



吉林省大豆茎点霉叶斑病原鉴定

王梦奇¹, 白庆荣¹, 王大川², 杨丽娜¹

(1. 吉林农业大学 农学院, 吉林 长春 130118; 2. 吉林省农业技术推广总站, 吉林 长春 130033)

摘 要: 从吉林省白山市靖宇县的大豆叶片上分离到一种真菌分离物, 根据菌落形态特征、分生孢子形态特征、ITS、ACT、*tub2*、*rpb2*、TEF、LSU 序列、致病性测试结果以及上述 6 种引物的系统发育树构建分析, 将其鉴定为 *Boeremia exigua* var. *exigua*, 这是在我国首次发现该真菌感染大豆。系统发育树分析结果中, *rpb2* 和 TEF 基因在种间关系上显示了较好的区分度, 更适用于 *Boeremia* 属的鉴定及研究种间关系。

关键词: 大豆; *Boeremia exigua* var. *exigua*; 鉴定

Pathogen Identification of Soybean Leaf Spot Caused by *Boeremia exigua* var. *exigua* in Jilin Province

WANG Meng-qi¹, BAI Qing-rong¹, WANG Da-chuan², YANG Li-na¹

(1. College of Agronomy, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China; 2. Jilin Province Agricultural Technology Extension Station, Changchun 130033, China)

Abstract: The strain was identified as *Boeremia exigua* var. *exigua*, which was collected from Jingyu County of Baishan City in Jilin, based on the morphological characteristics of the colony and conidia, rDNA-ITS, partial actin gene, beta-tubulin gene, RNA polymerase II second largest subunit gene, translation elongation factor 1 alpha gene, large subunit ribosomal RNA gene, the pathogenicity to young soybean, phylogenetic tree construction and analysis of the above 6 primers. It was the first report that *Boeremia exigua* var. *exigua* infected soybean in China. In the phylogenetic tree analysis results, *rpb2* and TEF gene show a good discrimination in interspecies relationship, they are more suitable for identifying and studying intergenetic relationships of *Boeremia*.

Keywords: Soybean; *Boeremia exigua* var. *exigua*; Identification

大豆 [*Glycine max* (L.) Merri.] 是一种重要的油料作物, 内含丰富的蛋白质、维生素、矿物质等, 对人类健康和农业发展具有重要的意义。大豆生产过程中会发生各种病害, 对其产量和品质造成严重影响^[1]。目前全世界已报道的大豆病害有 70 余种^[2], 根据 2015 年对东北三省部分地区大豆病害的研究结果显示: 在苗期对大豆危害严重的真菌病害是大豆根腐病, 其次是大豆胞囊线虫病。大豆生长盛期对大豆危害较严重的真菌性病害是大豆霜霉病, 其次是大豆褐纹病和大豆灰斑病。危害较为严重的细菌性病害是大豆细菌性斑点病。危害较为严重的病毒性病害是大豆花叶病毒病。大豆收获期发病较严重的真菌性病害为大豆拟茎点霉茎枯病和大豆炭疽病。其余发生较轻的病害还包括大豆黑斑病、大豆灰星病、大豆猝倒病、大豆菌核病、大豆轮纹病、大豆立枯病、大豆荚枯病、大豆紫斑病等^[3]。

然而随着品种抗性、栽培方式以及气候条件等方面的变化, 引起大豆病害的主要病原菌种类也发生着改变, 一些新的病害种类被发现并呈现危害加

重的趋势。2016 年 6 月在吉林省靖宇县景山镇大豆田发现了一种不同于前述病害症状的叶斑病, 严重为害大豆叶片, 严重时, 病斑相互连接成片, 造成叶片穿孔, 发病率可达到 30% ~ 40% 对大豆生长造成严重威胁。因此, 本研究对该病菌进行分离鉴定, 以明确该病害的致病菌, 为后续防治奠定基础。

1 材料与方法

1.1 病害症状描述

将采集的具有典型病害症状的标本进行拍照, 并对标本的病害发病各不同时期的叶片症状表现、发病轻重等进行详细的描述。

1.2 病菌分离

以在靖宇县采集的大豆患病叶片, 取其病健交界的组织剪成 2 mm × 2 mm 若干块, 依次放入到 75% 乙醇溶液 30 s、0.1% 升汞中浸泡消毒 1 min、无菌水进行冲洗 3 次, 每次 1 min, 将表面消毒的组织块放置在滤纸片上, 待组织块吹干后将其均匀放置于 PDA (马铃薯琼脂培养基) 平板培养基上, 于 25℃ 培养, 得到分离物 DD-14。

收稿日期: 2019-01-15

基金项目: 国家自然科学基金 (31500022)。

第一作者简介: 王梦奇 (1994 -), 男, 硕士, 主要从事植物病害综合防治研究。E-mail: 392574041@qq.com。

通讯作者: 白庆荣 (1975 -), 女, 教授, 硕导, 主要从事植物病理综合防治研究。E-mail: bbbqqqrrr@163.com。

1.3 致病性测定

致病性测定采用孢子悬液喷雾法:在 OA(燕麦琼脂培养基)平板培养基纯培养 10~15 d 后,待病原菌产生分生孢子后,将其用无菌水配置成 1×10^6 个 \cdot mL⁻¹的 DD-14 孢子悬液,用消过毒的喷雾器将配置好的孢子悬液喷雾到健康植株叶片上,对照植株喷雾无菌水,套上内喷无菌水的透明塑料袋,保湿培养 3 d,7~14 d 内观察记录发病症状,接种数量不少于 10 株。从发病开始拍照并记录,对发病寄主的病组织进行再次分离纯化,比较其是否与最初分离到的病原菌一致。

1.4 分离物形态特征

将分离物分别转入 PDA 平板培养基与 OA 平板培养基,25℃ 下培养 7 d 后,观察培养基上菌落形状及色泽。产生分生孢子后制片,于显微镜下观察并记录其形态特征。

1.5 病菌分子序列分析

真菌基因组 DNA 的提取采用 CTAB 法^[4]。分别使用引物 ITS5/ITS4^[5]、ACT-512F/ACT-783R^[6]、LR7^[7]/LR0R^[8]、TUB-2Fd/TUB-4Rd^[9]、RPB2-5F/RPB2-7R^[10]和 EF1-728F/EF1-986R^[11]对 ITS、ACT、LSU、*tub2*、*rpb2* 和 TEF 基因片段进行 PCR 扩增。

PCR 产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测,产物委托上海生工公司测序。所得序列与 GenBank 数据

库中已知序列进行 Blast 比对,采用 MEGA 7.0 程序的 Maximum parsimony 法构建系统进化发育树。

2 结果与分析

2.1 病害症状

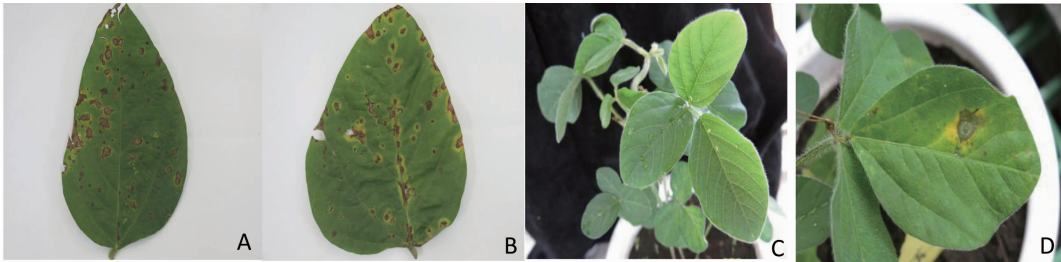
该病害危害大豆叶部,病斑褐色,受主脉限制成圆形至不规则形状,且有沿着侧脉伸展的趋势,后病斑逐步发展,病部出面密集的褐色小点,周围有明显的黄色晕圈。严重时,病斑相互连接成片,造成穿孔(图 1)。

2.2 病菌分离

选取不同病叶上各病斑进行组织分离,共得到 20 个供试菌株,所得菌落形态大致相同,3 d 后用接种钩挑取病菌边缘菌落至 PDA 平板培养基上,纯化得到分离物,选取代表性菌株 DD-14 进行后续试验。

2.3 致病性测定

将分离物 DD-14 孢子悬液接种大豆叶片,分离物均可使大豆植株发病,发病率为 100%。接种 14 d 后,接种处产生圆形小斑,病斑浅褐色,边缘红褐色,扩大后呈轮纹状,对照植株无异状。根据柯赫氏法则,对接种发病叶片进行病原再分离,所得菌株菌落形态与接种菌株一致,而对照植株上没分离到接种菌(图 1)。



A,B:大豆叶片自然发病症状;C:无菌水对照;D:接种 DD-14 发病情况。
A,B:Natural pathogenic symptoms of soybean leaves; C;Comparison of sterile water; D: Symptoms caused by inoculated with DD-14.

图 1 大豆叶片自然发病症状及分离物的致病性测定

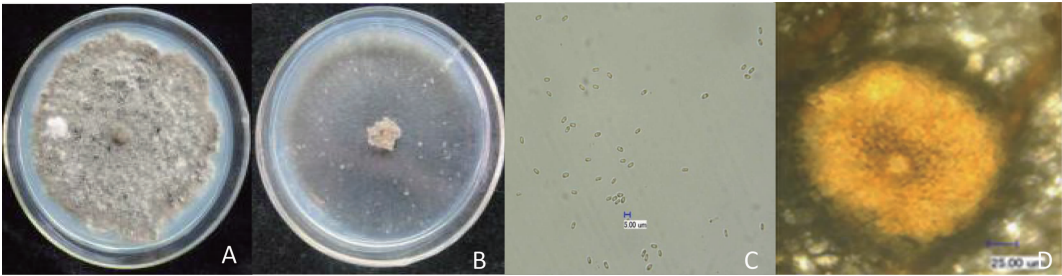
Fig. 1 Natural pathogenic symptoms of soybean leaves and pathogenicity determination of isolates

2.4 分离物形态特征

分离物 DD-14 在 PDA 菌落初为白色,后变墨绿色,最后转为黑褐色,菌落一般生长缓慢,像山丘状,边缘乳白色,不规则(图 2A)。在 OA 培养基上呈灰褐色,边缘平整规则呈墨绿色(图 2B)。OA 培养基培养约 20 d 可产生分生孢子器与分生孢子(图 2C、2D),分生孢子器球形,圆形、近圆形,直径 90~110 μ m,分生孢子卵圆形,椭圆形至长椭圆形,(1.96~5.01) μ m \times (4.9~12.54) μ m。结合 Aveskamp 对 *Boeremia* 的描述^[12],将分离物鉴定为 *Boeremia* 属。

2.5 病菌分子序列分析

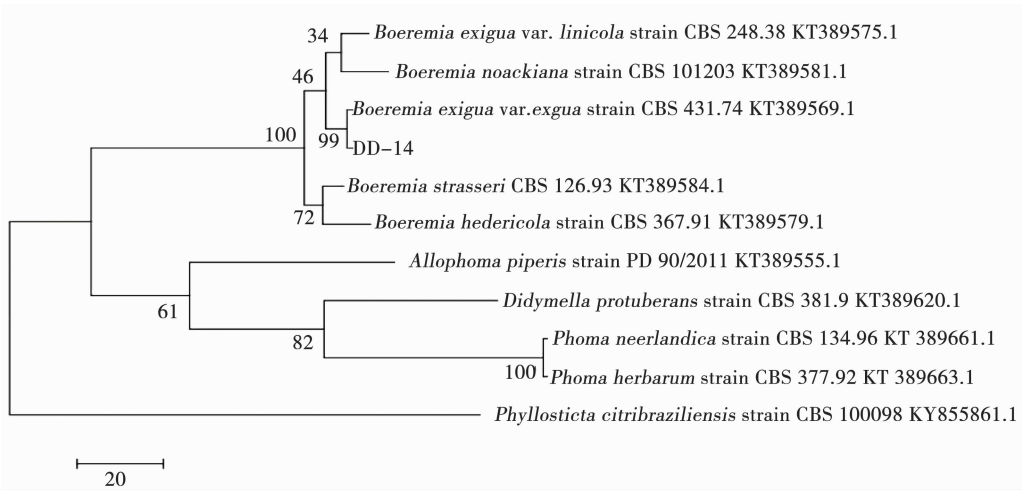
2.5.1 *rpb2* 序列分析 以 RPB2-5F/RPB2-7R 为引物,以分离物 DD-14 的 DNA 为模板进行 PCR 扩增,获得 1 064 bp 序列。在 NCBI 上进行 Blast 比对分析,分离物 *rpb2* 序列与 *Boeremia exigua* var. *exigua* (GenBank 登录号: GU371780.1) 的序列相似性为 100%^[13],系统发育分析发现分离物 DD-14 与 *Boeremia exigua* var. *exigua* 在一个分支上,且 Bootstrap 支持率为 99% (图 3),说明分离物为 *Boeremia exigua* var. *exigua*。



A: PDA 上菌落形态; B: OA 上菌落形态; C: OA 上分生孢子; D: OA 上分生孢子器。
A: Colonies cultured on PDA; B: Colonies cultured on OA; C: Conidia on OA; D: Pycnidia on OA.

图2 分离物 DD-14 形态特征

Fig. 2 Morphological characteristics of DD-14



分支上数字代表 1000 次重复的支持率; DD-14 表示本次分离的菌株。下同。
The number on the branch represents the support rate of 1000 repetitions; DD-14 indicates the strain isolated this time. The same below.

图3 基于 rpb2 基因序列的系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree based on rpb2 gene sequences

2.5.2 TEF 序列分析 以 EF1-728F/EF1-986R 为引物,以分离物 DD-14 的 DNA 为模板进行 PCR 扩增,PCR 产物测序获得 412 bp 序列。在 NCBI 上进行 Blast 比对分析,分离物 TEF 序列与 Boeremia exigua var. exigua (GenBank 登录号: KY550228. 1) 的

序列相似性为 100%^[14],系统发育分析发现分离物 DD-14 与 Boeremia exigua var. exigua 在一个分支上,且 Bootstrap 支持率为 98 % (图 4),说明分离物为 Boeremia exigua var. exigua。

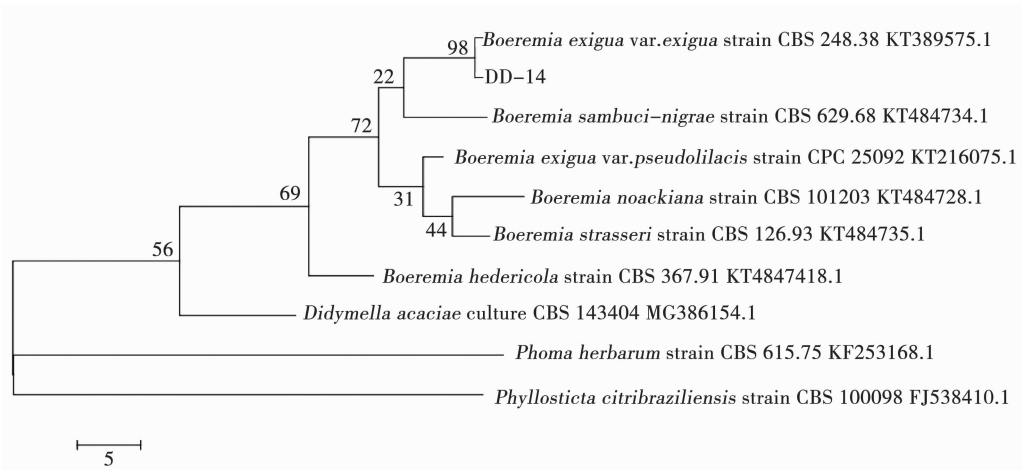


图4 基于 TEF 基因序列的系统发育树

Fig. 4 Phylogenetic tree based on TEF gene sequences

2.5.3 *tub2* 序列分析 以 TUB2Fd/TUB4Rd 为引物,以分离物 DD-14 的 DNA 为模板进行 PCR 扩增,获得 341 bp 序列。在 NCBI 上进行 Blast 比对分析,分离物 *tub2* 序列与 *Boeremia exigua* var. *exigua* (GenBank 登录号: FJ427112.1) 的序列相似性为

100%^[15],系统发育分析发现分离物 DD-14 与 *Boeremia exigua* var. *exigua* 在一个分支上,且 Bootstrap 支持率为 81% (图 5),说明分离物为 *Boeremia exigua* var. *exigua*。

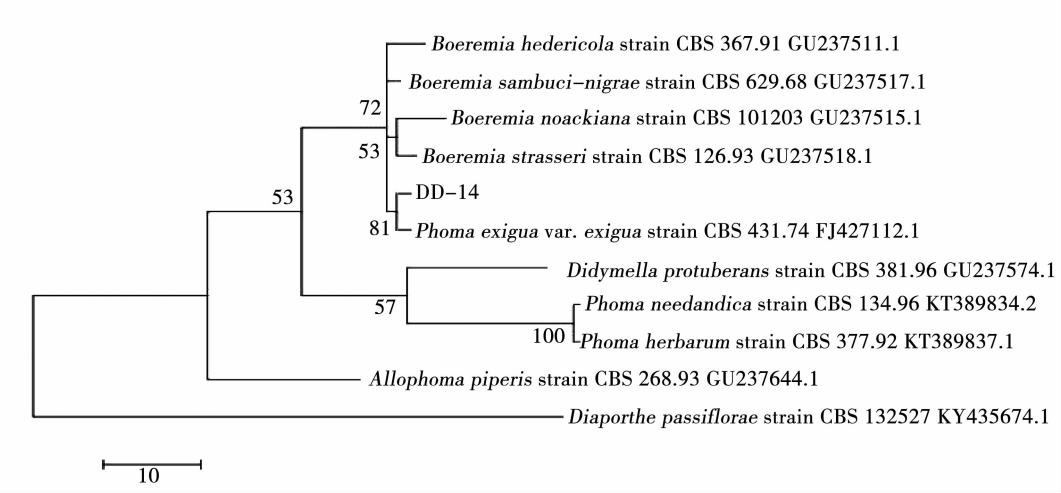


图5 基于 *tub2* 基因序列的系统发育树
Fig. 5 Phylogenetic tree of based on *tub2* gene sequences

2.5.4 LSU 序列分析 以 LR0R/LR7 为引物,以分离物 DD-14 的 DNA 为模板进行 PCR 扩增,获得1 327 bp 序列。在 NCBI 上进行 Blast 比对分析,分离物 LSU 序列与 *Boeremia exigua* var. *exigua* (EU754182.1)

序列相似性为 100%^[16],系统发育树(图 6)中分离物虽然与 *Boeremia exigua* var. *exigua* 聚在一支,且 Bootstrap 支持率为 64%,但并未与 *Boeremia* 属其它菌株区分开。

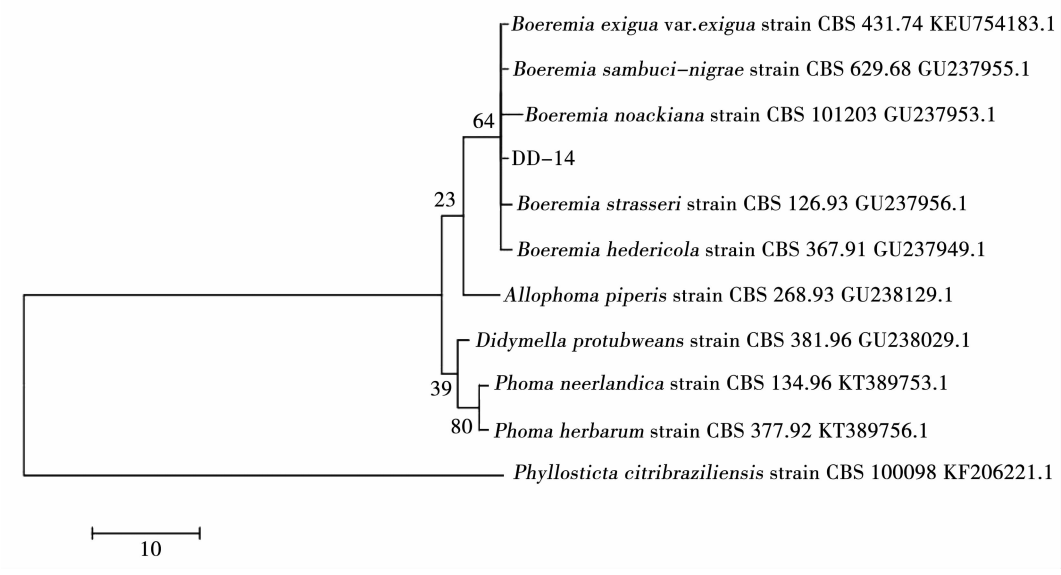


图6 基于 LSU 基因序列的系统发育树
Fig. 6 Phylogenetic tree based on LSU gene sequences

2.5.5 ITS 序列分析 采用引物 ITS4/ITS5 对分离物 DD-14 的 DNA 进行 PCR 扩增,获得 495 bp 序列。在 NCBI 上进行 Blast 比对分析,分离物 ITS 序列与 *Boeremia exigua* var. *exigua* (GenBank 登录号: MH855075.1) 的序

列相似性为 100%^[17],系统发育分析发现分离物 DD-14 与 *Boeremia exigua* var. *exigua* 在一个分支上,且 Bootstrap 支持率为 74% (图 7),说明分离物为 *Boeremia exigua* var. *exigua*。

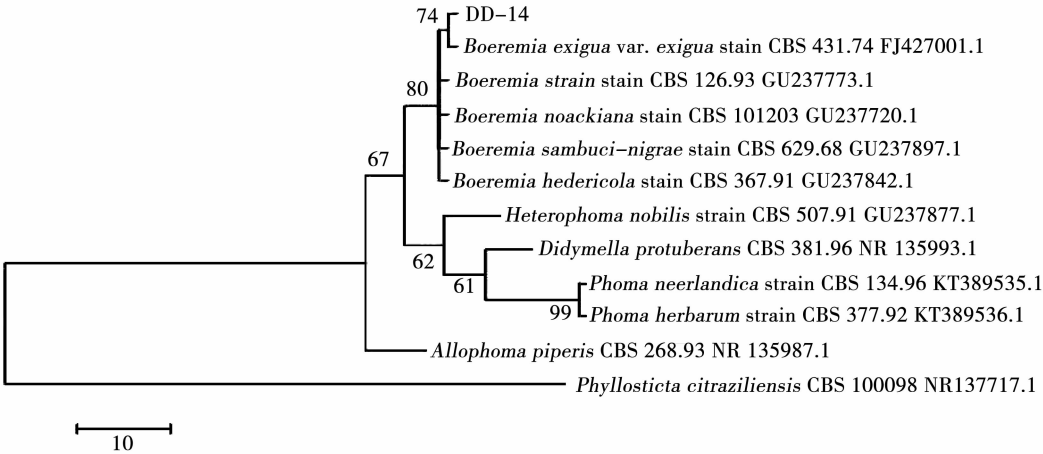


图7 基于 ITS 基因序列的系统发育树

Fig.7 Phylogenetic tree based on ITS gene sequences

2.5.6 ACT 序列分析 利用引物 ACT512F/ACT783R 对分离物 DD-14 的 DNA 进行 PCR 扩增, 获得 269 bp 序列。在 NCBI 上进行 Blast 比对分析, 分离物 ACT 序列与 *Phomaexiguavar. exigua* (GenBank 登录号: EU880846.1) 的序列相似性为

100%^[18], 系统发育树(图8)中分离物虽然与 *Phoma exigua* var. *exigua* 聚在一支, 且 Bootstrap 支持率为 50%, 但并未与 *Phomasambuci-nigrae* 区分开, 说明 ACT 基因并不能很好地对 *Boeremia* 进行种间区分。

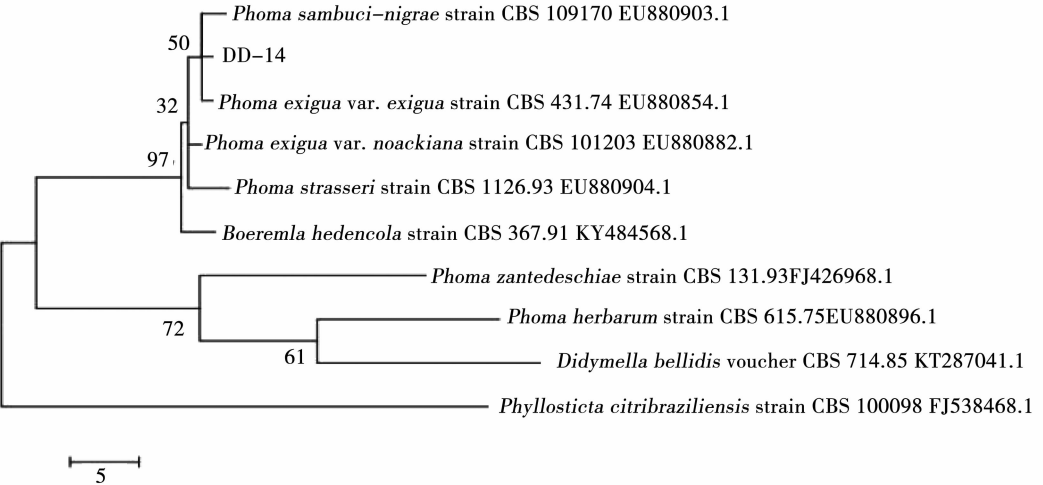


图8 基于 ACT 基因序列的系统发育树

Fig.8 Phylogenetic tree based on ACT gene sequences

根据分离物的致病性测定、形态学特征及序列分析结果, 将靖宇县受害大豆叶片样品中获得的分离物 DD-14 鉴定为 *Boeremia exigua* var. *exigua*。

3 讨论

茎点霉(*Phoma*)属隶属于子囊菌门(Ascomycota), 座囊菌纲(Dothideomycetes), 格孢腔菌目(Pleosporales)^[19]。1997 年 Boerema 等^[20]将 *Phoma* 属的无性态划分为 9 个部分: *Phoma*、*Heterospora*、*Macrospora*、*Paraphoma*、*Peyronellaea*、*Phyllostictoides*、*Pilosa*、*Plenodomus* 及 *Sclerophomella*。随着分子生物学技术在真菌分类领域的应用愈加成熟, 真菌的分类地位也随之不断地调整。2010 年 Aveskamp

等^[12]对 *Phoma* 相关及相近种的 324 株菌株进行 ITS、*tub2* 和 LSU 等多个基因序列分析, 并结合形态学建立了新属 *Boeremia*, 把部分 *Phoma* 归类到新属 *Boeremia*, 其中包括 *Phomaexigua*, 并对原有的 61 个分类单元进行了重新组合^[12]。2015 年 Chen 等^[21]将 *Boeremia* 重新调至 Didymellaceae, 沿用至今。

Boeremia exigua var. *exigua* 是多主寄生真菌, 已报道从超过 200 个属的植物上分离到该菌, 且无寄主专化现象^[22]。其可侵染多种植物进行为害, 如紫花豌豆、除虫菊、利马豆、黄秋葵、甘薯、苹果树等^[23-29], 在我国, 梁力哲^[30]从辣椒种子上也分离到了该菌。

早在 1979 年非洲埃塞俄比亚便发现 *Phoma ex-*

igua var. *exigua* 可以侵染大豆造成危害^[31],而后巴西、斐济、波兰和印度也相继进行报道,在当地对大豆产量及品质也造成了一定影响^[32-36],但此次从大豆上分离到的 *Boeremia exigua* var. *exigua* 是在国内的首次报道,该病害对大豆的种植与生产造成极大的威胁,需大豆种植者给予高度重视,及时采取有效的防治措施,以防止病害扩大蔓延,从而减少经济损失。

4 结 论

通过病害症状的系统观察,病菌的形态特征、培养形状和基于 ITS、ACT、*tub2*、*rpb2*、TEF、LSU 的多基因系统发育分析,以及致病性试验,结合国内外相关资料,本研究结果表明引起该大豆叶斑病的病原为 *Boeremia exigua* var. *exigua*。

现阶段,对 *Boeremia* 仍然知之甚少,许多物种的系统演化问题仍未解决,迫切需要一种研究传统属种及其变种的恰当方式。本研究使用了 ITS、ACT、*tub2*、*rpb2*、TEF 和 LSU 6 种引物对病原菌 DNA 进行扩增并进行了系统发育分析,其中 *rpb2* 和 TEF 基因在种间关系上显示出了比 ITS、ACT、*tub2* 和 LSU 更好的区分度,非常适合用于 *Boeremia* 的鉴定及研究其属间关系。

参考文献

[1] 刘志勇. 大豆种子主要寄藏真菌及其分布[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2012. (Liu Z Y. The main genraand distribution of seed-borne[D]. Harbin:Northeast Agricultural University, 2012.)

[2] 马淑梅, 丁俊杰, 顾鑫, 等. 黑龙江省大豆主要病害发生危害调查[J]. 黑龙江农业科学, 2005(6):48-52. (Ma S M, Ding J J, Gu X, et al. Survey on the occurrence and damage in main disease of soybean in Heilongjiang province[J]. Heilongjiang Agricultural Science, 2005(6):48-52.)

[3] 李沐慧, 王媛媛, 陈井生, 等. 2015 年东北地区大豆田病害种类与危害程度调查研究[J]. 大豆科学, 2016, 35(4):643-648. (Li M H, Wang Y Y, Chen J S, et al. Incidence and disease index of soybean diseases in the Northeast of China in 2015 [J]. Soybean Science, 2016, 35(4):643-648.)

[4] 李绍兰, 周斌, 杨丽源, 等. 真菌 DNA 提取方法的改良[J]. 云南大学学报:自然科学版, 2002, 24(6):471-472. (Li S L, Zhou B, Yang L Y, et al. An improved method for extracting fungal DNA[J]. Journal of Yunnan University: Natural Sciences Edition, 2002, 24(6):471-472.)

[5] White T J, Bruns T, Lee S, et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics[M]// Innis M A, Gelfand D H, Sninsky J J, et al. Pcr Protocols: A guide to methods and applications. California: Academic Press, 1990:315-322.

[6] Carbone I, Kohn L M. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes[J]. Mycologia, 1999:

553-556.

[7] Vilgalys R, Hester M. Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species[J]. Journal of Bacteriology, 1990, 172(8):4238-4246.

[8] Rehner S A, Samuels G J. Taxonomy and phylogeny of *Gliocladium*, analysed from nuclear large subunit ribosomal DNA sequences [J]. Mycological Research, 1994, 98(6):625-634.

[9] Groenewald J Z, Nakashima C, Nishikawa J, et al. Species concepts in *Cercospora*: Spotting the weeds among the roses [J]. Studies in Mycology, 2013, 75(1):115-170.

[10] Liu Y J, Whelen S, Hall B D. Phylogenetic relationships among ascomycetes: Evidence from an RNA polymerse II subunit [J]. Molecular Biology & Evolution, 1999, 16(12):1799.

[11] Carbone I, Kohn L M. A method for designing primer sets for speciation studies in Filamentous Ascomycetes [J]. Mycologia, 1999, 91(3):553-556.

[12] Aveskamp M M, de Gruyter J, Woudenberg J H, et al. Highlights of the *Didymellaceae*: A polyphasic approach to characterise *Phoma* and related pleosporalean genera [J]. Studies in Mycology, 2010, 65(65):1-60.

[13] Schoch C L, Crous P W, Groenewald J Z, et al. A class-wide phylogenetic assessment of *Dothideomycetes* [J]. Studies in Mycology, 2009, 64(64):1-15.

[14] Michel V V, Daepf M, Woudenberg J H C, et al. First report of *Boeremia exigua* var. *exigua* causing stem and leaf spot on common speedwell in Switzerland [J]. Plant Disease, 2018, 102(2):440.

[15] Aveskamp M M, Verkley G J M, Gruyter J D, et al. DNA phylogeny reveals polyphyly of *Phoma* Section *Peyronellaea* and multiple Taxonomic Novelties [J]. Mycologia, 2009, 101(3):363-382.

[16] de G J, Aveskamp M M, Woudenberg J H, et al. Molecular phylogeny of *Phoma* and allied anamorph genera: Towards a reclassification of the *Phoma* complex [J]. Mycological Research, 2009, 113(4):508-519.

[17] Vu D, Groenewald M, Vries M D, et al. Large-scale generation and analysis of filamentous fungal DNA barcodes boosts coverage for kingdom Fungi and reveals thresholds for fungal species and higher taxon delimitation [J]. Studies in Mycology, 2019, 92:135-154.

[18] Aveskamp M M, Woudenberg J H C, Gruyter J D, et al. Development of taxon-specific sequence characterized amplified region (SCAR) markers based on actin sequences and DNA amplification fingerprinting (DAF): A case study in the *Phomaexigua* species complex [J]. Molecular Plant Pathology, 2010, 10(3):403-414.

[19] Kirk P, Cannon P, Minter D, et al. Dictionary of the fungi [J]. Commonwealth Mycological Institute, 2008:17-19.

[20] Boerema G H, Degruyter J, Noordeloos M E. Contributions towards a monograph of *Phoma* (Coelomycetes)—IV. Section *Heterospora*: Taxa with large sized conidial dimorphs, *in vivo* sometimes as *Stagonosporopsis* synanamorphs [J]. Persoonia - Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi, 1997, 16(3):335-371.

[21] Chen Q, Jiang J R, Zhang G Z, et al. Resolving the *Phoma* enigma [J]. Studies in Mycology, 2015, 82:137-217.

[22] Marcinkowska J, Roze-Katuzny I, Katuzny W. Pathogenicity of some *Phomaexigua* var. *exigua* isolates [J]. Phytopathologia Polonica, 2005(38):35-44. (下转第 454 页)

[5] 齐美园,张青,历卓,等. 花生豆腐的生产工艺及其质构特性研究[J]. 农产品加工, 2016(19): 25-28. (Qi M Y, Zhang Q, Li Z, et al. Technology and texture properties of peanut tofu[J]. Farm Products Processing, 2016(19): 25-28.)

[6] 史双枝,王新刚,杨艳彬,等. 花生豆腐的研制[J]. 现代食品科技,2008(5): 474-475, 468. (Shi S Z, Wang X G, Yang Y B, et al. Preparation of peanut tofu[J]. Modern Food Science and Technology, 2008(5): 474-475, 468.)

[7] 吴文龙,杨萍,杜永恒. 烘烤花生内酯豆腐的研制[J]. 食品科技,2005(2):17-19. (Wu W L, Yang P, Du Y H. Preparation of toast earthnut for producing glucono delta lactone bean curd[J]. Food Science and Technology, 2005(2):17-19.)

[8] 李博,籍保平. 葡萄糖酸内酯豆腐生产过程中微生物的变化及豆腐中主要腐败菌的鉴定[J]. 食品科学, 2006(5): 77-82. (Li B, Ji B P. Isolation and identification of major purified bacteria in glucono-delta-lactone(GDL) tofu processing[J]. Food Science, 2006(5): 77-82.)

[9] 杨剑婷,李孟良,徐晴,等. 大豆品种对卤水豆腐和内酯豆腐加工特性的影响[J]. 现代食品科技, 2016, 32(7): 145-150, 213. (Yang J T, Li M L, Xu Q, et al. Effect of soybean cultivars on the processing characteristics of brine tofu and lactone tofu[J]. Modern Food Science and Technology, 2016, 32(7): 145-150, 213.)

[10] 李湘利,刘静,胡彦营,等. 红香椿内酯豆腐生产工艺的研究[J]. 大豆科学,2010,29(6):1038-1042. (Li X L, Liu J, Hu Y Y, et al. Research on the production technology of red toona sinensis lactone tofu [J]. Soybean Science, 2010, 29(6): 1038-1042.)

[11] 张继武,程唐宁. 山药内酯豆腐的研制[J]. 食品与发酵工业, 2004,30(7): 26-29. (Zhang J W, Cheng T N. Study on dioscorea batatas for producing glucono-delta-lactone (GDL) bean curd[J]. Food and Fermentation Industries, 2004, 30(7): 26-29.)

[12] 郭丽萍,王凤舞,李永库. 绿茶内酯豆腐的研制[J]. 食品研究与开发,2014,35(19):21-24. (Guo L P, Wang F W, Li Y K. Preparation of green tea for producing lactone tofu[J]. Food Research and Development,2014,35(19):21-24.)

[13] 程秀玮,魏玮. 薏米内酯豆腐的研制及其质构分析[J]. 农产品加工(学刊),2014(11):18-21. (Cheng X W, Wei W. Coixseed lactone bean curd and text profile analysis[J]. Academic Periodical of Farm Products Processing, 2014(11):18-21.)

[14] 江程明. 内酯豆腐和千叶豆腐生产技术研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2013. (Jiang C M. Study on production technology of lactone tofu and chiba tofu[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2013.)

[15] 张国治,白歌,王伟玲,等. 复合凝固剂对花生豆腐品质的影响[J]. 河南工业大学学报(自然科学版),2013,34(5):20-23. (Zhang G Z, Bai G, Wang W L, et al. Influences of compound coagulants on quality of peanut tofu[J]. Journal of Henan University of Technology (Natural Science Edition), 2013, 34(5): 20-23.)

[16] 李杨,关海宁,马雪,等. QDA(定量描述分析)在方便面感官风味特性中的应用研究[J]. 中国调味品,2018,43(4):90-92. (Li Y, Guan H N, Ma X, et al. Study on QDA (quantitative description analysis) of sensory flavor characteristics of instant noodles[J]. China Condiment, 2018, 43(4):90-92.)

(上接第 433 页)

[23] Zhao Q, Xie X W, Shi Y X, et al. Boeremia leaf and fruit spot of okra caused by Boeremia exigua in China[J]. Canadian Journal of Plant Pathology, 2016, 38(3):395-399.

[24] Gai Y P, Ma H J, Chen X L, et al. Boeremia tuber rot of sweet potato caused by Boeremia exigua, a new post-harvest storage disease in China[J]. Canadian Journal of Plant Pathology, 2016, 38(2):243-249.

[25] Thomidis T, Zambounis A, Prodromou I. Occurrence of a postharvest fruit rot disease of apples caused by Boeremia exigua var. exigua in Ptolemaida Kozani, Greece[J]. Plant Disease, 2016, 100(11):2333.

[26] Samouel S, Iacovides T, Evangelides S, et al. First report of Boeremia exigua var. exigua causing stem rot of Origanum dubium in Cyprus[J]. Plant Disease, 2015,100(2):529.

[27] Gorny A M, Kikkert J R, Dunn A R, et al. Tan spot of lima bean caused by Boeremia exigua var. exigua in New York State, USA [J]. Canadian Journal of Plant Pathology, 2015, 37(4): 523-528.

[28] Li Y P, You M P, Finnegan P M, et al. First report of black spot caused by Boeremia exigua var. exigua on field pea in Australia [J]. Plant Disease, 2012, 96(1):148-148.

[29] Jones S J, Hay F S, Harrington T C, et al. First report of boeremia blight caused by Boeremia exigua var. exigua on pyrethrum in Australia[J]. Plant Disease, 2011, 95(11):1478-1478.

[30] 梁力哲. 多变茎点菌的一个新变种[J]. 微生物学报,1991(2): 79-81. (Liang L Z. A new variety of Phomaexigua[J]. Acta micro Biologica Sinica, 1991(2): 79-81.)

[31] Mengistu A, Sinclair J B. Seedborne micro-organisms of Ethiopian-grown soybean and chickpea seeds[J]. Plant Disease Reporter, 1979, 63(7): 616-619.

[32] Mendes M A S, daSilva V L, Dianese J C, et al. Fungos em plantas no Brasil[J]. Brasillia:Embrapa,1998: 555.

[33] Dingley J M, Fullerton R A, Mckenzie E H C. Survey of agricultural pests and diseases. Records of fungi, bacteria, algae and angiosperms pathogenic on plants in Cook Islands, Fiji, Kuribati, Niue, Tonga, Tuvalu and Western Samoa[J]. Technical Report, 1981,2.

[34] Rajak R, Rai M. Species of Phoma from legumes [J]. Indian Phytopathol, 1982,35: 609-612.

[35] Alaka P, Rao V G. Compendium of fungi on legumes from India [J]. Scientific Publishers (India), 1998.

[36] Mutenko W, Majewski T, Ruszkiewicz-Michalska M, et al. A preliminary checklist of micromycetes in Poland[M]// Institute of Botany, Polish Academy of Sciences, 2008,9:752.