

中国野生葡萄寄生线虫种类的调查

罗素兰¹ 贺普超² 长孙东亭¹⁽¹⁾ 海南大学海洋学院, 海口 570228; ⁽²⁾ 西北农林科技大学园艺系, 杨凌 712100)

摘 要: 对中国野生葡萄资源的 17 个种或变种, 共 73 个株系根围寄生线虫的种类和密度进行了系统的调查与鉴定。共采集 300 份土样, 从中鉴定出线虫计 9 属 19 种: 6 种螺旋线虫, 4 种剑线虫, 2 种短体线虫, 2 种矮化线虫; 长针线虫、针线虫、盘旋线虫、轮线虫和枪线虫各 1 种。线虫群体一般由 2~5 个属组成, 其中针线虫、螺旋线虫和矮化线虫是分布较广泛的寄生线虫。同时比较了中国野生葡萄的不同种, 不同株系间寄生线虫种类和密度的差异, 为进一步筛选抗线虫砧木提供了依据。

关键词: 葡萄; 中国野生葡萄; 寄生线虫

中图分类号: S 662; Q 959 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2003) 02-0127-04

寄生线虫为害是葡萄生产上的一大难题, 导致植株衰弱, 产量和质量降低, 一般减产 25% ~ 30%, 严重时减产 80% 以上^[1]。选用抗性砧木是安全有效防治线虫的最佳途径。中国野生葡萄资源极其丰富, 拥有大量的抗性基因, 如霜霉病抗性, 根癌病抗性、白粉病抗性等已被鉴定^[2], 是否具有抗线虫基因这一问题亟待解决。田间调查中国野生葡萄资源根围的寄生线虫种类是筛选抗性砧木的前提, 为进一步接种线虫鉴定其抗性提供依据。我们于 1996~1998 年在西北农林科技大学野生葡萄种质资源圃和广西都安野生葡萄区进行了寄生线虫种类、种群组成和虫口密度调查, 现将结果报道如下。

1 材料与方法

对中国野生葡萄的 17 个种, 73 个株系 (表 1) 根围的线虫进行调查。其中山葡萄中的左山、双优、通化, 以及刺葡萄中的塘尾株系已驯化栽培。每个株系取 10~60 cm 土层内的根际土壤约 500~800 g 和适量细根, 用塑料袋分别包装并标记, 带回实验室分离。根组织内的线虫用贝曼漏斗法分离; 土壤样品用贝曼漏斗法和浅盘法分离线虫。线虫于 60℃ 水浴中杀死, 用 TAF (三乙醇胺福尔马林) 固定液保存。在解剖镜下吸取线虫, 显微镜下观察测量形态数据, 参考有关资料^[3~6]作分类鉴定并计数样本中各属线虫量。

2 结果与分析

2.1 野生葡萄根际线虫种类鉴定

从上述野生葡萄根际和土壤中共鉴定出 9 属 19 种植物寄生线虫, 列述如下。

螺旋属线虫 6 种: 双宫螺旋线虫 *Helicotylenchus dihystra* (Cobb, 1893) Sher, 1961; 外异螺旋线虫 *Helicotylenchus exallus* Sher, 1961; 双角螺旋线虫 *Helicotylenchus digonicus* Perry, 1959; *Helicotylenchus digitiformis* T. Lvanova, 1967; *Helicotylenchus platyus* Perry, 1959; *Helicotylenchus multicinctus* (Cobb, 1893) Golden, 1956。

剑线虫属 4 种: 美洲剑线虫 *Xiphinema americanum* Cobb, 1913; *Xiphinema insigne* Loos, 1949; *Xiphinema elongatum* Schuurmans Stekhoven & Teunissen, 1938; *Xiphinema hunaniense* Wang & Wu 1990。

收稿日期: 2002-07-16; 修回日期: 2002-09-23

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (39570495)

短体线虫属 2 种: 穿刺根腐线虫 *Pratylenchus penetrans* Cobb, 1917 Filipjev & Schnurmans Stekhoven, 1914; *Pratylenchu pratensis* (deMan, 1880) Filipjev, 1936。

矮化线虫属 2 种: 导管矮化线虫 *Tylenchorhynchus canalis* Thore and Malek, 1968; *Tylenchorhynchus malinus* n. sp.。

长针线虫属 1 种: *Longidorus intermedius* Kozłowska & Seinhorst, 1979。

针线虫属 1 种: *Paratylenchus audriellus* Brown, 1959。

盘旋线虫属 1 种: *Rotylenchus devonensis* Van den Bery, 1976。

轮线虫属 1 种: 薄叶轮线虫 *Criconeimoides xenoplax* Raski, 1952。

枪线虫属 1 种: *Hoplolaimus* sp.。体长 640~750 μm , 热杀死后略弯曲, 呈棒状; 唇区较高; 口针粗短, 基球大、向前突出; 食道腺与肠在侧面与背面重叠, 侧面重叠最长。雌虫双卵巢, 阴门在体中部 (约 50%~55%处); 雄虫交接刺弓形, 靠尾末端。雌雄虫尾部均短, 末端钝圆, 肛门处体宽较尾部长。

表 1 进行寄生线虫种类调查的中国野生葡萄材料

Table 1 Wild *Vitis* materials native to China used for parasitic nematode investigation

种 名 Species	株 系 Clones	种 名 Species	株 系 Clones	种 名 Species	株 系 Clones
华东葡萄	广西 - 1 Guangxi-1	秋葡萄	白河 - 22 Baihe-22	裂叶刺葡萄	宁强 - 6 Ningqiang-6
<i>V. pseudoreticulata</i> W.	白河 - 13 - 1 Baihe-13-1	<i>V. romanetii</i>	江西 - 1 Jiangxi-1	<i>V. davidii</i> (Roman) Foex var.	
T. Wang	白 - 35 - 1 Bai-35-1	Rom.	江西 - 1 ♂ Jiangxi-1 ♂	<i>ningqiangensis</i> L. X. Niu	
	白 - 35 - 1 ♂ Bai-35-1 ♂		江西 - 2 Jiangxi-2	麦黄葡萄	白河 - 41 Baihe-41
	广西 - 2 ♂ Guangxi-1 ♂		江西 - 2 ♂ Jiangxi-2 ♂	<i>V. bashanica</i> P. C. He	
	商南 - 1 Shangnan-1		平利 - 2 Pingli-2		旬阳 - 8 Xunyang-8
	商南 - 1 ♂ Shangnan-1 ♂		平利 - 7 Pingli-7		白河 - 42 Baihe-42
毛葡萄	83-4-67		留坝 - 11 Liuba-11	菱叶葡萄	江西 - 3 Jiangxi-3
<i>V. quinqueangularis</i> Rehd	渭 - 3 Wei-3		留坝 - 1 Liuba-1	<i>V. hancockii</i> Hance	江西 - 3 ♂ Jiangxi-3 ♂
	渭 - 3 ♂ Wei-3 ♂		留坝 - 1 ♂ Liuba-1 ♂	瘤枝葡萄	岚皋 - 5 Langao-5
	83-4-49		平利 - 2 ♂ Pingli-2 ♂	<i>V. davidii</i> var. <i>cyanocarpa</i>	镇安 - 3 Zhenan-3
	83-4-49 ♂	刺葡萄	济南 - 1 Jinan-1	(Gang) Sarg.	
	83-4-94 ♂	<i>V. davidii</i>	济南 - 2 ♂ Jinan-2 ♂	小复叶葡萄	岚皋 - 2 Langao-2
	83-4-96	Foex	福建 - 4 Fujian-4	<i>V. liubaensis</i> L. X. Niu	留 - 10 Liu-10
	83-4-96 ♂		略阳 - 4 Lueyang-4	秋复叶葡萄	眉县 - 6 Meixian-6
	泰山 - 12 Taishan-12		雪峰* Xuefeng*	<i>V. spp.</i> Qiufuye	留坝 - 7 Liuba-7
	南郑 - 1 Nanzheng-1		塘尾* Tangwei*	秦岭葡萄	平利 - 5 Pingli-5
	83-4-1	山葡萄	左山 - 1 Zuoshan-1	<i>V. qinlingensis</i> P. C. He	略阳 - 4 Lueyang-4
	商 - 24 Shang-24	<i>V. amurensis</i>	泰山 - 11 Taishan-11	麦黄复叶葡萄	白河 - 40 Baihe-40
	丹 - 2 Dan-2	Rupr.	双优* Shuangyou	<i>V. baiensis</i> L. X. Niu	
	广西东庙 Guangxi dongmiao		黑龙江实生 ♂ Heilongjiang ♂	燕山葡萄	燕山 Yanshan
	广西龙湾 Guangxi longwan		左山 274003 Zuoshan 274003	<i>V. yeshanensis</i> J. X. Chen	
复叶葡萄	白水 - 40 Baishui-40		左山 76097 Zuoshan 76097	桑叶葡萄 <i>V. ficifolia</i>	山东 ♂ Shandong ♂
<i>V. piasekii</i>	华县 - 1 Huaxian-1		通化 - 3 Tonghua-3		
Maxim	甘肃 - 91 Gansu-91	萆萆葡萄	泰山 - 1 Taishan-1		
	留 - 8 Liu-8	<i>V. adstricta</i>	泰山 - 1 ♂ Taishan-1 ♂		
	留 - 9 Liu-9	Hance	安林 - 3 Anlin-3		
	留 - 6 Liu-6		安林 - 2 ♂ Anlin-2 ♂		

* 两性花。 * Perfect flower-type (♀ ♂)。

2.2 各种野生葡萄株系的线虫分布

调查结果表明, 不同的野生种及其不同株系与其根围寄生线虫群体结构有直接的联系。线虫群体一般由 2~5 个属组成, 其中针线虫、螺旋线虫和矮化线虫分布较广。在调查的 17 个种的 73 个株系

中, 有 6 个种 (裂叶刺葡萄, 小复叶葡萄, 秦岭葡萄, 菱叶葡萄, 燕山葡萄, 麦黄复叶葡萄) 的所有株系根围未发现寄生线虫, 其余 11 个种的部分株系 (26 个, 表 2) 根围存在不同种类的寄生线虫。山葡萄的大多数株系都有寄生线虫, 且种类多、数量大, 7 个株系中只有 1 个株系 (黑龙江实生 ♂) 未发现寄生线虫。毛葡萄的 5 个株系均有寄生线虫危害。华东葡萄、复叶葡萄、秋葡萄、刺葡萄等 9 个种只有少数株系 (1~3 个) 的根围有寄生线虫。不同线虫种类的发生频率差异较大。针线虫的发生频率最高, 为 30.1%, 即 73 个株系中有 22 个有针线虫; 其次是螺旋线虫, 为 27.4%; 矮化线虫和盘旋线虫位居第 3, 均为 19.2%; 剑线虫、短体线虫发生频率较低, 只有 8.2% 和 6.8%; 长针线虫很低, 只有 2.7%; 轮线虫和枪线虫的发生频率最低, 仅为 1.4%, 只在广西东庙株系的根围发现。

线虫的虫口密度与地理条件和株系类型有关。我们观察到, 葡萄根围线虫密度越高、种类越多, 地上部分生长明显衰弱, 有短体线虫的植株更为明显。分布在温暖湿热地区的毛葡萄 (广西东庙, 广西龙湾) 的虫口密度相对较高, 根围土壤中有 1100 条/kg, 且种类和数量与植于陕西的毛葡萄株系有显著差异, 含有高密度的剑线虫和长针线虫。陕西杨凌的野生葡萄株系的虫口密度相差也很悬殊, 最高的是左山 2 号, 高达 990 条/kg, 次为左山 1 号和左山 76097, 线虫数超过 700 条/kg; 安林-3 和双优的密度也较高, 为 640 和 600 条/kg; 其余的株系线虫密度都相对较低, 最少只有 20 条/kg (白河-41); 多数野生种株系没有发现寄生线虫, 其根围的线虫群体主要是由腐生类和捕食类线虫组成, 这些非寄生线虫对植物根系没有为害。

表 2 野生葡萄株系的寄生线虫种类及虫口密度
Table 2 Genera and densities of parasitic nematodes in wild grapes native to China (条/kg)

株系 Clone		A	B	C	D	E	F	G	H	I	合计 Total
毛葡萄	泰山-12 Taishan-12	80			20		260				360
<i>V. quinquangularis</i> Rehd	渭-3 Wei-3	20					30	70			120
	广西东庙 Guangxi dongmiao	140	550						260	400	1 350
	广西龙湾 Guangxi longwan	340	420			150	210				1 120
	商-24 Shang-24	250					40	300			590
秋葡萄	江西-1 Jiangxi-1	10					80	60			150
<i>V. romanetii</i> Rom.	江西-2 Jiangxi-2	30			40		70	50			190
	白河-22 Baihe-22	20	20		10		90				140
山葡萄	双优 Shuangyou	30			490		10	70			600
<i>V. amurensis</i> Rupr.	通化 3 号 Tonghua 3	90			50		10	30			180
	左山 1 号 Zuoshan 1	670	20		30	10	20	40			790
	左山 2 号 Zuoshan 2	300			640		50				990
	左山 76097 Zuoshan 76097	180			150		50	350			730
	泰山-11 Taishan-11			120			10	30			160
华东	广西-1 Guangxi-1	30					20	30			80
<i>V. pseudoreticulata</i> W. T. Wang	湖南-1 Hunan-1	140			80			30			250
复叶	留坝-9 Liuba-9	30	10				50	60			150
<i>V. piasekii</i> Maxim	甘肃-91 Gansu-91			90	20		60				170
刺葡萄	塘尾 Tangwei			80	10		60				150
<i>V. davidii</i> Foex	济南-1 Jinan-1			120				60			180
	安林-3 Anlin-3	40			500		40				640
	泰山-1 Taishan-1	10	10		30		30				80
桑叶葡萄 <i>V. ficifolia</i>	山东 ♂ Shandong ♂	20					10				30
麦黄 <i>V. bathanica</i> P. C. He	白河-41 Baihe-41				20						20
瘤枝 <i>V. davidii</i> var. <i>cyanocarpa</i> (Gang) Sarg	镇安-3 Zhenan-3			70			10	50			130
秋复叶 <i>V. spp.</i> Qiufuye	留坝-7 Liuba-7	30					180				210

注: A, 螺旋线虫属; B, 剑线虫属; C, 短体线虫属; D, 矮化线虫属; E, 长针线虫属; F, 针线虫属; G, 盘旋线虫属; H, 轮线虫属; I, 枪线虫属。

Note: A, *Helicotylenchus*; B, *Xiphinema*; C, *Pratylenchus*; D, *Tylenchorhynchus*; E, *Longidorus*; F, *Paratylenchus*; G, *Rotylenchus*; H, *Cricanemoides*; I, *Hoplolaimus*.

在发现的 9 属线虫中,除短体线虫外,均为植物根系外寄生线虫,直接取食根系汁液,造成伤口,引起其它病原菌复合侵染,其中剑线虫和长针线虫还是传播病毒的介体。在 6 个株系(左山 1 号,留坝-9,泰山-1,白河-22 和广西东庙,广西龙湾)中都发现有剑线虫;长针线虫只在左山 1 号和广西龙湾的根围发现。短体线虫是多种果树的毁灭性害虫,可自由来回于土壤和根际组织之间,为活动性内寄生线虫,致使根系受害腐烂,受害果树极易衰退死亡。在 5 个株系(镇安-3,塘尾,甘肃-91,济南-1,泰山-11)根际发现有短体线虫,虫口密度为 70~120 条/kg。在所有野生株系根际和根组织中均未发现严重为害栽培品种的内寄生线虫(根结线虫),在同园的巨峰品种根围却发现了大量的根结线虫。

3 讨论

对中国野生葡萄资源系统地进行寄生线虫的调查尚属首次。对各个株系线虫类群的结构分析表明,不同寄主根围的寄生线虫种类,优势种及其虫口密度差异很大,这些野生株系除了两个毛葡萄株系(广西东庙、广西龙湾)地处亚热带的广西都安县外,其余均多年定植在陕西杨凌西北农林科技大学葡萄种质资源圃,土壤条件及栽培管理措施都相同,均未进行土壤线虫防治处理。因而本调查所鉴定出的线虫种类和种群结构可以真实反映各株系根围寄生线虫的实际情况。所有野生种的寄生线虫密度均小于同园的巨峰葡萄(1 770 条/kg)^[7],初步显示野生种对寄生线虫有一定的抗性。没有发现寄生线虫的株系是否对多种线虫具有抗性,还需进一步接种鉴定。本研究为筛选抗线虫砧木提供基础,对于充分开发利用丰富的野生葡萄资源具有重要的意义。

参考文献:

- 1 罗素兰,贺普超.中国葡萄寄生线虫的分布与防治.北方园艺,1999,(1):42~44
- 2 Luo Sulan, He Puchao, Zhou Peng. Identification of molecular genetic markers tightly linked to downy mildew resistant genes in grape. Acta Genetica Sinica, 2001, 28 (1): 76~82
- 3 王寿华.果树线虫学.北京:中国农业出版社,1994.124~135
- 4 Mai W F. Pictorial key to genera of plant parasitic nematodes. New York: Cornell University Press, 1975. 1~76
- 5 萨塞 J N, 詹金斯 W R. 线虫学基础与进展——植物寄生性和土壤型线虫.毕志树,陈品三译.北京:农业出版社,1985.169~210
- 6 林茂松.矮化属线虫一新种.南京农业大学学报,1992,15 (2): 41~44
- 7 长孙东亭,罗素兰,贺普超.葡萄根际线虫种群的研究.生物学杂志,2000,17 (6): 19~21

Investigation on Parasitic Nematodes Associated with the Wild Grapes Native to China

Luo Sulan¹, He Puchao², and Zhangsun Dongting¹

(¹Ocean College, Hainan University, Haikou 570228, China; ²College of Horticulture, Northwestern Agriculture and Forestry Science and Technology University, Yangling 712100, China)

Abstract: Species and densities of parasitic nematodes were systematically investigated from the rhizosphere soil of 73 clones which belong to 17 species of wild grapes native to China. 19 species of plant nematodes belonging to 9 genera respectively were identified from 300 soil samples, which contained six species of *Helicotylenchus*, four species of *Xiphinema*, two species of *Pratylenchus*, two species of *Tylenchorhynchus*, and one species of *Longidorus*, *Paratylenchus*, *Rotylenchus*, *Criconeimoides* and *Hoplolaimus* each. Nematode population usually consisted of 2~5 genera. Three genera i.e. *Helicotylenchus*, *Paratylenchus* and *Tylenchorhynchus* spread widely in many wild clones. Differences of nematode genera and densities among different wild clones were given. The results would be basis for stock selection resistant to parasitic nematodes.

Key words: Grape; Wild grapes native to China; Parasitic nematodes