

# 小麦白粉病抗病新基因 *PmHnk* 的遗传分析和分子标记定位

李春鑫<sup>1,2</sup>, 许为钢<sup>1</sup>, 王根松<sup>1</sup>, 胡琳<sup>1</sup>, 张磊<sup>1</sup>, 张建周<sup>1</sup>, 董海滨<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>河南省农业科学院小麦研究中心, 郑州 450002; <sup>2</sup>南京农业大学作物遗传与种质创新国家重点实验室, 南京 210095)

**摘要:** 【目的】周 98165 对河南省当前流行白粉菌生理小种具有较好的抗性, 并且综合农艺性状优良。明确其抗白粉病基因及遗传特性, 筛选与其紧密连锁的分子标记, 为抗白粉病育种提供抗源和理论支撑。【方法】将周 98165 与中国春杂交、自交、测交, 对双亲及其杂交后代进行苗期鉴定, 用小麦白粉病菌 08B1 进行遗传分析, 利用 SSR、EST-SSR 技术对双亲及抗感池进行筛选和电泳分析, 并结合中国春缺四体材料进行染色体定位。【结果】周 98165 对 3 个白粉菌高毒力小种抗性良好, 其抗病性受 1 对显性核基因控制, 将该基因暂命名为 *PmHnk*。筛选了与 *PmHnk* 连锁的 5 个微卫星标记, 在遗传图谱上的顺序为 Xbarc77、Xgwm547、Xwmc326、Xgwm299、*PmHnk*、Xgwm108, Xgwm299 和 Xgwm108 分别为 *PmHnk* 两侧距离最近的标记, 图距分别为 4.2 cM、5.6 cM, 最远标记 Xbarc77 与 *PmHnk* 图距为 10.6 cM, 并将 *PmHnk* 定位于 3BL。【结论】抗病鉴定、遗传分析结合分子标记分析结果表明, *PmHnk* 是一个白粉病抗病新基因。

**关键词:** 小麦; 白粉病; 微卫星标记; 周 98165; 基因定位

## Molecular Marker Mapping and Genetic Analysis of a Novel Powdery Mildew Resistance Gene *PmHnk*

LI Chun-xin<sup>1,2</sup>, XU Wei-gang<sup>1</sup>, WANG Gen-song<sup>1</sup>, HU Lin<sup>1</sup>, ZHANG Lei<sup>1</sup>, ZHANG Jian-zhou<sup>1</sup>, DONG Hai-bin<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Wheat Research Center, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002; <sup>2</sup>National Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095)

**Abstract:** 【Objective】Powdery mildew is one of the most important diseases of wheat worldwide. Zhou 98165, a winter wheat provided by wheat research center of Henan Academy of Agricultural Sciences, is a novel line which has highly resistant, high yield and excellent comprehensive agricultural characteristics. Inheritance of powdery mildew resistance gene and mapping of that in Zhou 98165 with simple sequence repeat (SSR) markers were studied to formulate efficient resistance gene and strategies for breeding cultivars resistant to powdery mildew. 【Method】F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, BC<sub>1</sub> populations were constructed on the basis of the hybridization between Zhou 98165 and a susceptible wheat variety Chinese Spring. Powdery mildew strains LY2-1, ZZ1-1 and 02B1 were used for the test the resistance and genetic analysis of those populations with the SSR and EST-SSR primers. The location of this gene on chromosome was confirmed by the materials of monosomic CS. 【Result】Genetic analysis of Zhou 98165 indicated that the resistance to powdery mildew race 08B1 was controlled by a single dominant karyon gene, temporarily designated as *PmHnk*. Five SSR markers, Xbarc77, Xgwm547, Xwmc 326, Xgwm299, and Xgwm108 were linked to *PmHnk* as they were all located on chromosome 3BL. *PmHnk*, located on 3BL, closely linked to Xgwm299 and Xgwm108 with genetic distances of 4.2 cM and 5.6 cM, respectively. The farthest marker Xbarc77 was 10.6 cM to *PmHnk*. 【Conclusion】Genetic analysis and resistance identification with powdery mildew isolates to Zhou98165 combined with SSR markers supports the conclusion that the highly resistance gene *PmHnk* is a novel gene for powdery mildew in wheat.

**Key words:** common wheat; powdery mildew; microsatellite marker; Zhou 98165; gene mapping

收稿日期: 2008-11-21; 接受日期: 2009-02-12

基金项目: 国家支撑计划 (2006BAD13B02-09)、国家“863”计划 (2006AA10Z1F5)、中原学者专项基金

作者简介: 李春鑫 (1982—), 男, 河南安阳人, 硕士研究生, 研究方向小麦遗传育种。Tel: 15838068157; E-mail: sssssaa110@163.com。通信作者许为钢 (1958—), 男, 山东莱芜人, 研究员, 研究方向小麦遗传育种。Tel: 0371-65712307; E-mail: xuwg1958@sohu.com

## 0 引言

【研究意义】小麦白粉病是由小麦白粉病菌 (*Blumeria graminis* (DC) Speer f. sp. *Tritici*, Bgt) 所引起的一种气传性真菌病害, 为世界各主要麦区的主要病害之一, 且发病范围日益扩大, 危害程度不断加重, 可引起 13.4%~34% 的产量损失<sup>[1-2]</sup>。选育和使用高效抗病品种被认为是最经济、安全、有效的解决办法。根据 Flor 的“基因对基因”假说, 任何抗病基因都会出现克服其抗性的毒性小种, 反之亦然, 二者呈共进化的关系, 即一个新的抗病基因在经过一段时间的应用以后, 就会有针对它的毒性小种出现, 使其逐渐丧失抗病性, 从而给生产造成严重损失。因此, 发掘新的白粉病抗源已成为目前小麦抗白粉病育种一项非常急迫的任务。【前人研究进展】到目前为止, 国际小麦基因命名委员会共正式命名了来自 39 个位点的 55 个白粉病抗病基因<sup>[3-9]</sup> (*Pm1*~*Pm39*), 其中 30 个抗病基因已找到连锁的分子标记。近年来, 分子标记作图技术发展迅速, 众多的分子标记类型中以 SSR、AFLP 以及由 RFLP 转化的 STS 应用最为广泛, 近几年新发掘的白粉病抗病基因所构建的遗传图谱基本都是应用的这 3 类标记; Liu 等<sup>[10]</sup>利用 SSR 标记 Xgwm159 将 *Pm30* 定位与于 5BS, Perugini 等<sup>[8]</sup>利用 SSR 和 STS 标记将 *Pm37* 定位于 7AL, 且 Xgwm322 和 Xwmc790 分别位于 *Pm37* 两侧, 遗传距离均为 0.5 cM。随着小麦基因组学研究的蓬勃发展, EST 数据库的信息量呈现出指数级增长, 截止 2008 年 11 月小麦 EST 数据库登录的 EST 序列 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/dbEST/index.html>) 已超过 1 250 932 条, 同时 EST-SSR 因具有成本低、特异性好等优点, 已成为 SSR 标记发展的一个新方向。Blanco 等<sup>[7]</sup>利用 EST-SSR、AFLP 将 *Pm36* 定位于 5BL, 并筛选了与 *Pm36* 紧密连锁的 EST-SSR 标记 BJ261635 (0.4 cM)。小麦近缘种属如一粒小麦、二粒小麦、粗山羊草等已成为白粉病新抗病基因非常重要的来源 (*Pm30*~*Pm37*), 这些抗病基因多为质量抗性, 对当前流行的生理小种有较好的抗性。但这类抗源往往与不利的农艺性状相连锁, 作为抗源导入栽培品种时, 后代需要经过多代回交来打破与不利基因的连锁, 有的甚至经过多代回交以后仍无法打破这种连锁, 这在很大程度上制约了此类抗源在育种中的应用。【本研究切入点】周 98165 对白粉病具有优异的抗性, 且自身农艺性状优良, 作为新的白粉病抗源导入小麦品种的难度小,

无不利连锁, 在育种应用方面有较大的优势。【拟解决的关键问题】本试验利用经典遗传学、中国春缺体-四体定位和分子标记方法对周 98165 携带的白粉病抗性新基因进行遗传分析, 明确其遗传规律, 对抗病基因进行定位, 开发与其紧密连锁的分子标记, 以期对白粉病抗病育种提供新的抗源和技术基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

供试小麦材料为周 98165 与中国春 (CS) 的正交和反交  $F_1$  代、 $F_2$  代、 $F_{2,3}$ 、 $BC_1$  代群体, 以及中国春及其缺体-四体系 (nullisomic-tetrasomic lines): N3AT3B、N3AT3D、N3BT3A、N3BT3D、N3DT3A 和 N3DT3B, 抗病对照材料: Aramda (*Pm4b*)、Kavkaz (*Pm8*)、2761-5 (*Pm13*)、京 05-3672-1 (*Pm21*)、齿牙糙 (*Pm24*)、京 05-3539-1 (*Pm30*), 周 98165 的 3 个亲本材料为周麦 12、周麦 13 和豫麦 49。以上材料中, 中国春缺体-四体系由南京农业大学细胞所引自美国堪萨斯州立大学小麦遗传与遗传资源中心, 2761-5 (*Pm13*) 由中国农业科学院贾继增研究员提供。其余材料均由河南省农业科学院小麦研究中心分子育种室提供。抗病鉴定所用小麦白粉病生理小种为 LY2-1、ZZ1-1, 遗传分析所用小麦白粉菌生理小种为 08B1, 以上小种均为河南省高致病力生理小种, 且均经过国内鉴别寄主鉴定, 试验所用菌种分别由河南省农业科学院植保所宋玉立研究员和河南农业大学牛吉山博士提供。

### 1.2 方 法

1.2.1 苗期白粉病抗病性分析 抗病性鉴定采用人工接种方法, 当供试小麦幼苗长至三叶期时用抖粉法接种后置于隔离的接种间内 (温度: 15~20℃/昼、10~15℃/夜, 光照: 14~16 h/h·d<sup>-1</sup>, 光强: 10 000 lx, 相对湿度: 80%) 潜育发病, 待感病对照中国春充分发病后 (7~10 d), 按盛宝钦<sup>[11]</sup>6 级分类法划分抗病分级即: 0, 0; , 1, 2, 3, 4, 其中 0-0; 为免疫, 1 为高抗, 2 为中抗, 3 为中感, 4 为高感。对  $F_2$  后代用卡方检验进行分离比适合度测验, 确定品种所含的抗病基因数目及互作方式。

1.2.2 DNA 提取和抗感池构建 小麦基因组 DNA 的提取采用 CTAB 法<sup>[12]</sup>。在  $F_2$  群体中分别随机选取 10 株抗病植株和 10 株感病株提取 DNA, 各自取等量混合建立抗病池和感病池。

1.2.3 SSR 引物的分析 SSR 引物分别根据 Röder

等<sup>[13]</sup>、Pestsova 等<sup>[14]</sup>、Eujay 等<sup>[15]</sup>、Song 等<sup>[16]</sup>和 SSR 协作组的 536 对 WMC 引物 (<http://wheat.pw.usda.gov/ggpages/SSR/WMC>) 合成, 另外还有河南省农科院小麦研究中心分子育种实验室根据 NCBI 公布的 EST 序列信息合成的 EST-SSR。PCR 反应在 Biometre T1 Thermocycler 上进行。反应体系为 10  $\mu$ l (含 10 $\times$ buffer 1  $\mu$ l, 15 mmol $\cdot$ L<sup>-1</sup> MgCl<sub>2</sub> 1  $\mu$ l, 2 mmol $\cdot$ L<sup>-1</sup> dNTP 1  $\mu$ l, 20 ng $\cdot$  $\mu$ l<sup>-1</sup> 引物 1  $\mu$ l, 1 U *Taq* 酶, 去离子水 3.875  $\mu$ l, 20 ng $\cdot$  $\mu$ l<sup>-1</sup> 基因组 DNA 2  $\mu$ l)。扩增程序为 94 $^{\circ}$ C 变性 3 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 1 min, 50 $^{\circ}$ C、55 $^{\circ}$ C、60 $^{\circ}$ C 复性 1 min, 72 $^{\circ}$ C 延伸 2 min, 40 个循环; 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。扩增产物用 6% 变性聚丙烯酰胺凝胶或 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳, 经硝酸银染色后观察照相。

1.2.4 遗传距离估算和连锁分析 用 JoinMap 3.0 软件计算标记与抗白粉病基因间的遗传距离 (LOD=3.0)。用 Mapdraw<sup>[17]</sup> 软件绘制该基因的遗传连锁图谱。

1.2.5 白粉病抗病基因的染色体定位 根据 SSR 扩增结果, 找到在双亲、抗病池和感病池间具有多态性

的引物, 通过 F<sub>2</sub> 群体对多态性引物进行验证, 利用该引物的定位信息对抗病基因进行定位, 并利用一套中国春的缺体四体 (第三同源群) 对定位结果进行进一步的验证。然后, 结合 Sourdille 等<sup>[18]</sup> 报道的小麦微卫星引物的物理图谱, 对该抗病基因的精细定位进行进一步的分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 抗性鉴定和遗传分析

用河南省的高毒力小麦白粉病菌生理小种 LY 2-1、ZZ 1-1、08B1 对供试材料接菌, 苗期接种结果 (表 1) 表明, 周 98165 对 3 个小种均表现为近免疫或高抗, 这与京 05-3672-1 (*Pm21*) 和京 05-3539-1 (*Pm30*) 的抗病表现一致, 感病品种中国春对以上 3 个小种均表现为高感, 侵染型为 4 型, Chiyacao (*Pm24*) 对 ZZ1-1 抗病, 而感染 LY2-1 和 08B1, 2761-5 (*Pm13*) 则对 3 个小种全部感病。试验结果表明抗病基因 *PmHnk* 与 *Pm21*、*Pm30* 对 3 个菌系抗性水平表现一致, 而与 *Pm13* 抗病表现有差异。

表 1 白粉病抗病材料单小种抗病鉴定结果

Table 1 Resistance identification of powdery mildew resistant materials with *Bgt* isolates

Patho-type	抗病鉴定材料 Sources of resistance identification							
	Zhou 98165	Chinese spring	Aramda	Kavkaz	2761-5	京 05-3672-1	Chiyacao	京 05-3539-1
LY2-1	R	S	S	S	S	R	S	R
ZZ1-1	R	S	S	S	S	R	R	R
08B1	R	S	S	S	S	R	S	R
基因 Gene	<i>PmHnk</i>	<i>Pm11</i>	<i>Pm4b</i>	<i>Pm8</i>	<i>Pm13</i>	<i>Pm21</i>	<i>Pm24</i>	<i>Pm30</i>

R: 抗病; S: 感病 R: Resistant; S: Susceptible

周 98165 接种菌系 08B1 后表现为近免疫, 侵染型为“0;”, 感病亲本中国春接种 08B1 后表现为高感, 侵染型为 4 型, 对 F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub>、F<sub>2.3</sub> 和 BC<sub>1</sub> 接种进行遗传分析, 结果表明 (表 2); 20 株正交 F<sub>1</sub> 和 25 株反交 F<sub>1</sub> 全部抗病, 15 株 BC<sub>1</sub> 有 9 株抗病、7 株感病,  $\chi^2$  检验符合 1:1 的分离比, 在周 98165 与中国春的 F<sub>2</sub> 正交群体 (278 株) 中, 其中抗病 219 株、感病 59 株, 经  $\chi^2$  检验符合 1 对显性基因控制的 3R:1S 的分离比例 ( $\chi^2=\{3:1\}=0.8653, P>0.25$ )。对周 98165 与中国春杂交的 193 个 F<sub>2.3</sub> 家系同样接种了菌系 08B1, 结果显示 45 个家系有抗性且不发生抗性分离, 101 个 F<sub>2.3</sub> 家系发生抗性分离, 48 个家系表现感病不分离,  $\chi^2$  检验结果 ( $\chi^2=\{1:2:1\}=1.91, df=2, P=0.38$ )

表明其符合 1:2:1 的显性单基因分离比。这些结果表明周 98165 对 08B1 的白粉病抗性是由 1 对显性基因所控制, 将该基因暂命名为 *PmHnk*。

### 2.2 *PmHnk* 连锁标记的筛选与染色体定位

在小麦 21 条染色体上, 依照 SSR 引物在遗传图谱上的位置, 按图距在每条染色体上选取 10 对 SSR 引物对抗病亲本周 98165、感病亲本中国春、抗性池和感病池进行 PCR 扩增, 发现有 2 对 SSR 引物 Xgwm108 和 Xgwm 299 在抗感池和双亲间均扩增出多态性, 比对这 2 对引物的遗传图谱发现其均位于染色体 3B 的长臂, 然后根据这 2 对引物所在的遗传图谱中的位置<sup>[19]</sup> 在其周围选取 26 对 SSR 引物进行筛选, 又发现 3 对引物 Xgwm 547、Xbarc77 和 Xwmc326 也

表 2 08B1 对周 98165 的白粉病抗病遗传分析结果

Table 2 Inheritance analysis of line Zhou 98165 for powdery mildew resistance to 08B1

亲本组合 Cross	侵染型 Infection type						理论比值 Expected ratio	$\chi^2$ 值* Chi-square value
	0	0;	1	2	3	4		
周 98165 (P <sub>1</sub> )	8	22						
Zhou 98165(P <sub>1</sub> )								
中国春 (P <sub>2</sub> )								
Chinese Spring(P <sub>2</sub> )								
P <sub>1</sub> /P <sub>2</sub> F <sub>1</sub>		20						
F <sub>2</sub>		219				59	3 : 1	0.8653
F <sub>2,3</sub>		45+101 <sup>R</sup>				48+101 <sup>S</sup>	1 : 2 : 1	1.912
F <sub>1</sub> /P <sub>2</sub> BC <sub>1</sub>	2	7				7	1 : 1	0.0625
P <sub>2</sub> /P <sub>1</sub>		25						

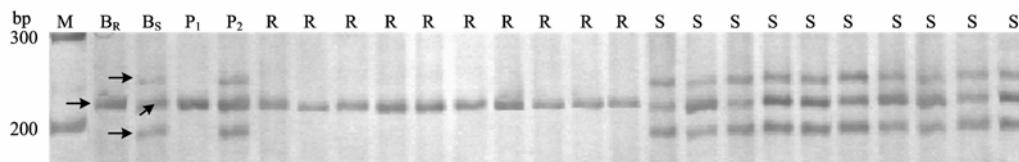
R: 45 个纯合抗病系和 101 个发生分离的 F<sub>2,3</sub> 家系中的抗性株; S: 48 个纯合感病系和 101 个发生分离的 F<sub>2,3</sub> 家系中的感病株; \*: 在显著水平为 0.05 时的  $\chi^2$  值

R: The powdery mildew resistant individuals in 45 homozygotic lines and 101 segregated F<sub>2,3</sub> plants; S: The powdery mildew susceptible individuals in 48 homozygotic lines and 101 segregated F<sub>2,3</sub> plants; \*: Chi-square test results under the significant level of 0.05

在双亲及抗感池间存在多态性。

为进一步验证所获引物与抗白粉基因之间的遗传连锁性, 在 F<sub>2</sub> 群体中随机选取抗、感各 10 个单株进一步筛选引物, 最终 5 个标记在抗病亲本、抗病池、F<sub>2</sub> 抗病株与感病亲本、感病池、F<sub>2</sub> 感病株间均可稳定扩增出一致的 DNA 多态性片段, 这 5 个标记分别是 Xgwm108、Xgwm299、Xbarc77、Xgwm547 与 Xwmc326 (图 1)。根据已发表的小麦微卫星标记遗传图谱

Xgwm299、Xgwm108、Xbarc77 和 Xwmc326 均只在 3BL 有单一扩增位点, 因此判断 *PmHMK* 也应位于 3BL, 这一结论通过一套中国春第 3 同源群的缺体-四体材料得到了验证 (图 2), 同时根据 Sourdille 等<sup>[18]</sup> 关于微卫星引物在染色体上物理定位的报道和 Qi 等<sup>[20]</sup> 所绘制的小麦染色体 Bin map, Xgwm299 和 Xgwm547 一同被定位于 3BL 的 3BL7-0.63-1.00 区域, 由此推断, 基因 *PmHMK* 的物理位置很可能也在 3BL7-



箭头所示为多态性 DNA 片段。M: DNA marker; B<sub>R</sub>: 抗病池; B<sub>S</sub>: 感病池; P<sub>1</sub>: 抗病亲本周 98165; P<sub>2</sub>: 感病亲本中国春; R: F<sub>2</sub> 群体抗病单株; S: F<sub>2</sub> 群体感病单株

Arrows indicate polymorphic DNA fragment. M: DNA molecular weight marker; B<sub>R</sub>: Resistant bulk; B<sub>S</sub>: Susceptible bulk; P<sub>1</sub>: Resistant parent Zhou 98165; P<sub>2</sub>: Susceptible parent Chinese spring; R: Resistant individual of the F<sub>2</sub> plants; S: Susceptible individual of the F<sub>2</sub> plants

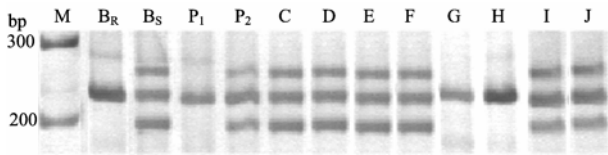
图 1 微卫星标记 GWM299 对周 98165×CS F<sub>2</sub> 代部分单株的扩增结果Fig. 1 Microsatellite marker GWM299 amplified against genomic DNA of F<sub>2</sub> individual plants for Zhou 98165×CS

0.63-1.00。

### 2.3 遗传连锁性分析

为检测目的基因位点与所获得标记位点的遗传连锁性, 将 F<sub>2</sub> 后代 278 个单株分别提取基因组 DNA。利用这些连锁标记进一步对这 278 个单株进行分析, 以确定抗白粉病基因 *PmHMK* 与标记位点之间的连锁关系,

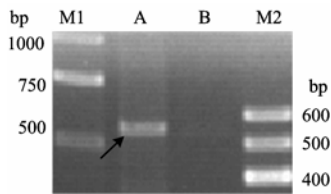
所有标记引物对群体的扩增结果见表 3, 用 Joinmap 3.0 软件对抗白粉病基因 *PmHMK* 与 SSR 位点连锁分析结果表明, 这些标记分布于抗白粉病基因 *PmHMK* 的两侧, 在遗传图谱上的排列顺序为: 近端体-Xbarc77-Xgwm547-Xwmc326-Xgwm299-*PmHMK*-Xgwm108-近着丝点 (图 4)。



M: DNA marker; B<sub>R</sub>: 抗病池; B<sub>S</sub>: 感病池; P<sub>1</sub>: 抗病亲本周 98165; P<sub>2</sub>: 感病亲本中国春; C: 2761-5; D: 中国春; E: N3AT3B; F: N3AT3D; G: N3BT3A; H: N3BT3D; I: N3DT3A; J: N3DT3B  
M: DNA molecular weight marker; B<sub>R</sub>: Resistant bulk; B<sub>S</sub>: Susceptible bulk; P<sub>1</sub>: Resistant parent Zhou 98165; P<sub>2</sub>: Susceptible parent Chinese Spring; C: 2761-5; D: Chinese Spring; E: N3AT3B (nullisomic3A-tetrasomic3B); F: N3AT3D; G: N3BT3A; H: N3BT3D; I: N3DT3A; J: N3DT3B

图 2 SSR 标记 GWM299 在双亲、抗感池、2761-5 和中国春缺体-四体系间的扩增结果

Fig. 2 The results of SSR marker GWM299 amplified in the parent, Resistant bulk, Susceptible bulk, 2761-5 and nullisomic-tetrasomic lines of Chinese Spring



M1: DNA marker (DL2000); A: 抗病亲本周 98165; B: B: 2761-5 (*Pm13*); M2: DNA marker I. 箭头所指为 *Pm13* 特异条带: 570bp  
M1: DNA molecular weight marker (DL2000); A: Resistant parent Zhou 98165 (*PmHnk*); B: 2761-5 (*Pm13*); M2: DNA marker I. Arrowhead indicated the polymorphic band specific for *Pm13*: 570 bp

图 3 *Pm13* SCAR 标记对周 98165(*PmHnk*)、2761-5(*Pm13*) 的扩增结果

Fig. 3 PCR products amplified with *Pm13* SCAR primer of the Zhou 98165(*PmHnk*), and 2761-5(*Pm13*)

表 3 微卫星标记对抗白粉病基因 *PmHnk* F<sub>2</sub> 分离群体的扩增结果

Table 3 Amplification results of microsatellite markers linked with powdery mildew resistant gene *PmHnk* in F<sub>2</sub> population

抗病性 Resistance	Xgwm299		Xgwm108		Xgwm547		Xwmc326		Xbarc77	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
抗病 Resistant	216	3	211	8	214	5	211	8	214	5
感病 Susceptible	9	50	8	51	17	42	13	46	39	20

A: 抗病亲本周 98165 所出现的多态性片段类型; B: 感病亲本中国春所出现的多态性片段类型

A: Polymorphic fragment pattern of resistant parent Zhou 98165; B: Polymorphic fragment pattern of susceptible parent Chinese spring

新的白粉病抗病基因。另外在白粉病抗病鉴定方面, *PmHnk* 与 *Pm13* 也有明显不同, *Pm13* 在接种 LY2-1、ZZ1-1 和 08B1, 个白粉病生理小种后, 侵染型分别为 4、4 和 3, 而同样条件下 *PmHnk* 侵染型分别为 0; 、

1 和 0; , 二者的抗病性有明显的不同。因此可以判定 *PmHnk* 与 *Pm13* 不是同一或等位基因, 同时由于目前定位于 3B 上的白粉病抗病基因只有 *Pm13*, 因此可以确定周 98165 所携带 *PmHnk* 为一新的白粉病抗病基

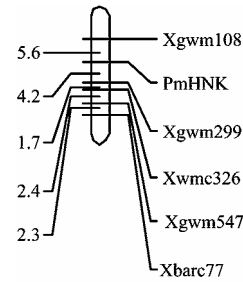


图 4 抗白粉基因 *PmHnk* 的微卫星标记连锁图谱

Fig. 4 Linkage map of powdery mildew resistant gene *PmHnk* in relation to microsatellite markers on chromosome 3BL in wheat

### 3 讨论

本研究利用 3 个河南省当前小麦白粉病流行小种评价了周 98165 的抗病性, 证实其所携带抗病基因对目前河南白粉菌有很强的抗性。利用经典遗传学分析, 发现周 98165 对 08B1 的抗病性是由 1 对显性核基因所控制, 用 SSR 标记将其定位于染色体 3BL 上, 并用 3B 的缺体-四体进行了验证。到目前为止, 定位于 3B 上的已正式命名的白粉病抗病基因只有一个即 *Pm13*。 *Pm13* 是由 Ceoloni<sup>[21]</sup> 于 1992 年, 在小麦近缘属高大山羊草 (*Aegilops longissima*) 中发现并转入普通小麦的, 共有 3BL:3SS-3S、3DL:3SS-3S 2 种转入类型。在试验中用与 *PmHnk* 连锁的 5 个标记对 2761-5 (*m13*) 行扩增, 结果显示 *Pm13* 不与 5 个标记中的任何一个相连锁, 表明 *Pm13* 与 *PmHnk* 不在同一位点, 是 2 个不同的白粉病抗病基因, 即 *PmHnk* 为一

因。为了进一步证实试验结果, 利用与 *Pm13* 共分离的 SCAR 标记<sup>[22]</sup>对周 98165 与 2761-5 (*Pm13*) 进行了分子鉴定(图 3), 结果表明周 98165 不含有抗白粉病基因 *Pm13*, 即 *PmHnk* 和 *Pm13* 不是同一基因。由于周 98165 自身农艺性状比较优异, 也尚未看到该抗病基因与不利的基因连锁, 因此 *PmHnk* 及该基因的载体周 98165 具有较好的育种利用价值。

小麦由于其基因组十分庞大(17 Gb), 对其基因组的研究相对滞后于其他作物, 造成小麦基因的克隆十分的困难, 目前 55 个小麦白粉病抗病基因中只有 *Pm3b* 被成功克隆。Sourdille 等<sup>[18]</sup>将 Xgwm299 和 Xgwm547 定位于 3BL 的近端体附近, 按照 Qi 等<sup>[20]</sup>提出的染色体 Bin 区位划分, *PmHnk* 也应位于 3BL7-0.63-1.00 及其附近区域。根据 Gill 的研究结果<sup>[23-24]</sup>, 在染色体某些区段如基因富集区段, 或是端体附近, 物理距离和遗传距离的比率是比较低的 (<200 kb/cM), 如果目的基因位于这些区域, 对以后的克隆工作较为有利。最近 Paux 等<sup>[25]</sup>已完成了小麦染色体 3B 的测序和物理图谱构建工作, 这对定位在该染色体上的基因的克隆将会有较大的帮助。

## 4 结论

对河南省当前流行的白粉菌生理小种表现高抗至免疫的小麦品系周 98165 携带一个新的抗白粉病基因 *PmHnk*, 该基因定位于 3BL。*PmHnk* 与 5 个微卫星标记 Xgwm108、Xgwm299、Xbarc77、Xgwm547 和 Xwmc326 紧密连锁, 可用于小麦白粉病抗病育种。

## References

- [1] Conner R L, Kuzyk A D, Su H. Impact of powdery mildew on the yield of soft white spring wheat cultivars. *Canadian Journal of Plant Science*, 2003, 83: 725-728.
- [2] GriVey C A, Das M K, Stromberg E L. Effectiveness of adult plant resistance in reducing grain yield loss to powdery mildew in winter wheat. *Plant Disease*, 1993, 77: 618-622.
- [3] Huang X Q, Röder M S. Molecular mapping of powdery mildew resistance genes in wheat: a review. *Euphytica*, 2004, 137: 203-223.
- [4] Zhou 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.
- [5] 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.). *Theoretical and Applied Genetics*, 2006, 113: 1497-1504.
- [6] 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.). *Theoretical and Applied Genetics*, 2007, 114: 1451-1456.
- [7] Antonio Blanco, 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. *Theoretical and Applied Genetics*, 2008, 117: 135-142.
- [8] Perugini L D, Murphy J P, Marshall D, Brown-Guedira G. *Pm37*, a new broadly effective powdery mildew resistance gene from *Triticum timopheevi*. *Theoretical and Applied Genetics*, 2008, 116: 417-425.
- [9] Lillemo M, Asalf B, Singh R P, Huerta-Espino J, Chen X M, He Z H, Bjørnstad 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. *Theoretical and Applied Genetics*, 2008, 116: 1155-1166.
- [10] Liu Z Y, Sun Q X, Ni Z F, Nevo E. Molecular characterization of a novel powdery mildew resistance gene *Pm30* in wheat originating from wild emmer. *Euphytica*, 2002, 123: 21-29.
- [11] 盛宝钦, 周益林, 王剑雄, 段霞瑜, 向齐君. 河北省和北京地区小麦白粉病菌寄主范围研究. 华北农学报, 1994, 9 (1): 101-107.  
Sheng B Q, Zhou Y L, Wang J X, Duan X Y, Xiang Q J. Studied the host range of the wheat powdery mildew in Beijing and Hebei province. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 1994, 9 (1): 101-107. (in Chinese)
- [12] 王关林, 方宏筠. 植物基因工程(第2版). 北京: 科学出版社, 2001: 744.  
Wang G L, Fang H J. *Gene Engineering of Plant* (2nd ed). Beijing: Science Press, 2001: 744. (in Chinese)
- [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 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, Wolters P, Powell W. Isolation of EST-derived microsatellite markers for genotyping the A and B genomes of wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 2002, 104: 399-407.
- [16] 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. *Theoretical and Applied Genetics*, 2005, 110(3): 550-560.
- [17] 刘仁虎, 孟金陵. MapDraw, 在 Excel 中遗传图谱的宏. *遗传*, 2003, 25(3): 317-321.
- Liu R H, Meng J L. MapDraw: A microsoft excel macro for drawing genetic linkage maps based on given genetic linkage data. *Hereditas*, 2003, 25(3): 317-321. (in Chinese)
- [18] 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.). *Functional & Integrative Genomics*, 2004, 4: 12-25.
- [19] Somers D J, Isaac P, Edwards K. A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 2004, 109: 1105-1114.
- [20] Qi L L, Echalié B, Chao S, Lazo G R, Butler G E, Anderson O D, Akhunov E D, Dvořák J, Linkiewicz A M, Ratnasiri A, Dubcovsky J, Bermudez-Kandianis C E, Greene R A, Kantety R, La Rota C M, Munkvold J D, Sorrells S F, Sorrells M E. A chromosome bin map of 16, 000 expressed sequence tag loci and distribution of genes among the three genomes of polyploid wheat. *Genetics*, 2004, 168: 701-712.
- [21] Ceoloni C, Signore G D, Ercoli L, Donini P. Locating the alien chromatin segment in common wheat-*Aegilops longissima* mildew resistance transfers. *Hereditas*, 1992, 116: 239-245.
- [22] Cenci A, D'Onofrio 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. *Theoretical and Applied Genetics*, 1999, 98: 448-454.
- [23] Gill K S, Gill B S, Endo T R, Boyko E V. Identification and high-density mapping of gene-rich regions in chromosome group 5 of wheat. *Genetics*, 1996a, 143: 1001-1012.
- [24] Gill K S, Gill B S, Endo T R, Taylor T. Identification and high-density mapping of gene-rich regions in chromosome group 1 of wheat. *Genetics*, 1996, 144: 1883-1891.
- [25] Paux E, Sourdille P, Salse J, Saintenac C, Choulet F, Leroy P, Korol A, Michalak M, Kianian S, Spielmeier W, Lagudah E, Somers D, Kilian A, Alaux M, Vautrin S, Bergès H, Eversole K, Appels R, Safar J, Simkova H, Dolezel J, Bernard M, Feuillet C. A physical map of the 1-Gigabase bread wheat chromosome 3B. *Science*, 2008: 322, 101-104.

(责任编辑 毕京翠)

## 中国科技核心期刊、全国优秀农业期刊《植物遗传资源学报》征订启事

《植物遗传资源学报》是中国农业科学院作物科学研究所和中国农学会主办的学术期刊, 为全国中文核心期刊、中国科技核心期刊、全国优秀农业期刊。该刊为中国科技论文统计源期刊、中国科学引文数据库来源期刊(核心期刊)、中国核心期刊(遴选)数据库收录期刊、中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊, 又被《中国生物学文摘》和中国生物学文献数据库、中文科技期刊数据库收录。据中国期刊引证研究报告统计, 2007年度《植物遗传资源学报》影响因子达0.914。

报道内容为大田、园艺作物, 观赏、药用植物, 林用植物、草类植物及其一切经济植物的有关植物遗传资源基础理论研究、应用研究方面的研究成果、创新性学术论文和高水平综述或评论。诸如, 种质资源的考察、收集、保存、评价、利用、创新, 信息学、管理学等; 起源、演化、分类等系统学; 基因发掘、鉴定、克隆、基因文库建立、遗传多样性研究。

本刊为双月刊, 大16开本, 128页。定价20元, 全年120元。各地邮局发行, 邮发代号: 82-643。国内刊号CN11-4996/S, 国际统一刊号ISSN1672-1810。

本刊编辑部常年办理订阅手续, 如需邮挂每期另加3元。

地址: 北京市中关村南大街12号 中国农业科学院《植物遗传资源学报》编辑部(邮编: 100081)

电话: 010-82105794, 010-82105796(兼传真); E-mail: zwyczyxb2003@163.com, zwyczyxb2003@sina.com