

屈海泳,张朝阳,刘连妹,等. 西瓜抗枯萎病苗期性状的选择[J]. 江苏农业科学,2017,45(22):108-111.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.22.027

西瓜抗枯萎病苗期性状的选择

屈海泳¹,张朝阳²,刘连妹³,王永章¹

(1. 青岛农业大学,山东青岛 266109; 2. 江苏徐淮地区淮阴农业科学研究所,江苏淮安 223001;
3. 山东省栖霞市农业局,山东栖霞 265300)

摘要:西瓜枯萎病是西瓜的主要病害之一,通过对苗期叶片喷施过氧化氢(化学式 H_2O_2)检测叶片温度、叶片气孔面积和毛状物数量,从抗病品系和敏感品系中找出差异。结果表明,苗龄为 10~15 d 的幼苗,叶片喷施 H_2O_2 处理后,与对照相比,抗病品系叶片温度下降极显著,而感病品系叶片温度下降不明显;处理后 25 d 的幼苗气孔面积增加 0.03 mm^2 ,而感病品系面积减少 0.026 mm^2 ;叶片表皮毛的毛状物数量无论是抗病品系还是感病品系处理与对照相比均极显著降低。表明叶片温度和叶片气孔面积可以作为西瓜抗枯萎病的苗期标记性状,而表皮毛不能作为西瓜抗枯萎病的苗期标记性状。

关键词:西瓜抗枯萎病;幼苗;苗期标记性状;温度;气孔;表皮毛; H_2O_2 处理

中图分类号: S436.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)22-0108-03

西瓜(*Citrullus lanatus*)属葫芦科植物,原产于非洲,是一种双子叶植物,形状似藤蔓,叶子呈羽毛状。它所结出的果实是瓠果,为葫芦科瓜类所特有的一种肉质果,为一年生蔓生草本植物,是夏季主要果蔬。不仅有解暑作用而且对高血压、心脏病、肝炎及膀胱炎有不同程度的辅助疗效。西瓜是一种世界性的园艺作物,栽培历史悠久、地域广泛。根据联合国粮食及农业组织(food and agriculture organization of the united nations,简称 FAO)统计,2013 年西瓜世界总栽培面积约为 348.92 万 hm^2 ,世界水果中西瓜的种植面积和产量分别居第 7、第 1 位^[1]。我国西瓜播种面积为 182.82 万 hm^2 ,年产量为 $7\,294.4\text{ 万 t}$,西瓜产量居世界第 1 位,占世界总产量的 70% 左右^[2]。我国西瓜生产历史悠久,分布面广,南起宝岛台湾,北至黑龙江省均有栽培。我国劳动人民在长期的生产实践中积累了一整套的西瓜栽培经验,我国地域辽阔,一年四季均能生产西瓜,供全国人民食用。西瓜作为主要的经济作物之一,是广大消费者喜爱的水果之一,其栽培品种不断得到改良,种植面积日益扩大。但连续重茬和粗放管理导致西瓜多种病害在全国各地时有发生,严重影响了我国西瓜产业的健康发展。西瓜枯萎病又称西瓜萎蔫病或蔓割病,是由尖孢镰刀菌西瓜专化型(*Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*)引起的一种世界性土传病害,是目前西瓜生产上危害最严重的一种病害。因此,选出抗病西瓜品种已成为我国西瓜生产中的关键环节^[3]。根据西瓜不同品种的特殊形态或形状,选出与抗病相关的形态或形状有利于加速育种进程。Gökbayrak 等通过研究葡萄花青素与外界环境因素的关系,判别出花青素浓度会影响病害的发生^[4]。Levi 等利用随机扩增多态性 DNA 标记

(简称 RAPD)对西瓜枯萎病进行了标记^[5-7]。在 20 世纪 80 年代初,我国就开始了利用西瓜标记形状的研究,并取得了显著成绩,研究出几种西瓜标记形状的基因型和遗传规律,选出许多带有标记性状的育种材料,并利用这些材料配制了一大批杂交组合,从中选育出一批杂交品种^[8-9]。但是,利用分子标记性状进行的研究需要专业技术人才才能完成,并且须要借助昂贵的仪器进行检测,对广大瓜农们来说这些难题几乎都是不可突破的壁垒。Inggamer 等利用形态标记发现,无毛类型黄瓜在高温条件下生长缓慢、叶片黄化,表现出明显的缺铁症状^[10]。本研究在西瓜苗期喷施 H_2O_2 ,然后检测叶片温度、气孔的大小、毛状物的数量等,探索西瓜抗病性与性状的相关性。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2 个西瓜品系分别为 41(抗枯萎病 2 号生理小种)、11(不抗 0 号生理小种),2 个品系的西瓜种子均由江苏徐淮地区淮阴农业科学研究所提供。

1.2 喷施 H_2O_2

将西瓜种子播于 72 孔穴盘中,待西瓜苗长至 2 张子叶完全展开时,配制 0.1% H_2O_2 溶液对 36 株西瓜苗进行均匀喷洒,直至叶片向下滴处理液为止,在喷洒过程中用硬纸板挡住对照(CK),防止造成误差,对另外 36 株西瓜苗喷洒水作为对照,每个处理重复 3 次。

1.3 红外线温度计比较温度差异

用红外线温度计每隔 5 d 测 1 次西瓜叶片的温度。测定方法:为减少外界环境对所测西瓜叶片温度的影响,在测量前 1 h 关闭玻璃温室的门,保证西瓜叶片同处于一致的环境中,打开温度计,将红外线光对准所要测量的西瓜叶片,逐一对照西瓜的叶片进行测量并做好相关记录。

1.4 用显微镜观察叶片背面的气孔面积和毛状物数量

取材时间为上午,用刀片平整且快速地切下植物材料,对

收稿日期:2017-04-07

基金项目:江苏省淮安市研发(现代农业)计划(编号: HAN201612);
山东省水果产业技术体系建设项目。

作者简介:屈海泳(1971—),男,安徽宿州人,博士,副教授,主要从事园艺植物栽培生理学研究。Tel: (0532) 86080740; E-mail: quhaiyong@126.com。

照和处理各取 2 张(取样部位为第 1、第 2 张真叶),用镊子轻轻撕取叶背面表皮,将表皮置于载玻片上的纯净水中,表皮展开,轻轻夹取盖玻片,平整盖于载玻片上,显微镜观测。

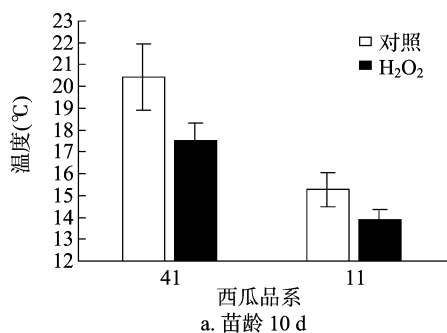
1.5 数据处理

用 Image J 软件分别计算所拍摄照片的气孔面积,用 Photoshop 软件计算所拍摄照片的毛状物数量。将所有观测到的数据采用 Excel 2010 计算平均值及标准差并绘制柱状图进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 抗病西瓜品系与非抗病西瓜品系在温度上的差异

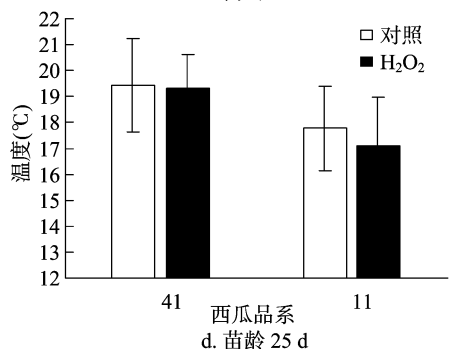
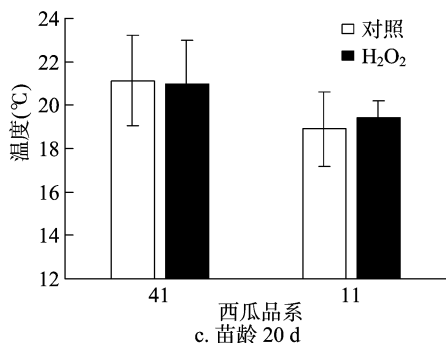
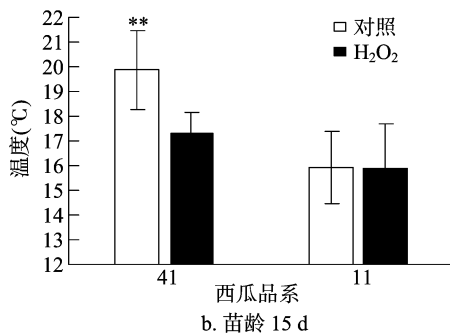
苗龄为 10 d 时,抗病西瓜品系(41)的叶片温度比感病西瓜品系(11)的叶片温度高,采用 H_2O_2 喷施后,无论抗病品系还是感病品系,其叶片温度均下降,但抗病品系的叶片温度下降的更为明显。抗病品系、感病品系的叶片温度均表现为对照比处理高,但差异不显著(图 1-a)。当苗龄为 15 d 时,抗



病品系对照的叶片温度比处理的叶片温度高,且差异极显著,而感病品系对照的叶片温度与处理的叶片温度之间无显著性差异(图 1-b);在苗龄为 20、25 d 时,无论是抗病西瓜品系还是感病品系,对照与处理组的叶片温度之间均无显著性差异(图 1-c、图 1-d)。这个结果表明,15 d 的幼苗抗病品系经 H_2O_2 处理后可以显著降低叶片温度,但随着苗龄的进一步增大,叶片温度的差异不显著。感病品系经 H_2O_2 处理后,叶片温度的变化不显著。因此在苗期前期可以利用叶片温度作为辅助选择西瓜的抗病性。

2.2 抗病西瓜品系与非抗病西瓜品系在气孔面积上的差异

在西瓜苗龄为 25 d 时,抗病西瓜品系经 H_2O_2 处理后,气孔面积增加 0.030 mm^2 (图 2-A、图 2-B),感病西瓜品系的气孔面积经 H_2O_2 处理后减少 0.026 mm^2 (图 2-C、图 2-D)。结果表明,采用模拟逆境的方法,西瓜在苗期经 0.1% H_2O_2 处理后,气孔面积在抗病品系和感病品系中表现不一样(图 2-E),可以为实际生产研究苗期形态标记形状提供依据。



“**”表示同一品系的对照与 H_2O_2 处理结果差异极显著($\alpha=0.01$)。下图同

图1 幼苗期 H_2O_2 处理叶片温度的变化

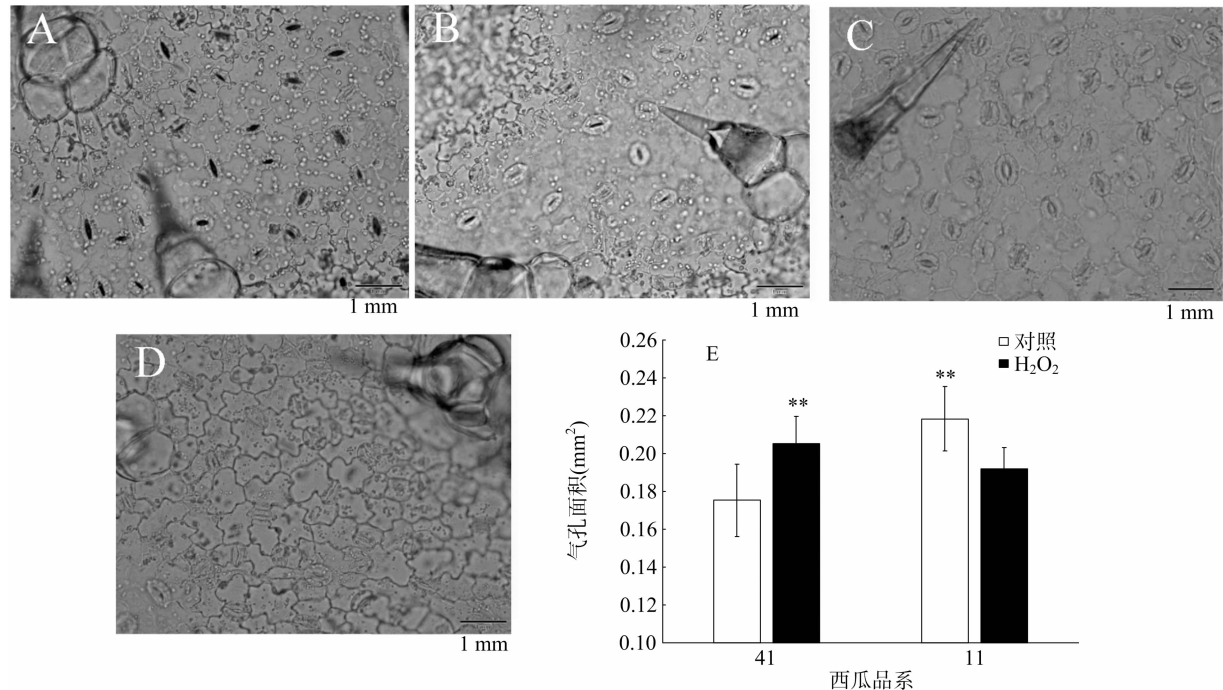
2.3 H_2O_2 处理对抗病西瓜与非抗病西瓜品系毛状物数量的影响

从图 3 中可以看出,抗病品系 41 经 H_2O_2 处理后,表皮毛状物数量平均减少 10.2 个(图 3-A、图 3-B)。感病品系 11 经 H_2O_2 处理后,毛状物数量减少 13.8 个(图 3-C、图 3-D),即无论是抗病品系还是感病品系,经 H_2O_2 处理后毛状物的数量均会减少(图 3-E),因此叶片毛状物数量不可以作为西瓜苗期形态标记的依据。

3 结论与讨论

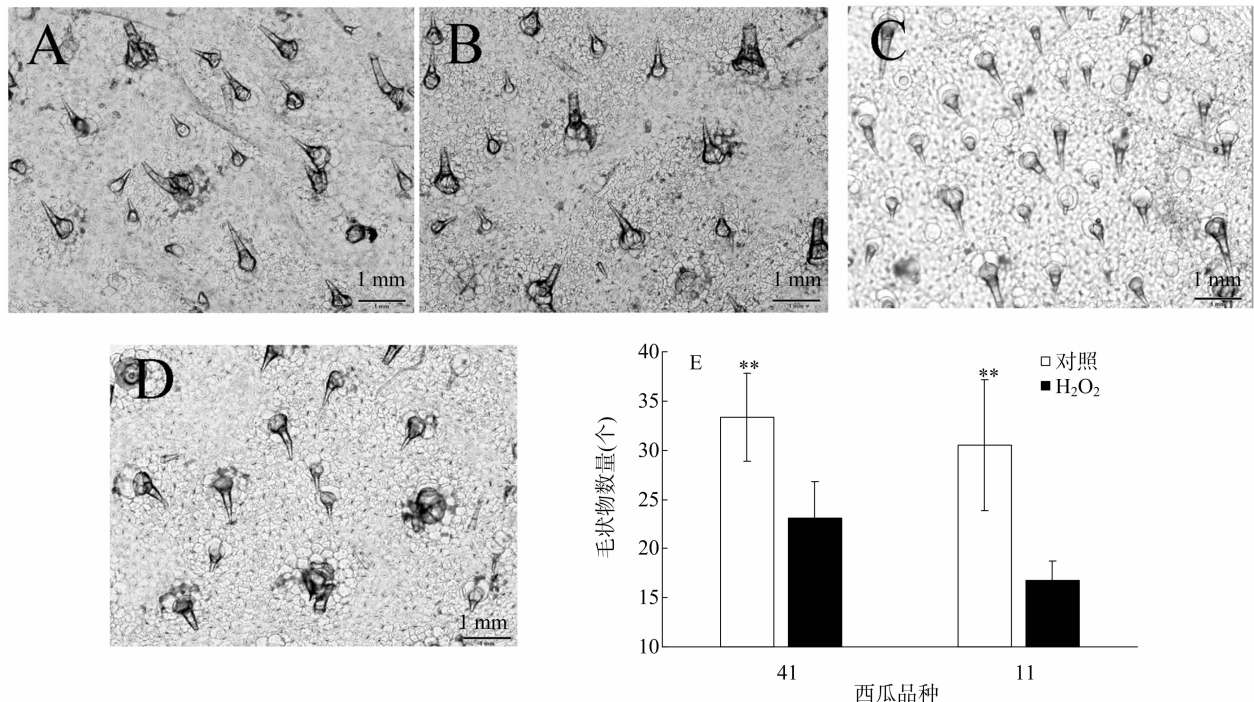
苗期标记性状直观准确、简便快速,具有一般的异地种植鉴定、同工酶电泳鉴定和 DNA 分子标记鉴定技术无法比拟的优越性,非常适合在我国相对落后的农业技术水平下推广,但

我国对西瓜抗病品种苗期形态标记的研究还较少^[11]。岳耀忠等在津丰 1 号西瓜中采用叶片标记性状鉴别杂种的真伪^[12]。通过 0.1% H_2O_2 模拟逆境的方法对西瓜幼苗进行处理,从苗期叶片的温度、气孔面积的大小、毛状物数量的多少来从抗病品系与非抗病品系之间寻找差异。结果表明,在苗龄为 10、15 d 时,抗病品系处理和对照的叶片温度差异显著,而感病品种处理和对照的叶片温度差异不显著,可以作为苗期抗病标记。抗病品系经 H_2O_2 处理后气孔面积减少,且差异显著,而感病品系经 H_2O_2 处理后气孔面积增大,因此气孔面积可以作为抗病的苗期形态标记。表皮毛经处理后,无论是抗病品系还是感病品系,毛状物数量均减少,因此表皮毛不可以作为苗期标记性状。总之,西瓜幼苗期采用 H_2O_2 处理后,叶片温度及气孔面积可以作为抗病的苗期标记性状。



A—41品系叶背面气孔（对照）；B—处理后的41品系叶背面气孔；C—11品系叶背面气孔（对照）；D—处理后的11品系叶背面气孔；E—气孔面积的统计

图2 叶片经 H₂O₂ 处理后气孔面积的变化



A—41品系叶背面表皮毛（对照）；B—处理后的 41 品系叶背面表皮毛；C—11品系叶背面表皮毛（对照）；D—处理后的11品系叶背面表皮毛；E—毛状物数量的统计

图3 经 H₂O₂ 处理后叶片背面表皮毛的变化

参考文献:

[1] 杨 念, 孙玉竹, 吴敬学. 世界西瓜甜瓜生产与贸易经济分析[J]. 中国瓜菜, 2016, 29(10): 1-9.
[2] 张 琳, 杨艳涛, 文长存, 等. 中国西瓜市场分析与展望[J]. 农

业展望, 2015, 11(6): 21-24.
[3] 赵卫星, 常高正, 徐小利, 等. 主要病害及抗病育种研究进展[J]. 江西农业学报, 2010, 22(7): 75-78.
[4] Gökbayrak Z, Özer C, Söylemezoğlu G. Use of morphological markers to identify foliar disease resistance in grapevine[J]. Journal of

任 平,阮祥稳,秦 涛. 枯草芽孢杆菌 M4 诱导猕猴桃抗病相关的防御酶系研究[J]. 江苏农业科学,2017,45(22):111-113.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.22.028

枯草芽孢杆菌 M4 诱导猕猴桃抗病 相关的防御酶系研究

任 平^{1,3}, 阮祥稳², 秦 涛³

(1. 陕西省酶工程技术研究中心, 陕西西安 710600; 2. 陕西省科学院酶工程研究所, 陕西西安 710600;

3. 西北生物农业研究中心, 陕西西安 710600)

摘要:采用比色法测定枯草芽孢杆菌 M4 发酵液不同组分诱导猕猴桃叶片中苯丙氨酸解氨酶(PAL)、过氧化物酶(POD)、多酚氧化酶(PPO)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)的活性变化。结果表明,接种 M4 发酵液、菌体悬液、上清液、LB 培养基,猕猴桃叶片内 PAL、POD、PPO、SOD、CAT 活性均高于对照无菌水,PAL、PPO、SOD 的活性峰值多在接种后 8 d 出现,POD、CAT 的活性峰值多在接种后 12 d 出现;接种 M4 发酵液、菌体悬液的 PAL、POD、PPO、SOD、CAT 活性均明显高于接种上清液、LB 培养基,且酶活变化趋势相似,说明 M4 发酵液中主要有效诱导组分为菌体。

关键词:枯草芽孢杆菌;猕猴桃;多酚氧化酶;苯丙氨酸解氨酶;过氧化氢酶;超氧化物歧化酶;过氧化物酶

中图分类号:S436.634 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2017)22-0111-03

由丁香假单胞菌猕猴桃致病变种(*Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*, Psa)引起的猕猴桃细菌性溃疡病往往发病严重,流行迅速,防治相当困难。近年来,随着猕猴桃栽培面积的不断增长,细菌性溃疡病快速蔓延,自 2005 年以来,已在世界主要猕猴桃产区造成严重危害,成为猕猴桃栽培过程中最具毁灭性的病害^[1-2]。

生物防治是控制植物病害、减少化学农药污染的有效途径,而诱导抗性又是植物病害生物防治的重要机理之一^[3],一些微生物可作为植物激活剂,诱导植物产生系统抗性而具有良好的防病效果^[4]。植物的抗病性与木质素及相关苯丙烷类代谢物质的积累、病程相关蛋白(PRP)的表达、磷酸戊糖途径、乙醛酸循环等生理过程密切相关^[5-6],参与植物抗病代谢的关键酶有苯丙氨酸解氨酶(PAL)、过氧化物酶(POD)、多

酚氧化酶(PPO)等,其活性变化是反映植物抗病能力强弱较直接和有效的指标之一。

近年来研究发现,芽孢杆菌(*Bacillus* ssp.)是生防菌的优势菌种,诱导植物抗性是其生防作用实现的重要机制之一^[7-8]。陕西省科学院酶工程研究所微生物实验室保藏的枯草芽孢杆菌 M4 对猕猴桃溃疡病具有较好的生防效果,但该菌株是否具有诱导抗性作用,有关其不同组分对猕猴桃抗病相关酶活影响的研究国内外还未见报道。因此,本研究选择 PPO、POD、PAL、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)这 5 种酶作为猕猴桃抗病性反应指标,研究 M4 菌株发酵液不同组分对猕猴桃叶片内抗病相关防御酶系的影响,以期揭示其诱导抗病性机理,为指导其田间应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

枯草芽孢杆菌 M4,陕西省科学院酶工程研究所微生物实验室保藏;试验植株为 2 年生盆栽秦美猕猴桃。LB 培养基:胰蛋白胨 10 g,酵母浸膏 5 g,氯化钠 5 g,蒸馏水 1 000 mL,pH

Animal & Plant Sciences,2010,20(4):243-247.

[5] Levi A, Thomas C E, Zhang X, et al. A genetic linkage map for watermelon based on randomly amplified polymorphic DNA markers [J]. Journal of the American Society for Horticultural Science,2001,126(6):730-737.

[6] Levi A, Thomas C, Joobeur T, et al. A genetic linkage map for watermelon derived from a testcross population: (*Citrullus lanatus* var. *citroides* × *C. lanatus* var. *lanatus*) × *Citrullus colocynthis* [J]. Theoretical and Applied Genetics,2002,105(4):555-563.

[7] Hawkins L K, Dane F, Kubisiak T L, et al. Linkage mapping in a watermelon population segregating for fusarium wilt resistance [J]. Journal of the American Society for Horticultural Science,2001,126

(3):344-350.

[8] 安水新,康宇静,李相涛. 西瓜标记性状的类型及其应用[J]. 中国瓜菜,2003(1):32-34.

[9] 康宇静. 标记性状在西瓜种子生产中的应用[J]. 种子科技,2003,21(1):31-32.

[10] Inggamer H, Ponti O M B D. The identity of genes for glabrousness in *Cucumis sativus* L. [J]. Report Cucurbit Genetics Cooperative, 1980(3):14-27.

[11] 马双武. 苗期标记性状在我国作物育种及种子纯度鉴定上的研究应用进展[J]. 植物遗传资源学报,2011,12(2):297-300.

[12] 岳耀忠,陈洪金. 标记性状杂交西瓜新品种津丰 1 号[J]. 长江蔬菜,1999(5):26-28.