

大蒜白腐病抗性鉴定方法研究

梁 静, 程智慧, 孟焕文*, 柴喜荣, 禹 珂, 李 威

(西北农林科技大学园艺学院, 陕西杨凌 712100)

摘 要: 以汉中红皮蒜(抗病)和改良蒜(感病)为鉴别品种, 对大蒜抗白腐病鉴定中的接种叶龄、接种部位、接种后培养温度及调查时期等进行研究。结果表明, 苗期白腐病菌通过伤口和自然孔口均可浸染大蒜植株, 而花芽鳞芽分化期通过伤口侵入。抗病性鉴定最适接种叶龄为 6 叶期, 离体接种法较活体接种法更简便快捷。离体接种鉴定时叶面接种和叶背接种鉴定结果无显著性差异; 接种后最适培养温度为 18 ℃, 最适调查时期为接种后 7 ~ 8 d。以 G005 (抗病)、G023 (感病) 和 G025 (感病) 大蒜为验证品种, 离体接种鉴定结果显示, 建立的大蒜白腐病抗病性鉴定方法可行, 能反映品种的真实抗性。

关键词: 大蒜; 白腐病; 抗性鉴定; 离体接种; 活体接种

中图分类号: S 633.4

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2011) 03-0587-06

Protocol Establishment for Evaluation of Resistance of Garlic to White Rot (*Sclerotium cepivorum* Berk.)

LIANG Jing, CHENG Zhi-hui, MENG Huan-wen*, CHAI Xi -rong, YU Ke, and LI Wei

(College of Horticulture, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: A resistant garlic cultivar Hanzhong Red Skin (R) and a susceptible cultivar Gailiang (S) were employed to establish a protocol involved in evaluation of resistance of garlic to white rot (*Sclerotium cepivorum* Berk.). Results showed that at seedling stage the pathogen was able to infect garlic plants through both the wound and the natural orifices, while at flower bud differentiation stage it invaded the plants mainly through the wound. The plants with 6-week-leaf age were recognized as the best time for inoculation. *In vitro* inoculation was much simple and efficient, compared with *in vivo* inoculation. There was no significant difference in disease evaluation between leaf face inoculation and leaf back inoculation. The optimal incubation temperature and time for disease-resistant evaluation after inoculation was 18 ℃ and 7 - 8 days, respectively. The procedure developed from the present study was further applied to evaluate the resistant ability of other three garlic genotypes to white rot. Results obtained demonstrated that the established method was applicable to a wide range of garlic genotypes for testing their resistance to white rot.

Key words: garlic; white rot; resistance identification; inoculation *in vitro*; inoculation *in vivo*

近年来, 随着大蒜 (*Allium sativum* L.) 的规模化种植和产业化发展, 病虫害日益严重, 成为限制大蒜生产的主要因素(盛红梅 等, 2003)。白腐病是大蒜生产中的毁灭性病害, 主要危害大蒜的

收稿日期: 2010 - 08 - 23; **修回日期:** 2011 - 02 - 21

基金项目: 国家公益性行业(农业)科研专项(200903018-7); 国家‘十一五’科技支撑计划项目(2006BAD07B02)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: menghw2005@163.com)

根、鳞茎和叶，苗期直接造成田间死苗缺株，在陕西、甘肃、江西、江苏等主要产区流行，尤其是低洼地块，发病率达 80% ~ 100%（钟诚 等，2010；张林青和程智慧，2008a）。迄今尚未见大蒜白腐病抗性鉴定方法和大蒜品种资源白腐病抗性评价方面的研究报道。本研究中通过对大蒜白腐病的侵染途径、接种方法、接种时期以及接种后的培养温度等进行研究，建立大蒜白腐病的离体鉴定方法，以期为大蒜品种资源评价及大蒜栽培品种的选择提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料及其培养

2009年10月下旬和2010年3—5月分别调查西北农林科技大学园艺场大蒜种质资源圃和陕西大蒜主产区大蒜品种资源在花芽鳞芽分化期和苗期白腐病的发病情况。根据调查结果并参考历年田间抗病性表现，制定了基于病情指数的大蒜品种抗白腐病级别标准：免疫（I），病情指数为0；高抗（HR），病情指数 >0 且 <6.90 ；抗病（R），病情指数 ≥ 6.90 且 <13.50 ；感病（S），病情指数 ≥ 13.50 且 <26.90 ；高感（HS），病情指数 ≥ 26.90 。

选用感病代表性品种‘改良蒜’（源自陕西关中）和抗病代表性品种‘汉中红皮蒜’（源自陕西汉中）（张林青和程智慧，2008b）作为建立抗病性鉴定方法的鉴定选材。同时确定大蒜感病代表性品种G023（源自陕西兴平）和G025（源自山东苍山）、抗病代表性品种G005（源自四川）为抗病性鉴定方法验证选材。上述材料均为课题组长期保存和繁殖，纯正一致，无混杂株。

供试病原菌是西北农林科技大学园艺学院蔬菜生理生态实验室从大蒜田间典型病叶上分离、鉴定并保存的大蒜白腐病（*Sclerotium cepivorum* Berk.）病菌菌核，培养基为马铃薯葡萄糖琼脂培养基（Potato Dextrose Agar）。将菌核接种到盛有pH 5.0的马铃薯葡萄糖琼脂培养基的培养皿上，置于18℃光照培养箱中，空气湿度100%，12 h光照12 h黑暗交替培养。培养5 d的病菌用于接种。

将大蒜种瓣用 50%多菌灵 500 倍液浸泡 1 h 进行消毒（张根峰和张翼，2004；盛红梅 等，2003），然后用清水冲洗至少 30 min，种植于装有灭过菌基质的营养钵中，置于光照培养箱培养。

1.2 鉴定方法研究

1.2.1 大蒜不同生育时期病菌侵染途径试验

分别在‘改良蒜’和‘汉中红皮蒜’5叶龄植株上取最上部新叶（第5叶），在花芽鳞芽分化期取最上部新叶（第8叶）（孔素萍 等，2010）进行无伤口接种和伤口接种。

无伤口接种：将培养5 d大小为0.5 cm × 0.5 cm的菌丝块有菌丝的一面贴在植株叶片上，用透明胶带固定然后放置在暗处24 h并保湿，之后使其在温度18℃左右的室内自然发病，7 d后开始调查发病情况（董炜博 等，2001）。每次处理5株，重复3次，对照贴无菌的大小为0.5 cm × 0.5 cm培养块（培养基上未接种病菌，在相同条件下培养）。

伤口接种：用灭过菌的接种刀在叶中部垂直于叶脉处割一个约6 mm的伤口，于伤口处贴菌丝块。每次处理5株，重复3次，对照在伤口处贴无菌的培养块。

大蒜植株白腐病调查分级标准：0级，植株健壮，无病斑；1级，植株较矮小，病斑面积 \leq 病叶面积的10%，根部无明显变化；3级，植株较矮小，病斑面积 $>$ 病叶面积的10%但 $\leq 25\%$ ，根部可见零星菌核分布；5级，植株矮小，病斑面积 $>$ 病叶面积的25%但 $\leq 50\%$ ，根部可见较多菌核；7级，植株矮小，病斑面积 $>$ 病叶面积的50%但 $\leq 75\%$ ，根部可见大量菌核；9级，植株极矮小，病斑面积 $>$ 病叶面积的75%，根部布满菌核。

1.2.2 接种叶龄、接种温度以及调查时间试验

采用离体叶面接种法对‘改良蒜’和‘汉中红皮蒜’接种，接种叶分别为3、4、5、6叶龄植株最上部新叶。将供试健康大蒜嫩叶用剪刀剪成长约6 cm的小段，正面向上放在垫有滤纸的瓷盘，每盘12片，并滴加 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的激动素溶液30 mL作培养介质兼保绿剂。将菌丝块有菌丝的一面紧贴在叶片上，以相同大小无菌的培养块接种为对照，将瓷盘用保鲜膜密封，分别放在温度为 16°C 、 18°C 、 20°C 、 22°C ，光照为 2100 lx 的培养箱中培养，光照时间 $12 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ ，筛选适宜的发病温度，接种后4~8 d每天调查发病情况，筛选适宜的病情调查时期。

离体叶白腐病分级标准：0级，叶色正常无黄色病斑；1级，病斑面积 \leq 叶片面积的20%；3级，病斑面积 $>$ 叶片面积的20%但 $\leq 40\%$ ；5级，病斑面积 $> 40\%$ 但 $\leq 75\%$ ；7级，病斑面积 $> 75\%$ 。病情指数 $=[\sum(\text{各级病叶数} \times \text{相应级别}) / (\text{调查总叶数} \times \text{最高病级})] \times 100$ （曾华兰 等，2008）。

1.2.3 活体和离体接种试验

选用‘改良蒜’和‘汉中红皮蒜’6叶期植株最上部新叶，活体接种用伤口接种法，离体接种分别将叶面向上和背面向上放置接种菌丝块。接种后16 d调查病情（16 d时发病差异显著）。

1.3 鉴定方法的验证

供试大蒜品种选用G005（抗病）、G023（感病）和G025（感病），接种选用6叶期植株最上部新叶，采用离体叶面接种法接种菌丝块，接种后7 d调查发病情况。

2 结果与分析

2.1 大蒜苗期和花芽鳞芽分化期白腐病菌侵染途径分析

选择出苗一致的‘改良蒜’（感病）和‘汉中红皮蒜’（抗病）分别进行5叶期的最上部新叶伤口和无伤口接C种试验，接种8 d后两个供试品种无论是伤口接种，还是无伤口接种，植株都有发病症状，且发病初期同品种有伤口和无伤口接种差异显著，但随着接种天数的变化，两者差异逐渐缩小；而相同接种法接种的不同品种一直都存在差异（图1，A）。

花芽鳞芽分化期接种试验，接种8 d后只有伤口接种的‘改良蒜’（感病）出现白腐病症状；接种17 d后伤口接种的两品种均有明显的发病症状，且‘改良蒜’（感病）的病情指数高于‘汉中红皮蒜’（抗病）；而无伤口接种的品种只有‘改良蒜’（感病）有少许发病症状（图1，B）。

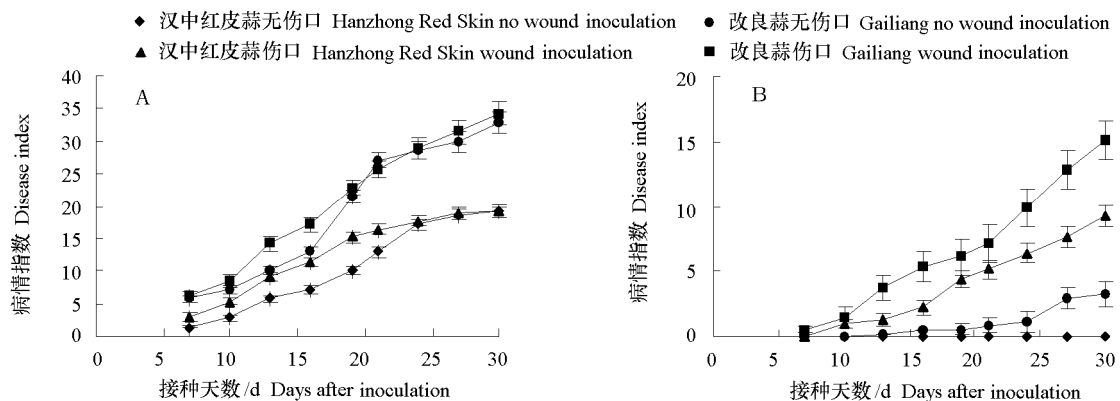


图 1 大蒜活体苗期（A）和花芽鳞芽分化期（B）伤口和无伤口接种白腐病发病情况

Fig. 1 The expression of garlic after inoculating white rot by wound method and no wound method at seedling stage (A) and flower bud differentiation stage (B)

可见白腐病菌菌丝在苗期通过自然孔口和伤口均可侵染大蒜植株，而在花芽鳞芽分化期主要通过伤口侵染。因此，在离体接菌鉴定时，苗期可进行伤口接菌，也可以无伤口接菌，而在花芽鳞芽分化期，最好采用伤口接菌法。从观察总趋势可知，接种后植株的发病情况都随天数的增加而加重。‘改良蒜’（感病）较‘汉中红皮蒜’（抗病）发病严重，这与在大田条件下调查的两个品种的自然发病情况表现一致。可见在进行接种鉴定时，不论病菌是通过伤口或自然孔口侵入，同一条件下抗病品种与感病品种发病情况的差异具有相似性。

2.2 大蒜白腐病抗性鉴定适宜叶龄、适宜培养温度及调查时间的确定

由表 1 可知，抗病品种不同叶龄鉴定结果差异显著不同，而感病品种差异不显著。各叶龄时期鉴定，抗病品种与感病品种间都有显著差异，且与其抗性水平一致，所以原则上 3 ~ 6 叶期都可鉴定。但抗病和感病品种的病情指数都在 4 叶期最大，且品种间极差最小；3 叶期和 5 叶期两品种的极差较小；而 6 叶期两品种病情指数极差最大。所以认为 6 叶期是大蒜白腐病最佳接种鉴定时期。

由表 2 可知，两个鉴定品种不同温度（22 ℃除外）下的病情指数都有显著差异，说明离体鉴定接种病菌后培养温度的选择很重要。接种后 22 ℃培养感病品种病情指数最低，而抗病品种不但显著高于其它温度培养，而且与感病品种无显著差异；16 ℃、18 ℃和 20 ℃培养，抗病品种与感病品种间都有显著性差异，但 18 ℃下两品种病情指数极差最大，故认为 18 ℃是最佳培养温度。

由表 3 可知，两品种的病情指数都随接种天数的增加而递增。接种后 4 d 病情指数较小，品种间差异不显著；接种后 5 d 和 6 d 时虽然两品种差异显著，但品种间极差较小，且感病品种在接种后 5 d 表现为抗病水平。接种后 7 d 和 8 d 抗病和感病品种间极差最大，与品种的实际抗性水平一致。综合考虑认为，接种后 7 ~ 8 d 是调查比较品种间抗病性差异的最佳时期。

表 1 不同叶龄离体接种鉴定不同抗病性大蒜品种白腐病病情指数
Table 1 The white-rot disease index of garlic cultivars with different resistance in vitro inoculated at different leaf stage

接种叶龄 Leaf age for inoculation	汉中红皮蒜（抗病） Hanzhong Red Skin (Resistant)	改良蒜（感病） Gailiang (Susceptible)	品种间差异 Defference between cultivars
3	9.2 ± 0.85 b	15.1 ± 1.68 a	显著 Significant
4	11.4 ± 1.06 c	16.3 ± 1.32 a	显著 Significant
5	9.9 ± 0.65 b	14.4 ± 1.14 a	显著 Significant
6	6.9 ± 0.64 a	13.6 ± 1.29 a	显著 Significant

注：同列数据后不同的小写字母表示在 $P < 0.05$ 水平差异显著。下表同。
Note: Significant differences ($P < 0.05$) among treatments are indicated by different letters following the data in each column. The same below.

表 2 离体接种后不同温度下不同抗病性大蒜品种白腐病病情指数
Table 2 The white-rot disease index of garlic cultivars with different resistance cultured at different temperature after in vitro inoculation

培养温度/℃ Temperature	汉中红皮蒜（抗病） Hanzhong Red Skin (Resistant)	改良蒜（感病） Gailiang (Susceptible)	品种间差异 Defference between cultivars
16	7.4 ± 0.84 a	14.1 ± 1.71 a	显著 Significant
18	8.5 ± 0.79 a	18.5 ± 1.41 b	显著 Significant
20	8.9 ± 0.74 a	14.9 ± 1.59 a	显著 Significant
22	12.6 ± 0.78 b	11.9 ± 1.01 a	不显著 Not significant

表 3 离体接种后不同时期不同抗病性大蒜品种白腐病的病情指数
Table 3 The white-rot disease index of garlic cultivars with different resistance investigated at different stage after in vitro inoculation

接种后天数/d Number of days after inoculation	汉中红皮蒜（抗病） Hanzhong Red Skin (Resistant)	改良蒜（感病） Gailiang (Susceptible)	品种间差异 Defference between cultivars
4	4.9 ± 0.77 a	6.7 ± 0.86 a	不显著 Not significant
5	7.6 ± 0.73 b	11.4 ± 0.80 b	显著 Significant
6	9.8 ± 0.62 c	14.4 ± 0.85 b	显著 Significant
7	12.0 ± 0.63 d	20.3 ± 1.28 c	显著 Significant
8	12.3 ± 0.60 d	21.5 ± 1.28 c	显著 Significant

2.3 活体接种和离体接种方法的比较

‘汉中红皮蒜’（抗病）和‘改良蒜’（感病）在离体接种条件下的病情指数分别为 7.9 ± 0.58 和 21.8 ± 0.72 ；活体接种条件下分别为 9.4 ± 0.34 和 24.9 ± 0.37 。各品种间病情指数趋势一致，而且都与该品种在大田的发病情况表现一致。因此，离体和活体接种法都可用于大蒜品种的白腐病抗性鉴定。

2.4 叶面接种与叶背接种效果的比较

‘汉中红皮蒜’（抗病）和‘改良蒜’（感病）在叶面接种条件下的病情指数分别为 7.9 ± 0.58 和 21.8 ± 0.72 ，叶背接种条件下分别为 7.8 ± 0.57 和 21.4 ± 1.11 。同一品种叶面接种和叶背接种的鉴定结果相近，无显著性差异。而同一接种部位不同品种的病情指数均有显著差异。说明在离体接种试验中，采用叶面接种或叶背接种都能反映品种抗病性。

2.5 鉴定方法的验证

对上述抗病性鉴定方法，用已知抗性的品种 G005（抗病）、G023（感病）和 G025（感病）进行验证，结果为 G005（抗病）病情指数为 7.1 ± 0.62 ，G023（感病）病情指数为 22.1 ± 1.29 ，G025（感病）病情指数为 23.9 ± 1.71 ，抗病品种 G005 的病情指数明显低于感病品种 G023 和 G025，这与验证品种的田间抗病性一致，表明该方法准确、可靠，可用于大蒜品种的白腐病抗性鉴定。

3 讨论

大蒜白腐病是根部土传病害，其菌丝和菌核在土壤和病残组织中存活时间较长（Coley-Smith et al., 1990），仅靠药剂防治效果甚微。目前国外应用生物防治抑制白腐病取得了较显著效果，但由于成本较高不具有推广意义（梁静和程智慧，2010）。因此，筛选抗病品种具有重要意义。

本研究表明，大蒜3~6叶龄进行鉴定都能区别品种对白腐病的抗性，但3~5叶期植株较幼嫩，病情指数偏高，鉴定品种间病情指数极差较小；6叶期抗感两品种病情指数差异显著，且极差最大，是苗期鉴定的最适时期。

本试验中叶面接种和叶背接种鉴定结果无显著差异，可能由于大蒜是单子叶植物，其正面与背面的叶绿素含量和气孔数都近乎相等，病菌侵入途径和光合作用方面几乎没有差别（贺学礼，2001；邹燕 等，2009）。而同一接种方式品种间存在差异，说明两种接种方式都可反映品种的抗病情况。

本试验研究发现，在接种大蒜白腐病菌后，随着调查时间的延长两品种的病情指数均不同程度升高。在接种后7 d，各品种的病情指数的发展趋于平缓，此时为病情调查的最佳时期。因此在接种后7~8 d这个时期内，病情指数比较稳定，进行病害程度调查是适宜的。

接菌后的培养温度对鉴定结果影响很大。在16~20℃培养都可以反映抗感品种的抗病性差异，但16℃培养时抗病品种‘汉中红皮蒜’和感病品种‘改良蒜’的病情指数都较低，品种间差异偏小；18℃培养时两个鉴定品种的病情指数不同程度的升高，品种间差异最大；20℃和22℃培养时抗病品种病情指数继续升高，而感病品种下降，品种间差异缩小（其原因还待进一步研究）。因此认为，培养温度18℃是大蒜白腐病抗性鉴定接种后的最佳培养温度。在18℃培养时抗感两品种的差异最显著，这可能和病菌自身的侵染习性有关。张林青和程智慧（2008c）研究表明大蒜白腐病菌的最佳产毒培养基为Fries液体培养基，培养温度为18℃时，产生毒素最多；这和品种的自身特性也有一定的关系，‘改良蒜’蒜头较大，根系发达，而白腐病菌的萌发需要根系分泌物的刺激。

总之，本试验结果表明，6叶期抗、感两品种差异显著，是苗期抗病性鉴定的适宜时期；叶面接种和叶背接种结果无显著性差异；接种后7~8 d为病情调查的最佳时期；接菌后在18℃培养，抗、

感两品种的差异最显著。本研究建立的大蒜白腐病离体叶片接种抗病性鉴定方法,其鉴定结果与田间鉴定结果一致,并且在验证品种上有相似的结果,是一套简便、快捷、可靠的大蒜白腐病抗病性鉴定方法。

References

- Coley-Smith J R, Mitchell C M, Sansford C E. 1990. Long-term survival of *Sclerotium cepivorum* and *Stromatinia gladioli*. *Plant Pathology*, 39: 58 - 69.
- Dong Wei-bo, Shi Yan-mao, Sun Ai-xiang, Geng Ying-xiu, Liu Jia-yu. 2001. Inoculation techniques and evaluation of resistance to *Sclerotium* in peanut in greenhouse. *Journal of Peanut Science*, 30 (3): 17 - 20. (in Chinese)
- 董伟博, 石延茂, 孙爱香, 耿英修, 刘甲玉. 2001. 花生白绢病的温室接种技术及抗性鉴定. *花生学报*, 30 (3) : 17 - 20.
- He Xue-li. 2001. Botany. Xi'an: Shaanxi Science and Technology Press: 51 - 57, 118 - 120. (in Chinese)
- 贺学礼. 2001. 植物学. 西安: 陕西科学技术出版社: 51 - 57, 118 - 120.
- Kong Su-ping, Lin Zhi-qiang, Yang Ai-ping, Xu Pei-wen. 2010. Correlation of bulbil differentiation with plant morphological characteristics of garlic. *Shandong Agricultural Sciences*, 11: 10 - 13. (in Chinese)
- 孔素萍, 林志强, 杨爱平, 徐培文. 2010. 不同大蒜品种鳞芽分化与植株形态特征的相关性. *山东农业科学*, 11: 10 - 13.
- Liang Jing, Cheng Zhi-hui. 2010. Research progress in garlic white rot and its control. *China Vegetables*, 14: 13-18. (in Chinese)
- 梁 静, 程智慧. 2010. 大蒜白腐病及其防治方法研究进展. *中国蔬菜*, 14: 13 - 18.
- Sheng Hong-mei, Jia Ying-chun, Chen Xiu-rong. 2003. Disease survey and pathogen identification of garlic (*Allium sativum*) and control methods. *Journal of Gansu Agricultural University*. 38(2): 194 - 199. (in Chinese)
- 盛红梅, 贾迎春, 陈秀蓉. 2003. 大蒜病害调查病原鉴定及其防治. *甘肃农业大学学报*, 38 (2) : 194 - 199.
- Zeng Hua-lan, Ye Peng-sheng, He Lian, Li Qiong-fang, Wei Shu-gu. 2008. Resistance evaluation of eggplant resources to verticillium wilt. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 21 (3): 655 - 658. (in Chinese)
- 曾华兰, 叶鹏盛, 何 炼, 李琼芳, 韦树谷. 2008. 茄子品种资源抗黄萎病性鉴定评价. *西南农业学报*, 21 (3): 655 - 658.
- Zhang Gen-feng, Zhang Yi. 2004. Prevention and control technology of garlic white rot. *Journal of Changjiang Vegetable*, 2: 31. (in Chinese)
- 张根峰, 张 翼. 2004. 大蒜白腐病的防治技术. *长江蔬菜*, 2: 31.
- Zhang Lin-qing, Cheng Zhi-hui. 2008a. Effects of factors of environment on *Sclerotium cepivorum* Berk. causing white rot in garlic. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 24 (6): 342 - 345. (in Chinese)
- 张林青, 程智慧. 2008a. 环境因子对大蒜白腐病原菌生长的影响. *中国农学通报*, 24 (6): 342 - 345.
- Zhang Lin-qing, Cheng Zhi-hui. 2008b. Effect of white rot pathology (*Sclerotium cepivorum* Berk.) on defensive enzymes of garlic. *Journal of Northwest A&F University: Nat Sci Ed*, 36(4): 171 - 174. (in Chinese)
- 张林青, 程智慧. 2008b. 大蒜白腐病菌对寄主防御酶系活性的影响. *西北农林科技大学学报: 自然科学版*, 36 (4): 171 - 174.
- Zhang Lin-qing, Cheng Zhi-hui. 2008c. Optimization of culturing conditions for toxin production by *Sclerotium cepivorum* Berk. of garlic. *Acta Horticulturae Sinica*, 35 (6): 841 - 846. (in Chinese)
- 张林青, 程智慧. 2008c. 大蒜白腐病原菌产毒素培养条件的优化. *园艺学报*, 35 (6): 841 - 846.
- Zhong Cheng, Li Jia-chun, Jiang Feng-xiang, He Xin-hong. 2010. The incidence and integrative control of garlic major diseases in Chengxian area. *Journal of Changjiang Vegetable*, 5: 32 - 33. (in Chinese)
- 钟 诚, 李家春, 姜凤香, 贺新红. 2010. 成县大蒜主要病害发生规律及综合防治技术. *长江蔬菜*, 5: 32 - 33.
- Zou Yan, Cheng Zhi-hui, Cheng Xiao-lan, Wang Yi, Niu Qing. 2009. Studies on identification method of garlic resistance to violet leaf spot. *Acta Horticulturae Sinica*, 36 (5): 763 - 770. (in Chinese)
- 邹 燕, 程智慧, 程晓兰, 王 一, 牛 青. 2009. 大蒜紫斑病抗性鉴定方法的研究. *园艺学报*, 36 (5): 763 - 770.