

# 大麦条纹病抗性鉴定及与SSR标记的关联分析

杨文娟<sup>1,2</sup>, 司二静<sup>1,2</sup>, 潘 娇<sup>1,2</sup>, 郭 铭<sup>1,2</sup>, 孟亚雄<sup>1,2</sup>, 汪军成<sup>1,2</sup>, 姚立蓉<sup>1,2</sup>,  
张 宏<sup>1,2</sup>, 李葆春<sup>1,3</sup>, 马小乐<sup>1,2</sup>, 王化俊<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>干旱生境作物学国家重点实验室/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>甘肃农业大学生命科学技术学院, 兰州 730070)

**摘要:** 大麦条纹病是对大麦产量及品质影响最为严重的病害之一, 为探明我国不同来源的大麦种质对条纹病的抗性差异并挖掘与抗性相关候选标记, 本研究利用97个SSR标记对137份大麦品种进行遗传多样性及群体结构分析, 并结合抗性鉴定结果进行关联分析。结果表明, 人工接种大麦条纹病菌后共鉴定出18份免疫、27份高抗、28份中抗、42份中感和22份高感大麦材料; 在97对SSR引物中挑选出85对多态性较好的引物, 85对SSR标记共检测到651个等位变异, 平均每个标记为7.57个; SSR标记的基因多样性指数变幅为0.0401~0.8646, 平均值为0.5799; 多态性信息含量变幅为0.0393~0.8498, 平均值为0.5155, 137份大麦材料的遗传距离范围为0.1021~0.4807, 平均值为0.2774; 聚类分析及群体遗传结构分析均将137份大麦种质分为4大类群; 根据一般线性模型(GLM, general linear model)共获得7个与抗性显著关联的标记( $P < 0.05$ ), 解释率在5.80%~17.89%之间, 其中标记EBmatc0039的解释率最高; 标记EBmac77和MGB357与抗性呈极显著相关( $P < 0.01$ ), 二者在一般线性模型中解释率分别为6.07%和9.60%。本研究结果可为大麦抗性育种提供参考。

**关键词:** 大麦; 大麦条纹病; 抗性鉴定; SSR标记; 关联分析

## Barley Leaf Stripe Resistant Identification and Association Analysis with SSR Markers in Barley Germplasms

YANG Wenjuan<sup>1,2</sup>, SI Erjing<sup>1,2</sup>, PAN Jiao<sup>1,2</sup>, GUO Ming<sup>1,2</sup>, MENG Yaxiong<sup>1,2</sup>, WANG Juncheng<sup>1,2</sup>,  
YAO Lirong<sup>1,2</sup>, ZHANG Hong<sup>1,2</sup>, LI Baochun<sup>1,3</sup>, MA Xiaole<sup>1,2</sup>, WANG Huajun<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>State Key Laboratory of Aridland Crop Science/Gansu Provincial Key Laboratory of Crop Improvement & Germplasm

Enhancement, Lanzhou 730070; <sup>2</sup>College of Agronomy, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070;

<sup>3</sup>College of Life Sciences and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070)

**Abstract:** Barley leaf stripe is one of the most serious diseases affecting barley yield and quality. In order to determine the resistant differences of barley germplasm to *Pyrenophora graminea* and explore candidate markers associated with resistance to *Pyrenophora graminea*. In this study, we identified the genetic diversity and population structure of 137 barley germplasms by 97 SSR markers and combined them with the results of resistance identification for association analysis. The results showed that 18 accessions were identified to be

收稿日期: 2023-10-31 网络出版日期: 2024-01-10

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20231031007>

第一作者研究方向为作物遗传育种, E-mail: 2090327400@qq.com

通信作者: 司二静, 研究方向为作物遗传育种; E-mail: sierjing@163.com

**基金项目:** 国家自然科学基金(32160496, 30771331); 国家大麦青稞产业技术体系(CARS-05-03B-03); 甘南科技计划项目(22CX8NA047); 甘肃省青年科技基金计划(20JR5RA010); 甘肃省教育厅创新基金(2021A-055); 甘肃省教育厅产业支撑计划(2021CYZC-12); 甘肃省省级大学生创新创业训练计划(S202210733005)

**Foundation projects:** National Natural Science Foundation(32160496, 30771331); National Technical System of Barley and Highland Barley Industry(CARS-05-03B-03); Gannan Technology Plan Project(22CX8NA047); Natural Science Foundation for Young Scientists of Gansu Province(20JR5RA010); Innovation Fund of Gansu Provincial Education Department(2021A-055); Industry Support Program of Gansu Provincial Education Department(2021CYZC-12); Provincial College Students Innovation and Entrepreneurship Training Program of Gansu Province(S202210733005)

immunity, 27 highly resistant, 28 resistant, 42 susceptible, and 22 highly susceptible by artificial inoculation with *Pyrenophora graminea* strain QWC. A total of 651 alleles were detected in 85 primer pairs, with an average of 7.57 alleles. The genetic diversity index ranged from 0.0401 to 0.8646, with an average value of 0.5799. Polymorphism information content ranged from 0.0393 to 0.8498, and the average was 0.5155, the genetic distances ranged from 0.1021 to 0.4807, with an average of 0.2774. The 137 barley germplasms were divided into four subpopulations by Cluster analysis and population structure analysis. A total of seven markers significantly ( $P < 0.05$ ) were obtained to be associated with barley resistance to *Pyrenophora graminea* based on the general linear model, with the explained rates ranging from 5.80% to 17.89%, EBmatc0039 had the highest explained rate. EBmac77 and MGB357 were significantly associated with resistance to barley leaf stripe ( $P < 0.01$ ), the two markers' rate of phenotypic variation explained were 6.07% and 9.60% in General Linear Model. The results of this study can provide reference for barley resistance to *Pyrenophora graminea* breeding.

**Key words:** barley; *Pyrenophora graminea*; resistance identification; SSR markers; association analysis

大麦(*Hordeum vulgare* L.)作为早熟禾本科大麦属谷类粮食作物<sup>[1]</sup>,至今已在世界范围内栽培种植数千年<sup>[2]</sup>,其在生长发育过程中经常遭受各种病害威胁。大麦条纹病(Barley leaf stripe)是一种系统性病原真菌类种传病害,大麦条纹病菌(*Pyrenophora graminea*)在大麦幼苗至成株的各个阶段均可侵染,是我国已报道的11种大麦真菌病害中对大麦产量及品质影响最为严重的病害之一<sup>[3]</sup>。大麦被侵染后,植株矮小、叶片黄化、穗小粒空,严重株甚至枯死。该病害发生的部分重病地块,病株率高达70%以上,致使大麦产量直线下降<sup>[4,6]</sup>。在大麦生产中,除化学药剂处理及田间栽培管理之外,选育和种植具有抗条纹病基因的抗性品种是控制大麦条纹病最经济有效的方法。因此,鉴定大麦种质材料的抗感性,筛选抗条纹病材料,是培育大麦抗性品种的前提工作。

种质资源是大麦抗条纹病新品种选育的重要物质基础,鉴定大麦种质的抗性是挖掘条纹病抗性相关基因的关键。近年来,关于大麦条纹病抗性鉴定的研究较多,Porta等<sup>[7]</sup>通过大麦种子感病、植株侵染、分蘖感染等转染方式探究条纹病对大麦产量损失的影响,发现侵染发病后的种子或植株均与大麦产量减少有着高度显著的相关性。Faccini等<sup>[8]</sup>通过人工接种大麦条纹病菌Dg2鉴定206份欧洲不同地区春大麦品种对大麦条纹病的抗性,发现多数品种表现中抗和感病,高抗或高易感品种很少,且早期品种比当代品种表现出更高的抗病性。Bayraktar等<sup>[9]</sup>为鉴定来自不同地方的大麦材料抗性,使用了45个大麦条纹病菌菌株对其进行接种检测,结果有4份大麦材料对所有大麦条纹病菌参试菌株均表现

出抗性。马启龙等<sup>[10]</sup>对307份来自甘肃的大麦地方品种进行抗条纹病鉴定,表现免疫的材料15份,抗病材料140份,确定多数裸大麦为抗条纹病品种。

遗传多样性是开展种质资源鉴定和遗传资源保存的前提条件,在抗病育种中至关重要<sup>[11]</sup>。DNA分子标记技术在遗传育种领域的普遍应用,为大麦育种及其抗病品种筛选带来新的机遇与挑战<sup>[12]</sup>。简单重复序列(SSR, simple sequence repeat)由短的核苷酸序列直接串联重复组成,重复性高、丰富性强、共显性好,已成为遗传多样性研究和目的基因定位的有力工具<sup>[13]</sup>。大麦作为禾本科麦类遗传模式作物,拥有庞大的染色体组( $5.3 \times 10^9$  bp)和基因组信息,其丰富的遗传信息更加有助于遗传多样性的研究<sup>[14-15]</sup>。Abebe等<sup>[16]</sup>利用15个SSR标记对20个大麦种质的遗传多样性进行研究,通过检测到的57个等位变异位点,探明了供试大麦材料遗传多样性的丰富性;李赢等<sup>[17]</sup>利用38对SSR标记对230份江苏裸大麦材料和其他7个来源的109份裸大麦材料进行遗传多样性分析,发现群体间种质资源遗传多样性差异较大,探明了导致裸大麦间产生遗传多样性的主要原因是群体间和群体内的遗传变异;原红军等<sup>[18]</sup>利用SSR标记分析了1220份收集自世界各地裸大麦材料的遗传多样性,构建了包含300份材料的核心种质。

先进的分子工具结合关联分析对于挖掘不同种质预期性状的候选基因、选择有利等位基因组合、改良作物品质性状至关重要,而SSR标记结合关联分析的方法在大麦中也得到了一定运用。Kraakman等<sup>[19]</sup>运用SSR等标记与148份春大麦的

部分性状进行关联分析,找到了与农艺性状、抗性和形态特征相关的标记;曲洁琼等<sup>[20]</sup>利用SSR分子标记与大麦抗叶斑病表型鉴定结果进行关联分析,最终检测到了6个显著关联的SSR标记,并在大麦4H染色体上确定了1个大麦叶斑病抗性位点;司二静等<sup>[21]</sup>利用119对多态性SSR引物,对180份来自国内外不同地区的大麦条纹病菌进行SSR标记分析,群体结构分析将180份供试大麦材料分为2个亚群,并通过大麦条纹病抗性鉴定与SSR标记进行关联分析,检测到两个与大麦条纹病抗性呈极显著关联的SSR标记。目前,有关大麦抗病关联分析屡见报道,但利用SSR标记关联分析抗大麦条纹病的研究较少。

因此,本研究采用“三明治”法<sup>[22]</sup>对137份来自国内不同地区的大麦材料进行人工接种并检测条纹病抗性,通过SSR分子标记了解供试大麦材料的遗传多样性,并选用85对多态性较好的SSR分子标记与大麦条纹病抗性结果进行关联分析,以期进一步研究大麦条纹病菌的遗传差异性,并利用分子标记定位抗病位点,为全面挖掘大麦抗条纹病种质提供基础参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

**1.1.1 供试大麦品种** 137份供试大麦材料包括95份地方品种和42份野生材料,来自我国23个省、市、自治区,分别包括西藏自治区62份,贵州省15份,青海省12份,云南省9份,黑龙江省5份,福建省4份,甘肃省3份,广东省3份,陕西省3份,山西省3份,江苏省3份,山东省2份,河南省2份,安徽省2份,河北省1份,湖北省1份,内蒙古自治区1份,宁夏回族自治区1份,四川省1份,北京市1份,广西壮族自治区1份,新疆维吾尔自治区1份,浙江省1份。137份材料均由甘肃省作物遗传改良与种质创新重点实验室/干旱生境作物学国家重点实验室麦类种质创新课题组提供并保存。

**1.1.2 供试菌株** 大麦条纹病菌强致病力菌株QWC于2009年采集于大麦发病植株叶片部位,分离纯化后经形态观察、致病性和分子鉴定确定为强致病力菌株<sup>[23]</sup>,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保存并提供。将石蜡油封存的供试菌株QWC挑取少许后接于马铃薯葡萄糖琼脂(PDA, potato dextrose agar)平板上,于22℃恒温暗培养7d后,在菌落边缘打取直径约5mm的

菌饼,置于新PDA平板上22℃暗培养7d后用于接种不同大麦材料。PDA培养基:马铃薯200g、葡萄糖10g、琼脂17g,蒸馏水定容至1L,高压灭菌后备用。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 供试大麦品种的抗性鉴定** 抗性鉴定方法采用三明治法<sup>[22]</sup>。无菌条件下,每份大麦材料取90粒种子用70%乙醇处理30s,5%次氯酸钠处理5min后,无菌水冲洗3次,在通风条件下晾干后等分为3份,即3个生物学重复,分别置于带有生长7d菌落的2层PDA平板中间,于6℃黑暗条件下恒温放置20d后,转移至直径12cm的花盆中,置于12℃/黑暗12h和20℃/光照12h的人工气候室,培养45d后调查供试大麦材料的发病情况,并计算不同大麦材料发病率,以发病率作为表型进行统计。发病率(%)=发病株数/总种植株数×100%,3个生物学重复取平均。大麦材料抗性评价共分为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%为中抗,15%<发病率≤50%为感病,发病率高于50%为高感。

**1.2.2 基因组DNA提取** 采用改良CTAB法<sup>[24]</sup>分别提取137份大麦三叶期叶片的基因组DNA,提取到的DNA使用超微量分光光度计(美国Pultron, P100)进行DNA浓度和纯度测定,同时制备1%琼脂糖,对所提取的DNA进行凝胶电泳质量检测。检测完毕的DNA样品稀释为60ng/μL,置于-20℃保存备用。

**1.2.3 SSR标记检测方法及遗传多样性分析** 以Korff等<sup>[25]</sup>构建的遗传图谱及GrainGenes网站(<https://wheat.pw.usda.gov/GG3/>)为参考,查找到97对大麦SSR标记,挑选出85对多态性较好且在大麦7条染色体上均匀分布的SSR分子标记,对提取保存的137份大麦基因组DNA稀释液为模板进行PCR扩增,PCR反应体系(10μL):10μmol/L上下游引物各0.5μL,40ng/μL的DNA模板2μL,2×Master Mix 5μL,补充dd H<sub>2</sub>O 2μL。扩增程序参照王晋等<sup>[26]</sup>方法。扩增产物用8%聚丙烯酰胺凝胶电泳检测,电泳结束后用硝酸银染色,于脱色照明床上观察结果,照相保存图片。条带扩增信息按相同迁移率下有条带记为1,无条带记为0。

使用Adobe Illustrator CS6软件划线统计对比137份材料扩增条带之间的凝胶电泳图谱,条带参考线为600bp DNA Marker I,根据每一个条带位置记录其对应bp大小值,用Excel表格记录SSR分子

标记结果。利用 PowerMarker v3.25 软件<sup>[27]</sup>统计基因型数、等位基因数、基因多样性以及多态性信息含量 (PIC, polymorphism information content); 使用 Popgene3.2 计算等位基因频率; Structure 2.3.4 软件分析群体遗传结构, 估计最佳群体组群数<sup>[28]</sup>; 用 NTSYS-pc 数据分析软件算术平均非加权配组法 (UPGMA, unweighted pair-group method with arithmetic mean) 分析遗传相似系数, 对 137 份供试材料进行遗传相似性聚类。

**1.2.4 关联分析** 使用软件 Tassel 2.1 软件进行 SSR 标记与 137 份大麦材料抗条纹病的关联分析, 供试材料等位变异频率特征类型数 L(K) 的最大值被确定为亚种群的最优 K 值, 协变量以结构矩阵 Q 值从每一个的隶属度概率中提取基因型的一般线性模型分析 (GLM, general linear model), 对遗传标记变异和大麦条纹病相关变异数据进行回归分析, 寻找与之相关联的标记, 并确定其解释率<sup>[29]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 供试大麦材料的抗性鉴定

137 份大麦材料接种强致病力菌株 QWC 抗性结果显示 (表 1), 不同来源材料的大麦条纹病抗性表现出较大差异, 且 5 种抗性类型均有分布 (图 1), 其中 18 份免疫材料分别为来自福建、甘肃、广东、湖北、西藏、青海、黑龙江及江苏 8 个省 (市、自治区), 占供试总材料的 13.14%; 27 份高抗材料来源于安徽、北京、福建等 12 个省 (市、自治区), 占总材料的 19.71%; 28 份中抗材料来源于福建、广东、贵州等 11 个省市自治区, 占总材料的 20.44%; 42 份中感材料来自安徽、甘肃、贵州等 12 个省市自治区, 占总材料的 30.66%; 22 份高感材料来源于西藏、贵州、河南等 6 个省市自治区, 占供试材料的 16.06%。137 份供试材料中所有抗病材料占比为 53.28%。

表 1 137 份大麦材料人工接种大麦条纹病菌强致病力菌株 QWC 的抗性评价

Table 1 Resistance evaluation of 137 barley materials to *Pyrenophora graminea* strong pathogenicity isolate QWC by artificial inoculation

编号 No.	大麦材料 Barley material	发病率 (%) Incidence rate	来源地 Source	抗性类型 Resistance type	编号 No.	大麦材料 Barley material	发病率 (%) Incidence rate	来源地 Source	抗性类型 Resistance type
1	ZDM08664	1.40±0.14	安徽	高抗	21	ZDM10032	21.42±1.04	贵州	中感
2	ZDM02600	33.47±0.66	安徽	中感	22	ZDM10038	42.68±2.07	贵州	高感
3	ZDM00008	0.90±1.10	北京	高抗	23	ZDM10060	36.65±0.04	贵州	中感
4	ZDM03581	0	福建	免疫	24	ZDM10073	21.98±1.02	贵州	中感
5	ZDM03589	0.66±1.20	福建	高抗	25	ZDM10087	1.62±1.02	贵州	高抗
6	ZDM03593	10.05±0.50	福建	中抗	26	ZDM10089	2.32±1.30	贵州	高抗
7	ZDM03609	10.32±0.21	福建	中抗	27	ZDM10091	1.33±0.41	贵州	高抗
8	ZDM01467	39.78±1.01	甘肃	中感	28	ZDM10097	31.84±0.24	贵州	中感
9	ZDM07925	0±0	甘肃	免疫	29	ZDM03901	13.67±0.33	贵州	中抗
10	ZDM08004	22.94±0.01	甘肃	中感	30	ZDM00049	29.57±1.21	河北	中感
11	ZDM03631	5.91±0.14	广东	中抗	31	ZDM05335	0	湖北	免疫
12	ZDM03645	0	广东	免疫	32	ZDM08305	53.95±1.21	河南	高感
13	ZDM03650	4.28±0.24	广东	高抗	33	ZDM00676	2.22±0.23	河南	高抗
14	ZDM03663	4.96±0.22	广西	高抗	34	ZDM01224	34.93±1.02	黑龙江	中感
15	ZDM09075	3.48±0.41	贵州	高抗	35	ZDM01313	0	黑龙江	免疫
16	ZDM09952	43.22±0.04	贵州	高感	36	ZDM01411	3.70±1.17	黑龙江	高抗
17	ZDM09978	17.18±1.00	贵州	中感	37	ZDM01419	54.72±0.17	黑龙江	高感
18	ZDM10004	2.02±1.02	贵州	高抗	38	ZDM05244	3.22±0.51	黑龙江	高抗
19	ZDM10006	9.22±1.19	贵州	中抗	39	ZDM01837	15.01±0.41	江苏	中感
20	ZDM10027	31.87±0.54	贵州	中感	40	ZDM01850	28.38±1.02	江苏	中感

表 1 (续)

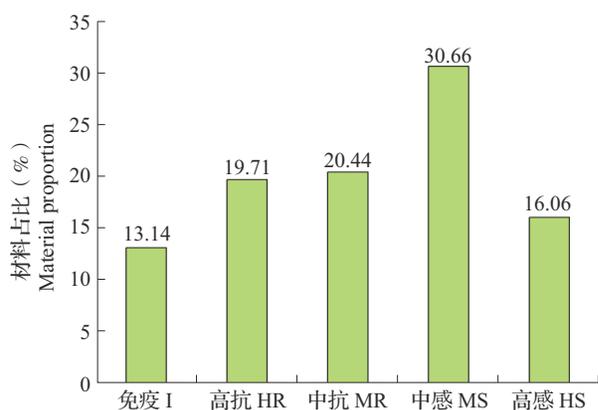
编号 No.	大麦材料 Barley material	发病率(%) Incidence rate	来源地 Source	抗性类型 Resistance type	编号 No.	大麦材料 Barley material	发病率(%) Incidence rate	来源地 Source	抗性类型 Resistance type
41	ZDM02079	0	江苏	免疫	82	ZDM06728	3.84±1.23	西藏	高抗
42	ZDM05209	69.69±0.07	内蒙古	高感	83	ZDM07365	6.87±0.77	西藏	中抗
43	ZDM08231	9.67±0.51	宁夏	中抗	84	ZDM07388	0	西藏	免疫
44	ZYM01289	0	青海	免疫	85	ZDM07437	5.41±2.56	西藏	中抗
45	ZDM08088	0	青海	免疫	86	ZDM07766	57.36±0.47	西藏	高感
46	ZDM08204	10.30±0.41	青海	中抗	87	ZDM08383	2.85±0.41	西藏	高抗
47	ZDM01556	7.64±1.21	青海	中抗	88	ZDM08391	9.00±1.58	西藏	中抗
48	ZDM01605	1.78±2.03	青海	高抗	89	ZDM08394	9.62±0.87	西藏	中抗
49	ZDM01606	3.56±1.42	青海	高抗	90	ZDM08405	22.35±0.88	西藏	中感
50	ZDM01686	2.74±0.32	青海	高抗	91	ZDM08407	63.14±1.25	西藏	高感
51	ZDM08135	0	青海	免疫	92	ZYM00004	11.11±1.42	西藏	中抗
52	ZDM08190	0	青海	免疫	93	ZYM00054	1.11±1.34	西藏	高抗
53	ZYM01343	17.94±1.05	青海	中感	94	ZYM00234	34.09±0.44	西藏	中感
54	ZYM01354	11.11±0.78	青海	中抗	95	ZYM00315	22.53±2.35	西藏	中感
55	ZYM0147	30.13±1.08	青海	中感	96	ZYM0036	46.54±0.87	西藏	高感
56	ZDM08928	17.55±0.89	四川	中感	97	ZYM00603	3.72±0.11	西藏	高抗
57	ZDM00262	3.29±0.27	山东	高抗	98	ZYM00695	11.23±0.24	西藏	中抗
58	ZDM00430	6.98±0.11	山东	中抗	99	ZYM0079	31.01±0.52	西藏	中感
59	ZDM00109	9.14±1.25	山西	中抗	100	ZYM0083	15.27±1.21	西藏	中感
60	ZDM00128	26.93±1.25	山西	中感	101	ZYM00869	62.25±0.42	西藏	高感
61	ZDM00204	5.30±3.02	山西	中抗	102	ZYM00971	5.47±5.21	西藏	中抗
62	ZDM00985	16.70±0.04	陕西	中感	103	ZYM00974	35.83±2.25	西藏	中感
63	ZDM01065	15.22±0.22	陕西	中感	104	ZYM01082	45.82±1.22	西藏	高感
64	ZDM01090	20.57±1.04	陕西	中感	105	ZYM01171	15.76±1.33	西藏	中感
65	ZDM04260	10.51±2.54	西藏	中抗	106	ZYM01845	3.75±0.65	西藏	高抗
66	ZDM04348	0	西藏	免疫	107	ZYM01913	5.00±1.34	西藏	高抗
67	ZDM04360	47.94±0.88	西藏	高感	108	ZYM01984	13.91±1.04	西藏	中抗
68	ZDM04443	0	西藏	免疫	109	ZYM0199	41.27±1.35	西藏	高感
69	ZDM04517	10.15±1.28	西藏	中抗	110	ZYM0208	28.62±1.31	西藏	中感
70	ZDM04756	37.10±1.45	西藏	中感	111	ZYM02235	3.84±0.87	西藏	高抗
71	ZDM05042	0	西藏	免疫	112	ZYM02252	42.84±0.58	西藏	高感
72	ZDM05649	72.00±2.75	西藏	高感	113	ZYM02260	0	西藏	免疫
73	ZDM05699	2.04±4.00	西藏	高抗	114	ZYM02507	10.94±1.25	西藏	中抗
74	ZDM05744	22.21±2.78	西藏	中感	115	ZYM02600	0	西藏	免疫
75	ZDM05777	17.14±0.77	西藏	中感	116	ZYM03239	0	西藏	免疫
76	ZDM05925	13.00±0.41	西藏	中抗	117	ZYM0334	18.82±0.58	西藏	中感
77	ZDM06048	0	西藏	免疫	118	ZYM0348	53.49±0.41	西藏	高感
78	ZDM06108	58.44±2.72	西藏	高感	119	ZYM0489	18.40±1.02	西藏	中感
79	ZDM06127	47.79±4.10	西藏	高感	120	ZYM0506	73.97±1.11	西藏	高感
80	ZDM06415	14.76±1.09	西藏	中感	121	ZYM0544	33.07±1.54	西藏	中感
81	ZDM06577	7.43±1.75	西藏	中抗	122	ZYM0678	25.26±2.17	西藏	中感

表1(续)

编号 No.	大麦材料 Barley material	发病率(%) Incidence rate	来源地 Source	抗性类型 Resistance type	编号 No.	大麦材料 Barley material	发病率(%) Incidence rate	来源地 Source	抗性类型 Resistance type
123	ZYM02587	22.22±1.03	西藏	中感	131	ZDM04058	20.03±2.01	云南	中感
124	ZYM1747	88.08±0.88	西藏	高感	132	ZDM04099	4.93±1.41	云南	高抗
125	ZYM2275	82.45±1.37	西藏	高感	133	ZDM04118	40.91±1.21	云南	高感
126	ZYM3396	30.00±0.47	西藏	中感	134	ZYM00952	25.08±0.54	云南	中感
127	ZDM01798	7.85±1.25	新疆	中抗	135	ZYM00953	5.04±0.41	云南	中抗
128	ZDM03955	85.49±1.35	云南	高感	136	ZYM00956	18.03±0.04	云南	中感
129	ZDM03968	3.73±1.34	云南	高抗	137	ZDM02894	8.33±1.07	浙江	中抗
130	ZDM04001	16.39±1.56	云南	中感					

表中数据为平均值±标准误

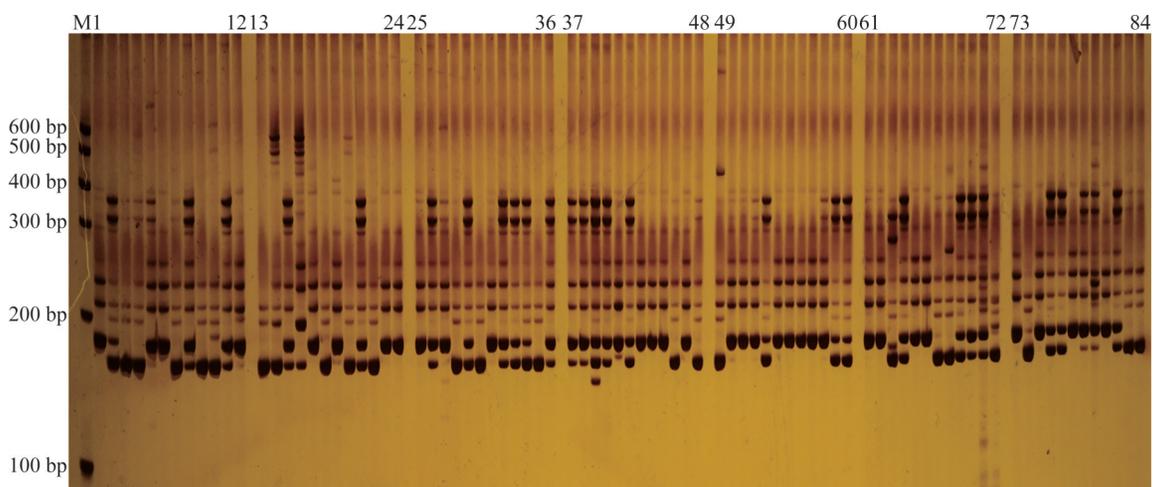
The data in the table are average values ± standard error



I: Immune; HR: High resistant; MR: Middle resistant; MS: Middle susceptible; HS: High susceptible; The same as below

图1 137份大麦材料对大麦条纹病菌强致病力菌株QWC的抗性类型

Fig. 1 Resistance type of 137 barley materials to *Pyrenophora graminea* strong pathogenicity isolate QWC



M: 600 bp Marker; 1~84 为部分大麦供试材料

1-84 is partial material of barley

图2 引物 scssr08238 部分扩增产物的聚丙烯酰胺凝胶电泳图

Fig. 2 Polyacrylamide gel electrophoresis of part amplified product by primer scssr08238

## 2.2 SSR标记多态性分析

用97对引物分别扩增137份大麦的DNA,聚丙烯酰胺凝胶电泳检测后筛选到85对条带清晰且多态性较好的引物,多态性条带比例为87.62% (图2,表2)。85对SSR标记在137份大麦材料中共检测到651个等位变异位点,平均每对引物检测到7.57个多态性位点,变化范围为2~29个,等位变异位点最少的SSR标记为HVKN0X3、Bmag0808、HVM68、GBM1220、GBM5028、Bmac0096和GBM1389,标记Bmag7的等位变异位点最多。SSR标记基因多样性指数变幅为0.0401~0.8646,标记Bmag105的基因多样性指数最高,标记Bmag0808的基因多样性指数最低,为0.0401。多态性信息含量变幅为0.0393~0.8498,标记Bmag105的多态性信息含量最高,标记Bmag0808的多态性

信息含量最低,平均多态性信息含量约为 0.5155。性较好,等位基因变异程度较高,可进行后续的关联分析。综上所述,本研究筛选得到的 85 个 SSR 分子标记多态

表 2 85 对 SSR 引物在 137 份大麦材料中的多态性检测

Table 2 Polymorphic detection of 85 SSR primers in 137 barley materials

标记 Marker	染色体 Chr.	图位(cM) Position	等位基因数 Allele number	基因多样性指数 Gene diversity index	多态性信息含量 Polymorphism information content	物理位置(bp) Physical location
MGB402	1H	0	12	0.6698	0.6107	222281368~222281385
GMS21	1H	14.0	9	0.7159	0.6764	112831390~112831406
Bmag0872	1H	37.0	19	0.7865	0.7552	25680764~25680783
MGB325	1H	52.0	8	0.7648	0.7264	284615725~284615745
Bmag345	1H	57.8	11	0.7266	0.6843	374776220~374776242
HVALAAT	1H	63.0	4	0.2767	0.2427	66163185~66163204
Bmac154	1H	68.8	13	0.7515	0.7131	109270217~109270239
Bmag149	1H	70.0	17	0.8118	0.7853	327526747~327526765
Bmag105	1H	75.0	20	0.8646	0.8498	367842373~367842391
Bmag382	1H	85.9	6	0.6594	0.6007	480967542~480967562
GBM1143	1H	96.3	13	0.1757	0.1729	471651469~471651484
Bmag579	1H	124.0	6	0.4607	0.3824	508262308~508262328
GMS149	1H	134.8	5	0.7211	0.6688	508262412~508262428
scssr08238	1H	141.7	11	0.5846	0.4979	85632547~85632564
.Bmag0770	1H	150.8	11	0.5951	0.5203	78340369~78340389
HV2287	1H	185.2	7	0.6118	0.5358	2321800~2321815
HVGNIRE	2H	12.4	8	0.7447	0.6982	436317526~436317542
GBM1121	2H	27.1	7	0.2859	0.2587	19250331~19250348
GBM1214	2H	40.5	20	0.6114	0.5368	590723014~590723031
Bmag0692	2H	44.9	5	0.4631	0.3683	33737878~33737899
AWBMS56	2H	77.4	12	0.6461	0.5961	558083128~558083149
EBmatc0039	2H	92.1	4	0.6012	0.5354	593451988~593452012
Bmac0134	2H	101.0	3	0.7483	0.7012	3202443~3202460
GBM1450	3H	2.8	7	0.7749	0.7414	5931991~5932011
GBM1280	3H	9.6	8	0.7338	0.6921	1105982~1106001
Hv49505	3H	36.2	3	0.4995	0.3747	334357151~334357167
Bmag0225	3H	86.8	5	0.7496	0.7026	521665501~521665523
HVM33	3H	94.0	5	0.6307	0.5589	489085062~489085083
GMS116	3H	100.0	5	0.5188	0.4043	499548139~499548158

表 2 (续)

标记 Marker	染色体 Chr.	图位(cM) Position	等位基因数 Allele number	基因多样性指数 Gene diversity index	多态性信息含量 Polymorphism information content	物理位置(bp) Physical location
HVM60	3H	110.0	4	0.5485	0.4459	516291625~516291644
GBM1226	3H	117.4	5	0.5213	0.4069	566179416~566179435
GBM1238	3H	138.0	10	0.6903	0.6382	610409550~610409568
HV13GEIII	3H	155.0	16	0.7361	0.6925	592835724~592835744
Bmac29	3H	190.0	3	0.4696	0.3627	587960299~587960319
GBM1221	4H	8.4	7	0.6570	0.5938	6414038~6414057
HVKNOX3	4H	31.0	2	0.4936	0.3718	24237659~24237682
HVM40	4H	14.0	4	0.5746	0.4821	9979862~9979879
GMS89	4H	57.0	4	0.5917	0.5087	95914409~95914426
Bmag0808	4H	66.3	2	0.0401	0.0393	444338400~444338420
HVM68	4H	76.2	2	0.7497	0.7028	545266674~545266693
EBmac775	4H	80.0	6	0.5193	0.4073	549126003~549126021
GBM1220	4H	105.1	2	0.0703	0.0679	6414038~6414057
TACMD	4H	125.0	12	0.5730	0.4827	586759314~586759333
EBmac635	4H	131.0	7	0.5249	0.4121	580928369~580928387
GBM1388	4H	136.1	5	0.7437	0.6960	602249134~602249153
HVM67	4H	180.0	8	0.5347	0.4365	601544040~601544057
GBM5028	5H	30.5	2	0.0708	0.0683	12125583~12125603
Bmac0096	5H	54.1	2	0.5036	0.3804	354294808~354294831
Bmag0760	5H	61.2	4	0.5117	0.3950	37040241~37040260
Bmag0812	5H	76.4	3	0.6226	0.5478	489838798~489838818
GBM1438	5H	99.2	17	0.6576	0.5970	511065032~511065051
GBM1436	5H	120.1	3	0.5878	0.5028	328055988~328056004
GMS061	5H	126.0	6	0.4336	0.3974	533898040~533898057
GBM1490	5H	141.7	3	0.5215	0.4070	558425689~558425708
Bmag0222	5H	162.0	4	0.7070	0.6589	575355267~575355287
MGB357	5H	165.0	16	0.7156	0.6658	566148136~566148154
AB009307	5H	173.7	6	0.5481	0.4456	440523751~440523766
scssr09398	6H	4.6	3	0.6296	0.5583	5188572~5188590
84c21j33	6H	7.1	9	0.6380	0.5762	7662314~7662335
Bmag0500	6H	23.8	4	0.5420	0.4370	16367748~16367767
GBM1215	6H	36.7	10	0.7577	0.7271	25014572~25014591

表 2 (续)

标记 Marker	染色体 Chr.	图位(cM) Position	等位基因数 Allele number	基因多样性指数 Gene diversity index	多态性信息含量 Polymorphism information content	物理位置(bp) Physical location
Bmag173	6H	47.8	15	0.7689	0.7375	86144510~86144524
EBmac0602	6H	54.6	3	0.5055	0.3849	506304155~506304173
Bmac0047a	6H	62.4	6	0.5265	0.4144	314368071~314368092
GBM1389	6H	63.1	2	0.1228	0.1152	188797394~188797413
Bmag0867	6H	64.3	6	0.6258	0.5731	253817417~253817434
HVM31	6H	72.8	5	0.5205	0.4063	111917236~111917253
scssr05599	6H	96.9	4	0.5565	0.4581	529811338~529811357
GBM1140	6H	97.3	4	0.2866	0.2495	534669806~534669825
EBmac624	6H	107.0	6	0.7018	0.6494	129941547~129941568
Bmag613	6H	112.0	5	0.7655	0.7260	32837207~32837227
GBM1275	6H	124.9	12	0.7853	0.7505	554017456~554017475
GBM1087	6H	127.7	8	0.6052	0.5272	555799089~555799106
GBM1404	6H	130.9	4	0.5143	0.3964	557034070~557034089
GBM1126	7H	6.8	4	0.6399	0.5860	6210158~6210177
Bmag7	7H	27.0	29	0.8320	0.8145	14790096~14790119
GBM5060	7H	31.2	27	0.7710	0.7387	27922438~27922457
EBmac603	7H	50.0	11	0.3180	0.3041	32480060~32480083
Bmag914	7H	55.7	3	0.1042	0.1001	42269553~42269570
HVSS1	7H	62.0	8	0.5342	0.4268	289047676~289047691
HVA22S	7H	75.0	5	0.5517	0.4541	139081102~139081121
Bmag516	7H	85.7	11	0.5877	0.5025	402145982~402145996
Bmag11	7H	93.0	5	0.7425	0.6947	166616970~166616990
GMS46	7H	120.0	7	0.7454	0.6979	493151445~493151463
GBM1456	7H	136.7	5	0.5136	0.4035	622060613~622060630
合计 Total	-	-	650	-	-	-
平均 Average	-	-	7.65	0.5799	0.5155	-

- : 无数据; 图位信息参考文献[25]

- : No data; Position information refer to specific literature[25]

### 2.3 基于 SSR 的大麦种质遗传距离和聚类分析

137 份大麦材料间的遗传距离为 0.1021~0.4807, 平均 0.2774。其中, 福建的种质 ZDM03593 与贵州的种质 ZDM10089、西藏的种质 ZDM05777 与同样来自西藏的 ZDM08407 以及贵州的

ZDM10027, 遗传距离相对较大, 分别为 0.4726、0.4764、0.4807, 表明这些大麦材料之间的亲缘关系相对较远; 也有一些省(市、自治区)材料间遗传距离较小, 如同样来自黑龙江的 ZDM01411 与 ZDM01224、来自西藏的 ZYM3396 与 ZYM0348、以

及同样来自西藏的ZDM07365与ZDM05699,遗传距离分别为0.1021、0.1427、0.1399,大多数为同地域或相近地域类型种质,表明地域相近或同一地域类型的种质亲缘关系更为接近。

采用UPGMA对137份大麦材料进行聚类(图2),结果显示,137份大麦材料可划分为4个类群,第I类群包含30份(21.89%)大麦材料,主要来源于西藏(16份)、河南(2份)、云南(3份)、贵州(2份)等10省(市、自治区);第II类群包含16份(11.67%)大麦材料,来源于西藏(11份)、青海(2份)5个省(市、自治

区);第III类群包含15份(10.94%)大麦材料,来源于西藏(5份)、贵州(3份)、青海(3份)等7个省(市、自治区);第IV类群包含76份(55.47%)大麦材料,占比最大,主要来源于西藏(30份)、贵州(8份)、云南(6份)、福建(4份)等19个省(市、自治区)。结果表明来自西藏的大麦种质在4个类群中均有占比较多的分布,考虑到本研究中西藏地区材料选取较多之外,推测各类群的部分品种间可能存在地区间的相互渗透,即有跨地域品种间的杂交,从而聚集了不同地理来源的材料。

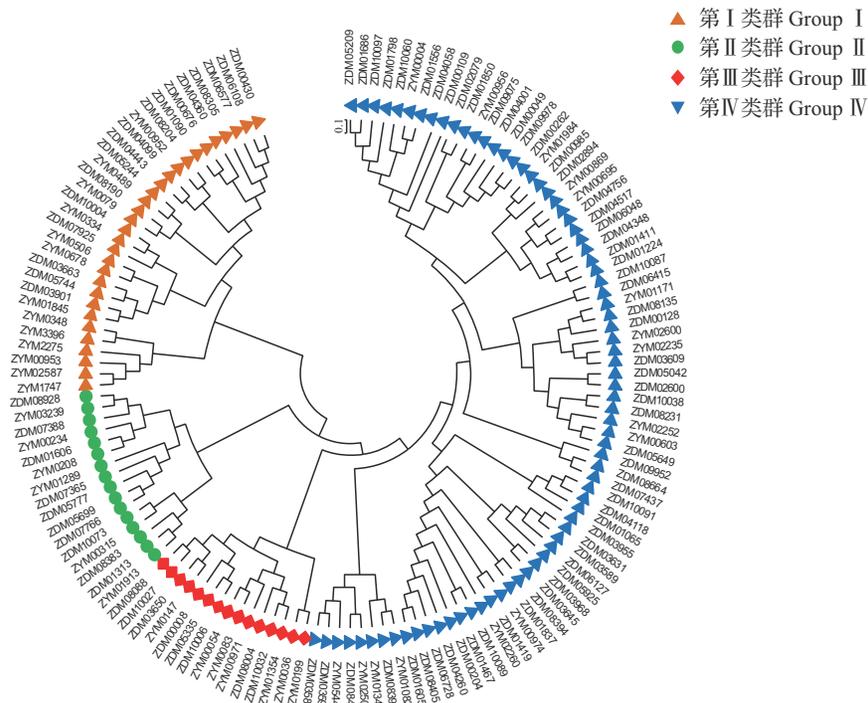


图3 基于SSR分子标记基因型鉴定结果的137份大麦材料的聚类分析

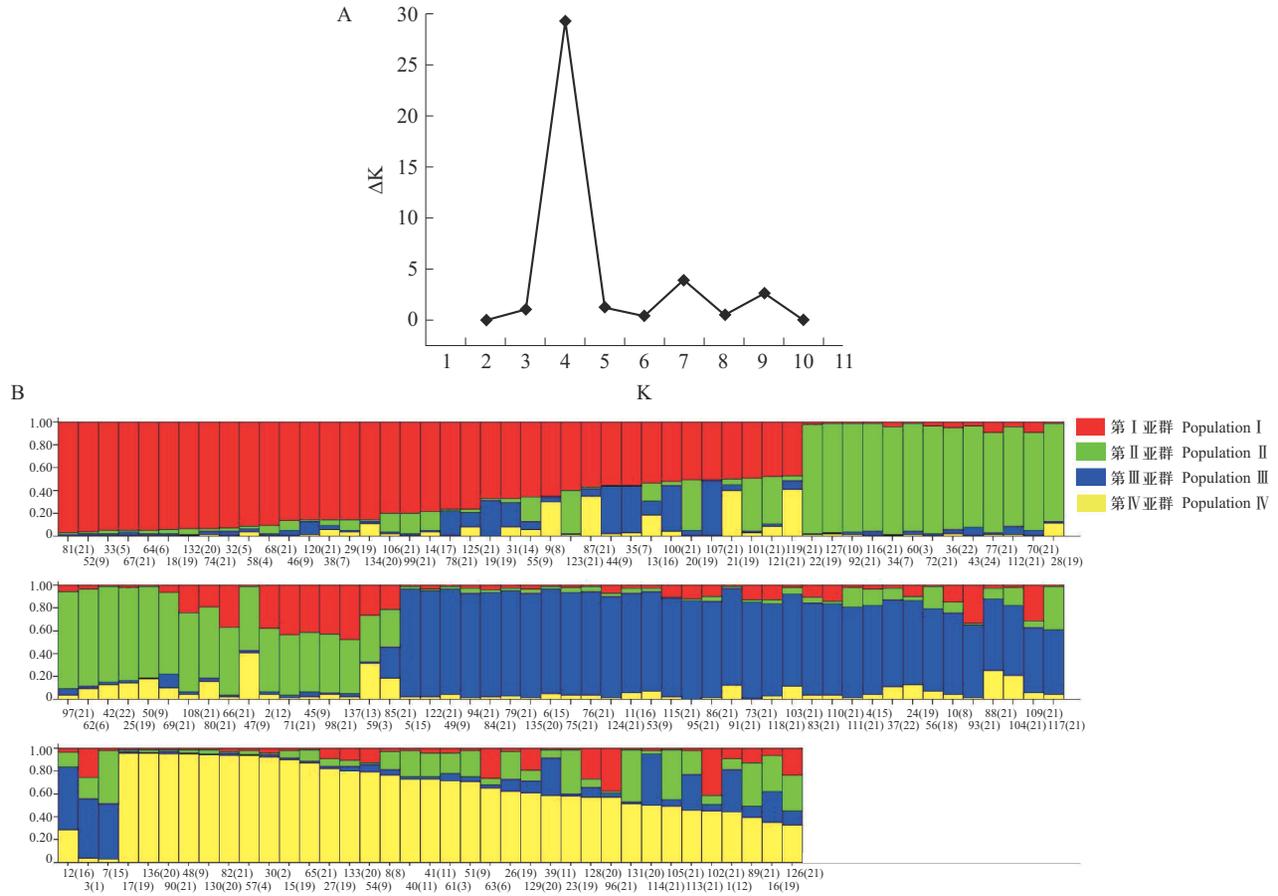
Fig. 3 Dendrogram of 137 barley lines based on the result of SSR genotyping

#### 2.4 大麦种质材料群体遗传结构分析

利用85对SSR标记数据信息,对137份供试材料进行群体结构分析,根据Structure 2.3.4软件分析结果,当 $K=4$ , $\Delta K$ 值最大(图3A),说明137份大麦种质材料可分成4个亚群,与聚类分析结果相似(图3B),增加了群体结构划分的合理性。其中第I亚群包含34份材料,主要来自于西藏、青海、陕西等地;第II亚群包含36份材料,主要来自于西藏、贵州等地;第III亚群包含30份材料,主要来自于西藏、福建、青海等地;第四亚群包含37份材料,主要来自于西藏、江苏、贵州等地。每个亚群之间都存在一定的基因交流,又有较为明显的分化。

#### 2.5 SSR标记与大麦抗条纹病的关联分析

关联分析结果显示(表3),通过GLM法模型共获得7个显著的标记与大麦条纹病抗性相关联( $P<0.05$ ),7个标记位点分别位于大麦2H、3H、4H、5H和6H染色体上,其相对表型变异解释率为5.80%~17.89%,解释率最高的标记是EBmatc0039,解释率最低的标记是Bmag603。其中,位于4H染色体80.0 cM处的标记EBmac77和5H染色体165.0 cM处的标记MGB357,与条纹病抗性关联概率达到极显著水平( $P<0.01$ )。推测这两个SSR标记位点与某个条纹病抗性基因位点连锁的可能性较大,有望为今后大麦条纹病抗性分子检测及抗性育种研究做好铺垫。



A: 基于 SSR 标记的 137 份供试大麦材料群体结构 K 值变化趋势图; B: 基于 SSR 标记的 137 份大麦材料在最适 K 值下的群体遗传结构; 图 B 横坐标表示不同大麦材料, 括号前数据对应 137 份供试材料编号, 同表 1, 括号内编号表示地理来源, 1: 北京, 2: 河北, 3: 山西, 4: 山东, 5: 河南, 6: 陕西, 7: 黑龙江, 8: 甘肃, 9: 青海, 10: 新疆, 11: 江苏, 12: 安徽, 13: 浙江, 14: 湖北, 15: 福建, 16: 广东, 17: 广西, 18: 四川, 19: 贵州, 20: 云南, 21: 西藏, 22: 内蒙古, 24: 宁夏; 纵坐标数值表示不同大麦材料划分到第 K 类群的概率 (Q)

A: Trend chart of population structure K value of 137 barley materials tested based on SSR markers; B: Population genetic structure of 137 barley materials at optimum K value based on SSR markers; In Fig. B, the horizontal coordinates represent different barley materials, the data before brackets corresponds to the identification numbers of 137 test materials, consistent with Table 1, the numbersn horizontal brackets represent different geographical sources, 1: Beijing, 2: Hebei, 3: Shanxi, 4: Shandong, 5: Henan, 6: Shaanxi, 7: Heilongjiang, 8: Gansu, 9: Qinghai, 10: Xinjiang, 11: Jiangsu, 12: Anhui, 13: Zhejiang, 14: Hubei, 15: Fujian, 16: Guangdong, 17: Guangxi, 18: Sichuan, 19: Guizhou, 20: Yunnan, 21: Tibet, 22: Inner Mongolia, 24: Ningxia; The ordinate values represent the probability that the genomic variation of different barley materials originates from population K (Q)

图 4 基于 SSR 标记的 137 份供试大麦群体遗传结构

Fig. 4 Genetic structure of 137 tested barley populations based on SSR markers

表 3 与大麦条纹病抗性相关的标记关联概率及其对表型变异的解释率

Table 3 The association probability and phenotypic variation of the marker associated with barley leaf stripe resistance

标记 Marker	染色体 Chr.	位置 (cM) Position	抗病性 Resistant to <i>Pyrenophora gramineasolate</i> QWC	
			关联概率 Association probability	表型变异解释率 (%) Rate of phenotypic variation explain
			EBmatc0039	2H
Hv49505	3H	36.2	0.0291	12.33
Bmag603	3H	70.0	0.0300	5.80
EBmac77	4H	80.0	0.0072	6.07
MGB357	5H	165.0	0.0040	9.60
sccsr09398	6H	4.6	0.0142	10.31
Bmag613	6H	112.0	0.0361	8.71

### 3 讨论

抗性鉴定是大麦抗性基因挖掘及提高抗病育种效率最基础有效的工作<sup>[30]</sup>。有关大麦条纹病种质抗性鉴定工作之前就有报道, Benkorteby等<sup>[31]</sup>利用从阿尔及利亚等地采集的9个大麦条纹病菌菌株进行条纹病抗性鉴定, 结果发现大麦品种Minnesota 23号和18/17/7L2系是良好的抗性材料, 可用于抗性品种的培育。Smedegaard等<sup>[32]</sup>用15个条纹病菌株侵染28份大麦材料, 结果有1个品种对全部参试菌株表现免疫, 3个品种对大部分菌株表现高抗, 剩余品种对15个条纹病菌菌株表现为不同程度的感病, 发病率介于2%~60%。Si等<sup>[33]</sup>把10个大麦品种均接种6株来自甘肃不同地区的大麦条纹病菌菌株, 结果9个大麦种质对全部供试菌株的抗性表现出一定差异。近年来, 随着大批新种质材料的不断培育, 同时由于条纹病菌与其寄主作物协同进化, 先前鉴定出来的大麦抗性种质可能会抗性丧失或抗性减弱<sup>[34]</sup>。因此, 本研究将来自我国不同省市自治区的137份新大麦种质材料人工接种条纹病强致病菌株QWC并进行抗性鉴定, 共鉴定到18份免疫材料(13.13%)、27份高抗材料(19.70%)、28份抗性材料(20.43%)、42份感病材料(30.65%)以及22份高感材料(16.05%), 与前期其他学者的研究结果相符, 认为不同大麦材料对条纹病菌抗性存在差异<sup>[21, 35-36]</sup>。其中18份免疫的大麦种质, 分别来自我国8个不同省(市、自治区), 8份西藏大麦种质ZDM04348、ZDM04443、ZDM05042、ZDM06048、ZDM07388、ZYM02260、ZYM02600、ZYM03239, 4份青海大麦材料ZYM01289、ZDM08088、ZDM08135和ZDM08190, 1份江苏种质ZDM02079, 1份黑龙江种质ZDM01313, 1份湖北种质ZDM05335, 1份福建种质ZDM03581, 1份甘肃种质ZDM07925, 1份广东种质ZDM03645。这些种质后续可进一步综合验证用于大麦生产, 为大麦条纹病抗性育种提供可靠亲本材料。

通过分子标记与目标性状关联分析, 可以初步判定标记与条纹病抗性的连锁关系, 从而指导抗性材料的选育。2015年, 司二静等<sup>[36]</sup>利用100对多态性SSR引物对86份大麦材料进行大麦条纹病抗性关联分析, 通过GLM和MLM两种模型分别确定了5个和3个与大麦条纹病抗性关联的标记, 关联标记分别位于大麦2H、4H和7H染色体上。2019年, 司二静等<sup>[21]</sup>再次增加供试大麦材料, 重新利用119对

多态性SSR引物对180份大麦材料进行分析, 同样使用GLM和MLM模型进行大麦抗条纹病与SSR标记的关联分析, 结果基于GLM检测到14个分布在大麦1H~7H染色体上的关联标记, MLM共鉴定到10个关联SSR标记, 除4H染色体外, 其他染色体上均有关联标记分布; 其中GLM模型和MLM模型均检测到相同关联标记为EBmatc0039和scssr09398。本研究选取的85个SSR多态性标记覆盖了大麦的7个染色体组, 能更好的区分137份供试大麦种质, 因此为利用这85对SSR标记分析抗性品种的遗传背景提供了一定基础。同时利用GLM模型进行标记位点与大麦条纹病菌抗性性状的关联分析, 共检测到7个与大麦条纹病抗性相关联的SRR标记, 这7个标记分别位于2H、3H、4H、5H和6H染色体上, 其相对表型变异解释率为5.80%~17.89%, 其中定位于2H染色体上的SSR关联标记EBmatc0039和定位于6H上的标记scssr09398, 与司二静<sup>[21]</sup>等检测到的抗性关联标记相同, 具有一致性。同时本研究检测到的这两个相同关联标记EBmatc0039和scssr09398表型变异解释率分别为17.89%和10.31%, 均高于司二静等<sup>[21]</sup>检测到的变异解释率8.29%和6.54%。此外, 本研究首次检测到两个与条纹病抗性关联概率极显著标记EBmac77和MGB357, 其相对表型变异解释率为6.07%和9.60%, 推断这两个SSR标记位点与某个条纹病抗性基因位点连锁的可能性较大, 有望为今后大麦条纹病抗性分子检测及抗性育种研究奠定基础。

#### 参考文献

- [1] 张兴瓚. 大麦. 世界农业, 1993 (7): 29  
Zhang X Z. Barley. World Agriculture. 1993, (7): 29
- [2] Bothmer R V. Genetic diversity for quantitatively inherited agronomic and malting quality traits. Developmentn Plant Genetics and Breeding, 2003, (7): 201-226
- [3] 李清铤, 王彰明. 大麦的病毒病害. 扬州大学学报: 农业与生命科学版, 1983 (3): 17-22  
Li Q X, Wang Z M. Diseases of Barley. Journal of Yangzhou University: Agricultural and Life Sciences Edition, 1983 (3): 17-22
- [4] 王树杰, 翟德昌, 赵金芝, 郜战宁. 大麦常见病害及其防治措施. 农业科技通讯, 2004 (11): 32-33  
Wang S J, Zhai D C, Zhao J Z, Gao Z N. Common diseases of barley and control measure. Bulletin of Agricultural Science and Technology, 2004 (11): 32-33
- [5] 陈健, 乔海龙, 陈和, 沈会权, 陈晓静, 陶红, 臧慧. 大麦病害及其特征. 江西农业学报, 2009, 21(5): 77-80, 84

- Chen J, Qiao H L, Chen H, Shen H Q, Chen X J, Tao H, Zang H. Barley and their characteristics. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 2009, 21(5): 77-80, 84
- [6] 杨瑞, 郑果, 王生荣. 大麦条纹病病原菌的生物学特性研究. *贵州农业科学*, 2010, 38(9): 106-109
- Yang R, Zheng G, Wang S R. Biological characteristics of pathogenic fungus causing barley strip. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2010, 38(9): 106-109
- [7] Porta P A, Delogu G, Vannacci G. *Pyrenophora graminea* on winter barley seed: Effect on diseasencidence and yield losses. *Journal of Phytopathology*, 2010, 117(1): 26-33
- [8] Faccini N, Delbono S, Çelik Oğuz A, Cattivelli L, Valè G, Tondelli A. Resistance of European spring 2-row barley cultivars to *Pyrenophora graminea* and detection of associated loci. *Agronomy*, 2021, 11:374
- [9] 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 Agriculture and Forestry*, 2012, 36(3): 329-339
- [10] 马启龙, 陈丽娟, 杨林贵. 甘肃大麦地方品种抗条纹病鉴定初报. *作物品种资源*, 1991 (3): 28-30
- Ma Q L, Chen L J, Yang L G. Preliminary report of identification of stripe resistance in Gansu barley local varieties. *Crop Genetic Resources*, 1991 (3): 28-30
- [11] Escribano P, Viruel M A, Hormaza J. Comparison of different methods to construct a core germplasm collection in woody perennial species with simple sequence repeat markers. A case study in cherimoya (*Annona cherimola*, Annonaceae), an underutilised subtropical fruit tree species. *Annals of Applied Biology*, 2008, 153(1): 25-32
- [12] Moore S S, Sargeant L L, King T J, Mattick J S, Georges M, Hetzel D J S. The conservation of dinucleotide microsatellites among mammalian genomes allows the use of heterologous PCR primer pairs in closely related species. *Genomics*, 1991, 10 (3): 654-660
- [13] Tautz D, Trick M, Dover G A. Cryptic simplicity in DNAs a major source of genetic variation. *Nature*, 1986, 322: 652-656
- [14] Ramsay L, Macaulay M, vanishevich S D, MacLean K, Cardle L, Fuller J, Waugh R. A simple sequence repeat-based linkage map of barley. *Genetics*, 2000, 156(4): 1997-2005
- [15] 陈欣, 余懋群, 龙海, 邓光兵, 潘志芬, 徐德林, 张洁. 大麦 EST-SSR 分子标记开发及特征分析. *应用与环境生物学报*, 2018 (1): 102-106
- Chen X, Yu M Q, Long H, Deng G B, Pan Z F, Xu D L, Zhang J. Data mining and analysis for simple sequence repeats expressed sequence tags from barley. *Chinese Journal of Applied and Environmental*, 2018(1): 102-106
- [16] Abebe T D, Abate A, Leon J. Genetic diversity within landraces of barley (*Hordeum vulgare* L.) and its implications on germplasm collection and utilization. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 2023, 70:1985-1998
- [17] 李赢, 刘海翠, 石吕, 石晓旭, 韩笑, 刘建, 魏亚凤. 江苏裸大麦种质资源遗传多样性和群体结构分析. *作物学报*, 2023, 49(10): 2687-2705
- Li Y, Liu H C, Shi L, Shi X X, Han X, Liu J, Wei Y F. Genetic diversity and population structure analysis of naked barley germplasm resources in Jiangsu province. *Acta Agronomica Sinica*, 2023, 49(10): 2687-2705
- [18] 原红军, 曾兴权, 徐其君, 王玉林, 扎桑, 尼玛扎西. 青稞种质资源遗传多样性分析与核心种质群体的构建. *麦类作物学报*, 2018, 38(8): 922-928
- Yuan H J, Zeng X Q, Xu Q J, Wang Y L, Zha S, Nima Z X. Genetic diversity of germplasm resource and core collection development in hulless barley. *Journal of Triticeae Crops*, 2018, 38(8): 922-928
- [19] Kraakman A T W, Mart'nez F, Mussiraliev B, Eeuwijk F A, Niks R E. Linkage disequilibrium mapping of morphological, resistance, and other agronomically relevant traits in modern spring barley cultivars. *Molecular Breeding*, 2006, 17 (1) : 41-58
- [20] 曲洁琼, 张毅, 杨庆丽, 汪军成, 姚丽蓉, 司二静, 马小乐, 李葆春, 方永丰, 王化俊, 孟亚雄. 大麦种质抗叶斑病鉴定和全基因组关联分析. *农业生物技术学报*, 2022, 30(12): 2267-2278
- Qu J Q, Zhang Y, Yang Q L, Wang J C, Yao L R, Si E J, Ma X L, Li B C, Fang Y F, Wang H J, Meng Y X. Identification of spot blotch in barley (*Hordeum vulgare*) and genome-wide Association study. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2022, 30(12): 2267-2278
- [21] 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
- [22] Pecchioni N, Faccioli P, Toubia R H, Valè G, Terzi V. Quantitative resistance to barley leaf stripe (*Pyrenophora graminea*) is dominated by one major locus. *Theoretical and Applied Genetics*, 1996, 93(1): 97-101
- [23] 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
- [24] 李筱婷, 陈卓君, 许文涛, 元延芳, 王一南, 黄昆仑. 一种适于 PCR 扩增的植物基因组快速提取新方法. *农业生物技术学报*, 2010, 18(2): 394-399
- Li S T, Chen Z J, Xu W T, Yuan Y F, Wang Y N, Huang K L. A new simple and rapid plant DNA extraction method for PCR analysis. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2010, 18 (2): 394-399

- [25] Korff M, Wang H, Léon J, Pillen K. Development of candidate introgression lines using an exotic barley accession (*Hordeum vulgare* ssp. *spontaneum*) as donor. *Theoretical and Applied Genetics*, 2004, 109(8): 1736-1745
- [26] 王晋, 王世红, 赖勇, 孟亚雄, 李葆春, 尚勋武, 马小乐, 王化俊. 大麦 SSR 标记遗传多样性及群体遗传结构分析. *核农学报*, 2014, 28(2): 177-185  
Wang J, Wang S H, Lai Y, Meng Y X, Li B C, Shang X W, Ma X L, 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
- [27] Liu K J, Muse S V. PowerMarker: An integrated analysis environment for genetic marker analysis. *Bioinformatics*, 2005, 21(9): 2128-2129
- [28] Kharzinova V R, Dotsev A V, Solovieva A D, Fedorov V, Brem G, Zinovieva N A. Estimation of biodiversity and population structure of Russian reindeer breeds inhabiting Northeastern Siberia using microsatellite markers. *Acta Fytotechnica et Zootechnica*, 2016, 19(3): 87-92
- [29] Miao L L, Mao X G, Wang J Y, Liu Z, Zhang B, Li W, Jing R. Elite haplotypes of a protein kinase gene *taSnRK2.3* associated with important agronomic traits in common wheat. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 17(8): 368-378
- [30] 庞云星, 陈琳, 郭焕强, 郎晓威, 王科宇, 王新语, 蔺瑞明. 61 份大麦种质资源对蠕孢菌叶斑病的抗性鉴定. *植物病理学报*, 2020, 50(5): 602-609  
Pang Y X, Chen L, Guo H Q, Lang X W, Wang K Y, Wang X Y, Lin R M. Evaluation of resistance in 61 barley germplasm accessions to spot blotch caused by *Bipolaris sorokiniana*. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2020, 50(5): 602-609
- [31] Benkorteby L H, Zeghar, Hanifi M L, Hanifi M, Zouaoui B. Barley leaf stripe disease in Algeria: Evaluation of virulent *Pyrenophora gramineasolates* and identification of resistant Algerian barley genotypes. *Tarim Bilimleri Dergisi-journal of Agricultural Sciences*, 2019, 25(3): 367-372
- [32] Smedegaard P V, Jørgensen J. Resistance to barley leaf stripe caused by *Pyrenophora Graminea*. *Phytopathologische Zeitschrift*, 1982, 105(2): 183-191
- [33] Si E J, Meng Y X, Ma X L, Wang H J. Development and characterization of microsatellite markers based on whole genome sequence and pathogenicity differentiation of *Pyrenophora graminea*, the causative agent of barley leaf stripe. *European Journal of Plant Pathology*, 2019, 154: 227-241
- [34] Arabi, M E. Diallel analysis of barley for resistance to leaf stripe and impact of the disease on genetic variability for yield components. *Euphytica*, 2005, 145: 161-170
- [35] 郭铭, 张金福, 司二静, 孙莉莎, 魏建敏, 刘海颖, 乔岩, 姚立蓉, 汪军成, 李葆春, 杨轲, 孟亚雄, 马小乐, 朱婧环, 尚勋武, 王化俊. 不同来源大麦对条纹病抗性鉴定及遗传多样性分析. *植物遗传资源学报*, 2022, 23(1): 72-82  
Guo M, Zhang J F, Si E J, Sun L S, Wei J M, Liu H Y, Qiao Y, Yao L R, Wang J C, Li B C, Yang K, Meng Y X, Ma X L, Zhu J H, Shang X W, Wang H J. Resistance identification and genetic diversity analysis of barley genotypes from different sources to barley stripe disease. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2022, 23(1): 72-82
- [36] 司二静, 赖勇, 孟亚雄, 李葆春, 马小乐, 尚勋武, 王化俊. 大麦遗传多样性及 SSR 标记与大麦条纹病抗性关联分析. *农业生物技术学报*, 2015, 23(2): 193-202  
Si E J, Lai Y, Meng Y X, Li B C, Ma X L, Shang X W, Wang H J. Genetic diversity and association analysis of SSR markers with leaf stripe resistance in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2015, 23(2): 193-202