

# 用两个微卫星标记分析云南马铃薯晚疫病菌的遗传多样性

赵志坚<sup>1</sup>, 曹继芬<sup>1</sup>, 杨明英<sup>1</sup>, 孙道旺<sup>1</sup>, 李先平<sup>2</sup>, 杨万林<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>云南省农业科学院农业环境资源研究所植物病理实验室, 昆明 650205; <sup>2</sup>云南省农业科学院经济作物研究所马铃薯中心, 昆明 650205)

**摘要:**【目的】检测不同马铃薯产区晚疫病菌基因型的特征, 揭示马铃薯晚疫病菌群体的进化潜能和演替。【方法】用已开发出来的微卫星标记 (SSR) 对云南省 23 个马铃薯产区的晚疫病菌群体的遗传结构进行研究。【结果】在两个 SSR 位点 Pi4B 和 Pi4G 上共检测到 8 个等位基因, 占优势的等位基因是 218 和 161, 基因频率分别为 84.02%、32.52%。在分析的 235 个云南晚疫病菌菌株中, 检测到 18 个不同的 SSR 基因型, 其中 8 个新的 SSR 基因型谱系 H-03、H-04、H-05、H-06、H-07、I-01、J-01 和 K-01 被首次检测到; SSR 基因型 D-03、D-05、H-01 和 H-05 是云南马铃薯晚疫病菌群体的优势谱系, 在云南的群体中所占的比例分别为 20.85%、22.98%、15.32% 和 19.57%, 分布于云南的大部分马铃薯产区。【结论】云南马铃薯晚疫病菌群体遗传多样性在地理分布上差异明显, 滇中多季作种植区晚疫病菌群体显示了较高的遗传多样性, 滇南冬播作一季种植区群体结构单一。有证据表明中国云南晚疫病菌群体与其它国家 20 世纪 80 年代后出现的晚疫病菌群体在遗传上存在关联。

**关键词:** 马铃薯; 晚疫病菌; 微卫星标记; 遗传多样性

## Genetic Diversity of *Phytophthora infestans* of Potato in Yunnan Based on Two Microsatellite (SSR) Markers

ZHAO Zhi-jian<sup>1</sup>, CAO Ji-fen<sup>1</sup>, YANG Ming-ying<sup>1</sup>, SUN Dao-wang<sup>1</sup>, LI Xian-ping<sup>2</sup>, YANG Wan-lin<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>Laboratory of Plant Pathology, Agricultural Environment & Resource Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650205; <sup>2</sup>Potato Center, Industrial Crop Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650205)

**Abstract:** 【Objective】 This study was performed to detect the genotypic characteristics of *Phytophthora infestans* populations and reveal the evolutionary potential and replacement of pathogen. 【Method】 The population genetic structure of *P. infestans* of potato collected from twenty three potato regions in Yunnan was analyzed based on the developed microsatellite markers (SSR). 【Result】 Eight alleles were detected on two SSR loci, Pi4B and Pi4G, from Yunnan populations. The 218 and 161 alleles were predominant SSR ones among eight alleles and the gene frequency was 84.02% and 32.52%, respectively. Total eighteen different SSR genotypes were determined among 235 isolates and eight new SSR genotypic lineages, H-03, H-04, H-05, H-06, H-07, I-01, J-01 and K-01, were firstly detected worldwide. The SSR genotypes, D-03, D-05, H-01 and H-05, were main lineages among populations, which spread out most potato production regions, having genotypic ratio 20.85%, 22.98%, 15.32% and 19.57%. 【Conclusion】 The geographical distribution of genotypic diversity of *P. infestans* populations is different significantly in Yunnan. The genetic diversity of *P. infestans* populations in middle multiple cropping zones is high, however, that in south winter planting zones is low. The strong genetic evidence shows that the populations of *P. infestans* in Yunnan are related to those of other countries occurred after the second worldwide migration of *P. infestans*.

**Key words:** Potato; *Phytophthora infestans*; Microsatellite marker; Genetic diversity

## 0 引言

【研究意义】群体遗传结构反映了病原真菌、卵

菌的进化史及其演替潜能, 认识植物病原真菌、卵菌的群体特征及其演替潜能对抗病育种以及开发更有效的病害控制策略具有重要的意义。【前人研究进展】

收稿日期: 2007-11-05; 接受日期: 2008-02-22

基金项目: 云南省自然科学基金项目 (2000C0096M, 2004C0024Q), 云南省“十五”科技攻关重点项目 (2002NC09), 中国国家外国专家局资助项目 (CG2005530006), 公益性行业科研专项 (nyhyzx07-053-02)

作者简介: 赵志坚 (1972-), 男, 云南昭通人, 副研究员, 硕士, 研究方向为致病疫霉遗传学。Tel: 0871-5893975; E-mail: zhijianzhao@hotmail.com

基于 DNA 分子的标记技术在植物病原菌的系统分类、鉴定诊断、病原菌的群体遗传以及病原菌的毒性变异机制等研究中发挥了重要作用<sup>[1,2]</sup>。微卫星标记 (microsatellite markers or simple sequence repeats, SSR), 是近年发展起来的一种新型的 DNA 标记, 以 1~6 bp 的短核苷酸为基本单位, 呈串联重复状广泛分布于生物体整个基因组, 由于重复单元数目不同而呈现高度多态性。具有多态性高、共显性遗传、重复性高、易检测等优点, 在分子标记辅助育种、构建遗传图谱、度量物种遗传多样性及系统发育等研究中显示出巨大的优势<sup>[3]</sup>。自从 20 世纪 80 年代初期在墨西哥以外的地区发现晚疫病菌 A2 交配型后, 对晚疫病菌群体遗传多样性、起源、进化和变异的研究成为植物病理学研究的热点领域之一<sup>[4-6]</sup>。Tooley 等<sup>[7]</sup>首先使用等位酶标记如 6-磷酸葡萄糖异构酶 (GPI) 和肽酶 (PEP) 对晚疫病菌有性和无性群体的特征进行了分析。此后, 随着新的标记技术的发展, 许多学者先后用 RFLP、RAPD、AFLP 和 SSR 等标记技术分别对北美洲、南美洲、西欧、东欧、北欧、中东、东亚、非洲等许多国家和地区晚疫病菌群体的遗传多样性、群体的起源进化及演替进行了研究, 世界各地晚疫病菌群体的遗传结构发生了巨大的变化<sup>[8-12]</sup>, 而这些变化与晚疫病菌历史上的第二次全球迁移密切相关<sup>[8,9,13,14]</sup>。中国是世界上马铃薯种植面积最大的国家, 每年因晚疫病造成的损失达 10 亿美元以上<sup>[15]</sup>, 但直到 1996 年张志铭等<sup>[16]</sup>首次报道了在中国山西和内蒙古发现晚疫病菌 A2 交配型以后, 才激发了中国研究人员对晚疫病菌群体组成的关注。近年来中国在晚疫病菌交配型、生理小种组成以及甲霜灵敏感性等方面已开展了一些研究<sup>[17-21]</sup>。【本研究切入点】尽管包括 A2 交配型在内的“新”群体已在中国马铃薯产区晚疫病的发生和流行中起作用, 然而迄今为止, 对中国晚疫病菌群体遗传特征的了解却非常有限<sup>[22-25]</sup>; 对中国晚疫病菌群体与其它国家群体之间的联系尚不清楚。【拟解决的关键问题】本研究利用微卫星标记首次对云南省马铃薯晚疫病菌群体遗传特征进行研究, 以期对云南的晚疫病菌群体遗传多样性进行监测, 明确云南晚疫病菌的基因型组成, 探索云南晚疫病菌群体可能的起源、迁移和进化。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

1.1.1 供试菌株 供试晚疫病菌菌株 235 个。根据云

南马铃薯主要种植区划<sup>[22]</sup>, 即滇东北、滇西北马铃薯大春作一季种植区、滇中马铃薯多季作种植区和滇南马铃薯冬作一季种植区的划分, 2000 年 7 月~2003 年 11 月从 23 个马铃薯产区采集晚疫病病样, 分离纯化所得。

1.1.2 标准基因型菌株及基因组 DNA 用作 SSR 标记的标准基因型菌株由荷兰瓦格宁根大学 Govers 博士惠赠; US-1、US-8 等已知基因型标准菌株的全基因组 DNA 由国际马铃薯中心 Nelson 博士惠赠。

1.1.3 病原菌基因组 DNA 提取 晚疫病菌全基因组 DNA 采用 Goodwin 等<sup>[8]</sup>的方法进行提取。

### 1.2 试验方法

1.2.1 PCR 扩增反应 选择晚疫病菌两个微卫星位点 Pi4B 和 Pi4G 进行 PCR 扩增, 按照 Knapova 等<sup>[26]</sup>报道的程序进行。反应体系为 25  $\mu$ l, 扩增程序为: 94 $^{\circ}$ C 预变性 3 min, 94 $^{\circ}$ C 变性 40 s, 58 $^{\circ}$ C 退火 40 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 20 s, 35 个循环, 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。扩增反应在 PCR 扩增仪 (PTC-200 Peltier Thermal Cycler) 上进行。各引物对的 PCR 反应分别进行 2 次, 并进行 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检查扩增效果。

1.2.2 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳及银染检测 PCR 扩增产物与适量上样缓冲液混匀后, 取 5~8  $\mu$ l 上样于 8% 的非变性聚丙烯酰胺凝胶, 200 V 电泳 3~4 h。参考《现代分子生物学实验技术》提供的方法进行银染。银染好的聚丙烯酰胺凝胶用 X 胶片观察灯进行条带的读取。

1.2.3 基因型的命名 将可重复的带型列入统计范围, 对比用作参照的已知基因型, 根据在两个微卫星位点上的各个等位基因出现带型与否, 按照 Knapova 等<sup>[26]</sup>报道的命名原则对各个菌株的 SSR 基因型进行命名。

1.2.4 遗传多样性的数据处理 根据在两个微卫星位点上 11 个等位基因银染带型的有无, 转换为二进制数据, 有条带的赋值为“1”, 无条带的赋值为“0”。

POPGENE 1.32 版软件被用于计算等位基因频率和 Shannon 多样性指数等群体遗传学参数。NTSYS-PC 2.0 版软件包被用于计算遗传相似性和聚类分析。根据公式  $S_{xy} = 2N_{xy} / (N_x + N_y)$  计算各 SSR 基因型间的相似系数, 其中  $N_{xy}$  代表基因型 X 与 Y 共有的带数,  $N_x$  代表 X 基因型的总带数,  $N_y$  代表 Y 基因型的总带数。根据所得的相似性结果以非加权算术平均组对法 (unweighted pair-group method with arithmetic averages, UPGMA) 进行聚类分析, 自动生成树状图。

## 2 结果与分析

### 2.1 云南马铃薯晚疫病菌的 SSR 等位基因及基因频率

对 2000~2003 年从云南省 23 个马铃薯产区获得的晚疫病菌 SSR 标记的结果表明: 在两个 SSR 位点 Pi4B 和 Pi4G 上共检测到 8 个等位基因, 其中 Pi4B 位点上检测到等位基因 206、214、218 和 226; Pi4G 上

检测到等位基因 159、161、163 以及 1 个无效的等位基因 (Null), 主要的等位基因是 214、218、159 和 161, 基因频率分别为 75.59%、84.02%、23.09% 和 32.52%。从云南现存的晚疫病菌群体中, 在位点 Pi4G 上检测到无效等位基因 (null), 其基因频率为 3.02%。把测定的全部 235 个云南晚疫病菌菌株作为 1 个群体, 其基因多样性的 Shannon 指数平均值为 0.2795, 参见表 1。

表 1 云南晚疫病菌群体中两个微卫星位点等位基因频率及多样性

Table 1 Frequency and diversity of alleles of two microsatellite loci of *P. infestans* population in Yunnan

SSR 位点 SSR locus	等位基因 Alleles	菌株数 Number of isolates	基因频率 Gene frequency	基因多样性 Gene diversity	Shannon 指数 Shannon's index
Pi4B	206	235	0.3035	0.4228	0.6138
	214	235	0.7559	0.3690	0.5557
	218	235	0.8402	0.2685	0.4393
	226	235	0.0064	0.0127	0.0387
Pi4G	157	235	0.0000	0.0000	0.0000
	159	235	0.2309	0.3552	0.5404
	161	235	0.3252	0.4389	0.6307
	163	235	0.0259	0.0504	0.1201
	165	235	0.0000	0.0000	0.0000
	177	235	0.0000	0.0000	0.0000
	无效等位基因 Null	235	0.0302	0.0587	0.1356
	平均 Mean		235		0.1797

### 2.2 云南晚疫病菌 SSR 基因型组成及遗传多样性

除了用作参照的 SSR 基因型 C-01(US-8)和 D-02(US-1) 谱系和标准菌株外, 分析的 235 个云南晚疫病菌菌株中, 18 个不同的 SSR 基因型被检测到, 其中 8 个新的 SSR 基因型谱系 H-03、H-04、H-05、H-06、H-07、I-01、J-01 和 K-01 被首次检测到, 在用于 SSR 标记分析的群体中没有检测到 C-01 和 D-02 基因型。参见表 2 及图 1。云南晚疫病菌群体遗传多样性在地理分布上差异明显, SSR 基因型 D-03、D-05、H-01 和 H-05 是云南晚疫病菌群体的主要谱系, 在云南的群体中所占的比例分别为 20.85%、22.98%、15.32% 和 19.57%, 分布于云南的大部分马铃薯产区。滇东北、滇西北大春一季作种植区和滇中多季作种植区拥有全部已检测到的 18 个 SSR 基因型谱系, 表现为较高的遗传多样性, 尤其是滇中多季作种植区内的嵩明和昆明, 分别有 13 个和 7 个不同的 SSR 基因型谱系, 分布着 13 个不同的 SSR 基因型谱系, 占云南晚疫病菌

基因型的 72.2%, 群体结构较为复杂。滇南冬播作一季种植区则只有 D-03、H-03 和 H-05 3 个谱系, 群体结构相对比较简单。

云南晚疫病菌 18 个 SSR 基因型谱系的相似率水平介于 36%~89%, 亲缘关系树状图如图 2 所示, 可以看出, 取相似率为 0.62 时, 包括 2 个参照在内的 20 个 SSR 基因型可以划分为 6 个组群, 即 A-03、F-01、D-03、H-05、D-06、H-07、I-01 和 J-01 归属于组群 I; B-03 和 G-02 归属于组群 II; D-01、H-03、D-02、H-04 和 H-06 归属于组群 III; D-05、H-01 和 F-03 归属于组群 IV; C-01 归属于组群 V; K-01 归属于组群 VI。在大部分马铃薯产区广泛分布的优势遗传谱系 D-03 和 H-05、D-05 和 H-01 亲缘关系较近; 用作参照的 D-02 与 H-04、H-06 亲缘关系较近; C-01 与自育型的 K-01 谱系较为特殊, 与其它谱系的亲缘关系较远, 分别被聚类为单独的组群。聚类分析的结果还显示 SSR 基因型与交配型或毒力结构之间没有明显相关性 (数据未



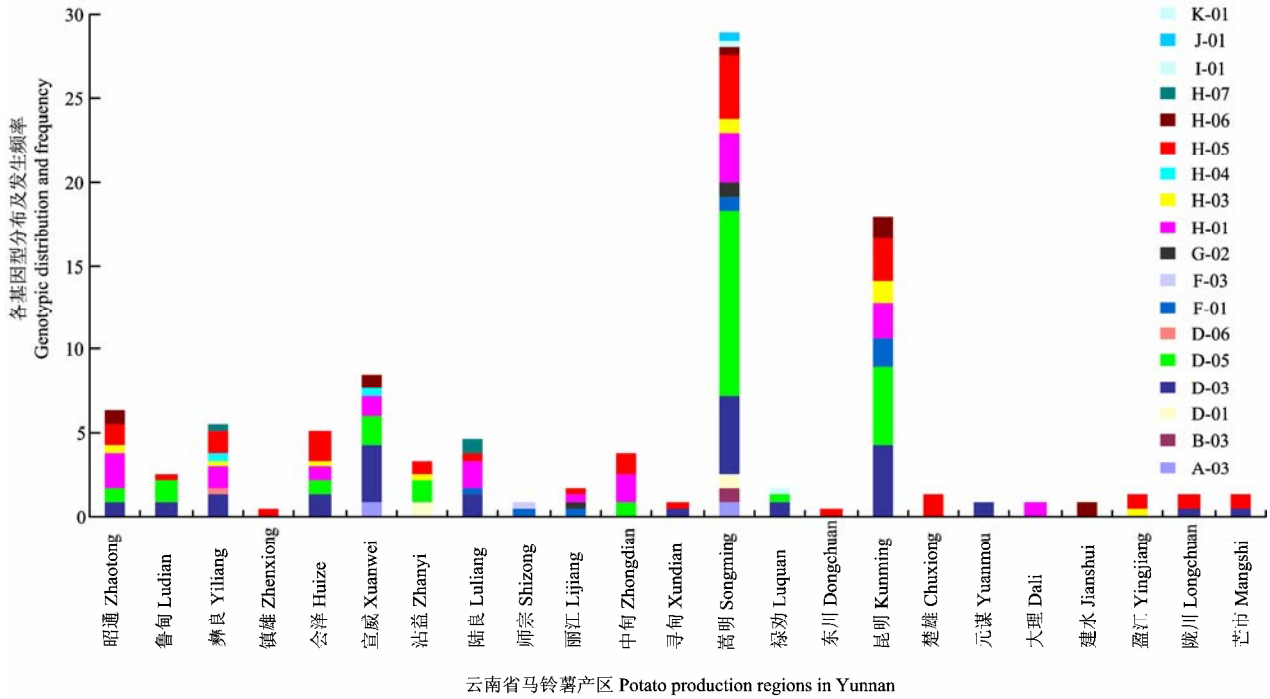


图 1 云南马铃薯晚疫病菌 SSR 基因型的地理分布

Fig. 1 Geographical distribution of different SSR genotypic lineages of *P. infestans* of potato in Yunnan

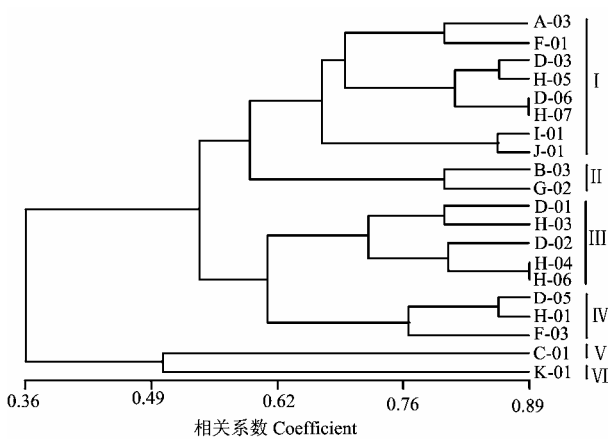


图 2 云南晚疫病菌群体不同 SSR 基因型的亲缘关系树状图  
Fig. 2 Genetic similarity and UPGMA dendrogram of SSR genotypic lineages of *P. infestans* population in Yunnan

显示)。

### 3 讨论

自 20 世纪 80 年代在除墨西哥以外的地区检测到晚疫病菌 A2 交配型以来, 基于等位酶、mtDNA 单倍型和 RG57 探针的标记被广泛用于晚疫病菌群体的遗

传多样性及其演替规律的研究, 从分子水平上揭示了晚疫病菌的遗传多样性分化、基因漂流、有性生殖以及“新”、“旧”群体在全球范围内的产生、迁移和替代<sup>[8,9,27~36]</sup>。

本研究首次用 SSR 标记对 2000~2003 年云南晚疫病菌的群体遗传多样性进行了研究。从云南省 23 个马铃薯产区获得的晚疫病菌菌株在两个 SSR 位点上检测到 8 个等位基因, 组成 18 个不同的 SSR 基因型谱系, 其中基因型 D-03、D-05、H-01 和 H-05 是优势谱系, 分布于云南的大部分马铃薯产区, 与 Knapova 等<sup>[26]</sup>研究的 1996~1997 年瑞士和法国群体中 A-03 和 A-06 基因型是马铃薯晚疫病菌的优势谱系有所不同。但是 A-03、B-03、D-03、D-05、D-06、F-01 和 G-02 等 7 个基因型是云南和瑞士、法国共有的基因型谱系, 与荷兰、墨西哥和美国 20 世纪 80 年代以后收集的菌株也存在相同的基因型, 如 H-01、D-02、D-03 和 D-05<sup>[26]</sup>, 而在这些不同国家检测到的相同 SSR 基因型均是伴随 20 世纪 80 年代晚疫病菌第二次全球迁移发生以后出现的“新”群体, 表明中国云南的晚疫病菌群体和这些国家的晚疫病菌群体存在着关联, 这些相同的基因型在多个地区通过独立起源(如突变、准性生殖、有性生殖)同时进化而来的可能性较小,

表 2 云南晚疫病菌群体 SSR 基因型组成、基因型频率及地理分布

Table 2 Distribution and frequency of SSR genotypes of *P. infestans* population in Yunnan

基因型 Genotype	基因位点 Pi4B Pi4B locus				基因位点 Pi4G Pi4G locus					菌株数 Number of isolates	基因型 频率(%) Frequency of genotype	地理分布 Geographical distribution	马铃薯 区划 Potato region	
	206	214	218	226	157	159	161	163	165					177
A-03			+				+				2	0.85	宣威、嵩明 Xuanwei, Songming	AB
B-03		+					+				2	0.85	嵩明 Songming	B
C-01		+		+			+			+	1		US-8 参照 Reference	
D-01		+	+								4	1.70	沾益、嵩明 Zhanyi, Songming	AB
D-02		+	+							+	1		US-1 参照 Reference	
D-03		+	+				+				49	20.85	昭通、鲁甸、彝良、宣威、会泽、陆良、嵩明、寻甸、禄劝、昆明、元谋、芒市、陇川 Zhaotong, Ludian, Yiliang, Xuanwei, Huize, Songming, Xundian, Luquan, Kunming, Yuanmou, Mangshi, Longchuan	ABC
D-05		+	+				+				54	22.98	昭通、鲁甸、宣威、会泽、沾益、中甸、嵩明、昆明、禄劝 Zhaotong, Ludian, Xuanwei, Huize, Zhanyi, Zhongdian, Songming, Kunming, Luquan	AB
D-06		+	+				+	+			1	0.42	彝良 Yiliang	A
F-01		+		+				+			9	3.83	陆良、师宗、丽江、嵩明、昆明 Luliang, Shizong, Lijiang, Songming, Kunming	AB
F-03		+		+			+				1	0.42	师宗 Shizong	A
G-02		+	+					+			3	1.28	丽江、嵩明 Lijiang, Songming	AB
H-01		+	+	+			+				36	15.32	昭通、彝良、宣威、会泽、陆良、中甸、嵩明、昆明、大理 Zhaotong, Yiliang, Luliang, Zhongdian, Songming, Kunming, Dali	AB
H-03		+	+	+							10	4.26	昭通、彝良、会泽、沾益、嵩明、昆明、盈江 Zhaotong, Yiliang, Huize, Zhanyi, Songming, Kunming, Yingjiang	ABC
H-04		+	+	+						+	2	0.85	彝良、宣威 Yiliang, Xuanwei	A
H-05		+	+	+				+			46	19.57	昭通、鲁甸、彝良、镇雄、会泽、沾益、陆良、中甸、丽江、嵩明、寻甸、东川、昆明、楚雄、盈江、芒市、陇川 Zhaotong, Ludian, Yiliang, Zhenxiong, Huize, Zhanyi, Luliang, Zhongdian, Lijiang, Songming, Dongchuan, Kunming, Chuxiong, Yingjiang, Mangshi, Longchuan	ABC
H-06		+	+	+				+	+		10	4.26	昭通、宣威、嵩明、昆明、建水 Zhaotong, Xuanwei, Songming, Kunming, Jianshui	ABC
H-07		+	+	+			+	+			3	1.28	彝良、陆良 Yiliang, Luliang	A
I-01			+	+				+			1	0.42	嵩明 Songming	B
J-01			+	+	+			+			1	0.42	嵩明 Songming	B
K-01		+		+			+	+			1	0.42	禄劝 Luquan	B

A: 滇东北、滇西北大春作一季种植区; B: 滇中多季作种植区; C: 滇南冬播作一季种植区

A: North-east and north-west spring planting zones; B: Middle multiple cropping zones; C: South winter planting zones

很可能是通过迁移传播而来的, 与晚疫病菌的第二次全球迁移密切相关<sup>[9,10,13~14]</sup>。这也与 80 年代末期以后云南从荷兰等西欧国家和外省大量输入种薯的贸易事件相符。由于目前用 SSR 标记分析的全球晚疫病菌群体特征的数据还十分有限, 尚不能确切地知道云南检测到的 8 个新的 SSR 基因型是通过迁移而来或是独立

起源的, 但其中有 5 个新的基因型主要是在 A1、A2 交配型共存的昆明、嵩明和宣威被检测到, 存在有性生殖产生新基因型的可能<sup>[37]</sup>。

云南晚疫病菌群体多样性在地理分布上差异明显, 滇东北、滇西北大春一季作种植区和滇中多季作种植区拥有为较高的遗传多样性, 尤其是滇中多季作

种植区内的嵩明和昆明, 这两个马铃薯产区也是晚疫病菌 A1、A2 交配型共存的地区, 群体结构较为复杂, 可能与潜在发生的有性生殖有关。而滇南冬播作一季种植区是最近农业产业结构调整后才逐渐种植马铃薯的, 该区内的盈江、陇川、芒市只有 D-03 或 H-04 两个遗传谱系, 群体结构相对单一, 而这两个谱系正是滇东北、滇西北大春一季作种植区和滇中多季作种植区的优势基因型, 很可能是通过种薯带菌迁移(基因漂流)后, 经过奠基者效应定殖的, 与滇南地区每年从滇中或滇西北大量调运种薯的种植习惯相符。

在滇中多季作种植区内没有检测到与发生有性生殖表现出的遗传多样性非常丰富的基因型, 目前看来, 可能与几个因素有关: (1) 有性生殖产生了遗传多样性丰富的基因型, 但在随后的年份中由于随机遗传漂变未检测到或有性生殖形成的卵孢子在云南马铃薯产区成功建立后代群体的数量有限; (2) “Red Queen”的产生, 有性生殖产生的后代中出现了有高度寄生适合度的“Red Queen”, 在各地群体的演替中迅速替代其它的基因型谱系, 导致遗传多样性降低<sup>[38]</sup>。最近云南马铃薯产区晚疫病菌的群体遗传结构发生戏剧性的变化, “Red Queen”可能是原因之一<sup>[23]</sup>。(3) 基因漂流阻止了遗传分化, 由于云南各个马铃薯产区间种薯调运频繁, 一旦有寄生适合度较高的遗传谱系, 很可能随种薯传播到各地, 通过演替成为当地的优势群体。(4) 采样策略及检测的样本量, 样本大小与所检测出的 SSR 位点的等位基因数及整体基因丰富度均呈正相关。由于诸多原因的限制, 本研究各个产区用于 SSR 标记分析的样本数量有限, 更多类型的基因型可能没有在检测的样本中体现出来。因此, 在进行遗传多样性分析时要充分考虑样本量对不同遗传多样性度量指标的影响。

此外, 为了便于与 Knapova 等<sup>[26]</sup>的研究结果进行比较, 本研究用于遗传标记的 SSR 位点数量较少, 检测到的等位基因是有限的, 可能会导致云南晚疫病菌群体遗传多样性的真实丰度偏低。故基于目前可供利用的晚疫病菌基因组序列, 更多具有多态位点的 SSR 标记需要进一步被开发<sup>[39]</sup>。

在自然和农业生态系统中, 植物病原真菌、卵菌的群体大小、随机遗传漂变、基因漂流、生殖方式、选择作用以及病原菌互作后出现的准性生殖、突变等现象都将引起病原物的群体组成和遗传结构发生改变<sup>[9,40]</sup>。因此, 即时监测、追踪其群体的动态及演化趋势, 对指导发展和制定植物病害新的有效控制策略

有重要的科学意义和价值。

## 4 结论

4.1 从云南省 23 个马铃薯产区获得的晚疫病菌菌株检测到 18 个不同的 SSR 基因型谱系, 其中 4 个基因型是优势谱系, 分布于云南的大部分马铃薯产区。首次检测到 8 个新的 SSR 基因型谱系。聚类分析揭示了在云南检测到的 18 个 SSR 基因型的亲缘关系。

4.2 云南马铃薯晚疫病菌群体遗传多样性在地理分布上差异明显, 滇中多季作种植区群体组成最为复杂, 遗传多样性丰度较高; 滇南冬播作一季种植区群体结构单一, 迁移在群体的演替中起主要作用。

4.3 中国云南的晚疫病菌群体和其它国家 20 世纪 80 年代后出现的晚疫病菌群体存在着较多相同的基因型, 与晚疫病菌的第二次全球迁移事件密切相关。

致谢: 荷兰瓦格宁根大学 F. Govers 教授惠赠标准菌株, 并在研究中给予帮助和讨论; 国际马铃薯中心 (CIP) R. J. Nelson 博士惠赠已知基因型标准菌株的全基因组 DNA; 瑞士 Syngenta 作物保护研究所 U. Gisi 教授提供 SSR 标记引物; 云南省农业科学院农作物分子标记辅助育种实验室陶大云研究员、胡凤益研究员在银染程序中给予帮助, 在此谨表谢忱。

## References

- [1] McDonald B A. The population genetics of fungi: tools and techniques. *Phytopathology*, 1997, 87(4): 448-453.
- [2] 陈万权, 冯洁, 秦庆明, 康晓慧. DNA 分子标记在植物真菌病害研究中的应用. *植物保护学报*, 1999, 26(3): 277-282.  
Chen W Q, Fen J, Qing Q M, Kang X H. The impact of DNA molecular markers on the study of plant disease caused by fungi. *Acta Phytophylacica Sinica*, 1999, 26 (3): 277-282. (in Chinese)
- [3] Li Y C, Korol A B, Fahima T, Beiles A, Nevo E. Microsatellites: genomic distribution, putative functions and mutational mechanisms: a review. *Molecular Ecology*, 2002, 11: 2453-2465.
- [4] Fry W E, Goodwin S B. Resurgence of the Irish potato famine fungus. *Bioscience*, 1997, 47: 363-371.
- [5] Ristaino J B, Groves C T, Parra G R. PCR amplification of the Irish potato famine pathogen from historic specimens. *Nature*, 2001, 411: 695-697.
- [6] Cooke D E L, Lees A K. Markers, old and new, for examining *Phytophthora infestans* diversity. *Plant Pathology*, 2004, 53: 692-704.
- [7] Tooley P W, Fry W E, Villarreal-González M J. Isozyme

- characterization of sexual and asexual *Phytophthora infestans* populations. *Journal of Heredity*, 1985, 76: 431-435.
- [8] Goodwin S B, Cohen B A, Fry W E. Panglobal distribution of a single clonal lineage of the Irish potato famine fungus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1994, 91: 11591-11595.
- [9] Goodwin S B. The population genetics of *Phytophthora*. *Phytopathology*, 1997, 87: 462-473.
- [10] Goodwin S B, Drenth A. Origin of the A2 mating type of *Phytophthora infestans* outside Mexico. *Phytopathology*, 1997, 87: 992-999.
- [11] Grünwald N J, Flier W G. The biology of *Phytophthora infestans* at its center of origin. *Annual Review of Phytopathology*, 2005, 43: 171-190.
- [12] Gómez-Alpizar L, Carbone I, Ristaino J B. An Andean origin of *Phytophthora infestans* inferred from mitochondrial and nuclear gene genealogies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(9): 3306-3311.
- [13] Fry W E, Goodwin S B, Matuszak J M, Spielman L J, Milgroom M G, Drenth A. Population genetics and intercontinent migrations of *Phytophthora infestans*. *Annual Review of Phytopathology*, 1992, 30: 107-129.
- [14] Fry W E, Goodwin S B, Dyer A T, Matuszak J M, Drenth A, Tooley P W, Sujkowski L S, Koh Y J, Cohen B A, Spielman L J, Deahl K L, Inglis D A, Sanlan K P. Historical and recent migrations of *Phytophthora infestans*: chronology, pathways, and implications. *Plant Disease*, 1993, 77: 653-661.
- [15] 宋伯符, 谢开云. CIP 的全球晚疫病防治倡议与我国的参与. 马铃薯杂志, 1997, 11(1): 51-55.  
Song B F, Xie K Y. Global initiative on late blight of CIP and Chinese participation. *Journal of Chinese Potato*, 1997, 11(1): 51-55. (in Chinese)
- [16] Zhang Z M, Li Y Q, Tian S M, Zhu J H, Wang J, Song B F. The occurrence of potato late blight pathogen (*Phytophthora infestans*) A2 mating type in China. *Journal of Agricultural University of Hebei*, 1996, 19: 65-69.
- [17] 朱杰华, 张志铭, 李玉琴. 马铃薯晚疫病菌(*Phytophthora infestans*) A2 交配型的分布. 植物病理学报, 2000, 30: 375.  
Zhu J H, Zhang Z M, Li Y Q. Distribution of the A2 mating type of potato late blight pathogen (*Phytophthora infestans*). *Acta Phytopathologica Sinica*, 2000, 30: 375. (in Chinese)
- [18] 朱杰华, 杨志辉, 邵铁梅, 田世民, 张志铭. 中国部分地区马铃薯晚疫病菌生理小种的组成及分布. 中国农业科学, 2003, 36(2): 169-172.  
Zhu J H, Yang Z H, Shao T M, Tian S M, Zhang Z M. Component structure and distribution of race of *Phytophthora infestans* in the investigated areas of China. *Scientia Agricultura Sinica*, 2003, 36(2): 169-172. (in Chinese)
- [19] 朱小琼, 车兴璧, 国立耘, 王英华. 六省市致病疫霉交配型及其对几种杀菌剂的敏感性. 植物保护, 2004, 30(4): 20-23.  
Zhu X Q, Che X B, Guo L Y, Wang Y H. Mating type of *Phytophthora infestans* from six provinces (cities) in China and their sensitivity to several fungicides. *Plant Protection*, 2004, 30(4): 20-23. (in Chinese)
- [20] 杨宇红, 谢丙炎, 冯兰香, 冯东昕. 中国番茄晚疫病菌交配型及其分布研究. 菌物学报, 2004, 23(3): 351-355.  
Yang Y H, Xie B Y, Feng L X, Feng D X. Mating types and their distribution of *Phytophthora infestans* from tomato in China. *Mycosystema*, 2004, 23(3): 351-355. (in Chinese)
- [21] 曹继芬, 孙道旺, 杨明英, 赵志坚. 云南番茄致病疫霉的交配型、甲霜灵敏感性及毒力类型. 菌物学报, 2006, 25(3): 488-495.  
Cao J F, Sun D W, Yang M Y, Zhao Z J. Characteristics of mating type, metalaxyl sensitivity and virulence of *Phytophthora infestans* on tomato in Yunnan, China. *Mycosystema*, 2006, 25(3): 488-495. (in Chinese)
- [22] 赵志坚, 李灿辉, 曹继芬, 孙道旺, 杨明英, 王 军. 云南省马铃薯致病疫霉毒性基因组及毒力结构研究. 中国农业科学, 2007, 40(3): 505-511.  
Zhao Z J, Cao J F, Li C H, Sun D W, Yang M Y, Wang J. Study on the virulence genes and virulence structure of *Phytophthora infestans* on potato in Yunnan. *Scientia Agricultura Sinica*, 2007, 40(3): 505-511. (in Chinese)
- [23] 赵志坚, 曹继芬, 李灿辉, 孙道旺, 杨明英, 王 军. 云南致病疫霉交配型、甲霜灵敏感性、mtDNA 单倍型及其群体演替研究. 中国农业科学, 2007, 40(4): 727-734.  
Zhao Z J, Cao J F, Li C H, Sun D W, Yang M Y, Wang J. Characteristics of mating type, metalaxyl sensitivity, mtDNA haplotype and succession of *Phytophthora infestans* populations in Yunnan. *Scientia Agricultura Sinica*, 2007, 40(4): 727-734. (in Chinese)
- [24] 郭 军, 屈冬玉, 巩秀峰, 姚裕琪, 梁德霖, 康振生. 内蒙古马铃薯晚疫病菌基因型多样性分析. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2007, 35(4): 120-124.  
Guo J, Qu D Y, Gong X F, Yao Y Q, Liang D L, Kang Z S. Genotypic diversity in *Phytophthora infestans* from Inner Mongolia. *Journal of Northwest A & F University (Nature Science Edition)*, 2007, 35(4): 120-124. (in Chinese)



- [25] Zhu X Q, Wang Y H, Guo L Y. Genetic diversity revealed by RAPD analysis among isolates of *Phytophthora infestans* from different locations in China. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2006, 36(3): 249-258.
- [26] Knapova G, Gisi U. Phenotypic and genotypic structure of *Phytophthora infestans* populations on potato and tomato in France and Switzerland. *Plant Pathology*, 2002, 51: 641-653.
- [27] Koh Y J, Goodwin S B, Dyer A T, Cohen B A, Ogoshi A, Sato N, Fry W E. Migrations and displacements of *Phytophthora infestans* population in east Asian countries. *Phytopathology*, 1994, 84: 922-927.
- [28] Drenth A, Tas C Q, Govers F. DNA fingerprinting uncovers a new sexually reproducing population of *Phytophthora infestans* in the Netherlands. *European Journal of Plant Pathology*, 1994, 100: 97-107.
- [29] Sujkowski L S, Goodwin S B, Dyer A T, Fry W E. Increased genotypic diversity via migration and possible occurrence of sexual reproduction of *Phytophthora infestans* in Poland. *Phytopathology*, 1994, 84: 201-207.
- [30] Goodwin S B, Sujkowski L S, Dyer A T. Direct detection of gene flow and probable sexual reproduction of *Phytophthora infestans* in northern North America. *Phytopathology*, 1995, 85: 473-479.
- [31] Goodwin S B, Smart C D, Sandrock R W, Deahl K L, Punja Z K, Fry W E. Genetic change within populations of *Phytophthora infestans* in the United States and Canada during 1994 to 1996: Role of migration and recombination. *Phytopathology*, 1998, 88: 939-949.
- [32] Cohen Y. Populations of *Phytophthora infestans* in Israel underwent three major genetic changes during 1983 to 2000. *Phytopathology*, 2002, 92: 300-307.
- [33] Day J P, Wattier R A M, Shaw D S, Shattock R C. Phenotypic and genotypic diversity in *Phytophthora infestans* on potato in Great Britain, 1995-98. *Plant Pathology*, 2004, 53: 303-315.
- [34] Gotoh K, Akino S, Maeda A, Kondo N, Naito S, Kato M, Ogoshi A. Characterization of some Asian isolates of *Phytophthora infestans*. *Plant Pathology*, 2005, 54: 733-739.
- [35] Cooke L R, Carlisle D J, Donaghy C, Quinn M, Perez F M, Deahl K L. The Northern Ireland *Phytophthora infestans* population 1998-2002 characterized by genotypic and phenotypic markers. *Plant Pathology*, 2006, 55: 320-330.
- [36] Lehtinen A, Hannukkala A, Rantanen T, Jauhiainen L. Phenotypic and genetic variation in Finnish potato-late blight populations, 1997-2000. *Plant Pathology*, 2007, 56(3): 480-491.
- [37] 赵志坚, 李成云, 王淑芬, 隋启君. 致病疫霉在中国云南的马铃薯田间形成卵孢子. 菌物系统, 2001, 20: 578-580.
- Zhao Z J, Li C Y, Wang S F, Sui Q J. Formation of oospores of *Phytophthora infestans* in natural potato field in Yunnan Province of China. *Mycosystema*, 2001, 20: 578-580. (in Chinese)
- [38] Gavino P D, Smart C D, Sandrock R W. Implications of sexual reproduction for *Phytophthora infestans* in the United States: Generation of an aggressive lineage. *Plant Disease*, 2000, 84: 731-735.
- [39] Lees A K, Wattier R, Shaw D S, Sullivan L, Williams N A, Cooke D E L. Novel microsatellite markers for the analysis of *Phytophthora infestans* populations. *Plant Pathology*, 2006, 55(3): 311-319.
- [40] McDonald B A, Linde C. Pathogen population genetics, evolutionary potential and durable resistance. *Annual Review of Phytopathology*, 2002, 40: 349-379.

(责任编辑 毕京翠)