

西瓜叶片防御酶活性与枯萎病抗性的关系

陈 亮¹,陈年来²

(1. 甘肃省农业工程技术研究院,甘肃 武威 733006; 2. 甘肃农业大学 园艺学院,甘肃 兰州 730070)

摘要: 为了明确西瓜枯萎病抗性与抗氧化、次生代谢相关酶活性的关系,以西瓜枯萎病鉴别寄主(高抗品种 PI296341-FR、轻抗品种 Crimson Sweet 和高感品种 Sugar Baby)为材料,采用西瓜枯萎病菌孢子悬浮液进行人工接种,研究接种处理后西瓜叶片超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、多酚氧化酶(PPO)、苯丙氨酸解氨酶(PAL)、过氧化氢酶(CAT)活性的变化。结果显示,西瓜枯萎病菌接种处理后,3个西瓜品种叶片 SOD、POD、PPO、PAL、CAT 活性较未接种对照均有显著提高,抗病品种 PI296341-FR 和 Crimson Sweet 叶片的 SOD、POD、PPO、PAL、CAT 活性峰值出现时间早于感病品种 Sugar Baby,酶活性增幅显著高于感病品种。抗病品种 PI296341-FR 和 Crimson Sweet 叶片的 SOD、POD、PPO、CAT 活性均在接种后 2 d 达到峰值,高抗品种 PI296341-FR 叶片的 SOD、POD、PPO、CAT 活性分别较未接种对照显著增加了 58.98%、26.08%、69.87%、78.00%,较感病品种 Sugar Baby 显著增加了 47.62%、22.75%、19.91%、41.79%;轻抗品种 Crimson Sweet 叶片的 SOD、POD、PPO、CAT 活性分别较未接种对照显著增加了 73.01%、22.33%、62.59%、63.46%,较感病品种 Sugar Baby 显著增加了 34.56%、10.10%、8.14%、28.40%。高抗品种和轻抗品种叶片的 PAL 活性分别于接种后 2、1 d 达峰值,分别较各自未接种对照显著增加了 70.70%、33.34%,高抗品种叶片 PAL 活性较感病品种显著增加了 20.65%。而感病品种 Sugar Baby 叶片的 5 种酶活性均在接种后 3 d 才达到峰值。研究表明,SOD、POD、PPO、PAL、CAT 5 种防御酶活性变化与西瓜抗病性密切相关,在西瓜枯萎病抗性生化机制中起重要作用,SOD、POD、PPO、PAL、CAT 活性峰值大小及出现时间的早晚可作为西瓜枯萎病抗性筛选的重要生化指标。

关键词: 西瓜枯萎病;抗病性;超氧化物歧化酶;过氧化物酶;多酚氧化酶;苯丙氨酸解氨酶;过氧化氢酶

中图分类号: S436.5 文献标志码: A 文章编号: 1004-3268(2019)01-0077-08

Relationship between Leaf Defensive Enzyme Activities and Resistance to *Fusarium* Wilt in Watermelon

CHEN Liang¹, CHEN Nianlai²

(1. Gansu Provincial Institute of Agricultural Engineering and Technology, Wuwei 733006, China;
2. College of Horticulture, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: To determine the relationships between activities of antioxidant, secondary metabolism related enzymes and resistance to *Fusarium* wilt in watermelon, three watermelon *Fusarium* wilt differential hosts (high resistant cultivar PI296341-FR, slight resistant cultivar Crimson Sweet, high susceptible cultivar Sugar Baby) were employed, and the dynamic changes of activities of superoxide dismutases (SOD), peroxidase (POD), polyphenol oxidase (PPO), phenylalanine ammonia lyase (PAL) and catalase (CAT) in different resistant watermelon cultivar leaves were analyzed after inoculation by the pathogen of *Fusarium*

收稿日期:2018-08-08
基金项目:甘肃省农业生物技术开发应用专项(GNSW-2015-17)
作者简介:陈 亮(1989-),男,甘肃武威人,研究实习生,硕士,主要从事设施蔬菜生理与栽培技术研究。
E-mail:chenliang144358@163.com
通信作者:陈年来(1962-),男,甘肃民勤人,教授,主要从事蔬菜栽培生理与生态研究。E-mail:chenll@gsau.edu.cn

wilt. The results showed that activities of SOD, POD, PPO, PAL and CAT in watermelon leaves were significantly higher than the uninoculated control. The increase rates of SOD, POD, PPO, PAL and CAT activities of resistant cultivar PI296341-FR and Crimson Sweet leaves were significantly higher than the susceptible ones and the activity peaks appeared earlier after inoculation by *Fusarium oxysporum*. The activities of SOD, POD, PPO and CAT of resistant cultivars PI296341-FR and Crimson Sweet reached the peak values on the second day after inoculation, which in high resistant cultivar PI296341-FR leaves were significantly increased by 58.98%, 26.08%, 69.87% and 78.00% compared with the uninoculated control, and by 47.62%, 22.75%, 19.91% and 41.79% compared with the susceptible cultivar Sugar Baby. The activities of SOD, POD, PPO and CAT in slight resistant cultivar Crimson Sweet leaves were significantly increased by 73.01%, 22.33%, 62.59% and 63.46% compared with the uninoculated control, and by 34.56%, 10.10%, 8.14% and 28.40% compared with the susceptible cultivar Sugar Baby. The PAL activities of high resistant cultivar PI296341-FR and slight resistant cultivar Crimson Sweet leaves reached the peak values separately on the second day and the first day, compared with the uninoculated control, which was significantly increased by 70.70% and 33.34%. Compared with the susceptible cultivar Sugar Baby, the activity of PAL in high resistant cultivar PI296341-FR leaves was significantly increased by 20.65%. However, the activity peaks of SOD, POD, PPO, PAL and CAT in high susceptible cultivar Sugar Baby appeared on the third day after inoculation. The results indicated that the change of SOD, POD, PPO, PAL and CAT activities in watermelon leaves was closely related to watermelon *Fusarium* wilt resistance, and the five defensive enzymes played an important role in resistant mechanism to watermelon *Fusarium* wilt. The activity peak value and emergence time of SOD, POD, PPO, PAL and CAT could be taken as important biochemical indexes for identification and screening of watermelon *Fusarium* wilt resistant cultivars.

Key words: Watermelon *Fusarium* wilt; Disease resistance; SOD; POD; PPO; PAL; CAT

西瓜 [*Citrullus lanatus* (Thunb) Manf.] 是葫芦科西瓜属 1 年生蔓性草本植物, 原产非洲^[1]。我国是世界上西瓜生产与消费量最大的国家, 2010 年西瓜种植面积和产量分别达 181.25 万 hm^2 和 6 818.1 万 t ^[2], 西瓜产业在我国农业生产中占据着重要地位, 在农业结构调整与农民增收中发挥着重要作用^[3]。西瓜枯萎病是由半知菌亚门镰刀菌属 (*Fusarium* Link ex Fr.) 尖孢镰刀菌西瓜专化型 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*, FON) 侵染引起的真菌土传病害, 随着西瓜种植面积的扩大, 轮作倒茬日益困难, 西瓜枯萎病大面积发生和流行^[4], 严重制约了我国西瓜产业的可持续发展^[5]。因此, 开展西瓜枯萎病抗性研究对于西瓜高产高效生产具有重要意义。

邹芳斌等^[6]、赵秀娟等^[7]、刘守伟等^[8]、GIROUSSE 等^[9] 对病原菌侵染后寄主植株的各种生理生化代谢反应与抗病性的关系进行了研究, 发现植物体在受病原菌侵染后, 作为苯丙烷类代谢限速酶的苯丙氨酸解氨酶 (PAL), 参与酚类氧化或缩合的过氧化物酶 (POD)^[10]、多酚氧化酶 (PPO)^[11] 和具有保护作用的超氧化物歧化酶 (SOD) 等的活性会发生显著变化。丁九敏等^[12] 在霜霉病菌侵染黄瓜试验中发现, 抗病品种黄瓜叶片 SOD 活性极显著

高于感病品种, 叶片的 SOD 活性与霜霉病抗性呈正相关。吴岳轩等^[13] 对水稻白叶枯病、周晓慧等^[14] 对甜瓜蔓枯病的研究发现, POD^[13]、过氧化氢酶 (CAT)^[14] 活性均与抗性呈正相关。徐敬华等^[15] 研究发现, PAL 活性表达呈周期性变化, 叶片是 PAL 活性高效表达的部位, 其酶活性与西瓜枯萎病抗性呈正相关。可见, 植物的抗 (耐) 病性与其体内的防御酶活性密切相关, 但采用国际上公认的西瓜枯萎病鉴别寄主来研究植株受侵染后抗性相关酶活性与抗病性的关系鲜见报道。

本试验以西瓜枯萎病鉴别寄主 (高抗品种 PI296341-FR、轻抗品种 Crimson Sweet 和高感品种 Sugar Baby) 为材料, 采用西瓜枯萎病菌孢子悬浮液进行人工接种, 比较分析了抗感性不同西瓜品种接种枯萎病菌前后叶片 SOD、POD、PPO、PAL、CAT 活性的变化, 以期为进一步阐释西瓜枯萎病生化抗性机制提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

选用对尖孢镰刀菌西瓜专化型 1 号生理小种具有不同抗性的 3 个西瓜品种^[5]: 高抗品种 PI296341-FR (*C. lanatus* var. *citroides*)、轻抗品种 Crimson Sweet

(*C. lanatus* var. *lanatus*) 和高感品种 Sugar Baby (*C. lanatus* var. *lanatus*), 种子由国家蔬菜工程技术研究中心提供。

供试菌种:西瓜枯萎病菌选用国际公认的尖孢镰刀菌西瓜专化型 1 号生理小种, 由甘肃省农业科学院植物保护研究所何苏琴研究员提供。供试菌种于试验前进行复壮, 单孢纯化。

1.2 西瓜枯萎病菌孢子悬浮液的制备

病原菌于马铃薯葡萄糖琼脂 (PDA) 培养基上培养 7 d, 然后用手持打孔器将西瓜枯萎病菌菌片转接到马铃薯蔗糖 (PS) 液体培养基中, 每个 50 mL 三角瓶接 3 片, 放入摇床在 28 ℃、120 r/min 条件下恒温振荡培养 7 d。再用双层消毒纱布过滤, 菌液经 5 000 r/min 离心 20 min, 弃去上清液得到白色孢子沉淀, 加无菌蒸馏水适当稀释, 经 Neubauer 血球计数板 (0.1 mm, 1/400 mm²) 计算, 配成浓度为 1 × 10⁶ 个/mL 的孢子悬浮液, 作侵染菌液备用。

1.3 育苗及接种处理

供试西瓜种子用 0.1% 的高锰酸钾溶液浸泡 30 min, 温汤 (50 ~ 55 ℃) 浸种 6 h 后, 用湿毛巾包裹置于 28 ℃ 恒温培养箱内催芽, 待种子露白后选择芽长基本一致的种子播种于穴盘灭菌基质 (按 $V_{\text{蛭石}}:V_{\text{珍珠岩}} = 3:1$ 混合) 中, 在 25 ~ 28 ℃ 温室内进行育苗。子叶生长期每穴每隔 7 d 浇灌一次 5 mL 1/2 Hoagland 营养液, 真叶展出后每穴每隔 4 ~ 5 d 浇灌一次 5 mL Hoagland 完全营养液。待幼苗长至三叶一心时, 采用灌根法^[16]进行接种处理, 在距幼苗根部 0.5 ~ 1 cm 处用注射器注入 5 mL 孢子悬浮液。接种处理每品种接菌 24 株, 不接种处理以灌蒸馏水作为对照 (CK), 每品种灌蒸馏水 24 株, 3 次重复。

1.4 取样方法

分别于接种前 0 d, 接种处理后 1、2、3、4、5 d 取自上而下第 2 片充分展开的叶片, 每个处理随机取 10 株, 3 次重复, 将每个处理的样品称质量后 (约 2.5 g) 放入 -80 ℃ 超低温冰箱保存作为待测样本。

1.5 酶活性测定

SOD 活性测定参照裴斌等^[17]的方法, 采用氮蓝四唑 (NBT) 法测定, 以抑制 NBT 光化学还原 50% 为 1 个酶活性单位 (U); POD 活性测定参照李合生^[18]的方法, 采用愈创木酚法测定, 以愈创木酚为底物, 以 1 min 内 OD₄₇₀ 变化 0.2 为 1 个酶活性单位 (U); PPO 活性测定参照李合生^[18]的方法, 采用邻苯二酚法测定, 以 0.02 mol/L 邻苯二酚为底物, 以 1 min 内 OD₃₉₈ 变化 0.001 为 1 个酶活性单位 (U); PAL 活性测定参照李合生^[18]的方法, 采用苯丙氨酸法测定, 以 0.02 mol/L L-苯丙氨酸为底物, 以 OD₂₉₀ 变化 0.01 为 1 个酶活性单位 (U); CAT 活性测定参照裴斌^[17]的方法, 采用紫外吸收法测定, 以 1 min 内 OD₂₄₀ 降低 0.1 为 1 个酶活性单位 (U)。每个酶活性指标重复测定 3 次, 取其平均值。

1.6 数据处理

采用 Microsoft Excel (2007 版) 计算试验数据并作图, 用 SPSS 19.0 软件对数据进行单因素方差分析, 并运用 Duncan's 检验法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 不同抗性西瓜品种叶片的 SOD 活性变化

随着接种后时间的延长, 3 个对照西瓜品种叶片 SOD 活性变化不大, 接菌处理后, 抗病品种叶片 SOD 活性显著升高, 3 个西瓜品种叶片 SOD 活性变化均呈现先升高后下降的趋势 (图 1)。接种后, 高

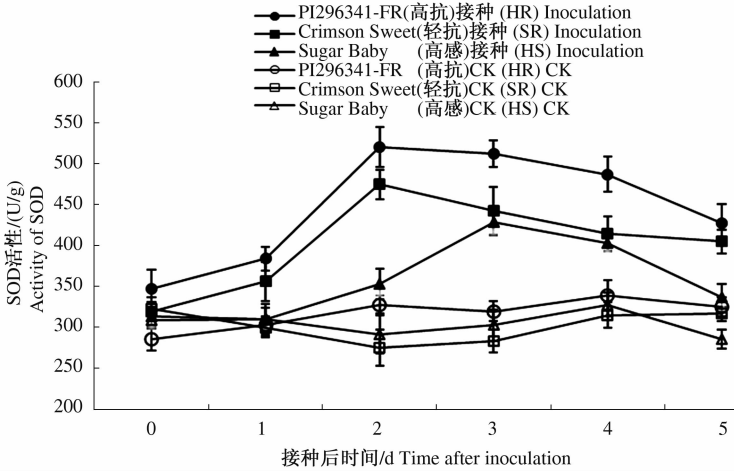


图 1 接种西瓜枯萎病菌后叶片 SOD 活性变化

Fig. 1 The change of SOD activity of leaves after inoculation with *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*

抗品种 PI296341 - FR 和轻抗品种 Crimson Sweet 叶片 SOD 活性迅速增加,均在第 2 天达到峰值,分别较各自未接种对照增加了 58.98%、73.01% ($P \leq 0.05$),较感病品种 Sugar Baby 分别增加了 47.62%、34.56% ($P \leq 0.05$),之后开始下降。而感病品种 Sugar Baby 在接种后第 3 天叶片 SOD 活性才达到峰值,较接种处理前 0 d 增加了 36.60% ($P \leq 0.05$),之后活性开始下降。从 3 个品种的 SOD 活性变化来看,接种西瓜枯萎病菌可显著提高西瓜叶片 SOD 活性,抗病品种酶活性峰值出现时间早于感病品种,抗病品种叶片 SOD 活性变化幅度显著高于感病品种。

2.2 不同抗性西瓜品种叶片的 POD 活性变化

随着接种后时间的延长,3 个对照西瓜品种叶片 POD 活性变化不大,接菌处理后 3 个品种叶片

POD 活性有所升高,均呈现先升高后降低的变化趋势(图 2)。接种后,高抗品种 PI296341 - FR 和轻抗品种 Crimson Sweet 叶片 POD 活性迅速增加,均在第 2 天达到峰值,分别较各自未接种对照增加了 26.08%、22.33% ($P \leq 0.05$),较感病品种 Sugar Baby 分别增加了 22.75%、10.10% ($P \leq 0.05$),之后开始下降。而感病品种 Sugar Baby 在接种后 1 d 叶片 POD 活性虽略有升高但增速缓慢,至第 3 天时才达到活性峰值,较接种处理前 0 d 增加了 8.52%,之后活性开始下降。从 3 个品种叶片 POD 活性变化来看,接种西瓜枯萎病菌可显著提高西瓜叶片 POD 活性,抗病品种酶活性峰值出现时间早于感病品种,抗病品种叶片 POD 活性变化幅度显著高于感病品种。

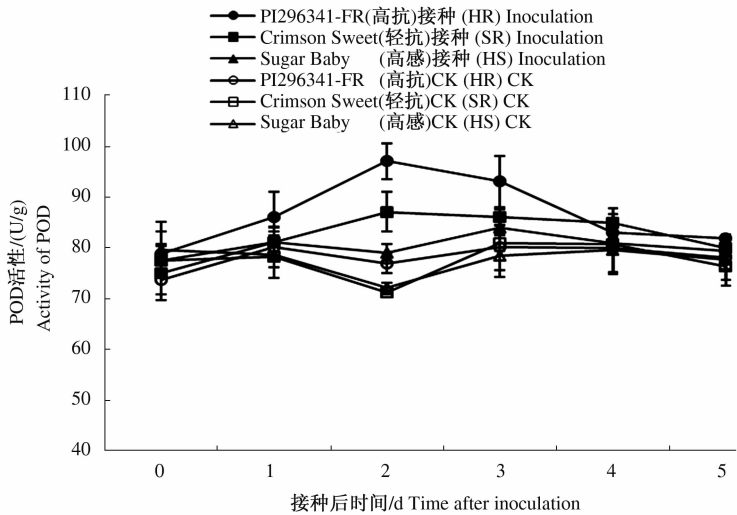


图 2 接种西瓜枯萎病菌后叶片 POD 活性变化

Fig. 2 The change of POD activity of leaves after inoculation with *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*

2.3 不同抗性西瓜品种叶片的 PPO 活性变化

接种处理的 3 个西瓜品种 PPO 活性均显著高于对照 ($P \leq 0.05$),说明西瓜枯萎病菌接种处理可显著提高叶片 PPO 活性(图 3)。随着时间的延长,接种后 3 个品种叶片的 PPO 活性变化趋势基本一致,均表现为先升高后下降。高抗品种 PI296341 - FR 和轻抗品种 Crimson Sweet 在接种后第 2 天叶片 PPO 活性均达到峰值,高抗品种较未接种对照和感病品种 Sugar Baby 提高了 69.87%、19.91% ($P \leq 0.05$),轻抗品种 Crimson Sweet 较未接种对照提高了 62.59% ($P \leq 0.05$),而感病品种 Sugar Baby 叶片 PPO 活性增速缓慢,活性峰值在第 3 天出现。接种处理后 3 个西瓜品种在达到酶活性峰值时,高抗品种 PI296341 - FR 和轻抗品种 Crimson Sweet 叶片

PPO 活性较接种前分别提高了 57.74%、53.21% ($P \leq 0.05$),而感病品种 Sugar Baby 叶片 PPO 活性较接种前提高了 25.93%;抗病品种在接种第 2 天后,叶片 PPO 活性缓慢下降,而感病品种则在接种第 3 天后,叶片 PPO 活性迅速下降。可见,西瓜枯萎病菌接种处理可显著提高西瓜叶片 PPO 活性,抗病品种酶活性峰值出现时间早于感病品种,抗病品种 PPO 活性变化幅度显著高于感病品种。

2.4 不同抗性西瓜品种叶片的 PAL 活性变化

接种处理前 3 个西瓜品种的 PAL 活性无显著差异,接种处理后,随着时间的延长,3 个品种的 PAL 活性变化均呈现先升高后下降的趋势(图 4),说明枯萎病菌接种处理可以显著提高西瓜叶片 PAL 活性。高抗品种 PI296341 - FR 在接种后 2 d 叶片

PAL 活性达到峰值,分别较未接种对照和感病品种 Sugar Baby 提高了 70.70%、20.65% ($P\leq 0.05$), 然后 PAL 活性呈现缓慢下降趋势,轻抗品种 Crimson Sweet 叶片 PAL 活性在接种后 1 d 达到峰值,较未接种对照提高了 33.34% ($P\leq 0.05$),之后缓慢下降趋于稳定。而感病品种 Sugar Baby 在接种后 3 d 叶片 PAL 活性才达到峰值,之后逐渐降低,抗病品种的酶活性峰值出现时间均早于感病品种。接种处理后 3 个西瓜品种在达到酶活性峰值时,高抗品种

PI296341 - FR 和轻抗品种 Crimson Sweet 叶片 PAL 活性分别较接种前提高了 73.17%、65.91% ($P\leq 0.05$),而感病品种 Sugar Baby 叶片 PAL 活性较接种前提高了 34.08% ($P\leq 0.05$)。从 3 个西瓜品种叶片 PAL 活性变化来看,西瓜枯萎病菌接种处理可显著提高西瓜叶片 PAL 活性,抗病品种酶活性峰值出现时间早于感病品种,抗病品种 PAL 活性变化幅度显著高于感病品种。

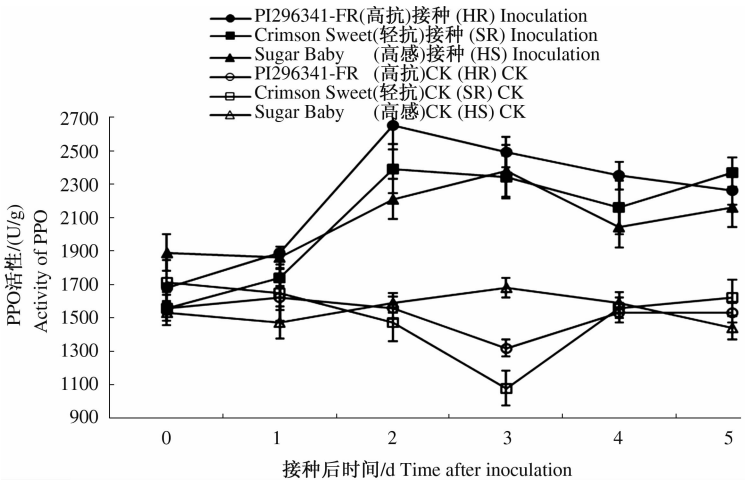


图 3 接种西瓜枯萎病菌后叶片 PPO 活性变化

Fig. 3 The change of PPO activity of leaves after inoculation with *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*

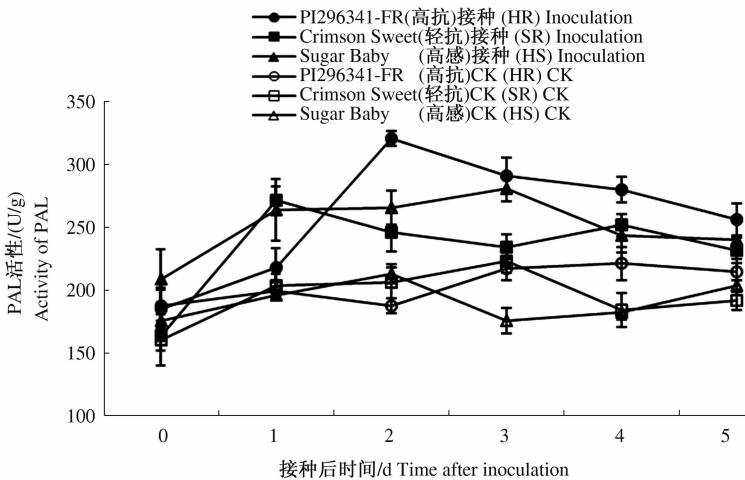


图 4 接种西瓜枯萎病菌后叶片 PAL 活性变化

Fig. 4 The change of PAL activity of leaves after inoculation with *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*

2.5 不同抗性西瓜品种叶片的 CAT 活性变化

随着接种后时间的延长,3 个对照西瓜品种叶片的 CAT 活性变化不大,接菌处理后 3 个西瓜品种叶片的 CAT 活性均显著升高 ($P\leq 0.05$),且呈现先升高后降低的趋势 (图 5)。高抗品种 PI296341 - FR 和轻抗品种 Crimson Sweet 在接种后 2 d 叶片 CAT 活性均达到峰值,且高于感病品种,高抗品种

PI296341 - FR 和轻抗品种 Crimson Sweet 叶片 CAT 活性分别较各自未接种对照提高 78.00%、63.46% ($P\leq 0.05$),较感病品种提高了 41.79%、28.40% ($P\leq 0.05$)。在第 2 天达到峰值时,高抗品种和轻抗品种叶片 CAT 活性分别较接种前 0 d 提高了 86.99%、79.58% ($P\leq 0.05$),而感病品种 Sugar Baby 叶片 CAT 活性在接种后第 3 天才达到峰值,较

接种前 0 d 提高了 54.37% ($P \leq 0.05$)。说明西瓜抗病品种酶活性峰值出现时间早于感病品种,抗病品种叶片 CAT 活性变化幅度显著高于感病品种。

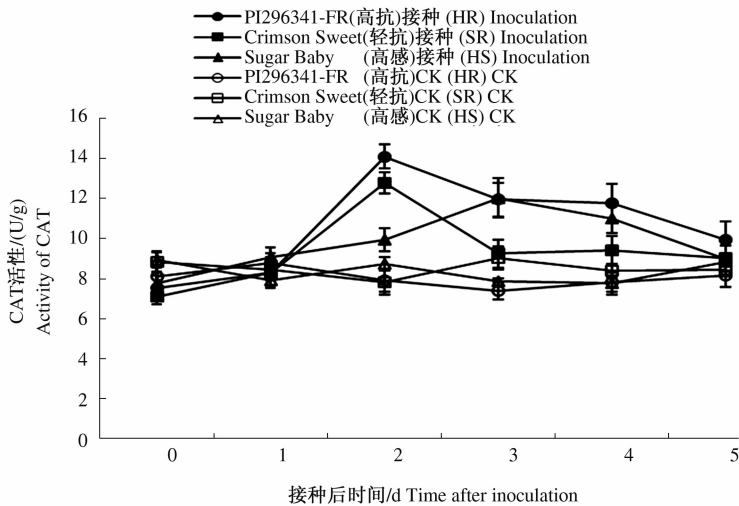


图 5 接种西瓜枯萎病菌后叶片 CAT 活性变化
Fig. 5 The change of CAT activity of leaves after inoculation with *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*

3 结论与讨论

本试验结果表明,西瓜枯萎病菌接种处理后,3个西瓜品种叶片 SOD、POD、PPO、PAL、CAT 活性较对照均有显著提高,抗病品种 PI296341 - FR 和 Crimson Sweet 叶片的 SOD、POD、PPO、PAL、CAT 活性峰值出现时间早于感病品种 Sugar Baby,酶活性增幅显著高于感病品种。SOD、POD、PPO、PAL、CAT 5 种防御酶活性变化与西瓜抗病性密切相关,在西瓜枯萎病抗性生化机制中起重要作用,SOD、POD、PPO、PAL、CAT 活性峰值大小及出现时间的早晚可

3.1 SOD、POD、CAT 与西瓜枯萎病抗性的关系

植物的防卫反应是在酶催化下一系列复杂生理生化代谢的结果^[19],与植物的抗病性密切相关,SOD、POD、CAT 等抗氧化酶类通常用作衡量植物体内防卫反应的重要指标^[20-21]。植物感染病原菌后,体内活性氧产生和消除的代谢平衡受到破坏,过剩的活性氧能引发和加剧膜脂过氧化作用,细胞结构被破坏,代谢系统紊乱,严重时会导致植物细胞死亡,而 SOD、POD、CAT 是植物体内担负清除活性氧的保护酶系统中的关键酶^[6],这几种酶活性的增加表明清除自由基的能力增强,降低了膜脂过氧化作用,从而维护细胞的正常代谢^[22]。一般植物感染病原菌后,抗感品种的抗氧化酶活性均会升高。李新等^[22]通过黄瓜枯萎病的研究发现,POD、SOD 活性的变化与黄瓜的抗病性呈正相关关系。侯茜等^[23]、孙正祥等^[24]对西瓜枯萎病的研究均表明,POD 和

CAT 活性与植物的抗病性呈正相关。但也有不同观点,云兴福^[25]对黄瓜感染霜霉病的研究认为,SOD 活性与抗病性呈负相关,POD 活性与抗病性呈正相关。房保海等^[26]研究发现,对烟草接种低头黑病菌后,感病品种 POD 活性增加快,始终高于抗病品种。

本试验对不同抗性的西瓜品种接种枯萎病菌后,SOD、POD、CAT 活性的动态分析表明,无论是西瓜抗病品种还是感病品种,在受枯萎病菌侵染后,其植株体内的细胞都会做出抗性反应,表现为 SOD、POD、CAT 活性的提高,但抗病、感病品种之间的反应快慢存在差异,抗病品种对接种处理较为敏感,接种后 3 种酶活性迅速增加,较早达到活性峰值,而感病品种则对接种处理反应较为迟钝,接种后酶活性缓慢增加,活性峰值出现较晚,达活性峰值后迅速下降,这与赵秀娟等^[7]对苦瓜枯萎病的抗性研究结果相一致,齐绍武等^[27]在研究甘蓝型油菜接种菌核病菌后也得到相同的结论。针对抗感西瓜品种叶片的 POD 活性变化,本试验研究发现,接种枯萎病菌后,抗感品种叶片 POD 活性都呈现先升高后下降的变化趋势,但抗病品种 POD 活性始终高于感病品种,且抗病品种在接种处理后酶反应变化幅度更显著,酶活性增幅更大,这与李新等^[22]的研究结果相同,但与刘守伟等^[8]在黄瓜枯萎病抗性试验中得出的结果不完全相同,可能的原因是所选择的试验材料或取样部位不同,有待进一步深入研究。本试验所用抗病西瓜品种对接种处理更为敏感,枯萎病菌侵染细胞后膜系统受损,透性增加,酶促反应加速,酶

活性提高,表现为抗病品种的 POD 活性变化幅度显著大于感病品种,这也再次反映出接种处理后植物细胞的膜系统受损是抗氧化酶类发生显著变化的根本原因。

3.2 PPO、PAL 与西瓜枯萎病抗性的关系

PPO^[28]、PAL^[29-30]活性与植物抗病性密切相关。PAL 是植物抗病性物质生成途径——苯丙烷类代谢途径的关键酶和限速酶,PAL 活性的提高有利于抗性物质木质素含量的增加^[31];PPO 可催化酚类物质氧化成醌,造成木质素大量合成并积累于细胞壁间,增加细胞壁抗病原物的穿透压力,阻止病原菌的侵入繁殖或钝化毒素^[32]。陈年来等^[30]研究认为,植物的抗病性强弱决定于体内抗性基因表达后发生抗病反应的速度和积累抗病物质的速度与数量。本试验通过研究抗感西瓜品种叶片 PPO 和 PAL 活性的变化发现,接种后 3 个品种西瓜叶片的 PPO 和 PAL 活性均显著升高,可能是由于枯萎病菌的侵染激活了 PPO 和 PAL 基因的表达,而由 PPO 催化形成的醌类物质以及 PAL 诱导合成的大量木质素在一定程度上限制了病菌的扩散;接种后抗病品种叶片的 PPO 和 PAL 活性及增幅均显著高于对照和感病品种,原因之一是接种枯萎病菌后抗病品种叶片 PPO 和 PAL 2 种防御酶活性表达水平较高,酶活性的高水平表达也是植物应对病菌侵染的抗性反应,以适应逆境;抗病品种叶片 PPO 和 PAL 活性峰值的出现时间均早于感病品种,可能是由于抗病品种的一些早期防卫反应出现较早,酶促反应速度快,催化诱导形成的酚类物质积累早,而感病品种虽有防御能力,但酶诱导速度和强度均较抗病品种差,来不及或不足以抑制病原菌生长,所以感病品种出现酶活性峰值的时间比抗病品种晚,这也是感病品种易感染西瓜枯萎病的真正原因。这与马艳玲等^[32]在黄瓜枯萎病,刘亚光等^[33]在大豆灰斑病,赵秀娟等^[7]在苦瓜枯萎病以及侯茜等^[23]在西瓜枯萎病抗性研究中得出的结论相同。

参考文献:

- [1] 谭素英,贾文海. 无籽西瓜栽培与育种[M]. 北京:中国农业出版社,2000:40-90.
- [2] 中国农业部. 2010 年全国各地蔬菜、西瓜、甜瓜、草莓、马铃薯播种面积和产量[J]. 中国蔬菜,2012,1(1):56.
- [3] 王志伟,李焕秀,孙德玺,等. 南方根结线虫侵染对不同抗性西瓜资源保护酶体系的影响[J]. 中国瓜菜,2012,25(6):16-18.
- [4] 张显,王鸣. 西瓜枯萎病抗性及其与体内一些生化物质含量的关系[J]. 西北农业学报,2001,10(4):34-36.
- [5] 耿丽华,郭绍贵,吕桂云,等. 西瓜枯萎病菌生理小种鉴定技术体系的建立和验证[J]. 中国蔬菜,2010(20):52-56.
- [6] 邹芳斌,司龙亭,李新,等. 黄瓜枯萎病抗性与防御系统几种酶活性关系的研究[J]. 华北农学报,2008,23(3):181-184.
- [7] 赵秀娟,唐鑫,程蛟文,等. 酶活性、丙二醛含量变化与苦瓜抗枯萎病的关系[J]. 华南农业大学学报,2013,34(3):372-377.
- [8] 刘守伟,吴凤芝,马艳玲. 枯萎病菌对不同抗性黄瓜品种几种酶活性的影响[J]. 植物保护,2009,35(1):82-85.
- [9] GIROUSSE C, FAUCHER M, KLEINPETER C, et al. Dissection of the effects of the pea aphid *Acyrtosiphon pisum* feeding on assimilate partitioning in *Medicago sativa* [J]. New Phytol,2003,157:83-92.
- [10] YOUNG S A, GUO A, GUIKEMA J A, et al. Rice cationic peroxidase accumulates in xylem vessels during incompatible interactions with *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* [J]. Plant Physiology, 1995,107(4):1333-1341.
- [11] SCHNEIDER S, ULLRICH W R. Differential induction of resistance and enhanced enzyme activities in cucumber and tobacco caused by treatment with various abiotic and biotic inducers [J]. Physiol Mol Plant Pathol, 1994, 45:291.
- [12] 丁九敏,高洪斌,刘玉石,等. 黄瓜霜霉病抗性与叶片中生理生化物质含量关系的研究[J]. 辽宁农业科学,2005(1):11-13.
- [13] 吴岳轩,曾富华,王荣臣. 杂交稻对白叶枯病的诱导抗性与细胞内防御酶系统关系的初步研究[J]. 植物病理学报,1996,26(2):127-131.
- [14] 周晓慧, Wolukau J N, 李英,等. 甜瓜蔓枯病抗性与 SOD、CAT 和 POD 活性变化的关系[J]. 中国瓜菜,2007(2):4-6.
- [15] 徐敬华,黄丹枫,支月娥. PAL 活性与嫁接西瓜枯萎病抗性传递的相关性[J]. 上海交通大学学报(农业科学版),2004,22(1):12-16.
- [16] 王永琦,张显,咸丰,等. 西瓜疫病苗期灌根接种抗性鉴定方法的研究[J]. 北方园艺,2010(11):182-184.
- [17] 裴斌,张光灿,张淑勇,等. 土壤干旱胁迫对沙棘叶片光合作用和抗氧化酶活性的影响[J]. 生态学报,2013,33(5):1386-1396.

液配方对黄瓜幼苗生长的影响[J]. 农业工程技术, 2017(7):82-85.

[13] MOYA C, OYANEDEL E, VERDUGO G, *et al.* Increased electrical conductivity in nutrient solution management enhances dietary and organoleptic qualities in soilless culture tomato[J]. HortScience, 2017, 52(6):868-872.

[14] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理局. GB 5009. 33—2016 食品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004.

[15] 陈钧辉, 李俊. 生物化学实验[M]. 5 版. 北京: 科学出版社, 2014:186-187.

[16] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2005:142.

[17] 蒋卫杰, 邓杰, 余宏军. 设施园艺发展概况、存在问题与产业发展建议[J]. 中国农业科学, 2015, 48(17):3515-3523.

[18] 童贯和, 张科贵, 刘天娇, 等. 新型无土栽培基质配比对 4 种叶菜类蔬菜生长发育和产量的影响——以煤矸石、油菜秸秆等组成的栽培基质为例[J]. 农业现代化研究, 2012, 33(6):762-765.

[19] 胡婷婷. 栽培基质对几种蔬菜有机生态型无土栽培的影响[D]. 延吉: 延边大学, 2015.

[20] 杨梦珂, 郑思俊, 张青萍, 等. 应用于垂直绿化栽培的基质保肥性研究[J]. 河南农业科学, 2017, 46(11):120-126.

[21] 忻龙祚, 金亚征, 常美花, 等. 葡萄枝屑栽培平菇的产量及营养成分效应研究[J]. 河南农业科学, 2017, 46(6):93-97.

[22] 孙军利, 章智钧, 张坤, 等. 不同配方基质的理化性质及其对草莓生长的影响[J]. 河南农业科学, 2017, 46(3):118-121, 128.

[23] 曹静, 朱传军, 周岚, 等. 牛粪和绿化废弃物堆肥替代泥炭作为栽培基质对刺槐生长的影响[J]. 河南农业科学, 2017, 46(2):100-104.

[24] 赵婧, 仪泽会, 毛丽萍. 番茄穴盘育苗基质筛选试验[J]. 山西农业科学, 2018, 46(11):1878-1881.

[25] 吕英忠, 陈冲, 郭宝贝, 等. 不同基质配方对苹果幼苗植株生长特性和光合特性的影响[J]. 山西农业科学, 2018, 46(1):58-61.

(上接第 83 页)

[18] 李合生. 植物生理生化实验原理与技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.

[19] 陈年来, 乃小英, 张玉鑫, 等. 植物源诱导剂对甜瓜叶片防卫酶活性的影响[J]. 西北植物学报, 2010, 30(10):2016-2021.

[20] MUTHUKUMAR A, ESWARAN A, SANGEETHA G. Induction of systemic resistance by mixtures of fungal and endophytic bacterial isolates against *Pythium aphanidermatum* [J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2011, 33:1933-1944.

[21] 覃柳燕, 郭成林, 黄素梅, 等. 棘孢木霉菌株 PZ6 对香蕉促生效应及枯萎病室内防效的影响[J]. 南方农业学报, 2017, 48(2):277-283.

[22] 李新, 司龙亭. 黄瓜不同品种苗期感染枯萎病菌后几种酶活性的变化[J]. 华北农学报, 2007, 22(S):9-11.

[23] 侯茜, 羊杏平, 张曼, 等. 西瓜幼苗根系防御酶活性变化与枯萎病抗性的关系[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(12):147-149.

[24] 孙正祥, 王丰, 周焱. 内生菌 XG-1 对西瓜枯萎病诱导抗性的研究[J]. 河南农业科学, 2013, 42(3):71-75.

[25] 云兴福. 黄瓜组织中氨基酸、糖和叶绿素含量与其对霜霉病抗性的关系[J]. 华北农学报, 1993, 8(4):52-58.

[26] 房保海, 张广民, 迟长风, 等. 烟草低头黑病菌毒素对烟草丙二醛含量和某些防御酶的动态影响[J]. 植物病理学报, 2004, 34(1):27-31.

[27] 齐绍武, 官春云, 刘春林. 甘蓝型油菜品系一些酶的活性与抗菌核病的关系[J]. 作物学报, 2004, 30(3):270-273.

[28] 卢慧, 伍冰倩, 王伊帆, 等. 富氢水处理对采后番茄果实灰霉病抗性的影响[J]. 河南农业科学, 2017, 46(2):64-68.

[29] 王生荣, 朱克恭. 植物系统获得抗病性研究进展[J]. 中国生态农业学报, 2002, 10(2):32-35.

[30] 陈年来, 胡敏, 代春艳, 等. 诱抗处理对甜瓜叶片酚类物质代谢的影响[J]. 园艺学报, 2010, 37(11):1759-1766.

[31] 许勇, 王永健, 葛秀春, 等. 枯萎病菌诱导的结构抗性和相关酶活性的变化与西瓜枯萎病抗性的关系[J]. 果树科学, 2000, 17(2):123-127.

[32] 马艳玲, 吴凤芝. 枯萎病菌对不同抗性黄瓜品种苯丙氨酸解氨酶的影响[J]. 沈阳农业大学学报, 2006, 37(3):335-338.

[33] 刘亚光, 李海英, 杨庆凯. 大豆品种的抗病性与叶片内苯丙氨酸解氨酶活性关系的研究[J]. 大豆科学, 2002, 21(3):195-198.