

微紫青霉 F1-6 对细辛叶枯病菌的抑制作用及对细辛体内防御酶活性的影响

刘亚苓, 于 营, 鲁海坤, 雷慧霞, 隋 昕, 郭 靖*

(中国农业科学院特产研究所, 长春 130112)

摘 要: 细辛叶枯病是细辛主要病害之一, 发病率高, 目前主要采用化学防治。本研究采用体外抑菌和盆栽试验的方法, 研究微紫青霉 F1-6 菌株对细辛叶枯病菌的抑制效果和对健康及感病植株体内防御酶活性的影响, 为细辛叶枯病的生物防治提供理论依据。结果表明, 微紫青霉与叶枯病菌对峙培养后, 病原菌菌落边缘菌丝出现断裂、皱缩等现象, 并产生大量厚垣孢子; 经微紫青霉接种处理后的健康和感病细辛叶片, 其 PPO、PAL、POD 及 SOD 活性均分别显著高于未接种的健康和感病的对照组叶片。微紫青霉菌可能是通过对病原菌菌丝生长的抑制作用, 以及诱导健康和感病植株防御酶活性的升高来达到控制细辛叶枯病发生和病情发展的效果。

关键词: 细辛叶枯病; 微紫青霉; 防御酶; 生物防治

中图分类号: R282

文献标识码: A

文章编号: 2096-5877(2022)04-0074-05

Inhibitory Efficiency of *Penicillium janthinellum* F1-6 against *Asarum sieboldii* Leaf Blight and Its Effect on Defensive Enzymes Activity

LIU Yaling, YU Ying, LU Haikun, LEI Huixia, SUI Xin, GUO Jing*

(Institute of Special Animal and Plant Sciences of CAAS, Changchun 130112, China)

Abstract: Leaf blight is one of the main diseases of *Asarum sieboldii* with high incidence, chemical control is mainly used. The inhibitory effect of *Penicillium janthinellum* F1-6 against *Mycocentrospora acerina* and its effect on defensive enzymes activity *in vitro* antifungi activity and pot experiment were studied in order to provide theoretical basis for biological control of *Asarum sieboldii* leaf blight. The results showed that the edge hyphae of the pathogenic fungi were broken and atrophied, and a large number of chlamydospores were produced. After inoculation, PPO, PAL, POD and SOD activities of healthy and infected *Asarum sieboldii* leaves were significantly higher than those of uninoculated healthy and infected control leaves respectively. The research results demonstrated that *Penicillium janthinellum* could inhibit and control of the disease by controlling the mycelial growth of the pathogen and inducing the enzyme activity of the healthy and infected plants.

Key words: *Asarum sieboldii* leaf blight; *Penicillium janthinellum*; Defensive enzymes; Biological control

细辛是我国传统常用中药材^[1], 主产于东北地区。叶枯病是细辛的主要病害, 发生普遍, 严重影响细辛的产量和品质, 其病原菌为赭菌刺孢 (*Mycocentrospora acerina*)。目前, 细辛生产上叶枯病防治主要依靠化学农药, 生物防治尚未见报

道。化学农药的大量使用, 容易造成药物残留、环境污染, 同时也破坏农业生态系统, 甚至提高病原菌的抗药性^[2]。由于生物防治具有安全无毒等特点, 在药用植物病害防治上具有明显优势。已成为药用植物病害防治的重要研究领域^[3]。生防菌是重要的生物防治资源, 防治机制主要包括竞争、寄生和抗生作用等, 具有安全、特异性强的优点, 同时有些生防菌还可促进植株生长^[4]。青霉属 (*Penicillium*) 真菌能产生多种具有抗菌活性的次生代谢产物和水解酶类。已报道的有青霉素类抗生素、蒽醌类、生物碱类、酯酸类及醇类等^[5-7]。研究表明其属内的疣孢青霉菌 (*Penicillium verruciosum*) 对苹果炭疽病 (*Clanerela ci-*

收稿日期: 2019-10-27

基金项目: 国家重点研发计划(2016YFC0500303-07); 吉林省科技发展计划项目(20180201034YY); 中国农业科学院科技创新工程(CAAS-ASTIP-2016-ISAPS); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(1610342019065)

作者简介: 刘亚苓(1994-), 女, 在读硕士, 主要从事植物病害生物防治研究。

通讯作者: 郭 靖, 女, 研究员, E-mail: guojing635@163.com

nyulate)、番茄灰霉病(*Botrytis cinerea*)具有很好的抑制作用^[8]。微紫青霉(*Penicillium janthinellum*)为青霉属真菌,可以产生多种酶类^[9]、激素和次级代谢产物,对病原菌菌丝和分生孢子的生长具有抑制作用^[10]。微紫青霉的发酵液不仅能够抑制大豆根部病害,并且可以促进大豆植株的生长和诱导其系统抗病性的产生^[11]。大量实验证明,植物系统抗病性的强弱与多酚氧化酶(PPO)、苯丙氨酸解氨酶(PAL)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)等多种酶活性的变化密切相关^[12]。生防菌可以通过诱导植物体内抗病性相关酶活性的提高,来提升植物抵御病原菌侵染的能力^[13]。目前,尚未有研究报道微紫青霉作为生防菌对细辛叶枯病的抑制作用以及诱导细辛防御酶活性的作用。为此,本研究通过微紫青霉 F1-6 与叶枯病菌对峙培养,以及选择 PPO、PAL、POD、SOD 作为细辛抗病性的指标,通过微紫青霉 F1-6 菌株接种健康细辛叶片和感病细辛叶片后细辛植株体内与抗病相关酶活性的变化,探究微紫青霉对健康和感病叶片防御酶的诱导作用,旨在为微紫青霉作为细辛叶枯病生防菌株的开发提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 供试细辛植株

三年生北细辛 [*Asarum heterotropoides* Fr. Schmidt var. *mandshuricum* (Maxim.) Kitag.] 植株。春季芽孢萌发前采集,在室内盆栽培养。

1.2 供试培养基

马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)培养基:马铃薯 200 g,葡萄糖 20 g,琼脂粉 20 g,定容至 1 000 mL, 1×10^5 Pa 灭菌 30 min。

1.3 供试病原菌

细辛叶枯病菌—械菌刺孢由本实验室分离鉴定及保存。

1.4 供试拮抗菌

由本实验室前期分离获得的 1 株对细辛叶枯病具有较好拮抗效果的优势菌株微紫青霉,菌株编号为 F1-6,保藏编号 CGMCC No.18101。

1.5 菌液的制备

叶枯病病原菌于 PDA 培养基上培养 7 d,然后将菌丝刮下,于无菌研钵中研磨,用无菌水悬浮制成菌丝段悬液,备用。微紫青霉 F1-6 在 PDA 培养基上培养 7 d,然后用无菌水冲洗下 PDA 平板上的微紫青霉孢子,经 Neubauer 血球计数板(0.1 mm, $1/400$ mm²)计数,调节孢子浓度为 1×10^8 个/mL,

制成孢子悬浮液,备用。

1.6 微紫青霉 F1-6 对细辛叶枯病菌菌丝生长的影响

分别打取直径 5 mm 的叶枯病病原菌菌饼和微紫青霉 F1-6 菌饼(PDA 培养基),接种于 PDA 平板的两侧,23 °C 恒温培养 7 d,取病原菌菌落边缘的菌丝进行显微镜下观察。

1.7 细辛植株体内与防御相关酶活性的检测

1.7.1 接种处理

盆栽细辛成株后,将长势一致、健康、无病的叶片先用 75% 酒精表面消毒,然后用无菌水冲洗干净,用无菌牙签在叶片上扎取 6 个孔,备用。试验分为以下两个处理:(1)微紫青霉诱导健康叶片的酶活性测定,叶片均匀喷洒浓度为 1×10^8 个/mL 的 F1-6 孢子悬浮液。(2)微紫青霉诱导感病叶片的酶活性测定,先接种病原菌菌丝段悬液,48 h 后喷洒孢子浓度为 1×10^8 个/mL 的 F1-6 孢子悬浮液。分别以只喷洒无菌水的叶片(CK)和只接种叶枯病病原菌处理组(VD)为对照。将处理后的盆栽细辛套袋保湿,22 °C 恒温培养。

1.7.2 酶活性测定

于接种后第 0(3 h 后)、2、4、6、8 天,随机选取不同处理的盆栽细辛叶片进行防御相关酶活性检测。PPO、PAL、SOD、POD 等酶的提取、测定均按照酶活性试剂盒(南京建成生物工程研究所)步骤,利用可见分光光度计检测 PPO、PAL、SOD、POD 酶活性的变化。

1.8 数据统计分析

采用 Excel 2010 进行试验数据统计和作图,用 SAS 9.2 软件对数据进行单因素方差分析。

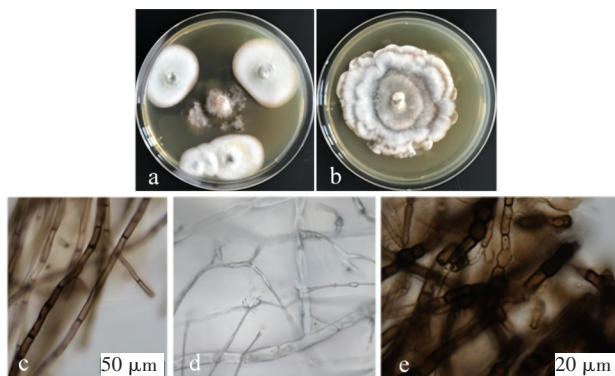
2 结果与分析

2.1 微紫青霉 F1-6 对细辛叶枯病菌菌丝形态的影响

如图 1 所示,正常生长的叶枯病菌(*Mycocentrospora acerina*)菌丝呈圆柱状、光滑均匀,经过共培养后的叶枯病菌菌落边缘菌丝出现皱缩、断裂等现象,抑制病原菌菌丝的生长;同时在菌落边缘产生大量的厚垣孢子。

2.2 微紫青霉 F1-6 对细辛叶片内 PPO 酶活性的影响

由图 2 可知,健康叶片处理组 PPO 酶活力都呈现先下降后上升再下降的趋势,F1-6 处理组的 PPO 酶活力始终高于未接种 F1-6 的 CK 组。接种当天酶活性最高,达到 202.89 U/g,显著高于 CK 组



注: a. F1-6与叶枯病菌对峙培养; b, c. 正常生长的叶枯病菌和菌丝; d. 微紫青霉对峙培养后的菌丝形态; e. 菌落边缘的厚垣孢子

图1 微紫青霉F1-6对叶枯病菌形态的影响

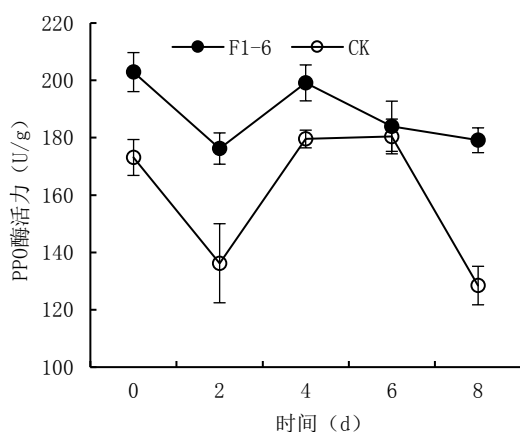


图2 微紫青霉F1-6对健康细辛叶片PPO酶活力的影响

($P<0.05$)。接种后2 d酶活性均下降, F1-6处理组PPO活性依旧高于CK组。接种后8 d CK组酶活性降至最低, F1-6处理组PPO活性为179.11 U/g, 是CK组的1.4倍, 酶活性显著高于CK组($P<0.01$)。

在F1-6处理的感病细辛叶片试验中(图3), 接种后0~2 d F1-6处理组的PPO酶活性处于最高水平, 然后呈缓慢下降趋势。接种当天F1-6处理组与对照组(VD)PPO酶活性差值最大, F1-6处理

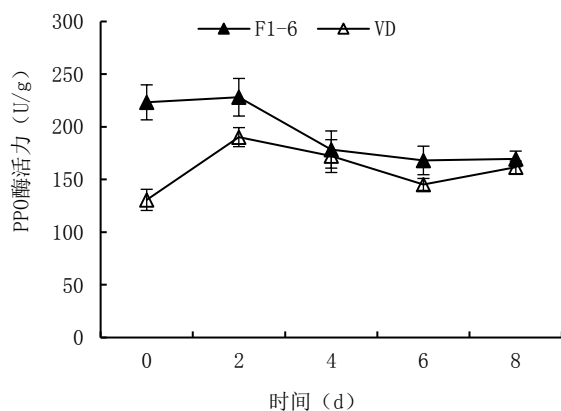


图3 微紫青霉F1-6对感病细辛叶片PPO酶活力的影响

组PPO酶活性为223.22 U/g是VD对照组的1.7倍, 显著高于VD组($P<0.01$), 接种后4~8 d酶活性差值缩小, F1-6处理组PPO酶活性整体高于VD对照组。

2.3 微紫青霉F1-6对细辛叶片PAL酶活性的影响

随着时间的变化(图4), F1-6处理组与CK对照组PAL酶活性都呈现先下降后上升再下降的趋势。F1-6接种3 h后PAL酶活性迅速升高, 达到峰值83.06 U/g, 是CK对照组酶活性的1.38倍, 显著高于CK对照组($P<0.05$), 2~4 d酶活性呈下降趋势, F1-6处理组酶活性依旧高于CK对照组, 分别是CK对照组酶活性的1.22和1.33倍。

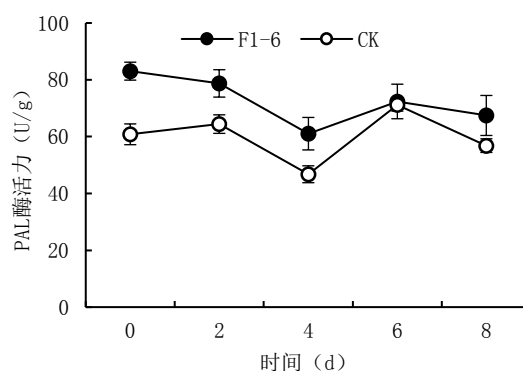


图4 微紫青霉F1-6对健康细辛叶片PAL酶活力的影响

接种感病细辛叶片的处理组(图5), F1-6处理组和VD对照组的PAL酶活性都比较平稳, F1-6处理组酶活性整体高于VD对照组。在接种后3 h, F1-6处理组的PAL活性迅速上升, 达到峰值83.89 U/g, 是VD对照组的1.4倍, F1-6处理组显著高于VD组($P<0.05$)。

2.4 微紫青霉F1-6对细辛叶片内POD酶活性的影响

接种健康细辛叶片试验组中(图6), F1-6处理组POD酶活性0~8 d呈平稳上升趋势, CK组POD酶活性呈现先下降再上升后再下降的趋势, 除第0 d以外, F1-6处理组酶活性均高于CK组。第8天达到峰值262.33 U/g, 此时CK组酶活性降至最低值131.73 U/g, F1-6处理组是CK组酶活性的2倍, POD酶活性显著高于CK组($P<0.01$)。

接种感病细辛叶片试验组中(图7), 接种后2 d POD酶活力迅速上升, 第2天达到峰值279.62 U/g, 是VD对照组POD酶活性的3.27倍, 显著高于VD组($P<0.01$)。VD组在0~4 d呈上升趋势, 上升幅度小于F1-6处理组。第4天VD组酶活性达到峰值191.83 U/g。4~8 d均呈下降趋势, F1-6处理组酶活性始终高于VD对照组。

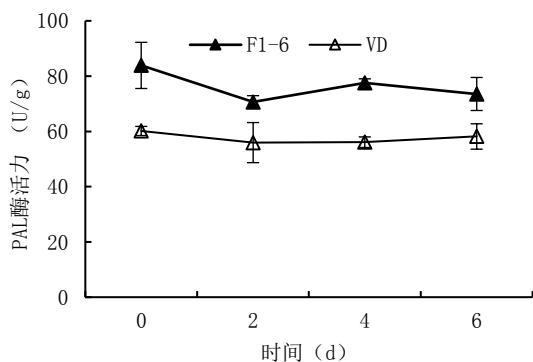


图5 微紫青霉 F1-6 对感病细辛叶片 PAL 酶活力的影响

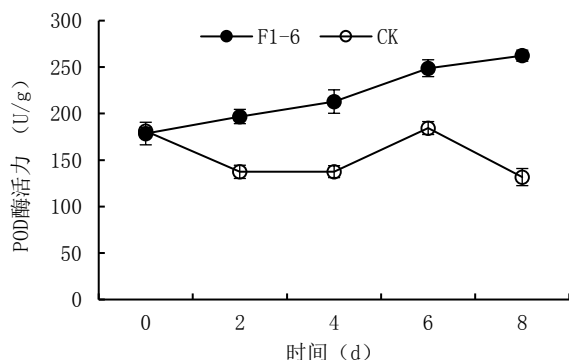


图6 微紫青霉 F1-6 对健康细辛叶片 POD 酶活力的影响

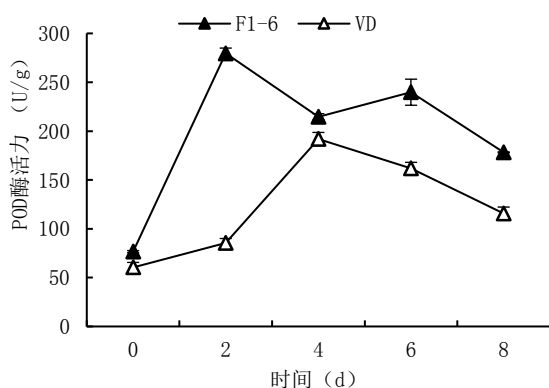


图7 微紫青霉 F1-6 对感病细辛叶片 POD 酶活力的影响

2.5 微紫青霉 F1-6 对细辛叶片内 SOD 酶活性的影响

由图 8 可知, F1-6 处理组 SOD 酶活性呈先下降后上升再下降的趋势, 接种 F1-6 3 h 后, F1-6 处理组 SOD 酶活性迅速升高, 达到 7 360.44 U/g, 显著高于 CK 对照组 ($P<0.05$); 在第 2 天达到 7 420.2 U/g 峰值, 此时是 CK 对照组 SOD 酶活性的 1.5 倍, 显著高于 CK 组 ($P<0.01$)。CK 组呈先下降后上升的趋势, 除第 8 天外, 酶活性均低于 F1-6 处理组。

接种感病细辛叶片试验组中 (图 9), F1-6 处理组酶活性整体呈先上升后缓慢下降趋势; 第 0 天 VD 组酶活性略高于 F1-6 处理组, 0~2 d F1-6 处理组酶活性迅速上升, 然后维持在较高水平,

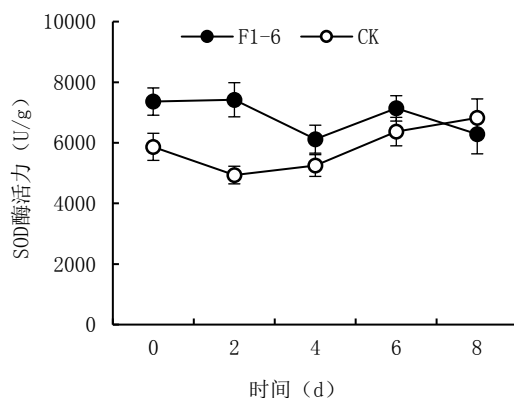


图8 微紫青霉 F1-6 对健康细辛叶片 SOD 酶活力的影响

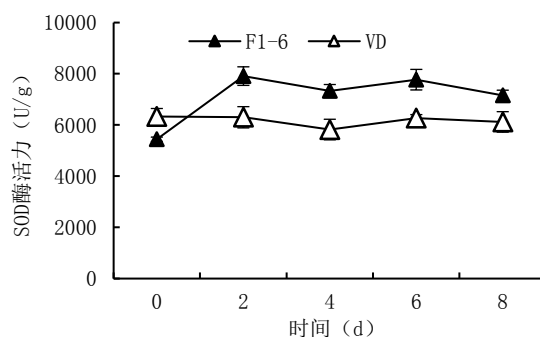


图9 微紫青霉 F1-6 对感病细辛叶片 SOD 酶活力的影响

显著高于 VD 组 ($P<0.05$)。VD 组 SOD 酶活性呈缓慢下降后缓慢上升趋势, 整体比较稳定。从整体来看, F1-6 处理组的酶活性高于 VD 组。

3 讨论

拮抗真菌可以通过寄生、竞争、产生抗生物质直接作用于病原物以及通过诱导植物产生抗性 etc 间接作用来防治病害, 其代谢产生的抗生物质具有抑制或杀灭病原微生物的作用^[14]。黄萎病菌 (*Verticillium dahlia* Kleb.) 菌丝经拮抗菌抑制后, 出现菌丝膨大、破裂、内容物外流及产生微菌核等现象^[15]。厚垣孢子是菌体原生质体浓缩、细胞壁加厚, 形成一种特殊的抗性结构^[16]。这种结构能抵御外界不良环境, 对真菌的生长和存活具有十分重要的意义^[17-18]。

PPO、PAL、POD 及 SOD 是植物体内与防御相关的重要酶类^[19], 这 4 种酶活性的升高与植物抗病性的提高呈正相关^[20]。PAL 是苯丙氨酸途径中的关键酶^[21], 苯丙氨酸途径的代谢产物是植物抵抗病原菌侵染的重要物质^[22], PAL 的活性能够间接反映植物的抗病性^[23]。PPO 产生的醌类物质可能对于病原菌起到抗菌素和细胞毒素的作用^[24], 醌类物质与植物抗病密切相关, 是潜在的植物抗

病因子。PPO和POD能够催化酚类氧化成醌类并且参与木质素的合成过程^[25],增加细胞壁强度,同时可以限制病原菌毒素的侵入和扩散,进而控制病害发生和发展。POD、SOD都是植物体内抵御活性氧(reactive oxygen species, ROS)伤害的主要酶类,POD与植物病害抗性的关系研究最为广泛和深入^[26-27],植物在逆境条件下会导致活性氧积累,特别是过氧化氢(H₂O₂)和超氧化物阴离子自由基($\cdot\text{O}_2^-$),其引起的膜脂过氧化导致植物膜系统受损,造成膜透性扩大、内容物外渗甚至造成植株死亡等伤害^[28],POD和SOD参与保护活细胞免受ROS的潜在损害^[29],与植物抗病性有关^[30],从而改善活性氧对植物体的损伤。同时SOD在植物与病原物识别过程中具有关键作用,其可在识别病原物的过程中产生初始抗性信息。水稻喷施枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、蜡质芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)、放线菌(*Actinomycete*)后能够增强水稻幼苗SOD、POD、PAL等防御酶的活性,从而提高了抗逆性^[31]。

本试验研究发现,经微紫青霉F1-6对峙培养后,叶枯病菌边缘菌丝出现了断裂、皱缩以及形成了大量的厚垣孢子的现象,表明在培养过程中微紫青霉F1-6可能产生了某些不利于病原菌(*Mycocentrospora acerina*)菌丝生长的代谢物质,对病原菌起到了抑制作用,并且诱导了厚垣孢子的产生来抵御不良环境。通过探究微紫青霉F1-6接种健康和感病叶片后的多酚氧化酶(PPO)、苯丙氨酸解氨酶(PAL)、过氧化物酶(POD)、超氧化物歧化酶(SOD)的活性变化发现,健康叶片和感病叶片接种微紫青霉后,与其对照组相比,这4种酶活性明显升高。说明微紫青霉F1-6可能是通过诱导健康细辛叶片和感病细辛叶片体内防御酶的增加,增强了细辛抵御叶枯病菌侵染的能力,从而达到防治细辛叶枯病的效果。

目前,细辛叶枯病的防治主要为化学防治,药用植物用途具有特殊性,生物防治有利于保证药材的品质,目前已成为药用植物病害防治的重要研究领域。本试验研究发现微紫青霉抑制叶枯病菌菌丝的生长和诱导防御酶活性升高可能是其防治叶枯病的机制。下一步将开展其分子机制的研究,为细辛叶枯病生物防治和微紫青霉生物制剂的开发提供理论基础。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中国药典2015年版(一部)[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 230-231.

- [2] 刘海燕. 细辛挥发油抗植物病原真菌活性及作用机理研究[D]. 北京: 中国协和医科大学, 2006.
- [3] 邢晓科. 药用植物内生真菌资源——一个亟待开发的宝库[J]. 菌物学报, 2018, 37(1): 1.
- [4] 罗清, 彭程, 叶波平. 青霉属真菌研究新进展[J]. 药物生物技术, 2016, 23(5): 452-456.
- [5] Hui M, Shen Y, Zhu C H, et al. Penicidones A-C, three cytotoxic alkaloidal metabolites of an endophytic *Penicillium* sp. [J]. *Phytochemistry*, 2007, 7(14): 1-6.
- [6] Ren H, Gu Q Q, Cui C B. An thraquinone derivatives produced by marine-derived *Penicillium flavidorsum* SHK1-27 and their antitumor activities[J]. *Chinese Journal of Medicinal Chemistry*, 2007, 17(3): 148-154.
- [7] Ahmed A E, Hikaru K, Sachiko T, et al. CYP3A4 inhibitors isolated from a marine-derived fungus *Penicillium* species[J]. *Journal of Natural Medicines*, 2007, 61: 175-177.
- [8] 杨利珍, 周乐, 徐虹, 等. 一株青霉菌的分离鉴定及抑菌活性成分研究[J]. 西北农业学报, 2009, 18(4): 98-102.
- [9] 汪天虹, 邹玉霞, 石屹峰, 等. 微紫青霉CBH I酶纤维素结合结构域在大肠杆菌中的分泌型表达及性质研究[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2000(5): 644-649.
- [10] 张祎, 王涛, 裴月湖, 等. 微紫青霉中的化学成分研究[J]. 中国药物化学杂志, 2002(4): 24-25, 29.
- [11] 闫继辰. 微生物发酵液处理种子诱导大豆抗大豆根部病害研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2016.
- [12] 周登博, 井涛, 谭昕, 等. 6种基质拮抗菌发酵液对香蕉枯萎病及相关防御酶的影响[J]. 热带作物学报, 2013, 34(5): 947-951.
- [13] Chen F, Wang M, Zheng Y, et al. Quantitative changes of plant defense enzymes and phytohormone in biocontrol of cucumber Fusarium wilt by *Bacillus subtilis* B579[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2010, 26(4): 675-684.
- [14] 邱德文. 我国植物病害生物防治的现状与发展策略[J]. 植物保护, 2010, 36(4): 15-18.
- [15] Berg G, Ballin G. Bacterial antagonists to *Verticillium dahlia* Kleb.[J]. *Journal of Phytopathology*, 2010, 141(1): 99-110.
- [16] 王琦, 冯静红, 孙占斌, 等. 氧化胁迫对粉红螺旋聚孢霉生长和产厚垣孢子的影响[J]. 生物技术通报, 2018, 34(4): 168-173.
- [17] Darmono T W, Parke J L. Chlamydospores of *Phytophthora cactorum*: Their production, structure and infectivity[J]. *Canadian Journal of Botany*, 1990, 68(3): 640-645.
- [18] Armengol J, Sales R, Garciajimenez J. Effects of soil moisture and water on survival of *Acremonium cucurbitacearum*[J]. *Journal of Phytopathology*, 1999, 147(12): 737-741.
- [19] 章元寿. 植物病理生理学[M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 1996: 216-226.
- [20] 余叔文. 植物生理与分子生物学[M]. 北京: 科学出版社, 1992: 417-430.
- [21] Rawal H C, Singh N K, Sharma T R. Conservation, divergence, and genome-wide distribution of PAL and POX A gene families in plants[J]. *International Journal of Genomics*, 2013(1): 1-10.

(下转第112页)

- [19] 王雪松,祖 蕾,申 强,等.长白山区主栽越橘品种光合特性及果实品质动态[J].东北林业大学学报,2018,46(5): 55-58.
- [20] 陈 薇,马怀宇,李亚东,等.三种栽培方式对越橘光合特性的影响[J].园艺学报,2008(9):1255-1260.
- [21] 许大全.光合作用气孔限制分析中的一些问题[J].植物生理学通讯,1997(4):241-244.
- [22] 李性苑,钟 程,田 鑫.3种兔眼蓝莓品种光合特性的比较[J].凯里学院学报,2018,36(6):56-59.
- [23] 陈华蕊,陈业渊,高爱平,等.芒果叶绿素含量、比叶重与光合速率关系的研究[J].西南农业学报,2010,23(6):1848-1850.
- [24] 李根柱,张自川,王贺新,等.南高丛蓝莓6个品种的光合特征[J].中国南方果树,2014,43(2):17-21.
- [25] 刘兆玲,温国胜,胡 莉.3个蓝莓品种光合特性的比较研究[J].中国南方果树,2011,40(5):59-61.
- [26] Kim K,Portis A R.Temperature dependence of photosynthesis in arabidopsis plants with modifications in rubisco activase and membrane fluidity[J].Plant and Cell Physiology,2005,46(3): 522.
- [27] 蒋高明,常 杰,高玉葆,等.植物生理生态学[M].北京:高等教育出版社,2004:65-67.
- [28] 王 瑜,向青云,吴亚维,等.贵州中部地区苹果的光合特性及其对产量和品质的影响[J].园艺学报,2010,37(6): 984-990.
- [29] 毛鹏娟.不同品种蓝莓在陕西的引种试验[D].杨凌:西北农林科技大学,2016.
- [30] 邱 霞,李 苑,毛富平,等.成都地区主栽蓝莓品种果实的形态特征及品质分析[J].湖南农业大学学报(自然科学版),2017,43(5):524-528.

(责任编辑:王 昱)

(上接第78页)

- [22] Vogt T. Phenylpropanoid Biosynthesis[J]. Molecular Plant, 2010, 3(1): 2-20.
- [23] Tonnessen B W, Manosalva, P, Lang J M, et al.Rice phenylalanine ammonia-lyase gene *OsPAL4* is associated with broad spectrum disease resistance[J]. Plant Molecular Biology,2014, 87(3): 273-286.
- [24] Peter M G. Chemical modifications of biopolymers by quinones and quinone methides[J]. Angewandte Chemie International Edition, 1989, 28(5): 555-570.
- [25] Qin X J, Xiao H M, Xue C H, et al. Biocontrol of gray mold in grapes with the yeast *Hanseniaspora uvarum* alone and in combination with salicylic acid or sodium bicarbonate[J]. Postharvest Biology and Technology, 2015, 100(100): 160-167.
- [26] Quiroga M, Guerrero C, Botella M A, et al. A tomato peroxidase involved in the synthesis of lignin and suberin[J]. Plant Physiology, 2000(122): 1119-1127.
- [27] Martinez C, Montillet S L, Bresson F, et al. Apoplastic peroxidase generates superoxide anions in cells of cotton cotyledons undergoing the hypersensitive reaction to *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum* race 18[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 1998(11): 1038-1047.
- [28] Torres M A. ROS in biotic interactions[J]. Physiologia Plantarum, 2010(138): 414-429.
- [29] Apel K, Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction[J]. Annual Review of Plant Biology, 2004(55): 373-399.
- [30] Hernández J A, Ferrer M A, Jimenez A, et al. Antioxidant systems and O₂(-)/H₂O₂ production in the apoplast of pea leaves. Its relation with salt-induced necrotic lesions in minor veins[J]. Plant Physiology, 2001(127): 817-831.
- [31] 张立峰,程 茁,丁 伟.复合微生物药肥对水稻秧苗几种抗逆酶活性的影响[J].东北农业科学,2016,41(4):49-52.

(责任编辑:王 昱)