

中国小麦条锈菌主要小种和流行菌系的 AFLP 分析

郝保军,张 勃,王保通,李 强,李高宝,王 芳,康振生

(西北农林科技大学 植保学院与陕西省农业分子生物学重点实验室,陕西 杨凌 712100)

【摘 要】 【目的】明确近年来我国小麦条锈菌主要小种及流行菌系的分子遗传关系。【方法】利用 AFLP 技术,对我国近年来小麦条锈菌(*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*)的主要流行菌系,特别是水源 11 类群进行了 DNA 指纹分析,并与毒性分析结果进行了比较。【结果】(1)小麦条锈菌流行菌系之间,无论是毒性特征还是 DNA 指纹特征,均存在丰富的遗传变异,但二者并不相关;(2)AFLP 聚类分析显示,水源 11 类群的不同类型之间并没有很近的亲缘关系,其在遗传上不属于同一个来源。【结论】新出现的致病类型很可能由较近的共同起源菌系进化而来;AFLP 技术非常适合于小麦条锈菌的遗传分析,能客观揭示小种(菌系)之间的亲缘关系。

【关键词】 小麦条锈菌;毒性分析;AFLP;聚类分析

【中图分类号】 S435.121;4⁺2

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2008)11-0071-06

AFLP analysis of major races and epidemic strains of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in China

HAO Bao-jun, ZHANG Bo, WANG Bao-tong, LI Qiang, LI Gao-bao,
WANG Fang, KANG Zhen-sheng

(College of Plant Protection and Shaanxi Key Laboratory of Molecular Biology for Agriculture,
Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】 The study clarified the molecular genetic relations of major races and epidemic strains of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in recent years in China. 【Method】 Amplified fragment length polymorphism (AFLP) was used to fingerprint the dominant epidemic strains in recent years, especially, Shuiyuan11 group of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*, the pathogen of wheat stripe rust, compared to the result of virulence characterise of pathogen. 【Result】 (1) genetic diversity of both virulence and fingerprint characteristic existed in the pathogen populations, but there was not significant correlation between the two characteristics; (2) according to AFLP cluster analysis, different pathotypes in shuiyuan11 group didn't share close evolutionary relationships and they evolved independently. 【Conclusion】 Thus the new pathotypes might be developed from those earlier strains with the same origin and AFLP is very suitable for genetic analysis of pathogens and it can objectively reveal evolutionary relationships among the different races.

Key words: *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*; virulence analysis; AFLP; cluster analysis

* [收稿日期] 2007-11-26

[基金项目] 国家“十一五”科技支撑计划项目(2006BAD08A05); 陕西省“13115”科技创新工程重大科技专项(2006K02-G10-01); 教育部长江学者和创新团队发展计划项目(200558); 高等学校学科创新引智计划项目(No. B07049)

[作者简介] 郝保军(1972—),男,河南民权人,在读硕士,主要从事小麦条锈病生理小种监测研究。E-mail: haobaojun0416@163.com

[通讯作者] 王保通(1964—),男,陕西合阳人,教授,博士,主要从事小麦条锈菌小种监测和抗性机制研究。
E-mail: wangbt@nwsuaf.edu.cn

小麦条锈病一直是威胁我国小麦生产的最重要病害之一。小麦条锈菌(*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*)是活体营养的专性寄生菌,繁殖速度快、系数高,群体变异十分丰富。由于小麦条锈菌生理小种的变异,常常使大面积推广品种“丧失”抗锈性,导致条锈病大流行^[1]。常规生理小种鉴定分类及群体遗传研究,主要基于鉴别寄主的反应型来进行,并非生物学上的自然分类单元,不能反映其亲缘关系。小麦条锈菌生理小种之间的相互关系以及生理小种内部的遗传基础是否一致,是否存在不同的生物型或致病类型的分化,新小种的产生源自遗传变异还是小种内原有的潜在致病类型的定向选择等问题,一直是小麦条锈菌群体遗传研究的热点。Steele 等^[2]以 RAPD 及 AFLP 技术,研究了澳大利亚、新西兰及英国、芬兰的小麦条锈菌菌系,发现澳大利亚、新西兰 7 个小麦条锈菌小种的 18 个分离系间无多态性差异;而英国、芬兰的小麦条锈菌,虽同一小种不同单孢菌系间无多态性差异,但小种间却有 3% 的多态性位点存在差异。Zheng 等^[3]利用 AFLP 技术,分析了我国小麦条锈菌流行小种的 DNA 指纹特征,认为供试菌系的 AFLP 指纹图谱具有很高的

表 1 供试小麦条锈菌分离系的毒性特征

Table 1 Toxic characteristics of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*

编号 Serial	小种或类型 Race type	毒性特征 Virulence characteristic	编号 Serial	小种或类型 Race type	毒性特征 Virulence characteristic
1	CY22	1,2,3,4,6,7,8,9,10,11,13	7	SU4	1,2,3,4,6,7,8,9,10,11,13,14,16
2	CY24	1,2,3,4,6,7,8,11,	8	SU5	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,14,16
3	CY29	1,2,3,4,5,6,7,8,9,11,12,16	9	SU6	1,2,3,6,7,8,9,10,11,14
4	CY31	1,2,3,4,5,6,7,8,9,11,12,14,16,17	10	SU7	1,2,3,4,5,6,7,8,9,11,12,14,16
5	CY32	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,16,17	11	SU14	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,16
6	SU1	1,2,7,14	12	T4	1,2,3,4,6,7,8,9,10,11,13,14,15

注:17 种鉴别寄主分别是:1. Trigo Eureka;2. Fulhard;3. 保春 28;4. 南大 2419;5. 维尔;6. 阿勃;7. 早洋;8. 阿夫;9. 丹麦 1 号;10. 尤皮 2 号;11. 丰产 3 号;12. 洛夫林 13;13. 抗引 655;14. 水源 11;15. 中四;16. 洛夫林 10;17. 杂 46。

Note: 17 type differential host:1. Trigo Eureka;2. Fulhard;3. Lutecens 28;4. Mentana;5. Virgilio;6. Abbondanza;7. Early Premium;8. Funo;9. Danish 1;10. Jubilejina 2;11. Fengchan 3;12. Lovrin 13;13. Kangyin 655;14. Shuiyuan 11;15. Zhong 4;16. Lovrin 10;17. Hybrid46.

1.2 条锈菌 DNA 的提取

采用 CTAB/SDS 法^[8],并加以改动。取 50 mg 夏孢子,加灭菌石英砂少许,加液氮反复研磨至粉状后转入 2 mL 离心管中;加 1 mL 预冷的提取缓冲液(50 mmol/L Tris-HCl,pH 8.0;114 mmol/L NaCl;100 mmol/L EDTA)充分混匀;再加 60 μL 20% SDS 混匀后,65 ℃水浴 30 min;加 150 μL 5 mol/L NaCl 与 130 μL CTAB/NaCl(1 g CTAB 溶解在 10 mL 0.7 mol/L NaCl 中)后,65 ℃水浴 30 min;等量分装,加等体积(700~800 μL)酚:氯仿:异戊醇(V(酚):V(氯仿):V(异丙醇)=25:24:1)溶

多态性,反映了菌系间丰富的遗传多样性。

由于我国小麦条锈菌优势生理小种的变化和新致病类型的不断出现,Hybrid46 类群和水源 11 类群已经成为我国目前的主要流行小种^[4],同时发现了能感染鉴别寄主“中四”的新菌系^[5],因此,迫切需要揭示这些新流行小种(类型)的内在遗传关系^[6]。为此,本研究利用 AFLP 技术,对我国目前小麦条锈病主要流行菌系和新出现类型之间在 DNA 分子多态性水平上的遗传相似度(亲缘关系)和演化关系进行了分析,并与毒性分析结果进行了比较,以期为认识我国小麦条锈菌系的演化规律提供线索,为小麦抗条锈品种的选育和合理布局提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 菌种的准备

供试小麦条锈菌菌系在鉴别寄主上的反应见表 1,所有供试菌系均为单孢分离菌系。小种接种鉴定方法参考文献^[7],繁殖菌种所用的小麦品种为辉县红,菌种的繁殖在西北农林科技大学植病研究所太白锈病试验站进行,收集的新鲜菌种经液氮速冻后于-70 ℃保存备用。

液;再加 1/10 体积的 NaAc,冰浴 5 min,抽提 2 次,4 ℃ 12 000 r/min 离心 2 次(第 1 次 15 min,第 2 次 10 min);取上清,用氯仿再抽提 1 次,4 ℃ 12 000 r/min 离心 10 min;取上清,加等体积异丙醇和 1/10 体积的 3 mol/L NaAc(pH 5.2),-20 ℃沉淀核酸 0.5~1 h;4 ℃ 12 000 r/min 离心 20 min,弃上清;用体积分数 70% 的乙醇漂洗 2~3 次(第 2 次用无水乙醇),室温干燥,再溶入 50 μL 去离子水中。

1.3 AFLP 分析

AFLP 分析参照文献^[9,10]的方法进行,并有改动。取小麦锈菌 DNA 200 ng,用 *EcoR* I 和 *Mse*

I 进行双酶切,酶切片段与 *EcoR* I 和 *Mse* I 接头连接;连接产物稀释 3 倍后取 5 μ L 进行预扩增,引物不含选择性碱基(E-0;5'-GTAGACTG CGTAC-CAATTC-3', M-0: 5'-GACGATGAGTCCTGAG-TAA-3'),预扩增反应体系为 20 μ L,其中稀释 3 倍的连接产物 5 μ L,10 $\times$ Reaction Buffer 2 μ L,MgCl₂ (25 mmol/L) 2.0 mmol/L, dNTPs (10 mmol/L each)0.2 mmol/L,引物(10 mmol/L)各 1 μ L, *Taq* (5 U/ μ L)0.4 U,ddH₂O 8.92 μ L。预扩增 PCR 程序为:94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min,然后 94 $^{\circ}$ C 30 s,56 $^{\circ}$ C 30 s,72 $^{\circ}$ C 60 s,共 30 个循环。

预扩增产物稀释 10 倍后作模板进行选择扩增,引物各带有 2 个选择性碱基(E-NN:5'-GAC TGC GTA CCA ATT C-NN-3', M-NN: 5'-GAT GAG TCC TGA GTA A-NN-3'),选择不同的引物组合进行扩增(E-AC/M-GG、E-GC/M-GG、E-GT/M-GT)。选择性扩增反应体系为 20 μ L,其中稀释 10 倍的连接产物 5 μ L,10 $\times$ Reaction Buffer 2 μ L,MgCl₂ (25 mmol/L)2.0 mmol/L, dNTPs(10 mmol/L each)0.2 mmol/L,引物(25 ng/ μ L)各 1 μ L, *Taq* (5

U/ μ L)0.4 U,ddH₂O 8.92 μ L。PCR 程序为:94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min,然后 94 $^{\circ}$ C 30 s,65 $^{\circ}$ C 30 s (−7 $^{\circ}$ C/cycle),72 $^{\circ}$ C 60 s,13 个循环;94 $^{\circ}$ C 30 s,65 $^{\circ}$ C 30 s,72 $^{\circ}$ C 60 s, 22 个循环,4 $^{\circ}$ C 停止。扩增产物通过 6%聚丙烯酰胺凝胶电泳分离后,对凝胶进行银染^[11-12]观察、胶版照相或直接人工统计条带。

1.4 数据处理

根据供试菌系在鉴别寄主上的反应,将有毒性(感病、S)和无毒性(抗病、R)分别记作 1 和 0;AFLP 条带在供试菌系中的出现频率为 20%~90%时均统计为多态性条带^[13],多态性条带的有和无分别记作 1 和 0;采用 UPGMA (Unweighted Pair-Group Mean Average) 聚类法,利用计算机统计软件 DPS 进行聚类分析。

2 结果与分析

2.1 小麦条锈菌流行菌系毒性特征的聚类分析

依据各供试菌系在 17 个鉴别寄主上的反应,利用 DPS 统计分析软件进行聚类分析,建立了聚类分析图(图 1)。

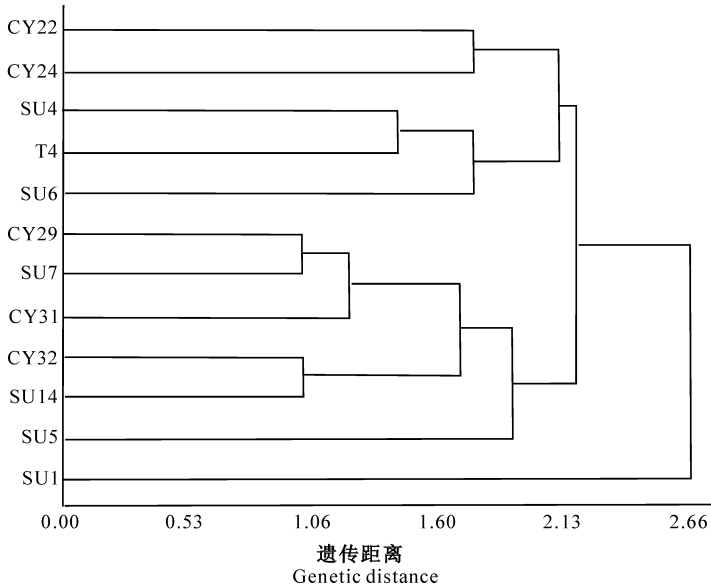


图 1 基于水 11 源毒性特征的小麦条锈菌流行小种(类型)的聚类分析

Fig. 1 Cluster analysis map of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* tested isolates based on toxic characteristics

从图 1 可以看出,我国目前小麦条锈菌流行小种(类型)的聚类结果,与现有的单独依靠小种在某一鉴别寄主上的反应而进行分类的结果不同。现有的小种(类型)划分以是否感染某一鉴别寄主为分类标准,若只要其感染小麦品种水源 11 即被划归到水源 11 类群,然后再根据其在不同鉴别寄主上的反应,划分为不同的类型,如水源 11 类群类型 4,而并

未考虑其在所有鉴别寄主上的反应情况,这样的划分标准因人为因素的影响较大,并不能反应病菌菌系所含有真正遗传特性和亲缘关系。如果将小种(类型)在所有鉴别寄主上的抗感反应都考虑在内,并将其参数赋予同样的贡献值(表 1),再根据小种对所有鉴别寄主的抗感反应进行聚类划分(图 1),则划分结果和人为的事先划分结果没有相关性。说

明其亲缘关系并不以人为的事先划分为标准。

从图 1 可以看出,水源 11 类群中的各个水源 11 类型聚类结果甚远。在供试的水源 11 类型中,在遗传距离为 0 时,水源 11 类群中未能聚在一起的水源 11 类型,它们分别与其他小种类型划分在一起,如 SU4 与 T4 聚在一起,SU7 与 CY29 聚在一起,SU14 与 CY32 聚在一起。相对于其他类型,SU5 与 SU1 的遗传距离相对较远。

从图 1 还可以看出,CY22 与 CY24 的遗传距离最近,而 CY31 首先与 CY29 聚在一起,然后才与 CY32 聚在一起。表明条锈菌菌系在鉴别寄主上的反应也可以在一定程度上反应小种之间的亲缘关

系,但是受到一定的人为因素干扰,如鉴别寄主数量和品种的变动都会影响最后的聚类结果。

2.2 小麦条锈菌流行菌系的 AFLP 指纹分析

由图 2 可见,试验筛选的 E-AC/M-GG、E-GC/M-GG、E-GT/M-GT 3 对引物组合,均获得了各菌系的 AFLP 指纹,并且表现出很高的多态性。说明在 DNA 分子多态性水平上,供试流行菌系分离系之间存在着丰富的遗传变异。3 对引物组合产生的条带总数为 169 条,其中多态性条带有 133 条,占 78.70%,将每个条带作为一个独立的遗传位点进行统计分析,即可得到如图 3 所示的聚类分析树状图。

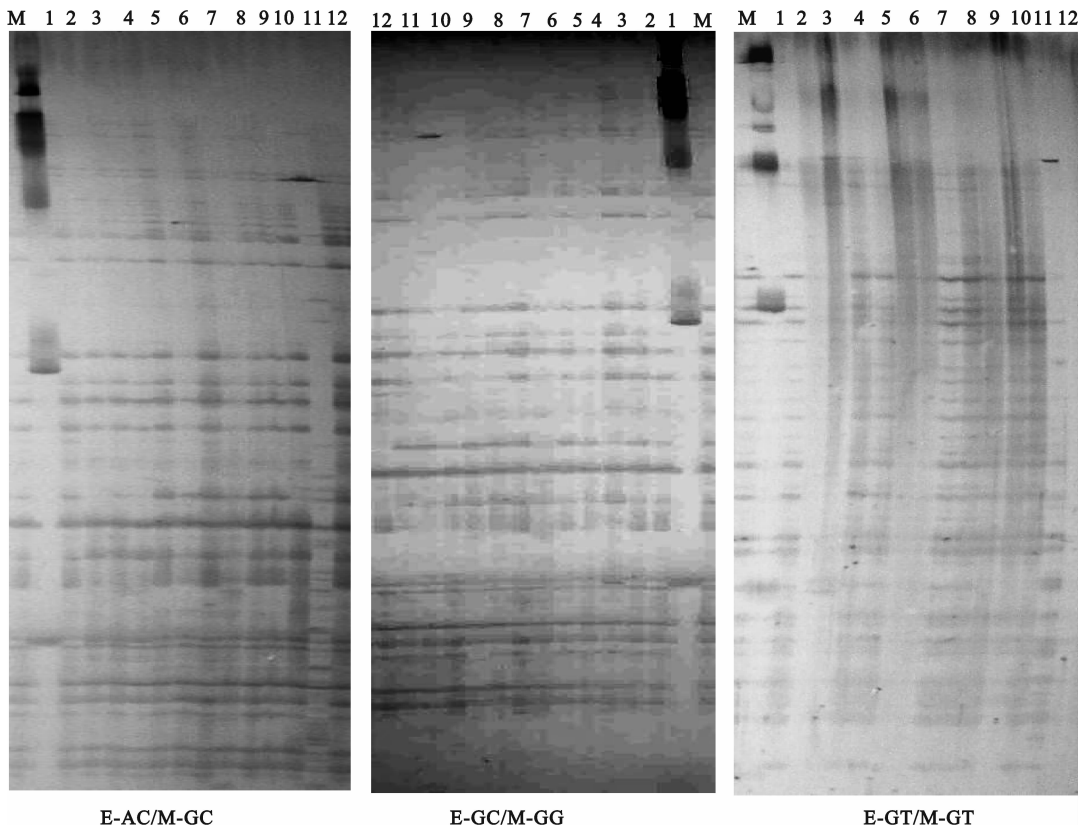


图 2 小麦条锈菌供试菌系的 AFLP 指纹分析

M. Marker; 1. CY22; 2. CY24; 3. CY29; 4. CY31; 5. CY32; 6. SU1; 7. SU4; 8. SU5; 9. SU6; 10. SU7; 11. SU14; 12. T4

Fig. 2 AFLP fingerprint of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* tested isolates

M. Marker; 1. CY22; 2. CY24; 3. CY29; 4. CY31; 5. CY32; 6. SU1; 7. SU4; 8. SU5; 9. SU6; 10. SU7; 11. SU14; 12. T4

由图 3 可见,基于 AFLP 的特征相似度,供试小麦条锈菌菌系在遗传距离为 2.27 时可以划分为 3 类:第一类包括 CY22 和 SU14;第二类只有 CY32;第三类包括 CY24、CY29、CY31、SU1、SU6、SU4、T4、SU5、SU7 共 9 个小种(类型)。第三类中 SU1 和 SU6 聚在一起,遗传距离为 1,然后在遗传距离为 1.26 时与 CY31 聚在一起,其 3 个又在遗传距离为

1.41 时与 SU4 聚在一起;T4 和 SU5 在遗传距离为 1 时聚在一起,然后在遗传距离为 1.62 时,与前面的 4 个聚在一起;而 SU7 在遗传距离为 1.82 时,才与它们聚在一起。从上述结果可以看出,水源类群的不同类型,在遗传上并不属于同一个来源,而是分别与以前的某个小种聚在一起,由此可以认定它们有着较近的起源关系。从分子系谱看,新出现的水

源 11 类群中的致病类型 SU14 与 CY22, SU1、SU6、CY31、SU4 及 T4 与 SU5 拥有较近的共同内结,很可能由较近的共同起源菌系进化而来。

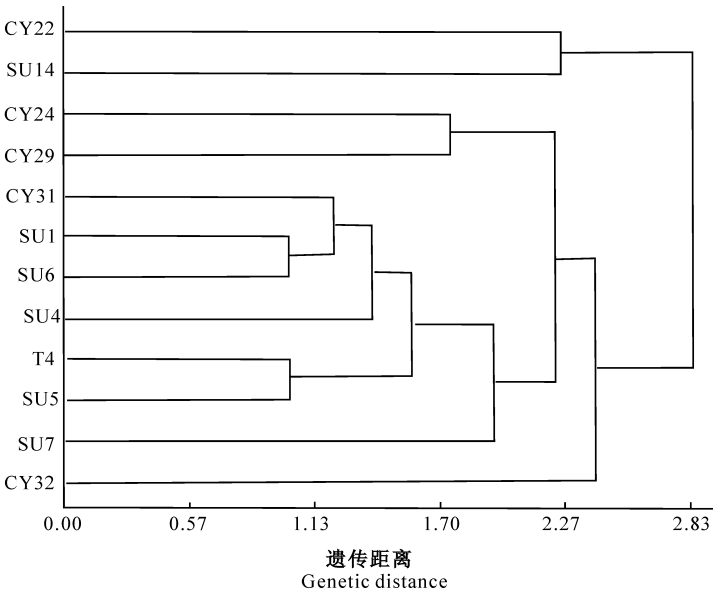


图 3 基于 AFLP 数据的小麦条锈菌流行菌系的聚类分析树状图

Fig. 3 Cluster analysis map of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* tested isolates based on AFLP

2.3 AFLP 分析与毒性分析结果的比较

比较图 1 和图 3 的聚类结果可以看出:(1)基于 AFLP 的聚类分析结果与基于小种毒性特征的分析结果间没有明显的相关性。两种方法的聚类结果完全不同,表明两者对小种演化关系的分析没有相关性,这印证了前人的研究结果^[3,14];(2)传统的利用某一单一小种(类型)对某个鉴别寄主的抗性进行分析,以鉴别寄主名称归类的命名方法,例如“洛夫林类群”、“Hybrid46 类群”、“水源 11 类群”等,并不能准确反映小种自身的遗传特性和亲缘关系。传统分类中划分为水源 11 类群的水源 11 类型,在两种聚类结果中并未聚在一起,表明它们之间并没有很近的亲缘关系。

3 讨 论

目前,应用于小麦条锈菌研究的主要分子标记有 RAPD、AFLP 和 SSR,但是在进行小麦条锈菌小种之间遗传分化研究时,SSR 技术提供的遗传标记信息不如 RAPD 和 AFLP 丰富,RAPD 虽然多态性高,但其重复性和可靠性均不如 AFLP。AFLP 作为新一代基于 PCR 的分子标记,在小麦条锈菌遗传分化研究中具有不可替代的优点。本试验所筛选的 3 对引物,都表现了出很好的多态性。由于小麦条锈菌是活体营养的专性寄生菌,繁殖速度快、系数高,群体变异十分丰富。群体之内,不仅生理小种的

组成和数量随时间和空间变化,而且具有新的毒性特征的生理小种还在不断出现,因此,AFLP 技术在以后小麦条锈菌新生理小种间遗传关系的研究中仍有很好的应用前景。

我国目前利用鉴别寄主鉴定小麦条锈菌生理小种,并根据其在某一特定鉴别品种上的反应,对新出现的类型进行归类^[15],如洛夫林类群、Hybrid46 类群和水源 11 类群等。由于该鉴别归类方法未能充分、综合地考虑其他鉴别寄主的反应,因此,基于该分类方法得到的鉴别结果并不能反映该品种实际的遗传特性和亲缘关系。从本研究结果看,无论是毒性特征聚类结果还是 DNA 分子特征聚类结果,水源 11 类群中各个不同小种类型之间的亲缘关系相差甚远。

小麦条锈菌新小种的出现并发展成为优势小种,进而能克服生产上主栽品种的抗病性,最终造成病害的流行^[16]。揭示病菌流行菌系的真实遗传背景,有助于减少抗病育种的盲目性,提高品种布局的合理性,从而有利于抗病品种的持久性。自 20 世纪 90 年代以来,Hybrid46 类群和水源 11 类群已经成为我国小麦条锈菌的优势种群,出现频率超过了 90%,Hybrid46 类群中以 CY32 为绝对优势小种,水源 11 类群中小种类型多,出现频率变化复杂,而且总的出现频率呈逐年上升趋势^[4],是小麦条锈菌潜在的新小种类型。对这些菌系的 AFLP 指纹分

析以及据此对其遗传关系的推断,可以为小麦条锈病防治战略的制定提供重要依据。

本研究结果表明,我国目前小麦条锈菌流行菌系之间,无论是毒性特征还是 DNA 分子特征,都存在着丰富的遗传变异,但两种特征并不相关,二者对菌系间遗传关系的推断是不同的,也是不相关的。毒性特征受到鉴别寄主的数量和种类等人为因素的影响较大,例如鉴别寄主本身所含有的遗传背景、鉴别寄主数量等都会影响到聚类的结果,鉴别寄主数量越多,所含有的抗锈基因背景越丰富、越复杂,用毒性特征反映出的遗传背景和亲缘关系应该越准确,但有一定局限性,任何一组鉴别寄主都不可能包含所有的抗锈性遗传特性。而基于 DNA 水平下的分子特性是中性的,可以更真实地反应病菌的遗传背景。值得注意的是,SU14 与 CY22 及 SU1、SU4、SU6 与 CY31 具有较近的起源关系,说明这些新类型很可能和已知的菌系是平行进化的。而在每年的小种监测中,CY22、CY31 虽然已经成为稀有小种,但是每年都会有一定的出现频率,这是否是一种巧合,今后仍需进一步研究。

[参考文献]

- [1] 李振岐,曾士迈. 中国小麦锈病 [M]. 北京:中国农业出版社,2002:321-323.
Li Z Q, Zeng S M. Wheat rust in China [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2002: 321-323. (in Chinese)
- [2] Steele K A, Humphreys E, Welling C R, et al. Support for a stepwise mutation model for pathogen evolution in Australasian *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* by use of molecular markers [J]. Plant Pathology, 2001, 50: 174-180.
- [3] Zheng W M, Liu F, Kang Z S. AFLP fingerprinting of Chinese epidemic strains of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* [J]. Progress in Natural Science, 2001, 11(8): 587-593.
- [4] 王保通,李高宝,李 强,等. 2001~2005 年陕西省小麦条锈菌生理小种变化动态 [J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版, 2007, 35(3): 209-235.
Wang B T, Li G B, Li Q, et al. Population changes of stripe rust fungus of wheat in shaanxi province during 2001—2005 [J]. Journal of Northwest A&F University: Natural Science Edition, 2007, 35(3): 209-235. (in Chinese)
- [5] 王保通,康振生,李高宝,等. 感染“中四”小麦条锈菌新菌系的发现 [J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版, 2005, 33(增): 254-254.
Wang B T, Kang Z S, Li G B, et al. Discovery of new isolates virulent of wheat stripe rust to wheat cultivar-zhong4 [J]. Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry: Natural Science Edition, 2005, 33(S1): 254-254. (in Chinese)
- [6] 曹丽华,康振生,赵 杰,等. 中国小麦条锈菌 4 个流行小种的 RAPD 标记 [J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版, 2004, 32(4): 37-40.
Cao L H, Kang Z S, Zhao J, et al. RAPD markers of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in China [J]. Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry: Natural Science Edition, 2004, 32(4): 37-40. (in Chinese)
- [7] Wan A M, Zhao Z H, Chen X M, et al. Wheat stripe rust epidemic and virulence of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in China in 2002 [J]. Plant Disease, 2003, 88(8): 896-904.
- [8] Chen X M, Line R F, Leung H. Relationship between virulence variation and DNA polymorphism in *Puccinia striiformis* [J]. Phytopathology, 1993, 83: 1489-1497.
- [9] Vos P, Hogers R, Bleeker M, et al. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting [J]. Nucleic Acids Research, 1995, 23: 4407-4414.
- [10] 唐 静,蒲志刚,张 敏,等. 小麦锈菌 AFLP 标记技术体系的建立 [J]. 中国农学通报, 2005, 25(8): 325-329.
Tang J, Pu Z G, Zhang M, et al. The establishment of AFLP markers technical system for wheat rust fungus [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2005, 25(8): 325-329. (in Chinese)
- [11] Enjalbert J, Duan X, Giraud T. Isolation of twelve microsatellite loci, using an enrichment protocol, in the phytopathogenic fungus *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* [J]. Molecular Ecology Notes, 2002, 2: 563-565.
- [12] Chen X M, Line R F, Leung H. Genome scanning for resistance-gene analogs in race barley and wheat by high-resolution electrophoresis [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1998, 97(3): 345-355.
- [13] Shan W X, Chen S Y, Kang Z S. Genetic diversity in *Puccinia striiformis* Westend. f. sp. *tritici* revealed by pathogen genome-specific repetitive sequence [J]. Can J Bot, 1998, 76: 587-595.
- [14] 单卫星,陈受宜,吴立人,等. 中国小麦条锈菌流行小种的 RAPD 分析 [J]. 中国农业科学, 1995, 28(5): 1-7.
Shan W X, Chen S Y, Wu L R, et al. RAPD analysis of epidemic races of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in China [J]. Scientia Agricultura Sinica, 1995, 28(5): 1-7. (in Chinese)
- [15] 万安民. 小麦条锈菌鉴别寄主和小种命名现状 [J]. 植物病理学报, 2003, 33(6): 481-486.
Wan A M. Differentials and nomenclature of races *Puccinia striiformis* West. f. sp. *tritici* Eriksson [J]. Acta Phytopathological Sinica, 2003, 33(6): 481-486. (in Chinese)
- [16] 郑文明,刘 峰,康振生,等. 中国小麦条锈菌流行菌系的 AFLP 指纹分析 [J]. 自然科学进展, 2000, 10(6): 532-537.
Zheng W M, Liu F, Kang Z S, et al. AFLP fingerprinting of Chinese epidemic strains of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* [J]. Progress in Natural Science, 2000, 10(6): 532-537. (in Chinese)