

芦笋茎枯病菌致病机制的研究进展

孙强¹, 赵凤², 兰波³, 杜宜新⁴, 石妞妞⁴, 肖鸿勇⁵, 李湘民³, 陈洪凡³, 杨迎青^{3*}

(1. 中华人民共和国黄岛海关, 山东青岛 266555; 2. 中仓农业科技发展有限公司, 山东青岛 266555; 3. 江西省农业科学院植物保护研究所, 江西南昌 330200; 4. 福建省农业科学院植物保护研究所, 福建福州 350012; 5. 江西省农业技术推广中心, 江西南昌 330200)

摘要 芦笋茎枯病是一种区域性分布的毁灭性病害, 俗称“芦笋癌症”, 茎枯病的普遍发生已严重影响了芦笋的产量和质量。从芦笋茎枯病的发病规律、病原菌侵染过程及其致病因子细胞壁降解酶 3 个方面简述了芦笋茎枯病菌致病机制的最新研究进展, 旨在为芦笋茎枯病致病机制领域的深入研究和有效防治提供依据。

关键词 芦笋茎枯病; 发病规律; 侵染过程; 致病机制

中图分类号 S432.1 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2023)03-0006-05

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2023.03.002



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Research Progress on the Pathogenic Mechanism of Asparagus Stem Blight PathogenSUN Qiang¹, ZHAO Feng², LAN Bo³ et al (1. Huangdao Customs House, Qingdao, Shandong 266555; 2. Zhongcang Agricultural Technology Development Co., Ltd, Qingdao, Shandong 266555; 3. Institute of Plant Protection, Jiangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanchang, Jiangxi 330200)

Abstract Asparagus stem blight is a devastating disease with regional distribution, commonly known as “asparagus cancer”. The widespread occurrence of stem blight has seriously affected the yield and quality of asparagus. The latest research progress in pathogenic mechanisms of asparagus stem blight was summarized mainly in three aspects including the disease regulation, infection process and cell wall degrading enzymes of *Phomopsis asparagi*. The pathogenic factor cell wall degrading enzyme was analyzed and compared, which would provide a theoretical basis for in-depth research and effective control of rice sheath blight.

Key words Asparagus stem blight; Disease regulation; Infection process; Pathogenic mechanism

芦笋(*Asparagus officinalis* Linn) 又称石刁柏, 属百合科(Liliaceae)天门冬属(*Asparagus*), 是世界十大名菜之一, 在国际市场上被称为“蔬菜之王”。芦笋由于其营养价值高, 并具有润肺、镇咳、祛痰、抑制肿瘤生长等功能, 深受人们的喜爱^[1-2]。随着芦笋种植面积的逐年扩大, 病害的发生也逐年加重, 尤其是茎枯病的普遍发生已严重影响了芦笋的产量和质量^[3]。茎枯病的发生需要湿热气候条件, 欧美芦笋主产区均属冷凉气候, 因此基本不发生, 而中国、越南、泰国等亚洲国家则严重发生^[4-5]。长期以来, 国内外学者对芦笋茎枯病进行了多方面、多角度的研究, 并取得了一些进展^[6-8]。叶琪明^[9]从症状、病原菌、发生规律、抗性生理和病害防治等 5 个方面阐述了我国芦笋茎枯病研究现状。余智城等^[10]就症状、病原菌、发生规律、抗性生理和病害防治等方面进行了综述。张岳平等^[11]综述了芦笋重要真菌病害的研究进展。郑金龙等^[12]综述了芦笋茎枯病及抗病育种的研究进展。由于抗病育种进展缓慢, 近年来, 越来越多学者开始将注意力转移到芦笋茎枯病菌致病机制的研究上, 并取得了可喜的成果。因此, 笔者着重从芦笋茎枯病发病规律、病原菌侵染过程及其致病因子细胞壁降解酶 3 个方面综述芦笋茎枯病菌致病机制的最新研究进展, 旨在为芦笋茎枯病抗性育种和有

效防控提供依据。

1 芦笋茎枯病发病规律

1.1 田块条件与发病的关系 不同土质和地势等田块条件对芦笋茎枯病发病的严重度有重要影响^[13]。土质黏度大、地势低洼、排水不良等田块条件均可导致田间积水, 加快病原菌的传播与扩散。同时, 田间积水易造成芦笋长势差、对病原菌的抵抗力下降, 严重时还可造成烂根, 加速芦笋茎枯病的扩展和蔓延, 导致病情加重。土质疏松、地势较高、排灌条件良好等田块条件可以有效防止田间积水, 降低田间小气候湿度, 不利于病原菌分生孢子的传播、扩散和萌发, 同时还可以促进芦笋的生长发育, 增强对病原菌的抵抗力, 降低病株率^[14]。

1.2 温湿度对发病的影响 高温、多雨的气候条件易造成田间小气候湿度过大, 有利于芦笋茎枯病菌 *Phomopsis asparagi* (Sacc.) Bubak 分生孢子的传播、扩散和侵染。田间定株系统观察结果表明, 芦笋茎枯病的发生流行与温湿度密切相关^[15-17]。陈须文等^[14]的研究结果表明, 2 月下旬至 3 月上旬, 当旬平均温度高于 8℃、相对湿度在 77% 以上时, 出土的芦笋母茎开始发病; 当旬平均温度高于 17℃、相对湿度在 85% 以上时, 病原菌侵染和扩散的速度加快; 5—6 月, 当旬平均温度高于 24℃、相对湿度达到 96% 以上时, 病原菌侵染和扩散的速度进一步加快, 进入发病高峰期, 病株率最高可超过 90%, 病情指数最高可超过 60 (图 1)。因此, 应在发病初期和盛期及时喷药, 控制此病扩散和蔓延^[18]。

1.3 品种与发病的关系 不同芦笋品种对茎枯病抗性存在较大差异^[19]。TX-4/SD、UC 157、绿塔、16523-B、B4-a/B20-a、B2-a/SD、B3/TX-6 等种质资源对茎枯病的抗性较好, 可

基金项目 江西省主要学科带头人领军人才项目(20213BCJL22046); 江西省自然科学基金重点项目(20202ACBL205006); 江西省技术创新引导类项目(20192AEI91009); 江西省农业科学院基础研究与人才培养专项(JXSNKYJCRC202204)。

作者简介 孙强(1981—), 男, 山东青岛人, 高级农艺师, 硕士, 从事植物病虫害检测与防控研究。* 通信作者, 研究员, 博士, 从事植物病原真菌学研究。

收稿日期 2022-04-17

用于抗病育种的亲本材料,并在栽培中结合农艺性状选择应用以提高芦笋对茎枯病的抗性,减少用药次数和用量以节

约成本和减少农药污染,促进芦笋产业绿色发展^[20-22]。



图 1 芦笋茎枯病田间严重发生

Fig. 1 Serious occurrence of asparagus stem blight stem blight in field

1.4 不同施肥方式对芦笋茎枯病的影响 芦笋的长势、抗病性和产量与不同施肥方式存在显著相关性。过多施用氮肥,易造成枝叶过于繁茂,增加田间小气候湿度,病害发生加重^[14,17]。而施用腐复混肥,并合理配比氮、磷、钾(N:P:K=1:0.7:1.4),可有效促进芦笋生长,提高芦笋的抗病性,病害发生较轻^[14]。

2 芦笋茎枯病菌的侵染过程

2.1 越冬孢子的释放萌发 芦笋茎枯病菌 *Phomopsis asparagi* (Sacc.) Bubak 主要以分生孢子器在枯死的病残体上越冬。芦笋茎枯病菌 *Phomopsis asparagi* (Sacc.) Bubak 分生孢子的释放期为4月26—7月30日,其中4月26—7月9日为释放盛期。分生孢子在1%鲜芦笋煎汁培养液中的萌发率为73.9%~97.2%,而在清水中几乎不能萌发。分生孢子的释放必须要有水露条件,在无水露的条件下则不能释放^[17]。

2.2 初侵染菌源 田间没有清除干净遗留的越冬病残体是翌年早春发病的主要初侵染菌源。试验调查结果证明,田间芦笋的发病期与越冬病残体上分生孢子的释放期几乎一致。早春最初发现的茎枯病病株,多为田间没有清除干净遗留的越冬病残体附近的笋株,大多在病残体旁边或者距离越冬病残体20 cm以内,发病笋株的病斑面与病残体所在方向一般保持一致,且多在茎秆基部首先发病。田间没有清除干净病残体的笋苑往往成为早春茎枯病发生的发病中心^[17]。

2.3 病害侵染循环 在病残体上越冬的分生孢子器,翌年春遇雨水或灌溉水释放分生孢子并侵染芦笋茎秆基部及叶尖等部位。芦笋茎枯病菌 *Phomopsis asparagi* (Sacc.) Bubak 主要靠风雨传播,因此雨水较多的年份和季节发病也较重。病原菌从侵入到分生孢子器成熟释放新的分生孢子为一个侵染周期,在23~27℃时侵染周期为10~12 d,在17~20℃时侵染周期为15~20 d。6—10月,芦笋茎枯病菌 *Phomopsis asparagi* (Sacc.) Bubak 分生孢子在田间不断扩散、萌发、侵染形成新的发病中心,并持续不断释放分生孢子完成再侵染,导致田间病情逐渐加重^[17]。笔者室内培养发现,芦笋茎

枯病菌 *Phomopsis asparagi* (Sacc.) Bubak 24 h 内产生芽管,24~36 h 后长出菌丝,菌丝继续生长,4 d 后侵入寄主组织,8 d 后开始形成产孢结构,12 d 后形成分生孢子器,16 d 后分生孢子器释放出分生孢子(α、β型孢子)(图2);随着侵染过程的推进,其表现症状逐渐明显,相对发病面积逐渐增大(图3)^[23]。

2.4 病害消长动态 据调查,5月上旬可在田间最早发现芦笋茎枯病的发病株。芦笋茎枯病在未采笋的幼株田及提前留母茎的成株采笋田发病较早。适时留母茎的采笋田在留母茎后10 d左右开始发病。7月下旬至8月上旬为病芦笋茎枯病的发展期,田间平均病株率在5%~10%,平均病情指数在1%~5%。8月中旬后,随降雨量的逐渐加大和气温的迅速升高,进入芦笋茎枯病的发生高峰期,田间出现大量枯死笋株^[14]。

3 芦笋茎枯病菌细胞壁降解酶

3.1 细胞壁降解酶种类 根据作用芦笋组织的不同,可将芦笋茎枯病菌 *P. asparagi* (Sacc.) Bubak 降解酶分为角质层降解酶(cutinase)和细胞壁降解酶(cell wall degrading enzymes)等酶类。根据作用底物的不同,芦笋茎枯病菌 *P. asparagi* (Sacc.) Bubak 细胞壁降解酶又可细分为纤维素酶(cellulose)、半纤维素酶(hemicellulase)和果胶酶(pectic enzyme)等酶类。根据作用方式的不同,可将芦笋茎枯病菌 *P. asparagi* (Sacc.) Bubak 细胞壁降解酶分为裂解酶和水解酶等酶类^[24-25]。常见的芦笋茎枯病菌 *P. asparagi* (Sacc.) Bubak 细胞壁降解酶主要有以下7种:多聚半乳糖醛酸酶(polygalacturonase, PG)、β-1,4-内切葡聚糖酶(endo-β-1,4-glucanase, Cx)、果胶甲基半乳糖醛酸酶(polymethylgalacturonase, PMG)、滤纸酶(filter paper enzyme, FPA)、果胶甲基酯酶(pectin methylsterase, PE)、果胶甲基反式消除酶(pectin methyltrans-eliminase, PMTE)和多聚半乳糖醛酸反式消除酶(polymethylgalacturonase trans-eliminase, PGTE)^[23-24]。其中,多聚半乳糖醛酸酶(PG)、β-1,4-内切葡聚糖酶(Cx)、果胶甲基半乳糖醛酸酶(PMG)、滤纸酶(FPA)和果胶甲基酯酶

(PE)等细胞壁降解酶属于水解酶,而果胶甲基反式消除酶(PMTE)和多聚半乳糖醛酸反式消除酶(PGTE)等细胞壁降解酶属于裂解酶^[25-27]。

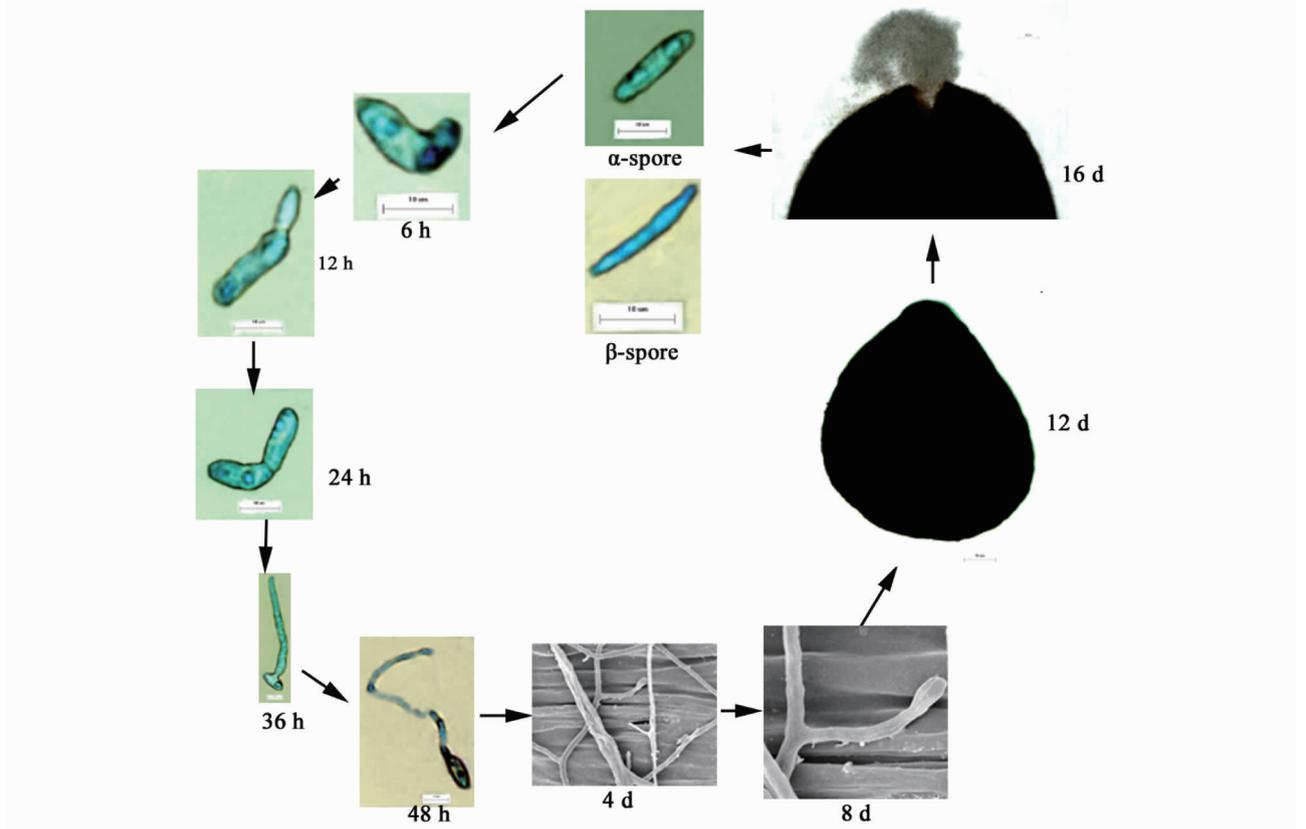


图2 芦笋茎枯病菌感染过程^[23]

Fig. 2 Infection process of asparagus stem blight fungus^[23]

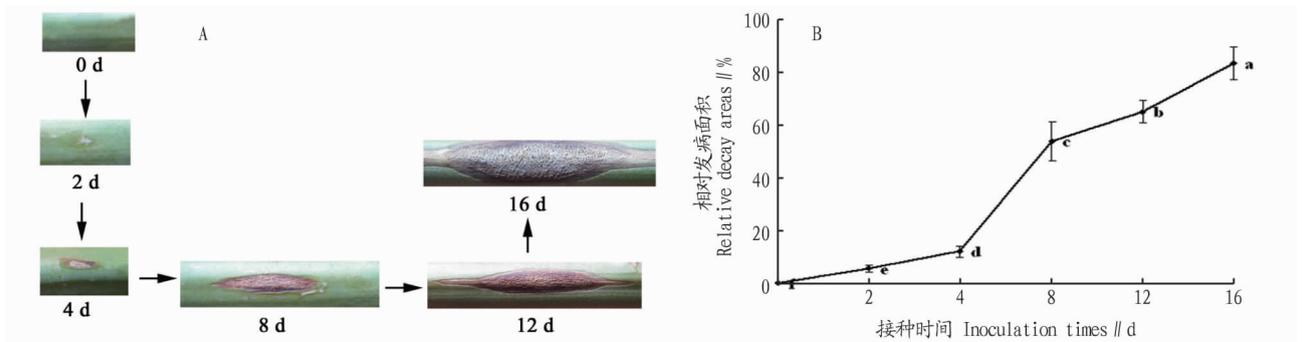


图3 芦笋茎枯病菌感染过程中的症状和病情^[23]

Fig. 3 Symptom and disease severity of asparagus stem blight fungus in the infection process^[23]

3.2 细胞壁降解酶的提取及纯化

3.2.1 离体培养液中细胞壁降解酶的提取。芦笋茎枯病菌 *P. asparagi* (Sacc.) Bubak 细胞壁降解酶的离体培养一般是在改良的 Marcus 培养液中静置培养 6~8 d 后进行提取和纯化^[23-24]。主要方法为:① 将芦笋茎枯病菌 *P. asparagi* (Sacc.) Bubak 菌株在马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)平板上培养 5~8 d。② 用 5 或 7 mm 打孔器在平板菌落边缘打孔,挑取 5~8 块菌丝块置于装有 50~100 mL 改良 Marcus 培养液的 250 mL 量程的三角瓶中,静置培养 6~8 d。③ 首先用 3 层纱布过滤以除去菌丝块和菌丝等杂质,然后再经过双层滤纸抽滤以继续除去杂质。④ 4 ℃、11 000~13 000 r/min

下离心 10~20 min,留上清(粗酶液)。⑤ 在粗酶液中加入 60% 饱和度的 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 4 ℃ 下静置 24~48 h,然后 4 ℃、11 000~13 000 r/min 下离心 10~20 min,弃上清液。⑥ 用适量 50 mmol/L HAc-NaAc 缓冲液溶解沉淀,在 HAc-NaAc 缓冲液中透析 24~48 h,期间换 2~4 次 50 mmol/L HAc-NaAc 缓冲液,得到的酶液于 -80 ℃ 冰箱保存备用^[23-24]。

3.2.2 组织内细胞壁降解酶的提取。从人工接种发病的芦笋茎秆切取具有典型症状的病组织。每克鲜组织中加入 5 mL 0.25 mol/L NaCl 提取液(用 0.1 mol/L Tris-HCl 缓冲液配制, pH 8.0),加 5~8 粒石英砂或不锈钢研磨珠,在冰浴中研磨。首先用 3 层纱布过滤以去除组织、石英砂或不锈钢研

磨珠等杂质,然后再经过双层滤纸抽滤继续去除杂质;在 4 °C、12 000 r/min 下离心 10~20 min,取上清液,即为粗酶液,粗酶液中加入 60% 饱和度的 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$,4 °C 下静置 24~48 h,然后 4 °C、11 000~13 000 r/min 下离心 10~20 min,弃上清液。用适量 50 mmol/L HAc-NaAc 缓冲液溶解沉淀,在 HAc-NaAc 缓冲液中透析 24~48 h,期间换 2~4 次 50 mmol/L HAc-NaAc 缓冲液,得到的酶液于 -80 °C 冰箱保存备用^[25,28-29]。

3.3 芦笋茎枯病菌细胞壁降解酶活性

3.3.1 几种主要细胞壁降解酶活性的测定。分别绘制牛血清蛋白标准曲线、葡萄糖标准曲线、D-半乳糖醛酸标准曲线,并获得相应一次回归方程。牛血清蛋白标准曲线用于计算细胞壁降解酶浓度,葡萄糖标准曲线用于计算 β -1,4-内切葡聚糖酶(Cx)和滤纸酶(FPA)等酶类的活性,D-半乳糖醛酸标准曲线用于计算多聚半乳糖醛酸酶(PG)和果胶甲基半乳糖醛酸酶(PMG)等酶类活性。用 3,5-二硝基水杨酸(DNS)法测定芦笋茎枯病菌 *P. asparagi*(Sacc.) Bubak 待测酶液的 OD₅₄₀ 值,用 OD₅₄₀ 值大小反应酶反应所释放的还原糖量,OD₅₄₀ 值代入一次回归方程,分别计算多聚半乳糖醛酸酶(PG)、 β -1,4-内切葡聚糖酶(Cx)、果胶甲基半乳糖醛酸酶(PMG)和滤纸酶(FPA)等酶类的活性^[30];利用 NaOH 滴定法测定胶甲基酯酶(PE)等酶类的活性,根据酶作用后所释放的羧基数量来确定酶活性^[31];测定果胶甲基反式消除酶(PMTE)和多聚半乳糖醛酸反式消除酶(PGTE)等酶类的 OD₂₃₂ 值,并据此计算其活性^[25,28]。

3.3.2 芦笋茎枯病菌细胞壁降解酶活性研究进展。芦笋茎枯病菌 *P. asparagi*(Sacc.) Bubak 产生的细胞壁降解酶中以多聚半乳糖醛酸酶(PG)、果胶甲基半乳糖醛酸酶(PMG)和 β -1,4-内切葡聚糖酶(Cx)3 种酶的活性较高,其中多聚半乳糖醛酸酶(PG)和果胶甲基半乳糖醛酸酶(PMG)等酶类属于果胶酶, β -1,4-内切葡聚糖酶(Cx)等酶类属于纤维素酶^[23,27]。笔者利用 3,5-二硝基水杨酸法(DNS 法)测定了 7 种芦笋茎枯病菌 *P. asparagi*(Sacc.) Bubak 常见细胞壁降解酶的活性,明确了不同底物对 3 种主要酶的诱导效果,从温度、时间和 pH 3 个方面对芦笋茎枯病菌 *P. asparagi*(Sacc.) Bubak 几种主要细胞壁降解酶的活性测定条件进行了优化。7 种芦笋茎枯病菌 *P. asparagi*(Sacc.) Bubak 细胞壁降解酶中,以多聚半乳糖醛酸酶(PG)的活性较高,其次是果胶甲基半乳糖醛酸酶(PMG)和 β -1,4-内切葡聚糖酶(Cx),其他 4 种酶的活性较低。在 3 种芦笋茎枯病菌 *P. asparagi*(Sacc.) Bubak 主要细胞壁降解酶中, β -1,4-内切葡聚糖酶(Cx)以 1%CMC 作为底物进行诱导产生的酶量较多,多聚半乳糖醛酸酶(PG)和果胶甲基半乳糖醛酸酶(PMG)则以 1%果胶作为底物进行诱导产生的酶量较多。在 50 °C 下测定 β -1,4-内切葡聚糖酶(Cx)活性的效果较好,在 50~60 °C 下测定多聚半乳糖醛酸酶(PG)活性的效果较好,在 60 °C 测定果胶甲基半乳糖醛酸酶(PMG)酶活性的效果较好;反应 50 min 后测定 β -1,4-内切葡聚糖酶(Cx)酶活性的效果较好,反应

60 min 后测定多聚半乳糖醛酸酶(PG)和果胶甲基半乳糖醛酸酶(PMG)2 种细胞壁降解酶活性的效果较好;pH 4.0 下测定 β -1,4-内切葡聚糖酶(Cx)和多聚半乳糖醛酸酶(PG)活性的效果较好,pH 8.0 下测定果胶甲基半乳糖醛酸酶(PMG)的效果较好^[23-24]。

3.4 细胞壁降解酶生理学研究 芦笋茎枯病菌 *P. asparagi*(Sacc.) Bubak 细胞壁降解酶对芦笋组织具有重要的损伤作用^[23]。笔者从渗透性还原单糖量释放和相对电导率增大等方面,测定了芦笋茎枯病菌 *P. asparagi*(Sacc.) Bubak 细胞壁降解酶对芦笋组织的浸解作用。芦笋茎枯病菌 *P. asparagi*(Sacc.) Bubak 细胞壁降解酶浸解芦笋组织 28 h 后,芦笋茎枯病菌 *P. asparagi*(Sacc.) Bubak 细胞壁降解酶能够显著提高渗透性还原单糖的量。随着芦笋茎枯病菌 *P. asparagi*(Sacc.) Bubak 细胞壁降解酶浓度的增大,释放的渗透性还原单糖的量逐渐增大。说明随着芦笋茎枯病菌 *P. asparagi*(Sacc.) Bubak 细胞壁降解酶浓度的增大,其造成的芦笋组织损伤严重程度逐渐增加。通过相对电导率的测定,明确了芦笋茎枯病菌 *P. asparagi*(Sacc.) Bubak 细胞壁降解酶对芦笋组织细胞膜的损伤作用。随着芦笋茎枯病菌 *P. asparagi*(Sacc.) Bubak 细胞壁降解酶浓度的增大,测得的相对电导率逐渐增大。说明芦笋茎枯病菌 *P. asparagi*(Sacc.) Bubak 细胞壁降解酶浓度越大,其对芦笋组织细胞膜造成的损伤程度越大^[23]。

4 展望

近年来,越来越多的学者认识到研究植物病原真菌致病机制的重要性,并着手从发病规律、侵染过程和致病因子等方面进行了较为深入的探讨。芦笋茎枯病是一种区域性分布的毁灭性病害,俗称“芦笋癌症”。其发病规律、侵染方式及过程目前已经明确。细胞壁降解酶作为芦笋茎枯病菌 *P. asparagi*(Sacc.) Bubak 的一个重要致病因子,其对芦笋组织具有重要损伤作用,其作用机制有待于进一步深入研究和探讨。目前关于芦笋茎枯病菌 *P. asparagi*(Sacc.) Bubak 细胞壁降解酶的研究多围绕酶活性、细胞器损伤等方面展开,在细胞壁降解酶的分离、相关酶成分等电点测定、疏水性等各种蛋白学方面的研究较少。此外,芦笋茎枯病菌 *P. asparagi*(Sacc.) Bubak 主要细胞壁降解酶调控基因的研究鲜见报道,有待进一步的深入研究。总之,芦笋茎枯病菌 *P. asparagi*(Sacc.) Bubak 致病机理的阐明,对于芦笋茎枯病抗性育种及有针对性进行防治具有重要的理论和实践意义,也充分展现了其广阔的应用前景。

参考文献

- [1] 刘克均,陆悦健,陈永萱,等. 芦笋茎枯病菌的生物学特性[J]. 植物病理学报,1994,24(4):299-304.
- [2] 刘克均. 芦笋高产栽培实用技术[M]. 北京:中国农业出版社,2001.
- [3] 刘志恒,孙俊,杨红,等. 芦笋茎枯病菌生物学特性的研究[J]. 沈阳农业大学学报,2008,39(3):301-304
- [4] UECKER F A, JOHNSON D A. Morphology and taxonomy of species of *Phomopsis* on *Asparagus*[J]. Mycologia,1991,83(2):192-199.
- [5] DAVIS R D. *Asparagus* stem blight recorded in Australia[J]. Australasian plant pathology,2001,30(2):181-182.
- [6] 刘克均,张凤如,陈永萱. 芦笋茎枯病原菌的订正[J]. 真菌学报,

- 1991,10(4):329-330,328.
- [7] 章月梅,梁训义,王政逸,等.浙江省芦笋茎枯病病原菌生物学特性的研究[J].植物检疫,1995,9(5):262-265.
- [8] 苗华民,侯绪友,孟凡明,等.芦笋茎枯病病原菌及其生物学研究[J].植物保护学报,1991,18(1):87-90.
- [9] 叶琪明.我国芦笋茎枯病研究现状[J].植物保护,1991,17(1):30-32.
- [10] 余智城,林秀香,林秋金,等.中国芦笋茎枯病的研究进展及展望[J].安徽农业科学,2011,39(33):20538-20540.
- [11] 张岳平,陈光宇,罗绍春,等.芦笋重要真菌病害研究进展[J].中国农学通报,2012,28(31):114-119.
- [12] 郑金龙,贺春萍,易克贤,等.芦笋茎枯病及抗病育种研究进展[J].热带农业科学,2015,35(11):65-70.
- [13] 徐春城,李长兴,刘澍才.芦笋茎枯病发生规律及防治研究[J].辽宁科学,1988(1):25-28.
- [14] 刘须文,赵瑞英,廖月华,等.芦笋茎枯病发生与防治研究[J].江西农业大学学报,1993,15(1):44-50.
- [15] 刘颀卿.芦笋茎枯病及其防治[J].河南农业科学,1988(9):16-18.
- [16] 黎德祥,董泉龙.田间小气候与芦笋茎枯病发生关系及其防治对策[J].江西植保,1992,15(3):26-28.
- [17] 贾廷祥,刘传德,倪寿山,等.芦笋茎枯病发生规律及防治研究[J].植物保护学报,1992,19(2):111-115.
- [18] 杨迎青,兰波,孙强,等.6种杀菌剂对芦笋茎枯病的防治效果[J].植物保护,2018,44(4):217-220.
- [19] 沈火林.芦笋茎枯病发生生态及防治方法[J].蔬菜,1987(5):32-33.
- [20] 杨迎青,李湘民,孟凡,等.芦笋茎枯病抗性鉴定方法的建立及芦笋抗病种质资源的筛选[J].植物病理学报,2012,42(6):649-654.
- [21] 孙燕芳,刘巧莲,陈河龙,等.芦笋种质苗期对茎枯病的抗性评价[J].热带农业科学,2015,35(10):75-77,93.
- [22] 阮宏椿,石红妞,杜宜新,等.不同芦笋品种苗期对茎枯病的抗性鉴定及其农艺性状观察[J].福建农业学报,2013,28(3):241-244.
- [23] YANG Y Q,LAN B,JIANG Y L,et al. Infection process and pathogenic mechanism of *Phomopsis asparagi*, the asparagus stem blight pathogen [J]. *Phytoparasitica*,2016,44(1):11-18.
- [24] 杨迎青,孟凡,兰波,等.芦笋茎枯病菌细胞壁降解酶活性的测定及条件优化[J].华中农业大学学报,2014,33(2):57-60.
- [25] 杨媚,杨迎青,郑丽,等.水稻纹枯病菌细胞壁降解酶组分分析、活性测定及其致病作用[J].中国水稻科学,2012,26(5):600-606.
- [26] 陈夕军,张红,徐敬友,等.水稻纹枯病菌胞壁降解酶的产生及致病作用[J].江苏农业学报,2006,22(1):24-28.
- [27] 高增贵,陈捷,高洪敏,等.玉米茎腐病菌产生的细胞壁降解酶种类及其活性分析[J].植物病理学报,2000,30(2):148-152.
- [28] 张红,陈夕军,童蕴慧,等.纹枯病菌胞壁降解酶对水稻组织和细胞的破坏作用[J].扬州大学学报(农业与生命科学版),2005,26(4):83-86.
- [29] 李明海,杨迎青,杨媚,等.井冈霉素对水稻纹枯病菌胞壁降解酶活性和可溶性蛋白的影响[J].华中农业大学学报,2010,29(3):272-276.
- [30] 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.
- [31] MARCUS L,SCHEJTER A. Single step chromatographic purification and characterization of the endopolygalacturonases and pectinesterases of the fungus, *Botrytis cinerea* Pers [J]. *Physiological plant pathology*,1983,23(1):1-13.

(上接第5页)

- [51] EMRAN M, GISPERT M, PARDINI G. Patterns of soil organic carbon, glomalin and structural stability in abandoned Mediterranean terraced lands [J]. *European journal of soil science*,2012,63(5):637-649.
- [52] STERNBERG M, SHOSHANY M. Influence of slope aspect on Mediterranean woody formations: Comparison of a semiarid and an arid site in Israel [J]. *Ecological research*,2001,16(2):335-345.
- [53] LUTGEN E R, MUIR-CLAIRMONT D, GRAHAM J, et al. Seasonality of arbuscular mycorrhizal hyphae and glomalin in a western Montana grassland [J]. *Plant and soil*,2003,257(1):71-83.
- [54] YANG G W, YANG X, ZHANG W J, et al. Arbuscular mycorrhizal fungi affect plant community structure under various nutrient conditions and stabilize the community productivity [J]. *Oikos*,2016,125(4):576-585.
- [55] SHARMA M P, ADHOLEYA A. Parameters for selecting efficient arbuscular mycorrhizal fungi for plants under microcosm conditions [J]. *Proceedings of the national academy of sciences, India section B: Biological sciences*,2015,85(1):77-83.
- [56] 王诚煜,冯海艳,杨忠芳,等.内蒙古中北部球囊霉素相关土壤蛋白的分布及其环境影响[J].干旱区研究,2013,30(1):22-28.
- [57] JOHNSON N C, WILSON G W T, WILSON J A, et al. Mycorrhizal phenotypes and the law of the minimum [J]. *New phytologist*,2015,205(4):1473-1484.
- [58] XIAO H, WANG B, LU S B, et al. Soil acidification reduces the effects of short-term nutrient enrichment on plant and soil biota and their interactions in grasslands [J]. *Global change biology*,2020,26(8):4626-4637.
- [59] ZHENG Z, MA P F, LI J, et al. Arbuscular mycorrhizal fungal communities associated with two dominant species differ in their responses to long-term nitrogen addition in temperate grasslands [J]. *Functional ecology*,2018,32(6):1575-1588.
- [60] DAVISON J, MOORA M, SEMCHENKO M, et al. Temperature and pH define the realised niche space of arbuscular mycorrhizal fungi [J]. *New phytologist*,2021,231(2):763-776.
- [61] WANG Q, WU Y, WANG W J, et al. Spatial variations in concentration, compositions of glomalin related soil protein in poplar plantations in northeastern China, and possible relations with soil physicochemical properties [J]. *The scientific world journal*,2014,2014:1-14.
- [62] RILLIG M C, STEINBERG P D. Glomalin production by an arbuscular mycorrhizal fungus: A mechanism of habitat modification? [J]. *Soil biology and biochemistry*,2002,34(9):1371-1374.
- [63] VASCONCELLOS R L F, BONFIM J A, BARETTA D, et al. Arbuscular mycorrhizal fungi and glomalin-related soil protein as potential indicators of soil quality in a recuperation gradient of the Atlantic forest in Brazil [J]. *Land degradation & development*,2016,27(2):325-334.
- [64] ZHONG Z L, WANG W J, WANG Q, et al. Glomalin amount and compositional variation, and their associations with soil properties in farmland, northeastern china [J]. *Journal of plant nutrition and soil science*,2017,180(5):563-575.
- [65] 毕银丽. 丛枝菌根培养新技术及其对土地复垦生态效应 [M]. 北京:地质出版社,2007:74-75.
- [66] 张从. 不同退化梯度典型草原土壤团聚体和丛枝菌根真菌的变化规律 [D]. 北京:中国农业大学,2019.
- [67] LAL R. Soil carbon sequestration impacts on global climate change and food security [J]. *Science*,2004,304(5677):1623-1627.
- [68] ZHOU G Y, LUO Q, CHEN Y J, et al. Effects of livestock grazing on grassland carbon storage and release override impacts associated with global climate change [J]. *Global change biology*,2019,25(3):1119-1132.
- [69] 刘鸿飞. AMF 在撂荒植被演替过程中的生态效应及其对种间关系的影响机制 [D]. 杨凌:西北农林科技大学,2019.