

# 苹果炭疽叶枯病菌致病力分析及苹果种质抗病性鉴定

吴建圆,王娜,冀志蕊,迟福梅,周宗山,张俊祥

(中国农业科学院果树研究所,辽宁兴城 125100)

**摘要:**苹果炭疽叶枯病是由胶孢炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)引起的一种真菌病害,现已上升为世界苹果生产中的主要病害之一。了解不同来源的苹果炭疽叶枯病菌致病力差异及明确苹果种质资源对苹果炭疽叶枯病的抗性,对品种选育、品种合理布局以及控制病害的流行具有重要的参考价值。本研究对不同来源的79株病原菌进行了室内致病力测定,获知该菌致病力差异明显,其中强致病力菌株所占比例大。同时,本研究也对327份苹果种质资源进行了室内抗病性鉴定,其中高抗资源160份,中抗资源6份,中感资源22份,高感资源139份。表明我国现保存的苹果种质资源中存在丰富抗病种质。进一步按苹果分类系统分析发现,抗病资源在当前栽培的主要品种群中均有分布,特别是红玉品种群、富士品种群抗病资源最为丰富。

**关键词:**苹果炭疽叶枯病;胶孢炭疽菌;致病力;抗病资源

## Pathogenicity Differentiation of Pathogen Causing Glomerella Leaf Spot of Apple (GLSA) and Evaluation of Resistance to GLSA in Apple Germplasms

WU Jian-yuan, WANG Na, JI Zhi-rui, CHI Fu-mei, ZHOU Zong-shan, ZHANG Jun-xiang

(Institute of Pomology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Xingcheng Liaoning 125100)

**Abstract:** Glomerella leaf spot of apple (GLSA) caused by *Colletotrichum gloeosporioides* has become a major apple disease in the world. Considering the pathogenicity differentiation of the pathogen isolated from different origins and ascertaining the apple germplasm resistance to GLSA, will be of great value to resistance breeding of apple, rational distribution of varieties and disease management. The pathogenicity differentiation of seventy-nine strains isolated from the different origins was studied by pathogenicity test *in vitro*. Significant pathogenicity difference differentiation was detected in *C. gloeosporioides*, and the high virulent strains occupied a higher proportion. In addition, three-hundred and twenty-seven apple germplasms response to GLSA were evaluated by inoculated detached leaves, and one-hundred and sixty-highly resistant germplasms, six moderately resistant germplasms, twenty-two moderately susceptible germplasms, and one-hundred and thirty-nine highly susceptible germplasms were screened respectively. The results showed that there were abundant resistant germplasms in apple. Based on the classify system of apple, this study indicated that resistant germplasms were distributed in each apple cultivar groups, in particularly Fuji and Jonathan cultivar groups.

**Key words:** Glomerella leaf spot of apple; *Colletotrichum gloeosporioides*; pathogenicity; resistance germplasms

苹果炭疽叶枯病由胶孢炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)引起<sup>[1-4]</sup>。该病原菌除为害金冠、嘎

拉和乔纳金等苹果品种的叶片,还为害富士、金冠和秦冠等苹果品种的果实<sup>[5-6]</sup>。该病害发病速度快,

收稿日期:2016-03-17 修回日期:2016-06-22 网络出版日期:2017-02-17

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20170217.1126.016.html>

基金项目:中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(1610182016002);国家自然科学基金青年科学基金项目(31501596);中国农业科学院科技创新工程

第一作者研究方向为分子植物病理学。E-mail: jianyuanyu920115@163.com

通信作者:周宗山,研究方向为分子植物病理学。E-mail: zszhouqrj@163.com

从侵染叶片到始见病斑仅需 2 d。病斑初期为褐色小点,随病情的发展病斑逐渐扩展为不规则的大型坏死斑,在 4~5 d 内造成树体大量落叶。受侵染的果实初期在表面形成大量 1~2 mm 的深褐色病斑,后期病斑连接成片,严重影响果实的表光和品质。苹果炭疽叶枯病属世界性病害,在巴西、美国等苹果主产国常年发生<sup>[2,4,7]</sup>,目前,该病害在我国山东、安徽、河北、辽宁、山西、陕西等苹果主产区均有发生,并有逐年加重的趋势<sup>[8]</sup>。且已经从一种苹果新病害上升为苹果的重要病害。

目前,国内外学者开展了关于该病害的病原学<sup>[1-2,9-10]</sup>、侵染流行规律<sup>[11]</sup>和致病机理<sup>[12]</sup>等方面的研究,但对该病原菌的致病力差异及苹果种质资源对苹果炭疽叶枯病抗性评价研究尚未开展。研究不同来源的苹果炭疽叶枯病菌致病力差异,是探索其多态性以及开展致病机制等研究的重要基础;明确不同苹果种质资源间的抗病性差异,不仅可为抗病育种提供抗性资源或亲本材料还可为生产上栽培品种的合理布局提供依据。因此,本研究就苹果炭疽叶枯病菌致病力差异及不同苹果种质资源的抗病性差异开展了相关研究,以期品种的选育、品种的合理布局提供理论基础,为控制该病害的流行提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试菌株

于 2014 年、2015 年 8 月上旬,在辽宁省兴城市、绥中市 36 个苹果种植园采集金冠病叶样品 79 份,剪取病健交界处 2~3 mm 组织块,浸泡在 75% 酒精中 1 min,无菌水冲洗 3~4 次,用无菌滤纸吸干组织块,置于含 100 μg/mL 氯霉素的 PDA 平板培养基上,25 °C 黑暗培养 5 d,待长出菌丝后,从菌落边缘挑取菌丝,转移到新的 PDA 培养基上,25 °C 黑暗培养 5 d 后,刮去菌落表面菌丝,继续培养至 10 d,进行单孢分离。100 μL 分生孢子悬浮液( $1 \times 10^4$  个/mL)涂布于 2% 水琼脂平板上,于 25 °C 下培养 10 h 后,在解剖显微镜下,挑取已萌发的单个分生孢子于 PDA 平板培养基,每个样本保留 1 个单孢菌株,共获得 79 株苹果炭疽叶枯病菌菌株(表 1)。

### 1.2 供试苹果材料

2015 年 8 月下旬至 10 月上旬,采集苹果材料进行室内接种实验。用于致病力鉴定的苹果叶片和果实,采自位于辽宁兴城的中国农业科学院果树研

究所植保中心试验园,品种为金冠。327 份苹果种质资源材料采集于国家苹果种质资源圃(兴城),包含当前苹果主栽品种及主要种群核心种质,用于抗病性鉴定。

### 1.3 致病力测定方法

所有菌株均采用叶片无伤接种和果实有伤接种方法进行致病力测定。(1)叶片接种法:选取大小、色泽、幼嫩程度相近的感病品种金冠叶片作为接种材料,将叶片表面用无菌水冲洗干净,晾干后平铺到含有 100 μg/mL 氯霉素水琼脂培养皿上。配置浓度为  $1 \times 10^5$  个/mL 孢子悬浮液,用 10 μL 孢子悬浮液分别对金冠叶片进行无伤口接种,每片叶片接种 3 处。接种后 28 °C 黑暗保湿培养,以 10 μL 无菌水接种为对照。每处理 3 片叶片,重复 3 次。观察并记录发病情况,接种 3 d 后按十字交叉法测量病斑大小,并根据各处理的病斑大小评价各菌株致病力差异。(2)果实接种法:选取大小、色泽、成熟度一致的金冠苹果果实,苹果表面用无菌水冲洗干净,75% 酒精擦拭表面消毒,无菌水擦洗 3 次,自然晾干。用无菌牙签扎入苹果表面 3 mm 左右,将 10 μL 孢子悬浮液(浓度同叶片接种)接种于果实伤口处,接种后的果实置于保鲜袋中,28 °C 黑暗保湿培养,以 10 μL 无菌水接种为对照。每个处理 3 个苹果,重复 3 次。3 d 后观察并记录发病情况,病斑测量方法同离体叶片接种法。

叶片接种致病力分级标准如下,0 级:叶片无病斑;1 级:0 mm < 病斑直径 < 3.5 mm;3 级:3.5 mm ≤ 病斑直径 < 7.0 mm;5 级:7.0 mm ≤ 病斑直径 < 10.5 mm;7 级:10.5 mm ≤ 病斑直径 < 14.0 mm;9 级:病斑直径 ≥ 14.0 mm。果实接种致病力分级标准如下,0 级:果实无病斑;1 级:0 mm < 病斑直径 < 3.0 mm;3 级:3.0 mm ≤ 病斑直径 < 6.0 mm;5 级:6.0 mm ≤ 病斑直径 < 9.0 mm;7 级:9.0 mm ≤ 病斑直径 < 12.0 mm;9 级:病斑直径 ≥ 12.0 mm。根据发病级别计算病情指数,并根据病情指数划分致病力等级。致病力划分标准如下,强致病力:病情指数 ≥ 60.0;中等致病力:60.0 > 病情指数 ≥ 30.0;弱致病力:病情指数 < 30.0。病情指数计算公式:  $DI = \sum (s_i \times n_i) / 9N \times 100$  (DI = 病情指数,  $s_i$  = 发病级别,  $n_i$  = 相应发病级别数目, N = 调查总数目)。

### 1.4 抗病性鉴定方法

选取未发病、成熟度一致的供试种质资源秋梢 3~5 节展开叶(20 d 叶龄左右)进行抗病性离体接

种鉴定,叶片表面用无菌水冲洗干净,晾干后平铺到含有 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  氯霉素水琼脂培养皿上。将 10  $\mu\text{L}$  强致病力菌株 W16 的分生孢子悬浮液(浓度同病菌致病力测定)定点接种于叶片表面,每片叶片接种 3 点。每个处理接种 3 片叶片,重复 3 次,以 10  $\mu\text{L}$  无菌水接种为对照。接种后,28  $^{\circ}\text{C}$  黑暗保湿培养 3 d 后,观察并记录发病情况。苹果种质资源抗性的分级标准如下,高抗:0 mm  $\leq$  病斑直径 < 2.0 mm;中抗:2.0 mm  $\leq$  病斑直径 < 4.0 mm;中感:4.0 mm  $\leq$  病斑直径 < 8.0 mm;高感:病斑直径  $\geq$  8.0 mm。

### 1.5 数据分析

采用 SAS 9.0 统计分析软件进行相关分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同苹果炭疽叶枯病菌对叶片的致病力分析

叶片接种结果显示,79 株病原菌均能使金冠叶片形成病斑,但各个菌株对苹果叶片的致病力存在明显差异现象(表 1)。来源于绥中的 W16 菌株所致病斑直径最大,达到 15.3 mm;来源于兴城的 W51 菌株所致病斑直径最小,为 2.0 mm。不同菌株所致

金冠叶片病情指数分布在 13.2 ~ 100.0 之间,根据病情指数,对 79 株病原菌进行致病力划分。其中强致病力菌株 37 株,占总菌株数的 46.8%,中等致病力菌株 30 株,占总菌株数的 38.0%,弱致病力菌株 12 株,占总菌株数的 15.2%。

### 2.2 不同苹果炭疽叶枯病菌对果实的致病力分析

供试的 79 个苹果炭疽叶枯病菌菌株接种金冠果实后,各菌株所致病斑的平均直径如表 1 所示。不同菌株所致苹果果实病斑的平均直径有较大差异,所致病斑直径范围为 2.1 ~ 14.8 mm,病斑直径最大的为采集于绥中市的 W21 菌株,所致病斑直径最小的为采集于兴城的 W77 菌株。79 株菌株的病情指数分布在 13.6 ~ 100.0 之间,其中有 50 株菌株的病情指数超过 60.0,为强致病力菌株,占总菌株数的 63.3%;22 株菌株的病情指数在 30.0 ~ 60.0 之间,为中等致病力菌株,占总菌株数的 27.8%;仅有 7 株菌株的病情指数低于 30.0,为弱致病力菌株,占总菌株数的 8.9%。上述结果表明,苹果炭疽叶枯病菌具有致病力差异现象,强致病力菌株为优势种群。

表 1 不同苹果炭疽叶枯病菌致病力测定结果

Table 1 Pathogenicity of different isolates of *Colletotrichum gloeosporioides*

编号 Code	叶片平均病斑直径 Average lesion diameters	平均病情指数 Average disease index	致病力 Virulence	编号 Code	果实平均病斑直径 Average lesion diameters	平均病情指数 Average disease index	致病力 Virulence
W16	15.3 $\pm$ 1.2 A	100.0 $\pm$ 0.0	强	W21	14.8 $\pm$ 0.5 A	100 $\pm$ 0.0	强
W69	15.3 $\pm$ 2.9 AB	96.3 $\pm$ 1.2	强	W49	14.8 $\pm$ 1.5 A	100 $\pm$ 0.0	强
W2	15.1 $\pm$ 1.2 ABC	98.7 $\pm$ 1.4	强	W22	14.5 $\pm$ 0.8 AB	97.3 $\pm$ 2.1	强
W60	15.0 $\pm$ 0.6 ABC	98.0 $\pm$ 1.5	强	W64	14.4 $\pm$ 1.1 AB	97.3 $\pm$ 3.5	强
W59	14.8 $\pm$ 1.0 ABCD	97.4 $\pm$ 0.6	强	W20	14.4 $\pm$ 0.6 AB	97.3 $\pm$ 1.3	强
W24	14.6 $\pm$ 2.5 ABCDE	96.1 $\pm$ 3.1	强	W51	14.0 $\pm$ 1.2 ABC	94.6 $\pm$ 5.2	强
W36	14.6 $\pm$ 0.6 ABCDE	96.1 $\pm$ 3.1	强	W50	13.9 $\pm$ 0.7 ABCD	93.2 $\pm$ 4.5	强
W22	14.4 $\pm$ 2.1 ABCDEF	94.7 $\pm$ 2.5	强	W24	13.7 $\pm$ 1.1 ABCDE	91.9 $\pm$ 3.2	强
W5	14.2 $\pm$ 1.5 ABCDEF	93.4 $\pm$ 1.4	强	W65	13.6 $\pm$ 2.1 ABCDE	91.9 $\pm$ 1.7	强
W4	14.0 $\pm$ 0.6 ABCDEF	92.1 $\pm$ 5.2	强	W48	13.5 $\pm$ 2.0 ABCDEF	90.5 $\pm$ 2.3	强
W41	13.6 $\pm$ 2.1 ABCDEFG	89.5 $\pm$ 7.2	强	W74	13.3 $\pm$ 0.9 ABCDEFG	89.2 $\pm$ 5.1	强
W14	13.5 $\pm$ 1.5 ABCDEFGH	88.2 $\pm$ 1.4	强	W72	13.0 $\pm$ 1.0 ABCDEFGH	87.8 $\pm$ 4.6	强
W1	13.3 $\pm$ 2.1 ABCDEFGH	85.5 $\pm$ 12.5	强	W16	12.9 $\pm$ 1.3 ABCDEFGH	75.9 $\pm$ 1.2	强
W72	13.2 $\pm$ 1.1 ABCDEFGH	86.8 $\pm$ 2.5	强	W54	12.8 $\pm$ 1.2 ABCDEFGH	86.5 $\pm$ 0.9	强
W10	13.1 $\pm$ 1.2 ABCDEFGHI	85.5 $\pm$ 12.5	强	W58	12.8 $\pm$ 1.2 ABCDEFGH	86.5 $\pm$ 5.5	强
W17	13.1 $\pm$ 1.2 ABCDEFGHI	86.2 $\pm$ 8.7	强	W60	12.7 $\pm$ 1.4 ABCDEFGHI	85.1 $\pm$ 4.7	强
W49	12.7 $\pm$ 1.6 ABCDEFGHIJ	82.9 $\pm$ 6.3	强	W55	12.6 $\pm$ 2.9 ABCDEFGHI	85.1 $\pm$ 8.2	强
W68	12.7 $\pm$ 3.1 ABCDEFGHIJ	82.9 $\pm$ 1.4	强	W59	12.5 $\pm$ 1.5 ABCDEFGHIJ	84.5 $\pm$ 6.2	强
W21	12.4 $\pm$ 1.5 ABCDEFGHIJ	80.9 $\pm$ 5.8	强	W25	12.5 $\pm$ 0.6 ABCDEFGHIJ	83.8 $\pm$ 4.2	强
W19	12.2 $\pm$ 2.1 ABCDEFGHIJ	79.6 $\pm$ 4.3	强	W47	12.4 $\pm$ 0.8 ABCDEFGHIJ	83.8 $\pm$ 4.6	强

表 1(续)

编号 Code	叶片平均病斑直径 Average lesion diameters	平均病情指数 Average disease index	致病力 Virulence	编号 Code	果实平均病斑直径 Average lesion diameters	平均病情指数 Average disease index	致病力 Virulence
W44	11.7 ± 2.3 BCDEFGHIJK	76.3 ± 13.5	强	W53	12.0 ± 1.0 BCDEFGHIJK	81.1 ± 5.5	强
W76	11.4 ± 1.3 BCDEFGHIJKL	74.3 ± 1.5	强	W44	12.0 ± 1.0 BCDEFGHIJK	81.1 ± 3.1	强
W11	11.3 ± 2.1 BCDEFGHIJKL	74.3 ± 1.5	强	W27	11.9 ± 1.5 BCDEFGHIJKL	79.7 ± 3.6	强
W42	11.3 ± 2.1 BCDEFGHIJKL	74.3 ± 5.8	强	W1	11.6 ± 1.7 BCDEFGHIJKL	78.4 ± 2.2	强
W79	11.3 ± 2.1 BCDEFGHIJKL	73.7 ± 6.7	强	W61	11.6 ± 1.2 BCDEFGHIJKL	78.4 ± 3.1	强
W75	10.9 ± 1.5 BCDEFGHIJKLM	71.1 ± 11.2	强	W68	11.5 ± 1.8 BCDEFGHIJKL	77.7 ± 3.5	强
W50	10.8 ± 0.5 BCDEFGHIJKLM	71.1 ± 1.4	强	W45	11.4 ± 2.1 BCDEFGHIJKL	77.0 ± 8.5	强
W58	10.6 ± 0.3 BCDEFGHIJKLMN	69.7 ± 4.7	强	W41	11.2 ± 0.8 BCDEFGHIJKLM	75.7 ± 6.2	强
W29	10.6 ± 0.3 BCDEFGHIJKLMN	70.7 ± 8.2	强	W19	11.2 ± 0.8 BCDEFGHIJKLM	75.7 ± 6.2	强
W64	10.5 ± 1.7 BCDEFGHIJKLMN	68.4 ± 5.8	强	W66	11.2 ± 1.7 BCDEFGHIJKLM	75.7 ± 8.4	强
W20	10.5 ± 2.3 BCDEFGHIJKLMN	68.4 ± 7.6	强	W9	11.0 ± 3.1 BCDEFGHIJKLM	74.3 ± 9.8	强
W15	10.2 ± 1.3 CDEFGHIJKLMN	67.1 ± 8.7	强	W56	10.8 ± 1.3 CDEFGHIJKLMN	73.0 ± 5.4	强
W57	10.0 ± 1.0 CDEFGHIJKLMN	68.7 ± 9.5	强	W69	10.8 ± 0.6 CDEFGHIJKLMN	73.0 ± 2.8	强
W26	9.8 ± 0.8 CDEFGHIJKLMN	64.5 ± 1.5	强	W5	10.7 ± 1.1 CDEFGHIJKLMN	71.6 ± 11.2	强
W63	9.6 ± 1.5 CDEFGHIJKLMN	63.2 ± 9.6	强	W37	10.6 ± 0.9 CDEFGHIJKLMN	71.6 ± 5.6	强
W78	9.6 ± 1.5 CDEFGHIJKLMN	63.2 ± 4.3	强	W75	10.5 ± 0.8 CDEFGHIJKLMN	71.0 ± 2.9	强
W46	9.5 ± 1.2 DEFGHIJKLMN	61.8 ± 12.5	强	W46	10.4 ± 1.2 CDEFGHIJKLMN	70.3 ± 5.8	强
W35	9.0 ± 0.0 DEFGHIJKLMN	59.2 ± 16.4	中	W3	10.4 ± 0.5 CDEFGHIJKLMN	70.3 ± 2.5	强
W55	8.7 ± 0.3 DEFGHIJKLMN	56.6 ± 6.3	中	W79	10.3 ± 0.6 DEFGHIJKLMN	67.7 ± 3.2	强
W27	8.6 ± 2.1 DEFGHIJKLMN	56.6 ± 11.3	中	W17	10.3 ± 1.7 DEFGHIJKLMN	68.9 ± 6.2	强
W9	8.5 ± 2.3 DEFGHIJKLMN	53.5 ± 1.4	中	W43	10.2 ± 1.2 DEFGHIJKLMN	68.9 ± 4.8	强
W34	8.5 ± 2.3 DEFGHIJKLMN	52.6 ± 7.4	中	W2	10.2 ± 1.2 DEFGHIJKLMN	68.2 ± 4.9	强
W3	8.5 ± 2.3 DEFGHIJKLMN	55.3 ± 7.6	中	W42	10.1 ± 0.6 EFGHIJKLMNO	67.6 ± 3.9	强
W7	8.3 ± 1.5 EFGHIJKLMNO	52.6 ± 3.8	中	W11	10.0 ± 1.0 EFGHIJKLMNO	67.6 ± 4.9	强
W45	8.1 ± 2.1 EFGHIJKLMNO	52.6 ± 2.1	中	W38	9.8 ± 1.2 EFGHIJKLMNO	66.2 ± 8.2	强
W13	8.0 ± 1.0 EFGHIJKLMNO	52.6 ± 3.8	中	W70	9.4 ± 2.1 EFGHIJKLMNO	63.5 ± 10.2	强
W56	7.7 ± 2.3 FGHIJKLMNOP	50.0 ± 5.0	中	W78	9.3 ± 0.7 EFGHIJKLMNO	62.1 ± 4.9	强
W39	7.5 ± 0.6 FGHIJKLMNOP	49.3 ± 4.6	中	W23	9.0 ± 1.0 FGHIJKLMNOP	60.8 ± 5.2	强
W30	7.4 ± 0.4 FGHIJKLMNOP	48.7 ± 5.8	中	W10	9.0 ± 1.7 FGHIJKLMNOP	60.8 ± 3.6	强
W8	7.3 ± 1.7 FGHIJKLMNOP	46.1 ± 16.6	中	W57	9.0 ± 2.0 FGHIJKLMNOP	60.8 ± 8.9	强
W48	7.1 ± 1.2 GHIJKLMNOPQ	46.1 ± 10.1	中	W13	8.9 ± 1.5 GHIJKLMNOPQ	59.5 ± 5.1	中
W53	7.1 ± 1.9 GHIJKLMNOPQ	46.1 ± 7.2	中	W29	8.9 ± 1.1 GHIJKLMNOPQ	59.5 ± 5.2	中
W47	7.0 ± 2.0 GHIJKLMNOPQ	46.1 ± 8.7	中	W34	8.8 ± 2.3 GHIJKLMNOPQ	59.5 ± 9.6	中
W43	6.8 ± 1.7 HIJKLMNOPQ	44.8 ± 4.6	中	W6	8.6 ± 0.8 HIJKLMNOPQ	58.1 ± 4.3	中
W54	6.5 ± 2.1 HIJKLMNOPQ	42.1 ± 7.4	中	W36	8.5 ± 0.6 HIJKLMNOPQ	56.8 ± 3.9	中
W74	6.4 ± 2.3 HIJKLMNOPQ	42.1 ± 3.8	中	W32	8.1 ± 2.5 IJKLMNOPQ	54.1 ± 10.8	中
W61	6.2 ± 1.7 IJKLMNOPQ	40.8 ± 2.5	中	W26	8.0 ± 2.0 IJKLMNOPQ	54.1 ± 8.5	中
W12	6.2 ± 0.6 IJKLMNOPQ	39.5 ± 6.5	中	W7	8.0 ± 1.2 IJKLMNOPQ	54.1 ± 4.6	中
W38	6.2 ± 0.6 IJKLMNOPQ	40.8 ± 1.5	中	W4	7.7 ± 0.3 IJKLMNOPQ	51.4 ± 2.6	中
W6	6.1 ± 2.1 JKLMNOPQ	39.5 ± 2.1	中	W12	7.5 ± 0.3 IJKLMNOPQ	50.0 ± 4.0	中
W23	6.1 ± 2.3 JKLMNOPQ	39.5 ± 12.5	中	W14	7.0 ± 1.0 JKLMNOPQ	47.3 ± 3.8	中
W25	6.0 ± 1.0 JKLMNOPQ	39.5 ± 7.2	中	W8	7.0 ± 1.2 JKLMNOPQ	47.3 ± 6.2	中
W65	5.6 ± 1.5 KLMNOPQ	37.1 ± 2.1	中	W52	6.6 ± 2.3 KLMNOPQ	43.3 ± 6.2	中



表 1(续)

编号 Code	叶片平均病斑直径 Average lesion diameters	平均病情指数 Average disease index	致病力 Virulence	编号 Code	果实平均病斑直径 Average lesion diameters	平均病情指数 Average disease index	致病力 Virulence
W70	5.6 ± 1.5 KLMNOPQ	36.8 ± 5.6	中	W40	5.9 ± 0.6 KLMNOPQ	39.2 ± 3.2	中
W66	5.4 ± 0.6 LMNOPQR	35.5 ± 6.5	中	W30	5.7 ± 1.2 KLMNOPQ	37.8 ± 4.3	中
W32	5.1 ± 2.9 MNOPQR	32.9 ± 11.6	中	W71	5.5 ± 1.2 LMNOPQR	35.8 ± 3.6	中
W31	5.0 ± 1.7 MNOPQR	32.9 ± 7.2	中	W33	5.4 ± 3.1 LMNOPQR	36.5 ± 12.6	中
W28	4.2 ± 2.2 NOPQRS	27.6 ± 3.5	弱	W39	5.4 ± 1.3 LMNOPQR	36.5 ± 6.5	中
W37	4.2 ± 2.2 NOPQRS	27.6 ± 3.5	弱	W15	5.1 ± 0.6 MNOPQR	33.8 ± 0.9	中
W71	4.2 ± 2.9 NOPQRS	27.6 ± 2.1	弱	W76	5.1 ± 0.5 MNOPQR	33.8 ± 2.5	中
W77	3.8 ± 1.5 OPQRST	25.1 ± 3.8	弱	W63	4.8 ± 1.5 NOPQRS	32.4 ± 4.4	中
W40	3.6 ± 1.7 PQRST	23.7 ± 4.6	弱	W31	4.7 ± 1.3 NOPQRS	31.1 ± 5.9	中
W73	3.6 ± 0.6 PQRST	23.7 ± 7.5	弱	W67	4.1 ± 2.1 OPQRS	27.0 ± 9.8	弱
W67	3.4 ± 1.2 QRST	22.4 ± 7.2	弱	W18	3.8 ± 2.2 PQRS	25.7 ± 5.9	弱
W33	3.2 ± 1.2 QRST	21.1 ± 5.4	弱	W35	3.2 ± 0.6 QRS	21.6 ± 7.2	弱
W52	3.1 ± 1.2 RST	19.7 ± 6.8	弱	W28	3.0 ± 1.0 QRS	20.2 ± 3.2	弱
W62	2.7 ± 0.8 ST	17.1 ± 3.2	弱	W73	2.9 ± 2.3 RS	18.7 ± 4.0	弱
W18	2.2 ± 0.6 T	14.5 ± 1.8	弱	W62	2.7 ± 0.6 RS	17.1 ± 2.3	弱
W51	2.0 ± 0.0 T	13.2 ± 2.5	弱	W77	2.1 ± 0.7 S	13.6 ± 2.6	弱

大写字母表示在  $P=0.01$  水平上病斑直径差异的显著性

Capital letter represent statistical significance of lesion diameters at  $P=0.01$

### 2.3 叶片接种和果实接种结果比较分析

叶片接种与果实接种病情指数相比,平均值下降 6.00,部分菌株叶片接种病情指数高于果实接种病情指数。另外,对各病菌接种叶片与果实发病结果做了相关性分析,结果显示:病菌接种叶片所致病情指数与接种果实所致病情指数相关系数  $R=0.44$ ,两者呈显著相关,这说明两种接种方法均能反映出菌株间的致病力差异情况。叶片接种与果实接种鉴定结果相比,叶片接种强致病力菌株所占比例低于果实接种的鉴定结果,中等、弱致病力菌株所占比例高于果实接种的鉴定结果。整体看来,两种鉴定结果趋于一致,如 W16 对苹果叶片和果实均表现为强致病力。但其中也有个别菌株的鉴定结果差异较大,如 W37、W51 在叶片接种方法中鉴定为弱致病力菌株,而在果实接种方法中鉴定为强致病力菌株;W4、W26 等菌株在叶片接种中鉴定为强致病力菌株,而在果实接种中鉴定为中等致病力菌株。

### 2.4 不同苹果种质资源对强致病力菌株抗病能力分析

327 份苹果种质资源材料对强致病力菌株 W16 抗病性鉴定结果(表 2)显示,不同苹果种质资源的抗性水平存在差异。327 份资源中高抗资源 160 份,占总数的 48.9%;中抗资源 6 份,占总数的

1.8%;中感资源 22 份,占总数的 6.7%,高感资源 139 份,占总数的 42.5%。参考辛培刚等<sup>[13]</sup>的报道及《河北省苹果志》<sup>[14]</sup>的相关论述,对供试的种质资源材料进行演化及亲缘关系分析,发现抗病及感病资源在不同品种群所占比例存在差异。富士品种群、红玉品种群存在丰富的抗病资源,如宫崎短枝、秋富 39、西林等富士品种群品种以及友谊(红玉实生)、可口香、紫香蕉、花嫁、锦红、梅露斯、长红、赤龙等红玉品种群品种。金冠品种群存在丰富的感病资源,如早金冠、矮黄、蜜金、阳光、王林、秦冠、路奥等品种。此外抗病品种在国光、红魁、旭等品种群均有分布。

### 2.5 主栽品种选育来源与抗病性分析

部分主栽品种抗病性鉴定结果(表 3)表明,金冠、矮黄、蜜金、乔纳金、初秋、王林、秦冠等品种为感病品种,这些品种的共同特征是以金冠为亲本选育的品种或是金冠品种群的品种。秋富 2 号、短枝富士、长富 7 等品种为抗病品种,这些品种均是富士品种群的品种。友谊、锦红等品种表现为抗病,这些品种均是与红玉有亲缘关系。由此可见选用抗病资源做亲本是选育苹果抗炭疽叶枯病品种的有效途径,如金晕为抗病品种,其亲本是金冠(感病)和红玉(抗病)。

表 2 不同苹果种质对炭疽叶枯病的抗性反应

Table 2 Reaction of apple germplasm to *Glomerella* leaf spot infection

抗病类型 Resistance type	苹果种质资源名称 Apple germplasms name
高抗 Highly resistant	约斯基、国玲、早黄、伏帅、古德伯格、杰西麦克、初笑、桃苹、超等蔷薇、槟子、籽苹果、女游击队员、可口香、宝斯库普、马空、辽伏、阿堪、黄姑娘、沙拉托尼、阿波尔特、实矮(砧)、苏伊斯列波、奎奎、II 8-19、鲁比、列涅特加拿大、大陆 52 号、金花、蒙派斯、花道、优异玫瑰、黄甜果、米丘林纪念、花奎、西伯利亚白点、紫云、毕斯马克、紫香蕉、1192、阿伊瓦尼亚、边墙子 1 号、福山 1 号、友谊、花嫁、瑞香、波 25、捷 18、青龙、扎克列别尔、金晕、东香蕉、斯帕坦、示口-26、赫腊桑、丹顶、德 6、多一露、梅露斯、布科卡、绵苹果、捷 15、锦红、宫崎短枝、奥别尔基卡、库洛那、先锋、60-4-13、红加拿大、群富 1 号、秋富 2 号、长富 7、富士 I 系、竿井 II 系、盛放富 1、秋富 1 号、盛放 3a、满堂红、甘红玉、弗来堡、新红星、2336、长富 6 号、短枝富士、站选 18 号、诺安、门斯、红夏普、艳红、北之幸、斋藤 II 系、金色洛索普、哈地勃来特、新冬、镐罗、站选 6 号、甜伊萨耶娃、希特实生、锅屋、莫斯科透明、拉里坦、考特兰德、玉霞、中秋、露香、波 7、早生旭、盖德宝、秋天红、波 5、库列酒、奇弗顿、卡红、狮子山 1 号、胜利红冠、长野 I 系、里斯金、优金、巴士尔、格鲁晓夫卡、伊朗桃苹、红锦、醉玉、伏锦、苏维埃、金沙以拉木、钱特克洛、超红、新红、班克罗夫特、岩木、长红、虾夷衣、阿特拉斯、茄南果、黄锦、秋力蒙、红祝、红鸽、胜利、双阳一号、布兰里、I 12-10、要红、赤龙、侯家店短红星、唐山丰产元帅、贝挠尼、新倭锦、沈农 2 号、西蒙飞、西林、德 14、西山 1 号、烟红蜜、五月、飞天、法 3 号、克里阿、查尔斯罗斯、甜旭
中抗 Moderately resistant	秋富 5 号、德 4、早红星、60-7-18、德 2、正定 2 号
中感 Moderately susceptible	兴红、乐乐富士、新红星(荷)、香果、荣冠、伏红、早生赤、帕顿、熊岳 2 号、麻姑、百福高、迎秋、斯托诺维、耶维林、III 3-5、N2、布达衣、初秋、史东好吉、法 5 号、诺柔、60-10-22
高感 Highly susceptible	早金冠、森马兰、黄魁、甜黄魁、红魁、齐河短金冠、短枝金冠、华帅 1 号、国帅、枣强短枝、矮黄、恩维尔金矮生、斯塔克矮金冠、乔雅尔、蜜金、金冠、乔纳金、矮壮、秦冠、平枝国光、抗病金冠 51、王林、红印度、艳红、查登、Florina、美玲系津轻、边墙子 2 号、矮威尔、红星、张家口短枝、双红、青岛 1 号、矮红(荷兰)、泗水短枝、132、拿破仑、奥查克金、短枝旭、克里斯克、十三陵短枝、康屯短枝、草莓苹果、斯派金、站选 4 号、乔纳红、红月、早生 16、小町、卡蒂纳、嵌合体国光、南城矮金冠、站选 16 号、1465、法 8 号、琢矮 1 号、白星、大锦、红斜子、拉克斯坦、瑞光、仓巴瑞、纽蕃、梅泽、1951/3/1、绯之衣、大猩猩、美尔塔什、英金、拉方、心里美、世界一、芦塔什、南浦三号、青冠、60-1-59、捷 9、凤凰卵海棠果、华农 1 号、60-12-25、青香蕉、史东塔什、卡拉斯托杨卡、鸡冠、香国光、五月金、52-6-7、胡思维提、白卡维、桔苹、狮子山 2 号、60-12-23、Starkjumbo、金红、克洛登、千秋、克龙谢尔透明、诺达、II 10-15、德 8、美尔巴、黄色立哈尔德、东城贯 13 号、坂田津轻、包曼、祝光、旭、金光、阿林屯、拉宝、顶红、极早红、绿星、倭锦、陆奥、大国光、维斯塔贝拉、III 19-13、60-15-9、波 19、波 26、莱蒂、60-17-17、站选 14 号、红鲁比、东光、阳光、一面红、银红、磅、红露、红卡维、新疆苹果、凯塞威廉、白罗斯马林、褐色条纹、脆红、麦系津轻、法国灰苹

表 3 部分抗感品种选育来源分析

Table 3 Analysis of the parents of some resistance and susceptible apple varieties

品种 Variety	抗性评价 Disease resistance	品种群 Variety group	选育来源 Breeding origin	品种 Variety	抗性评价 Disease resistance	品种群 Variety group	选育来源 Breeding origin
友谊	R	红玉	红玉实生	早金冠	S	金冠	金冠实生
锦红	R	红玉	红玉 × 鸡冠	矮黄	S	金冠	金冠芽变
梅露斯	R	红玉	红玉 × 元帅	蜜金	S	金冠	金冠 × 北星
金晕	R	金冠	金冠 × 红玉	乔纳金	S	红玉	红玉 × 金冠
长红	R	红玉	红玉 × 鸡冠	初秋	S	红玉	红玉 × 金冠
秋富 2 号	R	富士	富士芽变	阳光	S	金冠	金冠 × 不详
长富 7	R	富士	富士芽变	红月	S	红玉	红玉 × 金冠
秋富 1	R	富士	富士芽变	王林	S	金冠	金冠实生
秋富 1 号	R	富士	富士芽变	秦冠	S	金冠	鸡冠 × 金冠
短枝富士	R	富士	富士芽变	世界一	S	元帅	元帅 × 金冠
岩木	R	国光	国光 × 君袖	青冠	S	青香蕉	甜香蕉 × 金冠
花嫁	R	红玉	雪丽小苹果实生	陆奥	S	金冠	金冠 × 甜香蕉

### 3 结论与讨论

近几年,苹果炭疽叶枯病已成为一种限制苹果产业健康发展的重要病害,是导致苹果早期大量落叶、采收前大量落果的重要原因。在7、8月份高温多雨季节,该病害流行性极强,并且危害极其严重,致使叶片在一周内脱落90%以上<sup>[1,8]</sup>。澄清病原菌群体内致病力的变异情况,对制定防治对策和指导抗病育种具有重要意义<sup>[15]</sup>。B. T. Lingappa等<sup>[16]</sup>报道胶胞炭疽菌分生孢子悬浮液浓度过高有自我萌发抑制现象。本研究中也发现,苹果炭疽叶枯病菌孢子悬浮液浓度高于 $1 \times 10^5$ 个/mL时,孢子萌发明显受到抑制,故本试验中以 $1 \times 10^5$ 个/mL作为接种浓度。致病力测定结果表明,供试的苹果炭疽叶枯病菌对金冠苹果叶片及果实均有致病性,但菌株间致病力差异较大,强致病力、中等致病力菌株所占菌群比例均超过80%,这说明自然界中的病原菌以强致病力、中等致病力为主。因此,在高温多雨季节应高度关注该病害,做好预防工作,避免病害流行。

炭疽属真菌是一类广泛分布在热带、亚热带的全球性植物寄生性真菌,对禾本科植物、果树、蔬菜、花卉等造成严重的经济损失<sup>[17]</sup>。苹果炭疽病菌与苹果炭疽叶枯病菌均为胶胞炭疽菌。苹果炭疽病菌通常仅为害果实,而苹果炭疽叶枯病菌既为害叶片,又为害果实。本研究通过对叶片和果实接种病原菌,发现该病原菌侵染叶片和果实的病情指数呈显著相关,但也有些菌株在叶片和果实上的发病程度差异较大,如W37、W51菌株在叶片上表现为弱致病力,而在果实上表现为强致病力;W63、W76菌株在叶片上表现为强致病力,而在果实上表现为中等致病力。该病原菌对于苹果叶片和果实可能存在不同的致病能力,推测其侵染苹果不同部位涉及的分子致病机制存在一定差异。目前关于苹果炭疽叶枯病菌在我国以前是否存在,或是近年由于外来引种所致,或是传统炭疽病菌变异而来,还有待于进一步研究。此外,应尽快确定该病原菌寄主范围,避免交叉侵染,减轻病害发生。

明确果树种质资源中核心种质抗病材料情况对挖掘优异基因、提高育种效率和种质资源利用率具有重要的指导意义<sup>[18]</sup>。本研究首次采用病原菌分生孢子悬浮液接种叶片的方法,对苹果种质资源进行了抗病性鉴定,327份资源中高抗资源160份,高感资源139份,中间抗感类型较少。依据试验结果,初步推测苹果抗炭疽叶枯病是由质量性状

基因控制。这与关于苹果抗苹果炭疽叶枯病是由一对隐性单基因控制的报道一致<sup>[19]</sup>。由鉴定结果可知,我国现保存的苹果种质资源中存在丰富的抗病资源,并且在不同品种群均有分布,具备各个品种群的优良栽培学性状。这一结果为苹果生产提供了基础材料,同时为育种者选择抗病亲本时提供参考。

#### 参考文献

- [1] Wang C X, Zhang Z F, Li B H, et al. First report of *Glomerella* leaf spot of apple caused by *Glomerella cingulata* in China[J]. *Plant Dis*, 2012, 96(6): 912-913
- [2] Gonzalez E, Sutton T B. First report of *Glomerella* leaf spot (*Glomerella cingulata*) of apple in the United States[J]. *Plant Dis*, 1999, 83(11): 1074
- [3] Giaretta D R, Bogó A, Coelho C M M, et al. ITS-rDNA phylogeny of *Colletotrichum* spp. causal agent of apple glomerella leaf spot[J]. *Ciencia Rural*, 2010, 40(4): 806-812
- [4] Velho A C, Stadnik M J, Casanova L, et al. First report of *Colletotrichum karstii* causing *Glomerella* leaf spot on apple in Santa Catarina State, Brazil[J]. *Plant Dis*, 2014, 98(1): 157-158
- [5] Sutton T B, Sanhueza R M. Necrotic leaf blotch of Golden Delicious *Glomerella* leaf spot: A resolution of common names[J]. *Plant Dis*, 1998, 82(3): 267-268
- [6] Araujo L, Goncalves A E, Stadnik M J. Ulvan effect on conidial germination and appressoria formation of *Colletotrichum gloeosporioides*[J]. *Phytoparasitica*, 2014, 42(5): 631-640
- [7] Velho A C, Alaniz S, Casanova L, et al. New insights into the characterization of *Colletotrichum* species associated with apple diseases in southern Brazil and Uruguay[J]. *Fungal Biol*, 2015, 119(4): 229-244
- [8] 党建美, 胡清玉, 张瑜, 等. 炭疽菌叶枯病在我国苹果产区的发生分布及趋势分析[J]. *北方园艺*, 2014, 36(10): 177-179
- [9] Gonzalez E, Sutton T B, Correll J C. Clarification of the etiology of *Glomerella* leaf spot and bitter rot of apple caused by *Colletotrichum* spp. based on morphology and genetic, molecular, and pathogenicity tests[J]. *Phytopathology*, 2006, 96(9): 982-992
- [10] 王薇, 符丹丹, 张荣, 等. 苹果炭疽叶枯病病原学研究[J]. *菌物学报*, 2015, 34(1): 13-25
- [11] 任斌, 高小宁, 韩青梅, 等. 苹果炭疽叶枯病病原 *Glomerella cingulata* 及其侵染过程[J]. *植物保护学报*, 2014, 41(5): 608-614
- [12] 张俊祥, 吴建圆, 冀志蕊, 等. 农杆菌介导的苹果炭疽叶枯病菌遗传转化及插入突变体的筛选[J]. *基因组学与应用生物学*, 2014, 33(6): 1261-1267
- [13] 辛培刚, 相法国, 陈学森, 等. 我国苹果品种溯源、演化及亲缘分类[J]. *果树科学*, 1996, 13(S1): 93-110
- [14] 陈景新. 河北省苹果志[M]. 北京: 农业出版社, 1986
- [15] 邓维萍, 杨敏, 杜飞, 等. 云南葡萄产区葡萄炭疽病病原鉴定及致病力分析[J]. *植物保护学报*, 2013, 40(1): 61-67
- [16] Lingappa B T, Lingappa Y, Bell E. A self-inhibitor of protein synthesis in the conidia of *Glomerella cingulata*[J]. *Arch Mikrobiol*, 1973, 94(2): 97-107
- [17] Hyde K D, Cai L, Cannon P F, et al. *Colletotrichum*-names in current use[J]. *Fungal Divers*, 2009, 39: 147-182
- [18] 王永康, 吴国良, 李登科, 等. 果树核心种质研究进展[J]. *植物遗传资源学报*, 2010, 11(3): 380-385
- [19] 刘源霞, 李保华, 王彩虹, 等. 苹果对炭疽菌叶枯病抗性遗传的研究及其分子标记筛选[J]. *园艺学报*, 2015, 42(11): 2105-2112