

大豆种质资源对尖镰孢菌根腐病的抗性鉴定及生理分析

张婵娟¹, 廖胜泉¹, 宋欢¹, 赵雪¹, 韩英鹏¹, 刘琦², 李文滨¹, 武小霞¹

(1. 东北农业大学大豆生物学教育部重点实验室/农业部北方大豆生物学与遗传育种区域重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150030; 2. 黑龙江省农业科学院 生物技术研究所/作物与家畜分子育种重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150086))

摘要:对来自全国 19 个省份及国外的 342 份大豆种质资源进行鉴定, 其中主要包含来自黑龙江的 95 份、吉林的 21 份、辽宁的 19 份、内蒙的 6 份、北京的 23 份、河北的 12 份、安徽的 3 份、美国的 24 份及其它各省份的大豆种质, 以尖镰孢菌强毒菌株 M38 为供试菌株, 采用菌液接种法, 筛选得到不同表现的抗源材料, 并选取一对具有代表性的抗感品种用菌液处理后测定其幼根内超氧化物歧化酶(SOD)、可溶性糖的含量、丙二醛(MDA), 从而为分子辅助育种奠定基础。鉴定结果表明: 鉴定筛选出高抗(HR)大豆种质 10 个, 但没有发现免疫品种; 对大豆资源的来源分析表明: 北方的抗病种质资源较南方丰富; 对生化指标测定结果表明, 用菌液处理后抗感品种的 SOD 的活性先上升后下降, 可溶性糖的含量整体呈下降趋势, 但抗病品种的活性及含量均高于感病品种, 抗病品种 MDA 变化幅度明显小于感病品种。
关键词:大豆根腐病; 尖镰孢菌; 抗病鉴定; 病情指数; 生化指标
中图分类号: S565.1 **文献标识码:** A **DOI:** 10.11861/j.issn.1000-9841.2017.03.0441

Identification for Resistance to Root Rot Caused by *Fusarium Oxysporum* in Soybean Germplasm and Physiological Analysis

ZHANG Chan-juan¹, LIAO Sheng-quan¹, SONG Huan¹, ZHAO Xue¹, HAN Ying-peng¹, LIU Qi², LI Wen-bin¹, WU Xiao-xia¹

(1. 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. Biotechnology Research Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Crop and Livestock Molecular Breeding of Heilongjiang, Harbin 150086, China)

Abstract: In the present study, a total of 342 soybean germplasm from 19 provinces and foreign countries were evaluated for the resistance to *F. Oxysporum* with the method of changed bacteria layer inoculation. The 19 provinces mainly contain 95 resources from Heilongjiang, 21 resources from Jilin, 19 resources from Liaoning, 6 resources from Inner Mongolia, 23 resources from Beijing, 12 resources from Hebei, 3 resources from Anhui and 24 resources from American. SOD, soluble sugar, and MDA were studied after seeding root of resistant and susceptible soybean were treated by microbial from *F. Oxysporum*. In order to lay the foundation for molecular assisted breeding. The appraisal result showed that ten soybean accessions with high resistance to *F. Oxysporum* were identified and none accession were found to be immune to *F. Oxysporum*. The result of source showed that resistance resources from the north are richer than the south. The result of biochemical showed that after inoculated by microbial in two varieties. The activity of SOD raised first and downward trend. The content of soluble sugar decreased and they were much higher in resistant variety than in susceptible one, the change of MDA in resistant obviously smaller than the susceptible one.
Keywords: Soybean root rot; *Fusarium Oxysporum*; Identification for resistance; Disease index; Biochemical index

大豆镰刀菌根腐病(*Fusarium oxysporum*)是一种分布广、危害重、防治较困难的土传真菌性病害,在世界各地均有发生^[1-2]。引起大豆根腐病的病原菌种类较多^[3]。尖镰孢是黑龙江省大豆镰孢菌根腐病的优势菌株^[4-7]。近几年,大豆根腐病日益严重,尽管合理耕作和农药研发对治理有一定效果,但选育抗病品种仍然是最有效的方法。李宝英等^[8]1991-1996 年对1 000份大豆进行鉴定,其中

病情指数在 15 以下的仅有 29 份。李长松等^[9]1997 年用 J5 菌株采用水泥池接种方法接种 100 份大豆,病情指数小于 30 的有 25 份。Dorrance 等^[10]对 1 015份源于韩国的种质资源进行抗源筛选,有 162 份具有抗性。杨帅^[11]2012 年鉴定了 152 份大豆,得到 4 个免疫品种,16 个高抗品种,抗病率仅占 36.1%。

在植物体内,超氧化物歧化酶(SOD)、可溶性

收稿日期:2016-11-25
基金项目:国家自然科学基金(31301339);黑龙江省教育厅科学技术研究项目(12541049);黑龙江省教育厅新世纪项目优秀人才项目资助(1253-NCET-005);教育部博士点项目(20122325120012);黑龙江省自然科学基金面上项目(C201130)。
第一作者简介:张婵娟(1989-),女,硕士,主要从事分子辅助育种研究。E-mail:417398387@qq.com。
通讯作者:武小霞(1971-),女,博士,研究员,主要从事大豆遗传育种研究。E-mail:xxwu2012@126.com;
李文滨(1958-),男,博士,教授,主要从事大豆遗传育种研究。E-mail:wenbinli@yahoo.com。

糖、丙二醛(MDA)等与抗病反应有着重要的关系。台莲梅等^[12]用尖镰孢菌毒素处理大豆幼根后测定其蛋白质、可溶性糖、脯氨酸等指标,并讨论了各种指标与植物体内抗病机制的关系。郑殿峰等^[13]研究了大豆幼苗期被根腐病菌侵染后总糖、可溶性糖、丙二醛(MDA)含量,表明可溶性糖和MDA可作为抗病育种和药剂调控保护的研究靶标。

本研究以收集自全国各大豆产区的342份大豆种质资源为试验材料进行尖镰孢菌根腐病的抗病鉴定和抗源筛选,根据种质资源在抗感病表型差异对抗源材料进行分类,筛选得到不同表现的抗源材料,进一步确定代表性抗源,研究其生理生化水平的抗病机制,为大豆抗病育种提供理想亲本,同时为分子育种提供优异基因供体。

1 材料与方法

1.1 材料

供试菌种:尖镰孢菌强毒株菌株M38,由东北农业大学李永刚老师提供^[14]。

供试品种:342份大豆种质资源,包含我国北方春大豆种植区的165份大豆种质资源和南方春夏大豆种植区的141份大豆资源以及36国外引进种质资源。全部资源由东北农业大学大豆生物学教育部重点实验室保存。

1.2 方法

1.2.1 尖镰孢菌的培养 将保存于试管中的菌种接种于PDA培养基中扩繁,扩繁过程中若遇细菌感染,可在PDA培养基中加入浓度5 μL·mL⁻¹氯霉素或浓度为5 μL·mL⁻¹的氯霉素和青霉素,菌丝为白色,后期泛紫色,待培养4 d后,接种到高粱粒培养基中,26℃培养箱中黑暗培养5 d,每天震荡三角瓶1次,待菌丝长满后,即可用于接种。

1.2.2 接种方法 参照张丽等^[14]2014年的方法。在直径8 cm培养钵中放入无菌蛭石至培养钵三分之二处,之后每钵均匀接入10粒带菌高粱粒,覆上约0.5 cm无菌蛭石后播种大豆品种,每钵10粒种子,最后用2 cm的无菌干蛭石覆盖在种子表面,放入不锈钢盘中,以不接种病原菌作对照,每个处理3次重复,试验重复2次。不锈钢盘底部浇足水后放在25℃、光暗(12 h/12 h)交替培养(温室中),定期浇水保持蛭石湿润,10 d后调查结果。

1.2.3 尖镰孢菌致病性分析及分级标准 参照白艳丽等^[9]对镰孢菌浸染的分级标准,根据根系腐烂

程度将尖镰孢引起的大豆根腐病病情严重度划分为5个级别:

- 0级:没有发病,植株正常生长;
- 1级:主根未发病或轻微变成褐色,须根生长点发病,植株正常生长;
- 3级:主根发病变黑,能继续生长,须根根尖变黑,植株正常生长;
- 5级:主根严重变黑,不能继续生长,须根减少或不长,植株生长不良;
- 7级:根部腐烂,植株不能继续生长甚至死亡。

通过观察发病情况,参考Burpee等^[15]和白丽艳等^[9]对镰孢菌侵染的分级标准调查尖镰孢菌株与大豆品种互作后发病情况,并计算病情指数。

病情指数公式为:

$$\text{病情指数} = \frac{\sum (\text{各级病株数} \times \text{相对级数值})}{\text{调查总株数} \times 7} \times 100$$

最后根据计算的抗病指数来判断大豆种质资源的抗感情况。

1.3 生理指标测定

1.3.1 取样方法 抗(铁丰8号)感(中豆27)品种,在25℃恒温室内培养10 d,取全苗浸于菌液中,以蒸馏水为对照,与接种后0,12,24,36,48,60 h连续取样,液氮冷冻后保存在-20℃的冰柜中备用。

1.3.2 生理指标测定 采用NBT法、硫代巴比妥酸显色法、萘酚法分别测定超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、可溶性糖的活性。

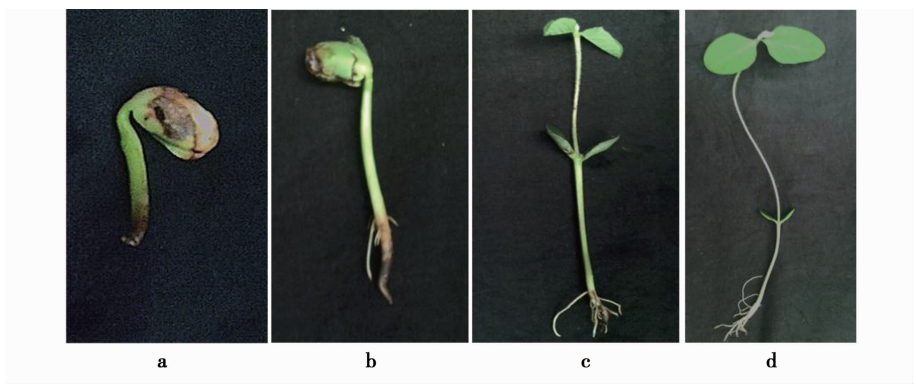
1.4 数据分析

采用Excel 2010进行数据整理与计算。

2 结果与分析

2.1 大豆种质不同等级的抗性表现

图1为此次鉴定不同等级的大豆品种感病时的状况。图1a为病情等级为7级的情况,由图可以看出,植株根部完全变黑腐烂,没有须根,子叶大部分腐烂,植株已不能正常生长,有的发病严重的植株完全死亡甚至种子时期就已腐烂;图1b为5级,主根腐烂变黑,须根有少量生长,长度较短且生长点腐烂,子叶部分腐烂,植株生长状况不良;图1c为病情等级3级的情况,主根变黑腐烂,但能继续生长,须根生长正常,但部分根尖发病,子叶未发病,植株生长正常;图1d为1级,可以明显看出植株生长正常,主根基本不发病或轻微变褐色,须根生长点或根尖变褐轻微发病。



a:7 级;b:5 级;c:3 级;d:1 级。
a;Grade seven; b;Grade five; c;Grade three; d;Grade one.

图 1 不同等级大豆根腐病发病状况

Fig. 1 Different levels of soybean root rot

2.2 大豆种质资源抗性分析

为筛选出抗大豆根腐病的优良种质,本研究以 342 份大豆种质资源为供试品种,以尖镰孢菌为菌种进行大豆根腐病的抗病鉴定,根据病情分级标准进行鉴定,并计算病情指数。再根据病情指数的大小将不同品种归为相应的抗感类型(表 1)。通过鉴定筛选出高抗品种 10 个,占有鉴定品种的2.92%,中抗材料 78 个,占资源总数的 39.18%,而感病资源(MS + S + HS)有 254 份,感病率为 74.30%。鉴定结果表明大豆种质资源中存在尖镰孢菌根腐病抗源,但为数不多,且尚未发现免疫品种,因此,扩大资源筛选范围和现有少数抗源的有效利用是今后研究工作的重点。

在所鉴定的所有大豆种植资源中,包含来自中国北方春大豆种植区的 165 份资源及南方大豆种质 141 份。其中高抗品种(HR)有 8 个,占总数的 4.85%,中抗品种(MR)有 38 个,占总数的 23.03%,感病品种(MS + S + HS)有 119 个,感病率为 72.12%。南方种质中仅发现 1 份高抗材料,中抗材料占总数的 24.82%,大部分种质为中感至感病类型。在其中还鉴定出 2 个高感材料。比较南方和北方大豆种质对尖镰孢菌的抗性,可以发现其共同特点为大部分种质为中感至感病类型,且中抗材料比例相似,均不存在免疫品种,不同点在于北方高抗种质远多于南方种质。

表 1 342 份大豆种质资源对尖镰孢菌的抗性评价

Table 1 Evaluation of resistance of 342 soybean germplasm to *Fusarium oxysporum*

抗病类型 Type of reaction	病情指数 Disease index	大豆种质数量 No. of soybean germplasm	百分率 Percentage/%
免疫 Immunity	0	0	0
高抗 High resistant	0 < DI ≤10	10	2.92
中抗 Medium resistant	10 < DI ≤20	78	22.81
中感 Medium susceptible	20 < DI ≤30	134	39.18
感病 Susceptible	30 < DI <60	108	31.58
高感 High susceptible	DI ≥60	12	3.51

2.3 抗感种质资源及病情指数分析

研究表明,大部分抗病种质资源主要集中在北方。在鉴定出的 10 份高抗品种中 8 份来自于北方,其中绥 05-7304、绥农 30、合 05-31、抗线 2 号、绥 02-339、垦 04-8579 均来自黑龙江,铁丰 8 号来自于辽宁,公野 04L-141 来自吉林。在鉴定的 165 份北方品种中高抗率为 4.85%;1 份高抗品种来自安徽即蒙 9793-1,占鉴定的 141 份南方中资资源的

0.71%;来自美国的 1 份高抗品种 L-21 占 36 份国外资源的 2.78%(表 2)。在此次鉴定中鉴定出 10 个高感品种,其中内蒙高感率最高,6 份种质资源中有一份高感品种,占 16.67%,但由于鉴定品种较少,不能确定准确性;其次为河北,高感率为 8.33%;黑龙江和辽宁均为 5.26%;高感率最低的为北京,占 23 份种质资源的 4.35%(表 3)。

表 2 大豆尖镰孢菌高抗资源

Table 2 The evaluation of high resistance to *F. Oxysporum* in soybean

大豆资源 Soybean germplasm	病情指数 Disease index	大豆资源 Soybean germplasm	病情指数 Disease index
绥 05-7304 Sui 05-7304	4.762	铁丰 8 号 Tiefeng 8	5.714
蒙 9793-1 Meng 9793-1	7.143	抗线 2 号 Kangxian 2	8.952
绥农 30 Suinong 30	8.952	L-21	8.571
合 05-31 He 05-31	9.048	绥 02-339 Sui 02-339	9.048
公野 04L-141 Gongye 04L-141	9.524	垦 04-8579 Ken 04-8579	9.524

表 3 大豆尖镰孢菌高感品种

Table3 The evaluation of highsusceptible to *F. Oxysporum* in soybean

大豆资源 Soybean germplasm	病情指数 Disease index	大豆资源 Soybean germplasm	病情指数 Disease index
中豆 27 Zhongdou 27	60.000	辽豆 3 号 Liaodou 3	60.952
龙泉大豆 Longquan soybean	62.857	五星 4 号 Wuxing 4	62.857
呼交 423 Hujiao 423	63.809	北 1873 Bei 1873	63.809
垦鉴 23 Kenjian 23	70.476	东农 56 Dongnong 56	69.524
黑农 44 Heinong 44	77.143	蒙 9449 Meng 9449	78.095

2.4 尖镰孢菌毒素对大豆抗感品种根系超氧化物歧化酶 (SOD) 活性的影响

不同的抗感品种在菌液处理后 SOD 活性变化如图 1 所示。无论抗病还是感病品种,SOD 的活性总体都是呈现先上升再下降的趋势,但抗病品种增加的趋势较感病品种快,在 0~12 h 增长较缓慢,在 12~24 h 急速增长,并在 24 h 达到峰值,其后开始下降。而感病品种则一开始就在增长,但涨幅很小,在 12 h 最高,在 12~24 h 之间缓慢下降,在 24 h 后开始急速下降。但抗病品种的 SOD 活性明显高于感病品种。

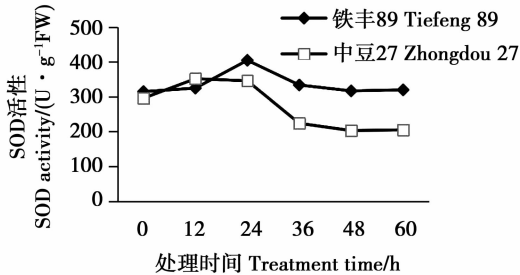


图 1 菌液处理后对抗感品种 SOD 活性的影响

Fig.1 The effect of microbial treatment on SOD activities of resistant and susceptible soybean varieties

2.5 尖镰孢菌毒素对大豆抗感品种根系可溶性糖活性的影响

图 2 为抗感品种在菌液处理后根系内可溶性糖含量的变化。由图 2 可以看出,无论抗病品种还是感病品种,在菌液处理后,根系内可溶性糖的含量

均呈下降趋势,但抗病品种在 24 h 之前下降的幅度很小,且在后期还有小幅度增加。而感病品种根系内可溶性糖在处理期间一直在下降,且在处理初期下降的程度大。总体上,抗病品种可溶性糖含量比感病品种下降缓慢。

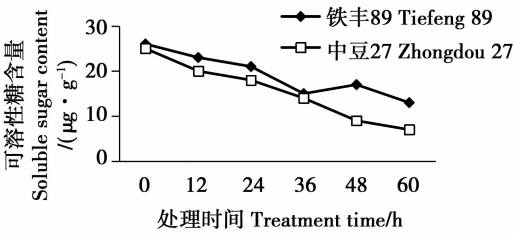


图 2 菌液处理后对抗感品种可溶性糖含量的影响

Fig.2 The effect of microbial treatment on soluble content of resistant and susceptible soybean varieties with
2.6 尖镰孢菌毒素对大豆抗感品种根系丙二醛 (MDA) 活性的影响

菌液处理后抗感品种体内 MDA 含量变化较复杂,总体呈现先上升再下降再上升再下降的趋势,变化程度如图 3 所示。抗病品种在接种的前 24 h 呈缓慢上升趋势,总体增长量不高,其后呈缓慢降低、升高、再降低的趋势。感病品种在前 24 h 同样呈现上升的趋势,但上升的趋势较快,且在 24 h 时出现峰值,其后急速下降到最低点后呈上升再下降的趋势。抗病品种接种后根系中丙二醛的含量变化幅度较感病品种小。

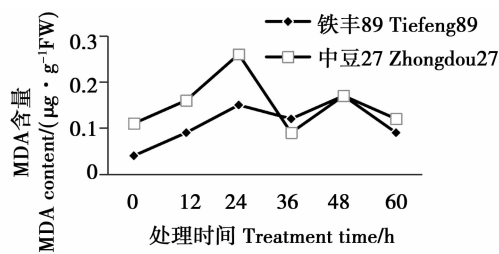


图3 菌液处理对抗感品种MDA含量的影响
ig.3 The effect of microbial treatment on MDA content of resistant and susceptible soybean varieties

3 结论与讨论

由镰刀菌引起的大豆根腐病是影响我国大豆产量的重要病害之一,严重时可使大豆减产,甚至绝产^[16]。引起大豆根腐病的病原菌很多,王晓燕等^[4]、邢安等^[5]、马淑梅^[2]、白艳丽等^[7]、张丽等^[14],均认为尖镰孢菌为黑龙江省大豆根腐病的优势致病小种。李长松等^[17]认为黄淮地区大豆根腐病致病菌主要为茄镰孢,尖镰孢次之。李本金等^[18]认为茄镰孢和尖镰孢在福建为大豆根腐病优势致病菌种。李丹等^[19]认为木贼镰孢在甘肃省为主要优势镰孢菌,占分离镰孢菌的31.58%,其次是尖镰孢。本研究结果显示由尖镰孢菌作为供试菌种鉴定的大豆种质全部发病,虽存在抗病品种,但数量较少,感病品种数量居多且存在种子还未发育就腐烂长菌的现象,可见尖镰孢菌的致病力高,严重影响大豆生长发育。

通过比较南北方大豆品种对尖镰孢菌的抗感情况发现北方大豆材料中高抗品种占据绝大多数,而南方大豆感病材料的平均病情指数低于比北方材料。分析原因可能是南北方镰孢菌优势株系存在差异。即尖镰孢菌可能不是南方地区的主要致病菌种,进一步分析发现,无论是高抗品种还是中抗品种,北方品种数量都要多于南方,特别是在高抗品种方面,主要集中在东北三省。同类研究中,肖彩霞等2013年的鉴定结果表明东北三省的大豆存在大量抗优势致病镰孢菌*F. solani*和*F. oxysporum*的资源^[20]。以上均表明在东北三省存在着丰富的抗源,因此,不断扩大东北地区大豆种质资源的抗性鉴定范围,有望获得更多的抗源材料。

通过对选取的一对抗感品种用菌液处理后测定其根系内SOD、可溶性糖和MDA活性及含量发现:SOD是植物体内防御活性氧毒性的保护酶,能提高植物抗逆性^[21]。在菌液处理后,抗感品种根系内SOD含量均为先升高再降低,但抗病品种活性比

感病品种高,说明抗病品种能更快的诱导抗性的表达,但其后活性都下降,说明抗性具有时效性,随着时间的延长,抗性可能消失,但抗病品种时效性比感病品种长;无论抗感品种,可溶性糖的含量均持续降低,说明在菌液处理后,植物体内的呼吸作用增强了,但感病品种降低的速度更快;菌液处理后,抗感品种根系内MDA含量变化均较复杂,而MDA含量是衡量细胞膜受损伤的指标之一,说明在病菌侵入时细胞膜受到损坏,而抗病品种变化幅度较小,对膜的损害也相对减小。因此,植物体内抗性与防御酶及保护性物质密切相关。

参考文献

[1] Li Y G, Ma F M. Antagonistic mechanism of *Fusarium oxysporum* of soybean root rot by *Bacillus subtilis*[J]. Applied Mechanics and Materials, 2012(108):127-131.

[2] 马淑梅. 黑龙江省大豆根腐病致病病原种类分布及抗病种质鉴定[J]. 中国农学通报, 2012, 28(27):230-235. (Ma S M. Pathogenic pathogen categories distribution and germplasm resistance identification of soybean root rot in Heilongjiang province [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2012, 28(27):230-235.)

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

[4] 王晓燕, 文景芝. 东北三省大豆根腐病镰孢菌种类及其致病力分析[J]. 中国油料作物学报, 2011, 33(4):391-395. (Wang X Y, Wen J Z. Species and pathogenicity of *Fusarium* causing soybean root rot in Northeast China[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2011, 33(4):391-395.)

[5] 邢安, 文景芝, 吕国忠, 等. 黑龙江省大豆根腐病株上镰孢菌的分离与鉴定[J]. 东北农业大学学报, 2009, 40(8):5-9. (Xing A, Wen J Z, Lyu G Z, et al. Isolation and identification of *Fusarium* species from soybean plant with root-rot symptom in Heilongjiang province[J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2009, 40(8):5-9.)

[6] Li Y G, Zhang L, Wang C L, et al. Antagonistic mechanism and control effect of *Bacillus subtilis* Y2 against *Fusarium oxysporum* causing soybean root rot[J]. African Journal of Microbiology Research, 2013, 7(8):652-656.

[7] 白丽艳, 张全党, 李斌, 等. 新疆阿勒泰地区大豆镰刀菌根腐病病原鉴定及致病性测定[J]. 新疆农业科学, 2009, 46(3):543-548. (Bai Y L, 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.)

[8] 李宝英, 马淑梅. 大豆根腐病病原菌种类及抗源筛选[J]. 植物保护学报, 2000, 3(1):91-92. (Li B Y, Ma S M. Pathogens of soybean root rot and screening of resistant sources[J]. Acta Phytophy Acica Sinica, 2000, 3(1):91-92.)

[9] 李长松, 赵玖华, 杨崇良, 等. 大豆根腐病菌致病力分化的初步

研究[J]. 植物病理学报,1997(2):1-7. (Li C S, Zhao J H, Yang C L, et al. Prelimin Ary Study on differentiation of pathogenicity of *Fusarium Solani* causing soybean root rot[J]. Acta Phytopathologica Sinica,1997(2):1-7.

[10] Dorrance H R, Docherty G M, O' Dwyer P J. Effect of surgeon specialty interest on patient outcome after potentially curative colorectal surgery[J]. Diseases of the Colon and Rectum, 2000,43(4):492-498.

[11] 杨帅. 大豆镰刀菌根腐病病原种类及大豆抗病种质资源筛选[D]. 南京:南京农业大学,2012,6. (Yang S. Soybean *Fusarium* root rot pathogen species and soybean germplasm screening[D]. Nanjing:Nanjing Agricultural University,2012,6.)

[12] 台莲梅,许艳丽,闫风云. 尖孢镰刀菌毒素对大豆幼根生理生化影响[J]. 中国农学通报,2005,21(11):193-196. (Tai L M, Xu Y L, Yan F Y. The Effect of toxin form *Fusarium oxysporum* on biochemical and physiological of soybean seeding root[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin,2005,21(11):193-196.)

[13] 郑巅峰,梁喜龙,左豫虎,等. 大豆根腐病菌对大豆幼苗生理生化指标的影响[J]. 中国油料作物学报,2004,26(3):57-61. (Zheng D F, Liang X L, Zuo Y H, et al. Pathogen (*Fusarium Oxysporum*) of soybean root rot impacting on biochemical and physiological indexes of soybean seeding[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences,2004,26(3):57-61.)

[14] 张丽,耿肖兵,王春玲,等. 黑龙江省大豆镰孢根腐病菌鉴定及致病力分析[J]. 植物保护,2014,40(3):165-168. (Zhang L, Geng X B, Wang C L, et al. Identification and virulence of *Fusarium* spp. causing soybean root-rot in Heilongjiang province[J]. Plant Protection,2014,40(3):165-168.)

[15] Burpee L L. Pathogenicity of *Ceratobasidium cornigerum* and related fungi representing five anamosis groups[J]. Phytopathology, 1980, 70(9): 843-846 .

[16] 梁喜龙,郑巅峰,左豫虎. 大豆根腐病的研究现状及展望[J]. 黑龙江八一农垦大学学报,2003,15(4):30-34. (Liang X L, Zheng D F, Zuo Y H. Research status and prospects of soybean root rot[J]. Journal of Heilongjiang August First Land Reclamation University,2003,15(4):30-34.)

[17] 李长松,罗瑞梧. 黄淮地区大豆根腐病原菌分离及致病性研究[J]. 植物保护学报,1996,23(2):187-188. (Li C S, Luo R W. Isolation and identification of the pathogenic fungi causing soybean root rot in Yellow River and Huaihe River Basins[J]. Acta Phytophylacica Sinica ,1996,23(2):187-188.)

[18] 李本金,陈庆河,兰成忠,等. 福建省大豆根腐病病原菌的鉴定[J]. 福建农业学报,2011,26(5):798-803. (Li B J, Chen Q H, Lan C Z, et al. Identification and pathogenicity test of pathogens causing soybean root rot in Fujian[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences,2011,26(5):798-803.)

[19] 李丹,吕国忠,陈秀蓉,等. 甘肃省镰孢菌的鉴定(I). 甘肃农业大学学报,2009,6(3):88-96. (Li D, Lyu G Z, Chen X R, et al. Identification of *Fusarium* species from Gansu province[J]. Journal of Gansu Agricultural University,2009,6(3):88-96.)

[20] 肖彩霞,关雪松,王晓燕,等. 东北三省大豆品种(系)对大豆根腐镰孢菌的抗性分析[J]. 中国油料作物学报,2013,35(2):201-206. (Xiao C X, Guan X S, Wang X Y, et al. Resistance of soybean cultivars (lines) against *Fusarium* species causing soybean root rot in Northeast China[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences,2013,35(2):201-206.)

[21] 龚国强,于梁,周山涛. 低温对黄瓜果实超氧化物歧化酶(SOD)的影响[J]. 园艺学报,1996,23(1):97-98. (Gong G Q, Yu L, Zhou S T. Effect of low temperature on superoxide dismutase in cucumber fruit[J]. Acta Horticulturae Sinica,1996,23(1):97-98.)