

# 一粒系小麦遗传多样性分析及抗条锈菌CYR34鉴定

徐晓伟<sup>1</sup>, 冯晶<sup>1,2</sup>, 王凤涛<sup>1,2</sup>, 赵小倩<sup>1</sup>, 秦艳艳<sup>1</sup>, 童朝阳<sup>1</sup>, 蔺瑞明<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>中国农业科学院植物保护研究所/植物病虫害综合治理全国重点实验室, 北京 100193;

<sup>2</sup>农业农村部国家植物保护甘谷观测实验站, 甘肃甘谷 741200)

**摘要:** 一粒系小麦(Einkorn wheat, AA)作为小麦的基础物种,在形成普通小麦的过程中染色体组部分位点丢失,评价一粒系小麦的遗传多样性及对病害抗性的水平对普通小麦育种和遗传改良具有重要的理论意义和育种价值。本研究利用15对条带清晰、多态性高的SSR引物对170份一粒系小麦材料进行遗传多样性分析,并接种条锈菌流行生理小种CYR34进行抗病性评价。结果表明,SSR分析获得71个等位变异,引物平均多态性信息含量为0.6540;聚类分析和群体结构分析均将170份供试材料分为两个类群,两类群内的平均遗传距离分别为0.4732和0.5404;抗病性评价获得19份抗性较好的材料,其中免疫材料3份,近免疫材料2份,高抗1份,中抗13份,占供试材料的11.17%;有3对SSR引物与一粒系小麦抗条锈病显著相关。综上所述,一粒系小麦存在较多的等位基因变异,含有优异的抗条锈病基因,具有提高小麦抗条锈病的育种潜力。

**关键词:** 一粒系小麦;遗传多样性;条锈病;SSR分子标记;聚类分析

## Genetic Diversity Analysis and Identification of Stripe Rust Resistance to CYR34 in Einkorn Wheat

XU Xiaowei<sup>1</sup>, FENG Jing<sup>1,2</sup>, WANG Fengtao<sup>1,2</sup>, ZHAO Xiaoqian<sup>1</sup>, QIN Yanyan<sup>1</sup>,  
TONG Chaoyang<sup>1</sup>, LIN Ruiming<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences/State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Beijing 100193; <sup>2</sup>National Agricultural Experimental Station for Plant Protection at Gangu, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Gangu 741200, Gansu)

**Abstract:** Einkorn wheat (AA), as the basic species of wheat, has lost some loci of the A chromosome during the evolution of bread wheat. Evaluating the genetic diversity and disease resistance level of einkorn wheat has important theoretical significance and breeding value for common wheat breeding and genetic improvement. In our study, 15 pairs of SSR primers with clear bands and high polymorphism were used to analyze the genetic diversity of 170 einkorn wheat materials, and the current epidemic stripe rust physiological race CYR34 was used for disease resistance evaluation. The results showed that 71 alleles were obtained by SSR analysis, and the average polymorphism information content of primers was 0.6540. Cluster analysis and population structure analysis showed that tested materials were divided into two groups, and the average genetic distance within the two groups was 0.4732 and 0.5404, respectively. Through evaluation of disease resistance, 19 materials with better resistance were obtained, including 3 immunity, 2 near immunity, 1 high resistance and 13 medium resistance materials, accounting for 11.17% of the tested materials. Three pairs of primers had a

收稿日期: 2024-01-10 网络出版日期: 2024-07-30

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20240110001>

第一作者研究方向为植物抗病性遗传, E-mail: xxw15621405359@163.com

通信作者: 冯晶, 研究方向为植物抗病性遗传, E-mail: jingfeng@ippcaas.cn

蔺瑞明, 研究方向为分子植物病理学, E-mail: linruiming@caas.cn

基金项目: 国家重点研发计划(2021YFD1401000); 中国农业科学院科技创新工程

**Foundation projects:** National Key R&D Program of China (2021YFD1401000); Agricultural Science and Technology Innovation Program of Chinese Academy of Agricultural Sciences

correlation with the resistance of einkorn wheat to stripe rust. In summary, einkorn wheat contains abundant allelic variations and stripe rust resistance genes, which has the breeding potential to improve wheat resistance to stripe rust.

**Key words:** einkorn wheat; genetic diversity; stripe rust; SSR molecular marker; cluster analysis

小麦条锈病是由条形柄锈菌小麦专化型(*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*)引起的世界范围内的重要病害,选育和利用抗病品种是控制该病害最经济、有效和安全的手段<sup>[1]</sup>。然而小麦抗病育种面临着条锈菌变异速度快、强毒性生理小种流行范围不断扩大、可利用抗性基因有限等问题<sup>[2-3]</sup>。大量研究表明,从小麦近缘属种中挖掘抗条锈病优良基因,拓展抗病亲本的遗传基础,是改良小麦条锈病抗性的有效途径<sup>[4-5]</sup>。

一粒系小麦(Einkorn wheat, AA)是小麦的野生近缘物种,是普通六倍体小麦(*Triticum aestivum* L., AABBDD)A基因组的原始供体之一。董玉琛等<sup>[6]</sup>根据一粒系小麦的形态特征将其分为乌拉尔图小麦(*Triticum urartu*)、野生一粒小麦(*Triticum boeoticum*)和栽培一粒小麦(*Triticum monococcum*)共3个种。Дорофеев等<sup>[7]</sup>分类系统认为乌拉尔图小麦和野生一粒小麦携带的A染色体组互不相同,前者为A<sup>a</sup>,与抗病性较差、蛋白质含量较低相联系;后者为A<sup>b</sup>,与抗病较强、蛋白质含量较高相联系。一粒系小麦作为重要基础物种,不仅具有高含量的蛋白质、赖氨酸和类胡萝卜素,而且还具有抗寒、抗旱、抗病等优良性状<sup>[8]</sup>,是小麦的优良种质资源库、宝贵的基因库。目前,国内外学者已成功把部分一粒系小麦的优良基因转移到普通小麦中,包括抗白粉病基因*Pm25*<sup>[9]</sup>,抗叶锈病基因*Sr22*<sup>[10]</sup>和抗条锈病基因*Yr34/48*<sup>[11]</sup>等。

当前,小麦育种中大量使用相同或相近的亲本,导致新育成品种遗传基础日益狭窄、遗传变异率低<sup>[12]</sup>。因此要进一步提高育种潜力,就必须丰富育种材料的多样性。本研究采用SSR分子标记对170份一粒系小麦材料进行了遗传多样性分析,并利用条锈菌流行小种CYR34进行苗期抗病性鉴定,以期为一粒系小麦应用于抗病育种提供理论依据和抗病性种质资源。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料为170份一粒系小麦种质资源,包括

143份乌拉尔图小麦和27份野生一粒小麦,感病对照小麦品种铭贤169以及条锈菌生理小种CYR34的整套鉴别寄主。苗期鉴定菌系为小麦条锈菌生理小种CYR34。以上材料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。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 菌种的活化、繁殖和鉴定** 取出液氮中保存条锈菌菌种的玻璃管,经42℃水浴活化5 min,放在垫有湿润滤纸的培养皿中,置于4℃冰箱中黑暗保湿12 h左右;然后利用电子氟化液(Novec™ 7200,北京广达恒益科技有限公司)悬浮CYR34条锈菌夏孢子液(2 mg孢子+1 mL Novec™ 7200电子氟化液),采用喷笔均匀接种铭贤169(提前7 d种植),放置10℃黑暗条件下保湿培养24 h,然后转入温室内(光周期昼/夜:12 h/12 h,温度昼/夜:17~20℃/11~14℃)潜育发病,15~18 d孢子成熟后收集条锈菌夏孢子,用上述方法将夏孢子接种整套小麦条锈菌鉴别寄主进行鉴定<sup>[13]</sup>。将鉴定准确的生理小种CYR34接种到小麦叶片上扩繁,用于一粒系小麦苗期抗病性鉴定。

**1.2.2 供试材料苗期抗条锈病鉴定** 每份供试材料挑选出饱满籽粒10粒左右,用清水浸种1 d,覆盖纱布催芽露白后,按照材料编号将测试的一粒系小麦材料播种到长宽高25 cm×30 cm×10 cm的花盆中并置于人工气候室(光周期昼/夜:12 h/12 h,温度昼/夜:17~20℃/13~16℃)中培养,待麦苗第一片叶完全展开、第二片叶初生时,采用喷雾法接种扩繁的CYR34条锈菌夏孢子悬浮液(2 mg孢子+1 mL Novec™ 7200电子氟化液),10℃左右黑暗保湿1 d后将材料取出放在人工气候室潜育发病。待充分发病后参照农业行业标准(NY/T 2953—2016)《小麦区域试验品种抗条锈病鉴定技术规程》的0~4级标准调查侵染型并进行抗性评价(表1)<sup>[14]</sup>。

**1.2.3 DNA的提取** 播种在温室内的170份供试一粒系小麦材料,待其长到两叶一心期剪取幼叶2 g左右,用改良CTAB法<sup>[15]</sup>分别提取所有供试材料的DNA,将DNA浓度稀释至50 ng/μL后置于-20℃下备用。

表1 小麦条锈病苗期侵染型级别、症状描述和抗性评价标准

Table 1 Infection type level, symptom description and resistance evaluation criteria of wheat stripe rust at seedling stage

侵染型 Infection type	症状描述 Symptoms described	抗性评价 Resistance evaluation
0	叶片上无任何病症	免疫
0;	叶上产生小型枯死斑,不产生夏孢子堆	近免疫
1	叶上产生枯死条点或条斑,夏孢子堆很小,数目很少	高抗
2	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	中抗
3	夏孢子堆较大、较多,其周围叶组织有褪绿现象,夏孢子堆大而多,周围不褪绿	中感
4	夏孢子堆大而多,周围不褪绿	高感

**1.2.4 SSR分析** 在小麦A组染色体上随机选择99对SSR引物(来源: GrainGenes 2.0, <http://www.wheat.pw.usda.gov>),筛选获得条带清晰、多态性好的15对SSR引物(表2)用于供试材料遗传多样性分析。PCR体系为DNA 1.5  $\mu$ L, 2  $\times$  Taq Master Mix for PAGE (南京诺唯赞生物科技股份有限公司) 4.5  $\mu$ L, 正反向

引物(10  $\mu$ mol/L)各1  $\mu$ L, H<sub>2</sub>O 3  $\mu$ L。反应程序为95  $^{\circ}$ C预变性3 min; 95  $^{\circ}$ C变性15 s, 55  $^{\circ}$ C(根据T<sub>m</sub>值进行调整)退火15 s, 72  $^{\circ}$ C延伸40 s, 循环3次; 72  $^{\circ}$ C终延伸5 min。PCR产物加上样缓冲液4.5  $\mu$ L, 置于95  $^{\circ}$ C下变性5 min, 使用6%的聚丙烯酰胺凝胶电泳分离SSR条带, 电压恒压1000 V, 电泳50 min后银染显色。

表2 SSR引物信息

Table 2 The information of SSR primers

引物名称 Primer name	正向引物(5'-3') Forward primer(5'-3')	反向引物(5'-3') Reverse primer(5'-3')	位置 Position
Xwmc522	AAAAATCTCACGAGTCGGGC	CCCAGCAGGAGCTACAAAT	2A
Xwmc382	CATGAATGGAGGCACTGAAACA	CCTCCGGTCGACGCAAC	2A
Xgwm356	AGCGTTCTTGGGAATTAGAGA	CCAATCAGCCTGCAACAAC	6A
Xwmc333	TCAAGCATAGGTGGCTTCGG	ACAGCAGCCTTCAAGCGTTC	1A
Xgpw2032	CCTGGAAGAATAGACGTGCC	CAAGATGGGGCAGAAGATGT	1A
Xgpw2246	GCTTACCCGAGTGTCAAAT	AGCACCTCTCAACACCCATC	1A
Xcfd65	AGACGATGAGAAGGAAGCCA	CCTCCCTGTTTTTGGGATT	1A
Xbarc222	AAATCCGGCATCTGCTGTATCCATA	GTCCGGCCGCTGAATACTGTT	7A
Xgpw4453	CTCTGTATCCCCATCCACTCA	CAACGGCACCATCTACTGC	1A
Xcfd58	AATGGGCCTTTAAGAGCAAAA	AGGGGTGAAAGGTTGGAGAC	1A
Xwmc179.1	CATGGTGGCCATGAGTGGAGGT	CATGATCTTGCGTGTGCGTAGG	2A
Xgwm311	TCACGTGGAAGACGCTCC	CTACGTGCACCACCATTTTG	2A
Xgpw297	TCCAACCTCTGTTTGAACACTACT	CTTTGTCACCCATGACCTGC	3A
Xwmc63	GTGCTCTGAAACCTTCTACGA	CAGTAGTTTAGCCTTGGTGTGA	2A
Xgwm558	GGGATTGCATATGAGACAACG	TGCCATGGTTGTAGTAGCCA	2A

**1.2.5 数据分析** 读取条带信息,同一SSR引物的每1条多态性条带为1个等位基因变异,根据每个SSR标记检测的结果,将多态性信息分别以0、1记载<sup>[16]</sup>,1表示有该多态性条带,0表示没有该多态性条带,利用DataFormater<sup>[17]</sup>将读取到的0和1型数据格式转化为bp型数据格式备用。使用Popgene 32<sup>[18]</sup>计算等位基因数、有效等位基因数、Shannon's

多样性指数、Nei's多样性指数。使用PowerMarker V3.25<sup>[19]</sup>计算引物的多态性信息含量。使用STRUCTURE 2.3.2<sup>[20]</sup>软件对一粒系小麦群体结构进行评估。使用TASSEL 5<sup>[21]</sup>软件的广义线性模型(GLM, generalized linear model)进行抗病性状和标记之间的关联分析。使用NTSYS 2.10e计算遗传距离矩阵后利用MEGA 11进行非加权组平均法

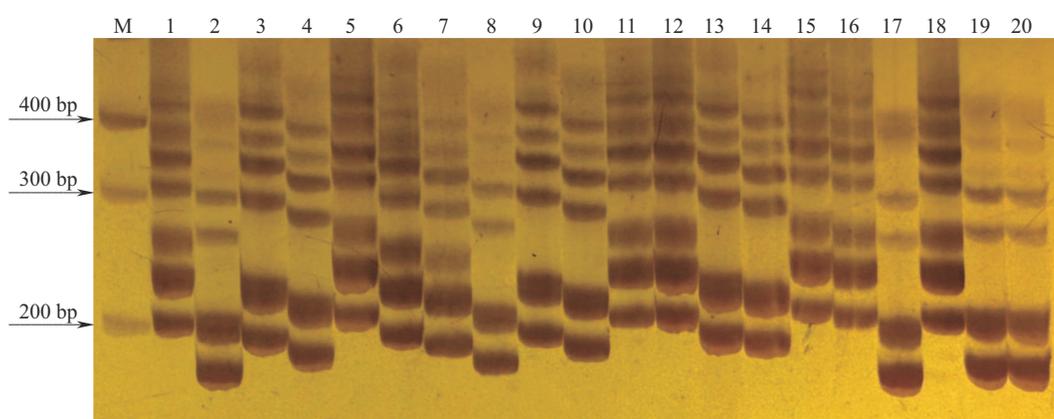
(UPGMA, unweighted pair-group method with arithmetic) 聚类分析, 最后使用在线工具 iTOL<sup>[22]</sup> (<https://itol.embl.de/>) 对聚类树进行修饰。

## 2 结果与分析

### 2.1 供试材料遗传多样性分析

**2.1.1 SSR 标记多态性分析** 在小麦 A 染色体组上随机挑选的 99 对 SSR 标记中, 共筛选出条带清晰、多态性好的 15 对 SSR 引物, 占所选引物的 15%。在 A 染色体组的 7 条染色体(染色体 1A~7A)上分别有 6、6、1、0、0、1、1 对引物。利用这 15 对标记对供试的

170 份一粒系小麦材料进行遗传多样性分析, 共检测到 71 个等位变异, 每个位点上有 2~10 个变异, 平均每个位点上的变异为 4.7 个。多态性最高的位点为 Xcfd65, 有 10 个等位基因变异, 其次为 Xbarc222, 有 8 个等位基因变异(图 1), 标记 Xgpw4453 和 Xgpw2032 多态性最低, 均有 2 个等位基因变异。15 对引物的平均 Shannon's 多样性指数和 Nei's 基因多样性指数分别为 1.1694 和 0.6106。15 对引物多态性信息含量的变幅为 0.3292~0.8419, 平均多态性信息含量为 0.6540(表 3)。结果表明, 这 15 对引物具有高度多态性。



M: 100bp Ladder Marker; 1-20: PI 272519, PI 428202, PI 538740, PI 428221, PI 352504, PI 662227, PI 401408, PI 428261, PI 428320, PI 4-28327, PI 401412, PI 427999, PI 428330, PI 538727, PI 427760, PI 427990, PI 538726, PI 352501, PI 538730, PI 538733; The same as below

图 1 引物 Xbarc222 对部分一粒系小麦的聚丙烯酰胺凝胶电泳检测

Fig. 1 Polyacrylamide gel electrophoresis patterns of partial Einkorn wheat detected by primer Xbarc222

表 3 15 对 SSR 引物在 170 份材料中的遗传多样性参数

Table 3 Genetic diversity of 15 SSR markers in 170 Einkorn wheat germplasm resources

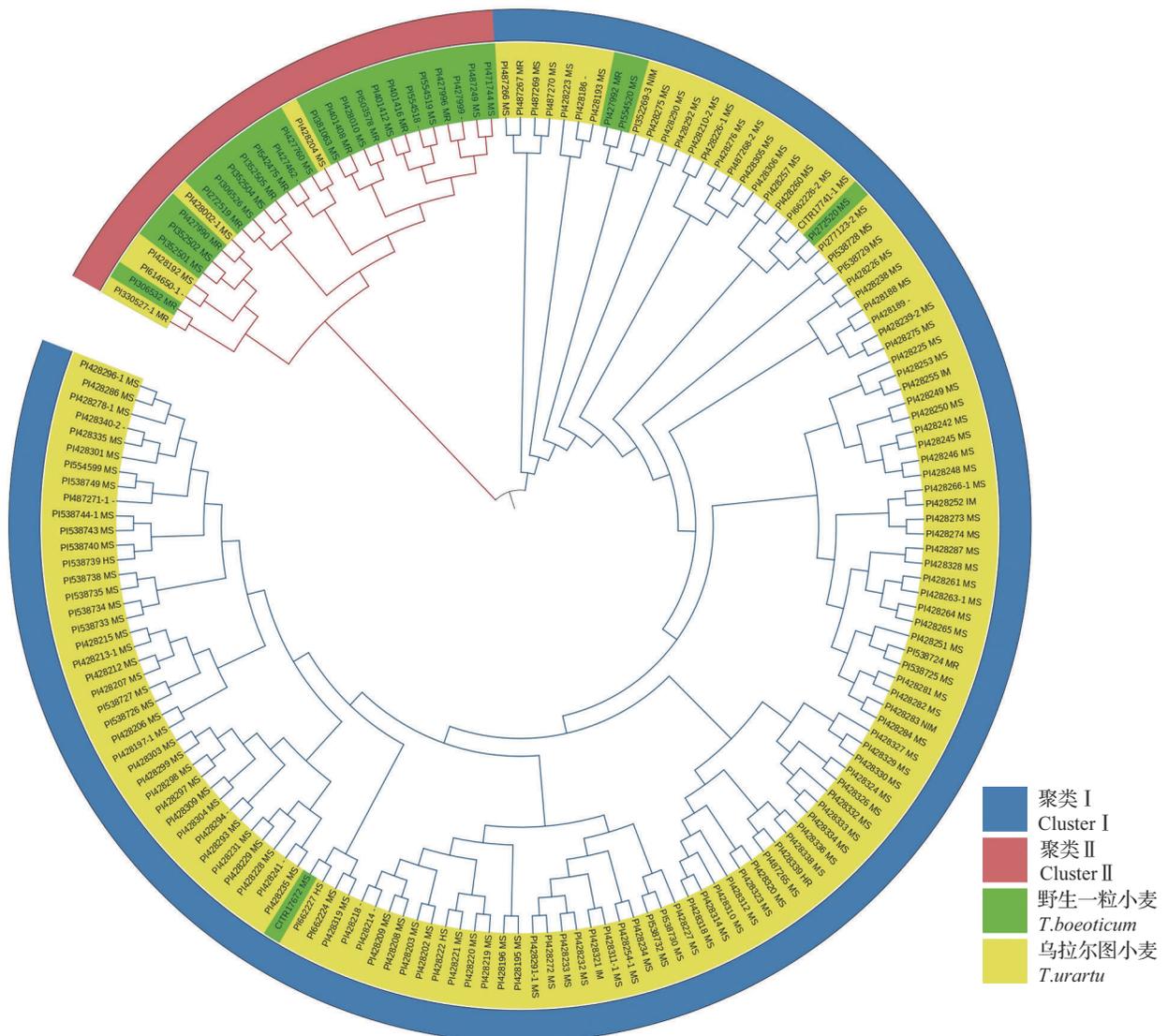
引物名称 Primer name	等位基因数 Na	有效等位基因数 Ne	Shannon's 多样性指数 I	Nei's 多样性指数 H	多态性信息含量 PIC
Xcfd65	10	3.4752	1.5825	0.7122	0.7331
Xgpw4453	2	1.5793	0.5533	0.3668	0.4313
Xcfd58	4	2.8285	1.2048	0.6465	0.6917
Xwmc179.1	4	3.1445	1.2419	0.6820	0.7149
Xgwm311	4	3.3453	1.2824	0.7011	0.7019
Xgpw297	5	4.9200	1.6011	0.7967	0.8061
Xwmc63	4	3.8888	1.3719	0.7429	0.7507
Xgwm558	5	2.1111	1.0379	0.5263	0.5934
Xwmc356	4	2.9521	1.1968	0.6613	0.6959
Xbarc222	8	6.8303	1.9903	0.8536	0.8419
Xgpw2246	4	1.1428	0.3056	0.1249	0.3292
Xwmc333	4	3.9558	1.3807	0.7472	0.7543
Xwmc522	6	3.0503	1.3075	0.6722	0.7073
Xgpw2032	2	1.9042	0.6678	0.4748	0.4853
Xwmc382	5	1.8185	0.8160	0.4501	0.5729
平均值 Mean	4.7333	3.1298	1.1694	0.6106	0.6540

PIC: Polymorphism information content

**2.1.2 遗传距离分析** 通过遗传距离的分析可以判断物种间的遗传差异,利用15对SSR引物得到的遗传信息将供试材料处理成遗传距离矩阵,经统计,170份一粒系小麦的遗传距离范围在0~0.9199之间,其中,PI 427992与PI 352504、PI 427462的遗传距离均大于0.9,全部种质的平均遗传距离为0.5223。在遗传距离矩阵的14365对组合中,有7662对的遗传距离大于0.5,占53.34%。为探究不同一粒系小麦种类内部的遗传关系,本研究分别统计了乌拉尔图小麦和野生一粒小麦组内的遗传距离,乌拉尔图小麦间遗传距离范围在0~0.8607,平均遗传距离为0.4732;野生一粒小麦之间遗传距离范围在0~0.9199,平均遗传距离

为0.5404,高于乌拉尔图小麦。这些结果表明,一粒系小麦材料中存在较多的等位基因变异,且野生一粒小麦较乌拉尔图小麦的遗传变异更为丰富。

**2.1.3 聚类分析** 通过聚类分析可以明确物种间的亲缘关系,对170份一粒系小麦的遗传距离矩阵进行非加权组平均法分析得到聚类图(图2),以遗传距离0.67为界限,将170份一粒系小麦分为两大类。在聚类I的142份种质中有138份乌拉尔图小麦(聚类I的97.18%),4份野生一粒小麦(CITR 17672、PI 554520、PI 427992、PI 272520)。聚类II的28份种质中有23份野生一粒小麦(聚类II的82.14%),5份乌拉尔图小麦(PI 330527-1、PI 428192、PI 614650-1、



PIxxxxxx为材料名称;I:免疫;NIM:近免疫;HR:高抗;MR:中抗;MS:中感;HS:高感;-:Unknown;下同  
 PIxxxxxx is the material name;I: Immunity; NIM: Nearly immunity; HR: Highly resistant; MR: Moderately resistant; MS: Moderately susceptible; HS: Highly susceptible; -:Unknown; The same as below

图2 170份一粒系小麦聚类分析  
 Fig. 2 The clustering analysis of 170 einkorn wheat

PI 428002-1、PI 428204)。说明利用 15 对 SSR 引物可以较好地反映乌拉尔图小麦和野生一粒小麦在 A 染色体组的遗传差异。

2.2 一粒系小麦群体结构分析

利用 STRUCTURE 2.3.1 软件对 170 份一粒系小麦的群体结构进行分析,结果表明在 K=2 时平均对数似然概率 Delta K 值出现最大值(图 3),由此推测该群体材料含 2 个类群。当某一材料在群体中的 Q≥0.6 时,认为该材料血缘比较单一<sup>[23]</sup>,利用 Q 值明确不同类群,由表 4 和图 4 可知,类群 1 中 97% 为乌拉尔图小麦,3% 为野生一粒小麦(PI 427992, PI 272520, PI 428010, CTR 17672);类群 2 中 70% 为野生一粒小麦,30% 为乌拉尔图小麦(PI 487265, PI 428276, PI 428275, PI 538725, PI 614650-1, PI 352269-3, PI 428192, PI 330527-1, PI 428002-1);

另外有 9 份材料 Q < 0.6, 占总材料数目的 5%, 无法归类。

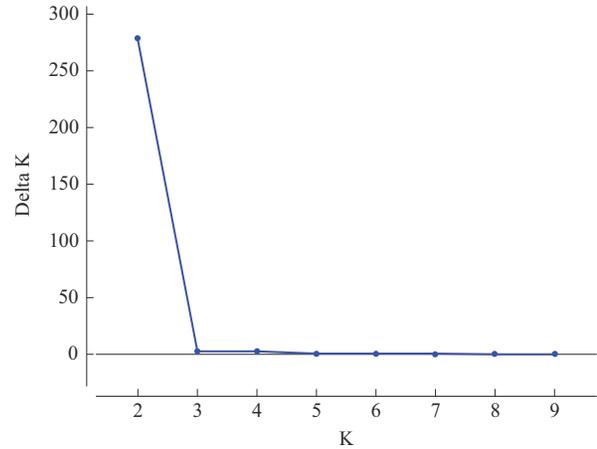
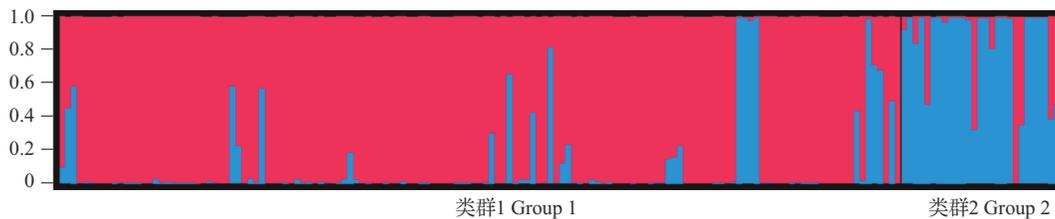


图 3 Delta K 值随 K 值变化折线图  
Fig. 3 Line chart of K with Delta K

表 4 161 份一粒系小麦材料(Q 值≥0.6)在各类群中的分布(K=2)

Table 4 Distribution of 161 einkorn wheat materials accessions (Q-value≥0.6) based on structure analysis (K=2)

群体 Population	类群 1(红色) Group 1 (Red)	类群 2(蓝色) Group 2 (Blue)
乌拉尔图小麦 <i>Triticum urartu</i>	127	9
野生一粒小麦 <i>Triticum boeoticum</i>	4	21



横坐标为两类群分组情况,纵坐标为 Q 值(0~1.0),两类群间用黑线分隔;红色为类群 1;蓝色为类群 2  
The abscissa is the grouping of two groups, the ordinate is Q value (0-1.0), and the two groups are separated by black lines; Red is group 1; Blue is group 2

图 4 170 份供试材料群体结构图  
Fig. 4 Population structure of 170 materials

2.3 一粒系小麦材料抗条锈菌生理小种 CYR34 鉴定

利用小麦条锈菌生理小种 CYR34 对 170 份一粒系小麦材料进行苗期抗性鉴定(表 5、图 5),统计结果显示,143 份乌拉尔图小麦中,抗病材料 9 份,包括免疫材料 3 份,近免疫材料 2 份,高抗 1 份,中抗 3

份,占乌拉尔图小麦的 6.29%;27 份野生一粒小麦中,抗病材料 10 份,全为中抗,占野生一粒小麦的 37.03%;总计共有 19 份抗病材料,占总材料的 11.17%,其中对条锈菌生理小种 CYR34 表现为免疫的材料有 3 份,近免疫材料 2 份,高抗 1 份,中抗 13 份。

表 5 部分一粒系小麦材料抗病性鉴定及聚类结果

Table 5 The resistance identification and clustering results of some einkorn wheat materials

序号 No.	编号 Code	品种 Variety	侵染型 Infection type	抗性水平 Resistance level	序号 No.	编号 Code	品种 Variety	侵染型 Infection type	抗性水平 Resistance level
1	PI 352269-3	乌拉尔图小麦	0;	NIM	4	PI 428193	乌拉尔图小麦	3	MS
2	PI 428223	乌拉尔图小麦	3 <sup>+</sup>	MS	5	PI 428195	乌拉尔图小麦	3 <sup>+</sup>	MS
3	PI 428186	乌拉尔图小麦	3	MS	6	PI 428221	乌拉尔图小麦	3 <sup>+</sup>	MS

表5 (续)

序号 No.	编号 Code	品种 Variety	侵染型 Infection type	抗性水平 Resistance level	序号 No.	编号 Code	品种 Variety	侵染型 Infection type	抗性水平 Resistance level
7	PI 428222	乌拉尔图小麦	4	HS	50	PI 538735	乌拉尔图小麦	3 <sup>+</sup>	MS
8	PI 428225	乌拉尔图小麦	3	MS	51	PI 538738	乌拉尔图小麦	3 <sup>+</sup>	MS
9	PI 428227	乌拉尔图小麦	3 <sup>-</sup>	MS	52	PI 538739	乌拉尔图小麦	4	HS
10	PI 428228	乌拉尔图小麦	3 <sup>-</sup>	MS	53	PI 277123-2	乌拉尔图小麦	3 <sup>-</sup>	MS
11	PI 428229	乌拉尔图小麦	3 <sup>+</sup>	MS	54	PI 538740	乌拉尔图小麦	3 <sup>+</sup>	MS
12	PI 428231	乌拉尔图小麦	3	MS	55	PI 538743	乌拉尔图小麦	3 <sup>+</sup>	MS
13	PI 428255	乌拉尔图小麦	0	NIM	56	PI 538744-1	乌拉尔图小麦	3 <sup>+</sup>	MS
14	PI 428257	乌拉尔图小麦	3 <sup>+</sup>	MS	57	PI 538749	乌拉尔图小麦	3 <sup>+</sup>	MS
15	PI 428260	乌拉尔图小麦	3 <sup>+</sup>	MS	58	PI 554599	乌拉尔图小麦	3 <sup>+</sup>	MS
16	PI 428261	乌拉尔图小麦	3	MS	59	PI 428210-2	乌拉尔图小麦	3 <sup>+</sup>	MS
17	PI 428263-1	乌拉尔图小麦	3 <sup>+</sup>	MS	60	PI 428226-1	乌拉尔图小麦	3	MS
18	PI 428264	乌拉尔图小麦	3	MS	61	PI 428234	乌拉尔图小麦	3 <sup>+</sup>	MS
19	PI 428265	乌拉尔图小麦	3 <sup>+</sup>	MS	62	PI 428254-1	乌拉尔图小麦	3 <sup>+</sup>	MS
20	PI 428266-1	乌拉尔图小麦	3 <sup>-</sup>	MS	63	PI 428272	乌拉尔图小麦	3 <sup>+</sup>	MS
21	PI 428252	乌拉尔图小麦	0	IM	64	PI 428291-1	乌拉尔图小麦	3 <sup>+</sup>	MS
22	PI 428273	乌拉尔图小麦	3 <sup>+</sup>	MS	65	PI 428311-1	乌拉尔图小麦	3 <sup>+</sup>	MS
23	PI 428274	乌拉尔图小麦	3 <sup>+</sup>	MS	66	PI 428321	乌拉尔图小麦	0	IM
24	PI 428281	乌拉尔图小麦	3	MS	67	PI 662226-2	乌拉尔图小麦	3 <sup>+</sup>	MS
25	PI 428282	乌拉尔图小麦	3 <sup>-</sup>	MS	68	CITR 17741-1	乌拉尔图小麦	3	MS
26	PI 428283	乌拉尔图小麦	0;	NIM	69	PI 428319	乌拉尔图小麦	3 <sup>+</sup>	MS
27	PI 428284	乌拉尔图小麦	3	MS	70	PI 662224	乌拉尔图小麦	3 <sup>+</sup>	MS
28	PI 428287	乌拉尔图小麦	3	MS	71	PI 428278-1	乌拉尔图小麦	3 <sup>+</sup>	MS
29	PI 428328	乌拉尔图小麦	3 <sup>-</sup>	MS	72	PI 662227	乌拉尔图小麦	4	HS
30	PI 428333	乌拉尔图小麦	3	MS	73	PI 428002-1	乌拉尔图小麦	3	MS
31	PI 428334	乌拉尔图小麦	3	MS	74	PI 428204	乌拉尔图小麦	3 <sup>+</sup>	MS
32	PI 428336	乌拉尔图小麦	3 <sup>+</sup>	MS	75	PI 330527-1	乌拉尔图小麦	2 <sup>+</sup>	MR
33	PI 428338	乌拉尔图小麦	3 <sup>+</sup>	MS	76	PI 272519	野生一粒小麦	2 <sup>-</sup>	MR
34	PI 428339	乌拉尔图小麦	1	HR	77	PI 401408	野生一粒小麦	3	MR
35	PI 487265	乌拉尔图小麦	3	MS	78	PI 427996	野生一粒小麦	3	MR
36	PI 487266	乌拉尔图小麦	3	MS	79	PI 487249	野生一粒小麦	2 <sup>+</sup>	MS
37	PI 487267	乌拉尔图小麦	2 <sup>-</sup>	MR	80	PI 471744	野生一粒小麦	3	MS
38	PI 487269	乌拉尔图小麦	3	MS	81	PI 428010	野生一粒小麦	3	MS
39	PI 487270	乌拉尔图小麦	3	MS	82	PI 503578	野生一粒小麦	2 <sup>-</sup>	MR
40	PI 538724	乌拉尔图小麦	2	MR	83	PI 554519	野生一粒小麦	2 <sup>+</sup>	MS
41	PI 538725	乌拉尔图小麦	3 <sup>-</sup>	MS	84	PI 542475	野生一粒小麦	3 <sup>+</sup>	MR
42	PI 538726	乌拉尔图小麦	3	MS	85	PI 427760	野生一粒小麦	3 <sup>+</sup>	MS
43	PI 538727	乌拉尔图小麦	3 <sup>+</sup>	MS	86	PI 272520	野生一粒小麦	2 <sup>+</sup>	MS
44	PI 538728	乌拉尔图小麦	3 <sup>+</sup>	MS	87	PI 306532	野生一粒小麦	2 <sup>+</sup>	MR
45	PI 538729	乌拉尔图小麦	3 <sup>+</sup>	MS	88	PI 352501	野生一粒小麦	2	MS
46	PI 538730	乌拉尔图小麦	3 <sup>+</sup>	MS	89	PI 352502	野生一粒小麦	2 <sup>-</sup>	MS
47	PI 538732	乌拉尔图小麦	3	MS	90	PI 427990	野生一粒小麦	3	MR
48	PI 538733	乌拉尔图小麦	3 <sup>+</sup>	MS	91	PI 427992	野生一粒小麦	3	MR
49	PI 538734	乌拉尔图小麦	3 <sup>+</sup>	MS	92	PI 554520	野生一粒小麦	3	MS

侵染型可在原有级别基础上附加“+”或“-”号,以表示偏重或偏轻

Infection type can be added “+” or “-” on the normal type to indicate heavier or lighter

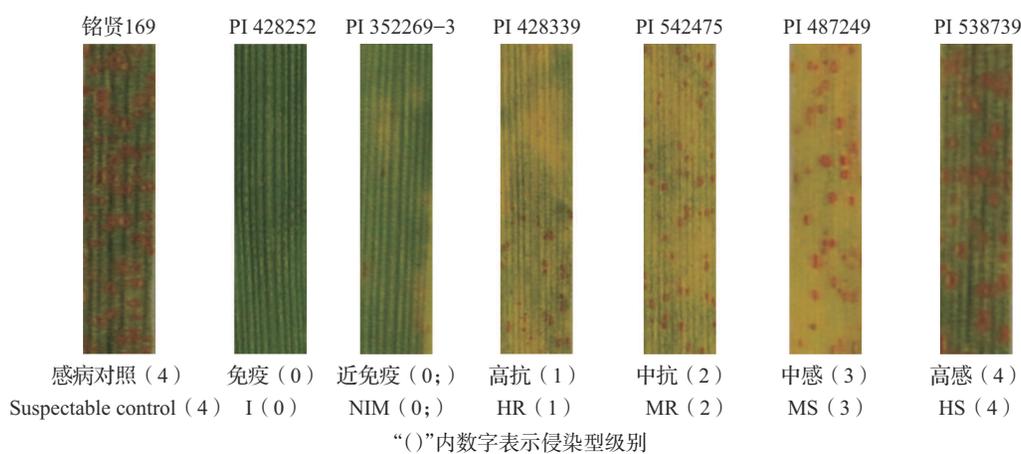


图5 CYR34对一粒系小麦的不同侵染型

Fig. 5 Different infection types of CYR34 on einkorn wheat

#### 2.4 SSR位点与抗条锈病性状的关联分析

利用K=2时群体材料的Q矩阵做协变量,通过TASSEL 5软件的GLM模型进行SSR位点与抗病表型之间的关联分析。结果表明共有3个SSR标记与抗病性状显著关联,各标记解释变异范围为2.1%~9.3%(表6)。其中,多态性最高的Xcfd65位点与抗病性状之间的关联性极显著,且该标记对抗病表型解释率高达9.3%,电泳结果见图6。

表6 抗条锈病显著相关SSR位点及其表型变异的解释率

Table 6 The SSR loci associated with resistance to stripe rust and their phenotypic variation explanation rate

引物名称 Primer name	P值 P-value	解释率(%) Explanation rate
Xcfd65	0.0001**	9.3
Xwmc2032	0.0043**	4.0
Xwmc356	0.0414*	2.1

\*\*表示极显著差异( $P<0.01$ );\*表示显著差异( $P<0.05$ )

\*\*indicated extremely significant difference ( $P<0.01$ ); \*indicated significant difference ( $P<0.05$ )

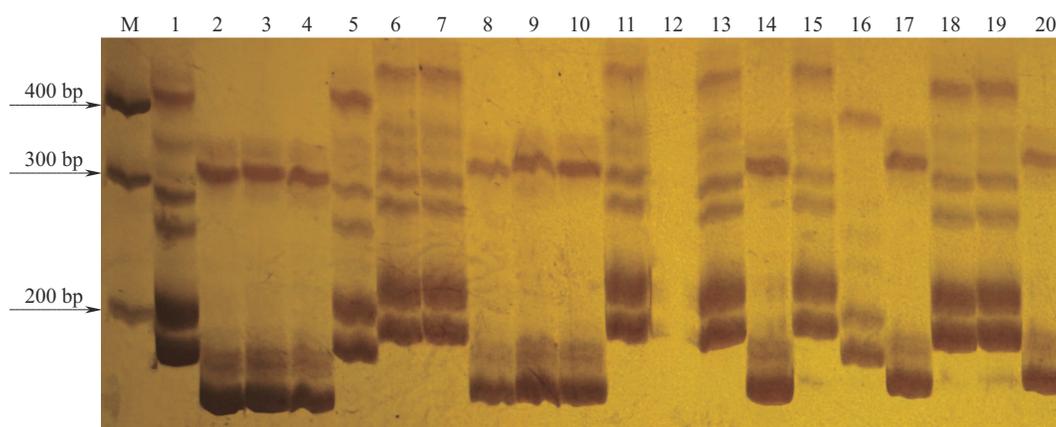


图6 引物Xcfd65对部分一粒系小麦的聚丙烯酰胺凝胶电泳检测

Fig. 6 Polyacrylamide gel electrophoresis patterns of partial einkorn wheat detected by primer Xcfd65

### 3 讨论

优异的种质资源是开展育种工作的基础。明晰种质资源间的遗传多样性和群体结构是提高利用效率、加快育种进程的前提<sup>[24]</sup>。SSR分子标记技

术已成熟运用于种质的遗传多样性分析和群体结构分析。本研究在99对小麦SSR引物中筛选到15对重复性好且条带清晰的SSR引物,其中,4A染色体上未发现多态性引物,Devos等<sup>[25]</sup>研究表明小麦4A和4B染色体间曾发生过相互易位,这可能是导

致未筛选到多态性引物的原因。

施永泰等<sup>[26]</sup>研究发现当引物多态性位点数量>70个时,得到的遗传信息较为可靠。本研究利用15对引物对170份一粒系小麦进行分类,共检测到71个多态性位点。聚类分析和群体结构分析结果基本一致,有129份材料同时被这两种分析方法归类到以乌拉尔图小麦为主的类群中,重复率高达94%,有25份材料被同时归类到以野生一粒小麦为主的类群中,重复率高达86%。总体来讲,两者的遗传关系差异明显,这一结果与Fricano等<sup>[27]</sup>根据一粒系小麦之间是否具有生殖隔离,将乌拉尔图小麦和野生一粒小麦分开相吻合。董宏图等<sup>[28]</sup>利用69对SSR引物分析34份一粒系小麦材料也得到了类似结果。以上数据说明本研究选取的SSR标记能较好地反映一粒系小麦种质资源的群体结构和遗传多样性水平。

小麦的抗病育种工作要考虑多方面问题,对亲本抗源的要求极高,而在育种中发挥重要作用的抗源极少,大都是几个优良骨干品种来回使用,导致小麦种质同质化严重<sup>[29]</sup>。曹廷杰等<sup>[30]</sup>对河南省审定的96个小麦品种进行SNP差异位点分析,发现两两间遗传相似系数平均值为0.7199,整体亲缘关系较近。王明玉等<sup>[12]</sup>将31个各省小麦育成品系进行比较,发现几个品种两两间遗传相似系数在地区间无明显差异,说明我国育成小麦品种遗传多样性不够丰富。遗传距离的大小一定程度上可以反映物种间的亲缘关系。本研究中的170份一粒系小麦材料的遗传距离变异范围在0~0.9199,平均遗传距离为0.5223,比梅铭凤等<sup>[31]</sup>利用34份一粒系小麦得出的平均遗传距离0.5850略低,但均大于0.5。单独分析乌拉尔图小麦和野生一粒小麦组间的遗传距离,发现后者的平均遗传距离更高,与Ciaffi等<sup>[32]</sup>利用同工酶电泳分析结果一致,这意味着野生一粒小麦中可能含有更多的遗传变异。综合来讲,一粒系小麦等位基因变异丰富,可作为小麦遗传改良的种质资源。

当前我国小麦育成品种中携带的抗条锈病基因有限,仅Yr5、Yr15和Yr45对条锈生理小种CYR34具有苗期抗性<sup>[33]</sup>。从一粒系小麦中挖掘新的抗病基因,可以有效丰富小麦抗病基因资源库。本研究评价170份一粒系小麦对CYR34的抗性水平,143份乌拉尔图小麦抗性材料的比例为6.29%,27份野生一粒小麦抗性材料的比例为37.03%,野生一粒小麦较乌拉尔图小麦抗性材料比例更高,这与

Chhuneja等<sup>[34]</sup>的发现一致。总体来讲,抗病材料占全部一粒系小麦的11.17%,整体苗期抗性水平偏低。分析SSR位点与一粒系小麦抗条锈病之间的关系,将群体结构分析所获得的Q值作为协变量带入关联分析中来提高关联分析的可靠性<sup>[35]</sup>,发现有3对引物(Xcfd65、Xwmc356、Xgpw2032)与一粒系小麦的抗条锈病之间存在显著的关联性。6A染色体(Xgwm356)上携带Yr38、Yr42、Yr81等抗病基因<sup>[36-38]</sup>;Xcfd65和Xgpw2032位于小麦的1A染色体上,而在1A染色体上未报道有正式命名的抗条锈病基因。一粒系小麦群体携带新的未被挖掘的抗条锈病基因,以上3个分子标记可为后续一粒系小麦抗条锈病的分子标记辅助选择提供参考信息。

目前,小麦育种家通过远缘杂交已成功将小麦近缘属的多个基因导入到普通小麦中,如黑麦IRS、华山新麦草2Ns等染色体上携带的优异基因<sup>[39-40]</sup>。一粒系小麦作为普通小麦的祖先,是较易利用的小麦二级基因源<sup>[41]</sup>,有许多优良的基因在漫长进化中丢失,如何让一粒系小麦在普通栽培小麦的遗传改良中发挥作用是今后研究的重要方向。

#### 参考文献

- [1] 陈万权,康振生,马占鸿,徐世昌,金社林,姜玉英.中国小麦条锈病综合治理理论与实践.中国农业科学,2013,46(20):4254-4262  
Chen W Q, Kang Z S, Ma Z H, Xu S C, Jin S L, Jiang Y Y. Integrated management of wheat stripe rust caused by *Puccinia striiformis* f. sp. tritici in China. *Scientia Agricultura Sinica*, 2013, 46(20): 4254-4262
- [2] 康振生,王晓杰,赵杰,汤春蕾,黄丽丽.小麦条锈菌致病性及其变异研究进展.中国农业科学,2015,48(17):3439-3453  
Kang Z S, Wang X J, Zhao J, Tang C L, Huang L L. Advances in research of pathogenicity and virulence variation of the wheat stripe rust fungus *Puccinia striiformis* f. sp. tritici. *Scientia Agricultura Sinica*, 2015, 48(17): 3439-3453
- [3] 韩德俊,康振生.中国小麦品种抗条锈病现状及存在问题与对策.植物保护,2018,44(5):1-12  
Han D J, Kang Z S. Current status and future strategy in breeding wheat for resistance to stripe rust in China. *Plant Protection*, 2018, 44(5): 1-12
- [4] Xu L S, Wang M N, Cheng P, Hulbert S H, Chen X M. Molecular mapping of Yr53, a new gene for stripe rust resistance in durum wheat accession PI 480148 and its transfer to common wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 2013, 126: 523-533
- [5] Marais G F, Pretorius Z A, Wellings C R, McCallum B, Marais A S. Leaf rust and stripe rust resistance genes transferred to common wheat from *Triticum dicoccoides*.

- Euphytica, 2005, 143: 115-123
- [6] 董玉琛, 郑殿升. 中国小麦遗传资源. 北京: 中国农业出版社, 1998: 31-56  
Dong Y C, Zheng D S. Wheat genetic resources in China. Beijing: China Agriculture Press, 1998: 31-56
- [7] Дорофеев В Ф, Коровина О Н. Пшеница, Культурная Флора в СССР. Ленинград: колос, 1979: изд
- [8] Multani D S, Dhaliwal H S, Sharma S K, Gill K S. Inheritance of isoproturon tolerance in durum transferred from *Triticum monococcum*. Plant Breeding, 1989, 102: 166-168
- [9] Shi A N, Leath S, Murphy J P. A major gene for powdery mildew resistance transferred to common wheat from wild einkorn wheat. Phytopathology, 1998, 88(2): 144-147
- [10] Olson E L, Guedira G B, Marshall D, Stack E, Bowden R L, Jin Y, Rouse M, Pumphrey M O. Development of wheat lines having a small introgressed segment carrying stem rust resistance gene *Sr22*. Crop Science, 2010, 50(5): 1823-1830
- [11] Shi S C, Hegarty J, Shen T, Hua L, Li H N, Luo J, Li H Y, Bai S S, Zhang C Z, Dubcovsky J. Stripe rust resistance gene *Yr34* (synonym *Yr48*) is located within a distal translocation of *Triticum monococcum* chromosome 5A<sup>m</sup>L into common wheat. Theoretical and Applied Genetics, 2021, 134(7): 2197-2211
- [12] 王明玉, 冀凯燕, 冯晶, 蔺瑞明, 王凤涛, 徐世昌. 104 个小麦品种抗条锈性及遗传多样性分析. 植物保护学报, 2018, 45(1): 27-36  
Wang M Y, Ji K Y, Feng J, Lin R M, Wang F T, Xu S C. Identification of the resistance of 104 wheat varieties to stripe rust and analysis of their genetic diversity. Journal of Plant Protection, 2018, 45(1): 27-36
- [13] 刘博, 刘天国, 章振羽, 贾秋珍, 王保通, 高利, 彭云良, 金社林, 陈万权. 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, 2017, 47(5): 681-687  
Liu B, Liu T G, Zhang Z Y, Jia Q Z, Wang B T, Gao L, Peng Y L, Jin S L, Chen W Q. Discovery and pathogenicity of CYR34, a new race of *Puccinia striiformis* f. sp. tritici in China. Acta Phytopathologica Sinica, 2017, 47(5): 681-687.
- [14] 中华人民共和国农业部. NY/T 2953—2016 小麦区域试验品种抗条锈病鉴定技术规程. 北京: 中国农业出版社, 2016  
Agricultural Ministry of the People's Republic of China. NY/T 2953—2016 technical specification for identification of stripe rust resistance of wheat regional test varieties. Beijing: China Agriculture Press, 2016
- [15] Hill-ambroz K L, Brown-guedira G L, Fellers J P. Modified rapid DNA extraction protocol for high throughput microsatellite analysis in wheat. Crop Science, 2002, 42: 2088-2091
- [16] Lelley T, Stachel M, Grausgruber H, Vollmann J. Analysis of relationship between *Aegilops tauschii* and the D genome of wheat utilizing microsatellites. Genome, 2000, 43: 661-668
- [17] 樊文强, 盖红梅, 孙鑫, 杨爱国, 张忠锋, 任民. SSR 数据格式转换软件 DataFormater. 分子植物育种, 2016, 14: 265-270  
Fan W Q, Ge H M, Sun X, Yang A G, Zhang Z F, Ren M. DataFormater, a software for SSR data formatting to develop population genetics analysis. Molecular Plant Breeding, 2016, 14: 265-270
- [18] Yeh F C, Boyle T J B. Population genetic analysis of co-dominant and dominant marker and quantitative traits. Belgian Journal of Botany, 1997, 130: 129-157
- [19] Liu K J, Muse S V. PowerMarker: An integrated analysis environment for genetic marker analysis. Bioinformatics, 2005, 21: 2128-2129
- [20] Evanno G, Regnaut S, Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: A simulation study. Molecular Ecology, 2005, 14(8): 2611-2620
- [21] Bradbury P J, Zhang Z, Kroon D E, Casstevens T M, Ramdoss Y, Buckler E S. TASSEL: Software for association mapping of complex traits in diverse samples. Bioinformatics, 2007, 23(19): 2633-2635
- [22] Letunic I, Bork P. Interactive tree of life (iTOL) v3: An online tool for the display and annotation of phylogenetic and other trees. Nucleic Acids Research, 2016, 44: 242-245
- [23] Yang X H, Gao S B, Xu S T, Zhang Z X, Prasanna B M, Li L, Li J S, Yan J B. Characterization of a global germplasm collection and its potential utilization for analysis of complex quantitative traits in maize. Molecular Breeding, 2011, 28: 511-526
- [24] 刘玉玲, 张红岩, 滕长才, 周仙莉, 侯万伟. 蚕豆 SSR 标记遗传多样性及与淀粉含量的关联分析. 作物学报, 2022, 48: 2786-2805  
Liu Y L, Zhang H Y, Teng C C, Zhou X L, Hou W W. Genetic diversity and its association analysis of SSR markers with starch content in faba bean (*Vicia faba* L.). Acta Agronomica Sinica, 2022, 48: 2786-2805
- [25] Devos K M, Dubcovsky J, Dvořák J, Chinoy C N, Gale M D. Structural evolution of wheat chromosomes 4A, 5A, and 7B and its impact on recombination. Theoretical and Applied Genetics, 1995, 91: 282-288
- [26] 施永泰, 边红武, 韩凝, 潘建伟, 童微星, 朱睦元. 中国江、浙地区栽培大麦遗传资源的 RAPD 研究. 作物学报, 2004, 30: 258-265  
Shi Y T, Bian H W, Han N, Pan J W, Tong W X, Zhu M Y. Genetic variation analysis by RAPD of some barley cultivars in China. Acta Agronomica Sinica, 2004, 30: 258-265
- [27] Fricano A, Brandolini A, Rossini L, Sourdille P, Wunder J, Effgen S, Hidalgo A, Erba D, Piffanelli P, Salamini F. Crossability of *Triticum urartu* and *Triticum monococcum* wheats, homoeologous recombination, and description of a panel of interspecific introgression lines. G3-Genes Genomes Genetics, 2014, 4(10): 1931-1941
- [28] 董宏图, 刘婉辉, 彭福祥, 李映辉, 赵传志, 唐华山, 张晶, 耿妙苗, 解超杰, 孙其信. 一粒系小麦遗传多样性分析及抗病性鉴定. 植物遗传资源学报, 2014, 15(2): 377-382  
Dong H T, Liu W H, Peng F X, Li Y H, Zhao C Z, Tang H S, Zhang J, Geng M M, Xie C J, Sun Q X. Evaluation of the

- genetic diversity and disease resistance of einkorn wheats. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2014, 15(2): 377-382
- [29] 孙果忠. 我国小麦种业发展现状及未来建议. *农业科技通讯*, 2021, (7): 4-8  
Sun G Z. Development status and future suggestions of wheat seed industry in China. *Bulletin of Agricultural Science and Technology*, 2021, (7): 4-8
- [30] 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, 罗明成, 刘志勇. 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*, 2015, 41(2): 197-206  
Cao T J, Xie J Z, Wu Q H, Chen Y X, Wang Z Z, Zhao H, Wang X C, Zhan K H, Xu R Q, Wang J R, Luo M C, Liu Z Y. Genetic diversity of registered wheat varieties in Henan province based on pedigree and single-nucleotide polymorphism. *Acta Agronomica Sinica*, 2015, 41 (2) : 197-206
- [31] 梅铭凤, 姚国旗, 江玉梅, 马正强. 一粒小麦种质遗传多样性分析. *麦类作物学报*, 2005, (1): 20-25  
Mei M F, Yao G Q, Jiang Y M, Ma Z Q. Characterizing the genetic diversity of a group of einkorn wheat lines. *Journal of Triticeae Crops*, 2005, (1): 20-25
- [32] Ciaffi M, Dominici L, Lafiandr A D. Gliadin polymorphism in wild and cultivated einkorn wheats. *Theoretical and Applied Genetics*, 1997, 94: 68-74.
- [33] 胡朝月, 王凤涛, 郎晓威, 冯晶, 李俊凯, 蔺瑞明, 姚小波. 小麦抗条锈病基因对中国条锈菌主要流行小种的抗性分析. *中国农业科学*, 2022, 55(3): 491-502  
Hu C Y, Wang F T, Lang X W, Feng J, Li J K, Lin R M, Yao X B. Resistance analyses on wheat stripe rust resistance genes to the predominant races of *Puccinia striiformis* f. sp. tritici in China. *Scientia Agricultura Sinica*, 2022, 55 (3) : 491-502
- [34] Chhuneja P, Kaur S, Garg T, Ghai M, Kaur S, Prashar M, Bains N S, Goel R K, Keller B, Dhaliwal H S, Singh K. Mapping of adult plant stripe rust resistance genes in diploid A genome wheat species and their transfer to bread wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 2008, 116: 313-324
- [35] 文自翔, 赵团结, 郑永战, 刘顺湖, 王春娥, 王芳, 盖钧镒. 中国栽培和野生大豆农艺品质性状与 SSR 标记的关联分析: I. 群体结构及关联标记. *作物学报*, 2008, 34: 1169-1178  
Wen Z X, Zhao T J, Zheng Y Z, Liu S H, Wang C E, Wang F, Gai J Y. Association analysis of agronomic quality traits and SSR markers in chinese cultivated and wild soybeans: I. Population structure and associated markers. *Acta Agronomica Sinica*, 2008, 34: 1169-1178
- [36] Marais G F, McCallum B, Marais A S. Leaf rust and stripe rust resistance genes derived from *Aegilops Sharonensis*. *Euphytica*, 2006, 149: 373-380
- [37] Marais F, Marais A, Mccallum B, Pretorius Z. Transfer of leaf rust and stripe rust resistance genes *Lr62* and *Yr42* from *Aegilops neglecta* Req. ex Bertol. to common wheat. *Crop Science*, 2009, 49(3): 871-879
- [38] Mesfin G, Bariana H, Wong D, Hayden M, Bansal U. Molecular mapping of stripe rust resistance gene *Yr81* in a common wheat landrace Aus27430. *Plant Disease*, 2019, 103 (6): 1166-1171
- [39] Singh S P, Hurni S, Ruinelli M, Brunner S, Martin J S, Krukowski P, Peditto D, Buchmann G, Zbinden H, Keller B. Evolutionary divergence of the rye *Pm17* and *Pm8* resistance genes reveals ancient diversity. *Plant Molecular Biology*, 2018, 98(3): 249-260
- [40] Du W L, Zhao J X, Wang J, Wang L M, Wu J, Yang Q H, Liu S H, Chen X H. Cytogenetic and molecular marker-based characterization of a wheat-*Psathyrostachys huashanica* Keng 2Ns(2D) substitution line. *Plant Molecular Biology Reporter*, 2015, 33(3): 414-423
- [41] 董玉琛. 小麦的基因源. *麦类作物学报*, 2000, (3): 78-81  
Dong Y C. The gene source of wheat. *Journal of Triticeae Crops*, 2000, (3): 78-81