

# 我国长江流域和南方地区花生青枯菌遗传多样性分析

康彦平 雷 永 万丽云 淮东欣 晏立英\* 廖伯寿\*

(中国农业科学院油料作物研究所, 油料作物生物学与遗传改良重点实验室, 武汉 430062)

**摘要:** 为明确不同青枯菌的遗传多样性和其在花生植株上的致病力差异, 采用国际上新的青枯菌演化型分类模式, 对从我国长江流域和南方地区9个花生种植区分离的95株花生青枯菌 *Ralstonia solanacearum* 菌株进行遗传多样性分析, 基于内源葡聚糖酶基因 *egl* 对青枯菌进行系统发育研究, 并对供试青枯菌的致病力进行测定。结果表明, 所有95株菌株均属于青枯菌演化型I型, 即亚洲分支类型。在序列变种分类上, 所检测的9个花生种植区中有8个种植区的花生青枯菌菌株属于序列变种14, 仅有1个种植区(广西壮族自治区贺州市)的花生青枯菌菌株属于序列变种48, 表明我国长江流域和南方地区花生青枯菌群体遗传多样性水平较低。青枯菌致病力测定结果表明, 来自赣州市的菌株GZ-1、贺州市的菌株HZ-2和宜昌市的菌株YC接种到花生植株14 d后, 花生的病情指数分别为43.8、75.0和87.5, 而来自其它6个花生种植区的菌株接种花生后, 其病情指数均为100.0, 表明菌株GZ-1和HZ-2的致病力较弱, 而其它7个花生种植区代表性菌株的致病力均较强。

**关键词:** 花生; 青枯菌; 演化型; 序列变种; 致病力

## Study on genetic diversity of bacterium *Ralstonia solanacearum* in peanut in Yangtze River Valley and southern China

Kang Yanping Lei Yong Wan Liyun Huai Dongxin Yan Liying\* Liao Boshou\*

(Key Laboratory of Biology and Genetics Improvement of Oil Crops, Ministry of Agriculture; Oil Crop Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430062, Hubei Province, China)

**Abstract:** To illuminate the genetic diversity and pathogenic variation of different *Ralstonia solanacearum* strains in peanut *Arachis hypogaea*, the new hierarchical classification scheme of the *R. solanacearum* species complex comprising of species, phylotypes, and sequevars was applied to analysis of genetic diversity of 95 strains of *R. solanacearum* from nine peanut growing areas in Yangtze River Valley and southern China. The results showed that all strains belonged to phylotype I (Asia type). The phylogenetic tree based on the nucleotide sequences of *egl* from *R. solanacearum* peanut strains and reference strains was generated to divide them into sequevars. *R. solanacearum* strains isolated from eight of nine areas belonged to sequevar 14, only the strains obtained from Hezhou, Guangxi belonged to sequevar 48. The results indicated that the level of genetic diversity of *R. solanacearum* strains from peanut was low in Yangtze River Valley and southern China. Fourteen days after infection, the disease index of GZ-1, HZ-2 and YC strains were 43.8, 75.0 and 87.5, respectively. The disease index of represent strains from the other six peanut growing areas were all 100.0. The results of pathogenic tests of *R. solanacearum* strains demonstrated that the pathogenicity of GZ-1 and HZ-2 strains were weak, while the other represent strains isolated from seven areas showed more virulent.

基金项目: 国家现代农业(花生)产业技术体系(CARS-14), 中国农业科学院创新工程(CAAS-ASTIP-2013-OCRI)

\* 通信作者 (Authors for correspondence), E-mail: yanliying2002@126.com, lboshou@hotmail.com

收稿日期: 2017-12-01

**Key words:** peanut; *Ralstonia solanacearum*; phylotype; sequevar; pathogenic

花生 *Arachis hypogaea* L. 是世界上重要的油料作物,在油脂生产中具有重要的地位,与其它传统油料作物相比,花生具有国际竞争力强、增产潜力大、出油高、经济效益好、营养价值高等优势(王艳, 2013)。然而病害严重威胁着花生产业的健康发展。其中,由茄科雷尔氏菌 *Ralstonia solanacearum* 引起的花生青枯病在东南亚和非洲危害严重,是花生上最重要的细菌性病害(谈宇俊和廖伯寿, 1990; Yabuuchi et al., 1995)。

花生青枯病地理分布范围广泛,主要分布于热带、亚热带和温带地区(Liu et al., 2009)。1905年,花生青枯病于印度尼西亚被首次报道,随后在马来西亚、越南、斯里兰卡、泰国、菲律宾、巴布亚新几内亚、南非等国家均有发生(谈宇俊和廖伯寿, 1990)。20世纪30年代,我国首次在花生上发现青枯病,随后在长江流域及南方地区造成严重危害,尤其是福建、广西、江西、湖北等省区病情严重,发病面积广(廖伯寿等, 1999)。我国花生受青枯病危害程度居世界首位,发病面积约占花生播种面积的10%以上,造成花生产量和品质降低,严重者甚至绝收(廖伯寿等, 1999)。因此,明确不同青枯菌的遗传多样性,分析不同地理来源的青枯菌对花生植株的致病力差异,对花生青枯病的防控具有重要意义。

青枯菌主要以土壤传播为主,寄主范围极为广泛,可侵染54科450余种植物(Hayward, 1991; Wicker et al., 2007)。来自不同寄主的青枯菌分离物有不同的寄主范围、地理分布、致病性、流行特点和生化特征(Horita & Tsuchiya, 2009)。早期研究根据寄主范围将青枯菌划分为5个生理小种(Buddenhagen & Kelman, 1964; He et al., 1983; Denny, 2006),并依据对3种双糖和3种糖醇的利用或氧化情况将青枯菌划分为6个生化变种(Hayward, 1994; Xue et al., 2011; Genin & Denny, 2012)。这2种分类方法只反映了青枯菌的寄主范围和对糖醇的分解能力,未能反映青枯菌的遗传进化关系。Fegan & Prior (2005)首次根据青枯菌的基因型提出了演化型分类框架,该方法依据特异性多重PCR结果将青枯菌划分为4个主要的演化型,并根据内源葡聚糖酶基因(endoglucanase gene, *egl*)的序列相似性进一步将其划分为序列变种。青枯菌演化型分类框架能更加准确地描述青枯菌的地理起源、发展过程及其种内的遗传多样性(Prior & Fegan, 2005; Remenant et al., 2010)。目前我国已利用青枯菌演化型分类框架的

方法对烟草、马铃薯等作物青枯菌遗传多样性进行了研究(Li et al., 2016; 王丽, 2016; Liu et al., 2017),但对花生青枯菌遗传多样性尚未开展系统的演化型分类研究。同时,由于至今仍没有一种安全有效的花生青枯病防治药剂被登记(<http://www.chinapesticide.gov.cn>),因此根据青枯菌遗传多样性特点选育抗病花生品种仍然是预防该病害的重要途径(廖伯寿等, 1986; 姜慧芳, 2006)。本试验通过对我国长江流域及南方地区9个花生产区分离得到的花生青枯菌进行遗传多样性分析及致病力测定,明确其演化型和序列变种,评价其遗传多样性,以期对花生青枯病的防控提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试菌株:本试验所选用的95株花生青枯菌菌株均由本实验室采集分离自9个花生种植区(湖北省的大悟县8份、宜昌市8份、红安县20份、竹山县8份、湖南省安化市6份、福建省泉州市10份、江西省赣州市6份、四川省南充市11份、广西壮族自治区贺州市18份)的花生植株上。菌株编号按采样地区名字首字母缩写加样品序号,如从花生病区大悟县分离得到的花生青枯菌菌株编号分别为DW、DW-1、DW-2等。青枯菌在含有1% 2,3,5-氯化三苯基四氮唑(triphenyltetrazolium chloride, TZC)的马铃薯葡萄糖琼脂(potato dextrose agar, PDA)培养基上划线培养,挑取典型单菌落纯化培养, -80℃保存备用。

供试花生:品种为中花12号,由中国农业科学院油料作物研究所花生遗传育种团队培育。

培养基:PDA培养基:马铃薯200 g、葡萄糖20 g,蒸馏水定容至1 000 mL,分装后加1.5%琼脂粉;马铃薯葡萄糖(potato dextrose, PD)液体培养基:PDA培养基中不添加琼脂。

试剂及仪器:2×*Taq* PCR Mix,北京全式金生物有限公司;PCR扩增试剂盒(10×*Taq* Buffer、MgCl<sub>2</sub>、dNTP、*Taq* 酶)、pMD18-T载体、T<sub>4</sub>-DNA连接酶,宝生物工程(大连)有限公司;其它试剂均为国产分析纯。C1000 Thermal Cycler PCR仪、Gel Doc XR+凝胶成像系统,美国Bio-Rad公司;DYCP-31DN型电泳仪,北京六一仪器厂;LRH-250A生化培养箱,韶关市泰宏医疗器械有限公司;HZQ-F160振荡培养箱,北京东联哈尔仪器制造有限公司;Epoch超微量微孔板分光光度计,美国Bio Tek公司。

1.2 方法

1.2.1 供试花生青枯菌的演化型鉴定

采用CTAB法(Pastrik & Maiss, 2000)分别提取供试菌株的基因组DNA,参考Fegan & Prior(2005)方法合成青枯菌演化型特异性多重PCR引物(表1)。采用多重PCR方法对来自全国9个花生种植区的95株青枯菌进行PCR扩增。10 μL反应体系:2×Taq Mix 5 μL、7个引物各0.5 μL(引物Nmolt-21:1F、

Nmult21:2F、Nmolt22:RR的浓度均为7 μmol/L,引物Nmolt22:InF、AU759f、AU760r的浓度均为10 μmol/L,引物Nmolt23:AF的浓度为18 μmol/L)、25 ng/μL DNA模板1.5 μL。扩增程序:96℃预变性5 min;94℃变性15 s,59℃退火30 s,72℃延伸30 s,30个循环;最后72℃延伸10 min。PCR产物利用2%琼脂糖凝胶进行电泳检测,DNA Marker为DS2000。

表1 本试验中演化型特异性多重PCR鉴定的引物序列(Fegan & Prior, 2005)  
Table 1 Primers used for phylotype specific multiplex PCR in this study (Fegan & Prior, 2005)

| 引物<br>Primer | 序列(5'-3')<br>Sequence (5'-3') | 扩增片段分类归属<br>Categorization of amplified fragments                                    | 片段大小 (bp)<br>Fragment size |
|--------------|-------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|
| Nmult21:1F   | CGTTGATGAGGCGCGCAATTT         | 演化型I Phylotype I                                                                     | 144                        |
| Nmult21:2F   | AAGTTATGGACGGTGGAAGTC         | 演化型II Phylotype II                                                                   | 372                        |
| Nmult23:AF   | ATTACSAGAGCAATCGAAAGATT       | 演化型III Phylotype III                                                                 | 91                         |
| Nmult22:InF  | ATTGCCAAGACGAGAGAAGTA         | 演化型IV Phylotype IV                                                                   | 213                        |
| Nmult22:RR   | TCGCTTGACCCTATAACGAGTA        | 每种演化型配对的反向引物<br>Reversed primer for amplification of each fragment of phylotype I-IV | -                          |
| AU759f       | GTCGCCGTCAACTCACTTTCC         | 青枯菌种特异性                                                                              | 280                        |
| AU760r       | GTCGCCGTCAAGCAATGCGGAATCG     | Species specificity of <i>R. solanacearum</i>                                        |                            |

1.2.2 供试花生青枯菌的序列变种鉴定

利用 Poussier et al. (2000)报道的引物 Endo-F/Endo-R (5'-ATGCATGCCGCTGGTCGCCGC-3', 5'-GCGTTGCCCGGCACGAACACC-3')对来自9个不同地区的95株青枯菌的egl基因进行PCR扩增,并对每个地区所有菌株的egl序列进行同源性比对,其中同源性为100%的序列中只保留1株菌株作为代表性菌株,共得到21株(大悟县的DW,宜昌市的YC,红安县的HA-1、HA-2、HA-3、HA-4,竹山县的ZHS-1、ZHS-2,安化市的AH-1、AH-2、AH-3,南充市的NC-1、NC-5、NC-6,泉州市的QZ,赣州市的GZ-1、GZ-2,贺州市的HZ-2、HZ-3、HZ-4、HZ-7)。25 μL扩增体系:10×Taq Buffer 2.5 μL、MgCl<sub>2</sub> 2.5 μL、dNTP 2 μL、100 pmol/L正反向引物各1 μL、Taq酶0.2 μL、rDNA 2 μL、ddH<sub>2</sub>O补至25 μL。PCR扩增程序:94℃预变性3 min;94℃变性15 s,55℃退火15 s,72℃延伸1 min,共35个循环;72℃延伸7 min。PCR产物用2%琼脂糖凝胶进行电泳检测。对扩增得到的目标片段进行克隆转化,选取阳性克隆,经菌液PCR鉴定后送至华大基因生物有限公司测序。测序结果利用DNASTAR软件的Megalign程序与egl已知序列进行序列一致性比较。采用Mega 5.05软件以邻接法构建系统发育进化树,重复检验1 000次。

1.2.3 供试花生青枯菌的致病性测定

从9个地区的青枯菌菌株中,每个地区选取1株代表性菌株接种于感病花生品种中花12号上进行

致病性测定。将选取的青枯菌菌株分别划线涂布在含1% TZC的PDA平板上,28℃培养2 d后,挑取中间粉红色、边缘白色的单菌落少许分别接种于4 mL PD液体培养基中,置于28℃摇床中,220 r/min培养4 d后,用ddH<sub>2</sub>O稀释至OD<sub>600 nm</sub>为0.1,用于接种花生幼苗。参照晏立英等(2010)剪叶方法将青枯菌菌液接种于6叶期健康中花12号幼苗上,所剪叶片为第6片完全展开的新叶。以接种ddH<sub>2</sub>O为对照组,接种后于温度30℃、相对湿度75%条件下培养,逐日调查并记录发病情况。病情调查标准参照He et al. (1983)方法:0级:无症状;1级:1片叶片或小叶萎焉;2级:2~3片叶片萎焉;3级:4片以上叶片萎焉;4级:整株死亡。试验重复2次。病情指数=Σ(病级株数×代表级数)/(植株总数×最高级数代表值)×100。

1.3 数据分析

采用DPS 7.05软件对试验数据进行单因素方差分析,应用Duncan氏新复极差法进行处理间的差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 供试花生青枯菌的演化型鉴定

对分离自我国9个地区的95株花生青枯菌菌株的演化型多重PCR检测结果表明:95株菌株均可同时扩增到大小分别为144 bp和280 bp的2条特异性条带,其中280 bp片段为青枯菌特异性扩增条带,



144 bp 片段为演化型 I 的特异性扩增条带(图 1)。表明来源于我国 9 个地区的花生青枯菌菌株均属青枯菌演化型 I 型,即亚洲分支菌株。

## 2.2 供试花生青枯菌的序列变种鉴定

在序列变种分类单元水平上,基于 *egl* 基因的部分序列采用邻接法对来自我国不同地区的 21 株青枯菌代表性菌株构建系统发育进化树,21 株代表性菌株均聚集在亚洲分支,即演化型 I 分支上,分布在

2 个组,分别归属于序列变种 14 和 48。以来源于广东省的桑青枯菌菌株 M2 作为标准菌株的序列变种 48 中仅包含来自贺州市的 4 株花生青枯菌,而来自湖北、四川、安徽和福建等省的 15 株花生青枯菌均属于以 PSS166 作为标准菌株的序列变种 14,来自赣州市的 2 株菌株属于以 PSS81 作为标准菌株的序列变种 14。说明序列变种 14 为我国花生青枯菌的优势菌系,占全部供试菌株数的 81.0%。

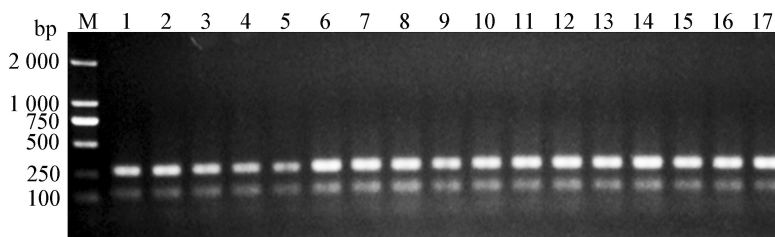


图 1 部分供试青枯菌菌株的演化型多重 PCR 鉴定结果

Fig. 1 Phylotype specific multiplex PCR product patterns of partial strains of *Ralstonia solanacearum*

M: DS2000 ladder marker; 1~17: 青枯菌菌株。M: DS2000 ladder marker; 1~17: different strains of *R. solanacearum*.

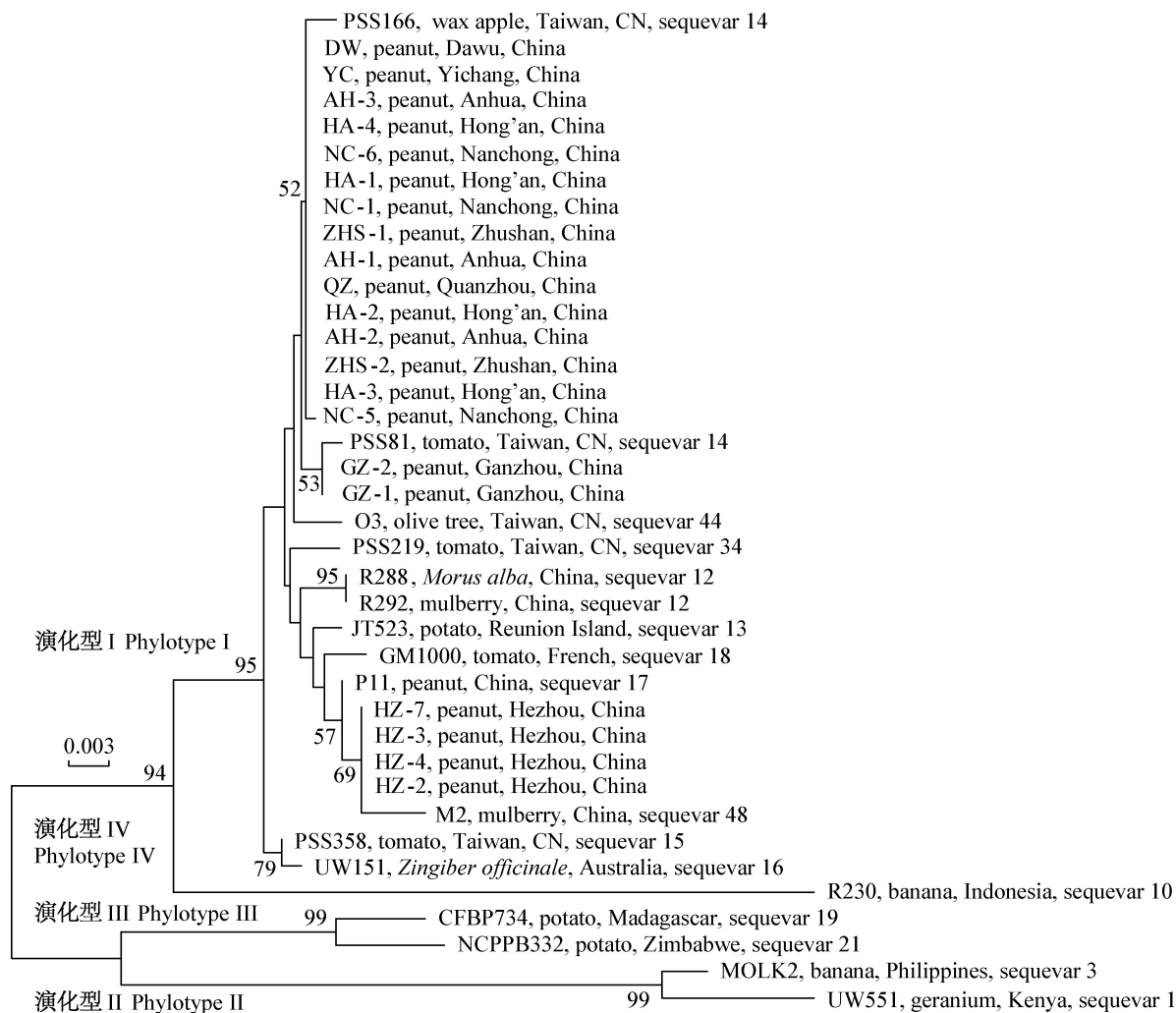


图 2 基于部分 *egl* 基因序列所构建的青枯菌系统发育进化树

Fig. 2 Phylogenetic analysis of *Ralstonia solanacearum* based on partial *egl* gene nucleotide sequences

2.3 供试花生青枯菌的致病力

在来源于9个不同地区的代表性花生青枯菌菌株中,除来自赣州、贺州、宜昌3个市的菌株GZ-1、HZ-2、YC外,来自其它6个地区的菌株均于接种第4天时在接种叶片切口端出现褪绿症状。来自赣州市的菌株GZ-1、贺州市的菌株HZ-2和宜昌市的菌株YC接种到花生植株14 d后,花生的病情指数分别为43.8、75.0和87.5,而来自其它6个地区的菌株

接种花生后其病情指数均为100.0。因此,菌株HA-1、NC-1、QZ、DW、ZHS-2、AH-1、YC(参考标准菌株PSS166序列变种14)的致病力较强;GZ-1菌株(参考标准菌株PSS81序列变种14)和HZ-2菌株(序列变种48)的致病力较弱,与其它7个地区的代表性菌株(HA-1、NC-1、QZ、DW、ZHS-2、AH-1、YC)的致病力差异显著( $P<0.05$ )。

表2 花生青枯菌对感病花生品种中花12号的致病力  
Table 2 Pathogenicity of *Ralstonia solanacearum* strains on susceptible variety of peanut Zhonghua No. 12

| 菌株<br>Strain | 病情指数 Disease index |              |                |              |               |
|--------------|--------------------|--------------|----------------|--------------|---------------|
|              | 4 DAI              | 8 DAI        | 12 DAI         | 13 DAI       | 14 DAI        |
| GZ-1         | 0.0±0.0 Bb         | 0.0±0.0 Cc   | 25.0±0.0 Cd    | 34.4±4.4 Cc  | 43.8±8.8 Cc   |
| HZ-2         | 0.0±0.0 Bb         | 18.8±8.8 BCc | 53.1±13.3 BCbc | 65.6±4.4 Bb  | 75.0±0.0 Bb   |
| YC           | 0.0±0.0 Bb         | 15.6±4.4 BCc | 46.9±4.4 BCcd  | 65.6±4.4 Bb  | 87.5±8.8 ABab |
| AH-1         | 12.5±0.0 ABa       | 37.5±8.8 ABb | 78.1±4.4 ABab  | 93.8±0.0 Aa  | 100.0±0.0 Aa  |
| ZHS-2        | 9.4±4.4 ABab       | 50.0±0.0 Aab | 78.1±4.4 ABab  | 93.8±0.0 Aa  | 100.0±0.0 Aa  |
| DW           | 18.8±0.0 Aa        | 46.9±4.4 Aab | 78.1±13.3 ABab | 93.8±0.0 Aa  | 100.0±0.0 Aa  |
| QZ           | 15.6±4.4 Aa        | 50.0±0.0 Aab | 87.5±8.8 Aa    | 96.9±4.4 Aa  | 100.0±0.0 Aa  |
| NC-1         | 18.8±0.0 Aa        | 56.3±0.0 Aab | 90.6±4.4 Aa    | 100.0±0.0 Aa | 100.0±0.0 Aa  |
| HA-1         | 18.8±8.8 Aa        | 62.5±0.0 Aa  | 93.8±0.0 Aa    | 100.0±0.0 Aa | 100.0±0.0 Aa  |

DAI: 接种后天数。表中数据为平均数±标准误。同列不同大、小写字母分别表示经Duncan氏新复极差法检验在 $P<0.01$ 和 $P<0.05$ 水平差异显著。DAI: Days after inoculation. Data are mean±SE. Different uppercase or lowercase letters in the same column indicate significant difference at  $P<0.01$  or  $P<0.05$  level by Duncan's new multiple range test, respectively.

3 讨论

花生青枯病是花生上最重要的细菌性病害(谈宇俊和廖伯寿,1990;Yabuuchi et al.,1995),根据花生青枯菌的遗传多样性及致病性特点选育抗病花生品种对花生青枯病的预防十分重要。本研究针对我国长江流域及南方地区的花生青枯菌遗传多样性开展系统的演化型分类及青枯菌对花生的致病力研究,发现来自我国9个花生主产区的花生青枯菌遗传多样性水平较低,对同一花生品种的致病力差异显著,且与青枯菌演化型分类框架方法鉴定的序列变种分类相关。

根据传统的青枯菌分类方法,从分类体系上很难反应病原菌的地理起源,不能有效评价青枯菌的遗传多样性(黎妍妍等,2015)。本研究首次在演化型分类框架上对我国花生青枯菌菌株进行了研究,明确了我国长江流域和南方地区花生青枯菌的遗传多样性,来自9个花生主产区的花生青枯菌均属于演化型I型。华静月等(1984)和陈本银等(2007)研究表明,我国花生青枯菌属于生理小种1,生化型3、

4。青枯菌演化型I型菌株主要来源于亚洲,包括生化型3、4、5,属于传统分类中的生理小种1(Cook et al.,1989;Cook & Sequeira,1994),进一步证实了利用青枯菌演化型分类框架方法对来源于我国9个花生主产区的花生青枯菌进行分类的科学合理性。Anuratha & Gnananickam(1990)研究结果表明,青枯菌具有复杂的遗传多样性。在离体条件下,拮抗菌DZ-9、BS2004和DZ-42对青枯菌生化型III均表现出较显著的拮抗效果,但对生化型V却未显示明显的作用,可见拮抗菌并非对所有生化型青枯菌都有抑制作用,这给病害防治增加了很大的难度(苏婷等,2010)。序列变种分类与生理小种、寄主和地理起源相关(Horita & Tsuchiya,2009)。本试验中,来自红安县、南充市、泉州市、大悟县、竹山县、安化市、宜昌市、赣州市的花生青枯菌菌株均属于序列变种14,仅有贺州市1个地区的花生青枯菌菌株属于序列变种48,表明来自9个花生主产区的花生青枯菌遗传多样性较低,有助于抗青枯病花生品种的选育。

青枯菌不同菌株可能对同一花生品种的致病力

有显著差异。由于各地青枯菌菌株的致病性不同,造成不同地区同一花生品种的感病情况不同(胡宝珏等,1981)。李文溶和段迺雄(1987)研究了中国各地花生青枯菌的致病性,结果表明南方病区青枯菌的致病性普遍比北方病区的强。花生青枯病在我国长江流域及南方地区造成严重危害,本研究选取了长江流域及南方地区的9个花生主产区分离的代表性菌株对感病品种中花12号进行致病力测定,结果表明所分离的来源于湖北、四川、福建、湖南4省的代表性菌株(属序列变种14)致病力较强,而江西省和广西壮族自治区的代表性菌株(分属序列变种14和48)致病力较弱,且与湖北、四川、福建、湖南4省的代表性菌株致病力差异显著。因此,我国长江流域及南方地区的花生青枯菌菌株对同一花生品种的致病力有显著差异,且与青枯菌演化型分类框架方法鉴定的序列变种分类相关。

花生青枯菌的侵染对花生生长发育及产量造成显著不良影响(廖伯寿等,1997),严重制约花生产业的健康发展。花生抗青枯病种质资源丰富(唐荣华和周汉群,2000;Holbmok & Stalker,2003),花生对青枯病的抗性在不同地域之间具有良好的稳定性(Jiang,2006),因此,在明确花生青枯菌的遗传多样性分化及其致病性的基础上,结合花生对青枯病的抗性遗传特性,选育抗病花生品种成为最重要的防治花生青枯病的有效途径。

### 参 考 文 献 (References)

- Anuratha CS, Gnananickam SS. 1990. Biological control of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum* in India with agonistic bacteria. *Plant and Soil*, 124(1): 109–116
- Buddenhagen I, Kelman A. 1964. Biological and physiological aspects of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Annual Review of Phytopathology*, 2: 203–230
- Chen BY, Jiang HF, Liao BS, Ren XP. 2007. Progress on groundnut genetic enhancement for bacterial wilt resistance. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 32(8): 369–372 (in Chinese) [陈本银, 姜慧芳, 廖伯寿, 任小平. 2007. 中国花生青枯病抗性遗传改良研究进展. *中国农学通报*, 32(8): 369–372]
- Cook D, Barlow E, Sequeira L. 1989. Genetic diversity of *Pseudomonas solanacearum*: detection of restriction fragment polymorphisms with DNA probes that specify virulence and hypersensitive response. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2(3): 113–121
- Cook D, Sequeira L. 1994. Strain differentiation of *Pseudomonas solanacearum* by molecular genetic methods.//Hayward AC, Hartman GL. *Bacterial wilt: the disease and its causative agent, Pseudomonas solanacearum*. United Kingdom: CAB International, pp. 77–93
- Denny T. 2006. *Plant pathogenic Ralstonia species*.//Gnanamanickam SS. *Plant associated bacteria*. Dordrecht, Netherlands: Springer Publishing, pp. 573–644
- Fegan M, Prior P. 2005. How complex is the "*Ralstonia solanacearum* species complex"?//Allen C, Prior P, Hayward AC. *Bacterial wilt disease and the Ralstonia solanacearum species complex*. Saint Paul, Minnesota: APS Press, pp. 449–462
- Genin S, Denny TP. 2012. Pathogenomics of the *Ralstonia solanacearum* species complex. *Annual Review of Phytopathology*, 50: 67–89
- Hayward AC. 1991. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Annual Review of Phytopathology*, 29: 65–87
- Hayward AC. 1994. Systematics and phylogeny of *Pseudomonas solanacearum* and related bacteria.//Hayward AC, Hartman GL. *Bacterial wilt: the disease and its causative agent, Pseudomonas solanacearum*. United Kingdom: CAB International, pp. 123–135
- He LY, Sequeira L, Kelma A. 1983. Characteristics of strains of *Pseudomonas solanacearum* from China. *Plant Disease*, 67(12): 1357–1361
- Holbmok CC, Stalker HT. 2003. Peanut breeding and genetic resources. //Janick J. *Plant breeding reviews: volume 22*. Hoboken: John Wiley and Sons Ltd, pp. 297–356
- Horita M, Tsuchiya K. 2009. Current status and future prospects of the classification system for the bacterial wilt pathogen *Ralstonia solanacearum* species complex. *Japanese Journal of Phytopathology*, 75(4): 297–306
- Hu BY, Wang JS, Hou XY, Sun DX, Yu HB. 1981. Study on bacterial wilt in peanut. *Journal of Peanut Science*, (4): 1–8 (in Chinese) [胡宝珏, 王家绍, 侯绪友, 孙栋修, 于恒宝. 1981. 花生青枯病的研究. *花生科技*, (4): 1–8]
- Hua JY, Zhang CL, He LY. 1984. Biotypes and physiological variations of *Ralstonia solanacearum* Smith from China. *Journal of Plant Protection*, 11(1): 43–50 (in Chinese) [华静月, 张长龄, 何礼远. 1984. 我国植物青枯病菌的生化型和其他生理差异. *植物保护学报*, 11(1): 43–50]
- Jiang HF. 2006. Genetic diversity among genotypes with bacterial wilt resistance and molecular markers related to resistance in peanut (*Arachis hypogaea* L.). Ph. D Thesis. Wuhan: Huazhong Agricultural University (in Chinese) [姜慧芳. 2006. 花生抗青枯病种质的遗传多样性及抗性分子标记. 博士学位论文. 武汉: 华中农业大学]
- Li WR, Duan NX. 1987. Study on pathogenicity of bacterial wilt in peanut. *Journal of Peanut Science*, (4): 1–4 (in Chinese) [李文溶, 段迺雄. 1987. 花生青枯菌致病性的研究. *花生科技*, (4): 1–4]
- Li YY, Feng J, Liu HL, Wang L, Hsiang T, Li XH, Huang JB. 2016. Genetic diversity and pathogenicity of *Ralstonia solanacearum* causing tobacco bacterial wilt in China. *Plant disease*, 100(7): 1288–1296
- Li YY, Liu HL, Zheng L, Huang JB, Li XH. 2015. Research progress on genetic diversity of *Ralstonia solanacearum* in China. *Jour-*

- nal of Anhui Agricultural Sciences, 43(14): 107–110, 112 (in Chinese) [黎妍妍, 刘海龙, 郑露, 黄俊斌, 李锡宏. 2015. 我国植物青枯菌遗传多样性研究进展. 安徽农业科学, 43(14): 107–110, 112]
- Liao BS, Li D, Shan ZH, Lei Y, Tan YJ, Duan NX, Tang GY. 1997. Influence of latent infection of *Ralstonia solanaceum* on groundnut. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 19(4): 55–58 (in Chinese) [廖伯寿, 李栋, 单志慧, 雷永, 谈宇俊, 段乃雄, 唐桂英. 1997. 青枯菌潜伏侵染对花生的影响. 中国油料作物学报, 19(4): 55–58]
- Liao BS, Li WR, Song DR. 1986. Study on genetic of resistance to bacteria wilt in peanut. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 8(3): 1–8 (in Chinese) [廖伯寿, 李文溶, 孙大容. 1986. 花生青枯病抗性遗传研究. 中国油料作物学报, 8(3): 1–8]
- Liao BS, Shan ZH, Lei Y, Sun DR. 1999. Discussion on the relationship between latent infection by *Ralstonia solanaceum* and genetic improvement of resistance to bacteria wilt in peanut. Peanut Science and Technology, (S1): 112–115 (in Chinese) [廖伯寿, 单志慧, 雷永, 孙大容. 1999. 论青枯菌潜伏侵染与花生抗性遗传改良的关系. 花生科技, (S1): 112–115]
- Liu Y, Wu DS, Liu QP, Zhang ST, Tang YM, Jiang GF, Li SL, Ding W. 2017. The sequevar distribution of *Ralstonia solanacearum* in tobacco-growing zones of China is structured by elevation. European Journal of Plant Pathology, 147(3): 541–551
- Liu YQ, Kanda Y, Yano K, Kiba A, Hikichi Y, Aino M, Kawaguchi A, Mizoguchi S, Nakaho K, Shiomi H, et al. 2009. Molecular typing of Japanese strains of *Ralstonia solanacearum* in relation to the ability to induce a hypersensitive reaction in tobacco. Journal of General Plant Pathology, 75(5): 369–380
- Pastrik KH, Maiss E. 2000. Detection of *Ralstonia solanacearum* in potato tubers by polymerase chain reaction. Journal of Phytopathology, 148(12): 619–626
- Prior P, Fegan M. 2005. Recent developments in the phylogeny and classification of *Ralstonia solanacearum*. Acta Horticulturae, 695: 127–136
- Poussier S, Prior P, Luisetti J, Hayward C, Fegan M. 2000. Partial sequencing of the *hrpB* and endoglucanase genes confirms and expands the known diversity within the *Ralstonia solanacearum* species complex. Systematic and Applied Microbiology, 23(4): 479–486
- Remenant B, Coupat-Goutaland B, Guidot A, Cellier G, Wicker E, Allen C, Fegan M, Pruvost O, Elbaz M, Calteau A, et al. 2010. Genomes of three tomato pathogens within the *Ralstonia solanacearum* species complex reveal significant evolutionary divergence. BMC Genomics, 11: 379
- Su T, Lu M, Zhou Q, Wang F, Wang GF, Xie GL. 2010. Evaluation and identification of antagonistic bacteria against different biovars of *Ralstonia solanacearum* and their active metabolites. Journal of Plant Protection, 37(5): 431–435 (in Chinese) [苏婷, 路梅, 周青, 王芳, 王国芬, 谢关林. 2010. 抗不同生化型青枯菌的生防菌筛选鉴定及其活性分析. 植物保护学报, 37(5): 431–435]
- Tan YJ, Liao BS. 1990. Review on bacteria wilt in peanut in domestic and abroad. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 12(4): 87–90 (in Chinese) [谈宇俊, 廖伯寿. 1990. 国内外花生青枯病研究述评. 中国油料作物学报, 12(4): 87–90]
- Tang RH, Zhou HQ. 2000. Resistance to bacterial wilt in some interspecific derivatives of hybrids between cultivated peanut and wild species. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 22(3): 61–65 (in Chinese) [唐荣华, 周汉群. 2000. 花生属野生种后代抗青枯病研究. 中国油料作物学报, 22(3): 61–65]
- Wang L. 2016. Pathogenicity and genetic diversity of *Ralstonia solanacearum* causing potato brown rot in China. Master Thesis. Wuhan: Huazhong Agricultural University (in Chinese) [王丽. 2016. 中国马铃薯青枯菌致病力和遗传多样性研究. 硕士学位论文. 武汉: 华中农业大学]
- Wang Y. 2013. Study on the comparative advantage of Chinese groundnut in main producing areas. Ph. D Thesis. Nanjing: Nanjing Agricultural University (in Chinese) [王艳. 2013. 中国花生主产区比较优势研究. 博士学位论文. 南京: 南京农业大学]
- Wicker E, Grassart L, Coranson-Beaudu R, Mian D, Guilbaud C, Fegan M, Prior P. 2007. *Ralstonia solanacearum* strains from Martinique (French West Indies) exhibiting a new pathogenic potential. Applied and Environmental Microbiology, 73(21): 6790–6801
- Xue QY, Yin YN, Yang W, Heuer H, Prior P, Guo JH, Smalla K. 2011. Genetic diversity of *Ralstonia solanacearum* strains from China assessed by PCR-based fingerprints to unravel host plant- and site-dependent distribution patterns. FEMS Microbiology Ecology, 75(3): 507–519
- Yabuuchi E, Kosako Y, Yano I, Hotta H, Nishiuchi Y. 1995. Transfer of two *Burkholderia* and an *Alcaligenes* species to *Ralstonia* gen. nov.: proposal of *Ralstonia pickettii* (Ralston, Palleroni and Douderoff 1973) comb. nov., *Ralstonia solanacearum* (Smith 1896) comb. nov. and *Ralstonia eutropha* (Davis 1969) comb. nov. Microbiology and Immunology, 39(11): 897–904
- Yan LY, Huang JQ, Lei Y, Wang SY, Liao BS. 2010. Identification and mutation of *Ralstonia solanacearum* Hongan isolate. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 32(1): 144–146 (in Chinese) [晏立英, 黄家权, 雷永, 王圣玉, 廖伯寿. 2010. 花生青枯菌红安分离物的鉴定. 中国油料作物学报, 32(1): 144–146]

(责任编辑: 李美娟)