

# 黄瓜不同品种对霜霉病的抗性研究

潘汝谦 古希昕

(植保系)

**摘要** 黄瓜叶片气孔密度、总糖含量与黄瓜品种对霜霉病的抗性负相关。黄瓜霜霉病菌的侵入需通过叶片发育成熟的气孔。气孔大小、还原糖含量和过氧化物酶(PO)活性与黄瓜品种对霜霉病的抗性无关。接种霜霉病菌后,不同品种PO酶活性均在症状出现时期开始上升且感病品种PO酶活性上升高于中感和抗病品种。蛋白质含量、多酚氧化酶(PPO)活性与黄瓜品种对霜霉病的抗性正相关。接种发病后,抗病和感病品种PPO酶活性均上升,抗病品种上升高于感病品种。在健叶中,抗病品种超氧化物歧化酶(SOD)活性高于感病品种;病叶中SOD酶活性降低。接种后刚显症时,抗病、感病品种SOD酶活性均上升且感病品种的酶活性高于抗病品种;发病后期,酶活性下降。

丝瓜与霜霉病组合中PPO酶活性的变化和黄瓜与霜霉病组合中的变化相类似。

**关键词** 黄瓜; 品种; 霜霉病; 抗病性

黄瓜霜霉病 [*Pseudoperonospora cubensis* (Berk. et Curt.) Rostov.] 是黄瓜 (*Cucumis sativus* L.) 的一种全球性分布、流行性很强的严重病害; 国内主要菜区常年流行频率高, 病情严重, 减产幅度大<sup>[4]</sup>。

利用抗病品种是黄瓜霜霉病综防措施的基础。在我国, 黄瓜霜霉病菌尚未发现生理分化现象<sup>[8]</sup>。黄瓜品种间及同一品种不同部位叶片对霜霉病的抗性存在显著差异, 对这种现象的生理生化抗性因素的分析研究较少。有人认为幼叶较抗病是与叶片气孔尚未发育成熟有关, 但未见直接研究证据。石振亚等认为幼叶较抗病与含糖量较高有关<sup>[3]</sup>。刘庆元等报道黄瓜品种对霜霉病的抗性与叶片可溶性总糖含量呈正相关<sup>[5]</sup>。但也有人认为抗性与含糖量无关<sup>[11]</sup>。李靖等报道PO、PPO酶活性均与黄瓜品种对霜霉病的抗性正相关<sup>[7]</sup>。但其所用材料值得商讨。超氧化物歧化酶(SOD)是植物抗性系统酶, 与植物抗逆性有关<sup>[2]</sup>。病害侵染能激活植物超氧化物自由基( $O_2^-$ )发生系统,  $O_2^-$ 的产生与细胞过敏性坏死有关<sup>[12]</sup>。SOD酶是 $O_2^-$ 的清除剂。病菌侵染后, 植物体内SOD酶的作用国内尚未见报道, 国外研究也甚少。本文用对霜霉病具有不同抗性的黄瓜品种为材料, 通过对气孔、糖含量、蛋白质含量、过氧化物酶活性、多酚氧化酶活性和超氧化物歧化酶活性等多项指标的测定, 探索黄瓜品种对霜霉病的抗性因素, 为黄瓜抗病育种提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料和处理

抗病品种: 津研2号、津杂1号、津杂2号、津杂3号。中感品种: 早二青、夏秋青瓜。高感品种: 长春密刺、农大12号。早二青来自番禺市黄阁镇农办, 夏秋青瓜来自广州

1992-11-14 收稿

市白云区种子公司, 其它品种由天津市黄瓜研究所和北农大园艺系提供。

辅助材料: 普通丝瓜 (*Luffa cylindrica* Roem) 又称水瓜, 高抗霜霉病, 有棱丝瓜 (*L. acutangula* Roxb) 品种夏棠1号, 中感; 均来自广州。

各品种露地种植。施足基肥, 育苗移栽后按常规管理。生长期苗期温度 15~20℃, 成株期 24~28℃。另设温室盆栽。

## 1.2 接种方法

菌源采自广州市郊露地种植的黄瓜病叶, 清水洗净后, 经保湿长出霉层。用无菌水洗下孢子囊, 配成 12×10 倍显微镜下每视野含 10~15 个孢子囊的悬液。

盆栽幼苗于三叶期在傍晚 7 时喷雾接种。接种后保湿 24 h。以喷清水为对照。

## 1.3 取样方法

露地种植各品种取成株期第 10 叶位健康叶片。或上、中、下部均取健全叶片。盆栽幼苗取接种叶。每处理取 3 重复。

## 1.4 测定

1.4.1 气孔观察 将样叶剪成 18 mm×18 mm 小块, 用常规固定透明方法处理。气孔密度用 12×10 倍镜计数, 气孔大小用 15×40 倍镜测量。

1.4.2 总糖和还原糖含量 采用 3, 5-二硝基水杨酸 (DNS) 比色法测定。单位用占鲜重的百分比表示。

1.4.3 蛋白质含量 采用日本 MRK 公司凯氏自动定氮仪进行测定。单位用占干重的百分比表示。

1.4.4 过氧化物酶 (PO) 活性 PO 酶的提取, 取新鲜叶片 1 g, 加 0.1 mol/L Tris-HCl 缓冲液 (pH 8.5) 5 ml 匀浆, 以 4 000 rpm 离心 15 min, 上清液测酶活性; 酶活性测定采用张志良的方法<sup>[6]</sup>。以每克鲜重每分钟光密度值变化 0.001 为一酶活性单位。

1.4.5 多酚氧化酶 (PPO) 活性 参考董毅敏等的方法<sup>[9]</sup>。在 420 nm 波长下测光密度值, 每 30 s 读数 1 次, 时间 2 min。以每克鲜重每分钟光密度值变化 0.001 单位为一酶活性单位。

1.4.6 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性 参考王爱国的方法<sup>[1]</sup>。以每克鲜重每小时抑制 NBT 光化还原 50% 为一酶活性单位 (u)。

以上比色测定均使用日本岛津 120 uv 分光光度计。

# 2 试验结果

## 2.1 气孔观察

2.1.1 气孔密度和大小 抗病品种津杂 1 号、津杂 2 号、津杂 3 号叶片气孔数较少, 高感品种长春密刺和农大 12 号叶片气孔数较多, 中感品种早二青、夏秋青瓜叶片气孔数介于抗病和高感品种之间 (表 1)。结果表明, 气孔密度与品种抗性负相关, 这与傅俊范等的结果一致<sup>[8]</sup>。

表1 黄瓜不同品种叶片气孔数和气孔大小

| 品 种   | 抗性 <sup>*</sup> | 气孔数 (个/视野) | 气孔大小 ( $\mu$ ) |
|-------|-----------------|------------|----------------|
| 津杂1号  | R               | 104        | 21.0×13.5      |
| 津杂2号  | R               | 100        | 18.3×11.7      |
| 津杂3号  | R               | 83         | 19.3×11.4      |
| 夏秋青瓜  | S               | 166        | 18.8×12.4      |
| 早二青   | S               | 204        | 17.8×11.6      |
| 农大12号 | HS              | 225        | 17.6×10.8      |
| 长春密刺  | HS              | 249        | 18.6×12.3      |

\* “R”抗病, “S”感病, “HS”高感 (下同)

表1还表明, 黄瓜不同品种叶片气孔大小与品种抗性无关。

2.1.2 气孔发育与霜霉病发生的时间关系 从长春密刺第3叶位叶片刚抽出起, 同时标记数十株生长期相对一致的植株, 逐日剪取第3叶片进行固定、透明, 直到标记株出现霜霉病症状止。镜检结果表明, 叶片自刚抽出至气孔发育成熟约经历7天时间, 此后3~5天霜霉病才显现症状。

在当时温度20~25℃条件下, 霜霉病的潜育期为3~4天<sup>[8]</sup>。由此, 可证明黄瓜霜霉病菌的侵入需通过叶片已发育成熟的气孔。

## 2.2 总糖含量和还原糖含量

总糖含量以抗病品种津杂2号和津研2号较低, 高感品种长春密刺和农大12号较高, 中感品种早二青介于抗病和高感品种之间 (表2)。邓肯氏检验, 抗病品种与中感品种总糖含量差异不显著, 而抗病、中感品种与高感品种差异显著。对总糖含量和病情指数进行直线相关分析, 相关系数 $r=0.9878$ , 极显著。表明总糖含量与品种抗病性负相关。

表2 黄瓜不同品种叶片总糖含量和还原糖含量<sup>\*</sup>

| 品 种   | 病情指数 | 总糖含量 (%FW) | 还原糖含量 (%FW) |
|-------|------|------------|-------------|
| 津杂2号  | 19.1 | 1.90 a     | 0.18        |
| 津研2号  | 18.1 | 1.96 a     | 0.18        |
| 早二青   | 31.8 | 2.10 a     | 0.16        |
| 农大12号 | 56.3 | 2.46 b     | 0.17        |
| 长春密刺  | 61.4 | 2.56 b     | 0.20        |

\* 邓肯氏检验, 在0.05水平, 表中具相同字母的平均数差异不显著 (下同)。

表2还表明, 叶片还原糖含量与抗病性无关。

黄瓜植株不同部位叶片总糖和还原糖含量都是上部较低, 中部、下部依次较高 (表3)。

表3 黄瓜植株不同部位叶片总糖含量和还原糖含量

| 品 种  | 部位 | 抗性 | 总糖含量 (%FW) | 还原糖含量 (%FW) |
|------|----|----|------------|-------------|
| 津杂2号 | 上部 | R  | 1.37 a     | 0.12        |
|      | 中部 | R  | 1.57 a     | 0.14        |
|      | 下部 | S  | 1.84 b     | 0.16        |
| 早二青  | 上部 | R  | 1.50 a     | 0.16        |
|      | 中部 | S  | 1.94 b     | 0.20        |
|      | 下部 | S  | 2.06 b     | 0.23        |

### 2.3 蛋白质含量

抗病品种津杂2号和津研2号叶片蛋白质含量显著高于中感品种早二青和高感品种长春密刺,中感品种和高感品种间差异不显著(表4)。对蛋白质含量和病情指数进行直线相关分析,相关系数 $r = -0.8043$ ,不显著。表明两者不成线性相关。

黄瓜植株不同部位叶片蛋白质含量以上部较高,中、下部依次降低(表5)。

### 2.4 过氧化物酶(PO)活性

黄瓜不同品种叶片PO酶活性各不相同(表6)。品种抗性与PO酶活性无明显相关性。

黄瓜植株不同部位叶片PO酶活性以上部较低,中、下部依次较高(表7)。

幼苗接种霜霉菌后,分别于接种前,接种后36, 60, 84 h和132 h取接种叶片测定PO酶活性的变化,结果见图1。抗病品种津杂2号、中感品种早二青、高感品种长春密刺在接种前至接种后60 h,酶活性均变化平缓。接种后84 h,三品种酶活性都升高,此时期霜霉病开始显症。接种后132 h抗病品种津杂2号酶活性继续升高的幅度较小,而中感品种早二青和高感品种长春密刺均继续有大幅度升高。对照处理,3个品种的酶活性均变化平缓。

### 2.5 多酚氧化酶(PPO)活性

叶片PPO酶活性以抗病品种津杂2号和津研2号较高,高感品种长春密刺较低,而中感品种早二青介于抗病和高感品种之间(表8)。邓肯氏检验,除了其中一个抗病品种津研2号与中感品种早二青的酶活性差异不显著外,抗病品种津杂2号,中感品种早二青,高感品种长春密刺三者的酶活性差异显著。对酶活性和病情指数进行线性相关分析,相关系数 $r = -0.9952$ ,极显著。表明PPO酶活性与品种抗性正相关。

黄瓜植株不同部位叶片PPO酶活性以上部最高,中、下部依次降低(表9)。

表4 黄瓜不同品种叶片蛋白质含量

| 品 种  | 病情指数 | 蛋白质含量(%) |
|------|------|----------|
| 津杂2号 | 19.1 | 34.1 a   |
| 津研2号 | 18.1 | 32.7 a   |
| 早二青  | 31.8 | 28.7 b   |
| 长春密刺 | 61.4 | 28.4 b   |

表5 黄瓜植株不同部位蛋白质含量

| 品 种  | 部 位 | 抗性 | 蛋白质含量(%) |
|------|-----|----|----------|
| 津杂2号 | 上部  | R  | 33.4 a   |
|      | 中部  | R  | 29.5 a   |
|      | 下部  | S  | 24.0 b   |
| 早二青  | 上部  | R  | 33.0 a   |
|      | 中部  | S  | 26.7 b   |
|      | 下部  | S  | 21.3 b   |

表6 黄瓜不同品种叶片过氧化物酶活性

| 品 种  | 病情指数 | PO酶活性(酶单位) |
|------|------|------------|
| 津杂2号 | 19.1 | 259        |
| 津研2号 | 18.1 | 203        |
| 早二青  | 31.8 | 265        |
| 长春密刺 | 61.4 | 218        |

表7 黄瓜植株不同部位叶片过氧化物酶活性

| 品 种  | 部 位 | 抗性 | PO酶活性(酶单位) |
|------|-----|----|------------|
| 津杂2号 | 上部  | R  | 58 a       |
|      | 中部  | R  | 184 b      |
|      | 下部  | S  | 366 c      |
| 早二青  | 上部  | R  | 113 a      |
|      | 中部  | S  | 398 b      |
|      | 下部  | S  | 578 c      |

表8 黄瓜不同品种叶片多酚氧化酶活性

| 品 种  | 病情指数 | PPO酶活性(酶单位) |
|------|------|-------------|
| 津杂2号 | 20.7 | 73 a        |
| 津研2号 | 21.4 | 71 ab       |
| 早二青  | 32.0 | 64 b        |
| 长春密刺 | 58.5 | 33 c        |

表9 黄瓜植株不同部位叶片多酚氧化酶活性

| 品 种  | 部 位 | 抗性 | PPO酶活性(酶单位) |
|------|-----|----|-------------|
| 津杂2号 | 上部  | R  | 129 a       |
|      | 中部  | R  | 96 b        |
|      | 下部  | S  | 47 c        |
| 津研2号 | 上部  | R  | 190 a       |
|      | 中部  | R  | 121 b       |
|      | 下部  | S  | 54 c        |

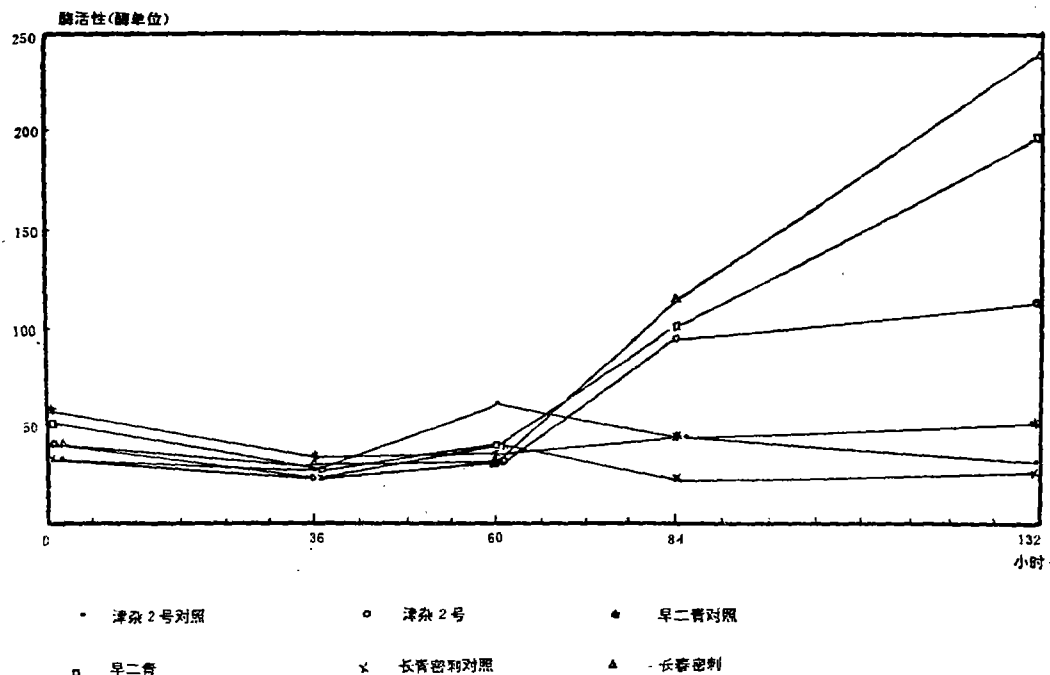


图1 接种霜霉菌后不同品种 PPO 酶活性变化

接种霜霉菌后, 抗、感品种叶片 PPO 酶活性均升高(表10)。抗病品种津杂2号酶活性比感病品种长春密刺高得多。

辅助材料水瓜和夏棠1号丝瓜接种霜霉菌后, PPO 酶活性的变化和黄瓜与霜霉病组合相类似(表11)。

## 2.6 超氧化物歧化酶(SOD)活性

健叶 SOD 酶活性抗病品种津杂2号高于感病品种长春密刺; 病叶酶活性均下降(表12)。

幼苗接种霜霉菌后, 显症初期抗病品种津杂2号和高感品种长春密刺 SOD 酶活性升高, 高感品种的酶活性高于抗病品种; 感病后期, 抗、感品种的酶活性均下降(表13)。

表10 接种霜霉菌后多酚氧化酶活性的变化

| 品 种  | PPO 酶活性(酶单位) |     |
|------|--------------|-----|
|      | 接种前          | 接种后 |
| 津杂2号 | 57           | 83  |
| 长春密刺 | 36           | 53  |

表11 两种丝瓜接种霜霉菌前后多酚氧化酶活性的变化

| 品 种  | 抗性 | PPO 酶活性(酶单位) |     |
|------|----|--------------|-----|
|      |    | 接种前          | 接种后 |
| 水 瓜  | R  | 128          | 193 |
| 夏棠1号 | S  | 79           | 106 |

表12 黄瓜不同品种健、病叶超氧化物歧化酶活性

| 品 种  | SOD 酶活性(u) |     |
|------|------------|-----|
|      | 健叶         | 病叶  |
| 津杂2号 | 444        | 365 |
| 长春密刺 | 407        | 388 |

表13 接种霜霉菌前后超氧化物歧化酶活性的变化

| 品 种  | 组织 | SOD 酶活性(u) |      |      |
|------|----|------------|------|------|
|      |    | 接种前        | 显症初期 | 显症后期 |
| 津杂2号 | 子叶 | 255        | 263  | 248  |
|      | 真叶 | 269        | 278  | 272  |
| 长春密刺 | 子叶 | 245        | 280  | 243  |
|      | 真叶 | 260        | 290  | 265  |

### 3 讨论和结论

本试验表明总糖含量在植株不同部位的分布是上部叶片含量较低,中、下部含量较高,这与石振亚等的结果不同<sup>[3]</sup>。总糖含量与品种抗病性负相关,这与刘庆元等的报道不一致<sup>[5]</sup>。

一些报道认为通过喷糖和尿素等氮肥能短期提高黄瓜植株内糖和氮含量,从而能延缓或减轻黄瓜霜霉病的发生;还认为糖含量可作为黄瓜霜霉病发生的预测指标<sup>[3]</sup>。Bedlan 经试验证明,喷糖和氮能防治黄瓜霜霉病的假说并不成立<sup>[11]</sup>。

从本试验结果,我们认为黄瓜霜霉病不是低糖病害。感病品种和感病部位叶片糖含量较高,可能与其感病性有关。除作为病菌营养外,糖类,如蔗糖等,能强力地促进蛋白质聚合,蛋白质共聚导致感病性<sup>[10]</sup>。

李靖等报道在黄瓜霜霉病组合中,抗病和中抗组合的 PO 酶活性增加高于感病组合;抗病组合 PPO 酶活性高于中抗组合,中抗组合又高于感病组合<sup>[7]</sup>。这一结果值得商讨,因为被试验作为中抗材料的黄瓜品种北京小刺,实则是早已遭生产淘汰的高感品种,病害盛发期的病情指数与高感品种长春密刺近似<sup>[4]</sup>。

本试验表明,PO 酶活性与黄瓜霜霉病的抗性无关。接种霜霉菌后,直至显症期,酶活性始上升,且感病品种上升更高。这支持了 Vanderplank 的观点,PO 酶可能是病原物的蛋白质类食物<sup>[10]</sup>。

本试验表明,PPO 酶活性与黄瓜以及丝瓜对霜霉病的抗性正相关。Shetty 报道高浓度的酚是抑制霜霉菌的内在因素<sup>[13]</sup>。黄瓜以及丝瓜病斑的坏死可能与 PPO 酶有关。

在植物逆境和衰老生理的研究中,以 SOD 为中心的生物活性氧代谢的研究发展很快,已形成生物氧毒害的超氧化物学说<sup>[2]</sup>。

Doke 报道,不亲和的 *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary,对马铃薯叶片的侵染能激活植物的  $O_2^{\cdot-}$  产生系统, $O_2^{\cdot-}$  在不亲和识别的膜上产生,作为系列抗病反应的一个激发因子导致细胞过敏性坏死。随着  $O_2^{\cdot-}$  的产生,体内 SOD 酶活性即跟着上升<sup>[12]</sup>。

本试验表明,接种霜霉菌刚显症时,感病品种 SOD 酶活性上升高于抗病品种。感病品种 SOD 酶活性上升有利于保护寄主细胞膜,但也利于霜霉菌的寄生生活,这与 Doke 的观点相符。SOD 酶与抗病性的关系,国内尚未见报道,国外的研究也不多,因此对其作深入的研究将会有积极意义。

总之,气孔密度、气孔发育进程、蛋白质含量、多酚氧化酶活性和 SOD 酶活性等形态、生理生化特性与黄瓜霜霉病的抗性都有一定的相关性。表明植物抗病性的复杂性。对植物抗病性的解释,还需要运用诸如组织病理学、组织化学等先进的生物技术作细致的精确研究。同时,也不应忽视有潜在价值的任何其它形式,如气孔等结构因素对抗病性的作用。在多数专性寄生菌引起的病害中,糖含量与抗性负相关,这绝不等于说“植物生活力愈强就愈容易感染专性寄生物”,不能把要求活寄主和要求强壮寄主混为一谈。对糖、PO 酶等与感病性有一定关系的因素,应当给予同等认真的评述。

致谢 林孔勋教授和侯任昭副教授对论文写作提出了宝贵意见,吴三强、赵君军同学帮助部分试验,谨致以衷心感谢!

## 参 考 文 献

- 1 王爱国等. 大豆种子超氧化物歧化酶的研究. 植物生理学报 1983, 9(1): 77~83
- 2 王建华等. 超氧化物歧化酶(SOD)在植物逆境和衰老生理中的作用. 植物生理学通讯, 1989, (1): 1~7
- 3 石振亚等. 提高黄瓜植株含糖量预防黄瓜霜霉病. 河北农学报, 1981, 6(4): 60~64
- 4 古希昕等. 黄瓜病害综合防治研究中的引种试验. 主要蔬菜病虫害防治技术及研究进展. 北京: 中国农业科技出版社, 1992, 49~55
- 5 刘庆元等. 黄瓜不同品种抗霜霉病机理的初步研究. 河南农学院学报, 1984, (1): 56~60
- 6 张志良. 植物生理学实验指导. 北京: 高等教育出版社, 1990, 154~155, 352
- 7 李靖等. 黄瓜感染霜霉菌叶片中一些酶活性的变化. 植物病理学报, 1991, 21(4): 277~283
- 8 傅俊范等. 黄瓜霜霉菌生理分化研究. 沈阳农业大学学报, 1986, 17(3): 22~32
- 9 董毅敏等. 抗病和感病黄瓜品种感染白粉病菌后几种酶活性的变化. 植物学报, 1990, 32(2): 160~164
- 10 范德普郎克著(曾士迈等译). 植物病理过程的遗传学和分子基础. 上海: 上海科学技术出版社, 1982. 30~119, 241
- 11 Bedlan, G. [Might sugar perform like fungicides?] Pflanzenschutz, 1987, 3(3-4): 13~14
- 12 Doke N & Chai H. B. Superoxide anion generation: a response of potato leaves to infection with phytophthora infestans. Phytopathol. 1987, 77(5): 645~649
- 13 Shetty, A. Total phenolic content of ridgegourd leaves in relation to downy mildew infection. Current Science, 1983, 52(6): 260

STUDIES ON THE RESISTANCE OF DIFFERENT CULTIVARS OF CUCUMBER  
PLANT TO DOWNY MILDEW (*Pseudoperonospora cubensis* [Berk. et Curt.] Rostov. ]

Fan Ruqian Gu Xixin

(Dept. of Plant Protection)

**Abstract** The number of stomata and total sugar content of cucumber cultivars were negatively correlated to the resistance to downy mildew [*Pseudoperonospora cubensis* (Berk. et Curt. )]. The pathogen of the disease penetrated mainly through the well developed stomata. The size of stomata, the amount of reducing sugar content and peroxidase(po) activity had no correlation with the resistance of the plant to the disease. After inoculation with the pathogen all cultivars showed an increase of PO activity at the time of symptom expression, with higher increase in the susceptible cultivars than in the moderately resistance and resistant ones. The protein content and polyphenoloxidase(ppo) activity were positively correlated to the resistance of the plant. After the development of the disease by inoculation, the PPO activity increased in both susceptible and resistant cultivars, with higher activity in the latter than the former. In the healthy leaves, higher activity of superoxide dismutase(SOD) was found in the resistant cultivar than the susceptible ones, while in the infected leaves, its activity was reduced. After inoculation, SOD activity was found to increase in both susceptible and resistant cultivars during the expression of the symptoms, with higher activity in the susceptible cultivar than the resistant one. SOD activity decreased in the late stage of the disease development. Ridgegourd was found to have a same changing pattern of PPO activity as cucumber in relation to the degree of resistance to the downy mildew.

**Key Words** Cucumber; Cultivars; Downy mildew [*Pseudoperonospora cubensis* (Berk. et Curt. ) Rostov. ]; Disease resistance