

# 云南省小麦条锈菌不同地理亚群体的遗传结构分析



江冰冰<sup>1</sup> 王翠翠<sup>1,2</sup> 郭存武<sup>3</sup> 汪金蓉<sup>4</sup> 李辉<sup>5</sup> 马占鸿<sup>1\*</sup>

(1. 中国农业大学植物保护学院植物病理学系, 农业农村部作物有害生物监测与绿色防控重点实验室, 北京 100193;  
2. 潍坊科技学院, 山东省设施园艺生物工程研究中心, 潍坊 261000; 3. 云南农业大学植物保护学院, 昆明 650201;  
4. 临沧市植保植检站, 云南 临沧 677000; 5. 甘肃省植保植检站, 兰州 730000)

**摘要:** 为明确云南省小麦条锈菌(*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*, *Pst*)在不同地理环境下的群体遗传结构, 通过3种不同地理亚群体划分方式, 即以县域(Group C)、区域(Group R)和海拔(Group E)对云南省537个*Pst*单孢系进行不同层次的群体划分, 并利用12对SSR引物对其进行遗传多样性和群体遗传结构分析。结果显示, 云南省*Pst*的遗传多样性水平在Group C的亚群体之间差异最大, 且来自滇中及滇东北地区的*Pst*群体的遗传多样性较高。Group R和Group E的亚群体基因流及遗传分化结果表明, 云南省*Pst*菌源交流频繁、遗传分化较小。系统进化树分析结果显示, 滇东北与滇中*Pst*群体类似, 滇东南与滇西*Pst*群体类似。*Pst*遗传组分呈现出由东向西、由北向南和自低海拔向高海拔变化的趋势, 与云南省自东南向西北逐渐攀升的地形及地势吻合。Mantel检验结果表明地理距离与遗传距离不存在相关性, 在8个县域亚群体、2个区域亚群体检测到有性生殖。表明来自滇中和滇东北地区的*Pst*群体具有更高的遗传多样性, 地理隔离可能是滇西地区遗传多样性较低的成因, 遗传分化发生在县域之间, 全省*Pst*群体存在两大空间遗传结构, 不同海拔之间的菌源交流频繁, 推测云南省*Pst*群体为有性重组和无性繁殖的混合群体。

**关键词:** 小麦条锈菌; 地理亚群体; 海拔; 遗传分化; 基因流

## The genetic structure of wheat stripe rust pathogen *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* from geographical subpopulations in Yunnan Province

Jiang Bingbing<sup>1</sup> Wang Cuicui<sup>1,2</sup> Guo Cunwu<sup>3</sup> Wang Jinrong<sup>4</sup> Li Hui<sup>5</sup> Ma Zhanhong<sup>1\*</sup>

(1. Department of Plant Pathology, MOA Key Lab of Pest Monitoring and Green Management, College of Plant Protection, China Agricultural University, Beijing 100193, China; 2. Shandong Facility Horticulture Bioengineering Research Center, Weifang University of Science and Technology, Weifang 261000, Shandong Province, China; 3. College of Plant Protection, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, Yunnan Province, China; 4. Lincang City Plant Protection and Plant Inspection Station, Lincang 677000, Yunnan Province, China; 5. Gansu Provincial Plant Protection and Plant Inspection Station, Lanzhou 730000, Gansu Province, China)

**Abstract:** In order to characterize the genetic structure of wheat stripe rust pathogen *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici* (*Pst*) sampled from various geographical regions in Yunnan Province, 537 isolates were grouped by three ways by county (Group C), by region (Group R), and by elevation (Group E) into three hierarchy geographical subpopulations. The genetic diversity and population genetic structure were analyzed using 12 pairs of SSR markers. The results of genetic diversity showed that there were great differences among subpopulations in Group C, the isolates from central Yunnan (YC) and north-eastern Yunnan (YNE) had highest genetic diversity. Subpopulations in Group R and Group E possessed strongly gene flow and little genetic differentiation. The phylogenetic tree revealed that subpopulations from YNE were similar to those from YC, and subpopulations from southeastern Yunnan (YS) were

基金项目: 国家重点研发计划(2021YFD1401000)

\* 通信作者 (Author for correspondence), E-mail: mazh@cau.edu.cn

收稿日期: 2021-09-15

similar to those from western Yunnan (YW). Genetic components varied from east to west, from north to south, from low altitude to high altitude, consistent with the characteristics of topography which gradually climb from southwestern to northwestern Yunnan. The results of Mantel test revealed that there were no significant correlations between the geographic distance and genetic distance, and sexual reproduction was detected in eight county-wise subpopulations, and two regional subpopulations. The results indicated that the isolates from YC and YNE possessed higher genetic diversity, distance isolation would be the reason for the lowest genetic diversity of subpopulations in YW, genetic differentiation occurred among counties, there were two spatial genetic structures within the province, there were frequent gene exchange of *Pst* sources from differing elevations, inferring Yunnan *Pst* as a mixed population with sexual and clonal reproduction.

**Key words:** *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* (*Pst*); geographical subpopulations; elevation; genetic differentiation; gene flow

小麦条锈病是由条形柄锈菌小麦专化型(*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*, *Pst*)引起的一种大区流行病害,在病害流行年份可造成严重的减产和经济损失(马占鸿,2018)。云南省是小麦条锈病在我国能完成周年循环的最大省份(马占鸿等,2004;2005),该省小麦条锈病常年发生(鲁永新等,2013),其菌源也是我国西南流行区系重要的组成部分(李振岐和曾士迈,2002)。

越夏是小麦条锈病周年循环中最为关键的一环(李振岐和曾士迈,2002),而云南省境内的高海拔山区是该菌越夏的重要场所。近年来调查发现云南省芒市海拔1 900 m的地区存在越夏菌源(张培花等,2015),表明云南省个别地区的*Pst*已逐渐突破已报道的2 200 m越夏海拔下限(杨世诚和冉云,1982;1986;李明菊,2004),地理环境对云南省*Pst*的发生和流行的作用不能忽视(吕建平等,2004)。陆宁海等(2009)研究表明,陇南地区不同海拔的*Pst*群体遗传水平存在差异,而云南省内不同地理环境下*Pst*群体的遗传关系尚不清楚,区域之间的遗传分布特点尚不明晰,因此对云南省*Pst*群体遗传结构进行系统性地理因素分析亟待展开。

本研究在云南省小麦种植区进行广泛采样,对样品进行不同空间尺度的群体划分,利用简单重复序列(simple sequence repeat, SSR)荧光引物标记方法研究*Pst*地理亚群体的遗传多样性及分化、遗传空间结构和地理分布以及生殖方式,明确云南省*Pst*群体在不同地理环境及空间尺度下的遗传关系以及在不同区域间的分布特征,旨在摸清云南省小麦条锈病的流行规律,以期为小麦条锈病的防控及小麦品种的合理布局提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试病菌、病叶以及小麦:于2019年2—5月在云南省18个州(县)73个采样点采集小麦条锈病标样。同县城根据小麦种植面积大小设置采样点,不超过20个,每块采样田选取5个相距较远的发病中心,于发病中心边缘选取发病较轻、病斑清晰且夏孢子新鲜的田间小麦病叶,小麦品种为当地推广主栽品种,共计1 237份。其中经单孢分离和扩繁成活的菌株为192株,再选取发病较轻的叶片345份用于直接提取DNA(Ali et al., 2014),共计537株单孢菌株。其中师宗县(21株)、宣威市(94株)、彝良县(40株)、鲁甸县(11株)和镇雄县(55株)为滇东北群体,海拔范围是1 220~1 838 m;峨山县(19株)、通海县(17株)、新平县(4株)和双柏县(57株)为滇中群体,海拔范围是1 201~2 036 m;弥勒市(24株)、个旧市(14株)和广南县(18株)为滇东南群体,海拔范围是1 376~1 775 m;施甸县(37株)、保山市隆阳区(37株)、临沧市(34株)、漾濞县(10株)和丽江市玉龙县(7株)为滇西群体,海拔范围是1 390~2 511 m。高感条锈小麦品种铭贤169由本实验室保存并提供。

试剂及仪器:DNA Marker GS500、*Taq* Polymerase、10×Reaction Buffer,宝日医生物技术(北京)有限公司;其他试剂均为国产分析纯。Fast Prep-24细胞破碎仪,美国MP公司;Mastercycler系列PCR仪,德国艾本德公司;Nano Drop ND-1000微量分光光度计,中国基因有限公司;ABI 3730XL基因测序仪,美国ABI公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 标样纯化与菌系扩繁

剪取含单一病斑的病叶3~5 cm,洗净叶片

表面的病菌孢子, 晾干后在湿润条件下于9℃黑暗培养约12 h直至产生鲜黄色的夏孢子堆, 用灭菌的接种针挑取单个夏孢子堆转接到铭贤169小麦叶片上, 于16℃人工气候室黑暗保湿1 d后取出, 扣上隔离罩, 继续在温度为17℃/14℃(日/夜)和光照为16 h/14 h(日/夜)的气候室中培养约15~20 d后产生夏孢子堆, 收集孢子粉。将收集的夏孢子和0.05%的Tween-20溶液混匀后喷洒在铭贤169小麦叶片上, 继续在气候室培养直至产孢, 收集孢子粉, 于4℃干燥后转至-80℃保存(Wang et al., 2021)。本试验中经单孢纯化与扩繁后共收集到192份标样。

### 1.2.2 地理亚群体划分

地理亚群体的划分分为3个空间尺度, 即县域亚群体(Group C), 共18个亚群体; 区域亚群体(Group R): 滇东北亚群体、滇中亚群体、滇东南亚群体和滇西亚群体; 海拔亚群体(Group E)包括1 200~1 400 m、1 400~1 600 m、1 600~1 800 m、1 800~2 000 m、2 000~2 500 m。

### 1.2.3 *Pst*基因组DNA提取及SSR扩增

本研究采用改良后CTAB法(Justesen et al., 2002; Wan et al., 2015)提取*Pst*夏孢子的基因组DNA。检测DNA的浓度和质量, 将DNA浓度调整为50 ng/μL, 置

于-4℃保存备用。

本研究采用已发表的12对SSR引物对*Pst*基因组DNA进行扩增(表1), 所有引物均由北京擎科生物技术有限公司合成, 对每对引物的F链5'端进行荧光标记。所有SSR扩增体系均为10 μL, 其中RJO3、RJO20引物的反应体系: 10×Reaction Buffer(Mg<sup>2+</sup>plus) 1.0 μL、2.5 mmol/L dNTPs 0.3 μL、5 U/μL Taq Polymerase 0.05 μL、10 μmol/L正反向引物各1 μL、50 ng/μL模版DNA 1.0 μL, ddH<sub>2</sub>O补至10 μL(Enjalbert et al., 2002); 其他引物的反应体系: 10×Reaction Buffer(Mg<sup>2+</sup>plus) 1.0 μL、2.5 mmol/L dNTPs 1 μL、5 U/μL Taq polymerase 0.15 μL、10 μmol/L正反向引物各0.5 μL、50 ng/μL模版DNA 1.0 μL, ddH<sub>2</sub>O补至10 μL(Bahri et al., 2009; Chen et al., 2009; Zhan et al., 2015)。SSR扩增程序: 94℃预变性4 min; 94℃变性30 s, 相应退火温度下(表1)退火30 s, 72℃延伸45 s, 35个循环; 72℃延伸10 min, 4℃终止反应。扩增完成后用锡箔纸遮光包被, 送至北京擎科生物技术有限公司进行毛细管电泳对PCR产物进行基因型分型, 分子量标准选用荧光标记DNA Marker GS 500(35~500 bp)。

表1 本研究中使用的SSR引物信息

Table 1 The SSR primers used in this study

引物名称 Primer name	重复单元 Repeat motif	荧光 Fluorescence	引物序列(5'-3') Primer sequence (5'-3')	退火温度 Annealing temperature/℃	产物长度 Product size/bp	参考文献 Reference
CPS8	(CAG) <sub>14</sub>	HEX	F: GATAAGAAACAAGGGACAGC R: CAGTGAACCCAATTACTCAG	55	203~209	Chen et al., 2009
CPS13	(GAC) <sub>6</sub>	FAM	F: TCCAGGCAGTAAATCAGACGC R: ATCAGCAGGTGTAGCCCCATC	58	125~128	Chen et al., 2009
CPS27	(TTC) <sub>4</sub>	TAMRA	F: GATGGGAAAAGTAAGAAGT R: GGTGGGGATGTAAGTATGTA	57	225~228	Chen et al., 2009
CPS34	(TC) <sub>9</sub>	TAMRA	F: GTTGGCTACGAGTGGTCATC R: TAACACTACAAAAGGGTC	55	101~117	Chen et al., 2009
RJO3	(TGG) <sub>8</sub>	HEX	F: GCAGCACTGGCAGGTGG R: GATGAATCAGGATGGCTCC	52	203~205	Enjalbert et al., 2002
RJO20	(CAG) <sub>4</sub>	HEX	F: AGAAGATCGACGCACCCG R: CCTCCGATTGGCTTAGGC	52	285~288	Enjalbert et al., 2002
RJN3	(CT) <sub>9</sub>	ROX	F: TGGTGGTGCTCCTCTAGTC R: AGGGGTCTTGTAAAGATGCTC	52	338~344	Bahri et al., 2009
RJN5	(CT) <sub>8</sub>	ROX	F: AACGGTCAACAGCACTCAC R: AGTTGGTCGCGTTTGCTC	52	225~230	Bahri et al., 2009
RJN6	(AAC) <sub>9</sub>	FAM	F: CAATCTGGCGGACAGCAAC R: CACCTAGGATACCACGCC	52	315~318	Bahri et al., 2009
RJN8	(GAT) <sub>8</sub>	FAM	F: ACTGGGCAGACTGGTCAAC R: TCGTTTCCCTCCAGATGGC	52	305~308	Bahri et al., 2009
RJN13	(ACG) <sub>6</sub>	HEX	F: TTAGCTCAGCCGGTTCCTC R: CAGGTGTAGCCCCATCTCC	52	149~152	Bahri et al., 2009
WSR44	(GT) <sub>6</sub>	HEX	F: AGGCCAGAACACAAAAA R: TCACACACGCTCACAGTAC	56	185~189	Zhan et al., 2015

### 1.2.4 *Pst*群体遗传多样性分析

使用GeneMarker 2.2.0软件读取*Pst*群体的基因型。利用POPPR 2.5.0软件计算每个亚群体的样本个数 $N$ ,基因型个数(multilocus genotype, MLG)(Hamrick, 1989)。同时进行基因型多样性分析,包括每个群体基因型多样性比例(MLG/ $N$ )、期望基因型(expected multilocus genotype, eMLG)和基因型多样性指数。多样性指数包括Shannon-Wiener指数 $H$ (Shannon, 2001)、Stoddart and Taylor指数 $G$ (Stoddart & Taylor, 1988)和Simpson指数 $\lambda$ (Simpson, 1949)。利用GenAlEx 6.501软件分析每个群体基因多样性,包括等位基因数 $N_a$ 、有效等位基因数 $N_e$ 、Shannon信息指数 $I$ 、观测杂合度 $H_o$ 、期望杂合度 $H_e$ 和私有等位基因丰富度 $A_p$ (Nei, 1978)。

### 1.2.5 *Pst*群体遗传分化分析

利用GenAlEx 6.501软件计算*Pst*群体遗传分化系数 $F_{st}$ (Nei, 1978; Peakall & Smouse, 2006),并进行1 000次permutation自举检验,当 $F_{st}<0.15$ 时群体遗传分化可忽略,表明2个亚群体可视为同一群体; $0.15\leq F_{st}\leq 0.25$ 时群体中等分化,表明2个亚群体为混合群体; $F_{st}>0.25$ 时群体高度分化,表明2个亚群体分属于不同群体。同时计算各亚群体间的基因流 $N_m$ (Frankham et al., 2002),当 $N_m>1$ ,则群体之间基因交流顺畅; $N_m>4$ ,表明群体之间存在高水平的基因交流。利用分子方差分析(AMOVA)计算各亚群体之间的变异来源及变异程度(Excoffier et al., 1992)。

### 1.2.6 *Pst*群体遗传结构分析

利用GenAlEx 6.501软件中的主坐标分析(principal co-ordinates analysis, PCoA)观察各亚群体的二维空间分布(Orloci, 1978)。利用POPPR 2.5.0中的层次聚类分析基于Nei's遗传距离采用邻接法生成聚类树,同时利用Ward's参数基于个体之间的不相似度和两项距离来分组,利用hclust函数功能生成分子群组,计算每个亚群体的遗传组成比例并生成遗传分组饼图(Murtagh & Legendre, 2014),在R map里显示不同亚群体的遗传分组结果,观察遗传组分在不同空间尺度下的变化趋势。

利用GenAlEx 6.501软件中的Mantel test检验地理距离与遗传距离的相关性(Maguire et al., 2002),若存在显著相关性( $P<0.05$ ),表明群体间的遗传分化随着地理距离增加而变大。

### 1.2.7 *Pst*群体生殖方式分析

利用POPPR 2.5.0软件中的基因关联分析基于

克隆校正后的数据集生成关联指数 $I_a$ 和标准化关联指数 $rbarD$ 及999次重复给出其对应的P值来评估是否存在有性生殖,零假设为群体间基因连锁平衡,能够自由重组,此时 $rbarD$ 值不显著( $P>0.05$ ),表现为有性繁殖;当 $rbarD$ 值显著( $P<0.05$ )时则拒绝零假设,即为无性繁殖(Kamvar et al., 2014)。

## 2 结果与分析

### 2.1 云南省*Pst*地理亚群体的遗传多样性

在云南省537个*Pst*单孢系中共检测到180个MLG,整体的基因型比例为0.335,表明存在大量的共享基因型(表2)。基因型多样性分析结果显示在县域亚群体中的整体水平差异较大,基因型比例最大的是峨山县亚群体(0.737),基因型多样性指数 $H$ 、 $G$ 、 $\lambda$ 最高的分别是寻甸县(20.245)和宣威市( $G$ 和 $\lambda$ 为35.344和0.972)亚群体;区域亚群体中的整体水平差异居中,基因型比例最大的是滇东南亚群体(0.607), $H$ 、 $G$ 、 $\lambda$ 最高的是滇东北亚群体(3.949、26.733、0.963);海拔亚群体中的整体水平差异最小,基因型比例最大的是1 600~1 800 m亚群体(0.553), $H$ 、 $G$ 、 $\lambda$ 最高的均是1 400~1 600 m亚群体分别为4.209、45.012和0.978。表明县域中的宣威市亚群体、区域中的滇东北亚群体及海拔中的1 400~1 600 m亚群体的基因型多样性最高。

基因多样性分析结果表明在县域亚群体中, $N_a$ 和 $N_e$ 最高的分别是宣威市和个旧市亚群体, $H_o$ 和 $H_e$ 最高的分别是隆阳区和师宗县亚群体;区域亚群体中, $N_a$ 最高是滇东北和滇中, $N_e$ 最高是滇西, $H_o$ 和 $H_e$ 最高的分别是滇西和滇东北;海拔亚群体中,1 600~1 800 m亚群体的 $N_a$ 、 $N_e$ 、 $H_o$ 和 $H_e$ 均最高,表明以上亚群体有最丰富的基因多样性及遗传变异。在县域亚群体中的寻甸县及双柏县亚群体检测到相同频率的私有等位基因,区域亚群体中除滇西以外其他群体均检测到私有等位基因且滇中亚群体的频率最高,为0.167,海拔亚群体中在海拔1 600 m以上的亚群体内检测到同等频率(0.083)的私有等位基因(表2)。

以上结果表明县域亚群体的遗传多样性差异最大,区域及海拔亚群体差异较小。来自宣威市、寻甸县和峨山县以及滇中和滇东北的亚群体的遗传多样性略高,来自滇东南及滇西的亚群体偶有出现较高的遗传多样性,且多分布在海拔1 400~1 800 m地区。

表2 云南省*Pst*地理亚群体遗传多样性  
Table 2 The genotypic and gene diversity of *Pst* geographic subpopulations in Yunnan

地理亚群体 Geographic subpopulation	亚群体 Subpopulation	N	基因型多样性 Genotypic diversity			基因型多样性指数 Index of MLG diversity			基因多样性 Gene diversity			
			MLG	Ratio of MLG	eMLG	H	G	$\lambda$	$N_a$	$N_e$	$H_o$	$H_e$
县域 County	师宗县	21	9	0.429	5.733	1.814	4.282	0.766	1.917±	1.549±	0.262±	0.284± 0.000
Group C	Shizong County								0.229	0.173	0.069	0.063
	宣威市	94	58	0.617	9.267	3.838	35.344	0.972	2.417±	1.550±	0.250±	0.277± 0.000
	Xuanwei City								0.398	0.190	0.058	0.061
	彝良县	40	12	0.300	4.786	1.713	3.478	0.713	2.000±	1.341±	0.208±	0.206± 0.000
	Yiliang County								0.246	0.109	0.069	0.055
	鲁甸县	11	1	0.091	1.000	0.000	1.000	0.000	1.250±	1.250±	0.250±	0.125± 0.000
	Ludian County								0.131	0.131	0.131	0.065
	镇雄县	55	29	0.527	8.074	3.008	12.872	0.922	2.333±	1.388±	0.256±	0.222± 0.000
	Zhenxiong County								0.355	0.125	0.085	0.059
	寻甸县	71	45	0.634	8.709	3.463	20.245	0.951	2.333±	1.364±	0.230±	0.196± 0.083
	Xundian County								0.376	0.156	0.075	0.059
	峨山县	19	14	0.737	8.094	2.448	8.805	0.886	1.917±	1.397±	0.215±	0.194± 0.000
	Eshan County								0.313	0.184	0.078	0.066
	通海县	17	8	0.471	5.525	1.727	4.313	0.768	2.083±	1.345±	0.201±	0.218± 0.000
	Tonghai County								0.229	0.095	0.053	0.050
	新平县	4	2	0.500	2.000	0.562	1.600	0.375	1.333±	1.300±	0.250±	0.156± 0.000
	Xinping County								0.142	0.131	0.131	0.067
	双柏县	57	26	0.456	7.498	2.792	10.652	0.906	2.083±	1.410±	0.249±	0.217± 0.083
	Shuangbai County								0.288	0.166	0.070	0.061
	弥勒市	24	16	0.667	7.248	2.354	6.000	0.833	2.000±	1.412±	0.208±	0.208± 0.000
	Mile City								0.213	0.192	0.067	0.060
	个旧市	14	9	0.643	6.934	1.965	5.444	0.816	1.917±	1.576±	0.274±	0.198± 0.083
	Gejiu City								0.583	0.300	0.129	0.087
	广南县	18	12	0.667	7.941	2.37	9.529	0.895	1.667±	1.352±	0.204±	0.170± 0.000
	Guangnan County								0.333	0.159	0.093	0.071
	施甸县	37	23	0.622	8.377	2.916	14.113	0.929	2.083±	1.451±	0.243±	0.236± 0.000
	Shidian County								0.379	0.180	0.063	0.059
	隆阳区	4	1	0.250	1.000	0.000	1.000	0.000	1.333±	1.333±	0.333±	0.167± 0.000
	Longyang District								0.142	0.142	0.142	0.071
	临沧市	34	24	0.706	8.168	2.863	10.509	0.905	2.333±	1.496±	0.245±	0.246± 0.000
	Lincang City								0.355	0.193	0.080	0.064
	漾濞县	10	3	0.300	3.000	0.802	1.852	0.460	1.417±	1.284±	0.250±	0.156± 0.000
	Yangbi County								0.149	0.122	0.116	0.063
	玉龙县	7	4	0.571	4.000	1.277	3.267	0.694	1.417±	1.340±	0.286±	0.168± 0.000
	Yulong County								0.193	0.145	0.129	0.072
区域 Region	滇东北	22	93	0.421	35.476	3.949	26.733	0.963	2.583±	1.529±	0.245±	0.279± 0.083
	Group R	Northeastern Yunnan	1						0.452	0.171	0.052	0.058
		滇中	168	74	0.440	31.698	3.601	18.233	0.945	2.583±	1.400±	0.232±
	Central Yunnan								0.358	0.165	0.062	0.056

续表2 Continued

地理亚群体 Geographic subpopulation	亚群体 Subpopulation	N	基因型多样性 Genotypic diversity			基因型多样性指数 Index of MLG diversity			基因多样性 Gene diversity			
			MLG	Ratio of MLG	eMLG	H	G	$\lambda$	$N_a$	$N_e$	$H_o$	$H_e$
滇东南		56	34	0.607	34.000	3.229	17.231	0.942	2.500±	1.455±	0.223±	0.222± 0.083
Southeastern Yunnan		92	45	0.489	31.359	3.316	15.389	0.935	2.417±	1.552±	0.252±	0.243± 0.000
滇西									0.434	0.262	0.077	0.067
Western Yunnan									0.434	0.173	0.051	0.054
海拔 Elevation	1 200~1 400 m	117	49	0.419	16.389	3.069	10.073	0.901	2.417±	1.431±	0.221±	0.234± 0.000
Group E									0.434	0.173	0.051	0.054
1 400~1 600 m		190	95	0.500	23.864	4.209	45.012	0.978	2.583±	1.526±	0.246±	0.251± 0.000
									0.452	0.242	0.058	0.058
1 600~1 800 m		85	47	0.553	21.379	3.535	22.937	0.956	2.750±	1.592±	0.256±	0.287± 0.083
									0.605	0.202	0.063	0.064
1 800~2 000 m		116	57	0.491	19.813	3.526	19.558	0.949	2.500±	1.445±	0.237±	0.247± 0.083
									0.379	0.159	0.061	0.055
2 000~2 500 m		29	16	0.552	16.000	2.558	10.646	0.906	2.083±	1.479±	0.244±	0.254± 0.083
									0.288	0.176	0.061	0.058

N: 不同亚群体的采样个数; MLG: 检测到的基因型个数; Ratio of MLG: 基因型比例; eMLG: 最小样本量 $\geq 10$ 时的期望基因型; H: 基因型多样性 Shannon-Wiener 指数; G: Stoddart 和 Taylor 指数;  $\lambda$ : Simpson 指数;  $N_a$ : 观测等位基因数;  $N_e$ : 有效等位基因数;  $H_o$ : 观测杂合度;  $H_e$ : 期望杂合度; Ap: 私有等位基因数。/: 无数据。N: Number of *Pst* isolates from each subpopulations; MLG: number of multilocus genotypes observed; Ratio of MLG: the genetic diversity of MLG; eMLG: the number of expected MLG at the smallest sample size $\geq 10$  based on rarefaction; H: Shannon-Wiener index; G: Stoddart and Taylor index;  $\lambda$ : Simpson;  $N_a$ : number of observed alleles;  $N_e$ : effective number of alleles;  $H_o$ : observed heterozygosity;  $H_e$ : expected heterozygosity; Ap: number of private alleles. / represents no data.

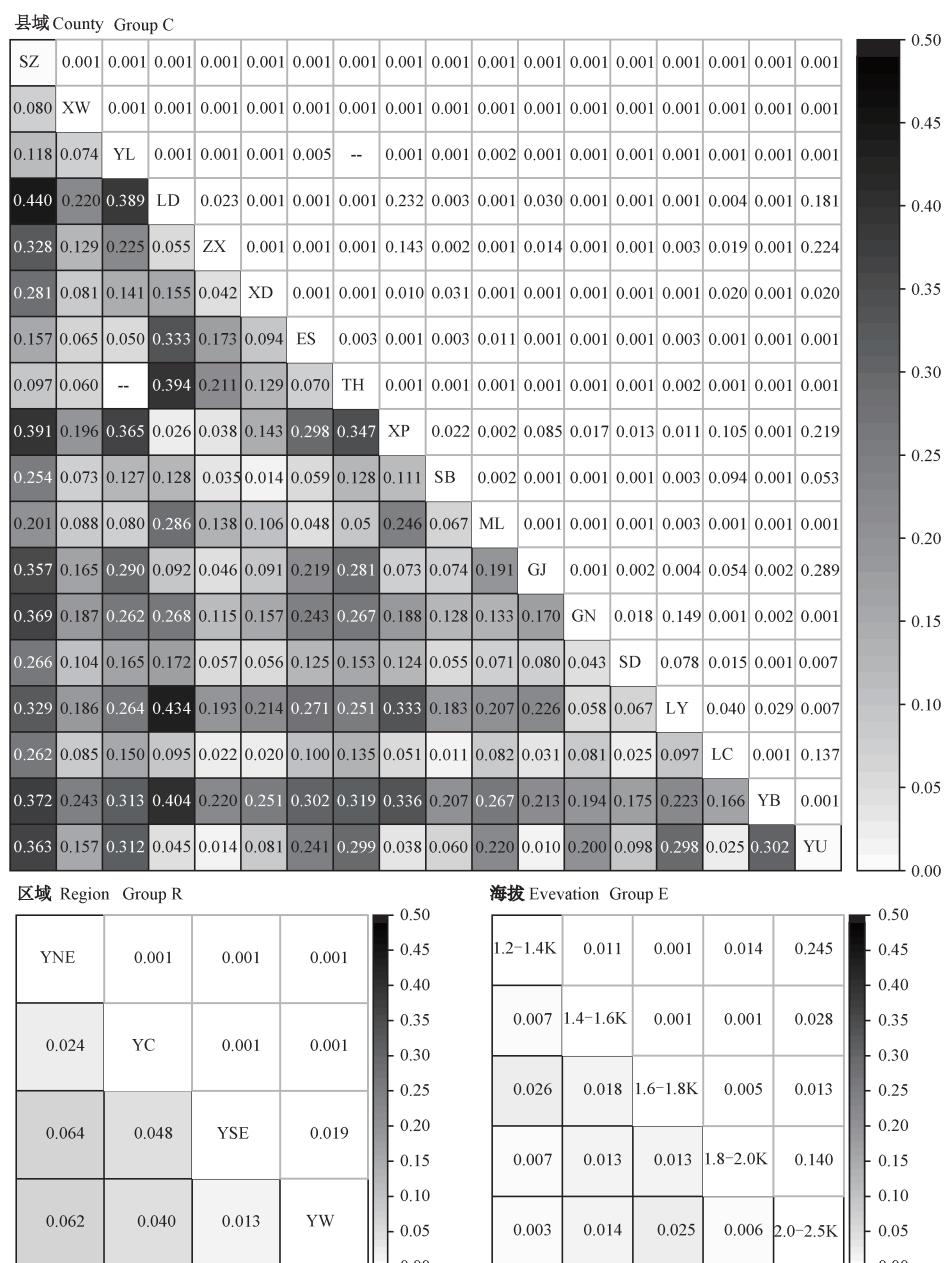
## 2.2 云南省 *Pst* 地理亚群体的遗传分化水平

遗传分化分析结果表明,县域亚群体整体显示中等水平的遗传分化( $F_{st}=0.127$ )(图1),  $F_{st}$ 值的范围较大,且52%的亚群体的 $F_{st}\geq 0.15$ ,师宗县与鲁甸县亚群体显示高度的遗传分化( $F_{st}=0.440$ ),玉龙县与个旧市亚群体的遗传分化水平极低( $F_{st}=0.01$ );区域亚群体间的 $F_{st}$ 均小于0.15,整体呈现出较低水平的遗传分化;海拔亚群体间的 $F_{st}$ 值均小于0.05,遗传分化可以忽略。表明云南省 *Pst* 群体在全省范围内不同区域及不同海拔之间的遗传分化极微弱,中等程度的遗传分化仅存在于县域亚群体之间。

基因流结果表明县域亚群体间的基因交流整体处于较低水平( $N_m=1.718$ )(图2),仅有17%的亚群体间表现出高水平的基因流( $N_m>4$ ),且 $N_m$ 值的范围较大,双柏县与临沧县亚群体的基因交流最为频繁( $N_m=17.727$ ),鲁甸县与师宗县亚群体的基因交流相对较少( $N_m=0.318$ );区域亚群体间的基因交流整体处于较高水平( $N_m=5.704$ )(图2),且 $N_m$ 值差异较小,滇西与滇东南亚亚群体的基因交流最为频繁( $N_m=$

18.623),滇东北与滇东南亚亚群体的基因交流最少,但仍然存在一定程度的基因交流( $N_m=3.643$ );而海拔亚群体间的基因交流整体处于高水平( $N_m=18.975$ ),且 $N_m$ 值的范围最大,1 200~1 400 m 亚群体与2 000~2 500 m 亚群体的基因交流最为频繁( $N_m=81.207$ ),1 200~1 400 亚群体与1 600~1 800 亚群体的 $N_m$ 值在同组最低( $N_m=9.417$ ),但仍远大于4,基因流仍较高。表明云南省 *Pst* 群体在全省范围内不同海拔间基因交流最为频繁,不同区域之间基因交流居中且滇中与滇东北、滇西与滇东南亚亚群体交流更为频繁,县域亚群体基因交流水平整体较低且交流程度差异较大,与 $F_{st}$ 分析结果相同(图2)。

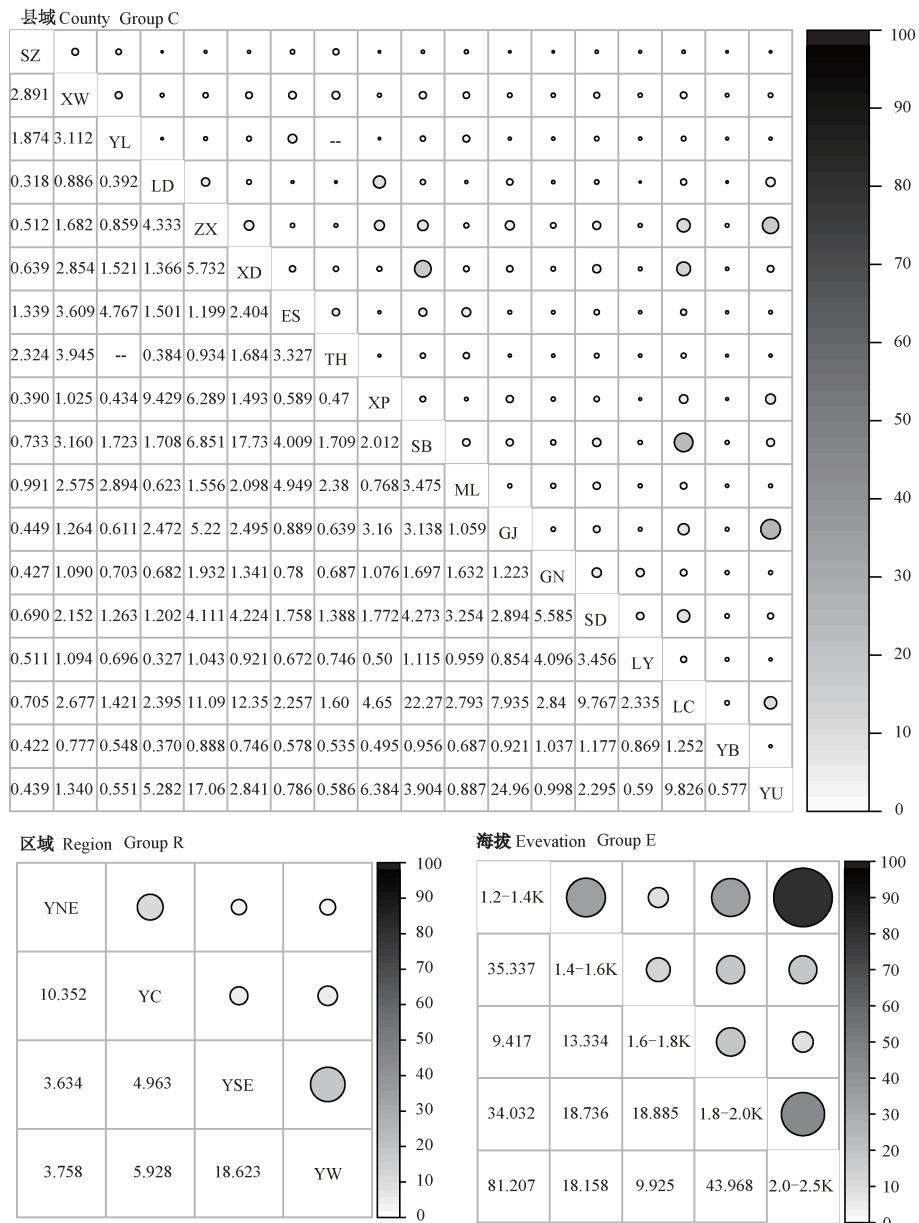
分子变异方差分析结果显示3个地理亚群体的遗传变异主要来源于个体(表3),群体间和组间仅存在小部分的遗传变异,县域亚群体内部的个体变异占总变异的87.94%,区域亚群体为92.49%,海拔亚群体为93.40%,说明云南省 *Pst* 群体存在丰富的个体遗传变异,且海拔亚群体中存在最为丰富的个体遗传变异。



颜色代表  $F_{st}$  值; 对角线为亚群体名称; 对角线以下为  $F_{st}$  值; 对角线以上为  $P$  值; - 表示无数值。Group C 中 SZ、XW、YL、LD、ZX、XD、ES、TH、XP、SB、ML、GJ、GN、SD、LY、LC、YB 和 YU 分别代表师宗县、宣威市、彝良县、鲁甸县、镇雄县、寻甸县、峨山县、通海县、新平县、双柏县、弥勒市、个旧市、广南县、施甸县、隆阳区、临沧市、漾濞县和玉龙县亚群体; Group R 中 YNE、YC、YSE 和 YW 分别代表滇东北、滇中、滇东南和滇西亚群体; Group E 中 1.2~1.4K、1.4~1.6K、1.6~1.8K、1.8~2.0K 和 2.0~2.5K 分别代表海拔 1 200~1 400 m、1 400~1 600 m、1 600~1 800 m、1 800~2 000 m、2 000~2 500 m 亚群体。The colour represent the values of the  $F_{st}$ ; subpopulation's name in the diagonal;  $F_{st}$  values are below the diagonal;  $P$  values are above the diagonal; - represents the no data. In Group C, SZ, XW, YL, LD, ZX, XD, ES, TH, XP, SB, ML, GJ, GN, SD, LY, LC, YB, and YU represent county-wise subpopulations of Shizong, Xuanwei, Yiliang, Ludian, Zhenxiong, Xundian, Eshan, Tonghai, Xiping, Shuangbai, Mile, Gejiu, Guangnan, Shidian, Longyang, Lincang, Yangbi, and Yulong; In Group R, YNE, YC, YSE, and YW represent regional subpopulations of northeastern, central, southeastern, and western Yunnan Province; In Group E, 1.2~1.4K, 1.4~1.6K, 1.6~1.8K, 1.8~2.0K, and 2.0~2.5K represent subpopulations in elevation of 1 200~1 400 m, 1 400~1 600 m, 1 600~1 800 m, 1 800~2 000 m, and 2 000~2 500 m.

图 1 云南省小麦条锈菌地理亚群体的  $F_{st}$  分析

Fig. 1  $F_{st}$  between geographical subpopulations of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* from Yunnan



圆圈大小和颜色代表 $N_m$ 值；对角线以下为成对的 $N_m$ 值，对角线以上为对应 $N_m$ 值的图像；对角线为亚群体名称；-表示无数据。Group C 中 SZ、XW、YL、LD、ZX、XD、ES、TH、XP、SB、ML、GJ、GN、SD、LY、LC、YB 和 YU 分别代表师宗县、宣威市、彝良县、鲁甸县、镇雄县、寻甸县、峨山县、通海县、新平县、双柏县、弥勒市、个旧市、广南县、施甸县、隆阳区、临沧市、漾濞县和玉龙县亚群体；Group R 中 YNE、YC、YSE 和 YW 分别代表滇东北、滇中、滇东南和滇西亚群体；Group E 中 1.2-1.4K、1.4-1.6K、1.6-1.8K、1.8-2.0K 和 2.0-2.5K 分别代表海拔 1 200~1 400 m、1 400~1 600 m、1 600~1 800 m、1 800~2 000 m、2 000~2 500 m 亚群体。The size of the circles and the colour represent the values of the  $N_m$ ; the  $N_m$  values are below the diagonal, the charts for the corresponding  $N_m$  are above the diagonal; subpopulation's name in the diagonal; - represents the no data. In Group C, SZ, XW, YL, LD, ZX, XD, ES, TH, XP, SB, ML, GJ, GN, SD, LY, LC, YB, and YU represent county-wise subpopulations of Shizong, Xuanwei, Yiliang, Ludian, Zhenxiong, Xundian, Eshan, Tonghai, Xinping, Shuangbai, Mile, Gejiu, Guangnan, Shidian, Longyang, Lincang, Yangbi, and Yulong; In Group R, YNE, YC, YSE, and YW represent regional subpopulations of northeastern, central, southeastern, and western Yunnan Province; In Group E, 1.2-1.4K, 1.4-1.6K, 1.6-1.8K, 1.8-2.0K, and 2.0-2.5K represent subpopulations in elevation of 1 200~1 400 m, 1 400~1 600 m, 1 600~1 800 m, 1 800~2 000 m, 2 000~2 500 m.

图2 云南省小麦条锈菌地理亚群体的基因流分析

Fig. 2 Gene flow between geographical subpopulations of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* from Yunnan

表3 AMOVA分子变异方差分析

Table 3 Analysis of AMOVA molecular variance

变异来源 Sources of variation	县域 County Group C	区域 Region Group R	海拔 Elevation Group E	%
组间 Among pops	12.06	4.20	1.30	
群体间 Among individuals	0.00	3.31	5.30	
群体内 Among individuals	87.94	92.49	93.40	
合计 Total	100.00	100.00	100.00	

### 2.3 云南省*Pst*地理亚群体空间遗传结构

PcoA分析结果显示前两个极轴坐标分别解释了整体遗传变异的30.81%与16.66%(图3)。县域亚群体中师宗县和宣威市的亚群体主要分布在第1、4象限,彝良县亚群体分布在第2、4象限,镇雄县亚群体分布在第3象限,鲁甸县、个旧市和广南县亚群体分布在第2象限,通海县和弥勒市亚群体分布在第1、2、3象限,施甸县和临沧市亚群体分布在第1、2、4,漾濞县和玉龙县亚群体分布在第2、3象限,寻甸县、峨山县和双柏县亚群体在4个象限均有分布;区域亚群体中各亚群体在4个象限均有分布,不存在明显的区分界线;海拔亚群体中,除2 000~2 500 m亚群体主要分布在第1、3、4象限,其他亚群体在4个象限均有分布(图4)。以上结果与 $F_{st}$ 和 $N_m$ 结果类似,揭示了云南省*Pst*群体在不同区域和海拔之间存在广泛的菌源交流,在县域水平存在一定的遗传分化。

系统发育分析结果显示,3个地理亚群体存在不同程度的地理分化(图4)。县域亚群体中,在0.035的差异上各亚群体聚为3类,其中来自漾濞县和隆阳区的亚群体聚为第1类,施甸县、广南县、双柏县、寻甸县、临沧市、镇雄县、玉龙县、个旧市、新平县和鲁甸县共10个亚群体聚为第2类,弥勒市、峨山县、通海县、彝良县、宣威市及师宗县亚群体聚为第3类;区域亚群体中,在0.005的差异上各亚群体聚为2类,滇中和滇东北亚群体聚为一类,滇西和滇东南亚群体聚为一类;海拔亚群体中,在0.004的差异上各亚群体聚为2类,来自海拔1 600~1 800 m亚群体为一类,来自其他海拔的亚群体整体聚为一类。表明云南省*Pst*群体在不同区域和海拔之间的遗传距离较小,县域及区域亚群体的聚类情况揭示了存在滇中与滇东北、滇西与滇东南两大空间结构。

定义k=3时生成的3个遗传群组MG1、MG2和MG3在3个亚群体的空间变化趋势揭示了与地理呈现一定相关性,总体变化趋势是由东向西、由北向南、自低海拔向高海拔(图5)。县域亚群体中,来自彝良县、弥勒市、通海县和峨山县的亚群体均含有MG1、MG2和MG3且以MG1和MG2为主,镇雄县、

宣威市、寻甸县、双柏县和临沧市亚群体均含有MG1、MG2和MG3且以MG2和MG3为主,广南县和施甸县亚群体含有MG2和MG3且以MG3为主,鲁甸县、个旧市、新平县、玉龙县、漾濞县和隆阳区亚群体只含MG3,师宗县亚群体只含MG1和MG2且以MG1为主;区域亚群体中,滇东北与滇中亚群体均包含MG1、MG2和MG3且比例相当,说明这2个区域亚群体遗传组分更为类似,与系统发育树结果相同,而滇东南和滇西亚群体包含更多的MG2和MG3,且越往西MG1减少的趋势越明显。海拔亚群体中,从低海拔到高海拔亚群体包含的MG1和MG2逐渐较少,MG3含量相继增加,说明随着海拔升高各亚群体之间的遗传组分存在差异。

利用Mantel检验分析3个层次的地理亚群体的遗传距离与地理距离的关系,Group C、Group R和Group E的相关系数r和对应的P值分别是0.018和0.23、0.018和0.18、-0.063和0.01,其相关系数r值均接近于0,表明随着地理距离的增加,遗传变异的程度不大。

### 2.4 云南省*Pst*不同地理亚群体的生殖方式

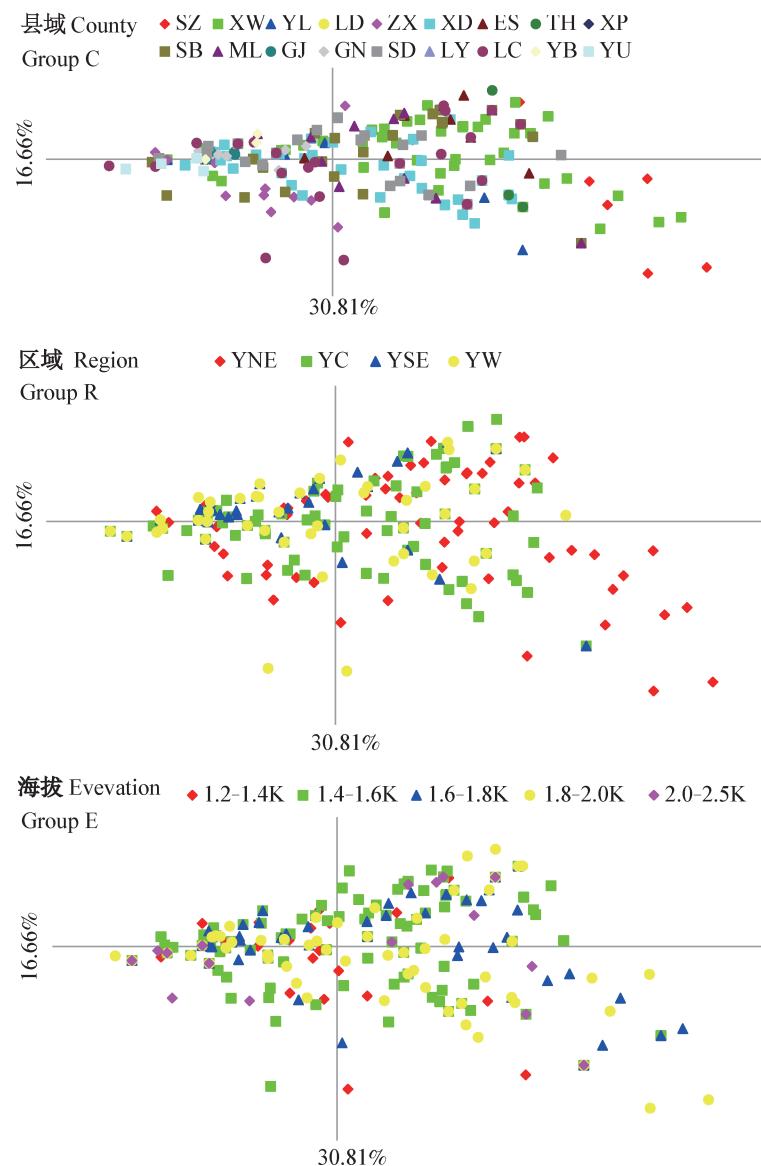
利用克隆校正后得到的181个*Pst*菌株进行基因关联分析(表4),结果显示在县域亚群体中的峨山县、个旧市、广南县、双柏县、通海县、寻甸县、漾濞县和镇雄县8个亚群体中检测到有性生殖( $P>0.05$ ),地域亚群体中的滇中和滇东南群体检测到有性生殖,海拔亚群体中未检测到有性生殖信号,表明云南省*Pst*群体存在有性重组的可能性。

## 3 讨论

群体遗传学研究是分析生物进化过程中发生遗传及变异的必要手段(Escudero et al., 2003; Ali et al., 2014)。云南省常年发生小麦条锈病,是*Pst*重要的冬繁区和越夏区,在分析其与其他流行区系之间的遗传关系之前应明确该省内部*Pst*的遗传动态,而多变的气候、复杂的农事操作以及多样化的地势和地貌导致了该省不同地理环境下*Pst*群体的遗传关系尚不明确。云南省大多数小麦种植区的生境较

为复杂,按地理环境划分为三大流行区即滇东北山原流行区、滇中高原湖盆流行区和滇西中山盆地流行区(杨世诚和冉云,1986;刘秀峰等,2016),且小麦种植品种多为农户自留种(李明菊,2013),造成无法

对小麦品种及其抗病基因进行溯源,因此明确云南省来源于不同地理生态的 *Pst* 群体在不同空间尺度下的遗传关系及区域间的分布情况对小麦条锈病的预测及防治具有重要作用。



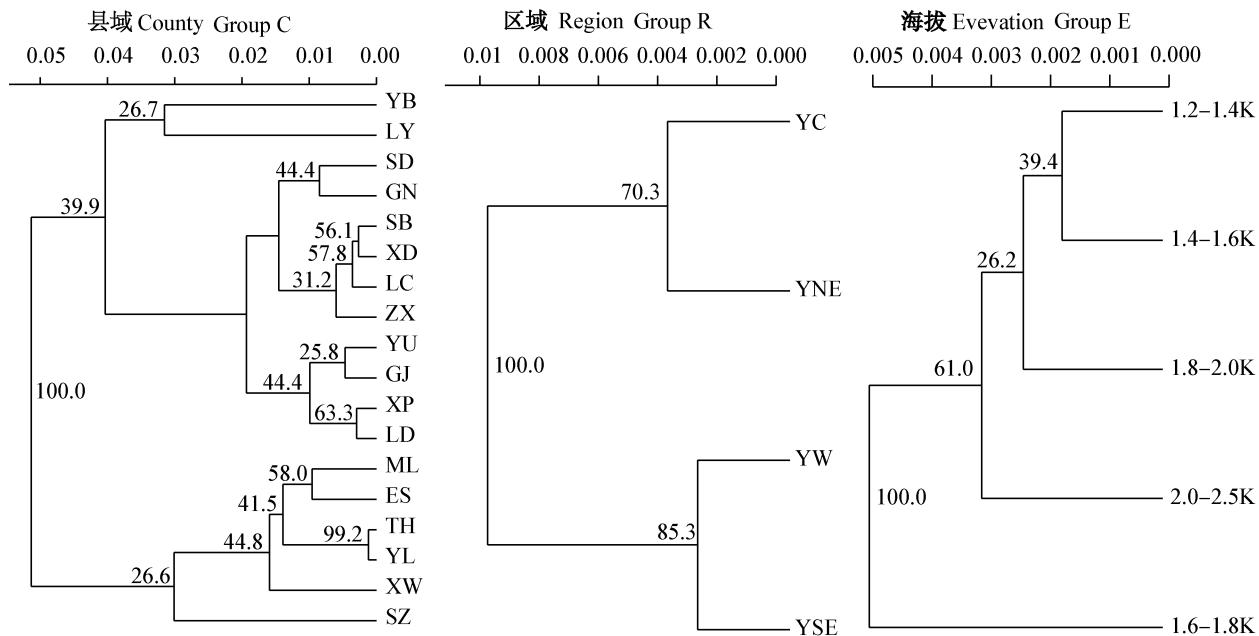
Group C 中 SZ、XW、YL、LD、ZX、XD、ES、TH、XP、SB、ML、GJ、GN、SD、LY、LC、YB 和 YU 分别代表师宗县、宣威市、彝良县、鲁甸县、镇雄县、寻甸县、峨山县、通海县、新平县、双柏县、弥勒市、个旧市、广南县、施甸县、隆阳区、临沧市、漾濞县和玉龙县亚群体; Group R 中 YNE、YC、YSE 和 YW 分别代表滇东北、滇中、滇东南和滇西亚群体; Group E 中 1.2~1.4K、1.4~1.6K、1.6~1.8K、1.8~2.0K 和 2.0~2.5K 分别代表海拔 1 200~1 400 m、1 400~1 600 m、1 600~1 800 m、1 800~2 000 m、2 000~2 500 m 亚群体。In Group C, SZ, XW, YL, LD, ZX, XD, ES, TH, XP, SB, ML, GJ, GN, SD, LY, LC, YB, and YU represent county-wise subpopulations of Shizong, Xuanwei, Yiliang, Ludian, Zhenxiong, Xundian, Eshan, Tonghai, Xinping, Shuangbai, Mile, Gejiu, Guangnan, Shidian, Longyang, Lincang, Yangbi, and Yulong; In Group R, YNE, YC, YSE, and YW represent regional subpopulations of northeastern, central, southeastern, and western Yunnan Province; In Group E, 1.2~1.4K, 1.4~1.6K, 1.6~1.8K, 1.8~2.0K, and 2.0~2.5K represent subpopulations in elevation of 1 200~1 400 m, 1 400~1 600 m, 1 600~1 800 m, 1 800~2 000 m, and 2 000~2 500 m.

图3 云南省小麦条锈菌地理亚群体的主坐标分析

Fig. 3 The PcoA on *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* from different geographical subpopulations in Yunnan

本研究中的 $F_{st}$ 和 $N_m$ 分析结果揭示了云南省 $Pst$ 群体在不同空间尺度下的遗传分化与菌源交流,县域亚群体的 $F_{st}$ 和 $N_m$ 值的范围跨度最大,这是因为县域各亚群体间存在最大的分子遗传变异(12%),其中超过一半的亚群体显示 $F_{st} \geq 0.15$ ,说明县域亚群体之间存在较大的遗传分化,反之,基因交流则相对较少;区域亚群体的 $F_{st}$ 和 $N_m$ 值的范围跨度较小,且 $F_{st}$

较小、 $N_m$ 较大,说明区域亚群体之间的遗传分化小,菌源交流频繁;海拔亚群体的 $F_{st}$ 范围跨度较小且均值为0.013,但 $N_m$ 值的范围跨度较大且最小值远大于4,说明各海拔亚群体之间的 $Pst$ 群体菌源交流最为频繁。云南省全省范围内的 $Pst$ 菌源交流广泛体现了大区流行病害具有区域性特征的特点,因此在该省展开联防联治才能实现对小麦条锈病的控制。



Group C 中 SZ, XW, YL, LD, ZX, XD, ES, TH, XP, SB, ML, GJ, GN, SD, LY, LC, YB 和 YU 分别代表师宗县、宣威市、彝良县、鲁甸县、镇雄县、寻甸县、峨山县、通海县、新平县、双柏县、弥勒市、个旧市、广南县、施甸县、隆阳区、临沧市、漾濞县和玉龙县亚群体; Group R 中 YNE, YC, YSE 和 YW 分别代表滇东北、滇中、滇东南和滇西亚群体; Group E 中 1.2~1.4K, 1.4~1.6K, 1.6~1.8K, 1.8~2.0K 和 2.0~2.5K 分别代表海拔 1 200~1 400 m, 1 400~1 600 m, 1 600~1 800 m, 1 800~2 000 m, 2 000~2 500 m 亚群体。In Group C, SZ, XW, YL, LD, ZX, XD, ES, TH, XP, SB, ML, GJ, GN, SD, LY, LC, YB, and YU represent county-wise subpopulations of Shizong, Xuanwei, Yiliang, Ludian, Zhenxiong, Xundian, Eshan, Tonghai, Xinping, Shuangbai, Mile, Gejiu, Guangan, Shidian, Longyang, Lincang, Yangbi, and Yulong; In Group R, YNE, YC, YSE, and YW represent regional subpopulations of northeastern, central, southeastern, and western Yunnan Province; In Group E, 1.2~1.4K, 1.4~1.6K, 1.6~1.8K, 1.8~2.0K, and 2.0~2.5K represent subpopulations in elevation of 1 200~1 400 m, 1 400~1 600 m, 1 600~1 800 m, 1 800~2 000 m, and 2 000~2 500 m.

图4 采用邻接法构建云南省小麦条锈菌地理亚群体的系统发育树

Fig. 4 Phylogenetic trees of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* from geographical subpopulations in Yunnan

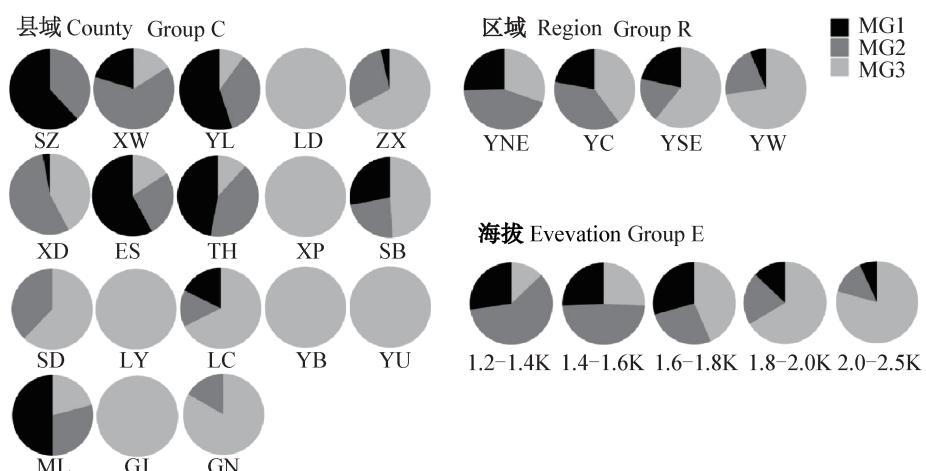
区域亚群体揭示了存在两大空间遗传结构,即滇东北和滇中亚群体,滇东南和滇西亚群体,与地理环境划分的三大 $Pst$ 流行区有一定相似性(杨世诚和冉云,1986;刘秀峰等,2016)。姜舒畅等(2018)研究结果也表明云南省存在东、西两大 $Pst$ 群体。朱华和阎丽春(2003)通过比较有代表性的植物区系验证了“滇西—滇东南生态地理(生物地理)对角线”的真实存在,推测相似的地质历史背景可能是其成因之一。非常巧合的是,条锈菌的遗传分布特点也正

符合“滇西—滇东南对角线”的划分方式;海拔亚群体的层次聚类分析结果揭示了云南省全省 $Pst$ 遗传群组的变化趋势与海拔的变化相关,变化趋势是由东向西、由北向南和自低海拔向高海拔变化,与云南省自东南向西北逐渐攀升的地形及地势吻合,这些结果明确了云南省 $Pst$ 群体在不同地理环境下的遗传分布和区域之间的变化趋势,暗示着在大尺度的空间范围内,地理环境更相近的群体其遗传组成更为类似(Nybom, 2004)。同时也体现了选择合理的

空间尺度对群体遗传学研究的必要性。刘秀峰等(2016)在分析滇黔*Pst*群体空间分布时,将来自同一区域不同县域的群体合并为一个群体与未合并的县域群体进行比较,发现空间分布并未产生变化,这也说明了在分析群体空间遗传学时应划分合理的空间尺度。

本研究中云南省*Pst*群体的总基因型多样性为0.335,遗传多样性整体偏低,低于同期采样中的西北*Pst*群体(未发表),这说明各亚群体间存在大量的共享基因型,与Liu et al.(2011)和刘秀峰等(2016)研究结果一致,而与李明菊(2013)、姜舒畅等(2018)研究发现*Pst*有较丰富的遗传多样性的结果不尽相同,可能是由于采样年份、采样地点、采样量及选用遗传标记的差异造成的。滇东北亚群体局部较高的遗传多样性可能是由于与相邻的四川群体和贵州群体存在菌源交流(杨亨,2019),因为滇东北亚群体与滇西( $F_{st}>0.064$ )和滇东南亚群体( $F_{st}>0.062$ )存在相对较高的 $F_{st}$ 和相对较小的基因流( $N_m<4$ )说明两地群体遗传分化相对较大,菌源交流甚少。滇中亚群体保持较高的遗传多样性,且在寻甸县、双柏

县海拔1 600 m以上亚群体检测到同等频率的私有等位基因,这可能与滇中地区的种植面积及灾害面积最大有关(杨亨,1999),往往病害严重的地区易产生变异(陈万权等,2013),也可能是由于高海拔地区的紫外线能加速*Pst*群体的诱变(李振歧和曾士迈,2002)。且滇中连接滇西与滇东,与滇东北、滇东南和滇西亚群体间较高的基因流( $N_m>4$ )可以推测外来菌源的加入也是其遗传多样性较高的原因之一。滇西亚群体的遗传多样性整体较低,遗传组成较单一,地理隔离可能是其成因。距离隔离是群体产生遗传分化的主要因素,距离隔离理论认为遗传距离越远,分化程度越高(Wright, 1943)。本研究中Mantel检验结果显示遗传距离与地理距离无显著相关性,且遗传变异程度较小,即不支持云南省*Pst*群体存在距离隔离模式,暗示并不存在因地理原因造成的生殖隔离。滇西与滇中和相邻的川西南地区中间横亘众多山脉和峡谷,其中哀牢山地跨滇中楚雄州,阻碍了滇西与滇中及滇东北地区的菌源基因交流,降低了其遗传多样性。



Group C 中 SZ、XW、YL、LD、ZX、XD、ES、TH、XP、SB、ML、GJ、GN、SD、LY、LC、YB 和 YU 分别代表师宗县、宣威市、彝良县、鲁甸县、镇雄县、寻甸县、峨山县、通海县、新平县、双柏县、弥勒市、个旧市、广南县、施甸县、隆阳区、临沧市、漾濞县和玉龙县亚群体; Group R 中 YNE、YC、YSE 和 YW 分别代表滇东北、滇中、滇东南和滇西亚群体; Group E 中 1.2~1.4K、1.4~1.6K、1.6~1.8K、1.8~2.0K 和 2.0~2.5K 分别代表海拔 1 200~1 400 m、1 400~1 600 m、1 600~1 800 m、1 800~2 000 m、2 000~2 500 m 亚群体。MG 为遗传群组,有 3 个遗传群组,即 MG1、MG2 和 MG3。In Group C, SZ, XW, YL, LD, ZX, XD, ES, TH, XP, SB, ML, GJ, GN, SD, LY, LC, YB and YU represent county-wise subpopulations of Shizong, Xu-anwei, Yiliang, Ludian, Zhenxiong, Xundian, Eshan, Tonghai, Xinping, Shuangbai, Mile, Gejiu, Guangnan, Shidian, Long-yang, Lincang, Yangbi, and Yulong; In Group R, YNE, YC, YSE, and YW represent regional subpopulations of northeastern, central, southeastern, and western Yunnan Province; In Group E, 1.2~1.4K, 1.4~1.6K, 1.6~1.8K, 1.8~2.0K, and 2.0~2.5K represent subpopulations in elevation of 1 200~1 400 m, 1 400~1 600 m, 1 600~1 800 m, 1 800~2 000 m, and 2 000~2 500 m. MG represent the Molecular Group, there have three MGs, that were MG1, MG2, and MG3.

图5 云南省小麦条锈菌地理亚群体层次聚类分析

Fig. 5 Hierarchical cluster analysis on *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* from geographical subpopulations in Yunnan

表4 云南省小麦条锈菌地理亚群体基因关联指数信息表  
Table 4 The index of association of *Pst* geographic populations in Yunnan

地理亚群体 Geographical population	亚群体 Subpopulation	关联系数 Index of association ( $I_a$ )	关联系数的P值 $P(I_a)$	标准化关联系数 Standardized index of association ( $rbarD$ )	标准化关联系数的P值 $P(rbarD)$
县域 County Group C	师宗县 Shizong County	3.418	0.001	0.450	0.001
	宣威市 Xuanwei City	0.373	0.003	0.043	0.003
	彝良县 Yiliang County	1.184	0.013	0.262	0.010
	镇雄县 Zhenxiong County	0.125	0.207	0.015	0.204
	寻甸县 Xundian County	0.028	0.385	0.003	0.382
	峨山县 Eshan County	0.131	0.637	0.023	0.641
	通海县 Tonghai County	0.779	0.133	0.176	0.113
	双柏县 Shuangbai County	0.305	0.102	0.035	0.102
	弥勒市 Mile City	0.640	0.011	0.100	0.009
	个旧市 Gejiu City	0.184	0.677	0.185	0.952
区域 Region Group R	广南县 Guangnan County	0.406	0.089	0.107	0.086
	施甸县 Shidian County	1.139	0.001	0.154	0.001
	临沧市 Lincang City	0.515	0.026	0.063	0.021
	漾濞县 Yangbi County	0.333	0.310	0.167	0.250
	小计 Subtotal	0.393	0.001	0.042	0.001
	滇东北 Northeastern Yunnan	0.549	0.001	0.064	0.001
	滇中 Central Yunnan	0.110	0.131	0.012	0.131
	滇东南 Southeastern Yunnan	0.150	0.137	0.022	0.133
	滇西 Western Yunnan	0.505	0.002	0.053	0.002
	小计 Subtotal	0.393	0.001	0.042	0.001
海拔 Elevation Group E	1 200–1 400 m	0.258	0.052	0.031	0.044
	1 400–1 600 m	0.237	0.003	0.025	0.003
	1 600–1 800 m	0.660	0.001	0.079	0.001
	1 800–2 000 m	0.722	0.001	0.078	0.001
	2 000–2 500 m	0.632	0.007	0.074	0.007
	小计 Subtotal	0.393	0.001	0.042	0.001

鲁甸县、新平县、隆阳区和玉龙县由于只有1个采样点,因此无计算值。表中含加粗字体的亚群体代表检测到有性生殖,即 $P(rbarD) \geq 0.05$ 。Ludian County, Xinping County, Longyang District, and Yulong County exhibited no data due to only one sampling site. The subpopulations in bold represented the sexual reproduction, when  $P(rbarD) \geq 0.05$ 。

有性生殖的存在为*Pst*种群提供了变异途径(赵杰等,2018),云南省内广泛分布的小檗为*Pst*有性生殖提供了可能性(Zhao et al., 2013)。本研究在9个县域亚群体、2个区域亚群体及1个海拔亚群体中检测到有性生殖,可作为有性生殖的分子证据。同时,大量的共享基因型是无性繁殖的特征,这与云南省*Pst*群体大多数为无性群体的实际相符(Liu et al., 2011; 刘秀峰等,2016),推测云南省*Pst*群体是有

性重组和无性繁殖的混合群体。在进行连锁不平衡分析时,以区域和海拔较大空间尺度划分群体时会错失较微弱的有性生殖信号,这也表明选择合理的空间尺度在群体遗传学分析中的重要性。群体的空间遗传结构受多种因素共同影响,包含历史气候变化、群体大小和生境异质性等因素(Jones et al., 2006; Born et al., 2008)。小麦条锈菌群体在空间上的遗传分布受到多方面的影响,气象条件和小麦品

种也是小麦条锈菌群体遗传构成的影响因素。本研究关注云南省小麦条锈菌在不同地理环境及空间尺度下的分布情况,而气象因子和寄主品种所携带的抗病基因对条锈菌群体遗传的影响有待后续深入研究。

## 参考文献 (References)

- Ali S, Gladieux P, Leconte M, Gautier A, Justesen AF, Hovmöller MS, Enjalbert J, de Devallavieille-Pope C. 2014. Origin, migration routes and worldwide population genetic structure of the wheat yellow rust pathogen *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. *PLoS Pathogens*, 10(1): e1003903
- Bahri B, Leconte M, De Vallavieille-Pope C, Enjalbert J. 2009. Isolation of ten microsatellite loci in an EST library of the phytopathogenic fungus *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. *Conservation Genetics*, 10: 1425
- Born C, Hardy OJ, Chevallier MH, Ossari S, Attéké C, Wickings EJ, Hossaert-McKey M. 2008. Small-scale spatial genetic structure in the Central African rainforest tree species *Aucoumea klaineana*: a stepwise approach to infer the impact of limited gene dispersal, population history and habit at fragmentation. *Molecular Ecology*, 17(8): 2041–2050
- Chen CQ, Zheng WM, Buchenauer H, Huang LL, Lu NH, Kang ZS. 2009. Isolation of microsatellite loci from expressed sequence tag library of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. *Molecular Ecology Resources*, 9(1): 236–238
- Chen WQ, Kang ZS, Ma ZH, Xu SC, Jin SL, Jiang YY. 2013. Integrated management of wheat stripe rust caused by *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in China. *Scientia Agricultura Sinica*, 46(20): 4254–4262 (in Chinese) [陈万权, 康振生, 马占鸿, 徐世昌, 金社林, 姜玉英. 2013. 中国小麦条锈病综合治理理论与实践. 中国农业科学, 46(20): 4254–4262]
- Enjalbert J, Duan X, Giraud T, Vautrin D, De Vallavieille-Pope C, Solignac M. 2002. Isolation of twelve microsatellite loci, using an enrichment protocol in the phytopathogenic fungus *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. *Molecular Ecology Notes*, 2(4): 563–565
- Escudero A, Iriondo JM, Torres ME. 2003. Spatial analysis of genetic diversity as a tool for plant conservation. *Biological Conservation*, 113(3): 351–365
- Excoffier L, Smouse PE, Quattro JM. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131(2): 479–491
- Frankham R, Ballou JD, Briscoe DA. 2002. Introduction to conservation genetics. Cambridge: Cambridge University Press
- Hamrick JL, Godt MJW, Brown AHD. 1989. Allozyme diversity in plant species.//Brown AHD, Clegg MT, Kahler AL, Weir BS. Population genetics: breeding and germplasm resources in crop management. Sunderland: Sinauer Press
- Jiang SC, Yao Q, Zhao J, Huang LL, Kang ZS, Zhan GM. 2018. Genetic analysis of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in Yunnan Province based on virulence phenotypes and simple sequence repeats. *Journal of Plant Protection*, 45(1): 83–89 (in Chinese) [姜舒畅, 姚强, 赵杰, 黄丽丽, 康振生, 詹刚明. 2018. 基于毒性表型与微卫星标记的云南省条锈病菌群体遗传分析. 植物保护学报, 45(1): 83–89]
- Jones FA, Hamrick JL, Peterson CJ, Souiers ER. 2006. Inferring colonization history from analyses of spatial genetic structure within populations of *Pinus strobus* and *Quercus rubra*. *Molecular Ecology*, 15(3): 851–861
- Justesen AF, Ridout C, Hovmöller MS. 2002. The recent history of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in Denmark as revealed by disease incidence and AFLP markers. *Plant Pathology*, 51(1): 13–23
- Kamvar ZN, Tabima JF, Grunwald NJ. 2014. Poppr: an R package for genetic analysis of populations with clonal, partially clonal, and/or sexual reproduction. *PeerJ*, 2: e281
- Li MJ. 2004. Current research situation on epidemic system of wheat stripe rust in Yunnan Province. *Plant Protection*, 30(3): 30–33 (in Chinese) [李明菊. 2004. 云南省小麦条锈病流行体系的研究现状. 植物保护, 30(3): 30–33]
- Li MJ. 2013. Population genetic structure of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in Yunnan Province. PhD thesis. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences (in Chinese) [李明菊. 2013. 云南省小麦条锈菌群体遗传结构研究. 博士学位论文. 北京: 中国农业科学院]
- Li ZQ, Zeng SM. 2002. The rust disease in China. Beijing: China Agriculture Press (in Chinese) [李振岐, 曾士迈. 2002. 中国小麦锈病. 北京: 中国农业出版社]
- Liu XF, Huang C, Sun ZY, Liang JM, Luo Y, Ma ZH. 2011. Analysis of population structure of *Puccinia striiformis* in Yunnan Province of China by using AFLP. *European Journal of Plant Pathology*, 129: 43–55
- Liu XF, Yuan WY, Liang D, Shi XW, Ma ZH. 2016. Population genetic structures of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in Yunnan and Guizhou Province. *Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science)*, 31(5): 779–784 (in Chinese) [刘秀峰, 袁文娅, 梁丹, 石晓伟, 马占鸿. 2016. 小麦条锈菌滇黔群体遗传结构分析. 云南农业大学学报(自然科学), 31(5): 779–784]
- Lu NH, Wang JF, Zhan GM, Huang LL, Kang ZS. 2009. SSR analysis of population genetic diversity of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in different altitude regions of Longnan, Gansu. *Mycosistema*, 28(4): 496–503 (in Chinese) [陆宁海, 王建锋, 詹刚明, 黄丽丽, 康振生. 2009. 陇南地区不同海拔区域内小麦条锈菌群体遗传多样性的分析. 菌物学报, 28(4), 496–503]
- Lu YX, Zhang ZP, Cao LM, Shan CR, Wang ZL. 2013. Regionalization and evaluation of eco-climate types in Yunnan wheat growing areas. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 25(4): 689–695 (in Chinese) [鲁永新, 张中平, 曹利民, 善从锐, 王自良. 2013. 云南小麦种植气候生态类型区划及评价. 浙江农业学报, 25(4): 689–695]
- Lü JP, Lu J, He YS, Li YH, Wen SM, Yin JQ, Yin MF. 2004. Primary study on epidemic causes and management of wheat stripe rust in Yunnan Province. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 3(20): 232–234 (in Chinese) [吕建平, 卢俊, 何云松, 李亚红, 温三明, 殷

- 减清, 尹明芬. 2004. 云南省小麦条锈病发生流行原因及其治理对策初探. 中国农学通报, 3(20): 232–234]
- Ma ZH. 2018. Researches and control of wheat stripe rust in China. Journal of Plant Protection, 45(1): 1–6 (in Chinese) [马占鸿. 2018. 中国小麦条锈病研究与防控. 植物保护学报, 45(1): 1–6]
- Ma ZH, Shi SD, Jiang YY, Zhao ZH. 2004. Climate-based regional classification for oversummering of *Puccinia striiformis* in China with GIS. Acta Phytopathologica Sinica, 34(5): 455–462 (in Chinese) [马占鸿, 石守定, 姜玉英, 赵中华. 2004. 基于GIS的中国小麦条锈病菌越夏区气候区划. 植物病理学报, 34(5): 455–462]
- Ma ZH, Shi SD, Wang HG, Zhang MR. 2005. Climatic classification for both oversummering and overwintering of *Puccinia striiformis* in China. Journal of Northwest University of Agricultural and Forestry (Natural Science Edition). 2005, (S1): 11–13 (in Chinese) [马占鸿, 石守定, 王海光, 张美荣. 2005. 我国小麦条锈病菌既越冬又越夏地区的气候区划. 西北农林科技大学学报(自然科学版), (S1): 11–13]
- Maguire TL, Peakall R, Saenger P. 2002. Comparative analysis of genetic diversity in the mangrove species *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. (Avicenniaceae) detected by AFLPs and SSRs. Theoretical and Applied Genetics, 104: 388–398
- Murtagh F, Legendre P. 2014. Ward's hierarchical agglomerative clustering method: which algorithms implement Ward's criterion? Journal of Classification, 31: 274–295
- Nei M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics, 89(3): 583–590
- Nybom H. 2004. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants. Molecular Ecology, 13(5): 1143–1155
- Orlóci L. 1978. Multivariate analysis in vegetation research. Dordrecht: Springer
- Peakall R, Smouse PE. 2006. GenALEX 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research: an update. Bioinformatics Applications Note, 28(19): 2537–2539
- Shannon CE. 2001. A mathematical theory of communication. Acmsigmobile Mobile Computing and Communications Review, 5(1): 3–55
- Simpson EH. 1949. Measurement of diversity. Nature, 163: 688
- Stoddart JA, Taylor JF. 1988. Genotypic diversity: estimation and prediction in samples. Genetics, 118(4): 705–711
- Wan Q, Liang JM, Luo Y, Ma ZH. 2015. Population genetic structure of *Puccinia striiformis* in northwestern China. Plant Disease, 99: 1764–1774
- Wang CC, Jiang BB, Liang JM, Li LF, Gu YL, Li JT, Luo Y, Ma ZH. 2021. Population genetic structures of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in the Gansu-Ningxia region and Hubei Province, China. Genes, 12(11): 1712
- Wright S. 1943. Isolation by distance. Genetics, 28(2): 114
- Yang H. 1999. Approach to occurrence of wheat rusts in Yunnan. // National Agricultural Technology Extension Service Center. Research progress in sustainable management of crop pests, pp: 284–287 (in Chinese) [杨亨. 1999. 云南省小麦锈病发生流行探讨. //全国农业技术推广服务中心. 农作物有害生物可持续治理研究进展. 北京: 中国农业出版社, pp: 284–287]
- Yang H. 2019. Molecular genetic structure of wheat stripe rust population in 8 provinces of China. Master thesis. Mianyang: Southwest University of Science and Technology (in Chinese) [杨亨. 2019. 中国8省小麦条锈菌群体分子遗传结构研究. 硕士学位论文. 绵阳: 西南科技大学]
- Yang SC, Ran Y. 1982. Preliminary study on integrated control of wheat stripe rust in Yunnan Province. Yunnan Agricultural Science and Technology, (1): 9–16 (in Chinese) [杨世诚, 冉云. 1982. 云南省小麦条锈病综合防治途径初探. 云南农业科技, (1): 9–16]
- Yang SC, Ran Y. 1986. Investigation on the rule of wheat stripe rust over-summer in Yunnan Province. Scientia Agricultura Sinica, 19(2): 72–77 (in Chinese) [杨世诚, 冉云. 1986. 云南省小麦条锈菌越夏规律的调查研究. 中国农业科学, 19(2): 72–77]
- Zhan GM, Wang FP, Luo HY, Jiang SC, Zheng WM, Huang LL, Kang ZS. 2015. Screening for simple sequence repeat markers in *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* based on genomic sequence. Journal of Zhejiang University-Science B: Biomedicine and Biotechnology, 16(8): 727–732
- Zhang PH, Wang CL, Liu L, Zhao JF, Tai HK, Yang J, Li CY, Gu ZL. 2015. The preliminary report on over-summering of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in Dehong Prefecture. Plant Protection, 41(2): 154–157 (in Chinese) [张培花, 王春丽, 刘林, 赵剑锋, 太红坤, 杨静, 李成云, 顾中量. 2015. 云南省德宏州小麦条锈菌越夏调查初报. 植物保护, 41(2): 154–157]
- Zhao J, Wang L, Wang ZY, Chen XM, Zhang HC, Yao JN, Zhan GM, Chen W, Huang LL, Kang ZS. 2013. Identification of eighteen *Berberis* species as alternate hosts of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* and virulence variation in the pathogen isolates from natural infection of barberry plants in China. Phytopathology, 103(9): 927–934
- Zhao J, Zheng D, Zuo SX, Wang L, Huang LL, Kang ZS. 2018. Research advances in alternate host and sexual reproduction of wheat yellow rust pathogen *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* Erikss. et Henn. Journal of Plant Protection, 45(1): 7–19 (in Chinese) [赵杰, 郑丹, 左淑霞, 王龙, 黄丽丽, 康振生. 2018. 小麦条锈菌有性生殖与毒性变异的研究进展. 植物保护学报, 45(1): 7–19]
- Zhu H, Yan LM. 2003. Notes on the realities and significances of the “Tanaka Line” and the “Ecogeographical diagonal line” in Yunnan. Advances in Earth Science, 18(6): 870–876 (in Chinese) [朱华, 阎丽春. 2003. 再论“田中线”和“滇西-滇东南生态地理(生物地理)对角线”的真实性和意义. 地球科学进展, 18(6): 870–876]

(责任编辑:王璇)