

# 西芹鲜根六次醇层物化感物质的分离及其对黄瓜枯萎病菌的化感作用

孙洪欢<sup>1</sup>, 王永<sup>2</sup>, 李蕾<sup>3</sup>, 云兴福<sup>1</sup>

(1. 内蒙古农业大学 农学院, 内蒙古 呼和浩特 010019; 2. 内蒙古农牧科学院 蔬菜研究所, 内蒙古 呼和浩特 010010; 3. 内蒙古大学 满洲里学院, 内蒙古 满洲里 012400)

**摘要:**以西芹鲜根为试材,经乙醇浸提后,采用注层析法、化感作用检测法和 GC-MS 检测法,研究了西芹鲜根乙醇浸提液经第 5、6 次层析分离获得各层析流分与黄瓜枯萎病菌共培养,并计算出化感效果筛选出最佳流分,最后通过 GC-MS 检测出 6 次醇层物最佳流分中的化感物质成分,从而达到西芹鲜根中化感物质成分的纯化目的。结果表明:各流分均对黄瓜枯萎病菌具有较强抑制作用,其化感效果与乙醇对照差异显著,第 5 次层析最佳流分为 RE211018、RE29554、RE62359 和 RE68656,化感效果(相对于乙醇对照)依次为 63.05%、70.84%、69.38%和 59.16%;第 6 次层析最佳流分为 RE2110186、RE295548、RE623597 和 RE686568,其化感效果(同上)分别提高至 70.14%、71.38%、64.84%和 60.63%。西芹鲜根第 6 次醇层物 4 个最佳流分中含有酚类、酯类、胺类和烷烃类共 4 类 11 种化感物质,分别为 2,4-二叔丁基苯酚、8,11-十八碳二烯酸甲酯、芥酸乙酯、邻苯二甲酸二甲酯、邻苯二甲酸异丁酯、邻苯二甲酸丁基 2-乙基己基酯、邻苯二甲酸丁基酯 2-戊基酯、邻苯二甲酸二丁酯、(Z)-9-十八烯酸酰胺、二十七烷和 3-乙基-5-(2-乙基丁基)十八烷。

**关键词:**西芹鲜根;6 次醇层物;层析分离;黄瓜枯萎病菌;化感作用;化感物质

**中图分类号:**S 636.301 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)09-0093-08

黄瓜枯萎病(*Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*)是由尖孢镰刀菌黄瓜专化型(*Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*, Foc)引起的一种非常严重的世界性土传病害。生产上防治黄瓜枯萎病的方法有很多,如药剂防治、嫁接育苗等。但药剂防治黄瓜枯萎病的效果甚微且污染环境,长期使用甚至会产生抗药性,而嫁接育苗的技术和管理又异常繁琐,运用不当可能会对黄瓜的品质有影响,因此,药剂防治和嫁接育苗都不能成为最有效的防控方法<sup>[1]</sup>,故筛选简便有效而又不污染环境的技术至关重要。

**第一作者简介:**孙洪欢(1991-),女,硕士研究生,研究方向为高寒地区蔬菜栽培与生理。E-mail:962046507@qq.com.

**责任作者:**云兴福(1958-),男,硕士,教授,博士生导师,现主要从事高寒地区蔬菜栽培与生理等研究工作。E-mail:yxf5807@163.com.

**基金项目:**国家农业科技成果转化资金资助项目(2014GB2A400716);内蒙古自治区应用技术与开发资金资助项目(20150136)。

**收稿日期:**2016-12-28

植物和微生物所分泌出的一种能影响其它植物生长、发育、健康等行为的次生代谢物质就被称为化感物质(allelochemical)<sup>[2-4]</sup>,它是一种非营养性物质,是化感作用的媒介。有研究者发现芦苇中含有化感物质<sup>[5]</sup>,陈磊等<sup>[6]</sup>也发现西芹的鲜根及根际土中均含有化感物质。目前化感作用已成为科学研究的前沿之一<sup>[3]</sup>。NYCHAS<sup>[7]</sup>综述了利用植物性杀菌物质防治植物病害的可能性。袁高庆等<sup>[8]</sup>研究发现在柑桔园中引种杂草胜红蓟可以有效地控制红蜘蛛种群并能减轻柑桔病害的发生、豆科作物中种植伴生植物天芥菜可减少杂草和病虫害、桃园间作小麦可减轻线虫的危害等。虽然前人关于化感作用防治病虫害的研究甚多,但是利用化感作用来防治黄瓜枯萎病的研究却不多,早前张东东<sup>[9]</sup>、贾俊英等<sup>[10]</sup>分别证明了西芹和西芹种子浸提液对黄瓜枯萎病菌有化感抑制作用。近期利用化感作用来防控黄瓜枯萎病越来越受到研究者们的重视<sup>[11-12]</sup>,化感作用最安全、最有效,且不污染环境,是人们的最佳选择之一。

内蒙古农业大学农学院蔬菜栽培生理研究室就

西芹物质对黄瓜枯萎病菌的化感作用进行了一系列的试验研究<sup>[13-16]</sup>。课题组前期已经开展了西芹鲜根乙醇浸提液1~4次化感物质的层析分离及其对黄瓜枯萎病菌的化感作用的研究<sup>[14-15]</sup>。该试验是在前期研究的基础上进行西芹鲜根乙醇浸提液的第5、6次的层析分离及其化感作用的研究,试验首先对西芹鲜根乙醇浸提液进行分离、提纯和浓缩,利用乙醇浸提液对黄瓜枯萎病菌进行化感作用检测并选出最佳流分,最后对6次醇层物的最佳流分采用气相色谱-质谱联用仪(Gas Chromatography-Mass Spectrometer, GC-MS)鉴定,确定出最佳流分的主要化感物质成分。旨在为利用西芹鲜根物质高效、安全防控黄瓜枯萎病奠定研究基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试美国西芹、黄瓜品种“津春4号”种子均购于内蒙古农业科学院蔬菜研究所。

供试菌种黄瓜枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*, Foc)由中国农业科学院蔬菜花卉研究所植物病理研究室提供。在灭菌室中将黄瓜枯萎病菌接种于已灭菌(121℃, 20 min)的PDA培养基上,在25℃恒温箱中培养1周后,4℃冰箱冷藏,备用。

### 1.2 试验方法

1.2.1 西芹育苗 将西芹种子浸种催芽后播种育苗,以密度为20 cm×15 cm定植于日光温室内,常规管理。

1.2.2 西芹鲜根乙醇浸提液的制备 在西芹成株期(8~9片真叶)进行浸提。将西芹鲜根洗净晾干后,用干净刀片切成1 cm长的小段,以乙醇作为浸提剂,采用鲜根质量(g):乙醇体积(mL)=1:2的比例进行浸提。25℃下于摇床震荡浸提24 h后取出,先后经过6层纱布和定性滤纸过滤,即得西芹鲜根乙醇浸提液,质量浓度为200 mg·mL<sup>-1</sup>贮藏于4℃冰箱,备用。

1.2.3 乙醇浸提液的真空浓缩 将上述西芹鲜根乙醇浸提液倒入容量为50~2 000 mL的蒸发瓶中置于45℃<sup>[15]</sup>恒温水浴锅中利用旋转蒸发仪真空浓缩180 min,得到西芹鲜根乙醇浸提液的浓缩液。

1.2.4 第5次层析分离及化感作用检测 采取前期研究的方法<sup>[16]</sup>。以乙醇为洗脱液进行洗脱,选用规格为10 mm×300 mm的层析柱,采用100~200目的硅胶固定相,用湿法装柱。第5次层析分离:在课

题组1~4次层析液<sup>[14-15]</sup>(共选取了4个最佳流分)的基础上,取4次醇层物的最佳流分10 mL做柱层析分离,每个流分收集5 mL,分别得到10个流分,并编号RE211011~10、RE29551~10、RE62351~10和RE68651~10。化感作用检测及最佳流分选择:将第5次层析分离后的40个流分分别与经过121℃灭菌后的熔融态PDA培养基以1:9的体积比混合摇匀。倒入直径为9 cm的培养皿内,使每皿含2 mL流分18 mL培养基。用含有2 mL浸提剂(乙醇)的平板作为对照(RECK1-4),用不加任何物质的等量PDA培养基平板作为空白对照(RCK1-4),每个处理5次重复。待培养基凝固后,用直径为6 mm的打孔器打取菌饼,将Foc接入含上述物质的PDA培养基中,置于25℃恒温箱中培养1周后用十字交叉法测量菌落直径,用5次重复的平均值计算出化感效果。根据化感效果筛选出西芹鲜根5次醇层物的最佳流分做第6次层析分离。化感效果(%)=(对照菌落直径-处理菌落直径)/对照菌落直径×100。

1.2.5 第6次层析分离及化感作用检测并选出最佳流分 按照上述方法做第6次柱层析分离和化感作用检测,筛选出西芹鲜根6次醇层物的最佳流分。最佳流分的化感物质检测:对西芹鲜根6次醇层物的最佳流分和经过层析的乙醇对照冷冻包装,快递到中国检科院进行化感物质检测,即GC-MS(Agilent 6890/5975 GC-MSD,美国)分析,气相条件:色谱柱规格为DB-5MS 30 m×0.25 mm×0.25 μm,进样口不分流,载气为He,进样口温度为250℃,柱气流速度为1 mL·min<sup>-1</sup>;起始炉温为100℃,程序以5℃·min<sup>-1</sup>升温至380℃,保持1 min,总运行时间为38 min。传输线温度为280℃,传输线类型为MSD。质谱条件:试剂延迟为5 min,扫描方式为scan,扫描速度为normal,扫描范围为50~500 amu。通过以上条件获得各最佳流分的图谱,从而确定各最佳流分中化感物质成分、名称以及分子结构。

### 1.3 数据分析

试验数据经Excel 2003软件处理后作图,并用SAS 9.0软件进行方差分析,对每次层析最佳流分的化感效果在5%水平上进行Duncan's多重极差检验。

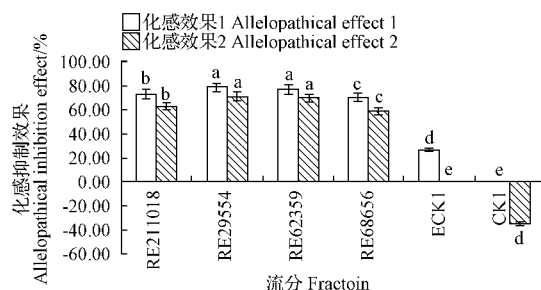
## 2 结果与分析

### 2.1 第5次层析分离及化感作用检测

对西芹鲜根4次醇层物的最佳流分进行第5次层析分别获得10个流分,各流分化感效果均与CK1和ECK1间存在显著差异。由图1可知,其中RE211018、RE29554、RE62359和RE68656显著高于

RE 相应系列的其它 9 个流分,化感效果较 CK1 分别提高至 72.94%、78.43%、76.81%和 70.27%,化感效果 2 较 ECK1 分别提高至 63.05%、70.84%、

69.38%和 59.16%。由图 2 可知,第 5 次醇层物最佳流分的化感效果明显高于 RECK1-4 和 RCK1-4。随后进行第 6 次层析分离。

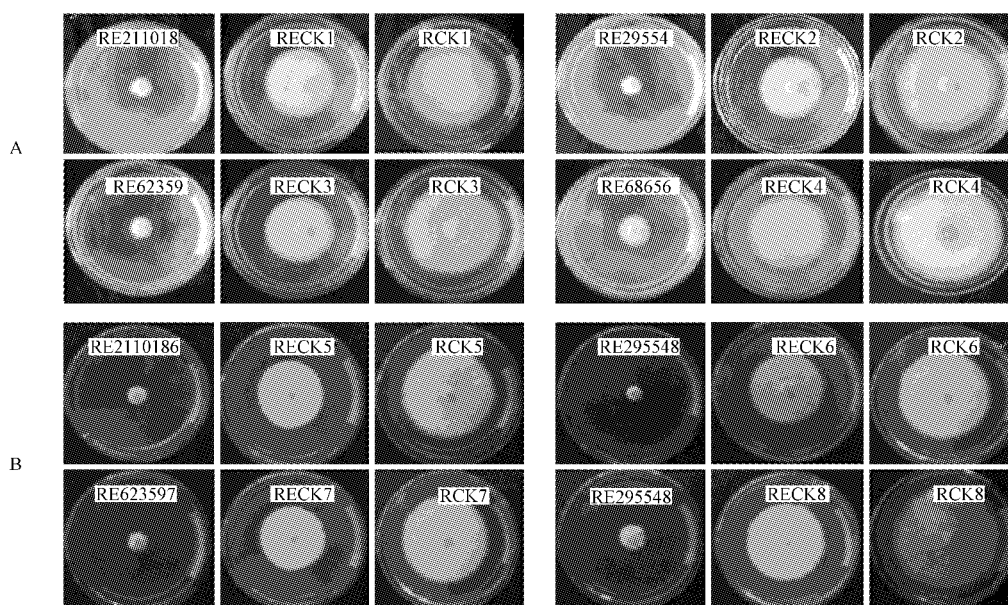


注:图中 RE 表示西芹鲜根乙醇浸提液,RE 后面的第一个数字表示第 1 次层析的最佳流分,以此类推到第 5 次层析。例:RE211011 表示第 1 次层析最佳流分为 2,第 2 次层析最佳流分为 1,第 3 次层析最佳流分为 10,第 4 次层析最佳流分为 1,第 5 次层析流分为 1;CK1 表示第 5 次层析的空白对照,ECK1 表示第 5 次层析的乙醇对照。化感效果 1 表示与 CK1 对比后的化感效果;化感效果 2 表示与 ECK1 对比后的化感效果。同一化感效果,不同小写字母表示流分间在 0.05 水平上达到显著差异。下同。

Note:RE is ethylalcohol extracts of parsley fresh root,the first number following RE is serial number for 1<sup>st</sup> chromatography fraction,And so on to 5<sup>th</sup> chromatography. For example,the 2 of RE211011 is 1<sup>st</sup> chromatography fraction,the 1 of RE211011 is 2<sup>nd</sup> chromatography fraction,the 10 of RE211011 is 3<sup>rd</sup> chromatography fraction,the 1 of RE211011 is 4<sup>th</sup> chromatography fraction,the 1 of RE211011 is 5<sup>th</sup> chromatography fraction. CK1 is the blank control,ECK1 is the ethylalcohol control. Allelopathical effect 1 and 2 are the allelopathical effects respectively compared to CK1 and ECK1. Different small letters in same allelopathical effect indicate significant difference among different fractions[Duncan's multiple range tests at 0.05 level ( $n=12$ )]. The same below.

图 1 西芹鲜根乙醇浸提液第 5 次层析的最佳流分对黄瓜枯萎病菌的化感效果

Fig. 1 Allelopathic effects of the 5<sup>th</sup> chromatography fractions of ethylalcohol extracts of parsley fresh root on *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*



注:A 为第 5 次层析液的最佳流分对黄瓜枯萎病菌的化感作用,B 为第 6 次层析液的最佳流分对黄瓜枯萎病菌的化感作用。

Note;A. Allelopathic effects of the 5<sup>th</sup> chromatography fractions on *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*,B. Allelopathic effects of the 6<sup>th</sup> chromatography fractions on *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*.

图 2 144 h 后西芹鲜根乙醇浸提液第 5、6 次层析的最佳流分对黄瓜枯萎病菌的化感作用

Fig. 2 Allelopathic effects of the 5<sup>th</sup>,6<sup>th</sup> chromatography fractions of ethylalcohol extracts of parsley fresh root on *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* after 144 hours

## 2.2 第6次层析分离及化感作用检测

从西芹鲜根6次醇层物中分别获得的10个流分(编号为RE2110181~10、RE295541~10、RE623591~10和RE686561~10),其对Foc的化感效果有所升高(图3),其中RE2110186、RE295548、RE623597和RE686568显著高于RE相应系列中其

它9个流分。第6次层析液的最佳流分对Foc的化感作用的菌落直径对比见图3。将筛选出的RE2110186、RE295548、RE623597和RE686568作为西芹鲜根6次醇层物的最佳流分。该结果表明,6次层析后西芹鲜根乙醇浸提液中对Foc有化感抑制作用的活性物质得到进一步纯化。

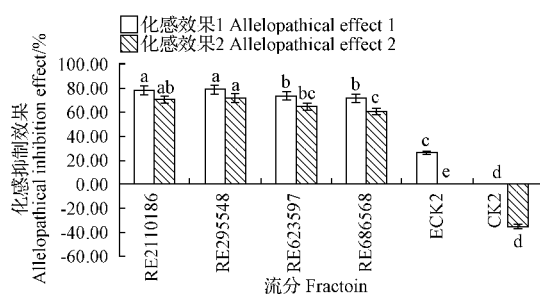


图3 西芹鲜根乙醇浸提液第6次层析的最佳流分对黄瓜枯萎病菌的化感效果

Fig. 3 Allelopathic effects of the 6<sup>th</sup> chromatography fractions of ethylalcohol extracts of parsley fresh root on *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinu*

## 2.3 西芹鲜根浸提液第6次层析液的最佳流分的化感物质检测

通过对西芹鲜根6次醇层物的最佳流分进行GC-MS分析(图4),在4-A、4-B、4-C、4-D图谱中分别发现8、6、6、7个吸收峰,4-A、4-B、4-C、4-D图谱中出

现4个相同的峰值,且其出现的时间完全一致,对此判断这4个峰值代表的是洗脱剂和硅胶中的杂质,排除为西芹鲜根物质中的化感物质。在剩下的11个特异吸收峰中,分析检测出有酚类、酯类、胺类和烷烃类共4类11种化感物质(表1),酚类1种:2,4-

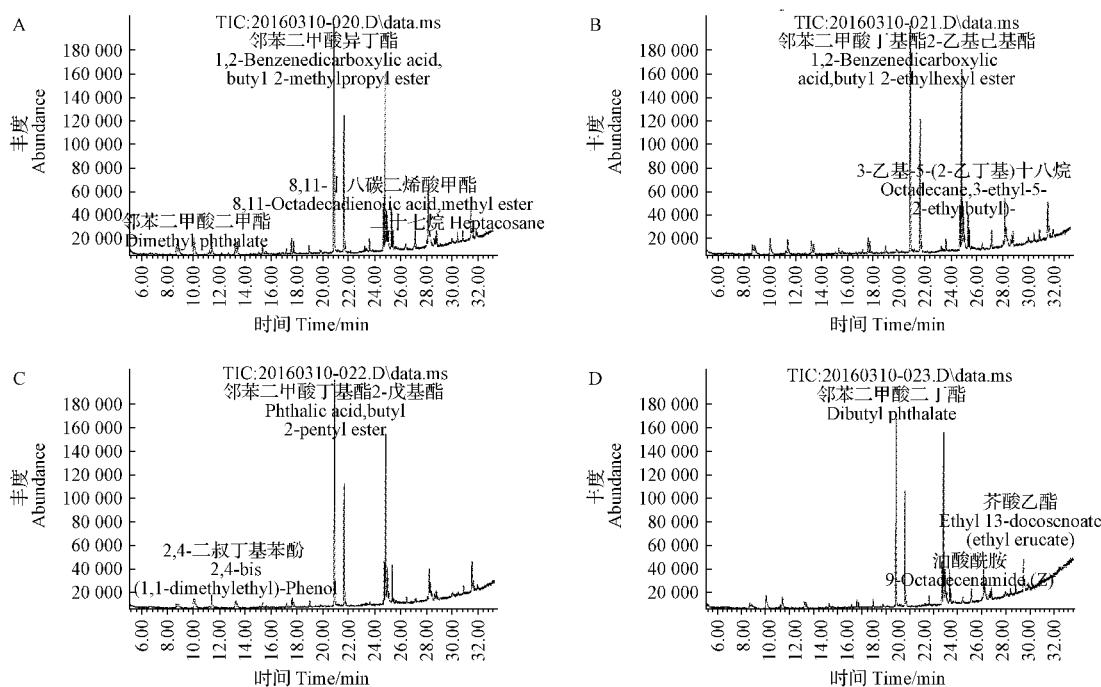


图4 西芹鲜根6次层析最佳流分RE2110186(A)、RE295548(B)、RE623597(C)和RE686568(D)的GC-MS图谱

Fig. 4 GC-MS spectrums of the best fractions of RE2110186(A), RE295548(B), RE623597(C) and RE686568(D) selected by the 6<sup>th</sup> chromatography of ethylalcohol extracts of parsley fresh root

二叔丁基苯酚;酯类 7 种:8,11-十八碳二烯酸甲酯、芥酸乙酯、邻苯二甲酸二甲酯、邻苯二甲酸异丁酯、邻苯二甲酸丁基酯 2-乙基己基酯、邻苯二甲酸丁基

酯 2-戊基酯和邻苯二甲酸二丁酯;胺类 1 种:(Z)-9-十八烯酸酰胺;烷烃类 2 种:二十七烷和 3-乙基-5-(2-乙基丁基)十八烷,4 个最佳流分中均含有酯类。

表 1 西芹鲜根乙醇浸提液 6 次层析最佳流分特异峰的 GC-MS 分析结果

Table 1 Specific peak GC-MS analysis results of best fractions selected by the 6<sup>th</sup> chromatography of ethylalcohol extracts from parsley fresh root

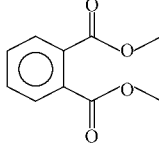
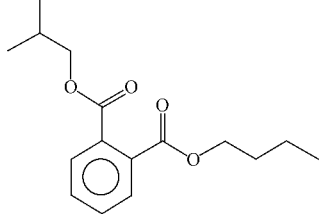
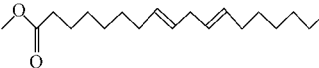

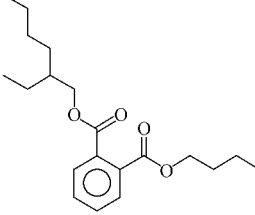
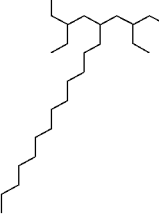
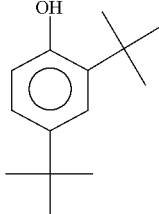
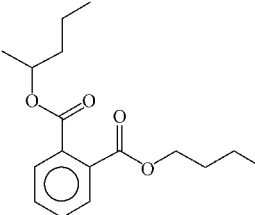
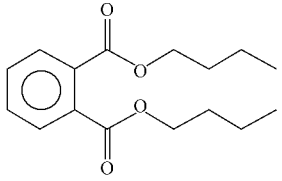
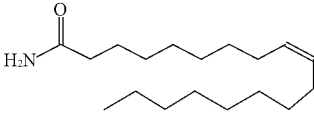
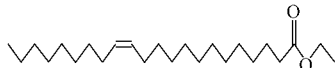
最佳流分 Best fraction	保留时间 Retention time/min	名称 Name	分子式 Molecular formula	分子量 Molecular mass	分子结构 Molecular structure
RE21110186	10.03	邻苯二甲酸二甲酯 Dimethyl phthalate	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	194	
	20.85	邻苯二甲酸异丁酯 1,2-Benzenedicarboxylic acid, butyl 2-methylpropyl ester	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	278	
	25.50	8,11-十八碳二烯酸甲酯 8,11-Octadecadienoic acid, methyl ester	C <sub>19</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	294	
	28.80	二十七烷 Heptacosane	C <sub>27</sub> H <sub>56</sub>	380	
RE295548	20.86	邻苯二甲酸丁基酯 2-乙基己基酯 1,2-Benzenedicarboxylic acid, butyl 2-ethylhexyl ester	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O <sub>4</sub>	334	
	25.40	3-乙基-5-(2-乙基丁基)十八烷 Octadecane, 3-ethyl-5-(2-ethylbutyl)-	C <sub>26</sub> H <sub>54</sub>	366	
RE623597	11.40	2,4-二叔丁基苯酚 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-phenol	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O	206	
	20.86	邻苯二甲酸丁基酯 2-戊基酯 Phthalic acid, butyl 2-pentyl ester	C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> O <sub>4</sub>	292	

表 1(续)

Table 1(Continued)

最佳流分 Best fraction	保留时间 Retention time/min	名称 Name	分子式 Molecular formula	分子量 Molecular mass	分子结构 Molecular structure
RES23597	20.85	邻苯二甲酸二丁酯 Dibutyl phthalat	$C_{16}H_{22}O_4$	278	
	28.15	(Z)-9-十八烯酸酰胺 9-Octadecenamide, (Z)-	$C_{18}H_{35}NO$	281	
	31.46	芥酸乙酯 Ethyl 13-docosenoate(ethyl erucate)	$C_{24}H_{46}O_2$	366	

### 3 讨论

现已有大量关于植物根系分泌物对病原菌产生化感作用的报道。周文丽<sup>[17]</sup>研究发现西瓜抗病品种CG、PI、SL根系分泌物对西瓜枯萎病菌 race 1 菌丝生长、孢子萌发、产孢有抑制作用。杨阳<sup>[18]</sup>研究发现分蘖洋葱根系分泌物 10 mL·株<sup>-1</sup>浓度时对黄瓜枯萎病病原菌的孢子萌发和菌丝生长抑制作用最大。不同品种分蘖洋葱根系分泌物对黄瓜枯萎病菌的抑制效果不同,化感作用强分蘖洋葱 L06 品种根系分泌物抑菌效果好。甄文超等<sup>[19]</sup>在草莓根系分泌物和腐解物中发现的天冬氨酸和谷氨酸对 3 种病原菌菌丝生长均有明显的抑制作用。徐宁等<sup>[20]</sup>研究表明大葱根系分泌物对黄瓜枯萎病病原菌存在化感抑制作用,随着根系分泌物浓度升高,对病原菌菌丝生长和孢子萌发的抑制作用逐渐增强。刘娜等<sup>[21]</sup>研究了嫁接对茄子黄萎病的化感作用,并对嫁接茄子根系分泌物中的化感物质进行了 GC-MS 检测,结果表明,与自根茄相比,嫁接茄子田间表现出明显的抗病性,其根系分泌物能够抑制病原菌的生长。该研究表明,西芹鲜根乙醇浸提液的层析液对黄瓜枯萎病菌具有化感抑制作用,且随着层析次数的增加其化感作用效果越明显。

目前由根系分泌物中鉴定出的化感物质主要有酯类、烃类、酚类、机酸类、糖类、酰胺类、果胶类、杂环化合物、醛酮类、呋唑类、萜类、苧类、茛醇类、腈类、醇醚类以及茶类等物质<sup>[18-23]</sup>。该试验通过 GC-MS 检测可知 4 个最佳流分的化感物质成分有酚类、酯类、胺类和烷烃类等 4 种化感物质。GC-MS 鉴定结果显示,酯类为主要的化感物质,其中邻苯二甲酸

异丁酯被报道为青花椒根际土壤化感物质成分<sup>[24]</sup>,邻苯二甲酸二丁酯、邻苯二甲酸丁基 2-乙基己基酯被报道为大豆根分泌物的化感物质<sup>[25]</sup>。此外,邻苯二甲酸酯有驱虫避蚊及抗氧化、抗癌、抗菌活性<sup>[26]</sup>。佟飞<sup>[27]</sup>在大蒜植株水浸液化感及抑菌作用的研究中指出,2-甲氧基-1,6-己二酸甲酯、邻苯二甲酸二丁酯等有机酯类可能是大蒜植株水浸液的主要化感物质和抑菌物质。总结前人试验和该试验结果,酯类可能对黄瓜尖孢镰刀菌有很好的抑制效果,可以作为日后防控黄瓜枯萎病在生产上的应用提供基础物质。

植物的另一种次生代谢产物酚类物质也有一定的化感抑制作用<sup>[28]</sup>,有研究指出在已测定的植物中的化感物质,属于酚类化合物的种类比其它任何一类化合物都多,酚类物质对根际养分的吸收有化感抑制作用<sup>[27]</sup>。还有研究指出酚类物质抑制了叶绿素的合成,降低了植物的生产力<sup>[28]</sup>。有报道指出植物中的酚类化合物有杀菌和抑菌性,可以作为杀菌剂,刘艳霞等<sup>[29]</sup>在烟草的根系分泌物中发现了酚类物质,可以抑制原菌生长。该研究从西芹鲜根 6 次醇层物中分离出了一种酚类化合物 2,4-二叔丁基苯酚,廖薇等<sup>[24]</sup>、崔翠等<sup>[30]</sup>都分别从青花椒根际土壤和核桃根系分泌物的化感物质成分中分离出了 2,4-二叔丁基苯酚,饶洪冲等<sup>[31]</sup>还发现这种物质在超低浓度下仍然具有杀菌作用,在杀菌剂配方中是一种主要的杀菌活性物质。结合以往结论和该试验研究结果得出酚类化合物可能对黄瓜枯萎病病原菌有一定的抑制作用。

该试验化感物质 GC-MS 检测出一种胺类物质和 2 种烷烃类物质,胺类物质(Z)-9-十八烯酸酰胺被检测为植物根系分泌物的化感物质已见报道<sup>[25,30]</sup>。

烷烃类正二十七烷、3-乙基-5-(2-乙基丁基)十八烷也被证实是存在于植物根系土壤及分泌物中的化感物质<sup>[24-25,31]</sup>。有报道称烷烃属于化感物质类别,几乎存在于所有高等植物的根系分泌物中,董晓宁等<sup>[33]</sup>也在多花黑麦草根分泌的化感物质中分析出了烷烃类物质,有报道称它们在传递生物信息方面起着重要作用<sup>[34]</sup>。通过以往研究结论和该试验结论可知胺类和烷烃类化感物质可能存在于大部分植物根系的土壤及分泌物中。

通过 GC-MS 检测分析,了解西芹鲜根 6 次醇层物的化感物质成分,可能还有一些分泌量较少或者易挥发的化感物质没有被检测出来,所以还需要更精密的仪器并及时掌握检测时间来进行物质鉴定。另外具体是一种还是几种化感物质对黄瓜枯萎病菌起决定性抑制作用还需要进行更加深入的研究。

#### 4 结论

西芹鲜根乙醇浸提液 5、6 次层析的各流分均对黄瓜枯萎病菌有化感抑制作用,而且随着层析次数的增加化感抑制效果越明显,这说明随着层析次数的增加起到化感作用的化感物质被逐步纯化;第 6 次层析液最佳流分检测出酚类、酯类、胺类和烷烃类共 4 类 11 种化感物质,它们分别为 2,4-二叔丁基苯酚、8,11-十八碳二烯酸甲酯、芥酸乙酯、邻苯二甲酸二甲酯、邻苯二甲酸异丁酯、邻苯二甲酸丁基 2-乙基己基酯、邻苯二甲酸丁基酯 2-戊基酯、邻苯二甲酸二丁酯、(Z)-9-十八烯酸酰胺、二十七烷和 3-乙基-5-(2-乙基丁基)十八烷,酯类为主要的化感物质。

#### 参考文献

- [1] HOU Y X, HU X J, ZHOU B L. Hot pepper growth promotion and inhibition of *Fusarium* wilt (*Fusarium oxysporum*) with different crop stalks[J]. African Journal of Agricultural Research, 2012, 7(35): 5005-5011.
- [2] RICE E L. Allelopathy[M]. 2nd ed. New York: Academic Press, 1974.
- [3] RICE E L. Allelopathy (2rk edition) [M]. New York: Academic Press, 1984: 1-50.
- [4] W I T TACKERR H, FEENY P P. Allelochemics: Chemical interactions between species[J]. Science, 1971, 171(3937): 757-770.
- [5] 刘成. 芦苇化感作用及其化感物质分离与鉴定[D]. 重庆: 西南大学, 2014.
- [6] 陈磊, 云兴福. 西芹鲜根及根际区物化感物质成分鉴定[J]. 华北农学报, 2012(2): 157-164.
- [7] NYCHAS G J E. Natural antimicrobials from plants[J]. New Methods Food Preserve, 1995(1): 58-89.
- [8] 袁高庆, 黎起泰, 叶云峰, 等. 植物化感作用在植物病害控制中的应用[J]. 广西农业科学, 2009, 40(8): 1017-1020.
- [9] 张东东. 西芹浸提液对黄瓜枯萎病菌化感作用机理的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2013.
- [10] 贾俊英, 云兴福. 西芹种子浸提液对黄瓜枯萎病菌的化感作用机理研究[J]. 北方园艺, 2013(20): 105-108.
- [11] GIL S V, MERILES J, CONFORTO C, et al. Response of soil microbial communities to different management practices in surface soils of a soybean agroecosystem in Argentina[J]. European Journal of Soil Biology, 2011, 47(1): 55-60.
- [12] SENARATHNE H S, DISSANAYAKA N M, VIDHANA A L P. Allelopathic potential of *Brachiaria brizantha* and *B. milliformis* on seed germination of selected bioassay species[J]. Pakistan Journal of Weed Science Research, 2010, 16(2): 207-216.
- [13] 陈磊. 西芹根物质与挥发物对黄瓜枯萎病菌的化感作用、机理及化感物质分离纯化的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2012.
- [14] 郝静, 高晓敏, 马立国, 等. 西芹根物质四次醇层物对黄瓜枯萎病菌的化感作用[J]. 内蒙古农业大学学报(自然科学版), 2015(3): 26-32.
- [15] 高晓敏. 西芹浸提液化感物质分离鉴定及其对黄瓜枯萎病诱导抗性的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2015.
- [16] 高晓敏, 王璐钢, 李杰, 等. 西芹鲜根丙酮浸提物层析流分对黄瓜枯萎病菌的化感作用以及化感物质鉴定[J]. 中国生态农业学报, 2014, 22(11): 1364-1371.
- [17] 周文丽. 西瓜根系分泌物与枯萎病菌之间的相互作用研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2014.
- [18] 杨阳. 分蘖洋葱根系分泌物对黄瓜的化感作用及其应用[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2010.
- [19] 甄文超, 王晓燕, 曹克强, 等. 草莓根系分泌物和腐解物中氨基酸的检测及其化感作用研究[J]. 河北农业大学学报, 2004, 27(2): 76-80.
- [20] 徐宁, 王超, 魏珉, 等. 大葱根系分泌物对黄瓜种子萌芽和枯萎病原菌的化感作用及其 GC-MS 分析[J]. 园艺学报, 2012, 39(8): 1511-1520.
- [21] 刘娜, 周宝利, 李轶修, 等. 茄子/番茄嫁接植株根系分泌物对茄子黄萎病菌的化感作用[J]. 园艺学报, 2008, 35(9): 1297-1304.
- [22] 王小兵, 骆永明, 刘五星, 等. 花生根分泌物的鉴定及其化感作用[J]. 生态学杂志, 2011, 30(12): 2803-2808.
- [23] 郝文雅. 西瓜、水稻根系分泌物中的化感物质对西瓜连作枯萎病的影响[D]. 南京: 南京农业大学, 2010.
- [24] 廖薇, 张健, 杨婉身, 等. 青花椒根际土壤化感物质成分分析[J]. 四川农业大学学报, 2006(1): 47-50.
- [25] 韩丽梅, 王树起, 鞠会艳, 等. 吸附树脂提取的大豆根分泌物种类的 GC-MS 分析[J]. 大豆科学, 2003(4): 301-305.
- [26] 姜宁, 李亚, 李瑜. 白毛银露梅挥发性化学成分研究[J]. 兰州大学学报, 2004, 40(4): 58-60.
- [27] 佟飞. 大蒜植株水浸液的化感作用和抑菌作用[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2007.
- [28] 谢星光, 陈晏, 卜元卿, 等. 酚酸类物质的化感作用研究进展[J]. 生态学报, 2014, 53(77): 6417-6428.
- [29] 操海群, 岳永德. 毛竹提取物的抑菌活性及其有效成分的初步分离[J]. 植物病理学报, 2005, 35(5): 428-433.
- [30] 刘艳霞, 李想, 蔡刘体, 等. 烟草根系分泌物酚酸类物质的鉴定及其对根际微生物的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2016, 22(2):

418-428.

[31] 崔翠,蔡靖,张硕新. 核桃根系分泌物化感物质的分离与鉴定[J]. 林业科学,2013(2):54-60.

[32] 饶洪冲,段琰,朱征宇. 苯酚消毒剂中邻苯基本酚和对叔戊基苯酚的高效液相色谱测定法[J]. 医药病理学报,2013,8(2):46-47.

[33] 董晓宁,高承芳,张骁佩,等. 多花黑麦草根系抑草潜力评价及其化感物质分析[J]. 草业学报,2013,22(4):61-68.

[34] 陈艳芳,曾明. 梨园根际土壤的连作化感作用及化感物质成分分析[J]. 果树学报,2016(S1):121-128.

## Separation of Allelochemicals of the Sixth Chromatography Fractions of Ethylalcohol Extracts of Fresh Parsley Roots and Its Allelopathic Effects on *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*

SUN Honghuan<sup>1</sup>, WANG Yong<sup>2</sup>, LI Lei<sup>3</sup>, YUN Xingfu<sup>1</sup>

(1. College of Agronomy, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot, Inner Mongolia 010019; 2. Research Institute of Vegetables, Inner Mongolia Academy of Agriculture & Animal Husbandry Sciences, Hohhot, Inner Mongolia 010010; 3. College of Manzhouli, Inner Mongolia University, Manzhouli, Inner Mongolia 012400)

**Abstract:** Ethylalcohol extracts of fresh parsley roots was used as the experimental material, and the methods has been applied with chromatography by a column with silicone coating, allelopaphy testing and GC-MS. We studied that ethylalcohol extracts of fresh parsley roots has been proceed with the fifth and sixth chromatography fractions and incorporated the different degree column fractions into PDA medium and co-cultured the plates with *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*. The best fractions of ethylalcohol extracts of parsley fresh root were screened according to the allelopathic inhibition effect. At last, further allelochemicals of the sixth chromatography was identified by GC-MS. So as to achieve the purpose of identifying inhibitory allelochemicals released into the soil by parsley crop. The results showed that there were significant different allelopathic effect for the degree column fractions obtained from the fifth and sixth cycles of chromatography respectively on *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*. The allelopathic effects of the fifth optimal fractions (RE211018, RE29554, RE62359 and RE68656) compared with the fifth cycle tomographic ethylalcohol (the control, ECK1) was 63.05%, 70.84%, 69.38% and 59.16% respectively. The allelopathic effects of the sixth optimal fractions (RE2110186, RE295548, RE623597 and RE686568) compared with the sixth cycle tomographic ethylalcohol (the control, ECK2) was 70.14%, 71.38%, 64.84% and 60.63% respectively. There were 11 kinds of allelochemicals contained in Phenol, ester, amine and alkanes 4 classes in the GC-MS analysis of the sixth chromatography fractions of ethylalcohol extracts of parsley fresh root. They were 2,4-bis (1,1-dimethylethyl)-phenol, 8,11-octadecadienoic acid, methyl ester, Ethyl 13 - docosenoate (ethyl erucate), Dimethyl phthalate, 1,2 - benzenedicarboxylic acid, butyl 2-methylpropyl ester, 1,2-benzenedicarboxylic acid, butyl 2-ethylhexyl ester, phthalic acid, butyl 2-pentyl ester, dibutyl phthalate, 9-Octadecenamide, (Z)-, heptacosane, 3-ethyl-5-(2-ethylbutyl)-octadecane.

**Keywords:** parsley fresh root; the sixth chromatography fractions of ethylalcohol extracts; chromatography and separation; *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*; allelopathy; allelochemicals