

网络出版时间: 2026-04-20

网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/61.1359.s.20260417.1653.002>

小麦抗白粉病基因 *PmHYM* 的精细定位与功能标记开发

林芝欣^{1, 2, 3}, 陈雨心^{1, 2, 3}, 亢宁宁^{1, 2, 3}, 陈芳^{1, 2, 3}, 许峰¹, 付必胜^{2, 3}, 吴纪中^{2, 3}

(1. 安徽科技工程大学农学院, 安徽滁州 233100; 2. 生物育种钟山实验室, 江苏南京 210014;

3. 江苏省农业科学院种质资源与生物技术研究所/江苏省农业生物学重点实验室, 江苏南京 210014)

摘要: 由禾本科布氏白粉菌小麦专化型 (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*, *Bgt*) 引起的小麦白粉病严重影响小麦的产量与品质, 挖掘新的抗白粉病基因并开发功能标记对小麦抗病分子育种具有重要意义。本研究先以红蚰麦为抗病亲本、宁麦资 119 为感病亲本构建 F₂ 遗传分离群体, 整合抗性鉴定表型数据、诊断性分子标记开发与重组体分析, 对小麦抗白粉病基因 *PmHYM* 进行精细定位; 通过序列比对、染色体分选测序、表达模式及拷贝数检测, 解析候选基因的序列特征; 基于功能 SNP 开发 KASP 标记, 通过回交转育评估基因育种潜力。结果表明, *PmHYM* 精细定位至 7BL 染色体的 *Xmp1410*~*Xmp1396* 标记之间, 0.5 cM 遗传区间内, 对应中国春参考基因组的 310 kb 物理区间, 该区间预测有 2 个卷曲螺旋-核苷酸结合-富亮氨酸重复 (coiled-coil nucleotide-binding leucine-rich repeat type, CNL) 类候选基因; 红蚰麦携带的这 2 个候选基因序列与复壮 30 的完全一致; 红蚰麦与复壮 30 对白粉菌生理小种 *Bl16* 抗谱存在差异, 该差异与基因序列、拷贝数变异无关; 开发了 *PmHYM* 高通量诊断性 KASP 分子标记 *Xmp1394*, 可快速追踪 *PmHYM*; 获得了携带 *PmHYM* 的转育植株, 农艺性状与轮回亲本相比无明显差异, 具备较高的育种利用潜力。

关键词: 小麦白粉病; 遗传标记; KASP 标记

中图分类号: S512.1; S330

文献标识码: A

文章编号: 1009-1041(2026)07-0885-12

Fine Mapping and Development of Functional Markers for the Powdery Mildew Resistance Gene *PmHYM* in Wheat

LIN Zhixin^{1, 2, 3}, CHEN Yuxin^{1, 2, 3}, KANG Ningning^{1, 2, 3}, CHEN Fang^{1, 2, 3},
XU Feng¹, FU Bisheng^{2, 3}, WU Jizhong^{2, 3}

(1. Anhui Science and Technology University, Chuzhou, Anhui 233100, China; 2. Zhongshan Biological Breeding Laboratory, Nanjing, Jiangsu 210014, China; 3. Institute of Crop Germplasm and Biotechnology/Jiangsu Provincial Key Laboratory of Agrobiobiology, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing, Jiangsu 210014, China)

Abstract: Wheat powdery mildew, caused by *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* (*Bgt*), severely influences wheat yield and grain quality. Mining novel powdery mildew resistance (*Pm*) genes and developing functional markers is of great significance for molecular breeding of disease-resistant wheat. In this study, an F₂ segregating population was first constructed using Hongyoumai as the resistant parent and Ningmaizi 119 as the susceptible parent. By integrating phenotypic data from resistance identification, diagnostic molecular marker development, and recombinant analysis, the wheat powdery mildew resistance gene *PmHYM* was finely mapped. Subsequently, sequence characteristics of the candidate genes were analyzed through sequence alignment, flow sorting and chromosome sequencing, expression pattern analysis, and copy number variation detection. Finally, KASP markers were developed

收稿日期: 2025-12-12 修回日期: 2026-04-07

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31971889); 生物育种钟山实验室项目 (ZSBBL-KY2023-02-1); 江苏省重点研发计划 (现代农业) 项目 (BE2022346)

第一作者 E-mail: 2429298377@qq.com (林芝欣)

通讯作者 E-mail: xuf@ahstu.edu.cn (许峰); fbs1006@126.com (付必胜)

based on functional SNP, and the breeding potential of the gene was evaluated via backcross breeding. The results showed that *PmHYM* was fine-mapped to a 0.5 cM genetic interval between markers *Xmp1410* and *Xmp1396* on chromosome 7BL, corresponding to a 310 kb physical interval in the Chinese Spring reference genome. Two coiled-coil nucleotide-binding leucine-rich repeat (CNL)-type proteins were predicted within this region. The sequences of these two genes in Hongyoumai were identical to those in Fuzhuang 30. The difference in the resistance spectrum to *Bgt* isolate *B16*, between Hongyoumai and Fuzhuang 30 was independent of gene sequence variations or copy number variations. A high-throughput diagnostic KASP marker *Xmp1394* for *PmHYM* was successfully developed, enabling rapid tracking of *PmHYM*. Backcross-derived lines carrying *PmHYM* exhibited no significant differences in agronomic traits compared with the recurrent parent, suggesting a high potential for breeding application.

Keywords: *Blumeria graminis*; Genetic marker; KASP marker

小麦 (*Triticum aestivum* L.) 是中国的主要粮食作物之一, 其安全生产对于维护国家粮食稳定供应和社会安定至关重要。由禾本科布氏白粉菌小麦专化型 (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*, *Bgt*) 引起的小麦白粉病会造成小麦 10%~15% 的产量损失, 严重时减产超过 50%^[1]。在小麦大田生产中, 化学防治是比较常用的防治手段, 但长期使用化学药剂不仅会对生态环境造成污染, 而且会诱发白粉病菌抗药性的快速提升。与此相对, 发掘抗病基因并将其用于选育抗病品种是最经济、最环保的防控措施^[2]。由于小麦白粉菌株的快速变异, 抗病基因极易被新出现的白粉病菌克服, 导致其抗病性减弱或丧失^[3]。因此, 不断从小麦资源中筛选抗病新种质、挖掘抗白粉病新基因、开发功能标记, 是小麦抗病育种的核心任务。

迄今为止, 已报道的小麦抗白粉病基因/数量性状位点 (quantitative trait locus, QTL) 超过 140 个, 其中包括 69 个正式命名的基因 (*Pm1*~*Pm69*) 以及几十个暂时命名的基因^[4]。随着现代基因组学技术的高速发展, 已克隆了 *Pm1*^[5]、*Pm21*^[6-7]、*Pm24*^[8]、*Pm26*^[9]、*Pm37*^[10]、*Pm38*^[11]、*Pm46*^[12]、*Pm68*^[13] 等 23 个白粉病抗病基因。除了 *Pm4*^[14]、*Pm13*^[15]、*Pm24*^[8]、*Pm36*^[16]、*Pm38*^[11]、*Pm46*^[12] 和 *Pm57*^[17] 外, 其余基因均属于卷曲螺旋-核苷酸结合-富亮氨酸重复型 (coiled-coil nucleotide-binding leucine-rich repeat type, CNL), 即 N 端卷曲螺旋 (coiled-coil domain, CC) 结构域、NB-ARC-亚型 (nucleotide binding-APAF-1, R proteins, CED-4 domain) 结构域和 C 端富亮氨酸 (leucine-rich repeat domain, LRR) 结构域。

其中的部分基因存在 2 个 CNL 基因互作发挥抗病功能的现象, 如 *Pm5e*^[18]、*Pm26*^[9]、*Pm68*^[13] 等。

利用流式细胞仪分选染色体, 可以从复杂的基因组中将单个染色体分离出来, 从而降低测序分析的复杂性。但是除了小麦 3B 染色体^[19] 相对容易分离外, 其他染色体的分离纯度较低^[20], 难以达到预期。使用微卫星簇进行荧光标记, 可以将 DNA 含量相近的染色体进行区分和分离^[21-22], 显著提高小麦染色体的有效分离。将该技术与二代测序 (next-generation sequencing, NGS) 相结合, 不仅有利于标记开发, 而且可以用于基因的快速克隆。如使用该方法分离了簇毛麦染色体臂 4VS^[23]、5VS^[24] 和 6VS^[25], 同时开发出特异分子标记, 并快速克隆了 *Pm2a*^[26]、*Pm4*^[14]。

Pm5 位点是小麦 7BL 染色体上重要的抗白粉病位点, 包含多个等位基因。谢菁忠等^[7] 通过图位克隆成功分离了抗白粉病基因 *Pm5e*, 该基因编码一个 CNL 蛋白, 其包含一个不完整的 CC 结构域、一个 NB 结构域和一个 LRR 结构域。值得注意的是, *Pm5d*、*PmH*、*PmBYYT*、*PmTm4*、*Mixbd* 和 *MIMZ* 的核苷酸序列与已克隆的 *Pm5e* 完全一致, 另有 16 份小麦地方品种同样携带 *Pm5e*。此外, 小麦地方品种短秆芒和小麦品系 AL11 携带的显性抗白粉病基因 *PmDGM*^[27] 和 *PmAL11*^[28] 同样位于 *Pm5* 位点, PCR 结果显示短秆芒和 AL11 等均携带 *Pm5e*。尽管目前已明确上述材料如 PI83395 (*Pm5d/Pm5e*)、红蜷芒 (*PmH/Pm5e*)、短秆芒等均携带 *Pm5e* 基因, 但不同小麦材料间的抗谱差异以及基因显隐性分化的潜在机制仍不清楚。本实验室前期在地方品种红

小麦中鉴定到 1 个隐性抗白粉病基因 *PmHYM*, 该基因对鉴定的 19 个生理小种中的 18 个表现免疫至高抗, 通过分子标记定位将其初步定位于 *Xmp925~Xmp1158* 标记区间内, 与标记 *Xmp1207* 共分离^[29]。本研究拟对 *PmHYM* 进行精细定位、候选基因分析、抗谱差异验证和功能标记开发, 以进一步评估该基因的育种潜力。

1 材料与方法

1.1 植物材料

以抗白粉病小麦地方品种红小麦为父本, 感病品种宁麦资 119^[30] 为母本, 构建了一个包含 3 045 个单株的 F_2 遗传群体, 用于 *PmHYM* 精细定位。以红小麦作为供体亲本, 宁麦资 119 作为轮回亲本, 用于 *PmHYM* 的回交转育。选取 458 份小麦材料(116 份育成品种、33 份引进品种、138 份高代品系和 171 份小麦地方品种)用于功能标记的诊断性检测(表 1); 以不携带 *Pm5e* 的地方品种苏麦 3 号作为白粉病感病对照, 携带 *Pm5e* 的复壮 30 为抗病对照, 用于抗谱差异性鉴定。

1.2 白粉病抗性鉴定

采用苗期人工接种法, 将宁麦资 119/红小麦的 F_2 群体、抗感亲本及上述 458 份材料置于发芽盒中浸泡, 待露白后移至 50 孔的穴盘中, 其中亲本及 458 份小麦材料每份选取 6 粒露白的种子播种, 将穴盘放入 15~22 °C、相对湿度为 80%~90% 的人工气候室, 每天光照 14 h, 以苏麦 3 号作为感病对照。生长至第一叶完全展开后, 用白粉菌生理小种 *B03*^[29] 的新鲜分生孢子对所有幼苗进行接种。利用白粉菌生理小种 *B16*^[29] 接种红小麦、复壮 30 以及宁麦资 119/红小麦 F_2 群体的重组体, 区分红小麦与复壮 30。抗性级别鉴定(IT)参照 0~4 级评分标准^[31]。

1.3 DNA 提取与分子标记分析

采用 CTAB 法提取小麦基因组 DNA^[32], 基于初定位区间(7B: 716 057 635~719 397 639 bp)结合中国春参考基因组序列开发简单重复序列(SSR)标记。下载对应区间的中国春小麦 7BL 染色体基因组序列, 采用 Tandem Repeats Finder 软件来评估 SSR 基序, 利用 Macvector V8.0 (Accelrys, UK)在其两端设计引物(表 2)。PCR 体系 10 μ L: DNA 1 μ L, 引物各 0.2 μ L, 2 $\times$ Taq Plus Master Mix 5 μ L(北京擎科生物工程有限公

司), ddH₂O 3.6 μ L。PCR 扩增程序: 94 °C 预变性 3 min; 94 °C 变性 30 s, 50~60 °C 退火 40 s, 72 °C 延伸 40 s, 35 次循环; 72 °C 延伸 5 min, 4 °C 保存。扩增产物用 8% 聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)进行分离, 采用银染法进行染色显影。KASP 标记使用 Hydrocycler-16 水浴锅热循环仪(LGC Genomics, Hoddesdon, Herts, UK)进行 KASP 标记反应, 使用 PHER Astar 高端酶标仪(LGC Genomics)进行荧光检测。

1.4 精细定位与候选基因筛选

利用侧翼标记 *Xmp925*、*Xmp1158* 对 F_2 群体抗病单株进行重组体筛选, 结合新开发的多态性标记对重组体进行基因分型, 计算重组率与遗传距离, 构建遗传图谱。遗传重组率计算公式: $r = (2f_1 + f_2)/2N$ (f_1 为纯合重组体个数, f_2 为杂合重组体个数, N 为筛选单株的总数); 遗传距离计算公式: $d = [\ln(1+2r)/(1-2r)]/4$ 。将遗传标记与中国春参考基因组进行比对, 确定 *PmHYM* 的物理区间、注释区间内的基因并筛选候选基因。

1.5 染色体分选与测序组装

采用流式细胞术结合荧光染色法对红小麦的 7B 染色体进行分选。使用微卫星 GAA 和 4', 6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI)探针标记, pSc119.2、Afa、45S rDNA 探针鉴定染色体的纯度; 利用 Illumina HiSeq 2500 平台测序, SOAPdenovo 软件(版本 2.0)进行组装序列。以构建 7B 染色体序列文库, 比对分析候选基因区域。

1.6 基因表达和拷贝数分析

白粉菌生理小种 *B03* 接种后 0、6、12、24、48 和 72 h 采集叶片样品, 每处理 3 次重复。RNA 提取利用中国南京诺维赞公司的试剂盒(Fasr Pure Universal Plant Total RNA Isolation Kit)反转录利用北京全式金生物科技有限公司的试剂盒[TransScript All-in-One First-Strand cDNA Synthesis SuperMix for qPCR(One-Step gDNA Removal)]。以 *TaActin1* 为内参基因, 在 Bio-Rad CFX96 上使用 qRT-PCR 检测 *Pm5e* 的表达量, 采用 $2^{-\Delta\Delta CT} \pm \text{SEMs}$ (标准误的平均值)来评估基因表达水平。以基因 *TaCO2* 为单拷贝对照, 利用特异性引物检测 *Pm5e* 的拷贝数变异, 参照李根桥等^[33]的方法估算 *PmHYM* 在全基因组的拷贝数。

表 1 本研究所用品种(系)
Table 1 Varieties(lines) used in this study

种质类型 Germplasm type	品种(系)名称(对生理小种 <i>B03</i> 的抗病反应 ¹ / 携带的抗白粉病基因 ²) Cultivar(line) name(resistance response to isolate <i>B03</i> /the powdery mildew resistance gene carried)	来源 Origin
高代品系 Advanced line	BJ1227(S/-), Cp06-63-5-1-3-1-5F9(S/-), GY1179(S/-), 农大 5695(R/-), 农大 5701(R/-), 农大 5715(R/-), 农大 5716(R/-), 农大 5722(R/-), 农大 5729(R/-), 农大 5732(R/-), 农大 5738(S/-), 农大 5744, 农大 5758(S/-), 农大 5764(S/-), 普冰 03-2(-/-), 普冰 04-1(-/-), 普冰 04-2(-/-), 中育 1215(S/-) BJ1227(S/-), Cp06-63-5-1-3-1-5F9(S/-), GY1179(S/-), Nongda 5695(R/-), Nongda 5701(R/-), Nongda 5715(R/-), Nongda 5716(R/-), Nongda 5722(R/-), Nongda 5729(R/-), Nongda 5732(R/-), Nongda 5738(S/-), Nongda 5744(R/-), Nongda 5758(S/-), Nongda 5764(S/-), Pubing 03-2(-/-), Pubing 04-1(-/-), Pubing 04-2(-/-), Zhongyu 1215(S/-)	中国, 北京 Beijing, China
	13YF372.5(S/-), 13YF881(S/-), 13YF899.1(S/-), 14-5061(R/-), 14 初 080(S/-), 14F4-354(R/-), 14YF532(R/-), 15-5437(-/-), 15-6327(-/-), 15A-105(S/-), A0017(R/-), 邯 5672(S/-), 邯 13-4470(S/-), 衡 1588(S/-), 衡 5366(R/-), 衡 11 观 308(S/-), 衡观 4422(S/-), 河农 5183(-/-), 河农 5184(R/-), 河农 5251(R/-), 河农 5261(-/-), 河农 5263(R/-), 河农 6142(-/-), 冀麦 449(R/-), KC-4(04 初 42)(S/-), Ta14-7022(R/-)	中国, 河北 Hebei, China
	13YF372.5(S/-), 13YF881(S/-), 13YF899.1(S/-), 14-5061(R/-), 14 Chu 080(S/-), 14F4-354(R/-), 14YF532(R/-), 15-5437(-/-), 15-6327(-/-), 15A-105(S/-), A0017(R/-), Han 5672(S/-), Han 13-4470(S/-), Heng 1588(S/-), Heng 5366(R/-), Heng 11 Guan 308(S/-), Hengguan 4422(S/-), Henong 5183(-/-), Henong 5184(R/-), Henong 5251(R/-), Henong 5261(-/-), Henong 5263(R/-), Henong 6142(-/-), Jimai 449(R/-), KC-4(04 Chu 42)(S/-), Ta14-7022(R/-)	中国, 河南 Henan, China
	05001-91(洛早 26)(S/-), 洛 07419-1-7-2(R/-), 漯麦 c101(S/-), 天民 346(R/-), 豫农 059186(R/-), 豫农 059915(S/-), 郑麦 08H106(S/-), 郑麦 1325(S/-), 郑麦 5138(S/-), 中育 1327(S/-), 中育 9384(S/-)	中国, 河南 Henan, China
	05001-91(Luohan 26)(S/-), Luo 07419-1-7-2(R/-), Luomai c101(S/-), Tianmin 346(R/-), Yunong 059186(R/-), Yunong 059915(S/-), Zhengmai 08H106(S/-), Zhengmai 1325(S/-), Zhengmai 5138(S/-), Zhongyu 1327(S/-), Zhongyu 9384(S/-)	
	华 2020(S/-), 华 2208(S/-), 华 2720(S/-), 华 2739(S/-) Hua 2020(S/-), Hua 2208(S/-), Hua 2720(S/-), Hua 2739(S/-)	中国, 湖北 Hubei, China
	保麦 1466(S/-), 宁 06103(R/-), 宁红 1120(S/-), 瑞友 315(S/-), 扬 10-66(R/-), 扬 11G4(R/-), 扬 12-25(R/-), 扬 12-24(R/-), 盐麦 0820(R/-), YH0500(S/-) Baomai 1466(S/-), Ning 06103(R/-), Ninghong 1120(S/-), Ruiyou 315(S/-), Yang 10-66(R/-), Yang 11G4(R/-), Yang 12-25(R/-), Yang 12-24(R/-), Yanmai 0820(R/-), YH0500(S/-)	中国, 江苏 Jiangsu, China
	BC16PTJ073(-/-), 济 15 鉴 019(S/-), 济麦 50091(S/-), 济麦 50297(S/-), 济麦 50789(S/-), 济南 15J029(S/-), 济南 15J033(R/-), 济南 15J061(S/-), LS007TL(R/-), LS011TL(-/-), LS018R(S/-), LS141TL(R/-), LS434714(R/-), LS4475(S/-), LS4489(-/-), LS4607(-/-), LS4695(R/-), PB3737(-/-), 山农 410308(S/-), 山农 543752(R/-), 山农 18899(R/-), 山农 Q0202(R/-), SN150395-1(R/-), SN2716(R/-), SN931(S/-), 烟农 187(S/-)	中国, 山东 Shandong, China
	BC16PTJ073(-/-), Ji 15 Jian 019(S/-), Jimai 50091(S/-), Jimai 50297(S/-), Jimai 50789(S/-), Jinan 15J029(S/-), Jinan 15J033(R/-), Jinan 15J061(S/-), LS007TL(R/-), LS011TL(-/-), LS018R(S/-), LS141TL(R/-), LS434714(R/-), LS4475(S/-), LS4489(-/-), LS4607(-/-), LS4695(R/-), PB3737(-/-), Shannong 410308(S/-), Shannong 543752(R/-), Shannong 18899(R/-), Shannong Q0202(R/-), SN150395-1(R/-), SN2716(R/-), SN931(S/-), Yannong 187(S/-)	
	惠麦 819(-/-), JY2014JD-10(S/-), 凌科 686(-/-), NB5118(S/-), NB882(-/-), 农麦 20(-/-), 秦丰 18(R/-), 荣华 336(S/-), 陕 938(S/-), 陕皇 11 号(R/-), 小偃 382(S/-), 西农 0828(S/-), 西农 245(S/-), 西农 581(-/-), 西农 622(S/-), 西农 891(S/-) Huimai 819(-/-), JY2014JD-10(S/-), Lingke 686(-/-), NB5118(S/-), NB882(-/-), Nongmai 20(-/-), Qinfeng 18(R/-), Ronghua 336(S/-), Shaan 938(S/-), Shaanken 11(R/-), Xiaoyan 382(S/-), Xinong 0828(S/-), Xinong 245(S/-), Xinong 581(-/-), Xinong 622(S/-), Xinong 891(S/-)	中国, 陕西 Shaanxi, China
引进种质 Introduce germplasm	沪 95-8(S/-) Hu 95-8(S/-)	中国, 上海 Shanghai, China
	15S1633-9(S/-), 15S2033-5(S/-), 2017P4-2(-/-), CD0151568-9(S/-), CD0151869-2(S/-), CD0151890-7(R/-), CD0161505-2(-/-), CD0161582-5(-/-), 川 35050(S/-), PZ15-12(S/-), PZ-27(S/-), R802(R/-), RC1(S/-), RC35(R/-), RC53(S/-), RC63(S/-), 蜀麦 1607(R/-), 蜀麦 1609(S/-), 蜀麦 1628(S/-), 蜀麦 1743(-/-), 蜀麦 1746(-/-), 蜀麦 1751(-/-), 蜀麦 1774(-/-) 15S1633-9(S/-), 15S2033-5(S/-), 2017P4-2(-/-), CD0151568-9(S/-), CD0151869-2(S/-), CD0151890-7(R/-), CD0161505-2(-/-), CD0161582-5(-/-), Chuan 35050(S/-), PZ15-12(S/-), PZ-27(S/-), R802(R/-), RC1(S/-), RC35(R/-), RC53(S/-), RC63(S/-), Shumai 1607(R/-), Shumai 1609(S/-), Shumai 1628(S/-), Shumai 1743(-/-), Shumai 1746(-/-), Shumai 1751(-/-), Shumai 1774(-/-)	中国, 四川 Sichuan, China
	08-Y-1(R/-), SW8188(S/-), SW038(R/-)	未知 Unknow
	AURORA(S/-), FIELD-H(S/-)	澳大利亚 Austrilia
	Herman(R/-)	德国 Germany
	Navit14(S/-)	法国 France
	Garnet(S/-), Prelude(S/-)	加拿大 Canada
	Amigo(R/-), Atlas66(S/-), CI12633(R/-), Coker983(R/-), Compton(R/-), FHB143(S/-), Marquillo(S/-), Minn. 36-53(R/-), TAM107(S/-), WHEATON(S/-), XZ5-5(S/-)	美国 America
	Betana(S/-)	南非 SouthAfrica
	Compair(S/-), Norm(S/-)	英国 England
	Chokwang(R/-), Corrine(S/-), Elkhart(S/-), Eloilede(S/-), Freedom(S/-), GA-Fleming(S/-), Halt(S/-), JUPATECAR(Lr34+)(S/-), JUPATECAR(Lr34+)(S/-), McGuire(S/-), Qianjiaomai(-/-), Vrgilio(S/-), X359(S/-)	未知 Unknow

(续表 1 Continued table 1)		
种质类型 Germplasm type	品种(系)名称(对生理小种 <i>B03</i> 的抗病反应 ^{1/} 携带的抗白粉病基因 ²⁾ Cultivar(line) name(resistance response to isolate <i>B03</i> /the powdery mildew resistance gene carried)	来源 Origin
育成品种 Cultivar	安徽 11(S/-)、益科麦 5 号(S/-)、皖麦 38(-/-)、皖麦 44(S/-) Anhui 11(S/-), Tianyikemai 5(S/-), Wanmai 38(-/-), Wanmai 44(S/-)	中国, 安徽 Anhui, China
	丰抗 2(S/-)、京红 5 号(-/-)、普冰 2011(S/-)、中植 5 号(S/-) Fengkang 2(S/-), Jinghong 5(-/-), Pubing 2011(S/-), Zhongzhi 5(S/-)	中国, 北京 Beijing, China
	白免 3(R/-)、丰优 3(R/-) Baimian 3(R/-), Fengyou 3(R/-)	中国, 贵州 Guizhou, China
	邯 05-5092(S/-)、邯农 1412(R/-)、衡观 5229(S/-)、河农 085(-/-)、河农 7069(R/-)、冀 5418(S/-) Han 05-5092 (S/-), Hannong 1412 (R/-), Hengguan 5229 (S/-), Henong 085 (-/-), Henong 7069 (R/-), Jimai5418(S/-)	中国, 河北 Hebei, China
	百农 228(-/-)、百农 5822(-/-)、丰德存麦 16 号(S/-)、丰优 5(R/-)、机麦 211(-/-)、漯麦 109(S/-)、洛麦 27(S/-)、漯麦 619(-/-)、漯麦 896(-/-)、漯麦 903(-/-)、新麦 35(S/-)、新麦 36(S/-)、偃展 1 号(R/-)、豫 50(R/-)、豫麦 16 号(S/-)、豫麦 18 号(S/-)、豫麦 2 号(S/-)、豫麦 49(S/-)、郑麦 113(-/-)、郑麦 1342(S/-)、郑麦 1345(S/-)、郑麦 1354(S/-)、郑麦 1860(S/-)、郑麦 366(S/-)、郑麦 7698(S/-)、周麦 11(S/-)、周麦 13(S/-)、周麦 18(S/-)、周麦 37(S/-)、驻麦 256(S/-) Bainong 228(-/-), Bainong 5822(-/-), Fengdecunmai 16(S/-), Fengyou 5(R/-), Jimai 211(-/-), Luo-mai 109 (S/-), Luomai 27 (S/-), Luomai 619 (-/-), Luomai 896 (-/-), Luomai 903 (-/-), Xinmai 35 (S/-), Xinmai 36 (S/-), Yanzhan 1 (R/-), Yu 50 (R/-), Yumai 16 (S/-), Yumai 18 (S/-), Yumai 2 (S/-), Yumai 49 (S/-), Zhengmai 113 (-/-), Zhengmai 1342 (S/-), Zhengmai 1345 (S/-), Zhengmai 1354 (S/-), Zhengmai 1860 (S/-), Zhengmai 366 (S/-), Zhengmai 7698 (S/-), Zhoumai 11 (S/-), Zhoumai 13 (S/-), Zhoumai 18 (S/-), Zhoumai 37 (S/-), Zhumai 256 (S/-)	中国, 河南 Henan, China
	东农 101(-/-) Dongnong 101(-/-)	中国, 黑龙江 Heilongjiang, China
	鄂恩 1 号(S/-)、荆麦 103(S/-) Een 1(S/-), Jingmai 103(S/-)	中国, 湖北 Hubei, China
	淮麦 18(S/-)、淮麦 19(R/-)、淮麦 9467(S/-)、骊英 3 号(S/-)、宁麦 13(S/-)、宁麦 14(-/-)、宁麦 15(S/-)、宁麦 9 号(S/-)、宁麦资 126(R/ <i>Pm2l</i>)、宁糯麦 1 号(S/-)、徐麦 31(S/-)、徐农 0029(S/-)、徐州 24(S/-)、徐州 25(S/-)、扬辐 9798(S/-)、扬辐麦 2 号(S/-)、扬麦 10 号(R/ <i>Pm4a</i>)、扬麦 11(R/ <i>Pm4a</i>)、扬麦 12(R/ <i>Pm2+Pm6</i>)、扬麦 13 号(R/ <i>Pm2+Mld</i>)、扬麦 15(R/-)、扬麦 158(S/-)、扬麦 6 号(S/-)、扬麦 9 号(S/-)、镇麦 12(S/-) Huaimai 18(S/-), Huaimai 19(R/-), Huaimai 9467 (S/-), Liying 3 (S/-), Ningmai 13 (S/-), Ningmai 14 (-/-), Ningmai 15 (S/-), Ningmai 9 (S/-), Ningmaizi 126 (R/ <i>Pm2l</i>), Ningnuomai 1 (S/-), Xumai 31 (S/-), Xunong 029 (S/-), Xuzhou 24 (S/-), Xuzhou 25 (S/-), Yangfu 9798 (S/-), Yangfumai 2 (S/-), Yangmai 10 (R/ <i>Pm4a</i>), Yangmai 11 (R/ <i>Pm4a</i>), Yangmai 12 (R/ <i>Pm2+Pm6</i>), Yangmai 13 (R/ <i>Pm2+Mld</i>), Yangmai 15 (R/-), Yangmai 158 (S/-), Yangmai 6 (S/-), Yangmai 9 (S/-), Zhenmai 12 (S/-)	中国, 江苏 Jiangsu, China
	济麦 22(R/-)、济麦 23(-/-)、济麦 32(-/-)、济南 2 号(S/-)、鲁麦 1 号(S/-)、鲁麦 14(S/-)、鲁麦 15(S/-)、鲁麦 2 号(S/-)、山农 20(R/-)、汶农 28 号(R/-)、汶农 5 号(S/-)、烟农 1212(R/-)、烟农 173(R/-)、洲元 9369(R/-) Jimai 22(R/-), Jimai 23(-/-), Jimai 32(-/-), Jinan 2) (S/-), Lumai 1 (S/-), Lumai 14 (S/-), Lumai 15 (S/-), Lumai 2 (S/-), Shannong 20 (R/-), Wennong 28 (R/-), Wennong 5 (S/-), Yannong 1212 (R/-), Yannong 173 (R/-), Zhouyuan 9369 (R/-)	中国, 山东 Shandong, China
	复壮 30(R/-)、泾阳 60(S/-)、吕早 328(-/-)、秦粮麦 851(-/-)、荣华 188(-/-)、陕 159(S/-)、陕 229(S/-)、西农 109(S/-)、西农 151(R/-)、西农 22(S/-)、西农 38(S/-)、西农 501(S/-)、西农 518(S/-)、西农 836(S/-)、西农 88(S/-)、西农 911(S/-)、西农 9112(S/-)、西农 9871(S/-) Fuzhuang 30(R/-), Jinyang 60(S/-), Lvhan 328(-/-), Qinmai 851(-/-), Ronghua 188(-/-), Shaan 159 (S/-), Shaan 229 (S/-), Xinong 109 (S/-), Xinong 151 (R/-), Xinong 22 (S/-), Xinong 38 (S/-), Xinong 501 (S/-), Xinong 518 (S/-), Xinong 836 (S/-), Xinong 88 (S/-), Xinong 911 (S/-), Xinong 9112 (S/-), Xinong 9871 (S/-)	中国, 陕西 Shaanxi, China
	罗麦 8 号(R/-) Luomai 8(R/-)	中国, 上海 Shanghai, China
	川麦 1546(-/-)、川麦 1557(R/-)、川麦 605(-/-)、川麦 16(S/-)、绵阳 15 号(S/-) Chuanmai 1546(-/-), Chuanmai 1557 (R/-), Chuanmai 605 (-/-), Chuannong 16 (S/-), Mianyang 15 (S/-)	中国, 四川 Sichuan, China
	新曙光 1 号(-/-) Xinshuguang 1(-/-)	中国, 新疆 Xinjiang, China
	云麦 34(-/-) Yunmai 34(-/-)	中国, 云南 Yunnan, China
	丽麦 16(S/-) Limai 16(S/-)	中国, 浙江 Zhejiang, China
	兴育 7 号(R/-) Xingyu 7(R/-)	未知 Unknow
地方品种 Cultivar	红麦(S/-)、玉麦(S/-)、蝉不吱(S/-)、阜阳红(S/-) Hongmai(S/-), Yumai(S/-), Chanbuzhi(S/-), Fuyanghong(S/-)	中国, 安徽 Anhui, China
	红和尚(S/-)、顶籽锤(S/-)、下府麦(S/-)、生美红麦(S/-)、丝籽麦(S/-)、大腹怀(S/-)、赤壳麦(S/-)、太顺麦(S/-)、松蕊麦(四号)(S/-) Hongheshang(S/-), Dingzichui(S/-), Xiafumai(S/-), Shengmeihongmai(S/-), Sizimai(S/-), Dafuhuai (S/-), Chikemai(S/-), Taishunmai(S/-), Songruimai(Si) (S/-)	中国, 福建 Fujian, China
	早小麦(S/-) Zaoxiaomai(S/-)	中国, 甘肃 Gansu, China
	四方小麦(S/-)、番禺小麦(S/-)、四会小麦(S/-) Sifangxiaomai(S/-), Fanyuxiaomai(S/-), Sihui Xiaomai(S/-)	中国, 广东 Guangdong, China
	鱼鳅麦(S/-) Yuqiumai(S/-)	中国, 贵州 Guizhou, China
	白油麦(S/-)、新克早 9 号(S/-) Baiyoumai(S/-), Xinkehan 9 (S/-)	中国, 黑龙江 Heilongjiang, China

(续表1 Continued table 1)

种质类型 Germplasm type	品种(系)名称(对生理小种B03的抗病反应 ¹ / 携带的抗白粉病基因 ²) Cultivar(line) name(resistance response to isolate B03 /the powdery mildew resistance gene carried)	来源 Origin
	红蚰麦(R/-)、蚰子麦(S/-)、中原麦(S/-)、黄瓜先(S/-)、丝黄糙(S/-)、小佛手(S/-)、红壳麦(S/-)、红麦(S/-)、黄瓜先(S/-)、白芒红(S/-)、四月糙(S/-)、蚰子麦(S/-)、小红芒(S/-)、平原50(S/-)、秃头麦(S/-)、白壳笨(S/-)、大穗子红芒红(S/-)、白蚂蚁麦(S/-)、蜈蚣希(S/-)、笨三月黄(S/-)、红疙瘩头(S/-)、五花头(S/-)、白芒二糙(S/-)、小白芒(S/-)、白火麦(S/-)、黄瓜先(S/-)、碱麦(S/-)、蚕条麦(S/-)、秃头(S/-)、四棱白(S/-)、抗碱麦(S/-)、白蚰子头(S/-)、红穗白(S/-)、白壳白(S/-)、蚰子头(S/-)、红芒白(S/-)、小糙红麦(S/-)、小白麦(S/-)、小白麦(S/-)、紫桔红(S/-)、四棱子头(S/-)、老红麦(S/-)、红拳麦(S/-)、竹杆青(S/-)、红穗红(S/-)、白蚕条(S/-)、竹叶青(S/-)、张飞胡(S/-)、白拳芒(S/-)、白大头(S/-)、水涝麦(S/-)、红箭头(S/-)、红芒红(S/-)、笨葫芦头(S/-)、红蚰子(R/Pm5e)、红芒白(R/Pm5e)、浙川红(R/Pm5e)	中国, 河南 Henan, China
	Hongyoumai(R/-), Youzimai(S/-), Zhongyuanmai(S/-), Huangguaxian(S/-), Sihuangcao(S/-), Xiaofoshou(S/-), Hongkemai(S/-), Hongmai(S/-), Huangguaxian(S/-), Baimanghong(S/-), Siyuecao(S/-), Youzimai(S/-), Xiaohongmang(S/-), Pingyuan 50(S/-), Tutoumai(S/-), Baikoben(S/-), Dasuizhong-manghong(S/-), Baimayimai(S/-), Wugongxi(S/-), Bensanyuehuang(S/-), Honggedatou(S/-), Wuhuatou(S/-), Baimangercuo(S/-), Xiaobaimang(S/-), Baihuomai(S/-), Huangguaxian(S/-), Jianmai(S/-), Cantiaomai(S/-), Tutou(S/-), Silengbai(S/-), Kangjianmai(S/-), Baiyouzitou(S/-), Hong-suibai(S/-), Baikebai(S/-), Youzitou(S/-), Hongmangbai(S/-), Xiaocao hongmai(S/-), Xiaobaimai(S/-), Xiaobaimai(S/-), Zijiehong(S/-), Silengzitou(S/-), Laohongmai(S/-), Hongguanmai(S/-), Zhuganqing(S/-), Hongsuihong(S/-), Baicantiao(S/-), Zhuheqing(S/-), Zhangfeihu(S/-), Baiquan-mang(S/-), Baidatou(S/-), Shuiluomai(S/-), Hongjiantou(S/-), Hongmanghong(S/-), Benhulutou(S/-), Hongyouzi(R/Pm5e), Hongmangbai(R/Pm5e), Xichuanhong(R/Pm5e)	
	猪油白(S/-) Zhuyoubai(S/-)	中国, 湖北 Hubei, China
	鱼卡麦(S/-) Yukamai(S/-)	中国, 湖南 Hunan, China
	红长莠(S/-)、白长莠(S/-)、打鼓锤(S/-)、车铜子(S/-)、水里站(S/-)、大风光(S/-)、大方六柱(S/-)、温州麦(S/-)、六柱头洋小麦(S/-)、无锡洋小麦(S/-)、白穗头排麦(S/-)、黄方柱(S/-)、青方柱头(S/-)、鸡子头(S/-)、黄塘麦(S/-)、白丝瓜头(S/-)、有芒长四方(S/-)、红光头(S/-)、紫秆子(S/-)、小红芒(S/-)、黄塘麦(S/-)、菜子黄(S/-)、紫秆红(S/-)、红和尚头(S/-)、火烧百日麦(S/-)、钻头白壳(S/-)、方六柱(S/-)、红芒麦(S/-)、小白头(S/-)、洋拉子(S/-)、六柱头(S/-)、白朝玉(S/-)、水里住(S/-)、火烧天 15-23(S/-)、洋拉子(S/-)、江东门(S/-)、蚕老麦(S/-)	
地方品种 Landrace	Hongchangqi(S/-), Baichangqi(S/-), Daguchui(S/-), Chejianzi(S/-), Shuilizhan(S/-), Dafengguang(S/-), Dafangliuzhu(S/-), Wenzhoumai(S/-), Liuzhutouyangxiaomai(S/-), Wuxi yangxiaomai(S/-), Baisuitoupaimai(S/-), Huangfangzhu(S/-), Qingfangzhutou(S/-), Jizitou(S/-), Huangtangmai(S/-), Baisiguatou(S/-), Youmangchangshifang(S/-), Hongguangtou(S/-), Ziganzi(S/-), Xiaohongmang(S/-), Huangtangmai(S/-), Caizihuang(S/-), Ziganhong(S/-), Hongheshangtou(S/-), Huosbairimai(S/-), Zuantoubaike(S/-), Fangliuzhu(S/-), Hongmangmai(S/-), Xiaobaitou(S/-), Yanglazi(S/-), Liuzhutou(S/-), Baicyu(S/-), Shuilizhu(S/-), Huoshaotian 15-23(S/-), Yanglazi(S/-), Jiangdongmen(S/-), Canlaomai(S/-)	中国, 江苏 Jiangsu, China
	红壳光头(S/-)、秃把麦(S/-) Hongkeguangtou(S/-), Tubamai(S/-)	中国, 江西 Jiangxi, China
	小红皮(S/-)、梁来友白皮小麦(S/-)、毕红穗(S/-) Xiaohongpi(S/-), Lianglaiyoubaipixiaomai(S/-), Bihongsui(S/-)	中国, 内蒙古 Neimenggu, China
	互助红(S/-) Huzhuhong(S/-)	中国, 青海 Qinghai, China
	大粒半芒(S/-) Dalibanmang(S/-)	中国, 山东 Shandong, China
	老齐麦(S/-)、定兴寨(S/-) Laoqimai(S/-), Dingxingzhai(S/-)	中国, 山西 Shaanxi, China
	白麦(S/-)、白麦(S/-)、无芒长四红(S/-)、早火烧头(S/-)、菜子黄(S/-)、本地红麦(S/-)、铜柱头(S/-)、苍蒲子(S/-)、百脚麦(S/-)、丈水红(S/-)、淮麦(S/-)、百脚麦(S/-)、早十日(S/-)、菜子黄(S/-)、红壳蚰子头(S/-) Baimai(S/-), Baimai(S/-), Wumangchangsihong(S/-), Zaohuostou(S/-), Caizihuang(S/-), Bendi-hongmai(S/-), Tongzhutou(S/-), Cangpuzi(S/-), Baijiaomai(S/-), Zhangshuihong(S/-), Huaimai(S/-), Baijiaomai(S/-), Zaoshiri(S/-), Caizihuang(S/-), Hongkejiansitou(S/-)	中国, 上海 Shanghai, China
	和尚麦(R/-)、同家坝小麦(S/-)、早小麦(S/-)、小白麦(S/-)、三月黄(S/-)、换香果(S/-)、红花麦(R/-)、白麦子(S/-) Heshangmai(R/-), Tongjiabaxiaomai(S/-), Zaoxiaomai(S/-), Xiaobaimai(S/-), Sanyuehuang(S/-), Huanxiangguo(S/-), Honghuamai(R/-), Baimaizi(S/-)	中国, 四川 Sichuan, China
	乌江卓(S/-) Wujiangzhuo(S/-)	中国, 西藏 Xizang, China
	春麦(S/-) Chunmai(S/-)	中国, 新疆 Xinjiang, China
	猪屎麦(S/-)、永德铁壳(S/-) Zhushimai(S/-), Yongdetieke(S/-)	中国, 云南 Yunnan, China
	早小麦(S/-)、洋麦(S/-)、白蒲(落青)(S/-)、洋麦(S/-)、洋麦(S/-)、白头松蒲(S/-)、红壳有芒(S/-)、红槽板(S/-)、和尚麦(S/-)、蜈蚣麦(S/-)、刚刚早小麦(S/-)、和阳青(S/-)、剑子麦(S/-)、温州红和尚(S/-) Zaoxiaomai(S/-), Yangmai(S/-), Baipu(Luo Qing)(S/-), Yangmai(S/-), Yangmai(S/-), Baitousong-pu(S/-), Hongkeyoumang(S/-), Hongluban(S/-), Heshangmai(S/-), Wugongmai(S/-), Ganggangza-oxiaomai(S/-), Heyangqing(S/-), Jianzimai(S/-), Wenzhouhongheshang(S/-)	中国, 浙江 Zhejiang, China
	西风(S/-)、延岗坊主(S/-) Xifeng(S/-), Yangangfangzhu(S/-)	日本 Japan
	千斤早(S/-)、中国春(S/-) Qianjinza(S/-), Chinese Spring(S/-)	未知 Unknow

R: 抗白粉菌生理小种B03; S: 感白粉菌生理小种B03; - 表示携带基因信息未知。

R: Resistant to *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* isolate B03; S: Susceptible to *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* isolate B03; - indicates that the gene carrier status is unknown.

表 2 用于 *PmHYM* 定位和克隆的引物
Table 2 Primers used for mapping and cloning of *PmHYM*

分子标记 Marker	引物序列 Primer sequences(5'-3')		功能 Function
	正向 Forward	反向 Reverse	
<i>Xmp1396</i>	GAGCGTTGAATCTTCGGC	GCCCTCGTCAATCTTGGA	精细定位 Fine mapping
<i>Xmp1401</i>	ATTAACCCACCGTTGTGTCC	CGCGGAGACAAAGGTAA AAC	
<i>Xmp1405</i>	CTGCCTTTGGATGTCTCCAT	GCTAGGTCTGCCTCCCTTCT	
<i>Xmp1410</i>	CAATGGATTTTCATCCCAAC	ACAAACTCAAATGGGCCAAG	
<i>Xmp1435</i>	GTCTCCAACCTACTGCAGGC	AGCCTGGGTTGGTAGATGTG	
<i>PmHYM</i> - KASP (<i>Xmp1394</i>)	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTTGCTAGCATTTACAGCTTTGCTT ¹ GAAGGTCGGAGTCAACGGATTTGCTAGCATTTACAGCTTTGCTC ²	GGCGAACGTCAACAACAGG	精细定位与 基因诊断 Fine mapping and gene diagnosis
<i>Xmp3133</i>	CAAAGGCACTACCACCGAT	AAGGGAGGAAGATGGCAT	基因拷贝数鉴定 Identification for gene copy
<i>Xmp3132</i>	CACTTGCGAATGTGAGTGTTGT	ATCAGTCAATCGCACAAGGCTT	内参基因 Endogenous control
<i>Xmp3135</i>	AGGATGATAGCACGCAA	TTGATGACGCTCCCACTG	基因表达 Gene expression
<i>Xmp3032</i>	TGGCACCCGAGGAGCACCTG	GCGACGTACATGGCAGGAACA	内参基因 Endogenous control

1:GAAGGTGACCAAGTTCATGCT 为 FAM 荧光信号; 2:GAAGGTCGGAGTCAACGGATT 为 HEX 荧光信号。
1:GAAGGTGACCAAGTTCATGCT corresponds to the FAM fluorescent signal; 2: GAAGGTGACCAAGTTCATGCT corresponds to the HEX fluorescent signal.

1.7 功能标记开发与育种潜力评估

基于*Pm5e/PmHYM* 的功能 SNP 位点开发 KASP 诊断性标记*Xmp1394*,检测该标记在亲本、F₂ 群体及自然群体中的分型效果,以验证标记的有效性 with 诊断性。以红 苕麦作为供体亲本、宁麦 资 119 作为轮回亲本进行回交,每个世代均使用 诊断性标记*Xwggc7051* [18] 进行基因型检测,筛选 携带 *PmHYM* 的抗病单株。调查 BC₁F₂、BC₂F₁、 BC₃F₁ 世代的转育单株的的 9 个关键农艺性状, 包括抽穗期、株高、主穗小穗数、主穗不孕小穗数、 千粒重、单株分蘖数、单株穗数、单株产量。参照小 麦种质资源描述规范 [34] 统计分析,评估 *PmHYM* 的育种应用潜力。

1.8 数据处理与图谱构建

采用卡方检验(χ²)分析抗性分离比例。利用 MapDrawV2.1 软件 [35] 构建遗传图谱和物理图 谱,用 Excel 软件进行数据统计与差异分析。

2 结果和分析

2.1 *PmHYM* 的精细定位、图谱构建与抗谱分析

利用白粉病菌生理小种*B03* 接种宁麦资 119/ 红苕麦构建的 F₂ 分离群体。结果显示,3 045 个

F₂ 单株中 738 株抗病,2 307 株感病,分离比例符 合单个隐性基因的遗传分离规律(χ²₁₊₃=0. 91,*df*= 1,*P*=0. 34),与前期的研究结果一致 [29]。利用 两侧标记*Xmp925* 和*Xmp1158* 筛选抗病单株,共 获得 19 个关键重组体(*Xmp925* 筛选到 5 个重组 体,*Xmp1158* 筛选到 14 个重组体)。结合新开发 的多态性标记对重组体进行分型(图 1,图 2a),进 一步将 *PmHYM* 精细定位至 7BL 染色体的 *Xmp1410* 和*Xmp1396* 标记之间,遗传距离 0. 5 cM,与*Xmp1435*、*Xwggc7051* 共分离(图 2b)。

为了构建 *PmHYM* 的物理图谱,通过染色体 分选的方法分离了红苕麦的 7B 染色体。经 7 轮分选获得 7B 染色体的纯度分别为 59. 8%、 67. 8%、69. 0%、70. 30%、77. 0%、77. 6%和 83. 3%, 经过测序和组装共获得了 254 932 个拼接序列(Scaf- fold),总长度为 1 221. 8 Mb,N50 长度为 7. 6 kb。

前期研究发现,红苕麦与复壮 30 对白粉菌生 理小种*B16* 具有不同的抗病反应。为了确认这一 结果,本研究利用该生理小种接种红苕麦、复壮 30 及 19 个关键重组体。结果表明,红苕麦及重 组体对*B16* 均表现为抗病(IT 为 0-1),而复壮 30 表现为感病(IT 为 3-4)(图 2a)。

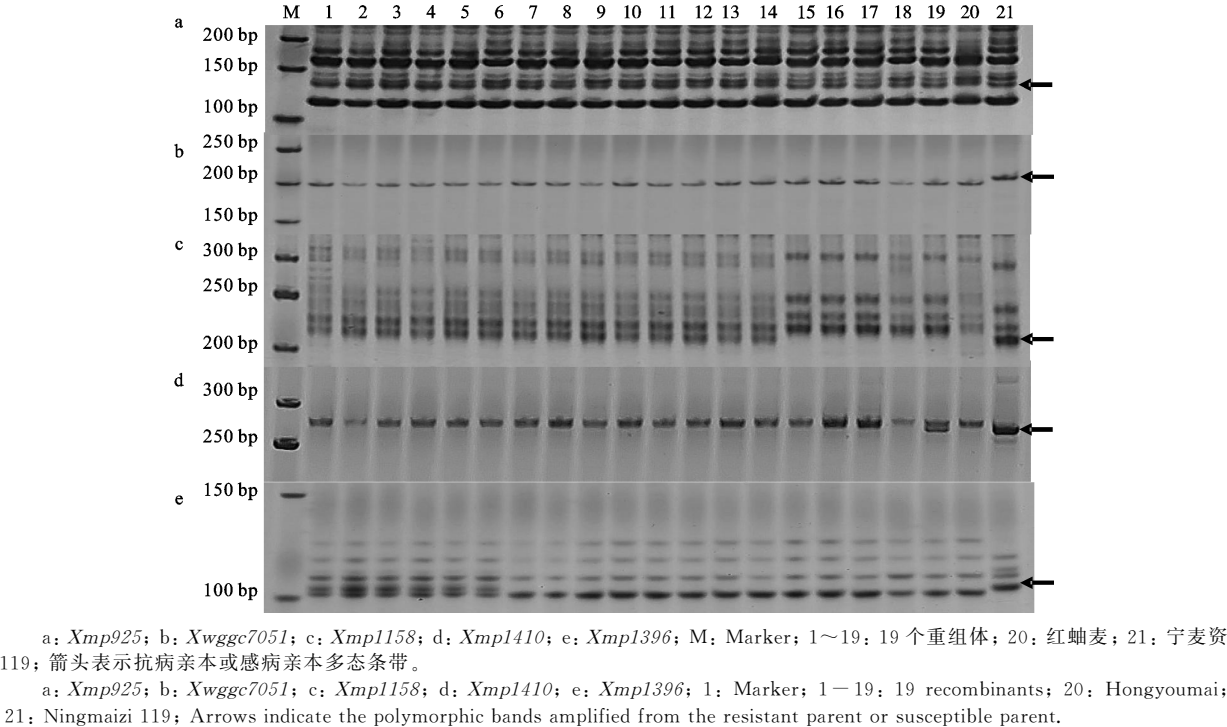
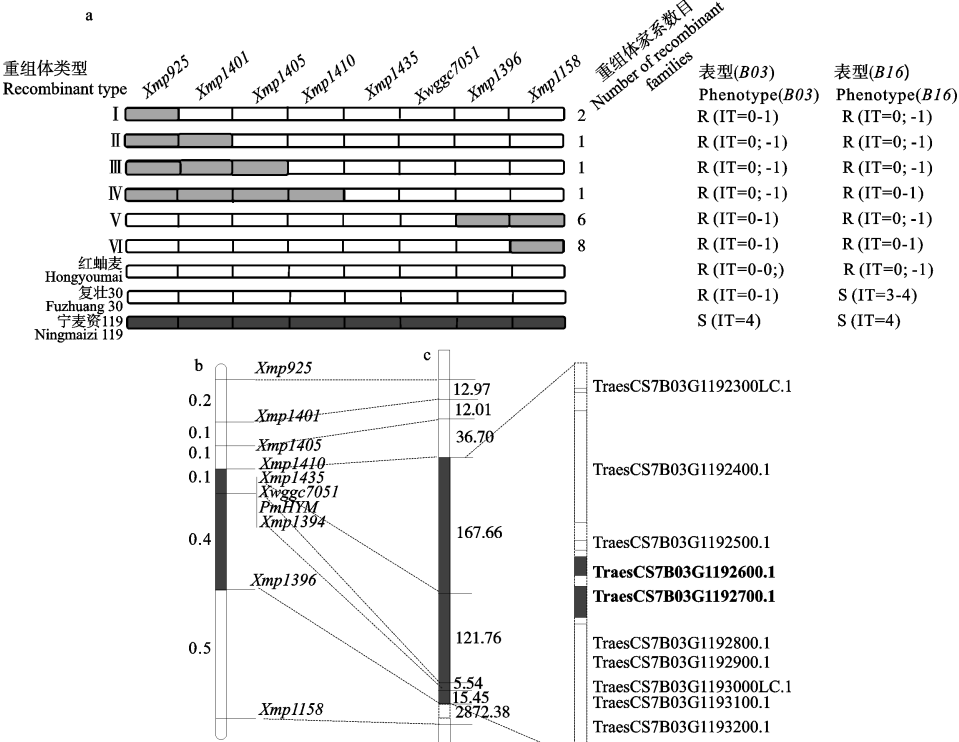


图 1 5 个与 *PmHYM* 紧密连锁分子标记在 19 个重组体的 PCR 扩增带型

Fig. 1 PCR amplification profiles of the five molecular markers tightly linked to *PmHYM* in 19 recombinants



a: 重组体的基因型与表型; 灰色方框代表杂合基因型, 白色方框代表纯合抗病基因型, 黑色方框代表纯合感病基因型; b: *PmHYM* 的精细遗传图谱, 黑色方框代表抗病基因所在区域; c: *PmHYM* 对应的物理图谱; 虚线方框未按比例设置, 左侧的黑色方框为 *PmHYM* 定位的物理区间, 右边两个黑色方框为两个 CNL 类的候选基因。

a: Genotypes and phenotypes of the recombinants; gray boxes indicate heterozygous genotypes, white boxes indicate homozygous resistant genotypes, and black boxes indicate homozygous susceptible genotypes; b: Fine genetic map of *PmHYM*, the black box denotes the region containing the resistance gene; c: Physical map corresponding to *PmHYM*, dashed boxes are not drawn to scale, the black box on the left is the physical interval where *PmHYM* is mapped, and the two black boxes on the right are the two CNL-type candidate genes.

图 2 *PmHYM* 的精细定位

Fig. 2 Fine mapping of *PmHYM*

2.2 *PmHYM* 的物理定位与候选基因筛选

将精细定位标记序列与中国春参考基因组 (CS V2.1) 进行比对,结果显示,标记在物理图谱中的顺序与遗传图谱(图 2b、图 2c)一致。*Pm-HYM* 侧翼标记*Xmp1410* 和*Xmp1396* 分别位于中国春 7BL 染色体 716 215 185 bp 和 716 525 592 bp 处,物理距离为 310 kb。该区间内注释了 10 个基因,包括 8 个高置信度基因和 2 个低置信度基因(图 2c)。其中,TraesCS7B03G1192600.1 和 TraesCS7B03G1192700.1 为 CNL 类基因,是 *PmHYM* 的关键候选基因。

PCR 与测序结果显示,红袖麦与宁麦资 119 在上述 2 个候选基因区域存在 9 处变异,8 个单核苷酸多态性(SNPs)和 1 个插入/缺失(In-Del)(图 3)。其中,红 袖 麦 中 的 TraesCS7B03G1192600.1、TraesCS7B03G1192700.1 的基因序列及启动子序列与复壮 30 的*Pm5e* 一致,表明 *PmHYM* 与 *Pm5e* 序列一致。为了确认该 PCR 扩增结果,利用中国春对应的 310 kb 序列比对分选的红袖麦 7B 染色体序列,尽管未能构建红袖麦对应区间的完整物理图谱,但是比对到的 Scaffold 162220 携带*Pm5e*,未发现其他的候选基因及序列变异。

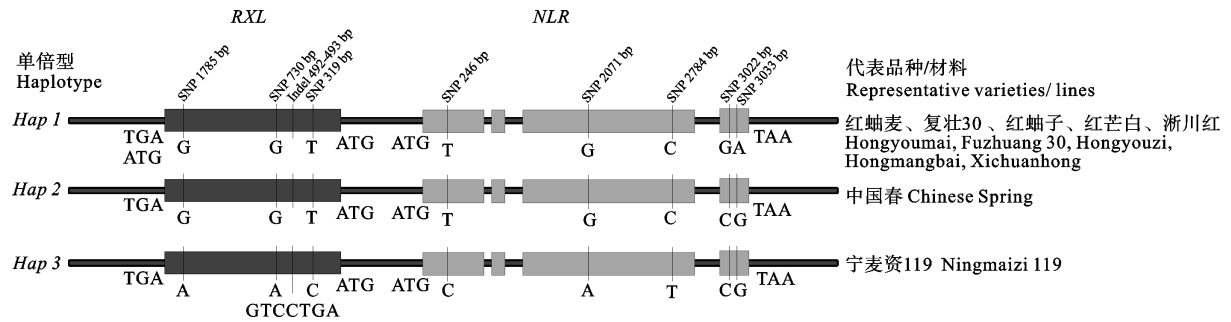
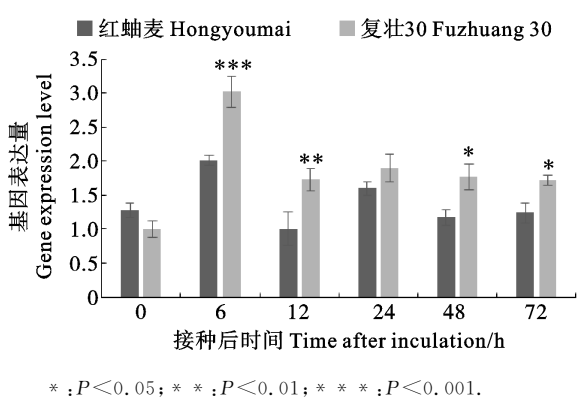


图 3 *PmHYM* 的单倍型分析
In the figure, the RXL gene is shown in the reverse orientation, and the sequence directly below it represents its reverse complement; — indicates a deletion.

图 3 *PmHYM* 的单倍型分析
Fig. 3 Haplotype analysis of *PmHYM*

2.3 *Pm5e* 表达模式与拷贝数分析

由于红袖麦与复壮 30 抗谱确实存在差异,但是其携带的基因序列一致,需要进行基因表达模式鉴定与拷贝数分析。qRT-PCR 结果显示,*Pm5e* 在红袖麦、复壮 30 中均受白粉菌诱导,且表达趋势一致;但复壮 30 中的*Pm5e* 表达更强烈,在接菌 6、12、48 和 72 h 的表达均显著高于红袖麦(图 4)。基因拷贝数检测结果表明,所有 *Pm5e* 相关材料均携带单拷贝基因(表 3)。



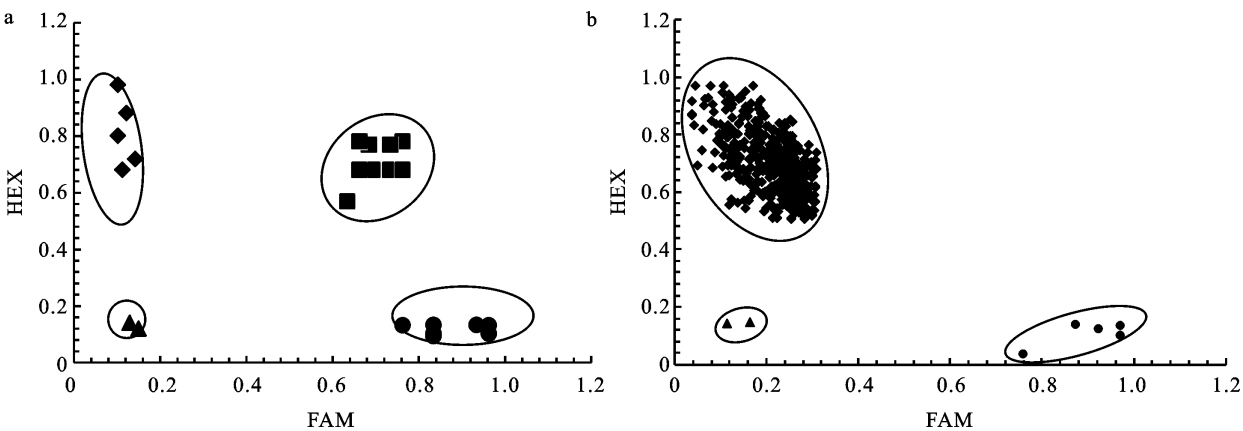
*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$.
图 4 接种白粉病菌不同时间后 *PmHYM* 的相对表达量
Fig. 4 Relative expression level of *PmHYM* at different time points after inoculation with *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* (Bgt)

表 3 携带*Pm5e* 材料中基因的拷贝数
Table 3 The copy number of *Pm5e* in different materials carrying the gene

材料名称 Material name	CT 值 CT value		拷贝数 Copy number
	<i>TaCO2</i>	<i>Pm5e</i>	
红袖麦 Hongyoumai	26.64	23.12	1.00
复壮 30 Fuzhuang 30	27.22	22.87	0.93
红袖子 Hongyouzi	25.53	24.25	1.20
红芒白 Hongmangbai	26.22	24.84	1.20
浙川红 Xichuanhong	28.00	25.81	1.14

2.4 *PmHYM* 功能标记的开发与育种潜力的评价

基于*Pm5e*/*PmHYM* 功能 SNP 位点^[18], 开发 KASP 标记*Xmp1394*, 该标记可稳定区分亲本、F₂ 群体纯合抗病单株、杂合单株以及纯合感病单株(图 5a),且在 738 个纯合抗病家系中与 *Pm-HYM* 共分离。利用该标记对 458 份自然群体(表 1)



a 和 b 分别为 F₂ 群体和自然群体的扩增结果；圆形标记为红小麦等位基因 KASP-FAM 标记；菱形标记为宁麦资 119 等位基因 KASP-HEX 标记；方形标记为宁麦资 119 /红小麦杂合子；三角形标记为无模板对照(NTC)。

a and b represent the amplification results of the F₂ population and natural population, respectively. Circlemarkers indicate the Hongyoumai allele detected by the KASP-FAM probe; rotated diamond markers represent the Ningmaizi 119 allele detected by the KASP-HEX probe; square markers stand for heterozygotes of Ningmaizi 119/Hongyoumai; triangle markers denote the no-template control(NTC).

图 5 *Pm5e* 的诊断性 KASP 标记
Fig. 5 Diagnostic KASP marker for *Pm5e*

进行了基因分型,筛选出 3 份携带*Pm5e*/*Pm-HYM*的地方品种(红芒白、浙川红和红袖子)(图 5b)。测序验证结果表明,这 3 份材料的序列与*Pm5e* 完全一致(图 3),说明该标记具备高通量的诊断能力,可用于在自然群体中快速追踪*Pm5e*。

对标记辅助回交转育,初步评估了 *PmHYM* 在小麦育种中的应用价值。通过该基因的 BC₁F₂、BC₂F₁、BC₃F₁ 世代转育植株的 9 个农艺性状进行了测定,结果显示,不同基因型间表型数据无显著差异(表 4),表明 *PmHYM* 没有明显的负向效应或连锁累赘。

表 4 转育群体中 9 个农艺性状的数据统计
Table 4 Statistics of nine agronomic traits inbreeding population

年份 Year	环境 Environ- ment	群体类型 Population Type	基因型 Genotype	抽穗期 Heading date/d	株高 Plant height/cm	主穗小穗数 Spikelets per main spike	主穗不孕 小穗数 Sterile spikelets per main spike	千粒重 1 000- kernel weight/g	主穗粒数 Kernels per main spike	单株分蘖数 Tillers per plant	单株穗数 Spikes per plant	单株产量 Yield per plant/g
2022— 2023	南京 六合大田 Liuhe field, Nanjing	BC ₂ F ₁	RR	135.71± 1.87	70.29± 4.08	16.71± 1.48	1.50± 1.18	45.50± 6.87	39.71± 4.53	5.71± 2.08	3.43± 1.84	5.37± 3.82
			Rr	136.00± 1.41	71.40± 2.92	17.07± 1.00	1.50± 0.73	44.91± 6.98	41.43± 3.06	5.67± 1.45	2.57± 0.98	3.79± 2.05
		BC ₁ F ₂	RR	135.70± 1.45	85.75± 8.73	17.50± 1.60	1.39± 1.11	45.40± 3.11	39.88± 3.82	6.60± 1.53	4.72± 1.56	8.61± 4.85
			Rr	135.54± 1.31	88.54± 5.06	17.73± 1.61	1.64± 1.13	44.05± 4.99	40.12± 2.22	6.62± 1.15	4.92± 2.26	8.98± 5.47
			rr	135.92± 1.22	88.46± 7.99	17.85± 1.41	1.61± 0.96	44.18± 8.39	39.16± 1.47	6.92± 1.82	4.49± 2.40	7.96± 5.07
2023	南京温室 Greenhouse, Nanjing	BC ₃ F ₁	RR	73.20± 0.75	82.50± 3.72	15.75± 1.73	1.84± 0.87	36.85± 2.45	35.91± 1.25	—	1.50± 0.22	1.99± 0.27
			Rr	73.50± 0.67	82.60± 4.78	16.12± 1.41	1.80± 0.60	37.08± 2.57	36.13± 1.24	—	1.48± 0.16	2.04± 0.19
		宁麦资 119	RR	73.00± 0.26	82.45± 2.78	16.18± 1.27	1.70± 0.75	37.11± 1.57	36.13± 1.22	—	1.68± 0.26	2.08± 0.17

RR: 纯合感病基因型;Rr:杂合基因型;rr:纯合抗病基因型。
RR: Homozygous susceptible genotype; Rr: Heterozygous genotype; rr: Homozygous resistant genotype.

3 讨论

小麦白粉病频发严重危害粮食的生产,发掘与利用小麦抗白粉病基因是控制该病害的关键。本研究以地方品种红蚰麦抗白粉病基因 *PmHYM* 为对象,通过大群体精细定位、序列比对、染色体分选、表达分析及功能标记开发,系统解析了该基因的遗传位置、物理位置、抗病基因的序列特征及其育种潜力,解决了前期定位区间偏大、无功能标记的问题,为小麦抗白粉病分子育种提供了理论依据与育种亲本材料。

本研究将 *PmHYM* 精细定位在小麦 7BL 染色体 0.5 cM 遗传区间内,对应中国春参考基因组 310 kb 物理区间。从该区间内筛选获得两个 CNL 类候选基因,序列比对发现红蚰麦中的 *PmHYM* 与 *Pm5e* 完全一致,表明了中国地方品种携带的 *Pm5* 位点均是 *Pm5e* 基因^[18,36]。然而,利用白粉菌生理小种 *BI6* 接种红蚰麦、复壮 30 以及 19 个关键重组体发现,红蚰麦与 19 个关键重组体为抗病表型,而复壮 30 表现为感病,这与携带相同基因的结论矛盾。为了探究产生差异的原因,进行基因表达和拷贝数的检测,结果表明,与基因表达和拷贝数无关;利用染色体分选与测序组装试图构建目标基因区间完整的序列 Scaffold,初步结论是无其他候选基因,所以不排除存在大的染色体结构变异的可能。此外,复壮 30 是品系而非构建的近等基因系,产生这种差异还有其他可能,如受遗传背景、下游调控通路及互作伴侣基因等因素影响。已有研究表明,CNL 类抗病基因通常需要伴侣基因的协助作用才能激活抗病反应^[37-38], *Pm5e* 自身需要依靠相邻的 *RXL* 基因来启动抗病坏死反应^[39];遗传背景中的抑制基因^[16,40]、水杨酸(SA)信号通路^[41]、活性氧(ROS)爆发^[42]及 MAPK 级联反应^[43]等信号通路存在差异,均会导致抗病表型的不同。因此,后续可通过构建近等基因系,酵母双杂筛选可能的互作蛋白,进一步分析 *Pm5e* 在不同遗传背景中产生表型差异的根本原因。

本研究开发的 KASP 标记 *Xmpl394* 可实现高通量检测效果,不仅可以在 F_2 分离群体中应用,在引进种质、地方品种、高代品系及育成品种组成的自然群体中同样适用。因此,可以通过抗病基因 *Pm5e* 的快速筛选,大幅提高标记选择效率。利用分子标记辅助回交转育,获得了携带该

基因的高代品系,转育植株农艺性状检测结果表明 *Pm5e* 无明显负向效应或连锁累赘。实验室收集的 116 份育成品种和 138 份高代品系中 *Pm5e* 分布频率低,表明该基因在育种利用上仍有较大的空间。借助本研究开发的 KASP 功能标记,可将 *PmHYM* 导入不同麦区的主导小麦品种,以发挥该基因在小麦大田生产上的最大利用价值。

本研究明确了 *PmHYM* 与 *Pm5e* 的基因序列一致,开发了 *Pm5e* 的高通量 KASP 功能标记,为小麦抗白粉病分子育种提供了优异的基因资源和高效的技术手段。

致谢:本研究是在农业农村部种业管理司小麦种质资源鉴定任务资助下完成。

参考文献:

- [1]JUROSZEK P, VON TIEDEMANN A. Climate change and potential future risks through wheat diseases: A review [J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2013, 136(1): 21.
- [2]CHEN X M. Integration of cultivar resistance and fungicide application for control of wheat stripe rust [J]. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 2014, 36(3): 311.
- [3]GOLZAR H, SHANKAR M, D'ANTUONO M. Responses of commercial wheat varieties and differential lines to western Australian powdery mildew (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*) populations [J]. *Australasian Plant Pathology*, 2016, 45(4): 347.
- [4]LI Y H, WEI Z Z, SELA H, et al. Dissection of a rapidly evolving wheat resistance gene cluster by long-read genome sequencing accelerated the cloning of *Pm69* [J]. *Plant Communications*, 2024, 5(1): 100646.
- [5]HEWITT T, MÜLLER M C, MOLNÁR I, et al. A highly differentiated region of wheat chromosome 7AL encodes a *Pm1a* immune receptor that recognizes its corresponding *AvrPm1a* effector from *Blumeria graminis* [J]. *New Phytologist*, 2021, 229(5): 2812.
- [6]HE H G, ZHU S Y, ZHAO R H, et al. *Pm21*, encoding a typical CC-NBS-LRR protein, confers broad-spectrum resistance to wheat powdery mildew disease [J]. *Molecular Plant*, 2018, 11(6): 879.
- [7]XING L P, HU P, LIU J Q, et al. *Pm21* from *Haynaldia villosa* encodes a CC-NBS-LRR protein conferring powdery mildew resistance in wheat [J]. *Molecular Plant*, 2018, 11(6): 874.
- [8]LU P, GUO L, WANG Z Z, et al. A rare gain of function mutation in a wheat tandem kinase confers resistance to powdery mildew [J]. *Nature Communications*, 2020, 11: 680.
- [9]RONG J K, MILLET E, MANISTERSKI J, et al. A new powdery mildew resistance gene: Introgression from wild emmer into common wheat and RFLP-based mapping [J]. *Euphytica*, 2000, 115(2): 121.
- [10]JIN Y L, LI W L, LI Y X, et al. *Pm37* as a susceptible *Sr22* allele confers resistance to wheat powdery mildew and leaf rust [J/OL]. *Nature Communications*, 2026, <https://www.nature.com/articles/s41467-026-69717-1>.
- [11]KRATTINGER S G, LAGUDAH E S, SPIELMEYER W, et al. A putative ABC transporter confers durable resistance to multiple fungal pathogens in wheat [J]. *Science*, 2009, 323

- (5919):1360.
- [12] MOORE J W, HERRERA-FOESSEL S, LAN C X, *et al.* A recently evolved hexose transporter variant confers resistance to multiple pathogens in wheat [J]. *Nature Genetics*, 2015, 47(12):1494.
- [13] HE H G, TANG Q L, ZHANG Q Y, *et al.* An NLR pair in the *Pm68* locus confers powdery mildew resistance in durum and common wheat [J]. *Nature Communications*, 2024, 16: 9039.
- [14] SÁNCHEZ-MARTÍN J, WIDRIG V, HERREN G, *et al.* Wheat *Pm4* resistance to powdery mildew is controlled by alternative splice variants encoding chimeric proteins [J]. *Nature Plants*, 2021, 7(3):327.
- [15] CEOLONI C, SIGNORE G D, ERCOLI L, *et al.* Locating the alien chromatin segment in common wheat-*Aegilops longissima* mildew resistant transfers [J]. *Hereditas*, 1992, 116(3):239.
- [16] BLANCO A, GADALETA A, CENCI A, *et al.* Molecular mapping of the novel powdery mildew resistance gene *Pm36* introgressed from *Triticum turgidum* var. *dicoccoides* in durum wheat [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2008, 117(1):135.
- [17] ZHAO Y, DONG Z J, MIAO J N, *et al.* *Pm57* from *Aegilops searsii* encodes a tandem kinase protein and confers wheat powdery mildew resistance [J]. *Nature Communications*, 2024, 15:4796.
- [18] XIE J Z, GUO G H, WANG Y, *et al.* A rare single nucleotide variant in *Pm5e* confers powdery mildew resistance in common wheat [J]. *New Phytologist*, 2020, 228(3):1011.
- [19] VRÁNA J, KUBALÁKOVÁ M, SIMKOVÁ H, *et al.* Flow sorting of mitotic chromosomes in common wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Genetics*, 2000, 156(4):2033.
- [20] DOLEŽEL J, VRÁNA J, ČÁPAL P, *et al.* Advances in plant chromosome genomics [J]. *Biotechnology Advances*, 2014, 32(1):122.
- [21] GIORGI D, FARINA A, GROSSO V, *et al.* FISHIS: Fluorescence *in situ* hybridization in suspension and chromosome flow sorting made easy [J]. *PLoS One*, 2013, 8(2):e57994.
- [22] ČÁPAL P, BLAVET N, VRÁNA J, *et al.* Multiple displacement amplification of the DNA from single flow-sorted plant chromosome [J]. *The Plant Journal*, 2015, 84(4):838.
- [23] WANG H Y, DAI K L, XIAO J, *et al.* Development of intron targeting (IT) markers specific for chromosome arm 4VS of *Haynaldia villosa* by chromosome sorting and next-generation sequencing [J]. *BMC Genomics*, 2017, 18(1):167.
- [24] 付必胜, 孟祥如, 刘润然, 等. 簇毛麦 5VS 染色体臂特异分子标记开发与遗传效应分析 [J]. 植物遗传资源学报, 2022, 23(1):195.
- FU B S, MENG X R, LIU R R, *et al.* Development of molecular markers specific to 5VS chromosome arm of *Dasyphyrum villosum* and their genetic effects in common wheat [J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2022, 23(1):195.
- [25] XING L P, YUAN L, LÜ Z S, *et al.* Long-range assembly of sequences helps to unravel the genome structure and small variation of the wheat-*Haynaldia villosa* translocated chromosome 6VS • 6AL [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2021, 19(8):1567.
- [26] SÁNCHEZ-MARTÍN J, STEUERNAGEL B, GHOSH S, *et al.* Rapid gene isolation in barley and wheat by mutant chromosome sequencing [J]. *Genome Biology*, 2016, 17(1):221.
- [27] WU Y N, YU X T, ZHANG X, *et al.* Characterization of *PmDGM* conferring powdery mildew resistance in Chinese wheat landrace Duanganmang [J]. *Plant Disease*, 2021, 105(10):3127.
- [28] HAN G H, YAN H W, GU T T, *et al.* Identification of a wheat powdery mildew dominant resistance gene in the *Pm5* locus for high-throughput marker-assisted selection [J]. *Plant Disease*, 2023, 107(2):450.
- [29] FU B S, ZHANG Z L, ZHANG Q F, *et al.* Identification and mapping of a new powdery mildew resistance allele in the Chinese wheat landrace Hongyoumai [J]. *Molecular Breeding*, 2017, 37(11):133.
- [30] WU J Z, JIA H Y, QIAO L Y, *et al.* Genetic basis of resistance against powdery mildew in the wheat cultivar “Tabasco” [J]. *Molecular Breeding*, 2023, 43(7):56.
- [31] 盛宝钦. 用反应型记载小麦苗期白粉病 [J]. 植物保护, 1988, 14(1):49.
- SHENG B Q. Recording powdery mildew of wheat seedling with reactive type [J]. *Plant Protection*, 1988, 14(1):49.
- [32] FAHLICH E, GERLITZ C. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue [J]. *Phytochemistry*, 1980, 19:11.
- [33] LI G Q, YU M, FANG T L, *et al.* Vernalization requirement duration in winter wheat is controlled by TaVRN-A1 at the protein level [J]. *The Plant Journal*, 2013, 76(5):742.
- [34] 李立会, 杨欣明. 小麦野生近缘植物种质资源描述规范和数据标准 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2006:8.
- LI L H, YANG X M. Descriptors and data standard for wild relatives of wheat [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2006:8.
- [35] 刘仁虎, 孟金陵. MapDraw, 在 Excel 中绘制遗传连锁图的宏 [J]. 遗传, 2003, 25(3):317.
- LIU R H, MENG J L. MapDraw: A Microsoft Excel macro for drawing genetic linkage maps based on given genetic linkage data [J]. *Hereditas (beijing)*, 2003, 25(3):317.
- [36] 曹燕威, 许红星, 李秀全, 等. 小麦农家品种“红蚰子”苗期白粉病抗性鉴定和遗传分析 [J]. 中国生态农业学报, 2017, 25(12):1842.
- CAO Y W, XU H X, LI X Q, *et al.* Identification and genetic analysis of powdery mildew resistance at seedling stage in “Hongyouzi” Chinese wheat landrace [J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2017, 25(12):1842.
- [37] ZHANG H Z, LI M M, WANG G J, *et al.* Paired NLRs originated from *Triticum dicoccoides* coordinately confer resistance to powdery mildew in wheat [J]. *Nature Communications*, 2025, 16:9040.
- [38] LOUTRE C, WICKER T, TRAVELLA S, *et al.* Two different CC-NBS-LRR genes are required for *Lr10*-mediated leaf rust resistance in tetraploid and hexaploid wheat [J]. *The Plant Journal*, 2009, 60(6):1043.
- [39] GUO G H, BAI K H, HOU Y K, *et al.* The wheat NLR pair *RXL/Pm5e* confers resistance to powdery mildew [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2025, 23(4):1260.
- [40] MCINTOSH R A, ZHANG P, COWGER C, *et al.* Rye-derived powdery mildew resistance gene *Pm8* in wheat is suppressed by the *Pm3* locus [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2011, 123(3):359.
- [41] DELANEY T P, UKNES S, VERNOOIJ B, *et al.* A central role of salicylic acid in plant disease resistance [J]. *Science*, 1994, 266(5188):1247.
- [42] GAHLOWT P, SINGH S, SINGH S P, *et al.* Reactive oxygen species in the activation of plant immunity [J]. *Physiologia Plantarum*, 2025, 177(3):e70296.
- [43] MENG X Z, ZHANG S Q. MAPK cascades in plant disease resistance signaling [J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2013, 51:245.