

中国葡萄属野生种抗 白腐病机制研究

王跃进 贺普超

(西北农业大学园艺系·陕西杨陵镇)

提 要

1985~1986年对葡萄果实表皮组织结构及果实中生化物质与抗白腐病的关系的研究。结果表明:果实表皮组织结构决定了葡萄野生种在田间自然条件下对白腐病的抗性。果实中丹宁、游离有机酸和多酚氧化酶活性与抗白腐病存在着显著的或极显著的相关关系。

葡萄白腐病〔*Coniathyrium diplodiella* (Speg) Saa〕是严重危害欧洲葡萄〔*Vitis vinifera* L〕的真菌病害。葡萄栽培的实践证明,欧洲葡萄的绝大多数品种不抗白腐病。因此,抗病育种显得更加重要了。为获得抗病的品种,必须拥有抗病的种质,并且必须研究种质资源的抗性机制。为此,1984—1986年通过田间自然发病调查、田间接种和室内离体接种三种方法,鉴定了原产我国的葡萄属12个种或变种、46个株系※对白腐病的抗性。我们发现原产我国的葡萄野生种在田间自然条件下不感白腐病,但在接种条件下,不同的种对白腐病的抗性存在着很大的差异。是什么因素造成这些种质在田间自然条件下不感病,又在接种条件下表现出不同的抗性呢?这就是本文所研究的问题。

材料与方法

一、试验材料:试材为1978年在本省采集或由外省引来的葡萄野生种枝条的嫁接苗,砧木为欧洲葡萄,供试的材料※如下:

- 刺葡萄 (*V. davidii* (Roman) FOex): 济南—1;
- 秋葡萄 (*V. romanetii* Roman): 留—1;
- 毛葡萄 (*V. quinqueangularis* Rghd): 商—1;
- 山葡萄 (*V. amurensis* Rupr): 74—188 (吉林特产所);
- 华北葡萄 (*V. bryoniae* Bunge): 安林—16、安林—18;
- 燕山葡萄 (*V. yeschanensis*): 燕山 (♀);
- 复叶葡萄 (*V. piasezkii* Maxim): 留—10;

*各林系代号中阿拉伯数字表示调查号、汉字表示产地：留—陕西留坝；商—陕西商南；燕山—河北燕山；泰山—山东泰山；安—安徽林津；济南—引自山东葡萄所，产地不详。*林系一指由同一野生植株上采取枝条繁殖的苗木。

樱葵 (*V. thunbergii* Sieb. et Zucc 或 *V. adstricta* Hance)；泰山葡萄 (♀)；

欧洲葡萄 (*V. vinifera* L.)；佳利酿。

二、试验方法 (一) 果实表皮组织解剖结构的观察：自田间采集大小一致的果实，放入保湿的培养皿中带回。自来水冲洗后用蒸馏水冲洗，用药棉擦干。利用滑动切片机横切果实。每个株系制作六个水压片，表皮细胞用番红染色，角质层用苏丹散染色。在光学显微镜 (16×40倍) 下对表皮细胞层和角质层厚度及表皮细胞的排列方式进行观察，每个株系观察30个视野，结果用新复极差测验法比较。

(二) 生化物质的测定：试验果实先用流水冲洗，再用蒸馏水冲洗后用洁净的吸水纸吸去表面水珠，用压榨器压汁。每样品取1.0毫升，两次重复，利用滴定法测定果汁中多酚氧化酶活性和游离有机酸含量；利用可见—紫外分光光度计比色测定丹宁含量，每项指标共测定三次。

试验结果

一、果皮解剖结构与田间自然抗病性的关系 所有野生种和欧洲葡萄佳利酿品种同处在相同的自然条件下，但野生种的果实不感白腐病。对此，我们进行了果皮组织解剖结构的观察比较。试验结果 (表1) 表明，野生种的表

表1 不同种果实细胞和角质层厚度比较 (16×40倍)

种名	株系	表皮细胞平均厚度(μ)	表皮细胞差异显著性**	角质层厚度(μ)	角质层差异显著性
华北葡萄	安林济—16	31.58	A	4.99	a
刺葡萄	济南—1	15.27	B	4.79	a
欧洲葡萄	佳利酿	5.95	C	2.40	b

Sc=0.218 **表示在P=0.01水平上显著

皮细胞层和角质层的厚度均比佳利酿厚，差异达到了极显著水平。同时我们还观察到野生种表皮细胞是砖块形紧密排列，几乎没有空隙，这与佳利酿果实表皮细胞的松散排列形成鲜明的对照。

二、生化物质与抗白腐病的关系 (一) 多酚氧化酶活性与抗白腐病的关系

多酚氧化酶在体内氧化多酚物质成为醌而对病原菌产生抑制和毒害作用，同时在体内许多代谢过程中起着重要作用。我们的测定结果表明 (表2)，野生种的多酚氧化酶活性是栽培品种佳利酿的四倍以上。多酚氧化酶的活性还与田间接种的发病率存在着极显著的相关， $r=0.9256$ ($n=6$)，也就是说，葡萄果实中多酚氧化酶活性愈高，抗白腐病愈强。

表 2 不同株系的果实多酚氧化酶活性 (1985—1986)

种 名	株 系	测 定 时 间			平 均	以佳利酸为 100%作比较
		27/7	7/8	17/8		
燕山葡萄		3.625	2.938	2.690	3.084	871.19
复叶葡萄	留—10	2.625	3.875	3.500	3.333	941.53
华北葡萄	安林—18	1.250	2.938	2.530	2.239	632.49
蓼 莫	泰山葡萄	2.125	2.563	2.000	2.229	629.66
毛 葡 萄	商—24	1.363	2.125	1.425	1.638	462.71
欧洲葡萄	佳利酸	0.250	0.250	0.563	0.354	100

*毫升果实分析液20℃下,一分钟氧化抗坏血酸的微克分子数。

(二) 丹宁含量与抗白腐病的关系

丹宁和葡萄抗病性的关系,前人曾进行过研究,认为抗病种比感病种的含量高。我们的测定结果(表3)与前人的研究一致,抗病的野生种丹宁的含量是栽培品种佳利酸的3倍多,最高达10倍以上。根据我们的试验资料分析,田间接种后的发病率与丹宁含量存在着显著的相关, $r=0.9110$ ($n=6$)。也就是说葡萄果实中丹宁的含量与抗白腐病存在着相关关系。

表 3 不同株系的果实中丹宁含量 (1985—1986)

种 名	株 系	测 定 时 间			平 均	以佳利酸为 100%作比较
		7/8	14/8	20/8		
蓼 莫	泰山葡萄	650.0	752.5	800.0	734.2	389.3
刺 葡 萄	济南—1	900.0	1590.0	3205.0	1898.3	1008.1
秋 葡 萄	留—1	1140.0	365.0	750.0	751.7	399.2
华北葡萄	安林—18	355.0	1250.0	1645.0	1083.3	575.3
毛 葡 萄	商—24	1005.0	1530.0	405.0	980.0	520.5
欧洲葡萄	佳利酸	225.0	225.0	115.0	188.3	100

*丹宁含量为100毫升葡萄果实汁液中所含丹宁的毫克数。

表 4 不同株系的果实中游离有机酸含量 (1985—1986)

种 名	株 系	测 定 时 间			平 均	以佳利酸为 100%作比较
		2/8	17/8	29/8		
刺 葡 萄	济南—1	4.66	2.99	2.39	3.35	261.03
复叶葡萄	留—10	3.05	1.31	1.23	1.86	136.77
华北葡萄	安林—16	3.97	1.37	0.71	2.02	148.53
秋 葡 萄	留—1	1.76	1.38	0.84	1.33	97.79
山 葡 萄	74—1—88	2.95	2.81	1.72	2.49	183.09
欧洲葡萄	佳利酸	1.88	1.31	0.88	1.36	100

*每100毫升葡萄果汁中游离有机酸的百分含量。

(三) 游离有机酸与抗白腐病的关系

过去,我们认为寄主体内有有机酸对病原菌有抑制作用。我们的研究(表4)表明,野生种除留—1外,其它种的株系的有机酸含量都高于栽培品种佳利酸。经分析,田间接种后的发病率与游离有机酸的含量存在着显著的相关, $r=-0.8179^*$ ($n=6$)。

讨 论

葡萄白腐病主要是通过伤口入侵的。在田间自然条件下, 欧洲葡萄品种的果实不同程度地、甚至严重地感染白腐病, 而所有野生种的果实都未见感病, 似乎它们是免疫的; 但当人工针刺接种时, 所有野生种的果实均感染白腐病, 甚至个别株系的严重还超过了栽培品种。我们的研究还发现, 野生种华北葡萄和刺葡萄的果实表皮细胞层和角质层比欧洲葡萄品种佳利酿厚得多, 而且表皮细胞排列也紧密。因此, 我们有理由认为, 果皮的有利结构是保护野生种葡萄果实免受白腐病菌侵染的首要原因。那么, 又是什么因素导致了葡萄野生种的果实在针刺接种下表现不同的抗性呢? 也就是说, 在破坏了果皮的有利结构, 病原菌从伤口侵入后处于寄主内部并与之相互作用后表现出不同发病率的原因何在? 众所周知, 葡萄白腐病菌是高度腐生的真菌。由于它的腐生性决定了它的生长和繁殖所需的营养必须从受侵染的寄主组织中获得, 而且以寄主的死亡、腐烂为其生存的前提。我们的研究证明, 葡萄野生种果实中丹宁和游离有机酸的含量以及多酚氧化酶活性均比感病的欧洲葡萄品种的高或强。根据相关分析, 这些物质的含量或活性与田间针刺接种后的发病率存在着显著的或极显著的相关。这种相关不仅存在于野生种与栽培品种之间, 也同样存在于抗白腐病能力强的和弱的野生种株系之间。具体到我们所研究的种或株系, 如济南—1、安林—16、燕山葡萄、74—1—88和留—10的丹宁和游离有机酸含量以及多酚氧化酶活性均在一、二个指标上高于不抗病的留—1、商—24和泰山葡萄等, 只是不抗病的安林—18的丹宁含量也高, 是个例外。我们还进一步观察到, 凡抗病的株系或相对栽培品种抗性强的株系, 即使被白腐病菌侵染后, 也仅在侵染点或其附近产生少量的病原孢子, 腐烂组织不扩展。如刺葡萄的济南—1和宁—5、山葡萄的双庆山葡萄和74—1—88、复叶葡萄的眉—6和白—22—1、秋葡萄的商—23、燕山葡萄、华东葡萄的白—35—1以及华北葡萄的安林—16和安林—18。尤以宁—5、济南—1、白—22—1、眉—6和双庆山葡萄最为突出, 仅在刺伤口处有零星的病原孢子, 而无典型的腐烂组织出现。而感病的株系相反, 它们一旦感病, 整个果粒迅速腐烂, 果面上密布白腐病菌的孢子堆, 且进一步扩展到果梗、乃至有的穗轴也被侵—1染, 如留—1、商—24和佳利酿。这正如纳尔逊认为的“对植物病原的抗病性是通过寄主的两种反映之一来证实的: (1) 寄主通过限制侵染点和侵染程序来抵抗寄生关系的建立, 或 (2) 在侵染成功之后, 即使寄生物已经进行繁殖, 侵染程序已经完成, 寄主们能抵抗寄生物的定殖和生长。从这个角度, 抗病性可以看成是体内生化物质对病原菌的一种积极的、能动的反应” (3)。因此, 我们不难得出抗白腐病的其次原因是体内丹宁, 游离有机酸和多酚氧化酶的高含量或高活性。这些物质可能是一、二种或多种对白腐病起到了抗扩展的作用。(主要参考文献略 收稿时间1987.9.27)

售 远 红 外 快 速 多 用 蛋 糕 机

浙江永嘉县1616信箱丽声微电泵厂生产的KD型系列远红外快速多用蛋糕机, 能生产蛋糕、面包、月饼、饼干等, 本低利高。每台价KD12型260元。KD20型320元。KD25型375元。KD40型470元。KD60型595元。包装运费在内, 款到发货。该机使用220V照明电, 并赠送高效益配方资料说明书一份。联系人: 郑小林。

开户银行: 罗浮所, 帐号: 04059275