

硅酸钠对裸仁美洲南瓜酚类物质含量的影响与抗白粉病的关系

梁巧兰, 魏列新, 徐秉良*

(甘肃农业大学草业学院, 草业生态系统教育部重点实验室, 中-美草地畜牧业可持续发展研究中心,
甘肃省草业工程实验室, 甘肃兰州 730070)

摘要: 以裸仁美洲南瓜抗、感病品种为材料, 测定了硅酸钠溶液喷雾处理南瓜幼苗后诱导接种白粉菌对不同抗病品种裸仁美洲南瓜叶片中酚类物质、绿原酸、类黄酮3种物质在不同处理时期含量变化的影响。结果表明, 硅酸钠诱导处理后不同抗性品种南瓜叶片中的酚类物质、绿原酸、类黄酮等物质含量均明显升高, 抗病品种中酚类物质含量在第5 d、7 d、9 d时分别高于对照和接菌处理的, 绿原酸含量在各个处理时间均高于对照和接菌处理的, 类黄酮含量在第7 d、9 d时分别高于对照和接菌处理的; 感病品种中酚类物质含量和绿原酸含量分别在第5 d、7 d和9 d时高于对照和接菌处理; 类黄酮含量在第3 d、5 d、7 d和9 d时均高于其他处理; 硅酸钠诱导处理后, 大多数情况下抗病品种的酚类物质(除第7 d外)、绿原酸(除第7 d、9 d外)、类黄酮等含量均高于感病品种, 差异显著, 且在接种后第10 d和第15 d白粉病病情指数明显下降。

关键词: 裸仁美洲南瓜; 白粉菌; 硅酸钠; 酚类物质

中图分类号: S432.4 文献标识码: A 文章编号: 1008-505X(2012)06-1537-08

Influences of Na_2SiO_3 on phenolic contents in hull-less pumpkin and its resistance to powdery mildew

LIANG Qiao-lan¹, WEI Lie-xin¹, XU Bing-liang^{1*}

(College of Grassland Science of Gansu Agricultural University/Key Laboratory of Grassland Ecosystem of MOE
/Sino-U. S. Centers for Grazing Land Ecosystem Sustainability
/Pratacultural Engineering Laboratory of Gansu Province, Lanzhou 730070, China)

Abstract: The contents of phenolic, chlorogenic acids and flavonoid in leaves of resistance and susceptible pumpkin cultivars were determined after those cultivars were treated by sodium silicate solution foliar spray and the inoculation of *Podosphaera xanthii*. The results indicate that the contents of phenolic, chlorogenic acids and flavonoid in the leaves of Si supplied plants are significantly increased. The contents of phenolic acid in leaves of the resistant pumpkin cultivars of the induction treatments (Si + Px) are higher than those of the control (CK) and the inoculation treatments (Px) in 5 d, 7 d and 9 d respectively, the contents of chlorogenic acid in leaves of the resistant pumpkin cultivars of the induction treatments (Si + Px) are higher than those of the CK and the inoculation treatments (Px) in 1 d, 3 d, 5 d, 7 d and 9 d respectively, and the contents of flavonoid in leaves of the resistant pumpkin cultivars of the induction treatments (Si + Px) are significantly higher than those of the CK and the inoculation treatments (Px) in 7 d and 9 d. The contents of phenolic and chlorogenic acids in leaves of susceptible pumpkin cultivars of the induction treatments (Si + Px) are higher than those of the CK and the inoculation treatments (Px) in 5 d, 7 d and 9 d respectively, and the contents of flavonoid in leaves of the susceptible pumpkin cultivars of the induction treatments (Si + Px) are significantly higher than those of the CK and the

收稿日期: 2010-02-19 接受日期: 2012-07-03

基金项目: 国家自然科学基金项目(30671267, 31060261); 甘肃省科技厅自然科学基金项目(1010RJZA164)资助。

作者简介: 梁巧兰(1968—), 女, 甘肃崇信人, 博士, 副教授, 主要从事植物保护研究。E-mail: liangql@gsau.edu.cn

* 通讯作者 E-mail: xubl@gsau.edu.cn

inoculation treatments (Px) except in 1d. The contents of phenolic (except 7 d), chlorogenic acids (except 7 d and 9 d) and flavonoid in leaves of the resistant pumpkin cultivars are significantly higher than those of the susceptible cultivars after treated with sodium silicate induction, the powdery mildew disease indexes of resistance and susceptible pumpkin are decreased significantly at 10 d and 15 d after the inoculation.

Key words: hull-less pumpkin; *Podosphaera xanthii* (powdery mildew); sodium silicate; phenolic compounds

裸仁美洲南瓜(*Cucurbita pepo* L.)是葫芦科南瓜属一年生的草本植物,其种子有种仁而无种皮,因而又称无壳南瓜,是自然界中罕见的一种变异类型,其营养成分丰富且全面,南瓜籽中含有人体所需要的氨基酸和不饱和脂肪酸,还可作为化妆品的原料、保健品、油料来源,具有较高的经济效益,近年来发展非常迅速^[1]。我国南瓜的总产量约180万t,占世界总产量的30%^[2]。目前,裸仁美洲南瓜在甘肃省等全国11个省种植面积近百万亩,对增加农民收入和出口创汇带动本地经济发展起到了重要作用。但是,随着裸仁美洲南瓜种植面积的不断扩大,白粉病的发生日益严重,已成为我国南瓜绿色生产的主要障碍^[3],严重时发病率高达100%。对于白粉病的防治普遍采用药剂防治,而长期使用化学药剂会带来农药残留、农药污染等问题,而无公害农业、有机农业生产正日益受到人们的重视,这就要求必须减少各种污染源,包括不使用或限制使用化学农药,以减轻对人类健康的危害^[4]。因此,研究如何增强植株本身的抗病性,特别是植株的系统获得抗病性(systematic acquired resistance, SAR)具有十分重要的理论和实际意义。系统获得抗病性机理复杂多样,包括植物细胞壁加厚、与抗病性相关酶活性的增强及植保素产生等。植物细胞壁是阻止病原菌侵染的第一道屏障,植物受到病原菌侵染后往往细胞壁会增厚,这主要是因为合成细胞壁的主要成分木质素含量发生了变化,而酚类物质不仅是木质素合成的前体物质,而且也是植保素的主要成分^[5]。所以,测定酚类物质含量变化对植物抗病性的研究具有重要意义。

硅可影响许多植物的生长及生物学产量,增强抗逆性,保护植物免受病原菌的侵染^[6]。硅在提高植物抵抗某些真菌性病害,如高粱炭疽病、小麦白粉病、水稻稻瘟病、黄瓜白粉病、葡萄锈病等方面作用明显^[7]; Liang等^[8]研究认为,黄瓜不同抗性品种根部施硅并经挑战接种后,病程相关蛋白(PRs)活性明显增强,这表明硅可增强黄瓜对白粉菌的抗性。而有关硅能否增强南瓜对白粉病的抗性等研究,国内外未见报道。为此,本试验以硅酸钠作

为硅制剂,采用喷雾处理3叶1心期的不同抗性裸仁美洲南瓜品种,并进行挑战接种后,测定了裸仁美洲南瓜叶片中酚类物质、绿原酸和类黄酮等植木质素合成前体物质含量变化,对初步探明其抗病机理及硅制剂在防治植物病害中的应用提供了理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验在甘肃农业大学温室内进行。裸仁美洲南瓜选用抗病品种三星和感病品种天然(由武威金苹果有限责任公司提供),种子发芽后播种于盛满直径为3~5 mm蛭石的盆钵(口径15 cm,高12 cm,每盆装经过高压灭菌处理的蛭石1400 g)中,置于温室内培养,培养条件为25℃、相对湿度60%、12 h光照、光照强度为4400 lx。出苗后浇按1:1比例用蒸馏水稀释的完全营养液,每周浇1次,每次浇300 mL。完全营养液的组成(mg/L),大量元素为NH₄NO₃1650、KNO₃1900、CaCl₂·2H₂O 440、MgSO₄·7H₂O 370、KH₂PO₄ 170、Na₂EDTA 27.8、CuSO₄·H₂O 0.025、FeSO₄·7H₂O 37;微量元素为KI 0.83、H₃BO₃ 6.2、MnSO₄·H₂O 22.3、ZnSO₄·7H₂O 8.6、NaMoO₄·2H₂O 0.25、蔗糖3000、CoCl₂·6H₂O 0.025;其他有肌醇0.01、甘氨酸0.0002、烟酸0.00005、VB₁ 0.00004、VB₆ 0.00004。营养液pH值为5.8。

待南瓜长至三叶一心时,将硅酸钠[Na₂SiO₃·9H₂O,分析纯,天津光复精细化工研究所]用蒸馏水配制成4.9 mg/mL Na₂SiO₃溶液(pH 7.8)进行喷雾处理,处理72 h后接种白粉菌,分别设置蒸馏水处理(CK)、接菌(Px)、硅酸钠(Si)、硅酸钠+接菌(Si+Px)4个不同处理,每处理18株,其中蒸馏水和硅酸钠处理采用喷雾法进行,以叶面全部湿润且无液滴流下为宜;接菌处理采用孢子悬浮液涂抹法在硅酸钠处理后第3 d进行,白粉菌孢子悬浮液用1 mg/mL SDS溶液配制,浓度为10×10倍显微镜下50~60个白粉菌孢子/视野。

1.2 样品采集与分析

于接种前 1 d 和接种后第 1、3、5、7、9 d 采集南瓜叶片,采样重复 3 次,用于测定酚类物质、绿原酸、类黄酮含量变化。

酚类物质含量的测定:采用 Folin 试剂比色法,略有改动^[10]。将采集的南瓜叶片用蒸馏水冲洗干净,称取 0.2 g 放入研钵中加入 1 mL 80% 的乙醇研磨匀浆后过滤到加塞三角瓶中,滤渣再用 1 mL 80% 乙醇冲洗一次并过滤至三角瓶中,加塞放置 20 分钟后把试样提取液用蒸馏水稀释 5 倍,取稀释液 0.8 mL 于小烧杯中,加入 1 mL Folin I 试剂及 2 mL 20% 碳酸钠溶液;室温放置 30 分钟后测定 500 nm 处的吸光值(OD_{500})并以蒸馏水为对照;将测得的 OD_{500} 代入标准曲线后求出相应的酚类物质浓度(C),代入下式即可求得酚类物质的含量。

$$\text{酚类物质含量} (\text{mg/g}) = \frac{C \times V_T}{V_1 \times FW \times 1000}$$

式中: C 为标准曲线求得的酚类物质浓(μg); VT 为提取液总体积(mL); V1 为测定时加样量(mL); FW 为样品鲜重(g)。

绿原酸含量的测定^[11-12]: 将采集的南瓜叶片用蒸馏水冲洗干净,称取 3.0 g 鲜重南瓜叶片,置于 60℃ 烘干至恒重,按烘干叶片重量:无水乙醇 = 1:50 比例加入无水乙醇提取 1 h,取提取液 1 mL 加 4 mL 无水乙醇,加 0.5 g 活性炭脱色,之后用分光光度计测定 324 nm 处的吸光值,根据绿原酸标准曲线转换出绿原酸的含量。每样品重复 3 次。

类黄酮含量测定:参考魏国强方法,略有改动^[13]。将采集的南瓜叶片用蒸馏水冲洗干净,称取 0.6 g 新鲜叶片剪成 1~2 mm 置于具塞试管中,加 5 mL 1% HCl 的甲醇溶液(V/V)在 4℃ 条件下提取 24 h,取 0.5 mL 提取液用蒸馏水稀释至 25 mL,然后用分光光度计测定 325 nm 吸光值(OD),以蒸馏水为对照,类黄酮的含量以提取液测定的 OD_{325} 值除以提取液中所含植物的鲜重即 OD_{325}/g , FW 表示。每样品重复 3 次。

1.3 病情指数计算

处理 15 d 后,观察记录发病情况,计算病情指数。病情分级标准参照刘秀波等的方法^[9]: 0 级,无病症; 1 级,叶正面的病斑面积小于 30%,叶背面无病斑; 3 级,叶正面的病斑面积大于 30%,叶背面的病斑面积小于 10%; 5 级,叶正面的病斑面积大于 30%,叶背面的病斑面积大于 10%,叶柄上出现少量病斑; 7 级,叶正面覆盖霉层,叶背面的病斑面

积大于 10%,叶柄上有较多病斑,主茎上出现少量病斑; 9 级,叶正面覆盖霉层,叶背面的病斑面积大于 10%,叶柄上有较多病斑,主茎上覆盖霉层。

$$\text{病情指数} = \frac{\sum (\text{各级病叶数} \times \text{病叶数})}{\text{调查总叶片数} \times \text{最高级代表值}} \times 100$$

1.4 数据分析

利用 DPS 软件(3.01)对南瓜叶片中酚类物质、绿原酸、类黄酮等三种物质含量及不同处理白粉病病情指数采用 LSD 法进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 诱导处理对不同抗性裸仁美洲南瓜叶片酚类物质含量影响

表 1 表明,硅酸钠诱导处理后,抗病南瓜品种南瓜叶片中酚类物质含量变化明显,呈降、升、降、升的变化趋势。接种第 5 d 时, Si + Px 处理的酚类物质含量均达到最高值,为 2.011 mg/g, 在第 5 d 和 7 d 时, Si + Px 处理酚类物质含量明显高于 CK、Px 和 Si 处理的酚类物质含量。在第 5 d、7 d、9 d 时, 4 个处理的酚类物质含量之间存在极显著差异。只施硅不接种也可以提高抗病南瓜叶片中酚类物质含量,如无论是接种前 1 d 还是接种后第 1 d、5 d、7 d 和 9 d, Si 处理的酚类物质含量均高于对照处理。

硅酸钠诱导处理后,感病南瓜品种南瓜叶片中酚类物质含量变化与抗病品种不同,呈先升后降的变化趋势。Si + Px 处理的酚类物质含量在第 7 d 时达到最大值,为 1.348 mg/g; 在第 5 d 和第 7 d, Si + Px 处理的酚类物质含量明显高于其它 3 个处理,在第 9 d 时的酚类物质含量分别比 CK 和 Px 处理的高 0.392、0.553 mg/g, 比硅酸钠处理的低 0.180 mg/g, 在第 1 d 和第 3 d 酚类物质含量则低于其他处理; 在第 5 d、7 d、9 d 时 Si + Px 处理和 CK、Px 和 Si 处理的酚类物质含量之间存在极显著差异; 只施硅不接种也可以提高南瓜叶片中酚类物质含量的含量,如在接种前 1 d、接种后第 1 d、3 d、7 d 和 9 d 时酚类物质含量均高于对照,除第 3 d 酚类物质含量差异不显著外,其余几天酚类物质含量之间存在极显著差异(表 1)。

通过对硅酸钠诱导处理后不同抗性南瓜叶片酚类物质含量比较,硅酸钠诱导处理后抗病南瓜品种叶片中酚类物质含量在接种后第 1 d、5 d 和 9 d 时明显高于感病南瓜品种的; 在第 7 d 时则是感病南瓜叶片酚类物质含量高于抗病南瓜品种的,但在接种后第 3 d, 抗病和感病南瓜叶片中的酚类物质含量

表1 不同处理不同抗性南瓜叶片中酚类物质含量 (mg/g, FW)

Table 1 Phenolic contents of leaves of different resistant pumpkin cultivars under different treatments

| 处理 Treat. | 接种前 1 d | | 接种后时间 Time after inoculation | | | |
|--------------|------------------------|----------------|------------------------------|----------------|---------------|----------------|
| | 1 d before inoculation | | 1 d | | 3 d | |
| | 抗病 Resist. | 感病 Suscept. | 抗病 Resist. | 感病 Suscept. | 抗病 Resist. | 感病 Suscept. |
| CK | 0.756 Ab | 0.590 Bb | 1.144 Abc | 0.690 Bab | 0.484 Bb | 0.677 Ab |
| Px | | | 1.025 Ac | 0.729 Bb | 0.872 Aa | 0.769 Ba |
| Si | 0.952 Aa | 0.859 Ba | 1.423 Aa | 0.795 Ba | 0.422 Bc | 0.710 Ab |
| Si + Px | | | 1.287 Aab | 0.557 B ab | 0.393 Ac | 0.379 Ac |

| 处理 Treat. | 接种后时间 Time after inoculation | | | | | |
|--------------|------------------------------|----------------|---------------|----------------|---------------|----------------|
| | 5 d | | 7 d | | 9 d | |
| | 抗病 Resist. | 感病 Suscept. | 抗病 Resist. | 感病 Suscept. | 抗病 Resist. | 感病 Suscept. |
| CK | 1.237 Ad | 0.744 Bb | 0.629 Bd | 0.710 Ad | 0.734 Bc | 0.784 Ac |
| Px | 1.460 Ab | 0.682 Bc | 0.790 Ab | 0.751 Bc | 0.689 Ad | 0.623 Bd |
| Si | 1.324 Ac | 0.616 Bd | 0.698 Bc | 1.060 Ab | 1.524 Aa | 1.356 Ba |
| Si + Px | 2.011 Aa | 0.806 Ba | 1.016 Ba | 1.348 Aa | 1.216 Ab | 1.176 Bb |

注(Note): 同行不同大写字母表示同一时间抗、感病品种之间在1%水平上差异显著; 同列不同小写字母表示同一时间4个不同处理之间在1%水平上差异显著。For the same sampling day, different capital letters in the same row mean significantly different between resistance and susceptible cultivars, and different small letters in the same column indicate significantly different among the four treatments respectively at the 1% level.

差异不显著。抗病品种南瓜叶片中酚类物质含量在第5 d 达到峰值,而感病品种的酚类物质含量在第7 d 达到峰值,这表明硅酸钠诱导处理后酚类物质含量增加速度抗病品种明显快于感病品种(表1)。

2.2 诱导处理对不同抗性裸仁美洲南瓜叶片绿原酸含量的影响

表2表明,诱导处理后,Si + Px 处理抗病品种南瓜叶片中绿原酸含量呈先升后降趋势。在接种后第1、3、5、7、9 d 的绿原酸含量明显高于其他3个处理; 在第7 d 时 Si + Px 处理的绿原酸含量达到最大值,为9.185 μg/mL,之后缓慢下降。

诱导处理后,感病南瓜品种南瓜叶片中绿原酸含量呈先升后降的变化趋势。在接种后第7 d 时, Si + Px 处理绿原酸含量达到最大值,为9.960 μg/mL,除第3 d 外,其余各测定时间的绿原酸含量均表现为 Si + Px 处理高于 CK、Px 和 Si 处理,且存在极显著差异(表2)。

硅酸钠诱导处理后,南瓜叶片中绿原酸含量分别在接种后第1、3 和5 d,表现为抗病品种高于感

病品种;而在第7 d 和第9 d 时,却表现为抗病品种低于感病品种(表2)。

2.3 诱导处理对不同抗性裸仁美洲南瓜叶片类黄酮含量的影响

表3表明,硅酸钠诱导处理后,抗病南瓜品种三周后叶片中的类黄酮含量随时间呈下降趋势,诱导处理后第1 d,Si + Px 处理类黄酮含量明显低于 CK 处理,但显著高于 Px 处理和 Si 处理; 接种后第3 d, Si + Px 处理类黄酮含量明显低于 CK 处理和 Px 处理。接种后第7 d 和第9 d, Si + Px 处理的类黄酮含量均高于 CK、Px 和 Si 处理的。Si + Px 处理与 Si 处理的南瓜叶片中类黄酮含量除了第3 d 差异不显著外,其余时间 Si + Px 处理和 CK、Px 和 Si 处理的南瓜叶片中类黄酮含量之间存在极显著差异(表3)。

硅酸钠诱导处理后,感病南瓜叶片中类黄酮含量呈先升后降的变化趋势,除第1 d 类黄酮含量低于 CK、Px 和 Si 处理外,其余各天类黄酮含量均高于 CK、Px 和 Si 处理。方差分析表明,感病品种叶片中绿原酸含量在接种后第3、5、7 d、9 d, Si + Px

表2 不同处理不同抗性南瓜叶片中绿原酸含量(μg/mL)

Table 2 Chorogenic acid contents of leaves of different resistant pumpkin cultivars under different treatments

| 处理 Treat. | 接种前 1 d | | 接种后时间 Time after inoculation | | | |
|--------------|------------------------|----------------|------------------------------|----------------|---------------|----------------|
| | 1 d before inoculation | | 1 d | | 3 d | |
| | 抗病 Resist. | 感病 Suscept. | 抗病 Resist. | 感病 Suscept. | 抗病 Resist. | 感病 Suscept. |
| CK | 1.153 Aa | 1.147 Ab | 1.856 Ad | 1.735 Bd | 3.944 Ad | 3.053 Bb |
| Px | | | 1.963 Ab | 1.866 Bc | 4.200 Ac | 2.197 Bc |
| Si | 1.139 Ba | 1.257 Aa | 2.250 Ac | 2.038 Bb | 4.400 Ab | 4.362 Ba |
| Si + Px | | | 2.387 Aa | 2.174 Ba | 4.535 Aa | 1.386 Bd |

| 处理 Treat. | 接种后时间 Time after inoculation | | | | | |
|--------------|------------------------------|----------------|---------------|----------------|---------------|----------------|
| | 5 d | | 7 d | | 9 d | |
| | 抗病 Resist. | 感病 Suscept. | 抗病 Resist. | 感病 Suscept. | 抗病 Resist. | 感病 Suscept. |
| CK | 4.328 Ad | 4.192 Bd | 4.503 Ad | 4.031 Bd | 4.321 Ad | 3.967 Bd |
| Px | 8.464 Ab | 5.067 Bc | 8.793 Ab | 8.124 Bc | 7.780 Ab | 7.589 Bc |
| Si | 8.864 Ac | 8.632 Bb | 9.093 Ac | 8.368 Bb | 8.780 Ac | 8.330 Bb |
| Si + Px | 9.049 Aa | 8.683 Ba | 9.185 Ba | 9.960 Aa | 8.650 Ba | 9.096 Aa |

注(Note): 同行不同大写字母表示同一时间抗、感病品种之间在1%水平上差异显著; 同列不同小写字母表示同一时间4个不同处理之间在1%水平上差异显著。For the same sampling day, different capital letters in the same row mean significantly different between resistance and susceptible cultivars, and different small letters in the same column indicate significantly different among the four treatments respectively at the 1% level.

表3 不同处理不同抗性南瓜叶片中类黄酮含量(OD_{325nm}/g, FW)

Table 3 Flavonoid contents of leaves of different resistant pumpkin cultivars under different treatments

| 处理 Treat. | 接种前 1 d | | 接种后时间 Time after inoculation | | | |
|--------------|------------------------|----------------|------------------------------|----------------|---------------|----------------|
| | 1 d before inoculation | | 1 d | | 3 d | |
| | 抗病 Resist. | 感病 Suscept. | 抗病 Resist. | 感病 Suscept. | 抗病 Resist. | 感病 Suscept. |
| CK | 0.568 Aa | 0.210 Ba | 1.149 Aa | 0.687 Ba | 0.632 Ab | 0.356 Bd |
| Px | | | 0.585 Ad | 0.577 Ab | 0.729 Aa | 0.374 Bc |
| Si | 0.536 Ab | 0.170 Bb | 0.806 Ac | 0.523 Bc | 0.596 Ac | 0.411 Bb |
| Si + Px | | | 0.897 Ab | 0.422 Bd | 0.603 Ac | 0.450 Ba |

| 处理 Treat. | 接种后时间 Time after inoculation | | | | | |
|--------------|------------------------------|----------------|---------------|----------------|---------------|----------------|
| | 5 d | | 7 d | | 9 d | |
| | 抗病 Resist. | 感病 Suscept. | 抗病 Resist. | 感病 Suscept. | 抗病 Resist. | 感病 Suscept. |
| CK | 0.508 Ad | 0.459 Bc | 0.511 Ad | 0.414 Bd | 0.498 Ad | 0.405 Bd |
| Px | 0.653 Aa | 0.559 Bb | 0.551 Ac | 0.478 Bb | 0.530 Ac | 0.450 Bb |
| Si | 0.530 Ac | 0.459 Bc | 0.587 Ab | 0.459 Bc | 0.533 Ab | 0.437 Bc |
| Si + Px | 0.637 Ab | 0.529 Ba | 0.634 Aa | 0.510 Ba | 0.594 Aa | 0.489 Ba |

注(Note): 同行不同大写字母表示同一时间抗、感病品种之间在1%水平上差异显著; 同列不同小写字母表示同一时间4个不同处理之间在1%水平上差异显著。For the same sampling day, different capital letters in the same row mean significantly different between resistance and susceptible cultivars, and different small letters in the same column indicate significantly different among the four treatments respectively at the 1% level.

处理和 CK、Px 和 Si 处理之间存在极显著差异(表 3)。

无论是在接种前 1 d 还是在接种后第 1、3、5、7 和 9 d, 叶片中类黄酮含量均表现为抗病品种高于感病品种的, 且存在极显著差异(表 3)。

2.4 诱导处理对南瓜白粉病抗性影响

通过对硅酸钠诱导处理后裸仁美洲南瓜白粉病

发病情况的调查, 发现在接种后第 10 d 和第 15 d, 抗病和感病品种的发病率均达到 100%, Si + Px 处理的病情指数均明显低于对照(Px 的处理), 诱导抗病效果分别为 19.94%、34.80% 和 35.21%、39.27%; 而且硅酸钠诱导后感病品种的抗病效果分别比抗病品种的诱导效果高 15.27% 和 4.47% (表 4)。

表 4 硅酸钠诱导处理对不同抗性品种南瓜抗白粉病的影响

Table 4 Effects of the Na_2SiO_3 treatments and challenge inoculation on disease index of powdery mildew of different resistant cultivars of pumpkin

| 处理 Treat. | 抗病品种 Resistant cultivar | | | | 感病品种 Susceptible cultivar | | | |
|--------------|------------------------------|---|------------------------------|---|------------------------------|---|------------------------------|---|
| | 10 DAI | | 15 DAI | | 10 DAI | | 15 DAI | |
| | 病情 指数 Disease index | 诱导抗病效果 Induced resistance effects |
| Px | 42.33 Ab | | 74.52 Ab | | 52.32 Aa | | 87.11 Aa | |
| Si + Px | 38.89 Bc | 19.94 | 48.59 Bd | 34.80 | 35.1 Bc | 35.21 | 52.90 Bc | 39.27 |

注(Note): DAI—接种后天数 Days after inoculation. 同行不同大写字母表示同一时间抗、感病品种之间在 1% 水平上差异显著; 同列不同小写字母表示同一时间 4 个不同处理之间在 1% 水平上差异显著. For the same sampling day, different capital letters in the same row mean significantly different between resistance and susceptible cultivars, and different small letters in the same column indicate significantly different among the four treatments respectively at the 1% level.

3 讨论与结论

硅酸钠诱导处理后, 不同抗性南瓜品种叶片中酚类物质、绿原酸及类黄酮在不同时间含量不同, 而且和南瓜对白粉病的抗性有一定的正相关性。另外, 从本试验结果可以看出, 无论是酚类物质、绿原酸还是类黄酮, 其表达和积累在时间上和空间上具有一定的调控性, 即不同品种对病原物做出反应的速度不同, 抗病品种的反应速度和强度都要高于感病品种, 这与 Bell 等人所认为的植物次生代谢的速度和强度与品种抗病性强弱相关结论一致^[14]。

硅在抵御植物病害中的作用已有诸多报道, Menzies 等^[15]用含不同浓度硅酸钠的营养液处理黄瓜植株, 并在叶片上接种白粉病菌 (*Sphaerotheca fuliginea*), 随着硅在营养液中浓度的增加, 叶片上白粉病斑的数目、面积和从接种叶片上收集的分生孢子的萌发率都大大减少。而且证明, 用硅酸钾代替硅酸钠对病害的抑制作用相同, 而改变营养液的电导度, 用硫酸钾代替硅酸钾或硅酸钠都不能减轻白粉病, 从而说明加入含硅酸钠或硅酸钾的营养液

对白粉病起抑制作用的是硅而不是 Na^+ 或 K^+ , 也不是因加入可溶性硅酸盐导致的电导度改变所致。Menzies 等^[16]进一步试验表明, 富含硅的黄瓜叶片上, 白粉菌菌落产生吸器的数目也大大减少, 且病原菌分生孢子梗的发展受到抑制, 从而使病原菌的繁殖率下降, 推迟了病原菌的扩散。Rodgers 和 Shaw^[17]研究表明, 在小麦上按 Si 100~200 mg/L 的量施用, 可明显减轻白粉病的危害, 这可能与硅施用后激发了植物组织中与抗病相关物质的积累有关。本试验研究发现, 叶面喷施硅酸钠可提高裸仁美洲南瓜叶片中抗病性相关的酚类物质、绿原酸和类黄酮含量, 接种后 10 d、15 d 调查发现硅酸钠诱导处理的抗、感病品种南瓜病情指数明显降低, 而且对感病品种的诱导抗病效果明显高于抗病品种, 这对于品质好但感病的裸仁美洲南瓜在生产中的应用具有重要意义。但这一结论与 Liang 等^[9]的关于黄瓜叶面施硅不能通过挑战接种增强系统获得抗病性的结论不相一致, Liang 等认为叶面施硅可能是通过硅沉积在叶片表面形成物理屏障或硅的渗透作用防治了白粉菌的侵染, 而根部施硅可通过增强病程

相关蛋白酶活性提高黄瓜对白粉病的抗性,但与Menzies等的研究结果相一致,他们研究表明叶面施硅能够有效地防治黄瓜、甜瓜和南瓜白粉病^[18]。

酚类物质是木质素、植保素合成的前体。酚类物质在植物抗病中起着重要作用,许多酚类物质不仅能杀死植物体本身的细胞,也能杀死侵染的病原物,使寄主植物呈现过敏性反应^[19]。本研究表明,裸仁美洲南瓜抗病品种酚类物质含量在接种前明显高于感病品种;接种后,抗感品种叶部酚类物质含量均有大幅度增加,除了第3 d 和第7 d 外抗病品种峰值显著高于感病品种,这与魏国强^[20]、汪红等^[19]和官春云等^[21]在黄瓜对白粉病、棉花对黄萎病抗性和油菜对菌核病抗性研究中得出的抗病品种较感病品种合成了更多的酚类物质的结果相一致;经过硅酸钠诱导处理后抗病品种中的酚类物质出现峰值的时间明显快于感病品种,抗病南瓜品种叶片中酚类物质含量在第1 d、5 d 和9 d 时明显高于感病南瓜品种,而且其含量在抗病和感病品种中除了第3 d 和1 d 外明显高于各自的对照和接菌处理。硅酸钠诱导处理后绿原酸可抑制某些病原菌的生长和产孢,冯洁等^[12]发现绿原酸对棉花枯萎病菌具很强的抑制作用,抗病品种中绿原酸含量高其抑菌活性也强。通过基因工程手段人为降低绿原酸含量的转基因烟草植株明显降低了对蛙眼病的抗性^[22]。本试验结果表明,无论对于抗病品种还是感病品种,硅酸钠诱导处理的绿原酸含量均有不同程度的增加,明显高于空白对照、接菌处理的,分别在第1 d、3 d 和5 d 时抗病品种的高于感病品种。类黄酮是糖苷类化合物,其中的豌豆素和香豆素被认为是重要的植保素。Fawe等^[23]首次报道在黄瓜中也存在植保素类物质,指出硅诱导黄瓜产生活性毒素抵抗白粉菌的侵染,这种小分子代谢物被认为是一种植保素,名称是3,5,3',4'-4羟基-7-O-甲氧基类黄酮。硅酸钠诱导处理的抗病、感病南瓜品种叶片中类黄酮含量在不同时间均是抗病品种的高于感病品种,而且均高于各自的空白对照及接菌处理的。

综上所述,硅酸钠能够诱导酚类物质、绿原酸和类黄酮等植保素前体物质在裸仁美洲南瓜中的产生和积累,而且这三种物质对裸仁美洲南瓜抗白粉病具有一定作用,但本试验仅对硅酸钠处理后南瓜不同时期叶片中这几种简单物质的含量变化进行了测定,而对于根部施用的诱导效果和硅酸钠诱导这三种物质产生的作用机理尚未涉及,还有待于进一步研究。

参 考 文 献:

- [1] 王洪伟,徐亚琴. 南瓜功能成分研究进展[J]. 食品与机械, 2004, 20(4): 55-56.
Wang H W, Xu Y Y. Research progress in the functional factors of pumpkin[J]. Food Mach., 2004, 20(4): 55-56.
- [2] 王鸣. 南瓜属—多样性(Diversity)之最[J]. 中国西瓜甜瓜, 2002, (3): 42-45.
Wang M. The most of diversity of cucurbita [J]. China Watermelon Melon, 2002, (3): 42-45.
- [3] 冯东昕,李宝栋. 主要瓜类作物抗白粉病育种研究进展[J]. 中国蔬菜, 1996, (1): 55-59.
Feng D X, Li B D. Research progress of breeding for resistance to powdery mildew in cucurbit crops[J]. China veget., 1996, (1): 55-59.
- [4] 王荔军,王运华,周益林,等. 纳米结构SiO₂与植物真菌病害发生的关系[J]. 华中农业大学学报, 2001, 20(6): 593-597.
Wang L J, Wang Y H, Zhou Y L et al. Relationship between nanostructure SiO₂ and occurrence of plant fungi[J]. J. Huazhong Agric. Univ., 2001, 20(6): 593-597.
- [5] 李明,曾任森,骆世明. 次生代谢产物在植物抵抗病虫为害中的作用[J]. 中国生物防治, 2009, 23(3): 269-273.
Li M, Zeng R S, Luo S M. Secondary metabolites related with plant resistance against pathogenic microorganisms and insect pests [J]. Chin. J. Biol. Contr., 2009, 23(3): 269-273.
- [6] Epstein E. The anomaly of silicon in plant biology[J]. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 1994, 91(1): 11-17.
- [7] 冯东昕,李宝栋. 可溶性硅在植物抵御病害中的作用[J]. 植物病理学报, 1998, 28(4): 293-297.
Feng D X, Li B D. The role of soluble silicon in disease management of plant[J]. Acta Phytopathol. Sin., 1998, 28(4): 293-297.
- [8] Liang Y C, Sun W C, Si J, Römheld V. Effects of foliar-and root-applied silicon on the enhancement of induced resistance to powdery mildew in *Cucumis sativus* [J]. Plant Pathol., 2005, 54: 678-685.
- [9] 刘秀波,张俊华,崔崇士. 南瓜白粉病病原菌鉴定及抗性鉴定方法研究[J]. 中国瓜菜, 2006, (1): 10-13.
Liu X B, Zhang J H, Cui C S. Identification of pathogen and evaluation the resistance to pumpkin powdery mildew in Heilongjiang Province[J]. China Cucurb. Veget., 2006, (1): 10-13.
- [10] 朱光廉,钟文海,张爱琴. 植物生理学实验[M]. 北京: 北京大学出版社, 1990. 38-39.
Zhu G L, Zhong W H, Zhang A Q. Plant physiology experiment [M]. Beijing: Beijing University Press, 1990. 38-39.
- [11] 杨家书,吴畏,吴友三,薛应龙. 植物苯丙酸类代谢与小麦对白粉病抗性的关系[J]. 植物病理学报, 1986, 16(3): 169-173.
Yang J S, Wu W, Wu Y S, Xue Y L. Relation of metabolism of plant phenylalanine and resistance of wheat to powdery mildew [J]. Acta Phytopath. Sin., 1986, 16(3): 169-173.

- [12] 冯洁, 陈其英, 马存. 棉株内阿魏酸和绿原酸含量及其对枯萎病抗性的关系[J]. 棉花学报, 1990, 2(2): 81-86.
Feng J, Chen Q Y, Ma C. Content of ferulic acid and chlorogenic acid in cotton plants related to the resistibilities for cotton Fusarium wilt disease [J]. Cott. Sci., 1990, 2(2): 81-86.
- [13] 魏国强. 硅提高黄瓜白粉病抗性和耐盐性的生理机制研究[D]. 杭州: 浙江大学硕士学位论文, 2004. 36-39.
Wei G Q. Studies on physiological mechanisms of powdery mildew resistance and salt tolerance improved by silicon in cucumber (*Cucumis sativus* L.) [D]. Hangzhou: MS thesis, Zhejiang University, 2004. 36-39.
- [14] Bell A A, Stipanvoic R D, Howell C R, Fryxell P A. Antimicrobial terpenoids of gossypium: hemigossypol, 6-methoxyhemigossypol and 6-deoxyhemigossypol [J]. Phytochemistry, 1975, 14: 225-231.
- [15] Menzies J G, Ehret D L, Glass A D M et al. Effects of soluble silicon on the parasitic fitness of *Sphaerotheca fuliginea* and *Cucumis sativus* [J]. Phytopathology, 1991, 81: 84-88.
- [16] Menzies J G, Ehret D L, Glass A D M et al. The influence of silicon on cytological interactions between *Sphaerotheca fuliginea* and *Cucumis sativus* [J]. Physiol. Mol. Plant Pathol., 1991, 39: 403-414.
- [17] Rodgers G B S, Shaw M W. Substantial reductions in winter wheat diseases caused by addition of straw but not manure to soil [J]. Plant Pathol., 2000, 49(5): 590-599.
- [18] Menzies J, Bowen P, Ehret D, Glass A D M. Foliar applications of potassium silicate reduce severity of powdery mildew on cucumber, muskmelon, and zucchini squash [J]. J. Am. Soc. Hortic. Sci., 1992, 117(6): 902-905.
- [19] 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 phenois contentin cotton cultivars with different resistance to *V. dahliae* after inoculation [J]. Acta Agric. Boreali-Sin., 2001, 16(3): 46-51.
- [20] 魏国强, 钱琼秋, 朱祝军, 等. 黄瓜白粉病抗性及生理机制的研究 [J]. 华北农学报, 2004, 19(2): 84-86.
Wei G Q, Qian Q Q, Zhu Z J et al. Investigation on resistance of cucumber against powdery mildew and its physiological mechanism [J]. Acta Agric. Boreali-Sin., 2004, 19(2): 84-86.
- [21] 官春云, 李方球, 李恂, 等. 双低油菜湘油 15 (*B. napus*) 对菌核病抗性的研究 [J]. 作物学报, 2003, 29(5): 715-718.
Guan C Y, Li F Q, Li X et al. Resistance of the double-low rapeseed cultivar xiangyou 15 (*B. napus*) to *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. Acta Agron. Sin., 2003, 29(5): 715-718.
- [22] Friend J, Regnolds S B, Aveyard W A. Phenylalanine ammonia-lyase chlorogenic and lignin in potato tuber tissue inoculated with phytophthora infestans [J]. Physiol. Plant Pathol., 1973, 3(4): 495-507.
- [23] Fawcett A, Abou-Zaid M, Menzies J G, Belanger R R. Silicon-mediated accumulation of flavonoid phytoalexins in cucumber [J]. Phytopathology, 1998, 88(5): 396-401.