

西瓜不同品种苗期人工接种炭疽病菌 后的生理生化变化

罗 婷,张 显,魏永新

(西北农林科技大学 园艺学院,陕西 杨凌 712100)

【摘 要】 【目的】探讨西瓜苗期炭疽病抗性与叶片组织中过氧化物酶(POD)、多酚氧化酶(PPO)活性及叶绿素、可溶性蛋白含量的关系。【方法】以抗性不同的西瓜品种西农八号、M08(抗病品种)和红小玉、玲珑王(感病品种)为材料,在苗期用 1×10^6 mL⁻¹ 炭疽病菌孢子悬浮液接种,于接种当天(接种前)及接种后第 2,4,6,8 天,对西瓜叶片中与抗性有关的 POD、PPO 活性及叶绿素、可溶性蛋白含量进行了测定。【结果】西瓜炭疽病抗性与叶片组织中 POD、PPO 活性以及叶绿素、可溶性蛋白含量密切相关。接种炭疽病菌后,各品种西瓜叶片组织中 POD 和 PPO 活性都显著提高,抗病品种 POD 和 PPO 活性始终高于感病品种;叶绿素含量与品种的抗病性呈正相关;接种后各西瓜品种叶片可溶性蛋白含量均高于对照,但感病品种峰值出现时间较抗病品种早。【结论】不同抗性西瓜品种对炭疽病的抗性与 POD、PPO 活性及叶绿素含量存在一定的正相关,与可溶性蛋白含量存在一定的负相关。

【关键词】 西瓜;炭疽病菌;生理生化变化;苗期抗性

【中图分类号】 S436.5

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2009)02-0130-05

Biochemical and physiological changes of different watermelon cultivars inoculated by *Colletotrichum orbiculare*

LUO Ting, ZHANG Xian, WEI Yong-xin

(College of Horticulture, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】 The study determined the relationship between watermelon cultivars of anthracnose resistance and POD, PPO and the content of chlorophyll and soluble protein. 【Method】 The activity of peroxidase (POD), polyphenol oxidase (PPO) and the content of chlorophyll and soluble protein in the leaves of four watermelon cultivars with different resistance to *Colletotrichum orbiculare* were measured. Xinongbahao and Hongxiaoyu were resistant cultivars, Hongxiaoyu and Linglongwang were susceptible cultivars. The seedlings inoculated by 1×10^6 mL⁻¹ spore solution were studied before inoculation and on the 2nd, 4th, 6th and 8th day. 【Result】 The results showed that there was a close relation between watermelon cultivars of anthracnose resistance and POD, PPO and the content of chlorophyll and soluble protein. POD and PPO activities were all enhanced obviously after inoculation, and the activities of resistant cultivars were higher than those of the susceptible cultivars. The content of chlorophyll and the resistance of cultivar had positive relativity. The contents of soluble protein of the inoculated were all higher than the comparison, but the peak value of the cultivars whose resistance appeared earlier than the susceptible cultivars. 【Conclusion】 The relative POD and PPO activity and chlorophyll content were possibly correlated with dis-

* [收稿日期] 2008-03-24

[基金项目] 国家科技支撑计划项目(2006BAD01A7-6-07)

[作者简介] 罗 婷(1983—),女,陕西安康人,在读硕士,主要从事园艺植物种质资源研究。E-mail:lt7086316@163.com

[通信作者] 张 显(1961—),男,陕西扶风人,教授,博士生导师,主要从事蔬菜作物育种及生物技术研究。

E-mail:zhangxian098@126.com

ease resistance of the tested watermelon cultivars. Negative relationship was possibly in existence between the content of soluble protein and the disease resistance of the tested watermelon cultivar.

Key words: watermelon; *Colletotrichum orbiculare*; biochemical and physiological changes; seedling an-thrachos resistance

炭疽病(*Colletotrichum orbiculare*)是西瓜的重要病害,苗期到成株期都可发生,以生长中、后期危害较重,也是西瓜运输和储藏期引起烂果的主要病害之一。西瓜炭疽病一般发病率为 20%~40%,产量损失 10%~15%,棚室严重发病病株率可达 100%,产量损失 40%以上^[1]。植物对病原物侵入的生理反应是以酶的催化活动来实现的,多酚的氧化、缩合与多酚氧化酶(PPO)、过氧化物酶(POD)有关,由于 PPO、POD 的催化作用可以使酚氧化成醌,这些醌对微生物有毒,因而与植物抗病性密切相关^[2]。植物发生不同病害后不仅有生化变化,而且还有一定的生理变化,抗病机制和致病机制也是多途径、多手段的综合作用。目前,对西瓜植株组织生理生化指标变化的研究,多数与低温胁迫、嫁接、枯萎病及药剂处理等相关^[3-10],而有关西瓜苗期炭疽病抗性与植株组织中酶活性和生理指标变化的关系鲜见报道。

本研究以抗病性不同的西瓜品种为材料,研究了西瓜幼苗受炭疽病菌感染后某些酶活性以及叶绿素和可溶性蛋白含量的变化,探讨了发生此类病害后寄主细胞的生理、生化反应,以期为阐述寄主与病原物的互作关系,揭示此类病害的致病机理提供一定的理论基础和科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

选用对西瓜炭疽病具有不同抗(感)病性的 4 个西瓜品种:西农八号、M08(抗病品种)和红小玉、玲珑王(感病品种)。供试炭疽病菌种分离自陕西杨凌新天地农业示范园种植的西瓜品种上。

1.2 材料培养与处理方法

试验前期于 2007-10 在陕西杨凌新天地农业示范园温室中育苗,后期测定于同年 10 月在西北农林科技大学园艺植物育种与生物技术实验室进行。

各品种西瓜种子于室温下浸种 8~10 h,然后置于 28 ℃ 恒温培养箱中催芽,待 80% 的种子露白即可播种。选择萌发均匀的种子播于营养钵中,基质为草炭和珍珠岩,两者体积比为 3:1。每个品种处理 150 株,当西瓜幼苗长至第 4 片真叶时,采用喷雾

法接种炭疽病菌孢子悬浮液,接种浓度为 1×10^6 mL⁻¹。以相同品种未接种植株为对照。分别于接种当天(接种前)和接种后 2,4,6,8 d,随机取 10 株幼苗的真叶(第 2,3 片叶)测定生理生化指标。每次测定重复 3 次,取平均值。

1.3 测定项目及方法

过氧化物酶(POD)活性测定采用愈创木酚法^[11],多酚氧化酶(PPO)活性测定参照朱广廉等^[12]的方法并稍有改动,叶绿素含量测定采用丙酮乙醇等量混合液法^[13],可溶性蛋白含量测定采用考马斯亮蓝 G-250 法^[13]。

2 结果与分析

2.1 不同品种西瓜感染炭疽病菌后 POD 活性的变化

图 1 表明,不同抗性西瓜品种在接种炭疽病菌前,POD 活性与品种的抗病性间无明显相关性;接种后,各品种体内 POD 活性都有较大提高,但起始增加的速率和上升幅度品种间有差异。抗病品种受病菌侵染后,叶片组织内 POD 活性迅速增加,接种后 6 d POD 活性达到高峰,之后有所下降;而感病品种叶片组织反应迟缓,接种后最初 4 d 内 POD 活性变化与对照差异不明显,4 d 后 POD 活性才有所增加,高于对照,但明显低于抗病品种。以上结果说明,POD 是西瓜受到炭疽病菌侵染后的应激反应酶之一,其活性的变化与西瓜对炭疽病的抗性密切相关。

2.2 不同品种西瓜感染炭疽病菌后 PPO 活性的变化

图 2 表明,各西瓜品种接种炭疽病菌前,PPO 活性与品种的抗病性之间无明显相关性;接种后前 6 d,抗、感品种 PPO 活性都呈上升趋势,且均高于对照,于第 6 天达到峰值,之后 PPO 活性都有不同程度下降,但抗病品种 PPO 活性一直高于感病品种。由 PPO 活性的变化规律来看,PPO 活性的变化与西瓜对炭疽病的抗性呈正相关。

2.3 不同品种西瓜感染炭疽病菌后叶绿素含量的变化

图 3 表明,抗病西瓜品种和感病西瓜品种接种炭疽病菌后,叶绿素含量与对照相比都有所减少,但

抗病品种叶绿素含量的减少幅度明显低于感病品种,且基本上呈增加趋势;感病品种接菌后叶绿素含量变化小,且接种 4 d 后有下降趋势。说明西瓜受

炭疽病菌侵染后,抗病品种具有较高抑制叶绿素含量下降的能力,即叶绿素含量与品种的抗病性呈正相关。

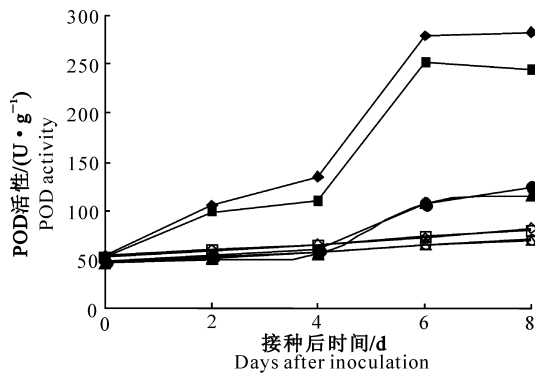


图 1 不同抗性品种西瓜叶片接种炭疽病菌后 POD 活性的变化

—◆—, 西农八号处理; —■—, M08 处理; —●—, 红小玉处理;
—▲—, 玲珑王处理; —◇—, 西农 8 号 CK; —□—, M08 CK;
—○—, 红小玉 CK; —△—, 玲珑王 CK

Fig. 1 Changes of POD activity in leaves of different resistant and susceptible cultivars before and after inoculation

—◆—, Xinongbahao treatment; —■—, M08 treatment;
—●—, Hongxiaoyu treatment; —▲—, Linglongwang treatment; —◇—, Xinongbahao CK; —□—, M08 CK;
—○—, Hongxiaoyu CK; —△—, Linglongwang CK

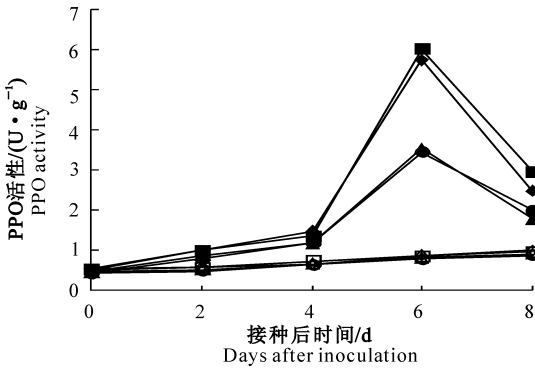


图 2 不同抗性品种西瓜叶片接种炭疽病菌后 PPO 活性的变化

—◆—, 西农八号处理; —■—, M08 处理; —●—, 红小玉处理;
—▲—, 玲珑王处理; —◇—, 西农 8 号 CK; —□—, M08 CK;
—○—, 红小玉 CK; —△—, 玲珑王 CK

Fig. 2 Changes of PPO activity in leaves of different resistant and susceptible cultivars before and after inoculation

—◆—, Xinongbahao treatment; —■—, M08 treatment;
—●—, Hongxiaoyu treatment; —▲—, Linglongwang treatment; —◇—, Xinongbahao CK; —□—, M08 CK;
—○—, Hongxiaoyu CK; —△—, Linglongwang CK

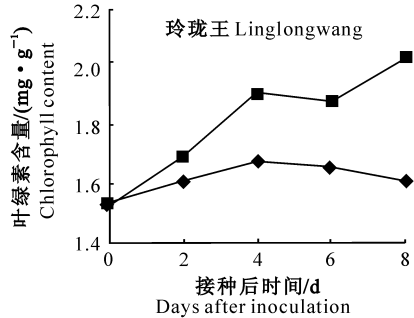
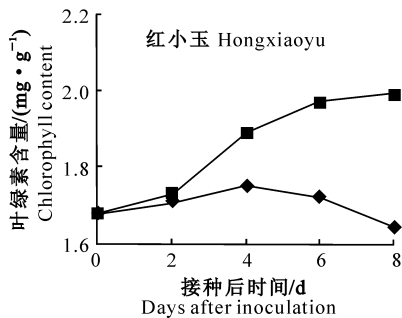
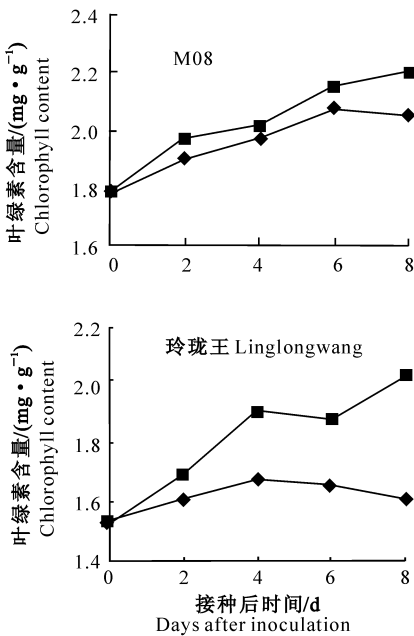
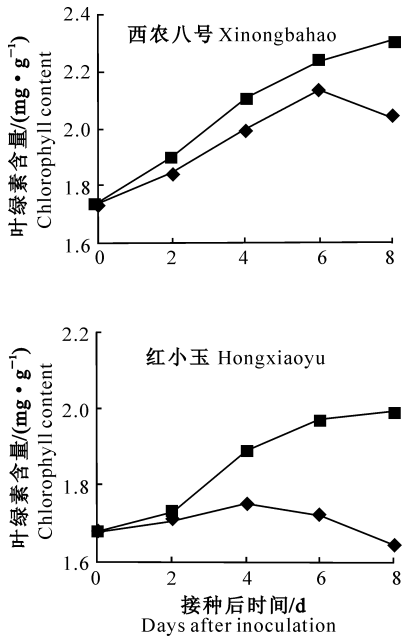


图 3 不同抗性品种西瓜叶片接种炭疽病菌后叶绿素含量的变化

—◆—, 接菌处理; —■—, 对照

Fig. 3 Changes of chlorophyll content in leaves of different resistant and susceptible cultivars before and after inoculation
—◆—, Treatment of inoculation; —■—, CK

2.4 不同品种西瓜感染炭疽病菌后可溶性蛋白含量的变化

由图 4 可以看出,接种炭疽病菌后各西瓜品种叶片可溶性蛋白含量均高于对照,抗性不同可溶性

蛋白含量的变化有所不同,抗病品种可溶性蛋白的高峰值出现在接种后第 6 天,而感病品种可溶性蛋白含量的高峰值出现在接种后第 4 天,到第 8 天后各品种可溶性蛋白含量接近或低于对照。

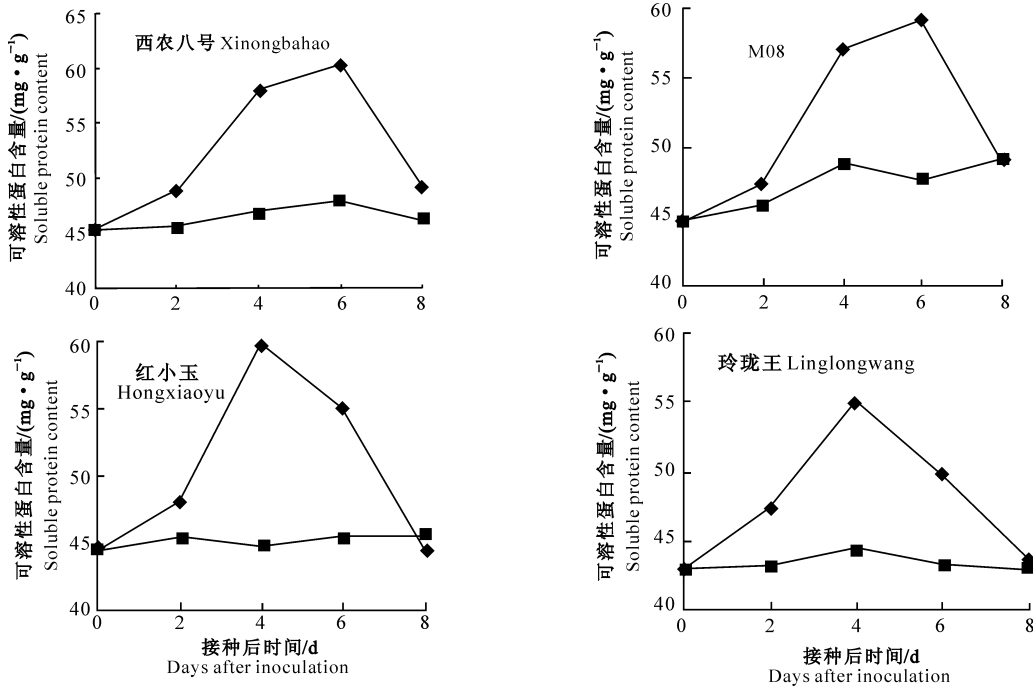


图 4 不同抗性品种西瓜叶片接种炭疽病菌后可溶性蛋白含量的变化

—◆—, 接种处理; —■—, 对照

Fig. 4 Changes of soluble protein content in leaves of different resistant and susceptible cultivars before and after inoculation

—◆—, Treatment of inoculation; —■—, CK

3 结论与讨论

西瓜苗期对炭疽病抗性与植株组织中 POD 和 PPO 活性,及叶绿素和可溶性蛋白含量的变化密切相关。

POD 和 PPO 活性与植物抗病性有密切关系,病原菌感染植物后,植物组织中 POD 和 PPO 活性增高,是寄主对病原物一种重要的保卫反应。本研究结果表明,炭疽病菌侵染西瓜叶片后,无论是抗病品种还是感病品种,其 POD 和 PPO 活性都显著提高,抗病品种 POD 和 PPO 活性始终高于感病品种。

POD 在植物抗病机制中的作用已被广泛研究,其普遍存在于植物细胞的各个部分,可以催化许多化合物,如脂肪酸、芳香胺和酚类物质的氧化等。POD 可能促进某些抑菌物质(如植保素、木质素等)的生成,从而抑制病菌的扩展,使植物保持抗病性^[14]。从本试验 POD 活性变化来看,POD 在西瓜对炭疽病菌侵染产生的应激反应中具有积极作用,抗病品种的 POD 活性一直保持较高水平。

PPO 是一种含铜的氧化酶,在植物体内将各种酚类化合物氧化为醌,从而对病原菌产生抑制和毒害作用。研究表明,在病害或受伤组织提取液中酚酶活性增高,酚及其氧化物在抗病性反应中对植物保卫素起增效作用;单独的植物保卫素杀灭真菌的毒性不高,但在多酚氧化酶的作用下,酚类物质经莽草酸或乙酸途径合成的大量化合物中可鉴定出许多植物保卫素^[15]。本试验结果表明,西瓜品种对炭疽病的抗性与 PPO 活性变化存在一定的正相关,某些酚类化合物在 PPO 作用下生成醌而限制了病原菌的繁殖扩散,在接种病原菌后抗病品种 PPO 活性高于感病品种。

高等植物中叶绿素(包括叶绿素 a、b)是捕光色素,捕光色素越丰富,捕捉的光能越多,利用光能还原二氧化碳产生的碳水化合物就越多,越有利于细胞组织的建成。本研究结果表明,接种炭疽病菌后,西瓜叶片叶绿素含量与品种的抗病性呈正相关,抗病品种可以通过叶绿素合成的增加进一步增强光合作用,促进养分的合成,提高植株的抗病能力。

可溶性蛋白含量在抵御逆境胁迫过程中起着重要作用。本研究结果表明,接种炭疽病菌后各西瓜品种叶片可溶性蛋白含量均高于对照,但感病品种峰值出现时间较抗病品种早,说明感病品种对病菌的侵染更敏感,品种的抗病性与其对病菌侵染的反应缓急呈负相关。

[参考文献]

- [1] 郭玉人,王琪昶,张文献,等. 早佳西瓜几个改良组合抗枯萎病、炭疽病性苗期鉴定[J]. 上海农业学报,2003,19(4):85-86.
Guo Y R, Wang Q C, Zhang W X, et al. Appraisal of fusarium wilt and anthracnose resistance of several improved varieties of watermelon "zaojia" at seedling stage [J]. Acta Agriculture Shanghai, 2003, 19(4): 85-86. (in Chinese)
- [2] 李淑菊,马德华,庞金安,等. 黄瓜感染黑星病菌后的生理变化及抗病性的产生[J]. 华北农学报,2003,18(3):74-77.
Li S J, Ma D H, Pang J A, et al. Physiological changes of cucumber after being infected by *Clasosporium cucumerium* and production of disease resistance [J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2003, 18(3): 74-77. (in Chinese)
- [3] 彭金光,孙玉宏,师端红,等. 西瓜幼苗 10℃ 和 15℃ 低温处理下相关生理指标的比较分析[J]. 武汉植物学研究,2006,24(5):441-445.
Peng J G, Sun Y H, Shi R H, et al. Comparative analyses of some physiological characters of watermelon seedlings under 10℃ and 15℃ low temperature treatments [J]. Journal of Wuhan Botanical Research, 2006, 24(5): 441-445. (in Chinese)
- [4] 刘慧英,朱祝军,吕国华,等. 低温胁迫下西瓜嫁接苗的生理变化与耐冷性关系的研究[J]. 中国农业科学,2003,36(11):1325-1329.
Liu H Y, Zhu Z J, Lv G H, et al. Study on relationship between physiological changes and chilling tolerance in grafted watermelon seedlings under low temperature stress [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2003, 36(11): 1325-1329. (in Chinese)
- [5] 杨冬冬,黄丹枫. 西瓜嫁接体发育中木质素合成及代谢相关酶活性的变化[J]. 西北植物学报,2006,26(2):290-294.
Yang D D, Huang D F. Lignin contents and the activities of enzymes related to lignin biosynthesis in the stock and scions of watermelon after grafting [J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2006, 26(2): 290-294. (in Chinese)
- [6] 张红梅,黄丹枫,丁明. 不同苗龄接穗的西瓜嫁接体愈合过程中的 3 种酶活性变化[J]. 植物生理学通讯,2005,41(3):302-304.
Zhang H M, Huang D F, Ding M. Changes in three enzyme activities in the process of watermelon seedlings grafted with different ages of scion [J]. Plant Physiology Communication, 2005, 41(3): 302-304. (in Chinese)
- [7] 于凤鸣,同立英,刘玉艳. 砧木对嫁接西瓜的生理影响[J]. 河北职业技术师范学院学报,2002,16(4):34-36.
Yu F M, Yan L Y, Liu Y Y. The physiological influence on grafted watermelon of different stocks [J]. Journal of Hebei Vocation-Technical Teachers College, 2002, 16(4): 34-36. (in Chinese)
- [8] 徐胜利,陈小青,陈青云. 嫁接西瓜植株的生理特性及其抗枯萎病能力[J]. 中国农学通报,2004,20(2):149-160.
Xu S L, Chen X Q, Chen Q Y. Physiological characteristics and resistance to *Melon fusarium* wilt in watermelon grafted plants [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2004, 20(2): 149-160. (in Chinese)
- [9] 王建明,张作刚,郭春绒,等. 枯萎病菌对西瓜不同抗感品种丙二醛含量及某些保护酶活性的影响[J]. 植物病理学报,2001,31(2):152-156.
Wang J M, Zhang Z G, Guo C R, et al. Effects of *Fusarium oxysporum* on content of MDA and protective enzyme activities in different cultivars of watermelon [J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2001, 31(2): 152-156. (in Chinese)
- [10] 王建明,郭春绒,张作刚,等. 西瓜不同品种苗期感染枯萎病菌后的生理生化变化[J]. 中国农业科学,2002,35(11):1343-1348.
Wang J M, Guo C R, Zhang Z G, et al. Biochemical and physiological changes of different watermelon cultivars infected by *Fusarium oxysporum* [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2002, 35(11): 1343-1348. (in Chinese)
- [11] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2000:167-169.
Li H S. The experimental theory and technique of plant physiology and biochemistry [M]. Beijing: Higher Education Press, 2000: 167-169. (in Chinese)
- [12] 朱广廉,钟海文,张爱琴. 植物生理学实验[M]. 北京:北京大学出版社,1990:37-40.
Zhu G L, Zhong H W, Zhang A Q. The plant physiology experiment [M]. Beijing: Beijing University Press, 1990: 37-40. (in Chinese)
- [13] 高俊凤. 植物生理学实验技术[M]. 西安:世界图书出版公司,2000:101-103,137-138.
Gao J F. The plant physiology experiment technology [M]. Xi'an: World Book Publishing Company, 2000: 101-103, 137-138. (in Chinese)
- [14] 汪红,刘辉,袁红霞,等. 棉花黄萎病不同抗性品种接菌前后体内酶活性及酚类物质含量的变化[J]. 华北农学报,2001,16(3):46-51.
Wang H, Liu H, Yuan H X, et al. The change of enzymes activity and phenols content in cotton cultivars with different resistance to *V. dahliae* after inoculation [J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2001, 16(3): 46-51. (in Chinese)
- [15] 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.
Zhang X, Wang M. Relations between contents of some biochemicals in seedling and fusarium wilt disease resistance in watermelon [J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2001, 10(4): 34-36. (in Chinese)