植物学通报 2005, **22** (4): 439~444
Chinese Bulletin of Botany

实 验 简 报

普通小麦 99-2439 中的白粉病抗性遗传①

[1] 牛吉山② [2] 张丽娜 [3] 庄丽芳 [1] 王映红

[1](河南农业大学国家小麦工程技术研究中心 郑州 450002)
[2](西北师范大学生命科学学院 兰州 730070)
[3](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 普通冬小麦品系99-2439在郑州连续4年对田间白粉菌(*Blumeria graminis* sp. *tritici*)表现高抗, 但其抗性基因来源不清。通过染色体C-分带和1RS染色体特异性SCAR标记鉴定, 表明它是一个小麦-黑麦(*Triticum aestivum* - *Secale cereale*)1BL/1RS异易位系。通过对中国春×99-2439杂交F_2代分离群体抗性鉴定和1RS染色体臂检测结果分析, 证明该抗病基因不在1RS染色体臂上。用单孢小麦白粉菌分离株对其抗性遗传进行研究, 结果表明, 99-2439的白粉病抗性由一对小种专化、隐性抗病基因控制。由于携带*Pm5a*的Hope/8Cc对中国的21个小麦白粉菌分离菌株均高度感病, 而99-2439高抗混和白粉菌和5个单孢分离菌株, 所以, 99-2439所携带的抗白粉病基因不同于*Pm5a*。

关键词 小麦, 白粉病, 抗性, 遗传

Inheritance of the Powdery Mildew Resistance in Wheat Line 99-2439

[1]NIU Ji-Shan② [2]ZHANG Li-Na [3]ZHUANG Li-Fang [1]WANG Ying-Hong

[1](*National Engineering and Research Center for Wheat, Henan Agricultural University*, Zhengzhou 450002)
[2](*College of Life Science, Northwest Normal University*, Lanzhou 730070)
[3](*State Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing Agricultural University*, Nanjing 210095)

Abstract Common winter wheat (*Triticum aestivum*) line 99-2439 has shown high resistance to *Blumeria graminis* sp. *tritici* in the field in Zhengzhou for 4 years. However, the origin of its powdery mildew resistance genes was unclear. We identified 99-2439 as a *Triticum aestivum* - *Secale cereale* 1BL/1RS alien translocation line by chromosome C-banding and 1RS-specific SCAR marker detection. Powdery mildew evaluation and 1RS detection of an F_2 segregation population derived from the cross between Chinese Spring wheat and line 99-2439 demonstrated that the powdery mildew resistance gene was located on the 1RS chromosome arm. Inheritance study using a single spore isolate of *B. graminis* showed that line 99-2439 harbored a race-specific recessive powdery mildew resistance gene. Because 99-2439 was highly resistant to

①河南省杰出青年科学基金(0212000800)和河南省科技厅重点攻关项目(123014400)资助。
②通讯作者。Author for correspondence. E-mail: jsniu@263.net
收稿日期: 2004-06-23 接受日期: 2004-12-24 责任编辑: 白羽红

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t24-099

mixed fungi and 5 single spore isolates of *B. graminis*, the powdery mildew resistance gene of 99-2439 was different from *Pm5a* of Hope/8Cc, which was highly susceptible to all 21 isolates of *B. graminis* in China.

Key words Wheat (*Triticum aestivum*), Powdery mildew, Resistance, Inheritance

包括真菌病在内的植物病害是植物生长发育的主要限制因素。在中国和世界许多国家，由小麦白粉菌引起的白粉病是普通小麦(*Triticum aestivum*)最严重的叶部病害。利用抗病品种是控制这种病害最有效的方法。到目前为止，已报告了31个抗白粉病基因(*Pm1~Pm31*) (Singrün *et al*., 2003; McIntosh *et al*., 2003)，其中大多数来源于小麦的野生亲缘物种。由于小麦白粉菌群体中毒性基因的出现和频繁变化，抗病基因常常被新的白粉菌菌株所克服。因此，不断鉴定新的抗性基因，并从外源物种向普通小麦转移抗性基因就显得很有价值(Shi *et al*., 1998)。

根据我们的调查，我国小麦品种中的大多数抗白粉病基因，在黄淮麦区已经被克服，包括*Pm2*、*Pm4a*、*Pm2+4a*、*Pm5*、*Pm6*、*Pm2+6*和*Pm8*，其中有些在几年前还有效(刘金元和刘大钧，2000)。目前，已知的抗白粉病基因很少有在黄淮麦区表现抗性的，其中*Pm21*(Chen *et al*., 1995)仍具有很好的抗性。

在普通小麦遗传背景中的抗性基因可以被直接利用，但几乎已经没有新的抗白粉病基因存在于普通小麦中。冬小麦品系99-2439高抗白粉病，但其抗性基因来源不清。该品系突出的抗性特征引起了我们的注意。为了研究99-2439中白粉病抗性基因的来源和遗传，我们用染色体C-分带和SCAR分子标记检测技术分析了该品系的染色体核型和基因组中的外源成分，并用单孢白粉菌菌株分析了抗性遗传规律。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 植物材料 冬小麦(*Triticum aestivum*)品系99-2439是一个育种高代品系，材料引自新疆农业科学院。中国春引自南京农业大学。另外2个小麦-黑麦(*Triticum aestivum-Secale cereale*)1BL/1RS异易位系豫麦21和兰考906-4分别引自河南农业大学和兰考农华种业有限公司。豫麦21、中国春与99-2439间的杂交在温室完成。

1.1.2 白粉菌 单孢白粉菌(*Blumeria graminis*)菌株03B01是2003年在郑州分离的，用于实验室小麦抗性分离群体单株白粉病抗性鉴定。另外还分离保存了毒性较强的04B01、04B02、04B03和04B04等菌株。

1.2 方法

1.2.1 白粉病抗性鉴定 用离体叶段法进行小麦白粉病抗性鉴定。当小麦幼苗第1片叶充分展开时，截取3~4 cm长的叶段，按编号置于用40 mg·L^{-1} 6-BA(6-Benzylaminopurine)溶液浸湿的滤纸上，在培养皿中18~20 ℃保温，每天12小时光照。按盛宝钦等(1994)描述的6级反应型进行记录。其中，0级代表没有任何可见症状；0; 级代表有坏死斑；1级为菌斑小于1 mm，菌斑透绿；2级代表菌斑小于1 mm，菌斑不透绿；3级代表菌斑大于1 mm，菌斑之间互不相连；4级代表菌斑大于1 mm，菌斑之间相连。通常0~2级为抗病，3、4级为感病。接种白粉菌后第10天记录鉴定结果。对表现为0、0；级和级别不清的样品重新进行鉴定。在本研究中，0和0; 级为抗病，1~4级为感病。

1.2.2 C-分带 用处于有丝分裂中期的根尖细胞进行C-分带分析。小麦种子在20 ℃下发芽。当根尖长至约1 cm长时剪下根尖。收集的根尖在冰水中处理20~22小时后，用卡诺

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t24-099

固定液固定3~7天(Chen *et al*., 1995)。按照Gill等(1991)描述的程序进行C-分带。

1.2.3 PCR 用小量提取法提取分离群体单株基因组DNA。用特异性SCAR标记检测1RS染色体臂(王二明等, 1999)。本研究中所使用的PCR引物是NOR-R1: P1, 5'-GCATGTAGCGACTAACTCATCG-3'; P2, 5'-CCCAGTTTTCCATGTCGC-3'。1RS染色体臂的特异性扩增片段约400 bp长。详细程序如王祖华等(2004)的描述。

2 结果分析

2.1 白粉病抗性分析

2000~2004年, 小麦品系99-2439在田间一直表现对白粉病的高度抗性。为了深入研究其对白粉病的抗性, 在实验室多次对该品系的白粉病抗性进行了鉴定。在鉴定中与同为小麦-黑麦1BL/1RS异易位系的抗白粉病小麦品系兰考906-4和感病品种豫麦21等进行了比较。表1是用03B01单孢白粉菌菌株对几个小麦品系及99-2439与感病品种豫麦21和中国春杂交F_1植株进行白粉病抗性鉴定的结果。结果可见, 99-2439对小麦白粉病近免疫, 抗性很好。99-2439与感病品种豫麦21和中国春杂交的F_1植株均对03B01菌株表现高度感病, 表明99-2439携带的抗白粉病基因为隐性。

99-2439在田间对混和白粉菌表现高抗。为进一步研究其抗性, 用03B01、04B01、04B02、04B03和04B04等5个单孢白粉菌分离株对其抗性进行了鉴定, 结果表明99-2439高抗这5个分离株, 而感病对照中国春的反应型均为4级, 高感。

2.2 染色体C-分带分析

为了检测小麦品系99-2439中是否有外源物种染色体存在, 用染色体C-分带技术对99-2439根尖细胞有丝分裂中期的核型进行了分析。结果检测到小麦-黑麦1BL/1RS异易位染色体, 证明99-2439为小麦-黑麦1BL/1RS异易位系(图1)。除1RS染色体臂以外, 没有检测到明显的其他外源染色体。同时用1RS染色体臂的特异性SCAR分子标记检测了99-2439中1RS的存在, 验证了染色体C-分带分析结果。

2.3 白粉病抗性遗传

为了研究小麦品系99-2439中的白粉病抗性遗传规律, 配置了感病品种中国春和豫麦21与抗病品系99-2439间的杂交组合。不携带任何抗病基因的中国春和感病品种豫麦21作母本。白粉病抗性鉴定结果表明(表1), 2个组合的杂交F_1植株对03B01菌株均表现高感, 证明99-2439中的白粉病抗性由隐性基因控制。

用03B01单孢白粉菌菌株对中国春×99-2439杂交组合的F_2分离群体进行了白粉病抗性鉴定(表2)。在42个F_2分离群体植株中, 10株抗病, 32株感病, 抗/感分离比符合1:3的单隐性基因分离的理论值。卡方检测结果为P值大于0.80, 符合单基因隐性遗传模型。这一结果证明小麦品系99-2439的白粉病抗性是由一对小种专化的隐性抗病基因控制的。

表1 几个小麦品系及其杂种的白粉病抗性鉴定结果

Table1 Resistance evaluation of powdery mildew disease among wheat lines and their hybrids

Wheat line	Karyotype	*Pm* gene	Reaction type
99-2439	1BL/1RS	Unknown; recessive	0
Chinese Spring wheat	AABBDD	Null	4
Yumai21	1BL/1RS	*Pm8*; dominant	4
Lankao906-4	1BL/1RS	Unknown	0~1
Chinese Spring wheat × 99-2439			4
Yumai21 × 99-2439			4

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t24-099



图1 小麦品系99-2439的染色体C-分带结果(箭头示1BL/1RS异易位染色体, 未见明显的其他外源染色体)

Fig.1 The result of chromosome C-banding of wheat line 99-2439(arrows indicate the 1BL/1RS translocation chromosomes, no other obvious alien chromosomes were observed)

2.4 抗性基因与1RS染色体臂的关系

为了研究99-2439中抗病基因与1RS染色体臂之间的关系, 用1RS上的特异性SCAR分子标记对上述分离群体单株中的1RS染色体臂进行了检测(表2)。若抗性基因位于1RS染色体臂上, 则所有抗病单株都应检测到1RS染色体臂, 而感病植株中有2/3应检测到1RS染色体臂。若抗病基因位于1RS染色体臂之外, 则在抗病植株和感病植株中均应有3/4的植株检测到1RS染色体臂。结果在10株抗病植株中检测到有8株携带1RS染色体臂, 在32株感病植株中有23株携带1RS染色体臂。按3/4植株携带1RS染色体臂的预期值进行卡方测验, 抗病植株和感病植株群体中的*P*值分别大于0.70和0.60, 很好地符合3∶1的分离模型, 证明99-2439中的抗白粉病基因位于1RS染色体臂之外。

3 讨论

本研究结果证明小麦品系99-2439是一个小麦-黑麦1BL/1RS异易位系, 携带一个小种专化的隐性抗白粉病基因, 并进一步确定该抗病基因不在1RS染色体臂上。由于Hope/8Cc携带的*Pm5a*抗白粉病基因在我国已经丧失抗性, 对我国的21个白粉菌菌株的反应型均为4级, 即高度感病 (王祖华等, 2004) , 而99-2439连续4年在田间高抗白粉病, 用5个单孢白粉菌菌株鉴定, 均表现高抗, 所以, 99-2439所携

表2 中国春×99-2439杂交组合F_2分离群体白粉病抗性鉴定和1RS染色体检测结果

Table 2 Powdery mildew evaluation and 1RS detection in the F_2 population derived from the cross of Chinese Spring wheat and line 99-2439

Susceptible plants		Resistant plants		Total plants
With 1RS	Without 1RS	With 1RS	Without 1RS	
23	9	8	2	42

表3 小麦隐性抗白粉病基因

Table 3 Recessive powdery mildew resistance genes in wheat

Gene	Chromosome	Origin	Variety	Reference
Pm5	7BL	*Triticum dicoccum*	Hope	Lebsock, 1974
Pm5a	7B	*T. dicoccum*	Hope, Selpek	Hsam *et al.*, 2001
Pm5b (*Mli*)	7B		Ibis, Kormoran	Hsam *et al.*, 2001
Pm5c	7B	*T. sphaeroccum*	Kolandi	Hsam *et al.*, 2001
Pm5d	7B	*T. aestivum*	IGV1-455	Hsam *et al.*, 2001
Pm9	7AL	*T. aestivum*	Normandie	Bennett, 1984
Pm26	2BS	*T. dicoccoides*	TTD140	Rong *et al.*, 2000

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t24-099

带的抗白粉病基因与 *Pm5a* 不同。

到目前为止, 正式报告的绝大多数小麦抗白粉病基因为显性基因, 只有 *Pm5*、*Pm9* 和 *Pm26* 位点为隐性抗病基因(表 3)。在这 3 个位点上共有6个等位基因, 分别来源于普通小麦、栽培二粒小麦、野生二粒小麦和印度圆粒小麦。

通过染色体C-分带在99-2439中检测到一对1BL/1RS异易位染色体, 没有检测到其他明显的外源染色体。然而, 是否还有小的外源遗传物质存在, 仍难以确定。进一步的分析将99-2439的抗白粉病基因排除在1RS染色体臂之外。抗性分析又证明该抗病基因与 *Pm5a* 不同, 但其确切来源仍不清楚。 然而, 99-2439 的白粉病抗性很好。目前, 黄淮麦区播种的大多数小麦品种均高感白粉病。在所调查的品种中, 仅兰考 906-4 高抗白粉病。本研究为有效利用99-2439这一优良抗源, 培育抗白粉病小麦新品种, 提供了有用的信息。这一品系还是研究小麦隐性抗白粉病机制的好材料, 如可用于隐性抗白粉病基因分离、基因结构分析和功能研究等。目前, 我们已经从99-2439中分离到1个与小麦类受体蛋白激酶基因*LRK10* (Feuillet *et al*., 1997)高度同源(94%相同)的cDNA克隆(GenBank登录号: AY584533)和1个与大麦*Mlo*高度同源(95%相同) 的 cDNA 克隆(GenBank 登录号: AY584534)。*Mlo*是大麦白粉病抗性的一个关键负调控基因, 该基因产物的缺失将导致对大麦白粉病的广谱抗性(Büschges *et al*., 1997)。从99-2439中分离的这些克隆可能代表了与小麦抗病有关的基因。

参 考 文 献

刘金元, 刘大钧 (2000) 小麦白粉病抗性基因研究进展. 植物病理学报, **30:** 289-295

盛宝钦, 周益林, 王剑雄, 段霞瑜, 向齐君 (1994) 河北省和北京地区小麦白粉病寄主范围研究. 华北农学报, **9:** 101-107

王二明, 邢宏燕, 张文俊, 文玉香, 魏荣瑄 (1999) 黑麦1R染色体特异性PCR引物的分子证据. 植物学报, **41:** 603-608

王祖华, 牛吉山, 郭天财, 张丽娜, 沈天民 (2004) 小麦主栽品种中的1RS分布和兰考90(6)系列白粉病新抗源. 西北植物学报, **24:** 1216-1220

Bennett FGA (1984) Resistance to powdery mildew in wheat: a review of its use in agriculture and breeding programmes. *Plant Pathology*, **33:** 279-300

Büschges R, Hollricher K, Panstruga R, Simons G, Wolter M, Frijters A, van Daelen R, van der Lee T, Diergaarde P, Groenendijk J, Töpsch S, Vos P, Salamini F, Schulze-Lefert P (1997) The barley *Mlo* gene: a novel control element of plant pathogen resistance. *Cell*, **88:** 695-705

Chen PD, Qi LL, Zhou B, Zhang SZ, Liu DJ (1995) Development and molecular cytogenetic analysis of wheat-*Haynaldia villosa* 6VS/6AL translocation lines specifying resistance to powdery mildew. *Theoretical & Applied Genetics*, **91:** 1125-1128

Feuillet C, Schachermayr G, Keller B (1997) Molecular cloning of a new receptor-like kinase gene encoded at the *Lr10* disease resistance locus of wheat. *The Plant Journal*, **11:** 45-52

Gill BS, Friebe B, Endo TR (1991) Standard karyotype and nomenclature system for description of chromosome bands and structural aberrations in wheat (*Triticum aestivum*). *Genome*, **34:** 830-839

Hsam SLK, Huang XQ, Zeller FJ (2001) Chromosome location of genes for resistance to powdery mildew in common wheat (*Triticume aestivum* L. em Thell.) 6. Alleles at the *Pm5* locus. *Theoretical & Applied Genetics*, **102:** 127-133

Lebsock KL, Briggle LW (1974) Gene *Pm5* for resistance to *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici* in Hope wheat. *Crop Science*, **14:** 561-563

McIntosh RA, Devos KM, Dubcovsky J, Morris CF, Rogers WJ (2003) Catalogue of gene symbols for wheat: 2003 Supplement. http://wheat.pw.usda.gov/

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t24-099

ggpages/wgc

Rong JK, Millet E, Manisterski J, Feldman M (2000) A new powdery mildew resistance gene: introgression from wild emmer into common wheat and RFLP- based mapping. *Euphytica*, **115:** 121-126

Shi AN, Leath S, Murphy JP (1998) A major gene for powdery mildew resistance transferred to common wheat from mild einkorn wheat. *Phytopathology*, **88:** 144-147

Singrüm CH, Hsam SLK, Hartl L, Zeller FJ, Mohler V (2003) Powdery mildew resistance gene *Pm22* in cultivar Virest is a member of the complex *Pm1* locus in common wheat (*Triticum aestivum* L. em Thell.). *Theoretical & Applied Genetics*, **106:** 1420-1424

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t24-099