

# 普通小麦品种“豫麦 66”抗白粉病基因的鉴定与分子标记

胡铁柱<sup>1,2</sup> 李洪杰<sup>3</sup> 刘子记<sup>1</sup> 解超杰<sup>1</sup> 周益林<sup>4</sup> 段霞瑜<sup>4</sup> 贾旭<sup>5</sup>  
尤明山<sup>1</sup> 杨作民<sup>1</sup> 孙其信<sup>1</sup> 刘志勇<sup>1,\*</sup>

(<sup>1</sup> 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; <sup>2</sup> 河南科技学院小麦中心, 河南新乡 453003; <sup>3</sup> 中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081; <sup>4</sup> 中国农业科学院植物保护研究所 / 植物病虫害生物学国家重点实验室, 北京 100094; <sup>5</sup> 中国科学院遗传与发育生物学研究所 / 植物细胞与染色体工程国家重点实验室, 北京 100101)

**摘要:** 豫麦66是对小麦白粉病(*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*)具有良好抗性的小黑麦后代品种。本试验通过抗病鉴定与遗传分析, 明确了豫麦66携带1个抗白粉病显性单基因, 暂命名为*PmYm66*。采用2个以豫麦66为抗病亲本的杂交组合(豫麦66/铭贤169和豫麦66/ND3509) $F_2$ 代抗、感病分离群体和 $F_3$ 代家系, 利用集群分离分析法(BSA)找到了与*PmYm66*连锁的分子标记*XKsum193*、EST48、EST83和EST84, 抗病基因和分子标记的顺序为EST48—EST83 (EST84)—*Xksum193*—*PmYm66*, 并通过中国春缺体-四体、双端体和缺失系将*PmYm66*基因及其连锁的分子标记定位在2AL染色体臂末端。多小种鉴定结果表明*PmYm66*(豫麦66)与2AL染色体臂上已有的*Pm4a*(Khapli/8Cc)和*Pm4b*(Armada)基因存在致病反应型差异。

**关键词:** 小麦; 豫麦66; 白粉病; 抗病基因; 分子标记

## Identification and Molecular Mapping of the Powdery Mildew Resistance Gene in Wheat Cultivar Yumai 66

HU Tie-Zhu<sup>1,2</sup>, LI Hong-Jie<sup>3</sup>, LIU Zi-Ji<sup>1</sup>, XIE Chao-Jie<sup>1</sup>, ZHOU Yi-Lin<sup>4</sup>, DUAN Xia-Yu<sup>4</sup>, JIA Xu<sup>5</sup>, YOU Ming-Shan<sup>1</sup>, YANG Zuo-Min<sup>1</sup>, SUN Qi-Xin<sup>1</sup>, and LIU Zhi-Yong<sup>1,\*</sup>

(<sup>1</sup> State Key Laboratory for Agrobiotechnology, Department of Plant Genetics & Breeding / 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, China Agricultural University, Beijing 100094; <sup>2</sup> Wheat Center, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003, Henan; <sup>3</sup> Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081; <sup>4</sup> Key Laboratory for Biology of Plant Disease and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100094; <sup>5</sup> State Key Laboratory of Plant Cell and Chromosome Engineering, Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

**Abstract:** Powdery mildew, caused by *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*, is one of the most important diseases of wheat (*Triticum aestivum* L.) worldwide. Breeding for resistance is the most economical and effective method for controlling the disease. Yumai 66, a common wheat cultivar derived from a wheat-triticale cross, is resistant to a wide spectrum of wheat powdery mildew isolates from both China and Canada. In the present study, genetic analysis indicated that Yumai 66 carried a single dominant gene for resistance to powdery mildew, designated tentatively *PmYm66*. The segregating  $F_2$  populations and their  $F_3$  progenies of the crosses Yumai 66/Mingxian 169 and Yumai 66/ND3509 were used for bulked segregation analysis (BSA). Four molecular markers were associated with *PmYm66* in an order of EST48—EST83 (EST84)—*Xksum193*—*PmYm66*. These SSR and EST markers were assigned to the distal bin of chromosome 2AL by means of Chinese Spring nullisomic-tetrasomic, ditelisomic, and deletion lines. The reaction types of Yumai 66 to 21 *B. graminis* f. sp. *tritici* isolates from China was different from that of *Pm4a* and *Pm4b* located on chromosome 2AL.

**Keywords:** Wheat; Yumai66; Powdery mildew; Resistance gene; Molecular marker

小麦白粉病(*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*)是严重影响小麦安全生产的主要病害之一。培育和推广抗病品种是防治白粉病危害、保证小麦高产稳产最经济有效的措施。目前, 已经正式命名的小麦抗白粉病基因

**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; 高等学校学科创新引智计划项目(111-2-03)

**作者简介:** 胡铁柱(1975-), 男, 中国农业大学植物遗传育种专业在职博士, 在河南科技学院小麦中心从事小麦遗传育种工作。

\* 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): 2007-11-07; Accepted (接受日期): 2007-11-20.

分布在38个位点上(*Pm1*~*Pm38*)<sup>[1-4]</sup>(<http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi>), 其中*Pm1*、*Pm3*、*Pm4*、*Pm5*和*Pm8*等位点上具有多个等位基因<sup>[2]</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具有的抗病基因往往是育种家的首选, 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, 深入研究其遗传特点, 对于培育抗白粉病新品种, 实现抗源多样化和抗源积累具有重要意义。

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之一, 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, 由于其在染色体上具有明确的位置, 又是共显性标记, 在小麦基因定位和遗传作图方面有着广泛的用途, 许多抗白粉病基因就是采用这种策略被定位于相应染色体上的<sup>[1-4]</sup>。近年来, 随着小麦EST(expressed sequence tagged)测序和SNP(single nucleotide polymorphism)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。

豫麦66(兰考906-4)是兰考农华种业公司沈天民研究员从六倍体小黑麦与普通小麦杂交组合MZA-Lenonart BUTR/豫麦2号//兰考90选育的新型T1BL·1RS小麦-黑麦(*Secale cereale* L.)系列易位系之一。该品种对不同来源的白粉病菌具有广谱抗性, 并且具有高产、优质等优良特性<sup>[5-6]</sup>, 但其抗白粉病基因并非位于易位的黑麦1RS染色体臂上<sup>[5]</sup>。本研究拟利用遗传分析、分子标记定位和抗病鉴定方法, 确定豫麦66携带的抗白粉病基因及其所在染色体位置, 为更好地利用这一优良抗病品种提供理论基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

利用抗白粉病品种豫麦66分别与感白粉病品种ND3509、铭贤169和Lovrin 13配制杂交组合, 构建F<sub>2</sub>代群体及其F<sub>3</sub>代家系, 用于抗病基因遗传分析和遗传作图。感病对照品种为Chancellor。中国春缺体-四体、双端体和缺失系材料由美国堪萨斯州立大学小麦遗传资源中心(Wheat Genetics Resource Centre, Kansas State University, USA) J. Raupp和B. S. Gill博士提供。

### 1.2 豫麦66抗白粉病基因遗传分析

利用北京地区流行白粉病菌小种E09对豫麦66/ND3509、豫麦66/铭贤169和豫麦66/Lovrin 13的F<sub>1</sub>代、F<sub>2</sub>代分离群体和F<sub>3</sub>代家系进行苗期抗病性鉴定, 该小种对*Pm1*、*Pm3a*、*Pm3c*、*Pm5*、*Pm7*、*Pm8*、*Pm17*和*Pm19*有毒性, 但对豫麦66无毒性<sup>[6]</sup>。采用0、0<sup>+</sup>、1~4级标准调查第一片叶的反应型(IT)。0级无可见病斑; 0<sup>+</sup>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>[6]</sup>。用 $\chi^2$ 测验进行适合性检测。

### 1.3 抗白粉病基因多小种鉴定

试验在中国农业科学院植物保护研究所进行, 将豫麦66与其他携带已知抗白粉病基因的品种(系)播种于培养盘内, 然后放在(20±2) 温室培养。当第一片叶完全展开后用单个小种分别接种到豫麦66和携带不同抗白粉病基因的小麦品种(系)上, 充分发病后进行抗病性鉴定<sup>[7]</sup>。

### 1.4 基因组DNA提取, SSR和EST-SNP多态性分析

参照Saghai-Marouf等的CTAB法提取基因组DNA<sup>[8]</sup>, 分别提取142株豫麦66/ND3509和107株豫麦66/铭贤169的F<sub>2</sub>代分离群体单株DNA。根据F<sub>3</sub>家系抗病性鉴定结果, 采用BSA法分别等量取10株抗病单株(IT=0)的DNA和10株感病单株(IT=4)的DNA构建抗、感池<sup>[9]</sup>。

分别根据Röder等<sup>[10]</sup>、Pestsova等<sup>[11]</sup>、Gupta等<sup>[12]</sup>、Yu等<sup>[13]</sup>和Song等<sup>[14]</sup>报道的引物序列合成SSR引物。根据<http://wheat.pw.usda.gov/SNP/>中报道序列合成EST引物(表1)。PCR反应体系10  $\mu$ L, 含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, 基因组DNA 50~100 ng和0.75 U *Taq* DNA聚合酶。扩增程序为94 变性5 min; 94 变性45 s、50 复性45 s、72 延伸1.5 min, 40个循环; 72 延伸10 min。对扩增产物用8%非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳, 经硝酸银染色后观察照相。

表 1 与豫麦 66 抗白粉病基因连锁的小麦 EST 标记引物序列

Table 1 EST primer sequences linked with powdery mildew resistance gene derived from Yumai 66

EST 标记 EST marker	EST 序列号 EST accession number	正向引物 Forward primer	反向引物 Reverse primer
EST48	BG274365	5'-ACCAAGCAGCCCTTCTGTAA-3'	5'-ATATCGAGGCAACCGTGTTTC-3'
EST83	BE499251	5'-GAGGTGCTGCTCGTCTCC-3'	5'-GTCTCGTTCCACTCAGGCTC-3'
EST84	BE499251	5'-GAGGTGCTGCTCGTCTCC-3'	5'-GCTGTCCATGATCTTGACCC-3'

### 1.5 连锁分析

用Mapmaker EXP 3.0b软件<sup>[15]</sup>计算分子标记与抗白粉病基因之间的距离,利用Kosambi函数将重组率转化为遗传图距(cM),构建抗病基因的分子标记连锁图谱。

### 1.6 分子标记的染色体定位

利用与豫麦66抗白粉病基因连锁的分子标记在中国春缺体-四体、双端体和缺失系DNA上进行PCR扩增,根据扩增带型将分子标记定位于相应染色体及其染色体区间。

## 2 结果与分析

### 2.1 豫麦 66 抗白粉病基因遗传分析

用小麦白粉菌E09小种苗期接种豫麦66、铭贤169、Lovrin13和ND3509以及豫麦66/铭贤169、豫麦66/Lovrin13和豫麦66/ND3509等3个组合的F<sub>1</sub>代、F<sub>2</sub>代群体,豫麦66无明显病斑(IT=0-0);而ND3509、铭贤169和Lovrin13表现高度感病(IT=4);F<sub>1</sub>代表现为高抗(IT=0;-1);3个杂交组合的F<sub>2</sub>代群体抗、感病单株均符合3:1分离比例,豫麦66/ND3509群体和豫麦66/铭贤169群体F<sub>3</sub>代家系均符合1:2:1分离模式。这表明豫麦66的苗期抗白粉病基因为显性单基因,暂命名为PmYm66(表2)。

表2 豫麦66、感病亲本、相应F<sub>2</sub>代群体及其F<sub>3</sub>家系对小麦白粉菌E09小种的反应

Table 2 Reactions of Yumai 66, susceptible parents, F<sub>2</sub> populations, and F<sub>3</sub> genealogy derived from the crosses between Yumai 66 and the susceptible wheat cultivars to powdery mildew isolate E09

世代 Generation	亲本或组合 Parent or cross	抗病株 Resistant plants	感病株 Susceptible plants	比例 Ratio	$\chi^2$	
F <sub>2</sub>	豫麦 66 Yumai 66	10	0			
	铭贤 169 Mingxian 169	0	10			
	Lovrin 13	0	10			
	ND3509	0	10			
	豫麦 66/ Lovrin 13 Yumai 66/Lovrin 13	87	38	3:1	2.98	
	豫麦 66/铭贤 169 Yumai 66/Mingxian169	106	47	3:1	2.67	
豫麦 66/ND3509 Yumai 66/ND3509	110	35	3:1	0.06		
世代 Generation	亲本或组合 Parent or cross	纯合抗病家系 Homozygous resistant plants	杂合抗病家系 Heterozygote resistant plants	纯合感病家系 Homozygous susceptible plants	比例 Ratio	$\chi^2$
F <sub>2,3</sub>	豫麦 66/铭贤 169 Yumai 66/Mingxian169	18	60	26	1:2:1	3.69
	豫麦 66/ND3509 Yumai 66/ND3509	30	70	23	1:2:1	3.15

In F<sub>2</sub> generation,  $\chi^2_{0.05} = 3.84$ ; in F<sub>3</sub> generation,  $\chi^2_{0.05} = 5.99$ .

### 2.2 豫麦 66 抗白粉病基因(PmYm66)的分子标记与定位

在豫麦66/ND3509抗、感池间筛选了832对小麦SSR引物,最终只获得1个与抗白粉病基因连锁的多态性SSR标记Xksum193。用中国春缺体、双端体和染色体缺失系进一步验证,Xksum193被定位于2AL染色体末端染色体区间(Bin 0.85~1.0)上(图1)。通过筛选该染色体区间的EST标记,发现3个EST标记,EST48、EST83和EST84在抗、感间存在多态性,并与抗病基因连锁(图2)。采用豫麦66/铭贤169 F<sub>2</sub>代(107个单株)和豫麦66/ND3509 F<sub>2</sub>代(142个单株)两个分离群体进行连锁分析,构建了豫麦66抗白粉病基因及其连锁分子标记的连锁图谱,抗病基因和分子标记的顺序为EST48-EST83 (EST84)-Xksum193-PmYm66,其中EST83和EST84来源于同一个EST序列,被定位于同一个位点上(图3)。

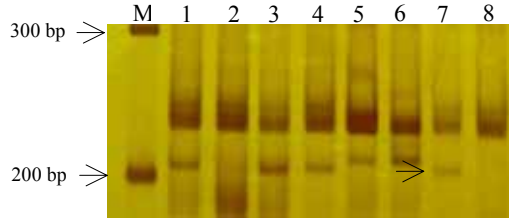


图1 *Xksum193*在中国春及其缺体-四体、双端体和缺失系的扩增结果

Fig. 1 Amplification pattern of *Xksum193* in Chinese Spring and its nullisomic-tetrasomics, ditelosomics and deletion lines

M : marker ; 1 : 中国春 ; 2 : N2A-T2B ; 3 : N2B-T2A ; 4 : N2D-T2B ; 5 : Dt2AS ; 6 : Del2AL-1 ; 7 : 抗病株 ; 8 : 感病株。箭头示多态性扩增产物。

M: Marker; 1: Chinese Spring; 2: N2A-T2B; 3: N2B-T2A; 4: N2D-T2B; 5: Dt2AS; 6: Del2AL-1; 7: resistance; 8: susceptible.

The arrow indicates the polymorphic amplification product.

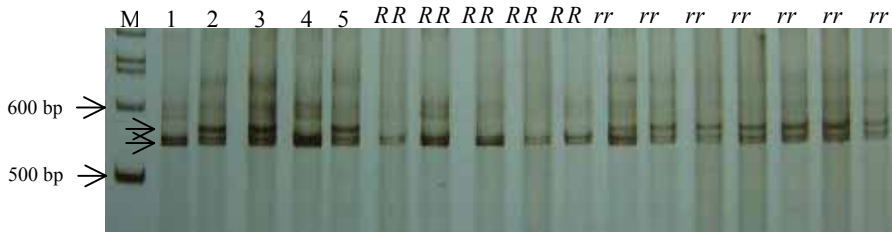


图2 多态性标记EST83在F<sub>2</sub>代群体抗、感单株上的PCR扩增结果

Fig. 2 Polymorphic DNA fragments detected by marker EST83 in F<sub>2</sub> population

M : Marker ; 1 : 豫麦66 ; 2 : ND 3509 ; 3 : 铭贤169 ; 4 : 抗病株 ; 5 : 感病株 ; RR : 纯合抗病单株 ; rr : 纯合感病单株。箭头示多态性扩增产物。

M: Marker; 1: Yumai 66; 2: ND 3509; Mingxian 169; 4: resistant plant; 5: susceptible plant; RR: homozygous resistant plants; rr: homozygous susceptible plants. The arrows indicate the polymorphic amplification products.

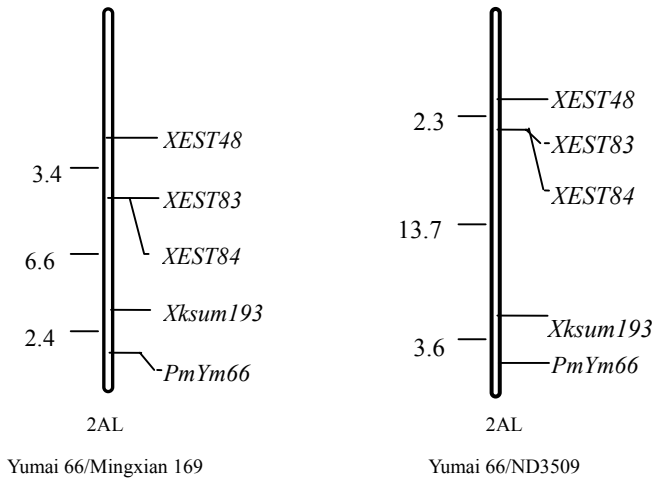


图3 豫麦66抗白粉病基因在豫麦66/铭贤169和豫麦66/ND3509群体上的分子标记连锁图谱

Fig. 3 Linkage maps constructed using Yumai 66/Mingxian169 and Yumai 66/ND3509 mapping populations

用中国春缺体-四体、缺失系和双端体材料对3个EST标记进行物理定位，EST48、EST83和EST84均定位在2AL上。

### 2.3 豫麦66白粉病抗性的分小种鉴定

鉴于已经定位于小麦2AL染色体臂上的抗白粉病基因已经有*Pm4a*和*Pm4b*，用21个采自我国不同麦区的小麦白粉病菌对这两个抗病复等位基因和豫麦66的抗谱进行比较。豫麦66对部分白粉病菌生理小种的反应型与*Pm4a*(Khapli/8Cc)和*Pm4b*(Armada)的反应型存在差异(表3)。与*Pm4a*载体品种Khapli/8Cc相比，豫麦66对E02、E15、E17和E32小种的反应型有差异，其他17个小种反应型相同。豫麦66对E06、E31和E32小种的反应型与*Pm4b*载体品种Armada存在差异，另外18个小种的反应型均相同。

表3 豫麦66与Pm4a和Pm4b对21个白粉病菌生理小种的反应型差异

Table 3 Reaction types of Yumai 66, Pm4a, and Pm4b to 21 isolates of *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* from China

品种(系) Cultivar(line)	Pm gene	白粉菌小种 <i>Blumeria graminis</i> f. sp. <i>tritici</i> isolate										
		E01	E02	E03	E05	E06	E07	E09	E11	E13	E15	E16
豫麦 66 Yumai 66	<i>PmYm66</i>	0 ;	0	0 ;	0 ;	0 ;	0	0	0 ;	0	0	4
Armada	<i>pm4b</i>	0 ;	0 ;	0 ;	0 ;	3	0 ;	0 ;	0 ;	0 ;	0 ;	4
Khapli/8Cc	<i>pm4a</i>	0 ;	4	1+0 ;	0 ;	0 ;	0 ;	0	0 ;	0 ;	4	4
Chancellor		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4

品种(系) Cultivar(line)	Pm gene	白粉菌小种 <i>Blumeria graminis</i> f. sp. <i>tritici</i> isolate										
		E17	E18	E20	E21	E23	E25	E26	E30	E31	E32	
豫麦 66 Yumai 66	<i>PmYm66</i>	0	4	4	4	0 ;	0 ;	4	0	4	3	
Armada	<i>pm4b</i>	1+0 ;	4	4	4	0 ;	0 ;	4	0 ;	0 ;	0 ;	
Khapli/8Cc	<i>pm4a</i>	4	4	4	4	0 ;	0 ;	4	0	3	0	
Chancellor		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	

反应型：0、0；、1、2、3、4 分别表示免疫、过敏性坏死、高抗、中抗、中感和高感。

Infection types: 0: no visible colony or other symptoms of infection; 0;: hypersensitive reaction, white or yellow necrotic lesions with short mycelium; 1: light mycelium with very few conidiospores; 2: medium mycelium with a few conidiospores, severity is lower than 5%; 3: medium to strong mycelium with many conidiospores, many but separate lesions; 4: strong mycelium with many conidiospores, leaves full of lesions. More than one number indicates different infection types presented in various plants.

### 3 讨论

#### 3.1 豫麦 66 抗白粉病基因的抗病性

以“洛夫林类”(Lovrin 10和Lovrin 13)为代表的T1BL·1RS易位系具有高产、广适应性等特点，曾经作为白粉病、条锈、叶锈和秆锈病的抗源在我国小麦育种和生产中发挥了重大作用。但目前这类易位系所携带的Pm8、Yr9和Lr26基因在我国主要麦区已“丧失”对白粉病和锈病菌优势小种的抗性，国际上新出现的秆锈病菌生理小种Ug99又对Sr31基因具有专化致病性<sup>[16]</sup>。这类易位系的1RS染色体上同时携带黑麦碱(*Sec-1*)位点，导致加工品质一般比较差。因此，目前“洛类”T1BL·1RS易位越来越少地用于新品种培育。豫麦66产量潜力突出，且抗病性和品质均较好。已有报道显示，豫麦66对我国华北和黄淮麦区优势白粉病菌生理小种和加拿大白粉病菌优势小种均表现良好的抗性，但其白粉病抗性基因并不位于易位的黑麦染色体臂上，可能含有不同于来自黑麦的Pm8、Pm17和Pm20等抗白粉病基因<sup>[5,15]</sup>，但具体的染色体位置却不甚明确。本研究在3个以豫麦66为抗性亲本组配的杂交组合中均发现其F<sub>1</sub>代苗期表现中度-高度的白粉病抗性，未发现F<sub>1</sub>代苗期表现高感的类型，并证明来源于豫麦66号的苗期抗白粉病基因为显性单基因。但牛吉山等<sup>[17]</sup>用离体叶段培养法鉴定豫麦66抗病基因是一个小种专化的隐性抗白粉病基因。这可能是两项研究采用不同白粉菌单孢菌系进行抗病性鉴定所引起的。

#### 3.2 豫麦 66 抗白粉病基因 PmYm66 的分子标记定位及其与 2AL 上其他 Pm 基因的关系

利用BSA法，找到了与豫麦66抗白粉病基因PmYm66连锁的多态性SSR标记Xksum193，进而将其定位于2AL染色体末端0.85~1.00染色体区间。本研究筛选了832对小麦SSR引物，只发现1个多态性SSR标记Xksum193与抗这个白粉病基因连锁，表明所用的定位材料在2AL染色体末端区域多态性较低。随后又从定位于2AL染色体末端0.85~1.00染色体区间的小麦EST序列中，筛选出EST48、EST83和EST84等3个多态性标记，说明EST标记在该区域具有相对高的多态性，在基因定位和连锁图谱构建中可能具有重要应用潜力。在两个作图群体上构建的抗白粉病基因连锁图谱在遗传距离上存在一定差异，这可能与所用的两个感病亲本遗传背景不同有关，抗白粉病基因与其连锁的分子标记在该基因组区域重组率存在差异。

小麦2AL染色体上已经正式命名的抗白粉病基因有Pm4a和Pm4b，分别来源于栽培二粒小麦(*T. dicoccum*)和波斯小麦(*T. carthlicum*)。Ma等<sup>[18]</sup>首先发现了与Pm4a共分离的RFLP标记Xbcd1231-2A和Xcdo678-2A，之后又将BCD1231转化为STS标记<sup>[19]</sup>。随后，Hartl等<sup>[20]</sup>利用AFLP技术建立了Pm4a基因的连锁图谱。来自波斯小麦PS5的抗白粉病基因PmPS5A也定位于2AL染色体臂上，与SSR标记Xgwm356相距10.2 cM，根据其在染色体上的位置及其与其他分子标记的位置关系，推测PmPS5A可能是Pm4基因位点的成员<sup>[21]</sup>。从硬粒小麦DR147中鉴定出的抗白粉病基因PmDR147，通过分子标记也将其定位于2AL染色体上，并

与SSR标记Xgwm311和Xgwm382连锁。从连锁图谱看，PmDR147可能是与已知Pm4基因位点不同的抗白粉病基因或Pm4位点新等位基因<sup>[22]</sup>。最近在小麦农家品种ZB90中发现了一个广谱抗白粉病基因，也被定位于2AL染色体上，从遗传连锁图谱的距离推测这个基因可能是与Pm4不同的抗白粉病基因<sup>[23]</sup>。Wang等<sup>[6]</sup>认为豫麦66所携带的抗白粉病基因可能是位于2AL的Pm4b。我们采用与上述2AL染色体臂上抗白粉病基因连锁的SSR和STS标记检测豫麦66中的抗白粉病基因，但在豫麦66/铭贤169、豫麦66/ND3509和豫麦66/Lovrin 13这三个抗病性分离群体中均未检测到抗、感植株间的多态性，这可能与豫麦66和3个感病亲本间在该染色体区域的基因组差异较小有关。SSR标记Xksum193在Pm4a(Khapli/8Cc)、Pm4b(Armada)和PmYm66(豫麦66)上的扩增带型相同，无法通过PCR检测区分Pm4a、Pm4b和PmYm66，分子标记连锁图谱表明这三个抗白粉病基因均位于大体相同的染色体区域，但多小种鉴定结果表明PmYm66与Pm4b和Pm4a在几个白粉病菌系上的反应型存在差异。推测这些位于2AL染色体末端的抗白粉病基因非常可能是Pm4基因座位及其附近的抗病基因簇的不同成员，但尚需进一步的等位性测验和采用更多的白粉病菌小种精确鉴定。

豫麦66作为高产、抗病、优质小麦品种已经在生产上推广应用，并被用作亲本材料培育新品种。本研究通过分子标记定位，明确了豫麦66携带的抗白粉病基因所在的染色体位置。Pm4a和Pm4b作为目前仍然有效的主效抗白粉病基因在全国小麦育种单位均有大量的使用，为控制白粉病的危害发挥了重要作用。豫麦66抗白粉病基因的鉴定和分子标记建立为更好地利用这一优良品种资源，实现小麦抗病资源多样化和分子育种奠定了基础。

#### 4 结论

明确了豫麦66携带1个抗白粉病显性单基因，建立了与其连锁的SSR和EST标记，将该抗白粉病基因定位于小麦2AL染色体臂末端区域，为更好地利用这一综合农艺性状优良的小麦品种提供了理论依据。

#### References

- [1] Huang X Q, Röder M S. Molecular mapping of powdery mildew resistance genes in wheat: A review. *Euphytica*, 2004, 137: 203–223
- [2] McIntosh R A, Yamazaki Y, Devos K M, Dubcinsky J, Rogers J, Appels R. Catalogue of gene symbols for wheat. In: Proc 10th Intl Wheat Genet Symp, Paestum, Italy. 2003, Vol. 4, pp 1–47
- [3] 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
- [4] 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
- [5] 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
- [6] 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
- [7] Si Q-M (司权民), Zhang X-X (张新心), Duan X-Y (段鑫瑜), Sheng B-Q (盛宝钦). Identification of physiology race of *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici*. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 1987, 20(5): 64–70 (in Chinese with an English abstract)
- [8] Saghai-Marooif 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
- [9] 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
- [10] Röder M S, Korzun V, Wendehake K, Plaschke J, Tixier M, Leroy P, Ganal M W. A microsatellite map of wheat. *Genetics*, 1998, 149: 2007–2023
- [11] 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
- [12] Gupta P K, Balyan H S, Edwards K J, Isaac P, Korzun V, Röder M, Gautier M F, Joudrier P, Schlatter A R, Dubcovsky J, De la 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
- [13] Yu J K, Dake T M, Singh S, Benschler D, Li W, Gill B, Sorrells M E. Development and mapping of EST-derived simple sequence repeat markers for

hexaploid wheat. *Genome*, 2004, 47: 805–818

- [14] 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
- [15] Lander E S, Green P, Abrahamson J, Barlow A, Daly M J, Lincoln S E, Newburg L. MAPMAKER: an interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations. *Genomics*, 1987, 1: 174–181
- [16] Raloff J. Wheat warning—new rust could spread like wildfire. ScienceNews online. <http://www.sciencenews.org/articles/20050924/food.asp>
- [17] Niu J-S (牛吉山), Wang Y-H (王映红), Zhou Y-L (周益林), Duan X-Y (段霞瑜), Shen T-M (沈天民). Inheritance of wheat powdery mildew resistance in wheat line “Lankao 906”. *Acta Phytopathol Sin* (植物病理学报), 2006, 36(6): 528–533 (in Chinese with an English abstract)
- [18] Ma Z Q, Sorrells M E, Tanksley S D. RFLP marker linked to powdery mildew resistance genes *Pm1*, *Pm2*, *Pm3* and *Pm4* in wheat. *Genome*, 1994, 37: 871–875
- [19] Ma Z Q, Wei J B, Cheng S H. PCR-based markers for the powdery mildew resistance gene *Pm4a* in wheat. *Theor Appl Genet*, 2004, 109: 140–145
- [20] Hartl L, Mohler V, Zeller F J, Hsam S L K, Schweizer G. Identification of AFLP markers closely linked to the powdery mildew resistance genes *Pm1c* and *Pm4a* in common wheat. *Genome*, 1999, 42: 322–329
- [21] Zhu Z D, Zhou R H, Kong X Y, Dong Y C, Jia J Z. Microsatellite markers linked to 2 powdery mildew resistance genes introgressed from *Triticum carthlicum* accession PS5 into common wheat. *Genome*, 2005, 48: 585–590
- [22] Zhu Z D, Kong X Y, Zhou R H, Jia J Z. Identification and microsatellite markers of a resistance gene to powdery mildew in common wheat introgressed from *Triticum durum*. *Acta Bot Sin*, 2004, 46: 867–872
- [23] Yi Y-J (伊艳杰), Hu N (胡楠), Liu H-Y (刘红彦), Wang J-M (王俊美), Wang R (王瑞), Gao S-X (高素霞). Chromosomal location of a new powdery mildew resistance gene in broad-spectrum resistant wheat using microsatellite markers. *J Triticeae Crops* (麦类作物学报), 2007, 27(4): 565–569 (in Chinese with an English abstract)