

不同抗性甜瓜接种蔓枯病菌后PAL、PPO与POD活性的变化

张宁, 毕研飞, 郭静, 徐兵划, 钱春桃*, 陈劲枫

南京农业大学园艺学院, 作物遗传与种质创新国家重点实验室, 南京210095

摘要: 本文以2份甜瓜单基因抗源PI157082和PI482398、聚合基因材料082-398以及‘白皮脆’为试验材料, 用3种不同浓度(5×10^5 、 5×10^7 和 5×10^9 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$)的蔓枯病菌处理, 研究并分析在不同浓度蔓枯病原菌胁迫下甜瓜的抗病表现以及3种内源防御酶苯丙氨酸解氨酶(PAL)、多酚氧化酶(PPO)及过氧化物酶(POD)活性的变化。结果表明: 甜瓜蔓枯病菌浓度为 5×10^7 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, 可以区分聚合基因抗源和单基因抗源对蔓枯病抗性能力的差异, 聚合基因抗源在菌液浓度为 5×10^9 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$ 时依然能够抗病。3种防御酶PAL、PPO和POD与甜瓜对蔓枯病的抗性关系非常密切。甜瓜受蔓枯病菌感染后, 防御酶活性比对照明显增高, 聚合基因材料酶活性增幅和峰值均高于单基因抗源, 单基因抗源活性增幅和峰值均高于感病甜瓜。PAL和PPO在接种后第4~5天活性上升最快, 并且在此阶段达到峰值, 而POD在中后期仍然保持活性上升的状态。这说明, 单一抗性基因的聚合在一定程度上可以提高甜瓜对蔓枯病的抗性, 3种防御酶的活性变化可以为鉴定甜瓜蔓枯病早期抗性提供参考。

关键词: 甜瓜; 蔓枯病; 聚合基因; 抗性鉴定; 防御酶

甜瓜是世界十大水果之一, 乃夏季消暑珍品, 其营养丰富、香甜可口, 备受人们喜爱。我国甜瓜传统产区在西北地区, 但近年来随着栽培地区的东移与高效农业的发展, 设施栽培已成为我国甜瓜生产的重要形式。然而, 设施温室的高湿环境很容易引发甜瓜蔓枯病的发生(吴明珠等2000)。

甜瓜蔓枯病(gummy stem blight)是由*Didymella bryoniae* (Auersw.) Rehm引起的一种真菌性病害, 该病每年都对甜瓜的生产造成巨大的危害, 在大田的发病率可达20%~30%, 在连作地及设施温室高达80%, 严重时甚至会导致绝产(Keinath等1995; 陈秀蓉等1993)。国内外研究表明: 若抗性品种仅携带单个抗病基因, 则会导致其抗性降低甚至失去抗性(Wolukou等2007), 而不同抗性基因的聚合有助于提高作物的抗性, 并且可以扩大抗谱(毕研飞等2015), 因此培育抗性相对持久的品种是提高品种抗性的有效途径之一。但是, 目前有关甜瓜蔓枯病聚合基因材料及其抗病性的研究还较少。

近年来, 国内外学者对多种相关病害进行了大量研究, 发现一些酶特别是苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia lyase, PAL)、多酚氧化酶(polyphenol oxidase, PPO)和过氧化物酶(peroxidase, POD)活性的变化与植物的抗(耐)病性有密切关系。其中POD和PPO是植物体内活性氧清除系统的主要保护酶, 其协同作用可抵抗活性氧对植物细胞造成的伤害, 也可参与苯酚类和植保素等物质的合成(Madge和Terrence 1991; Mayer 2006; 张琳等

2015); 而PAL是植物抗病代谢莽草酸途径的关键酶和限速酶, 是与细胞内木质素的生成和沉积有关的防御酶(王远遐等2015)。前人对于甜瓜蔓枯病抗性和防御酶之间的关系作了一些研究, 周晓慧等(2007)对甜瓜蔓枯病抗、感材料与SOD、CAT和POD活性变化的关系进行研究, 发现抗病材料的SOD、CAT活性均高于感病材料; 而抗病材料的POD活性上升慢, 活性相对较弱, 感病材料的POD活性上升快, 活性强, 且抗病材料的POD活性增加幅度明显低于感病材料。而之后学者的研究结果却略有不同, 王红英等(2012)对不同抗性甜瓜接种蔓枯病菌后叶片中叶绿素、可溶性糖、可溶性蛋白含量和3种防御酶(PPO、PPO、PAL)的活性进行测定, 发现3种酶活性在接种后都有不同程度提高, 其中抗病甜瓜酶活性增幅高于感病甜瓜。郭勤卫等(2013)研究了BTH处理和蔓枯病原菌接种对甜瓜抗蔓枯病相关的POD和PPO的影响, 结果表明: POD和PPO酶活性与甜瓜对蔓枯病的抗性呈正相关。以上研究所用材料都只是单基因抗源和感病甜瓜, 只分析了在蔓枯病感染后抗、感材料间防御酶变化的差异, 并没有对聚合基因抗源受蔓枯病感染后防御酶的变化作研究。徐兵划等(2014)首次利用5份抗源创制8份聚合抗病基因材

收稿 2016-03-08 修定 2016-07-04

资助 国家自然科学基金新疆联合基金项目(U1178307)。

* 通讯作者(E-mail: chuntaoq@njau.edu.cn)。

料,在采用梯度浓度孢子液接种鉴定的基础上,从分子水平上研究接种后苯丙氨酸解氨酶基因、抗坏血酸氧化酶基因、几丁质酶基因等防卫基因在聚合基因材料中的表达情况。发现甜瓜抗蔓枯病基因的聚合能提高其对蔓枯病的抗性,防卫基因在聚合材料中的高表达或早表达使其表现较高的抗性。

本文在前人研究基础上结合苗期蔓枯病菌梯度浓度接种鉴定和田间抗性观察,与感病甜瓜和单基因抗源作对比,初步研究了甜瓜蔓枯病聚合材料的抗性,并对PAL、PPO、POD这3种防御酶在聚合基因抗源、单基因抗源和感病甜瓜材料中活性的动态变化进行分析,旨在为进一步开展甜瓜蔓枯病抗病机制研究提供理论依据,并为聚合基因材料在抗病育种中的应用,改善目前含有单个抗蔓枯病基因的甜瓜品种抗性不足的现状奠定基础。

材料与方法

1 材料

2份甜瓜(*Cucumis melo* L.)单基因抗源材料PI157082(含有抗病基因*Gsb-2*)和PI482398(含有抗病基因*Gsb-4*),由PI157082与PI482398杂交获得聚合基因材料082-398。优质、感病品种‘白皮脆’由项目合作单位新疆农业科学院提供,抗病和感病材料均通过本课题组多代自交保存(徐兵划等2014)。

蔓枯病菌采用A型菌株,利用李英等(2007)的方法分离纯化A型菌株,在PDA培养基上25℃黑暗培养7 d后,再进行4 d间歇紫外灯(12 h紫外/12 h黑暗)的光照条件下培养产生,在显微镜下利用血球计数板将分生孢子悬浮液配成 5×10^5 、 5×10^7 和 5×10^9 个·mL⁻¹备用。

2 方法

2.1 蔓枯病接种与病级鉴定

抗、感以及聚合材料各30株,参照Zhang等(1997)的方法在苗期3~4片叶时接种,用喷雾器喷洒孢子悬浮液,喷到植株叶片开始滴水为止。接种后用塑料拱棚保湿3 d,相对湿度90%以上,温度控制在25℃左右。于接种后7和10 d调查统计病情。

叶片侵染分级标准为:0级:无可见侵染;1级:

老叶上边缘坏死或斑点<10 mm,新叶无病;2级:老叶同上,新叶边缘坏死;3级:所有叶均有感染,叶坏死面积<25%;4级:25%≤叶坏死面积≤50%;5级:叶坏死面积>50%。叶片发病面积用肉眼估算。

平均病级按以下公式计算: $RI = \Sigma(\text{级值} \times \text{株数}) / \text{总株数}$ 。根据平均病情级数(RI)确定蔓枯病抗性级别:高抗(HR): $RI < 1.0$; 抗性(R): $1.0 \leq RI < 2.0$; 中抗(MR): $2.0 \leq RI < 3.0$; 感病(S): $3.0 \leq RI < 4.0$; 高感(HS): $RI \geq 4.0$ 。

2.2 取样方法

每种材料各60株,30株用于接种,30株作为不接种的对照组,根据接种鉴定结果,选取能准确区分聚合基因材料和单一抗源抗蔓枯病差异的接种浓度进行再次接种。接种前取样1次,作为对照,接种后1、2、3、4、5、6、7、8和9 d分别定时取样,共取9次,每次均取3株甜瓜的叶片(第3片叶)各一片,用蒸馏水冲洗、吸干、称重,分别制备粗酶液。用于生理指标的测定,测定结果取3次重复的平均值。

2.3 酶活性的测定

粗酶液提取:取0.2 g处理叶片放入研钵中剪碎,加入2倍体积pH值为7.8的磷酸缓冲液、10% PVP和少许石英砂,冰浴研磨成匀浆后,4℃、15 365×g离心20 min,上清液即为粗酶液。

PAL、POD和PPO的活性均采用李合生(2000)的方法测定。

2.4 数据分析

利用Microsoft Excel 2010及SPSS 13.0软件对试验数据进行统计分析。

实验结果

1 抗、感以及聚合抗源甜瓜材料抗性鉴定

从表1可以看出:当接种浓度为 5×10^5 个·mL⁻¹时,春秋两季中只有感病材料‘白皮脆’出现病症,单基因抗源和聚合基因抗源都无发病症状。当接种浓度为 5×10^7 个·mL⁻¹时,PI157082平均病级(RI)在春季为2.11,秋季为2.10,抗性级别都为中抗;PI482398平均病级春季为1.42,秋季为1.59,抗性级别都为中抗;聚合基因抗源082-398的平均病级春秋两季分别为0.75和0.81,抗性级别都为高抗;而感病材料‘白皮脆’则在春秋两季都表现感病。当接

表1 2014年春秋两季单基因抗源、聚合基因抗源和感病材料的平均病级统计

Table 1 The average disease level statistics of different genotype materials in spring and autumn of 2014

材料	平均病情级数(RI)											
	5×10 ⁵ 个·mL ⁻¹				5×10 ⁷ 个·mL ⁻¹				5×10 ⁹ 个·mL ⁻¹			
	春季	抗性 级别	秋季	抗性 级别	春季	抗性 级别	秋季	抗性 级别	春季	抗性 级别	秋季	抗性 级别
‘白皮脆’(感病)	3.10±0.127 ^a	S	3.32±0.194 ^a	S	3.72±0.218 ^a	S	3.86±0.209 ^a	S	4.81±0.263 ^a	HS	4.89±0.247 ^a	HS
PI157082 (含Gsb-2)	0 ^b	HR	0 ^b	HR	2.11±0.100 ^b	MR	2.10±0.130 ^b	MR	3.51±0.146 ^b	S	3.62±0.140 ^b	S
PI482398 (含Gsb-4)	0 ^b	HR	0 ^b	HR	1.42±0.038 ^c	R	1.59±0.052 ^c	R	3.27±0.140 ^b	S	3.16±0.179 ^c	S
082-398 (含Gsb-2和Gsb-4)	0 ^b	HR	0 ^b	HR	0.75±0.041 ^d	HR	0.81±0.050 ^d	HR	1.35±0.057 ^c	HR	1.39±0.082 ^d	HR

同一列内不同小写字母表示差异性显著(P<0.05)。

种浓度为5×10⁹个·mL⁻¹时, ‘白皮脆’平均病级大于4.0, 表现为高感; 单基因抗源PI157082和PI482398平均病级大于3.0, 表现为感病; 而聚合抗源082-398仍表现为抗病。

2 甜瓜接种蔓枯病后对3种防御酶活性的影响

2.1 蔓枯病对甜瓜内源PAL活性的影响

由图1可以看出: 接种前单基因抗源、聚合基因抗源以及感病甜瓜的初始PAL活性均与对照基本相同, 但是抗性材料中PAL活性要显著高于感病

材料, 聚合基因抗源要高于单基因抗源。接种后, 3种甜瓜材料PAL活性均呈上升趋势, 均在第4天达到峰值, 随后逐渐下降, 而聚合基因甜瓜峰值最大, 之后所有甜瓜PAL活性均有不同程度的下降。接种后第8天单基因抗源PAL活性略高于对照, 而聚合基因抗源则显著高于对照。单基因抗源、聚合基因抗源以及感病材料对照PAL活性变化不大。聚合基因抗源接种后的PAL活性在不同时间均高于单基因抗源和感病材料。

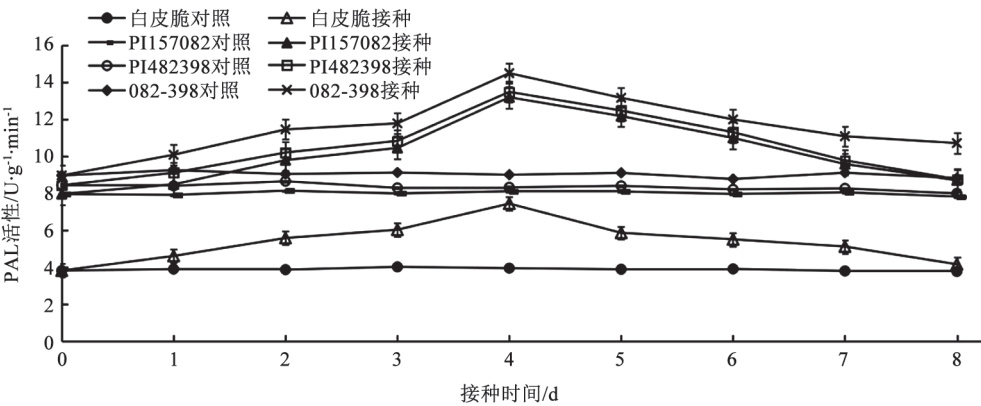


图1 不同抗性甜瓜接种蔓枯病后PAL活性变化

Fig.1 Changes of PAL activities in melons with different resistances after inoculated with *D. bryoniae*

2.2 蔓枯病对甜瓜内源PPO活性的影响

由图2可知: 接种前, 单基因抗源、聚合基因抗源以及感病甜瓜的PPO活性均与对照基本相同, 但是单基因抗源和聚合基因抗源要比感病材料中PPO活性高。接种后, 抗、感病甜瓜PPO活性增加幅度有所不同, 单基因抗源和聚合基因抗源随着接种时间的延长呈现快速上升的趋势, 而感病甜

瓜上升则相对缓慢, 均在接种后第5天达到最大值, 并且单基因抗源和聚合基因抗源峰值要比感病甜瓜峰值大, 而聚合基因抗源甜瓜的最大。之后均有不同程度的下降, 但都显著高于对照。3种甜瓜材料对照PPO活性变化不大。

2.3 蔓枯病对甜瓜内源POD活性的影响

图3表明: 接种前, 抗、感病甜瓜材料的POD

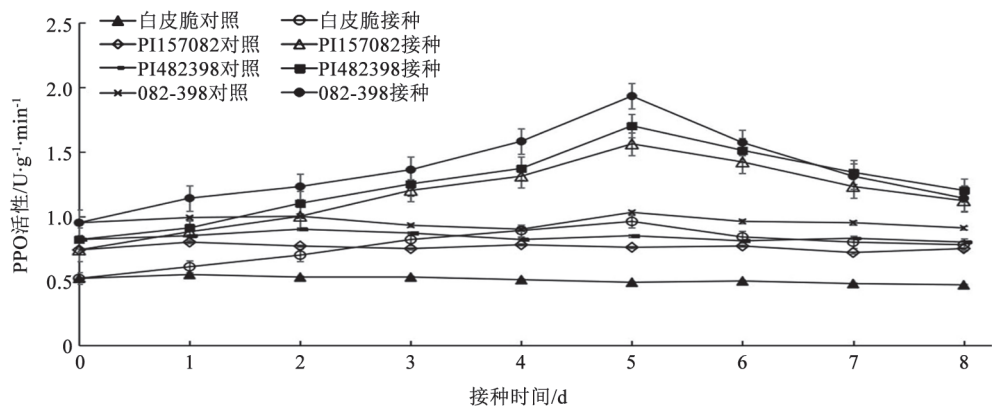


图2 不同抗性甜瓜接种蔓枯病后PPO活性变化
Fig.2 Changes of PPO activities in melons with different resistances after inoculated with *D. bryoniae*

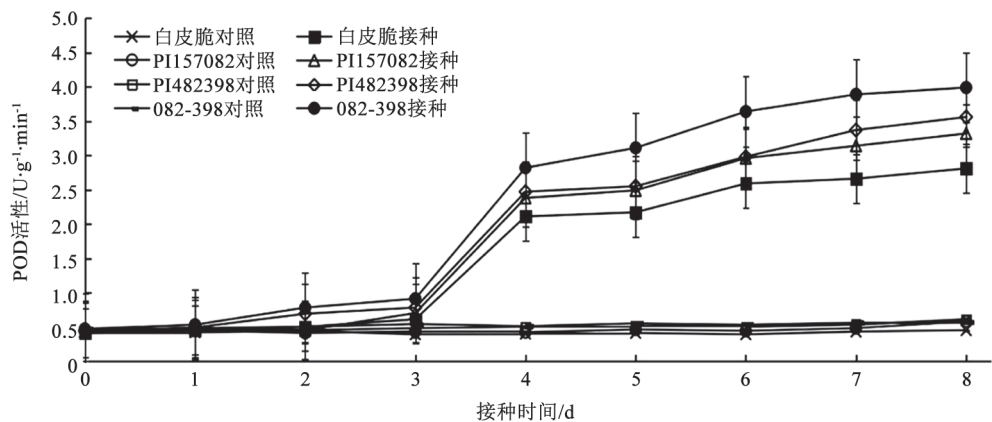


图3 不同抗性甜瓜接种蔓枯病后POD活性变化
Fig.3 Changes of POD activities in melons with different resistances after inoculated with *D. bryoniae*

活性基本相同, 与对照相比没有显著变化。接种后第1~3天, 所有甜瓜材料均有不同程度缓慢的上升, 第3~4天则快速上升, 之后上升幅度有所下降, 但继续保持上升状态, 感病甜瓜与单基因抗源和聚合基因抗源活性变化趋势基本一致。但是, 单基因抗源比感病甜瓜活性上升幅度大, 而聚合基因抗源上升幅度最大。从第3天开始, 3种甜瓜材料 POD活性均显著高于对照, 且对照的POD活性均无明显变化。

讨 论

本研究所用的抗病材料含有优良的抗蔓枯病基因(*Gsb-2*和*Gsb-4*), 均可用于甜瓜抗蔓枯病育种, 为获得抗蔓枯病株系奠定基础。传统甜瓜苗期接种鉴定孢子液浓度为 5×10^5 个·mL⁻¹ (Frantz和Jahn

2004), 只能区分出抗、感材料之间的差异, 不能准确区分抗性材料之间抗蔓枯病能力的差异, 为了选出能够更好地区分3种材料抗病性的蔓枯病菌孢子浓度, 本试验采用3个不同浓度(5×10^5 个·mL⁻¹、 5×10^7 个·mL⁻¹和 5×10^9 个·mL⁻¹)的蔓枯病菌菌液进行梯度接种鉴定, 结果表明: 当接种孢子浓度为 5×10^5 个·mL⁻¹时, 可以区分抗、感材料间的抗性差异; 当接种孢子浓度为 5×10^7 个·mL⁻¹时, 抗性材料间的抗性表现差异明显, 可以鉴定出聚合基因抗源抗性高于单基因抗源。相关研究表明, 当病原菌达到相对比较高的浓度时, 由于相同或者不同的病原菌之间的拮抗作用而使得植物在接种后病情指数下降(潘汝浩等2014), 而本研究中当孢子浓度为 5×10^9 个·mL⁻¹时, 可能没有达到能够使病原菌之间产生拮抗作用的临界值, 各材料接种后病级均在

5以下,并没有达到最大病级,并且单基因抗源的抗性明显降低,表现为感病,而聚合基因材料的抗性依然显著高于单基因抗源和感病材料。因此,聚合抗性基因在一定程度上可以提高品种的抗性,这与朱明涛等(2010)在番茄方面以及徐兵划等(2014)在甜瓜方面的研究结果相一致。

不同抗性甜瓜中防卫基因表达的程度和速度、表达产物的病理功能以及各种防卫基因同步表达能力的不同,而使甜瓜表现不同的抗病及感病表现。接种蔓枯病菌后,甜瓜叶片内防御酶的活性迅速上升,且抗病甜瓜的酶活性上升幅度和峰值要显著大于感病甜瓜,这与王红英等(2012)的研究结果相一致。但是却与周晓慧等(2007)的研究结果不太一致,原因可能是周晓慧等(2007)试验所用蔓枯病菌接种孢子浓度为 5×10^5 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$,接种浓度较低,感病材料自身的抵抗能力不及抗病材料,受感染后细胞壁严重受损,因此POD活性明显升高以修复受损的细胞壁;而本试验接种所用的孢子浓度为 5×10^7 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$,接种浓度较高,达到能够诱发抗病材料释放防御酶来抵抗病原菌的伤害的临界值,因而POD活性升高显著高于感病材料。接种后甜瓜早期酶活性的提高有助于寄主抑制蔓枯病菌在体内的繁殖和运转,酶的活性越强,对病菌的抑制作用越好,最终使寄主表现抗病。因此, PAL、POD和PPO三种防御酶活性的动态变化可以作为早期筛选抗性品种的辅助指标。另外,聚合基因材料防御酶活性的上升程度要明显高于单基因抗源和感病甜瓜,其原因可能是由于聚合基因材料中防卫基因的表达速度要比单基因抗源和感病甜瓜快,或者是表达程度高而造成的,这在一定程度上揭示了聚合基因材料抗性高于单基因抗源的原因。

植物的防御体系是一个多因素相互作用的复杂体系,其中包括各种防御酶和抗病物质等因素(Raguchander等2000; 杨媚等2012; Flurkey等2008; 高芬等2014)。单一防卫基因的表达难以奏效,需要多种防卫基因的协同作用来达到防病目的。不同材料拥有不同的遗传背景,而不同的遗传背景中,既存在着起主导作用的防卫基因,也存在不同防卫基因之间的协作(王光达等2014)。本试验对不同抗性甜瓜与蔓枯病菌互作过程中叶片内3种

防御酶(PAL、PPO和POD)的活性动态变化进行了观察与分析。结果表明: 3种防御酶在不同抗性材料中存在活性增长速度和表达时间上的差异。接种后, PAL活性在第4天达到峰值, PPO活性在第5天达到峰值, 而POD活性在接种第5天后继续保持上升状态。由此可知, 在病原菌诱导甜瓜抗性的过程中, PAL和PPO可能在抗性表达的早期协同作用来抵抗外源病菌的伤害, 而POD可能是在中后期参与防卫反应。

参考文献

- Bi YF, Xu BH, Guo J, Zhang YB, Yi HP, Qian CT, Chen JF (2015). Pyramiding disease resistance genes by marker-assisted selection in melon (*Cucumis melon* L.) and 'Baipicui' breed improvement. *Sci Agric Sin*, 48 (3): 523–533 (in Chinese with English abstract) [毕研飞, 徐兵划, 郭静, 张永兵, 伊鸿平, 钱春桃, 陈劲枫 (2015). 分子标记辅助甜瓜抗蔓枯病基因的聚合及品种改良. *中国农业科学*, 48 (3): 523–533]
- Chen XR, Wei YL, Zhang JW (1993). Studies on the muskmelon black rot fungus and its biological characters. *J Gansu Agric Univ*, 28 (1): 56–61 (in Chinese with English abstract) [陈秀蓉, 魏永良, 张建文(1993). 甜瓜蔓枯病菌及其生物学特性的研究. *甘肃农业大学学报*, 28 (1): 56–61]
- Flurkey WH, Inlow JK (2008). Proteolytic processing of polyphenol oxidase from plants and fungi. *J Inorg Biochem*, 102 (12): 2160–2170
- Frantz JD, Jahn MM (2004). Five independent loci each control monogenic resistance to gummy stem blight in melon (*Cucumis melo* L.). *Theor Appl Genet*, 108: 1033–1038
- Gao F, Chu JM, Li JH, Wang ML (2014). Research progress in the pathogenesis of plant pathogenic fungi. *Jiangsu J Agric Sci*, 30 (5): 1174–1179 (in Chinese with English abstract) [高芬, 褚建梅, 李静虹, 王梦亮(2014). 植物病原真菌致病机理研究进展. *江苏农业学报*, 30 (5): 1174–1179]
- Guo QW, Wang HY, Li J, Mbira KG, Liu J, Chen JF (2013). Effects of BTH on activities of POD and PPO in resistant and susceptible melon seedlings challenged with gummy stem blight. *China Cucurbits Veg*, 26 (6): 7–10 (in Chinese with English abstract) [郭勤卫, 王红英, 李季, Kere George Mbira, 刘佳, 陈劲枫(2013). BTH处理对甜瓜苗期抗蔓枯病相关POD和PPO酶活性的影响. *中国瓜菜*, 26 (6): 7–10]
- Keinath AP, Farnham MW, Zitter TA (1995). Morphological, pathologica and genetic differentiation of *Didymella bryoniae* and *Phoma* spp. isolated from cucurbits. *Phytopathology*, 85 (3): 364–369
- Li HS (2000). *Technology and Elements of Experimentation in Plant Physiology and Chemistry*. Beijing: Higher Education Press: 167–169. (in Chinese) [李合生(2000). *植物生理生化试验原理与技术*. 北京: 高等教育出版社: 167–169]
- Li Y, Zhang YB, Wolukau JN, Chen JF (2007). Fruit-body isolation of *Didymella bryoniae* and sporulation conditions of its A stain.

- J Fruit Sci, 24 (1): 84–88 (in Chinese with English abstract) [李英, 张永兵, Joseph N. Wolukau, 陈劲枫(2007). 甜瓜蔓枯病菌子实体法分离及a型菌株产孢条件研究. 果树学报, 24 (1): 84–88]
- Madge YG, Terrence LG (1991). Rapid accumulation of anionic peroxidases and phenolic polymers in soybean cotyledon tissues following treatment with *Phytophthora megasperma* f. sp. *Glycinea* Wall Glucan. Plant Physiol, 97: 1445–1455
- Mayer AM (2006). Polyphenol oxidases in plants and fungi: going places? A Review. Phytochemistry, 67: 2318–2331
- Pan RH, Wang JS, Wang L, Ling N, Zhang N, Shen QR, Huang QW (2014). Isolation and identification of ginger *Fusarium* wilt pathogen and the effect of spore suspension concentration on the extent of disease. J Nanjing Agric Univ, 37 (1): 94–100 (in Chinese with English abstract) [潘汝浩, 王继琛, 王磊, 凌宁, 张楠, 沈其荣, 黄启为(2014). 生姜枯萎病病原菌的分离鉴定及其接种浓度对生姜枯萎病发生程度的影响. 南京农业大学学报, 37 (1): 94–100]
- Raguchander T, Shanmugam V, Samiyappan R (2000). Biological control of panama wilt disease of banana. Madras Agric J, 320–321
- Wang GD, Huang CN, Wu WL, Bu XJ, Zheng DH (2014). Defense enzyme activities and the resistance to northern leaf blight of different hybrids in maize. J Maize Sci, 22 (5): 146–152 (in Chinese with English abstract) [王光达, 黄初女, 吴委林, 卜宪娟, 郑大浩(2014). 不同玉米品种对大斑病的抗性及相关防御酶活性的关系研究. 玉米科学, 22 (5): 146–152]
- Wang HY, Qian CT, Zhang YB, Yi HP, Guo QW, Liu J, Wu MZ, Chen JF (2012). Changes of Several physiological characters in melons with different resistances after inoculation with *Didymella bryoniae*. China Cucurbits Veg, 25 (1): 7–10 (in Chinese with English abstract) [王红英, 钱春桃, 张永兵, 伊鸿平, 郭勤卫, 刘佳, 吴明珠, 陈劲枫(2012). 不同抗性甜瓜接种蔓枯病菌后若干生理指标的变化. 中国瓜菜, 25 (1): 7–10]
- Wang YX, Ji LZ, Liu Y, Yi XM, Zhang Y (2015). Effect of extract of *Polygonum cuspidatum* on defensive enzymes of *Cucumis sativus*. Plant Physiol J, 51 (5): 661–667 (in Chinese with English abstract) [王远遐, 姬兰柱, 刘艳, 易雪梅, 张悦(2015). 虎杖提取物对黄瓜防御酶系的影响. 植物生理学报, 51 (5): 661–667]
- Wolukou TN, Zhou XH, LiY, Zhang YB, Chen JF (2007). Resistance to gummy stem blight in melon (*Cucumis melo* L.) germplasm and inheritance of resistance from plant introductions 157076, 420145 and 323498. HortScience, 42 (2): 215–221
- Wu MZ, Yi HP, Feng JX, ERken, Zhang YB (2000). Ecobreeding of hamimelon and soilless cultivation of organic ecotype. Engineering, 2 (8): 83–88 (in Chinese with English abstract) [吴明珠, 伊鸿平, 冯炯鑫, 艾尔肯, 张永兵(2000). 哈密瓜南移东进生态育种与有机生态型无土栽培技术研究. 中国工程科学, 2 (8): 83–88]
- Xu BH, Qian CT, Wang HY, Bi YF, Lou QF, Zhang YB, Yi HP, Chen JF (2014). The expression analysis of defense genes in the genes pyramided melon (*Cucumis melo* L.) resistance to gummy stem blight. J Nanjing Agric Univ, 37 (5): 63–68 (in Chinese with English abstract) [徐兵划, 钱春桃, 王红英, 毕研飞, 娄群峰, 张永兵, 伊鸿平, 陈劲枫(2014). 甜瓜蔓枯病抗性聚合材料中防卫基因的表达分析. 南京农业大学学报, 37 (5): 63–68]
- Yang M, Cen R, Li YT, Huang YH, Zhou EX (2012). Changes of defensive enzyme activities during the interactions of banana plantlets with *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 4. J Fruit Sci, 33 (2): 61–64 (in Chinese with English abstract) [杨媚, 曾蕊, 李瑜婷, 黄永辉, 周而勋(2012). 香蕉枯萎病菌4号生理小种毒素解毒剂的筛选及对香蕉防御酶活性的影响. 果树学报, 33 (2): 61–64]
- Zhang L, Cui HM, Wang JJ, Hou XL, Li Y (2015). Effects of cadmium stress on genes expression in L-galactose pathway involved in Vc biosynthesis and antioxidant system of *Brassica campestris* ssp. *Chinensis*. Plant Physiol J, 51 (7): 1099–1108 (in Chinese with English abstract) [张琳, 崔红米, 王建军, 侯喜林, 李英(2015). 镉胁迫对不结球白菜Vc合成L-半乳糖途径基因表达及抗氧化系统的影响. 植物生理学报, 51 (7): 1099–1108]
- Zhang Y, Kyle M, Anagnostou K, Zitter TA (1997). Screening melon (*Cucumis melo* L.) for resistance to gummy stem blight in the greenhouse and field. Hortscience, 32 (1): 117–121
- Zhou XH, Li Y, Chen JF (2007). Relationships between activity changes of superoxide dismutases, catalase, peroxidase and resistance to gummy stem blight in melon. China Cucurbits Veg, (2): 4–6 (in Chinese with English abstract) [周晓慧, 李英, 陈劲枫(2007). 甜瓜蔓枯病抗性与SOD, CAT和POD活性变化的关系. 中国瓜菜, (2): 4–6]
- Zhu MT, Sun YL, Zhang S, Zhang XL, Wang TT, Ye ZB, Li HX (2010). Pyramiding disease resistance genes by molecular marker-assisted selection in tomato. Acta Horti Sin, 37 (9): 1416–1422 (in Chinese with English abstract) [朱明涛, 孙亚林, 郑莎, 张晓黎, 王涛涛, 叶志彪, 李汉霞(2010). 分子标记辅助聚合番茄抗病基因育种. 园艺学报, 37 (9): 1416–1422]

Changes of PAL, PPO and POD activities in melon with different resistances after inoculated with *Didymella bryoniae*

ZHANG Ning, BI Yan-Fei, GUO Jing, XU Bing-Hua, QIAN Chun-Tao*, CHEN Jin-Feng

College of Horticulture, State Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China

Abstract: To investigate the disease resistance and the dynamic activities of endogenous defense enzymes, phenylalanine ammonia lyase (PAL), polyphenol oxidase (PPO) and peroxidase (POD), induced by different concentrations of melon gummy stem blight (GSB) pathogens, two monogenic resistance sources (PI157082 and PI482398), one pyramided genes source (082-398) and 'Baipicui' were employed as the study materials. The results showed that the difference in resistance between single-gene and the pyramided genes sources could be distinguished when the spores concentration was 5×10^7 spores $\cdot$ mL⁻¹. The pyramided genes source could still be resistant to high spore concentration. There is a very close relationship between the three defense enzymes and GSB resistance of melon. After infected by GSB, the activities of three defense enzymes were significantly higher than the control. Furthermore, the increasing rates and peaks of pyramided genes material were higher than those in the single-gene resistance sources and susceptible melon. The increasing rates of PAL and PPO activities were the fastest at 4 to 5 days after inoculation. In addition, the activities of PAL and PPO reached the peak at this stage as well, however, the activity of POD still was increasing in the middle and late period. This study showed that pyramiding the single resistance genes can enhance the resistance to GSB of melon to some extent. The activities of three defense enzymes could provide a reference for the early identification of the resistance to GSB in various resistance melon.

Key words: melon (*Cucumis melo*); gummy stem blight; genes pyramiding; resistance identification; defense enzymes

Received 2016-03-08 Accepted 2016-07-04

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No. U1178307).

*Corresponding author (E-mail: chuntaoq@njau.edu.cn).