



文章编号: 1000-4025(2011)09-1834-06

# 酸黄瓜南方根结线虫病抗性与葫芦素 B 含量的关系

叶德友<sup>1,2</sup>, 钱春桃<sup>1</sup>, 陈劲枫<sup>1\*</sup>

(1 南京农业大学园艺学院 作物遗传与种质创新国家重点实验室, 南京 210095; 2 甘肃省农业科学院蔬菜研究所, 兰州 730070)

**摘要:** 采用高效液相色谱分析法, 通过测定 3 种不同抗性甜瓜属作物根系中葫芦素 B 含量的差异, 探讨酸黄瓜南方根结线虫病抗性与葫芦素 B 含量的关系。结果表明: (1) 接种根结线虫前, 供试材料根系中的葫芦素 B 含量以酸黄瓜的最高(1.31  $\mu\text{g/g}$ ), 非洲角次之(0.85  $\mu\text{g/g}$ ), 北京截头最低(0.35  $\mu\text{g/g}$ ), 表明酸黄瓜中葫芦素 B 的本体含量较高; 接种根结线虫后, 酸黄瓜、非洲角、北京截头根系中的葫芦素 B 含量升高至 3.88、2.67 和 0.49  $\mu\text{g/g}$ , 较相应未接种对照分别升高了 2.57、1.82 和 0.14  $\mu\text{g/g}$ , 表明酸黄瓜经线虫诱导后葫芦素 B 含量上升较大。(2) 酸黄瓜受线虫危害低于非洲角并显著低于北京截头, 说明酸黄瓜的抗线虫能力较强; 供试材料受害程度与葫芦素 B 含量相关性分析表明, 作物的抗线虫能力与根系中的葫芦素 B 含量呈正相关关系, 其含量越高, 抗性越强。研究认为, 酸黄瓜的高葫芦素 B 含量是其南方根结线虫病抗性的化学证据。

**关键词:** 酸黄瓜; 南方根结线虫; 抗病性; 葫芦素 B; 关系

中图分类号: Q945.79 文献标志码: A

## Relationships of Sour Cucumber Resistant to the Root-knot Nematode *Meloidogyne incognita* with Its Content of Cucurbitacin B

YE De-you<sup>1,2</sup>, QIAN Chun-tao<sup>1</sup>, CHEN Jin-feng<sup>1\*</sup>

(1 State Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Key Laboratory of Southern Vegetable Genetic Improvement, College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2 Institute of Vegetables, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730070, China)

**Abstract:** High performance liquid chromatography was used to study the relationships between resistance and content of cucurbitacin B in cucumber. The results showed that the highest content of cucurbitacin B in roots before inoculation is in sour cucumber (1.31  $\mu\text{g/g}$ ), followed by the Africa horned cucumber (0.85  $\mu\text{g/g}$ ) and the minimum Beijingjietou (0.35  $\mu\text{g/g}$ ), indicating that the ontology content of cucurbitacin B in sour cucumber were higher. The content of cucurbitacin B in sour cucumber, Africa horned and Beijingjietou were increased to 3.88, 2.67, 0.49  $\mu\text{g/g}$  and increased by 2.57, 1.82 and 0.14  $\mu\text{g/g}$  respectively, compared with the corresponding controls after inoculation, indicating the increased content of cucurbitacin B in sour cucumber is greater. The infected degree of sour cucumber is lower indicating its resistance is higher. The correlation analysis showed that there was positively correlation between nematode-resistant abilities of crops and the content of cucurbitacin B in roots, the higher its content, the stronger the resistance. The resistance in sour cucumber for its chemical aspects results from its higher levels of cucurbitacin B in roots.

①收稿日期: 2011-05-19; 修改稿收到日期: 2011-07-27

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(30830079); 国家自然科学基金(30972007, 31071801); 国家“863”项目(2010AA10Z108)

作者简介: 叶德友(1972-), 男, 博士, 主要从事蔬菜遗传育种与生物技术方面的研究。E-mail: ydy\_287\_my265@yahoo.com.cn

\* 通讯作者: 陈劲枫, 教授, 博士生导师, 主要从事蔬菜遗传育种与生物技术方面的研究。E-mail: jfchen@njau.edu.cn

**Key words:** sour cucumber; *Meloidogyne incognita*; resistance; cucurbitacin B; relationships

葫芦素(cucurbitacins)是一类四环三萜化合物,普遍存在于葫芦科(Cucurbitaceae)作物中。葫芦素共有 14 种,分别为葫芦素 A、B、C、...N,多以配糖体或葡萄糖甙的形式存在于植物体内。多数葫芦素含有苦味,对人及大多数动物均有毒害作用,被认为是防止或阻止动物对其伤害的化学生态物质<sup>[1]</sup>。黄瓜中的葫芦素主要为 B 和 C,其子叶中含有 B 和 C,叶片及植株中含有 C,而根系中只含有 B<sup>[2]</sup>。Talamy<sup>[3]</sup>发现,葫芦科植物遭瓜植食性瓢虫(*Epilachna borealis*)为害后,叶片中葫芦素 B 含量升高,从而使其对该瓢虫的适生性降低。张茂新等<sup>[4]</sup>研究认为,葫芦素 B 是影响美洲斑潜蝇(*Liriomyza sativae* Blanchard)寄主选择性的的重要因素之一。刘慧等<sup>[5]</sup>研究发现,黄足黄守瓜(*Aulcophora femoralis chinensis*)为害南瓜(*Cucurbita moschata*)后,其子叶中葫芦素 B 含量升高。上述研究说明,植物体内葫芦素 B 的含量高低与植物受害程度之间存在密切联系。

酸黄瓜(*Cucumis hystrix* Chakr.,  $2n=24$ )为原产中国云南的甜瓜属珍稀生物种<sup>[6]</sup>,抗病鉴定结果表明,酸黄瓜对南方根结线虫(*Meloidogyne incognita*)具有高度抗性<sup>[7-8]</sup>。酸黄瓜的南方根结线虫病抗性有其内在的影响机制。生理学机制研究表明,线虫侵染后,超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、苯丙氨酸解氨酶(PAL)等保护酶类活性发生改变,通过直接或间接编码木质素的生物合成而使细胞壁加厚,从而表现出抗病性<sup>[8]</sup>;解剖学及其细胞学研究表明,酸黄瓜南方根结线虫病抗性的主要特征表现为抗侵入、抑制取食和坏死反应<sup>[9]</sup>。根结线虫对寄主植物的选择性以及酸黄瓜对根结线虫的抗性程度与植物中葫芦素 B 含量的关系值得深入研究,这对深入了解线虫和植物的关系,探索线虫与寄主植物间的化学机制具有重要意义,同时为抗线虫材料选育、线虫控制新方法的研究提供依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

甜瓜属野生种酸黄瓜与非洲角(*C. metuliferus* Naud.,  $2n=24$ )高抗南方根结线虫,普通栽培黄瓜北京截头(*C. sativus* L.,  $2n=14$ )对南方根结线虫表现高感<sup>[7,10]</sup>,上述材料均为南京农业大学作物遗传与种质创新国家重点实验室黄瓜研究室提供。

### 1.2 育苗与接种

供试植物材料采用直播,将各参试材料播种在装有经高温灭菌(120℃, 1 h)的基质(泥炭土:蛭石=1:1)、规格为 15 cm × 10 cm 的盆钵中,待幼苗长到 3~4 片真叶时开始接种。接种采用卵液接种法,卵悬浮液的制备参照 Hussey 等<sup>[11]</sup>的方法,接种参照陈劲枫等<sup>[7]</sup>的方法,接种量为 2 000 个卵/株,每份材料各接种 15 株,3 次重复,完全随机设计,接种后进行正常的肥水管理。

### 1.3 试验仪器及供试标样

高效液相色谱仪(HPLC)使用日本岛津 LG-10ATVP 型,色谱柱为 C<sub>18</sub> 反相柱(Hypersil 5 μm, 4.60 mm × 250 mm)。葫芦素 B(cucurbitacin B, 简称 CuB)标准品购于上海海灿生物技术有限责任公司,纯度 98.83%。植物葫芦素 B 的提取、高效液相色谱流动相分别使用一级色谱纯甲醇与分析纯甲醇,均为上海星可生化有限公司提供,水为重蒸馏水。

### 1.4 葫芦素 B 含量的测定

准确称取葫芦素 B 标准品 1 mg,用 10 mL 的色谱纯甲醇溶解成 100 mg/L,再用逐步稀释法分别配制 10、8.75、7.5、6.25、5、3.75、2.5、1.25、0.625 mg/L 葫芦素 B 甲醇溶液,在高效液相色谱仪上测定相应色谱峰的保留时间和峰面积。以葫芦素 B 浓度( $x$ )为横坐标,以色谱峰面积( $y$ )为纵坐标,制作葫芦素 B 的标准曲线,并计算  $y$  与  $x$  之间的回归方程,然后用此回归方程计算供试植物材料中的葫芦素 B 含量。

葫芦素 B 采用冷浸法提取<sup>[12]</sup>,含量测定参照 Horie 等<sup>[13]</sup>的方法并略有改动。于接种后 30、40、50 d 对供试材料根系进行取样,同时取相应生长期的未接种材料作对照,样品经蒸馏水冲洗、剪碎后加液氮研磨,充分混匀后准确称取 1 g 粉末样品放入 20 mL 的广口瓶中,加 10 mL 甲醇浸泡 24 h,然后用 0.26 μm 有机相微孔滤膜过滤,备测。样品 HPLC 测定条件:流动相为甲醇-水(70:30),柱温 30℃,流速 1.0 mL/min,检测波长 228 nm,进样量 10 μL。

### 1.5 线虫危害程度统计

接种 8 周后调查统计每株根系的根结数和卵块数。根结数和卵块数的分级参照 Hartman 等<sup>[14]</sup>的方法,共分为 6 级:0 级表示没有根结或卵块,1 级为

1~ 2 个根结或卵块, 2 级为 3~ 10 个, 3 级为 11~ 30 个, 4 级为 31~ 100 个, 大于 100 个为 5 级; 根结指数和卵块指数的计算公式为:

$$G(E)I = \sum (r_i \cdot n_i) / N^{[15]}$$

式中  $GI$  为根结指数;  $EI$  为卵块指数,  $r_i$  为根结或卵块发病级别;  $n_i$  为相应病级级别的株数;  $i$  为根结或卵块分级的各个级别;  $N$  为调查总株数.

## 2 结果与分析

### 2.1 葫芦素 B 标样及标准曲线

图 1 显示出了标样中葫芦素 B 含量的 HPLC 全图. 在该色谱条件下, 葫芦素 B 主峰和其他成分峰均能完全分离, 且分离度较好, 表明供试标样纯度较高, 符合标样要求. 通过测定计算, 葫芦素 B 浓度 ( $x$ ) 与峰面积 ( $y$ ) 之间的回归方程为  $y = 106.101x - 28.573$ , 其相关系数  $r = 0.9999$ , 表明葫芦素 B 不同浓度与峰面积之间具有良好的线性关系(图 2).

### 2.2 供试材料中葫芦素 B 含量差异

图 3 显示出了北京截头 (A、B)、非洲角 (C、D) 及酸黄瓜 (E、F) 接种前、后根系中葫芦素 B 含量的 HPLC

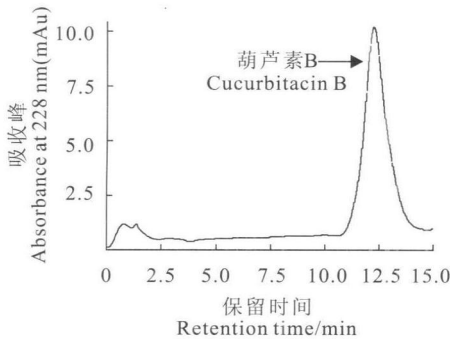


图 1 标样中葫芦素 B 含量的 HPLC 图  
Fig. 1 HPLC separation of cucurbitacin B in samples marker

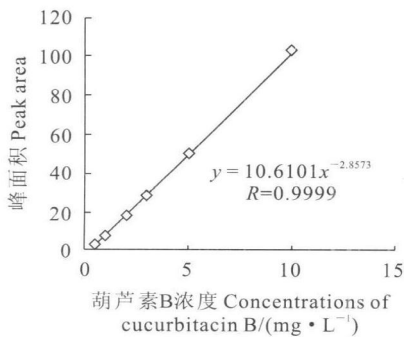


图 2 标样葫芦素 B 浓度 ( $x$ ) 与峰面积 ( $y$ ) 之间的标准曲线  
Fig. 2 The standard curve and regression equation between concentrations of cucurbitacin B ( $x$ ) and peak area ( $y$ )

全图. 如图所示, 各材料中波峰出现及保留时间均为 12.5 min, 且分离较好, 表明本实验采取的方法完全能够满足提取及分离葫芦素 B 的要求. 将葫芦素 B 的 HPLC 峰面积代入上述回归方程, 分别求出不同材料根系中葫芦素 B 的含量(表 1), 从表 1 可以看出不同种类接种前后根系中的葫芦素 B 含量存在明显差异. 接种前, 3 种材料根系中的葫芦素 B 含量高低依次为酸黄瓜 > 非洲角 > 北京截头, 其中酸黄瓜与非洲角根系中的葫芦素 B 含量显著

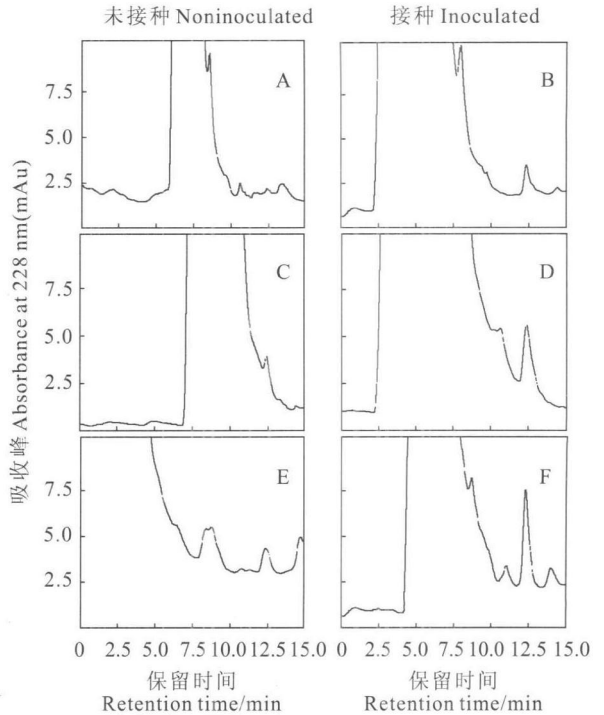


图 3 北京截头 (A、B)、非洲角 (C、D) 及酸黄瓜 (E、F) 接种前、后根系中葫芦素 B 含量的 HPLC 图

Fig. 3 The content of cucurbitacin B on HPLC in roots of Beijingjietou (A, B), the Africa horned (C, D) and sour cucumber (E, F) before and after inoculation

表 1 3 种甜瓜属植物根系中的葫芦素 B 含量

Table 1 The contents of cucurbitacin B in roots of three *Cucumis* species

基因型 Genotype	根系葫芦素 B 含量 Content of cucurbitacin B in roots/( $\mu\text{g/g}$ fwt)	
	未接种 Noninoculated	接种 Inoculated
北京截头 Beijingjietou	0.35 ± 0.02a	0.49 ± 0.04a
非洲角 Africa horned	0.85 ± 0.08b	2.67 ± 0.15b
酸黄瓜 Sour cucumber	1.31 ± 0.11bc	3.88 ± 0.23bc

注: 表中数据为 3 次重复的平均值 ± 标准误, 同列数据后不同小写字母, 表示差异显著 ( $P < 0.05$ ).

Note: Data in the table were means ± SD of three repetitions. Column data with the different normal letter indicate significant difference at 0.05 level.

高于北京截头 ( $P < 0.05$ ), 但酸黄瓜与非洲角之间差异不显著 ( $P > 0.05$ ). 接种后, 3 种材料根系中的葫芦素 B 含量均升高, 北京截头、非洲角、酸黄瓜较相应未接种对照分别升高了 40%、214% 和 198%, 其中北京截头升高幅度较小 ( $P > 0.05$ ), 而非洲角、酸黄瓜升高幅度较大, 且接种后二者根系中的葫芦素 B 含量均极显著高于北京截头及相应未接种对照 ( $P < 0.05$ ), 虽然非洲角升高幅度高于酸黄瓜, 但根系中的葫芦素 B 含量仍表现为酸黄瓜高于非洲角 ( $P > 0.05$ ), 说明酸黄瓜经线虫诱导后葫芦素 B 含量也较高.

### 2.3 3 种不同抗性甜瓜属作物受害程度与葫芦素 B 含量的关系

根结指数与卵块指数是衡量作物受根结线虫危害程度的重要指标. 图 4 表明, 根结指数与卵块指数均表现为北京截头显著高于非洲角与酸黄瓜 ( $P < 0.05$ ), 而后两者之间无明显差异 ( $P > 0.05$ ), 表明酸黄瓜与非洲角受线虫危害程度要低于北京截头. 随着侵染时间的延长, 供试材料的根结指数增大, 北京截头、非洲角、酸黄瓜最大增幅分别为 5.48%、6.04% 和 5.46%, 变化幅度较小且各品种间变幅差异不大 ( $P > 0.05$ ); 卵块指数减小, 北京截头、非洲角、酸黄瓜减小幅度分别为 27.53%、23.44% 和 23.68%, 变化幅度较大但品种间变幅差异不大 ( $P > 0.05$ ), 表明线虫的重复侵染并未引起根结指数的明显增加, 而使卵块指数显著降低. 在整个侵染期内, 3 种作物根系中的葫芦素 B 含量均增加, 但增加幅度存在明显差异 (图 5). 北京截头、非洲角、酸黄瓜增幅分别为 13.51%、23.86% 和 42.27%, 其增幅大小依次为酸黄瓜 > 非洲角 > 北京截头, 葫芦素 B

含量增加幅度表现为抗病材料(非洲角和酸黄瓜)显著高于感病材料(北京截头), 且酸黄瓜增幅明显高于非洲角.

对供试材料根系中的葫芦素 B 含量与其根结指数进行相关性分析(图 6, A), 结果表明不同植物根系中的葫芦素 B 含量与其根结指数呈显著负相关 ( $r = -0.9531$ ), 说明根系中的葫芦素 B 含量越高, 根结指数越小; 从图 6, B 可以看出, 供试材料根系中葫芦素 B 的含量与其卵块指数也呈负相关的趋势, 其相关系数  $r$  为  $-0.9665$ , 相关性显著, 说明根系中的葫芦素 B 含量越高, 卵块指数越小. 以上分析结果表明, 随着线虫侵染时间的延长, 根系中的葫芦素 B 含量增加, 根结指数与卵块指数减小, 说明作物的抗线虫能力与根系中的葫芦素 B 含量呈正相关的趋势, 其含量越高, 抗性越强, 反之亦然.

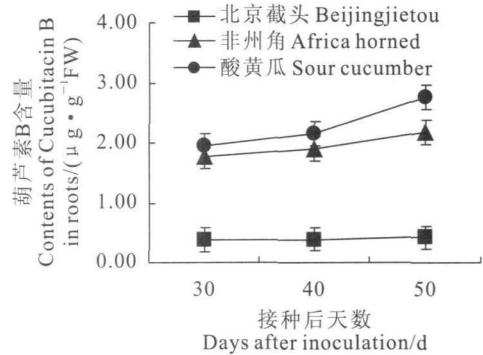


图 5 3 种甜瓜属作物线虫侵染期内根系中葫芦素 B 含量的动态变化  
Fig. 5 Dynamic changes of cucurbitacin B contents in roots of three *Cucumis* species during nematode infection

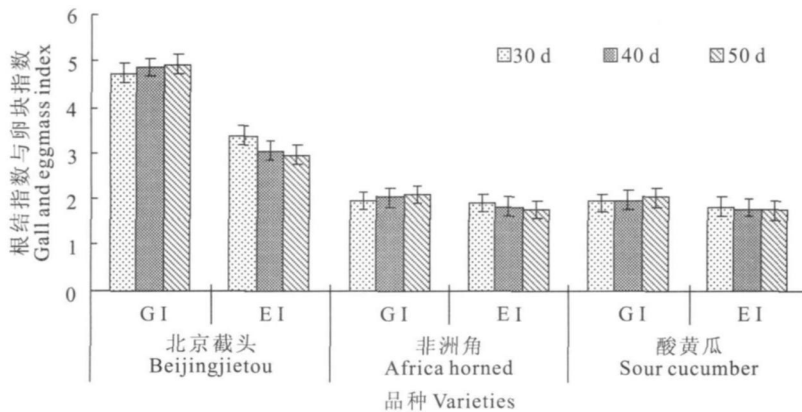


图 4 3 种甜瓜属作物线虫侵染期内根结指数与卵块指数的差异  
Fig. 4 Difference in GI and EI of three *Cucumis* species during nematode infection

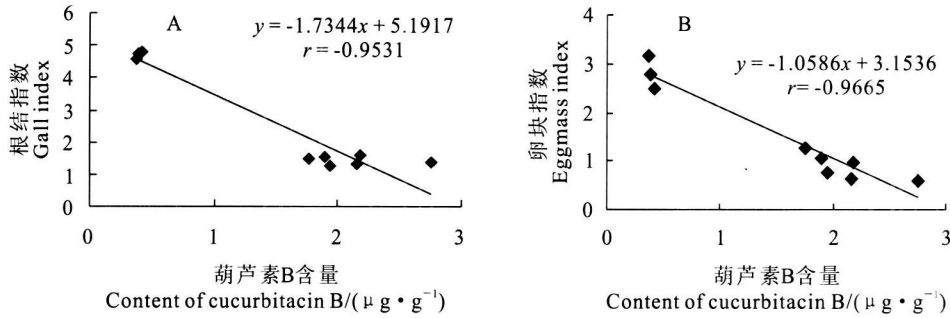


图 6 根系中葫芦素 B 含量与根结指数(A)、卵块指数(B)的相关性分析

Fig. 6 Correlation between GI (A), EI (B) and cucurbitacin B content

### 3 讨论

葫芦素是目前已知最苦的化合物,除黄瓜甲虫外,对多数无脊椎和脊椎食草动物有剧毒。葫芦素在甜瓜属(*Cucumis*)、西瓜属(*Citrullus*)、西葫芦属(*Cucurbita*)和葫芦属(*Lagenaria*)植物中的合成受一个单独的显性基因 *Bi* 控制,含有 *Bi* 基因的黄瓜品种被二斑叶螨(*Tetranychus urticae*)为害后可产生诱导抗性,其体内的葫芦素含量明显增加,对二斑叶螨的抗性也明显增强<sup>[16-17]</sup>。前人研究表明,葫芦素在生态系统中作为异源化学信息素(allomones)起到保护葫芦科植物免受众多植食性动物和病原菌的侵害<sup>[17-18]</sup>。葫芦素含量高的香瓜品系遭受镰刀菌 *Fusarium* sp. 为害轻,与镰刀菌为害造成的枯萎率成负相关<sup>[19]</sup>。Haynes 等<sup>[20]</sup>研究了葫芦素与黄瓜南方根结线虫的关系,发现从根结指数和植株活力来看,根结线虫对植株的危害程度与植株中是否含葫芦素关系不大,但无苦味植株根际产生显著多的虫卵,因此他们推论葫芦素对根结线虫有排斥性。本研究中,HPLC 分析表明,供试不同抗性材料中的葫芦素 B 含量存在明显差异,抗病材料酸黄瓜与非洲角

中的葫芦素 B 含量极显著高于感病材料北京街头,说明葫芦素 B 含量与根结线虫抗性之间存在密切联系。对作物受害程度与其葫芦素 B 含量进行相关性研究分析表明,作物的抗线虫能力与根系中的葫芦素 B 含量呈正相关的关系,其含量越高,抗性越强。

葫芦素 B 是黄瓜对根结线虫取食的一种重要的化学响应物质,在黄瓜受到根结线虫感染后其含量增加,高剂量的葫芦素抑制了根结线虫的取食<sup>[21]</sup>。有研究认为葫芦素 B 只在线虫移动过的受感染的细胞内积累,葫芦素 B 能够引起组织褐变进而影响线虫的代谢,从而引起抗线虫反应<sup>[20]</sup>。抗病材料酸黄瓜根系中的葫芦素 B 含量较高,受线虫感染后含量大幅增加,可能通过葫芦素 B 创造的毒性环境影响了线虫的侵入、取食及繁殖,从而使酸黄瓜表现出抗线虫能力。因此,葫芦素 B 含量高低可作为甜瓜属作物根结线虫抗性强弱的依据之一,并以此建立甜瓜属不同作物品系葫芦素 B 含量和抗线虫性强弱之间的数学模型,从而指导和评价抗线虫品种的选育。此外,葫芦素 B 可能在鉴定其他葫芦科抗性资源中也具有重要作用。

### 参考文献:

- [1] GORSKI P M, JAWORSKI A, SHANNON S, *et al.* Rapid TLC and HPLC quantification of cucurbitacin C in cucumber cotyledons[J]. *Hortscience*, 1986, 21: 1034- 1036.
- [2] RICE C A, RYMAL K S, CHAM BLISS O L, *et al.* Chromatographic and mass spectral analysis of cucurbitacins of three *Cucumis sativus* cultivars[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1981, 29: 194- 196.
- [3] TALLAMY D W. Squash beetle feeding behavior: an adaptation against induced cucurbit defence[J]. *Ecology*, 1985, 66: 1 574- 1 579.
- [4] ZHANG M X (张茂新), LING B (凌冰), ZENG L (曾玲), *et al.* Effect of cucurbitacin B in leaves from six plants species on plant selectivity of the leaf miner, *Liriomyza sativae*[J]. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报), 2004, 24(11): 2 564- 2 568 (in Chinese).
- [5] LIU H (刘慧), XU Z F (许再福), HUANG SH SH (黄寿山). Comparing on the inducing cucurbitacin B content in cotyledon of squash aroused by *Aulcophora femoralis chinensis* (Coleoptera: Chrysomelidae) and mechanical damage[J]. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报),

- 2007, **27**(12): 5 421– 5 426(in Chinese).
- [6] CHEN J F, ZHANG S, ZHANG X. The Xishuangbanna gourd, a traditional cultivated plant of the Hanai people, Xishuangbanna, Yunnan, China[J]. *Cucurbit Genetic Cooperative Report*, 1994, 17: 18– 20.
- [7] CHEN J F(陈劲枫), LIN M S(林茂松), QIAN CH T(钱春桃), *et al.* Identification of *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood resistance in *Cucumis hystrix* Chakr. and the progenies of its interspecific hybrid with cucumber (*C. sativus* L.)[J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*(南京农业大学学报), 2001, **24**(1): 21– 24(in Chinese).
- [8] YE D Y(叶德友), QIAN CH T(钱春桃), JIA Y Y(贾媛媛), *et al.* Cucumber and its related species for resistance to the southern root-knot nematode *Meloidogyne incognita* and respond to changes of enzymes[J]. *Acta Horticulturae Sinica*(园艺学报), 2009, **36**(12): 1 755 – 1 760(in Chinese).
- [9] YE D Y(叶德友), WANG X(王 暄), ZHANG Y X(张燕霞), *et al.* Anatomy and cytology of sour cucumber for its resistance to the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*[J]. *Acta Phytopathologica Sinica*(植物病理学报), 2010, **40**(5): 495– 503(in Chinese).
- [10] WALTERS S A, WEHNER T C. Incompatibility in diploid and tetraploid crosses of *Cucumis sativus* and *Cucumis meluliferus*[J]. *Euphytica*, 2002, 128: 371– 374.
- [11] HUSSEY R S, BARKER K R. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique[J]. *Plant Disease Report*, 1973, 57: 1 025– 1 028.
- [12] FENG X S(冯雪松), WANG D CH(王大成), CAI H(蔡 辉), *et al.* Determination of the cucurbitacins from *Cucubita pepo* cv *dayan-gua* by HPLC[J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*(中药材), 2007, **30**(4): 418– 420(in Chinese).
- [13] HIDEKI H, HIDEKAZU I, KATSUNARI I, *et al.* cucurbitacin G-bitter principle in cucumber plants[J]. *JARQ*, 2007, **41**(1), 65– 68.
- [14] HARTMAN K M, SASSER J N. Identification of *Meloidogyne* species on the basis of differential host and perineal pattern morphology [M]//BARKER K R, CARTER C C, SASSER J N. An advanced treatise on *Meloidogyne*, Vol. II: *Methodology*. Raleigh: North Carolina State Univ, Graphics, 1985: 69– 77.
- [15] POWELL N T, MELENDEZ P L, BATTEN C K. Disease complexes in tobacco involving *Meloidogyne incognita* and certain soil-borne fungi[J]. *Phytopathology*, 1971, 61: 1 322– 1 337.
- [16] AGRAWAL A A, GORSKI P M, TALLAMY D W. Polymorphism in plant defense against herbivory: constitutive and induced resistance in *Cucumis sativus*[J]. *Journal of Chemical Ecology*, 1999, **25**(10): 2 285– 2 304.
- [17] BALKEMA-BOOMSTRA A G, ZIJLSTRA S, VERSTAPPEN F W A, *et al.* Role of cucurbitacin C resistance to spidermite (*Tetranychus urticae*) in cucumber (*Cucumis sativus* L.)[J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2003, **29**(1): 225– 235.
- [18] TALLAMY D W, WHITTINGTON D P, DEFURIO F, *et al.* Sequestered cucurbitacins and pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* (Moniliales: Moniliaceae) on spotted cucumber beetle eggs and larvae (Coleoptera: Chrysomelidae)[J]. *Environmental Entomology*, 1998, **27**(2): 366– 372.
- [19] KESAVAN R, PRASAD N N. Correlation between crude cucurbitacin content in certain muskmelon varieties and *Fusarium* wilt incidence[J]. *Indian Journal of Experimental Biology*, 1974, 12: 476– 477.
- [20] HAYNES R L, JONES C M. Effects of the *Bi* locus in cucumber on reproduction, attraction, and response of the plant to infection by the southern root-knot nematode[J]. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 1976, **101**(4): 422– 424.
- [21] BLACKFORD M, DINAN L. The effects of ingested ecdysteroid agonists (20-hydroxyecdysone, RH 5849 and RH 5992) and an ecdysteroid antagonist (cucurbitacin B) on larval development of two polyphagous lepidopterans (*Acherontia atropos* and *Lacanobia oleracea*) [J]. *Entomologia Experimentalist Applicata*, 1997, **83**(3): 263– 276.