

利用根系分泌物与绿色荧光蛋白标记的病原菌互作关系鉴定香蕉对枯萎病的抗性

左存武^{1,2}, 孙清明¹, 黄秉智¹, 李春雨^{1,*}, 易干军^{1,*}

(¹广东省农业科学院果树研究所, 广州 510640; ²江西农业大学农学院, 南昌 330045)

摘要: 利用PEG-CaCl₂法将携带绿色荧光蛋白(sGFP)的表达载体pCT74 转化进香蕉枯萎病菌 4 号生理小种(CGMCCC 3.12196), sGFP在病原菌的菌丝及孢子的细胞质和细胞核内稳定表达。将sGFP标记的病原菌接种巴西蕉, 证明sGFP的导入未引起病原菌致病性发生改变。水培 9 个枯萎病抗性级别不同的香蕉品种, 分别收集根系分泌物, 生物测定其对sGFP标记的病原菌的抑菌作用。荧光显微镜观察结果表明: 高抗枯萎病的品种根系分泌物的有机成分对病原菌孢子有致死作用, 中抗品种的对病原菌孢子萌发、菌丝的生长有显著抑制作用, 相反感病品种的根系分泌物则能够起促进作用。

关键词: 香蕉; 香蕉枯萎病; 绿色荧光蛋白; 根系分泌物; 抗病性鉴定

中图分类号: S 668.1

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2010) 05-0713-08

Screening Method for Resistance to Fusarium Wilt of Banana Basing on Green Fluorescent Protein Tagged Pathogen and Root Exudates

ZUO Cun-wu^{1,2}, SUN Qing-ming¹, HUANG Bing-zhi¹, LI Chun-yu^{1,*}, and YI Gan-jun^{1,*}

(¹Institution of Fruit Tree Research, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China; ²College of Agronomy, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China)

Abstract: A green fluorescent protein (sGFP) tagged Foc4 strain was developed by the method of PEG-CaCl₂. The fluorescent signal was clearly visible in cytoplasm and nucleus of the hyphae and spores under the fluorescence microscopy. The transformed Foc retained its pathogenicity and growth patterns. Water culture of 9 banana cultivars with different resistance were performed for 15 days using 200 mL of sterile distilled water for each plantlet, and the root exudates were collected and bioassay for their effects on the GFP tagged Foc4. The results showed that the apolar fraction of the root exudates from the highly resistant cultivars could kill the pathogen. Those of the general resistant cultivars could inhibit the spore germination and hyphal growth, while the sensitive cultivars couldn't.

Key words: banana; fusarium wilt of banana; green fluorescent protein; root exudates; bioassay of resistance

由尖孢镰刀菌古巴专化型 *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* 引起的香蕉枯萎病 (Foc), 威胁着

收稿日期: 2009 - 12 - 20; **修回日期:** 2010 - 04 - 30

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30971991); 国家科技攻关计划 (2008BAD92B06); 农业部 '948' 项目 (2008-G1)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: lichunyu881@163.com; yiganjun@vip.163.com)

致谢: 感谢中国热带农业科学院环境与植物保护研究所的张欣博士在 sGFP 载体 pCT74 转化过程中给予的指导与帮助。

世界香蕉的生产 (Ploetz, 2005)。20 世纪, 1 号生理小种 (Foc1) 破坏了中美洲数千个香蕉园, 现在对世界范围内香蕉产业的发展造成毁灭性威胁的为 4 号生理小种 (Foc4), 已经导致中国台湾地区香蕉种植面积锐减为原来的十分之一。中国大陆地区种植的香(大)蕉中, 90%以上为易感Foc4 的香牙蕉品种, 2003 年发病面积已经达到 2 万 hm^2 , 并有迅速蔓延的趋势, 2007 年我国的香蕉产业更是因为香蕉枯萎病而遭受重创。迄今为止还没有研究出有效的化学、物理或生物防治措施 (Ploetz, 2004), 抗病育种被认为是最有效和最持久的选择 (Ploetz, 2004)。

现在人们正在通过杂交育种、体细胞突变筛选、转基因、种质资源收集和评价等途径获得抗性品种 (Hwang & Ko, 2004; 裴新梧和贾士荣, 2006)。目前中国香蕉种质资源圃收集了 300 余份种质, 逐一进行大田试验抗性评价要耗费大量的人力和物力, 且时间久。因此, 建立一个有效的抗性评价方法不仅能够解决这一问题, 而且能够加速育种进程。

1 材料与方法

1.1 供试香蕉品种

香蕉组培苗 2008 年取自“国家果树种质广州荔枝、香蕉圃”和广东省农业科学院果树研究所组培中心。供试 9 个香蕉品种(苗龄 5~6 片叶)按照对 Foc Race4 的抗性分为 3 类: 感病品种包括巴西蕉 (AAA)、广粉 1 号粉蕉 (ABB) 和大丰 2 号 (AAA); 高抗品种包括抗枯 5 号 (AAA) 和海贡 (AA); 中抗品种包括抗枯 1 号 (AAA)、东莞大蕉 (ABB)、中山大蕉 (ABB) 和广粉 2 号粉蕉 (ABB) (黄秉智 等, 2005)。

1.2 枯萎病菌的分离与孢子悬浮液的制备

病原菌材料 2007 年 10 月取自广州市南沙区万顷沙镇。从感病的巴西蕉假茎的病健交界处切取 5~6 mm 的组织, 利用 75%酒精和 0.1%升汞进行表面消毒, 然后用无菌水洗 3 次, 再将组织放到 PDA 平板上, 并在 28 °C 培养箱中培养 5~10 d。长出的枯萎病菌落经 3 次纯化后, 用稀释法进行单孢分离和培养。参照李敏慧等 (2007) 的方法鉴定生理小种, 鉴定出所分离的菌株为 4 号生理小种 (CGMCCC 3.12196)。

1.3 枯萎病菌原生质体的再生与GFP基因转化

sGFP 载体pCT74 (图 1) 由美国Ciuffetti博士惠赠 (Lorang et al., 2001), 转化主要是按Liat 等 (2003) 的方法进行: 将 1 mL菌丝悬浮液加入到 100 mL完全培养基中 (Tudzynski et al., 1996), 在 28 °C下振荡 ($200 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$) 培养 18 h, 3 层纱布过滤获得菌丝, 用 $0.8 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl溶液充分洗涤菌丝, 取 0.5 g菌丝体悬浮在酶混合溶液[0.5%脂肪酶 (Novozyme), 0.1%崩溃酶 (driselase), 0.01%几丁质酶 (chitinase)] 中 2~3 h, 转速 $100 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 直至释放出原生质体, 用冷 $0.8 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl溶液洗涤原生质体。最后用STC ($1.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ sorbitol; $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tris-HCl (pH 7.5); $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ CaCl_2) 稀释, 在光学显微镜下计数, 使原生质体终浓度为 5×10^7 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 。取 50 μL 原生质体, 加入 10 μg 线性质粒DNA和 50 μL 100% PEG6000, 混合后冰上放置 25 min。每管中加入 2 mL 100% PEG6000, 混合物在室温中反应 10 min, 然后用 4 mL的STC溶解, 将溶解于STC溶液的原生质体置于 100 mL的再生培养基 (每升含有 145.7 g甘露糖醇, 4 g酵母提取物, 1 g可溶性淀粉, 16 g琼脂) 中, 潮霉素B的终浓度为 $100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 培养基最后倒于 4 个培养皿中, 28 °C继续培养 4~8 d后观察结果, 长出的菌落为转化子, 共计 40 个, 利用荧光显微镜筛选得到 16 个表达绿色荧光蛋白的克隆, 编号为T1~T16。

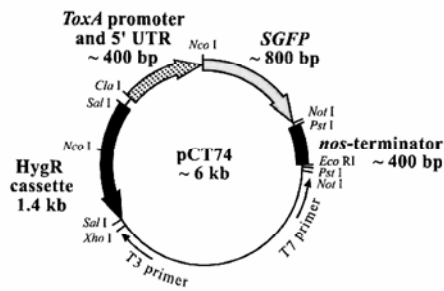


图1 pCT74 载体

Fig. 1 pCT74 vector

1.4 转化子致病性的鉴定

利用 PDB 液体培养基分别培养 T1 ~ T16, 伤根淋菌液法接种广粉 1 号粉蕉和巴西蕉, 鉴定转化是否导致病原菌致病性和生长形态发生变化。

1.5 转化子孢子悬浮液的制备

在 PDA 平板上接种转化子 T5, 28 °C 黑暗下培养 10 d 至长满整个培养皿, 将无菌水淹没整个培养基, 将孢子洗脱下来, 并利用 3 层无菌滤纸过滤掉菌丝。3 000 r · min⁻¹ 离心 10 min, 收集孢子, 并利用无菌水溶解至孢子悬浮液浓度为 10⁵ · mL⁻¹ (Stevenson et al., 1995)。离心之后用无菌水多次清洗, 反复离心去除培养基。

1.6 根系分泌物的制备和提取

每株供试香蕉组培苗用 150 mL 无菌双蒸水培养 15 d 后, 水分全部转移到三角瓶中, 再加入 150 mL 乙酸乙酯萃取过夜, 吸取有机相, 重复萃取 1 次, 合并有机相; 切取香蕉苗根系, 并称质量。

利用旋转蒸发仪将有机相挥发至干, 甲醇溶解, 使浓度为 1 g 根系 1 mL 甲醇, 再加入等体积的无菌水; 利用旋转蒸发仪将甲醇挥发干, 作为有机相; 对于剩余的水相, 5 000 r · min⁻¹ 离心 5 min, 弃沉淀, 留上清, 利用旋转蒸发仪也同时将水分挥发至 1 g 根系 1 mL 水的浓度。有机相和水相均作无菌过滤 (Stevenson et al., 1995)。

1.7 根系分泌物的生物测定

生物测定在无菌的 PCR 管和 PDA 培养基中进行。

每管加入 100 μL 根系分泌物和 50 μL T5 孢子悬浮液 (10⁶ · mL⁻¹), 混合均匀, 在 28 °C 黑暗下培养 24 h。每个反应 3 次重复。一部分用棉蓝固定液终止反应, 利用荧光显微镜观察 5 个视野孢子的萌发率; 另外一部分 72 h 后用棉蓝固定液终止反应, 观察菌丝的生长情况。将上述浓度的分泌物稀释 10 倍, 重复上述反应。对照为 100 μL 无菌双蒸水。

待新鲜配制的 PDA 培养基温度降至 60 °C 左右时, 加入等体积的根系分泌物有机相溶液, 充分混匀, 倒平板, 凝固后接种 T5 菌株, 以等体积的无菌双蒸水作为对照, 3 d 后测定菌落直径, 计算抑制率。抑制率计算公式为:

抑制率 (%) = (1 - D/W) × 100, D 为处理皿的菌落直径, W 为对照皿的菌落直径。

2 结果与分析

2.1 GFP转化与遗传稳定性分析

按照 Liat 等 (2003) 的转化方法能够有效地将 sGFP 载体转化进香蕉枯萎病菌 4 号生理小种中, 转化效率为 2 个转化子/每微克质粒 DNA, 共得到 40 个抗潮霉素 B 的转化子。利用荧光显微镜观察发现其中 40% 能够稳定地表达绿色荧光蛋白 (编号依次为 T1 ~ T16), 表达的部位是孢子和菌丝的细胞核和细胞质 (图 2)。

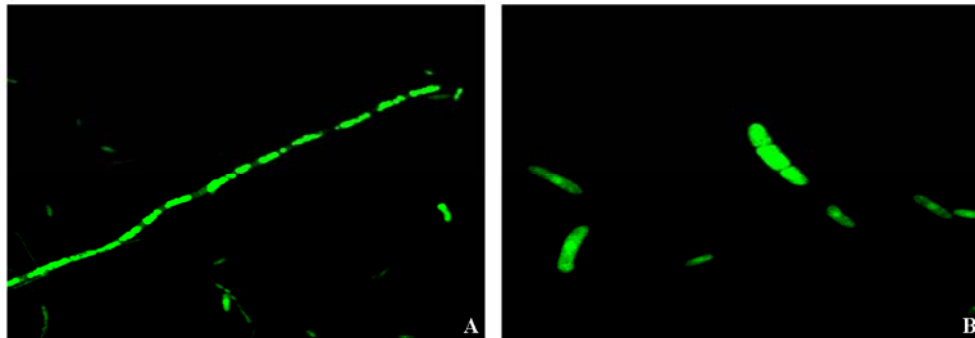


图 2 绿色荧光蛋白在转化子的菌丝 (A) 和孢子 (B) 中的表达

Fig. 2 Uniform expression of GFP in hyphae (A) and spores (B) of the transformed *F. oxysporum* f. sp. *cubense*

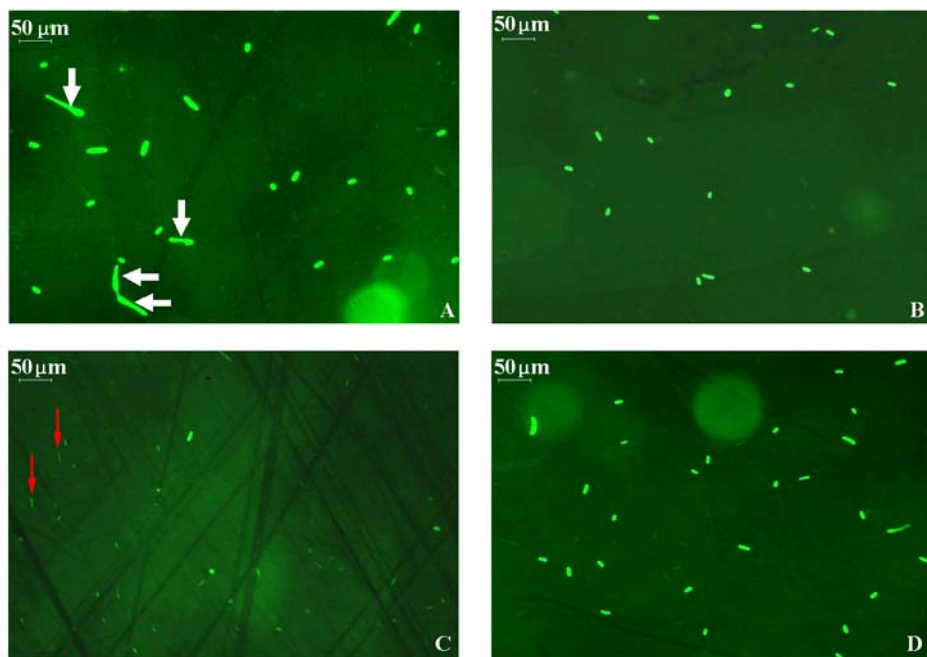


图 3 不同根系分泌物处理后 Foc Race4 的孢子萌发状态

A. 巴西蕉有机相 (白色箭头所示为萌发的孢子); B. 东莞大蕉有机相; C. 海贡有机相 (红色箭头所示为荧光淬灭的孢子); D. 空白对照。

Fig. 3 Categories of germination in the bioassays

A. The apolar fraction of Brazilian (AAA) (The white arrows indicate the germinated spores); B. The apolar fraction of Dongguan Dajiao (ABB); C. The apolar fraction of Haigong (AA) (The red arrows indicate the spores which could not germinate); D. Blank control.

在PDA培养基上观察T1~T16的形态，发现与对照相比较，T7生长速度较慢，气生菌丝生长不旺盛，其它转化子形态正常。利用伤根淋菌液接种法测定T1~T16的致病性，接种浓度为 $10^7\cdot\text{mL}^{-1}$ ，每个转化子接种30株巴西蕉组培苗，每次观察10株，共观察3次。结果表明：除T7没有致病能力外，其它转化子在接种10d后，利用荧光显微镜均能观察到孢子和菌丝对所有植株根系的吸附和侵染，侵染率为100%；20d后能肉眼观察到根系褐变、叶片出现黄斑、假茎组织变褐等症状，发病率为100%；30d后植株出现萎蔫、枯死，球茎组织1/2以上面积变褐或腐烂，假茎褐变，出现烂根，发病率为100%。

在含有或不含潮霉素B的PDA培养基上，连续继代（除T7外）6次，荧光均稳定表达。以下试验均以T5作为研究对象。

2.2 不同品种根系分泌物对孢子萌发的影响

高浓度（ $1\text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$ ）的香蕉根系分泌物与T5的孢子悬浮液进行反应，发现3类互作关系（图3和表1）。

第1类，根系分泌物促进孢子萌发（图3，A）。与对照（图3，D）相比较，有机相和水相均能促进T5孢子的萌发（图3，A），品种包括巴西蕉、广粉1号和大丰2号，根系分泌物促进孢子萌发的物质或者仅仅提供营养物质，还有待进一步研究。

第2类，根系分泌物抑制孢子萌发（图3，B），与对照和感病品种相比较，有机相能抑制T5孢子的萌发（图3，B），包括东莞大蕉、中山大蕉、抗枯1号及广粉2号，说明这些品种根系分泌了抑制孢子萌发的物质；对于水相，这些品种出现了不一致的结果，东莞大蕉、中山大蕉能够抑制孢子的萌发，而抗枯1号、广粉2号则没有这种作用（表1）。

第3类，根系分泌物对孢子有致死作用，有机相能够引起T5孢子绿色荧光的淬灭（图3，C），而水相能够完全抑制孢子的萌发，这样的品种包括海贡和抗枯5号，其中以前者作用尤为明显，说明它们的根系分泌物中含有杀菌的物质。

此外，研究还发现根系分泌物的抑菌和杀菌作用具有浓度依赖性，结果如表1所示。将上述根系分泌物稀释10倍，再与T5的孢子悬浮液进行反应，结果发现：东莞大蕉、中山大蕉的有少量的孢子萌发；海贡和抗枯5号的孢子存活的数量增加，但萌发率仍然是0；其它品种如巴西蕉、广粉1号和大丰2号等，孢子萌发率显著下降，可能与营养物质的浓度下降有关。

表 1 不同香蕉品种根系分泌物对 T5 的孢子萌发率的影响
Table 1 The effects of root exudates of different cultivars on spore germination of Foc T5 /%

品种 Cultivar	有机相 Apolar fraction		水相 Aqueous phase	
	原液 Original	10 倍稀释液 10-fold dilution	原液 Original	10 倍稀释液 10-fold dilution
大丰 2 号 Dafeng 2	25.40A	8.90B	16.10B	1.00DE
巴西 Brazilian	22.67B	10.57A	18.03A	10.10A
广粉 1 号 Guangfen 1	22.23B	11.17A	16.07B	6.07B
广粉 2 号 Guangfen 2	3.00C	3.17C	12.07C	2.97CDE
抗枯 1 号 Kangku 1	1.97C	2.77CD	10.97D	5.03BC
中山大蕉 Zhongshan Dajiao	0D	2.45D	0E	2.07CDE
东莞大蕉 Dongguan Dajiao	0D	3.00CD	0E	3.10BCD
海贡 Haigong	0D	0E	0E	0E
抗枯 5 号 Kangku 5	0D	0E	0E	0E
对照 Control	0D	0E	0E	0E

注：邓肯氏新复极差法检验，不同字母表示差异显著（ $P<0.01$ ）。
Note: The different letters in the same column indicate significant at $P<0.01$ level using Duncan's Multiple Range Test.

2.3 不同品种根系分泌物对菌丝生长的影响

以高浓度（1 mL · g⁻¹）的不同香蕉品种根系分泌物（包括水相和有机相）与表达绿色荧光蛋白的T5 孢子反应 72 h后，显微镜下观察菌丝的生长状态，发现感病品种巴西、广粉 1 号和大丰 2 号（图 4， A）的根系分泌物能够显著促进菌丝的生长，由于菌丝缠绕在一起，难以进行测量；但是，当稀释 10 倍后，菌丝的生长量显著减少（图 4， B），孢子平均生长量在 60 μm以上。在抗性品种中，海贡、抗枯 5 号、东莞大蕉和中山大蕉菌丝生长量为 0；抗枯 1 号和广粉 2 号有机相的菌丝平均生长量低于 1 μm，水相菌丝平均生长量在 30 μm左右；稀释 10 倍后，无论水相还是有机相，海贡、抗枯 5 号仍然为 0，其它抗性品种的菌丝平均生长量低于 1 μm。

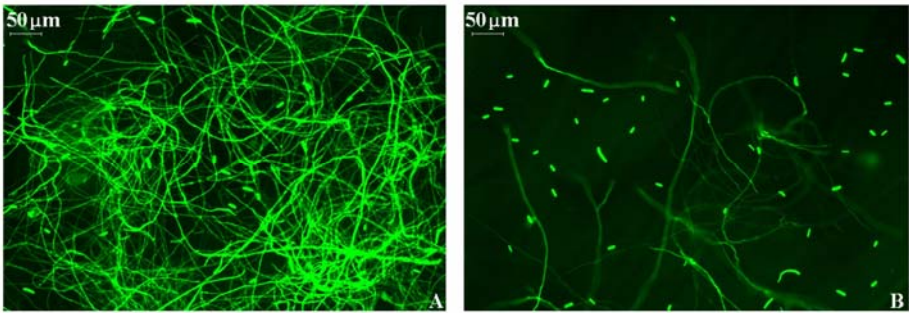


图 4 感病品种大丰 2 号根系分泌物对 T5 菌丝生长的影响

A. 感病品种分泌物的有机相； B. 感病品种根系分泌物的有机相 10 倍稀释液。

Fig.4 The effects of root exudates of the sensitive banana cultivars on hyphal growth of Foc-4

A. The apolar fraction of the root exudates of the sensitive banana cultivars;

B. 10-fold dilution of the root exudates of the sensitive banana cultivars.

2.4 不同品种根系分泌物对菌落生长的影响

测定了 3 个代表性品种根系分泌物对病原菌菌落生长的影响。结果（表 2）表明：巴西蕉的根系分泌物不仅不能抑制病原菌的生长，而且能够促进生长，7 d 后的菌落平均直径为 9.0 cm，明显大于对照(5.2 cm)；中山大蕉根系分泌物能够抑制病原菌生长，菌落平均直径为 2.4 cm，抑制率为 54%；海贡根系分泌物能够完全抑制病原菌，接种后，T5 菌株在 PDA 培养基上完全没有生长，抑制率 100%，进一步说明该品种能够分泌杀菌的物质。

表 2 不同抗性香蕉品种根系分泌物对 T5 菌落的影响

Table 2 The effects of root exudates of different banana cultivars on growth of Foc T5

香蕉品种 Cultivar	抗性 Resistance	菌落平均直径/cm Diameter of the T5	抑制率/% Inhibition ratio
巴西蕉 Brazilian	感病 Susceptibility	9.0	
中山大蕉 Zhongshan Dajiao	中抗 Moderate resistance	2.4	54
海贡 Haigong	高抗 High resistance	0.0	100
对照 Control		5.2	0

3 讨论

3.1 通过生物多样性实现对香蕉枯萎病的防控的可能性

香蕉枯萎病是一种毁灭性的病害，除了种植抗病品种之外，迄今尚无有效的防控措施。现有的

抗病品种还存在一些缺陷, 如贡蕉果实成熟易裂果、黄熟等; 抗枯 5 号生育周期比较长、产量低, 还不能在生产上大规模推广(黄秉智 等, 2005)。其它防治措施如化学防治(王芳 等, 2009)、生物防治(张志红 等, 2008)等还没有取得明显进展。本研究结果表明高抗枯萎病的品种海贡和抗枯 5 号的根系分泌物能够杀菌, 为通过利用生物多样性途径防治该病害提供了一条思路。目前本项目组已经在香蕉枯萎病疫区开展不同抗性水平品种的间作试验, 力求减少农药的应用, 实现对该病害的防治, 保护环境、保持生物多样性。

3.2 组成型和诱导型抗性

海贡、抗枯 5 号、抗枯 1 号、广粉 2 号、中山大蕉和东莞大蕉是抗尖孢镰刀菌古巴专化型 4 号生理小种的品种, 在这些品种的根系分泌物的有机相成分中出现了抗真菌成分, 但这些成分的作用不尽相同, 前两者有杀菌作用, 可以作为植物源杀菌剂进一步开发应用; 其它品种能够抑制孢子的萌发和菌丝的生长, 但无杀菌作用。这与这些品种在田间的抗病能力是一致的, 海贡和抗枯 5 号是高抗品种, 在重病区的发病率低于 3%; 抗枯 1 号、广粉 2 号等中抗品种的发病率在 10%以上, 属于中抗品种; 感病品种巴西蕉、广粉 1 号和大丰 2 号的根系分泌物能够显著促进孢子萌发、菌丝的生长说明为病原物的生长提供了营养成分, 至于其中是否有特殊的化感成分, 需要进一步研究。对照水的萌发率为 0, 是因为缺少病原菌孢子萌发、菌丝生长的所需要的营养物质。综上所述, 在没有受到损伤或经病原菌及其激发子诱导的情况下, 抗性品种的根系依然分泌抗真菌活性成分, 说明这种抗性是组成型而非诱导型的。

前人的研究集中在诱导型抗性, 是因为寄主的抗性可以通过病原菌的激发子(Ana et al., 2000)、吲哚乙酸(Marino, 2003)、维生素 K3(Borges et al., 2004)等所诱导产生。Ana 等(2000)发现抗性品种金手指香蕉在受到真菌激发子处理后, 在防御酶系统活性启动之前就出现木质素的大量累积, 而对于感病品种威廉斯, 累积的量非常少。目前研究表明, 与中抗品种相比较, 高抗品种能够忍受更高浓度的病原菌。是否中抗品种像感病品种一样缺乏诱导抗性, 有待进一步研究, 但是对于高抗品种来说, 两种抗性机制共同进化, 有助于控制病原菌。

3.3 抗性育种的筛选方法

科学家提出过多种抗病育种评价方法, 如过氧化物酶、多酚氧化酶等同工酶(Lagrimini & Rothstein, 1987; Morpurgo et al., 1994)、植物组织培养技术(Borges et al., 2004)、非特异性的毒素例如镰刀菌酸筛选法(Krikorian, 1990), 但是细胞或组织培养物对于直接暴露于病原菌或毒素非常敏感, 感病和抗病的材料都很容易死亡。目前最常用的一种鉴定方法是伤根淋菌液接种法(李敏慧 等, 2007)进行盆栽或直接在疫区大田种植, 但是由于土壤中病原菌分布不均匀, 经常对测定结果产生误差, 并且获得的结果时间也比较长。本研究发现, 抗病香蕉品种的根系分泌物能够显著抑制病原菌孢子的萌发和菌丝的生长, 而感病品种则能够促进孢子的萌发和菌丝的生长, 可以用于抗病育种的评价, 作为现有抗性评价方法的补充, 该方法优点是比较简单、快捷、直观, 适合于大规模筛选抗性品种。

References

- Ana R D C F, Ascensao D, Dubery I A. 2000. Panama disease: Cell wall reinforcement in banana roots in response to elicitors from *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* Race Four. *American Phytopathology Society*, 90 (10): 1173 - 1180.
- Borges A A, Borges-Pérez A, Fernández-Falcón M. 2004. Induced resistance to fusarial wilt of banana by menadione sodium bisulphite treatments. *Crop Protection*, 23: 1245 - 1247.

- Huang Bing-zhi, Xu Lin-bing, Yang Hu, Tang Xiao-lang, Wei Yue-rong, Qiu Ji-shui, Li Guan-qiu. 2005. Preliminary results of field evaluation of banana germplasm resistant to *Fusarium* wilt disease. *Guangdong Agricultural Science*, 6: 9 - 10. (in Chinese)
- 黄秉智, 许林兵, 杨 护, 唐小浪, 魏岳荣, 邱继水, 李贯球. 2005. 香蕉种质资源枯萎病抗性田间评价初报. *广东农业科学*, 6: 9 - 10.
- Hwang S, Ko W. 2004. Cavendish banana cultivars resistant to *Fusarium* wilt acquired through somaclonal variation in Taiwan. *Plant Disease*, 88: 580 - 588.
- Krikorian A D. 1990. Baseline studies and cell culture studies for use in banana improvement schemes in *Fusarium* wilt of banana//Ploetz R C. St Paul: APS Press: 127 - 133.
- Lagrimini L M, Rothstein. 1987. Tissue specificity of tobacco peroxidase isozymes and their induction by wounding and tobacco mosaic virus infection. *Plant Physiology*, 84: 438 - 442.
- Li Min-hui, Xi Ping-gen, Jiang Zi-de, Qi Pei-kun. 2007. Race identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, the causal agent of banana *Fusarium* wilt in Guangdong Province. *Journal of South China Agricultural University*, 28 (3): 38 - 41. (in Chinese)
- 李敏慧, 习平根, 姜子德, 戚佩坤. 2007. 广东香蕉枯萎病菌生理小种的鉴定. *华南农业大学学报*, 28 (3): 38 - 41.
- Liat O, Smadar E, David C, Amir S. 2003. Early events in the *Fusarium verticillioides*-maize interaction characterized by using a green fluorescent protein-expressing transgenic isolate. *Applied and Environmental Microbiology*, 69: 1695 - 1701.
- Lorang J M, Tuori R P, Martinez J P, Sawyer T L, Redman R S, Rollins J A, Wolpert T J, Johnson K B, Rodriguez R J, Dickman M B, Ciuffetti L M. 2001. Green fluorescent protein is lighting up fungal biology. *Applied and Environmental Microbiology*, 67: 1987 - 1994.
- Marino F F, Andres A B, Andres B P. 2003. Induced resistance to *Fusarium* wilt of banana by exogenous applications of indoleacetic acid. *Phytoprotection*, 84: 149 - 153.
- Morpurgo R, Lopato S V, Afza R, Novak F J. 1994. Selection parameters for resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 1 and race four on diploid banana (*Musa acuminata* Colla). *Euphytica*, 75: 121 - 129.
- Pei Xin-wu, Jia Shi-rong. 2006. Progress in genetic engineering of banana for fungal disease resistance. *Review of China Agricultural Science and Technology*, 8 (4): 1 - 7. (in Chinese)
- 裴新梧, 贾士荣. 2006. 香蕉抗真菌病基因工程策略. *中国农业科技导报*, 8 (4): 1 - 7.
- Ploetz R C. 2004. Diseases and pests: A review of their importance and management. *Infomusa*, 13 (2): 11 - 16.
- Ploetz R C. 2005. Panama disease, an old nemesis rears its ugly head. Part 2, The Cavendish era and beyond. APSnet Feature, URL: <http://www.apsnet.org/online/feature/panama>.
- Stevenson P C, Padgham D E, Haware M P. 1995. Root exudates associated with the resistance of four chickpea cultivars (*Cicer arietinum*) to two races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri*. *Plant Pathology*, 44: 686 - 694.
- Tudzynski B, Mende K, Weltring K M, Unkles S E, Kinghorn J R. 1996. The *Gibberella fujikuroi* *niaD* gene encoding nitrate reductase: Isolation, sequence, homologous transformation and electrophoretic karyotype location. *Microbiology*, 142: 533 - 539.
- Wang Fang, Li Jing, Hong Wen-xing. 2009. Antifungal activity of several fungicides to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* from banana. *Hubei Agricultural Sciences*, 48 (1): 100 - 101. (in Chinese)
- 王 芳, 李 静, 洪文兴. 2009. 几种杀菌剂对香蕉枯萎病菌的抑制作用. *湖北农业科学*, 48 (1): 100 - 101.
- Zhang Zhi-hong, Li Hua-xing, Wei Xiang-hua, Liu Xu, Peng Gui-xiang. 2008. Influence of biological fertilizers on banana wilt disease and microorganisms in soil. *Ecology and Environment*, 17 (6): 2421 - 2425. (in Chinese)
- 张志红, 李华兴, 韦翔华, 刘 序, 彭桂香. 2008. 生物肥料对香蕉枯萎病及土壤微生物的影响. *生态环境*, 17 (6): 2421 - 2425.