

云南省葡萄霜霉病菌群体遗传结构的 SSR 分析

王境杨¹, 张 昊², 孔繁芳², 周连柱², 杨 敏¹,
杜 飞¹, 邓维萍¹, 黄晓庆^{2*}, 朱书生^{1*}

(1. 云南农业大学植物保护学院, 农业生物多样性与病虫害控制教育部重点实验室, 昆明 650201;
2. 中国农业科学院植物保护研究所, 北京 100193)

摘要 为明确云南特色葡萄产区葡萄霜霉病菌的群体遗传结构,本研究采用 7 对 SSR 分子标记对采自云南 3 个地区的 155 株葡萄霜霉病菌进行了群体遗传多样性研究,并分析了病原菌群体遗传结构与地域之间的关系。7 对引物共检测出 41 个等位基因,114 种基因型,病原菌群体的 Shannon's 信息指数和 Nei's 无偏基因多样性指数分别为 0.942 和 0.600。分子方差分析和群体连锁不平衡分析显示,不同群体间存在相当大的遗传变异。遗传分化系数、基因流以及 Structure 分析表明,元谋群体与宾川、寻甸两群体之间均具有较高的基因交流,宾川和寻甸两群体间则存在一定的遗传分化。上述结果表明,云南葡萄霜霉病菌群体存在较高水平的遗传多样性,且群体遗传结构与地理距离之间存在一定相关性。

关键词 葡萄霜霉病菌; SSR 分子标记; 遗传多样性; 遗传结构

中图分类号: S 436.631 **文献标识码:** A **DOI:** 10.16688/j.zwbh.2021701

Genetic structure of *Plasmopara viticola* based on SSR markers in Yunnan

WANG Jingyang¹, ZHANG Hao², KONG Fanfang², ZHOU Lianzhu², YANG Min¹,
DU Fei¹, DENG Weiping¹, HUANG Xiaoqing^{2*}, ZHU Shusheng^{1*}

(1. College of Plant Protection, Yunnan Agricultural University, Key Laboratory for Agro-biodiversity and Pest Control of Ministry of Education, Kunming 650201, China; 2. Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract To clarify the population genetic structure of *Plasmopara viticola* in Yunnan province, the population genetic diversity of 155 strains of *Plasmopara viticola* collected from three regions was studied by seven pairs of SSR markers, and the relationship between population genetic structure and region was analyzed. A total of 41 alleles and 114 distinct genotypes were identified. Shannon's information index and Nei's unbiased gene diversity index were 0.942 and 0.600, respectively. The analysis of molecular variance and population linkage imbalance showed that there were considerable genetic variations among different populations. Based on genetic differentiation index, gene flow and Structure analysis, Yuanmou population had a high gene flow with Binchuan and Xundian populations, while Binchuan and Xundian populations showed genetic differentiation to some extent. In conclusion, there was a high level of genetic diversity in the populations of *Plasmopara viticola* in Yunnan, and there was a correlation between the population genetic structure and geographical distance to some degree.

Key words *Plasmopara viticola*; SSR markers; genetic diversity; genetic structure

云南位于我国西南地区,气候类型丰富,昼夜温差较大,光照充足,适合葡萄种植^[1]。所产葡萄具有成熟早、产量高、品质优的特点,是国内鲜食葡萄上

市最早的产区^[2],在我国葡萄产业中占有重要地位。葡萄霜霉病(grape downy mildew)是危害葡萄产业最为严重的病害之一,病菌主要为害叶部,并侵染嫩

收稿日期: 2021-12-15 修订日期: 2022-02-17

基金项目: 国家现代农业产业技术体系建设专项(CARS-29);国家自然科学基金(32001843);云南农业大学林下中药材有机种植省创新团队(202105AE160016);云南省李健强专家工作站(202105AF150046);云南省科技计划“放管服”及稳定支持专项重点项目(202001BB050001)

* 通信作者 E-mail:黄晓庆 huangxiaqing0718@126.com;朱书生 shushengzhu79@126.com

梢、幼果、花穗等一切绿色组织^[3]。一般病害流行年份减产 30%~50%, 严重时可减产 80%^[4]。云南省葡萄霜霉病常于葡萄挂果期及成熟期暴发流行, 严重影响果实品质及产量^[5]。引起该病害的葡萄霜霉病菌 *Plasmopara viticola* 是活体专性寄生的二倍体卵菌^[6], 有无性繁殖和有性生殖两种生殖方式, 能够在单个葡萄生长季完成多次侵染^[7], 这就导致在每个生殖周期都有可能发生遗传变异^[8]。因此, 不同地理环境, 多样化耕种方式以及较长的栽种时间等, 可能给云南葡萄霜霉病菌群体的遗传多样性带来影响。

进行葡萄霜霉病菌群体遗传多样性的研究, 有助于了解云南霜霉病的发生流行情况, 推测病原菌群体进化趋势, 丰富病原菌遗传分化数据库以及有针对性地制订相应的防控策略。目前, 尚没有针对云南地区葡萄霜霉病菌群体遗传多样性研究的报道。对病菌群体遗传多样性的研究, 传统方法是对病原菌进行形态观测、发病规律研究等^[9]。随着分子生物学的快速发展, 分子标记被广泛应用于病原菌群体遗传多样性的研究。本研究利用 SSR 分子标记技术对云南宾川县、元谋县、寻甸回族彝族自治县 3 个地区的葡萄霜霉病菌群体进行了遗传多样性分析, 以研究云南地区葡萄霜霉病菌群体遗传结构, 并分析葡萄霜霉病菌群体遗传结构与地域的相关关系, 从而为葡萄霜霉病菌的监测预警, 及有效控制策略研发奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试菌株

2020 年—2021 年采集了云南省大理白族自治州宾川县(以下简称“宾川”)、楚雄彝族自治州元谋县(以下简称“元谋”)、昆明市寻甸回族彝族自治县(以下简称“寻甸”)3 个地区的葡萄霜霉病病叶, 挑取单孢囊梗, 经分离、纯化后共得到 155 株病原菌。其中, 采自宾川的菌株共 75 株, 采自元谋的菌株共 65 株, 采自寻甸的菌株共 15 株。

1.1.2 接种材料

病原菌的纯化扩繁选用中国农业科学院廊坊中试基地葡萄园内新鲜、健康的‘里扎马特’嫩叶。

1.1.3 葡萄霜霉病菌的培养

采集新鲜、健康的‘里扎马特’葡萄嫩叶, 用 1%

的次氯酸钠水溶液消毒 30 s 后用去离子水冲洗 2~3 次, 并用滤纸吸干水分。使用直径 15 mm 的打孔器打取叶片, 叶背面向上放置于 1% 水琼脂培养基上, 对葡萄霜霉病菌进行活体培养。

1.2 试验方法

1.2.1 病菌的采集与纯化扩繁

田间采集新鲜、无杂菌污染, 并且近期末施用杀菌剂的葡萄霜霉病病叶, 置于铺有湿润滤纸的培养皿中, 表面喷上无菌水, 于温度 21℃, 光周期 L/D=16 h//8 h 的人工气候箱内保湿培养。待长出新鲜霉层后, 在体视显微镜下挑取单孢囊梗, 接种在提前制备好的叶圆盘中央(事先滴加 20 μ L 灭菌水, 提供孢子萌发所需的水环境)。在 21℃, 黑暗处理 24 h 后, 用灭菌滤纸吸干水分, 继续在 21℃, L/D=16 h//8 h 条件下保湿培养 6 d, 叶盘上长出浓密的菌层, 即为葡萄霜霉病菌纯系菌株。刮取纯培养的菌株霉层, 加入去离子水充分振荡, 制成浓度为 1×10^5 个/mL 的孢子囊悬浮液, 接种于新的叶圆盘上并按上述培养条件进行菌株的扩繁, 以此获得大量纯系菌株, 用于提取 DNA。

1.2.2 DNA 的提取

从叶圆盘片上刮取一定量的霜霉病菌, 利用 OMEGA Fungal DNA Mini Kit (D3309-02) 提取菌株 DNA, 提取方法参照试剂盒说明书。用 NanoVue plus 紫外可见分光光度计检测 DNA 浓度及质量, 合格后放 -20℃ 冻存备用。

1.2.3 简单重复序列的扩增

SSR 引物的选取参照 Gobbin 等^[10], Rouxel 等^[11]的方法, 筛选出 7 对适合研究葡萄霜霉病菌遗传多样性的 SSR 特异性引物。引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成并用 FAM 或 HEX 荧光进行标记(表 1)。以提取的 DNA 为模板, 利用选取的 7 对 SSR 引物进行扩增。

PCR 反应采用 20 μ L 体系: 2 $\times$ Taq mix 10 μ L, ddH₂O 8 μ L, DNA 模板 1 μ L, 上下游引物各 0.5 μ L。PCR 扩增程序: 95℃ 预变性 5 min; 95℃ 变性 30 s, 55℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 30 s, 循环 35 次; 72℃ 再延伸 10 min; 最后 4℃ 保存。PCR 反应结束后取 5 μ L 扩增产物用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测, 检测合格产物由生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。

表 1 本研究所用 SSR 引物
Table 1 SSR primers for PCR in this study

引物名称 Primer name	引物序列(5'-3') Primer sequence	重复单元 Repeat unit	荧光标记 Fluorescent marker	片段大小/bp Product size
Pv14	F: CAGAAACGCACAAGGTCTGA R: AATTGCATACTGCAGCAACG	(TG)8	HEX	120~128
Pv61	F: TCTTCAGGTAGATGCGACCA R: GGTGACTCCTCGGACGAATA	(CA)9	FAM	181~187
Pv65	F: CTTTGGCCACGTCATAGTT R: CGCTTTCGGTAGGTCCATTA	(TC)9	FAM	196~202
Pv93	F: TAGACCGGACTAGGCGTAT R: TGTACCCTGTTGCCCTCTTC	(GT)6	HEX	147~151
Pv138	F: CGTGGATCATGACGTTTGTC R: CGACGAATCAGGGACAAGAT	(TA)9	HEX	225~235
Pv139	F: GACCCGGACAATGGACTCTA R: CCGCCATGTATTGAACAGTG	(AC)8	FAM	126~133
ISA	F: ATTAGCGGCATGGACGTT R: GAGAAGTTCCGCCAAGTACA	(TC)11	FAM	118~144

1.3 数据统计与分析

使用 GenAIEx 6.51b2(Microsoft office Excel 加载宏)计算遗传多样性参数^[12],包括等位基因数(observed number of alleles, N_a),有效等位基因数(effective number of alleles, N_e),稀有等位基因数(number of private alleles, P_A),Shannon’s 信息指数(Shannon’s information index, I),期望杂合度(expected heterozygosity, H_e),遗传分化系数(genetic differentiation index, F_{st}),估算基因流(gene flow, Nm),并进行分子方差分析(analysis of molecular variance, AMOVA)。

使用 R 软件的 poppr 包对供试菌株个体进行克隆矫正,进而测定多位点基因型数目(number of multilocus genotypes observed, MLG),多位点基因型数目期望值(the number of expected MLG at the smallest sample size, $eMLG$),Nei 无偏基因多样性(Nei’s unbiased gene diversity, H_{exp}),标准化连锁指数(the standardized index of association, $rbarD$),显著性水平(P -value, P)。

使用 Structure 2.3.4 进行群体结构划分,根据每个独立个体的遗传背景进行结构划分,选用混合祖先模型^[13],将缺失数据标记为“—9”并尝试设定 K 值(亚群数)范围为 2~6,设定“length of burn-in period”为 10 000,然后选择马尔科夫蒙特卡洛(MCMC)法进行 10 000 次迭代,设定每个 K 值重复运行 5 次^[14],其他参数按照默认设置,不做更改。

2 结果与分析

2.1 引物多态性

采用 7 对引物对采集的 155 株葡萄霜霉病菌 DNA 进行扩增,获取片段大小后,使用 poppr 克隆矫正得到 116 个独立菌株。7 对引物在 3 个群体中共检测出 41 个等位基因(表 2),每个引物位点的等位基因数目是 4~8 个,平均等位基因数为 5.857 个。对每个位点的等位基因数进行比较,多样性最多的位点是 Pv138($N_a=8$),多样性最少的是 Pv61($N_a=4$)。引物预期杂合度(H_e)范围在 0.554~0.684 之间,各引物之间杂合度差异不大,等位基因多样性较为丰富。

表 2 SSR 引物在葡萄霜霉病菌群体中的多态性¹⁾
Table 2 Polymorphism of SSR loci in *Plasmopara viticola* populations

引物 Primer	等位基因数/个 N_a	有效等位基因数/个 N_e	期望杂合度 H_e
Pv14	5	2.702	0.627
Pv61	4	3.234	0.684
Pv65	6	2.399	0.574
Pv93	5	2.170	0.571
Pv138	8	2.531	0.554
Pv139	6	2.158	0.651
ISA	7	2.461	0.583

1) N_a : 等位基因数; N_e : 有效等位基因数; H_e : 期望杂合度。
 N_a : Observed number of alleles; N_e : Effective number of alleles; H_e : Expected heterozygosity.

2.2 不同地区葡萄霜霉病菌群体的遗传多样性

由表 3 所示,116 株病原菌共存在 114 个多位

点基因型(*MLG*),14 个稀有等位基因(*PA*),其中宾川群体的稀有等位基因数量最多,有 10 个,元谋群体有 4 个稀有等位基因,寻甸群体则无稀有等位基因。利用 Nei 无偏基因多样性(*Hexp*)和 Shannon's 信息指数(*I*)估算了 3 个群体的遗传多样性水平,*Hexp* 值在 0.535~0.559,*I* 值为 0.817~1.014。从以上两个指标可知,3 个群体遗传多样性程度差别不大,其中元谋种群遗传多样性最高。总体而言,云南葡萄霜霉病菌群体的遗传多样性

较高, $Hexp=0.600$, $I=0.942$ 。群体连锁不平衡分析如图 1 所示,宾川、寻甸群体 *rbarD* 值均较低, $P_{\text{宾川}}=0.164$, $P_{\text{寻甸}}=0.149$,表明其群体内的标准化连锁系数与理论值不存在显著差异,群体内的基因型分布符合连锁平衡,表现为随机交配群体,群体内个体间存在充分的有性生殖。元谋群体 *rbarD* 值为 0.062($P_{\text{元谋}}=0.01$),显著偏离遗传平衡,说明群体内个体间基因交流非常有限。

表 3 云南 3 个地区葡萄霜霉病菌群体遗传多样性¹⁾

Table 3 Genetic diversity of *Plasmopara viticola* populations in three regions of Yunnan

群体名称 Population	<i>N</i> /株	<i>MLG</i> /个	<i>eMLG</i>	<i>Na</i>	<i>Ne</i>	<i>PA</i> /个	<i>I</i>	<i>Hexp</i>	<i>rbarD</i>	<i>P</i>
宾川 Binchuan	55	55	14	5.000	2.294	10	0.995	0.535	0.014	0.164
元谋 Yuanmou	47	47	14	4.429	2.371	4	1.014	0.559	0.062	0.001
寻甸 Xundian	14	14	14	2.714	2.135	0	0.817	0.536	0.029	0.149
总计 Total	116	114	13.970	4.048	2.267	14	0.942	0.600	0.042	0.001

1) *N*: 种群内的分离菌株数; *MLG*: 多位点基因型数目观测值; *eMLG*: 多位点基因型数目的期望值; *Na*: 等位基因数; *Ne*: 有效等位基因数; *PA*: 稀有等位基因; *I*: Shannon's 信息指数; *Hexp*: Nei 无偏基因多样性; *rbarD*: 标准化连锁系数; *P*: 假设检验的概率值。
N: Number of isolated strains in population; *MLG*: Number of multilocus genotypes observed; *eMLG*: Number of expected *MLG* at the smallest sample size; *Na*: Observed number of alleles; *Ne*: Effective number of alleles; *PA*: Number of private alleles; *I*: Shannon's information index; *Hexp*: Nei's unbiased gene diversity; *rbarD*: The standardized index of association; *P*: Probability value of hypothesis test.

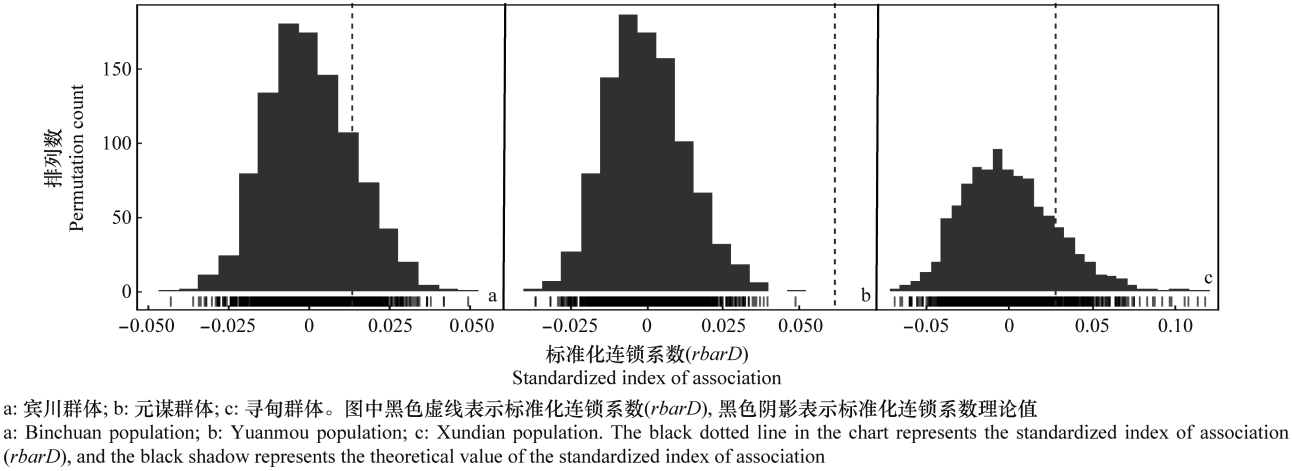


图 1 云南 3 个地区葡萄霜霉病菌群体的连锁不平衡分析

Fig. 1 Linkage disequilibrium analysis of *Plasmopara viticola* populations in three regions of Yunnan province

2.3 葡萄霜霉病菌群体的遗传分化与基因流

分子方差分析(表 4)显示,云南 3 个地区葡萄霜霉病菌的群体内、群体间均存在显著的遗传变异($P < 0.001$)。群体内遗传变异占 72%,群体间占 28%,说明遗传变异主要产生于每个地区葡萄霜霉病菌群体内的菌株之间,且群体间也存在较大的遗传变异。按照 Wright^[15]对遗传分化系数(*Fst*)的界定标准,当 $0 < Fst \leq 0.05$ 时表示群体间分化程度

低; $0.05 < Fst \leq 0.15$ 时为中度分化; $0.15 < Fst \leq 0.25$ 表示分化程度较高; $Fst > 0.25$ 表明分化程度极高。由表 5 可见,各群体间的遗传分化系数分布在 0.077~0.111,表明不同群体两两间均存在中度程度的遗传分化;其中,宾川和寻甸群体间遗传分化系数最大,为 0.111,相应的群体间基因流最小,为 2.007。宾川和元谋群体间遗传分化系数最低,为 0.077,群体间基因流最大,为 3.014。

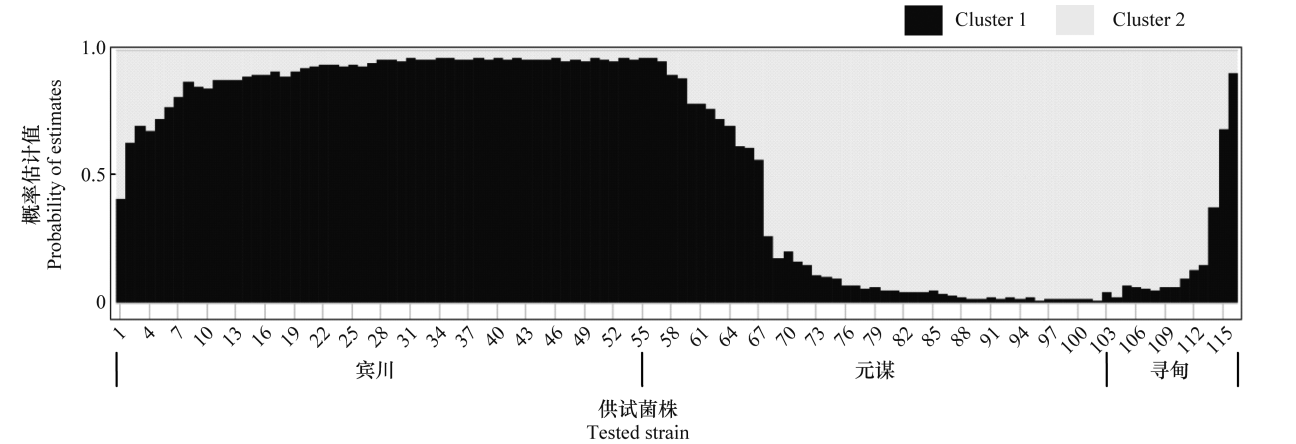
表 4 云南 3 个地区葡萄霜霉病菌群体的分子方差分析

Table 4 Analysis of molecular variance of <i>Plasmopara viticola</i> populations in three regions of Yunnan						
变异来源 Source of variation	自由度 Degree of freedom	平方和 Sum of squares	离差平方和 Sum of squares of deviations	估计方差 Estimate variance	所占比例/% Proportion	P 值 P-value
群体间 Among populations	2	41.808	20.904	0.563	28	<0.001
群体内 Within population	113	160.166	1.417	1.417	72	
总体 Total	115	201.974	22.321	1.981	100	

表 5 云南不同葡萄霜霉病菌群体两两间遗传分化系数和基因流¹⁾

Table 5 Pairwise comparisons of genetic differentiation coefficients and gene flow among different <i>Plasmopara viticola</i> populations in Yunnan			
群体 Population	宾川 Binchuan	元谋 Yuanmou	寻甸 Xudian
宾川 Binchuan	...	3.014	2.007
元谋 Yuanmou	0.077	...	2.748
寻甸 Xudian	0.111	0.083	...

1) 表中对角线下部为群体两两间遗传分化系数,对角线上部为群体两两间基因流。
The values below the diagonal represents genetic differentiation coefficients between populations, and those above the diagonal represents gene flow between populations.



供试菌株中1~55采自宾川; 56~102采自元谋; 103~116采自寻甸。概率估计值超过0.8的菌株被归为Cluster 1 (黑色); 概率估计值低于0.2的菌株被归为Cluster 2 (灰色); 概率估计值介于0.2~0.8的菌株被归为混合菌株
1~55: Strains were collected from Binchuan; 56~102: Strains were collected from Yuanmou; 103~116: Strains were collected from Xudian. Strains with probability estimates greater than 0.8 are classified as cluster 1 (dark); Strains with probability estimates lower than 0.2 are classified as cluster 2 (grey); Strains with probability estimates between 0.2 and 0.8 are classified as mixed strains

图 2 葡萄霜霉病菌群体归于 2 个亚群的后验概率图

Fig. 2 Plot of posterior probabilities to two subgroups of *Plasmopara viticola* populations

3 结论与讨论

葡萄霜霉病的严重发生给云南葡萄产业带来了巨大经济损失,葡萄霜霉病菌有很强的繁殖进化能力,能在一个生长季发生多次再侵染。SSR 分子标记技术操作简单,成本低,目前被广泛用于葡萄霜霉病菌群体遗传多样性和遗传结构研究。本研究结果

2.4 不同地区葡萄霜霉病菌的群体遗传结构

Structure 群体遗传结构表明群体的遗传结构与地区之间有一定关联,选取 $K=2$,将葡萄霜霉病菌群体划分为两个理论群(图 2)。其中,杂合菌株 14 株,占群体的 12.1%;cluster 1(黑色)58 株,占群体的 50.0%;cluster 2(灰色)44 株,占群体的 37.9%。宾川群体中 90.9%是 cluster 1(黑色),9.1%是混合菌株;元谋群体中 14.9%是 cluster 1(黑色),14.9%是混合菌株,70.2%是 cluster 2(灰色);寻甸群体中 78.6%是 cluster 2(灰色),14.3%是混合菌株,7.1%是 cluster 1(黑色)。3 个群体间遗传结构存在一定差异,元谋群体在结构划分上类型最为丰富,并且与宾川、寻甸群体交流都比较频繁。

显示,采自云南宾川、元谋、寻甸 3 个地区的葡萄霜霉病菌,经 SSR 引物扩增后,共产生 41 个等位基因(其中包括 14 个稀有等位基因),共存在 114 种基因型。Nei 无偏基因多样性(H_{exp})和 Shannon's 信息指数(I)分别为 0.600、0.942。与周婷婷^[16]、李卓^[17]、于舒怡等^[18]、Yin 等^[19]利用 SSR 分子标记技术对我国其他地区葡萄霜霉病菌遗传多样性分析所

得的 Nei 无偏基因多样性和 Shannon's 信息指数相比,云南地区的霜霉病菌群体比新疆、辽宁、北京、天津、河北、山东、江苏、广西、宁夏等地区群体具有更高水平的遗传多样性。

病原菌的遗传多样性由不同因素相互作用决定,包括生殖方式、防治方法和耕作方式等。根据群体连锁不平衡分析显示,宾川、寻甸两群体符合连锁平衡,表明群体内菌株间能进行充分的随机交配,两群体均以有性生殖为主,这就造成病原菌会形成新的基因型,群体遗传多样性丰富。在葡萄生产中常以化学防治为主,同时配合抗病品种的种植以及避雨栽培等技术防治葡萄霜霉病,各地区不同的防治措施对病菌群体产生了不同的选择压力,也可能造成葡萄霜霉病菌遗传多样性水平的不同。另外,云南具有独特的地理气候,复杂的生境条件,并且 3 个地区均处在我国少数民族聚居区,多民族聚居导致的多样化耕种方式和相对较长时间的葡萄规模化栽种等因素,也可造就云南地区葡萄霜霉病菌群体具有较高的遗传多样性水平^[20]。

另外,分子方差分析(AMOVA)显示,不同群体间遗传变异占比 28%,说明不同地理群体间存在较高水平的遗传变异,揭示了云南葡萄霜霉病菌群体遗传结构可能与地理位置存在一定的关系,3 个地区的群体结构产生了一定差异。两两群体间遗传分化系数为 0.077~0.111,基因流为 2.007~3.014,3 个群体两两间均存在中等程度的遗传分化。相比而言,元谋群体与宾川、寻甸两群体有较高的基因流,较低的遗传分化系数;宾川、寻甸两群体则存在较低的基因流以及较高的遗传分化系数。Structure 群体遗传结构分析也表明,当将云南葡萄霜霉病菌群体归于 2 个亚群时,元谋群体在结构划分上类型最为丰富,与宾川、寻甸群体均有一定程度的基因交流;相反,宾川、寻甸两群体之间交流较少,在遗传结构上存在一定分化。这与元谋在地理位置上介于宾川和寻甸之间有一定的关系,表明元谋群体在群体基因交流中充当“桥头堡”作用,葡萄霜霉病菌群体遗传结构与地理距离之间存在一定相关性,并且随着距离的增大,群体间基因交流程度会下降,遗传结构差异增加。就上述而言,3 个地区菌株群体间虽存在一定程度的基因交流并可能在元谋地区进行交会,但也存在中度的遗传分化。

与本研究结果类似的是,周婷婷^[16]对新疆不同地区的葡萄霜霉病菌进行遗传分析的结果表明群体

内变异是霜霉病菌遗传变异的主要来源,病菌群体间的亲缘关系与地理分布之间具有一定相关性。之后李卓^[17]对新疆地区葡萄霜霉病菌进行聚类分析的结果也表明群体间的亲缘关系与地理分布具有相关性。李荣^[21]进行了湖南省霜霉病菌的系统发育分析显示,病原菌的亲缘关系与地理位置有一定程度的联系。

葡萄霜霉病菌群体内部既存在有性生殖又存在无性繁殖,根据病害风险模型假说^[22-23],有性生殖对病原菌的新基因型的产生具有重要作用,无性繁殖则有助于病原菌在盛发期大规模繁殖,更有助于病原菌对杀菌剂产生抗药性。因此,研究云南葡萄霜霉病菌群体遗传多样性和遗传结构,对于了解云南地区病害发生情况,做好地区病害流行监控,进行病害预测预报,制定省内病害防控措施,防止病害在省内各产区间大规模传播有一定的积极作用。

参考文献

- [1] 姚渊,邵建辉,马春花,等. 云南葡萄与葡萄酒产业的发展现状及展望[J]. 黑龙江农业科学, 2013(2): 109-111.
- [2] 杨顺林,郭淑萍,李佛莲. 云南鲜食葡萄产业概况与发展对策[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2019(2): 3-6.
- [3] 史大卫,高建国,何素珍. 葡萄霜霉病和缺镁症的区别及防治[J]. 落叶果树, 2006, 38(1): 53.
- [4] 刘新秀,张莉,任毓忠,等. 葡萄品种抗霜霉病不同鉴定方法的比较和相关性分析[J]. 新疆农业科学, 2012, 49(7): 1244-1249.
- [5] 邓维萍,杨敏,何霞红,等. 避雨栽培对葡萄霜霉病发生的影响与葡萄冠层微气象因子的关系[J]. 植物保护, 2017, 43(3): 76-82.
- [6] WONG F P, BURR H N, WILCOX W F. Heterothallism in *Plasmopara viticola* [J]. Plant Pathology, 2001, 50(4): 427-432.
- [7] GOBBIN D, JERMINI M, LOSKILL B, et al. Importance of secondary inoculum of *Plasmopara viticola* to epidemics of grapevine downy mildew [J]. Plant Pathology, 2005, 54(4): 522-534.
- [8] HAWKINS N J, FRAAIJE B A. Fitness penalties in the evolution of fungicide resistance [J]. Annual Review of Phytopathology, 2018, 56(1): 339-360.
- [9] 任旭琴. 遗传多样性及其研究方法[J]. 淮阴工学院学报, 2002, 11(5): 6-8.
- [10] GOBBIN D, PERTOT I, GESSLER C. Identification of microsatellite markers for *Plasmopara viticola* and establishment of high throughput method for SSR analysis [J]. European Journal of Plant Pathology, 2003, 109(2): 153-164.
- [11] ROUXEL M, PAPURA D, NOGUEIRA M, et al. Microsatellite markers for characterization of native and introduced populations of *Plasmopara viticola*, the causal agent of grapevine downy mildew [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2012, 78(17): 6337-6340.

- [8] 田畴, 贺达汉, 赵立群. 荒漠草原新害虫—白茨粗角萤叶甲生物学及防治的研究[J]. 昆虫知识, 1990, 27(2): 102–104.
- [9] 关明卓, 李国霞, 甄常生, 等. 白刺萤叶甲生活规律及防治研究[J]. 中国草地, 1991(1): 41–44.
- [10] 李能丽. 古浪县草原虫害发生特点及防治建议[J]. 甘肃农业科技, 2011(2): 37–39.
- [11] 贺达汉, 田畴, 金桂兰. 白茨粗角萤叶甲自然种群生命表及转移矩阵模型的研究[J]. 宁夏农学院学报, 1990(1): 24–31.
- [12] 张文兰, 照日格图, 陈国华. 甲维盐等不同药剂对白刺萤叶甲的药剂防治效果[J]. 当代畜禽养殖业, 2020(1): 5–6.
- [13] 陈善科, 保平, 杨惠民. 阿拉善荒漠几种主要害虫对草地的危害及其防治[J]. 草业科学, 2000(3): 44–46.
- [14] 田畴, 贺达汉, 马小国. 白茨一条萤叶甲发育起点和有效积温常数的研究[J]. 昆虫知识, 1988, 25(5): 286–288.
- [15] 贺达汉, 田畴. 不同温度和温周期下白茨粗角萤叶甲的实验生命表[J]. 昆虫学报, 1990(4): 437–443.
- [16] 贺达汉, 田畴, 李华, 等. 恒温与变温对白茨一条萤叶甲(*Di-orhabda rybakovi* Weise)发育的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 1989, 11(1): 94–99.
- [17] 张孝羲, 程遐年, 耿济国. 害虫预报原理和方法[M]. 北京: 农业出版社, 1979: 179–180.
- [18] 张孝羲. 昆虫生态及预测预报[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002: 218–219.
- [19] 王如松, 兰仲雄, 丁岩钦. 昆虫发育速率与温度关系的数学模型研究[J]. 生态学报, 1982(1): 47–57.
- [20] 罗智心, 任荔荔, 祁力言, 等. 温度对桔小实蝇种群发育的影响[J]. 生态学杂志, 2009, 28(5): 921–924.
- [21] 何超, 沈登荣, 尹立红, 等. 不同性比井上蛙果斑螟成虫寿命及生殖力的影响[J]. 植物保护, 2017, 43(5): 62–66.
- [22] 章士美, 杨明旭. 昆虫性比的初步研究[J]. 江西农业大学学报, 1986(S3): 8–13.
- [23] 原建强, 李欣. 半闭弯尾姬蜂性比的影响因素研究[J]. 河南农业大学学报, 2008, 42(3): 334–336.
- [24] MOHAMMED A, CHADEE D D. Effects of different temperature regimens on the development of *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) mosquitoes [J]. Acta Tropica, 2011, 119(1): 38–43.

(责任编辑: 杨明丽)

(上接 175 页)

- [12] PEAKALL R, SMOUSE P E. GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research — an update [J]. Bioinformatics, 2012, 28(19): 2537–2539.
- [13] PRITCHARD J K, STEPHENS M, DONNELLY P. Inference of population structure using multilocus genotype data [J]. Genetics, 2000, 155(2): 945–959.
- [14] 石洁. 葡萄霜霉病菌与寄主品种相关的遗传分化研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2016.
- [15] WRIGHT S. The genetical structure of populations [J]. Annals of Eugenics, 2011, 15(1): 323–354.
- [16] 周婷婷. 新疆地区葡萄霜霉病菌致病性分化研究[D]. 石河子: 石河子大学, 2015.
- [17] 李卓. 新疆葡萄霜霉病菌孢子囊的萌发、侵染及遗传分化的研究[D]. 石河子: 石河子大学, 2017.
- [18] 于舒怡, 刘长远, 关天舒, 等. 不同栽培模式下葡萄霜霉病菌遗传结构的时间动态分析[J]. 植物保护学报, 2020, 47(1): 169–177.
- [19] YIN Ling, ZHANG Yali, HAO Yan. Genetic diversity and population structure of *Plasmopara viticola* in China [J]. European Journal of Plant Pathology, 2014, 140(2): 365–376.
- [20] MASSI F, TORRIANI S F F, BORGHI L, et al. Fungicide resistance evolution and detection in plant pathogens: *Plasmopara viticola* as a case study [J/OL]. Microorganisms, 2021, 9(1): 119. DOI: 10.3390/microorganisms9010119.
- [21] 李荣. 湖南省葡萄霜霉病的发生规律调查及病原菌遗传多样性研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2014.
- [22] MC DONALD B A, LINDE C. Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance [J]. Annual Review of Phytopathology, 2002, 40(1): 349–379.
- [23] STUKENBROCK E H, MC DONALD B A. The origins of plant pathogens in agro-ecosystems [J]. Annual Review of Phytopathology, 2008, 46(1): 75–100.

(责任编辑: 杨明丽)

(上接 205 页)

- [21] 张权, 齐梦蝶, 康莹, 等. UHPLC-LTQ Orbitrap MS 快速鉴别无患子果皮中部分苷及苷元成分[J]. 质谱学报, 2018, 39(2): 224–239.
- [22] 蒋春先, 熊忠梅, 李庆, 等. 用吴茱萸乙醇提取物对斜纹夜蛾的生物活性进行研究[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2008(2): 105–108.
- [23] 孙雯姿, 王俭珍, 呼天明, 等. 菊苣叶提取物对粘虫的生物活性研究[J]. 草业学报, 2011, 20(2): 60–66.
- [24] 万年峰, 陈晓勤, 季香云, 等. 当归和蓖麻乙醇提取液对甜菜夜蛾生长发育和繁殖的亚致死效应[J]. 中国生态农业学报, 2013, 21(9): 1135–1141.
- [25] 录丽平, 孙长德, 杨美林, 等. 无患子皂苷粗提物杀虫活性研究[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(2): 10755–10756.
- [26] UPADHYAY A, SINGH D K. Inhibition kinetics of certain enzymes in the nervous tissue of vector snail *Lymnaea acuminata* by active molluscicidal components of *Sapindus mukorossi* and *Terminalia chebula* [J]. Chemosphere, 2011, 85(6): 1095–1100.

(责任编辑: 杨明丽)