

# 木麻黄组织抽提物对青枯菌生长的抑制作用及其与抗病性的关系\*

郭 权\*\* 梁子超

(林学系)

## 提 要

木麻黄 (*Casuarina sp.*) 组织的乙醇抽提物在琼脂平板上能抑制青枯菌 (*Pseudomonas solanacearum*) 生长, 抗病品系粗提物的抑菌活性均比感病品系粗提物的抑菌活性高。小枝粗提物的抑菌活性较高, 茎皮层、根粗提物的次之, 茎木质部粗提物的较低。接种青枯菌后 15 天内粗提物抑菌活性无显著变化。小枝粗提物不仅对 6 个青枯菌株的生长有抑制作用, 对水稻白叶枯菌 (*Xanthomonas campestris* Pv. *Oryzae*) 的生长也有显著抑制作用, 对柑桔溃疡病菌 (*Xanthomonas citri*) 的生长只有微弱抑制作用。初步化学分析表明粗提物成分包括有机酸、酚类、丹宁、还原糖、黄酮类和葸醌类等物质, 其中黄酮类是主要抑菌成分。

## 前 言

在植物抗病机理研究中, 对植物中的抗菌物质及其作用已有许多研究<sup>[8][17]</sup>, 但这些研究中有关细菌病害抗菌物质的不多, 涉及青枯假单胞菌 (*Pseudomonas solanacearum* E. F. Smith) 引起的青枯病抗菌物质的则更少。在青枯病的早期研究中, Smith (1920) 发现青枯菌在马铃薯切片上生长不良<sup>[19]</sup>。Akai 和 Kunieda (1955) 曾探讨茄瓜抗病植株中存在抑菌物质的可能, 并注意到抗病和感病茄瓜品种间在酚类化合物上有质的差异<sup>[10]</sup>。Averre 和 Kelman (1964)<sup>[7]</sup> 在研究烟草对青枯病的抗性时, 认为病菌入侵后诱发的“类植物抗毒素”是限制病害发展的一个因素。Pegg 和 Segueira (1968)<sup>[16]</sup>发现接种青枯菌后烟草内 L-苯丙氨酸等 4 种芳香族化合物以及酚类物质含量明显增加。但上述研究都未能找到直接的证据以证实对青枯病的抗性与任何特殊物质有关。Zalewski 和 Segueira (1973)<sup>[19]</sup> 证实了 Smith 的观察, 由此推测可能存在某种抑制青枯菌生长的物质, 并成功地把它们分离出来。不久前 Kawaguchi 等 (1981)<sup>[13]</sup> 也从草莓上分离出抗青枯菌物质, 证实其与抗病性有一定关系。

对已经过抗性鉴定的木麻黄 (*Casuarina sp.*) 品系的田间表现进行观察时, 我

\* 本文经范怀忠教授、周亮高研究员审阅, 本校电镜室孔宪扬、杨秉耀、赖红华老师协助制作扫描电镜照片, 广东农科院植保所霍超英同志提供部分菌种, 一并表示感谢。

\*\* 1981~1984年研究生

们发现抗病品种茎上由于病菌侵入而形成的条斑会自然愈合，而有些感病品种茎上的条斑则不能愈合；在一定条件下从这些植株中分离青枯菌，感病品种中毒性菌的比例比非毒性菌的大，而抗病品种中则相反，大部分或绝大部分是非毒性菌。抗病植株木质部虽然有大量菌脓溢出，但分离培养时，菌落在培养基上生长很慢，有时甚至长不出菌落。我们还发现木麻黄的小枝、根、茎等组织的水浸液在培养基平板上对青枯菌生长有不同程度的抑制作用。因此我们推测在木麻黄体内也可能存在某种抗菌物质。本研究的目的就是研究木麻黄组织抽提物对青枯菌的抑制作用，并进行一定的化学分析，从生化角度探索木麻黄抗青枯病的机理，寻找快速筛选抗病品种的途径，以便加快进行木麻黄选育抗病品种的工作。

## 材料与方法

### (一) 供试细菌

本研究所用木麻黄青枯菌的菌系和马铃薯及花生青枯菌的菌系均原存于华南农业大学林学系<sup>[4]</sup>，番茄青枯菌和水稻白叶枯菌 (*Xanthomonas campestris* PV. *Oryzae*) 来自广东农科院植保所，柑桔溃疡病菌 (*Xanthomonas citri* [Hasse] Dowson) 是作者分离的。所有青枯菌菌种均在室温下保存于无菌水中以减少突变<sup>[15]</sup>，接种及生物测定用菌均经在含有2、3、5—氯化三苯基四氮唑 (TTC) 的Kelman培养基<sup>[14]</sup> (蛋白胨1%，葡萄糖1%，水解乳蛋白0.1%，琼脂1.8%，再加上TTC0.005%) 上划线，32℃下培养48小时后根据流动性、颜色和菌落形态选取毒性型菌落扩大培养供接种和生物测定用。

### (二) 供试材料和接种方法

供试材料用木麻黄三个抗病品种，王<sub>1</sub>、王<sub>2</sub>和集<sub>1</sub>，中抗品种王<sub>3</sub>，中感品种王<sub>4</sub>，三个感病品种王<sub>5</sub>、集<sub>2</sub>和普木<sup>[5]</sup>。王<sub>3</sub>、王<sub>4</sub>和王<sub>5</sub>为同一半同胞子代，集<sub>1</sub>和集<sub>2</sub>也是同一半同胞子代。无性苗用小枝水插法<sup>[6]</sup>繁殖，出根后的小苗栽于直径25厘米、高15厘米的花盆中，每盆20株，置于露天，每日淋水1~2次，10个月后，用木麻黄青枯菌SC—2菌系<sup>[4]</sup>按改进的Winstead和Kelman的切根淋菌法<sup>[16]</sup>接种。菌液浓度 $1 \times 10^9$ 细菌/毫升 (用McFarland云度计比浊法测定)，接种量为每株淋菌液30毫升，为保证接种成功，还在每苗茎基注射菌液0.2毫升。接种后的苗木置于露天台上。每日淋水一次。接种和测试期间气温为26~35℃，相对湿度60~95%，光照周期约12小时。

### (三) 粗提物的提取

参照Zalewski和Segueira的方法<sup>[17]</sup>，称取新鲜植物组织50克，剪碎加入煮沸95%乙醇300毫升，冷却后在高速组织捣碎机中捣碎3分钟，过滤，剩渣再加入3倍量95%乙醇在单向热回流装置中提取4次，每次回流4~5小时，水浴恒温82±2℃所有过滤后的乙醇溶液合并，减压蒸发至干，剩余物悬浮于50毫升蒸馏水中，2500g离心30分钟，取上清液，减压蒸发至干，即得粗提物。粗提物溶于5毫升0.05M磷酸钾缓冲液(pH7.0)中，浓度相当于10克鲜重/毫升，粗提物经孔径0.8微米的玻璃微孔过滤器过滤灭菌备用。一个样本作1~3次提取，3次活性测定。

#### (四) 粗黄酮甙的提取

参照中国医学科学院药物研究所的方法<sup>[1]</sup>，50克新鲜植物材料经上述乙醇提取后，乙醇提取液减压蒸发至干，剩余物溶于50毫升蒸馏水中，加等量乙酸乙酯萃取3次，在分液漏斗中分层后，得乙酸乙酯相和水相液，乙酸乙酯相减压蒸发至干，剩余物即为粗黄酮甙，然后溶于2.5毫升0.05M磷酸钾缓冲液(pH7.0)中，浓度相当于10克鲜重/毫升，过滤灭菌备用；水相液同样减压蒸干，溶于2.5毫升上述缓冲液中，称为水相提取物(浓度同粗黄酮甙提取物)，过滤灭菌备用。

#### (五) 粗提物的生物活性测定

按照Zalewski和Sequeira的两种方法<sup>[18][20]</sup>测定粗提物的抑菌活性。一是琼脂平板孔穴扩散法：在直径9厘米、厚0.2厘米的Kelman培养基平板上先推一层SC—2菌液(浓度为 $5 \times 10^8$ 细菌/毫升，每平板0.1毫升)，等三角距离钻3个直径为0.7厘米的孔，每孔加入粗提物原液或稀释液0.05毫升，32℃下培养48小时，测定每孔周围抑菌带面积，粗提物抑菌活性以抑菌带平均面积(平方毫米)表示。二是液体培养比浊法：采用Zalewski和Saqueira设计的装置<sup>[20]</sup>，预先灭菌，然后每装置加入浓度为 $2 \times 10^8$ 细菌/毫升的SC—2菌液1毫升，各稀释度的粗提物、0.2M磷酸钾缓冲液(pH7.0)、Kelman液体培养基各1毫升，另外，以蒸馏水代替粗提物作为对照，32℃水浴振荡培养，每隔1~2小时用72型分光光度计在600毫微米波长下测定光密度(O. D. 值)，15小时后由光密度表示抑菌效果。

## 结 果

#### (一) 不同抗性品系粗提物的抑菌作用

不同抗性品系的全株粗提物的抑菌活性有明显差异，抗病品系王<sub>2</sub>全株粗提物(10克鲜重/毫升)抑菌带面积为576平方毫米，感病品系王<sub>7</sub>的为459平方毫米。不同抗性品系的不同部位粗提物抑菌活性也不同(表1)，抗病品系王<sub>1</sub>、王<sub>3</sub>和集<sub>1</sub>及中抗品系电<sub>3.1</sub>的小枝及茎粗提物的抑菌活性远大于感病品系王<sub>7</sub>、集<sub>2</sub>和普木及中感品系王<sub>1.0</sub>的相应粗提物的抑菌活性。对抗病与感病品系小枝、茎粗提物抑菌活性的差异进行F检查，F<sub>小枝</sub>=16.8，F<sub>茎</sub>=30.9，F<sub>0.01(1.6)</sub>=13.7，F<sub>0.005(1.6)</sub>=18.6，F<sub>茎</sub>>F<sub>0.05</sub>，F<sub>小枝</sub>>F<sub>0.01</sub>，这表明抗病品系小枝及茎粗提物的抑菌活性与感病品系相应组织粗提物的抑菌活性

表1 不同抗性品系(病圃2年半生苗)  
粗提物抑菌活性比较<sup>a</sup>

品系	病害 反应 <sup>b</sup>	32℃培养48小时后抑菌 带面积(平方毫米)	
		小枝粗提物	茎粗提物
王 <sub>3</sub>	抗	790	156
集 <sub>1</sub>	抗	749	142
王 <sub>1</sub>	抗	686	123
电 <sub>3.1</sub>	中抗	715	114
王 <sub>1.0</sub>	中感	567	55
王 <sub>7</sub>	感	601	84
集 <sub>2</sub>	感	593	62
普木	感	431	77

a. 1984年5月提取，浓度为10克鲜重/毫升

b. 根据梁子超等的材料<sup>[5]</sup>

之间均有极显著差异，茎的差异比小枝的差异大。相关分析表明：各品系小枝粗提物抑菌活性与发病率<sup>5</sup>有显著相关关系 ( $r = 0.7875 > r_{0.05} = 0.7067$ )，各品系茎粗提物抑菌活性与发病率有极显著相关关系 ( $r = 0.8345 > r_{0.01} = 0.8343$ )。同小枝粗提物相比，茎粗提物与抗病性的关系更为密切。

### (二) 植株不同部位粗提物的抑菌活性比较

对木麻黄植株各部位粗提物进行抑菌活性检查，发现它们之间有极大差异（表2），活性最高的部位是小枝，依次是茎皮层、根，最低的是茎部木质部。

### (三) 接种后不同品系粗提物抑菌活性的变化

为了查明木麻黄粗提物抑菌活性是否与病原菌的作用有关，两个品系王<sub>3</sub>和王<sub>1</sub>，接种青枯菌后2、5、10和15天进行小枝和茎提取并作活性测定。结果表明，接种前和接种15天内粗提物的抑菌活性略有变化，但基本在同一水平上。由表3可以看到，在接种前，木麻黄植株内就已存在活性很高的抑菌物质。接种后，抗病品系王<sub>3</sub>小枝、茎粗提物抑菌活性均略有上升，而感病品系王<sub>1</sub>粗提物抑菌活性却稍有下降，这些变化使接种前就存在的抑菌活性的差异变得更明显了。如接种前王<sub>3</sub>小枝粗提物和茎粗提物抑菌活性分别比王<sub>1</sub>相应粗提物抑菌活性大9.1%和43%，而接种后15天却分别大33%和50.7%。

### (四) 不同品系粗提物有效抑菌浓度

在Kelman固体培养基上，不同稀释度的粗提物通过琼脂渗透扩散产生不同的抑菌效果（表4）；在液体振荡培养中，根据光密度变化可以大致估计出粗提物的最低有效抑菌浓度。从图1可以看到各粗

表2 植株(病圃2年半生苗)不同部位粗提物抑菌活性比较\*

提取部位	32℃培养48小时后抑菌带面积 (平方毫米)		
	抗病品系 王 <sub>3</sub>	抗病品系 王 <sub>1</sub>	感病品系 王 <sub>10</sub>
小枝	705	686	607
茎皮层	201	143	59
根	77	64	39
茎基木质部	32	26	52
茎上端木质部	31	28	65

\*1984年6月提取，浓度为10克鲜重/毫升。

表3 接种P. solanacearum(SC-2)后植株(10个月生苗)粗提物抑菌活性变化\*

接种天数	32℃培养48小时后抑菌带面积 (平方毫米)			
	抗病品系 王, 小枝	感病品系 王, 小枝	抗病品系 王, 茎	感病品系 王, 茎
0	734	667	265	151
2	784	625	284	171
5	790	662	316	190
10	805	589	284	144
15	776	520	274	135

\*1984年8月提取，浓度为10克鲜重/毫升。

表4 不同品系粗提物不同稀释度的抑菌活性比较\*

稀释度	32℃培养48小时后抑菌带面积 (平方毫米)			
	抗病品系 王, 小枝	感病品系 王, 小枝	抗病品系 王, 茎	感病品系 王, 茎
1:1	734	667	265	151
1:2	528	463	95	53
1:4	290	206	35	24
1:8	141	132	17	10
1:12	—	—	10	0
1:16	91	60	0	0

\*未接种材料，1984年8月提取，原液浓度为10克鲜重/毫升。

提物最低有效稀释度，王<sub>3</sub>小枝在1:80以上，王<sub>7</sub>小枝时在1:80左右，王<sub>3</sub>茎在1:60以上，王<sub>7</sub>茎在1:60。若以各稀释液与细菌作用15小时后测得的光密度作抑菌活性计算，那么在接种前，王<sub>3</sub>小枝粗提物抑菌活性约为王<sub>7</sub>小枝的82~92%，王<sub>7</sub>茎的约为王<sub>3</sub>茎的81~91%，这样，对于浓度为10克鲜重/毫升的粗提物原液，王<sub>3</sub>小枝的最低有效稀释度约为1:90~100，王<sub>7</sub>小枝的约为1:80，王<sub>3</sub>茎的约为1:70~75，王<sub>7</sub>茎的约为1:60。也就是说，王<sub>3</sub>、王<sub>7</sub>小枝，王<sub>3</sub>、王<sub>7</sub>茎的最低有效抑菌浓度约分别为0.1、0.125、0.13和0.17克鲜重/毫升。

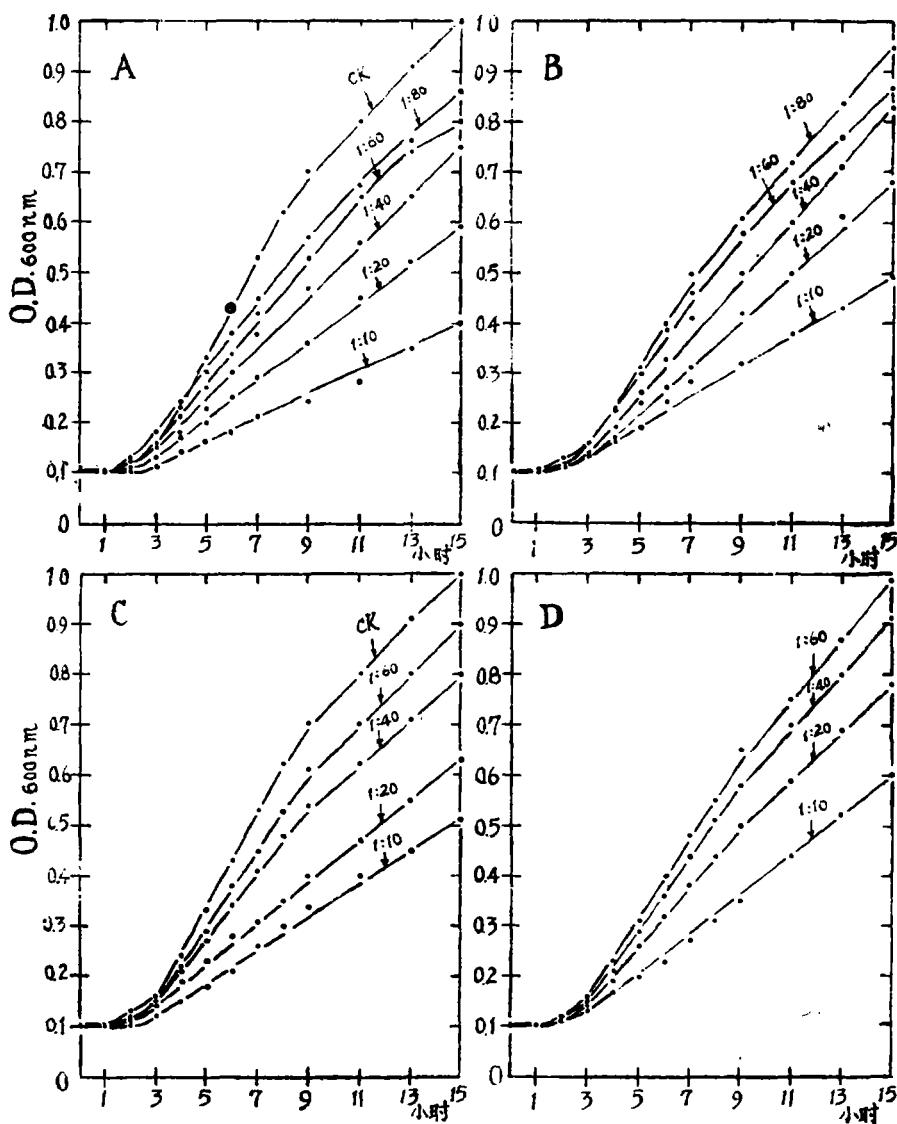


图1 不同品系粗提物不同稀释度对*Pseudomonas solanacearum* (SC-2) 在液体培养中的抑制作用。A) 王<sub>3</sub>小枝、B) 王<sub>7</sub>小枝、C) 王<sub>3</sub>茎、D) 王<sub>7</sub>茎、均未接种。

### (五) 粗提物对不同植物病原细菌的抑制作用

木麻黄粗提物对不同青枯菌菌系和一些植物病原细菌均有抑制作用，但抑制程度不同。对水稻白叶枯菌 (*X. campestris* PV. *Oryzae*) 的抑制作用最大，在32℃下培养48小时后抑菌带面积为900平方毫米；对木麻黄青枯菌SC—1、SC—2、番茄及花生青枯菌的抑制作用次之，抑菌带面积分别为705、734、710和672平方毫米；对SC—3和马铃薯青枯菌的抑制作用稍小，抑菌带面积分别为516和571平方毫米；对柑桔溃疡病菌 (*X. citri*) 的抑制作用极微，抑菌带面积仅为24平方毫米。由于参试的细菌有限，这些结果能否说明木麻黄抑菌物质的作用是非专化性、广谱性的，尚有待进一步试验。

### (六) 不同品系粗提物对青枯菌菌体形态及生长速度的影响

将培养48小时后平板抑菌圈内的细菌涂片，自然干燥，喷金膜后在扫描电子显微镜下观察，可以看到不同品系粗提物对青枯菌菌体形态影响的异同（图2）。首先，不同品系粗提物作用下的菌体，其体积均比不加粗提物正常培养的菌体略小；其次，王<sub>7</sub>小枝粗提物作用下的菌体其表面仍保持光滑完整，而王<sub>3</sub>小枝粗提物作用下的菌体其表面却变得稍为粗糙不平。

将抑菌圈内外的细菌分别移植到含TZA的Kelman培养基平板上，32℃下培养，原抑菌圈内的细菌能恢复生长，但生长较慢。来自王<sub>7</sub>小枝粗提物抑菌圈内的菌在18小时后可见菌落生长，王<sub>3</sub>小枝粗提物抑菌圈内的菌在24小时后才可见菌落生长，而来自抑菌圈外的菌在10小时后即可见明显菌落，生长迅速。所有移植菌在TZA培养基上最后均表现出毒性型菌落的各种特征。此外，在平板上粗提物与细菌直接接触产生的抑菌圈内的菌，在移植后96小时内未见菌落生长，这可能是高浓度粗提物使病菌丧失了生活力的缘故。上述情况均与从植株上直接分离的病菌在培养基上生长的情况相似。

### (七) 粗提物成分及主要抑菌成分

用鉴定中草药成分的预试验法<sup>3</sup>初步测定了粗提物的成分。粗提物酸碱度约为pH 3，在滤纸上点样后喷洒0.1%溴酚兰，兰色背景上显黄色斑点，这是含有机酸反应；与1%三氯化铁溶液作用显深兰色，这是含酚类物质反应；与0.5%明胶的10%氯化钠溶液作用产生白色沉淀，这是含丹宁反应；与Fehling's (碱性酒石酸铜)试剂作用产生棕色沉淀，碱化后与TZA作用产生红色沉淀，这是含还原糖等还原物质反应；与浓盐酸加镁粉水浴加热后显红色，这是含黄酮类物质反应；与碱性试剂(10%氢氧化钠)作用呈橙色，这是含蒽醌类物质反应。因此，粗提物成分可能包括有机酸、酚类、丹宁、还



图2 木麻黄粗提物作用下的 *P. solanacearum* (SC-2) 菌体形态 (扫描电镜照片, 均×10,000)。

A) 不加粗提物正常培养。B) 加王<sub>7</sub>小枝粗提物。C) 加王<sub>3</sub>小枝粗提物。

原糖、黄酮类、蒽醌类等多种大分子物质。

粗黄酮甙提取物对青枯菌有明显抑制作用，但抑菌活性低于按Zalewski和Segueira方法提取的粗提物（总粗提物）。抗病品系王<sub>3</sub>小枝总粗提物的抑菌活性为754平方毫米，粗黄酮甙的抑菌活性为520平方毫米，提取粗黄酮甙后剩下的水相提取物的抑菌活性为337平方毫米。由于粗黄酮甙的抑菌活性接近总粗提物的抑菌活性，故推测黄酮类是主要抑菌成分。

## 讨 论

Zalewski和Segueira<sup>[19][20]</sup>曾报道马铃薯抗病品系粗提物的抑菌活性和感病品系粗提物的抑菌活性之间存在的差异很大，达2~3倍。Kawaguchi等<sup>[13]</sup>也报道草莓感病幼苗粗提物抑菌活性较抗病成株粗提物抑菌活性为低。本研究的结果与上述报道结果大致相符，木麻黄抗病品系粗提物的抑菌活性较高，感病品系的较低，木麻黄组织粗提物的抑菌活性与对青枯病的抗性有关。

从木麻黄组织粗提物抑菌活性结果看，不论抗病品系或感病品系均存在抑菌物质，它们之间只存在数量上的差异，即抗病品系含有抗性物质多些，抑菌活性强些，而感病品系含抗性物质少些，抑菌活性弱些。木麻黄组织内含抗性物质要达到一定的数量，才能显著抑制病菌的生长，使植株表现为抗性。这一点与草莓青枯病的抗病性是一致的<sup>[13]</sup>。

以往对植物维管束病害抗性机理的研究多集中于根部和茎部，较少注意绿色的叶部<sup>[8]</sup>。在青枯病研究中，已知摘除叶子和遮阴会降低植株的抗性<sup>[10]</sup>。我们在室内和林区试验也观察到木麻黄绿色小枝与木麻黄抗病性有关，摘除小枝和遮阴会加速植株发病和死亡。对木麻黄植株不同部位粗提物进行抑菌活性检查（表2），发现小枝粗提物的抑菌活性较大，茎部木质部的抑菌活性较小，估计抑菌物质主要是在同化器官——小枝里合成，然后通过韧皮部输送到其它组织，如根、茎木质部等部位。青枯病的一个特点是病菌主要在维管束组织内繁殖为害，在皮层组织内为害较少。如果维管束组织内抑菌物质含量低，这是有利于病菌的生长繁殖的。强台风袭击后，广东沿海木麻黄青枯病往往大流行而造成大量树木死亡，对此过去的解释是台风暴雨扩大病菌的传播距离，并且给树木造成许多伤口，增加了病菌入侵的机会<sup>[2]</sup>。考虑到抑菌物质主要是在小枝内这一事实，我们认为台风后青枯病流行除了与病菌传播和侵入有关外，还可能与影响植株抗性的因素有关。台风把大量的小枝刮掉，就大大影响植株内抑菌物质的含量。从而大大降低植株对青枯病的抗性，导致病害大流行。

木麻黄抑菌物质含量在感染前后略有起伏，但无显著变化，可见木麻黄抑菌物质是感染前就存在于健康植株体内的天然物质，而不是感染后寄主与病菌的相互作用而产生的植物抗毒素。从图1—C、D看，木麻黄茎粗提物最低有效抑菌浓度在0.13~0.17克鲜重/毫升左右，这与马铃薯茎粗提物的最低有效抑菌浓度为0.2克鲜重/毫升<sup>[20]</sup>相似。

前人的许多研究<sup>[9][11][12]</sup>表明，丹宁、酚类、醌类、黄酮类等天然物质对大多数

的病原菌特别是病原真菌具有抑制作用，它们在植株中的含量与抗病性有一定关系。Zalewski和Segueira<sup>[20]</sup>研究马铃薯青枯病，认为抑菌物质的纯化是个特别困难的问题而没有鉴定马铃薯粗提物的成分和抑菌成分。Kawaguchi等<sup>[13]</sup>用柱层析和纸层析的方法分离鉴定出草莓中主要抑菌成分是β-D-葡萄糖没食子素(β-D-glucogallin)，这是属于酚酸甙类的物质。木麻黄粗提物的主要抑菌成分，经粗略分析认为是属于黄酮类物质，但可能还存在其它抑菌成分。由于试验的材料有限。工作只达一定限度，关于木麻黄对青枯病的抗性物质及其与青枯病的关系还有待进一步的研究。

根据本研究的结果，木麻黄抗病品种系王<sub>1</sub>和集<sub>1</sub>粗提物的抑菌活性极显著高于感病品种系王<sub>2</sub>、集<sub>2</sub>和普木。进一步筛选木麻黄抗青枯病品种系时，除了进行人工接种进行鉴定外，还可同时进行粗提物抑菌活性的测定，以便更快更准确筛选出抗病品种系。

### 参 考 文 献

- [1] 中国医学科学院药物研究所：《中草药有效成分的研究》，第一分册，提取、分离、鉴定和含量测定》，222，人民卫生出版社，1972年。
- [2] 北京林学院主编：《林木病理学》，147，农业出版社，1979年。
- [3] 肖崇厚：《中草药提取鉴定原理》，11—42，上海科学技术出版社，1983年。
- [4] 梁子超、陈小华：木麻黄青枯病菌小种和菌系的鉴定，《华南农学院学报》，3 (1) 1982：157—167。
- [5] 梁子超、陈小华：木麻黄抗青枯病品种系的筛选，《华南农学院学报》，5 (1) 1984：53—59。
- [6] 梁子超、岑炳沾：木麻黄抗青枯病植株小枝水培繁殖法，《林业科学》18(2) 1982：199—202。
- [7] Averre, C. W., Kelman, A. 1964 Severity of bacterial wilt as influenced by ratio of virulent to avirulent cells of *Pseudomonas solanacearum* in inoculum. *Phytopathol.* 54 : 779—783.
- [8] Beckman, C. H. 1964 Host responses to vascular infection. *Ann. Rev. phytopathol.* 2 : 231—252.
- [9] Bell, A. A. 1981 Biochemical mechanisms of disease resistance. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 32 : 21—81.
- [10] Buddenhagen, I., Kelman, A. 1964 Biological and physiological aspects of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Ann. Rev. Phytopathol.* 2 : 203—230.
- [11] Harborne, J. L. B., Ingham, J. L., King, L., Payne, M. 1976 The isopentenyl isoflavone luteone as a pre-infective antifungal agent in the genus *Lupinus*. *Phytochemistry* 15 : 1485—1487.
- [12] Hart, J. H., Hillis, W. E. 1974 Inhibition of wood-rotting fungi by stilbenes and other polyphenols in *Eucalyptus sideroxylon*. *Phytopathol.* 64 : 939—948.
- [13] Kawaguchi, K., et al. 1981 Studies on bacterial wilt of strawberry plants caused by *Pseudomonas solanacearum*. 2,6-D-Glucogallin, the antibacterial substance detected in the tissues of strawberry plants. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 47 : 520—527.

- [14] Kelman, A. 1954 The relationship of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a tetrazolium medium. *Phytopathol.* 44 : 693-695.
- [15] Kelman, A., Perron, L.H. 1961 Strains of *Pseudomonas solanacearum* differing in Pathogenicity to tobacco and peanut. *Phytopathol.* 51 : 158-161.
- [16] Pegg, G.F., sequeira, L. 1968 Stimulation of aromatic biosynthesis in tobacco plants infected by *Pseudomonas solanacearum*. *Phytopathol.* 58 : 476-483.
- [17] Schlosser, E. W. 1980 Preformed internal chemical defenses. In "Plant Disease. An Advanced Treatise" (J.G. Horsfall and E. B. Cowling eds.) vol 5, pp. 161-177, Academic press, New York.
- [18] Winstead, N., Kelman, A. 1952 Inoculation techniques for evaluating resistance to *Pseudomonas solanacearum*. *Phytopathol.* 42 : 628-634.
- [19] Zalewski, J.C., Sequeira, L. 1973 Inhibition of bacterial growth by extracts from potato tissues. *Phytopathol.* 63 : 942-944.
- [20] Zalewski, J. C., Sequeira, L. 1975 An antibacterial compound from *Solanum phureja* and its role in resistance to bacterial wilt. *phytopathol.* 65 : 1336-1341.

## INHIBITION OF BACTERIAL GROWTH BY EXTRACTS FROM BEEF WOOD TISSUES AND ITS RELATION TO BACTERIAL WILT RESISTANCE

Guo Quan

Liang Zichao

(Department of Forestry)

### ABSTRACT

Ethanolic extracts of assimilatory branch, stem and root tissues of *Casuarina sp.* inhibited growth of the Wilt-inducing bacterium, *Pseudomonas solanacearum*. Inhibitory activity was consistently higher in crude extracts from Wilt-resistant clones than from Wilt-susceptible clones. Inhibitory activity of extracts taken from assimilatory branches inhibited the growth of the bacteria most effectively, those from stem cortices and roots ranged next. Extracts from stem xylems showed a lower inhibitory activity as compared with those mentioned above. During the period of 15 days after inoculation, no significant change was observed in the inhibitory activity of crude extracts. The crude extracts from assimilatory branches not only inhibited the growth of *Pseudomonas solanacearum*, but also that of *Xanthomonas campestris* pv. *Oryzae*. The growth inhibition effect was less for *Xanthomonas citri*. Primary chemical analysis showed that the component of crude extracts might include organic acid, phenolic, tannin, reducing sugar, flavone, and anthraquinone, among which the flavone might be the major antibacterial component.