

DOI:10.11937/bfyy.201614028

茼蒿提取物对西瓜枯萎病病菌抑制效果的初步研究

刘 琼, 张新龙, 范淑英

(江西农业大学 农学院, 江西 南昌 330045)

摘 要:以茼蒿干粉为试材,设置 0、MIC、EC₅₀和 MFC 4 种浓度,通过测定培养液的电导率、菌丝中总糖含量、蛋白质含量、核酸泄露以及菌丝干湿样质量的变化,研究了茼蒿提取液对西瓜枯萎病菌抑制作用的影响。结果表明:加入茼蒿提取物的菌悬液电导率明显增大,其中浓度为 EC₅₀ 时的液体培养基中相对电导率最大,达到 0.27 mS·cm⁻¹;菌丝总糖和可溶性蛋白质含量均下降。此外,菌丝生物量也明显下降,MFC 处理下湿样质量较对照减少 64.34%,干样质量较对照减少 78.63%。

关键词:茼蒿;西瓜枯萎病;抑菌机理;电导率

中图分类号:S 436.42 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)14-0114-05

从植物中提取活性物质来抑制有害微生物,已成为开发和研制新型植物源农药的有效途径之一。蒲忠慧^[1]从青刺果提取的生物碱、黄酮等对金黄色葡萄球菌有抑制作用。张雅静^[2]从苦瓜中分离纯化出的化合物中抑菌活性物质对大肠杆菌可能有抑菌作用。黄晓敏^[3]也从马尾松针中提取出抑菌活性物质黄酮类似物,其对常见的腐败菌及致病菌有抑菌作用。张赟彬等^[4]

提出许多植物提取物对微生物都有较强的抑制作用。从目前绝大多数的研究结果分析,植物中提取的活性物质的抑菌机理大致可以分为降解细胞壁^[5]、破坏细胞膜^[6]、胞内成分渗出^[7]、破坏膜蛋白^[8]、分子主动运输力损耗^[9]、胞质凝结^[10]等。该试验主要研究茼蒿提取物对西瓜枯萎病病菌的抑菌效果及抑菌机理,以期茼蒿活性物质的开发与利用提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试茼蒿采用江西农业大学农学院蔬菜基地种植且经风干后的茼蒿干品,用小型粉碎机粉碎成粉末状样品,过 40 目筛。供试西瓜枯萎病菌由浙江大学农学院提供。PDB 培养液组分、葡萄糖、三水合乙酸铅、考马斯亮蓝、牛血清蛋白、磷酸二氢钾、磷酸氢二钾、草酸、蒽酮、

第一作者简介:刘琼(1991-),女,硕士研究生,研究方向为植物保护。E-mail:1174679741@qq.com.

责任作者:范淑英(1963-),女,本科,教授,研究方向为蔬菜栽培生态与环境调控。E-mail:fansy12@126.com.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31360487);江西省自然科学基金资助项目(20132BAB204016)。

收稿日期:2016-03-11

Rapid Detection of Tomato Yellow Leaf Curl Virus Resistant Gene *ty-5* in Tomato by PCR

YANG Huanhuan¹, JIANG Jingbin¹, LI Jingfu¹, XU Xiangyang¹, SHANG Junming²

(1. College of Horticulture, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030; 2. College of Literature and Media, Taishan University, Tai'an, Shandong 271000)

Abstract: Taking CLN32120a-23(resistant materials)and Moneymaker(susceptible materials)as experimental materials which is resistant to yellow leaf curl virus in tomato, F₁, F₂ were obtained through hybridization, selfcross, using SSR technology, a molecular marker was obtained. The results showed that SSR marker had a 550 bp amplification fragment in homozygous resistant lines, a 780 bp fragment in susceptible lines and both 780 bp and 550 bp fragments in heterozygous resistant lines. The detection results were consistent with those of field identification. So the SSR marker, tightly linked to *ty-5* gene, could distinguish homozygous and heterozygous resistant lines and susceptible lines. 27 tomato materials individuals were detected. There were 15 homozygous resistant lines, the molecular detection was 80% coincident with the results of field identification. The results showed that *ty-5* SSR marker could be used for rapid identification of *ty-5* resistant gene in tomato.

Keywords: tomato yellow leaf curl virus; *ty-5*; SSR; PCR

浓硫酸、磷酸、乙酸、乙酸乙酯均为分析纯。

供试仪器:DDS-307A 电导率仪(上海精密科学仪器有限公司);723B 可见分光光度计(天津普瑞斯仪器有限公司);ZHWHY-200B 恒温振荡培养箱(上海智诚分析仪器制造有限公司);Spectra Max M2 多功能酶标仪(山特电子有限公司);紫外分光光度计(北京普析通用仪器有限公司);5804R 冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 茛蒿提取液制备 将 500 g 干茛蒿粉末浸泡在 90%乙醇中,利用超声提取 2 h,通过旋转蒸发仪成浸膏状,配制成浓度 $500 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液,保存于 4°C 冰箱,备用。根据前期试验结果^[11],该研究共设置 3 个浓度处理:MIC(最小抑菌浓度) $125 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, EC_{50} (半数致死浓度) $206 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,MFC(最大杀菌浓度) $500 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

1.2.2 菌种活化与菌悬液的制备 无菌条件下,将西瓜枯萎病菌接种到 PDA 培养基上,于 28°C 恒温培养箱中培养 7 d,用无菌水将培养皿上的菌种洗入三角瓶中,玻璃珠打散、过滤菌丝,制成孢子悬浮液。使菌液浓度为 $1 \times 10^6 \text{ cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$,保存备用。

1.3 项目测定

1.3.1 茛蒿提取液对西瓜枯萎病菌细胞膜渗透性的测定^[12] 无菌条件下,将 1 mL 西瓜枯萎病菌孢子悬浮液接种于 100 mL PDB 培养液中,摇床震荡培养 7 d ($180 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 28°C),分别加入 5 mL 不同浓度的茛蒿提取液,以等量的清水(CK)及 40%乙醇(S)为对照,之

后立即取出 5 mL 离心($10\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 10 min)取上清液,测定电导率;剩余培养液继续摇床震荡培养,分别在 5、10、15、20 h 后取培养液 5 mL,离心,测上清液的电导率,每处理重复 3 次。

1.3.2 茛蒿提取液对西瓜枯萎病菌丝生物量的影响^[13] 西瓜枯萎病菌的培养同 1.2.3。获得的菌丝于 $5\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 下离心 20 min,弃上清液,称量沉淀的质量,即为菌丝湿样质量。称量后,将菌丝放入 75°C 烘箱 24 h 后称量,即为菌丝干样质量,每处理 3 次重复。

1.3.3 茛蒿提取液对西瓜枯萎病菌丝可溶性蛋白质含量的测定^[14] 标准曲线的制备:取 6 支试管,按表 1 依次编号并加各试剂后,混合摇匀,放置 2 min 后,在 595 nm 波长下测定并记录其吸光值。以各管相应的标准蛋白质含量($\mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$)为横坐标, $A_{595\text{nm}}$ 为纵坐标,绘制标准曲线(图 1)。可溶性蛋白质含量的测定:无菌条件下,将 1 mL 西瓜枯萎病菌孢子悬浮液接种于 100 mL PDB 培养液中,摇床震荡培养 5 d 后($180 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 28°C),分别加入 5 mL 不同浓度的茛蒿提取液,以等量的清水及 40%乙醇为对照,继续震荡培养 2~3 d,过滤,用无菌水冲洗菌丝体 3 次后,用磷酸缓冲液($0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 7.5)冲洗 3 次,之后用滤纸吸干菌丝,再称取 0.5 g 菌丝,加入 2 mL 磷酸缓冲液和 1 g 石英砂于研钵中在冰浴中研磨至糊状,加入磷酸缓冲液补足至 5 mL,冷冻离心机中离心(4°C , $5\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$) 15 min,取上清液于 -20°C 冰箱保存备用。将测定的吸光值带入标准曲线的方程中,得出蛋白质浓度。

表 1

蛋白质标准曲线的制备

Table 1

The production of standard curve of protein

管号	稀释液用量	BSA 标准品用量	BSA 标准品最终浓度
Tube No.	The amount of diluent/ μL	BSA standard amount/ μL	BSA standard final concentration/ $(\mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1})$
A	0	100	2.000 0
B	200	200	1.000 0
C	200	200(从 B 管中取)	0.500 0
D	200	200(从 C 管中取)	0.250 0
E	200	200(从 D 管中取)	0.125 0
F	200	200(从 E 管中取)	0.062 5
G	200	0	0(空白)

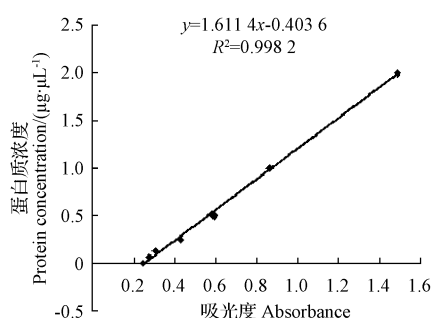


图 1 蛋白质标准曲线

Fig. 1 Standard curve of protein concentration

1.3.4 茛蒿提取液对西瓜枯萎病菌丝总糖含量的测定

葡萄糖标准曲线的制备:取 6 支试管,按表 2 依次编号并加各试剂后,混合摇匀,于沸水浴中加热 5 min,冷却至室温后,在 620 nm 波长下测定并记录吸光值。以标准葡萄糖含量(μg)为横坐标, $A_{620\text{nm}}$ 为纵坐标,绘制标准曲线(图 2)。菌丝总糖含量的测定:无菌条件下,将 1 mL 西瓜枯萎病菌孢子悬浮液接种于 100 mL PDB 培养液中,摇床震荡培养 5 d 后($180 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 28°C),分别加入不同浓度的茛蒿提取液,以等量的清水及 40%乙醇为对照,继续震荡培养 2~3 d,过滤,用无菌水冲洗菌

丝体 3 次,用滤纸吸干菌丝,称取 0.25 g 菌丝,用蒸馏水研磨至糊状分别转入三角瓶中,加水至 25 mL,于沸水浴中提取 15 min,快速冷却至室温后定容至 50 mL,再向其中加入 2 mL 10% 醋酸铅溶液,摇匀,沉淀其中的蛋白质,待反应完全后,加入 0.25 g 草酸结晶,以除去过量的醋酸铅溶液,摇匀后过滤沉淀,取各滤液 2 mL 于试管中,加入 0.5 mL 蒽酮和 5 mL 浓硫酸,摇匀后将试管置

表 2

葡萄糖标准曲线的制备

Table 2

The production of standard curve of glucose

试管编号 Tube number	0	1	2	3	4	5
葡萄糖原液 Liquid glucose/mL	0.0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
蒸馏水 Distilled water/mL	1.0	0.8	0.6	0.4	0.2	0.0
浓硫酸 Sulfuric acid/mL	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
蒽酮 Anthrone/mL	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
葡萄糖含量 Glucose content/ μg	0.0	20.0	40.0	60.0	80.0	100.0

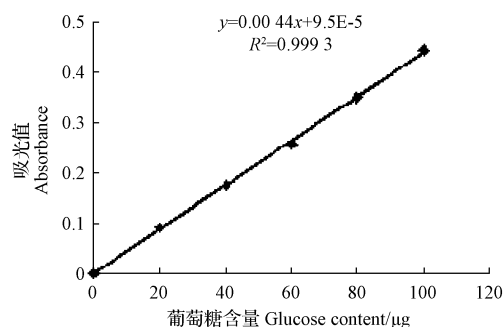


图 2 葡萄糖标准曲线

Fig. 2 Standard curve of glucose

1.3.5 茼蒿提取液对西瓜枯萎病菌核酸泄露的测定

无菌条件下,将 1 mL 西瓜枯萎病菌孢子悬浮液接种于 50 mL PDB 培养液中,分别加入 5 mL 不同浓度的茼蒿提取液,以等量的清水及 40% 乙醇为对照,摇床震荡培养 7 d 后($180 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 28°C)取出培养物,离心($4000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 15 min),取上清液,用紫外分光光度计在 260 nm 处测定各样品的吸光值。

1.4 数据分析

采用 DPS v7.05 进行统计分析,Origin 8.0 进行图表分析,SPSS 17.0 进行显著性差异分析。

2 结果与分析

2.1 茼蒿提取液对西瓜枯萎病菌细胞膜渗透性的影响

渗透压决定细胞内外的水平衡,水能通过半透膜进出细胞,蔗糖与蛋白质等大分子则不能通过,因此通过测定溶液电导率,可以了解细胞膜渗透性的变化。由图 3 可知,各处理溶液的电导率随着浓度增大而增大,处理 5 h 左右,各处理的相对电导率与对照相比有差异,而随着培养时间的延长,在 10 h 左右,各处理的相对电导率与对照相比差异不明显,处理 20 h 左右,EC₅₀ 处理的相对电导率达到最大,为 $0.27 \text{ mS} \cdot \text{cm}^{-1}$,从整个过程看,

于沸水浴中加热 5 min,快速冷却至室温,静置数分钟后,在 620 nm 波长下测定并记录其吸光值,每处理重复 3 次,计算出各样品中的总糖含量。含糖量(%) = $(A \times V) / (V_s \times W \times 10^6) \times 100$ 。式中, A 为在标准曲线上查得的含糖量(μg), V 为总体积(mL), V_s 为测定取样体积(mL), W 为样品质量(g)。

随着培养时间的延长,各处理的相对电导率均缓慢增大,说明各处理对西瓜枯萎病菌的细胞膜透性改变均有影响,其中 EC₅₀ 处理的影响最大,与对照相比,有明显的差异,因此,茼蒿提取液对西瓜枯萎病菌的活性有较好的抑制作用。

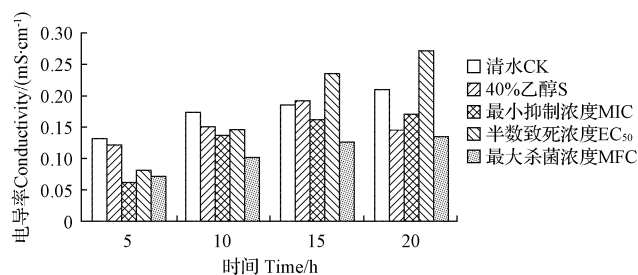


图 3 茼蒿提取液对西瓜枯萎病菌细胞渗透性的影响

Fig. 3 Effect of extracts from garland chrysanthemum on cell permeability of watermelon *Fusarium*

2.2 茼蒿提取液对西瓜枯萎病菌丝生物量的影响

由图 4 可知,随着茼蒿提取液浓度的增大,菌丝的干湿样质量均逐渐减小($P < 0.05$),各处理与 CK 相比差异显著,此外,各处理之间也存在显著性差异,其中 MIC 处理,菌丝湿样质量较 CK 减少 13.1%,干样质量减少 25.64%;EC₅₀ 处理,菌丝湿样质量较 CK 减少 23.58%,干样质量减少 43.59%;MFC 处理,菌丝湿样质量较 CK 减少 64.34%,干样质量减少 78.63%,说明茼蒿提取液能够抑制西瓜枯萎病菌丝的生长。

2.3 茼蒿提取液对西瓜枯萎病菌可溶性蛋白质的影响

可溶性蛋白质是重要的渗透调节物质和营养物质,其增加和积累能提高细胞的保水能力,对细胞的生命物质及生物膜起到保护作用。由图 5 可以看出,随着茼蒿提取液浓度的增大,蛋白质含量显著降低,其中 MIC 处理条件下,蛋白质浓度为 $0.27 \mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$;EC₅₀ 处理条件下,蛋白质浓度为 $0.23 \mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$;MFC 处理条件下,蛋

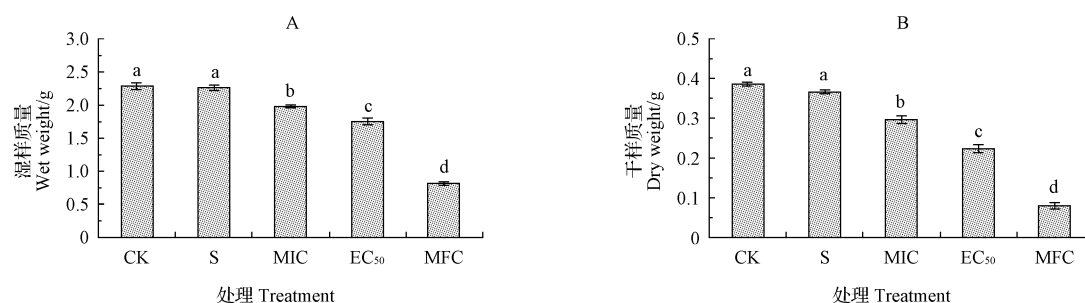


图4 茼蒿提取液对西瓜枯萎病菌丝生物量的影响

Fig. 4 Effect of chrysanthemum extract wilt pathogen of watermelon silk biomass

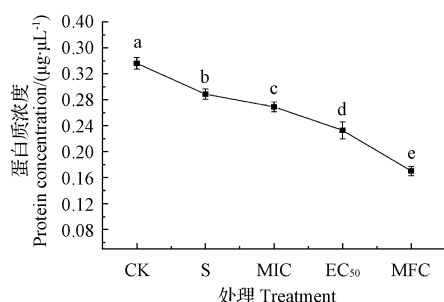


图5 茼蒿提取液对西瓜枯萎病菌丝蛋白质含量的影响

Fig. 5 Effect of chrysanthemum extracts on mycelia protein content of watermelon *Fusarium*

白质浓度为 $0.17 \mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$,与CK(蛋白质浓度为 $0.34 \mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$)差异显著($P < 0.05$),说明茼蒿提取液导致西瓜枯萎病菌丝可溶性蛋白质的严重流失。

2.4 茼蒿提取液对菌丝中总糖含量的影响

糖是细胞内生物活动的能源,它影响着蛋白质与脂肪的合成,同时能够在细胞中维持渗透压的作用。由图6可知,经茼蒿提取液处理后的西瓜枯萎病菌丝内的总糖含量下降,MIC、EC₅₀和MFC中还原糖含量分别为 64.68 、 61.04 、 $62.33 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,而CK中菌丝糖含量为 $86.42 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,各种处理与CK相比均差异显著($P < 0.05$)。说明茼蒿提取物破坏了菌丝的细胞膜结构,使大分子还原糖可以通过细胞膜渗出,导致了还原糖含量下降,因此,茼蒿提取液能有效地抑制菌丝生长。

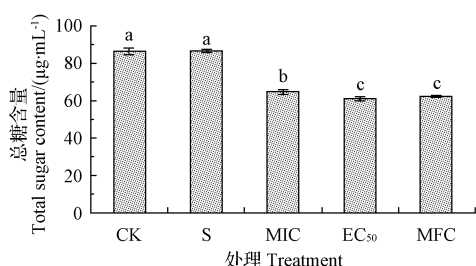


图6 茼蒿提取液对西瓜枯萎病菌丝总糖含量的影响

Fig. 6 Effect of chrysanthemum extracts on mycelia total sugar content of watermelon *Fusarium*

2.5 茼蒿提取液对西瓜枯萎病菌核酸泄露的影响

在260 nm下,通过测定不同浓度的茼蒿提取液处理后的西瓜枯萎病菌液的吸光值,了解茼蒿提取液对西瓜枯萎病菌核酸泄露的影响,吸光值越大说明核酸泄露越多。从图7可知,MFC处理后菌液的吸光值最大,与CK相比差异显著;而MIC和EC₅₀处理与CK相比差异不显著($P > 0.05$)。

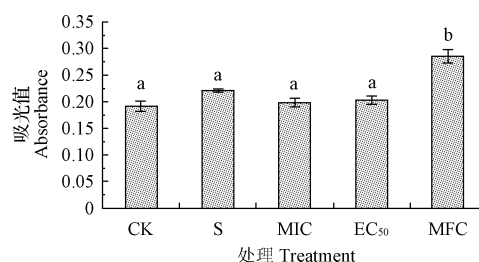


图7 茼蒿提取液对西瓜枯萎病菌核酸泄露的影响

Fig. 7 Effect of chrysanthemum extracts on nucleic acid leak of watermelon *Fusarium*

3 讨论与结论

试验结果表明,采用茼蒿提取物处理后的西瓜枯萎病菌菌液经一段时间的培养,菌液电导率发生了改变,在相同的时间内,MIC和MFC处理后的菌液电导率变化相对比较小,而EC₅₀处理的电导率变化最大,为 $0.27 \text{ mS} \cdot \text{cm}^{-1}$ 。说明茼蒿提取物中的活性物质引起的细胞膜透性的改变,导致细胞内含物外渗,从而使电导率增大。据刘小红等^[15]研究,罗默碱对梨锈病菌的细胞膜有一定的破坏作用,从而使菌丝体细胞内的大分子物质如可溶性糖类、可溶性蛋白质等外渗,渗出液的电解质增加,电导率上升。

试验采用一定浓度的茼蒿提取物处理西瓜枯萎病菌的菌丝体,其菌丝生物量明显下降,在MFC的浓度处理下菌丝湿样质量减少64.34%,干样质量减少78.63%。说明茼蒿提取物可有效抑制菌丝的生长,其原因可能是通过抑制菌丝体细胞内的蛋白质、生物活性酶从而导致菌丝体生物量下降。菌丝的生长离不开蛋白

质,蛋白质是构成生物体的结构成分,也可以参与代谢的酶,蛋白质含量的降低,则说明细胞的结构受到不可逆破坏,蛋白质积累减少甚至停止,同时参与各种生理活动的酶被大量分解或合成受到抑制。这些变化将导致细胞代谢功能下降或紊乱,直至细胞死亡^[16],从而使菌丝生长受到抑制,生物量下降。

试验表明,经茼蒿提取物处理一段时间后的西瓜枯萎病菌菌丝体的可溶性蛋白质、还原糖含量均下降,还原糖含量的下降是因为菌丝体的细胞膜受到破坏,从而使大分子物质穿透细胞膜渗出到液体培养基中。而可溶性蛋白质降低的原因可能有以下2种:1)它的合成受到抑制;2)渗出到细胞外。据李冲伟^[17]研究,木霉菌株 T-33 培养液提取物对杨树烂皮病菌的蛋白质合成有抑制作用,或者导致菌丝体的蛋白质变性。

通过核酸泄露的测定可以看到,茼蒿提取物浓度在 MFC 时,核酸泄露与 CK 相比差异显著,有可能是茼蒿提取物破坏了菌丝体体细胞的细胞膜,从而使核酸大分子泄漏到体细胞外,从而影响吸光值,需进一步提取菌丝中总 DNA 来进行验证。

以上试验充分证明茼蒿提取物能有效地破坏西瓜枯萎病菌的细胞膜,使电导率增加,大分子渗漏,并抑制细胞中的蛋白质以及酶的合成。此外,如何采用茼蒿提取物处理西瓜活体叶片并测定其细胞壁降解酶,如纤维素酶、果胶酶等的含量变化,以及是否影响西瓜抗病基因等,还有待进一步研究,这将为更全面了解茼蒿提取物安全有效防治西瓜枯萎病提供参考依据。

参考文献

- [1] 蒲忠慧. 青刺果体外抑菌活性及其活性物质的分离纯化与作用机制研究[D]. 雅安:四川农业大学,2009.
- [2] 张雅静. 苦瓜活性物质提取分离与抑菌作用研究[D]. 南宁:广西大学,2013.
- [3] 黄晓敏. 马尾松针黄酮类物质的抑菌作用及成分研究[D]. 广州:仲

恺农业工程学院,2014.

- [4] 张赟彬,缪存铅,宋庆,等. 荷叶精油对肉类食品中常见致病菌的抑菌机理[J]. 食品科学,2010,31(19):63-66.
- [5] HELANDER I M, ALAKOMI H L, LATVA-KALA K, et al. Characterization of the action of selected essential oil components on Gram-negative bacteria[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1998, 46: 3590-3595.
- [6] ULTEE A, BENNINK M H J, MOEZELAAR R. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68(4): 1561-1568.
- [7] LAMBERT R J W, SKANDAMIS P N, COOTE P, et al. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol[J]. Journal of Applied Microbiology, 2001, 91: 543-462.
- [8] ULTEE A, KETS E P W, SMID E J. Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1999, 65(10): 4606-4610.
- [9] ULTEE A N, DSMID A, SMID E J. Influence of carvacrol on growth and toxin production by *Bacillus cereus* [J]. International Journal of Food Microbiology, 2001, 64: 373-378.
- [10] GUSTAFSON J E, LIEWY C, CHEW S, et al. Effects of tea tree oil on *Escherichia coli* [J]. Letters in Applied Microbiology, 1998, 26: 194-198.
- [11] 刘琼,张新龙,黄琦,等. 茼蒿粗提物对西瓜枯萎病菌的抑菌活性[J]. 江西农业大学学报,2015,37(5):832-835.
- [12] 杨书珍,彭丽桃,潘思秋,等. 蜂胶乙酸乙酯提取物对意大利青霉菌的抑制作用及稳定性研究[J]. 食品科学,2009,30(11):87-90.
- [13] 陈倩茹. 植物精油对樱桃番茄主要病原菌抑制效果的研究[D]. 杭州:浙江大学,2014.
- [14] 王倩,谢明杰. 木犀草素对金黄色葡萄球菌的抑菌活性及其机制[J]. 微生物学报,2010,50(9):1180-1184.
- [15] 刘小红,邓业成,唐煌,等. 罗默碱对梨锈病菌抑制机理的初步研究[J]. 北方园艺,2011(12):122-124.
- [16] 周晓见,夏洁,靳翠丽,等. 龙爪槐正己烷提取物对铜绿微囊藻抑制机理的研究(英文)[J]. Agricultural Science & Technology, 2011(10):1543-1546.
- [17] 李冲伟. 菌株 T-33 抑菌活性物质及其对杨树烂皮病菌的抑制机理[D]. 哈尔滨:东北林业大学,2012.

Preliminary Research on Antifungal Effect of Extracts From Garland Chrysanthemum on Watermelon Blight

LIU Qiong, ZHANG Xinlong, FAN Shuying

(College of Agronomy, Jiangxi Agricultural University, Nanchang, Jiangxi 330045)

Abstract: Taking garland chrysanthemum powder as material, the effect of extracts from garland chrysanthemum with different concentration of 0, MIC, EC₅₀ and MFC on watermelon blight was explored by measuring the conductivity of conidial suspension, mycelium contents (total sugar and soluble protein content), leakage of mycelial nucleic acid, mycelial change of dry and wet weight. The results showed that the conductivity increased significantly after the addition of extracts from garland chrysanthemum to conidial suspension and the relative conductivity of liquid medium was 0.27 mS · cm⁻¹ in the treatment EC₅₀. Developing for a period of time, total sugar and soluble protein content in the mycelia were lower, in addition, mycelial biomass remarkably decreased with wet weight 64.34% and dry weight 78.63% less than the control under MFC treatment.

Keywords: garland chrysanthemum; watermelon blight; antifungal mechanism; conductivity