

细极链格孢菌蛋白激发子对棉主要性状及相关酶的影响

张志刚^{1,2,3} 邱德文² 曾洪梅² 杨秀芬² 官春云¹ 梅正鼎³ 杨晓萍³

(1. 湖南农业大学 农学院, 长沙 410128; 2. 中国农业科学院 植物保护研究所, 北京 100081;

3. 湖南省棉花科学研究所, 湖南 常德 415101)

摘要 为了给细极链格孢菌蛋白激发子的田间使用提供依据,测定了其粗提蛋白液对棉主要性状及相关酶活性变化影响的相关数据。结果表明:细极链格孢菌蛋白激发子诱导后显著提高了棉成铃数,且不同程度提高了株高、单铃重、衣指、子指和衣分,降低了单铃壳重,特别是促进了棉花早熟,获得了较高的产量。以浸种处理的籽/皮棉产量最高,分别达到3 800.60和1 598.15 kg/hm²,比对照提高了22.15%和26.11%;纤维的主要品质性状指标与对照间差异均达到了极显著水平,浸种+现蕾期喷雾处理的综合值比对照提高6.1%,为最高;诱导后POD(过氧化物酶)、SOD(超氧化物歧化酶)及NR(硝酸还原酶)的酶比活性增强,其中POD酶比活性均值最高为(502.00±1.10)μmol/(g·min),SOD为(378.36±0.43)μmol/(mg·min),NR为(168.96±2.30)μg/(g·h);而MDA(丙二醛)含量降低,最低为(2.814±0.0909)μmol/g。

关键词 链格孢菌;蛋白激发子;棉;产量;MDA;SOD;POD;NR

中图分类号 S 562.035.3

文章编号 1007-4333(2007)05-0016-06

文献标识码 A

Effect of protein elicitor from *Alternaria tenuissima* on main characters and enzymatic activity of cotton

Zhang Zhigang^{1,2,3}, Qiu Dewen², Zeng Hongmei², Yang Xiufen², Guan Chunyun¹, Mei Zhengding³, Yang Xiaoping³

(1. College of Agronomy, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 2. Institute of Plant Protection,

Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China; 3. Hunan Cotton Research Institute, Changde 415000, China)

Abstract The effect of protein elicitor from *Alternaria tenuissima* on main characteristics and enzymatic activity of cotton was studied. The number of plant bell was significantly promoted by *Alternaria tenuissima* protein elicitor. The plant height, weight of single bell, lint-index, seed-index and lint-percent were increased in different degrees, whereas the weight of single bell hull was decreased. The protein elicitor promoted the growth and yield of cotton. Seed treatment by soaking seeds increased the unginning and lint-yield to 3 800.60 and 1 596.15 kg/hm², respectively, being 22.15% and 26.11% higher than those of control. Many parameters were markedly improved by applying the protein activator at the right time and concentration. The Seed soaking plus spraying at the bud development stage was the most efficient. POD(peroxidase), NR(nitrate reductase) and SOD(superoxide dismutase) were increased in all treatments by *Alternaria tenuissima* protein elicitor. MDA (malondialdehyde) decreased in all treatments studied.

Key words *Alternaria tenuissima*; protein elicitor; cotton; yield; MDA; SOD; POD; NR

激发子(elicitor)是病原菌与植物相互识别的重要信号分子^[1],是一类对病原菌无直接毒杀作用而可诱导植物产生多重防御反应的化合物,能模拟病原菌和植物的相互作用,诱导植物产生防卫反应,开展病原菌激发子与植物相互作用关系及其机理的研

究具有重要意义^[2-3]。自Eden公司利用*Ewinia amylovora*中提取的Harpin蛋白激发子成功开发出Messenger^[4],用于多种病虫害的防治以来,激发子已成为抗病性研究的热点问题。国内外已有多项研究从多种病原菌中分离纯化出蛋白激发子,如从

收稿日期:2007-02-08

基金项目:国家973资助项目(2003CB114204);国家863资助项目(2003AA241130)

作者简介:张志刚,助研,博士研究生,E-mail:zhangzhig@126.com;邱德文,研究员,通讯作者,主要从事蛋白药物研究,E-mail:dewenqiu@hotmail.com

Phytophthora spp. 和 *Pythium* spp. 中提取的 Elicitin^[5], 从 *P. boehmeriae* 中提取的 PB90^[6] 等。用稻瘟菌来源的糖蛋白激发子处理水稻叶片, 发现其可诱导叶片不同抗性反应的发生^[7-8]。从稻瘟病菌细胞壁及培养滤液中获得的抽提物处理水稻, 对水稻苯丙烷类途径酶类和绿原酸具有诱导作用^[9]。从链格孢菌获得的纯化激发子与植物相互作用方面的研究未见报道, 本研究室首次从多种病原真菌中分离出一类新型蛋白激发子, 命名为细极链格孢菌蛋白激发子 (protein elicitor from *Alternaria tenuissima*, PEAT), 其氨基酸和基因的序列完全不同于过敏蛋白和隐地蛋白, 与蛋白质数据库中已知蛋白序列均无同源性。田间试验表明, 该蛋白激发子对植物病毒病的诱抗效果达 72.87%, 略优于常规的抗病毒剂^[10-11]。本试验旨在从生理生化方面探讨细极链格孢菌蛋白激发子对促进棉花生长发育等的影响, 为田间施用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试验设计

供试棉种湘杂棉 3 号 F₁ 为湖南省棉花科学研究所提供; 本实验室置备的细极链格孢菌蛋白激发子粗提液的质量浓度为 6 mg/mL, 保存于 -20℃ 冰箱中, 使用前配成 3 μg/mL。

本试验设 6 个处理: 浸种 (处理 1), 浸种 + 幼苗期喷雾 (处理 2), 浸种 + 现蕾期喷雾 (处理 3), 浸种 + 初花期喷雾 (处理 4), 初花期喷雾 (处理 5) 和对照 (CK), 浸种与喷雾的质量浓度均为 3 μg/mL, 对照为清水。试验在 2004 年预备试验的基础上于 2005 年在湖南省棉花科学研究所试验基地进行。土壤肥力均匀中等, 采用营养钵育苗, 于 04-15 播种, 05-10 移栽。随机区组排列, 密度为 2.4 万株/hm², 重复 4 次, 共 24 个小区, 每个小区面积为 20 m², 按随机区组设计, 移栽期及田间管理除严格按照试验设计不同处理分别实施外, 均按高产、高效栽培措施执行管理。

1.2 主要农艺及经济性状的调查

2005-07-15、08-15、09-15 调查每小区 20 株单株成铃数和吐絮率。分小区采摘实收计产, 收获计产截至 11-30。每小区收获中部正常吐絮棉铃 100 个, 供室内考种, 考查单铃重、子指、单铃壳重、衣指、衣分。取 20 g 皮棉送中国农业科学院棉花研究所农业部纤维检验室测试中心, 用美国 HVI900 测试系

统测量其纤维长度、整齐度、比强度、麦克隆值、反射率和纺纱均匀性指数, 每项指标重复测量 3 次, 取平均值。

1.3 纤维品质多目标综合值评价

由于表示纤维品质的 6 个指标量各不一, 难以进行直接加权比较, 因此, 利用 DPS 数据处理系统对棉纤维的长度、比强度、整齐度、伸长率、麦克隆值、纺纱指数原始数据进行标准化处理^[12], 其结果为:

$$X_{i(k)} = (X_{i(k)} - X_i) / S_i$$

式中: $X_{i(k)}$ 为各原始数据; X_i 为同一性状平均值; S_i 为同一性状标准差。

根据对纤维品质的重要性, 将 6 个评价指标进行排序, 从大到小依次为: 比强度、长度、麦克隆值、纺纱均匀性指数、反射率和整齐度。

根据二项式系数法^[13]确定各指标的权重系数:

$$W_i = 1/2^m \cdot C_m^{i-1}$$

式中 W_i 表示第 i 个目标的权重系数。其中 W_1, W_2, \dots, W_6 分别代表比强度、长度、麦克隆值、纺纱均匀性指数、反射率和整齐度。

$$W_1 = 0.31250, W_2 = 0.31250, W_3 = 0.15625,$$

$$W_4 = 0.15625, W_5 = 0.03125, W_6 = 0.03125$$

计算第 j 个方案的得分数:

$$U_j(x) = \sum_{i=1}^n W_i \cdot r_{ij} \quad (j = 1, 2, \dots, n)$$

1.4 生物学活性测定^[13-14]

于 2005-07-15 取主茎上长势基本一致、无病虫害的功能叶 (倒 4 叶), 将叶片洗净, 吸干, 去中脉, 准确称重。过氧化物酶 (POD) 活性测定采用愈创木酚法, 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性测定采用 NBT 法, 丙二醛 (MDA) 含量测定采用 TBA 法, 硝酸还原酶 (NR) 活性测定采用离体法。

1.5 试验统计方法

采用 Excel2000, DPSV8.1 数据处理系统^[15], 对试验数据进行统计分析。

2 结果分析

2.1 细极链格孢菌蛋白激发子对棉花主要农艺性状与经济性状的影响

2.1.1 对株高的影响 细极链格孢菌蛋白激发子诱导后在一定时期内对株高有明显的促进作用, 2005-07-15 与 08-15 均达到了显著水平 (表 1)。就不

同生育时期来分析,07-15以处理4的株高最高,为(97.25 ±4.41)cm,比对照提高了33.11%;08-15以处理2的株高最高,为(139.80 ±4.91)cm;09-15各处理与对照间差异均未达到显著水平,这可能与湖南特殊的气候环境及棉花的生育特性有关。

2.1.2 对成铃数的影响 从表1可知,细极链格孢菌蛋白激发子诱导后成铃数显著提高,且都达到极显著水平。特别是2005-09-15调查分析表明,诱导后各处理成铃数均值为38.95个,比对照提高29.60%,其中处理1提高38.94%,处理2提高33.42%,处理3提高31.29%,处理4提高

23.00%,处理5提高21.60%。

2.1.3 对吐絮率的影响 细极链格孢菌蛋白激发子诱导后显著促进了棉花吐絮,获得了较好的霜前产量,各个时期各处理与对照间吐絮率差异均达到极显著水平(表1)。除2005-08-15调查结果外,均以处理1吐絮率最高,分别比对照提高66.00%、21.26%和17.35%。就霜前(10-20)花率来说,其均值为60.67%,比对照提高14.75%,其中处理1提高21.26%,处理2提高15.15%,处理3提高19.46%,处理4提高12.09%,处理5提高15.34%。

表1 细极链格孢菌蛋白激发子对棉花主要植物学性状的影响(2005年)

Table 1 Effect of protein from *Alternaria tenuissima* on main botanic characters (in 2005)

植物学性状	测定日期	CK	处理1	处理2	处理3	处理4	处理5
株高/cm	07-15	73.06 ±2.17 B	92.78 ±3.00 A	95.30 ±4.41 A	96.53 ±3.66 A	97.25 ±2.04 A	88.38 ±3.60 A
	08-15	126.10 ±5.17 b	129.70 ±5.81 ab	139.80 ±4.91 a	136.30 ±5.52 ab	131.30 ±1.43 ab	132.70 ±1.81 ab
	09-15	170.30 ±1.32 a	171.80 ±3.81 a	172.50 ±2.30 a	172.90 ±2.86 a	178.80 ±4.91 a	176.20 ±5.97 a
单株成铃数	07-15	1.10 ±0.10 B	2.20 ±0.40 A	1.80 ±0.30 A	1.80 ±0.10 A	1.90 ±0.30 A	1.90 ±0.20 A
	08-15	15.17 ±1.00 B	25.62 ±5.00 A	22.84 ±3.09 AB	24.92 ±3.61 A	22.25 ±1.85 AB	24.90 ±2.10 A
	09-15	30.04 ±1.29 B	41.74 ±2.76 A	40.08 ±2.09 A	39.44 ±1.88 A	36.95 ±1.84 A	36.53 ±2.21 A
吐絮率/%	08-15	0.40 ±0.17 D	1.20 ±0.15 AB	1.30 ±0.13 A	1.00 ±0.11 ABC	0.70 ±0.09 CD	0.90 ±0.12 BC
	09-15	8.50 ±1.96 B	14.11 ±1.33 A	11.10 ±1.21 AB	13.16 ±0.38 A	9.90 ±1.91 AB	10.90 ±2.23 AB
	10-20	52.87 ±3.89 B	64.11 ±3.32 A	60.88 ±1.90 A	63.16 ±2.81 A	59.26 ±1.37 AB	60.98 ±1.87 A
	11-20	81.34 ±2.89 B	95.45 ±4.56 A	87.90 ±1.01 B	88.90 ±3.12 AB	82.23 ±1.78 B	84.20 ±2.31 B

注:表中同行数字后小写字母不同表示差异显著($P < 0.05$),大写字母不同表示差异极显著($P < 0.01$)。下同。

2.1.4 对籽/皮棉产量的影响 DPS数据处理系统分析表明不同处理间籽棉产量达到了显著水平,而皮棉产量则达到了极显著水平(表2)。其中籽/皮棉产量均以处理1最高,分别达到3800.60和1598.15 kg/hm²,分别比对照提高了22.15%和26.11%。籽/皮棉产量为处理1 > 处理2 > 处理3 > 处理5 > 处理4 > CK,其提高幅度为7.34%~22.15%。

2.1.5 对主要经济性状的影响 除衣指达到极显著水平外,其余指标均没有达到显著水平(表2)。诱导后各个处理单铃壳重均降低,以处理4的诱导效果最显著,比对照降低了1.38%;单铃重、衣指、子指、衣分均有不同程度提高,但与对照间差异不显著。

2.2 链格孢菌蛋白激发子对棉花纤维品质性状的影响

2.2.1 对主要纤维品质指标影响 长度、整齐度、比强度、麦克隆值、反射率、纺纱均匀性指数均达到极显著水平(表3)。就主要指标分析,细极链格孢菌蛋白激发子适时适度喷施棉株,纤维的各个指标得到了明显的改善,其中长度、整齐度、纺纱均匀性指数均以处理3的诱导效果为显著,其均值分别比对照提高4.42%、2.71%、9.11%,表明浸种+现蕾期喷雾能明显改善长度、整齐度、纺纱均匀性指数;比强度以处理1的诱导效果为显著,其均值比对照提高9.82%,即浸种是影响比强度的最有效方式;麦克隆值以处理5的诱导效果最好,其均值比对照降低6.97%,表明初花期喷雾能显著降低麦克隆值。

表 2 细极链格孢菌的蛋白激发子对籽/皮棉产量和棉花主要经济性状的影响

Table 2 Effect of protein elicitor form *A. tenuissima* on gross/lint yield and main economic characters

经济性状	CK	处理 1	处理 2	处理 3	处理 4	处理 5
籽棉产量/(kg/hm ²)	3 111.350 ±44.32	3 800.599 ±300.52	3 702.700 ±164.87	3 537.200 ±259.64	3 339.750 ±198.12	3 528.850 ±75.56
皮棉产量/(kg/hm ²)	1 267.25 ±18.05	1 598.15 ±126.37	1 533.65 ±68.29	1 481.73 ±108.76	1 362.61 ±80.83	1 443.65 ±30.91
单铃壳重/g	2.20 a	2.19 a	2.19 a	2.18 a	2.17 a	2.19 a
单铃重/g	5.84 a	6.04 a	6.08 a	6.03 a	5.93 a	6.01 a
衣指	8.12 A	9.16 AB	8.89 BC	8.46 BC	8.54 BC	8.39 C
子指	11.36 a	11.91 a	12.06 a	11.69 a	11.86 a	11.86 a
衣分/%	40.73 a	42.05 a	41.42 a	41.89 a	40.80 a	40.91 a

表 3 细极链格孢菌蛋白激发子对棉花纤维品质指标综合评价的影响

Table 3 Effect of protein elicitor from *A. tenuissima* on the comprehensive evaluation data of fiber quality

纤维品质指标	CK	处理 1	处理 2	处理 3	处理 4	处理 5
长度/mm	29.40 ±0.10 b	30.10 ±0.46 ab	30.53 ±0.55 a	30.70 ±0.36 a	29.93 ±0.25 ab	30.00 ±0.40 ab
整齐度/%	83.47 ±0.29 b	84.60 ±0.70 ab	84.87 ±1.01 ab	85.73 ±0.45 a	84.23 ±0.35 ab	84.57 ±0.64 ab
比强度/(g/tex)	27.80 ±0.10 b	30.53 ±2.05 ab	29.80 ±0.61 a	29.90 ±0.98 a	28.97 ±0.23 ab	29.13 ±0.86 ab
麦克隆值	6.53 ±0.12 a	7.07 ±0.76 a	7.37 ±0.31 a	7.23 ±0.25 a	6.87 ±0.31 a	6.83 ±0.12 a
反射率/%	5.53 ±0.06 a	5.37 ±0.15 ab	5.33 ±0.15 ab	5.33 ±0.06 ab	5.20 ±0.10 b	5.17 ±0.12 b
纺纱均匀性指数	157.33 ±0.58 c	167.00 ±9.54 ab	168.00 ±0.57 ab	171.67 ±4.16 a	162.33 ±1.15 bc	163.67 ±0.58 abc

2.2.2 对纤维品质指标综合评价的影响 棉花纤维品质是一个综合指标,为了获得细极链格孢菌蛋白激发子提高棉纤维品质的最佳处理方式,必须对纤维品质指标进行综合评价,再择优处理进行推广。细极链格孢菌蛋白激发子不同处理对棉花纤维品质指标综合评价的影响有一定差异,每个处理的综合评价均比对照高。浸种+现蕾期喷雾处理(处理 3)的综合值最高,为 0.865 9,比对照提高 6.10%,其次为浸种处理(处理 1),比对照提高 5.59%。

2.3 细极链格孢菌蛋白激发子对棉花生物学活性及功能的影响

生物体的生长是一系列酶共同作用的结果。从表 4 可知,经细极链格孢菌蛋白激发子诱导后,棉株体内的 POD、SOD、NR、MDA 的酶比活性和含量与对照相比均达到极显著水平。植物体内 SOD 和 POD 是内源活性氧清除剂的重要酶类,在本试验范围内,POD 酶比活性以处理 2 最高,其均值比对照

提高 65.13%;SOD 以处理 1 最高,其均值比对照提高 25.01%,说明细极链格孢菌蛋白激发子诱导后,棉株体内酶比活性增强,从而氧化某些酚类、芳香胺和抗坏血酸等一些还原性物质且能及时排除有害自由基对植物结构、功能等的破坏作用,促进了棉株的新陈代谢,棉株的抗衰老能力,延长叶功能期,使植株生长旺盛,有利其获得高产;NR 是植物体内硝酸盐同化的关键酶,在体内 N 素代谢中起重要作用,它直接影响植物的生长发育和作物的产量及品质,从表 4 可知,细极链格孢菌蛋白激发子诱导后显著提高了其酶比活性,尤以处理 1 最明显,其均值比对照提高了 58.95%;而细极链格孢菌蛋白激发子诱导处理均能不同程度降低 MDA 含量,其中处理 3 比对照降低了 25.23%,表明细极链格孢菌蛋白激发子处理棉种均能显著降低 MDA 含量,而对照的 MDA 含量较高,说明其保护酶系统已无力清除自由基,细胞膜受到严重伤害,这可能是对照农艺性状较差的重要生理基础。

表4 细极链格孢菌蛋白激发子对棉花主要生理指标的影响
Table 4 Effect of protein elicitor from *A. tenuissima* on physiology quality

酶比活性均值	CK	处理 1	处理 2	处理 3	处理 4	处理 5
POD/ ($\mu\text{mol}/(\text{g} \cdot \text{min})$)	304.00 \pm 2.20 E	491.30 \pm 1.40 B	502.00 \pm 1.10 A	385.30 \pm 3.50 C	369.30 \pm 0.40 D	386.00 \pm 2.10 C
SOD/ ($\mu\text{mol}/(\text{mg} \cdot \text{min})$)	302.66 \pm 3.77 D	378.36 \pm 0.43 A	349.82 \pm 2.85 C	362.85 \pm 2.98 B	359.01 \pm 2.02 B	374.85 \pm 3.18 A
MDA/ ($\mu\text{mol}/\text{g}$)	3.5241 \pm 0.0457 A	3.1917 \pm 0.0994 B	3.1894 \pm 0.1771 B	2.8140 \pm 0.0909 C	3.2443 \pm 0.0535 AB	3.2443 \pm 0.1326 AB
NR/ ($\mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{h})$)	106.30 \pm 1.41 E	168.96 \pm 2.30 A	155.58 \pm 1.68 B	123.05 \pm 2.07 C	126.63 \pm 0.87 C	113.96 \pm 2.87 D

3 结论与讨论

1) 过敏蛋白(harpin)和隐地蛋白(elicitin)等具有诱导激活植物自身生长和防御系统功效的观点,现已得到普遍认同^[16-17]。细极链格孢菌蛋白激发子是从真菌中分离得到的一种胞内可溶性蛋白,是完全不同于 harpin 和 elicitin 的新型蛋白激发子。本试验结果表明,细极链格孢菌蛋白激发子诱导后显著提高了棉株成铃数,且不同程度提高了单铃重、衣指、子指和衣分,降低了单铃壳重,特别是能够促进棉花早熟,显著提高籽/皮棉产量,分别比对照提高了 15.12% 和 17.19%。同时,不同处理方式之间的产量水平差异显著或极显著,其中处理 1 产量最高,比对照提高 22.15%。导致不同处理产量差异的原因是构成产量要素之间存在显著或极显著差异,如个体和单位面积成铃数的差异,单铃重和衣分的差异等。

2) 在试验范围内,细极链格孢菌蛋白激发子诱导后各处理/籽皮棉产量均显著提高,且明显改善了纤维品质,其中浸种、浸种+幼苗期喷施处理对产量的诱导效果显著,浸种+现蕾期喷雾处理对纤维的诱导效果相对显著,两者达到最优的处理方式存在一定差异。这可能与纤维品质形成的机制有关,其原因还需进一步探讨,故细极链格孢菌蛋白激发子诱导的适当时期还应根据所追求的目标而调整。

3) 以 SOD、POD 为主的保护酶系统组成一个清除活性氧的防御过程,使活性氧的产生和清除处于平衡状态,起到保护作用^[18]。本试验结果表明:经细极链格孢菌蛋白激发子诱导后,显著提高了 SOD 和 POD 的酶比活性。说明经链格孢菌蛋白激发子浸种处理后,细胞内氧化还原态势改变,下游信号转导活化,从而使许多与氧化还原反应有关的基因表达被加强,使体内 SOD、POD 活性升高,可能与来自植物病原细菌的过敏蛋白和来自植物病原疫霉菌的

隐地蛋白具有同样的激活植物自身生长和防御系统的功效。同时,细极链格孢菌蛋白激发子诱导后能促进 NR 活性,催化植物体内的硝酸还原反应,将硝酸盐还原为亚硝酸盐,提高植物对氮素的利用率,从而达到促进其生长并改善其品质的目的。

4) 用细极链格孢菌蛋白激发子诱导后,棉株叶片酶的活性都有明显变化,这可能是细极链格孢菌蛋白激发子影响细胞内微环境的氧化还原状态,激发了棉株体内的保护酶体系。至于酶活性增加,是细极链格孢菌蛋白激发子从基因水平上促进酶的生物合成,增加了酶浓度,还是其本身刺激了酶活性,尚待进一步研究;同时,这些酶的变化还受到各种环境因素的影响。限于试验条件和时间,生理机理研究试验仅以湘杂棉 3 号为试验材料,试验结果和相关结论能否推及其他棉花品种还需进一步研究探讨。

参 考 文 献

- [1] 李云锋,王振中,贾显禄. 稻瘟病菌 66 kDa 糖蛋白激发子的纯化及性质研究[J]. 植物病理学报, 2004, 34(2):127-132
- [2] 范军,彭友良. 水稻悬浮细胞中稻瘟菌激发子诱导性受体类似激酶 cDNA 的克隆及特征分析[J]. 植物病理学报,1999,29(3):235-241
- [3] Arase S, Katsuka M, Itoi S. Some observations on hyphal growth and host responses in leafsheath of rice cultivars inoculated with *Pyricularia* fungi [J]. Ann Phytopathol Soc Jpn, 1983, 49: 698-703
- [4] Wei Z M, Laby R J, Zumoff C H, et al. Harpin, elicitor of the hypersensitive response produced by the plant pathogen *Erwinia amylovora* [J]. Science, 1992, 257(5066):85-88
- [5] Ricci P, Bonnet P, Huet J C, et al. Structure and activity of proteins from pathogenic fungi *Phytophthora* eliciting necrosis and acquired resistance in tobacco[J]. Eur J Biochem, 1989, 183:555-563

- [6] Wang Y C, Hu D W, Zhang Z G, et al. Purification and immunocytolocalization of a novel *Phytophthora boehmeriae* protein inducing the hypersensitive response and systemic acquired resistance in tobacco and Chinese cabbage [J]. *Physiol & Mol Plant Pathol*, 2003, 63: 223-232
- [7] Bradford M M. A rapid and sensitive method after the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. *Anal Biochem*, 1976, 72: 248-252
- [8] Kanoh H, Hega M, Sekizawa Y. Transmembrane signalling operated at rice blade cells stimulated by blast fungus elicitors I. Operation of the phospholipase C system [J]. *J Pesticide Sci*, 1993, 18: 299-308
- [9] Bi Y M, Ouyang G C. Induction effects of elicitor from *Pyricularia oryzae* on enzymes of phenylpropane pathway and chlorogenic acid [J]. *Plant Physiol Commun*, 1990, 29(3): 10-20
- [10] 邱德文. 微生物蛋白农药研究进展 [J]. *中国生物防治*, 2004, 20(2): 91-94
- [11] 邱德文. 植物用多功能真菌蛋白质. 中国: CN1344727A [P]. 2002
- [12] 陈金湘. 农业系统工程学 [M]. 长沙: 湖南科技出版社, 2001
- [13] 李合生主编. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2003
- [14] 张志良, 吴兴耀. 植物生物化学技术和方法 [M]. 北京: 农业出版社, 1986: 60-61
- [15] 唐启义, 冯明光. 实用统计分析及其 DPS 数据处理系统 [M]. 北京: 科学出版社, 2002
- [16] Qiu Dewen, Clayton K, Wei Z M. Effects of Messenger on plant growth & disease resistance in cucumber and strawberry [J]. *Phytopathology*, 2002, 92(6): 67-69
- [17] Kamoun S, Young, M, Glascock C B, et al. Extracellular protein elicitors from *Phytophthora*: host-specificity and induction of resistance to bacterial and fungal phytopathogens [J]. *Mol Plant Microbe Interact*, 1993, 6: 15-25
- [18] 屈生彬, 杨世波, 李光西, 等. 密度与施肥对香料烟成熟烟叶中几种酶活性及脯氨酸、丙二醛的影响初探 [J]. *中国烟草科学*, 2003(1): 18-22