

澳洲石斛疫病病原菌的鉴定及其杀菌剂毒力测定

林接英^{1,2}, 吴浩芳¹, 麦章龙¹, 张云霞^{1,2*}

1. 仲恺农业工程学院植物健康创新研究院, 广东广州 510225; 2. 农业农村部华南果蔬绿色防控重点实验室, 广东广州 510225

摘要: 澳洲石斛 (*Dendrobium kingianum*) 属于兰科石斛属植物, 在我国作为观赏植物被广泛种植。近年来, 广东省澳洲石斛生产上发生一种疫病, 该病害为害茎杆和叶片, 引起受害部位变褐腐烂, 植株死亡, 对生产造成严重的影响。从发病的澳洲石斛上分离获得一种真菌, 通过致病性测定显示, 该菌可以侵染健康的澳洲石斛盆栽植株引起发病, 表现出的症状与大田症状相似。从接种发病的植株上再次分离得到的菌株与接种菌的形态特征一致, 说明原分离菌为引起澳洲石斛疫病的病原菌。通过形态学特征观察和 β -微管蛋白基因 (β -tubulin, *tub*) 序列分析对分离菌株进行了鉴定。该菌株的形态学特征与棕榈疫霉 (*Phytophthora palmivora*) 基本一致。BLAST 比对分析发现, 本研究中的 2 个菌株 (SHL918 和 SHL921) 的 *tub* 基因序列与棕榈疫霉的相似性均为 99%。在基于 *tub* 基因构建的系统发育树上, 研究菌株与棕榈疫霉聚在同一分支上, 支持率为 100%。因此, 结合形态学特征和系统发育分析将引起澳洲石斛疫病的病原菌鉴定为棕榈疫霉 (*P. palmivora*)。棕榈疫霉侵染澳洲石斛引起疫病为首次报道。进一步采用菌丝生长速率法测定 10 种杀菌剂对澳洲石斛疫病病原菌的毒力作用, 结果显示, 双炔酰菌胺、烯酰吗啉、甲霜灵和精甲霜灵·代森锰锌 4 种杀菌剂对该病原菌的毒力较强, EC_{50} 分别为 0.000 03、0.0628、0.2381、0.5457 $\mu\text{g/mL}$; 其次是百菌清、啞菌酯和代森锰锌, EC_{50} 均小于 10 $\mu\text{g/mL}$; 而霜霉威盐酸盐和三乙膦酸铝的抑制效果差, EC_{50} 均大于 100 $\mu\text{g/mL}$; 多菌灵对该病原菌基本无抑制作用, EC_{50} 大于 1000 $\mu\text{g/mL}$ 。本研究结果可为澳洲石斛疫病的田间防治提供理论依据。

关键词: 澳洲石斛; 棕榈疫霉; 毒力测定

中图分类号: S436.8 文献标识码: A

Pathogen Identification and Fungicide Toxicity Test of *Phytophthora* Blight in *Dendrobium kingianum*

LIN Jieying^{1,2}, WU Haofang¹, MAI Zhanglong¹, ZHANG Yunxia^{1,2*}

1. Innovative Institute for Plant Health, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou, Guangdong 510225, China;
2. Key Laboratory of Green Prevention and Control on Fruits and Vegetables in South China, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guangzhou, Guangdong 510225, China

Abstract: *Dendrobium kingianum* belongs to Orchidaceae family, which is widely grown as an ornamental plant in China. In recent years, a blight disease in *D. kingianum* is observed in Guangdong province, China. This disease infects the stems and leaves of *D. kingianum*, causing brown rot and plant death. It has a serious impact on production. A fungus was isolated from the diseased plants of *D. kingianum*. The pathogenicity test showed that this fungus could infect healthy potted plants and cause the disease. The symptoms on inoculated plants were similar to field symptoms. Morphological characteristics of the fungus from the inoculated plants were consistent with that of the original fungus from field samples. The pathogen was identified by both morphological characteristics and β -tubulin (*tub*) gene sequence analysis. The morphological characteristics of the isolates were similar to *Phytophthora palmivora*. BLAST results

收稿日期 2022-11-22; 修回日期 2023-01-05

基金项目 广东省现代农业产业技术体系花卉创新团队病害防控岗位项目 (No. 2022KJ121); 广东省教育厅特色创新项目 (No. 2021KTSCX045); 广东省科技创新战略专项重点领域研发项目 (No. 2018B020205003)。

作者简介 林接英 (1995—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 植物保护。*通信作者 (Corresponding author): 张云霞 (ZHANG Yunxia), E-mail: yx_zhang08@163.com。

showed both the sequences of two isolates in this study were 99% identical to the sequence of *P. palmivora*. In the maximum likelihood (ML) tree based on *tub* gene sequences, the strains in this study clustered with *P. palmivora* with 100% support. Therefore, *P. palmivora* was identified as the pathogen of *Phytophthora* blight on *D. kingianum* based on morphological characteristics and phylogenetic analysis. This is the first report of *P. palmivora* causing *Phytophthora* blight on *D. kingianum* in China and worldwide. The inhibitory effect of 10 fungicides on *P. palmivora* was determined using the mycelial growth rate method. The results showed that four fungicides, namely diacetylmorphamide, dimethomorph, metalazepine and metalazepine · mancozeb, were the top four toxic to *P. palmivora*, and the EC_{50} value was 0.000 03 $\mu\text{g/mL}$, 0.0628 $\mu\text{g/mL}$, 0.2381 $\mu\text{g/mL}$ and 0.5457 $\mu\text{g/mL}$, respectively. It was followed by chlorothalonil, pyrimetholol and mancozeb, the EC_{50} was less than 10 $\mu\text{g/mL}$. However, the effect of downy mildew hydrochloride and triethylphosphonate was poor, and the EC_{50} was more than 100 $\mu\text{g/mL}$. Carbendazim showed no inhibitory effect, the EC_{50} was more than 1000 $\mu\text{g/mL}$. The result would provide a theoretical basis for the prevention and control of *Phytophthora* blight in *Dendrobium*.

Keywords: *Dendrobium kingianum*; *Phytophthora palmivora*; toxicity test

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2024.03.019

石斛属 (*Dendrobium*) 是兰科植物第二大属^[1]。我国石斛兰资源丰富, 主要分布在华南、西南和台湾等地区^[2]。石斛分为观赏石斛和药用石斛^[3], 澳洲石斛 (*D. kingianum*) 属于观赏石斛, 原产于澳大利亚, 随国外观赏洋兰的引进和推广而逐渐进入我国兰花市场^[4]。因其花型小、色彩绚丽和长势强, 近年来越来越受到国内花卉爱好者喜爱, 成为最具观赏性的花卉种类之一^[5]。

然而, 病害是限制石斛兰生产, 影响其观赏价值和经济价值的重要因素之一。目前, 国内外已报道的石斛 (*Dendrobium* spp.) 植物主要病害有镰刀菌 (*Fusarium* spp.) 引起的茎腐病、齐整小核菌 (*Sclerotium rolsii*) 引起的白绢病、棕榈疫霉 (*Phytophthora palmivora*) 引起的疫病^[6]、终极腐霉 (*Pythium ultimum*) 引起的黑腐病^[7]和炭疽菌 (*Colletotrichum* spp.) 引起的炭疽病^[6]等。其中, 根茎部病害对其生产影响较大。王国荣等^[8]对浙江省杭州市铁皮石斛 (*D. officinale*) 上发生的 2 种茎腐病进行了研究, 结合形态学特征和 rDNA-ITS 基因序列分析, 明确其病原菌为齐整小核菌 (*S. rolsii*) 和尖孢镰刀菌 (*F. oxysporum*), 2 种病害的发病率达到 30% 以上。曹瑱艳等^[9]对浙江省金华市发生的铁皮石斛根腐病菌进行了研究, 结果发现厚垣镰刀菌 (*F. chlamydosporum*) 是其主要病原菌。李梦娇^[10]将云南铁皮石斛茎腐病的病原菌鉴定为尖孢镰刀菌, 该病害在云南的发病率在 20% 以上。但是, 以上相关病害的报道主要集中在铁皮石斛和金钗石斛等药用石斛上。目前, 尚无澳洲石斛相关病害的报道。

近年来, 笔者在病害调查中发现, 广东某花场的澳洲石斛病害发生严重, 受害植株叶片初期

呈水渍状, 叶片和茎基部腐烂, 后期干枯死亡, 发病率达 20%。为明确该病害的病原菌种类, 为病害防控提供理论依据, 本研究对其病原菌进行了鉴定, 并针对病原菌进行了杀菌剂的室内筛选。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试样品 发病的澳洲石斛采自广东某花场, 接种植株为健康的澳洲石斛。

1.1.2 供试培养基 马铃薯葡萄糖琼脂 (PDA) 培养基^[11]、马铃薯葡萄糖 (PD) 培养液^[12]、水琼脂 (WA) 培养基^[13]和 V8 培养基^[14]。采用 PDA 培养基进行菌株分离、菌种保存和菌落形态观察, 采用 WA 培养基纯化菌株, 采用 V8 培养基诱导疫霉孢子囊和厚垣孢子, 采用 PD 培养液培养接种菌^[15]。

1.1.3 供试杀菌剂 供试杀菌剂共 10 种, 分别为: 80% 代森锰锌 WP (美国陶氏益农公司), 78% 百菌清 WP [先正达 (苏州) 作物保护有限公司], 50% 嘧菌酯 WG (河北冠龙农化有限公司), 80% 三乙膦酸铝 WP (利民化学有限责任公司), 68% 精甲霜灵·代森锰锌 WG (瑞士先正达作物保护有限公司), 35% 甲霜灵 WP (浙江禾本科技有限公司), 23.4% 双炔酰菌胺 SC (宁波石原金牛农业科技有限公司), 50% 烯酰吗啉 WG (河北冠龙农化有限公司), 72.2% 霜霉威盐酸盐 AS [拜耳作物科学 (中国) 有限公司], 50% 多菌灵 WP (上海悦联化工有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 病原菌形态学鉴定 (1) 病原菌的分离。采用常规组织分离法^[8]。取发病植株的叶和茎秆, 冲洗晾干, 在病健交界处切取约 5 mm×5 mm 的

小块, 75%乙醇消毒 10~20 s, 2.5%次氯酸钠溶液消毒 10~20 s, 无菌水漂洗 3 次, 最后用无菌滤纸吸干组织块表面的水分, 移至 PDA 平板上, 于 25 °C 恒温培养。

(2) 菌株的纯化。采用顶端菌丝法^[8]。待菌落长出后, 挑取边缘的顶端菌丝移至新的 PDA 平板上。培养 2~3 d 后, 取少量菌丝在 WA 培养基上培养 1 d, 于显微镜下再次切取顶端菌丝, 移至新的 WA 平板上培养 1 d, 再切取顶端菌丝。重复 3 次, 获得纯化菌株, 于 13 °C 冰箱保存备用。

(3) 菌落形态特征观察。纯化菌株转接至 PDA 平板上置于 26 °C 下培养, 12 h 光照/12 h 黑暗循环交替。分别于第 3 天和第 5 天测量菌落直径, 拍照并记录菌落形态特征^[15]。

(4) 显微形态特征观察。纯化菌株转接至 V8 平板上置于 26 °C、12 h 光照/12 h 黑暗循环交替培养。5 d 后观察孢子囊及厚垣孢子形态并测量大小, 孢子囊及厚垣孢子各测 30 个^[15]。

1.2.2 病原菌分子鉴定 (1) 真菌基因组 DNA 的提取。纯化菌株转接至 PDA 平板上培养 4 d, 收集菌丝, 采用 CTAB 法提取菌株基因组 DNA。

(2) PCR 扩增和测序。采用 TUBUF2 和 TUBUR1 引物对 β -tubulin (*tub*) 基因进行扩增^[16]。PCR 反应程序为: 95 °C 预热 3 min; 94 °C 变性 30 s, 56 °C 退火 45 s, 72 °C 延伸 1 min, 循环 35 次; 72 °C 终延伸 10 min, 于 17 °C 保存。PCR 产物送至广州天一辉远基因科技有限公司测序, 将测序结果输入 NCBI 数据库 ([https:// www.ncbi.nlm.nih.gov/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/)) 进行同源性比对。

(3) 系统发育树的构建。从 NCBI 网上下载可信度高的相关序列, 在 MAFFT 网站 ([https:// mafft.cbrc.jp/](https://mafft.cbrc.jp/)) 进行序列比对, 采用 BioEdit 软件进行序列剪切。以 *Pythium aphanidermatum* 作为外群, 在 CIPRES 网站 (<http://www.phylo.org/>) 用 RAxML-HPC2 on XSEDE (8.2.8) 工具采用最大似然法 (maximum likelihood, ML) 构建系统发育树, 设 1000 次重复。

1.2.3 致病性测定 纯化菌株转接至 PD 培养液中震荡培养 4 d, 过滤得到菌丝, 配置成 3% (*m/V*) 的菌丝悬浮液用于接种。从心叶部位浇注 2 mL 菌丝悬浮液, 套袋保湿 2 d。以接种无菌水作为对照 (CK)。每个处理重复 3 盆。接种植株置于 25 °C 植物培养室中培养, 观察并记录发病情况。

1.2.4 杀菌剂对病原菌的毒力测定 (1) 含毒培

养基的配置。根据杀菌剂的推荐浓度进行预实验。在预实验的基础上, 选择各药剂对病原菌菌丝生长抑制率在 10%~90% 范围内的浓度; 每种杀菌剂按等比设置 5 个浓度梯度。按杀菌剂的有效成分含量分别用无菌水稀释成一定浓度梯度的母液, 在 PDA 培养基中加入已配制好的杀菌剂母液, 制成不同浓度梯度的含药平板。在 PDA 培养基中加入等量的无菌水作为空白对照。

(2) 菌丝生长速率的测定。菌株转接至 PDA 平板培养 5 d, 用打孔器 ($d=6$ mm) 在菌落边缘打取菌饼, 移至含药平板的中央, 每个浓度 3 个重复。培养皿置于 26 °C 下培养。待对照菌落长满培养皿时, 采用“十”字交叉法测量菌落直径, 计算平均值。按以下公式计算抑菌率: 抑菌率 = $[(\text{对照菌落直径} - \text{处理菌落直径}) / (\text{对照菌落直径} - \text{菌饼直径})] \times 100\%$; 再算出每种药剂的有效浓度, 每种药剂使用抑菌率和有效浓度 2 组数据在 DPS 统计分析软件进行数值型数据机值分析, 求出 10 种药剂的毒力回归方程、致死中浓度 (EC_{50}) 和相关系数 (r)。

2 结果与分析

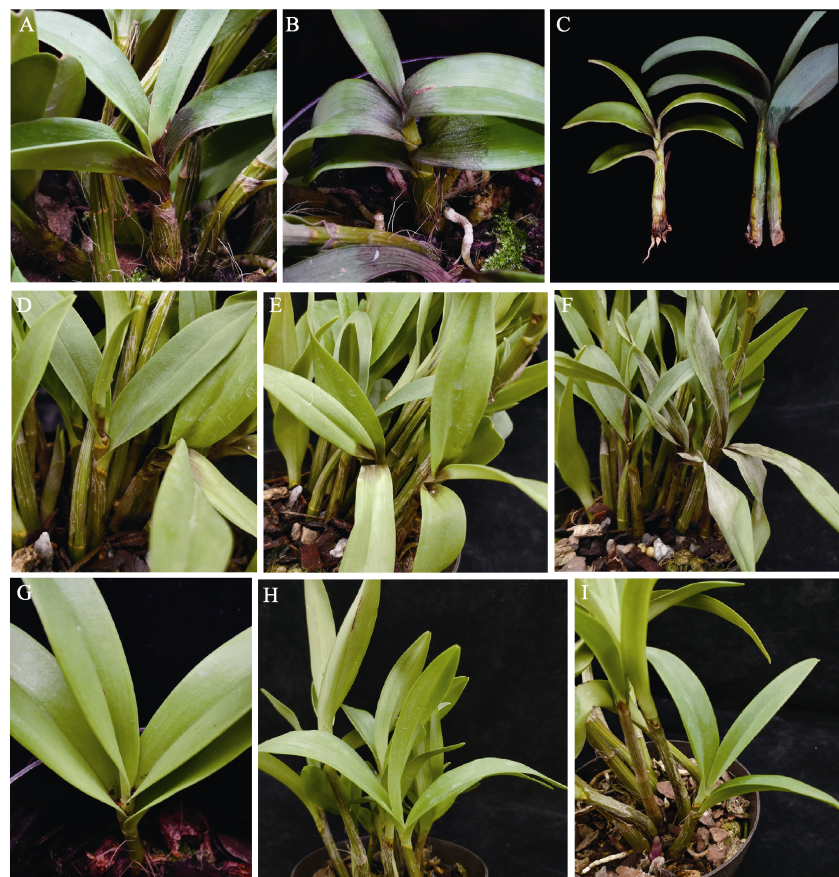
2.1 澳洲石斛疫病的症状及致病性测定

该病害主要为害植株的茎秆和叶片。受害茎秆变褐, 软腐, 逐渐向上向下扩展, 后期皱缩。感病叶片初期为水渍状、暗绿色湿腐, 后期叶片干枯脱落, 植株死亡 (图 1A~图 1C)。

接种植株 7 d 后开始发病, 新叶接种部位初期水渍状, 逐渐变褐色, 而后扩展成湿腐状; 发病部位沿叶片向下扩展, 茎秆逐渐变褐, 软腐 (图 1D、图 1E)。接种 14 d 左右, 叶片干枯, 茎秆皱缩, 后期植株死亡 (图 1F)。对照植株未表现症状 (图 1G~图 1I)。

2.2 澳洲石斛疫病病原菌的培养性状及显微形态

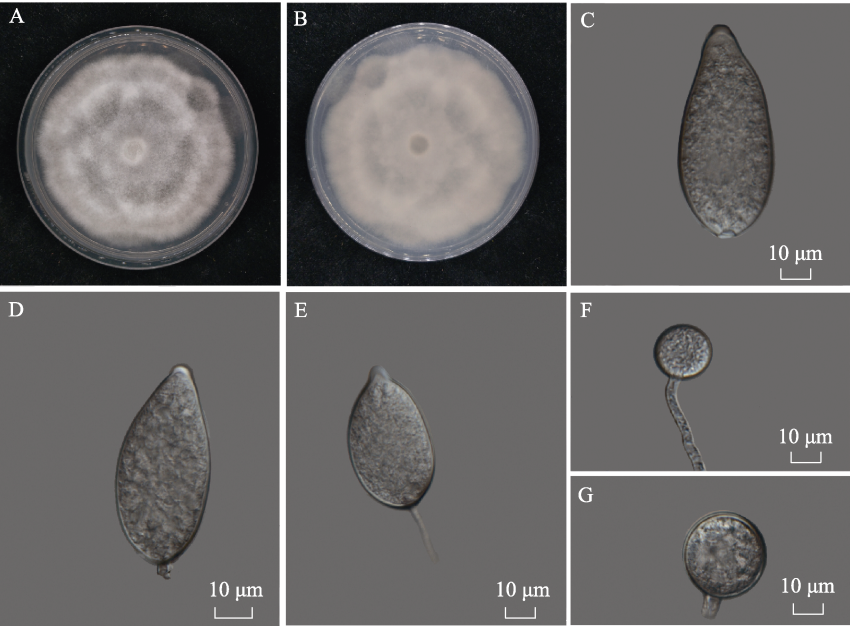
在 PDA 培养基上澳洲石斛疫病病原菌的菌落呈圆形 (图 2A, 图 2B), 白色, 絮状, 边缘整齐, 生长速率为 6~7 mm/d。孢子囊倒梨形 (图 2C~图 2E), 多顶生, 具有明显乳突, 大小为 $(39\sim80)\mu\text{m} \times (23\sim40)\mu\text{m}$ (平均大小为 $59\mu\text{m} \times 31\mu\text{m}$); 厚垣孢子无色, 近圆形, 顶生或间生 (图 2F, 图 2G), 直径为 $25\sim43\mu\text{m}$ (平均大小为 $33\mu\text{m}$)。该病原菌的形态特征与郑小波^[17]描述的棕榈疫霉 (*P. palmivora*) 基本一致。



A、B：大田受害叶片；C：大田受害茎秆；D、E：接种发病前期（7 d）；F：接种发病后期（14 d）；G~I：对照。
A, B: Diseased leaves in the field; C: Diseased stems in the field; D, E: Early symptoms after inoculation (7 d);
F: Later symptoms after inoculation (14 d); G~I: CK.

图 1 澳洲石斛疫病田间症状和致病性测定

Fig. 1 Field symptoms and pathogenicity test of *Phytophthora* blight on *D. kingianum*



A：菌落正面；B：菌落背面；C~E：孢子囊；F、G：厚垣孢子。
A: Colony front; B: Colony back; C~E: Sporangium; F, G: Chlamydospore.

图 2 澳洲石斛疫病病原菌的菌落及显微形态

Fig. 2 Morphological characteristics of pathogen of *Phytophthora* blight in *D. kingianum*

2.3 澳洲石斛疫病原菌的分子鉴定

采用引物 TUBUF2 和 TUBUR1 进行 *tub* 基因片段扩增, 得到约 900 bp 的产物。将产物进行测序, 获得的序列在 NCBI 网站进行 BLAST 比对分析, 发现供试病原菌菌株(NCBI 登录号 OP404090 和 OP404091) 与 *P. palmivora* (NCBI 登录号

MAFF235788) 的相似度为 99%。

利用 NCBI 上下载的菌株和供试病原菌菌株基于 *tub* 基因构建 ML 系统发育树^[16], 结果显示, 供试病原菌的 2 个菌株 SHL918、SHL921 与 *P. palmivora* 位于同一分支, 支持率为 100%, 亲缘关系较近(图 3)。

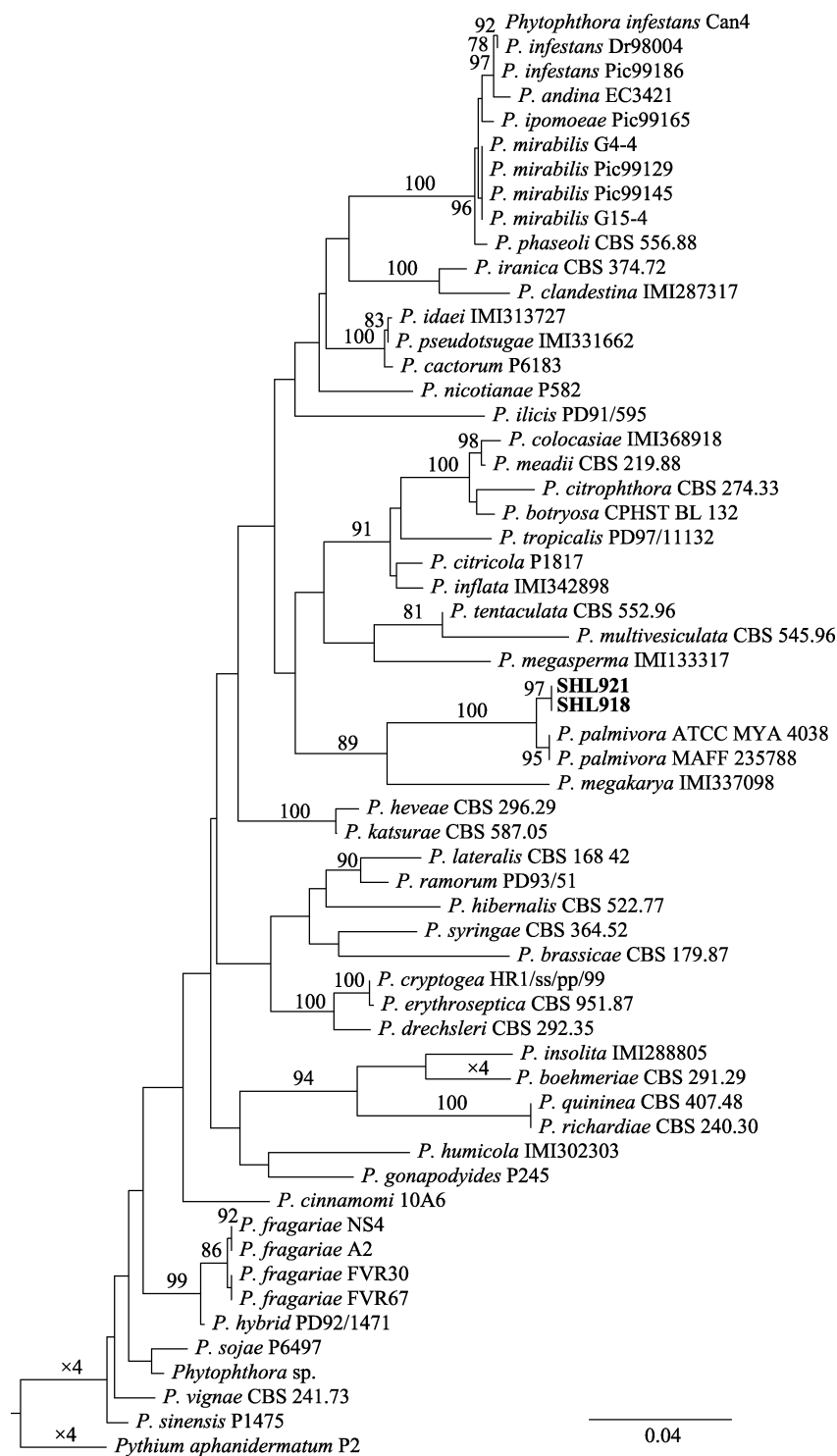


图 3 基于 *tub* 基因序列以最大似然法构建的棕榈疫霉系统发育树

Fig. 3 Maximum likelihood phylogenetic tree based on *tub* sequence of *P. palmivora*

因此，根据形态学特征和系统发育分析，将引起澳洲石斛疫病的病原菌鉴定为棕榈疫霉（*P. palmivora*）。

2.4 杀菌剂对澳洲石斛疫病原菌的抑制作用

毒力测定结果表明，供试的 10 种杀菌剂中以双炔酰菌胺、烯酰吗啉、甲霜灵和精甲霜灵·代森锰锌 4 种杀菌剂对澳洲石斛疫病原菌棕榈疫霉的毒力较高，EC₅₀ 分别为 0.000 03、0.0628、0.2381、0.5457 μg/mL；其次是百菌清、啉菌酯和代森锰锌，EC₅₀ 分别为 2.1811、7.0083、8.1427 μg/mL。而霜霉威盐酸盐和 三乙膦酸铝的抑制效果差，EC₅₀ 均大于 100 μg/mL；多菌灵基本无抑制作用，EC₅₀ 大于 1000 μg/mL。10 种药剂的相关系数范围在 0.9726~0.9946 之间，说明药剂浓度与抑制作用呈显著正相关（表 1）。

表 1 10 种药剂对澳洲石斛疫病原菌的毒力测定
Tab. 1 Toxicity test of ten fungicides against *P. palmivora* of *D. kingianum* blight

药剂 Fungicide	毒力回归方程 Toxicity regression equation	相关系数 <i>r</i>	EC ₅₀ /(μg·mL ⁻¹)
23.4%双炔酰菌胺	y=11.8644+1.5255x	0.9808	0.000 03
50%烯酰吗啉	y=5.9908+0.8293x	0.9810	0.0628
35%甲霜灵	y=5.7634+1.2249x	0.9857	0.2381
68%精甲霜灵·代森锰锌	y=5.3191+1.1416x	0.9946	0.5457
75%百菌清	y=4.7852+0.6344x	0.9831	2.1811
50%啉菌酯	y=4.6314+0.4359x	0.9811	7.0083
80%代森锰锌	y=4.5151+0.5324x	0.9810	8.1427
80%三乙膦酸铝	y=3.8595+0.1880x	0.9726	445.1827
72. 2%霜霉威盐酸盐	y=4.4849+0.1924x	0.9880	475.1214
50%多菌灵	y=3.9939+0.2700x	0.9861	5321.3420

3 讨论

在形态学特征观察的基础上，结合 *tub* 基因的系统发育分析，将引起澳洲石斛疫病的病原菌鉴定为棕榈疫霉（*P. palmivora*）。棕榈疫霉感染澳洲石斛引起疫病为首次报道。石斛属植物疫病已有相关研究，病原物多为烟草疫霉（*P. nicotianae*）。李静等^[18]和王晓阳^[19]分别对浙江铁皮石斛（*D. candidum*）和广东金钗石斛（*D. nobile*）发生的疫病进行了研究，发现其病原菌均为烟草疫霉（*P. nicotianae*）。TAO 等^[20]将云南思茅的 4 种石斛植物（*D. thyrsiflorum*、*D. chrysanthum*、*D.*

aurantiacum 和 *D. chrysotoxum*）的疫霉病菌也鉴定为烟草疫霉。而李梦娇^[10]结合形态学特征和 ITS 序列分析发现，引起云南德宏铁皮石斛（*D. candidum*）疫病的病原菌为棕榈疫霉。但是，目前尚无棕榈疫霉感染澳洲石斛的报道。

棕榈疫霉（*P. palmivora*）属于卵菌门（Oomycota）霜霉科（Peronosporaceae）疫霉属（*Phytophthora*）。该菌是一种重要的植物病原菌，主要分布在热带和亚热带地区，寄主范围广，包括果树、蔬菜和观赏植物等 170 余种植物^[21]。棕榈疫霉能侵染植物的根、茎、叶和花等各部位，引起根茎腐、叶片凋萎或脱落，严重时导致植株死亡，给生产带来重大损失。据报道，棕榈疫霉能侵染榴莲（*Durio zibethinus*）的各个部位，引起根腐、茎枯和果腐等，在东南亚国家造成的经济损失达 10 亿美元^[22]。该菌还可以侵染可可（*Theobroma cacao*）引起黑果病，该病害每年在全球造成的产量损失在 20%~30%之间^[23]。棕榈疫霉也是观赏植物上的重要病原菌。油棕（*Elaeis guineensis*）芽腐病是由该菌引起的一种毁灭性的病害，2016 年该病害在哥伦比亚爆发，造成的经济损失达 2.5×10⁸ 美元^[22]。该菌还能侵染米兰（*Aglaia odorata*）、蝶兰（*Phalaenopsis wilsonii*）、丝兰属（*Yucca* sp.）和长寿花（*Kalanchoe blossfeldiana*）等 10 余种观赏植物^[17, 24-25]。本课题组在广东发现的澳洲石斛疫病，为害严重时可导致植株死亡，发病率达 20%。由于棕榈疫霉在生产上的危害性，因此应对该病害引起重视。

进一步选用 10 种杀菌剂对澳洲石斛疫霉病原菌棕榈疫霉进行室内毒力测定发现，双炔酰菌胺、烯酰吗啉、甲霜灵和精甲霜灵·代森锰锌 4 种杀菌剂对其毒力较强，研究结果可为石斛兰疫病的田间防控提供理论依据。程东美等^[26]对棕榈疫霉引起的一品红疫病进行了室内毒力测定和田间防效试验，发现双炔酰菌胺和精甲霜·锰锌具有较好的室内毒力和大田防效，而三乙膦酸铝、霜霉威和多菌灵的抑菌效果较差。王自然等^[27]研究发现 50%烯酰吗啉和 68%精甲霜·锰锌对引起柠檬苗疫病的棕榈疫霉抑菌效果较好。本研究结果与以上研究基本一致。但是，由于杀菌剂的室内毒力测定结果不能完全反映其大田防效，因此，本研究筛选出的 4 种杀菌剂的田间防效还需进一步的大田验证。

参考文献

- [1] 李和平, 何炎森, 余松金. 20 份石斛兰资源形态学多样性研究[J]. 福建农业科技, 2021, 52(6): 15-21.
LI H P, HE Y S, YU S J. Research on morphological diversity of 20 *Dendrobium nobile* resources[J]. Fujian Agricultural Science and Technology, 2021, 52(6): 15-21. (in Chinese)
- [2] 陈心启, 吉占和. 中国兰花全书[M]. 北京: 中国林业出版社, 1998: 53-171.
CHEN X Q, JI Z H. The complete book of Chinese orchids[M]. Beijing: China Forestry Publishing House, 1998: 53-171. (in Chinese)
- [3] 席刚俊, 徐超, 史俊, 赵桂华. 石斛植物病害研究现状[J]. 山东林业科技, 2011, 41(5): 96-98, 95.
XI G J, XU C, SHI J, ZHAO G H. Study on the status of *Dendrobium* plants in China[J]. Shandong Forestry Science and Technology, 2011, 41(5): 96-98, 95. (in Chinese)
- [4] 李早文, 李汉文, 屈雪峰, 江南. 花小而雅致的澳洲鸢石石斛兰[J]. 花卉, 2020(9): 31-34.
LI Z W, LI H W, QU X F, JIANG N. *Dendrobium kingianum* with small elegant flowers[J]. Flowers, 2020(9): 31-34. (in Chinese)
- [5] 单会霖, 王华, 侯誉芬, 罗玲. 澳洲石斛设施栽培技术[J]. 现代农业科技, 2021(1): 160-162.
SHAN H L, WANG H, HOU Y F, LUO L. Facility cultivation techniques of *Dendrobium kingianum*[J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2021(1): 160-162. (in Chinese)
- [6] 张继鹏, 邢梦玉. 海南岛文心兰、石斛兰病虫害调查[J]. 华南热带农业大学学报, 2007, 13(4): 24-27.
ZHANG J P, XING M Y. Investigation on diseases and insect pests of *Oncidium hybridum* and *Dendrobium* in Hainan Island[J]. Journal of South China University of Tropical Agriculture, 2007, 13(4): 24-27. (in Chinese)
- [7] 曾宋君, 刘东明. 石斛兰的主要病害及其防治[J]. 中药材, 2003, 26(7): 471-474.
ZENG S J, LIU D M. The main diseases of *Dendrobium* and their control[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2003, 26(7): 471-474. (in Chinese)
- [8] 王国荣, 沈伟东, 孙超, 沈肖玲, 邱春英, 苏珍珠, 楼兵干. 铁皮石斛茎基部 2 种主要病害病原菌的分离与鉴定[J]. 植物保护, 2017, 43(1): 168-172.
WANG G R, SHEN W D, SUN C, SHEN X L, QIU C Y, SU Z Z, LOU B G. Isolation and identification of two main basal stem pathogens on *Dendrobium officinale*[J]. Plant Protection, 2017, 43(1): 168-172. (in Chinese)
- [9] 曹瑱艳, 杨怡华, 申屠旭萍, 俞晓平. 浙江省铁皮石斛根腐病病原真菌的鉴定[J]. 植物保护学报, 2020, 47(1): 178-186.
CAO Z Y, YANG Y H, SHEN T X P, YU X P. Identification of the pathogenic fungi of root rot of traditional medicinal *Dendrobium officinale* in Zhejiang province[J]. Journal of Plant Protection, 2020, 47(1): 178-186. (in Chinese)
- [10] 李梦娇. 铁皮石斛常见真菌病害的鉴定及复合菌剂的应用研究[D]. 昆明: 云南农业大学, 2017.
LI M J. Identification of common fungi diseases of *Dendrobium candidum* and study on the application of compound microorganism inoculant[D]. Kunming: Yunnan Agricultural University, 2017. (in Chinese)
- [11] 方中达. 植病研究方法[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 1998.
FANG Z D. Research methods of plant diseases[M]. 3rd ed. Beijing: China Agriculture Press, 1998. (in Chinese)
- [12] 谢学文, 赵昱榕, 孙雪莹, 石延霞, 柴阿丽, 李磊, 李宝聚. 番茄疫霉根腐病生防菌的分离鉴定及其防治效果[J]. 植物病理学报, 2020, 50(5): 610-617.
XIE X W, ZHAO Y R, SUN X Y, SHI Y X, CHAI A L, LI L, LI B J. Identification and control effect of a biocontrol bacterium against *Phytophthora* root rot of tomato[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2020, 50(5): 610-617. (in Chinese)
- [13] 李增辉. 安徽省大豆疫霉根腐病菌的分离、鉴定及致病型研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2015.
LI Z H. Isolation, identification and pathotypes of *Phytophthora sojae* in Anhui province[D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2015. (in Chinese)
- [14] 王洁菲. 花椒疫霉菌(*Phytophthora* spp.)鉴定及其拮抗菌筛选[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2014.
WANG J F. Identification of *Phytophthora* spp. parasiting on pricklyash and screening of antagonistic stains against *Phytophthora* spp.[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2014. (in Chinese)
- [15] 张云霞, 曾莎芮, 黄耀华, 陈灿钿, 程东美, 向梅梅. 白掌疫病菌病原菌的鉴定[J]. 热带作物学报, 2019, 40(6): 1171-1175.
ZHANG Y X, ZENG S R, HUANG Y H, CHEN C T, CHENG D M, XIANG M M. Pathogen identification of *Phytophthora* blight of *Spathiphyllum*[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2019, 40(6): 1171-1175. (in Chinese)
- [16] KROON L P N M, BAKKER F T, BOSCH VAN DEN G B M, BONANTS P J M, FLIER W G. Phylogenetic analysis of *Phytophthora* species based on mitochondrial and nuclear DNA sequences[J]. Fungal Genetics and Biology, 2004, 41(8): 766-782.
- [17] 郑小波. 疫霉菌及其研究技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997.
ZHENG X B. *Phytophthora* and its research techniques[M].

- Beijing: China Agriculture Press, 1997. (in Chinese)
- [18] 李静, 张敬泽, 吴晓鹏, 单卫星, 徐同. 铁皮石斛疫病及其病原菌[J]. 菌物学报, 2008, 27(2): 171-176.
- LI J, ZHANG J Z, WU X P, SHAN W X, XU T. The causal agent of *Dendrobium candidum* blight disease[J]. Mycosystema, 2008, 27(2): 171-176. (in Chinese)
- [19] 王晓阳. 14 种观赏植物 17 种真菌病害的病原鉴定[D]. 广州: 华南农业大学, 2016.
- WANG X Y. The identification of pathogens for 17 fungal diseases of 14 ornamental plants[D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2016. (in Chinese)
- [20] TAO Y H, HO H H, WU Y X, HE Y Q. *Phytophthora nicotianae* causing *Dendrobium* blight in Yunnan province, China[J]. International Journal of Plant Pathology, 2011, 2(4): 177-186.
- [21] TORRES G A, SARRIA G A, MARTINEZ G, VARON F, DRENTH A, GUEST D I. Bud rot caused by *Phytophthora palmivora*: a destructive emerging disease of oil palm[J]. Phytopathology, 2016, 106(4): 320-329.
- [22] DRENTH A, SENDALL B. Economic impact of *Phytophthora* diseases in Southeast Asia[M]//Diversity and management of *Phytophthora* in Southeast Asia. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research, 2004: 10-28.
- [23] GUEST D. Black pod: diverse pathogens with a global impact on cocoa yield[J]. Phytopathology, 2007, 97(12): 1650-1653.
- [24] 成家壮, 韦小燕. 广州地区观赏植物疫霉种的鉴定及交配型研究[J]. 热带作物学报, 1996, 17(2): 100-105.
- CHENG J Z, WEI X Y. Identification and mating types of *Phytophthora* species in ornamental plants in Guangzhou[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 1996, 17(2): 100-105. (in Chinese)
- [25] 安保贞, 林筑苹, 蔡志浓, 蔡惠玲. *Phytophthora palmivora* 引起之观赏植物疫病新纪录[J]. 植物医学, 2018, 60(3): 21-28.
- AN B Z, LIN Z P, CAI Z N, CAI H L. New record of *Phytophthora palmivora* in ornamental plants[J]. Plant Medicine, 2018, 60(3): 21-28. (in Chinese)
- [26] 程东美, 方小稳, 朱成礼, 张志祥, 周秀丽. 几种杀菌剂对一品红疫霉病菌的室内毒力测定和田间药效试验[J]. 仲恺农业工程学院学报, 2016, 29(1): 18-21.
- CHENG D M, FANG X W, ZHU C L, ZHANG Z X, ZHOU X L. Toxicity test and field control efficacy of several fungicides against *Phytophthora nicotianae* from *Euphorbia pulcherrima*[J]. Journal of Zhongkai University of Agriculture and Engineering, 2016, 29(1): 18-21. (in Chinese)
- [27] 王自然, 郭俊, 周东果, 李进学, 李晶, 杨石早, 高俊燕. 柠檬苗期一种新病害的病原鉴定及防治药剂的室内筛选[J]. 植物保护, 2012, 38(4): 166-170, 184.
- WANG Z R, GUO J, ZHOU D G, LI J X, LI J, YANG S Z, GAO J Y. Identification of pathogen of a new seedling disease on lemon and screening of fungicides[J]. Plant Protection, 2012, 38(4): 166-170, 184. (in Chinese)