

辣椒疫霉菌复壮与保存及生长特性研究

蒋兰君, 巩振辉, 赵倩

(西北农林科技大学园艺学院, 陕西杨陵 712100)

摘要: 研究了辣椒疫霉菌3个生理小种的孢子囊诱导、回接复壮、短期固体培养基保存方法和复壮、培养基厚度、菌龄、生理小种对菌落生长及其形态的影响。结果表明:打菌饼诱孢较整皿光照诱孢速度快、产孢量大;发病辣椒茎段较发病叶片回接效率高,达到50%;疫霉菌在16℃下固体培养基上保存效果最好,保存时间为3~4个月;辣椒疫霉菌复壮前后Ph1、Ph3生理小种菌丝生长速率无显著差异,Ph2有显著差异,复壮后3个生理小种菌丝都变致密,致病性增强;培养基厚度可影响菌丝生长速率,10~15 mL体积的培养基较适合疫霉菌的培养;疫霉菌菌丝的菌龄对菌丝生长速率无影响;Ph1、Ph2、Ph3随着致病性的增强菌丝生长速率下降。

关键词: 辣椒疫霉菌; 生理小种; 回接; 复壮; 保存; 生长速率

中图分类号:S 436.418.1⁺⁹ 文献标识码:A 文章编号:1001-0009(2012)12-0161-04

辣椒疫病于1918年首次在美国被发现,之后其它国家也有该病发生的相继报道,现在已成为世界各辣椒产区的主要病害,其病原菌为*Phytophthora capsici* Leonian,该病菌是一种兼性寄生菌,以卵孢子在土壤中越冬,游动孢子侵入寄主,主要以土壤或雨水传播,在条件适宜的情况下,可在短期内暴发成灾^[1-4]。另外辣椒疫霉寄主范围广,除辣椒外,还可侵染茄科和葫芦科的番茄、茄子、西瓜、西葫芦、南瓜、黄瓜等多种作物,造成严重的经济损失^[5-7]。目前辣椒抗疫病育种是防治该病害最有效的途径之一^[8],人工接种是鉴定品种抗病性的必要手段^[9]。但是辣椒疫霉菌常规人工保存存活时间短,采取频繁转接来保存菌种,往往会导致菌种的致病性下降^[10]。现对辣椒疫霉菌的诱孢、回接复壮、短期固体培养基保存及辣椒疫霉菌的生长特性进行了探讨分析,旨在为开展辣椒疫病研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试菌种与辣椒品种 辣椒疫霉菌(*Phytophthora capsici*) Physiological race1(Ph1)、Physiological race2(Ph2)、Physiological race3(Ph3)^[11,13], 辣椒感病品种

第一作者简介: 蒋兰君(1986-),女,山东潍坊人,在读硕士,研究方向为蔬菜生物技术与遗传育种。E-mail:jianglanjunmo@163.com。
责任作者: 巩振辉(1957-),男,陕西礼泉人,博士,教授,博士生导师,现主要从事蔬菜生物技术与遗传育种研究工作。E-mail:gzhh168@yahoo.com.cn。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30771467);“十二五”农村领域国家科技计划资助项目(2011BAD12B00);教育部高校博士点基金资助项目(200807120007)。

收稿日期: 2012-03-19

“茄门”均由西北农林科技大学园艺学院辣椒课题组提供与鉴定。

1.1.2 培养基 采用马铃薯蔗糖琼脂培养基(PSA)^[12]。

1.2 试验方法

1.2.1 孢子囊诱导方法 打菌饼诱孢:复壮后的辣椒疫霉菌Ph1、Ph2、Ph3在28℃下长满培养皿后,用7 mm打孔器从整皿随机切取菌饼,将菌饼放入装有40 mL灭菌蒸馏水的三角瓶内,每瓶10个,用封口膜封口。将三角瓶置于光照培养箱内培养,光照强度为22 000 lx,温度为28℃,设全黑暗处理作对照,每12 h挑取菌饼用显微镜观察产孢情况,3次重复。整皿光照诱孢:复壮后的辣椒疫霉菌Ph1、Ph2、Ph3在28℃下长满培养皿后,将培养皿置于光照培养箱内培养,光照强度为22 000 lx,温度为28℃,每天挑取菌丝用显微镜观察产孢情况,3次重复。

1.2.2 回接复壮方法 发病辣椒茎段回接:Ph2按1.2.1的方法诱出孢子囊后,将孢子囊先放入4℃冰箱中预冷30~60 min,然后移至28℃的培养箱内放置30~60 min,促使游动孢子释放,将游动孢子悬浮液灌根接种于4叶期的辣椒,将其置于28℃下促使发病。从发病植株缢缩茎的病健交界处切取约5 mm的小段,依次用70%的酒精消毒30 s、在10%的NaClO中消毒3 min、用无菌水冲洗2次,最后用灭菌的吸水纸吸干表面的水分,接种在固体培养基上,28℃暗培养3 d后,从分离到的菌落边缘挑取菌丝,继续转接纯化1~2次^[13]。每个培养皿接种1个茎段,每处理的茎段数为12个,2次重复。发病辣椒叶片回接:在培养皿内垫上双层滤纸然后打湿,取植株顶端展开叶片放在滤纸上,用打孔器切取Ph2的菌饼,将有菌丝的一面紧贴在叶片背面,28℃下促使其发病。从发病辣椒叶片的病健交界处切取边长约5 mm的小块,按茎段的方法进行消毒纯化,每个培养皿

接种 1 块叶片,每处理的叶片数为 12 个,2 次重复。

1.2.3 短期固体培养基保存 复壮后的辣椒疫霉菌 Ph2 在 28℃下长满培养皿后,将培养皿置于 4、16、28℃下,分别保存 25、40、120 d 后,用打孔器切取菌饼接种于固体培养基中央,28℃暗培养 3 d,用十字交叉法测量菌落直径求出生长速率[菌丝生长速率(mm/d)=(菌落直径-7)/(2×3)],并进行形态观察,4 次重复。

1.2.4 辣椒疫霉菌的生长特性 复壮前后辣椒疫霉菌菌丝生长速率比较:将复壮前和复壮后的 3 个生理小种按 1.2.3 节的方法接种后求出生长速率,每处理 4 次重复。复壮前后辣椒疫霉菌致病性比较:将复壮前和复壮后的 3 个生理小种分别诱孢,待辣椒植株长至 6 片真叶展平时进行接种,采用灌根接种法^[14],7 d 后观察发病情况,调查发病级别,计算病情指数。每处理 30 株幼苗,2 次重复。不同厚度培养基上 Ph2 菌丝生长速率与菌落形态比较:用量筒量取 5、10、15、20 mL 体积的培养基倒入三角瓶内,高压灭菌后倒入直径约 6 cm 的培养皿内,复壮后的 Ph2 在 28℃下长满皿后按 1.2.3 节的方法接种,求出生长速率,5 次重复。疫霉菌不同菌龄的菌饼转接后菌丝生长速率的比较:复壮后的 Ph2、Ph3 在 28℃下长满培养皿后,分别从菌落的内外侧切取菌饼,按 1.2.3 节的方法接种后求出生长速率,4 次重复。疫霉菌菌丝生长速率的比较:复壮后的 3 个生理小种在 28℃下长满培养皿后按 1.2.3 节的方法接种后求出生长速率,每个处理 4 次重复。

2 结果与分析

2.1 不同孢子囊诱导方法的产孢速度和产孢量

由表 1 可知,打菌饼诱孢的产孢速度要快于整皿光照诱孢,并且产孢量多,说明打菌饼诱孢是一种快速诱孢的方法,Ph1 在黑暗条件下也可以产孢,不同生理小种虽产孢快慢不同,但光照培养 24 h 都可以产生大量的孢子囊,可用于游动孢子悬浮液的配制。整皿光照诱孢 5~7 d 后 3 个生理小种均可产生大量孢子囊,但比打菌饼诱孢速度慢。对于被杂菌污染或菌丝稀疏的菌落整皿光照诱孢较困难,但可用打菌饼诱孢复壮的方法重新获得菌种。打菌饼诱孢与整皿光照诱孢相比,除了都处

于光照条件下还多了一个水环境,疫霉菌侵染植株需要高湿的环境,所以水环境可能是加速孢子囊形成的重要因素。

表 1 打菌饼诱孢的产孢量

Table 1 The sporangium yield of three physiological races of

Phytophthora capsici on mycelial plugs

| 生理小种 | 光照处理时间 | | | 黑暗处理时间 | | |
|------|--------------------|------------------------|-----------------------|--------|------|-----|
| | Physiological race | Light cultivating time | Dark cultivating time | 12 h | 24 h | 7 d |
| Ph1 | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| Ph2 | + | +++ | - | - | - | - |
| Ph3 | + | +++ | - | - | - | - |

注:—,+,-+++ 分别代表视野内镜检到的孢子囊无、少量(可以计数)、大量(无法计数)。

Note:—,+,-+++ denote absence,a few(able to count) and a great many (unable to count) of sporangium by the microscopic observation on mycelial plugs.

2.2 不同回接方法的复壮效率

由表 2 可知,茎段的回接效率较高,达到 50%,可以满足复壮的需求,而用发病叶片进行回接则效率低。此外,在试验中观察到从茎段周围长出的菌丝较叶片要浓密,且杂菌污染也要少。这可能是茎段与叶片的组织结构不同造成的,叶片较薄含有的菌量少,经过一定的消毒处理后难以再回接出来。

表 2 茎段和叶片回接的复壮效率

Table 2 The efficiency of stem and leaf segments' back inoculation

| 回接方法 Methods of back inoculation | 回接效率 The efficiency of back inoculation/% | |
|--|--|-------|
| 茎段回接 Back inoculation of stem segments | 50.00 | |
| 叶片回接 Back inoculation of leaf segments | | 12.50 |

2.3 不同温度下的短期保存效果

疫霉菌在不同温度下存放,菌落形态、污染率、保存时间不同。由表 3 可知,4℃下保存的疫霉菌菌丝易降解最后消失,保存 25 d 后可以转接出来但菌丝生长稀疏,且菌丝生长速率与 28、16℃下有显著性差异,而保存 40 d 后则不能转接出来,表明菌丝已失去活力;在 28℃与 16℃下保存,菌丝比较致密,转接后菌丝生长正常,但 28℃下菌株的污染率要高于 16℃,28、16℃下可以保存 3~4 个月,4 个月后辣椒疫霉菌菌丝基本上降解掉或被杂菌污染,无法转接出来。

表 3 辣椒疫霉菌在不同温度下保存不同时间后的菌落形态、转接后的生长速率和污染率

Table 3 Colony morphology, growth rate(transferred)and contamination rate of Ph2 preserved for 25,40,120 d under 28,16,4℃

| 保存温度 Storage temperature/℃ | 保存的 Ph2 菌落形态 | | | Ph2 转接 3 d 后的菌丝生长速率 | | | Growth rate of transferred Ph2 | | | 保存的 Ph2 污染率 | | |
|-------------------------------|--------------------------|-----|---|--|------|------|--------------------------------|------|------|-------------|-----------------------------|----|
| | Colony morphology of Ph2 | | | cultured for 3 days with continual darkness under 28℃/mm·d ⁻¹ | 25 d | 40 d | 120 d | 25 d | 40 d | 120 d | Contamination rate of Ph2/% | |
| 4 | MMC | MMC | A | 5.6b | S | - | - | - | - | 0 | 0 | 0 |
| 16 | C | C | S | 6.4a | C | 6.3a | C | 6.3a | C | 0 | 0 | 85 |
| 28 | C | C | S | 6.6a | C | 6.3a | C | 6.5a | C | 50 | 60 | 90 |

注:MMC,C,S,A,- 分别代表通过肉眼观察菌丝仅见于菌落中部、致密、稀疏、无菌丝、不能转接出来。表内为 4 次重复的平均值,同列不同字母表示经 Duncan 新复极差法测验差异显著($P<0.05$)。

Note:MMC,C,S,A,- represents Mycelium only exists in the middle of the colony,Compact,Sparse,Absence and Unable to transfer,respectively. Data in the table are the mean of four replications. Different letters in a row mean significant differences by Duncan variance analysis ($P<0.05$)。

表 4

Table 4

复壮前后辣椒疫霉菌菌丝生长速率与致病性

Growth rate and pathogenicity of Ph1, Ph2 and Ph3 pre-and post-rejuvenation

| 处理 Treatments | 菌丝生长速率 Growth rate of three physiological races cultured for 3 days with continual darkness under 28°C/mm · d ⁻¹ | | | 接种后第 7 天的病情指数 Disease index(DI)after 7 days | | |
|----------------------------|--|------|------|--|--------|--------|
| | Ph1 | Ph2 | Ph3 | Ph1 | Ph2 | Ph3 |
| 复壮 Before the rejuvenation | 6.4a | 6.4a | 6.7a | 42.5MR | 37.8MR | 41.2MR |
| 复壮后 After the rejuvenation | 6.7a | 5.9b | 6.5a | 74.3S | 85.5S | 90.3S |

注:表内为 4 次重复的平均值,同列不同字母表示经 Duncan 新复极差法测验差异显著($P<0.05$)。I:免疫,DI=0;HR:高抗,0<DI<10%;R:抗病,10%<DI<30%;MR:中抗,30%<DI<50%;S:感病,DI>50%。

Note: Data in the table are the mean of four replications. Different letters in a row mean significant differences by Duncan variance analysis ($P<0.05$). I: immunity, DI=0; HR: high resistance, 0<DI<10%; R: resistance, 10%<DI<30%; MR: medium resistance, 30%<DI<50%; S: susceptible, DI>50%.

2.4 辣椒疫霉菌的生长特性

2.4.1 复壮前后辣椒疫霉菌菌丝生长速率与致病性比较 由表 4 可知,Ph1、Ph3 复壮前后菌丝生长速率无显著差异,Ph2 有显著差异,复壮后菌株致病性都增强,表明菌株致病性增强但生长速率不一定加快。试验中观察到 3 个生理小种复壮后菌落都变致密,表明复壮后菌株的活力增强。

2.4.2 不同厚度培养基上疫霉菌菌丝生长速率与菌落形态比较 由表 5 可知,5、10、20 mL 培养基上菌丝生长速率有显著差异,表明培养基体积可影响菌丝的生长速率,因此在进行疫霉菌培养时需要注意培养基的体积。试验中观察到 5 mL 体积的培养基较薄,菌丝生长慢、稀疏,存放时培养基易变干,并且也不利于挑取菌丝和切取菌饼;20 mL 体积的培养基较厚,菌丝长满皿后紧贴培养皿盖易污染;10、15 mL 的培养基间菌丝生长速率无显著差异,菌落致密不易污染,较适于疫霉菌的培养。

表 5 不同厚度培养基上疫霉菌菌丝生长速率

Table 5 Growth rate of Ph2 on different thickness of medium

| 生理小种 Physiological race | 菌丝生长速率 Growth rate of Ph2 cultured for 3 days with continual darkness under 28°C/mm · d ⁻¹ | | | |
|----------------------------|--|-------|-------|-------|
| | 5 mL | 10 mL | 15 mL | 20 mL |
| Ph2 | 5.7b | 5.8b | 6.0ba | 6.2a |

注:表内为 5 次重复的平均值,同列不同字母表示经 Duncan 新复极差法测验差异显著($P<0.05$)。

Note: Data in the table are the mean of five replications. Different letters in a row mean significant differences by Duncan variance analysis ($P<0.05$).

2.4.3 不同菌龄的菌饼转接后菌丝生长速率的比较 由表 6 可知,从菌落内外侧分别切取菌饼进行转接,菌丝生长速率无显著差异,因此在疫霉菌培养时可从整皿随机切取菌饼。

表 6 菌丝菌龄对辣椒疫霉菌菌丝生长速率的影响

Table 6 The influence of different cell age on
growth rate of Ph2 and Ph3

| 处理 Treatments | 接种后的菌丝生长速率 Growth rate of Ph2, Ph3 cultured for 3 days with continual darkness under 28°C/mm · d ⁻¹ | |
|------------------|---|------|
| | Ph2 | Ph3 |
| 外侧 Lateral | 6.6a | 6.3a |
| 内侧 Medial | 6.7a | 6.1a |

注:表内为 4 次重复的平均值,同列不同字母表示经 Duncan 新复极差法测验差异显著($P<0.05$)。表 7 同。

Note: Data in the table are the mean of four replications. Different letters in a row mean significant differences by Duncan variance analysis ($P<0.05$).

2.4.4 不同生理小种菌丝生长速率的比较 由表 7 可知,不同生理小种生长速率有显著性差异,Ph1>Ph2>Ph3,并且来源于不同地区的同一生理小种间也有显著性差异。3 个生理小种的致病性为 Ph1<Ph2<Ph3,表明致病性越强生长越慢,疫霉菌致病性与其菌丝生长速率的这种负向相关性的原因尚待进一步研究。

表 7 不同生理小种的菌丝生长速率

Table 7 Growth rate of three physiological races

| 生理小种 Physiological races | 接种 3 d 后的菌丝生长速率 Growth rate of 5 strains cultured for 3 days with continual darkness under 28°C/mm · d ⁻¹ | |
|-----------------------------|---|---------|
| | Ph1(韩国) | Ph2(北京) |
| Ph1(韩国) | 6.8a | |
| Ph2(北京) | | 5.9c |
| Ph2(云南) | 6.4b | |
| Ph3(陕西) | 4.7e | |
| Ph3(河北) | 5.3d | |

3 讨论与结论

该试验旨在寻找一种简单而高效的诱导辣椒疫霉菌孢子囊的方法。疫霉菌属鞭毛菌亚门卵菌纲,无性游动孢子囊阶段在其生活史中占据重要地位,是其在田间进行再侵染的重要来源^[15~18]。诱导孢子囊的大量产生是开展疫霉菌生物学性状、单游动孢子后代的遗传研究、人工接种和再侵染研究以及品种抗性鉴定的基础,长期以来疫霉菌产孢量低、产孢时间长是制约辣椒疫病研究的瓶颈^[18]。该试验中将菌饼放入水中在光下培养,经水和光的双重刺激可诱发菌块大量产孢,为开展辣椒疫病研究提供保障。左豫虎等^[20]发现,间歇性地给菌丝块换水,加 Petri 培养液可以促进大豆疫霉菌产孢,另外孢子囊的产生受到培养基、换水次数、换水间隔、培养温度、光照、培养时间、营养物质、菌龄、菌量、含氧量等各种因素的影响^[21~23]。在辣椒疫霉菌打菌饼诱孢时,可通过增加换水次数、震荡培养、使用 Petri 培养液或土壤浸出液的方法加快产孢,另外该试验用的是复壮后的菌种,对于经过多次转接或长期保存活力下降的菌种产孢可能要慢一些。

辣椒疫霉菌保存时间短,并且多次转接、培养时间过长都会造成疫霉菌致病力的下降,因此需经常复壮^[10,12]。在回接复壮时需要对发病组织进行消毒,消毒时间太短易出现杂菌污染,时间太长又会对疫霉菌产生伤害,采用 70% 的酒精消毒 30 s、在 10% 的 NaClO 中消

毒 3 min、用无菌水冲洗 2 次,最后用灭菌的吸水纸吸干表面的水分的方法复壮率达到 50%,可满足复壮要求。

辣椒疫霉菌长期保存是采用试管斜面培养基^[24],使用时需从斜面培养基转接到固体培养基上,这就存在一个固体培养基短期保存的问题,保存时间长可减少转接次数,把继代造成的变异降到最低水平并增加利用率。该试验中辣椒疫霉菌在固体培养基上 16℃下保存效果最好,保存时间长,污染率低;4℃下保存 40 d 疫霉菌失去活力,但 4℃下在斜面培养基上辣椒疫霉菌可存活 1 a 左右(试验数据未提供),其原因尚待进一步研究。

辣椒疫霉菌复壮后活力和致病性均增强;不同厚度的培养基上菌丝生长速率有显著差异,表明菌丝的生长受培养基所供营养的影响;不同菌龄的菌丝生长速率无显著差异,表明菌丝的菌龄不影响其后续生长;3 个生理小种致病性越强生长越慢,这种负向相关性的原因尚待进一步研究。

参考文献

- [1] Leonian L H. Stem and fruit blight of pepper caused by *Phytophthora capsici* sp. nov [J]. *Phytopathology*, 1922, 12: 401-408.
- [2] Polach F J. Identification of strains and inheritance of pathogenicity in *Phytophthora capsicum* [J]. *Physiopathology*, 1972, 62: 20-26.
- [3] 鲁占魁,樊仲庆,黄刚. 我国辣椒疫病的发生及防治研究[J]. 宁夏农林科技,1995(2):22-25.
- [4] 陆家云. 植物病害诊断[M]. 2 版. 北京:中国农业出版社,1997:19.
- [5] Hausbeck M K, Lamour K H. *Phytophthora capsici* on vegetable crops: research progress and management challenges [J]. *Plant Disease*, 2004, 88(12): 1292-1303.
- [6] 王汉荣,茹水江,王连平,等. 浙江省南瓜疫病的病原菌鉴定及生物学特性研究[J]. 浙江农业学报,2003,15(1):13-18.
- [7] Tian D, Babadoost M. Hostrange of *Phytophthora capsici* from pumpkin and pathogenicity of strains [J]. *Plant Disease*, 2004, 88(5): 485-489.
- [8] Ardenf S, Alana M. Vegetable Disease and Their Control [M]. John and Sons, 1986: 509-511.
- [9] 张荣,辛光云,刘爱媛. 辣椒疫霉菌保存及游动孢子诱导技术研究[J]. 安徽农业科学,2008,36(20):8679-8680.
- [10] 戚仁德,丁建成. 不同培养基对辣椒疫霉致病力的影响[J]. 安徽农业科学,2001,29(1):96-97,105.
- [11] 柴贵贤. 辣椒疫霉菌遗传多样性分析及致病机理研究[D]. 杨陵:西北农林科技大学,2010.
- [12] 柴贵贤,巩振辉,李大伟,等. 辣椒疫霉菌单个孢子囊快速分离及复壮技术研究[J]. 北方园艺,2010(12):160-162.
- [13] 张莹丽,巩振辉,李大伟,等. 陕西辣椒疫病病原菌鉴定及其防治剂的室内筛选[J]. 西北农业学报,2009,18(5):336-340.
- [14] 李智军,龙卫平,郑锦荣,等. 广东辣椒疫霉菌分离鉴定及其致病力和生理小种分化研究[J]. 华南农业大学学报,2007,28(1):50-54.
- [15] 单卫星,张硕成,李玉江,等. 棉铃疫病菌侵染行为观察[J]. 棉花学报,1995,7(4):246-251.
- [16] 何红,郑小波,曹以勤,等. 棉铃疫病病原卵孢子在病害循环中的作用[J]. 江苏农业学报,1993,9(2):36-40.
- [17] 郑小波,陆家云,何红,等. 棉铃疫病菌越冬卵孢子作为侵染源的研究[J]. 植物保护学报,1992,19(3):251-256.
- [18] 马平,沈崇尧. 棉铃疫菌的越冬存活[J]. 植物病理学报,1994,24(1):74-79.
- [19] 王晓敏,巩振辉,逯红栎,等. 辣椒疫霉菌孢子诱导技术研究[J]. 西北农业学报,2006,15(2):59-62.
- [20] 左豫虎,减忠靖,刘惕若. 影响大豆疫霉菌(*Phytophthora sojae*)游动孢子产生的条件[J]. 植物病理学报,2001,31(3):241-245.
- [21] 杨建卿,江彤,陈学平. 烟草疫霉菌的培养及大量产生游动孢子囊和游动孢子方法的研究[J]. 植物保护,2001(4):12-13.
- [22] 吕慧颖,孔凡江,杨庆凯,等. 大豆疫霉根腐病菌游动孢子的产生因素[J]. 植物病理学报,2002(2):190-191.
- [23] 彭化贤,刘波微,李薇. 四川辣椒疫霉菌生物学特性和辣椒抗霉疫病性鉴定方法初探[J]. 云南农业大学学报,2005(1):140-144.
- [24] 梁喜龙,冯乃杰,杜吉到,等. 疫霉菌的研究现状及展望[J]. 杂粮作物,2004(6):354-358.

Study on Rejuvenation, Preservation Methods and Growth Characteristics of Three Physiological Races of *Phytophthora capsici*

JIANG Lan-jun, GONG Zhen-hui, ZHAO Qian

(College of Horticulture, Northwest Agricultural and Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract: Researches on methods of sporangium inducing, rejuvenation, preservation and growth characteristics of *Phytophthora capsici* were carried out. The results showed that the sporangium on mycelial plugs were more and appeared earlier than the mycelium picking out from the whole colony under light; The efficiency of stem segments' back inoculation was higher than that of the leaf segments; The preservation effect on PSA medium under 16℃ was best and preservation time was three to four months; Growth rate of Ph1 and Ph3 strains except Ph2 had no significant differences pre-and post-rejuvenation but the colony of three physiological races became compact and pathogenicity enhanced after rejuvenation; The thickness of medium had effect on the growth of colony and the best volume was 10~15 mL; The cell age of mycelium had no effect on the growth of colony; The growth rate of three physiological races slowed as their pathogenicity enhanced.

Key words: *Phytophthora capsici*; physiological races; back inoculation; rejuvenation; preservation; growth rate