

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2009.01613

## 普通小麦品种 Brock 抗白粉病基因分子标记定位

李根桥 房体麟\*\* 朱 婕 高亮亮\*\* 李 闪 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:** 为明确利用 Brock 转育成的小麦抗白粉病品系 3B529(京 411\*7//农大 015/Brock, F<sub>6</sub>)抗性的遗传基础, 将高感白粉病小麦品系薛早和 3B529 杂交, 获得 F<sub>1</sub> 代、F<sub>2</sub> 分离群体和 F<sub>2,3</sub> 家系。抗病性鉴定和遗传分析结果表明, 3B529 对 E09 小种的抗性受 1 对显性基因控制, 暂被定名为 *MI*Brock。利用 BSA 和分子标记分析, 获得了与 *MI*Brock 连锁的 3 个 SSR 标记 *Xcfd81*、*Xcfd78*、*Xgwm159* 和 2 个 SCAR 标记 *SCAR203* 和 *SCAR112*, 根据 SSR 和 SCAR 标记在中国春缺体-四体、双端体和缺失系的定位结果, 将 *MI*Brock 定位在小麦染色体臂 5DS Bin 0~0.63 区间上。*MI*Brock 与 *Xcfd81* 和 *SCAR203* 共分离, 与 *SCAR112* 的遗传距离为 0.5 cM。这些分子标记的建立有利于今后 Brock 抗白粉病基因分子标记辅助选择和基因聚合。综合抗白粉病基因 *MI*Brock 的染色体定位和抗谱分析结果, 推测 *MI*Brock 很可能是 *Pm2* 基因。

**关键词:** 小麦白粉病; Brock; SSR 标记; SCAR 标记; *Pm2*

## Molecular Identification of a Powdery Mildew Resistance Gene from Common Wheat Cultivar Brock

LI Gen-Qiao, FANG Ti-Lin\*\*, ZHU Jie, GAO Liang-Liang\*\*, LI Shan, XIE Chao-Jie, YANG Zhuo-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 one of the most important diseases of common wheat (*Triticum aestivum* L.) worldwide. Common wheat cultivar Brock introduced from UK is highly resistant (IT: 0;) to powdery mildew prevalent isolate E09 at the seedling and adult plant stages in North China. Genetic analysis using an F<sub>2</sub> segregating population and F<sub>2,3</sub> lines, derived from a cross between susceptible common wheat lines Xueza0 and resistant common wheat line 3B529 (Jing 411\*7//Nongda 015/Brock, F<sub>6</sub>), indicated that a single dominant gene, temporarily designated *MI*Brock, was responsible for the resistance of 3B529. By bulked segregant and molecular marker analyses, three polymorphic SSR markers (*Xcfd81*, *Xcfd78*, and *Xgwm159*) and two SCAR markers (*SCAR203* and *SCAR112*) were found to be linked to *MI*Brock. Among these markers, *Xcfd81* and *SCAR203* were cosegregated with *MI*Brock, and *SCAR112*, *Xcfd78*, and *Xgwm159* were linked to *MI*Brock with genetic distances of 0.5, 5.5, and 12.7 cM, respectively. According to the available physical bin mapping result of *MI*Brock cosegregated SSR marker *Xcfd81* and *SCAR203* in Chinese Spring, *MI*Brock was further located on chromosome bin 0–0.63 of 5DS. According to the infection-type of E09 *Bgt* isolate and mapping results, *MI*Brock might be powdery mildew resistance gene *Pm2*. The molecular markers developed in this study are useful for marker-assisted selection (MAS) and gene pyramiding of powdery mildew resistance genes in wheat breeding programs.

**Keywords:** Powdery mildew; Brock; SSR marker; SCAR marker; *Pm2*

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), 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: 房体麟, Department of Plant and Soil Sciences, Oklahoma State University, Stillwater, OK 74078, USA ; 高亮亮, Department of Plant Pathology, University of Minnesota, Saint Paul, MO 55108, USA

第一作者联系方式: E-mail: ligenqiao@gmail.com

Received(收稿日期): 2009-02-18; Accepted(接受日期): 2009-04-28.

小麦白粉病是由小麦白粉菌(*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*)引起的一种气传真菌性病害,是威胁我国小麦生产的最重要病害之一<sup>[1]</sup>。自 20 世纪 60 年代以来,随着小麦半矮秆品种的推广、水肥条件的改善、种植密度的加大以及主栽品种的抗源单一化和抗病性“丧失”,小麦白粉病的危害日益严重,成为小麦生产的严重威胁。实践证明,应用抗病品种防治小麦病害不仅经济有效、增产增收,而且也有利于生态环境保护。抗病基因的不断发掘、种质创新和有效利用是保证这种手段顺利实施的基础。目前,已经正式命名的小麦抗白粉病基因有 40 个基因位点(*Pm1*~*Pm43*, 其中 *Pm18*、*Pm22* 和 *Pm23* 已被取消),除了 3A、3D、4D 和 6D 染色体以外,其他染色体上均有抗白粉病基因的存在<sup>[2]</sup>

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。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的持久性。SSR 标记是一种操作简便、多态性高和稳定可靠的分子标记技术,现已应用于许多作物的功能基因定位和连锁图谱构建。已经建立紧密连锁的 SSR 标记的小麦抗白粉病基因有 *Pm1*、*Pm2*、*Pm3*、*Pm4*、*Pm5e*、*Pm12*、*Pm16*、*Pm24*、*Pm30*、*Pm33*、*Pm34*、*Pm35*、*Pm36*、*Pm37*、*Pm38*、*Pm39* 和 *Pm41*<sup>[2-3]</sup>。SCAR 标记是通过 RFLP、AFLP、RAPD 或 RGAP 等标记的目标多态性条带回收、测序,重新设计特异引物转化而来的一种分子标记技术,具有操作简单,重复性好,特异性强等优点。Liu 等<sup>[4]</sup>开发的 *Pm21* 基因 SCAR 标记 *SCAR<sub>1265</sub>* 和 *SCAR<sub>1400</sub>* 可用于分子标记辅助选择育种和基因检测。尽管多个抗白粉病基因位点已经建立了共分离或紧密连锁的分子标记,并应用于分子标记辅助选择中,然而,迄今为止,只有一个抗白粉病基因 *Pm3* 被成功图位克隆,并用于功能性标记的开发和等位变异研究<sup>[3,5-6]</sup>。

Brock 是引自英国的普通小麦品种,系谱为 Hobbit 30/2\*Talent。Singh 等<sup>[7]</sup>通过基因推导的方法发现 Brock 携带抗叶锈病基因 *Lr17b*。Cromey<sup>[8]</sup>研究发现 Brock 携带两个条锈病抗性基因,即苗期抗病基因 *Yr7* 和成株抗性基因 *Yr14*。本实验室多年来的鉴定结果表明 Brock 对我国北京地区的白粉病流行小种 E09 表现高抗,并用作抗源进行回交转育(未发表数据)。Wang 等<sup>[9]</sup>曾报道 Brock 的抗白粉病基因与位于 3BL 和 3DL 染色体上的 SSR 标记 *Xgwm114* 连

锁。赵培等<sup>[10]</sup>利用 RAPD 技术筛选到一个与 Brock 抗白粉病基因连锁的 RAPD 标记 *S2092<sub>900</sub>*, 遗传距离为 4.9 cM, 并将 *S2092<sub>900</sub>* 转化成 SCAR 标记 *SCAR860* 和 *SCAR200*。王轶等<sup>[11]</sup>通过 AFLP 技术建立了 2 个与 Brock 抗白粉病基因连锁的 AFLP 标记 *PI<sub>268</sub>* 和 *P2<sub>227</sub>*, 遗传距离分别为 3.6 cM 和 1.9 cM。本研究拟对 3B529 中来源于 Brock 的抗白粉病基因进行遗传分析,利用小麦 SSR 和 SCAR 标记对其抗病性基因进行定位,以更好地利用分子标记辅助选择选育抗白粉病小麦新品种。

## 1 材料与方 法

### 1.1 植物材料

普通小麦品种 Brock 为引自英国的白粉病抗源,经与我国普通小麦品种(系)农大 015 和京 411 杂交和回交育成抗白粉病材料 3B529,系谱为京 411\*7//农大 015/Brock。经多年接种鉴定,京 411 和农大 015 对白粉菌 E09 号生理小种均表现高感(IT: 4)。利用 3B529 与高度感病小麦品系薛早配制杂交组合,杂种  $F_1$  自交得到  $F_2$  代分离群体和  $F_{2:3}$  家系,进行抗病性鉴定、遗传分析及其分子标记检测,推断  $F_2$  代单株的抗病性的基因型。中国春第 5 部分同源群缺体-四体系、双端体系和缺失系定位材料由美国堪萨斯州立大学小麦遗传资源中心 Raupp W J 博士和 Gill B S 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。

### 1.2 白粉病抗性的鉴定

供试小麦白粉菌是北京地区流行的生理小种 E09,由中国农业科学院植物保护研究所段霞瑜研究员惠赠。在待鉴定小麦生长至一叶期时,直接将白粉菌孢子抖落在待测材料的叶片上,为保证充分发病,重复接种多次,接种后 14 d 对照材料薛早充分发病,按 0、0、1、2、3、4 级的 6 级分级标准鉴定各单株的反应型<sup>[4]</sup>。其中,0~2 级为抗病类型,3~4 级为感病类型。

### 1.3 基因组 DNA 的提取和抗感池的构建

采用 CTAB 法提取小麦基因组 DNA<sup>[12]</sup>。选取  $F_2$  代纯合抗病 10 个单株的 DNA 等量混合成抗病池 ( $B_R$ ),纯合感病 10 个单株的 DNA 等量混合成感病池 ( $B_S$ )。以抗病池和感病池的 DNA 为模板进行 PCR 扩增,寻找抗感池之间有多态性的引物,并对  $F_2$  分离群体进行分析验证,检测 SSR 标记与抗病基因的

连锁程度。

#### 1.4 SSR 及 SCAR 标记分析

小麦 SSR 引物选自 Röder 等<sup>[13]</sup>开发的 WMS 引物, Pestsova 等<sup>[14]</sup>报道的 GDM 引物, Eujayl 等<sup>[15]</sup>发表的 EST-SSR 引物(DuPw 系列), 及 <http://wheat.pw.usda.gov/>上公布的 CFD、CFA 和 BARC 系列的引物。首先从合成的引物中选取随机分布在每一条染色体上的 50 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, 再选取位于其所在染色体区段的其他 SSR 标记进一步筛选多态性。

利用赵培等<sup>[10]</sup>建立的与 Brock 中抗白粉病基因连锁的 SCAR 标记 *SCAR860*、*SCAR200* 以及本实验室高亮亮<sup>[16]</sup>通过 AFLP 标记分析建立的与抗白粉病基因 *PmWE75* 和 *Pm2* 连锁的 SCAR 标记 *SCAR112*, 在分离群体中进行连锁分析。根据王轶等<sup>[11]</sup>报道的与 Brock 中抗白粉病基因连锁的 AFLP 标记 *P2227* 的 DNA 序列重新设计新的 SCAR 标记 *SCAR203*, 引物序列为 *SCAR203F* 5'-TAAACCCTGAGAATGCAG-3', *SCAR203R* 5'-GAGACCATGAGACCCACC-3', 并在分离群体上进行连锁分析。

PCR 反应在 Applied Biosystems GeneAmp PCR System 9700 上进行, 参照 Röder 等<sup>[13]</sup>的参数和程序, 略有改动。反应体积为 10  $\mu$ L, 含 10  $\times$  buffer 1  $\mu$ L, 15 mmol L<sup>-1</sup> MgCl<sub>2</sub> 1  $\mu$ L, 2 mmol L<sup>-1</sup> dNTP 1  $\mu$ L, 20 ng L<sup>-1</sup> 引物 1  $\mu$ L, 1 U *Taq* 酶, 去离子水 4  $\mu$ L, 20 ng L<sup>-1</sup> 基因组 DNA 2  $\mu$ L。扩增程序为 94 $^{\circ}$ C 预变性 4 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 45 s, 50~60 (根据引物的退火温度)退火 45 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1.5 min, 40 个循环; 最后 72 $^{\circ}$ C 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 数据统计及遗传分析

用  $\chi^2$  测验对 F<sub>2</sub> 代群体抗感分离比例进行适合性

检验。根据 F<sub>2:3</sub> 家系的鉴定结果将 F<sub>2</sub> 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 Mapmaker3.0b 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<sup>[17]</sup>。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。

## 2 结果与分析

### 2.1 抗性鉴定与遗传分析

白粉病抗性鉴定结果表明, 3B529 高抗白粉病(IT: 0;), 而薛早高度感病(IT: 4), 杂种 F<sub>1</sub> 表现高抗白粉病(IT: 0; 或 1)(表 1)。F<sub>2</sub> 代 188 株个体中 134 株抗病(IT: 0; 或 1), 54 株感病(IT: 3 或 4)。经  $\chi^2$  检验, 符合 3:1 的分离比例( $\chi^2 = 1.39$ ,  $\chi^2_{0.05, 1} = 3.8$ )。在 134 个抗病株 F<sub>2:3</sub> 家系中, 有 39 个 F<sub>2:3</sub> 家系表现纯合抗病, 95 个 F<sub>2:3</sub> 家系出现抗感分离; 而来自 F<sub>2</sub> 的 54 个感病株 F<sub>2:3</sub> 代家系均表现感病, 其抗性分离比例符合 1:2:1 的分离比例( $\chi^2 = 2.41$ ,  $\chi^2_{0.05, 2} = 5.99$ )(表 1)。结合 F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub> 和 F<sub>2:3</sub> 代的鉴定结果, 3B529 对白粉菌小种 E09 的抗性受 1 对显性基因控制, 暂被定名为 *MLBrock*。

### 2.2 SSR 标记及其连锁分析

随机选取分布在小麦基因组上的 50 对小麦 SSR 引物在抗病亲本 3B529、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 5DS 上的 SSR 标记 *Xcfd78* 在抗、感亲本和抗、感池间均扩增出差异性条带。用 *Xcfd78* 分别在 10 株纯合抗病和 10 株纯合感病小群体上验证, 结果显示 SSR 标记 *Xcfd78* 与抗白粉病基因 *MLBrock* 连锁。然后, 进一步筛选位于 5DS 染色体上的其他 SSR 标记, 发现标记 *Xcfd81* 和 *Xgwm159* 均具多态性。分别将这 3 个多态性 SSR 标记在薛早/3B529 的 F<sub>2</sub> 分离群体上进行检测, 发现均与 *MLBrock* 具有连锁关系。其中

表 1 3B529 和薛早及其 F<sub>2</sub>、F<sub>2:3</sub> 分离群体对小明白粉菌 E09 小种的反应  
Table 1 Reaction of 3B529, Xueza0 and their F<sub>2</sub> population, F<sub>2:3</sub> progenies to *Bgt* isolate E09

世代 Generation	抗病株数 Resistant plants	感病株数 Susceptible plants	总数 Total	$\chi^2$	$\chi^2_{0.05}$
3B529	30	0	30		
薛早 Xueza0	0	30	30		
薛早/3B529 F <sub>1</sub> Xueza0/3B529 F <sub>1</sub>	30	0	30		
薛早/3B529 F <sub>2</sub> Xueza0/3B529 F <sub>2</sub>	134	54	188	1.39	3.84
薛早/3B529 F <sub>2:3</sub> Xueza0/3B529 F <sub>2:3</sub>	39(RR) + 95(Rr)	54 (rr)	188	2.41	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.

*Xcfd78* 和 *Xcfd81* 为共显性标记, 而 *Xgwm159* 为显性标记, 这些标记在  $F_2$  代群体上的分离符合 1:2:1 或 3:1 的比例(表 2)。用 Mapmarker 3.0 进行两点测验分析, 结果 SSR 标记 *Xcfd81* 与抗白粉病基因 *MlBrock* 共分离, *Xcfd78* 和 *Xgwm159* 与 *MlBrock* 的遗传距离分别为 5.5 cM 和 12.7 cM(表 2)。

### 2.3 SCAR 标记连锁分析

利用赵培等<sup>[10]</sup>建立的与 *Brock* 中抗白粉病基因连锁的 SCAR 标记 *SCAR200* 和 *SCAR860* 分别在抗病亲本 3B529、感病亲本薛早、抗病池和感病池 DNA 上进行 PCR 扩增。结果发现, *SCAR200* 标记在抗病亲本 3B529 和感病亲本薛早间没有多态性; *SCAR860* 标记在抗病亲本 3B529 和感病亲本薛早间存在多态性, 但经在  $F_2$  分离群体上验证, *SCAR860* 与抗白粉病基因 *MlBrock* 没有连锁关系。利用本实验室高亮亮<sup>[16]</sup>建立的 SCAR 标记 *SCAR112* 进行检测, 发现 *SCAR112* 可以在抗病亲本和抗病单株上扩增出 112 bp 的 DNA 条带, 在感病亲本和感病单株上没有扩增产物。随后检测了新设计的 SCAR 标记 *SCAR203*, 发现 *SCAR203* 在抗病亲本和抗病单株 DNA 上可扩增出 203 bp 的多态性 DNA 条带, 在感病亲本薛早和感病单株 DNA 上可扩增出 210 bp 的多态性 DNA 条带(图 1)。用 SCAR 标记 *SCAR203* 和 *SCAR112* 在薛早/3B529  $F_2$  群体上进行连锁分析, 发现 *SCAR203* 与

抗病基因 *MlBrock* 共分离, *SCAR112* 与 *MlBrock* 的遗传距离为 0.5 cM(表 2 和图 2)。

### 2.4 抗白粉病基因 *MlBrock* 的染色体物理定位

为准确定位 *MlBrock*, 利用与 *MlBrock* 共分离的标记 *Xcfd81* 在中国春第 5 部分同源群缺体-四体、双端体和 5BS 以及 5DS 的缺失系上进行检测, 结果发现与抗白粉病基因连锁的多态性片段除 N5D-T5A、N5D-T5B 和 Dt5DL 外均扩增出染色体组特定的目标 DNA 条带, 与 *MlBrock* 连锁的多态性 DNA 片段被定位于 5DS 染色体臂上(图 3)。另外, *Xcfd81* 在 5B 染色体上也存在扩增位点(图 3), 但该扩增片段在抗、感单株间无多态性。综合 *MlBrock* 分子标记连锁图谱、多态性 DNA 片段在中国春缺失系中的扩增带型和 Sourdille 等<sup>[18]</sup>发表的小麦微卫星标记缺失系物理定位图谱的结果, 可以推断与 *MlBrock* 连锁的 *Xcfd81* 位点位于 5DS-1 的区段上, 即 5DS 的 Bin 0~0.63 区间。据此可将抗白粉病基因 *MlBrock* 定位于染色体 5DS 的着丝粒至 0.63 区间(图 2 和图 3)。

## 3 讨论

小麦白粉病菌变异快, 生理小种多。在单一化抗源(抗病基因)的选择压力下, 一旦产生新的毒性小种或小种群发生变化往往会引起抗病基因抗性“丧失”, 导致小麦白粉病的大发生, 给小麦生产带

表 2 分子标记在薛早/3B529 组合  $F_2$  代群体分离情况及其与 *MlBrock* 的遗传距离

Table 2 Segregation ratios of molecular markers linked to powdery mildew resistance gene *Mlbrock* in Xueza0/3B529  $F_2$  population

标记 Locus	标记带型 <sup>1)</sup> Marker distribution <sup>1)</sup>			总数 Total	期望分离比 Expected ratio	$\chi^2$	与 <i>MlBrock</i> 的连锁距离 Distance to <i>MlBrock</i> (cM)
	A(D)	H	B				
<i>SCAR112</i>	133		55	188	D:B=3:1	1.82	0.5
<i>SCAR203</i>	134		54	188	D:B=3:1	1.39	0.0
<i>Xcfd81</i>	39	95	54	188	A:H:B=1:2:1	2.41	0.0
<i>MlBrock</i>	39	95	54	188	A:H:B=1:2:1	2.41	—
<i>Xcfd78</i>	40	94	54	188	A:H:B=1:2:1	2.09	5.5
<i>Xgwm159</i>	135		53	188	A:H:B=1:2:1	1.02	12.7

<sup>1)</sup> A(D): 与抗病亲本 3B529 带型相同; B: 与感病亲本薛早带型相同; H: 杂合带型。

<sup>1)</sup> A(D): homozygous to the allele from the resistant parent 3B529, B: homozygous to the allele from the susceptible parent Xueza0, H: heterozygous.  $\chi^2_{0.05,1} = 3.84$ ;  $\chi^2_{0.05,2} = 5.99$ .

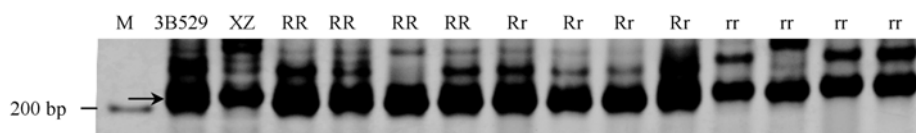


图 1 SCAR 标记 *SCAR203* 在薛早/3B529  $F_2$  分离群体部分单株上的 PCR 扩增结果

Fig. 1 Polymorphic DNA fragments detected by SCAR marker *SCAR203* in plants of Xueza0/*Brock*  $F_2$  segregating population

M: 100 bp ladder; XZ: 薛早; RR: 纯合抗病单株; Rr: 杂合抗病单株; rr: 纯合感病单株。

M: 100 bp ladder; XZ: Xueza0; RR: homozygous resistant plants; Rr: heterozygous resistant plants; rr: homozygous susceptible plants.

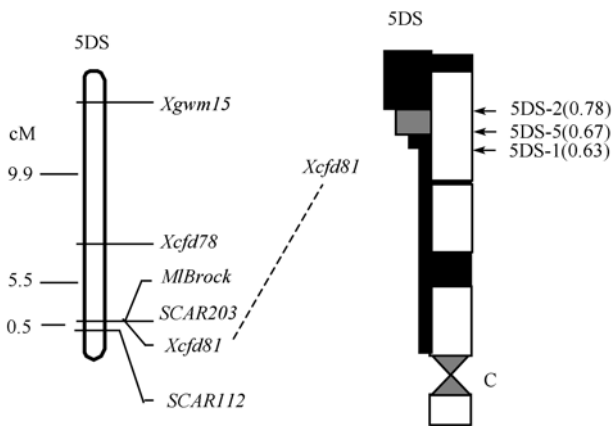


图 2 抗白粉病基因 *MIBrock* 分子标记连锁图谱和物理图谱  
Fig. 2 Linage maps and physical bin map of *MIBrock* with the linked markers

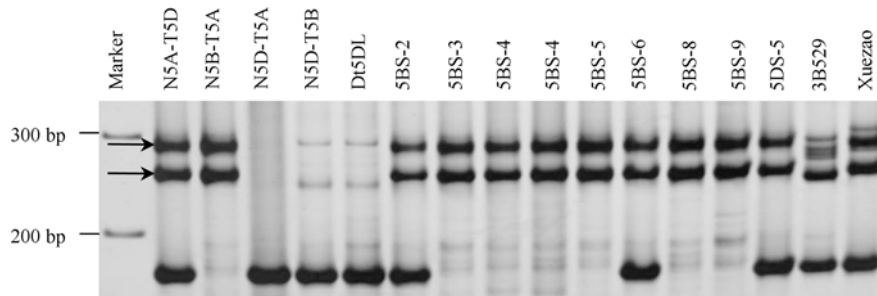


图 3 SSR 标记 *Xcfd81* 在中国春缺体-四体系、双端体、5BS 和 5DS 缺失系上的扩增结果  
Fig. 3 Amplification pattern of *Xcfd81* in Chinese Spring homoeologous group 5 nulli-tetrasomics, ditelosomics, 5BS, and 5DS deletion lines

目前, 位于 5D 上的抗白粉病基因有 *Pm2*<sup>[22-23]</sup>、*Pm34*<sup>[24]</sup>和 *Pm35*<sup>[25]</sup>。其中, *Pm34* 和 *Pm35* 基因都位于 5DL 上, 是近期从山羊草中导入普通小麦的抗白粉病基因, 对我国白粉菌生理小种的抗性反应尚不明确。Miranda 等<sup>[24]</sup>将 *Pm34* 基因定位在 5DL 末端, 与 *Xbarc144* 的连锁距离为 2.0 cM (图 4)。Miranda 等<sup>[25]</sup>将 *Pm35* 基因定位在 5DL 中部, 位于 *Xcfd26* 的远离着丝点方向上, 与 *Xcfd26* 的连锁距离为 11.9 cM (图 4)。而来自普通小麦 Brock 的抗白粉病基因 *MIBrock* 位于 5DS 上, 与 *Xcfd81* 共分离, 在 Somers 等<sup>[21]</sup>发表的遗传图谱和 Sourdille 等<sup>[18]</sup>发表的物理图谱上, *Xcfd81* 均被定位于 5DS 上。故 *MIBrock* 与抗白粉病基因 *Pm34* 和 *Pm35* 不同。Brock 系谱为 Hobbit 30/2\**Talent*, Paillard 等<sup>[26]</sup>曾采用基因推导的方法对 Brock、*Talent* 和 *Pm2* 进行分小种鉴定, 结果表明 Brock 对 9 个供试白粉菌小种中的 5 个(96.20、DB、93.27、93.60 和 95.42)表现抗病。其中, *Pm2* 只对其中 4 个生理小种(96.20、93.27、93.60 和 95.42)表现抗病, 而 *Talent* (*Tal*)只对 DB 和 93.6 表现抗性, 据此

来严重损失。生产上大面积推广的抗病品种一般应用 3~5 年即丧失抗性<sup>[19]</sup>。虽然目前已经命名了 40 个位点的 59 个抗白粉病基因<sup>[2]</sup>, 但许多抗白粉病基因对我国的白粉病菌优势生理小种已经“丧失”抗性, 如 *Pm1a*、*Pm3* 和 *Pm8* 等。而在生产上依然有效且利用较多的抗白粉病基因有 *Pm2*、*Pm4* 和 *Pm21*, 另外一些抗性突出的抗白粉病基因如 *Pm12*、*Pm13*、*Pm16* 和 *Pm30* 等尚未得到广泛利用<sup>[20]</sup>。因此, 建立与这些对优势白粉菌具有良好抗性的抗白粉病基因紧密连锁的分子标记, 通过分子标记辅助选择和基因积聚将其转育到主栽品种中去十分必要。Brock 对华北地区的白粉病菌优势生理小种 E09 表现高抗, 并且同时还携带抗条锈病基因 *Yr7* 和 *Yr14*, 抗叶锈病基因 *Lr17b*, 是一个很好的抗病育种的抗源。

推测 Brock 的抗性是 *Pm2+Tal* 提供的。Qiu 等<sup>[23]</sup>报道位于 5DS 染色体臂的 *Pm2* 基因与 SSR 标记 *Xcfd81* 的连锁距离为 2.0 cM; 赵军等<sup>[28]</sup>对 Grandin 中的 *Pm2* 基因定位时发现其与 SSR 标记 *Xcfd81* 相距 0.9 cM。本研究对 3B529 中来源于 Brock 的抗白粉病基因定位结果表明, *MIBrock* 位于 5DS 染色体臂上, 与 *Xcfd81* 共分离。综合以上研究结果, 推断 3B529 来自普通小麦品种 Brock 的抗白粉病基因 *MIBrock* 很可能是 *Pm2* 基因。

Wang 等<sup>[9]</sup>利用 RAPD 和 SSR 标记分析 Brock 中的抗白粉病基因时发现抗病基因与位于 3B 染色体上的 SSR 标记 *Xgwm114* 连锁。本研究利用 SSR 标记 *Xgwm114* 在抗病亲本、感病亲本和薛早/3B529 的 F<sub>2</sub> 群体上进行了检测, 发现 *Xgwm114* 在抗、感亲本间存在多态性, 但经分离群体验证, 未发现 *Xgwm114* 的目标扩增片段与 *MIBrock* 有连锁关系。赵培等<sup>[10]</sup>报道的 SCAR 标记 *SCAR860* 和 *SCAR200* 为显性标记, 而在本研究的 F<sub>2</sub> 群体上, 这两个标记在抗、感单株上均有扩增条带。*SCAR860* 在抗、感

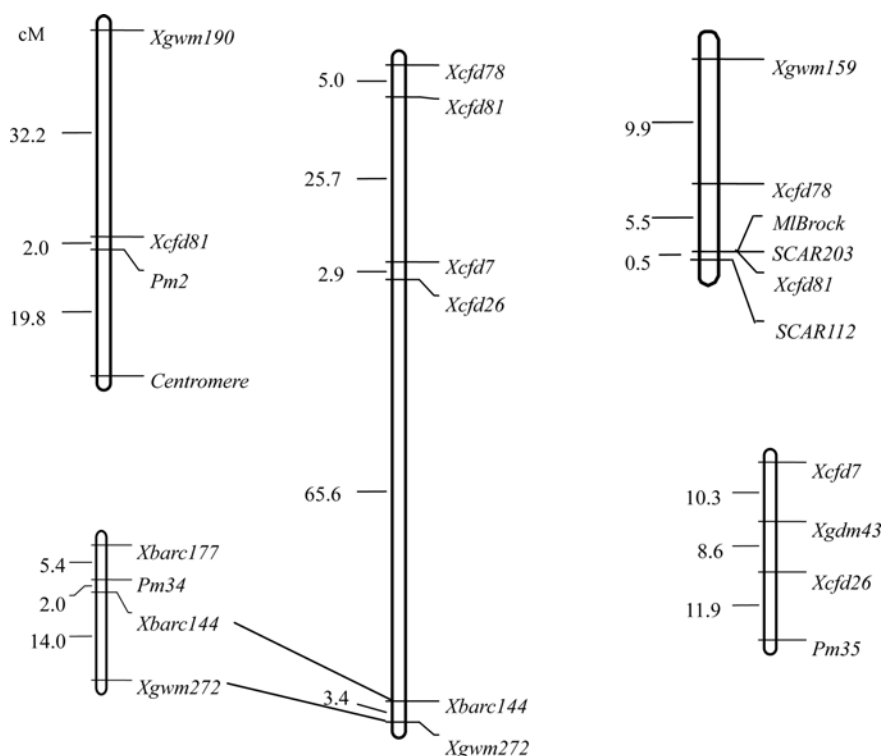


图 4 抗白粉病基因 *Pm2*、*MIBrock*、*Pm34* 和 *Pm35* 的分子标记连锁图谱比较  
 Fig. 4 Linkage map comparison of powdery mildew resistance genes *Pm2*, *MIBrock*, *Pm34*, and *Pm35*

亲本间和分离群体上存在多态性,但连锁分析发现该多态性与 *MIBrock* 无连锁关系。而 *SCAR200* 在抗、感亲本间和分离群体上未检测到多态性。将 *SCAR* 标记 *SCAR203*、*SCAR860* 和 *SCAR200* 在中国春缺体-四体和双端体上进行染色体定位,发现这 3 个 *SCAR* 标记在 5BS 和 5DS 染色体臂上均有扩增位点。由于这些不同的研究采用的感病亲本不同, *SCAR860* 和 *SCAR200* 在 5DS 上的扩增位点可能在 3B529 和薛早间没有多态性。而本研究利用王轶等<sup>[11]</sup>发现的多态性 AFLP 标记 *P2227* 片段 DNA 序列建立的 *SCAR* 标记 *SCAR203* 与 *MIBrock* 呈共分离,可作为该抗白粉病基因分子标记辅助选择和基因积聚的有力工具。

#### 4 结论

明确了普通小麦品系 3B529 含有一个源自英国小麦品种 Brock 的显性单基因 *MIBrock*, *MIBrock* 很可能是 *Pm2* 基因,与 *MIBrock*(*Pm2*) 紧密连锁的 SSR 标记和 *SCAR* 标记有利于小麦抗病性的分子标记辅助选择育种和基因的累加。

#### References

[1] 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(4): 385-394 (in Chinese with English abstract)

- [2] 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. Proceedings of the 11th International Wheat Genet Symposium. Sydney, Australia: Sydney University Press, 2008
- [3] Huang X Q, Röder M S. Molecular mapping of powdery mildew resistance genes in wheat: A review. *Euphytica*, 2004, 127: 203-223
- [4] 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
- [5] Tommasini L, Yahiaoui N, Srichumpa P, Keller B. Development of functional markers specific for seven *Pm3* resistance alleles and their validation in the bread wheat gene pool. *Theor Appl Genet*, 2006, 114:165-175
- [6] Yahiaoui N, Kaur N, Keller B. Independent evolution of functional *Pm3* resistance genes in wild tetraploid wheat and domesticated bread wheat. *Plant J*, 2009, 57: 846-856
- [7] Singh D, Park R F, McIntosh R A. Postulation of leaf (brown) rust resistance genes in 70 wheat cultivars grown in the United Kingdom. *Euphytica*, 2001, 120: 205-218
- [8] Cromey M G. A new pathotype of *Puccinia striiformis* in New

- Zealand with increased pathogenicity to wheat cultivars with the adult plant resistance gene *Yr14*. *Aust Plant Pathol*, 1992, 21: 172–174
- [9] Wang Z Y, Zheng Q, Peng Y K, Xie C J, Sun Q X, Yang Z M. Identification of random amplified polymorphism DNA and simple sequence repeat markers linked to powdery mildew resistance in common wheat cultivar Brock. *Plant Prod Sci*, 2004, 7: 319–323
- [10] Zhao P(赵培). Random Amplified Polymorphic DNA and Sequence Characterized Amplified Region Marker Linked to Unknown Powdery Mildew Resistance Gene in Wheat Cultivar Brock. MS Dissertation of Tianjin Normal University, 2004 (in Chinese with English abstract)
- [11] Wang Y(王轶), Zhu J(朱婕), Zhao H-M(赵红梅), Lei D-H(雷盯函), Wang Z-Y(王振英), Peng Y-K(彭永康), Xie C-J(解超杰), Sun Q-X(孙其信), Liu Z-Y(刘志勇), Yang Z-M(杨作民). Screening and identification of the AFLP markers linked to a new powdery mildew resistance gene in wheat cultivar Brock. *J Mol Cell Biol* (分子细胞生物学报), 2008, 41(4): 294–300 (in Chinese with English abstract)
- [12] 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
- [13] 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
- [14] 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
- [15] 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
- [16] Gao L-L(高亮亮). Development of AFLP and Derived SCAR Marker for Powdery Mildew Disease Resistance Gene *PmWE75* in Wheat. MS Dissertation of China Agricultural University, 2007 (in Chinese with English abstract)
- [17] Lincoln S, Daly M, Lander E. Constructing genetic maps with Mapmaker/EXP3.0. Whitehead Institute Techn Rep, 3rd edn. Cambridge, Massachusetts, USA: Whitehead Institute, 1992
- [18] 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
- [19] Chen Q-C(陈企村), Duan S-K(段双科), Li Z-Q(李振岐). Research advances on components and external factors of slow-mildewing resistance in wheat. *J Triticeae Crops* (麦类作物学报), 2004, 24(1): 86–89 (in Chinese with English abstract)
- [20] Qiu Y-C(邱永春), Zhang S-S(张书绅). Research on powdery mildew resistant genes and their molecular markers in wheat. *J Triticeae Crops* (麦类作物学报), 2004, 24(2): 127–132 (in Chinese with English abstract)
- [21] 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
- [22] McIntosh R A, Baker E P. Cytogenetic studies in wheat: IV. Chromosome location and linkage studies involving the *Pm2* locus for powdery mildew resistance. *Euphytica*, 1970, 19: 71–77
- [23] Qiu Y C, Sun X L, Zhou R H, Kong X Y, Zhang S S, Jia J Z. Identification of microsatellite markers linked to powdery mildew resistance gene *Pm2* in wheat. *Cereal Res Commun*, 2006, 34: 1267–1273
- [24] Miranda L M, Murphy J P, Leath S, Marshall D S. *Pm34*: A new powdery mildew resistance gene transferred from *Aegilops tauschii* Coss. to common wheat. *Theor Appl Genet*, 2006, 113: 1497–1504
- [25] Miranda L M, Murphy J P, Marshall D S, 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
- [26] Paillard S, Goldringer I, Enjalbert J, Doussinault G, de Vallavieille-Pope C, Brabant P. Evolution of resistance against powdery mildew in winter wheat populations conducted under dynamic management: I: Is specific seedling resistance selected? *Theor Appl Genet*, 2000, 101: 449–456
- [27] Li H J, Conner R L, Liu Z Y, Li Y W, Chen Y, Zhou Y L, Duan X Y, Shen T M, Chen Q, Graf R J, Jia X. Characterization of wheat-triticale lines resistant to powdery mildew, stem rust, stripe rust, wheat curl mite, and limitation on spread of WSMV. *Plant Dis*, 2007, 91: 368–374
- [28] Zhao J(赵军), Wang J(王军), Ni Z-F(倪中福), Xie C-J(解超杰), Yang Z-M(杨作民), Liu Z-Y(刘志勇), Sun Q-X(孙其信). Identification and tagging of the wheat powdery mildew resistance gene in wheat cultivar Grandin. *J Triticeae Crops* (麦类作物学报), 2007, 27(4): 570–576 (in Chinese with English abstract)