

[文章编号] 1000-2782(1999) 05-0006-05

葡萄抗白粉病鉴定方法的研究

王跃进, 贺普超, 张剑侠

(西北农业大学园艺系, 陕西杨陵 712100)

[摘 要] 通过田间自然鉴定和田间人工接种鉴定的方法, 研究了我国葡萄属 20 个野生种或变种对白粉病的抗性。结果表明, 在葡萄白粉病人工接种的喷雾、涂抹和干粉方法中, 以 2×10^5 个/mL 的悬浮孢子液进行田间喷雾接种, 21 d 后调查接种鉴定结果为最佳方法, 田间自然鉴定和人工接种鉴定及叶片和果实对白粉病的抗性存在显著的相关关系。

[关键词] 葡萄; 白粉病; 抗病性; 田间自然鉴定; 人工接种鉴定

[中图分类号] S663.103.2 [文献标识码] A

葡萄白粉病(*Uncinula necator* Schw. Burr) 是严重危害葡萄的一种真菌病害^[1]。国内外葡萄生产的实践证明, 欧洲葡萄(*Vitis vinifera* L.) 最易感染白粉病^[1~6]。中国是葡萄属植物的原产地之一^[2,5,7], 拥有十分丰富的野生葡萄资源, 研究抗病性鉴定的有效方法, 科学、准确地鉴定葡萄种质资源对白粉病的抗性程度是抗病育种的关键环节。本研究通过田间自然和人工接种(喷雾、涂抹和干粉接种) 的方法, 寻找葡萄抗白粉病鉴定的最佳鉴定方式, 以筛选出抗性强的种和株系, 应用于抗病育种的实践。

1 材料与方法

1.1 材 料

试验于 1990~1992 年在西北农业大学野生葡萄种质资源与杂种试验区进行。试材为 1978 年以来从秦巴山区采集或由外省(区) 引来的中国葡萄属(*Vitis* L.) 野生种共 20 个种或变种, 98 个株系。每株系 2~3 株, 个别为 1 株。以河岸葡萄作抗病对照种(CK₁), 以欧洲葡萄佳利酿作感病对照品种(CK₂)。供试的野生种与变种有: 刺葡萄(*V. davidii* (Roman.) Foex.), 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), 夔夔(*V. adstricta* Hance), 小叶葡萄(*V. sinocinerea* W. T. Wang), 菱状葡萄(*V. hancockii* Hance 江西), 网脉葡萄(*V. wilsonae* Veitch, 陕西洋县), 葛藟(*V. flexuosa* Thumb. 陕西), 小叶葛藟(*V. flexuosa* var. *parvifolia* (Roxb) Gagn.), 燕山葡萄(*V. yeshanensis* 河北), 麦黄葡萄(*V. sp*), 秦岭葡萄(*V. sp*), 米葡萄(*V. sp*), 小复叶葡萄(*V. sp*), 麦黄复叶葡萄(*V. sp*)。在野生种试验

[收稿日期] 1998-09-08
[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(39770525)
[作者简介] 王跃进(1958-), 男, 教授, 博士生导师

© 1998-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http

区全年不喷药, 其他管理与生产园基本相同。

1.2 方 法

1.2.1 田间自然鉴定 田间自然鉴定是在每年发病盛期(7~8月)于田间野生种质圃内进行。所有野生种调查 300 枚以上叶片、20 个果穗或 500 粒以上的果粒。按叶片病斑面积占全叶面积百分率及感病果粒占调查果粒总数的百分率分为 0~7 级(表 1)。

表 1 葡萄抗白粉病鉴定分级

级别	叶片病斑面积或感病果实的百分率/ %	级别	叶片病斑面积或感病果实的百分率/ %
0	0	4	30.1~45.0
1	0.1~5.0	5	45.1~65.0
2	5.1~15.0	6	65.1~85.0
3	15.1~30.0	7	85.1 以上

将上述调查结果按下式换算成感病指数:

感病指数(%) =
$$\frac{\sum (\text{病级值} \times \text{该级发病叶数})}{\text{调查总叶数} \times \text{最高病级值}} \times 100$$

参照国际植物种质委员会(IBPGR)的标准, 根据中国葡萄属野生种或株系的感病指数, 将其叶片感染白粉病程度分为以下 5 级(表 2)。

表 2 葡萄抗白粉病程度分级

代表值	抗病程度	感病指数	代表值	抗病程度	感病指数
1	免疫	0	4	感病	25.1~50.0
2	高抗	0.1~5.0	5	高感	50.1~100
3	抗病	5.1~25.0			

1.2.2 田间人工接种鉴定 ① 病原菌与接种方式和质量浓度的研究。病原孢子萌发特性观察, 用 7.8 g/L 的葡萄糖无菌水溶液分别配制病原悬浮孢子液, 用显微镜每隔 12 h 观察一次萌发情况, 寻找维持孢子寿命的最长有效时间。④白粉病菌接种方式与质量浓度试验。由于葡萄白粉病菌为专性寄生菌, 笔者用田间感病叶片上的新鲜孢子配成悬浮液(每 1 000 mL 无菌水悬浮孢子液加入 7.8 g 葡萄糖, 调整为白粉菌的最佳渗透压)进行喷雾和涂抹接种, 孢子含量分别为 0, 2×10², 2×10³, 2×10⁴, 2×10⁵ 和 2×10⁶ 个/mL, 用无菌水溶液作对照。接种后套袋, 21 d 后除袋并调查发病情况, 标准同田间自然鉴定。此外, 笔者还模拟白粉病菌依靠气流传播, 要求较低湿度侵染的特点, 进行了强化干粉接种, 方法是采摘布满新鲜孢子的感病叶片, 压在无病幼叶上 3~5 s 后去掉, 分为干压法和压前预先喷雾无菌水使叶片有微小液滴, 但无明显露点出现的压前预处理法。1 片病叶压过同一新梢上 5 枚叶片后即套袋, 21 d 后调查发病程度。白粉病菌接种方式与质量浓度试验结果(表 3)表明, 2×10⁵ 个/mL 为最佳的喷雾和涂抹接种孢子液。由于涂抹接种造成在叶缘处停留的孢子悬浮液量多, 使叶片感病不均匀, 故选择简便易行的喷雾方式, 以 2×10⁵ 个/mL 悬浮液接种鉴定葡萄对白粉病的抗性。干粉接种效果很好, 但接种孢子液孢子含量无法定量, 故本研究仅以田间新鲜孢子作为田间孢子的致病性试验研究。

表 3 不同接种方式和浓度下葡萄白粉病的感病指数

种名	株系或品种	接种方式	接种孢子液孢子含量/(个·mL ⁻¹)					
			0	2×10 ²	2×10 ³	2×10 ⁴	2×10 ⁵	2×10 ⁶
华东葡萄	广西-1(♀)	喷雾	0	21.67	30.91	41.03	61.12	78.57
		涂抹	0	8.70	37.78	71.21	77.78	85.48
	白-35-1(♀)	喷雾	0	16.67	35.00	56.25	81.72	86.75
		涂抹	0	32.73	46.00	56.10	73.08	88.42
华东葡萄	广西-2(▽)	喷雾	0	16.67	44.74	80.44	87.72	95.12
		涂抹	0	32.56	51.28	68.89	78.85	90.00
欧洲葡萄	五月紫	喷雾	0	87.50	100.00	100.00	100.00	100.00
		涂抹	0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
平均值		喷雾	0	35.63	52.66	69.43	82.64	92.61
		涂抹	0	43.50	58.7	74.05	82.43	90.98

注: 喷雾与涂抹相关系数 $r=0.994^{**}$ ($n=6$).

2 结果与分析

2.1 田间自然鉴定

将 20 个野生种、98 个株系的田间自然鉴定结果列入表 4.

表 4 田间自然鉴定下葡萄野生种对白粉病的抗性

种 名	株系数/株	感病指数				抗性反应					表现型
		叶 片		果 实		抗 病			感 病		
		幅 度	$\bar{X}$	幅 度	$\bar{X}$	1	2	3	4	5	
刺葡萄	9	2.68 ~ 45.26	13.72	0	0			√			抗病
瘤枝葡萄	2	14.56 ~ 17.78	16.17	0	0			√			抗病
复叶葡萄	15	0.20 ~ 34.63	16.54	0 ~ 44.37	9.70			√			抗病
华东葡萄	9	1.57 ~ 45.26	21.50	0 ~ 93.1	26.71			√			抗病
秋葡萄	10	0 ~ 41.07	15.64	0 ~ 54.04	21.98			√			抗病
毛葡萄	15	0 ~ 71.0	20.02	0 ~ 23.81	2.46			√			抗病
华北葡萄	5	1.64 ~ 15.13	6.43	0 ~ 9.23	4.62			√			抗病
山葡萄	9	0 ~ 36.78	10.36	0 ~ 48.06	16.02			√			抗病
蔓莢	3	16.52 ~ 53.78	38.78	13.33 ~ 15.38	14.36				√		感病
小叶葡萄	1	16.52	16.52	—	—			√			抗病
菱状葡萄	1	5.18	5.18	—	—			√			抗病
网脉葡萄	1	17.52	17.52	—	—			√			抗病
葛 晶	1	17.55	17.55	—	—			√			抗病
小叶葛晶	1	9.56	9.56	—	—			√			抗病
燕山葡萄	1	17.07	17.07	6.80	6.80			√			抗病
麦黄葡萄	5	0 ~ 28.73	11.20	0 ~ 42.31	11.92			√			抗病
麦黄复叶葡萄	2	11.63 ~ 26.88	19.26	1.97 ~ 41.43	21.7			√			抗病
米葡萄	1	24.01	24.01	—	—			√			抗病
秦岭葡萄	5	0 ~ 36.63	14.16	18.6	18.6			√			抗病
小复叶葡萄	2	11.14 ~ 41.35	26.25	38.96	38.96				√		感病
河岸葡萄	1	6.3	6.3	—	—			√			抗病
欧洲葡萄	1	67.4	67.4	46.2	46.2					√	感病

由表 4 可以看出, 从种或变种叶片感病指数的平均值来看, 这些种中, 除蔓莢和小复

叶葡萄感病外, 其他 18 个种均表现为抗病, 只是抗性程度有所不同。叶片和果实对白粉病的抗性存在着极显著的相关, 相关系数 $r = 0.669^{**}$ ($n = 59$)。

2.2 田间人工接种鉴定

对 14 个野生种或变种, 39 个株系进行了人工接种鉴定, 结果列于表 5。由表 5 可以看出, 在接种条件下表现抗病的有 16 个株系, 占接种总群体的 41.03%。相关分析表明, 田间自然鉴定结果与人工接种鉴定结果的相关系数 $r = 0.602^{**}$ ($n = 39$), 达极显著, 即在接种条件下具有抗病性的株系, 在田间自然鉴定时也具有抗病性。

表 5 田间人工接种鉴定下葡萄野生种或株系抗白粉病表现

种名	株 系	感病指数		抗性反应					表现型
				抗病			感病		
		叶 片	果 实	1	2	3	4	5	
毛葡萄	眉-1	17.53	-			√			抗病
	商-24	28.57	26.19				√		感病
	丹-2	~	24.3			√			抗病
	旬-3	-	24.46			√			抗病
	眉-2	21.01	-			√			抗病
华北葡萄	安林-28	35.60	31.43				√		感病
	安林-29▽	27.78	-				√		感病
	泰山葡萄▽	66.67	43.70					√	感病
	燕山葡萄▽	60.15	26.79					√	感病
山葡萄	泰山-11	38.10	-				√		感病
	双 庆	66.67	-					√	感病
斐樊	泰山葡萄	17.99	3.40			√			抗病
葛 晶		24.29	21.43			√			抗病
小叶葛晶	商-2▽	7.94	-			√			抗病
燕山葡萄	燕山♀	50.50	31.83				√		感病
欧洲葡萄	佳利酿	40.69	43.80				√		感病
河岸葡萄		23.3	-			√			抗病

3 讨 论

关于葡萄白粉病接种鉴定, 据李华等^[8]报道, 对欧亚种用离体圆片叶接种田间新鲜白粉病菌孢子, 是一种快速简便、又能鉴定大量材料的有效方法。笔者曾进行的接种预备试验表明, 只有欧洲葡萄佳利酿在接种后 4~5 d 表现出症状, 而绝大多数中国野生种因抗性程度不同, 因此在 2 周以上时间的离体叶片还未出现症状就不便存活。所以, 对中国野生种用离体小圆片叶接种鉴定, 不如在田间自然鉴定更能反映其抗性程度。

为确保接种孢子具有较强的萌发力, 用 1 000 mL 的无菌水, 加入 7.8 g/L 葡萄糖, 调节孢子悬浮液渗透压后, 可以使分生孢子在 24~36 h 内保持外形不变, 并有一定的侵染和萌发力。但在使用无菌水配成的孢子悬浮液内, 分生孢子在 6~8 h 内可保持外形不变, 10 h 后会因吸水而胀裂。

笔者采用的喷雾、涂抹、干粉干压和喷无菌水后干粉干压 4 种方法, 都能使接种葡萄感病。干粉干压, 尤其是喷无菌水后干粉干压感病明显。但为了定量地控制接种病原孢

子数,笔者着重对喷雾和涂抹 2 种方式,用不同孢子含量的病原孢子进行了试验(表 3)。显而易见, 2×10^5 个/mL 为最佳的喷雾和涂抹接种液,其他则为偏重和偏轻型的。在喷雾和涂抹 2 种方法中,涂抹接种造成在叶缘处停留的孢子悬浮液量多,使叶片感病不均匀。所以,选择简便易行的喷雾方式,以 2×10^5 个/mL 悬浮液接种,鉴定葡萄对白粉病的抗性。葡萄抗白粉病鉴定时,在白粉病害流行年份,田间自然鉴定的结果可以表明葡萄真正的抗性程度,而在环境条件不利白粉病侵染发病时,辅之以 2×10^5 个/mL 田间人工喷雾悬浮孢子液接种鉴定为宜。

致谢: 本文成文过程中,植保系魏宁生教授、程廉教授对抗病鉴定方法提出过宝贵建议,谨表谢忱。

[参考文献]

- [1] Alledt G, Possingham J V. Progress in grapevine breeding[J]. Theor Appl Genet, 1988, 75: 669 ~ 673.
- [2] 贺普超, 王跃进, 王国英, 等. 中国葡萄属野生种抗病性研究[J]. 中国农业科学, 1991, 24(3): 50 ~ 56.
- [3] Wang Y, Liu Y, He P, et al. Valuation of foliar resistance to *Uncinula necator* in Chinese Wild *Vitis* species. *Vitis*, 1995, 34(3): 159 ~ 164.
- [4] 王跃进, 贺普超. 中国葡萄属野生种叶片抗白粉病遗传研究[J]. 中国农业科学, 1997, 30(1): 19 ~ 25.
- [5] Boubals D A. Study of the factors responsible for the resistance of vitaceae to grapevine powdery mildew (*U. necator* Schw. Burr) and their mode of inheritance[J]. Plant Breeding Abstract, 1961, 32: 946.
- [6] Roy R R, Ramming D W. Varietal resistance of grape to the powdery mildew fungus, *Uncinula necator*[J]. Fruit Varieties Journal, 1975, 44(3): 149 ~ 155.
- [7] 左大勋, 袁以苇. 我国葡萄属植物资源的地理分布及利用[A]. 南京中山植物园研究论文集[C]. 南京: 江苏科学技术出版社, 1981. 25 ~ 31.
- [8] 李 华, 张振文. 欧亚种葡萄白粉病抗性及其稳定性研究[J]. 园艺学报, 1992, 19(1): 23 ~ 28.

Studies on the methods of resistance to *Uncinula necator* in *Vitis*

WANG Yue-jin, HE Pu-chao, ZHANG Jian-xia

(Department of Horticulture, Northwestern Agricultural University, Yangling Shaanxi, 712100, China)

Abstract: The methods of Resistance to grapevine powdery mildew [*Uncinula necator* (Schweintz) Burrill] of 20 *Vitis* species native to China, were studied by field natural evaluation and field artificial inoculation, including spraying, smearing, and powdering. After 21 days identification was investigated and the results showed that the inoculation concentration 2×10^5 spores/mL by the spraying of grapevine powdery mildew was the best method in three inoculations under field conditions. There was a significant positive correlation coefficient of the resistance to the disease between field natural evaluation and field artificial inoculation as well as both the leaves and the berries of grapes.

Key words: grapevine; powdery mildew; disease-resistance; identification