植物病理学报
ACTA PHYTOPATHOLOGICA SINICA 36(4): 289-295(2006)

大豆疫霉菌单孢分离物生物学性状的遗传变异研究

左豫虎[1,2]，侯巨梅[2]，康振生[1*]，崔素萍[2]，黄丽丽[1]
([1]西北农林科技大学植物保护学院，杨凌 712100；[2]黑龙江八一农垦大学植物科技学院，大庆 163319)

摘要：本文研究了大豆疫霉菌单游动孢子无性分离物和自交单卵孢子分离物的菌丝生长速率、菌落形态、同宗配合性状、产孢量以及对甲霜灵敏感性的遗传变异。结果表明：菌落形态、生长速率和同宗配合性状在单游动孢子后代和自交后代可稳定遗传，控制上述性状的遗传因子是纯合的；大豆疫霉菌的游动孢子产生能力和对甲霜灵的敏感性在单游动孢子后代和自交后代中均发生连续性变异，表明这两种性状可能是数量遗传性状，也可能控制这两种性状的基因为杂合基因或细胞质遗传因子。

关键词：大豆疫霉菌；菌落形态；产孢能力；同宗配合性状；甲霜灵敏感性；遗传变异

Genetic variation of *Phytophthora sojae* on biological characters of single-zoospore and single-oospore cultures

ZUO Yu-hu[1,2], HOU Ju-mei[2], KANG Zhen-sheng[1], CUI Su-ping[2], HUANG Li-li[1] ([1]College of Plant Protection, Northwest A&F University, Yangling 712100, China; [2]College of Plant Science & Technology, Heilongjiang August First Land Reclamation University, Daqing 163319, China)

Abstract: Genetic variation of *Phytophthora sojae* on biological characters including mycelium growth rate, colony morphology, homothallism, sporulation and sensitivity to metalaxyl in both single-zoospore and single-oospore progenies were studied *in vitro*. Results showed that the colony morphology, growth rate and homothallic characters were all steadily inherited in both single-zoospore and single-oospore progenies, which indicated that genetic factors controlled these three characters were homozygous. However, sporulation of zoospore and sensitivity of *P. sojae* to metalaxyl were successive variation in both single-zoospore and single-oospore progenies, which suggested that the two characters were quantitative genetics. Another possibility was that these two characters were controlled by heterozygous genotype, or cytoplasmic genetic factors.

Key words: *Phytophthora sojae*; colony morphology; sporulation capacity of zoospore; homothallism; sensitivity to metalaxyl; genetic variation

中图分类号：Q933；S435.651　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0412-0914(2006)04-0289-07

大豆疫病(Soybean phytophthora root rot)是大豆的毁灭性病害之一。在美国中东部大豆主产区，大豆疫病造成的产量损失位居病害造成产量损失的第3位[1]，至今该病仍是许多大豆产区的主要病害。1991年我国首次报道东北地区发现大豆疫霉菌[2]。近几年许多研究[2~6]表明，大豆疫病在我国大豆主产区已有较大范围的发生，特别在黑龙江省该病害发生普遍并对生产造成严重影响。

引起大豆疫病的病原菌为大豆疫霉菌(*Phytophthora sojae* Kauf. Et Gerd.)，该菌具有寄主专化性。其危害性较大的主要原因之一是致病性(力)变异频率较高，表现为田间毒性小种的演替频率

收稿日期：2005-02-21；**修回日期**：2005-08-22
基金项目：国家重点基础研究发展规划项目(2002CB111406)；长江学者和创新团队发展计划资助项目(200558)；黑龙江省自然科学基金资助项目(TC2005-08)。
通讯作者：康振生，教授，主要研究方向为病原物与寄主植物互作关系的细胞学和分子细胞学；Tel(Fax)：029-87091312，E-mail：kangzs@nwsuaf.edu.cn
第一作者：左豫虎(1965-)，男，河南省新郑人，博士，教授，主要研究方向为植物病原真菌学及植物真菌病害；E-mail：zuoyhu@163.com。

高,不断出现新的生理小种,导致一些抗病品种丧失抗性。国外已报道 55 个生理小种[7,8]。我国也报道了 5 个生理小种[5,6]。为有效防治大豆疫病,迫切需要加强大豆疫霉菌遗传变异规律的研究。本文初步测定了大豆疫霉菌单游动孢子和自交单卵孢子分离物生物学性状的遗传变异,为进一步进行大豆疫霉菌的遗传和生物学研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

供试大豆疫霉菌菌株为 Ps411、Ps126、Ps223、Hs-6,由黑龙江八一农垦大学植物免疫研究室提供[9];菌株 PsSD 由山东省农科院李长松研究员惠赠。

1.2 供试药剂

95% 甲霜灵(metalaxyl)原药由温州鹿城农药厂生产。利福平(Rifampicin)和安比西林(Ampicillin)Sigma 公司产品。

1.3 单游动孢子分离

游动孢子悬浮液制备参照 Zuo 等[10]的方法。用微量加样器吸取制备好的浓度约 1 000 个/mL 游动孢子悬浮液 120 ~ 150 μL,均匀地涂布在含利福平和安比西林各 50 μg/mL 的 0.2% V8 琼脂培养基(V8A)[11]平板上,置 25℃ 黑暗培养 12 ~ 24 h,取出置显微镜下观察,切取带有单个已萌发游动孢子的琼脂块置于胡萝卜琼脂培养基(CA)[11]平板上,25 ℃ 黑暗培养 3 d,即可获得单游动孢子分离物。

1.4 单孢分离物菌落形态、生长速率和同宗配合性状的测定

从单孢分离物的菌落边缘打取菌饼接种到 CA 培养基平板上。置 25 ℃黑暗培养 6 d 后,测定菌落线性生长速率,记录菌落形态。测定后的培养物平板用 parafilm 膜封口,置 25 ℃黑暗中继续培养 30 d 后,在显微镜下观察是否有卵孢子形成。每菌株重复 3 次,以亲本菌株为对照。

1.5 单孢分离物产孢量测定

参照 1.3 建立单游动孢子无性系的方法获得孢子悬浮液,向悬浮液中加入 1 滴 0.1% 的苯胺蓝使游动孢子停止游动,用微量进样器吸取 5 μL 孢子悬浮液滴于载玻片上,显微镜镜检游动孢子总数,重复 5 次,计算 5 μL 悬浮液中游动孢子个数的平均值和每毫升悬浮液中游动孢子的个数。

1.6 平板法测定大豆疫霉菌对甲霜灵的敏感性

基础培养基为 CA,制备含甲霜灵浓度为 0.5 μg/mL、1.0 μg/mL 的平板(CAM),以不含药剂培养基为对照,每菌株重复 3 次。从单孢分离物的菌落边缘打取菌饼接种到培养基上,置 25 ℃黑暗培养 6 d 后,测定菌落线性生长速率,记录菌落形态。根据菌丝生长抑制率比较大豆疫霉菌菌株对甲霜灵的敏感性。参照马铃薯晚疫病菌对甲霜灵抗性的划分标准[12~14],即在含甲霜灵 1.0 μg/mL 平板上的菌丝生长抑制率建立大豆疫霉菌对甲霜灵抗性的划分标准:菌丝生长抑制率大于 80% 为高度敏感菌株(HS);抑制率小于等于 80% 而大于 60% 为敏感菌株(S);抑制率小于等于 60% 而大于 20% 为中抗菌株(MR);抑制率小于等于 20% 为高抗菌株(HR)。

2 结果与分析

2.1 菌落形态和菌丝生长速率性状的遗传和变异

由供试的大豆疫霉菌野生型菌株进行单游动孢子分离,得到其单游动孢子株(ZG0)群体。以 ZG0 单游动孢子株为亲本,建立单游动孢子第一代(ZG1)群体和自交第一代(OG1)单卵孢株群体。以 ZG1 单游动孢子株为亲本,建立单游动孢子第二代(ZG2)群体。分别测定各菌株各代单游动孢子株和单卵孢株在 CA 平板上(25℃,黑暗)的菌落形态和菌丝生长速率(表 1)。结果表明,各代单游动孢子株和单卵孢株的菌落形态与亲本相同,菌落近圆形,边缘整齐光滑,菌丝分布均匀,气生菌丝较多。各菌株各代单孢株的菌丝生长速率均十分相似,群体内变异系数在 4.47% ~ 18.74% 之间;经方差分析,供试菌株在各代单孢株群体内菌株间及其与亲本间菌丝生长速率无显著差异。以上结果表明,菌落形态和菌丝生长速率在单游动孢子后代和自交后代可稳定遗传,即控制上述性状的遗传因子是纯合的。

2.2 大豆疫霉菌同宗配合性状的遗传

分别测定了大豆疫霉菌野生型菌株 Ps411 和 Ps126 的同宗配合性状在单游动孢子无性系和单卵孢后代的遗传稳定性。Ps411 菌株连续测定 5 代单游动孢子后代和 1 代单卵孢后代;Ps126 菌株测定了 2 代单游动孢子后代和 1 代单卵孢后代(表 2)。结果表明,大豆疫霉菌菌株的同宗配合性状在无性后代和有性后代中均未出现变异,证明其同宗配合性状遗传稳定。但卵孢子产生量在不同菌株间及同一菌株的不同单孢后代个体间存在较大差异。这一结果与苎麻疫霉菌的研究结果[15,16]一致,证明大豆疫霉菌中控制同宗配合性状的遗传因子是纯合的。

Table 1 Colony types and growth rates of zoospore and selfed oospore progeny of *Phytophthora sojae*

Isolate	Generation	Colony type	No. of culture	Growth rate (mm/d)			CV(%)	Variance analysis		
				Range	Average	Parent		F	$F_{0.05}$	$F_{0.01}$
Ps411	ZG0	A	47	4.00-6.25	5.75	5.40	6.43	0.87	4.05	7.22
	ZG1	A	33	4.40-5.75	5.18	5.10	5.77	0.07	4.15	7.50
	ZG2	A	58	5.15-6.35	5.66	6.00	4.47	1.78	4.01	7.10
	ZG3	A	30	3.40-6.50	4.34	4.65	18.74	0.15	4.18	7.60
	ZG4	A	15	3.90-5.50	4.64	4.40	7.72	0.42	4.60	8.86
	OG1	A	47	4.35-6.35	5.63	5.75	6.37	0.11	4.05	7.22
Ps126	ZG0	A	49	4.65-6.65	6.06	6.50	5.13	2.00	4.04	7.19
	ZG1	A	12	5.85-6.85	6.42	6.85	4.46	2.11	4.84	9.65
	OG1	A	50	5.85-8.25	6.83	6.35	8.49	0.67	4.04	7.18
PsSD	ZG0	A	49	6.00-7.50	6.48	6.35	5.05	0.16	4.04	7.19
Ps223	ZG0	A	46	3.50-6.00	5.06	5.20	10.68	0.06	4.06	7.23
Hs-6	ZG0	A	50	4.65-7.00	6.41	6.35	6.24	0.02	4.04	7.18

A: Colony rotundity and margin regularity, mycelioid colony uniform distribution and aerial mycelium grow heavy.

Table 2 Sporulation capacity of single-zoospores and single-oospores of *Phytophthora sojae*

Isolate	Progeny	No. of cultures	No. of zoospores per mL			CV(%)	Variance analysis		
			Range	Average	Parent		F	$F_{0.05}$	$F_{0.01}$
Ps411	ZG0	47	1 200-24 100	7 837.2	3 500	73.1	0.56	4.05	7.22
	ZG1	33	1 000-4 205	2 040.9	1 350	31.6	1.11	4.15	7.50
	ZG2	58	50-925	312.5	550	67.8	1.23	4.01	7.10
	OG0	47	100-3 850	741.5	3 900	99.0	18.12**	4.05	7.22
Ps126	ZG0	50	50-220	641.0	550	67.9	0.04	4.04	7.18
	OG0	49	50-14 750	2 376.5	600	111.9	0.44	4.04	7.19
PsSD	ZG0	49	100-15 900	2 893.9	3 400	101.1	0.03	4.04	7.19
	OG0	46	50-2 450	515.2	700	109.7	0.10	4.06	7.23
Ps223	ZG0	46	100-9 800	1 359.8	300	127.6	0.36	4.06	7.23
Hs-6	ZG0	50	750-49 200	14 200.0	1 600	92.0	0.91	4.04	7.18

** : Stand for that the different of sporulation capacity among progenies of single-oospore and parents of cultures are very significant.

2.3 单游动孢子分离物产孢量的遗传和变异

测定了供试菌株的产孢能力在单游动孢子无性系和自交单卵孢后代的遗传稳定性(表2)。不同菌株间、同一后代群体内菌株间、各后代单孢株与亲本间产生游动孢子数量明显不同,各代群体内单孢株产生游动孢子的数量的变异系数在31.6%~127.6%之间,差异显著;但方差分析结果显示,除Ps411菌株的单卵孢株第一代(OG0)群体内各单孢的产孢能力与亲本菌株表现极显著差异($F=18.12>F_{0.01}=7.22$)外,其它各菌株后代与亲本间并无显著差异。在Ps411菌株的OG0代的47个单孢株的产孢量均低于亲本,其中仅有1株产孢量与亲本接近,为3 850个;2株产孢量低于亲本,44株产孢量显著低于亲本。

从表2还可看出,随着分离代数的递增,产孢能力明显下降,对来自Ps411菌株的ZG0、ZG1、ZG2、OG0群体的产孢能力进行F检验,ZG0和ZG1 2个群体的游动孢子产孢量的F检验结果为,$F=78.78>F_{0.01}=2.21$;ZG1和ZG2 2个群体的游动孢子产孢量的F检验结果为,$F=9.28>F_{0.01}=2.02$;ZG1和OG0群体的产孢能力的F检验结果为,$F=0.77>F_{0.05}=0.57$,表明游动孢子产生能力在亲本群体与后代群体间存在极显著差异,亲本游动孢子产量远大于后代,产孢能力下降的原因尚不清楚。上述结果表明,大豆疫霉菌的游动孢子产生能力在无性和自交后代中均发生变异。

2.4 大豆疫霉菌对甲霜灵敏感性的测定

2.4.1 *大豆疫霉菌单游动孢子分离物对甲霜灵敏感性的测定* 采用平板法测定单游动孢子分离物对甲霜灵的敏感性,根据菌丝生长抑制率确定菌株对甲霜灵的敏感性(表3)。结果表明,被测菌株的单游动孢子分离物对甲霜灵的抗性类型发生连续性变异,但未出现由敏感转变为抗性的菌株。高度敏感菌株Ps411、Ps126和Ps223分别有2个、1个和2个单游动孢子分离物转变为敏感菌株;敏感菌株PsSD有4个单游动孢子分离物转变为高度敏感菌株;敏感菌株Hs-6的单游动孢子分离物未出现明显的变异。

Table 3 Sensitivity to metalaxyl of single-zoospore cultures of *Phytophthora sojae*

Isolates	CA (mm/d)	CAM 1.0 μg/mL (mm/d)	Rate of inhibition (%)	Sensitivity	Isolates	CA (mm/d)	CAM 1.0 μg/mL (mm/d)	Rate of inhibition (%)	Sensitivity
Ps411(Wild-type control)	6.34	1.02	84.0	HS	Ps223(Wild-type control)	5.63	1.02	81.9	HS
Ps411-0-1	6.00	1.07	82.2	HS	Ps223-0-1	5.25	0.97	81.6	HS
Ps411-0-5	5.63	1.04	81.6	HS	Ps223-0-4	5.13	1.08	79.0	S
Ps411-0-8	5.75	0.98	83.0	HS	Ps223-0-5	4.38	0.82	81.4	HS
Ps411-0-9	5.34	1.08	79.9	S	Ps223-0-7	4.63	0.78	83.2	HS
Ps411-0-11	5.88	1.10	81.4	HS	Ps223-0-8	4.88	0.74	84.8	HS
Ps411-0-14	5.13	0.78	84.8	HS	Ps223-0-10	3.88	0.76	80.4	HS
Ps411-0-19	5.50	1.13	79.5	S	Ps223-0-25	5.50	1.03	81.3	HS
Ps411-0-29	5.75	0.98	83.0	HS	Ps223-0-29	5.25	0.80	84.8	HS
Ps411-0-47	5.63	1.06	81.2	HS	Ps223-0-35	5.75	0.84	85.4	HS
Ps411-0-48	5.30	0.95	82.2	HS	Ps223-0-39	4.75	1.04	78.1	S
Ps126(Wild-type control)	6.50	1.16	82.2	HS	PsSD(Wild-type control)	5.75	1.34	77.0	S
Ps126-0-1	6.25	1.21	80.7	HS	PsSD-0-1	6.13	1.33	78.4	S
Ps126-0-3	6.13	1.16	81.1	HS	PsSD-0-2	6.75	1.25	81.5	HS
Ps126-0-7	6.50	1.00	84.6	HS	PsSD-0-5	5.63	1.50	73.3	S
Ps126-0-10	6.00	0.91	84.8	HS	PsSD-0-7	5.75	1.53	73.5	S
Ps126-0-16	6.63	1.23	81.5	HS	PsSD-0-13	6.00	1.38	77.1	S
Ps126-0-19	6.00	1.23	79.6	S	PsSD-0-19	6.00	1.33	77.9	S

Table 3　Sensitivity to metalaxyl of single-zoospore cultures of *Phytophthora sojae*

(Continued)

Isolates	CA (mm/d)	CAM 1.0 μg/mL (mm/d)	Rate of inhibition (%)	Sensitivity	Isolates	CA (mm/d)	CAM 1.0 μg/mL (mm/d)	Rate of inhibition (%)	Sensitivity
Ps126-0-25	6.13	1.21	80.3	HS	PsSD-0-21	6.88	1.33	80.7	HS
Ps126-0-27	5.88	1.09	81.4	HS	PsSD-0-36	5.88	1.33	77.4	S
Ps126-0-34	6.63	1.21	81.8	HS	PsSD-0-39	7.50	0.85	88.7	HS
					PsSD-0-40	7.34	1.45	80.2	HS
Hs-6(Wild-type control)	6.00	1.65	72.6	S					
Hs-6-0-3	6.38	1.56	75.5	S					
Hs-6-0-6	6.13	1.56	74.5	S					
Hs-6-0-9	5.63	1.68	70.2	S					
Hs-6-0-11	6.25	1.74	72.2	S					

Note: HS =80% or more of hypha growth rate of inhibition; S =61%−80% of the hypha growth rate of inhibition; MR =20%−60% of hypha growth rate of inhibition; HR =20% or less of hypha growth rate of inhibition. Similarly in next table.

2.4.2　大豆疫霉菌单卵孢子分离物对甲霜灵敏感性的测定　对大豆疫霉菌 Ps411 的单卵孢后代对甲霜灵敏感性的测定结果表明,大豆疫霉菌对甲霜灵的敏感性在单卵孢后代出现分离现象。被测的 22 株单孢株中,19 株表现高度敏感,3 株为敏感菌株,分离比例为 19:3(表 4)。

Table 4　Sensitivity to metalaxyl of single-oospore culture of *Phytophthora sojae*

Isolates	CA (mm/d)	CAM 1.0 μg/mL (mm/d)	Rate of inhibition (%)	Sensitivity
Ps411(Wild-type control)	5.65	0.80	85.8	HS
Ps411-0-1	6.35	1.10	82.7	HS
Ps411-0-2	6.85	1.05	84.7	HS
Ps411-0-3	6.35	1.90	70.1	S
Ps411-0-4	6.50	0.90	86.2	HS
Ps411-0-5	6.15	1.15	81.3	HS
Ps411-0-6	6.85	0.40	94.2	HS
Ps411-0-7	6.65	1.30	80.5	HS
Ps411-0-8	7.00	1.45	79.3	S
Ps411-0-9	5.50	0.80	85.5	HS
Ps411-0-10	5.50	0.90	83.6	HS
Ps411-0-11	6.15	0.80	87.0	HS
Ps411-0-12	6.35	1.00	84.3	HS
Ps411-0-13	5.15	0.30	94.2	HS
Ps411-0-14	6.00	0.50	91.7	HS
Ps411-0-15	5.65	0.40	92.9	HS
Ps411-0-16	5.65	1.40	75.2	S
Ps411-0-17	5.85	0.40	93.2	HS
Ps411-0-18	6.65	0.30	95.5	HS
Ps411-0-19	6.00	0.15	97.5	HS
Ps411-0-20	5.85	0.25	95.7	HS
Ps411-0-21	5.85	0.20	96.6	HS
Ps411-0-22	5.65	0.40	92.9	HS

3 讨论

供试菌株在无性后代之间,自交后代之间及其与亲本间的生长速率无显著差异。以上结果可以初步认为:菌落形态和生长速率在单游动孢子后代和自交后代可稳定遗传,即控制上述性状的遗传因子是纯合的。

不同菌株间、同一后代群体内菌株间、各后代单孢株与亲本间的产生游动孢子数量明显不同,各代群体内单孢株产生游动孢子的数量的变异系数在31.6% ~127.6%之间,差异显著,可见大豆疫霉菌的游动孢子产生能力在无性和自交后代中均发生变异。

本研究中以供试野生型菌株(非单孢分离物)为亲本分离的单孢株(ZG0代)间,在产孢能力和对甲霜灵敏感性等方面均存在一定的差异,ZG0代单游动孢子群体产孢能力变异程度远远大于ZG1代和OG0代,由于ZG0代单游动孢子群体分离自野生型菌株,说明田间菌株是由混合基因型组成的,这一结果与Shattock等[17]和Sozzi等[18]的研究结果一致。ZG1群体和ZG2群体均分离自单游动孢子,但游动孢子产量依然出现了连续性的变异,对甲霜灵的敏感性也发生了连续性的变异,说明大豆疫霉菌游动孢子产量和对甲霜灵敏感性可能是数量遗传性状,也可能这两个性状由细胞核杂合遗传因子或细胞质遗传因子控制,为此需进一步研究。

Deahl等[19]的研究表明,寄主植物新陈代谢作用或抗病性的差异以及寄主组织内腐生菌的侵染都可造成离体生测和活体生测时致病疫霉对甲霜灵抗性反应的差异;Bruck等[20]的研究也表明,在植物组织中对甲霜灵的忍受性与培养基上生长的结果不一定总是相关的。因此仅利用离体生测法测定大豆疫霉菌对甲霜灵的敏感性是本研究存在的局限之处。在测定大豆疫霉菌抗药性时,应当用离体和活体生测法进行双重检验。

参考文献

[1] Pratt P W, Wrather J A. Soybean disease loss estimates for the Southern United States, 1994 to 1996 [J]. Plant Disease, 1998, 82(1): 114 -116.

[2] Shen C Y, Su Y C. Discovery and preliminary studies of *Phytophthora megasperma* on soybean in China (in Chinese) [J]. Acta Phytopathologica Sinica (植物病理学报), 1991, 21(4): 298.

[3] Han X Z, He Z H, Zhang Z M. Techniques of controlling main soybean diseases (in Chinese) [J]. Soybean Bulletin (大豆通报), 1998, (6): 5 -6.

[4] Li B Y, Ma S M. Preliminary studies of Phytophthora root and stem rot of soybean (in Chinese) [J]. Soybean Science (大豆科学), 1996, 15(2): 164 -165.

[5] Zhu Z D, Wang X M, Chang R Z, *et al*. Identification of race of *Phytophthora sojae* and reaction of soybean germplasm resources in Helongjiang Province (in Chinese) [J]. Scientia Agricultura Sinica (中国农业科学), 2000, 33(1): 62 -67.

[6] Zhu Z D, Wang X M, Wang H B, *et al*. Identification and race of *Phytophthora sojae* isolates collected in Mengcheng, Anhui Province (in Chinese) [J]. Acta Phytopathologica Sinica (植物病理学报), 2001, 31(3): 236 -240.

[7] Morgan F L, Hartwing E E. Physiologic specialization in *Phytophthora megasperma* var. *sojae* [J]. Phytopathology, 1965, 55(11): 1277 -1279.

[8] Leitz R A, Hartman G L, Pedersen W L, *et al*. Races of *Phytophthora sojae* on soybean in Illinois [J]. Plant Disease, 2000, 84(4): 487.

[9] Zang Z J, Zuo Y H, Liu T R, *et al*. Study on pathogenicity, isolate method and identify of different isolations of *Phytophthora soja* (in Chinese) [J]. Journal of Heilongjiang August First Land Reclamation University (黑龙江八一农垦大学学报), 2000, 12(1): 37 -42.

[10] Zuo Y H, Zang Z J, Liu T R. Studies on production condition of zoospores of *Phytophthora sojae* (in Chinese) [J]. Acta Phytopathologica Sinica (植物病理学报), 2001, 31(3): 241 -244.

[11] Schmitthenner A F, Bhat R G. Useful methods for studying *Phytophthora* in the laboratory [R]. Ohio: Ohio Agricultural Research and Development Center, Special Circular, 1994. 7 -8.

[12] Marshall-Farrar K D, McGrath M, James R V, *et al*. Characterization of *Phytophthora infestans* in Wisconsin from 1993 to 1995 [J]. Plant Disease, 1998, 82(4): 434 -436.

[13] Pérez W, Gamboa M, Coca R, *et al*. Characterization of *Phytophthora infestans* populations in Peru [R]. Lima: The International Potato Center, CIP Program Report 1997 -98, 1999. 31 -38.

[14] Yang Z H, Zhu H J, Guo Q, *et al*. Preliminary study on biology of single-zoospore cultures in *Phytophthora infestans* (in Chinese) [J]. Mycosystema (菌物系统), 2003, 22(1): 148 -152.

[15] Wang Y C, Zheng X B, Lu J Y. Inheritance of growth rate, colony morphology and homothallic characters of *Phytophthora boehmeriae* (in Chinese) [J]. Journal of Nanjing Agricultural University (南京农业大学学报), 1994, 17(4): 38-41.

[16] Gao Z M, Zheng X B, Lu J Y. Inheritance of biological characters in *Phytophthora boehmeriae* sawada (in Chinese) [J]. Mycosystema (菌物系统), 1999, 18(1): 35-43.

[17] Shattock R C, Shaw D S, Fyfe A M, *et al*. Phenotypes of *Phytophthora infestants* collected in England and Wales from 1985 to 1988: mating type, response to metalaxyl and isoenzyme analysis [J]. Plant Pathology, 1990, 39(2): 242-248.

[18] Sozzi D, Staub T. Accuracy of methods to monitor sensitivity of *Phytophthora infestants* to phenylamide fungicides [J]. Plant Disease, 1987, 71(5): 422-425.

[19] Deahl K L, Inglis D A, Demuth S P. Testing for resistance to metalaxyl in *Phytophthora infestants* isolates from northwestern Washing [J]. Am. Potato J., 1993, 70: 779-795.

[20] Bruck R I, Fry W E, Apple A E. Effect of metalaxyl, an acylanine fungicide on developmental stages of *Phytophthora infestants* [J]. Phytopathology, 1980, 70(7): 597-601.

责任编辑：于金枝