

网络出版时间:2012-07-18 09:57

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20120718.0957.003.html>

水稻胡麻叶斑病原菌的分离及鉴定

陈洪亮^{1,2}, 彭 陈^{1,2}, 王俊伟², 袁 艺¹, 郭士伟²

(1 安徽农业大学 生命科学学院, 安徽 合肥 230036; 2 江苏省农业科学院 粮食作物研究所,
江苏省优质水稻工程技术研究中心, 江苏 南京 210014)

[摘要] **【目的】**对水稻胡麻叶斑病原菌进行分离和鉴定,为进一步研究该病的发病机理和有效防控奠定基础。**【方法】**采用常规真菌分离方法分离水稻胡麻叶斑病原菌,通过回接试验进行柯赫氏法则验证,对确认为水稻胡麻叶斑病原菌的菌落进行形态学和分子鉴定。**【结果】**经回接试验确认分离的水稻胡麻叶斑病原菌的分生孢子梗单生,褐色,不分枝,顶端呈膝状弯曲,分生孢子呈长椭圆形、梭形、倒棍棒状,正直或向一侧弯曲,褐色,两端渐狭,钝圆,种脐较平,有5~10个假隔膜。18S rDNA和ITS序列长度分别约为1.8 kb和570 bp,与待鉴定病原菌18S rDNA同源性最高的是狗牙根平脐蠕孢有性态(*Cochliobolus cynodontis*),二者的相似度为99%;与其ITS序列同源性最高的是稻平脐蠕孢(*Bipolaris oryzae*),二者的相似度也为99%。聚类分析发现,该病原菌与蟋蟀草平脐蠕孢(*Bipolaris eleusines*)的18S rDNA同源关系最近,与平脐蠕孢属(*Bipolaris* sp.)的ITS同源关系最近。**【结论】**成功分离到水稻胡麻叶斑病原菌,形态学与分子鉴定结果均显示其为稻平脐蠕孢。

[关键词] 水稻胡麻叶斑病;病原分离;病原鉴定;稻平脐蠕孢

[中图分类号] S435.111.4⁺3

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2012)08-0083-06

Isolation and identification of pathogenic fungi of rice brown spot

CHEN Hong-liang^{1,2}, PENG Chen^{1,2}, WANG Jun-wei², YUAN Yi¹, GUO Shi-wei²

(1 College of Life Sciences, Anhui Agricultural University, Hefei, Anhui 230036, China; 2 Institute of Food Crops,
Jiangsu High Quality Rice R&D Center, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing, Jiangsu 210014, China)

Abstract: **【Objective】** The isolation and identification of pathogenic fungi of rice brown spot were studied, which laid the foundation for further study of the pathogenesis of the disease and effective prevention and control. **【Method】** The pathogenic fungi of rice brown spot was separated by using the conventional separation method of the fungal. The inoculation experiment was verified by Koch's postulates. The pathogen colonies of rice brown spot were identified by the morphological and molecular. **【Result】** The separation of the pathogenic fungi of rice brown spot was confirmed by inoculation experiment. Its conidophores of the pathogenic fungi of rice brown spot isolated were single, brown, not branched and their tops were geniculation. Conidia was elongated oval, spindle, pour sticks shape, straight or bent to one side, brown, the both ends of the conidia gradually narrowed, obtuse, its hilum was relatively flat, 5—10 replums; The lengths of 18S rDNA and ITS sequence were respectively about 1.8 kb and 570 bp. Homology between the 18S rDNA of pathogen identified and one of *Cochliobolus cynodontis* was the highest, and their similarity was 99%; homology between the ITS of pathogen identified and one of *Bipolaris oryzae* was the

* [收稿日期] 2012-04-11

[基金项目] 江苏省农业自主创新项目[CX(09)109]

[作者简介] 陈洪亮(1986—),男,吉林榆树人,在读硕士,主要从事水稻真菌病害研究。E-mail: lianghongchen2008@126.com

[通信作者] 袁 艺(1965—),女,安徽无为,人,教授,硕士,硕士生导师,主要从事植物资源开发与利用研究。

E-mail: yuanyizhangqi@126.com

郭士伟(1971—),男,河南汝州人,副研究员,博士,主要从事水稻遗传育种研究。E-mail: shiwei.guo@jaas.ac.cn

highest, and their similarity was 99%. Cluster analysis indicated that this pathogen had the closest relation with the 18S rDNA of *Bipolaris eleusines* and the ITS of *Bipolaris* sp. 【Conclusion】 The pathogenic fungus of rice brown spot was successfully isolated from the rice; The results of morphological and molecular identification were both *B. oryzae*.

Key words: rice brown spot; isolation of pathogen; identification of pathogen; *Bipolaris oryzae*

水稻胡麻叶斑病是由半知菌的平脐蠕孢属真菌引起的一种病害^[1-3]。从水稻秧苗期到收获期都可发病,植株各部位均能受害。叶片及叶鞘上的病斑多为芝麻粒状,病斑中央为褐色至灰白色,边缘褐色,周围有深浅不同的黄色晕圈,严重时能相互结成不规则的大病斑^[4]。谷粒感病受害,病斑呈灰黑色,可扩大至全粒,造成秕谷,谷粒质脆易碎,俗称“茶米”^[5]。感病田块一般减产 10%~30%,严重者减产 50%以上甚至绝收^[1]。

水稻胡麻叶斑病分布于世界各稻区,孟加拉国曾因本病流行,造成稻谷失收而引起饥荒^[6]。在 1949 年以前,我国此病发生普遍且严重,南北稻区均有发生,成为国内水稻三大病害之一。通常认为该病是由于缺乏肥、水等原因引起的^[7]。1949 年新中国成立后,随着我国水稻生产管理和施肥水平的不断提高,其危害减轻。因此,对水稻胡麻叶斑病的研究较少,如魏景超^[8]、陆家云^[9]、文景芝等^[10]、Motlagh 等^[11]仅对其病原菌进行了一些形态学上的鉴定,张玉江等^[1]、袁艳^[5]、吴彩谦等^[6]、杨廷策等^[7]主要对其发生原因、特点及防治措施进行了研究。近几年由于耕作方法和气候的改变,该病在我国多个稻区又严重发生。因此,必须重视对水稻胡麻叶斑病的研究。为此,本研究从大田采集具有胡麻叶斑病典型症状的水稻叶片,分离病原菌,并对分离到的病原菌进行了形态和分子鉴定,以期为进一步研究该病的发病机理和有效防控奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种来源及培养基 菌种采自江苏省农业科学院粮食作物研究所田间感染有胡麻叶斑病的水稻叶片。培养基主要有以下 3 种:1)马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)固体培养基。马铃薯 200 g,葡萄糖 20 g,琼脂 20 g,无菌水定容至 1 000 mL^[12]。2)产孢培养基。水琼脂麦秆培养基(TWA+WS),琼脂 20 g,无菌水定容至 1 000 mL,灭菌后的麦秆放在琼脂板上^[9]。3)PDA 液体培养基。马铃薯 200 g,葡萄糖 20 g,无菌水定容至 1 000 mL。

1.1.2 主要试剂及仪器 琼脂粉(MDBIO)、葡萄糖、乙二胺四乙酸(EDTA)、十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)、氯仿、异戊醇、异丙醇均为分析纯试剂(成都市科龙化工试剂厂),胶回收试剂盒、质粒提取试剂盒(生工生物工程上海有限公司),PMD™18-T 载体(大连 Takara 公司),EDC-810 基因扩增仪(北京东胜创新生物科技有限公司),GL-200 紫外透射仪(江苏海门市麒麟医用仪器厂),Nikon H550S 相差显微镜(日本尼康公司)。

1.2 菌株的分离与纯化

采用常规真菌分离方法。取田间感染胡麻叶斑病并表现出典型症状的水稻叶片,在病健交界处剪取 15 mm² 的小块病组织,用体积分数 75% 的乙醇浸泡 30 s,1 g/L 升汞浸泡 2 min,无菌水换洗 5 次^[13],将带病组织放在培养皿内的无菌湿润滤纸上,用封口膜封好,25 ℃光照培养 2 d,挑取组织样品边缘的单个菌丝,转移到 PDA 固体培养基上培养。为保证分离菌丝的纯度,多次挑取每次分离培养的菌丝再培养。

1.3 分离菌株的柯赫氏法则验证^[14]

培养感病水稻品种“CO39”至三叶期。挑取分离纯化的菌丝在 PDA 固体培养基中培养 3 d 后,取菌饼转接到 PDA 液体培养基中,28 ℃、120 r/min 暗培养 2 d 后匀浆 5 min,用喷雾器将匀浆的菌液均匀喷洒接种到三叶期水稻叶片上,用保鲜袋套袋保湿 48 h 后,28 ℃再培养 3 d,观察病斑形态。

1.4 分离菌株的鉴定

1.4.1 形态学鉴定 将经回接试验验证确认为胡麻叶斑病病原菌的菌落,接种到 PDA 培养基上,生长 7 d 后肉眼观察菌落形态;用刀片切取单个菌丝,在显微镜下观察菌丝形态等;在产孢培养基上 28 ℃、12 h 光照/黑暗交替诱导培养 6 d,获得孢子,观察分生孢子梗的着生情况、颜色、形状以及分生孢子的形态、颜色、种脐、隔膜数等特征^[8-9]。

1.4.2 分子鉴定 1)真菌 DNA 的提取。挑取斜面菌丝,接种到 PDA 培养基上活化 2~3 d,然后将菌饼接到 PDA 液体培养基中,28 ℃、120 r/min 黑暗培养 2 d^[15],漏斗过滤,得到菌丝体。用改良

CTAB 法提取菌株 DNA。

2)PCR 扩增。以提取的真菌基因组 DNA 为模板,采用如下的扩增体系和扩增程序扩增 18S rDNA 和 ITS 核酸片段^[16]。18S rDNA 引物: NS1 (5'-GTA GTC ATA TGC TTG TCTC-3'), NS8 (5'-TCC GCA GGT TCA CCT ACGGA-3'); ITS 引物: ITS1 (5'-TCC GTA GGT GAA CCT GCGC-3'), ITS4 (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TATGC-3')。扩增体系^[17]: 1 μ L dNTP, 6. 25 μ L Buffer, 10 μ L 引物 NS1/ NS8 (1, 2 管)或引物 ITS1/ITS4 (3、4 管), 1. 5 μ L 模板基因组 DNA, 2. 5 μ L *Taq* 酶, 加双蒸水补足至 50 μ L。扩增条件: 95 $^{\circ}$ C 变性 5 min; 94 $^{\circ}$ C 40 s, 45 $^{\circ}$ C 40 s, 72 $^{\circ}$ C 90 s, 33 个循环; 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min, 4 $^{\circ}$ C 保存。

3)PCR 产物。用胶回收试剂盒纯化回收目的片段,将回收的目的片段连接至 pMDTM18-T 载体,转染 JM109 感受态细胞,涂布在含有 5-溴-4-氯-3-吡啶- β -D 半乳糖苷 (X-Gal)、异丙基- β -D-硫代吡喃半乳糖苷 (IPTG) 和氨苄西林 (Amp) 的 L-琼脂平板培养基上培养,形成单菌落。在 37 $^{\circ}$ C 培养至少 17 h 后,置于 4 $^{\circ}$ C 冰箱内 2 h。挑取白色菌落,接入 LB

液体培养基培养,用质粒提取试剂盒提取质粒,送交南京金斯瑞生物科技有限公司测序。将测得的序列利用 Blastn 工具与 GenBank 中的 18S rDNA 和 ITS 序列进行同源性比对,用 Mega4. 0 软件中的 Neighbor-joining 方法进行聚类分析,构建系统发育树^[18]。

2 结果与分析

2.1 水稻胡麻叶斑病的危害特征及病原菌分离

水稻叶片感染胡麻叶斑病初期的典型症状是,病斑椭圆形,大小如芝麻,病斑内部棕褐色,外周有黄色晕圈。之后病斑扩大,内部颜色变浅,叶片逐渐发黄坏死。稻穗也可染病,初期病斑在颖花上呈点状分布,之后逐渐扩大至整个颖花,染病颖花变为褐色,灌浆和结实受到严重影响,形成空秕粒(图 1)。

分离纯化的菌丝经液体培养后,根据柯赫氏法则对感病水稻品种“CO39”三叶期叶片进行活体接种,接种后 3~5 d 水稻叶片出现了与大田感病水稻叶片同样的症状(图 2),病斑呈褐色,并有黄色晕圈,说明分离到的菌株确实为大田水稻染病菌株。

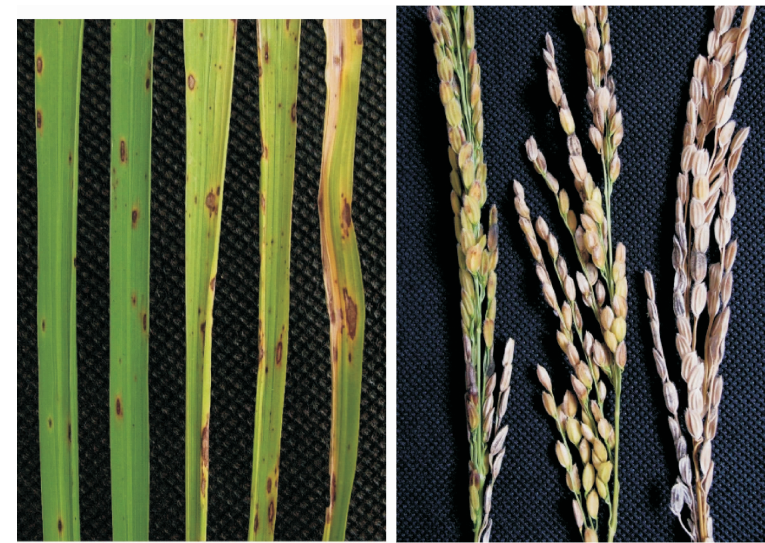


图 1 大田水稻叶片和稻穗感染胡麻叶斑病的症状
Fig.1 Symptom of field rice leaves and tassels of infected rice brown spot

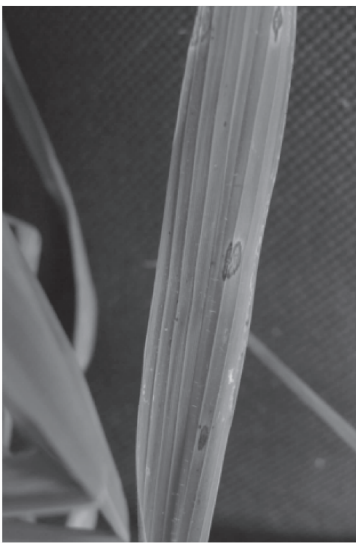


图 2 分离菌株回接感病水稻叶片 5 d 时的症状
Fig.2 Symptom of isolates back then infecting rice leaves after 5 days

2.2 胡麻叶斑病原菌的鉴定

2.2.1 形态特征 将回接试验确认为胡麻叶斑病原菌的菌落接种到 PDA 培养基上,开始阶段菌丝白色蓬松,3 d 后逐渐变为黑灰色,培养基背面颜色由淡黄色变为黑色,菌落紧贴培养基匍匐生长;培养 7 d 时,菌落上有褐色液体渗出,菌落表面有大量菌

核生长(图 3)。分生孢子梗单生,褐色,不分枝,顶端呈膝状弯曲(图 4)。分生孢子长椭圆形、梭形、倒棍棒状,正直或向一侧弯曲,褐色,两端渐狭,钝圆,种脐较平,有 5~10 个假隔膜,具有稻平脐蠕孢的典型特征(图 5)。

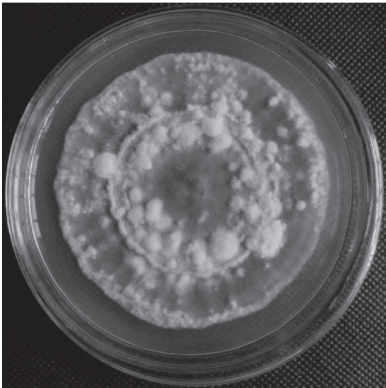


图 3 水稻胡麻叶斑病病原菌的菌落形态(PDA)
Fig. 3 Morphology of colony of the pathogenic fungi of rice brown spot on the PDA

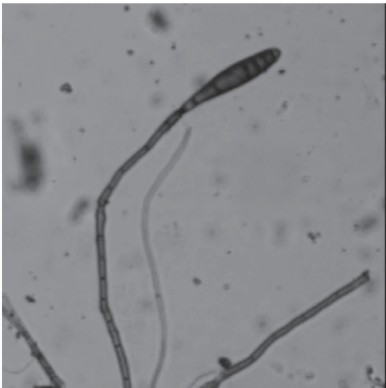


图 4 水稻胡麻叶斑病病原菌的分生孢子梗形态(×100)
孢子梗形态(×100)

Fig. 4 Morphology of the conidiophores of the pathogenic fungi of rice brown spot (×100)

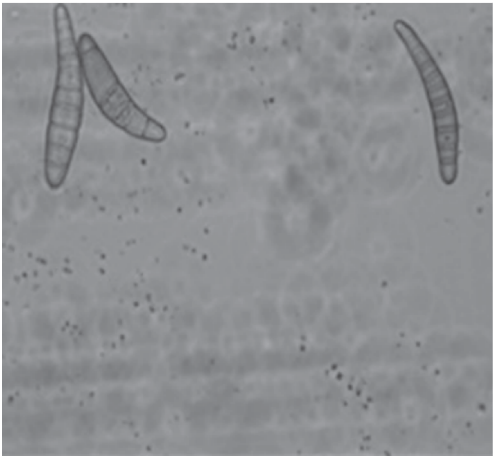


图 5 水稻胡麻叶斑病病原菌的分生孢子形态(×400)
Fig. 5 Morphology of the conidia of the pathogenic fungi of rice brown spot (×400)

和 ITS 序列的 PCR 扩增结果(图 6)表明,其长度分别约为 1.8 kb 和 570 bp。序列分析结果表明,PCR 扩增获得的 18S rDNA 和 ITS 序列完整。

将获得的序列在 NCBI 中进行 Blastn 比对,发现与待鉴定的病原菌 18S rDNA 同源性最高的是狗牙根平脐蠕孢有性态(*Cochliobolus cynodontis*),二者的相似度为 99%;与其 ITS 序列同源性最高的是稻平脐蠕孢(*Bipolaris oryzae*),二者的相似度为 99%。利用 Mega4.1 软件进行聚类分析,发现待鉴定的病原菌 18S rDNA 序列(NO)与蟋蟀草平脐蠕孢(*Bipolaris eleusines*)的 18S rDNA 同源关系最近,其 ITS 序列(NO)与平脐蠕孢属(*Bipolaris* sp.)的 ITS 同源关系最近(图 7)。将 18S rDNA 和 ITS 序列同源性的分析结果相结合,判定从水稻上分离到的菌株应为稻平脐蠕孢,分子鉴定结果与形态鉴定结果一致。

2.2.2 分子鉴定 分离到的病原菌的 18S rDNA

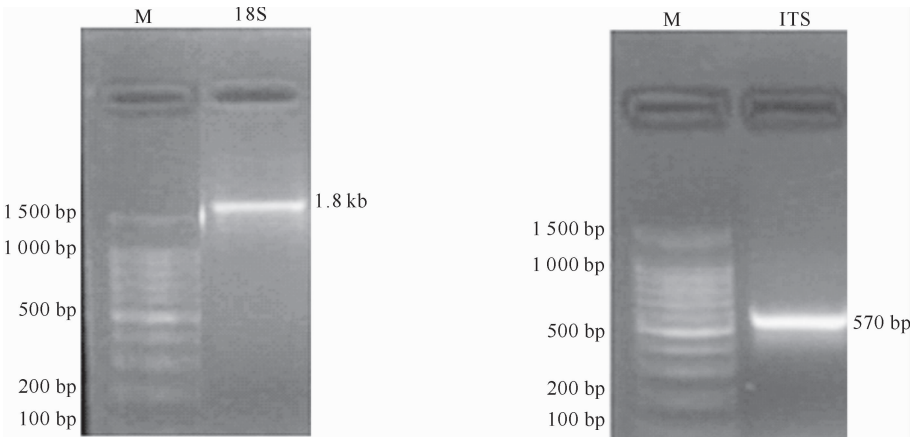


图 6 水稻胡麻叶斑病病原菌的 18S rDNA 和 ITS 序列的 PCR 电泳结果

Fig. 6 PCR amplified electrophoresis of 18S rDNA and ITS sequences of the pathogenic fungi of rice brown spot

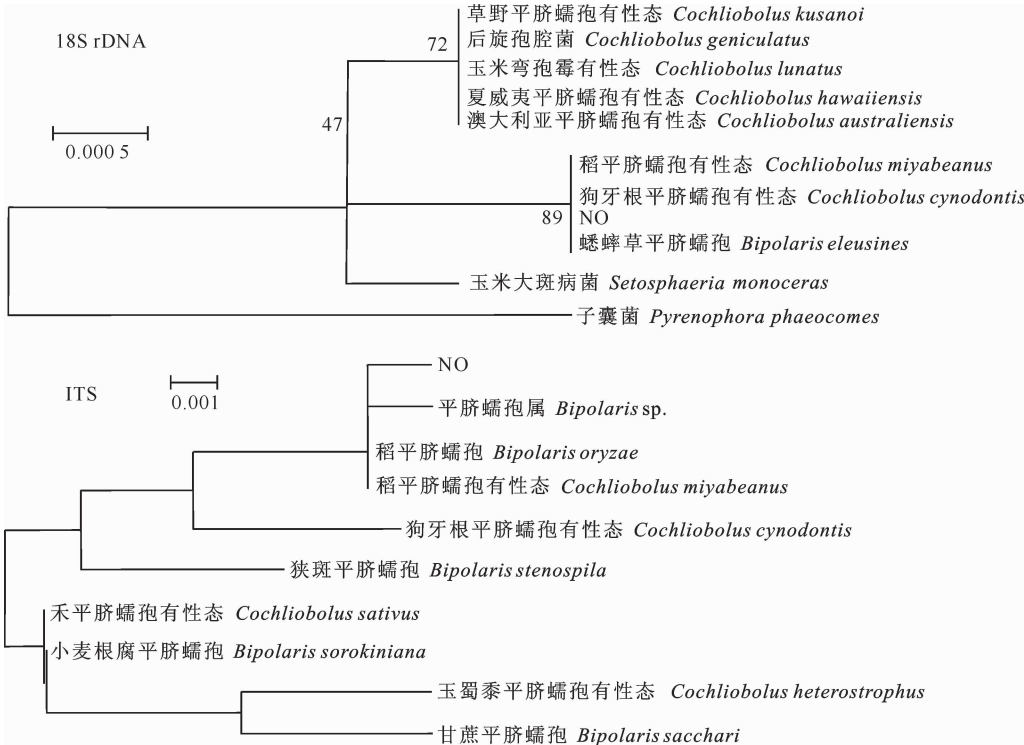


图 7 水稻胡麻叶斑病原菌的 18S rDNA 和 ITS 进化树分析结果

Fig. 7 Analysis results of the phylogenetic tree of 18S rDNA and ITS of the pathogenic fungi of rice brown spot

3 讨论

真菌的鉴定除了真菌形态观察外,现代生物技术的不断发展也为真菌的分类、鉴定提供了许多新的方法。真菌可溶性蛋白、同工酶分析技术^[19]、DNA 中 G+C 含量测定^[20]、限制性酶切片段长度多态性分析 (RFLP)、随机扩增多态性 DNA (RAPD)^[21]、核酸杂交技术、rDNA 序列同源性分析以及其他以 PCR 为基础的分子生物学技术的应用,都极大地推动了真菌分类学的发展。

目前,rDNA 序列同源性分析由于快速、特异性较高以及生物信息学的迅速发展,在真菌鉴定方面得到了广泛应用,尤其是 18S rDNA 和 ITS 序列分析^[22-23]。ITS 是位于 28S rDNA 3'端与 18S rDNA 5'端之间的核糖体基因转录间隔区,在真菌种间存在着丰富变异^[9],其进化速率快且具有广泛的序列多态性^[24],在研究真菌的很多种间关系中,证明十分有价值^[15],已在种水平的分类鉴定中得以应用;含有可变区域的 18S rDNA 约为 1.81 kb,在系统发育中也是种及种以上的良好标记。因此,本研究采用 18S rDNA 和 ITS 序列分析方法,使鉴定结果更加准确、可靠。

本研究首先从大田感病水稻叶片上分离了水稻

胡麻叶斑病原菌,并通过回接试验对分离到的病原菌进行了柯赫氏法则验证。随后对病原菌的形态和分子特征进行了研究,明确了该病原菌的基本特征。通过这些研究,为进一步研究该病的发病机理和防控措施奠定了基础。

志 谢:感谢江苏省农业科学院植保所刘永锋研究员提供“CO39”水稻种子!

【参考文献】

[1] 张玉江,张汉友,李彩云,等. 水稻胡麻叶斑病发生原因、特点及防治措施 [J]. 北方水稻,2009,39(5):38-40.
Zhang Y J,Zhang H Y,Li C Y,et al. The reasons,characteristics and control measures of rice brown spot disease [J]. Rice in North,2009,39(5):38-40. (in Chinese)

[2] Dela Paz M A G,Goodwin P H,Raymundo A K,et al. Phylogenetic analysis based on ITS sequences and conditions affecting the type of conidial germination of *Bipolaris oryzae* [J]. Plant Pathology,2006,55:756-765.

[3] Percich J A,Nyvall R F,Malvick D K. Interaction of temperature and moisture on infection of wild rice by *Bipolaris oryzae* in the growth chamber [J]. Plant Disease,1997,81(10):1193-1195.

[4] 唐 健,叶恭银,杨保军,等. 水稻胡麻斑类似病危害转 Bt 稻“克螟稻”初报 [J]. 中国水稻科学,2001,15(4):317-319.
Tang J,Ye G Y,Yang B J,et al. Preliminary study on rice brown spot mimic lesion virulence on Bt gene transformed rice kemingdao [J]. Chinese Journal of Rice Science,2001,15(4):

- 317-319. (in Chinese)
- [5] 袁 艳. 水稻胡麻叶斑病的防治 [J]. 安徽农业, 1999(5): 20.
Yuan Y. The prevention of rice brown spot disease [J]. Anhui Agriculture, 1999(5): 20. (in Chinese)
- [6] 吴彩谦, 李建清, 进 标, 等. 昭平县晚稻胡麻叶斑病偏重发生特点及原因分析 [J]. 广西植保, 2009, 22(1): 34-35.
Wu C Q, Li J Q, Jin B, et al. The analysis of rice brown spot disease in favor of occurrence characteristics and the reasons in Zhaoping county late rice [J]. Guangxi Plant Protection, 2009, 22(1): 34-35. (in Chinese)
- [7] 杨廷策, 张国仕. 2004 年晚稻胡麻叶斑病大发生特点及原因分析 [J]. 广西植保, 2005, 18(3): 34-35.
Yang T C, Zhang G S. The analysis of rice brown spot disease most occurrence characteristics and the reasons in 2004 late rice [J]. Guangxi Plant Protection, 2005, 18(3): 34-35. (in Chinese)
- [8] 魏景超. 真菌鉴定手册 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1979: 555.
Wei J C. Fungi identified manual [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1979: 555. (in Chinese)
- [9] 陆家云. 植物病原真菌学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2001: 57, 394, 399.
Lu J Y. Plant pathogenic mycology [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2001: 57, 394, 399. (in Chinese)
- [10] 文景芝, 陆家云. 内脐蠕孢属、平脐蠕孢属和凸脐蠕孢属的分类鉴定 [J]. 东北农学院学报, 1991, 22(2): 120-126.
Wen J Z, Lu J Y. The classification and identification of *Drechslera*, *Bipolaris* and *Exserohilum* [J]. Journal of Northeast Agricultural College, 1991, 22(2): 120-126. (in Chinese)
- [11] Motlagh M R, Kaviani B. Characterization of new *Bipolaris* spp.: The causal agent of rice brown spot disease in the North of Iran [J]. Int J Agri Biol, 2008, 10(6): 38-42.
- [12] 陆宁海, 徐瑞富, 吴利民, 等. 长蠕孢菌产孢条件的研究 [J]. 微生物学通报, 2005, 32(5): 77-81.
Lu N H, Xu R F, Wu L M, et al. The condition for sporulation of *Helminthosporium carposaprum* [J]. Microbiology, 2005, 32(5): 77-81. (in Chinese)
- [13] 金晓春, 李志新, 张海生, 等. 稻瘟病菌分离及保存方法研究 [J]. 安徽农业科学, 2008, 36(17): 7308, 7390.
Jin X C, Li Z X, Zhang H S, et al. The study of separation and preservation methods of *Magnaporthe grisea* [J]. Anhui Agricultural Sciences, 2008, 36(17): 7308, 7390. (in Chinese)
- [14] 蔡世嘉, 顾洪如, 沈益新. 苏丹草叶斑病平脐蠕孢菌的生物学特性 [J]. 江苏农业学报, 2011, 27(3): 607-611.
Cai S J, Gu H R, Shen Y X. Biological characteristics of the *Bipolaris* of *Sorghum sudanese* leaf spot [J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2011, 27(3): 607-611. (in Chinese)
- [15] 何毅婷, 杨汝德, 张 广. 以 18S rDNA 序列鉴定一株产纤维素酶真菌 [J]. 现代食品科技, 2008, 24(7): 638-640.
He Y T, Yang R D, Zhang G. Identification of a cellulose-producing fungi based on 18S rDNA sequence [J]. Modern Food Science and Technology, 2008, 24(7): 638-640. (in Chinese)
- [16] 张志华, 洪 葵. 核酸序列直接分析在真菌鉴定方面的应用 [J]. 华南热带农业大学学报, 2006, 12(2): 39-43.
Zhang Z H, Hong K. The application of the nucleic acid sequence analysis in fungal identification [J]. Journal of South China University of Tropical Agriculture, 2006, 12(2): 39-43. (in Chinese)
- [17] 陈志谊, 王晓艳, 罗楚平. 空心莲子草病原真菌的分离筛选及其菌株 SF-193 种的鉴定 [J]. 中国生物防治, 2007, 23(4): 353-357.
Chen Z Y, Wang X Y, Luo C P. Screen and identification of pathogenic fungi of *Alternanthera philoxeroides* and the identification of the strain of the SF-193 [J]. Chinese Journal of Biological Control, 2007, 23(4): 353-357. (in Chinese)
- [18] 路 浩, 马 尧, 赵宝玉, 等. 急弯棘豆内生真菌的分离与鉴定 [J]. 畜牧兽医学报, 2010, 41(7): 902-908.
Lu H, Ma Y, Zhao B Y, et al. Isolation and identification of endophytic fungus from *Oxytropis deflexa* [J]. Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica, 2010, 41(7): 902-908. (in Chinese)
- [19] 李 红, 苏君伟, 张 敏, 等. 采用同工酶分析技术鉴定 11 个平菇菌株亲缘关系 [J]. 辽宁农业科学, 2008(3): 27-29.
Li H, Su J W, Zhang M, et al. Phylogenetic relationship of 11 oostreatus strains were identified by using the analysis techniques of isozyme [J]. Liaoning Agricultural Sciences, 2008(3): 27-29. (in Chinese)
- [20] 何延静, 刘海明, 胡海波, 等. 一株拮抗辣椒疫霉的假单胞菌的分离与鉴定 [J]. 微生物学报, 2006, 46(4): 516-521.
He Y J, Liu H M, Hu H B, et al. Isolation and identification of *Pseudomonas* spp. against *Phytophthora capsici* [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2006, 46(4): 516-521. (in Chinese)
- [21] Mohammad Reza Safari Motlagh, Maesomah Anvari. Genetic variation in a population of *Bipolaris oryzae* based on RAPD-PCR in north of Iran [J]. African Journal of Biotechnology, 2010, 9(36): 5800-5804.
- [22] 郑文龙, 朱慧芳, 刘 璐, 等. 产紫杉醇内生真菌 EFY-21 的鉴定与生物学特性研究 [J]. 菌物研究, 2010, 8(1): 35-40.
Zheng W L, Zhu H F, Liu L, et al. Identification and biological characteristic research of the taxol-producing endophytic fungus EFY-21 [J]. Journal of Fungal Research, 2010, 8(1): 35-40. (in Chinese)
- [23] 段春芳, 李枝林, 方 飞, 等. 云南几种兰花菌根真菌的分离鉴定 [J]. 西南农业学报, 2010, 23(3): 756-759.
Duan C F, Li Z L, Fang F, et al. Isolation and identification research of mycorrhizal isolated from several orchids in Yunnan Province [J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2010, 23(3): 756-759. (in Chinese)
- [24] 谢丽源, 张 勇, 彭金华, 等. 桑黄真菌分子鉴定及遗传多样性分析 [J]. 菌物学报, 2010, 29(3): 347-356.
Xie L Y, Zhang Y, Peng J H, et al. Molecular identification and genetic diversity of a traditional Chinese medicinal fungus 'Sanghuang' [J]. Mycosystema, 2010, 29(3): 347-356. (in Chinese)