

doi:10.11937/bfyy.20172180

茼蒿不同部位浸提液对西瓜枯萎病菌的抑制作用

李珊珊, 刘琳, 李猛, 范淑英

(江西农业大学 农学院, 江西 南昌 330045)

摘 要:以西瓜枯萎病菌为研究对象,采用生长速率法,研究了茼蒿茎叶、根、根际区土壤3个部位浸提液对西瓜枯萎病菌的化感作用,以期茼蒿中抑菌活性成分的分离纯化提供参考依据。结果表明:3个部位的水浸提液对西瓜枯萎病菌的生长均有一定的抑制作用,在 $100.00\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的浓度下抑制率分别为53%、49%、45%,经邓肯氏差异分析,3个部位间抑菌率差异不显著。随着浸提液浓度的降低,抑制率呈现出降低的趋势。经室内毒力测定,3个部位的 EC_{50} 分别为86.256、84.648、106.876 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。综合比较,茎叶浸提液的抑菌效果较强。

关键词:茼蒿;浸提液;西瓜枯萎病菌;抑制作用

中图分类号:S 436.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)23-0029-06

西瓜(*Citrullus lanatus*)属葫芦科,原产于非洲,堪称“瓜中之王”,已在中国广泛栽培^[1-2]。西瓜枯萎病俗称“死秧病”,是由半知菌亚门真菌,西瓜尖镰孢菌侵染所致^[3]。病菌在土壤中和未腐熟的带菌肥料中越冬,在离开寄主的情况下,能存活5~6年,部分病菌可存活10年以上^[4]。该病主要靠含菌土壤传播,重茬种植,土壤中病菌多,病株率可达70%左右,病残体及病粪,种子亦可传病^[5]。西瓜枯萎病是国内外普遍发生的一种毁灭性的土传和种传真菌性病害,给西瓜生产带来巨大的经济损失和资源浪费^[6]。

茼蒿(*Chrysanthemum coronarium* L.)原产

地中海,在中国已有900余年的栽培历史,且分布广泛,但南北各地栽培面积很小^[7-10]。有研究表明,不同浓度的茼蒿(茎叶)水浸提液对西瓜种子发芽有较大影响^[11],茼蒿不同器官(花、茎叶、根)的水浸提液对西瓜幼苗生长均有促进作用,并能提高西瓜植株过氧化物酶(POD)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)活性^[12]。课题组前期研究还发现,在前茬种植茼蒿,后茬再种植西瓜的地块其枯萎病发病率降低,推测茼蒿中含有可以抑制西瓜枯萎病菌的活性成分。为此,该研究选取茼蒿茎叶、根及根际区土壤为研究对象,对其水浸提液抑制西瓜枯萎病菌的化感作用强度进行探究,以期利用化感作用防治西瓜枯萎病提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试大叶茼蒿由江西农业大学农学院蔬菜基地提供。供试菌种为尖孢镰刀菌西瓜专化型,由江西农业大学生物科学与工程学院生物工程教研

第一作者简介:李珊珊(1993-),女,硕士研究生,研究方向为植物源杀菌剂的分离纯化及抑菌机制。E-mail:1749942989@qq.com.

责任作者:范淑英(1963-),女,本科,教授,现主要从事蔬菜栽培生态与环境调控等研究工作。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:2017-07-13

室提供。

1.2 试验方法

1.2.1 茼蒿不同部位浸提液的制备

茼蒿于2016年9月播种,12月收获。将茼蒿连根拔起,并用剪刀将其地上部和地下部分开。同时取茼蒿穴内土壤50 g,将随机选取的20处土壤混合。将茼蒿根系用蒸馏水洗净后和其茎叶、根际区土壤自然风干。将风干的茎叶和根系用中草药粉碎机粉碎,之后过40目筛,土壤直接过40目筛。分别称取10 g的茎叶、根粉末以及土壤以1:10与蒸馏水混合后用超声波浸提2 h,静置抽滤定容至100 mL后作为试验母液,浓度为 $100.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ (100.00 mg 为浸提前干物质的含量),采用二倍稀释法分别将其稀释至 50.00 、 25.00 、 12.50 、 $6.25 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

1.2.2 菌种活化

将保存于斜面培养基的菌种接种于PDA培养基上,置 28°C 恒温培养箱培养4 d,保存备用。

1.2.3 体外抑菌试验

将配制好的培养基用量筒移入150 mL的三角瓶中,每7瓶为一组,其中一瓶加入60 mL的培养基,其余6瓶加入54 mL的培养基,然后包扎好。在 121°C 条件下高压蒸汽灭菌30 min,待冷却至 $50\sim 60^\circ\text{C}$ 时取出备用。在超净工作台上将配好的药剂分别加入装有54 mL培养基的三角瓶中,每瓶加入药剂的量为6 mL,其中一瓶加入相同量的无菌水,然后摇匀,倒入拆封的一次性培养皿中,每皿20 mL,放置冷却。用直径为8 mm的打孔器在活化好的菌种边缘打孔,用镊子将菌饼放入凝固的含药培养基中央,菌丝朝下,

然后用封口条封好。以培养基中加入和药剂相同量的无菌水为阴性对照(CK1),以不做任何处理为空白对照(CK2)。将接种好菌饼的培养皿放置在 28°C 的恒温培养箱中培养,在48 h后用毫米尺以十字交叉法量取菌落直径,并做好记录。计算相对抑制率。相对抑制率(%)=(对照菌丝生长直径-处理菌丝生长直径)/(对照菌丝生长直径-菌饼直径) $\times 100$ 。

1.3 数据分析

所有试验数据均采用SPSS 20.0软件进行邓肯氏(Duncan)多重差异分析,ANOVA检测($P=0.05$)。采用Excel软件对数据进行整理、绘图。

2 结果与分析

2.1 茼蒿茎叶浸提液对西瓜枯萎病菌的化感作用

不同浓度茼蒿茎叶水浸提液对西瓜枯萎病菌的菌落生长影响有所不同。由表1可知,浓度为 $6.25\sim 100.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的各处理的菌落直径均比CK1、CK2的菌落直径小,且差异显著,说明其对西瓜枯萎病菌的菌落生长均有一定的化感抑制作用,且随着浓度的增加,对西瓜枯萎病菌的生长抑制作用越明显。 25.00 、 50.00 、 $100.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的处理浓度与CK1、CK2差异显著,与 6.25 、 $12.50 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的处理浓度差异也显著。

CK1的菌落直径小于CK2的菌落直径,说明加入水后会对西瓜枯萎病菌的生长有一定的影响,这可能是因加水后降低了培养基单位面积上的营养成分。

表1 茎叶水浸提液对西瓜枯萎病菌菌落生长的影响

Table 1	Effect of water extract of stem and leaf on the growth of <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp.							cm
部位 Position	浓度 Concentration/($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)							
	100.00	50.00	25.00	12.50	6.25	CK1	CK2	
茎叶 Stem and leaf	$2.05 \pm 0.21\text{c}$	$2.33 \pm 0.20\text{c}$	$2.45 \pm 0.41\text{c}$	$2.50 \pm 0.84\text{b}$	$2.52 \pm 0.26\text{b}$	$3.43 \pm 0.16\text{a}$	$3.47 \pm 0.13\text{a}$	

注:不同小写字母表示各处理在 $\alpha=0.05$ 水平差异显著。下同。

Note: Different lowercase letters indicates significant difference at 0.05 level. The same below.

不同浓度的茼蒿茎叶浸提液对西瓜枯萎病菌的抑制作用也不同。由图2可知, $100.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度的浸提液对西瓜枯萎病菌的抑制率与其它处理间差异显著,抑制率为53%,与 $6.25 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$

处理的抑制率(36%)差异显著。而 $12.50\sim 50.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 3个浓度间抑制率无显著差异,但与 $6.25 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的处理差异显著。

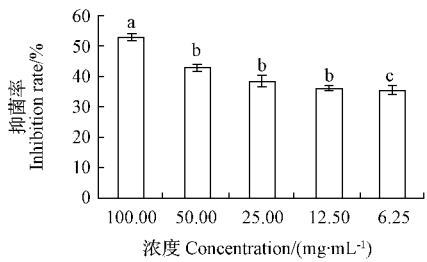


图 1 茎叶水浸提液对西瓜枯萎病菌的抑制作用
Fig. 1 Inhibitory effect of water extract from stem and leaf on *Fusarium oxysporum* f. sp.

2.2 茼蒿根浸提液对西瓜枯萎病菌的化感作用

由表 2 可知,不同浓度的茼蒿根部水浸提液对西瓜枯萎病菌的菌落生长影响不同,浓度越高,抑制作用越明显。25.00~100.00 mg·mL⁻¹ 的处理浓度菌落直径与 CK1、CK2 差异显著,其各个浓度间差异不显著。而 6.25、12.50 mg·mL⁻¹ 的浓度处理菌落直径与 CK1、CK2 无显著差异。

茼蒿根部浸提液处理西瓜枯萎病菌,各浓度均表现出化感抑制作用,随着浸提液浓度的降低,抑制率呈现出下降趋势。由图 2 可知,25.00~100.00 mg·mL⁻¹ 的浓度处理与其它处理间差

表 2 根水浸提液对西瓜枯萎病菌菌落生长的影响

Effects of root water extract on the growth of <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp.							cm
部位	浓度 Concentration/(mg·mL ⁻¹)						
Position	100.00	50.00	25.00	12.50	6.25	CK1	CK2
根 Root	2.16±0.36b	2.26±0.45b	2.47±0.48b	3.17±0.16a	3.43±0.15a	3.43±0.16a	3.47±0.13a

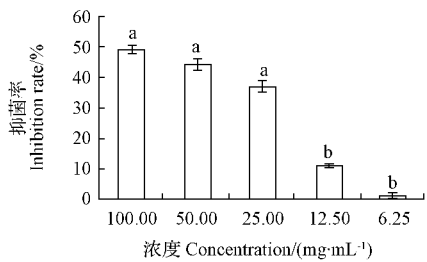


图 2 根水浸提液对西瓜枯萎病菌的抑制作用
Fig. 2 Inhibitory effect of root water extract on *Fusarium oxysporum* f. sp.

异显著,抑菌率分别为 37%、44%、49%,而三者间差异不显著。6.25、12.50 mg·mL⁻¹ 浓度处理对西瓜枯萎病菌的抑制率较低,分别为 1%、11%。

2.3 茼蒿根际区土壤浸提液对西瓜枯萎病菌的化感作用

西瓜枯萎病菌在加入不同浓度的茼蒿根际区土壤浸提液的培养基上生长势也较对照减弱,表现出一定的化感抑制作用。由表 3 可知,12.50~100.00 mg·mL⁻¹ 的浓度处理菌落直径均与 CK1、CK2 差异显著,而 6.25 mg·mL⁻¹ 的浓度处理与对照间差异不显著。

表 3 根际区土壤水浸提液对西瓜枯萎病菌菌落生长的影响

Effect of rhizosphere soil water extract on growth of <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp.							cm
部位	浓度 Concentration/(mg·mL ⁻¹)						
Position	100.00	50.00	25.00	12.50	6.25	CK1	CK2
根际区土壤 Rhizosphere soil	2.27±0.14c	2.37±0.22c	2.41±0.16c	2.77±0.20b	2.87±0.23a	3.43±0.16a	3.47±0.13a

茼蒿根际区土壤浸提液的化感效果均为抑制作用,由图 3 可知,25.00~100.00 mg·mL⁻¹ 的浓度处理表现出较强的抑制作用,与其它处理间差异显著,抑制率分别为 40%、41%、45%,三者

间差异不显著。6.25、12.50 mg·mL⁻¹ 的浓度处理对西瓜枯萎病菌的抑制作用相对较弱,且二者间差异不显著。

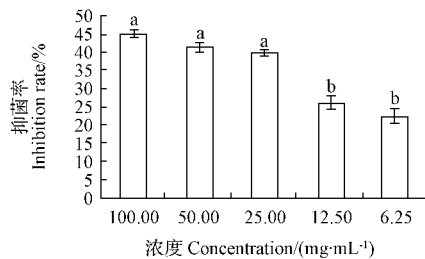


图3 根际区土壤水浸提液对西瓜枯萎病菌的抑制作用

Fig. 3 Inhibitory effects of soil water extracts from rhizosphere soil on *Fusarium oxysporum* f. sp.

表4 不同部位浸提液对西瓜枯萎病菌的化感作用强度比较

部位 Position	浓度 Concentration/(mg·mL ⁻¹)					%
	100.00	50.00	25.00	12.50	6.25	
茎叶 Stem and leaf	52.81±3.86a	42.78±3.05a	38.39±5.67a	36.14±1.72a	35.51±4.32a	
根 Root	49.25±5.24a	44.28±7.66a	37.12±8.02a	11.14±2.68c	1.28±3.67c	
根际区土壤 Rhizosphere soil	44.92±2.17a	41.38±2.62a	39.70±2.01a	26.07±3.70b	22.35±3.89b	

2.5 不同部位浸提液对西瓜枯萎病菌的室内毒力测定

利用 SPSS 20.0 软件进行 Probit 回归分析,求得毒力回归方程(y),相关系数(r), EC_{50} 及其

2.4 茼蒿不同部位浸提液对西瓜枯萎病菌的化感作用强度比较

茼蒿不同部位浸提液对西瓜枯萎病菌均表现出一定的化感抑制作用。由表 4 可知,在 100.00 mg·mL⁻¹ 的浓度下,茎叶表现出最强的抑制作用,其抑制率为 52.81%,在 50.00 mg·mL⁻¹ 的浓度下,根浸提液的抑制作用相对较强,而在 25.00 mg·mL⁻¹ 的浓度下,根际区土壤的抑制率则相对较高。随着浓度的进一步降低,茎叶的抑制效果仍较其它 2 个部位强。综合比较,茼蒿茎叶水浸提液对西瓜枯萎病菌的化感抑制作用较好。

95%置信区间。 EC_{50} 即能引起 50%最大效应的浓度,由表 5 可知,3 个部位的 EC_{50} 分别为 86.256、84.648、106.876 mg·mL⁻¹。

表5 不同部位浸提液对西瓜枯萎病菌的室内毒力测定

部位 Position	毒力回归方程 Virulence equation	相关系数 Correlation index	EC_{50} /(mg·mL ⁻¹)	置信区间 Confidence interval
茎叶 Stem leaf	$y = -0.412 + 0.005x$	0.999	86.256	59.258~194.451
根 Root	$y = -1.145 + 0.014x$	0.746	84.648	—
根际区土壤 Rhizosphere soil	$y = -0.620 + 0.006x$	0.815	106.876	—

3 讨论与结论

经过学者们多年的深入研究,植物化感作用已逐渐成为解决农业可持续发展以及维护植物生态平衡的热点领域^[13]。早期研究表明,粮食和蔬菜作物等植物体内以及其生长的土壤中,存在大量的化感物质,最早被分离和鉴定的化感物质是酚酸类化合物,这些化感物质产生的化感效应与连作障碍有密切联系^[14-16]。

贾俊英等^[17]研究表明,西芹种子蒸馏水、乙醇、丙酮浸提液对黄瓜枯萎病菌均有化感作用,且

浓度越大化感作用越明显,表现为化感作用的浓度效应,这与该试验的结果一致。于建光等^[18]发现,小麦秸秆浸提液和腐解液均对水稻产生化感效应,其作用强度与秸秆不同部位有关,同时小麦秸秆化感效应的产生与浸提液和腐解液中的酚酸含量有关,总之,小麦秸秆不同部位浸提液化感作用的差异均可能与其中所含化感物质的种类和浓度差异相关,而各浸提液和腐解液经稀释后对水稻化感效应的减缓程度不同,其原因也在此,该试验中茼蒿不同部位浸提液对西瓜枯萎病菌的化感作用也不同。WAN 等^[19]已经从茼蒿中分离纯

化出了多种物质。杨玉锋等^[20]的研究表明,在一定浓度范围内西芹根水浸提液在较高浓度下(100%~20%)对西瓜枯萎病菌的生长有化感抑制作用,在较低浓度下(10%和1%)则对其有化感促进作用,原因可能是水浸提液中同时存在抑菌。促菌活性物质,2类活性物质随浓度的降低,抑菌活性比例变化不同导致的结果,该试验结果也表明,在低浓度下抑菌效果极为微弱。董红云等^[21]的研究结果表明,野茼蒿和牛膝菊水浸提液对小麦和玉米的化感活性均表现为抑制作用,且化感作用的强度与水浸提液的质量浓度相关;野茼蒿水浸提液的化感作用效应大于牛膝菊^[21],也说明蒿类中含有较多的化感物质。

在该试验条件下,茼蒿茎叶表现出较强的离体抑制效果,可以为下一步的研究提供参考依据。在此基础上,后期可以把西瓜尖镰孢菌作为生物活性导向分离指示菌株,采用硅胶、葡聚糖凝胶、制备液相色谱等现代分离技术,从茼蒿茎叶种分离纯化出具体的抑菌活性物质。可以为研究和开发新的天然植物源杀菌剂奠定基础,为茼蒿的深度开发和利用提供科学依据,具有重要的学术价值和应用前景。

参考文献

- [1] 吕湘江,李清萍,范淑英. 西瓜枯萎病综合防治研究进展[J]. 北方园艺,2015(6):187-190.
- [2] 耿广东,程智慧,孟焕文,等. 西瓜化感作用及其机理研究[J]. 果树学报,2005,22(3):247-251.
- [3] CHAUDHARI S A, SINGHAL R S. A strategic approach for direct recovery and stabilization of *Fusarium* sp. ICT SAC1 cutinase from solid state fermented broth by carrier free cross-linked enzyme aggregates[J]. International Journal of Biological Macromolecules,2017,98:610-621.
- [4] HAO W Y, REN L X, WEI R, et al. Allelopathic effects of root exudates from watermelon and rice plants on *Fusarium oxysporum* f. sp. niveum[J]. Plant and Soil,2010,336(1):485-497.
- [5] ZHOU X G, EVERTS K L. Suppression of *Fusarium* wilt of watermelon by soil amendment with hairy vetch[J]. Plant Disease,2005,88(12):1357-1365.
- [6] 梁宏,黄静,赵佳,等. 新型生物有机肥防治西瓜枯萎病机理[J]. 北方园艺,2017(2):117-121.
- [7] 林丹英,尤婷婷,黄锁义,茼蒿总黄酮提取及对羟自由基清除作用[J]. 中国野生植物资源,2007,26(5):57-59.
- [8] 翁雪香,邓春晖,宋国新,等. 茼蒿挥发性成分的固相微萃取气相色谱-质谱分析[J]. 分析测试学报,2003,22(3):87-89.
- [9] LIN L Z, JAMES H. Identification of the phenolic components of chrysanthemum flower(*Chrysanthemum morifolium* Ramat)[J]. Food Chemistry,2010,120(1):319-326.
- [10] OHMIYA A, KISHIMOTO S, AIDA R, et al. Carotenoid cleavage dioxygenase(CmCCD4a) contributes to white color formation in *Chrysanthemum* petals[J]. Plant Physiology,2006,142(3):1193-201.
- [11] 范淑英,肖旭峰,熊春晖,等. 不同浓度茼蒿器官水浸提液对西瓜种子发芽特性的影响[J]. 中国蔬菜,2011,1(4):70-72.
- [12] 范淑英,王静,肖旭峰,等. 茼蒿不同器官水浸提液对西瓜幼苗生长及酶活性的影响[J]. 安徽农业科学,2011,39(4):1976-1977.
- [13] 彭少麟,邵华. 化感作用的研究意义及发展前景[J]. 应用生态学报,2001,12(5):780-786.
- [14] 周凯,郭维明,徐迎春. 菊科植物化感作用研究进展[J]. 生态学报,2004,24(8):1776-1784.
- [15] BAIS H P, VEPACHEDU R, GILROY S, et al. Allelopathy and exotic plant invasion: From molecules and genes to species interactions[J]. Science,2003,301(5638):1377.
- [16] WARDLE D A, NILSSON M C, GALLET C, et al. An ecosystem-level perspective of allelopathy[J]. Biological Reviews,2010,73(3):305-319.
- [17] 贾俊英,张丽莹,云兴福. 西芹种子浸提液对黄瓜枯萎病菌的化感作用[J]. 生态学杂志,2011,30(7):1473-1478.
- [18] 于建光,顾元,常志州,等. 小麦秸秆浸提液和腐解液对水稻的化感效应[J]. 土壤学报,2013,50(2):349-356.
- [19] WAN C, LI S, LIU L, et al. Caffeoylquinic acids from the aerial parts of *Chrysanthemum coronarium* L. [J]. Plants,2017,6(1):10-17.
- [20] 杨玉锋,姚战军,李保利. 西芹根水浸提液对西瓜枯萎病菌的化感作用[J]. 江苏农业科学,2011,39(6):224-225.
- [21] 董红云,李亚,汪庆,等. 外来入侵植物牛膝菊和野茼蒿水浸提液化感作用的生物测定[J]. 植物资源与环境学报,2010,19(2):48-53.

Allelopathy of Extracts From Different Parts of *Chrysanthemum* on *Fusarium* Wilt of Watermelon

LI Shanshan, LIU Lin, LI Meng, FAN Shuying

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

doi:10.11937/bfyy.20171616

不同类型甜瓜亲本及其 F_1 代果实挥发性物质成分的比较

王 硕 硕, 巩 彪, 陈 媛 媛, 荆 鑫, 刘 鑫, 史 庆 华

(山东农业大学 园艺科学与工程学院, 山东 泰安 271018)

摘 要:以野生薄皮甜瓜(“马泡”, 杂交父本)、厚皮网纹甜瓜(杂交母本)和二者杂交的 F_1 代果实为试材, 利用气相色谱-质谱联用(GC-MS)技术检测其成熟果实中挥发性物质的种类和相对含量的差异。结果表明:网纹厚皮甜瓜、野生甜瓜和 F_1 检测到的挥发性物质成分分别为 50、70、79 种, 3 个不同类型甜瓜的果实中共检测出 120 种挥发性物质, 其中包括 58 种酯类、10 种醇类、4 种醛类、12 种烯类和 36 种其它物质; 3 个类型甜瓜的果实中共同含有的挥发性物质有 23 种。3 个类型甜瓜的果实中主要的挥发性物质均为酯类物质, 但种类和相对含量存在差异。其中 F_1 代挥发性物质最为丰富, 表明挥发性物质的种类具有超亲优势的潜力, 该结果为研究甜瓜挥发性物质代谢提供一定的参考依据。

关键词:甜瓜; F_1 代; 挥发性物质; 气相色谱-质谱联用(GC-MS)

中图分类号:S 652.903.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)23-0034-08

甜瓜(*Cucumis melo* L.)属葫芦科黄瓜属一年生蔓性草本植物, 属于世界十大水果之一。甜

瓜在果实外观性状、品质、风味、营养特性和抗性等方面存在很大的变异性^[1], 因此甜瓜被称为“多态性种”^[2]。甜瓜的果实品质由挥发性物质、糖酸比、质地、风味等诸多因素构成^[3]。随着人们生活水平的提高, 消费者对果实风味的要求也越来越高, 风味物质作为甜瓜果实质量评价的重要感官评定指标之一, 越来越受到重视。甜瓜中挥发性物质成分是区别各种不同品种的重要特征参数, 也是判断甜瓜品质优劣的重要参数^[4]。果实香气

第一作者简介:王硕硕(1991-), 男, 硕士研究生, 研究方向为蔬菜品质生理。E-mail:962315364@qq.com.

责任作者:史庆华(1977-), 男, 博士, 教授, 研究方向为蔬菜逆境与品质生理。E-mail:qshsi@sdau.edu.cn.

基金项目:高等学校博士学科点专项科研基金资助项目(20123702110011)。

收稿日期:2017-07-26

Abstract: *Fusarium oxysporum* f. sp. was used as research object, and growth rate method was adopted to study the allelopathy on watermelon *Fusarium* wilt of extracts from different parts of *Chrysanthemum*, in order to provide reference for the separation and purification of antibacterial active components in *Chrysanthemum*. The results showed that the three extracts of water extract had certain allelopathic effect on the growth of *Fusarium oxysporum* f. sp., and the inhibition rates were 53%, 49% and 45% at 100.00 mg · mL⁻¹ treatment, respectively. There was no significant difference between the three parts according to Duncan's variance analysis. With the decrease of the concentration of the extract, the inhibition rate showed a decreasing trend. The EC₅₀ of the three parts was 86.256, 84.648, 106.876 mg · mL⁻¹ by indoor virulence test. The results showed that the inhibitory effects of the extract of stems and leaves were higher.

Keywords: *Chrysanthemum*; extract; watermelon *Fusarium* wilt; allelopathy