

大豆疫霉菌诱导的 β -1,3- 葡聚糖酶与寄主抗病性的关系

左豫虎^{1,2},杨传平¹,郑耀³,娄树宝²

(1. 东北林业大学 林学博士后流动站,黑龙江 哈尔滨 150040;2. 黑龙江八一农垦大学 农学院,黑龙江 大庆 163319;3. 大连市金州区农业技术推广中心,辽宁 大连 116100)

摘 要:为明确-1,3- 葡聚糖酶与大豆抗大豆疫霉根腐病的关系,分别测定了具有不同抗性的 3 个大豆品种的真叶和第 1 片复叶被大豆疫霉菌侵染后 β -1,3- 葡聚糖酶的活性,并分析其与抗病性的关系。侵染大豆真叶和第 1 片复叶后各品种的 β -1,3- 葡聚糖酶活性均明显升高。接种大豆真叶后抗病品种 48 h 出现酶活性高峰,酶活性增加 105.9%;中感品种和感病品种 72 h 出现酶活性高峰,酶活性增加量分别为 66.3% 和 65.7%。接种大豆复叶后酶活性的变化与真叶反应一致。说明 β -1,3- 葡聚糖酶的活性与大豆品种的抗病性呈正相关,抗病品种较感病品种酶活性峰值出现早,酶活性增加量高。对酶的部分性质的研究结果表明:酶的最适反应温度为 55℃,最适反应 pH 为 5.0,在 55℃ 以下,pH 4.5 ~ 7.5 范围内酶活性较稳定。 Ca^{2+} 、 Mn^{2+} 、 K^{+} 、 Al^{3+} 对酶均有激活作用, Mg^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Fe^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Ba^{2+} 对酶有抑制作用。抑菌试验表明, β -1,3- 葡聚糖酶粗酶液对大豆疫霉菌的菌丝生长和游动孢子萌发有明显的抑制作用。

关键词:大豆;大豆疫霉菌; β -1,3- 葡聚糖酶;抗病性;抑菌活性

中图分类号:S435. 651 文献标识码:A 文章编号:1000-9841(2009)05-0883-06

Relationship Between Induced β -1,3- Glucanase and Resistance of Soybean to *Phytophthora* Root Rot

ZUO Yu-hu^{1,2},YANG Chuan-ping¹,ZHENG Yao³,LOU Shu-bao²

(1. Postdoctoral Research Station of Forestry,Northeast Forestry University,Harbin 150040,Heilongjiang;2. College of Agronomy,Heilongjiang Bayi Agricultural University,Daqing 163319,Heilongjiang;3. Dalian Jinzhou Popularizing Agricultural Technique Center,Dalian 116100,Liaoning,China)

Abstract:To know the relationship between induced β -1,3-glucanase and resistance of soybean to *phytophthora* root rot,the activities of β -1,3-glucanase in true leaves and first compound leaves of three soybean cultivars with different resistance after infection by *Phytophthora sojae* were detected. After infecting true leaves and first compound leaves,the activities of β -1,3-glucanase were enhanced in all cultivars. The enzyme-activity in true leaves of resistance cultivar reached the peak at 48 hours after inoculation,increasing 105.9%,and middle susceptible and susceptible cultivars reached the peck at 72 hours after inoculation,increasing 66.3% and 65.7%,respectively. The results showed the relationship between the activities of β -1,3-glucanase and the resistance of soybean cultivars were positive. The increase peaks of enzyme-activity changes appeared earlier in the resistant cultivars than the susceptible ones,and showed a higher level of enzyme-activity changes in the resistant cultivars. Still,the results of the partial enzyme properties indicated that the optimal temperature and pH of the β -1,3-glucanase was 55℃ and 5.0,respectively. The enzyme was stable at pH 4.5-7.5 and temperature below 55℃. The activities of β -1,3-glucanase were stimulated by Ca^{2+} 、 Mn^{2+} 、 K^{+} 、 Al^{3+} and inhibited by Mg^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Fe^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Ba^{2+} . Antifungal activities showed that the mycelia growth and zoospore germination of *P. sojae* were significantly inhibited by crude enzyme.

Key words:Soybean;*Phytophthora sojae*; β -1,3- glucanase;Disease resistance;Antifungal activity

β -1,3- 葡聚糖是许多真菌细胞壁的重要组成部分
分, β -1,3- 葡聚糖酶的活性与植物的抗病性密切相
关^[1]。 β -1,3- 葡聚糖酶可以破坏很多植物病原真
菌的细胞壁,使细胞失去支撑,从而破裂死亡^[2]。

收稿日期:2009-04-24

基金项目:黑龙江省农垦总局科技资助项目(HNKXIV-02-04-01)。

作者简介:左豫虎(1965-),男,教授,博士生导师,研究方向为植物免疫学和植物病原真菌学及植物真菌病害。E-mail: zuoyuhu@163.com。

在正常的环境条件下植物中 β -1,3- 葡聚糖酶含量较少,活性很低。当植物受到某些外界因素的刺激时, β -1,3- 葡聚糖酶可以被刺激物所诱导和积累^[3]。左豫虎等^[4]利用 β -1,3- 葡聚糖免疫金标记单克隆抗体进行的免疫细胞化学的研究表明,在大豆疫霉菌菌丝壁中存在 β -1,3- 葡聚糖,是细胞壁的主要组成成分之一。但有关大豆疫霉菌感染大豆后,植株体内 β -1,3- 葡聚糖酶活性变化与其抗病性关系的研究仍未见报道。试验初步研究了大豆疫霉菌对大豆 β -1,3- 葡聚糖酶的诱导作用及其与抗病性的关系,为明确大豆抗疫病的机理,从分子水平上认识寄主植物与病原菌相互作用机制,分离和克隆抗菌蛋白基因提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试大豆品种为抗病品种垦农 4 和中感品种垦农 19^[4],由黑龙江八一农垦大学大豆育种研究室提供;感病品种 857-1,由黑龙江省 857 农场种子分公司提供。供试菌种为大豆疫霉菌 Ps411^[5],由黑龙江八一农垦大学植物免疫研究室提供。供试培养基为胡萝卜琼脂(CA)培养基^[6]。供试试剂昆布多糖, Sigma 公司出品。

1.2 接种处理及取样

挑选健康的大豆种子播于 17 cm × 17 cm 的装有细沙的花盆中,置于 20 ~ 25℃ 培养。参照左豫虎等^[7]的方法制备大豆疫霉游动孢子悬浮液。大豆第 1 片复叶充分展开时,用棉球蘸取浓度大约为 1×10^5 个·mL⁻¹ 的孢子悬浮液接种于大豆真叶和第 1 片复叶上,置于 25℃ 恒温培养箱中保湿培养。以空白培养液做接种对照。于接种后 6、12、24、48、72、96 h 分别取样 1 次,每次取 10 片叶子,用液氮快速冷冻后保存于 -80℃ 冰箱中备用。

1.3 β -1,3- 葡聚糖酶的提取和活性测定

参照史益敏^[8]的方法提取 β -1,3- 葡聚糖酶。参照余永廷等^[9]的方法测定 β -1,3- 葡聚糖酶的活性,以沸水浴 10 min 失活的酶液为标准对照,以昆布多糖为反应底物,从葡萄糖标准曲线求得葡萄糖含量,计算酶活力。以每克鲜组织每分钟催化昆布多糖产生 1 μ g 葡萄糖的酶量为 1 个酶活力单位(u)。

1.4 β -1,3- 葡聚糖酶的酶学性质研究

1.4.1 温度对酶活性的影响及其热稳定性 在试管中加入 100 μ L 浓度为 1 mg·mL⁻¹ 的昆布多糖溶

液和 50 μ L 酶液,分别在 25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80℃ 恒温水浴中反应 30 min,用 DNS 法测定酶活力,以确定酶的最适反应温度;酶液分别在上述各温度下水浴保温 20 min,立即冰浴,然后测定酶活性以确定酶的热稳定性。

1.4.2 pH 值对酶活性的影响及酶的酸碱稳定性

分别用不同 pH (3.5 ~ 5.5) 醋酸钠缓冲液、pH (6.0 ~ 8.0) 磷酸氢二钠-磷酸二氢钠缓冲液、pH (8.5 ~ 9.0) 硼酸- 硼砂缓冲液配制浓度为 1 mg·mL⁻¹ 的昆布多糖溶液,然后取酶液 50 μ L 与 100 μ L 不同 pH 缓冲液所配制的底物在 37℃ 反应 30 min,测定酶活性以确定酶的最适反应 pH;酶液在上述不同 pH 的缓冲体系中 4℃ 保温 2 h,然后测定酶活力以确定酶的酸碱稳定性。

1.4.3 金属离子对酶活力的影响 在 100 μ L 浓度为 1 mg·mL⁻¹ 的昆布多糖中加入 50 μ L 酶液,在此反应体系中分别加入 100 μ L 的 CaCl₂、MgSO₄、CuSO₄、ZnSO₄、MnSO₄、FeCl₃、FeSO₄、KCl、HgCl₂、BaCl₂、AlCl₃,使各金属离子的终浓度为 50 mmol·L⁻¹,37℃ 反应 30 min,用 DNS 法测定酶活力,以蒸馏水为对照。

1.5 β -1,3- 葡聚糖酶抑菌活性的测定

1.5.1 粗酶液对菌丝生长的抑制作用 将粗酶液用细菌过滤器过滤以除去细菌,4℃ 冰箱保存。将直径 8 mm 的大豆疫霉菌菌丝块接种至直径为 9 cm 的 CA 平板中央,于 25℃ 恒温培养 2 ~ 3 d,在菌落周围 1.0 cm 处均匀打取直径为 8 mm 的 4 个圆孔,其中相对 2 孔滴加粗酶液,另 2 孔滴加等量的醋酸钠缓冲液(0.05 mol·L⁻¹, pH 5.0) 为对照,25℃ 继续培养 3 ~ 5 d,观察抑菌情况。

1.5.2 粗酶液对孢子萌发的抑制作用 吸取 30 μ L 浓度约为 1.0×10^5 个·mL⁻¹ 的游动孢子悬浮液加入凹玻片中,再加入 30 μ L 粗酶液,以醋酸钠缓冲液(0.05 mol·L⁻¹, pH 5.0) 为对照,混合后置于保湿培养皿内,25℃ 下培养,12 h 后于 10 × 15 倍视野下镜检孢子萌发情况,以芽管长度超过孢子直径一半作为萌发标准,每处理检测 100 个孢子,重复 3 次。观察并计算孢子萌发率和萌发抑制率。

2 结果与分析

2.1 大豆不同抗性品种真叶和第 1 片复叶中 β -1,3- 葡聚糖酶活性与抗病性的关系

3 种不同抗性大豆品种真叶和第 1 片复叶接种大豆疫霉菌后 β -1,3- 葡聚糖酶活性变化情况见表

1. 接种病原菌后 β -1,3- 葡聚糖酶活性均明显升高。感病品种 857-1 的酶活性上升趋势比较平缓,接种 24 h 后酶活性大幅度上升,真叶在 72 h 达到峰值,酶活性变化为 65.7%;复叶在 96 h 达到峰值,酶活性变化为 99.4%。

表1 大豆不同抗性品种 β -1,3- 葡聚糖酶活性的变化

Table 1 Changes of β -1,3-glucanase activities in soybean cultivars with different levels of resistance

接种叶片 Inoculation leaf	取样时间 Sampling time/h	857-1			垦农 19 Kennong 19			垦农 4 Kennong 4		
		Susceptible			Medium susceptible			Resistant		
		酶活性		酶活性变化 Changes of enzyme activity/%	酶活性		酶活性变化 Changes of enzyme activity/%	酶活性		酶活性变化 Changes of enzyme activity/%
		Enzyme activity/U			Enzyme activity/U			Enzyme activity/U		
		接种 Inoculation	对照 Control		接种 Inoculation	对照 Control		接种 Inoculation	对照 Control	
真叶 True leaf	6	172.3	163.7	5.3	144.2	116.7	23.6	178.3	163.2	9.3
	12	185.1	168.6	9.8	200.4	117.1	71.1	219.4	162.3	35.2
	24	201.8	171.3	17.8	190.7	127.3	49.8	274.3	167.1	64.2
	48	213.5	152.1	40.4	175.6	121.2	44.9	336.8	163.6	105.9
	72	251.2	151.6	65.7	215.2	129.4	66.3	318.9	160.2	99.1
	96	242.7	163.4	48.5	206.9	130.8	58.2	297.1	159.3	86.5
复叶 Compound leaf	6	69.2	64.4	7.5	84.7	74.6	13.5	92.8	83.6	11.0
	12	85.6	75.1	12.6	88.3	70.5	25.2	138.7	76.2	82.0
	24	91.3	76.3	19.7	115.1	75.8	51.8	144.2	75.4	91.2
	48	115.1	65.7	75.2	146.4	73.6	98.9	148.3	75.2	97.2
	72	122.4	67.5	81.3	169.3	70.4	140.5	194.8	74.1	162.9
	96	123.2	61.8	99.4	125.6	72.3	73.7	185.2	74.3	149.3

中感品种垦农 19 真叶和第 1 片复叶酶活性上升的速度比感病品种快,真叶酶活性表现出先升高,再降低,再升高的趋势,两个峰值分别出现在 12 h 和 72 h,酶活性变化稍高于感病品种 857-1;复叶接种 12 h 后酶活性大幅度上升,72 h 达到峰值,酶活性变化为 140.5%,明显高于感病品种。

抗病品种垦农 4 酶活性上升速度快,接种 12 h 后真叶和复叶酶活性都开始大幅度上升,复叶在接种 12 h 时酶活性变化就高达 82.0%,远远高于同时的感病品种和中感品种,真叶在 48 h 达到峰值,酶活性变化达到 105.9%,复叶在 72 h 达到峰值,酶活性变化为 162.9%,远远高于感病品种和中感品种,并且高活性维持的时间长,96 h 时真叶酶活性变化仍为 86.5%,复叶为 149.3%。

2.2 最适反应温度及热稳定性

β -1,3- 葡聚糖酶的最适反应温度结果见图 1,在 45~60℃ 范围内酶活力较高,相对酶活在 60% 以上,其最适反应温度为 55℃,超过 60℃ 酶活力明显下降,80℃ 酶活力仅为最高酶活力的 11%。对酶的热稳定性研究结果表明(图 3),该酶在 55℃ 以下相对稳定,50℃ 保温 20 min 酶活性损失不到 1%,温度继续升高酶活性明显下降,在 70℃ 和 80℃ 保温 20 min 后,剩余酶活力分别仅为 27% 和 5%。

2.3 最适反应 pH 及酸碱稳定性

β -1,3- 葡聚糖酶的最适反应 pH 结果见图 2,在 pH 4.5~5.5 范围内酶活力较高,相对酶活在 90% 以上,最适反应 pH 为 5.0 左右。随着 pH 的增大,酶活力缓慢下降,当 pH 超过 7.5 时,酶活力大幅下降,pH 为 8 和 9 时,残余酶活分别为 46% 和 24%。对酶的酸碱稳定性研究结果表明(图 4),在 pH 4.5~7.5 范围内酶均很稳定,相对酶活力均在 70% 以上,pH 值为 8 和 9 时,相对酶活力分别仅为 24% 和 14%。

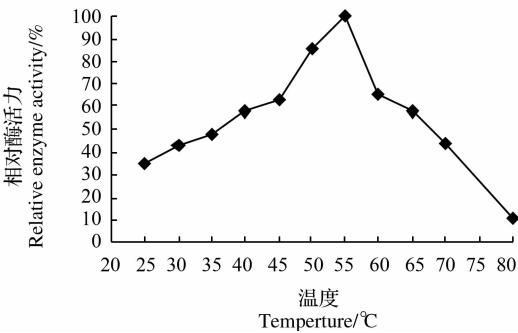


图1 温度对 β -1,3- 葡聚糖酶活性的影响

Fig.1 Effects of temperature on activities of β -1,3-glucanase

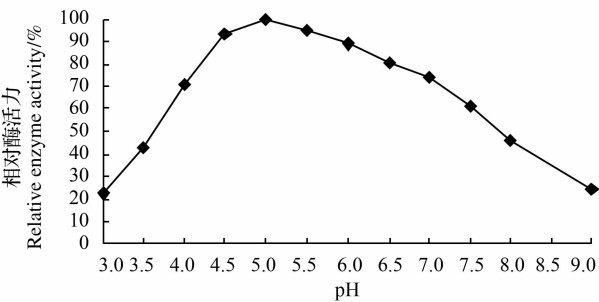


图2 pH对β-1,3-葡聚糖酶活性的影响
Fig.2 Effects of pH on activities of β-1,3-glucanase

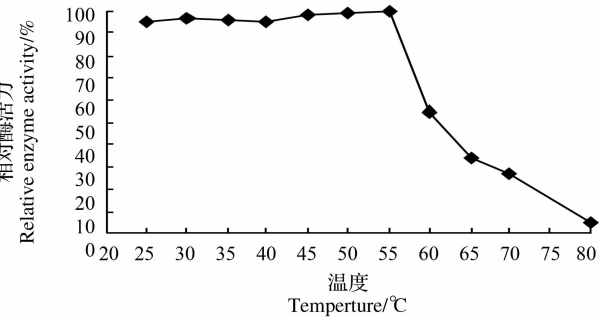


图3 温度对β-1,3-葡聚糖酶稳定性的影响
Fig.3 Effects of temperature on stability of β-1,3-glucanase

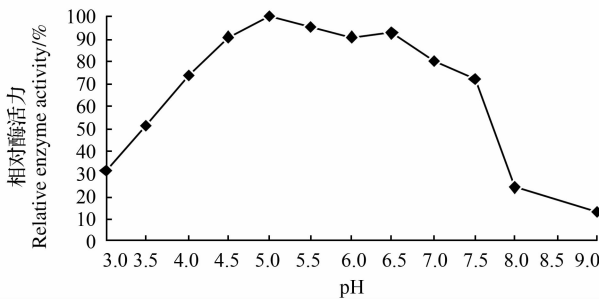


图4 pH对β-1,3-葡聚糖酶稳定性的影响
Fig.4 Effects of pH on stability of β-1,3-glucanase

2.4 金属离子对酶活力的影响

金属离子对酶活力影响结果表明(表2), Mg^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Fe^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Ba^{2+} 对β-1,3-葡聚糖酶有抑制作用,其中 Cu^{2+} 的抑制作用最强,酶活力完全丧失,其次为 Hg^{2+} 、 Fe^{2+} ,相对酶活力分别为5.8%和11.4%; Ca^{2+} 、 Mn^{2+} 、 K^{+} 、 Al^{3+} 对酶均有激活作用,其中 Mn^{2+} 、 K^{+} 的激活作用较明显,相对酶活分别为127.2%和121.1%。

2.5 β-1,3-葡聚糖酶的抑菌作用

2.5.1 β-1,3-葡聚糖酶对菌丝生长的抑制作用

平皿抑菌表明,粗酶液对大豆疫霉菌的菌丝生长

表2 金属离子对β-1,3-葡聚糖酶活力的影响

Table 2 Effects of metal ions on activity of β-1,3-glucanase

金属离子	相对酶活力	金属离子	相对酶活力	金属离子	相对酶活力
Metal ions	Relative enzyme activity/%	Metal ions	Relative enzyme activity/%	Metal ions	Relative enzyme activity/%
CK	100.0	Zn^{2+}	20.7	K^{+}	121.1
Ca^{2+}	112.6	Mn^{2+}	127.2	Hg^{2+}	5.8
Mg^{2+}	56.4	Fe^{3+}	34.2	Ba^{2+}	68.5
Cu^{2+}	0	Fe^{2+}	11.4	Al^{3+}	115.3

具有一定的抑制作用(图5)。在孔内注入酶液和对照缓冲液后,在对照孔周围的菌丝不受影响,继续生长,而粗酶液孔处的菌丝生长明显受到抑制。

2.5.2 β-1,3-葡聚糖酶对孢子萌发的抑制作用

分别设置不同浓度梯度的粗酶液,测定其对大豆疫霉菌游动孢子萌发的影响,结果见表3,对照的萌发率为74.5%,粗酶液处理后对孢子萌发有明显的抑制作用,随着粗酶液浓度的增大,对孢子萌发的抑制作用也逐渐增强,在浓度为 $90\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,对孢子萌发的抑制率达45.6%,当浓度为 $180\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,对孢子萌发的抑制率为59.0%,经光学显微镜镜检,粗酶液处理的孢子不萌发或仅长出一小段芽管就不再生长,而对照孢子的芽管不受限制的延伸生长。

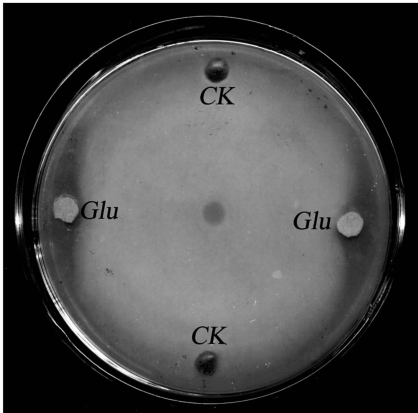


图5 β-1,3 葡聚糖酶粗酶液对大豆疫霉菌菌丝生长的抑制作用
Fig.5 Inhibition of crude enzyme of β-1,3-glucanase to mycelia growth of *Phytophthora sojae*

表3 β-1,3-葡聚糖酶对大豆疫霉菌游动孢子萌发的影响

Table 3 Effects of crude extract of β-1,3- glucanase on zoospore germination of *Phytophthora sojae*

粗酶液浓度 Crude enzyme concentration/ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	游动孢子萌发率 Zoospore germination rate/%	萌发抑制率 Inhibition rate germination/%
0	74.5	—
30	63.3	15.0
60	53.4	28.3
90	40.5	45.6
120	36.5	51.0
150	31.8	57.3
180	30.6	59.0

3 结论与讨论

结果表明,接种疫霉菌后,不同抗性的大豆品种β-1,3-葡聚糖酶活性均上升,且与品种抗性水平基本一致,抗病品种的酶活性高峰出现时间早,而感病品种出现迟。说明在抗病品种中β-1,3-葡聚糖酶诱导并表达的速度和强度都明显快于和高于感病品种。这与史娟等^[10]的研究结果基本一致。β-1,3-葡聚糖酶是大豆抗大豆疫霉根腐病的防御酶之一,β-1,3-葡聚糖酶活性的高低与大豆对疫病的抗性呈正相关,可以作为大豆抗疫霉根腐病抗性鉴定的一个生理指标。对β-1,3-葡聚糖酶的酶学性质研究发现,酶的最适反应温度为55℃,在55℃以下相对稳定,在45~60℃范围内酶活力较高,超过60℃酶活力明显下降;酶的最适反应pH为5.0,在pH4.5~7.5范围内酶均很稳定,在pH4.5~5.5范围内酶活力较高,pH超过7.5时,酶活力大幅下降; Mg^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Fe^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Ba^{2+} 对β-1,3-葡聚糖酶有抑制作用, Ca^{2+} 、 Mn^{2+} 、 K^{+} 、 Al^{3+} 对酶均有激活作用。β-1,3-葡聚糖酶粗酶液对大豆疫霉菌菌丝生长具有一定的抑制作用,形成明显的抑菌带,同时对孢子萌发也有较强的抑制作用,在粗酶液的浓度高于 $90\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,即可有效的抑制孢子萌发,随着酶液浓度的增加,抑制作用也随之增强。

已证明许多植物受病原物侵染产生的β-1,3-葡聚糖酶对病原真菌有抵抗作用,一方面破坏由β-1,3-葡聚糖组成的真菌细胞壁而抑制病原菌,另一方面起到从真菌细胞壁中释放寡聚β-葡聚糖的作用,而这些物质则可能作为激发子(elicitor)被植物细胞识别而激发植物防卫基因表达,从而产生抗病反应^[3,11],寡聚β-葡聚糖已被证明是水稻抗稻瘟病

反应的激发子^[12]。研究结果表明,病原物侵染3个大豆品种后可使大豆体内β-1,3-葡聚糖酶活性升高,可以认为是对病菌侵染的一种防卫反应,β-1,3-葡聚糖酶活性的升高,可能有利于加强对疫霉菌感染的抑制作用。黄鲲鹏等^[13]报道β-1,3-葡聚糖酶的诱导过程需要钙离子。研究发现 Ca^{2+} 、 Mn^{2+} 、 K^{+} 、 Al^{3+} 对酶均有激活作用,其中 Mn^{2+} 、 K^{+} 的激活作用较明显,这也可能是某些金属和非金属离子具有植物抗病作用的机制之一。β-1,3-葡聚糖酶在植物抗真菌病害中的应用日益受到关注,孙斌等^[14]从小麦叶片中提取的β-1,3-葡聚糖酶对小麦纹枯病菌(*Rhizoctonia cerealis*)和烟草赤星病菌(*Alternaria longipes*)的生长均具有抑制作用,对大丽轮枝菌(*Verticillium dahliae*)、黄瓜枯萎病菌(*Fusarium omysporum* f. sp. *cucumerinum*)病原菌的孢子萌发或芽管伸长都有一定程度的抑制作用。β-1,3-葡聚糖酶粗酶液对大豆疫霉菌菌丝生长和孢子萌发均有一定的抑制作用,对其它病原真菌是否有抑制作用还有待进一步研究。

参考文献

[1] Cachinero J M, Cabello F, Jorriñ J, et al. Induction of different chitinase and beta-1,3- glucanase isoenzymes in sunflower (*Helianthus annuus* L.) seedlings in response to infection by *Plasmodiophora halstedii* [J]. European Journal of Plant Pathology, 1996, 102 (4): 401-405.

[2] Ganggan Hu, Rijkenberg F H J. Subcellular localization of β-1,3- glucanase in *Puccinia recondita* f. sp. tritici- infected wheat leaves [J]. Planta, 1998, 204(3): 324-334.

[3] Mauch F, Mauch- Mani B, Boller T. Antifungal hydrolases in pea tissue II. Inhibition of fungal growth by combination of chitinase and β- 1, 3- glucanase [J]. Plant Physiology, 1988, 88 (3): 936-942.

[4] 左豫虎, 康振生, 黄丽丽, 等. 大豆疫霉菌对大豆下胚轴侵染过程的细胞学研究[J]. 植物病理学报, 2005, 35(3): 235-241. (Zuo Y H, Kang Z S, Huang L L, et al. Cytology on infection process of soybean hypocotyls by *Phytophthora sojae* [J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2005, 35(3): 235-241.)

[5] 臧忠婧, 左豫虎, 刘惕若, 等. 大豆疫霉菌的分离、鉴定及菌株致病力的测定[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2000, 12(1): 37-42. (Zang Z J, Zuo Y H, Liu T R, et al. Study on pathogenicity, isolate method and identify of different isolations of *Phytophthora sojae* [J]. Journal of Heilongjiang August First Land Reclamation University, 2000, 12(1): 37-42.)

[6] Schmitthenner A F, Bhat R G. Useful methods for studying *Phytophthora* in the laboratory [J]. Ohio Agricultural Research and Development Center, 1994, 143: 7-8.

[7] 左豫虎,臧忠婧,刘惕若. 影响大豆疫霉菌 (*Phytophthora sojae*) 游动孢子产生的条件 [J]. 植物病理学报,2001,31(3):241-245. (Zuo Y H,Zang Z J,Liu T R. 2001. Studies on production condition of zoospores of *Phytophthora sojae*[J]. Acta Phytopathologica Sinica,31(3):241-245.)

[8] 史益敏. β -1,3- 葡聚糖酶活性的测定 [M]. // 中国科学院上海植物生理研究所. 现代植物生理学实验指南. 北京:科学出版社,1999:128. (Shi Y M. Determination activity of β -1,3- glucanase [M]. // A Guide of Modern Plant Physiological Experiment. Beijing:Science Press,1999:128.)

[9] 余永廷,谢媛媛,黄丽丽,等. 不同碳、氮源组合对小麦全蚀病菌产生胞外 β -1,3- 葡聚糖酶的影响 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2007,35(2):110-114. (Yu Y T,Xie Y Y,Huang L L,et al. Effects of different combinations of carbon and nitrogen sources in MS medium on activities of extra cellular β -1,3- glucanase produced by take-all pathogen [J]. Journal of Northwest A & F University (Nat. Sci. Ed),2007,35(2):110-114.)

[10] 史娟,李建设. 枯萎病菌诱导的几丁质酶和 β -1,3- 葡聚糖酶与寄主抗病性的关系 [J]. 农业科学研究,2006,27(3):24-26. (Shi J,Li J S. Relationship between chitinase and β -1,3- glucanase activity induced by *Fusarium oxysporum* on resistance of

cucumber to Fusarium Wilt [J]. Journal of Agricultural Sciences, 2006,27(3):24-26.)

[11] Yoshikawa M,Yamaoka N,Takeuchi Y. Elicitors;their significance and primary modes of action in the induction of plant defense reactions [J]. Plant and Cell Physiology,1993,34(8):1163-1173.

[12] Ren Y Y,West C A. Elicitation of diterpene biosynthesis in rice (*Oryza sativa* L.) by chitin [J]. Plant Physiology,1992,99(3):1169-1178.

[13] 黄鲲,刘曼西,程明愚. 病原真菌细胞壁对棉花 β -1,3- 葡聚糖酶的诱导 [J]. 华中理工大学学报,1998,26(7):103-106. (Huang K,Liu M X,Cheng M Y. Induction of β -1,3- Glucanase in cotton by the hydrolysate of cell wall from *Fusarium Moniliforme* [J]. Journal of Huazhong University of Science & Technology, 1998,26(7):103-106.)

[14] 孙斌,李多川,慈晓燕,等. 小麦叶片 β -1,3- 葡聚糖酶的诱导、纯化与抗菌活性 [J]. 植物生理与分子生物学学报,2004,30(4):399-404. (Sun B,Li D C,Ci X Y,et al. Induction,purification and antifungal activity of β -1,3- glucanase from wheat leaves [J]. Journal of Plant Physiology and Molecular Biology,2004,30(4):399-404.)

(上接第 882 页)

[10] 李宝英,马淑梅,丁俊杰. 大豆疫霉病发生危害及影响其发生因素的探讨 [J]. 植物保护,1999,25(5):8-11. (Li B Y,Ma S M,Ding J J. Investigations of soybean *Phytophthora* root rot disease and its determinant factors [J]. Plant Protection,1999,25(5):8-11.)

[11] Dorrance A E,McClure S A,Martin S K. Effect of partial resistance on *Phytophthora* stem rot incidence and yield of soybean in Ohio [J]. Plant Disease,2003,87:308-312.

[12] Hildebrand A A. A root and stalk rot of soybeans caused by *Phytophthora megasperma* Drechsler var. *sojae* var [J]. Canadian Journal of Botany,1959,37:927-957.

[13] Kaufmann M J,Gerdemann J W. Root and stem rot of soybean caused by *Phytophthora sojae* n. sp. [J]. Phytopathology,1958,48:201-208.

[14] Pegg K G,Kochman J K,Vock N T. Root and stem rot of soybean caused by *Phytophthora megasperma* var. *sojae* [J]. Australasian Plant Pathology,1980,9:15.

[15] 李永刚,文景芝,郝中娜,等. 大豆疫霉根腐病抗病性鉴定方法及抗原筛选的研究 [J]. 东北农业大学学报,2008,39(5):1-5. (Li Y G,Wen J Z,Hao Z N,et al. Study on method of identification and screening resistance sources of *Phytophthora* root rot [J]. Journal of Northeast Agricultural University,2008,39(5):1-5.)

[16] Morrison R H,Thorne J C. Inoculation of detached cotyledons for screening soybeans against two races of *Phytophthora megasperma* var. *sojae* [J]. Crop Science,1978,18:1089-1091.

[17] Yang X B,Ruff R L,Meng X Q et al. Races of *Phytophthora sojae* in Iowa soybean fields [J]. Plant Disease,1996,80:1418 - 1420.

[18] 左豫虎,臧忠婧,刘惕若. 影响大豆疫霉菌游动孢子产生的条件 [J]. 植物病理学报 2001,31(3):241-245. (Zuo Y H,Zang Z J,Liu T R. Studies on production condition of zoospores of *Phytophthora sojae* [J]. Acta Phytopathologica Sinica,2001,31(3):241-245.)

征订启事索引

- 767 欢迎订阅 2010 年《分子植物育种》
- 805 2010 年《黑龙江农业科学》征订启事
- 862 欢迎订阅 2010 年《北方园艺》
- 897 欢迎订阅 2010 年《大豆科学》