



甘肃玉米茎腐病病菌禾谷镰孢复合种遗传多样性

郭成^{1,2},王宝宝³,邓东⁴,张小杰⁵,

王春明¹,周天旺¹,李敏权^{1,2},郭致杰¹

(1. 甘肃省农业科学院 植物保护研究所,兰州 730070;2. 甘肃农业大学 草业学院,兰州 730070;

3. 石家庄市农林科学研究院,石家庄 050041;4. 中国农业科学院 作物科学研究所,

北京 100081;5. 甘肃农业大学 植物保护学院,兰州 730070)

摘要 为阐明甘肃省玉米茎腐病优势致病病菌禾谷镰孢复合种地理群体的遗传多样性,2015年和2017年从甘肃省4个生态区采集茎腐病样本,经组织分离及鉴定,选取代表性禾谷镰孢复合种菌株114株,采用SSR和VNTR引物结合POPGENE version1.32及NTSYSpc 2.11,进行群体间遗传多样性及亲缘关系的聚类分析。结果表明,共检测到多态性位点26个,片段大小为50~300 bp,平均每对引物扩增条带数为1.44。4个地理种群平均等位基因数为1.9519,有效等位基因数为1.7140,Nei's基因多样性指数为0.3939,Shannon信息指数为0.5691,多态性位点数为24.75,多态位点百分率为95.19%。4个地理种群的Nei's遗传相似度为0.8880~0.9674,遗传距离为0.0331~0.1188。分析发现,禾谷镰孢复合种的种群遗传变异主要来自种群内部,占总变异的90.71%。在遗传相似系数0.9380附近,禾谷镰孢复合种种群聚为3大类群,陇南地区为第Ⅰ类群,河西走廊为第Ⅱ类群,陇东地区和陇中地区为第Ⅲ类群。

关键词 甘肃;玉米;镰孢茎腐病;禾谷镰孢复合种;遗传多样性

中图分类号 S435.131

文献标志码 A

文章编号 1004-1389(2022)03-0345-10

玉米是中国种植面积最大的农作物^[1]。在2021年“秸秆畜牧业”以及“粮改饲”的形势和政策下,粮饲兼用型玉米具较大的发展潜力,能实现粮食和饲料有效补给,是国内粮食安全生产的关键环节^[2]。一般年份,茎腐病田间发病率在5%~10%,重发年份达到20%~30%,高感品种的发病率可高达40%~100%,发病率每增加1%,单穗籽粒损失率约提高0.485%,千粒质量损失率约提高0.304%,若发病严重将引起30%以上的产量损失^[3]。受玉米连年种植、秸秆还田以及气候逐年变暖等因素影响,田间土壤中病原菌基数逐年上升,玉米茎腐病呈逐年加重趋势^[4]。据郭成等^[5]连续多年调查发现,在甘肃及周边地区玉米茎腐病自然发生率偏高,玉米茎腐病对产量的制约已成为西北地区以及其他玉米主产区生产上的重大问题。

玉米茎腐病的致病病菌种群结构和数量较为复杂,目前已报道玉米茎腐病的病原菌多达30种,其中禾谷镰孢(*Fusarium graminearum*)和肿囊腐霉(*Pythium inflatum*)为国内玉米茎腐病的两大主要致病菌^[5]。禾谷镰孢复合种种群组成复杂,已探明包含超过10个菌种,其对环境有广泛的适应性,不仅能够侵染多种水果、蔬菜、花卉,还引起小麦和大豆、马铃薯、玉米等多种作物病害的发生^[6-11]。病原菌群体遗传多样性越丰富表明病原菌对环境的适应力越强,较高遗传多样性的致病菌具有较强的进化和生存优势^[12]。ISSR、VNTR、RAPD、AFLP和SSR等分子标记技术广泛应用于禾谷镰孢复合种群体遗传结构分析^[13-18]。禾谷镰孢复合种侵染作物后,在寄主体内产生多种次生代谢物和毒素,这些毒素贮藏在植物体内潜在危害巨大^[19-20]。

收稿日期:2021-05-27 修回日期:2021-08-06

基金项目:甘肃省青年科技托举工程人才(2020-18);甘肃省农业科学院博士基金(2020GAAS33)。

第一作者:郭成,男,副研究员,博士,从事玉米病害及抗病性鉴定研究。E-mail:gsguoch@126.com

通信作者:李敏权,男,博士,研究员,从事植物病理学研究。E-mail:lmq@gsau.edu.cn

郭致杰,男,本科,副研究员,从事农作物病虫害综合治理研究。E-mail:guozhijie@gsagr.ac.cn

研究病原菌群体结构及其遗传多样性特征是应对植物病害的发生、流行及其防治的关键^[21]。解析致病菌遗传分化特征及其致病力是抗病品种选育及病害防控的研究基础^[22-23]。有效控制玉米茎腐病对保障中国玉米产业可持续发展具有重要意义。目前缺乏对甘肃省玉米茎腐病致病菌遗传多样性的系统报道,本研究以甘肃省玉米茎腐病优势病原菌禾谷镰孢复合种为对象,研究其在 4 大生态区的分布特征及遗传多样性,该结果将为甘肃省玉米生产提供风险警示,为玉米镰孢茎腐病防控提供基础信息。

表 1 禾谷镰孢复合种采集信息

生态区 Ecological region	采样地点 Sampling site	菌株数量 Number of strains
陇南地区 South of Gansu	迭部县、秦州区、舟曲县、张家川县、成县、清水县、秦安县 Diebu county, Qinzhou district, Zhouqu county, Zhangjiachuan county, Cheng county, Qing-shui county, Qin'an county	23
陇东地区 East of Gansu	华池县、华亭县、合水县、崆峒区、泾川县 Huachi county, Huating county, Heshui county, Kongtong district, Jingchuan county	31
陇中地区 Center of Gansu	临夏县、平川区、靖远县、通渭县、安定区、会宁县 Linxia county, Pingchuan district, Jingyuan county, Tongwei county, Anding district, Huin-ing county	30
河西走廊 Hexi Corridor	甘州区、凉州区 Ganzhou district, Liangzhou district	30

1.2 供试引物

遗传多样性引物采用任旭等^[17]和 Qu 等^[26]使用的 8 对 VNTR(序号 g1~8)和 10 对 SSR 引

1 材料与方法

1.1 菌株信息

从甘肃省 4 大生态区采集茎腐病样,采用组织分离法,即在样品病健交界处用剪刀剪取约(0.2×0.5) cm 大小的玉米茎秆及维管束组织,参照文献^[24-25]进行分离、培养和纯化,获得菌株。经致病性测定后,采用形态学观察结合 *TEF-1α* 基因测序并将所得序列在 NCBI 中心的 BLAST 模块进行比对分析^[18],鉴定到具体种,从中选取 114 株禾谷镰孢复合种(FGSC)菌种,平均分布在 4 个生态区。菌株分布地点见表 1。

物(序号 g9~18),引物由上海生工生物工程有限
公司合成(表 2)。

表 2 禾谷镰孢复合种遗传多样性引物

序号 Serial number	引物序列(5'→3') Primer sequence(5'→3')	序号 Serial number	引物序列(5'→3') Primer sequence(5'→3')
g1	ACAGGCATCCAAGGACATTT GTTTGATGGCGCATTCAAAG	g10	AATGCAGTCGATGGGAAACT GGGTTTCCTTGTAAGTGGCTG
g2	GCAGGACCTGGATGATGAA ATGTGTGCAGCCATGAGATT	g11	GCCCATTACGTTGAGCAAAT TTTTTCGGTCTGGCTATTGG
g3	TCCGAAGGTAGAAGCGTTGT TCAAGCCCATCTATGCTGTT	g12	CTCTAGTGGCAGACCCTTCG CTTGACATGTCGCGCTTTTA
g4	AAGAGGGCGTGTCTCTGTTTT CGCTTCCTTCCTTCAATTC	g13	TCTGTCGTTGACAAGCAAGC ACGGACCGACGACATAACTC
g5	AAGACTGGTCAGCAGTAGGGA TGAGAGCGAGACTGAGCATGA	g14	GCGTCGACTAAAGGAACCAG TCCCGACGTTAGAGTGGAGT
g6	AAACGTAAACGGATCAACGG AGATTGCAACTTTGTGCTG	g15	CCTTGTTCTTTCCACCCTGA ACGAGGACGAACCTGTTGCT
g7	TGGATATGGTTCCCCAGCT TACTGACCTTGAGGAGCACCATAC	g16	AAGCTTGGGGGCTAACATCT CAGCTTTGGCGGACATTATT
g8	TATGATGCAGCGAATGCAAC TAGAGACCTGGCCCATACCA	g17	TCACATATTCAACCGACCCA GCTCCGTGTCCTTTCATTTC
g9	TTTTGGGTGTTGAAGAAGCC TTTTTGTTGCGTCGTTCTG	g18	GACGGATCGTCGGATAGGTA CACTAAGCTGCTCCTCCACC

1.3 PCR 扩增体系

参照贺小伦等^[27]的方法以 25 μ L 反应体系进行 PCR 扩增,退火温度按照引物进行相应的设定。

1.4 凝胶电泳

对 PCR 扩增后的产物用 6% 的变性聚丙烯酰胺凝胶,以恒定功率 75 W,电泳 90 min,将凝胶置于显影液中进行条带自显影,条带显影后用蒸馏水冲去残液,将凝胶平铺在灯箱上统计条带,并拍照。

1.5 电泳谱带的统计及数据分析

统计好电泳 DNA 图谱的条带信息,有条带,统计为“1”,无条带,统计为“0”,进而将多态性位点,也以 0 和 1 的方式,转换为二进制数据。利用软件 POPGENE 来计算引物的遗传距离和遗传相似系数、多态位点数、Nei's 基因多样性指数

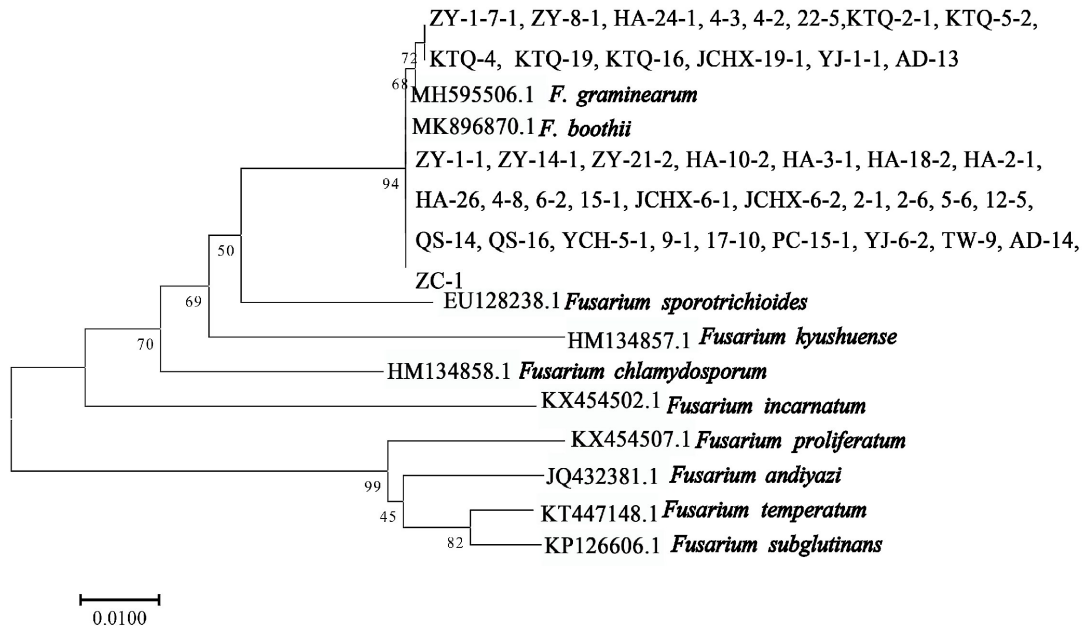
(H)、群体间的 Shannon's 多样性指数(I)^[28]。利用软件 NTSYSpc 2.11 的非加权组平均法进行不同地区的菌群的 SAHN 聚类,构建聚类树。

2 结果与分析

2.1 *TEF-1 α* 基因序列聚类结果

禾谷镰孢复合种经形态学观察结合 *TEF-1 α* 基因测序,在 114 株中鉴定出 16 株禾谷镰孢和 98 株布氏镰孢(*F. boothii*),选取部分菌株构建聚类树(图 1)。

统计发现,在 4 大地区中均以布氏镰孢为主。陇南地区仅有布氏镰孢分布,23 株,未分离得到禾谷镰孢;河西走廊布氏镰孢有 27 株,禾谷镰孢有 3 株;陇东地区布氏镰孢有 20 株,禾谷镰孢有 11 株;陇中地区布氏镰孢有 28 株,禾谷镰孢有 2 株(表 3)。



图中节点处的数字表示每 100 次聚类分析中能聚到同一个分支的次数

The number of nodes in the graph indicates the number of times that the same branch can be clustered in every 100 cluster analyses

图 1 *TEF-1 α* 基因禾谷镰孢复合种 UPGMA 聚类图

Fig. 1 The UPGMA cluster map of *F. graminearum* species complex from Gansu by *TEF-1 α* gene

2.2 18 对引物的扩增结果

对 VNTR 和 SSR 引物扩增结果表明,114 株禾谷镰孢复合种菌株多态性位点数为 26。扩增片段集中在 50~300 bp,其中引物扩增出的条带数均在 1 条以上,表明其多态性可观。

2.3 禾谷镰孢复合种不同地理种群遗传变异和遗传分化

POPGENE 分析结果显示,4 个生态区的禾

谷镰孢复合种群体内的遗传分化系数为 0.924 9,而其种群间的遗传分化系数是 0.075 1,群体内基因流为 0.02,种群间的基因流为 6.153 5,说明禾谷镰孢复合种遗传变异主要来源于群体内。禾谷镰孢复合种群体总基因多样性为 0.425 9,各地理群体内基因多样性为 0.393 9,不同地区间基因多样性为 0.032,综上,来自同一个生态区禾谷镰孢复合种菌株间携带的基因最为接

表 3 4 个生态区禾谷镰孢复合种分布

Table 3 Distribution of *F. graminearum* complex species in four regions

生态区 Ecological region	菌株 Strains	种名 Species	生态区 Ecological region	菌株 Strains	种名 Species
河西走廊 甘州区 Hexi Corridor Ganzhou District	ZY-1-1	<i>F. boothii</i>	陇东地区 泾川县 East of Gansu Jingchuan County	JCHX-6-1	<i>F. boothii</i>
河西走廊 甘州区 Hexi Corridor Ganzhou District	ZY-14-1	<i>F. boothii</i>	陇东地区 泾川县 East of Gansu Jingchuan County	JCHX-11-2	<i>F. boothii</i>
河西走廊 甘州区 Hexi Corridor Ganzhou District	ZY-21-2	<i>F. boothii</i>	陇东地区 泾川县 East of Gansu Jingchuan County	JCHX-10-1	<i>F. boothii</i>
河西走廊 甘州区 Hexi Corridor Ganzhou District	ZY-10-2-2	<i>F. boothii</i>	陇东地区 泾川县 East of Gansu Jingchuan County	JCHX-6-2	<i>F. boothii</i>
河西走廊 甘州区 Hexi Corridor Ganzhou District	ZY-2-2	<i>F. boothii</i>	陇南地区 迭部县 South of Gansu Diebu County	2-1	<i>F. boothii</i>
河西走廊 甘州区 Hexi Corridor Ganzhou District	ZY-17-2	<i>F. boothii</i>	陇南地区 迭部县 South of Gansu Diebu County	2-6	<i>F. boothii</i>
河西走廊 甘州区 Hexi Corridor Ganzhou District	ZY-13-1-1	<i>F. boothii</i>	陇南地区 迭部县 South of Gansu Diebu County	2-9	<i>F. boothii</i>
河西走廊 甘州区 Hexi Corridor Ganzhou District	ZY-3-2	<i>F. boothii</i>	陇南地区 迭部县 South of Gansu Diebu County	2-8	<i>F. boothii</i>
河西走廊 甘州区 Hexi Corridor Ganzhou District	ZY-9-2	<i>F. boothii</i>	陇南地区 秦州区 South of Gansu Qinzhou District	5-6	<i>F. boothii</i>
河西走廊 甘州区 Hexi Corridor Ganzhou District	ZY-4-2	<i>F. boothii</i>	陇南地区 秦州区 South of Gansu Qinzhou District	5-8	<i>F. boothii</i>
河西走廊 甘州区 Hexi Corridor Ganzhou District	ZY-1-7-1	<i>F. graminearum</i>	陇南地区 秦州区 South of Gansu Qinzhou District	5-10	<i>F. boothii</i>
河西走廊 甘州区 Hexi Corridor Ganzhou District	ZY-15-1	<i>F. boothii</i>	陇南地区 舟曲县 South of Gansu Zhouqu County	12-5	<i>F. boothii</i>
河西走廊 甘州区 Hexi Corridor Ganzhou District	ZY-5-2	<i>F. boothii</i>	陇南地区 舟曲县 South of Gansu Zhouqu County	12-7	<i>F. boothii</i>
河西走廊 甘州区 Hexi Corridor Ganzhou District	ZY-8-1	<i>F. graminearum</i>	陇南地区 舟曲县 South of Gansu Zhouqu County	12-6	<i>F. boothii</i>
河西走廊 甘州区 Hexi Corridor Ganzhou District	ZY-20-1	<i>F. boothii</i>	陇南地区 张家川县 South of Gansu Zhangjiachuan County	22-6	<i>F. boothii</i>
河西走廊 甘州区 Hexi Corridor Ganzhou District	ZY-10-2-1	<i>F. boothii</i>	陇南地区 舟曲县 South of Gansu Zhouqu County	12-3	<i>F. boothii</i>
河西走廊 甘州区 Hexi Corridor Ganzhou District	ZY-12-1	<i>F. boothii</i>	陇南地区 舟曲县 South of Gansu Zhouqu County	12-8	<i>F. boothii</i>
河西走廊 凉州区 Hexi Corridor Liangzhou District	HA-10-2	<i>F. boothii</i>	陇南地区 秦安县 South of Gansu Qin'an County	14-7	<i>F. boothii</i>
河西走廊 凉州区 Hexi Corridor Liangzhou District	HA-3-1	<i>F. boothii</i>	陇南地区 秦安县 South of Gansu Qin'an County	19-5	<i>F. boothii</i>
河西走廊 凉州区 Hexi Corridor Liangzhou District	HA-18-2	<i>F. boothii</i>	陇南地区 清水县 South of Gansu Qingshui County	QS-15-2	<i>F. boothii</i>
河西走廊 凉州区 Hexi Corridor Liangzhou District	HA-17-1	<i>F. boothii</i>	陇南地区 清水县 South of Gansu Qingshui County	QS-10-2	<i>F. boothii</i>
河西走廊 凉州区 Hexi Corridor Liangzhou District	HA-6-1-2	<i>F. boothii</i>	陇南地区 清水县 South of Gansu Qingshui County	QS-14	<i>F. boothii</i>
河西走廊 凉州区 Hexi Corridor Liangzhou District	HA-2-1	<i>F. boothii</i>	陇南地区 清水县 South of Gansu Qingshui County	QS-16	<i>F. boothii</i>
河西走廊 凉州区 Hexi Corridor Liangzhou District	HA-21-2	<i>F. boothii</i>	陇南地区 清水县 South of Gansu Qingshui County	QS-17	<i>F. boothii</i>
河西走廊 凉州区 Hexi Corridor Liangzhou District	HA-24-1	<i>F. graminearum</i>	陇南地区 清水县 South of Gansu Qingshui County	QS-11	<i>F. boothii</i>
河西走廊 凉州区 Hexi Corridor Liangzhou District	HA-4-2-1	<i>F. boothii</i>	陇南地区 成县 South of Gansu Cheng County	Ych5-2	<i>F. boothii</i>
河西走廊 凉州区 Hexi Corridor Liangzhou District	HA-6-2-1	<i>F. boothii</i>	陇南地区 成县 South of Gansu Cheng County	YCH-5-1	<i>F. boothii</i>
河西走廊 凉州区 Hexi Corridor Liangzhou District	HA-4-1-2	<i>F. boothii</i>	陇中地区 临夏县 Center of Gansu Linxia County	9-4	<i>F. boothii</i>
河西走廊 凉州区 Hexi Corridor Liangzhou District	HA-11-1	<i>F. boothii</i>	陇中地区 临夏县 Center of Gansu Linxia County	9-1	<i>F. boothii</i>

(续表 3 Continued table 3)

生态区 Ecological region	菌株 Strains	种名 Species	生态区 Ecological region	菌株 Strains	种名 Species
河西走廊 凉州区 Hexi Corridor Liangzhou District	HA-26	<i>F. boothii</i>	陇中地区 临夏县 Center of Gansu Linxia County	9-5	<i>F. boothii</i>
陇东地区 华池县 East of Gansu Huachi County	4-8	<i>F. boothii</i>	陇中地区 临夏县 Center of Gansu Linxia County	17-14	<i>F. boothii</i>
陇东地区 华池县 East of Gansu Huachi County	4-4	<i>F. boothii</i>	陇中地区 临夏县 Center of Gansu Linxia County	17-10	<i>F. boothii</i>
陇东地区 华池县 East of Gansu Huachi County	4-3	<i>F. graminearum</i>	陇中地区 临夏县 Center of Gansu Linxia County	17-11	<i>F. boothii</i>
陇东地区 华池县 East of Gansu Huachi County	4-2	<i>F. graminearum</i>	陇中地区 临夏县 Center of Gansu Linxia County	17-13	<i>F. boothii</i>
陇东地区 华池县 East of Gansu Huachi County	6-6	<i>F. boothii</i>	陇中地区 平川区 Center of Gansu Pingchuan District	PC-24-2	<i>F. boothii</i>
陇东地区 华池县 East of Gansu Huachi County	6-2	<i>F. boothii</i>	陇中地区 平川区 Center of Gansu Pingchuan District	PC-16-1	<i>F. boothii</i>
陇东地区 华池县 East of Gansu Huachi County	6-4	<i>F. boothii</i>	陇中地区 平川区 Center of Gansu Pingchuan District	PC-22-2	<i>F. boothii</i>
陇东地区 华亭县 East of Gansu Huating County	15-7	<i>F. boothii</i>	陇中地区 平川区 Center of Gansu Pingchuan District	PC-17-1	<i>F. boothii</i>
陇东地区 华亭县 East of Gansu Huating County	15-5	<i>F. boothii</i>	陇中地区 平川区 Center of Gansu Pingchuan District	PC-15-1	<i>F. boothii</i>
陇东地区 华亭县 East of Gansu Huating County	15-9	<i>F. boothii</i>	陇中地区 平川区 Center of Gansu Pingchuan District	PC-24-1	<i>F. boothii</i>
陇东地区 华亭县 East of Gansu Huating County	15-1	<i>F. boothii</i>	陇中地区 靖远县 Center of Gansu Jingyuan County	YJ-10-1	<i>F. boothii</i>
陇东地区 华亭县 East of Gansu Huating County	15-2	<i>F. boothii</i>	陇中地区 靖远县 Center of Gansu Jingyuan County	YJ-11-2	<i>F. boothii</i>
陇东地区 华亭县 East of Gansu Huating County	15-13	<i>F. boothii</i>	陇中地区 靖远县 Center of Gansu Jingyuan County	YJ-6-2	<i>F. boothii</i>
陇东地区 合水县 East of Gansu Heshui County	22-4	<i>F. boothii</i>	陇中地区 靖远县 Center of Gansu Jingyuan County	YJ-1-1	<i>F. graminearum</i>
陇东地区 合水县 East of Gansu Heshui County	22-5	<i>F. graminearum</i>	陇中地区 靖远县 Center of Gansu Jingyuan County	YJ-20-2	<i>F. boothii</i>
陇东地区 合水县 East of Gansu Heshui County	22-9	<i>F. boothii</i>	陇中地区 通渭县 Center of Gansu Tongwei County	TW-30	<i>F. boothii</i>
陇东地区 合水县 East of Gansu Heshui County	22-11	<i>F. boothii</i>	陇中地区 通渭县 Center of Gansu Tongwei County	TW-12	<i>F. boothii</i>
陇东地区 合水县 East of Gansu Heshui County	22-1	<i>F. boothii</i>	陇中地区 通渭县 Center of Gansu Tongwei County	TW-9	<i>F. boothii</i>
陇东地区 合水县 East of Gansu Heshui County	22-6	<i>F. boothii</i>	陇中地区 通渭县 Center of Gansu Tongwei County	TW-21	<i>F. boothii</i>
陇东地区 崆峒区 East of Gansu Kongtong District	KTQ14-1-2	<i>F. graminearum</i>	陇中地区 通渭县 Center of Gansu Tongwei County	TW-37	<i>F. boothii</i>
陇东地区 崆峒区 East of Gansu Kongtong District	KTQ-2-1	<i>F. graminearum</i>	陇中地区 通渭县 Center of Gansu Tongwei County	TW-26	<i>F. boothii</i>
陇东地区 崆峒区 East of Gansu Kongtong District	KTQ-5-2	<i>F. graminearum</i>	陇中地区 安定区 Center of Gansu Anding District	AD-14	<i>F. boothii</i>
陇东地区 崆峒区 East of Gansu Kongtong District	KTQ-4	<i>F. graminearum</i>	陇中地区 安定区 Center of Gansu Anding District	AD-13	<i>F. graminearum</i>
陇东地区 崆峒区 East of Gansu Kongtong District	KTQ-7	<i>F. graminearum</i>	陇中地区 会宁县 Center of Gansu Huining County	ZC-14	<i>F. boothii</i>
陇东地区 崆峒区 East of Gansu Kongtong District	KTQ-19	<i>F. graminearum</i>	陇中地区 会宁县 Center of Gansu Huining County	ZC-1	<i>F. boothii</i>
陇东地区 崆峒区 East of Gansu Kongtong District	KTQ-16	<i>F. graminearum</i>	陇中地区 会宁县 Center of Gansu Huining County	ZC-7	<i>F. boothii</i>
陇东地区 泾川县 East of Gansu Jingchuan County	JCHX-19-1	<i>F. graminearum</i>	陇中地区 会宁县 Center of Gansu Huining County	ZC-8	<i>F. boothii</i>

近,遗传变异主要来源于群体内。

Shannon's 信息指数和 Nei's 基因多样性指数均以陇中为最高,分别为 0.608 7 和 0.422 9,表明该地区菌株的基因丰富度最高;陇东地区的次之,分别为 0.601 7 和 0.416 8;而陇南地区的则分别为 0.564 1 和 0.392 6;河西走廊的最低,分别为 0.501 7 和 0.343 2,说明基因多样性与地理区域有较大的相关性。4 大生态区 Shannon's 信息指数均在 0.50 以上,Nei's 基因多样性指数均在 0.34 以上,表明甘肃省禾谷镰孢复合种群遗传多样性十分丰富。如表 4 所示,4 个生态区禾谷镰孢复合种的有效等位基因数(Ne)在 1.612 6~1.775 7,平均有效等位基因数为 1.714 0;多态位点百分率在 88.46%~100%,平

均为 95.19%;多态位点数在 23~26,平均为 24.75。研究结果表明,甘肃陇东地区和陇中地区菌株遗传多样性最为丰富。

2.4 禾谷镰孢复合种种群的遗传相似度和遗传距离

如表 4 所示,陇中地区和陇东地区的遗传距离最小,为 0.033 1,两者的遗传相似度最大,为 0.967 4,说明两地禾谷镰孢复合种菌株基因组成最接近;而陇东和陇南地区的遗传相似度最小,为 0.888 0,其遗传距离最大,为 0.118 8,说明两地菌株间差异性最大,亲缘关系最远。4 个地区间遗传相似度为 0.888 0~0.967 4,Nei's 遗传距离为 0.033 1~0.118 8(表 5),4 个生态地区的菌株均具有丰富的遗传多样性。

表 4 4 个不同生态区禾谷镰孢复合种种群的遗传变异参数

地理种群 Geographical groups	等位基因数 Number of alleles	有效等位基因数 Effective number of alleles	Nei's 基因多样性指数 Nei's gene diversity	Shannon 信息指数 Shannon's information index	多态性位点数 Number of polymorphic loci	多态位点百分率/% Percentage of polymorphic loci
陇南地区 South of Gansu	1.923 1	1.712 4	0.392 6	0.564 1	24	92.31
陇东地区 East of Gansu	2	1.755 3	0.416 8	0.601 7	26	100.00
陇中地区 Center of Gansu	2	1.775 7	0.422 9	0.608 7	26	100.00
河西走廊 Hexi Corridor	1.884 6	1.612 6	0.343 2	0.501 7	23	88.46
平均值 Average	1.951 9	1.714 0	0.393 9	0.569 1	24.75	95.19

表 5 甘肃不同生态区禾谷镰孢复合种种群的遗传相似度和遗传距离

Table 5 Genetic similarity coefficient and genetic distance among different geographical groups of <i>F. graminearum</i> species complex among four different geographical populations in Gansu				
地理种群 Geographical groups	陇南地区 Southern of Gansu	陇东地区 Eastern of Gansu	陇中地区 Middle of Gansu	河西走廊 Hexi corridor
陇南地区 South of Gansu	* * * *	0.888 0	0.947 7	0.941 2
陇东地区 East of Gansu	0.118 8	* * * *	0.967 4	0.889 2
陇中地区 Center of Gansu	0.053 7	0.033 1	* * * *	0.950 3
河西走廊 Hexi Corridor	0.060 6	0.1174	0.050 9	* * * *

注:对角线上方为遗传相似度,对角线下方为遗传距离。

Note:Nei's genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal).

2.5 聚类分析

依据遗传相似度,用 NTSYSpc version 2.11 软件对 4 个地区种群进行聚类分析(图 2),当遗传相似系数为 0.938 0 时,4 个生态群体被聚为 3 个分支。陇南地区与河西走廊的菌株各自聚为一大类群,分别为第Ⅰ类群和第Ⅱ类群;而陇东地区和陇中地区的菌株共同聚为一大类,为第Ⅲ类群。

结果表明,陇东地区和陇中地区禾谷镰孢复合种群亲缘关系最为接近,4 个生态区禾谷镰孢复合种群按其亲缘关系可分为 3 大类,其遗传亲缘关系与地理来源有一定的相关性。

2.6 禾谷镰孢复合种种群变异分析

禾谷镰孢复合种不同地理种群的基因变异方差分析表明,在 3 大类群间的遗传变异为 5.5%,

4 个种群间的变异占总变异的 3.79%,种群内的变异占总变异的 90.71%,同时 $P < 0.001 0$ (表

6),表明禾谷镰孢复合种种群的遗传变异主要发生于种群内部。

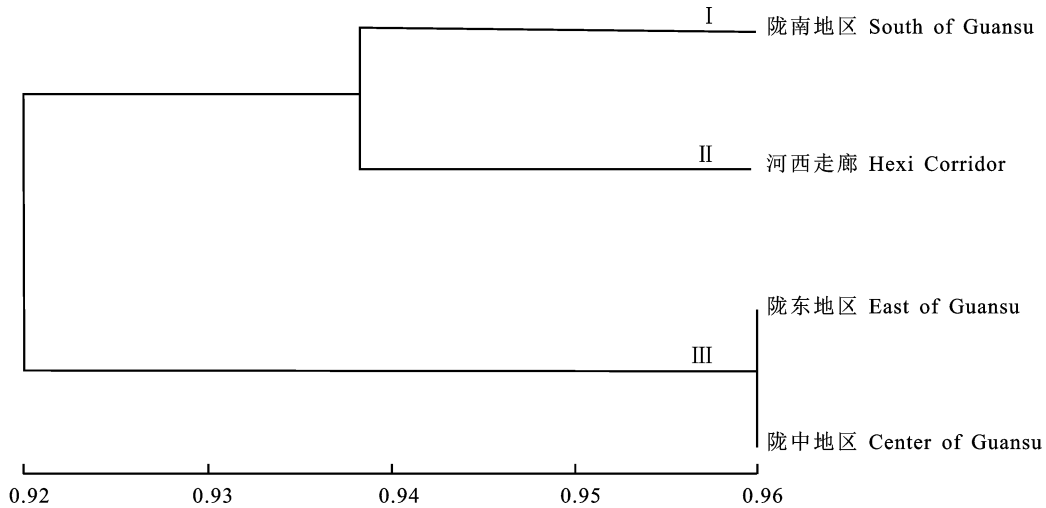


图 2 禾谷镰孢复合种 4 个地理种群的 UPGMA 聚类图

Fig. 2 The UPGMA cluster map of 4 geographical populations of *F. graminearum* species complex

表 6 禾谷镰孢复合种地理种群的种群变异分析

Table 6 Analysis of molecular variance of *F. graminearum* species complex for geographical populations

变异来源 Source of variance	自由度 df	平方和 SS	总变异百分率/% PV	P 值 P value
类群间 Among groups	2	35.355 4	5.5	$<0.001 0$
种群间 Among populations	3	9.510 6	3.79	0.162 8
种群内 Within populations	108	459.958 6	90.71	$<0.001 0$
总计 Total	113	504.824 6		

3 结论与讨论

为明确甘肃 4 大生态区玉米镰孢茎腐病优势病原菌禾谷镰孢复合种遗传多样性,应用 8 个 VNTR 标记和 10 个 SSR 标记对自甘肃省 4 大生态区选取的 114 株禾谷镰孢复合种菌株进行分析,按遗传相似度划分为 3 大类群,表明禾谷镰孢复合种的亲缘关系与菌株的地理来源有一定相关性。Qu 等^[26]研究表明,来自中国不同地区的禾谷镰孢菌群体存在高度的遗传多样性,整个群体可分为两个类群,两个类群有不同的地理分布特征,每个类群又可进一步划分为几个亚类。与贺小伦等^[27]对来自河南和河北冬小麦区收集的假禾谷镰孢菌株(*F. pseudograminearum*)进行遗传多样性研究,发现相似系数为 0.966 时,来自 6 个地理群体的 166 株菌被划分成 2 个大的类群;马红霞等^[28]以相似系数 0.56 为标准,将来自 11 个省(自治区)禾谷镰孢复合种的 92 个菌株划分

成 9 个类群;任旭等^[17]将 46 株禾谷镰孢复合种菌株以遗传相似系数 0.45 为标准划分为 3 个类群;何婧^[29]在相似系数为 0.682 时,将 115 株禾谷镰孢划分为 2 个类群等研究结果相吻合,进一步说明禾谷镰孢复合种群体具有丰富遗传多样性且存在较明显的生态地理类型。

本研究发现,甘肃 4 个不同生态区禾谷镰孢复合种种群遗传变异主要来自种群内部。许多学者采用多种分子技术对禾谷镰孢的遗传多样性进行分析,得出的结果与本研究一致,如陈捷等^[30]应用 RAPD 技术明确禾谷镰孢菌群间的遗传变异性,易受地域、环境和寄生部位选择作用的影响,出现明显的遗传分化特征;纪莉景^[31]利用 *TEF-1 α* 基因测序结合 RAPD 技术发现中国部分地区玉米穗腐病和小麦赤霉病致病菌包括禾谷镰孢、亚洲镰孢(*F. asiaticum*)和布氏镰孢 3 个类群,且不同地理来源的类群内的菌株均存在丰富的遗传多样性;何婧^[29]使用 ISSR 标记对玉米茎

腐病致病菌禾谷镰孢分析发现,禾谷镰孢即使在同一聚类分支或是同一地区的菌株在遗传多样性上也存在差异,表明禾谷镰孢菌株间有明显的生理分化;Talas 等^[32]利用高通量测序技术对德国 13 块试验田的 213 个禾谷镰孢菌株进行群体基因组学分析,发现田块内群体具有较高的遗传多样性。

本研究首次阐释甘肃省玉米茎腐病优势致病菌禾谷镰孢复合种具有较为丰富的遗传多样性,根据遗传相似度将 4 个生态区的菌群划分为 3 大类群,且其种群遗传变异主要来自种群内部,但其致病力、产毒类型和种群地理分布特征三者之间是否存在相关性有待进一步研究。

参考文献 Reference:

- [1] 秦子惠,任旭,江凯,等.我国玉米穗腐病致病镰孢种群及禾谷镰孢复合种的鉴定[J].植物保护学报,2014,41(5):589-596.
QIN Z H,REN X,JIANG K,*et al.* Identification of *Fusarium* species and *F. graminearum* species complex causing maize ear rot in China[J]. *Journal of Plant Protection*, 2014,41(5):589-596.
- [2] 王晓娟,何海军,寇思荣,等.种植密度对不同品种青贮玉米生物产量和品质的影响[J].草业科学,2019,36(1):169-177.
WANG X J,HE H J,KOU S R,*et al.* Effect of different planting densities on bio mass yield and quality for various varieties of silage maize[J]. *Pratacultural Science*, 2019,36(1):169-177.
- [3] 杨洋,陈国康,郭成,等.玉米种质资源抗霉菌茎腐病鉴定[J].作物学报,2018,44(8):1256-1260.
YANG Y,CHEN G K,GUO CH,*et al.* Identification of maize germplasm for resistance to *Pythium* stalk rot[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2018,44(8):1256-1260.
- [4] 段灿星,王晓鸣,武小菲,等.玉米种质和新品种对霉菌茎腐病和镰孢穗腐病的抗性分析[J].植物遗传资源学报,2015,16(5):948-955.
DUAN C X,WANG X M,WU X F,*et al.* Analysis of maize accessions resistance to *Pythium* stalk rot and *Fusarium* ear rot[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2015,16(5):948-955.
- [5] 郭成,王宝宝,杨洋,等.玉米茎腐病研究进展[J].植物遗传资源学报,2019,20(5):1118-1128.
GUO CH,WANG B B,YANG Y,*et al.* Advances in studies of maize stalk rot[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2019,20(5):1118-1128.
- [6] KHOKHAR M K,HOODA K S,SHARMA S S,*et al.* Post flowering stalk rot complex of maize-present status and future prospects[J]. *Maydica*, 2014,59(3):226-242.
- [7] 李红菊,李晓迪,陈思怡,等.套作大豆根腐病与玉米茎腐病致病镰孢菌的相互侵染关系研究[J].四川农业大学学报,2020,38(5):551-557.
LI H J,LI X D,CHEN S Y,*et al.* Infection relationship of *Fusarium* spp. causing soybean root rot and maize stalk rot in maize-soybean relay strip intercropping [J]. *Journal of Sichuan Agricultural University*, 2020,38(5):551-557.
- [8] 袁丁,何鹏飞,吴毅歆,等.玉米茎腐、鞘腐、穗腐病中不同镰孢菌间关系研究[J].西南农业学报,2017,30(6):1340-1345.
YUAN D,HE P F,WU Y X,*et al.* Analysis of relationship among *Fusarium* pathogens of stalk,ear and sheath rots of maize[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2017,30(6):1340-1345.
- [9] 蒲乐凡,任慧,欧杨晨,等.小麦茎基腐病和赤霉病抗源筛选及关联 SNP 位点分析[J].麦类作物学报,2020,40(7):780-788.
PU L F,REN H,OU Y CH,*et al.* Screening of germplasms resistant to crown rot and *Fusarium* head blight and the associated SNPs in wheat[J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2020,40(7):780-788.
- [10] 邢小萍,张娅珂,刘庆强,等.黄淮麦区小麦品种对两种镰孢菌(*Fusarium*)的抗性鉴定[J].植物遗传资源学报,2020,21(5):1058-1067.
XING X P,ZHANG Y K,LIU Q Q,*et al.* Evaluation of resistance of wheat varieties to two species of *Fusarium* in wheat-producing area of Huang-Huai [J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2020,21(5):1058-1067.
- [11] SUN L,WANG L,LIU L M,*et al.* Infection and colonization of pathogenic fungus *Fusarium proliferatum* in rice spikelet rot disease[J]. *Rice Science*, 2019,26(1):60-68.
- [12] 祝雯,詹家绥.植物病原物的群体遗传学[J].遗传,2012,34(2):157-166.
ZHU W,ZHAN J S. Population genetics of plant pathogens [J]. *Heredity*, 2012,34(2):157-166.
- [13] 李新凤,王建明,姜晓东,等.拟轮枝镰孢菌 EST-SSR 信息分析与标记开发[J].植物保护学报,2018,45(4):819-826.
LI X F,WANG J M,JIANG X D,*et al.* EST-SSR information analysis and marker development for genetic diversity analysis of *Fusarium verticillioides*[J]. *Journal of Plant Protection*, 2018,45(4):819-826.
- [14] LAURENT B,MOINARD M,SPATARO C,*et al.* Landscape of genomic diversity and host adaptation in *Fusarium graminearum*[J]. *BMC Genomics*, 2017,18(1):203.
- [15] 孙华,丁梦军,张家齐,等.河北省玉米穗腐病病原菌鉴定及潜在产伏马毒素镰孢菌系统发育分析[J].植物病理学报,2019,49(2):151-159.
SUN H,DING M J,ZHANG J Q,*et al.* Identification of pathogens causing maize ear rot and the phylogenetic analysis of fumonisins-producing *Fusarium* species in Hebei province [J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2019,49(2):

- 151-159.
- [16] YERKOVICH N, FUMERO M V, CANTORO R, *et al.* Population structure and genetic diversity of *Fusarium graminearum* sensu stricto, the main wheat pathogen producing *Fusarium* head blight in Argentina[J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2020, 156(2): 635-646.
- [17] 任 旭, 朱振东, 李洪杰, 等. 轮枝镰孢 SSR 标记开发及在玉米分离群体遗传多样性分析中的应用[J]. 中国农业科学, 2012, 45(1): 52-66.
- REN X, ZHU ZH D, LI H J, *et al.* SSR marker development and analysis of genetic diversity of *Fusarium verticillioides* isolated from maize in China[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2012, 45(1): 52-66.
- [18] LOFGREN L A, LEBLANC N R, CERTANO A K, *et al.* *Fusarium graminearum*: pathogen or endophyte of North American grasses[J]. *New Phytologist*, 2018, 217(3): 1203-1212.
- [19] JAYANAND B, SEUNGHO C, WARREN M, *et al.* Transcriptome analysis of the barley *Fusarium graminearum* interaction[J]. *The American Phytopathological Society*, 2006, 19(4): 407-417.
- [20] ESCRIV L, FONT G, MANYES L. In vivo toxicity studies of *Fusarium* mycotoxins in the last decade: a review[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2015, 78: 185-206.
- [21] AAMOT H U, WARD T J, BRODAL G, *et al.* Genetic and phenotypic diversity within the *Fusarium graminearum* species complex in Norway [J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2015, 142(3): 501-519.
- [22] 黄立飞, 陈景益, 房伯平, 等. 甘薯茎腐病菌的遗传多样性及致病力差异分析[J]. 植物保护学报, 2018, 45(6): 1227-1234.
- HUANG L F, CHEN J Y, FANG B P, *et al.* Pathogenic differentiation and genetic diversity of *Dickeya dadantii* causing bacterial stem and root rot of sweetpotato [J]. *Journal of Plant Protection*, 2018, 45(6): 1227-1234.
- [23] 康彦平, 雷 永, 万丽云, 等. 我国长江流域和南方地区花生青枯菌遗传多样性分析[J]. 植物保护学报, 2019, 46(2): 291-297.
- KANG Y P, LEI Y, WAN L Y, *et al.* Study on genetic diversity of bacterium *Ralstonia solanacearum* in peanut in Yangtze River Valley and southern China [J]. *Journal of Plant Protection*, 2019, 46(2): 291-297.
- [24] 马秉元, 李亚玲, 段双科. 陕西省关中地区玉米青枯病病原菌及其致病性的研究[J]. 植物病理学报, 1985, 15(3): 150-152.
- MA B Y, LI Y L, DUAN SH K. Studies on the pathogen and pathogenicity of maize bacterial wilt in Guanzhong area of Shanxi province[J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 1985, 15(3): 150-152.
- [25] BURGESS L W, SUMMERELL B A, BULLOCK S, *et al.* Laboratory Manual for *Fusarium* Research [M]. 3rd ed. Sydney: University of Sydney Press, 1994: 13-14.
- [26] QU B, LI H P, ZHANG J B. Geographic distribution and genetic diversity of *Fusarium graminearum* and *F. asiaticum* on wheat spikes throughout China[J]. *Plant Pathology*, 2008, 57(1): 15-24.
- [27] 贺小伦, 周海峰, 袁虹霞, 等. 河南和河北冬小麦区假禾谷镰孢的遗传多样性[J]. 中国农业科学, 2016, 49(2): 272-281.
- HE X L, ZHOU H F, YUAN H X, *et al.* Genetic diversity of *Fusarium pseudograminearum* collected from Henan and Hebei winter wheat regions [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2016, 49(2): 272-281.
- [28] 马红霞, 孙 华, 郭 宁, 等. 禾谷镰孢复合种毒素化学型及遗传多样性分析[J]. 中国农业科学, 2018, 51(1): 82-95.
- MA H X, SUN H, GUO N, *et al.* Analysis of toxigenic chemotype and genetic diversity of the *Fusarium graminearum* species complex[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2018, 51(1): 82-95.
- [29] 何 婧. 玉米茎腐病病原菌分离鉴定与镰孢菌群体遗传多样性研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2010.
- HE J. Isolation, identification of causal agents of maize stalk rot and genetic diversity analysis of *Fusarium* spp [D]. Urumqi: Xinjiang Agricultural University, 2010.
- [30] 陈 捷, 邹庆道, 高增贵, 等. 玉米穗腐病和茎基腐病镰孢菌间相关性的 RAPD 分析[J]. 植物病理学报, 2003, 33(1): 25-29.
- CHEN J, ZOU Q D, GAO Z G, *et al.* Relationship of *Fusarium* fungi associated with ear rot and stalk rot in maize by RAPD technique[J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2003, 33(1): 25-29.
- [31] 纪莉景. 中国不同生态地区禾谷镰刀菌种群分化及遗传多样性分析[D]. 保定: 河北农业大学, 2007.
- JI L J. Population and genetic diversity of *Fusarium graminearum* clade from different ecological regions of China [D]. Baoding: Hebei Agricultural University, 2007.
- [32] TALAS F, MCDONALD B A. Genome-wide analysis of *Fusarium graminearum* field populations reveals hotspots of recombination[J]. *BMC Genomics*, 2015, 16: 996.

Genetic Diversity of *Fusarium graminearum* Species Complex from Maize *Fusarium* Stalk Rot in Gansu

GUO Cheng^{1,2}, WANG Baobao³, DENG Dong⁴, ZHANG Xiaojie⁵,
WANG Chunming¹, ZHOU Tianwang¹, LI Minquan^{1,2} and GUO Zhijie¹

(1. Institute of Plant Protection, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730070, China; 2. Pratacultural College, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China; 3. Shijiazhuang Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Shijiazhuang 050041, China; 4. Institute of Crop Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China; 5. College of Plant Protection, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

Abstract In order to clarify the genetic diversity of the geographical population of *Fusarium graminearum* species complex (FGSC), the dominant pathogen of maize stalk rot in Gansu Province, samples were collected from four ecological regions of Gansu Province in 2015 and 2017. After tissue isolation and identification, 114 representative strains of FGSC were selected, and the genetic diversity and genetic relationships among populations were analyzed using SSR and VNTR primers combined with POPGENE version 1.32 and NTSYSpc 2.11, respectively. The results showed that a total of 26 polymorphic loci were detected, the fragment size was between 50 and 300 bp, and the average number of bands amplified by each pair of primers was 1.44. The average number of alleles in the four geographical populations was 1.951 9, the effective number of alleles was 1.714 0, the Nei's genetic diversity index was 0.393 9, the Shannon information index was 0.569 1, the number of polymorphic loci was 24.75, and the percentage of polymorphic loci was 95.19%. The Nei's genetic similarity between the four geographical populations ranged from 0.888 0 to 0.967 4, with a genetic distance of 0.033 1 to 0.118 8. The analysis showed that the genetic variation associated with FGSC came mainly from within the population, accounting for 90.71% of the total variation. Near the genetic similarity coefficient of 0.938 0, the geographic populations of FGSC were divided into three large groups: group I in Longnan, group II in the Hexi Corridor, and group III in the Longdong and Longzhong areas.

Key words Gansu; maize; *Fusarium* stalk rot; *F. graminearum* species complex; genetic diversity.

Received 2021-05-27

Returned 2021-08-06

Foundation item Young Science and Technology lifting Engineering talents of Gansu Province (No. 2020-18); Doctor Foundation of Gansu Academy of Agricultural Sciences (No. 2020GAAS33).

First author GUO Cheng, male, Ph. D, associate professor. Research area: maize diseases and resistance identification. E-mail: gsguoch@126.com

Corresponding author LI Minquan, male, Ph. D, professor. Research area: plant pathology. E-mail: lmq@gsau.edu.cn

GUO Zhijie, male, bachelor, associate professor. Research area: comprehensive management of crop diseases and pests. E-mail: guozhijie@gsagr.ac.cn

(责任编辑: 郭柏寿 Responsible editor: GUO Baishou)