

## 紫外线对大豆疫霉菌的诱导变异作用

左豫虎<sup>1</sup>, 于红梅<sup>1</sup>, 宋玉华<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>黑龙江八一农垦大学植物科技学院, 黑龙江 大庆 163319; <sup>2</sup>虎林市农业技术推广中心, 黑龙江 虎林 158400)

**摘要:**为明确紫外线对大豆疫霉菌的诱导突变作用,研究了紫外线诱变的突变菌株的菌落形态、菌丝生长速率、菌丝形态、卵孢子形态、产孢能力、同宗配合能力、致病力和抗药性的变异情况。结果表明,大豆疫霉菌突变菌株菌落形态、菌丝生长速率、菌丝和卵孢子形态以及同宗配合能力都发生显著变异,游动孢子产孢量和致病性明显降低。虽未发现对甲霜灵产生抗性的突变菌株,但出现了对甲霜灵敏感性增强的突变菌株。说明紫外线辐射可导致大豆疫霉菌控制生物学性状和致病性的基因发生变异,紫外线可能是引致大豆疫霉菌变异的因素之一。

**关键词:**大豆疫霉菌;突变;紫外线诱导

中图分类号:S565.1

文献标识码:A

文章编号:1000-9841(2008)03-0490-06

## Induced Mutation Effect of *Phytophthora sojae* by Ultraviolet Irradiating

ZUO Yu-hu<sup>1</sup>, YU Hong-mei<sup>1</sup>, SONG Yu-hua<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>College of Plant Science & Technology, Heilongjiang August First Land Reclamation University, Daqing 163319, Heilongjiang; <sup>2</sup>Hulin Agricultural Technology Extension Center, Hulin 158400, Heilongjiang, China)

**Abstract:** To know the induced mutation effect of *Phytophthora sojae* by ultraviolet irradiating, the inheritance and variation of biological characteristics, pathogenicity and resistance to metalaxyl of *P. sojae* mutant strains were studied. These biological characteristics include the colony morphology, mycelia growth rate, mycelia morphology, oospore morphology, sporulation, homothallism. The results indicated that the colony morphology, mycelia growth rate, mycelia morphology, oospore morphology and homothallism had obvious variation. The sporulation and pathogenicity of *P. sojae* mutant strains were reduced. The sensitivity to metalaxyl of some *P. sojae* mutant strains were raised though there were not resistance to metalaxyl *P. sojae* mutant strains. The genes which control the biological characteristics and pathogenicity of *P. sojae* can be mutated by ultraviolet irradiating.

**Key words:** *Phytophthora sojae*; Mutation; Ultraviolet irradiating

大豆疫霉菌(*Phytophthora sojae*)引起毁灭性的大豆疫霉根腐病(*Phytophthora root rot of soybean*)。大豆疫霉菌的生理小种毒性变异十分明显,新小种不断出现,田间毒性小种演替频率也很高,结果导致某些广为种植的抗病品种无法继续种植<sup>[1-2]</sup>。目前大豆疫霉菌毒性如何遗传,其变异原因如何还不清楚<sup>[3]</sup>,突变研究是了解病原菌毒性遗传变异的主要途径之一。国内外许多学者利用紫外线诱导非致病小麦条锈菌<sup>[4]</sup>、尖孢镰刀菌<sup>[5]</sup>、禾谷镰刀菌<sup>[6]</sup>、番茄叶霉病菌<sup>[7]</sup>、稻瘟病菌<sup>[8]</sup>、番茄青枯菌<sup>[9]</sup>、玉蜀黍赤霉<sup>[10]</sup>等发生突变,研究其遗传变异情况,已获得病菌的抗药突变、毒性突变、营养缺陷突变菌株等。于

红梅等<sup>[11]</sup>研究发现紫外线可诱导大豆疫霉菌发生变异。现以紫外线诱导的突变株为试材,研究突变株的生物学性状、致病力、抗药性和菌丝及卵孢子形态的变异情况,明确紫外线对大豆疫霉菌的影响,以期为进一步探讨大豆疫霉菌的遗传与变异奠定基础。

### 1 材料与方法

#### 1.1 供试材料

大豆疫霉菌野生型 Ps411<sup>[12]</sup>,紫外线诱变的大豆疫霉菌突变菌株 Ps411-M1、Ps411-M2、Ps411-M3 和 Ps411-M4<sup>[11]</sup>,由黑龙江八一农垦大学植物免疫研究

收稿日期:2008-01-01

基金项目:黑龙江省普通高等学校骨干教师创新能力资助计划(1055G027)。

作者简介:左豫虎(1965-),男,教授,博士生导师,研究方向为植物免疫学和植物病原真菌学及植物真菌病害。E-mail: zuoyuhu@163.com。

室提供。

供试药剂为 95% 甲霜灵原药(温州鹿城农药厂出品),培养基为胡萝卜琼脂培养基(CA)<sup>[13]</sup>。供试大豆品种为合丰 25、Haro7 (*rps*)、Harlon (*Rps1a*)、Harosoy 13XY (*Rps1b*)、Williams79 (*Rps1c*)、PI301091 (*Rps1d*)、Williams82 (*Rps1k*)、L76-1988 (*Rps2*)、L83-570 (*Rps3a*)、Rps146-48 (*Rps3c*)、Harosoy (*Rps6*)、Harosoy 62XY (*Rps7*),由黑龙江八一农垦大学植物免疫研究室提供。

## 1.2 测定项目和方法

1.2.1 突变株的生长速率和菌落形态的测定 将突变株转移至 CA 平板上置于 25℃ 恒温箱中培养。3 d 后测量菌落直径,每隔 1 d 测量一次,同时观察菌落形态。每处理 3 个重复,以野生型大豆疫霉菌单游动孢子株作为对照。

1.2.2 突变株的菌丝形态和卵孢子形态的观察 挑取培养 7 d 左右的大豆疫霉菌突变株及野生型菌株菌丝于干净的载玻片上,加蒸馏水用盖玻片盖紧,置于显微镜下观察菌丝形态变化并照相。将培养 35 d 左右、产生卵孢子的大豆疫霉菌突变株及野生型菌株分别制成卵孢子悬浮液,用微量加样器吸取卵孢子悬浮液 20  $\mu\text{L}$  于干净的载玻片上,置于显微镜下观察卵孢子形态变化并照相。

1.2.3 突变株的产孢能力的测定 采用左豫虎等<sup>[14]</sup>的方法获得游动孢子,采用郑小波<sup>[15]</sup>的方法于 4  $\times$  10 倍视野下镜检游动孢子数量,测定产孢能力。

1.2.4 突变株的同宗配合能力的测定 用直径为 4 mm 的灭菌打孔器打取突变株菌碟,转移至 CA 培养基上,用 Parafilm 封口膜封口,置于 25℃ 恒温箱中培养。35 d 后于 10  $\times$  10 倍视野下镜检卵孢子数量,每皿取 10 个视野。

1.2.5 突变株的致病力的测定 常规培育大豆苗,采用伤口接种方法,鉴定大豆疫霉菌突变菌株的致病力变异情况<sup>[16]</sup>。

1.2.6 突变株对甲霜灵的敏感性测定 采用左豫虎等<sup>[17]</sup>的方法测定突变株对甲霜灵的敏感性变异情况。

## 2 结果与分析

### 2.1 突变株的生长速率与菌落形态的变化

紫外线诱变大豆疫霉菌突变株的菌丝生长速率和菌落形态变化见表 1。突变株的生长速率和菌落形态都与原始菌株有较大的差异,生长速率都较原始菌株慢,未发现较原始菌株生长快的突变株。突变株的生长速率变化范围也较野生型大,原始菌株生长速率在 4.1 ~ 6.0  $\text{mm} \cdot \text{d}^{-1}$  之间,突变株的生长速率在 1.3 ~ 3.6  $\text{mm} \cdot \text{d}^{-1}$  之间。突变株的形态也发生较大变化,原始菌株在 CA 平板上菌落形态为圆形,边缘光滑,菌丝分布均匀,气生菌丝较旺盛。突变株多数菌落形态为不规则形,菌丝分布不均匀,边缘光滑或不光滑,气生菌丝减少,部分菌株表面呈油渍状。说明紫外线辐射导致控制菌丝生长的基因发生了突变。

表 1 突变株的生长速率与菌落形态

Table 1 Mycelia growth rate and colony morphology of mutant strains

菌株 Isolate	生长速率 Growth rate/ $\text{mm} \cdot \text{d}^{-1}$	菌落形态 Colony morphology	菌株 Isolate	生长速率 Growth rate/ $\text{mm} \cdot \text{d}^{-1}$	菌落形态 Colony morphology
Ps411	5.0	A	Ps411-M5	2.7	C
Ps411-M1	1.3	B	Ps411-M6	2.4	E
Ps411-M2	2.7	C	Ps411-M7	2.4	D
Ps411-M3	2.9	D	Ps411-M8	1.7	E
Ps411-M4	3.6	D	Ps411-M9	2.4	D

A. 圆形,边缘光滑,气生菌丝正常;B. 不规则形,边缘有缺刻,菌丝表面油渍状,气生菌丝无;C. 不规则形,边缘不光滑有缺刻,菌丝致密,气生菌丝正常;D. 圆形,边缘较光滑,菌丝分布不均匀,气生菌丝少;E. 不规则形,菌丝疏密不一,气生菌丝少。

A. Colony rotundity, margin regularity and aerial mycelium grow normally; B. Colony abnormality, margin irregular, surface greasy and no aerial mycelium; C. Colony abnormality, margin irregular, mycelium dense and aerial mycelium grow normally; D. Colony rotundity, margin regularity and aerial mycelium grow sparsely; E. Colony abnormality, mycelium density difference and aerial mycelium grow sparsely.

### 2.2 突变株的菌丝和卵孢子形态的变化

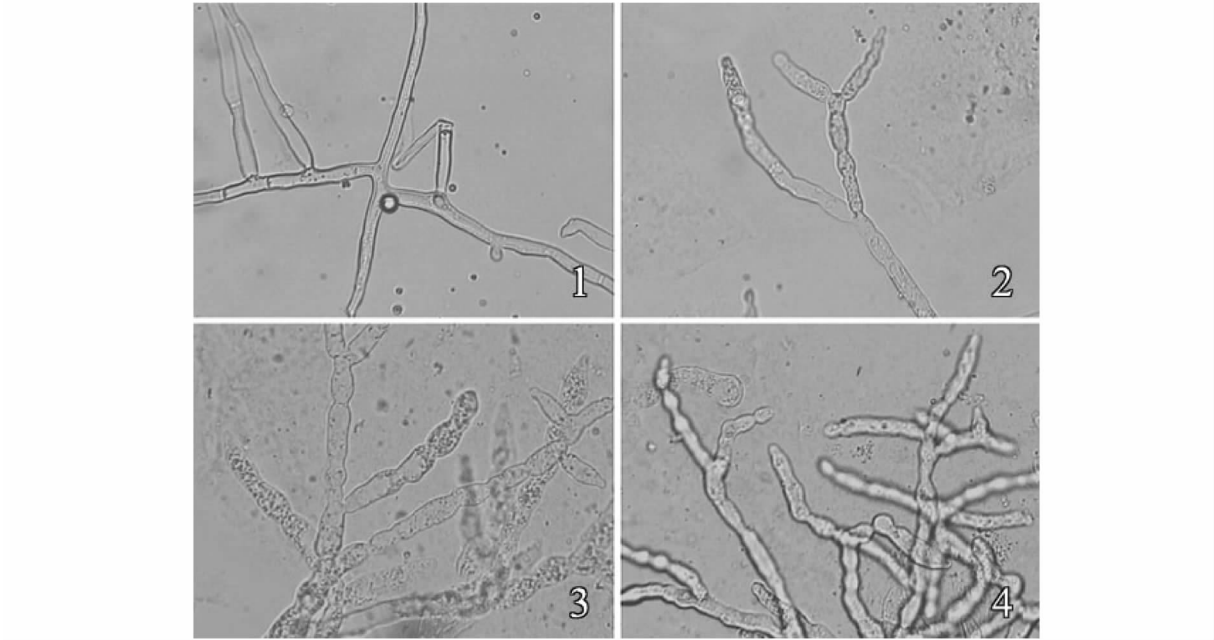
正常野生型菌丝无分隔,宽 5.2 ~ 6.5  $\mu\text{m}$ ,平均为 6.4  $\mu\text{m}$ ,为珊瑚状,细长平滑,分枝近直角,分枝处

有缢缩,菌丝呈均匀透明状(图 1-1)。突变株菌丝大部分呈锐角分枝,分枝增多,菌丝体呈节状,粗细不一,且菌丝内增加颗粒状沉积物质。菌丝宽处可达

10.1 μm,窄处仅为3.1 μm(图1-2、1-3、1-4)。

野生型菌株卵孢子球形,外壁厚,光滑,内含大量物质且分布均匀(图2-1)。突变株卵孢子椭圆形至不规则形,内含物稀疏且聚集成团,或不含内含物,孢子仅存空的细胞壁。野生型卵孢子在WA上

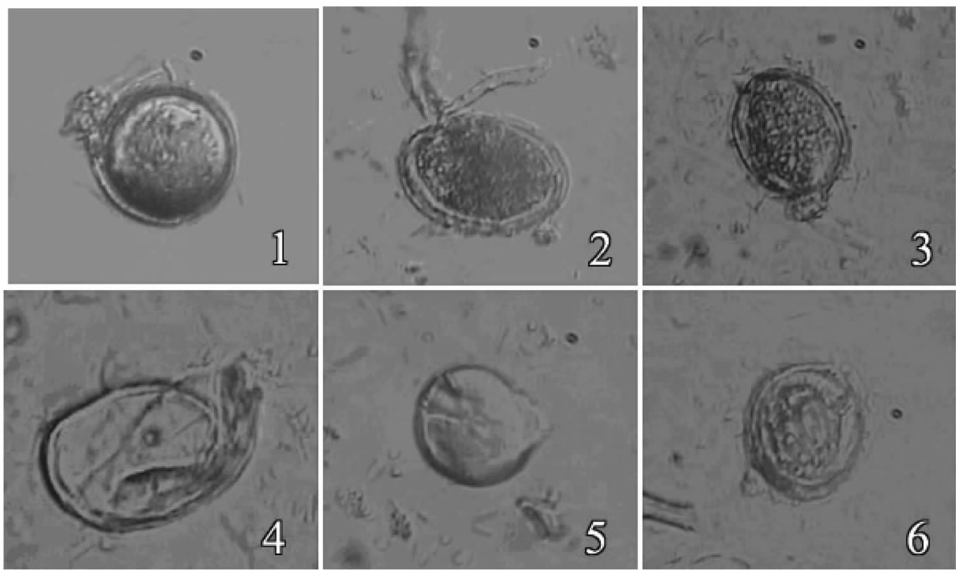
萌发率为24.6%,转移到CA平板上能形成菌落;突变株的畸形卵孢子在WA上萌发率仅为3.5%,且萌发后只形成一小段芽管后即停止生长,转移到CA平板上不能继续生长形成菌落(图2-2、2-3、2-4、2-5、2-6)。



1. 野生型的菌丝形态;2-4. 突变株的菌丝形态。1. Mycelial morphology of wild type strain;2-4. Mycelial morphology of mutant strain.

图1 野生型与突变株的菌丝形态

Fig.1 Mycelial morphology of wild type strain and mutant strain



1. 野生型菌株卵孢子形态;2-6. 突变株卵孢子形态。

1. Oospore morphology of wild type strain;2-6. Oospore morphology of mutant strains.

图2 野生型与突变株的卵孢子形态

Fig.2 Oospore morphology of wild type strain and mutant strains

2.3 突变株的产孢能力和同宗配合能力的变化

突变株产生游动孢子的能力均较原始菌株有不同程度的降低。原始菌株的产孢量为 2 487 个·mL<sup>-1</sup>,突变株的产孢量最多达到 1 160 个·mL<sup>-1</sup>,其中部分菌株 Ps411- M2、Ps411- M6、Ps411- M7 的产孢量为 0,产孢能力丧失。(表 2)。

紫外线照射对大豆疫霉菌的有性生殖能力有致病作用。突变株的卵孢子量降低(表 2),卵孢子数最少仅为 2 个/视野和 7 个/视野,只有 Ps411- M5 的卵孢子量比野生型菌株 71 个/视野稍高,达到 83 个/视野,说明紫外线辐射也可能会提高大豆疫霉菌对不良环境的抵抗能力。其余突变株的卵孢子量与野生型相比均明显减少,可见紫外线辐射可导致大豆疫霉菌同宗配合能力下降。

表 2 突变株的产孢能力

Table 2 Sporulation capacity of mutant strains

菌株 Isolate	游动孢子数 No. of zoospores per milliliter	卵孢子数 No. of oospores in 10 × 10 visual field
Ps411	2487	71
Ps411 - M1	40	7
Ps411 - M2	0	23
Ps411 - M3	360	40
Ps411 - M4	360	2
Ps411 - M5	580	83
Ps411 - M6	0	16
Ps411 - M7	0	30
Ps411 - M8	1 160	44
Ps411 - M9	500	47

2.4 突变株的致病性的变化

对突变株的致病性测定结果表明,突变株未发现致病性增强的菌株(见表 3),其中 Ps411- M2、Ps411- M3、Ps411- M7、Ps411- M9 的致病性与野生型相比未发生变化,其余的菌株致病性与原始菌株相比明显下降,其中 Ps411- M6 已完全丧失致病性,接种 10 株全部存活。说明紫外线可导致大豆疫霉菌性发生变异,多数变异为毒性下降。

测定突变株 Ps411- M5 在鉴别寄主上的反应(表 4)。结果表明,突变株在大部分鉴别寄主上表现为较野生型致病性下降,且在品种 Harosoy62XY 上致病性发生改变,野生型死亡率为 25.0%,突变株死亡率为 78.0%,由 R 型变为 S 型。毒力公式发生改变,由野生型的 3c,1a,6 变为 3c,1a,6,7。由此可以看出,紫外线可能是引致疫霉菌毒性变异的因素之一。

表 3 突变株的致病性

Table 3 Pathogenicity of mutant strains

菌株 Isolate	每 10 株存活数 No. of Survival plants in 10 inoculated plants	菌株 Isolate	每 10 株存活数 No. of Survival plants in 10 inoculated plants
Ps411	1	Ps411 - M5	4
Ps411 - M1	8	Ps411 - M6	10
Ps411 - M2	0	Ps411 - M7	2
Ps411 - M3	3	Ps411 - M8	5
Ps411 - M4	4	Ps411 - M9	1

表 4 突变株在鉴别寄主上的反应

Table 4 Response of differential cultivars to mutant strain

品种 Cultivar	抗病基因 <i>Rps</i> genes	Ps411		Ps411- M5- 1	
		死亡率	抗病类型	死亡率	抗病类型
		Mortality/%	Resistant type	Mortality/%	Resistant type
合丰 25 Hefeng 25		100.0	S	100.0	S
Haro 7	<i>rps</i>	100.0	S	100.0	S
Harlon	<i>Rps1a</i>	80.0	S	71.8	S
Harosoy13XY	<i>Rps1b</i>	33.3	I	25.0	R
Williams 79	<i>Rps1c</i>	23.1	R	8.3	R
PI 301091	<i>Rps1d</i>	43.5	I	11.1	R
Williams 82	<i>Rps1k</i>	7.7	R	14.3	R
L76-1988	<i>Rps2</i>	13.3	R	37.5	I
L83-570	<i>Rps3a</i>	53.3	I	13.4	R
Rps146-48	<i>Rps3c</i>	100.0	S	77.8	S
Harosoy	<i>Rps6</i>	91.7	S	100.0	S

2.5 突变株对甲霜灵的敏感性

表 5 为各突变株在含甲霜灵(5 μg·mL<sup>-1</sup>)平板上生长 30 d 的菌落直径。经过菌株对甲霜灵的敏感性测定,未发现有发生抗药突变的菌株。野生型菌株的菌落直径为 22.6 mm,突变株的直径为 8.7~31.0 mm,其中突变株 Ps411-M1、Ps411-M7 对甲霜灵的敏感性较野生型增强,直径分别为 8.7 mm 和 9.0 mm,其余突变株的直径均与野生型相近。各突变株对甲霜灵均较敏感,说明紫外线未导致菌株发生抗药性突变,但使菌株的抗逆性下降,出现了对甲霜灵敏感性增强的现象。

表 5 突变株对甲霜灵的敏感性  
Table 5 The sensitive to metalaxyl of mutant strains

菌株 Isolate	菌落直径 Colony diameter/mm	菌株 Isolate	菌落直径 Colony diameter/mm
Ps411	22.6	Ps411-M5	20.7
Ps411-M1	8.7	Ps411-M6	31.0
Ps411-M2	25.9	Ps411-M7	9.0
Ps411-M3	21.8	Ps411-M8	28.1
Ps411-M4	21.7	Ps411-M9	22.5

3 讨论

大豆疫霉菌生理小种致病性变异十分明显,田间毒性小种演替频率很高,大豆对疫霉根腐病菌的抗性由显性单基因控制,许多抗性基因已被新的生理小种克服。迫切需要明确大豆疫霉菌的遗传变异规律,为科学防治大豆疫病提供理论依据和技术保障。由于大豆疫霉菌为同宗配合疫霉菌,使得研究其遗传变异较为困难,突变研究成为了解其毒性遗传变异的有效途径之一。研究发现紫外线可以导致大豆疫霉菌发生生物学性状和致病性发生变异,这与井学金等<sup>[18]</sup>对小麦条锈菌的研究结果相似。但突变菌株未对甲霜灵产生抗性,各突变株对甲霜灵均较敏感。这与吴向辉<sup>[19]</sup>研究结果一致,吴向辉研究发现应用药物直接诱变和用紫外线加药物共同诱变都可获得抗甲霜灵的突变株,但应用单一的紫外线诱变未能获得抗甲霜灵的突变株。研究还发现供试菌株对甲霜灵的敏感性增强,这也可能是由于紫外线导致基因变异,破坏了原有的抗逆性,导致菌株的抗逆性下降。

大豆疫霉菌以游动孢子实现对寄主的侵染。试验中部分突变株离体条件下产孢能力丧失,但在寄

主表面依然能正常致病,如 Ps411-M2、Ps411-M7。分析其可能原因,一是其产孢能力下降,只产生了极少量的游动孢子,由于取样的局限性而未检测到,大豆疫霉菌以少量的游动孢子亦可成功侵染寄主。有研究结果表明大豆疫霉菌的致病性并不随游动孢子产孢量的减少而降低<sup>[20]</sup>;二是虽然突变菌株在离体条件下不产生游动孢子,但寄主产生的某些物质可能会诱导突变株在活体条件下产生游动孢子,从而实现侵染。

4 结论

紫外线是常用于微生物诱变育种的物理诱变剂,也用于植物病原真菌和细菌的毒性突变的诱导。测定经过紫外线照射后获得的大豆疫霉菌突变菌株,发现突变株在生物学性状和致病力等方面都发生了一定程度的变异,为研究大豆疫霉菌毒性遗传变异开辟了新的途径。测定突变株在鉴别寄主上的反应,其毒力公式发生改变,由野生型的 3c,1a,6 变为 3c,1a,6,7,由此可以看出,紫外线可能是引致疫霉菌致病性变异的因素之一。

参考文献

[1] Schmitthenner A F. *Phytophthora Rot* [M]//Sinclair J B, Backman P A. *Compendium of soybean diseases* (Third Edition). Minnesota: The American Phytopathological Society Press, 1989: 35-38.

[2] Bhat R G, Schmitthenner A F, McBlain B A. Inheritance of virulence in *Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea* [J]. *Phytopathology*, 1989, (79): 1185-1186.

[3] 郝中娜, 文景芝, 李永刚. 大豆疫霉根腐病菌单游动孢子的毒性遗传与变异 [J]. *植物病理学报*, 2003, 33 (4): 347-352. (Hao Z N, Wen J Z, Li Y G. Inheritance and variation in virulence of single zoospore of *Phytophthora sojae* [J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2003, 33 (4): 347-352.)

[4] 商鸿生, 井学金, 李振岐. 紫外线诱导小麦条锈菌毒性的突变研究 [J]. *植物病理学报*, 1994, 24 (4): 347-351. (Shang H S, Jing J X, Li Z Q. Mutation induced by ultraviolet radiation affecting virulence in *Puccinia striiformis* [J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 1994, 24 (4): 347-351.)

[5] 胡广淦, 王汝贤, 杨之为, 等. 紫外线对非致病尖孢镰刀菌的诱变作用 [J]. *西北农业大学学报*, 1996, 24 (2): 99-101. (Hu G G, Wang R X, Yang Z W, et al. Mutagenic effect of UV light on nonpathogenic *Fusarium oxysporum* [J]. *The Journal of Northwest Agricultural University*, 1996, 24 (2): 99-101.)

[6] 胡广淦, 徐敬友, 王彰明, 等. 禾谷镰刀菌营养缺陷型的诱导与特性研究 [J]. *植物病理学报*, 1994, 24 (4): 373-377. (Hu G G, Xu J Y, Wang Z M, et al. Induced auxotrophs of *Fusarium*

- graminearum and their properties[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 1994, 24(4): 373-377. )
- [7] 王美琴, 刘慧平, 张智广, 等. 番茄叶霉病菌对多菌灵抗药性的诱导及抗性菌株特性研究[J]. 植物保护, 2004, 3(5): 55-59. ( Wang M Q, Liu H P, Zhang Z G, et al. Resistance induction of *Fulvia fulva* (Cooke) Ciferri to carbendazim and bionomics of resistant-mutants[J]. Plant Protection, 2004, 3(5): 55-59. )
- [8] 王洪凯, 林福呈, 柴荣耀, 等. 稻瘟病菌温度敏感型突变体的筛选[J]. 中国水稻科学, 2004, 18(4): 357-361. ( Wang H K, Lin F C, Cai R Y, et al. Screening of temperature sensitive mutants in *magnaporthe grisea*[J]. Chinese Journal of Rice Science, 2004, 18(4): 357-361. )
- [9] 张赛群, 朱红梅, 周涵韬, 等. 紫外线对番茄青枯菌致病性变化的影响[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2004, 43(增刊): 59-62. ( Zhang S Q, Zhu H M, Zhou H T, et al. Effect of UV-ray on virulence of *Ralstonia solanacearum* for Tomato Bacterial Wilt[J]. Journal of Xiamen University (Natural Science), 2004, 43(S1): 59-62. )
- [10] 袁善奎, 周明国. 玉蜀黍赤霉(*Gibberella zeae*)对多菌灵的室内抗药突变体的诱导及其抗药性遗传分析[J]. 遗传学报, 2004, 31(4): 363-368. ( Yuan S K, Zhou M G. Induction and genetic analysis of laboratory mutants of *Gibberella zeae* resistance to carbendazim [J]. Acta Genetica Sinica, 2004, 31(4): 363-368. )
- [11] 于红梅, 左豫虎, 马丽丽. 紫外线对大豆疫霉菌生物学性状的影响[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2006, 18(6): 20-24. ( Yu H M, Zuo Y H, Ma L L. Effects of UV radiation on biological characters of *Phytophthora sojae*[J]. Journal of Heilongjiang August First Land Reclamation University, 2006, 18(6): 20-24. )
- [12] 臧忠婧, 左豫虎, 刘惕若, 等. 大豆疫霉菌的分离、鉴定及菌株致病力的测定[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2000, 12(1): 37-42. ( Zang Z J, Zuo Y H, Liu T R, et al. Study on pathogenicity, isolate method and identify of different isolations of *Phytophthora sojae*[J]. Journal of Heilongjiang August First Land Reclamation University, 2000, 12(1): 37-42. )
- [13] Schmitthenner A F, Bhat R G. Useful methods for studying *Phytophthora* in the laboratory[M]//Ohio Agricultural Research and Development Center, Special Circular, Columbus, Ohio, USA, 1994: 7-8.
- [14] 左豫虎, 臧忠婧, 刘惕若. 影响大豆疫霉菌(*Phytophthora sojae*)游动孢子产生的条件[J]. 植物病理学报, 2001, 31(3): 241-245. ( Zuo Y H, Zang Z J, Liu T R. Studies on production condition of zoospores of *Phytophthora sojae*[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2001, 31(3): 241-245. )
- [15] 郑小波. 疫霉菌及其研究技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997: 86-87. ( Zheng X B. *Phytophthora* and experiment methods. Beijing: China Agricultural Press, 1997: 86-87. )
- [16] 左豫虎, 薛春生, 韩文革, 等. 大豆疫霉菌对大豆幼苗的侵染特性[J]. 植物保护学报, 2002, 29(4): 377-378. ( Zuo Y H, Xue C S, Han W G, et al. The infections characteristics of *Phytophthora sojae* to soybean seedlings[J]. Journal of Plant Protection, 2002, 29(4): 377-378. )
- [17] 左豫虎, 侯巨梅, 康振生, 等. 大豆疫霉菌单孢分离物生物学性状的遗传变异研究[J]. 植物病理学报, 2006, 36(4): 289-295. ( Zuo Y H, Hou J M, Kang Z S, et al. Genetic variation of *Phytophthora sojae* on biological characters of single-zoospore and single-oospore cultures[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2006, 36(4): 289-295. )
- [18] 井金学, 商鸿生, 李振岐. 紫外线照射对小麦条锈菌生物学效应研究[J]. 植物病理学报, 1993, 23(4): 299-304. ( Jing J X, Shang H S, Li Z Q. The biological effects of ultraviolet ray radiation on wheat stripe rust(*Puccinia striiformis* west. ) [J]. Acta Phytopathologica Sinica, 1993, 23(4): 299-304. )
- [19] 吴向辉. 苎麻疫霉抗甲霜灵菌株的生理生化研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2004. ( Wu X H. Studies on the physiological and biochemical characteristics of metalaxyl-resistant isolates in *Phytophthora boehmeriae*[D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2004. )
- [20] 左豫虎. 大豆疫霉菌遗传特性及侵染过程研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2004: 66-76. ( Zuo Y H. Inheritance and infection process of *Phytophthora sojae*[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2004: 66-76. )
- (上接第 489 页)
- [2] Cotor C, Pintor-Toro J A, Romero L C. Isolation of a new member of the soybean kunitz-type proteinase inhibitors[J]. Plant Physiology, 1995, 107: 1015-1016.
- [3] Hilder V A, Gatehouse A M R, Sheerman S E, et al. A novel mechanism of insect resistance engineered into tobacco[J]. Nature, 1987, 330: 160-163.
- [4] 刘维志. 植物线虫学研究技术[M]. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 1995. ( Liu W Z. The technique of plant nematode research [M]. Shenyang: Liaoning Science and Technology Press, 1995. )
- [5] Fitter J. A measure of conformational entropy change during thermal protein unfolding using neutron spectroscopy[J]. Biophysical Journal, 2003, 84(6): 3924-3930.
- [6] Clyde E S. Measuring trypsin inhibitor in soy meal; suggested improvements in the standard method[J]. Cereal Chemistry, 1990, 67(3): 296-302.
- [7] Gruis D, Schulze J, Jung R. Storage protein accumulation in the absence of the vacuolar processing enzyme family of cysteine proteases[J]. Plant Cell, 2004, 16: 270-290.
- [8] Lilly C J, Urwin P E, Atkinson H J, et al. Characterization of cDNAs encoding serine proteinases from the soybean cyst nematode *Heterodera glycines*[J]. Molecular and Biochemical Parasitology, 1997, 89(2): 195-207.
- [9] Arora S K. Chemistry and Biochemistry of Legumes[M]. London: Edward Arnold, 1983: 217-227.