

## 猕猴桃主栽品种溃疡病抗性评价及生理指标分析<sup>1</sup>

朱佳慧<sup>1,2</sup>, 李黎<sup>2#</sup>, 贺迪<sup>2</sup>, 潘慧<sup>2</sup>, 李文艺<sup>2</sup>, 张琦<sup>2</sup>, 王仁才<sup>1\*</sup>, 钟彩虹<sup>2\*</sup>

(<sup>1</sup>湖南农业大学园艺学院, 长沙 410125; <sup>2</sup>中国科学院武汉植物园·中国科学院植物种质创新与特色农业重点实验室·中国科学院猕猴桃产业技术工程实验室, 武汉 430074)

**摘要:**【目的】评价中华及美味不同猕猴桃品种对溃疡病的抗性, 深入解析其抗病机制。【方法】以 75 份中华及美味猕猴桃的主要栽培品种为材料, 运用离体枝条人工接种溃疡病菌方法对其抗性进行了初步评价, 进一步对其中抗性差异显著的品种运用离体叶盘法进行了抗性验证, 并对其抗性相关生理生化指标测定。

【结果】基于枝条病斑长度, 75 份猕猴桃品种可划分为抗病、耐病、感病及高感 4 个级别, 其中抗病资源 16 份, 耐病资源 30 份, 感病资源 19 份, 高感资源 10 份。从中选出 9 个抗性差异的品种进行离体叶盘实验及生理生化指标测定, 发现随着品种抗性增加, 叶盘病斑面积对应降低, 叶盘法与枝条接种法结果呈正相关; 叶片生理指标中的总酚、可溶性糖和木质素含量与品种抗性呈显著正相关。【结论】离体枝条、叶盘法和生理指标测定与枝条鉴定结果显著相关, 可作为抗性种质的快速鉴定方法。筛选到的抗病种质为猕猴桃溃疡病的抗病育种及机制研究奠定了材料基础。

**关键词:** 猕猴桃; 溃疡病; 抗性评价; 生理指标

中图分类号: S663.4; S436.634 文献标志码: A 文章编号: 1009-9980(2024)11-0001-08

## Bacterial canker disease evaluation and physiological index analysis of kiwifruit main cultivars

ZHU Jiahui<sup>1,2</sup>, LI Li<sup>2#</sup>, HE Di<sup>2</sup>, PAN Hui<sup>2</sup>, LI Wenyi<sup>2</sup>, ZHANG Qi<sup>2</sup>, WANG Rencai<sup>1\*</sup>, ZHONG Cai-Hong<sup>2\*</sup>

(<sup>1</sup>College of Horticulture, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, Hunan, China;

<sup>2</sup>Wuhan Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences/Key Laboratory of Plant Germplasm Enhancement and Specialty Agriculture, Chinese Academy of Sciences/Engineering Laboratory for Kiwifruit Industrial Technology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430074, Hubei, China)

**Abstract:** 【Objective】Kiwifruit bacterial canker disease is a devastating disease with a wide range, strong pathogenicity, rapid spread and difficult eradication, which caused by *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*. Although extensive research has conducted on the classification, biological characterization, pathogenicity analysis, and rapid detection methods, there is still a

收稿日期: 2024-09-09 接受日期: 2024-10-16

基金项目: 国家重点研发项目 (2022YFD1400200); 湖北省第四批现代农业产业技术体系专项资金资助 (2023HBSTX4-08); 湖北省重点研发计划项目 (2022BBA0076); 财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系 (CARS-26); 植物基因组学国家重点实验室开放课题 (SKLPG2016A-18)

作者简介: 朱佳慧, 女, 在读硕士研究生, 主要从事猕猴桃溃疡病抗性品种的研究。E-mail: zhujiah2000@163.com; #为共同第一作者。李黎, 女, 副研究员, 博士, 主要从事猕猴桃重大病害的致病机理及抗性种质创制的研究。E-mail: lili@wbcas.cn

\*通信作者 Author for correspondence. E-mail: zhongch@wbcas.cn; E-mail: wangrenc@163.com。

lack of effective control technology in the production. Screening and analyzing the resistance mechanism of kiwifruit high-resistant varieties is crucial for the prevention and control of kiwifruit bacterial canker disease. **【Methods】** Seventy-five varieties of *Actinidia chinensis* var. *chinensis* and *Actinidia chinensis* var. *deliciosa* were used as materials. Healthy branches were collected after kiwifruit leaf fall. Branches with a diameter of about 0.8 cm and consistent growth were selected and cut into 10 cm short branches. Both ends were sealed with paraffin to minimize water loss. A perforator was used to form a 3-mm-width xylem-deep wound on the branch. The wounded branch was inoculated with bacterial suspension ( $OD_{600}=1.0$ ), and sterile water was used as a negative control. Forty-two days after inoculation, the surface was removed with a knife and the length of the lesions was measured with a vernier caliper for preliminary evaluation of resistance. Then, nine varieties with significant resistance differences were further identified by the isolated leaf disc method. New healthy kiwifruit leaves of uniform size and growth were collected and leaf discs were prepared by the perforation method. After suspension vacuum infiltration and washed with sterile water, the leaves were placed dorsal side up in petri dishes placed in an artificial climate chamber with L/D=16/8 h at 16 °C, and the lesions was counted after 5 days of inoculation. Finally, resistance-related physiological and biochemical indices of the nine varieties were determined. The total phenol content was determined spectrophotometrically by adding reagents and comparing the absorbance values of different varieties' solutions at 760 nm; soluble sugars were measured by anthrone colorimetry at 630 nm for each variety; lignin content was determined by double-antibody one-step sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) at 450 nm. **【Results】** Brown lesions could be observed at the inoculation site forty-two days after inoculation, extending from the incision site to both ends. The length of the lesions of different varieties showed significant differences, ranging from 5 mm to 16 mm. 75 kiwifruit germplasm resources could be categorized into four classes of resistant, tolerant, susceptible and highly susceptible according to the lesion length, which contained 16 resistant resources, 30 tolerant resources, 19 susceptible resources, and 10 highly susceptible resources. According to the results of the resistance evaluation of isolated branches, nine varieties with different resistance were selected for the isolated leaf disc resistance evaluation experiment to further verify their resistance. Leaf discs inoculated with suspension would gradually produce black-brown spots after incubation, whereas the negative control of leaf discs inoculated with water basically showed no symptoms. After 5 days of light incubation, there was a difference in the area of leaf discs affected by different varieties. Among the nine varieties, 'Jin Kui' and 'Cui Yu' had the smallest percentage of spots after inoculation, 3.51% and 5.48% respectively, which were below 6%. 'Donghong' and 'Hongyang' had the most serious disease, with 45.79% and 46.75% of spots. The correlation analysis between the percentage of leaf disc spots and the lesion length on branch spots of different varieties showed a highly significant correlation of 0.948, confirmed the reliability of both methods for resistance identification. Physiological indexes were measured on leaves of the above nine varieties with differences in resistance, and differences were found among the

physiological data of different varieties. The values of total phenol content ranged from 3~6 mg·g<sup>-1</sup>, with the resistant variety 'Cuiyu' having the highest total phenol content of 5.7 mg·g<sup>-1</sup>, and the highly susceptible variety 'Hongyang' having the lowest total phenol content value of 3.07 mg·g<sup>-1</sup>. With the variety resistance decreased, the total phenol content showed a decreasing trend. Similarly, the resistant variety 'Cuiyu' had the highest soluble sugar content, with roughly 29.88 mg·g<sup>-1</sup>, and the highly susceptible variety 'Hongyang' had the lowest soluble sugar content of 18.34 mg·g<sup>-1</sup>; the soluble sugar content also showed a decreasing trend with the weakening of resistance. Regarding lignin content, the resistant variety 'Jinmei' had the highest content of 9.59 mg of lignin per 100 g of fresh leaves, followed by 'Cuiyu' and 'Jinkui', which were all resistant varieties. As the varieties' resistance decreased, the lignin content also reduced, 'Hongyang' had the lowest lignin content, with only 8.87 mg per 100 g of fresh leaves. In summary, it can be seen that the contents of total phenolics, soluble sugars and lignin differed among the different varieties, but the contents of resistant varieties were significantly higher than the tolerant varieties and sensitive varieties. **【Conclusion】** The screened resistant germplasm lays a material foundation for the breeding and mechanism research of kiwifruit bacterial canker disease resistance. There was a significant negative correlation between disease resistance and in vitro leaf disc resistance, and a significant positive correlation with physiological indicators, which can be used as a rapid identification method of resistant germplasm.

**Key words:** Kiwifruit; bacterial canker; resistance evaluation; physiological index

猕猴桃 (kiwifruit), 又名羊桃、毛桃、山洋桃、毛梨桃, 含有丰富的维生素C, 被称为“水果之王”, 具有生津止渴、促进消化和美容养颜的功能<sup>[1]</sup>。根据联合国粮食及农业组织 FAO最新数据 (<http://www.fao.org/faostat/en/>), 2022 年中国收获面积近 20 万hm<sup>2</sup>, 占全球的 70%, 年产量是 238 万t, 占全球的 52%。溃疡病是严重威胁猕猴桃生产的毁灭性细菌性病害, 能够在短时间内造成植物的大面积死亡, 极大地限制了猕猴桃产业的发展<sup>[2]</sup>。虽然国内外学者已对病原菌的所属分类、生物学特性分析、致病力分析和快速检测方法开展了大量研究, 但实际生产中对溃疡病仍缺乏有效的防控手段。筛选猕猴桃高抗栽培品种并深入解析其抗病机制, 是当前猕猴桃溃疡病防控的首要任务<sup>[3]</sup>。

中国野生猕猴桃资源种类、储量及遗传多样性都十分丰富, 经过长期的自然选择, 猕猴桃种质资源中一般含有丰富的抗性基因, 可为抗病基因的挖掘及抗性种质创新提供育种材料<sup>[4]</sup>。与田间自然发病情况调研相比, 室内离体抗性鉴定可在一致条件下短时间内评价多份种质资源的抗病性, 评价结果相对稳定可靠, 主要在离体枝条和叶片上进行<sup>[5-6]</sup>。温家康等<sup>[7]</sup>利用离体枝条接菌法对 28 份新疆野核桃种质资源进行抗性评价, 从中筛选出 7 份对高抗腐烂病种质。位杰等<sup>[8]</sup>采用离体枝条接菌法对 90 个梨种质资源进行梨火疫病的抗性评价, 筛选到 2 份抗病和 8 份中抗资源, 用于后续的育种基因挖掘。曹雅芝等<sup>[9]</sup>采用离体叶片和枝条接种梨火疫病菌的方法对 83 份野苹果进行抗性评价, 鉴定出高抗资源 1 份, 抗病资源 4 份。

植物主要通过两种方式抵御病原微生物的侵染：一是植物自身结构抵御微生物的入侵，二是植物细胞组织内的生化反应，产生对病原物有毒的物质或抑制病原物的生长<sup>[10]</sup>。Gao等<sup>[11]</sup>发现番茄叶片过氧化物酶、脂氧合酶活性及总可溶性酚类物质和木质素样酚类聚合物的含量，与其抗青枯病菌的能力呈正相关。Archana等<sup>[12]</sup>发现芒果生理指标中的可溶性固形物、总酚、总类胡萝卜素等含量与其炭疽病的抑制效果呈显著正相关。多项研究均证实植物生理指标与抗病性之间存在着紧密关联。

本研究拟以 75 份中华及美味猕猴桃品种（*Actinidia chinensis* var. *chinensis* and *A. chinensis* var. *deliciosa*）为试验材料，利用离体枝条及叶盘接菌的方法明确各个品种的溃疡病抗病性，进一步对抗性差异显著的品种进行生理指标分析，筛选高效准确的抗性评价指标，为猕猴桃的抗病育种奠定材料基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 溃疡病菌株

供试菌株M228 为猕猴桃溃疡病病原菌，丁香假单胞菌猕猴桃致病变种 *Pseudomonas syringae* pv. *Actinidiae*（Psa），分离自中国陕西眉县红阳猕猴桃，由西北农林科技大学植物保护学院果树病害综合防治研究团队保存<sup>[13]</sup>。

#### 1.1.2 猕猴桃种质资源

试验所用的 75 份中华及美味猕猴桃种质资源均保存于中国科学院武汉植物园的国家猕猴桃种质资源圃（武汉），树龄为 3 年，整体树势生长良好。75 份种质资源中含二倍体资源 14 份，四倍体资源 35 份和六倍体资源 26 份（表 1）。

## 1.2 试验方法

### 1.2.1 离体枝条接种评价

参考张迪等<sup>[14]</sup>和裴艳刚等<sup>[15]</sup>离体致伤接种方法。在 2023 年 11 月落叶后采集当年生猕猴桃健康枝条，选取直径约为 0.8 cm 且长势一致的枝条，截成 10 cm 短枝条，石蜡密封两端以减少水分的流失。活化培养菌株，用接种环挑取 M228 的单菌落加入 1 mL 液体 LB 培养基，28 °C，180 r·min<sup>-1</sup> 振荡培养 12 h，8000 r·min<sup>-1</sup> 离心 5 min。稀释菌液至 OD<sub>600</sub>=1.0，约 10<sup>9</sup> CFU·mL<sup>-1</sup>。

使用打孔器在枝条上制造 3 mm 宽、深至木质部的伤口，接种菌液（OD<sub>600</sub>=1.0），以无菌水处理作为阴性对照。接种 42 dpi（day post inoculation）后，用小刀刮除表面，使用游标卡尺测量其病斑长度，做统计学分析。

根据枝条不同的病斑长度，对其抗性等级进行划分。基于张迪等<sup>[14]</sup>和裴艳刚等<sup>[15]</sup>的方法，对抗性等级的划分标准略作调整：抗病（resistant, R），病斑长度 < 7.0 mm；耐病（tolerant, T），7.0 mm ≤ 病斑长度 < 9.0 mm；感病（susceptible, S），9.0 mm ≤ 病斑长度 < 11.0 mm；高感（high susceptible, HS），病斑长度 ≥ 11.0 mm。

### 1.2.2 离体叶片接种评价

参考Zhao等<sup>[16]</sup>进行离体叶盘真空渗透接种，采集大小均匀、长势一致的健康猕猴桃新叶，使用打孔器制备叶盘。将叶盘置于装有 30 mL菌悬液的 100 mL离心管中（ $OD_{600}=0.0001$ ，约  $10^5$  CFU·mL<sup>-1</sup>），用于真空渗透。无菌水清洗后，将叶背朝上贴于 0.8%水琼脂的培养皿上，16 °C条件下置于L/D=16/8 h的人工气候箱中。接种培养 5 dpi后，拍照，然后通过Image J软件对每个叶盘的病斑面积进行计算。

### 1.2.3 生理指标测定

生理指标的测量参考李小方等<sup>[17]</sup>撰写的《植物生理学实验指导》开展。采集新鲜叶片，在同一天开展不同生理指标的测量。总酚含量采用分光光度法测定，加入试剂后在 760 nm下比较不同品种溶液的吸光值；可溶性糖的测量采用蒽酮比色法，糖在浓硫酸的作用下脱水生成糖醛或羟甲基糖醛，生成有色物质后在 630 nm下测定各品种的吸光值；木质素的含量采用双抗体一步夹心法酶联免疫吸附试验（ELISA）在 450 nm波长下进行测定<sup>[18]</sup>。每个指标测量 3 次重复，取平均值。

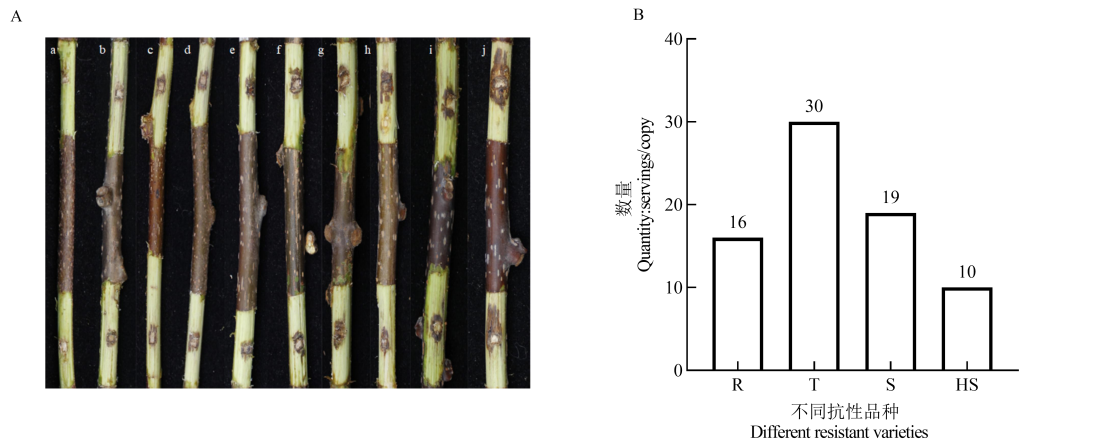
### 1.3 数据分析

实验数据采用Microsoft Excel 2016 进行统计分析，并采用SPSS 21.0 软件进行比较分析，采用GraphPad Prism 8 进行图表制作。

## 2 结果与分析

### 2.1 离体枝条接种溃疡病后发病情况

离体枝条接种溃疡病菌 42 d后，用小刀刮开韧皮部表面后，可以观察到接种部位出现褐色病斑，从切口部位向两端延伸。不同品种的枝条病斑长度表现出显著差异，病斑长度分布在 5~16 mm之间（表 1）。按照病斑长度将其划分为 4 个不同的抗性等级。如图 1-A所示，从左至右病斑长度依次增加，对溃疡病的抗性也依次降低。其中，金魁、翠玉、金美的病斑长度均小于 7 mm，为抗病品种；金桃、金艳的病斑长度在 7~9 mm之间，为耐病品种；皖金、金圆、东红的病斑长度在 9~11 mm之间，为感病品种；红阳的病斑长度为 11.11 mm，为高感品种。根据离体枝条抗性等级的划分，可见抗病种质资源有 16 份，耐病资源 30 份，感病及高感种质分别为 19 和 10 份，如图 1-B所示。进一步验证了中华及美味种质整体抗性较差，但其中也有抗性资源。



A. 抗病等级示意图: a. 金魁 (水对照)、b. 金魁 (抗病)、c. 翠玉 (抗病)、d. 金美 (抗病)、e. 金艳 (耐病)、f. 金桃 (耐病)、g. 皖金 (感病)、h. 金圆 (感病)、i. 东红 (感病)、j. 红阳 (高感); B. 抗病种质数目分布图: R. 抗病; T. 耐病; S. 感病; HS. 高感。

A Schematic diagram of disease resistance. a. Jinkui (Water control); b. Jinkui (Resistant); c. Cuiyu (Resistant); d. Jinmei (Resistant); e. Jinyan (Tolerant); f. Jintao (Tolerant); g. Wanjin (Susceptible); h. Jinyuan (Susceptible); i. Donghong (Susceptible); j. Hongyang (High Susceptible); B. Resistance distribution of germplasm. R. Resistant; T. Tolerant; S. Susceptible; HS. High Susceptible.

图 1 不同抗性等级对应的病斑示例及对应品种数量

Fig. 1 Lesion corresponding to different resistance degrees and the number of corresponding varieties

表 1 75 份猕猴桃主要品种对应的病斑长度及抗性等级

Table 1 Lesion length and resistance category of seventy-five kiwifruit main cultivars

品种 Cultivar	倍性 Ploidy	平均病斑长度 Average Lesion Length/mm	抗性等级 Resistance category	品种 Cultivar	倍性 Ploidy	平均病斑长度 Average Lesion Length/mm	抗性等级 Resistance category
秋明 Qiuming	6x	5.18±0.254	R	丰悦 Fengyue	2x	8.59±0.665	T
金农 Jinnong	2x	5.75±0.740	R	和平 1 号 Heping 1	6x	8.60±0.246	T
金魁 Jinkui	6x	5.81±0.382	R	桂海 4 号 Guihai 4	2x	8.64±0.827	T
米良 1 号 Miliang 1	6x	5.99±0.399	R	泰宝 2 号 Taibao 2	4x	8.71±0.795	T
实选 2 号 Shixuan 2	6x	6.10±0.280	R	泰顺金元宝 Taishunjinyu	4x	8.75±0.378	T
汉美 Hanmei	6x	6.30±0.579	R	anbao			
W1462	2x	6.39±0.385	R	金桃	4x	8.77±0.340	T
				Jintao	4x	8.77±0.340	T
				甜玉	6x	8.92±0.675	T
				Tianyu	6x	8.92±0.675	T

翠玉	4x	6.40±0.260	R	秦美	6x	8.97±0.407	T
Cuiyu				Qinmei			
金香	6x	6.42±0.393	R	皖金	4x	9.02±0.606	S
Jinxiang				Wanjin			
Komer	6x	6.46±0.519	R	沁香	6x	9.03±0.423	S
早鲜	4x	6.50±0.471	R	Qinxiang			
Zaoxian				金圆	4x	9.16±0.530	S
特早熟 41319				Jinyuna			
Tezaoshu	2x	6.51±0.227	R	香绿	6x	9.24±0.240	S
41319				Xianglv			
晨光	6x	6.59±0.252	R	哑特	6x	9.38±0.601	S
Chenguang				Yate			
泰翠	4x	6.64±0.442	R	桂金	2x	9.41±0.300	S
Taicui				Guijin			
W1345	2x	6.79±0.483	R	金义	4x	9.54±0.867	S
金美	4x	6.82±0.339	R	Jinyi			
Jinmei				湘碧玉	6x	9.57±0.895	S
金艳	4x	7.05±0.309	T	Xiangbiyu			
Jinyan				金玉 3 号	4x	9.57±0.896	S
桂红	4x	7.14±0.388	T	Jinyu 3			
Guihong				泰珍	4x	9.96±0.514	S
武植 3 号	4x	7.14±0.552	T	Taizhen			
Wuzhi 3				瑞玉	6x	9.97±0.743	S
W4851	2x	7.20±0.410	T	Ruiyu			
津云香	6x	7.29±0.386	T	碧玉	6x	9.98±0.488	S
Jinyunxiang				Biyu			
金玉 2 号	4x	7.30±0.408	T	米良 2 号	6x	10.03±0.661	S
Jinyu 2				Miliang 2			
通山 5 号	4x	7.44±0.286	T	金玉	2x	10.21±0.562	S
Tongshan 5				Jinyu			
三峡 1 号	6x	7.44±0.450	T	东红	2x	10.34±0.329	S
Sanxia 1				Donghong			
华光 3 号	4x	7.57±0.566	T	泰金	4x	10.38±0.826	S
Huanguang 3				Taijin			
东玫	4x	7.79±0.495	T	Hort16A	2x	10.57±0.893	S
Dongmei				湘吉红	4x	10.87±0.854	S
红肉雌N7675				Xiangjihong			
HongrouciN7	4x	8.04±0.430	T	武当 1 号	4x	10.90±0.845	S
675				Wudang 1			
金丽	4x	8.13±0.677	T	红阳	2x	11.11±0.384	HS
Jinli				Hongyang			

金福	6x	8.18±0.517	T	璞玉	4x	11.52±0.628	HS
Jinfu				Puyu			
楚红	4x	8.22±0.404	T	泰顺尖头			
Chuhong				Taishunjiantou	6x	12.01±0.489	HS
红玉 2 号	4x	8.22±0.438	T	u			
Hongyu 2				金玉 4 号	4x	12.02±0.906	HS
金MSIII	2x	8.23±0.811	T	Jinyu 4			
JinMSIII				桂翡	4x	12.32±0.816	HS
湘麻 6 号	6x	8.28±0.343	T	Guifei			
Xiangma 6				夏亚 15 号	4x	12.75±0.518	HS
长安 1 号	6x	8.31±0.285	T	Xiaya 15			
Changan 1				金丰	4x	13.49±0.775	HS
金怡	4x	8.37±0.376	T	Jinfeng			
Jinyi				贝木	4x	13.90±0.814	HS
满天红 2 号	2x	8.41±0.998	T	Beimu			
Mantianhong				泰上皇	4x	15.11±0.699	HS
2				Taishanghua			
布鲁诺	6x	8.50±0.562	T	ng			
Bulunuo				庐山香	4x	15.82±0.763	HS
海沃德	6x	8.52±0.550	T	Lushanxiang			
Haiwode							

注：R. 抗病；T. 耐病；S. 感病；HS. 高感。下同。

Note: R. Resistant; T. Tolerant; S. Susceptible; HS. High Susceptible. The same below.

75 份猕猴桃品种的抗性及其倍性相关性如图 2 所示，从左至右分别为二倍体、四倍体、六倍体中的不同抗性资源数量分布。14 份二倍体品种中 4 份抗病，5 份耐病，4 份感病，1 份高感，分别占比 28%、36%、29%和 7%；35 份四倍体品种中 4 份抗病，15 份耐病，8 份感病，8 份高感，其中耐病品种占比最大，占比 43%，其次为感病品种和高感品种，占比均为 23%，抗病品种占比 11%。六倍体共有 26 份，含 8 份抗病品种，10 份耐病品种，7 份感病品种，只有 1 份高感品种，其中耐病资源数量最多为 10 份，其次是抗病资源 8 份，两者占比达到 69%。

基于结果可以看出，虽然六倍体中抗病及耐病品种的比例相对略高，但二倍体、四倍体、六倍体品种中均有抗病、耐病、感病及高感等级的分布，品种倍性与抗病性之间并未呈现显著的正相关性。因此，在筛选抗性资源引种驯化时，不能只依靠品种的倍性进行选择，要基于果实品质、抗性评价及生理指标分析进行综合选择。



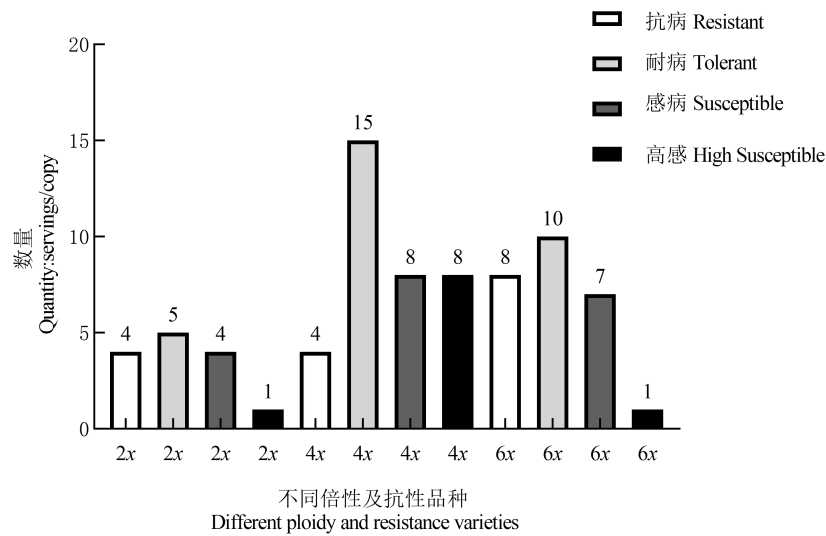


图 2 不同倍性品种抗性等级分布

Fig. 2 Resistance degree distribution of different ploidy varieties

## 2.2 离体叶盘接种溃疡病抗性评价结果

根据离体枝条抗性评价结果，选取 9 个抗性等级不同的品种（抗病：金魁、翠玉、金美；耐病：金艳、金桃；感病：皖金、金圆、东红；高感：红阳）进行离体叶盘抗性评价实验，进一步验证其抗病性。接种菌液的叶盘培养后会逐渐生成黑褐色病斑，而接种水的叶盘阴性对照基本上不会出现黑褐色病斑，由此证实了结果的可靠性。光照培养 5 d 后，不同品种的叶盘发病面积存在差异。以枝条抗性评价结果为参考，发现随着品种枝条溃疡病斑越长，对应叶盘病斑面积也越大，两者结果呈正相关，如图 3 所示。

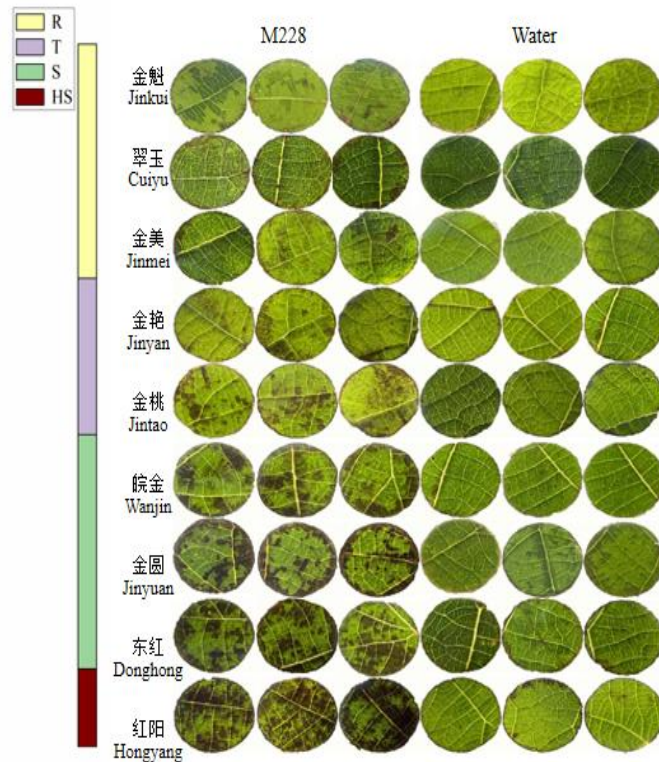


图 3 九个不同品种叶盘病斑对比示意图

**Fig. 3 Comparison of leaf disc lesions of nine varieties with different resistance**

运用软件计算出病斑面积时，发现由于每个品种真空渗透的时间不同，叶盘可能会存在坏死的情况，在计算面积时挑取正常发病叶片计算发病面积，具体数值见表 2。

表 2 九个品种接菌后叶盘病斑占比

**Table 2 Proportion of leaf disc lesions in nine varieties after inoculation**

品种Cultivar	枝条病斑长度 Patch length of branches/mm	抗性等级 Resistance category	叶片发病面积 Leaf incidence area/cm <sup>2</sup>	发病叶片数 Number of diseased leaves	病斑占比 The proportion of lesions/%
金魁 Jinkui	5.81±0.382	R	1.427	23	3.51
翠玉 Cuiyu	6.40±0.260	R	3.291	34	5.48
金美 Jinmei	6.82±0.339	R	6.383	36	10.03
金艳 Jinyan	7.05±0.309	T	5.661	23	13.93
金桃 Jintao	8.77±0.340	T	8.654	30	16.33
皖金 Wanjin	9.02±0.606	S	19.782	30	37.32
金圆 Jinyuan	9.16±0.530	S	19.483	29	38.02
东红 Donghong	10.34±0.329	S	19.420	24	45.79
红阳 Hongyang	11.11±0.384	HS	28.912	35	46.75
相关性 Correlation			0.948		

9 个品种中，金魁、翠玉接种溃疡病菌后，病斑占比最小，分别为 3.51%和 5.48%，均在 6%以下。东红和红阳发病最为严重，病斑占比分别为 45.79%和 46.75%，均在 40%以上。对不同品种的叶盘病斑占比与枝条病斑长度进行相关性分析，其相关性达 0.948，如图 4 所

示，呈极显著相关性。不同品种枝条病斑越长，叶盘病斑占比越大，对溃疡病的抗性越弱。

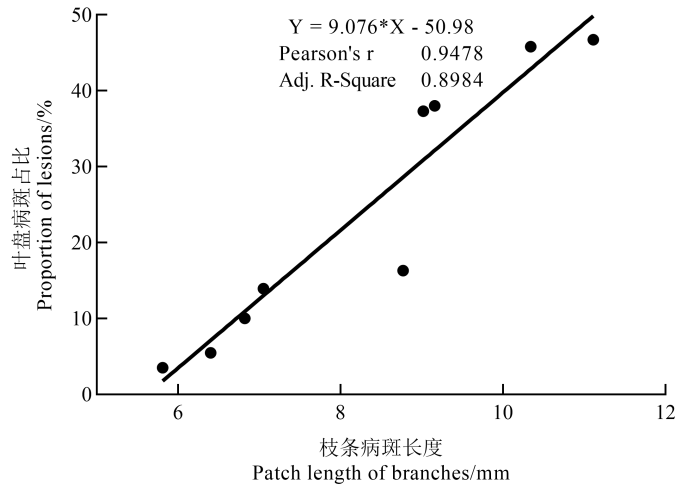


图 4 叶盘病斑占比与枝条病斑长度间的相关性分析

Fig. 4 Correlation analysis between the proportion of leaf disc lesions and the length of branch lesions

### 2.3 不同生理指标测定结果

对上述 9 个抗性差异品种采集叶片进行生理指标测定，发现不同品种的生理数据间存在差异。根据表 3 可知，九个品种每克叶片的总酚含量值在 3~6 mg·g<sup>-1</sup> 之间，其中抗性品种翠玉的总酚含量最高，为 5.7 mg·g<sup>-1</sup>，抗性品种金魁和金美总酚含量均大于 4.7 mg·g<sup>-1</sup>；其次为耐病品种金桃、金艳，叶片中的总酚含量均在 4.4~4.6 mg·g<sup>-1</sup> 之间；高感品种红阳的总酚含量值最低，为 3.07 mg·g<sup>-1</sup>；由此可见，随着品种抗性的降低，总酚含量呈现下降的趋势。同样，9 个品种中抗性品种翠玉的可溶性糖含量最高，每克叶片中大概含有 29.88 mg 可溶性糖，高感品种红阳的可溶性糖含量最低，为 18.34 mg·g<sup>-1</sup>；可溶性糖含量也随着抗性的减弱呈降低趋势。针对木质素含量，抗病品种金美的含量最高，每 100 g 新鲜叶片中含有 9.59 mg 木质素，其次为翠玉和金魁，均属于抗病品种。随着品种溃疡病抗性的降低，其木质素含量也在发生变化，其中，红阳的木质素含量最低，小于其他 8 个品种，每 100 g 新鲜叶片中只有 8.87 mg。

综上所述，不同品种间的总酚、可溶性糖和木质素含量不同，但抗病品种中的含量均为最高，明显高于耐病品种及感病品种，高感品种中生理指标含量均为最低。

表 3 不同抗性品种生理指标数据

Table 3 Physiological index data of nine varieties with different resistance

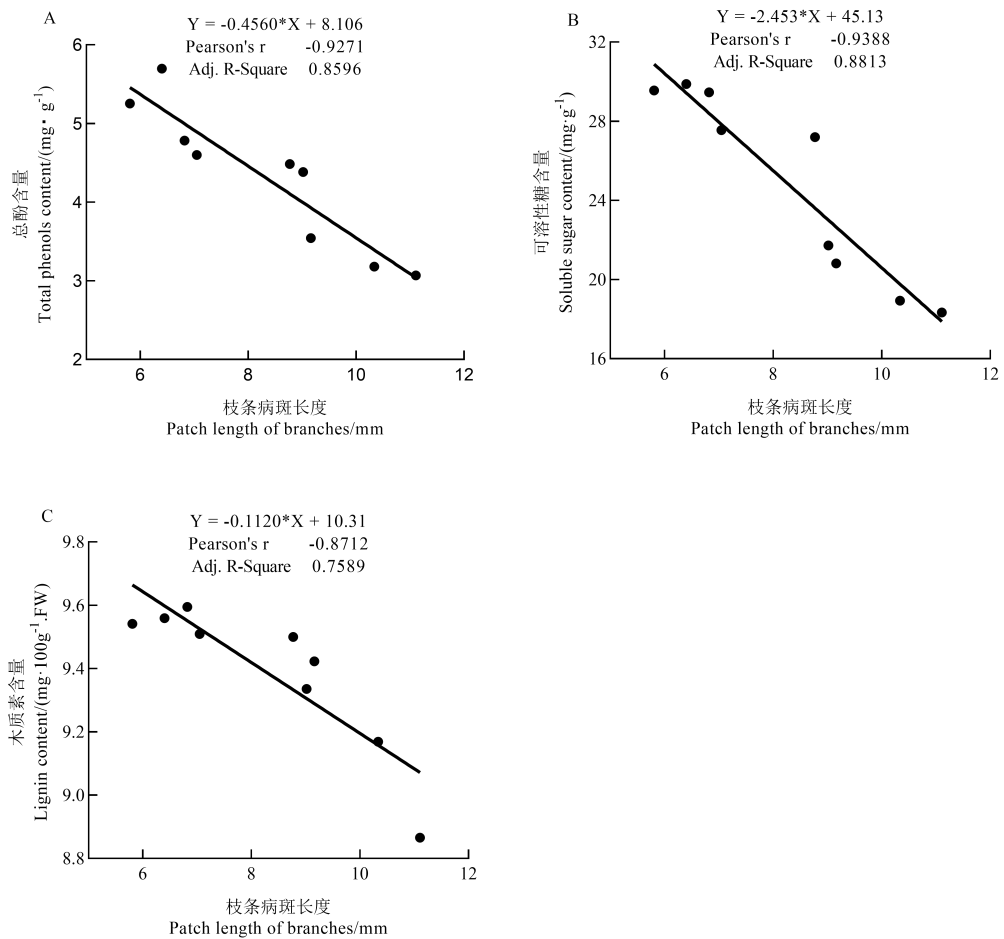
品种 Cultivar	抗性等级 Resistance category	w (总酚) Total phenols content/ (mg·g <sup>-1</sup> )	w (可溶性糖) Soluble sugar content/ (mg·g <sup>-1</sup> )	w (木质素) Lignin content/ (mg·100 g <sup>-1</sup> )
金魁 Jinkui	R	5.25±0.321	29.56±1.789	9.54±1.225
翠玉 Cuiyu	R	5.7±0.399	29.88±1.428	9.56±1.947
金美 Jinmei	R	4.78±0.469	29.46±0.816	9.59±5.070

金艳 Jinyan	T	4.6±0.809	27.55±0.967	9.51±3.957
金桃 Jintao	T	4.49±0.441	27.2±0.584	9.5±3.869
皖金 Wanjin	S	4.38±0.975	21.73±2.799	9.34±1.030
金圆 Jinyuan	S	3.54±0.166	20.81±1.389	9.42±4.219
东红 Donghong	S	3.18±0.162	18.93±0.98	9.17±3.265
红阳 Hongyang	HS	3.07±0.208	18.34±1.368	8.87±3.013

#### 2.4 品种抗病表型和生理指标相关性分析

9 个品种中金魁、翠玉、金美枝条和叶盘的病斑表型最小，而叶片中的总酚、可溶性糖和木质素均高于其他猕猴桃品种，为抗病种质；红阳枝条和叶盘的病斑表型最大，总酚、可溶性糖和木质素的含量最低，属于高感种质。对不同品种间生理指标和枝条病斑长度进行相关性分析，如图 5 所示，可见总酚含量、可溶性糖含量、木质素含量均与枝条病斑长度呈极显著负相关，相关系数分别为-0.927、-0.939、-0.871。

综合而言，溃疡病菌接种枝条后病斑越短，接种叶片后病斑占比越小，品种的抗病性越高，对应生理指标中的总酚、可溶性糖及木质素含量越高。相反，溃疡病菌接种枝条后病斑长度越长，接种叶片后病斑占比越大，品种越易感病，对应生理指标中的总酚、可溶性糖及木质素含量越低。



A. 总酚含量与枝条病斑长度的相关性；B. 可溶性糖含量与枝条病斑长度的相关性；C. 木质素含量与枝条病斑长度的相关性。

A. Correlation between the total phenol content and the lesion length; B. Correlation between soluble sugar and the lesion length; C. Correlation between the lignin content and the lesion length.

图 5 九个抗性差异品种的生理指标与枝条病斑长度相关性分析

**Fig. 5 Correlation analysis between physiological indexes and branch lesion length of nine varieties with different resistance**

### 3 讨论

溃疡病是限制猕猴桃产业发展的重要病害之一，其防治方法主要有选择抗病品种、农业防治、化学防治和生物防治等<sup>[19]</sup>。相较而言，栽培抗性品种是提高猕猴桃抗溃疡病的最有效措施<sup>[20]</sup>。笔者对 75 份中华及美味猕猴桃种质资源进行离体枝条室内抗性鉴定，结果显示不同品种对溃疡病的抗性不同，75 份种质资源中有抗病资源 16 份，耐病资源 30 份，感病资源 19 份及高感资源 10 份，其中金魁为抗病资源，金桃、金艳为耐病资源，红阳为高感资源，该结果与宋雅林等<sup>[21]</sup>和崔丽红等<sup>[22]</sup>的鉴定结果一致。在离体叶盘抗性鉴定中，不同抗

性等级的品种病斑占比不同,随着抗溃疡病能力的降低,其病斑占比也在逐渐增大。本研究显示,红阳占比最大,为高感品种,与枝条抗性结果显著相关,这也与Zhao等<sup>[23]</sup>在叶盘法中得到的结果相似。室内离体枝条接种和叶盘接种溃疡病菌的方法具有极显著相关性,且与田间结果基本一致,证实基于两者开展猕猴桃溃疡病抗性鉴定是可靠的。

植物长期处在自然选择进化中,不同品种间抗性存在差异,其生理指标也存在差异<sup>[24]</sup>。Wang等<sup>[25]</sup>发现接种柑橘溃疡病菌后,不同柑橘抗性品种过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)和苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性存在差异。酚类在植物中属于化感物质,对植物会产生直接、间接的促进或抑制作用。在辣椒中抗病品种的总酚含量大于感病品种<sup>[26]</sup>。糖是植物能量储存场所和物质转移媒介,在植物抗病性中发挥着重要作用。番茄接种病菌后,可溶性糖含量显著上升,说明糖与植物抗病性间存在紧密关联<sup>[27-28]</sup>。木质素是植物中复杂的生物化合物<sup>[29]</sup>,其与木质化和细胞壁有着极大的关联作用,可以抵抗病原菌的侵入<sup>[30]</sup>。本研究显示,猕猴桃叶片生理指标中总酚、可溶性糖和木质素含量与猕猴桃抗溃疡病能力呈极显著正相关性,当猕猴桃品种越抗病时,其叶片中总酚、可溶性糖和木质素含量越高。

基于本文结果,笔者发现虽然中华及美味猕猴桃种质资源对溃疡病的抗性较差,但仍存在抗病品种及耐病品种。通过离体枝条、离体叶盘抗性评价及总酚、可溶性糖和木质素含量等生理指标,进一步验证了金魁、翠玉、金美属于抗病品种,皖金、金圆、东红为感病品种,红阳为高感品种,室内评价结果与田间结果高度一致。对于果实品质优良的抗病品种建议可以进一步推广栽培,对于品质稍差的抗性品种可将其作为亲本用于抗病杂交育种。此外,植物抗病性与生理指标之间存在显著的相关性,可以直接基于生理指标进行抗病种质的快速鉴定,或者基于这些指标可进一步开发抗性分子标记,加快猕猴桃抗性生产育种进程。

#### 4 结论

对75份猕猴桃种质资源进行抗性评价,从中得出16份抗病资源,30份耐病资源,19份感病资源和10份高感资源。选择抗性差异的9个品种进行离体叶盘抗性评价及生理指标测定,发现离体叶盘抗性评价与品种抗病性存在显著负相关,总酚、可溶性糖及木质素含量与品种抗病性存在显著正相关,为猕猴桃育种开发及快速抗性鉴定提供理论基础。

#### 参考文献 References:

- [1] 黄宏文. 中国猕猴桃种质资源[M]. 北京: 中国林业出版社, 2013.  
HUANG Hongwen. Actinidia germplasm resources in China[M]. Beijing: China Forestry Publishing House, 2013.
- [2] MCCANN H C, LI L, LIU Y F, LI D W, PAN H, ZHONG C H, RIKKERINK E H A, TEMPLETON M D, STRAUB C, COLOMBI E, RAINEY P B, HUANG H W. Origin and evolution of the kiwifruit canker pandemic[J]. Genome Biology and Evolution, 2017, 9(4): 932-944.
- [3] 钟彩虹, 李黎, 潘慧, 邓蕾, 陈美艳. 猕猴桃细菌性溃疡病的发生规律及综合防治技术[J]. 中国果树, 2020(1): 9-13.  
ZHONG Caihong, LI Li, PAN Hui, DENG Lei, CHEN Meiyan. Occurrence rule and comprehensive control of

kiwifruit bacterial canker disease[J]. China Fruits, 2020(1): 9-13.

[4] 李黎, 潘慧, 李文艺, 韩飞, 胡光明, 张琦, 钟彩虹. 野生中华猕猴桃对细菌性溃疡病的抗性评价[J]. 湖北民族大学学报(自然科学版), 2022, 40(3): 241-248.

LI Li, PAN Hui, LI Wenyi, HAN Fei, HU Guangming, ZHANG Qi, ZHONG Caihong. Evaluation of wild *Actinidia chinensis* var. *chinensis* germplasm resources resistant to bacteria canker[J]. Journal of Hubei Minzu University (Natural Science Edition), 2022, 40(3): 241-248.

[5] 王丽, 涂洪涛, 侯琿, 周贝贝, 孟帅, 堵墨. 桃枝枯病病原菌鉴定及品种(种质)室内抗病性评价[J]. 果树学报, 2024, 41(5): 980-989.

WANG Li, TU Hongtao, HOU Hui, ZHOU Beibei, MENG Shuai, DU Mo. Identification of the pathogen of peach shoot blight and indoor resistance evaluation of peach varieties(germplasms)[J]. Journal of Fruit Science, 2024, 41(5): 980-989.

[6] 陈泉, 徐永红, 何锦辉, 杨宇衡. 柑橘轮斑病抗性鉴定方法的建立[J]. 果树学报, 2022, 39(2): 295-301.  
CHEN Quan, XU Yonghong, HE Jinhui, YANG Yuheng. Establishment of an identification method of *Citrus* resistance to target spot[J]. Journal of Fruit Science, 2022, 39(2): 295-301.

[7] 温家康, 马荣, 王大芬, 张萍. 新疆野核桃种质资源对核桃腐烂病的抗性评价[J]. 果树学报, 2022, 39(8): 1469-1478.

WEN Jiakang, MA Rong, WANG Dafen, ZHANG Ping. Evaluation of resistance of Xinjiang wild walnuts to walnut canker[J]. Journal of Fruit Science, 2022, 39(8): 1469-1478.

[8] 位杰, 蒋媛, 王岩, 谢宏江, 张亚杰, 李永丰. 不同梨种质资源对火疫病病菌的抗性评价[J]. 经济林研究, 2024, 42(1): 107-115.

WEI Jie, JIANG Yuan, WANG Yan, XIE Hongjiang, ZHANG Yajie, LI Yongfeng. Evaluation of the resistance of different pear germplasm resources to *Erwinia amylovora*[J]. Non-wood Forest Research, 2024, 42(1): 107-115.

[9] 曹雅芝, 陈卫民, 张胜军, 陆彪, 崔志军, 李克梅, 韩丽丽, 张学超, 张晓倩, 阿依达娜·阿思克别列. 83份新疆野苹果种质资源对梨火疫病病菌的抗病性评价[J]. 植物检疫, 2024, 38(1): 33-46.

CAO Yazhi, CHEN Weimin, ZHANG Shengjun, LU Biao, CUI Zhijun, LI Kemei, HAN Lili, ZHANG Xuechao, ZHANG Xiaoqian, Ayidana · Asikebielie. Evaluation of disease resistance of 83 *Malus sieversii* germplasm resources to *Erwinia amylovora*[J]. Plant Quarantine, 2024, 38(1): 33-46.

[10] 刘兴菊. 2,3-丁二醇诱导草地早熟禾抗褐斑病过程中木质素生物合成的研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2023.

LIU Xingju. 2,3-butanediol-Induced lignin biosynthesis in resistance to brown patch in *Poa pratensis*[D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2023.

[11] GAO Y, WANG L, LIU R, TIAN J H, CAI K Z. Physiological response and proteomic profiling of biochar-induced tomato resistance to bacterial wilt[J]. Scientia Horticulturae, 2023, 317: 112055.

[12] ARCHANA T J, GOGOI R, KAUR C, VARGHESE E, SHARMA R R, SRIVASTAV M, TOMAR M, KUMAR M, KUMAR A. Bacterial volatile mediated suppression of postharvest anthracnose and quality enhancement in mango[J]. Postharvest Biology and Technology, 2021, 177: 111525.

[13] 赵志博. 猕猴桃细菌性溃疡病菌群体结构与致病机制研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2016.

ZHAO Zhibo. Population composition and pathogenic mechanism in *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2016.

[14] 张迪, 高小宁, 赵志博, 秦虎强, 黄丽丽. 不同猕猴桃品种对溃疡病的抗性差异及其机制研究[J]. 果树学报, 2019, 36(11): 1549-1557.

- ZHANG Di, GAO Xiaoning, ZHAO Zhibo, QIN Huqiang, HUANG Lili. Differences in resistance to *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* and acting mechanism of different kiwifruit varieties[J]. Journal of Fruit Science, 2019, 36(11): 1549-1557.
- [15] 裴艳刚, 马利, 岁立云, 崔永亮, 刘晓敏, 龚国淑. 不同猕猴桃品种对溃疡病菌的抗性评价及其利用[J]. 果树学报, 2021, 38(7): 1153-1162.
- PEI Yangang, MA Li, SUI Liyun, CUI Yongliang, LIU Xiaomin, GONG Guoshu. Resistance evaluation and utilization of different kiwifruit cultivars to *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*[J]. Journal of Fruit Science, 2021, 38(7): 1153-1162.
- [16] ZHAO Z B, GAO X N, HUANG L L, QIN H Q, KANG Z S. Identification and characterization of the causal agent of bacterial canker of kiwifruit in the Shaanxi province of China[J]. Journal of Plant Pathology, 2013, 95(1): 155-162.
- [17] 李小方, 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 5 版. 北京: 高等教育出版社, 2016.
- LI Xiaofang, ZHANG Zhiliang. Guidelines for plant physiology experiments[M]. 5th ed. Beijing: Higher Education Press, 2016.
- [18] EYNCK C, KOOPMANN B, KARLOVSKY P, VON TIEDEMANN A. Internal resistance in winter oilseed rape inhibits systemic spread of the vascular pathogen *Verticillium longisporum*[J]. Phytopathology, 2009, 99(7): 802-811.
- [19] 王丽, 周增强, 侯琿, 方金豹. 我国猕猴桃细菌性溃疡病研究分析及防控[J]. 中国南方果树, 2017, 46(2): 178-182.
- WANG Li, ZHOU Zengqiang, HOU Hui, FANG Jinbao. Analysis and prevention of bacterial ulcer disease in kiwifruit in China[J]. South China Fruits, 2017, 46(2): 178-182.
- [20] 蒋媛, 位杰, 王岩, 李永丰, 谢宏江, 崔龙. 杜梨实生苗遗传多样性分析及火疫病抗性鉴定评价[J]. 果树学报, 2023, 40(10): 2204-2213.
- JIANG Yuan, WEI Jie, WANG Yan, LI Yongfeng, XIE Hongjiang, CUI Long. Analysis of genetic diversity and evaluation of disease resistance to pear fire blight of *Pyrus betulifolia* Bunge seedling[J]. Journal of Fruit Science, 2023, 40(10): 2204-2213.
- [21] 宋雅林, 林苗苗, 钟云鹏, 陈锦永, 齐秀娟, 孙雷明, 方金豹. 猕猴桃品种(系)溃疡病抗性鉴定及不同评价指标的相关性分析[J]. 果树学报, 2020, 37(6): 900-908.
- SONG Yalin, LIN Miaomiao, ZHONG Yunpeng, CHEN Jinyong, QI Xiujian, SUN Leiming, FANG Jinbao. Evaluation of resistance of kiwifruit varieties(line) against bacterial canker disease and correlation analysis among evaluation indexes[J]. Journal of Fruit Science, 2020, 37(6): 900-908.
- [22] 崔丽红, 高小宁, 张迪, 黄丽丽, 黄蔚, 陈继富. 湘西地区猕猴桃细菌性溃疡病抗性资源筛选及其抗性机理研究[J]. 植物保护, 2019, 45(3): 158-164.
- CUI Lihong, GAO Xiaoning, ZHANG Di, HUANG Lili, HUANG Wei, CHEN Jifu. Screening of resistance resource and resistance mechanism of kiwifruit to *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* in Xiangxi area[J]. Plant Protection, 2019, 45(3): 158-164.
- [23] ZHAO C, LIU W, ZHANG Y L, LI Y Z, MA C, TIAN R Z, LI R, LI M J, HUANG L L. Two transcription factors, AcREM14 and AcC3H1, enhance the resistance of kiwifruit *Actinidiachinensis* var. *chinensis* to *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*[J]. Horticulture Research, 2023, 11(1): uhad242.
- [24] AZIZAH R, RACHMAWATI D. Physiological resistance responses of rice plant (*Oryza sativa*) provided with silicate fertilizer to sheath blight disease (*Rhizoctonia solani*)[J]. Biodiversitas Journal of Biological Diversity,



2023, 24(7): 3785-3795.

[25] WANG Y, FU X Z, LIU J H, HONG N. Differential structure and physiological response to canker challenge between ‘Meiwa’ kumquat and ‘Newhall’ navel orange with contrasting resistance[J]. *Scientia Horticulturae*, 2011, 128(2): 115-123.

[26] 王宁. 辣椒根系化感物质/化学信号的原位分析及作用研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2022.

WANG Ning. In situ analysis and function of allelochemicals/chemical signals in pepper root system[D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2022.

[27] 梁艳丽, 赵婧, 刘林, 杨静, 李成云. 植物细胞壁在植物与病原菌互动中的作用[J]. *分子植物育种*, 2016, 14(5): 1255-1261.

LIANG Yanli, ZHAO Jing, LIU Lin, YANG Jing, LI Chengyun. The role of the plant cell wall in plant pathogen interactions[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2016, 14(5): 1255-1261.

[28] GU A Q, ZHAO D N, LIU H Q, FU W, LI G Z, HAO L. *Paraburkholderia* sp. GD17 improves tomato plant growth and resistance to *Botrytis cinerea*-induced disease[J]. *Plant and Soil*, 2023, 486(1): 487-502.

[29] MA Q H. Lignin biosynthesis and its diversified roles in disease resistance[J]. *Genes*, 2024, 15(3): 295.

[30] LIU M X, LIU H Y, ZHANG J D, LI C, LI Y K, YANG G Y, XIAT, HUANG H T, XU Y, KONG W S, HOU B Z, QI X Q, WANG J. Knockout of CAFFEYOYL-COA 3-O-METHYLTRANSFERASE 6/6L enhances the S/G ratio of lignin monomers and disease resistance in *Nicotiana tabacum*[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 14: 1216702.