

西芹根物质四次酮层物对黄瓜枯萎病菌细胞壁降解酶活性及镰刀菌酸含量的影响*

高晓敏 马立国 郝 静 潘 静 李 杰 云兴福**

(内蒙古农业大学农学院, 呼和浩特 010019)

摘 要 为了探讨西芹根物质中化感物质对黄瓜枯萎病菌生理生化的作用,本研究对西芹根物质丙酮浸提液进行4次柱层析,每次层析后均进行化感效果测定,以化感抑制效果筛选每次层析最佳流分;然后将最佳流分和黄瓜枯萎病菌在液体培养基条件下进行共培养,144 h后测定黄瓜枯萎病菌分泌的3种细胞壁降解酶活性以及镰刀菌酸的含量。结果表明:西芹鲜根及根际土丙酮浸提液4次层析物每次层析获得的最佳流分均能抑制黄瓜枯萎病菌的生长;随层析次数的增加细胞壁降解酶活性和镰刀菌酸含量呈下降趋势,且细胞壁降解酶活性和镰刀菌酸含量较对照差异显著;相关性分析结果显示,各层析物化感抑制效果与果胶酶和 β -葡萄糖苷酶的活性呈显著负相关,与镰刀菌酸含量无显著相关关系。

关键词 西芹根物质;酮层物;细胞壁降解酶;镰刀菌酸;黄瓜枯萎病菌

中图分类号 Q938 **文献标识码** A **文章编号** 1000-4890(2014)12-3388-07

Effects of acetone chromatography extracts of parsley root materials on the cell wall degrading enzymes activities and fusaric acid contents of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*. GAO Xiao-min, MA Li-guo, HAO Jing, PAN Jing, LI Jie, YUN Xing-fu** (College of Agronomy, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010019, China). *Chinese Journal of Ecology*, 2014, 33(12): 3388–3394.

Abstract: The acetone extracts of parsley root materials obtained by four times column chromatography were used for exploring the effects of allelochemicals in the parsley root materials on physiological and biochemical aspects of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*. Best column fractions were screened by the allelopathic inhibition effect and the activities of three cell wall degrading enzymes and fusaric acid content after 144 h of co-culture with *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* in the liquid medium. The results indicated that the best column fractions obtained from the acetone extracts of fresh parsley root and rhizosphere soil inhibited the growth of *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*. In comparison to CK, the cell wall degrading enzymes activities and fusaric acid contents decreased significantly with increased numbers of chromatography. The correlation analysis indicated that allelopathic inhibition effect had significant negative correlations with the activities of pectinase and β -glycosidase enzymes, but no significant correlation with the fusaric acid content.

Key words: parsley root material; acetone chromatography material; cell wall degradation enzymes; fusaric acid; cucumber wilt.

黄瓜枯萎病是一种严重的土传病害,其病原菌为半知菌亚门(Deutermycotina)尖孢镰刀菌黄瓜专化型(*Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* Ow-

en., Foc),是影响黄瓜生产的主要病害之一(程智慧等,2008)。该病原菌主要从幼根和伤口侵入,阻碍水分向植株地上部分运输(闫霜等,2011),使植株迅速萎蔫,病势发展迅速很难控制,发病严重时发病率达80%~90%(王宏乐,2010)。近年来主要通过嫁接技术、化学农药等手段来防控黄瓜枯萎病,但这些方法会引起黄瓜品质下降、农药残留以及环境

* 国家自然科学基金项目(31160100)和内蒙古自治区应用技术研究与开发项目(20110711)资助。

** 通讯作者 E-mail: yx15807@sohu.com

收稿日期: 2014-04-03 接受日期: 2014-09-12

污染等问题(Guo *et al.*, 2013)。随着人们对食品安全的重视,采用安全、高效、环境友好型的防控方法成为蔬菜种植中最佳选择。化感作用因不向环境引入其他有害物质,所以利用化感作用,尤其是利用天然植物提取物抑菌作用来防控园艺作物真菌病害成为近年来国内外研究热点(Zhang *et al.*, 2013)。

周宝丽等(2009)采用溶剂萃取法提取苦参(*Sophora flavescens*)活性成分,结果表明,苦参中黄酮类物质能够有效地抑制黄瓜枯萎病菌的生长。本课题组前期研究已经证实,在温室蔬菜栽培过程中,西芹(*Apium graveolens* L.)与黄瓜(*Cucumis sativus* L.)的前后茬搭配栽植能显著降低黄瓜枯萎病发病率;室内及田间试验证明,西芹种子(贾俊英等, 2011)、鲜根及根际土浸提液以及离体西芹挥发物(陈磊等, 2012)均能抑制黄瓜枯萎病菌的生长和田间发病率;陈磊和云兴福(2012)通过柱层析法对西芹鲜根及根际土乙醇、丙酮及蒸馏水浸提液活性物质进行分离,二次层析后大多数流分对黄瓜枯萎病产生化感抑制效果。

上述研究均是利用菌体生长速率法来研究不同提取物对黄瓜枯萎病菌的化感抑制作用,均未涉及菌体自身分泌的细胞壁降解酶(cell wall degrading enzymes, CWDEs)及镰刀菌酸。CWDEs 和镰刀菌酸均与枯萎病菌致病密切相关(Zhang *et al.*, 2011)。本研究旨在课题组前期研究基础上进一步分离纯化西芹根物质中活性物质,然后分析这些活性物质对菌体自身分泌 CWDEs 活性及镰刀菌酸含量的影响,为实际生产中防控黄瓜枯萎病提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试品种与菌种 供试品种为美国西芹,购买于呼和浩特市蔬菜研究所。供试菌种为黄瓜枯萎病菌,购买于中国农业科学院蔬菜花卉研究所。

1.1.2 菌种扩繁 将黄瓜枯萎病菌接种于已灭菌(121 ℃, 25 min)的 PDA 培养基(白淑兰, 2011)上,在 25 ℃下恒温培养 144 h,复壮菌种待用。

1.1.3 西芹根物质丙酮浸提液制备 西芹鲜根浸提液的制备:在西芹 8~10 叶期,取西芹鲜根用蒸馏水洗净,切取大小 1 cm 鲜根块,以丙酮浸提剂,按质量体积分数 1:2 进行浸提。常温下振荡浸提 24 h,过滤,置于冰箱(4 ℃)中保存备用。

西芹根际土浸提液的制备:在西芹 8~10 叶期,

随机拔取西芹,取根穴内土壤,用丙酮浸提剂按质量体积分数 1:2 进行浸提。于常温下振荡 24 h 后过滤,置于冰箱(4 ℃)中保存备用。

1.1.4 四次层析物的制备 参照郭鸿儒(2007)的方法并稍加改进,以浸提剂为洗脱液分别进行洗脱。选用规格为(10 mm×300 mm)的层析柱,采用 100~200 μm 的硅胶为固定相,用湿法装柱,取 1.1.3 丙酮浸提液 10 mL 分别做柱层析分离,50 mL 丙酮洗脱液。每一流分收集 5 mL,得到 10 个流分,分别编号。

1.2 研究方法

1.2.1 化感作用检测及最佳流分选择 将第 1 次层析后获得的 10 个流分分别与经 121 ℃灭菌后的熔融态 PDA 培养基混合摇匀,倒入直径为 9 cm 的培养皿内。每皿含 2 mL 流分、18 mL PDA 培养基。用含有 2 mL 洗脱液的平板作为丙酮对照(ACK),空白对照(CK)加入等量 PDA 培养基,每处理重复 5 次。用直径为 60 mm 的打孔器打取菌饼接入含有上述物质的 PDA 培养基中,待培养 144 h(CK 长满整个培养皿),运用十字交叉法测定各菌落直径,用 5 次重复的平均值按如下公式计算各流分化感效果(钱程等, 2013),根据化感效果选择 2 个最佳流分。化感效果的测定按照如下公式计算:

$$\text{化感效果} = \frac{\text{对照菌落直径} - \text{处理菌落直径}}{\text{对照菌落直径}} \times 100\%$$

第 2 次层析最佳流分选择:将第 1 次层析获得的 2 个最佳流分按照 1.1.4 方法分别进行第 2 次层析,继续按照 1.2.1 中方法筛选最佳流分;同样方法进行第 3 次层析与第 4 次层析,获第 3 次、第 4 次最佳流分(从 3 次层析开始,10 个流分中只选择 1 个最佳流分)。

1.2.2 CWDEs 活性测定 无菌条件下,取复壮后的黄瓜枯萎病菌 5 块菌饼(直径为 60 mm),分别置于已经高温灭菌(121 ℃, 25 min)改良的 MS 培养基(各 45 mL)(Zhai *et al.*, 2011),培养基中分别加入西芹根物质丙酮浸提液各次层析后筛选出的最佳流分(5 mL);对照组 ACK 加入 5 mL 丙酮,CK 加入等量液体培养基。于 28 ℃下恒温振荡培养 144 h,用 3 层纱布过滤,滤液在 4 ℃下 12000 r·min⁻¹离心 15 min,再次过滤后弃去沉淀,上清液即为待测粗酶液。所有处理均为 5 次重复。果胶酶活性按照 DNS 法进行测定(李忠福和徐建国, 2002),β-葡萄糖苷酶活性参照石延霞和李宝聚(2003)的方法进行测定,纤维素酶活性按 Eveleigh 等(2009)所介绍的方法来

进行测定。

1.2.3 镰刀菌酸含量测定 在无菌条件下,打取 5 块菌饼分别移至已经灭菌的 45 mL 改良的 Richard 培养基(钱程等,2013)中,加入 1.2.1 中筛选出的根物质酮层物最佳流分,对照组 ACK 加入的是 5 mL 丙酮,CK 加入等量液体培养基,所有处理均为 5 个重复。于 28 ℃ 下恒温振荡培养 144 h,用 3 层纱布过滤,滤液在 4 ℃ 下 12000 r·min⁻¹ 离心 15 min,再次过滤后弃去沉淀,上清液即为待测粗毒液。镰刀菌酸含量参照吴洪生等(2008)的方法进行测定。

1.3 数据处理

所有数据经 Excel 简单处理后用 SAS 9.0 进行方差分析,每次层析最佳流分进行 Duncan 多重极差检验。各流分化感抑制效果与 3 种 CWDE 活性及镰刀菌酸含量分别进行相关性分析。

2 结果与分析

2.1 西芹根物质丙酮浸提液 4 次层析最佳流分选择

根据化感抑制效果,4 次层析中最佳流分编号见表 1。4 次层析过程中,西芹鲜根丙酮浸提液各最佳流分作用于黄瓜枯萎病菌,化感效果的变化规律为前 3 次层析物对菌体化感效果逐渐减弱,在第 4 次层析物作用后,化感效果有升高趋势。各最佳流分较对照差异显著。西芹根际土丙酮浸提液 4 次层析过程中最佳流分的化感效果较对照均明显升高。

2.2 西芹根物质酮层物对 Foc 分泌的 CWDEs 活性的影响

Foc 在各培养基中均能产生果胶酶、β-葡萄糖苷酶和纤维素酶。各次层析最佳流分与 Foc 共培养后,均能抑制 3 种 CWDE 活性。各处理中 3 种 CWDE 的活性大小为果胶酶>β-葡萄糖苷酶>纤维素酶。在 2 种材料中,根际土浸提液酮层物对 3 种 CWDE 活性的抑制效果优于鲜根浸提液。

2.2.1 果胶酶活性变化 由图 1 可知,无论是鲜根丙酮浸提液还是根际土丙酮浸提液,各流分中活性物质均能抑制 Foc 分泌果胶酶的活性,而且随着层析次数的增多,果胶酶活性降幅逐渐增大,且与各次

表 1 西芹鲜根、根际土丙酮浸提液 4 次层析物最佳流分编号及化感效果
Table 1 Serial numbers and allelopathic effect for the best parts of four times acetone chromatography extracts of parsley fresh root and rhizosphere soil

	流 分 编 号	RA			RSA		
		最佳流分编号	化感效果 1(%)	化感效果 2(%)	最佳流分编号	化感效果 1(%)	化感效果 2(%)
1 次层析	1	RA3	51.36±1.28 a	48.71±1.87 a	RSA1	22.32±1.82 a	19.07±1.89 a
	2	RA9	51.13±1.98 a	48.47±1.87 a	RSA7	24.42±1.96 a	21.26±2.04 a
	对照	ACK1	7.6±0.5 b		ACK1	4.01±0.16 b	
2 次层析		CK1		-5.92±1.5 b	CK1		-4.17±2.45 b
	3	RA3-2	30.34±1.15 a	26.32±1.22 a	RSA1-4	41.73±5.6 a	38.32±5.93 a
	4	RA3-3	26.5±2.37 b	22.26±2.51 b	RSA1-6	46.4±2.81 a	43.27±2.97 a
	5	RA9-8	26.54±1.27 b	22.30±1.34 b	RSA7-1	33.16±1.00 b	29.26±1.05 b
	6	RA9-10	27.56±1.82 b	23.38±1.92 b	RSA7-5	27.26±5.49 c	23.02±5.81 c
	对照	ACK2	5.46±0.47 c		ACK2	5.51±0.26 d	
3 次层析		CK2		-5.76±1.45 c	CK2		-5.84±1.77 d
	7	RA3-2-4	27.59±4.3 a	23.32±4.55 a	RSA1-4-7	18.61±1.12 b	13.02±1.20 b
	8	RA3-3-4	27.42±1.94 a	23.18±2.05 b	RSA1-6-2	20.91±1.9 a	15.47±2.03 a
	9	RA9-8-8	28.06±0.17 a	23.86±0.18 a	RSA7-1-2	22.31±1.18 a	16.97±1.26 a
	10	RA9-10-6	25.97±1.72 a	21.65±1.82 a	RSA7-5-3	21.91±1.00 a	16.54±1.07 a
	对照	ACK3	5.51±0.75 b		ACK3	6.44±0.19 c	
4 次层析		CK3		-5.84±0.74 b	CK3		-6.83±0.71 c
	11	RA3-2-4-6	33.5±1.67 d	28.69±1.79 d	RSA1-4-7-3	31.75±2.32 b	29.07±2.41 b
	12	RA3-3-4-4	42.03±2.52 b	37.83±2.7 b	RSA1-6-2-4	28.26±1.43 c	25.44±1.49 c
	13	RA9-8-8-9	46.31±0.81 a	42.44±0.87 a	RSA7-1-2-9	34.89±0.79 a	32.34±0.82 a
	14	RA9-10-6-6	38.28±1.89 c	33.83±2.03 c	RSA7-5-3-5	36.84±2.27 d	34.37±2.36 a
	对照	ACK4	6.74±0.36 e		ACK4	6.44±0.19 c	
	CK4		-7.22±0.41 e	CK4		-3.93±0.87 d	

1. 化感效果 1 表示各流分与空白对照(CK)相比的化感效果,化感效果 2 表示各流分与丙酮对照(ACK)相比的化感效果;RA 表示鲜根丙酮浸提液,RA 其后第 1 个数字表示第 1 次层析最佳流分,依次类推直至第 4 次层析,如 RA9-10-6-6 表示第 1 次层析选出流分 9、第 2 次层析选出流分 10、第 3 次层析选出流分 6、第 4 次层析流分 6;RSA 表示根际区丙酮浸提液,命名规则同 RA。2. 对于同一材料的每一次层析,各流分间化感效果有相同字母表示无显著差异,无相同字母则存在显著性差异(P=0.05)。

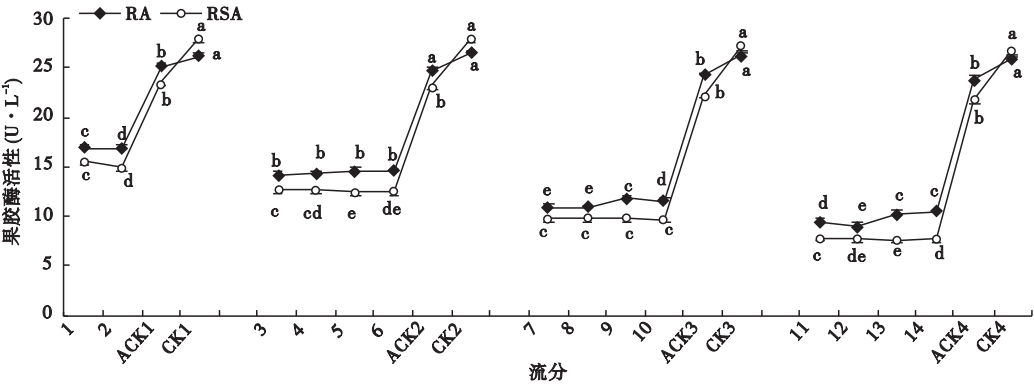


图1 西芹鲜根及根际土丙酮浸提液4次层析物最佳流分作用后 Foc 分泌果胶酶活性的变化
Fig.1 Changes of Foc pectinase activities after treated with the best parts of four times acetone chromatography extracts of parsley fresh root and rhizosphere soil

层析中 ACK、CK 差异显著。鲜根材料与根际土材料果胶酶活性变化规律略有不同,鲜根丙酮浸提液在第2次层次和第3次层析时,各最佳流分之间就存在显著差异。

2.2.2 β-葡萄糖苷酶活性变化 鲜根和根际土4次层析所得的最佳流分1-14 作用于 Foc 后,菌体内产生的 β-葡萄糖苷酶活性较对照 (ACK) 差异显著。西芹鲜根丙酮浸提液14 个最佳流分较对照 (ACK) 降低了 26.23%、27.55%、32.30%、32.30%、33.07%、35.52%、33.56%、33.60%、33.81%、35.15%、33.43%、33.04%、32.95%和34.60%。西芹根际土丙酮浸提液4次层析所得14 个最佳流分的 β-葡萄糖苷酶活性较对照 (ACK) 分别降低了 25.97%、25.60%、28.13%、27.79%、27.01%、26.43%、28.29%、28.68%、30.11%、30.36%、29.22%、29.26%、29.42%和29.31%。对同种材料,每次层析各最佳流分对 Foc 的 β-葡萄糖苷酶活性变化影响均不存在显著性差异。

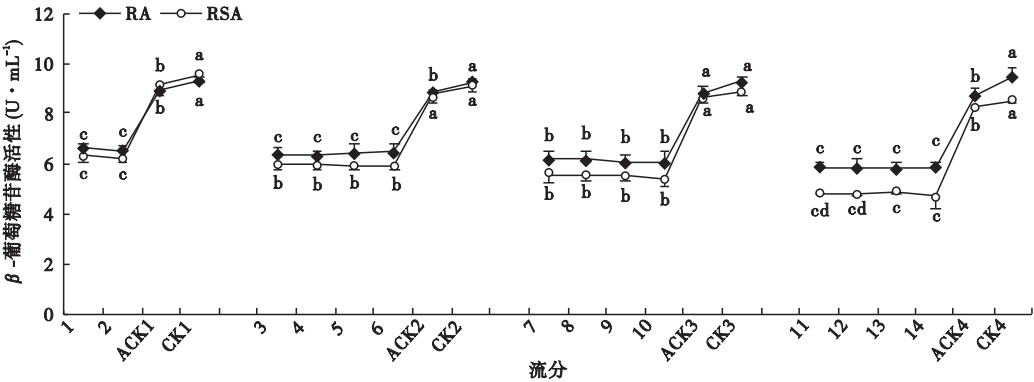


图2 西芹鲜根及根际土丙酮浸提液4次层析物最佳流分作用后 Foc 分泌 β-葡萄糖苷酶活性的变化
Fig.2 Changes of Foc β-glycosidase activities after treated with the best parts of four times acetone chromatography extracts of parsley fresh root and rhizosphere soil

2.2.3 纤维素酶活性变化 西芹根物质酮层物作用后,Foc 产生的纤维素酶活性随层析次数的增加而活性逐渐降低,根际土浸提液各次层析最佳流分之间无显著性差异,但鲜根浸提液在第2次层析和第4次层析之间最佳流分效果存在一定差异 (图3)。

2.3 西芹根物质酮层物对 Foc 分泌镰刀菌酸含量的影响

从图4可知,西芹根物质4次层析酮层物最佳流分作用于 Foc 后,Foc 所产生的镰刀菌酸含量随层析次数的增加逐渐降低。第3、第4次层析最佳流分作用后镰刀菌酸含量无显著差异 (图4),但均与对照差异显著。西芹根际土丙酮浸提液4次层析物处理 Foc 后,菌体内分泌的镰刀菌酸的含量从第2次层析开始每次层析之间均存在显著差异,且每次层析的不同流分之间也存在显著差异。与CWDEs 活性一样,西芹根际土丙酮浸提液层析获得的最佳流分处理显著优于西芹鲜根处理。

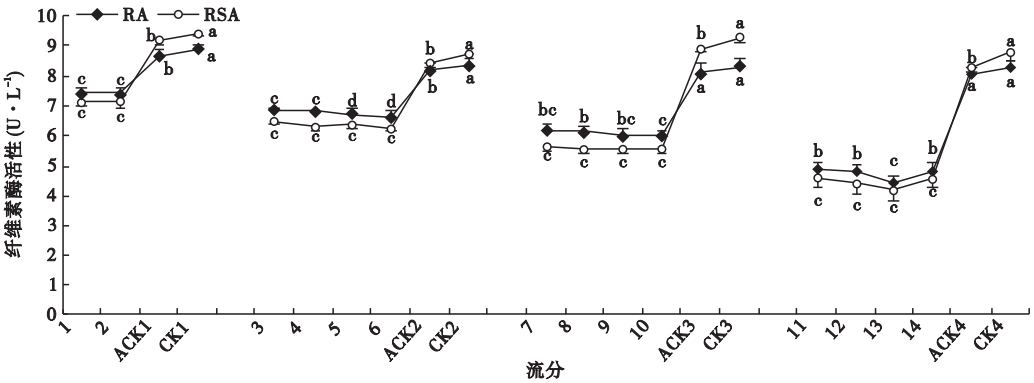


图 3 西芹鲜根及根际土丙酮浸提液 4 次层析物最佳流分作用后 Foc 分泌纤维素酶活性的变化
Fig. 3 Changes of Foc cellulase activities after treated with the best parts of four times acetone chromatography extracts of parsley fresh root and rhizosphere soil

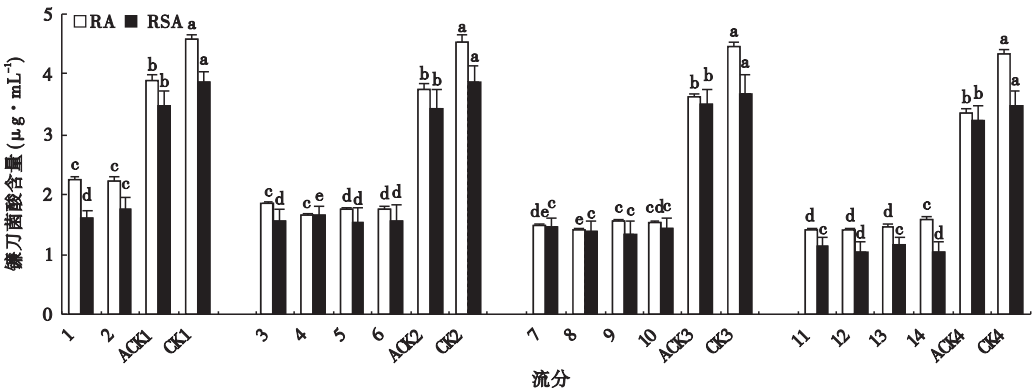


图 4 西芹鲜根、根际土丙酮浸提液 4 次层析物最佳流分作用后 Foc 分泌的镰刀菌酸含量的变化
Fig. 4 Changes of Foc fusaric acid contents after treated with the best parts of four times acetone chromatography extracts of parsley fresh root and rhizosphere soil

2.4 化感效果与 CWDEs 活性及镰刀菌酸含量相关关系

由表 2 可知,西芹根物质丙酮浸提液各流分对 Foc 产生的化感抑制效果与 β-葡萄糖苷酶及果胶酶呈显著负相关,相关系数为-0.962、-0.934;化感抑制效果与镰刀菌酸含量无显著相关关系;3 种 CWDE 之间存在着极显著正相关关系;果胶酶、β-葡萄糖苷酶和纤维素酶活性与镰刀菌酸含量呈显著正相关,相关系数分别为 0.786、0.794 和 0.798。这说明各流分对枯萎病菌的化感抑制作用主要抑制了

病菌细胞壁降解酶的活性,其中主要是抑制果胶酶和 β-葡萄糖苷酶的活性,而对病菌产生的镰刀菌酸含量无显著影响。在培养基条件下,其获得的数据更倾向于抑制 CWDEs 活性而非抑制镰刀菌酸的产生。

3 讨论

西芹属于伞形科(Umbelliferae)植物,本身具有的特殊香味被广泛用来制作香料、香水及药用(Sowbhagya *et al.*, 2010)。关于利用植物提取物抑制枯萎病菌的研究已有报道。杨栗艳等(2009)发现,大葱总提取物和挥发物等对黄瓜枯萎病菌的孢子萌发及菌丝的生长有较好的抑制作用;马丽娟等(2008)证明,蛇床子提取物能够抑制黄瓜枯萎病孢子萌发,孢子畸形生长;Zhang 等(2013)研究了韭菜(*Allium tuberosum*)和香蕉(*Musa* spp.)间作防控香蕉枯萎病机理,韭菜的水浸提液和挥发物均对香蕉枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *cuben* Focu)表现出较强

表 2 化感效果、CWDEs 活性及镰刀菌酸含量相关性分析
Table 2 Correlation analysis of allelopathic effect, CWDEs activities and fusaric acid contents

	果胶酶	β-葡萄糖苷酶	纤维素酶	镰刀菌酸
化感效果	-0.934 *	-0.962 *	-0.047	-0.134
果胶酶		0.957 **	0.845 **	0.786 **
β-葡萄糖苷酶			0.807 **	0.794 **
纤维素酶				0.798 **

* P<0.05, ** P<0.01, n=30。

的抑菌作用;Rauf 和 Javaid (2013) 证实,藜 (*Chenopodium album* L.) 提取物对尖孢镰刀菌引起的洋葱腐烂病的化感抑制效果随着物质的逐步纯化抑制作用逐渐增强。课题组前期研究也证实:西芹的种子、叶片、叶柄及鲜根挥发物能够抑制黄瓜枯萎病菌的生长 (陈磊等, 2012b)。本研究中,西芹根物质丙酮浸提液 4 次层析后所得酮层物对黄瓜枯萎病菌均有显著抑制效果,且随着物质的逐步纯化,化感抑制效果逐渐增强。

细胞壁是病原菌侵入的主要障碍,尖孢镰刀菌要想成功的感染植物,首先要降解的是植物根系的细胞壁,植物细胞壁的主要成分是纤维素和果胶,而植物根系由于未充分木质化和木栓化导致果胶含量相对较高 (King *et al.*, 2011),这可以解释为什么在本研究中所测定的 3 种细胞壁降解酶中果胶酶的活性最高。Zhao 等 (2012) 研究发现,比基尼链霉菌 (*Streptomyces bikiniensis*) HD-87 诱导黄瓜枯萎病菌产生抗性的其中一个原因是抑制了黄瓜枯萎病菌分泌 β -葡萄糖苷酶和纤维素酶的活性,且随着处理时间延长,这 2 种酶活性逐渐降低。Wu 等 (2009) 研究在 PDA 培养基中外源施加 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 p -对羟基苯甲酸后,西瓜枯萎病菌分泌的纤维素酶的活性降低了 $1.3 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1}$,同时西瓜枯萎病菌分泌的镰刀菌酸也在下降。本研究中,随着层析次数的增多,西芹根物质酮层物对 3 种 CWDE 活性及镰刀菌酸含量抑制效果逐渐增强。但无论是 3 种 CWDE 活性还是镰刀菌酸含量,根际土丙酮浸提液层析后获得的最佳流分处理均优于鲜根丙酮浸提液最佳流分,这是因为根际土中除了植物根系分泌的活性物质外,还包含由其他微生物产生的活性物质 (Aeron *et al.*, 2011)。

Sun 等 (2011) 研究表明,枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) KY-21 对香蕉枯萎病的抑制作用机理主要在于抑制了病菌所产生的降解细胞壁相关的各种酶的活性;也有研究表明,枯萎病菌在进化的过程中产生了控制植物细胞壁性质的相关基因 (Lee *et al.*, 2010)。肖荣凤等 (2008) 研究表明,瓜类尖孢镰刀菌的致病力与 β -葡萄糖苷酶紧密相关。Kikot 等 (2009) 研究认为,果胶酶与大多数的致病真菌的致病力有关,同时它在植物感染病原真菌的过程中,其活性大小决定着植物的发病程度。本研究发现:Foc 分泌的 3 种 CWDE 中,化感抑制效果仅与纤维素酶没有显著相关关系,这可能是纤维素的复杂结构所

致 (Berg Miller *et al.*, 2009);不论是西芹鲜根还是根际土丙酮浸提液,经过 4 次柱层析后获得的最佳流分对黄瓜枯萎病菌的抑制效果主要与 CWDEs 的活性有关,而非影响病菌产生镰刀菌酸。产生这种现象的原因推测为:一是与镰刀菌酸复杂的代谢途径有关 (Michiels *et al.*, 2012);二是因为镰刀菌酸是尖孢镰刀菌的次生代谢产物,而合成镰刀菌酸的前体是植物纤维素 (Zhou & Wu, 2012)。本研究是在液体培养基条件下,合成镰刀菌酸前体有限。另外,Hou 等 (2012) 的研究也表明,辣椒 (*Capsicum annuum*) 对其间作植物枯萎病菌的抑制作用与镰刀菌酸的含量没有相关性,这与本研究的结论基本一致。

参考文献

- 白淑兰. 2011. 菌根研究及内蒙古大青山菌根资源. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社.
- 陈磊, 李蕾, 项鹏宇, 等. 2012. 西芹挥发物对黄瓜枯萎病菌的化感作用. 生态学杂志, **31**(4): 871–881.
- 陈磊, 云兴福. 2012. 西芹鲜根及根际区物化感物质成分鉴定. 华北农学报, **27**(2): 157–164.
- 程智慧, 宋莉, 孟焕文. 2008. 大蒜鳞茎粗提物对黄瓜枯萎病的抑菌作用和防病效果. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, **36**(5): 113–118.
- 郭鸿儒. 2007. 黄花蒿化感物质的分离鉴定及化感物质作用机理研究 (硕士学位论文). 兰州: 甘肃农业大学.
- 贾俊英, 张丽莹, 云兴福. 2011. 西芹种子浸提液对黄瓜枯萎病菌化感作用的研究. 生态学杂志, **30**(7): 1473–1478.
- 李忠福, 徐建国. 2002. 分光光度法测定果胶酶活性方法的研究. 黑龙江医药, **15**(6): 428–431.
- 马丽娟, 周宝丽, 张淑红, 等. 2008. 蛇床子提取物对黄瓜枯萎病抑制效果的研究. 植物保护, **34**(4): 36–39.
- 钱程, 高晓敏, 包妍妍, 等. 2013. 西芹种子浸提液处理后黄瓜枯萎病菌弱毒菌株的筛选. 生态学杂志, **32**(1): 82–90.
- 石延霞, 李宝聚. 2003. 黄瓜霜霉病菌致病作用与两种细胞壁降解酶的关系初探. 园艺学报, **30**(4): 465–466.
- 王宏乐. 2010. 荧光定量 PCR 监测黄瓜根分泌物对土壤中枯萎病菌生物量的影响. 上海交通大学学报: 农业科学版, **28**(1): 41–45.
- 吴洪生, 尹晓明, 刘东阳, 等. 2008. 镰刀菌毒素对西瓜幼苗根细胞跨膜电位及叶细胞有关抗逆酶的抑制. 中国农业科学, **41**(9): 2641–2650.
- 肖荣凤, 蓝江林, 车建美, 等. 2008. 瓜类尖孢镰刀菌致病物质 β -D-葡萄糖苷酶活性与致病性的相关分析. 中国农学通报, **24**(7): 351–355.
- 闫霜, 吴洪生, 周晓冬, 等. 2011. 黄瓜枯萎病生物防治研究进展. 山东农业科学, **1**(1): 86–92.
- 杨栗艳, 刘长远, 浦铜良, 等. 2009. 大葱提取物对黄瓜枯萎病抑菌活性研究. 沈阳农业大学学报, **40**(2): 218–

220.

周宝丽, 姚 婷, 张 健, 等. 2009. 苦参黄酮对黄瓜枯萎病及抗性生理的影响. 华北农学报, **24**(6): 78–82.

Aeron A, Pandey P, Kumar S, *et al.* 2011. Emerging role of plant growth promoting rhizobacteria// Maheshwari DK. ed. *Bacteria in Agrobiolgy: Crop Ecosystem*. Berlin: Springer Verlag.

Berg Miller ME, Antonopoulos DA, Rincon MT, *et al.* 2009. Diversity and strain specificity of plant cell wall degrading enzymes revealed by the draft genome of *Ruminococcus flavefaciens* FD-1. *PLoS One*, **4**: e6650.

Eveleigh DE, Mandels M, Androtti R, *et al.* 2009. Measurement of saccharifying cellulase. *Biotechnology of Biofuels*, **6**: 21–23.

Guo L, Rasool A, Li C. 2013. Antifungal substrates of bacterial origin and plant disease management// Maheshwari DK. ed. *Bacteria in Agrobiolgy: Disease Management*. Berlin: Springer Verlag.

Hou YX, Hu XJ, Zhou BL. 2012. Hot pepper growth promotion and inhibition of fusarium wilt (*Fusarium oxysporum*) with different crop stalks. *African Journal of Agricultural Research*, **7**: 5005–5011.

Kikot GE, Hours RA, Alconada TM. 2009. Contribution of cell wall degrading enzymes to pathogenesis of *Fusarium graminearum*: A review. *Journal of Basic Microbiology*, **49**: 231–240.

King BC, Waxman KD, Nenni NV, *et al.* 2011. Arsenal of plant cell wall degrading enzymes reflects host preference among plant pathogenic fungi. *Biotechnology of Biofuels*, **4**: 1–14.

Lee H, Damsz B, Woloshuk CP, *et al.* 2010. Use of the plant defense protein osmotin to identify *Fusarium oxysporum* genes that control cell wall properties. *Eukaryotic Cell*, **9**: 558–568.

Michielse CB, Reijnen L, Olivain C, *et al.* 2012. Degradation of aromatic compounds through the β -ketoadipate pathway is required for pathogenicity of the tomato wilt pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*. *Molecular Plant Pathology*, **13**: 1089–1100.

Rauf S, Javaid A. 2013. Antifungal activity of different extracts of *Chenopodium album* against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*, the cause of onion basal rot. *International Journal of Agriculture and Biology*, **15**: 367–371.

Sowbhagya HB, Srinivas P, Krishnamurthy N. 2010. Effect of enzymes on extraction of volatiles from celery seeds. *Food Chemistry*, **120**: 230–234.

Sun JB, Peng M, Wang YG, *et al.* 2011. Isolation and characterization of antagonistic bacteria against fusarium wilt and induction of defense related enzymes in banana. *African Journal of Microbiology Research*, **5**: 509–515.

Wu HH, Shen SH, Han JM, *et al.* 2009. The effect in vitro of exogenously applied p-hydroxybenzoic acid on *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. *Phytopathologia Mediterranea*, **48**: 439–446.

Zhai XJ, Yang L, Shen HL. 2011. Shoot multiplication and plant regeneration in *Caragana fruticosa* (Pall.) Besser. *Journal of Forestry Research*, **22**: 561–567.

Zhao S, Du CM, Tian CY. 2012. Suppression of *Fusarium oxysporum* and induced resistance of plants involved in the biocontrol of cucumber *Fusarium* wilt by *Streptomyces bikiniensis* HD-087. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **28**: 2919–2927.

Zhang DC, Van Fossen AL, Pagano RM, *et al.* 2011. Consolidated pretreatment and hydrolysis of plant biomass expressing cell wall degrading enzymes. *BioEnergy Research*, **4**: 276–286.

Zhang H, Mallik A, Zeng RS, *et al.* 2013. Control of panama disease of banana by rotating and intercropping with Chinese chive (*Allium tuberosum* Rottler): Role of plant volatiles. *Journal of Chemical Ecology*, **39**: 243–252.

Zhou XG, Wu FZ. 2012. p-Coumaric acid influenced cucumber rhizosphere soil microbial communities and the growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* Owen. *PLoS One*, **7**: e48288.

作者简介 高晓敏,女,1986年生,博士研究生,主要从事高寒地区蔬菜栽培与生理研究。E-mail: gxm20413@163.com
责任编辑 李凤芹
