

转截短 *hpa1*_{Xoo} 基因烟草抗病防御酶活性分析

韩媛媛, 常亚文, 姚舒, 毛念, 纪兆林* (扬州大学园艺与植物保护学院, 江苏扬州 225009)

摘要 [目的]探讨转截短 *hpa1*_{Xoo} 基因烟草中与抗病性有关的 5 种防御酶的活性变化。[方法]以转截短 *hpa1*_{Xoo} 基因烟草 A6-1 和对应的非转基因烟草 Xanthi 叶片为材料, 接种烟草花叶病毒(TMV), 测定苯丙氨酸解氨酶(PAL)、多酚氧化酶(PPO)、过氧化物酶(POD)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)的活性。[结果]未接 TMV 时, 转截短 *hpa1*_{Xoo} 基因烟草中 POD、PPO 和 CAT 酶活性均高于未转基因对照品种, 而 SOD 和 PAL 活性与未转基因烟草无显著差异。接种 TMV 后, 转截短 *hpa1*_{Xoo} 基因烟草中 5 种防御酶活性均显著增加, 且高于未转基因烟草, 并维持在一个较高的水平。[结论]截短的 *hpa1*_{Xoo} 基因在烟草中表达能显著提高其抗病防御酶活性水平。

关键词 转基因烟草; *hpa1*_{Xoo} 基因; harpin_{Xoo} 蛋白; 防御酶活性; 烟草花叶病毒

中图分类号 S572 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2013)22-09197-03

The Defense Enzyme Activity in Transgenic Truncated *hpa1*_{Xoo} Gene Tobacco

HAN Yuan-yuan et al (College of Horticulture and Plant Protection, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009)

Abstract [Objective] The study aimed to explore the 5 kinds of defense enzyme activities in transgenic truncated *hpa1*_{Xoo} gene tobacco. [Method] The activities of phenylalanine ammonia lyase (PAL), polyphenol oxidase (PPO), peroxidase (POD), superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) were evaluated on leaf tissue of transgenic truncated *hpa1*_{Xoo} gene tobacco variety A6-1 and the corresponding non-transgenic tobacco variety Xanthi after tobacco mosaic virus (TMV) infection. [Result] Under TMV uninoculated condition, the POD, PPO and CAT activities of transgenic truncated *hpa1*_{Xoo} gene tobacco were higher than those of non-transgenic tobacco, while the SOD and PAL activity differences between the two varieties were not significant. After TMV inoculation, all the 5 defense enzyme activities of transgenic truncated *hpa1*_{Xoo} gene tobacco increased significantly, and greater than those of the non-transgenic tobacco, and maintained at a higher level. [Conclusion] Transformed tobacco with truncated *hpa1*_{Xoo} gene can significantly enhance the defense enzyme activities in tobacco leaves.

Key words Transgenic tobacco; *hpa1*_{Xoo} gene; harpin_{Xoo} protein; Defense enzymes activity; TMV

植物发生病害的严重程度和抗病性与植物机体防御酶活性的变化有着密切的关系, 其中涉及活性氧清除酶类: 超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶 (catalase, CAT) 和过氧化物酶 (peroxidase, POD), 及次生代谢有关酶类: 多酚氧化酶 (polyphenol oxidase, PPO) 和苯丙氨酸解氨酶 (phenylalanine ammonia lyase, PAL)^[1]。革兰氏阴性植物病原细菌 III 型分泌系统分泌的 harpin 蛋白一直是植物病害生物防治中的研究热点。Harpins 是一类非专化性激发子, 能诱导烟草等非寄主产生过敏性反应 (hypersensitive response, HR) 和诱导植物产生系统抗病性^[2-5]。水稻白叶枯病菌 (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, Xoo) harpin 蛋白^[6] 编码基因 *hpa1*_{Xoo} 的截短 N-端 AB 片段表达的多肽在植物体外施用和体内表达都和全长 harpin 蛋白具有相似的 HR 和抗病表型^[7-8]。截短的 AB 片段具有重要的抗病生物功能, 因此深入研究 AB 片段的抗病机制具有重要意义。该试验以转截短 AB 基因烟草为研究材料, 分析在烟草体内表达的 AB 多肽对抗病相关防御酶活性的影响, 进一步解析其在生理生化上的抗病机制, 为 harpin 的功能结构及抗病分子机制提供理论解释, 也为构建具有 harpin 功能的高效多肽及其应用奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料 转基因烟草受体品种为三生烟 (*Nicotiana tabacum* L. “Xanthi”)

转 *hpa1*_{Xoo} 截短 AB 基因烟草材料为 A6-1 T₃ 代株系。构建的 AB 转化载体携带有 35S 启动子和 *npt-II* 基因。待测的烟草材料均在 25 °C 恒温室中生长, 所有测试均在烟草 7~8 叶期进行, 植株中间的叶片 (第 3~6 叶) 被用于试验研究。

1.2 菌株接种方法 供试烟草花叶病毒 (TMV) 由实验室保存。取 1 g TMV 病叶组织置于灭菌后冷却的研钵中, 加入 1.5 ml 病毒接种物配制液 1% K₂HPO₄ 和 Na₂SO₃ 的混合液 (1 g K₂HPO₄ 和 0.1 g Na₂SO₃ 溶于 100 ml 冷冻的灭菌超纯水中, 摇匀, 4 °C 保存), 研磨成匀浆, 细纱布过滤获得滤液, 即为接种液, 4 °C 保存备用。采用摩擦接种法^[9] 接种, 接种后的叶片用自来水轻轻冲洗, 将试验植株置于 25 °C 隔离恒温室中培养。

1.3 酶液提取方法 取 TMV 接种前 (0 h) 和接种后 1、3、5、7、10 h 的烟草叶片, 去掉叶脉, 置于预冷的研钵中, 加 3 倍于样品量的 0.1 mol/L 缓冲液、少许 1% 聚乙烯吡咯烷酮和少量石英砂, 在冰浴中研磨匀浆, 于 4 °C 下 10 000 r/min 离心 20 min, 上清液即为酶提取液, -20 °C 保存备用, 用于酶活性测定。每处理 3 次重复。其中 POD、PPO、CAT 酶液提取缓冲液为 pH 6.8 磷酸盐缓冲液; SOD 为 pH 7.8 磷酸盐缓冲液; PAL 为含 5 mmol/L β-巯基乙醇的 pH 8.8 硼酸盐缓冲液。

1.4 酶活性测定

1.4.1 过氧化物酶 (POD) 活性测定。 采用愈伤木酚法^[10] 进行测定, 有修改。以愈伤木酚为反应底物, 反应体系包括 2.8 ml pH 6.8 的磷酸盐缓冲液, 1 ml 0.1% 邻甲基苯酚, 0.01 ml 酶液和 0.20 ml 0.3% H₂O₂ 溶液, 对照用缓冲液替代酶液, 于 60 min 时在 470 nm 下测 OD 值。以每分钟 OD₄₇₀ 变化

基金项目 江苏省大学生实践创新训练计划项目 (2012JSSPTP1391); 扬州大学高层次人才科研启动基金资助项目 (02749-83014811); 国家自然科学基金资助项目 (31101475)。

作者简介 韩媛媛 (1990-), 女, 江苏响水人, 本科, 专业: 植物保护, E-mail: 455394336@qq.com。* 通讯作者, 副教授, 博士, 硕士生导师, 从事植物病害生物防治及分子植物病理学研究, E-mail: zhlij@163.com。

收稿日期 2013-07-24

0.01 为 1 个酶活性单位(U)。

1.4.2 多酚氧化酶(PPO)活性测定。按朱广廉等^[10]的方法进行测定,略有修改。反应体系包括 3 ml 10 mmol/L 的邻苯二酚,0.05 ml 酶液,3 ml pH 6.8 的磷酸盐缓冲液,于 398 nm 处测 2 min 内吸光度值的变化,对照用缓冲液替代酶液,以每秒 A_{398} 变化 0.01 为 1 个酶活性单位(U)。

1.4.3 超氧化物歧化酶(SOD)活性测定。用氮蓝四唑(NBT)光还原法^[11]进行测定,稍加修改。测定反应体系含 13 mmol/L 的 Met,75 μ mol/L 的 NBT、10 μ mol/L 的 EDTA- Na_2 、2 μ mol/L 的核黄素和 50 mmol/L pH 7.8 的磷酸缓冲液,在 25 $^{\circ}\text{C}$ 下 4 000 lux 光照 20 min 后,测定 560 nm 处的吸光值。用缓冲液代替酶液的处理作空白对照,以抑制 NBT 光化还原 50% 的酶液量为 1 个酶活性单位(U)。SOD 活性 = 2 (A_{560} 空白 - A_{560} 处理) \times 稀释倍数 / A_{560} 空白。

1.4.4 苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性测定。参照汤章城等^[12]的方法进行测定。以 L-苯丙氨酸为反应底物,反应体系包括 0.1 mol/L pH 8.8 硼酸盐缓冲液,L-苯丙氨酸浓度为 15 mol/L,酶提取液 0.10 ml。以 A_{290} 变化 0.01 为 1 个酶活性单位(U)。

1.4.5 过氧化氢酶(CAT)活性测定。用分光光度法^[13]进行活性测定。反应液中加入 3 ml 50 mmol/L 磷酸缓冲液,1 ml 0.3% H_2O_2 和 0.1 ml 酶液,在 240 nm 下测定其吸光度值。以每分钟吸光度值改变 0.1 为 1 个酶活性单位(U)。

1.5 数据分析 数据均采用 SAS 软件(The SAS Institute, Cary,NC,USA)和 Excel 软件进行处理和分析。

2 结果与分析

2.1 POD 酶活性变化 图 1 显示在 0 h 转基因烟草 A6-1 叶组织中的 POD 活性高于出发品种 Xanthi。在接种 TMV 后,转基因烟草中 POD 活性迅速上升,3 h 时活性达最高,显著高于出发品种,5 h 时活性降低至略低于出发品种,但之后活性又呈上升趋势,10 h 时增至新的水平。而出发品种 0~5 h 间 POD 活性呈缓慢上升趋势,5 h 后 POD 活性显著下降,10 h 时降低至最低点。POD 活性的动态变化说明 *hpal*_{Xoo} 截短 AB 片段组成性表达已赋予转基因烟草高于出发品种的抗性特征。

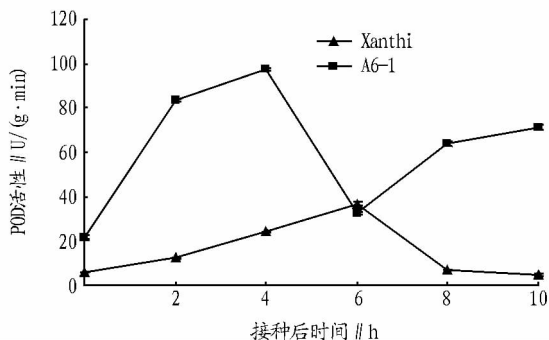


图 1 烟草叶片接种 TMV 后 POD 活性的动态变化

2.2 PPO 酶活性变化 如图 2 所示,在 0 h 转基因烟草叶组织中的 PPO 活性高于出发品种。在接种 TMV 后,转基因烟草中 PPO 活性先增加(1 h)后降低(3 h),3 h 后急剧上升

至最高水平(5 h),5 h 后呈缓慢下降趋势,但仍维持在较高的水平,在 1 h 和 5 h 处呈现 2 个峰值,在测试时间段(1~10 h)转基因烟草 PPO 活性均显著高于出发品种 Xanthi。而出发品种与转基因烟草品种不同,PPO 活性先呈下降趋势,后缓慢上升,5 h 时达较高水平,但活性低于 0 h,之后总体呈下降趋势。因此,接种 TMV 后,转基因烟草 PPO 活性响应幅度大,活性水平高,而出发品种 PPO 活性总体降低,并维持在一个较低的水平。

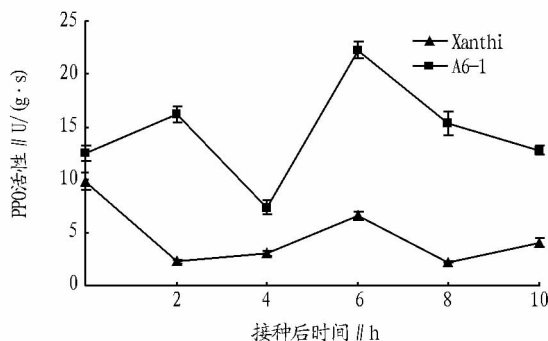


图 2 烟草叶片接种 TMV 后 PPO 活性的动态变化

2.3 SOD 酶活性变化 从图 3 可看出,在 0 h 转基因烟草叶组织中的 SOD 活性与出发品种 Xanthi 基本一致。而在接种 TMV 后,两者 SOD 活性都呈上升趋势,在 5 h 活性达高峰,5 h 后开始下降,在 10 h 的活性仍高于未接种(0 h)时的水平。虽然两者 SOD 活性变化趋势一致,但转基因烟草中 SOD 活性一直显著高于未转基因出发品种。

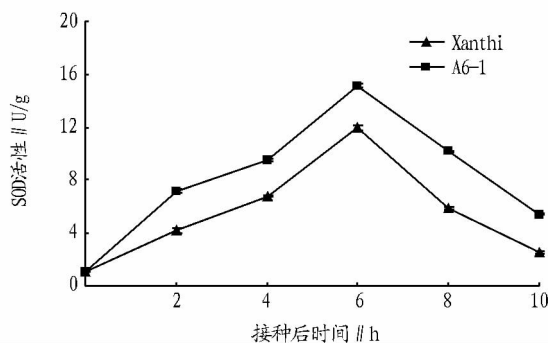


图 3 烟草叶片接种 TMV 后 SOD 活性的动态变化

2.4 PAL 酶活性变化 PAL 是植物中苯丙烷代谢途径的关键限速酶,在植物的抗病反应中起着十分重要的作用。如图 4 所示,接种 TMV 前(0 h),转基因烟草叶片中 PAL 活性略高于未转基因烟草 Xanthi,但两者间差异不显著。接种 TMV 后,转基因烟草叶片中 PAL 活性先升高,在 3 h 达最高峰,3 h 后开始降低,但 10 h 时又上升到一个较高的水平。出发品种中 PAL 活性变化趋势与转基因烟草基本相似,也在 3 h 达高峰,3 h 后开始下降,后维持在一个较低的水平。接种 TMV 后,转基因烟草中 PAL 活性均显著高于对照出发品种。

2.5 CAT 酶活性变化 如图 5 所示,在 0 h 转基因烟草叶组织中的 CAT 酶活性显著高于出发品种。接种 TMV 后,转基因烟草叶片中 CAT 酶活性迅速增加,5 h 到达最高峰,5 h 后开始降低。出发品种中 CAT 酶活性变化趋势与转基因烟

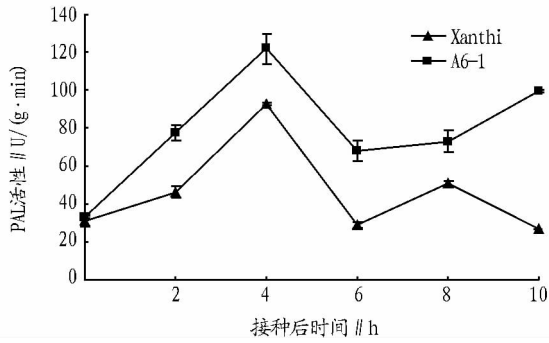


图4 烟草叶片接种 TMV 后 PAL 活性的动态变化

草基本一致,也是在 5 h 达最大,但活性增加和降低幅度很小,显著低于转基因烟草品种。

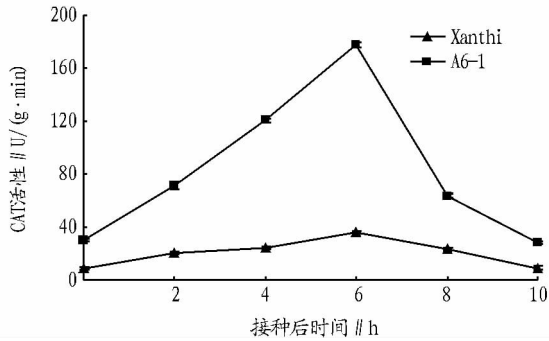


图5 烟草叶片接种 TMV 后 CAT 活性的动态变化

3 讨论

5 大防御酶系与植物抗性密切相关,防御酶活性通常是衡量植物抗病性的生化指标,是鉴定抗病性的辅助手段。PAL 是植物苯丙烷类代谢途径的关键酶和限速酶,它催化苯丙氨酸脱氨基后产生肉桂酸并最终转化为木质素,是与植保素、木质素等抗性物质生成和沉积密切相关的防御酶^[14],因此 PAL 活性升高是植物抗病性的重要生化特征。POD 是细胞内重要的内源性活性氧清除剂,同时也参与木质素在细胞壁上的积累,在植物机体防御体系中起重要作用。植物感病后 POD 活性通常会增高,并且抗病品种 POD 活性比感病品种增加幅度快^[15-16]。PPO 可将多酚类物质氧化为对病原菌毒性更大的醌类化合物,钝化病原物的呼吸酶,阻碍病原物的生长和扩展^[17]。SOD 和 CAT 是植物细胞内重要的活性氧清除剂,SOD 的生理作用是歧化 O_2^- 产生 H_2O_2 和 O_2 ,一般接种病菌后,抗病品种的 SOD 活性增长明显大于感病品种,均表现为先升高后降低,SOD 活性与品种抗性呈正相关^[18-20]。CAT 可将 H_2O_2 还原为 H_2O 和 O_2 ,CAT 活性升高或 H_2O_2 含量降低意味着活性氧对植物细胞伤害程度的降低,一般来说,抗性品种 CAT 活性高于感病品种,接菌后抗性品种 CAT 活性显著增加^[13,20-21]。

体外表达的 harpin_{Xoo} 蛋白处理烟草后,烟草叶片中 PAL、POD 和 PPO 活性都有不同程度的增强,从而使植株获得抗病性^[22]。harpin_{Xoo} 在棉花体内表达,接种黄萎病菌后,叶片组织中 PAL 和 POD 活性显著增强,赋予了转基因棉花对黄萎病菌的抗性^[23]。而在 harpin 编码基因功能片段的抗病机

制研究方面,国内外鲜有报道。该试验研究表明,转 *hpa1_{Xoo}* 基因截短 AB 片段的烟草在接种 TMV 后,PAL、PPO、POD、SOD、CAT 5 种防御酶活性都快速增加,活性水平和变化幅度都明显高于未转基因的出发品种,说明 AB 片段也具有重要的生物功能,赋予植物抗病性。

研究转基因烟草接种病菌后防御酶活性变化,有助于深入研究抗病机理,为 harpin 蛋白及其截短多肽片段的应用提供理论基础。植物的抗病生理生化机制很复杂,植物体内正常情况下保护酶系处于平衡状态,而经病原物诱导后活性大幅提高,特别是转基因烟草中防御酶响应迅速,活性增加幅度显著高于出发对照品种,说明转入的 *hpa1_{Xoo}* 基因 AB 片段赋予了转基因烟草快速应答病原菌侵染的能力,敏感性增加。

参考文献

- [1] 宋瑞芳,丁永乐,官长荣,等.烟草抗病性与防御酶活性间的关系研究进展[J].中国农学通报,2007,23(5):309-314.
- [2] WEI Z M, LABY R J, ZUMMOFF C H, et al. Harpin, elicitor of the hypersensitive response produced by the plant pathogen *Erwinia amylovora* [J]. Science, 1992, 257: 85-88.
- [3] ALFANO J R, COLLMER A. The Type III (Hrp) secretion pathway of plant pathogenic bacteria; trafficking harpins, avr proteins, and death [J]. Journal of Bacteriology, 1997, 179: 5655-5662.
- [4] HE S Y, HUANG H C, COLLMER A. *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* harpin_{ps}: a protein that is secreted via the hrp pathway and elicits the hypersensitive response in plants [J]. Cell, 1993, 73: 1255-1266.
- [5] DONG H, DELANEY T P, BAUER D W, et al. Harpin induces disease resistance in *Arabidopsis* through the systemic acquired resistance pathway mediated by salicylic acid and the *NIM1* gene [J]. Plant Journal, 1999, 20: 207-215.
- [6] 闻伟刚,王金生.水稻白叶枯病菌 harpin 基因的克隆与表达[J].植物病理学报,2001,31(4):295-300.
- [7] 李平.水稻黄单胞菌(*Xanthomonas oryzae*)无毒基因 *avrXa3* 的克隆与鉴定以及过敏性反应激发子 Hrf 蛋白遗传多样性和功能域的研究[D].南京:南京农业大学,2002.
- [8] 孟凡宏,宋从凤,纪兆林,等.表达全长与截短 Harpin_{Xoo} 对转基因烟草抗病性的影响[J].南京农业大学学报,2007,30(3):47-52.
- [9] 方中达.植病研究方法[M].3版.北京:中国农业出版社,1998.
- [10] 朱广廉,钟文海,张爱琴.植物生理实验[M].北京:北京大学出版社,1991.
- [11] 邹琦.植物生理生化实验指导[M].北京:农业出版社,1991.
- [12] 汤章城,王国强,史益敏,等.现代植物生理学实验指南[M].北京:科学出版社,1999.
- [13] 魏颖颖,王凤龙,钱玉梅,等.烟草与黄花叶病互作中过氧化氢酶活性的动态变化[J].植物病理学报,2005,35(4):359-361.
- [14] 王海河,林奇英,谢辉辉,等.黄花叶病毒三个毒株对烟草细胞内防御酶系统及细胞膜通透性的影响[J].植物病理学报,2001,31(1):43-49.
- [15] JOSEPH L M, TAN T K, WONG S M, et al. Antifungal effects of hydrogen peroxide and peroxidase on spore germination and mycelial growth of *Pseudoecerospora species* [J]. Canadian Journal of Botany, 1998, 76(12): 2119-2124.
- [16] 汤会君,张俊华,魏向峰.不同抗性烟草品种感染 *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* 病菌后几种酶活性测定[J].东北农业大学学报,2005,36(4):30-34.
- [17] 郭红莲,程根武,陈捷,等.玉米灰斑病抗性反应中酚类物质代谢作用的研究[J].植物病理学报,2003,33(4):342-346.
- [18] 董汉松.超氧化物歧化酶及其与植物的抗病性[C]//植物诱导抗性原理和研究.北京:科学出版社,1995:56-57.
- [19] 房保海,张广民,迟长风,等.烟草低头黑病病菌毒素对烟草丙二醛含量和某些防御酶的动态影响[J].植物病理学报,2004,34(1):27-31.
- [20] 孔凡明,杨光,陈学平,等.烟草与 TMV 不同互作体系中的活性氧及抗氧化酶系活性比较[J].安徽农业大学学报,2002,29(3):217-223.

施,以取得弘扬地方文化、振兴本土经济、提供当地居民就业等多赢的结果。但是,以这些手段策略实现城镇形象更新和经济复兴的同时,也应考虑到当地居民的文化诉求,不能得到当地居民认同的城镇文化导向策略是不可持久的。在某些方面,正是由于许多地区此类城镇更新策略的缺失,导致了人口的迁移与流动现象加剧,地区间、城镇间经济发展和人才分布的极度不均衡,大城市和特大城市也越发“高碳”。

国内学者曾提出,自己的和本地的城市才可能是低碳的。假设人人都有一个属于自己的城市,一个属于自己的在城市中的家。这个家,人们不需要再为了定期探望父母和孩子长距离旅行,不需要为上下班和孩子上学奔波劳累。这样的整体和局部都流动性最小的城市,才可能是理想中的生态、环保、低碳的城市^[19]。

4.4 城镇低碳生活方式的倡导与推广 培养低碳环保理念和宣传低碳生活方式是低碳生态城镇应有之义。应引导公众尊重自然,弘扬“天人合一”的传统理念,对浪费能源、增排污染的消费模式和生活方式予以杜绝,转变对人居空间环境“贪大求洋”、“炫富奢华”的夸富攀比心态,让城镇居民真正体会到低碳生活带来的好处,让低碳的生活成为城镇的名片。在住宅建设方面,采取“因职置换、以业定居”,消解上班族钟摆式“上班一回家”模式;寻求和使用“废水、废气、地热”等资源能源,促进建筑业与低碳产业的融合,如推广住宅小区太阳能路灯和景观照明;倡导居住空间的低碳环保装饰,转换生态审美理念;使用节能灯和节能家用电器等;推行健康生态出行,减少对私家车的依赖,鼓励步行、骑自行车或者使用公共交通^[20]。

5 结论

无论是哪一种理念策略,哪一种应用实践,都是为了构建低碳生态、环保的城镇文明来应对快速城镇化所带来的一系列弊端,以实现新型城镇化健康发展的最终目标。总而言之,健康的城镇才能哺育健康的城镇居民。

5.1 使低碳成为一种全民文明意识 从当代中国所面临的严峻形势看,为避免经济建设和能源基础设施建设在其生命周期内的锁定效应,把低碳经济的发展模式纳入国家发展战略视野,从前瞻、长远和全局的角度,部署低碳经济的发展思路势在必行。在低碳经济逐渐变为全球意志的过程中,中国作为世界上最大的发展中国家,无论是在国家层面、社会层面还是在公众层面,都应努力实现低碳模式制度化、低碳文明社会化、低碳参与公众化,在这样一种低碳社会文明之下实现健康城镇化。

5.2 低碳城镇建设应采取相向交互模式 实现低碳,建设

健康低碳城镇有诸多途径,但需要所有人共同协作来完成。德国鲁尔工业区在经历转型的过程中由州政府投资设立环境保护机构,颁布环境保护法令,提出在公园中就业的理念,统一规划,进行环境修复^[21]。北京 798 则是自下而上发展起来的,而非由政府主导规划完成的。很多艺术家聚在一起,把这个昔日的旧工厂改造成了艺术殿堂,既实现了低碳,又实现了运行费用的低成本化。

因此,城镇的健康应是自上而下和自下而上两种模式相互结合而实现的,城镇健康,城镇居民的幸福指数才能提升。2010 年在上海举行的以城市为主题的世博会的英文口号“better city, better life”也更加贴切地反映出城市和人民生活的根本联系:城市更美好,生活才会更美好。

参考文献

- [1] 易鹏. 低碳真相[M]. 北京:中信出版社,2010.
- [2] 张京祥. 对我国低碳城市发展风潮的再思考[J]. 规划师,2010,26(5):5-8.
- [3] COUCH C, FRASER C, PERCY S. Urban Regeneration in Europe[M]. Oxford: Blackwell, 2003.
- [4] 王建国, 王兴平. 绿色城市设计与低碳城市规划——新型城市化下的趋势[J]. 城市规划, 2011, 35(2): 20-21.
- [5] 大卫·柏林伯格. 美国城市化与郊区化的反思[C]//中国城市化论坛: 低碳城市化: 我们能做什么. 北京, 2010.
- [6] 九三学社. 政府报告: 关于全面发展绿色建筑的建议[R]. 北京, 2010.
- [7] 刘太格. 21 世纪经济报道: 低碳项目等同于低碳城市是误区[R]. 北京, 2011.
- [8] 李迪华. 自己的和本地的城市才可能是低碳的[C]//中国城市化论坛: 低碳城市化: 我们能做什么. 北京, 2010.
- [9] 林姚宇, 吴佳明. 低碳城市的国际实践解析[J]. 国际城市规划, 2005(1): 121-124.
- [10] 孟德拉斯. 农民的终结[M]. 李培林, 译. 北京: 社会科学文献出版社, 2005.
- [11] 吕新雨. 新乡土主义, 还是城市贫民窟? [C]//“另一半的世界——都市贫民的生活现实”沙龙活动. 上海, 2010.
- [12] 文剑钢, 文瀚梓. 新型城镇化的基本问题探讨——以苏南城镇化与乡村风貌保护为例[J]. 现代城市研究, 2013(6): 9-19.
- [13] 马清运. 都市化不是万能药[R]. 2009.
- [14] MULLINIX K, HENDERSON D, HOLLAND M, et al. Agricultural urbanism and municipal supported agriculture: a new food system path for sustainable cities[R]. White Paper Submitted for the Surrey Regional Economic Summit, 2008.
- [15] TWINN C. BedZED[J]. The ARUP Journal, 2003(1): 10.
- [16] 单霁翔. 从“功能城市”走向“文化城市”发展路径辨析[J]. 文艺研究, 2007(3): 41-53.
- [17] 吴良镛. 从“亚洲特色”到“城市复兴”[J]. 建筑学报, 2006(9): 6-7.
- [18] BIANCHINI F, PARKINGSON M. Cultural Policy and Urban Regeneration: The West Europe Experience[M]. Manchester: Manchester University Press, 1993.
- [19] FRITH S. Knowing one's place: the culture of cultural industry[J]. Cultural study from Birmingham, 1991(1): 135-155.
- [20] 刘军. 国外低碳城市的建设经验及对我国城市化的启示[J]. 科技进步与对策, 2010, 27(22): 60-63.
- [21] 刘伯英, 陈挥. 走在生态复兴的前沿——德国鲁尔工业区的生态措施[J]. 城市环境设计, 2007(5): 24-27.

(上接第 9199 页)

[21] 柯玉琴, 潘廷国, 方树民. 青枯菌侵染对烟草叶片 H₂O₂ 代谢、叶绿素荧光参数的影响及其与抗病性的关系[J]. 中国生态农业学报, 2002, 10(2): 36-39.

[22] 闻伟刚, 邵敏, 陈功夫, 等. 水稻白叶枯病菌蛋白质激酶 harpin_{Xoo} 诱导植物的防卫反应[J]. 农业生物技术学报, 2003, 11(2): 192-197.

[23] 缪卫国, 宋从凤, 乔子辰, 等. 转 hpaI_{Xoo} 基因棉花活性氧产生及防卫相关基因的表达[J]. 南京农业大学学报, 2011, 34(2): 61-66.