



# 大豆菌核病菌丝侵染茎叶过程扫描电镜观察研究

孙明明<sup>1,2</sup>, 吕世翔<sup>2</sup>, 李智媛<sup>2</sup>, 王 萍<sup>3</sup>, 王 冠<sup>2</sup>, 赵 雪<sup>1</sup>, 韩英鹏<sup>1</sup>, 李文滨<sup>1</sup>

(1. 东北农业大学 农学院/大豆生物学教育部重点实验室/农业部东北大豆生物学与遗传育种重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150030; 2. 黑龙江省农业科学院 黑龙江农业科技杂志社, 黑龙江 哈尔滨 150086; 3. 淮阴工学院 高教所, 江苏 淮安 223001)

**摘 要:**为充分了解大豆菌核病菌丝侵染过程,促进大豆菌核病耐性品种筛选及致病机理研究,本研究以感病品种合丰 25 和耐病品种 Mapple Arrow 为材料,对离体叶片和茎秆菌丝接种后,采用扫描电镜对菌丝特性、茎叶组织变化、侵染特征等进行系统观察。结果表明:不同耐性品种菌丝侵染速度及组织病斑大小表现出明显差异。接种后菌丝迅速进行分枝繁殖,分枝的尖端形成椭圆形膨大,类似“侵染胞”的结构,接种后 5 d 菌丝缺乏营养来源,生长活力下降,组织干瘪,侵染能力降低。菌丝接种后第 3 天,感病品种合丰 25,叶片表层物质几乎全部消失,叶肉细胞出现明显皱缩,耐病品种 Mapple Arrow 叶片表层物质基本完整保留,除个别细胞出现凹陷皱缩,其余细胞形状仍较为完好;茎秆在第 3 天表现与叶片相似,感病品种表层物质消失,耐病品种仍基本保留。叶片和茎秆侵染过程中,气孔为直接侵入通道,菌丝也可以侵入组织细胞内部。

**关键词:**大豆;菌核病;菌丝;侵染;扫描电镜

## Study of Scanning Electron Microscopic Observation on the Mycelium Infection Process of Soybean *Sclerotinia sclerotirum* on Leaf and Stem

SUN Ming-ming<sup>1,2</sup>, LYU Shi-xiang<sup>2</sup>, LI Zhi-yuan<sup>2</sup>, WANG Ping<sup>3</sup>, WANG Guan<sup>2</sup>, ZHAO Xue<sup>1</sup>, HAN Ying-peng<sup>1</sup>, LI Wen-bin<sup>1</sup>

(1. Agronomy College/Key Laboratory of Soybean Biology in Chinese Ministry of Education/Key Laboratory of Soybean Biology and Breeding(Genetics) of Chinese Agriculture Ministry, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China; 2. Heilongjiang Journal Press of Agricultural Science and Technology, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China; 3. Institute of High Education, Huaiyin Institute of Technology, Huai'an 223003, China)

**Abstract:** In order to fully understand the mycelium infection process of soybean *Sclerotinia sclerotirum* and promote the selection of resistant varieties and the pathogenicity mechanism study, this study used the susceptible variety Hefeng 25 and the partial resistant variety Mapple Arrow as materials to systematically observe the characteristics of mycelium, the changes of stem and leaf tissue, and the infection characteristics after inoculating mycelium on the leaves and stem *in vitro*. The results showed that there were significant differences in the infection speed of mycelium and the size of tissue lesion among different resistant varieties. After inoculation, the mycelium produced branching and propagation rapidly, the tip shape of the branch grew elliptic and expanded, similar to the structure of ‘infection cell’. Five days after inoculation, the mycelium lacked nutrition source, the growth vigor decreased, the tissue dried up, and the infection ability decreased. On the third day after inoculation of mycelium, Hefeng 25, a susceptible variety, the surface materials of leaves almost disappeared, and the mesophyll cells shrunked obviously. The surface materials of the leaves of Mapple Arrow, a partial resistant variety, were basically intact, except for some cells which were sunken and shrunk, the shape of the rest cells were still relatively intact. On the third day, the observation performance of culms was similar to that of leaves, the surface materials of susceptible varieties disappeared, and that of resistant varieties was still basically reserved. In the process of leaf and stem infection, stomata invade the passage directly, and the mycelium could also invade the inside of tissue cells.

**Keywords:** Soybean; *Sclerotinia sclerotirum*; Mycelium; Infection; SEM

大豆菌核病是由核盘菌侵染产生的一种大豆真菌病害,因其在病害发展过程中茎秆、叶片等部位出现大面积白色腐烂症状又称白腐病,在世界范围内均有大面积发生,受环境影响较大,在气候适宜的特殊年份容易产生大爆发,造成大面积减产或

绝产<sup>[1]</sup>。核盘菌主要通过两种方式侵染大豆,一种是菌丝直接侵入,一种是通过子囊盘弹射子囊孢子侵染<sup>[2]</sup>。由于大豆菌核病菌丝侵染过程特征明显,可以观察到明显的白色菌丝,初侵染的茎秆和叶片出现褪绿及腐烂,因此研究人员在进行大豆菌核病

收稿日期:2019-06-25

基金项目:国家科技重大专项和重点研发项目(课题)省级资助项目(GX17B002);国家自然科学基金面上项目(31671717);黑龙江省杰出青年基金(JC2018007);黑龙江省博士后项目(LBH-Q17015);国家重点研发计划(2016YFD0100304)。

第一作者简介:孙明明(1983-),女,博士,农艺师,主要从事大豆遗传育种研究。E-mail:soybeansmm1@126.com。

通讯作者:李文滨(1958-),男,教授,博导,主要从事大豆遗传育种研究。E-mail:wenbinli@neau.edu.cn;

韩英鹏(1978-),男,教授,博导,主要从事大豆遗传育种研究。E-mail:hyp234286@aliyun.com。

侵染研究时多采用此方式<sup>[3-5]</sup>。对于菌丝侵染的具体过程,吴纯仁等<sup>[6]</sup>研究表明,菌丝在侵染植物组织前,首先会在顶端膨大形成附着胞或菌丝聚集形成复合侵染垫两种结构,以吸附或侵入组织结构。杨谦等<sup>[7]</sup>在研究中观察到核盘菌在侵染叶片的过程中会先形成附着器然后菌丝尖端生长出侵染钉以穿过叶片的蜡质层、角质层等结构,进入细胞内部,产生侵染。然而针对大豆菌核病菌丝侵染过程的系统观察研究还较为缺乏。这在一定程度上限制了对大豆菌核病致病机制、耐病资源筛选及新品种选育的进行。

扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)是利用电子信号成像原理来对样品的表面形态特征、结构及成分等进行观察的现代细胞生物学影像工具,通过对微观区域的清晰展示为进一步功能分析提供基础,因此 SEM 在材料学、物理学、化学、生物学、考古学、地矿学、刑侦学、微电子工业等领域有广泛的应用。生物学领域,研究人员利用 SEM 对昆虫触角<sup>[8-11]</sup>、幼虫发育形态<sup>[12-13]</sup>等进行了细致的观察研究;植物学领域,研究人员利用 SEM 已经对多个种属的花粉结构<sup>[14]</sup>、种子形态<sup>[15]</sup>、愈伤组织形成<sup>[16]</sup>进行了观察。目前在植物病害研究中,孙进华等<sup>[17]</sup>采用 SEM 观察霜疫霉侵染后不同时间荔枝果皮的结构变化,分析了不同品种的抗性差异表现。杨谦等<sup>[7]</sup>对核盘菌在大豆叶片上的治病过程进行了初步的电镜观察。然而对于其它病害侵染过程的 SEM 系统观察鲜有报道。

大豆菌核病属于真菌病害,对其侵染过程中菌丝及组织变化的 SEM 观察对于耐性品种筛选、耐病机制研究等具有重要意义,因此本研究采用 SEM 对大豆菌核病不同耐感性品种菌丝侵染茎秆及叶片过程中菌丝特性、茎叶组织变化、侵染特征等进行了系统的观察研究,旨在为大豆菌核病鉴定、耐病品种选育及耐病机制研究奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 大豆品种及病原菌 以感病品种合丰 25 和耐大豆菌核病品种 Mapple Arrow 为供试材料,菌核病病原菌为实验室 PDA 培养基保存,均来自于东北农业大学大豆研究所。

1.1.2 仪器设备 日立超高分辨场发射扫描电子显微镜 Regulus8100, ES-2030 (HITACHI) 型冷冻干燥仪,mc1000 型离子溅射镀膜仪。

1.1.3 试剂 戊二醛、乙醇、叔丁醇等试剂均为国产分析醇。

### 1.2 方法

1.2.1 叶片接种方法 参照 Kull 等<sup>[18]</sup>的方法,略有改动,取 R2 期盆栽大豆顶端的第 2 片完全展开三出复叶中间叶片,清水冲洗后放在铺有 8 层完全湿润纱布的 30 cm × 40 cm 塑料方盒中,取培养 3 d 直径 10 mm 的 PDA 边缘菌碟,放置在叶片主叶脉与叶边缘之间,轻压使菌碟与叶片贴合,纯净水喷雾后覆盖塑料薄膜保湿。然后放置在 22 ± 2 °C, 12 h 光/12 h 暗条件下,每天喷雾保湿,以叶片可见明水为准,每个品种接种 10 片叶片,3 次重复。

1.2.2 茎秆接种方法 参照 Kull 等<sup>[18]</sup>的方法,略有改动,V5 期盆栽大豆,自第 4 节上方 0.5 cm 处切除主茎,去掉顶端复叶,将茎段放置在铺有 8 层湿润纱布的 30 cm × 40 cm 塑料方盒中,下方切口处接种培养 3 d 直径 10 mm 的 PDA 边缘菌碟,22 ± 2 °C, 12 h 光/12 h 暗条件下喷雾保湿培养,每天喷雾保湿,以茎秆可见明水为准,每个品种接种 10 个茎秆,3 次重复。

#### 1.2.3 电镜样品处理方法

(1)取材及固定:接种后 3,4,5 d 开始将叶片样品用锋利的双面刀片切成 2 mm × 5 mm 的小条,茎样品沿切面切成厚度 1 mm 的圆环,分别加入 2.5% pH6.8 戊二醛并置于 4 °C 冰箱中固定。

(2)冲洗:用 0.1 mol·L<sup>-1</sup> pH6.8 磷酸缓冲液冲洗 3 次,每次 10 min。

(3)脱水:分别用 30%、50%、70%、80%、90% 乙醇进行脱水,每次 15 min,然后用 100% 乙醇脱水 3 次,每次 10 min。

(4)置换:依次用 50%、70%、90%、100% 乙醇:叔丁醇 = (1:1) 及叔丁醇各置换 1 次,每次 10 min。

(5)干燥:ES-2030 (HITACHI) 冷冻干燥仪对样品进行干燥。

(6)粘样:将样品观察面向上粘在扫描电镜样品台上。

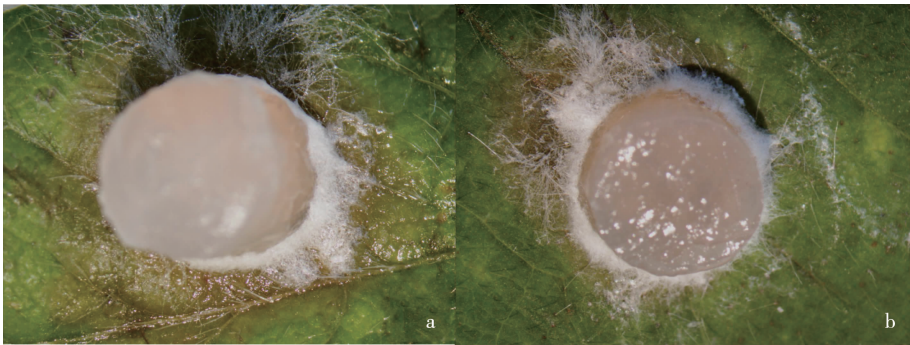
(7)镀膜:用 mc1000 型离子溅射镀膜仪在样品表面镀上一层 1 500 nm 厚的金膜。

(8)将处理好的样品放入样品试剂盒中待检。

## 2 结果与分析

### 2.1 接种大豆菌核病菌丝后叶片及茎秆的发病情况

2.1.1 叶片发病情况 菌丝接种后 3 d,接种叶片均产生明显发病症状,感病品种合丰 25 (图 1a) 和耐病品种 Mapple Arrow (图 1b) 均产生明显发病症状,可以用于扫描电镜观察。



a:合丰 25; b: Maple Arrow。下同。  
a:Hefeng 25; b: Maple Arrow. The same below.

图 1 接种大豆菌核病 3 d 叶片发病情况

Fig. 1 The leaf symptoms of soybean inoculated with *Sclerotinia sclerotiorum* for 3 days

2. 1. 2 茎秆发病情况 茎秆接种菌丝后 3 d 可见明显发病症状(图 2),感病品种合丰 25 菌丝量及扩展速度均快于耐病品种 Maple Arrow, 满足扫描电镜观察要求。

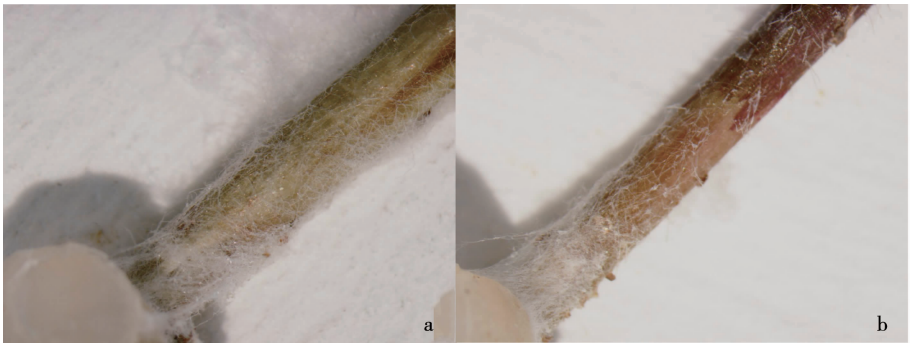


图 2 接种大豆菌核病 3 d 茎秆发病情况

Fig. 2 The stem symptoms of soybean inoculated with *Sclerotinia sclerotiorum* for 3 days

2. 2 接种大豆菌核病后的菌丝生长情况

2. 2. 1 叶片和茎秆菌丝生长情况 接种大豆菌核病原菌后 3 d,接种菌碟周围叶片和茎秆表面被大量菌丝覆盖,菌丝迅速产生分枝进行繁殖(图 3)。对菌丝进一步观察可以发现,菌丝分枝的尖端形成长椭圆形膨大,类似“侵染胞”的结构,不断延伸扩

展以便扩展和侵染(图 4)。之后菌丝继续生长并不断扩大侵染面积,接种后 5 d 可见,菌丝大量聚集(图 5A),由于叶片和茎秆已经严重腐烂,菌丝缺乏营养来源,生长活力下降,组织干瘪(图 5B),侵染能力较弱。

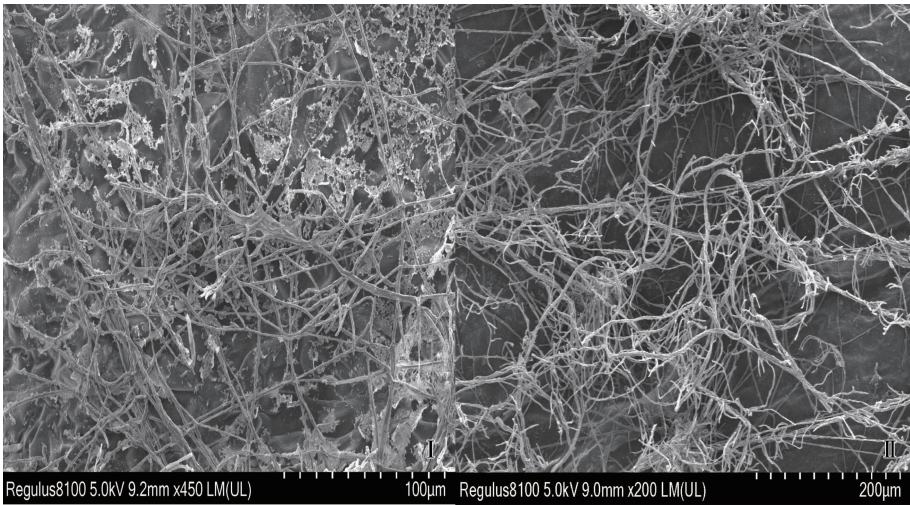


图 3 大豆菌核病接种 3 d 叶片 ( I ) 和茎秆 ( II ) 表面菌丝情况

Fig. 3 Mycelial growth on the leaves ( I ) and stems ( II ) surface after inoculated with soybean *Sclerotinia sclerotiorum* for 3 days



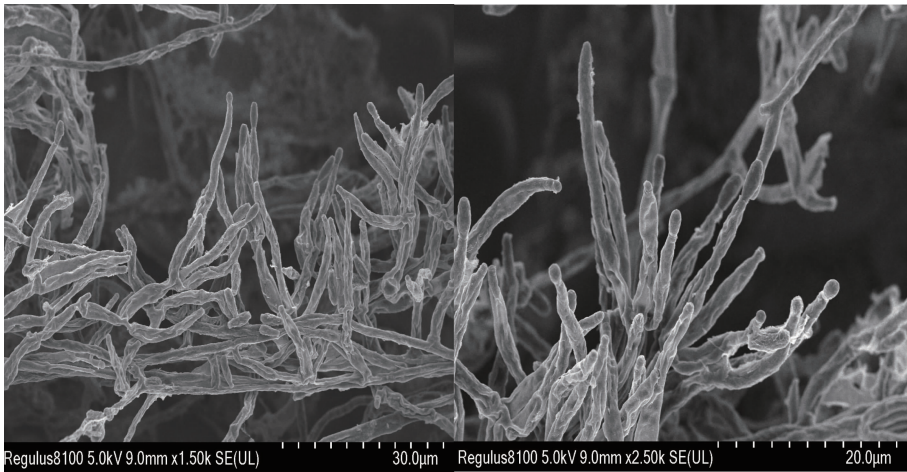


图 4 大豆菌核病接种 3 d 菌丝生长形态

Fig. 4 Mycelial growth morphology of soybean *Sclerotinia sclerotiorum* inoculated for 3 days

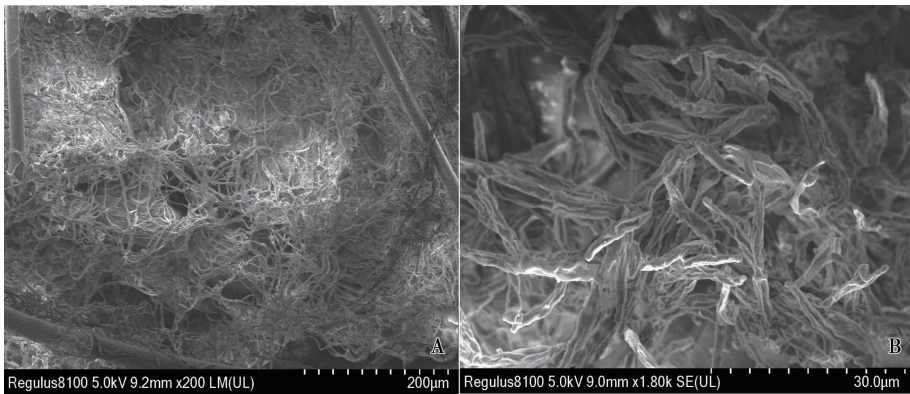


图 5 大豆菌核病接种 5 d 菌丝生长形态

Fig. 5 Mycelial growth morphology of soybean *Sclerotinia sclerotiorum* inoculated for 5 days

2.2.2 不同耐性品种菌丝生长情况 不同耐性品种比较而言,感病品种合丰 25 在接种后菌丝生长速度较快,菌碟周围叶片组织被菌丝覆盖(图 6a),耐病品种 Mapple Arrow 则相对较慢,相同接种天数菌

丝扩展面积及厚度均低于合丰 25(图 6b);茎秆在接接种后呈现出相同的表现,菌丝在合丰 25 茎秆表面生长速度快于 Mapple Arrow。

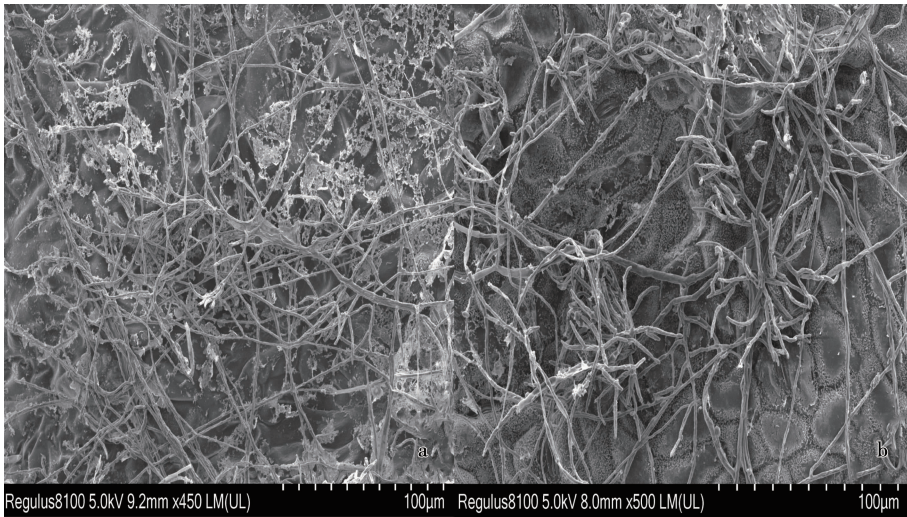


图 6 接种大豆菌核病 3 d 叶片菌丝生长情况

Fig. 6 Mycelial growth on the leaves after inoculated with soybean *Sclerotinia sclerotiorum* for 3 days



2.3 接种大豆菌核病后不同品种的组织变化

2.3.1 叶片组织变化 接种第3天,感病品种合丰25,叶片表层物质几乎全部消失,叶肉细胞出现明显皱缩(图7a),抗病品种 Mapple Arrow 叶片表层物质基本完整保留,除个别细胞出现凹陷皱缩为,其余细胞形状仍较为完好(图7b)。随着菌丝逐渐覆盖

叶片,叶片褪绿腐烂,合丰25 腐烂速度快于 Mapple Arrow。表明菌丝对合丰25 表层物质破坏程度较大,而抗病材料的叶片表层结构对菌丝侵染具有一定的防御能力,因此相同侵染条件下,发病程度较轻。

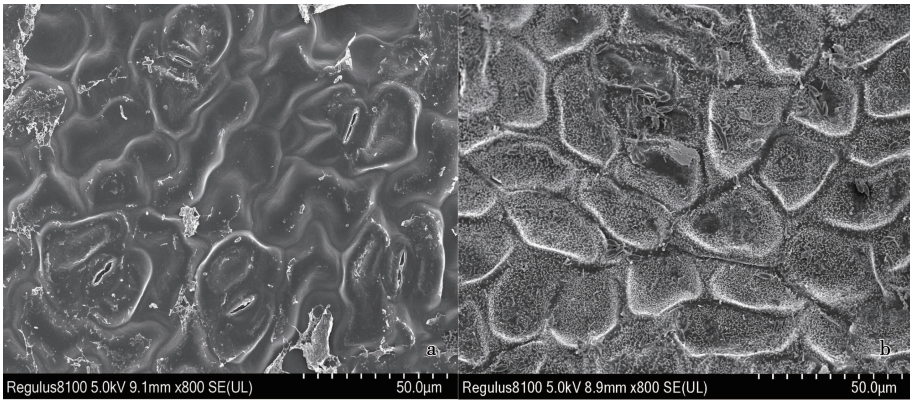


图7 大豆菌核病接种3 d 叶片组织变化  
Fig.7 Changes of leaves tissue after inoculated with soybean *Sclerotinia sclerotiorum* for 3 days

2.3.2 茎秆组织变化 茎秆表层变化与叶片相似,在接种后第3天,合丰25 茎秆表层物质全部消失(图8a),Mapple Arrow 部分保留(图8b),可见明显的表层物质。之后随着菌丝不断生长侵染茎秆内

部,病斑面积不断扩大,合丰25 的发病速度快于 Mapple Arrow。可见抗病品种的茎秆生理结构决定了它对菌丝侵染的防御能力,与感病品种相比延缓了病害发生的速度。

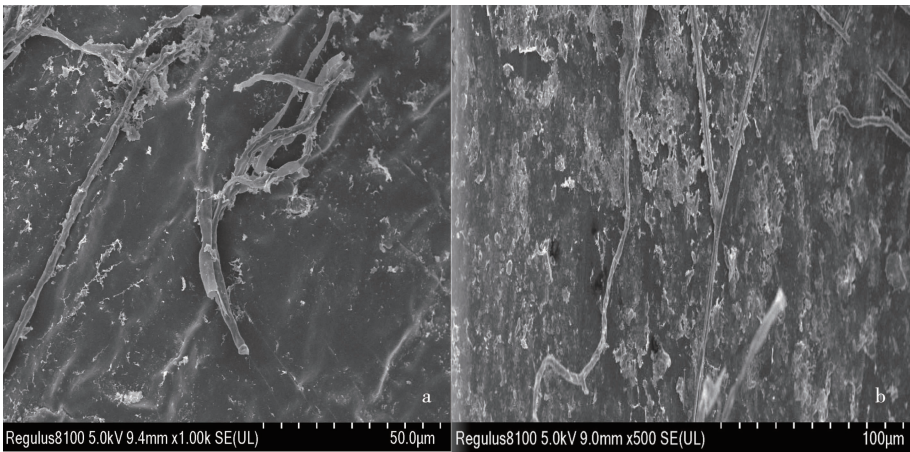


图8 大豆菌核病接种3 d 茎秆表皮组织变化  
Fig.8 Changes of stem surface after inoculated with soybean *Sclerotinia sclerotiorum* for 3 days

2.4 大豆菌核病菌丝侵染途径

2.4.1 叶片侵染 叶片在接种大豆菌核病后,菌丝旺盛繁殖,叶片表层蜡质降解后菌丝侵入叶片组织,感病品种合丰25 叶肉组织及气孔都观察到菌丝

侵入生长,菌丝通过气孔侵入内部尤为明显(图9i);抗病品种 Mapple Arrow 未见明显的气孔侵入,菌丝直接侵入叶片较为典型(图9ii)。叶片侵染过程中,直接从伤口、气孔等开放通道入侵更易发病。



i:气孔;ii:叶肉。  
i:Stoma; ii:Mesophyll.

图9 大豆菌核病叶片菌丝侵入途径

Fig.9 Infection pathway of soybean *Sclerotinia* mycelium on leaves

2.4.2 茎秆侵染 如图10所示,在气孔中可见明显的菌丝聚集生长,两个品种的观察过程中都看到

明显的气孔侵入现象,菌丝将茎秆表层物质分解后也可以直接侵入组织内部造成侵染。

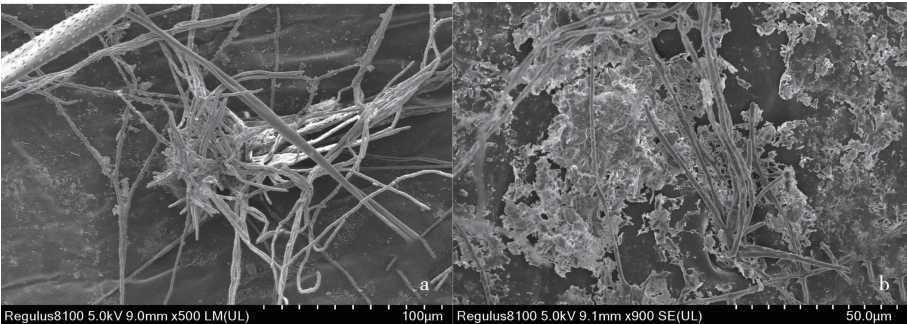


图10 大豆菌核病茎秆气孔菌丝侵入

Fig.10 Infection of soybean *Sclerotinia* mycelium on stem stoma

3 讨论

3.1 扫描电镜观察过程中取样时间和位置的选择

本研究选择接种大豆菌核病3 d的叶片及茎秆进行取样观察,因为在取样过程中需要有一定的发病区域,在预试验中多次接种鉴定表明叶片及茎秆接种后产生的发病区域可以满足取样操作,因此选择在接种后3 d发病区域病健交界处以内进行取样,之后取样均固定在此范围内以保证可连续对不同侵染时间的组织变化进行观察。针对大豆菌核病侵染过程扫描电镜观察研究较少,需在试验中不断探索,熟练操作以保证观察结果的准确性。

3.2 品种特性对大豆菌核病发病的影响

3.2.1 表层物质 茎秆及叶片的表层物质是菌丝侵染的第一道屏障,根据以往的研究,菌丝在侵染过程中会分泌酶类等代谢产物来软化分解组织以促进侵染<sup>[7]</sup>,本研究观察过程中发现相同接种时间,感病品种叶片及茎秆表层物质几乎全部消失,耐病品种相对较为耐受,这为研究判断大豆品种对菌核病的物理抗性提供了一定的参考。

3.2.2 气孔 在观察过程中发现,菌丝在侵染叶片和茎秆过程中,气孔和伤口侵入更为直接,在气孔

中可以观察到大量菌丝的聚集,针对大豆气孔数量等方面的研究鲜有报道,该特性是否对如菌核病等不同类型的大豆病害侵染产生影响有待研究。吴纯仁等<sup>[6]</sup>在油菜菌核病侵染过程中观察到核盘菌的病菌菌丝不是直接从气孔侵入叶片,而是沿着气孔保卫细胞内侧侵入表皮细胞的,与本研究观察结果不同,可能与大豆与油菜的寄主差别有关。

3.2.3 绒毛 叶片茎秆表面的绒毛在菌丝生长过程中便于其附着缠绕生长,观察过程中发现在绒毛上附着有大量菌丝,增加了菌丝侵染的几率。

3.3 菌丝形态

杨谦等<sup>[7]</sup>在核盘菌菌丝亚麻的研究中观察到了菌丝附着器波段泡状物的存在,与本研究观察到的在菌丝顶端形成的椭圆形膨大的“侵染泡”一致。吴纯仁等<sup>[6]</sup>的研究中观察到菌丝聚集形成侵染垫结构,本研究中未观察到明显的类似结构,可能与接种病原菌特性有关,有待后续进一步观察验证。

4 结论

本文通过SEM对大豆菌核病离体叶片的茎秆菌丝侵染过程进行了系统地观察,可见菌丝分枝繁



殖,在顶端形成“侵染肥”结构,耐病品种 Mapple Arrow 接种 3 d 时叶片和茎秆表层物质基本保留,感病品种合丰 25 表层物质全部分解消失;叶片和茎秆两品种均可见明显的气孔侵染现象。

参考文献

[1] Zhao X, Han Y P, Li Y H, et al. Loci and candidate gene identification for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean (*Glycine max* L. Merr.) via association and linkage maps[J]. The Plant Journal, 2015, 82(2):245-255.

[2] Boland G J, Hall R. Epidemiology of *Sclerotinia* stem rot of soybean in Ontario[J]. Phytopathology, 1988, 78:1241-1245.

[3] Monik E L, João B D S, Pedro M R J, et al. Biochemical responses associated with common bean defence against *Sclerotinia sclerotirum*[J]. European Journal of Plant Pathology, 2014, 138: 391-404.

[4] Chen Y, Wang D. Two convenient methods to evaluate soybean for resistance to *Sclerotinia sclerotirum* [J]. Plant Disease, 2005, 8 (12):1268-1272.

[5] Rousseau G, Thanh T H, Dostaler D, et al. Greenhouse and field assessments of resistance in soybean inoculated with sclerotia, mycelium, and ascospores of *Sclerotinia sclerotirum* [J]. Canadian Journal of Plant Science, 2004,84(2):615-623.

[6] 吴纯仁, 刘后利. 油菜菌核病致病机理的研究 IV. 病菌侵入途径和附着胞结构的观察[J]. 华中农业大学学报, 1990, 9(1): 56-58. (Wu C R, Liu H L. Studies on the penetrating pathway and appressoria types of *Sclerotinia sclerotirum* [J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 1990, 9(1):56-58.)

[7] 杨谦, Fox R T V. 核盘菌 (*Sclerotinia sclerotirum*) 在大豆叶片上致病过程的初步电镜观察[J]. 1992, 11(4):312-318. (Yang Q, Fox R T V. Electron microscopy of infection of soybean by *Sclerotinia sclerotirum* [J]. Soybean Science, 1992, 11(4): 312-318.)

[8] 刘樾,王永模. 二化螟盘绒茧蜂触角感器的扫描电镜观察 [J]. 南方农业, 2018, 12(33):137-139. (Liu Y, Wang Y M. Scanning electron microscopic observation of antennal sensilla of *Chilo suppressalis* [J]. South China Agriculture, 2018, 12(33): 137-139.)

[9] 孙世伟,刘爱勤,王政,等. 咖啡黑(枝)小蠹成虫触角感受器的扫描电镜观察[J]. 热带作物学报, 2017, 38(4):695-699. (Sun S W, Liu A Q, Wang Z, et al. Antennae structure of adult *Xylosandrus compactus* observed with scanning electron microscope [J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2017, 38(4):695-699.)

[10] 刘俊延,黄宗优,张玉静,等. 朱红毛斑蛾幼虫头部感受器扫描

电镜观察[J]. 植物保护学报, 2018, 45(6):1314-1320. (Liu J Y, Huang Z Y, Zhang Y J, et al. Observation of sensilla on the larval head of *Phauda flammans*(Walker) with scanning electron microscope [J]. Journal of Plant Protection, 2018, 45(6): 1314-1320.)

[11] 孟倩倩,王政,谭乐和,等. 黄翅绢野螟触角感器的扫描电镜观察[J]. 热带作物学报, 2017, 38(7):1323-1327. (Meng Q Q, Wang Z, Tan L H, et al. Observation of antenna sensilla of *Dipaphania caesalis* walker with scanning electron microscope [J]. 2017, 38(7):1323-1327.)

[12] 柴强,洪勇,陶宁,等. 椭圆食粉螨各发育阶段外部形态扫描电镜观察[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2019, 31(3):305-306, 345. (Chai Q, Hong Y, Tao N, et al. Scanning electron microscopical observation on external morphology of *Aleuroglyphus ovatus* at different developmental stages[J]. Chinese Journal of Schistosomiasis Control, 2019, 31(3):305-306, 345.)

[13] 杨红霞,斯清,吴辉,等. 四种胃蝇三期幼虫的扫描电镜观察 [J]. 中国动物传染病学报, 2016, 24(5):51-56. (Yang H X, Si Q, Wu H, et al. Observation of four kinds of *Gasterophilus* third instars under scanning electron microscopy [J]. Chinese Journal of Animal Infectious Diseases, 2016, 24(5):51-56.)

[14] 邹蓉,蒋立全,何志红,等. 异裂菊属花粉和叶表皮微形态扫描电镜观察研究[J]. 湖北农业科学, 2019, 58(16):99-103. (Zou R, Jiang L Q, He Z H, et al. Micromorphological observation of pollen and leaf epidermis of *Heteroplex* Chang plants[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2019, 58(16):99-103.)

[15] 郭世阳,任学军,张志雯,等. 6 个品种谷子种子形态比较和种皮微结构的扫描电镜观察[J]. 2019, 38(6):107-120. (Guo S Y, Ren X J, Zhang Z W, et al. Comparison of seed morphology and SEM observation of seed coat microstructure of six varieties of foxtail millet[J]. Seed, 2019, 38(6):107-120.)

[16] 赵登超,刘丙花,舒秀阁,等. 早实核桃芽接愈伤形成过程扫描电镜观察[J]. 经济林研究, 2019, 37(3):52-56. (Zhao D C, Liu B H, Shu X G, et al. Scanning electron microscopy observation on callus formation during bud-grafting of early-bearing walnut varieties[J]. Nonwood Forest Research, 2019, 37(3):52-56.)

[17] 孙进华,曹璐璐,李焕苓,等. 霜疫霉侵染后荔枝果皮结构变化的扫描电镜观察[J]. 热带作物学报, 2019, 40(5):947-952. (Sun J H, Cao L L, Li H L, et al. Scanning electron microscope observation on the changes of litchi exocarp inoculated with *Phytophthora litchii* [J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2019, 40(5):947-952.)

[18] Kull L S, Powers K S, Eskridge K M, et al. Evaluation of resistance screening methods for *Sclerotinia* stem rot of soybean and dry bean[J]. Plant Disease, 2003, 87(12):1471-1476.