

四川省籼稻区水稻稻曲病菌遗传多样性分析

张 敏¹ 李竞生¹ 刘 坚² 宋 伟² 代海霞¹

(1. 四川农业大学农学院植物病理系, 雅安 625014; 2. 四川农业大学玉米研究所, 雅安 625014)

摘要: 应用 ERIC-PCR 指纹技术, 对采自四川省 6 个籼稻自然生态区的 60 个稻曲病菌菌株进行了 DNA 分子水平上的遗传多样性研究, 并进行 UPGMA 聚类分析和相似性分析。结果表明, 所采用的 ERIC 引物在不同供试菌株中分别扩增出 5~20 条不等的带谱; 在 0.75 相似水平上, 供试菌株被划分为 11 个遗传型群, 其中 L1、L4、L5 为优势群, 并存在次要小型群和特异性型群; 来自同一地区的稻曲病菌菌株具有较高的遗传相似性, 而不同地区的稻曲病菌则表现出程度不同的变异, 且寄主品种与稻曲病菌遗传差异之间的相关性较小。

关键词: 稻曲病菌; ERIC-PCR; 遗传多样性

Preliminary analysis of genetic diversity of *Ustilaginoidea virens* strains of indica rice from Sichuan Province

Zhang Min¹ Li Jingsheng¹ Liu Jian² Song Wei² Dai Haixia¹

(1. Department of Plant Pathology, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, Sichuan Province, China; 2. The Maize Research Institute, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, Sichuan Province, China)

Abstract: In the present study, the genetic diversity of the 60 *Ustilaginoidea virens* isolates, which were collected from 6 indica rice production regions in Sichuan Province, have been investigated with ERIC-PCR (enterobacterial repetitive intergenic consensus-polymerase chain reaction). Using the ERIC primers, the polymorphic bands ranging from 5 to 20 of each examined isolate were detected. According to cluster analysis of UPGMA, 11 clusters (L1 to L11) were formed based on the boundary level of 0.75 average distance; and clusters of L1, L4 and L5 were predominant groups and there also exist some subordinate and special groups. The results of similarity analysis indicated that the *U. virens* isolates collected from the similar regions possessed the considerable stability in DNA composition, while the isolates which collected from the different regions showed some regionalism in different degrees; and there exist low degree of correlation between rice varieties and genetic diversity of the different strains.

Key words: *Ustilaginoidea virens*; ERIC-PCR; genetic diversity

水稻稻曲病(rice false smut)是一种世界性水稻真菌病害^[1], 以稻曲病菌 *Ustilaginoidea virens* (Cooke) Takahashi 危害水稻穗部产生稻曲球为主。该病害不仅影响水稻产量, 而且稻曲病菌还可以产生羟基苯三甲酸($C_9H_6O_7$)毒素, 对人畜具有致畸作用^[2-3], 直接或间接影响水稻的品质, 是生产上亟待解决的问题^[4]。

四川省是中国籼稻主栽区, 常年栽培面积约 200 余万 hm^2 ^[5]。近年来, 稻曲病已成为四川省水稻生产的重要病害。通过对四川省籼稻主产区 232 份籼稻主栽品种田间自然发病情况的调查发现, 不同生态区的不同籼稻品种对稻曲病菌的抗性有很大差异, 但是目前尚缺乏关于四川省稻曲病菌遗传多样性及其与寄主品种和病原菌地理分布关系的研

基金项目: 四川山地籼稻丰产高效技术集成与示范(2006BAD02A05)

作者简介: 张敏, 男, 1962 年生, 副教授, 研究方向为植物病害防治, email: yalanmin@126.com

收稿日期: 2008-07-08

究。近年来,ERIC-PCR (enterobacterial repetitive intergenic consensus-polymerase chain reaction) 指纹图谱技术显示出强大的功能,已逐渐应用于植物病原细菌分类、检测以及病原物群体遗传多样性的分析等方面^[6-7]。本研究采用该技术对采自四川省不同地区、不同籼稻品种上的 60 个稻曲病菌菌株进行了群体遗传多样性分析,从分子水平上探讨病原菌遗传多样性与寄主品种及地理分布的关系。

1 材料与方法

1.1 稻曲病菌的采集、分离和培养

供试菌株:于 2006—2007 年采自四川省 6 个籼稻生态区(盆南丘陵、盆东平行岭谷、盆中浅丘、盆西平原、盆周山地、川西南中山宽谷)内 35 个区县的不同水稻主栽品种上的稻曲球样本,其分布地点的选择标准参照文献[8]。菌株的采集分 2006 和 2007 两年进行。样品菌株号后标①的为 2006 年采集,②为 2007 年采集,在同地点同品种上的重复;另外一部分菌株,即未标注者为 2007 年采集,因 2006 年某些采样点未发病而无法采样,因此只有一年的样品。

分离:采用稻曲球内层组织块法分离病原菌,在肋本哲氏(XBZ)培养基上,于 26℃ 黑暗条件下,纯培养后共获得 60 个稻曲病菌菌株(表 1),4℃ 保存备用^[9]。

培养:将低温保存的供试菌株的少量分生孢子分别接种于 15 mL 灭菌的 PDA 培养基中活化培养,26℃ 黑暗条件下预培养 7 天。挑取菌丝体于 XBZ 培养液中,26~28℃、180 r/min 条件下振荡培养 2~3 天后,菌丝体转接入 V_8 培养液中扩大培养,26~28℃、180 r/min 条件下再振荡培养 2~3 天。液体培养好的菌丝,经布氏漏斗抽滤,并用灭菌蒸馏水多次洗涤,以除去菌丝内的培养液,收集得到的菌丝体用锡箔纸密封,4℃ 保存备用。

1.2 DNA 提取及目标菌检测

采用改进的尿素法^[10-11]提取供试菌株的 DNA。经核酸蛋白仪测定 DNA 含量后,将所有供试菌株的 DNA 稀释为 100 ng/ μ L, -20℃ 条件下保存备用。由于稻曲球上有大量的其它杂菌,并且不同 *U. virens* 生理小种的培养性状存在差异,仅从培养性状上不能准确判断分离的菌株是否为目标真菌。为保证供试菌株的可靠性,采用 *U. virens* 的两对特异性引物 US1-5/US3-3 (第一轮) 和 US2-5/US4-3

(第二轮),按照 Zhou 等^[12]的方法对所提取 DNA 进行 Nested-PCR 扩增反应,以确认其为稻曲病菌。

1.3 ERIC-PCR 扩增反应

ERIC-PCR 所采用的引物序列^[13-14]:ERIC 1R-I:5'-ATGTAAGCTCCTGGGGATTAC-3';ERIC 2:5'-AAGTAAGTGAAGTGGGGTGAGCG-3'。引物由上海生工生物工程有限公司(Sangon)合成。PCR 反应体系为 25 μ L,其中 10 倍缓冲液 2.5 μ L、20 pmol/ μ L 的 ERIC 1R 和 ERIC 2 引物各 1.5 μ L、2.5 mmol/L dNTP 1.6 μ L、2.5 mmol/L $MgCl_2$ 1.0 μ L、5 U/ μ L Taq 酶 0.2 μ L、100 ng/ μ L 模板 DNA 2.0 μ L。反应循环为:95℃ 预变性 7 min;90℃ 变性 30 s,52℃ 退火 1 min,65℃ 延伸 8 min,30 个循环;最后 65℃ 延伸 10 min,4℃ 保存。

1.4 ERIC-PCR 扩增产物检测及数据处理

将 ERIC-PCR 扩增产物用 1.5% 琼脂糖凝胶初检后,选择条带清晰的扩增产物 10 μ L 于 Synergel 胶(0.5% 琼脂糖、0.75% Synergel 和 0.5×TBE 缓冲液)上电泳,经 EB 染色后,用 Bio-Rad 凝胶成像系统观察并拍照。根据菌株的 ERIC-PCR 指纹特征,使用 NTSYS-pc2.1 计算机软件,采用 UPGMA 分析程序,对供试稻曲病菌菌株扩增图进行聚类分析,构建反映亲缘关系的树状图。

2 结果与分析

2.1 稻曲病菌 ERIC-PCR 电泳图谱特征分析

所有供试菌株的 DNA 用 ERIC 引物对进行 PCR 扩增,分别扩增出 5~20 条谱带,其中 14 条为多态性 DNA 带,扩增产物片段分子量介于 100~3 000 bp 之间,多数集中在 200~2 500 bp(图 1)。除少数菌株的电泳指纹带型完全一致外,其余均存在一定的差异,这表明来自不同生态区的稻曲病菌的指纹图谱存在丰富的多态性。

2.2 稻曲病菌群体遗传谱系结构

根据稻曲病菌基因组 DNA 的 ERIC-PCR 多态性谱带计算供试菌株间的遗传相似系数,用非加权配对算术平均法(UPGMA)进行聚类分析,得到基于 ERIC-PCR 的聚类图(图 2)。结果显示,60 株稻曲病菌之间相似系数范围为 0.53~1.00,在 0.53 处聚为一类,表明稻曲病菌基因组存在异质性。本研究以 0.75 相似水平剖析四川省籼稻区稻曲病菌的群体结构特征。在 0.75 遗传相似水平,所有供试菌株被划分为 11 个遗传型群,自上而下依次记为 L1~

表 1 供试稻曲病菌样本的寄主品种及来源地
Table 1 Region of collection, host cultivars of the different *Ustilaginoidea virens* strains

编号 Code no.	菌株 Isolate	寄主品种 Host cultivar	来源地 Original region	编号 Code no.	菌株 Isolate	寄主品种 Host cultivar	来源地 Original region
1	UV 1-1	泰优 717 Taiyou 717	蓬安 Peng'an	31	UV 21-2	辐优 838 Fuyou 838	新都 Xindu
2	UV 1-4	冈优 881 Gangyou 881	蓬安 Peng'an	32	UV 22-2	N 优 94-11 N you 94-11	乐至 Lezhi
3	UV 3-1①	冈优 188 Gangyou 188	大竹 Dazhu	33	UV 23-1	冈优 364 Gangyou364	珙县 Gongxian
4	UV 3-1②	冈优 188 Gangyou 188	大竹 Dazhu	34	UV 23-2	Q 优 6 号 Q you 6	珙县 Gongxian
5	UV 3-2	冈优 825 Gangyou 825	大竹 Dazhu	35	UV 24-1	D 优 527 D you 527	盐边 Yanbian
6	UV 4-1	Q 优 6 号 Q you 6	名山 Mingshan	36	UV 24-7	II 香优 13 号 II xiangyou 13	盐边 Yanbian
7	UV 6-5	蜀龙优 4 号 Qianlongyou 4	雨城区 Yucheng	37	UV 25-1	渝香优 203 Yuxiangyou 203	平武 Pingwu
8	UV 6-7①	II 优 95-18 II you 95-18	雨城区 Yucheng	38	UV 26-3	黔南优 2058 Qiannanyou 2058	盐亭 Yanting
9	UV 6-7②	II 优 95-18 II you 95-18	雨城区 Yucheng	39	UV 26-5	绵优 3551 Mianyou 3551	盐亭 Yanting
10	UV 7-1	川香优 2 号 Chuanxiangyou 2	三台 Santai	40	UV 27-1①	B 优 817 B you 817	通江 Tongjiang
11	UV 7-3	II 优 838 II you 838	三台 Santai	41	UV 27-1②	B 优 817 B you817	通江 Tongjiang
12	UV 8①	冈优 188 Gangyou 188	仁寿 Renshou	42	UV 27-3	中优 936 Zhongyou 936	通江 Tongjiang
13	UV 8②	冈优 188 Gangyou 188	仁寿 Renshou	43	UV 27-4	中优 368 Zhongyou 368	通江 Tongjiang
14	UV 9-2	金优 188 Jinyou 188	彭山 Pengshan	44	UV 27-5	川香 3 号 Chuanxiang 3	通江 Tongjiang
15	UV 9-3①	丰优 28 Fengyou 28	彭山 Pengshan	45	UV 28	II 优 838 II you 838	双流 Shuangliu
16	UV 9-3②	丰优 28 Fengyou 28	彭山 Pengshan	46	UV 29-1	冈优 188 Gangyou 188	青川 Qingchuan
17	UV 10-1	冈优 151 Gangyou 151	旌阳区 Jingyang	47	UV 29-2	K 优 877 K you 877	青川 Qingchuan
18	UV 10-3	辐优 838 Fuyou 838	旌阳区 Jingyang	48	UV 31-6	II 优 D609 II you D609	纳溪区 Naxi
19	UV 11-1	II 优 838 II you 838	简阳 Jianyang	49	UV 31-7①	冈优 188 Gangyou 188	纳溪区 Naxi
20	UV 11-2	II 优 7 号 II you 7	简阳 Jianyang	50	UV 31-7②	冈优 188 Gangyou 188	纳溪区 Naxi
21	UV 14-1	宜香优 351 Yixiangyou 351	西充 Xichong	51	UV 31-8①	II 优 084 II you 084	纳溪区 Naxi
22	UV 14-2	冈优 1577 Gangyou 1577	西充 Xichong	52	UV 31-8②	II 优 084 II you 084	纳溪区 Naxi
23	UV 15	冈优 26 Gangyou 26	南部 Nanbu	53	UV 32	辐优 63 Fuyou 63	崇州 Chongzhou
24	UV 16-2	川香优 2 号 Chuanxiangyou 2	射洪 Shehong	54	UV 33	冈优 527 Gangyou 527	汉源 Hanyuan
25	UV 17①	II 优 7 号 II you 7	宜宾 Yibin	55	UV 34-1①	天优 2 号 Tianyou 2	广汉 Guanghan
26	UV 17②	II 优 7 号 II you 7	宜宾 Yibin	56	UV 34-1②	天优 2 号 Tianyou 2	广汉 Guanghan
27	UV 18-1	II 优 63 II you 63	金堂 Jintang	57	UV 34-2①	天香 017 Tianxiang 017	广汉 Guanghan
28	UV 18-4	硕丰 2 号 Shuofeng 2	金堂 Jintang	58	UV 34-2②	天香 017 Tianxiang 017	广汉 Guanghan
29	UV 19	冈优 725 Gangyou 725	筠连 Junlian	59	UV 35①	冈优 26 Gangyou 26	蒲江 Pujiang
30	UV 21-1	常优 838 Changyou 838	新都 Xindu	60	UV 35②	冈优 26 Gangyou 26	蒲江 Pujiang

注:菌株号后标①为 2006 年采集;②为 2007 年采集(在同地点、同品种上的重复);其余未标注者为 2007 年采集(因 2006 年某些采样点未发病而无法采样)。图 2 同。Note: UV: *Ustilaginoidea virens*. Some of the fungi examined in the present study which marked by ① stand for the pathogen sampled in 2006, and the fungi marked by ② are the pathogen sampled in 2007 from the same location and the same rice cultivar. Because there was no prevailing of the *U. virens* in 2006 in some locations, so the other fungi without any marker were sampled in 2007 only. The same for the Fig. 2.

L11,其中第 1、4、5 群(L1、L4、L5)为优势群,分别包含 28、11、12 个菌株,所占比例分别为 46.7%、18.3%、20%;第 2、3、6、7、8、9、10、11 群(L2、L3、L6、L7、L8、L9、L10、L11)分别包含 1、1、1、1、1、2、1、1 个菌株,为次要型群和特异性型群。其中 UV35①和 UV35②均为来自蒲江的“冈优 26”上的病原菌,但 UV35①与其它菌株的相似性系数为 0.53,采用 *U. virens* 专化性引物扩增该菌株 DNA,没有特异性

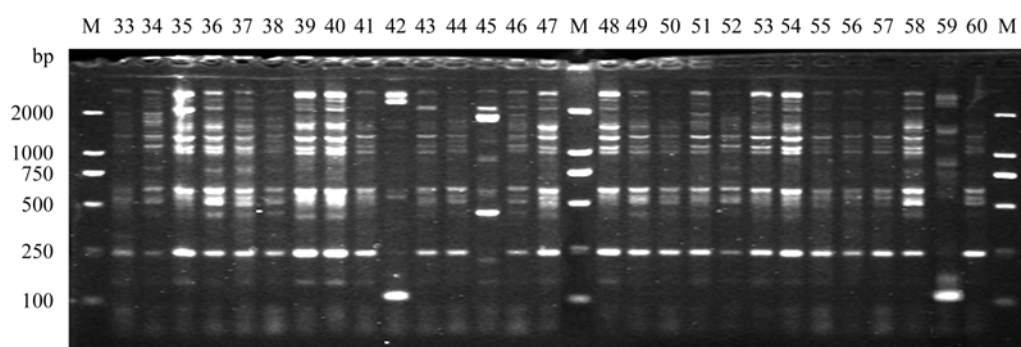


图 1 部分稻曲病菌菌株 DNA 的 ERIC-PCR 指纹图谱

Fig. 1 DNA fingerprinting of a part of *Ustilaginoidea virens* isolates based on ERIC-PCR

片段产生,因此初步断定 UV35①不是稻曲病菌。

2.3 稻曲病菌群体遗传结构与地理生态分布及寄主品种的关系

将经聚类分析后供试菌株不同的遗传型群与菌株来源地域相对应,得到稻曲病菌群体遗传多样性的稻作区域分布特点(表 2)。结果显示,采自平原生态区的菌株主要集中在 L1、L4、L5 三个优势型群中,而采自山区生态区和丘陵生态区的菌株比平原生态区的分布更为广泛,且多为次要型群和特异性型群。这表明,稻曲病菌的亲缘关系与生态分布有关,山区生态区病菌群体遗传结构比其它生态区更为复杂。

ERIC-PCR 聚类结果显示,稻曲病菌的遗传型群具有一定的地域性,而不同生态区之间又包括相同的遗传型群。来自同一生态区的菌株同源性较高。如来自川西平原的 15 个菌株中 8 个菌株聚类在 L1 型群,占 53.3%;来自广汉的 UV34-1①、UV34-1②、UV34-2①同属于 L1 型群,相似水平达到 0.96;来自大竹的 UV3-1②、UV3-2 同属于 L1 型群,相似水平为 0.83。来自不同生态区的菌株则普遍表现较大的遗传差异,如来自盆中浅丘的 UV1-1 和来自盆西平原的 UV34-2②分属于 L1 和 L4,遗传相似系数相差 0.10;来自盆周山地的 UV6-7②和来自盆中浅丘的 UV18-4 分属于 L1 和 L9,遗传相似系数相差 0.07。但也有少数来自同一生态区的菌株遗传相似性相对较低,如来自盆东平行岭谷的 UV3-1①和 UV3-1②分布在两个不同的型群中。同时也有少数来自不同生态区的菌株间遗传差异较小,如来自盆中浅丘的 UV15 和来自盆周山地的 UV17①同属于 L1,且具有相同的遗传阈值,此外,来自盆东平行岭谷的 UV3-1②和来自盆西平原的 UV8②遗传阈值也相同。

根据树状聚类图,结合菌株的寄主品种分析发现,同一地区的不同品种上的稻曲病菌也具有遗传相似性,如来自纳溪区的 UV31-7①和 UV31-8①、来自通江的 UV27-1①和 UV27-5 以及来自三台的 UV7-1 和 UV7-3 在聚类时均各自被聚为同一类,即显示二者具有相同的遗传阈值。而来自不同地区相同品种上的稻曲病菌多数表现出较大的变异,如 UV4-1 和 UV23-2 的寄主均为 Q 优 6 号,遗传相似水平相差 0.155;UV10-3 和 UV21-2①的寄主均为辐优 838,遗传相似水平相差 0.12;而寄主同为冈优 188 的菌株 UV3-1①、UV31-7①和 UV29-1,则分属于不同的遗传型群,遗传相似水平也相差很大。这表明寄主品种与稻曲病菌遗传差异之间的相关性较小。

3 讨论

本研究结果表明,来自不同地区相同品种上的稻曲病菌多数表现出较大的变异,而来自同一地区不同品种上的稻曲病菌具有较高的遗传相似性。说明稻曲病菌的遗传组成差异与寄主品种之间的相关性较小,而与不同地区的生态环境和小气候有较大的相关性。这与周永力等^[15]对中国北方、长江流域和南方稻曲病菌菌株的 RPDA 分析结果一致,他们认为寄主的基因型对稻曲病菌变异的影响较小。谭小平等^[16]以 RPDA 技术分析了湖南省稻曲病菌群体遗传多样性,发现该省稻曲病菌遗传群体分化不明显,并且来自同一地区 and 不同地区同一品种的菌株大多数聚集在同一类,与本研究结果不一致。本研究结果显示,四川省水稻主产区内的稻曲病菌菌群由突出的优势型群、次要小型群和特异性型群三部分组成,构成了复杂多变的遗传多态性。

本研究还发现,山区生态区的稻曲病菌具有较

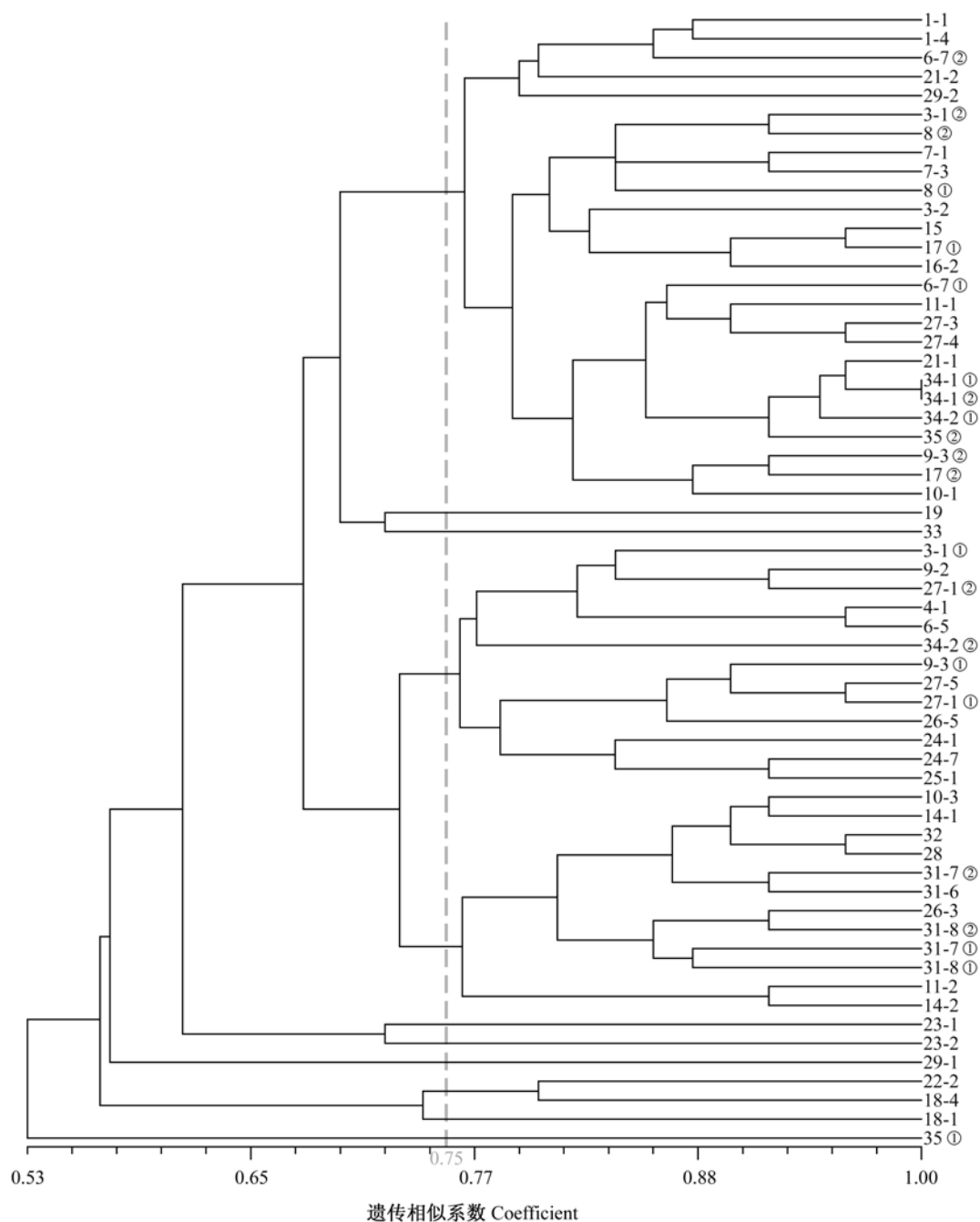


图2 稻曲病菌菌株的 ERIC-PCR 聚类分析树状图

Fig.2 Dendrogram of different *Ustilaginoidea virens* isolates based on ERIC-PCR

平原和丘陵生态区更为丰富的遗传多样性,这可能是由于山区生态环境复杂、菌株对环境的适应性提高,从而产生新的遗传变异的机会增多所致^[17]。因此,在科学防控稻曲病的过程中,应注重考虑局部生态区的小气候,针对不同的菌群采用不同的防治措施,同时,在山区生态区宜选用多基因抗病性品种。

调查发现,四川省籼稻主产区不同籼稻品种对稻曲病菌的抗性有很大差异,但有关稻曲病菌菌系

的遗传变异及群体结构特点等问题,还有待进一步研究。

参 考 文 献 (References)

- [1] Ou S H. Rice disease. Kew, Surrey, England: Commonwealth Mycological Institute, 1972: 288 – 295
- [2] 高俊. 稻曲病粒对鸡和兔的毒性. 植物保护, 1987, 13 (3): 52 – 53
- [3] Nakamura K, Izumiyama N, Ohtsubo K, et al. Apoptosis in-

表 2 四川省稻曲病菌群体遗传多样性的稻作区域分布特点

Table 2 Spatial characterization of the genetic diversity of different *Ustilaginoidea virens* populations in Sichuan Province

稻曲病菌生态区 Eco-region of <i>U. virens</i>	稻作生态区 Eco-region of rice production	县(市) County	菌株数 No. of isolate	遗传型群 Genetic cluster
山区生态区 Mountain ecological area	II 盆东平行岭谷 Parallel range-gorge of eastern basin	大竹 Dazhu	3	L1、I4
	V 盆周山地 Mountain area of around basin	名山、珙县、平武、青川、通江、汉源、雨城区、宜宾县 Mingshan, Gongxian, Pingwu, Qingchuan, Tongjiang, Hanyuan, Yucheng, Yibin	18	L1、I2、I4、 I6、I7、I8
	VI 川西南中山宽谷 Zhongshan gullies of southwest of Sichuan	盐边 Yanbian	2	I4
丘陵生态区 Hill ecological area	I 盆南丘陵 Hills of southern basin	纳溪区 Naxi	5	I5
	III 盆中浅丘 Shallow hills of middle basin	蓬安、三台、盐亭、西充、南部、 射洪、仁寿、简阳、金堂、乐至 Peng'an, Santai, Yanting, Xichong, Nanbu, Shehong, Renshou, Jianyang, Jintang, Lezhi	17	L1、I4、I5、 I9、I10
平原生态区 Plain ecological area	IV 盆西平原 Plain of western basin	彭山、旌阳区、双流、新都区、崇州、广汉、蒲江 Pengshan, Jingyang, Shuangliu, Xindu, Chongzhou, Guanghan, Pujiang	15	L1、I4、I5

duced in the liver, kidney and urinary bladder of mice by the fungal toxin produced by *Ustilaginoidea virens*. *Mycotoxins*, 1993, 38: 25 – 30

[4] 邓根生. 国内稻曲病研究现状. *植物保护*, 1989, 15(6): 39 – 41

[5] 卢代华, 叶慧丽, 廖华明, 等. 四川籼稻区稻瘟病菌群体遗传结构. *植物保护学报*, 2005, 32(1): 23 – 28

[6] 尹燕妮, 张晓梅, 葛芸英, 等. 内蒙古糖甜菜叶斑病菌的多样性分析. *植物保护*, 2005, 31(6): 32 – 36

[7] 李犹平, 倪学勤. ERIC-PCR 技术特点及其应用. *安徽农业科学*, 2007, 35(18): 5358 – 5360

[8] 张洪松, 尹升华, 黄泽林. 应用聚类分析方法对四川稻作分区的进一步探讨. *西南农业学报*, 1991, 4(3): 1 – 9

[9] 周永力, 章琦. 稻曲病菌分离技术的初探. *中国水稻科学*, 1999, 13(3): 186 – 188

[10] 刘少华, 陆金萍, 朱瑞良, 等. 一种快速简便的植物病原菌真菌基因组 DNA 提取方法. *植物病理学报*, 2005, 35(4): 362 – 365

[11] Sun Y, Zhang W, Li F L, et al. Identification and genetic mapping of four novel genes that regulate leaf development in *Arabidopsis*. *Cell Research*, 2000, 10(4): 325 – 335

[12] Zhou Y L, Izumitsu K, Sonoda R, et al. PCR-based specific

detection of *Ustilaginoidea virens* and *Ephelis japonica*. *Journal of Phytopathology*, 2003, 151 (9): 513 – 518

[13] De Bruijn F J. Use of repetitive (repetitive extragenic palindromic and enterobacterial repetitive intergeneric consensus) sequences and the polymerase chain reaction to fingerprint the genomes of *Rhizobium meliloti* isolates and other soil bacteria. *Applied Environmental Microbiology*, 1992, 58 (7): 2180 – 2187

[14] Judd A K, Schneider M, Sadowsky M J, et al. Use of repetitive sequences and the polymerase chain reaction technique to classify genetically related *Bradyrhizobium japonicum* serocluster 123 strains. *Applied Environmental Microbiology*, 1993, 59(6): 1702 – 1708

[15] 周永力, 樊金娟, 曾超珍, 等. 稻曲病菌遗传多样性与群体结构的初步分析. *植物病理学报*, 2004, 34(5): 442 – 448

[16] 谭小平, 宋建伟, 刘二明, 等. 湖南稻曲病菌群体遗传多样性分析. *湖南农业大学学报(自然科学版)*, 2008, 34(6): 694 – 697

[17] 刘二明, 张志飞, 罗峰, 等. 湖南两类稻瘟病生态系病菌群体遗传的多样性研究. *湖南农业大学学报(自然科学版)*, 2003, 29(3): 211 – 215