

链格孢侵染对伽师瓜果皮活性氧代谢的影响

王瑾¹, 冯作山¹, 白羽嘉^{1,2}, 朱婉彤¹, 刘阳¹, 刘博文¹

(1. 新疆农业大学食品科学与药学学院, 新疆乌鲁木齐 830052)

(2. 新疆农业大学作物学博士后流动站, 新疆乌鲁木齐 830052)

摘要: 本文以采后伽师瓜果实为试验材料, 无损接种链格孢菌(*Alternaria alternata*), 比较伽师瓜无网纹、小网纹、大网纹果皮组织抗病性差异, 研究活性氧代谢及关键酶活性变化规律。结果表明: 链格孢菌侵染 30 d 时, 伽师瓜果皮无网纹病害发生率 77.77%、小网纹 84.17%、大网纹 88.02%。各实验组超氧阴离子(O₂⁻)产生速率和还原型谷胱甘肽(GSH)含量呈先升高后降低的变化趋势, 过氧化氢(H₂O₂)含量呈升高-降低-升高的变化趋势, 丙二醛(MDA)含量外果皮呈升高-降低的变化趋势, 内果皮一直升高; 且侵染期间外果皮 O₂⁻产生速率、GSH、H₂O₂ 和 MDA 含量高于内果皮。各实验组超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)、谷胱甘肽还原酶(GR)均呈先升高后降低的变化趋势; SOD 活性无网纹、小网纹、大网纹外果皮峰值为 49.19 U、39.29 U、31.81 U, 内果皮峰值为 32.36 U、24.28 U、19.30 U; CAT 活性无网纹、小网纹、大网纹外果皮峰值为 485.95 U、393.68 U、220.40 U, 内果皮峰值为 202.67 U、228.30 U、137.93 U; POD 活性无网纹、小网纹、大网纹外果皮峰值为 28.62 U、24.84 U、23.13 U, 内果皮峰值为 14.46 U、9.73 U、8.58 U; GR 活性无网纹、小网纹、大网纹外果皮峰值为 378.32 U、170.24 U、196.15 U, 内果皮峰值为 70.58 U、45.61 U、66.67 U; 抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性呈上升趋势, 外果皮活性高于内果皮, 无网纹活性高于小网纹和大网纹。由此表明, 伽师瓜果皮抗病性与活性氧代谢关系密切, 外果皮抗病性强于内果皮, 无网纹组抗病性强于小网纹组和大网纹组。

关键词: 链格孢; 侵染; 伽师瓜; 果皮; 活性氧

文章编号: 1673-9078(2019)11-83-92

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.11.012

Effects of *Alternaria alternata* Infection on Reactive Oxygen Species Metabolism in Pericarp of Jiashi Muskmelon

WANG Jin¹, FENG Zuo-shan¹, BAI Yu-jia^{1,2}, ZHU Wan-tong¹, LIU Yang¹, LIU Bo-wen¹

(1. College of Food Science and Pharmacy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China)

(2. Postdoctoral Mobile Station of Crop Science, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China)

Abstract: Jiashi melon was chose as experimental material. Non-invasive inoculation methods of melon with *Alternaria alternata* was used. The objective of this study was aimed to compare the resistance difference of no-netted, small-netted and large-netted pericarp to pathogenic bacteria during storage. The relationship between reactive oxygen species (ROS) metabolism and key enzymes activity was investigated. The results showed that, when Jiashi melon was infected by *Alternaria* for 30 days, the incidence of disease rates of non-netted group, small-netted group and large-netted group were 77.77%, 84.17%, 88.02%, respectively. The superoxide radical (O₂⁻) production rate and Glutathione (GSH) content of each experimental group increased firstly and then decreased. The content of hydrogen peroxide (H₂O₂) increased firstly, then decreased, and increased during storage. The content of Malondialdehyde (MDA) of exocarp increased firstly and then decreased. However, the content of MDA of endocarp increased continuously. The O₂⁻ production rate, GSH, H₂O₂ and MDA content of exocarp were higher than that of endocarp during the infection period. The activity of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POD) and glutathione reductase (GR) of each experimental group increased firstly and then decreased. Themaximum of SOD activity in no-netted, small-netted and large-netted of exocarp were 49.19 U, 39.29 U and 31.81 U, respectively, and that of endocarp were 32.36 U, 24.28 U and 19.30 U, respectively. The maximum of CAT activity in no-netted, small-netted and large-netted of exocarp were 485.95 U, 393.68 U and 220.40 U, respectively. The maximum of POD activity in no-netted, small-netted and large-netted of exocarp were 28.62 U, 24.84 U and 23.13 U, respectively, and that of endocarp were 14.46 U, 9.73 U and 8.58 U, respectively. The maximum of GR activity in no-netted, small-netted and large-netted of exocarp were 378.32 U, 170.24 U and 196.15 U, respectively, and that of endocarp were 70.58 U, 45.61 U and 66.67 U, respectively. APX activity presented an upward trend, and the activity of exocarp was higher than that of endocarp, and the activity of no-netted was higher than that of small-netted and large-netted. It is concluded that the resistance of Jiashi melon pericarp to pathogenic bacteria is closely related to reactive oxygen metabolism, the resistance of exocarp is stronger than that of endocarp, and the resistance of no-netted group is stronger than that of small-netted group and large-netted group.

收稿日期: 2019-07-02

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金青年科学基金资助项目 (2016D01B020)

作者简介: 王瑾 (1994-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 农产品加工与综合利用

通讯作者: 冯作山 (1963-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 农产品加工与综合利用; 共同通讯作者: 白羽嘉 (1984-), 男, 博士, 副教授, 博士后在站, 研究方向: 农产品加工与综合利用、作物遗传育种

220.40 U, respectively, and that of endocarp were 202.67 U, 228.30 U and 137.93 U, respectively. The maximum of POD activity in no-netted, small-netted and large-netted of exocarp were 28.62 U, 24.84 U and 23.13 U, respectively, and that of endocarp were 14.46 U, 9.73 U and 8.58 U, respectively. The maximum of GR activity in no-netted, small-netted and large-netted of exocarp were 378.32 U, 170.24 U and 196.15 U, respectively, and that of endocarp were 70.58 U, 45.61 U and 66.67 U, respectively. Ascorbate peroxidase (APX) activity increased continuously during storage. APX activity of exocarp was higher than that of endocarp. APX activity of no-netted group was higher than that of small-netted group and large-netted group. In conclusion, the postharvest disease resistance of *Jiashi* melon pericarp was closely related to the metabolism of ROS. The disease resistance of exocarp was stronger than that of endocarp. The disease resistance in no-netted group was stronger than that of small-netted group and large-netted group.

Key words: *Alternaria alternata*; infection; jiashi muskmelon; pericarp; reactive oxygen species

伽师瓜属葫芦科 (*Cucurbitaceae*) 黄瓜属 [¹](*Cucumis* Linn), 一年生蔓性草本植物, 是新疆特有的晚熟型厚皮甜瓜品种^[2]。伽师瓜采后病害由生长期间潜伏侵染和采后病原菌侵染所引起^[3], 其中由链格孢菌引起的黑斑病是发生率最高的病害^[4]。

哈密瓜果实接种链格孢菌后, 抗氧化酶活性显著升高, 链格孢菌侵染对哈密瓜果实的影响显著高于青霉菌和毛霉菌^[5]。伽师瓜和 86-1 甜瓜接种链格孢菌, 果皮与果肉活性氧代谢相关酶活性变化显著, 伽师瓜果皮能更有效的抵御病原菌的侵染^[6]。链格孢菌侵染采后伽师瓜, 可诱导超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)、谷胱甘肽还原酶(GR)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性升高, 在侵染中后期作用显著^[7]。

果实与其他组织一样, 在受到病原菌侵染时, 会产生大量活性氧(ROS)与自由基, 产生抗病反应, 阻止病原菌的侵害^[8], 同时, 活性氧代谢酶活性升高, 清除过量的活性氧, 维持细胞氧化还原的平衡^[9]。当植物细胞内的活性氧积累过多时, 会造成细胞膜脂过氧化, 使寄主的防御系统受到严重损伤。为了使细胞免受活性氧的毒害, 植物体内的活性氧清除系统在保持 ROS 产生与降解动态平衡中起关键作用^[10]。

目前甜瓜采后病害研究多采用损伤接种病原菌, 破坏了外果皮结构。外果皮是果实抵御病原菌侵染的第一道防线, 也是最重要的物理抗病结构^[11], 作为与各种生物互作中的最初接触点, 具有特殊的生态意义^[12]。本研究以伽师瓜为试材, 采用无损伤接菌, 将链格孢菌吸附在伽师瓜表面不同网纹处, 研究病害的发生程度, 分析活性氧代谢关键酶活性变化规律, 从活性氧的角度了解果皮抵御病原菌侵染的作用机制。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

伽师瓜: 采摘自新疆喀什地区伽师县, 单果重

4.0±0.5 kg、可溶性固形物 12.5±0.5 °Brix。

链格孢菌(*Alternaria alternata*): 分离自然发病的伽师瓜果实, PDA 保存。

1.2 试剂

冰乙酸、氢氧化钠、氨水、无水乙醇、无水乙酸钠、H₂O₂、丙酮、硫酸、盐酸, 均为分析纯(AR), 购自天津市致远化学试剂有限公司。

α-萘胺、EDTA、EDTA-Na₂、核黄素、磷酸二氢钾、磷酸二氢钠、磷酸氢二钾、磷酸氢二钠、三氯乙酸、无水对氨基苯磺酸、盐酸羟胺、聚乙二醇 6000、愈创木酚、2-硫代巴比妥酸、5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸)、NADPH-Na₂、PVP-K30、Triton X-100、氮蓝四唑(NBT)、二硫苏糖醇、甲硫氨酸、聚乙烯吡咯烷酮、氧化性谷胱甘肽, 均为分析纯(AR), 购自上海生物工程技术有限公司。马铃薯葡萄糖琼脂(PDA), 购自北京奥博星生物技术有限责任公司。

1.3 主要仪器设备

NBCJ-B 型无菌操作台, 上海鸿都电子科技有限公司; MHP-250 型恒温霉菌培养箱, 上海鸿都电子科技有限公司; LDZX-50KBS 型立式压力蒸汽灭菌器, 海申安医疗器械厂; XSP-2C 型显微镜, 上海蔡康光学仪器有限公司; FA2104N 型电子天平, 上海民桥精密科学仪器有限公司; FE20 型 pH 计, 梅特勒-托利多仪器有限公司; XHF-DY 型高速分散器, 宁波新芝生物科技股份有限公司; TGL-16G 型高速冷冻离心机, 上海安亭科学仪器厂; TU-1810PC 型紫外-可见分光光度计, 北京普析通用公司; DZKW-S-4 型电热恒温水浴锅, 北京市永光明医疗仪器厂。

1.4 试验方法

1.4.1 甜瓜预处理

甜瓜表面用 2%双氧水浸泡杀菌, 清水冲洗 3 次。置于阴凉处晾干待用。

1.4.2 网纹分级

无网纹组:以接种点为中心,半径 20 mm 内无网纹。

小网纹组: (10:1) mm≤网纹纵横比≤(20:3) mm。

大网纹组:网纹纵横比>(20:3) mm。

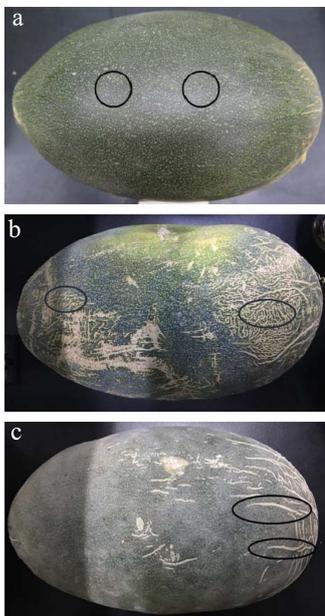


图1 伽师瓜网纹分级:无网纹组(a)、小网纹组(b)、大网纹组(c)

Fig.1 Classify of Jiashi melon's net: no-netted (a), small-netted (b), large-netted (c)

1.4.3 链格孢菌侵染

配制浓度 1.0×10^6 spores/mL^[13]链格孢菌孢子悬浮液(含 0.01%吐温-20)。

取 20 μ L 孢子悬浮液,接种于圆形无菌海绵片上(3×2) mm,用胶带粘贴于伽师瓜大网纹、小网纹及无网纹组。各处理接种 50 个果实,每个甜瓜果实接种 10 处。置于(25±1) °C 下贮藏。

1.4.4 取样

处理后 0、5、10、15、20、25、30 d 取样。随机选择 6 个甜瓜测量病斑大小,取发病与健康组织交界 5 mm 处组织(内果皮厚度 1.0 ± 0.3 mm,外果皮厚度 1.0 ± 0.3 mm)。液氮速冻, -80 °C 保存。

1.5 测定指标与方法

1.5.1 病害发生率统计

接种部位出现黑色病斑且直径≥4.0 mm 统计为病害发生。

病害发生率(%)=发病点数/总接菌点数×100

1.5.2 超氧阴离子(O₂⁻)产生速率和过氧化氢(H₂O₂)含量的测定

O₂⁻产生速率:每分钟每克鲜重组织中产生的 O₂⁻

物质的量(μ mol/min·g FW),参考 Chomkitichai 等^[14]方法测定;H₂O₂含量:每克鲜重果蔬组织中 H₂O₂含量(μ mol/g FW),参考 Ferguson 等方法^[15]。

1.5.3 丙二醛(MDA)和还原型谷胱甘肽(GSH)含量的测定

MDA 含量:每克鲜重果蔬组织中 MDA 的含量(nmol/g FW),参考 Xu 等^[16]方法测定;GSH:每克鲜重果蔬组织中 GSH 含量(μ mol/g FW),参考 Kranner 等^[17]方法测定。

1.5.4 活性氧代谢酶活性的测定

SOD 活性、CAT 活性、POD 活性、APX 活性、GR 活性的测定参照《果蔬采后生理生化实验指导》(曹健康,2007)^[18]。

1.6 数据处理

采用 IBM SPSS Statistics 23.0 进行数据分析,采用 LSD 多重比较进行差异显著性分析($p < 0.05$),采用 Origin 2018 软件进行绘图,每组实验重复测定三次。

2 结果与讨论

2.1 病害发生率

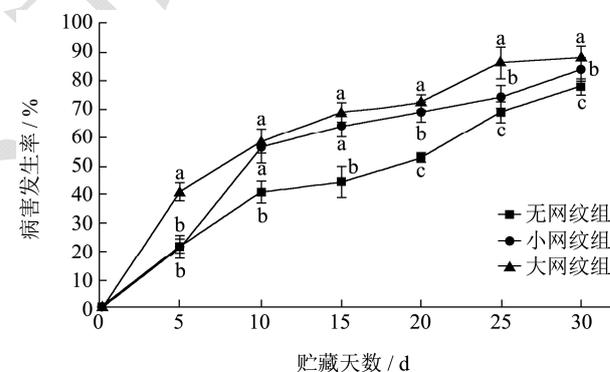


图2 链格孢侵染伽师瓜果皮病害发生率的变化

Fig.2 Change of *A. alternata* infection on disease rate of Jiashi muskmelon's pericarp

注:相同贮藏天数不同字母表示差异显著, $p < 0.05$ 。下同。

链格孢侵染伽师瓜果皮,病害发生率呈上升趋势(图2),差异显著($p < 0.05$)。大网纹组病害发生率最高,小网纹组次之,无网纹组最低。各实验组均在 5 d 时出现病斑,侵染 30 d 时,无网纹组病害发生率为 77.77%,小网纹组病害发生率为 84.17%,大网纹组病害发生率为 88.02%,差异显著($p < 0.05$)。

角质膜沉积在植物外表皮细胞壁的表面,形成疏水层^[19,20],链格孢菌液滴难以附着及侵入,故病害发生率较低。苹果表面角质膜越厚,抗纹病菌能力越强,与本研究结果相似^[21]。网纹的形成主要是甜瓜外

果皮的龟裂及愈伤组织木栓化后形成的^[22]，伽师瓜表皮网纹向下凹陷，网纹越大，凹陷越深且长，有利于病原菌的附着、萌发与增殖。

2.2 链格孢侵染伽师瓜果皮 O₂⁻ 产生速率的变化

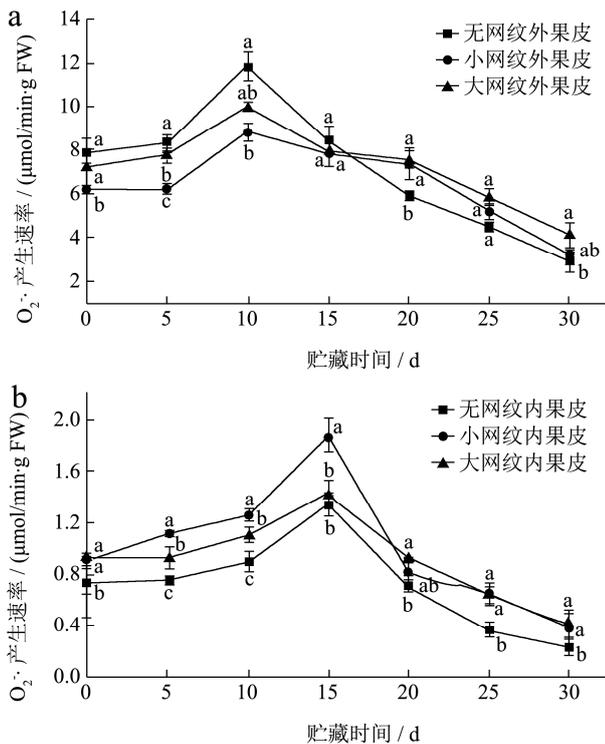


图3 链格孢侵染伽师瓜外果皮(a)与内果皮(b) O₂⁻ 产生速率的影响

Fig.3 Effects of *A. alternata* infection on O₂⁻ production rate of epicarp (a) and endocarp (b) of Jiashi muskmelon

链格孢菌，外果皮 O₂⁻ 产生速率变化显著 ($p < 0.05$)，呈先升高后降低的变化趋势(图 3a)。在侵染 10 d 时出现峰值，无网纹、小网纹、大网纹分别为 0 d 时的 1.51、1.43、1.39 倍。在 0~15 d，无网纹组 O₂⁻ 产生速率高于小网纹组和大网纹组，15~30 d，无网纹组 O₂⁻ 产生速率低于小网纹组和大网纹组。

各实验组接种链格孢菌，内果皮 O₂⁻ 产生速率变化显著 ($p < 0.05$)，呈先升高后降低的变化趋势(图 3b)。各实验组 O₂⁻ 产生速率均在 15 d 出现峰值，无网纹组、小网纹组、大网纹组分别为 0 d 时的 1.80、2.04、1.55 倍。在 0~15 d，小网纹组 O₂⁻ 产生速率始终高于无网纹组和大网纹组，20~30 d，小网纹组 O₂⁻ 产生速率低于大网纹组，差异不显著 ($p > 0.05$)，高于无网纹组，差异显著 ($p < 0.05$)；在 0~30 d，无网纹组 O₂⁻ 产生速率始终低于小网纹组和大网纹组。

外果皮 O₂⁻ 产生速率始终高于内果皮，峰值较内

果皮提前 5 d 出现。ROS 迸发是植物与病原菌互作过程中的前期表现^[23]，无网纹外果皮能够更迅速地响应链格孢菌侵染，启动防御反应。蓝莓果皮喷洒灰霉病菌后，O₂⁻ 产生速率出现较大幅度增长而后下降的趋势，与本研究结果相似^[24]。

2.3 链格孢侵染伽师瓜果皮 H₂O₂ 含量的变化

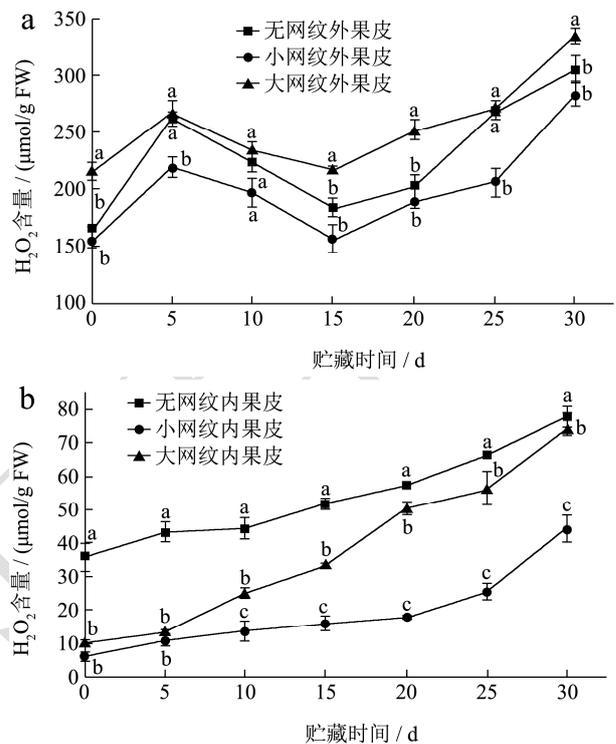


图4 链格孢侵染伽师瓜外果皮(a)与内果皮(b) H₂O₂ 含量的影响

Fig.4 Effects of *A. alternata* infection on H₂O₂ content of epicarp (a) and endocarp (b) of Jiashi muskmelon

各实验组接种链格孢菌，外果皮 H₂O₂ 含量变化显著 ($p < 0.05$)，均呈现升高-降低-升高的趋势(图 4a)。大网纹组 H₂O₂ 含量最高，无网纹组次之，小网纹组最低。各实验组 H₂O₂ 含量在 5 d 时升高，无网纹组、小网纹组、大网纹组分别为 0 d 时的 1.61、1.52、1.24 倍。在 30 d 时，无网纹、小网纹、大网纹分别较 0 d 增加 1.87、1.84、1.56 倍。

各实验组接种链格孢菌，内果皮 H₂O₂ 含量变化显著 ($p < 0.05$)，呈上升趋势(图 4b)。无网纹组 H₂O₂ 含量最高，大网纹组次之，小网纹组含量最低。在 30 d 时，无网纹组、小网纹组、大网纹 H₂O₂ 含量分别为 0 d 时的 2.17、6.90、5.92 倍。

侵染 0~10 d 外果皮 H₂O₂ 含量的升高是因为链格孢菌对伽师瓜果皮胁迫反应引起，侵染 15~30 d 由于伽师瓜体内活性氧爆发导致 H₂O₂ 含量的升高。与大网纹和小网纹内果皮相比，无网纹组内果皮能积累更

多的过氧化氢。甜瓜采后经苯并噻重氮(ASM)处理, H₂O₂ 含量变化趋势与本研究相似, 通过细胞化学定位发现大量过氧化氢堆积在细胞内, 呈斑点状沉积在细胞壁表面^[25], 通过苯丙烷代谢途径促进植物细胞壁的加厚^[26]。

2.4 链格孢侵染伽师瓜果皮 MDA 含量的变化

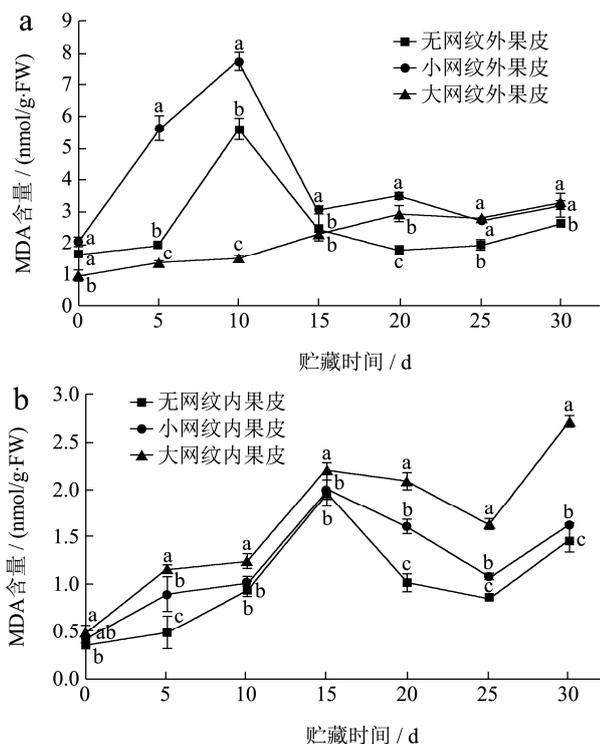


图5 链格孢侵染伽师瓜外果皮 (a) 与内果皮 (b) MDA 含量的影响

Fig.5 Effects of *A. alternata* infection on MDA content of epicarp (a) and endocarp (b) of Jiashi muskmelon

各实验组接种链格孢菌, 外果皮 MDA 含量变化显著($p < 0.05$)。无网纹组和小网纹组 MDA 呈先升高后降低的变化趋势(图 5a), 在 10 d 时 MDA 含量出现峰值, 分别为 0 d 的 3.41、3.82 倍; 大网纹组 MDA 含量呈逐渐升高的变化趋势, 在 30 d 时 MDA 含量为 0 d 时的 3.40 倍。

各实验组接种链格孢菌, 内果皮 MDA 含量变化显著($p < 0.05$), 均呈现升高-降低-升高的变化趋势(图 5b)。无网纹组、小网纹组、大网纹组在贮藏 15 d 时 MDA 含量出现峰值, 分别为 0 d 的 5.72、4.87、4.78 倍, 无网纹组和小网纹组差异不显著($p > 0.05$); 各实验组在 15~25 d 时 MDA 含量呈下降趋势, 在 30 d 含量升高, 无网纹组、小网纹组、大网纹 MDA 含量分别为 1.47 nmol/g、1.64 nmol/g、2.72 nmol/g。

在 0~10 d 时外果皮 MDA 含量小网纹组高于无网纹组和大网纹组, 无网纹组外果皮链格孢难以侵入,

抗病反应相对较弱, 病菌对组织的破坏较轻, MDA 含量积累最少; 小网纹病菌可以侵入, 组织木质化程度较轻, 细胞受到侵染发生抗病反应, 积累的 MDA 最多; 大网纹组病菌侵染程度较高, 但组织木质化严重, 产生和积累的 MDA 相对较少。内果皮侵染严重程度依次为小网纹组、无网纹组、大网纹组, 因此 MDA 含量表现为小网纹组最高、无网纹组较低、大网纹组最低, 与发病程度吻合。对不同抗病品种南瓜接种枯萎病菌后, 观察 MDA 含量与抗病性的关系, 发现 MDA 含量呈现先升后降在上升的变化趋势, 与本研究结果类似^[27]。

2.5 链格孢侵染伽师瓜果皮 GSH 含量的变化

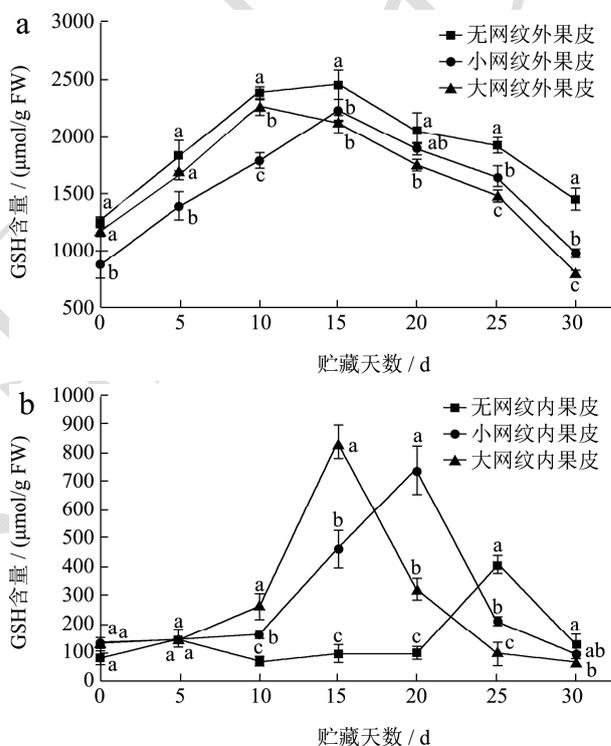


图6 链格孢侵染伽师瓜外果皮 (a) 与内果皮 (b) GSH 含量的影响

Fig.6 Effects of *A. alternata* infection on GSH content of epicarp (a) and endocarp (b) of Jiashi muskmelon

各实验组接种链格孢菌, 外果皮 GSH 含量变化显著($p < 0.05$), 均呈先升高后降低的变化趋势(图 6a)。无网纹组 GSH 含量始终高于小网纹组和大网纹组 GSH 含量。在 15 d 时, 无网纹组与小网纹组均出现峰值, 分别为 0 d 时的 1.95、2.51 倍; 大网纹处在 10 d 出现峰值, 为 0 d 的 1.94 倍。大网纹组 GSH 含量峰值较无网纹组和小网纹组延迟 5 d 出现。

各实验组接种链格孢菌, 内果皮 GSH 含量变化显著($p < 0.05$), 均呈先升高后降低的变化趋势(图 6b)。在 0~20 d, 无网纹组 GSH 含量始终低于大网纹组和

小网纹组 GSH 含量; 在 25~30 d, 无网纹组 GSH 含量高于大网纹组和小网纹组; 在 15 d 时, 大网纹组出现活性峰值, 为 0 d 时的 6.44 倍; 在 20 d 时, 小网纹组出现活性峰值, 为 0 d 时的 5.41 倍; 在 25 d 时, 无网纹组出现活性峰值, 为 0 d 时的 4.91 倍。大网纹组 GSH 含量峰值最大, 分别为小网纹组、无网纹组峰值的 1.13、2.02 倍。

外果皮在 0~10 d 时, 大网纹组 GSH 含量高于小网纹组, 差异显著($p<0.05$); 在 15~30 d 时, 大网纹组 GSH 含量始终低于小网纹组, 差异显著($p<0.05$)。内果皮在 0~15 d 时, 大网纹组 GSH 含量高于小网纹组, 差异显著($p<0.05$); 在 20 d~30 d 大网纹组 GSH 含量始终低于小网纹组, 差异显著($p<0.05$)。GSH 含量的降低是一种潜在的凋亡早期激活信号^[28], 对于大网纹组来说, 其含量峰值较无网纹组和小网纹组提前出现, 随后产生的氧自由基促使细胞发生凋亡, GSH 含量流失, 造成大网纹处更易发生细胞衰老, 加速果实的腐烂, 与发病程度吻合。

2.6 链格孢侵染伽师瓜果皮 SOD 活性的变化

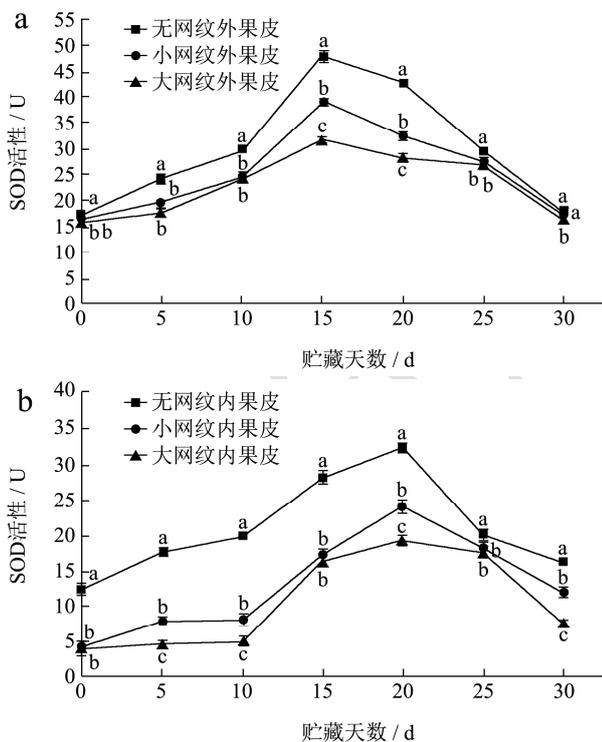


图 7 链格孢侵染伽师瓜外果皮 (a) 与内果皮 (b) SOD 活性的影响

Fig.7 Effects of *A. alternata* infection on SOD activity of epicarp (a) and endocarp (b) of Jiashi muskmelon

各实验组接种链格孢菌, 外果皮 SOD 活性变化显著($p<0.05$), 呈先上升后下降的变化趋势(图 7a)。无网纹组 SOD 活性最高, 小网纹组次之, 大网纹组最

低。在 15 d 时各实验组 SOD 均出现活性峰值, 无网纹组、小网纹组、大网纹组分别为 0 d 时的 2.77、2.39、2.04 倍; 无网纹组活性峰值分别为小网纹组、大网纹组的 1.19、0.94 倍。

各实验组接种链格孢菌, 内果皮 SOD 活性变化显著($p<0.05$), 均为先升高后降低的变化趋势(图 7b)。无网纹组 SOD 活性最高, 小网纹组次之, 大网纹组最低。各实验组均在 20 d 时出现 SOD 活性峰值, 无网纹组、小网纹组、大网纹组分别为 0 d 时的 2.58、5.38、5.08 倍; 无网纹组活性峰值分别是小网纹组和大网纹组的 1.33、1.68 倍。

链格孢侵染伽师瓜外果皮 SOD 活性高于内果皮, 外果皮比内果皮提前 5 d 出现活性峰值。无网纹组 SOD 活性高于小网纹组和大网纹组。伽师瓜受到链格孢菌侵染后, 启动了自身防御体系, 清除由伽师瓜和链格孢菌之间互作产生的超氧阴离子, 抵御链格孢菌对伽师瓜果皮组织的侵染。抗病品种甘蓝与感病品种甘蓝接种链格孢菌后, 抗病材料的 PPO、SOD 活性始终高于感病材料^[29], 与本研究结果相似。

2.7 链格孢侵染伽师瓜果皮 CAT 活性的变化

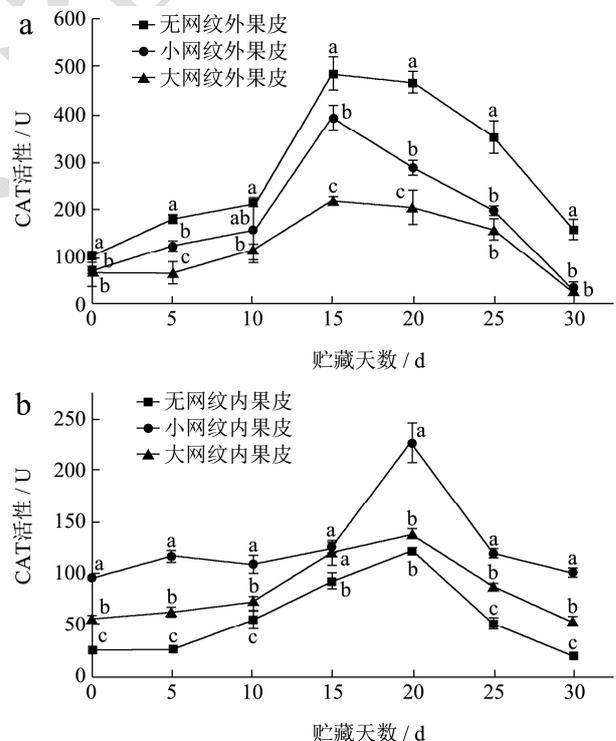


图 8 链格孢侵染伽师瓜外果皮 (a) 与内果皮 (b) CAT 活性的影响

Fig.8 Effects of *A. alternata* infection on CAT activity of epicarp (a) and endocarp (b) of Jiashi muskmelon

各实验组接种链格孢菌, 外果皮 CAT 活性变化显著($p<0.05$), 呈现先升高后降低的变化趋势(图 8a), 无

网纹组最高,小网纹组次之,大网纹组最低。各实验组在 15 d 时 CAT 活性出现峰值,无网纹组、小网纹组、大网纹组分别为 0 d 时的 4.69、5.62、3.43 倍;无网纹组峰值分别为小网纹组、大网纹组的 1.23 和 1.79 倍。

各实验组接种链格孢菌,内果皮 CAT 活性变化显著($p < 0.05$),均为先升高后降低的变化趋势(图 8b)。小网纹组最高,大网纹组次之,无网纹组最低。各实验组 CAT 活性峰值均出现在 20 d。小网纹组、大网纹组、无网纹组活性峰值分别为 0 d 时的 2.36、2.39、4.66 倍;小网纹组 CAT 活性峰值为无网纹组、大网纹组的 1.66、1.87 倍。

链格孢侵染伽师瓜果皮组 CAT 活性外果皮大于内果皮。外果皮 CAT 活性峰值较内果皮提前 5 d 出现。外果皮中,无网纹组活性最强,小网纹组活性峰值较 0 d 时变化最大;内果皮中,小网纹组活性最强,无网纹组活性峰值较 0 d 时变化最大。伽师瓜损伤接种链格孢菌后,果皮 CAT 活性呈先升高后降低的变化趋势,与本研究变化趋势相似^[30]。

2.8 链格孢侵染伽师瓜果皮 POD 活性的变化

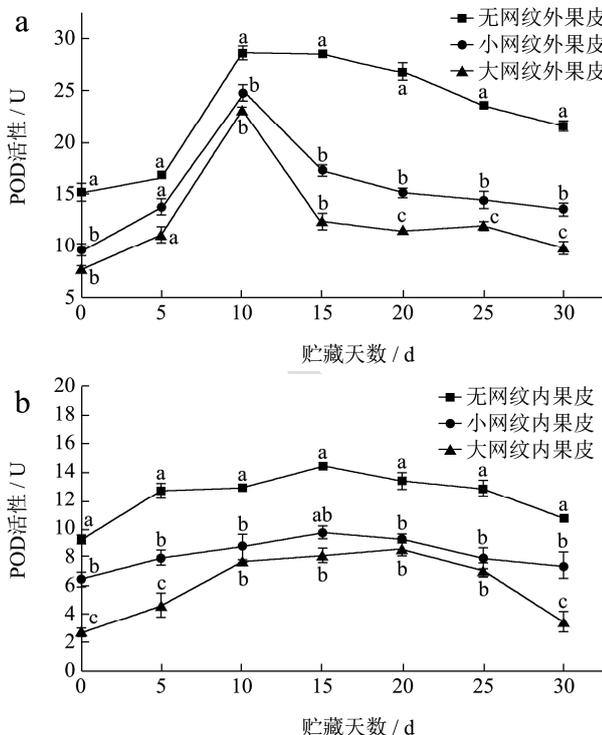


图 9 链格孢侵染伽师瓜果皮 (a) 与内果皮 (b) POD 活性的影响

Fig.9 Effects of *A. alternata* infection on POD activity of epicarp (a) and endocarp (b) of Jiashi muskmelon

各实验组接种链格孢菌,外果皮 POD 活性变化显著($p < 0.05$),均呈现先升高后降低的变化趋势(图

9a)。无网纹组 POD 活性最高,小网纹组次之,大网纹组最低。无网纹组、小网纹组、大网纹组均在 10 d 出现活性峰值,分别为 0 d 时的 1.89、2.61、3.00 倍;无网纹组活性峰值分别是小网纹组和大网纹组的 1.15、1.24 倍。

各实验组接种链格孢菌,内果皮 POD 活性变化显著($p < 0.05$),呈先升高后降低的变化趋势(图 9b)。无网纹组 POD 活性高于小网纹组和大网纹组,差异显著($p < 0.05$)。无网纹组和小网纹组 POD 活性峰值出现在 15 d,大网纹组活性峰值出现在 20 d。无网纹组、小网纹组、大网纹组 POD 活力峰值分别为 0 d 的 1.56、1.50、3.14 倍。无网纹组峰值分别是小网纹组和大网纹组的 1.49、1.55 倍。

链格孢侵染伽师瓜果皮 POD 活性高于内果皮,无网纹组高于小网纹组和大网纹组,差异显著($p < 0.05$)。无网纹组和小网纹组外果皮 POD 活性峰值较内果皮 POD 活性峰值提前 5 d 出现,大网纹组外果皮 POD 活性峰值较内果皮 POD 活性峰值提前 10 d 出现。POD 分解 H_2O_2 ,减少 H_2O_2 的积累,保持植物体内活性氧代谢平衡,维持膜结构完整性。对香蕉果皮接种炭疽病菌后,POD 活性呈先升高后降低的变化趋势,与本研究结果相似^[31]。POD 活性的增加是植物组织抗病性被激发的主要表现形式^[32],说明无网纹组比小网纹组和大网纹组具有更强的抗病能力。

2.9 链格孢侵染伽师瓜果皮 APX 活性的变化

各实验组接种链格孢菌,外果皮 APX 活性变化显著($p < 0.05$),均呈波动性上升的趋势(图 10a)。无网纹组 APX 活性最高,小网纹组次之,大网纹组最低。至 30 d 时,无网纹组、小网纹组、大网纹组 APX 活性为 0 d 时的 2.00、1.87、1.97 倍。在 30 d 时,无网纹组 APX 活性分别为小网纹组、大网纹组 APX 活性的 1.27、1.31 倍,小网纹组与大网纹组 APX 活性差异不显著($p > 0.05$)。

各实验组接种链格孢菌,内果皮 APX 活性变化显著($p < 0.05$),呈波动升高趋势(图 10b)。无网纹组 APX 活性最高,小网纹组次之,大网纹组 APX 活性最低。至 30 d 时,无网纹组、小网纹组、大网纹组 APX 活性为 0 d 时的 2.08、2.06、2.28 倍。在 30 d 时,无网纹组 APX 活性分别是小网纹组、大网纹组 APX 活性的 1.42、4.79 倍。

链格孢侵染伽师瓜,各实验组外果皮 APX 活性高于内果皮,无网纹组高于小网纹组和大网纹组。“甘甜一号”甜瓜接种白粉病后,APX 活性上升^[33],与本研究结果相似。APX 调节植物细胞内的抗氧化酶,有

效清除细胞内过多自由基，延缓果实衰老^[34]。

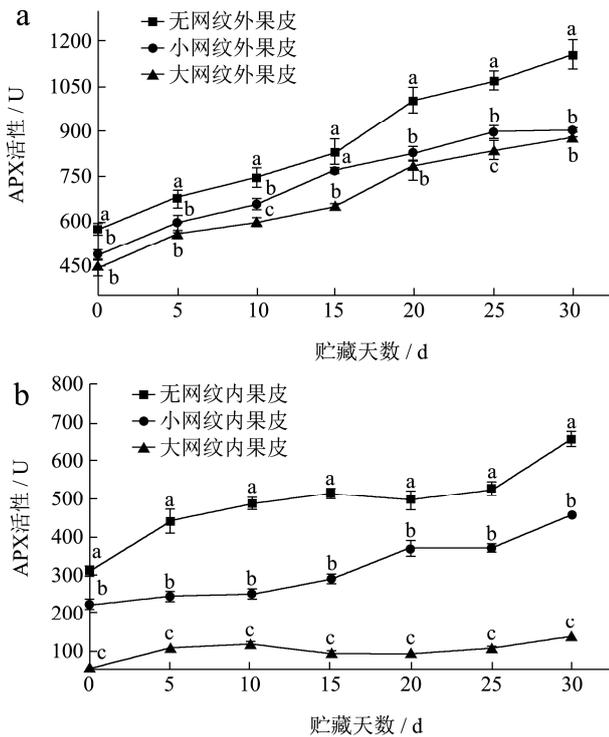


图 10 链格孢侵染伽师瓜外果皮 (a) 与内果皮 (b) APX 活性的影响

Fig.10 Effects of *A. alternata* infection on APX activity of epircarp (a) and endocarp (b) of Jiashi muskmelon

2.10 链格孢侵染伽师瓜果皮 GR 活性的变化

各实验组接种链格孢菌，外果皮 GR 活性变化显著($p < 0.05$)，均呈先升高后降低的变化趋势(图 11a)。在 15 d 时，无网纹组出现 GR 活性峰值，较小网纹提前 5 d 出现，较大网纹提前 10 d 出现；无网纹组、小网纹组、大网纹组 GR 活性峰值分别为 0 d 时的 4.72、2.24、2.15 倍；无网纹组 GR 活性峰值分别是小网纹组、大网纹组活性峰值的 1.93、2.22 倍。

各实验组接种链格孢菌，内果皮 GR 活性变化显著($p < 0.05$)，均呈先升高后降低的变化趋势(图 11b)。无网纹组 GR 活性始终高于小网纹组和大网纹组。在 15 d 时，无网纹组和大网纹组出现 GR 活性峰值，分别为 0 d 时的 1.91、2.10 倍；在 20 d 时，小网纹组出现 GR 活性峰值，为 0 d 时的 1.26 倍。无网纹组 GR 活性峰值分别是小网纹组、大网纹组活性峰值的 1.55、1.06 倍。

在侵染期间，外果皮 GR 活性高于内果皮，无网纹高于小网纹组和大网纹组。GR 活性的提高能增加细胞中 GSH 的表达量^[35]，可使含巯基的蛋白质或酶处于还原态或活性状态，对于维持蛋白质或酶的正常功能、维持细胞内较高的还原势具有很大意义^[18]。表

明外果皮具有较强的抗病性，尤其是无网纹组能够维持细胞内较高的还原势。

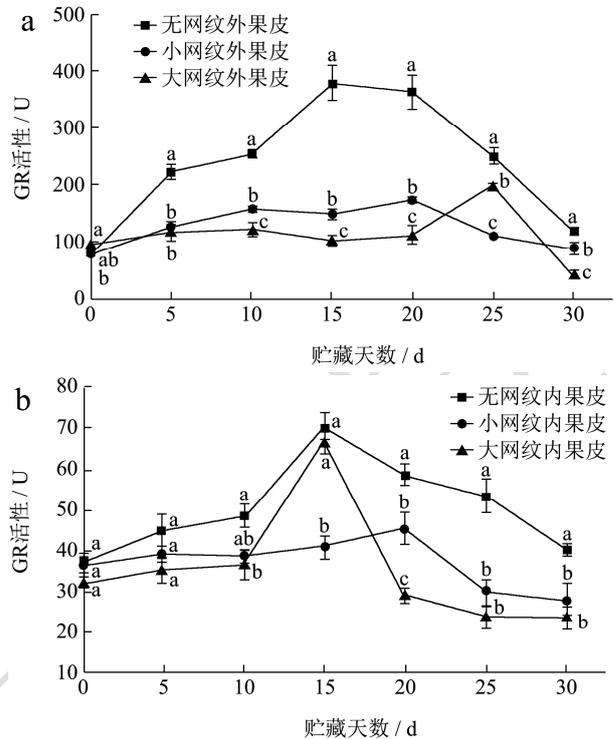


图 11 链格孢侵染伽师瓜外果皮 (a) 与内果皮 (b) GR 活性的影响

Fig.11 Effects of *A. alternata* infection on GR activity of epircarp (a) and endocarp (b) of Jiashi muskmelon

3 结论

3.1 伽师瓜受链格孢菌侵染后，各实验组病害发生率呈上升趋势，无网纹组病害程度最低，小网纹组次之，大网纹组病害程度最高。

3.2 伽师瓜受链格孢菌侵染后，各实验组果皮 O_2^- 产生速率和 GSH 含量呈先升高后降低的变化趋势， H_2O_2 含量呈升高-降低-升高的变化趋势，MDA 含量外果皮呈升高-降低的变化趋势，内果皮一直升高；且侵染期间外果皮 O_2^- 产生速率、GSH、 H_2O_2 和 MDA 含量高于内果皮。

3.3 伽师瓜受链格孢菌侵染后，各实验组超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)、谷胱甘肽还原酶(GR)均呈先升高后降低的变化趋势；SOD 活性无网纹、小网纹、大网纹外果皮峰值为 49.19 U、39.29 U、31.81 U，内果皮峰值为 32.36 U、24.28 U、19.30 U；CAT 活性无网纹、小网纹、大网纹外果皮峰值为 485.95 U、393.68 U、220.40 U，内果皮峰值为 202.67 U、228.30 U、137.93 U；POD 活性无网纹、小网纹、大网纹外果皮峰值为 28.62 U、24.84 U、23.13 U，内果皮峰值为 14.46 U、9.73 U、8.58 U；GR 活性无

网纹、小网纹、大网纹外果皮峰值为 378.32 U、170.24 U、196.15 U, 内果皮峰值为 70.58 U、45.61 U、66.67 U; 抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性呈上升趋势, 外果皮活性高于内果皮, 无网纹活性高于小网纹和大网纹。由此表明, 伽师瓜果皮抗病性与活性氧代谢关系密切, 外果皮抗病性强于内果皮, 无网纹组抗病性强于小网纹组和大网纹组。

3.4 本研究表明活性氧代谢对抵御链格孢菌的侵染起到至关重要的作用, 外果皮抗病性强于内果皮, 无网纹组抗病性强于小网纹组和大网纹组。今后可以通过电镜观察链格孢菌孢子定植、菌丝发育情况, 深入了解链格孢菌侵染伽师瓜果皮过程, 并从分子生物学角度分析果皮基因的变化, 找到关键差异基因或代谢通路, 为伽师瓜贮运保鲜提供更为完善的理论依据。

参考文献

- [1] Lester G E, Jifon J L, Makus D J. Impact of potassium nutrition on postharvest fruit quality: Melon (*Cucumis melo* L) case study [J]. *Plant & Soil*, 2010, 335(1-2): 117-131
- [2] 玛尔哈巴·帕尔哈提, 白羽嘉, 李梦, 等. 贮前光照处理对伽师瓜贮藏品质及部分防御酶活性影响[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(2): 271-275
Maerhaba Paerhat, BAI Yu-jia, LI Meng, et al. Effects of pre-storage illumination treatment on the storage quality and some defense enzyme activities of Jiashi melon [J]. *Science and Technology of Food Industry*. 2019, 40(2): 271-275
- [3] Barkai R. Postharvest diseases of fruits and vegetables: development and control [J]. *Postharvest Biology & Technology*, 2001, 31(2): 213-213
- [4] Yang B, Yong H G, Chun L W, et al. Melon production in China [J]. *Acta Horticulturae*, 2007, 731: 493-500
- [5] 柳涛. 哈密瓜采后病原菌的生长特性及致病机理初步研究 [D]. 石河子: 石河子大学, 2014
LIU Tao. Study on the growth characteristic of hami melon postharvest pathogen and its preliminary study pathogenesis [D]. Shihezi: Shihezi University, 2014
- [6] 李梦, 白羽嘉, 王玉红, 等. 链格孢侵染对厚皮甜瓜抗菌物质及活性氧代谢相关酶活性的影响[J]. *食品工业科技*, 2017, 38(23): 245-249, 255
LI Meng, BAI Yu-jia, WANG Yu-hong, et al. Effects of *Alternaria alternata* infection on antimicrobial substances and activities of enzymes related to reactive oxygen metabolism in muskmelon [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2017, 38(23): 245-249, 255
- [7] 玛尔哈巴·帕尔哈提, 白羽嘉, 王瑾, 等. 采后伽师瓜和 86-1 甜瓜果实抗链格孢菌侵染研究[J]. *食品与机械*, 2018, 34(12): 135-140
Maerhaba Paerhat, BAI Yu-jia, WANG Jin, et al. Infection of *Alternaria alternata* in postharvest Jiashi Melon and 86-1 melon [J]. *Food & Machinery*, 2018, 34(12): 135-140
- [8] Bradley D J, Kjellbom P, Lamb C J. Elicitor and wound induced oxidative cross linking of a proline rich plant cell wall protein: A novel, rapid defense response [J]. *Cell*, 1992, 70(5): 21-30
- [9] 崔慧萍, 周薇, 郭长虹. 植物过氧化物酶体在活性氧信号网络中的作用[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2017, 3: 19-25
CUI Hui-ping, ZHOU Wei, GUO Chang-hong. The role of plant peroxisomes in ros signalling network [J]. *Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 2017, 3: 19-25
- [10] 张梦如, 杨玉梅, 成蕴秀, 等. 植物活性氧的产生及其作用和危害[J]. *西北植物学报*, 2014, 34(9): 1916-1926
ZHANG Meng-ru, YANG Yu-mei, CHENG Yun-xiu, et al. Generation of reactive oxygen species and their functions and deleterious effects in plants [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2014, 34(9): 1916-1926
- [11] Caroline M, Riederer M. Plant surface properties in chemical ecology [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2005, 31(11): 2621-2651
- [12] 郜海燕, 楚文靖, 杨帅, 等. 植物蜡质及其对果实采后衰老进程的影响[J]. *中国食品学报*, 2014, 14(8): 1-9
GAO Hai-yan, CHU Wen-jing, YANG Shuai, et al. Effect of plant cuticle wax on postharvest fruit senescence [J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2014, 14(8): 1-9
- [13] 王振宇, 胡慧敏, 龚迪, 等. *Trichothecium roseum* 的酸碱属性及不同 pH 值对其胞外酶活性和致病性的影响[J/OL]. *食品科学*. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.ts.20190102.1510.031.html>
WANG Zhen-yu, HU Hui-min, GONG Di, et al. The Acid-base property of *Trichothecium Roseum* and the effects of different ph values on its extracellular enzyme activity and pathogenicity [J/OL]. *Food Science*, <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.ts.20190102.1510.031.html>
- [14] Warunee C, Athiwat C, Pornchai R, et al. Reduction of reactive oxygen species production and membrane damage during storage of 'Daw' longan fruit by chlorine dioxide [J]. *Scientia Horticulturae*, 2014, 170(7): 143-149
- [15] Ferguson I B, Watkins C B, Harman J E. Inhibition by

- calcium of senescence of detached cucumber cotyledons: Effect on ethylene and hydroperoxide production [J]. *Plant Physiology*, 1983, 71(1):182-186
- [16] Fei X, Zhang D, Wang J, et al. N-popyl gallate is an inhibitor to tomato fruit ripening [J]. *Journal of Food Biochemistry*, 2012, 36(6): 657-666
- [17] Kranner I, Grill D. Determination of glutathione and glutathione disulphide in lichens: A comparison of frequently used methods [J]. *Phytochemical Analysis*, 2015, 7(1): 24-28
- [18] 曹建康,姜微波,赵玉梅.果蔬采后生理生化实验指导 [M].北京:中国轻工业出版社,2007:126-127
CAO Jian-kang, JIANG Wei-bo, ZHAO Yu-mei. *Physiological and Biochemical Experiment Guidance for Postharvest Fruits and Vegetables* [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2007: 126-127
- [19] 唐瑛.发育及贮藏期苹果梨果皮蜡质对 *Alternaria alternata* 侵染的影响[D].兰州:甘肃农业大学,2016
TANG Ying. Effect of cuticular wax of pingguoli pear from developing and storage on *Alternaria alternata* pre-penetration process [D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2016
- [20] 柴凌燕.植物角质膜蜡质转录因子基因 *SHN1/WIN1* 的表达载体构建[D].郑州:郑州大学,2010
CHAI Ling-yan. Expression vector construction of plant cuticle wax-related transcription factor gene *SHN1/WIN1* [D]. Zhengzhou: Zhengzhou University, 2010
- [21] 关晴晔.苹果果面结构与轮纹病抗病性关系的研究[D].北京:中国农业大学,2015
GUAN Ye-qing. Role of surface structure or susceptibility of apple fruit to *Botryosphaeria dothidea* [D]. Beijing: China Agricultural University, 2015
- [22] 许济海.基于纹理特征的网纹哈密瓜分类研究[D].杭州:浙江大学,2017
XU Ji-hai. Study on netted cantaloupe classification based on texture feature [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2017
- [23] Lamb C, Dixon R A. The oxidative burst in plant disease resistance [J]. *Annual Review of Plant Biology*, 1997, 48(1): 251-275
- [24] 吴媛媛,刘瑞玲,郗海燕,等.灰霉菌侵染对蓝莓采后品质变化及抗氧化性的影响[J].*中国食品学报*,2019,19(1):148-155
WU Yuan-yuan, LIU Rui-ling, DAO Hai-yan, et al. Effects of *Botrytis cinerea* infection on post-harvest quality and antioxidant activities in blueberry fruits [J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2019, 19(1): 148-155
- [25] 董柏余.采后 ASM 处理调控厚皮甜瓜果实活性氧代谢及抗性相关酶的分子和生化机理[D].兰州:甘肃农业大学,2015
DONG Bai-yu. Molecular and biochemical mechanisms associated with reactive oxygen species and defence enzymes of harvested muskmelon fruit treated with ASM treatment [D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2015
- [26] Ge Y, Deng H, Yang B, et al. Postharvest ASM dipping and dpi pre-treatment regulated reactive oxygen species metabolism in muskmelon (*Cucumis melo* L.) fruit [J]. *Postharvest Biology & Technology*, 2015, 99: 160-167
- [27] 丁玉梅,张杰,谢俊俊,等.枯萎病菌胁迫下 3 种黑籽南瓜 *HQRGA2* 表达及抗氧化酶活性差异分析[J].*植物生理学报*,2019,55(3):349-358
DING Yu-mei, ZHANG Jie, XIE Jun-jun, et al. Expression analysis of *HQRGA2* and differences of anti-oxidant enzymes in three varieties of *Cucurbita Fcifolia* under stress of *Fusarium Oxysporum* f.sp. *cucumerinum* [J]. *Plant Physiology Journal*, 2019, 55(3): 349-358
- [28] 何文亮,黄承红,杨颖丽,等.盐胁迫过程中抗坏血酸对植物的保护功能[J].*西北植物学报*,2004,12:2196-2201
HE Wen-liang, HUANG Cheng-hong, YANG Ying-li, et al. Protective of ascorbic acid against salt stress [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2004, 12: 2196-2201
- [29] 王利英,侯喜林,刘琳,等.甘蓝链格孢菌侵染对白菜保护酶活性和 H_2O_2 含量的影响[J].*园艺学报*,2008,7:1065-1068
WANG Li-ying, HOU Xi-lin, LIU Lin, et al. Effects of *Alternaria Brassicicola* (Berkeley) saccardo infection on activities of protective enzymes and H_2O_2 content in non-heading Chinese cabbage [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2008, 7: 1065-1068
- [30] 李梦,冯作山,玛尔哈巴·帕尔哈提,等.甜瓜抵抗链格孢侵染能力差异与活性氧相关代谢的关系[J].*食品工业科技*, 2018,39(19):272-277,285
LI Meng, FENG Zuo-shan, MAERHABA Paerhat, et al. The relationship between the difference of the resistance capacity and the reactive oxygen species related metabolism in muskmelon inoculated with *Alternaria alternata* [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2018, 39(19): 272-277, 285

(下转第 211 页)