

# 生防芽孢杆菌对半夏根际土壤酶活性及产量的影响<sup>①</sup>

闫 杨<sup>1</sup> 刘月静<sup>1</sup> 李晓静<sup>1</sup> 韩 军<sup>2</sup> 陈 芳<sup>1</sup>

(1.聊城大学 药学院,山东 聊城 252059;2.聊城大学 生物制药研究院,山东 聊城 252059)

**摘 要** 采用大田实验的方法,研究三株对植物枯萎病具有较强抑制作用的 *Bacillus subtilis* B579、*Bacillus amyloliquefaciens* 9-2、*Bacillus subtilis* 2-1 三株菌对半夏根际土壤关键酶活性的影响. 研究表明,生防菌的施入能显著提高半夏根际土壤中过氧化氢酶、碱性磷酸酶、脲酶和几丁质酶等 4 种与土壤肥力相关的酶活性,且施入生防菌处理组的产量相比对照组和空白组明显较高.

**关键词** 生防菌;土壤酶活性;促生作用;产量

**中图分类号** TQ458

**文献标识码** A

半夏(*Pinellia ternata* (Thunb.) Breit.)为天南星科半夏属多年生草本植物,别名三叶半夏、早半夏等,以块茎入药,具有燥湿化痰、消痞散结的功效<sup>[1]</sup>,被广泛应用于各种中药处方中,历版《中国药典》均有记载. 目前所使用的半夏主要是人工种植的<sup>[2]</sup>,调查研究发现,在栽培过程中无法控制半夏的产量与质量,而且病害严重,经济影响较大<sup>[3]</sup>. 植物根腐病是由真菌或细菌引起的一种土传病害,发病突然,危及大多数重要的经济作物,使其减产甚至绝产,在植物种植过程中危害严重<sup>[4]</sup>. 而在半夏种植过程中防治根腐病时施用化学农药虽有防治效果,但其价格昂贵,而且长期使用会增加病原菌的抗性并造成环境污染<sup>[5]</sup>.

土壤是农业生态系统中的枢纽<sup>[6]</sup>,负责物质与能量交换,而土壤酶是土壤中一类具有高度催化作用的蛋白质,主导着与物质和能量转化有关的生物化学过程<sup>[7]</sup>. 而土壤酶的生物活性指标一直是土壤酶学研究的重点,同时也是土壤微生态效应研究的主要方向和领域<sup>[8-11]</sup>. 芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)是一类好氧和兼性厌氧的革兰氏阳性菌<sup>[12]</sup>,对植物生长具有促进作用,可以将物质转化为营养成分供给植物或者刺激土壤中微生物的繁殖以增强土壤肥力,有利于植物的生长发育<sup>[13]</sup>,且对于防治植物根腐病效果较好. 前期研究表明<sup>[14-16]</sup>,三株生防菌的施入不仅具有防病促生长的作用,同时还能影响根际土壤中的关键酶活性. 因此,本研究将对半夏生长过程中 4 种关键土壤酶进行动态监测,进一步揭示施加生防芽孢杆菌后对半夏根际土壤中酶活性的影响.

生防菌的施入对作物的产量有着较为明显的提高作用,施洁君、罗俊等<sup>[17,18]</sup>的研究表明生防菌可提高作物产量. 因此本研究在半夏生长周期结束后,统计不同处理组的半夏产量,揭示生防菌对半夏产量的影响,为今后生防芽孢杆菌菌株在农业生产中的作用提供理论依据.

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 土样. 山东省聊城市上林苑中药材种植基地半夏种植区土壤 5-15 cm 深的表土层随机取样.

1.1.2 菌株. 芽孢杆菌 B579, 2-1, 9-2 三株生防菌株均由本实验室分离并保存;枯草芽孢杆菌 B579 是从天津近郊蔬菜种植区根围土分离得到,前期试验表明其能显著抑制黄瓜枯萎病,并对植物具有促生作用;

① 收稿日期:2018-03-26

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31401799);山东省自然科学基金项目(ZR2016HB05);山东省抗体制药协同创新中心开放课题(CIC-AD1816);泰山学者工程专项资金支持

通讯作者:陈芳,女,汉族,博士,副教授,研究方向:微生物与生物制药,E-mail:chenfang20045@163.com.

枯草芽孢杆菌 2-1 是从聊城市茌平县中药材种植基地感染根腐病的丹参根际土壤筛选分离得出,对丹参根腐病具有较好的生物防治作用;解淀粉芽孢杆菌 9-2 是从聊城本地感染根腐病的中药材天南星的根际土壤中筛选分离得出,对天南星根腐病具有较好的生物防治作用。

1.1.3 培养基. LB 液体培养基、LB 固体培养基。

1.1.4 实验材料. 半夏。

1.1.5 酶活性测定试剂盒. 由天根生化科技(北京)有限公司的土壤酶活性测定试剂盒。

## 1.2 方法

1.2.1 菌液培养. 芽孢杆菌菌液培养:将斜面保藏的生防芽孢杆菌 B579, 2-1, 9-2 菌种分别取一环划线至平板中,在 37℃ 恒温培养箱中培养 18 h,活化菌株. 待培养结束后,将三株生防菌分别转入已高压灭菌后的内装 50 mL LB 液体培养基的 250 mL 三角瓶中,置于恒温振荡培养箱中 37℃, 180 r/min 培养 15-16 h,获得种子液. 以 2% 的比例将种子液接种于内装 100 mL LB 液体培养基的 500 mL 三角瓶中,37℃ 条件下 180 r/min 恒温振荡 16-18 h,培养结束后将菌液制备成  $1 \times 10^6$  cfu/mL 的发酵液<sup>[19]</sup>. 此浓度的发酵液用于试验处理。

1.2.2 试验处理. 春季四月于大田中种植半夏,培养半夏幼苗至 2-3 个真叶时期,开始进行灌根处理,每隔一个月灌根一次. 各个处理的种植面积为 67 m<sup>2</sup>,在半夏整个生长周期中的光照强度、土壤湿润程度、遮阴程度以及种植地块的宽度均相同. 共设置 5 组处理(见表 1),各组处理每次灌根 30 L 菌液。

1.2.3 菌液灌根处理. 在半夏根部土壤进行菌液灌根处理. 半夏在自然条件下,生长周期为 6 个月左右,主要生长阶段为发芽期、幼苗期、开花期和结果期. 因此在进行菌液浇灌之日算起,分别在第 4 周、第 8 周、第

12 周、第 16 周、第 20 周和第 24 周在各组处理的半夏根际土壤约 5-15 cm 深处随机取样三份,进行四种不同酶的酶活性测定。

1.2.4 酶活性测定. 使用天根生化科技(北京)有限公司生产的土壤酶活性测定试剂盒分别测定土壤碱性磷酸酶、过氧化氢酶、几丁质酶、脲酶四种不同酶活性。

表 1 试验设计

处理组	处理方式
空白	清水
CK	LB 液体培养基
2-1	2-1 发酵培养液
B579	B579 发酵培养液
9-2	9-2 发酵培养液

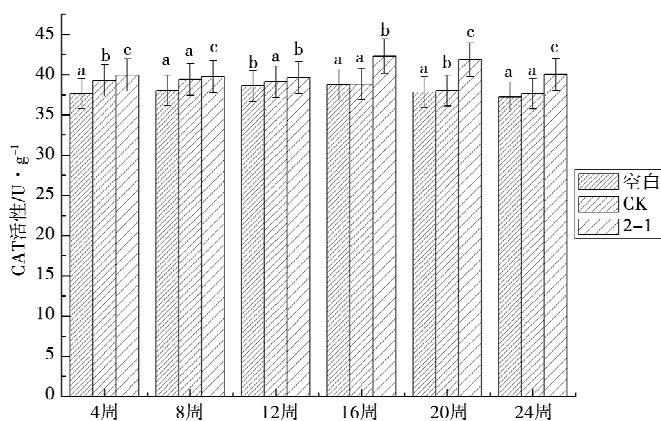
## 2 结果与分析

### 2.1 不同生防菌对半夏根际土壤酶活性的影响

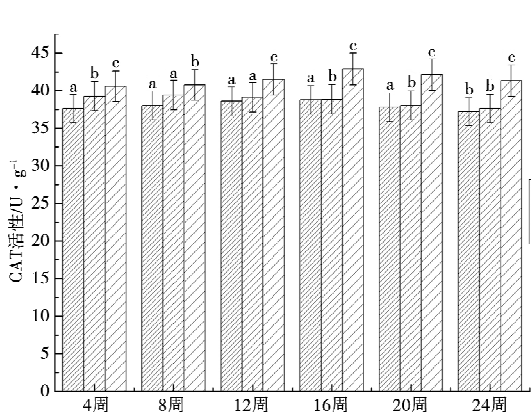
2.1.1 不同时期不同处理对半夏根际土壤中过氧化氢酶活性的影响. 土壤过氧化氢酶活性与土壤的呼吸强度及土壤微生物活动相关,是重要的土壤微生态环境指示因子,可以表现出土壤氧化还原的能力<sup>[20]</sup>,能有效防止过氧化氢的毒害<sup>[21]</sup>. 分别于第 4 周、第 8 周、第 12 周、第 16 周、第 20 周和第 24 周在半夏根际土壤的 5-15 cm 深处随机取土样三份,使用土壤过氧化氢酶(CAT)酶活性试剂盒检测 5 组不同处理土壤样品的酶活性,取三次结果的平均值进行分析。

图 1 表明,在四个不同取样时期,空白组的过氧化氢酶活性均为最低,而 CK 处理组的酶活性均高于空白组,考虑为 LB 液体培养基发挥了营养作用. 而 CK 处理组的过氧化氢酶活性在第 16 周时酶活性与空白组基本相同,并在生长后期呈现逐渐降低的趋势,考虑为培养基营养作用逐渐降低直至消失. 2-1 处理组在前三次取样时过氧化氢酶活性均略高于 CK 处理组,在第 16 周时酶活性达到最高值,并逐渐降低,但在最后一次土壤取样时的酶活性仍明显高于 CK 组和空白组,如图 1(a). B579 处理组各个取样时期的过氧化氢酶活性均明显高于 CK 处理组,表明该生防菌处理能明显提高半夏根部土壤的过氧化氢酶活性,如图 1(b). 9-2 处理组的过氧化氢酶活性呈现先降低后升高的趋势,但在各个取样周期内酶活性均高于 CK 处理组,如图 1(c). 三株生防菌的施入对于半夏根际土壤中的过氧化氢酶活性有不同程度的提高作用,且变化趋势基本相同。

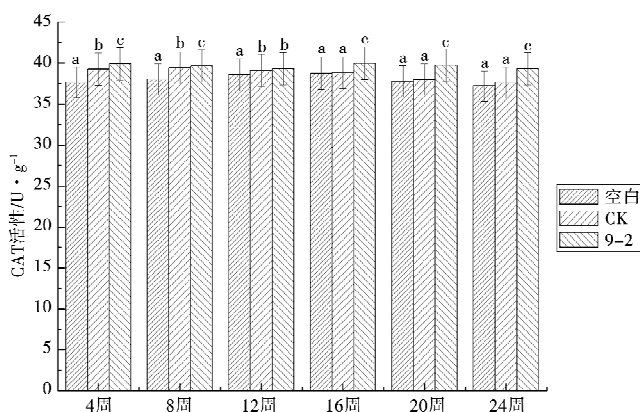
图中同一处理时间不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著( $P < 0.05$ ),误差线表示平均值的标准误,下同。



(a) 2-1对半夏根际土壤中过氧化氢酶活性的影响

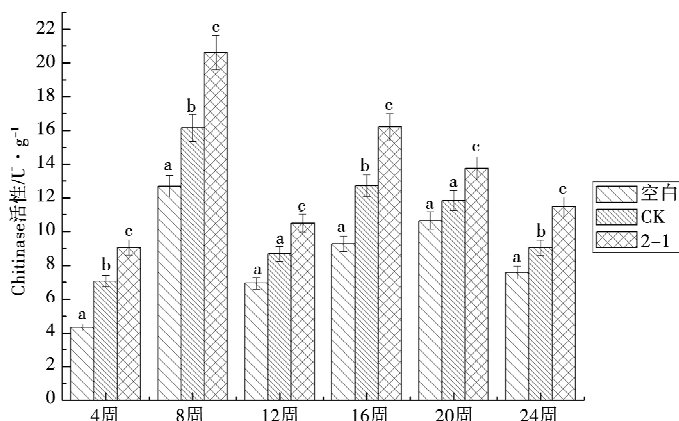


(b) B579对半夏根际土壤中过氧化氢酶活性的影响

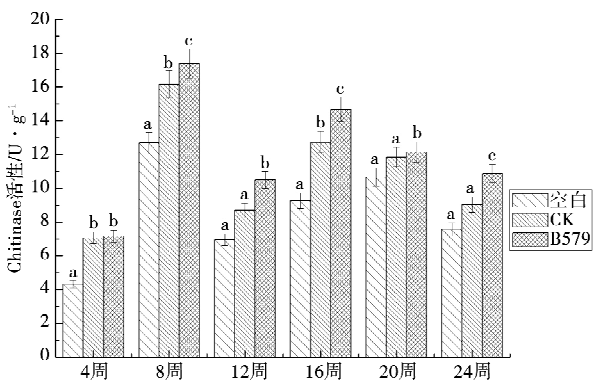


(c) 9-2对半夏根际土壤中过氧化氢酶活性的影响

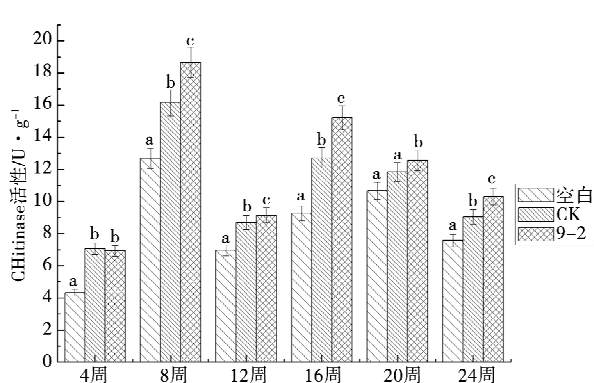
图 1 不同处理对半夏根际土壤中过氧化氢酶活性的影响



(a) 2-1对半夏根际土壤中几丁质酶活性的影响



(b) B579对半夏根际土壤中几丁质酶活性的影响



(c) 9-2对半夏根际土壤中几丁质酶活性的影响

图 2 不同处理对半夏根际土壤中几丁质酶活性的影响

2.1.2 不同时期不同处理对半夏根际土壤中几丁质酶活性的影响. 几丁质酶参与土壤有机碳和氮的转化, 可将几丁质转化为氨基糖, 是土壤中矿质氮的主要来源<sup>[22,23]</sup>. 分别于第 4 周、第 8 周、第 12 周、第 16 周、第 20 周和第 24 周在半夏根际土壤的 5-15 cm 深处随机取土样三份, 使用土壤几丁质酶(Chitinase)酶活性试剂盒检测 5 组不同处理土壤样品的酶活性, 分析三次结果平均值.

图 2 表明, 在四个不同取样时期, 空白组的几丁质酶活性均为最低, 而 CK 处理组的酶活性均高于空白组, 考虑为 LB 液体培养基发挥了营养作用. 在整个取样周期中空白组与 CK 处理组的几丁质酶活性均呈现为先升高后降低再升高的变化趋势, 并随着半夏的生长周期逐渐降低. 2-1 处理组的几丁质酶活性在各个取样周期内均明显高于 CK 处理组, 且酶活性变化趋势与其相同, 如图 2(a). B579 与 9-2 处理组在后三次取样时的几丁质酶活性同样明显高于 CK 处理组, 且变化趋势与其相同. 但在第 4 周取样时的酶活性与 CK 处理组基本相同, 表明生防菌 B579 和 9-2 在处理初期对半夏根部土壤的几丁质酶活性无明显影响, 如图 2(b)、(c). 相较于其他两组处理的酶活性结果, 表明生防菌 2-1 能明显提高半夏根部土壤中的几丁质酶活性. 综合三株生防菌对几丁质酶活性的影响程度, 生防菌的最佳使用周期为第 8 周和第 16 周.

2.1.3 不同时期不同处理对半夏根际土壤中碱性磷酸酶活性的影响. 碱性磷酸酶属于水解酶类, 可将土壤中的有机磷转化为可利用的形态<sup>[24]</sup>. 分别于第 4 周、第 8 周、第 12 周、第 16 周、第 20 周和第 24 周在半夏根际土壤的 5-15 cm 深处随机取土样三份, 使用土壤碱性磷酸酶(ALP)酶活性试剂盒检测 5 组不同处理土壤样品的酶活性, 分析三次结果平均值.

图 3 表明, 5 组处理的碱性磷酸酶活性总体上为先升高再降低, 且在各个取样周期中 CK 处理组的酶活性均高于空白组. 2-1 处理组和 9-2 处理组在第 4 周取样时的酶活性均略低于 CK 处理组, 表明生防菌 2-1 和 9-2 在处理初期对半夏根部土壤的碱性磷酸酶活性无积极影响, 但在后期五次取样的样品酶活性均略高于 CK 组, 如图 3(a)、(c). B579 处理组的碱性磷酸酶活性在各个取样周期内均明显高于 CK 处理组, 且酶活性变化趋势与其相同, 如图 3(b). 因此, 生防菌 B579 对半夏根际土壤中的碱性磷酸酶活性提高作用最强, 且三株生防菌的最佳使用周期为第 8 周和第 12 周.

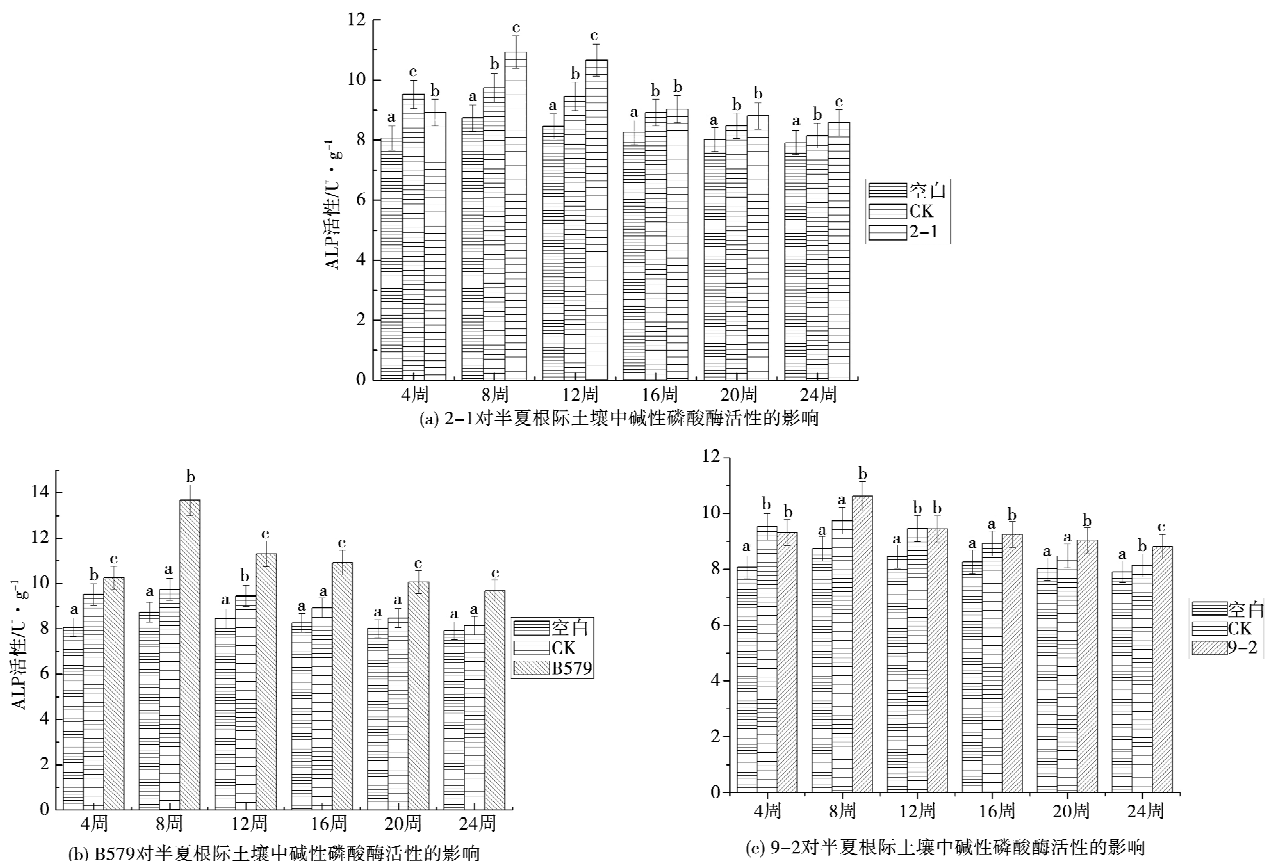


图 3 不同处理对半夏根际土壤中碱性磷酸酶活性的影响

2.1.4 不同时期不同处理对半夏根际土壤中脲酶活性的影响. 脲酶是土壤中的水解酶类, 在细菌、真菌和

高等植物中广泛存在,能在水解土壤中尿素的同时释放出供作物利用的铵,其活性能作为土壤肥力水平的指标<sup>[25]</sup>.分别于第4周、第8周、第12周、第16周、第20周和第24周在半夏根际土壤的5-15 cm深处随机取土样三份,使用土壤脲酶(UE)酶活性试剂盒检测5组不同处理土壤样品的酶活性,分析三次结果平均值.

由图4可知,5组不同处理在半夏生长周期内的脲酶活性与几丁质酶的酶活性变化趋势相似,均为先升高后降低再升高,且施加生防菌的三组处理的脲酶活性在整个生长周期内均高于空白组和CK组.结果表明,生防菌2-1的施入在各个取样周期中对于脲酶活性仅有较小程度的提升作用,如图4(a).而B579和9-2处理组在各个取样周期中的脲酶活性均有明显提升,如图4(b)、(c).故可知,不同生防菌的施入均能提高半夏根部土壤中的脲酶活性,且对脲酶活性最佳作用时期为第8周和第16周.

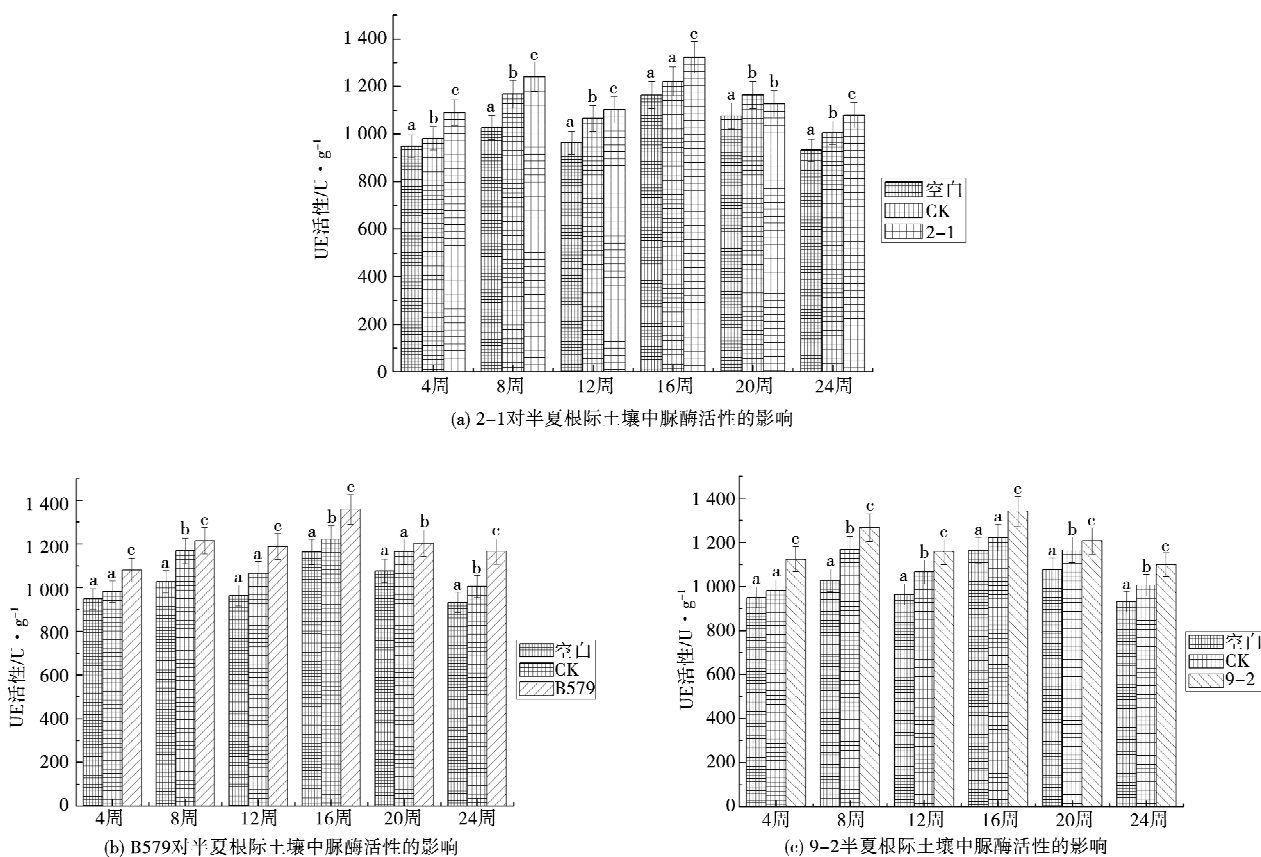


图4 不同处理对半夏根际土壤中脲酶活性的影响

## 2.2 不同处理组半夏产量统计

由表2可知,只浇灌清水的空白对照组产量最低,而浇灌培养基的CK处理组产量相对较高,考虑为培养基的营养作用的结果.而三组生防菌处理的地块中半夏产量明显升高,其中B579处理组的半夏产量最高,考虑为B579的益生效果更好.且生防菌处理组的半夏叶片相对于其余两组更为茂盛,植株更粗壮,表明生防菌对于植物病害能起到防治作用的同时也能发挥促进作用,生防菌处理组与其他处理组相比能够明显提高半夏产量,这一结果与周克琴等的研究结果相似<sup>[26]</sup>.

## 3 讨论

### 3.1 三种不同生防菌株可提高半夏土壤酶活性

研究表明,三种生防芽孢杆菌B579,2-1,9-2均能提高半夏根际土壤中的关键酶活性.在半夏根际施

表2 不同处理组半夏产量统计表

处理组	产量/kg	单位产量/kg · hm <sup>-2</sup>
空白	19.34	2 930.30
CK	19.65	2 977.27
2-1	20.24	3 066.67
B579	22.60	3 424.24
9-2	20.41	3 092.42

加生防芽孢杆菌菌液后,在不同取样时期内,生防菌处理组的四种酶活性与空白和 CK 处理相比,结果如下:生防菌处理组的过氧化氢酶活性相较于空白和 CK 处理组总体较高,这一结果与曾庆宾等<sup>[27]</sup>在微生物菌剂对烤烟根际土壤过氧化氢酶活性的研究结果一致,而刘素慧等<sup>[28]</sup>在 EM 对连作大蒜根际土壤酶活性的影响中也得出了相似结论,且本研究中生防菌 B579 对于土壤中过氧化氢酶活性的提升作用最强;各生防菌处理组与空白和 CK 处理组相比,不同时期内的几丁质酶活性在总体上同样有提升效果,而 2-1 菌株能明显提高几丁质酶活性;生防菌处理组在各个取样时期内,碱性磷酸酶活性大体高于空白及 CK 处理组,且 B579 对于土壤中碱性磷酸酶活性的提升效果最明显;而各生防菌处理组不同时期的脲酶活性与空白和 CK 处理组相比均有提高,且其变化趋势与尹淑丽等<sup>[4]</sup>在不同生防菌对半夏根际土壤酶活性的研究中结果一致.结合数据分析可知,生防菌 B579 对过氧化氢酶和碱性磷酸酶活性影响较大,2-1 对几丁质酶活性影响较大,而 9-2 对脲酶活性的影响最大.因此,总体上来说,不同生防芽孢杆菌可不同程度地提高半夏植株根际的四种关键土壤酶活性.

### 3.2 生防芽孢杆菌对半夏存在促生作用

在半夏根际土壤中施加生防菌后,根据四种关键土壤酶活性均有明显提升的结果,与半夏产量相结合,可以看出施加生防菌的处理组产量明显升高.其中施加 B579 的半夏地块产量最高,可说明生防菌 B579 对半夏的益生、增产效果最好.孙中华等在黄瓜植株施加枯草芽孢杆菌、李俊等在棉花植株施加枯草芽孢杆菌的研究结果与本试验结果一致<sup>[29,30]</sup>.虽然施加生防菌能明显提高半夏产量,但对于生防菌促进植物生长、提高产量的作用机理仍需要进行深入研究.

## 4 结论

在植株根际土壤中施入生防芽孢杆菌菌株可以提高土壤中的酶活性,可以改善土壤结构,进而增强土壤肥力.本研究通过设置多种对照处理来研究不同生防菌对不同土壤酶活性的影响程度,表明了生防菌不仅能提高土壤关键酶活力,而且在植株生长发育过程中能起到促生、增产作用,为今后生态环保型生防菌剂的开发和利用奠定了理论基础.

### 参 考 文 献

- [1] 江年琼.半夏·天南星[M].北京:中国中医药出版社,2001.
- [2] 张皓,何腾兵,林昌虎,等.不同轮作方式黔产半夏土壤物理性状分析[J].水土保持研究,2015(3):127-131,136.
- [3] 李婷,李敏,贾君君,等.全国半夏资源及生产现状调查[J].现代中药研究与实践,2009,23(2):11-13.
- [4] 尹淑丽,麻耀华,张丽萍,等.不同生防菌对黄瓜根际土壤微生物数量及土壤酶活性的影响[J].北方园艺,2012(1):10-14.
- [5] 宋以星,杨蕊,杨运华,等.芽孢杆菌 B1 对黄瓜枯萎病菌的拮抗作用[J].河南科技学院学报,2011,39(3):38-41.
- [6] 高吉坤,荆雨薇,曹旭,等.生防枯草芽孢杆菌 B29 对黄瓜根际功能细菌及土壤酶活性的影响[J].安徽农业科学,2015,43(10):107-110.
- [7] 张昕,张立钦,林海萍,等.引入黄瓜根围的 2 株生防菌株的生态效应[J].浙江林学院学报,2007,24(6):649-653.
- [8] 姜培坤,俞益武,张立钦,等.雷竹林地土壤酶活性研究[J].浙江林学院学报,2000,17(2):132-136.
- [9] 王娟,谷雪景,赵吉.羊草草原土壤酶活性对土壤肥力的指示作用[J].农业环境科学学报,2006,25(4):934-938.
- [10] 薛冬,姚槐应,何振立,等.红壤酶活性与肥力的关系[J].应用生态学报,2005,16(8):1455-1458.
- [11] Naseby D C, Pascual J A, Lynch J M. Effect of biocontrol strains of *Trichoderma* on plant growth, *Pythium ultimum* populations, soil microbial communities and soil enzyme activities [J]. *Appl Microbiol*, 2000, 88: 161-169.
- [12] 张艳群,来航线,韦小敏,等.生物肥料多功能芽孢杆菌的筛选及其作用机理研究[J].植物营养与肥料学报,2013,19(2):489-497.
- [13] 张震,唐文华,张力群.枯草芽孢杆菌 B931 防治植物病害和促进植物生长的作用[J].作物学报,2007,33(2):236-241.
- [14] 陈芳,韩德铎,郑宇,等.枯草芽孢杆菌 B579 抑真菌作用的初步研究[J].江苏农业科学,2011,39(6):214-216.
- [15] Chen F, Wang M, Zheng Y, et al. Quantitative changes of plant defense enzymes and phytohormone in biocontrol of cucumber *Fusarium* wilt by *Bacillus subtilis* B579[J]. *World J Microbiol Biotechnol*, 2010, 26(4): 675-684.
- [16] 周莹,袁孟娟,韩军,等.丹参根腐病生防芽孢杆菌 2-1 海藻菌剂的研制[J].生物技术通报,2015,31(1):167-172.
- [17] 施洁君,何胥,王光.生防菌株 2LN3 对水稻纹枯病的防效和产量构成的影响[J].安徽农业科学,2017,45(8):171-173.
- [18] 罗俊. XQ 生防菌防治烟草青枯病研究[J].湖南农业科学,2016(6):42-45.
- [19] Chen F, Wang M, Zheng Y, et al. Quantitative changes of plant defense enzymes and phytohormone in biocontrol of cucumber *Fusarium* wilt by *Bacillus subtilis* B579[J]. *World J Microbiol Biotechnol*, 2010, 26(4): 675-684.
- [20] 韩忠明,杨颂,韩梅,等.不同菌剂对人参连作土壤酶活性的影响[J].东北农业科学,2016,41(1):50-53.
- [21] 马云华,王秀峰,魏岷,等.黄瓜连作土壤酚酸类物质积累对土壤微生物和酶活性的影响[J].应用生态学报,2005,16(11):2149-2153.
- [22] Ekenler M, Tabatabai MA. Beta-glucosaminidase activity of soils: effect of cropping systems and its relationship to nitrogen minerali-

zation[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2002, 36(5): 367-376.

- [23] 王永生,于贵瑞,程淑兰,等. 中国东部南北样带典型针叶林土壤酶活性分布格局[J]. *生态学报*, 2015, 35(11): 3636-3642.
- [24] 崔芸萍,赵桂琴,刘欢. 除草剂对燕麦田土壤脲酶和碱性磷酸酶活性的影响[J]. *中国草地学报*, 2014, 36(1): 37-43.
- [25] 邱莉萍,刘军,王益权,等. 土壤酶活性与土壤肥力的关系研究[J]. *植物营养与肥料学报*, 2004, 10(3): 277-280.
- [26] 周克琴,韩秉进,张秋英,等. 生防菌 BRF-1 和 BRF-2 对大豆根腐病和产量的影响[J]. *大豆科学*, 2012, 31(5): 801-803.
- [27] 曾庆宾,李涛,王昌全,等. 微生物菌剂对烤烟根际土壤脲酶和过氧化氢酶活性的影响[J]. *中国农学通报*, 2016, 32(22): 46-50.
- [28] 刘素慧,刘世琦,张自坤,等. EM 对连作大蒜根际土壤微生物和酶活性的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2011, 17(3): 718-723.
- [29] 孙中华,赵铂锤,陈仕红,等. 枯草芽孢杆菌 B67 对黄瓜幼苗生长发育的影响[J]. *中国瓜菜*, 2017, 30(2): 15-18.
- [30] 李俊,徐艳琪,刘肖肖. 枯草芽孢杆菌 FXX-3 对棉花的促生作用[J]. *农业开发与装备*, 2017(8): 100-101.

## Effect of Biocontrol *Bacillus* Strains on Enzyme Activities in Rhizosphere Soil and Yield of *Pinellia Ternata*

YAN Yang<sup>1</sup> LIU Yue-jing<sup>1</sup> LI Xiao-jing<sup>1</sup> HAN Jun<sup>2</sup> CHEN Fang<sup>1</sup>

(1. School of Pharmacy, Liaocheng University, Liaocheng 252059, China; 2. Institute of BioPharmaceutical Research, Liaocheng University, Liaocheng 252059, China)

**Abstract** The effects of three strains of *Bacillus subtilis* B579, *Bacillus amyloliquefaciens* 9-2 and *Bacillus subtilis* 2-1 on the key enzyme activities in rhizosphere soil and yield of *Pinellia ternata* were studied by field experiments. The results of the study showed that 4 kinds of enzyme activities related to soil fertility, such as catalase, alkaline phosphatase, urease and chitinase, were significantly increased in *Pinellia ternata* rhizosphere soil. The yield of the biocontrol bacteria treatment group was significantly higher than the control group and the blank group.

**Key words** biocontrol bacteria; soil enzyme activity; promoting effect; yield

(上接第 66 页)

## An Electrochemical Aptasensor for the Detection of 8-OH-dG based on Ferrocenesence Enhanced ABEI Electrochemiluminescence

WANG Li-juan ZHAO Ruo-nan ZHAO Ya-nan WEI Si-min

JIA Li-ping WANG Huai-sheng

(School of Chemistry, Liaocheng University, Liaocheng 252059, China)

**Abstract** In this work, an aptasensor was prepared for the determination of 8-OH-dG based on ferrocenesence enhanced ABEI electrochemical luminescence. The aptamer of 8-OH-dG is partially complementary paired with the capture DNA immobilized on the gold electrode, and the other part is complementary paired with the  $\rho$ DNA of the terminally modified ferrocenesence. Due to the introduction of ferrocenesence, the electrochemiluminescence signal of ABEI will be significantly enhanced. However, in the presence of 8-OH-dG, the conformation of Apt changed from single-stranded structure to tight G-quadruplex structure, and the number of ferrocenesence introduced on the surface of the electrode decreases, the electrochemiluminescence signal of ABEI also decrease. Under the optimal experimental conditions, the logarithm of ABEI luminescence intensity was linear with the logarithm of 8-OH-dG concentration in the range from 1nM to 100  $\mu$ M with the detection limit of 0.33 nM. This method is applied to the detection of 8-OH-dG in human urine with satisfactory results, so this method has potential application value in clinical detection.

**Key words** electrochemiluminescence; 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine; aptamer