

# 小麦黑胚病籽粒黑变机制研究进展

梁晓龙,李巧云,牛吉山\*  
(河南农业大学 国家小麦工程技术研究中心,河南 郑州 450002)

**摘要:** 综述了小麦黑胚病病因及其黑变机制研究进展。目前的研究结果表明,环境因素与病菌侵染引起酶促褐变,导致小麦黑胚病症状产生,而褐变是小麦籽粒中酚类物质发生氧化形成褐色物质导致的。筛选不同的生理型与病理型感病材料是研究小麦黑胚病黑变机制的前提,采用基因组学、转录组学、蛋白质组学、代谢组学等组学研究方法能够进一步揭示小麦黑胚病的黑变机制。  
**关键词:** 小麦;黑胚病;病因;黑变机制  
**中图分类号:** S512.1;S435.121 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2016)08-0001-06

## Research Advance in Blacking Mechanism of Wheat Grain with Black Point

LIANG Xiaolong, LI Qiaoyun, NIU Jishan\*  
(National Centre of Engineering and Technological Research for Wheat, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

**Abstract:** In this paper, we summarized the causing factors and the grain blacking mechanisms of wheat black point. Up to now, most reports indicate that the black point symptoms are developed from some chemical changes catalyzed by enzymes, and the products are black. Pathogen infection and environmental factors significantly affect the black point development. Blacking is considered as the oxidation of some phenolic substances in wheat grains. To screen wheat germplasms susceptible to physiological black point and pathological black point is the prerequisite for the study of grain blacking. Study on the mechanism of blacking of the wheat black point grains will be advanced by new techniques such as genomics, proteomics, transcriptomics and metabolomics.  
**Key words:** wheat; black point; causing factor; blacking mechanism

依据我国 2000 年开始实施的小麦质量标准,将小麦黑胚粒归在不完善粒之中,三等以上小麦黑胚粒的最大允许含量为 6.0%<sup>[1]</sup>。Li 等<sup>[2]</sup>于 2010—2012 年连续 3 a 对郑州地区种植的 403 份小麦材料进行黑胚率调查,结果显示,62.5% 的材料黑胚率大于 5%,这意味着目前黄淮麦区生产品种和区试中的新品系普遍感黑胚病,一旦小麦灌浆期遇到合适气候条件,将会导致黑胚率超标,造成较大的经济损失。关于小麦黑胚病的症状、发病率、危害、影响因素、致病菌分离、品种抗病性、药物防治等,国内外已

有大量的研究报道<sup>[3-17]</sup>,文中对小麦黑胚病籽粒的黑变机制进行综述,以期小麦黑胚病抗病机制研究及抗病育种提供参考。

### 1 小麦黑胚病的病因

#### 1.1 环境因素

诸多的研究表明,小麦生育期尤其是灌浆期的降雨、土壤与大气湿度、温度、露水等环境因素影响黑胚的形成与发展<sup>[18-20]</sup>。在温带气候条件下,小麦开花期高温高湿有利于黑胚的形成,气温越高、

收稿日期:2015-12-08  
基金项目:“十二五”国家科技支撑计划项目(2015BAD26B01);国家“863”计划项目(2012AA101105)  
作者简介:梁晓龙(1990-),男,河南许昌人,在读硕士研究生,研究方向:小麦抗病遗传及分子育种。  
E-mail:longa0374@163.com  
\* 通讯作者:牛吉山(1965-),男,山西阳城人,研究员,博士,主要从事小麦抗病遗传及分子育种研究。  
E-mail:jsniu@263.net

湿度越大,黑胚率越高;而在灌浆期间高湿、相对较低的温度有利于黑胚的发生,高温则相反,这可能是因为低温延迟了小麦成熟从而延长了病原菌侵染期,而高温则缩短了病原菌侵染期<sup>[18,21-28]</sup>。而且,灌浆期降雨的时间与降雨量对黑胚病的影响也很大,间歇性的降雨比一次强降雨更能加重黑胚的发生,特别是乳熟期到面团期的潮湿环境与较高的温度会增加小麦的黑胚率<sup>[29-30]</sup>,黄淮麦区 5 月份降雨量超过 90 mm,雨日在 10~15 d,连阴雨 2~3 次,大气湿度 70% 以上,麦田早晚结露,黑胚严重程度将显著增加<sup>[24-25]</sup>,干旱天气黑胚率降低,可能是因为干旱制约了病菌孢子在空气中的传播与侵染<sup>[31]</sup>。可见,潮湿的环境与适宜的温度在黑胚形成中发挥着重要作用。

### 1.2 真菌感染

根据文献报道,从小麦黑胚病籽粒上分离的真菌有 21 个属,分别是小支顶孢属(*Acremoniella*)、链格孢属(*Altemaria*)、短梗霉属(*Aureobasidium*)、壳二孢属(*Ascochyta*)、曲霉属(*Aspergillus*)、离蠕孢属(*Bipolaris*)、葡萄孢属(*Botrytis*)、毛壳菌属(*Chaetomium*)、芽枝霉属(*Cladosporium*)、弯孢霉属(*Curvularia*)、束梗孢霉属(*Doratomyces*)、德斯霉属(*Drechsleria*)、附球霉属(*Epicoccum*)、镰刀菌属(*Fusarium*)、黑孢菌属(*Nigrospora*)、青霉属(*Penicillium*)、茎点霉属(*Phoma*)、小菌核属(*Sclerotium*)、针壳孢属(*Septoria*)、匍柄霉属(*Stemphylium*)、端孢属(*Trichotheciutn*)<sup>[17-18,32-36]</sup>。由于黑胚病的发生受环境因素影响,不同地区报道的主要致病菌也不尽一致<sup>[6-7,9,21,37-41]</sup>。Nesterov<sup>[37]</sup>认为小麦根腐长蠕孢(*Helminthosporium sativum*)是哈萨克斯坦最主要的致病菌,而 Kumar 等<sup>[38]</sup>认为小麦根腐离蠕孢(*B. sorokiniana*)是引起小麦黑胚病与根腐病的首要致病菌。近二十几年来,我国学者在黑胚病病原菌的构成及其分布比例上做了大量研究工作,结论差异也较大<sup>[9,17,21,37-41]</sup>。张天宇等<sup>[39]</sup>、白金铠等<sup>[40]</sup>认为,*B. sorokiniana* 不仅是黑胚病的主要致病菌,还造成根腐和穗腐,对小麦的危害很大,链格孢(*A. alternata*)不是主要的病原菌;山东、河南、河北等地学者认为 *Altemaria* spp. 是小麦黑胚病的主要致病菌<sup>[6,9,21]</sup>。新疆的研究大致认同 *A. alternata* 是该病害的优势病原菌,同时 *B. sorokiniana* 也是重要致病菌<sup>[41]</sup>,郝敬喆等在吐鲁番还分离到喙状突脐霉(拟)(*Exserohilum rostratum*)<sup>[7]</sup>。可见,在我国由链格孢与根腐离蠕孢引起的黑胚病最常见。

真菌导致黑胚病的原因可能是厚厚的菌丝体附

着在小麦籽粒胚部使其变色,从而引起黑胚症状<sup>[42-43]</sup>,然而这与小麦籽粒尖端比胚部有更多菌丝体的研究结果相矛盾<sup>[44]</sup>,很多情况下,从病粒与健康籽粒上分离的真菌种类相当<sup>[17,23,45]</sup>,而且,来源于澳大利亚的黑胚粒上分离到的真菌最多的是 *A. alternata*,通过显微镜观察到其在整个籽粒表面都能生长,其侵染之处与变色的细胞并不关联,用该菌人为侵染小麦穗也未能诱导黑胚症状<sup>[22]</sup>。Conner 等<sup>[45]</sup>用层出镰刀菌(*Fusarium proliferatum*)侵染生长在加利福尼亚的小麦,产生黑胚症状,然而,在北美及加拿大等地区进行的研究并未发现层出镰刀菌与黑胚形成相关<sup>[30,23,46]</sup>,这表明真菌侵染不是黑胚形成的唯一原因。

### 1.3 酶促褐变

Williamson<sup>[22]</sup>把成熟小麦种子依次放在酚酸溶液与过氧化氢( $H_2O_2$ )溶液中,能够在离体条件下诱导黑胚症状产生,这表明引起反应的酶在小麦种子中产生,而且需要  $H_2O_2$  参与才产生黑胚症状,其很可能是过氧化物酶(POD)。而且在试验中,感病与抗病小麦品种产生的症状没有区别。这表明 POD 参与的酶促褐变也是黑胚形成的原因,然而也不排除其他氧化酶参与了黑胚的形成。另有研究表明,在黑胚病变籽粒组织中,酚酸含量比正常组织高得多<sup>[47]</sup>。

由以上研究结果可知,小麦黑胚病病因复杂,环境因素、真菌侵染、酶促褐变 3 个主要因素在不同品种病变中的作用可能不同,因此应找出典型的小麦材料进一步详细研究。

## 2 小麦黑胚病籽粒黑变机制

根据现有的研究结果,无论是环境影响、病菌侵染还是不同品种特定的生理反应,籽粒黑变机制都可能与酚类物质参与的酶促反应有关<sup>[48-50]</sup>,酚酸类物质、 $H_2O_2$ 、超氧化物歧化酶(SOD)、POD、多酚氧化酶(PPO)等多种酶与底物都可能参与了酶促褐变过程。

酚酸类物质阿魏酸与对香豆酸是单子叶植物细胞壁中主要的酚类化合物<sup>[51]</sup>。在小麦中,其主要分布在籽粒的种皮与糊粉层中<sup>[52]</sup>,分别由苯丙氨酸与酪氨酸通过一系列的反应产生,起始步骤由苯丙氨酸解氨酶(PAL)或者酪氨酸解氨酶(TAL)催化<sup>[53]</sup>。作为酶促反应的底物,其供应可能是籽粒黑变的限速因素之一,所以 PAL 与 TAL 活性对黑胚形成的影响可能很大。有研究表明,感病硬粒小麦品种阿魏酸含量与 PAL 活性比抗病品种高,TAL 活性低<sup>[51]</sup>。

大麦感病籽粒外皮中阿魏酸与对香豆酸比健康籽粒高 60 倍<sup>[47]</sup>。

所有的植物都含有 4 类 POD (1 - Cys POD、2 - Cys POD、POD II 和 POD Q), 该酶催化多种酚类化合物的氧化反应<sup>[54-55]</sup>。在小麦籽粒体外产生黑胚症状的试验中, 黑胚症状严重程度随酚溶液种类不同而变化, 用酪氨酸作为底物时仅仅胚周围组织变色, 而用儿茶酚时则胚与腹沟组织变色, 表明不同 POD 同工酶在不同的组织中参与黑胚形成<sup>[22]</sup>。

POD 催化酚类物质的反应需要以  $H_2O_2$  为底物, 因此  $H_2O_2$  的供应与清除可能是黑胚形成的限速因素。细胞中产生  $H_2O_2$  的机制有多种, 其中, SOD 歧化超氧阴离子 ( $O_2^{\cdot-}$ ) 或者氢过氧自由基 ( $HO_2^{\cdot}$ ) 产生  $H_2O_2$  的速率很高<sup>[56]</sup>, 因此 SOD 是供应  $H_2O_2$  的关键酶。根据金属辅因子不同, 植物中的 SOD 有 MnSOD、CuZnSOD、FeSOD 3 种, 分别存在于线粒体与过氧化物酶体, 叶绿体、过氧化物酶体与细胞质, 叶绿体中<sup>[57]</sup>。多种胁迫都会引起活性氧 (ROS) 含量的增加, 而在膜包围的细胞器中产生的  $O_2^{\cdot-}/HO_2^{\cdot}$  不能扩散出去<sup>[58]</sup>, 为了降低  $O_2^{\cdot-}/HO_2^{\cdot}$  带来的毒害水平, SOD 分布在不同细胞区域中将其歧化为能够通过脂膜扩散的  $H_2O_2$ <sup>[57]</sup>。

$H_2O_2$  的及时清除是黑胚形成的另一个重要机制。POD、抗坏血酸过氧化物酶 (APX)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH - Px) 等抗氧化酶都能够清除  $H_2O_2$ <sup>[59]</sup>, 这些酶活性的增加可能参与抗病品种的抗病机制。另外还有一些酶可能参与酶促褐变, 如 PPO 把酚氧化为醌<sup>[54]</sup>, 可能与 POD 协同作用参与酶促褐变反应。研究表明, 小麦和大麦穗部组织中存在 PPO, 籽粒中的 PPO 能使面粉变色<sup>[60]</sup>。脂氧合酶 (LOX) 直接催化不饱和脂肪酸与氧气生成氢过氧化物, 在种子萌发、幼苗生长发育<sup>[61]</sup>、应对伤害与真菌及衰老过程中发挥重要作用<sup>[62]</sup>, 由此可认为, LOX 通过植物对胁迫或伤害的应答反应参与了黑胚的形成。

基于上述研究结果的报道, 可以推测小麦籽粒黑变的系列反应: 由于不利的环境因素 (如高湿环境引起的穗发芽、病菌侵染或者其他的伤害等等) 存在, 引起小麦籽粒细胞中产生过量的 ROS, 如果这些过量的 ROS 不能及时被清除, 将引起氧化损伤, 使本来分布于不同细胞器中的酚酸与 POD 或 PPO 结合, 产生高活性的苯氧基, 苯氧基能自发形成醌类物质, 醌类发生自聚合或与多种氨基酸或蛋白质反应形成有色终产物<sup>[54]</sup>, 当然, 植物也会通过其

他途径提高应对胁迫的能力, 如 PAL/TAL、LOX 活性升高等 (图 1)。许多文献报道的研究结果支持这一黑变机制的推测。王璟等<sup>[63]</sup>对黑变籽粒的表皮分别用丙酮、5% HCl 甲醇溶液和 2% NaOH 溶液进行加热提取, 直至黑变籽粒种皮上黑斑褪去为止。所得提取液依次在 210 ~ 290 nm 处测定 OD 值, 结果发现提取液在 220 nm 处具有最大吸光值, 与黑色素最大吸收值 220 nm 一致, 推测病变籽粒表皮黑变与黑色素产生有关。

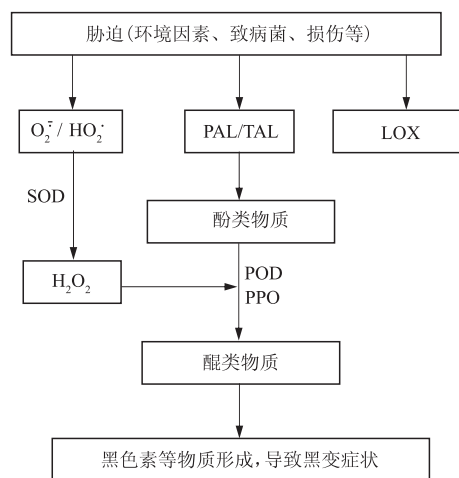


图 1 黑胚病症状形成示意图

于巧丽<sup>[64]</sup>研究了接种 *A. alternata* 前后抗、感黑胚病品种小穗内 SOD、POD、PPO、PAL 酶活性的变化和酚积累情况, 接菌后抗病品种 SOD 与 POD 活性达到峰值的时间早而且活性高于感病品种, 而感病品种 PPO 与 PAL 活性高于抗病品种。抗、感病品种的酚类物质含量没有极显著差异, 但是总酚水平抗病品种高于感病品种, 说明酚类物质积累量与小麦品种黑胚病抗性呈正相关。接菌后抗病品种丙二醛 (MDA) 含量低于感病品种<sup>[49]</sup>, 表明由于接菌胁迫引起 ROS 含量的增加, 抗病品种抗氧化酶活性高, 及时清理 ROS 减少其损伤, 而感病品种由于未能及时清理引起氧化损伤, 使膜的通透性增加, 导致 POD 与底物发生酶促褐变产生黑胚症状。

Mak 等<sup>[65]</sup>用双向电泳比较了感黑胚病小麦品种的病粒与健康粒胚部和胚乳 - 外皮部分的蛋白质组成。对胚部的 354 个蛋白质点和胚乳 - 外皮部分的 303 个蛋白质点进行了质谱鉴定, 没有鉴定出真菌或细菌来源的蛋白质, 健粒与病粒间有许多差异蛋白, 与酚类代谢有关的酶和 POD 在胚与胚乳部分的表达量不同, 最引人瞩目的是, 在 12 类功能蛋白中差异最大的一类是胁迫类, 包括胁迫、病害相关蛋白和防御基因产物。这些蛋白质在健康粒中具有较

高水平,提示黑胚可能是由于小麦籽粒缺乏在胁迫时的自我保护能力所致。黑胚粒中无真菌蛋白,表明在某些情况下黑胚与微生物活动无关;胁迫、病害和防御相关蛋白减少,可以解释抽穗前用杀真菌剂处理反而增加黑胚粒发生的现象,因为杀真菌剂处理可防御生物胁迫,导致多数籽粒细胞中胁迫相关蛋白降低,增加了黑胚病发生机会<sup>[66]</sup>。

March 等<sup>[67]</sup>采用蛋白质组学技术研究发现,感病大麦品种 Sloop 的病粒中 POD II 表达量比健康粒更丰富,因此 POD 很可能参与了大麦中黑胚的形成。与大麦中籽粒色污病抗性相关的多个 QTL 被定为在 2H 染色体上, March 等<sup>[68]</sup>运用比较作图的技术,比对了大麦 2H 染色体与水稻 7 号染色体以筛选与 2H 染色体 QTL 相关的基因,结果表明, *POD* 基因、*LOX* 基因、*PAL* 基因、醌还原酶(*QR*)基因可以作为调控黑胚病的候选基因。

以上麦粒黑变机制中的一些问题还有待于进一步研究。例如,在籽粒发育过程中,什么因素使参与酶促反应的酶与底物结合到一起?穗发芽可能是原因之一, Cochrane<sup>[50]</sup>发现在大麦籽粒发育过程中,高湿环境引起胚芽鞘的伸长先于籽粒成熟,果皮细胞没有破裂而胚部糊粉层与外种皮细胞破裂,并且以破裂边缘变黑来应对破裂引起的伤害,穗发芽提供了黑胚发生需要的细胞伤害,高湿环境引起穗发芽同时也引起黑胚就更易理解了。这表明由伤害启动的酶促褐变会导致黑胚形成。那么,哪些生理过程导致了籽粒发育过程的伤害,参与酶促褐变的酶与底物是由胚部产生还是其他部位产生后运输到籽粒的胚部等这些问题还需要研究。再如,在引起黑胚形成的环境中,酶促褐变机制中涉及的酶如 SOD、POD、PPO、PAL/TAL 等的基因表达量是否上调?其活性与基因表达量的变化是否一致?小麦籽粒中哪些组织产生酶促褐变的酶?

### 3 进一步研究小麦籽粒黑变机制的思路

#### 3.1 确定不同发病类型的研究材料

明确感病品种高黑胚率的主要原因,将其分为病理型黑胚病(主要由致病菌引起)、生理型黑胚病(主要病因为小麦籽粒灌浆后期高湿低温气候因子)2 种类型,根据不同类型黑胚病材料制定研究路线,使小麦黑胚病黑变机制与抗病机制的研究更有针对性。

#### 3.2 确定不同的研究方法

病理型黑胚病研究路线:分离致病菌,明确适宜该菌致病的环境因素,在适宜的人工环境下进行研

究。生理型黑胚病:用典型的抗感品种进行多年多点种植,将发病率与环境因素进行互作分析,探究环境变化对黑胚病的影响;运用典型抗感病材料,在籽粒病变的不同时期取样,并对籽粒的胚、种皮、胚乳等不同部位取样,测定发育过程中 POD、CAT、SOD、GSH - Px 等多种抗氧化酶的活性,  $H_2O_2$  等活性氧含量以及 MDA、羟基( - OH)、电导率等反映细胞被氧化程度的指标,进行小麦黑胚发生机制研究。

#### 3.3 采用组学研究手段

从黑胚产生的机制可以看出,酚类与  $H_2O_2$  的供应、ROS 的清除等生化过程都可能参与,这意味着大量的基因与黑胚形成和小麦品种的敏感性有关。鉴于此,对黑胚形成的生化机制研究需要用基因组学、转录组学、蛋白质组学以及代谢组学等有广泛基础的研究方法进行全基因组、转录组、蛋白质组与代谢组的分析,明确小麦籽粒黑变机制的调控网络,发现与黑胚病抗性关联的关键基因片段(标签),将这些基因片段(标签)在遗传群体中进行验证或者通过转基因验证,开发与黑胚病抗性密切连锁的分子标记,运用于小麦抗黑胚病常规育种的辅助选择或者关键基因克隆。需要注意的是,前人采用蛋白质组学对籽粒黑变机制进行研究时,仅仅用了成熟种子作为试验材料,研究抗感病品系或者同一品种病粒与健粒蛋白质组成的差异,这不能直接反映黑胚形成过程中的物质变化,需要在黑变的不同时期取样,研究黑胚形成过程中物质的变化,才能更好地揭示小麦籽粒黑变机制。

#### 参考文献:

- [1] 国家质量技术监督局. 小麦:GB1351—1999[S]. 北京:中国标准出版社,1999.
- [2] Li Q Y, Qin Z, Jiang Y M, *et al.* Screening wheat genotypes for resistance to black point and the effects of diseased kernels on seed germination [J]. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 2014, 121(2): 79-88.
- [3] 康业斌, 张有聚, 李会娟, 等. 我国小麦黑胚病研究现状[J]. *麦类作物学报*, 1999, 19(2): 58-60.
- [4] 宋玉立, 何文兰, 杨共强, 等. 我国小麦黑胚病研究进展[J]. *河南农业科学*, 2009(9): 117-120.
- [5] 邢小萍, 殷宪平, 刘春元, 等. 不同小麦品种(系)黑胚病发生及其对子粒危害的影响[J]. *河南农业大学学报*, 2007, 41(6): 632-636.
- [6] 代君丽, 于巧丽, 袁虹霞, 等. 河南省小麦黑胚病菌的分离鉴定及致病性测定[J]. *植物病理学报*, 2011, 41(3): 225-231.
- [7] 郝敬喆, 贾菊生, 马德英, 等. 新疆小麦黑胚病的病原、致病性及侵染的研究[J]. *新疆农业大学学报*, 2006, 29(2): 33-38.

- [8] 康业斌,郭秀璞,成玉梅,等. 小麦对黑胚病的抗性 & 黑胚对种质的影响[J]. 麦类作物学报,1998,18(4): 28-31.
- [9] 康业斌,刘顺通,成玉梅. 小麦对黑胚病的抗性 & 黑胚对产量损失的影响[J]. 植物保护,1999,25(3): 25-27.
- [10] 李巧云,尹钧,牛吉山,等. 2010 年郑州地区小麦黑胚率 & 黑胚粒发芽特性[J]. 河南农业科学,2011,40(10): 88-91.
- [11] 李洪连,邢小萍,袁虹霞,等. 小麦黑胚病药剂防治研究[J]. 麦类作物学报,2005,25(5): 100-103.
- [12] 刘红彦,张忠山,何文兰. 小麦黑点病的病原菌及其致病力研究[J]. 植物保护学报,1998,25(3): 223-226.
- [13] 郝敬喆. 新疆小麦黑胚病病原,病原致病力及种质抗病性研究[D]. 乌鲁木齐:新疆农业大学,2006.
- [14] 何文兰,宋玉立,杨共强. 小麦品种资源对子粒黑点病的抗性鉴定[J]. 植物保护,2002,28(4): 19-21.
- [15] 马洪茹,孙小平,宋彦涛,等. 小麦黑胚病发生规律及防治措施初探[J]. 植保技术与推广,2003(4): 13-15.
- [16] 王春明,韩青梅,黄丽丽,等. 3 种杀菌剂对小麦黑胚病菌的毒力测定及病害防治作用[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2006,34(7): 55-60.
- [17] Conner R L, Kuzyk A D. Black point incidence in soft white spring wheat in Southern Alberta and Saskatchewan between 1982 and 1987[J]. Canadian Plant Disease Survey,1988,68: 27-31.
- [18] Rees R G, Martin D J, Law D P. Black point in bread wheat: Effects on quality and germination and fungal associations[J]. Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry, 1984, 24 ( 127 ): 601-605.
- [19] Conner R L, Carefoot J M, Bole J B, *et al.* The effect of nitrogen fertilizer and irrigation on black point incidence in soft white spring wheat[J]. Plant and Soil,1992,140(1): 41-47.
- [20] Wang H, Fernandez M R, Clarke F R, *et al.* Effects of foliar fungicides on kernel black point of wheat in southern Saskatchewan [J]. Canadian Journal of Plant Pathology, 2002,24(3): 287-293.
- [21] 刘文涛,王朝阳,李卫国,等. 安阳市小麦黑胚病发生严重[J]. 植保技术与推广,2001,21(3): 43.
- [22] Williamson P M. Black point of wheat. *In vitro* production of symptoms, enzymes involved, and association with *Alternaria alternata* [J]. Australian Journal of Agricultural Research,1997,48: 13-19.
- [23] Ellis S A, Gooding M J, Thompson A J. Factors influencing the relative susceptibility of wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) to blackpoint [J]. Crop Protection, 1996,15(1): 69-76.
- [24] 田世民,朱之埏,刘保柱. 氮、磷肥和灌水对小麦黑胚病发生的影响[J]. 河北农业大学学报,1997,20(2): 33-35.
- [25] 胡新,刘卫国,朱伟,等. 小麦黑点病影响因素的研究[J]. 河南农业科学,2004(4): 29-31.
- [26] Clarke M P, Gooding M J, Jones S A. The effects of irrigation, nitrogen fertilizer and grain size on Hagberg falling number, specific weight and blackpoint of winter wheat[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture,2004,84(3): 227-236.
- [27] Fernandez M R, Clarke J M, DePauw R M, *et al.* Black point and red smudge in irrigated durum wheat in southern Saskatchewan in 1990—1992 [J]. Canadian Journal of Plant Pathology,1994,16(3): 221-227.
- [28] Fernandez M R, Clarke J M, DePauw R M, *et al.* Black point reaction of durum and common wheat cultivars grown under irrigation in southern Saskatchewan [J]. Plant Disease,2000,84(8): 892-894.
- [29] Petr J, Capouchova I. Causes of the occurrence of malting barley kernel discoloration [J]. Monatsschrift fur Brauwissenschaft,2001,54: 104-113.
- [30] Moschini R C, Sisterna M N, Carmona M A. Modelling of wheat black point incidence based on meteorological variables in the southern Argentinean Pampas region [J]. Australian Journal of Agricultural Research, 2006, 57 ( 11 ): 1151-1156.
- [31] Conner R L. Influence of irrigation and precipitation on incidence of black point in soft white spring wheat [J]. Canadian Journal of Plant Pathology, 1989, 11 ( 4 ): 388-392.
- [32] Sisterna M N, Sarandón S J. Preliminary studies on the natural incidence of wheat blackpoint under different nitrogen fertilization levels and tillage systems in Argentina [J]. Plant Pathology Journal,2005,4(1): 26-28.
- [33] Toklu F, Akgul D S, Biçici M, *et al.* The relationship between black point and fungi species and effects of black point on seed germination properties in bread wheat [J]. Turkish Journal of Agriculture and Forestry,2008, 32: 267-272.
- [34] Nuray Ö. Determination of the fungi responsible for black point in bread wheat and effects of the disease on emergence and seedling vigour [J]. Trakya Univ J Sci,2005, 6(1): 35-40.
- [35] Locke T, Barnes D. New or unusual records of plant diseases and pests [J]. Plant Pathology,1979,28(1): 53.
- [36] Malaker P K, Mian I H. Population dynamics of mycoflora and incidence of black point disease in wheat grains [J]. Bangladesh Journal of Agricultural Research,2010, 35(1): 1-10.
- [37] Nesterov A N. Black embryo grain as the source of root rot of spring wheat [J]. Seed Abstracts,1981,5: 20-53.
- [38] Kumar J, Schäfer P, Hückelhoven R, *et al.* *Bipolaris sorokiniana*, a cereal pathogen of global concern: Cytological and molecular approaches towards better control double dagger [J]. Molecular Plant Pathology, 2002, 3 ( 4 ): 185-195.
- [39] 张天宇,王海丽,徐芳玲. 小麦籽粒黑点病及其病原

- [J]. 植物保护学报, 1990, 17(4): 313-316.
- [40] 白金铠, 陈其本. 东北春小麦根腐病防治研究[J]. 植物保护学报, 1982, 9(4): 251-256.
- [41] 马德英, 贾菊生, 羌松. 新疆小麦籽粒黑胚病及病原的致病性研究[J]. 新疆农业科学, 2004, 41(1): 38-40.
- [42] Bhowmik T P. *Alternaria* seed infection of wheat [J]. Plant Disease Reporter, 1969, 53(1): 77-80.
- [43] Cromeey M G, Mulholland R I. Blackpoint of wheat; Fungal associations, cultivar susceptibility, and effects on grain weight and germination [J]. New Zealand Journal of Agricultural Research, 1988, 31(1): 51-56.
- [44] Hyde M B, Gallegmore H B. The subepidermal fungi of cereal grains II. The nature, identity and origin of the mycelium in wheat [J]. Annals of Applied Biology, 1951, 38(2): 348-356.
- [45] Conner R L, Hwang S F, Stevens R R. Fusarium proliferation: A new causal agent of black point in wheat [J]. Canadian Journal of Plant Pathology, 1996, 18(4): 419-423.
- [46] Jacobs B, Rabie C J. The correlation between mycelial presence and black-point in barley [J]. Phytophylactica, 1987, 19: 77-81.
- [47] Michalowitz M, Sulman M, Fox G, et al. Unravelling the biochemical basis of black point formation in wheat and barley grain [C]. Cairns, QLD: APPS Conference, 2001.
- [48] Walker K R. Regulation of candidate genes in black point formation in barley [D]. Adelaide: The University of Adelaide, 2011.
- [49] 王璟, 周慧, 邢小萍, 等. 不同抗黑胚病小麦品种接菌后丙二醛和总酚含量及 PPO 活性的变化 [J]. 河南科学, 2007, 25(3): 423-426.
- [50] Cochrane M P. Observations on the germ aleurone of barley. Phenol oxidase and peroxidase activity [J]. Annals of Botany, 1994, 73(2): 121-128.
- [51] Regnier T, Macheix J J. Changes in wall bound phenolic acids, phenylalanine and tyrosine ammonia lyases, and peroxidases in developing durum wheat grains (*Triticum turgidum* L. var. durum) [J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 1996, 44: 1727-1730.
- [52] Gallardo C, Jimenez L, Garcia-Conesa M T. Hydroxycinnamic acid composition and in vitro antioxidant activity of selected grain fractions [J]. Food Chemistry, 2006, 99: 455-463.
- [53] Lee C Y, Whitaker J R. Enzymatic browning and its prevention [C]//ACS symposium series (USA). Washington DC: American Chemical Society, 1995.
- [54] Horling F, König J, Dietz K J. Type II peroxiredoxin C, a member of the peroxiredoxin family of *Arabidopsis thaliana*; Its expression and activity in comparison with other peroxiredoxins [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2002, 40(6): 491-499.
- [55] Dietz K J, Jacob S, Oelze M L, et al. The function of peroxiredoxins in plant organelle redox metabolism [J]. Journal of Experimental Botany, 2006, 57(8): 1697-1709.
- [56] Halliwell B, Gutteridge J M C. Free radicals in biology and medicine [M]. Oxford: Clarendon Press, 1985: 331-332.
- [57] Bowler C, Van Camp W, Van Montagu M, et al. Superoxide dismutase in plants [J]. Critical Reviews in Plant Sciences, 1994, 13(3): 199-218.
- [58] Takahashi M A, Asada K. Superoxide anion permeability of phospholipid membranes and chloroplast thylakoids [J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1983, 226(2): 558-566.
- [59] Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance [J]. Trends Plant Sci, 2002, 7(9): 405-410.
- [60] Taketa S, Matsuki K, Amano S, et al. Duplicate polyphenol oxidase genes on barley chromosome 2H and their functional differentiation in the phenol reaction of spikes and grains [J]. Journal of Experimental Botany, 2010, 61(14): 3983-3993.
- [61] Terp N, Göbel C, Brandt A, et al. Lipxygenases during *Brassica napus* seed germination [J]. Phytochemistry, 2006, 67(18): 2030-2040.
- [62] Siedow J N. Plant lipxygenase: Structure and function [J]. Annual Review of Plant Biology, 1991, 42(1): 145-188.
- [63] 王璟, 周慧, 邢小萍, 等. 小麦黑胚病籽粒黑变机理初步研究 [C]//彭友良, 康振生. 中国植物病理学会 2007 年学术年会论文集. 杨凌: 西北农林科技大学出版社, 2007.
- [64] 于巧丽. 河南省小麦黑胚病病原菌多样性研究和品种生理生化抗性机制研究 [D]. 郑州: 河南农业大学, 2006.
- [65] Mak Y, Willows R D, Roberts T H, et al. Black point is associated with reduced levels of stress, disease- and defence-related proteins in wheat grain [J]. Molecular Plant Pathology, 2006, 7(3): 177-189.
- [66] Dimmock J P R E, Gooding M J. The effects of fungicides on Hagberg falling number and blackpoint in winter wheat [J]. Crop Protection, 2002, 21(6): 475-487.
- [67] March T J, Able J A, Schultz C J, et al. A novel late embryogenesis abundant protein and peroxidase associated with black point in barley grains [J]. Proteomics, 2007, 7(20): 3800-3808.
- [68] March T J, Able J A, Willsmore K, et al. Comparative mapping of a QTL controlling black point formation in barley [J]. Functional Plant Biology, 2008, 35(5): 427-437.