

不同培养基对致病疫霉生长和生殖的影响

云丽莎, 刘芮畅, 李松原, 张乐乐, 刘惠荣*

内蒙古农业大学生命科学学院, 内蒙古 呼和浩特
Email: yunlisha77@163.com, *Huirong_liu@imau.edu.cn

收稿日期: 2021年2月23日; 录用日期: 2021年3月11日; 发布日期: 2021年3月25日

摘要

致病疫霉(*Phytophthora infestans*)是马铃薯最具破坏性的病原体。本试验比较了不同培养基对致病疫霉生长、无性生殖、有性生殖的影响。结果显示, 在黑麦培养基(RA)、胡萝卜培养基(CA)和放置玻璃纸的黑麦培养基(CP)上, 菌株P7723的生长速率大小顺序为CP > CA、RA; 菌株HQB8-3的生长速率为RA > CP > CA。不同培养基对卵孢子的形态及发育过程无明显影响, 两个菌株在CA上的卵孢子数量最高, 为701个/cm², 是RA上的2.48倍, 是CP上的70.1倍。卵孢子在CA上的存活率为55%, 在RA上为67%, 在CP上为48%。不同培养基对孢子囊的形态没有影响。不管是单独培养还是对峙培养, 菌株HQB8-3和P7723在胡萝卜培养基上产的孢子囊数量最多, 在RA上产得较少, 在CP上不产孢子囊。不管是单独培养还是对峙培养, 在CP上收集到的菌丝体生物量最多, CA上次之, RA上最少。因此, 综合以上指标, 胡萝卜培养基更适合在致病疫霉生长及有性、无性生殖研究中被用来收集生物样本, 该实验结果为今后深入研究致病疫霉时能够获得足够量符合条件的生物样本奠定了基础。

关键词

致病疫霉, 培养基, 生长, 生殖

Effects of Different Media on Growth and Reproduction of *Phytophthora Infestans*

Lisha Yun, Ruichang Liu, Songyuan Li, Lele Zhang, Huirong Liu*

College of Life Science, Inner Mongolia Agriculture University, Hohhot Inner Mongolia
Email: yunlisha77@163.com, *Huirong_liu@imau.edu.cn

Received: Feb. 23rd, 2021; accepted: Mar. 11th, 2021; published: Mar. 25th, 2021

*通讯作者。

Abstract

Phytophthora infestans is the most destructive pathogen of potato. The effects of different media on growth, asexual and sexual reproduction of *P. infestans* were compared in this study. The results showed that the growth rate of the isolate P7723 on the CP medium was higher than that on the CA and RA medium. The growth rate of the isolate HQK8-3 was the highest on the RA medium, the second on the CP medium, and the lowest on the CA medium. Different media had no significant effects on the morphology and development of oospores. The number of oospores was the highest on the CA medium (701 oospores/cm²), which was 2.48 times that on the RA medium and 70.1 times that on the CP medium. The survival rate of oospores was 55% on the CA medium, 67% on the RA medium, and 48% on the CP medium. Different media had no effects on the morphology of sporangium. The isolate HQK8-3 and P7723 produced the most sporangia on the CA medium, but less on the RA medium, and no sporangia on the CP medium regardless of separate culture or confrontation culture. The biomass of the collected mycelium was the highest on the CP medium, the second on the CA medium, and the lowest on the RA medium regardless of separate culture or confrontation culture. Therefore, considering the above indicators, the CA medium is more suitable for collecting biological samples in the study on the growth and sexual and asexual reproduction of *P. infestans*. The results of this work laid a foundation for the further study on *P. infestans* to obtain enough qualified biological samples.

Keywords

Phytophthora infestans, Culture Medium, Growth, Reproduction

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

马铃薯被联合国列为继小麦、水稻和玉米之后世界第四大粮食作物[1], 在世界人口不断增长的时代, 增加马铃薯产量对于防止全球营养不良和饥饿至关重要[2]。致病疫霉(*Phytophthora infestans*)是马铃薯最具破坏性的病原体[3], 也是卵菌纲的模式生物, 它在 19 世纪爱尔兰马铃薯饥荒期间导致数百万人死亡[4]。

致病疫霉具有无性和有性生命周期。无性生殖时以孢子囊或菌丝体侵染植物, 是田间侵染过程中完成其生活史的主要阶段。有性生殖时, 遗传物质重组导致了遗传变异和各地更复杂化的生理小种, 产生的厚壁卵孢子又能抵抗冷冻、干燥、干旱、微生物降解, 并在土壤中以静止状态持续多年[5], 然后卵孢子萌发出孢子囊或菌丝继续存活, 使作物品种抗性丧失, 从而对世界马铃薯、番茄和其他 50 个茄属 (*Solanum*)植物生产构成严重的威胁[6]。

在科研实验中, 能够比较容易收集到足够量的生物样本对进行疫霉菌生态学、生物学、遗传分析、分子分析及致病性的测定等方面具有重要意义。不同的培养条件对疫霉菌的生长、生殖等会产生不同的影响。Mokhtar M. Satour 等认为辣椒疫霉[7]卵孢子在 V8 培养基上产量最多; Thawee Kaosiri 等对比了 CA、CV-8A 和 SM 培养基对棕榈疫霉[8]卵孢子数量的影响, 其中 CA 上产量最多; M.A. DOSTER 等研究结果显示利用低温, 并向培养基中添加玉米油、亚麻子油或小麦胚芽油, 会使丁香疫霉[9]卵孢子数量增加; Richard C 等使用 V8-CaCO₃ 液体培养基诱导寄生疫霉[10]产生大量卵孢子; 孙志宁等[11]也比较了

CA、V8、RA、BA 和 OMA 产致病疫霉孢子囊情况，其中 OMA 和 BA 能产生孢子囊，其余培养基均未产生孢子囊；李岩[12]采用玻璃纸胡萝卜琼脂培养大豆疫霉菌，10 d 内没有产生卵孢子，表示此方法只适合培养大豆疫霉菌纯营养菌丝。以上大部分方法只是针对所研究的疫霉菌，尚不知道这些方法是否也能适用于致病疫霉。本试验比较了不同培养基对致病疫霉生长、无性生殖、有性生殖的影响，为今后深入研究致病疫霉时能够获得足够量符合条件的生物样本奠定了基础。

2. 材料与方法

2.1. 供试菌株

致病疫霉菌株 HQK8-3 (A1 交配型)由内蒙古农业大学农学院周洪友教授惠赠，致病疫霉菌株 P7723 (A2 交配型)由福建农科院兰成忠研究员惠赠。所有的致病疫霉菌株均于 18℃ 黑暗条件下培养。

2.2. 方法

2.2.1. 培养基制备

- 1) 黑麦培养基(RA)。参照郑小波的方法[13]，称取 50 g 黑麦种子，加去离子水 1000 mL，浸泡 24~36 小时，121℃ 灭菌 20 min，经四层纱布过滤除渣，上清液补水至 1000 mL，加 20 g 琼脂。121℃ 灭菌 20 min。
- 2) 胡萝卜培养基(CA)。参照郑小波的方法[13]，将 200 g 新鲜的胡萝卜切成小片，加去离子水 500 mL，用组织捣碎机捣碎约 40 秒，经四层纱布过滤去渣，上清液补水至 1000 mL，加 20 g 琼脂。121℃ 灭菌 20 min。
- 3) 放置玻璃纸的黑麦培养基(CP)。将玻璃纸裁剪为与培养皿大小一致的圆形，121℃ 灭菌 20 min，放入配置好的黑麦培养基上。

2.2.2. 生长曲线的测定及菌落形态观察

分别将菌株 P7723 和 HQK8-3 进行对峙培养和单独培养。对峙培养时，将新鲜培养的菌株 P7723 和 HQK8-3，从菌落边缘用蓝枪头扎取菌丝块，两菌块相距 3.5 cm，分别接种于不同培养基平皿上。单独培养时，将新鲜培养的菌株 P7723 和 HQK8-3，从菌落边缘用蓝枪头扎取菌丝块，单独接种于不同培养基的中间。所有菌都在 18℃ 条件下黑暗培养 8 d，观察供试菌株在不同培养基上的菌落形态。从第三天开始，用十字交叉法测定菌落直径，直至接种后 8 d，计算生长速率，每种培养基设置 3 个生物学重复。生长速率=菌落直径/培养时间，使用 SPSS 软件分析生长速率的差异。

2.2.3. 卵孢子的数量测定及形态观察

将菌株 P7723 和 HQK8-3 在不同培养基上对峙培养，当两种交配类型的菌丝体发生交接开始，在交接面用蓝枪头扎取菌块，在光学显微镜下镜检，观察卵孢子的形态特征，统计每个菌块的卵孢子数量，每种培养基测量 3 个重复，然后根据菌丝块面积，换算成每 cm² 菌丝块上产生多少个卵孢。

2.2.4. 卵孢子的活力测定

MTT 染色法：将对峙培养的平板，用手术刀收集交接面的菌丝，放入 0.05% MTT 溶液中，36℃、黑暗静置培养 24 h，在光学显微镜下观察，统计不同颜色卵孢子数量，每种培养基至少统计 100 个卵孢子，计算卵孢子活力率。存活率 = 紫色和红色卵孢子的总数/卵孢子的总数。

2.2.5. 孢子囊的数量测定及形态观察

培养方法同 2.2.1 与 2.2.2，将对峙培养、单独培养在不同培养基上的菌株，从第 5 天开始，用蓝枪头在菌落的不同位置均匀的扎取菌块，在显微镜下镜检，观察孢子囊的形态特征，并记录每个菌块的孢子囊数量，每种培养基测量 3 个重复，然后根据菌丝块面积，计算每 cm² 菌丝块上的孢子囊数量。

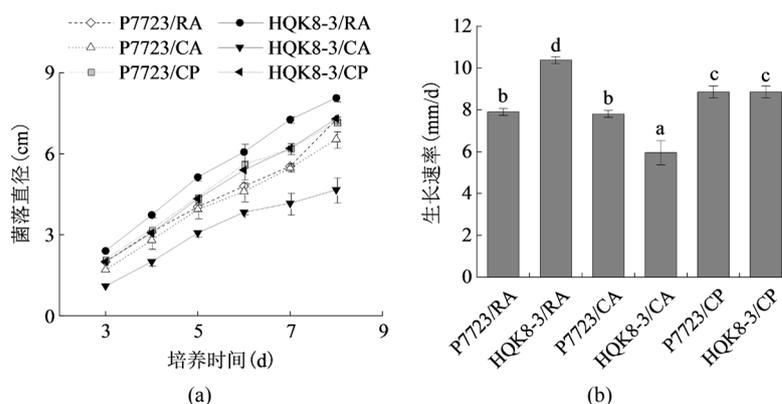
2.2.6. 菌丝体生物量的测定

培养方法同 2.2.1 与 2.2.2, 当对峙培养的两种交配类型的菌丝体交接第 7 天时, 用手术刀收集交接面的菌丝, 单独培养的也在同一天, 用手术刀收集整个菌落的菌丝, 称量菌丝体重量, 每种培养基设 3 个生物学重复。

3. 结果与分析

3.1. 不同培养基对致病疫霉的生长曲线及菌落形态的影响

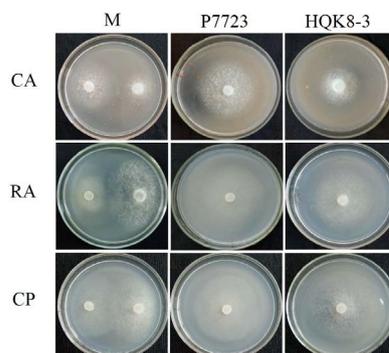
将致病疫霉菌株接种在不同培养基上, 每天检测菌落直径, 绘制其生长曲线。致病疫霉菌株 P7723 和 HQK8-3 的菌落直径随时间的变化如图 1(a)所示, 在接种 3~8 天内, 菌落直径随时间呈现直线上升趋势。计算菌株 P7723 和 HQK8-3 的生长速率(图 1(b)), 菌株 P7723 在 3 种培养基上的生长速率大小顺序为 CP > CA、RA, 菌株 HQK8-3 在 3 种培养基上的生长速率为 RA > CP > CA。观察两个菌株在不同培养基上的形态特征(图 2), 菌株 P7723 在不同培养基上的菌落特征有明显差异, 在 CA 平板上的菌落为棉絮状, 气生菌丝很多, 菌丝较厚、色白, 有白色斑点; 在 CP 和 RA 上, 菌落扁平, 气生菌丝较少, 色较淡。而菌株 HQK8-3 在 3 种培养基上的菌落特征没有明显差异, 都为棉絮状, 气生菌丝很多, 菌丝较厚、色白。



注: (a)图为菌株 P7723 和 HQK8-3 在 3 种培养基上的生长曲线, (b)图为菌株 P7723 和 HQK8-3 在 3 种培养基上的生长速率。RA: 黑麦培养基; CA: 胡萝卜培养基; CP: 放置玻璃纸的黑麦培养基。右图中不同小写字母表示生长速率差异显著($P < 0.05$)。

Figure 1. Growth curves and rates of the isolate P7723 and HQK8-3 on three kinds of media

图 1. 菌株 P7723 和 HQK8-3 在三种培养基上的生长曲线及生长速率



注: CA: 胡萝卜培养基; RA: 黑麦培养基; CP: 放置玻璃纸的黑麦培养基; M: 菌株 P7723 和菌株 HQK8-3 对峙培养; P7723: 单独培养菌株 P7723; HQK8-3: 单独培养菌株 HQK8-3。

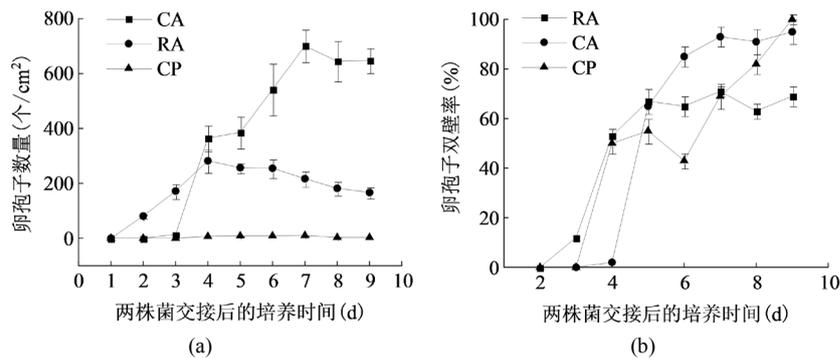
Figure 2. Colony morphology of the isolate P7723 and HQK8-3 after cultured separately or co-cultured for 7 days

图 2. 菌株 P7723 和 HQK8-3 单独培养和对峙培养 7 天时的菌落形态

3.2. 不同培养基对致病疫霉卵孢子数量、形态及活力的影响

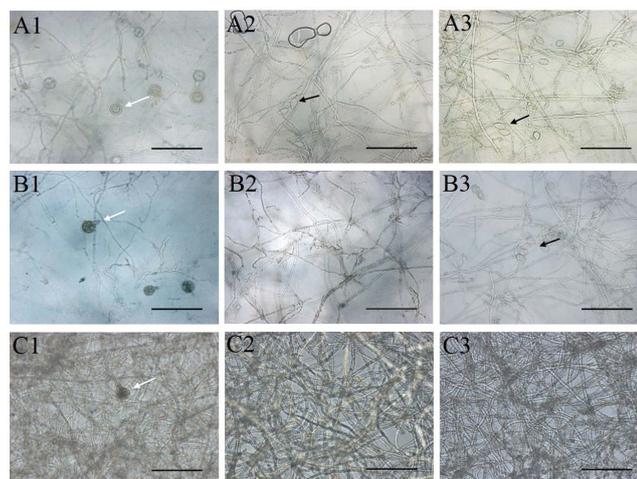
将菌株 P7723 和 HQK8-3 在不同培养基上对峙培养, 从两个菌株的菌丝发生交接开始观察交接面卵孢子的数量及形态特征。如图 3(a)所示, 两个菌株在 CA 上交接 3 天开始产卵孢子, 7 天时卵孢子数最多为 701 个/cm²; 在 RA 上交接 2 天开始产卵孢子, 4 天时卵孢子数最多为 282 个/cm²; 在 CP 上交接 4 天开始产卵孢子, 7 天时卵孢子数最多为 10 个/cm²。三种培养基中 CA 上的卵孢子数量最高, 是 RA 上的 2.48 倍, 是 CP 上的 70.1 倍。

三种培养基上的卵孢子形态无明显差异(图 4), 均为卵圆形, 黄褐色, 大小为 13.36~28.06 μm, 均值 22.10 μm, 发育早期为单壁, 发育成熟时会出现双壁, 卵孢子的双壁率随发育时间呈现不断增高的趋势(图 3(b))。在两个菌株的交接面内均没有观察到孢子囊, 但在非交接面观察到了孢子囊。在 CA 上, 菌株 P7723 和 HQK8-3 在交接面外的区域均能产生孢子囊; 在 RA 上, 菌株 HQK8-3 的非交接面会产生孢子囊, 菌株 P7723 的非交接面不会产生孢子囊; 在 CP 上, 菌株 P7723 和 HQK8-3 的非交接面区域都没有产生孢子囊。



注: (a)图为致病疫霉的卵孢子数量, (b)图为致病疫霉卵孢子的双壁率。CA: 胡萝卜培养基; RA: 黑麦培养基; CP: 放置玻璃纸的黑麦培养基。

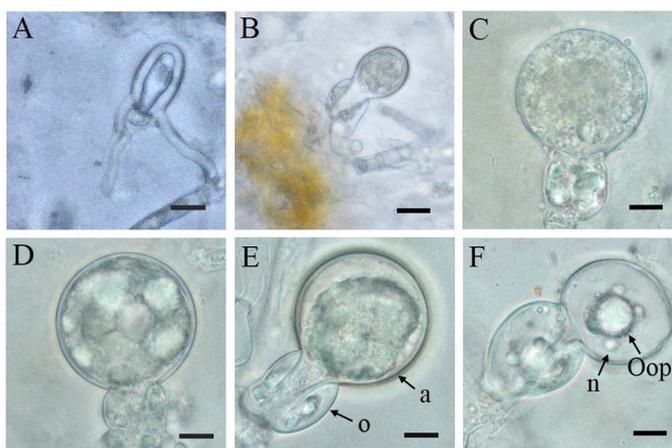
Figure 3. The number and double wall rate of oospores of *P. infestans*
图 3. 致病疫霉的卵孢子数量及双壁率



注: A1~A3: 胡萝卜培养基; B1~B3: 黑麦培养基; C1~C3: 放置玻璃纸的黑麦培养基; A1~C1: 菌株 P7723 和 HQK8-3 的交接面; A2~C2: 菌株 P7723 的非交接面; A3~C3: 菌株 HQK8-3 的非交接面; 图中白色箭头所指为卵孢子, 黑色箭头所指为孢子囊; 显微放大 20 倍, Bar = 100 μm。

Figure 4. Sexual and asexual reproduction of the isolate P7723 and HQK8-3 in confrontation culture
图 4. 菌株 P7723 和 HQK8-3 对峙培养时的有性生殖和无性生殖

观察卵孢子的发育过程(图 5)。交接 1~3 天时, 两株菌的菌丝接触后, 产生卵原细胞的菌丝会穿雄器(图 5(A)), 此过程较快, 不易观察到, 之后卵原细胞穿过雄器不断膨大(图 5(B)); 交接 3~4 天时, 卵原细胞会完全膨大(图 5(C)), 大量的菌丝细胞质向膨胀的卵原细胞流动, 卵原壁的表面积扩大, 但厚度保持不变, 与菌丝壁的厚度相近, 在这个阶段, 有大量的“功能性”细胞质(核糖体、线粒体、内质网、高尔基体及其囊泡)和细胞核, 约占这个卵原细胞原生质空间的 60%, 剩下的是由类脂体和液泡组成的“储存”细胞质; 交接 5~6 天, 在完成扩张阶段后, 卵原细胞内形成了一个大的卵球, 卵原细胞壁不断增厚(图 5(D)), 液泡和类脂内含物占卵球细胞质的 85%~95%; 交接 6~7 天, 卵原细胞发育为成熟的卵孢子(图 5(E)), 细胞核通常位于卵球的外围, 被含有大量细胞质核小体、粗面内质网和线粒体的细胞质所包围; 交接 8 天后, 卵原细胞发育为休眠的卵孢子, 形成卵质体和细胞核(图 5(F)), 细胞核一般有 1 个或多个。在 RA 和 CP 上的卵孢子发育过程和 CA 上的相同。



注: A: 交接 1~2 天, 卵原细胞穿过雄器; B: 交接 2~3 天, 卵原细胞不断膨大; C: 交接 3~4 天, 卵原细胞完全膨大; D: 交接 5~6 天, 卵原细胞壁不断增厚; E: 交接 6~7 天, 成熟的卵孢子, a 为卵原细胞, o 为雄器; F: 交接 8 天后, 休眠的卵孢子, Oop 为卵质体, n 为细胞核。显微放大 100 倍, Bar = 10 μm 。

Figure 5. Oospore development process of *P. infestans* on the CA medium

图 5. 在 CA 培养基上致病疫霉的卵孢子发育过程

MTT 是一种活体染色剂, 卵孢子经 MTT 染色后, 红色或紫色的被认为是可存活的, 死亡的卵孢子是黑色和未染色的[14]。在对峙培养 7 天后, 在交接面取样对卵孢子进行 MTT 染色(图 6)。图 6(A)和图 6(B)为完全膨大的卵孢子, MTT 染色后呈紫色和红色, 为休眠期可存活的卵孢子; 图 6(C)和图 6(D)为双壁的卵孢子, MTT 染色后呈紫色和红色, 也为休眠期可存活的卵孢子; 图 6(E)的卵孢子染色后呈黑色, 图 6(F)的卵孢子染色后未染色, 都为无活力的卵孢子。根据染色情况来统计不同培养基上的卵孢子存活率。卵孢子在 CA 上的存活率为 55%, 在 RA 上为 67%, 在 CP 上为 48%。

3.3. 不同培养基对致病疫霉孢子囊数量及形态的影响

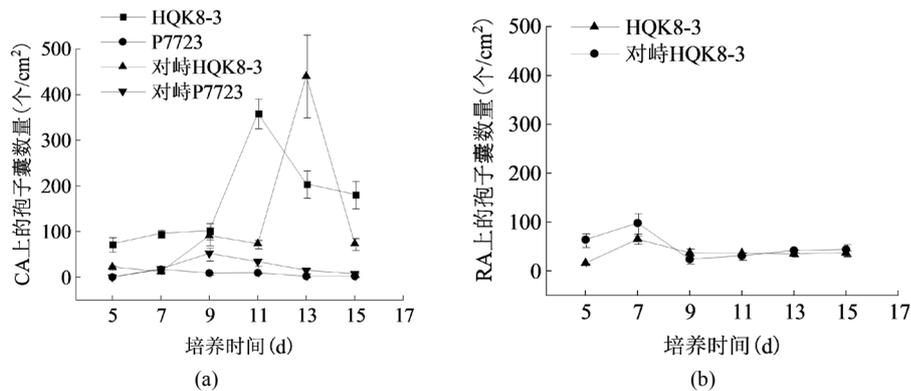
在不同培养时间检测不同培养基上致病疫霉菌株产孢子囊的数量并观察孢子囊形态特征。在胡萝卜培养基上, 菌株 HQK8-3 和 P7723 均产孢子囊(图 7(a)); 单独培养时, 菌株 HQK8-3 在 11 天时孢子囊数量最多, 为 359 个/ cm^2 ; 菌株 P7723 在 7 天时孢子囊数量最多, 为 18 个/ cm^2 。对峙培养时, 菌株 HQK8-3 在 13 天时孢子囊数量最多, 为 441 个/ cm^2 ; 菌株 P7723 在 9 天时孢子囊数量最多, 为 52 个/ cm^2 。在黑麦培养基上, 菌株 HQK8-3 产孢子囊, 菌株 P7723 不产孢子囊(图 7(b)); 单独培养时, 菌株 HQK8-3 在 7 天时孢子囊数量最多, 为 65 个/ cm^2 ; 对峙培养时, 菌株 HQK8-3 在 7 天时孢子囊数量最多, 为 99 个/ cm^2 。

对峙培养时，在两个菌株菌丝交接面内不会产生孢子囊，但在交接面外仍然会进行无性生殖，孢子囊数量也没有减少。不同培养基对两个菌株的孢子囊形态均未产生明显影响(图 8)。而在 CP 培养基上，不管是单独培养还是对峙培养，两个菌株均不产生孢子囊。



注：A-B: MTT 染色膨大的卵孢子，呈紫色或红色，为活菌；C-D: MTT 染色双壁的卵孢子，呈紫色或红色，为活菌；E: 卵孢子呈黑色，无活力；F: 卵孢子未染色，无活力；显微放大 100 倍，Bar = 10 μm 。

Figure 6. MTT staining of oospores
图 6. 卵孢子的 MTT 染色



注：CA: 胡萝卜培养基；RA: 黑麦培养基。

Figure 7. Sporangium yield of *P. infestans* on different media
图 7. 不同培养基上致病疫霉的孢子囊产量



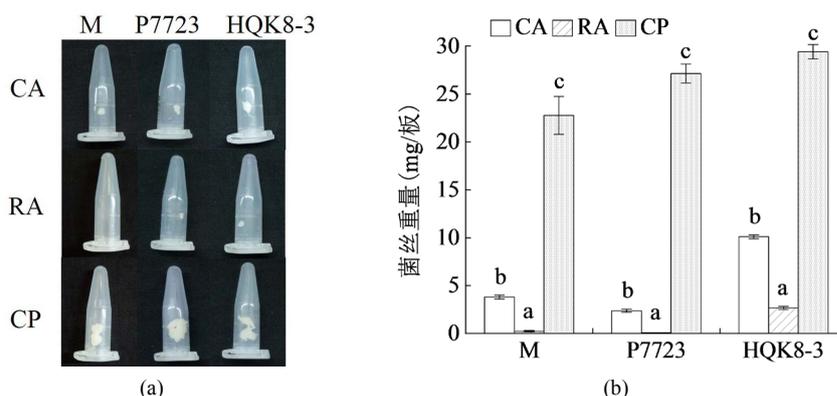
注：A: 胡萝卜培养基上菌株 HQK8-3 的孢子囊；B: 黑麦培养基上菌株 HQK8-3 的孢子囊；C: 胡萝卜培养基上菌株 P7723 的孢子囊；显微放大 60 倍，Bar = 20 μm 。

Figure 8. Sporangium morphology on different media
图 8. 不同培养基上的孢子囊形态

3.4. 不同培养基对致病疫霉菌丝体生物量的影响

在后期实验中,需要在 HQK8-3 和 P7723 两个菌株对峙培养的交接面上收集到足够的菌丝,因此,接下来对两个菌株在不同培养基上对峙培养时交接面上收集到的菌丝量及单独培养时的菌丝量进行了检测。将菌株 HQK8-3 和 P7723 对峙培养,在两个菌株交接 7 天后,收集交接面的菌丝并称重(图 9(a))。CA 上可收集到的菌丝重量为 3.8 mg/板,RA 上的菌丝重量为 0.2 mg/板,CP 上的菌丝重量为 22.8 mg/板,CP 上的菌丝重量是 CA 上的 6 倍,是 RA 上的 114 倍(图 9(b))。

单独培养时,P7723 在 CA 上的菌丝重量为 2.4 mg/板,RA 上为 0.1 mg/板,CP 上为 27.1 mg/板;HQK8-3 在 CA 上的菌丝重量为 10.1 mg/板,RA 上为 2.7 mg/板,CP 上为 29.4 mg/板。不同培养基对致病疫霉菌株单独培养和对峙培养时菌丝量的影响相同。两个菌株在 CP 上收集的菌丝量均显著多于在 CA 和 RA 上的菌丝量,菌丝重量都在 20 mg 以上,在 CA 上收集的菌丝重量在 2 mg~11 mg 之间,在 RA 上收集的菌丝重量小于 3 mg (图 9)。



注: CA: 胡萝卜培养基; RA: 黑麦培养基; CP: 放置玻璃纸的黑麦培养基; M: 菌株 P7723 和菌株 HQK8-3 对峙培养; P7723: 单独培养菌株 P7723; HQK8-3: 单独培养菌株 HQK8-3。

Figure 9. Mycelium biomass of *P. infestans* on different media

图 9. 不同培养基上致病疫霉的菌丝体生物量

4. 讨论

综上,三种培养方法对致病疫霉菌株的菌丝体、孢子囊、卵孢子形态均未产生影响。在 CP 上收集的菌丝量明显高于另外两种培养基,但是 CP 上的卵孢子数量极少,也没有观察到孢子囊,说明放置了玻璃纸的培养方法会影响菌株的有性生殖和无性生殖,因此,该方法不适合检测致病疫霉有性生殖或无性生殖过程时用来收集样品。而 CA 和 RA 上两个菌株的交接面均可以产生大量的卵孢子,且在两种培养基上,卵孢子的发育过程相同,虽然在 CA 上的卵孢子存活率要低于 RA 上的,但是 CA 上的卵孢子数量远远高于 RA 上的。在 CA 和 RA 上,单独培养、对峙培养的非交接面均可正常产生孢子囊,CA 上的孢子囊数量明显高于 RA 上的。此外,对峙培养、单独培养时,CA 上收集到的菌丝体生物量均明显高于 RA 上的。因此,根据以上指标,胡萝卜培养基更适合在致病疫霉生长及有性、无性生殖研究中被用来收集生物样本。

CA 培养基被许多人作为产卵孢子的培养基,例如,荔枝霜疫霉[15]在 CA 上卵孢子的产量最高,棕榈疫霉[8]在 CA 上产的卵孢子最多,培养大豆疫霉[16][17][18]卵孢子时也用 CA,上述结果与本研究结果相同。本文中致病疫霉卵孢子的形态与烟草疫霉[19]、辣椒疫霉[20]、大豆疫霉[21]等相似。DON E. HEMMES 等[22]使用电镜观察辣椒疫霉卵孢子发育形态,接种后 77~100 小时卵孢子为单壁,117 小时后

卵孢子变为双壁, 190 小时发育为成熟卵孢子, 本试验结果与辣椒疫霉相似, 致病疫霉卵孢子的发育过程也是从单壁变为双壁, 并且在菌丝交接后的 6~7 天发育为成熟的卵孢子。兰成忠等[23]的研究结果显示, 辣椒疫霉在 OMA、CA 和 RA 培养基可产生孢子囊, 王良华[24]的研究结果显示大豆疫霉在 PDA 培养基上生长缓慢, 在利马豆、玉米粉、V8 汁等培养基上生长较快, 在 RA 和 V8 上可产生孢子囊[25], 但本研究中致病疫霉菌株 P7723 在 RA 上不产孢子囊, 在 CA 上只产生极少量孢子囊, 而菌株 HQK8-3 在这两种培养基上均可产生大量孢子囊, 这可能与致病疫霉菌株的具体特性有关。李岩[9]采用胡萝卜和玻璃纸胡萝卜培养基培养大豆疫霉菌, 两种培养基均产生孢子囊, 玻璃纸胡萝卜培养基上菌丝生长速度比胡萝卜培养基上的慢, 10 天内胡萝卜培养基产生了卵孢子, 而玻璃纸胡萝卜培养基没有产生卵孢子, 在产卵孢子方面与本研究结果相同, 说明在培养基上放置玻璃纸这种方法只适合培养大豆疫霉或致病疫霉纯营养菌丝, 不适合用来培养致病疫霉和大豆疫霉卵孢子。

参考文献

- [1] 王颖梅. 被看好的马铃薯产业[J]. 农经, 2015(9): 32-36.
- [2] Peng, Q., et al. (2019) Point Mutations in the β -Tubulin of *Phytophthora sojae* Confer Resistance to Ethaboxam. *Phytopathology*, **109**, 2096-2106. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-01-19-0032-R>
- [3] 杨芮. 中国马铃薯晚疫病菌交配型分布与无毒基因 Avr1 和 Avr4 的遗传多样性[D]: [硕士学位论文]. 福州: 福建农林大学, 2014.
- [4] Wang, T.H., Wang, X.W., Zhu, X.Q., et al. (2020) A Proper PiCAT2 Level Is Critical for Sporulation, Sporangium Function, and Pathogenicity of *Phytophthora infestans*. *Molecular Plant Pathology*, **21**, 460-474. <https://doi.org/10.1111/mpp.12907>
- [5] Grenville-Briggs, L.J., Horner, N.R., Phillips, A.J., et al. (2013) A Family of Small Tyrosine Rich Proteins Is Essential for Oogonial and Oospore Cell Wall Development of the Mycoparasitic Oomycete *Pythium oligandrum*. *Fungal Biology*, **117**, 163-172. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2013.01.001>
- [6] 张晓荣. 马铃薯抗晚疫病某些生理生化特性的研究[D]: [硕士学位论文]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2008.
- [7] Satour, M.M. (1967) Rape Seed Extract Agar: A New Medium for Production and Detection of Oospores of Heterothallic Species of *Phytophthora*. *Mycologia*, **59**, 161-166. <https://doi.org/10.1080/00275514.1967.12018403>
- [8] Kaosiri, T., Zentmyer, G.A. and Erwin, D.C. (1980) Oospore Morphology and Germination in the *Phytophthora palmivora* Complex from Cacao. *Mycologia*, **72**, 888-907. <https://doi.org/10.2307/3759732>
- [9] Doster, M.A. and Bostock, R.M. (1988) The Effect of Temperature and Type of Medium on Oospore Production by *Phytophthora syringae*. *Mycologia*, **80**, 77-81. <https://doi.org/10.1080/00275514.1988.12025501>
- [10] Honour, R.C. and Tsao, P.H. (1974) Production of Oospores by *Phytophthora Parasitica* in Liquid Medium. *Mycologia*, **66**, 1030-1038. <https://doi.org/10.2307/3758319>
- [11] 孙志宁, 崔海辰, 王海丽, 等. 致病疫霉产孢子囊培养基及诱导方法的筛选[J]. 科学技术与工程, 2017, 17(19): 18-23.
- [12] 李岩, 文景芝. 一种大豆疫霉菌(*Phytophthora sojae*)纯营养菌丝的培养方法[J]. 东北农业大学学报, 2009, 40(2): 13-15.
- [13] 郑小波. 疫霉菌及其研究技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997: 1-5, 59-62.
- [14] 郭明浩, 李华. 葡萄霜霉病原卵孢子的越冬存活及其影响因素[J]. 中国农学通报, 2005, 21(9): 358-361, 451.
- [15] 张荣, 陈俊巧, 姜子德, 等. 荔枝霜疫霉游动孢子及卵孢子生物学特性研究[J]. 热带作物学报, 2014, 35(6): 1172-1176.
- [16] 郝中娜, 文景芝, 李永刚, 等. 影响大豆疫霉根腐病菌卵孢子生活力的因素[J]. 东北农业大学学报, 2005(1): 113-115.
- [17] 所冰, 崔人方, 田苗, 等. 土壤环境对大豆疫霉 *Phytophthora sojae* 卵孢子萌动的影响[J]. 植物保护学报, 2015, 42(3): 370-375.
- [18] 王良华, 丁国云, 吴翠萍, 等. 大豆疫霉卵孢子致死温度的测定[J]. 植物检疫, 2008(6): 351-353.
- [19] Zhang, L., Yajima, A. and Ojika, M. (2016) The *Phytophthora* Mating Hormone $\alpha 2$ Is an Antagonist of the Counter Hormone $\alpha 1$. *Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan*, **80**, 1062-1065.

<https://doi.org/10.1080/09168451.2016.1146071>

- [20] Etxeberria, A., Mendarte, S. and Larregla, S. (2011) Determination of Viability of *Phytophthora capsici* Oospores with the Tetrazolium Bromide Staining Test versus a Plasmolysis Method. *Revista Iberoamericana De Micologia*, **28**, 43-49. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2010.11.005>
- [21] 俞舒杨, 冯慧, 叶文武, 等. 大豆疫霉 RNA 结合蛋白 PsM90 的基因功能研究[J/OL]. 植物病理学报, 2020, 17(3): 1-10.
- [22] Hemmes, D.E. and Bartnickigarcia, S. (1975) Electron Microscopy of Gametangial Interaction and Oospore Development in *Phytophthora capsici*. *Archives of Microbiology*, **103**, 91-112. <https://doi.org/10.1007/BF00436336>
- [23] 兰成忠, 刘裴清, 李本金, 等. 辣椒疫霉菌产孢培养基及诱导方法筛选[J]. 热带作物学报, 2013, 34(9): 1776-1780.
- [24] 王良华. 大豆疫霉的检测及其卵孢子致死温度测定[D]: [硕士学位论文]. 南京: 南京农业大学, 2005.
- [25] 兰成忠, 陈庆河, 赵健, 等. 诱导大豆疫霉菌大量产生游动孢子囊的最佳方法研究[J]. 江西农业大学学报, 2007, 29(4): 557-560.