

河北昌黎与广西资源两地区葡萄霜霉菌致病力分化分析

石 洁, 王喜娜, 孔繁芳, 梁丽莎, 王忠跃*, 张 昊*

(中国农业科学院植物保护研究所, 植物病虫害生物学国家重点实验室, 北京 100193)

摘要 为明确河北昌黎、广西资源两地不同葡萄品种来源霜霉菌致病力分化情况,本研究利用离体叶盘接种法测定了河北、广西主栽品种‘红宝石无核’、‘红地球’及‘巨峰’来源葡萄霜霉菌对不同鉴别寄主的致病力,观察不同地区、不同寄主来源病菌对同一感病材料以及同一寄主来源病菌对不同感病材料的致病力大小是否存在差异。结果表明:不同地区同一寄主来源病菌及同一来源不同菌株间致病力均存在差异,说明两个地区病菌群体间和群体内各菌株间均存在分化;两地不同寄主来源病菌群体对同一感病材料的致病力及同一寄主来源病菌群体对不同感病材料的致病力均存在显著差异,且广西资源地区菌株间差异性比河北昌黎地区更明显,说明不同寄主来源的菌株存在一定程度的分化。

关键词 葡萄霜霉菌; 致病力; 差异

中图分类号: S436.631 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3969/j.issn.0529-1542.2017.01.012

Virulence differentiation analysis of *Plasmopara viticola* in Changli, Hebei and Ziyuan, Guangxi

Shi Jie, Wang Xina, Kong Fanfang, Liang Lisha, Wang Zhongyue, Zhang Hao

(State Key Laboratory for Biology of Plant Disease and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract In order to understand the virulence differentiation of *Plasmopara viticola* in Hebei and Guangxi, the pathogenicity of three *P. viticola* strains collected from ‘Ruby Seedless’, ‘Red Globe’ and ‘Kyohō’ were analyzed by the inoculation method of isolated leaf disc. The results showed that the pathogenicity of *P. viticola* in the two areas or isolates from the same host variety were different. There were also some differences among different pathogenic strains, and the differences in Guangxi were more significant than those in Hebei. Therefore, there are diversities between the groups of the pathogen from different areas, and the strains from different host varieties are differentiated.

Key words *Plasmopara viticola*; pathogenicity; diversity

引起葡萄霜霉病发生的病原菌——葡萄单轴霜霉 *Plasmopara viticola* (Berk. et Curt.) Berl. et de Toni 为专性寄生菌^[1],属于卵菌门、卵菌纲、霜霉目、单轴霉属^[2],该病原菌可以侵染葡萄叶片、嫩梢、幼果等部位,造成果实品质降低、产量下降^[3],病害流行年份可造成葡萄减产达 20%~80%^[4-5],对我国乃至世界葡萄产业造成巨大威胁^[6-7]。目前,田间仍把化学防治作为最有效、快速的霜霉病防治手段,

但化学药剂使用不当易对生态环境及食品安全造成危害^[8],且如今人们对无污染、低残留的有机葡萄及其产品的需求量逐渐增加,优质、健康、绿色是葡萄产业未来的发展方向。因此,使用其他防控方法代替化学药剂防治受到广泛关注。探索葡萄霜霉菌与葡萄的互动,找到病原菌与寄主间对应关系,将为抗病性鉴定、指导葡萄合理栽植及该病害的有效防控提供理论依据。

收稿日期: 2016-03-19 修订日期: 2016-05-13

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项(201203035);国家现代农业产业技术体系专项资金(ncytx-30);中国农业科学院科技创新工程项目

* 通信作者 wangzhongyue0301@sina.com; hzhang@ippacaas.cn

目前,关于葡萄种质资源霜霉病抗性鉴定的内容在国内外已有较多报道,但不同报道间缺乏一致性,同一葡萄品种在不同地区的抗、感性存在显著差异。刘新秀等^[9]发现新疆地区‘克瑞森无核’属于抗性品种,而王壮伟等^[10]却将江苏地区‘克瑞森无核’划为高感品种;贺普超^[11]认为毛葡萄对霜霉病抗性较差,而林玲等^[12]却发现大部分毛葡萄野生株系对霜霉病表现为高抗,有的甚至表现为免疫,霜霉病菌与葡萄品种间长期协同进化可能导致不同地区霜霉病菌群体出现致病力分化,进而出现相同品种抗性评价不同的结果。Rouxel 等^[13]通过交互接种试验证实葡萄霜霉病菌存在专化型,表明霜霉菌在葡萄从野生种到栽培种的驯化过程中发生着协同进化,从而表现出种水平上的寄主差异性。黄晓庆等^[8]对采自不同地区‘红地球’、‘巨峰’及‘赤霞珠’上的 12 份霜霉菌的致病力进行比较分析,结果表明采自不同葡萄品种的病菌致病力存在分化。

当前绝大部分栽培种葡萄均属于欧亚种 *Vitis vinifera*,而在欧亚种内的品种水平上,霜霉菌的致病力分化是否与寄主有明显的相关性、规律性,是否形成不同的生理小种还未见报道。因此,本研究

选取两个葡萄种植结构和历史具有明显差异的生态区河北昌黎县和广西资源县,收集不同寄主品种的霜霉菌,对其致病力分化情况进行分析和比较,以期明确两地区霜霉菌致病力分化,为抗病育种、病害防控提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试菌株

用于致病性测定试验的霜霉菌菌株分别从河北省昌黎县、广西壮族自治区资源县两试验田栽植的‘红宝石无核’、‘红地球’及‘巨峰’葡萄上分离获得。田间采集新鲜、无杀菌剂污染的病样,蒸馏水冲洗 3~4 次后叶背向上置于 1% 水琼脂培养基上,放置于温度为 21℃,光照条件为 L//D=16 h//8 h 的光照培养箱内保湿培养,待重新长出新鲜病菌后,显微镜下挑取单孢子囊,接种在用打孔器打取的直径为 15 mm 的健康‘里扎马特’叶盘上,保湿培养,待叶盘长出新鲜浓密霉层,即为葡萄霜霉菌单孢分离的纯培养。每个地区的每个品种选取 10 个病原菌菌株(表 1)。

表 1 供试葡萄霜霉菌菌株

Table 1 *Plasmopara viticola* isolates used in this study

菌株编号 Strain no.	寄主品种 Host variety	采集地 Collection site	菌株编号 Strain no.	寄主品种 Host variety	采集地 Collection site
HBS-1-hb	红宝石无核	河北昌黎县	HBS-1-gx	红宝石无核	广西资源县
HBS-2-hb	红宝石无核	河北昌黎县	HBS-2-gx	红宝石无核	广西资源县
HBS-3-hb	红宝石无核	河北昌黎县	HBS-3-gx	红宝石无核	广西资源县
HBS-4-hb	红宝石无核	河北昌黎县	HBS-4-gx	红宝石无核	广西资源县
HBS-5-hb	红宝石无核	河北昌黎县	HBS-5-gx	红宝石无核	广西资源县
HBS-6-hb	红宝石无核	河北昌黎县	HBS-6-gx	红宝石无核	广西资源县
HBS-7-hb	红宝石无核	河北昌黎县	HBS-7-gx	红宝石无核	广西资源县
HBS-8-hb	红宝石无核	河北昌黎县	HBS-8-gx	红宝石无核	广西资源县
HBS-9-hb	红宝石无核	河北昌黎县	HBS-9-gx	红宝石无核	广西资源县
HBS-10-hb	红宝石无核	河北昌黎县	HBS-10-gx	红宝石无核	广西资源县
HDQ-1-hb	红地球	河北昌黎县	HDQ-1-gx	红地球	广西资源县
HDQ-2-hb	红地球	河北昌黎县	HDQ-2-gx	红地球	广西资源县
HDQ-3-hb	红地球	河北昌黎县	HDQ-3-gx	红地球	广西资源县
HDQ-4-hb	红地球	河北昌黎县	HDQ-4-gx	红地球	广西资源县
HDQ-5-hb	红地球	河北昌黎县	HDQ-5-gx	红地球	广西资源县
HDQ-6-hb	红地球	河北昌黎县	HDQ-6-gx	红地球	广西资源县
HDQ-7-hb	红地球	河北昌黎县	HDQ-7-gx	红地球	广西资源县
HDQ-8-hb	红地球	河北昌黎县	HDQ-8-gx	红地球	广西资源县
HDQ-9-hb	红地球	河北昌黎县	HDQ-9-gx	红地球	广西资源县
HDQ-10-hb	红地球	河北昌黎县	HDQ-10-gx	红地球	广西资源县
JF-1-hb	巨峰	河北昌黎县	JF-1-gx	巨峰	广西资源县
JF-2-hb	巨峰	河北昌黎县	JF-2-gx	巨峰	广西资源县
JF-3-hb	巨峰	河北昌黎县	JF-3-gx	巨峰	广西资源县
JF-4-hb	巨峰	河北昌黎县	JF-4-gx	巨峰	广西资源县

续表 1 Table 1(Continued)

菌株编号 Strain no.	寄主品种 Host variety	采集地 Collection site	菌株编号 Strain no.	寄主品种 Host variety	采集地 Collection site
JF-5-hb	巨峰	河北昌黎县	JF-5-gx	巨峰	广西资源县
JF-6-hb	巨峰	河北昌黎县	JF-6-gx	巨峰	广西资源县
JF-7-hb	巨峰	河北昌黎县	JF-7-gx	巨峰	广西资源县
JF-8-hb	巨峰	河北昌黎县	JF-8-gx	巨峰	广西资源县
JF-9-hb	巨峰	河北昌黎县	JF-9-gx	巨峰	广西资源县
JF-10-hb	巨峰	河北昌黎县	JF-10-gx	巨峰	广西资源县

1.1.2 接种葡萄品种

依据刘新秀等^[9]对葡萄种质资源抗霜霉病的鉴定结果,同时结合河北省昌黎县、广西壮族自治区资源县近年来广泛种植的葡萄栽培品种,选择抗感性较为稳定的‘红宝石无核’、‘红地球’及‘巨峰’3个品种作为鉴别寄主。为了保证接种材料生长情况一致性,试验所用接种材料及纯化扩繁使用的‘里扎马特’叶片均为中国农业科学院植物保护研究所廊坊基地葡萄园的新鲜、健康嫩叶。

1.2 试验方法

1.2.1 供试培养基的制备

1%水琼脂培养基的配制:电子天平称取 5 g 琼脂粉于锥形瓶中,用去离子水定容至 500 mL,封口,高压蒸汽灭菌锅 121℃ 灭菌 30 min,备用。

1.2.2 致病力测定

采用圆叶盘接种法。将分离的葡萄霜霉病菌菌株分别接种到‘红宝石无核’、‘红地球’、‘巨峰’叶盘上,观察不同地区、不同寄主来源病原菌对同一葡萄品种及同一寄主来源病原菌对不同葡萄品种的致病力大小是否存在差异。

葡萄枝条除去梢冠取第 3~5 片叶龄一致的嫩叶作为接种材料,用无菌水冲洗 3~5 次后于灭菌滤纸上晾干,使用直径为 15 mm 的打孔器在超净工作台内打成圆叶盘,叶背向上置于 1%水琼脂培养基上备用;刮取纯化扩繁的各霜霉病菌新鲜霉层,分别加入无菌水稀释成浓度为 1×10^6 个/mL 的孢子囊悬浮液,充分涡旋混匀后,每个叶盘上接种 15 μ L。每皿放 3 个品种叶盘各 10 片,两地区供试菌株各 30 个(表 1),每个菌株设立 3 组重复,以叶盘滴加等量无菌水作为对照,将其置于光照培养箱(21℃,24 h 黑暗)培养 24 h 之后,用灭菌滤纸条吸去多余菌液后用封口膜封口,继续培养(21℃,L//D=16 h//8 h)。

接种后 3~13 d 调查发病情况。记录初始发病时间、接种第 11 天时的病叶数^[8]及发病级数。

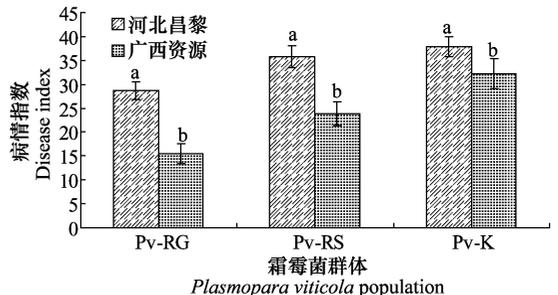
根据农业部农药田间药效试验准则制定的分级标准^[15],霜霉病病害严重度可分为 6 个级别:0 级,未发病;1 级,发病面积占整个叶面积的 6% 以下;3 级,发病面积占整个叶面积的 6%~25%;5 级,发病面积占整个叶面积的 26%~50%;7 级,发病面积占整个叶面积的 51%~75%;9 级,发病面积占整个叶面积的 75% 以上。根据调查结果,计算病情指数:

$$\text{病情指数} = 100 \times \frac{\sum(\text{各级病叶数} \times \text{各级代表值})}{(\text{调查总叶数} \times \text{最高级代表值})}$$

2 结果与分析

2.1 不同地区同一寄主来源葡萄霜霉病菌致病力分析结果

河北昌黎和广西资源地区同一寄主来源病原菌对 3 个葡萄品种病情指数综合分析结果(图 1)显示:来自不同地区的‘红地球’、‘红宝石无核’、‘巨峰’来源霜霉菌群体致病力均存在显著差异(‘红地球’: $F = 34.49, P < 0.001$; ‘红宝石无核’: $F = 19.72, P < 0.001$; ‘巨峰’: $F = 4.30, P = 0.039$)。



柱上不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著。Pv-RG 代表‘红地球’霜霉病菌群体、Pv-RS 代表‘红宝石无核’霜霉病菌群体、Pv-K 代表‘巨峰’霜霉病菌群体。下同
Data with different lowercase letters on the bars are significantly different at 0.05 level. Pv-RG indicates *Plasmopara viticola* isolates from ‘Red Globe’; Pv-RS indicates *P. viticola* isolates from ‘Ruby Seedless’, and Pv-K indicates *P. viticola* isolates from ‘Kyohō’. The same below

图 1 不同地区同一寄主来源葡萄霜霉病菌致病力分析

Fig. 1 Pathogenicity analysis of *Plasmopara viticola* isolates from the same variety in different areas

2.2 不同葡萄霜霉菌菌株间致病力分析结果

河北昌黎与广西资源地区不同群体间菌株致病力测定结果(表 2、表 3、表 4)表明:不同寄主来源病原菌群体接种‘红宝石无核’、‘红地球’、‘巨峰’叶盘,其发病的潜育期及病情指数均存在差异,且广西资源比河北昌黎各病原菌群体潜育期更长、病情指数相对更低。不区分接种寄主综合分析病情指数表明:同一寄主来源的菌株间对 3 个葡萄品种的致病力存在显著差异(河北‘红宝石无核’: $F=8.11, P<0.001$;河北‘红地球’: $F=4.17, P<0.001$;河北‘巨峰’: $F=10.43, P<0.001$;广西‘红宝石无核’: $F=25.84, P<0.001$;广西‘红地球’: $F=26.72, P<0.001$;广西‘巨峰’: $F=19.39, P<0.001$)。

表 2 ‘红宝石无核’来源的不同葡萄霜霉菌菌株的致病性分析¹⁾

Table 2 Pathogenicity analysis of *Plasmopara viticola* isolates from ‘Ruby Seedless’

采集地 Collection site	菌株编号 Strain no.	潜育期/d Incubation period	11 d 病情指数 Disease index on the 11th day
河北昌黎县	HBS-1-hb	5	(34.72±6.51)abcd
河北昌黎县	HBS-2-hb	4	(40.23±7.82)abc
河北昌黎县	HBS-3-hb	4	(29.96±4.68)cd
河北昌黎县	HBS-4-hb	5	(33.72±5.18)abcd
河北昌黎县	HBS-5-hb	5	(30.53±4.79)bcd
河北昌黎县	HBS-6-hb	5	(28.66±7.53)d
河北昌黎县	HBS-7-hb	4	(38.29±8.84)abcd
河北昌黎县	HBS-8-hb	5	(42.52±9.01)a
河北昌黎县	HBS-9-hb	4	(40.89±8.66)ab
河北昌黎县	HBS-10-hb	4	(40.73±9.39)ab
广西资源县	HBS-1-gx	4	(39.31±8.25)ab
广西资源县	HBS-2-gx	5	(7.64±0.03)d
广西资源县	HBS-3-gx	5	(15.98±3.63)cd
广西资源县	HBS-4-gx	4	(35.84±7.34)b
广西资源县	HBS-5-gx	6	(22.16±4.13)c
广西资源县	HBS-6-gx	6	(7.33±1.06)d
广西资源县	HBS-7-gx	4	(48.34±8.09)a
广西资源县	HBS-8-gx	5	(21.20±6.67)c
广西资源县	HBS-9-gx	5	(6.91±3.54)d
广西资源县	HBS-10-gx	5	(45.69±7.06)a

1) 表中数据为平均值±标准误。“—”表示接种叶盘未发病。同列数据后不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著。下同。
Data are presented as mean±SE. — indicates no infection symptoms on the leaf disc. Different lowercase letters in the same column indicate significant difference at 0.05 level. The same below.

表 3 ‘红地球’来源的不同葡萄霜霉菌菌株的致病性分析

Table 3 Pathogenicity analysis of *Plasmopara viticola* isolates from ‘Red Globe’

采集地 Collection site	菌株编号 Strain no.	潜育期/d Incubation period	11 d 病情指数 Disease index on the 11th day
河北昌黎县	HDQ-1-hb	5	(28.20±6.79)bede
河北昌黎县	HDQ-2-hb	5	(23.06±7.76)de
河北昌黎县	HDQ-3-hb	5	(30.80±5.18)abcde
河北昌黎县	HDQ-4-hb	4	(34.73±7.25)abc
河北昌黎县	HDQ-5-hb	5	(23.93±3.75)cde
河北昌黎县	HDQ-6-hb	4	(41.81±5.86)a
河北昌黎县	HDQ-7-hb	4	(32.46±5.39)abcd
河北昌黎县	HDQ-8-hb	4	(34.76±3.25)abc
河北昌黎县	HDQ-9-hb	4	(38.83±5.24)ab
河北昌黎县	HDQ-10-hb	5	(21.00±5.31)e
广西资源县	HDQ-1-gx	6	(30.48±5.49)b
广西资源县	HDQ-2-gx	6	(19.25±3.45)c
广西资源县	HDQ-3-gx	—	(0.00)e
广西资源县	HDQ-4-gx	5	(48.03±5.53)a
广西资源县	HDQ-5-gx	6	(4.14±0.41)de
广西资源县	HDQ-6-gx	6	(10.59±2.96)d
广西资源县	HDQ-7-gx	5	(10.28±3.57)d
广西资源县	HDQ-8-gx	5	(23.20±5.83)bc
广西资源县	HDQ-9-gx	5	(27.85±5.69)b
广西资源县	HDQ-10-gx	6	(4.96±2.10)de

表 4 ‘巨峰’来源的不同葡萄霜霉菌菌株的致病性分析

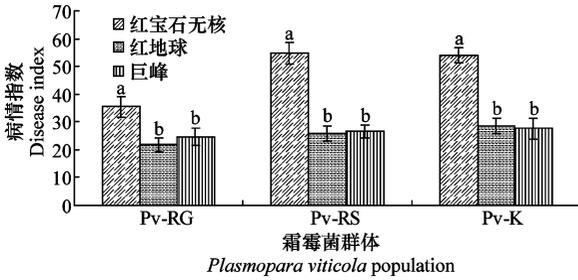
Table 4 Pathogenicity analysis of *Plasmopara viticola* isolates from ‘Kyohō’

采集地 Collection site	菌株编号 Strain no.	潜育期/d Incubation period	11 d 病情指数 Disease index on the 11th day
河北昌黎县	JF-1-hb	4	(40.99±3.97)ab
河北昌黎县	JF-2-hb	5	(29.87±4.72)cd
河北昌黎县	JF-3-hb	4	(22.98±8.22)d
河北昌黎县	JF-4-hb	5	(32.87±6.88)bc
河北昌黎县	JF-5-hb	5	(40.60±8.43)ab
河北昌黎县	JF-6-hb	5	(41.90±7.98)ab
河北昌黎县	JF-7-hb	5	(34.69±6.08)bc
河北昌黎县	JF-8-hb	5	(39.52±6.09)abc
河北昌黎县	JF-9-hb	4	(42.10±4.97)ab
河北昌黎县	JF-10-hb	5	(47.93±7.34)a
广西资源县	JF-1-gx	5	(29.16±10.06)b
广西资源县	JF-2-gx	4	(44.56±9.12)a
广西资源县	JF-3-gx	4	(40.64±9.95)ab
广西资源县	JF-4-gx	7	(1.17±0.39)d
广西资源县	JF-5-gx	4	(43.74±10.83)a
广西资源县	JF-6-gx	5	(38.17±0.08)ab
广西资源县	JF-7-gx	5	(6.81±2.52)cd
广西资源县	JF-8-gx	5	(40.19±10.37)ab
广西资源县	JF-9-gx	4	(42.35±9.47)a
广西资源县	JF-10-gx	6	(17.09±7.53)c

2.3 同一地区不同寄主来源葡萄霜霉病菌对3个葡萄品种的致病力分析结果

将河北昌黎与广西资源两个地区的试验菌株按照品种来源不同划分为3个群体,试验结果表明:同一地区不同寄主来源病原菌致病力不同,河北地区不同群体霜霉病菌菌株致病力存在显著差异($F=3.93, P<0.05$),其中来源于‘红地球’的病原菌致病力显著小于其他两个品种,而来源于‘红宝石无核’和‘巨峰’的群体病菌致病力无显著

差异。‘红宝石无核’叶盘抗性最弱,‘巨峰’叶盘抗性强,来源于‘巨峰’的菌株致病力强(图2、图4);广西地区不同群体各菌株之间霜霉病菌致病力也存在显著差异($F=19.07, P<0.05$),同一品种来源的霜霉病菌对不同品种叶盘的致病力不同,来源于‘巨峰’的病菌致病力最强,来源于‘红地球’的病菌致病力最弱,且‘红地球’叶盘抗性最强,‘巨峰’、‘红宝石无核’叶盘抗性相对较弱(图3、图5)。



柱上不同小写字母表示在0.05水平上差异显著。Pv-RG代表‘红地球’霜霉病菌群体、Pv-RS代表‘红宝石无核’霜霉病菌群体、Pv-K代表‘巨峰’霜霉病菌群体。下同
Data with different lowercase letters on the bars are significantly different at 0.05 level.
Pv-RG: *Plasmopara viticola* isolates from ‘Red Globe’; Pv-RS: *P. viticola* isolates from ‘Ruby Seedless’; Pv-K: *P. viticola* isolates from ‘Kyohō’. The same below

图2 河北昌黎地区不同寄主来源葡萄霜霉病菌对3个葡萄品种的致病力

Fig. 2 Pathogenicity of *Plasmopara viticola* isolates from different varieties against three varieties in Changli, Hebei

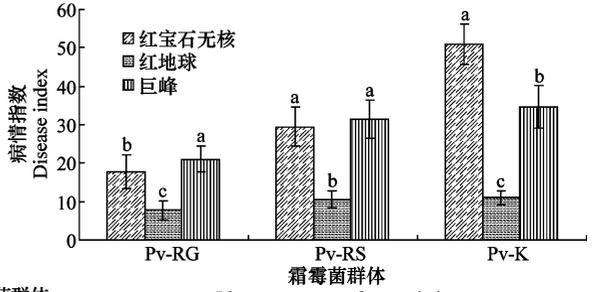
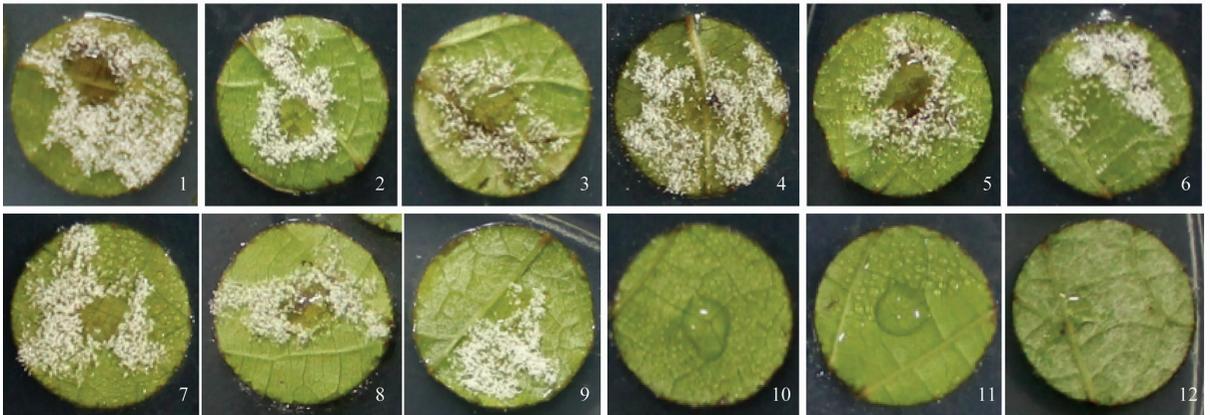


图3 广西资源地区不同寄主来源霜霉病菌对3个品种的致病力

Fig. 3 Pathogenicity of *Plasmopara viticola* isolates from different varieties against three varieties in Ziyuan, Guangxi



1: ‘巨峰’菌株接种‘红宝石无核’叶盘; 2: ‘巨峰’菌株接种‘红地球’叶盘; 3: ‘巨峰’菌株接种‘巨峰’叶盘; 4: ‘红宝石无核’菌株接种‘红宝石无核’叶盘; 5: ‘红宝石无核’菌株接种‘红地球’叶盘; 6: ‘红宝石无核’菌株接种‘巨峰’叶盘; 7: ‘红地球’菌株接种‘红宝石无核’叶盘; 8: ‘红地球’菌株接种‘红地球’叶盘; 9: ‘红地球’菌株接种‘巨峰’叶盘; 10: 清水接种‘红宝石无核’叶盘; 11: 清水接种‘红地球’叶盘; 12: 清水接种‘巨峰’叶盘
1: ‘Kyohō’ isolate inoculated on ‘Ruby Seedless’ leaf disc; 2: ‘Kyohō’ isolate inoculated on ‘Red Globe’ leaf disc; 3: ‘Kyohō’ isolate inoculated on ‘Kyohō’ leaf disc; 4: ‘Ruby Seedless’ isolate inoculated on ‘Ruby Seedless’ leaf disc; 5: ‘Ruby Seedless’ isolate inoculated on ‘Red Globe’ leaf disc; 6: ‘Ruby Seedless’ isolate inoculated on ‘Kyohō’ leaf disc; 7: ‘Red Globe’ isolate inoculated on ‘Ruby Seedless’ leaf disc; 8: ‘Red Globe’ isolate inoculated on ‘Red Globe’ leaf disc; 9: ‘Red Globe’ isolate inoculated on ‘Kyohō’ leaf disc; 10: ddH₂O inoculated on ‘Ruby Seedless’ leaf disc; 11: ddH₂O inoculated on ‘Red Globe’ leaf disc; 12: ddH₂O inoculated on ‘Kyohō’ leaf disc

图4 河北昌黎地区不同寄主来源霜霉病菌接种不同叶盘发病结果

Fig. 4 *Plasmopara viticola* isolates from different varieties in Hebei Province inoculated on three kinds of hosts

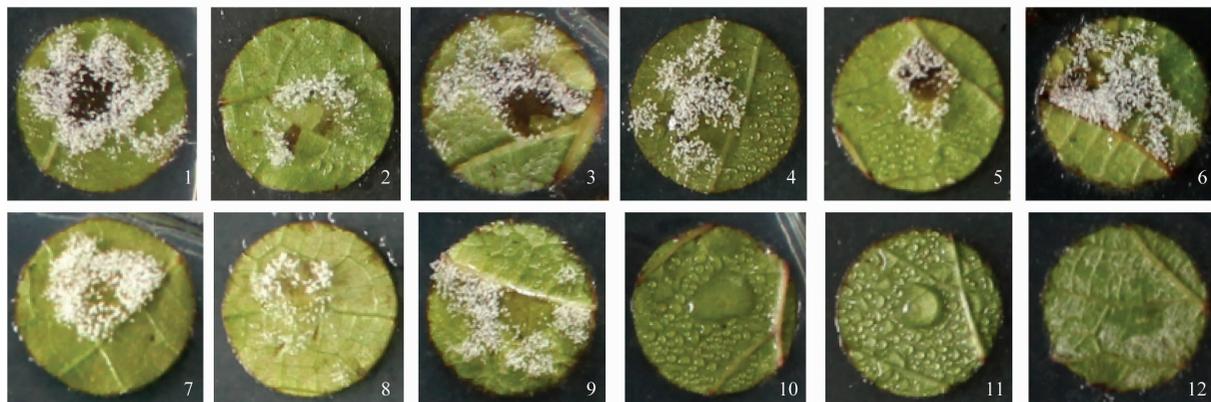
3 讨论

圆叶盘接种法节约材料、试验空间小、鉴定方法

简便,且试验效果与田间发病反应最为接近^[16-17],可以更好地反映寄主品种对病原菌的抗感程度^[14],适合做大量菌株的测定^[18],因此本研究利用这种方

法进行致病力测定。由于叶盘面积较小,采用喷雾法极易造成孢子囊悬浮液流失,且不易控制每个叶盘喷洒量一致,本研究参考 Rouxel 等^[13]、张眉等^[19]采用的悬滴法进行病原菌接种。葡萄霜霉病

的潜育期为 7~12 d,且接种不同品种潜育期也不同,通过预试验及参考黄晓庆等^[8]的调查方法,确定接种后第 11 天各接种品种的发病情况最能代表整体发病情况。



1: ‘巨峰’菌株接种‘红宝石无核’叶盘; 2: ‘巨峰’菌株接种‘红地球’叶盘; 3: ‘巨峰’菌株接种‘巨峰’叶盘; 4: ‘红宝石无核’菌株接种‘红宝石无核’叶盘; 5: ‘红宝石无核’菌株接种‘红地球’叶盘; 6: ‘红宝石无核’菌株接种‘巨峰’叶盘; 7: ‘红地球’菌株接种‘红宝石无核’叶盘; 8: ‘红地球’菌株接种‘红地球’叶盘; 9: ‘红地球’菌株接种‘巨峰’叶盘; 10: 清水接种‘红宝石无核’叶盘; 11: 清水接种‘红地球’叶盘; 12: 清水接种‘巨峰’叶盘
1: ‘Kyohō’ isolate inoculated on ‘Ruby Seedless’ leaf disc; 2: ‘Kyohō’ isolate inoculated on ‘Red Globe’ leaf disc; 3: ‘Kyohō’ isolate inoculated on ‘Kyohō’ leaf disc; 4: ‘Ruby Seedless’ isolate inoculated on ‘Ruby Seedless’ leaf disc; 5: ‘Ruby Seedless’ isolate inoculated on ‘Red Globe’ leaf disc; 6: ‘Ruby Seedless’ isolate inoculated on ‘Kyohō’ leaf disc; 7: ‘Red Globe’ isolate inoculated on ‘Ruby Seedless’ leaf disc; 8: ‘Red Globe’ isolate inoculated on ‘Red Globe’ leaf disc; 9: ‘Red Globe’ isolate inoculated on ‘Kyohō’ leaf disc; 10: ddH₂O inoculated on ‘Ruby Seedless’ leaf disc; 11: ddH₂O inoculated on ‘Red Globe’ leaf disc; 12: ddH₂O inoculated on ‘Kyohō’ leaf disc

图 5 广西资源不同寄主来源霜霉菌接种不同叶盘发病结果

Fig. 5 *Plasmopara viticola* isolates from different varieties in Guangxi Province inoculated on three kinds of hosts

河北昌黎地区是我国重要的葡萄产区,有 400 多年葡萄种植历史,栽植品种繁多;而广西资源地区葡萄种植历史较短,自 2002 年起规模化种植,到现在只有十几年,且主栽品种单一,主要为‘红地球’。两地区种植结构和种植历史都有明显差异,因此我们选择这两个生态区分析霜霉菌致病力分化与寄主品种之间的关系。

该项研究表明,不同地区同一寄主来源病原菌致病力不同,且广西菌株间差异性比河北更明显,同一来源不同菌株间致病力也存在差异,说明两个地区病原菌群体间和群体内各菌株间均存在分化。在两个地区内,采自不同品种的霜霉菌群体间致病力也有显著差异,说明不同寄主来源的菌株存在一定程度的分化。该结论与 Rouxel^[13]、黄晓庆^[8]、周婷婷^[20]等得到的结果一致,但与刘旭等^[21]研究结果有所差异,可能与霜霉菌的来源有关,具体原因有待于进一步验证。

本研究发现,不同地区同一寄主来源霜霉菌致病力有显著差异,说明不同的生态环境、寄主品种组成对病原菌的群体结构有显著影响。河北昌黎地区不同寄主来源的霜霉菌群体间致病力差异显著,说

明该地区的霜霉菌长期处于多种复杂的选择压力下,导致群体间表现出较高的多样性水平,这一地区来源于‘巨峰’的霜霉菌致病力较强且‘巨峰’叶盘抗病性也较强,说明在病原菌和寄主长期的协同进化中,两者之间也表现出一定程度上的规律性。通常认为大面积种植单一的寄主品种,对病原菌的选择压力也较为单一,从而造成病原菌群体多样性较低。但在广西资源地区试验却得到相反的结果,不同寄主来源的霜霉菌群体之间致病力差异十分显著,并且比河北昌黎的差异性更高,说明其多样性更高,其原因可能由于广西地区的栽培苗木多从外地不同地区引进,其初始病原菌可能来自于不同的生态区,而且较短的种植历史,菌株间遗传交换有限,正处于进化的过程中,不同来源病原菌群体之间没有足够的时间通过有性生殖互相融合来打破之间的遗传差异,群体间仍然存在一定的寄主偏好性,导致致病力的显著差异。而昌黎地区,虽然多品种引起的多样化的选择压力提高了霜霉菌个体间遗传多样性,但小范围内长时间的群体间融合,也会降低群体间的遗传差异,形成一个大的相对稳定的随机交配群体。因此,我们推测,在现有品种结构不变的情况下,随

着种植时间的增长,广西资源县的霜霉菌群体会快速融合、进化,对主栽品种产生更强的侵染能力。

本研究通过致病力测定与比较分析,明确了不同生态环境、种植结构对葡萄霜霉菌群体遗传结构影响显著,分析了河北昌黎和广西资源两地不同品种来源霜霉菌的遗传分化状况。但由于生态环境和种植结构的差异,本结果并不能完全代表其他地区群体特性,所以要得到我国各个地区不同寄主来源病原菌致病力分化情况仍需要进一步的试验来验证。

参考文献

[1] Wong F P, Burr H N, Wilcox W F. Heterothallism in *Plasmopara viticola* [J]. *Plant Pathology*, 2001, 50(4): 427 - 432.

[2] Gessler C, Pertot I, Perazzolli M. *Plasmopara viticola*: a review of knowledge on downy mildew of grapevine and effective disease management [J]. *Phytopathologia Mediterranea*, 2011, 50(1): 43 - 44.

[3] 王忠跃. 中国葡萄病虫害与综合防控技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2009.

[4] 马延庆, 千琼丽, 刘长民, 等. 咸阳地区葡萄霜霉病的发生规律与气象条件关系分析[J]. *中外葡萄与葡萄酒*, 2008(5): 35 - 37.

[5] 董阳辉, 徐佩娟, 陈宝忠, 等. 葡萄霜霉病发生与防治技术[J]. *农业科技通讯*, 2011(4): 216 - 217.

[6] 李华, 郭明浩. 葡萄霜霉病预测模型及预警技术研究进展[J]. *中国农学通报*, 2005, 21(10): 313 - 316.

[7] Burruano S. The life-cycle of *Plasmopara viticola*, cause of downy mildew of vine [J]. *Mycologist*, 2000, 14(4): 179 - 182.

[8] 黄晓庆, 孔祥久, 孔繁芳, 等. 不同寄主来源的葡萄霜霉病菌致病

力测定及孢子囊大小比较[J]. *植物保护*, 2015, 41(3): 178 - 182.

[9] 刘新秀, 金恭玺, 李虎, 等. 葡萄种质资源抗霜霉病鉴定[J]. *新疆农业科学*, 2013, 50(5): 857 - 863.

[10] 王壮伟, 吴伟民, 王西成, 等. 江苏地区葡萄种质资源霜霉病抗性鉴定[J]. *江西农业学报*, 2015, 27(9): 41 - 44.

[11] 贺普超. 葡萄学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999: 23 - 24.

[12] 林玲, 黄羽, 卢江, 等. 南方湿热地区不同葡萄品种霜霉病抗性鉴定[J]. *西北农业学报*, 2013, 22(2): 136 - 140.

[13] Rouxel M, Mestre P, Comont G, et al. Phylogenetic and experimental evidence for host-specialized cryptic species in a biotrophic oomycete [J]. *New Phytologist*, 2013, 197(1): 251 - 263.

[14] 刘新秀, 张莉, 任毓忠, 等. 葡萄品种抗霜霉病不同鉴定方法的比较和相关性分析[J]. *新疆农业科学*, 2012, 49(7): 1244 - 1249.

[15] 农药田间药效试验准则(二)[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004.

[16] Liu S M, Sykes S, Clingeleffer P R. A method using leafed single-node cuttings to evaluate downy mildew resistance in grapevine [J]. *Vitis Geilweilerhof*, 2003, 42(4): 173 - 180.

[17] Boso S, Kassemeyer H H. Different susceptibility of European grapevine cultivars for downy mildew [J]. *Vitis*, 2008, 47(1): 39 - 49.

[18] 毕秋艳, 马志强, 张小风, 等. 三省份葡萄霜霉菌致病型的划分[J]. *中国农业科技导报*, 2014(2): 50 - 58.

[19] 张眉, 辛相启, 吴斌, 等. 山东葡萄霜霉病菌致病力分化及亲缘关系研究[J]. *山东农业科学*, 2015(4): 95 - 99.

[20] 周婷婷. 新疆地区葡萄霜霉病菌致病性分化研究[D]. 石河子: 石河子大学, 2015.

[21] 刘旭, 梁曼, 王阳, 等. 不同地区葡萄霜霉病菌生物学特性及致病力研究[J]. *北方园艺*, 2013(6): 119 - 122.

(责任编辑: 田 喆)

(上接 60 页)

[21] Chung H, Sztal T, Pasricha S, et al. Characterization of *Drosophila melanogaster* cytochrome P450 genes[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(14): 5731 - 5736.

[22] 王炜, 陈少良, 崔峰. 致倦库蚊 GSTe1 和 CYP9J40 的时空表达特点[J]. *应用昆虫学报*, 2014, 51(6): 1538 - 1544.

[23] 郑笑笑, 魏苹, 赵丽娜, 等. 甜菜夜蛾 P450 基因的克隆及组织特异性分析[J]. *杭州师范大学学报: 自然科学版*, 2012, 11(3): 198 - 204.

[24] Yang J, McCart C, Woods D J, et al. A *Drosophila* systems approach to xenobiotic metabolism [J]. *Physiological Genomics*, 2007, 30(3): 223 - 231.

[25] Gilbert L I, Iatrou K, Gill S S. *Comprehensive molecular insect science* [M]. Oxford: Elsevier, 2005.

[26] Wondji C S, Irving H, Morgan J, et al. Two duplicated P450 genes are associated with pyrethroid resistance in *Anopheles funestus*, a major malaria vector [J]. *Genome Research*, 2009, 19(3): 452

- 459.

[27] Pottelberge S V, Leeuwen T V, Amermaet K V, et al. Induction of cytochrome P450 monooxygenase activity in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae*, and its influence on acaricide toxicity [J]. *Pesticide Biochemistry & Physiology*, 2008, 91(2): 128 - 133.

[28] 刘昌燕, 曾凡荣. 大草蛉 P450 基因 cDNA 片段的克隆及吡虫啉诱导表达[J]. *中国生物防治学报*, 2014, 30(3): 427 - 433.

[29] Guo Yanqiong, Zhang Jianzhen, Yu Rongrong, et al. Identification of two new cytochrome P450 genes and RNA interference to evaluate their roles in detoxification of commonly used insecticides in *Locusta migratoria* [J]. *Chemosphere*, 2012, 87(7): 709 - 717.

[30] Zhou Xiaojie, Sheng Chengfa, Li Mei, et al. Expression responses of nine cytochrome P450 genes to xenobiotics in the cotton bollworm *Helicoverpa armigera* [J]. *Pesticide Biochemistry & Physiology*, 2010, 97(3): 209 - 213.

(责任编辑: 田 喆)