

高玉红,邓黎黎,闫生辉,等.西瓜幼苗叶片对小西葫芦黄花叶病毒侵染的生理响应[J].江苏农业科学,2023,51(18):143-147.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2023.18.021

西瓜幼苗叶片对小西葫芦黄花叶病毒侵染的生理响应

高玉红¹,邓黎黎¹,闫生辉¹,张艳丽¹,赵卫星²

(1. 郑州职业技术学院,河南郑州 450121; 2. 河南省农业科学院园艺研究所,河南郑州 450002)

摘要:为探明西瓜叶片对小西葫芦黄花叶病毒(ZYMV)侵染的生理响应机制。以感病品种 18-025 为材料,采用苗期常规汁液摩擦法接种 ZYMV,比较分析了接种后 2、4、6、8、10 d 接与未接种叶片等生理指标的差异。结果表明,接种 ZYMV 后,叶片叶绿素、可溶性蛋白质含量均低于对照,其中,叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素含量在 6~10 d 时与对照差异达显著水平,可溶性蛋白质含量 2~10 d 时均与对照差异不显著;叶片脯氨酸、可溶性糖含量及 3 种保护酶活性均高于对照,其中脯氨酸含量在 6、8、10 d 时分别比对照显著提高 21.92%、36.69%、58.01%,可溶性糖含量在 4 d 时比对照显著提高 25.02%,超氧化物歧化酶活性在 2~10 d 时均与对照差异不显著;过氧化物酶活性在 2、4、6、8 d 时分别比对照显著提高 46.76%、81.59%、48.74%、31.55%,过氧化氢酶活性在 4、6、8 d 时分别比对照显著提高 23.93%、48.91%、46.15%;叶片丙二醛含量在 2~6 d 时高于对照,在 8、10 d 时低于对照,其中在 6 d 时比对照显著提高 12.38%。综上说明,西瓜叶片叶绿素、脯氨酸、可溶性糖和丙二醛含量及超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性对 ZYMV 侵染的反应相对较为强烈,可作为西瓜抗 ZYMV 评价的生理指标。

关键词:西瓜;幼苗;小西葫芦黄花叶病毒;生理响应;生理指标

中图分类号:S436.5 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2023)18-0143-05

我国是世界上西瓜生产和消费第一大国,据联合国粮食及农业组织(FAO)统计,2020 全国种植面积为 140.59 万 hm^2 ,总产量为 6 234.4 万 $\text{t}^{[1]}$ 。近年来,随农业结构的调整,西瓜种植面积逐渐扩大,已成为国内部分地区助推乡村振兴的高效园艺作物。小西葫芦黄花叶病毒(zucchini yellow mosaic virus,简称 ZYMV)病是在我国西瓜产区发生日益严重,已

上升为西瓜产业的主要病害。近年来,国内有关学者相继开展了植物受病毒侵染后生理生化变化的研究。张萍等的研究表明,辣椒脉斑驳病毒侵染烟草使相关抗氧化物酶(超氧化物歧化酶、过氧化物酶、过氧化氢酶)的活性升高,叶绿素合成受阻,光合效率降低^[2];张武等研究认为,马铃薯 Y 病毒和卷叶病毒侵染马铃薯植株后,有关保护酶活性增强、丙二醛含量升高、总叶绿素含量减少^[3];王瑞龙等的研究表明,萎蔫病毒感染会引起薇甘菊叶片中叶绿素含量减少,超氧化物歧化酶、过氧化物酶和多酚氧化酶活性提高,后期下降^[4];赵富明研究认为,抗病与感病小麦品种(系)体内相关生理生化指标变化存在显著相关性^[5]。目前,有关西瓜小西葫

收稿日期:2022-11-22

基金项目:河南省重点研发与推广专项(编号:192102110036)。

作者简介:高玉红(1979—),女,河南尉氏人,硕士,教授,从事生物学教学与研究。E-mail:gaoyuhong2008@163.com。

通信作者:赵卫星,博士,副研究员,从事西甜瓜遗传育种与栽培生理研究。E-mail:wxzhao2008@163.com。

[29]刘芬,屈成,王悦,等.抽穗期干旱复水对机插水稻抗氧化酶活性及根系活力的影响[J].南方农业学报,2020,51(1):65-71.

[30]Mu Q, Dong M Q, Xu J, et al. Photosynthesis of winter wheat effectively reflected multiple physiological responses under short-term drought-rewatering conditions[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2022, 102(6): 2472-2483.

[31]谢志玉,张文辉.干旱和复水对文冠果生长及生理生态特性的影响[J].应用生态学报,2018,29(6):1759-1767.

[32]刘吉利,赵长星,吴娜,等.苗期干旱及复水对花生光合特性

及水分利用效率的影响[J].中国农业科学,2011,44(3):469-476.

[33]Hao K, Liu X G, Zhang Y, et al. Coupling effects of periodic rewatering after drought stress and nitrogen fertilizer on growth and water and nitrogen productivity of *Coffea arabica*[J]. Journal of Applied Ecology, 2017, 28(12): 4034-4042.

[34]Wang L L, Zhang X N, She Y H, et al. Physiological adaptation mechanisms to drought and rewatering in water-saving and drought-resistant rice[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(22): 14043.

芦花叶病毒的研究多集中在病原生物学特性和抗性种质资源鉴定以及抗性基因的分子标记等方面^[6-8],而针对感染该病毒后叶片生理代谢的报道较少。为此,本研究通过对比分析人工接种侵染后发病叶与健康叶的相关生理指标差异,探讨西瓜幼苗叶片对小西葫芦黄花叶病毒侵染的生理响应机制,以期为西瓜抗病品种选育和黄花叶病毒病的有效预防提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试西瓜品种为对小西葫芦花叶病毒较为敏感的 18-025,由河南省农业科学院园艺研究所提供。

供试小西葫芦花叶病毒(ZYMV),由中国农业科学院郑州研究所果树瓜类植保中心提供。

1.2 试验方法

试验于 2020 年在河南省农业科学院试验基地进行。将经 55℃ 温水浸种的西瓜种子放在(28±1)℃ 恒温培养箱内催芽,待种子露白后播种于 32 孔穴盘中,培养基质为经过灭菌的等体积蛭石和珍珠岩,然后放于 25~28℃ 温室内育苗。出苗后及真叶展出后分别每隔 7、5 d 浇灌 1 次 1/2 Hoagland 营养液和完全营养液,3 叶 1 心时采用常规汁液摩

擦法^[9]接种 ZYMV,以不接种为对照。育苗期间用防虫网和小拱棚进行隔离,以防蚜虫等传毒媒介传染其他病毒,且不喷施任何预防病毒的药剂。

1.3 测定项目和方法

分别于接种后 2、4、6、8、10 d 随机取 5 株测定接种部位叶片的叶绿素、可溶性蛋白质、可溶性糖、游离脯氨酸、丙二醛含量以及超氧化物歧化酶、过氧化物酶和过氧化氢酶活性。测定方法参照李合生的方法^[10]略有改动。

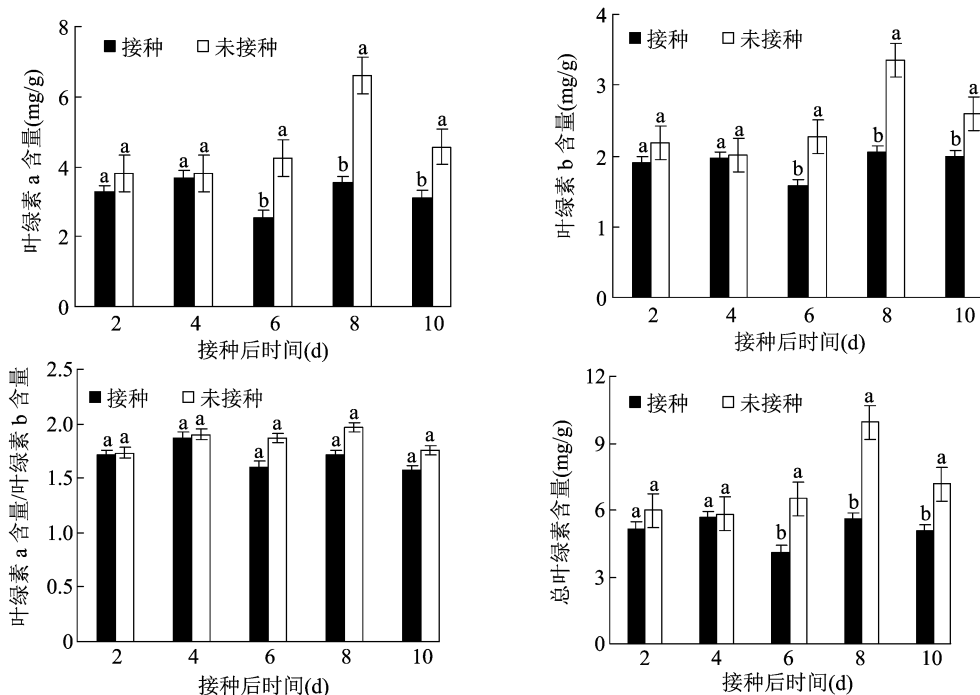
1.4 数据统计

利用 Excel 2019 和 DPS 7.05 软件进行数据统计与制图,多重比较采用邓肯氏新复极差法。

2 结果与分析

2.1 ZYMV 侵染对叶片叶绿素含量的影响

ZYMV 侵染叶片叶绿素含量均呈现不同程度的下降趋势(图 1)。其中,叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素含量在接种后 2、4 d 与对照差异不显著,在接种后 6、8、10 d 与对照差异达显著水平,且均在接种后 8 d 时下降较为明显,分别较对照下降了 46.52%、38.38%、43.78%。叶绿素 a 含量/叶绿素 b 含量在接种后 2~10 d 均与对照差异不显著。表明,ZYMV 侵染西瓜叶片过程中导致叶绿体破坏,且侵染后 2、4 d 叶绿体损伤程度较小,侵染后 6、8、



同一日期柱形图上不同小写字母表示差异显著,下同

图1 接种与未接种病毒叶片叶绿素含量比较

10 d 损伤程度增大。

2.2 ZYMV 侵染对叶片可溶性蛋白质和可溶性糖含量的影响

ZYMV 侵染可降低叶片可溶性蛋白质含量,提高可溶性糖含量(图2)。其中,叶片可溶性蛋白质含量在接种后 2~10 d 时与对照差异未达显著水

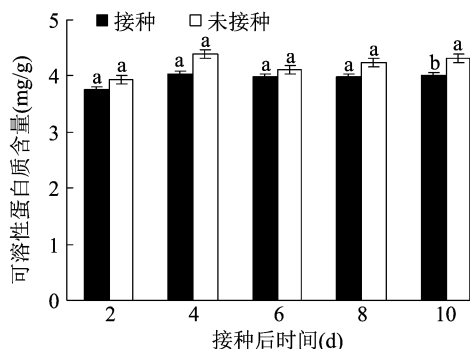
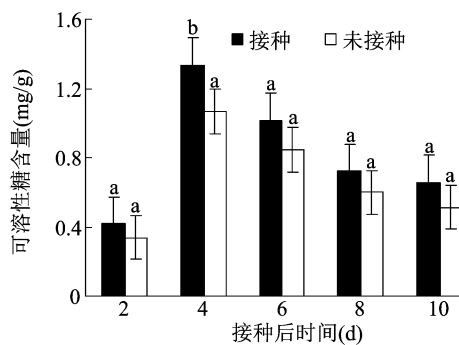


图2 接种与未接种病毒叶片可溶性蛋白质和可溶性糖含量比较

平;叶片可溶性糖含量在接种后 2、6、8、10 d 时与对照差异不显著,在 4 d 时比对照提高 25.02%,且差异达显著水平。说明 ZYMV 侵染对西瓜叶片可溶性蛋白质合成有抑制作用,但抑制效果不显著;对可溶性糖的合成有刺激作用,接种后 4 d 时刺激效果最明显。



2.3 ZYMV 侵染对叶片丙二醛和游离脯氨酸含量的影响

ZYMV 侵染过程中叶片丙二醛和脯氨酸含量均会发生明显变化(图3)。由图3可知,丙二醛含量在苗期接种后 2、4、6 d 时分别较对照提高 3.25%、11.74%、12.38%,其中 2、4 d 时与对照差异不显著,6 d 时与对照差异达显著水平;在苗期接种后 8、10 d 时分别比对照下降 0.83%、7.53%,且差异未达显著水平。叶片脯氨酸含量接种后 2、4 d 时与对

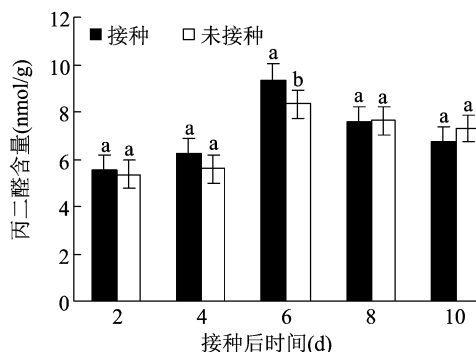
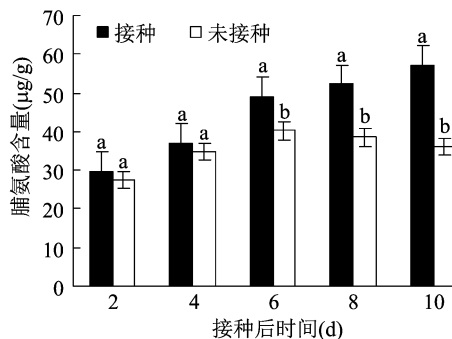


图3 接种与未接种病毒叶片丙二醛和游离脯氨酸含量比较

照差异不显著,6、8、10 d 时分别比对照提高 21.92%、36.69%、58.01%,且差异达显著水平。表明,接种 ZYMV 后,前期(2~6 d)加剧了西瓜叶片细胞膜损坏程度,提高了丙二醛含量,随着侵染时间的延长,后期(8~10 d)减弱了细胞膜损坏程度;同时还会刺激脯氨酸的合成,使其在叶片中的含量增加以抵抗病毒的侵染,且接种后 6~10 d 刺激作用明显增强。



2.4 ZYMV 侵染对叶片相关保护酶活性的影响

ZYMV 侵染过程中叶片超氧化物歧化酶,过氧化物酶和过氧化氢酶活性均有明显上升(图4)。其中,叶片超氧化物歧化酶活性在接种后 2~10 d 时均与对照差异未达显著水平;叶片过氧化物酶活性在接种后 2、4、6、8 d 时分别比对照提高 46.76%、81.59%、48.74%、31.55%,且差异均达显著水平,在接种后 10 d 时与对照差异不显著;过氧化氢酶活

性在接种后 2、10 d 时与对照差异不显著,在接种后 4、6、8 d 时分别比对照提高 23.93%、48.91%、46.15%,且差异均达显著水平。表明,接种 ZYMV 后会提高西瓜叶片相关保护酶的活性。其中,超氧化物歧化酶对 ZYMV 的侵染反应较迟钝;过氧化物酶受侵染后会刺激其活性提高,但后期(10 d)刺激作用减弱;过氧化氢酶在侵染后 2、10 d 时反应不强烈,在侵染后 4、6、8 d 时反应较为强烈。

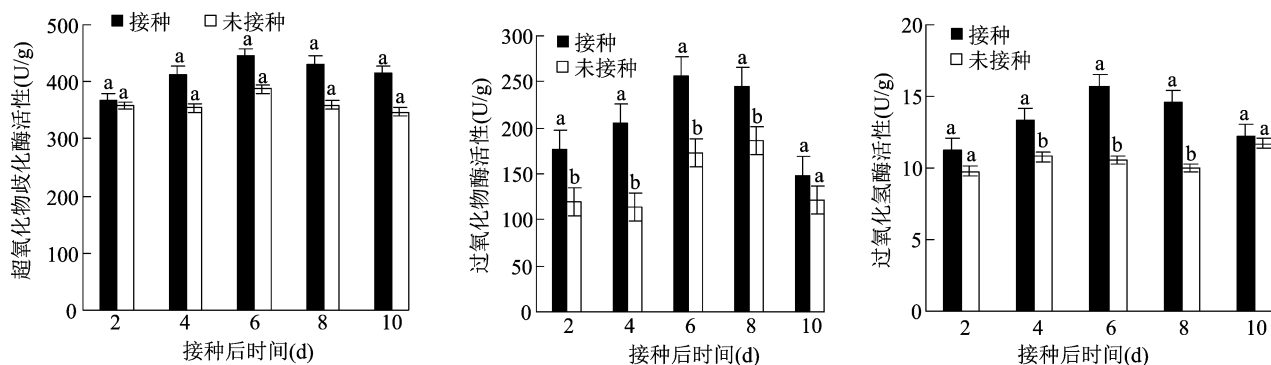


图4 接种与未接种病毒叶片中 3 种保护酶活性比较

3 讨论与结论

病毒侵染寄主植物过程中,在细胞内大量地复制、增殖可破坏寄主细胞叶绿体结构和功能使叶绿素含量下降,影响植物的光合效率^[11-12]。本研究结果表明,接种 ZYMV 后叶片中叶绿素含量明显减低,这与陶月良等对芜菁花叶病毒侵染温州盘菜^[13]和李燕宏等对萎蔫病毒分离物侵染蚕豆的研究结果^[14]一致,可能与病毒侵染导致叶绿体结构被破坏有关。本研究还发现,ZYMV 侵染前期叶绿体损伤程度较小,后期损伤程度增大。这与王瑞龙等对萎蔫病毒感染薇甘菊的研究结果^[4]一致,可能是 ZYMV 侵染需要一个过程,后期(6~10 d)才在细胞体内复制、繁殖加重了叶绿体的破坏。但病毒侵染宿主细胞的过程涉及病毒与细胞结构之间复杂的相互作用,其具体原因还有待进一步研究。

植物组织受病害侵染时,其可溶性蛋白质含量会发生变化^[15]。本研究结果表明,ZYMV 侵染导致西瓜叶片可溶性蛋白质含量下降,但影响作用不明显,这与毛健民等对花叶病毒侵染烟草的结果^[16]一致,可能是花叶病毒侵染仅在一定程度上对氮素的利用造成了影响。而吴美艳等研究则认为,细菌性枯萎病侵染木薯会抑制蛋白质合成,导致蛋白质含量明显下降^[17],造成与本研究结果差异的原因可能与病害侵染能力和寄作物抗性有很关,但具体原因还需进一步试验验证。

可溶性糖含量的增加有助于提高植物的抗病性^[18]。本研究结果表明,ZYMV 侵染会增加西瓜叶片可溶性糖含量,这与朱丽梅对灰霉病侵染百合^[19]和吴美艳等对细菌性枯萎病侵染木薯的研究结果^[17]一致,其原因可能是病原菌侵入植物加速了其体内小分子多糖的水解,引起可溶性糖在侵染部位积累,为自身防御反应供应能量。本研究还发现,

在 ZYMV 侵染 4 d 叶片可溶性糖含量会显著增,而 Yamada 等研究则认为,细菌丁香假单胞菌侵染拟南芥后叶片中的可溶性糖含量都未发生显著变化^[20],造成这种差异的原因可能与不同病原菌侵染过程中对糖分的消耗和积累速率有关,在 ZYMV 侵染 4 d 时叶片糖分积累速率显著高于消耗速率。植物在逆境下的糖代谢和转运受多种因素的影响和制约,其具体原因还有待进一步证实。

丙二醛是细胞膜脂过氧化作用的最终产物之一,其含量可在一定程度上反映细胞膜的损坏程度^[17,21]。本研究结果表明,接种 ZYMV 后 2~6 d 加剧了西瓜叶片细胞膜的损坏程度,提高了丙二醛含量,随着侵染时间的延长,8、10 d 时减轻了细胞膜损坏程度,这与吴美艳等对细菌性枯萎病侵染木薯^[17]和张武等对马铃薯 Y 病毒和卷叶病毒侵染马铃薯的研究结果^[3]相似。病原菌侵染过程中,植物体内会发生一系列生理生化变化对其产生抵抗作用^[22]。造成本研究结果的原因可能是 ZYMV 侵染前期西瓜的抵抗能力较弱,导致细胞膜损害程度加重,随着植株的生长发育,对病毒侵染的逐渐抵抗能力增强,使细胞膜脂过氧化作用减缓,减轻了细胞膜损害程度,但其具体原因还需从分子水平上进一步探讨。

相关研究表明,植株体内脯氨酸含量与品种的抗病性呈显著正相关性^[23]。本研究结果表明,ZYMV 侵染会刺激脯氨酸合成,使叶片中脯氨酸含量增加以抵抗病毒的侵染,接种后 6~10 d 刺激作用明显增强,这与李伯凌对细菌性枯萎病木薯的研究结果^[24]一致。吡咯啉-5-羧酸还原酶是脯氨酸合成过程中的关键酶,与植物体脯氨酸含量关系密切^[25-26]。本研究中 ZYMV 侵染可能诱导了该酶基因的表达,从而增加了叶片中脯氨酸的含量。因此,可利用转基因技术调控脯氨酸合成酶基因在西

瓜中过量表达,促进植株体内脯氨酸的合成,提高对 ZYMV 的抗性。

植株受到病原物侵染后会启动体内的保护酶系统发生一系列不同程度的生化反应,以加速清除体内活性氧自由基,减轻病害对自身的伤害^[27]。本研究表明,接种 ZYMV 后均可不同程度提高西瓜叶片超氧化物歧化酶、过氧化物酶和过氧化氢酶活性。这也在赵卫星等对 ZYMV 侵染不同抗性西瓜品种^[28]和 Sgherri 等对扇叶病毒感染葡萄的研究中得到了证实^[29]。本研究还发现,超氧化物歧化酶对 ZYMV 的侵染反应较迟钝;受侵染后会刺激过氧化物酶活性提高,但后期(10 d)刺激作用减弱;过氧化氢酶在侵染后 2、10 d 反应不强烈,在 4、6、8 d 时反应较为强烈,这与张武等对马铃薯 Y 病毒和卷叶病毒侵染马铃薯的研究结果^[3]相似,可能与不同酶类对病毒病侵染响应的差异有关。植物体内酶促反应受辅助因子、激活剂、抑制剂等多种因素影响和制约,具体原因还需进一步探究。

参考文献:

- [1] 刘文革,徐小利,潘秀清,等. 黄河故道地区西瓜甜瓜产业分析和建议[J]. 中国瓜菜,2022,35(8):1-11.
- [2] 张 萍,刘 健,朱 峰,等. 辣椒脉斑驳病毒对烟草活性氧代谢和光合特性的影响[J]. 四川大学学报(自然科学版),2014,51(1):183-188.
- [3] 张 武,吴雁斌,高彦萍,等. 马铃薯早熟品种与晚熟品种对马铃薯 Y 病毒(PVY)和马铃薯卷叶病毒(PLRV)的生理反应[J]. 中国马铃薯,2020,34(2):103-113.
- [4] 王瑞龙,潘婉文,杨娇瑜,等. 薇甘菊萎蔫病毒感染对薇甘菊光合特性和 4 种酶活性的影响[J]. 生态学报,2013,33(5):1667-1674.
- [5] 赵富明. 小麦引进品种(系)抗感(WYMV)与生理生化关系的研究[D]. 武汉:华中农业大学,2020:86.
- [6] 张大伟,范卫红,王 杰,等. 侵染西瓜的小西葫芦花叶病毒的生物学特性鉴定[J]. 植物保护学报,2004,31(4):437-438.
- [7] 尚建立,王吉明,马双武. 西瓜抗小西葫芦黄花叶病毒种质资源鉴定[J]. 中国瓜菜,2014,27(4):14-15,18.
- [8] 马少芹,许 勇,张海英,等. 西瓜抗小西葫芦黄花叶病毒基因的连锁分子标记研究[J]. 植物病理学报,2006,36(1):68-73.
- [9] Yamamoto M, McGhee J R, Hagiwara Y, et al. Genetically manipulated bacterial toxin as a new generation mucosal adjuvant[J]. Scandinavian Journal of Immunology,2001,53(3):211-217.
- [10] 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.
- [11] Guo D P, Guo Y P, Zhao J P, et al. Photosynthetic rate and chlorophyll fluorescence in leaves of stem mustard (*Brassica juncea* var. *tsatsai*) after turnip mosaic virus infection[J]. Plant Science, 2005,168(1):57-63.
- [12] 杨 柳,况佳颖,任春梅,等. 江苏省主要葫芦科作物病毒种类及分布[J]. 江苏农业学报,2022,38(1):65-72.
- [13] 陶月良,杨加付,叶利勇,等. 温州盘菜感染芜菁花叶病毒后的生理生化性状变化[J]. 浙江农业科学,2001,42(1):39-41.
- [14] 李燕宏,洪 健,谢 礼,等. 蚕豆萎蔫病毒 2 号分离物侵染对蚕豆叶片光合活性和叶绿体超微结构的影响[J]. 植物生理与分子生物学报,2006,32(4):490-496.
- [15] 李跃进,彭云良,高 荣,等. 条锈菌侵染后小麦体内蛋白质的变化[J]. 西南农业学报,2003,16(4):1-3.
- [16] 毛健民,郑爱珍,白 岩,等. 烟草叶片感染花叶病毒时的某些生理生化变化[J]. 吉林农业大学学报,2002,24(4):19-21.
- [17] 吴美艳,罗兴录,樊铸锄,等. 木薯抗细菌性枯萎病生理特性研究[J]. 南方农业学报,2020,51(6):1353-1359.
- [18] 夏正俊,顾本康,吴蔼民,等. 棉花品种抗黄萎病性与体内生化成分相关分析[J]. 植物保护学报,1994,21(4):305-310.
- [19] 朱丽梅,罗凤霞. 百合叶片中可溶性蛋白、叶绿素、可溶性糖含量与灰霉病抗性的关系[J]. 江苏农业科学,2011,39(5):134-136.
- [20] Yamada K, Saijo Y, Nakagami H, et al. Regulation of sugar transporter activity for antibacterial defense in *Arabidopsis* [J]. Science,2016,354(6318):1427-1430.
- [21] 张 珏,吴小芹,施士争,等. 溃疡病侵染对 6 个柳树无性系丙二醛及相关酶活性的影响[J]. 江苏林业科技,2008,35(6):9-12.
- [22] 刘 潮,韩利红,褚洪龙,等. 植物与病原菌互作的分子机制研究进展[J]. 微生物学通报,2018,45(10):2271-2279.
- [23] 郭利莲,陈 捷,高增贵. 游离脯氨酸在玉米灰斑病抗性机制中作用的研究[J]. 玉米科学,2003,11(1):83-85.
- [24] 李伯凌. 木薯抗细菌性枯萎病的生理机制研究[D]. 海口:海南大学,2017.
- [25] 邓凤飞,杨双龙,龚 明. 细胞信号分子对非生物胁迫下植物脯氨酸代谢的调控[J]. 植物生理学报,2015,51(10):1573-1582.
- [26] 于静洋. SINAC1 提高转基因拟南芥抗逆性及机制分析[D]. 大连:辽宁师范大学,2017.
- [27] Karuppanapandian T, Wang H W, Prabakaran N, et al. 2,4-dichlorophenoxyacetic acid-induced leaf senescence in mung bean (*Vigna radiata* L. Wilczek) and senescence inhibition by co-treatment with silver nanoparticles [J]. Plant Physiology and Biochemistry,2011,49(2):168-177.
- [28] 赵卫星,康利允,高宁宁,等. 西瓜叶片防御酶活性变化与病毒病抗性的关系[J]. 河南农业科学,2021,50(5):92-98.
- [29] Sgherri C, Ranieri A, Quartacci M F. Antioxidative responses in *Vitis vinifera* infected by grapevine fanleaf virus [J]. Journal of Plant Physiology,2013,170(2):121-128.