



## 芥菜生物熏蒸对烟草疫霉菌的抑制作用

孙迪, 贺依琳, 沈丹宇, 窦道龙, 田月娥

**Inhibiting effect of biological fumigation of mustard against *Phytophthora nicotianae***

SUN Di, HE Yilin, SHEN Danyu, DOU Daolong, and TIAN Yue'e

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.12357/cjea.20220519>

## 您可能感兴趣的其他文章

### Articles you may be interested in

#### 生物质炭介导生防微生物抑制辣椒疫霉的作用

Inhibitory effect of biochar-enriched biocontrol agents on *Phytophthora capsici*

中国生态农业学报(中英文). 2019, 27(7): 1015–1023

#### 除草剂对不同玉米品种生长发育和产量的影响

Effects of herbicides on growth, development and yield of different maize varieties

中国生态农业学报(中英文). 2018, 26(8): 1159–1169

#### 紫外辐射对9个昆虫病原线虫品系存活率和致病力的影响

Effects of UV-B radiation on entomopathogenic nematode survival and pathogenicity

中国生态农业学报(中英文). 2019, 27(6): 836–844

#### 温度升高和降水减少对半干旱区春小麦生长发育及产量的协同影响

Influence of climate warming and rainfall reduction on semi-arid wheat production

中国生态农业学报(中英文). 2019, 27(3): 413–421

#### 地下滴灌量与滴灌带间距对夏玉米生长发育的影响

Effects of the irrigation quota and drip irrigation pipes spacing on growth and development of summer maize with subsurface drip irrigation

中国生态农业学报(中英文). 2021, 29(9): 1502–1511

#### 土壤生物消毒对土壤改良、青枯菌抑菌及番茄生长的影响

Effect of biological disinfection on soil improvement, *Ralstonia solanacearum* suppression and tomato growth

中国生态农业学报(中英文). 2017, 25(8): 1173–1180



关注微信公众号，获得更多资讯信息

DOI: 10.12357/cjea.20220519

孙迪, 贺依琳, 沈丹宇, 窦道龙, 田月娥. 芥菜生物熏蒸对烟草疫霉菌的抑制作用[J]. 中国生态农业学报(中英文), 2023, 31(4): 567–576

SUN D, HE Y L, SHEN D Y, DOU D L, TIAN Y E. Inhibiting effect of biological fumigation of mustard against *Phytophthora nicotianae*[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2023, 31(4): 567–576

## 芥菜生物熏蒸对烟草疫霉菌的抑制作用\*

孙迪<sup>1</sup>, 贺依琳<sup>1</sup>, 沈丹宇<sup>2</sup>, 窦道龙<sup>2</sup>, 田月娥<sup>1,2\*\*</sup>

(1. 河南科技大学园艺与植物保护学院 洛阳 471000; 2. 南京农业大学植物保护学院 南京 210095)

**摘要:** 为了探究安全和环境友好的烟草黑胫病的绿色防控方式, 本研究用‘地隆1号’芥菜采用培养皿培养方法进行生物熏蒸, 研究了其对烟草疫霉菌 (*Phytophthora nicotianae*) 的抑制作用。采用菌丝生长速率法测定了对烟草疫霉菌 (A2 交配型) Pp025 菌丝生长的抑制情况, 对烟草疫霉菌孢子囊形成及游动孢子释放、孢子萌发及芽管伸长和卵孢子形成的影响, 通过电导率和丙二醛含量变化测定了对烟草疫霉菌细胞膜透性的影响; 采用离体叶片法测定了芥菜熏蒸处理后烟草疫霉菌致病力的变化。结果显示: 利用‘地隆1号’芥菜进行生物熏蒸可显著抑制烟草疫霉菌的菌丝生长, 其半最大效应浓度 ( $EC_{50}$ ) 值为 0.362 g, 75% 最大效应浓度 ( $EC_{75}$ ) 值为 0.499 g, 最小抑菌量 (MIC) 为 0.5 g, 抑制效果与‘地隆1号’芥菜鲜物质的量呈剂量效应。0.3 g 芥菜鲜物质即可显著抑制孢子囊的形成及游动孢子的释放, 0.5 g 芥菜鲜物质熏蒸处理对 Pp025 孢子囊形成和游动孢子释放的抑制率分别达 72.8% 和 86.6%; 当芥菜鲜物质的量增加为 0.7 g 时, 可完全抑制 Pp025 孢子囊的形成; 0.3 g 和 0.4 g 鲜物质即可分别完全抑制游动孢子萌发及芽管伸长。‘地隆1号’芥菜鲜物质熏蒸处理可减少 Pp025 卵孢子的形成, 且减少幅度与芥菜鲜物质的量呈剂量效应, 0.7 g 鲜物质熏蒸处理可完全抑制卵孢子的形成。同时, 熏蒸处理后增大了菌丝体细胞膜透性并导致膜脂质过氧化, 经熏蒸处理 150 min 后, Pp025 的电导率为对照组的 2.2 倍, 丙二醛含量是对照的 8.0 倍; 熏蒸处理减弱了病菌的致病力, 与对照相比, 病斑减小面积达 88.9%。本研究结果表明: ‘地隆1号’芥菜鲜物质熏蒸处理对烟草疫霉菌具有很好的抑制和杀灭作用, 且熏蒸效果与‘地隆1号’芥菜鲜物质的量呈剂量效应。研究结果对生产上利用‘地隆1号’芥菜防控烟草黑胫病提供了理论依据。

**关键词:** 烟草疫霉菌; 芥菜; 生物熏蒸; 生长发育; 致病力

中图分类号: S435.72

开放科学码(资源服务)标识码(OSID):



## Inhibiting effect of biological fumigation of mustard against *Phytophthora nicotianae*\*

SUN Di<sup>1</sup>, HE Yilin<sup>1</sup>, SHEN Danyu<sup>2</sup>, DOU Daolong<sup>2</sup>, TIAN Yue'e<sup>1,2\*\*</sup>

(1. Horticulture and Plant Protection College, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471000, China; 2. College of Plant Protection, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract:** Tobacco black shank caused by *Phytophthora nicotianae* is an important and destructive soil-borne disease affecting tobacco production in China. Biofumigation is a method to suppress or kill harmful organisms in the soil using volatile bioactive substances produced by plants, such as those of Cruciferae or Compositae, during decomposition. *Brassica* species are important biolo-

\* 国家自然科学基金项目 (31901863) 和中国博士后科学基金项目 (2019M651862) 资助

\*\* 通信作者: 田月娥, 主要研究方向为植物病害生物防治。E-mail: yueetian@haust.edu.cn

孙迪, 主要研究方向为植物病害生物防治。E-mail: 18438562229@163.com

收稿日期: 2022-07-05 接受日期: 2022-08-17

\* This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (31901863) and China Postdoctoral Science Foundation (2019M651862).

\*\* Corresponding author, E-mail: yueetian@haust.edu.cn

Received Jul. 5, 2022; accepted Aug. 17, 2022

gical fumigants. ‘Dilong 1’ (DL1) mustard was cultivated by our collaborator at Nanjing Agricultural University as *Brassica juncea* variety with high glucosinolates content, high biomass, high adaptability, and good fumigation effects. To explore a safe and environmentally friendly green method for the prevention and control of tobacco black shank disease, the inhibitory effect of fumigation with DL1 mustard on *P. nicotianae* was analyzed in this study through a series of petri dish inoculation experiments. The mycelial growth rate method was used to determine the effect of DL1 fumigation on mycelial growth of *P. nicotiana*. The fumigation effects on sporangium formation, zoospore release, spore germination, germ tube elongation, and oospore formation of *P. nicotiana* were also determined. The effects of DL1 fumigation on cell membrane permeability of *P. nicotiana* were determined by changes in electrical conductivity and malondialdehyde content. The change in the pathogenicity of *P. nicotiana* after fumigation was determined using the *in vitro* leaf method. The results showed that fumigation of fresh matter of DL1 mustard could significantly inhibit the mycelial growth of *P. nicotiana*. The  $EC_{50}$  (concentration for 50% of maximal effect) value was 0.362 g,  $EC_{75}$  (concentration for 75% of maximal effect) value was 0.499 g, and minimum inhibitory dose (MIC) was 0.500 g. The inhibitory effect was dose-dependent on the amount of fresh material in DL1 mustard. The amount of 0.3 g fresh DL1 mustard significantly inhibited sporangium formation and zoospore release of *P. nicotiana*, and the amount of 0.5 g could inhibit sporangium formation and zoospore release of *P. nicotiana* by 72.8% and 86.6%, respectively. When the amount of fresh DL1 mustard was increased to 0.7 g, sporangium formation of *P. nicotiana* was completely inhibited. The amount of 0.3 g and 0.4 g of fresh DL1 mustard could completely inhibit zoospore germination and germ tube elongation of *P. nicotiana*, respectively. Fumigation of DL1 could reduce the formation of oospores of *P. nicotiana* in a dose-dependent manner, and 0.7 g fresh DL1 mustard could completely inhibit the oospore formation of *P. nicotianae*. After fumigation, the permeability of the mycelium membrane of *P. nicotianae* increased, and membrane lipid peroxidation was induced. After 150 min of fumigation, the electrical conductivity of *P. nicotiana* was 2.2 times that of the control, and the malondialdehyde content was 8.0 times that of the control. The fumigation treatment weakened the pathogenicity of *P. nicotianae*, and the area of the disease spot decreased by 88.9% compared to that of the control. In this study, fumigation of DL1 mustard on the growth and development of *P. nicotianae*, physiological and biochemical characteristics, and pathogenicity changes indicated that it had a good inhibition and killing effect on *P. nicotianae*, and the fumigation effect had a dose-dependent effect on the amount of fresh DL1 mustard. This provided a theoretical basis for the use of DL1 mustard to control tobacco black shanks and other soil-borne diseases in production.

**Keywords:** *Phytophthora nicotianae*; *Brassica juncea*; Biological fumigation; Growth and development; Pathogenicity

烟草黑胫病 (*Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*) 是由烟草疫霉菌 (*Phytophthora nicotianae*) 引起的重要土传病害, 俗称“穿大褂”“腰烂病”。该病广泛分布于我国各大烟区, 是我国烟草 (*Nicotiana tabacum*) 上最具毁灭性的病害之一<sup>[1]</sup>。烟草黑胫病是多循环病害, 在一个生长季节可以发生多次接种体的产生和侵染循环, 因此接种体的传播在烟草黑胫病的流行过程中发挥着重要的作用。田间条件下, 包括游动孢子、孢子囊和菌丝体等在内的多种菌体形式在病害的传播和再侵染过程中都起着重要的作用。烟草疫霉菌通过有性繁殖产生的卵孢子在土壤中可以越冬, 是田间发病的重要初侵染源, 在病害发展中起着同样重要的作用<sup>[2]</sup>。长期以来, 防治烟草黑胫病主要靠农业措施和化学防治等手段。但由于化学农药的滥用和不科学使用, 以及烟草品种的单一性种植等原因, 产生了很多环境污染、农残超标和烟草抗病品种退化等尖锐问题<sup>[3]</sup>。因此, 迫切需要探索并寻求安全 and 环境友好的病害绿色防控方式。

一些植物或微生物及其衍生物能够产生对病原菌、害虫或杂草等有害生物具有抑制作用的挥发性气体, 利用这些气体可以达到控制作物病虫害的目的<sup>[4]</sup>。其中, 十字花科 (Brassicaceae) 植物富含硫甙类次生代谢物 (glucosinolates, GSLs), 这类化合物一

般储存于细胞的液泡中, 其化学性质稳定, 无生物活性。但在植物组织翻耕到土壤或细胞被破坏后, 游离出的黑芥子酶 (myrosinases) 启动硫甙水解过程, 生成异硫氰酸酯 (isothiocyanates, ITCs)<sup>[5]</sup>。ITCs 是具有抑制作用的挥发性气体, 能够有效抑制甚至杀死线虫、病原真菌与卵菌、细菌以及害虫等有害生物, 比如十字花科芸薹属 (*Brassica*) 植物组织翻到小麦 (*Triticum aestivum*) 田, 发现能够减少小麦全蚀病菌的数量, 起到病害防治目的<sup>[6]</sup>。因此在前后茬作物种植间隙, 种植高硫甙十字花科植物, 翻耕深埋后, 随着植物的腐烂持续产生大量的 ITCs, 可以显著降低土壤中有有害生物的基数, 从而达到病害有效防控的目的, 该技术称为生物熏蒸 (biofumigation)。

芥菜 (*Brassica juncea*) 属十字花科芸薹属植物, 是一种重要的生物熏蒸材料。田间施用不仅可以抑制土传病害的发生, 还可改变微生物的土壤群落结构, 提升肥力<sup>[7-8]</sup>。同时, 对采后果蔬进行熏蒸, 可减缓草莓 (*Fragaria × ananassa*) 和猕猴桃 (*Actinidia chinensis*) 果实采后腐烂, 而不会影响果实外部形态和抗氧化指标<sup>[9-10]</sup>。因此, 芥菜在生物防治植物病虫害方面具有巨大的应用前景。但是, 由于不同熏蒸材料所含的硫代葡萄糖苷含量差异大, 因此, 生物熏蒸的效果主要取决于生物熏蒸材料。项目组前期从 200 余份

芥菜地方资源化材料中筛选出一份硫甙含量高、生物量大、适应性强且生物熏蒸效果好的芥菜型油菜,将其暂命名为‘地隆1号’(DL1),且发现,‘地隆1号’芥菜鲜物质对引起水果腐烂病的葡萄孢菌(*Botrytis cinerea*)、荔枝霜疫霉(*Peronophythora litchii*)、辣椒疫霉(*P. capsici*)及烟草疫霉菌(*P. nicotianae*)的菌丝生长均具有很好的抑制作用。然而,有关其抑菌机理尚不明确。

为了进一步分析‘地隆1号’芥菜鲜物质对烟草疫霉菌的抑制作用,本研究以‘地隆1号’芥菜和烟草疫霉菌 Pp025 为研究对象,从‘地隆1号’芥菜鲜物质熏蒸处理对烟草疫霉菌菌丝生长、孢子囊形成和游动孢子释放、孢子萌发及芽管伸长、卵孢子形成、菌丝体细胞膜通透性变化及烟草疫霉菌致病力变化等几个方面来揭示‘地隆1号’芥菜鲜物质抑制烟草疫霉菌生长发育的作用机制。研究结果可为利用‘地隆1号’芥菜作为熏蒸材料防控烟草黑胫病提供理论依据,同时将为烟草黑胫病的绿色防控提供新途径。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

供试病原菌:烟草疫霉菌 *P. nicotianae* (A2 交配型) Pp025 由南京农业大学植物保护学院植物与疫霉互作实验室惠赠,烟草疫霉菌 *P. nicotianae* (A1 交配型) H1100 由西北农林科技大学农学院卵菌生物学实验室惠赠。

供试芥菜:‘地隆1号’芥菜由南京农业大学窦道龙教授课题组选育所得。种子于2020年10月20日播种于河南科技大学开元校区试验地,正常肥水管理,于2021年3月15日左右生长至盛花期时,收获地上部分新鲜组织,经液氮速冻后密封储藏于-20℃备用。

供试培养基:10% V8 固体培养基,100 mL·L<sup>-1</sup> V8 果蔬汁,碳酸钙 0.2 g·L<sup>-1</sup>,琼脂 16 g·L<sup>-1</sup>,蒸馏水定容至 1 L<sup>[11]</sup>。10% V8 液体培养基同 10% V8 固体培养基配方,不加琼脂。水琼脂培养基(WA培养基)含琼脂 16 g·L<sup>-1</sup>,1000 mL 蒸馏水。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 ‘地隆1号’芥菜鲜物质熏蒸处理对烟草疫霉菌菌丝生长影响的测定

参考 Serrano-Pérez 等<sup>[12]</sup>的方法略作修改。采用菌丝生长速率法测定‘地隆1号’芥菜挥发性物质对烟草疫霉菌菌丝生长的影响。在生长旺盛的 Pp025 菌落边缘打取菌饼( $d=5$  mm),接种于含有 15 mL V8 培养基的固体平板中央。将‘地隆1号’芥菜鲜株取出

后快速于液氮中预冷后破壁粉碎成冻干粉<sup>[13]</sup>,分别称取 0 g (对照)、0.3 g、0.4 g、0.5 g、0.6 g 和 0.7 g,放置于培养皿内盖中心,立刻用封口膜封口,随后将培养皿置于 25℃ 恒温培养箱中黑暗倒置培养<sup>[14]</sup>。培养 3 d 后,用十字交叉法测量菌落直径,计算抑制率、半最大效应浓度(EC<sub>50</sub>)、75% 最大效应浓度(EC<sub>75</sub>)、最小抑菌量(MIC)。每处理 3 次重复。

抑制率(%)=(对照菌落直径-处理菌落直径)/对照菌落直径×100% (1)

参考胡安忆<sup>[15]</sup>的方法略作修改,采用菌丝生长速率法测定‘地隆1号’芥菜鲜物质非挥发性物质对烟草疫霉菌菌丝生长的影响。以不添加芥菜作为对照。分别称取 1.5 g、2.0 g、2.5 g、3.0 g 和 3.5 g 芥菜冻干粉于 10 mL 离心管中,加入 5 mL 无菌水,对照试管中只加无菌水,25℃ 振荡 12 h,12 000 rpm 离心 20 min,取上清液经 0.22 μm 微孔滤膜过滤,添加 3 mL 上清液至溶融的 50 mL V8 培养基中混匀,同上方法接菌并培养。每个处理重复 3 次。

#### 1.2.2 ‘地隆1号’芥菜鲜物质熏蒸处理对烟草疫霉菌孢子囊形成影响的测定

参考许亚池等<sup>[16]</sup>的方法,在 V8 培养基平板中央接种 Pp025 菌饼后,分别称取 0.3 g、0.4 g、0.5 g、0.6 g 和 0.7 g ‘地隆1号’芥菜冻干粉放置于培养皿内盖中心,立刻用封口膜封口,以不添加芥菜作为对照,于 28℃ 黑暗培养 5 d 后移至 28℃ 全光照培养 5 d。随后在 20×显微镜下随机观察 10 个视野,统计平均孢子囊数量。每个处理 3 个重复。同时,选择 1 处接近平均值的视野进行拍照。观察结束后,在含有孢子囊的培养皿中分别加入 15 mL 4℃ 预冷的无菌水,置于 4℃ 冰箱 30 min,刺激产孢。取出后室温静置 1 h,诱导孢子囊释放游动孢子并收集游动孢子悬浮液,通过血球计数板计算游动孢子的浓度。

#### 1.2.3 ‘地隆1号’芥菜鲜物质熏蒸处理对烟草疫霉菌卵孢子形成影响的测定

参考曹继芬等<sup>[17]</sup>的方法,采用平板对峙培养法测定‘地隆1号’芥菜对烟草疫霉菌卵孢子形成的影响。将 H1100 (A1) 和 Pp025 (A2) 两个不同交配型的标准菌株接于同一 V8 培养基平板,两个菌饼相距 1.5~2 cm。每个皿中分别加入 0.3 g、0.4 g、0.5 g、0.6 g 和 0.7 g 的芥菜粉末,立刻封口。以不添加芥菜作为对照,于 25℃ 黑暗培养 14 d。随后通过直接镜检数和匀浆后血球计数板计数两种方法统计卵孢子数量。镜检时在物镜 20×显微镜下,每皿选取两个菌饼交界处观察 10 个视野并计数;血球计数板计

数时在两个菌饼交界处取 2 g 菌丝块,加入 30 mL 无菌水进行匀浆。每个处理 3 个重复,每个处理统计 5 次并计算平均值。

#### 1.2.4 ‘地隆 1 号’芥菜鲜物质熏蒸处理对烟草疫霉菌孢子萌发及芽管伸长影响的测定

在 1.2.1 的基础上,参照胡安忆<sup>[15]</sup>的方法略作修改。用移液枪吸取于对照平板上制备的 Pp025 游动孢子悬浮液( $10^5 \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 200  $\mu\text{L}$ ,涂布在水琼脂培养基上,每个皿中分别加入 0.3 g、0.4 g、0.5 g、0.6 g 和 0.7 g 的芥菜粉末进行熏蒸,每个处理重复 3 次。以不添加芥菜作为对照。密封后置于 25  $^{\circ}\text{C}$  黑暗培养,3 h 后在显微镜下观察游动孢子萌发情况,每个重复观察 50 个孢子,以芽管长度大于孢子半径为萌发标准。6 h 后,于 20 $\times$ 显微镜视野下随机选取 5 个孢子测量芽管长度,计算平均芽管长度。

#### 1.2.5 ‘地隆 1 号’芥菜鲜物质熏蒸处理对烟草疫霉菌细胞膜通透性影响的测定

参考 Wang 等<sup>[18]</sup>的方法,采用 DDS-307 雷磁电导仪测定菌丝体电导率。分别从不添加芥菜的对照 0 g、 $\text{EC}_{50}$  值对应的芥菜量熏蒸处理 3 d 的 Pp025 V8 平板上打取 5 个菌饼( $d=5 \text{ mm}$ ),放入 150 mL V8 液体培养基,25  $^{\circ}\text{C}$  条件下 150 rpm 摇培。分别在 0 min、30 min、60 min、90 min、120 min 和 150 min 取样,测定 Pp025 培养液体的电导率。待 150 min 时间点测完后,将菌丝体煮沸并冷却后再测定最终电导率。每个处理 3 个重复。根据以下公式计算相对电导率:

$$\text{相对电导率}(\%) = \frac{\text{不同时间电导率}}{\text{最终电导率}} \times 100\% \quad (2)$$

采用分光光度法测定菌丝体丙二醛的含量。在

Pp025 菌落边缘打下直径为 5 mm 的菌饼 10 个,正面朝上放入二分格培养皿中,在培养皿中加入约 10 mL V8 液体培养基,使之刚好没过菌丝面,将‘地隆 1 号’芥菜冻干粉放置于培养皿另 1 格进行熏蒸,设置空白对照和  $\text{EC}_{50}$  值对应的芥菜量两组处理,每组处理设置 3 个重复。25  $^{\circ}\text{C}$  黑暗培养 3 d 后清洗菌丝,用布式漏斗抽干水分后,采用丙二醛含量检测试剂盒(货号: BC0020)测定 Pp025 菌丝体内丙二醛的含量。

#### 1.2.6 ‘地隆 1 号’芥菜鲜物质对烟草疫霉菌致病力影响的测定

参考高崇等<sup>[19]</sup>的方法稍作修改。待普通烟苗第 1 片真叶长 10 cm 时,剪取自上向下数第 3 片叶片,采用离体叶片法进行接种。分别从 0 和  $\text{EC}_{50}$  值对应的芥菜冻干粉量熏蒸处理 3 d 的 Pp025 平板上取菌饼(5 mm)进行离体叶片侵染,菌丝面朝下紧贴叶片背面,每个处理设置 10 个重复。对照为不添加芥菜。在 25  $^{\circ}\text{C}$  光照培养箱(12 h 光照 12 h 黑暗)保湿培养 3 d 后测量叶片病斑面积并进行拍照。

### 1.3 数据统计与分析

采用 IMAGE J 软件测量叶片病斑面积。采用 SPSS 25.0 软件对数据进行统计分析,采用 Duncan 新复极差法进行多重比较。

## 2 结果与分析

### 2.1 ‘地隆 1 号’芥菜鲜物质熏蒸对烟草疫霉菌丝生长的影响

如图 1 所示,‘地隆 1 号’芥菜鲜物质熏蒸可明显抑制烟草疫霉菌 Pp025 菌丝的生长,且随着芥菜鲜物质质量的增多,抑制效果增强,抑制效果与‘地隆 1 号’

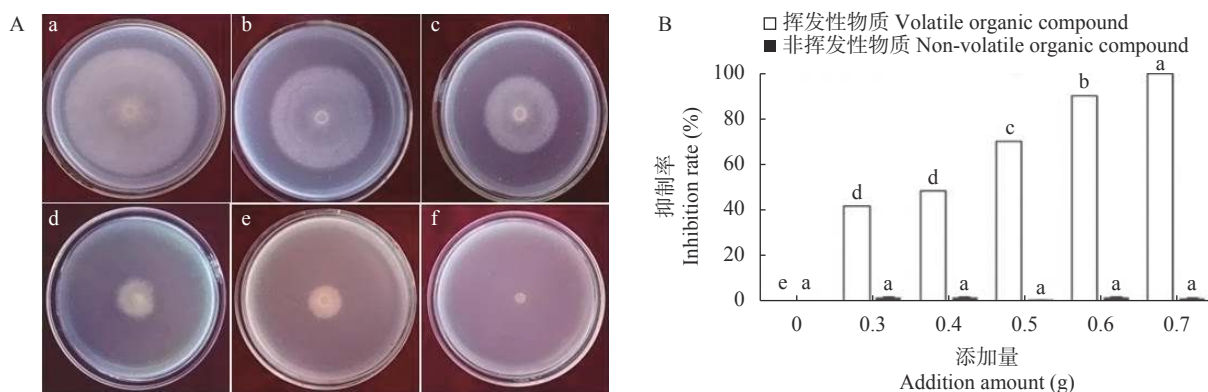


图 1 不同量‘地隆 1 号’芥菜鲜物质熏蒸对烟草疫霉菌 Pp025 菌丝生长的抑制效果

Fig. 1 Inhibition of mycelium growth of *Phytophthora nicotianae* Pp025 by fumigation with different amounts of fresh matter of ‘DL1’ mustard

A: 不同量‘地隆 1 号’芥菜鲜物质熏蒸处理 72 h 后 Pp025 的菌落生长情况; a: 0 g; b: 0.3 g; c: 0.4 g; d: 0.5 g; e: 0.6 g; f: 0.7 g. B: 不同量‘地隆 1 号’芥菜鲜物质熏蒸处理 72 h 后对 Pp025 的抑制率。不同小写字母表示不同处理间存在显著差异 ( $P < 0.05$ )。A: colony of Pp025 after fumigation with different amounts of fresh material of DL1 at 72 h. a: 0 g; b: 0.3 g; c: 0.4 g; d: 0.5 g; e: 0.6 g; f: 0.7 g. B: inhibition rate of Pp025 after fumigation with different amounts of fresh material of DL1 at 72 h. Different lowercase letters indicate significant differences among different treatments ( $P < 0.05$ ).

芥菜鲜物质的量呈剂量效应。当芥菜鲜物质的量增加至 0.7 g 时, 其对 Pp025 的抑制率达 100%。‘地隆 1 号’芥菜鲜物质对 Pp025 菌丝生长抑制作用的  $EC_{50}$  值为 0.362 g,  $EC_{75}$  值为 0.499 g, 最小抑菌量 (MIC) 为 0.5 g。芥菜非挥发性物质对 Pp025 菌丝生长无抑制作用 (图 1)。

## 2.2 ‘地隆 1 号’芥菜鲜物质熏蒸对烟草疫霉菌孢子囊形成和游动孢子释放的影响

‘地隆 1 号’芥菜鲜物质熏蒸处理对烟草疫霉菌 Pp025 孢子囊形成和游动孢子释放均有强烈的抑制作用。当芥菜鲜物质的量为 0.5 g 时, 熏蒸处理对 Pp025 孢子囊形成和游动孢子释放的抑制率分别达 72.8% 和 86.6%; 当芥菜鲜物质的量增加到 0.6 g 时, Pp025 仅形成个别孢子囊, 且不能正常释放游动孢子;

当芥菜鲜物质的量增加为 0.7 g 时, 其完全抑制了 Pp025 孢子囊的形成 (图 2)。结果表明, ‘地隆 1 号’芥菜鲜物质熏蒸处理可显著抑制甚至完全抑制烟草疫霉菌孢子囊的产生和游动孢子的释放。

## 2.3 ‘地隆 1 号’芥菜鲜物质熏蒸对烟草疫霉菌孢子萌发及芽管伸长的影响

由图 3 可看出, ‘地隆 1 号’芥菜鲜物质熏蒸处理对烟草疫霉菌 Pp025 游动孢子的萌发具有较强的抑制作用。当 0 g ‘地隆 1 号’芥菜鲜物质熏蒸处理 (CK) 的孢子萌发率近 90.0% 时, 0.3 g ‘地隆 1 号’芥菜鲜物质熏蒸处理对 Pp025 孢子萌发的抑制率达 96.5%; 当芥菜鲜物质的量增加为 0.4 g 时, 其对 Pp025 孢子萌发的抑制率为 100%。

‘地隆 1 号’芥菜鲜物质熏蒸处理对烟草疫霉菌

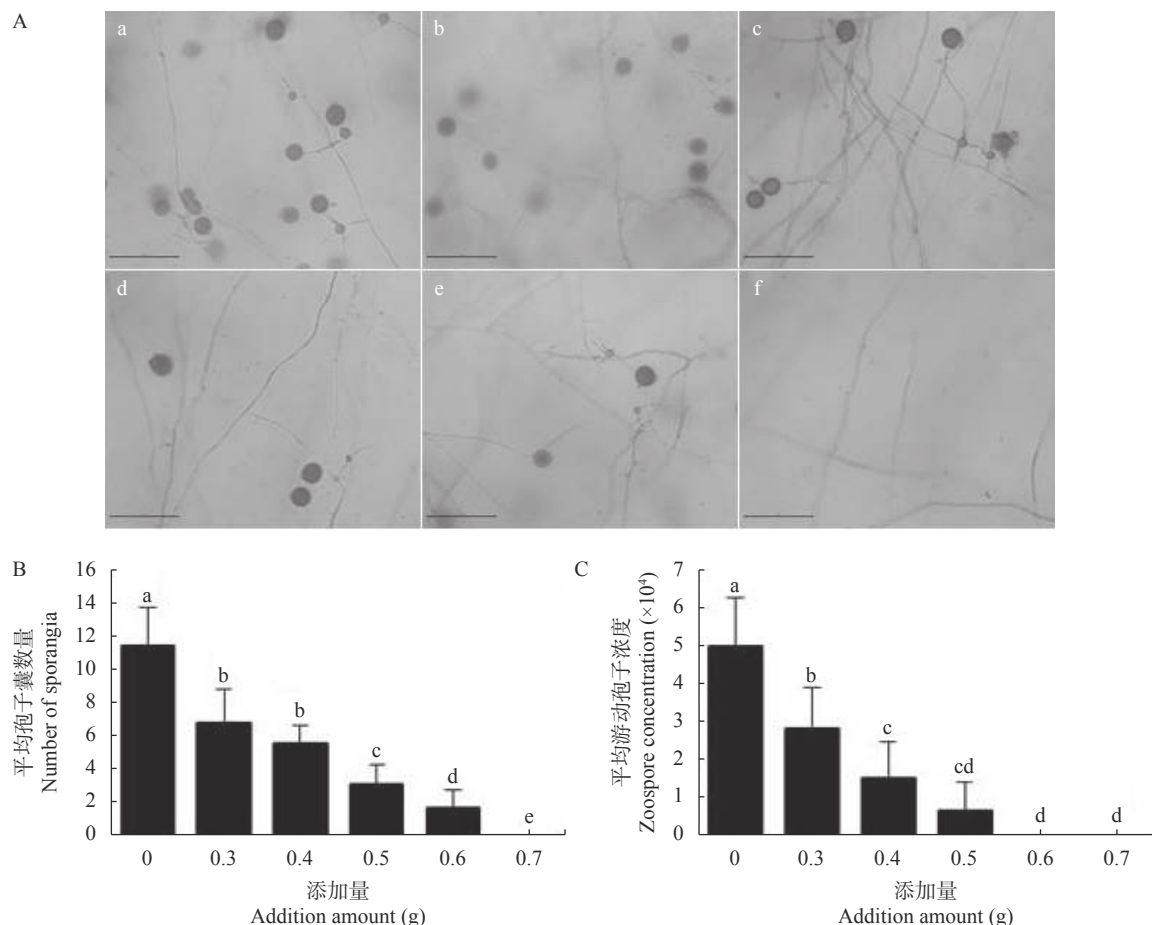


图2 不同量‘地隆 1 号’芥菜鲜物质熏蒸对烟草疫霉菌孢子囊形成和游动孢子释放的抑制效果

Fig. 2 Inhibition of sporangium formation and zoospore release of *Phytophthora nicotianae* by fumigation with fresh matter of ‘DL1’ mustard

A: 不同量‘地隆 1 号’芥菜鲜物质熏蒸处理后 Pp025 的孢子囊形成情况; a: 0 g; b: 0.3 g; c: 0.4 g; d: 0.5 g; e: 0.6 g; f: 0.7 g。B: 不同量‘地隆 1 号’芥菜鲜物质熏蒸处理后 Pp025 的孢子囊形成数量。C: 不同量‘地隆 1 号’芥菜鲜物质熏蒸处理后 Pp025 孢子囊释放的平均游动孢子浓度。不同小写字母表示不同处理间存在显著差异 ( $P < 0.05$ )。A: sporangium formation of Pp025 after fumigation with different amounts of fresh material of DL1. a: 0 g; b: 0.3 g; c: 0.4 g; d: 0.5 g; e: 0.6 g; f: 0.7 g. B: number of sporangium of Pp025 after fumigation with different amounts of fresh material of DL1. C: concentration of zoospores released by sporangium of Pp025 after fumigation with different amounts of fresh material of DL1. Different lowercase letters indicate significant differences among different treatments ( $P < 0.05$ ).

孢子芽管的伸长同样具有显著的抑制作用。用 0.3 g 芥菜鲜物质熏蒸处理可显著抑制烟草疫霉菌孢子芽管的伸长,抑制率可达 88.8%;当芥菜鲜物质的量增加至 0.4 g 后,完全抑制了芽管的伸长(图 3)。结果表明,‘地隆 1 号’芥菜鲜物质熏蒸处理可对烟草疫霉菌的孢子萌发及芽管伸长起到极显著的抑制作用。

#### 2.4 ‘地隆 1 号’芥菜鲜物质熏蒸对烟草疫霉菌孢子形成的影响

‘地隆 1 号’芥菜鲜物质熏蒸处理显著减少了烟草疫霉菌卵孢子的形成数量(图 4)。在对峙培养 14 d 后,CK 产生了大量卵孢子(图 4)。然而,经‘地隆 1 号’芥菜鲜物质熏蒸处理后的 Pp025 产生的卵孢子数量显著减少,且减少幅度与芥菜鲜物质的量呈剂

量效应。当芥菜鲜物质的量为 0.7 g 时,熏蒸处理完全抑制了 Pp025 卵孢子的形成。表明‘地隆 1 号’芥菜鲜物质熏蒸处理可影响烟草疫霉菌的有性生殖,并减少卵孢子的形成数量。

#### 2.5 ‘地隆 1 号’芥菜鲜物质熏蒸处理对烟草疫霉菌丝体细胞膜通透性的影响

胁迫导致胞外电导率升高是菌丝体细胞膜破裂的标志之一。如图 5 所示,在测定的不同时间段内,处理与对照的相对电导率均有升高趋势。芥菜熏蒸处理组除 0 min 外,在其他时间段的相对电导率均高于对照。表明芥菜鲜物质熏蒸处理可破坏烟草疫霉菌的细胞膜通透性。

丙二醛(MDA)是细胞膜脂过氧化作用的产物之一。如图 5 所示,芥菜鲜物质熏蒸处理后,烟草疫霉

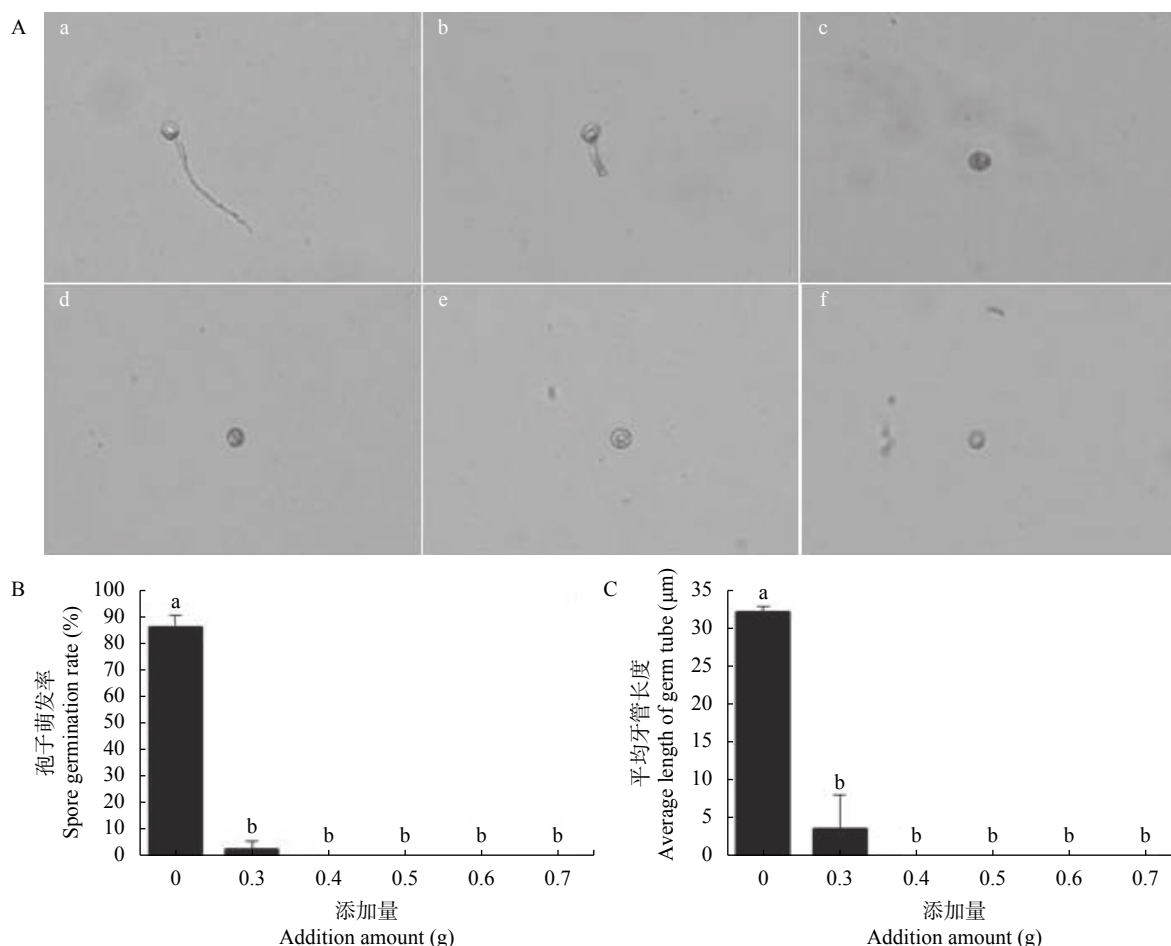


图 3 不同量‘地隆 1 号’芥菜鲜物质熏蒸对烟草疫霉菌孢子萌发和芽管伸长的抑制效果

Fig. 3 Inhibition of spore germination and germ tube elongation of *Phytophthora nicotianae* by fumigation with fresh matter of ‘DL1’ mustard

A: 不同量‘地隆 1 号’芥菜鲜物质熏蒸处理后 Pp025 的芽管伸长情况; a: 0 g; b: 0.3 g; c: 0.4 g; d: 0.5 g; e: 0.6 g; f: 0.7 g。B: 不同量‘地隆 1 号’芥菜鲜物质熏蒸处理后 Pp025 的孢子萌发率。C: 不同量‘地隆 1 号’芥菜鲜物质熏蒸处理后 Pp025 的平均芽管长度。不同小写字母表示不同处理间存在显著差异 ( $P < 0.05$ )。A: germ tube elongation of Pp025 after fumigation with different amounts of fresh material of DL1; a: 0 g; b: 0.3 g; c: 0.4 g; d: 0.5 g; e: 0.6 g; f: 0.7 g。B: rate of zoospore germination of Pp025 after fumigation with different amounts of fresh material of DL1. C: average length of germ tube of Pp025 after fumigation with different amounts of fresh material of DL1. Different lowercase letters indicate significant differences among different treatments ( $P < 0.05$ ).

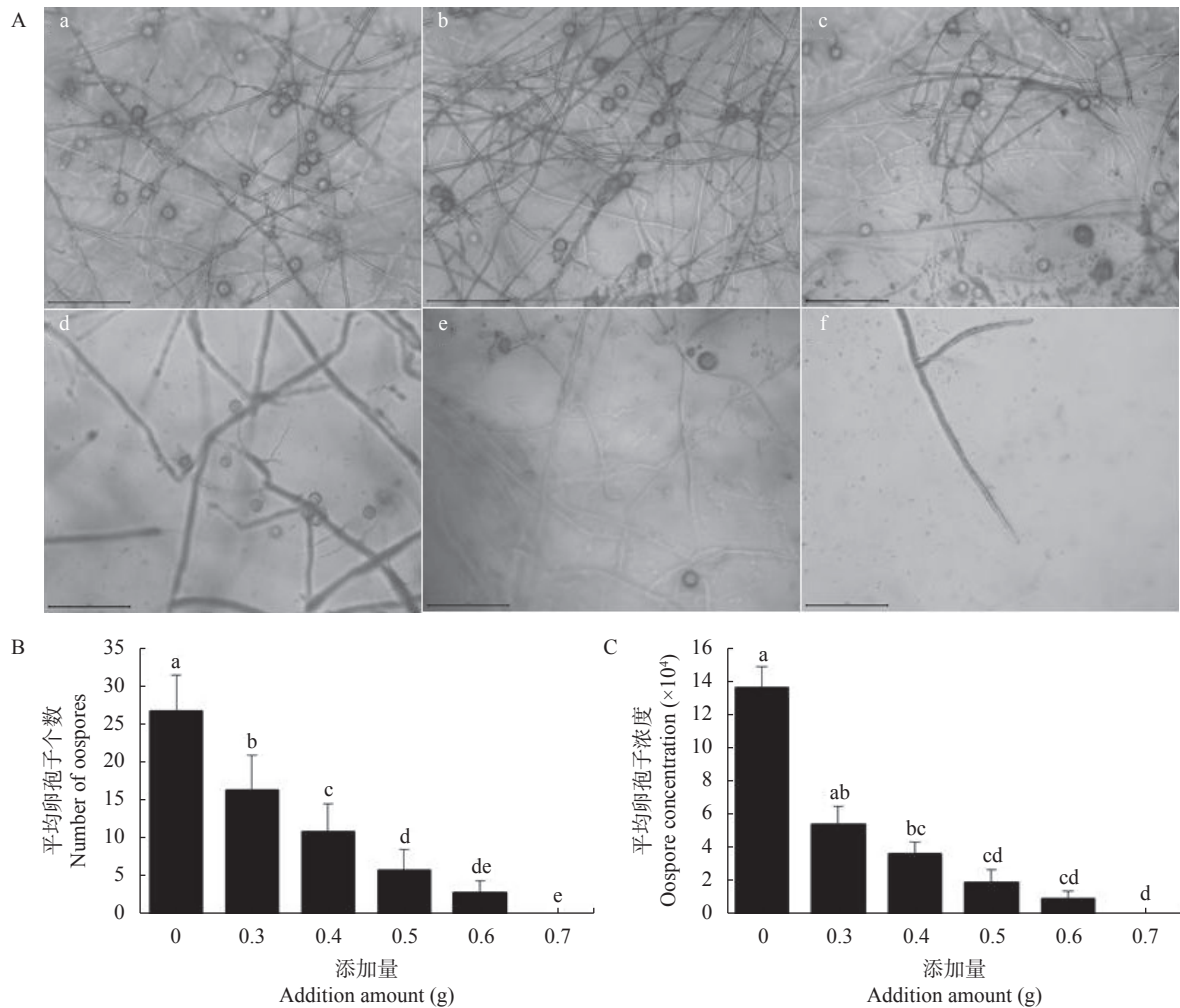


图4 不同量‘地隆1号’芥菜鲜物质熏蒸对烟草疫霉菌卵孢子形成的抑制效果

Fig. 4 Inhibition of oospore formation of *Phytophthora nicotianae* by fumigation with fresh matter of ‘DL1’ mustard

A: 不同量‘地隆1号’芥菜鲜物质熏蒸处理后 Pp025 的卵孢子形成情况; a: 0 g; b: 0.3 g; c: 0.4 g; d: 0.5 g; e: 0.6 g; f: 0.7 g。B: 不同量‘地隆1号’芥菜鲜物质熏蒸处理后 Pp025 的平均卵孢子形成数量。C: 不同量‘地隆1号’芥菜鲜物质熏蒸处理后 Pp025 的平均卵孢子浓度。不同小写字母表示不同处理间存在显著差异 ( $P < 0.05$ )。A: Oospore formation of Pp025 after fumigation with different amounts of fresh material of DL1; a: 0 g; b: 0.3 g; c: 0.4 g; d: 0.5 g; e: 0.6 g; f: 0.7 g。B: number of oospores of Pp025 after fumigation with different amounts of fresh material of DL1。C: concentration of oospores of Pp025 after fumigation with different amounts of fresh material of DL1. Different lowercase letters indicate significant differences among different treatments ( $P < 0.05$ ).

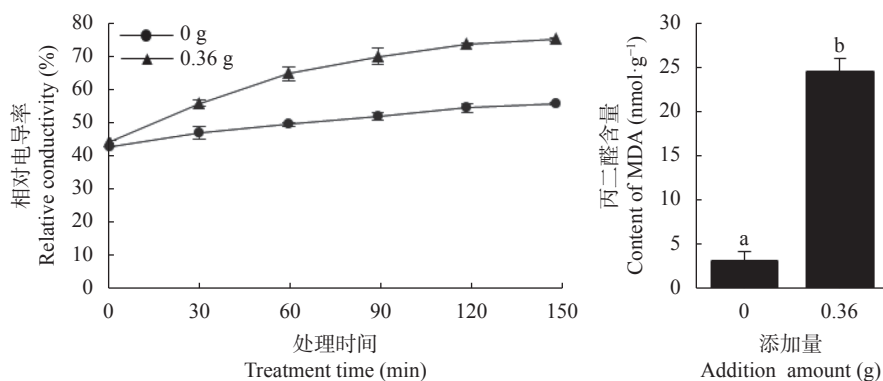


图5 不同量‘地隆1号’芥菜鲜物质熏蒸后烟草疫霉菌细胞膜透性和丙二醛含量的变化

Fig. 5 Effect of fumigation with fresh matter of ‘DL1’ mustard on cell membrane permeability and malonaldehyde (MDA) content  
不同小写字母表示不同处理间存在显著差异 ( $P < 0.05$ )。Different lowercase letters indicate significant differences among different treatments ( $P < 0.05$ ).

菌丝体内丙二醛含量显著高于未处理的对照组,说明芥菜鲜物质熏蒸处理可对烟草疫霉菌丝体造成胁迫伤害,引起菌丝体脂质过氧化损伤。

## 2.6 ‘地隆 1 号’芥菜鲜物质熏蒸处理对烟草疫霉菌致病力的影响

如图 6 所示,接种 3 d 后,不同处理的烟草叶片

发病情况差异明显。其中,阴性对照未发病,阳性对照的烟草叶片出现明显的水渍状病斑,且病斑面积扩展较快(图 6)。然而,经‘地隆 1 号’芥菜鲜物质熏蒸处理后的试验组烟草叶片上没有形成水渍状病斑。表明‘地隆 1 号’芥菜鲜物质熏蒸处理显著减弱了烟草疫霉菌的致病力。

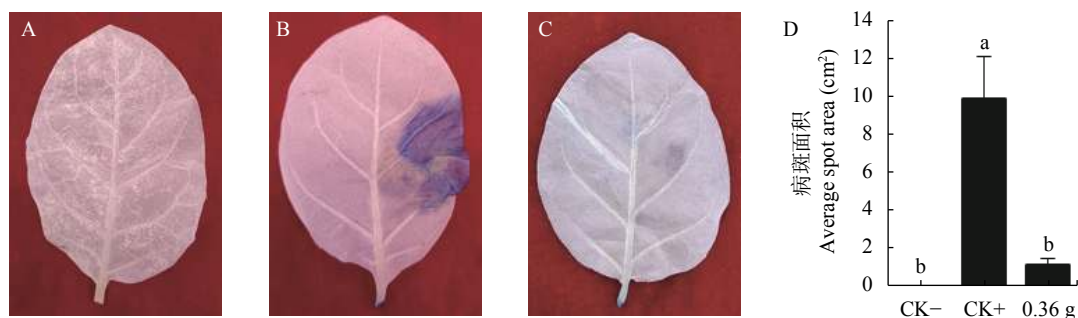


图 6 ‘地隆 1 号’芥菜熏蒸处理后烟草疫霉菌 Pp025 致病力的变化

Fig. 6 Variation of infection ability of Pp025 after fumigation of fresh matter of ‘DL1’ mustard

A: 阴性对照, 不接种; B: 阳性对照, 接种烟草疫霉菌 Pp025 菌饼; C: 接种经‘地隆 1 号’芥菜熏蒸处理后的菌饼; D: 病斑面积。A: CK-, non-inoculum; B: CK+, inoculated with Pp025; C: inoculated with Pp025 after fumigation of fresh matter of DL1 mustard; D: Lesion area.

## 3 讨论和结论

在土传植物病原疫霉菌生活史的所有发育阶段中, 孢子囊的产生和游动孢子的释放及萌发为繁殖体数量的快速增加、对寄主的侵染以及病害的发生提供了最大的机会<sup>[20]</sup>。本研究测定了‘地隆 1 号’芥菜鲜物质熏蒸处理对烟草疫霉菌丝生长、孢子囊形成和游动孢子释放、孢子萌发及芽管伸长、卵孢子形成、菌丝体细胞膜通透性及致病力的影响, 从烟草疫霉菌生长发育、生理生化性状及致病力变化等不同角度探究该物质抑制烟草疫霉菌可能的作用机理。结果表明: 经‘地隆 1 号’芥菜鲜物质熏蒸处理后, 烟草疫霉菌的生长发育、生理生化性状及致病力等均受到明显影响。熏蒸处理后烟草疫霉菌孢子囊和卵孢子的形成数量明显降低甚至被完全抑制, 形成的孢子囊释放游动孢子的过程也表现异常, 推测‘地隆 1 号’芥菜鲜物质产生的异硫氰酸酯类挥发性物质能够有效抑制烟草疫霉菌菌丝的生长代谢, 使得菌体代谢减慢, 从而抑制菌体的生长发育。研究表明‘地隆 1 号’芥菜鲜物质对烟草疫霉菌生长发育的无性繁殖和有性繁殖过程均存在抑制作用。该结果与 Wang 等<sup>[18]</sup>报道的异硫氰酸苄酯能显著抑制链格孢属的孢子萌发和菌丝生长, 且破坏细胞膜的完整性的研究结果一致。

细胞膜具有调节和选择物质进出细胞的功能, 因此, 测定一定条件下细胞膜的通透性对于衡量细

胞生理功能至关重要。如果细胞膜受到外界因素的干扰或破坏, 将无法有选择地控制细胞内外的物质进出细胞, 这将会导致细胞内的各种物质代谢无法正常进行, 严重时会导致细胞破裂死亡<sup>[21]</sup>。本研究中, 通过对‘地隆 1 号’芥菜鲜物质熏蒸处理后菌丝体相对电导率及膜脂过氧化程度变化的分析, 发现熏蒸处理使烟草疫霉菌丝体膜脂过氧化, 细胞膜通透性逐渐增加, 菌丝体内容物泄漏, 导致菌丝形态发生改变。推测这可能是‘地隆 1 号’芥菜鲜物质产生的异硫氰酸酯类挥发性物质使细胞中电解质大量泄漏, 细胞内渗透压不平衡, 进而影响菌丝正常的生理结构和功能, 最终使得烟草疫霉菌细胞趋于死亡。表明‘地隆 1 号’芥菜鲜物质产生的异硫氰酸酯类挥发性物质可以直接通过杀灭烟草疫霉菌起到抑制病菌生长发育的效果。

刘领等<sup>[22]</sup>研究表明, 芥菜提取液能显著抑制烟草黑胫病菌菌丝的生长, 增强烟株叶片中防御相关酶[超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、多酚氧化酶(PPO)]和抗性相关酶(PAL)的活性, 从而达到降低烟草黑胫病的发病率和病情指数的作用。乔世佳等<sup>[23]</sup>研究发现, 小花芥菜(*B. juncea*)提取液能够有效抑制黄瓜枯萎病菌生长, 将芥菜经生物熏蒸后施于多年连作黄瓜(*Cucumis sativus*)的土地, 结果表明处理后的黄瓜幼苗株高、茎粗、植株的鲜干重等指标明显优于化学农药

处理。马艳等<sup>[24]</sup>研究发现,以菜粕为生物熏蒸材料进行土壤处理不仅可以有效防控辣椒 (*Capsicum annuum*) 连作大棚中辣椒疫病的发生,而且可使辣椒增产 16.4%。Larkin 等<sup>[25]</sup> 利用芥菜与马铃薯 (*Solanum tuberosum*) 轮作显著降低了马铃薯黄萎病的发生率,并使块茎产量提高了 12%。病原微生物可以产生细胞壁降解酶以消除植物抗感染屏障<sup>[26]</sup>。本研究结果发现,经熏蒸处理后,显著减弱了烟草疫霉菌的致病力,说明‘地隆 1 号’芥菜鲜物质产生的挥发性异硫氰酸酯类活性物质有效抑制了烟草疫霉菌产生降解酶的活性,同时降低了烟草疫霉菌分解细胞壁的能力,从而从侵入寄主的角度起到减轻病害发生的作用。这些研究结果为更好地开发和利用芥菜作为生物熏蒸材料应用于农业生产奠定了基础。

生物熏蒸具有无污染、无药害、提高作物产量、改善土壤理化性质等优点,目前,生物熏蒸已成为一种国际上广为使用的植物保护生态调控技术<sup>[27]</sup>。生物熏蒸的效果主要取决于生物熏蒸材料释放的有毒气体。选择硫代葡萄糖苷含量高的熏蒸材料是提高熏蒸效果最直接有效的方法。本研究中测定的‘地隆 1 号’芥菜硫甙含量高、生物量大、适应性强且抑菌谱广,是具有良好的发展前景的芥菜型熏蒸材料。实际操作中,除了熏蒸材料本身影响熏蒸效果外,外界环境条件(例如,土壤的理化性质、土壤中的水分含量、温度等)也影响熏蒸的效果。Morra 等<sup>[28]</sup> 研究发现,适宜的土壤湿度可以加大芸薹属植物组织细胞的破碎程度,进而加快异硫氰酸酯的降解速率,提高植物的熏蒸效果。由于熏蒸材料在水解产生异硫氰酸酯的过程需要适量的水,所以利用生物熏蒸材料处理土壤时要确保土壤中水分充足<sup>[29]</sup>。

因此,本研究从‘地隆 1 号’芥菜对烟草疫霉菌的抑制机制出发,通过生物熏蒸的方法,明确了‘地隆 1 号’芥菜鲜物质对烟草疫霉菌生长发育各阶段均有不同程度的抑制作用,研究结果为烟草黑胫病的生物防治提供新的思考,为后续工作的开展和深入研究提供理论依据,对生产上综合防控烟草黑胫病和其他土传病害具有重要的实践指导意义和研究价值。

## 参考文献 References

- [1] 谢永辉, 张永贵, 朱利全, 等. 烟草黑胫病综合防治研究进展[J]. *生物技术进展*, 2015, 5(1): 41–46  
XIE Y H, ZHANG Y G, ZHU L Q, et al. Research advances in integrated management of tobacco black shank[J]. *Current Biotechnology*, 2015, 5(1): 41–46
- [2] KAMOUN S, FURZER O, JONES J D G, et al. The top 10

- oomycete pathogens in molecular plant pathology[J]. *Molecular Plant Pathology*, 2015, 16(4): 413–434
- [3] 赵辉, 王喜英, 刘国权, 等. 烟草黑胫病发生因素及综合防治研究进展[J]. *湖南农业科学*, 2020(11): 99–103  
ZHAO H, WANG X Y, LIU G Q, et al. Research progress on occurrence of tobacco black shank (*Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*) and its integrated control[J]. *Hunan Agricultural Sciences*, 2020(11): 99–103
- [4] MERCIER J, SMILANICK J L. Control of green mold and sour rot of stored lemon by biofumigation with *Muscodor albus*[J]. *Biological Control*, 2005, 32(3): 401–407
- [5] BROWN P D, MORRA M J. Control of soil-borne plant pests using glucosinolate-containing plants[M]//*Advances in Agronomy*. Amsterdam: Elsevier, 1997: 167–231
- [6] ANGUS J F, GARDNER P A, KIRKEGAARD J A, et al. Biofumigation: Isothiocyanates released from brassica roots inhibit growth of the take-all fungus[J]. *Plant and Soil*, 1994, 162(1): 107–112
- [7] 李集勤, 黄振瑞, 杨少海, 等. 八种绿肥对土壤营养和烤烟产质量的影响[J]. *中国烟草科学*, 2020, 41(6): 24–29  
LI J Q, HUANG Z R, YANG S H, et al. Effects of eight kinds of green manure on soil nutrition, yield and quality of flue-cured tobacco[J]. *Chinese Tobacco Science*, 2020, 41(6): 24–29
- [8] 易龙, 邱妙文, 陈永明, 等. 烟草黑胫病的生物防治研究进展[J]. *中国农学通报*, 2017, 33(25): 146–151  
YI L, QIU M W, CHEN Y M, et al. Advances in biological control of tobacco black shank[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2017, 33(25): 146–151
- [9] UGOLINI L, PAGNOTTA E, MATTEO R, et al. Brassica meal-derived allyl-isothiocyanate postharvest application: influence on strawberry nutraceutical and biochemical parameters[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2019, 99(9): 4235–4241
- [10] UGOLINI L, RIGHETTI L, CARBONE K, et al. Postharvest application of Brassica meal-derived allyl-isothiocyanate to kiwifruit: effect on fruit quality, nutraceutical parameters and physiological response[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2017, 54(3): 751–760
- [11] WU H, ZHENG X B, KO W H. Effect of culture origin on chemical stimulation of sexual reproduction in *Phytophthora* and *Pythium*[J]. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 2003, 44: 323–328
- [12] SERRANO-PÉREZ P, PALO C, RODRÍGUEZ-MOLINA M D C. Efficacy of Brassica carinata pellets to inhibit mycelial growth and chlamydospores germination of *Phytophthora nicotianae* at different temperature regimes[J]. *Scientia Horticulturae*, 2017, 216: 126–133
- [13] ZULUAGA D L, KLOEKE A E O, VERKERK R, et al. Biofumigation using a wild Brassica oleracea accession with high glucosinolate content affects beneficial soil invertebrates[J]. *Plant Soil*, 2015, 394: 155–163
- [14] WARMINGTON R, CLARKSON J P. Volatiles from biofumigant plants have a direct effect on carpogenic germination of sclerotia and mycelial growth of *Sclerotinia sclerotiorum*[J]. *Plant Soil*, 2016, 401: 213–229

- [15] 胡安忆. 菜粕类有机肥土壤熏蒸处理防治辣椒疫病的研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2012  
HU A Y. Control of chill pepper *Phytophthora* disease by biofumigation with rapeseed meal as soil amendments[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2012
- [16] 许亚池, 王述彬, 刁卫平, 等. 一种便捷高产的辣椒疫霉菌游动孢子产生方法[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(10): 172–173, 258  
XU Y C, WANG S B, DIAO W P, et al. A convenient and high-yield method for zoospore production of *Phytophthora capsici*[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2015, 43(10): 172–173, 258
- [17] 曹继芬, 霍超, 卢艳霞, 等. 云南省大理州烟草疫霉交配型及甲霜灵敏感性研究[J]. 中国烟草科学, 2019, 40(6): 49–54  
CAO J F, HUO C, HU Y X, et al. Mating type and metalaxyl sensitivity of *Phytophthora nicotianae* on tobacco black shank disease in Dali, Yunnan[J]. Chinese Tobacco Science, 2019, 40(6): 49–54
- [18] WANG T L, LI Y C, BI Y, et al. Benzyl isothiocyanate fumigation inhibits growth, membrane integrity and mycotoxin production in *Alternaria alternata*[J]. RSC Advances, 2020, 10(3): 1829–1837
- [19] 高崇, 吴国贺, 李佰霖, 等. 延边烟区烟草菌核病原菌鉴定及抗性种质筛选[J]. 中国烟草科学, 2018, 39(2): 69–75  
GAO C, WU G H, LI B L, et al. Identification of tobacco *Sclerotinia* rot in Yanbian and screening for resistant germplasms[J]. Chinese Tobacco Science, 2018, 39(2): 69–75
- [20] PAPAIVIZAS G C. Comparative fungitoxicity of captafol and metalaxyl to *Phytophthora capsici*[J]. Phytopathology, 1981, 71(2): 123
- [21] 鄧晓燕, 李睿, 杨春, 等. 地肤子提取物对苹果树腐烂病菌的抑制作用及其对菌体结构和功能的影响[J]. 植物保护学报, 2019, 46(2): 362–368  
ZHI X Y, LI R, YANG C, et al. Antifungal activity of the extracts from fructus kochiae against apple canker pathogen *Valsa mali* and their impacts on the cell structure and function[J]. Journal of Plant Protection, 2019, 46(2): 362–368
- [22] 刘领, 李继伟, 常茜茜, 等. 芸薹属植物提取液对烤烟黑胫病发生及烟株生理特性的影响[J]. 植物生理学报, 2017, 53(6): 997–1006  
LIU L, LI J W, CHANG Q Q, et al. Effects of *Brassica* extracts on occurrence of black shank disease and physiological characteristics of flue-cured tobacco[J]. Plant Physiology Journal, 2017, 53(6): 997–1006
- [23] 乔世佳, 李淑敏, 孟令波. 芸薹属植物对四种土传病原微生物熏蒸效果的研究[J]. 东北农业大学学报, 2010, 41(5): 19–24  
QIAO S J, LI S M, MENG L B. Effect of *Brassica* plants suppressing four soilborne pathogenic microbes by biofumigation[J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2010, 41(5): 19–24
- [24] 马艳, 胡安忆, 杨豪, 等. 菜粕生物熏蒸防控辣椒疫病[J]. 中国农业科学, 2013, 46(22): 4698–4706  
MA Y, HU A Y, YANG H, et al. Effects of biofumigation with rapeseed meal on disease control of *Phytophthora* blight of chilli pepper[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2013, 46(22): 4698–4706
- [25] LARKIN R P, HONEYCUTT C W, OLANYA O M. Management of *Verticillium* wilt of potato with disease-suppressive green manures and as affected by previous cropping history[J]. Plant Disease, 2011, 95(5): 568–576
- [26] 包妍妍, 刘辉, 王红霞, 等. 西芹鲜根浸提液处理对黄瓜枯萎病菌菌落直径及细胞壁降解酶活性的影响[J]. 内蒙古农业大学学报(自然科学版), 2017, 38(4): 5–8  
BAO Y Y, LIU H, WANG H X, et al. The effects of colony diameter and cell wall degrading enzyme activities on *Fusarium oxysporium* f. sp. *cucumerinum* with the extracts of parsley fresh root[J]. Journal of Inner Mongolia Agricultural University (Natural Science Edition), 2017, 38(4): 5–8
- [27] 张大琪, 颜冬冬, 方文生, 等. 生物熏蒸——环境友好型土壤熏蒸技术[J]. 农药学报, 2020, 22(1): 11–18  
ZHANG D Q, YAN D D, FANG W S, et al. Biofumigation — An environment-friendly soil fumigation technology[J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2020, 22(1): 11–18
- [28] MORRA M J, KIRKEGAARD J A. Isothiocyanate release from soil-incorporated *Brassica* tissues[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2002, 34(11): 1683–1690
- [29] SANTOS C A D, DE SOUZA ABBOD A C, CARMO M G F D. Biofumigation with species of the Brassicaceae family: a review[J]. Ciência Rural, 2021, 51(1): e20200440