

中国西南水稻白叶枯病菌遗传多样性垂直分布格局*

高玲玲^{1,2} 黄琼¹ 陈小龙^{1**}

(1. 河南省农业科学院农副产品加工研究所 郑州 450002; 2. 云南农业大学植物病理重点实验室/农业生物多样性与病害控制教育部重点实验室 昆明 650201)

摘要 针对我国西南稻区特有的立体气候和农业生态系统, 利用 rep-PCR 和 IS-PCR 技术构建不同海拔稻区白叶枯病菌的 DNA 指纹图谱, 聚类分析病菌的遗传多样性。结果表明: ①西南稻区白叶枯病菌的遗传多样性十分丰富, 共包含 56 种分子谱型, 不同海拔稻区病菌的分子谱型种类明显不同; ②白叶枯病菌的遗传多样性指数和丰富度指数在不同海拔稻区存在显著差异, 其中以中海拔稻区最高, 低海拔稻区次之, 高海拔稻区最低; ③不同气候带白叶枯病菌的遗传多样性呈现出随着气候带温度降低而逐步减小的趋势; ④聚类分析结果显示, 56 种分子谱型可分为 9 个遗传家系, 低海拔稻区的菌株主要集中在 lineage1 和 lineage2, 中海拔稻区的菌株主要集中在 lineage3~lineage6, 而高海拔的主要集中在 lineage3~lineage5。不同海拔稻区的菌株在变异程度上存在明显不同, 因此, 根据病菌致病型布局抗性基因时, 应充分考虑菌株间遗传多样性的差异以及地区间病菌的变异强度, 以减缓病菌在寄主选择压力下的变异速度, 避免品种抗性丧失的周期过短。

关键词 水稻白叶枯病 中国西南部 遗传多样性 海拔 气候区

中图分类号: S435.11 文献标识码: A 文章编号: 1671-3990(2014)09-1086-07

Vertical distribution patterns of genetic diversity of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in Southwest China

GAO Lingling^{1,2}, HUANG Qiong¹, CHEN Xiaolong¹

(1. Institute of Agricultural Products Processing, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China; 2. Key Laboratory for Agriculture Biodiversity and Plant Disease Management of Ministry of Education/Key Laboratory of Plant Pathology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract Based on the specific agro-ecological system and vertical climate in Southwest China, two polymerase chain reaction-based assays (rep-PCR and IS-PCR) were used to evaluate the population structure of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*) from different elevation ranges (150 to 2 600 m) in Southwest China, which belong to six climate zones — north tropical climate zone, south subtropical climate zone, central subtropical climate zone, north subtropical climate zone, south temperate climate zone and cold temperate zone. A total of 218 isolates were tested in the research, out of which 73 isolates were collected from low elevation range (150–1 200 m), 90 isolates from medium elevation range (1 200–1 800 m) and 55 isolates from high elevation range (1 800–2 600 m). The genetic diversity of *Xoo* was high in Southwest China, a total of 56 haplotypes were identified. The *Xoo* haplotypes in different elevation ranges were different, of which 18 were tested in high elevation range, 28 in low elevation range and 34 in medium elevation range. Although genetic diversity of *Xoo* was high, only H10 and H39 of haplotypes were tested in all the three different elevation ranges. Significant differences in the genetic diversity (Shannon Wiener index) of *Xoo* were observed among different elevation ranges. According to *t*-test, Shannon Wiener index in low and medium elevation ranges was significantly higher ($P < 0.05$) than that in high elevation range. However, no significant difference ($P > 0.05$) existed between medium and low elevation ranges. The genetic diversity of *Xoo* gradually reduced with decreasing temperature in different climate zones. Basis on cluster analysis of UPGMA, the 56 haplotypes of *Xoo* strains constituted nine putative genetic lineages. While strains from low elevation occurred under lineage 1 and lineage 2, strains from medium and high elevations occurred under lineage 3 to lineage 6 and lineage 3

* 农业部公益性(农业)行业科研专项(nyhyzx07-056)资助

** 通讯作者: 陈小龙, E-mail: cxlong119@163.com

高玲玲, E-mail: gaolingling1717@sina.com

收稿日期: 2014-01-21 接受日期: 2014-05-19

to lineage 5. There were visible differences in *Xoo* strains from different elevation ranges. It was therefore recommended to take into account genetic diversity and variation degree of *Xoo* when laying out resistant genes based on haplotypes. This could slow down the rate of variability of *Xoo* strains on host selection pressure and avoid rapid lose of rice resistance.

Keywords Rice bacterial blight; Southwest China; Genetic diversity; Elevation; Climate zone

(Received Jan. 21, 2014; accepted May 19, 2014)

水稻白叶枯病(*Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae*, *Xoo*)是我国水稻生产上的三大病害之一。目前,我国除新疆、西藏和东北北部以外,各水稻种植省均有不同程度的发生^[1]。水稻白叶枯病在我国西南稻区的危害尤为严重,尤其是近十几年来,一直局限于云南低海拔稻区的白叶枯病不断向高海拔稻区扩展,已经成为高原稻区最主要的水稻病害^[2],严重威胁着西南稻区水稻的生产。筛选和种植抗病品种是防治水稻白叶枯病最经济、最有效的措施^[3],但是水稻白叶枯病菌致病性的不断变异使品种的抗性基因很快失去效力,并且由于病原菌致病性的多样性,使抗病基因的利用较为复杂^[4]。因此,了解西南稻区白叶枯病菌群体结构和变异特点,进而有针对性地进行抗病育种和基因部署显得尤为重要。

前期的研究中,本实验室利用 IRRI 培育的一套近等基因系材料分析了西南稻区不同海拔水稻白叶枯病菌致病型的分布特点,毒力变化及其多样性的影响因素^[5]。使用传统的病理学手段测定病菌的致病型可以明确病菌所能侵袭的基因型,但研究结果难以洞悉病菌群体结构变异及其毒性分化的遗传实质^[6]。近年来针对云南白叶枯病菌遗传多样性的研究已有部分报道:姬广海等^[7]发现云南菌株遗传分群与菌株的地理来源关系密切;魏兰芳等^[8]研究表明,云南水稻白叶枯病菌主要生理小种菌株间的遗传差异较大;梁斌等^[9]报道云南高原粳稻区菌系的遗传多样性十分复杂。云南作为亚洲生物多样性中心之一,立体气候和地理环境独特,病菌群体结构较为复杂^[10]。虽然云南水稻白叶枯病菌遗传多样性已有研究,但有关病菌群体结构遗传多样性的垂直分布格局尚少见报道。并且前人的研究仅限于云南,而与云南北部接壤的四川南部同样具有海拔差异大,立体气候明显的特点^[11]。为了深入研究白叶枯病菌基因组 DNA 的变异、分析病菌致病型与遗传多样性变化的系统发育及其演化,本文针对我国特有的西南稻区不同海拔的农业生态系统,利用 rep-PCR 和 IS-PCR 技术构建西南稻区水稻白叶枯病菌的 DNA 指纹图谱,分析病菌遗传多样性垂直分布的特征,并探讨其成因。从而为制定深层次育种策略以及品种抗性的持续改良提供重要的信息和理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

从西南(云南和四川)不同海拔的 11 个地区 28 个县(市)采集水稻白叶枯病样,利用载玻片液滴法^[12]对病样进行分离,共得到菌株 218 个。其中从低海拔(150~1 200 m)稻区分离病菌 73 株,中海拔(1 200~1 800 m)稻区 90 株,高海拔(1 800~2 600 m)稻区 55 株。待菌株经单胞分离后,冻干保存于-70 °C 冰箱中。病样的采集地分别属于 6 种不同的气候带类型^[13-14]:北热带气候区(27 株)、南亚热带气候区(56 株)、中亚热带气候区(49 株)、北亚热带气候区(39 株)、南温带气候区(26 株)和寒温带气候区(21 株)。

1.2 细菌 DNA 模板的制备

将菌株接种在 NA 液体培养基中,于 28 °C 的摇床中 180 r·min⁻¹ 震荡培养 36 h。细菌基因组 DNA 的制备采取 CTAB 法^[15]。待基因组 DNA 制备完成以后,取 2 μL DNA 溶液于 0.8% 的琼脂糖凝胶电泳检测,并采用分光光度计调整 DNA 的最终浓度至 50 ng·μL⁻¹。

1.3 Rep-PCR 和 IS-PCR 分析

Rep-PCR 和 IS-PCR 分析参照 Adhikari 等^[16]所描述的方法。

Rep-PCR 采用特异的专化寡核苷酸引物 Eric, 引物序列为 Eric1R: 5'-ATGTAAGCTCCTGGGGATTCAC-3', Eric2: 5'-AAGTAAGTGACTGGGGTGAGCG-3'。由上海生工生物工程有限公司合成。PCR 反应体系为: 10×PCR buffer (10 mmol·L⁻¹ Tris-HCl, 50 mmol·L⁻¹ KCl, 1.5 mmol·L⁻¹ MgCl₂), 50 ng 的 DNA 模版, 312.5 μmol·L⁻¹ dNTP, 引物各 0.25 μmol·L⁻¹, 2.5 U Tap 酶, 用 ddH₂O 补足 25 μL。反应条件为: 94 °C 预变性 7 min, 循环 35 次(94 °C 变性 1 min, 52 °C 复性 1 min, 65 °C 延伸 8 min), 65 °C 最后延伸 15 min。

IS-PCR 采用的引物 J3 为一个高拷贝重复单位, 序列为 5'-GCTCAGGTCAGGTGGCCTGG-3', 反应体系同 rep-PCR, 反应条件为: 94 °C 预变性 5 min, 循环 35 次(94 °C 变性 1 min, 68 °C 复性 1 min, 65 °C 延伸 2 min), 65 °C 最后延伸 15 min。

扩增结束后,取 6 μL 的 PCR 产物于 0.5×TBE 缓冲液中通过浓度为 2% 的琼脂糖凝胶电泳分离,电压降为 4 V·cm⁻¹, 电泳 5~6 h, 电泳完毕后,使用溴化乙锭染色,脱色,于凝胶成像系统中进行图像的采集和保存。

1.4 数据分析

通过 rep-PCR 和 IS-PCR 所形成的条带类型将病菌划分为不同的分子谱型, 记为 H1~Hi, Hi 为第 i 种分子谱型。不同海拔病菌遗传多样性的多度分析采用相对多度-物种序列曲线^[17]: 横轴为分子谱型数量等级排序, 即不同海拔病菌的分子谱型按数量从高到低顺序排列, 并依次标为 1、2、3、..., 纵轴为分子谱型的相对多度, 本研究以第 i 种致病型数量 (n_i) 占总个体数量 (N) 的百分比表示, 即 $P_i = n_i/N$, 纵轴标尺使用对数坐标。

病菌遗传多样性的测度采用 α 多样性的测度方法^[18-19], 丰富度采用致病型种类数 (S); 多样性分析采用 Shannon-Wiener 多样性指数: $H = -\sum P_i \ln P_i$; 均匀度分析采用 Pielou 指数: $J = H/\ln S$ 。其中, P_i 和 S 表示的含义同上。不同海拔病菌分子谱型多样性的比较采用 t 检验^[16]。

根据 PCR 指纹图谱条带的有无, 分别转换成两个

数码, 有带记为“1”, 无带记为“0”。使用 NTSYS-pc 2.1 版软件包, 以非加权算术平均数配对比法 UPGMA 进行聚类分析, 并构建系统树状图谱。

2 结果与分析

2.1 rep-PCR 和 IS-PCR 分析

使用 rep-PCR 引物 Eric 扩增的水稻白叶枯病菌 DNA 片段大小在 300 bp 到 5 000 bp 之间, 有 7~16 条指纹主带, 218 个菌株共包含 16 种分子谱型(图 1a)。使用 IS-PCR 引物 J3 扩增的片段大小在 250 bp 到 5 000 bp 之间, 有 6~18 条指纹主带, 218 个菌株共包含 19 种分子谱型, 其中分子谱型 9~19 的条带数量相对较多(图 1b)。不同的分子谱型之间有些差异较大, 但有些仅有一个带位之差, 比如使用引物 J3 扩增得到的 H3 和 H4。综合统计 2 种引物扩增的指纹带类型, 共得到 56 种分子谱型, 即 H1~H56。

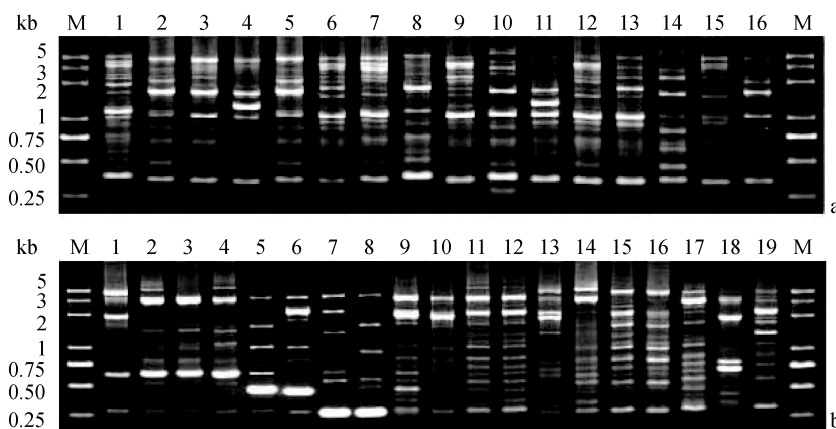


图 1 水稻白叶枯病菌基因组 DNA 的 rep-PCR(a)和 IS-PCR(b)的指纹带型

Fig. 1 rep-PCR (a) and IS-PCR (b) fingerprinting patterns of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* genomic DNA

2.2 水稻白叶枯病菌分子谱型在不同海拔稻区的分布

在扩增的 218 个水稻白叶枯病菌中, 来自低海拔(150~1 200 m)稻区的病菌 73 株, 中海拔(1 200~1 800 m)稻区 90 株, 高海拔(1 800~2 600 m)稻区 55 株。不同海拔稻区病菌分子谱型种类存在明显差异。高海拔稻区分子谱型的种类最少, 只包含 18 种分子谱型, 其中 H4 所包含的菌株数量最多, 其次是 H30, 有 5 种分子谱型只在单个菌株中出现。中海拔稻区的分子谱型数量最多, 包含 34 种。与高海拔稻区相同, 出现在中海拔稻区数量最多的分子谱型仍然是 H4, 其次是 H2、H7 和 H54, 并且有 13 种分子谱型只在单个菌株中出现。低海拔稻区有 28 种分子谱型, 其中 H14 包含的菌株数量最多, 其次是 H9 和 H2, 有 11 种分子谱型只在单个菌株中出现(图 2)。在 3 种海拔类型的稻区均有分布的分子谱型为 H10 和 H39, 其余的分子谱型仅在一种或两种海拔类型的稻区中出现。

2.3 不同海拔稻区白叶枯病菌遗传多样性比较及多度分析

低、中、高 3 个海拔类型稻区的水稻白叶枯病菌遗传多样性整体上较为丰富, 但不同海拔之间存在着明显的差异(表 1)。病菌的遗传多样性指数和丰富度指数在中海拔稻区最高, 低海拔稻区次之, 高海拔稻区最低。高海拔稻区病菌遗传多样性指数与低海拔 ($t=3.279, P<0.05$) 和中海拔 ($t=4.853, P<0.05$) 稻区的病菌存在显著性差异, 而中海拔和高海拔稻区病菌遗传多样性差异不显著 ($t=1.601, P>0.05$)。均匀度指数显示, 低海拔和中海拔稻区病菌遗传多样性略高于高海拔稻区。

在不同海拔稻区水稻白叶枯病菌遗传多样性的相对多度-物种序列曲线变化略有不同。如图 3 所示, 中海拔稻区曲线的延伸最长, 其次是低海拔稻区, 高海拔稻区曲线最短, 这同样说明 3 种海拔类型的稻区遗传多样性存在一定的差异。3 条曲线的斜率相似, 也说明 3 种海拔类型稻区病菌遗传多样性的均匀度相差不大。

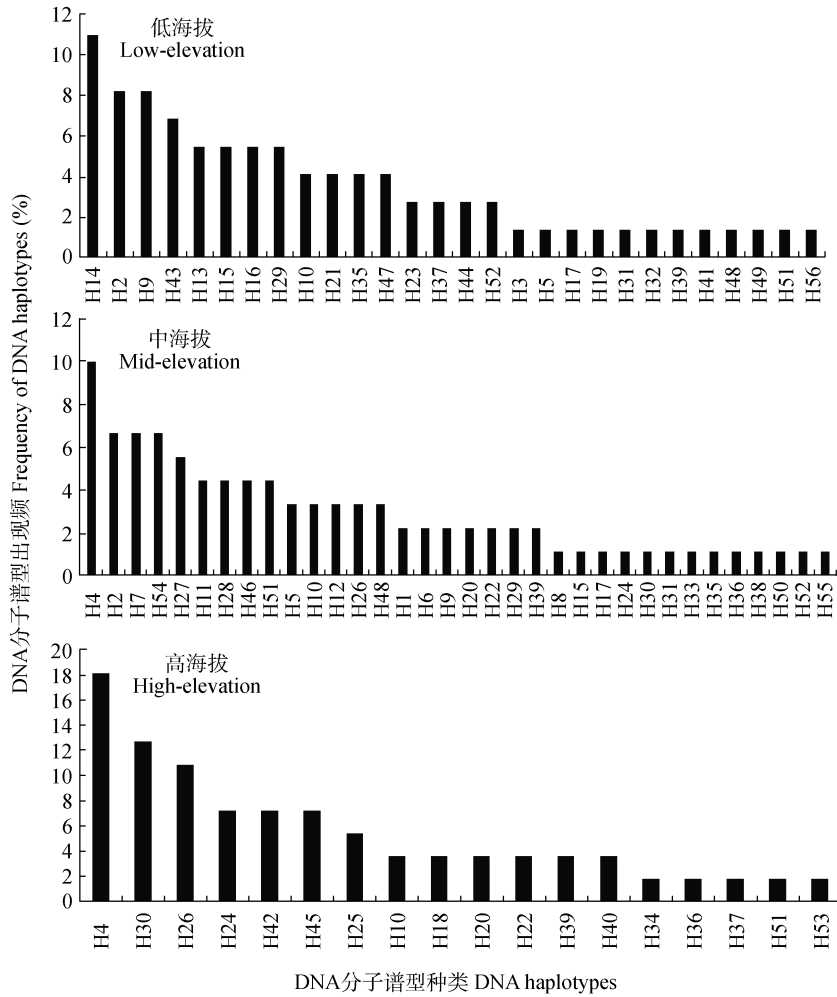


图 2 不同海拔稻区包含的水稻白叶枯病菌分子谱型数量和出现频率

Fig. 2 Frequency and number of DNA haplotypes of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in different elevations

低、中、高海拔分别为 150~1 200 m、1 200~1 800 m、1 800~2 600 m, 下同。Altitudes of low-, mid- and high-elevations are 150~1 200 m, 1 200~1 800 m and 1 800~2 600 m, respectively. The same below.

表 1 不同海拔水稻白叶枯病菌的遗传多样性

Table 1 Genetic diversity of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in different elevations

海拔 Altitude	丰富度指数 Species richness	多样性指数 Shannon-Wiener index	均匀度指数 Pielou index
低海拔 Low-elevation	28	3.09a	0.93
中海拔 Mid-elevation	34	3.29a	0.93
高海拔 High-elevation	18	2.63b	0.91

不同小写字母表示不同海拔间差异显著 ($P < 0.05$)。Different small letters show significant difference among elevations ($P < 0.05$).

2.4 气候类型对水稻白叶枯病菌遗传多样性的影响

水稻白叶枯病菌的遗传多样性在不同气候带中的分布存在一定的差异。其中南亚热带白叶枯病菌遗传多样性最丰富, 而南温带病菌的遗传多样性最低。通过比较这 6 种不同气候带病菌的遗传多样性指数, 发现在温度较高的气候带中, 病菌的遗传多样性指数比较高, 而在温度较低的气候带中, 遗传多样性指数偏低。水稻白叶枯病菌的遗传多样性呈现出随着温度降低而逐步减小的趋势(图 4)。

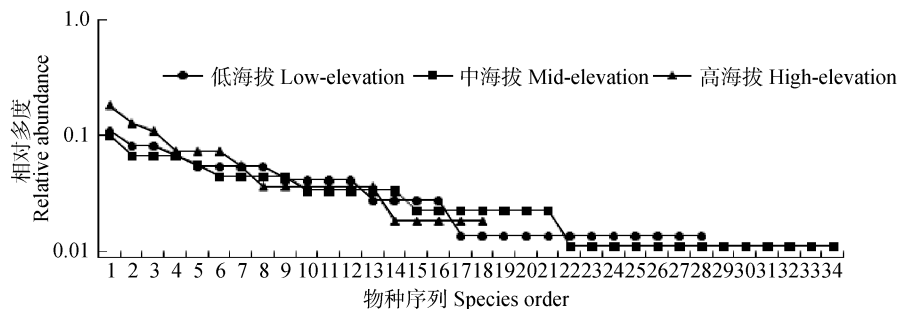


图 3 不同海拔稻区白叶枯病遗传多样性相对多度-物种序列曲线

Fig. 3 Relative abundance-species rank curves of genetic diversity of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in different elevations

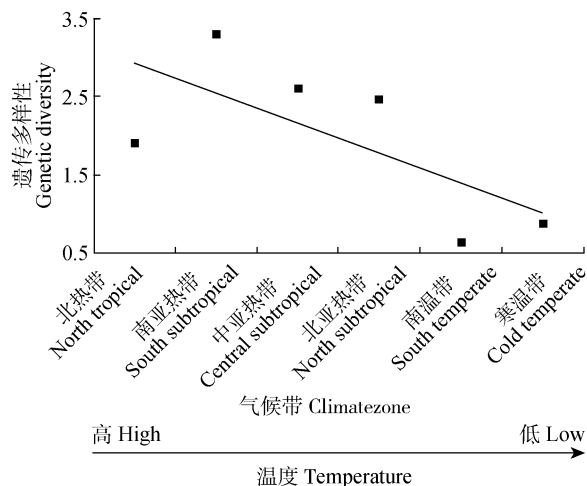


图 4 不同气候带水稻白叶枯病菌遗传多样性的散点图
Fig. 4 Scatter diagram of genetic diversity of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in different climate zones

2.5 水稻白叶枯病菌遗传多样性的聚类分析

以 rep-PCR 和 IS-PCR 构建的 DNA 指纹图谱聚类分析, 以相似性系数 0.61 为界, 56 种分子谱型可分为 9 个遗传家系(lineage)。lineage1、lineage4 和

lineage6 这 3 个家系共包含 156 个菌株, 占菌株总量的 72%。lineage1、lineage3、lineage5 和 lineage7 主要集中了中、低海拔的菌株, 而高海拔菌株在这几个家系中的分布均较少。lineage2 只包含了低海拔菌株, 中、高海拔菌株均没有在这个家系中出现。lineage4 主要集中了高海和中海拔的菌株, 而低海拔仅有 4 个菌株在这个家系中出现。lineage8 只包含中海拔的菌株, lineage7 和 lineage9 没有高海拔菌株分布。低海拔的菌株主要分布家系是 lineage1 和 lineage2, 所占的比例约为 51%; 中海拔菌株主要分布家系是 lineage3、lineage4 和 lineage5 和 lineage6, 所占的比例约为 68%; 高海拔菌株主要分布家系是 lineage3、lineage4 和 lineage5, 所占的比例约为 80% (图 5)。

3 讨论

本研究分析了西南不同生态稻区水稻白叶枯病菌的遗传多样性, 结果表明西南稻区白叶枯病菌的遗传多样性十分丰富。Zhang 等^[20]和孙启明^[21]在分析我国其他省份的水稻白叶枯病菌遗传多样性时发

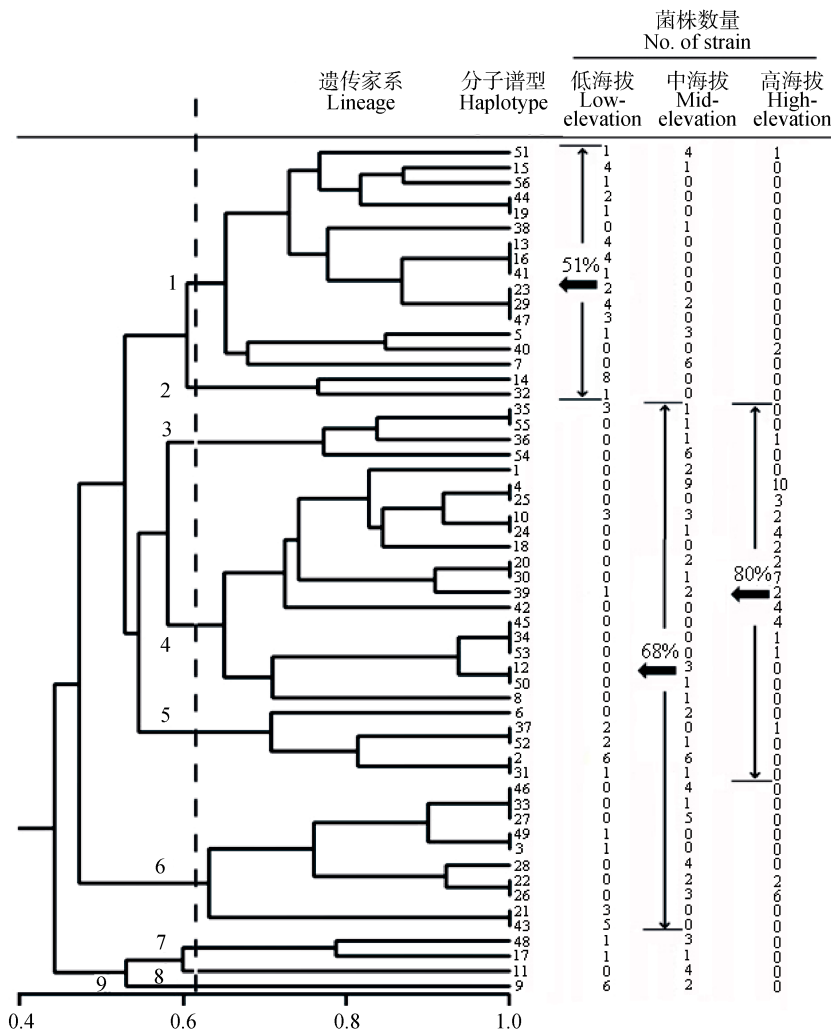


图 5 水稻白叶枯病菌 56 种分子谱型的 UPGMA 聚类分析树状图

Fig. 5 Dendrogram constructed with UPGMA on the basis of 56 haplotypes of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

现, 菌株之间 DNA 指纹相似程度高, 病菌的遗传多样性并不丰富。本文采用 rep-PCR 和 IS-PCR 两种方法将西南稻区 218 个菌株划分为 56 种分子谱型, 该地区病菌的遗传多样性远高于我国其他省份。这与王春连等^[22]在分析我国长江以南地区水稻白叶枯病菌的遗传多样性时, 发现云南省的菌系很特殊, 与国内其他省份差异较大的结论一致。笔者分析产生这种现象的原因可能与西南地区独特的地理环境和气候条件有关。西南地区尤其是云南省海拔落差较大, 不同海拔高度的气候带类型存在明显差异, 由于适合病菌生长的整体气候带较宽, 造成病菌的侵染时间也较长, 病菌的变异程度大, 因此西南地区水稻白叶枯病菌的 DNA 多态性也较为丰富。

西南稻区白叶枯病菌的变异程度相对复杂, 但其多样性的分布仍然存在一定的规律, 即中海拔稻区最丰富, 其次是低海拔稻区, 高海拔稻区最少。笔者推测这可能与不同海拔的温度范围和种植品种有关。Rohde^[23]发现生物的变异速度受温度的影响, 温度高的地区生物的变异速度较快。本研究低海拔稻区属于热带和亚热带气候区, 年平均温度比高海拔稻区高 6 °C, 全年降雨量大, 高温高湿环境使病菌在低海拔稻区的流行程度远高于高海拔稻区, 病菌的群体量大, 变异的速度也较快。高海拔稻区多属于温带和高寒气候区, 病菌的侵染时间短, 主要集中在 7—9 月, 菌群量小, 变异的速度也较慢。中海拔稻区作为病菌遗传多样性最丰富的地区, 一方面病菌的温度适生带较宽, 另一方面可能是由于寄主品种的多样性造成的。病原物在长期的进化中与寄主植物相互选择、相互适应并协同进化, 使得病原物的致病性与寄主植物的抗病性之间形成一种动态平衡, 正是这种长期的选择和适应, 赋予了病菌多样化的变异形式^[24]。水稻—白叶枯病菌互作符合基因对基因的关系, 病菌为克服品种抗性会在基因选择压力下产生适应性变异^[25]。本研究中, 中海拔稻区主要是属于籼粳交错区, 该区是中国最大的稻种遗传多样性中心和种质资源的富集地区, 品种多样性最为丰富(多样性指数为 1.22~1.29)^[26], 受品种的强烈影响, 白叶枯病菌的变异程度也最大。高海拔稻区的水稻品种属于多样性贫乏区, 稻种资源的多样性指数相对较低(多样性指数为 0.81~1.01)^[26], 病菌的变异程度也相对较小。

在遗传家系的分析中, 绝大多数菌株集中在遗传关系较近的 lineage1~lineage6, 而 lineage7~lineage9 只含有 8% 的菌株, 这意味着尽管西南稻区水稻白叶枯病菌的遗传多样性较高, 但产生较大变异的菌株仍然是少数。尤其是在高海拔稻区, 菌株的变异程度

低于其他稻区。

陈小龙等^[5]在研究西南稻区水稻白叶枯病菌致病型的垂直分布格局时发现, 西南高海拔稻区白叶枯病菌致病型种类比低海拔稻区丰富。因此, 笔者最初预测低海拔稻区水稻白叶枯病菌的遗传多样性可能也保持在一个较低的水平。然而通过试验发现, 低海拔稻区白叶枯病菌遗传多样性十分丰富, 并且多样性指数显著高于高海拔稻区。这可能是基于 rep-PCR 和 IS-PCR 系统的水稻白叶枯病菌 DNA 指纹的多态性是独立于病菌毒性变化的。Chen 等^[27]分析小麦锈病(*Puccinia striiformis*)的毒性变异和 DNA 多态性的关系时发现, 相同毒性的菌株之间 DNA 指纹的多态性表现十分丰富, 并且认为分子多态性的变化是不受病菌毒性影响的。此外, 病菌的毒性仅仅是诸多属性中的一个方面, 许多植物病原菌在没有致病性的时候仍然能够存活。所以从这个角度来看病菌的遗传多样性大于致病型多样性, 也是可以理解的。品种抗性是珍贵而有限的自然资源, 对于这些单基因抗性品种无规划的开发利用势必会导致白叶枯病菌群体遗传多样性增加以及病菌总体致病谱拓宽^[21]。因此, 根据病菌致病型布局抗性基因时, 应充分考虑到菌株间遗传多样性的差异, 地区间病菌的变异强度以及同一致病型不同菌株间 DNA 多态性的变化程度, 以减缓病菌在寄主选择压力下的变异速度, 避免品种抗性丧失的周期过短。

参考文献

- [1] 章琦. 水稻白叶枯病抗性的遗传及改良[M]. 北京: 科学出版社, 2007
Zhang Q. Genetics and Improvement of Resistance to Bacterial Blight in Rice[M]. Beijing: Science Press, 2007
- [2] 余腾琼, 叶昌荣, 徐福荣, 等. 云南高原粳稻区白叶枯病菌的致病型初步鉴定[J]. 中国水稻科学, 2003, 17(3): 255-259
Yu T Q, Ye C R, Xu F R, et al. Preliminary evaluation of pathotypes of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in Japonica rice region of Yunnan Plateau[J]. Chinese Journal of Rice Science, 2003, 17(3): 255-259
- [3] 董旭, 张晓平, 赵开军, 等. 水稻 CBB30I 抗白叶枯病相关基因的差异表达分析[J]. 作物杂志, 2012(4): 20-25
Dong X, Zhang X P, Zhao K J, et al. Differential expression analysis of genes related to rice bacterial blight resistance in rice line CBB30I[J]. Crops, 2012(4): 20-25
- [4] Liu H, Yang W, Hu B, et al. Virulence Analysis and Race Classification of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in China[J]. Journal of Phytopathology, 2007, 155(3): 129-135
- [5] 陈小龙, 高玲玲, 余磊, 等. 西南水稻白叶枯病菌致病型多样性的垂直分布格局及成因探讨[J]. 生态环境学报, 2012, 21(4): 654-660
Chen X L, Gao L L, Yu L, et al. Analyses on pathotypic diversity of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* along altitude gra-

- dient and driving forces in southwestern China[J]. Ecology and Environmental Sciences, 2012, 21(4): 654–660
- [6] Yashitola J, Krishnaveni D, Reddy A P, et al. Genetic diversity within the population of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in India[J]. Phytopathology, 1997, 87(7): 760–765
- [7] 姬广海, 何月秋, 张世光, 等. 水稻白叶枯病原菌遗传和致病型多样性分析[J]. 华南农业大学学报, 2005, 26(2): 26–30
Ji G H, He Y Q, Zhang S G, et al. Analysis of genotypic and pathotypic diversity in *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* by Rep-PCR[J]. Journal of South China Agricultural University, 2005, 26(2): 26–30
- [8] 魏兰芳, 杨云亮, 姬广海, 等. 云南水稻白叶枯菌的 RAPD 分析[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2009, 35(2): 124–126
Wei L F, Yang Y L, Ji G H, et al. RAPD analysis of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* from rice in Yunnan[J]. Journal of Hunan Agricultural University: Natural Sciences, 2009, 35(2): 124–126
- [9] 梁斌, 王敬文, 明风, 等. 云南滇西高原粳稻区白叶枯病菌遗传多样性初探[J]. 上海交通大学学报: 农业科学版, 2003, 21(增刊): 38–42
Liang B, Wang J W, Ming F, et al. Genetic diversity of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* from the west of Yunnan Japonica rice planted area[J]. Journal of Shanghai Jiaotong University: Agricultural Science, 2003, 21(Suppl.): 38–42
- [10] 杨庆文, 黄娟. 中国普通野生稻遗传多样性研究进展[J]. 作物学报, 2013, 39(4): 580–588
Yang Q W, Huang J. Research progress on genetic diversity of *Oryza rufipogon* in China[J]. Acta Agronomica Sinica, 2013, 39(4): 580–588
- [11] 庞艳梅, 陈超, 潘学标, 等. 未来气候变化对四川盆地玉米生育期气候资源及生产潜力的影响[J]. 中国生态农业学报, 2013, 21(12): 1526–1536
Pang Y M, Chen C, Pan X B, et al. Impact of future climate change on climatic resources and potential productivity of maize in Sichuan Basin[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2013, 21(12): 1526–1536
- [12] 李成云, Takahito N, Hirokazu O, 等. 云南省水稻白叶枯病菌致病力差异的地理分布[J]. 西南农业学报, 2002, 15(4): 71–74
Li C Y, Takahito N, Hirokazu O, et al. Geographical distribution of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* strains virulent in Yunnan Province, China[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2002, 15(4): 71–74
- [13] 李世奎. 中国农业气候资源和农业气候区划[M]. 北京: 科学出版社, 1988
Li S K. Chinese Agricultural Climate Resources and Agricultural Climate Zoning[M]. Beijing: Science Press, 1988
- [14] 陈宗瑜. 云南气候总论[M]. 北京: 气象出版社, 2001
Chen Z Y. Yunnan Climate Pandect[M]. Beijing: Meteorological Press, 2001
- [15] 奥斯伯. 精编分子生物学实验指南[M]. 北京: 科技出版社, 1999
Ausubel F M. Current Protocols in Molecular Biology[M]. Beijing: Science and Technology Press, 1999
- [16] Adhikari T B, Mew T W, Leach J E. Genotypic and pathotypic diversity in *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in Nepal[J]. Phytopathology, 1999, 89: 687–694
- [17] 孙儒泳. 动物生态学原理[M]. 北京: 北京师范大学出版社, 1992
Sun R Y. The Principle of Animal Ecology[M]. Beijing: Beijing Normal University Press, 1992
- [18] 马克平. 生物群落多样性的测度方法: I. α 多样性的测度方法(上)[J]. 生物多样性, 1994, 2(3): 162–168
Ma K P. Measurement of biotic community diversity: I. α diversity (Part 1)[J]. Chinese Biodiversity, 1994, 2(3): 162–168
- [19] 马克平, 刘玉明. 生物群落多样性的测度方法: I. α 多样性的测度方法(下)[J]. 生物多样性, 1994, 2(4): 231–239
Ma K P, Liu Y M. Measurement of biotic community diversity: I. α diversity (Part 2)[J]. Chinese Biodiversity, 1994, 2(4): 231–239
- [20] Zhang Q, Leach J E, Nelson R J, et al. Genetic structure of rice bacterial blight pathogen population in China[J]. Acta Agronomica Sinica, 1997, 23(2): 151–158
- [21] 孙启明. 水稻白叶枯病菌小种鉴别标准化及群体遗传结构的初步研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2001
Sun Q M. Rice bacterial leaf blight rice identify standardization and genetic structure of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* analysis[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2001
- [22] 王春连, 章琦, 周永力, 等. 我国长江以南地区水稻白叶枯病原菌遗传多样性分析[J]. 中国水稻科学, 2001, 15(2): 131–136
Wang C L, Zhang Q, Zhou Y L, et al. Genetic diversity of pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* from southern regions of Yangtze River in China[J]. Chinese Journal of Rice Science, 2001, 15(2): 131–136
- [23] Rohde K. Latitudinal gradients in species diversity: The search for the primary cause[J]. Oikos, 1992, 65(3): 514–527
- [24] 高东, 何霞红, 朱有勇. 农业生物多样性持续控制有害生物的机理研究进展[J]. 植物生态学报, 2010, 34(9): 1107–1116
Gao D, He X H, Zhu Y Y. Review of advances in mechanisms of sustainable management of pests by agro-biodiversity[J]. Chinese Journal of Plant Ecology, 2010, 34(9): 1107–1116
- [25] 陈功友, 邹丽芳, 王邢平, 等. 水稻白叶枯病菌致病性分子遗传学基础[J]. 中国农业科学, 2004, 37(9): 1301–1307
Chen G Y, Zou L F, Wang X P, et al. Molecular genetics of pathogenicity determinants of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2004, 37(9): 1301–1307
- [26] 曾亚文, 李自超, 申时全, 等. 云南地方稻种的多样性及优异种质研究[J]. 中国水稻科学, 2001, 15(3): 169–174
Zeng Y W, Li Z C, Shen S Q, et al. Diversity and good germplasm of indigenous rice varieties in Yunnan Province[J]. Chinese Journal of Rice Science, 2001, 15(3): 169–174
- [27] Chen X M, Line R F, Leung H. Relationship between virulence variation and DNA polymorphism in *Puccinia striiformis*[J]. The American Phytopathology Society, 1993, 83: 1489–1497