

万寿菊精油杀菌素对西瓜枯萎病菌的抑菌作用及对西瓜幼苗的影响

范志宏¹, 郭春绒¹, 王金胜²

(1. 山西农业大学 文理学院, 山西 太谷 030801; 2. 山西农业大学 生命科学院, 山西 太谷 030801)

摘要:采用田间试验和生物测定方法,研究了人工合成的万寿菊精油杀菌素对西瓜枯萎病菌和西瓜幼苗生长的影响。结果表明:0.5 $\mu\text{g/mL}$ 万寿菊精油杀菌素 24、48、72、144 h 的抑制率分别为 100%、76.7%、59.9%、56.8%;当浓度大于 1.5 $\mu\text{g/mL}$ 时抑制率达 100%;10 $\mu\text{g/mL}$ 万寿菊精油杀菌素处理西瓜幼苗的致萎指数得到显著降低,差异达显著水平($P<0.05$);20 $\mu\text{g/mL}$ 万寿菊精油杀菌素处理的西瓜枯萎病菌,大分子量的蛋白含量增多,小分子量的蛋白含量减少,但过氧化物酶的条带数没有变化;50 $\mu\text{g/mL}$ 万寿菊精油杀菌素处理的西瓜苗叶片中 3 d 后 MDA 含量减少差异显著($P<0.05$),4 d 后过氧化物酶活性逐渐升高差异达显著水平($P<0.05$),5 d 后差异极显著($P<0.01$)。含药培养基上生长的西瓜枯萎病菌的果胶酶活性降低,呼吸强度明显提高,细胞膜通透性增大,几丁质酶活性稍高于对照。此杀菌素可用于预防和控制西瓜枯萎病,为西瓜枯萎病的综合防治提供一种新的方法和途径。

关键词:万寿菊精油杀菌素;西瓜枯萎病菌;抑菌作用

中图分类号:S 436.42 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)08-0009-06

第一作者简介:范志宏(1978-),女,山西平遥人,在读博士,讲师,现主要从事植物生物化学与分子生物学的研究工作。E-mail: fzh10354@163.com。

责任作者:王金胜(1955-),男,山西汾阳人,教授,现主要从事植物生物化学与分子生物学的研究工作。E-mail: sxndwjs@163.com。

基金项目:山西省科技攻关资助项目(20090311028);山西农业大学科技创新基金资助项目(2006021)。

收稿日期:2011-02-18

农药一直在农业生产中起着重要的作用,化学农药、有机化学合成农药在农作物病虫害防治方面发挥了重要作用,但是,随着这些农药长期大量的使用,许多弊端日益突出,如有害生物抗药性、环境污染、对牲畜有毒害等已成为当前应用农药的主要问题^[1]。因此,以植物产生的具有生物活性的次生代谢产物开发的植物源农药,因其无公害、无污染、无残留且不易产生抗性等优点成为人们研究的热点^[2]。由尖孢镰刀菌西瓜专化型

Study on the Effects of Saline-alkali Stress on Growth of Hot Pepper Seedling

XU Shan-shan^{1,2}, ZHANG Guang-chen², YE Jing-xue²

(1. Jilin City Academy of Agricultural Sciences, Jilin, Jilin 132101; 2. College of Horticulture, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118)

Abstract: This experiment took Jinta hot pepper as test materials. It simulated saline-alkali condition of western Jilin Province. Different of concentrations of Na_2CO_3 and NaHCO_3 stress on hot pepper seedling was taken. It studied on the effects of Saline-alkali stress on growth of hot pepper seedling by testing biomass, ratio of root to shoot, relative water content, root activity, chlorophyll content under different treatments. The results showed that two kinds of saline-alkali stress reduced dry weight of roots, stems, leaves and ratio of root to shoot. RWC and root activity dropped significantly. Low concentration saline-alkali promoted chlorophyll biosynthesis while high concentration inhibiting it. Pepper root growth and development was to be affected at first of saline-alkali stress. By comprehensive analysis, Na_2CO_3 had stronger inhibition than NaHCO_3 on hot pepper seedling.

Key words: Na_2CO_3 ; NaHCO_3 ; stress; pepper; growth

(*Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*, FON)引起的毁灭性土传病害西瓜枯萎病,已成为我国影响西瓜生产的最严重的病害之一,因而研究和开发对西瓜枯萎病有效的新型杀菌剂具有重要的意义^[3]。

菊科植物万寿菊(*Tagetes patula* L.),其花、叶以及根中含有一些具有特殊活性的化合物。国外已有关于万寿菊的化学成分、抗线虫、昆虫活性的报道^[4-6]。国内对万寿菊的抗菌性方面的报道,主要为提取物抑菌活性的研究^[7-8]。目前,国内外资料尚无报道关于万寿菊抑菌活性成分的合成物及其抑菌活性的相关报道。该试验在前人大量的研究基础上,针对课题组合成的万寿菊精油杀菌素^[9],研究其对西瓜枯萎病菌的抑菌活性及作用机理。以期开发新的防治西瓜枯萎病的植物源新农药提供理论基础和科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试西瓜品种:兰州 P₂(金花宝,感病品种);西瓜枯萎病病原菌:由山西农业大学植物病理学系提供;万寿菊精油杀菌素:课题组合成的万寿菊精油杀菌素中的一种酯成分^[9];3,5-二硝基水杨酸(DNS,中国医药上海化学试剂公司);三羟甲基氨基甲烷(Tris)、丙烯酰胺、甲叉丙烯酰胺(北京鼎国生物技术有限责任公司);西瓜枯萎病病原菌毒素粗提液:用理查德液体培养基,在 25℃、100 r/min 振荡和 3 000 lx 光照条件下培养西瓜枯萎病菌,20 d 后离心滤液(5 000 r/min,15 min),收集上清液即为西瓜枯萎病菌的粗毒素液。镰刀菌酸的定量以 Sigma 公司的镰刀菌酸为标准,采用标准加入法进行定量^[10];西瓜枯萎病菌分生孢子悬浮液:用 PDA 培养基在 25℃ 培养西瓜枯萎病病原菌,10 d 后刮取培养物到无菌水中,磁力搅拌器搅拌,2 层无菌纱布过滤,然后用无菌水配成 10⁶~10⁷ 个分生孢子/mL 的孢子悬浮液。

1.2 试验方法

1.2.1 抑菌试验 用打孔器从事先培养纯化好的菌种中采菌,接种到含万寿菊精油杀菌素不同浓度的 PDA 培养基上,并做空白对照(无杀菌素的培养基),25℃ 恒温培养,24、48、72、144 h 后记录菌丝生长直径,3 次重复,计算相对抑制率。

$$\text{相对抑制率} = \frac{\text{对照菌丝生长直径} - \text{处理菌丝生长直径}}{\text{对照菌丝生长直径}}$$

1.2.2 DNS 法测定 西瓜枯萎病菌果胶酶活性果胶底物的制备和 DNS 试剂的配制参考张飞等^[11]、王小敏等^[12]文献。酶活力测定:将西瓜枯萎病菌接种到 PDA 液体培养基中震荡培养,3 d 后测定培养液果胶酶活性。

①甲、乙两支试管中分别加入果胶底物 5 mL,在 50℃ 水浴中预热 5 min;②于甲、乙管中分别加 4 mL 磷酸-柠檬酸缓冲液,甲管中加入 1 mL 稀释酶液,立即摇匀,在 50℃ 水浴中准确反应 30 min,立即给乙管中加 1 mL 稀

释酶液,立即放入沸水浴中煮沸 5 min,终止反应,冷却;③分别取甲、乙管中反应液 2 mL 于 2 支试管中,再分别给甲、乙管加 2 mL 蒸馏水,5 mL DNS 试剂,混合,沸水浴煮沸 5 min,取出,立即冷却。加蒸馏水定容到 25 mL。3 600 r/min 离心 8 min,取上清液,以标准空白为基准调零,在 540 nm 处测吸光度表示酶活力大小。3 次重复。

1.2.3 西瓜枯萎病菌呼吸强度的测定 取 1 个广口瓶,用橡胶塞密闭瓶口,在橡胶塞上固定 1 个金属小勾,在三角瓶内装上 0.05 mol/L 的 Ba(OH)₂。将打取的菌斑放在纱布制成的小篮内,小篮挂在广口瓶内,立刻塞紧瓶塞。每隔 10 min 左右,轻轻摇动广口瓶,破坏溶液表面的 BaCO₃,以利对 CO₂ 的吸收。以不放菌斑的作对照^[13]。1 h 后小心打开瓶塞,迅速取出小篮,加入 2 滴麝香草酚酞指示剂,立即用 1/44 mol/L 的草酸滴定,直到溶液转变为无色为止。记录滴定所消耗的草酸量^[14]。用下式计算呼吸强度大小: $y = (v_1 - v_2) / (S \cdot t)$;y:呼吸强度(mg · cm⁻² · h⁻¹);v₁:对照瓶所消耗草酸的量(mL);v₂:含菌丝瓶所消耗草酸的量(mL);S:菌斑面积(cm²);t:反应时间(h)。

1.2.4 万寿菊精油杀菌素对西瓜枯萎病菌膜透性的影响^[15-16] 将西瓜枯萎病菌接种到 PDA 液体培养基中 100 r/min 震荡培养 2 d 后,加入 10 μg/mL 万寿菊精油杀菌素,摇匀后立即取出培养液 2 mL,3 000 r/min 离心 10 min,转移至烧杯加双蒸水 30 mL,立即测电导率本底值 J₀,然后分别于 10、30、60、90、120、180、240、360 min 后测定电导率 J_t,每处理 3 个平行。最后将 3 组处理于沸水中煮沸 15 min,待冷却至室温,测定电导率 J_s。某时间的相对渗透率=(某时间的电导率(J_t) - 零时间的电导率(J₀))/(煮沸后的电导率(J_s) - 零时间的电导率(J₀)) × 100%。

1.2.5 西瓜枯萎病菌几丁质酶活性的测定 几丁质胶体的制备按檀建新等^[7]、陶刚等^[18]方法。酶活性的测定:西瓜枯萎病菌在含 10 μg/mL 万寿菊精油杀菌素的液体培养基中 100 r/min 震荡培养 3 d 后,取 0.5 mL 培养液,加 2 mL 磷酸盐缓冲液(0.05 mol/L, pH 6.0)和 0.5 mL 胶体几丁质于试管中,37℃ 恒温水浴保温 1 h。对照管保温前先煮沸 10 min 灭活。11 000 r/min 离心 10 min,取上清液 2 mL,加入 1.5 mL DNS 试剂,沸水浴煮 5 min,冷水冷却至室温。于波长 544 nm 下测 OD 值表示酶活性的大小,3 次重复。

1.2.6 西瓜枯萎病菌过氧化物同工酶电泳 采用不连续垂直板聚丙烯酰胺凝胶电泳^[19]。

1.2.7 西瓜枯萎病菌总蛋白聚丙烯酰胺凝胶电泳 电泳样品液的制备^[20-21]:从在 PDA 平板上培养 3 d 的西瓜枯萎病菌落边缘取多个菌丝块,分别接种到含 10 μg/mL 和 20 μg/mL 的万寿菊精油杀菌素 PDA 液体培养基中。电泳参考文献^[21-22],染色参考文献^[23]。

1.2.8 田间试验 清水浸西瓜种子 18 h 后播种,在 25~35℃,最大自然光强 75 000 lx 的室外气候条件下用 Hogland 营养液培养西瓜幼苗,当一片真叶完全展开后,将瓜苗根系浸入 4 种不同溶液中,A:含 80%西瓜枯萎病菌毒素粗提液(镰刀菌酸含量为 4.005 5 $\mu\text{g/mL}$);B:含 80%西瓜枯萎病菌毒素粗提液和 20 $\mu\text{g/mL}$ 万寿菊精油杀菌素;C:含 80%西瓜枯萎病菌毒素粗提液和 50 $\mu\text{g/mL}$ 万寿菊精油杀菌素;CK:无菌水代替毒素处理作对照。3 次重复。计算处理 36、72、108、144、180 h 的致萎指数^[10]。同时,在西瓜苗开花坐果期作如下处理,方法为:对照和处理都用西瓜枯萎病菌孢子悬浮液对其进行灌根处理,处理为在进行灌根处理的同时喷施浓度为 50 $\mu\text{g/mL}$ 的万寿菊精油杀菌素。此后每隔 1 d 测定 MDA 含量和过氧化物酶活性。MDA 含量的测定采用 TBA 法^[24]测定。过氧化物酶活性的测定采用愈创木酚法测定^[24]。

1.2.9 试验数据统计 采用统计软件 SAS 6.12 的二因素方差分析处理试验数据,多重比较为 LSR 法。

2 结果与分析

2.1 精油杀菌素对西瓜枯萎病菌菌丝生长的影响

由表 1 可知,低浓度的万寿菊精油杀菌素可部分抑制菌丝的生长,当浓度上升到 1.5 $\mu\text{g/mL}$ 时,西瓜枯萎病菌完全被抑制。说明万寿菊精油杀菌素对西瓜枯萎病菌菌丝的生长有明显的抑制作用。

表 1 不同浓度万寿菊精油杀菌素对西瓜枯萎病菌菌丝生长的影响
Table 1 Effect of marigold essential oil fungicide on mycelium growth of *FON*

药剂浓度 Concentration of marigold fungicide / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	菌丝生长抑制率 Inhibition rate of mycelium growth / %			
	处理时间 Treatment time / h			
	24	48	72	144
1.5	100	100	100	100
1	100	100	80.6	66.7
0.8	100	100	70.8	62.7
0.5	100	76.7	59.9	56.8
0.1	100	75.3	56.1	41.7
0.05	62.1	61.9	51.1	40.0
0.01	58.3	55.8	50.2	34.6
$\text{EC}_{50} / \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	0.007	0.008	0.032	0.369

2.2 西瓜枯萎病菌果胶酶活性的变化

经过处理的西瓜枯萎病菌的果胶酶活性呈下降的趋势(图 1),万寿菊精油杀菌素能够降低西瓜枯萎病菌果胶酶的分泌,降低其致病性。

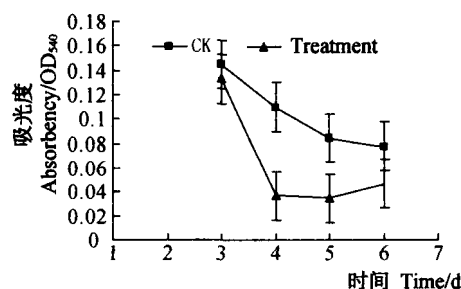


图 1 西瓜枯萎病菌果胶酶活性的变化

Fig. 1 Changes of pectinase activities of *FON*

2.3 西瓜枯萎病菌呼吸强度的变化

经过处理的西瓜枯萎病菌的呼吸强度明显高于对照(图 2),说明万寿菊精油杀菌素影响了病菌的能量代谢过程。生物呼吸量增加一方面可能是因为生长旺盛的呼吸,另一方面可能是逆境胁迫,该试验中,西瓜枯萎病菌是处于逆境胁迫的环境下。由于抗性,微生物为了维持其生理活性,便相应提高呼吸速率,增加了能源碳的消耗。

2.4 西瓜枯萎病菌膜透性的变化

药剂作用于西瓜枯萎病菌丝体后,病原菌细胞膜通透性增大(图 3),说明万寿菊精油杀菌素对西瓜枯萎病

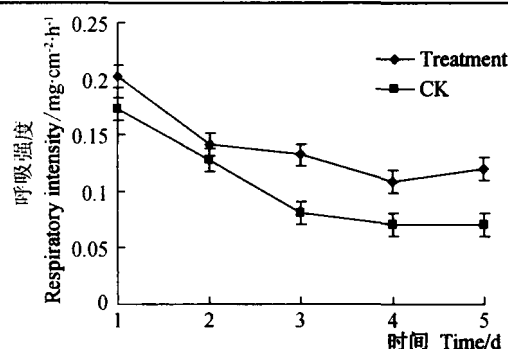


图 2 西瓜枯萎病菌呼吸强度的变化

Fig. 2 Changes of respiratory intensity of *FON*

菌膜透性产生影响。

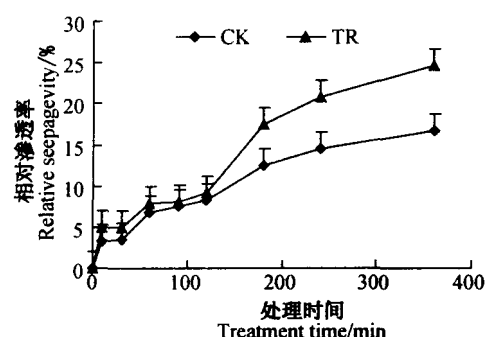


图 3 西瓜枯萎病菌膜透性的变化

Fig. 3 Changes of membrane permeability of *FON*

2.5 几丁质酶的活性变化

经过处理的西瓜枯萎病菌分泌的几丁质酶活性稍高于对照(图4),说明在万寿菊精油杀菌素的作用下,病菌细胞壁受到一定程度的破坏。

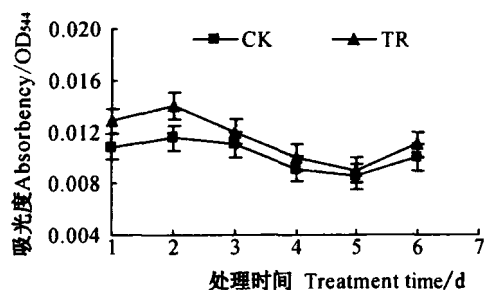


图4 几丁质酶的活性变化

Fig. 4 Changes of chitinase activity

2.6 西瓜枯萎病菌经处理后的 POD 同工酶电泳结果

在含药培养基上生长的西瓜枯萎病菌过氧化物酶的条带数与对照相比(图5),没有条带数的增减,说明万寿菊精油杀菌素对 POD 同工酶影响较小。

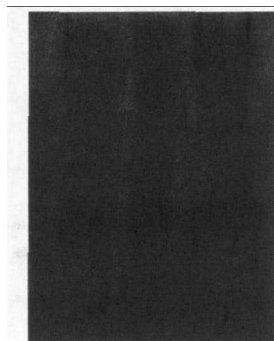


图5 POD 同工酶电泳图谱

Fig. 5 Electrophoretogram of POD isozyme

注:CK:生长在正常培养基的菌株;1:生长在 10 $\mu\text{g/mL}$ 含药培养基中 5 d 后的菌株;2:生长在 20 $\mu\text{g/mL}$ 含药培养基中 5 d 后的菌株。下同。

Note: CK: Natural mycelium; lane1: Mycelium cultured in 10 $\mu\text{g/mL}$ Marigold essential oil fungicide after 5 d; lane2: Mycelium cultured in 20 $\mu\text{g/mL}$ Marigold essential oil fungicide after 5 d. The same as below.

2.7 西瓜枯萎病菌经处理后总蛋白 SDS-PAGE 电泳

试验中随着药剂浓度的增加,在分子量高的区域,病菌表达的蛋白含量增加,条带清晰,而在小分子量区域,蛋白含量却减少,条带变浅,出现了条带的缺失(图6)。而且杀菌剂的浓度越高,高分子量区域出现的条带越明显,低分子量区域的条带也越不明显。说明万寿菊精油杀菌素能够对西瓜枯萎病菌蛋白表达种类和表达量产生影响。

2.8 不同方法处理西瓜幼苗后的萎蔫情况

与仅用毒素处理的西瓜幼苗(处理 A)相比,加入万寿菊精油杀菌素处理西瓜幼苗(处理 B、C)的致萎指数得到显著降低,浓度较大的处理 C 对毒素致萎作用的抑制最为显著(表2)。该结果说明万寿菊精油杀菌素具有减少毒素的毒害作用,差异达显著水平。说明使用万寿菊精油杀菌素可以达到防治西瓜枯萎病的效果。

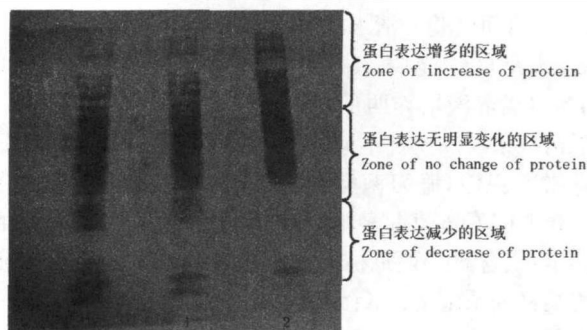


图6 总蛋白电泳图

Fig. 6 Electrophoretogram of total protein by SDS-PAGE

表2 不同方法处理西瓜幼苗后的萎蔫情况

Table 2 Effect of different treatments on wilt index of watermelon seedlings

处理 Treatment	致萎指数 Wilt index / %				
	36 h	72 h	108 h	144 h	180 h
A	38.57a	52.61A	65.86a	81.72a	96.33a
B	5.35b	8.15B	12.50b	23.33b	33.33b
C	0.00d	1.55c	2.22c	4.11d	4.31d
CK	0.92c	2.81c	3.24c	5.45c	6.16c

注:不同大写字母表示差异极显著($P < 0.01$),不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

Note: With different capital letters showed a significant difference at $P < 0.01$ and with different miniscule letters showed a significant difference at $P < 0.05$.

2.9 西瓜叶片内 MDA 含量、过氧化物酶(POD)活性的变化

经过处理后的西瓜苗与对照(未处理)的西瓜苗比较,其叶片中的 MDA 含量有所降低(图7),3 d 后差异达显著水平,说明万寿菊精油杀菌素能够减少西瓜苗叶片中 MDA 的含量,减轻了西瓜枯萎病菌对西瓜苗膜的过氧化作用。经过处理的西瓜苗过氧化物酶活性逐渐升高,4 d 后差异达显著水平,5 d 后差异极显著,表明万寿菊精油杀菌素能够提高西瓜苗的过氧化物酶活性(图7),使西瓜苗免受过氧化物的伤害,提高抗逆性。

3 结论与讨论

试验结果表明,万寿菊精油杀菌素可明显地抑制西瓜枯萎病菌的菌丝生长,西瓜枯萎病菌在含药培养基上生长性状发生变化。果胶酶作为植物病原真菌的重要致病因素之一,果胶酶的活性与致病性呈正相关^[11]。万寿菊精油杀菌素处理的西瓜枯萎病菌的果胶酶活性下降,说明万寿菊精油杀菌素能够通过影响细胞壁中的果胶酶的活性起到抑菌作用。同时,万寿菊精油杀菌素处理的西瓜枯萎病菌的呼吸强度明显提高,说明万寿菊精油杀菌素可通过干扰呼吸作用而起到抑菌作用,但具体的作用位点还有待于进一步研究。当药剂作用于西瓜枯萎病菌丝体后,病原菌细胞膜通透性增大,西瓜枯萎病菌分泌的几丁质酶活性稍高于对照,SDS-PAGE电泳结果显示,西瓜枯萎病菌蛋白表达种类

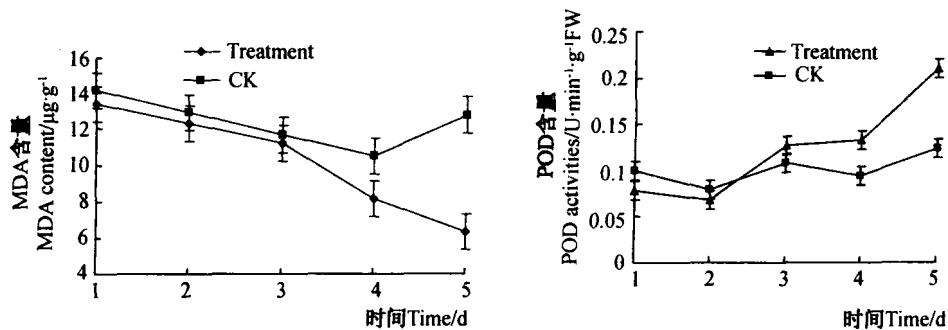


图7 MDA含量、过氧化物酶(POD)活性的变化

Fig. 7 Effect of marigold essential oil fungicide on MDA content and POD activities of watermelon leaves

和表达量产生变化,但万寿菊精油杀菌素对 POD 同工酶影响较小。

由统计分析结果表明,万寿菊精油杀菌素处理后提高了西瓜幼苗对西瓜枯萎病菌毒素的抗萎反应,并且浓度增大幼苗的抗萎反应更明显。说明该人工模拟合成的杀菌素达到与万寿菊根粗提物相似的抑菌效果^[7-8]。研究中常以 MDA 含量来反映植物膜脂过氧化水平和对细胞膜的伤害程度^[24],过氧化物酶可以除去代谢过程中产生的 H_2O_2 而避免其对植物造成伤害^[25]。试验中喷施杀菌素的西瓜苗 MDA 含量低于未经处理的西瓜苗,同时西瓜苗的过氧化物酶活性提高,说明万寿菊精油杀菌素能够有效的降低西瓜枯萎病菌对西瓜苗的伤害,能够使西瓜苗免受过氧化物的伤害,提高植株的抗逆性。

该试验为新农药的开发和先导化合物的发现提供了依据,同时也为开发新型、高效、低毒的防治西瓜枯萎病的植物源农药提供理论基础和科学依据。随着绿色农药对环境生态的保护推动作用,植物源杀菌剂应用前景将会更广泛。

参考文献

- [1] 郑永权,姚建仁,邵向东. 21 世纪农药展望[J]. 植物保护, 1998, 24(4): 40-41.
- [2] 周仕涛. 我国植物源农药的研究及前景[J]. 西南农业学报, 2004, 17(4): 525-529.
- [3] 于天祥, 张明方. 西瓜枯萎病研究进展[J]. 中国西瓜甜瓜, 2004 (1): 17-19.
- [4] Gao Y X, Nagy B, Liu X, et al. Supercritical CO_2 extraction of lutein esters from marigold (*Tagetes erecta* L.) enhanced by ultrasound[J]. The Journal of Supercritical Fluids, 2009, 49(3): 345-350.
- [5] Natarajan N, Cork A, Boomathi N, et al. Cold aqueous extracts of African marigold, *Tagetes erecta* for control tomato root knot nematode, *Meloidogyne incognita* [J]. Crop Protection, 2006, 25 (11): 1210-1213.
- [6] Dharmagadda V S S, Naik S N, Mittal P K, et al. Larvicidal activity of *Tagetes patula* essential oil against three mosquito species [J]. Bioresource Technology, 2005, 96(11): 1235-1240.
- [7] 陈红兵, 王金胜, 张作刚. 万寿菊根的提取物对西瓜枯萎病反应的抗性研究[J]. 植物病理学报, 2003, 33(5): 439-443.
- [8] 王文斌, 郭春绒. 万寿菊根不同溶剂提取物对辣椒枯萎病菌的抑

- 制作作用[J]. 山西农业大学学报, 2004, 24(4): 407-410.
- [9] 范志宏, 宋炜, 陈红兵, 等. 一种植物源杀菌剂及其合成方法[P]. 中国, 1014276782009-5-13.
- [10] 蒋细良, 朱昌雄, 谢德龄. 农抗 120 防治西瓜枯萎病的机制[J]. 植物保护学报, 1998, 25(4): 351-354.
- [11] 张飞, 岳田利, 费坚, 等. 果胶酶活力的测定方法研究[J]. 西北农业学报, 2004, 13(4): 134-137.
- [12] 王小敏, 吴文龙, 周连飞, 等. 分光光度计法测定果胶酶活力的方法研究[J]. 食品工业科技, 2007, 28(5): 227-229.
- [13] 张志良. 植物生理实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2003: 240-277.
- [14] 唐萍. 用简易测定法进行呼吸强度的测定[J]. 生物学通报, 2004, 39 (5): 56-57.
- [15] 黄青春, 周明国, 叶钟音. 拌种灵对柑桔溃疡病菌菌体细胞活性的影响[J]. 南京农业大学学报, 2001, 24(3): 23-26.
- [16] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006: 112-120.
- [17] 檀建新, 陈忠义, 张杰, 等. 产几丁质酶菌的分离鉴定及其抑菌作用的初步研究[J]. 植物保护, 2001, 27(2): 1-3.
- [18] 陶刚, 刘杏忠, 王革, 等. 产几丁质酶木霉生防菌株的生化测定[J]. 西南农业学报, 2005, 18(4): 452-455.
- [19] 车建美, 葛慈斌, 刘波, 等. 黄瓜和西瓜尖孢镰刀菌同工酶异质性分析[J]. 亚热带农业研究, 2005(1): 45-48.
- [20] Rabilloud T, Adessi C, Giraudel A, et al. Improvement of the solubilization of proteins in two-dimensional electrophoresis with immobilized pH gradients [J]. Electrophoresis, 1997, 18(3): 307-316.
- [21] 翁瑜, 曾群力, 姜槐, 等. 双向凝胶电泳比较三种常用蛋白质提取方法[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2005, 21(5): 691-694.
- [22] Shaw M M, Riederer B M. Sample preparation for two-dimensional gel electrophoresis [J]. Proteomics, 2003, 3(8): 1408-1417.
- [23] Swain M, Ross N W. A silver stain protocol for proteins yielding high resolution and transparent background in sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gels[J]. Electrophoresis, 1995, 16(6): 948-951.
- [24] 王建国, 张作刚, 郭春绒. 枯萎病菌对西瓜不同抗感品种丙二醛含量及某些保护酶活性的影响[J]. 植物病理学报, 2001, 31(2): 152-156.
- [25] Dunford H B, Stillman J S. On the function and mechanism of peroxidases [J]. Coord Chem Rev, 1976, 19: 187-251.

不同灌水处理对礼品西瓜土壤水分及产量的影响

张 飞¹, 窦铁岭², 文宏达¹

(1. 河北农业大学 资源与环境科学学院, 河北 保定 071001; 2. 河北农业大学 农学院, 河北 保定 071001)

摘 要:以礼品西瓜为试材, 分析了不同灌水处理对 2 种礼品西瓜产量、耗水规律和水分利用效率的影响。结果表明: 一定降雨条件下, 在播种前、伸蔓期和果实膨大期对 2 种礼品西瓜进行适当补水, 产量达到最高, 分别为 25 190.22 kg/hm² 和 23 982.22 kg/hm²; 耗水量最低, 分别为 243.86 mm 和 243.66 mm, 水分利用效率分别达到 9.72 kg/m³ 和 9.84 kg/m³。因此, 生长季 3 次适量补水是当地礼品西瓜获取较高产量和水分利用效率的供水条件。

关键词:礼品西瓜; 产量; 耗水量; 水分利用效率

中图分类号:S 152.7⁺5 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)08-0014-05

第一作者简介:张飞(1984-), 男, 河北石家庄人, 现从事水土保持与水环境研究工作。E-mail: fei1511@sina.com。

责任作者:文宏达(1970-), 男, 河北衡水人, 博士, 教授, 硕士生导师, 现从事土壤水资源与水肥耦合方面的研究工作。E-mail: wenhd@163.com。

基金项目:国家“十一五”科技支撑计划资助项目(2006BAD15B05); 河北省科学技术研究与发展计划资助项目(06220901D)。

收稿日期:2011-02-22

土壤水是地面水与地下水的相互转化及降水补给地下水的重要中间环节^[1], 土壤水分是制约植物生长和产量以及品质的主要环境因素之一^[2-3]。旱区作物生长的主要限制因素是水分缺乏^[4-5], 在中国半干旱地区, 雨水利用率仅为 4.5~6.0 kg·mm⁻¹·hm², 作物的生产潜力由于缺水而下降大约 60%~75%, 土壤水分基本处于全年亏缺状态^[6-7]。在水资源极少且降雨分布不均匀的冀西北地区, 作物的生长极易受到水分胁迫的影响。

Studies on Antifungal Activity of Marigold Essential Oil Fungicide Against *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*

FAN Zhi-hong¹, GUO Chun-rong¹, WANG Jin-sheng²

(1. College of Arts and Sciences, Shanxi Agricultural University, Taigu, Shanxi 030801; 2. College of Life Sciences, Shanxi Agricultural University, Taigu, Shanxi 030801)

Abstract: Marigold essential oil fungicide, synthesized analogues of extracts of *Tagetes patula* L. root, against *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* (FON) and their influence on watermelon plant were studied by the methods of field test and biology assay. The results showed that the inhibition rate of 0.5 μg/mL marigold essential oil fungicide after 24, 48, 72, 144 h was separately 100%, 76.7%, 59.9%, 56.8%, and the inhibition rate was 100% over 1.5 μg/mL; wilting index was a significant difference with 10 μg/mL reagents ($P < 0.05$); protein of higher molecular weight enhanced and lower molecular weight reduced with 20 μg/mL reagents, but the POD isozyme was not changed; with 50 μg/mL reagents MDA content reduced after 3 d to a significant difference ($P < 0.05$), POD activities enhance after 4 d to a significant difference ($P < 0.05$) and after 5 d to a higher difference ($P < 0.01$). At the same time pectinase activities degraded, respiratory intensity enhanced, membrane permeability magnified and chitinase activity slightly raised of FON. The fungicide could be used for preventing and controlling FON, which would provide a new method and technique for the integrated control of FON.

Key words: marigold essential oil fungicide; watermelon *Fusarium* wilt; antifungal activity