

基于 SRAP 标记的黄瓜霜霉菌遗传多样性分析

白玲玲¹, 刘行风¹, 陈政瑜¹, 周莹莹²,
刘丽¹, 张艳菊^{1*}, 张奥¹, 杨森¹

(1. 东北农业大学农学院, 哈尔滨 150030; 2. 黑龙江省哈尔滨市阿城区种子服务中心, 哈尔滨 150039)

摘要 本研究对来自黑龙江、辽宁、河北、山东、江苏 5 个省 12 个黄瓜主产区的 77 个黄瓜霜霉菌菌株, 采用 SRAP 分子标记进行了遗传多样性分析。从 35 对 SRAP 引物中筛选出 10 对引物, 共产生 9 554 条扩增条带, 其中 9 132 条表现多态性, 占 95.6%。基于 SRAP 分子标记, 77 个黄瓜霜霉菌菌株的遗传距离为 0.60~1.00, 表明黄瓜霜霉菌具有丰富的遗传多样性。通过聚类分析, 77 个黄瓜霜霉菌菌株聚类为 8 个类群, 并且来自相同地区的菌株大多数聚集于同一类群中, 表明黄瓜霜霉菌群体的遗传多样性与其地理来源密切相关。

关键词 黄瓜霜霉病; 分子标记; SRAP; 群体遗传

中图分类号: S 436.421.11 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3969/j.issn.0529-1542.2017.04.027

Genetic diversity of *Pseudoperonospora cubensis* based on SRAP markers

Bai Lingling¹, Liu Xingfeng¹, Chen Zhengyu¹, Zhou Yingying², Liu Li¹,
Zhang Yanju¹, Zhang Ao¹, Yang Sen¹

(1. College of Agriculture, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China;
2. Seed Service Center of Acheng District in Harbin, Heilongjiang Province, Harbin 150039, China)

Abstract The genetic diversity of *Pseudoperonospora cubensis* isolates sampled from diseased cucumber plants in 12 major cucumber-producing regions of 5 provinces, including Heilongjiang, Liaoning, Hebei, Shandong, and Jiangsu in China, was analyzed by sequence-related amplified polymorphism (SRAP). Ten out of 35 SRAP primers used in the present study produced genomic DNA polymorphism in 77 *P. cubensis* isolates, amplifying a total of 9 554 bands, 9 132 of which were polymorphic, accounting for 95.6%. The genetic distance of the 77 *P. cubensis* isolates ranged from 0.60 to 1.00 based on analyses of the SRAP markers. The results showed that the *P. cubensis* populations presented a high genetic diversity and 77 isolates could be classified into 8 groups. Most of the isolates from the same area were clustered in the same group by using the UPGMA method, suggesting that the genetic diversity of *P. cubensis* isolates was related to their geographical origins.

Key words cucumber downy mildew; molecular marker; SRAP; population genetics

由藻物界卵菌门古巴假霜霉菌 *Pseudoperonospora cubensis* (Berkeley & Curtis) Rostovzev 侵染引起的霜霉病是黄瓜生产上的重要叶部病害。该病害广泛分布于世界各地, 在适宜条件下, 传播流行速度极快, 一到两周时间即可造成叶片全部枯死, 对黄瓜生产威胁极大^[1-2]。

目前, 国内外学者利用不同的分子标记技术对黄瓜霜霉菌遗传多样性开展了相应的研究。Wang 等^[3]通过对 rDNA-ITS 序列进行研究认为, 黄瓜霜

霉菌在种内保持高度的遗传一致性, 而种间遗传存在差异且与亲缘关系有密切的关系。Sarris 等^[4]利用 AFLP 对来自捷克、克里特岛、法国和荷兰的黄瓜霜霉菌菌株进行了遗传多样性研究, 发现霜霉菌菌株被划分为 2 个独立的类群, 一个类群为捷克、法国和荷兰的所有菌株; 另一个类群为克里特岛的菌株, 分析表明, 菌株遗传多样性与其地理起源、寄主品种、致病型和对杀菌剂抗性有关。Quesada-Ocampo 等^[5]通过对黄瓜霜霉菌的群体遗传结构分析, 构建了全球

第一个黄瓜霜霉菌群体遗传结构图。Polat 等^[6]采用 ISSR 和 SRAP 分子标记对以色列、捷克和土耳其的 87 个黄瓜霜霉菌菌株进行分析,证实菌株间具有显著的遗传多样性,采自土耳其和捷克的菌株表现出一致的遗传背景,而以色列的菌株则明显不同,认为可能是由于菌株迁移或有性生殖现象引起的。在中国,刘艳玲等^[7]对中国 12 个城市的 34 株黄瓜霜霉菌的 rDNA-ITS 序列进行 SNP 分析表明,菌株来源与地理区域存在一定的相关性,菌株间在遗传上存在较大的差异。张艳菊等^[8]利用 27 个 RAPD 随机引物对 18 株黄瓜霜霉菌进行全基因组 DNA 的 PCR 扩增,获得 RAPD 标记共 230 个,发现各菌株之间的相似性系数较低,在基因组 DNA 水平上存在差异,具有丰富的遗传多样性。

相关序列扩增多态性(sequence-related amplified polymorphism, SRAP)是一种基于 PCR 的分子标记技术^[9],具有快速、可靠、高效、低成本、无需知道基因组的序列信息等优点^[10],已经成功应用于遗传多样性分析、遗传图谱的构建、重要性状的基因定位等方面的研究。Tang 等^[11]采用 ISSR 和 SRAP 分子标记,对中国的 34 株栽培木耳 *Auricularia auricula* 的遗传多样性进行了分析,认为 SRAP 的分类更细,内容更丰富。Liu 等^[12]采用 RAPD、ISSR 和 SRAP 三种标记对香菇 *Lentinula edodes* 的遗传多样性进行了分析,成功转化为 SCAR 标记。Zhang 等^[13]利用 ISSR 和 SRAP 分子标记对金顶侧耳 *Pleurotus citrinopileatus* 进行了遗传多样性分析,并建立了其系统发育进化树,利用 SRAP 分子标记将菌株分为了 6 个类群,表现出较高的遗传多样性水平。Zhang 等^[14]利用 SRAP 标记分析了猪苓 *Polyporus umbellatus* 的遗传多样性。Ma 等^[15]对中国东北的 13 个地区的松口蘑 *Tricholoma matsutake* 进行了遗传多样性鉴定,发现菌株间的遗传距离与地理隔离具有极高的正相关性。

本文利用 SRAP 分子标记对采自我省 5 个省 12 个黄瓜主产区的黄瓜霜霉菌群体进行遗传多样性研究,了解霜霉菌遗传多样性和演化关系,为有效防治黄瓜霜霉病提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

2014 年至 2015 年,在黄瓜霜霉病盛发期,从黑

龙江、辽宁、山东、河北、江苏 5 个省 12 个黄瓜主产区的温室大棚中采集 77 个黄瓜霜霉病样品(表 1),用于 SRAP 分析。

1.2 试验方法

1.2.1 DNA 提取

黄瓜霜霉菌基因组 DNA 的提取采用 CTAB 方法^[15],稍加改良。DNA 的纯度与浓度使用紫外分光光度计(DU600, Beckman, 美国)检测后,置于 -20℃ 保存待用。

1.2.2 SRAP 反应体系和反应程序

PCR 反应总体积为 20 μL ,其中 10 \times PCR Buffer (含 20 mmol/L Mg^{2+}) 2.0 μL , dNTPs(各 2.5 mmol/L) 2 μL , *Taq* 酶(5U/ μL)0.3 μL , ddH₂O 12.7 μL , 上下游混合引物(10 $\mu\text{mol/L}$) 1 μL , 模板 DNA (50 ng/ μL)2 μL 。反应程序为:94℃ 预变性 30 s;94℃ 变性 1 min,35℃ 退火 30 s,72℃ 扩展 1 min,进行 3 个循环;然后 94℃ 变性 1 min,50℃ 退火 1 min,72℃ 扩展 1 min,进行 35 个循环;72℃ 延伸 10 min;4℃ 保存。

1.2.3 SRAP 引物筛选

7 个 SRAP 上游引物和 5 个 SRAP 下游引物(表 2)由上海生物工程有限公司合成,随机组合成 35 对引物,选取 3 个模板 DNA 分别进行 PCR 扩增,筛选扩增条带清晰,重复性和多态性显著的引物,用于本研究黄瓜霜霉菌遗传多样性分析。

1.2.4 SRAP 分析

在 PCR 扩增产物中加入 2 μL 加样缓冲液,用 8% 的非变性聚丙烯酰胺凝胶检测。凝胶大小为 180 cm \times 120 cm \times 1 mm,电泳缓冲液为 1 \times TBE,每个点样孔加 2.0 μL 样品,180V 恒压下电泳约 1.0 h。电泳结束后,进行银染。先将胶放入固定液中,轻摇 7~8 min;倒掉固定液,加入渗透液,轻摇 10 min 左右;倒掉渗透液,蒸馏水水洗 30 s;倒掉蒸馏水后,加入显色液,轻摇至 DNA 条带显出为止;倒掉显色液,用蒸馏水水洗 1 次;倒掉蒸馏水,加入终止液终止反应;统计带型并照相。

1.2.5 数据分析

在 PAGE 胶上同一位置,出现条带的记为“1”,无条带的记为“0”,生成“0”和“1”组成的原始矩阵。利用软件 NTSYS-PC(ver. 2.1)中的 SIMQUAL 程序计算菌株间相似系数(similarity coefficient),获得相似系数矩阵。利用其中的 SAHN 程序和 UPGMA 方法进行聚类分析,通过 Tree Plot 模块建立聚类分析树状图。

表 1 黄瓜霜霉菌菌株名称及来源

Table 1 Name of *Pseudoperonospora cubensis* isolates and their origins

编号 Number	菌株名称 Isolate code	年份 Year	来源 Origin	编号 Number	菌株名称 Isolate code	年份 Year	来源 Origin
1	Pc-hlj1	2014	黑龙江省,哈尔滨市	40	Pc-hb3	2014	河北省,沧州市
2	Pc-hlj2	2014	黑龙江省,哈尔滨市	41	Pc-hb4	2014	河北省,廊坊市
3	Pc-hlj3	2014	黑龙江省,哈尔滨市	42	Pc-hb5	2014	河北省,廊坊市
4	Pc-hlj4	2014	黑龙江省,哈尔滨市	43	Pc-hb8	2015	河北省,沧州市
5	Pc-hlj5	2014	黑龙江省,哈尔滨市	44	Pc-hb9	2015	河北省,沧州市
6	Pc-hlj6	2014	黑龙江省,哈尔滨市	45	Pc-hb10	2015	河北省,沧州市
7	Pc-hlj7	2014	黑龙江省,哈尔滨市	46	Pc-hb11	2015	河北省,沧州市
8	Pc-hlj8	2014	黑龙江省,哈尔滨市	47	Pc-hb12	2015	河北省,沧州市
9	Pc-hlj9	2014	黑龙江省,哈尔滨市	48	Pc-hb13	2015	河北省,沧州市
10	Pc-hlj11	2014	黑龙江省,哈尔滨市	49	Pc-hb16	2015	河北省,石家庄市
11	Pc-hlj12	2014	黑龙江省,哈尔滨市	50	Pc-hb17	2015	河北省,石家庄市
12	Pc-hlj13	2015	黑龙江省,哈尔滨市	51	Pc-hb18	2015	河北省,石家庄市
13	Pc-hlj14	2015	黑龙江省,哈尔滨市	52	Pc-hb19	2015	河北省,石家庄市
14	Pc-hlj15	2015	黑龙江省,哈尔滨市	53	Pc-hb20	2015	河北省,石家庄市
15	Pc-hlj21	2014	黑龙江省,哈尔滨市	54	Pc-hb21	2015	河北省,石家庄市
16	Pc-hlj22	2014	黑龙江省,哈尔滨市	55	Pc-hb22	2015	河北省,石家庄市
17	Pc-hlj23	2014	黑龙江省,哈尔滨市	56	Pc-hb23	2015	河北省,石家庄市
18	Pc-hlj24	2014	黑龙江省,哈尔滨市	57	Pc-sd1	2014	山东省,寿光市
19	Pc-hlj25	2014	黑龙江省,哈尔滨市	58	Pc-sd2	2014	山东省,寿光市
20	Pc-hlj27	2014	黑龙江省,哈尔滨市	59	Pc-sd5	2015	山东省,寿光市
21	Pc-hlj28	2014	黑龙江省,哈尔滨市	60	Pc-sd6	2015	山东省,寿光市
22	Pc-ln1	2014	辽宁省,沈阳市	61	Pc-sd7	2015	山东省,寿光市
23	Pc-ln2	2014	辽宁省,沈阳市	62	Pc-sd8	2015	山东省,寿光市
24	Pc-ln6	2015	辽宁省,沈阳市	63	Pc-sd9	2015	山东省,寿光市
25	Pc-ln7	2015	辽宁省,沈阳市	64	Pc-sd10	2015	山东省,寿光市
26	Pc-ln8	2015	辽宁省,沈阳市	65	Pc-sd11	2015	山东省,寿光市
27	Pc-ln10	2015	辽宁省,沈阳市	66	Pc-sd12	2015	山东省,寿光市
28	Pc-ln27	2015	辽宁省,盘锦市	67	Pc-sd13	2015	山东省,寿光市
29	Pc-ln28	2015	辽宁省,盘锦市	68	Pc-sd14	2014	山东省,临沂市
30	Pc-ln31	2015	辽宁省,盘锦市	69	Pc-sd15	2014	山东省,临沂市
31	Pc-ln33	2015	辽宁省,凌源市	70	Pc-sd17	2014	山东省,临沂市
32	Pc-ln34	2015	辽宁省,凌源市	71	Pc-sd19	2014	山东省,临沂市
33	Pc-ln35	2015	辽宁省,凌源市	72	Pc-sd20	2014	山东省,临沂市
34	Pc-ln36	2015	辽宁省,凌源市	73	Pc-sd22	2015	山东省,泰安市
35	Pc-ln37	2015	辽宁省,凌源市	74	Pc-sd27	2015	山东省,泰安市
36	Pc-ln41	2014	辽宁省,鞍山市	75	Pc-sd28	2015	山东省,泰安市
37	Pc-ln42	2014	辽宁省,鞍山市	76	Pc-js1	2014	江苏省,连云港市
38	Pc-hb1	2014	河北省,沧州市	77	Pc-js2	2014	江苏省,连云港市
39	Pc-hb2	2014	河北省,沧州市				

2 结果与分析

2.1 黄瓜霜霉菌基因组 DNA 的提取

所提取的黄瓜霜霉菌基因组 DNA 经 1% (w/v) 琼脂糖凝胶电泳检测(图 1),显示条带清晰完整,无拖尾现象, DNA 无降解,可满足 SRAP 分子标记研究。

2.2 黄瓜霜霉菌 SRAP-PCR 结果

采用上、下游引物自由组合的 35 对引物对霜

霉菌菌株进行 PCR 扩增,从中筛选出 10 对多态性好、带型清晰的引物组合(表 3)。利用这 10 对引物对 77 个黄瓜霜霉菌菌株进行 SRAP 分析,总共扩增出条带 9 554 条,大小为 100~5 000 bp 不等,其中 9 132 条为多态性条带,多态性比率为 95.6%。引物组合 Me9/Em14 扩增出的条带数最多,达 1 406 条;引物组合 Me2/Em4 扩增出的条带数最少。每个 SRAP 引物对扩增出的平均条带数为 955 条(表 3)。

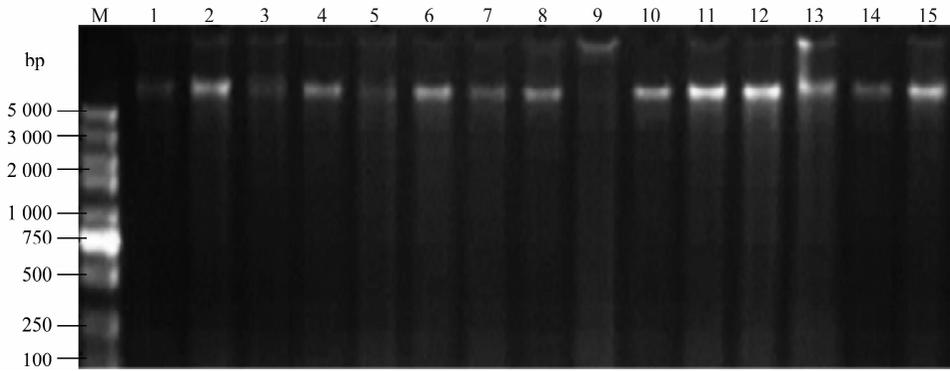


图 1 1%琼脂糖凝胶电泳检测部分黄瓜霜霉菌基因组 DNA

Fig. 1 Detection of genomic DNA of some *Pseudoperonospora cubensis* isolates based on ethidium bromide-stained 1% agarose gel

表 2 用于黄瓜霜霉菌遗传多态性分析的 SRAP 上、下游引物序列

Table 2 Sequences of polymorphic SRAP primer pairs used for analysis of the genetic diversity of *Pseudoperonospora cubensis* in this study

上游引物名称 Forward primer	引物序列(5'-3') Primer sequence (5'-3')	下游引物名称 Reverse primer	引物序列(5'-3') Primer sequence (5'-3')
Me2	TGAGTCCAAACCGGAGC	Em4	GACTGCGTACGAATTCAG
Me3	TGAGTCCAAACCGGTGT	Em7	GACTGCGTACGAATTCAC
Me4	TGAGTCCAAACCGGAAT	Em9	GACTGCGTACGAATTATG
Me6	TGAGTCCAAACCGGATG	Em10	GACTGCGTACGAATTCAA
Me8	TGAGTCCAAACCGGAGC	Em14	GACTGCGTACGAATTGTC
Me9	TGAGTCCAAACCGGAAG		
Me12	TGAGTCCAAACCGGTAG		

表 3 10 对引物组合对 77 个黄瓜霜霉菌菌株 SRAP 扩增结果

Table 3 SRAP-PCR amplification of 77 isolates of *Pseudoperonospora cubensis* using 10 primer pairs

引物编号 Primer code	引物组合 Primer combination	总条带数/条 Total of band	多态性条带数目/条 Polymorphic band	多态性比率/% Percentage of polymorphic band
SRAP-1	Me8/Em10	692	692	100
SRAP-2	Me8/Em14	578	500	86.5
SRAP-3	Me2/Em4	569	569	100
SRAP-4	Me2/Em9	981	904	92.2
SRAP-5	Me4/Em14	856	588	68.7
SRAP-6	Me6/Em4	895	895	100
SRAP-7	Me6/Em7	1 130	1 130	100
SRAP-8	Me12/Em10	1 221	1 221	100
SRAP-9	Me3/Em4	1 227	1 227	100
SRAP-10	Me9/Em14	1 406	1 406	100

2.3 SRAP 聚类分析

利用软件 NTSYS-PC(ver. 2.1)对供试的 77 个黄瓜霜霉菌菌株基因组 DNA 的 SRAP-PCR 扩增条带的数据进行统计分析,获得这些菌株间的聚类分析树状图(图 2)。由图可见,黄瓜霜霉菌群体遗传多样性比较丰富,遗传分化较大,菌株间的相似系数在 0.60~1.00 之间,在相似系数为 0.73 时(图 2),所有菌株被分为 8 个类群,第一类群为黑龙江的所有菌株共 21

个,占总菌株数的 27.3%;第二类群为江苏的 2 个菌株(Pc-js1 和 Pc-js2),占总菌株数的 2.6%;第三类群为辽宁的 16 个菌株,占总菌株数 20.8%;第四类群为河北的所有菌株(19 个)和山东的部分菌株(10 个),共 29 株,占总菌株数的 37.7%;第五类群为山东的 2 个菌株(Pc-sd1 和 Pc-sd5),第六类群为山东菌株 Pc-sd8 和 Pc-sd9;第七类群为山东菌株 Pc-sd19;第八类群为 4 个山东菌株 Pc-sd2、Pc-sd13、Pc-sd12 和 Pc-sd17。

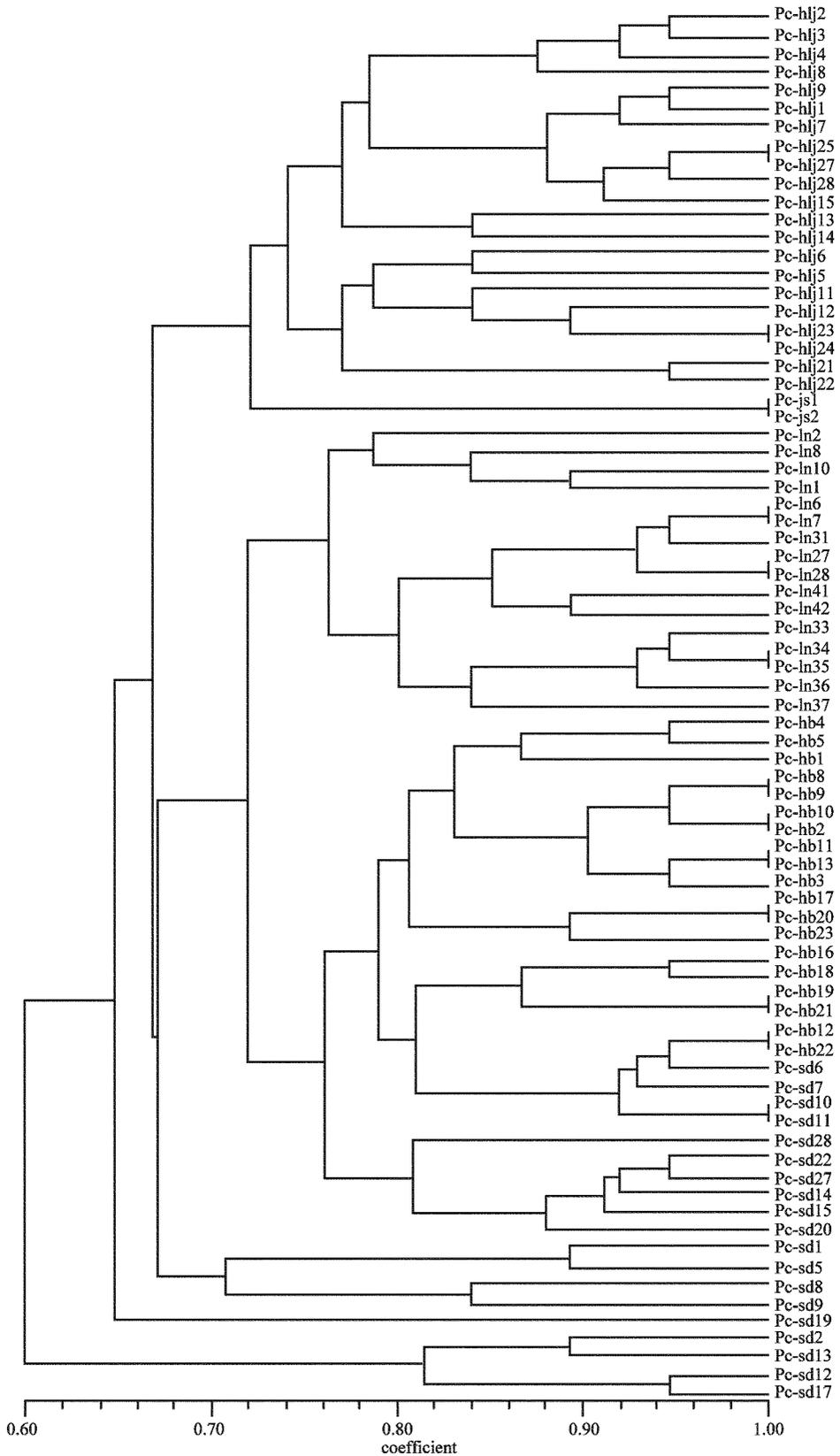


图 2 77 株黄瓜霜霉菌菌株基于 SRAP 标记的聚类分析图

Fig. 2 Dendrogram of 77 isolates of *Pseudoperonospora cubensis* based on analysis of genetic similarity of the pathogenic populations using SRAP markers

3 讨论

SRAP 分子标记技术是利用一对设计独特的引物扩增基因阅读框区域 (opening read frame, ORF), 上游引物特异性扩增外显子区域, 下游引物特异性扩增内含子及启动子区域。本研究对 5 个省 12 个黄瓜主产区的 77 个黄瓜霜霉菌菌株的 SRAP 进行了研究, 从分子水平上揭示出黄瓜霜霉菌群体遗传多样性比较丰富。聚类结果表明, 来自黑龙江、辽宁、江苏和河北的所有菌株分别聚类于同一类群内, 来自山东的菌株则聚类于 5 个不同的类群。此研究结果一方面表明基于 SRAP 分析的黄瓜霜霉菌群体遗传多样性与其地理来源存在密切的相关性, 同一地区来源的菌株归于相同的类群; 另一方面也可以看出, 来自山东的菌株具有较高的遗传多样性。

突变和有性生殖被认为是病菌发生变异的主要原因。由于病菌发生变异, 产生新的基因型, 从而使菌株表现丰富的遗传多样性。2012 年 Zhang 等^[17] 在黑龙江、吉林、辽宁、河北、山东、宁夏、陕西和青海省发现了卵孢子的存在, 并证实越冬后的卵孢子翌年仍具有活性, 可以作为黄瓜霜霉病的初侵染源。2013 年 Cohen 等^[18] 报道来自我国山东、北京和黑龙江的菌株同时存在两种交配型 A1 和 A2, 进一步证实在这些地区病菌在自然条件下发生有性生殖。Zhang 等和 Cohen 等的研究均在山东省发现病菌存在有性生殖, 表明进行有性生殖以及异宗配合的病菌, 由于发生了遗传物质的重组, 因此比不进行有性生殖的病菌具有更大的变异性, 产生具有更强适应性、更多样化的新侵染性后代。这些新的后代往往具有相对强的侵染性和复杂的毒力结构, 并逐渐取代适应性和侵染性较弱的种群, 成为优势种群, 使病害发生更加严重。张艳菊等^[19] 于 2015 年报道, 相比于黑龙江、吉林、辽宁、北京等省份采集的菌株, 来自山东省的黄瓜霜霉菌菌株对杀菌剂啮菌酯的抗性水平最高, 其原因可能是因为长期大量使用啮菌酯使菌株产生了抗药性, 这也从另一方面解释了来自山东的病菌具有较高遗传多样性的原因。

迄今为止, 教科书及多数学者对黄瓜霜霉病的初侵染源还未形成定论, 认为由于北方高寒地区冬季没有黄瓜种植, 推测这一地区的初侵染源可能是由发病较早的地区随季风吹来的孢子囊释放游动孢子侵染所致。但是, Zhang 等^[17] 的研究结果表明黑

龙江、吉林、辽宁、河北、山东、宁夏、陕西和青海省等地黄瓜霜霉菌均发现存在卵孢子, 并可作为黄瓜霜霉病发生的初侵染源。Cohen 等^[18] 的报道也有力地支持了 Zhang 等^[17] 的结论。本研究通过对黄瓜霜霉菌遗传多样性的研究, 发现同一地区菌株相似性较高, 而不同地区菌株间相似性较低, 从分子水平证实黄瓜霜霉菌与地理来源存在相关性。

参考文献

- [1] Lebeda A, Cohen Y. Cucurbit downy mildew (*Pseudoperonospora cubensis*)-biology, ecology, epidemiology, host-pathogen interaction and control [J]. *European Journal Plant Pathology*, 2011, 129(2): 157-192.
- [2] 刘艳玲, 张艳菊, 蔡宁, 等. 黄瓜霜霉病病原与抗病性研究进展[J]. *东北农业大学学报*, 2009, 40(4): 127-131.
- [3] Wang Na, Ma Yajun, Yang Cuiyun, et al. rDNA-ITS sequence analysis of pathogens of cucumber downy mildew and cucumber powdery mildew [J]. *Frontiers of Agriculture in China*, 2008, 2(3): 317-320.
- [4] Sarris P, Abdelhalim M, Kitner M, et al. Molecular polymorphisms between populations of *Pseudoperonospora cubensis* from Greece and the Czech Republic and the phytopathological and phylogenetic implications [J]. *Plant Pathology*, 2009, 58(5): 933-943.
- [5] Quesada-Ocampo L M, Granke L L, Olsen J, et al. The genetic structure of *Pseudoperonospora cubensis* populations [J]. *Plant Disease*, 2012, 96(10): 1459-1470.
- [6] Polat L, Baysal Ö, Mercati F, et al. Characterization of *Pseudoperonospora cubensis* isolates from Europe and Asia using IS-SR and SRAP molecular markers [J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2014, 139(3): 641-653.
- [7] 刘艳玲, 张艳菊, 秦智伟, 等. 黄瓜霜霉菌卵孢子形成及 rDNA-ITS 序列分析 [C]// 彭友良, 朱有勇. 中国植物病理学会 2009 年学术年会论文集. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2009.
- [8] 张艳菊, 张宏宇, 秦智伟, 等. 黄瓜霜霉菌毒性及分子多态性分析 [J]. *东北农业大学学报*, 2010(2): 25-30.
- [9] Li G, Quiros C F. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in *Brassica* [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2001, 103: 455-461.
- [10] 陈碧云, 伍晓明, 陆光远, 等. 甘蓝型油菜花瓣缺失基因的图谱定位 [J]. *遗传*, 2006, 28(6): 707-712.
- [11] Tang Lihua, Xiao Yang, Li Li, et al. Analysis of genetic diversity among Chinese *Auricularia auricular* cultivars using combined ISSR and SRAP markers [J]. *Current Microbiology*, 2010, 61(2): 132-140.

特点[J]. 应用昆虫学报, 2014, 51(2): 516 - 524.

- [6] 唐启义, 胡国文, 唐健, 等. 白背飞虱猖獗频率增加与杂交稻面积增加的关系分析[J]. 西南农业大学学报, 1998, 20(5): 456 - 459.
- [7] 寒川一成, 刘光杰, 沈君辉. 中国杂交稻的“超感虫性”研究概况[J]. 中国水稻科学, 2003, 17(S1): 23 - 30.
- [8] 程家安, 朱金良, 祝增荣, 等. 稻田飞虱灾变与环境调控[J]. 环境昆虫学报, 2008, 30(2): 176 - 182.
- [9] 俞晓平, 巫国瑞, 陶林勇, 等. 水稻抗虫品种对褐飞虱和白背飞虱种群增长的影响[J]. 中国水稻科学, 1993, 7(2): 88 - 94.
- [10] 刘芳, 戴志一, 胡国文, 等. 不同类型水稻品种对白背飞虱忌避性、抗生性和耐害性的测定[J]. 中国水稻科学, 1998, 12(3): 189 - 192.
- [11] 李隽, 桂富荣, 李正跃, 等. 云南传统水稻品种对白背飞虱的抗性筛选[J]. 植物保护, 2012, 38(1): 60 - 64.
- [12] 刘光杰, 沈君辉, 寒川一成, 等. 水稻品种抗白背飞虱鉴定的定

量指标[J]. 植物保护学报, 2003, 30(2): 153 - 160.

- [13] 商科科, 徐雪亮, 王晖, 等. 十六个水稻品种(系)对褐飞虱的抗性评价[J]. 应用昆虫学报, 2011, 48(5): 1335 - 1310.
- [14] 刘光杰, 陈爱辉, 沈君辉. 白背飞虱为害对水稻产量的影响及防治指标的研究进展[J]. 昆虫知识, 2003, 40(1): 1 - 5.
- [15] 汤金仪, 马桂椿, 胡国文. 水稻白背飞虱为害损失测定及防治指标研究[J]. 植物保护学报, 1992, 19(2): 139 - 144.
- [16] 吕广磊, 蔺忠龙, 白现广, 等. 云南栽培稻种 SSR 遗传多样性比较[J]. 植物学报, 2009, 44(4): 457 - 463.
- [17] 李自超, 张洪亮, 曾亚文, 等. 云南稻种资源表型遗传多样性的研究[J]. 作物学报, 2001, 27(6): 832 - 937.
- [18] 沈君辉, 尚金梅, 刘光杰. 中国的白背飞虱研究概况[J]. 中国水稻科学, 2003, 17(S1): 7 - 22.

(责任编辑: 杨明丽)

(上接 150 页)

- [12] Liu Jingyu, Ying Zenghe, Liu Fang, et al. Evaluation of the use of SCAR markers for screening genetic diversity of *Lentinula edodes* strains [J]. Current Microbiology, 2012, 64(4): 317 - 325.
- [13] Zhang Qiusheng, Xu Binglian, Liu Linde, et al. Analysis of genetic diversity among Chinese *Pleurotus citrinopileatus* Singer cultivars using two molecular marker systems (ISSRs and SRAPs) and morphological traits [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2012, 28(5): 2237 - 2248.
- [14] Zhang Y, Kang Y, Qin Y, et al. Genetic diversity of endangered *Polyporus umbellatus* from China assessed using a sequence-related amplified polymorphism technique [J]. Genetics and Molecular Research, 2012, 11(4): 4121 - 4129.
- [15] Ma Dalong, Yang Guoting, Mu Liqiang, et al. Application of

SRAP in the genetic diversity of *Tricholoma matsutake* in northeastern China [J]. African Journal of Biotechnology, 2010, 9(38): 6244 - 6250.

- [16] 王关林, 方宏筠. 植物基因工程[M]. 北京: 科学出版社, 2009.
- [17] Zhang Yanju, Pu Zijing, Qin Zhiwei, et al. A study on the overwintering of cucumber downy mildew oospores in China [J]. Journal of Phytopathology, 2012, 160(9): 469 - 474.
- [18] Cohen Y, Rubin A E, Liu X L, et al. First report on the occurrence of A2 mating type of the cucurbit downy mildew agent *Pseudoperonospora cubensis* in China [J]. Plant Disease, 2013, 97(4): 559.
- [19] 张艳菊, 王莹, 党悦嘉, 等. 黄瓜霜霉菌对啞菌酯抗药性的研究[J]. 东北农业大学学报, 2015(4): 23 - 28.

(责任编辑: 杨明丽)

会 讯

第二十四届国际果树病毒及嫁接传播病害研究理事会(International Council for the Study of Virus and other Graft Transmissible Diseases of Fruit Crops, ICFV)于 2017 年 6 月 4—9 日在希腊瑟萨洛尼基召开。来自世界各地的近 100 位学者参加了会议。中国大陆有两人参加了此次会议, 分别是华中农业大学的王国平教授以及中国农业科学院植物保护研究所的李世访研究员。该次大会包括 40 个口头报告以及 37 个墙报, 内容涉及植物病毒、类病毒和植原体等方面。其中 6 位学者作了特邀大会报告, 题目分别为:

- 1、希腊果树的栽培生产现状及展望
- 2、希腊果树病毒研究概况介绍
- 3、侵染果树的类病毒: 从接种到高通量测序(NGS)
- 4、NGS 技术在植物病毒研究中的应用以及对果树无病毒种苗调运产生的影响
- 5、果树植原体病害
- 6、通过抑制寄主植物 DICER 的表达打破植物的防御系统

此次大会的一个显著特点就是 NGS 技术在果树病毒及果树病毒病害研究中的广泛应用。近乎一半的报告不论是口头报告还是墙报中都提到了 NGS 技术, 说明该技术在研究果树病毒上的应用空间还很大。会议期间参观了希腊瑟萨洛尼基附近的果园, 考察了李痘病毒和桃潜隐花叶类病毒的发生分布以及危害状况。会后对 ICFV 的学术委员会进行了改选, 新增委员 5 人。经过投票确定, 第 25 届 ICFV 会议将于 2020 年在荷兰召开。

(李世访, 中国农业科学院植物保护研究所 北京 100193)