园 艺 学 报 2008, 35 (12): 1773 - 1780
Acta Horticulturae Sinica

甜瓜白粉病抗性基因 Pm-2F 的遗传特性及与其紧密连锁的特异片段

张海英[1], 苏 芳[1], 郭绍贵[1], 宫国义[1], 伊鸿平[2], 吴明珠[2], 许 勇[1*]
([1]国家蔬菜工程技术研究中心, 北京 100097; [2]新疆农业科学院哈密瓜研究中心, 乌鲁木齐 830000)

摘 要: 在明确瓜类白粉病生理小种的基础上, 以感白粉病新疆哈密瓜 [*Cucumis melo* L. ssp. *melo* convar. *ameri* (Pang) Greb.] 来源的自交系 K7-2和抗白粉病日本网纹甜瓜 [*Cucumis melo* L. ssp. *melo* convar. *cantalupa* (Pang) Greb.] 来源的自交系 K7-1为亲本及其 F_2S_6群体为试材, 对甜瓜白粉病抗性遗传机制和紧密连锁标记进行深入研究。群体遗传分析表明, K7-1对白粉病 *Podosphaera xanthii* (DC.) VP Gelyuta生理小种 2F的抗性受一对显性基因 *Pm-2F* 控制。同时采用 SSR分析技术发现, 抗病特异片段 CMBR120$_{-172}$、CMBR8$_{-98}$与 *Pm-2F*紧密连锁, 连锁距离分别为 1 cM和 3 cM。抗病特异片段 CMBR120$_{-172}$在120份甜瓜种质资源材料验证中符合率达 87.5%。

关键词: 甜瓜; *Cucumis melo* L.; 白粉病; 抗性基因; 特异片段
中图分类号: S 652 **文献标识码**: A **文章编号**: 0513-353X (2008) 12-1773-08

Genetic Analysis and Specific Fragments Linked to Powdery Mildew Resistant Gene Pm-2F in Melon

ZHANG Hai-ying[1], SU Fang[1], GUO Shao-gui[1], GONG Guo-yi[1], YI Hong-ping[2], WU Ming-zhu[2], and XU Yong[1*]
([1]National Engineering Research Center for Vegetables, Beijing 100097, China; [2]Hamigua Research Center, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Urumqi 830000, China)

Abstract: *Podosphaera xanthii* (DC.) VP Gelyuta race 2F caused melon (*Cucumis melo* L.) powdery mildew was the prevailing race in Beijing. The segregation of resistance had been evaluated in F_2S_6 population of the cross between the resistant Japanese cantaloupe [*Cucumis melo* L. ssp. *melo* convar. *cantalupa* (Pang) Greb.] line K7-1 and the susceptible Xinjiang Hami melon [*Cucumis melo* L. ssp. *melo* convar. *ameri* (Pang) Greb.] line K7-2. The resistance to *P. xanthii* race 2F in K7-1 was controlled by one single dominant *Pm-2F* gene. SSR technique had been used for the identification of markers linked to powdery mildew resistance. Two specific fragments CMBR120$_{-172}$ and CMBR8$_{-98}$ were closely linked to *Pm-2F* gene at a distance of 1 cM and 3 cM, respectively. The efficiency of CMBR120$_{-172}$ was about 87.5% in 120 melon germplasms. The markers identified in this experiment were closest to *Pm-2F* gene to date, and the research, therefore, can be used in melon molecular breeding.

Key words: melon; *Cucumis melo* L.; powdery mildew; resistant gene; specific fragment

白粉病是目前甜瓜 (*Cucumis melo* L.) 生产的主要病害, 世界各国都十分重视其抗病性的研究及育种工作。危害瓜类的白粉病菌有 3个属 6个种, 且生理小种繁多, 仅 *Podosphaera xanthii* (DC.) VP

收稿日期: 2008 - 07 - 08; **修回日期**: 2008 - 11 - 06
基金项目: 国家'863'计划项目 (2006AA10Z1A8); '十一五'国家科技支撑计划项目 (2006BAD01A7-6-02); 国家自然科学基金项目 (30570997); 北京市自然科学基金项目 (5062008); 北京市科委项目 (Z0708050150702)
* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: xuyong@nercv.org)

Gelyuta (原命名为 *Sphaerotheca fuliginea*) 病菌就存在 11个生理小种之多 (McCreight, 2006)。美国和法国等国家有特定的农业试验站常年对此监测并指导研究与生产，而目前国内多数研究单位尚未引进国际通用的白粉病生理小种鉴别寄主，不能确定抗源品种具体对哪个小种具有抗性，因此造成我国白粉病遗传规律的分析滞后。同时国内所报道的与瓜类白粉病抗性连锁的分子标记并未明确其病菌的生理小种 (杜胜利 等, 2005; 王建设 等, 2005)，这对于有多个小种分化的瓜类白粉病来说，其缺陷十分明显。因此，很有必要在明确生理小种的基础上，开展甜瓜白粉病抗性遗传规律的研究，并建立甜瓜抗白粉病育种分子标记辅助选择技术。

国外已经报道了与 *P. xanthii*生理小种 1抗性基因连锁的 RAPD标记 (Fukino et al, 2001) 和 AFLP标记 (Yuste-Lisbona et al, 2008)，并进行了生理小种 1、2、3、5的抗性基因 QTL定位 (Perchepied et al, 2005)。北京地区瓜类白粉病的病原菌为 *P. xanthii*，优势生理小种为 2F (王娟等, 2006)。

在明确甜瓜白粉病生理小种的基础上，作者拟对 *P. xanthii*白粉病生理小种 2F抗性基因 (*Pm-2F*) 的抗性遗传规律进行深入研究，并采用 SSR技术寻找与 *Pm-2F*紧密连锁的特异片段，由此获得的扩增序列又是开发 SCAR和 SNP等特异分子标记的基础，这将为甜瓜抗白粉病多个生理小种的分子聚合育种及抗病基因的克隆奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试甜瓜亲本材料 K7-1和 K7-2由新疆农业科学院吴明珠院士提供。K7-1为日本厚皮类型甜瓜 [*Cucumis melo* L. ssp. *melo* convar. *cantalupa* (Pang) Greb.] 材料，高抗白粉病，软肉，有网纹。K7-2为典型的新疆哈密瓜 [*Cucumis melo* L. ssp. *melo* convar. *ameri* (Pang) Greb.] 自交系，高感白粉病，黄皮，脆肉。国家蔬菜工程技术研究中心瓜类作物分子育种实验室以 K7-2为母本，K7-1为父本配制 F_1，单粒传获得 F_2S_6重组自交系，共 106个株系。

为进一步验证获得的特异标记片段，采用国家蔬菜工程技术研究中心西瓜育种课题收集的 120份甜瓜种质资源，其中包括新疆地方甜瓜种质资源 96份、从国外引进的典型西亚—欧美类型甜瓜资源 20份以及其它对照材料 4份。白粉病 (*P. xanthii*生理小种 2F) 苗期抗性鉴定表明：其中 13份抗病，107份感病。

1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA的提取

参照 Murry和 Tompson (1980) 的 CTAB方法进行 DNA提取。

1.2.2 SSR扩增与产物的检测

SSR扩增体系为 12.5 μL。其中 DNA模板 50 ng，dNTPs 0.2 mmol·L^{-1}，$MgCl_2$ 1.5 mmol·L^{-1}，*Taq*E 1.0 U，SSR正、反向引物各 0.2 μmol·L^{-1}。SSR引物序列参考论文 (Danin-Poleg et al, 2001; Fazio et al, 2002; Gonzalo et al, 2005) 和互联网中甜瓜 EST信息库 (http://melon.bti.cornell.edu) 自行设计。

SSR扩增程序：94 ℃预变性 5 min；94 ℃变性 1 min，52～58 ℃退火 1 min，72 ℃延伸 2 min，35个循环；72 ℃延伸 10 min；4 ℃保存。

SSR扩增产物用 6%变性聚丙烯酰胺凝胶电泳，银染显色后对结果进行记录并分析。

1.2.3 特异标记片段筛选与验证

先用两个亲本筛选引物，然后分别以抗、感基因池 (每池 5个株系) 为模板，用双亲间产生多态性的引物进行甜瓜白粉病抗性基因特异标记片段筛选。只要在抗病亲本和抗病基因池之间带型一

致，即初步认为该特异标记片段与甜瓜白粉病抗性基因连锁，接着用该引物对 106个 F_2S_6株系和 120份优良甜瓜种质资源材料进行验证，统计分离情况，利用 Joinmap 3.0软件分析特异扩增 PCR片段与白粉病抗性基因的连锁关系。

1.2.4 特异扩增序列的获得

从聚丙烯酰胺凝胶上挖下目的条带，放入 1.5 mL的离心管中，浸泡在高盐缓冲液中 (20%乙醇，1 mol·L^{-1} LiCl，10 mmol·L^{-1} Tris) 24 h，氯仿抽提，乙醇沉淀后吹干，溶于 ddH_2O中，取 5 μL作模板，采用 SSR扩增体系和程序进行扩增。目的片段的纯化采用博奥生物公司的凝胶回收纯化 Gene-Clean试剂盒。PCR产物与载体的连接采用 Promega公司的 PGEM-T easy Vector试剂盒，然后进行重组质粒的转化与筛选。利用天根生物公司的质粒小提试剂盒提取重组质粒，采用酶切方法与 PCR法对其进行检测。将经过 PCR和酶切检测为阳性克隆的质粒送北京奥科生物公司进行测序。

1.2.5 抗病接种鉴定

父本、母本、F_1和重组自交系 F_2S_6的 106个株系，各取 20粒种子，设 2次重复，每次重复 10株苗。播于装有灭菌营养土的 72孔穴盘中，于空调温室内培养，昼/夜温度为 25～28 ℃/18～20 ℃。子叶展平后，采用孢子粉喷雾法接种 *P. xanthii*生理小种 2F，接种孢子浓度为 2.0×10^5个·mL^{-1}。接种 12～15 d充分发病后开始调查抗感反应。

采用国家蔬菜工程技术研究中心植保课题的病情分级标准，共分 6级。0级：整株没有病症；1级：仅子叶有很少量白粉，白粉模糊；2级：仅子叶有较多白粉或子叶有白粉，茎上有很少量白粉，白粉明显；3级：子叶有很多白粉，茎上有少量白粉，白粉厚，连片；4级：子叶和茎上布满白粉，白粉浓厚；5级：植株死亡。

根据病情指数 (DI) 确定父本、母本、F_1和重组自交系的抗感表现型。病情指数 (DI) = ∑(级别 ×株数) ×100/(总株数 ×6)。在本项研究中病情指数只有两类，病情指数小于 20为抗病，大于 60为感病。

2 结果与分析

2.1 甜瓜白粉病抗性基因 Pm-2F遗传规律分析

对抗病亲本 K7-1、感病亲本 K7-2、F_1、F_2S_6的 106个株系进行苗期抗病接种鉴定。结果表明，K7-1、K7-2和 F_1的病情指数分别是 0.00、93.03和 3.44，分别表现为抗病、感病和抗病，说明甜瓜 K7-1对白粉病 *P. xanthii*生理小种 2F的抗性是由显性基因控制。而重组自交系的抗病鉴定结果表明 106个株系有 58个抗病株系和 48个感病株系，符合 1∶1的理论比例。卡平方检验 $\chi^2=0.94<\alpha^2_{0.05,1}=3.84$，表明甜瓜 K7-1对白粉病 *P. xanthii*生理小种 2F的抗性为一对基因控制。综合双亲、F_1和 F_2S_6的 106个株系的苗期抗病鉴定结果，甜瓜 K7-1对白粉病 *P. xanthii*生理小种 2F的抗性受一对显性基因 *Pm*-2*F*控制。

2.2 与甜瓜白粉病抗性基因 Pm-2F紧密连锁的特异片段

在 660对 SSR引物中，只有引物 CMBR120和 CMBR8的抗感亲本扩增条带与抗、感池的扩增谱带一致，如图 1所示。引物 CMBR120上游引物序列为：5′-CTGGCCCCCTCCTAAACTAA-3′，下游引物序列为 5′-CAAAAAGCATCAAAATGGTTG-3′。引物 CMBR8上游引物序列为：5′-TTTCACTTTTTCCCGCCG-3′，下游引物序列为 5′-AATGGAAAAGGGAAGTGCAA-3′。将抗病亲本 K7-1利用引物 CMBR120和 CMBR8进行 PCR扩增获得的抗病特异扩增片段分别定名为 $CMBR120_{-172}$和 $CMBR8_{-98}$。将感病亲本 K7-2利用引物 CMBR120和 CMBR8进行 PCR扩增获得的感病特异扩增片段分别定名为 $CMBR120_{-170}$和 $CMBR8_{-104}$。

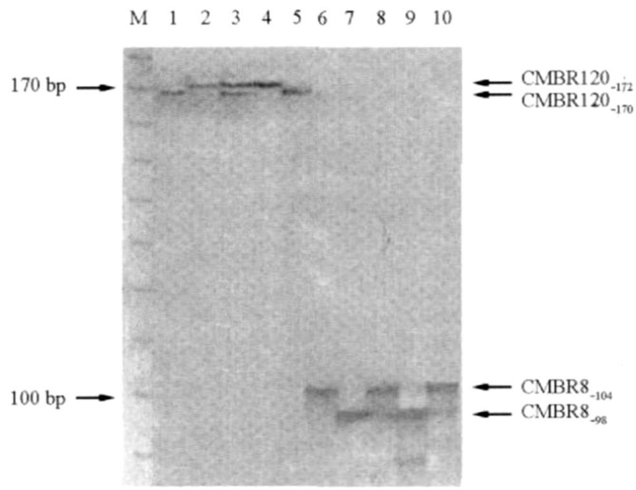

图 1 引物 CMBR120和 CMBR8对抗感亲本、F_1、抗感池的 PCR扩增

M: 30～330 bp marker; 1, 6: K7-2; 2, 7: K7-1; 3, 8: F_1;

4, 9: 抗病基因池; 5, 10: 感病基因池。

Fig. 1 Primer CMBR120和 CMBR8 amplification in parents, F_1, resistant and susceptible gene bulk

M: 30 - 330 bp marker; 1, 6: K7-2; 2, 7: K7-1; 3, 8: F_1;

4, 9: Resistant gene pool; 5, 10: Susceptible gene pool

利用引物 CMBR120对 106个重组自交系进行扩增, 58个抗病株系中有 57个株系只扩增出 CMBR120$_{-172}$抗病特异片段, 1个抗病株系同时扩增出 CMBR120$_{-172}$抗病特异片段和 CMBR120$_{-170}$感病特异片段。48个感病株系中有 47个株系只扩增出 CMBR120$_{-170}$感病特异片段, 1个株系扩增出 CMBR120$_{-172}$抗病特异片段, 即 106个重组自交系株系中只有 1个交换株系。

图 2显示引物 CMBR120对部分重组自交系 F_2S_6株系的 PCR扩增结果。

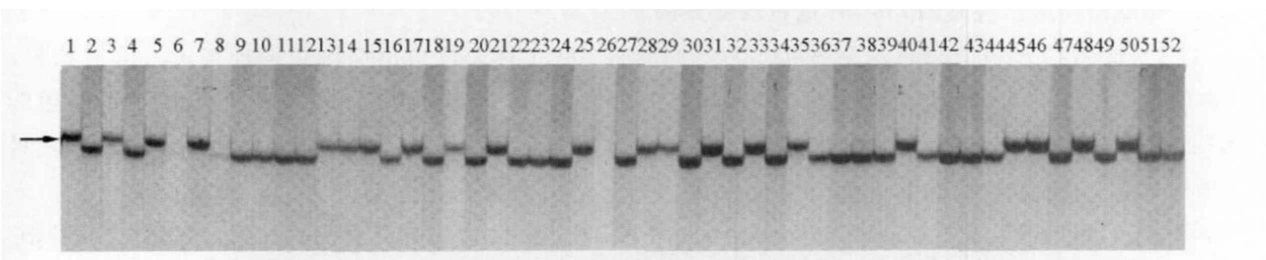

图 2 引物 CMBR120对部分重组自交系 F_2S_6群体的 PCR扩增

1: K7-1; 2: K7-2; 3～52: F_2S_6株系。

Fig. 2 Primer CMBR120 amplification in F_2S_6 lines

1: K7-1; 2: K7-2; 3 - 52: F_2S_6 lines

经 Joinmap 3.0软件分析, 抗病特异片段 CMBR120$_{-172}$与甜瓜白粉病抗性基因 *Pm-2F*的连锁距离为 1 cM, 呈现紧密连锁关系。

利用引物 CMBR8对 106个重组自交系进行扩增, 58个抗病株系中, 有 56个株系只扩增出 CMBR8$_{-98}$抗病特异片段, 2个抗病株系只扩增出 CMBR8$_{-104}$感病特异片段, 表明该抗病株系为交换株系。48个感病株系中, 有 47个株系只扩增出 CMBR8$_{-104}$感病特异片段, 1个感病株系扩增出

CMBR8$_{-98}$抗病特异片段，说明此感病株系也为交换株系。因此，106个重组自交系株系中共有 3个交换株系。

图 3显示引物 CMBR8对部分重组自交系 F_2S_6株系的 PCR扩增结果。

经 Joinmap 3.0软件分析，抗病特异片段 CMBR8$_{-98}$与甜瓜白粉病抗性基因 *Pm*-2*F*的连锁距离为 3 cM，呈现紧密连锁关系。

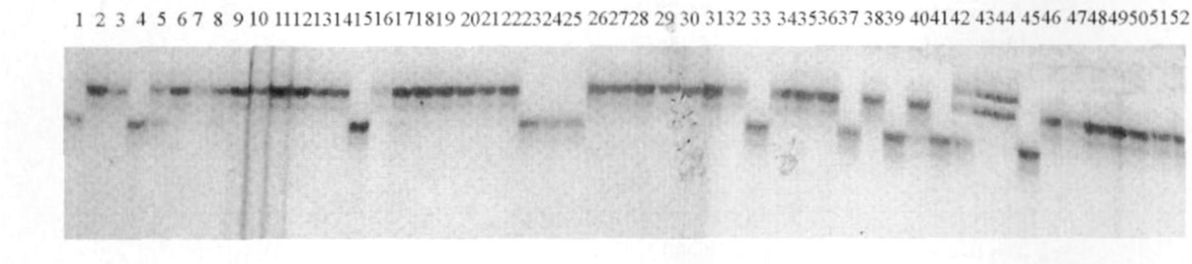

图 3　引物 CMBR8对重组自交系 F_2S_6群体的 PCR扩增

1: K7-1; 2: K7-2; 3～52: F_2S_6株系。

Fig. 3　Primer CMBR8 amplification in F_2S_6 lines

1: K7-1; 2: K7-2; 3 - 52: F_2S_6 lines

为进一步确认抗病特异片段 CMBR120$_{-172}$、CMBR8$_{-98}$与甜瓜白粉病抗性基因 *Pm*-2*F*的连锁关系，利用 120份甜瓜种质资源材料进行验证 (表 1)。

CMBR120扩增结果表明，107个感病品种中有 101个扩增出 CMBR120$_{-170}$感病特异片段，13个抗病品种中有 4个品种扩增出 CMBR120$_{-172}$抗病特异片段，与田间抗病鉴定结果平均符合率达到 87.5%。

CMBR8扩增结果显示，107个感病品种中有 79个扩增出 CMBR8$_{-104}$感病特异片段，13个抗病品种中有 4个品种扩增出 CMBR8$_{-98}$抗病特异片段，与田间抗病鉴定结果的平均符合率为 68.0%。

表 1　甜瓜种质资源分子标记检测与田间抗感表型的符合率

Table 1　CMBR120 and CMBR8 markers assisted selection effiecicncy in melon germplasms

标记 Marker	植株数 Number of plant	人工接种表型 Phenotype by inoculation		扩增带型 Amplified pattern		分子检测效率 /% MAS efficiency	
		表型 Phenotype	植株数 Number of plant	抗病 Resistant	感病 Susceptiable	抗 感符合率 R/S coincidence	平均符合率 Mean coincidence
CMBR120$_{-172}$	120	抗病 Resistant	13	4	3	30.7	87.5
CMBR120$_{-170}$		感病 Susceptiable	107	0	101	94.4	
CMBR8$_{-98}$	120	抗病 Resistant	13	4	7	30.7	68.0
CMBR8$_{-104}$		感病 Susceptiable	107	24	79	77.6	

同时还发现，利用 CMBR120和 CMBR8对 120份种质资源材料进行扩增时，不仅能扩增出本研究获得的抗病特异片段，还能扩增出新的特异片段 (表 2)，证明了抗病基因位点的多样性。材料 Saticoy能同时扩增出 CMBR120$_{-172}$、CMBR8$_{-98}$抗病特异片段，表明其可能具有与本试验所使用的抗源 K7-1相同的抗病位点。而材料 Tam Uvalde却能同时扩增出两个新的特异片段 CMBR8$_{-110}$和 CMBR120$_{-160}$，可能其白粉病抗性基因位点不同于 K7-1的位点，或者可能其遗传背景与 K7-1有差异而导致连锁标记缺失。

表 2　引物 CMBR120和引物 CMBR8在甜瓜抗病种质资源中的扩增

Table 2　Primer CMBR120 and CMBR8 amplification in melon resistance germplasms

编号 No.	抗病种质资源 Resistance germplasm	CMBR120扩增产物 Amplified products by CMBR120	CMBR8扩增产物 Amplified products by CMBR8
1	Main stream	CMBR120$_{-172}$	CMBR8$_{-110}$
2	Saticoy	CMBR120$_{-172}$	CMBR8$_{-98}$
3	Turkey variety	CMBR120$_{-172}$	CMBR8$_{-104}$
4	PM482324-1	CMBR120$_{-172}$	CMBR8$_{-110}$
5	Ogen-OP	CMBR120$_{-170}$	CMBR8$_{-104}$
6	Casaba	CMBR120$_{-170}$	CMBR8$_{-104}$
7	Piel de sapo	CMBR120$_{-170}$	CMBR8$_{-104}$
8	Edisto	CMBR120$_{-160}$	CMBR8$_{-104}$/CMBR8$_{-98}$
9	Perlita	CMBR120$_{-160}$	CMBR8$_{-98}$
10	Tam Uvalde	CMBR120$_{-160}$	CMBR8$_{-110}$
11	PMR-Honeydew	CMBR120$_{-160}$	CMBR8$_{-104}$
12	Honeydew	CMBR120$_{-160}$	CMBR8$_{-104}$
13	Mvnger's 339	CMBR120$_{-160}$	CMBR8$_{-98}$

2.3　特异片段的测序结果

将抗病特异扩增片段 CMBR120$_{-172}$、CMBR8$_{-98}$和感病特异扩增片段 CMBR120$_{-170}$、CMBR8$_{-104}$进行测序。

CMBR120$_{-172}$片段长度为 172 bp，有 16个 CT重复；CMBR120$_{-170}$片段长度为 170 bp，只有 15个 CT重复，二者存在 2个碱基"CT"的插入或缺失 (图 4)。

```
CMBR120-172   CTGGCCCCCTCCTAAACTAAACACAGACGTCTCAGAACTGCACGACTTTCGTGCAAAGGC   60
CMBR120-170   ------------------------------------------------------------   60
CMBR120-172   TTTCAGCTTGCTCTCTATTGCTGGGGTCTCTGGCTTCTGCCAGGTTCTCTCTCTCTCTCT  120
CMBR120-170   ------------------------------------------------------------  120
CMBR120-172   CTCTCTCTCTCTCTCTCTTAAAAGTTAAAATCAACCATTTTGATGCTTTTTG          172
CMBR120-170   ----------------..----------------------------------
```

图 4　特异扩增片段 CMBR120$_{-172}$和 CMBR120$_{-170}$序列比对

Fig. 4　Multi-alighment of the two specific fragments CMBR120$_{-172}$ and CMBR120$_{-170}$

CMBR8$_{-98}$片段长度为 98 bp，有 9个 CT重复，CMBR8$_{-104}$片段长度为 102 bp，有 11个 CT重复，二者存在 4个碱基"CTCT"的缺失或插入 (图 5)。

```
CMBR8-98    TTTCACTTTTTCCCGCCGCACTTTCCCTCTCTCTCTCTCTCTCT....TTCTCTTTCTCT   56
CMBR8-104   --------------------------------------------ctct------------   60
CMBR8-98    CTCTCTCTCACTCTTCATGCCCTTGCACTTCCCTTTTCCATT                     98
CMBR8-104   ------------------------------------------
```

图 5　特异扩增片段 CMBR8$_{-98}$和 CMBR8$_{-104}$序列比对

Fig. 5　Multi-alighment of the two specific fragments CMBR8$_{-98}$ and CMBR8$_{-104}$

3 讨论

3.1 甜瓜白粉病抗源 K7-1对 *P. xanthii*生理小种 2F的抗性遗传规律

明确甜瓜白粉病多个生理小种的抗病遗传规律，是开展甜瓜抗病遗传育种理论研究的基础。由于所采用的甜瓜品种和致病菌不同，以及对不同报道中的抗病基因的相同性或等位性关系未作分析，造成目前国内学者对白粉病抗性遗传规律研究结果不尽相同。王建设等（2005）认为抗性由一对不完全显性基因控制，而程振家等（2006）却认为抗性受两对不完全显性基因控制，上述报道都没有指出抗源具体对哪个生理小种具有抗性。而本项研究结果首次明确了甜瓜材料 K7-1对白粉病 *P. xanthii* 生理小种 2F的抗性受一对显性基因（*Pm*-2*F*）控制，这将有助于对白粉病抗性遗传机制进一步深入了解。

从流行病学的观点来看，利用多样化的抗源更有利于提高白粉病的防治效果和生产的安全性，因此人们在世界范围内花了大量的人力物力发现和鉴定抗白粉病的不同新抗源（马强 等，2007）。截至目前，已经正式命名了 17个甜瓜白粉病抗性基因（臧全宇 等，2007）。但是由于白粉病菌生理小种较多，分化快，上述有的白粉病抗性基因已经或正在逐步丧失抗性，因此发现和鉴定新的抗病基因对实现抗源的多样化具有重要意义。利用抗病特异片段 $CMBR120_{-172}$对 120份优良甜瓜种质资源材料进行验证时发现，13个抗病品种中有 4个品种扩增出该片段，说明这 4个抗病品种具有与 K7-1相同的抗病基因位点，而其他 6个品种扩增出的谱带大小全部为 160 bp，说明 6个抗病品种中存在的抗性基因位点或遗传背景不同于本试验中所使用的抗源 K7-1，目前我们正在利用不同抗源材料间的杂交，研究白粉病抗性基因位点的等位关系。

3.2 获得的抗病特异片段在甜瓜分子育种中应用的可能性

在以往研究中，国内学者王建设等（2005）找到了甜瓜抗白粉病相关的 RAPD分子标记，但甜瓜白粉病的生理小种较多，作者并未鉴定试验所采用的生理小种，其抗病标记遗传距离也较远，很难用于标记辅助选择。国外学者利用重组自交系群体或 $F_{2:3}$群体进行了甜瓜白粉病不同生理小种抗性基因定位（Perchepied et al，2005），并获得了一些 AFLP（Yuste-Lisbona et al，2008）和 RAPD（Fukino et al，2001）连锁分子，但获得的标记与白粉病抗性基因之间遗传距离大于 5 cM，不能直接应用于甜瓜抗白粉病育种。同时目前国内外已经发表的关于甜瓜白粉病分子标记论文主要还是基于 RAPD或 AFLP，非常少地使用了 SSR或 CAPS，造成标记选择成本较高。本试验在鉴定了材料所侵染的白粉病为 *P. xanthii*小种 2F的基础上，通过 SSR技术找到了与 *Pm*-2*F*紧密连锁的抗病特异片段。这是在明确白粉病生理小种基础上，首次报道的有关甜瓜抗白粉病紧密连锁 SSR标记，具有稳定性高等优点，能有效促进甜瓜白粉病分子育种水平。

目前，分子育种受到国内外研究机构和育种公司的高度重视，但在实际的育种过程中获得应用的很少，其中一个重要原因是获得的标记遗传距离较远，使得国内许多的蔬菜分子标记还没有与常规育种很好结合（王晓武和杜永臣，2007）。利用 F_2S_6群体，本试验中获得的两个抗病特异扩增片段与甜瓜白粉病抗性基因呈现紧密连锁关系，其连锁距离仅为 1 cM和 3 cM，而且抗病特异扩增片段 $CMBR120_{-172}$在 120份优良甜瓜种质资源材料验证中符合率达到 87.5%，说明这个抗病特异扩增片段不仅适用于本试验使用的 F_2S_6群体中，而且对其他甜瓜优良种质资源材料的可靠性也较高，能够很好地解决分子育种与常规育种的脱节问题，扩大了分子标记辅助选择在实际育种中的应用。同时，与 $CMBR8_{-98}$相比，$CMBR120_{-172}$和甜瓜白粉病抗性基因的遗传距离更近，在转育 K7-1同样来源的白粉病抗性基因时有更大的技术优势，并为进一步运用染色体步移法进行 *Pm*-2*F*基因图位克隆奠定了技术基础。

References

Chapman M A, Chang J, Weisman D, Kesseli R V, Burke J M. 2007. Universal markers for comparative mapping and phylogenetic analysis in the Asteraceae (Compositae). Theor Appl Genet, 115 (6): 747 - 755.

Cheng Zhen-jia, Wang Huai-song, Zhang Zhi-bin, Guo Shi-rong. 2006. Genetic analysis of resistace gene to powdery mildew in melon. Jiangsu Agricultural Sciences, (6): 224 - 225. (in Chinese)

程振家, 王怀松, 张志斌, 郭世荣. 2006. 甜瓜白粉病抗性遗传机制研究. 江苏农业科学, (6): 224 - 225.

Danin-Poleg Y, Reis N, Tzuri G, Katzir N. 2001. Development and characterization of microsatellite markers in *Cucumis*. Theor Appl Genet, 102: 61 - 72.

Du Sheng-li, Zhang Gui-hua, Li Shu-ju, Wang Ming. 2005. Development of a SCAR marker linked to cucumber powdery mildew resistance gene from an AFLP marker. Acta Horticulturae Sinica, 32 (6): 1095 - 1097. (in Chinese)

杜胜利, 张桂华, 李淑菊, 王 鸣. 2005. 黄瓜抗白粉病基因AFLP标记的SCAR转换. 园艺学报, 32 (6): 1095 - 1097.

Fazio G, Staub J E, Chung S M. 2002. Development and characterization of PCR markers in cucumber. J Amer Soc Hort Sci, 127: 545 - 557.

Fukino N, Taneishi M, Saito T, Nishijima T, Hirai M. 2001. Construction of a linkage map and genetic analysis for resistance to cotton aphid and powdery mildew in melon. Acta Hortic, 588: 283 - 286.

Gonzalo M J, Oliver M, Garcia-Mas J, Monfort A, Dolcet-Sanjuan R, Katzir N, Arús P, Monforte A J. 2005. Simple-sequence repeat markers used in merging linkage maps of melon (*Cucumis melo* L.). Theor Appl Genet, 110: 802 - 811.

Ma Qiang, Luo Pei-gao, Ren Zheng-long, Jiang Hua-ren, Yang Zu-jun. 2007. Genetic analysis and chromosomal location of two new genes for resistance to powdery mildew in wheat. Acta Agronomica Sinica, 33 (1): 1 - 8. (in Chinese)

马 强, 罗培高, 任正隆, 蒋华仁, 杨足君. 2007. 两个抗小麦白粉病新基因的遗传分析与染色体定位. 作物学报, 33 (1): 1 - 8.

McCreight J D. 2006. Melon-powdery mildew interactions reveal variation in melon cultigens and *Podosphaera xanthii* races 1 and 2. J Amer Soc Hort Sci, 131: 59 - 65.

Perchepied L, Bardin M, Dogimont C, Pitrat M. 2005. Relationship between loci conferring downy mildew and powdery mildew resistance in melon assessed by quantitative trait loci mapping. Phytopathology, 95 (5): 556 - 565.

Wang Jian-she, Song Shu-hui, Tang Xiao-wei, Chen Gui-lin. 2005. Genetics and molecular marker of the gene for disease resistance to powdery mildew on *Cucumis melo* L. Acta Agriculturae Boreali Sinica, 20 (1): 89 - 92. (in Chinese)

王建设, 宋曙辉, 唐晓伟, 陈贵林. 2005. 甜瓜白粉病抗性基因的遗传与分子标记. 华北农学报, 20 (1): 89 - 92.

Wang Juan, Gong Guo-yi, Guo Shao-gui, Wang Qian, Xu Yong. 2006. Identification of physiological races of powdery mildew on *Cucurbits* in Beijing. China Vegetables, (8): 7 - 9. (in Chinese)

王 娟, 宫国义, 郭绍贵, 王 倩, 许 勇. 2006. 北京地区瓜类蔬菜白粉病菌生理小种分化的初步鉴定. 中国蔬菜, (8): 7 - 9.

Wang Xiao-wu, Du Yong-chen. 2007. Trends and status of molecular breeding in vegetable crops. Review of China Agricultural Science and Technology, 9 (2): 14 - 18. (in Chinese)

王晓武, 杜永臣. 2007. 蔬菜作物分子育种研究现状与趋势. 中国农业科技导报, 9 (2): 14 - 18.

Yuste-Lisbona F J, Capel C, Capel J, Lozano R, Gómez-Guillamón M L, López-Sesé A I. 2008. Conversion of an AFLP fragment into one dCAPS marker linked to powdery mildew resistance in melon. Cucurbitaceae, 143 - 148.

Zang Quan-yu, Wang Bing-liang, Wang Yu-hong, Meng Qiu-feng, Huangpu Wei-guo. 2007. Progresses of resistance to powdery mildew in melon breeding. North Horticulturae, (9): 58 - 60. (in Chinese)

臧全宇, 汪炳良, 王毓洪, 孟秋峰, 皇甫伟国. 2007. 甜瓜白粉病抗性遗传育种研究进展. 北方园艺, (9): 58 - 60.