

葡萄白腐病和黑痘病抗性鉴定方法*

王跃进 贺普超

(园艺系)

摘 要

1984~1986年通过田间自然鉴定和接种鉴定的方法,研究了原产我国的葡萄属18个种或变种,88个株系对黑痘病和白腐病的抗性。结果表明,这些种感染黑痘病的严重度为2.33~12.78%,在自然发病条件下不感白腐病,接种后白腐病的发病率为5.00~92.50%。种内不同株系间也存在着抗病和感病的类型。本文还对接种方法进行了探讨。研究表明,田间喷雾接种黑痘病的浓度为 1×10^4 孢子/ml;白腐病接种,田间以针刺果实 2×10^5 孢子/ml和室内以针刺果实 2×10^6 孢子/ml为宜。

关键词: 葡萄; 黑痘病; 白腐病; 抗病性; 鉴定

葡萄黑痘病(*Sphaceloma ampelinum* de Bary)和白腐病(*Coniathrium diplodiella* (Speg) Sacc)是严重危害欧洲葡萄(*Vitis vinifera* L)的两种真菌病害。国内外葡萄栽培的实践^[2,3,5,6]证明,绝大多数欧洲葡萄不抗这两种病害。我国拥有丰富的野生葡萄资源,但对其抗黑痘病和白腐病的能力缺乏系统的研究^[2,3]。因此,正确地进行抗病性鉴定,选出抗病力强的种和株系(指由同一野生植株上采取枝条繁殖的苗木),对于充分利用我国葡萄资源为葡萄育种服务具有重要的意义。

1 材料和方法

试验于1984~1986年在西北农业大学野生葡萄圃内进行。试材为1978~1982年从秦巴山区采集或由外省(区)引来的葡萄属(*Vitis* L.)18个种或变种,共计88个株系枝条嫁接苗,砧木为欧洲葡萄。用欧洲葡萄‘早玫瑰’、‘佳利酿’和‘龙眼’作对照。供试的野生种与变种有:刺葡萄(*V. davidii* Föex)、瘤枝葡萄(*V. davidii* Var. *cyanocarpa* (Gagn) Sarg)、复叶葡萄(*V. piasezkii* Maxim)、华东葡萄(*V. pseudoreticulata* W. T. Wang)、秋葡萄(*V. romanetii* Roman)、毛葡萄(*V. quinquangularis* Rehd.)、山葡萄(*V. amurensis* Rupr.)、华北葡萄(*V. bryoniifolia* Bunge)、蓼萼(*V. adstricta* Hance)、三出葡萄(*V. adstricta* Var. *ternata* W. T. Wang)、菱状葡萄(*V. haco-kii* Hance 江西)、网脉葡萄(*V. wilsonae* Veitch)、葛蕾葡萄(*V. flexuosa* Thunb)、

本文于1987年10月12日收到。

*本研究属中国科学院基金资助项目的一部分。

桦叶葡萄 (*V. betulifolia* Diel. et Gilg)、燕山葡萄 (*V. yeshanensis*)、麦黄葡萄 (*V. ssp.*)、秦巴野葡萄 (*V. ssp.*)、米葡萄 (*V. ssp.*)。在试验区全年不喷药,其他管理与生产园基本相同。

试验采用田间自然鉴定、田间接种鉴定和室内离体接种鉴定三种方法。黑痘病用叶片鉴定,白腐病用果实鉴定。

田间自然鉴定是每年在发病盛期进行两次田间叶片或果实的发病调查。每株系随机调查20个以上新梢和果穗,总叶数在200片以上,总果粒数也在200粒以上。对各株系按叶片感病面积和果粒感病率分级记录,标准如下:

叶片:0级——全叶无病斑;1级——病斑面积占叶面积5%以下;2级——病斑面积占叶面积的6~25%;3级——病斑面积占叶面积的26~50%;4级——病斑面积占叶面积的51~75%;5级——病斑面积占叶面积的76~100%。

果穗:0级——全果穗无病粒;1级——果穗上感病果粒在5%以下;2级——果穗上感病果粒在6~25%;3级——果穗上感病果粒在26~50%;4级——果穗上感病果粒在51~75%;5级——果穗上感病果粒在76~100%。

将各株系叶片的感病面积和果穗的感病率加权平均,即为该株系的严重度。

黑痘病田间接种鉴定是在田间出现黑痘病症状时,采回受侵染的枝条于室内保湿,促其形成大量孢子后,将其刮于干净的烧杯中,形成田间混合菌种,用蒸馏水配成不同浓度的悬浮液进行喷雾接种。接种的种(株系)为刺葡萄(济南-1)、华北葡萄(安林-16)、秋葡萄(留-1)和欧洲葡萄(龙眼)。选取平均病率在70~80%的浓度作为正式接种鉴定的浓度。不同浓度的试验结果表明, 1×10^4 孢子/ml的接种浓度平均发病率为77.06%,比较适中,故用作本试验的接种浓度。

白腐病田间接种鉴定是采用单病斑分离纯的菌系进行培养,5天后将病原孢子配成所需浓度对秋葡萄(留-1)、燕山葡萄(雌株)、蔓萁(泰山葡萄)和欧洲葡萄(佳利酿)进行不同方式、部位和浓度接种。试验结果(表1)表明,针刺果实以 2×10^5 孢子/ml的浓度接种的几个株系的平均发病率为74.15%,比较适中,故用作田间正式鉴定的方法。

表1 葡萄白腐病田间接种方式、部位和浓度试验

接种方式	接种部位	接种浓度 (孢子/ml)					
		0	2×10^2	2×10^3	2×10^4	2×10^5	2×10^6
针刺	果穗	0	21.47	35.86	48.93	73.40	87.06
	果实	0	23.39	36.81	49.92	74.15	88.58
摩擦	果穗	0	6.89	24.70	31.80	37.79	45.57
	果实	0	11.28	27.82	36.64	40.84	46.43
喷雾	果穗	0	0	0	0	0.49	1.47
	果实	0	0	0	0	1.47	2.45

室内离体接种鉴定是用15cm的培养皿,下铺两层吸水纸,滴入无菌水使其充分吸水后作为接种鉴定的环境。试验材料的处理是:果实或叶片→自来水冲洗→蒸馏水冲洗→用70%酒精表面消毒→无菌水冲洗→用洁净的吸水纸吸干表面的水珠,置于培养皿内。接种的方式、部位和浓度与田间相同。接种后将培养皿置入23~30℃恒温箱中。定时观察,以确定病

原菌的潜育期。白腐病一周后记载发病率, 黑痘病12天后记载发病率。标准与田间自然鉴定相同。试验表明, 黑痘病以 5×10^3 孢子/ml 喷雾接种后的发病率为 70.68%; 白腐病用针刺果实以 2×10^3 孢子/ml 接种后的发病率为 73.75%, 比较适宜, 故用作室内正式鉴定的方法。

2 试验结果

2.1 不同种叶片对黑痘病的抗性

表 2 表明, 我国葡萄属野生种的叶片均对黑痘病有极强的和强的抗性。在田间自然发病条件下, 种间的抗性差异是极小的, 即平均严重度为 2.33~4.12%, 在接种条件下, 种间存在着抗性的差异, 严重度为 2.69~12.78%。我国葡萄属植物这种抗黑痘病的能力不仅极大地高于欧洲葡萄, 甚至绝大多数种还高于抗性强的河岸葡萄。

2.2 果实对白腐病的抗性

表 3 表明, 我国葡萄野生种的果实在自然发病条件下不感白腐病, 但在接种条件下, 却表现出种间抗性差异。刺葡萄果实室内外接种的平均发病率为 9.5%, 属于高抗类型, 是我国葡萄属中抗性最强的一个种。复叶葡萄、华东葡萄、山葡萄和秦巴野葡萄也有抗性较强的株系或品种, 如白-22-1 和眉-6、白-35-1、双庆山葡萄等。其余种的所有株系属于感病类型。

表 2 不同葡萄野生种叶片抗黑痘病鉴定 (1984~1986)

种名	田间自然鉴定				田间接种鉴定				室内离体接种鉴定			
	株系数	叶片数	严重度 ¹⁾ %	最抗株系	株系数	叶片数	严重度%	最抗株系	株系数	叶片数	严重度%	最抗株系
刺葡萄	6	6858	4.10	济南-1	6	575	7.74	济南-1	4	110	7.52	济南-1
瘤枝葡萄	3	2838	4.12	镇-3	3	436	6.41	镇-3	3	83	5.89	南-6
复叶葡萄	13	12020	2.65	留-10	13	1637	4.42	留-10	6	266	4.87	留-10
华东葡萄	7	7136	3.81	旬-1	7	1010	6.00	白-13-1	5	278	5.38	广西-1
秋葡萄	11	9879	2.84	江西-1	10	1005	4.36	江西-1	3	114	6.10	留-1
山葡萄	4	2801	4.05	74-1-88	4	307	4.94	74-1-88	3	149	5.32	74-1-88
毛葡萄	11	8257	4.00	眉-2	10	1034	6.11	丹-11	5	217	7.76	泰山-12
华北葡萄	3	3102	3.04	安林-28	3	505	3.88	安林-16	3	230	5.62	安林-28
婆奥	3	3398	2.64	泰山葡萄♀	3	527	3.62	泰山葡萄♀	3	360	4.37	泰山葡萄♀
委黄葡萄	6	5432	2.83	旬-8	6	827	3.95	白-36-2	5	244	5.77	旬-8
秦巴野葡萄	13	9788	3.75	平-5	12	1167	5.44	山-36	6	144	6.36	留-3
燕山葡萄	2	2347	2.40	燕山♀	2	281	3.52	燕山♀	2	222	4.63	宁-10
三出葡萄	1	1333	2.63	—	1	254	3.94	—	1	42	4.76	—
菱状葡萄	1	1174	4.05	—	1	296	5.69	—	1	63	4.61	—
网脉葡萄	1	1050	2.84	—	1	112	3.60	—	1	66	4.49	—
葛雷	1	1016	2.33	—	1	262	3.12	—	1	105	4.86	—
桦叶葡萄	1	735	2.76	—	1	247	3.69	—	1	33	6.21	—
米葡萄	1	1352	2.57	—	1	254	3.59	—	1	41	7.93	—
河岸葡萄	1	982	5.01	—	1	140	6.23	—	—	—	—	—
欧洲葡萄	3	2482	21.59	早玫瑰	2	332	43.70	早玫瑰	1	70	36.39	—

1) 严重度在 5% 以下为高抗; 在 6~15% 为抗性强; 在 16% 以上为感病。

表3 不同葡萄野生种果实抗白腐病鉴定(1984~1986)

种名	田间自然鉴定				田间接种鉴定				室内离体接种鉴定			
	株系数	果穗数	果粒数	发病率%	株系数	果粒数	发病率%	最抗株系	株系数	果粒数	发病率%	最抗株系
刺葡萄	2	133	4776	0	2	364	10.20	宁-5	1	80	8.75	—
复叶葡萄	10	843	10824	0	6	807	33.83	白-22-1	9	640	56.06	眉-6
华东葡萄	5	189	6111	0	3	474	30.88	白-35-1	5	400	41.00	白-35-1
秋葡萄	8	711	21769	0	7	1177	54.82	高-23	7	560	57.50	平-2
山葡萄	3	412	13315	0	3	857	21.01	双庆山葡萄	3	240	32.92	双庆山葡萄
毛葡萄	7	564	21511	0	7	1752	31.89	丹-2	7	560	84.46	眉-2
华北葡萄	3	447	9364	0	3	431	46.06	安林-16	3	240	54.50	安林-16
斐奥	2	264	4440	0	2	193	39.39	鹿-2	2	160	50.88	鹿-2
走黄葡萄	3	343	6758	0	2	310	29.01	白-42	2	160	61.25	白-42
秦巴野葡萄	1	30	810	0	1	129	5.43	—	1	58	31.04	—
燕山葡萄	1	174	4694	0	1	254	21.87	—	1	80	38.75	—
三出葡萄	1	40	1160	0	1	109	31.19	—	1	120	65.37	—
欧洲葡萄	2	215	10829	88.57	3	739	86.25	早玫瑰	3	240	86.75	早玫瑰

注: 发病率在10%以下为高抗; 在10%~25%为抗性; 在26%以上为感病。

3 讨 论

3.1 葡萄黑痘病抗性鉴定与叶龄

葡萄黑痘病菌寄生性很强, 它主要由葡萄绿色初嫩部分侵入, 并在未老化的组织上表现症状。因此, 我们在田间自然发病调查时, 以成龄叶为调查对象; 在田间接种鉴定时, 我们既用幼龄叶又用成龄叶作为研究对象, 试验结果证明, 它能较客观地反映出不同葡萄种及其株系对黑痘病的抗性。室内离体叶鉴定时, 我们仅采用了幼叶接种的方法。但实践证明, 不同种或株系的幼叶在离体条件下仅能存活4~9天, 造成一部分种及株系的幼叶在病原菌尚未完成潜育期就死亡了。因此, 我们认为今后利用室内盆栽或温室栽培的方法进行接种是可以解决问题的。

3.2 葡萄白腐病抗性鉴定的接种方法

葡萄抗白腐病接种至今没有一个科学统一的方法。仅国内有些零星报道^[3,4], 而且没有系统的研究结果。因此, 对白腐病接种的方式、部位和浓度没有统一标准。根据白腐病菌侵入的特点和方式, 为探讨合理的接种方法, 我们进行了不同的接种方式、部位和浓度试验, 得出了葡萄白腐病田间和室内接种的方法。

3.3 我国葡萄野生种及种内不同株系对葡萄黑痘病和白腐病的抗性

我国是葡萄属植物最重要的原产地之一, 有27个种, 5个变种, 从黑龙江到海南岛, 从东海之滨到西藏高原均有分布^[2]。本研究证明, 我国原产的18个种或变种的野生葡萄对黑痘病表现了高抗和抗性强的特性; 对白腐病在田间自然条件下不感病, 在接种条件下, 表现出了由高度抗病到高度感病的不同类型。本研究还进一步发现, 在接种条件下, 许多种内的不同

株系对白腐病的抗性存在着明显的差异。不论南方的或北方的株系均有抗性强和抗性弱的，即使起源于同一地区的不同株系也是如此。这种抗性的强弱与地理起源无必然的联系。

4 结 论

4.1 黑痘病田间接种以 1×10^4 孢子/ml 喷雾幼叶为宜。白腐病田间接种以针刺果实， 2×10^5 孢子/ml 为宜，室内以针刺果实 2×10^3 孢子/ml 为宜。

4.2 原产我国的葡萄属野生种对黑痘病表现为高抗和抗性强的特性。

4.3 我国的葡萄属野生种在田间自然条件下不感白腐病。经接种后，对白腐病表现为抗病和感病两种类型。抗病的种或变种有刺葡萄、山葡萄、燕山葡萄和秦巴野葡萄；感病的有复叶葡萄、华东葡萄、秋葡萄、毛葡萄、华北葡萄、莫莫，三出葡萄和麦黄葡萄，种内不同株系间抗白腐病的能力是不同的，有些种内同时存在着抗病和感病的株系。如复叶葡萄、华东葡萄、秋葡萄、山葡萄和毛葡萄，在这些种内抗病的株系有：白-22-1、白-35-1、商-23、双庆山葡萄和丹-2。

4.4 我国葡萄属野生种，既抗黑痘病又抗白腐病的株系有双庆山葡萄和刺葡萄的济南-1。对这两种病抗性较强的株系尚有秋葡萄的商-23，燕山葡萄，刺葡萄的宁-5，秦巴野葡萄的平-5，复叶葡萄的白-22-1，华东葡萄的白-35-1 和毛葡萄的丹-2。

魏宁生教授对本研究提出过宝贵意见，特致谢意。

参 考 文 献

- 1 方中达，植病研究法，农业出版社，1979
- 2 左大勋、袁以第，我国葡萄属植物资源的地理分布及利用，南京中山植物园研究论文集，江苏科学技术出版社，1981：25—31
- 3 贺普超、晁无疾，我国葡萄野生种的抗性研究，中国果树 1982(4)：17—20
- 4 王清和，葡萄白腐病发生规律及防治研究，山东农学院学报 1965(10)：71—80
- 5 纳尔逊等著，河北保定地区科技情报所译，植物抗病育种—概念和应用，农业出版社，1978
- 6 Mortensen J. A Sources and inheritance of resistance to a anthracnose in vitis, *Journal of Heredity* 1981; 72(6): 423—426

IDENTIFICATION METHOD OF RESISTANCE OF VITIS EVALUATED TO GRAPE ANTHRACNOSE AND GRAPE WHITE ROT

Wang Yuejin He Puchao

(*Department of Horticulture*)

Abstract

Resistance to grape anthracnose (*Sphaceloma ampelinum* de Bary) and grape white rot (*Coniathyrium diplodiella* Speg. Sacc) of 18 vitis species or varieties native to China, including 88 clones, were studied by field evaluation and inoculation in 1984-1986. The results showed that the serious infection of these species by grape anthracnose was 2.33~12.78%. Although these species were not infected by grape white rot in field conditions, their incidence was 5.00-92.50% after inoculation. However, there exist both resistant and susceptible biotypes in various clones within the same species. Also, this paper discusses the method of inoculation. The research revealed that the inoculation concentration of grape anthracnose was 1×10^4 spores/ml by spraying in field. The suitable methods to inoculate grape white rot were acupuncture fruits with 2×10^5 spores/ml in the fields and with 2×10^3 spores/ml in the lab.

Key words: grape; anthracnose; white rot; disease resistance; identification.