

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2025.10.002

屈锋, 艾洪佳, 胡玲玉, 等. 魔芋软腐病病原菌分离鉴定及室内药剂筛选 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2025, 47(10): 14-26.

# 魔芋软腐病病原菌分离鉴定及室内药剂筛选

屈锋<sup>1</sup>, 艾洪佳<sup>1</sup>, 胡玲玉<sup>1</sup>, 石开丽<sup>1</sup>,  
牛义<sup>1</sup>, 文明玲<sup>2</sup>, 刘海利<sup>1</sup>, 张盛林<sup>1</sup>

- 西南大学 园艺园林学院/重庆高校魔芋资源利用工程研究中心/  
长江上游农业生物安全与绿色生产教育部重点实验室, 重庆 400715;
- 四川省乐山市农业科学研究院, 四川 乐山 614000

**摘要:** 软腐病是魔芋生产上常见的病害, 一旦发病难以控制会造成魔芋大面积减产甚至绝收, 分离鉴定引起魔芋软腐病的病原菌, 并筛选出防效好的绿色复配农药组合, 为魔芋绿色、高效生产提供用药方案。本研究采用组织分离法从发病魔芋植株中分离纯化病原菌菌株, 进行形态学及分子生物学鉴定, 并通过接种试验测定菌株寄主范围。以菌株 XM-6 为试材, 选用常见的 6 种生物农药和 8 种化学农药通过抑菌圈法筛选能抑制菌株生长的农药, 并将抑制作用强的农药按比例复配后测定其增效作用。本研究共分离出 2 株魔芋软腐病病原菌, 经形态学及分子生物学鉴定为 *Pectobacterium aroidearum*。致病性鉴定试验表明, 菌株之间的致病力有所差异, 菌株 XM-6 致病力强于菌株 XM-7。寄主范围测定结果说明, 魔芋病原菌也能侵染芋、番薯、马铃薯、芹菜、胡萝卜、白萝卜和白菜。药剂筛选试验表明 1% 香芹酚水剂(AS): 80% 福美双水分散性粒剂(WG)(9:1)的组合效果最佳, 增效系数(SR)为 2.19。本研究为魔芋生产上软腐病防治提供了一种绿色、科学的农药复配方案。

**关键词:** 魔芋; 软腐病; 分离鉴定; 农药复配; 室内筛选

中图分类号: S432.4

文献标识码: A

文章编号: 1673-9868(2025)10-0014-13

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



## Isolation and Identification of *Amorphophallus konjac* Soft Rot Disease Pathogen and Laboratory Screening for Bactericide

QU Feng<sup>1</sup>, AI Hongjia<sup>1</sup>, HU Lingyu<sup>1</sup>, SHI Kaili<sup>1</sup>,  
NIU Yi<sup>1</sup>, WEN Mingling<sup>2</sup>, LIU Haili<sup>1</sup>, ZHANG Shenglin<sup>1</sup>

- College of Horticulture and Landscape Architecture, Southwest University/Chongqing University Konjac Resource Utilization Engineering Research Center/Key Laboratory of Agricultural Biosafety and Green Production of Upper Yangtze River (Ministry of Education), Chongqing 400715, China;
- Leshan Academy of Agricultural Sciences, Sichuan Province, Leshan Sichuan 614000, China

收稿日期: 2025-04-30

基金项目: 中央高校基本科研业务费科研启动项目(SWU-KQ24012); 魔芋科技示范园育种与温室运行管理综合开发项目(2023001163)。

作者简介: 屈锋, 博士, 讲师, 主要从事魔芋生理生态研究。

通信作者: 张盛林, 研究员。

**Abstract:** Soft rot is a common disease in the production of konjac. The disease is very difficult to control after infection of plants, which can cause yield loss or even crop failure in large-scale konjac production. Isolation and identification of pathogenic bacteria causing konjac soft rot, and screen effective green compound pesticide combinations to provide strategies for green, efficient control of disease in konjac production. In this study, the pathogenic bacterial strains were isolated and purified from diseased konjac plants by tissue isolation method, and identified by morphological and molecular approaches. The host range of the strains was determined by inoculation test. Taking strain XM-6 as the test material, six common bio-pesticides and eight chemical pesticides were selected to screen the pesticides that could inhibit the growth of the strain by using the inhibition zone method. The pesticides with strong inhibitory effects were proportionally compounded to determine their synergistic effects. Two strains of konjac soft rot pathogens were isolated, and identified as *Pectobacterium aroidearum* by morphology and molecular biology. The pathogenicity test showed that the pathogenicity of strains differed from each other, and strain XM-6 was stronger than strain XM-7. The results of the host range test showed that konjac pathogens can also infect taro, sweet potato, potato, celery, carrot, white radish and cabbages. The pesticides screening test showed that the combination of 1% carvacrylol AS : 80% Thiram WG (9 : 1) was the most effective, with a synergistic coefficient (SR) of 2.19. This experiment provides a green and scientific pesticide formulation for the control of soft-rot disease in konjac production.

**Key words:** *Amorphophallus* Blume; soft rot disease; isolation and identification; pesticide compounding; laboratory screening

魔芋(*Amorphophallus* Blume)是天南星科魔芋属的多年生草本植物,也是唯一可提供大量葡甘聚糖的经济作物,起源于亚洲中南半岛北部和云南南部,其始祖种是森林下层的留居者,主要有白魔芋、珠芽魔芋、花魔芋等多个种<sup>[1]</sup>。魔芋葡甘聚糖作为良好的可溶性膳食纤维,具有预防高血压、高血脂以及减脂瘦身等功效,在医药、食品加工和功能材料等方面都有十分重要的作用<sup>[2]</sup>。魔芋在生产中常受到病害的侵袭,通常有软腐病、白绢病、病毒病、日灼病、叶枯病等,其中软腐病最普遍,一旦发病会导致魔芋减产和品质下降,造成难以挽回的经济损失,被称为魔芋的“癌症”<sup>[3-4]</sup>。

魔芋软腐病是细菌性病害,主要由果胶杆菌属(*Pectobacterium*)、迪基氏菌属(*Dickeya*)和一些未知菌株引起<sup>[5]</sup>,在高温、高湿环境及雨季或排水不良的田间易暴发。软腐病主要侵染魔芋的叶片、叶柄和球茎。叶片染病时,先出现水浸状的暗绿色小斑,组织逐渐腐烂并伴有汁液流出,叶片泛黄最后干枯;叶柄染病时,出现水浸状条斑或叶柄基部发生溃烂,汁液沿叶柄逐渐蔓延,导致叶柄腐烂离解,植株朝发病一侧倒伏;球茎染病时,发病部位表现暗褐色水浸状病斑,逐渐朝内部侵染,出现灰褐色黏液状腐烂并散发臭味,叶片萎蔫卷缩,后期地上部全株或半边发黄<sup>[6-8]</sup>。

化学防治是魔芋软腐病防控的主要手段,应用广泛的农用链霉素已退出农药市场,目前噻菌铜、氢氧化铜、波尔多液等化学农药应用普遍。研究表明青枯立克、四霉素水剂、噻森铜等均对软腐病有良好的防治效果<sup>[9]</sup>。化学农药虽然效果显著、用药成本低、操作简单,但是施用过多不仅会致使病原菌出现耐药性,还易造成环境污染、药物残留等问题<sup>[10]</sup>,不符合绿色健康可持续发展的要求。因此,在生产中应选择安全健康、选择性高、无药害、低残留的农药。生物农药又称天然农药,可源自植物(例如其分泌物、精油以及树皮、根和叶的提取物)、微生物(例如代谢物)以及生物来源的纳米颗粒(例如银和金纳米颗粒)等<sup>[11-12]</sup>,具有环境友好、来源广泛、选择性强的特点,应用范围正在逐步扩大。生物农药在防治魔芋软腐病方面的研究较少,主要有枯草芽孢杆菌、大蒜素、木醋液等<sup>[13-14]</sup>。采用生物农药防治魔芋软腐病能大大减少化学农药所带来的污染,避免抗药性问题,减少对魔芋自身生长的影响<sup>[15]</sup>。但生物农药易受环境因素干扰,防治

效果缓慢, 生产成本低, 将生物农药与化学农药合理复配, 不仅能增强防治效果, 减缓病原菌抗药性, 还能降低生产成本, 减少对环境的影响。

为探究不同农药对魔芋软腐病病原菌的防治效果, 本研究从魔芋发病植株中分离纯化魔芋软腐病病原菌, 选用市售常见的 6 种生物农药和 8 种化学农药, 分别探讨其对魔芋软腐病病原菌的抑制效果, 并进一步探究二者在复配条件下的抑制效果, 以为魔芋软腐病防治提供高效、环境友好的绿色防治方案, 同时为魔芋安全生产提供技术支撑和科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

#### 1.1.1 供试材料

2024 年 6 月从重庆市北碚区西南大学歇马魔芋资源圃采集发病的白魔芋植株。

#### 1.1.2 供试培养基

NA 培养基: 蛋白胨 10 g/L, 牛肉膏 3 g/L, NaCl 5 g/L, 琼脂 15~20 g/L, pH 值 7.0; LB 液体培养基: 蛋白胨 10 g/L, 酵母提取物 3 g/L, NaCl 10 g/L, pH 值 7.0; LB 固体培养基: 蛋白胨 10 g/L, 酵母提取物 3 g/L, NaCl 10 g/L, 琼脂 15~20 g/L, pH 值 7.0。

#### 1.1.3 供试药剂

供试 6 种生物农药种类及名称见表 1, 供试 8 种化学农药种类及名称见表 2, 细菌基因组 DNA 提取试剂盒由天根生化科技(北京)有限公司生产。

表 1 生物农药及来源

药剂名称	剂型	来源
1.5%苦参·蛇床素	水剂(AS)	山西德威本草生物科技有限公司
0.5%大黄素甲醚	水剂(AS)	内蒙古清源保生物科技有限公司
1%香菇多糖	水剂(AS)	北京三浦百草绿色植物制剂有限公司
1%香芹酚	水剂(AS)	内蒙古清源保生物科技有限公司
4%小檗碱硫酸盐	水剂(AS)	内蒙古清源保生物科技有限公司
1%申嗪霉素	悬浮剂(SC)	一帆生物科技集团有限公司

表 2 化学药剂及来源

药剂名称	剂型	来源
6%春雷霉素	水剂(AS)	山西新源华康化工股份有限公司
3%噻霉酮	微乳剂(ME)	安道麦辉丰有限公司
50%啶酰菌胺	水分散粒剂(WG)	巴斯夫欧洲公司
50%腐霉利	可湿性粉剂(WP)	住友化学(上海)有限公司
80%福美双	水分散粒剂(WG)	比利时特胺有限公司
24%噻呋酰胺	悬浮剂(SC)	青岛瀚生生物科技股份有限公司
20%松脂酸铜	水乳剂(EW)	上海沪联生物药业(夏邑)股份有限公司
50%咪鲜胺	悬浮剂(SC)	德州祥龙生化有限公司

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 病原菌分离纯化

采用划线分离法分离病原菌<sup>[16]</sup>, 采集发病魔芋植株并清理表面泥土, 流水冲洗 30 min, 用 75%酒精对材料表面进行消毒, 在超净工作台中吹干, 用灭菌刀切下病健交界处, 放入 75%酒精浸泡 2 min, 用无菌水

漂洗 3 次;将病样组织放入含有 1 mL 无菌水的灭菌离心管中,用无菌玻璃棒捣碎,静置 2 min 后用接种环蘸取液体,在 NA 培养基上划线,28 ℃ 培养 24 h,将单菌落进行多次划线培养获得纯化菌株。

### 1.2.2 菌株致病性初步鉴定

用灭菌牙签蘸取单菌落接种在 LB 液体培养基中,在 28 ℃ 摇床(180 r/min)中培养 24 h,制成  $OD_{600} \approx 0.6$  的菌悬液。选择无病害的白魔芋球茎,流水冲洗干净,75%酒精表面消毒并在超净工作台中吹干;将球茎切成厚 0.5 cm 左右的方块,培养皿中放入无菌滤纸,加入 2 mL 无菌水保湿,在切片中央划出十字形伤口,用移液枪吸取 20  $\mu$ L 菌悬液接种在伤口处,保鲜膜密封,28 ℃ 培养 24 h。对照接种无菌水,设置 3 次重复。将培养后发病的魔芋球茎再次分离病原菌,根据柯赫氏法则进行验证。

菌株致病能力强弱根据病斑平均长度( $L$ )<sup>[17]</sup>评价:0 级,无明显病斑,标注为“-”;1 级, $L < 10$  mm,标注为“+”;2 级, $10 \leq L < 15$  mm,标注为“++”;3 级, $15 \leq L < 20$  mm,标注为“+++”;4 级, $L \geq 20$  mm 以上,标注为“++++”。

### 1.2.3 病原菌致病性鉴定

球茎接种同 1.2.2,对照接种无菌水,设置 3 次重复。叶柄接种:选择生长健壮的叶柄,流水冲净,75%酒精表面消毒,吹干后用灭菌刀切开,每段 8 cm 左右,将叶柄形态学下端用湿润的无菌棉球包住,放入培养皿,灭菌牙签在中间扎 3 个小孔,移液枪吸取 20  $\mu$ L 菌悬液接种在伤口处,保鲜膜密封,28 ℃ 培养 24 h,对照接种无菌水,设置 3 次重复。叶片接种:选择生长健壮的叶片,流水冲净,75%酒精表面消毒,吹干后用湿润的无菌棉球包住小叶柄,放入培养皿,灭菌牙签在中间扎 3 个小孔,移液枪吸取 20  $\mu$ L 菌悬液接种在伤口处,保鲜膜密封,28 ℃ 培养 24 h,对照接种无菌水,设置 3 次重复。

### 1.2.4 病原菌分子生物学鉴定

提取病原菌菌株 DNA,利用细菌 16S rDNA 通用引物 27F/1492R(27F: AGAGTTTGATCCTGGCT-CAG; 1492R: TACGGCTACCTTGACGACTT)<sup>[16]</sup>进行 PCR 扩增。2%琼脂糖凝胶电泳检测扩增产物,回收纯化产物后送测序。将测序结果进行 BLAST 比对,下载相关同源序列,利用 MEGA11 软件并采用邻接法(Neighbor-joining, NJ)构建系统发育树,明确病原菌菌株的分类地位。

### 1.2.5 病原菌形态学鉴定

挑取菌株单菌落在 NA 培养基上划线,放置在 28 ℃ 培养箱中培养 24 h,观察菌落形态、颜色等特征,进行革兰氏染色鉴别菌株,在扫描电子显微镜下进一步观察病原菌的形态特征。

### 1.2.6 病原菌寄主范围测定

选取新鲜无病害的芋、番薯、马铃薯、芹菜、胡萝卜、白萝卜、白菜 7 种不同植物的根茎、块根、块茎、茎或叶进行试验。材料用流动的水冲洗干净,75%酒精表面消毒,番薯、马铃薯、芋、白菜切成 3 cm × 2.5 cm × 0.5 cm 的方块,胡萝卜和白萝卜分别切成 0.5 cm 的圆片和三角片,芹菜切成 8 cm 长的小段。将切好的材料放进含有无菌滤纸的培养皿中,加入 2 mL 无菌水保湿,用灭菌牙签在中央扎 3 个小孔,移液枪吸取 20  $\mu$ L 菌液接种在伤口处,保鲜膜密封,28 ℃ 培养 24 h,观察发病情况。对照接种无菌水,设置 3 次重复。

### 1.2.7 单药剂对魔芋软腐病病原菌 XM-6 抑制作用测定

采用抑菌圈法<sup>[18]</sup>进行测定,提前制备  $OD \approx 0.6$  的菌悬液并用无菌水配制 6 个不同浓度的药液。将药液同样配成 6 个不同浓度。配制 LB 固体培养基并灭菌,待温度降到 45 ℃ 左右倒板,每皿 20 mL,培养皿凝固晾干后用一次性无菌棉签蘸取菌悬液涂板备用,在平板中间用直径 0.65 cm 的打孔器打孔,吸取 50  $\mu$ L 药液加入,密封后 28 ℃ 培养 24 h。对照加入无菌水,设置 3 次重复。抑菌圈直径采用十字交叉法测量并计算药液抑制率,使用 DPS 9.01 进行毒力回归方程计算,并比较不同杀菌剂的抑制中浓度( $EC_{50}$ )。

$$\text{抑制率}(\%) = \frac{\text{处理组抑菌直径} - \text{对照组抑菌直径}}{\text{处理组抑菌直径}} \times 100\% \quad (1)$$

### 1.2.8 复配药剂对魔芋软腐病原菌 XM-6 抑制作用测定

依据 1.2.7 试验结果进行药剂复配最佳组合筛选, 分别配制各药剂母液, 浓度为 50 倍  $EC_{50}$ , 按照 0:10、1:9、2:8、3:7、4:6、5:5、6:4、7:3、8:2、9:1、10:0 的比例混合, 同样采用抑菌圈法测定。培养结束后测量抑菌圈直径, 计算实际抑制率、理论抑制率、毒效比率, 按照毒效比率  $<1$  为拮抗作用、毒效比率  $=1$  为相加作用、毒效比率  $>1$  为增效作用的标准进行评定<sup>[19]</sup>。

理论抑制率(%) = 单剂 A 实际抑制率  $\times$  单剂 A 所占比例 + 单剂 B 实际抑制率  $\times$  单剂 B 所占比例

$$\text{毒效比率}(\%) = \frac{\text{实际抑制率}}{\text{理论抑制率}} \times 100\% \quad (2)$$

### 1.2.9 复配药剂对魔芋软腐病原菌 XM-6 的协同增效作用

用无菌水配制浓度为 50 倍  $EC_{50}$  的药液, 按照 1.2.8 中有增效作用的比例进行混合配成母液, 2 倍稀释法稀释成 5 个浓度梯度, 按照 1.2.7 方法进行抑菌圈试验, 得到毒力回归方程和  $EC_{50}$ 。依据 Wadley 法<sup>[20-21]</sup>进行药剂增效作用评价, 即当  $SR > 1.5$  时为增效作用,  $0.5 \leq SR \leq 1.5$  时为相加作用,  $SR < 0.5$  时为拮抗作用。

增效系数(SR)的计算公式:

$$EC_{50}(\text{TH}) = \frac{A + B}{\frac{A}{EC_{50}(A)} + \frac{B}{EC_{50}(B)}} \quad (3)$$

$$SR = \frac{EC_{50}(\text{TH})}{EC_{50}(\text{OB})} \quad (4)$$

式中: A、B 为杀菌剂在混剂中的比例;  $EC_{50}(A)$ 、 $EC_{50}(B)$  为单剂抑制中浓度;  $EC_{50}(\text{TH})$  为理论抑制中浓度;  $EC_{50}(\text{OB})$  为实际抑制中浓度。

## 1.3 统计分析

试验数据整理用 Excel 2016 进行, 使用 DPS 9.01 计算毒力回归方程, 使用 SPSS 26.0 并采用 Duncan's 新复极差法进行差异显著性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 病原菌分离与鉴定

#### 2.1.1 病原菌分离及致病性鉴定

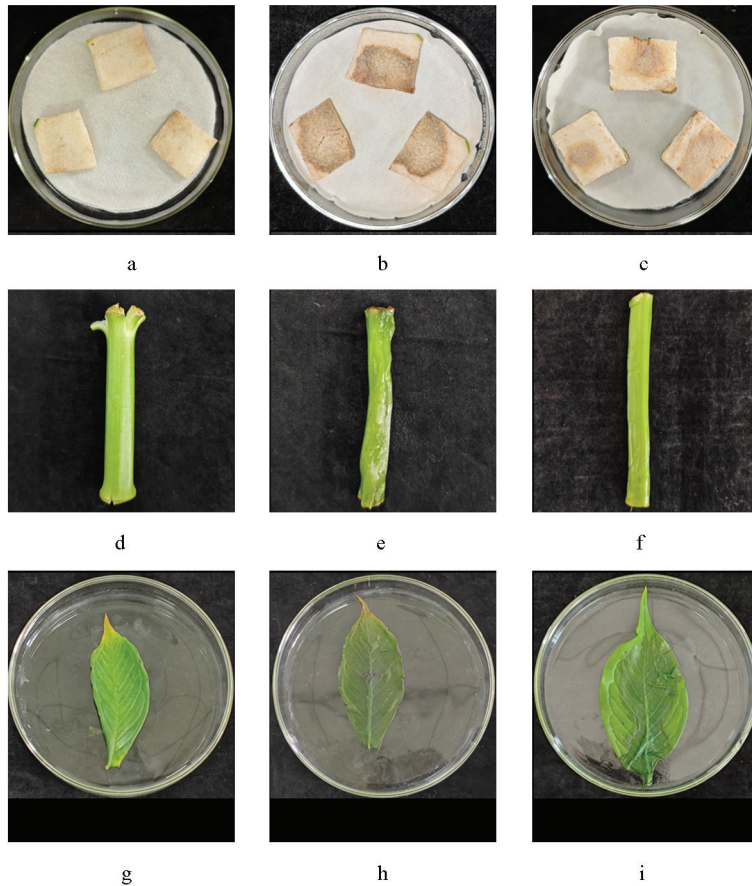
本试验共分离 24 株菌株, 命名为 XM-1~XM-24。接种试验结果表明, 有 2 株菌株存在致病性, 接种后球茎出现水浸状腐烂并散发恶臭, 菌株 XM-6 的致病能力强于菌株 XM-7, 菌株 XM-6 致病能力表现为 4 级, 菌株 XM-7 为 3 级(表 3)。科赫氏法则验证结果显示, 接种后发病球茎中分离出的菌株与接种菌株一样, 证明接种菌株为魔芋软腐病致原菌。

菌株 XM-6 和菌株 XM-7 致病性鉴定试验表明, 接种 24 h 后魔芋球茎、叶柄和叶片(图 1b、c、e、f、h、i)都出现明显的发病情况, 组织软化腐烂, 并散发恶臭, 且叶片和叶柄的发病速度比球茎快, 对照组无发病症状(图 1a、d、g)。菌株 XM-6 在球茎、叶片和叶柄上的发病面积与严重程度均高于菌株 XM-7, 因此, 后续室内药剂筛选试验以菌株 XM-6 为研究对象。

表 3 魔芋软腐病病原菌株信息

菌株编号	取样地点	分离部位	致病能力
XM-6	重庆市北碚区歇马街道	叶柄	++++
XM-7	重庆市北碚区歇马街道	叶柄	+++

注: “+”越多代表致病能力越强。



a、d、g: 接种无菌水的对照; b、e、h: 接种菌株 XM-6 魔芋组织的发病情况; c、f、i: 接种菌株 XM-7 魔芋组织的发病情况。

图 1 不同魔芋组织接种病原菌发病情况

### 2.1.2 病原菌分子生物学鉴定

菌株 XM-6 和菌株 XM-7 的 16S rDNA 序列长度均为 1 404 bp, 序列相似性为 99%, GenBank 登录号分别为 PV361861、PV361862。将测序结果进行 BLAST 比对, 发现菌株 XM-6 和菌株 XM-7 的 16S rDNA 序列与已报道的标准菌株 *Pectobacterium aroidearum* strain SCRI 109(NR159926.1) 同源性最高, 分别为 99.86%、99.93%。以 *Dickeya fangzhongdai* strain M1L1 (MT613400.1) 为外群构建系统发育树(图 2), 结果表明菌株 XM-6 和菌株 XM-7 与 *P. aroidearum* strain SCRI 109、*P. aroidearum* strain SCRI 3、*P. aroidearum* strain CCRMPA102、*P. aroidearum* 聚集在一个类群, 因此菌株 XM-6 和菌株 XM-7 初步鉴定为 *Pectobacterium aroidearum*。

### 2.1.3 病原菌形态学鉴定

菌株 XM-6 和 XM-7 经 28 °C 培养 24 h 后在 NA 培养基上都呈乳白色圆形, 表面光滑、边缘齐整(图 3a、b), 革兰氏染色结果为阴性(图 3c、d)。菌株 XM-6 在扫描电镜下呈短杆状, 菌体直或稍弯曲(图 3e), 符合 *Pectobacterium aroidearum* 的形态特征。

### 2.1.4 魔芋软腐病病原菌 XM-6、XM-7 寄主范围测定

菌株 XM-6 和菌株 XM-7 对所选的 7 种作物均存在致病性, 接种病原菌培养 24 h 后, 芹菜(*Apium graveolens*)、胡萝卜(*Daucus carota*)、番薯(*Ipomoea batatas*)、马铃薯(*Solanum tuberosum*)、芋(*Colocasia esculenta*)、白萝卜(*Raphanus sativus*)、白菜(*Brassica rapa*) 都有不同程度的发病(图 4), 表现出水浸状病斑, 组织软化溃烂并伴有浓烈的臭味。

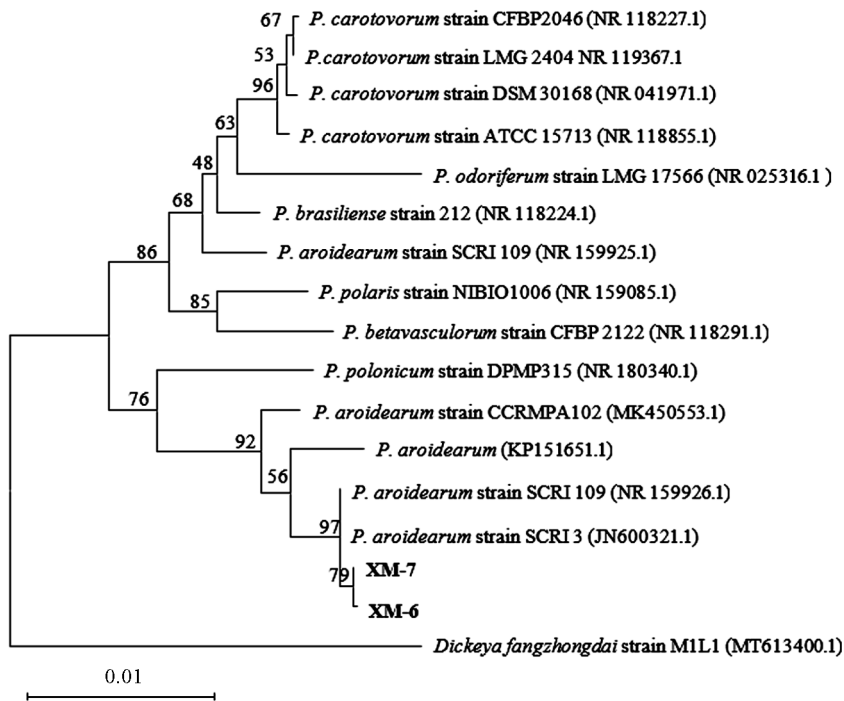


图 2 基于 16S rDNA 序列构建的系统发育进化树



a. XM-6 在 NA 培养基上菌落形态; b. XM-7 在 NA 培养基上菌落形态; c. XM-6 革兰氏染色; d. XM-7 革兰氏染色; e. XM-6 扫描电镜。

图 3 魔芋软腐病病原菌的形态特征

## 2.2 室内防治药剂筛选

### 2.2.1 单药剂对魔芋软腐病病原菌 XM-6 的抑制效果

供试的 6 种生物农药中有 3 种对菌株 XM-6 有抑制效果(表 4), 分别是 1% 申嗪霉素 SC(抗生素杀菌剂)、1% 香芹酚 AS(植物源杀菌剂)和 0.5% 大黄素甲醚 AS(植物源杀菌剂); 供试的 8 种化学农药中有 4 种对菌株 XM-6 有抑制作用(表 5), 分别是 80% 福美双 WG、3% 噻霉酮 ME、6% 春雷霉素 AS 和 50% 咪鲜胺 SC。将上述有抑制作用的药剂进行  $EC_{50}$  测定, 在生物农药中, 1% 香芹酚 AS 抑制活性最好,  $EC_{50}$  为 58.959 8 mg/L; 1% 申嗪霉素 SC 和 0.5% 大黄素甲醚 AS 抑制活性相差不大,  $EC_{50}$  分别为 306.545 5 mg/L、326.263 6 mg/L, 但 1% 申嗪霉素 SC 在低浓度时无抑制作用(表 6)。在化学农药中, 80% 福美双 WG 抑制活性最好,  $EC_{50}$  为 10.863 3 mg/L, 其次是  $EC_{50}$  为 35.576 9 mg/L 的 3% 噻霉酮 ME 和  $EC_{50}$  为 112.133 9 mg/L 的 6% 春雷霉素 AS, 50% 咪鲜胺 SC 对菌株 XM-6 最不敏感(表 6)。

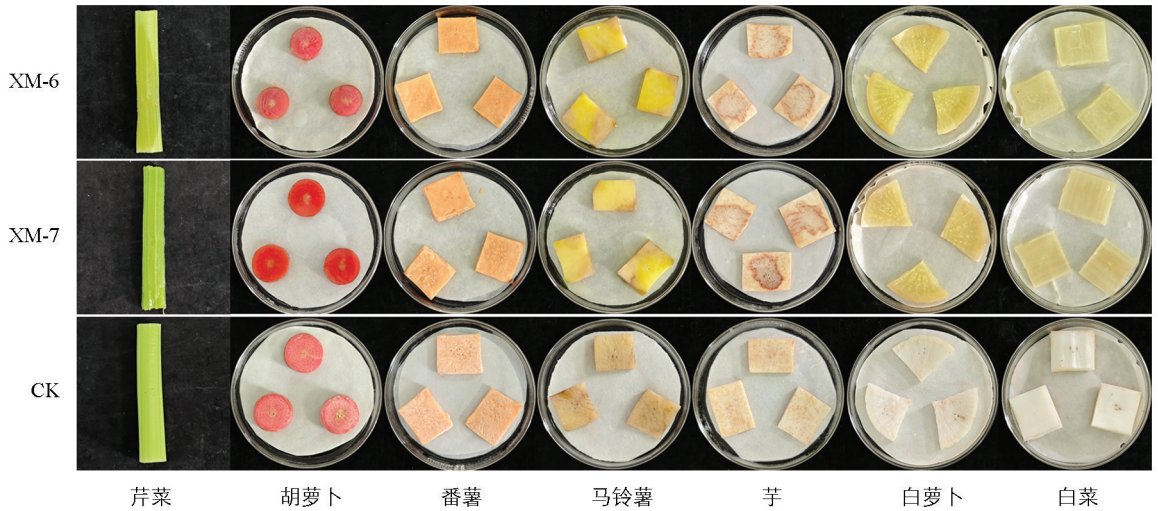


图 4 菌株 XM-6 和 XM-7 在不同寄主上的致病效果

表 4 生物农药对菌株 XM-6 的抑制效果

药剂名称	有效成分/ ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	抑制率/ %	药剂名称	有效成分/ ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	抑制率/ %
1% 申嗉霉素 SC	1 300	64.66±0.77a	1% 香菇多糖 AS	1 000	0
	870	60.90±0.15b		500	0
	696	59.25±0.45c		100	0
	435	55.40±0.36d		50	0
	217.5	45.21±1.23e		10	0
	87	0		5	0
1% 香芹酚 AS	2 000	81.91±0.47a	4% 小檗碱硫酸盐 AS	4 000	0
	1 600	80.56±0.25b		2 000	0
	1 000	78.71±0.07c		400	0
	800	78.02±0.25c		200	0
	400	73.65±1.44d		40	0
	200	60.77±0.49e		20	0
0.5% 大黄素甲醚 AS	1 600	73.08±0.34a	1.5% 苦参·蛇床素 AS	1 500	0
	800	63.68±1.36b		750	0
	400	57.67±0.91c		375	0
	200	46.35±0.74d		187.5	0
	100	26.22±0.69e		93.8	0
	50	21.20±1.11f		46.9	0

注：数据以平均值±标准差表示，同一种药剂抑制率数据后小写字母不同表示差异显著( $p < 0.05$ )；87 mg/L 1% 申嗉霉素 SC、1% 香菇多糖 AS、4% 小檗碱硫酸盐 AS、1.5% 苦参·蛇床素 AS 对菌株 XM-6 的抑制率均为 0，未进行方差分析。

表 5 化学农药对菌株 XM-6 的抑制效果

药剂名称	有效成分/ (mg · L <sup>-1</sup> )	抑制率/ %	药剂名称	有效成分/ (mg · L <sup>-1</sup> )	抑制率/ %
6%春雷霉素 AS	6 480	77.06±0.77a	50%啶酰菌胺 WG	50 000	0
	3 240	73.31±0.22b		5 000	0
	1 620	68.03±0.11c		500	0
	810	64.36±0.07d		50	0
	405	60.54±0.12e		5	0
	202.5	53.41±0.24f		0.5	0
3%噻霉酮 ME	960	73.20±0.23a	50%腐霉利 WP	50 000	0
	480	70.98±0.19b		5 000	0
	240	68.12±0.36c		500	0
	120	63.59±0.61d		50	0
	60	56.14±0.53e		5	0
	30	44.04±0.40f		0.5	0
80%福美双 WG	1 600	63.43±0.18a	24%噻呋酰胺 SC	24 000	0
	800	61.78±0.26b		2 400	0
	400	60.51±0.55c		240	0
	200	59.64±0.42d		24	0
	100	57.67±0.40e		2.4	0
	50	52.47±0.66f		0.24	0
50%咪鲜胺 SC	75 000	73.24±0.51a	20%松脂酸铜 EW	20 000	0
	50 000	72.34±0.47a		2 000	0
	40 000	69.75±0.3b		200	0
	25 000	67.41±0.66c		20	0
	12 500	64.77±0.45d		2	0
	5 000	50.22±1.36e		0.2	0

注: 数据以平均值±标准差表示, 同一种药剂抑制率数据后小写字母不同表示差异显著( $p < 0.05$ ); 50%啶酰菌胺 WG、50%腐霉利 WP、24%噻呋酰胺 SC、20%松脂酸铜 EW 对菌株 XM-6 的抑制率均为 0, 未进行方差分析。

表 6 生物农药与化学农药的室内毒力测定结果

分类	名称	毒力回归方程	EC <sub>50</sub> /(mg · L <sup>-1</sup> )	相关系数( $r$ )
生物农药	1%申嗪霉素 SC	$y = 0.6268x + 3.4415$	306.5455	0.9901
	1%香芹酚 AS	$y = 0.6324x + 3.8802$	58.9598	0.9418
	0.5%大黄素甲醚 AS	$y = 0.9812x + 2.5337$	326.2636	0.9849
化学农药	80%福美双 WG	$y = 0.1659x + 4.8281$	10.8633	0.9471
	3%噻霉酮 ME	$y = 0.4900x + 4.2399$	35.5769	0.9585
	6%春雷霉素 AS	$y = 0.4215x + 4.1360$	112.1339	0.9964
	50%咪鲜胺 SC	$y = 0.5000x + 3.2302$	3464.2565	0.9624

### 2.2.2 复配药剂对魔芋软腐病原菌 XM-6 的抑制效果

根据单剂测定结果,选择  $EC_{50}$  低的药剂按不同比例进行复配,即生物农药 1% 香芹酚 AS 与化学农药 80% 福美双 WG、3% 噻霉酮 ME 分别进行复配。毒效比率测定结果如表 7, 1% 香芹酚 AS : 80% 福美双 WG(2 : 8、3 : 7、4 : 6、5 : 5、6 : 4、7 : 3、8 : 2、9 : 1) 以及 1% 香芹酚 AS : 3% 噻霉酮 ME(6 : 4、8 : 2、9 : 1) 的复配组合毒效比率大于 1, 具有增效作用, 其他组合均表现相加或拮抗作用。

在确定最佳组合的基础上, 根据 Wadley 法评价复配药剂的增效作用(表 8), 1% 香芹酚 AS : 80% 福美双 WG(8 : 2、9 : 1) 有增效作用, 增效系数(SR)分别是 1.55、2.19; 1% 香芹酚 AS : 3% 噻霉酮 ME(9 : 1) 有增效作用, 增效系数(SR)是 1.89。除 1% 香芹酚 AS : 80% 福美双 WG(2 : 8、3 : 7) 和 1% 香芹酚 AS : 3% 噻霉酮 ME(6 : 4) 为拮抗作用外, 其余的组合均为相加作用。

表 7 复配药剂的毒效比率

名称	比例	实际抑制率/%	理论抑制率/%	毒效比率
1% 香芹酚 AS : 80% 福美双 WG	0 : 10	60.93	60.93	1.00
	1 : 9	63.29	63.06	1.00
	2 : 8	72.58	65.19	1.11
	3 : 7	77.04	67.32	1.14
	4 : 6	78.44	69.45	1.13
	5 : 5	79.90	41.12	1.94
	6 : 4	80.56	73.72	1.09
	7 : 3	80.60	75.85	1.06
	8 : 2	81.72	77.98	1.05
	9 : 1	82.40	80.11	1.03
10 : 0	82.24	82.24	1.00	
1% 香芹酚 AS : 3% 噻霉酮 ME	0 : 10	75.73	75.73	1.00
	1 : 9	74.17	76.38	0.97
	2 : 8	72.81	77.03	0.95
	3 : 7	72.21	77.68	0.93
	4 : 6	75.25	78.33	0.96
	5 : 5	77.15	78.99	0.98
	6 : 4	80.16	79.64	1.01
	7 : 3	80.44	80.29	1.00
	8 : 2	81.60	80.94	1.01
	9 : 1	82.72	81.59	1.01
10 : 0	82.24	82.24	1.00	

表 8 复配药剂对菌株 XM-6 的协同增效作用

名称	比例	回归方程	$EC_{50}/(mg \cdot L^{-1})$	增效系数(SR)	评价
1% 香芹酚 AS : 80% 福美双 WG	2 : 8	$y = 0.496 0x + 4.200 5$	40.930 4	0.32	拮抗
	3 : 7	$y = 0.531 0x + 4.110 4$	47.344 4	0.30	拮抗
	4 : 6	$y = 0.402 8x + 4.514 5$	16.049 8	1.01	相加
	5 : 5	$y = 0.493 3x + 4.233 1$	35.871 9	0.51	相加
	6 : 4	$y = 0.452 3x + 4.380 4$	23.432 0	0.91	相加
	7 : 3	$y = 0.557 9x + 4.056 0$	49.226 7	0.52	相加
	8 : 2	$y = 0.449 6x + 4.412 4$	20.239 4	1.55	增效
1% 香芹酚 AS : 3% 噻霉酮 ME	9 : 1	$y = 0.436 3x + 4.444 9$	18.724 4	2.19	增效
	6 : 4	$y = 0.647 9x + 3.643 3$	124.163 0	0.38	拮抗
	8 : 2	$y = 0.677 2x + 3.648 5$	99.030 1	0.53	相加
	9 : 1	$y = 0.484 3x + 4.288 7$	29.438 4	1.89	增效

### 3 讨论与结论

#### 3.1 讨论

近年来,随着分子生物学技术在细菌分类中的应用,很多病原菌的分类发生了变化,引起植物软腐病的病原菌也经历了多次变更,原来的欧文氏菌属(*Erwinia*)被拆分成 5 个属,其中能产生果胶酶的软腐欧文氏菌群现被归入果胶杆菌属(*Pectobacterium*)和迪基氏菌属(*Dickeya*)<sup>[22]</sup>。果胶杆菌属目前包含 19 个种,主要是胡萝卜果胶杆菌(*P. carotovorum*)、黑腐果胶杆菌(*P. atrosepticum*)、海芋果胶杆菌(*P. aroidearum*)、山葵果胶杆菌(*P. wasabiae*)、巴西果胶杆菌(*P. brasiliense*)等<sup>[23]</sup>。迪基氏菌属是 2005 年从后称菊果胶杆菌(*Pectobacterium chrysanthemi*)的欧文氏菌(*Erwinia chrysanthemi*)中分离出来的新属<sup>[24]</sup>,目前包括 12 个种。引起魔芋软腐病的病原菌存在多样性,吴金平<sup>[25]</sup>对收集的 33 份魔芋软腐病病原菌进行鉴定,发现魔芋软腐病病原菌属于胡萝卜果胶杆菌胡萝卜亚种(*P. carotovorum* subsp. *carotovorum*)和菊果胶杆菌(*P. chrysanthemi*),还鉴定了一株新病原菌为肠杆菌科细菌(*Enterobacter*. sp.)。研究人员对湖北省宜昌市魔芋软腐病病原菌进行分离鉴定,发现主要是 *P. aroidearum* 和 *Dickeya fangzhongdai*,其中 *P. aroidearum* 占 66.7%<sup>[26]</sup>。还有其他报道也表明魔芋软腐病病原菌为 *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*、*P. aroidearum*、*Dickeya* sp. 等<sup>[27-29]</sup>。综上所述,魔芋软腐病致病菌大多属于果胶杆菌属(*Pectobacterium*)和迪基氏菌属(*Dickeya*)。本研究经分离纯化得到菌株 XM-6 和菌株 XM-7,它们的 16S rDNA 序列与已报道的标准菌株 *P. aroidearum* strain SCRI 109(NR159926.1)同源性高达 99% 以上,在构建的系统发育树中与 *P. aroidearum* 明显聚为一个类群,基于形态学及 16S rDNA 将其鉴定为海芋果胶杆菌(*Pectobacterium aroidearum*)。*Pectobacterium aroidearum* 一般被认为主要引起单子叶植物患病,但也能侵染其他植物引发细菌性软腐病<sup>[30]</sup>,在大白菜、红泡椒、马铃薯、西葫芦<sup>[31-34]</sup>等植物中也有 *P. aroidearum* 致病的报道。病原菌寄生范围测定试验也表明分离出的病原菌寄生范围广泛,不仅能侵染魔芋,还能侵染伞形科(Umbelliferae)、旋花科(Ipomoea Batatas)、茄科(Solanaceae)、十字花科(Brassicaceae Burnett)等多种植物。在实际生产中要注意田间卫生管理,及时清除发病植株残体,避免出现交叉感染,同时,还应注意与非寄主作物轮作,减少病原菌积累等情况。

化学农药作用效果快,适用范围广,用药成本低,目前仍是病害防治的主要手段。生物农药来源广泛,选择性强,且不易产生抗药性,但在当前生产应用中占比依然较少。随着人们环保意识的不断增强,未来生物农药应用会越来越广泛<sup>[35]</sup>。化学农药和生物农药各有优缺点,将两种类型农药合理混配制成农药混剂,不仅能取长补短起到增效作用,还能减少环境污染,符合可持续发展的要求。本研究进行的室内药剂

筛选试验发现生物农药 1% 香芹酚 AS 和化学农药 80% 福美双 WG、3% 噻霉酮 ME 对病原菌抑制效果最强, 赵青华等<sup>[36]</sup> 研究也表明 3% 噻霉酮 WP 对魔芋软腐病病原菌抑制效果较好, 80% 福美双 WG 和 1% 香芹酚 AS 在防治魔芋软腐病中尚未见报道。1% 香芹酚 AS 是一种植物源杀菌剂, 以香芹酚母药加工而成, 是天然源的单帖类苯酚, 具有抗病毒、抗菌的作用<sup>[37]</sup>。香芹酚对多种细菌和真菌有抑制作用, 在防治马铃薯晚疫病、葡萄霜霉病、辣椒白粉病中表现良好<sup>[38-40]</sup>。将 1% 香芹酚 AS 与其他两种抑制效果好的化学农药合理复配, 有望获得高效、安全的用药方案。在复配组合中 1% 香芹酚 AS : 80% 福美双 WG (8 : 2、9 : 1) 和 1% 香芹酚 AS : 3% 噻霉酮 ME (9 : 1) 表现出增效作用, 1% 香芹酚 AS : 80% 福美双 WG (9 : 1) 的效果最佳。但药剂在田间的表现还未明确, 下一步需开展田间试验对室内筛选结果进行验证。

### 3.2 结论

本研究从魔芋发病植株中分离纯化出 XM-6 和 XM-7 两个魔芋软腐病病原菌, 结合形态学及分子生物学鉴定均为 *Pectobacterium aroidearum*, 并以菌株 XM-6 为研究对象筛选出对病原菌有抑制作用的最佳复配药剂组合; 在室内药剂筛选中发现 1% 香芹酚 AS : 80% 福美双 WG (9 : 1) 表现最佳, 增效系数 (SR) 为 2.19。本试验结果为生产上防治魔芋软腐病提供了一定的科学依据。

### 参考文献:

- [1] 刘佩瑛. 魔芋学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2004.
- [2] BEHERA S S, RAY R C. Nutritional and Potential Health Benefits of Konjac Glucomannan, a Promising Polysaccharide of Elephant Foot Yam, *Amorphophallus konjac* K. Koch: A Review [J]. Food Reviews International, 2017, 33(1): 22-43.
- [3] 张盛林, 宋洋, 蒋学宽, 等. 川南地区珠芽魔芋健康栽培技术及病虫害综合防控 [J]. 植物医学, 2022, 1(4): 73-83.
- [4] 张明海, 费甫华. 我国魔芋病害防治研究进展 [J]. 湖北农业科学, 2010, 49(9): 2257-2259.
- [5] 韩爽, 马晓冉, 金鑫, 等. 魔芋软腐病和白绢病绿色防控研究进展 [J]. 中国蔬菜, 2024, 44(12): 32-40.
- [6] 鲍娜, 李诗琪, 孙正祥, 等. 3 种杀菌剂对魔芋软腐病病菌的毒力测定 [J]. 长江大学学报(自科版), 2014, 11(5): 4-7.
- [7] 和忠才. 魔芋软腐病的防治技术 [J]. 农家参谋, 2021, 39(6): 48-49.
- [8] 何斐, 段佳丽, 罗宝芳, 等. 岚皋魔芋软腐病病原菌生物多样性研究 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2013, 41(7): 91-98.
- [9] 古洪辉, 汪正香, 蒋雄, 等. 魔芋软腐病及其防治研究进展 [J]. 农学学报, 2018, 8(9): 15-19.
- [10] RANI L, THAPA K, KANOJIA N, et al. An Extensive Review on the Consequences of Chemical Pesticides on Human Health and Environment [J]. Journal of Cleaner Production, 2021, 283: 124657.
- [11] AYILARA M S, ADELEKE B S, AKINOLA S A, et al. Biopesticides as a Promising Alternative to Synthetic Pesticides: A Case for Microbial Pesticides, Phytopesticides, and Nanobiopesticides [J]. Frontiers in Microbiology, 2023, 14: 1040901.
- [12] HEZAKIEL H E, THAMPI M, REBELLO S, et al. Biopesticides: A Green Approach towards Agricultural Pests [J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2024, 196(8): 5533-5562.
- [13] 杨会英. 菌剂与药剂配施对云南保山魔芋生长、软腐病发生及产量的影响 [J]. 农业工程技术, 2023, 43(19): 28-30.
- [14] 覃剑锋, 段龙飞, 蔡阳光, 等. 六种不同生物制剂对魔芋生长的影响研究 [J]. 广西农学报, 2021, 36(5): 43-48.
- [15] ŠUNJKA D, MECHORA Š. An Alternative Source of Biopesticides and Improvement in Their Formulation-Recent Advances [J]. Plants, 2022, 11(22): 3172.
- [16] 代雪凤. 魔芋种质资源软腐病抗性评价及拮抗放线菌筛选 [D]. 重庆: 西南大学, 2022.
- [17] 张晓勇, 李树江, 龙巧芳, 等. 新几内亚凤仙花根腐病病原菌鉴定及杀菌剂室内毒力测定 [J]. 园艺学报, 2023, 50(5): 1130-1140.
- [18] 罗林丽, 赵兴丽, 周罗娜, 等. 1 株白魔芋软腐病病原菌鉴定及其室内药剂筛选 [J]. 南方农业学报, 2022, 53(11): 3137-3146.
- [19] 李梦, 梁巧兰, 魏列新, 等. 86. 2% 氧化亚铜可湿性粉剂与化学农药混配对百合叶斑病的防治效果评价 [J]. 中国生物防治学报, 2024, 40(5): 1149-1159.
- [20] EMERY K M, SCHERM H, SAVELLE A T. Assessment of Interactions between Components of Fungicide Mixtures

- Against *Monilinia Fructicola* [J]. *Crop Protection*, 2002, 21(1): 41-47.
- [21] 韩庆莉, 肖小阳, 谢永辉, 等. 吡唑醚菌酯与氰烯菌酯混用对 3 种病原菌的抑制效果 [J]. *西南林业大学学报(自然科学)*, 2022, 42(6): 164-168.
- [22] 冯洁. 植物病原细菌分类最新进展 [J]. *中国农业科学*, 2017, 50(12): 2305-2314.
- [23] 黄露, 周兵正, 安星宇, 等. 贵州魔芋软腐病菌多基因分子鉴定及其致病力分析 [J]. *植物保护*, 2023, 49(4): 115-124.
- [24] SAMSON R, LEGENDRE J B, CHRISTEN R, et al. Transfer of *Pectobacterium chrysanthemi* (Burkholder et al. 1953) Brenner et al. 1973 and *Bremneria paradisiaca* to the Genus *Dickeya* Gen. nov. as *Dickeya chrysanthemi* Comb. nov. and *Dickeya paradisiaca* Comb. nov. and Delineation of Four Novel Species, *Dickeya dadantii* sp. nov., *Dickeya dianthicola* sp. nov., *Dickeya dieffenbachiae* sp. nov. and *Dickeya zaeae* sp. nov [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2005, 55(4): 1415-1427.
- [25] 吴金平. 魔芋软腐病原菌及其拮抗菌的研究 [D]. 武汉: 武汉大学, 2010.
- [26] 孙苗苗. 魔芋软腐病原菌鉴定及快速检测技术研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2019.
- [27] YANG M, QI Y, LIU J N, et al. Different Response Mechanisms of Rhizosphere Microbial Communities in Two Species of *Amorphophallus* to *Pectobacterium Carotovorum* subsp. *Carotovorum* Infection [J]. *Plant Pathology Journal*, 2023, 39(2): 207-219.
- [28] ZHANG Y N, CHU H L, YU L Q, et al. Analysis of the Taxonomy, Synteny, and Virulence Factors for Soft Rot Pathogen *Pectobacterium aroidearum* in *Amorphophallus konjac* Using Comparative Genomics [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 868709.
- [29] 杨敏. 多组学揭示魔芋响应胡萝卜软腐果胶杆菌感染的机制研究 [D]. 昆明: 云南农业大学, 2023.
- [30] NABHAN S, DE BOER S H, MAISS E, et al. *Pectobacterium aroidearum* sp. nov., a Soft Rot Pathogen with Preference for Monocotyledonous Plants [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2013, 63(7): 2520-2525.
- [31] 李晓颖, 田宇, 张瑾, 等. 大白菜软腐病新病原菌 *Pectobacterium aroidearum* 的鉴定及其生物学特性 [J]. *植物病理学报*, 2018, 48(4): 455-465.
- [32] 胡静静. 红泡椒软腐病致病菌 *Pectobacterium aroidearum* 的控制技术研发 [D]. 济南: 齐鲁工业大学, 2024.
- [33] MORETTI C, FAKHR R, CORTESE C, et al. *Pectobacterium aroidearum* and *Pectobacterium carotovorum* subsp. *Carotovorum* as Causal Agents of Potato Soft Rot in Lebanon [J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2016, 144(1): 205-211.
- [34] MORAES A J G, SOUZA E B, MARIANO R L R, et al. First Report of *Pectobacterium aroidearum* and *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliensis* Causing Soft Rot of *Cucurbita pepo* in Brazil [J]. *Plant Disease*, 2017, 101(2): 379.
- [35] 杜乐, 李春青, 刘学慧, 等. 生物农药发展概况及应用前景 [J]. *南方农机*, 2025, 56(8): 51-53, 63.
- [36] 赵青华, 邱俊杰, 赵晴晴, 等. 魔芋软腐病原菌的分离鉴定及有效防治药剂筛选 [J]. *中国蔬菜*, 2025, 45(8): 118-124.
- [37] 姚键梅, 雷志伟, 马驰宇, 等. 香芹酚和麝香草酚对 4 种茶树炭疽病原菌的抑制效果 [J]. *农技服务*, 2024, 41(6): 35-39.
- [38] 魏敏, 孙婧, 陈婷婷, 等. 5% 香芹酚水剂对马铃薯晚疫病的田间防效 [J]. *现代农药*, 2021, 20(3): 53-55.
- [39] 董芳, 沈彤, 何意林, 等. 5% 香芹酚水剂防治葡萄霜霉病的田间药效试验 [J]. *兰州交通大学学报*, 2018, 37(4): 138-142.
- [40] 安永学, 董芳. 5% 香芹酚对辣椒白粉病的防治效果 [J]. *兰州交通大学学报*, 2016, 35(4): 162-164.