

北京地区番茄叶霉病菌生理小种及分化规律的研究

柴 敏 张 环

(北京市农林科学院蔬菜研究中心, 北京 100089)

摘 要 叶霉病[*Fulvia fulva* (Cooke) Ciferri] 是保护地番茄上的主要病害。对叶霉病菌生理小种及分化规律的研究, 有助于了解该病原菌的分化组成情况, 为抗病育种有针对性地合理选择使用抗源提供依据。1984~ 1990 年以前, 北京地区叶霉病菌以生理小种 1. 2 和 1. 2. 3 为主。Cf₄ 为免疫型抗病基因。1990 年, 侵染 Cf₄ 基因的生理小种群 1. 2. 4, 2. 4 和 1. 2. 3. 4 出现, 使含 Cf₄ 基因的双抗 2 号品种失去抗性。为对付新的生理小种, 培育出含 Cf₄Cf₅ 两个抗性基因的品种佳粉 15 号并被广泛用于保护地番茄生产。将 1992 年以来对叶霉病菌生理小种的监测结果与 1990 年相比, 生理小种的致病性虽没有发生质变, 但有少数菌株的致病性已有所增强, Cf₅ 基因不再表现免疫型抗性。培育含多个垂直抗病基因的品种, 加强通风和适当药剂防治等都是减少病原菌菌量积累与小种分化, 延长抗病品种使用寿命之有效措施。

关键词 番茄 叶霉病 生理小种 垂直抗性

中图分类号 S436. 412. 1 文献标识码 A 文章编号 1000- 7091(1999)03- 0113- 06

自 80 年代初, 北京地区保护地番茄生产迅速发展。由于保护地内多湿的特殊小气候条件使叶霉病[*Fulvia fulva* (Cooke) Ciferri] 严重发生, 成为保护地番茄生产的主要病害。培育抗病品种是解决叶霉病危害最有效的途径。国外有关叶霉病研究的报道较多, 美国、加拿大、荷兰、英国等从 30 年代起就开始研究番茄叶霉病^[1, 2]; 日本的此项研究始于 60 年代初^[3]。直到现在, 上述国家所培育的保护地品种, 几乎都含有抗叶霉病基因。据报道, 在蔬菜病害中, 叶霉病菌的生理小种分化最严重^[2, 4, 5], 开展抗叶霉病育种, 首先要研究查明当地该病原菌生理小种的分化情况, 以便有针对性地合理选择使用抗源, 培育抗病品种。本文重点介绍 1984 年以来, 对北京地区番茄叶霉病菌生理小种的监测及分化规律的研究结果。

1 材料和方法

1. 1 鉴别寄主

叶霉病菌生理小种鉴定所用品种是从日本农林水产省野菜试验场引来, 即国际上通用的

表 1 叶霉病菌生理小种鉴别寄主谱

序号	品种名称	基因
1	Money maker (感病对照)	cfocfo
2	Leaf Mould Resister	Cf ₁ Cf ₁
3	Vetomold	Cf ₂ Cf ₂
4	V121	Cf ₃ Cf ₃
5	Ont7516	Cf ₄ Cf ₄
6	Ont7717	Cf ₅ Cf ₅
7	Ont7719	Cf ₉ Cf ₉

叶霉病菌生理小种鉴别寄主谱(表 1), 包括 7 个不同抗性基因的番茄品种。

1.2 供试菌源

从 1984~ 1995 年的 12 年间, 分 3 个阶段在北京朝阳、海淀、丰台 3 个区的温室、塑料大棚中采集番茄叶霉病菌样 30 个, 对北京地区叶霉病菌生理小种的分化情况进行监测研究。其中第一阶段是在抗叶霉病育种的初期(1984~ 1985 年), 采集病样 7 份, 经单孢分离培养, 获得 7 个纯化菌株; 第二阶段是 1990 年, 由于双抗 2 号品种受到新小种的侵袭而失去对叶霉病的抗性, 为查明新小种的分化情况, 再次采集病样 5 份, 分离得到 5 个纯化菌株; 第三阶段是“八五”攻关以来, 作为攻关研究内容之一, 共采集病样 18 份, 获 18 个纯化菌株(表 2)。

表 2 1984~ 1995 年 30 个菌株情况

序号	年份	菌株编号	供菌品种	序号	年份	菌株编号	供菌品种
1	1984	84-01	佳粉 2 号	16		92-04	双抗 3 号
2		84-02	-	17		92-05	抗病佳粉 2 号
3		84-03	-	18		92-06	佳粉 10 号
4		84-04	佳粉 1 号	19		92-07	抗病佳粉 1 号
5		84-05	-	20		92-08	抗病佳粉 1 号
6	1985	85-01	强丰	21	1993	93-01	佳粉 15 号
7		85-02	-	22		93-02	抗病佳粉 2 号
8	1990	90-01	双抗 2 号	23		93-03	佳粉 15 号
9		90-02	双抗 2 号	24		93-04	抗病佳粉 2 号
10		90-03	佳粉 1 号	25		93-05	佳粉 15 号
11		90-04	双抗 2 号	26		93-06	双抗 2 号
12		90-05	双抗 2 号	27		93-07	佳粉 15 号
13	1992	92-01	佳粉 2 号	28		93-08	佳粉 2 号
14		92-02	77 号	29		94-01	佳粉 15 号
15		92-03	佳粉 1 号	30	1995	95-01	佳粉 15 号

1.3 鉴定方法

每次接种前, 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。每个寄主 10 株(直径 8 cm 塑料钵)或 12 株(72 孔育苗盘)。当苗龄达 3~ 4 片叶时, 采用喷雾或用毛涂抹叶片进行接种。接种液浓度为 200 倍视野内有 7~ 8 个孢子。接种后温度维持在 15~ 25℃, 并用塑料膜覆盖保湿, 相对湿度 95% 以上。当阳光特别充足时, 可适当遮阳, 以防塑料罩内温度高于 30℃。接种后 2 周发病。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 病情调查分级标准

本研究所采用的是目前国内统一使用的 9 级病情分级标准。即 0 级: 无症状; 1 级: 接种叶出现褪绿至黄色病斑; 3 级: 接种叶病斑上产生一薄层稀疏霉层; 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

对 1984 年以来采集并分离纯化所得到的 30 个菌株进行接种鉴定, 鉴定结果分为三个不同阶段(表 3)。

2.1 第一阶段

1984 年的 7 个菌株均可侵染含有 cf_0 , Cf_1 和 Cf_2 基因的寄主品种, 病情达高感(HS)水平, 含 Cf_3 基因的寄主, 除对 02 菌株表现中度抗病(MR)外, 对其它 6 个菌株均表现感病; 与此同时, 7 个菌株都不能侵染 Cf_4 , Cf_5 , Cf_9 基因的寄主品种, 病情指数为 0。这 3 个寄主品种呈免疫型抗性。参照国际通用的番茄叶霉病菌生理小种划分标准^[6], 84-01, 03, 04, 05 和 85-01, 02 共 6 个菌株属生理小种 1.2.3, 只有 84-02 菌株属生理小种 1.2。

2.2 第二阶段

从表 3 列出的对 1990 年 5 个菌株的鉴定结果看, 曾经在第一阶段呈免疫抗性的 Cf_4 基因, 对 5 个新菌株却丧失了抗病性, 全部表现为感病。说明病原菌在致病性上发生了变异, 分化出新的生理小种群。它们分别属于 1.2.4, 2.4 和 1.2.3.4 生理小种。

2.3 第三阶段

1992 年以来, 共对 18 个菌株接种鉴定(表 3)。它们分别属于 6 个不同的生理小种, 其中 1.2 和 2.3.4 小种分别占 5.6%; 2.3 小种占 11.1%; 1.2.3 和 1.2.4 小种各占 16.7%; 1.2.3.4 为优势小种, 占 44.4%。

3 讨论

3.1 叶霉病菌生理小种分化规律

纵观世界各国对番茄叶霉病研究的历史, 可以得出下述结论: 在各种蔬菜作物的病害中, 番茄叶霉病是生理小种分化变异最频繁、激烈的典型代表^[2~4]。从 1984~1995 年期间对北京地区番茄叶霉病菌生理小种的监测结果(表 3), 发现病原菌致病性的分化演变过程, 与欧、美等国基本相同。即在抗病育种开展的初级阶段, 病原菌分化层次低, 大多属于原始型或野生型生理小种^[3]。欧、美等国在 30 年代, 叶霉病菌以生理小种 0 为主, Cf_1 抗性基因首先在育种中被利用^[2]。随着抗病育种的进展, 病原菌相继分化出 1, 2, 3, 1.2, 2.3 和 1.2.3 等生理小种, 攻克了 Cf_1 , Cf_2 , Cf_3 以及这 3 个基因不同组合的基因型。据加拿大专家 Kerr 等^[1]报道, 美国、荷兰、加拿大等分别于 1964, 1966 和 1968 年就发现了侵染 Cf_4 基因的高毒性生理小种群。我们在 1984 年、1985 年首次鉴定出北京叶霉病菌生理小种有 1.2 和 1.2.3。当时抗病育种所启用的抗原基因是对 1.2 和 1.2.3 小种表现免疫的 cf_4 基因。到 1990 年, 病原菌就分化出新的生理小种群 1.2.4, 2.4 和 1.2.3.4, 使含 Cf_4 基因的双抗 2 号品种失去对叶霉病的抗性。

比较北京地区在叶霉病研究初期小种分化情况与国外一些国家之差异, 可见我国虽然抗叶霉病育种起步较晚, 但是病原菌分化的层次及首先启用的抗原基因水平均高于国外。据了解, 从 1984 年至现在, 国内还没有采集或分离得到 0 小种, 因此, Cf_1 、 Cf_2 、 Cf_3 最初都不能作为抗原基因加以利用。分析其原因主要是由于在我国尚未开展抗叶霉病育种之前, 国外的一些含抗叶霉病基因的品种如强力米寿^[3]已被引入我国并普遍用于生产或作为育种材料, 从而引

起病原菌致病性的分化。

表3 1984~ 1995 年 30 个叶霉病菌株生理小种鉴定结果

序号	菌株编号	鉴 别 寄 主 基 因 型														生理小种
		cf ₀ cf ₀		Cf ₁ Cf ₁		Cf ₂ Cf ₂		Cf ₃ Cf ₃		Cf ₄ Cf ₄		Cf ₅ Cf ₅		Cf ₉ Cf ₉		
		病情	抗感	病情	抗感	病情	抗感	病情	抗感	病情	抗感	病情	抗感	病情	抗感	
		指数	类型	指数	类型	指数	类型	指数	类型	指数	类型	指数	类型	指数	类型	
1	84-01	83	HS	76	HS	93	HS	50	MS	0	I	0	I	0	I	1. 2. 3
2	84-02	100	HS	65	HS	100	HS	22	R	0	I	0	I	0	I	1. 2
3	84-03	83	HS	75	HS	75	HS	50	MS	0	I	0	I	0	I	1. 2. 3
4	84-04	93	HS	80	HS	93	HS	50	MS	0	I	0	I	0	I	1. 2. 3
5	84-05	78	HS	75	HS	77	HS	45	MS	0	I	0	I	0	I	1. 2. 3
6	85-01	90	HS	78	HS	97	HS	50	MS	0	I	0	I	0	I	1. 2. 3
7	85-02	100	HS	85	HS	78	HS	48	MS	0	I	0	I	0	I	1. 2. 3
8	90-01	100	HS	80	HS	100	HS	40	MS	100	HS	0	I	0	I	1. 2. 3. 4
9	90-02	85	HS	43	MS	86	HS	45	MS	75	HS	0	I	0	I	1. 2. 3. 4
10	90-03	75	HS	17	R	71	HS	18	R	75	HS	0	I	0	I	2. 4
11	90-04	38	MS	15	R	68	HS	20	R	45	MS	0	I	0	I	2. 4
12	90-05	98	HS	78	HS	100	HS	25	MR	100	HS	0	I	0	I	1. 2. 4
13	92-01	100	HS	73	HS	96	HS	100	HS	16	R	7	HR	0	I	1. 2. 3
14	92-02	100	HS	11	H	82	HS	82	HS	11	HR	4	HR	7	HR	2. 3
15	92-03	82	HS	11	H	69	HS	73	HS	9	HR	4	HR	0	I	2. 3
16	92-04	100	HS	96	HS	100	HS	69	HS	11	HR	9	HR	0	I	1. 2. 3
17	92-05	96	HS	42	MS	91	HS	87	HS	96	HS	9	HR	7	HR	1. 2. 3. 4
18	92-06	73	HS	29	MR	60	HS	51	HS	73	HS	9	HR	2	HR	2. 3. 4
19	92-07	78	HS	47	MS	73	HS	64	HS	82	HS	7	HR	9	HR	1. 2. 3. 4
20	92-08	82	HS	51	MS	61	HS	51	MS	87	HS	24	MR	11	MR	1. 2. 3. 4
21	93-01	78	HS	58	HS	68	HS	22	HR	82	HS	11	HR	11	HR	1. 2. 4
22	93-02	88	HS	75	HS	82	HS	27	MR	68	HS	11	HR	11	HR	1. 2. 4
23	93-03	56	HS	71	HS	82	HS	56	HS	71	HS	11	HR	11	HR	1. 2. 3. 4
24	93-04	93	HS	95	HS	100	HS	82	HS	100	HS	7	HR	11	HR	1. 2. 3. 4
25	93-05	78	HS	69	HS	80	HS	47	MS	84	HS	6	HR	8	HR	1. 2. 3. 4
26	93-06	76	HS	37	MS	80	HS	70	HS	86	HS	3	HR	6	HR	1. 2. 3. 5
27	93-07	73	HS	53	MS	78	HS	19	R	11	HR	11	HR	11	HR	1. 2
28	93-08	60	HS	37	MS	68	HS	47	MS	8	HR	8	HR	7	HR	1. 2. 3
29	94-01	91	HS	70	HS	75	HS	49	MS	54	MS	2	HR	11	HR	1. 2. 3. 4
30	95-01	57	HS	36	MS	57	HS	26	MR	63	HS	7	HR	2	HR	1. 2. 4

注: I(免疫): 不侵染, 病情指数为 0; HR(高抗): 0< 病情指数 ≤11; R(抗病): 11< 病情指数 ≤22;
MR(中抗): 22< 病情指数 ≤33; MS(中感): 33< 病情指数 ≤55; HS(高感): 病情指数> 55。

3. 2 病原菌致病性由量变到质变的过程

表3 表明, 在 1984~ 1985 年首次鉴定的 7 个菌株, 多数都可侵染 Cf₁, Cf₂ 和 Cf₃ 基因, 而 Cf₄, Cf₅ 和 Cf₉ 基因对 7 个菌株完全免疫。但在以后的抗病鉴定中曾发现, 一些已转育有 Cf₄ 基因的品系接种后叶片上会产生大量黄斑, 病情指数可达 11, Cf₄ 基因由免疫变为抗病, 说明病原菌的致病性已发生了某种程度的量变。直到 1990 年病原菌的致病性发生了质的变化, 出

现了新的小种群, 所鉴定的 5 个菌株全部侵染 Cf₄ 基因。而 Cf₅, Cf₉ 基因对它们仍然表现免疫。第三阶段对 18 个菌株的鉴定结果表明: 虽然还没有出现侵染 Cf₅, Cf₉ 基因的高毒性小种, 但是这些菌株的致病性已明显增强。即使象 Cf₅, Cf₉ 这两个高水平抗性基因, 几乎很少再表现免疫。特别是 Cf₅ 基因, 当用个别菌株接种后, 接种叶黄斑上有时产生少量稀疏霉层, 病情指数在 11 至 33 之间。而且从这些病斑上也能分离、培养出叶霉菌。用这种再次分离的病菌接种, 结果同上所述, 依然不能使 Cf₅ 基因达到感病程度。由此说明, 自 1990 年发现侵染 Cf₄ 基因的生理小种群以来, 病原菌虽未发生达到侵染 Cf₅, Cf₉ 基因的质变, 但是其致病性已有所增强, 使 Cf₅, Cf₉ 基因由免疫变为抗病。这个问题不容忽视。

3.3 抗病品种对病原菌致病性分化的影响

研究叶霉病菌生理小种的分化, 主要是为抗病育种有针对性地选择使用抗源提供依据。在 1984 年初步研究了病原菌分化的基础上, 我国第一个抗叶霉病品种双抗 2 号问世并用于生产。该品种在当时对叶霉病免疫、抗病性极为显著。但是也给病原菌致病性的分化提供了选择压力。仅 3, 4 年时间双抗 2 号就失去了对叶霉病的抗性。这个事实引起育种者对病原菌快速易变性的重视, 培育出含 Cf₄Cf₅ 两个抗性基因的品种佳粉 15 号。该品种以其抗病、高产、优质的特性很快大面积用于生产, 种植时间已有 6 年。从表 2 可见, 自 1993 年以来共采病样 10 份, 其中有 6 份取自佳粉 15 号品种。经鉴定, 这 6 个菌株分别是小种 1. 2. 4, 1. 2. 3. 4 和 1. 2。由佳粉 15 号品种上采到的菌源, 为何不属于侵染 Cf₅ 基因的新毒性小种? 分析原因: ①在生产中, 佳粉 15 号品种常与其它感病品种同时种植在一个温室或塑料棚内。人为机械混杂因素, 使一些感病品种植株混入佳粉 15 号品种。此种叶霉菌不可能侵染 Cf₅ 基因; ②如前所述, 近两年来, Cf₅ 基因的寄主用个别菌株接种后, 叶片黄斑上有时也会产生稀疏霉层。但这种病原菌并未在致病性上发生质的变化, 不属新小种。

Cf₄, Cf₅ 均属较高水平的抗性基因, 如果分别单独利用, 比较容易被新小种攻克。佳粉 15 号品种使这两个抗性基因累加起来, 共同发挥作用, 因而具有相对稳定的高抗能力, 使病原菌不能象攻克双抗 2 号(含 Cf₄) 品种那样, 在较短时期内分化出侵染两个抗性基因的新小种。

3.4 延长抗病品种使用寿命及减缓病原菌分化之对策

叶霉病菌致病性的频繁、易变性增加了抗病育种的难度。但是随着保护地番茄栽培面积的不断扩大, 培育抗叶霉病的品种依然是控制该病发生和蔓延之最有效途径。分析病原菌与寄主植物之间的关系可知, 在病原菌与寄主植物之间, 病原菌是靠寄生在植物上才能存活。在致病与感病之间, 病原菌主动向寄主植物进攻, 是主动者, 而寄主植物处于被动^[3]。育种者与栽培者的主要职责就是要把握好病原菌与抗病品种之间的关系, 变被动为主动, 达到增强品种抗性, 延长其栽培使用寿命和抑制或减缓病原菌分化的目的。首先, 要把两个或多个显性垂直抗性基因转入同一个品种, 使之成为复合抗病品种, 才能有较持久稳定的抗病性; 再者, 不要把抗病品种与感病品种栽植在同一个温室或塑料棚内^[4], 以推迟和降低原有致病小种与抗病品种接触的机率。最后, 加强放风管理和适当药剂防治, 把病原菌消灭和控制在初发阶段等, 均是防止菌量积累与小种分化的有效措施。

参 考 文 献

- 1 Kerr E A, Patrick Z A, Bailey D L. Resistance in tomato species to new race of leaf mould (*Cladosporium fulvum* Cke.) Hort. Res, 1971, (11) : 84~ 92
- 2 Russell G E. Leaf mould. In: Plant breeding for pest and disease resistance. London-Boston: Butterworths, 1978. 133~ 136
- 3 山川邦夫著. 蔬菜抗病品种及其利用. 高振华译. 北京: 农业出版社, 1982. 1~ 48, 86~ 91
- 4 Stevens M Allen, Rick C M. Leaf mould. In: The tomato crop. New York, USA: Chapman and Hall Ltd, 1986. 67~ 68
- 5 张环, 柴敏. 北京番茄叶霉病菌小种再分化的研究. 中国蔬菜, 1992(2) : 1~ 3
- 6 Hubbeling N. Determination trouble with new races of *Cladosporium fulvum* Cooke. Ovrdruk UIT Mededelingen Fakultelt Landbou Wetenschappen Gent, 1971, 36(1) : 300~ 305

Studies on Physiological Races of Tomato Leaf Mould and Their Differentiation in Beijing

Chai Min Zhang Huan

(Beijing Vegetable Research Center, Beijing 100089)

Abstract Leaf mould (*Fulvia fulva* Cooke Ciferri) is one of the serious diseases on tomato under protective cultivation (greenhouse and plastic house). In the program of tomato breeding for resistance to leaf mould, it is important to determine the extent of physiological races of leaf mould. Between 1984 and 1990, the races 1. 2 and 1. 2. 3 were found in Beijing. The gene Cf₄ was immune from those races. So a resistant variety (F₁)—Shuang Kang. 2 with Cf₄ was first introduced in tomato production. In 1990, that hybrid was attacked by the new races of 1. 2. 4, 2. 4 and 1. 2. 3. 4. Another hybrid—Jia Fen. 15 with Cf₄ and Cf₅ was developed. It was resistant to the new races found in 1990. Although the six races had no obvious difference in virulence from those races in 1990, the virulence of a few isolations strengthened in a certain degree. The gene Cf₅ came to show no more immunity. Occasionally, a little amount of the mould could be found on the host plants with Cf₅. The breeders have to pay more attention to this matter.

Key words: Tomato; Leaf mould; Physiological race; Vertical resistance