

不同地区葡萄霜霉病菌生物学特性及致病力研究

刘旭^{1,2}, 梁曼¹, 王阳³, 喻冉月¹, 王华^{1,2}, 李华^{1,2}

(1. 西北农林科技大学 葡萄酒学院, 陕西 杨凌 712100; 2. 陕西省葡萄与葡萄酒工程中心, 陕西 杨凌 712100;

3. 西北农林科技大学 植保学院, 陕西 杨凌 712100)

摘要:以“红地球”葡萄为试材,研究了重庆和陕西地区葡萄霜霉病菌的生物学特性,比较分析了其致病力差异。结果表明:重庆和陕西地区葡萄霜霉病的孢子囊形态差异较小,但陕西地区的孢子囊梗更长,分支更多。硝酸铵、蛋白胨和氯化铵作为氮源,以及葡萄糖、麦芽糖和蔗糖作为碳源均对孢子囊的萌发具有一定的抑制作用。该病菌在 pH 4.5~8.5 的培养条件均能萌发,但重庆地区孢子囊萌发的最适 pH 值高于陕西。2 个地区霜霉病孢子囊最佳的萌发温度为 20℃,且在水膜中的萌发率最高。叶盘法离体培养下,2 个地区葡萄霜霉病菌的病级指数集中在 0 和 1,且以 1 为主。

关键词:霜霉病;生物学特性;致病力;葡萄

中图分类号:S 436.631.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)06-0119-04

葡萄霜霉病 [*Plasmopara viticola* (Berk et Curtis) Bert. et de Toni] 为专性寄生病害,是危害葡萄最严重的真菌病害之一,世界上几乎所有种植葡萄的地区几乎都有发生^[1]。葡萄霜霉菌属鞭毛菌亚门、卵菌纲、霜霉菌目、霜霉菌科、单轴霉属。它主要侵染植株的幼嫩器官,危害叶片、嫩梢和幼果等。如果防治不及时,会导致葡萄植株叶片提前脱落,病梢扭曲,严重影响植株树势,以及果实的产量和品质^[2]。同时,葡萄霜霉病属于低温病害,病菌孢子囊的形成、萌发以及游动孢子的萌发侵入均要求一定的温湿度条件,而且不同地区的葡萄霜霉病菌的生物学特性和致病力有所差异。前人对不同地区葡萄霜霉病发生的预测预报^[3-4]和发病规律^[5-6]研究较多。该试验对陕西和重庆葡萄种植代表性地区葡萄霜霉病菌孢子囊的形态特征、生物学特性和致病力进行了测定,为进一步研究该地区葡萄霜霉病的发病规律,指导预测预报提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

霜霉病菌分别于葡萄霜霉病发病盛期,在陕西杨凌地区和重庆九龙坡区采集。供试葡萄品种为“红地球”。

第一作者简介:刘旭(1980-),男,博士,讲师,现主要从事葡萄与葡萄酒相关研究工作。E-mail:liuxu@nwsuaf.edu.cn.

责任作者:李华(1959-),男,博士,教授,博士生导师,现主要从事葡萄与葡萄酒相关研究工作。E-mail:lihuawine@nwsuaf.edu.cn.

基金项目:公益性行业(农业)科研专项资助项目(201203035);西北农林科技大学基本科研业务费资助项目(QN2011099)。

收稿日期:2012-12-10

1.2 试验方法

1.2.1 孢子囊形态特征观察 采用奥林巴斯显微镜(CX31-32RF)观察。

1.2.2 病菌生物学特性测定 不同氮源对孢子囊萌发的影响:选用硝酸铵、蛋白胨和氯化铵分别配成 10% 的溶液加入孢子囊制成孢子囊悬浮液,用清水处理作对照。每隔一定时间进行观察,计测孢子囊的萌发率,每处理测 200 个孢子囊试验,重复 2 次。不同碳源对孢子囊萌发的影响:选用葡萄糖、麦芽糖和蔗糖分别配成 10% 的溶液加入孢子囊制成孢子囊悬浮液,用清水处理作对照。采用悬滴法置于(15±1)℃条件下(LRH-400-GSI,广东韶关)培养 24 h,期间定期测定孢子囊萌发率,每处理测 200 个孢子囊,重复 2 次。不同 pH 对孢子囊萌发的影响:用 1 M 的 NaOH 和 HCl 将孢子囊悬浮液分别调至 pH 为 4.5、5.5、6.5、7.5 和 8.5(用 PS-3C 型酸度计测量)。采用悬滴法培养 24 h。培养条件和测定方法与不同碳源对孢子囊萌发的影响相同。不同温度对孢子囊萌发的影响:用无菌水配制孢子囊悬浮液,采用悬滴法。将孢子囊悬浮液分别置于 5、10、15、20 和(25±1)℃温度条件下培养,期间定期观察计测孢子囊的萌发率。每处理测 200 个孢子囊,重复 2 次。不同湿度对孢子囊萌发的影响:将孢子囊撒于载玻片上,然后置于相对湿度为 81%、90%、93%、95%、100% 和水滴中培养 48 h。培养条件和测定方法与不同碳源对孢子囊萌发的影响相同。

1.2.3 病菌致病力测定 分别取 2 个地区的发病叶片,用洁净的毛笔蘸蒸馏水将病叶上霜霉菌孢子囊刷下于

蒸馏水中,配成孢子悬浮液,用血球计数板测定其浓度。将其浓度稀释至 5~10 个细胞/ μL 。悬浮液在室温下 20~22℃ 培养 30~60 min,并取 1 滴孢子囊悬浮液置于显微镜下经常进行观察,当观察到有游动孢子出现,便可进行接种。采集健康无病的葡萄叶片,用直径 10 mm 的打孔器制作叶盘。培养皿中添加浅层蒸馏水,叶盘背面向上漂浮于液面上,在叶盘中心点接 10 μL 孢子悬浮液,每培养皿 5 片叶盘,分别制作 4 个培养皿,加盖保湿,15℃、12 h 光照条件下在人工气候箱中培养 7~8 d 观察发病情况。叶盘病情分级标准:0 级:叶盘无病斑;1 级:病斑面积占叶盘面积 1%~20%;2 级:21%~50%;3 级:50%以上。

2 结果与分析

2.1 不同地区葡萄霜霉病孢子囊形态

2.1.1 陕西杨凌地区葡萄霜霉病孢子囊形态 该地区葡萄霜霉病的孢子囊呈卵圆形或椭圆形,无色,顶端有乳头状突起,大小(长×宽)为(10~15)×(6~10) μm ;孢子囊梗多数丛生,无色,(110~160)×(2~8) μm ,单轴直角、近直角或近 60°角,分支 4~6 次,顶枝尖端顿平,长 2~3 个小梗,小梗圆锥形、近圆柱形,末端钝,上着生有孢子囊。

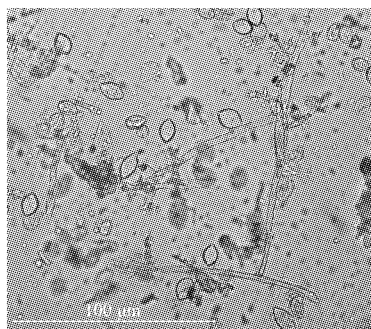


图 1 陕西地区葡萄霜霉病孢子囊梗

Fig. 1 Sporangium of grape downy mildew in Shaanxi



图 2 陕西地区葡萄霜霉病游动孢子

Fig. 2 Spores of grape downy mildew in Shaanxi

2.1.2 重庆地区葡萄霜霉病孢子囊形态 该地区葡萄霜霉病的孢子囊呈圆形或卵圆形,无色,顶端有乳头状突起,大小(长×宽)为(10~17)×(3~9) μm ;孢子囊梗

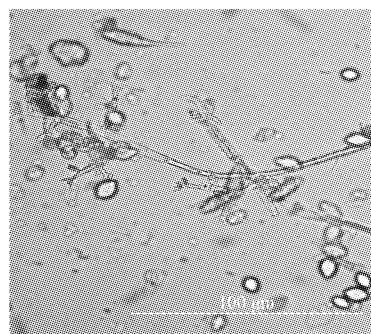


图 3 重庆地区葡萄霜霉病孢子囊梗

Fig. 3 Sporangium of grape downy mildew in Chongqing

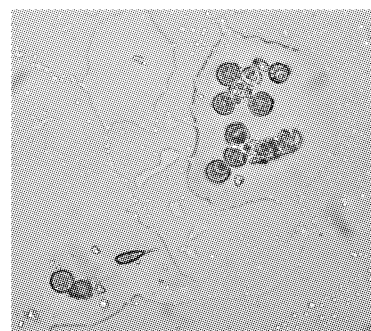


图 4 重庆地区葡萄霜霉病游动孢子

Fig. 4 Spores of grape downy mildew in Chongqing

多数丛生,无色,(75~115)×(3~5) μm ,单轴直角、近直角,分支 3~4 次,顶枝尖端顿平,长 2~3 个小梗,小梗多数圆锥形,上着生有孢子囊。

2.2 2 个地区葡萄霜霉病孢子囊生物学特性的差异

2.2.1 不同氮源对 2 个地区葡萄霜霉病孢子囊萌发的影响 由表 1 可知,在(15±1)℃时,3 种氮源下重庆和陕西 2 个地区葡萄霜霉病的孢子囊在不同测定时间其萌发率不同。结果表明,以蛋白胨为氮源时,各个测定时期重庆地区的孢子囊萌发率均高于陕西。以硝酸铵和氯化铵为氮源时,在孢子囊悬浮 4 h 内重庆地区的孢子囊萌发率高于陕西,但 7 h 后则略低于陕西。另外,3 种氮源对 2 个地区葡萄霜霉病孢子囊的萌发均有一定的抑制作用,其中以氯化铵的抑制作用最强。这与在“全球红”葡萄上的研究一致^[7]。

表 1 不同氮源对葡萄霜霉病孢子囊萌发率的影响

Table 1 Effect of different nitrogen sources on germination rate of sporangium of grape downy mildew %

测定时间 /h	清水(CK)		硝酸铵		蛋白胨		氯化铵	
	重庆	陕西	重庆	陕西	重庆	陕西	重庆	陕西
2	47.36	47.78	45.24	40.63	53.06	32.82	43.99	40.00
4	54.99	53.43	50.00	40.58	47.95	34.13	49.68	43.86
7	54.10	51.50	43.24	48.99	44.46	35.26	40.87	41.03
24	65.54	81.44	43.61	44.90	46.07	42.15	41.90	43.15

2.2.2 不同碳源对 2 个地区葡萄霜霉病孢子囊萌发的影响 由表 2 可知,重庆和陕西 2 个地区葡萄霜霉病孢子囊在 3 种碳源下的萌发率有所差异。总体而言,陕西

地区葡萄霜霉病的孢子囊以葡萄糖、麦芽糖和蔗糖为碳源时其萌发率均低于清水处理。但是重庆地区葡萄霜霉病的孢子囊以葡萄糖为碳源时,在悬浮后 7 h 内其萌发率却高于清水。而以麦芽糖为碳源时和陕西地区的变化相一致,以蔗糖为碳源时其变化无明显规律。从不同区域来看,重庆地区葡萄霜霉病孢子囊的萌发率明显高于陕西,但在清水条件下孢子囊悬浮 24 h 后,陕西地区的孢子囊萌发率却显著高于重庆地区。

表 2 不同碳源对葡萄霜霉病孢子囊萌发率的影响

测定时间 /h	清水(CK)		葡萄糖		麦芽糖		蔗糖	
	重庆	陕西	重庆	陕西	重庆	陕西	重庆	陕西
2	47.30	47.78	58.82	46.47	36.41	35.92	47.55	43.14
4	54.99	53.43	58.97	36.61	39.82	40.41	52.65	20.81
7	54.10	51.50	54.67	38.13	47.88	42.72	58.93	22.53
24	65.54	81.44	62.52	43.75	56.17	38.31	62.16	49.47

2.2.3 不同 pH 对 2 个地区葡萄霜霉病孢子囊萌发的影响 由表 3 可知,在(15±1)℃培养条件下,重庆和陕西 2 个地区葡萄霜霉病孢子囊在 pH 4.5~8.5 之间均能萌发,但萌发率有所差异。对重庆地区而言,孢子囊在 pH 6.5~8.5 之间萌发率较高,而陕西地区葡萄霜霉病孢子囊在 pH 为 4.5 和 6.5 时较高。总体而言,重庆地区葡萄霜霉病孢子囊的萌发率在 pH 5.5~8.5 范围内高于陕西。

表 3 不同 pH 对葡萄霜霉病孢子囊萌发率的影响

测定时间 /h	4.5		5.5		6.5		7.5		8.5	
	重庆	陕西	重庆	陕西	重庆	陕西	重庆	陕西	重庆	陕西
2	52.30	43.67	57.85	34.67	62.82	48.69	57.69	36.65	65.41	47.92
4	57.11	62.92	62.09	47.93	64.73	53.80	59.79	41.61	70.10	44.44
7	60.67	57.81	66.66	53.33	70.28	63.16	62.68	49.67	67.54	45.59
24	82.76	81.03	85.79	75.00	88.41	85.25	83.62	63.32	80.79	75.92

2.2.4 不同温度对 2 个地区葡萄霜霉病孢子囊萌发的影响 由表 4 可知,2 个地区葡萄霜霉病孢子囊在不同的温度下其萌发率不同,孢子囊的萌发对温度较为敏感。其中,20℃的培养条件下,2 个地区孢子囊在悬浮 2 h 后其萌发率均为 100%。因此,其最佳的萌发温度为 20℃。在较低温度下(5℃)2 个地区的孢子囊萌发率均较低。在相对较高温度条件下(25℃)2 个地区孢子囊的萌发率在悬浮培养 2 h 时低于 20℃的萌发率,但随着培养时间的增加,其萌发率均达到 100%。陕西地区葡萄霜霉病孢子囊在 15℃条件下悬浮培养 4 h 后其萌发率显著提高,并高于同时期重庆地区的萌发率。

2.2.5 不同湿度对 2 个地区葡萄霜霉病孢子囊萌发的影响 在供试的不同湿度处理中,2 个地区葡萄霜霉病孢子囊在相对湿度在 95%以下时基本不萌发,在相对湿度为 95%~100%时有孢子囊萌发,但萌发率很低。但

表 4 不同温度对葡萄霜霉病孢子囊萌发率的影响

测定时间 /h	5℃		10℃		15℃		20℃		25℃	
	重庆	陕西	重庆	陕西	重庆	陕西	重庆	陕西	重庆	陕西
2	11.2	18.75	38.72	25.12	44.19	29.35	100	100	77.46	96.33
4	35.77	19.84	74.29	33.06	46.15	100	100	100	100	100
7	38.18	21.43	87.50	92.36	59.63	100	100	100	100	100
24	56.32	30.77	100	100	100	100	100	100	100	100

是在水膜中 2 个地区的孢子囊能迅速萌发,且萌发率较高,2 个地区间无明显差异。

2.3 不同地区葡萄霜霉病菌致病力比较

由表 5 可知,重庆和陕西地区葡萄霜霉病菌接种后其病级指数均在 0 和 1 范围内。2 个地区霜霉病菌人工培养条件下其叶盘病斑比例主要集中在 1%~20%范围内,少数不发病。这与汤钊^[8]的研究结果差异较大,可能与霜霉病菌的来源有关。

表 5 不同地区葡萄霜霉病菌致病力的差异

培养皿	0 级		1 级		2 级		3 级	
	重庆	陕西	重庆	陕西	重庆	陕西	重庆	陕西
1	2	0	3	5	0	0	0	0
2	1	2	4	3	0	0	0	0
3	2	3	3	2	0	0	0	0
4	0	3	5	2	0	0	0	0

3 结论

该试验结果表明,重庆和陕西地区葡萄霜霉病孢子囊形态差异不大,具有很大的共性,陕西地区的孢子囊梗更长,分枝更多。不同的氮源、碳源均对 2 个地区霜霉病孢子囊的萌发具有一定的抑制作用,因此培养时以清水最好。该病菌的培养对酸碱度要求不严格,在 pH 4.5~8.5 之间均能萌发,但重庆地区的霜霉病孢子囊萌发的最适 pH 值高于陕西。2 个地区霜霉病孢子囊的萌发对温度都较为敏感,其最佳的萌发温度为 20℃,且在水膜中的萌发率最高。离体培养下,2 个地区葡萄霜霉病菌的病级指数集中在 0 和 1,且叶盘病斑比例以 1%~20%为主。

参考文献

- [1] 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.
- [2] 刘世秋,郭锐,张军翔. 宁夏贺兰山东麓葡萄灰霉病的发生与综合防治[J]. 中外葡萄与葡萄酒,2012(4):38-40.
- [3] 郭明浩. 葡萄霜霉病菌卵孢子特性及其侵染预测模型的研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2005.
- [4] 魏开来. 葡萄霜霉病预测模型的研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2008.
- [5] 李海强. 石河子地区葡萄霜霉病的发生规律及防治研究[D]. 石河子:石河子大学,2009.

苏云金杆菌 CAB109 对甜菜夜蛾幼虫生长发育的影响

金大勇¹, 柳镛万²

(1. 延边大学 农学院, 吉林 延吉 133002; 2. 忠南大学校 农业生命科学大学, 韩国 大田 305764)

摘要:采用苏云金杆菌 CAB109 亚致死浓度(依次为 0 、 1×10^2 、 1×10^3 、 1×10^4 、 1×10^5 、 1×10^6 cfu/mL)处理甜菜夜蛾 2 龄幼虫, 研究苏云金杆菌 CAB109 菌株对甜菜夜蛾幼虫的影响。结果表明:用 CAB109 菌株处理后 7 d, 对幼虫的死亡率影响显著, 死亡率分别为 5.0%、8.3%、15.0%、23.3%、36.7%、55.0%; 处理后 6 d, 对幼虫生长影响显著, 幼虫的平均体重分别为 2.63、2.19、2.03、1.87、1.34、0.96 mg; 对幼虫发育的影响也显著, 幼虫的发育历期分别为 16.3、16.8、17.5、18.2、19.5、21.2 d。CAB109 菌株的亚致死浓度除能直接杀死甜菜夜蛾幼虫外, 还对存活幼虫的后续也产生显著影响。

关键词:苏云金杆菌; CAB109 菌株; 甜菜夜蛾; 亚致死浓度; 生长发育

中图分类号:S 476.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)06-0122-03

甜菜夜蛾(*Spodoptera exigua* Hübner)是危害严重的世界性害虫之一^[1], 是蔬菜和农作物的重要害虫。目

第一作者简介:金大勇(1962-), 男, 朝鲜族, 吉林九台人, 博士, 副教授, 现主要从事害虫生物防治等研究工作。

基金项目:韩国农业振兴厅资助项目; 延边大学基金资助项目(2011-34)。

收稿日期:2012-12-11

前对甜菜夜蛾的防治以化学防治为主, 但防治效果并不理想, 还对环境造成严重污染^[2], 有必要用无公害的生物防治来解决上述问题^[3-4]。苏云金杆菌(*Bacillus thuringiensis*, Bt)是目前产量最大、使用最广的生物杀虫剂^[5-6]。研究表明, 苏云金杆菌杀虫剂不仅具有杀死目标害虫的作用外, 还具有抑制、阻碍及延长害虫生长发育和繁殖的作用^[7-8]。害虫对农作物造成的损失, 并非

[6] 王国珍, 樊仲庆, 麻冬梅, 等. 贺兰山东麓酿酒葡萄霜霉病流行规律及预测预报技术的研究[C]. 北京: 中国植物病理学会学术年会论文集, 2004: 366-370.

[7] 常永义, 朱建兰. 全球红葡萄霜霉病防治及病菌生物学特性研究

[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2011(1): 17-20.

[8] 汤钊. 葡萄霜霉病离体接种方法的研究[J]. 微生物学通报, 1994, 21(6): 373.

Study on the Pathogen Biological Characteristics and Pathogenicity of Grape Downey Mildew from Different Areas

LIU Xu^{1,2}, LIANG Man¹, WANG Yang³, YU Ran-yue¹, WANG Hua^{1,2}, LI Hua^{1,2}

(1. College of Enology, Northwest Agricultural and Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100; 2. Shaanxi Engineering Research Center of Viti-Viniculture, Yangling, Shaanxi 712100; 3. College of Plant Protection, Northwest Agricultural and Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract: Taking 'Hongdiqu' grape as material, the pathogen biological characteristics and pathogenicity of grape downey mildew from Shaanxi and Chongqing were studied. The results showed that there was no obvious difference on morphological property for sporangium from these two areas. However, the longer sporangiophore and more branches were observed for the downey mildew from Shaanxi areas. Furthermore, all the nitrogen sources including ammonium nitrate, peptone and ammonium chloride showed inhibitory effect on germination sporangium from both the two areas. The three carbon source including glucose, maltose syrup and sucrose had same effect on sporangium germination. The sporangium could germinated at the pH value between 4.5~8.5. However, the optimum pH value for germination sporangium from Shaanxi was higher than that of Chongqing. The optimum temperature was 20°C for germination sporangium from the two areas, which showed highest germination rate under conditions of water film. The disease index in leaf disks was mainly 0 and 1 by the culture *in vitro*, and grade 1 was mostly observed.

Key words: downey mildew; biological characteristics; pathogenicity; grape