

doi:10.16036/j.issn.1000-2650.202104159

中药复配物对猕猴桃溃疡病菌抑菌机理研究

贺富胤^{1,2}, 李凤华³, 石浩^{1,2}, 王仁才^{1*}

(1. 湖南应用技术学院农林科技学院, 湖南 常德 415100; 2. 湖南农业大学园艺学院, 长沙 410128; 3. 河南农业大学园艺学院, 郑州 450002)

摘要:【目的】研究由黄芩、石菖蒲和丁香等中药组成的提取复配物对猕猴桃溃疡病菌的抑菌机理。【方法】通过牛津杯法测定中药复配物对猕猴桃溃疡病菌的最低抑菌浓度和最低杀菌浓度,并对菌体的生长曲线、细胞壁和细胞膜完整性、胞内DNA含量变化测定,结合细菌电镜透射图,综合分析中药复配物对猕猴桃溃疡病菌的作用机理。【结果】测定得到其最低抑菌浓度为3.125 mg/mL;最低杀菌浓度为12.5 mg/mL。中药复配物可破坏猕猴桃溃疡病菌的细胞壁和细胞膜,使胞内物质溢出,DNA含量降低,还可破坏菌体形态结构,使菌体扭曲变形,生命活性降低。【结论】中药复配物对猕猴桃溃疡病菌有较强的抑制效果,其抑菌机理为影响菌体细胞形态、细胞壁、细胞膜和遗传物质等。

关键词: 中药;复配物;猕猴桃溃疡病菌;抑菌机理

中图分类号:TS201.3 文献标志码:A 文章编号:1000-2650(2022)06-0872-06

Study on the Antibacterial Mechanism of Chinese Medicine Compound on Kiwifruit Ulcer Pathogen

HE Fuyin^{1,2}, LI Fenghua³, SHI Hao^{1,2}, WANG Rencai^{1*}

(1. College of Agriculture and Forestry Science and Technology, Hunan Institute of Technology, Changde 415100, Hunan, China; 2. Horticulture College of Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 3. Horticulture College of Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract:【Objective】To study the bacteriostasis mechanism of the compound extracted from *Acorus tatarinowii*, *Scutellaria baicalensis*, *Syzygium aromaticum* and other traditional Chinese medicines against the pathogen of kiwifruit ulcer. 【Method】The minimum inhibitory concentration and the minimum bactericidal concentration of Chinese herbal compound against kiwifruit ulcer pathogen were determined by Oxford cup method. The growth curve, cell wall and cell membrane integrity, intracellular DNA content changes of the bacteria were measured, combined with the transmission electron microscope of bacteria, the mechanism of action of Chinese medicine compound on kiwifruit ulcer pathogen was comprehensively analyzed. 【Result】The minimum inhibitory concentration was 3.125 mg/mL. The minimum sterilization concentration is 12.5 mg/mL. Chinese medicine compound can destroy the cell wall and cell membrane of kiwifruit ulcer pathogen, make the intracellular material overflow, reduce the DNA content, but also destroy the morphological structure of the bacteria, make the bacteria distorted, reduce the life activity. 【Conclusion】The compound of traditional Chinese medicine has strong inhibitory effect on kiwifruit ulcer pathogen, and its antibacterial mechanism is affecting the morphology of cell, cell wall, cell membrane, genetic material and so on.

Keywords: traditional Chinese medicine; distribution of content; kiwifruit ulcer pathogen; antibacterial mechanism

收稿日期:2021-11-11

基金项目:湖南应用技术学院校级重点项目(2021HYBS03);湘教通[2018]469号。

作者简介:贺富胤,硕士研究生。*责任作者:王仁才,教授,主要从事果树栽培生理与技术以及果实采后处理与综合利用研究,E-mail:wangrenc@163.com。

猕猴桃(*Actinidia chinensis* Planch),一种多年生大型落叶藤本浆果果树^[1],其果肉鲜嫩多汁,口感适宜,且含有丰富的营养物质,包括丰富的维生素C和有多种不饱和脂肪酸、矿物质元素、萜醌类、黄酮类、香豆素类和三萜类等有效物质^[2-4],不仅具有保健功能,而且有多种药用功能^[5-6],因此深受人们喜爱。但是近年来,由于猕猴桃溃疡病的影响和发生,给猕猴桃产业的发展造成了巨大的影响。在生产中主要是通过园区管理、施用化学农药、选育出抗病品种和筛选抗性高的砧木进行嫁接等方法来进行防治猕猴桃溃疡病^[7]。但随着人们对食品安全和环境保护的意识逐渐地提升,含多种营养物质、安全廉价、易降解且资源储备丰富的中药提取物抑菌剂受到人们关注^[8-10]。

现阶段研究表明,中药提取物的抑菌机理主要是通过破坏或者影响微生物细胞壁、细胞膜的形态结构;影响微生物细胞内正常的生理代谢和各种酶活性;阻碍微生物的DNA或者RNA的复制表达等来发挥其抑菌杀菌的作用^[11-12]。董洁洁^[13]研究表明凤仙花提取液中的甲花醌和甲花甲醚是抑菌的主要成分,且通过室内抑菌试验和透射电镜观察,发现甲花甲醚可作用于白色念珠菌的细胞壁和膜系统,使其菌体电解质和部分内容物渗透流出,从而发挥抑菌作用。孙燕杰^[14]通过对马齿苋提取物处理过的大肠杆菌的菌液碱性磷酸酶含量测定、透射电镜分析、胞内蛋白SDS-PAGE电泳分析和胞外可溶性蛋白含量测定发现细菌的细胞壁和细胞膜的结构发生了改变,细胞的通透性增加,且菌体内蛋白质的合成受阻。黄国霞等^[15]研究发现山萘酚、桑色素、槲皮素和杨梅素可以影响大肠杆菌DNA的形态结构或者阻碍其DNA的复制和表达。尉研^[16]在透射电镜下观察发现0.5 mg/mL的郁金提取物作用于油菜菌核菌和山葵墨入菌中,会使油菜菌核菌的细胞壁损坏丢失,细胞质溶解,线粒体嵴多处断裂,线粒体肿大。目前,国内外对中药复配物的抑菌机理的相关研究并不多,而本文前期通过对80种中药材的抑菌筛选,发现到黄芩、石菖蒲、丁香、广藿香、大蒜和牡丹提取物对猕猴桃溃疡病菌有较好的抑制效果,同时通过响应面试验得到这几种提取物的最佳抑菌复配配比为:0.09:0.16:0.26:0.23:0.08:0.18。从而开展研究该中药复配物对菌体生长发育、细胞通透性和细胞超微结构等方面的影响,探讨该中药复配物对猕猴桃溃疡病菌的作用机理,为今后合理设计出高效无毒的猕猴桃溃疡病防治药

剂提供依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试植物与菌种

黄芩、石菖蒲、丁香、广藿香、大蒜和牡丹购置于中药药店,猕猴桃溃疡病菌(*P. syringae* pv. *actinidiae*)于湖南农业大学实验室通过柯赫氏法则与分子鉴定确定后,分离纯化所得。

1.1.2 试剂与仪器设备

试验试剂:蛋白胨、牛肉膏、酵母膏、丙酮(分析醇)、琼脂粉、氯化钠和碱性磷酸酶(AKP)试剂盒,电镜固定液,无水乙醇,以上均购于北京奥博星生物技术有限责任公司生产。

仪器设备:SCIENTZ-WSQ全自动微生物生长曲线分析仪,宁波新芝生物科技股份有限公司;Tallos F200X S/TEM透射电镜,上海茁彩生物科技有限公司;UV7600双光束紫外可见分光光度计,上海棱光技术有限公司;DHP-9012电热恒温培养箱,上海一恒科学仪器有限公司;TGL-21M高速冷冻离心机,上海卢湘仪离心机仪器有限公司;SW-CJ-1F超净工作台,三克仪器有限公司;LANYI-XH2L超声循环提取机,上海兰仪实业有限公司;LDZM-80L-III立式高压蒸汽灭菌锅,上海申安科技有限公司;DHG-9146A干燥箱,上海申安科技有限公司;YMB-5C全自动酶标仪,厦门亿恩达科技有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 菌液的制备

按照平板菌落计数法中的实验过程制备猕猴桃溃疡病菌原菌悬浮液。在无菌条件下,用接种环将分离纯化后的病原菌取至装有0.9%氯化钠溶液的待测管中,混合摇匀后直至浓度与 5×10^9 CFU/mL的细菌比浊管标准管浓度相似,再通过10倍递减稀释和一定比例稀释成 2×10^7 CFU/mL菌悬液。从得到的菌液样品中取1 mL菌液至牛肉膏蛋白胨培养基中,在25 °C的恒温培养箱中培养48 h后取出计数,根据菌落的数目换算验证菌液的浓度。

1.2.2 植物提取液的制备

将风干后的中草药用50 °C的烘箱烘干至恒重,再用粉碎机粉碎后过100目筛,得到各中草药粉末样品。取各中草药粉末样品10 g分别加入到100 mL三角瓶中,再加入50 mL丙酮溶液,用保鲜膜封口后放在28 °C,150 r/min的恒温振荡器上混合振荡12 h。混合振荡后将其放入条件为40 °C,超声

功率为700 w的超声仪中作用30 min,对得到各中草药提取液进行抽滤、浓缩,用丙酮定容配成质量浓度为1.0 g/mL的活性物质提取物。把配置好的活性提取物在无菌条件下倒入已灭菌的试管,得到各中草药提取母液,再将它们按比例混合配置成1.0 g/mL中药复配物,其各类中药提取物比例为黄芩:石菖蒲:大蒜:广藿香:牡丹:丁香=0.09:0.16:0.26:0.23:0.08:0.18。

1.2.3 中药复配物最低抑菌浓度(MIC)值及最低杀菌浓度(MBC)值的测定

将配置好的中药复配物倒入灭菌后的小试管中,用丙醇稀释,用十倍稀释法和二倍稀释法将其稀释成最终浓度为1 000、400、100、50、25、12.5、6.25、3.125、1.563和0.781 mg/mL的溶液,对稀释后的提取物液进行编号,置于0~4℃冰箱中,保存备用。取上述制备好的0.5 mL的菌悬液于牛肉膏蛋白胨培养基上,用灭菌后的小毛刷涂匀在牛肉膏蛋白胨琼脂培养基,将牛津杯插入培养基中心,往牛津杯中间滴加已经稀释了的中药复配物,置于25℃的培养箱中避光培养72 h,观察病原菌的生长状况。以滴加丙酮为对照,抑菌圈刚好大于丙酮对照组即为最低抑菌浓度(MIC),抑菌圈刚好大于最低抑菌浓度的为最低杀菌浓度(MBC)。

1.2.4 菌体生长曲线的测定

将MIC、MBC浓度的中药复配物和丙酮分别滴加到1.5 mL的菌液中,置于25℃的恒温培养箱中,每隔1 h取样1次,用自动生长曲线测定仪测定600 nm处的吸光度,观察24 h内,OD₆₀₀值的变化,并绘制猕猴桃溃疡病菌的生长曲线,以滴加丙酮的菌液为对照。

1.2.5 中药复配物对菌体细胞壁的影响

碱性磷酸酶(AKP)是一种含锌的非特异性磷酸单酯酶,对于磷酸基团的代谢转移有重要作用,在碱性环境中可催化水解脂键、蛋白质肽键等^[17-18]。一般在细胞壁和细胞膜之间存有碱性磷酸酶(AKP),只有在细胞壁被破坏导致细胞通透性增加时,碱性磷酸酶(AKP)才会溢漏到细胞外,从而检测到其活性,因此可以通过检测细胞外碱性磷酸酶(AKP)的活性变化来反应细胞壁通透性的改变^[19-20]。往已培养72 h的3组菌悬液中分别滴加最低抑菌浓度的中药复配物、最低杀菌浓度的中药复配物与丙酮试剂后,置于25℃的恒温培养箱中培养,每隔1 h将其置于,转速为8 000 r/min的冷冻离心机中,离心

10 min,取上层清液待测。按照碱性磷酸酶(AKP)测试盒方法处理^[21],用酶标仪测定520 nm处其吸光度,根据说明公式5-1计算并记录碱性磷酸酶(AKP)的含量变化。

公式5-1: AKP活性(nmol/min/mL) = (测定OD₅₂₀-空白OD₅₂₀) ÷ (标准OD₅₂₀-空白OD₅₂₀) × 标准品浓度 ÷ 测定样品浓度

1.2.6 中药复配物对菌体细胞膜的影响

当细菌细胞膜被破坏时,会使得菌体的通透性增大,菌体内的大分子物质,如蛋白质、DNA等,容易流出,而DNA和RNA在260 nm处有较大的吸收值,因此可以通过测定处理后的菌体离心液的OD₂₆₀的变化,来判断细胞膜是否损坏和菌体通透性改变程度^[22]。将最低抑菌浓度与最低杀菌浓度的中药复配物分别滴加到1.5 mL的菌液中,混匀后置于25℃的恒温培养箱中,设立滴加丙酮的菌液为对照组。每隔1 h将其置于,转速为3 600 r/min的冷冻离心机中,离心10 min,取上层清液用紫外分光光度计测定260 nm处的吸光度,测取8次,并统计记录。

1.2.7 中药复配物对菌体DNA含量的影响

DNA是生物正常生长繁殖不可或缺的物质,DNA缺损或者会导致菌体内许多酶无法正常的表达或者合成,影响其生命活动,使致生物体无法保持活性逐渐死亡。琼脂糖凝胶电泳中的DNA条带亮暗程度显示了DNA分子含量的多少,因此可通过对比DNA条带亮度来阐释处理组和对比组的DNA含量的不同^[23]。将MBC浓度的中药复配物和丙酮分别滴加到生长对数期的菌液中,每个处理做3组重复,根据细菌DNA提取试剂盒说明提取2组处理的DNA,进行1%琼脂糖凝胶电泳分离检测、染色和凝胶成像后拍照观察并分析。

1.2.8 菌体细胞超微结构观察

制作丙酮处理、中药复配物MIC和MBC浓度处理的3组菌体电镜透射样本。将长于固体培养基的,且处于生长对数期的细菌连带着部分培养基一起挑置于电镜固定液中,常温条件下固定2 h后转移至4℃的冰箱中保存;将处于生长对数期的细菌菌液置于冷冻离心机中,转速为4 000 r/min,离心10 min后,弃掉培养基液,收集细菌沉淀至小绿豆大小即可,再用电镜固定液在常温下固定2 h,后转移至4℃的冰箱中保存备用。将制作的样本用冰袋运输送至上海苗彩生物科技有限公司进行透射观察。

2 结果与分析

2.1 中药复配物的最低抑菌浓度(MIC)值及最低杀菌浓度(MBC)值

中药复配物提取液对猕猴桃溃疡病菌的最低抑菌和杀菌浓度见表 1。由表 1 可知, 当中药复配物浓度为 3.125 mg/mL 时, 出现抑菌圈, 且随着浓度的升高, 其抑菌效果也越来越好, 中药复配物最低抑菌浓度非常低, 仅为 3.125 mg/mL。中药复配物最

表 1 中药复配物对猕猴桃溃疡病菌的抑菌效果

Table 1 Chinese medicine compound with content of kiwi canker bacteria antibacterial effect

质量浓度 Mass concentration/ (mg·mL ⁻¹)	1 000	400	100	50	25	12.5	6.25	3.125	1.563	0.781	丙酮 Aceton
抑菌圈直径 Diameter of bacteriostatic circle/mm	33.86±0.56	22.36±2.04	11.25±1.36	8.67±1.45	7.21±0.33	6.13±0.89	5.50±0.71	5.50±0.31	0	0	0

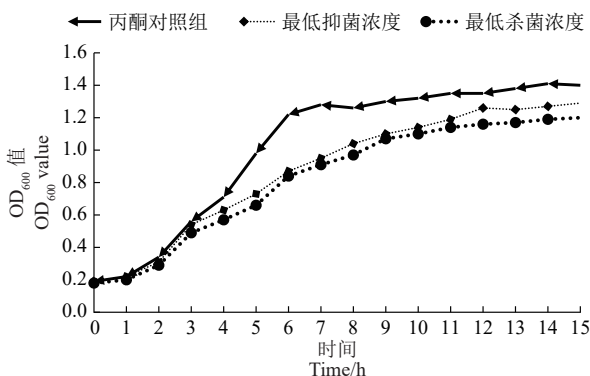


图 1 中药复配物对猕猴桃溃疡病菌生长曲线的影响

Figure 1 Chinese traditional medicine compound with content of kiwi canker pathogen growth curve

2.3 中药复配物对菌体细胞壁的影响

中药复配物处理后, 菌体细胞外碱性磷酸酶 (AKP) 的活性变化如图 2 所示, 从图中可以看出, 在滴入中药复配物后, AKP 活性相对丙酮对照组明显都高, 且作用 4 h 后, AKP 活性值有向上增长的趋势, 表明菌液中 AKP 活性值开始变大, 细胞通透性增加。其中经最低杀菌浓度处理后的 AKP 活性值最高, 在作用前 4 h 的时间内, AKP 活性逐渐降低, 可能是由于复配物刚加入, 杀死了大部分细菌, 随后细菌生长繁殖变多, 使其单位体积里的 AKP 活性降低, 4 h 后, AKP 活性逐渐升高可能是因为随着细菌的增加, 中药复配物破坏的菌体细胞壁越多, 死亡的细菌也变多, 使得 AKP 活性值增加。

2.4 中药复配物对菌体细胞膜的影响

从图 3 中可以明显发现, 随着时间的增长, 3 组

低杀菌浓度为 12.5 mg/mL。

2.2 细菌生长曲线的测定

图 1 为丙酮试剂和中药复配物处理后的细菌生长曲线图, 从图中可以明显看出丙酮对照组的 OD₆₀₀ 值比中药复配物处理后的 2 组要高, 表明其细菌数量最多, 在培养 4 h 时即达到生长对数期, 而处理后的菌体生长繁殖受到了抑制, 在 5~6 h 后才到对数期, 且经最低杀菌浓度处理后的猕猴桃溃疡病菌生长抑菌最明显, OD₆₀₀ 值最低。

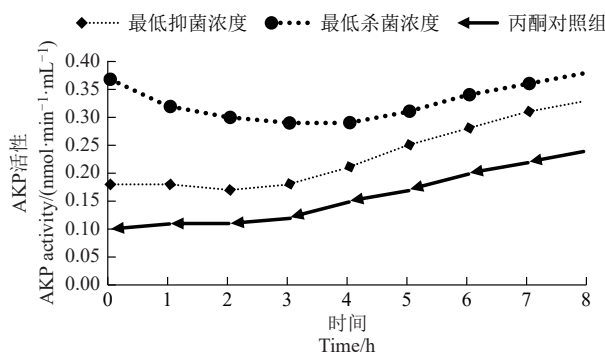


图 2 中药复配物对猕猴桃溃疡病菌细胞壁的影响

Figure 2 Chinese traditional medicine compound with content of kiwi canker bacteria cell wall

处理的 OD₂₆₀ 值也跟着增大, 其中最低杀菌浓度处理后的菌液 OD₂₆₀ 最高, 最低抑菌浓度处理后的次之, 丙酮试剂处理后的最低, 表明经中药复配物处理后的菌体, 细胞膜受到影响, 细胞通透性增大, 导致菌体内的 DNA 和 RNA 等物质大量流出, 其 OD₂₆₀ 值越高, 表明细胞膜破坏程度越高, 流出的紫外物质越多。

2.5 中药复配物对菌体 DNA 含量的影响

从图 4 中可以看出丙酮处理组的 3 个 DNA 条带比 MBC 处理组的 3 个 DNA 条带要清晰, 因此可以得出经中药复配物处理后的猕猴桃溃疡病菌的 DNA 含量比正常菌体的 DNA 含量要少, 经中药复配物处理后, 菌体的细胞通透性改变, 使得细胞内部的 DNA 分子外泄, 胞内的 DNA 分子含量降低。此测定结果同上述中药复配物对菌体细胞膜影响的测定结果一致。

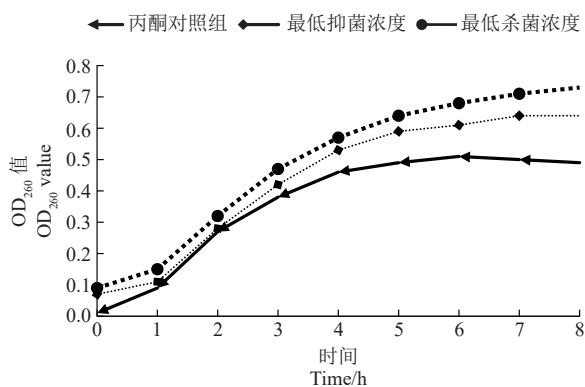


图3 中药复配物对猕猴桃溃疡病菌细胞膜的影响
Figure 3 Effect of chinese medicine compound on cell membrane of kiwifruit ulcer pathogen

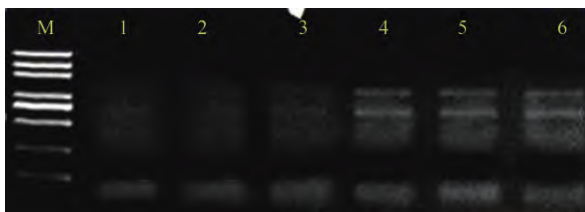


图4 中药复配物对猕猴桃溃疡病菌DNA含量的影响
Figure 4 Effect of chinese medicine compound on DNA content of kiwifruit ulcer pathogen

1、2和3表示MBC处理组的DNA条带；4、5和6表示丙酮对照组的DNA条带。
1, 2 and 3 in figure indicated MBC treatment group of DNA bands; 4, 5 and 6 indicated acetone DNA bands in the control group.

图4 中药复配物对猕猴桃溃疡病菌DNA含量的影响
Figure 4 Effect of chinese medicine compound on DNA content of kiwifruit ulcer pathogen

2.6 细菌透射电镜观察

从图5中可以看出,丙酮处理的对照组(a)菌体呈现杆状,形态正常,菌体饱满,细胞壁、细胞膜完整无损害。而MIC处理组(b)的菌体形态明显扭曲变形,甚至有个别部位出现缺损,致使菌体内容物外泄。MBC处理组(c)的菌体不饱满,细胞壁、细胞膜出现明显破坏溶解,细胞内物质大量流出。

3 结论

本文通过测定黄芩、石菖蒲、丁香、广藿香、大蒜和牡丹提取物按比例为0.09:0.16:0.26:0.23:0.08:0.18组成的中药复配物提取液对猕猴桃溃疡病菌的最低抑菌(MIC)和杀菌浓度(MBC)、描绘细菌生长曲线以及结合中药复配物对菌体细胞壁和细胞膜的影响分析,并以电镜透射辅助观察菌体形态结构的变化,综合判断分析中药复配物对猕猴桃溃疡病菌的作用效果。试验结果表明,中药复配物最低抑菌浓度非常低,仅为3.125 mg/mL;中药复配物最低杀

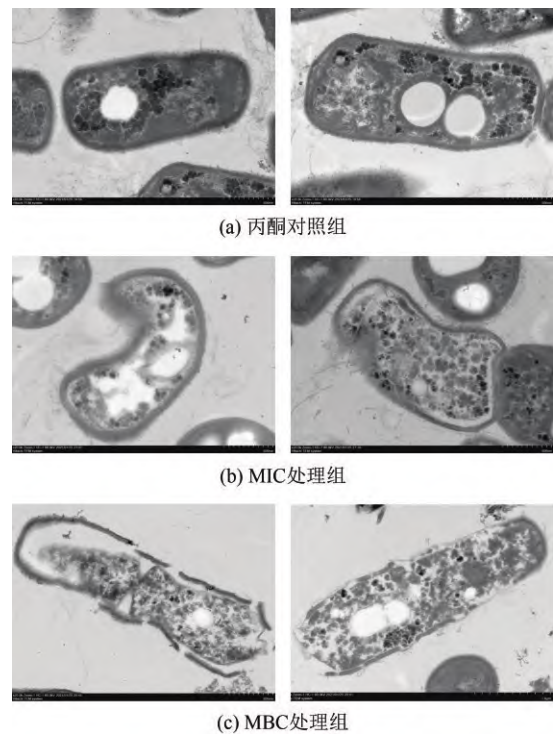


图5 丙酮处理和中药复配物处理后的猕猴桃溃疡病菌菌体透射电镜图
Figure 5 Transmission electron microscope image of kiwifruit ulcer bacteria treated with acetone and chinese herbal compound

Figure 5 Transmission electron microscope image of kiwifruit ulcer bacteria treated with acetone and chinese herbal compound

菌浓度为12.5 mg/mL。正常菌液初始OD₆₀₀值为0.2左右时,需培养后4 h后到达其生长对数期,该试验结果同黄其玲等^[24]研究结果相似。经中药复配物处理后的菌体生长繁殖明显受到了抑制,其生长到达对数期时间要比正常的晚1~2 h,且菌体的细胞壁、细胞膜及胞内的DNA含量受到较大的影响。本研究通过胞外碱性磷酸酶(AKP)活性的测定,表明中药复配物处理后的猕猴桃溃疡病菌体的细胞壁被严重破坏,使其细胞膜裸露在外。Kong M.等^[25]表明植物精油抑菌物质可作用于菌体细胞膜,改变其形态结构,从而使菌体死亡,而本实验的中药复配物液也含有植物精油抑菌物质,与本研究结果一致。综上所述,该中药复配物对猕猴桃溃疡病菌的抑菌机理主要表现为:降低细菌的生命活性,使其生长繁殖缓慢;破坏菌体细胞壁和细胞膜,使胞内的物质流出;影响菌体形态结构,使菌体扭曲变形;降低菌体内DNA的含量,使菌体无法正常生长繁殖。

参考文献:

- [1] RICHARDSON D P, ANSELL J, DRUMMOND L N. The nutritional and health attributes of kiwifruit: a review [J]. European Journal of Nutrition, 2018, 57(8): 2659-2676.

- [2] 白素平. 毛花猕猴桃三萜化学成分的研究[J]. 天然产物研究与开发, 1997, 9(1): 15-18.
- [3] 杨艳杰, 白新鹏, 裘爱泳. 猕猴桃属植物的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(35): 11454-11457, 11459.
- [4] 康大力, 张洪利. 猕猴桃属植物化学成分及其生物活性研究进展[J]. 中成药, 2008, 30(1): 116-119.
- [5] SIVAKUMARAN S, HUFFMAN L, SIVAKUMARAN S, et al. The nutritional composition of Zespri SunGold kiwifruit and Zespri sweet green kiwifruit [J]. Food Chemistry, 2018, 238: 195-202.
- [6] 贾照志, 曾海. 猕猴桃的药用价值[J]. 中国中医药现代远程教育, 2012, 10(4): 118.
- [7] 李森, 檀根甲, 李瑶, 等. 猕猴桃溃疡病研究进展[J]. 安徽农业科学, 2002(3): 391-393, 401.
- [8] 彭万达. 植物源杀虫剂的特性和应用[J]. 甘肃科技, 2016, 32(19): 143-144.
- [9] LI W G. Clustering algorithm for extracting chinese herba medicine's chemical composition [M]. Proceedings of the International Conference on Information Engineering and Applications (IEA) 2012, Springer London, 2013: 182-185.
- [10] YU D Q, YING C, LING X T. Structural chemistry and biological activities of natural products from chinese heral medicines: PartII [J]. Research Communications in Molecular Pathology & Pharmacology, 1999, 106(3): 134-136.
- [11] RAWAL B D. Bactericidal action of ascorbic acid on *Pseudomonas aeruginosa*: alteration of cell surface as a possible mechanism [J]. Chemotherapy, 1978, 24(3): 166-171.
- [12] LI X, HE C, SONG L, et al. Antimicrobial activity and mechanism of Larch bark procyanidins against *Staphylococcus aureus* [J]. Acta Biochimica et Biophysica Sinica, 2017, 49(12): 1058-1066.
- [13] 董洁洁. 凤仙花中1,4-萘醌类成分分离纯化及其抑菌机理的初步研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2019.
- [14] 孙燕杰. 马齿苋提取物对产ESBLs大肠杆菌体外抑菌作用及抑菌机理的研究[D]. 南宁: 广西大学, 2016.
- [15] 黄国霞, 李军生, 阎柳娟. 几种中药提取物的抑菌作用及机理研究[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(2): 425-426.
- [16] 尉研. 郁金提取物对山葵墨入病菌的抑菌活性研究[D]. 成都: 四川大学, 2007.
- [17] 段晓霞. 产碱性磷酸酶乳杆菌的筛选、酶学性质及降解有机磷作用研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2020.
- [18] 周波. 碱性磷酸酶测定在骨结核疾病诊断中的研究[J]. 中国社区医师, 2019, 35(16): 101-102.
- [19] 刘晓雯, 刘克武, 杨守忠, 等. 大凉疣蛾碱性磷酸酶的分离纯化及部分性质[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2001, 17(1): 135-138.
- [20] CHEN C Z, COOPER S L. Interactions between dendrimer biocides and bacterial membranes [J]. Biomaterials, 2002, 23(16): 3359-3368.
- [21] 朱亚珠, 林森森. 复合保鲜剂对腐生葡萄球菌的抑菌活性及其作用机理[J]. 食品与机械, 2018, 34(4): 158-162.
- [22] 戚伟民. 超高压与Nisin协同作用下的细菌致死机理[D]. 无锡: 江南大学, 2010.
- [23] 耿一鸣, 李婷婷, 励建荣, 等. 松油烯-4-醇对荧光假单胞菌抑菌能力及作用机理[J]. 食品科学, 2021(1): 31-36.
- [24] 黄其玲, 高小宁, 赵志博, 等. GFPuv标记猕猴桃溃疡病菌的生物学特性及其在土壤、根系中的定殖[J]. 中国农业科学, 2013, 46(2): 282-291.
- [25] KONG M, CHEN X G, LIU C S, et al. Antibacterial mechanism of chitosan microspheres in a solid dispersing system against *E. coli* [J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2008, 65(2): 197-202.

(责任编辑: 刘诗航)

(上接第819页)

- 1995, 22(4): 389-390.
- [7] 张立彬, 肖啸, 王学东, 等. 大久保桃自交后代若干性状的变异和遗传倾向[J]. 果树学报, 2004(4): 308-310.
- [8] 陈双建, 李安根. 桃杂种(F_1)果实重量的遗传研究[J]. 中国农学通报, 2006, 22(8): 360.
- [9] 曹珂, 王力荣, 朱更瑞, 等. 桃果肉颜色性状的SSR标记及其在品种中的验证[J]. 果树学报, 2010, 27(6): 882-886.
- [10] 罗静, 谢汉忠, 方金豹, 等. 红肉桃和白肉桃果实挥发性成分的差异分析[J]. 中国农业大学学报, 2016, 21(11): 34-42.
- [11] 许建兰, 马瑞娟, 俞明亮, 等. '银河'蟠桃果实性状遗传评价及育种利用探讨[J]. 果树学报, 2014, 31(5): 769-775.
- [12] 许建兰, 马瑞娟, 俞明亮, 等. 红肉桃杂交后代果实主要经济性状的遗传倾向[J]. 经济林研究, 2015, 33(4): 53-57.
- [13] 韩明玉, 赵彩平, 田玉命. 桃杂种后代果实成熟期遗传趋向的分析研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2008, 36(12): 155-160.
- [14] 刘芳. 早熟桃 F_1 代果实主要经济性状遗传倾向研究[D]. 甘肃农业大学, 2009.
- [15] 刘芳, 陈建军, 王玮, 等. 早熟桃品种'筑波84'×'早油118' F_1 代果实主要性状的遗传倾向[J]. 甘肃农业大学学报, 2009, 44(5): 82-87.
- [16] 陈双建, 李安根. 桃杂种(F_1)果实重量的遗传研究[J]. 中国农学通报, 2006, 22(8): 360.
- [17] SANDEFUR P, CLARK J, PEACE C, et al. Peach texture [J]. Horticultural Reviews, 2013, 41: 241-301.
- [18] 马瑞娟, 俞明亮, 沈志军, 等. 霞光油桃×NF油蟠桃组合 F_1 代果实主要性状的遗传倾向[J]. 江苏农业学报, 2007, 23(6): 622-625.

(责任编辑: 刘诗航)