

南繁区稻瘟病菌遗传多样性和群体遗传结构的 AFLP 分析

朱名海 皮磊 舒灿伟 周而勋*

(华南农业大学 农学院 广东省微生物信号与作物病害防控重点实验室, 广州 510642; *通信联系人, E-mail: exzhou@scau.edu.cn)

AFLP Analyses of Genetic Diversity and Population Genetic Structure of *Magnaporthe oryzae* from South China Crop Breeding Area

ZHU Minghai, PI Lei, SHU Canwei, ZHOU Erxun*

(Guangdong Province Key Laboratory of Microbial Signals and Disease Control, College of Agriculture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; *Corresponding author, E-mail: exzhou@scau.edu.cn)

Abstract: 【Objective】 In order to clarify the genetic differentiation of *Magnaporthe oryzae* in South China Crop Breeding Area in Hainan Province, 【Method】 the genetic diversity and population genetic structure of 60 *Magnaporthe oryzae* isolates collected from the core region (Sanya, Ledong and Baoting) and non-core region (Qiongzong, Tunchang and Ding'an) of South China Crop Breeding Area were comparatively analyzed using amplified fragment length polymorphism(AFLP) technique. 【Result】 The cluster analysis showed that almost all isolates were clustered in one group, and there was no obvious subgroup. The analysis of population genetic structure showed that the percentage of polymorphic loci(PPL), Shannon's information index(I) and gene flow(N_m) in the core population were 87.89%, 0.2738 and 4.2897, respectively, higher than those of non-core population whose PPL, I and N_m were 81.37%, 0.2703 and 3.5892, respectively. However, Nei's gene diversity index(H) and genetic differentiation coefficient(G_{st}) in the core population were 0.1657 and 0.1044, lower than those of non-core population whose H and G_{st} was 0.1662 and 0.1223. 【Conclusion】 These results showed that there were rich genetic diversity in both isolates of core and non-core regions and wide gene flow existed among these populations, but the genetic variation was mainly within the population. In contrast, the genetic diversity and the degree of genetic differentiation in the isolates of core region were relatively larger. **Key words:** South China Crop Breeding Area; *Magnaporthe oryzae*; genetic diversity; population genetic structure; AFLP

摘 要: 【目的】为了明确南繁区稻瘟病菌(*Magnaporthe oryzae*)的遗传分化情况, 【方法】采用 AFLP 分子标记技术对南繁核心区(三亚、乐东和保亭)和非核心区(琼中、屯昌和定安)共 60 个稻瘟病菌菌株的遗传多样性和群体遗传结构进行了比较分析。【结果】聚类分析表明,几乎所有菌株都聚在同一个谱系里,并且该谱系没有明显的亚群;群体遗传结构分析表明,核心区群体的多态性位点百分率、Shannon 信息指数和基因流分别为 87.89%、0.2738 和 4.2897,高于非核心区群体的 81.37%、0.2703 和 3.5892;然而,核心区群体的 Nei 基因多样性指数和基因分化系数分别为 0.1657 和 0.1044,低于非核心区群体的 0.1662 和 0.1223。【结论】这些结果表明核心区和非核心区菌株都存在丰富的遗传多样性,不同群体间均存在较多的基因交流,但遗传变异均主要来自群体内;相比之下,核心区菌株的遗传多样性和遗传分化程度较高。

关键词: 南繁区; 稻瘟病菌; 遗传多样性; 群体遗传结构; AFLP

中图分类号: S435.111.4[†]

文献标志码: A

文章编号: 1001-7216(2017)03-0320-07

南繁区,即国家南繁育种基地,位于我国海南岛,是指科研人员利用海南省(琼)的三亚市、陵水县、乐东县和保亭县(南繁核心区)以及琼中县、屯昌县和定安县(南繁非核心区)等地区优异的光温条件和生物生态资源进行作物品种的繁育工作的地区,是我国最具影响力的农业科技试验基地,有“中国种业科技硅谷”之美誉^[1,2]。

稻瘟病是一种常见的世界性水稻真菌病害,在水稻的各个生长阶段均能发生,菌源、水稻品种抗性、栽培管理和气候条件等因素是影响该病发生和危害的主要因素,如遇抗性差的品种且条件适宜,病情会迅速蔓延,严重时减产率超过 50%,甚至导致绝收^[3,4]。稻瘟病的病原菌是稻巨座壳菌 [*Magnaporthe oryzae* (Hebert) Barr, 无性态为稻梨

收稿日期: 2016-10-20; 修改稿收到日期: 2016-11-30。

基金项目: 国家公益性行业(农业)科研专项(201403075)。

孢 *Pyricularia oryzae* Cav.], 该菌是一种单倍体丝状子囊菌, 能够侵染包括水稻在内的众多禾本科植物。当前, 培育抗病品种是防治稻瘟病最经济有效且绿色环保的手段, 但由于稻瘟病菌的种群结构具有复杂性和易变性, 致使很多抗病品种在大面积种植多年后失去抗性^[5, 6]。因此, 对该菌进行遗传多样性研究, 了解其演变规律和分布动态, 对抗病品种的合理选育和利用具有重要指导意义。

自分子标记技术出现以来, 各种类型的标记技术在稻瘟病菌(*M. oryzae*)遗传多样性研究上发挥了巨大的应用价值, 主要有 RFLP^[7]、RAPD^[8]、SSR^[9]、AFLP^[10-12]以及 rep-PCR^[13]指纹技术等。其中, AFLP 是一种既可靠又高效的分子标记技术, 具有多态性高、DNA 用量少、检测效率高、重复性高、对 DNA 模板浓度变化不敏感等优点^[14, 15]。Taheri 等^[10]采用 AFLP 分子标记技术对收集自伊朗的 55 个稻瘟病菌和乌拉圭的 32 个稻瘟病菌的遗传变异情况进行了比较分析, 结果发现伊朗菌株和乌拉圭菌株的遗传相似系数大于 78%, 证明两地菌株之间存在基因交流现象。Masoud 等^[11]利用 AFLP DNA 指纹图谱对分离自伊朗水稻和其他杂草上的梨孢菌(*Pyricularia* spp.)进行了亲缘关系和系统发育分析, 结果发现 AFLP 标记可以将分离自不同寄主的菌株区分开来; 其中, 分离自狗尾草(*Setaria* sp.)的菌株与分离自水稻的菌株亲缘关系最近, 分离自马唐(*Digitaria* sp.)的菌株则表现出最大的遗传变异; 此外, 不同寄主的菌株之间仅存在低水平的基因交流, 遗传多样性丰富且复杂。

农作物品种在南繁过程中, 大陆与海南岛之间的水稻种子或无性繁殖材料调运频繁, 进岛种子或

无性繁殖材料上所携带的病原真菌对南繁区稻瘟病菌的遗传变异及其与病原真菌致病性的关系造成什么样的影响, 至今尚未见到相关的研究报道。因此, 本研究以分离自南繁核心区和非核心区的稻瘟病菌为研究材料, 对其进行了遗传多样性研究, 旨在了解南繁区稻瘟病菌遗传本质上的差异, 为南繁区稻瘟病的防治提供依据, 对于制定正确的防治策略具有重要的指导意义。

1 材料与方法

1.1 实验材料

供试的稻瘟病菌菌株于 2014—2015 年采自海南省南繁区 6 个县(市)的籼稻, 保存于华南农业大学真菌研究室。全部 60 个供试菌株均为单孢菌株, 并经形态和分子鉴定为稻瘟病菌。菌株详情见表 1。

AFLP 分析所需的接头和引物序列由北京奥科鼎盛生物科技有限公司合成(表 2)。

1.2 菌丝收集及 DNA 抽提

将稻瘟病菌在 PDA 平板上活化后转接到 150 mL 酵母粉葡萄糖培养基(0.6 g 酵母粉, 2.25 g 葡萄糖, 纯水定容至 150 mL, 高温高压灭菌), 28℃下摇菌培养 5~7 d 后抽滤收取菌丝。DNA 的抽取采用真菌 DNA 小量抽提试剂盒。

1.3 AFLP 分析

AFLP 分析的步骤和方法参照 Vos 等^[14]的方法进行, 有少许改动。

1.3.1 基因组 DNA 的酶切和连接

限制性内切酶 *EcoR* I, *Mse* I 和 T4 连接酶均购自 NEB 公司, 酶切体系为 15 μL, DNA 模板量为 300.0 ng, 37℃下酶切 3.5 h; 连接体系为 25 μL,

表 1 南繁核心区和非核心区稻瘟病菌的详细情况

Table 1. The details of *Magnaporthe oryzae* in the core and non-core regions of South China Crop Breeding Area.

| 区域 | 采集地点 | 菌株编号 | 采集时间 | 水稻类型 |
|------------------------|-------------------|--|---------------|------------------|
| Region | Sampling location | Isolate No. | Sampling date | Rice type |
| 南繁核心区 Core region | | | | |
| 三亚 Sanya | 育才镇国营立才农场 | P1, P2, P3 | 2015-05-20 | 籼稻 <i>indica</i> |
| | 吉阳镇大茅村 | P4, P5, P6 | 2014-10-24 | 籼稻 <i>indica</i> |
| | 吉阳镇罗蓬村 | P7, P8 | 2014-10-24 | 籼稻 <i>indica</i> |
| | 育才镇雅亮村 | P9, P10 | 2014-10-29 | 籼稻 <i>indica</i> |
| 乐东 Ledong | 抱由镇城郊 | P11, P12, P13 | 2014-10-22 | 籼稻 <i>indica</i> |
| | 利国镇新丰田洋 | P14, P15, P16 | 2014-10-20 | 籼稻 <i>indica</i> |
| | 千家镇农技实验站 | P17, P18, P19, P20 | 2014-10-20 | 籼稻 <i>indica</i> |
| 保亭 Baoting | 加茂镇灶长村 | P21, P22, P23, P24, P25, P26, P27, P28, P29, P30 | 2015-05-15 | 籼稻 <i>indica</i> |
| 南繁非核心区 Non-core region | | | | |
| 琼中 Qiongzhong | 长征镇长征农场 | P31, P32, P33, P34, P35, P36, P37, P38, P39, P40 | 2015-05-18 | 籼稻 <i>indica</i> |
| 屯昌 Tunchang | 屯城镇良史村 | P41, P42, P43, P44, P45, P46, P47, P48, P49, P50 | 2015-05-18 | 籼稻 <i>indica</i> |
| 定安 Ding'an | 新竹镇新序村 | P51, P52, P53, P54, P55, P56, P57, P58, P59, P60 | 2015-05-17 | 籼稻 <i>indica</i> |

表 2 AFLP 所用接头和引物

Table 2. Adapters and primers for AFLP.

| 序号 | 接头名称 | 引物序列 | 引物用途 |
|------|--------------------|------------------------|--|
| Code | Adapter name | Primer sequence(5'→3') | Purpose |
| Ea | <i>EcoR</i> I 接头 | CTCGTAGACTGCGTACC | 连接 Connection |
| Em | <i>Mse</i> I 接头 | GACGATGAGTCCTGAG | 连接 Connection |
| E0 | <i>EcoR</i> I +0 | GACTGCGTACCAATTTC | 预扩增 Pre-amplification |
| E1 | <i>EcoR</i> I +AAC | GACTGCGTACCAATTCAAC | 选择性扩增 Selective amplification analysis |
| E2 | <i>EcoR</i> I +ACA | GACTGCGTACCAATTACACA | 选择性扩增 Selective amplification analysis |
| E3 | <i>EcoR</i> I +ACG | GACTGCGTACCAATTACAG | 选择性扩增 Selective amplification analysis |
| E4 | <i>EcoR</i> I +AGG | GACTGCGTACCAATTACAGG | 选择性扩增 Selective amplification analysis |
| E5 | <i>EcoR</i> I +AAG | GACTGCGTACCAATTCAAG | 选择性扩增 Selective amplification analysis |
| E6 | <i>EcoR</i> I +ACT | GACTGCGTACCAATTCACT | 选择性扩增 Selective amplification analysis |
| E7 | <i>EcoR</i> I +ACC | GACTGCGTACCAATTACACC | 选择性扩增 Selective amplification analysis |
| E8 | <i>EcoR</i> I +AGC | GACTGCGTACCAATTACAGC | 选择性扩增 Selective amplification analysis |
| M0 | <i>Mse</i> I +0 | GATGAGTCCTGAGTAA | 预扩增预扩增 Pre-amplification |
| M1 | <i>Mse</i> I +CAA | GATGAGTCCTGAGTAACAA | 选择性扩增 Selective amplification analysis |
| M2 | <i>Mse</i> I +CAT | GATGAGTCCTGAGTAACAT | 选择性扩增 Selective amplification analysis |
| M3 | <i>Mse</i> I +CAC | GATGAGTCCTGAGTAACAC | 选择性扩增 Selective amplification analysis |
| M4 | <i>Mse</i> I +CAG | GATGAGTCCTGAGTAACAG | 选择性扩增 Selective amplification analysis |
| M5 | <i>Mse</i> I +CTA | GATGAGTCCTGAGTAACATA | 选择性扩增 Selective amplification analysis |
| M6 | <i>Mse</i> I +CTT | GATGAGTCCTGAGTAACCTT | 选择性扩增 Selective amplification analysis |
| M7 | <i>Mse</i> I +CTC | GATGAGTCCTGAGTAACCTC | 选择性扩增 Selective amplification analysis |
| M8 | <i>Mse</i> I +CTG | GATGAGTCCTGAGTAACCTG | 选择性扩增 Selective amplification analysis |

Mse I 接头和 *EcoR* I 接头的浓度分别为 5 μm/L 和 50 μm/L, 16℃下连接过夜。

1.3.2 预扩增和选择性扩增

PCR 所用的预扩增体系为 25 μL, 其中, 连接产物 5 μL, 10 μm/L *EcoR* I 和 *Mse* I 预扩增引物各 1 μL, 混匀后进行常规 PCR; 选择性扩增体系为 25 μL, 其中, 预扩增 20 倍稀释产物 2.5 μL, 10 μm/L *EcoR* I 和 *Mse* I 选择性扩增引物各 1 μL, 混匀后进行降落 PCR(touch-down PCR)。

1.3.3 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳及银染检测

6%变性聚丙烯酰胺凝胶在 80 W 恒功率下电泳 2 h, 采用 Sanguinetti 等^[16]的方法(略有改动)进行银染检测, 胶板晾干后拍照保存。

1.4 数据处理

根据扩增带的有无对电泳图谱进行读取, 取得“0/1”数据矩阵表; 用 NTSYSpc 2.1 软件进行聚类分析; 用 POPGENE32 1.32 软件计算相关的遗传多样性指标: 多态性位点百分率(PPL)、Nei 基因多样性指数(*H*)、Shannon 信息指数(*I*)、群体总基因多样性(*H_t*)、群体内基因多样性(*H_s*)、基因分化系数[*G_{st}*、

G_{st}=(*H_t*−*H_s*)/*H_t*]、基因流[*N_m*, *N_m*=0.5×(1−*G_{st}*)/*G_{st}*]、遗传一致性(*I_n*)和遗传距离(*D*)。

2 结果与分析

2.1 不同引物组合对稻瘟病菌 DNA 扩增的多态性

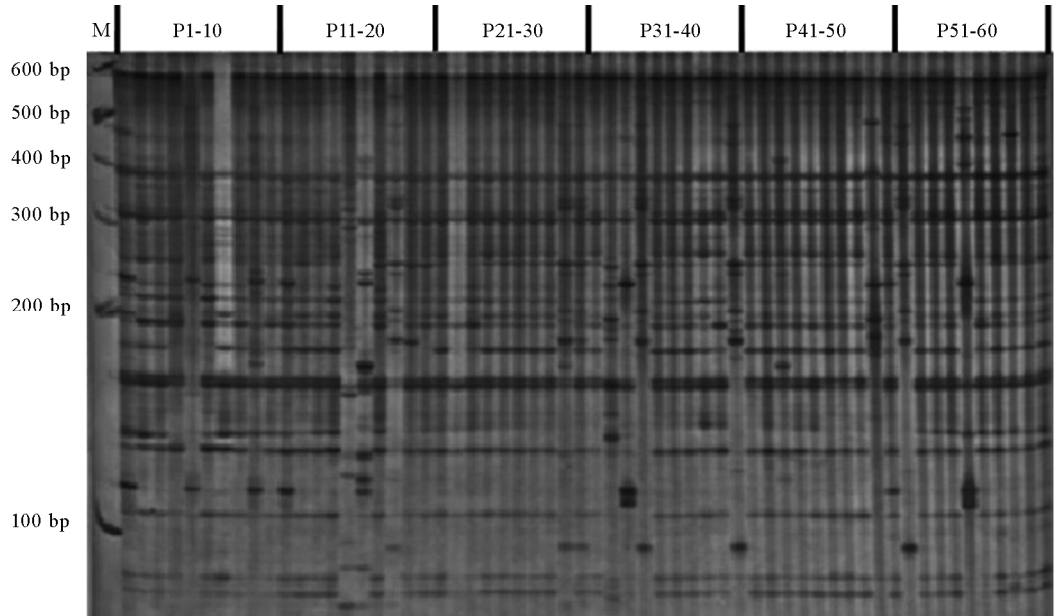
从 64 对随机引物组合中筛选出 9 对条带较丰富且多态性较高的引物组合用于 AFLP 分析, 分别为 E2/M1、E2/M2、E3/M4、E3/M5、E4/M5、E4/M6、E4/M8、E5/M1 和 E5/M4。扩增片段的长度多为 100~500 bp, 共扩增出 413 条条带, 平均每对引物组合可检测到 45.89 条条带; 其中 411 条具有多态性, 平均每对引物组合可检测到 45.67 条多态性条带, 多态性条带百分率为 99.52%(表 3, 图 1)。

2.2 遗传多样性分析

由菌株的聚类分析图可看出, 在相似系数为 0.74 处, 可将这些菌株分为 4 个谱系。谱系 I 包含 P18、P29、P34、P40 和 P51 共 5 个菌株, 这些菌株来自乐东、保亭、琼中和屯昌; 谱系 II 和谱系 III 分别只包含乐东的 P15 菌株和 P16 菌株; 谱系 IV 包括南繁区各地区余下的 53 个菌株(图 2)。

表 3 南繁核心区和非核心区稻瘟病菌 AFLP 引物组合的扩增结果统计
Table 3. The amplification results of AFLP primer combinations for *Magnaporthe oryzae* in the core and non-core regions of South China Crop Breeding Area.

| 引物组合 Primer combination | 扩增条带数 Amplification band number | 多态性条带数 Polymorphic band number | 多态性条带百分率 Percentage of polymorphic band/% |
|----------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|--|
| E2/M1 | 41 | 40 | 97.56 |
| E2/M2 | 51 | 51 | 100.00 |
| E3/M4 | 44 | 44 | 100.00 |
| E3/M5 | 51 | 51 | 100.00 |
| E4/M5 | 38 | 38 | 100.00 |
| E4/M6 | 47 | 47 | 100.00 |
| E4/M8 | 35 | 35 | 100.00 |
| E5/M1 | 49 | 49 | 100.00 |
| E5/M4 | 57 | 56 | 98.25 |
| 总计 Total | 413 | 411 | 99.52 |



M 为 GeneRule 100 bp DNA 梯度标记；P1-P60 为菌株编号。
M, GeneRule 100 bp DNA ladder marker; P1-P60 are the isolate numbers.

图 1 引物组合 E5/M4 扩增的稻瘟病菌 AFLP 分析结果

Fig. 1. AFLP results for *Magnaporthe oryzae* with the primer combination E5/M4.

由图 2 还可发现，南繁区各地的菌株基本都聚在同一个谱系里，该谱系没有明显的亚群，证明核心区菌株和非核心区菌株在亲缘关系上很接近，但菌株个体间又存在着丰富的遗传多样性。

2.3 遗传结构分析

在种群水平上对南繁核心区和非核心区稻瘟病菌样品的“0/1”数据矩阵按群体进行群体结构分析。由表 4 可知，南繁区稻瘟病菌群体总的多态性位点百分率为 99.52%，其中，核心区群体的多态性位点百分率为 87.89%，非核心区群体的为 81.37%。6 个群体的多态性位点百分率为 30.99%~80.39%，

按由高到低的顺序依次为：乐东>琼中>定安>保亭>三亚>屯昌。南繁区稻瘟病菌群体总的 Shannon 信息指数为 0.2821，其中，核心区群体的为 0.2738，也稍高于非核心区的 0.2703。6 个群体间的 Shannon 信息指数范围为 0.1283~0.3156，按由高到低的顺序依次为乐东>琼中>定安>保亭>三亚>屯昌。南繁区稻瘟病菌群体总的 Nei 基因多样性指数为 0.1701，其中，核心区群体的为 0.1657，稍低于非核心区群体的 0.1662，6 个群体的 Nei 基因多样性指数范围为 0.0815~0.2025，按由高到低的顺序依次为琼中>乐东>定安>保亭>三亚>屯

表 4 南繁核心区和非核心区稻瘟病菌不同群体的遗传多样性分析
Table 4. Genetic diversity analyses of different *Magnaporthe oryzae* populations in the core and non-core regions of South China Crop Breeding Area.

| 群体 Population | 菌株数 No. of isolates | 总位点数 No. of total loci | 多态性位点数 No. of polymorphic loci | 多态性位点百分率 Percentage of polymorphic loci/% | Shannon 信息指数 Shannon information index | Nei 基因多样性指数 Gene diversity index |
|----------------------|------------------------|---------------------------|-----------------------------------|--|---|-------------------------------------|
| 三亚 Sanya | 10 | 413 | 157 | 38.01 | 0.1757 | 0.1149 |
| 乐东 Ledong | 10 | 413 | 332 | 80.39 | 0.3156 | 0.1982 |
| 保亭 Baoting | 10 | 413 | 206 | 49.88 | 0.2074 | 0.1322 |
| 琼中 Qiongzhong | 10 | 413 | 282 | 68.28 | 0.3132 | 0.2025 |
| 屯昌 Tunchang | 10 | 413 | 128 | 30.99 | 0.1283 | 0.0815 |
| 定安 Ding'an | 10 | 413 | 245 | 59.32 | 0.2408 | 0.1535 |
| 核心区 Core region | 30 | 413 | 363 | 87.89 | 0.2738 | 0.1657 |
| 非核心区 Non-core region | 30 | 413 | 336 | 81.37 | 0.2703 | 0.1662 |
| 总物种 Total | 60 | 413 | 411 | 99.52 | 0.2821 | 0.1701 |

昌。以上各项遗传多样性参数的比较分析结果表明，南繁核心区和非核心区稻瘟病菌群体的遗传多样性存在一定的差异，但差异不大。

由表 5 可知，南繁区稻瘟病菌群体总的基因分化系数为 0.1348，其中，核心区稻瘟病菌群体的基因分化系数为 0.1044，非核心区稻瘟病菌群体的为 0.1223；南繁区稻瘟病菌群体总的基因流为 3.2092，其中，核心区稻瘟病菌群体的基因流为 4.2897，非核心区稻瘟病菌群体的为 3.5892。这些结果表明核心区稻瘟病菌群体间的基因交流水平相对非核心区要高些，群体间的遗传分化相对更小些，但两大区群体间的基因交流均较多，遗传变异都主要发生在群体内。

由表 6 可知，遗传一致性最高(遗传距离最小)的群体为乐东和定安，遗传一致性最低(遗传距离最大)的群体为琼中和屯昌。

由图 3 可知，在遗传一致性为 0.9710 时，核心区的乐东群体和非核心区的琼中群体、定安群体聚为一组，核心区的三亚群体、保亭群体、非核心区的屯昌群体分别聚为一组，进一步证明南繁核心区和非核心区稻瘟病菌群体的遗传分化程度较一致。

3 讨论

本研究一共筛选出 9 对引物组合用于南繁核心区和非核心区 60 个稻瘟病菌菌株的 AFLP 分析，不同引物的多态性条带百分率介于 97.56%~100.00%，多态性条带百分率为 99.52%，说明这些菌株间存在非常丰富的遗传多样性。

南繁核心区和非核心区稻瘟病菌的聚类分析表明，南繁区各地的稻瘟病菌菌株基本都聚在同一

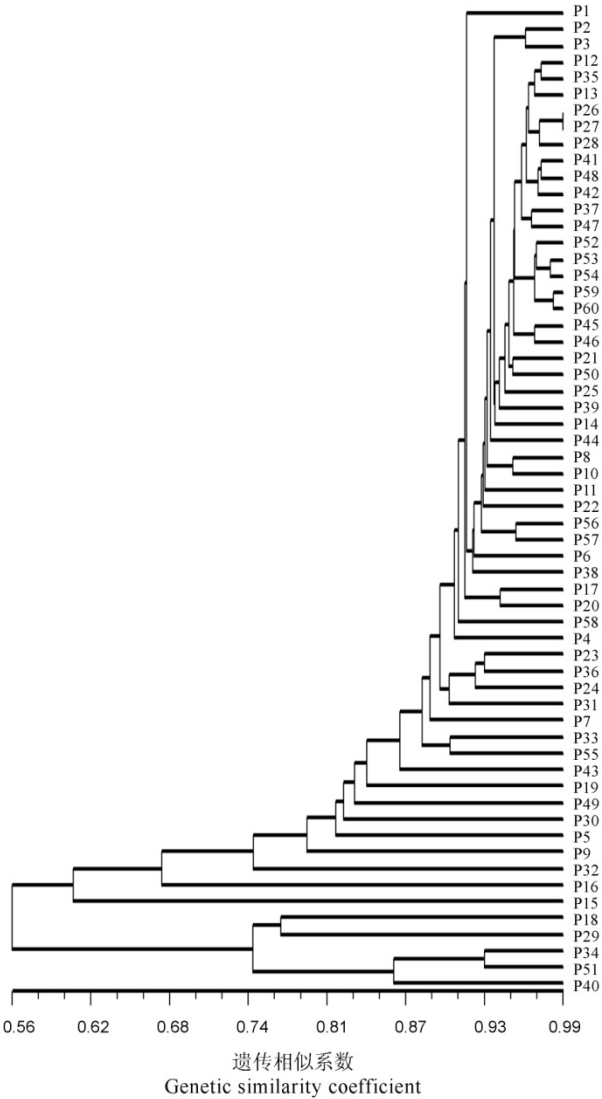


图 2 南繁核心区和非核心区稻瘟病菌的聚类分析结果
Fig.2. Clustering results of *M. oryzae* in the core and non-core regions of South China Crop Breeding Area.

表 5 南繁核心区和非核心区稻瘟病菌群体的遗传分化和基因流

Table 5. Genetic differentiation and gene flow of different populations of *Magnaporthe oryzae* from the core and non-core regions of South China Crop Breeding Area.

| 群体 Population | 群体总基因多样性 Total genetic diversity in populations | 群体内基因多样性 Genetic diversity within population | 基因分化度 Genetic differentiation coefficient | 基因流 Gene flow |
|----------------------|--|---|--|------------------|
| 核心区 Core region | 0.1657 | 0.1484 | 0.1044 | 4.2897 |
| 非核心区 Non-core region | 0.1662 | 0.1459 | 0.1223 | 3.5892 |
| 总物种 Total | 0.1701 | 0.1472 | 0.1348 | 3.2092 |

表 6 南繁核心区和非核心区稻瘟病菌群体的遗传一致性和遗传距离

Table 6. Genetic identity and genetic distance of different *Magnaporthe oryzae* populations from the core and non-core regions of South China Crop Breeding Area.

| 群体 Population | 三亚 Sanya | 乐东 Ledong | 保亭 Baoting | 琼中 Qiongzong | 屯昌 Tunchang | 定安 Ding'an |
|------------------|-------------|--------------|---------------|-----------------|----------------|---------------|
| 三亚 Sanya | | 0.9662 | 0.9700 | 0.9518 | 0.9675 | 0.9673 |
| 乐东 Ledong | 0.0344 | | 0.9744 | 0.9779 | 0.9612 | 0.9796 |
| 保亭 Baoting | 0.0305 | 0.0260 | | 0.9702 | 0.9719 | 0.9737 |
| 琼中 Qiongzong | 0.0494 | 0.0224 | 0.0303 | | 0.9502 | 0.9759 |
| 屯昌 Tunchang | 0.0331 | 0.0396 | 0.0285 | 0.0511 | | 0.9708 |
| 定安 Ding'an | 0.0333 | 0.0206 | 0.0267 | 0.0244 | 0.0296 | |

左下角为遗传距离，右上角为遗传一致性。

The lower left corner is the genetic distance, and the upper right corner is the genetic consistency.

个谱系里，并且没有明显的亚群，进一步证明了南繁区稻瘟病菌菌株间存在较广泛的基因交流，核心区菌株和非核心区菌株在亲缘关系上很接近，但各菌株间又存在丰富的遗传多样性，也说明了稻瘟病菌菌株具有高度的变异性。这与很多研究结果高度一致。如刘振华等^[17]采用 Pot2-Rep-PCR 分子指纹技术对 2010—2011 年间采自云南省五大稻区的 455 个稻瘟病菌菌株进行遗传结构分析，分析结果表明云南省各稻瘟病菌群体间具有丰富的遗传多样性；张亚玲等^[18]也采用 Pot2-Rep-PCR 分子指纹技术对采自黑龙江省和吉林省的 49 个稻瘟病菌菌株进行遗传结构分析，结果同样发现这些稻瘟病菌种群在 DNA 水平上存在丰富的遗传多样性。

南繁核心区和非核心区稻瘟病菌群体的遗传多样性指数分析表明，核心区群体的遗传分化程度与非核心区的基本一致，推测出现这种现象可能是由南繁区复杂的水稻品种来源以及稻瘟病菌孢子的高度迁移能力造成的。

南繁核心区和非核心区稻瘟病菌群体间的遗传分化结果表明，南繁区稻瘟病菌群体间存在较高的基因交流现象，菌株间的遗传变异主要发生在群体内，群体间的遗传变异很小；并且核心区群体和

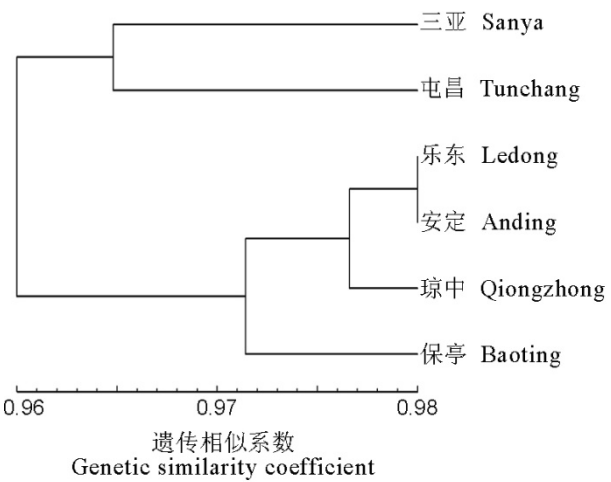


图 3 基于 Nei 遗传一致性的南繁核心区和非核心区稻瘟病菌群体聚类图

Fig. 3. Clustering analyses of *Magnaporthe oryzae* from the core and non-core regions of South China Crop Breeding Area based on Nei's genetic consistency.

非核心区群体间的基因交流水平相当，差异不大，证明南繁核心区和非核心区稻瘟病菌群体间的遗传漂变作用较大。王玲等^[19]采用 SSR 分子标记技术分析四川绵阳、营山、雅安、北川和武胜 5 个稻瘟病菌群体的遗传结构也得到了相似的结论，结果表

明5个地理群体间存在高水平的遗传分化,各群体间存在不同程度的基因交流(基因流水平为0.472~4.347),并且绝大多数遗传变异(81.17%)来自于群体内,仅有18.83%的变异发生在群体间。

南繁核心区和非核心区稻瘟病菌群体间的遗传一致性和遗传距离分析进一步证明南繁核心区稻瘟病菌群体和非核心区群体间的遗传分化程度较为一致,说明核心区和非核心区稻瘟病菌群体的遗传分化与其地理距离之间没有直接的相关性。

参考文献:

- [1] 陈冠铭, 李劲松, 曹兵. 发挥南繁资源优势 促进种业科技创新. 安徽农学通报, 2012, 18(1): 27-29.
Chen G M, Li J S, Cao B. Make the most of resources' advantages of Hainan national multiplication, promoting Sci-Tech innovations of seed industry. *Anhui Agric Sci Bull*, 2012, 18(1): 27-29. (in Chinese with English abstract)
- [2] 陈冠铭, 李劲松, 林亚琼. 国家南繁功能价值与发展机遇研究分析. 种子, 2012, 31(3): 69-71.
Chen G M, Li J S, Lin Y Q. Research and analysis on the functional value and development opportunities of Hainan national breeding and multiplication. *Seed*, 2012, 31(3): 69-71. (in Chinese with English abstract)
- [3] 赵文生. 水稻稻瘟病发病规律与防治措施. 科技创新与应用, 2012(1): 187.
Zhao W S. The occurrence and control of rice sheath blight. *Technol Innov Applic*, 2012(1): 187. (in Chinese with English abstract)
- [4] 李小闯. 稻瘟病的危害与综合防治. 农技服务, 2010, 27(12): 1585-1586.
Li X C. The damage and integrated control of rice blast. *Agric Technol Serv*, 2010, 27(12): 1585-1586. (in Chinese with English abstract)
- [5] Zhang H, Zheng X, Zhang Z. The *Magnaporthe grisea* species complex and plant pathogenesis. *Mol Plant Pathol*, 2015, 17(6): 796-804.
- [6] Miah G, Rafii M Y, Ismail M R, Puteh A B, Rahim H A, Asfaliza R, Latif M A. Blast resistance in rice: A review of conventional breeding to molecular approaches. *Mol Biol Rep*, 2013, 40(3): 2369-2388.
- [7] 沈瑛, 袁筱萍, 王艳丽. 分子探针在稻瘟病流行病学中的应用研究. 西南农业大学学报, 1998, 20(5): 401-408.
Shen Y, Yuan X P, Wang Y L. Molecular probes for epidemiological studies of the rice blast fungus. *J Southwest Agric Univ*, 1998, 20(5): 401-408. (in Chinese with English abstract)
- [8] Séré Y, Onasanya A, Afolabi A, Mignouna H D, Akator K. Genetic diversity of the blast fungus, *Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr, in Burkina Faso. *Afric J Biotechnol*, 2007, 6(22): 2568-2577.
- [9] Choi J, Kim H, Lee Y H. Comparative analysis of the Korean population of *Magnaporthe oryzae* by multilocus microsatellite typing. *Plant Pathol J*, 2013, 29(4): 435-439.
- [10] Taheri P, Irannejad A. Genetic structure of various *Magnaporthe oryzae* populations in Iran and Uruguay. *Aus Plant Pathol*, 2014, 43(3): 287-297.
- [11] Masoud N G, Gholamreza S J, Mohammad J M. Characterization and phylogenetic analysis of *Magnaporthe* spp. strains on various hosts in Iran. *Ir J Biotechnol*, 2014, 12(3): 71-81.
- [12] Takan J P, Chipili J, Muthumeenakshi S, Talbot N J, Manyasa E O, Bandyopadhyay R, Sere Y, Nutsugah S K, Talhinhos P, Hossain M, Brown A E. *Magnaporthe oryzae* populations adapted to finger millet and rice exhibit distinctive patterns of genetic diversity, sexuality and host interaction. *Mol Biotechnol*, 2012, 50(2): 145-158.
- [13] Chen Q H, Wang Y C, Zheng X B. Genetic diversity of *Magnaporthe grisea* in China as revealed by DNA fingerprint haplotypes and pathotypes. *J Phytopathol*, 2006, 154(6): 361-369.
- [14] Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijmans M, Lee T V D, Hornes M, Fritjers A, Pot J, Peleman J, Kuiper M, Zabeau M. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res*, 1995, 23(21): 4407-4414.
- [15] 李珊, 赵桂仿. AFLP 分子标记及其应用. 西北植物学报, 2003, 23(5): 830-836.
Li S, Zhao G F. AFLP molecular marker and its application. *Acta Bot Boreali-Occ Sin*, 2003, 23(5): 830-836. (in Chinese with English abstract)
- [16] Sanguinetti C J, Dias N E, Simpson A J. Rapid silver staining and recovery of PCR products separated on polyacrylamide gels. *Biotechniques*, 1994, 17(5): 914-921.
- [17] 刘振华, 李晓菲, 王园媛, 陈涛, 王云月. 云南省稻瘟病菌群体遗传结构研究. 云南农业大学学报: 自然科学版, 2013, 28(1): 9-15.
Liu Z H, Li X F, Wang Y Y, Chen T, Wang Y Y. Investigation on population genetic structure of *Magnaporthe grisea* in Yunnan. *J Yunnan Agric Univ: Nat Sci*, 2013, 28(1): 9-15. (in Chinese with English abstract)
- [18] 张亚玲, 王宝玉, 台莲梅, 豫虎, 郑雯, 邓本良, 靳学慧. 黑龙江省和吉林省稻瘟病菌种群多样性研究. 黑龙江八一农垦大学学报, 2014, 26(1): 1-4, 31.
Zhang Y L, Wang B Y, Tai L M, Yu H, Zheng W, Deng B L, Jin X H. Study of population structure of *Magnaporthe oryzae* from rice in Heilongjiang and Jilin. *J Heilongjiang Bayi Agri Univ*, 2014, 26(1): 1-4, 31. (in Chinese with English abstract)
- [19] 王玲, 左示敏, 张亚芳, 陈宗祥, 潘学彪, 黄世文. 四川省稻瘟病菌群体遗传结构分析. 中国水稻科学, 2015, 29(3): 327-334.
Wang L, Zuo S M, Zhang Y F, Chen Z X, Pan X B, Huang S W. Genetic structure of rice blast pathogen *Magnaporthe oryzae* in Sichuan Province. *Chin J Rice Sci*, 2015, 29(3): 327-334. (in Chinese with English abstract)