

花生疮痂病菌侵染条件及寄主抗性响应

赵杰锋, 周如军*, 李元杰, 刘璐, 傅俊范, 薛彩云
(沈阳农业大学植物保护学院, 辽宁 沈阳, 110866)

摘要:为探讨防御酶系在花生与疮痂病菌(*Sphaceloma arachidis*)互作过程中的作用及其机制,本文对疮痂病菌侵染条件以及侵染过程中抗感品种防御酶系响应动态进行了系统研究。结果表明,当温度为25~30℃时,感病品种白沙1016潜育期为120h,当温度为15℃时,其潜育期达240h。湿度持续时间与病原菌的侵染能力具有明显正相关,病原菌侵染所需最短湿度持续时间为4h。病原菌侵染最适温度和湿度持续时间为:温度25~30℃,湿度持续时间36~48h。菌龄对病原菌侵染能力影响显著,随着病原菌培养时间的延长,侵染能力明显下降。接种病原菌后,寄主体内苯丙氨酸解氨酶、过氧化物酶、多酚氧化酶、超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性均呈先升高后降低的变化趋势。抗病品种阜花17在接种后24~36h出现防御酶活性高峰,峰值均显著高于白沙1016,白沙1016酶活性高峰出现在48~72h,且发病严重度和病情指数均显著高于阜花17。

关键词:花生;落花生痂圆孢菌;侵染;抗病性;寄主防御酶
中图分类号:S435.652 **文献标识码:**A **文章编号:**1007-9084(2017)01-0099-07

Infectious condition of *Sphaceloma arachidis* and physiological responses to pathogen infection in peanut
ZHAO Jie-feng, ZHOU Ru-jun*, LI Yuan-jie, LIU Lu, FU Jun-fan, XUE Cai-yun
(Plant Protection College, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China)

Abstract: Peanut scab caused by *Sphaceloma arachidis* is one of the important leaf diseases of peanut, distributed widely in major peanut production areas in China. In order to explore the mechanism and role of host defensive enzymes in plant-pathogen interaction, the infectious condition of *S. arachidis* and the dynamic changes of defense enzymes activity in different resistance peanut varieties were investigated. The results showed the incubation period of peanut scab was 120h in susceptible variety Baisha 1016 at 25-30℃, was 240h at 15℃. Infection ability of fungi had significant positive correlation with time in moist chamber. The shortest time in moist chamber was about 4 h. The optimum condition for infection was 25-30℃ and 42-48h in moist chamber respectively. Infection ability of *S. arachidis* had negative correlation with their culture time. Activities of defense enzymes including phenylalanine ammonia-lyase, peroxidase, polyphenol oxidase, superoxide dismutase and catalase in two peanut varieties all increased after inoculation and then decreased. Enzymes activities in resistant varieties (Fuhua 17) peaked at 24 to 36 h post inoculation while in Baisha 1016 was at 48 to 72 h post inoculation. The disease severity and infection index of Baisha 1016 were significantly higher than that of Fuhua 17 infected with *S. arachidis*.

Key words: *Arachis hypogaea*; *Sphaceloma arachidis*; infection; resistance; host defensive enzymes

花生(*Arachis hypogaea*)是我国主要的经济作物和油料作物,种植面积位列世界第二位,总产量居世界第一^[1],在世界贸易中所占比重近年呈稳定上升趋势。花生疮痂病(*Sphaceloma arachidis* Bitaucourt et Jenkins)是危害花生的主要病害之一,主要危害叶片和茎秆,形成大量疮痂状病斑。自1940年Bitaucourt首次在巴西发现之后,日本和阿根廷等国家也相继报道,并在各花生产区流行成灾^[2]。近年来,我国广东、广西、福建、山东和辽宁等主要花生产区相继发生危害,分布广,危害重,属典型的流行性

收稿日期:2016-09-16
基金项目:辽宁省农业领域青年科技创新人才培养计划项目(2014056);辽宁省博士启动基金(20131106)
作者简介:赵杰锋(1991-),男,河南济源人,硕士研究生,主要从事花生病害研究,E-mail:zhibaozhaojiefeng@163.com
*通讯作者:周如军(1979-),副教授,主要从事植物真菌病害和植物病害流行病学研究,E-mail:zrj5823@163.com

病害^[3,4]。一般病田减产 10% ~ 30%, 严重田块损失可达 50% 以上。仅辽宁 2011 年发生面积超过 12 万公顷, 形成爆发式流行, 已成为我国花生产业持续发展中亟待解决的问题^[5]。

病原菌侵染诱导寄主抗性响应并产生与抗病性有关的一些主动防卫反应, 包括植物细胞内活性氧的积累与清除、抗病信号的产生与转导、防卫反应的表达与调控以及细胞过敏性坏死、植保素、酚类、醌类物质等次生产物的合成、寄主细胞壁的加强和修饰(如木质素的积累)等^[6]。在这一复杂的过程中, 超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD), 过氧化氢酶(catalase, CAT), 过氧化物酶(peroxidase, POD), 丙苯氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia-lyase, PAL), 多酚氧化酶(polyphenol oxidase, PPO)等防御酶系起重要的调控作用^[7~11]。关于病原菌与花生互作过程中对防御酶系的影响已有部分研究。王琰等^[12]研究了花生网斑病菌(*Phoma arachidicola*)侵染对寄主防御酶活性的影响, 发现抗病品种防御酶活性最大值显著高于感病品种, 且酶活性升高快, 到达活性高峰早; Roulin 等^[13]发现花生褐斑病菌(*Cercospora arachidicola*)侵染诱导花生防御酶活性升高, 各种酶活性变化比未接种的复杂, 且与寄主抗病性密切相关。因此在适宜的侵染条件下, 研究病原菌侵染过程中抗感品种花生体内的防御酶活性变化, 有利于花生抗病性指标的确立。而花生疮痂病菌人工培养产孢困难, 目前病害研究主要依靠病圃田自然诱发^[14]和寄主病组织获取孢子接种^[15,16]发病, 极大地限制了花生疮痂病的研究, 国内外对于花生疮痂病的研究主要集中在发生调查、病原学^[17,18]、品种抗性筛选^[19]和化学防治^[20]等领域, 研究基础较为薄弱, 关于花生疮痂病生理学和流行病学方面研究较少, 特别是鲜有针对该病害的发生条件、侵染机制和流行规律等方面的系统研究, 无法满足生产一线的植保需求。为了更深入和全面地了解花生抗疮痂病机制, 本文从病原菌与寄主互作的角度出发, 明确花生疮痂病菌的侵染条件, 并对病原菌侵染后抗感花生品种防御酶系的变化进行了研究, 进一步了解病原菌的致病机理和寄主的抗病特征, 为花生抗病品种育种以及品种合理布局提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

花生品种为阜花 17 和白沙 1016, 其中阜花 17 为抗病品种, 白沙 1016 为感病品种^[15]。供试花生

疮痂病菌由沈阳农业大学植物病害流行学研究室保存。

1.2 菌丝悬浮液的制备和接种

参照 Chen 等^[21]和臧宪朋等^[22]的方法, 具体步骤如下: 用手术刀切取黑暗培养 30d 的花生疮痂病菌菌落, 用匀浆机($15\ 000\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$)匀浆 30s, 制成菌丝研磨液, 测定其在 600nm 波长下的吸光度(OD_{600}), 将菌丝悬浮液浓度调至 OD_{600} 值为 1.5 ~ 2.0。将菌丝悬浮液均匀喷雾在出苗后 30d 的花生植株上, 平均约 $5\text{mL} \cdot \text{株}^{-1}$, 置于 25℃ 恒温培养箱内培养, 保湿 48h。接种后每日观察发病情况, 每隔 12h 取样测定生理生化指标, 接种 7d 后, 统计每株花生叶片和茎的病斑数, 30d 计算病情指数。花生疮痂病分级标准参照方树民等^[15]的方法。

1.3 病原菌侵染条件的影响

1.3.1 温度 将接种后的花生分别置于温度为 15、20、25、30℃ 的恒温培养箱内培养。每处理 30 株, 3 次重复, 具体接种处理按 1.2 所述, 下同。

1.3.2 湿度持续时间 将接种后的花生分别保湿 4、8、12、16、20、24、36 和 48h, 保湿结束后继续在 25℃ 恒温培养箱内培养。

1.3.3 温度与湿度持续时间组合 在 15、20、25、30℃ 各温度处理中, 设置不同的湿度持续时间 4、8、12、16、20、24、36 和 48h, 共设 32 个组合。

1.3.4 菌龄 疮痂病菌在 PDA 培养基上分别培养 14、21、28、35、42、49 和 56d, 按 1.2 节准备菌丝悬浮液。

1.4 寄主抗病相关酶的提取及活性测定

粗酶液的提取参照 El Ghaouth^[23]的方法。粗酶液中蛋白质含量按照 Bradford^[24]的考马斯亮蓝 G250 法测定, 以牛血清蛋白作标准曲线。PAL 的活性参照 Sánchez^[25]等的方法测定。PPO 的活性参照 Rocha^[26]等的方法测定。POD 的活性参照 Stasolla^[27]等的方法测定。CAT 和 SOD 的活性参照 Zhang^[28]等的方法测定。

2 结果与分析

2.1 侵染条件对病原菌侵染的影响

2.1.1 温度 从表 1 可以看出, 温度对病原菌潜育期和发病严重度影响显著。25℃ 为病菌最适温度, 阜花 17 与白沙 1016 发病率均较高, 其中感病品种白沙 1016 发病率达到 80%, 潜育期为 120h; 当温度为 15℃ 时, 阜花 17 未见发病, 白沙 1016 潜育期达 240h, 病株率仅为 6%。

表 1 温度对病原菌侵染的影响
Table 1 Effects of temperature on infection of the pathogen

温度/℃ Temperature	阜花 17 Fuhua 17			白沙 1016 Baisha 1016		
	病株率/% Disease rate	潜育期/h Latent period	病情指数 Disease index	病株率/% Disease rate	潜育期/h Latent period	病情指数 Disease index
15	0	—	0	6.67 ± 3.33c	240	0.07 ± 0.02c
20	13.33 ± 3.33b	180	0.12 ± 0.03b	26.67 ± 5.77b	168	1.77 ± 0.47b
25	40.00 ± 5.77a	144	2.77 ± 0.23a	80.00 ± 6.67a	120	8.77 ± 0.95a
30	30.00 ± 3.33a	144	2.37 ± 0.50a	73.33 ± 5.77a	120	7.63 ± 0.64a

注:表中数据为平均数 ± 标准差。同列数据后不同字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验在 $P < 0.05$ 水平差异显著,下同
Note:Data in the table are mean ± SD. Different letters in the same column indicate significant difference at $P < 0.05$ level by Duncan's new multiple range test. Same as below

2.1.2 湿度持续时间 湿度持续时间影响病原菌侵染的分析结果显示(表 2),湿度持续时间越长,发病越严重。湿度持续 4h,阜花 17 未见发病,白沙 1016 病株率仅为 3.33 %,潜育期为 144h。而湿度持续 48h 的发病率显著增加,感病品种白沙 1016 的发病率达到 80%,阜花 17 发病率达到 40%。湿度持续时间 36 和 48h 处理间病情指数无明显差异 ($P < 0.05$)。

表 2 湿度持续时间对病原菌侵染的影响
Table 2 Effects of wetness duration on infection of the pathogen

湿度持续 时间/h Wetness duration	阜花 17 Fuhua 17			白沙 1016 Baisha 1016		
	病株率/% Disease rate	潜育期/h Latent period	病情指数 Disease index	病株率/% Disease rate	潜育期/h Latent period	病情指数 Disease index
4	0	—	0	3.33 ± 3.33e	144	0.06 ± 0.01e
8	6.67 ± 3.33d	168	0.29 ± 0.09e	10.00 ± 5.77e	144	0.44 ± 0.06e
12	10.00 ± 5.77d	168	0.42 ± 0.11e	16.67 ± 8.82e	144	1.08 ± 0.11e
16	16.67 ± 5.77cd	156	1.02 ± 0.17d	33.33 ± 3.33c	132	2.15 ± 0.28c
20	26.67 ± 3.33bc	156	1.70 ± 0.22c	53.33 ± 8.82b	132	5.21 ± 0.80b
24	33.33 ± 6.67ab	144	2.25 ± 0.23b	66.67 ± 8.82a	132	7.47 ± 0.75b
36	40.00 ± 10.00a	144	2.65 ± 0.29a	73.33 ± 6.67a	120	8.43 ± 0.61a
48	40.00 ± 5.77a	144	2.77 ± 0.23a	80.00 ± 10.00a	120	8.77 ± 0.95a

2.1.3 湿度持续时间与温度组合 图 1 所示,在 25 ~ 30℃ 时湿度持续只需要 4h 感病品种白沙 1016 即可发病;湿度持续时间达到 36h 以上,病株率基本保持不变,最佳的发病温度和湿度持续时间组合为温度 25 ~ 30℃,湿度持续时间 36 ~ 48h。

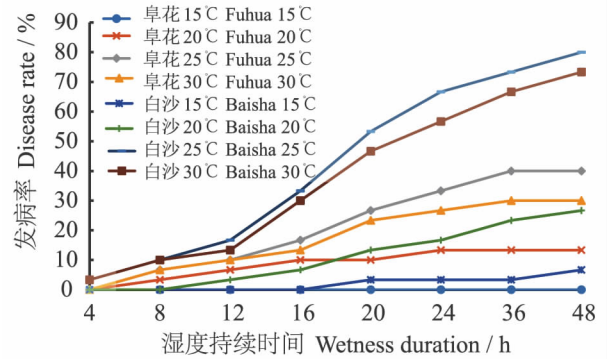


图 1 不同温度与湿度持续时间组合对病原菌侵染的影响
Fig.1 Effects of temperature and wetness duration on infection of the pathogen

2.1.4 菌龄 由表 3 可知,不同菌龄病原菌侵染花生,植株病情严重度具有显著差异。随着培养时间的延长,疮痂病菌菌丝致病性明显减弱。培养 14d 的菌丝接种白沙 1016 后第 120h 开始发病,病株率高达 90.00%,接种 30d 后,顶端嫩叶形成大量近圆

形褐色小斑点(图 2A),茎部病斑卵圆形至短梭状(图 2B),病情指数为 10.0。花生疮痂病菌生长缓慢,培养 14d 的病原菌菌落直径只有 14.3mm,无法满足大规模接种,而培养 28d 的病原菌与 14d 的菌丝侵染能力差异不显著 ($P < 0.05$),菌落直径达 22.6mm,因此接种的病原菌培养时间以 28d 左右为宜。

2.2 病原菌侵染对花生防御酶活性影响

2.2.1 苯丙氨酸解氨酶(PAL) 花生不同品种经病原菌侵染后,叶片中 PAL 活性发生明显变化(图 3)。抗病品种阜花 17 变化趋势为先显著升高而后逐渐下降最后趋于平稳,PAL 活性高峰出现在处理 24h,与对照相比升高了 28.4%;感病品种白沙 1016 的 PAL 活性在 36 和 60h 出现两个高峰,与对照相比分别升高了 10.2% 和 15.7%。在病原菌侵染过程中,2 个花生品种的 PAL 活性都显著高于对照,且抗病品种 PAL 活性升高值显著高于感病品种 ($P < 0.05$),说明病原菌诱导 PAL 活性增加的效应在抗病品种上更为突出。

2.2.2 多酚氧化酶(PPO) 病原菌侵染过程中,不同抗性品种花生 PPO 活性变化趋势如图 4 所示,侵

表 3 菌龄对病原菌侵染的影响
Table 3 Effects of culture time on infection of the pathogen

培养时间 Culture time/d	皂花 17 Fuhua 17						白沙 1016 Baisha 1016					
	病株率/% Disease rate	潜育期/h Latent period	单株病斑数			病情指数 Disease index	病株率/% Disease rate	潜育期/h Latent period	单株病斑数			病情指数 Disease index
			茎 Stem	叶 Leaf	合计 Total				茎 Stem	叶 Leaf	合计 Total	
14	53.33 ± 10.00a	144	6.1	15.3	21.4	3.63 ± 0.80a	90.00 ± 5.77a	120	9.8	32.3	42.1	10.07 ± 0.91a
21	46.67 ± 5.77a	144	4.8	13.6	18.4	3.17 ± 0.41a	86.67 ± 10.00a	120	8.6	25.7	34.3	9.27 ± 0.65a
28	40.00 ± 5.77ab	144	4.1	11.0	15.1	2.77 ± 0.23ab	80.00 ± 6.67a	120	7.7	23.8	31.5	8.77 ± 0.95a
35	26.67 ± 8.81b	156	2.8	9.7	12.5	2.27 ± 0.65b	66.67 ± 6.67b	132	5.3	18.4	23.7	7.20 ± 0.90b
42	23.33 ± 6.67bc	168	1.6	6.1	7.7	1.40 ± 0.43c	50.00 ± 5.77c	132	3.3	16.3	19.6	5.23 ± 0.99c
49	16.67 ± 5.77cd	180	0.7	4.3	5.0	0.80 ± 0.12cd	40.00 ± 8.82cd	144	1.4	11.8	13.2	3.47 ± 0.80d
56	13.33 ± 3.33d	180	0.3	2.4	2.7	0.20 ± 0.03d	33.33 ± 3.33d	156	0.5	6.2	6.7	1.83 ± 0.55e

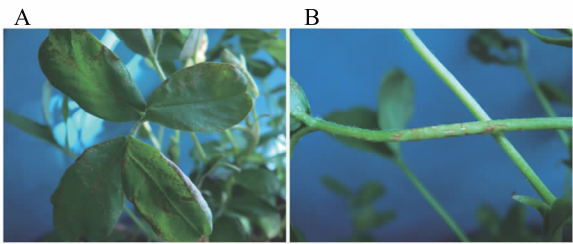


图 2 病原菌菌丝悬浮液接种花生 30d 后叶(A)和茎(B)部的发病症状

Fig. 2 Symptoms of leaves (A) and stems (B) of peanuts inoculated with *S. arachidis* mycelial suspension after 30 days

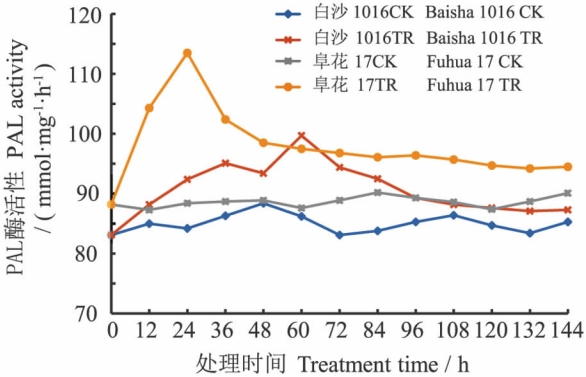


图 3 病原菌侵染后花生叶片 PAL 活性变化

Fig. 3 Change of PAL activity in leaves of peanut after inoculation with *S. arachidis*

染 0 ~ 60h,感病品种白沙 1016 的 PPO 活性缓慢增加,60h 后迅速增加,到 72h PPO 活性达到峰值,由 28.88 上升至 36.56U · μg⁻¹ · min⁻¹,增幅为 26.6%;抗病品种皂花 17 在 0 ~ 12h,PPO 活性略有增加,12 ~ 36h 增加迅速,由 29.64 上升到 40.96U · μg⁻¹ · min⁻¹,并达到最大值,增幅达 38.2%,是处理相同时间白沙 1016 的 PPO 活性的 1.3 倍。与感病品种相比,抗病品种 PPO 的活性高峰出现早,峰值高,活性下降慢。

2.2.3 过氧化物酶(POD) 病原菌侵染可导致 2 个花生品种 POD 活性都显著高于对照(图 5)。抗病品种皂花 17 接种后 12h 内 POD 酶活性虽有升高

但并不显著,12h 后急剧增加,36h 达到最大值,比对照活性升高 30.8%,然后迅速下降,60h 趋于稳定;白沙 1016 的 POD 活性在 48h 内变化不大,48h 到 60h 之间活性剧增并达到最大值,比对照活性升高 22.8%,之后急剧下降,到 84h 时趋于平稳,POD 活性最大值与平稳后酶活性均不及皂花 17。说明疮痂病菌可以诱导花生叶内 POD 活性的增加,且抗病品种增加幅度大于感病品种。

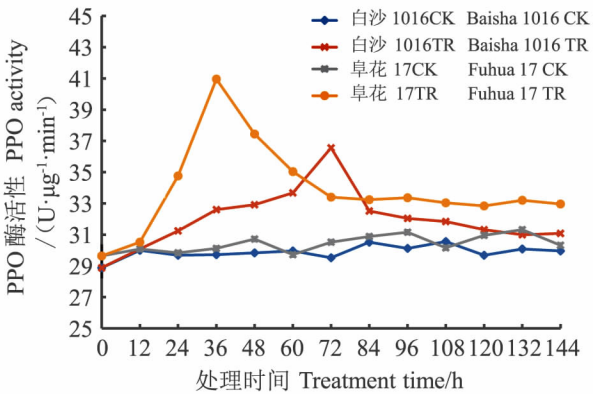


图 4 病原菌侵染后花生叶片 PPO 活性的变化

Fig. 4 Change of PPO activity in leaves of peanut after inoculation with *S. arachidis*

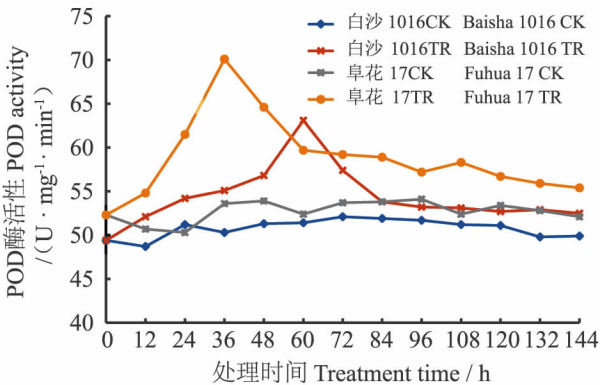


图 5 病原菌侵染对花生叶片 POD 活性的影响

Fig. 5 Effect on POD activity in leaves of peanut after inoculation with *S. arachidis*

2.2.4 过氧化氢酶(CAT) 接种病原菌后抗、感花生品种 CAT 活性变化总趋势为先升高后下降(图6)。病原菌侵染 12h 内,抗病品种阜花 17 的 CAT 活性与对照相比差异不显著($P < 0.05$),12h 后酶活性快速增加,24h 抗病品种 CAT 活性达到峰值,与对照相比升高了 68.0%,之后逐渐下降,到 72h 时趋于平稳,但显著高于对照($P < 0.05$);病原菌侵染过程中,感病品种白沙 1016 的 CAT 活性在各时间段均显著高于对照,接种病原菌 60h, CAT 活性达到峰值,与对照相比升高了 47.0%。感病品种 CAT 活性峰值与增幅均低于抗病品种。

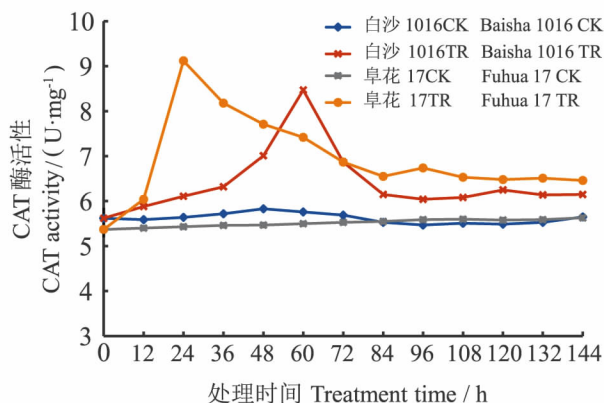


图6 病原菌侵染后花生叶片 CAT 活性的变化
Fig.6 Change of CAT activity in leaves of peanut after inoculation with *S. arachidis*

2.2.5 超氧化物歧化酶(SOD) 不同花生品种接种疮痂病菌后,叶片 SOD 活性变化趋势为先升高后下降,在测定时间范围内,活性曲线都有一个明显峰值出现(图7)。

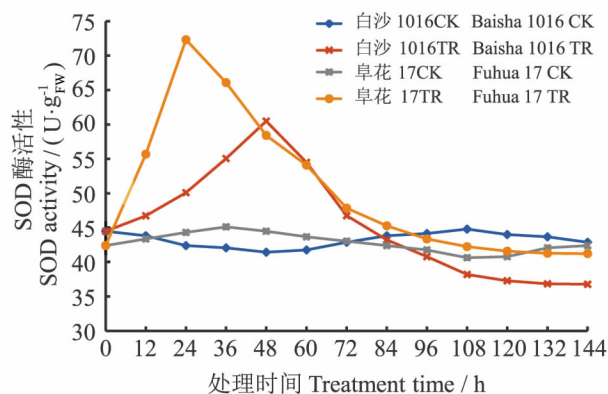


图7 病原菌侵染对花生叶片 SOD 活性的影响
Fig.7 Effect of infection with *S. arachidis* on SOD activity in leaves of peanut

接种 0 ~ 24 h,抗病品种阜花 17 SOD 活性显著升高,并达到峰值 $72.32 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$,感病品种白沙 1016 接种 48h SOD 活性达到峰值 $60.48 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$,与对照相比抗、感品种 SOD 活性达到峰值时分别增加了 63.2% 和 45.9%,抗病品种 SOD 活性的增加

量显著高于感病品种($P < 0.05$)。接种 144h,与对照相比抗、感品种 SOD 活性分别降低了 2.8% 和 14.2%,抗病品种 SOD 活性下降幅度显著低于感病品种($P < 0.05$)。

3 结论与讨论

花生疮痂病在我国花生产区,分布广,危害重,属典型流行性病害,发病趋势越来越严重,已成为制约花生产业发展的重要因素。该病发生危害程度与环境关系密切,花生生育期气温偏低、雨水偏早偏多,种植密度大,田间持续阴郁高湿,易造成该病的大规模流行^[3,5]。侵染条件研究结果表明,病原菌侵染的最佳温度和湿度持续时间组合为:温度 25 ~ 30℃,湿度持续时间 36 ~ 48h,说明适宜的温度和较长时间的叶面湿度有利于病原菌的侵染。辽宁为花生疮痂病新发生流行区,2011 ~ 2013 年阜新、锦州和葫芦岛等花生主产区 7 月份持续多雨、寡照天气,符合了花生疮痂病的流行条件,该病于当年 7 ~ 8 月份流行成灾;2014 ~ 2015 年全省大部分地区 7 ~ 8 月份持续高温少雨,旱情严重,各花生主产区疮痂病发生危害均显著降低。品种抗性低是导致 2011 年辽宁省花生主产区花生疮痂病流行成灾的主要因素之一^[5],白沙 1016 为辽宁花生主栽品种,研究结果表明:花生疮痂病菌侵染白沙 1016 所需的最短湿度持续时间为 4h,花生早晚结露时间即可满足病原菌侵染条件,这也解释了在辽西干旱地区花生疮痂病仍大面积流行的原因。建议花生品种合理布局并监测天气变化情况,及时观察田间生长动态。在花生开花下针期间遇持续降雨,该病就可能暴发成灾,于病害盛发始期施药防治可达显著的防病效果。

病原菌的侵入可诱导植物产生一些生理活性物质,它们参与许多生理代谢过程,如氧化反应、木质化反应和对病原物毒素的反应等,防御酶系在这些生理代谢中起重要的作用^[16]。本试验中寄主体内主要防御酶 PAL、PPO、POD、CAT、SOD 酶活性变化及升高都是在接种后才发生,通常变化规律为 24 ~ 72h 内达到活性高峰,随后快速下降,最后在较长的一段时间内持续保持比对照活性显著高的高活性期;不同抗性品种之间防御酶变化曲线、活性峰值出现快慢也不同,抗性品种阜花 17 酶活性峰值均要早于感病品种白沙 1016。另外,同一花生品种主要防御酶活性变化曲线也存在差异,不同的防御酶到达酶活性峰值的时间也不尽相同。阜花 17 接种疮痂病菌后主要防御酶活性达到高峰的时间都要早于白沙 1016,且活性最大值明显高于白沙 1016,而白沙

1016 酶活性的下降速度要快于阜花 17,说明抗病品种在植株体内能够更为迅速地产生防御酶体系,更为有效地抵御病原菌的侵害。这与 Guzmán - Valle^[29]、王彩霞^[30] 等人在病原菌侵染对不同抗感品种寄主抗性响应中的研究结果相似。

花生疮痂病菌属半知菌亚门腔孢纲黑盘孢目痂圆孢属,该属真菌生长缓慢,人工培养极难获得足量孢子^[31]。本研究中采用菌丝悬浮液的 OD₆₀₀ 进行定量,解决了花生疮痂病人工接种难题,为研究寄主与疮痂病菌互作奠定了试验基础。花生疮痂病田间病株产生孢子通过风雨可反复向邻近的植株传播,其病情通常表现为波浪式发展,风雨后,病情极速蔓延,天气持续晴好,病情即缓和或抑制^[3]。而温室接种花生疮痂病菌,不存在风雨等田间因素的影响,病情主要由初始接种量决定,这可能是文中各处理的病情指数均偏低的主要原因。相对于田间花生疮痂病的暴发流行,关于该病的研究还是相对比较落后,应当加强对花生疮痂病的田间监测、产孢条件、流行规律以及致病机理的相关研究。

近年来,随着花生种植面积的增加及重茬问题严重,花生叶部病害呈逐年加重趋势。其中花生疮痂病、网斑病及褐斑病混发等现象频繁出现,严重威胁花生产业健康持续发展^[32]。利用抗病品种进行病害防治是最根本有效的途径,只要达中抗(MR)以上水平的品种,通常就可有效控制和减轻病害^[3]。防御酶系活性变化是不同抗感品种抗病性的重要生理生化基础,在花生与疮痂病菌互作过程中,花生体内 PAL、PPO、POD、CAT 受疮痂病菌的侵染诱导而升高,而且抗病品种的酶活性高峰到达的更早,峰值更高,对病原菌的抑制作用也更好,这与王琰等^[12] 在花生网斑病的研究结果一致。对 SOD 来言,接种后酶活性总体上高于未接种的对照,后期有所下降,但感病品种下降幅度较大,说明抗病品种消除活性氧能力较感病品种强。综上所述,在病原物侵染初期测定防御酶活性的相对变化可以作为一个选育指标,而且可以将防御酶活性的检测作为花生抗病性鉴定的一个辅助手段。

参考文献:

- [1] 杨 静. 中国花生生产及贸易现状与展望[J]. 花生学报,2009,38(1):27-31.
- [2] 蔡学清,胡方平. 福建省花生新病害-疮痂病调查研究初报[J]. 福建农业科技,2000(2):23-23.
- [3] 鄢 铮,王正荣. 花生疮痂病发生概况与研究进展[J]. 花生学报,2013,42(2):56-60.
- [4] 许曼琳,迟玉成,王 磊,等. 花生疮痂病发生及防治技术研究[J]. 中国油料作物学报,2013,35(增刊):416-417.
- [5] 周如军,傅俊范,王大洲,等. 辽宁花生疮痂病发生调查及流行因素分析[J]. 植物保护,2013,39(1):159-161.
- [6] 宋瑞芳,丁永乐,宫长荣,等. 烟草抗病性与防御酶活性间的关系研究进展[J]. 中国农学通报,2007,23(5):309-314.
- [7] Singh A, Sarma B K, Upadhyay R S, et al. Compatible rhizosphere microbes mediated alleviation of biotic stress in chickpea through enhanced antioxidant and phenylpropanoid activities[J]. Microbiological Research,2013,168(1):33-40.
- [8] Afyanti M, Chen H J. Catalase activity is modulated by calcium and calmodulin in detached mature leaves of sweet potato[J]. Journal of Plant Physiology,2014,171(2):35-47.
- [9] Lee B R, Kim K Y, Jung W J, et al. Peroxidases and lignification in relation to the intensity of water - deficit stress in white clover (*Trifolium repens* L.) [J]. Journal of Experimental Botany,2007,58(6):1 271-1 279.
- [10] Chen C, Belanger R R, Benhamou N, et al. Defense enzymes induced in cucumber roots by treatment with plant growth - promoting rhizobacteria (PGPR) and *Pythium aphanidermatum* [J]. Physiological and Molecular Plant Pathology,2000,56(1):13-23.
- [11] Kim D S, Hwang B K. An important role of the pepper phenylalanine ammonia - lyase gene (*PAL1*) in salicylic acid - dependent signalling of the defence response to microbial pathogens[J]. Journal of Experimental Botany,2014,65(9):2 295-2 306.
- [12] 王 琰,鄢洪海,迟胜起,等. 花生网斑病菌侵染对寄主防御酶活性的影响[J]. 花生学报,2008,37(1):26-28.
- [13] Roulin S, Buchala A J. The induction of 1, 3 - β - glucanases and other enzymes in groundnut leaves infected with *Cercospora arachidicola* [J]. Physiological and Molecular Plant Pathology,1995,46(6):471-489.
- [14] 周如军,徐 喆,傅俊范,等. 辽宁花生品种对疮痂病抗性 & 流行时间动态分析[J]. 植物保护学报,2014,41(5):597-601.
- [15] 方树民,王正荣,柯玉琴,等. 花生品种对疮痂病抗性及其机制的研究[J]. 中国农业科学,2007,40(2):291-297.
- [16] Guo S Y, Chen J H, Xiao Y, et al. Changes of physiological characteristics and yield in peanut varieties with different resistance effected by peanut scab[J]. Agricultural Science & Technology, 2015, 16(10):2 309-

- 2 313.
- [17] 根岸宽山,山下修一. 花生疮痂病及其病原[J]. 植物防疫,1979,33:293 – 296.
- [18] 鄢 铮,王正荣,方树民,等. 花生疮痂病的调查与防治[J]. 福建农业科技,2010(6):58 – 59.
- [19] 郭陞垚,陈永水,陈剑洪,等. 花生品种资源抗疮痂病鉴定研究初报[J]. 福建农业科技,2014(2):11 – 14.
- [20] 方树民,王正荣,郭建铭,等. 花生疮痂病药剂防治试验[J]. 中国油料作物学报,2006,28(2):220 – 223.
- [21] Chen Y, Wang D. Two convenient methods to evaluate soybean for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. Plant Disease,2005,89(12):1 268 – 1 272.
- [22] 臧宪朋,徐幼平,蔡新忠. 一种基于菌丝悬浮液的核盘菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)接种方法的建立[J]. 浙江大学学报:农业与生命科学版,2010,36(4):381 – 386.
- [23] El Ghaouth A, Wilson C L, Callahan A M. Induction of chitinase, β – 1, 3 – glucanase, and phenylalanine ammonia lyase in peach fruit by UV – C treatment [J]. Phytopathology, 2003, 93(3): 349 – 355.
- [24] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein – dye binding[J]. Analytical Biochemistry,1976,72(1 – 2):248 – 254.
- [25] Sánchez E, Soto J M, Garcia P C, et al. Phenolic and oxidative metabolism as bioindicators of nitrogen deficiency in French bean plants *Phaseolus vulgaris* L. cv. Strike [J]. Plant Biology,2000,2(3):272 – 277.
- [26] Rocha A M C N, Cano M P, Galeazzi M A M. Characterisation of ‘Starking’ apple polyphenoloxidase [J]. Journal of the Science of Food & Agriculture,1998,77(4):527 – 534.
- [27] Stasolla C, Yeung E C. Cellular ascorbic acid regulates the activity of major peroxidases in the apical poles of germinating white spruce (*Picea glauca*) somatic embryos [J]. Plant Physiology & Biochemistry, 2007, 45 (3/4):188 – 198.
- [28] Zhang Y, Tang H R, Luo Y. Variation in antioxidant enzyme activities of two strawberry cultivars with short – term low temperature stress [J]. World Journal of Agricultural Sciences,2008,4(4):458 – 462.
- [29] Guzmán – Valle P, Bravo – Luna L, Montes – Belmont R, et al. Induction of resistance to *Sclerotium rolfsii* in different varieties of onion by inoculation with *Trichoderma asperellum* [J]. European Journal of Plant Pathology, 2014,138(2):223 – 229.
- [30] 王彩霞,陈晓林,李保华. 腐烂病菌侵染对苹果愈伤组织防御酶活性及丙二醛含量的影响[J]. 植物生理学报,2014(7):909 – 916.
- [31] Hyun J W, Paudyal D P. Improved method to increase conidia production from isolates of different pathotypes of citrus scab pathogen *Elsinoe* spp. [J]. Research in Plant Disease,2015,21(3):231 – 234.
- [32] 何晶晶,周如军,崔健潮,等. 不同杀菌剂对花生网斑病菌室内毒力测定及田间防效研究[J]. 中国油料作物学报,2015,37(4):525 – 531.

(责任编辑:王丽芳)