

广东花生主要品种对黑腐病菌的抗性水平鉴定

蓝国兵, 何自福*, 余小漫, 汤亚飞

广东省农业科学院植物保护研究所/广东省植物保护新技术重点实验室, 广东 广州 510640

摘要:【背景】寄生帚梗柱孢霉是花生黑腐病的病原菌,被我国列为重要的进境植物检疫性有害生物。该病菌 2009 年已入侵我国广东,造成花生植株基部腐烂而死亡,严重威胁花生生产安全。筛选与种植抗病品种是防控该病害的重要措施。【方法】收集广东推广种植的 15 个主要花生品种,通过人工接种方法,鉴定这些品种对花生黑腐病菌的抗性水平。【结果】15 个供试花生品种中,湛红 2 号、湛油 62 等 2 个品种表现为抗病;湛油 75、湛油 82、粤油 390、粤油 410、仲恺花 44、仲恺花 99、汕油诱 1 号等 7 个品种表现为中抗;花育 33 号、汕油 523、汕油辐 1 号、粤油 18、湛油 53 等 5 个品种表现为感病;仲恺花 332 表现为高感。【结论与意义】目前广东生产上推广种植的花生品种多数对黑腐病菌表现为抗病或中抗水平,部分品种表现为感病或高感。该结果可为我省花生品种的推广与布局提供依据。

关键词: 花生品种; 花生黑腐病菌; 抗病性

Identification of the resistance to black rot disease in peanut (*Arachis hypogaea*) cultivars caused by *Cylindrocladium parasiticum* in Guangdong Province, China

Guo-bing LAN, Zi-fu HE*, Xiao-man SHE, Ya-fei TANG

Guangdong Provincial Key Laboratory of High Technology for Plant Protection/Plant Protection Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou, Guangdong 510640, China

Abstract:【Background】*Cylindrocladium parasiticum*, the pathogen causing the peanut black rot disease, is listed as an important quarantine pathogen in China, but the pathogen invaded Guangdong Province in 2009. The pathogen is threatening the peanut production. Screening and planting resistant cultivars is an important measure to control the spread of the disease.【Method】Fifteen peanut cultivars widely grown in Guangdong Province were collected, and their resistance to peanut black rot disease was identified and evaluated by artificial inoculation.【Result】The cultivars cv. Zhanhong NO.2 and cv. Zhanyou NO.62 were resistant to peanut black rot disease. Cv.s Zhanyou NO.75, Zhanyou NO.82, Yueyou NO.390, Yueyou NO.410, Zhongkaihua NO.44, Zhongkaihua NO.99 and Shanyouyou NO.1 were moderately resistant, while cv.s Huayu NO.33, Shanyou NO.523, Shanyoufu NO.1, Yueyou NO.18 and Zhanyou NO.53 were susceptible. Cv. Zhongkaihua NO.332 was a highly susceptible cultivar.【Conclusion and significance】The majority of the peanut cultivars grown in Guangdong were at least moderately resistant to black rot disease at present, but some popular cultivars showed high susceptibility. These results could be used to modify the range of layout of peanut cultivars in Guangdong.

Key words: peanut cultivars; *Cylindrocladium parasiticum*; resistance

花生黑腐病是一种真菌性病害,由冬青丽赤壳菌 *Calonectria ilicicola* Boedijin & Reitsma 侵染引起,该病原菌的无性阶段为寄生帚梗柱孢霉 *Cylindrocladium parasiticum* Crous, Wingfield & Alfenas (盖云鹏等, 2014; Bel & Sobers, 1966; Crous *et al.*, 1993)。该病最早在美国的佐治亚州被发现,现已扩散到美国所有的花生产区,造成的产量损失一般在 10%左右,严重的超过 50%,对美国花生产业构

收稿日期(Received): 2016-05-21 接受日期(Accepted): 2016-07-11

基金项目: 国家科技支撑计划(2015BAD08B02); 科技部对发展中国家科技援助项目(KY201402015); 广东省科技计划项目(2014B070706017)

作者简介: 蓝国兵, 男, 助理研究员。研究方向: 植物真菌病害。E-mail: languo020@163.com

* 通讯作者(Author for correspondence), E-mail: hezf@gdppri.com

成了严重威胁(Wright *et al.*, 2010)。2007年,我国将寄生帚梗柱孢霉列入《中华人民共和国进境植物检疫性有害生物名录》中。2009年我国最先在广东省发现花生黑腐病,田间病株率超过50%(Pan *et al.*, 2009)。该病害的典型症状是花生茎基部、果针和豆荚以及整个根系变黑腐烂;在温暖潮湿条件下,罹病部位产生大量红色小点,并导致植株萎焉和死亡(潘汝谦等, 2011a)。据风险性评估,花生黑腐病菌在我国属于高度风险性有害生物,对我国的花生和大豆等作物的生产以及生物安全等都将构成严重的威胁(潘汝谦等, 2012)。

花生黑腐病是典型的土传和种传病害,其中种子传播是病害迅速蔓延扩散的主要原因,病害防治难度大(潘汝谦等, 2011b; Dong *et al.*, 2008)。种植抗病花生品种是最经济、有效的防控手段,不仅可以减轻病害损失,而且可以减少农药使用量。目前,我国还没有花生品种对黑腐病抗性鉴定和评价的报道。本研究通过人工接种方法鉴定广东省推广种植的15个花生品种对黑腐病的抗性,为我省花生品种的推广与布局提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

花生黑腐病菌分离自广东省河源市紫金县的花生病株,病原菌保存于广东省农业科学院植物保护研究所,选择其中致病力中等的菌株(编号ZJ-HSHF1)用于本次抗病性鉴定。

1.2 供试花生

湛红2号、湛油62、湛油75、湛油82等4个花生品种由湛江市农业科学研究院提供,粤油18、粤油390、粤油410、湛油53、花育33号、汕油523、汕油诱1号、汕油辐1号、仲恺花99、仲恺花44、仲恺花332等11个花生品种由广东省农业科学院作物研究所提供。

1.3 试验方法

1.3.1 种子处理和育苗 挑选各花生品种大小、饱满度等较为一致的健壮种子,直播于装有消毒土壤的育苗杯中,每杯播2粒种子。出苗后水肥管理按常规方法,每天傍晚浇一次水。试验过程中仅喷施杀虫剂防治害虫,不喷施杀菌剂。

1.3.2 接种菌培养和孢子悬浮液制备 取保存在4℃冰箱的病原菌,在PDA平板上28℃黑暗培养10d,

然后用无菌水洗下分生孢子,用血球计数板计算孢子悬浮液浓度,并用清水稀释成 2×10^3 个·mL⁻¹的浓度。

1.3.3 接种方法 在花生花针期前进行接种,将浓度为 2×10^3 个·mL⁻¹的孢子悬浮液直接淋到花生茎基部,每株淋10 mL菌液。每个处理30株,3次重复,区组随机排列。接种后的室内温度介于25~35℃,相对湿度介于50%~90%。以淋等量清水处理为空白对照。

1.3.4 病情调查与数据统计 当感病品种发病较为明显时进行第1次调查,记录无病株数、病株数和病级。此后每隔半个月调查一次,全期共调查3次。调查结束后,计算各处理病株率和病情指数,应用邓肯式新复极差法(DMRT)进行差异显著性分析,以各处理病株率基本稳定后的病情指数评价各品种对花生黑腐病的抗性水平。

根据对花生黑腐病发病过程的系统观察,制定了该病的症状分级标准:0级,茎基部无任何症状;1级,茎基部零星出现黑色小斑点;3级,茎基部全部变黑,但不出现红色小点;5级,茎基部变黑,并出现红色小点;7级,茎基部变黑,出现红色小点,叶片褪绿,植株轻度萎焉;9级,茎基部变黑腐烂,植株萎焉死亡(图1)。花生品种对黑腐病的抗性评价标准:高抗(highly resistant, HR), $0 < \text{病情指数} \leq 10$;抗病(resistant, R), $10 < \text{病情指数} \leq 30$;中抗(moderately resistant, MR), $30 < \text{病情指数} \leq 50$;感病(susceptible, S), $50 < \text{病情指数} \leq 70$;高感(highly susceptible, HS), $70 < \text{病情指数}$ 。

$$\text{病株率}(\%) = \frac{\text{病株数}}{\text{调查总株数}} \times 100$$

$$\text{病情指数} = \frac{\sum(\text{病株数} \times \text{该级代表值})}{\text{总株数} \times \text{最高级代表值}} \times 100$$

2 结果与分析

接种10d后,感病花生品种开始发病,表现为茎基部的茎秆出现零星黑色小斑点(1级);随后黑色斑点慢慢扩大,茎基部全部变黑并出现红色小点(5级);最终茎基部腐烂,植株萎焉,整株枯死(9级)。接种30d后,感病的花生品种发病较为明显,病情逐渐发展;接种60d后,各花生品种病株率不再增加,病情基本稳定。清水处理的植株生长正常,在整个试验过程中均未见发病。

调查结果(表1)显示,15个花生品种的病情指数和病株率存在较大差异。其中,仲恺花332病情

指数最高,平均病指达 73.40,病株率为 86.06%,湛红 2 号的病情指数最低,平均病指为 27.54,病株率为 45.77%,二者的病情指数差异达到极显著水平;其余品种的病情指数介于 63.38~28.78。根据花生品种对黑腐病的抗性评价标准,在供鉴定的 15 个花生品种中,湛红 2 号、湛油 62 等 2 个品种表现为

抗病,占 13.33%;湛油 75、湛油 82、粤油 390、粤油 410、仲恺花 44、仲恺花 99、汕油诱 1 号等 7 个品种表现为中抗,占 46.67%;花育 33 号、汕油 523、汕油辐 1 号、粤油 18、湛油 53 等 5 个品种表现为感病,占 33.33%;仲恺花 332 表现为高感,占 6.67%。



图 1 不同级别花生黑腐病的症状表现

Fig.1 Peanut plants showing various levels of the peanut black rot disease

A:0 级;B:1 级;C:3 级;D:5 级;E:7 级;F:9 级。

A: Grade 0, symptomless, resistant plant; B: Grade 1; C: Grade 3; D: Grade 5; E: Grade 7; F: Grade 9, highly susceptible plant.

3 结论与讨论

品种抗性鉴定的可靠性与接种方法密切相关。通过前期大量试验,本研究团队建立了花生品种对黑腐病抗性鉴定方法。该方法模拟花生黑腐病菌在田间自然侵染花生的状态,采用中等浓度病原菌孢子悬浮液淋根接种,可以较好地鉴定出各花生品种对花生黑腐病的抗性水平。应用该方法鉴定与评价了广东省生产上推广种植的 15 个花生品种对黑腐病的抗性水平,结果表明:2 个品种表现为抗病,7 个品种表现为中抗,两者占 60%;5 个品种表现为感病,1 个品种表现为高感,两者占 40%。这

说明我省生产上推广种植的花生品种多数对黑腐病表现为抗病或中抗水平,但也有不少品种对花生黑腐病表现为感病甚至高感。因此,花生黑腐病对我省花生生产安全仍具有较大威胁,应引起花生育种单位和农业技术推广部门的重视。下一步需要对入侵广东省甚至我国各地理区域的菌株致病性进行分析,为花生品种抗病性综合评价提供依据。

致谢:广东省农业科学院作物研究所李少雄研究员和湛江市农业科学研究院陈新起农艺师提供花生种子,特此致谢。

表1 15个花生品种对黑腐病菌的抗性

Table 1 Resistance of 15 peanut cultivars to black rot disease

品种 Cultivar	病株率 Disease rate (%)				病情指数 Disease index				抗性水平 Resistance level
	I	II	III	平均值±SD Average±SD	I	II	III	平均值±SD Average±SD	
仲恺花 332 Zhongkaihua NO.332	86.67	86.67	84.85	86.06±1.05A	73.33	74.81	72.05	73.40±1.38A	高感(HS)
汕油辐 1 号 Shanyoufu NO.1	83.87	86.67	81.25	83.93±2.71A	63.80	65.93	60.42	63.38±2.78B	感病(S)
汕油 523 Shanyou NO.523	70.97	68.75	69.70	69.81±1.11B	58.06	56.25	55.56	56.62±1.29C	感病(S)
湛油 53 Zhanyou NO.53	70.00	68.75	74.19	70.98±2.85B	51.48	51.39	54.84	52.57±1.97CD	感病(S)
粤油 18 Yueyou NO.18	65.63	74.19	70.97	70.26±4.32B	48.26	52.69	51.61	50.85±2.31D	感病(S)
花育 33 号 Huayu NO.33	71.43	71.43	73.33	72.06±1.10B	50.79	51.59	49.63	50.67±0.99D	感病(S)
汕油诱 1 号 Shanyouyou NO.1	59.38	58.06	59.38	58.94±0.76C	48.96	48.75	50.35	49.35±0.87D	中抗(MR)
仲恺花 99 Zhongkaihua NO.99	53.33	60.00	51.61	54.98±4.43CD	45.19	42.96	45.16	44.44±1.28E	中抗(MR)
粤油 410 Yueyou NO.410	76.67	78.13	75.00	76.60±1.57B	44.81	43.40	43.06	43.76±0.93E	中抗(MR)
仲恺花 44 Zhongkaihua NO.44	63.33	53.57	58.62	58.51±4.88C	42.59	37.70	41.76	40.68±2.62EF	中抗(MR)
粤油 390 Yueyou NO.390	50.00	50.00	51.72	50.57±0.99DE	35.19	34.92	37.93	36.01±1.67FG	中抗(MR)
湛油 82 Zhanyou NO.82	50.00	53.33	51.61	51.65±1.67DE	36.11	36.30	33.69	35.37±1.46G	中抗(MR)
湛油 75 Zhanyou NO.75	57.58	58.06	62.50	59.38±2.71C	30.64	32.26	35.42	32.77±2.43GH	中抗(MR)
湛油 62 Zhanyou NO.62	36.67	42.42	43.75	40.95±3.76F	24.07	29.63	32.64	28.78±4.35HI	抗病(R)
湛红 2 号 Zhanhong NO.2	48.39	45.16	43.75	45.77±2.38EF	29.03	26.52	27.08	27.54±1.32I	抗病(R)

表中数据为接种后第 60 天的调查结果;同列数据后附不同大写字母者表示差异极显著 ($P<0.01$)。

Datas in the table are the results in 60 days post inoculation (dpi); Different capital letters after data within the same column express significant difference among treatments at $P<0.01$. HS: Highly susceptible; S: Susceptible; MR: Moderately resistant; R: Resistent.

参考文献

盖云鹏, 潘汝谦, 徐大高, 邓铭光, 丁三寅, 2014. 进境检疫性有害生物——寄生帚梗柱孢霉. 植物检疫, 28(4): 76-81.

潘汝谦, 关铭芳, 徐大高, 邓铭光, 2011a. 警惕花生黑腐病菌的入侵. 植物保护, 37(1): 164-165.

潘汝谦, 关铭芳, 徐大高, 纪春艳, 邓铭光, 2011b. 花生黑腐病菌的生物学特性. 华中农业大学学报, 30(6): 701-706.

潘汝谦, 徐大高, 邓铭光, 纪春艳, 2012. 外来入侵花生黑腐病菌在中国的风险性评估. 中国农业科学, 45(15): 3068-3074.

Bel D K and Sobers E K, 1966. A peg, pod and root necrosis of peanuts caused by a species of *Calonectria*. *Phytopathology*, 56(12): 1361-1364.

Crous P W, Wingfield M J and Alfenas A C, 1993. *Cylindrocladium parasiticum* sp. nov., a new name for *C. crotalariae*. *Mycological Research*, 97(7): 889-896.

Dong W B, Breneman T B, Holbrook C C and Culbreath A K, 2008. Evaluation of resistance to *Cylindrocladium parasiticum* of runner-type peanut in the greenhouse and field. *Peanut Science*, 35(2): 139-148.

Pan R, Guan M, Xu D, Gao X, Yan X and Liao H, 2009. *Cylindrocladium* black rot caused by *Cylindrocladium parasiticum* newly reported on peanut in China. *Plant Pathology*, 58(6): 1176.

Wright L P, Davis A J, Wingfield B D, Crous P W, Breneman T and Wingfield M J, 2010. Population structure of *Cylindrocladium parasiticum* infecting peanuts (*Arachis hypogaea*) in Georgia, USA. *European Journal of Plant Pathology*, 127(2): 199-206.

(责任编辑:杨郁霞)