

· 研究论文 ·

草莓枯萎病菌抗多菌灵突变体 ZY-R 的 生理生化特性研究

姜莉莉¹, 顾春波², 左一鸣³, 王开运^{*1}, 段海明¹

(1. 山东农业大学 植物保护学院, 山东 泰安 271018; 2. 山东枣庄出入境检验检疫局, 山东 枣庄 277100;
3. 山东泰安出入境检验检疫局, 山东 泰安 271000)

摘要: 为明确抗多菌灵草莓枯萎病菌(ZY-R)菌株的生理生化特性,分析其可能的抗性机制,以课题组获得的抗多菌灵达53.91倍的ZY-R菌株及其敏感菌株(ZY)为研究材料,比较了ZY-R与ZY在苯丙氨酸解氨酶(PAL)和过氧化物酶(POD)活力及相对渗率等方面的差异。结果表明:以清水和不同浓度多菌灵处理两菌株1.5~24 h后,ZY-R体内的POD和PAL活力始终高于ZY的;敏、抗菌株间POD活力的差异远大于PAL。在处理时间内,PAL活力先上升后下降,6 h达到最高值;而POD活力一直处于上升状态,24 h达到最高值,且敏、抗菌株之间的差异达到最大,25 mg/L条件下ZY-R的POD活力为ZY的2.26倍;此外,与ZY相比,ZY-R可以渗出更多的电解质。

关键词: 草莓枯萎病菌; 多菌灵; 抗性; 生理生化特性

DOI: 10.3969/j.issn.1008-7303.2011.02.07

中图分类号: S481.4 文献标志码: A 文章编号: 1008-7303(2011)02-0138-06

Study on physiological and biochemical characteristics of carbendazim-resistant isolate of *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* ZY-R

JIANG Li-li¹, GU Chun-bo², ZUO Yi-ming³, WANG Kai-yun^{*1}, DUAN Hai-ming¹

(1. Department of Plant Protection, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, Shandong Province, China;
2. Zaozhuang Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Zaozhuang 277100, Shandong Province, China;
3. Tai'an Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Tai'an 271018, Shandong Province, China)

Abstract: In order to find out the physiological and biochemical characteristics of *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* and analyze its resistant mechanism, the comparisons were conducted between the carbendazim-resistant isolate of *F. oxysporum* (ZY-R) and the sensitive isolate (ZY) on the activity of phenylalanine ammonia lyase (PAL) and peroxidase (POD), and the relative leakage that definite the physiological biochemical characteristics of ZY-R. The results showed that the activity of POD and PAL of ZY-R was higher than those of ZY after treated with double distilled water and carbendazim for 1.5-24 h and the differences of POD between the two isolates were higher than that of PAL. The PAL activity increased first and reached the high peak at the 6th hour after treatment and then decreased; while the activity of POD kept rising and reached the maximum at the 24th hour, with the difference between the

收稿日期: 2010-09-07; 修回日期: 2010-10-17.

作者简介: 姜莉莉(1986-), 女, 山东烟台人, 硕士研究生, E-mail: j-lili@163.com; * 通讯作者(Author for correspondence): 王开运(1954-), 男, 山东滕州人, 教授, 主要从事农药毒理与有害生物抗药性研究, 电话: 0538-8242345, E-mail: kywang@sdau.edu.cn

基金项目: 国家公益性行业(农业)专项(200903033).

two isolates reached the maximum, and the POD activity of ZY-R was 2.26 fold as that of ZY at the concentration of 25 mg/L. Differences were also found in osmolarity between isolate ZY-R and ZY. Moreover, isolate ZY-R could leak more electrolyte than ZY.

Key words: *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae*; carbendazim; resistance; physiology and biochemistry characteristics

草莓枯萎病是由半知菌亚门瘤座菌科尖孢镰刀菌草莓专化型 *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* 引起的一种重要的土传病害^[1]。由于草莓特殊的栽培条件和多年生种植方式,使得草莓枯萎病在各主产区发生普遍且日趋严重^[2],目前该病已成为影响草莓产量和品质的重要因素^[3]。化学防治的常用药剂有多菌灵、苯菌灵、戊唑醇等^[4]。多菌灵(carbendazim, MBC)属苯并咪唑类杀菌剂,其作用机制是与菌体的微管蛋白结合,从而影响与微管蛋白有关的代谢和功能^[5]。目前国内外已有番茄叶霉病菌^[6]、黄瓜黑星病菌^[7]、小麦基腐病菌^[8]、番茄灰霉病菌和葡萄霜霉病菌^[9]等病原菌对多菌灵产生抗性的报道;杨敬辉等^[10]、李红霞等^[11]也曾报道过病原菌对多菌灵的抗性机制与微管蛋白基因的突变有关。

过氧化物酶(peroxidase, POD)和苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia lyase, PAL)是生物体内普遍存在的两种抗逆酶^[12]。涉及抗逆性与POD和PAL活性成相关性的报道较多,如夏晓明^[13]、林才华^[14]报道了真菌体内POD和PAL活性与抗逆性相关。Ellis等^[15]报道,病菌对渗透压敏感是由于质膜功能有缺陷所致,病原菌对杀菌剂产生抗性突变时会伴随有渗透压突变;丁中等^[16]认为可以利用电导率法来鉴定抗性和敏感菌株;石志琦等^[17]曾用菌丝体细胞内电解质的渗漏情况描述其抗性机制。笔者以草莓枯萎病菌抗多菌灵突变体(ZY-R)和敏感菌株(ZY)为研究材料,比较其抗逆酶活力及相对渗率变化情况,以明确草莓枯萎病菌对多菌灵可能的抗性机制。

1 材料与方 法

1.1 供试材料

供试菌株:ZY为供试敏感菌株,采自山东省招远市大棚草莓种植园。病原菌采用常规的组织分离法^[18],在马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)平板上28℃培养。观察菌落形态及大、小型分生孢子和厚垣孢子着生情况和形态特征,并依据Booth镰刀菌分类标准^[19]和张中义等^[20]的方法,按照柯赫式法

则^[21]确定所采菌株均为草莓枯萎病菌 *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae*。ZY-R为多菌灵抗性菌株,在前期研究中利用含有多菌灵(PDA)培养基进行连续抗性选育,选择压保持在抑制菌丝生长的50%~60%,每选择3次用生长速率法测定1次EC₅₀值,经过45代抗性选育,多菌灵对该抗性菌株的EC₅₀值达到30.258 mg/L,而对敏感菌株为0.561 mg/L,抗性倍数达53.91。将该抗性菌株在无药PDA平板上连续转代培养,每2代测定1次其对多菌灵的敏感性,经过8代培养其EC₅₀值为29.584 mg/L,无明显变化,抗性可以稳定遗传。

供试药剂及试剂:95%多菌灵(carbendazim)原药(山东华阳科技股份有限公司提供),以质量分数为3%的盐酸溶解后,以双蒸水定容得质量分数为1%的多菌灵母液,然后用双蒸水稀释至各所需浓度。 β -巯基乙醇(分析纯,北京夏斯生物科技有限公司);聚乙烯吡咯烷酮(进口分装,上海伯奥生物科技有限公司);L-苯丙氨酸(分析纯,上海伯奥生物科技有限公司);愈创木酚(分析纯,天津巴斯夫化工有限公司);过氧化氢(分析纯,上海桃浦化工厂);乙二胺四乙酸二钠(EDTA,分析纯,上海试剂一厂)。

主要仪器:UV-2201紫外分光光度计(日本岛津);CR22高速冷冻离心机(日本日立);LQP-B-4型制冰机(上海安亭科学仪器厂);DDS-11A型电导仪(上海雷磁仪器厂)。

1.2 酶活力测定

1.2.1 菌丝制备 将供试菌株在PDA培养基上28℃下培养7d后制成直径7mm菌碟,分别接入PDA平板,培养10d后备用。用消毒的玻璃小刀从培养皿中刮取新鲜菌丝,用重蒸水冲洗,真空抽滤近干后称取菌丝鲜重3.0g于三角瓶内,分别加入25mL用重蒸水稀释的质量浓度分别为1.0、5.0、25.0mg/L的多菌灵药液,于28℃恒温水浴中在120r/min下分别振荡培养0、1.5、6、24h。将不同试验设计处理的菌丝用重蒸水冲洗5次,真空抽滤后冻干备用。以不加药剂者为对照,每个处理重复3次。

1.2.2 酶液提取

1.2.2.1 苯丙氨酸解氨酶(PAL)酶液提取 每份样品取冻干菌丝 2.0 g,置于预冷的研钵内,加入少量液氮、石英砂和少许聚乙烯吡咯烷酮(PVP),在冰浴中充分研磨,将所得粉末迅速转入塑料离心管中,加入 10.0 mL 0.1 mol/L 的硼酸缓冲液(pH 8.7,内含 1×10^{-3} mol/L 的 EDTA 20×10^{-3} mol/L 的 β -巯基乙醇),平衡后于 1×10^4 r/min、4 °C 下离心 30 min,量取上清液(酶液)体积,置于冰浴中待用。

1.2.2.2 过氧化物酶(POD)酶液提取 操作方法同 1.2.2.1 节,只是以 10 mL 0.1 mol/L、pH 5.5 的磷酸缓冲液(内含 EDTA 和 β -巯基乙醇)代替硼酸缓冲液。

1.2.3 PAL 活力测定 参照 Souterton 等^[22]的方法,经多次预试验确定酶反应体系为:硼酸缓冲液(pH 8.7) 2.0 mL、酶液 0.5 mL、L-苯丙氨酸(0.02 mol/L) 1.0 mL。对照用等体积缓冲溶液代替酶液。40 °C 下反应 60 min,用 0.5 mL 6 mol/L 的盐酸终止反应,用紫外分光光度计在 290 nm 处测定消光值的变化(ΔA_{290})。重复 3 次。通过测定 A_{290} 升高的速率来计算 PAL 活力,规定 1 h 内 A_{290} 增加 0.01 为 1 个 PAL 活力单位, PAL 活力用 $\Delta A_{290} / (h \cdot g)$ FW 表示。

$$\text{PAL 活力} = \frac{\Delta A_{290} \times V_T}{W \times V_S \times 0.01} \quad (1)$$

式中: ΔA_{290} 为反应时间内吸光度的变化; W 为菌丝总质量(g); V_T 为提取酶液总体积(mL); V_S 为测定时取用酶液体积(mL)。

1.2.4 POD 活力测定 按李合生^[23]的方法,经多次预试验确定酶反应体系为: 2.0 mL 0.1 mol/L 的磷酸缓冲液(pH 5.8)、1.0 mL 质量分数为 3% 的双氧水、1.0 mL 0.05 mol/L 的愈创木酚及 1.0 mL 酶液。反应体系在 37 °C 水浴中反应 15 min 后迅速转入冰浴中。对照以缓冲溶液代替酶液,重复 3 次。用紫外分光光度计在波长 470 nm 下每隔 30 s 记录 1 次吸光度,共记录 6 次,以每分钟内 A_{470} 变化 0.01 为一个酶活力单位。

$$\text{POD 活力} = \frac{\Delta A_{470} \times V_T}{W \times V_S \times 0.01 \times t} \quad (2)$$

式中: ΔA_{470} 为反应时间内吸光度的变化; W 为菌丝总质量(g); t 为反应时间; V_T 为提取酶液总体积(mL); V_S 为测定时取用酶液体积(mL)。

1.3 药剂对菌株细胞膜透性影响的测定

将供试菌株于 PDA 平板上 28 °C 培养 5 d,制成直径 7 mm 的菌碟,再分别接入 PDA 平板上 28 °C 下培养 7 d,用消毒的玻璃小刀从培养皿中刮取新鲜菌

丝,用重蒸水冲洗,真空抽滤近干后称取菌丝鲜重 3.0 g 于三角瓶中,分别加入 25 mL 用重蒸水稀释的质量浓度分别为 0.1、1.0、10.0、50.0、100.0 mg/L 的多菌灵药液。于 28 °C 恒温水浴中振荡(120 r/min),分别在 0、10、20、30、60、90、120、180、240、300、360、420、540 min 时以及最后煮沸(死处理)后测定电导率。按(3)式计算每次测定的相对渗率,从而比较细胞膜的透性。以菌丝加重蒸水为对照。每个处理重复 3 次。

$$\text{相对渗率}(\%) = \frac{C_t - C_0}{C_{\text{死处理}}} \times 100 \quad (3)$$

C_t : 某时刻的电导率值; C_0 : 最初(0 min)时的电导率值; $C_{\text{死处理}}$: 死处理后的电导率值。

1.4 数据分析

试验数据采用 SPSS 13.0 统计软件进行分析,利用 Duncan 式新复极差检验法分析差异显著性。

2 结果与分析

2.1 PAL 的活力

结果(见图 1)表明:用清水和质量浓度为 25 mg/L 的多菌灵处理 ZY-R 和 ZY, ZY-R 在 1.5 ~ 24 h 的 PAL 比活力均略高于 ZY; 多菌灵质量浓度为 1 和 5 mg/L 的处理结果与之具有相同的趋势,故省略两图。表明在清水和药剂处理条件下,抗多菌灵菌株体内 PAL 活力较敏感菌株有所提高。当用 1、5 和 25 mg/L 的多菌灵处理 ZY-R 与 ZY 后,其体内 PAL 活力在 6 h 内均逐渐升高并达到最高值,然后随着时间的推移活力略有下降,但始终高于无药对照。表明多菌灵可以诱导两菌株体内 PAL 活力的升高,而抗性菌株体内的 PAL 活力均高于敏感菌株。

2.2 POD 活力

结果(见图 2)表明:以清水和 25 mg/L 的多菌灵处理 ZY-R 和 ZY,在 0 h 时两菌株体内的 POD 活力没有明显差异;而在 1.5 ~ 24 h 时 ZY-R 的比活力均显著高于 ZY ($P < 0.05$),表明在清水和药剂处理条件下抗多菌灵菌株体内 POD 活力较敏感菌株显著提高;1 和 5 mg/L 的多菌灵处理结果与此趋势相同,故省略两图,但其活力随着处理药剂浓度的降低而有所降低。当用 0、1、5 和 25 mg/L 的多菌灵处理 ZY-R 与 ZY 后,两菌株体内 POD 活力在 0 ~ 24 h 内持续升高;至 24 h 时达到最高值,两者差异最大,

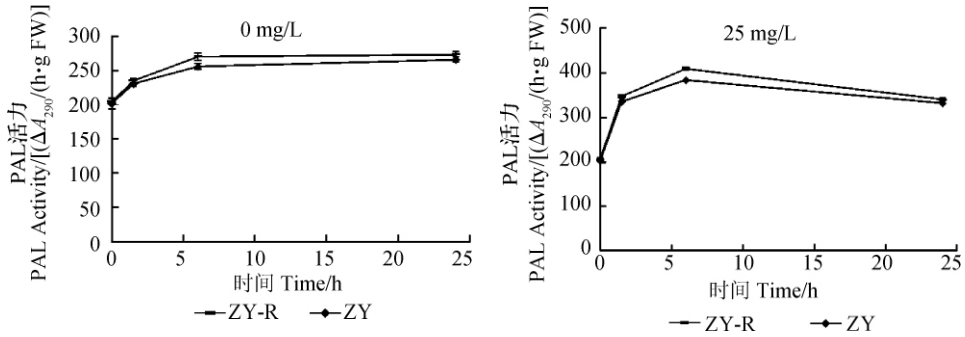


图 1 清水及多菌灵药液处理后抗多菌灵菌株(ZY-R)与敏感菌株(ZY)体内苯丙氨酸解氨酶(PAL)的活力
Fig. 1 The activity of PAL of ZY-R and ZY strain of *F. oxysporum* after treatment of carbendazim

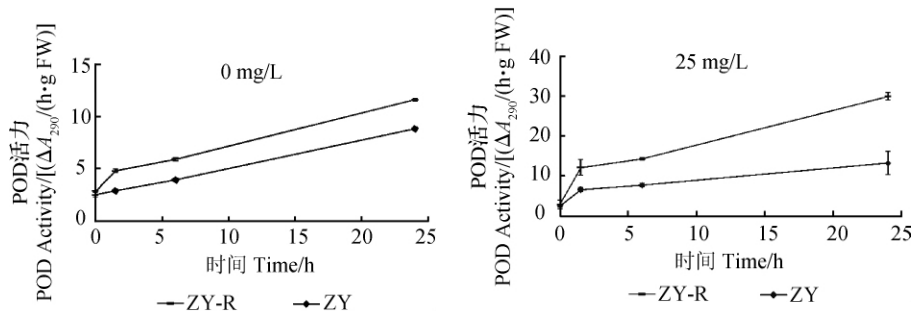


图 2 清水及多菌灵药液处理后 ZY-R 与 ZY 体内过氧化物酶(POD)的活力
Fig. 2 The activity of POD of ZY-R and ZY strain of *F. oxysporum* after treatment of carbendazim

25 mg/L 下 ZY-R 的 POD 活力为 ZY 的 2.26 倍。说明草莓枯萎病菌遇到外界逆境时,其体内的 POD 活力升高,且抗多菌灵菌株体内 POD 活力升高幅度更大,其抗性与 POD 的氧化代谢关系更为密切。

2.3 多菌灵对菌株细胞膜透性的影响

不同浓度多菌灵药液对 ZY-R 和 ZY 细胞膜透性的影响结果(图 3)表明:利用不同浓度多菌灵药剂处理不同时间后,ZY-R 的相对渗率均显著高于

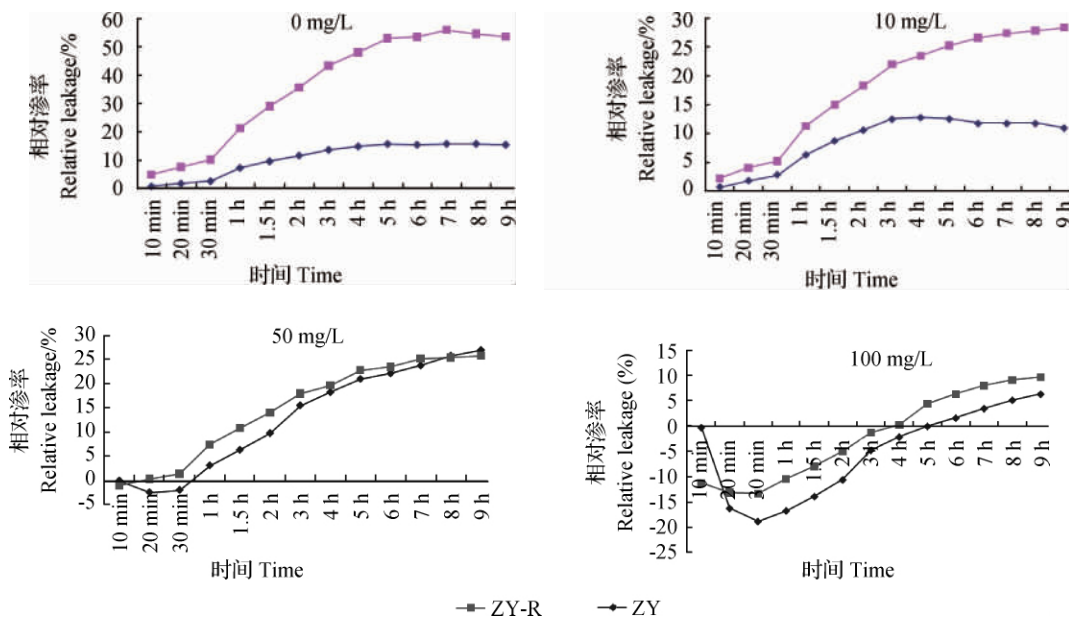


图 3 不同浓度多菌灵处理敏感和多菌灵抗性菌株后相对渗率的变化
Fig. 3 Change of relative leakage of resistant and sensitive strains of *F. oxysporum* after treatment of different concentrations of carbendazim

ZY,说明抗性菌株比敏感菌株渗出了更多的电解质。

在较低的多菌灵质量浓度(0~10 mg/L)下,ZY和ZY-R的相对渗率随着时间的延长呈逐渐上升趋势,这表明随着时间的延长,菌丝渗出的电解质逐渐增多。质量浓度为0.1和1 mg/L的多菌灵处理的结果与10 mg/L的处理具有相同的趋势,故省略两图。在30 min之内,电解质的渗出速率增长缓慢;30 min至5~6 h为相对渗率迅速增大阶段,且ZY-R的相对渗率显著高于ZY,分别为ZY的3.42、3.37、2.02和2.11倍;在6 h至9 h之间,相对渗率几乎保持不变,细胞膜对电解质的渗出和吸收达到平衡。在测定时间(9 h)内,ZY和ZY-R的相对渗率所能达到的最大值均随着处理浓度的升高而降低,其中多菌灵抗性菌株相对渗率的降低幅度(55.88%~28.38%)远高于敏感菌株(15.70%~12.85%),为敏感菌株的9.65倍。表明菌丝细胞膜的渗透性与处理药液的浓度有关。外界药液浓度低时,细胞膜内外的渗透势较大,可以渗出较多的电解质,以维持渗透压的平衡;相反则渗出的电解质较少。ZY-R细胞膜对外界药液浓度的渗透调节能力远高于ZY。

用较高质量浓度(50、100 mg/L)的多菌灵处理,随着处理时间的延长,ZY和ZY-R的相对渗率均呈现先下降后上升的趋势:其中ZY的下降幅度(2.46%、18.79%)远高于ZY-R(1.09%、13.26%)。由此说明,在较高浓度的外界溶液中,两菌株均可以吸收一定浓度的药剂,以降低外界渗透压,其中ZY-R对药剂的吸收远小于ZY,说明抗性菌株ZY-R细胞膜耐受外界药剂的能力也远高于ZY。

3 小结和讨论

已知苯丙氨酸解氨酶(PAL)和过氧化物酶(POD)是植物次生代谢过程的关键酶^[24],PAL与植物的抗病虫能力呈紧密的相关性^[25]。当植物遭遇逆境时表现为PAL活力的增加^[26-27]。POD与呼吸作用、光合作用及生长素的氧化等都有密切关系,其酶活力可反映某一时期生物体内氧化代谢变化^[28]。夏晓明^[13]、林才华^[14]报道在药剂作用或无营养的饥饿状态下,病原菌敏感与抗性菌株体内的PAL活力会在短时间内迅速上升,对于同一菌株POD活力与药剂浓度呈相关性,而在同一药剂浓度下POD活力与菌株的抗性水平也成正相关性;石志琦等^[17]、陈彦等^[29]、李新风等^[30]发现,抗药性病原菌体内的

PAL活力始终高于敏感菌株,认为真菌在逆境(如饥饿、具活性的杀菌剂)中,也会与植物一样表现出PAL活力升高。本研究结果也表明,草莓枯萎病菌的PAL和POD活力与菌体抗逆性有关,这与石志琦、陈彦等人研究结果一致,表明草莓枯萎病菌抗多菌灵突变体抗药性的产生与其体内抗逆酶活力的增加有关,PAL和POD活力差异可作为田间菌株抗药性快速检测的指标,其检测方法、判别标准及其适用范围有待进一步研究。

石志琦等^[17]和张永杰等^[31]研究发现,与敏感菌株相比,病原菌抗性菌株能够在较短的时间里渗出更多的电解质。丁中等^[16]研究发现,用多菌灵药液处理后,敏感菌株和抗性菌株所在溶液电导率的变化明显不同,其中敏感菌株的电导率随着时间的延长表现出下降趋势,而抗性菌株的电导率在经过短暂的小幅下降后缓慢上升。本研究中在较低的多菌灵质量浓度(0~10mg/L)下,ZY-R和ZY的相对渗率随着时间的延长均表现为逐渐上升的趋势,且上升速度存在着“慢-快-慢”的规律。在较高质量浓度(50、100 mg/L)的多菌灵处理条件下,随着处理时间的延长,敏感菌株和抗性菌株的相对渗率均呈现出先下降后上升的趋势。这与夏晓明^[32]等的研究结果有所不同,可能与菌株及诱导抗性所用的药剂不同有关。本研究发现,利用不同浓度多菌灵处理不同时间后,ZY-R的相对渗率均高于ZY,说明ZY-R细胞膜对外界药液的渗透调节能力较强,能够渗出更多的电解质,可以更快速地将杀菌剂排出体外。由此表明,草莓枯萎病菌对多菌灵的抗性与其体内防御酶活力的升高及细胞膜透性的改变相关,但要全面揭示其抗性机制,尚需更进一步深入研究。

参考文献:

- [1] JIA Dong-mei(贾冬梅). 大棚草莓的主要病害及防治[J]. *Hebei Fruit Trees*(河北果树) 2000(1): 38.
- [2] GU Chun-bo(顾春波), SHI Xiao-bin(史晓斌), JIANG Li-li(姜莉莉) et al. 草莓枯萎病菌对多菌灵的抗性及其抗性菌株的生物学特性[J]. *Acta Phytophylacica Sinica*(植物保护学报), 2010, 37(3): 266-272.
- [3] WANG Chuan-qin(王传芹), YUAN Ying-guo(袁英国). 长丰地区草莓枯萎病的发生及综合防治[J]. *Modern Agric Sci Tech*(现代农业科技) 2008, 19: 165.
- [4] QI Wan-shun(齐万顺). 草莓枯萎病的发生与防治措施[J]. *Jilin Vegetables*(吉林蔬菜) 2008(6): 37.
- [5] DAVIDSE L C. Benzimidazole fungicides: mechanism of action and biological impact[J]. *Ann Rev Phytopathol* 1986 24: 43-65
- [6] WANG Mei-qin(王美琴), LIU Hui-ping(刘慧平), ZHANG Zhi-

- guang(张智广) *et al.* 番茄叶霉病菌对多菌灵抗药性的诱导及抗性菌株特性研究[J]. *Plant Protection*(植物保护) 2004 30(5): 55-59.
- [7] PAN Hong-yu(潘洪玉) ZHANG Hao(张浩) ,DING Li(丁利) , *et al.* 黄瓜黑星病菌对多菌灵抗药性的测定[J]. *Acta Phytophylacica Sinica*(植物保护学报) 1997 24(3): 285-286.
- [8] FEHRMANN H ,HORSTEN J ,SIEBRASSE G. Five years' results from a long-term field experiment on carbendazim resistance of *Pseudocercospora herpotrichoides* (Fron) Deighton [J]. *Crop Protection* 1982 1(2): 165-168
- [9] LEROUX P ,CLERJEAU M. Resistance of *Botrytis cinerea* Pers. and *Plasmopara viticola* (Berk. & Curt.) Berl. and de Toni to fungicides in French vineyards [J]. *Crop Protection* 1985 4(2): 137-160.
- [10] YANG Jing-hui(杨敬辉) ,PAN Yi-lou(潘以楼) ,ZHU Gui-mei(朱桂梅) *et al.* 油菜菌核病菌对多菌灵和乙霉威的抗性机理[J]. *Acta Phytophylacica Sinica*(植物保护学报) 2004 31(1): 74-78
- [11] LI Hong-xia(李红霞) ,LU Yue-jian(陆悦健) ,WANG Jian-xin(王建新) *et al.* 四种不同植物病原真菌与多菌灵抗药性相关基因突变的比较[J]. *J Nanjing Agric Univ*(南京农业大学学报) 2002 25(3): 41-44.
- [12] HAMID M ,REHMAN K. Potential application of peroxidases [J]. *Food Chem* 2009 115(4): 1177-1186.
- [13] XIA Xiao-ming(夏晓明) . Studies on the resistance mechanism of *Rhizoctonia cerealis* to tebuconazole [禾谷丝核菌(*Rhizoctonia cerealis*)对戊唑醇的抗性机制研究][D]. Tai'an(泰安): Shandong Agricultural University(山东农业大学) 2006.
- [14] LIN Cai-hua(林才华) . Resistance of *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* to fungicides and physiological and biochemical character of triadimefon-resistant strains in major strawberry-growing areas of Shandong Province(山东主要草莓种植区草莓枯萎病菌抗药性及抗三唑酮菌系的抗性机理和生物学特性研究)[D]. Tai'an(泰安): Shandong Agricultural University(山东农业大学) 2009.
- [15] ELLIS S W ,GRINDLE M ,LEWIS D H. Effect of osmotic stress on yield and polyol content of dicarboximide-sensitive and resistant strains of *Neurospora crassa* [J]. *Mycol Res* 1991 95(4): 457-464.
- [16] DING Zhong(丁中) ,LIU Feng(刘峰) ,MU Li-yi(慕立义) . 应用电导仪测定番茄灰霉病菌对多菌灵抗药性的初步研究[J]. *Chin J Pestic Sci*(农药学报) 2003 5(3): 94-96.
- [17] SHI Zhi-qi(石志琦) ,ZHOU Ming-guo(周明国) ,YE Zhong-yin(叶钟音) . 核盘菌对菌核净的抗药性机制初探[J]. *Chin J Pestic Sci*(农药学报) 2000 20(2): 47-51.
- [18] FANG Zhong-da(方中达) . Methods of Plant Diseases(植病研究方法) [M]. Beijing(北京): China Agriculture Press(中国农业出版社) 1996.
- [19] BOOTH C. The Genus *Fusarium* [M]. Commonwealth Mycological Institute ,England: Kew Surrey 1971.
- [20] ZHANG Zhong-yi(张中义) . Plant Pathogenic Fungi (植物病原真菌学) [M]. Chengdu(成都): Sichuan Science and Technology Press(四川科技出版社) 1986
- [21] GEORGE N. AGRIO S. Plant Pathology (Fifth Edition) [M]. Singapore: Elsevier (Singapore) : 2009.
- [22] SOUTHERTON S G ,DEVERALL B J. Changes in phenylalanine ammonia-lyase and peroxidase activities in wheat cultivars expressing resistance to the leaf rust fungus (*Puccinia recondite* f. sp. *tritici*) [J]. *Plant Pathology* 1990 39(2): 223-230.
- [23] LI He-sheng(李合生) . Experimental Principle and Technology of Plant Physiology and Biochemistry(植物生理生化实验原理和技术) [M]. Beijing(北京): Higher Education Press(高等教育出版社) 2000: 164-165 213-214.
- [24] SHEN Hong-bo(申宏波) ,WEN Jing-zhi(文景芝) ,MA Cheng-yun(马成云) *et al.* Harpins 蛋白防治黄瓜霜霉病机理研究: 黄瓜接种 Harpins 蛋白后 PAL 酶活性的变化[J]. *Chin Agric Sci Bull*(中国农学通报) 2005 21(12): 330-332.
- [25] ZHANG Li(张丽) ,CHANG Jin-hua(常金华) ,LUO Yao-wu(罗耀武) . 不同高粱基因型感蚜虫前后 POD、PPO、PAL 酶活性变化分析[J]. *Sci Agric Biotech*(农业生物技术科学) 2005 21(7): 40-42 198.
- [26] CAO Jin-ping(曹锦萍) ,LÜ Pei-tao(吕培涛) ,CHENG Gui-ping(程桂平) *et al.* 部分观赏植物苯丙氨酸解氨酶的初步研究[J]. *J Zhongkai Agrotech College*(仲恺农业工程学院学报) , 2009 22(4): 14-18.
- [27] XU Xiao-mei(徐晓梅) ,YANG Shu-guang(杨曙光) . 苯丙氨酸解氨酶研究进展[J]. *J Anhui Agric Sci*(安徽农业科学) 2009 , 37(31): 15115-15119 15122.
- [28] XING Hui-qin(邢会琴) ,LI Min-quan(李敏权) ,XU Bing-liang(徐秉良) *et al.* 过氧化物酶和苯丙氨酸解氨酶与苜蓿白粉病抗性的关系[J]. *Acta Agrestia Sinica*(草地学报) 2007 15(4): 376-380.
- [29] CHEN Yan(陈彦) ,LIU Chang-yuan(刘长远) ,ZHAO Kui-hua(赵奎华) *et al.* 葡萄白腐病有益拮抗菌株 YB9 的分类鉴定研究[J]. *Northern Fruits*(北方果树) 2007(3): 4-5.
- [30] LI Xin-feng(李新风) . 向日葵菌核病菌对常用杀菌剂的敏感性及其抗性突变体的生理生化特性研究[D]. Taiyuan(太原): Shanxi Agricultural University(山西农业大学) 2003.
- [31] ZHANG Yong-jie(张永杰) ,GAO Jun-ming(高俊明) ,HAN Ju-cai(韩巨才) *et al.* 抗速克灵灰霉病菌菌株电导率变化及对渗透压的敏感性[J]. *J Shanxi Agric Univ: Nat Sci Ed*(山西农业大学学报:自然科学版) 2004 24(1): 34-36.
- [32] XIA Xiao-ming(夏晓明) ,WANG Kai-yun(王开运) ,FAN Kun(范昆) *et al.* 抗戊唑醇禾谷丝核菌的渗透压敏感性及其相对渗透率变化研究[J]. *Chin J Pestic Sci*(农药学报) 2005 7(2): 126-130.

(责任编辑: 金淑惠)