

施氮水平对芸豆叶片氮代谢酶活性和氮吸收及营养品质的影响

刘春梅, 王孟雪, 孙海燕, 于立红, 孙志超, 强斌斌

(黑龙江八一农垦大学农学院, 黑龙江 大庆 163319)

摘要:通过分析施氮水平对芸豆氮代谢关键酶活性、氮吸收及营养品质的影响,探讨氮代谢关键酶活性与氮吸收及营养品质的关系,为芸豆节肥、提质提供依据。采用盆栽试验,以‘英国红’为试验材料,设置N1(25 kg/hm²)、N2(30 kg/hm²)、N3(35 kg/hm²)、N4(40 kg/hm²)4个施氮水平,以不施氮肥N0为对照。分析不同施氮水平下,芸豆苗期、初花期、结荚期、鼓粒期叶片硝酸还原酶(NR)活性、谷氨酰胺合成酶(GS)活性、植株氮含量和籽粒营养品质的变化规律。结果表明:(1)同一生育时期,随着施氮量的增加,叶片NR和GS活性先增加后下降,N2处理NR和GS活性最高,与N0相比,初花期NR活性增加了24.68%,结荚期GS活性增加了18.21%。(2)施氮量在0~30 kg/hm²范围时,随着施氮量的增加,芸豆各生育时期各器官氮含量和籽粒粗蛋白、总淀粉含量增加,施氮量在30~40 kg/hm²时,随着施氮量的增加,各器官氮含量和营养品质下降。N2处理粗蛋白含量和总淀粉含量分别比N0增加了12.38%和9.34%。(3)叶片NR和GS活性与芸豆籽粒蛋白含量和总淀粉含量呈正相关。因此,在本试验条件下,黑龙江省半干旱地区芸豆30 kg/hm²为最佳氮肥施用量。

关键词:氮水平;芸豆;氮代谢酶

中图分类号:S643

文献标识码:A

文章编号:2096-5877(2020)03-0016-06

Effects of Nitrogen Levels on Nitrogen Metabolism Enzymes Activities, Nitrogen Absorption and Nutritional Quality of Kidney Bean Leaves

LIU Chunmei, WANG Mengxue, SUN Haiyan, YU Lihong, SUN Zhichao, QIANG Binbin

(College of Agronomy, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China)

Abstract: By analyzing the effects of nitrogen application level on the activities of key enzymes of nitrogen metabolism, nitrogen absorption and nutritional quality of kidney beans, the relationship between the activities of key enzymes of nitrogen metabolism and nitrogen absorption and nutritional quality was discussed, so as to provide the basis for saving fertilizer and improving quality of kidney beans. Kidney bean cultivar of ‘Yingguohong’ was selected as of the material in a pot experiment. Four nitrogen application levels, N1 (25 kg/ha), N2 (30 kg/ha), N3 (35 kg/ha) and N4 (40 kg/ha) were set, and N0 was taken as control. The regular pattern of NR activity, glutaminesynthetase (GS), plant nitrogen content and grain nutritional quality of kidney bean at seeding stage, initial flowering stage, pod setting stage and grain filling stage were analyzed. The results showed that: (1) At the same growth stage, with the increase of nitrogen application rate, the NR and GS activities of leaves first increased and then decreased, and the NR and GS activities of N2 treatment were the highest. NR activity increased by 24.68% at initial flowering stage and GS activity increased by 18.21% at pod setting stage, compared with N0 treatment. (2) In the range of 0~30 kg/ha, nitrogen content, crude protein content and total starch content of kidney bean increased with the increase of nitrogen application rate. When the nitrogen application rate was 30~40 kg/ha, the nitrogen content and nutritional quality of each organ decreased with the increase of nitrogen application rate. The crude protein content and total starch content of N2 treatment increased by 12.38% and 9.34%, compared with N0 treatment. (3) The activities of NR and GS in leaves were positively correlated with the protein content and total starch content of kidney bean. Therefore, 30 kg/ha of kidney bean in semi-arid area of Heilongjiang Province was the best nitrogen fer-

收稿日期:2019-04-09

基金项目:黑龙江农垦总局项目(HNK135-02ZD-19);黑龙江省大学生创新创业训练计划项目(201810223011)

作者简介:刘春梅(1974-),女,讲师,博士,主要从事作物营养与施肥研究。

tilizer application rate.

Key words: Nitrogen levels; Kidney bean; Nitrogen metabolism enzymes

芸豆是我国传统的药食同源食品和粮饲兼用作物,营养丰富,不仅蛋白质含量较高,还富含大量的优质淀粉,能提高人体自身免疫力、增强抗病能力等,许多国家把芸豆看成是低脂肪、高蛋白、多种矿物质的天然保健食品之一^[1-2],在国际市场很受欢迎。黑龙江省是我国最重要的芸豆生产省份之一,每年种植面积20万 hm^2 左右,约占全国芸豆种植面积的1/3^[3]。

氮代谢是植株体内最基本的物质代谢之一,为植物正常生长发育提供物质基础。硝酸还原酶(nitrate reductase, NR)和谷氨酰胺合成酶(glutamine synthetase, GS)是植物氮代谢的关键酶,不仅对氮素吸收、同化起关键作用,而且对外源氮肥用量也很敏感^[4]。宫香伟等^[5]研究指出,施氮增加了糜子顶3叶叶片的NR和GS活性。赵春波等^[6]研究表明,黄瓜施氮225~375 kg/hm^2 时,随施氮量增加,功能叶片的NR和GS活性逐渐升高,但超过375 kg/hm^2 时,活性有下降的趋势。赵鹏等^[7]研究指出,开花后6d, NR活性与春小麦籽粒蛋白质含量呈负相关,GS活性有利于蛋白质的合成。不同施氮水平下芸豆NR和GS活性与氮吸收关系研究较少。本文通过调控氮肥用量,研究不同生育时期芸豆的NR和GS活性、各器官氮含量和籽粒品质,探讨芸豆氮代谢变化规律,筛选出适合黑龙江省半干旱地区最适氮肥用量,为芸豆节肥、增效、提质提供依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

试验于2018年5~8月在黑龙江八一农垦大学盆栽试验场进行。供试芸豆品种为‘英国红’,矮生直立型品种,生育期平均96d,种皮紫红色,种型为肾形。供试肥料:尿素(N 46%)、磷酸二铵(N 18%, P_2O_5 46%)、硫酸钾(K_2O 50%)。供试土壤为碱化草甸土,土壤基础养分含量为:有机质44.8 g/kg ,碱解氮140.5 mg/kg ,速效磷18.9 mg/kg ,速效钾226.0 mg/kg ,pH 7.15。

1.2 试验设计

采用盆栽模拟试验,设置5个氮素水平:N0(0 kg/hm^2)、N1(25 kg/hm^2)、N2(30 kg/hm^2)、N3(35 kg/hm^2)、N4(40 kg/hm^2)。固定使用磷肥36 kg/hm^2 ,钾肥21 kg/hm^2 ,每个处理15次重复,每盆肥

料单独称量装入封口袋中备用。所用盆钵直径为30cm,高30cm,将取回的土壤过10mm筛,每盆装土15kg,每盆土壤和肥料充分混合均匀。5月20日播种,每盆10粒均匀一致种子,出苗后再间苗,保证每盆有5株长势一致的芸豆植株。

1.3 测定项目和测定方法

1.3.1 NR活性和GS活性的测定

苗期将顶端完全展开的复叶取下,初花期、结荚期和鼓粒期将每株主茎自下而上第5个复叶取下,迅速用自来水和蒸馏水洗净叶片上的杂物,去除主叶脉,用打孔器打成直径为0.5cm的片状小叶片,混合均匀作为测定样品。NR活性用磺胺比色法^[8]测定,GS活性采用张浩政等^[9]的方法。

1.3.2 植株氮含量的测定

苗期、初花期、结荚期、鼓粒期、成熟期,将每盆中5株芸豆剩余的叶片、茎秆、荚皮和籽粒(结荚期后)取下清洗干净,105 $^{\circ}\text{C}$ 杀青30min,60~70 $^{\circ}\text{C}$ 烘干至恒重,粉碎,过0.25mm筛,采用凯氏法测定全氮含量。

1.3.3 籽粒粗蛋白含量的测定

称取过0.25mm筛籽粒样品在25 $^{\circ}\text{C}$ 室温下平衡水分,放入60 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱中连续干燥48h。称取0.50g放入100mL消煮管中, $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-H}_2\text{O}_2$ 作为消煮液,消煮至溶液完全澄清,定容、摇匀后待用。吸取10mL消煮液采用TY1-KDY-9830定氮仪测定全氮含量,按系数6.25换算成粗蛋白含量。

1.3.4 籽粒淀粉含量的测定

籽粒淀粉含量采用双波长法测定^[10]。

1.3.5 土壤基础养分含量测定

在过筛后的土堆中,随机取10点组成混合样品,风干后过1mm和0.25mm的土筛,备用。有机质测定采用外加热容量法,碱解氮测定采用碱解扩散法,速效磷测定使用 NaHCO_3 浸提-钼锑抗比色法,速效钾采用 $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ 浸提-火焰光度计法测定,pH采用酸度计法测定^[11]。

1.4 数据处理与统计

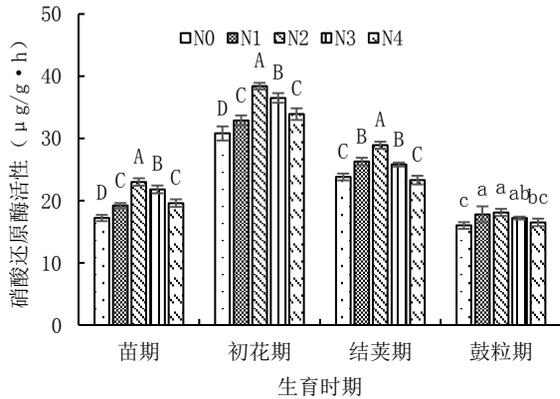
数据处理与统计分析采用Microsoft Excel 2010和SPSS 17.0软件,作图使用OriginLab 2018软件。

2 结果与分析

2.1 施氮水平对氮代谢关键酶的影响

2.1.1 施氮水平对NR活性的影响

由图1可知,从苗期到鼓粒期,NR活性顺序为初花期>结荚期>苗期>鼓粒期,初花期NR活性最高,平均为34.5 $\mu\text{g}/\text{g}\cdot\text{h}$,是鼓粒期NR活性的2.01倍。同一生育时期随着施氮量的增加,叶片NR活性均呈现先增加后下降的趋势,N2处理时NR活性最高。与N0相比,N2处理苗期、初花期、结荚期和鼓粒期NR活性分别增加了33.72%、24.68%、21.43% ($P<0.01$)和13.13% ($P<0.05$)。



注:不同大、小写字母表示差异达1%和5%显著水平,下同
图1 施氮水平对NR活性的影响

2.1.2 施氮水平对GS活性的影响

由图2可知,从苗期到鼓粒期,GS活性顺序为结荚期>初花期>鼓粒期>苗期,结荚期GS活性最

高,平均为2.74 $\mu\text{mol}/\text{mL}\cdot\text{min}$,是苗期GS活性的1.70倍。同一生育时期,随着施氮量的增加,叶片GS活性均呈现先增加后下降的趋势,其中N2处理GS活性最高。与N0相比,N2处理苗期、初花期、结荚期和鼓粒期GS活性分别增加了36.75%、18.21%、23.37%和22.92% ($P<0.01$)。

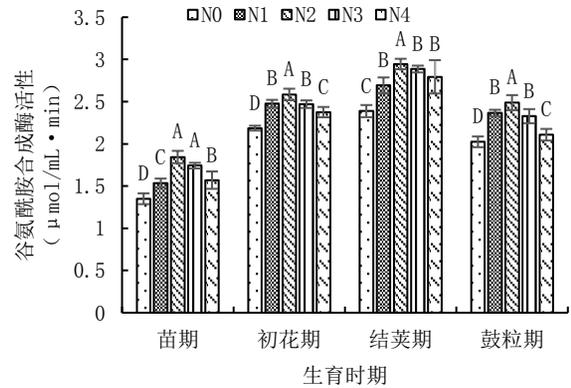


图2 施氮水平对GS活性的影响

2.2 施氮水平对芸豆氮吸收的影响

从图3可知,随着芸豆的生长发育,叶片、茎秆和荚皮的氮含量逐渐下降,籽粒的氮含量逐渐增加。同一生育时期,施用氮肥可提高芸豆各器官氮含量。N4处理下叶片氮含量最高,与N0相比,苗期、初花期、结荚期、鼓粒期和成熟期的氮含量分别增加了41.27%、30.14%、30.35%、33.78%

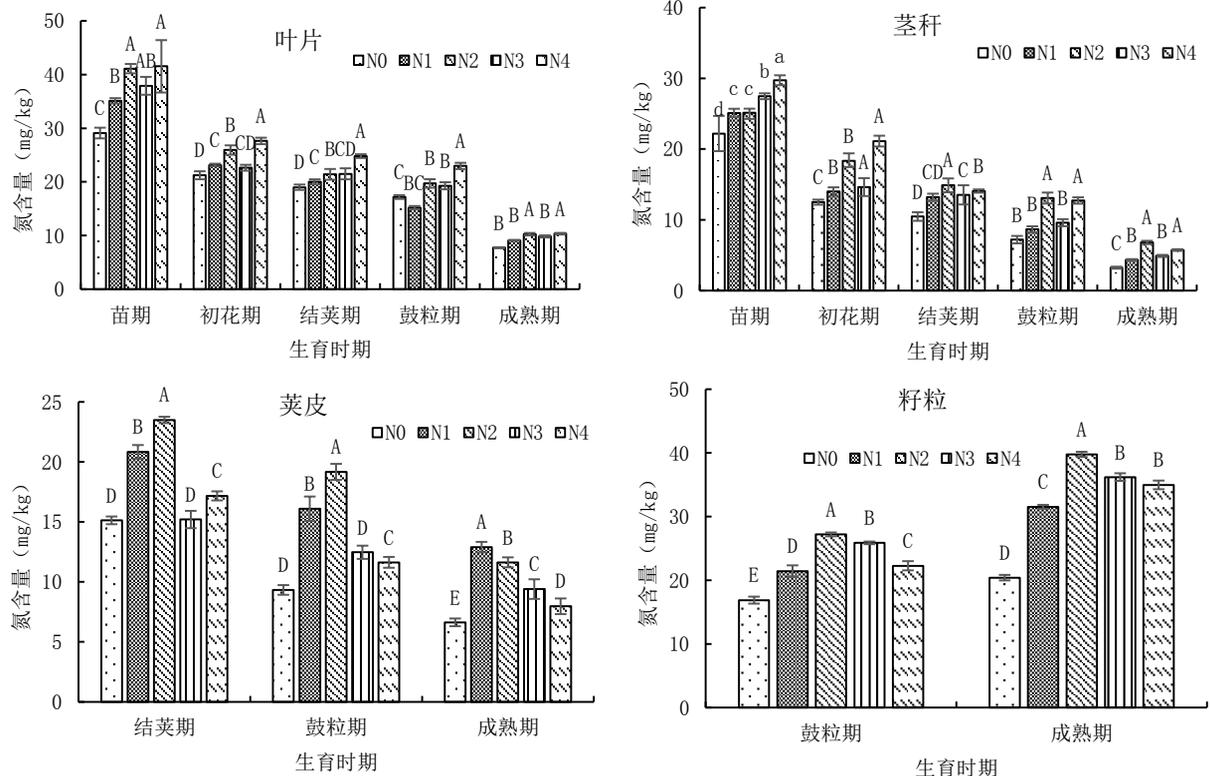


图3 施氮水平对芸豆氮含量的影响

和33.78% ($P<0.01$)。从苗期到初花期, N4处理下茎秆氮含量最高, 与N0处理相比, 氮含量分别增加了33.93%和69.07% ($P<0.01$)。从结荚期到成熟期, 随着施氮量的增加, 茎秆氮含量呈先增加后下降的趋势, N2处理氮含量分别是N0处理的1.42倍、1.82倍和2.10倍 ($P<0.01$)。结荚期和鼓粒期N2处理荚皮氮含量是N0处理的1.55倍和2.05倍 ($P<0.01$), 成熟期N1处理是N0处理的1.94倍 ($P<0.01$)。随着施氮的增加, 籽粒氮含量先增加后下降, 鼓粒期和成熟期N2处理氮含量是N0

处理的1.61倍和1.95倍 ($P<0.01$)。

2.3 施氮水平对籽粒营养品质的影响

从表1可知, 随着施氮量的增加, 粗蛋白含量逐渐增加, 氮肥增加到一定量时, 粗蛋白含量会下降, N2处理粗蛋白含量最高, 比N0处理增加了12.38% ($P<0.01$)。随着施氮量的增加, 籽粒的总淀粉含量、直链淀粉和支链淀粉含量均呈现先增加后下降的趋势, 其中N2处理各项指标均表现较好, 与N0处理相比, 总淀粉含量和直链淀粉分别提高了9.34%和15.09% ($P<0.05$)。

表1 施氮水平对籽粒品质的影响

g/100 g

处理	粗蛋白	直链淀粉	支链淀粉	总淀粉
N0	18.01±0.647C	16.04±0.791c	25.93±0.535a	41.97±0.756c
N1	18.77±0.681B	17.12±0.788bc	27.46±0.813a	44.58±0.960b
N2	20.24±0.708A	18.46±0.431a	27.43±0.249a	45.89±0.177a
N3	20.08±0.496A	17.40±1.038b	27.79±0.518a	45.19±1.513a
N4	18.66±0.335B	17.21±0.554bc	26.04±0.459a	43.25±0.879b

2.4 氮代谢酶活性与氮含量和营养品质相关性分析

由表2可知, 不同生育时期NR和GS活性与成熟期不同器官氮含量和籽粒营养品质相关性各不相同。苗期NR活性与籽粒氮含量、粗蛋白极显著正相关, 相关系数分别为0.919和0.980。初花期NR活性与各器官氮含量相关性不显著, 与籽粒直链淀粉和粗蛋白极显著正相关, 相关系数为0.943和0.971。结荚期NR活性与各器官氮含量和籽粒营养品质均相关性不显著。鼓粒期NR活性与荚皮氮含量和籽粒总淀粉显著正相关。

苗期GS活性与籽粒氮含量和粗蛋白含量极显著正相关, 相关系数为0.934和0.975; 与直链淀粉和总淀粉显著正相关, 相关系数为0.952和0.926。初花期GS活性与各器官氮含量相关性不显著, 与直链淀粉极显著正相关, 相关系数为0.940。结荚期GS活性与叶片、茎秆和直链淀粉、粗蛋白显著正相关; 与籽粒氮含量极显著正相关, 相关系数为0.993。鼓粒期GS活性与叶片氮含量极显著正相关, 相关系数为0.970; 与荚皮氮含量和籽粒总淀粉显著正相关。

表2 氮代谢酶活性与氮含量和籽粒营养品质相关性分析

生育时期	酶	氮含量				营养品质			
		叶片	茎秆	荚皮	籽粒	支链淀粉	直链淀粉	总淀粉	粗蛋白
苗期	NR	0.794	0.843	0.511	0.919**	-0.132	0.944*	0.923*	0.980**
	GS	0.815	0.855	0.525	0.934**	-0.105	0.952*	0.926*	0.975**
初花期	NR	-3.310	-1.740	0.621	-0.037	-0.107	0.943**	0.893*	0.971**
	GS	-0.501	-3.280	0.457	-0.220	-0.577	0.940**	0.972*	0.830
结荚期	NR	0.362	0.575	0.786	0.606	-0.577	0.806	0.873	0.776
	GS	0.934*	0.819*	0.524	0.993**	0.128	0.928*	0.881	0.895*
鼓粒期	NR	0.514	0.595	0.949*	0.723	-0.391	0.825	0.924*	0.728
	GS	0.970**	0.686	0.889*	0.769	-0.439	0.856	0.969*	0.830

注: **表示 $P<0.01$; *表示 $P<0.05$

3 讨论

3.1 施氮水平对氮代谢关键酶的影响

NR是将植物吸收的 NO_3^- 同化为 NH_4^+ 的第一个酶, 它的活性大小不仅表明作物氮素吸收、同化水平, 也反映作物在不同氮肥用量下对氮素利

用能力的高低。GS是植物氮代谢的另一个关键性限速酶,植物吸收的无机氮95%都通过GS催化GS-GOGAT途径转化为氨基酸被植物吸收利用,GS活性的提高可带动氮代谢的运转增强,促进氨基酸的合成和转化^[12]。施氮量在0~240 kg/hm²范围内,小麦旗叶NR活性随施氮量增加而提高,施氮大于350 kg/hm²时,降低了小麦旗叶NR活性^[13]。刘娜等^[14]研究不同氮素水平对甜菜氮代谢酶和可溶性蛋白含量的影响指出,施氮量和生育早期叶片中NR和GS活性呈显著正相关。施氮量在0~200 kg/hm²时,叶片NR活性随着施氮水平的提高而增加,但超过200 kg/hm² NR活性下降;整个生育期施氮处理增加了GS活性。本试验结果与前人研究较一致,从苗期到鼓粒期,芸豆叶片NR和GS活性先增加后下降,其中初花期NR活性最高,结荚期GS活性最高。同一生育时期,随着施氮量的增加,叶片NR和GS活性先增加后下降,N2处理NR和GS活性最高,与N0处理相比,初花期NR活性增加了24.68% ($P<0.01$),结荚期GS活性增加了18.21% ($P<0.01$)。

3.2 施氮水平对芸豆氮含量和营养品质的影响

在一定施氮量范围内,随施氮量的增加,籽粒氮含量呈现先增加后降低的趋势^[15]。氮肥施用水平与玉米植株氮素积累量呈显著正相关^[16]。水氮互动下,水稻各生育期功能叶片NR和GS活性与叶片氮含量呈显著或极显著正相关^[17]。本试验结果也表明,施氮量在0~30 kg/hm²时,随着施氮量的增加,芸豆各生育时期茎秆、荚皮和籽粒氮含量均增加,施氮量在30~40 kg/hm²时,随着施氮量的增加,各器官氮含量下降。杨亮等^[10]研究认为随着施氮量的增加,4个芸豆品种籽粒粗蛋白含量增加,当氮肥用量达到一定量时,再增施氮肥反而造成粗蛋白含量下降。合理施氮能够促进小麦GS活性、游离氨基酸含量的提高,能够增加产量和籽粒蛋白含量^[18]。本试验研究也认为,随着施氮量的增加,粗蛋白含量、总淀粉含量、直链淀粉和支链淀粉逐渐增加,但增加到一定量时,籽粒粗蛋白和淀粉含量会下降,N2处理(30 kg/hm²)最高,粗蛋白含量比N0处理增加了12.38% ($P<0.01$),总淀粉和直链淀粉含量分别提高了9.34%和15.09% ($P<0.05$)。

3.3 氮代谢关键酶活性与氮含量和籽粒营养品质间的相关性分析

NR活性可作为反映小麦籽粒蛋白质含量高低的一项重要指标,小麦籽粒蛋白质含量与旗叶

NR和GS活性呈正相关^[7,19]。黄瓜叶片NR和GS活性与果实中的粗蛋白含量显著正相关^[6]。本试验研究结果认为,叶片NR和GS活性与籽粒蛋白质含量呈正相关,尤其是苗期的NR和GS活性与籽粒蛋白质含量极显著正相关。GS活性与直链淀粉含量、总淀粉含量显著正相关。主要是NR和GS活性高低能显著影响植物体内氮素的流向,特别是苗期的NR活性和GS活性与籽粒氮含量极显著正相关,从而显著影响了籽粒的营养品质。

4 结 论

4.1 从苗期到鼓粒期,叶片NR和GS活性先增加后下降,其中初花期NR活性最高,结荚期GS活性最高。同一生育时期,随着施氮量的增加,叶片NR和GS活性先增加后下降,施氮量30 kg/hm²时,NR和GS活性最高,与N0处理相比,初花期NR活性增加了24.68% ($P<0.01$),结荚期GS活性增加了18.21% ($P<0.01$)。

4.2 施氮量在0~30 kg/hm²时,随着施氮量的增加,各生育时期茎秆、荚皮和籽粒氮含量、籽粒粗蛋白、总淀粉、直链淀粉和支链淀粉含量均增加,施氮量在30~40 kg/hm²时,随着施氮量的增加,各器官氮含量和营养品质下降。成熟期施氮量30 kg/hm²时,叶片、茎秆和籽粒氮含量分别是N0的1.33倍、2.10倍和1.95倍,粗蛋白、总淀粉和直链淀粉含量分别比N0处理增加了12.38% ($P<0.01$)、9.34%和15.09% ($P<0.05$)。

4.3 叶片NR和GS活性与芸豆籽粒蛋白质和总淀粉含量呈正相关,尤其苗期的NR和GS活性与籽粒蛋白质、总淀粉含量呈极显著正相关。

参考文献:

- [1] 余 莉,张时龙,李清超,等.主成分分析在芸豆品种筛选中的应用[J].东北农业科学,2016,41(1):91-96.
- [2] 肖 靖,李 斌,石晓华,等.普通菜豆蛋白质组学研究进展[J].东北农业科学,2016,41(4):90-93.
- [3] 宋瑾同,赵宏伟,杨 亮,等.氮肥用量对芸豆氮肥利用率和产量影响的研究[J].农业现代化研究,2013,36(6):749-753.
- [4] 马会杰.不同类型春小麦籽粒蛋白质与其组分的积累规律及其相关酶的分析[D].乌鲁木齐:新疆农业大学,2012.
- [5] 宫香伟,韩浩坤,张大众,等.氮肥运筹对糜子生育后期干物质积累与转运及叶片氮素代谢的调控效应[J].中国农业科学,2018,51(6):1045-1056.
- [6] 赵春波,王超楠,宋述尧,等.氮素营养水平对黄瓜氮代谢关键酶活性变化及氯化物的影响[J].吉林农业大学学报,2017,39(2):139-147.

[7] 赵 鹏,何建国,熊淑萍,等.氮素形态对专用小麦旗叶酶活性及籽粒蛋白质和产量的影响[J]. 中国农业大学学报, 2010, 15(3):29-34.

[8] 张志良,瞿伟菁.植物生理学实验指导[M].北京:高等教育出版社,2003:41-43.

[9] 张浩政.不同灌溉方式下氮肥施用量对寒地粳稻氮代谢及产质量的影响[D].哈尔滨:东北农业大学,2014.

[10] 杨 亮,赵宏伟,宋瑾同,等.氮肥用量对芸豆叶绿素含量和籽粒营养品质影响的研究[J].作物杂志,2013(1):81-87.

[11] 鲍士旦.土壤化学分析[M].北京:中国农业出版社,2008:30-34.

[12] 刘子会,王晓明,柳斌辉,等.不同生育期杂交谷子叶片氮代谢相关酶活性的杂种优势[J].西北农业学报,2013,22(10):75-79.

[13] 张 弦,苏豫梅,高文伟,等.不同施氮水平对小麦旗叶氮素代谢相关酶活性的影响[J].新疆农业大学学报,2014,37(4):317-320.

[14] 刘 娜,闫志山,范有君,等.不同氮素水平对甜菜氮代谢酶和可溶性蛋白含量的影响[J].中国农学通报,2015,31(30):149-154.

[15] 刘东军,张宏纪,孙 岩,等.氮肥对小麦氮积累和分配及氮肥利用率影响的研究进展[J].黑龙江农业科学,2017(11):93-100.

[16] 周 超,马宝新,刘海燕,等.增密减氮对嫩单18产量和氮素利用率的影响[J].东北农业科学,2019,44(2):7-12.

[17] 谷 岩,胡文河,徐百军,等.氮素营养水平对膜下滴灌玉米穗位叶光合及氮代谢酶活性的影响[J].生态学报,2013,33(23):7399-7407.

[18] 蔺世召,葛 伟,熊淑萍,等.施氮水平对不同小麦品种氮代谢相关指标及产量的影响[J].河南农业大学学报,2011,45(5):514-518.

[19] 李 晶,吉 彪,商文楠,等.密度和氮素水平对小黑麦氮代谢相关酶活性和籽粒营养品质的影响[J].植物营养与肥料学报,2010,16(5):1063-1068.

(责任编辑:刘洪霞)



孢致病性苗期鉴定方法[J].吉林农业科学,2014,39(5):69-72.

[4] 朱振东,王化波,王晓鸣,等.中国大豆疫霉菌分布及毒力多样性研究[J].中国农业科学,2003,36(7):793-799.

(下转第21页)

(上接第15页)

[5] Schmitthenner A F. Problems and progress in control phytophthora root rot of soybean [J]. Plant Disease, 1985, 69: 362-368.

[6] Jee H, Kim W, Cho W. Occurance of phytophthora root rot on soybean (*Glycine max*) and indentification of the causal fungus [J]. RAD Journal of Crop Protection, 1998, 40: 16-22.

[7] 沈崇尧,苏彦纯.中国大豆疫病的发现及初步研究[J].植物病理学报,1991(21):298.

[8] Wrather J A, Stienstra W C, Koenning S R. Soybean disease loss estimates for United States from 1996-1998[J]. Canadian Journal of Plant Pathology. 2001, 23: 122-131.

[9] 于柏双.黑龙江省主要大豆抗源对胞囊线虫的抗病特性及线虫防治体系研究[D].沈阳:沈阳农业大学,2009.

[10] Winstead N N, Skotland C B, Sasser J N. Soybean cyst nematode in North Carolina [J]. Plant Disease Report, 1955, 39: 9-11.

[11] Riggs R D. Worldwide distribution of soybean-cyst nematode and its economic importance [J]. Journal of Nematology, 1977, 9(1): 34-39.

[12] Lordello AILS, Lordello RRA, Quaggio J A. Occurrence of *Heterodera glycines* on soyabean in Brazil[J]. Revista de Agricultura (Piracicaba), 1992, 67(3): 223-225.

[13] Mendes M L, Dickson D W. Detection of *Heterodera glycines* on soybean in Brazil [J]. Plant Disease, 1993, 77(5): 499-500.

[14] Peng D L, Peng H, Wu D Q, et al. First report of soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*) on soybean from Gansu and Ningxia China [J]. Plant Disease, 2016, 100(1): 229.

[15] Liu X H, Li J Q, Zhang D S. History and status of soybean cyst nematode in China [J]. International Journal of Nematology, 1997, 7: 18-25.

[16] Hung Y. A preliminary report on the plant-parasitic nematodes of soybean crop of the Pingtung district, Taiwan, China[J]. Agricultural Pest News, 1958, 5: 1-5.

[17] 刘维志,洪权春,段玉玺,等.应用生物间遗传学原理对小黑豆类型品种进行抗性基因归类[J].大豆科学,1994(1):1-4.

[18] 张 丽.黑龙江省大豆尖镰孢抗源筛选、致病机理及遗传多样性分析[D].哈尔滨:东北农业大学,2014.

[19] 肖彩霞,关雪松,王晓艳,等.东北三省大豆品种(系)对大豆根腐病镰孢菌的抗性分析[J].中国油料作物学报,2013,35(2):201-206.

[20] 朱振东,王晓鸣,常汝镇,等.黑龙江省大豆疫霉菌生理小种鉴定及大豆种质的抗性评价[J].中国农业科学,2000,33(1):62-67.

[21] Schmitt D P, Shannon G. Differentiating soybean responses to *Heterodera glycines* races[J]. Crop Science, 1992, 32(1): 275-277.

[22] 李宝英,马淑梅.大豆根腐病原菌种类及抗原筛选[J].植物保护学报,2000,27(4):74-82.

[23] 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,1997,27(2):1-7.

[24] 肖彩霞,关雪松,王晓艳,等.东北三省大豆品种(系)对大豆根腐病镰孢菌的抗性分析[J].中国油料作物学报,2013,35(2):201-206.

[25] 刘世名,李 魏,戴良英.大豆疫霉根腐病抗性研究进展[J].大豆科学,2016,35(2):320-329.

[26] 张金花,王博文,丁 岩,等.转基因大豆种质资源对大豆疫霉根腐病的抗性评价[J].东北农业科学,2019,44(4):43-45,49.

[27] 成 璐,董 铮,李 魏,等.大豆根腐病研究进展[J].中国