

苯并噻二唑对香蕉枯萎病的诱导抗性

黄永辉^{1,2} 杨媚² 权永兵¹ 周而勋²

1. 珠海出入境检验检疫局技术中心, 珠海 519015; 2. 华南农业大学资源环境学院, 广州 510642

摘要 采用含药培养基生长速率法测定苯并噻二唑(benzothiadiazole, BTH)对香蕉枯萎病菌4号生理小种(*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 4, *Foc* 4)的室内毒力, 结果表明BTH对*Foc* 4的EC₅₀为929.9 μg/mL, 与杀菌剂多菌灵相比, 其作用十分微弱。然后, 在温室条件下, 采用盆栽试验测定BTH对香蕉枯萎病的防治效果, 结果表明BTH质量浓度为50 μg/mL时的诱抗效果最好, 防治效果可达到66.6%, 且随着浓度的升高其防治效果逐渐降低。最后, 在温室条件下测定BTH处理香蕉苗后, 其体内6种防御酶活性的变化, 结果表明BTH可以提高香蕉苗体内多种防御酶的活性。

关键词 香蕉枯萎病; 香蕉枯萎病菌; 苯并噻二唑; 诱导抗病性; 防御酶系

中图分类号 S 432.4⁺4; S 668.1 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2015)03-0036-06

香蕉枯萎病(fusarium wilt of banana)是由尖镰孢古巴专化型(*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*)侵染引起的一种毁灭性病害^[1]。多年来, 研究者在香蕉枯萎病的抗病品种选育、寄主与病原菌互作等方面取得了很大进展, 但该病在大部分香蕉种植区的发生和危害尚未得到有效控制^[2-4]。一些杀菌剂在室内对香蕉枯萎病菌的抑菌效果较好, 但在田间施用防治效果较差。目前尚无理想的杀菌剂可用于香蕉枯萎病的防治, 因此探索其有效的防治途径已成为当务之急。

植物与病原菌在长期相互作用与共同进化过程中产生了一系列防御体系, 能够有效抑制病原菌对自身的侵害。当植物某些部位组织受到病原菌侵染或诱剂处理后, 常导致植株的非侵染或非处理部位在较长时间内保持对多种病原菌侵染的抗性, 这种现象称为植物系统获得抗性(systemic acquired resistance, SAR)。植物的诱导抗病性是近年来非常活跃的一个研究领域, 其中备受关注的苯并噻二唑(benzothiadiazole, BTH)诱导激活剂, 这类新化合物是1996年由CIBA公司科学家首先发现的, 是一种具有明显诱发SAR反应的化合物^[5]。Görlach等^[6]最先报道了BTH在小麦苗期施用, 能诱导小麦对锈病、白粉病和叶斑病的抗性; 宋凤鸣

等^[7]的研究结果表明, 在接种病原菌之前喷施BTH也能起到减轻水稻苗期白叶枯病的作用。此外, 对BTH的作用机制前人也进行了大量研究, Masaki等^[8]的研究结果表明, BTH和SA(水杨酸)均能通过激活水杨酸信号转导途径诱导水稻产生对稻瘟病的抗性, 并确定了其转录因子基因。本试验测定了BTH对香蕉枯萎病菌的室内毒力和盆栽防治效果, 旨在探索BTH对香蕉枯萎病的诱导抗病效果及其作用机制。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试菌株: 尖镰孢古巴专化型(香蕉枯萎病菌)[*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (E. F. Smith) Snyder et Hansen] 4号生理小种(*Foc* 4)菌株, 分离自香蕉发病植株, 由华南农业大学热带亚热带真菌研究室鉴定和保存; 香蕉苗: 巴西蕉组培苗(沙床苗), 由广东省农业科学院作物研究所提供; 化学药剂: 苯并噻二唑(BTH), 晶状原药, 纯度为99%, 购于大中原联合化学品(郑州)有限公司。

1.2 BTH对香蕉枯萎病菌的毒力测定

采用生长速率法, 通过预备试验确定所需浓度。将BTH用二甲基亚砷(DMSO)溶解配成质量浓度

收稿日期: 2014-09-26

基金项目: 国家现代农业(香蕉)产业技术体系建设专项(CARS-32)

黄永辉, 硕士, 农艺师。研究方向: 植物病理学与真菌学。E-mail: hyh.ybzx@163.com

通信作者: 周而勋, 博士, 教授。研究方向: 植物病理学与真菌学。E-mail: exzhou@scau.edu.cn

分别为10、20、30、40、50 mg/mL的母液,分别吸取1 mL母液加入到99 mL熔化的PDA培养基中充分混匀制成含药培养基平板,使BTH在PDA中的终质量浓度分别为100、200、300、400、500 $\mu\text{g}/\text{mL}$,以含相同量DMSO的PDA平板为空白对照,以25%多菌灵杀菌剂为阳性对照,质量浓度分别设为1、2、5、8、10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。在含药和对照平板中央接入直径5 mm的香蕉枯萎病菌(菌龄7 d)菌丝块,25 $^{\circ}\text{C}$ 下培养7 d后测量菌落直径,并计算菌落生长抑制率,将抑制百分率换算成抑制机率值,以浓度对数值为横坐标,抑制机率值为纵坐标,作回归曲线,求出毒力回归方程及有效中浓度(EC_{50})。

1.3 盆栽试验

在花盆(上口直径12 cm,盆高15 cm)中种上香蕉苗,每盆3株,待苗定植后,选取株形一致的香蕉苗(约2月龄)进行试验。将BTH配成50、100、200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 三种质量浓度溶液(各含0.05%吐温-20),分别进行喷雾处理,叶片正反面均喷至刚有液滴为宜。以灭菌水喷雾作对照,每处理重复3次,每重复10株苗。分别于处理后3 d进行孢子悬浮液(10^6 孢子/mL)灌根接种,接种28 d后调查病情。病级分为0~4级,分级标准参照Brake^[9]和杨秀娟等^[10]的方法,并计算病情指数(病指)和防治效果(防效)。

$$\text{病指} = \frac{\sum(\text{各级病株数} \times \text{相应级数值})}{\text{调查总株数} \times \text{最高级数值}} \times 100$$

$$\text{防效} = \frac{\text{对照病指} - \text{处理病指}}{\text{对照病指}} \times 100\%$$

1.4 施药处理及样品采集

盆栽种植香蕉苗,每盆种3株,与防效试验为同一批苗同时进行,约1周定植成活后,用质量浓度为100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的BTH溶液喷雾处理。另外,以灭菌水喷雾处理作对照。分别于处理前1 d、处理当天以及处理后每天采样1次,连续采集7 d,每处理随机采集3株大小一致、部位相同的香蕉苗假茎,用锡箔纸包裹起来后用液氮速冻,置于-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存,待全部样品采集完后用于酶液的提取。

1.5 酶提取及活性的测定

1) 苯丙氨酸解氨酶(PAL)。称取0.5 g香蕉苗假茎样品放入研钵中,加入1.5 mL含5 mmol/L巯基乙醇的0.05 mol/L硼酸缓冲液(pH 8.8)、0.1 g聚乙烯吡咯烷酮和少量石英砂,冰浴研磨成匀浆。将匀浆转入2 mL离心管,在4 $^{\circ}\text{C}$ 下10 000 r/min离心20 min,上清液即为酶液,立即用于酶活

性的测定。

酶活测定反应体系:1 mL酶液,1 mL 0.02 mol/L的L-苯丙氨酸,2 mL蒸馏水,总体积为4 mL。以缓冲液代替酶液为对照,反应液置于40 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中保温1 h,然后加入0.2 mL 6 mol/L HCl终止反应,用紫外分光光度计在290 nm波长处测定吸光值,以每小时每克样品OD值变化0.01所需的酶量为1个酶活单位(U_1)。

2) 过氧化物酶(POD)。取0.5 g香蕉苗假茎样品放入研钵中,加入1.5 mL预冷的磷酸缓冲液(pH 7.8)、0.1 g聚乙烯吡咯烷酮和少量石英砂,冰浴研磨成匀浆。将匀浆转入2 mL离心管,在4 $^{\circ}\text{C}$ 下10 000 r/min离心20 min,上清液即为酶液,马上用于酶活的测定。

酶活测定反应体系:2.9 mL 0.05 mol/L磷酸缓冲液(pH 5.8),1 mL 0.05 mol/L愈创木酚,1 mL 2% H_2O_2 ,0.1 mL酶液,以缓冲液代替酶液为对照,37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴保温15 min,然后迅速转入冰浴中,并加入2 mL 20%三氯乙酸(CTA)终止反应,然后5 000 r/min离心10 min。适当稀释后,在470 nm波长处测定吸光值,以每分钟每克样品OD值变化0.01所需酶量为1个酶活单位(U_2)。

3) 多酚氧化酶(PPO)。PPO的提取方法与POD的相同。酶活测定反应体系:3.9 mL 0.1 mol/L磷酸缓冲液(pH 5.8),1 mL 0.1 mol/L邻苯二酚,0.1 mL酶液,以缓冲液代替酶液为对照,37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴保温15 min,然后迅速转入冰浴中,并加入0.5 mL 6 mol/L HCl终止反应,在525 nm波长处测定吸光值,以每分钟每克样品OD值变化0.01所需酶量为1个酶活单位(U_3)。

4) 超氧化物歧化酶(SOD)。SOD的提取方法与POD的相同。酶活测定反应体系:1.5 mL 0.05 mol/L磷酸缓冲液(pH 7.8),0.3 mL 130 mmol/L Met溶液,0.3 mL 750 $\mu\text{mol}/\text{L}$ NBT溶液,0.3 mL 100 $\mu\text{mol}/\text{L}$ EDTA-Na溶液,0.3 mL 20 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 核黄素,0.05 mL酶液,0.25 mL蒸馏水,总体积3.0 mL,其中2支对照管以缓冲液代替酶液。混匀后将1支对照管置于暗处,其他各管置于4 000 lx日光灯下反应30 min,各管受光情况一致。反应结束后,以不照光的对照管作空白调零,分别测定其他各管在560 nm处的吸光度值,以每分钟每克样品抑制50% NBT光化还原的酶量为1个酶活单位(U_4)。

5) 几丁质酶。参照Boller等^[11]的方法并略加

改进。称取 0.5 g 香蕉苗假茎样品,加 1.5 mL 0.1 mol/L 的乙酸缓冲液(pH 5.0)冰浴研磨,10 000 r/min 离心 15 min,上清液在 10 000 r/min 下再离心 10 min,上清液即为酶液,立即用于酶活的测定。

酶活测定反应体系:取 0.4 mL 酶液,加入 40 μ L 1% 蜗牛酶,37 $^{\circ}$ C 水浴反应 30 min 后,加入 0.2 mL 饱和硼砂,放入沸水浴中 7 min,冷却后加入 2 mL 冰醋酸和 1 mL 1% 对二甲氨基苯甲醛(DMAB),37 $^{\circ}$ C 保温 15 min,最后测定反应体系在 585 nm 处的吸光度值(D)。以沸水浴 10 min 失活的酶液为标准对照,求出吸光度差值(样品液 D 值减去标准对照 D 值),对照 N-乙酰氨基葡萄糖(N-acetyl-D-(+)-glucosamine, NAG)标准曲线查出产生 NAG 的量,计算酶活力单位。以每克样品在上述条件下每分钟产生 1 μ g NAG 所需的酶量为 1 个酶活单位(U_5)。

N-乙酰氨基葡萄糖标准曲线的绘制:准确配制 0.1 mg/mL 的 NAG 溶液,取 6 支干净试管编号(0~5),按表 1 加入试剂并在沸水浴中反应 15 min,冷却后在 420 nm 下测定反应液的吸光度值。以吸光度值为纵坐标,NAG 含量为横坐标绘制标准曲线。

表 1 NAG 标准曲线反应体系

Table 1 The reaction system of NAG standard curve

试管编号 Tube number	0	1	2	3	4	5
NAG 质量浓度/ $(\mu$ g/mL) NAG concentration	0.0	10.0	20.0	30.0	40.0	50.0
NAG 体积/mL NAG volume	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
醋酸钠缓冲液/mL HAc-NaAc buffer	1.0	0.9	0.8	0.7	0.6	0.5
铁氰化钾溶液/mL Potassium ferricyanide	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0

6) β -1,3-葡聚糖酶。 β -1,3-葡聚糖酶的提取方法与提取几丁质酶相同。酶活测定的反应体系:在试管中加入 100 μ L 1 mg/mL 的昆布多糖溶液和 100 μ L 酶液,37 $^{\circ}$ C 保温 30 min 后立即加入 1 mL DNS 溶液终止反应,混匀后置于沸水浴中显色 5 min,流水冷却至室温后,于 540 nm 比色测定吸光度值。以沸水浴 10 min 失活的酶液为标准对照,求出吸光度差值(样品吸光度值减去标准对照吸光度值),对照葡萄糖标准曲线查出产生葡萄糖的量,计算酶活力单位。以每克鲜样品在 37 $^{\circ}$ C 下每分钟催化昆布多糖产生 1 μ g 葡萄糖的酶量为 1 个酶活

力单位(U_6)。

葡萄糖标准曲线的绘制:准确配制 1 mg/mL 的葡萄糖溶液,取 6 支干净试管编号(0~5),按表 2 加入各试剂后于沸水浴中显色 5 min,最后加入 2 mL 蒸馏水在 540 nm 下测定反应液的吸光度值。以吸光度值为纵坐标,葡萄糖含量为横坐标绘制标准曲线。

表 2 葡萄糖标准曲线反应体系

Table 2 The reaction system of glucose standard curve

试管编号 Tube number	0	1	2	3	4	5
葡萄糖质量浓度/ (μ g/mL) GLU concentration	0.0	100.0	200.0	300.0	400.0	500.0
葡萄糖体积/mL GLU volume	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
灭菌水/mL Sterile water	1.0	0.9	0.8	0.7	0.6	0.5
DNS/mL	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0

2 结果与分析

2.1 BTH 对香蕉枯萎病菌的毒力

室内毒力测定的结果表明(表 3),BTH 对香蕉枯萎病菌的抑制作用很微弱,其 EC_{50} 为 929.9 μ g/mL,与杀菌剂多菌灵($EC_{50} = 4.74$ μ g/mL)相比,两者差异极显著,因此,从抑菌效果和成本考虑,BTH 都不适宜作为常规杀菌剂使用。

表 3 香蕉枯萎病菌的室内毒力测定结果¹⁾

Table 3 The results of BTH toxicity to *Foc 4 in vitro*

杀菌剂 Fungicide	回归方程 Regression equation	EC_{50} / (μ g/mL)	相关系数(r) Correlation coefficient
苯并噻二唑 BTH	$y=0.06x-3.56$	929.9 A	0.97
25%多菌灵 25% Carbendazim	$y=11.03x-2.33$	4.74 B	0.89

1)表中同列数据后不同字母者表示处理间 Duncan's 新复极差分析差异极显著($P < 0.01$)。Data with different letter in the same column are significantly different ($P < 0.01$) by using Duncan's multiple range test.

2.2 BTH 对香蕉枯萎病的盆栽防效

试验结果表明:当质量浓度为 50 μ g/mL 时,发病率比对照降低 24.3%,防效达 66.6%;当质量浓度为 100 μ g/mL 时,防效为 55.6%;当质量浓度为 200 μ g/mL 时,防效只有 33.2%。

由表 4 可知,随着质量浓度的增加,病指和发病率均有所升高,防治效果逐渐降低。这可能是由 BTH 本身的性质决定的,BTH 作为一种植物诱导

抗病剂,在低浓度下的诱抗效果较好,而在高浓度下反而没有诱抗效果。

表 4 BTH 对香蕉枯萎病的盆栽防效¹⁾

Table 4 The control effect of BTH on banana fusarium wilt in greenhouse

BTH 质量浓度/ ($\mu\text{g}/\text{mL}$) BTH concentration	发病率/% Incidence	病指 Disease index	防效/% Control efficacy
0	67.60 \pm 1.61 a	38.20 \pm 1.76 a	—
50	43.30 \pm 1.07 d	13.30 \pm 0.55 d	66.6
100	48.50 \pm 1.38 c	17.40 \pm 0.39 c	55.6
200	53.30 \pm 1.22 b	25.80 \pm 0.98 b	33.2

1)表中同列数据后具有不同字母者表示处理间 Duncan's 新复极差分析差异显著($P < 0.05$)。Data with different letter in the same column are significantly different ($P < 0.05$) by using Duncan's multiple range test.

2.3 BTH 处理后香蕉苗防御酶活性的变化

1) 苯丙氨酸解氨酶(PAL)的活性。PAL 酶活性的测定结果如图 1 所示。与对照相比,香蕉苗体内的 PAL 酶活性在 BTH 处理后 2 d 迅速增加,并达到最高水平,处理后 3 d 回落到正常水平,之后一直维持在正常水平上下波动。这表明 BTH 处理对 PAL 酶活性影响不大。

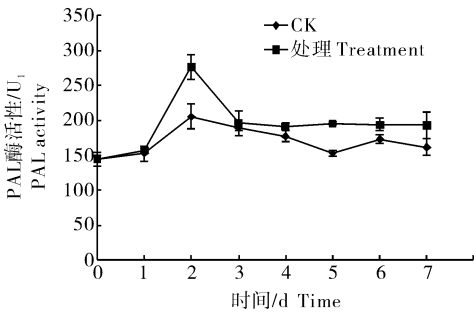


图 1 PAL 酶活性的变化

Fig. 1 Changes of PAL activity

2)过氧化物酶(POD)的活性。POD 酶活性的测定结果如图 2 所示。BTH 处理后前 4 d 香蕉苗体内 POD 酶活性持续升高,处理后 4 d 达到最高水平,5 d 后有所降低,6 d 后开始又上升到较高水平。这表明 BTH 处理对 POD 酶活性明显高于对照。

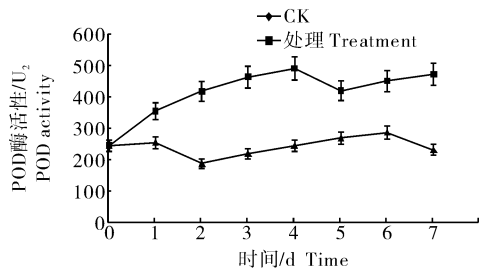


图 2 POD 酶活性的变化

Fig. 2 Changes of POD activity

3)多酚氧化酶(PPO)的活性。PPO 酶活性的测定结果如图 3 所示。BTH 处理后 PPO 酶活性的整体水平大大高于对照,在处理 3 d 达到一个峰值,4 d、5 d 后有所降低,6 d 后开始又持续上升到较高水平。

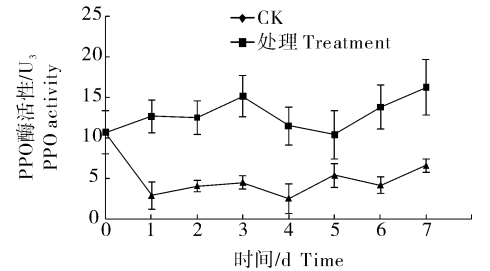


图 3 PPO 酶活性的变化

Fig. 3 Changes of PPO activity

4)超氧化物歧化酶(SOD)的活性。从图 4 中可知,BTH 处理后香蕉苗体内的 SOD 酶活性迅速升高,处理后 2 d 达到一个峰值,3 d、4 d 后回落到正常水平,5 d 后达到第二个峰值,之后又有所降低,但一直维持较高水平。

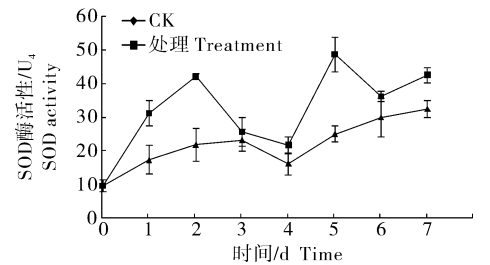


图 4 SOD 酶活性的变化

Fig. 4 Changes of SOD activity

5)几丁质酶的活性。几丁质酶活性的测定结果如图 5 所示。BTH 处理后香蕉苗体内几丁质酶活性持续升高,处理后 3 d 达最高水平,4 d 后开始回落,5 d 后降到正常水平,6 d 后又开始升高并维持较高水平。

6) β -1, 3-葡聚糖酶的活性。从图 6 中可以看出,BTH 处理后香蕉苗体内的 β -1, 3-葡聚糖酶活性在前 3 d 持续升高,但上升较缓慢;4 d、5 d 后有所降低,6 d 后开始又持续升高。BTH 处理后 β -1, 3-葡聚糖酶的酶活性高于对照。

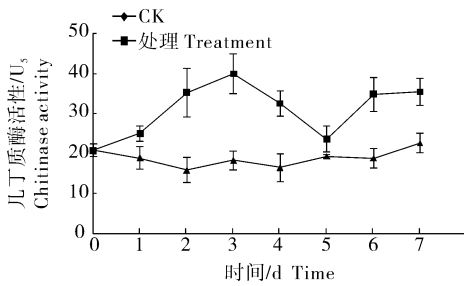
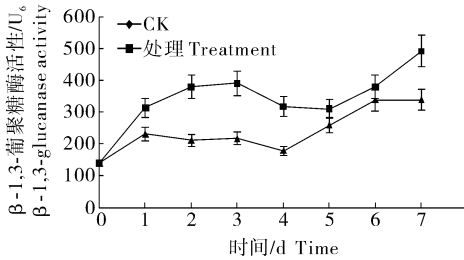


图 5 几丁质酶活性的变化

Fig. 5 Changes of chitinase activity

图 6 β -1,3-葡聚糖酶活性的变化Fig. 6 Changes of β -1,3-glucanase activity

3 讨论

BTH 作为一种新型的植物抗病诱导剂,具有对环境影响小、对病原菌无选择压力等优点,已引起专家学者们的广泛重视。近年来,在小麦、花椰菜、番茄和橡胶树等十几种作物上的研究结果都表明,BTH 诱导植物对一些真菌、细菌和病毒病害均能产生抗病性,并起到良好的防病效果^[12-15]。

本试验通过盆栽接种测定了 3 个质量浓度的 BTH 对香蕉枯萎病的防治效果,发现 BTH 在较低质量浓度下(50 $\mu\text{g}/\text{mL}$)对香蕉枯萎病的防效更好,但因设置的浓度范围有限,所以并不能据此判断该质量浓度是否为最佳诱导浓度。另外,大田施用的浓度与盆栽所用浓度也可能存在一定差异,因此,最佳浓度的筛选以及能否在大田使用等问题均有待进一步研究。

BTH 对香蕉枯萎病菌的室内毒力结果表明,BTH 在平板上对香蕉枯萎病菌的抑制作用非常微弱,其 EC_{50} 与盆栽试验所施用的浓度相比要小得多,说明 BTH 对香蕉枯萎病的防效并非其杀菌或抑菌作用。以往的研究结果也都证明了 BTH 在离体条件下对大多数植物病原菌几乎没有毒性^[16]。本试验结果表明,BTH 对香蕉枯萎病的防效与其杀菌作用关系不大,从而也支持了这个结论。

近年来的研究表明,植物的系统获得抗病性

(SAR)常常是通过酶的催化调节来实现的,防御酶活性的升高是 SAR 产生的重要机制之一^[17]。在本试验中,施用 BTH 后,香蕉苗体内的各种防御酶活性均有所提高,尤其是 POD、PPO、几丁质酶和 β -1,3-葡聚糖酶活性的提高尤为明显。这说明 BTH 的防病机理可能是通过提高香蕉体内的防御酶活性,也就是诱导香蕉产生 SAR 来实现的,因而 BTH 在香蕉枯萎病的防治上具有较好的应用前景。

植物体内的 PAL、POD 和 PPO 等在植物抵抗病害方面能发挥重要作用^[18-19]。PAL 参与木质素、酚类及多种黄酮类植保素的合成,PPO 是酚类物质氧化的主要酶,在植物体内能够把酚类物质氧化成醌类和参与木质素的合成,而 POD 是植物抗病物质酚类化合物合成或氧化的关键酶。几丁质酶和 β -1,3-葡聚糖酶与植物的抗病性也有着密切的关系。几丁质酶和 β -1,3-葡聚糖酶的功能是降解病原真菌细胞壁,抵抗病原真菌的侵染,许多植物病原真菌细胞壁的主要成分是几丁质和 β -1,3-葡聚糖酶^[20]。这 2 种酶很可能参与了植物对病原真菌的防卫反应,因此,可以推断 BTH 能通过诱导香蕉组织中各种防御酶活性的增加,并通过输导组织的传送,使整个香蕉植株的防御酶活性都获得了提高,表现为 SAR,从而对香蕉枯萎病的防治起到积极作用。

此外,诱导激活剂从最初的生物诱导剂到目前的各种化学诱导剂,人们在研究其信号传递机制的同时,正致力于以化学诱导剂替代杀菌剂的可能性研究,以减轻大量使用农药给环境和食品造成的污染,尤其是将其广泛应用于大田生产中的前景十分乐观。

参 考 文 献

- [1] 曾蕊,陈琦光,禄璐,等. 香蕉与枯萎病菌 4 号小种互作过程中防御酶活性的变化[J]. 华中农业大学学报,2014,33(2):61-64.
- [2] 黄永辉,李瑜婷,范家平,等. 香蕉枯萎病菌 4 号生理小种产毒条件的优化[J]. 华中农业大学学报,2011,30(5):594-598.
- [3] 杨媚,黄永辉,舒灿伟,等. 香蕉枯萎病菌 4 号生理小种粗毒素特性的研究[J]. 园艺学报,2012,39(3):545-551.
- [4] 谢梅琼,杨媚,杨迎青,等. 香蕉枯萎病菌的风险性分析[J]. 果树学报,2011,28(2):284-289.
- [5] FRIEDRICH L, LAWTON K, RUESS W, et al. A benzothiadiazole derivative induces systemic acquired resistance in tobacco [J]. Plant Journal,1996(10):61-70.
- [6] GÖRLACH J, VOLRATH S, KNAUF-BEITER G, et al. Benzothiadiazole, a novel class of inducers of systemic acquired

- resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat [J]. *Plant Cell*, 1996, 8: 629-643.
- [7] 宋凤鸣, 葛秀春, 郑重, 等. 苯并噻二唑诱发水稻对白叶枯病的系统抗性[J]. *中国水稻科学*, 2001, 15(4): 323-326.
- [8] MASAKI S, SHOJI S, AKIRA N, et al. Rice WRKY45 plays a crucial role in benzothiadiazole-inducible blast resistance [J]. *Plant Cell*, 2007, 9: 2064-2076.
- [9] BRAKE V M. Fusarium wilt of Cavendish banana [J]. *Australian Journal of Agricultural research*, 1995, 46(3): 673-685.
- [10] 杨秀娟, 陈福如, 黄月英, 等. 接种枯萎病菌香蕉苗病症及其组织病理特征[J]. *福建农林大学学报: 自然科学版*, 2006, 35(6): 578-581.
- [11] BOLLER T, GEHRIA A, MAUCH F, et al. Chitinase in bean leaves: induction by ethylene, purification, properties, and possible function [J]. *Planta*, 1983, 157: 22-31.
- [12] 韩青梅, 刘巍, 魏国荣, 等. 苯并噻二唑(BTH)诱导小麦对条锈病抗性的研究[J]. *中国生态农业学报*, 2012, 20(9): 1230-1235.
- [13] 孙溶溶, 彭真, 程琳, 等. BTH 诱导花椰菜对菌核病的抗性研究[J]. *植物病理学报*, 2012, 42(3): 281-289.
- [14] 于力, 孙锦, 郭世荣, 等. 苯并噻二唑诱导番茄对番茄黄化曲叶病毒病的抗性[J]. *江苏农业学报*, 2013, 29(1): 71-75.
- [15] 罗婵娟, 范志伟, 沈奕德, 等. BTH 诱导橡胶树对白粉病的抗性效果和酶活性测定[J]. *热带作物学报*, 2011, 32(3): 475-479.
- [16] 范文静, 崔新仪, 王学利. 植物激活剂苯并噻二唑(BTH)的研究进展[J]. *天津农学院学报*, 2009, 16(3): 52-55.
- [17] LATHA P, ANAND T, RAGUPATHI N, et al. Antimicrobial activity of plant extracts and induction of systemic resistance in tomato plants by mixtures of PGPR strains and *Zimmu* leaf extract against *Alternaria solani* [J]. *Biological Control*, 2009, 50(2): 85-93.
- [18] 杨艳芳, 梁永超, 姜运生, 等. 硅对小麦过氧化物酶、超氧化物歧化酶和木质素的影响及与抗白粉病的关系[J]. *中国农业科学*, 2003, 36(7): 813-817.
- [19] KLARZYNASKI O, PLESSE B, JOUBERT J M, et al. Linear β -1,3-glucans are elicitors of defense responses in tobacco [J]. *Plant Physiology*, 2000, 124: 1027-1037.
- [20] WESSELS J G H, SIETSMA J H. Fungal cell wall: a survey [J]. *Encyclopedia Plant Physiol*, 1981, 13B: 352-394.

Induced resistance of benzothiadiazole to banana fusarium wilt

HUANG Yong-hui^{1,2} YANG Mei² QUAN Yong-bing¹ ZHOU Er-xun²

1. *The Technology Center of Zhuhai Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Zhuhai 519015, China;*

2. *College of Natural Resources and Environment, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China*

Abstract Induced resistance of benzothiadiazole (BTH), a new inducer of plant disease resistance, to banana fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 4 (*Foc* 4), was investigated. Firstly, *in vitro* toxicity of BTH to *Foc* 4 was tested with the growth rate method. The results showed that the EC_{50} of BTH was 929.9 $\mu\text{g}/\text{mL}$, showing a very weak antifungal effect compared to carbendazim, a routine fungicide. Secondly, the sensitivity of banana fusarium to BTH in three different concentrations was studied *in vivo*, and the results indicated that 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ of BTH had the greatest effect of induced resistance with the disease control efficiency of 66.6%, and its control efficiency was descending gradually along with the increase of BTH concentration. Finally, the changes in activities of six defensive enzymes in banana plantlets treated with BTH were determined, and the results demonstrated that BTH could increase the banana resistance to banana fusarium wilt by improving the activities of several defense-related enzymes. Taken together, BTH is a promising plant disease resistance inducer by activating the defense response of banana plantlets. Therefore, BTH has a potential application prospect in the control of banana fusarium wilt disease.

Key words banana fusarium wilt; *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*; benzothiadiazole; induced resistance; defense-related enzymes