

多主棒孢菌在黄瓜、番茄和茄子寄主上致病力的分化

高 苇, 李宝聚*, 石延霞, 谢学文

(中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081)

摘 要: 对从山东、辽宁和北京蔬菜栽培地采集的黄瓜、番茄及茄子发病组织上分离的 31 株多主棒孢菌, 和从海南橡胶上分离的 10 株多主棒孢菌, 采用喷雾接种的方法, 测定其在盆栽黄瓜、番茄和茄子上的致病力。试验结果表明, 不同寄主来源菌株的致病力间存在明显的差异, 寄主来源同致病力分化之间具有显著的相关性, 从而证明多主棒孢菌的种内菌株存在寄主专化性的特征。相同寄主和相同地理来源的病原菌群体中致病力也存在强、中、弱的差异, 说明多主棒孢菌具有明显的致病力分化现象。

关键词: 多主棒孢菌; 致病力; 寄主专化性

中图分类号: S 642.2; S 641

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2011) 03-0465-06

Studies on Pathogenicity Differentiation of *Corynespora cassiicola* Isolates, Against Cucumber, Tomato and Eggplant

GAO Wei, LI Bao-ju*, SHI Yan-xia, and XIE Xue-wen

(Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: Thirty-one strains of *Corynespora cassiicola* isolated from cucumber, tomato and eggplant in Shandong, Liaoning and Beijing, and 10 strains isolated from rubbers in Hainan Province were studied. The pathogenicity of the whole 41 isolates of *Corynespora cassiicola* to cucumber, tomato and eggplant was investigated by means of spray inoculation at seedling stage. The results showed that the pathogenicity of the isolates originated from different hosts had significant differences. There existed a strong correlation between the origins of hosts and the pathogenicity of the strains. It was proved that the intraspecific strains of *Corynespora cassiicola* bore a high host specialization. Furthermore, the isolates of *Corynespora cassiicola* collected from the same host or location showed different pathogenicity as strong, intermediate, or weak. It indicated that there was a distinct phenomenon of pathogenicity differentiation among *Corynespora cassiicola* strains.

Key words: *Corynespora cassiicola*; pathogenicity; host specialization

多主棒孢菌 *Corynespora cassiicola* (Berk. & Curt.) Wei 是一种寄主范围广泛的世界性分布的重要植物病原菌。该病原菌能够侵染热带及亚热带地区近 5 300 余种植物, 包括橡胶树、番茄、黄瓜、

收稿日期: 2010-12-14; 修回日期: 2011-01-25

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项; 农业部园艺作物遗传改良重点开放实验室项目

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: libj@mail.caas.net.cn)

棉花、大豆、烟草、可可、豇豆等重要经济作物 (Smith et al., 2009)。近年来, 由多主棒孢菌引起的棒孢叶斑病在我国黄瓜、番茄和茄子栽培区, 及海南和云南的橡胶栽培地严重暴发, 造成巨大的经济损失, 成为制约生产的主要病害之一 (蔡吉苗 等, 2008; 李宝聚 等, 2008)。

Wei (1950) 和 Ellis (1957, 1960) 根据传统的真菌形态学鉴定的方法, 将产孢细胞串生、能够产生具有假隔膜, 圆柱形或倒棍棒形分生孢子的真菌定义为多主棒孢菌, 认为该类病原真菌是一种寄主范围广泛、非寄主专化性病原菌。国外一些研究者通过不同来源的菌株在不同寄主上致病力分化的分析认为该病原菌具有典型的寄主专化性特征 (Spencer & Walters, 1969; Onesirosan et al., 1974; Dixon et al., 2009)。目前我国多主棒孢菌的病原学研究主要集中在病原菌的形态学鉴定和生物学特性等方面, 而致病力分化及寄主专化性的研究还未见报道。多主棒孢菌的寄主专化性的有无决定了不同寄主间是否存在交叉侵染的可能, 同时对不同栽培地区病原菌致病类群的掌握可以为抗病品种的选育提供依据。为此, 开展了对不同寄主来源的多主棒孢菌在我国 3 种主要栽培品种黄瓜、番茄和茄子上的致病力分化的研究。

1 材料与方法

1.1 供试植物材料

供试黄瓜品种为山东密刺, 茄子品种为长茄 9318, 番茄品种为中杂 9 号, 均由中国农业科学院蔬菜花卉研究所提供。

1.2 多主棒孢菌的分离纯化

2008 年 6 月至 2010 年 1 月, 在北京、山东和辽宁蔬菜栽培地采集具有典型棒孢叶斑病症状的黄瓜、番茄和茄子的发病组织, 采用组织分离法分离病原菌, 并进行显微形态学鉴定。所有分离纯化到的菌株经单孢分离后, 以其菌落的单孢后代作为接种用病原菌。

1.3 不同菌株在 3 种寄主上的致病力测定

将供试菌株用无菌水配成孢子浓度为 10^5 个 \cdot mL^{-1} 的孢子悬浮液, 于盆栽黄瓜长出两片真叶, 番茄和茄子长出 4 片真叶的时期进行喷雾接种。每个菌株设置 3 次重复, 清水接种作对照, 每个重复 20 株苗。接种后置于 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 光照培养箱中保湿培养。在接种后 7 d 和 14 d, 按阚琳娜等 (2007) 棒孢叶斑病病情分级标准 (0 级, 无病斑; 1 级, 病斑面积占整个叶面积的 5% 以下; 3 级, 病斑面积占 5% ~ 25%; 5 级, 病斑面积占 26% ~ 50%; 7 级, 病斑面积占 51% ~ 75%; 9 级, 病斑面积达 75% 以上), 调查各处理植株病情指数, 根据病情指数大小评价其致病力的强弱。采用 SAS 统计软件对病情指数鉴定结果进行方差分析, 多重比较采用 Duncan's 新复极差检验 (LSR test)。

2 结果与分析

通过组织分离法从黄瓜、番茄和茄子 3 种寄主上分离纯化到 31 株病原菌 (表 1)。经显微观察发现, 病原菌的分生孢子梗较粗, 着生在表生菌丝上, 直立或略微弯曲, 单生, 平滑, 壁厚, 无色至褐色, 具有 0 ~ 10 个层出梗。分生孢子壁厚, 平滑, 圆柱形或倒棍棒形, 顶端钝圆, 基部平截, 浅褐色至深褐色, 具有 4 ~ 20 个假隔膜, 孢子大小为 $9 \sim 22\text{ }\mu\text{m} \times 40 \sim 220\text{ }\mu\text{m}$ 。基脐加厚, 深褐色, 宽 $4 \sim 8\text{ }\mu\text{m}$ 。因此, 确定分离纯化到的 31 株病原菌均为多主棒孢菌。其中, 从番茄上分离到的 7 株菌株均采自北京, 从黄瓜和茄子上分别分离到的 15 株和 9 株菌株, 采自山东和辽宁。另外还有 10

株从橡胶树上分离到的多主棒孢菌由中国热带农业科学院环境与植物保护研究所惠赠。

2.1 不同来源的多主棒孢菌在黄瓜上的致病力分析

41株不同来源的多主棒孢菌接种在黄瓜幼苗上，接种24 h后就可以看到病原菌对黄瓜叶片的侵染，发病初期叶片上产生黄褐色的小点。病斑扩展后略凹陷、近圆形或稍不规则，周围存在黄色的晕圈（图1）。保湿培养14 d后，发现不同来源的菌株对黄瓜寄主的致病力存在显著的分化（表1）。其中，从黄瓜上分离的多主棒孢菌均可侵染黄瓜植株，除LN3、LN10、SD17和SD20外，其余12株菌株对黄瓜具有较强的致病力。从番茄和茄子上分离到的多主棒孢菌对黄瓜的致病力较弱，或不侵染黄瓜。而从橡胶上分离到的菌株，对黄瓜均无侵染力。另外，相同寄主来源的菌株对黄瓜的致病力存在一定相似性。

表 1 多主棒孢菌的来源及其在黄瓜、茄子和番茄上的致病力					
Table 1 Sources of <i>Corynespora cassiicola</i> and pathogenicity of these isolates to cucumber, tomato and eggplant					
菌株编号 Isolate	寄主 Host	采集地 Geographic location	病情指数 Disease index		
			黄瓜 Cucumber	茄子 Eggplant	番茄 Tomato
FQ1	番茄 Tomato	北京 Beijing	0.00 l	27.20 hij	40.22 f
FQ2	番茄 Tomato	北京 Beijing	1.54 l	86.33 b	76.38 c
FQ3	番茄 Tomato	北京 Beijing	0.00 l	100.00 a	98.77 a
FQ4	番茄 Tomato	北京 Beijing	52.12 fg	79.63 c	87.36 b
FQ5	番茄 Tomato	北京 Beijing	37.00 h	100.00 a	100.00 a
FQ7	番茄 Tomato	北京 Beijing	32.76 i	100.00 a	100.00 a
FQ9	番茄 Tomato	北京 Beijing	13.75 jk	96.83 a	99.54 a
QZ2	茄子 Eggplant	山东 Shandong	63.43 de	41.54 e	18.86 ml
QZ3	茄子 Eggplant	山东 Shandong	0.00 l	22.57 mlkij	23.98 ij
QZ6	茄子 Eggplant	山东 Shandong	0.00 l	23.19 mlkij	0.00 q
QZ7	茄子 Eggplant	山东 Shandong	0.00 l	18.76 mn	13.75 no
QZ11	茄子 Eggplant	辽宁 Liaoning	17.23 j	36.50 ef	18.98 ml
QZ12	茄子 Eggplant	辽宁 Liaoning	13.10 k	12.94 o	13.47 no
QZ14	茄子 Eggplant	辽宁 Liaoning	13.41 jk	26.75 hkij	10.65 op
QZ15	茄子 Eggplant	辽宁 Liaoning	10.40 k	25.06 lkij	29.05 h
QZ17	茄子 Eggplant	辽宁 Liaoning	0.00 l	40.47 e	63.93 d
LN1	黄瓜 Cucumber	辽宁 Liaoning	62.96 de	22.54 mlkj	21.40 iljkm
LN2	黄瓜 Cucumber	辽宁 Liaoning	60.31 e	24.33 lkij	24.59 i
LN3	黄瓜 Cucumber	辽宁 Liaoning	50.00 g	12.07 o	23.17 ijk
LN4	黄瓜 Cucumber	辽宁 Liaoning	100.00 a	35.03 fg	25.47 h
LN9	黄瓜 Cucumber	辽宁 Liaoning	100.00 a	32.00 hg	36.63 g
LN10	黄瓜 Cucumber	辽宁 Liaoning	52.15 fg	30.51 hg	36.84 g
SD11	黄瓜 Cucumber	山东 Shandong	100.00 a	27.71 hi	13.55 no
SD12	黄瓜 Cucumber	山东 Shandong	90.78 b	36.94 ef	35.19 g
SD13	黄瓜 Cucumber	山东 Shandong	100.00 a	16.31 on	22.63 iljk
SD17	黄瓜 Cucumber	山东 Shandong	38.97 h	13.21 o	22.42 iljk
SD18	黄瓜 Cucumber	山东 Shandong	72.72 c	71.38 d	11.64 op
SD20	黄瓜 Cucumber	山东 Shandong	55.60 f	19.93 mln	9.32 p
SD21	黄瓜 Cucumber	山东 Shandong	100.00 a	25.09 lkij	17.44 mn
SD27	黄瓜 Cucumber	山东 Shandong	65.84 d	13.53 o	20.15 jlmk
SD28	黄瓜 Cucumber	山东 Shandong	60.19 e	21.81 mlk	19.87 mlk
XJ1	橡胶 Rubber	海南 Hainan	0.00 l	0.00 p	0.00 q
XJ2	橡胶 Rubber	海南 Hainan	0.00 l	0.00 p	0.00 q
XJ3	橡胶 Rubber	海南 Hainan	0.00 l	0.00 p	0.00 q
XJ4	橡胶 Rubber	海南 Hainan	0.00 l	0.00 p	0.00 q
XJ5	橡胶 Rubber	海南 Hainan	0.00 l	0.00 p	0.00 q
XJ6	橡胶 Rubber	云南 Yunnan	0.00 l	0.00 p	0.00 q
XJ7	橡胶 Rubber	云南 Yunnan	0.00 l	0.00 p	0.00 q
XJ8	橡胶 Rubber	云南 Yunnan	0.00 l	0.00 p	0.00 q
XJ9	橡胶 Rubber	云南 Yunnan	0.00 l	0.00 p	0.00 q
XJ10	橡胶 Rubber	云南 Yunnan	0.00 l	77.43 c	55.31 e
对照 Control	-	-	0	0	0

注：平均病情指数经邓肯氏新复极差测验，同列数字右侧不同小写字母表示不同菌株在相同寄主上的致病力差异（ $P < 0.05$ ）。
Note: Average disease indexes were analyzed by Duncan's multiple new range test. Means in the same column with the same letters are not significantly different at $P < 0.05$.



图 1 菌株 SD18 在黄瓜上的侵染症状

Fig. 1 Symptoms on cucumber leaves by artificial inoculation of SD18 isolate

2.2 不同来源的多主棒孢菌在茄子上的致病力分析

人工接种茄子后，病原菌在茄子叶片上最初产生深褐色侵染点，随后扩展形成较大不规则的深褐色病斑，后期严重时发生落叶（图 2）。来自橡胶上的 10 株多主棒孢菌除 XJ10 外，均对茄子没有侵染力；来自番茄上的病原菌除 FQ1 外，均对茄子寄主表现出强致病力；从黄瓜和茄子上分离到的绝大多数病原菌，对茄子的致病力较弱（表 1）。



图 2 菌株 QZ2 在茄子上的侵染症状

Fig. 2 Symptoms on eggplant leaves by artificial inoculation of QZ2 isolate

2.3 不同来源的多主棒孢菌在番茄上的致病力分析

病原菌在番茄上接种 24 h 后，叶片或茎秆上形成大量深褐色的小病斑，病斑不易扩散，病斑周围产生黄色的晕圈，后期病株变黄，叶片大量脱落，同该病原菌在茄子上的侵染症状具有一定的相似性（图 3）。



图 3 菌株 FQ2 在番茄上的侵染症状

Fig. 3 Symptoms on tomato leaves by artificial inoculation of FQ2 isolate

不同菌株在番茄寄主上的致病力强弱,与在茄子上几乎一致(表1)。从番茄上分离到的菌株,回接到番茄上后仍有较强致病力,而其它寄主来源的菌株在番茄上致病力较弱或无致病力。

3 讨论

Wei (1950) 和 Ellis (1957, 1960) 通过该病原菌在寄主植物上典型的显微形态特征建立多主棒孢菌, 并发现该病原菌寄主范围广泛, 至 1971 年, Ellis 已报道该病原菌可侵染 65 种寄主植物。随着多主棒孢菌引起病害的日益加重, 对该病原菌的研究也不断深入。通过不同来源菌株的寄主范围及致病力的测定, 认为多主棒孢菌可能是一种寄主专化性病原菌 (Seaman et al., 1965; Kingsland, 1985; Cutrim & Sivla, 2003)。橡胶棒孢叶斑病在世界橡胶种植国家引起严重的暴发, 斯里兰卡、马来西亚和中国等对从橡胶上分离的多主棒孢菌的致病力和遗传多样性分析的研究报道均显示该病原菌具有寄主专化性, 不侵染其它寄主植物 (Silva et al., 1998; Nghia et al., 2008; Yan et al., 2009)。Dixon (2009) 对 143 株不同寄主来源的多主棒孢菌的系统发育及其在 8 个典型寄主上的致病力分析也证明了多主棒孢菌具有典型的寄主专化性。本研究中采用活体喷雾接种法, 分别测定了不同来源的多主棒孢菌对黄瓜、番茄和茄子 3 个寄主的致病力。结果表明, 不同寄主来源的多主棒孢菌间存在着显著的致病力差异。从橡胶上分离到的病原菌, 除 XJ10 外, 对 3 种寄主都没有致病力, 而 XJ10 对番茄和茄子存在一定的致病力。从黄瓜上分离到的病原菌对黄瓜的致病力较强, 而对番茄和茄子的致病力较弱。从而说明从黄瓜和橡胶上分离的多主棒孢菌可能存在寄主专化性。另外, 从番茄上分离到的病原菌对黄瓜的致病力较弱, 而对茄子和番茄的致病力要显著高于黄瓜, 说明了该病原菌对同科内植物的侵染力存在相似性。而从茄子上分离到的病原菌对 3 种寄主的致病力均比较弱, 但在茄子和番茄上的致病力仍显著高于在黄瓜上的致病力。由此可以看出, 多主棒孢菌的致病力同其寄主来源存在显著的相关性, 这同多主棒孢菌种内菌株存在寄主专化性的结论基本一致。

另外, 相同寄主来源及相同地域来源的病原菌对同一寄主的致病力也存在着显著的差异。按照病原菌在寄主植物上的发病面积可将其划分为较强、中等和较弱 3 种类型。在同一黄瓜、番茄或茄子栽培区, 我们采集的病原菌具有不同的致病类型, 可以反映同一生态系统中, 多主棒孢菌的群体内个体之间存在着生理生化或遗传分化方面的差异, 这些差异直接影响了病原菌对寄主的侵染力、在寄主上定殖能力和症状表现及危害程度等方面。对一个群体或系统的主要致病类群的掌握, 为病害流行机制的分析及抗病性品种的选育奠定重要的理论依据。

References

- Cai Ji-miao, Chen Yao, Pan Xian-xin, Huang Gui-xiu. 2008. Disease severity investigation and pathogeny identification of *Corynespora* leaf fall disease of *Hevea brasiliensis* in Hainan Province. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 28 (5): 1 - 10. (in Chinese)
- 蔡吉苗, 陈 瑶, 潘羨心, 黄贵修. 2008. 海南橡胶棒孢霉落叶病病情调查与病原鉴定. 热带农业科学, 28 (5): 1 - 10.
- Cutrim F A, Sivla G S. 2003. Pathogenicity of *Corynespora cassiicola* to different plant species. Fitopatol Brasil, 28: 193 - 194.
- Dixon L J, Schlub R L, Pernezny K, Datnoff L E. 2009. Host specialization and phylogenetic diversity of *Corynespora cassiicola*. Phytopathology, 99 (9): 1015 - 1027.
- Ellis M B. 1957. Some species of *Corynespora*. Mycological Papers, 65: 1 - 15.
- Ellis M B. 1960. Dematiaceous hyphomycetes: I. Mycological Papers, 76: 19 - 33.
- Li Bao-ju, Zhao Yan-jie, Yu Shu-jing, Chai A-li, Gao Wei. 2008. Outbreak of *Corynespora* target spot disease of cucumber in Qing County, Hebei Province in 2008. China Vegetables, (11): 51 - 52. (in Chinese)
- 李宝聚, 赵彦杰, 于淑晶, 柴阿丽, 高 苇. 2008. 2008 年秋季河北青县黄瓜棒孢叶斑病大发生. 中国蔬菜, (11): 51 - 52.
- Kan Lin-na, Li Bao-ju, Ji Ming-shan, Zhang Zong-jian, Shi Yan-xia. 2007. *In vivo* studies on screening effective fungicides against *Corynespora*

- cassicola*. China Vegetables, (4): 22 - 24. (in Chinese)
- 阚琳娜, 李宝聚, 纪明山, 张宗俭, 石延霞. 2007. 黄瓜褐斑病防治药剂的活体筛选. 中国蔬菜, (4): 22 - 24.
- Kingsland G C. 1985. Pathogenicity and epidemiology of *Corynespora cassicola* in the republic of the seychelles. Acta Horticulturae, 153: 229 - 230.
- Nghia N A, Kadir J, Sunderasan E, Abdullah M P, Malik A, Napis S. 2008. Morphological and inter simple sequence repeat (ISSR) markers analyses of *Corynespora cassicola* isolates from rubber plantations in Malaysia. Mycopathologia, 166: 189 - 201.
- Onesiroso P T, Army D C, Durbin R D. 1974. Host specificity of Nigerian and North American isolates of *Corynespora cassicola*. Phytopathology, 64: 1364 - 1367.
- Seaman W L, Shoemaker R A, Peterson E A. 1965. Pathogenicity of *Corynespora cassicola* on soybean. Canadian Journal of Botany, 43: 609 - 618.
- Silva W P K, Deverall B J, Lyon B R. 1998. Molecular, physiological and pathological characterization of *Corynespora* leaf spot fungi from rubber plantations in Sri Lanka. Plant Pathology, 47: 267 - 277.
- Smith L J, Satnoff L E, Pernezný K L, Schlub R L. 2009. Phylogenetic and pathogenic characterization of *Corynespora cassicola* isolates. ISHS Acta Horticulturae 808: II International Symposium on Tomato Disease: 51 - 56.
- Spencer J A, Walters H J. 1969. Variations in certain isolates of *Corynespora cassicola*. Phytopathology, 59: 58 - 60.
- Wei C T. 1950. Notes on *Corynespora*. Mycological Papers, 30 (34): 1 - 10.
- Yan X Q, Yi X X, Xin Z, Jin J P, Hui Q Z, Si L H, He Z. 2009. Molecular and pathogenic variation identified among isolates of *Corynespora cassicola*. Molecular Biotechnology, 41 (2): 145 - 151.

征 订

《中国蔬菜栽培学》(第2版)

《中国蔬菜栽培学》(第二版)于2009年10月由中国农业出版社出版发行。全书约250万字,分总论、各论、保护地蔬菜栽培、采后处理及贮藏保鲜共4篇。总论篇概要地论述了中国蔬菜栽培的历史、产业现状,中国蔬菜的起源、来源和种类,蔬菜作物生长发育和器官形成与产品质量的关系,蔬菜生产分区、栽培制度和技术原理,蔬菜栽培的生理生态基础以及环境污染与蔬菜的关系等;各论篇较详细地介绍了根菜类、薯芋类、葱蒜类、白菜类、芥菜类、甘蓝类、叶菜类、瓜类、茄果类、豆类、水生类、多年生类、芽苗菜以及食用菌类蔬菜的优良品种、栽培技术、病虫害综合防治、采收等方面的技术经验和研究成果;保护地蔬菜栽培篇论述了中国蔬菜保护地的类型、构造和应用,主要栽培设施的设计、施工,保护地环境及调节,保护地蔬菜栽培技术;采后处理及贮藏保鲜篇重点介绍了蔬菜采后处理技术及贮藏原理和方法等。与原著(1987年版)相比较,具有如下特点:

1. 重点增加了自20世纪80年代后期以来,中国在蔬菜栽培理论、无公害蔬菜栽培技术、推广应用的新品种、病虫害综合防治以及在蔬菜产品质量、产品采后处理及贮藏保鲜原理和技术等方面取得的新成果、新进展;概述了改革开放以来中国蔬菜产、销通过商品基地建设、流通体系建设等在解决蔬菜周年生产和供应方面所取得的成绩。
2. 对蔬菜栽培历史,蔬菜的起源、来源,分类,蔬菜学名,病虫害学名等进行了复核,校勘。
3. 尽可能地反映不同学术思想和观点;尽量反映不同生态区,包括台湾地区在内的栽培技术特点。
4. 删去了“蔬菜的加工”和“野生蔬菜”两章,以使本书的内容更加切题。另在附录中增加了“主要野生蔬菜简表”、“主要野生食用菌简表”和“主要香辛料蔬菜简表”3个附表。

本书由中国农业科学院蔬菜花卉研究所主编,组织全国有较高学术水平和实际工作经验的专家、学者和技术人员130余人分别撰写,反映了21世纪初中国蔬菜栽培科学研究和蔬菜生产技术的水平,内容较全面、系统,科学性、学术性强,亦有较强的实用性,并插有近500张彩图,可供相关科研人员、农业院校师生、专业技术人员或管理人员等参考。

定价330元(含邮费)。

购书者请通过邮局汇款至北京中关村南大街12号中国农业科学院蔬菜花卉研究所《园艺学报》编辑部,邮编100081。