

北京地区草莓灰霉病菌的转座子及其分布频率

张 佳, 张晓歌, 张 璨, 张国珍*

(中国农业大学植物病理学系, 农业部植物病理学重点实验室, 北京 100193)

摘要 为了解北京地区草莓灰霉病菌的转座子类型及其分布, 本研究用转座子 *Boty* 和 *Flipper* 的特异性引物对北京地区 2012—2013 年从 12 个草莓园采集和分离的 60 株草莓灰霉病菌进行 PCR 扩增。结果表明, 北京地区草莓灰霉病菌群体中共存在 3 种转座子类型: *transposa* 型、*Boty* 型和 *Flipper* 型。其中, 以 *transposa* 型菌株最多, 占供试菌株的 63.3%, *Boty* 型菌株占供试菌株的 28.3%, *Flipper* 型菌株最少, 仅占 8.4%, 未检测到 *vacuma* 型菌株。选取属于不同转座子类型的 18 株菌株测定其对草莓叶片的致病力, 结果显示 *Boty* 型菌株所致病斑的平均直径显著大于 *Flipper* 型。草莓灰霉病菌转座子类型与致病力的关系有待进一步研究。转座子类型的检测为进一步研究灰葡萄孢的遗传多样性及遗传变异提供了基础。

关键词 草莓; 灰葡萄孢; 转座子; *Boty*; *Flipper*

中图分类号: S 436.63 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3969/j.issn.0529-1542.2016.02.032

Presence and frequency distribution of transposable elements in *Botrytis cinerea* from strawberry in Beijing

Zhang Jia, Zhang Xiaoge, Zhang Can, Zhang Guozhen

(The Key Laboratory of Plant Pathology, Ministry of Agriculture; Department of Plant Pathology, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract This study was conducted primarily to investigate the presence and frequency distribution of the transposable elements *Boty* and *Flipper* in populations of *Botrytis cinerea* from 12 strawberry gardens in Beijing. A total of 60 isolates were collected from diseased strawberry fruits during 2012—2013, and the presence of transposable elements was analyzed by specific PCR. The results showed that there were three types (*transposa*, *Boty* and *Flipper*) of transposable elements. The *transposa* type isolates carrying both elements were predominant with frequency of 63.3%, and both *Boty* type and *Flipper* type isolates were present with low frequencies of 28.3% and 8.4%, respectively, while *vacuma* type isolate was not detected in this study. The pathogenicity analysis of 18 isolates selected from three types demonstrated that *Boty* type isolates showed the highest pathogenicity to strawberry leaves, with the larger lesion size than *Flipper* type and *transposa* type isolates. The relationship between transposon types and pathogenicity of *B. cinerea* is needed to study. Detection of transposable elements provides the bases for further study of genetic diversity and variation in *B. cinerea*.

Key words strawberry; *Botrytis cinerea*; transposon; *Boty*; *Flipper*

灰霉病是草莓上的重要病害, 主要发生在采果期。染病的果实在采摘后通常迅速腐烂, 不能食用和出售, 造成严重损失^[1]。灰霉病的病原菌灰葡萄孢(*Botrytis cinerea* Pers.)能侵染 200 种以上的植物, 其中以双子叶植物居多, 可导致寄主植物毁灭性损失^[2]。

转座子是一类可移动的遗传因子, 其 DNA 片段可以从原位上单独复制或断裂下来, 环化后插入另一位点, 并对其后的基因起调控作用。转座子可以用于研究丝状真菌群体多样性, 主要是因为转座子是一种不依赖同源重组而能在基因组内移动的遗传学元件, 其广泛存在于原核生物和真核生物基因

组中,且在真菌基因组中的分布、插入位置、拷贝数不同,从而在菌株间或群体内导致多样性^[3]。在灰葡萄孢中有 2 种转座子 Boty 和 Flipper。转座子的有无与灰葡萄孢的多样性存在一定的联系^[3-4],主要是这两种转座子的存在与否可影响灰葡萄孢菌株的分生孢子大小、生长速率、致病性以及 对杀菌剂的抗性^[5]。Boty 是一个具有多重拷贝,分散在灰葡萄孢整个基因组中的单元,它包含 596 bp 的长末端重复序列^[6]。Flipper 是硝酸盐还原酶基因编码区的一段插入序列,长度为 1 842 bp,可能编码一种转座酶。Flipper 在灰葡萄孢基因组中的数量从 0 到 20 个拷贝数不等^[7]。

早在 1997 年,Giraud 等^[5]根据灰葡萄孢菌株基因组中是否存在转座子 Boty 和 Flipper,将来自法国香槟产区葡萄上的灰葡萄孢分为 2 类,即 *transposa* 型(同时含有 Boty 和 Flipper 转座子)和 *vacuma* 型(不含有 Boty 和 Flipper 中的任一种转座子),另外也有部分菌株只含有 Boty 转座子。在随后的十几年中,美国、匈牙利、希腊等国相继报道了本国灰葡萄孢的转座子类型。目前,根据转座子 Boty 和 Flipper 的有无,一般将灰葡萄孢分为 4 种类型,即 *transposa* 型、*Boty* 型(只有转座子 Boty)、*Flipper* 型(只有转座子 Flipper)和 *vacuma* 型,且各类型的菌株所占比例也不同,其中在美国^[8]和匈牙利^[9],*transposa* 型的菌株分别占群体的 83.3%和 67.9%,而其余 3 种类型的菌株比率较少;在希腊,葡萄、草莓、番茄和黄瓜上的灰葡萄孢,以 *transposa* 型的菌株占优势,其中草莓的灰葡萄孢中 *transposa* 型占 50%以上;而猕猴桃和苹果上的灰葡萄孢,以 *vacuma* 型占优势^[10]。

我国对灰霉病菌转座子类型的研究很少。张静^[11]检测了湖北省 100 株来自不同寄主灰葡萄孢的转座子,发现共存在 4 种类型的菌株:*transposa* 型、*Boty* 型、*Flipper* 型和 *vacuma* 型,比率分别为 62%、11%、23%和 4%。黄燕等^[12]从国内 6 省 13 个县市的蚕豆病株上分离了 100 株灰葡萄孢,发现可分为 3 类:*transposa* 型、*Boty* 型和 *Flipper* 型,其中 *Boty* 型菌株最多,占检测群体的 61.0%。目前尚未见国内关于草莓灰霉病菌转座子类型的报道。

近年来,北京地区大力发展设施草莓种植模式,主要为日光温室栽培,且种植面积持续增长。设施栽培也为灰霉病的发生提供了有利条件。据我们观

察,草莓灰霉病菌不同菌株在菌落形态、菌核特征和致病性等方面表现多样性,对杀菌剂异菌脲的抗性也存在差异^[13]。本研究重点检测了 2012—2013 年 从北京地区 12 个草莓园采集的草莓灰霉病菌的转座子类型,初步分析了不同菌株的转座子类型与致病力的关系,旨在为研究我国灰葡萄孢的遗传多样性及遗传变异机制提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

草莓灰霉病病菌(*Botrytis cinerea*):2012 年和 2013 年从北京市 5 个区县的 12 个草莓种植园采集草莓灰霉病病果,带回实验室进行分离培养和纯化,每个病果只保留 1 个单孢菌株,共获得 60 株,其中 2012 年 18 株,2013 年 42 株(表 1)。

表 1 2012—2013 年北京地区采集的草莓灰霉病菌菌株信息
Table 1 Tested isolates of *Botrytis cinerea* collected from 12 strawberry gardens in Beijing from 2012 to 2013

采集区县 Collecting district	菌株编号 Isolate number	采集地点 Collecting site	采集年份 Year	转座子类型 Transposon type
昌平区 Changping	BJ12	豆豆草莓园	2012	<i>transposa</i>
	BJ13	豆豆草莓园	2012	<i>Flipper</i>
	BJ14	豆豆草莓园	2012	<i>transposa</i>
	BJ15	豆豆草莓园	2012	<i>Flipper</i>
	BJ16	豆豆草莓园	2012	<i>Flipper</i>
	QJ1	秦家屯	2013	<i>Flipper</i>
	QJ2	秦家屯	2013	<i>transposa</i>
	QJ3	秦家屯	2013	<i>Boty</i>
	QJ4	秦家屯	2013	<i>transposa</i>
	QJ5	秦家屯	2013	<i>Flipper</i>
	XS1	兴寿镇	2013	<i>transposa</i>
	XS2	兴寿镇	2013	<i>Flipper</i>
	XS3	兴寿镇	2013	<i>transposa</i>
	XS4	兴寿镇	2013	<i>Boty</i>
	TRY1	天润园	2013	<i>Boty</i>
	TRY2	天润园	2013	<i>transposa</i>
	TRY3	天润园	2013	<i>transposa</i>
	TRY4	天润园	2013	<i>transposa</i>
	TRY5	天润园	2013	<i>transposa</i>
万德园	WDY1	万德园	2013	<i>Flipper</i>
	WDY2	万德园	2013	<i>Flipper</i>
	WDY3	万德园	2013	<i>Flipper</i>

续表 1 Table 1(Continued)

采集区县 Collecting district	菌株编号 Isolate number	采集地点 Collecting site	采集年份 Year	转座子类型 Transposon type
通州区 Tongzhou	RZY1	瑞正园	2013	<i>transposa</i>
	RZY2	瑞正园	2013	<i>Flipper</i>
	RZY3	瑞正园	2013	<i>transposa</i>
	RZY4	瑞正园	2013	<i>transposa</i>
	RZY5	瑞正园	2013	<i>Flipper</i>
海淀区 Haidian	BJ17	北京农林科学院林果所	2013	<i>transposa</i>
	BJ18	北京农林科学院林果所	2013	<i>Flipper</i>
	BJ19	北京农林科学院林果所	2013	<i>transposa</i>
	LGS1	北京农林科学院林果所	2013	<i>transposa</i>
	LGS2	北京农林科学院林果所	2013	<i>transposa</i>
	LGS3	北京农林科学院林果所	2013	<i>transposa</i>
	LGS4	北京农林科学院林果所	2013	<i>Flipper</i>
	LGS5	北京农林科学院林果所	2013	<i>transposa</i>
	SJT1	苏家坨	2013	<i>Flipper</i>
	SJT2	苏家坨	2013	<i>transposa</i>
	SJT3	苏家坨	2013	<i>transposa</i>
	BJ20	一品香山草莓园	2012	<i>transposa</i>
	BJ21	一品香山草莓园	2012	<i>transposa</i>
	BJ22	一品香山草莓园	2012	<i>transposa</i>
房山区 Fangshan	BJ1	夏场	2012	<i>transposa</i>
	BJ8	夏场	2012	<i>transposa</i>
	BJ10	夏场	2012	<i>Flipper</i>
	BJ 11	夏场	2012	<i>transposa</i>
	FS1	夏场	2013	<i>Flipper</i>
	FS2	夏场	2013	<i>Flipper</i>
	FS3	夏场	2013	<i>transposa</i>
	FS4	夏场	2013	<i>transposa</i>
	FS5	夏场	2013	<i>transposa</i>
	FS6	夏场	2013	<i>Boty</i>
	FS7	夏场	2013	<i>transposa</i>
	FS8	夏场	2013	<i>transposa</i>
	BJ2	韩村河	2012	<i>transposa</i>
	BJ3	韩村河	2012	<i>transposa</i>
	BJ4	韩村河	2012	<i>transposa</i>
大兴区 Daxing	BJ5	韩村河	2012	<i>transposa</i>
	BJ6	韩村河	2012	<i>transposa</i>
	BJ7	韩村河	2012	<i>transposa</i>
	QYD	青云店	2013	<i>Boty</i>
总计 Total			60	

1.2 培养基

PDA 培养基:去皮马铃薯 200 g,葡萄糖 20 g,琼脂粉 20 g,蒸馏水 1 000 mL。

1.3 基因组 DNA 的提取

将分离纯化的菌株在铺有灭菌玻璃纸的 PDA 平板上 20℃黑暗培养 3 d,收集菌丝体,采用 CTAB 法^[14]提取菌丝体 DNA。

1.4 草莓灰霉病菌转座子类型的检测

在灰葡萄孢中,检测转座子 Boty 的 PCR 引物为 LTR98(5'-AGCCTGTAGAATCACCAACG-3')和 LTR728(5'-CGGTATTTCTGGTTGGCA-3'),扩增产物大小为 648 bp^[15]。检测转座子 Flipper 的 PCR 引物为 F300(5'-GCACAAAACCTACAGAA-GA-3')和 F1500(5'-ATTCGTTTCTTGGACTG-TA-3'),扩增产物大小为1 250 bp^[8]。

PCR 反应体系为 25 μL:2×Taq PCR Mix(Aidlab) 12.5 μL,10 μmol/L 上下游引物各 1 μL,模板 50 ng。

转座子 Boty 的 PCR 扩增程序为^[15]:95℃预变性 3 min;94℃变性 40 s,60.3℃退火 40 s,72℃延伸 1 min(40 个循环);72℃延伸 10 min。

转座子 Flipper 的 PCR 扩增程序为^[8]:95℃预变性 3 min;94℃变性 40 s,58℃退火 40 s,72℃延伸 1.5 min(40 个循环);72℃延伸 10 min。

取 10 μL PCR 扩增产物进行 1%琼脂糖凝胶电泳,经溴化乙锭染色后在凝胶成像仪下观察扩增结果,并照相。

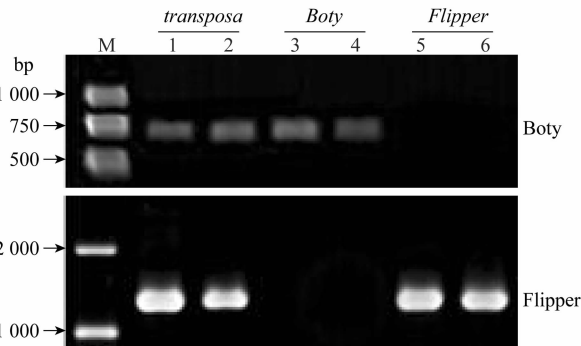
1.5 致病力的测定

从不同类型转座子的菌株中随机选取 18 株(*transposa* 型 9 株;*Flipper* 型 6 株;*Boty* 型 3 株)进行致病力测定。采用草莓离体叶片有伤接种,草莓品种为‘红颜’。菌株在 PDA 培养基上 20℃黑暗条件下培养 3 d,用灭菌的直径 5 mm 打孔器在菌落边缘打取菌饼。用无菌昆虫针将草莓叶表面轻轻刺伤,将菌饼的菌丝面朝下接种于伤口处。以 PDA 培养基为对照,每株菌株重复接种 3 个叶片,每个叶片接种 2 个菌饼。将接种后的叶片置于 20℃黑暗条件下保湿培养,72 h 后用十字交叉法测量病斑直径。

2 结果与分析

2.1 草莓灰霉病菌的转座子类型

用转座子 Boty 和 Flipper 的特异性引物对供试菌株的基因组 DNA 进行 PCR 扩增后,得到的 Boty 片段长度为 648 bp,Flipper 片段长度为 1 250 bp(图 1)。



M: DL2 000 marker; 1~2: *transposa*型, 菌株为RZY1和BJ1; 3~4: *Boty*型, 菌株为QJ1和FS6; 5~6: *Flipper*型, 菌株为QJ5和SJT1

M: DL2 000 marker; 1-2: *transposa* genotype, isolate RZY1 and BJ1

3-4: *Boty* genotype, isolate QJ1 and FS6; 5-6: *Flipper* genotype, isolate QJ5 and SJT1

图1 灰葡萄孢转座子PCR扩增产物的凝胶电泳检测

Fig. 1 Electrophoresis of PCR amplicon of *Botrytis cinerea* transposon genotype

根据PCR扩增结果,北京地区草莓灰霉病菌共存在3种转座子类型:*transposa*型(同时含有Flipper和Boty)、*Boty*型(只有Boty)和*Flipper*型(只有Flipper)。

2.2 不同转座子类型的草莓灰霉病菌所占的比率

对60个灰霉病菌菌株转座子的PCR扩增结果表明,*transposa*型菌株共38株,占供试菌株的63.3%,*Flipper*型菌株17株,占供试菌株的28.3%,*Boty*型菌株5株,占8.4%,未发现*vacuna*型的菌株(图2)。

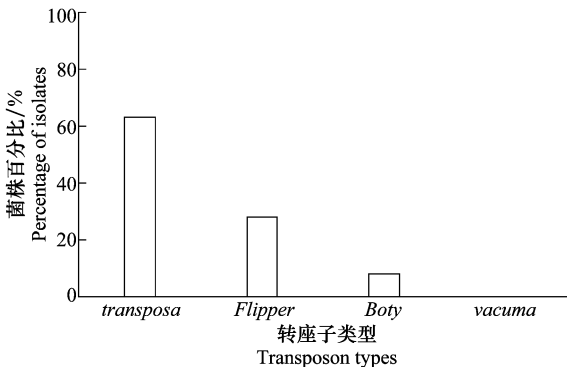


图2 含有不同转座子的草莓灰霉病菌菌株所占百分率

Fig. 2 Percentage of *Botrytis cinerea* isolates carrying different transposons

2.3 北京五区县不同转座子类型草莓灰霉病菌的分布比例

分析北京市5个区县草莓灰霉病菌的转座子类型及其所占比例,发现与北京地区总体情况一致,即在昌平、通州、海淀和房山区均为*transposa*型的菌株最多,*Flipper*型次之,*Boty*型所占比率最少,但各区菌株的转座子类型也有一定差异,通州区和海淀区共19株,均有2种类型,即*transposa*型和*Flipper*型,未发现有*Boty*型,昌平区和房山区共40株,均有3种类型,即*transposa*、*Flipper*和*Boty*,大兴区因为

只有1株,为一种类型,即*Boty*型(图3,表1)。

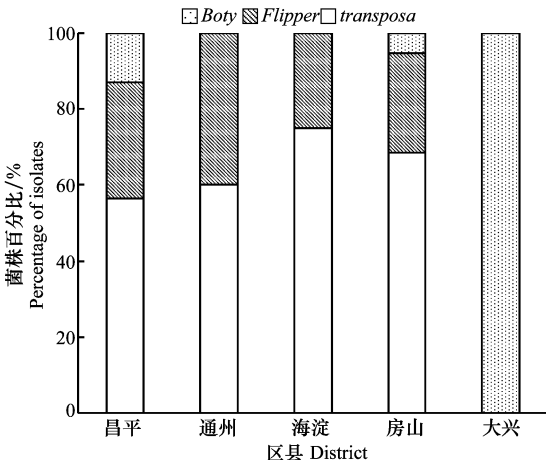


图3 北京市5个区县不同转座子类型的草莓灰霉病菌菌株所占百分率

Fig. 3 Proportion of *Botrytis cinerea* isolates carrying different transposons from 5 districts in Beijing

2.4 不同转座子类型的菌株对草莓叶片的致病力

选取的18株菌株对草莓叶片均有致病性。不同菌株的致病力有差异,病斑直径在13.0~26.8 mm之间。比较不同转座子类型菌株所致病斑大小,发现*Boty*型菌株引起的病斑直径显著大于*transposa*型菌株,也大于*Flipper*型菌株,但差异不显著(表2)。

表2 不同转座子类型的灰葡萄孢菌株的致病力比较¹⁾

Table 2 Comparison of pathogenicity of *Botrytis cinerea* isolates carrying different transposons

菌株编号 Number of isolate	转座子类型 Transposon type	病斑直径/mm Lesion diameter	病斑平均直径/mm Average lesion diameter
BJ14	<i>transposa</i>	16.3	19.6 ab
BJ22	<i>transposa</i>	16.8	
BJ3	<i>transposa</i>	13.0	
BJ-4	<i>transposa</i>	15.2	
FS-3	<i>transposa</i>	20.8	
LGS-5	<i>transposa</i>	26.8	
SJT-2	<i>transposa</i>	16.8	
TRY-2	<i>transposa</i>	17.0	
TRY-3	<i>transposa</i>	16.2	
BJ13	<i>Flipper</i>	21.4	24.9 a
FS1	<i>Flipper</i>	15.4	
QJ-1	<i>Flipper</i>	2.2	
SJT-1	<i>Flipper</i>	17.8	
WDY-3	<i>Flipper</i>	24.1	
XS-2	<i>Flipper</i>	16.9	
QJ-3	<i>Boty</i>	26.1	
QYD	<i>Boty</i>	24.4	
XS-4	<i>Boty</i>	24.3	

1) 根据 Duncan 分析,同列数据后相同小写字母表示数据间无显著性差异($\alpha=0.05$)。

According to Duncan analysis, data followed by the same letters in the same column mean no significant difference at 0.05 level.

3 小结与讨论

本研究对采自北京市 5 个区县的 60 株草莓灰霉病菌转座子类型进行检测,共发现 3 种转座子类型,*transposa*、*Boty* 和 *Flipper*,且 *transposa* 型的菌株所占比例最多,达 63.3%。这与湖北省不同寄主上的灰葡萄孢菌株以 *transposa* 型最多的报道一致^[10],但本研究中,*Boty* 型菌株的比率高于湖北省,而 *Flipper* 类型的菌株比率低于湖北省,没有检测到 *vacuma* 型。其他一些国家关于灰霉病菌转座子类型的报道中,*transposa* 型菌株的比率均占到了群体的 65% 以上。例如,在美国加利福尼亚地区来自无花果、葡萄、猕猴桃、豌豆和南瓜上的 234 株灰葡萄孢中,*transposa* 型菌株占 83.3%^[8];匈牙利的 109 株灰葡萄孢中,*transposa* 型菌株占 67.9%,*vacuma* 型菌株占 9.2%,其余菌株为 *Boty* 型或 *Flipper* 型^[9]。德国的 209 株灰葡萄孢中,*transposa* 型、*vacuma* 型和 *Boty* 型菌株所占百分比分别为 62.7%、14.4% 和 23.5%^[16]。在智利,葡萄上的 457 株灰葡萄孢中,*transposa* 型菌株占绝大多数,其次是 *Boty* 型,*vacuma* 型菌株较少,没有发现 *Flipper* 型^[17]。

本研究对北京市昌平、通州、海淀、房山和大兴 5 个区草莓上的灰葡萄孢菌株转座子类型进行了检测和分析,发现除大兴区只采到 1 个菌株外,其他 4 个区的优势转座子类型与北京总体情况一致,但各区之间又略有差异,昌平区和房山区的菌株有 3 种转座子类型,通州区和海淀区只有 *transposa* 型和 *Flipper* 型,未发现有 *Boty* 型。根据黄燕等^[12]的研究结果,灰葡萄孢转座子基因型分布有明显的地域性,如江苏的菌株为 *Flipper* 型,重庆、四川、甘肃和河北的菌株为 *Boty* 型,而青海的菌株为 *transposa* 型。可见,国内的灰霉病菌中 *vacuma* 型菌株所占比例较少^[11]或不存在^[12]。本研究在北京市 5 个区的草莓灰霉病菌中未发现 *vacuma* 型菌株,其他省市的草莓灰霉病菌是否存在 *vacuma* 型还有待进一步检测。

对北京市草莓灰霉病菌转座子类型与致病力分析发现,*transposa* 型菌株对草莓的致病力较弱,而 *Boty* 型菌株致病力较强。草莓灰霉病菌的转座子类型与致病力是否存在必然联系,还有待进一步扩大菌株数量进行验证和研究。

在群体遗传学研究中,转座子的出现被认为是发生重组的间接证明;同时,转座子还为追踪群体的变化提供了途径,这将有助于分析一段时间内的种

群动态^[18]。另外,转座子是一类跳跃性的元件,可以插入到基因组的某一位点,从而在真菌基因组中的分布、插入位置、拷贝数不同^[11],因此它还是研究丝状真菌群体多样性的有力工具。Martinez 等^[3]发现法国葡萄上灰葡萄孢 *vacuma* 型菌株的生长速率明显快于 *transposa* 型菌株。据我们的观察,同是来自草莓的灰葡萄孢在菌落生长速度、菌核的大小和产量、致病力及抗药性等多个方面均存在差异,表现出多样性(本实验室未发表结果),这些差异是否与转座子有关还需要进一步研究。

参考文献

- [1] Mass J L. 草莓病虫害概论[M]. 张运涛,张国珍,译. 第 2 版. 北京:中国农业出版社,2012.
- [2] Dean R, Van Kan J A L, Pretorius Z A, et al. The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology [J]. Molecular Plant Pathology, 2012, 13(4): 414–430.
- [3] Martinez F, Blancard D, Lecomte P, et al. Phenotypic differences between *vacuma* and *transposa* subpopulations of *Botrytis cinerea* [J]. European Journal of Plant Pathology, 2003, 109: 479–488.
- [4] Giraud T, Fortini D, Levis C, et al. Two sibling species of the *Botrytis cinerea* complex, *transposa* and *vacuma*, are found in sympatry on numerous host plants [J]. Phytopathology, 1999, 89(10): 967–973.
- [5] Giraud T, Fortini D, Levis C, et al. RFLP markers show genetic recombination in *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) and transposable elements reveal two sympatric species [J]. Molecular Biology and Evolution, 1997, 14(11): 1177–1185.
- [6] Diolez A, Marches F, Fortini D, et al. *Boty*, a long-terminal-repeat retroelement in the phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1995, 61(1): 103–108.
- [7] Levis C, Fortini D, Brygoo Y. *Flipper*, a mobile *Fot1*-like transposable element in *Botrytis cinerea* [J]. Molecular and General Genetics, 1997, 254(6): 674–680.
- [8] Ma Z, Michailides T J. Genetic structure of *Botrytis cinerea* populations from different host plants in California [J]. Plant Disease, 2005, 89(10): 1083–1089.
- [9] Váczy K Z, Sándor E, Karaffa L, et al. Sexual recombination in the *Botrytis cinerea* populations in Hungarian Vineyards [J]. Phytopathology, 2008, 98(12): 1312–1319.
- [10] Samuel S, Veloukas T, Papavasiliou A, et al. Differences in frequency of transposable elements presence in *Botrytis cinerea* populations from several hosts in Greece [J]. Plant Disease, 2012, 9(96): 1286–1290.
- [11] 张静. 湖北省灰霉病菌区系和灰葡萄孢菌多样性研究[D]. 武汉:华中农业大学,2010.

行了检测,明确了我国长江中下游冬小麦主产区小麦赤霉菌菌种的构成及其地理分布,发现了需要重点监控的群体,为进一步研究麦类赤霉菌群体遗传多样性和演化趋势奠定了基础,也为麦类赤霉病的防治和毒素污染的控制提供了理论依据。

参考文献

- [1] Miedaner T, Cumagun C J R, Chakraborty S. Population genetics of three important head blight pathogens *Fusarium graminearum*, *F. pseudograminearum* and *F. culmorum* [J]. Journal of Phytopathology, 2008, 156(3): 129–139.
 - [2] Nganje W E, Bangsund D A, Leistritz F L, et al. Estimating the economic impact of a crop disease: the case of *Fusarium* head blight in U. S [C]//Wheat and Barley. National Fusarium Head Blight Forum Proceedings, 2002;275–281.
 - [3] Goswami R S, Kistler H C. Heading for disaster: *Fusarium graminearum* on cereal crops [J]. Molecular Plant Pathology, 2004, 5(6): 515–525.
 - [4] Ueno Y, Nakajima M, Sakai K, et al. Comparative toxicology of trichothec mycotoxins: inhibition of protein synthesis in animal cells [J]. Journal of Biochemistry, 1973, 74(2): 285–296.
 - [5] Pestka J J, Smolinski A T. Deoxynivalenol toxicology and potential effects on humans [J]. Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B Critical Reviews, 2005, 8(1): 39–69.
 - [6] Yang L, van der Lee T, Yang X, et al. *Fusarium* populations on Chinese barley show a dramatic gradient in mycotoxin profiles [J]. Phytopathology, 2008, 98(6): 719–727.
 - [7] Zhang Hao, Van der Lee T, Waalwijk C, et al. Population analysis of the *Fusarium graminearum* species complex from wheat in China show a shift to more aggressive isolates[J]. PLoS ONE, 2012, 7(2): e31722.
 - [8] Zhang Jingbo, Li Heping, Dang Fujun, et al. Determination of the trichothecene mycotoxin chemotypes and associated geographical distribution and phylogenetic species of the *Fusarium graminearum* clade from China [J]. Mycological Research, 2007, 111: 967–975.
 - [9] Liang J M, Xayamongkhon H, Broz K, et al. Temporal dynamics and population genetic structure of *Fusarium graminearum* in the upper Midwestern United States [J]. Fungal Genetics and Biology, 2014, 73: 83–92.
 - [10] Gale L R, Ward T J, Kistler H C. A subset of the newly discovered Northland population of *Fusarium graminearum* from the U. S does not produce the B-type trichothecenes DON, 15ADON, 3ADON or NIV in U. S [C]//Wheat and Barley Scab Initiative. Proceedings of the 2010 National Fusarium Head Blight Forum, Session 2;Pathogen Biology & Genetics, Hyatt Regency Milwaukee, WI USA, 2010: 48–49.
 - [11] Varga E, Wiesenberger G, Hametner C, et al. New tricks of an old enemy: Isolates of *Fusarium graminearum* produce a novel type A trichothecene mycotoxin [J]. Environmental Microbiology, 2015, 17(8):2588–2600.
 - [12] McCormick S P, Alexander N J, Proctor R H. Heterologous expression of two trichothecene P450 genes in *Fusarium verticillioides* [J]. Canadian Journal of Microbiology, 2006, 52 (3): 220–226.
 - [13] Alexander N J, McCormick S P, Waalwijk C, et al. The genetic basis for 3-ADON and 15-ADON trichothecene chemotypes in *Fusarium* [J]. Fungal Genetics and Biology,2011,48(5):485–495.
 - [14] McCormick S P, Harris L J, Alexander N J, et al. *Tri1* in *Fusarium graminearum* encodes a P450 oxygenase [J]. Applied and Environmental Microbiology,2004,70(4):2044–2051.
 - [15] Ward T J, Clear R M, Rooney A P, et al. An adaptive evolutionary shift in *Fusarium* head blight pathogen populations is driving the rapid spread of more toxigenic *Fusarium graminearum* in North America [J]. Fungal Genetics and Biology, 2008, 45(4): 473–484.
 - [16] 张昊, 张争, 许景升, 等. 一种简单快速的赤霉菌菌单孢分离方法-平板稀释划线分离法[J]. 植物保护, 2008, 34(6): 134–136.
 - [17] Nicholson P, Simpson D R, Weston G, et al. Detection and quantification of *Fusarium culmorum* and *Fusarium graminearum* in cereals using PCR assays [J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 1998, 53(1): 17–37.
- (责任编辑: 杨明丽)
-
- (上接 181 页)
- [12] 黄燕, 朱振东, 段灿星, 等. 灰葡萄孢蚕豆分离物的遗传多样性[J]. 中国农业科学, 2014, 47(12): 2335–2347.
 - [13] 陈帅民, 芦帆, 张璨, 等. 北京地区草莓灰霉菌对异菌脲的抗性 & 抗性分子机制[J]. 植物保护, 2015, 41(5): 100–104.
 - [14] Bainbridge B W, Spreadbury C L, Scalise F G, et al. Improved methods for the preparation of high molecular weight DNA from large and small scale cultures of filamentous fungi [J]. FEMS Microbiology Letters, 1990, 66: 113–118.
 - [15] Munoz G, Hinrichsen P, Brygoo Y, et al. Genetic characterisation of *Botrytis cinerea* populations in Chile [J]. Mycological Research, 2002, 106: 594–601.
 - [16] Kretschmer M, Hahn M. Fungicide resistance and genetic diversity of *Botrytis cinerea* isolates from a vineyard in Germany [J]. Journal of Plant Diseases and Protection, 2008, 115(5): 214–219.
 - [17] Esterio M, Muñoz G, Ramos C, et al. Characterization of *Botrytis cinerea* isolates present in Thompson seedless table grapes in the central valley of Chile [J]. Plant Disease, 2011, 95(6): 683–690.
 - [18] Arkhipova I, Meselson M. Transposable elements in sexual and ancient asexual taxa [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 2000, 97: 14473–14477.
- (责任编辑: 杨明丽)