

潘文, 张卫华, 杨会肖, 等. 尾叶桉苯丙氨酸解氨酶基因的克隆、表达与单核苷酸多态性分析[J]. 华南农业大学学报, 2018, 39(2): 89-94.

# 尾叶桉苯丙氨酸解氨酶基因的克隆、表达与单核苷酸多态性分析

潘 文, 张卫华, 杨会肖, 徐 放, 廖焕琴, 杨晓慧  
(广东省森林培育与保护利用重点实验室/广东省林业科学研究院, 广东 广州 510520)

**摘要:**【目的】通过获得尾叶桉 *Eucalyptus urophylla* 苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 基因序列, 分析其在水肥处理下的表达模式及在尾叶桉群体中的单核苷酸多态性 (SNP), 为研究该基因与尾叶桉抗逆性的相关性提供基础。【方法】根据巨桉 *E. grandis* 的 PAL 基因序列设计引物, 通过基因克隆、测序获得尾叶桉 PAL 基因序列; 采用逆转录定量聚合酶链式反应 (RT-qPCR) 分析该基因在不同水肥处理下的表达模式。【结果】PAL 基因组全长 4 507 bp, 包括 166 bp 的 5'非编码区、411 bp 的 3'非编码区、2 172 bp 的氨基酸编码序列 (由 2 个外显子组成, 分别为 422 和 1 750 bp) 和 1 759 bp 的内含子区域。PAL 基因在 AT4 处理中表达量最高, 在 AT5 处理中表达量最低。尾叶桉 PAL 基因与巨桉具有高度相似性。尾叶桉 PAL 基因的 SNP 位点主要集中在内含子区域, 可见尾叶桉 PAL 基因在长期进化过程中保持着稳定的遗传。【结论】获得尾叶桉 PAL 基因全长 4 507 bp, 该基因具有遗传稳定性, 且可能在尾叶桉抗逆性中起重要作用。

**关键词:** 尾叶桉; 苯丙氨酸解氨酶; 基因克隆; 单核苷酸多态性; 抗逆性  
**中图分类号:** S718.46; Q943.2      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1001-411X(2018)02-0089-06

## Cloning, expression and single nucleotide polymorphism analysis of phenylalanine ammonia-lyase gene in *Eucalyptus urophylla*

PAN Wen, ZHANG Weihua, YANG Huixiao, XU Fang, LIAO Huanqin, YANG Xiaohui  
(Guangdong Provincial Key Laboratory of Silviculture, Protection and Utilization/Guangdong Academy of Forestry, Guangzhou 510520, China)

**Abstract:** 【Objective】Through obtaining phenylalanine ammonia-lyase (PAL) gene sequence of *Eucalyptus urophylla*, to analyze the expression patterns of PAL gene in nine different water-fertilizer treatments and its single nucleotide polymorphism (SNP) in *E. urophylla* populations, and provide a basis for studying the correlation between PAL gene and stress resistance of *E. urophylla*. 【Method】Primers were designed according to PAL gene sequence of *E. grandis*, and PAL gene sequence of *E. urophylla* was obtained by gene cloning and sequencing. The expression patterns of PAL gene in different treatments were obtained by reverse transcription quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR). 【Result】The total length of PAL gene sequence was 4 507 bp, including 166 bp 5'-untranslated region, 411 bp 3'-untranslated region, 1 759 bp intron region and 2 172 bp protein coding region (with two exons, 422 and 1 750 bp respectively). The expression of PAL gene was the most abundant in AT4 treatment, and lowest in AT5 treatment. The PAL gene of *E. urophylla* was

highly similar to that of *E. grandis*. The SNP sites of *PAL* gene in *E. urophylla* were mainly concentrated in intron region, indicating that *PAL* gene was stably inherited in long-term evolution history. 【Conclusion】 The complete length of *PAL* gene sequence in *E. urophylla* is 4 507 bp. *PAL* gene is stably inherited and plays an important role in stress resistance of *E. urophylla*.

**Key words:** *Eucalyptus urophylla*; phenylalanine ammonia-lyase; gene cloning; single nucleotide polymorphism; stress resistance

苯丙氨酸解氨酶 (Phenylalanine ammonia-lyase, PAL) 是苯丙氨酸代谢途径的关键酶和限速酶<sup>[1]</sup>, 只存在于微生物与植物中。在 PAL 作用下, 苯丙烷类代谢完成第 1 步反应, 生成香豆酸、阿魏酸和芥子酸等中间产物, 这些中间产物进一步转化为香豆素和绿原酸, 也可形成苯丙烷酸 CoA 酯, 再进一步代谢转化为一系类苯丙素类化合物, 如类黄酮、木质素和生物碱<sup>[2]</sup>。因此, *PAL* 基因在植物的代谢过程中起着重要作用。

20 世纪 70 年代以来, 越来越多的研究显示 *PAL* 基因与细胞分化存在一定相关性, 愈伤组织分化过程中 PAL 活性增强, 分化组织中有管状分子形成<sup>[3]</sup>。章金明<sup>[4]</sup>发现, 当植物叶片受到机械损伤时, 叶片 PAL 含量大幅增加, 而且活性快速升高。苯丙烷类代谢产物经类黄酮途径产生黄酮类化合物, 间接参与呼吸代谢, 可作为植物体特殊贮能, 帮助植物体清除自由基等。黄酮类化合物对根瘤菌有趋化作用<sup>[5]</sup>, 有些还可作为根瘤菌结瘤基因的诱导物质<sup>[6]</sup>。此外, *PAL* 基因在植物抗逆过程中也起着重要作用, 研究发现多种植物受病原菌侵染后, PAL 活性明显升高, 并表现出规律性变化<sup>[7-8]</sup>。欧芹 *Petroselinum crispum* 在受伤害或紫外线照射时 *PAL* 基因的转录水平提高<sup>[9]</sup>, 胡萝卜 *Daucus carota* 细胞受到 UV-B 照射时 *PAL* 基因对应的 mRNA 表达量会增加<sup>[10]</sup>。

桉树 *Eucalyptus* 是原产于澳大利亚的树种, 为当地重要的工业用材, 具有速生和丰产的特点, 相继被 100 多个国家引种。目前, 尾叶桉 *E. urophylla* 是我国华南地区重要的纸浆材造林树种<sup>[11]</sup>, 也是一种比较理想的水土保持树种, 具有美化和绿化环境的功能。此外, 黄瑶等<sup>[12]</sup>研究表明尾叶桉叶精油对某些常见菌有抑制效果。因此, 研究尾叶桉抗逆性具有重要的经济、生态和社会效益。虽然目前已从多种植物中克隆出 *PAL* 基因, 但在尾叶桉中鲜见有关 *PAL* 基因的相关报道。本研究以尾叶桉叶片为材料, 开展尾叶桉 *PAL* 基因的克隆与表达分析, 并进行 DNA 序列变异和系统进化等生物信息学方

面的研究, 解析 *PAL* 基因在尾叶桉抗逆过程中的作用。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2009 年, 广东省林业科学研究院从尾叶桉自然分布区如澳洲大陆、新几内亚岛、印度尼西亚以及菲律宾等 24 个国家和地区收集了 500 个基因型的尾叶桉个体, 种植于广东省肇庆市国有林场总场大南山林场, 建立了尾叶桉种质资源库。本研究用于提取 DNA 的材料取自该基因库中 24 个种源的 35 个基因型个体。

用于提取 RNA 的材料来自广东省林业科学研究院内经水肥处理的 16 个月生尾叶桉无性系个体 ZQUA44。水肥处理分为 2 部分: 水分梯度处理和养分梯度处理。水分梯度处理分别为: 梯度 1, 20%~40% 田间持水量; 梯度 2, 40%~60% 田间持水量; 梯度 3, 60%~80% 田间持水量。养分梯度处理分别为: 梯度 1, 基肥 (钙镁磷肥 250 g); 梯度 2, 基肥 (钙镁磷肥 250 g), 8 月份施 1 次复合肥 150 g, 第 2 年春天施复合肥 100 g; 梯度 3, 基肥 (钙镁磷肥 250 g+复合肥 150 g), 种植 2 个月后施尿素 100 g, 8 月份施 1 次复合肥 150 g, 第 2 年春天施复合肥 100 g。具体见表 1。

1.2 试验方法

1.2.1 总 DNA 的提取 总 DNA 的提取按照 Plant Genomic DNA Kit 进行, 试剂盒购自天根生化科技 (北京) 有限公司。

1.2.2 RNA 的提取和 cDNA 的合成 总 RNA 的提取按照 RNAsimple Total RNA Kit 进行, cDNA 的合成按照 Tiangen FastKing RT Kit 进行, 2 种试剂盒均购自天根生化科技 (北京) 有限公司。

1.2.3 同源基因的获得 尾叶桉 *PAL* 同源基因从 Phytozome 网站 (<https://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html>) 巨桉 *E. grandis* 基因序列数据库下载。与尾叶桉 *PAL* 基因同源的 cDNA 从 NCBI 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 下载。

表 1 尾叶桉无性系 9 种不同水肥处理

Tab. 1 Nine different water-fertilizer treatments of *Eucalyptus urophylla* clone

处理	植物材料	生长周期/月	处理条件	
			田间持水量梯度	养分梯度
AT1	叶片	16	1	1
AT2	叶片	16	1	2
AT3	叶片	16	1	3
AT4	叶片	16	2	1
AT5	叶片	16	2	2
AT6	叶片	16	2	3
AT7	叶片	16	3	1
AT8	叶片	16	3	2
ACK	叶片	16	3	3

1.2.4 引物设计及 cDNA 全长和基因全长扩增  
利用 NCBI Primer-BLAST([https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/index.cgi?LINK\\_LOC=BlastHome](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/index.cgi?LINK_LOC=BlastHome)) 网站, 根据巨桉 cDNA 序列在其可能的开放阅读框两端设计引物:

*PAL* cDNA F: 5'-GTTCTCCCTCGCCATTCTCC-3';  
*PAL* cDNA R: 5'-TCAAAGCAAATACCACTCACGG-3'.

该基因较长, 将其分成 3 段扩增。根据巨桉同源基因序列, 在其开放阅读框两端分别设计引物:

*PAL* 1F: 5'-CTTCGGTACGTTACCCACCC-3';  
*PAL* 1R: 5'-ATCCGTGACGTGATTCCCTG-3';  
*PAL* 2F: 5'-TGCGTCTTGTCAGGGAATCA-3';  
*PAL* 2R: 5'-GCCGCCTTGACGTAAGAACT-3';  
*PAL* 3F: 5'-TGCAGCTATCATGGAGCACA-3';  
*PAL* 3R: 5'-TCGGAATGCTTTGTGCGGTA-3'.

本研究采用 25  $\mu$ L 聚合酶链式反应 (PCR) 体系, 以尾叶桉叶片基因组 DNA 为模板, 加入 *Taq* PCR Master Mix (2 $\times$ , blue dye) 12.5  $\mu$ L, 1  $\mu$ L 基因组 DNA(5  $\mu$ g $\cdot$ L<sup>-1</sup>), 0.4  $\mu$ mol $\cdot$ L<sup>-1</sup> 的正反向引物各 2  $\mu$ L, 加适量蒸馏水至 25  $\mu$ L。于 94  $^{\circ}$ C 条件下 4 min; 35 个循环 (94  $^{\circ}$ C, 30 s; 60  $^{\circ}$ C, 30 s; 72  $^{\circ}$ C, 90 s); 72  $^{\circ}$ C, 10 min。在此热循环条件下扩增出 1 500 bp 的 DNA 片段, 然后通过拼接获得 DNA 全长。

1.2.5 逆转录定量聚合酶链式反应 (RT-qPCR) 检测 *PAL* 基因在尾叶桉无性系不同处理中的表达模式  
采用 NCBI Primer-BLAST ([https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/index.cgi?LINK\\_LOC=BlastHome](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/index.cgi?LINK_LOC=BlastHome)) 网站设计扩增长度约 200 bp 的 RT-qPCR 引物, 检测 *PAL* 基因在不同处理中的表达模式:

*PAL* RT-qPCR F: 5'-ATCAGATTCTTGAACGC CGGT-3';

*PAL* RT-qPCR R: 5'-AAGTCACCAGAGGCG GAGAT-3'.

以肌动蛋白基因 *Actin* 作为内参, 引物序列为:  
*Act* F: 5'-CTCCATCATGAAATGCGATG-3';  
*Act* R: 5'-TTGGGGCTAGTGCTGAGATT-3'.

RT-qPCR 反应按照 FastKing RT Kit 进行, 试剂盒购自天根生化科技 (北京) 有限公司。每个反应设置 4 个样品重复, 4 个内参对照重复。依次加入 2 $\times$ Talent RT-qPCR PreMix 10  $\mu$ L, 10  $\mu$ mol $\cdot$ L<sup>-1</sup> 的正反向引物各 0.6  $\mu$ L, cDNA 2  $\mu$ L, 添加 RNase-Free dd H<sub>2</sub>O 至终体积为 20  $\mu$ L。RT-qPCR 反应程序为: 94  $^{\circ}$ C, 5 min; 40 个循环 (94  $^{\circ}$ C, 30 s; 60  $^{\circ}$ C, 30 s; 72  $^{\circ}$ C, 30 s)。扩增结束后, 通过溶解曲线检查引物的扩增特异性, 然后应用 7500Fast 软件分析结果。

1.2.6 *PAL* 基因的单核苷酸多态性 (SNP) 分析  
以选取的 35 株个体的总 DNA 为模板进行 PCR 扩增, 对 PCR 扩增产物进行测序, 然后将每一个基因片段的核苷酸序列拼接成完整的基因序列。利用 MEGA6.0 软件对 *PAL* 基因的 35 个序列进行比对分析, 检测该基因的 SNP。利用 Dnasp4.90.1 软件对该基因进行多态性分析, 并进一步分析编码区和非编码区的 SNP 频率及编码区的同义突变和非同义突变情况, 其中非同义突变又包括错义突变和无义突变等。

2 结果与分析

2.1 尾叶桉 *PAL* 同源 cDNA 的克隆及其结构特征

为了分离尾叶桉 *PAL* 基因的 cDNA 序列, 本研究从巨桉全基因组上获得同源 *PAL* 基因序列。以此为基准设计引物, 从尾叶桉叶片 cDNA 中扩增出 *PAL* 基因的氨基酸编码序列。对该序列测序后发现该序列与巨桉 *PAL* 基因序列相似度达 96%, 因此该序列即为尾叶桉 *EuuPAL* 基因序列。该序列共 2 748 bp, 包括 166 bp 的 5'非编码区, 411 bp 的 3'非编码区, 以及 2 172 bp 的氨基酸编码序列。将获得的 *PAL* 基因氨基酸序列在 NCBI 上进行比对, 并下载其他不同物种的氨基酸序列。对拟南芥 *Arabidopsis thaliana*、大豆 *Glycine max*、巨桉、葡萄 *Vitis vinifera* 和柑橘 *Citrus clementina* 等 21 个物种的氨基酸序列进行进化分析, 发现尾叶桉与巨桉 *PAL* 基因亲缘关系最近, 是同源基因 (图 1)。

根据 cDNA 序列信息设计引物, 本研究从尾叶桉基因组 DNA 中克隆出 *PAL* 基因组序列全长, 并对其进行分析。*PAL* 基因组全长 4 507 bp, 包括

166 bp 的 5'非编码区、411 bp 的 3'非编码区、2 172 bp 的氨基酸编码序列(由 2 个外显子组成,分别为 422 bp 和 1 750 bp)以及 1 759 bp 的内含子区域(图 2)。

2.2 尾叶桉 PAL 基因在不同水肥处理中的表达模式

为了确定尾叶桉 PAL 基因在不同水肥处理中是否有差异性表达,我们提取尾叶桉 9 个处理的叶片 RNA 并反转录为 cDNA 进行 RT-qPCR 反应。结果表明 PAL 基因在 AT4 处理中表达量最高,AT2 以及 AT7 处理次之,AT5 处理表达量最低(图 3)。

2.3 尾叶桉 PAL 基因的 SNP 分析

根据已知序列设计引物,对 35 株尾叶桉个体进行 PCR 扩增和序列分析。将比对的结果整理分

析后发现, PAL 基因全长 4 507 bp, 共有 SNP 位点 307 个, 每 15 个碱基便出现 1 个多态性位点。在这些 SNP 位点中, 频率最高的 (7 bp<sup>-1</sup>) 出现在内含子区域, 频率最低的 (194 bp<sup>-1</sup>) 出现在外显子区域(表 2)。这和预期的生物在选择压下编码区会高度保守一致。在外显子区域共 24 个 SNP 位点, 其中 21 个为同义突变, 3 个为非同义突变(表 3)。总体来说, PAL 基因具有较大多态性, SNP 系数  $\pi_T$  和  $\theta_w$  分别为 0.036 46 和 0.049 2。基因不同结构区域多态性系数差异很大, 在第 1 个外显子区域多态性比较小, 多态性系数  $\pi_T$  和  $\theta_w$  分别为 0.064 85 和 0.082 3; 在内含子区域多态性比较大, 多态性系数  $\pi_T$  和  $\theta_w$  分别为 0.071 36 和 0.099 1(表 2)。

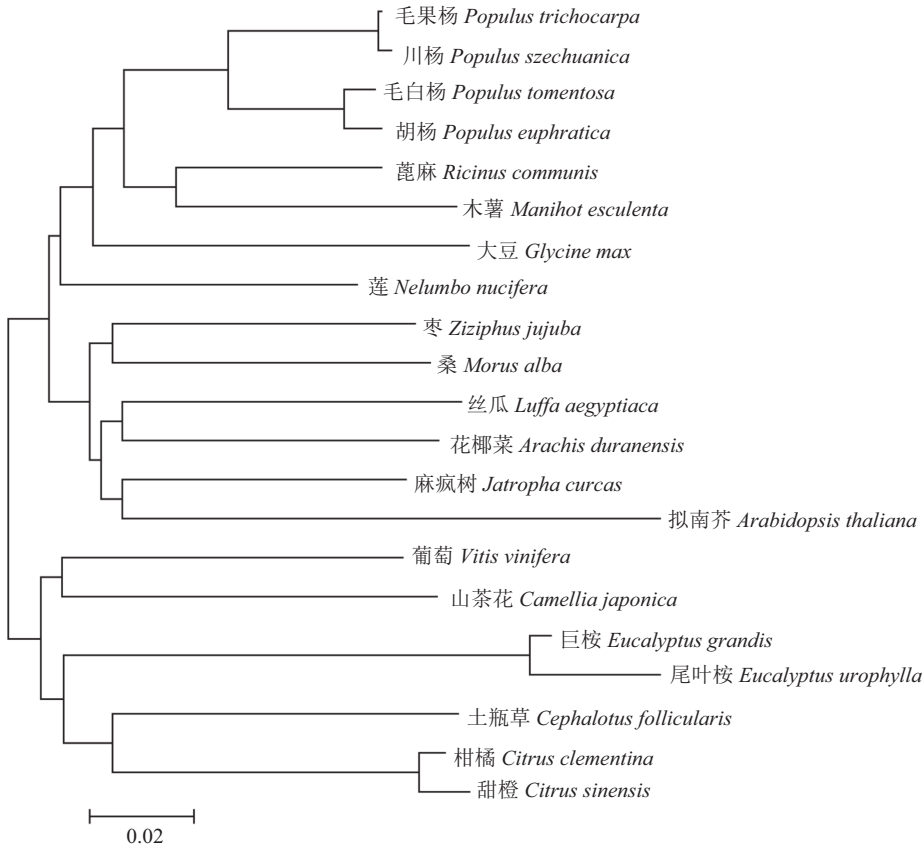


图 1 尾叶桉及其他物种 PAL 基因的进化分析  
Fig. 1 The phylogenetic tree of PAL gene in *Eucalyptus urophylla* and other plant species

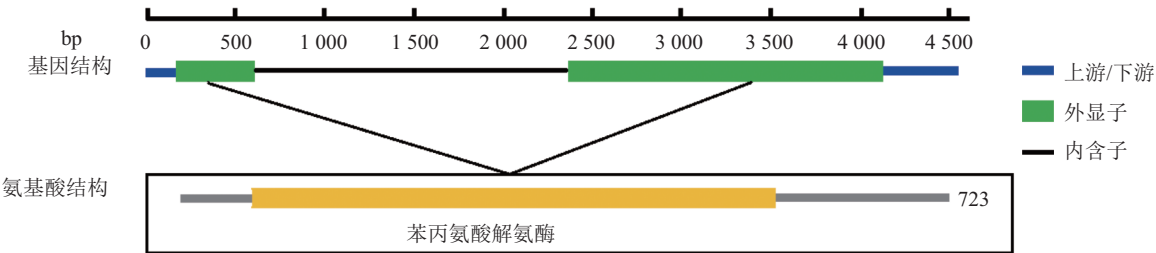


图 2 尾叶桉 PAL 基因结构序列  
Fig. 2 The structure of PAL gene in *Eucalyptus urophylla*

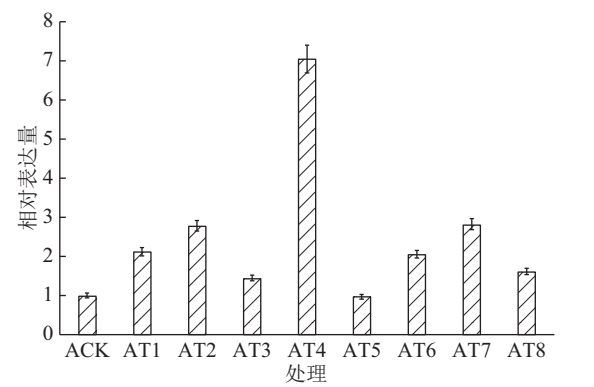


图3 尾叶桉 *PAL* 基因在 9 种不同水肥处理中的相对表达量  
Fig. 3 Relative expression of *PAL* gene of *Eucalyptus urophylla* in nine different water-fertilizer treatments

表2 尾叶桉 *PAL* 基因 SNP 分析

Tab. 2 SNP analysis of <i>PAL</i> gene in <i>Eucalyptus urophylla</i>					
基因区域	序列长度/bp	SNP位点数/个	频率/(bp <sup>-1</sup> )	$\pi_T$	$\theta_w$
5'UTR	166	14	12	0.048 08	0.053 9
外显子1	422	15	28	0.064 85	0.082 3
内含子1	1 759	241	7	0.071 36	0.099 1
外显子2	1 750	9	194	0.001 84	0.001 9
3'UTR	411	28	15	0.067 33	0.084 9
总计	4 507	307	15	0.036 46	0.049 2

表3 尾叶桉 *PAL* 基因编码区内 SNP 突变类型分析

Tab. 3 Mutation types of SNPs located in the coding region of <i>PAL</i> gene of <i>Eucalyptus urophylla</i>				
基因	编码区长度/bp	同义突变/个	非同义突变/个	
			错义突变	无义突变
<i>PAL</i>	2 172	21	3	0

碱基之间存在 2 种突变类型: 转换和颠换。转换是嘌呤与嘌呤之间或者嘧啶与嘧啶之间的突变; 颠换是嘌呤与嘧啶之间的突变。*PAL* 基因中的 307 个 SNP 位点包括 202 个转换突变 (89 个 A/G 转换、113 个 T/C 转换) 和 105 个颠换突变 (31 个 A/C 颠换、21 个 T/G 颠换、28 个 A/T 颠换、25 个 G/C 颠换)。

3 讨论与结论

3.1 尾叶桉 *PAL* 基因的进化分析与 SNP 分析

将克隆出来的尾叶桉 *PAL* 基因的氨基酸序列在 NCBI 中进行比对, 发现尾叶桉 *PAL* 基因与巨桉相似性最高, 印证了尾叶桉与巨桉的亲缘关系。对该基因进行 SNP 分析发现共有 307 个多态性位点, <http://xuebao.scau.edu.cn>

多态性程度较高。但多数多态性位点都出现在内含子区域 (即非编码区域), 该区域的 SNP 变异一般不会直接影响 *PAL* 基因的正常表达与 *PAL* 正常催化功能。外显子区域 24 个多态性位点中 21 个是同义突变, 仅 3 个是错义突变, 并且均属于罕见突变位点。因此总体来说尾叶桉 *PAL* 基因在长期进化过程中保持着比较稳定的遗传, 这一结果与前人研究一致<sup>[13]</sup>。

在自然界中, 约有一半以上的 SNP 突变是 T/C 转换或者反义的 A/G 转换。人类每 3 个 SNP 突变中就有 2 个是 T/C 或者 A/G 转换, 小麦和玉米大约有 45% 和 55% 的 SNP 突变是 T/C 或 A/G 转换。发生这一现象的原因在于甲基化的核苷酸 C 在去氨基化后, 容易被 DNA 聚合酶误读为 T<sup>[14]</sup>, 因此可以根据 T/C 或者 A/G 转换的比例来判断测序结果是否可信。通过对 *PAL* 基因 2 种碱基变换形式的分析发现, A/G 和 T/C 转换的突变频率 (28.99% 和 36.81%) 远大于 A/C、T/G、A/T 和 G/C 颠换的突变频率 (10.10%、6.84%、9.12% 和 8.14%)。T/C 和 A/G 转换的比例大概占 65.80%, 与人类 T/C 和 A/G 转换的比例相近。

3.2 *PAL* 基因在尾叶桉抗逆性方面的作用

大量研究表明, *PAL* 基因参与植物的多种抗逆活动, 如抗病<sup>[15-19]</sup>和抗虫<sup>[20-21]</sup>等。为了研究尾叶桉 *PAL* 基因与其抗逆性是否相关, 此次试验运用了 2 个变量来研究尾叶桉 *PAL* 基因表达与抗逆性的关系。结果表明, *PAL* 基因在 AT5 处理的表达量与对照一致, 且 AT5 处理表型数据也与对照一致, 说明 AT5 处理已能满足尾叶桉生长对水分和养分的需求。AT4 处理中 *PAL* 基因表达量最高, 说明在水分相同情况下, 养分的短缺成为影响尾叶桉幼苗生长的重要因素。因此 *PAL* 基因可能参与了尾叶桉对逆境的响应过程。AT2 与 AT7 处理中 *PAL* 基因表达量基本一致, 均高于对照 2 倍, 说明在这 2 种处理下植物受到一定程度的胁迫, 但胁迫程度低于 AT4 处理。因此植物的生长受到水分和养分的联合作用。

参考文献:

[1] NAKAZAWA A, NOZUE M, YASUDA H, et al. Expression pattern and gene structure of phenylalanine ammonia-lyase in *Pharbitis nil*[J]. J Plant Res, 2001, 114(3): 323-328.  
[2] BOVÉ C, CONN E E. Metabolism of aromatic compounds in higher plants: II: Purification and properties of the oxynitrilase of *Sorghum vulgare*[J]. J Biol Chem,

- 1961, 236(1): 207-210.
- [3] 余沛涛, 薛应龙. 植物苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 在细胞分化中的作用[J]. 植物生理学报, 1987, 13(1): 14-19.
- [4] 章金明. MeSA、叶蝉为害和机械刺伤对茶芽挥发物及 PAL、PPO 酶活性影响[D]. 杭州: 中国农业科学院茶叶研究所, 2006.
- [5] CAETANO-ANOLLÉS G, CRIST-ESTES D K, BAUER W D. Chemotaxis of *Rhizobium meliloti* to the plant flavone luteolin requires functional nodulation genes[J]. J Bacteriol, 1988, 170(7): 3164-3169.
- [6] HARTWIG U A, PHILLIPS D A. Release and modification of *nod*-gene-inducing flavonoids from alfalfa seeds[J]. Plant Physiol, 1991, 95(3): 804-807.
- [7] 江昌俊, 余有本. 苯丙氨酸解氨酶的研究进展[J]. 安徽农业大学学报, 2001, 28(4): 425-430.
- [8] 曾永三, 王振中. 苯丙氨酸解氨酶在植物抗病反应中的作用[J]. 仲恺农业技术学院学报, 1999, 12(3): 56-65.
- [9] LOIS R, DIETRICH A, HAHLBROCK K, et al. A phenylalanine ammonia-lyase gene from parsley: Structure, regulation and identification of elicitor and light responsive *cis*-acting elements[J]. EMBO J, 1989, 8(6): 1641-1648.
- [10] TAKEDA J, OBI I, YOSHIDA K. Action spectra of phenylalanine ammonia-lyase and chalcone synthase expression in carrot cells in suspension[J]. Physiol Plant, 1994, 91(3): 517-521.
- [11] 徐建民. 尾叶桉纸浆材育种综合选择及改良研究[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2003.
- [12] 黄瑶, 田玉红, 刘雄民, 等. 尾叶桉叶精油的成分分析及抑菌效果初探[J]. 北方园艺, 2010(6): 26-28.
- [13] 杜何为, 蔡荣, 徐树德, 等. 克隆植物苯丙氨酸解氨酶基因通用引物的发掘与应用[J]. 河北农业科学, 2010, 14(7): 45-47.
- [14] SUH Y, VIJG J. SNP discovery in associating genetic variation with human disease phenotypes[J]. Mutat Res, 2005, 573(1): 41-53.
- [15] 张淑珍, 徐鹏飞, 吴俊江, 等. 大豆疫霉根腐病菌毒素处理抗感不同大豆品种后苯丙氨酸解氨酶活性的变化[J]. 作物杂志, 2008, 1: 47-49.
- [16] MOESTA P, GRISEBACH H. L-2-Aminoxy-3-phenyl-propionic acid inhibits phytoalexin accumulation in soybean with concomitant loss of resistance against *Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea*[J]. Physiol Plant Pathol, 1982, 21(1): 65-70.
- [17] 冯洁, 陈其焜. 棉株体内几种生化物质与抗枯萎病之间关系的初步研究[J]. 植物病理学报, 1991, 21(4): 291-297.
- [18] 郭文硕. 杉木对炭疽病的抗性与其苯丙氨酸解氨酶的关系[J]. 应用与环境生物学报, 2002, 8(6): 592-595.
- [19] 尚庆茂, 张志刚. 亚精胺对黄瓜幼苗灰霉病的诱抗作用[J]. 应用生态学报, 2008, 19(4): 825-830.
- [20] 吴龙火, 李庆, 杨群芳, 等. 禾谷缢管蚜取食 5 种山羊草的诱导抗性[J]. 中国农业科学, 2008, 41(1): 102-107.
- [21] HARTLEY S E, FIRN R D. Phenolic biosynthesis, leaf damage, and insect herbivory in birch (*Betula pendula*)[J]. J Chem Ecol, 1989, 15(1): 275-283.

【责任编辑 李晓卉, 李庆玲】