

# 不同来源大麦对条纹病抗性鉴定及遗传多样性分析

郭 铭<sup>1,2</sup>, 张金福<sup>3</sup>, 司二静<sup>1,2</sup>, 孙莉莎<sup>1,2</sup>, 魏建敏<sup>1,2</sup>, 刘海颖<sup>1,2</sup>, 乔 岩<sup>4</sup>, 姚立蓉<sup>1,2</sup>,  
汪军成<sup>1,2</sup>, 李葆春<sup>1,5</sup>, 杨 轲<sup>1,2</sup>, 孟亚雄<sup>1,2</sup>, 马小乐<sup>1,2</sup>, 朱靖环<sup>6</sup>, 尚勋武<sup>2</sup>, 王化俊<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup> 甘肃省干旱生境作物学重点实验室 / 甘肃省作物遗传改良与种质创新重点实验室, 兰州 730070; <sup>2</sup> 甘肃农业大学农学院,

兰州 730070; <sup>3</sup> 甘肃省农民教育培训工作总站, 兰州 730000; <sup>4</sup> 陇东学院农林科技学院, 甘肃庆阳 745000;

<sup>5</sup> 甘肃农业大学生命科学技术学院, 兰州 730070; <sup>6</sup> 浙江省农业科学院作物与核技术利用研究所, 杭州 310021)

**摘要:** 为了解不同来源大麦对条纹病的抗性及其遗传多样性, 本研究采用“三明治法”通过人工接种大麦条纹病菌对 91 份大麦材料进行抗性评价, 并通过 31 对 SSR 标记对 91 份大麦材料进行遗传多样性和群体结构分析。结果表明, 人工接种大麦条纹病菌后共鉴定出 4 份免疫、6 份高抗、33 份抗病、43 份感病和 5 份高感大麦材料; 31 对 SSR 标记共检测出等位基因 238 个, 平均每对标记可检测到 7.677 个等位基因, 等位基因数的变幅为 2~19; 主基因频率变化范围为 0.236~0.951, 平均值为 0.394; 基因多样性指数的变幅为 0.094~0.871, 平均值为 0.667; 多态性信息含量变幅为 0.091~0.860, 平均值为 0.613; 遗传相似系数变异范围为 0.103~1.000, 平均值为 0.522; 在遗传相似系数为 0.783 水平上可将参试材料聚为 3 个大类群, 各大类分别包含 86 份、2 份和 3 份材料; 群体遗传结构分析表明, 供试大麦材料分为 3 个亚群, 每个亚群分别包含 47 份、33 份和 11 份材料, 且在 91 份材料中,  $Q>0.6$  的材料占总数的 97.80%。本研究经抗病鉴定及分子标记结果综合分析, 可为挑选抗病亲本辅助抗大麦条纹病优良品种的选育提供参考。

**关键词:** 大麦; 大麦条纹病; 抗性鉴定; 遗传多样性; 群体遗传结构

## Resistance Identification and Genetic Diversity Analysis of Barley Genotypes from Different Sources to Barley Stripe Disease

GUO Ming<sup>1,2</sup>, ZHANG Jin-fu<sup>3</sup>, SI Er-jing<sup>1,2</sup>, SUN Li-sha<sup>1,2</sup>, WEI Jian-min<sup>1,2</sup>, LIU Hai-ying<sup>1,2</sup>, QIAO Yan<sup>4</sup>,  
YAO Li-rong<sup>1,2</sup>, WANG Jun-cheng<sup>1,2</sup>, LI Bao-chun<sup>1,5</sup>, YANG Ke<sup>1,2</sup>, MENG Ya-xiong<sup>1,2</sup>,  
MA Xiao-le<sup>1,2</sup>, ZHU Jing-huan<sup>6</sup>, SHANG Xun-wu<sup>2</sup>, WANG Hua-jun<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup> Gansu Provincial Key Lab of Aridland Crop Science / Gansu Provincial Key Lab of Crop Improvement and Germplasm Enhancement, Lanzhou 730070; <sup>2</sup> College of Agronomy, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070; <sup>3</sup> Gansu Provincial Farmer Education and Training Station, Lanzhou 730000; <sup>4</sup> College of Agriculture and Forestry, Longdong University, Gansu Qingyang 745000; <sup>5</sup> College of Life Sciences and Technology, Gansu Agriculture University, Lanzhou 730070; <sup>6</sup> Institute of Crops and Nuclear Technology Utilization, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021)

**Abstract:** In order to detect the resistance genes of germplasm resources against barley stripe disease and understand their genetic diversity, in this study 91 barley accessions were inoculated with barley stripe disease

收稿日期: 2021-04-27 修回日期: 2021-08-16 网络出版日期: 2021-09-06

URL: <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20210427002>

第一作者研究方向为作物遗传育种, E-mail: 1830212364@qq.com; 张金福为共同第一作者

通信作者: 王化俊, 研究方向为麦类作物遗传育种, E-mail: huajunwang@sina.com

**基金项目:** 财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系资助 (CARS-05-04B-2); 甘肃省教育厅产业支撑计划项目 (2021CYZC-12); 国家自然科学基金 (31960426, 32160496); 甘肃省科技重大专项计划 (17ZD2NA016); 甘肃省青年科技基金计划 (20JR5RA010); 甘肃农业大学科技创新基金 - 公招博士科研启动基金 (GSAURCZX201706); 甘肃农业大学学科建设专项基金 (GAU-XKJS-2018-082, GAU-XKJS-2018-083); 甘肃省科技支撑计划项目 (1604NKCA052); 甘肃省教育厅创新能力提升项目 (2019A-053, 2021A-055)

**Foundation projects:** China Agriculture Research System of MOF and MARA (CARS-05-04B-2), Industrial Support Project of Gansu Provincial Education Department (2021CYZC-12), National Natural Science Foundation (31960426, 32160496), Important Special Project for Science and Technology of Gansu Province (17ZD2NA016), Natural Science Foundation for Young Scientists of Gansu Province (20JR5RA010), Science and Technology Innovation Fund of Gansu Agricultural University-Public Doctoral Research Fund (GSAURCZX201706), Subject Construction Special Fund of Gansu Agricultural University (GAU-XKJS-2018-082, GAU-XKJS-2018-083), Gansu Science and Technology Support Program (1604NKCA052), Innovation Ability Improvement Project of Gansu Provincial Department of Education (2019A-053, 2021A-055)

pathogen by sandwich method, followed by the genetic diversity analysis using 31 polymorphic SSR markers. Of them, four accessions were identified to be complete resistance (free of diseased symptom), 6 highly resistant, 33 resistant, 43 susceptible and 5 high susceptible. Genotyping by 31 SSR markers disclosed 238 alleles, with a mean of 7.677 alleles in each of markers and the range of 2 to 19 alleles. The frequency of major loci ranged from 0.236 to 0.951, with an average of 0.394. The gene diversity index ranged from 0.094 to 0.871, with an average of 0.667. PIC ranged from 0.091 to 0.860, with an average of 0.613, while GS ranged from 0.103 to 1.000, with an average of 0.522. This collection were divided into three groups at the genetic similarity coefficient level of 0.783, each containing 86, 2 and 3 accessions, respectively. The population structure analysis suggested three groups, each including 47, 33 and 11 materials, respectively. 97.80% of 91 genotypes had Q value greater than 0.6. Gained from disease resistance identification and genotyping, this study provided reference for selecting parental lines in breeding of barley leaf stripe resistant varieties.

**Key words:** barley; barley leaf stripe; resistance identification; genetic diversity; population genetic structure

大麦 (*Hordeum vulgare* L.) 是种植最早的农作物之一, 和其他栽培作物相比, 大麦更加耐瘠、耐盐和抗旱, 在全世界广大地区都可栽培种植, 而我国的大麦贸易一直处于净进口状态<sup>[1]</sup>。大麦主要应用于饲料、食粮、啤酒等方面, 其种植面积仅次于小麦、水稻和玉米而位居第 4 位<sup>[2]</sup>。大麦条纹病 (Barley leaf stripe) 属系统侵染性真菌病害, 该病害由麦类核腔菌 (*Pyrenophora graminea*) 引起<sup>[3]</sup>, 主要危害植物的叶片、叶鞘和茎秆部位。大麦种子萌发时, 菌丝体主要存在于种皮与颖片之间, 有时在种皮和蛋白质层中也可形成菌丝体, 在幼苗早期就可形成系统感染<sup>[4]</sup>。在我国, 以长江流域和河西走廊为主的一些地区发生条纹病害较为严重, 其中上海、浙江、江苏及甘南藏区等区域该病害比较流行, 病害流行时病株死亡率高达 30%~40%<sup>[5]</sup>。Porta-Puglia 等<sup>[6]</sup> 研究结果表明, 大麦条纹病发病率每提高 1% 则导致大麦减产 0.9%~1.0%, 若该病害一旦流行必将严重阻碍大麦产业的发展, 并使其产量和品质严重下降, 因此大麦条纹病的防治迫在眉睫。

近年来, 我国耕地面积减少, 盐渍化土地加重, 水资源严重匮乏, 随着市场的大量需求, 大麦产量与我国有限耕地资源间的矛盾日益突出, 因此, 提高单产是增加大麦产量、解决供求矛盾的重要手段。目前, 大麦条纹病的防治途径有 3 条, 即化学药剂、田间栽培管理及抗性品种应用, 其中, 选育和推广抗大麦条纹病新品种是最经济有效和环保的措施。Tekauz<sup>[7]</sup> 对 57 份大麦品种进行抗性鉴定, 共鉴定到 9 份抗病和 10 份感病品种; Mueller 等<sup>[8]</sup> 筛选出了 4 份大麦品种 (HOR333、OUJ362、HOR11475 及 BGRC5592), 均表现为高抗; Elsayed 等<sup>[9]</sup> 对 120 份大麦品种进行了分析, 结果表明, 其

中 16 份品种在秧苗期表现出抗性, 有 18 份在成株期表现出抗性, 只有 7 份品种在 2 个时期均表现出抗性; 司二静等<sup>[10]</sup> 研究发现大麦品种甘啤 2 号对甘肃流行条纹病小种表现为免疫; 朱靖环等<sup>[11]</sup> 研究表明大麦品种浙皮 11 号对长江流域流行的条纹病小种也表现出免疫的特征。相关研究人员关于抗性基因的研究主要通过遗传群体或自然群体进行, 其中已鉴定的抗病基因包括位于大麦染色体 2H 上的 *Rdg1a*、7H 上的 *Rdg2a* 及 *Rdg3*。*Rdg1a* 在限制性片段长度多态性标记 (RFLP, restricted fragment length polymorphisms) MSU21 和 Xris45b 之间, 与二者的遗传距离分别为 0.2 cM 和 4.0 cM<sup>[12]</sup>; *Rdg2a* 在随机扩增多态性 DNA 标记 (RAPD, random amplified polymorphic DNA) OPQ-9700 和 RFLP 标记 MWG2018 之间, 与二者的遗传距离分别为 3.1 cM 和 2.5 cM<sup>[13]</sup>。

遗传标记通常分为形态学标记、细胞学标记、生物化学标记、免疫学标记和分子标记等, 而运用分子标记技术研究病原菌的遗传多样性及有利基因的发掘, 可以对大麦条纹病的防治与抗性育种方面提供理论依据。经过生物技术百年来的飞速发展, 产生了许多种 DNA 分子标记, 常见的分子标记有 DNA 限制性片段长度多态性技术、随机扩增多态性技术、扩增片段长度多态性标记 (AFLP, amplified fragment length polymorphism)、单核苷酸多态性 (SNP, single nucleotide polymorphism) 以及简单重复序列 (SSR, simple sequence repeats) 标记技术<sup>[14-17]</sup>。其中, SSR 标记具有多态性良好、操作简单、重复性好、能够同时表现出双亲的遗传特性等特点, 其广泛运用于评估杂种优势和遗传多样性的研究中<sup>[18]</sup>。赖勇等<sup>[19]</sup> 对 55 份引进大麦材料进行研究, 发

现来源地相同的材料间遗传相似性较大,来源地不同的材料间遗传相似性较小,品种间的遗传差异与它们的来源地差异基本符合; Bayraktar 等<sup>[20]</sup>通过运用 ISSR 分析,将供试的麦类核菌(*Pyrenophora graminea*)菌株划分为4个簇,并用 ITS-RFLP 进行分析,结果发现菌株间无差异。但是,有关大麦条纹病原菌对其自然群体的遗传多样性及大麦亲本对该病菌抗性的报道较少,因此本研究运用 SSR 分子标记技术分析供试大麦材料的遗传多样性,采用“三明治法”鉴定大麦材料对其抗性,以期获得优异的大麦种质资源材料,为发掘关联标记做好技术支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

**1.1.1 供试大麦品种** 抗性评价的 91 份春大麦品种来自国内外不同大麦产区,由甘肃省干旱生境作物学重点实验室麦类种质创新课题组提供。

**1.1.2 供试菌株** 大麦条纹病病菌菌株 YXYQ2-1-6<sup>[21]</sup>,采集于大麦条纹病发病植株的叶片部位,由甘肃省干旱生境作物学重点实验室麦类种质创新课题组提供。

**1.1.3 培养基的配制** 本试验使用的培养基为马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA, potato dextrose agar)。称取 200 g 新鲜土豆,去皮和芽眼,切 2~3 cm<sup>2</sup> 小块,添加 1.2 L 蒸馏水蒸煮,煮沸计时 20 min,取出过滤去残渣,在滤液中加 20 g 葡萄糖,17 g 琼脂粉,搅拌溶解混匀,蒸馏水定容至 1 L,于 121 °C 高压蒸汽灭菌 20 min 后保存。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 供试大麦品种的抗性评价** 本试验主要采用“三明治法”<sup>[22]</sup>进行人工接种。分别将 91 份春大麦材料的 30 粒种子经 70% 的酒精处理 30 s 后,再用 5% 的次氯酸钠溶液处理 5 min,用无菌水清洗 4~5 次后在超净工作台中晾干 2.5~3 h,将种子摆放在长满菌丝的 PDA 培养基上,用另一长满菌丝的 PDA 培养基的皿覆盖在种子上,密封后置于 6 °C 冰箱中保存至种子萌发。试验以大麦种子置于空白 PDA 平板培养基培养作为对照,设 3 次重复。

将土、沙、蛭石按体积比 3:1:1 混合均匀,作为大麦生长培养基质,经高压蒸汽灭菌(121 °C, 30 min)后备用。将萌发的种子移栽至花盆中,培养条件为 12 h(光照)/12 h(黑暗),温度为 20 °C(光照)/12 °C(黑暗),湿度为 40% 的环境中生长至三

叶期时,观察每个处理的发病情况,统计发病株数,并计算发病率,发病率 = 发病株数 / 总种植株数 × 100%。抗性鉴定等级划分参考 Pecchioni 等<sup>[23]</sup>方法,共分 5 个等级:无感病植株为免疫,0 < 发病率 ≤ 5% 为高抗,5% < 发病率 ≤ 15% 为抗病,15% < 发病率 ≤ 50% 为感病,发病率 > 50% 为高感。记录菌株对不同品种的抗病性等级。

**1.2.2 基因组 DNA 的提取、纯度检测及浓度测量** 每份春大麦材料随机挑取 30 粒种子播种,至三叶期时,采集不同大麦材料的嫩叶,采用改良 CTAB 法<sup>[24]</sup>提取基因组 DNA,并用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 纯度,采用超微量分光光度计 P100 进行 DNA 浓度的测量,并统一调整 DNA 浓度至 60 ng/μL,最终置于 -20 °C 冰箱保存,备用。

**1.2.3 SSR 标记分析** 选用 31 对分布于大麦 1H~7H 染色体的 SSR 标记(表 2)进行多态性扫描。引物由北京擎科生物科技股份有限公司西安分公司合成,PCR 扩增体系为:2 × Taq PCR Master Mix 5 μL、灭菌超纯水 2 μL、上游引物(10 μmol/L) 0.5 μL、下游引物(10 μmol/L) 0.5 μL、模板 DNA 2 μL。PCR 扩增程序为:95 °C 预变性 4 min; 94 °C 变性 40 s, 64~55 °C(每个循环降低 1 °C)退火 40 s, 72 °C 延伸 50 s, 10 个循环; 94 °C 变性 40 s, 55 °C 退火 40 s, 72 °C 延伸 50 s, 30 个循环; 72 °C 延伸 10 min, 4 °C 保存。PCR 产物经 8.0% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,银染显色。

### 1.3 分子标记鉴定的数据分析

以二进制格式记录 SSR 结果,即同一位点上有相同迁移率的条带记为 1,无带则为 0,以此构建出矩阵,同时以数字 1、2、3 等数字代表不同等位基因,记录所有材料不同位点上的基因型。使用 NTSYS-pc 软件分析遗传相似系数(GS, genetic similarity),采用 MEGA 5.0 软件通过非加权配对算术平均法(UPGMA, unweighted pair-group method with arithmetic mean)构建遗传关系树状图。用 PowerMarker 3.25 软件统计主基因频率、等位基因数、基因多样性以及多态性信息含量(PIC, polymorphism information content)。用 Structure 2.3.4 软件分析群体遗传结构,估计最佳群体组群数。

## 2 结果与分析

### 2.1 供试大麦材料的抗性鉴定

依据 91 份大麦种质材料对大麦菌株 YXYQ2-



1-6 的抗性鉴定结果,发现不同大麦材料对条纹病的抗性存在明显差异,发病率分布于 0~62.34% 之间。对菌株 YXYQ2-1-6 表现为高感的材料有 5 份,4 份材料表现为免疫,43 份材料表现为感病,33 份材料表现为抗病,6 份材料表现为高抗;其中,大麦品种丹青 4 号的发病率最高,为 62.34%,对菌株 YXYQ2-1-6 表现为高感;蒙啤 1 号等 6 份材料的发病率均低于 5.00%,对菌株 YXYQ2-1-6 表现为高抗;浙农 3 号、青永 4026、驻大麦 7 号和

Beyev070h 的发病率均为 0,对菌株 YXYQ2-1-6 表现为免疫;08 京 0369 等 33 份材料对菌株 YXYQ2-1-6 表现为抗病,盐品 08-12 等 43 份材料对菌株 YXYQ2-1-6 表现为感病。91 份供试大麦材料中对菌株 YXYQ2-1-6 具有抗病和感病的材料所占比例分别为 42.86%、52.75%,其中具有抗病性的中国材料占 21 份,国外材料占 18 份,说明供试的国外大麦种质资源中抗条纹病的材料所占比例较少(表 1)。

表 1 供试大麦材料人工接种大麦条纹病菌强致病力菌株 YXYQ2-1-6 的抗性评价

Table 1 Resistance evaluation of barley accessions to *Pyrenophora graminea* strong pathogenicity isolate YXYQ2-1-6 by artificial inoculation

序号 Number	品种名称 Variety name	发病率(%) Incidence rate	抗性 Resistance	序号 Number	品种名称 Variety name	发病率(%) Incidence rate	抗性 Resistance
1	盐品 08-12	18.06 ± 0.10	S	29	浙啤 15	23.12 ± 0.12	S
2	08 京 0369	13.16 ± 0.23	R	30	08 京 318	30.58 ± 0.13	S
3	蒙啤 1 号	3.03 ± 0.22	HR	31	鄂大麦 9 号	29.57 ± 0.09	S
4	132 骆 3	6.35 ± 0.15	R	32	华中农大	21.11 ± 0.08	S
5	站益红毛大麦	22.99 ± 0.11	S	33	丹青 1 号	14.44 ± 0.02	R
6	杨饲麦 3 号	22.57 ± 0.02	S	34	北青 1 号	36.18 ± 0.13	S
7	浙农 3 号	0.00 ± 0.00	I	35	北青 88	11.11 ± 0.06	R
8	青永 4289	22.54 ± 0.01	S	36	川农大 5 号	30.70 ± 0.16	S
9	青永 4026	0.00 ± 0.00	I	37	苏啤 6 号	44.96 ± 0.08	S
10	08 京 458	10.99 ± 0.12	R	38	苏啤 3 号	13.49 ± 0.07	R
11	星啤麦 1 号	46.01 ± 0.26	S	39	江芒大麦	9.52 ± 0.14	R
12	青 426	26.76 ± 0.15	S	40	黑龙江 123	3.33 ± 0.11	HR
13	08 京 222	7.44 ± 0.21	R	41	08 京 329	25.12 ± 0.18	S
14	08 京 948	13.89 ± 0.11	R	42	龙 09026	25.53 ± 0.04	S
15	08 京 341	6.06 ± 0.10	R	43	垦啤麦 7 号	26.67 ± 0.11	S
16	黄芒大麦	55.13 ± 0.12	HS	44	08 京 306	28.43 ± 0.16	S
17	华 6	8.68 ± 0.03	R	45	丹青 4 号	62.34 ± 0.22	HS
18	优 20	8.10 ± 0.12	R	46	08 京 322	2.56 ± 0.24	HR
19	新啤 2 号	31.28 ± 0.14	S	47	永 226	14.22 ± 0.06	R
20	黑龙江 1 号	13.33 ± 0.16	R	48	斯库纳	6.51 ± 0.15	R
21	08 京 3599	6.73 ± 0.13	R	49	美国 9	12.18 ± 0.03	R
22	矮年 3 号	15.32 ± 0.11	S	50	美国 4	45.69 ± 0.11	S
23	驻大麦 7 号	0.00 ± 0.00	I	51	美国 30	6.67 ± 0.11	R
24	08 京 293	11.61 ± 0.13	R	52	美国 26	23.49 ± 0.09	S
25	周麦 02	13.03 ± 0.03	R	53	美国 14	12.70 ± 0.23	R
26	苏啤 0505	16.31 ± 0.02	S	54	加拿大 -50416	16.37 ± 0.14	S
27	08 京 269	42.43 ± 0.06	S	55	法尔菲特	58.08 ± 0.11	HS
28	08 京 288	7.22 ± 0.08	R	56	ZZNN62660	17.06 ± 0.02	S

表 1(续)

序号 Number	品种名称 Variety name	发病率(%) Incidence rate	抗性 Resistance	序号 Number	品种名称 Variety name	发病率(%) Incidence rate	抗性 Resistance
57	WDM06781	1.01 ± 0.03	HR	75	Qinta	25.93 ± 0.18	S
58	WDM06212	8.43 ± 0.17	R	76	Qimfa	12.09 ± 0.19	R
59	WDM06209	3.75 ± 0.06	HR	77	NFC-Tecple	26.12 ± 0.16	S
60	WDM02214	28.53 ± 0.13	S	78	moduus	24.39 ± 0.22	S
61	WDM02206	21.91 ± 0.17	S	79	COUZN6	21.67 ± 0.26	S
62	WDM01260	14.25 ± 0.23	R	80	BYTMRA17	20.18 ± 0.15	S
63	WDM00796	19.76 ± 0.19	S	81	BYDV129	20.35 ± 0.12	S
64	WDM00065	12.55 ± 0.22	R	82	BON-LRA2	13.06 ± 0.17	R
65	Thwrlgla	21.84 ± 0.26	S	83	BONCT68	14.83 ± 0.23	R
66	Tevgws	3.58 ± 0.28	HR	84	BF70718	9.93 ± 0.11	R
67	TDCADA	25.01 ± 0.19	S	85	Beyev070h	0.00 ± 0.00	I
68	Stem	33.33 ± 0.06	S	86	BDVC760	9.67 ± 0.14	R
69	Spettam	17.99 ± 0.27	S	87	BCWLR27	7.26 ± 0.24	R
70	sfARE	52.11 ± 0.11	HS	88	BAR240	23.04 ± 0.21	S
71	SCDK22J	51.46 ± 0.15	HS	89	BaadD17	20.79 ± 0.15	S
72	Sampsm	7.45 ± 0.13	R	90	Adssa	20.92 ± 0.12	S
73	ROMNA	8.70 ± 0.08	R	91	Alexis	16.59 ± 0.02	S
74	RCSearCN	17.22 ± 0.10	S				

HR: 高抗; R: 抗病; S: 感病; HS: 高感; I: 免疫。表中数据为平均值 ± 标准误  
HR: High resistant, R: Disease resistant, S: Disease susceptible, HS: High susceptible, I: Immune. The data in the table are average values ± standard error

2.2 31 对 SSR 标记的多态性分析

以 31 对引物对所有材料进行多态性扫描,结果显示,31 对 SSR 标记从 91 份大麦材料中共检测出等位基因 238 个,平均每对标记可检测到 7.677 个等位基因;等位基因数的变幅为 2~19,其中标记 AAAAAA 检测到等位基因数最多,标记 GBM1475 和 GBM1087 检测到的等位基因只有 2 个;主基因频率变化范围为 0.236~0.951,平均值为 0.394,其中标记 GBM1362 的主基因频率最高;基因多样性的变幅为 0.094~0.871,平均值为 0.667,其中 GBM1362 的基因多样性最低,Bmag173 的基因多样性最高;PIC 变幅为 0.091~0.860,平均值为 0.613,其中标记 GBM1362 的 PIC 值最低,Bmag173 的 PIC 值最高,而标记 AAAAAA 的基因多样性和 PIC 值均较高(表 2)。基因多样性指数和 PIC 值是遗传多样性的重要指标,二者结果较为一致。

2.3 供试大麦材料的遗传相似系数及聚类分析

根据 31 对 SSR 标记的检测结果,91 份大麦材料遗传相似系数变异范围为 0.103~1.000,平均值为 0.522。其中,品种 Adssa 和 Alexis 的遗传相似系数最大,为 1.000,说明二者间的亲缘关系最近,不适合作为杂交组合;其次是 BDVC760 和 BCWLR27,遗传相似系数为 0.976;TDCADA 和 Stem 的遗传相似系数最小,为 0.103,说明它们间的亲缘关系最远,遗传差异较大。将 91 份试验材料 SSR 标记鉴定结果按 UPGMA 法进行聚类分析,结果显示,在遗传相似系数 0.783 水平上将 91 份大麦材料分为 3 个类群,I 类群包含 86 份、II 类群包含 2 份、III 类群包含 3 份材料(图 1)。I 类群包含的 86 份材料中有 43 份来自中国,43 份来自国外,II 类群由苏啤 6 号和苏啤 3 号构成,III 类群由黄芒大麦、江芒大麦和 BF70718 构成。

表 2 31 对 SSR 引物在 91 份大麦材料中的多态性检测

Table 2 Polymorphic detection of 31 SSR primers in 91 barely materials

标记 Marker	染色体 Chromosome	位置 (cM) Position	主基因频率 Frequency of major allele	等位基因数 Allele No.	基因多样性 Gene diversity	多态性信息含量 PIC
Bmage0872	1H	37.00	0.346	8	0.743	0.701
Bmag345	1H	57.80	0.429	6	0.683	0.629
AAAAAA	1H	21.30	0.247	19	0.866	0.853
HVGNIRE	2H	12.40	0.319	8	0.770	0.736
GBM1214	2H	33.80	0.357	11	0.783	0.756
AWBMS56	2H	77.40	0.308	15	0.824	0.805
Bmac0134	2H	101.00	0.319	14	0.800	0.776
GBM1475	2H	145.90	0.522	2	0.499	0.375
GBM1450	3H	2.80	0.478	4	0.556	0.457
GBM1238	3H	138.00	0.489	5	0.592	0.509
GBM1405	3H	62.50	0.478	3	0.541	0.435
Bmag0841	3H	103.80	0.451	6	0.667	0.610
GBM1221	4H	8.40	0.352	8	0.740	0.700
Bmag0808	4H	66.30	0.291	9	0.795	0.766
GBM1220	4H	105.10	0.297	6	0.750	0.705
GBM1388	4H	136.10	0.495	4	0.521	0.407
Bmag0812	5H	76.40	0.264	11	0.837	0.819
GBM1438	5H	99.20	0.396	6	0.673	0.616
GBM1436	5H	120.10	0.500	3	0.511	0.391
Bmag0222	5H	144.20	0.291	12	0.834	0.816
Scssr09398	6H	4.60	0.418	5	0.649	0.582
84c21j33	6H	7.16	0.467	3	0.559	0.460
Bmag0500	6H	23.80	0.236	13	0.856	0.841
Bmag173	6H	47.80	0.242	18	0.871	0.860
EBmac060	6H	54.60	0.335	10	0.783	0.753
Bmag0867	6H	64.30	0.385	6	0.722	0.679
GBM1087	6H	127.70	0.824	2	0.290	0.248
GBM5060	7H	31.24	0.478	5	0.542	0.437
Bmag914	7H	55.70	0.478	5	0.562	0.465
GBM1362	7H	122.00	0.951	3	0.094	0.091
GBM1126	7H	6.80	0.346	8	0.760	0.725
平均 Mean			0.394	7.677	0.667	0.613

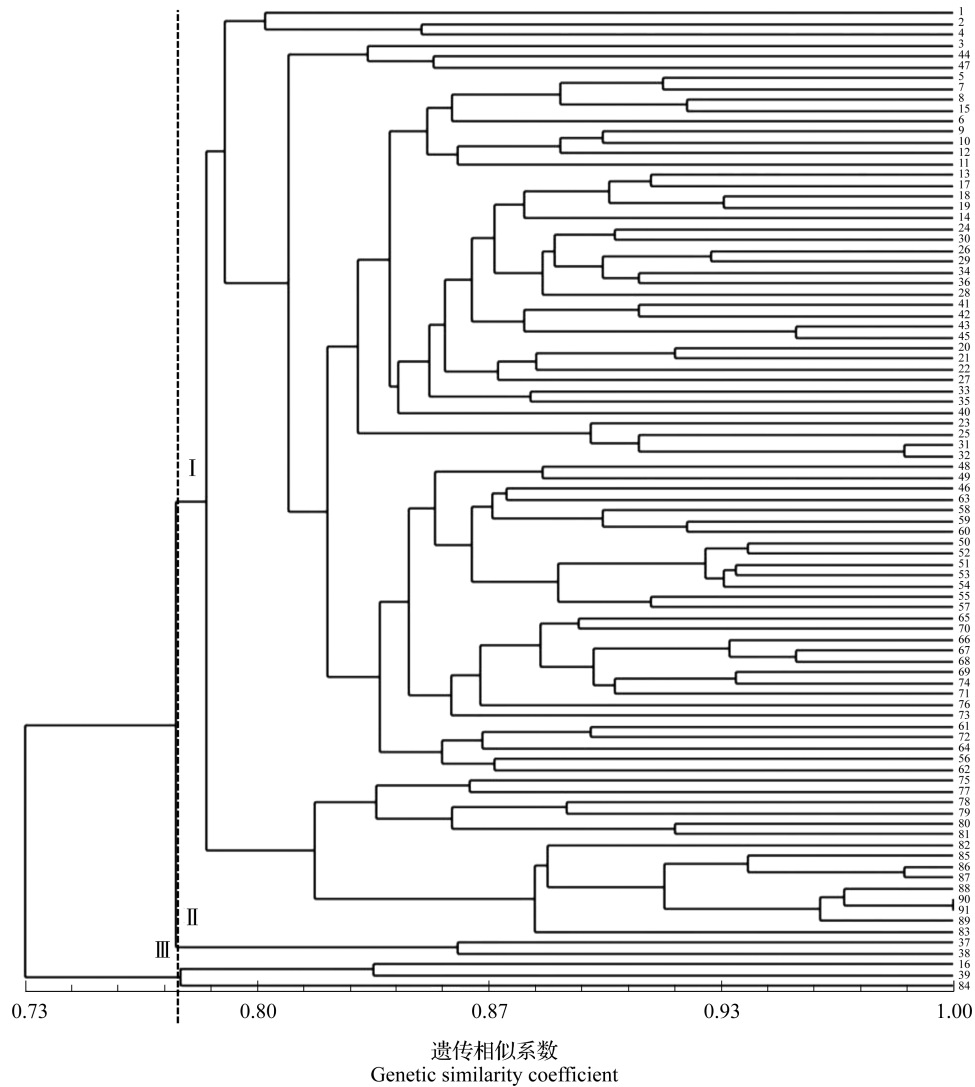


图 1 基于 SSR 分子标记基因型鉴定结果的大麦材料聚类图  
Fig. 1 Dendrogram of 91 barley lines based on the result of SSR genotyping

## 2.4 供试大麦材料的群体遗传结构分析

通过 31 对 SSR 标记获得的基因数据,对 91 份大麦材料进行群体遗传结构分析,根据 Structure Harvester 网站在线分析显示(图 2),当  $K=3$  时,  $\Delta K$  值最大,由此将 91 份材料分成 3 个亚群。第 1 亚群含有 47 份材料,均为中国材料;第 2 亚群有 33 份材料,主要包括 32 份国外地方品种和 1 份中国材料;第 3 亚群有 11 份材料,均为国外材料(图 3)。这一分析结果与 UPGMA 法进行聚类分析结果基本一致,说明这 91 份大麦材料能够被准确地分成 3 个亚群。当某个品种在某亚群中的  $Q \geq 0.6$  时,认为该品种的来源较为单一。本研究对 91 份材料的  $Q$  值进行统计分析,结果发现  $Q < 0.6$  的材料有 2 份,占总数的 2.20%,表明这 2 份材料亲缘关系复杂; $Q > 0.6$  的材料有 89 份,

占总数的 97.80%,表明这些材料亲缘关系较为单一。

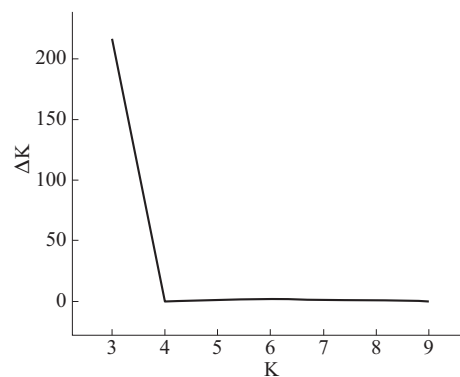


图 2 K 值与  $\Delta K$  值折线图  
Fig. 2  $\Delta K$  with the change of K values

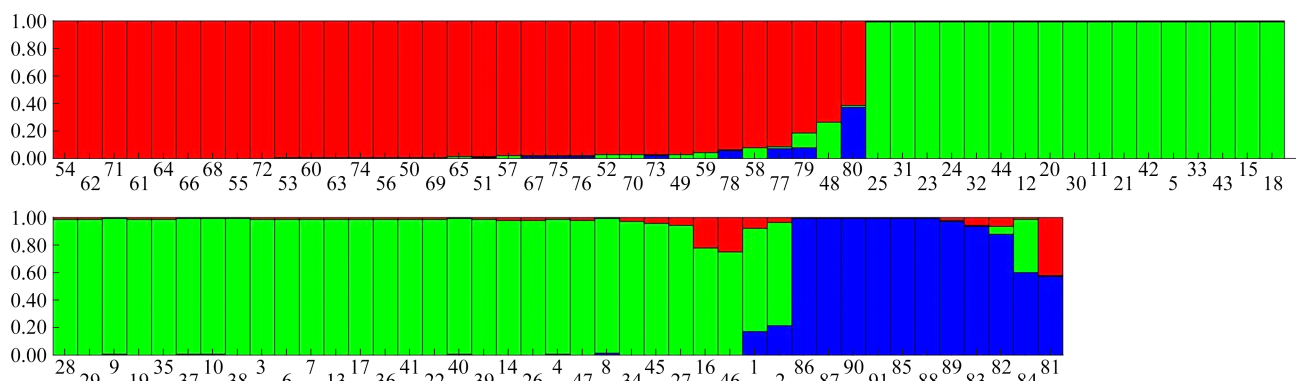


图3 基于 SSR 标记的 91 份大麦材料群体遗传结构

Fig. 3 Population structure of 91 barley materials based on SSR markers

### 3 讨论

大麦条纹病的鉴定方法常有两种:一为田间自然鉴定,二为人工接种鉴定。相比田间自然鉴定,人工室内接种鉴定通过种子的无菌化处理和发病条件(湿度、温度、土壤、光照等),使菌株和植株在稳定的发病环境下生长,从而达到控制试验误差的效果,弥补了田间抗性鉴定的不足,前人发现两种方法得到的抗性结果基本一致,只有少数植株在田间和室内表型级别不同,并且认为田间与室内接种鉴定结果表现出极显著的正相关,认为室内适宜稳定环境下人工接种鉴定更有利于大麦条纹病发病,较大的病情指数差异最能体现品种间的抗性差异<sup>[25]</sup>。张万霞等<sup>[26]</sup>通过鉴定 191 份大麦材料,获得抗条纹病的品种 89 份,占参鉴品种的 46.6%,其中 Harrington、单 2 及单 6 的农艺性状表现良好;吴宽然<sup>[27]</sup>鉴定了 115 份大麦品种对条纹病的抗性,共鉴定出 31 份抗性材料,24 份中抗材料,53 份中感材料及 7 份高感材料,且二棱品种的平均感病率高于六棱品种。Si 等<sup>[28]</sup>将来源于甘肃不同地区的 6 种大麦条纹病菌菌株接种 10 份大麦品种中,结果发现有 9 份材料对 6 种菌株存在显著的抗性差异。Bembelkacem 等<sup>[29]</sup>将 20 种大麦条纹病菌菌株接种到 9 份大麦材料中,根据抗病性的强弱将其划分为 12 个致病类型,其中致病性最强的类型包含 6 个菌株。本研究采用强致病性菌株 YXYQ2-1-6,通过“三明治法”对 91 份大麦材料进行抗条纹病鉴定,共鉴定出免疫材料 4 份、高抗材料 6 份、抗病材料 33 份、感病材料 43 份、高感材料 5 份,表明不同大麦材料对同一菌株表现不同等级的抗病性,这与 Bayraktar 等<sup>[30]</sup>的研究结果相似。在所有的供试材料中,浙农 3 号、青永 4026、驻大麦 7 号和

Beyev070h 的发病率均为 0,而品种丹青 4 号的发病率达到 62.34%,虽然这几份材料的抗、感表型差异显著,但是它们的遗传背景比较相似,因此不建议利用这些材料构建杂交组合及后续的抗性基因鉴定和遗传定位。发掘和鉴定抗条纹病基因是大麦抗病育种中的重要工作,不仅可以为小麦抗病育种提供优质抗源,而且是抗病育种效率的关键。Biselli 等<sup>[31]</sup>最先从野生大麦中检测到大麦抗条纹病基因 *Rdgl1a*,发现该基因与抗白粉病基因为同一基因,将 *Rdgl1a* 定位到 2HL; Tacconi 等<sup>[32]</sup>将高抗品种 Thibaut 和高感品种 Mirco 的  $F_2$  群体经过人工接种后,最终检测到基因 *Rdg2a* 位于染色体 7HS 的端粒区。由于本试验供试菌株 YXYQ2-1-6 代表性较强,鉴别的大麦品种较少,一些抗病基因未能挖掘,下一步的工作是扩大遗传群体,对大麦条纹病菌致病性鉴定进行更深入的研究。

种质材料的选育是作物育种的核心基础,但是,由于遗传改良自身的局限性,导致许多参试品种间的遗传背景变得日益狭窄,因此,通过分子标记辅助评价大麦亲本材料的遗传结构及材料间亲缘关系的远近程度,对于分子育种的指导具有十分重要的意义。已有研究表明,大麦育种材料仍存在遗传基础较为狭窄的问题,因此要实现对大麦种质遗传多样性的准确分析,需加强外来不同类型种质的引进<sup>[33]</sup>。本研究通过 31 对 SSR 标记对国内外 91 份大麦材料进行遗传多态性分析,为选配大麦亲本的杂交组合提供理论依据。潘志芬等<sup>[34]</sup>利用 SSR 标记分析了 64 份青藏高原栽培青稞的遗传多样性,认为青藏高原栽培青稞具有丰富的遗传多样性; Lamara 等<sup>[35]</sup>利用 50 个 SSR 标记对 92 份加拿大大麦品种进行遗传多样性分析,共检测到 368 个等位变异,平均每个标记为 7.360 个, PIC 值的变幅为 0.340~



0.860, 平均值为 0.690; 赖勇等<sup>[36]</sup>利用 64 个 SSR 标记对 221 份大麦材料进行遗传多样性分析, 共检测到 192 个等位变异, 变幅为 2~7 个; 基因频率变异范围为 0.009~0.973, 平均为 0.333; 遗传相似系数值在 0.484~0.979 之间, 平均为 0.702。本研究选用 31 对 SSR 标记对 91 份大麦材料进行遗传多样性分析, 共检测出等位基因 238 个, 平均每对标记可检测到 7.677 个等位基因, 等位基因的变幅为 2~19, 其中标记 GBM1475 和 GBM1087 检测到的等位基因只有 2 个; 主基因频率变化范围为 0.236~0.951, 平均值为 0.394; 基因多样性指数的变幅为 0.094~0.871, 平均值为 0.667; PIC 变幅为 0.091~0.860, 平均值为 0.613; 遗传相似系数变异范围为 0.103~1.000, 平均值为 0.522。与上述研究相比等位变异数目较少, PIC 及遗传相似系数较低, 而基因频率相对较高, 可能是因为本研究选用的小麦材料的来源有限, 且不同 SSR 标记本身的遗传多样性有较大的差异。另外, 本研究在遗传相似系数为 0.783 水平上可将参试材料聚为 3 个大类群, 各大类分别包括 86 份、2 份和 3 份材料, 说明各材料亲缘关系较近, 需要引入一些新的材料来拓展亲本遗传基础, 其中品种 Adssa 和 Alexis 之间的遗传相似系数达到了 1.000, 表明 Adssa 和 Alexis 遗传背景比较相近, TDCADA 和 Stem 的遗传相似系数最小, 为 0.103, 说明它们间的亲缘关系最远, 遗传差异较大, 适宜作为杂交组合。本研究中出现两份材料间的遗传相似系数为 1, 可能是由于品种本身遗传相似性较高, 也有可能是由于本研究所选取的引物数量较少, 导致了未能完全区分供试材料间的差异。

目前, 已经有许多研究者利用分子标记辅助技术来研究作物的遗传多样性, 并且在国内外已广泛开展了相关研究。赖勇等<sup>[37]</sup>利用 64 对 SSR 引物对 221 份大麦材料进行群体结构分析, 发现 221 份材料被分为 2 个亚群, 每个亚群分别包含 89 份和 132 份材料, 这一结果与聚类分析结果相一致, 说明这 221 份材料的群体结构较简单, 可以有效地降低群体结构对关联分析的影响; 司二静等<sup>[38]</sup>利用 62 对 SSR 引物对 156 份大麦材料进行群体结构分析, 发现 156 份材料被分为 2 个亚群, 每个亚群分别包含 91 份和 65 份材料, 整体群体结构较简单, 有利于关联分析; Wang 等<sup>[39]</sup>利用 71 对 SSR 引物对 99 份大麦材料进行群体结构分析, 发现 99 份材料中,  $Q>0.6$  的材料占总数的 64.6%。本研究通过群体遗传结构分析, 将供试大麦材料分为 3 个亚群, 第 1

亚群含有 47 份材料, 且均为中国材料; 第 2 亚群有 33 份材料, 主要包括 32 份国外地方品种和 1 份中国材料; 第 3 亚群有 11 份材料, 均为国外材料。尽管这一分析结果与进行聚类分析结果相似, 但每个亚群中的品种数量差异较大, 主要原因是 UPGMA 法进行聚类分析是依据种质资源的亲缘关系进行评价, 而利用 Structure 软件进行群体遗传结构分析是通过哈德温伯格构建数学模型来分类。91 份材料中,  $Q>0.6$  的材料占总数的 97.80%, 为了丰富品种遗传多样性, 需引进新品种, 以拓宽亲本的遗传基础。

#### 参考文献

- [1] 董玉琛, 曹永生. 粮食作物种质资源的品质特性及其利用. 中国农业科学, 2003, 36(1): 111-114  
Dong Y C, Cao Y S. Quality characteristics of germplasm resources of food crops and their utilization. Scientia Agricultura Sinica, 2003, 36(1): 111-114
- [2] Tanksley S D, McCouch S R. Seed banks and molecular maps: unlocking genetic potential from the wild. Science, 1997, 277: 1063-1066
- [3] Mie A, Jawhar M B, Mirali N. Yield responses of *Pyrenophora graminea* under experimental conditions in Southern Syria. Journal of Phytopathology, 2010, 152(8-9): 519-523
- [4] Justesen A F, Hansen H J, Pinnschmidt H O. Quantification of *Pyrenophora graminea* in barley seed using real-time PCR. European Journal of Plant Pathology, 2008, 122(2): 253-263
- [5] 许从建. 大麦条纹病危害及综合防治技术探析. 农技服务, 2015, 32(2): 88-90  
Xu C J. The harm of barley stripe disease and its integrated control technology. Agricultural Technology Service, 2015, 32(2): 88-90
- [6] Porta-Puglia A, Delogu G, Vannacci G. *Pyrenophora graminea* on winter barley seed: effect on disease incidence and yield losses. Journal of Phytopathology, 1986, 117(1): 26-33
- [7] Tekauz A. Reaction of Canadian barley cultivars to *Pyrenophora graminea*, the incitant of leaf stripe. Canadian Journal of Plant Pathology, 1983, 5(4): 294-301
- [8] Mueller K J, Vale G, Enneking D. Selection of resistant spring barley accessions after natural infection with leaf stripe (*Pyrenophora graminea*) under organic farming conditions in Germany and by sandwich test. Journal of Plant Pathology, 2003, 85(1): 9-14
- [9] Elsayed A A, Elnashar F, Elghamry M. Disease resistance of barley genotypes under the conditions of Northwestern Coast of Egypt. Assiut Journal of Agricultural Sciences, 1991, 22(1): 127-142
- [10] 司二静, 张宇, 孟亚雄, 李葆春, 马小乐, 王化俊. 大麦抗条纹病基因的定位分析. 植物保护学报, 2019, 46(4): 723-729  
Si E J, Zhang Y, Meng Y X, Li B C, Ma X L, Wang H J. Molecular mapping of a gene for resistance to barley leaf stripe. Journal of Plant Protection, 2019, 46(4): 723-729

- [ 11 ] 朱靖环, 杨建明, 汪军妹, 尚毅, 华为, 巫小建. 高产抗条纹病饲料大麦新品种 - 浙皮 11 号. 麦类作物学报, 2018, 38( 10 ): 1262-1266  
Zhu J H, Yang J M, Wang J M, Shang Y, Hua W, Wu X J. A new barley variety with high yield and resistance to barley leaf stripe-Zhepi 11. Journal of Triticeae Crops, 2018, 38( 10 ): 1262-1266
- [ 12 ] Thomsen S B, Jensen H P, Jensen J, Skou J P, Jørgensen J H. Localization of a resistance gene and identification of sources of resistance to barley leaf stripe. Plant Breeding, 1997, 116( 5 ): 455-459
- [ 13 ] Bulgarelli D, Biselli C, Collins N C, Consonni G, Stanca A M, Schulze-Lefert P, Valè G. The CC-NB-LRR-Type *Rdg2a* resistance gene confers immunity to the seed-borne barley leaf stripe pathogen in the absence of hypersensitive cell death. PLoS ONE, 2010, 5( 9 ): e12599
- [ 14 ] 安泽伟, 曾霞, 胡彦师, 方家林, 程汉, 位明明, 黄华孙. SSR 分子标记在橡胶树栽培品种鉴定中的应用. 植物遗传资源学报, 2021, 22( 2 ): 550-560  
An Z W, Zeng X, Hu Y S, Fang J L, Cheng H, Wei M M, Huang H S. Identification of rubber tree clones based on simple sequences repeats molecular markers. Journal of Plant Genetic Resources, 2021, 22( 2 ): 550-560
- [ 15 ] 尹冬冬, 安调过, 李立会, 许红星. 分子标记技术在黑麦研究中的应用. 中国生态农业学报, 2011, 19( 2 ): 477-479  
Yin D D, An D G, Li L H, Xu H X. Application of molecular marker techniques in rye research. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2011, 19( 2 ): 477-479
- [ 16 ] 李念念, 王义波, 徐国平, 易黎, 王爱方, 李婷, 曹刚强. 基于 SNP 标记的玉米自交系类群划分方法和分群功效评估指标的比较. 植物遗传资源学报, 2020, 21( 3 ): 605-615  
Li N N, Wang Y B, Xu G P, Yi L, Wang A F, Li T, Cao G Q. Comparison of different grouping procedures and evaluation criteria for grouping maize inbreds using SNP data. Journal of Plant Genetic Resources, 2020, 21( 3 ): 605-615
- [ 17 ] 王阳, 李邱华, 李松林, 杨欢, 何丽娟, 杨春起, 张涛, 苏颖, 周云龙. 电子束辐照百合鳞茎后对生长发育的影响及 RAPD 分析. 西北农业学报, 2013, 22( 3 ): 140-147  
Wang Y, Li Q H, Li S L, Yang H, He L X, Yang C Q, Zhang T, Su Y, Zhou Y L. The effects and RAPD analysis of electron beam irradiation on growth and development of lily. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2013, 22( 3 ): 140-147
- [ 18 ] 蔡羽, 杨平, 冯宗云. 大麦表型多样性分析及优异饲草种质资源筛选. 植物遗传资源学报, 2019, 20( 4 ): 920-931  
Cai Y, Yang P, Feng Z Y. Characterization of phenotypic variation in cultivated barley provided elite genetic germplasm with potential breeding for silage barley. Journal of Plant Genetic Resources, 2019, 20( 4 ): 920-931
- [ 19 ] 赖勇, 王鹏喜, 范贵强, 司二静, 王晋, 杨轲, 孟亚雄, 李葆春, 马小乐, 尚勋武, 王化俊. 大麦 SSR 标记遗传多样性及其与农艺性状关联分析. 中国农业科学, 2013, 46( 2 ): 233-242  
Lai Y, Wang P X, Fan G Q, Si E J, Wang J, Yang K, Meng Y X, Li B C, Ma X L, Shang X W, Wang H J. Genetic diversity and association analysis using SSR markers in barley. Scientia Agricultura Sinica, 2013, 46( 2 ): 233-242
- [ 20 ] Bayraktar H, Akan K. Genetic characterization of *Pyrenophora graminea* isolates and the reactions of some barley cultivars to leaf stripe disease under greenhouse conditions. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 2012, 36( 3 ): 329-339
- [ 21 ] 司二静, 杨淑莲, 李葆春, 马小乐, 王生荣, 王化俊. 甘肃省大麦条纹病病原菌致病力分化、rDNA-ITS 及遗传多样性分析. 植物保护学报, 2017, 44( 1 ): 84-92  
Si E J, Yang S L, Li B C, Ma X L, Wang S R, Wang H J. Pathogenic analysis, rDNA-ITS and genetic diversity of *Pyrenophora graminea* in Gansu province. Journal of Plant Protection, 2017, 44( 1 ): 84-92
- [ 22 ] 司二静, 孟亚雄, 李葆春, 马小乐, 张宇, 王化俊. 大麦抗条纹病与 SSR 标记的关联分析. 植物保护学报, 2019, 46( 5 ): 1073-1085  
Si E J, Meng Y X, Li B C, Ma X L, Zhang Y, Wang H J. Association analysis between barley resistance to *Pyrenophora graminea* and SSR markers. Journal of Plant Protection, 2019, 46( 5 ): 1073-1085
- [ 23 ] Pecchioni N, Vale G, Toubia-Rahme H, Faccioli P, Terzi V, Delogu G, Fischbeck G. Barley-*Pyrenophora graminea* interaction: QTL analysis and gene mapping. Plant Breeding, 1999, 118( 1 ): 29-35
- [ 24 ] Porebski S, Bailey L G, Baum B R. Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. Plant Molecular Biology Reporter, 1997, 15: 8-15
- [ 25 ] 闫佳会, 侯璐, 姚强, 郭青云. 231 份麦类种质资源对大麦黄矮病毒的田间抗性鉴定. 植物保护学报, 2018, 45( 3 ): 416-422  
Yan J H, Hou L, Yao Q, Guo Q Y. Evaluation of the resistance of 231 wheat germplasm resources to Barley yellow dwarf virus. Journal of Plant Protection, 2018, 45( 3 ): 416-422
- [ 26 ] 张万霞, 孙立军, 张京, 翁跃进, 陈宣民, 马俊虎. 优异大麦种质资源的抗性鉴定和评价. 植物遗传资源科学, 2001, 2( 3 ): 18-21  
Zhang W X, Sun L J, Zhang J, Weng Y J, Chen X M, Ma J H. Evaluation of disease resistance and salt tolerance for barley superior germplasm. Journal of Plant Genetic Science, 2001, 2( 3 ): 18-21
- [ 27 ] 吴宽然. 大麦条纹病菌种群遗传结构分析及抗性种质鉴定. 金华: 浙江师范大学, 2013  
Wu K R. Analysis of genetic structure of *Drechslera graminea* populations and identification of resistance barley germplasm to barley stripe. Jinhua: Zhejiang Normal University, 2013
- [ 28 ] Si E J, Meng Y X, Ma X, Li B C, Wang J C, Ren P R, Yao L R, Yang K, Zhang Y, Shang X W. Development and characterization of microsatellite markers based on whole-genome sequences and pathogenicity differentiation of *Pyrenophora graminea*, the causative agent of barley leaf stripe. European Journal Plant Pathology, 2019, 154: 227-241
- [ 29 ] Bembelkacem A, Boulif M, Amri A, Ceccarelli S. Variation in the pathogenicity of 20 Algerian isolates of *Pyrenophora graminea* Ito and Kur on nine barley varieties. Phytopathologia Mediterranea, 2000, 39( 3 ): 389-395
- [ 30 ] Bayraktar H, Akan K. Genetic characterization of *Pyrenophora graminea* isolates and the reactions of some barley cultivars to leaf stripe disease under greenhouse conditions. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 2012, 36( 3 ): 329-339
- [ 31 ] Biselli C, Urso S, Bernardo L, Tondelli A, Tacconi G,

- Martino V, Grando S, Valè G. Identification and mapping of the leaf stripe resistance gene *Rdg1a* in *Hordeum spontaneum*. *Theoretical and Applied Genetics*, 2010, 120(6): 1207-1218
- [ 32 ] Tacconi G, Cattivelli L, Faccini N, Pecchioni N, Stanca A M, Vale G. Identification and mapping of a new leaf stripe resistance gene in barley. *Theoretical and Applied Genetics*, 2001, 102(8): 1286-1291
- [ 33 ] 王育才, 王化俊, 马小乐, 李葆春, 司二静, 汪军成, 姚立蓉, 马增科, 孟亚雄. 基于 SNP 标记的大麦遗传多样性与群体遗传结构分析. *分子植物育种*, 2019, 17(6): 1920-1929.  
Wang Y C, Wang H J, Ma X L, Li B C, Si E J, Wang J C, Yao L R, Ma Z K, Meng Y X. The application of SNP marker in the correlation analysis of barley. *Molecular Plant Breeding*, 2019, 17(6): 1920-1929
- [ 34 ] 潘志芬, 邹弈星, 邓光兵, 翟旭光, 吴芳, 余懋群. 青藏高原栽培青稞 SSR 标记遗传多样性研究. *中山大学学报: 自然科学版*, 2007, 46(2): 82-86  
Pan Z F, Zou Y X, Deng G B, Zhai X G, Wu F, Yu M Q. Genetic diversity of SSR markers in cultivated hulless barley from Qinghai-Tibet plateau in China. *Acta Scientiarum : Natural Sciences Edition*, 2007, 46(2): 82-86
- [ 35 ] Lamara M, Zhang L Y, Marchand S, Tinker N A, Belzile F, Golding B. Comparative analysis of genetic diversity in Canadian barley assess by SSR, DArT, and pedigree data. *Genome*, 2013, 56(6): 351-358
- [ 36 ] 赖勇, 王晋民, 任龙, 朱惠琴, 马辉, 王金贵, 巨霞, 李宗仁. 大麦 SSR 标记遗传多样性及连锁不平衡分析. *核农学报*, 2016, 30(10): 1889-1897  
Lai Y, Wang J M, Ren L, Zhu H Q, Ma H, Wang J G, Ju X, Li Z R. Genetic diversity and linkage disequilibrium analysis of barley using SSR markers. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2016, 30(10): 1889-1897
- [ 37 ] 赖勇, 孟亚雄, 王晋, 范贵强, 司二静, 王鹏喜, 李葆春, 马小乐, 杨轲, 尚勋武, 王化俊. 大麦遗传多样性及连锁不平衡分析. *作物学报*, 2013, 39(12): 2154-2161  
Lai Y, Meng Y X, Wang J, Fan G Q, Si E J, Wang P X, Li B C, Ma X L, Yang K, Shang X W, Wang H J. Genetic diversity and linkage disequilibrium analysis in barley. *Acta Agronomica Sinica*, 2013, 39(12): 2154-2161
- [ 38 ] 司二静, 张宇, 汪军成, 孟亚雄, 李葆春, 马小乐, 尚勋武, 王化俊. 大麦农艺性状与 SSR 标记的关联分析. *作物学报*, 2015, 41(7): 1064-1072  
Si E J, Zhang Y, Wang J C, Meng Y X, Li B C, Ma X L, Shang X W, Wang H J. Association analysis between SSR markers and agronomic traits in barley. *Acta Agronomica Sinica*, 2015, 41(7): 1064-1072
- [ 39 ] Wang J, Wang S H, Lai Y, Meng Y X, Li B C, Ma X L, Shang X W, Wang H J. Genetic diversity and population structure analysis by using SSR markers in barley. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2014, 28(2): 177-185