

DOI:10.11937/bfyy.201619029

西藏设施番茄晚疫病病原菌 鉴定及生物学特性研究

相 栋¹, 代 万 安¹, 巩 文 峰², 杨 杰¹, 尼 玛 玉 珍¹

(1. 西藏自治区农牧科学院 蔬菜研究所, 西藏 拉萨 850032; 2. 西藏大学 农牧学院, 西藏 林芝 860000)

摘 要:以具典型晚疫病症状的番茄病叶为试材,采用薯片夹叶分离法对病原菌进行分离,测定了不同培养基、pH、温度、碳源、氮源对菌丝生长、产孢的影响,通过病原菌鉴定和生物学特性研究,以期对西藏设施番茄晚疫病发生及防治提供理论依据。结果表明:引起设施番茄晚疫病的病原菌为致病疫霉菌 *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary。病菌菌丝在大多数培养基上均能良好生长,其中 RSA 培养基最适宜菌丝生长及产孢;菌丝生长和产孢的最适温度范围为 18℃,最适生长 pH 6~7;菌丝对碳源的利用,以可溶性淀粉最好,麦芽糖最差;在氮源利用方面,菌丝在以脯氨酸为氮源的查氏培养基上生长最快,在精氨酸、胱氨酸和氯化铵上不生长。孢子囊的致死温度为 55℃,15 min。

关键词:番茄;晚疫病;分离;鉴定;生物学特性

中图分类号:S 436.412.1⁺2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)19-0114-05

番茄晚疫病是由致病疫霉菌(*Phytophthora infestans* (Mont) de Bary)引起的一种重要病害,是西藏拉萨、林芝、山南、日喀则等地区设施番茄生产上的常发病害^[1-2]。美国、加拿大、墨西哥等国家均有该病严重发生的报道^[3]。我国北京、云南、贵州、山东、陕西、四川、河北、湖北等省市晚疫病普遍发生^[4]。西藏复杂多样的独特气候环境,加上近年来设施蔬菜在西藏发展迅猛,管理粗放,防治意识不强,番茄晚疫病在西藏已呈逐年加重的趋势,给生产上造成了一定的经济损失。目前,国内很多地区对番茄晚疫病病菌的分离、纯化、生物学特性和生理小种分化等报道较多,但西藏地区对该病害的研究较少,该试验通过对西藏设施番茄晚疫病病菌进行

分离、鉴定和病原菌生物学特性进行初步研究,旨在为西藏设施蔬菜晚疫病综合防治提供理论基础和技术支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2015年3—9月,在拉萨、林芝、山南、日喀则等西藏蔬菜主产地,对高效日光温室、大棚等设施条件下番茄晚疫病的发生情况进行了调查,采集具有典型晚疫病的番茄病样,并将采集的病样带至西藏大学农牧科学院植物病理学与微生物学实验室进行保存和病原菌的进一步分离、鉴定、纯化。

1.2 试验方法

1.2.1 病原菌的分离和培养 参照田苗英等^[5]、吴涛等^[6]的分离纯化方法,采用薯片夹叶分离法,选择田间病症典型的刚发病叶片,在超净工作台上消毒,在病健交界处剪取 5~10 mm² 的小块。取无病、无机械损伤的中等马铃薯去皮,用次氯酸钠表面消毒,在超净工作台上切成 1 cm 厚的马铃薯片。之后将上述的 5~10 mm² 小

第一作者简介:相栋(1986-),男,硕士,助理研究员,现主要从事园艺植物保护等研究工作。E-mail:xiangd666@126.com。

责任作者:代万安(1968-),男,本科,研究员,现主要从事园艺作物病虫害综合治理等研究工作。E-mail:daiwa1968l@126.com。

基金项目:西藏自治区自然科学基金资助项目(13-43)。

收稿日期:2016-07-20

SlC3H65 CCCH zinc finger genes, except the TC-rich repeat element. The existence of stress-related elements in CCCH zinc finger gene promoter regions provided further evidence in future research. Expression analysis showed that two CCCH zinc finger genes expressed in root, stem and leaf in 'Zhongshu No. 6', with the highest expression level in leaf, similarly. Under five different stress conditions, *SlC3H64* was up-regulated under SA and high temperature stress treatment, while *SlC3H65* only responded to mannitol treatment.

Keywords: tomato; CCCH zinc finger proteins; gene; tissues; stress treatment; expression analysis

块病叶置于2个薯片中间,滤纸保湿18℃培养,待在薯片上长出霉层,直接挑取少量霉层,置于黑麦选择培养基上培养,封口膜密封,18℃黑暗培养5~7 d,待菌丝形成后,挑取分离出的晚疫病菌少量菌丝接种在新的黑麦选择培养基上。当菌丝呈放射状生长5~7 d后,再将菌落边缘单菌丝的尖端连同培养基一起切下,置于黑麦基础培养基上,18℃黑暗培养,待菌落形成后重复操作,直至镜检确定所分离的病原菌为纯的晚疫病菌为止。

1.2.2 致病性测定 采用离体叶片接种法,将分离纯化的病原菌在黑麦基础培养基上培养7~14 d,灭菌水洗下孢子囊并调整浓度至 2×10^4 个孢子囊 $\cdot \text{mL}^{-1}$,将孢子囊悬浮液存放于4℃冰箱用于接种。取相同寄主品种新鲜叶片,灭菌水冲洗,叶背朝上置于2%水琼脂培养基平板上,取少量孢子囊悬浮液滴于叶缘,共接种10片叶片,以无菌水为对照(CK)。18℃和保湿条件下观察并记录发病情况,待形成典型症状后,对病原菌进行再分离,按柯赫氏法则确定病原菌^[7]。

1.2.3 病原菌形态学特征观察及鉴定 将得到的菌株置于18℃培养箱中,观察菌落培养性状、生长速度、色泽、形态特征,进行孢子大小显微计测,并进行显微照相,根据病原菌形态观察进行该病原菌的鉴定。病原菌鉴定主要参照魏景超^[8]的鉴定方法。

1.2.4 生物学特性的测定 培养基:应用黑麦蔗糖培养基(RSA)、寄主煎汁培养基、15%黑麦番茄汁培养基(15% T-Rye)、马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)、胡萝卜琼脂培养基(PCA)、豌豆蔗糖培养基、燕麦琼脂培养基(OA),共7种培养基。黑麦基础培养基的制作:将50 g黑麦种子在适量蒸馏水中浸泡24~36 h,待大部分黑麦都发芽露白,捣碎机捣碎,55~60℃水浴1~2 h,经2层纱布过滤,上清液补水至1 L,加入琼脂粉15 g,灭菌。温度:设置10、15、18、20、22、25、28℃7个温度梯度进行测试。pH:用稀盐酸溶液和氢氧化钠溶液将黑麦培养基pH调成4、5、6、7、8、9、10共7个不同pH。碳源:将含2%的蔗糖、甘露醇、可溶性淀粉、葡萄糖、乳糖、麦芽糖、D-木糖7种碳源分别加入黑麦培养基,以不加碳源的培养基为对照(CK)。氮源:将含0.4%的丙氨酸、精氨酸、脯氨酸、胱氨酸、蛋白胨、氯化铵、硝酸钾共7种氮源分别加入查氏培养基(KNO_3 2 g, K_2HPO_4 1 g, KCl 0.5 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g, FeSO_4 0.01 g, 蔗糖 30 g, 琼脂粉 15~20 g, 用水定容至1 L),配成7种氮源的培养基。以上每个试验均从供试的番茄晚疫病菌落边缘用打孔器打下直径为5 mm的等菌龄菌丝小块,分别接种于各培养基中央,于18℃恒温下培养,每个试验设3次重复。10、14 d时测量菌落直径大小,观察菌落生长状况,并用血球计数板计测病菌孢子囊数^[7]。菌丝平均生长速率($\text{mm} \cdot \text{d}^{-1}$)=(菌落直径-菌块直径)/天数;孢子囊数

(个 $\cdot \text{mL}^{-1}$)=100小格孢子囊数 $\times 4 \times 10^4 \times$ 稀释倍数。

1.2.5 病菌孢子囊致死温度 取5 mm等菌龄菌饼分别放入离心管中,每个处理3次重复,分别置于40、45、50、55、60℃恒温水浴锅内,分别处理5、10、15 min后取出迅速冷却。将处理后的菌块取出置于黑麦培养基,黑暗培养10 d后观察菌丝生长情况。

1.3 数据分析

采用SPSS数据处理软件对试验所得数据进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 田间症状描述

调查发现,番茄晚疫病主要在成株期发病,设施栽培条件下5月中旬为发病初期,7—9月达到发病高峰期,主要危害叶、果实。叶部多从叶尖或叶缘开始发病,病斑初为暗绿色水浸状不规则病斑,后逐渐变为暗褐色,病健交界处为浅绿色,湿度较大时,叶正背面病斑处会长出白色霉层;茎部染病,初期产生凹陷不规则水浸状小斑,之后沿侵染点上下蔓延,后期茎秆变黑褐色,全株焦枯、死亡;果实染病,主要是青果,发病部位可为果柄、萼片和果实,病斑为油浸状浅褐色斑,并不断地在果实上向四周扩展呈云纹状不规则病斑,病部质地较硬,潮湿时病斑边缘长出稀疏白色霉层。

2.2 病原分离及鉴定

2.2.1 病原菌形态学特征 经分离纯化的病原物在黑麦培养基上培养,前期菌落不明显,生长速度缓慢,10 d后,菌丝可扩展到培养皿2/3,能观察到明显的近圆形或不规则形白色棉絮状菌落,霉层稀疏(图1)。显微镜观察,菌丝体为透明细长的无隔膜菌丝;不规则分枝,分枝上有结节状膨大处,膨大后逐渐变细,向上生长顶端膨大形成孢子囊(图2、3);孢子囊顶生或侧生,无色,单孢,椭圆形或卵圆形,大小 $(20.5 \sim 37.5) \mu\text{m} \times (17.5 \sim 24.0) \mu\text{m}$,顶端有乳突,基部具短柄(图4、5),适宜温度下可释放出肾形游动孢子。

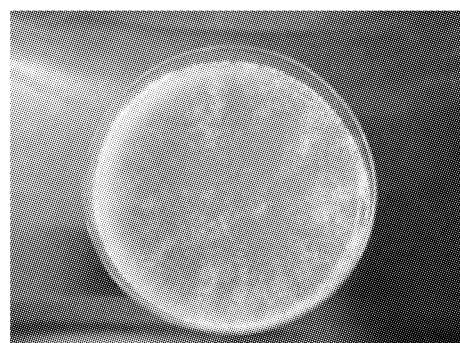


图1 菌落形态(黑麦培养基)

Fig.1 Colony of *Phytophthora infestans* (RSA)

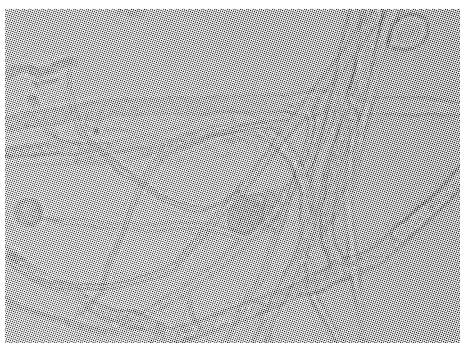


图 2 40 倍镜下孢子囊及孢子梗
Fig. 2 Sporangium and sporophore of *Phytophthora infestans* ($\times 40$)

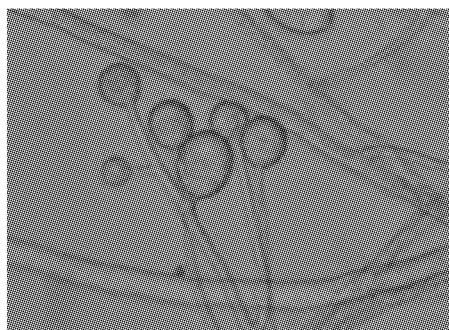


图 3 100 倍镜下孢子囊及孢子梗
Fig. 3 Sporangium and sporophore of *Phytophthora infestans* ($\times 100$)

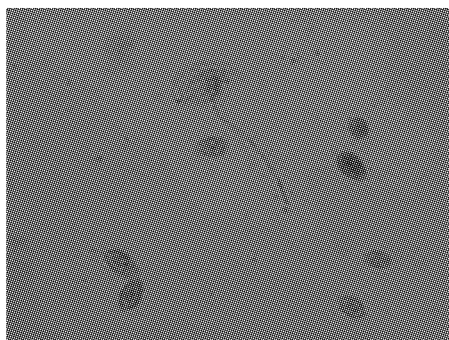


图 4 40 倍镜下孢子囊
Fig. 4 Sporangium of *Phytophthora infestans* ($\times 40$)

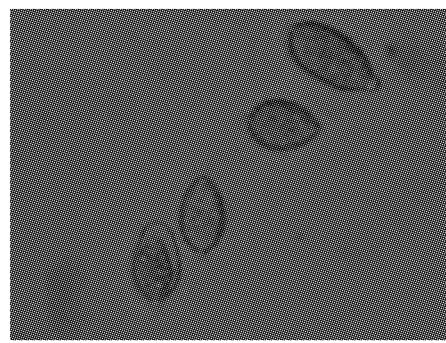


图 5 100 倍镜下孢子囊
Fig. 5 Sporangium of *Phytophthora infestans* ($\times 100$)

2.2.2 病原菌致病性测定及鉴定 经观察,离体番茄叶片接种 4 d 后开始发病,后发病逐渐严重,霉层面积不断扩大,接种番茄叶片的发病率为 80%,并且在发病叶片上均有白色霉层产生,显微镜下可观察到一定数量的孢子囊。结合病原菌形态观察,将该病原菌鉴定为致病疫霉菌 *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary,属鞭毛菌亚门,卵菌纲,霜霉目,腐霉科,疫霉属^[8]。

2.3 不同培养基对菌丝生长及产孢量的影响

从表 1 可以看出,除胡萝卜培养基和 PDA 培养基外致病疫霉菌在其它培养基上均可正常生长、产孢,但菌丝生长及孢子囊量状况差异显著。病原菌在黑麦蔗糖培养基上生长最为迅速,平均生长速率达 $(5.9 \pm 0.2) \text{ mm} \cdot \text{d}^{-1}$;在 15% T-Rye 上生长也较好,菌丝均呈致密的棉絮状,较整齐;其次为 OA 和豌豆蔗糖培养基。15% T-Rye 培养基产孢子囊数量最多,平均 128.7×10^4 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$,显著高于其它各处理。寄主煎汁培养基处理的病原菌菌丝生长及产孢情况较差。

2.4 不同温度对菌丝生长及产孢量的影响

由表 2 可知,致病疫霉菌 10~28 °C 培养条件下均可生长、产孢,但不同温度对其菌丝生长速率及产孢子囊量有显著差异。18 °C 时菌丝生长最快,平均生长速率为 $(5.8 \pm 0.2) \text{ mm} \cdot \text{d}^{-1}$,最适生长温度为 18~20 °C,低于 15 °C 和高于 25 °C 时菌丝生长均受到抑制。孢子囊在 18~20 °C 时比较容易产生,18 °C 产生数量最多,平均为 80.8×10^4 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 。

表 1 不同培养基对致病疫霉菌丝生长和孢子囊产生的影响

Table 1 Effect of different medium on hyphae growth rate and sporangium produce of *P. infestans*

培养基 Culture medium	菌落直径 Diameter of colony/mm		平均生长速率 Average growth rate/(mm $\cdot \text{d}^{-1}$)	孢子囊数 Number of sporulation/($\times 10^4$ 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$)
	10 d	14 d		
黑麦蔗糖培养基 RSA	64.7 \pm 1.0	86.0 \pm 2.2	5.9 \pm 0.2aA	82.0bB
马铃薯葡萄糖琼脂培养基 PDA	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0eE	0.0eE
胡萝卜琼脂培养基 PCA	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0eE	0.0eE
燕麦琼脂培养基 OA	55.4 \pm 0.5	74.1 \pm 2.5	5.0 \pm 0.2cB	62.7cB
15% 黑麦番茄汁培养基 15% T-rye	64.5 \pm 0.6	80.9 \pm 1.5	5.7 \pm 0.1bcAB	128.7aA
寄主煎汁培养基 Host culture medium	6.8 \pm 1.2	8.6 \pm 1.3	0.2 \pm 0.3dC	14.0dC
豌豆蔗糖培养基 Peas sucrose medium	60.1 \pm 2.0	78.2 \pm 1.6	5.4 \pm 0.2bcAB	68.0bcB

注:表中差异显著性分析为 SPSS 软件处理,小写字母表示 0.05 显著水平;大写字母表示 0.01 显著水平。下同。

Note: SPSS was used to analyze the significance level among different treatments with lowercase letter at 0.05 level and capital letter at 0.01 level. The same below.

表 2 温度对致病疫霉菌丝生长和孢子囊产生的影响

Table 2 Effect of different temperature on hyphae growth rate and sporangium produce of *P. infestans*

温度 Temperature /℃	菌落直径 Diameter of colon/mm		平均生长速率 Average growth rate /(mm·d ⁻¹)	孢子囊数 Number of sporulation /(×10 ⁴ 个·mL ⁻¹)
	10 d	14 d		
10	14.6±1.6	16.8±1.8	0.9±0.2Gg	4.3eE
15	35.8±1.7	46.0±2.4	3.0±0.2eE	19.2dCD
18	63.7±1.3	85.3±2.8	5.8±0.2aA	80.8aA
20	60.2±1.7	79.2±3.0	5.4±0.2bB	74.7aA
22	47.2±1.6	62.0±2.3	4.1±0.2cC	49.1bB
25	38.3±0.6	48.3±0.9	3.3±0.1dD	27.7cC
28	18.7±1.0	21.8±1.1	1.3±0.1fF	11.2eDE

2.5 不同 pH 对菌丝生长及产孢量的影响

表 3 表明,pH 6~10 时病原菌均能生长及产孢,致病疫霉菌的最适生长 pH 为 6~7。pH 7 时,菌丝平均生长速率可达(5.7±0.3)mm·d⁻¹,产孢子囊量最大,平均 79.5×10⁴ 个·mL⁻¹;pH 5 时,菌丝几乎不生长;pH 10 时菌丝仍能生长及产孢,但菌丝生长速度及产孢量都明显降低,表明该菌具有一定的耐碱性,但过酸或过碱都对病原菌生长有抑制作用。

表 3 不同 pH 对致病疫霉菌丝生长和孢子囊产生的影响

Table 3 Effect of different pH on hyphae growth rate and sporangium produce of *P. infestans*

pH	菌落直径 Diameter of colon/mm		平均生长速率 Average growth rate /(mm·d ⁻¹)	孢子囊数 Number of sporulation /(×10 ⁴ 个·mL ⁻¹)
	10 d	14 d		
4	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0eE	0.0eE
5	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0eE	0.0eE
6	62.7±1.6	83.3±2.0	5.7±0.2aA	48.0bB
7	62.1±2.5	83.4±4.0	5.7±0.3aA	79.5aA
8	46.0±1.5	60.1±2.1	4.0±0.1bB	30.1cBC
9	35.2±1.6	46.0±1.4	3.0±0.2cC	21.1cCD
10	24.2±3.1	30.8±2.9	1.9±0.3dD	7.5dD

2.6 不同碳源对菌丝生长及产孢量的影响

由表 4 可知,不同碳源对菌落生长具有明显影响,菌丝在以可溶性淀粉为碳源的黑麦培养基上生长最快,在 D-木糖上不生长,菌丝生长速率大小顺序为:可溶性淀粉>蔗糖>葡萄糖>甘露醇>乳糖>麦芽糖。在可溶性淀粉为碳源的黑麦培养基上产生孢子囊数量最多,平均为 162.7×10⁴ 个·mL⁻¹。

2.7 不同氮源对菌丝生长及产孢量的影响

从表 5 可以看出,菌丝在以脯氨酸为氮源的查氏培养基上生长最快,在精氨酸、胱氨酸和氯化铵上不生长。且不同氮源培养基上菌丝疏密程度也存在着明显差异,以脯氨酸为氮源的查氏培养基上菌丝较其它厚密,而以蛋白胨、硝酸钾为氮源的培养基上菌丝稀少。可能因为供试培养基不是天然培养基,营养不充沛,7 种氮源的查氏培养基均未产生孢子囊。

表 4 不同碳源对致病疫霉菌丝生长和孢子囊产生的影响

Table 4 Effect of different C source on hyphae growth rate and sporangium produce of *P. infestans*

碳源 Csource	菌落直径 Diameter of colon/mm		平均生长速率 Average growth rate/(mm·d ⁻¹)	孢子囊数 Number of sporulation /(×10 ⁴ 个·mL ⁻¹)
	10 d	14 d		
蔗糖 Sucrose	58.0±1.7	77.3±2.5	5.2±0.2abA	79.2bB
可溶性淀粉 Soluble starch	77.5±1.3	85.7±3.4	6.5±0.2aA	162.7aA
葡萄糖 Glucose	48.0±3.1	64.8±4.2	4.3±0.3bAB	21.1cC
甘露醇 Mannitol	46.7±4.4	65.2±4.9	4.2±0.6bAB	17.6cC
乳糖 Lactose	43.5±3.0	59.6±5.4	3.9±0.3bAB	15.2cC
麦芽糖 Malt dust	9.7±1.1	45.9±4.4	1.7±0.1cB	5.6cC
D-木糖 D-xylose	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0dD	0.0dD
对照 CK	58.7±2.0	76.5±2.5	5.2±0.2abA	79.7bB

表 5 不同氮源对致病疫霉菌丝生长的影响

Table 5 Effect of different N source on hyphae growth rate of *P. infestans*

氮源 N source	菌落直径 Diameter of colon/mm		平均生长速率 Average growth rate /(mm·d ⁻¹)
	10 d	14 d	
氯化铵 Ammonium chloride	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0cC
丙氨酸 Alanine	29.8±4.6	39.5±5.4	2.5±0.4aA
硝酸钾 Potassium nitrate	6.5±0.2	7.4±0.2	0.2±0.0bB
精氨酸 Arginine	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0cC
脯氨酸 Proline	32.5±1.9	41.7±2.5	2.7±0.2aA
胱氨酸 Cystine	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0cC
蛋白胨 Peptone	6.7±0.5	7.3±0.6	0.2±0.0bB
对照 CK	6.3±0.1	6.8±0.2	0.1±0.0bB

2.8 孢子囊致死温度测定

表 6 表明,致病疫霉菌在 40、45、50、55、60℃ 分别处理 5、10、15 min 后菌丝生长情况明显不同,40、45、50℃ 分别作 3 种时间长度处理后转到黑麦培养上均能生长,55℃ 处理 15 min 以及 60℃ 的 3 个时间梯度处理下,时菌丝生长抑制明显,菌丝不生长。说明孢子囊的致死温度为 55℃,15 min。

表 6 致病疫霉菌在不同温度和时间处理后培养的菌落直径

Table 6 Diameter of colony in different temperature with different time treatment

处理时间 Different time/min	处理温度 Different temperature/℃				mm
	40	45	50	55	
5	40.5±1.5	23.9±0.9	15.7±0.7	6.9±0.1	0
10	34.5±1.4	16.9±0.7	9.5±0.6	5.6±0.1	0
15	26.8±1.0	12.3±0.4	7.7±0.1	0	0

3 结论与讨论

番茄晚疫病是中国多发的毁灭性病害,已经引起广大学者的高度关注。通过对西藏番茄晚疫病病原菌的分离培养以及生物学性状的初步观察,确定西藏番茄晚疫病的病原菌为致病疫霉(*Phytophthora infestans* (Mont) de Bary)。近年来,设施蔬菜在西藏发展迅速,

调查表明该病害主要在成株期发病,设施栽培条件下5月中旬为发病初期,7—9月达到发病高峰期,主要危害叶、果实。目前,全国范围内各地区对晚疫病菌的鉴定多集中在生理小种的鉴定,摸清晚疫病菌生理小种的分布情况与发生频率是亟待解决的问题^[9],而该研究为这些研究提供了前期的基础和保障。

该试验结果表明,18℃黑暗条件下是番茄晚疫病菌丝生长和产孢的最适温度,这与康立功等^[10]、姜晓艳等^[11]的20℃最适培养温度基本相近,与黄晓梅等^[12]的25℃研究结果略有不同;pH 6~10,菌丝均可生长,pH 7时菌丝生长量最大,产孢量达到最大值,该菌具有一定的耐碱性,这与大多数研究结果不一致,分析其原因可能是病原菌的生理小种不同等因素有关。该试验得出最佳培养基为黑麦培养基和15% T-Rye培养基,在15% T-Rye培养基产孢量最多,这与前人研究结果一致^[10-12]。在碳、氮源利用方面,可溶性淀粉的利用率最高,这与大多数人所研究的蔗糖不一致,脯氨酸和丙氨酸2种氮源最利于菌丝的生长和产孢。病菌孢子囊的致死温度为55℃,可在播种时对种子进行温汤浸种处理,从而有效地减少病害的发生。该研究仅采用薯片夹叶分离法对病原菌进行了分离,其它分离方法还需进一步探讨比较,从而筛选出一套简单易行的分离、扩繁、人工接种晚疫病菌的试验方法。另外,该试验未设置孢子

囊萌发试验,对于温度、pH、碳源等因子间的互作效应也有待进一步探讨。

参考文献

- [1] 吕佩珂,李明远.中国蔬菜病虫原色图谱(第3版·无公害)[M].北京:中国农业出版社,2002.
- [2] BECKTELL M C, DAUGHTERY M L, FRY W E. Epidemiology and management of petunia and tomato late blight[J]. Plant Disease Sep, 2005, 89(9):1000.
- [3] ERINILE I D, QUIMV J Q. An epidemiology of late blight of tomatoes in Nigeria[J]. Plant Disease, 1998, 64(7):701.
- [4] 薛敏菊,李宝聚,傅俊范.番茄晚疫病研究进展[J].沈阳农业大学学报,2002,33(6):456-460.
- [5] 田苗英,冯兰香.番茄晚疫病菌的分离与纯化[J].植物保护,2000,26(5):36.
- [6] 吴涛,朱海山.番茄晚疫病菌的分离、扩繁及人工接种研究[J].云南农业大学学报,2005,20(5):655-658.
- [7] 方中达.植病研究方法[M].北京:中国农业出版社,1998.
- [8] 魏景超.真菌鉴定手册[M].上海:上海科技出版社,1979:33-649.
- [9] 邹茶英.番茄晚疫病菌生理小种鉴定、品种抗性生理反应及抗性遗传研究[D].扬州:扬州大学,2007.
- [10] 康立功,姜景彬,李景富,等.番茄晚疫病病原菌生物学特性研究(II)[J].东北农业大学学报,2008,39(11):23-27.
- [11] 姜晓艳,李海涛,张子君,等.番茄晚疫病菌生物学特性研究[J].河南农业科学,2008(8):91-94.
- [12] 黄晓梅,梁艳.番茄晚疫病病原菌的菌落生长和产孢子条件的研究[J].中国农学通报,2011,27(10):199-202.

Research on the Identification and Biological Characteristics of Late Blight Pathogen of Greenhouse Tomato in Tibet

XIANG Dong¹, DAI Wan'an¹, GONG Wenfeng², YANG Jie¹, Nimayuzhen¹

(1. Institute of Vegetable, Tibet Academy of Agricultural and Animal Husbandry Sciences, Lhasa, Tibet 850032; 2. College of Agricultural and Animal Husbandry, Tibet University, Linzhi, Tibet 860000)

Abstract: With typical symptom of late blight of tomato disease leaves as test material, the pathogen was isolated by using the method of leaf claping with potato slices. The effects of different medium, pH, temperature, carbon source and nitrogen source on the mycelium growth and spore production were studied. Through pathogen identification and biological characteristics research, in order to provide a theoretical basis for the occurrence and control of late blight pathogen of greenhouse tomato in Tibet. The results showed the main pathogeny causing tomato late blight was identified as *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary. Most of culture medium were conducive to the growth of mycelium, and RSA was the best one. The optimum temperature for mycelial growth and sporulation was 18℃, and the optimum pH was 6—7. The soluble starch was the best C source and maltose was the worst C source. Proline was the best N source while the mycelium was not grown on arginine, cystine and ammonium chloride. The sporangia lethal temperature was 55℃, 10 min.

Keywords: tomato; *Phytophthora infestans*; identification; separation; biological characteristics