

王荣波, 石茗月, 徐月华, 等. 福建省芋疫霉交配型测定及防治药剂筛选 [J]. 福建农业学报, 2024, 39 (7): 810–818.

WANG R B, SHI M Y, XU Y H, et al. Mating Type and Effective Control of *Phytophthora colocasiae* in Fujian [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2024, 39 (7): 810–818.

福建省芋疫霉交配型测定及防治药剂筛选

王荣波^{1,2}, 石茗月^{1,2}, 徐月华³, 刘裴清^{1,2}, 卞润恬^{1,2}, 翁启勇^{1,2*}, 李本金^{1,2*}

(1. 福建省农业科学院植物保护研究所/福建省作物有害生物监测与治理重点实验室/福建省作物有害生物绿色防控工程研究中心, 福建 福州 350013; 2. 福建农林大学植物保护学院/海峡两岸特色作物安全生产省部共建协同创新中心, 福建 福州 350002; 3. 福建省龙岩市永定区植保植检站, 福建 龙岩 364100)

摘要: 【目的】明确福建省芋疫霉交配型, 筛选可用于防治芋疫病的化学药剂。【方法】对 2020 年采集自福建 4 个地区的芋疫病样本进行病原菌分离纯化, 结合形态特征观察、致病性测定和 *Ypt1* 序列同源性分析对病原菌进行鉴定, 通过与辣椒疫霉 A1、A2 交配型菌株对峙培养来测定其交配型, 并利用菌丝生长法测定 6 种杀菌剂对病原菌的室内毒力。【结果】通过形态特征观察、致病性测定和 *ITS-LSU-Ypt1* 融合序列同源性分析, 明确所分离病原菌均为芋疫霉 (*Phytophthora colocasiae*)。交配型测定发现, 所分离的 125 个芋疫霉菌株中, 122 个为 A2 交配型, 3 个为 A1A2 交配型。室内药剂筛选结果表明, 98% 甲霜灵对芋疫霉抑菌效果最好, EC_{50} 值为 $(0.146 \pm 0.032) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; 95% 烯酰吗啉、98% 氟吡菌胺和 94% 氰霜唑抑菌效果较好, EC_{50} 值介于 $(0.239 \pm 0.011) \sim (0.713 \pm 0.088) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; 而 95% 啉菌酯的抑菌活性最低, EC_{50} 值为 $(23.447 \pm 3.666) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。【结论】福建省芋疫霉以 A2 交配型为优势群体, 甲霜灵、烯酰吗啉、氟吡菌胺和氰霜唑可作为芋疫病高效防控的轮换使用药剂。

关键词: 芋疫霉; 病原菌鉴定; 交配型; 防治药剂

中图分类号: S436.67

文献标志码: A

文章编号: 1008-0384 (2024) 07-0810-09

Mating Type and Effective Control of *Phytophthora colocasiae* in Fujian

WANG Rongbo^{1,2}, SHI Mingyue^{1,2}, XU Yuehua³, LIU Peiqing^{1,2}, BIAN Runtian^{1,2}, WENG Qiyong^{1,2*}, LI Benjin^{1,2*}

(1. Institute of Plant Protection, Fujian Academy of Agricultural Sciences/Fujian Key Laboratory for Monitoring and Integrated Management of Crop Pests/Fujian Engineering Research Center for Green Pest Management, Fuzhou, Fujian 350013, China; 2. College of Plant Protection, Fujian Agriculture and Forestry University/Ministerial and Provincial Joint Innovation Centre for Safety Production of Cross-Strait Crops, Fuzhou, Fujian 350002, China; 3. Yongding Plant Protection and Inspection Station of Longyan City, Longyan, Fujian 364100, China)

Abstract: 【Objective】Mating type and fungicides for effective control of *Phytophthora colocasiae* that caused 2020 taro blight epidemic in Fujian were determined. 【Method】Specimens of diseased taro tissues were collect from the 4 blight-infected regions in Fujian to isolate and identify the pathogen. Based on the morphology, pathogenicity, and sequence homology of *ITS-LSU-Ypt1*, the pathogenic strains were identified to be of *P. colocasiae*. Subsequently, mating type and sensitivity to 6 fungicides of the isolates were determined in the laboratory. 【Result】In total, 125 strains were isolated and identified to have caused the epidemic. Out of them, 122 belonged to the A2 mating type and 3 the A1A2 type. The laboratory toxicity test of 6 fungicides on the isolates showed 98% metalaxyl to be the strongest with EC_{50} of $(0.146 \pm 0.032) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, while the EC_{50} of 95% dimethomorph, 98% fluopicolide, and 94% cyazofamid ranged from $(0.239 \pm 0.011) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ to

收稿日期: 2024-04-02 修回日期: 2024-05-13

作者简介: 王荣波 (1988—), 男, 博士, 助理研究员, 主要从事植物病理及分子生物学研究, E-mail: wrb16128@163.com

* 通信作者: 翁启勇 (1962—), 男, 硕士, 研究员, 主要从事作物有害生物综合治理技术研究, E-mail: wengqy@faas.cn; 李本金 (1969—), 女, 研究员, 主要从事植物病理及分子生物学研究, E-mail: lbenjin@126.com

基金项目: 国家自然科学基金 (32072400); 福建省农业科学院科技创新团队建设项目 (CXTD2021002-1); 厦门市重大科技项目 (3502Z20221018); 福建省农业高质量发展超越“5511”协同创新工程项目 (XTCXGC2021011、XTCXGC2021017)

(0.713 ± 0.088) $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ and that of 95% azoxystrobin at (23.447 ± 3.666) $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. 【Conclusion】 The dominant strains of *P. colocasiae* that caused the taro blight in Fujian in 2020 were of the A2 mating type and could be best controlled by using 98% metalaxyl, 95% dimethomorph, 98% fluopicolide, or 94% cyazofamid.

Key words: *Phytophthora colocasiae*; pathogen identification; mating type; fungicides

0 引言

【研究意义】芋 [*Colocasia esculenta* (L.) Schott] 是一种重要的经济作物，主要在广西、福建、广东、江苏、四川、湖南、海南等地种植^[1]。疫病在芋头产区发生普遍且严重，是芋头生产上的一种重要病害，田间发病率一般在 20%~35%，严重时可达 100%。该病主要以危害叶片和叶柄为主，严重时也危害球茎，芋头受害后一般减产 10%~25%，严重者减产 80% 以上，甚至绝收^[2-3]。芋头产业作为福建省特色农业产业，在乡村振兴中发挥重要作用。近年来，由于多年连作，芋疫病频发并且逐年加重，导致芋头产量和品质下降，给广大农民造成巨大的经济损失，严重制约芋头产业健康发展，生产上亟需明确芋疫病病原菌进而采取相应措施对该病害进行有效的防控。【前人研究进展】孙道旺等^[4]首次发现烟草疫霉 (*P. nicotianae*) 侵染云南魔芋引起疫病；王瑞仙等^[5]研究表明，5 株烟草疫霉对魔芋的致病力均很强，发病率达 100%；对广西荔浦芋疫病病原形态特征观察和分子生物学分析，确定芋疫霉 (*P. colocasiae*) 是引起芋疫病的病原菌^[6-7]。疫霉菌的有性生殖存在同宗配合和异宗配合两种类型，芋疫霉是由 A1 和 A2 两种交配型进行异宗配合的卵菌，偶有少量菌株自育产生卵孢子。已知芋疫霉存在 A1、A2、A0、A1A2 等 4 种交配类型，但在各个芋头主产区，芋疫霉最主要的有性生殖行为是异宗配合类型^[8-14]。目前药剂防治仍是控制芋疫病的主要手段，近年来研究表明，甲霜灵、霜脲·氰酸唑、双炔酰菌胺、烯酰吗啉等杀菌剂对芋疫病有较好的防效^[1, 15-17]。【本研究切入点】福建省芋疫病病原菌鉴定、交配型分布及病原菌是否对生产中常用的农药品种产生抗性尚待深入探讨。【拟解决的关键问题】采用组织分离法从福建省部分地区芋疫病植株分离病原菌，根据病原菌的形态特征、回接发病症状观察及基因序列同源性分析相结合的方法鉴定病原菌，通过与已知辣椒疫霉标准交配型菌株对峙培养确定其交配型，并测定病原菌对常用药剂的毒力，筛选可用于防治芋疫病的化学药剂，旨在为探究病害的发生规律和防治芋疫病提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 供试材料

1.1.1 标准菌株

辣椒疫霉 A1 交配型和 A2 交配型菌株由美国田纳西州大学 Kurt Lamour 博士赠送。

1.1.2 供试药剂

95% 烯酰吗啉 (Dimethomorph) 原药 (河北冠龙农化有限公司)、95% 嘧菌酯 (Azoxystrobin) 原药 (北京颖泰康有限公司)、98% 甲霜灵 (Metalaxyl) 原药 (浙江禾本农药化学有限公司)、98% 霜脲氰 (Cymoxanil) 原药 (江苏新沂农化有限公司)、94% 氰霜唑 (Cyazofamid) 原药 (如东县江山化工有限公司)、98% 氟吡菌胺 (Fluopicolide) 原药 [拜耳作物科学 (中国) 有限公司]。

1.1.3 培养基的制备

参照陆叶等^[13]的方法配制 10% V8 培养基及其选择性培养基；参照李本金等^[18]的方法配制胡萝卜培养基。

1.2 试验方法

1.2.1 芋疫病样本采集与病原菌分离

2020 年从福建省 4 个芋头产区采集具有典型芋疫病症状的叶片，按李华义等^[19]的方法进行病原菌分离。将分离物接种于胡萝卜培养基上，28 ℃ 黑暗培养 1 d 后挑取菌落边缘菌丝至新的培养基平板进行单菌丝分离纯化，重复 2 次后共获得单菌丝纯化菌株 125 株。其中从龙岩市采集分离到 37 株，福州市采集分离到 31 株，南平市采集分离到 29 株，宁德市采集分离到 28 株，将所分离菌株保存于 13 ℃ 生化培养箱中备用。

1.2.2 致病性测定

选取 4 个不同地点代表性菌株各 3 株，采用离体叶片接种法进行致病性测定，具体操作参照叶泉清等^[1]的方法。接种后置于 25 ℃ 保湿培养，每个菌株 3 次重复，5~7 d 后观察发病症状。叶片发病后在病健交界处进行病原菌的再分离与鉴定。

1.2.3 病原菌形态鉴定

将纯化后菌株接种至胡萝卜培养基上，置于 28 ℃ 黑暗培养 5 d 后，观察菌落形态，并用光学显微镜观察病原菌菌丝、孢子囊的形态特征，同时测量孢子

囊的大小 ($n=30$)。

1.2.4 病原菌分子生物学鉴定

供试菌株 DNA 提取采用改良的 CTAB 法。分别对核糖体转录间隔区 (ribosomal DNA internal transcribed spacer, *ITS*)、线粒体核糖体大亚基 RNA 基因 (large subunit ribosomal RNA gene, *LSU*) 和三磷酸鸟苷结合蛋白基因 *Ypt1* 片段进行 PCR 扩增。采用的通用引物序列分别为 ITS1 (5'-TCC GTAGGTGAACCTGCGG-3')/ITS4 (5'-TCCTCCGCT TATTGATATGC-3')、LR7 (5'-TACTACCACCAAG ATCT-3')/LROR (5'-GTACCCGCTGAACTTAAGC-3') 和 Yph1F (5'-CGACCATKGGTGTGGACTTT-3')/Yph2R (5'-ACGTTCTCMCAGGCGTATCT-3')。PCR 反应体系 (25.0 μL): $2\times\text{Taq PCR Master Mix}$ 12.5 μL , 上下游引物 (10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 各 1.0 μL , DNA 模板 50 ng, 加无菌超纯水至 25 μL 。扩增程序: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 1 min, 58 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min, 32 个循环; 最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。扩增产物用 1.2% 的琼脂糖凝胶电泳进行检测, 使用 DNA 胶回收试剂盒对目的片段回收纯化后进行测序, 测序结果上传至 GenBank 数据库, 并进行 BLAST 同源性比对。

1.2.5 芋疫霉的交配型测定

将菌丝块大小约 5 mm $\times$ 5 mm 的待测菌株分别与交配型标准菌株 A1、A2 对峙接种在直径 9 cm 的 10% V8 培养基平板上, 以待测菌株单株培养、辣椒疫霉 A1 和 A2 交配型菌株对峙培养及 A1、A2 菌株单株培养为对照, 每个处理设 3 个重复。接菌后在 28 $^{\circ}\text{C}$ 黑暗条件下培养 7~10 d, 取菌落交界处菌丝置于显微镜下观察是否有卵孢子产生。菌株交配型的确定参照陆叶等^[13]的方法: 与 A1 标准菌株配对产生卵孢子的为 A2 交配型; 与 A2 标准菌株配对产生卵孢子的为 A1 交配型; 与 A1、A2 标准菌株配对均可产生卵孢子, 但单株对峙培养不产生卵孢子的为 (A1, A2) 交配型; 与 A1、A2 标准菌株配对均不产生卵孢子, 单株培养也不产生卵孢子的为 A0 交配型; 不需交配即可产生卵孢子的为 A1A2 交配型。

1.2.6 6 种杀菌剂对芋疫霉的室内毒力测定

采用菌丝生长速率法进行 6 种杀菌剂对福建省芋疫霉菌株的室内毒力测定。先用丙酮将供试药剂原药溶解配制成质量浓度为 $10^4 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的母液, 然后分别配制甲霜灵 (0.1、0.15、0.2、0.3、0.5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)、啞菌酯 (2.0、5.0、10.0、50.0、100.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)、霜脲氰 (0.2、0.5、4.0、6.0、8.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)、氰霜唑 (0.01、0.1、2.0、8.0、10.0

$\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)、氟吡菌胺 (0.3、0.4、0.5、0.7、1.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)、烯酰吗啉 (0.15、0.2、0.3、0.35、0.4 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 系列浓度梯度的 V8 培养基平板, 以加入等量丙酮为对照。从生长 3 d 的芋疫霉菌落边缘切取新鲜的菌丝块 (直径 5 mm), 分别接种至含不同浓度药剂的 V8 培养基平板中央, 每个浓度处理重复 3 皿。将培养皿置于 28 $^{\circ}\text{C}$ 黑暗培养 5 d 后, 待对照菌落生长至平板 80% 左右, 用十字交叉法测量菌落直径, 计算菌丝生长抑制率, 并求出各药剂毒力回归方程和对芋疫霉的有效抑制中浓度 EC_{50} 及相关系数 R^2 。菌丝生长抑制率/%=[(对照菌落直径-处理菌落直径)/(对照菌落直径-菌饼直径)] $\times$ 100。

2 结果与分析

2.1 芋疫病田间病害症状观察

芋疫病在芋整个生育期均可发生, 主要危害叶片和叶柄, 严重时也可侵染球茎。叶片染病初期, 在叶正面出现黄褐色圆形斑点, 后多个病斑融合成淡褐色不规则形的轮纹大病斑, 边缘具有水渍状晕环。芋田湿度较大时, 病斑边缘处会出现白色霉层, 在坏死组织上可见黄色至淡褐色液滴状胶质分泌物析出。发病后期病斑多从中央腐烂破裂造成叶片穿孔, 严重受害的叶片叶肉组织全部腐烂, 只剩下叶脉呈破伞状 (图 1A、B)。叶柄染病, 常在基部或中间部分产生暗褐色大小不等的不规则病斑, 后病斑融合并绕叶柄扩展, 终致叶柄腐烂倒折 (图 1C)。地下球茎染病, 病部组织变褐或腐烂, 严重时扩及整个芋头腐烂 (图 1D)。

2.2 病原菌的致病性

选取 4 个地区 12 个有代表性分离物的孢子囊悬浮液接种健康芋叶片, 接种 5 d 后发现叶片接种部位褪绿并出现水渍状黄褐色圆形病斑 (图 2), 其症状与田间发病初期症状类似, 而对照处理无症状。从表现症状的部位重新分离病原菌, 其菌落形态与接种菌株一致, 符合柯赫氏法则, 表明所获得分离物均为芋疫病的致病菌。

2.3 病原菌的形态特征

由图 3 可以看出, 该病原菌菌落白色, 圆形, 边缘整齐, 气生菌丝较少 (图 3A)。镜检观察发现, 病原菌菌丝透明无隔, 不分枝或直角状分枝, 宽约 3.0~6.0 μm (图 3B)。孢子囊着生于不分枝或不规则分枝的孢囊梗顶端, 易脱落, 常为梨形、卵形、长椭圆形或圆形, 无色单胞, 壁薄, 胞膜薄, 大小为 (45~72) $\mu\text{m}\times$ (15~21) μm , 顶部有一乳头状突起, 厚 2.0~4.0 μm 。孢囊梗短, 长度 5.0~20.0 μm (图 3C)。未见厚垣孢子产生。根据郑小

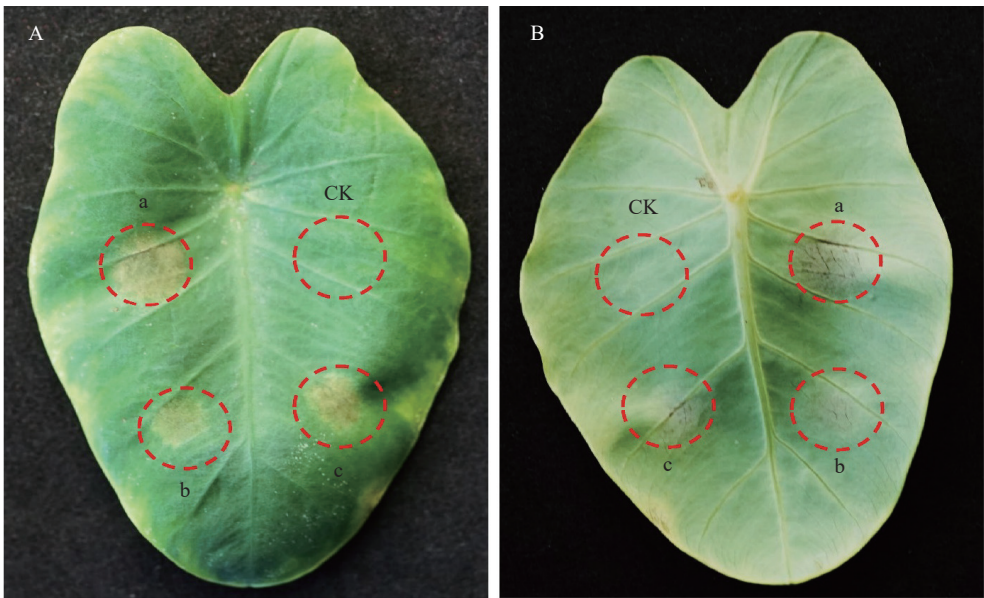


A~B: 芋疫病叶片发病症状；C: 芋疫病茎秆发病症状；D: 芋疫病球茎发病症状。

A-B: symptom on infected leaves; C: symptom on infected stems; D: symptom on infected tubers.

图 1 芋疫病的田间发病症状

Fig. 1 Symptoms of taro blight in the field

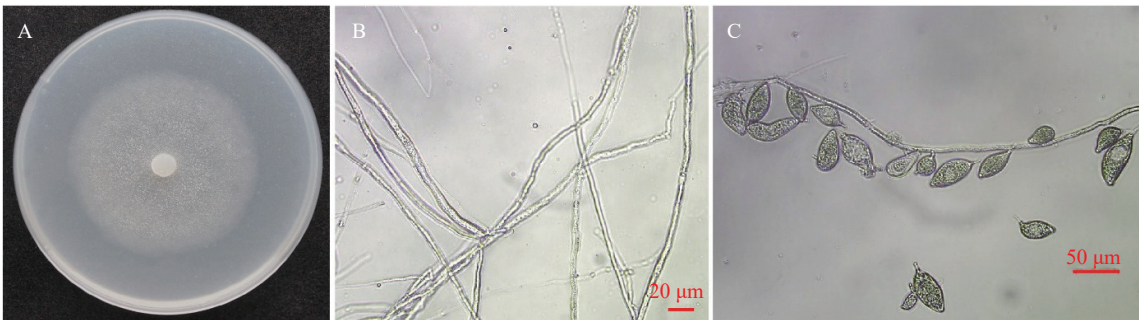


接种 5 d 后芋叶片正面 (A) 和背面 (B) 发病症状, CK: 无菌水接种, a~c: 来自福建不同地区的代表性分离菌株。

Disease symptoms on front (A) and back (B) of taro leaves 5 d after inoculation; CK: inoculated by aseptic water ; a~c: representative isolates from various districts in Fujian.

图 2 病原菌的致病性测定

Fig. 2 Pathogenicity of isolates



A: 菌落形态；B: 菌丝；C: 孢子囊。

A: colonies of isolated strains; B: mycelia; C: sporangium.

图 3 病原菌的形态特征

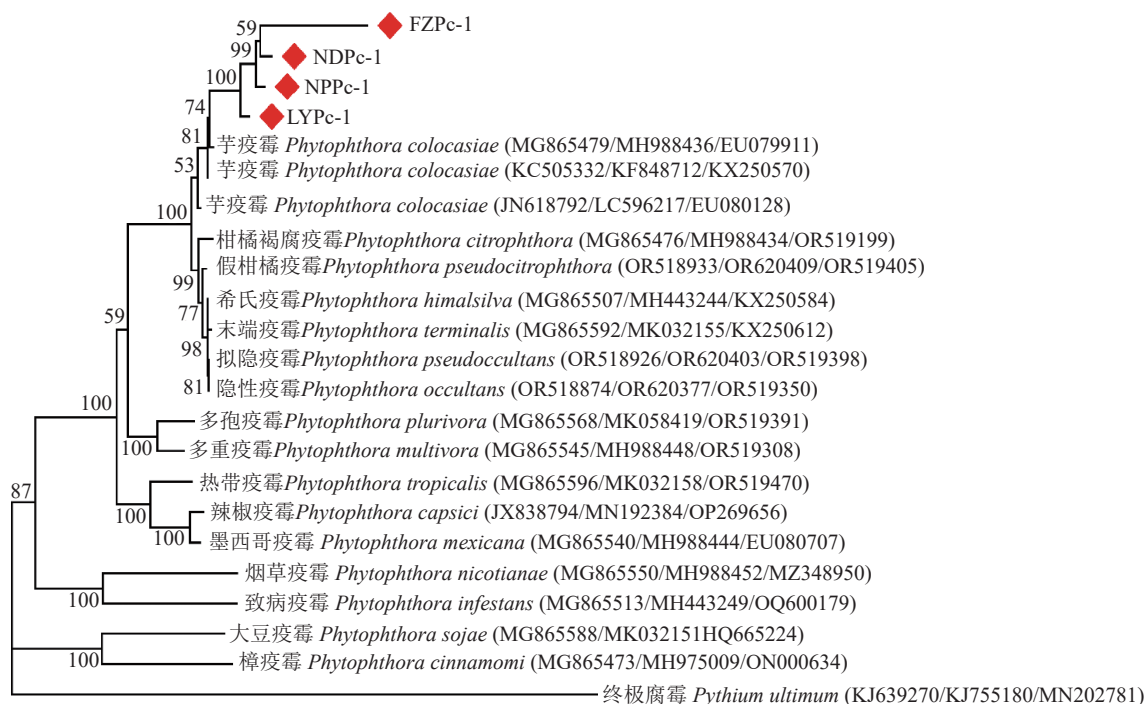
Fig. 3 Morphology of blight pathogen

波^[20]对疫霉的描述,基于分离病原菌的菌落外观和孢子囊形态特征,将所分离病原菌初步鉴定为芋疫霉(*Phytophthora colocasiae*)。

2.4 病原菌的分子生物学鉴定

选取分离自福建不同地区的 4 株病原菌(FZPc-1、LYPc-1、NDPc-1、NPPc-1)作为代表菌株,采用 *ITS*、*LSU* 和 *Ypt1* 基因通用引物进行 PCR 扩增,可分别获得长度约为 800、1100、500 bp 的基因序列。将测序序列提交至 GenBank 并获得相应登录号分别为 *ITS* (PP809425~PP809428)、*LSU* (PP809504~PP809507) 和 *Ypt1* (OR352960~OR352963)。经 BLAST 同源比对分析发现,所获得 4 个菌株的 *ITS* 序列与芋疫霉菌株 CTCRI PC 1-16 (登录号: KY432681.1) 序列相似性分别为 90.49% (695/

768)、98.32% (763/776)、97.27% (748/769) 和 97.04% (753/776); *LSU* 序列比对结果显示 4 个菌株与芋疫霉菌株 PD_00139 (登录号: EU079911.1) 序列相似性分别为 99.20% (870/877)、98.10% (880/897)、98.22% (882/898) 和 97.88% (876/895); *Ypt1* 序列比对结果显示 4 个菌株与芋疫霉菌株 JJYT-1 (登录号: MT977413.1) 的序列相似性分别为 99.26% (404/407)、99.26% (405/408)、99.27% (406/409) 和 99.27% (409/412)。进一步通过联合 *ITS*、*LSU* 和 *Ypt1* 基因序列构建多基因系统进化树分析发现,4 株菌株与芋疫霉聚集在同一分支(图 4)。结合病原菌致病性测定、形态特征观察及分子生物学鉴定分析结果,明确引起福建省芋疫病的病原菌为芋疫霉(*Phytophthora colocasiae*)。



每个分支上方的数值表示来自邻接法的自展值,以 1000 次重复的百分比表示;红色菱形为本研究分离的病原菌株。

Data above each branch indicate bootstrap values from neighbor-joining method as percentages in 1 000 replicates; red diamonds indicate isolated pathogens.

图 4 基于 *ITS-LSU-Ypt1* 基因联合序列构建的系统发育树

Fig. 4 Phylogenetic tree constructed based the combined sequences of *ITS-LSU-Ypt1*

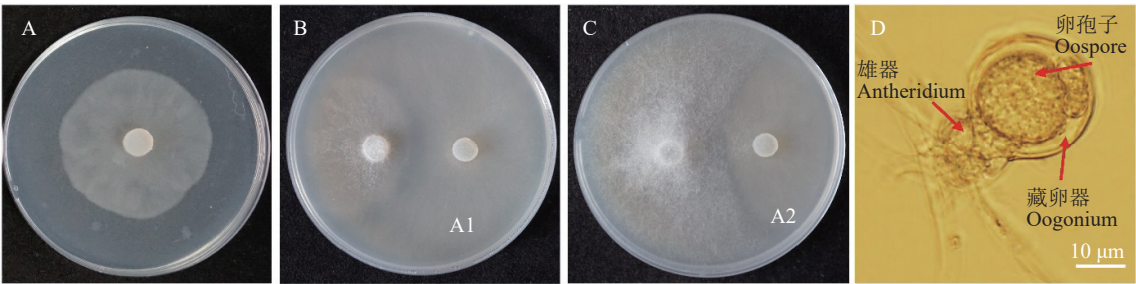
2.5 福建省芋疫霉交配型测定

将分离保存的 125 株芋疫霉菌株进行交配型测定,结果表明,供试菌株单独培养未观察到卵孢子。其中 122 株供试菌株与辣椒疫霉 A1 标准交配型菌株对峙培养后可在两菌交界处观察到大量雄器、藏卵器和卵孢子的产生(图 5),表明供试 122 株芋疫霉为 A2 交配型,其发生频率为 97.6%;其余 3 株单独培养即可产生卵孢子,鉴定为 A1A2 交配型,发

生频率为 2.40%,未鉴定到其他交配型(表 1)。说明 A2 交配型的芋疫霉是福建省芋产区优势病原菌群体,其中, A2 和 A1A2 两种交配型在龙岩永定和南平浦城产区同时存在。

2.6 芋疫霉室内防治药剂筛选

分别以分离自福建 4 个地区的病原菌(FZPc-1、LYPc-1、NDPc-1、NPPc-1)作为代表菌株,进行 6 种杀菌剂室内毒力测定。由表 2 可知,6 种杀菌剂



A: 菌株单独培养；B: 菌株与辣椒疫霉 A1 交配型菌株对峙培养；C: 菌株与辣椒疫霉 A2 交配型菌株对峙培养；D: 藏卵器、卵孢子和雄器。

A: culture of individual *P. colocasiae* isolate; B: confrontation culture between isolate and *P. capsici* strain of A1 mating type; C: confrontation culture between isolate and *P. capsici* strain of A2 mating type; D: oogonium, oospore, and antheridium.

图 5 福建省芋疫霉菌株交配型测定

Fig. 5 Mating types of *P. colocasiae* from Fujian

表 1 福建不同地区芋疫霉交配型构成

Table 1 Mating types of *P. colocasiae* strains in different areas of Fujian

地区 Location	菌株数 Number of isolates	A2交配型 A2 mating type		A1A2交配型 A1A2 mating type	
		菌株数 Number of isolates	频率 Frequency/%	菌株数 Number of isolates	频率 Frequency/%
龙岩 Longyan	37	35	28.0	2	1.6
福州 Fuzhou	31	31	24.8	0	0.0
南平 Nanping	29	28	22.4	1	0.8
宁德 Ningde	28	28	22.4	0	0.0
总计 Total	125	122	97.6	3	2.4

表 2 6 种杀菌剂对福建省不同地区芋疫霉的室内毒力测定结果

Table 2 Inhibition effects of 6 fungicides against *P. colocasiae* from regions infected by taro blight in Fujian

杀菌剂 Fungicides	菌株来源 Source of isolate	毒力回归方程 Toxicity equation	相关系数 Correlation coefficient(<i>r</i>)	有效抑制中浓度 EC ₅₀ /(μg·mL ⁻¹)	均值±标准误 Mean±SE /(μg·mL ⁻¹)
98% 甲霜灵 98% Metalaxyl	龙岩	$y=1.2251x+7.7317$	0.9991	0.108	0.146±0.032
	福州	$y=1.404x+7.3045$	0.9790	0.194	
	南平	$y=0.9833x+7.0201$	0.9871	0.128	
	宁德	$y=0.9689x+6.81$	0.9780	0.154	
98% 霜脲氰 98% Cymoxanil	龙岩	$y=0.3639x+4.7535$	0.9262	1.969	2.125±0.753
	福州	$y=0.5661x+4.8864$	0.9664	1.222	
	南平	$y=0.4829x+4.4215$	0.9717	3.313	
	宁德	$y=1.0471x+4.2766$	0.9860	1.995	
98% 氟吡菌胺 98% Fluopicolide	龙岩	$y=2.8279x+7.1018$	0.9467	0.476	0.370±0.064
	福州	$y=1.7423x+7.0719$	0.9618	0.304	
	南平	$y=1.8045x+6.9453$	0.9748	0.340	
	宁德	$y=2.0973x+7.1405$	0.9205	0.360	

续上表

杀菌剂 Fungicides	菌株来源 Source of isolate	毒力回归方程 Toxicity equation	相关系数 Correlation coefficient(<i>r</i>)	有效抑制中浓度 EC ₅₀ /(μg·mL ⁻¹)	均值±标准误 Mean±SE /(μg·mL ⁻¹)
95% 啞菌酯 95% azoxystrobin	龙岩	y=0.3594x+3.9249	0.9060	19.917	23.447±3.666
	福州	y=0.2455x+4.2175	0.9675	24.220	
	南平	y=0.4168x+3.7405	0.9712	20.530	
	宁德	y=0.4742x+3.4013	0.9047	29.120	
94% 氰霜唑 94% cyazofamid	龙岩	y=0.1778x+5.0507	0.9722	0.753	0.713±0.088
	福州	y=0.2725x+5.0668	0.9314	0.783	
	南平	y=0.2603x+5.0734	0.9046	0.754	
	宁德	y=0.5180x+5.2986	0.9486	0.562	
95% 烯酰吗啉 95% dimethomorph	龙岩	y=3.5896x+10.272	0.9738	0.230	0.239±0.011
	福州	y=3.3262x+9.9644	0.9889	0.225	
	南平	y=3.6195x+10.017	0.9807	0.250	
	宁德	y=3.6711x+10.101	0.9776	0.249	

对福建省不同地区芋疫霉生长均有抑制作用，其中 98% 甲霜灵的抑菌活性最高，EC₅₀ 值为（0.146±0.032）μg·mL⁻¹，其次是 95% 烯酰吗啉、98% 氟吡菌胺和 94% 氰霜唑，EC₅₀ 值分别为（0.239±0.011）、（0.370±0.064）、（0.713±0.088）μg·mL⁻¹；而 98% 霜脲氰的抑菌效果相对较低，EC₅₀ 值为（2.125±0.753）μg·mL⁻¹；对芋疫霉抑菌活性最低的是 95% 啞菌酯，EC₅₀ 值为（23.447±3.666）μg·mL⁻¹。因此，除 95% 啞菌酯和 98% 霜脲氰外，其他 4 种杀菌剂对福建省芋疫霉菌株的 EC₅₀ 值均小于 1.0 μg·mL⁻¹，并且抑菌活性在不同地区芋疫霉之间差异较小，表明甲霜灵、烯酰吗啉、氟吡菌胺和氰霜唑可以在福建地区轮换使用来防控芋疫病。

3 讨论与结论

疫霉属病原菌传统的分类鉴定通常以菌丝形态、孢子囊特征和脱落性、孢囊柄长短、孢囊梗层出方式、有无厚垣孢子及雄器和藏卵器的产生等形态特征及生理生化特性作为依据，但疫霉属形态特征具有较大的变异性，且容易受培养条件 and 环境因素等的影响而出现不稳定性状，给疫霉的分类鉴定带来很大困难。近年来，分子生物学技术的发展有效地弥补了传统分类鉴定方法的不足，其中疫霉属中的三磷酸鸟苷结合蛋白基因（*Ypt1*）含有多个外显子和内含子，外显子序列一般比较保守，而内含子序列在不同种之间变化较大，非常适合用于对疫霉属卵菌进行分类与鉴定。本研究在传统病原菌分离

和形态学鉴定基础上，进一步从分子生物学水平对该病原菌的 *Ypt1* 基因序列进行比对和分析，明确了引起福建省芋疫病病原菌，从而提高了鉴定的客观性和准确性。

据报道，印度北部芋疫霉同时存在 A1 交配型和 A2 交配型^[8]；Ko^[9] 研究发现夏威夷地区的芋疫霉菌株均为 A1 交配型，而来自亚洲的 5 个芋疫霉菌株则为 A2 交配型；Lin 等^[10] 报道台湾芋疫霉菌株以 A2 交配型为主，但也发现 A1A2 交配型菌株；Zhang 等^[11] 研究表明 280 个海南芋疫霉菌株中 A1 交配型菌株 136 个，A2 交配型菌株 102 个，A0 交配型菌株 42 个；Ann 等^[12] 研究发现采集自中国台湾的 799 个芋疫霉分离物均为 A2 交配型；陆叶等^[13] 研究发现广西桂东南地区的 12 株芋疫霉均属于 A2 交配型；董伟清等^[14] 从广西地区分离获得的 8 个芋疫霉菌株均为 A2 交配型。本研究发现 122 个来自福建省 4 个地区的芋疫霉菌株均属于 A2 交配型，占比 97.6%，3 个菌株属于 A1A2 交配型，表明福建龙岩和南平地区芋疫霉具有完成有性生殖的可能，产生具有抗逆性更强的卵孢子，帮助病原菌顺利越冬，成为翌年的初侵染源。此外，有性生殖过程容易发生基因重组，产生更多遗传变异的重组后代，导致新的高毒力菌株和致病力更强的生理小种出现，加重病害的发生与流行，增加病害防治的难度。

芋疫病在芋头生产过程中普遍发生，危害周期长，且在高湿条件下易暴发蔓延，导致芋头品质和产量显著降低，严重制约了芋头产业的持续发展，

因此,对芋疫病开展科学有效的防控是至关重要的。化学防治具有使用方法简单、高效快速、不受地域限制、便于规模化机械操作等优点,目前依然是防治芋疫病的主要措施^[21]。甲霜灵是卵菌病害防控中广泛应用的苯基酰胺类(PAs)杀菌剂,但是由于作用位点比较单一,病原菌对其较易产生抗药性^[22]。研究表明,我国马铃薯晚疫病菌对甲霜灵的抗性普遍发生且抗性水平高,其 EC_{50} 值达 $232\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,抗性倍数为34934^[23]。本研究室内毒力测定结果发现,98%甲霜灵对福建省芋疫霉菌株的抑制作用显著, EC_{50} 值介于 $0.108\sim 0.194\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,平均为 $(0.146\pm 0.032)\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,表明福建地区芋疫霉菌株对甲霜灵尚未产生明显抗性,可以继续作为芋疫病防控药剂。董伟清等^[14]研究发现,来自广西地区的8株芋疫霉对甲霜灵均未出现抗性。结合交配型测定结果可推测,由于福建和广西地区的芋疫霉以A2交配型菌株占主导地位,通过有性生殖进行遗传重组的概率较低,从而降低了抗药性等遗传变异的发生概率,因此在上述地区尚未检测到对甲霜灵产生抗性的菌株。烯酰吗啉(Dimethomorph)属于苯乙酰胺类的内吸性杀菌剂,对卵菌引起的霜霉病、晚疫病等病害具有保护和治疗作用,与苯基酰胺类杀菌剂无交互抗性^[22]。蓝雯婷等^[24]测定了2019–2020年来自中国广东、广西、福建、四川和云南5个省份荔枝主产区的320株荔枝霜疫霉对烯酰吗啉的敏感性,结果表明供试荔枝霜疫霉对烯酰吗啉敏感,其平均 EC_{50} 值为 $(0.1222\pm 0.0009)\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。张世才等^[25]研究发现,重庆地区辣椒疫霉菌株对烯酰吗啉未出现抗药性,平均 EC_{50} 值为 $0.2962\pm 0.0053\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。邹芬等^[26]的研究表明,分离自江西槟榔芋的芋疫霉菌株对烯酰吗啉十分敏感, EC_{50} 值为 $0.094\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。本研究发现,95%烯酰吗啉对芋疫霉菌丝生长具有明显的抑制活性, EC_{50} 值为 $(0.239\pm 0.011)\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。上述结果表明,烯酰吗啉尽管在国内已使用多年,但目前尚未发现抗药性菌株,其可以继续作为防治作物疫病的有效杀菌剂。此外,98%氟吡菌胺和94%氰霜唑对芋疫霉抑菌效果均较好,其 EC_{50} 值分别为 $(0.370\pm 0.064)\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $(0.713\pm 0.088)\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,效果优于98%霜脲氰,可以作为芋疫病防控的轮换药剂。研究发现,对芋疫霉抑菌活性最低的是95%嘧菌酯, EC_{50} 值为 $(23.447\pm 3.666)\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,洪爱梅等^[27]对9种杀菌剂防控芋疫病效果评价发现,250 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 嘧菌酯悬浮剂对芋疫病的病指防效低于60%。在实际生产中,长期单一用药易使芋疫霉对此类药剂的敏感性降

低,基于本研究结果,建议不同类型药剂轮换使用,以延缓病原菌抗药性产生。

参考文献:

- [1] 叶泉清,钟佳玲,陈媚,等. 槟榔芋疫霉菌生物学特性、致病力测定及田间防治药剂筛选[J]. 南方农业学报, 2016, 47(4): 588–593.
YE Q Q, ZHONG J L, CHEN M, et al. Biological characteristics, virulence of *Phytophthora colocasiae* Racib. from *Colocasia esculenta* L. var. *cormosus* Chang and fungicides screening for field control [J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2016, 47(4): 588–593. (in Chinese)
- [2] 兰成忠,卢学松,姚锦爱,等. 芋疫霉菌的巢式PCR检测[J]. 福建农业学报, 2019, 34(1): 76–82.
LAN C Z, LU X S, YAO J A, et al. Nested-PCR detection of taro leaf blight pathogen *Phytophthora colocasiae* [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2019, 34(1): 76–82. (in Chinese)
- [3] NATH V S, HEGDE V M, JEEVA M L, et al. Morphological, pathological and molecular characterization of *Phytophthora colocasiae* responsible for taro leaf blight disease in India [J]. *Phytoparasitica*, 2015, 43(1): 21–35.
- [4] 孙道旺,曹继芬,裴卫华,等. 云南魔芋新病害—疫病病原菌的鉴定[J]. 植物病理学报, 2015, 45(1): 84–87.
SUN D W, CAO J F, PEI W H, et al. Identification of a new *Phytophthora* blight disease on konjac in Yunnan [J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2015, 45(1): 84–87. (in Chinese)
- [5] 王瑞仙,邵梅,于德才,等. 魔芋疫病烟草疫霉菌(*Phytophthora nicotianae*)的致病性研究[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2018, 33(2): 213–217.
WANG R X, SHAO M, YU D C, et al. Pathogenicity identification of *Phytophthora nicotianae* causing konjac disease in Yunnan, China [J]. *Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science)*, 2018, 33(2): 213–217. (in Chinese)
- [6] 董伟清,何芳练,江文,等. 荔浦芋疫病病原鉴定及原生质体制备[J]. 南方农业学报, 2016, 47(11): 1861–1866.
DONG W Q, HE F L, JIANG W, et al. Identification of *Colocasia esculenta*(L.) Schott var. Lipu Taro leaf blight disease causal pathogen and its protoplasts preparation [J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2016, 47(11): 1861–1866. (in Chinese)
- [7] HE X L, MIYASAKA S C, FITCH M M M, et al. Taro (*Colocasia esculenta*) transformed with a wheat oxalate oxidase gene for improved resistance to taro pathogen *Phytophthora colocasiae* [J]. *HortScience*, 2013, 48(1): 22–27.
- [8] MISRA R S, MISHRA A K, SHARMA K, et al. Characterisation of *Phytophthora colocasiae* isolates associated with leaf blight of taro in India [J]. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 2011, 44(6): 581–591.
- [9] KO W H. Mating-type distribution of *Phytophthora colocasiae* on the island of Hawaii [J]. *Mycologia*, 1979, 71(2): 434.
- [10] LIN M J, KO W H. Occurrence of isolates of *Phytophthora colocasiae* in Taiwan with homothallic behavior and its significance [J]. *Mycologia*, 2008, 100(5): 727–734.

- [11] ZHANG K M, ZHENG F C, LI Y D, et al. Isolates of *Phytophthora colocasiae* from Hainan Island in China: Evidence suggesting an Asian origin of this species [J]. *Mycologia*, 1994, 86(1): 108.
- [12] ANN P J, KAO C W, KO W H. Mating-type distribution of *Phytophthora colocasiae* in Taiwan [J]. *Mycopathologia*, 1986, 93(3): 193–194.
- [13] 陆叶, 陆志翔, 何芳练, 等. 桂东南地区芋疫霉的交配型研究 [J]. 基因组学与应用生物学, 2013, 32 (3): 285–290.
- LU Y, LU Z X, HE F L, et al. A research on mating types of *Phytophthora colocasiae* in south-eastern Guangxi Province [J]. *Genomics and Applied Biology*, 2013, 32(3): 285–290. (in Chinese)
- [14] 董伟清, 江文, 何芳练, 等. 广西地区荔浦芋新品种疫霉交配型和甲霜灵抗性研究 [J]. 长江蔬菜, 2018, (10): 41–44.
- DONG W Q, JIANG W, HE F L, et al. Study on mating type and metalaxyl resistance of a new variety of taro in Lipu, Guangxi [J]. *Journal of Changjiang Vegetables*, 2018(10): 41–44. (in Chinese)
- [15] ADOMAKO J, KWOSSEH C, MOSES E. Metalaxyl sensitivity and aggressiveness of phytophthora colocasiae isolates associated with taro leaf blight disease [J]. *JOURNAL OF PLANT PATHOLOGY*, 2017, 99(1): 205–210.
- [16] 游世奇. 5 种药剂对槟榔芋疫病的田间防效 [J]. 中国植保导刊, 2020, 40 (2): 71–72.
- YOU S Q. Field control effect of five pesticides on betel nut taro blight [J]. *China Plant Protection*, 2020, 40(2): 71–72. (in Chinese)
- [17] 方辉, 张惠琴, 陈孝赏, 等. 双炔酰菌胺防治红香芋疫病的效果及应用技术 [J]. 浙江农业科学, 2016, 57 (6): 899–900, 911.
- FANG H, ZHANG H Q, CHEN X S, et al. Effect and application technology of diacetylbenzamide on controlling red taro blight [J]. *Journal of Zhejiang Agricultural Sciences*, 2016, 57(6): 899–900, 911. (in Chinese)
- [18] 李本金, 陈庆河, 兰成忠, 等. 福建省大豆根腐病原菌的鉴定 [J]. 福建农业学报, 2011, 26 (5): 798–803.
- LI B J, CHEN Q H, LAN C Z, et al. A identification and pathogenicity test of the pathogens causing soybean root rot in Fujian [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2011, 26(5): 798–803. (in Chinese)
- [19] 李华义, 何运转, 张艳杰, 等. 掌叶半夏疫病病原菌的分离与鉴定 [J]. 河北农业大学学报, 2016, 39 (4): 68–72.
- LI H Y, HE Y Z, ZHANG Y J, et al. Isolation and identification of blight disease on *Pinellia pedatisecta* [J]. *Journal of Hebei Agricultural University*, 2016, 39(4): 68–72. (in Chinese)
- [20] 郑小波. 疫霉菌及其研究技术 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1997.
- [21] MBONG G A, FOKUNANG C N, FONTEM L A, et al. An overview of *Phytophthora colocasiae* of cocoyams: a potential economic disease of food security in Cameroon [J]. *Discourse Journal of Agriculture & Food Sciences*, 2013, 1(9): 140–145.
- [22] 苗建强, 蔡萌, 张灿, 等. 植物病原卵菌对重要抑制剂的抗性分子机制研究进展 [J]. 农药学报, 2019, 21 (5-6): 736–746.
- MIAO J Q, CAI M, ZHANG C, et al. Molecular resistance mechanism of phytopathogenic oomycete to several important fungicides [J]. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 2019, 21(5-6): 736–746. (in Chinese)
- [23] 路粉, 赵建江, 刘晓芸, 等. 马铃薯晚疫病菌对甲霜灵的抗性监测及替代药剂防治效果 [J]. 中国农业科学, 2018, 51 (14): 2700–2710.
- LU F, ZHAO J J, LIU X Y, et al. Monitoring of resistance of *Phytophthora infestans* on potato to metalaxyl and the control efficacy of alternative fungicides [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2018, 51(14): 2700–2710. (in Chinese)
- [24] 蓝雯婷, 任董董, 李瑞环, 等. 荔枝霜疫霉对烯酰吗啉的抗性风险评估 [J]. 果树学报, 2023, 40 (6): 1226–1234.
- LAN W T, REN D D, LI R H, et al. Baseline sensitivity and resistance risk assessment of *Peronophthora litchii* to dimethomorph [J]. *Journal of Fruit Science*, 2023, 40(6): 1226–1234. (in Chinese)
- [25] 张世才, 李怡斐, 王春萍, 等. 重庆地区辣椒疫霉交配型分布及对烯酰吗啉的敏感性现状 [J]. 植物保护, 2022, 48 (2): 173–176, 182.
- ZHANG S C, LI Y F, WANG C P, et al. Distribution of mating types of *Phytophthora capsici* and its sensitivity to dimethomorph in Chongqing [J]. *Plant Protection*, 2022, 48(2): 173–176, 182. (in Chinese)
- [26] 邹芬, 何烈干, 李湘民, 等. 江西槟榔芋疫病病原菌鉴定及室内药剂筛选 [J]. 植物保护, 2023, 49 (1): 311–316.
- ZOU F, HE L G, LI X M, et al. Identification of the pathogen of Binglang taro leaf blight in Jiangxi Province and laboratory screening of fungicides [J]. *Plant Protection*, 2023, 49(1): 311–316. (in Chinese)
- [27] 洪爱梅, 张海艳, 段云辉, 等. 9 种杀菌剂防控芋疫病效果评价 [J]. 世界农药, 2022, 44 (9): 41–45.
- HONG A M, ZHANG H Y, DUAN Y H, et al. Evaluation on the control efficacy of nine fungicides against taro leaf blight [J]. *World Pesticide*, 2022, 44(9): 41–45. (in Chinese)

(责任编辑: 林海清)