第 36 卷 第 3 期　　华 中 农 业 大 学 学 报　　Vol.36 No.3
2017 年 5 月　　Journal of Huazhong Agricultural University　　May 2017,32～37

香蕉枯萎病菌 4 个生理小种生化特征的比较

舒灿伟　张源明　曾　蕊　周而勋

广东省微生物信号与作物病害防控重点实验室/华南农业大学农学院,广州 510642

摘要　为研究香蕉枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*)生理小种之间的差异,对该菌的细胞壁降解酶、酯酶同工酶和可溶性蛋白进行测定和分析,结果表明:在 4 个生理小种中均能检测到 4 种细胞壁降解酶(PG、PMG、Cx 和 FPA)。其中 4 号生理小种的 PMG 和 Cx 酶活性最高,且国外的 1 号和 4 号生理小种菌株的 Cx 酶活性比国内同种生理小种菌株的高;国内 1 号生理小种的 FPA 酶活性最低,其他小种的酶活性差异不显著;同一生理小种国内外菌株的 PG 酶活性差异不显著;4 个生理小种的酯酶同工酶和可溶性蛋白电泳图谱差异较大,聚类分析表明致病力相近的菌株聚在同一分枝上,亲缘关系较近。

关键词　香蕉枯萎病菌;生理小种;细胞壁降解酶;酯酶同工酶;可溶性蛋白

中图分类号　S 436.67　　**文献标识码**　A　　**文章编号**　1000-2421(2017)03-0032-06

香蕉枯萎病又称巴拿马病(Panama disease of banana),是在世界范围内分布最广、毁灭性最强的植物病害之一[1],该病已广泛分布于亚洲、非洲、澳大利亚、南太平洋及热带美洲的香蕉产区[2]。作为国际植物病害检疫对象之一,香蕉枯萎病给香蕉种植国的香蕉进出口贸易带来了严重的经济损失。

香蕉枯萎病的病原菌为尖镰孢古巴专化型(*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*,简称 Foc),该菌可侵染香蕉根系和假茎,堵塞输导组织,使罹病植株表现黄叶症状,香蕉一旦罹病将全株死亡。据报道,该病菌目前有 4 个生理小种[3]。1 号生理小种呈世界性分布,对大蜜啥(Gros Michel)、Apple 和 Silk 等香蕉品系的侵染力最强;2 号小种在中美洲可侵染三倍体杂种煮食蕉和某些 Jamaica 四倍体蕉等;3 号生理小种被报道能危害野生羯尾蕉属(*Heliconia* spp.)植物;4 号小种的毁灭性最大,能侵染大蜜啥、矮香蕉和 Cavendisph 品系[4]。这 4 个生理小种不仅在寄主品种和致病性方面差异很大,而且在分布范围上也具有区域性。我国分布有 1 号和 4 号这 2 个生理小种[5-6],2 号和 3 号小种在我国尚未见报道。

目前人们对香蕉枯萎菌的致病因子进行了较多的研究,这些致病因子包括细胞壁降解酶[7-8]、土壤理化因素[9]、毒素[10]和激素[11-12]等。细胞壁降解酶可降解植物细胞壁初生壁和次生壁中的多糖成分,从而破坏细胞壁,或使细胞分离,组织溃散[13]。王琪[8]的研究结果表明,4 号生理小种分泌的细胞壁降解酶对粉蕉、巴西香蕉和大蕉假茎有明显的浸解作用,而 1 号小种的细胞壁降解酶只对粉蕉组织起作用。董章勇等[7]测定了粉蕉、巴西蕉和大蕉在受到 4 号和 1 号生理小种侵染后细胞壁降解酶活性,结果表明这些香蕉品种均能产生细胞壁降解酶,该研究还比较了不同的碳源培养条件下香蕉枯萎菌 1 号和 4 号小种分泌细胞壁降解酶和酯酶同工酶的差异。

在真菌中,同工酶和可溶性蛋白也被广泛应用于种间和种内分析[14-15],真菌的不同致病类型与酯酶同工酶有着较为密切的关系[16-17]。因为蛋白是基因的外在表达产物,在某种程度上可看作是对结构基因的分析。但对于香蕉枯萎病菌的 4 个生理小种,尚未有这方面的报道。因此,为明确香蕉枯萎病菌 4 个生理小种的生化差异,本研究以香蕉枯萎菌 4 个生理小种为材料,对其细胞壁降解酶、酯酶同工酶、可溶性蛋白和滤纸酶进行比较分析,旨在为该病菌的致病机制研究和生理小种的分类鉴定提供重要的生化依据。

收稿日期:2016-08-03
基金项目:国家现代农业(香蕉)产业技术体系建设专项(CARS-32)
舒灿伟,博士,讲师. 研究方向:植物病原真菌及真菌病害. E-mail:shjucanwei@scau.edu.cn
通信作者:周而勋,博士,教授. 研究方向:植物病原真菌及真菌病害. E-mail:exzhou@scau.edu.cn

1　材料与方法

1.1　真菌菌株(小种)和试剂

供试菌株(小种)如下：WG02(1 号小种)、WG03(2 号小种)、WG04(3 号小种)和 WG05(4 号小种)，这 4 个菌株(小种)均来自澳大利亚，由澳大利亚 Bentley 博士提供；Z13(4 号小种)、Z14(1 号小种)、Z15(1 号小种)和 Z16(4 号小种)，这 4 个菌株来自中国，由笔者所在研究室姜子德教授提供。所用的试剂均为分析纯级，购自北京鼎国昌盛有限公司。

1.2　细胞壁降解酶液的制备

真菌培养采用改良的 Marcus 液体培养基[18]。将 5 块直径为 5 mm 的菌丝块接种到 50 mL 培养基中，28 ℃下静止培养 6 d 后过滤掉菌丝，在 4 ℃下以 15 000 r/min 离心 20 min，所得上清液即为粗酶液。粗酶液加入硫酸铵至饱和度为 60%后在 4 ℃静止过夜，然后在 4 ℃下，12 000 r/min 离心 20 min 后弃上清液。所得沉淀用 50 mmol/L 的醋酸-醋酸钠缓冲液(pH 5.0)溶解后在 4 ℃透析 2 d，每隔 12 h 换 1 次透析液，即得到细胞壁降解酶液。

1.3　细胞壁降解酶活性的测定

1) 纤维素降解酶(Cx)。取 1.0 mL 酶液加入等体积的 50 mmol/L 柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液(pH 5.0)，再加 1.0 mL 羧甲基纤维素钠盐溶液(CMC，1.0%，V/V)，然后在 50 ℃酶解 30 min 后立即加入 1.5 mL 二硝基水杨酸(DNS)终止反应，沸水浴 10 min 后用流水冷却，再加 5.5 mL 的蒸馏水，稀释冷却后在 540 nm 处测定其酶活性。对照试验除在终止反应后才加入底物外，其余操作同上。C_x 的酶活性单位为 50 ℃下每小时每毫升细胞壁降解酶液催化底物(CMC)释放 1 μg 还原糖所需的酶量(U/mL)。试验设计 3 次重复。

2) 多聚半乳糖醛酸酶(PG)。取 0.5 mL 酶液加入等体积 0.25% PG 溶液后再加入 1.0 mL 的蒸馏水，然后在 50 ℃条件下酶解 1 h 后加入 2.5 mL DNS 终止反应，在沸水浴中孵育 10 min 后用流水冷却，再加 5.5 mL 蒸馏水稀释，酶活测定和重复次数同本文“1.3”中 1)。

3) 果胶甲基半乳糖醛酸酶(PMG)。取 0.5 mL 酶液加入等体积 0.25%果胶溶液，再加 1.0 mL 蒸馏水后于 50 ℃酶解 1 h 后加入 2.5 mL DNS 终止反应，沸水浴 10 min 后取出冷却，再加 5.5 mL 蒸馏水稀释，酶活测定和重复次数同本文“1.3”中 1)。

4)滤纸酶(FPA)。参考李宝聚等[19]的方法，取 0.5 mL 酶液加入 1.5 mL 的 50 mmol/L 柠檬酸缓冲液(pH 4.5)和一片大小为 1 cm ×6 cm 的滤纸条(新华 1 号定量滤纸，50±0.5 mg)，50 ℃孵育 1 h 后加入 1.5 mL DNS 终止反应，沸水浴 10 min 后取出冷却，再加入 6.5 mL 蒸馏水稀释，酶活测定和重复次数同本文“1.3”中 1)。

5)酯酶同工酶的定性分析。用直径为 5 mm 的打孔器从菌落边缘打取 5 块菌丝块，接种到 100 mL PDB 培养基中，在室温条件下以 120 r/min 的转速连续培养 7 d 后收集菌丝，加入 1∶2(质量比)的 Tris-HCl 缓冲溶液(pH 6.9)后冰浴研磨，在 4 ℃下以 12 000 r/min 转速离心 20 min，弃掉沉淀物。酯酶同工酶的电泳和染色参考许广波等[20]的方法。

6)可溶性蛋白的测定。用于提取可溶性蛋白的菌丝培养参照车建美等[21]的方法。将 1 g 冷冻菌丝加入液氮充分研磨成粉状，然后转入 1.5 mL 的离心管中，加入 600 μL 的 Tris-HCl(pH 6.8)充分混匀，于 4 ℃放置过夜，然后在 4 ℃下以 10 000 r/min离心 10 min，所得上清即为可溶性蛋白溶液。将可溶性蛋白酶溶液稀释 10 倍后测量其 $OD_{595\ nm}$ 值，结合可溶性蛋白的标准曲线，即可求出各试验样品的可溶性蛋白浓度[22]。

7)数据分析。本研究所有数据分析使用 SPSS 13.0 软件，方差分析使用 DMRT 法进行。

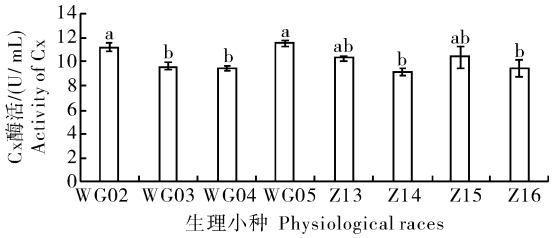
2　结果与分析

2.1　细胞壁降解酶的测定结果

1)不同生理小种 Cx 酶活性的比较。从图 1 可看出，不同小种和同一小种不同菌株在纤维素酶活水平上都有差异：1 号小种(WG02，Z14 和 Z15)和 4 号小种(WG05，Z13 和 Z16)的 Cx 酶活性整体上高于 2 号小种(WG03)和 3 号小种(WG04)；国外的 1 号小种(WG02)和 4 号小种(WG05)的 Cx 酶活性均高于国内的同一小种的菌株(Z14 和 Z15，Z13 和 Z16)，而且差异显著。

2)不同生理小种 PG 酶活性的比较。从图 2 可看出，来自国内外的 4 个生理小种共 8 个菌株的 PG 酶活性在数值上存在少许的差异，但总体来说差异不显著。其中 2 号生理小种(WG03)的酶活性为 20.2 U/mL，浓度最高；4 号生理小种(WG05 和 Z13、Z16)的酶活性(20.0、20.0、19.9 U/mL)略高于 1 号生理小种(WG02 和 Z14、Z15)的酶活性(19.8、

19.7、19.8 U/mL)；而3号生理小种(WG04)的酶活性最低，约为19.5 U/mL。



WG02、WG03、WG04和WG05分别为国外的1～4号生理小种菌株；Z13、Z14、Z15和Z16分别为国内的4、1、1和4号生理小种菌株。下同。WG02，WG03，WG04 and WG05 represented the isolates of races 1-4 from aboard，respectively；Z13，Z14，Z15 and Z16 represented the isolates of races 4，1，1 and 4 from domestic，respectively. The same as below.

图1 香蕉枯萎病菌不同生理小种的Cx酶活性

Fig.1 Activities of Cx produced by 4 physiological races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

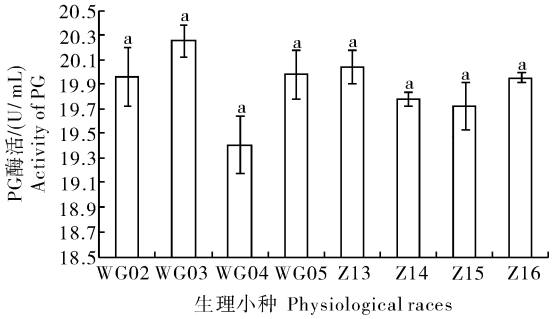


图2 香蕉枯萎病菌不同生理小种的PG酶活性

Fig.2 Activities of PG produced by 4 physiological races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

3)不同生理小种PMG酶活性的比较。由图3可知，国内外的1号小种和4号小种的所有菌株的PMG酶活性约为国外的2号和3号小种的2倍而且差异显著；而1号小种和4号小种的PMG酶活性在12.0～16.2 U/mL之间，差异不显著。

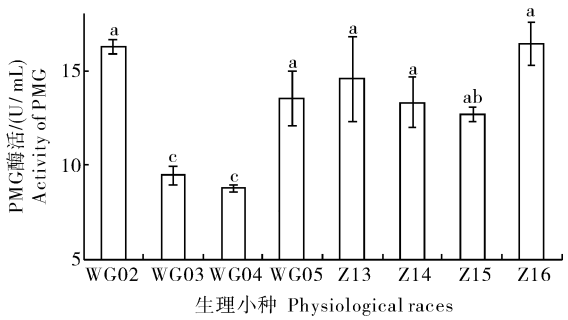


图3 香蕉枯萎病菌不同生理小种的PMG酶活性

Fig.3 Activities of PMG produced by 4 physiological races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

4)不同生理小种FPA酶活性的比较。由图4可看出，来自国内的1号生理小种(Z14，Z15)的FPA酶活性较低，约为1.38～1.51 U/mL，与国外的1号生理小种菌株WG02以及与国内外的2号、3号和4号生理小种的各个菌株均有显著差异。从图4中还可看出，国内的4号生理小种Z16菌株的FPA酶活达2.40 U/mL，活性最高，但其与国外的4个生理小种的菌株以及与国内的4号生理小种Z13菌株的差异不显著。

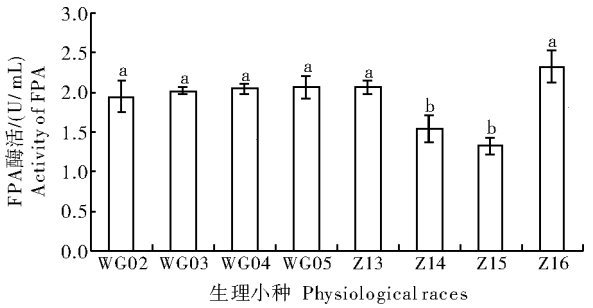


图4 香蕉枯萎病菌不同生理小种的FPA酶活性

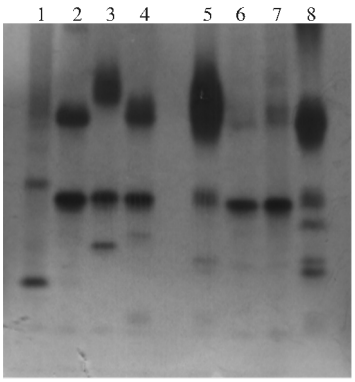
Fig.4 Activities of FPA produced by 4 physiological races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

2.2 酯酶同工酶的测定结果

1)不同生理小种酯酶同工酶电泳图谱的比较。从电泳图谱可见14条酯酶同工酶酶带(图5)，但谱带的位置和颜色的深浅(表达量)具有很大的差异，表明不同生理小种之间的酯酶同工酶谱存在较大的差别。按照同工酶电泳谱带的迁移率，将其划分为6种类型：Z13和Z16同为4号生理小种，谱带属于同一种类型，都有7条谱带，迁移率也相同，只是在表达量的多少上存在差异；Z14和Z15同为1号生理小种，酶谱也属于同一种类型，都有4条谱带，迁移率也基本相同；其他4个小种菌株(WG02～WG05)的酶谱各为一个类型，表现出明显的差异，这些差别不仅表现在谱带迁移率上，而且还表现在谱带表达量的多少上；不同生理小种酯酶同工酶谱各有差异，同一生理小种的菌株酶谱很接近，但来自国内外的同一生理小种还是有一定差异的。

2)不同生理小种酯酶同工酶电泳图谱的聚类分析。根据各个生理小种菌株条带的迁移率建立聚类分析树状图(图6)，同属1号生理小种的菌株WG02、Z14和Z15聚成一枝，同属于4号小种的Z13和Z16聚成一枝，而WG03(2号小种)和WG05(4号小种)亲缘关系较近，WG04(3号小种)单独成一枝；来自国内的4号小种(Z13和Z16)与来自国

外的4 号小种(WG05)虽为同一生理小种，但亲缘关系较远，表现出了一定的地域分化现象。



1：WG02；2：WG03；3：WG04；4：WG05；5：Z13；6：Z14；7：Z15；8：Z16.

图 5　香蕉枯萎病菌不同生理小种的酯酶同工酶电泳图谱

Fig.5　Electrophoretogram of esterase isozymes produced by 4 physiological races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

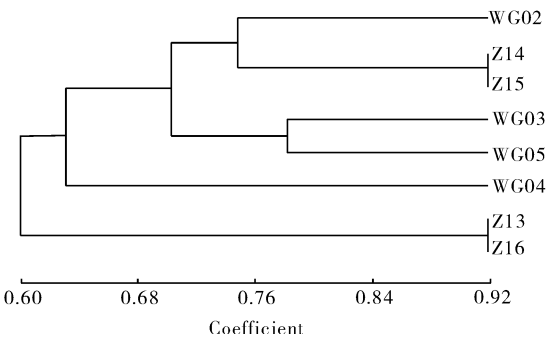


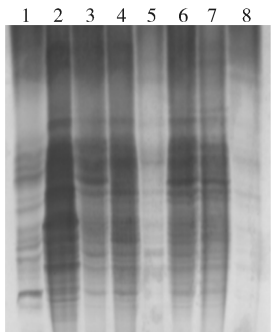
图 6　香蕉枯萎病菌不同生理小种酯酶同工酶谱的聚类分析

Fig.6　Cluster analysis of esterase isozymes produced by 4 physiological races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

2.3　可溶性蛋白的电泳结果

1)不同生理小种可溶性蛋白电泳图谱的比较。香蕉枯萎病菌不同生理小种的可溶性蛋白电泳图谱如图 7 所示。各个生理小种(菌株)的条带都比较多，比酯酶同工酶的带型更复杂。不同生理小种的可溶性蛋白酶谱均有差异，同一小种的菌株的酶谱很接近，如同为国内 1 号生理小种的 Z14 和 Z15 菌株、同为国内 4 号生理小种的 Z13 和 Z16 菌株的酶谱都很相似，但它们与来自国外的同一小种菌株的谱带存在一定差异，表现出一定的地理分化现象。

2)不同生理小种可溶性蛋白电泳图谱的聚类分析。根据各个生理小种菌株的可溶性蛋白条带的迁移率构建聚类分析树状图(图 8)，结果显示：各个生理小种菌株的聚类分析图和图 6 聚类分析图谱一样，同一小种的亲缘关系比较近，不同小种的亲缘关系较远，致病性较近菌株亲缘关系较近；从一定程度上反映出某些基因表达的一致性；同样，来自国外的 4 号小种菌株 WG05 与来自国内的 4 号小种菌株 Z13 和 Z16 的亲缘关系较远，也表现出了一定的区域分化现象。



1：WG02；2：WG03；3：WG04；4：WG05；5：Z13；6：Z14；7：Z15；8：Z16.

图 7　香蕉枯萎病菌不同生理小种的可溶性蛋白电泳图谱

Fig.7　Electrophoretogram of soluble protein produced by 4 physiological races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

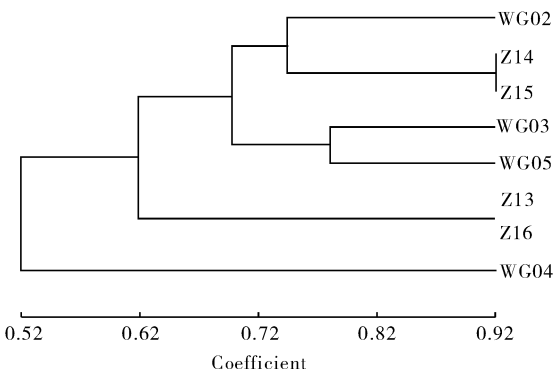


图 8　香蕉枯萎病菌不同生理小种菌株可溶性蛋白图谱的聚类分析

Fig.8　Cluster analysis of soluble protein produced by 4 physiological races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

3　讨　论

为了比较香蕉枯萎病菌不同生理小种的生化差异，本研究收集了国内外香蕉枯萎病菌全部 4 个生理小种的代表菌株，通过测定其细胞壁降解酶、酯酶同工酶和可溶性蛋白，为该病菌的致病机制研究和生理小种的分类鉴定提供了重要的生化依据。

细胞壁降解酶被认为是植物病原真菌的重要致病因子之一。高洪敏等[23]研究表明，禾谷镰孢(*F. gramimearum*)在活体外能产生的酶都具有典型性动力学特性，并认为细胞壁降解酶是该病菌致病的一个重要因子；李宝聚等[19]通过活体内外黄瓜黑星病菌(*Cladosporium cucumerinum*)产生的细胞壁降解酶活性分析，初步明确了Cx、PMG和PMTE在该病菌侵染黄瓜过程中的作用。杨迎青[24]报道了水稻纹枯病菌(*Rhizoctonia solani*)的细胞壁降解酶对水稻叶片组织具有损伤作用，随着酶浓度增加，损伤程度逐渐加大。本研究通过在改良的Marcus培养液中添加果胶和CMC来诱导细胞壁降解酶的产生，产生的4种胞壁降解酶活性大小为：PG>PMG>Cx>FPA，果胶酶整体高于纤维素酶；4号生理小种所分泌的4种细胞壁降解酶活性总体上比其他小种高，这也从另一个侧面说明了4号生理小种对现有的香蕉品种具有毁灭性的原因；各个生理小种菌株的PG酶活性最高，重复试验中的稳定性最好。但在本研究中，4个生理小种的PG酶活性差异不显著，说明了PG酶活性和致病性并不一定存在正相关。本研究还发现2号和3号小种在Cx、FPA酶活上显著低于其他小种，说明一系列纤维素酶也可能参与了香蕉枯萎病菌的致病作用。

蛋白是基因的表达产物。利用同工酶和可溶性蛋白技术对生物进行分析在一定程度上可看作是对生物内部某些基因的分析。本研究通过对香蕉枯萎病菌不同生理小种同工酶和可溶性蛋白的测定，为香蕉枯萎病菌生理小种的分化提供了重要的生化依据。本研究中香蕉枯萎病菌酯酶同工酶谱和可溶性蛋白电泳结果稳定，重复性好，可溶性蛋白电泳谱带多而密，这一结果与曹君等[25]报道的结果一致；这两种图谱都表明，同一生理小种的图谱相似度高，不同生理小种图谱的差异较大；通过对酯酶同工酶图谱的分析，还可以发现致病力的强弱与条带的数量和强弱有密切的关系，如4号小种的菌株(WG05、Z13、Z16)的条带强度和数量明显高于其他小种的菌株，这与张莉等[26]对棉花枯萎病菌酯酶同工酶的研究结果一致。

本研究根据酯酶同工酶和可溶性蛋白电泳图谱的差异构建了相应的聚类分析树状图，结果发现所构建的树状图完全一样，从一定程度上反映了香蕉枯萎病菌生理小种在专化型水平上的遗传一致性，进一步证实了同工酶谱可以用于真菌种或亚种的分类鉴定[27]。另外，本研究结果从一定程度上证实了酯酶同工酶和可溶性蛋白是相关基因的表达产物[28]，并验证了利用这两种手段进行致病性分析和区分小种的可行性[29-30]，为香蕉枯萎病菌不同生理小种的致病机制方面的研究奠定了基础。

参 考 文 献

[1] GHAG S B, SHEKHAWAT U K S, GANAPATHI T R. Fusarium wilt of banana: biology, epidemiology and management[J]. International journal of pest management, 2015, 61(3): 250-263.

[2] 周洲. 香蕉枯萎病威胁全球香蕉生产[J]. 中国果业信息, 2014(6): 44.

[3] PLOETZ R C, SHEPARD E S. Fusarial wilt of banana in Florida[J]. Mycological research, 1989, 93(2): 242-245.

[4] 吕顺，曾莉莎，刘文清，等. 大蕉枯萎病病原菌鉴定及TEF-1α序列分析[J]. 植物病理学报, 2014, 44(4): 337-348.

[5] 李敏慧，习平根，姜子德，等. 广东香蕉枯萎病菌生理小种的鉴定[J]. 华南农业大学学报, 2007, 28(2): 38-41.

[6] 刘景梅，陈霞，王璧生，等. 香蕉枯萎病菌生理小种鉴定及其SCAR标记[J]. 植物病理学报, 2006, 36(1): 28-34.

[7] 董章勇，王琪，秦世雯，等. 香蕉枯萎病菌1号和4号生理小种细胞壁降解酶的比较[J]. 植物病理学报, 2010, 40(5): 463-468.

[8] 王琪. 香蕉枯萎病菌致病因子的纯化鉴定及基因克隆[D]. 广州：华南农业大学, 2004.

[9] 黄永辉，陈琦光，迟远丽，等. 土壤理化因素对香蕉枯萎病菌生长和侵染的影响[J]. 华中农业大学学报, 2016, 35(2): 30-34.

[10] 杨媚，黄永辉，舒灿伟，等. 香蕉枯萎病菌4号生理小种粗毒素特性的研究[J]. 园艺学报, 2012, 39(3): 545-551.

[11] 唐倩菲，杨媚，周而勋，等. 香蕉受枯萎病菌侵染后酚类物质含量的变化[J]. 华南农业大学学报, 2006, 27(3): 55-57.

[12] 唐倩菲，杨媚，周而勋，等. 香蕉受枯萎病菌侵染后内源激素含量的变化[J]. 华南农业大学学报, 2006, 27(2): 42-44.

[13] ROGERS L M, KIM Y K, GUO W, et al. Requirement for either a host- or pectin-induced pectate lyase for infection of *Pisum sativum* by *Nectria hematococca*[J]. Proceedings of the national academy of sciences, 2000, 97(17): 9813-9818.

[14] 吴彩兰，李国英，张莉，等. 棉花枯萎病菌生理小种可溶性蛋白质谱的分析[J]. 石河子大学学报(自然科学版), 2004, 22(增刊): 49-52.

[15] 李颖，关国华，舒石，等. 尖孢镰刀菌异核体及其不同核型分离子的孢子萌发时期同工酶分析[J]. 中国农业大学学报, 2001, 6(5): 15-18.

[16] 吕金殿，牛淑贞，甘莉. 我国棉花枯萎病菌酯酶同工酶测定初报[J]. 植物病理学报, 1982, 12(2): 41-45.

[17] 李国英，张莉，孙文姬，等. 新疆棉花枯萎病菌生理小种的初步

研究[J]. 石河子大学学报(自然科学版),1998,2(4):321-326.
[18] MARCUS L,BARASH I,SNEH B,et al. Purification and characterization of pectolytic enzymes produced by virulent and hypovirulent isolates of *Rhizoctonia solani* Kühn[J]. Physiological & molecular plant pathology,1986,29(3):325-336.
[19] 李宝聚,周长力,赵奎华,等. 黄瓜黑星病菌致病机理的研究 Ⅱ. 细胞壁降解酶及其在致病中的作用[J]. 植物病理学报,2000,30(1):13-18.
[20] 许广波,李艳茹,李太元,等. 两个猪苓菌株生长速度及酯酶同工酶比较研究[J]. 微生物学通报,2006,33(3):57-59.
[21] 车建美,葛慈斌,刘波,等. 黄瓜和西瓜尖孢镰刀菌同工酶异质性分析[J]. 亚热带农业研究,2005,1(1):45-48.
[22] 朱名海,贺晓霞,杨媚,等.3 种作物纹枯病菌可溶性蛋白和酯酶同工酶的比较[J].华中农业大学学报,2016,35(1):55-59.
[23] 高洪敏,陈捷,何晶,等. 禾谷镰刀菌产生的细胞壁降解酶的特性研究[J]. 玉米科学,2005,13(3):112-113.
[24] 杨迎青. 水稻纹枯病菌的致病因子及致病相关基因的研究[D]. 广州:华南农业大学,2010.
[25] 曹君,高智谋,汪涛,等. 安徽省棉花枯萎病菌生物学特性及酯酶同工酶分析[J]. 安徽农业大学学报,2005,32(2):224-229.
[26] 张莉,霍向东. 新疆棉花枯萎病菌酯酶同工酶的研究[J]. 石河子大学学报(自然科学版),2000,4(2):87-91.
[27] 暴增海. 鸡腿蘑过氧化物酶同工酶电泳及营养成分分析[J]. 食用菌学报,1998,5(4):23-25.
[28] 刘曙照,李清铣. 稻瘟病菌生理小种菌体可溶性蛋白特性初探[J]. 植物病理学报,1994,24(3):203-206.
[29] 叶琪明,秦文胜,王拱辰,等. 串珠镰孢杭州变种的可溶性蛋白聚丙烯酰胺凝胶电泳[J]. 浙江农业学报,1994,6(1):32-36.
[30] 邹庆道,陈捷,张子君. 玉米穗、茎腐病镰刀菌相互关系的同工酶分析[J]. 植物保护学报,2003,30(3): 279-283.

Comparison of biochemical characteristics among four physiological races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

SHU Canwei　ZHANG Yuanming　ZENG Rui　ZHOU Erxun

Guangdong Province Key Laboratory of Microbial Signals and Disease Control / College of Agriculture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, *China*

Abstract　To identify the differences among physiological races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (*Foc*), the cell wall-degrading enzymes, esterase isozyme and soluble protein of this pathogen were tested and analyzed. The results showed that four kinds of cell wall-degrading enzymes including polygalacturonase (PG), pectin methyl-galacturonase (PMG), celluloses (Cx) and filter paper enzyme (FPA) were detected in all the four physiological races of *Foc* from domestic and abroad. The PG and Cx activities of *Foc* 4 were the highest. The Cx activities of *Foc* 1 and *Foc* 4 from abroad were higher than those of the same race from domestic. The FPA activity of *Foc* 1 from domestic was the lowest, while there was no significant difference among other races. The PG activity showed no significant difference in the same race from domestic and abroad. The electrophoretograms of esterase isozyme and soluble protein indicted that great difference existed among all the four races. Cluster analysis further demonstrated that the isolates with similar pathogenicity were clustered into the same branch, which had close genetic relationship.

Keywords　*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*; physiological race; cell wall-degrading enzymes; esterase isozyme; soluble protein

(责任编辑:边书京)