

虎杖提取物对黄瓜防御酶系的影响

王远遐^{1,2}, 姬兰柱^{1,*}, 刘艳¹, 易雪梅^{1,2}, 张悦^{1,2}

¹中国科学院沈阳应用生态研究所, 沈阳110016, ²中国科学院大学, 北京100049

摘要: 本文采用热回流法提取虎杖乙醇提取物, 测定不同浓度虎杖提取物处理下, 黄瓜幼苗叶片中过氧化物酶(POD)、多酚氧化酶(PPO)、苯丙氨酸解氨酶(PAL)、几丁质酶(CHT)和 β -1,3-葡聚糖酶(GLU)等活性的变化。结果表明, 40 mg·L⁻¹虎杖提取物处理下, 黄瓜叶片POD和GLU (2~5 d)活性明显高于对照, PPO和CHT活性呈现M型变化趋势, 且PPO、PAL和CHT活性与对照相比变化无规律。400 mg·L⁻¹虎杖提取物处理的黄瓜幼苗叶片的POD、PPO和CHT活性明显高于40 mg·L⁻¹的, 但也一定程度上降低了GLU活性。

关键词: 虎杖; 黄瓜; 防御酶系

Effect of Extract of *Polygonum cuspidatum* on Defensive Enzymes of *Cucumis sativus*

WANG Yuan-Xia^{1,2}, JI Lan-Zhu^{1,*}, LIU Yan¹, YI Xue-Mei^{1,2}, ZHANG Yue^{1,2}

¹Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China; ²University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: The ethanol extract was obtained from *Polygonum cuspidatum* by hot reflux extraction. The activities of peroxidase (POD), polyphenol oxidase (PPO), phenylalanine ammonialyase (PAL), chitinase (CHT) and β -1,3-glucanase (GLU) in leaves of *Cucumis sativus* seedling were measured under different concentrations of extract of *P. cuspidatum*. The results showed that under the treatment of 40 mg·L⁻¹ extract, the activities of POD and GLU (2–5 d) of cucumber leaves were higher than those of control. And the activities of PPO and CHT showed a trend of M. Compared with the control, the activities of PPO, PAL and CHT were irregular. Under the treatment of 400 mg·L⁻¹ extract, the activities of POD, PPO and CHT were obviously higher than those of 40 mg·L⁻¹ extract, but the activity of GLU was decreased at a certain extent.

Key words: *Polygonum cuspidatum*; *Cucumis sativus*; defensive enzymes

虎杖为蓼科蓼属多年生草本植物, 又名阴阳莲、黄低榆、斑杖、苦杖、汤酸杆等, 药用部位为根及根茎, 根茎富含大黄酸、大黄素、大黄素甲醚等羟基蒽醌类化合物, 具有抗炎、抑菌、抗病毒及抗肿瘤等多种生理活性(国家药典委员会2010; Meng等2010)。

近年来, 虎杖临床应用广泛, 成为医药界的研究热点之一。陈文强等(2012)研究表明, 虎杖内生放线菌发酵液对大肠杆菌(*Escheichia coli*)、沙门氏菌(*Salmonella typhl*)、白色念珠菌(*Monilia albican*)等有不同程度的抑菌活性。公衍玲等(2008)研究不同产地虎杖药材的有效成分含量及抑菌活性, 结果表明不同产地虎杖的白藜芦醇含量有显著性差异, 而大黄素含量无明显差异, 同时, 各地虎杖对金黄色葡萄球菌(*Staphylococclus aureus*)和枯草杆菌(*Bacillus subtilis*)的抑菌活性均较强。卢成瑛

等(2005)通过正交实验得到在90%乙醇作为溶剂、60 °C的提取条件下处理3 h, 湘西虎杖提取物对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、痢疾杆菌(*Shigella dysenteroae*)生长的抑制效果明显, 但对酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*)无明显的效果。冯晓元等(2005)用菌丝生长速率法测定虎杖提取物对桃褐腐菌(*Monilinia fructicola*)的抑制作用。Herger等(1988)的研究表明, 虎杖叶子的提取液不仅对葡萄白粉病菌(*Uncinula necator*)显示出很好的抑菌活性, 而且有助于提高葡萄的抗病性。以上研究均证明, 虎杖除具有良好的生理活性之外, 对多种植物病原菌也有明显的抑制作用, 作为植物源杀

收稿 2014-07-07 修定 2014-11-24

资助 辽宁省科技计划项目(2012214001)和沈阳大学重点实验室基金项目(SYU-KF-L-05)。

* 通讯作者(E-mail: ji.lanzhu@iae.ac.cn; Tel: 024-83970302)。

菌抑菌剂有一定的研究前景。

植物诱导抗病性最早发现于20世纪初,60年代开始有比较系统的研究,现已成为国际上农业研究领域的热点,并被认为是植物保护的一种新途径、新技术(Herger等1988)。植物诱导抗病性是指植物受物理的、化学的或生物的诱导物处理后,对有害病原物侵染产生抗性的现象(刘堆淑2008)。迄今,已发现2,6-二氯异烟酸(INA)、苯并噻唑类制剂(BTH)和氨基丁酸(BABA)等多种诱导物可诱导黄瓜产生对病原菌的抗性(刘喜存等2006)。诱导抗病性使植物代谢物质发生改变,引起植物体内生理生化变化,主要包括可溶性碳水化合物和酚物质含量增加、活性氧迸发、植物保卫素的产生和积累、植物防御酶系多种酶活性的变化及病程相关蛋白的积累等(李堆淑2008;范志金等2005)。植物防御酶与植物抗病性有着密切的关系,对植物防御酶活性的诱导是植物最重要的一种生理生化抗病机制。张莉等(2007)的研究表明,虎杖提取物通过作用于几丁质酶、苯丙氨酸解氨酶和 β -1,3葡聚糖酶,在常温下即可对青霉菌原菌(*Penicillium expansum*)引起的梨(*Pyrus bretschneideri*)果实青霉病的发病率和病斑直径显示出明显的抑制效果。张弘等(2007)对虎杖不同根溶剂提取物的研究表明,在所选择的5种萃取溶剂中,乙醇提取率最高,用于防治黄瓜白粉病,具有一定的实际应用价值。因此,以虎杖乙醇回流提取物为研究对象,测定其对黄瓜叶片过氧化物酶(peroxidase, POD)、多酚氧化酶(polyphenol oxidase, PPO)、苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia-lyase, PAL)、几丁质酶(chitinase, CHT)和 β -1,3-葡聚糖酶(β -1,3-glucanase, GLU)等一些植物防御酶活性的影响,探究虎杖提取物对黄瓜诱导抗病性的生理生化机制,为其作为植物源农药的应用和开发提供理论依据,提高虎杖的应用价值。

材料与方 法

1 供试植物

黄瓜(*Cucumis sativus* Linn.)品种为‘长春密刺’,由沈阳化工研究院农药生物测定中心提供。

2 提取物的制备及药液配制

虎杖(*Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.)干燥根茎,购自沈阳东北大药房。将其进一步阴干,

粉碎,40目过筛。

热回流法制备虎杖乙醇提取物,称取根粗粉50 g,置于500 mL圆底烧瓶中,加约200 mL乙醇,水浴加热回流2~3 h,振摇数次,用布氏漏斗趁热滤出提取液。药渣再加乙醇以浸没为度(约200 mL),如上法再热提1次。残渣用布氏漏斗抽滤、压干,弃去。合并2次提取液,旋转蒸发仪减压浓缩至无溶剂味为止,提取物于4 °C冰箱保存备用。称取虎杖乙醇回流提取物,用90%丙酮(丙酮:水=9:1)溶解得到母液,用含有0.1%吐温80的自来水稀释得到40和400 mg·L⁻¹的溶液各50 mL备用。

3 试材处理

黄瓜种子45 °C温汤浸种20 min后,移至常温下浸种24 h,在30 °C恒温箱中催芽48~72 h,选择芽势一致的种子点播,每盆1粒。播种后的纸杯放在温室中于25~30 °C条件下培养,光照充足,每24 h浇水1次,保证土壤完全湿润。幼苗长至2叶1心期供实验用。

使用旋转台式作物喷雾机进行喷雾处理,喷雾压力为1.5 kg·cm⁻²,喷液量约为100 mL·m⁻²,即2 cm的叶片正反面喷匀,用药量为0.5 mL。处理后自然风干,每个处理24株黄瓜苗,处理后试材放置在作物通风箱中晾干2~3 h。

虎杖提取物处理后1、2、3、5、7和9 d定时取样,每处理取3株黄瓜的叶片(第3叶)各1片,将黄瓜叶片用蒸馏水冲洗、吸干、称重,迅速放入液氮罐中冷冻,然后移至-80 °C冰箱中保存,分别制备粗酶液。

4 粗酶液的制备

4.1 过氧化物酶(POD)、多酚氧化酶(PPO)和苯丙氨酸解氨酶(PAL)粗酶液的制备

取黄瓜叶片样品,放入研钵中,按1:5 (W/V)加入0.05 mol·L⁻¹ pH 7.2的磷酸缓冲液(含1%乙烯吡咯烷酮),冰浴研磨成匀浆。将匀浆液全部移入离心管中,于10 000 r·min⁻¹离心10 min,上清液分装到3个1.5 mL离心管中,放入-80 °C冰箱保存备用。

4.2 几丁质酶(CHT)和 β -1,3-葡聚糖酶(GLU)酶液的制备

黄瓜叶片样品放入研钵中,按1:5 (W/V)加入0.05 mol·L⁻¹ pH 5.2乙酸钠缓冲液(含1%聚乙烯吡咯烷酮),冰浴研磨成匀浆。将匀浆全部移入离心管中,于10 000 r·min⁻¹离心10 min,上清液分装到2个1.5 mL离心管中,放入-80 °C冰箱保存备用。

5 酶活性的测定

5.1 过氧化物酶(POD)活性的测定

以愈创木酚作底物, 采用改进的沈其益等(1978)的方法。反应体系包括1 mL 0.05 mol·L⁻¹ pH 7.2的磷酸缓冲液、0.5 mL 8% H₂O₂、1 mL 0.05 mol·L⁻¹愈创木酚和适量酶液。加入酶液后在37 °C下测定2 min内的470 nm下的 Δ OD值。对照以1 mL三蒸水代替H₂O₂。酶活性单位(U)为 Δ OD·mg⁻¹(蛋白)·min⁻¹。

5.2 多酚氧化酶(PPO)活性的测定

参照廖春英等(2003)的方法测定PPO活性。反应体系包括1.5 mL 0.05 mol·L⁻¹ pH 6.8的磷酸缓冲液、1.5 mL 0.05 mol·L⁻¹的邻苯二酚和适量的酶液混合均匀, 在37 °C下测定398 nm波长下2 min内OD的变化值(30 s记录1次)。空白以三蒸水代替酶液。酶活性单位(U)为 Δ OD·mg⁻¹(蛋白)·min⁻¹。

5.3 苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性的测定

参照胡景江等(1992)的方法并稍有改进。反应体系包括1 mL 0.05 mol·L⁻¹ pH 8.8的硼酸缓冲液、20 mmol·L⁻¹ L-苯丙氨酸和40 μ L酶液混合均匀。在40 °C反应30 min, 然后加0.5 mL 20%三氯乙酸终止反应, 3 000 r·min⁻¹离心10 min, 测定上清液在290 nm波长下OD值。空白以三蒸水代替酶液。酶活性单位(U)为 Δ OD·mg⁻¹(蛋白)·min⁻¹。

5.4 几丁质酶(ChT)活性的测定

参照Berger和Reynolds (1958)的方法, 以胶体几丁质为底物, 测定ChT活性。取胶状几丁质溶液0.2 mL, 加入0.1 mol·L⁻¹的乙酸缓冲液(pH 4.5) 0.1 mL、酶液0.2 mL(空白以三蒸水代替酶液), 混合均匀。40 °C反应1 h后, 流水冲洗冷却, 15 000 r·min⁻¹离心2 min。取0.25 mL上清液, 加入40 μ L 10%脱盐蜗牛酶, 37 °C水浴反应1 h, 加入0.1 mL四硼酸钾(0.8 mol·L⁻¹)沸水浴3 min, 冷却后加二甲氨基苯甲醛(DMAB) 2 mL, 混匀并在37 °C保温20 min, 冷却后于585 nm下测定其OD值。同时建立以N-乙酰氨基葡萄糖(NAG)标准曲线, 测定ChT活性。以每小时1 mg蛋白从胶状几丁质中释放1 mg N-乙酰氨基葡萄糖为一个酶活性单位(U) [1 mg (N-乙酰氨基葡萄糖)·mg⁻¹(蛋白)·h⁻¹]。

5.5 β -1,3葡聚糖酶(GLU)活性的测定

参照汤章城等(1999)的方法并有所改进。反应体系包括0.1 mL (0.05 mol·L⁻¹ pH 5.0)的乙酸钠缓

冲液, 含1%昆布多糖)乙酸钠反应液、0.16 mL 0.05 mol·L⁻¹的乙酸钠缓冲液(pH 5.0)和100 μ L酶液(空白以三蒸水代替酶液)混匀, 37 °C保温1 h, 加入0.3 mL 3,5-二硝基水杨酸试剂煮沸5 min, 立即冷却, 定容至3 mL, 于540 nm下测定其OD值, 采用DNS法测定还原糖的量。同时以葡萄糖制标准曲线。以1 mg·h⁻¹蛋白还原昆布多糖释放1 mg葡萄糖为1个酶活性单位(U) [1 mg (葡萄糖)·mg⁻¹(蛋白)·h⁻¹]。

6 数据分析

利用Origin软件和SPSS软件进行数据处理与分析。

实验结果

1 虎杖提取物对黄瓜叶片过氧化物酶(POD)活性的影响

由图1可知, 40和400 mg·L⁻¹的虎杖提取物处理使黄瓜叶片POD活性明显升高。40 mg·L⁻¹虎杖提取物处理的黄瓜叶片POD活性从第3天起逐渐升高, 第7天达到峰值(6.053 U), 然后略有下降。400 mg·L⁻¹虎杖提取物处理的POD活性也从第3天起急剧上升, 第9天达到峰值(10.973 U), 并且明显高于40 mg·L⁻¹虎杖提取物处理和对照。

2 虎杖提取物对黄瓜叶片多酚氧化酶(PPO)活性的影响

由图2可知, 对照的PPO活性上升, 在第2天和第9天分别达到峰值。40 mg·L⁻¹虎杖提取物处理的PPO活性呈现M型变化趋势, 在第2天和第5天达到

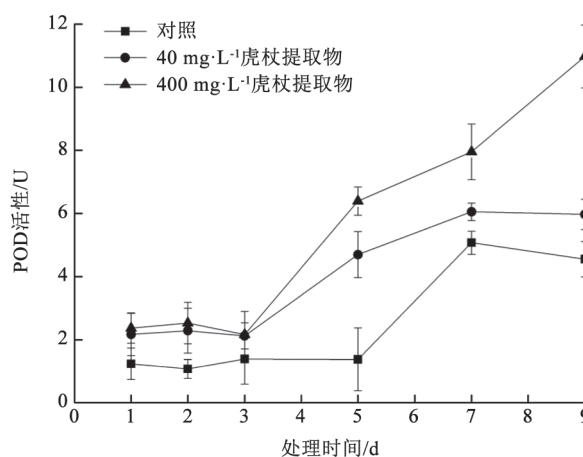


图1 虎杖提取物处理后黄瓜叶片POD活性的变化
Fig.1 Changes in POD activity of cucumber leaves after treatment with extract of *P. cuspidatum*

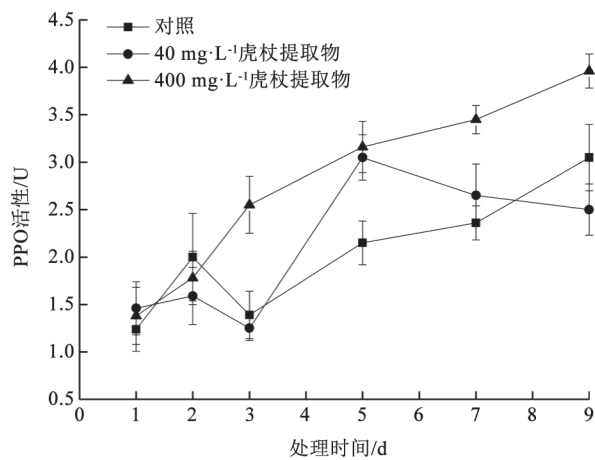


图2 虎杖提取物处理后黄瓜叶片PPO活性的变化
Fig.2 Changes in PPO activity of cucumber leaves after treatment with extract of *P. cuspidatum*

峰值, 分别为1.590和3.050 U, 第2个高峰比对照提前, 之后下降。400 mg·L⁻¹虎杖提取物处理的PPO活性随处理时间持续上升, 从第3天起高于其他两个处理, 并且在第9天达到3.960 U, 与其他两个处理差异显著。

3 虎杖提取物对黄瓜叶片苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性的影响

由图3可知, 对照的PAL活性呈现M型变化趋势, 而虎杖提取物处理的都是先下降后升高。40 mg·L⁻¹虎杖提取物处理的PAL活性在第3天活性最低为0.485 U, 之后逐渐上升, 在第9天到达高峰, 峰值为0.820 U。而400 mg·L⁻¹虎杖提取物处理的PAL

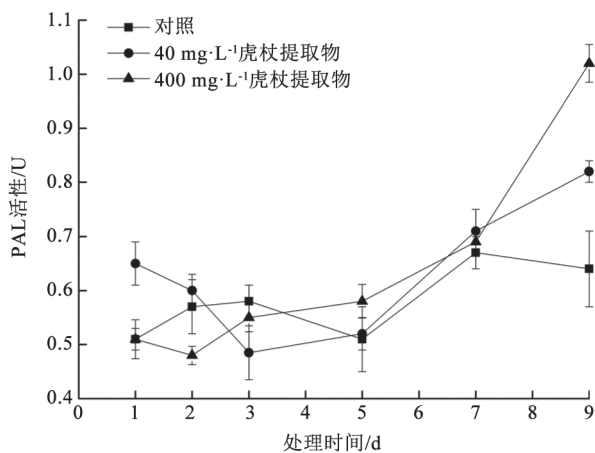


图3 虎杖提取物处理后黄瓜叶片PAL活性的变化
Fig.3 Changes in PAL activity of cucumber leaves after treatment with extract of *P. cuspidatum*

在第2天活性最低为0.480 U, 然后上升, 第9天达到最大值, 峰值为1.020 U, 明显高于其他两种处理。

4 虎杖提取物对黄瓜叶片几丁质酶(ChT)活性的影响

由图4可知, 随着时间延长, 对照的ChT活性先上升后下降再上升。40 mg·L⁻¹虎杖提取物处理的ChT活性呈现M型变化趋势, 在第2天和第7天达到峰值, 分别为0.262和0.253 U, 之后急剧下降。400 mg·L⁻¹虎杖提取物处理的ChT活性在第2天下降至最低为0.178 U, 第3天起ChT活性逐渐上升, 变化趋势与40 mg·L⁻¹虎杖提取物处理的一致; 第7天达到峰值0.372 U, 显著高于其他两个处理; 第9天略微下降, 但也高于其他处理。

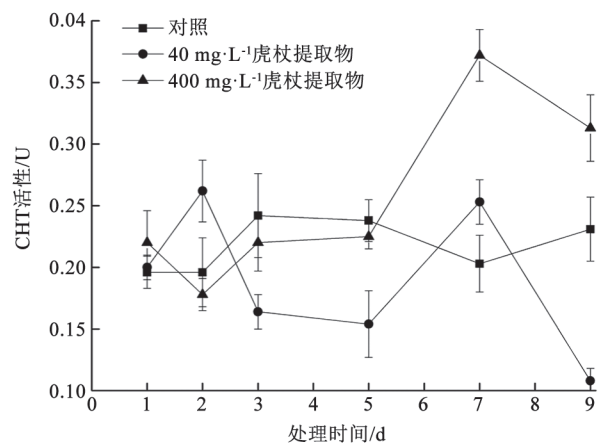


图4 虎杖提取物处理后黄瓜叶片ChT活性的变化
Fig.4 Changes in ChT activity of cucumber leaves after treatment with extract of *P. cuspidatum*

5 虎杖提取物对黄瓜叶片β-1,3葡聚糖酶(GLU)活性的影响

由图5可知, 对照的黄瓜叶片GLU活性缓慢上升, 但变化不明显。40 mg·L⁻¹虎杖提取物处理的GLU活性从第1天起迅速上升, 第3天达到峰值2.800 U, 然后迅速下降; 第7天达到最低值, 接近400 mg·L⁻¹虎杖提取物处理的。而400 mg·L⁻¹虎杖提取物处理的GLU活性先下降后上升再下降, 基本低于其他处理, 由此说明, 400 mg·L⁻¹虎杖提取物处理没有提高GLU活性。

讨论

大量研究表明, 植物的抗病性是体内抗病基

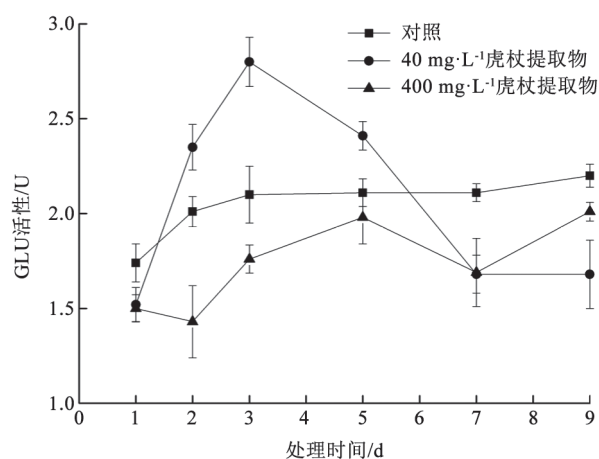


图5 虎杖乙醇提取物处理后黄瓜叶片GLU活性的变化
Fig.5 Changes in GLU activity of cucumber leaves after treatment with extract of *P. cuspidatum*

因及这些基因通过酶蛋白的表达、调控抗病物质的产生来决定的。POD与植物抗病性反应的密切关系,表现在清除活性氧、阻止活性氧形成时的重要作用(Xu等2008; 阚光锋2002)。本实验中,虎杖提取物诱导黄瓜叶片后,其体内POD活性迅速上升,400 mg·L⁻¹处理的POD活性明显高于40 mg·L⁻¹处理及对照,且有继续升高的趋势,这与赵娟(2012)的研究结果不尽相同,说明虎杖提取物处理后,可能就是通过增加POD活性激活黄瓜本身清除体内活性氧的能力、诱导抗病代谢过程的发生。另一方面,POD与超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)共同构成植物体内的防御酶系,协同作用于植物体内的有效活性氧清除系统。萨日娜(2012)对不同品种马铃薯(*Solanum tuberosum*)抗病机制的研究表明,抗性除了其本身基因外,与体内防御酶系(CAT、SOD和POD)也有密切关系,防御酶活性提高的时间早晚、变化幅度大小,因品种及环境条件等多种因素而异,这也可以作为马铃薯抗病机理研究的又一个线索性生理指标。而探索黄瓜叶片内CAT和SOD对虎杖提取物的响应机制,以及POD与CAT、SOD之间的协同作用,这也为进一步实验提供新的思路。

植物的抗病物质包括植保素、木质素和萜类化合物,这些物质均是重要的次生代谢产物。PAL、POD和PPO可形成多种抗菌作用产物,是抗

病反应中的关键酶(袁瑞玲等2008)。PAL是植物抗病代谢莽草酸途径的关键酶和限速酶,是与细胞内木质素的生成和沉积有关的防御酶(李世贵等2010)。而POD和PPO也是植保素、酚类物质合成的重要酶(闫艳华等2011; 张林青等2008)。陈庆河等(2003)对防御酶系(PAL、POD和PPO)的研究表明,番茄(*Lycopersicon esculentum*)经青枯无毒菌株(*Ralstonia solanacearum*)处理后,体内与抗病反应有关的PAL、POD和PPO活性显著增加,且PAL活性变化最敏感。这与本实验的研究结果大体一致,当黄瓜叶片受到虎杖提取物的直接诱导后,POD、PPO和PAL活性均有不同程度升高。400 mg·L⁻¹处理PPO活性高于40 mg·L⁻¹,40 mg·L⁻¹处理时出现2个高峰,且第2个高峰较对照提前,说明虎杖提取物对PPO活性有良好的诱导激活作用。400和40 mg·L⁻¹虎杖提取物处理PAL活性均先下降后上升,且最低值分别出现在第2和3天,第9天显著高于对照,说明PAL活性对虎杖提取物诱导相当敏感。而张晓静(2012)以山药(*Dioscorea opposita*)叶片4种不同溶剂提取液处理接种白粉病的黄瓜幼苗,其叶片内防御酶活性变化的强度和幅度均有明显差异,PAL、POD和PPO活性均呈现先升高后降低的趋势。姜爱丽等(2009)研究纳他霉素与维生素C联用前后对采后甜樱桃(*Cerasus avium*)中PAL、POD和PPO的活性比较,发现联用后酶活性比单用有显著的增加,证明3种酶之间存在协同抗病作用。以上研究中涉及的不同溶剂处理导致的防御酶活性差异以及不同防御酶之间的协同作用,也为进一步实验提供拓展性的建议。

CHT和GLU是植物建立系统抗病性的标志酶,与果实抗病性也有密切关系,其酶活性的提高是植物抗逆性增强的很好体现。几丁质和 β -1,3-葡聚糖是真菌细胞壁的主要成分,可分别被CHT和GLU降解,因此,CHT和GLU可以破坏许多病原真菌细胞壁,造成细胞死亡(张莉等2007)。包妍妍(2013)的研究中,西芹(*Apium graveolens*)鲜根及根际区物丙酮浸提液处理黄瓜叶片后,CHT和GLU活性均高于对照,且与黄瓜枯萎病(*Fusarium oxysporium*)发病率呈负相关。Zhang等(2011)研究发

现, 损伤接种扩展青霉(*Penicillium expansum*)的苹果(*Malus pumila*)采用 β -氨基丁酸处理后, 其CHT和GLU活性相比对照均有显著升高, 实验结果表明 β -氨基丁酸可诱导苹果与抗病性相关的关键性酶活性。Jin等(2009)采用茉莉酸甲酯处理采后桃(*Prunus persica*), CHT和GLU等与抗病性相关酶的活性, 与对照相比均有增加, 从而有效提高采后桃的抗病能力。本实验中, 虎杖提取物对黄瓜体内CHT和GLU活性诱导作用不明显, $400 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 提取物处理的CHT活性仅在后期超过对照, 第7天达到峰值, 之后又呈下降趋势。而 $40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理的CHT活性保持在对照左右变化, 且幅度较大, 第9天活性更趋于0。 $40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理的GLU活性仅在第2~5天高于对照, 而 $400 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理的GLU活性始终低于对照, 说明 $400 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理抑制GLU活性。这与上述研究结果明显不一致, 由此可推测, CHT和GLU并不是黄瓜体内抗病性发挥作用的主要原因, 这有待于进一步研究。

综上所述, POD、PPO、PAL、CHT和GLU共同构成植物抗病密切相关的防御酶系。虎杖提取物处理能诱导黄瓜叶片这5种酶呈现不同的变化趋势, 这为进一步验证黄瓜体内防御酶与其抗病机制的相关性提供基础, 为其进一步开发成生物防治农药提供理论依据。

参考文献

- 包妍妍(2013). 西芹根物质对黄瓜枯萎病菌化感作用、机理及田间化感作用的研究[学位论文]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学
- 陈庆河, 翁启勇, 胡方平(2003). 青枯病原细菌无毒菌株诱导番茄防御酶系及粗提液抑菌活性的影响. 植物病理学报, 33 (4): 334-337
- 陈文强, 彭浩, 邓百万, 解修超, 孔亚男, 夏聪聪, 刘兆迪, 刘小红(2012). 药用植物虎杖内生放线菌的分离机抑菌活性的研究. 陕西理工学院学报(自然科学版), 28 (6): 61-67
- 范志金, 刘秀峰, 刘凤丽, 鲍丽丽, 张永刚(2005). 植物抗病激活剂诱导植物抗病性的研究进展. 植物保护学报, 32 (1): 88-89
- 冯晓元, 孔苗, 李文生, 姜微波(2005). 中草药提取物对桃褐腐菌抑制作用增效组合筛选. 中国农学通报, 21 (12): 292-294
- 公衍玲, 王宏波, 金宏, 赵文英(2008). 不同产地虎杖药材中有效成分及抑菌活性的比较. 青岛科技大学学报(自然科学版), 29 (3): 204-205
- 国家药典委员会(2010). 中华人民共和国药典. 一部. 北京: 中国医药科技出版社, 194
- 胡景江, 文建雷, 景耀, 曹支敏(1992). 杨树体内苯丙烷代谢与其对溃疡病抗性的关系. 植物病理学报, 22 (2): 185-188
- 姜爱丽, 胡文忠, 李慧, 田密霞, 范圣第(2009). 纳他霉素处理对采后甜樱桃生理代谢及品质的影响. 农业工程学报, 25 (12): 351-356
- 阚光锋(2002). 烟草品种对野火病的抗性鉴定与生化抗病机制研究[学位论文]. 泰安: 山东农业大学
- 李堆淑(2008). 植物诱导抗病机制的研究进展. 商洛学院学报, 22 (2): 46-50
- 李世贵, 吕天晓, 顾金刚, 姜瑞波, 牛永春(2010). 施用木霉菌诱导黄瓜抗病性及其对土壤酶活性的影响. 中国土壤与肥料, (2): 75-78
- 廖春燕, 马国瑞, 洪文英(2003). 壳聚糖诱导番茄对早疫病的抗性及其生理机制. 浙江大学学报, 29 (3): 280-286
- 刘喜存, 刘红彦, 李洪连(2006). 植物诱导抗病性及其研究现状. 河南农业科学, (4): 12-16
- 卢成瑛, 黄早成, 李翔, 钟维(2005). 湘西虎杖抑菌成分提取及其抑菌活性研究初报. 中国林副特产, (2): 1-3
- 萨日娜(2012). 马铃薯品种对卷叶病抗性的鉴定及抗病过程中防御酶系参与的研究[学位论文]. 呼和浩特: 内蒙古大学
- 沈其益, 阎隆飞, 李庆基, 张元恩, 张晓月, 李筠宝, 王正芬, 傅翠贞(1978). 棉花感染枯萎病后过氧化物酶同工酶的变化. 植物学报, 20 (4): 108-113
- 汤章城, 魏家绵, 陈因(1999). 现代植物生理学实验指导. 第1版. 北京: 科学出版社, 128-317
- 闫艳华, 王海宽, 肖瑞峰, 宗志友, 沈发迪, 孙瑶, 戚薇(2011). 一株乳酸菌对番茄灰霉病的防效及对几种防御酶活性的影响. 微生物学报, 38 (12): 1801-1806
- 袁瑞玲, 孟小林, 徐进平, 王健, 鲁伟(2008). HrpZ激发对几种植物防御相关酶活性的影响. 安徽农业科学, 36 (32): 13951-13953
- 张弘, 李志念, 袁静, 王桂清, 姬兰柱(2007). 虎杖根提取物及分离组分对黄瓜白粉病的作用效果. 农药, 46 (9): 635-637
- 张莉, 冯晓元, 李文生, 丁立孝(2007). 虎杖提取物处理对采后梨果实抗性相关酶活性的诱导. 食品工业科技, (3): 64-66
- 张林青, 程智慧, 孟焕文, 张倩慧(2008). 大蒜叶片活性氧及保护酶系对白腐病菌粗毒素胁迫的响应. 西北植物学报, 28 (5): 974-978
- 张晓静(2012). 山药提取液对黄瓜白粉病抑菌效果及其机理的研究[学位论文]. 呼和浩特: 内蒙古大学
- 赵娟(2012). 梨果实愈伤组织对致腐真菌感染的生理响应机制研究[学位论文]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学
- Berger LR, Reynolds DM (1958). The chitinase system of a strain of *Streptomyces griseus*. Biochim Biophys Acta, 29 (3): 522-534
- Herger G, Klingauf F, Mangold D, Pommenr EH, Scherer M (1988). Efficacy of extracts of *Reynoutria sachalinensis* (F. Schmidt) Nakai (Polygonaceae) against fungal disease, especially powdery mildews. Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes, 40 (4): 56-60

- Jin P, Zheng YH, Tang SS, Rui HJ, Wang CY (2009). Enhancing disease resistance in peach fruit with methyl jasmonate. *J Sci Food Agr*, 89 (5): 802~808
- Meng G, Liu Y, Lou C, Yang H (2010). Emotion suppresses lipopolysaccharide-induced pro-inflammatory responses and NF- κ B activation by disrupting lipid rafts in CD14-negative endothelial cells. *Br J Pharmacol*, 161 (7): 1628
- Xu XB, Qin QZ, Tian SP (2008). Effect of microbial biocontrol agents on alleviating oxidative damage of peach fruit subjected to fungal pathogen. *Int J Food Microbiol*, 126: 153~158
- Zhang CF, Wang JM, Zhang JG, Hou CJ, Wang GL (2011). Effects of β -aminobutyric acid on control of postharvest blue mould of apple fruit and its possible mechanisms of action. *Postharvest Biol Technol*, 61: 145~151