sup>[19]</sup>。

根据 GrainGenes (<http://www.wheat.pw.usda.gov/>) 公布的信息合成小麦 SSR 引物,位于 2BL 末端上 EST 引物序列由中国农业大学刘志勇教授提供,在上海生物工程公司合成引物(表 1)。SSR 的 PCR 反应体系 15 μL,含 20 mmol L<sup>-1</sup> Tris-HCl (pH 8.4), 20 mmol L<sup>-1</sup> KCl, 1.5 mmol L<sup>-1</sup> MgCl<sub>2</sub>, 0.3 mmol L<sup>-1</sup> dNTP, 每个引物各 35 ng, 60 ng 基因组 DNA 和 0.95 U *Taq* DNA 聚合酶(TIANGEN 公司)。EST 的 PCR 反应体系 10 μL,含有 10 mmol L<sup>-1</sup> Tris-HCl (pH 8.3), 50 mmol L<sup>-1</sup> KCl, 1.5 mmol L<sup>-1</sup> MgCl<sub>2</sub>, 0.2 mmol L<sup>-1</sup> dNTP, 每个引物各 25 ng, 60 ng 基因组 DNA 和 1.0 U *Taq* DNA 聚合酶(TaKaRa 公司)。扩增程序为 94 ℃ 预变性 5 min; 94 ℃ 变性 1 min, 50 ℃ 或 55 ℃ 退火 1 min, 72 ℃ 延伸 2 min, 40 个循环; 72 ℃ 延伸 10 min。

对扩增产物用 6%变性聚丙烯酰胺凝胶电泳, 经硝酸银染色后观察照相。

表 1 与济麦 22 抗白粉病基因连锁的小麦 EST 标记的引物序列  
Table 1 EST primer sequences linked with powdery mildew resistance gene in Jimai 22

EST 引物 EST primer	正向引物 Forward primer (5'-3')	反向引物 Reverse primer (5'-3')
CD490485	CACAAGCTGCCAAGCATTTA	CAGACGAGCAGCTCCCAT
BE405017-1	CTTACTGGTGGACATGGGCT	CGCAGGGCTATCTTGTCTC
BE444894	CAATGGGGTCTTATGGATG	GATGTTGCAGACGGGGTAGT
BE500840	ATCCATCGTATTGGTCGCTC	GGATACGGATGTCGTCCTTG
BG605258	AAACCACCGTCTTGAACCAG	AGGGTGATGCGTGAGATAGG

### 1.4 连锁分析

用 MapManager QTXb20 软件以最大似然法计算分子标记与抗白粉病基因的遗传距离(cM), 构建遗传连锁图谱。

## 2 结果与分析

### 2.1 济麦 22 抗白粉病基因遗传分析

济麦 22 对小麦白粉菌种 E20 表现高抗, 反应型为 1, 中国春表现高感, 反应型为 4 (表 2)。二者杂交的 F<sub>1</sub> 代 8 个单株的反应型均为 1 级, 与抗病亲本表现

相同。其 F<sub>2</sub> 代群体中反应型为 1 级的有 134 株, 反应型 2 级的 29 株, 反应型 3 级的 34 株, 反应型 4 级的 31 株。F<sub>2</sub> 代群体的抗感分离比为 163R:65S, 卡方测验符合 3R : 1S 的理论比例( $\chi^2 = 0.22, \chi^2_{0.05, 1} = 3.84$ )。来自 99 株 F<sub>2</sub> 抗病株的 F<sub>2.3</sub> 家系中, 有 23 个 F<sub>2.3</sub> 家系表现纯合抗病, 50 个 F<sub>2.3</sub> 家系出现抗感分离; 而来自 F<sub>2</sub> 代 26 株感病株的 F<sub>2.3</sub> 家系均表现感病, 符合 1 : 2 : 1 的分离比例( $\chi^2 = 0.19, \chi^2_{0.05, 2} = 5.99$ )。以上结果表明, 济麦 22 对小麦白粉菌小种 E20 的抗性受 1 对显性基因控制, 暂定名为 *PmJM22*。

表 2 小麦新品种济麦 22 高抗白粉病基因 *PmJM22* 的遗传分析  
Table 2 Genetic analysis of powdery mildew resistance gene *PmJM22* in wheat cultivar Jimai 22

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	$\chi^2$	$\chi^2_{0.05}$
济麦 22 Jimai 22	20	0	20		
中国春 Chinese Spring	0	20	20		
济麦 22/中国春 F <sub>1</sub> Jimai 22/ Chinese Spring F <sub>1</sub>	8	0	8		
济麦 22/中国春 F <sub>2</sub> Jimai 22/ Chinese Spring F <sub>2</sub>	163	65	228	0.22	3.84
济麦 22/中国春 F <sub>2.3</sub> Jimai 22/ Chinese Spring F <sub>2.3</sub>	23 (RR) + 50 (Rr)	26 (rr)	99	0.19	5.99

RR: 纯合抗病家系; Rr: 杂合抗病家系; rr: 纯合感病家系。

RR: homozygous resistant lines; Rr: heterozygous resistant lines; rr: homozygous susceptible lines.

### 2.2 济麦 22 抗白粉病基因 *PmJM22* 的分子标记

共选用分布于小麦 21 条染色体的 682 个 SSR 引物对两个亲本进行筛选, 发现 196 个标记在双亲间有多态性, 其中只有 4 个位于 2BL 染色体上的标记在抗、感池间有多态性(图 1), 表明抗病基因 *PmJM22* 位于 2BL 上。对照已经发表的小麦 2BL 微卫星连锁图谱<sup>[20-21]</sup>, 发现这 4 个 SSR 标记位于 2BL 染色体末端 0.89~1.00 染色体区间<sup>[22-23]</sup>, 且在连锁图谱上的顺序与小麦 2BL 微卫星连锁图谱一致<sup>[20-21]</sup>。由于位于此区间的其他 SSR 标记在亲本间没有多态性, 为了加密标记, 用定位于 2BL 染色体末端 0.89~1.00 染色体区间的 45 个 EST 引物<sup>[22-24]</sup>, 进行

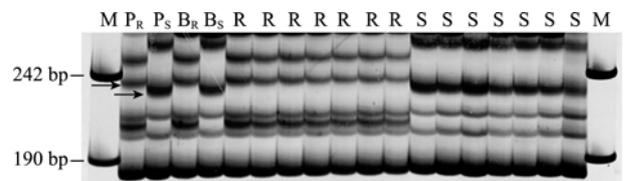


图 1 用 SSR 标记 *Xwmc149-2B* 扩增 F<sub>2</sub> 单株的 PCR 产物在变性聚丙烯酰胺凝胶上的电泳结果

Fig. 1 Electrophoresis of PCR product amplified with SSR marker *Xwmc149-2B* in polyacrylamide gel

M: Pu18; P<sub>R</sub>: 抗病亲本济麦 22; R<sub>S</sub>: 感病亲本中国春; B<sub>R</sub>: 抗病池; B<sub>S</sub>: 感病池; R: 抗病 F<sub>2</sub> 单株; S: 感病 F<sub>2</sub> 单株。箭头示抗病和感病亲本带型。

M: Pu18; P<sub>R</sub>: resistant parent Jimai 22; R<sub>S</sub>: susceptible parent Chinese Spring; B<sub>R</sub>: resistant bulk; B<sub>S</sub>: susceptible bulk; R: resistant F<sub>2</sub> plants; S: susceptible F<sub>2</sub> plants. Arrows show alleles for resistant and susceptible parents.

亲本间和抗、感池间的多态性筛选,发现有 30 个标记在双亲间有多态性,其中有 5 个 EST 标记在抗、感池间有多态性。用这 4 个 SSR 标记和 5 个 EST 标记,检测 F<sub>2</sub> 群体,连锁分析结果表明,4 个 SSR 标记和 5 个 EST 标记与抗病基因 *PmJM22* 遗传距离为 7.7 cM 到 31.3 cM,抗病基因和分子标记的顺序为 *PmJM22*—*Xwmc149*—*CD490485*—*BG605258*—*BE444894*—*BE405017-1*—*BE500840*—*Xgwm501*—*Xgwm47*—*Xbarc101*。抗病基因 *PmJM22* 与最近的 SSR 标记 *Xwmc149-2B* 遗传距离为 7.7 cM,最近的 EST 标记 *CD490485-2B* 遗传距离为 18.7 cM (图 2)。

用离抗病基因最近的 SSR 标记 *Xwmc149-2B* 和 EST 标记 *CD490485* 进一步检测 99 个 F<sub>2,3</sub> 家系,其中 *Xwmc149-2B* 的扩增结果,23 个纯合抗病家系中

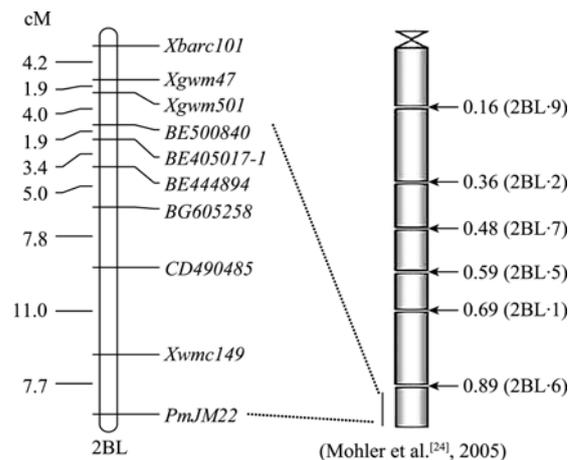


图 2 抗白粉病基因 *PmJM22* 分子标记连锁图谱和物理图谱  
Fig. 2 Linkage and physical bin map of *PmJM22* and its linked markers

表 3 由 F<sub>2,3</sub> 家系苗期反应型推出的 F<sub>2</sub> 基因型及其在 SSR 标记位点 *Xwmc149-2B* 和 *CD490485-2B* 的带型

Table 3 F<sub>2</sub> genotypes inferred from seedling reactions of F<sub>2,3</sub> lines and the corresponding alleles at SSR loci *Xwmc149-2B* and *CD490485-2B*

基因型 Genotype	<i>Xwmc149-2B</i>				<i>CD490485-2B</i>			
	标记带型 Marker distribution		总和 Total	标记带型 Marker distribution		总和 Total		
	A	H		B	A		H	B
纯合抗病 RR	18	5		23	16	7		23
杂合抗病 Rr	5	41	4	50	3	41	6	50
纯合感病 rr		4	22	26		5	21	26
合计 Total	23	50	26	99	19	53	27	99

A、B 和 H 带型分别为抗病亲本济麦 22、感病亲本中国春出现的带型以及杂合带型。

A, B, and H denote homozygous alleles for resistant parent Jimai 22 and susceptible parent Chinese Spring and the heterozygous type, respectively.

18 个为抗病亲本带型,5 个是杂合带型;50 个发生抗感分离(Rr)的家系中 41 个是杂合带型,5 个为抗病亲本带型,4 个是感病亲本带型;26 个纯合感病家系中 22 个是感病亲本带型,4 个是杂合带型。用 EST 标记 *CD490485* 检测的结果表明,23 个纯合抗病家系中有 16 个扩增出抗病亲本带型,7 个是杂合带型;50 个发生抗感分离(Rr)的家系中有 41 个是杂合带型,3 个抗病亲本带型,另 6 个是感病亲本带型;26 个纯合感病家系中有 21 个是感病亲本带型,5 个是杂合带型。根据 F<sub>2,3</sub> 家系的表现型和基因型数据进行连锁分析,结果表明, *PmJM22* 位于 *Xwmc149-2B* 和 *CD490485-2B* 一侧,遗传距离分别为 7.9 cM 和 13.7 cM,与根据 F<sub>2</sub> 群体的分析结果类似。

### 3 讨论

#### 3.1 抗白粉病基因的抗病性评价和济麦 22 的利用

尽管目前已经命名了 41 个位点的 59 个主效抗

白粉病基因(*Pm1-43*)<sup>[7]</sup>,但这些 *Pm* 基因的抗病效果不尽相同,有的不抗小麦白粉病菌,如 *Pm10*、*Pm11*、*Pm14* 和 *Pm15* 等;有的 *Pm* 基因已经部分或完全丧失了抗性,在小麦抗白粉病育种中利用的价值不大,如 *Pm1*、*Pm3a*、*Pm3b*、*Pm3c*、*Pm3f*、*Pm5*、*Pm7* 和 *Pm8* 对我国的小麦白粉病菌群体已完全丧失了抗性, *Pm2*、*Pm3d*、*Pm6*、*Pm13*、*Pm17* 和 *Pm19* 等抗性弱,已不宜单独作为抗源直接利用, *Pm4a* 和 *Pm4b* 在部分地区还有抗性,特别是我国利用最广泛的 *Pm8* 在主要麦区已“丧失”抗性,造成目前白粉病发生危害日趋严重,对小麦生产影响较大<sup>[25-28]</sup>。虽然在小麦的近缘植物中有对小麦白粉病抗性较好的抗病基因,如来源于拟斯卑尔脱山羊草(*Aegilops speltoides*)的 *Pm12*,来源于野生二粒小麦(*Triticum dicoccoides*)的 *Pm16* 和 *Pm30*,来源于黑麦(*Secale*)的 *Pm20* 和来源于簇毛麦(*Haynaldia villosa*, 2n = 14)的 *Pm21* 等<sup>[17]</sup>,但它们一般都很难直接利用,需要进行人工改造,花费的周期很长,甚至有时还会伴

有不良的农艺性状, 如植株太高或者携带黑麦碱 (*Sec-1*) 位点影响品质, 晚熟或者遗传不太稳定<sup>[29-31]</sup>, 因此, 综合农艺性状优良且抗白粉病的推广品种更方便用作育种的抗病亲本。本研究发现济麦 22 携带 1 个显性抗白粉病基因, 可以作为今后抗白粉病育种中一个重要的抗病亲本, 同时在我国黄淮北片麦区的小麦品种布局中, 可以把济麦 22 作为一个新型的抗白粉病品种, 进行科学合理布局, 达到综合防治白粉病的目的。

### 3.2 济麦 22 抗白粉病基因 *PmJM22* 的来源

济麦 22 的系谱为 935024/935106, 935024、935106 均是山东省农业科学院作物研究所选育的中间材料, 苗期用 E20 接种 935106, 其反应型为高感 (IT=4), 935024 的亲本组合为临远 7069/鲁麦 14, 苗期用 E20 接种鲁麦 14, 其反应型为高感 (IT=4), 由此推测济麦 22 抗白粉病基因可能来源于山西省农业科学院小麦研究所的抗白粉病种质材料临远 7069, 而临远 7069 的亲本组合为 (TJB259/87)/(鲁麦大穗//西北丰收/St2422-464)<sup>[32]</sup>。苗期用 E20 接种鲁麦大穗、St2422-464, 其反应型均为高感 (IT=4), 由于还没有找到临远 7069 和西北丰收的种子, 无法对其进行抗病性鉴定; 但据前辈育种家经验, 西北丰收高感条锈病和白粉病 (杨天章、梁增基, 私人通讯, 2009), 而临远 7069 的母本 TJB259/87 是中国农业科学院引自英国剑桥植物育种所的抗白粉病材料<sup>[33]</sup>, 由此推测抗白粉病基因 *PmJM22* 有可能来源于 TJB259/87, 但还需要想方设法找到临远 7069、西北丰收和 TJB259/87 种子后, 通过接种 E20 才能得以确认。

### 3.3 济麦 22 抗白粉病基因 *PmJM22* 的分子标记定位及其与 2BL 上其他 *Pm* 基因的关系

本研究利用 BSA 法, 找到与济麦 22 抗白粉病基因 *PmJM22* 连锁的 4 个多态性 SSR 标记, 这 4 个 SSR 标记均位于 2BL 上, 且在连锁图谱上的顺序与小麦 2BL 微卫星连锁图谱一致, 进而将其定位于 2BL 染色体末端 0.89~1.00 染色体区间<sup>[22-23]</sup>。为了加密标记, 随后又用定位于 2BL 染色体末端 0.89~1.00 染色体区间的 45 个 EST 引物进行多态性筛选, 筛选出 5 个多态性标记, 说明 EST 标记在该区域具有相对较高的多态性, 在基因定位和连锁图谱构建中可能具有重要应用潜力。在 *PmJM22* 连锁图上, 这 4 个 SSR 标记和 5 个 EST 标记均位于抗白粉病基因 *PmJM22* 的一侧, 而没有在另一侧筛选到亲本间有

多态性的 SSR 标记和 EST 标记, 这可能是由于 *PmJM22* 位于 2BL 染色体末端, 而本研究所用的定位材料在 2BL 染色体末端区域多态性较低。Yan 等<sup>[34]</sup>利用 18 个抗病基因同源序列多态性 (resistance gene-analog polymorphism, RGAP) 引物, 自由组合成 153 个引物对筛选多态性, 发现在 2BL 染色体末端 RGAP 标记的多态性也很低, 仅在 2BL 染色体末端筛选到一个多态性标记。推测可能是由于 2BL 染色体末端异染色质较多, 而异染色质是转录不活跃部分, 以致 *PmJM22* 没能筛选到更靠近的 SSR 和 EST 标记。

小麦 2B 染色体上已经正式命名的抗白粉病基因有 *Pm6*、*Pm26*、*Pm33* 和 *MLZec1*。*Pm26* 来源于野生二粒小麦, 为隐性基因, 被定位在 2BS 上<sup>[34]</sup>, 显然与 *PmJM22* 不同。*Pm6* 来源于提莫菲维小麦 (*T. timopheevi*), 被定为在 2BL 上, 距其最近的 SSR 标记 *Xgwm501* 的遗传距离为 14.8 cM<sup>[36]</sup>, 而本研究定位的 *PmJM22* 距 SSR 标记 *Xgwm501* 遗传距离为 25.2 cM; 用小麦白粉病菌 E20 小种接种鉴定表明, *Pm6* 的反应型为高感 (IT=4)<sup>[17]</sup>, 而 *PmJM22* 的反应型为高抗 (IT=1), 二者对小麦白粉病菌种 E20 的反应型存在明显差异。2BL 上的另一个抗白粉病基因 *Pm33* 来源于波斯小麦 PS5 (*T. carthlicum*), 与其最近的 SSR 标记 *Xwmc317* 遗传距离为 1.1 cM<sup>[37]</sup>, 而本研究定位的 *PmJM22* 距其最近的 SSR 标记 *Xwmc149* 遗传距离为 7.7 cM, 在已经发表的小麦 2BL 微卫星连锁图谱上<sup>[20-21]</sup> (<http://www.pw.usda.gov/>), SSR 标记 *Xwmc317* 与 *Xwmc149* 相对遗传距离为 9.0 cM 左右; 据白粉病菌种 E20 接种鉴定结果, *Pm33* 的反应型为近免疫 (IT=0), 而 *PmJM22* 的反应型为高抗 (IT=1), 二者对白粉病菌种 E20 的反应型存在明显差异。*MLZec1* 来源于野生二粒小麦 (*T. dicoccoides*), 在 Chinese Spring×Zecoi-1 的 F<sub>2,3</sub> 群体中, 利用 AFLP 和 SSR 技术, 被定位到 2BL 染色体末端 0.89~1.00 染色体区间, 与其连锁的 SSR 标记分别为 *Xwmc356*、*Xgwm526* 和 *Xgwm47*, 遗传距离分别为 2.0、14.2 和 35.3 cM<sup>[24]</sup>。虽然 *MLZec1* 和 *PmJM22* 的位置相近, 但二者来源不同。由于抗病基因往往有成簇排列的倾向<sup>[38]</sup>, 在 2BL 染色体末端 0.89~1.00 染色体区间已发现 *Pm6*、*Pm33*、*MLZec1*、*Lr50*、*Sr16*、*Sr28*、*Sr9*、*Yr5* 和 *Yr7* 等多个抗病基因<sup>[7]</sup>; *PmJM22* 与 *Pm33*、*MLZec1* 两个抗病基因的来源不同, 因此推测它们可能为 2BL 染色体末端 0.89~1.00 染色体区

间抗病基因簇的不同成员,或者是等位基因,但需要今后进一步做等位性分析予以验证。因此,从抗病基因来源、遗传连锁图谱的距离和接种鉴定反应型等方面来看,*PmJM22*不同于2BL上的*Pm6*、*Pm26*、*Pm33*和*MIZe1*,很可能是一个新的抗白粉病基因,或为*Pm33*和*MIZe1*的等位基因。

#### 4 结论

本研究在小麦新品种济麦22中发现一个显性抗白粉病基因,位于2BL染色体上,与2BL上已知的抗白粉病基因*Pm6*、*Pm26*、*Pm33*和*MIZe1*不同。

#### References

- [1] Liang S S, Suenaga K, He Z H, Wang Z L, Liu H Y, Wang D S, Singh R P, Sourdille P, Xia X C. Quantitative trait loci mapping for adult-plant resistance to powdery mildew in bread wheat. *Phytopathology*, 2006, 96: 784–789
- [2] National Agro-Tech Extension and Service Center (全国农业技术推广服务中心). Prediction of the outbreak of significant disease and pest for crops in national scale in 2004. *China Plant Prot* (中国植保导刊), 2004, (3): 21–22 (in Chinese)
- [3] Zhang Y-J(张跃进), Wang J-Q(王建强), Jiang Y-Y(姜玉英), Xia B(夏冰). Prediction of the outbreak of disease and pest for crops in national scale in 2005. *China Plant Prot* (中国植保导刊), 2005, (4): 28–30 (in Chinese)
- [4] Zhang Y-J(张跃进), Wang J-Q(王建强), Jiang Y-Y(姜玉英), Feng X-D(冯晓东), Xia B(夏冰). Prediction of the outbreak of disease and pest for crops in national scale in 2006. *China Plant Prot* (中国植保导刊), 2006, (4): 5–8 (in Chinese)
- [5] Zhang Y-J(张跃进), Wang J-Q(王建强), Jiang Y-Y(姜玉英), Feng X-D(冯晓东), Xia B(夏冰), Liu Y(刘宇), Zeng J(曾娟). Prediction of the outbreak of disease and pest for crops in national scale in 2007. *China Plant Prot* (中国植保导刊), 2007, (2): 32–35 (in Chinese)
- [6] Zhang Y-J(张跃进), Wang J-Q(王建强), Jiang Y-Y(姜玉英), Feng X-D(冯晓东), Xia B(夏冰), Liu Y(刘宇), Zeng J(曾娟). Prediction of the outbreak of disease and pest for crops in national scale in 2008. *China Plant Prot* (中国植保导刊), 2008, (3): 38–40 (in Chinese)
- [7] 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
- [8] Hu T-Z(胡铁柱), Li H-J(李洪杰), Liu Z-J(刘子记), Xie C-J(谢超杰), Zhou Y-L(周益林), Duan X-Y(段霞瑜), Jia X(贾旭), You M-S(尤明山), Yang Z-M(杨作民), Sun Q-X(孙其信), Liu Z-Y(刘志勇). Identification and molecular mapping of the powdery mildew resistance gene in wheat cultivar Yumai 66. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2008, 34(4): 545–550 (in Chinese with English abstract)
- [9] Huang X Q, Röder M S. Molecular mapping of powdery mildew resistance genes in wheat: A review. *Euphytica*, 2004, 137: 203–223
- [10] Miranda L M, Murphy J P, Marshall D, Leath S. *Pm34*: A new powdery mildew resistance gene transferred from *Aegilops tauschii* Coss. to common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet*, 2006, 113: 1497–1504
- [11] Miranda L M, Murphy J P, Marshall D, Cowger C, Leath S. Chromosomal location of *Pm35*, a novel *Aegilops tauschii* derived powdery mildew resistance gene introgressed into common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet*, 2007, 114: 1451–1456
- [12] Antonio Blanco, Gadaleta A, Cenci A, Carluccio A V, Abdel-backi 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
- [13] 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*, 2008, 116: 417–425
- [14] Lillemo M, Asalf B, Singh R P, Huerta-Espino J, Chen X M, He Z H, Björnstad Å. The adult plant rust resistance loci *Lr34/Yr18* and *Lr46/Yr29* are important determinants of partial resistance to powdery mildew in bread wheat line Saar. *Theor Appl Genet*, 2008, 116: 1155–1166
- [15] Hu T-Z(胡铁柱), Li H-J(李洪杰), Xie C-J(谢超杰), You M-S(尤明山), Yang Z-M(杨作民), Sun Q-X(孙其信), Liu Z-Y(刘志勇). Molecular mapping and chromosomal location of the powdery mildew resistance gene in wheat cultivar Tangmai 4. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2008, 34(7): 1193–1198 (in Chinese with English abstract)
- [16] Li H-S(李豪圣), Liu J-J(刘建军), Song J-M(宋建民), Liu A-F(刘爱峰), Cheng D-G(程敦公), Zhao Z-D(赵振东). Wheat cultivar Jimai 22 with high yield, stable productivity, good disease resistance and wide adaptability. *J Triticeae Crops* (麦类作物学报), 2007, 27(4): 744 (in Chinese)
- [17] Wang Z L, Li L H, He Z H, Duan X Y, Zhou Y L, Chen X M, Lillemo M, Singh R P, Wang H, Xia X C. Seedling and adult plant resistance to powdery mildew in Chinese bread wheat cultivars and lines. *Plant Dis*, 2005, 89: 457–463
- [18] Saghai-Marouf M A, Soliman K M, Jorgensen R A, Allard R W. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal locations and population dynamics. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1984, 81: 8014–8018
- [19] Michelmore R W, Paran I, Kesseli R V. 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 population. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, 88: 9828–9832

- [20] 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
- [21] Song Q J, Shi J R, Singh S, Fickus E W, Costa J M, 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
- [22] Conley E J, Nduati V, Gonzalez-Hernandez J L, Mesfin A, Trudeau-Spanjers M, Chao S, Lazo G R, Hummel D D, Anderson O D, Qi L L, Gill B S, Echalié B, Linkiewicz A M, Dubcovsky J, Akhunov E D, Dvořák J, Peng J H, Lapitan N L V, Pathan M S, Nguyen H T, Ma X F, Miftahudin, Gustafson J P, Greene R A, Sorrells M E, Hossain K G, Kalavacharla V, Kianian S F, Sidhu D, Dilbirligi M, Gill K S, Choi D W, Fenton R D, Close T J, McGuire P E, Qualset C O, Anderson J A. A 2600-locus chromosome bin map of wheat homoeologous group 2 reveals interstitial gene-rich islands and colinearity with rice. *Genetics*, 2004, 168: 625–637
- [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.). *Funct Integr Genomics*, 2004, 4: 12–25
- [24] 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 Zecoi-1. *Euphytica*, 2005, 142: 161–167
- [25] Xiang Q-J(向齐君), Sheng B-Q(盛宝钦), Duan X-Y(段霞瑜), Zhou Y-L(周益林). The analysis of effective wheat powdery mildew resistance genes of some wheat breeding lines. *Acta Agron Sin* (作物学报), 1996, 22(6): 741–744 (in Chinese with English abstract)
- [26] Wu Y-P(武英鹏), Yuan Z-Y(原宗英), Li Y-F(李艳芳). Monitoring of the virulence of *Erysiphe graminis* f. sp. *Tritici* in different ecological areas of Shanxi Province. *Chin J Eco-Agric* (中国农业生态学报), 2005, 13(2): 62–64 (in Chinese with English abstract)
- [27] Cao S-Q(曹世勤), Guo J-G(郭建国), Luo H-S(骆惠生), Jin M-A(金明安), Jia Q-Z(贾秋珍), Jin S-L(金社林). Selection of resistance sources to powdery mildew on wheat in Gansu and set-up of their gene banks. *Plant Prot* (植物保护), 2008, 34(1): 49–52 (in Chinese with English abstract)
- [28] Li Q(李强), Wang B-T(王保通), Wu X-Y(吴兴元), Duan S-K(段双科), Wang F(王芳). Analysis on resistant genes and new-breeding wheat cultivars (lines) for resistance to powdery mildew in Shaanxi province. *Acta Phytophylacica Sin* (植物保护学报), 2008, 35(5): 438–442 (in Chinese with English abstract)
- [29] Yang Z-M(杨作民), Tang B-R(唐伯让), Shen K-Q(沈克全), Xia X-C(夏先春). A strategic problem in wheat resistance breeding-building and utilization of sources of second-line resistance against rusts and mildew in China. *Acta Agron Sin* (作物学报), 1994, 20: 385–394 (in Chinese with English abstract)
- [30] Zhang Z-H(张志华), Wang H-S(王洪森), Yan J(闫俊), Wu Z-X(武芝霞). Assessment and application of wheat resistant germplasm C39. *Crop Germplasm Resour* (作物品种资源), 1999, (4): 36–37 (in Chinese)
- [31] Zheng D-S(郑殿升), Song C-H(宋春华), Liu S-C(刘三才), Chen M-Y(陈梦英), Wang X-M(王晓鸣), Dai F-C(戴法超), Liu X-M(刘旭明), Li Y-L(李怡琳). Germplasm enhancement of wheat on resistance to powdery mildew. *Crop Germplasm Resour* (作物品种资源), 1999, (4): 33–55 (in Chinese)
- [32] Wu J-P(武计萍), Xu G-Y(许钢垣), Qiu S-Y(仇松英), Meng Z-P(孟兆平), Xue J-Z(薛金枝), Lu L-H(逯腊虎). Genetic resistance of wheat germplasm Linyuan 7069 and current application. *J Triticeae Crops* (麦类作物学报), 1997, 17(5): 16–18 (in Chinese)
- [33] Wang J-X(王剑雄), Zhang Q-H(张清海), Guo X-C(郭秀婵). Opinions for stripe rust and powdery mildew resistance and utilization value of wheat varieties from Britain. *Acta Agric Univ Henanensis* (河南农业大学学报), 1992, 26(2): 174–178 (in Chinese with English abstract)
- [34] Yan G P, Chen X M, Line R F, Wellings C R. Resistance gene-analog polymorph-hism markers co-segregating with the *Yr5* gene for resistance to wheat stripe rust. *Theor Appl Genet*, 2003, 106: 636–643
- [35] 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
- [36] Wang R(王瑞), Liu H-Y(刘红彦), Li H-L(李洪连), Wang J-M(王俊美), Yi Y-J(伊艳杰). Identification of PCR markers linked to wheat powdery mildew resistance gene *Pm6*. *J Triticeae Crops* (麦类作物学报), 2007, 27(3): 421–424 (in Chinese with English)
- [37] Zhu Z D, Zhou R H, Kong X Y, Dong Y C, Jia J Z. Microsatellite markers linked to two powdery mildew resistance genes introgressed from *Triticum carthlicum* accession *PS5* into common wheat. *Genome*, 2005, 48: 585–590
- [38] Smith P H, Hadfield J, Hart N J, Koebner R M, Boyd L A. STS markers for the wheat yellow rust resistance gene *Yr5* suggest a NBS-LRR-type resistance gene cluster. *Genome*, 2007, 50: 259–265