

文章编号: 1001-1498(2007)06-0847-07

# 杨树冰核细菌溃疡病寄主生理生化变化研究 ( )

毛得奖<sup>1</sup>, 朱亚玲<sup>1</sup>, 项存悌<sup>2</sup>

(1. 山东轻工业学院食品与生物工程学院, 山东 济南 250100;

2. 东北林业大学森林资源与环境学院, 黑龙江 哈尔滨 150040)

**摘要:** 感染冰核细菌溃疡病的杨树树皮的果胶质含量比健株略高。病株树皮游离脯氨酸含量在总体水平上要低于健株。病株的单糖含量在 25℃ 以上气温时高于健株, 在 20℃ 以下气温时却低于健株; 在双糖含量上, 基本上是健康植株高于患病植株。在病情轻微的情况下, 病株树皮的叶绿素含量要高于健株, 但在病情较重的情况下, 病害能破坏叶绿素。

**关键词:** 杨树冰核细菌溃疡病; 果胶质; 游离脯氨酸; 可溶性糖; 叶绿素

中图分类号: S763 S792.11

文献标识码: A

## Physiological and Biochemical Changes of Poplar Infected by Ice Nucleation Active Bacterial Canker Disease ( )

MAO De-jiang<sup>1</sup>, ZHU Ya-ling<sup>1</sup>, XIANG Cun-ti<sup>2</sup>

(1. Department of Food and Bioengineering, Shandong Institute of Light Industry, Jinan 250100, Shandong, China;

2. Department of Forest Resource and Environment, Northeast Forestry University, Harbin 150040, Heilongjiang, China)

**Abstract:** The ice nucleation activation bacterial canker disease decreased the content of mobile proline in poplar barks, while caused the content of bark pectin to increase a bit. Though the double-glucose content in infected bark was less than that in healthy one, the glucose content in the infected bark was more above 25℃ and less below 20℃ than that in the control material. When the infection was not serious, it made the content of chlorophyll in infected bark increase, yet the serious infection made the host had opposite appearance.

**Key words:** poplar ice nucleation active bacterial canker; pectin; mobile proline; soluble sugar; chlorophyll

杨树 (*Populus* spp.) 感染冰核细菌 (Ice nucleation active bacteria, 简称 NA 细菌, *Pseudomonas syringae* van Hall) 溃疡病之后, 除了发生枝干隆肿的形态特征改变之外, 也随之发生病变部位和全株的诸多生理生化变化<sup>[1]</sup>, 同时植株也发生容易遭受冻害的抗寒性改变。有关于植株抗寒性的研究报道很多, 如罹病造成植株的贪青生长, 物候生理调节不能及时适应环境气候变化, 使得植株容易遭受寒害和冻害。其中可溶性糖含量与植物抗寒性之间成正相关是一个普遍的现象。一般情况下, 抗寒植物果聚

糖、蔗糖、葡萄糖、果糖的含量明显高于不抗寒的植物。低温冷冻可使果聚糖转变为果糖和蔗糖, 累积在细胞间隙中, 因而可增强植物的抗寒性。抗寒植物积累精氨酸和脯氨酸也被认为是正常情况。脯氨酸与构成蛋白质的其他氨基酸不同, 游离脯氨酸能促进蛋白质的水合作用。蛋白质胶体亲水面积增大, 能使可溶性蛋白质增多。因此, 植物处于低温胁迫时, 它使植物具有一定的抗寒性和保护作用。它能维持细胞结构, 物质运输和渗透调节<sup>[2]</sup>。Songated 和 Duncan 在实验中发现脯氨酸和多胺类物质能提

收稿日期: 2006-01-18

基金项目: 国家“九五”攻关项目子专题“杨树溃疡病持续控制技术”(96-005-04-01-03)

作者简介: 毛得奖 (1971—), 男, 山东高密人, 博士。现主要从事工业微生物培育与应用研究。

高玉米 (*Zea mays* L.) 悬浮细胞的抗冷能力<sup>[3]</sup>。事实说明,植物的抗寒性与脯氨酸含量存在着相关性。关于脯氨酸的代谢途径,国内外学者也作了不少研究工作<sup>[4]</sup>。但是对于杨树冰核细菌溃疡病,由于冰核细菌是一种特殊的病原微生物,它具有较强的冰成核活性,因此寄主杨树的冻害易感性可能是由于冰核细菌单纯的冰成核活性造成的,也可能是由于冰核细菌的侵染而导致寄主的抗寒生理生化功能改变造成的。本文试图从罹病寄主的生化物质的变化来研究其抗寒性变化的机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验材料

黑龙江省肇东市五站镇苗圃实验地健康和患病的小黑杨 14 (*Populus xiaohei* T. S. Wang et Liang cl 14) 1 年生及 2 年生枝条 (去掉大部分叶片以减少过多的水分蒸腾散失)。

### 1.2 实验方法

1.2.1 树皮中果胶质含量的测定<sup>[5]</sup> 将病健枝条同时分别在 30、25、20、15、10 ℃ 光照恒温培养箱中水培。自培养之日起每隔 5 d 取枝条剥取树皮烘干,粉碎磨细。取树皮粉 2 g (记为  $W$ ) 于 250 mL 的三角瓶中,加入 60 mL 蒸馏水,加热煮沸 1 h,不断搅拌并补加适量水。冷却后转入 100 mL 容量瓶中定容 (体积记为  $V_1$ )。过滤或沉降过夜,上清液作为待测液。取 25 mL (体积记为  $V_2$ ) 待测液于 250 mL 三角瓶中,加入 100 mL 0.1 mol·L<sup>-1</sup> 的 NaOH 溶液,放置反应 30 min 后,加入 50 mL 1 mol·L<sup>-1</sup> 的乙酸溶液,5 min 后加入 50 mL CaCl<sub>2</sub> 溶液,放置反应 1 h,加热煮沸 5 min,立即用已于 105 ℃ 烘干恒质量 (记为  $W_0$ ) 的滤纸过滤,用水洗涤至无 Cl<sup>-</sup> 为止 (用 AgNO<sub>3</sub> 检查)。将滤纸和沉淀于 105 ℃ 烘干称质量 (记为  $W_1$ )。按公式:

$$\text{果胶质}(\%) = (W_1 - W_0) \times 0.9325 \times 100 / (W \times V_2 / V_1)$$

计算果胶质的含量。(0.9325 为果胶酸钙换算成果胶质的系数)。

1.2.2 树皮中游离脯氨酸含量的测定<sup>[6]</sup> 在 1~10 μg·mL<sup>-1</sup> 脯氨酸浓度范围内制作标准曲线。取标准溶液 2 mL,加入 2 mL 3% 的磺基水杨酸,2 mL 冰乙酸和 4 mL 2.5% 酸性茚三酮溶液 (2.5 g 重结晶茚三酮,加入 60 mL 冰乙酸,40 mL 6 mol·L<sup>-1</sup> 的磷酸,70 ℃ 加热溶解,冷却后置棕色瓶中 4 ℃ 保存,2 d

内稳定。)置沸水浴中显色 60 min,冷却后加入 4 mL 甲苯萃取红色物质。静置后,取甲苯相测定其在 520 nm 波长处的吸收值,绘制标准曲线。取 0.2 g 树皮粉,用 3% 磺基水杨酸溶液研磨浸提,转移至 5 mL 容量瓶中定容。沸水浴中浸提 10 min,冷却后以 3 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min,取上清液 2 mL,加入 2 mL 水,再加冰乙酸等显色试剂,同标准曲线程序进行显色,萃取和比色测定。

1.2.3 树皮中糖分含量的测定<sup>[7]</sup> 将枝条分别在不同温度 (30、25、20、15、10 ℃) 的光照恒温培养箱内水培。每隔 5 d 取样刮取树皮烘干,粉碎磨细。

(1) 样品制备:称取磨细的干样品 2.0 g 于研钵中,加入少量水湿润,浸研 10 min,用水洗入 100 mL 容量瓶内,加 1~2 滴甲基红指示剂,若呈红色,用 0.1 mol·L<sup>-1</sup> 的 NaOH 中和至淡黄色。然后放入 80 ℃ 水浴中摇煮 30 min,使糖分充分转入溶液中。最后用水定容,摇匀过滤,滤液作为待测液。蔗糖 (双糖) 水解:移取糖溶液 50 mL 于 100 mL 容量瓶中,将容量瓶于 80~85 ℃ 水浴中加热至 60 min 时,加入 3 mL 盐酸,摇匀,继续在水浴中摇煮 8 min。取出迅速冷却,以甲基红为指示剂,用饱和的 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 中和至金黄色。蒸馏水定容,作为待测液。

(2) 测定:取 15 mL 水解待测液 (糖含量 2~20 mg) 于三角瓶中。准确加入 5 mL 菲林 A 液和 5 mL 菲林 B 液。混匀后在电炉上 (加石棉网) 煮沸 3 min (秒表计时) 立即取下,流水冷却,加入 5 mL 25% KI 溶液和 6 mL 3 mol·L<sup>-1</sup> 硫酸溶液,立即用 0.05 mol·L<sup>-1</sup> Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 溶液滴定至淡黄色,加入 1 mL 0.5% 淀粉指示剂,继续滴定至蓝色消失。记录消耗的滴定液的体积,进行空白滴定。从标准曲线上查出糖的含量 (mg)。

(3) 标准曲线绘制:称取 0.2 g 葡萄糖 (105 ℃ 烘干) 加水溶解定容至 100 mL 即 2 mg·mL<sup>-1</sup> 的葡萄糖标准液。取 6 只三角瓶,分别加入 1、3、5、7、9、11 mL 葡萄糖标准液,补加水至 15 mL。以下按样品测定步骤进行,记录所消耗的 Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 溶液的体积,绘制标准曲线。

1.2.4 树皮中叶绿素含量的测定 分别在休眠期 (3月末),复苏期 (5月中旬),生长期 (9月中旬) 从实验地采条带回实验室,用丙酮-乙醚法测定叶绿素含量<sup>[5]</sup>。分别测定枝条的梢头、中部、近基部的叶绿素含量。

## 2 结果与分析

### 2.1 树皮中果胶质含量的测定

果胶质是构成植物细胞壁之间中胶层的主要物质,在初生细胞壁中除了纤维素之外,也含有少量的果胶质。果胶质具有黏性和弹性,在细胞生长的初期,它的含量相对较多,使得细胞壁有弹性,细胞和细胞之间的空间呈现可利用的弹性空间,这些条件都有利于细胞体积的增大和次生细胞壁物质的填充。果胶质测定结果见图 1~5。

从图 1~5 可以看出在各个温度处理中,病株的果胶质含量在整个测定过程中均高于对照的健康植株,并且其变动图线大致上与对照的变动图线平行。这一结果说明在一个较宽的温度变动范围内(10~30)病株的果胶质含量水平略高于健康植株,并保持相对的稳定。暗示着患病植株的树皮细胞相对于健康植株要幼嫩,成熟度低,细胞壁的次生化程度低,因而就有可能对不良外界环境条件的抵抗能力降低。

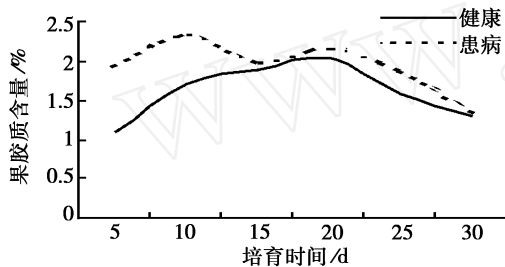


图 1 30 时树皮中果胶质百分含量

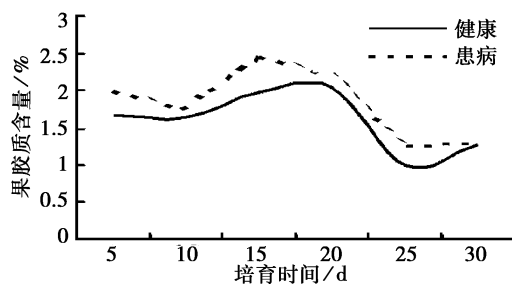


图 2 25 时树皮中果胶质百分含量

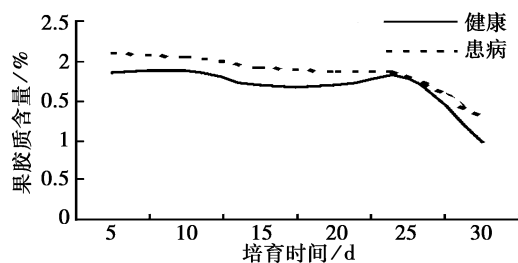


图 3 20 时树皮中果胶质百分含量

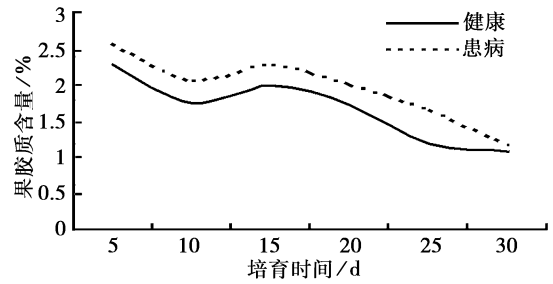


图 4 15 时树皮中果胶质百分含量

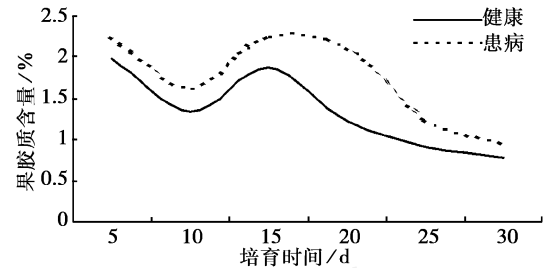


图 5 10 时树皮中果胶质百分含量

### 2.2 树皮中游离脯氨酸含量的测定

在正常环境条件下生长的植物体内游离脯氨酸的含量较低。但在逆境(如干旱、微生物侵染、大气污染、盐渍、高、低温)条件下,植物体内游离脯氨酸的含量可增加。而且游离脯氨酸积累的量与逆境的程度和植物的抗逆性有关。同时脯氨酸还可以通过羟基化作用转变为羟脯氨酸,而羟脯氨酸则可以被用来合成一种植物细胞壁弹性蛋白——富羟糖蛋白。小黑杨 14 树皮中的测定结果见图 6~10(为干质量状态下的测定结果)。

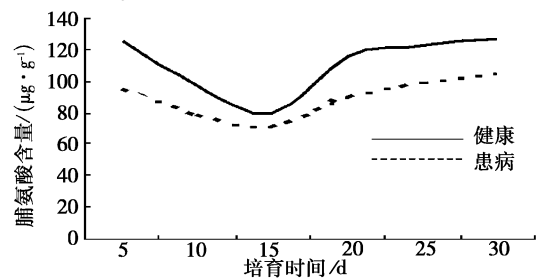


图 6 30 时树皮中脯氨酸含量

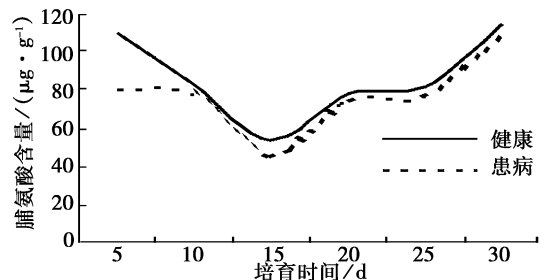


图 7 25 时树皮中脯氨酸含量

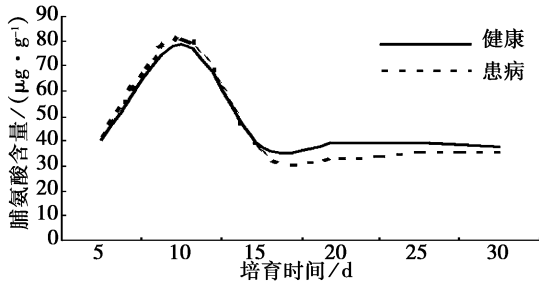


图 8 20 时树皮中脯氨酸含量

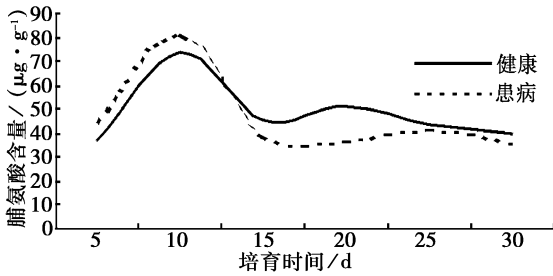


图 9 15 时树皮中脯氨酸含量

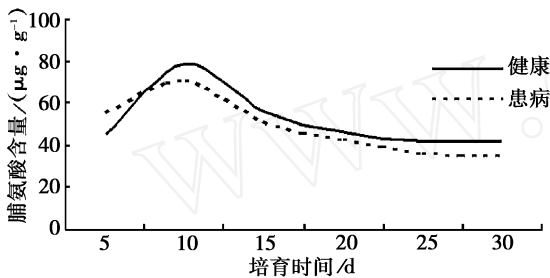


图 10 10 时树皮中脯氨酸含量

注:吸光度值  $Y$  与脯氨酸浓度  $x$  之间的线性回归方程为:  
 $Y = 0.0723x + 0.004$ , 相关系数  $R = 0.9999$

由图 6~10 可以看出,小黑杨 14 的脯氨酸含量在 25 以上时的变动规律与 20 以下时的不同。但是都在经过 15~20 d 左右逐步趋向平稳。再次说明 15~20 d 后枝条在生理生化功能上逐渐适应新的水培条件。在 25 以上的较高温度条件下,对照健康植株的脯氨酸含量在整个测定过程中始终比患病植株偏高。20 以下条件下在水培第 10 天左右,病、健株的脯氨酸含量都增高到一个峰值,然后回落,在 15 d 之后就基本上回落到开始测定时的水平。病株的脯氨酸含量要低于健株。总体上来看,温度较高(25)时植株的脯氨酸含量水平要比温度较低(20)时高出许多。各温度条件下脯氨酸含量最后基本恢复到测定之初的水平,说明生长条件的改变对脯氨酸含量变化起了主要的胁迫作用,但作用是短暂的,很快就解除了。病健株基本一致

的变动图形说明病害胁迫对脯氨酸含量变动的影 响是次要的,但是应该承认病害的发生确实对植株的脯氨酸代谢产生了影响。病害使得植株抵抗逆境的能力减弱了。尤其是在低温阶段,脯氨酸含量的降低在一定的程度和意义上使植物细胞的抗寒性降低,使患病株在冬季被冻伤或冻死的可能性增大了。

### 2.3 树皮中糖分含量的测定

树皮中的糖分含量一是来源于叶片光合作用产物的转运,另一部分是来源于树皮中的叶绿体进行光合作用的产物。糖分,尤其是葡萄糖既可通过代谢释放出能量以维持细胞的生命活动,又可以通过代谢合成脂肪、蛋白、纤维素、木质素等能量储藏物质和细胞结构、功能调节物质。而且液泡中葡萄糖也对植物细胞的抗逆性有一定的贡献。小黑杨 14 树皮中糖分含量测定结果见图 11~15、图 16~20。

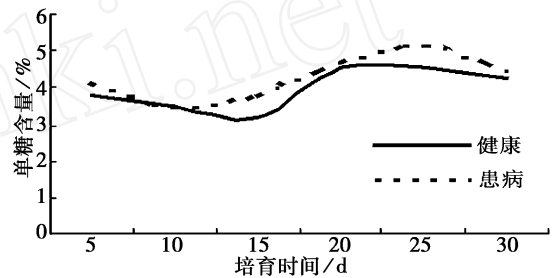


图 11 30 时树皮中单糖含量

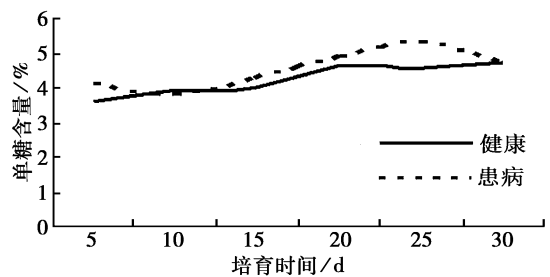


图 12 25 时树皮中单糖含量

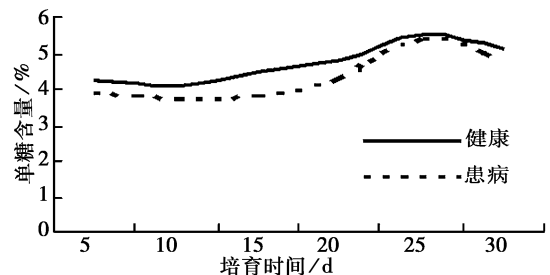


图 13 20 时树皮中单糖含量

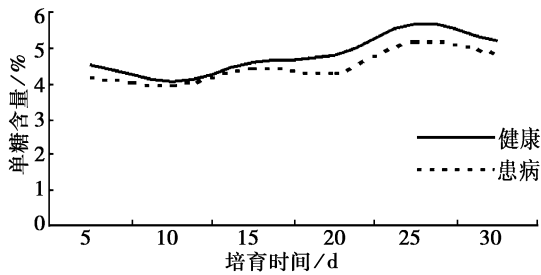


图 14 15 时树皮中单糖含量

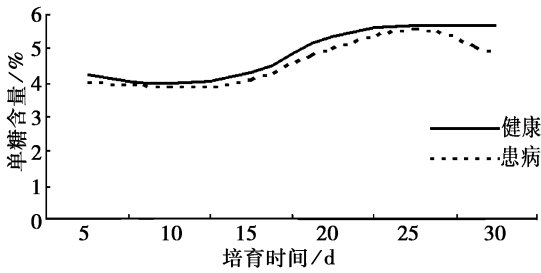


图 15 10 时树皮中单糖含量

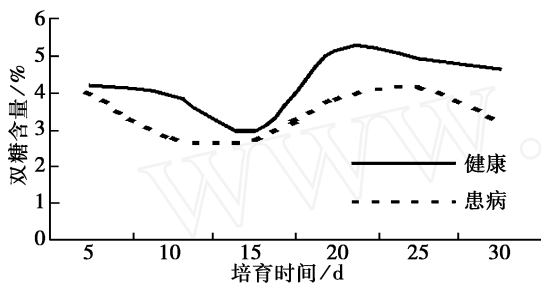


图 16 30 时树皮中双糖含量

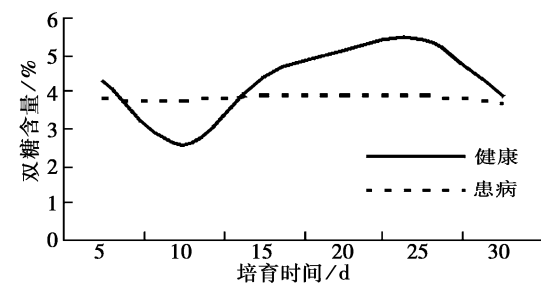


图 17 25 时树皮中双糖含量

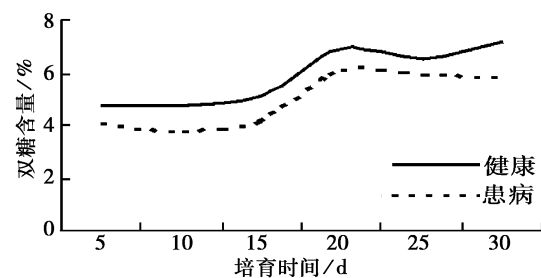


图 18 20 时树皮中双糖含量

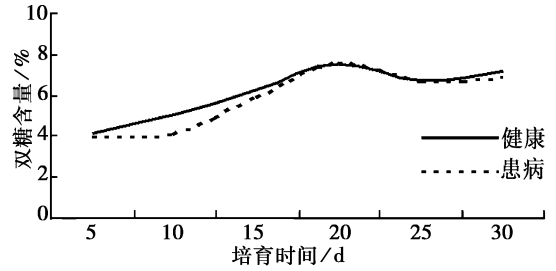


图 19 15 时树皮中双糖含量

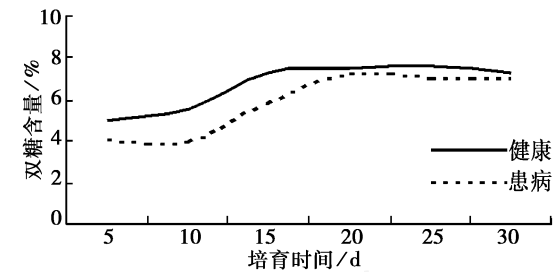


图 20 10 时树皮中双糖含量

注:  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  用量  $Y$  和葡萄糖标准液用量  $x$  之间的线性回归方程为:  $Y = 18.54557 - 1.1214x$ , 相关系数  $R = -0.9982$ 。

由图 11 ~ 15 及图 16 ~ 20 可以看出, 各个温度处理, 不管是单糖含量还是双糖含量, 随着时间的延长, 健康植株和患病植株都呈现基本一致的“S”型曲线。这说明病株和健株对生长条件的改变的响应趋势是一致的, 调整适应期大约为 15 ~ 20 d。生长条件改变施加给植株的影响要大于病害和温度改变施加给植株的影响。在单糖含量上, 30 和 25 处理的健康植株在整个测定过程中始终低于患病植株, 而 20 以下处理的健康植株却高于患病植株。在双糖含量上, 基本上健康植株高于患病植株。在 25 和 30 条件下健康植株的双糖含量先是下降, 经过调整适应后回升到一个相对稳定的水平。而 20、15、10 条件下的健康植株的双糖含量在前 15 ~ 20 d 内基本上都是逐渐增高, 20 d 之后维持在一个相对稳定的水平上。患病植株也基本上如此。在 25 以上时, 病、健植株的双糖含量在适应前后差异不大。而在 20 以下时差异却很明显: 健康植株和患病植株适应稳定后分别比开始时提高了 2.38 和 2.70 个百分点。

在代谢过程中, 单糖 (五碳糖、六碳糖) 直接参与代谢途径。而双糖则作为单糖和多糖转换的中间体, 既可以降解为单糖参与代谢, 也可以被用来合成细胞结构物质、能量储藏物质或其他功能物质。树皮中的叶绿素虽然能进行光合作用制造葡萄糖, 但

毕竟是少量的,大部分还是叶片的光合产物运输下来的。综合以上的测定结果可以认为,病原降低了树皮中的双糖含量。在 20 以下的较低温度下,有利于植株积累双糖。植株的这种变化有利于其适应干旱和低温(寒冷)胁迫,增强抵抗力。从这个意义上来说,患病植株对不良环境的抵抗能力降低了。在 25 以上的较高温度条件下,植物体内的双糖更多地被降解而参与到代谢中去,以满足病原细菌生长繁殖及由其刺激引发的寄主局部组织旺盛生长的需要。而在 20 以下的较低温度条件下,植株在维持一定的单糖含量水平的情况下启动了转向积累糖分的机制。但由于病原细菌的刺激,使得患病植株在此较低温度下的代谢水平仍略高于健康植株,这

便是 25 以上时患病植株的单糖含量高于健康植株,而在 20 以下时却低于健康植株的一个可能原因。总之,细菌的刺激使得植株在较低温度下也处在代谢较为旺盛的状态,即细胞对低温的敏感性降低了。

#### 2.4 小黑杨 14 树皮中叶绿素含量的测定

苗木生长的幼年期,树皮中也含有一定量的叶绿素,这些叶绿素也进行着较为活跃的光合作用,制造光合产物,为生物量的积累做出自己的贡献。细菌溃疡发生在枝干部,本项实验拟从叶绿素含量的变化中探讨病害对寄主苗期的影响。结果见表 1 和表 2。

表 1 不同时间小黑杨 14 的树皮叶绿素含量

植株状况	3月		5月		9月	
	叶绿素 / (mg · g <sup>-1</sup> )	含水率 / %	叶绿素 / (mg · g <sup>-1</sup> )	含水率 / %	叶绿素 / (mg · g <sup>-1</sup> )	含水率 / %
健康	0.332	31.62	0.305	62.96	0.560	53.75
	0.485		0.823		1.040	
患病	0.348	28.96	0.268	57.99	0.665	54.64
	0.490		0.638		1.217	

注:该含量为鲜质量状态下的测定结果。

表 2 不同温度下小黑杨 14 的树皮叶绿素含量

植株状况	取材部位	mg · g <sup>-1</sup>									
		30		25		20		15		10	
		CFB	CDB	CFB	CDB	CFB	CDB	CFB	CDB	CFB	CDB
健康	梢段	0.665	1.248	0.606	1.137	0.585	1.072	0.532	0.970	0.528	0.932
	中段	0.606	1.138	0.594	1.114	0.574	1.052	0.523	0.955	0.525	0.927
	基段	0.535	1.004	0.545	1.022	0.549	1.006	0.518	0.945	0.515	0.909
	(平均)	0.602	1.130	0.582	1.091	0.569	1.043	0.524	0.957	0.522	0.923
患病	梢段	<u>0.604</u>	<u>1.016</u>	<u>0.507</u>	<u>0.970</u>	<u>0.664</u>	<u>1.217</u>	<u>0.592</u>	<u>1.111</u>	0.707	1.285
	中段	0.789	1.327	0.746	1.427	0.790	1.449	0.648	1.218	0.693	1.259
	基段	0.633	1.065	0.627	1.199	0.748	1.372	0.616	1.158	0.612	1.112
	(平均)	0.675	1.136	0.627	1.199	0.734	1.346	0.619	1.162	0.671	1.219

注:CFB、CDB 分别表示新鲜树皮和干燥树皮的叶绿素含量;打下划线的数据其样本隆包数量较多。

由表 1 中数据可以看出,随着生长的日益旺盛,不管是以树皮的鲜质量还是以干质量来衡量,病株和健株的叶绿素含量都有逐渐增加的趋势,说明在生长季节中树皮合成了新的叶绿素。这是符合植物的季节生长规律的。同时还可以看出经过生长之后,病株和健株的含水率及叶绿素含量并没有明显的差异,这说明病害的发生并没有对寄主造成明显的影响。当然,应该明确的前提条件是寄主还处在幼年期而且病情也比较轻微。

从表 2 中的数据可以看出各个温度处理下健康植株树皮叶绿素含量都从基部到梢部逐渐升高,患病植株的 5 个温度处理中有 1 个符合这个规律,另

外 4 个尽管不符合,但中段的叶绿素含量都比基段高。在取材时注意到这 4 个处理的植株的梢段虽然隆包也比较轻微,但数量很多,在枝条上几乎一个挨一个;中段和基段就少得多。不同温度处理间虽然有叶绿素随温度降低而减少的趋势,但差异并不明显。比较同一温度处理内病、健株树皮的叶绿素含量可以看出病株都略高于健株,而且在较低温度下(20 以下)比较高温下(25 以上)高出的量要大。这个结果说明病菌在一定的病害程度范围内刺激了植株树皮内叶绿素的增加,而且温度较低时增加明显。但在病情比较重时,病害还是导致叶绿素的破坏而使患病严重部位的叶绿素含量下降。

### 3 结论与讨论

从树皮果胶质含量、叶绿素含量、单糖含量实验结果上看患病刺激了植株的某些生理功能,使其处于一种比健康植株较为活跃的生理状态。但是,首先应该清楚的是这种较为活跃生理状态正是植株逐渐走向失控的初期表现,是无序的、暂时的和非系统性的。局部的生长活跃对植株作为一个有机的统一体来说是有害的。随着病情的发展,树体的生理功能变得衰弱,树木走向死亡。因此,肿瘤也不会无限制地发展下去。

在多次对杨树寄主的室内外接种实验中发现,早春和晚秋接种容易发病。而夏季生长季节接种则发病较轻或很少发病。对这一结果的解释是春秋季节杨树处在生命活动的交替期,对外界环境条件的变化抵抗力弱,而此时正是霜冻等灾害天气多发的季节,加之冰核细菌引发植物冻害的特性,而使植物容易受伤害。受伤的组织有利于病原细菌的定殖侵染,所以接种发病比较容易。在夏季,虽然温度适宜细菌繁殖,但树木生长旺盛,抵抗力强,这可能是发病较轻的原因。发病轻不等于不发病,夏季接种能发病的事实说明冰核细菌有一套特殊的致病模式,也就是说细菌侵染寄主引起寄主发生肿茎症状的病理过程对霜冻条件并不是必须依赖的,细菌侵染寄主后引发寄主形成肿茎症状是其自身固有的特性。这个解释为另一个事实所支持:肇东五站镇苗圃在

2000年5月中旬扦插了一批小黑杨14的插穗,到同年的9月中旬调查时发现,大约有10%左右的萌条上出现隆肿。而这段时间里根据天气记录是没有霜冻的。(注:该地块的一个重要病害条件是靠近一片落叶松(*Larix sp.*)林,杨叶锈病发生严重。)基于以上的叙述,可以对冰核细菌的致冻致病性作这样一种描述:细菌的致病作用是主要的,这不需要霜冻的支持;而霜冻天气为冰核细菌发挥其成冰核活性的特点创造了条件,在致病的同时致冻,从而加重了对植物的危害,使其侵染成功和进一步致病更为有利。

### 参考文献:

- [1] 毛得奖,于君瑞,王成忠,等. 杨树冰核细菌溃疡病寄主生理生化变化研究( ) [J]. 山东轻工业学院学报, 2004, 18(4): 52~56
- [2] Jankson A E, Seppelt R D. The accumulation of proline in *Prasiola crispa* during winter in Antarctica [J]. *Physiol Plant*, 1995, 94: 25~30
- [3] Songated D D, Duncan D R. Proline and polyamine involvement in chilling tolerance of maize suspension cultures [J]. *J Exp Bot*, 1990, 41: 289
- [4] 植物生理学通讯编辑部. 植物生理学专题讲座——纪念罗宗洛教授 [M]. 北京: 科学出版社, 1987
- [5] 中国林业科学研究院分析中心. 现代实用仪器分析方法 [M]. 北京: 中国林业出版社, 1994
- [6] 中国科学院上海植物生理研究所与上海市植物生理学会. 现代植物生理学实验指南 [M]. 北京: 科学出版社, 1999
- [7] 西北农业大学. 基础生物化学实验指导 [M]. 西安: 陕西科学技术出版社, 1990