

新农抗 702 对水稻抗纹枯病 诱导抗性的初步研究

杜亚楠¹ 魏赛金^{1,2☆} 涂国全¹ 李庆蒙¹ 潘晓华^{2*}

(1. 江西农业大学 生物科学与工程学院 南昌市发酵应用重点实验室 江西 南昌 330045; 2. 江西农业大学 作物生理生态与遗传育种教育部重点实验室/江西省作物生理生态与遗传育种重点实验室, 江西 南昌 330045)

摘要: 为研究新农抗 702 对水稻的抗性诱导机制, 用新农抗 702 处理水稻叶片, 叶片表现较明显的抗纹枯病作用; 用不同质量浓度新农抗 702 在不同时间下诱导稻苗, 测定稻苗体内防御酶的变化, 结果表明: 质量浓度为 1.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 处理 12 h 时, 过氧化物酶 (POD), 多酚氧化酶 (PPO), 苯丙氨酸解氨酶 (PAL), 过氧化氢酶 (CAT) 的活性分别达到: 16.58 $\text{U}/(\text{g} \cdot \text{min})$, 160 $\text{U}/(\text{g} \cdot \text{s})$, 234.02 $\text{U}/(\text{g} \cdot \text{min})$, 37.67 $\text{U}/(\text{g} \cdot \text{min})$, 酶活性较高, 而新农抗 702 对超氧化物歧化酶 (SOD) 无显著的影响。

关键词: 新农抗 702; 水稻叶片; 防御酶

中图分类号: S435.111.4⁺² 文献标志码: A 文章编号: 1000-2286(2012)02-0270-06

A Study on the Mechanism of New Ag-antibiotic 702 to the Induced Resistance of *Rhizoctonia solani*

DU Ya-nan¹, WEI Sai-jin^{1,2☆}, TU Guo-quan¹,
LI Qing-meng¹, PAN Xiao-hua^{1*}

(1. Department of Bioengineering, Nanchang Key Laboratory of Fermentation Application and Technology, JAU, Nanchang 330045, China; 2. Key Laboratory of Crop Physiology, Ecology and Genetic Breeding, Ministry of Education/Key Laboratory of Crop Physiology, Ecology and Genetic Breeding of Jiangxi Province, JAU, Nanchang 330045, China)

Abstract: In order to study the mechanism of new Ag-antibiotic 702 to the induced resistance, rice leaves induced by new Ag-antibiotic 702, exhibited obvious resistance to *Rhizoctonia solani*. Then the rice leaves were treated with different concentrations of new Ag-antibiotic 702 and different time and then their defense enzyme activities were measured and analyzed. The results showed that when the concentration of new Ag-antibiotic 702 was 1.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, treating-time was 12 h, the enzyme activities were the highest. The activities of peroxidase (POD), polyphenol oxidase (PPO), phenylalanine ammonia-lyase (PAL), catalase (CAT) were 16.58 $\text{U}/(\text{g} \cdot \text{min})$, 160 $\text{U}/(\text{g} \cdot \text{s})$, 234.02 $\text{U}/(\text{g} \cdot \text{min})$ and 37.67 $\text{U}/(\text{g} \cdot \text{min})$. However, the activities of SOD treated with new Ag-antibiotic 702 were not significant.

收稿日期: 2011-12-29 修回日期: 2012-02-18

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30960011, 31071724)

作者简介: 杜亚楠 (1988—), 女, 硕士生, 主要从事作物生理生态研究, E-mail: dyn198880321@163.com; ☆与第一作者同等贡献; * 通讯作者: 潘晓华, 教授, 博士, E-mail: xhuapan@163.com。

Key words: new Ag-antibiotic 702; rice leaves; defense enzyme

水稻纹枯病菌是由立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)引起的一种水稻病害,是水稻的三大病害之一。该菌也是玉米、草坪草、马铃薯等纹枯病病害的致病菌。该病的寄主范围广,不同作物上的立枯丝核菌具有交互致病性,为防治带来很大困难^[1]。但传统的化学农药不仅成本高,而且污染环境。最有效的途径便是选育高产抗病品种,但目前水稻纹枯病的抗性机理尚未清楚。因此,限制了育种过程中生理、生化指标的确定和对抗性资源的有效利用^[2]。

植物诱导抗性是指经外界因子诱导后,植物体内产生的对有害病原菌的抗性现象。目前研究植物诱导抗性的机制时,主要是研究一些与抗病相关的酶或物质。与植物抗病相关的酶(即防御酶)主要包括过氧化物酶(POD)、多酚氧化酶(PPO)、苯丙氨酸解氨酶(PAL)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)等。其中过氧化物酶、多酚氧化酶能够促进酚类氧化物和木质素的形成,使细胞壁的结构更加坚固;苯丙氨酸解氨酶参与植物植保素、木质素、抗毒素及酚类化合物的形成^[3]。张穗等^[4]研究表明,低浓度的井冈霉素A可以通过激活植株体内的防御系统而起到防病作用。本文报道新农抗702喷洒后的离体和活体水稻叶片防御纹枯病菌的作用及对水稻防御酶活性的影响,旨在探讨新农抗702防治纹枯病的作用机制。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 供试水稻 春光1号(江西省农科院植保所惠赠)。

1.1.2 供试水稻纹枯病菌 分离于江西农业大学水稻试验田。

1.2 新农抗702对水稻叶片抗纹枯病的病情调查研究

1.2.1 离体叶片的病情调查 用灭菌剪刀取分蘖期叶片(从叶鞘部剪断),分别用10 mL不同质量浓度的新农抗702(0、30、60、90、150 μg/mL)浸泡10 min后,装入瓷盘中。每处理9片叶片,设3个重复,另设不接菌的处理。接入直径为9 mm培养2 d的纹枯病菌菌块,放置棉花和水保湿,用纱布、报纸覆盖,置室温观察其变化,统计发病情况。发病级数用“—”、“+”、“++”、“+++”分别代表0、1、2、3级发病情况,即级数越高发病情况越严重。

1.2.2 活体叶片的病情调查 水稻种子浸泡1~2 d,播种于土槽内,置于温室中培养,正常管理,保持适宜温度及湿度,生长至三叶一心期^[5]。喷洒不同质量浓度的新农抗702,接上10 mm左右的牙签(培养2 d的纹枯病菌接种)。黑暗潮湿条件下培养2 d,在此期间每隔4 h喷水,至有水珠流下为止。观察被感染部位菌丝侵染情况并测量菌斑的直径。其中发病级数的定义为:菌斑直径为0 mm的为0级发病、0~10 mm为1级发病、11~20 mm为2级发病、21 mm以上为3级发病,并计算病情指数^[6]。

$$\text{病情指数} = \frac{\sum(\text{病级株数} \times \text{代表数值})}{\text{株数总和} \times \text{发病最重级的代表数值}} \times 100 \quad (1)$$

1.3 新农抗702对水稻抗性相关酶活性的影响

1.3.1 酶液的提取 将三叶一心期水稻苗连根拔起,用蒸馏水冲洗干净,浸入1.5、3.0、4.5、9.0 μg/mL新农抗702中,以无菌水处理为对照,分别在处理12、24、36、48、60 h后取样^[8],-20℃保存备用。

取水稻相同部位的叶片0.5 g,放入预冷的研钵中,加入5 mL预冷的0.05 mol/L pH6.8磷酸缓冲液(含2%的聚乙烯吡咯烷酮)及少量石英砂,冰浴研磨成浆,4℃下8 000 r/min离心20 min,上清液即粗酶液,定容至10 mL,用于过氧化物酶(POD)和多酚氧化酶(PPO)活性的测定,置于-20℃冰箱中保存备用^[7-8]。

从-20℃冰箱中取出0.5 g相同部位的叶片放入预冷的研钵中,加入5 mL预冷的0.05 mol/L磷酸缓冲液(pH8.8,含5 mmol/L 巯基乙醇、1 mmol/L EDTA和1% PVP)及少量石英砂,冰浴研磨成浆,4℃下8 000 r/min离心20 min,上清液即粗酶液,定容至10 mL,用于苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性的测定,置于-20℃冰箱中保存备用。

从-20℃冰箱中取出1 g相同部位的叶片放入预冷的研钵中,加入5 mL预冷的0.05 mol/L pH 7.8

磷酸缓冲液(含 2% 的聚乙烯吡咯烷酮)及少量石英砂冰浴研磨成浆 4 ℃ 下 8 000 r/min 离心 20 min, 上清液即粗酶液,定容至 25 mL,置于 -20 ℃ 冰箱中保存备用^[5]。

1.3.2 过氧化物酶(POD)酶活性测定^[9] 取 4 支试管,分别加入 0.05 mol/L 磷酸缓冲液(pH6.8) 0.5 mL、1% 愈创木酚 0.5 mL、粗酶液 100 μL(其中对照管中加入灭活的粗酶液)蒸馏水 5 mL,在加入 2% H₂O₂ 0.5 mL 后,立即开启秒表计时,在 470 nm 处测 OD 值,每 30 s 读一次数,读 8~9 min(直到 OD 值不再升高或变化不大为止)。酶活性表示方法参照文献[5]进行计算。

1.3.3 多酚氧化酶(PPO)酶活性测定^[10] 取 4 支试管,分别加入 0.05 mol/L 磷酸缓冲液(pH6.8) 1 mL、0.02 mol/L 邻苯二酚 1 mL、粗酶液 200 μL(其中对照管中加入等量的缓冲液),充分混匀后,37 ℃ 水浴 5 min,冰浴终止反应,立即倒入比色皿中,398 nm 处测定其 OD 值。酶活性表示方法参照文献[10]进行计算。

1.3.4 苯丙氨酸解氨酶(PAL)酶活性测定^[11-12] 取 4 支试管,分别加入 0.1 mol/L 硼酸缓冲液(含 5 mmol/L 的巯基乙醇) 3.8 mL 和 0.02 mol/L L-苯丙氨酸 1 mL,再加入粗酶液 100 μL(其中对照管中加入灭活的粗酶液)。于 40 ℃ 水浴 60 min,立即加入 1 mL 的 6 mol/L 的盐酸终止反应,然后测定 OD₂₄₀ 值。酶活性表示方法参照文献^[5]进行计算。

1.3.5 超氧化物歧化酶(SOD)活性测定^[13-14] 取 7 支试管,每支试管加入磷酸缓冲液(pH7.8,0.05 mol/L) 1.5 mL、甲硫氨酸溶液(130 mmol/L) 0.3 mL、氯化硝基氮蓝四唑(NBT) 750 μmol/L 0.3 mL、EDTA-Na 100 μmol/L 0.3 mL、蒸馏水 0.5 mL,共计 2.9 mL(可将上述几种试剂按比例混合,现配现用)。然后其中三支加粗酶液 100 μL,另 4 支加灭活的粗酶液。最后加入 200 μmol/L 核黄素 0.3 mL。将 3 支加粗酶液的试管和 3 支加灭活酶液的试管立即置于 4 000 lx 日光灯光照下,25 ℃ 反应 15 min,剩余的一支置于黑暗条件下。以黑暗对照调零,测定各光照处理在 560 nm 处得 OD 值。以抑制 NBT 光还原 50% 为一个酶活性单位,酶活性表示方法参照文献[14]进行计算。

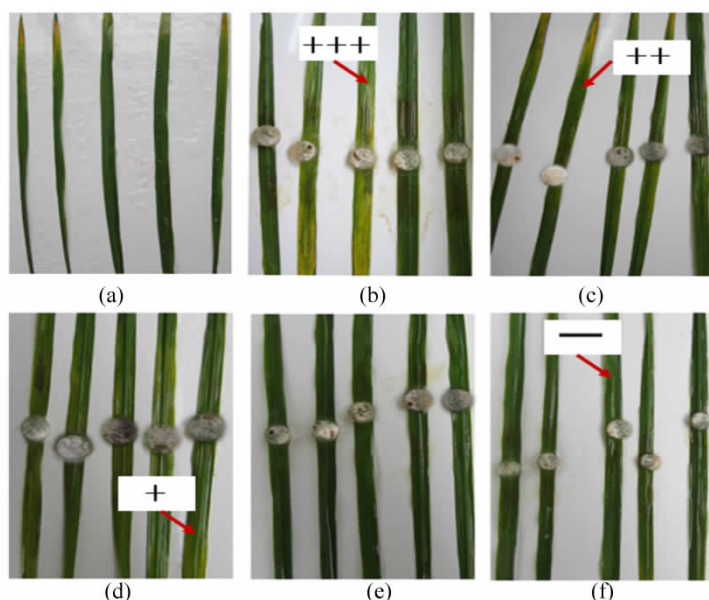
1.3.6 过氧化氢酶(CAT)活性的测定^[15] 取 4 支试管,分别加入磷酸缓冲液(pH7.8,0.05 mol/L) 5 mL、蒸馏水 1 mL、粗酶液 50 μL(对照管加灭活的粗酶液),在加入 2% H₂O₂(对照管加入等量的蒸馏水)后立即计时,并迅速倒入石英比色皿中,240 nm 下测定吸光度,每隔 30 s 读数 1 次,共测 9~10 min。酶活性表示方法参照文献[8]进行计算。

2 结果与分析

2.1 新农抗 702 对水稻叶片抗纹枯病的病情调查结果

2.1.1 离体叶片的病情调查结果

病级分类标准如图 1 所示,随新农抗 702 质量浓度的升高,水稻叶片的感染情况逐渐减轻。植株发病级数的统计如表 1 所示,浓度为 30 μg/mL 和 60 μg/mL 时,对纹枯病菌的抑制效果不明显,质量浓度升高至 90 μg/mL 时,供试水稻叶片的发病级数以及发病叶片数与 0 浓度时相比有显著的下降,0 级发病叶片数占总叶片数的 77.78%,质量浓度增加到 150 μg/mL 时,其效果却不及 90 μg/mL 时的效



(a) 无新农抗 702 也不接纹枯菌饼(CK 对照); (b) 0; (c) 30 μg/mL; (d) 60 μg/mL; (e) 90 μg/mL; (f) 150 μg/mL。

(a) without new Ag-antibiotic 702 and *Rhizoctonia solani*; (b) without new Ag-antibiotic 702; (c) 30 μg/mL; (d) 60 μg/mL; (e) 90 μg/mL; (f) 150 μg/mL.

图 1 经不同质量浓度新农抗 702 处理后离体叶片感染水稻纹枯病菌的情况

Fig. 1 The infection of Vitro-leaves by different concentration of new Ag-antibiotic 702

果显著 0 级发病叶片占总叶片数的 33.33%。因此,笔者推测新农抗 702 处理叶片的最佳质量浓度为 90 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

表 1 供试水稻叶片发病情况统计
Tab.1 The disease statistics of rice leaves

新农抗 702 质量浓度/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	植株发病级数统计 Plant disease progression statistics			
	0 级 Level 0	1 级 Level 1	2 级 Level 2	3 级 Level 3
CK	88.89%	11.11%	—	—
0	—	11.11%	11.11%	77.78%
30	—	—	55.56%	44.44%
60	—	11.11%	88.89%	—
90	77.78%	11.11%	11.11%	—
150	33.33%	55.56%	11.11%	—

2.1.2 活体叶片的病情调查 如图 2 和图 3 所示,经新农抗 702 喷洒后的水稻叶片,再接种水稻纹枯病菌,其中当新农抗 702 质量浓度为 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,病情指数最低为 24,与对照相比下降了 54.5%,此时水稻的防御效果最佳。

2.2 防御酶活性的测定结果

三叶一心期的水稻苗经不同质量浓度的新农抗 702 浸泡 12 h,水稻叶片中各种防御酶活性的变化如表 2 所示,质量浓度为 1.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时的浸泡效果最为显著。为了进一步验证,最适质量浓度 1.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的最佳浸泡时间,研究了不同浸泡时间对防御酶活性的影响,结果见表 3。

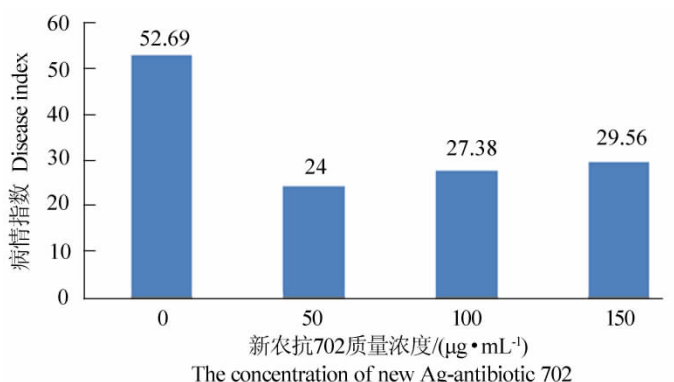


图 2 不同质量浓度新农抗 702 处理后水稻叶片的病情指数
Fig.2 The disease index of rice leaves by different concentration of new Ag - antibiotic 702

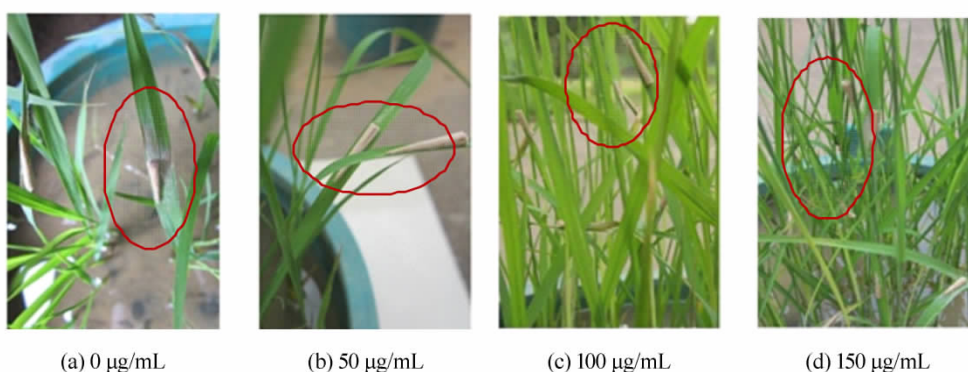


图 3 经不同质量浓度新农抗 702 处理后活体叶片感染水稻纹枯病菌的情况

Fig.3 The infection of living-leaves by different concentration of new Ag - antibiotic 702

2.2.1 新农抗 702 对过氧化物酶(POD)活性的影响 水稻叶片经不同质量浓度的新农抗 702 浸泡 12 h 后,水稻叶片内 POD 活性有显著的提高。质量浓度为 1.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 3.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,水稻叶片 POD 酶活性均显著高于对照,其中 1.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的处理效果最为显著,酶活性达到 16.58 $\text{U}/(\text{g} \cdot \text{min})$,并随处理时间的延长,酶活性不断变化,经新农抗 702 处理 48 h 时,POD 活性达到峰值为 31.08 $\text{U}/(\text{g} \cdot \text{min})$ (表 3)。质量浓度为 4.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,水稻叶片 POD 酶活性与对照差异不明显;然而升高至 9.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,POD 酶活性为 7.33 $\text{U}/(\text{g} \cdot \text{min})$,表现出抑制效应(表 2)。

2.2.2 新农抗 702 对多酚氧化酶(PPO)活性的影响 表 2 所示当新农抗 702 质量浓度为 1.5 μg/mL 时,水稻叶片多酚氧化酶(PPO)活性较对照有极为显著的提高,可达到 160 U/(g·s),也达到了 PPO 活性的峰值,随处理时间的延长,PPO 活性逐渐降低,且均低于对照(表 3)。

2.2.3 新农抗 702 对苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性的影响 由表 2 可见,新农抗 702 质量浓度为 1.5 μg/mL 时,水稻叶片苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性显著高于对照为 234.02 U/(g·min),同时达到了 PAL 活性的峰值,随处理时间的延长,对应的 PAL 活性无显著差异(表 3)。之后随新农抗 702 质量浓度的升高,对应的水稻叶片 PAL 活性差异不明显,但均略高于对照。

2.2.4 新农抗 702 对超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响 由表 2 和表 3 可知,以不同质量浓度的新农抗 702 处理水稻叶片,各处理对应的水稻叶片超氧化物歧化酶(SOD)活性与对照间均无显著的差异。

2.2.5 新农抗 702 对过氧化氢(CAT)活性的影响 水稻叶片经不同质量浓度的新农抗 702 浸泡后,其中质量浓度为 1.5 μg/mL 的处理效果显著,与对照相比其水稻叶片 CAT 活性有显著的提高,高达 37.67 U/(g·min),之后随处理时间的延长,各处理间差异不显著,但均低于 12 h 时 CAT 活性(表 3)。3.0 μg/mL 和 4.5 μg/mL 两个处理与对照相比差异不显著,而 9.0 μg/mL 的处理较对照有显著的降低为 19.13 U/(g·min),即对酶活性有一定的抑制效果,如表 2 所示。

表 2 不同浓度的新农抗 702 对水稻叶片防御酶活性活性的影响

Tab.2 The results of defensive enzymes activity to rice after treatment with different concentration of new Ag-antibiotic702

质量浓度/ (μg·mL ⁻¹) Concentration	过氧化物酶活性 /(U ·g ⁻¹ ·min ⁻¹) POD activity	多酚氧化酶活性 /(U ·g ⁻¹ ·s ⁻¹) PPO activity	苯丙氨酸解氨酶活性 /(U ·g ⁻¹ ·min ⁻¹) PAL activity	超氧化物歧化酶活性 (inhibition ratio·g ⁻¹) SOD activity	过氧化氢酶活性 /(U ·g ⁻¹ ·min ⁻¹) CAT activity
CK(0)	11.16 ± 0.17 ^c	108.17 ± 16.5 ^b	159.11 ± 17 ^c	431.25 ± 3.57 ^a	28.98 ± 2.54 ^{ab}
1.5	16.58 ± 0.91 ^a	160 ± 6.17 ^a	234.02 ± 19 ^a	447.39 ± 3.93 ^a	37.67 ± 4.63 ^a
3.0	12.78 ± 0.18 ^b	68.3 ± 3 ^c	193.13 ± 6 ^{abc}	412.86 ± 33.37 ^a	28.17 ± 1.48 ^{bc}
4.5	11.71 ± 0.09 ^{bc}	70.17 ± 4.17 ^c	182.1 ± 11 ^{bc}	435.55 ± 3.13 ^a	26.83 ± 0.83 ^{bc}
9.0	7.33 ± 0.33 ^d	73.83 ± 4.83 ^c	207.22 ± 0.08 ^{ab}	441.18 ± 6.76 ^a	19.13 ± 3.04 ^c

采用 Duncan 新复极差法进行差异显著性分析,同一列中各处理之间小写字母不同表明 P = 0.05 水平上存在显著性差异,而小写字母相同者表示在 P = 0.05 水平上存在差异不显著。

They were analyzed for significant difference by using Duncan's multiple range test (DMRT), and the same letter in the same column are not significantly different from each other at 5% level.

表 3 不同处理时间的新农抗 702 1.5μg/mL 对水稻叶片防御酶活性活性的影响

Tab.3 The results of defensive enzymes activity to rice after treatment with different effecting-time of new Ag-antibiotic 702 1.5μg/mL

处理时间/h Handling time	过氧化物酶活性 /(U ·g ⁻¹ ·min ⁻¹) POD activity	多酚氧化酶活性 /(U ·g ⁻¹ ·s ⁻¹) PPO activity	苯丙氨酸解氨酶活性 /(U ·g ⁻¹ ·min ⁻¹) PAL activity	超氧化物歧化酶活性 (inhibition ratio·g ⁻¹) SOD activity	过氧化氢酶活性 /(U ·g ⁻¹ ·min ⁻¹) CAT activity
12	16.58 ± 0.91 ^b	160 ± 6.17 ^a	234.02 ± 019 ^a	447.39 ± 3.57 ^b	37.67 ± 4.63 ^a
24	13.87 ± 1.03 ^c	68.83 ± 4.5 ^b	170.09 ± 1 ^b	454.83 ± 2.89 ^b	29.17 ± 0.21 ^b
36	11.30 ± 0.12 ^c	70.33 ± 2.5 ^b	167.18 ± 4 ^b	467 ± 3.28 ^a	20.28 ± 0.28 ^c
48	31.08 ± 1.16 ^a	66.83 ± 4 ^b	173.42 ± 1 ^b	471.26 ± 2.78 ^a	12.50 ± 1.25 ^d
60	11.94 ± 0.83 ^c	65.67 ± 2 ^b	167.11 ± 2 ^b	435.43 ± 3.21 ^c	9.17 ± 0.42 ^d

采用 Duncan 新复极差法进行差异显著性分析,同一列中各处理之间小写字母不同表明 P = 0.05 水平上存在显著性差异,而小写字母相同者表示在 P = 0.05 水平上存在差异不显著。

They were analyzed for significant difference by using Duncan's multiple range test (DMRT), and the same letter in the same column are not significantly different from each other at 5% level.

3 小结与讨论

本研究结果表明,新农抗 702 确实可以诱导水稻产生防御反应,虽然 POD、PPO、PAL、CAT 都是水

稻苗期防御反应的主要防御酶,但受新农抗 702 诱导的效果不同,主要在酶活性和表达时间上存在差异。其中过氧化物酶(POD)活性在处理 48 h 后达到峰值;而多酚氧化酶(PPO)和苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性在 12 h 就达到峰值。因此推测,在由新农抗 702 引起的抗性诱导过程中,多酚氧化酶(PPO)和过氧化氢酶(CAT)均在早期(12 h)起主要防御作用,均为早期关键的防御酶,然而过氧化物酶(POD)作为细胞内重要的内源活性氧清除剂^[11]在整个响应过程中,特别是后期 48 h 参与了防御反应。

研究中水稻幼苗经新农抗 702 处理 12 h 后叶片内的过氧化氢酶(CAT)活性均受到抑制。由文献^[5]知,CAT 活性的下降,植株体内 H₂O₂ 的含量升高。H₂O₂ 有双重作用,不但能直接杀死病原菌,还能激活病菌相关蛋白的表达。适量的 H₂O₂ 作为胁迫信号,通过诱导一系列防御机制来保护植物细胞免受氧化胁迫,但过量的 H₂O₂ 则导致过氧化损伤。CAT 同时能催化过量的 H₂O₂ 分解,从而减轻氧化伤害。

本研究表明,新农抗 702 不仅对可以直接抑制水稻纹枯病菌菌丝、菌核的生长,而且还可以通过激活植物的防卫系统来增强植株防御酶系的活性。这表明新农抗 702 在具有抑菌作用的同时还具有一定的诱导抗性,具体是新农抗 702 中的什么成分在整个诱导过程中起关键作用还有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] Lee F N, Rush M C. Rice sheath blight: a major rice disease [J]. *Plant Disease*, 1983(67): 829-832.
- [2] 吴样孙, 陈一壮, 蒙信满, 等. 水稻纹枯病抗性反应中主要防御酶的活性变化 [J]. *植物保护学报*, 2008, 24(5): 327-330.
- [3] Vance C P, Kirk T K, Sherwood R T. Lignification as a mechanism of disease resistance [J]. *Annual Review of Phytopathology*, 1980(18): 259-288.
- [4] 张穗, 井冈霉素 A 诱导水稻防御纹枯病反应机理的研究 [D]. 北京: 中国农业大学, 2001.
- [5] 隋雨, 徐文静, 杜茜, 等. 放线菌 769 发酵液对水稻体内主要防御酶活性的影响 [J]. *吉林农业大学学报*, 2009, 31(4): 382-384, 389.
- [6] 方中达. 植病研究方法 [M]. 北京: 农业出版社, 1979: 3-7.
- [7] 陈志宜, 许志刚, 陆凡, 等. 拮抗细菌 B-916 对水稻植株的抗性诱导作用 [J]. *西南农业学报*, 2001, 14(2): 44-48.
- [8] 张治安, 陈展宁. 植物生理学实验技术 [M]. 长春: 吉林大学出版社, 2008: 182-183.
- [9] 张蜀秋, 李云, 武维华, 等. 植物生理学实验技术教程 [M]. 北京: 科学出版社, 2011: 195-196.
- [10] 邹芳斌, 司龙亭, 王莉莉, 等. 黄瓜枯萎病抗性与防御系统几种酶活性关系的研究 [J]. *华北农学报*, 2008, 23(3): 181-184.
- [11] 吴样孙, 陈一壮, 蒙信满, 等. 水稻纹枯病抗性反应中主要防御酶活性变化 [J]. *中国农学通报*, 2008, 24(5): 327-330.
- [12] 毛红, 陈瀚, 张青文, 等. 绿盲蝽取食与机械损伤对棉花叶片内防御酶活性的影响 [J]. *应用昆虫学报*, 2011, 48(5): 1431-1436.
- [13] 黄世文, 王玲, 王全永, 等. 纹枯病菌对不同水稻品种叶片中抗病性相关酶活性的影响 [J]. *中国水稻科学*, 2008, 22(2): 219-222.
- [14] 李玲. 植物生理学模块实验指导 [M]. 北京: 科学出版社, 2009: 98-100.
- [15] 黄飞, 宋瑞芳, 丁永乐. 烟草苗期抗 CMV 生理生化研究 [J]. *江西农业大学学报*, 2010, 32(2): 276-282.