

# 多羟基双萘醛提取物对猕猴桃溃疡病菌的抑制作用

魏海娟, 刘 萍, 杨 燕, 吴云锋

(西北农林科技大学 植物保护学院, 陕西省农业分子生物学重点实验室,  
植保资源与病虫害治理教育部重点实验室, 陕西 杨凌 712100)

**【摘要】** **【目的】**探讨多羟基双萘醛提取物(WCT)对猕猴桃溃疡病菌(*Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*)的抑制作用。**【方法】**采用平板抑菌圈法和猕猴桃苗盆栽接菌的方法,测定 WCT 对猕猴桃溃疡病菌生长的抑制作用,并在 7 年树龄的猕猴桃树上进行田间药效试验,分析 WCT 对猕猴桃苗各处理的多酚氧化酶(PPO)与过氧化氢酶(POD)活性及病程相关蛋白的诱导情况。**【结果】**WCT 对猕猴桃溃疡病菌的抑制中浓度(EC<sub>50</sub>)为 11.5 mg/mL;猕猴桃苗接种 WCT 和病原菌后,其 PPO 和 POD 活性均保持在较高的水平,其中 WCT 预防处理的 PPO 和 POD 活性均较其他处理高;SDS-PAGE 电泳分析结果显示,WCT 处理和接种猕猴桃溃疡病原菌均可诱导产生分子质量为 35 ku 的蛋白。**【结论】**WCT 对猕猴桃溃疡病菌的生长有显著的抑制作用,通过在猕猴桃树上涂药可诱导寄主产生抗病性,进而减轻病害的发生。

**【关键词】** 多羟基双萘醛;猕猴桃溃疡病菌;多酚氧化酶;过氧化氢酶

**【中图分类号】** S663.4;S436.634.1 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-9387(2011)01-0126-05

## Antimicrobial Inhibition of polyhydroxy dinaphthaldehyde extracts (WCT) on *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* in kiwifruit

WEI Hai-juan, LIU Ping, YANG Yan, WU Yun-feng

(College of Plant Protection, Shaanxi Key Laboratory of Molecular Biology for Agriculture, Key Laboratory of Plant Protection Resources and Pest Management of Ministry of Education, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

**Abstract:** **【Objective】** The research was conducted to explore the antibacterial activity of WCT extracts of polyhydroxy dinaphthaldehyde against *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*. **【Method】** With inhibition zone method and kiwifruit seedling inoculated with *P. syringae* pv. *actinidiae* method to detect the inhibition effect of WCT on the growth of *P. syringae* pv. *actinidia*, a field experiment was conducted on 7-year-old kiwi trees. Polyphenol oxidase (PPO), peroxidase(POD) and pathogenesis-related protein activities induced by inoculation with WCT and *P. syringae* pv. *actinidiae* on kiwifruit were studied. **【Result】** The EC<sub>50</sub> value of WCT for *P. syringae* pv. *actinidiae* was 11.5 mg/mL. The activities of PPO and POD in kiwifruit increased significantly when inoculated with WCT and *P. syringae* pv. *actinidiae* and maintained at a high level throughout the experiment, in which WCT prevention activity of PPO and POD was higher than that of other treatments. Both WCT and *P. syringae* pv. *actinidiae* inoculation could increase the expression of a 35 ku protein in kiwifruit leaves. **【Conclusion】** WCT had a significant inhibition on *P. syringae* pv. *actinidiae* in petri dishes and field, and WCT induced the host producing resistance, hence reducing disease incidence.

\* [收稿日期] 2010-06-02

[基金项目] 公益性行业科研专项“生物源农药创制与技术集成及产业化开发”(200903052);陕西省农业攻关项目“陕西主要果树病害发生规律及控制技术研究”(2010K01-11);陕西省农业创新项目“猕猴桃细菌性溃疡病发生规律和防治研究”(2010NKC-08);高等学校学科创新引智计划项目(B07049)

[作者简介] 魏海娟(1983-),女,青海西宁人,硕士,主要从事植物病毒学研究。E-mail: weihaijuan\_a@163.com

[通信作者] 吴云锋(1960-),男,陕西乾县人,教授,博士,博士生导师,主要从事植物病毒学研究。E-mail: wuyf@nwsuaf.edu.cn

**Key words:** polyhydroxy dinaphthaldehyde; kiwifruit bacterial canker; polyphenol oxidase; peroxidase

猕猴桃溃疡病(Kiwifruit bacterial canker)是猕猴桃栽培过程中最具毁灭性的病害之一,其由丁香假单胞杆菌猕猴桃致病变种(*Pseudomonas syingae* pv. *actinidiae*)所引起,该病害在我国猕猴桃主要栽培地区,如陕西、四川、湖南、北京等地均有发生,其中陕西省猕猴桃栽培区的发生面积,在 1992—2002 年的 10 年间从 0.13 hm<sup>2</sup> 扩大到了 311.5 hm<sup>2</sup>,平均发病率从 3.6% 迅速增加到了 20% 以上,且继续呈蔓延趋势<sup>[1]</sup>。目前,生产中对猕猴桃溃疡病的防治多采用化学农药方法,但化学农药存在污染,因此亟待研究开发对环境无污染的植物源农药。多羟基双萜醛提取物(WCT)是从锦葵科植物中提取的一种具有高生物活性的物质<sup>[2]</sup>。研究表明,WCT 对烟草花叶病毒(TMV)具有体外钝化作用,并有提高烟草抗 TMV 浸染的能力<sup>[3]</sup>;还有研究发现,WCT 对西瓜花叶病、甜瓜花叶病、烟草花叶病、玉米病毒病和黄瓜霜霉病均有较好的防治作用<sup>[3-4]</sup>,但尚未见关于 WCT 抗细菌活性的报道。诱导抗性是利用致病菌、弱毒小种接种或化学物质激发植物的防卫基因,从而达到防病的效果,在实践上已有成功应用的报道<sup>[5-6]</sup>,例如水杨酸既是一种极具代表性的植物抗病蛋白诱导剂<sup>[7]</sup>,也是植物体内普遍存在的一种酚类化合物,能诱导植物提高抗病性。本研究通过皿内和大田试验,探讨 WCT 对猕猴桃溃疡病的抑菌作用,并从酶学和蛋白质学途径研究了其抑菌机理,以为猕猴桃溃疡病的生物防治提供参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 供试材料

丁香假单胞杆菌猕猴桃致病变种(*Pseudomonas syingae* pv. *actinidiae*),由西北农林科技大学植物病害综合防治实验室提供;多羟基双萜醛提取物(WCT),由西北农林科技大学植物保护学院病毒实验室提供;菌毒清,由山东胜邦绿野化学有限公司生产;农用链霉素,由青岛弘信化工科技有限公司生产;水杨酸(Salicylic acid, SA),由北京化学试剂厂生产。

### 1.2 WCT 对病原细菌的毒力测定

室内毒力测定采用抑菌圈法。用无菌水配置含病原菌细胞  $10^6 \sim 10^7$  mL<sup>-1</sup> 的菌悬液<sup>[8]</sup>,每皿加入菌悬液 1.5 mL,倒入约 12 mL 冷却的 NA 培养基,摇匀后制成平板。将 WCT、菌毒清和农用链霉素的

质量浓度均稀释成 2.5, 5, 10, 50 mg/mL。将直径为 1 cm 的消毒滤纸片放入药液内浸泡 1 h 后,取出放入平皿中,以无菌水浸泡滤纸为对照(CK),置于 25 ℃ 培养箱中培养,每处理重复 3 次。定期观察,测量抑菌圈直径,计算抑制率<sup>[9]</sup>。将抑制率换算成抑制概率,以设定药剂质量浓度为横坐标,以抑制概率为纵坐标作回归直线,得到各药剂对猕猴桃溃疡病菌的毒力回归方程及抑制中浓度(EC<sub>50</sub>)。

### 1.3 WCT 的田间药效试验

田间试验于 2008—2009 年在陕西杨凌示范区东卜村的猕猴桃果园进行。供试品种为“秦美”,树龄 7 年,共计 520 株,其中发生溃疡病的有 116 株。2008 年新发病率为 22.1%,总溃疡病伤口 172 处,其中主干 147 处,主枝 25 处。设置 A、B、C、D 4 个小区同时进行试验,每个小区 29 株。试验处理为 WCT 原液、农用链霉素原液和清水对照。施药前将发病部位的树皮用刀刮除,然后再涂抹药剂,每处理重复 5 次。于 2008-03-28 涂抹药剂,2009-03-15 进行调查,计算病斑愈合率和相对防效。

### 1.4 WCT 对猕猴桃叶片酶活性及匀浆蛋白的诱导作用

试验在西北农林科技大学植物病理学试验地进行,共设 8 个处理:① WCT 治疗组(先接菌后涂药);② WCT 预防组(先涂药后接菌);③ SA 预防组(先涂药 24 h 后接菌);④ SA 治疗组(先接菌后涂药);⑤ 对照组(只接菌);⑥ 健康对照组;⑦ 仅 WCT 处理组(不接菌);⑧ 仅 SA 处理组(不接菌)。病原细菌的接种方法采用针刺法,接菌后进行保湿培养<sup>[10]</sup>。在处理 1, 2, 4, 7, 9 d 随机取各处理的同一叶位叶片,保存于 -40 ℃ 冰箱。过氧化氢酶(POD)和多酚氧化酶(PPO)活性的测定参照文献<sup>[11]</sup>方法,用核酸蛋白分析仪进行测定,酶活性单位为 U/L。取处理②、⑤、⑥、⑦、⑧ 的叶片用于提取叶片匀浆蛋白<sup>[12]</sup>,用 SDS-PAGE 电泳检测是否有特异条带或条带量增加现象出现。

### 1.5 病程相关蛋白的质谱测定与数据分析

将目的蛋白送交北京大学进行质谱分析,得到肽段的肽指纹图谱(PMF)。然后用 Mascot 软件在 SwissProt 蛋白数据库中进行比对分析,将目的蛋白 PMF 在数据库检索的参数设置为:Database:SwissProt; Taxonomy: Viridiplantae (Green Plants); Peptide Mass Tolerance:  $\pm 100 \times 10^{-6}$ ; Enzyme:

Trypsin; Type of search; Peptide Mass Fingerprint; Fixed modifications; Carbamidomethyl (C); Variable modifications; Oxidation (M); Mass values; Monoisotopic。

## 2 结果与分析

### 2.1 WCT 对猕猴桃溃疡病菌的抑制效果

由表 1 可以看出, WCT 对猕猴桃溃疡病菌的生

表 1 多羟基双萘醛提取物(WCT)对猕猴桃溃疡病菌的抑制效果

Table 1 Bacterial inhibition effect of WCT on *P. syringae* pv. *actinidiae*

处理 Treatment	质量浓度/ (mg · mL <sup>-1</sup> ) Concentration	抑菌圈直径/cm Diameter				抑制率/% Inhibition rate	毒力方程 Toxicity regression equation	EC <sub>50</sub> / (mg · mL <sup>-1</sup> )
		1	2	3	平均 Average			
WCT	50	2.35	2.45	2.50	2.43	58.48	Y=0.413 7X+0.319 1	11.50
	10	2.05	2.10	2.15	2.10	51.90		
	5	1.85	1.90	1.92	1.89	46.59		
	2.5	1.55	1.60	1.57	1.57	35.79		
菌毒清 Junduqing	50	2.25	2.35	2.37	2.32	56.52	Y=0.467 9X+2.939 7	25.31
	10	1.75	1.65	1.72	1.71	40.79		
	5	1.55	1.60	1.60	1.58	36.20		
	2.5	1.50	1.50	1.55	1.52	33.41		
农用链霉素 Streptomycin	50	1.80	2.70	2.15	2.22	54.44	Y=0.172 0X+4.478 0	20.78
	10	1.85	2.05	1.80	1.90	46.84		
	5	1.83	1.73	1.80	1.78	43.35		
	2.5	1.65	1.25	1.60	1.50	32.67		
CK		1.01	1.01	1.01	1.01	0		

### 2.2 WCT 对猕猴桃溃疡病菌的田间药效试验

观察发现,在涂抹 WCT 的猕猴桃溃疡病的病疤部位,1 年后表现出明显的伤口愈合现象,伤口处形成了较厚的愈合层。田间药效试验结果(表 2)表

表 2 多羟基双萘醛提取物(WCT)对猕猴桃树溃疡病伤口愈合的影响

Table 2 Heal percentage result for WCT on kiwifruit

处理 Treatment	伤口愈合率/% Heal percentage in different area				平均 Average	相对防效/% Average efficiency
	A	B	C	D		
WCT	46.5	47.2	45.1	43.9	45.68	69.30
农用链霉素 Streptomycin	35.1	37.2	34.8	33.6	35.18	58.70
清水 Water	25.3	24.3	23.5	24.8	24.50	

### 2.3 WCT 对猕猴桃叶片 PPO 和 POD 活性的影响

由图 1 可见, WCT 预防和 WCT 治疗处理组猕猴桃叶片的 PPO 活性均于第 4 天达到最高值,其中 WCT 预防处理叶片的 PPO 活性于第 7 天降到最低值,之后又开始升高;而 WCT 治疗处理组叶片的 PPO 活性在第 2 天达到最低值后又开始升高,至第 4 天开始一直呈缓慢下降趋势;SA 预防处理组叶片的 PPO 活性在处理后的第 1,2,4,7 日均保持在较高的水平,于第 9 天降到最低;而 SA 治疗组叶片的 PPO 活性从第 2 天后一直保持升高趋势。从 PPO 相对值来看,第 4 天 WCT 预防组的 PPO 活性

长具有一定的抑制作用,随着 WCT 质量浓度的逐渐增加,其抑制率也不断增加。WCF 质量浓度为 2.5, 5, 10 和 50 mg/mL 时,其抑制率分别为 35.79%, 46.59%, 51.90%, 58.48%。WCT、菌毒清和农用链霉素的 EC<sub>50</sub> 分别为 11.50, 25.31, 20.78 mg/mL。在 WCT 的 4 个质量浓度处理中,以质量浓度为 50 mg/mL 时的抑菌效果最佳。

明,涂抹 WCT 后,伤口愈合率为 45.68%,相对防效为 69.30%,优于农用链霉素的伤口愈合率(35.18%)及其相对防效(58.70%),说明 WCT 对猕猴桃溃疡病有较好的防治效果。

较健康对照组高 61.36%,较发病对照高 47.49%,较 WCT 治疗组高 31.56%,较 SA 预防组高 33.16%,较 SA 治疗组高 62.44%。对于 POD 而言,第 1 天各处理叶片的 POD 活性水平基本保持一致,之后 WCT 预防组叶片的 POD 活性一直在升高,至第 7 天达到最高值,于第 9 天略有下降;WCT 治疗组叶片的 POD 活性在这 5 个时间段的变化均不是很大;SA 预防组和 SA 治疗组的变化趋势保持一致,均是在第 7 天达到最高值,于第 9 天有所下降。从 POD 相对值来看,WCT 预防处理组的 POD 活性在处理后的第 2,4,7,9 日均高于健康对照、发

病对照、WCT 治疗组、SA 预防组和 SA 治疗组,其中处理第 7 天时的 POD 活性分别较上述处理高

53.57%,44.30%,41.79%,27.74%和 23.45%。

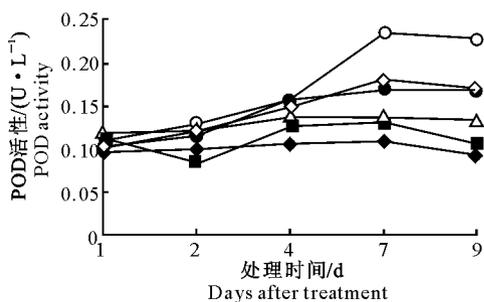
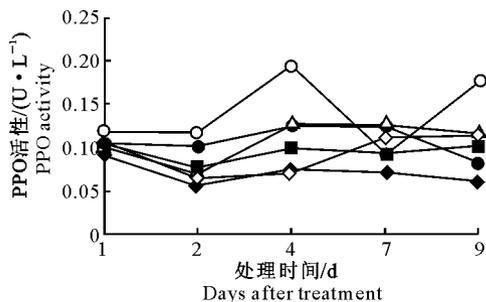


图 1 不同处理对猕猴桃叶片 PPO 和 POD 活性变化的影响

—◆—. 健康对照;—■—. 发病对照;—△—. WCT 治疗;—○—. WCT 预防;—●—. SA 预防;—◇—. SA 治疗

Fig. 1 Effect of the changes of PPO and POD activity with different treatments in kiwifruit leaves

—◆—. Healthy control;—■—. Disease control;—△—. WCT treatment;—○—. WCT prevention;—●—. SA prevention;—◇—. SA treatment

### 2.4 猕猴桃叶片匀浆蛋白的 SDS-PAGE 分析及序列鉴定

WCT 和 SA 处理猕猴桃叶片匀浆蛋白的 SDS-PAGE 电泳结果(图 2)表明,二者均出现了 1 条约 35 ku 的蛋白条带,并且该蛋白条带的表达量在第 1

~4 天有明显增加,以第 4 天的表达量最大,至第 7 天有所下降。在接种猕猴桃溃疡病菌的幼苗上,所有处理均出现了该蛋白带条,说明该蛋白由猕猴桃幼苗表达且与猕猴桃溃疡病的病程相关。

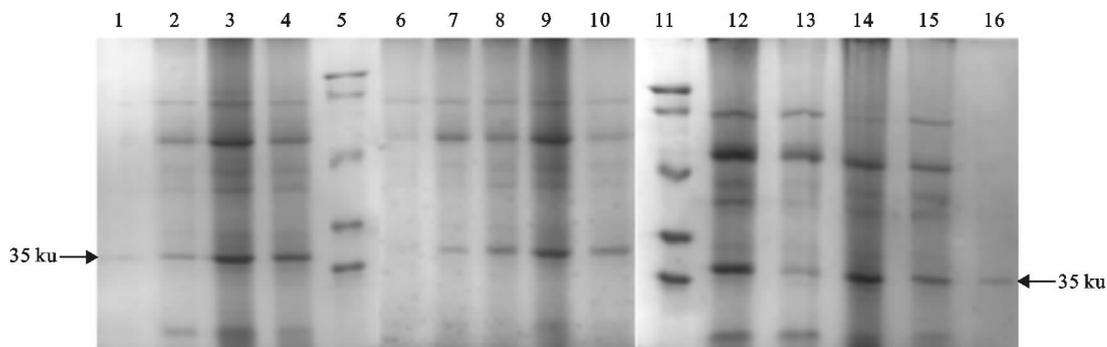


图 2 猕猴桃叶片匀浆蛋白的 SDS-PAGE 电泳分析

1~4. WCT 处理后第 1,2,4,7 天;6. 健康对照;7~10. SA 处理后第 1,2,4,7 天;12~15. WCT 处理叶片后接种猕猴桃溃疡病菌第 7,4,2,1 天;16. 接菌对照;5,11. Marker

Fig. 2 Vacuole basic-soluble protein bands of SDS-PAGE in kiwifruit leaves

1-4. Leaves 1,2,4,7 days respectively after treatment with WCT;6:Healthy control;7-10. Leaves 1,2,4,7 days respectively after treatment with SA;12-15. Leaves 7,4,2,1 days respectively after treatment with WCT+*P. syingae* pv. *Actinidiae*;16. Disease control;5,11. Marker

用 Mascot 软件将猕猴桃叶片匀浆蛋白的 PMF 在 SwissProt 蛋白数据库中进行比对分析,发现该蛋白的等电点为 7.88,理论分子质量为 35.234 ku,

由 317 个氨基酸组成(图 3)。它是一种猕猴桃水果蛋白,但其功能目前尚不明确。

```

1  MSITLSRPSL SRPSLSRHPS LTLHSSLSHAPPHRPAVFL RHPTLRYHHH GRLLSVASAI LQDTAIRQDT YIWTPVPISR
81  VLPAAAESLF KVIVDL.SRSP DLVYNFVSPG QYVQIRIPEAIVNPPRPAY FYIASPPSLV KKNLEFEFLI RSVPGTSEV
161 LCSLKEGDVV DLTOIGRGF DIEQILPPED YPTVLSIVTG YGMSAGRSFIEEGFGANKRS DVRLYYGAENLETMGYQERF
241 KDWEASGVRVIPVLSRPPPN WNGAVGYVQD VYLKDKPIAD PRTTGAVLIG NPNMVEETRG ILVAQGVSR E KILVTQD

```

图 3 猕猴桃叶片匀浆蛋白的序列分析

下划线部分表示匹配序列

Fig. 3 Sequence analysis of protein induced in kiwifruit leaves

Matched sequences are underlined

### 3 讨 论

本研究结果表明,猕猴桃溃疡病原菌对 WCT 有较强的敏感性。在室内 WCT 质量浓度为 50 mg/mL 时,其对猕猴桃溃疡病菌的生长具有较强的抑制作用,抑制率为 58.48%, $EC_{50}$  为 11.50 mg/mL,且均高于其他处理。田间药效试验结果表明,WCT 处理的伤口治愈率(45.68%)高于农用链霉素处理,且相对防效达到 69.30%。

POD 直接参与细胞壁的木质化和角质化、生长素代谢、受伤组织的栓化愈合及对病原的防御<sup>[13]</sup>。PPO 是含铜离子的酶,当细胞受轻微破坏时某些细胞结构解体,PPO 与底物接触发生反应,将酚氧化成棕褐色的醌,醌则对病原菌有毒杀作用<sup>[14]</sup>。本研究结果表明,WCT 和 SA 一样,均能提高 PPO 和 POD 的活性,而 PPO 和 POD 与植物的抗性密切相关,说明 PPO 和 POD 参与了猕猴桃对溃疡病的抗性反应。

本研究对 WCT 或 SA 处理后的匀浆蛋白进行 SDS-PAGE 电泳,发现在 WCT 和 SA 处理的幼苗上均出现 1 条 35 ku 的蛋白条带,并且其表达量较接菌对照大,在诱导并接菌后其表达量均有所增加,说明这种蛋白是寄主植物产生的且与猕猴桃对溃疡病的病程相关。在本研究中,WCT 和 SA 都诱导了同一种蛋白的表达,说明 WCT 和 SA 都能作为诱导剂诱导猕猴桃对溃疡病产生抗性,而且它们与这种蛋白有密切关系。由于对该蛋白的研究较少<sup>[15]</sup>,所以对其功能只能是一种推测,至于其如何发挥作用则需要作进一步研究。

WCT 来源于植物,属生物源农药,对动物低毒,对作物无毒副作用,可以用于绿色、无公害农作物与园艺作物的生产。中试产品历经 5 年(2005—2010 年),多羟基双萜醛提取物(WCT)在防治猕猴桃溃疡病的生产试验中初步取得了良好效果。本研究结果显示,WCT 对猕猴桃溃疡病菌也有抑制作用,说明其在防治猕猴桃溃疡病中有很大的应用潜力。

致谢:在本研究实施中,西北农林科技大学植物保护学院的黄丽丽教授提供了菌种和试验方案指导,谢芳琴农艺师给予了有力的技术帮助,在此深表谢忱。

#### [参考文献]

- [1] 刘丽珍,初冬,李有忠,等.猕猴桃细菌性溃疡病的危险性分析[J].灾害学,2007,22(4):91-94.  
Liu L Z,Chu D,Li Y Z,et al. Risk analysis of kiwifruit bacterial canker [J]. Journal of Catastrophology,2007,22(4):91-94. (in Chinese)
- [2] 张建新,吴云锋,崔晓峰,等. WCT 防治几种蔬菜病毒病的田间

药效试验 [J]. 西北农业大学学报,1999,27(6):192-195.

- Zhang J X,Wu Y F,Cui X F,et al. The field efficacy trials for control several vegetable virus [J]. Acta Universitatis Agriculturae Boreali-occidentalis,1999,27(6):192-195. (in Chinese)
- [3] 车海彦. 植物源抗病毒物质 WCT-II 作用机理及应用研究 [D]. 陕西杨凌:西北农林科技大学,2003.  
Che H Y. Research on application and antiviral mechanism of WCT-II Extracted from the plant [D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University,2003. (in Chinese)
- [4] 周新民,吴云锋,樊兵,等. 多羟基双萜醛的抑菌活性及对寄主酶活性的影响 [J]. 西北农业学报,2003,12(4):32-34.  
Zhou X M,Wu Y F,Fan B,et al. Antifungal activities of Polyhydroxy Dinaphthaldehyde and its effect on host enzymes [J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica,2003,12(4):32-34. (in Chinese)
- [5] Cohen Y. Beta-Aminobutyric acid-induced resistance against plant pathogens [J]. Plant Disease,2002,86(5):448-457.
- [6] Pajot E,Le Corre D,Silue D. Phytogard(r) and DL- $\beta$ -amino butyric acid (BABA) induce resistance to downymildew (*Bremia lactucae*) in lettuce (*Lactucasativa* L.) [J]. European Journal of Plant Pathology,2001,107(9):861-869.
- [7] Rasmussen J R. Systemic induction of salicylic acid accumulation in cucumber after inoculation with *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* [J]. Plant Physiol,1991,97:1342-1347.
- [8] 顾任勇,张丽,傅伟昌,等. 芭蕉汁的抑菌作用 [J]. 食品与发酵工业,2005,31(3):57-59.  
Gu R Y,Zhang L,Fu W C,et al. Study on bacteriostasis of Bajiao juice [J]. Food and Fermentation Industries,2005,31(3):57-59. (in Chinese).
- [9] 孙广宇,宗兆锋. 植物病理学实验技术 [M]. 北京:中国农业出版社,2002:143-144.  
Sun G Y,Zong Z F. Plant pathology experimental technique [M]. Beijing: Chinese Agriculture Press,2002:143-144. (in Chinese)
- [10] 盛存波. 陕西猕猴桃细菌性溃疡病的生物防治初步研究 [D]. 陕西杨凌:西北农林科技大学,2006.  
Sheng C B. The preliminarily research on biocontrol or kiwifruit bacterial canker in Shaanxi [D]. Yangling, Shaanxi, Northwest A&F University,2006. (in Chinese)
- [11] 张建新,吴云锋,樊兵. 多羟基双萜醛提取物 WCT 抗病毒的生理病理学研究 [J]. 植物病理学报,2005,35(6):514-519.  
Zhang J X,Wu Y F,Fan B. Antiviral physiopathology of WCT extracts of polyhydroxy dinaphthaldehyde [J]. Acta Phytopathological Sinica,2005,35(6):514-519. (in Chinese)
- [12] 车海彦,吴云锋,杨英,等. 植物源病毒抑制剂 WCT-II 控制烟草花叶病毒(TMV)的作用机理初探 [J]. 西北农业学报,2004,13(4):45-49.  
Che H Y,Wu Y F,Yang Y,et al. A preliminary study on the mechanism to tobacco mosaic virus (TMV) controlled by antiviral agent WCT-II from plants [J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica,2004,13(4):45-49. (in Chinese)