

常卫格, 高建昊, 张小杰, 洪流, 王林英, 周天旺, 王春明, 郭成. 甘肃省玉米瘤黑粉病菌交配型及遗传多样性[J]. 应用与环境生物学报, 2024, 30 (6): 1230-1235

Chang WG, Gao JH, Zhang XJ, Hong L, Wang LY, Zhou TW, Wang CM, Guo C. Mating type and genetic diversity of *Ustilago maydis* in Gansu Province, China [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2024, 30 (6): 1230-1235

甘肃省玉米瘤黑粉病菌交配型及遗传多样性

常卫格^{1,2} 高建昊^{1,2} 张小杰³ 洪流² 王林英^{1,2} 周天旺² 王春明² 郭成^{1,2}✉

¹甘肃农业大学植物保护学院 兰州 730070

²甘肃省农业科学院植物保护研究所 兰州 730070

³甘肃农业大学草业学院 兰州 730070

摘要 以甘肃省玉米瘤黑粉病菌为研究对象, 通过特异性引物鉴定其交配型a位点, 并利用ISSR分子标记技术分析其遗传多样性, 以掌握甘肃省玉米瘤黑粉病原菌的交配型种类和遗传结构. 结果表明, 甘肃省玉米瘤黑粉病原菌有3种交配型, 即mfa1、mfa2和mfa1 + mfa2交配型, 分别有5株、11株和34株, 其占比依次为10.00%、22.00%和68.00%, 其中mfa1 + mfa2为优势交配型. 经过ISSR引物扩增, 共得到203条条带, 平均每条引物扩增出9.23条, 其中182条为多态性的条带, 多态性条带比例达到 89.66%. 利用NTSYS-pc软件聚类分析, 结果显示供试菌株遗传相似系数在0.70-0.93之间. 遗传相似系数为0.75时, 可分为5个类群, 显示出丰富的遗传多样性. 本研究发现该病菌的遗传类群与交配型无明显相关性, 且二者与该菌的地理分布也没有紧密联系. (图5 表5 参17)

关键词 玉米瘤黑粉菌; 交配型; 遗传多样性; 甘肃省

Mating type and genetic diversity of *Ustilago maydis* in Gansu Province, China

CHANG Weige^{1, 2}, GAO Jianhao^{1, 2}, ZHANG Xiaojie³, HONG Liu², WANG Linying^{1, 2}, ZHOU Tianwang², WANG Chunming² & GUO Cheng^{1, 2}✉

¹ College of Plant Protection, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China

² Institute of Plant Protection, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730070, China

³ College of Grassland Science, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China

Abstract The mating type of the pathogenic fungus *Ustilago maydis* in Gansu Province was identified through genetic analysis. Specific primers and ISSR molecular marker technology were used to analyze its genetic diversity, with the goal of determining the mating-type genetic structure of the pathogen. The results showed that there were three mating types of *U. maydis* in Gansu Province, namely mfa1, mfa2, and mfa1+mfa2, with five, 11, and 34 strains, respectively, accounting for 10.00%, 22.00%, and 68.00%, respectively, of the pathogen population. Of the three types, mfa1+mfa2 was the dominant mating type. After ISSR primer amplification, 203 bands were obtained, with an average of 9.23 bands amplified by each primer, of which 182 were polymorphic, and the proportion of polymorphic bands reached 89.66%. The results of cluster analysis using NTSYS-pc software showed that the genetic similarity coefficients of the tested strains ranged from 0.70 0.93. When the genetic similarity coefficient was 0.75, the population was divided into five groups that showed rich genetic diversity. In conclusion, using ISSR molecular marker technology to analyze the genetic diversity of *U. maydis* and using molecular biology technology to preliminarily study the mating type, it was found that there was no obvious correlation between the genetic group and the mating type of the bacteria, and the two were not closely related to the geographical distribution of the bacteria.

Keywords *Ustilago maydis*; mating type; genetic diversity; Gansu Province

玉米 (*Zea mays* L.) 是我国重要的粮饲兼用型作物, 在国民经济、农业及粮食安全中占有举足轻重的地位, 其生产水平直接关系到国民经济与社会的稳定. 玉米从发芽到成熟期均可受到病害威胁^[1], 严重影响玉米的产量、品质以及食品安

全. 玉米瘤黑粉病 [*Ustilago maydis* (DC) Corda] 是一种危害玉米的系统性病害, 可侵染玉米雄穗、雌穗、茎秆、叶片及腋芽等部位的幼嫩组织, 产生大小不一的病瘤. 病瘤会消耗玉米植株的营养, 从而导致植株矮小扭曲甚至空秆不结实, 造

收稿日期 Received: 2024-03-11 接受日期 Accepted: 2024-05-13

第二次青藏高原综合科学考察研究项目 (2019QZKK0303) 和甘肃省陇原青年英才项目资助 Supported by Second Tibetan Plateau Scientific Expedition and Research Program (2019QZKK0303) and Project of Longyuan Young Talents in Gansu Province

✉通信作者 Corresponding author (E-mail: gsguoch@126.com)

成严重减产^[2]。一般田间发病率在5%-10%之间,严重地块减产30%-80%^[3-4]。2000年,该病害曾在我国内蒙古地区流行,发病面积达到1.3万hm²,平均发病率为20%,个别重度地块发病率高达100%,导致大幅减产,甚至绝收^[5]。此外,该病害在我国东北、华北、西北春玉米区和黄淮海夏玉米区均有发生^[6]。随着我国玉米种植结构调整、连茬种植地块较多、品种抗性参差不齐、土壤中瘤黑粉菌逐年积累及气候变暖等原因,导致玉米瘤黑粉病在不同地区和不同年份之间发病程度差异较大,给玉米安全生产造成了一定程度的威胁。

玉米瘤黑粉病病原为玉蜀黍黑粉菌(*U. maydis*),属于异宗配合。病菌对寄主的致病过程分为两个阶段,不同单倍型细胞的融合和双核菌丝侵染,玉米瘤黑粉病菌单倍体细胞(担孢子)向双核菌丝的转变过程由交配型基因的a、b两个位点调控^[7-8],双核菌丝体的形成取决于a基因位点不同,其致病性和稳定遗传则取决于b基因位点不同^[9]。因此,a位点不同是产生致病性菌丝的必要条件^[10-11]。目前,玉米瘤黑粉菌a位点发现仅有*mfa1*、*mfa2*这两种基因型^[12]。分子标记能够直接反映个体间遗传物质的差异,不受个体间的性状表达差异和外界环境条件影响。而ISSR分子标记技术是一种广泛用于遗传多样性研究的方法,具有操作简单、稳定性好、成本低廉、重复性更高、对实验技术的需求低等优点。该方法不仅能保证PCR扩增过程中的再现性,而且引物序列长、稳定性良好和多态性高。如张家齐等人首次采用纬度划分方法,研究了不同玉蜀黍黑粉菌菌株的地理种群的种群遗传划分情况,并应用ISSR分子标记法对我国黄淮海地区玉蜀黍黑粉菌的种群遗传结构开展了系统的研究,发现菌株种群的划分与按照纬度划分的地理种群呈现高度一致,这种分类方法能够较好地揭示不同地理种群间玉蜀黍黑粉菌菌株的亲缘关系^[13]。刘小迪等通过ISSR分子标记技术对82株玉蜀黍黑粉菌进行了遗传多样性分析,发现不同地理来源的玉蜀黍黑粉菌ISSR类群的划分与其采集地的分布无显著相关性,且同一区域的玉蜀黍黑粉菌种群之间存在一定的遗传分化,反映了玉米瘤黑粉菌的遗传多样性^[12]。李超等采用邻接法将北京10个区内采集的317个菌株划分为两个类群,结果表明北京市10个区的玉蜀黍黑粉菌遗传多样性较低,且无显著的遗传差异^[14]。根据甘肃省天水市植保植检站调查的结果可知,2015-2017年天水地区发生了大面积的玉米瘤黑粉病,病田率在10%-50%之间,病株率为5%-12%,部分田块发病严重,发病率达到15%以上^[15]。

结合本课题组近几年调查,玉米瘤黑粉病在甘肃省各地区均有分布,个别品种的病株率高达65%。本研究采用分子生物学技术和ISSR分子标记技术,结合POPGEN软件和NTSYS-pc软件进行处理,分析甘肃省玉米瘤黑粉病的交配型和遗传多样性,探讨甘肃省玉米瘤黑粉病的交配型和遗传多样性,以期为该病害的流行规律和综合防控提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试病样:2022-2023年采集甘肃、陕西、宁夏及新疆的玉米瘤黑粉病菌样,其中甘肃51份,主要采自陇东地区、陇中地区和河西走廊;陕西5份,采自延安市和榆林市;宁夏16份,采自吴忠市、固原市、银川市、中卫市和石嘴山市;新疆12份,采自克孜勒苏柯尔克孜自治州、喀什地区、和田地区、巴音郭楞蒙古自治州、乌鲁木齐市、伊犁哈萨克自治州和昌吉回族自治州。详细采集地点见补充材料附表1。将菌样晾干后用150目的细纱网过筛,收集备用,并在实验室进行病原菌分离。

试剂及仪器:2×Power Taq PCR Master Mix、DL1000 DNA Marker和DL2000 DNA Marker均购自近岸蛋白质科技有限公司;TBE购自北京索莱宝科技有限公司;DNA secure新型植物基因组DNA提取试剂盒购自北京天根生化科技有限公司;PCR引物均由上海生工生物工程股份有限公司合成。

1.2 试验方法

1.2.1 病原菌的分离培养 在李超的方法^[14]上进行优化,进行玉米瘤黑粉菌的分离培养及单孢菌落纯化。将该单孢菌落进行扩繁,放入15%的甘油管中,在-80℃贮存,待用。

1.2.2 DNA提取 用接种针勾取适量的纯化后的菌落,置于装有10 mL左右并经过高温灭菌的PD培养液的试管中,放入25℃、200 r/min恒温振荡器中培养3-5 d。收集PD培养液中的菌体,待菌体晾干后,采用DNA secure新型植物基因组DNA提取试剂盒提取DNA,-20℃保存备用。

1.2.3 病原菌分子鉴定 以供试菌株提取的DNA为模板,参考李超等的引物ITS1-F和ITS4及PCR反应程序^[14]对ITS区序列进行扩增。PCR扩增产物经电泳检测后,上海生工生物工程股份有限公司对PCR扩增产物进行序列测定,并用GeneBank软件进行检测,构建系统发育树。

1.2.4 玉米瘤黑粉菌交配型鉴定 参照张美景提出的玉蜀黍黑粉菌交配类型^[16]测定引物和PCR反应程序,对供试菌株进行PCR鉴定。*mfa1*基因型和*mfa2*基因型,预计PCR扩增产物大小分别为549 bp和637 bp。PCR扩增产物用1.0% Agar凝胶电泳检测,根据扩增条带大小确定交配型a位点基因型。

表1 交配型引物
Table 1 Mating primers

交配型 Mating type	引物名称 Primer name	引物序列(5'→3') Primer sequence(5'→3')
mfa1	Umfa1F	CCTGGGAGGTTGACAAAGAA
	Umfa1R	CCTTGAGACAAGCGAAGTCC
mfa2	Umfa2F	CCAACCACACACCCTCTTCT
	Umfa2R	CTGCAATTGCTCTGGAAACA

1.2.5 ISSR-PCR扩增 参照张家齐^[13]、刘小迪^[12]等学者的ISSR-PCR反应体系及筛选的引物,对83株瘤黑粉病菌株进行ISSR扩增,从中筛选出22条引物,用上海生工生物工程股份有限公司合成了一系列引物(表2)。吸取PCR产物进行电泳实验,利用凝胶成像系统检测并拍照。

1.2.6 数据分析 统计电泳条带(有条带的记为1,无条带的记为0),并建立原始数据矩阵。通过PopGen32和NTSYS-pc 2.10 version软件对该病菌进行遗传多样性的研究。

2 结果与分析

2.1 病原菌分子鉴定

从采集的玉米瘤黑粉病样中,共分离得到83个菌株,其中甘肃50株,陕西5株,宁夏16株,新疆12株。用ITS1-F/ITS4引物对各供试菌株进行PCR扩增,扩增出828 bp左右的条带(图1)。测序结果与Gene Bank数据库中的*Ustilago maydis*菌株序列(NCBI accession No. MT573494.1)进行比较,发现供试菌株具有较高的同源性,均达到98%。通过对供试菌株检测和鉴定,均为玉米瘤黑粉病病原菌(*U. maydis*)。利用MEGA 11.0软件以雀麦黑粉菌(*U. bullata*)、大麦坚黑粉菌(*U. hordei*)、茭白黑粉菌(*U. esculenta*)、赖草黑粉菌(*U. serpens*)和薏苡黑粉菌(*U. coicis*)为内类群,以芸薹链格孢(*Alternaria brassicae*)和细极链格孢(*A. tenuissima*)为外

表2 供试 ISSR引物

Table 2 ISSR primers tested

引物名称 Primer name	引物序列 (5'→3') Primer sequence (5'→3')	退火温度 (θ/℃) Optimal T _m	引物名称 Primer name	引物序列 (5'→3') Primer sequence (5'→3')	退火温度 (θ/℃) Optimal T _m
UBC807	AGAGAGAGAGAGAGAGT	47.0	UBC856	ACACACACACACACACYA	46.0
UBC808	AGAGAGAGAGAGAGAGC	52.0	UBC861	ACCACCACCACCACCACC	56.8
UBC809	AGAGAGAGAGAGAGAGG	47.0	UBC873	GACAGACAGACAGACA	52.0
UBC810	GAGAGAGAGAGAGAGAT	52.0	UBC876	GATAGATAGACAGACA	36.2
UBC811	GAGAGAGAGAGAGAGAC	47.0	UBC884	HBHAGAGAGAGAGAGAG	56.4
UBC812	GAGAGAGAGAGAGAGAA	46.0	UBC885	BHBGAGAGAGAGAGAGA	54.1
UBC825	ACACACACACACACACT	56.8	UBC886	VDVCTCTCTCTCTCTCT	54.1
UBC826	ACACACACACACACACC	54.4	UBC888	BDBCACACACACACACA	52.0
UBC827	ACACACACACACACACG	56.1	UBC889	DBDACACACACACACAC	56.4
UBC835	AGAGAGAGAGAGAGAGYC	47.4	UBC890	VHVGTTGTGTGTGTGTGT	54.0
UBC836	AGAGAGAGAGAGAGAGYA	48.5	UBC891	HVHTGTGTGTGTGTGTGT	57.6

Y = (C, T), B = (C, G, T), D = (A, G, T), H = (A, C, T), V = (A, C, G).

类群构建系统发育树, 结果表明, 83个菌株均能与*U. maydis*聚为一支. 因此, 所有分离菌株均为玉米瘤黑粉病原菌(*U. maydis*) (图2).

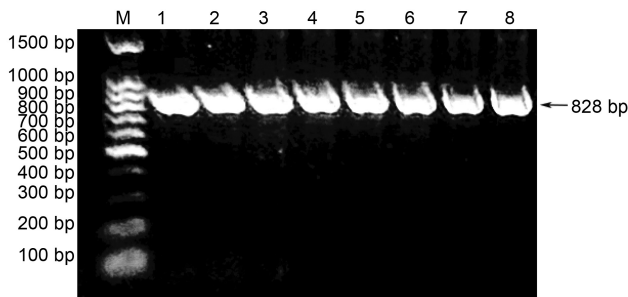


图1 通用引物对部分玉米瘤黑粉菌株的鉴定结果。

Fig. 1 Amplification of some strains of *Ustilago maydis* from maize.

2.2 交配型组成

以83株供试菌株的DNA为研究对象, 利用鉴定交配型的两对特异性引物对其进行PCR扩增. 对50株甘肃省分离的菌株进行鉴定, 共得到34株基因型为mfa1 + mfa2, 占甘肃省总株数的68.00%; 有5株是mfa1基因型, 占甘肃省总株数的10.00%; mfa2基因型有11株, 占甘肃省总株数的22.00%. 从甘肃省生态区域来看, 来自陇东地区、陇中地区和河西走廊的供试菌株有分别有16株、17株和17株. 此外, 陕西、宁夏和新疆分别有5株、16株和12株, 均为mfa1 + mfa2交配型. 部分交配型鉴定结果如图3所示. 通过对供试菌株交配型a位点的鉴别, 发现同是来自甘肃省平凉市的5株菌株, 其交配型a位点类型不都一致, 即GS-PJL为mfa1交配型, GS-PZHS、GS-PCH和GS-PKBB均为mfa2交配型, GS-PHS为mfa1 + mfa2交配型, 这表明甘肃省玉米瘤黑粉菌的交配型a位点基因型的种类分布上存在一定的随机性.

2.3 ISSR-PCR

利用ISSR-PCR技术对供试的83株玉米瘤黑粉菌进行扩增, 经过22条ISSR引物扩增, 扩增条带的分子量在100~2 000 bp之间 (图4), 共得到203条条带, 平均每条引物扩增出9.23条, 其中182条为多态性的条带, 多态性条带比例达到89.66%. 对所得到的电泳图谱构建0、1矩阵, 并用POPGEN软件进行分析, 结果如表5所示. 按照甘肃省生态区划分, 将采集的甘肃省供试菌株分为3个地区, 并与甘肃省周边地区采集的菌株进行比较分析. 从表4可知, 83株玉米瘤黑粉病整体水平上, Nei's基因多样性为0.219 2, Shannon信息指数为0.321

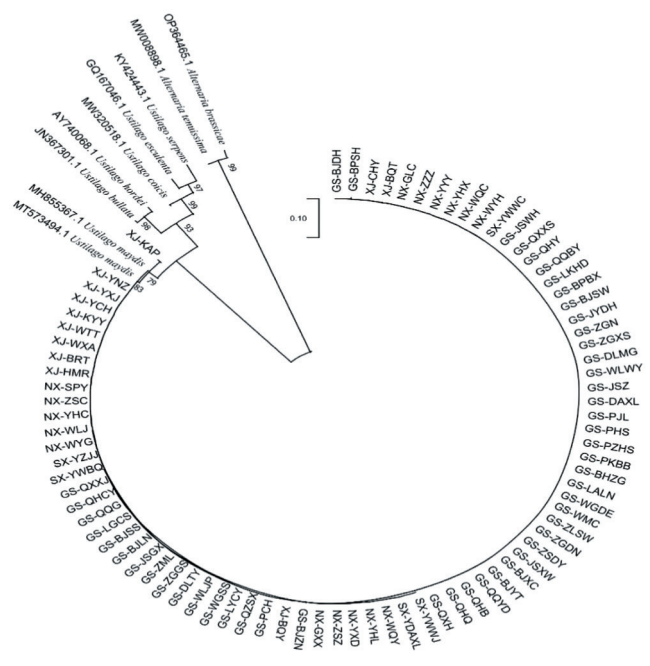


图2 基于ITS序列构建系统发育树。

Fig. 2 Phylogenetic analysis based on ITS-rDNA sequences.

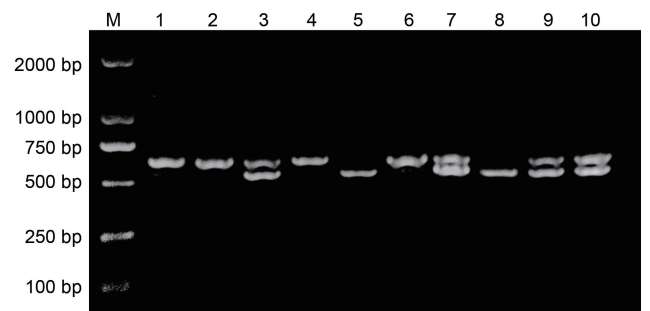


图3 部分交配型鉴定结果。

Fig. 3 The partial mating type identification results.

4, 等位基因数为1.572 3, 有效等基因数为1.388 2, 多态位点百分率为57.235. 其中陇东地区分离菌株的Nei's基因多样性指数及Shannon信息指数均最高, 分别为0.263 6和0.388 2, 说明这一区域菌株的基因最为丰富; 其次是陇中地区的, 分别为0.249 7和0.363 9; 河西走廊的则分别为0.234 7和0.345 9; 宁夏分别为0.250 7和0.365 4; 陕西分别为0.179 5和0.263 4; 新疆分别为0.137 0和0.201 8. 在甘肃省的3个区

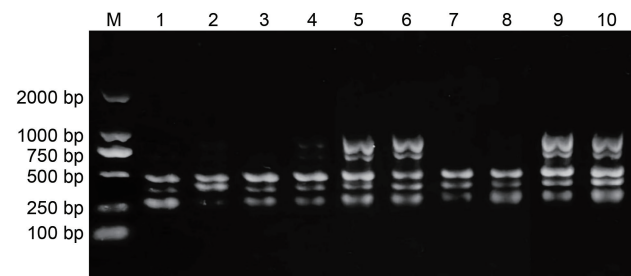


图4 引物UBC836对不同菌的ISSR-PCR扩增。
Fig. 4 ISSR-PCR amplification of different *Ustilago maydis* isolates using primer UBC836.

域中, Shannon信息指数都大于0.34, Nei's基因多样性指数都大于0.23, 说明甘肃省玉米瘤黑粉病菌的遗传多样性比较丰富. 甘肃省3个地区中玉米瘤黑粉病菌的遗传变异参数均以陇东地区最高, 说明陇东地区菌株的遗传多样性较高.

如表5所示, 甘肃省3个区域中, 陇东地区与陕西、宁夏和新疆的遗传距离分别为0.097 4、0.077 9和0.145 4, 遗传相似度分别为0.907 2、0.925 1和0.864 7; 陇中地区与陕西、宁夏和新疆的遗传距离分别为0.119 2、0.092 1和0.142 2, 遗传相似度分别为0.887 6、0.912 0和0.867 5; 河西走廊与陕西、宁夏和新疆的遗传距离分别为0.110 3、0.082 6和0.141 5, 遗传相似度分别为0.895 5、0.920 7和0.868 1; 而甘肃省3个地区之间, 陇东地区与陇中地区和河西走廊的遗传距离分别为0.063 6和0.064 1, 遗传相似度分别为0.938 4和0.937 9. 陕西与宁夏和新疆的遗传距离分别为0.082 9和0.158 9, 遗传相似度分别为0.920 4和0.853 0; 宁夏与新疆的遗传距离为0.097 6, 遗传相似度为0.907 0. 以上数据表明, 甘肃省3个地区之间病原菌的亲缘关系更近, 地理种群间存在着明显的遗传分化; 进而与周边地区相比, 其与宁夏玉米瘤黑粉病病原菌之间遗传距离小, 亲缘关系较近; 其次为陕西, 而与新疆的遗传距离最大, 亲缘关系较远.

NTSYS-pc version 2.10软件的聚类分析结果显示: 供试菌株间具有丰富的遗传多样性, 相似系数在0.70-0.93之间. 遗传相似系数为0.72时, 可以将所有菌株分为两个大类群. 遗

传相似系数为0.75时, 可以将所有菌株分为5个类群 (IG:ISSR groups), 类群IGI中有3个菌株, 其中包括1个陇东地区菌株、1个陇中地区菌株和1个河西走廊菌株; 类群IGII中有17个菌株, 包括5个陇东地区菌株、5个陇中地区菌株和7个河西走廊菌株; 类群IGIII中有41个菌株, 包括9个陇东地区菌株、12个陇中地区菌株、8个河西走廊菌株、4个陕西菌株和8个宁夏菌株; 类群IGIV中有16个菌株, 包括4个宁夏菌株和12个新疆菌株; 类群IGV中有6个菌株, 包括1个陇东地区菌株、1个陕西菌株和4个宁夏菌株. 此结果表明, 玉蜀黍黑粉菌种内遗传分化显著. 由聚类图可以看出, 大类群中包含了陇东地区、陇中地区、河西走廊和陕西、宁夏各采集地的菌株. 此外, 地理来源相同的菌株分散在不同的ISSR类群中, 来自河西走廊武威市的菌株GS-WLJP和来自陇中地区的菌株GS-BHZG聚在同一分支, 而同样是来自河西走廊武威市的菌株GS-WLWY分散在另一分支类群 (图5). 综上所述, 5大类群分别包含了来自不同地域的菌株, 说明玉米瘤黑粉菌遗传多样性与地理来源之间无明显的相关性.

3 讨论与结论

本研究发现, 甘肃省玉米瘤黑粉病原菌有3种交配型, 即 mfa1、mfa2 和mfa1 + mfa2交配型, 交配型a位点各类型在甘肃省各个采集地均有分布, 可见甘肃省玉米瘤黑粉病菌的交配型与其地理来源没有直接的关系, 这与Zhang等对40株玉蜀黍黑粉单倍体进行遗传多样性分析得出交配型基因a不受地理来源影响的结论^[17]相符. 此外, 本研究发现同一类群的菌株中存在3种交配型a位点类型, 如类群IGII包含17个菌株, 其中有3株mfa1交配型、6株mfa2交配型和8株mfa1 + mfa2交配型; 具有相同交配型a位点类型且来自同一地理来源的菌株又被在不同的类群, 例如类群IGI中的菌株GS-WLJP和类群IGII中的菌株GS-WLWY, 二者来自同一地区且均为mfa1 + mfa2交配型. 由此可见, 甘肃省玉米瘤黑粉菌的遗传多样性与其交配型a位点的类型没有必然联系. 我们主要以甘肃省玉米瘤黑粉菌交配型作为研究对象, 采集了西北春玉米部分地区陕西、宁夏和新疆的瘤黑粉病菌, 因其样本容量有限, 不足以反映各

表3 玉米瘤黑粉菌交配型a位点鉴别结果
Table 3 Identification results on mating type a locus of *Ustilago maydis*

地理来源 Region	总株数 Total	Mfa1交配型比例 Mating type of mfa1 (r/%)	Mfa2交配型比例 Mating type of mfa2 (r/%)	Mfa1 + mfa2交配型比例 Mating type of mfa1 + mfa2 (r/%)
陇东地区 East of Gansu	16	18.75	37.50	43.75
陇中地区 Center of Gansu	17	5.88	11.77	82.35
河西走廊 Hexi Corridor	17	5.88	17.65	76.47
陕西 Shaanxi	5	-	-	100.00
宁夏 Ningxia	16	-	-	100.00
新疆 Xinjiang	12	-	-	100.00

表4 不同地区玉米瘤黑粉病菌遗传变异参数
Table 4 Genetic variation parameters of *Ustilago maydis* pathogen in different regions

地理种群 Geographical group	等位基因数 Number of alleles	有效等位基因数 Number of effective alleles	Nei's基因多样性指数 Nei's gene diversity	Shannon信息指数 Shannon's information index	多态性位点数 Number of polymorphic loci	多态位点百分率 Percentage of polymorphic loci (P/%)
陇东地区 East of Gansu	1.7094	1.4639	0.2636	0.3882	144	70.94
陇中地区 Center of Gansu	1.6256	1.4432	0.2497	0.3639	127	62.56
河西走廊 Hexi Corridor	1.6256	1.4091	0.2347	0.3459	127	62.56
陕西 Shaanxi	1.4680	1.3233	0.1795	0.2634	95	46.80
宁夏 Ningxia	1.6355	1.4487	0.2507	0.3654	129	63.55
新疆 Xinjiang	1.3695	1.2412	0.1370	0.2018	75	36.95
平均值 Average	1.5723	1.3882	0.2192	0.3214	116.17	57.23

表5 不同地理群体的玉米瘤黑粉病菌的遗传相似度和遗传距离
Table 5 Genetic similarity and genetic distance of *Ustilago maydis* from different geographic groups

地理种群 Geographical group	陇东地区 East of Gansu	陇中地区 Center of Gansu	河西走廊 Hexi Corridor	陕西 Shaanxi	宁夏 Ningxia	新疆 Xinjiang
陇东地区 East of Gansu	****	0.9384	0.9379	0.9072	0.9251	0.8647
陇中地区 Center of Gansu	0.0636	****	0.9637	0.8876	0.9120	0.8675
河西走廊 Hexi Corridor	0.0641	0.0370	****	0.8955	0.9207	0.8681
陕西 Shaanxi	0.0974	0.1192	0.1103	****	0.9204	0.8530
宁夏 Ningxia	0.0779	0.0921	0.0826	0.0829	****	0.9070
新疆 Xinjiang	0.1454	0.1422	0.1415	0.1589	0.0976	****

对角线上方为遗传相似度，对角线下方为遗传距离。
Nei's genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal).

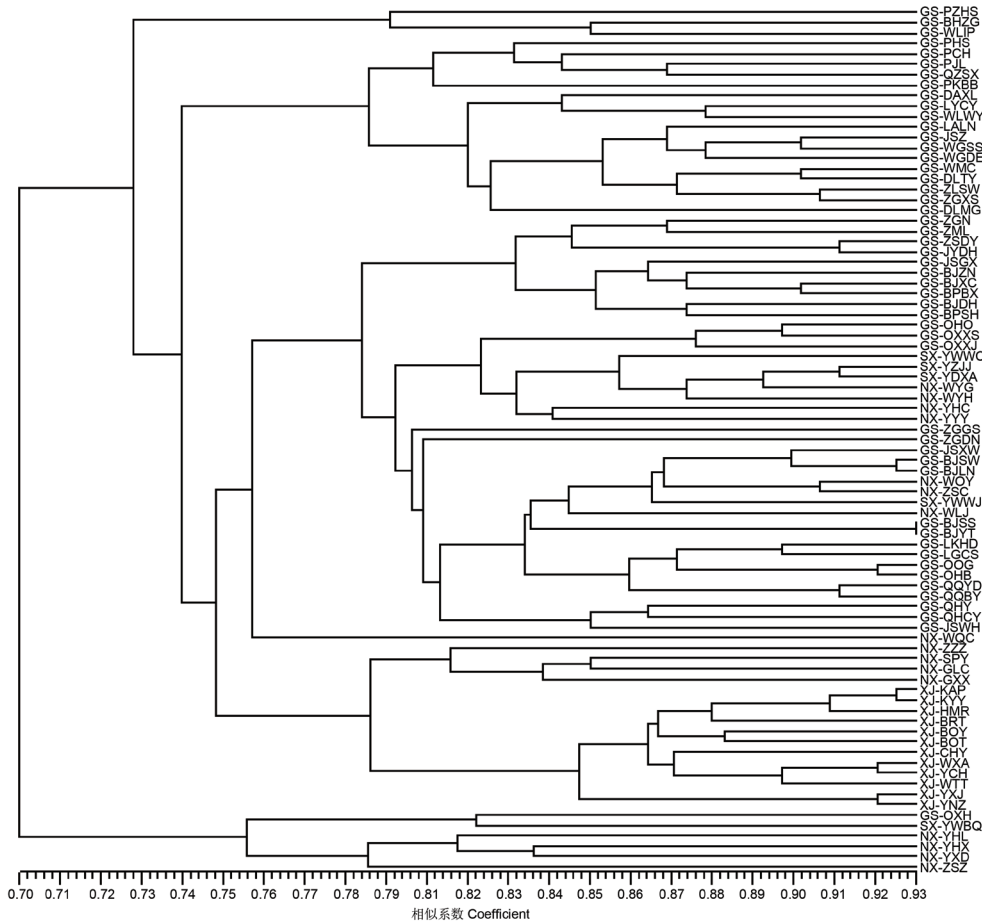


图5 NTSYS聚类图谱。
Fig. 5 NTSYS cluster map.

自地区的真实交配型种类，仅作为甘肃省玉蜀黍黑粉菌交配型的比对，关于西北其他地区玉米瘤黑粉病菌的交配型种类和分布，有待加大样本量采集，进行后续研究。

本研究按照甘肃省生态区划分，将采集的甘肃省供试菌株分为3个地区，即陇东地区、陇中地区和河西走廊，并与甘肃省周边地区（陕西、宁夏和新疆）采集的菌株进行ISSR遗传多样性分析。不同地理种群之间的遗传相似度及遗传距离显示，菌株间亲缘关系更近的是甘肃省的3个地区，其与宁夏的玉米瘤黑粉病原菌之间的亲缘关系较近，其次是陕西，而与新疆的遗传距离最大，亲缘关系较远。这表明甘肃省3个地区的病原菌之间有着密切的亲缘关系，且该病原菌的遗传变异与地域分布有一定的关联。这与张家齐等的研究结论^[13]相吻合，即在地理上越相近的群体，其遗传距离越小，亲缘关系越近。根据Popgen分析的结果可知Nei's基因多样性指数范围为

0.137 0-0.263 6，Shannon信息指数范围为0.201 8-0.388 2。在群体水平上，Nei's基因多样性指数为0.219 2，Shannon信息指数为0.321 4，高于张家齐等研究所得Nei's基因多样性指数为0.179 7，Shannon信息指数为0.251 5，说明甘肃省3个地区与陕西、宁夏和新疆的玉米瘤黑粉菌种群具有较高的遗传多样性^[13]。遗传相似系数为0.75时，可以将所有菌株分为5个ISSR类群，5个ISSR类群分别包含了来自不同地域的菌株，结果表明玉米瘤黑粉菌ISSR类群的划分与地理来源之间无明显的相关性，这与张家齐^[13]、刘小迪^[12]等学者的研究结论一致。在地理位置方面，玉米瘤黑粉病菌可随着气流传播，说明相邻地区间的病原菌存在一定的基因交流，且地理相近种群间的遗传相似度较相近。从气候环境方面，陇东和陇中地区夏季相对干旱，结合玉米瘤黑粉病的发生特点，这两个生态区的气候环境为玉米瘤黑粉病的发生提供了有利的条件，导致陇东地

区和陇中地区的玉米瘤黑粉病菌遗传多样性较高;而作为玉米制种基地的河西走廊,该区玉米品种的亲本繁杂,特别是部分高感材料的制种,有利于玉米瘤黑粉病菌在土壤中的逐年累积,导致该区玉米瘤黑粉病菌的遗传多样性较为丰富。不同地域的菌株间存在差异性,可能与地理环境、气候条件、品种抗性及种子带菌等因素有关。甘肃作为玉米种植和种子生产大省,种子的调运范围比较广泛,玉米瘤黑粉病极有可能随着种子的调运而在不同地区传播。由于陇南地区玉米种植以一年两熟制为主,主要与小麦和油菜等作物进行轮作,因此玉米瘤黑粉病发生较轻,两年间仅采集到1份样品,因其数量较

少,没有代表性,故未列入本研究。此外,还需进一步扩大甘肃周边地区玉米瘤黑粉病样本数量,进行交配型鉴定和遗传多样性分析,以便更全面地探讨玉米瘤黑粉病菌的发病规律和遗传变异。

本研究对甘肃省玉米瘤黑粉病进行交配型鉴定和遗传多样性分析,阐述了二者与地理来源之间的关系以及二者之间的联系。研究首次对甘肃省玉米瘤黑粉菌进行交配型鉴定,可为后续进一步研究玉米瘤黑粉病菌的致病力差异提供理论依据。但还需加强玉米瘤黑粉病病菌相关的遗传致病机制研究,从而为玉米瘤黑粉病菌的预防和治理奠定基础。

参考文献 [References]

- 1 Ali F, Mareeya M, Hidayatur R, Muhammad N, Durrishahwar, Sabina S, Yan JB. Heritability estimates for yield and related traits based on testcross progeny performance of resistant maize inbred lines [J]. *J Food Agric Environ*, 2011, **9** (1): 438-443
- 2 Nuberg IK, Allen RN, Colless JM, Darnell RE. Field reactions of maize varieties commonly grown in Australia to boil smut caused by *Ustilago zeae* [J]. *Austr J Exp Agric*, 1986, **26** (4): 481-488
- 3 张春民, 刘玉英, 石洁, 张老章. 玉米瘤黑粉病抗性鉴定技术研究[J]. 玉米科学, 2005 (3): 111-113 [Zhang CM, Liu YY, Shi J, Zhang LZ. Inoculation technique for identification of corn resistance to common smut [J]. *J Maize Sci*, 2005 (3): 111-113]
- 4 鄂文弟, 王振华, 张立国, 张林, 王霞, 孙广权. 玉米瘤黑粉病的研究进展[J]. 玉米科学, 2006 (1): 153-157 [E WD, Wang ZH, Zhang LG, Zhang L, Wang X, Sun GQ. The advances in the research of common smut in maize [J]. *J Maize Sci*, 2006 (1): 153-157]
- 5 李春民, 徐雅洁, 于俊香, 王广成. 2000年巴林左旗玉米瘤黑粉病大发生的原因及防治对策[J]. 内蒙古农业科技, 2001 (5): 42-43 [Li CM, Xu YJ, Yu JX, Wang GC. The causes and control measures of maize smut in Balin Left Banner in 2000 [J]. *Inner Mongolia Agric Sci Technol*, 2001 (5): 42-43]
- 6 姜晓颖, 薛春生, 高颖, 薛玉梅, 石磊, 滕涛. 东北地区玉米骨干自交系对瘤黑粉病抗性的研究[J]. 种子, 2009, **28** (2): 57-58 [Jiang XY, Xue CS, Gao Y, Xue YM, Shi L, Teng T. Study on the resistance of maize backbone inbred lines to *Ustilago maydis* in Northeast China [J]. *Seed*, 2009, **28** (2): 57-58]
- 7 Feldbrügge M, Kämper J, Steinberg G, Kahmann R. Regulation of mating and pathogenic development in *Ustilago maydis* [J]. *Current Opinion Microbiol*, 2004, **7** (6): 666-672
- 8 Jianping X, Pengfei W. Mitochondrial inheritance in basidiomycete fungi [J]. *Fungal Biol Reviews*, 2015, **29** (3-4): 209-219
- 9 Banuett F, Herskowitz I. Morphological transitions in the life cycle of *Ustilago maydis* and their genetic control by the a and b loci [J]. *Exp Mycol*, 1994, **18** (3): 247-266
- 10 陈三凤, 刘德虎, 李季伦. 玉米瘤黑粉菌的遗传交配型[J]. 微生物学通报, 2000 (2): 146-148 [Chen SF, Liu DH, Li JL. Genetic mating type of *Ustilago maydis* [J]. *Microbiol Bull*, 2000 (2): 146-148]
- 11 Feldbrügge M, Kellner R, Schipper K. The biotechnological use and potential of plant pathogenic smut fungi [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2013, **97**: 3253-3265.
- 12 刘小迪, 马周杰, 何世道, 黄宇飞, 姚远, 孙艳秋, 高增贵. 中国北方玉蜀黍黑粉菌交配型a位点鉴别及遗传多样性分析[J]. 玉米科学, 2023, **31** (1): 153-160 [Liu XD, Ma ZJ, He SD, Huang YF, Yao Y, Sun YQ, Gao ZG. Identification and genetic diversity analysis of the mating type a locus of *Ustilago maydis* in northern China [J]. *J Maize Sci*, 2023, **31** (1): 153-160]
- 13 张家齐, 马红霞, 郭宁, 张海剑, 石洁. 黄淮海地区玉蜀黍黑粉菌群体遗传结构分析[J]. 菌物学报, 2019, **38** (2): 210-221 [Zhang JQ, Ma HX, Guo N, Zhang HJ, Shi J. Population genetic structure of *Ustilago maydis* collected from Huang-Huai-Hai region [J]. *Mycosystema*, 2019, **38** (2): 210-221]
- 14 李超, 金海伦, 高利, 刘太国, 刘博, 陈万权. 2016年北京地区玉蜀黍黑粉菌遗传多样性分析[J]. 植物病理学报, 2018, **48** (5): 632-639 [Li C, Jin HL, Gao L, Liu TG, Liu B, Chen WQ. Analysis of genetic diversity of *Ustilago maydis* from Beijing in 2016 [J]. *Acta Phytopathol Sin*, 2018, **48** (5): 632-639]
- 15 王双全, 谢谦, 张升恒, 魏云林, 蔡星辉. 天水市玉米瘤黑粉病发生情况调查及药剂防治研究[J]. 现代农业科技, 2018 (9): 135-136 [Wang SQ, Xie Q, Zhang SH, Wei YL, Cai XH. Investigation on the occurrence of maize smut in Tianshui City and research on pesticide control [J]. *Mod Agric Sci Technol*, 2018 (9): 135-136]
- 16 张美景, 杨硕, 陈艳萍, 袁建华, 孟庆长. 玉米黑粉菌单倍体菌株的分离及交配型a位点的鉴别[J]. 江苏农业科学, 2013, **41** (4): 122-124 [Zhang MJ, Yang S, Chen YP, Yuan JH, Meng QC. Identification of mating types a locus of haploid strain of *Ustilago maydis* [J]. *Jiangsu Acad Agric Sci*, 2013, **41** (4): 122-124]
- 17 Zhang MJ, Chen YP, Yuan JH, Meng QC. Development of genomic SSR markers and analysis of genetic diversity of 40 haploid isolates of *Ustilago maydis* in China [J]. *Internat J Agric Biol*, 2015, **17** (2): 369-374

补充材料 Supplementary Materials

附表1 菌株采集地点

Table S1 The collection sites of the strains

编号 Number	采集地 Location	编号 Number	采集地 Location
GS-PZHS	平凉市庄浪县韩店镇 Handian Town, Zhuanglang County, Pingliang City	GS-JSZ	酒泉市肃州区总寨镇 Zongzhai Town, Suzhou District, Jiuquan City
GS-PHS	平凉市华亭县山寨乡 Shanzhai Town, Huating County, Pingliang City	GS-JSGX	酒泉市肃州区果园镇 Guoyuan Town, Suzhou District, Jiuquan City
GS-PCH	平凉市崇信县黄家镇 Huangjia Town, Chongxin County, Pingliang City	GS-JYDH	金昌市永昌县东寨镇 Dongzhai Town, Yongchang County, Jinchang City
GS-PKBB	平凉市崆峒区白水镇 Baishui Town, Kongtong District, Pingliang City	GS-WGSS	武威市古浪县泗水镇 Sishui Town, Gulang County, Wuwei City
GS-PJL	平凉市泾川县荔堡镇 Libao Town, Jingchuan County, Pingliang City	GS-WGDE	武威市古浪县大靖镇 Dajing Town, Gulang County, Wuwei City
GS-QZSX	庆阳市镇原县上肖乡 Shangxiao Town, Zhenyuan County, Qingyang City	GS-WLWY	武威市凉州区五和镇 Wuhe Town, Liangzhou District, Wuwei City
GS-QXXS	庆阳市西峰区显胜乡 Xiansheng Town, Xifeng District, Qingyang City	GS-WLJP	武威市凉州区九墩镇 Jiudun Town, Liangzhou District, Wuwei City
GS-QXXJ	庆阳市西峰区肖金镇 Xiaojin Town, Xifeng District, Qingyang City	GS-WMC	武威市民勤县蔡旗镇 Caiqi Town, Minqin County, Wuwei City
GS-QXH	庆阳市西峰区后官寨镇 Houguanzhai Town, Xifeng District, Qingyang City	SX-YZJJ	延安市志丹县金鼎镇 Jinding Town, Zhidan County, Yan'an City
GS-QQYD	庆阳市庆城县驿马镇 Yima Town, Qingcheng County, Qingyang City	SX-YDXA	榆林市定边县新安边镇 Xin'anbian Town, Dingbian County, Yulin City
GS-QQBY	庆阳市庆城县白马铺镇 Baimapu Town, Qingcheng County, Qingyang City	SX-YWBQ	延安市吴起县白豹镇 Baibao Town, Wuqi County, Yan'an City
GS-QQG	庆阳市庆城县高楼镇 Gaolou Town, Qingcheng County, Qingyang City	SX-YWWJ	延安市吴起县吴起街道 Wuqi Street, Wuqi County, Yan'an City
GS-QHB	庆阳市合水县板桥镇 Banqiao Town, Heshui County, Qingyang City	SX-YWWC	延安市吴起县吴仓堡镇 Wucangbao Town, Wuqi County, Yan'an City
GS-QHY	庆阳市华池县悦乐镇 Yuele Town, Huachi County, Qingyang City	NX-WYH	吴忠市盐池县花马池镇 Huamachi Town, Yanchi County, Wuzhong City
GS-QHCY	庆阳市华池县城壕镇 Chenghao Town, Huachi County, Qingyang City	NX-WYG	吴忠市盐池县高沙窝镇 Gaoshawo Town, Yanchi County, Wuzhong City
GS-QHQ	庆阳市华池县乔河乡 Qiaohu Town, Huachi County, Qingyang City	NX-WQY	吴忠市青铜峡市叶盛镇 Yesheng Town, Qingtongxia City, Wuzhong City
GS-BHZG	白银市会宁县中川镇 Zhongchuan Town, Huining County, Baiying City	NX-WQC	吴忠市青铜峡市陈袁滩镇 Chenyuantan Town, Qingtongxia City, Wuzhong City
GS-BJSS	白银市景泰县寺滩乡 Sitan Town, Jingtai County, Baiying City	NX-WLJ	吴忠市利通区金积镇 Jinji Town, Litong Distric, Wuzhong City
GS-BJXC	白银市景泰县喜泉镇 Xiquan Town, Jingtai County, Baiying City	NX-GXX	固原市西吉县兴隆镇 Xinglong Town, Xiji County, Guyuan City
GS-BJYT	白银市景泰县一条山镇 Yitiaoshan Town, Jingtai County, Baiying City	NX-GLC	固原市隆德县城关镇 Chengguan Town, Longde County, Guyuan City
GS-BJZN	白银市景泰县中泉镇 Zhongquan Town, Jingtai County, Baiying City	NX-YHL	银川市贺兰县立岗镇 Ligang Town, Helan County, Yinchuan City
GS-BJSW	白银市靖远县三滩镇 Santan Town, Jingyuan County, Baiying City	NX-YHX	银川市贺兰县习岗镇 Xigang Town, Helan County, Yinchuan City
GS-BJLN	白银市靖远县刘川镇 Liuchuan Town, Jingyuan County, Baiying City	NX-YHC	银川市贺兰县常信镇 Changxin Town, Helan County, Yinchuan City
GS-BJDH	白银市靖远县东湾镇 Dongwan Town, Jingyuan County, Baiying City	NX-YXD	银川市兴庆区大新镇 Changxin Town, Xinqing Distric, Yinchuan City
GS-BPSH	白银市平川区水泉镇 Shuiquan Town, Pingchuan District, Baiying City	NX-YYY	银川市永宁县杨和镇 YangheTown, Yongning County, Yinchuan City
GS-BPBX	白银市平川区宝积镇 Baoji Town, Pingchuan District, Baiying City	NX-ZSC	中卫市沙坡头区常乐镇 Changle Town, Shapotou Distric, Zhongwei City
GS-DAXL	定西市安定区西巩驿镇 Xigongyi Town, Anding County, Dingxi City	NX-ZSZ	中卫市沙坡头区镇罗镇 Changle Town, Shapotou Distric, Zhongwei City
GS-DLMG	定西市陇西县马河镇 Mahe Town, Longxi County, Dingxi City	NX-ZZZ	中卫市中宁县战场镇 Zhanchang Town, Zhongning County, Zhongwei City
GS-DLTY	定西市临洮县洮阳镇 Taoyang Town, Lintao County, Dingxi City	NX-SPY	石嘴山市平罗县姚伏镇 Yaofu Town, Pingluo County, Shizuishan City
GS-LYCY	兰州市榆中县城关镇 Chengguan Town, Yuzhong County, Lanzhou City	XJ-KAP	克孜勒苏柯尔克孜自治州阿克陶县皮拉勒乡 Pilal Town, Aktau County, Kizilsu Kirgiz Autonomous Prefecture
GS-LALN	兰州市安宁区刘家堡乡 Liujiabao Town, Anning Distric, Lanzhou City	XJ-KYY	喀什地区叶城县依提木孔镇 Yitimukong Town, Yecheng County, Kashi District
GS-LKHD	临夏回族自治州康乐县虎关乡 Huguan Town, Kangle County, Linxia Hui Autonomous Prefecture	XJ-HMR	和田地区民丰县若克雅乡 Ruokeya Town, Minfeng County, Hetian District

续附表1 Table S1 (continued)

编号 Number	采集地 Location	编号 Number	采集地 Location
GS-LGCS	临夏回族自治州广河县城关镇 Chengguan Town, Guanghe County, Linxia Hui Autonomous Prefecture	XJ-BQY	巴音郭楞蒙古自治州且末县英吾斯塘乡 Yingwusitang Town, Qiemo County, Bayingolin Mongolian Autonomous Prefecture
GS-JSXW	嘉峪关市市辖区新城镇 Xincheng Town, Shixia Distric, Jiayuguan City	XJ-BQT	巴音郭楞蒙古自治州且末县托格拉克勒克乡 Tuogelakeleke Town, Qiemo County, Bayingolin Mongolian Autonomous Prefecture
GS-JSWH	嘉峪关市市辖区文殊镇 Wenshu Town, Shixia Distric, Jiayuguan City	XJ-BRT	巴音郭楞蒙古自治州若羌县塔木乡 Tamu Town, Ruoqiang County, Bayingolin Mongolian Autonomous Prefecture
GS-ZSDY	张掖市山丹县东乐镇 Dongle Town, Shandan County, Zhangye City	XJ-WXA	乌鲁木齐市新市区安宁渠镇 Anningqu Town, Xinshi Distric, Urumqi City
GS-ZLSW	张掖市临泽县沙河镇 Shahe Town, Linze County, Zhangye City	XJ-WTT	乌鲁木齐市头屯河区头屯河街道 Toutunhe Town, Toutunhe Distric, Urumqi City
GS-ZGXS	张掖市甘州区新墩镇 Xindun Town, Ganzhou District, Zhangye City	XJ-YCH	伊犁哈萨克自治州察布查尔锡伯自治县哈海镇 Hahai Town, Chabuchaerxibo Autonomous County, Kazak Autonomous Prefecture of Ili
GS-ZGGS	张掖市甘州区甘浚镇 Ganjun Town, Ganzhou District, Zhangye City	XJ-YXJ	伊犁哈萨克自治州新源县江额尔生街道 Jiangeersheng Town, Xinyuan County, Kazak Autonomous Prefecture of Ili
GS-ZGDN	张掖市甘州区党寨镇 Dangzhai Town, Ganzhou District, Zhangye City	XJ-YNZ	伊犁哈萨克自治州尼勒克县则库镇 Zeku Town, Nileke County, Kazak Autonomous Prefecture of Ili
GS-ZGN	张掖市高台县南华镇 Nanhua Town, Gaotai County, Zhangye City	XJ-CHY	昌吉回族自治州呼图壁县园户村镇 Yuanhucun Town, Hutubi County, Hui Autonomous Prefecture of Changji
GS-ZML	张掖市民乐县六坝镇 Liuba Town, Minle County, Zhangye City	GS-TGX	天水市甘谷县新兴镇 Xinxing Town, Gangu County, Tianshui City