

北京地区番茄叶霉病菌致病性分化新动态

柴 敏, 于拴仓, 丁云花, 姜立纲

(北京市农林科学院蔬菜研究中心, 北京 100089)

摘要:通过对北京地区番茄叶霉病菌生理小种分化的连续监测, 发现了可侵染目前生产上主栽抗叶霉病品种的新小种。采用国际上通用的一套叶霉病生理小种鉴别寄主品种, 利用苗期接种鉴定的方法, 对新小种进行了多次小种归属鉴定, 该小种属于 1. 2. 3. 4. 9。与目前生产上的优势小种 1. 2. 3 和 1. 2. 3. 4 相比, 新小种的分化层次高, 致病性更强, 虽然现在还不是优势小种, 但必须引起高度重视。

关键词:番茄; 叶霉病; 致病性; 生理小种

中图分类号: S436. 412. 1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000 - 7091(2005)02 - 0097 - 04

Further Identification of Physiological Races of Tomato Leaf Mould in Beijing

CHAI Min, YU Shuan-cang, DING Yun-hua, JIANG Li-gang

(Beijing Vegetable Research Center, 100089 Beijing, China)

Abstract: A new physiological race of leaf mould (*Fulvia fulva* (Cooke) Ciferri) 1. 2. 3. 4. 9 was detected by continuous investigating and sampling from tomato production in Beijing area for several years. The new race has higher virulence and can attack the popular tomato varieties with the resistance to leaf mould, although it is not dominant race in tomato production up to now. So the tomato breeders have to pay more attention to the new mutation of the fungus.

Key words: Tomato; Leaf mould; Virulence; Physiological race

叶霉病(*Fulvia fulva* (Cooke) Ciferri)是保护地番茄的主要病害之一, 随着抗病品种在生产上的推广应用, 病原菌的生理小种组成会发生新的变化, 分化出致病性强的新小种, 使原有抗病品种丧失抗性而成为感病品种^[1~3]。因此, 不断监测和研究生产中叶霉病菌生理小种的分化及组成状况, 是番茄抗叶霉病育种中一项长期而重要的工作。在 1984 年我国番茄抗叶霉病育种起步之时, 监测鉴定出北京地区番茄叶霉病菌以 1. 2 和 1. 2. 3 小种为主^[4]。1990 年出现了侵染 *Cf-4* 基因的生理小种群 1. 2. 4, 2. 4 和 1. 2. 3. 4, 使我国第一个抗叶霉病的番茄品种双抗 2 号失去了抗病性^[3]。北京蔬菜研究中心自“九五”以来连续监测生产中番茄叶霉病菌的分化变异情况, 本文重点介绍几年来北京地区番茄叶霉病菌的分化动态及监测鉴定出的新生理小种, 以供国内同行在抗叶霉病育种中参考。

1 材料和方法

1.1 病原菌的采集与分离

对北京地区保护地番茄叶霉病菌分化进行监测, 重点选择朝阳、海淀、丰台近郊和通州、大兴、顺义、昌平等番茄保护地主产区有代表性地点, 并于春、秋、冬保护地生产季节, 通过实地调查了解主栽番茄品种上叶霉病的发生情况, 采集有代表性的菌样经分离提纯, 得到单斑菌株并经扩繁后供接种鉴定。

1.2 鉴别寄主

叶霉病菌生理小种鉴别寄主是采用国际上通用的 7 个含不同抗性基因的番茄寄主品种(表 1)。

1.3 鉴定方法

寄主的准备: 接种前, 将 7 个鉴别寄主分别播于直径 8 cm 的塑料育苗钵或 72 孔的塑料育苗盘中,

收稿日期: 2004 - 08 - 04

作者简介: 柴 敏(1958 -), 女, 河北邯郸人, 研究员, 农学学士, 主要从事番茄遗传育种研究。

每个寄主品种播 30~36 株。当植株苗龄 3~4 片叶时,即可用于接种。

表 1 叶霉病菌生理小种鉴别寄主品种

Tab. 1 Host varieties for physiological race identification of tomato leaf mould

序号 No.	品种名称 Name of varieties	基因型 Genotype
1	Money maker(感病对照)	<i>cf</i> - 0/ <i>cf</i> - 0
2	Leaf Mould Resister	<i>Cf</i> - 1/ <i>Cf</i> - 1
3	Vetomold	<i>Cf</i> - 2/ <i>Cf</i> - 2
4	V121	<i>Cf</i> - 3/ <i>Cf</i> - 3
5	Ont7516	<i>Cf</i> - 4/ <i>Cf</i> - 4
6	Ont7717	<i>Cf</i> - 5/ <i>Cf</i> - 5
7	Ont7719	<i>Cf</i> - 9/ <i>Cf</i> - 9

接种浓度:每份待鉴定的菌样接种液孢子浓度为 10⁶/mL。

接种方法:采用毛笔蘸接种液涂抹或用小喷壶喷雾接种法,在叶片上接种,重点要涂抹或喷接在叶背面。

接种后的管理:接种后温度维持在 15~25℃,用塑料薄膜覆盖保湿。接种后 48 h 内相对湿度保持在 95%以上,当阳光特别充足时,可适当遮阳以防温度过高。48 h 后,可适当揭开塑料薄膜放风,相对湿度保持在 90%左右。接种后约 21 d 即可进行发病情况调查。对每个菌株至少重复鉴定 2 次,方能确认其所属生理小种。

1.4 分级标准

采用目前国内统一的 9 级病情分级标准,即 0 级:无症状;1 级:接种叶出现褪绿至出现黄斑;3 级:接种叶病斑上产生薄的稀疏霉层;5 级:接种叶病斑

上产生明显霉层;7 级:接种叶病斑上产生浓密霉层,上部叶也受到侵染;9 级:除接种叶病斑上生有浓密的霉层外,上部叶的霉层也很明显。

2 结果与分析

2.1 北京地区保护地番茄叶霉病菌的优势生理小种组成情况

“九五”期间北京地区生产中使用的番茄品种主要有佳粉 15 号、佳粉 17 号、中杂 9 号、毛粉 802、L402、合作 908、粉皇后等和少数国外品种如以色列品种 R-144、荷兰品种 CARUSO、百利等。其中佳粉 15 号、佳粉 17 号、中杂 9 号和 CARUSO 为抗叶霉病品种,其余为感病品种。本试验所鉴定的 41 份叶霉病菌株就是从这些品种上采集到的病样,经分离提纯得到单斑菌株后,分别接种于鉴别寄主。小种鉴定是参照国际通用的番茄叶霉病菌生理小种划分标准^[5],结果见表 2。连续监测的结果表明,北京地区番茄叶霉病菌生理小种以 1.2.3 和 1.2.3.4 为优势生理小种,二者分别占总样本数的 31.7%和 41.5%。同时有少量的 1.2,1.2.4,2.3.4 等小种存在。值得注意的是,在 1999 年和 2000 年采集到的叶霉病菌样中,有 4 份菌株即 99-4,99-9,00-1 和 00-2 不仅能侵染 *cf*-0, *Cf*-1, *Cf*-2, *Cf*-3, *Cf*-4, 而且还能侵染 *Cf*-9 基因的鉴别寄主,它们的致病力明显高于目前北京地区番茄叶霉病菌优势生理小种 1.2.3 和 1.2.3.4,按生理小种划分标准初次鉴定暂定为 1.2.3.4.9 生理小种。新小种的致病性及小种归属仍需做进一步的鉴定方可定名。

表 2 北京地区保护地番茄叶霉病菌生理小种鉴定结果

Tab. 2 Physiological race identification for tomato leaf mould in protect production in Beijing area

顺序号 No.	编号 Code	鉴别寄主基因型 Genotype of host varieties							小种归属 Physiological races
		<i>cf</i> -0/ <i>cf</i> -0	<i>Cf</i> -1/ <i>Cf</i> -1	<i>Cf</i> -2/ <i>Cf</i> -2	<i>Cf</i> -3/ <i>Cf</i> -3	<i>Cf</i> -4/ <i>Cf</i> -4	<i>Cf</i> -5/ <i>Cf</i> -5	<i>Cf</i> -9/ <i>Cf</i> -9	
1	96-1	46.5 S	51.7 S	43.5 S	31.9 R	49.6 S	11.1 R	10.5 R	1.2.4
2	96-2	43.2 S	43.3 S	21.7 R	14.0 R	33.3 R	8.2 R	9.1 R	1
3	96-3	55.6 S	48.5 S	41.5 S	60.0 S	41.2 S	33.3 R	33.3 R	1.2.3.4
4	96-4	55.5 S	50.0 S	55.6 S	52.4 S	55.5 S	12.2 R	10.5 R	1.2.3.4
5	96-5	48.8 S	46.3 S	45.9 S	31.5 R	8.9 R	10.3 R	8.7 R	1.2
6	96-6	53.3 S	53.1 S	53.4 S	29.4 R	55.5 S	11.1 R	11.1 R	1.2.4
7	96-7	44.8 S	48.8 S	41.4 S	15.7 R	22.2 R	10.3 R	9.2 R	1.2.3
8	96-8	10.6 R	33.3 R	40.7 S	10.6 R	41.9 S	11.1 R	4.9 R	2.4
9	96-9	45.3 S	41.3 S	29.1 R	17.5 R	11.1 R	11.1 R	10.1 R	1
10	97-1	68.1 S	54.9 S	73.1 S	65.7 S	0.5 R	4.8 R	8.3 R	1.2.3
11	97-2	82.4 S	79.1 S	83.3 S	71.3 S	7.7 R	4.2 R	7.7 R	1.2.3
12	97-3	81.5 S	43.5 S	73.1 S	63.9 S	8.8 R	7.2 R	7.7 R	1.2.3
13	97-4	69.4 S	57.3 S	68.1 S	54.0 S	0.5 R	1.0 R	3.7 R	1.2.3
14	97-5	78.7 S	53.7 S	80.0 S	43.5 S	3.2 R	0.5 R	3.4 R	1.2.3
15	97-6	85.2 S	57.6 S	77.8 S	64.8 S	1.9 R	0.5 R	1.1 R	1.2.3
16	97-7	71.3 S	61.1 S	72.7 S	67.7 S	74.7 S	0.1	7.9 R	1.2.3.4

顺序号 No.	编号 Code	鉴别寄主基因型 Genotype of host varieties							小种归属 Physiological races
		<i>cf</i> -0/ <i>cf</i> -0	<i>Cf</i> -1/ <i>Cf</i> -1	<i>Cf</i> -2/ <i>Cf</i> -2	<i>Cf</i> -3/ <i>Cf</i> -3	<i>Cf</i> -4/ <i>Cf</i> -4	<i>Cf</i> -5/ <i>Cf</i> -5	<i>Cf</i> -9/ <i>Cf</i> -9	
17	97 - 8	75.8 S	75.0 S	81.8 S	80.6 S	87.8 S	7.4 R	10.7 R	1.2.3.4
18	97 - 9	65.7 S	52.5 S	71.4 S	65.2 S	82.6 S	0.0 I	1.9 R	1.2.3.4
19	97 - 10	70.4 S	44.9 S	83.6 S	62.0 S	1.4 R	1.6 R	9.7 R	1.2.3
20	97 - 11	71.6 S	58.3 S	71.3 S	64.8 S	84.8 S	2.4 R	7.9 R	1.2.3.4
21	97 - 12	78.7 S	62.3 S	61.6 S	58.6 S	72.2 S	4.3 R	9.7 R	1.2.3.4
22	97 - 13	82.6 S	79.7 S	82.8 S	63.0 S	91.7 S	3.4 R	1.4 R	1.2.3.4
23	97 - 14	55.2 S	54.8 S	56.7 S	42.1 S	69.0 S	17.5 R	13.0 R	1.2.3.4
24	97 - 15	65.0 S	61.5 S	63.0 S	53.3 S	9.0 R	19.0 R	8.1 R	1.2.3
25	97 - 16	64.5 S	62.7 S	63.0 S	45.5 S	70.4 S	22.0 R	9.0 R	1.2.3.4
26	97 - 17	63.6 S	59.6 S	53.1 S	42.0 S	75.7 S	14.0 R	9.0 R	1.2.3.4
27	97 - 18	50.0 S	46.4 S	50.0 S	54.3 S	53.0 S	4.7 R	1.8 R	1.2.3.4
28	97 - 19	73.5 S	62.4 S	73.9 S	55.6 S	20.5 R	18.3 R	10.4 R	1.2.3
29	99 - 1	94.1 S	88.7 S	85.8 S	68.0 S	68.6 S	12.8 R	0.0 I	1.2.3.4
30	99 - 2	92.6 S	88.7 S	86.4 S	85.3 S	89.6 S	12.5 R	8.4 R	1.2.3.4
31	99 - 3	90.2 S	88.4 S	93.5 S	90.8 S	11.1 R	58.9 S	10.8 R	1.2.3.5
32	99 - 4	81.3 S	82.0 S	79.6 S	83.5 S	63.8 S	31.3 R	67.6 S	1.2.3.4.9
33	99 - 5	87.3 S	69.5 S	77.1 S	92.4 S	6.9 R	31.4 R	11.1 R	1.2.3
34	99 - 6	99.1 S	97.1 S	91.3 S	88.2 S	26.6 R	11.1 R	11.1 R	1.2.3
35	99 - 7	88.5 S	88.7 S	87.2 S	73.0 S	73.3 S	13.7 R	11.1 R	1.2.3.4
36	99 - 8	73.1 S	75.0 S	80.6 S	72.6 S	77.3 S	2.7 R	3.4 R	1.2.3.4
37	99 - 9	43.3 S	43.2 S	43.1 S	55.6 S	45.0 S	33.2 R	34.3 S	1.2.3.4.9
38	99 - 10	35.9 S	38.4 S	38.6 S	34.1 S	37.9 S	0.0 I	0.3 R	1.2.3.4
39	99 - 11	80.6 S	43.2 S	68.5 S	70.7 S	11.1 R	11.1 R	11.1 R	1.2.3
40	00 - 1	87.6 S	75.0 S	69.8 S	81.6 S	75.6 S	12.6 R	81.7 S	1.2.3.4.9
41	00 - 2	73.1 S	45.5 S	51.6 S	54.1 S	49.6 S	9.4 R	58.5 S	1.2.3.4.9

注:I 免疫;R 抗病;S 感病

Note:I Immunity; R Resistance ;S Susceptible

2.2 叶霉病菌新小种的发现及确认

1999 年在昌平后沙涧温室中,发现这里种植的粉皇后和荷兰 CARUSO 等对 1.2.3 和 1.2.3.4 小种高抗的品种均被叶霉病侵染,于是采回两份病样分离提纯后得到两个菌株 99 - 4 和 99 - 9。2000 年 2 月份又在北京蔬菜研究中心温室中发现两个曾经对 1.2.3.4 小种抗病的品系感染了叶霉病,从这两个品系上各分离纯化得到一份菌株即 00 - 1 和 00 - 2。上述 4 份菌株的来源详情见表 3,经初步鉴定它们不仅能侵染 *cf*-0, *Cf*-1, *Cf*-2, *Cf*-3 和 *Cf*-4 基因,而且还能侵染对 1.2.3.4 表现高抗的 *Cf*-9 基因,说明其致病力明显高于目前北京地区番茄叶霉病菌优势生理小种 1.2.3 和 1.2.3.4(表 2)。因此,有必要进一步研究搞清 4 份菌株的侵染力、致病性及小种归属,以便为抗病育种选择抗源提供依据。2000 年春季和秋冬季,在温室对表 3 中的 4 份菌株

进行两次重复接种鉴定,鉴定结果列于表 4。两批接种鉴定的结果是一致的,即采自昌平后沙涧和北京蔬菜研究中心的 4 份菌株,在 7 份鉴别寄主上,只有 *Cf*-5 基因表现抗病,其余 6 个鉴别寄主均表现感病。根据叶霉病菌与鉴别寄主的抗感互作关系,这 4 份菌株属于生理小种 1.2.3.4.9。此后,在 2002 年和 2003 年对叶霉病菌的监测中又采集检测出属于生理小种 1.2.3.4.9 的菌样有 3 份(表 5)。

表 3 新菌株采样情况

Tab.3 Details of new strains collected			
菌株编号 Code of strains	采样时间 Time for sampling	采样地点 Location for sampling	供样品种 Varieties for sampling
99 - 4	1999 - 05	昌平后沙涧	粉皇后
99 - 9	1999 - 05	昌平后沙涧	CARUSO
00 - 1	2000 - 02	北京蔬菜研究中心	99QW30
00 - 2	2000 - 02	北京蔬菜研究中心	99QW34

表 4 4 份高致病性菌株生理小种确认鉴定结果

接种时间 Time for inoculation	接种菌株 Strains for inoculation	鉴别寄主基因型 Genotype of host varieties							小种归属 Physiological races
		<i>cf</i> -0/ <i>cf</i> -0	<i>Cf</i> -1/ <i>Cf</i> -1	<i>Cf</i> -2/ <i>Cf</i> -2	<i>Cf</i> -3/ <i>Cf</i> -3	<i>Cf</i> -4/ <i>Cf</i> -4	<i>Cf</i> -5/ <i>Cf</i> -5	<i>Cf</i> -9/ <i>Cf</i> -9	
春季	99 - 4	78.7S	73.5S	65.7S	81.6S	81.6S	29.8R	63.4 S	1.2.3.4.9
	99 - 9	97.0S	84.1S	64.4S	73.3S	85.6S	10.1R	83.1 S	1.2.3.4.9

续表

接种时间 Time for inoculation	接种菌株 Strains for inoculation	鉴别寄主基因型 Genotype of host varieties								小种归属 Physiological races
		<i>Cf</i> -0/ <i>Cf</i> -0	<i>Cf</i> -1/ <i>Cf</i> -1	<i>Cf</i> -2/ <i>Cf</i> -2	<i>Cf</i> -3/ <i>Cf</i> -3	<i>Cf</i> -4/ <i>Cf</i> -4	<i>Cf</i> -5/ <i>Cf</i> -5	<i>Cf</i> -9/ <i>Cf</i> -9		
秋冬季	00 - 1	87.6S	75.0S	69.8S	81.6S	75.6S	12.6R	81.7 S	1.2.3.4.9	
	00 - 2	75.1S	48.5S	52.6S	56.1S	59.6S	9.2R	59.5 S	1.2.3.4.9	
	99 - 4	72.8S	41.2S	63.5S	63.0S	66.7S	11.1R	75.2 S	1.2.3.4.9	
	99 - 9	81.7S	43.2S	54.1S	56.3S	66.0S	11.1R	63.0 S	1.2.3.4.9	
	00 - 1	83.1S	55.5S	57.6S	61.1S	48.8S	8.6R	58.8 S	1.2.3.4.9	
	00 - 2	73.1S	45.5S	51.6S	54.1S	49.6S	9.4R	58.5 S	1.2.3.4.9	

注 :R - 抗病 ;S - 感病 Note :R :resistance ;S :susceptible

表 5 2002,2003 年番茄叶霉病菌采样及检测结果

Tab.5 Collection and identification of tomato leaf mould strains in 2002 and 2003

菌株编号 Code of strains	采样时间(年 - 月) Time for sampling	采样地点 Location for sampling	供样品种 Varieties for sampling	生理小种 Physiological races
02 - 1	2002 - 03	顺义尹家府	中杂 9 号	1.2.3.4.9
02 - 2	2002 - 03	顺义尹家府	1857	1.2.3.
02 - 3	2002 - 03	通州胡各庄	佳粉 15 号	1.2.3.4
02 - 4	2002 - 03	通州胡各庄	保冠	1.2.3.4
02 - 5	2002 - 03	顺义前六马	1857	1.2.3
02 - 6	2002 - 03	大兴庞各庄	浙粉 202	1.2.3.4
02 - 7	2002 - 03	大兴庞各庄	东圣 1 号	1.2.3.4
03 - 4	2002 - 03	大兴庞各庄	国萃	1.2.3.4
03 - 5	2003 - 09	顺义前六马	中杂 9 号	1.2.3.4.9
03 - 6	2003 - 09	顺义前六马	中杂 9 号	1.2.3.4
03 - 7	2003 - 09	顺义杨镇	佳粉 15 号	1.2.3.4.9
03 - 8	2003 - 09	顺义杨镇	1857	1.2.3

3 讨论

番茄叶霉病菌生理小种分化变异频繁,其分化规律是一个由低层次向高层次不断变异的过程。根据柴敏等研究^[6],在 1984 - 1995 年的 12 年间,北京地区的番茄叶霉病菌生理小种分化经历了 3 个过程,即在 1984,1985 年期间所鉴定出来的叶霉病菌生理小种为 1.2 和 1.2.3,它们可以侵染 *Cf*-1, *Cf*-2 和 *Cf*-3 基因,而 *Cf*-4 基因对 1.2 和 1.2.3 小种表现为免疫抗性。可见 1.2 和 1.2.3 其致病力较弱;到 1990 年,病原菌发生了一次质变,新的生理小种群 1.2.4,2.4 和 1.2.3.4 分化出来,使含 *Cf*-4 基因的双抗 2 号品种失去了抗性,自 1993 至 1995 年,虽然没有分化出能侵染 *Cf*-5 和 *Cf*-9 基因的高毒性新生理小种,但是菌株的致病性已明显增强,*Cf*-5 和 *Cf*-9 两个高水平抗性基因几乎不再表现免疫。表 2,4 和 5 的结果已表明,1999,2000 年和 2002,2003 年在北京地区多次采集并检测出致病性强的新小种,使 *Cf*-9 基因由原来的抗病变为感病,只有 *Cf*-5 基因型仍然表现抗病。由此说明北京地区番茄叶霉病菌致病性已发生了质变,高致病性生理小种 1.2.3.4.9 已分别在不同年份、不同地块和不同的番茄品种上被检测出来,这是继 1990 年监测出侵染 *Cf*-

4 基因的生理小种群之后,叶霉病菌发生的又一次新突变,虽然目前此生理小种只在少数地块被发现,还不是优势小种,但其毒性高,致病力强,可侵染中杂 9 号、佳粉 15 号和保冠这类目前生产上主栽的抗叶霉病番茄品种,具有更大的潜在危险性,育种者必须给予高度重视。

参考文献:

[1] Hubbeling N. Breakdown of resistance of the *Cf*-5 gene in tomato by another new race of *Fulvia fulva*. *Med. Fac. Landbouww Rijksuniv*[J]. Gent, 1978, 43: 891 - 894.

[2] Lindhout P, Korta W. Further identification of races of *Cladosporium fulvum* (*Fulvia fulva*) on tomato originating from the Netherlands, France and Poland [J]. *Neth J Plant Pathol*, 1989, 95: 43 - 48.

[3] 张 环,柴 敏. 北京番茄叶霉病菌小种再分化的研究[J]. *中国蔬菜*, 1992, (2): 1 - 3.

[4] 张 环,柴 敏,吴宝顺. 北京市主要菜区番茄叶霉病寄生性分化的初步研究[J]. *蔬菜*, 1985, (5): 1 - 3.

[5] Hubbeling N. Determination trouble with new races of *Cladosporium fulvum* Cooke [J]. *Ovrdruk UIT Mededelingen Fakultelt Landbow Wetenschppen Gent*, 1971, 36(1): 300 - 305.

[6] 柴 敏,张 环. 北京地区番茄叶霉病菌生理小种及分化规律的研究[J]. *华北农学报*, 1999, 14(3): 113 - 117.