

大豆种子寄藏真菌致病性测定方法比较

李雪光<sup>1,2</sup>, 刘志勇<sup>1,2</sup>, 战丽莉<sup>1,3</sup>, 宋洁<sup>1,2</sup>, 鲁建聪<sup>1,2</sup>, 许艳丽<sup>1</sup>

(1. 中国科学院 东北地理与农业生态研究所/黑土区农业生态国家重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150081; 2. 东北农业大学 农学院, 黑龙江 哈尔滨 150030; 3. 黑河学院 物理化学系, 黑龙江 黑河 164300)

**摘要:** 寄藏真菌可侵染大豆种子, 降低种子的萌芽及活力, 影响种子的品质和商品等级。为探讨不同接种方法对寄藏真菌致病性的影响, 在实验室条件下比较了种子接种法和植株接种法(切顶端接种法、伤口接种法、切茎接种法和下胚轴接种法)对寄藏真菌致病性的影响。结果表明: 各方法中寄藏真菌均对大豆产生致病性, 并能显著区分寄藏真菌间致病性差异。其中切顶端接种法相比其他3种植物接种方法更简单有效而准确, 而种子接种法更适合在室内进行, 且周期短, 相比植株接种法方便快捷。

**关键词:** 种子病害; 寄藏真菌; 大豆; 致病性测定

**中图分类号:** S435.2      **文献标识码:** A      **DOI:** 10.11861/j.issn.1000-9841.2015.01.0093

Comparison on Methods for Pathogenicity Test of Seed - Borne Fungi in Soybean

LI Xue - guang<sup>1,2</sup>, LIU Zhi - yong<sup>1,2</sup>, ZHAN Li - li<sup>1,3</sup>, SONG Jie<sup>1,2</sup>, LU Jian - cong<sup>1,2</sup>, XU Yan - li<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Mollisols Agroecology, Northeast Institute of Geography and Agroecology, Chinese Academy of Sciences, Harbin 150081, China; 2. College of Agronomy, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China; 3. Physical Chemistry Department of Heihe University, Heihe 64300, China)

**Abstract:** Seed - borne fungi could decrease germination, activity, quality and commercial grade by infecting soybean seed. For discussing the effect of different inoculation methods on pathogenicity of seed - borne fungi, seed inoculation method and plant inoculation methods (apical cut inoculation method, wound inoculation method, stem cut inoculation method and hypocotyl inoculation method) were compared at laboratory condition. The result showed that seed - borne fungi could infect soybean under each inoculation method. The differences of pathogenicity between seed - borne fungi were significantly distinguished by all inoculation methods. Compared with other three plant inoculation methods, apical cut inoculation method was simple, effective and accurate. Seed inoculation method was fit for room test and the test cycle was short. It was also more convenient and efficient than plant inoculation.

**Keywords:** Seed disease; Seed - borne fungi; *Glycine max*; Pathogenicity test

种子作为高等植物的繁殖器官, 受病原真菌的影响较大。真菌可寄藏于种子内部, 侵染种子, 降低种子的萌芽及活力, 严重影响种子的品质和商品等级<sup>[1-2]</sup>。大豆种子上分离频率较高、造成危害严重的寄藏真菌主要有拟茎点霉属 (*Phomopsis spp.*)、尾孢属 (*Cercospora kikuchii*、*Cercospora sojina*)、镰孢属 (*Fusarium spp.*)、链格孢属 (*Alternaria spp.*) 和刺茎点霉属 (*Chaetophoma spp.*) 等, 其中拟茎点霉属中的大豆拟茎点种腐病菌 (*Phomopsis longicolla*) 严重危害大豆的品质和产量<sup>[3]</sup>。此外受感染的种子可在田间提供初侵染源和为病菌的远距离传播提供条件<sup>[4]</sup>, 因此需加强种子检疫及其侵染力和致病性测定研究。真菌的致病性测定方法多种多样, 根据病菌接种部位的不同, 可分为植物的种子和幼苗<sup>[5-7]</sup>、叶<sup>[8]</sup>、茎秆<sup>[9]</sup>、根<sup>[10]</sup>和果实<sup>[11]</sup>等, 目前报道的大豆种子寄藏真菌致病力测定方法主要包括种子接种法和植株接种法<sup>[1,12]</sup>, 这些接种方法是否能够完全反

映拟茎点霉属的致病性, 对于不同种子寄藏真菌是否能够保持一致性, 种子接种和植株接种两种测定方法哪一种更好, 都值得探讨。本研究选用从大豆种子中分离频率较高的7种寄藏真菌作为供试菌, 研究了寄藏真菌对大豆种子和植株的致病性, 并试图通过对种子和植株的致病性比较及植株不同接种方法的比较, 评价和筛选出简单有效的寄藏真菌致病性测定方法。

1 材料与方法

1.1 材料

供试大豆品种为合丰25(本实验室保存)。供试菌为大豆拟茎点种腐病菌 (*Phomopsis longicolla*)、尖镰孢菌 (*Fusarium oxysporum*)、球毛壳菌 (*Chaetomium globosum*)、枝状芽枝霉 (*Cladosporium cladosporioides*)、大豆紫斑病菌 (*Cercospora kikuchii*)、刺茎点菌属 (*Chaetophoma sp.*) 和长喙壳菌属 (*Ceratocystis*

收稿日期: 2014-04-11  
基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划(2006BAD21B01-15)。  
第一作者简介: 李雪光(1989-), 女, 硕士, 主要从事大豆病害研究。E-mail: lixueguang1989518@yeah.net。  
通讯作者: 许艳丽(1958-), 女, 博士, 研究员, 博导, 主要从事作物病虫害生物生态控制研究。E-mail: xyll@iga.ac.cn。

sp.) (前5种菌用于对植株致病性测定,所有菌种均为本实验室保存)。

## 1.2 方法

1.2.1 对大豆种子的致病性测定 参照崔永林等<sup>[12]</sup>的方法将供试菌接种于 APDA 培养基[马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g、琼脂条 20 g 和蒸馏水 1 000 mL,待 PDA 培养基冷却到 45 ~ 50℃ 时加 1.5 mL 的 10% 的乳酸 (pH4.8 ~ 5.2)、75 mg 的硫酸链霉素]平板上,25℃ 暗培养 5 d 后,选取健康大豆种子,经 75% 酒精消毒 3 min 于灭菌的滤纸上稍风干,将消毒过的种子匀距放在已培养 5 d 的供试菌培养皿内,种子紧贴培养皿内壁(种子靠近菌落边缘)。以大豆种子在 APDA 培养基上(不接种真菌)培养为对照,培养条件为 25℃ 暗培养。每皿 10 粒,共 5 皿。试验 3 次重复。种子接种后第 5 天调查种子发芽数及种子被菌丝覆盖数,计算种子发芽率和菌丝覆盖率。种子表面完全被菌丝覆盖且不能萌发即为种子被菌丝覆盖。

种子菌丝覆盖率(%) = (菌丝覆盖种子数/供试种子总数) × 100

发芽率(%) = [发芽终期(第 5 天)全部正常发芽粒数/供试种子总数] × 100

1.2.2 对大豆植株致病性测定 对 4 种接种方法进行比较,每种方法接种 3 盆(花盆规格:底径 7 cm、口径 10 cm、高 8 cm),每盆种植 4 株大豆。

(1) 切顶端接种法:将供试菌在 APDA 培养基平板上 25℃ 培养 10 d,在菌落边缘用打孔器打取直径为 5 mm 的菌丝块,取菌块菌丝面贴在温室中播种 14 d 以上大豆植株的第一片三出复叶茎节点下面的横切面上(用消毒的剪刀在大豆植株的第一片三出复叶茎节点处将茎秆剪断,植株下面部分用于接种),用封口膜包住接种体固定于植株上,套袋保湿 48 h;用直径 5 mm 的 APDA 培养基块贴于茎秆横切面作为对照,3 次重复;接种 2 d 后取下接种体,接种 7 d 后测量茎病斑长度<sup>[1]</sup>,并计算茎病斑长度占植株茎长度的比值。

茎病斑长(%) = (茎病斑长度/植株茎长度) × 100

(2) 伤口接种法:将供试菌在 APDA 培养基平板上 25℃ 培养 10 d,在菌落边缘用打孔器打取直径为 5 mm 的菌丝块,取菌块菌丝面贴在温室中播种 14 d 以上大豆植株的第一片三出复叶茎节点下面的伤口上(用消毒针在茎秆上划一道伤口),用封口膜包住接种体固定于植株上,套袋保湿 48 h;用直径 5 mm 的 APDA 培养基块接种伤口作为对照,3 次重复;接种 2 d 后取下接种体,接种 7 d 后测量茎病斑长度<sup>[1]</sup>,并计算茎病斑长度占植株茎长度的比值。

(3) 切茎接种法:将供试菌在 APDA 培养基平板上 25℃ 培养 10 d,在菌落边缘用打孔器打取直径为 5 mm 的菌丝块,取菌块菌丝面贴在温室中播种

14 d 以上大豆植株切去子叶以上 3 cm 的下部茎秆横切面上(用消毒的剪刀在大豆植株子叶以上 3 cm 的茎秆处将茎秆剪断,植株下面部分用于接种),用封口膜包住接种体固定于植株上,套袋保湿 48 h;用直径 5 mm 的 APDA 培养基块接种茎秆横切面作为对照,3 次重复;接种 2 d 后取下接种体,10 d 后调查植株发病数和植株死亡数(病斑扩展到子叶以下即定为死亡)<sup>[13]</sup>,计算植株发病率和植株死亡率。

植株发病率(%) = (发病植株数/调查植株总数) × 100

植株死亡率(%) = (死亡植株数/调查植株总数) × 100

(4) 下胚轴接种法:将待测菌在 APDA 培养基平板上 25℃ 培养 10 d,在菌落边缘用打孔器打取直径为 5 mm 的菌丝块,取菌块菌丝面贴在温室中播种 14 d 以上在大豆幼苗真叶 1 cm 下用消毒针刺的梅花点伤口上<sup>[14]</sup>,用封口膜包住接种体固定于植株上,套袋保湿 48 h;用直径 5 mm 的 APDA 培养基块接种伤口作为对照,3 次重复;接种 2 d 后取下接种体,接种 7 d 后测量茎病斑长度,并计算茎病斑长度占植株茎长度的比值。

1.2.3 病原菌再分离 对以上 4 种接种方法中的发病植株进行病原菌再分离,在发病植株发病部位病健交界处切取小块组织,经 75% 酒精消毒 3 ~ 5 s,1% NaClO 消毒 3 min,无菌水洗 3 次,在灭菌的滤纸上晾干,均距摆放于 APDA 培养基平板上,5 d 后根据分离出病菌的形态特征统计病原菌的再分离数,并计算病原菌再分离率。

病原菌再分离率(%) = (分离得到病原菌数/供试组织数) × 100

## 1.3 数据分析

使用 Excel 2003 和 SPSS 17.0 对数据进行分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 对大豆种子的致病性

种子菌丝覆盖率调查结果显示,对照种子均无真菌菌丝覆盖,而接种供试菌后种子被菌丝覆盖(除接种枝状芽枝霉的种子外)。种子菌丝覆盖率为 0.7% ~ 79.3%。接种 7 种菌的种子菌丝覆盖率间存在显著性差异,其中接种大豆拟茎点种腐病菌和尖镰孢菌的种子菌丝覆盖率较高,分别为 79.3% 和 52.7%;接种刺茎点菌属的种子菌丝覆盖率为 31.3%;而接种球毛壳菌、大豆紫斑病菌和长喙壳菌属的种子菌丝覆盖率较低,且三者间无显著性差异,菌丝覆盖率的范围为 0.7% ~ 4.0%;而接种枝状芽枝霉的种子并未被菌丝覆盖。

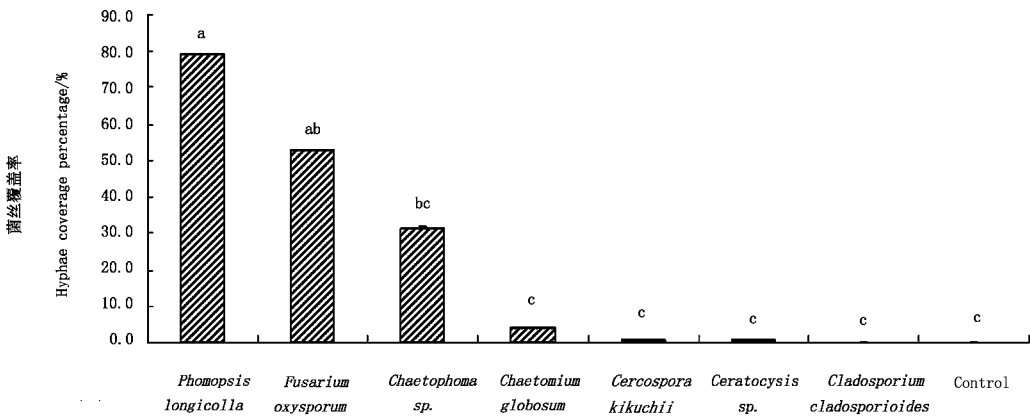


图 1 大豆种子菌丝覆盖率

Fig. 1 Hyphae coverage percentage of soybean seed

发芽率调查结果显示,接种大豆紫斑病菌和枝状芽枝霉后,增加了种子发芽率,而接种其他 5 种供试菌后种子的发芽率均较对照降低。降幅为 14.1% ~ 85.9%,其中接种大豆拟茎点种腐病菌和尖镰孢菌的大豆种子发芽率降低较大,达 70.0% 以上,而接种长喙壳菌属和刺茎点菌属菌的大豆种子发芽率降低的较小,均在 20.0% 以下。大豆紫斑病菌和枝状芽枝霉并未降低种子的发芽率。

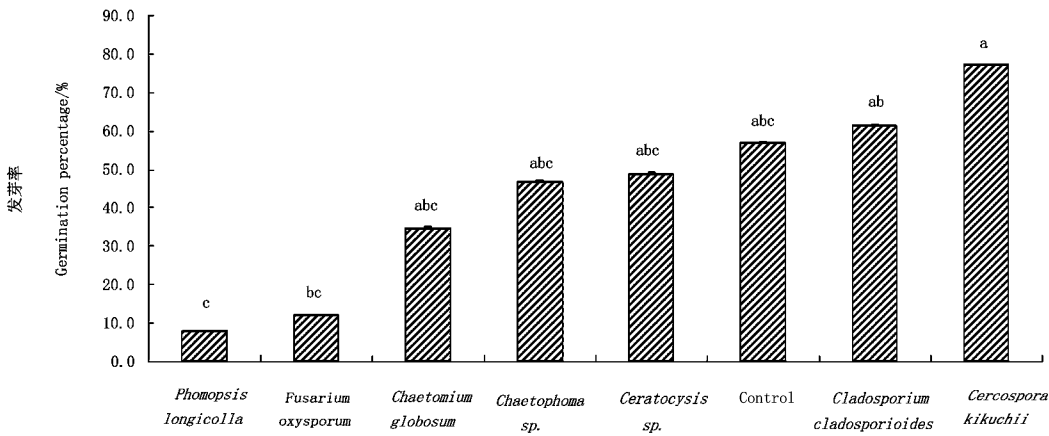


图 2 大豆种子发芽率

Fig. 2 Germination percentage of soybean seed

综合菌丝覆盖率和发芽率结果可知,接种引起种子菌丝覆盖率低的供试菌株后大豆种子发芽率较高,反之亦然。大豆拟茎点种腐病菌、尖镰孢菌、刺茎点菌属、球毛壳菌、大豆紫斑病菌和长喙壳菌属这 6 株菌的菌丝均可覆盖大豆种子,并除大豆紫斑病菌外其余 5 个菌株均降低了种子的发芽率,其中接种大豆拟茎点种腐病菌的大豆种子菌丝覆盖率最高且种子发芽率最低,可见大豆拟茎点种腐病菌对大豆种子的致病性最强;接种长喙壳菌属的大豆种子菌丝覆盖率最低且种子发芽率较高,可见长喙壳菌属对大豆种子的致病性较弱;大豆紫斑病菌虽然对大豆种子有菌丝覆盖,但菌丝覆盖率较低,且并未降低种子的发芽率,反而促进了种子的发芽。枝状芽枝霉菌丝对种子并无覆盖且未降低种子的发芽率,对种子无致病性。

2.2 对大豆植株的致病性

2.2.1 切顶端接种法 5 种供试菌均造成植株不同程度的发病,茎病斑长为 0.31% ~ 5.05%,平均值为 2.23%,无显著性差异。供试菌中大豆拟茎点种腐病菌和尖镰孢菌接种的植株茎病斑长最长,均在 4.00% 以上,对植株的致病性最强;其他 3 种供试菌株接种的植株茎病斑长均较短,均在 1.00% 以下,对大豆植株的致病性较弱。

2.2.2 伤口接种法 5 种供试菌株均造成植株不同程度的发病,茎病斑长为 1.75% ~ 4.97%,平均值为 3.15%,无显著性差异。供试菌株中尖镰孢菌和大豆紫斑病菌造成的植株茎病斑长较长,均在 4.00% 以上,其中尖镰孢菌造成的植株茎病斑长最长,为 4.97%,对大豆植株的致病性最强;大豆拟茎点种腐病菌和球毛壳菌造成的植株茎病斑长为 2.00% ~ 2.50%;枝状芽枝霉造成的植株茎病斑长最短,为 1.75%,对大豆植株的致病性较弱。

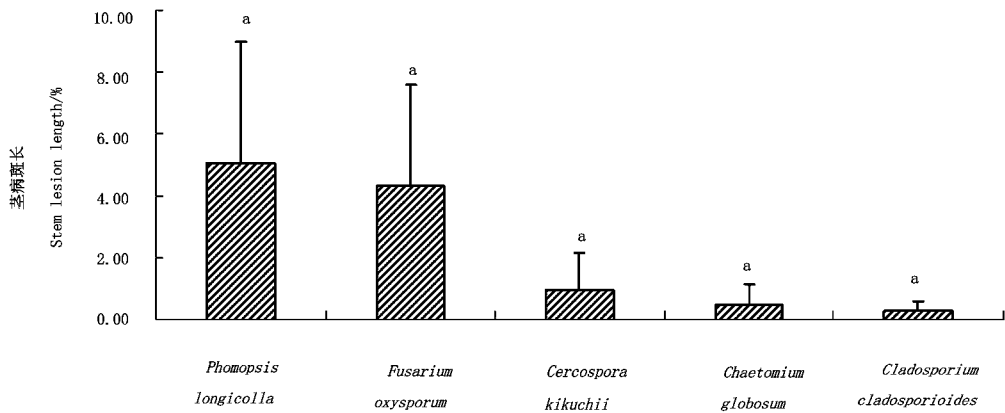


图 3 供试菌对大豆植株致病性

Fig. 3 Pathogenicity of fungi on soybean plant

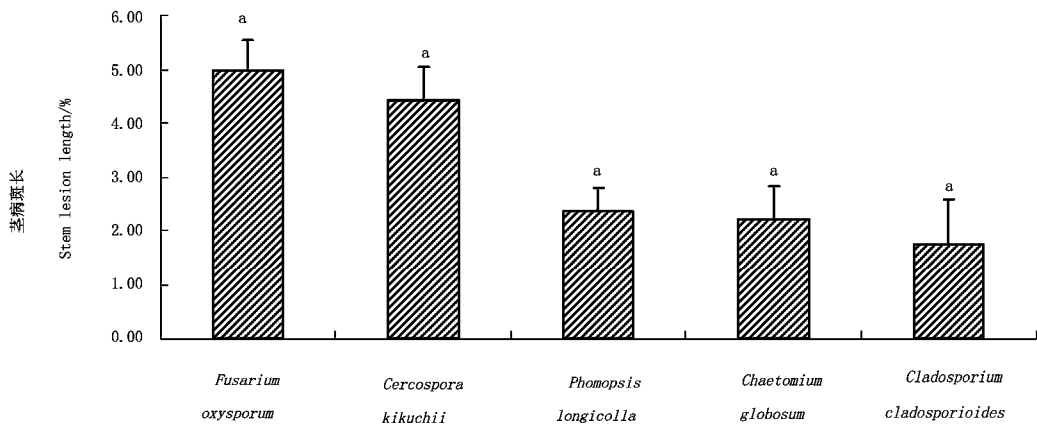


图 4 供试菌对大豆植株致病性

Fig. 4 Pathogenicity of fungi on soybean plant

2.2.3 切茎接种法 5 种供试菌均使植株发病,严重的甚至造成植株的死亡。植株发病率调查结果显示,植株发病率间无显著性差异。植株发病率范围为 58.35% ~100.00%,平均值为 80.84%。其中接种尖镰孢菌和大豆拟茎点种腐病菌的植株发病率最高,分别为 100.00% 和 95.85%;枝芽芽枝霉和球毛壳菌次之,发病率分别为 79.15% 和 70.85%;而大豆紫斑病菌接种的植株发病率最低,为 58.35%。

植株死亡率结果显示,接种尖镰孢菌和大豆拟茎点种腐病菌的植株发病最为严重,植株死亡率分别为 50.00% 和 16.65%。其余 3 株供试菌并未造成植株死亡。植株发病率和植株死亡率两者间存在相关性,植株发病率低的植株死亡率也低,其中接种尖镰孢菌的植株发病率最高,且植株死亡率也最高,可见尖镰孢菌对大豆植株的致病性最强。

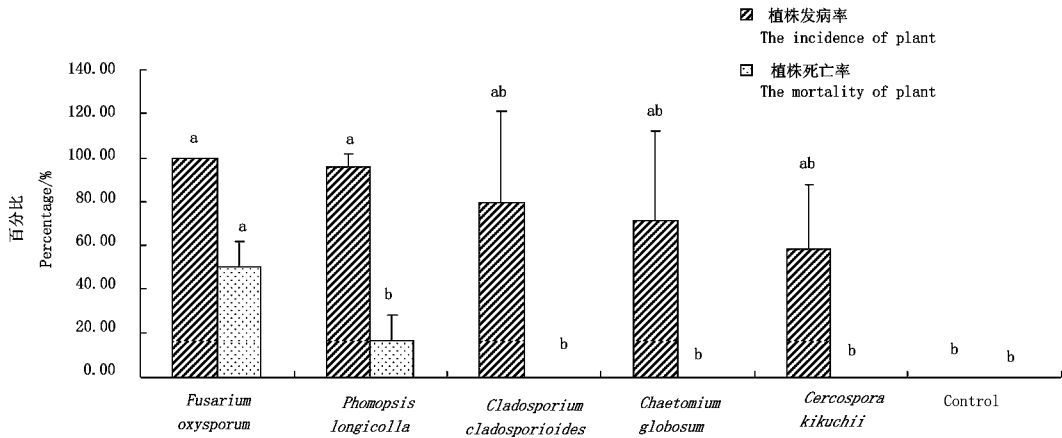


图 5 供试菌对大豆植株致病性

Fig. 5 Pathogenicity of fungi on soybean plant

2.2.4 下胚轴接种法 5 种供试菌均造成植株不同程度的发病,病菌造成的植株茎病斑长间无显著性差异。植株茎病斑长范围为 3.01% ~9.48%,平均值为 6.00%。接种大豆拟茎点种腐病菌的植株茎病斑长

最长,为9.48%;尖镰孢菌和大豆紫斑病菌次之,分别为7.18%和6.59%;而枝状芽枝霉和球毛壳菌造成的植株茎病斑长较短,均在 4.00% 以下,对大豆植株的致病性较弱。

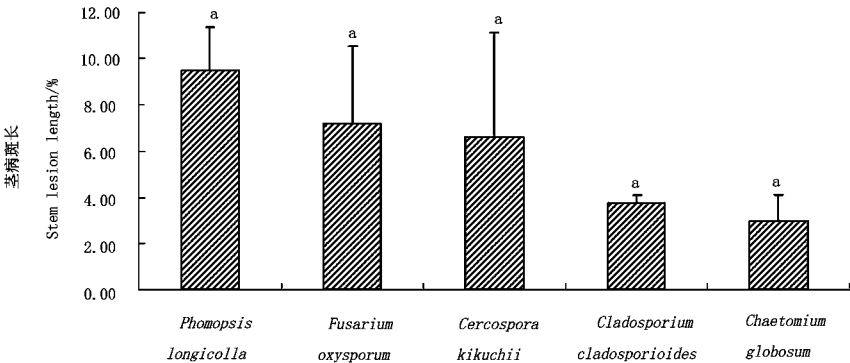


图 6 供试菌对大豆植株致病性

Fig. 6 Pathogenicity of fungi on soybean plant

4 种接种方法中 5 种供试菌均可使植株发病,且发病程度均有不同,但无显著性差异。其中大豆拟茎点种腐病菌和尖镰孢菌使植株发病最为严重,而其余 3 种菌使植株发病较轻(伤口接种法中接种大豆紫斑病菌的植株发病也较为严重)。切顶端接种法和下胚轴接种法中大豆拟茎点种腐病菌的致病性最强;而伤口接种法和切茎接种法中尖镰孢菌的致病性最强。4 种接种法中球毛壳菌和枝状芽枝霉的致病性较弱。

2.2.5 接种病菌再分离 切顶端接种法、伤口接种法、切茎接种法和下胚轴接种法接种供试菌后,均再分离出供试菌,植株的病原菌再分率分别为 0 ~100.0%、0 ~94.5%、0 ~82.0% 和 12.5% ~91.5%,平均值分别为 49.2%、36.3%、39.8% 和 52.1%。4 种方法中病原菌再分率均存在显著差异,但均以接种尖镰孢菌的植

株病原菌再分离率最高,均在 80.0% 以上(表 1)。此外 5 种供试菌株经过再分离后,不同接种方法结果并未保持一致(表 1)。切顶端接种法未分离出大豆紫斑病菌;伤口接种法未分离出枝状芽枝霉;切茎接种法未分离出枝状芽枝霉;下胚轴接种法接种的 5 种供试菌均分离出。

综合来看,在 4 种接种方法中大豆拟茎点种腐病菌和尖镰孢菌均表现了较高的致病性,且在病原菌再分离中均重新分离获得接种病菌,其中尖镰孢菌的再分离率最高。球毛壳菌和枝状芽枝霉的致病性相对较低,且在伤口接种法中枝状芽枝霉未再分离得到接种病菌。4 种接种法中大豆紫斑病菌的致病性最不稳定,有的接种方法高,有的却低,且在切顶端接种法和切茎接种法中未再分离得到接种病菌,但也能初步证明大豆紫斑病菌对大豆植株有一定的致病性。

表 1 切顶端接种法病原菌再分离

Table 1 Reisolation of pathogenic fungi with apical cut inoculation method

供试菌 Pathogens	病原菌再分离率 Reisolation percentage of pathogenic fungi/%			
	切顶端接种法 Apical cut inoculation method	伤口接种法 Wound inoculation method	切茎接种法 Stem cut inoculation method	下胚轴接种法 Hypocotyl inoculation method
大豆拟茎点种腐病菌 <i>Phomopsis longicolla</i>	13.9 ± 19.6 bc	16.5 ± 23.3 b	37.5 ± 53.0 ab	81.3 ± 8.8 a
尖镰孢菌 <i>Fusarium oxysporum</i>	100.0 ± 0 a	94.5 ± 7.8 a	82.0 ± 25.5 a	91.5 ± 12.0 a
球毛壳菌 <i>Chaetomium globosum</i>	78.0 ± 15.6 a	54.0 ± 29.7 ab	45.9 ± 5.9 ab	58.4 ± 47.2 ab
大豆紫斑病菌 <i>Cercospora kikuchii</i>	0 ± 0 a	16.5 ± 23.3 b	0 ± 0 b	12.5 ± 17.7 b
枝状芽枝霉 <i>Cladosporium cladosporioides</i>	54.0 ± 29.7 b	0 ± 0 b	16.7 ± 23.33 ab	16.7 ± 0 b

3 结论与讨论

参试的 7 种寄藏真菌中大豆拟茎点种腐病菌、尖镰孢菌、球毛壳菌和大豆紫斑病菌对大豆种子和

植株均有致病性,其致病程度不同。其中大豆拟茎点种腐病菌和尖镰孢菌的致病性最强;枝状芽枝霉菌对大豆植株有一定的致病性,但对大豆种子无致病性,反而可能促进种子的发芽。刺茎点菌属和长

喙壳菌属对大豆种子均有一定的致病性。在发病植株病原菌的再分离中5种供试菌中有3种供试菌分出,分别为尖镰孢菌、大豆拟茎点种腐病菌和球毛壳菌,而大豆紫斑病菌和枝状芽枝霉在个别接种方法中未分离出。

植株接种法中切顶端接种法、伤口接种法、切茎接种法和下胚轴接种法这4种方法均显示供试菌对大豆植株具有一定的致病性,且能根据茎病斑长度占植株茎长度的比值区分供试菌间的致病性差异。但伤口接种法和下胚轴接种法在套袋保湿过程中菌丝圆片接种体易偏离接种部位,使得接种部位不能与接种体充分的接触,而影响测定结果的准确性,相比切顶端接种法和切茎接种法在接种和取下接种体时难;而切茎接种法在套袋保湿时缺少真叶的保护遇温度偏高易造成茎秆的烫伤而不宜与发病症状区分,影响结果的观察与记录;相比较而言切顶端接种法是一种操作简单而准确的致病性测定方法。

对于供试菌无论是种子接种法,还是植株接种法均都得到接种供试菌的致病性,只是两种方法得到的供试菌致病性略有不同。种子接种法中供试菌间致病性差异显著,而植株接种法中供试菌间致病性差异不显著,并且种子接种法可在室内进行,且周期短,可见种子接种法是一种更方便快捷而能准确比较供试菌间致病性差异的测定方法。

本研究植株接种法中发病植株的病原菌进行再分离时并未完全分离得到接种病菌(病原菌再分离率未达到100.0%)或未分离得到接种病菌,可能因为发病植株保存时间过长或其他因素造成,但这并不影响供试菌对植株具有致病性的结论。有研究表明在病菌的致病性研究中,伤口更有利于病原菌的入侵<sup>[16]</sup>。本研究寄藏真菌对植株致病性测定的4种接种方法,均是先对植株造成伤口,然后再进行病菌的接种,均为病菌的侵染提供了条件。

有报道称大豆紫斑病菌先侵染种子种皮并在种子种皮上产生尾孢毒素,并且也可以穿透萌芽期的种子组织产生子叶细胞和维管束细胞坏死<sup>[15]</sup>,本研究中大豆紫斑病菌对种子的菌丝覆盖率很小且并未降低种子的发芽率,反而接种该菌后大豆种子发芽率高于对照种子的发芽率,但接种后的大豆种子几乎全部染上紫斑,严重影响了种子质量。

本研究结合了种子接种法和植株接种法来测定供试菌的致病性,能更全面地了解供试菌的致病性,综合分析其致病性,有利于综合评价病原菌的致病性,从而实施较为全面的防治措施。因此,建议在病害研究中,如有条件和人力,可考虑种子接种法和植株切顶端接种法结合进行。

## 参考文献

[1] Li S X, Glen L H, Deborah L B. Aggressiveness of *Phomopsis longicolla* and other *Phomopsis* spp. on soybean [J]. Plant Disease, 2010, 94(8):1035-1040.

[2] 李卫华, 李键强. 大豆子粒紫斑病研究进展[J]. 作物杂志, 2004(4):30-32. (Li W H, Li J Q. Advance in purple blotch of

soybean seed[J]. Crops, 2004(4):30-32.)

[3] 刘志勇, 战丽莉, 潘凤娟, 等. 大豆种子寄藏真菌病害和寄藏真菌检测技术[J]. 大豆科技, 2012(3):19-25, 28. (Liu Z Y, Zhan L L, Pan F J, et al. Seed-borne fungi disease and detection methods in soybean seeds[J]. Soybean Science & Technology, 2012(3):19-25, 28).

[4] Hartman L, Sinclair J B, Rupe J C. Compendium of soybean diseases[M]. Paul, Minnesota:APS Press, St., 1999.

[5] 孔瑞芳. 苏丹草(*Sorghum sudanense*)种带真菌及其防治[D]. 兰州:兰州大学, 2009:14-17. (Kong R F. Seedborne fungi of sudangrass (*Sorghum sudanense*) and their control [D]. Lanzhou:Lanzhou University, 2009:14-17.)

[6] 张颖. 种带真菌对多年生黑麦草(*Lolium Perenne* L.)种子质量的影响[D]. 北京:中国农业大学, 2005:25-45. (Zhang Y. Effects of seedborne fungi on the quality of perennial ryegrass (*Lolium Perenne* L.) seeds[D]. Beijing: China Agricultural University, 2005:25-45.)

[7] Suli S, Moon Y K, Tanapon C, et al. *Phomopsis* (*Diaporthe*) species as the cause of soybean seed decay in Korea[J]. Journal of Phytopathology, 2013, 161:131-134.

[8] 夏绍嫒, 杨红玉, 吴嘉. 灰霉菌与其分泌毒素对拟南芥致病性比较[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(26):16008, 16155. (Xiao S L, Yang H Y, Wu J. Comparison of botrytis cinerea and its proteic toxin against *Arabidopsis thaliana*[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2011, 39(26):16008, 16155.)

[9] 刘丹, 李沛利, 严吉明, 等. 核盘菌致病性测定方法研究[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(30):18627-18629. (Liu D, Li P L, Yan J M, et al. Study on the Determination Method for Aggressiveness of *Sclerotinia sclerotiorum*[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2011, 39(30):18627-18629.)

[10] 白丽艳, 张全党, 李斌, 等. 新疆阿勒泰地区大豆镰刀菌根腐病原鉴定及致病性测定[J]. 新疆农业科学, 2009, 46(3):543-548. (Bai L Y, Zhang Q D, Li B, et al. Identification and pathogenicity determination of the pathogenic *Fusarium* of soybean root rot in the Altay Region of Xinjiang[J]. Xinjiang Agricultural Sciences, 2009, 46(3):543-548.)

[11] 李术臣, 贾海民, 赵聚莹, 等. 河北省花生果腐病原鉴定及致病性研究[J]. 河北农业科学, 2010, 15(5):37-39. (Li S C, Jia H M, Zhao J Y, et al. Pathogens identification and pathogenicity of peanut pod rot in Hebei province[J]. Journal of Hebei Agricultural Sciences, 2010, 15(5):37-39.)

[12] 崔友林, 段灿星, 丁俊杰, 等. 一种新发生的大豆茎枯病原菌鉴定[J]. 中国油料作物学报, 2010, 32(1):99-103. (Cui Y L, Duan C X, Ding J J, et al. Pathogen identification of a newly occurred soybean stem blight in China[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2010, 32(1):99-103.)

[13] Thickett K, VanDerWal J, Lovett-Doust L, et al. A method for screening soybean seedlings for resistance to northern stem canker caused by *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora* [J]. Canadian Journal of Plant Science, 2007, 87:443-446.

[14] 吴浩, 王良华, 吴新华, 等. 大豆疫霉在江苏省适生性的初步研究[J]. 南京农业大学学报, 2002, 25:39-42. (Wu H, Wang L H, Wu X H, et al. A preliminary study on the fitness of *Phytophthora sojae* to the environment in Jiangsu province, China [J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2002, 25:39-42.)

[15] Robert G U, Martha E R. Defense-related gene expression in soybean leaves and seeds inoculated with *Cercospora kikuchii* and *Diaporthe phaseolorum* var. *meridionalis*[J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 2010, 75:64-70.

[16] 张勇, 李晓军, 曲健禄, 等. 扁桃流胶病病原菌及其生物学特性研究[J]. 中国果树, 2008(1):41-44. (Zhang Y, Li X J, Qu J L, et al. Advance of almond gummosis pathogens and biological characteristics[J]. China Fruits, 2008(1):41-44.)