

DOI:CNKI:61-1390/S.20111025.2130.026
网络出版地址:<http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20111025.2130.026.html>

网络出版时间:2011-10-25 21:30

阿魏酸降解放线菌的筛选及其降解与拮抗效果研究

王晓辉^a,薛泉宏^b

(西北农林科技大学 a 生命科学学院, b 资源环境学院,陕西 杨凌 712100)

[摘要] 【目的】筛选用于降解西瓜根泌自毒物质阿魏酸的放线菌,研究其降解与拮抗效果。【方法】以127株放线菌为供筛菌株,采用液体发酵培养法筛选阿魏酸降解放线菌,并研究放线菌对阿魏酸的降解率及对西甜瓜枯萎病菌等病原菌的拮抗性。【结果】①从127株供试放线菌中筛选出了编号为25,28及Z30的3株放线菌,在纯培养条件下,以阿魏酸为惟一碳源时,25、28、Z30 3株放线菌对阿魏酸均有较好的降解效果,降解率分别为94.3%,92.6%和90.1%。②在以阿魏酸、淀粉为混合碳源时,3株放线菌对阿魏酸均有较强的降解作用,降解率最高达100%。③纯细胞培养时,3株放线菌对阿魏酸仅有微弱的降解效果。④3株放线菌对西甜瓜枯萎病菌有较强的拮抗作用。【结论】筛选的3株放线菌具有降解西瓜自毒物质阿魏酸及拮抗西甜瓜枯萎病菌的双重功能。

[关键词] 阿魏酸降解;根泌自毒物质;拮抗放线菌;西瓜连作障碍

[中图分类号] S154.38⁺3;S651

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2011)12-0153-06

Screening of Ferulic acid degrading actinomycetes and their degradation and inhibiting effect

WANG Xiao-hui^a, XUE Quan-hong^b

(a College of Life Sciences, b College of Resource and Environment, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】The experiment was to screen degradating actinomycetes of ferulic acid and to study the degradation and inhibitory effect of the actinomycetes. 【Method】Liquid fermentation experiment was carried out to screen degradating actinomycetes of ferulic acid from 127 actinomycetes strains and to study the degradation rate of ferulic acid by the actinomycetes and their inhibiting effect on melon and cucumber fusarium wilt pathogen. 【Result】①The actinomycetes 25, 28 and Z30 were screened from 127 tested actinomycetes strains. Under pure culture conditions, the ferulic acid was the sole carbon source. The degradation rates of ferulic acid completed by the actinomycetes 25, 28 and Z30 were 94.3%, 92.6% and 90.1%, respectively. ②In a mixture of ferulic acid and starch as carbon sources, the degradation rate of ferulic acid completed by the three actinomycetes was 100%. ③The degradation rate of ferulic acid by three actinomycetes as pure cell was low. ④The three strains of actinomycetes have good inhibiting effect on the melon and cucumber fusarium wilt. 【Conclusion】The degradation effect of ferulic acid by three actinomycetes and their inhibiting effect on the melon and cucumber fusarium wilt are good.

Key words: degradation of ferulic acid; root exudates; biocontrol actinomycetes; continuous cropping obstacle of watermelon

* [收稿日期] 2011-05-12

[基金项目] 长江学者和创新团队发展计划项目(PCSIRT, IRT0748)

[作者简介] 王晓辉(1984—),男,河南荥阳人,在读硕士,主要从事微生物资源利用研究。

[通信作者] 薛泉宏(1957—),男,陕西白水人,教授,博士生导师,主要从事微生物生态与资源利用研究。

E-mail: xuequanhong@163.com

连作障碍严重制约着我国西瓜生产,而引起连作障碍的原因主要为土传病害、根系分泌物的自毒作用及土壤理化性质劣变^[1-6]。其中土传病害一直是连作障碍的研究重点,土壤理化性质劣变对作物连作障碍的影响已得到广泛关注,而自毒作用作为引起连作障碍的重要原因之一也受到了重视。已有研究表明,酚酸类自毒物质具有化感抑制作用,而酚酸类化合物已被鉴定是植物根系分泌物中的主要自毒性物质^[7-13]。作物分泌的多酚类化合物能破坏细胞膜的功能,抑制受体植物超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性,导致体内活性氧含量增多,启动膜质过氧化,破坏膜结构^[14]。另有研究发现,化感物质可明显抑制受体三磷酸腺苷(ATP)酶的活性,从而影响受体的光合与呼吸作用^[15]。王倩^[7]研究证明,阿魏酸在西瓜根系分泌物和西瓜植株组织中的含量均位列各酚酸之首,作用最强烈,目前尚无有效的消除方法。高浓度苯甲酸和肉桂酸能显著抑制西瓜幼苗根系过氧化物酶(POD)活性,大幅度提高枯萎病发病率和病情指数^[9]。有研究报道,采用合理施肥、轮作倒茬、土壤消毒、种苗脱毒、施用有机改良剂及接种生防菌剂等方法,可以缓解营养元素失衡和病原菌增多引起的再植病害^[3,7,14-19],利用微生物制剂可缓解酚酸和丙烯酸对番茄、黄瓜的自毒危害^[20-21],但目前尚无利用微生物制剂消除西瓜自毒物质的报道。本研究探索了利用放线菌降解西瓜根系分泌自毒物质阿魏酸的可行性,以期为西瓜连作障碍微生态修复剂的研制提供科学依据及高效菌株。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试 剂 阿魏酸(分析纯),上海晶纯试剂厂产品。

1.1.2 供试菌株 供试放线菌共127株,其中103株为西北农林科技大学资源环境学院微生物资源研究室分离保藏,其余24株分离自秦岭主峰太白山北坡土壤,均为链霉菌属(*Streptomyce* sp.)。

供试病原菌:西瓜枯萎病菌(*Fusarium oxysporum*),由西北农林科技大学植物保护学院宗兆锋教授提供;黄瓜枯萎病病原菌尖孢镰刀菌1(*F. oxysporum*1)、尖孢镰刀菌2(*F. oxysporum*2.)及甜瓜枯萎菌木贼镰刀菌(*Fusarium equiseti*),均由西北农林科技大学资源环境学院微生物资源研究室分离保藏。

1.1.3 培养基 放线菌活化、保藏培养基为高氏1号琼脂^[22];阿魏酸降解菌筛选液体培养基为去琼脂高氏1号培养基,并将可溶性淀粉质量浓度调整为0.5 g/L,阿魏酸质量浓度为1 000 mg/L,调pH 7.2~7.4;阿魏酸惟一碳源降解液体培养基为去除可溶性淀粉及琼脂的高氏1号培养基,阿魏酸质量浓度设为50 mg/L,调pH 7.2~7.4;阿魏酸混合碳源降解液体培养基为去除琼脂的高氏1号培养基,并将可溶性淀粉质量浓度设为0,0.5,1.0,2.0 g/L 4个水平,阿魏酸质量浓度分别设为50,100 mg/L 2个水平,调pH 7.2~7.4。

1.2 方法

1.2.1 阿魏酸降解菌的筛选与鉴定 (1)初筛。将5 mL阿魏酸降解菌筛选液体培养基装入15 mm×150 mm试管中,121 ℃灭菌30 min,冷却后将供试127株放线菌接种到液体培养基中,每株菌重复2管,28 ℃避光培养5 d,每24 h观察记录1次生长情况,根据生长状况初筛放线菌株。

(2)复筛。将阿魏酸降解菌筛选液体培养基装入250 mL盐水瓶中,每瓶50 mL,灭菌后冷却。向阿魏酸降解菌筛选液体培养基中接入初筛试验得到的放线菌孢子悬液,接种量为每瓶1 mL,对照接入1 mL无菌水,每处理重复3次,28 ℃避光培养10 d,检测阿魏酸残留量,计算降解率。

(3)鉴定。对复筛获得的菌株进行16S rDNA序列测定。

1.2.2 放线菌对阿魏酸的降解试验 将50 mL阿魏酸惟一和混合碳源降解液体培养基分别装入250 mL盐水瓶中,灭菌冷却后接入复筛获得的放线菌孢子悬液,接种量为每瓶1 mL,对照接入1 mL无菌水,每处理重复3次,28 ℃避光培养7 d后,检测阿魏酸残留量。

1.2.3 放线菌纯细胞对阿魏酸的降解试验 将1.2.2中可溶性淀粉质量浓度为0的处理,在检测阿魏酸残留量后,于无菌条件下用灭菌玻璃纤维过滤剩余发酵液,弃去滤液,用无菌水洗净原培养瓶、菌体及玻璃纤维上残留的培养液,再将玻璃纤维及其吸附的菌体返回原培养瓶中,加入50 mL阿魏酸惟一碳源降解液体培养基,28 ℃避光培养7 d后检测阿魏酸残留量,每处理重复3次。

1.2.4 放线菌对西甜瓜枯萎病菌的皿内拮抗作用 采用琼脂块法^[23]进行试验。将复筛获得的放线菌分别接种于高氏1号琼脂平板上,28 ℃培养7 d,用无菌打孔器切取直径7 mm琼脂块,置于已涂布

供试病原菌的平皿内, 28 ℃ 培养 3 d, 测量抑菌圈直径(D)。

1.2.5 阿魏酸残留质量浓度的测定^[24-25] (1) 样品处理。将发酵液用 9 cm 定性滤纸过滤至澄清, 低温避光保存, 备用。

(2) 标准曲线的绘制。准确称取分析纯阿魏酸 2.5 mg, 加入少许热去离子水搅拌, 使其全部溶解, 完全冷却后转入 50 mL 容量瓶, 定容, 制成 50 mg/L 的原液。用移液管分别吸取该原液 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 和 2.5 mL 于 25 mL 刻度试管中, 依次加入 5 g/L 三氯化铁溶液 1 mL、10 g/L 铁氰化钾溶液 1 mL, 混匀, 暗处放置 5 min, 加去离子水至 12.5 mL, 再加 0.1 mol/L 盐酸定容, 摆匀, 暗处放置 20 min。以显色剂为空白, 在 720 nm 波长处测定吸光值(测定应在 30 min 内完成), 以吸光值为横坐标, 阿魏酸质量浓度为纵坐标, 绘制标准曲线。

(3) 样品中阿魏酸质量浓度的测定。吸取过滤好的发酵液 0.5 mL(阿魏酸初始质量浓度为 100 mg/L) 或 1.0 mL(阿魏酸初始质量浓度为 50 mg/L) 于 25 mL 刻度试管中, 加入 5 g/L 三氯化铁溶液 1 mL、10 g/L 铁氰化钾溶液 1 mL, 混匀, 暗处放置 5 min, 加去离子水至 12.5 mL, 再加 0.1 mol/L 盐酸定容, 暗处放置 20 min, 在 720 nm 波长处测定吸光值, 测定应在 30 min 内完成。按测得的

表 1 以阿魏酸为惟一碳源时 3 株放线菌对其的降解率

Table 1 Degradation rate of Ferulic acid(FA) by three actinomycetes under single carbon source

菌株编号 Strain No.	阿魏酸残留质量浓度/ (mg·L ⁻¹) Substrate residual	降解率/% Degradation rate
CK	48.62±0.55	—
25	2.76±0.12	94.3

从表 2 可以看出, 在不同质量浓度阿魏酸、淀粉存在条件下, 3 株放线菌对阿魏酸均具有较强的降解作用。当阿魏酸质量浓度为 50 mg/L 时, 在 0, 0.5, 1.0 和 2.0 4 种淀粉质量浓度条件下, 25 和 28 号放线菌株对阿魏酸的降解率均为 100%; Z30 对阿魏酸的降解率随淀粉质量浓度的增加而略有下降。当阿魏酸质量浓度为 100 mg/L 时, 3 株放线菌对阿魏酸的降解率为 68.8%~96.6%, 且供试菌株对阿魏酸的降解率随淀粉质量浓度的增加呈下降趋势。

从表 2 还可以看出, 25 号放线菌对阿魏酸的降解效果最为稳定。当阿魏酸质量浓度为 50 mg/L 时, 在 4 种淀粉质量浓度条件下, 25 号放线菌对阿魏酸的降解率均为 100%; 当阿魏酸质量浓度为 100 mg/L 时, 其对阿魏酸的降解率也保持在 92.0%~

吸光值在标准曲线上查出其对应的阿魏酸质量浓度, 确定样品中阿魏酸的质量浓度, 计算阿魏酸降解率:

$$\text{阿魏酸降解率} = (C_0 - C_1)/C_0 \times 100\%.$$

式中: C_0 和 C_1 分别为对照和处理样品中的阿魏酸残留质量浓度。

1.3 数据处理

试验数据用 Excel 软件进行处理。

2 结果与分析

2.1 阿魏酸降解菌的筛选与鉴定

能在筛选培养基上良好生长的菌株即能以阿魏酸为惟一碳源, 表明其对阿魏酸有降解能力。根据初筛生长状况, 从 127 株供试放线菌中获得 24 株放线菌, 经复筛获得 3 株降解性能较强的放线菌, 编号分别为 25, 28 及 Z30; 经 16S rDNA 序列测定, 25 号放线菌为淡紫褐链霉菌(*Streptomyces enissocaesilis*), 28 号放线菌为球孢链霉菌球孢亚种(*S. globisporus* subsp. *globisporus*), Z30 为链霉菌未定种(*Streptomyces* sp.)。

2.2 3 株放线菌对阿魏酸的降解率

从表 1 可知, 在以阿魏酸为惟一碳源且其初始质量浓度为 50 mg/L 时, 放线菌 25、28、Z30 对阿魏酸的降解率分别为 94.3%, 92.6% 和 90.1%。

Table 1 Degradation rate of Ferulic acid(FA) by three actinomycetes under single carbon source

菌株编号 Strain No.	阿魏酸残留质量浓度/ (mg·L ⁻¹) Substrate residual	降解率/% Degradation rate
28	3.59±0.52	92.6
Z30	4.84±0.32	90.1

94.7%, 淀粉对其降解率无明显影响。28 号放线菌对阿魏酸降解效果的变化规律与 25 号放线菌类似。菌株 Z30 对阿魏酸的降解能力稍弱于另外 2 株放线菌, 在无淀粉或淀粉质量浓度较高(1.0, 2.0 g/L)时, 其对阿魏酸的降解率均较低, 为 68.8%~88.5%; 在淀粉质量浓度较低(0.5 g/L)时, 菌株 Z30 对阿魏酸的降解率较高, 如在淀粉质量浓度为 0.5 g/L 时, 其对阿魏酸的降解率为 90.6%。

加入少量淀粉对菌体生长繁殖有一定的促进作用, 放线菌菌体生长繁殖量大, 降解作用强; 但淀粉质量浓度过大(2.0 g/L)时, 易利用的碳源能源充足, 放线菌不需要以阿魏酸作碳源能源, 故其对阿魏酸的降解率有所下降; 在淀粉质量浓度适宜时, 加入的淀粉可以满足放线菌繁殖对碳源能源的需要, 但

繁殖到一定阶段时,淀粉碳源消耗完毕,后续碳源能

源只能由阿魏酸提供,从而可提高阿魏酸的降解率。

表 2 以阿魏酸和淀粉为混合碳源时 3 株放线菌对阿魏酸的降解率

Table 2 Degradation rate of Ferulic acid by three actinomycetes under mixed carbon source

淀粉质量浓度/ (g·L ⁻¹) Starch concentration	放线菌编号 No.	50 mg/L 阿魏酸		100 mg/L 阿魏酸	
		残留质量浓度/(mg·L ⁻¹) Substrate residual	降解率/% Degradation rate	残留质量浓度/(mg·L ⁻¹) Substrate residual	降解率/% Degradation rate
0	CK	56.72±1.00	—	110.22±0.58	—
	25	0	100.0	5.83±1.24	94.7
	28	0	100.0	3.71±0.09	96.6
	Z30	0	100.0	12.65±0.18	88.5
0.5	CK	54.40±0.82	—	111.40±0.32	—
	25	0	100.0	6.28±0.09	94.4
	28	0	100.0	7.72±1.30	93.1
	Z30	0	100.0	10.46±0.18	90.6
1.0	CK	55.49±0.46	—	110.05±0.53	—
	25	0	100.0	8.79±0.91	92.0
	28	0	100.0	8.50±0.37	92.3
	Z30	2.65±4.31	95.2	34.33±3.37	68.8
2.0	CK	56.65±1.10	—	113.48±0.19	—
	25	0	100.0	8.27±2.37	92.7
	28	0	100.0	26.42±1.09	76.7
	Z30	1.26±0.09	97.8	15.93±0.27	86.0

2.3 3 株放线菌纯细胞对阿魏酸的降解效果

由表 3 可知,将 3 株放线菌纯细胞置于含有不同质量浓度阿魏酸的溶液中进行培养时,其对阿魏酸有微弱的降解效果。在阿魏酸质量浓度为 50 mg/L 的处理中,25, 28 及 Z30 3 株放线菌对阿魏酸的降解率分别为 7.63%, 2.80% 和 5.60%; 在阿魏酸质量浓度为 100 mg/L 的处理中,25, 28 及 Z30 3 株放线菌对阿魏酸的降解率分别为 0.62%, 0.74%

和 5.93%。放线菌对阿魏酸的降解是在细胞生长繁殖过程中完成的,阿魏酸以碳源能源的形式被放线菌分解利用; 放线菌纯细胞对阿魏酸降解率很低,这是因为接入的放线菌纯细胞相当于固定化细胞,在该体系中,阿魏酸被放线菌细胞内的酶系分解转化,相当于酶法转化,阿魏酸不是完全以碳源能源的形式被放线菌利用,故而降解率很低,但该推论尚待进一步研究证实。

表 3 3 株放线菌纯细胞培养对阿魏酸的降解率

Table 3 Degradation rate of Ferulic acid by three actinomycetes as pure cell

菌株编号 Strain No.	50 mg/L 阿魏酸		100 mg/L 阿魏酸	
	残留质量浓度/(mg·L ⁻¹) Substrate residual	降解率/% Degradation rate	残留质量浓度/(mg·L ⁻¹) Substrate residual	降解率/% Degradation rate
CK	50.59±1.66	—	104.14±0.80	—
25	46.73±0.49	7.63	103.50±1.94	0.62
28	49.17±0.39	2.80	103.37±1.77	0.74
Z30	47.76±2.38	5.60	97.96±3.33	5.93

2.4 3 株放线菌对供试病原真菌的拮抗性

25, 28 和 Z30 3 株放线菌对西瓜枯萎病菌、尖孢

镰刀菌 1、尖孢镰刀菌 2 和木贼镰刀菌的拮抗试验结果见表 4。

表 4 3 株放线菌对供试病原真菌的拮抗性

Table 4 Antagonistic activity of the actinomycetes against the tested pathogenic fungi

菌株编号 Strain No.	西瓜枯萎病菌 <i>Fusarium oxysporum</i>		尖孢镰刀菌 1 <i>F. oxysporum</i> 1		尖孢镰刀菌 2 <i>F. oxysporum</i> 2		木贼镰刀菌 <i>Fusarium equiseti</i> F	
	D/mm	透明度 Inhibitory degree	D/mm	透明度 Inhibitory degree	D/mm	透明度 Inhibitory degree	D/mm	透明度 Inhibitory degree
25	12	+++	11	++	11	++	10	++
28	14	++	12	++	12	++	12	++
Z30	15	+++	13	++	13	++	14	+++

注: +、++ 及 +++ 分别表示抑菌圈透明度较低、中等及完全透明。

Note: +, ++ and +++ Indicates the degree of inhibitory is poor, medium and strong respectively.

从表 4 可以看出, 3 株阿魏酸降解放线菌对供试 4 种病原菌有一定的拮抗作用, 其中对西瓜枯萎病菌的抑菌圈直径最大, 为 12~15 mm。本试验木贼镰刀菌分离自甜瓜枯萎病株, 2 株尖孢镰刀菌均为黄瓜枯萎菌。由此推知, 3 株放线菌在降解阿魏酸的同时, 也能合成具有抗枯萎病菌的活性物质, 对西瓜枯萎病原菌有一定的抑制作用, 是具有解毒抗病双重功能的菌株。

3 结 论

本研究结果表明, 从链霉菌属放线菌中可以筛选到能分解西瓜根泌自毒物质阿魏酸、解除化感抑制作用的放线菌; 这些放线菌兼备合成特定抗生素、抑制西甜瓜枯萎病菌的能力。在实验室条件下, 以阿魏酸为惟一碳源, 或向阿魏酸碳源体系中加入适量淀粉组成混合碳源时, 供试放线菌均对阿魏酸具有较强的降解作用。这些放线菌具有作为西瓜根泌自毒物质降解菌及土传枯萎病生防菌的潜力, 可用于西甜瓜连作障碍的微生物修复。至于这些具有解毒抗菌双重功能的放线菌在西甜瓜生产中的实际修复效果, 尚待后续的生物试验证明。

[参考文献]

- [1] 刘君璞, 许 勇, 孙小武, 等. 我国西甜瓜产业“十一五”的展望及建议 [J]. 中国瓜菜, 2006(1):1-3.
Liu J P, Xu Y, Sun X W, et al. Proposals on chinese watermelon and melon production [J]. China Cucurbits and Vegetables, 2006(1):1-3. (in Chinese)
- [2] 迟淑娟, 路文靖, 于相存. 西瓜土传病害发生及综合防治技术 [J]. 蔬菜, 2004(7):23.
Chi S J, Lu W J, Yu X C. Occurrence of soil-borne diseases of watermelon and its control [J]. Vegetables, 2004(7):23. (in Chinese)
- [3] 薛泉宏, 同延安. 土壤生物退化及其修复技术研究进展 [J]. 中国农业科技导报, 2008, 10(4):28-35.
Xue Q H, Tong Y A. Research progress on soil biological degradation and its remediation technology [J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2008, 10(4):28-35. (in Chinese)
- [4] 李勋卓, 舒 静, 丁克坚, 等. 上海地区土壤线虫类型与西瓜枯萎病的关系研究 [J]. 安徽农业科学, 2007, 35(10):2934-2935.
Li X Z, Shu J, Ding K J, et al. Relationship between types of soil nematodes and watermelon wilt caused by *Fusarium oxysporum* in Shanghai region [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2007, 35(10):2934-2935. (in Chinese)
- [5] Jack A, Turner, Elroy L R. Microbial decomposition of ferulic acid in soil [J]. Journal of Chemical Ecology, 1975, 1(1):41-58.
- [6] Asao T, Kitazawa H, Tomita K, et al. Mitigation of cucumber autotoxicity in hydroponic culture using microbial strain [J]. Scientia Horticulturae, 2004, 9(3/4):207-214.
- [7] 王 倩. 西瓜连作障碍中自毒作用及酚酸类物质作用机理的研究 [D]. 北京: 中国农业大学, 2002.
Wang Q. The autotoxicity and mechanism of phenolic acids effects in watermelon monoculture problem [D]. Beijing: China Agricultural University, 2002. (in Chinese)
- [8] 孙会军, 孙令强, 王 倩. 苯甲酸、肉桂酸对西瓜幼根生长、显微及超微结构的影响 [J]. 华北农学报, 2006, 21(增刊 1):77-80.
Sun H J, Sun L Q, Wang Q. Effects of benzoic acid and cinnamic acid on radicle growth, microstructure and ultrastructure of watermelon [J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2006, 21 (Suppl. 1):77-80. (in Chinese)
- [9] 王 倩, 李晓林. 苯甲酸和肉桂酸对西瓜幼苗生长及枯萎病发生的作用 [J]. 中国农业大学学报, 2003, 8(1):83-86.
Wang Q, Li X L. Effects of benzoic and cinnamic acids on watermelon seedling growth and *Fusarium* wilt occurrence [J]. Journal of China Agricultural University, 2003, 8(1):83-86. (in Chinese)
- [10] 杨广超, 吕卫光, 沈其荣, 等. 西瓜的自毒作用研究: I. 西瓜根、茎、叶的水和酒精浸提液对其种子发芽的影响 [J]. 上海农业学报, 2004, 20(3):82-85.
Yang G C, Lü W G, Shen Q R, et al. Autoinduction of watermelon: I. Effects of water and alcoholic extracts of watermelon's root, stem and leaf on seed germination [J]. Acta Agriculturae Shanghai, 2004, 20(3):82-85. (in Chinese)
- [11] 杨广超, 吕卫光, 朱 静, 等. 西瓜根、茎、叶水浸提液对西瓜种子萌发及幼苗中酶活性的影响 [J]. 西北农业学报, 2005, 14 (1):46-51.
Yang G C, Lü W G, Zhu J, et al. Effects of water extracts of watermelon's root, stem and leaf on seed germination and enzyme activities of seedlings [J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2005, 14(1):46-51. (in Chinese)
- [12] 乜兰春, 冯振中, 周 镇. 苯甲酸和对羟基苯甲酸对西瓜种子发芽及幼苗生长的影响 [J]. 中国农学通报, 2007, 23(1):237-239.
Nie L C, Feng Z Z, Zhou Z. Effects of benzoic acid and ρ -hydroxybenzoic acid on watermelon seed germination and seedling growth [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2007, 23(1):237-239. (in Chinese)
- [13] 胡绵好, 奥岩松, 袁菊红. 西瓜皮水浸提液对西瓜种子萌发及幼苗生长的影响 [J]. 上海农业学报, 2006, 22(2):47-50.
Hu M H, Ao Y S, Yuan J H. Effects of water extract of watermelon peel on seed germination and seedling growth [J]. Acta Agriculturae Shanghai, 2006, 22(2):47-50. (in Chinese)
- [14] 姜丽. 茄蒿对西瓜化感作用的初步研究 [D]. 合肥: 安徽农业大学, 2007.
Jiang L. Preliminary study on allelopathic effects of garland chrysanthemum on watermelon [D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2007. (in Chinese)
- [15] 甄文超, 代 丽, 胡同乐, 等. 连作对草莓生长发育和根部病害发生的影响 [J]. 河北农业大学学报, 2004, 27(5):68-71.

- Zhen W C, Dai L, Hu T L, et al. Effect of continuous cropping on growth and root diseases of strawberry [J]. Journal of Agricultural University of Hebei, 2004, 27(5): 68-71. (in Chinese)
- [16] 杨广超. 西瓜自毒作用及其机制的研究 [D]. 南京:南京农业大学, 2004.
- Yang G C. The Study of autointoxication in watermelon and its mechanism [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2004. (in Chinese)
- [17] 吴洪生. 西瓜连作土传枯萎病微生物生态学机理及其生物防治 [D]. 南京:南京农业大学, 2008.
- Wu H S. Microbial ecology mechanisms on *Fusarium* Wilt of watermelon and its biological control in *Fusarium*-infested soil under long-term monoculture system [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2008. (in Chinese)
- [18] 邹丽芸. 西瓜根系分泌物对西瓜植株生长的自毒作用 [J]. 福建农业科技, 2005(4): 30-31.
- Zou L Y. Effect of watermelon root secretion on the growth of watermelon plant [J]. Fujian Agricultural Science and Technology, 2005(4): 30-31. (in Chinese)
- [19] 邹丽芸. 西瓜连作障碍中自毒作用的研究 [D]. 杭州:浙江大学, 2004.
- Zou L Y. Study on autotoxicity in continuous cropping obstacle of watermelon plant [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2004. (in Chinese)
- [20] 翟彩霞, 张彦才, 王占武, 等. 土壤生态调控剂缓解酚酸类物质对番茄苗期生长抑制作用的效果 [J]. 华北农学报, 2006(增刊2): 54-58.
- Zhai C X, Zhang Y C, Wang Z W, et al. The relieving effects of soil ecological control agents to phenolic acids on restraining growth of tomato seedlings [J]. Acta Agriculturae Boreali-
- Sinica, 2006(Suppl. 2): 54-58. (in Chinese)
- [21] 喻国辉, 谢银华, 陈燕红, 等. 利用微生物缓解苯丙烯酸对黄瓜生长的抑制 [J]. 微生物学报, 2006, 46(6): 934-938.
- Yu G H, Xie Y H, Chen Y H, et al. Mitigating the repress of cinnamic acid to cucumber growth by microbial strain [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2006, 46(6): 934-938. (in Chinese)
- [22] 程丽娟, 薛泉宏. 微生物学实验技术 [M]. 西安:世界图书出版公司, 2000.
- Cheng L J, Xue Q H. Experimental techniques of microbiology [M]. Xi'an: World Publishing Corporation, 2000. (in Chinese)
- [23] 王玲娜. 内蒙芹菜连做障碍微生物修复研究 [D]. 陕西杨凌:西北农林科技大学, 2010.
- Wang L N. Study on microbial remediation of apium graveolens continuous cropping obstacle in Inner Mongolia [D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University, 2010. (in Chinese)
- [24] 王文祥, 周巧霞, 顾明, 等. 不同对照品对芍药胶囊总酚酸含量测定的影响 [J]. 中成药, 2001, 23(7): 536-537.
- Wang W X, Zhou Q X, Gu M, et al. Effects of different control samples on content determination of total phenolic acid in Xiongshao capsules [J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2001, 23(7): 536-537. (in Chinese)
- [25] 刘峰群, 崔燕, 凌海惠, 等. 不同对照品对通关藤注射液总酚酸含量测定的影响 [J]. 药学服务与研究, 2006, 6(5): 383-384.
- Liu F Q, Cui Y, Ling H H, et al. Effects of different references on content determination of total phenolic acid in Tongguanteng injection [J]. Pharmaceutical Care and Research, 2006, 6(5): 383-384. (in Chinese)

(上接第 152 页)

- [28] 吕广磊, 薛忠龙, 白现广, 等. 云南栽培稻种 SSR 遗传多样性比较 [J]. 植物学报, 2009, 44(4): 457-463.
- Lü G L, Lin Z L, Bai X G, et al. Comparative assessment of simple sequence repeat genetic diversity in cultivated rice from Yunnan [J]. Chinese Bulletin of Botany, 2009, 44(4): 457-463. (in Chinese)
- [29] Wei X H, Yuan X P, Yu H Y, et al. Temporal changes in SSR alleles diversity of major rice cultivars in China [J]. J Genet Genomics, 2009, 36: 363-370.
- [30] 华蕾, 袁筱萍, 余汉勇, 等. 我国水稻主栽品种 SSR 多样性的比较分析 [J]. 中国水稻科学, 2007, 21(2): 150-154.
- Hua L, Yuan Y P, Yu H Y, et al. A comparative study on SSR diversity in Chinese major rice varieties planted in 1950s and during the most recent ten years [J]. Chinese J Rice Sci, 2007, 21(2): 150-154. (in Chinese)