104个小麦品种抗条锈性及遗传多样性分析

王明玉[1] 冀凯燕[1,2] 冯 晶[1*] 蔺瑞明[1] 王凤涛[1] 徐世昌[1]

（1. 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 100193；
2. 河北农业大学植物保护学院，保定 071001）

摘要：为探究不同小麦品种(73个农家品种和31个育成品种)的抗条锈性和遗传多样性，在苗期对小麦品种接种条锈菌生理小种CYR32和CYR34进行抗性鉴定，并利用SSR分子标记技术进行遗传多样性分析。结果表明，在苗期抗性鉴定中，对于生理小种CYR32，有5个农家品种白大头、红洋辣子、老兰麦、红剑条和竹叶青(白)以及2个育成品种品冬904054-6和品冬904024表现近免疫；对于生理小种CYR34，有2个农家品种白芒麦和老兰麦以及2个育成品种品冬904024和晋79K214表现近免疫；对比农家品种与育成品种的抗性鉴定结果，发现对于生理小种CYR32，农家品种的抗性水平明显高于育成品种，而对于生理小种CYR34，育成品种的抗性水平高于农家品种。在遗传多样性分析中，104个品种的遗传相似系数变异范围在0.32~0.98之间，平均为0.65，但小麦品种遗传相似系数在来源地之间无明显差异。通过聚类分析发现，农家品种亲缘关系与来源地相关性较低，而育成品种的亲缘关系与来源地存在一定的相关性。因此，在品种改良过程中应引用不同类群的优质亲本，拓宽小麦育种的遗传基础，充分利用优质野生资源，适当搭配，选育更多小麦优良品种。

关键词：小麦条锈病；育成品种；农家品种；SSR；遗传多样性分析

Identification of the resistance of 104 wheat varieties to stripe rust and analysis of their genetic diversity

Wang Mingyu[1] Ji Kaiyan[1,2] Feng Jing[1*] Lin Ruiming[1] Wang Fengtao[1] Xu Shichang[1]

（1. State Key Laboratory of Plant Diseases and Pest Biology, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China; 2. College of Plant Protection, Hebei Agricultural University, Baoding 071001, Hebei Province, China）

Abstract: In order to investigate the resistance of 104 different wheat varieties to stripe rust, including 73 landraces and 31 productive cultivars, the rust-resistance was identified in seedlings with inoculating CYR32 and CYR34, and their genetic diversity was analyzed with SSR molecular markers. The results showed that five landraces (Baidatou, Hongyanglazi, Laolanmai, Hongjiantiao, Zhuyeqing (white)) and two productive cultivars (Pindong 904054-6 and Pindong 904024) were near immunity to CYR32, and two landraces (Baimangmai and Laolanmai) and two productive cultivars (Pindong 904024 and Jin 79K214) were near immunity to CYR34. In comparison, the resistance level of the landraces to CYR32 was higher than that of the productive cultivars, while the resistance level of the productive cultivars to CYR34 was higher than that of the landraces. The results of genetic diversity analysis showed that the variation of genetic similarity coefficient among 104 wheat varieties was 0.32−0.98, with an average of 0.65. However, there was no significant difference in the genetic similarity coefficients between different regions. It was found by cluster analysis that the genetic relationships of the

基金项目：国家重点基础研究发展计划(2013CB127700)，国家自然科学基金(31261140370)，国家重点研发计划(2016YFD0300705)
* 通信作者（Author for correspondence），E-mail：jingfeng@ippcaas.cn
收稿日期：2017-09-21

landraces were not correlated with their regions, while those of the productive cultivars were closely related to the region. Therefore, the high-quality parents from different groups should be applied in the process of breed improvement, which can broaden the genetic basis of wheat breeding, make full use of high-quality wild resources and breed more excellent wheat varieties.

Key words: wheat stripe rust; productive cultivar; landrace; SSR; genetic diversity analysis

小麦条锈病是由小麦条锈菌 *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* 引起的、由气流传播的世界性重要病害，我国是世界上最大的小麦条锈病流行区（Wan et al.，2007）。近几年来，由于条锈菌新生理小种的出现及迅速蔓延，使我国大部分主栽小麦品种抗性“丧失”（陈万权等，2013）。2002年，由于以CYR32为主的新流行生理小种的发展和积累，小麦条锈病在我国湖北、河南、云南、四川、重庆、陕西、山西、甘肃和青海等省市普遍发生，给小麦生产造成重大损失（魏国荣等，2011）。2009年在四川省郫县分离得到的贵农22致病类型条锈菌变异生理小种CYR34新菌系（*avr Yr10/24/26/ch42*），其对贵农22、川麦42、Moro（*Yr10*）和近等基因系NILS12（*Yr10*）、NILS16（*Yr24*）、NILS17（*Yr26*）以及38个四川省小麦新品种均具有致病性。2010—2011年，刘太国等（2012）对来自我国14个省（区）的条锈菌系进行了生理小种鉴定和分析，有4.3%的标样被鉴定为贵农22类群，且主要分布在四川、云南和甘肃3省，并指出该类群已经扩展至全国9个省（区），引起我国相关部门的高度重视。贵农22致病类群的出现及扩展，标志着中国小麦条锈菌群体结构又一次发生重大变化（黄瑾等，2014）。而目前广泛用作抗源的 *Yr10*、*Yr24/26* 基因和贵农系品种因新的高毒性致病生理小种CYR34而“丧失”其抗性（贾秋珍等，2012），预示着又一次品种更替的开始。因此，不断发掘、有效利用新抗源是持续控制小麦条锈病的重要基础性研究工作。

我国各小麦种植区生态环境差异较大，栽培历史悠久，自然选择保留下来的农家品种具有丰富的抗病基因及等位基因变异，是非常重要的基因资源库（陶先萍等，2006）。如果将这些资源发掘出来，通过杂交创建中间材料，或通过基因累加选育出目标品种，应用到抗条锈育种工作中，对解决目前我国小麦条锈抗性基因较为单一的问题将发挥重要作用。通过中国春、蚂蚱麦等一批地方品种的利用，培育出很多远缘杂交材料（Huang et al.，1997）和栽培品种（如碧蚂1号），如以地方品种江东门为亲本已培育出50多个小麦新品种，以成都光头作为亲本育成的品种达29个，以蚰子麦为亲本育成的品种达17个，这些作为亲本的地方品种成为了我国小麦育种的骨干亲本（谢炜，2010）。

由于地方品种具有丰富的遗传多样性，因此对地方品种进行全面研究，筛选出对小麦抗病育种具有重要价值的新基因资源尤为迫切。利用SSR分子标记技术揭示小麦资源的遗传多样性，并根据品种间的遗传距离选配杂交组合，可以减少育种工作中的盲目性，有效提高小麦的育种效率（蒲艳艳等，2011）。因此，本研究对104个小麦品种进行苗期抗病性鉴定，并利用小麦SSR标记进行分子水平的遗传多样性分析，明确所选品种的遗传差异及亲缘关系，以期为更加合理地利用其中优异种质资源和抗病基因提供分子水平的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试小麦及条锈菌：选用本试验室收集自山西、陕西、山东、河南和黑龙江等12个省的104个小麦品种进行试验，其中73个为农家品种，31个为育成品种。感病对照品种铭贤169以及我国当前小麦条锈菌流行生理小种CYR32和CYR34，均由中国农业科学院植物保护研究所麦类真菌病害研究组提供。

试剂及仪器：CTAB、Tris-HCl、EDTA、NaCl、氯仿、异丙醇、乙醇、$Na_2EDTA \cdot 2H_2O$、硼酸、琼脂糖、尿素、丙烯酰胺、甲叉丙烯酰胺、去离子甲酰胺（98%）、溴酚蓝、二甲苯氰，北京山承伟业科技有限公司；dNTP、*Taq* 酶，北京全式金生物技术有限公司。YY-10C电泳仪，北京市六一仪器厂；MRS3200A3L扫描仪，上海中晶科技有限公司；T100 PCR仪，美国伯乐公司。

1.2 方法

1.2.1 小麦品种抗条锈性鉴定

在中国农业科学院植物保护研究所人工气候室内进行小麦苗期抗性鉴定。每个供试品种选取饱满种子30~35粒，分2份分别播种于9 cm×9 cm营养钵中，置于人工气候室内培养，温度为昼15~18℃/夜10~14℃、光照周期为12~14 h/d、光照强度为5 000~

6 000 lx。待供试品种第1片叶完全展开时，通过喷雾法将制备好的生理小种CYR32和CYR34孢子悬浮液分别接种到供试小麦材料上，以感病品种铭贤169为对照，把小麦苗置于保湿桶内于9~13℃黑暗条件下处理18~24 h，然后转入自控温室内潜育发病，15 d后将充分发病的对照铭贤169按照0~4级分级标准（NY/T 1443.1—2007）进行反应型调查。0级：叶上不产生任何可见的症状；0;级：叶上产生小型枯死斑，不产生夏孢子堆；1级：叶上产生枯死条点或条斑，夏孢子堆很小，数目很少；2级：夏孢子堆小到中等大小，较少，其周围叶组织枯死或显著褪绿；3级：夏孢子堆较大、较多，其周围叶组织有褪绿现象；4级：夏孢子堆大而多，周围不褪绿。0级为免疫，0;级为近免疫，1级为高抗，2级为中抗，3、4级为感病。

1.2.2　SSR分析检测方法

采用CTAB法提取并纯化104份小麦基因组DNA（Allen et al.，2006），把DNA浓度稀释到50 ng/μL，于−20℃下保存备用。依据GrainGenes 2.0（http://www.wheat.pw.usda.gov）公布的序列，随机选用21条染色体上的SSR引物，由北京三博远志生物技术有限责任公司合成，对所有DNA进行SSR分析，从中筛选出条带清晰、多态性好的16对SSR引物，分析不同小麦品种的遗传多样性（表1）。

表1　SSR引物名称及序列

Table 1　The names and sequences of SSR primers

引物 Primer	正向 Forward	反向 Reverse	位置 Position
Barc135	ATCGCCATCTCCTCTACCA	GCGAACCCATGTGCTAAGT	4A、3D、2B、5A
Barc18	CGCTTCCCATAACGCCGATAGTAA	CGCCCGCATCATGAGCAATTCTATCC	2B、6B
Barc159	CGCAATTTATTATCGGTTTTAGGAA	CGCCCGATAGTTTTTCTAATTTCTGA	2B、2A、2B
Barc35	GCGGTGTGCATGCTTGTCGTGTAGGAGT	GCGTAGTGTAGTATGTGGCCCGATTATT	2B
Barc1072	GCGCCGTAATAACTTGGTCCCATCTCAG	GTTGGTTCTCTTCTTCCGTGGACTT	2B、3B、6A
Barc318	CGACTAACAATTTTTCATTT	TGATTTCGCTAACAAGGAG	2B
Barc13	GCAGGAACAACCACGCCATCTTAC	GCGTCGCAATTTGAAGAAAATCATC	2B
Gwm273	ATTGGACGGACAGATGCTTT	ACGACAGACATAAAGAAGAGCG	6B
Mag1424	TGAACATCAAGGGGCTGC	ACGACAGACATAAAGAAGAGCG	6B
Gpw4451	AGCTCCTCCAGGTCCAGC	TACAAACCTCCTCGCAGGG	3D
Barc1161	ACATCACACGCACGACGCACCAAT	CGTGTCCGATCGGGGGTCAAGG	3D
Xcn14.1	CCTAGTTAGCGAGAGCAATG	GGTGGTTTGAAAAAGAGATG	2A、4B
Wms604	TATATAGTTCAATATGACCCG	ATCTTTTGAACCAAATGTG	5B、1B
Barc248	GCAGAGTCGACAGATAGGTTTTTA	CGCCAAAAGAGAAACGAAAATAATA	3B
Gpw4044	CCAAAACCTTGCTTCTCCCT	ACCATTGCCCCCTTTTCTAC	1A、3B、2B
Wms140	ATGGAGATATTTGGCCTACAAC	CTTGACTTCAAGGCGTGACA	1B

10 μL PCR扩增体系：ddH_2O 5.3 μL、10×PCR Buffer 1.0 μL、2.5 mmol/L dNTPs 0.8 μL、5 U/μL *Taq*酶0.1 μL、引物0.8 μL、80~100 ng/μL模板2 μL。扩增程序：95℃预变性5 min；95℃变性40 s，退火40 s（温度因引物而定），72℃延伸1 min，35个循环；72℃延伸10 min后4℃保存。最后PCR产物用聚丙烯酰胺凝胶电泳进行检测。

观察并筛选有多态性差异的引物扩增条带，最终统计条带清晰且完整者的数据，有带记为1，无带记为0，缺失记为2。按Nei & Li（1979）的方法计算材料间的遗传相似系数（genetic similarity，GS），即：$GS=2N_{ij}/(N_i+N_j)$，其中N_{ij}为材料i和j共有的扩增片段数目，N_i为材料i中出现的扩增片段数目，N_j为材料j中出现的扩增片段数目。根据遗传相似系数按非加权组平均法（unweighted pair-group method with arithmetic means，UPGMA）进行遗传相似性聚类。

1.3　数据分析

试验数据采用Excel 2016整理和绘图，运用NTSYS-PC 2.10软件进行聚类分析。

2　结果与分析

2.1　供试小麦品种抗条锈性鉴定与评价

利用小麦条锈菌生理小种CYR32和CYR34对选定的104个小麦品种进行苗期抗性鉴定，统计结果显示，104个小麦品种中有1个品种豫30691-1-4对2个供试条锈菌生理小种均表现感病；有2个品种

老兰麦和品冬904024均表现近免疫。农家品种中没有对CYR32表现感病的品种，73个农家品种均表现出不同程度的抗性，而对CYR34表现出感病的有16个，其它57个品种表现出不同程度的抗性，说明农家品种对CYR32的抗性水平比对CYR34的抗性水平高。育成品种对CYR32表现出感病的有6个，表现出抗病（近免疫+高抗+中抗）的有25个，对CYR34表现出感病的有2个，表现出抗病（近免疫+高抗+中抗）的有29个，育成品种在选育过程中有针对性的对当前流行生理小种进行选择，表现出较强的抗性（表2）。

表2 供试104个小麦品种的来源、抗性鉴定结果及相似系数

Table 2 Sources, resistance and similarity coefficients of 104 varieties of wheat

类别 Category	序号 No.	品种 Variety	来源 Source	反应型 Infection type		相似系数变异范围 Range of similarity coefficient
				CYR32	CYR34	
农家品种 Land-races	1	黄瓜先 Huangguaxian	河南省 Henan Province	1	3	0.44–0.84
	2	蚰子麦 Youzimai	河南省 Henan Province	1	1	0.40–0.96
	3	蚂蚱麦 Mazhamai	陕西省 Shaanxi Province	1	2	0.37–0.90
	4	葫芦头 Hulutou	陕西省 Shaanxi Province	1	1	0.40–0.95
	5	小红芒 Xiaohongmang	河南省 Henan Province	2	1	0.42–0.95
	6	小偃矮 Xiaoyan'ai	中国科学院遗传与发育生物学研究所 Institute of Genetics and Developmental Biology	2	2	0.40–0.84
	7	早洋麦 Zaoyangmai	吉林省 Jilin Province	2	3	0.43–0.90
	8	崇阳红麦 Chongyanghongmai	湖北省 Hubei Province	2	2	0.44–0.87
	9	大青芒 Daqingmang	黑龙省江 Heilongjiang Province	1	2	0.39–0.94
	10	三月黄 Sanyuehuang	陕西省 Shaanxi Province	2	2	0.49–0.80
	11	淮麦 Huaimai	江苏省 Jiangsu Province	2	2	0.48–0.78
	12	红和尚头 Hongheshangtou	河北省 Hebei Province	2	3	0.43–0.88
	13	白大头 Baidatou	甘肃省 Gansu Province	0;	4	0.50–0.86
	14	浏阳有芒麦 Liuyangyoumangmai	湖南省 Hunan Province	2	4	0.51–0.88
	15	假红麦 Jiahongmai	山西省 Shanxi Province	2	2	0.50–0.87
	16	大粒半芒 Dalibanmai	山东省 Shandong Province	2	2	0.42–0.86
	17	大芒麦 Damangmai	河北省 Hebei Province	2	2	0.52–0.80
	18	方六柱 Fangliuzhu	江苏省 Jiangsu Province	2	2	0.50–0.93
	19	铜柱头 Tongzhutou	江苏省 Jiangsu Province	1	2	0.49–0.86
	20	望水白 Wangshuibai	河南省 Henan Province	2	2	0.42–0.88
	21	大黄皮 Dahuangpi	江苏省 Jiangsu Province	2	2	0.50–0.90
	22	金华白蒲 Jinhuabaipu	浙江省 Zhejiang Province	2	2	0.50–0.93
	23	菜子黄 Caizihuang	江苏省 Jiangsu Province	1	2	0.51–0.86
	24	成都光头 Chengduguangtou	四川省 Sichuan Province	2	2	0.46–0.91
	25	白芒麦 Baimangmai	河北省 Hebei Province	1	0;	0.42–0.83
	26	秃子和尚 Tuziheshang	陕西省 Shaanxi Province	2	2	0.48–0.89
	27	红芒麦 Hongmangmai	陕西省 Shaanxi Province	2	2	0.46–0.87
	28	软秧老白麦 Ruanyanglaobaimai	陕西省 Shaanxi Province	2	2	0.44–0.89
	29	老麦 Laomai	陕西省 Shaanxi Province	2	4	0.49–0.86
	30	红头麦 Hongtoumai	陕西省 Shaanxi Province	2	1	0.39–0.87
	31	剑条麦 Jiantiaomai	陕西省 Shaanxi Province	2	2	0.40–0.78
	32	红小白麦 Hongxiaobaimai	陕西省 Shaanxi Province	1	2	0.34–0.96
	33	鱼麦 Yumai	陕西省 Shaanxi Province	2	1	0.44–0.85
	34	八股套 Bagutao	陕西省 Shaanxi Province	2	2	0.38–0.86
	35	小白麦 Xiaobaimai	陕西省 Shaanxi Province	2	1	0.39–0.85
	36	红麦 Hongmai	陕西省 Shaanxi Province	1	2	0.45–0.84
	37	红大头 Hongdatou	陕西省 Shaanxi Province	1	3	0.40–0.85
	38	红洋辣子 Hongyanglazi	陕西省 Shaanxi Province	0;	2	0.45–0.87

续表 2 Continued

类别 Category	序号 No.	品种 Variety	来源 Source	反应型 Infection type		相似系数变异范围 Range of similarity coefficient
				CYR32	CYR34	
	39	铁杆糙 Tiegancao	陕西省 Shaanxi Province	2	2	0.50–0.91
	40	老兰麦 Laolanmai	陕西省 Shaanxi Province	0;	0;	0.48–0.81
	41	换香头 Huanxiangtou	陕西省 Shaanxi Province	2	1	0.44–0.87
	42	线麦 Xianmai	陕西省 Shaanxi Province	2	2	0.44–0.87
	43	小红麦 Xiaohongmai	陕西省 Shaanxi Province	2	2	0.44–0.86
	44	白麦子 Baimaizi	陕西省 Shaanxi Province	1	2	0.42–0.85
	45	红须麦 Hongxumai	陕西省 Shaanxi Province	2	2	0.50–0.87
	46	山红麦 Shanhongmai	陕西省 Shaanxi Province	1	4	0.46–0.85
	47	老红麦 Laohongmai	陕西省 Shaanxi Province	1	2	0.47–0.87
	48	红剑条 Hongjiantiao	陕西省 Shaanxi Province	0;	2	0.39–0.86
	49	大颗红 Dakehong	陕西省 Shaanxi Province	1	2	0.49–0.87
	50	惠山洋麦 Huishanyangmai	江苏省 Jiangsu Province	1	2	0.42–0.92
	51	白浦穗 Baipumai	浙江省 Zhejiang Province	2	4	0.51–0.90
	52	早小麦 Zaoxiaomai	浙江省 Zhejiang Province	1	2	0.51–0.96
	53	鲫鱼麦 Jiyumai	浙江省 Zhejiang Province	1	1	0.51–0.96
	54	大头红麦 Datouhongmai	陕西省 Shaanxi Province	1	4	0.53–0.88
	55	白洋辣子 Baiyanglazi	陕西省 Shaanxi Province	1	2	0.50–0.82
	56	红秃子 Hongtuzi	陕西省 Shaanxi Province	1	2	0.47–0.89
	57	红索条 Hongsuotiao	陕西省 Shaanxi Province	1	3	0.48–0.80
	58	黄洋辣子 Huangyanglazi	陕西省 Shaanxi Province	1	2	0.53–0.89
	59	梭条红麦 Suotiaohongmai	陕西省 Shaanxi Province	1	2	0.42–0.81
	60	白疙瘩 Baigeda	陕西省 Shaanxi Province	1	2	0.48–0.96
	61	光头小麦 Guangtouxiaomai	浙江省 Zhejiang Province	1	3	0.48–0.96
	62	洋麦子 Yangmaizi	四川省 Sichuan Province	2	3	0.54–0.81
	63	金光麦① Jinguangmai ①	湖北省 Hubei Province	2	4	0.45–0.94
	64	竹叶青（白）Zhuyeqing（white）	陕西农业科学院 Shaanxi	0;	2	0.42–0.79
	65	竹叶青（红）Zhuyeqing（red）	Academy of Agricultural Sciences	1	2	0.46–0.84
	66	平遥小白麦 Pingyaoxiaobaimai	山西省 Shanxi Province	1	2	0.44–0.86
	67	金光麦② Jinguangmai ②	陕西农业科学院 Shaanxi Academy of Agricultural Sciences	1	2	0.40–0.94
	68	双丰收 Shuangfengshou	陕西省 Shaanxi Province	2	2	0.48–0.89
	69	坡川丰 Pochuanfeng	陕西省 Shaanxi Province	1	3	0.51–0.92
	70	友谊麦 Youyimai	四川省 Sichuan Province	2	3	0.47–0.83
	71	大黑芒 Daheimang	江苏省 Jiangsu Province	1	2	0.46–0.82
	72	莱阳白秃头 Laiyangbaitutou	山东省 Shandong Province	2	2	0.39–0.87
	73	红芒白 Hongmangbai	河南省 Henan Province	2	–	0.44–0.87
育成品种 Productive cultivar	74	豫85-2325 Yu 85-2325	河南省 Henan Province	1	4	0.46–0.75
	75	豫30691-1-1 Yu 30691-1-1		3	1	0.40–0.87
	76	豫30691-1-4 Yu 30691-1-4		4	4	0.46–0.85
	77	豫30691-1-10 Yu 30691-1-10		2	2	0.40–0.88
	78	豫30691-1-11 Yu 30691-1-11		2	2	0.51–0.84
	79	豫30691-3-6 Yu 30691-3-6		4	2	0.42–0.88
	80	普冰06-X4466 Pubing 06-X4466	陕西省 Shaanxi Province	2	2	0.45–0.77
	81	普冰484412-3 Pubing 484412-3		2	2	0.44–0.97
	82	普冰3555 Pubing 3555		4	2	0.43–0.98
	83	普冰04-3508 Pubing 04-3508		2	1	0.46–0.98
	84	普冰04-3510 Pubing 04-3510		2	2	0.44–0.98
	85	普冰04-3513 Pubing 04-3513		2	2	0.48–0.98

续表2 Continued

类别 Category	序号 No.	品种 Variety	来源 Source	反应型 Infection type CYR32	CYR34	相似系数变异范围 Range of similarity coefficient
	86	山农8081② Shangnong 8081②	山东农业大学 Shandong Agricultural University	2	2	0.46–0.98
	87	山农8081③ Shangnong 8081③		2	2	0.44–0.98
	88	山农87074-551 Shangnong 87074-551		2	1	0.38–0.94
	89	山农070109Shangnong 070109		2	1	0.38–0.93
	90	山农0096 Shangnong 0096		1	1	0.42–0.88
	91	品冬904047-9 Pindong 904047-9	中国农业科学院作物科学研究所 Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences	1	2	0.45–0.87
	92	品冬904050-3 Pindong 904050-3		1	1	0.48–0.88
	93	品冬904054-6 Pindong 904054-6		0;	2	0.52–0.94
	94	品冬904091-3 Pindong 904091-3		2	1	0.48–0.81
	95	品冬904399 Pindong 904399		2	2	0.44–-0.84
	96	品冬38 Pindong 38		1	1	0.53–0.90
	97	品冬904024 Pindong 904024		0;	0;	0.53–0.94
	98	品冬904040 Pindong 904040		3	2	0.53–0.91
	99	晋79K214 Jin 79K214	山西农业科学院经济作物研究所 Institute of Industrial Crop Sciences, Shanxi Academy of Agricultural Sciences	4	0;	0.50–0.88
	100	晋85-142γ Jin 85-142γ		2	2	0.47–0.84
	101	晋1348-2 Jin 1348-2	山西农业大学 Shanxi Agricultural University	2	2	0.48–0.87
	102	晋1553-1 Jin 1553-1		2	2	0.42–0.82
	103	晋1569-4 Jin 1569-4		2	2	0.48–0.88
	104	晋866005 Jin 866005	山西农业科学院生物物理所 Institute of Biophysics, Shanxi Academy of Agricultural Sciences	2	1	0.39–0.83

0：免疫；0;：近免疫；1：高抗；2：中抗；3和4：感病；–：数据缺失。0：Immune；0;：nearly immune；1：highly resistant；2：moderately resistant；3 & 4：susceptible；–：data missing.

104个供试小麦品种中，有5个农家品种白大头、红洋辣子、老兰麦、红剑条、竹叶青(白)和2个育成品种品冬904054-6、品冬904024对CYR32表现近免疫，有6个育成品种豫30691-1-1、豫30691-1-4、豫30691-3-6、品冬904040、晋79K214和普冰3555对CYR32表现感病，整体表现抗性的品种数量占总品种数的94.23%。对于CYR34，有2个农家品种白芒麦和老兰麦以及2个育成品种品冬904024和晋79K214表现近免疫，有18个品种表现感病，整体表现抗性的品种数量占总品种数的81.73%(图1)。同时发现，对CYR32表现高抗的品种，可能会对CYR34表现感病，如白大头；对CYR32表现感病的品种，也可能会对CYR34表现出抗性，如晋79K214，说明不同的小麦品种对不同小麦条锈菌生理小种的抗性不同，可能与小麦遗传多样性相关。因此，进一步通过SSR分子标记技术分析不同小麦品种的遗传多样性。

2.2 供试小麦品种遗传多样性分析

2.2.1 基于小麦品种间遗传相似系数的分析

通过分布于小麦染色体上的16对条带清晰的SSR引物对104个小麦品种(系)进行SSR分析，共检测出61个条带，每对SSR引物扩增条带数平均为3.8个。利用软件NTSYS-PC 2.10计算品种间的遗传相似系数，得到其变异范围为0.32~0.98，平均为0.65；其中，育成品系的普冰3555、普冰04-3508、普冰04-3510和普冰04-3513的遗传相似度最高，遗传相似系数高达0.98，而农家品种淮麦和育成品种普冰06-X4466的遗传相似系数最低(表2)。来自各省的小麦农家品种的遗传相似系数平均值排序为浙江(0.73)>黑龙江(0.69)>江苏(0.67)>陕西(0.66)=河南(0.66)>河北(0.65)>山东(0.64)>山西(0.61)；育成品种的遗传相似系数平均值排序为普冰品系(0.69)>山农品系(0.68)>晋系(0.65)>豫系(0.64)。同一来源地的育成品系和农家品种遗传相似系数相

比较，山东农家品种（0.64）<山农品系（0.68），陕西农家品种（0.66）<普冰品系（0.69），山西农家品种（0.61）<晋系（0.65）；河南农家品种（0.66）>豫系（0.64）。可以看出，此批小麦品种遗传相似系数在来源地之间无明显差异，但是4个地区的农家品种和本地区的育成品系比较，所选用地区的育成品种间亲缘关系要大于当地的农家品种。

2.2.2　农家品种聚类结果分析

当遗传相似系数为0.62时，供试的73个小麦农家品种可分为2大类，一类包含56个品种，占农家品种的76.71%，这一大类在遗传相似系数为0.65处又分为2个亚类，一个亚类包含54个品种，另一个亚类只有白芒麦和剑条麦2个品种；另一大类有17个品种，占农家品种的23.29%（图2）。总体而言，农家品种之间与来源地相关性不明显。

2.2.3　育成品种聚类结果分析

供试的31个小麦育成品种在遗传相似系数为0.65处分为2大类，一类包括3个品种，从来源地考虑不存在明显相关关系，但在抗性方面都对生理小种CYR32表现抗性；另一类包含28个品种，占育成品种的90.32%，在0.70处又可分为2个亚类，一类包含11个品种，另一类包含17个品种（图3）。属于河南省的豫30691-1-1、豫30691-1-10和豫30691-3-6聚在一起；属于陕西省的普冰484412-3、普冰3555、普冰04-3510、普冰04-3513和普冰04-3508聚在一起；属于山东省的山农8081②、山农8081③和山农0096聚在一起，这3个地区在地理位置上靠近，显示出育成品种的亲缘关系与来源地有一定相关性。

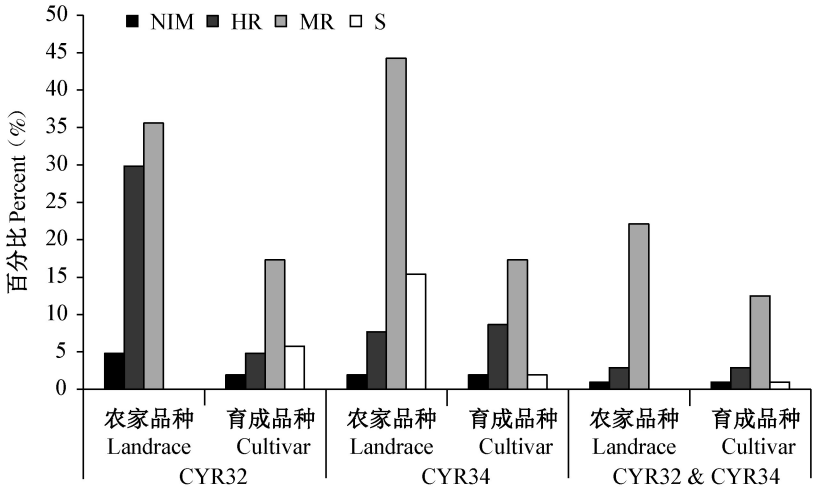

图1　小麦品种对不同条锈菌生理小种的抗性类型

Fig. 1　Resistance types of wheat cultivars to different *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* races

NIM：近免疫；HR：高抗；MR：中抗；S：感病。NIM：Nearly immune；HR：highly resistant；MR：moderately resistant；S：susceptible.

3　讨论

小麦条锈菌毒性变异频繁，容易引起小麦品种抗病性的“丧失”。针对小麦育成品种和农家品种进行抗锈性鉴定，对小麦品种布局及抗源利用都非常重要。本试验中，104个供试小麦品种中没有对CYR32和CYR34的抗性表现为免疫的品种，均感病的品种比例也很小，对2个生理小种都表现近免疫的有2个品种，分别为老兰麦和品冬904024；共同表现感病的有1个品种，为豫30691-1-4，说明CYR32和CYR34对所选用的104个小麦品种的致病性差异较大。

本试验中，对于生理小种CYR32，农家品种的抗性水平明显高于育成品种，说明育成品种抗性易于“丧失”；对于生理小种CYR34，育成品种抗性比例高于农家品种，说明育成品种由于基因累积而抗新生理小种，也意味着品种抗性“丧失”是一个渐进过程。农家品种对CYR32表现抗性的比例高于对CYR34表现抗性的比例，说明新生理小种CYR34比CYR32的毒性谱更宽，使原来抗病的品种丧失其原有抗性。这与刘博等（2017）研究结果一致，进一步证明了CYR34作为一个新的致病生理小种对现有的抗病品种威胁较大。因此，在抗病育种中建议选择农家品种作为抗源，一方面，农家品种的抗性基因多为新基因或尚未被广泛利用的基因；另一方面，农家品种多为单基因或寡基因组成的抗性，宜于与其它基因聚合加以利用。

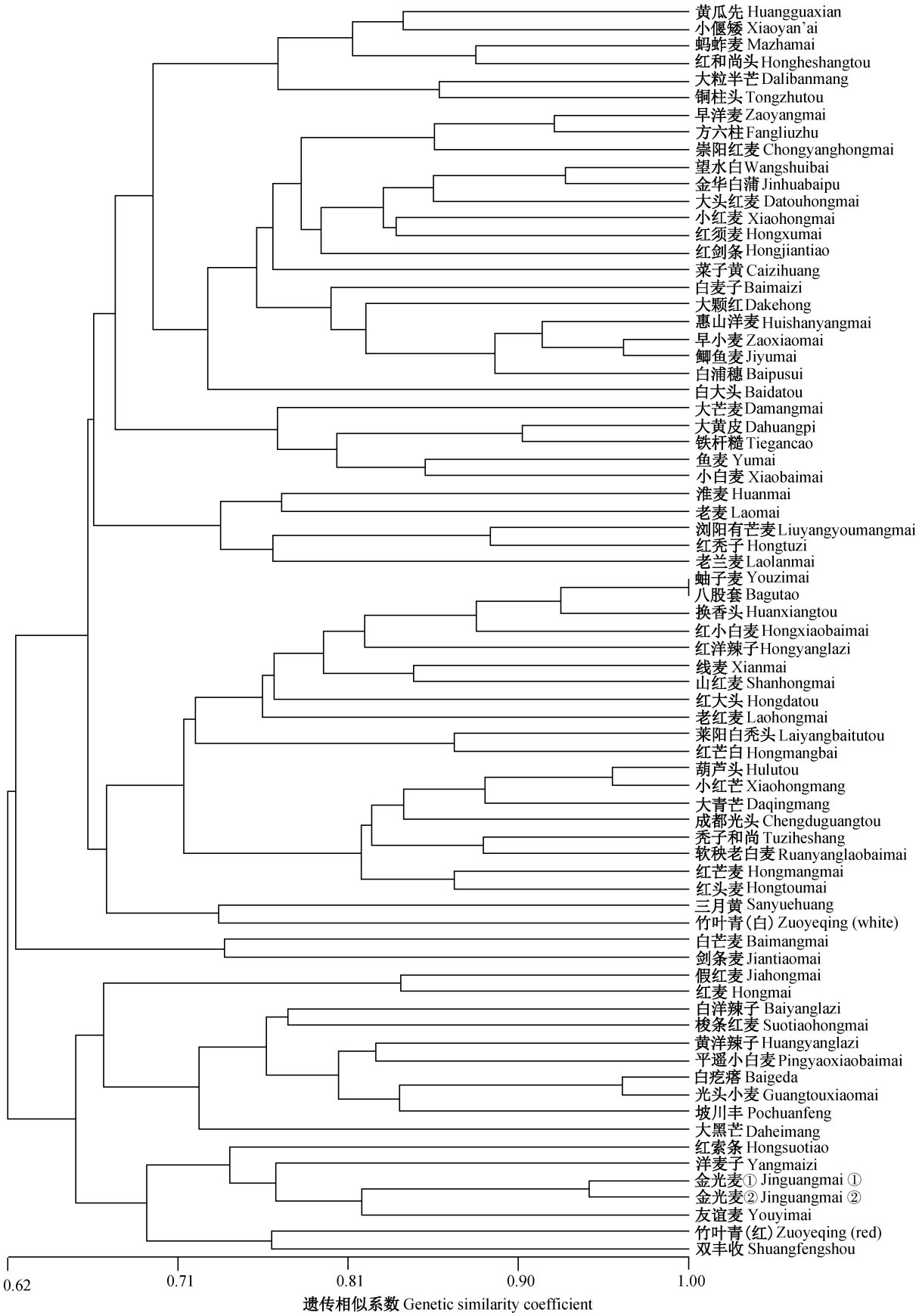

图2 小麦农家品种遗传多样性检测的SSR标记聚类图

Fig. 2 Dendrogram of cluster analysis based on SSR markers for the genetic diversity of landraces

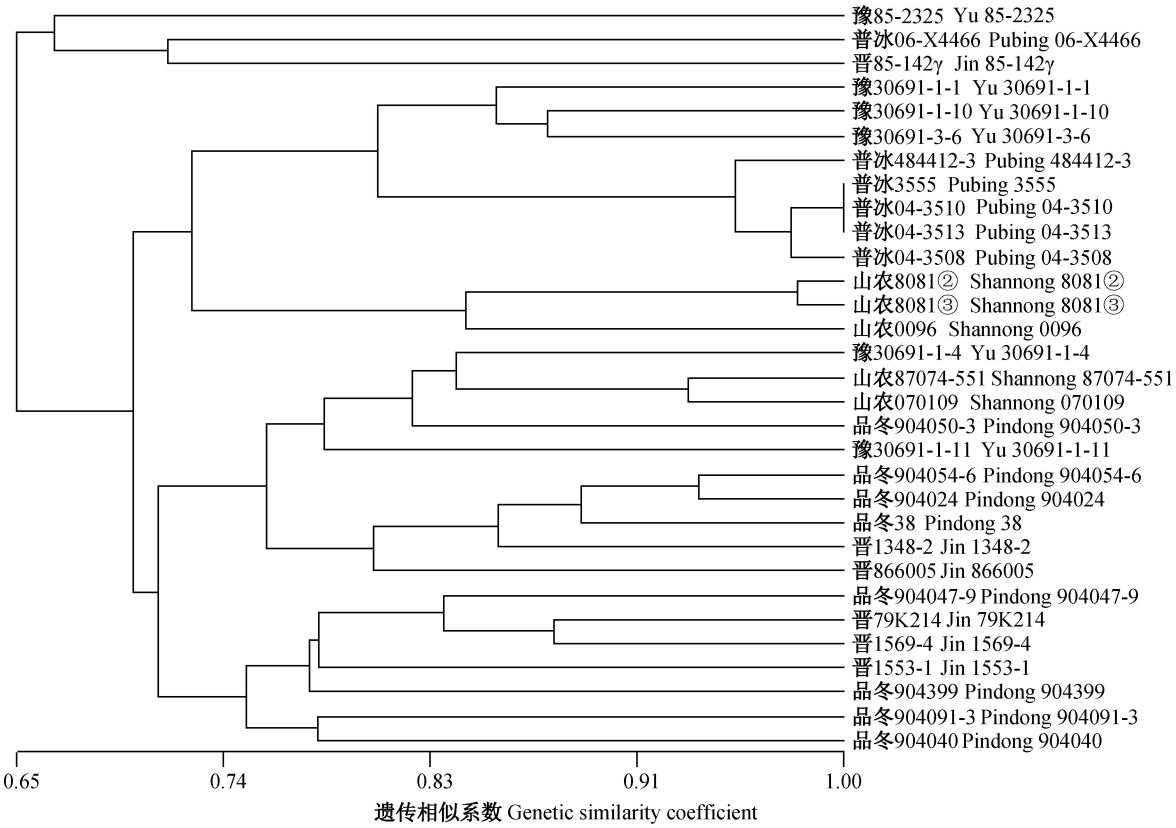

图3 小麦育成品种遗传多样性检测的SSR标记聚类图

Fig. 3 Dendrogram of cluster analysis based on SSR markers for the genetic diversity of productive cultivars

贾继增等(2001)对来自11个国家的15个小麦品种(系)的472个RFLP位点的遗传多样性进行了检测,发现普通小麦遗传多样性非常贫乏,其中D基因组的遗传多样性最差,A基因组的遗传多样性居中,B基因组的遗传多样性最高;高睦枪等(2001)用53对SSR引物对48个小麦品种(系)进行遗传多样性分析,平均有6.33个等位变异,认为5个SSR引物即可将不同品种很好地分类;本研究中的16对SSR引物在一定水平上反映了104个供试小麦品种的亲缘关系和遗传多样性特点,73个农家品种中,对CYR32表现近免疫的5个品种和对CYR34表现近免疫的2个品种都聚类到一个亚类中,说明这7个品种亲缘关系较近,有可能抗性来源也比较近;31个育成品种中,对CYR34表现抗性的4个品冬系列和3个晋系列聚类到了一个小亚类中,说明这2个系列的品种亲缘关系非常近,抗性来源有可能相同。结合104个小麦品种抗性鉴定结果与聚类分析结果,可以从中选择具有不同遗传背景的品种进行组配,提高后代品种的遗传多样性和抗病性,减缓因病菌生理小种变化引起的品种抗性丧失。

本试验选用的73个小麦农家品种分别来自河南、陕西、山东、河北、山西、江苏、浙江、四川和甘肃等省,其聚类结果显示与来源地无关,说明农家品种的遗传多样性丰富,可以为下一步小麦育种提供更多的资源;将31个小麦育成品系按来源地进行比较,发现供试小麦育成品种遗传相似系数在地区之间无明显差异,遗传多样性不够丰富,这与蒲艳艳等(2011)和曹廷杰等(2015)分别对山东省和河南省的小麦品种遗传多样性的研究结果基本一致。通过对陕西省农家品种和本地区的育成品系比较,发现该地区的育成品系遗传相似系数大于农家品种的遗传相似系数,说明该地区育成品种间亲缘关系要大于当地的农家品种。因此,在品种改良过程中应引用不同类群的优质亲本,拓宽小麦育种的遗传基础,充分利用优质野生资源,适当搭配,选育更多小麦优良品种。

参 考 文 献 (References)

Allen GC, Flores-Verqara MA, Krasynanski S, Kumar S, Thompson WF. 2006. A modified protocol for rapid DNA isolation from plant tissues using cetyltrimethylammonium bromide. Nature Protocols, 1(5): 2320−2325

Cao TJ, Xie JZ, Wu QH, Chen YX, Wang ZZ, Zhang H, Wang XC,

Zhan KH, Xu RQ, Wang JR, et al. 2015. Genetic diversity of registered wheat in Henan Province based on pedigree and single-nucleotide polymorphism. Acta Agronomica Sinica, 41(2): 197−206 (in Chinese) [曹廷杰, 谢菁忠, 吴秋红, 陈永兴, 王振忠, 赵虹, 王西成, 詹克慧, 徐如强, 王际睿, 等. 2015. 河南省近年审定小麦品种基于系谱和SNP标记的遗传多样性分析. 作物学报, 41(2): 197−206]

Chen WQ, Kang ZS, Ma ZH, Xu SC, Jin SL, Jiang YY. 2013. Integrated management of wheat stripe rust caused by *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in China. Scientia Agricultura Sinica, 46(20): 4254−4262 (in Chinese) [陈万权, 康振生, 马占鸿, 徐世昌, 金社林, 姜玉英. 2013. 中国小麦条锈病综合治理理论与实践. 中国农业科学, 46(20): 4254−4262]

Gao MQ, Liu DC, Guo XL, Zhang AM. 2001. Genetic diversity of some Chinese new winter wheat cultivars detected by SSR markers. Journal of Agricultural Biotechnology, 9(1): 49−54 (in Chinese) [高睦枪, 刘冬成, 郭小丽, 张爱民. 2001. 我国部分冬小麦新品种(系)SSR标记遗传差异的研究. 农业生物技术学报, 9(1): 49−54]

Huang J, Jia QZ, Jin SL, Cao SQ, Zhang B, Sun ZY, Luo HS, Wang XM. 2014. Population changes of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in Gansu Province during 2010—2012. Plant Protection, 40(3): 101−105, 116 (in Chinese) [黄瑾, 贾秋珍, 金社林, 曹世勤, 张勃, 孙振宇, 骆惠生, 王晓明. 2014. 2010—2012年甘肃省小麦条锈病菌生理小种变化动态监测. 植物保护, 40(3): 101−105, 116]

Huang XQ, Hsam SLK, Zeller FJ. 1997. Chromosomal location of genes for resistance to powdery mildew in common wheat (*Triticum aestivum* L. em. Thell.) 4. Gene *Pm24* in Chinese landrace Chiyacao. Theoretical and Applied Genetics, 95(5/6): 950−953

Jia JZ, Zhang ZB, Devos K, Gale MD. 2001. Analysis of genetic diversity of 21 chromosomes RFLP-based genetic loci. Science in China (Part C), 31(1): 13−21 (in Chinese) [贾继增, 张正斌, Devos K, Gale MD. 2001. 小麦21条染色体RFLP作图位点遗传多样性分析. 中国科学(C辑), 31(1): 13−21]

Jia QZ, Huang J, Cao SQ, Zhang B, Wang XM, Jin SL. 2012. Discovery of new stripe rust strain infected to China's major wheat resistant material Guinong 22 and its preliminary pathogenicity analysis. Gansu Agricultural Science and Technology, (1): 3−5 (in Chinese) [贾秋珍, 黄瑾, 曹世勤, 张勃, 王晓明, 金社林. 2012. 感染我国重要小麦抗源材料贵农22的条锈菌新菌系的发现及致病性初步分析. 甘肃农业科技, (1): 3−5]

Liu B, Liu TG, Zhang ZY, Jia QZ, Wang BT, Gao L, Peng YL, Jin SL, Chen WQ. 2017. Discovery and pathogenicity of CYR34, a new race of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in China. Acta Phytopathologica Sinica, 47(5): 681−687 (in Chinese) [刘博, 刘太国, 章振羽, 贾秋珍, 王保通, 高利, 彭云良, 金社林, 陈万权. 2017. 中国小麦条锈菌条中34号的发现及其致病特性. 植物病理学报, 47(5): 681−687]

Liu TG, Wang BT, Jia QZ, Zhang ZY, Li Q, Cao SQ, Peng YL, Jin SL, Li MJ, Liu B, et al. 2012. Physiologic specialization of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in China during 2010—2011. Journal of Triticeae Crops, 32(3): 574−578 (in Chinese) [刘太国, 王保通, 贾秋珍, 章振羽, 李强, 曹世勤, 彭云良, 金社林, 李明菊, 刘博, 等. 2012. 2010—2011年度我国小麦条锈菌生理专化研究. 麦类作物学报, 32(3): 574−578]

Nei M, Li WH. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 76(10): 5269−5273

Pu YY, Cheng K, Li SS. 2011. Genetic diversity of recent wheat cultivars in Shandong Province using SSR markers. Molecular Plant Breeding, 9(4): 443−449 (in Chinese) [蒲艳艳, 程凯, 李斯深. 2011. 山东省近期育成小麦品种遗传多样性的SSR分析. 分子植物育种, 9(4): 443−449]

Tao XP, Li HJ, Li XQ, Yang XM, Li LH. 2006. Genetic heterogeneity and diversity within and among Chinese wheat landraces as revealed by gliadin composition. Journal of Plant Genetic Resources, 7(4): 387−392 (in Chinese) [陶先萍, 李洪杰, 李秀全, 杨欣明, 李立会. 2006. 中国小麦地方品种内和品种间醇溶蛋白遗传多样性分析. 植物遗传资源学报, 7(4): 387−392]

Wan AM, Chen XM, He ZH. 2007. Wheat stripe rust in China. Australian Journal of Agricultural Research, 58(6): 605−619

Wei GR, Han DJ, Zhao J, Wang XJ, Wang QL, Huang LL, Kang ZS. 2011. Identification and evaluation of adult plant resistance to stripe rust in wheat germplasms. Journal of Triticeae Crops, 31(2): 376−381 (in Chinese) [魏国荣, 韩德俊, 赵杰, 王晓杰, 王琪琳, 黄丽丽, 康振生. 2011. 小麦成株期抗条锈病种质筛选与评价. 麦类作物学报, 31(2): 376−381]

Xie W. 2010. Analysis of genetic variation of wheat landrace 'Xiaohongmang'. Master Thesis. Xining: Qinghai University (in Chinese) [谢炜. 2010. 小麦地方品种"小红芒"的遗传演变分析. 硕士学位论文. 西宁: 青海大学]

(责任编辑:李美娟)