

海南魔芋软腐病病害调查及病原生物学特性研究

郑肖兰^{1,2}, 罗磊^{1*}, 易克贤^{1,2**}, 吴伟怀¹, 梁艳琼¹, 谭施北¹

1. 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所/海南省院士团队创新中心/农业农村部热带农林有害生物入侵监测与控制重点开放实验室/海南省热带农业有害生物监测与控制重点实验室, 海口 571101; 2. 中国热带农业科学院三亚研究院, 海南三亚 572025

摘要: 魔芋 (*Amorphophallus* spp.) 是我国重要的药食同源经济作物, 然而其产业发展长期受软腐病威胁, 魔芋软腐病被称为魔芋的“癌症”。海南作为新兴魔芋种植区, 目前对魔芋软腐病病害流行规律及病原菌种群结构尚未明确, 严重制约产业可持续发展。本研究开展海南魔芋软腐病病害调查和病原菌分离鉴定, 旨在为海南魔芋软腐病高效绿色防控提供科学依据。对海南 6 个市(县)魔芋软腐病病害进行调查, 结果表明: 儋州试验场三队发病率最高 (46.01%), 文昌种植基地较低 (8.25%)。结合形态学、分子生物学 (16S rDNA、*proA*、*gapA* 和 *mdh* 多基因系统发育分析) 鉴定及病原菌分布调查, 发现病原菌为方中达迪基氏菌 (*Dickeya fangzhongdai*, 占 88.64%)、环状果胶杆菌 (*Pectobacterium aroidearum*, 占 6.82%) 和芋头果胶杆菌 (*P. colocasium*, 占 4.54%)。致病力测定显示, *D. fangzhongdai* 的致病力普遍高于其他病原菌; 室内药剂筛选表明, 0.3% 四霉素对 *D. fangzhongdai* 的抑制效果最佳, 最低抑制浓度 (MIC) 为 1.825 $\mu\text{g/mL}$, 80% 乙蒜素 (MIC 为 25 $\mu\text{g/mL}$) 和 25% 溴菌腈 (MIC 为 125 $\mu\text{g/mL}$) 次之。通过盆栽接种试验测定魔芋响应 *D. fangzhongdai* 侵染过程中相关防御性抗氧化酶与丙二醛的动态变化, 结果表明, 侵染 72 h 后, 超氧化物歧化酶 (SOD) 和过氧化物酶 (POD) 活性分别达 182.57 U/g 和 300.33 U/g, 分别比对照提高 2.27 倍和 7.03 倍; 过氧化氢酶 (CAT) 活性在 24 h 达峰值 (1093.67 U/g), 后期降至 658.01 U/g (72 h); 丙二醛 (MDA) 含量随侵染时间递增, 72 h 时较对照增加 30.51%, β -半乳糖苷酶 (β -GAL) 活性持续上升 [97 nmol/(min·g)], 比对照组增加 36.86%。

关键词: 魔芋; 软腐病; 分子鉴定; 生物学特性; 防御酶

中图分类号: S436.32

文献标志码: A

Investigation and Pathogen Biological Characteristics of Konjac Soft Rot in Hainan

ZHENG Xiaolan^{1,2}, LUO Lei^{1*}, YI Kexian^{1,2**}, WU Weihuai¹, LIANG Yanqiong¹, TAN Shibei¹

1. Institute of Environment and Plant Protection, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences / Hainan Academician Team Innovation Center / Key Laboratory of Monitoring and Control of Tropical Agricultural and Forestry Pests, Ministry of Agriculture and Rural Affairs / Hainan Key Laboratory of Tropical Agricultural Pest Monitoring and Control, Haikou, Hainan 571101, China; 2. Sanya Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Sanya, Hainan 572025, China

Abstract: Konjac (*Amorphophallus* spp.) is an important medicine and food economic crop in China, but its industrial development has long been threatened by soft rot disease, known as the konjac ‘cancer’. Hainan is an emerging konjac producing area, but the current epidemiological pattern of konjac soft rot disease and pathogenic bacteria population structure is not clarified. The study was aimed to carry out soft rot disease investigation, pathogen isolation and identification, and to provide a scientific basis for the control of the disease. The survey of konjac soft rot disease in six cities

收稿日期 2025-10-16; 接受日期 2025-12-20

基金项目 海南省重点研发计划项目 (No. ZDYF2024SHFZ043); 中国石化科技开发项目 (No. 224212); 海南省科技人才创新项目 (No. KJRC2023B18)。

作者简介 郑肖兰 (1976—), 女, 硕士, 副研究员, 研究方向: 植物病理学; *同等贡献作者: 罗磊 (1998—), 男, 硕士研究生, 研究方向: 农业资源与利用。**通信作者 (Corresponding author): 易克贤 (YI Kexian), E-mail: yikexian@126.com。

and counties in Hainan showed that the highest incidence rate (46.01%) was found in the third team of Danzhou Experimental Farm, while that of Wenchang planting base is low (8.25%). Combining morphology, molecular biology (*16S rDNA*, *proA*, *gapA* and *mdh* multigene phylogenetic analysis) identifications and distribution information of pathogens, *Dickeya fangzhongdai* (88.64% of the total), *Pectobacterium aroidearum* (6.82%) and *P. colocasium* (4.54%), were the cause of the disease. Pathogenicity assay showed that *D. fangzhongdai* was high pathogenicity, and indoor screening showed that 0.3% tetracycline had the best inhibitory effect on *D. fangzhongdai*, with the lowest inhibitory concentration (MIC) of 1.825 $\mu\text{g/mL}$, followed by 80% ethacrynicin (MIC of 25 $\mu\text{g/mL}$) and 25% bromoxynil (MIC of 125 $\mu\text{g/mL}$). The dynamic changes of defence antioxidant enzymes and malondialdehyde in konjac in response to *D. fangzhongdai* infestation were determined by pot inoculation experiment. The results showed that the activity of superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD) reached 182.57 U/g and 300.33 U/g, respectively, after 72 h of infestation, which was 2.27-fold and 7.03-fold higher than that of the control, while the activity of catalase (CAT) peaked at 24 h (1093.67 U/g) and decreased to 658.01 U/g in the later period (72 h). Malondialdehyde (MDA) content increased incrementally with infestation time and increased by 30.51% at 72 h compared to the control, and β -galactosidase (β -GAL) activity continued to rise [97 nmol/(min·g)] and increased by 36.86% compared to the control.

Keywords: konjac; soft rot; molecular identification; biological characteristics; defense enzyme

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2026.03.016

魔芋 (*Amorphophallus* spp.) 属于天南星科 (Araceae) 魔芋属 (*Amorphophallus*), 作为传统药食同源经济作物, 其块茎不仅富含优质淀粉及高于薯类作物的蛋白质, 更含有人体必需氨基酸、微量元素及活性物质。其中特有的葡甘聚糖 (KGM) 作为水溶性多糖的一种天然高分子膳食纤维, 兼具凝胶、增稠等特性, 被联合国卫生组织列为全球性十大保健食品之一^[1-2]。

然而, 随着魔芋种植规模的扩大, 病害问题日益突出, 尤其是魔芋软腐病, 具有高发病率、强传染性和大面积爆发的特点, 常导致魔芋植株叶片、叶柄及球茎腐烂, 严重影响魔芋的产量和品质, 给魔芋产业造成毁灭性打击, 增加了农民的种植风险, 导致严重经济损失^[3-7]。该病在 6—7 月进入始发期, 7—8 月达流行高峰, 具有全生育期侵染特点, 可导致地上部叶片萎蔫、叶柄腐烂, 及地下块茎液化腐败并散发恶臭^[8]。出苗期染病表现为苗尖畸形、叶柄与种芋同步腐烂; 生长期叶柄基部水渍状软腐致植株倒伏, 叶片出现油浸状病斑伴菌脓, 病菌经维管束蔓延至块茎引发湿腐, 终致全株枯死。该病在我国四川、云南、湖北等主产区普遍发生^[9], 常造成减产 30%~50%, 重病田损失可达 80% 以上。

魔芋软腐病主要病原菌为肠杆菌科的果胶杆菌属 (*Pectobacterium*) 和迪基氏菌属 (*Dickeya*) 细菌, 我国已报道种类包括 *P. carotovorum*、*P. aroidearum* 和 *D. fangzhongdai* 等, 其分布存在地域差异, 如陕南以 *P. carotovorum* 为主, 贵州、湖北等地则常见 *P. aroidearum* 与 *D. fangzhong-*

dai^[10]。病原菌致病性与其群体感应 (QS) 系统密切相关, 该系统通过 N-酰基高丝氨酸内酯 (AHLs) 信号分子调控果胶酶等细胞壁降解酶的合成, 从而破坏植物组织^[11]。海南作为我国魔芋产业的一个新兴重要产区, 有关软腐病病原菌种类、分布及致病机理的研究却鲜有报道^[3], 亟待系统研究。

本研究通过调查海南魔芋主要产区软腐病发病情况, 采集病样, 进行病原菌的分离、鉴定及其生理生化特性测定, 以及致病力和药剂敏感性测定等。在明确病原菌种类及其地理分布特征的基础上, 通过盆栽接种试验, 解析魔芋响应病原侵染的生理生化指标的动态变化, 深化魔芋与病原菌互作的理论认知, 为魔芋软腐病的防控奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

2023 年 9 月—2025 年 8 月, 对海南魔芋种植主要产区: 海口市、儋州市、琼海市、文昌市、白沙县、保亭县进行软腐病病害调查, 并采集样本, 标明样地详细信息, 带回实验室后进行分离、纯化和鉴定。

主要试剂: 70%乙醇、0.1%升汞、E. Z. N. A Fungal DNA kit 试剂盒、琼脂糖、DNA marker、全式金感受态细胞、pMD18t 载体等。超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD)、过氧化氢酶 (CAT)、 β -半乳糖苷酶 (β -GAL)、丙二醛 (MDA) 试剂盒均购自苏州格锐思生物科技有限公司。

培养基^[12]：固体 LB 培养基(酵母提取物 5 g、胰蛋白胨 10 g、氯化钠 10 g、琼脂粉 17.5 g、去离子水 1000 mL)；液体 LB 培养基(酵母提取物 5 g、胰蛋白胨 10 g、氯化钠 10 g、去离子水 1000 mL)等。

本研究使用的引物见表 1。

表 1 所用引物
Tab. 1 Primers used

基因 Gene	引物 Primer	引物序列 (5'-3') Primer sequence (5'-3')	片段长度 Fragment length/bp
<i>proA</i>	proAF1	CGGAATGCGGTGATTC TGCG	720
	proARI	GGGTACTGACCGCCAC TTC	
<i>Mdh</i>	mdh86F	CCCAGCTTCCTTCAGG TTCAGA	500
	mdh628R	CTGCATTCTGAATACG TTTGGTCA	
<i>gapA</i>	gapA326F	ATCTTCCTGACCGACG AAACTGC	450
	gapA845R	ACGTCATCTTCGGTGT AACCCAG	

1.2 方法

1.2.1 魔芋软腐病病害调查 2023 年 9 月—2025 年 8 月，在海南魔芋种植区儋州两院试验场、儋州和庆镇、海口琼山区三门坡、保亭什玲镇、白沙打安镇、文昌文教镇和琼海万全镇，通过定点调查、随机抽样调查等方法，依据五点取样法，每块地选择 5 个小区，每个小区选择 40 株魔芋，调查发病部位、发病症状等，同时对经典的发病症状进行拍照，然后取样品于 4℃ 保存，用于病原菌的分离、纯化。

1.2.2 病原菌分离纯化 将从田间带回的魔芋病样(叶片和叶柄等) 组织清洗干净，使用 0.1% 升汞先浸泡 30 s，然后用 75% 乙醇清洗 30 s，再用无菌水清洗 3 次，每次 30 s；将已清洗的组织转移至灭菌的小研磨钵中，加入 1 mL 无菌水进行研磨；将研磨后的液体用十倍稀释法进行稀释，吸取 100 μL 液体在固体 LB 培养基中涂板，晾干；将平板置于 28℃ 培养箱中，静置 20 h，待平板长出细菌后，挑取单菌落转接至新的培养基中，纯化 3 次。将纯化后获得的菌株接种到液体 LB 培养基中，于 28℃，180 r/min 摇菌 24 h，取 800 μL 菌液混合在 800 μL 灭菌的 40% 甘油中，于 -80℃

冰箱中保存，备用。

1.2.3 病原菌致病性测定 将 1.2.2 的分离菌株转接至固体 LB 培养基中活化，挑取单菌落接种至液体 LB 培养基中，于 28℃，180 r/min，培养 16 h。将菌液浓度稀释为 1×10⁸ CFU/mL。用灭菌手术刀将健康魔芋块茎切成 40 mm×40 mm×20 mm 的小块，取 10 μL 菌液接种至小块茎，保湿，置于 28℃ 温室中培养 24 h，以无菌水处理作为对照，观察发病情况，拍照记录，将发病的块茎病原菌进行分离、纯化；同时进行活体植株接种试验，将 100 μL 菌液注射接种至健康魔芋植株叶柄部位，置于 28℃ 温室中，观察、记录发病情况，再从发病组织中重新分离、纯化病原菌，以无菌水处理作为对照，试验重复 3 次。

1.2.4 病原菌形态鉴定 将纯化的病原菌接种至固体 LB 培养基，在 28℃ 培养箱中静置 24 h 后，观察菌落形态，参照《常见细菌系统鉴定手册》^[13] 进行革兰氏染色，利用扫描电镜观察菌体形态。

1.2.5 病原菌分子鉴定 (1) 病原菌 DNA 提取。挑取病原菌单菌落接种于液体 LB 培养基中，于 28℃，180 r/min 振荡培养过夜，离心、收集菌体，参照 E. Z. N. A Fungal DNA ki 试剂盒说明书，提取细菌总 DNA。

(2) 管家基因及 16S rDNA 基因克隆测序。参考孙苗苗^[14]和周雪^[15]的方法，稍作调整，对提取的总 DNA 进行三对管家基因和 16S rDNA 基因的 PCR 扩增，扩增体系：上下游引物各 1 μL、总 DNA 2 μL、Taq 聚合酶 12.5 μL 和 ddH₂O 8.5 μL，共 25 μL，扩增程序见表 2；通过电泳检测 PCR 扩增产物，并筛选正确条带进行连接转化，连接载体为 pMD18t，连接体系：PCR 产物 4 μL、soul 5 μL 和载体 1 μL。转化后，挑取单菌落进行阳性克隆检测，将含有外源片段的质粒送至华大基因生物科技有限公司进行双向测序。

1.2.6 系统发育树的构建 将测得的序列使用 DNAMAN 进行拼接，然后在 NCBI blast 页面(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 进行比对，找到相应的物种，从数据库中选取相似度较高的序列，进行多序列比对，并使用 MEGA 11 软件进行单基因及基于 *proA*、*gapA* 和 *mdh* 的多基因构建系统发育树。

1.2.7 对病原菌进行 Biolog 生理生化测定 基于 Biolog GEN III OmniLog Plus 系统，对病原菌进行生化特性鉴定。菌株活化：将菌株接种于 LB

表 2 PCR 反应程序
Tab. 2 PCR reaction program

基因 Gene	预变性 Pre-degeneration	变性 Denaturation	退火 Annealing	延伸 Extension	再延伸 Re-extension	循环数 Cycle number
<i>proA</i>	95 ℃, 3 min	94 ℃, 1 min	54 ℃, 45 s	72 ℃, 1.5 min	72 ℃, 10 min	35
<i>mdh</i>	95 ℃, 3 min	94 ℃, 1 min	54 ℃, 45 s	72 ℃, 1.5 min	72 ℃, 10 min	35
<i>gapA</i>	95 ℃, 4 min	94 ℃, 40 s	55 ℃, 45 s	72 ℃, 1 min	72 ℃, 10 min	35
<i>16S rDNA</i>	95 ℃, 4 min	94 ℃, 40 s	55 ℃, 45 s	72 ℃, 1min	72 ℃, 7 min	30

固体培养基，连续活化 2 次；挑取单菌落转接至 BUG 培养基，于 28 ℃ 培养 24~48 h。菌悬液制备：以 IF-A 培养液校准浊度仪至透光度为 100%，挑取单菌落悬浮于培养液中，调节浊度至 92%~97%；微孔板加样：将菌悬液注入“V”型加样槽，使用 8 道移液枪按 100 μL/孔加入 GEN III 96 孔板，于 28 ℃ 培养 24 h。数据采集：通过 OmniLog 系统读取生化反应数据，分析 95 种碳源利用情况。

1.2.8 病原菌致病力测定 从-80 ℃ 冰箱中取出保存的病原菌，活化，从中挑取单菌落，接种到 LB 液体培养基中，在 28 ℃ 摇床中，以 180 r/min 的条件下震荡培养 24 h。使用无菌水将菌液浓度稀释至 1×10⁸ CFU/mL，吸取 5 μL 菌液接种至灭菌的健康珠芽魔芋块茎（40 mm×40 mm×20 mm）中央。以接种无菌水作为对照，置于 28 ℃ 培养箱中，培养 20 h 后观察魔芋块茎的腐烂程度，测量病斑直径。分级标准参考黄露等^[10]的方法：病斑直径<20 mm，为低致病力（L）；20 mm≤病斑直径≤30 mm，为中等致病力（M）；病斑直径>30 mm，为高致病力（H）。

1.2.9 病原菌生长曲线测定 从-80 ℃ 冰箱中取出保存的病原菌，活化，从中挑取单菌落，接种到 LB 液体培养基中，在 28 ℃ 摇床中，在 180 r/min 的条件下震荡培养 24 h 作为母液，将母液稀释至 1×10⁸ CFU/mL，吸取 1 mL 母液至 100 mL 液体 LB 培养基中，于 28 ℃，180 r/min 培养 24 h，每隔 1 h 吸取 200 μL 菌液，测定 OD₆₀₀ 值，每个处理重复 3 次。

1.2.10 不同 pH 对病原菌的影响 从-80 ℃ 冰箱中取出保存的病原菌，活化，从中挑取单菌落，接种到 pH 为 4~10 的不同 LB 液体培养基中，在 28 ℃ 摇床中，在 180 r/min 的条件下震荡培养 24 h 作为母液，将母液稀释至 1×10⁸ CFU/mL，吸取 1 mL 母液至不同液体 LB 培养基中，于 28 ℃，180 r/min 培养 24 h，吸取 200 μL 菌液，测定 OD₆₀₀ 值，每个处理重复 3 次。

1.2.11 病原菌室内药剂筛选和最低抑制浓度（MIC）测定 在中国农药信息网数据中心（<http://w.icama.cn/zwb/dataCenter>）查找防治软腐病和细菌性病害的相关药剂，选择使用的杀菌剂见表 3。使用平板抑菌圈法进行药剂筛选，配置病原菌母液（方法同 1.2.9），吸取 100 μL 母液至 LB 固体培养基中进行涂板，在超净工作台中晾干，使用镊子将灭菌 6 mm 滤纸片置于平板表面呈等边三角形分布的 3 个点中。将杀菌剂分别稀释 500 倍和 1000 倍，分别吸取 10 μL 药剂滴加至培养基中的滤纸片上，以无菌水处理作为对照，于 37 ℃，培养 16 h 后，采用十字交叉法测量抑菌圈直径，计算抑菌率。每组试验重复 3 次。

$$\text{抑菌率} = \frac{\text{处理抑菌圈直径} - \text{对照抑菌圈直径}}{\text{处理抑菌圈直径}} \times 100\%$$

细菌最低抑制浓度（MIC）的测定参考文献[16]。挑取单菌落接种至 LB 液体培养基中，培养至对数生长期，将药剂按浓度梯度稀释，在 96 孔板中，第 1 列加入 200 μL 最高浓度药剂母液，后续各列加入 100 μL 无菌培养基，从第 1 列取 100 μL 液体转移至第 2 列混匀（2 倍稀释），依次稀释至第 11 列，第 12 列为阴性对照（仅培养基+菌液）。每孔加入 100 μL 稀释后的菌悬液。设置空白对照（仅培养基+药物，无菌液）和阳性对照（仅菌液，无药物）。覆盖无菌膜，置于 37 ℃ 恒温培养箱培养 24 h。肉眼观察各孔是否澄清，液体澄清，则完全抑制，无可见菌生长；液体浑浊，则未抑制，有菌生长。MIC 值为在该试验条件下完全抑制细菌生长的最低药物浓度。

1.2.12 魔芋对 *Dickeya fangzhongdai* 侵染的生理生化指标测定 将活化后的菌株 DZ16（*D. fangzhongdai*）接种至 LB 液体培养基中，摇床培养 16 h，然后用无菌水稀释至 1×10⁸ CFU/mL 用于注射接种。挑选健康珠芽魔芋植株，在其叶柄基部 1~2 cm 处使用无菌注射器（带针头）注射接种 100 μL 病原菌菌液，以接种等量无菌水作为对照。

表 3 药剂信息
Tab. 3 Pharmaceutical information

序号 No.	药品名称 Drug name	有效成分及剂型 Active ingredient and dosage form	生产厂家 Manufacturer
1	四霉素	0.3%四霉素水剂	辽宁微科生物工程股份有限公司
2	溴菌腈	25%溴菌腈微乳剂	江苏托球农化股份有限公司
3	噻霉酮	1.5%噻霉酮水乳剂	陕西西大华特科技实业有限公司
4	中生菌素	3%中生菌素可溶液剂	福建凯立生物制品有限公司
5	乙蒜素	80%乙蒜素乳油	开封大地农化生物科技有限公司
6	辛菌胺醋酸盐	1.8%辛菌胺醋酸盐水剂	河北神华药业有限公司
7	溴硝醇	20%溴硝醇悬浮剂	辽宁省丹东市农药总厂
8	氯溴异氰尿酸	50%氯溴异氰尿酸可溶性粉剂	河南银田精细化工有限公司
9	噻森铜	20%噻森铜悬浮剂	浙江东风化工有限公司
10	氢氧化铜	46%氢氧化铜水分散粒剂	澳大利亚纽发姆有限公司
11	丁子香酚	0.3%丁子香酚可溶液剂	山东亿嘉农化有限公司
12	宁南霉素	8%宁南霉素水剂	德强生物股份有限公司

根据前期接种试验，确定病原侵染的关键时期，对接种后 24、48、72 h 的处理组与 0 h 的对照组进行取样，每个处理设置 3 个生物学重复和 3 个技术重复。取样部位为接种位置上下 1~2 cm 处的叶柄组织，取样后立即投入液氮中，然后置于 -80 ℃ 冰箱保存，备用。根据试剂盒说明书测定 SOD、POD、CAT、β-GAL 活性和 MDA 含量。

1.3 数据处理

采用 Microsoft Excel 2016 软件处理试验数据；使用 IBM SPSS Statistics 26.0 软件的 Duncan’s 新复极差法进行方差分析 ($P < 0.05$)；使用 Origin 2021 Pro 和 Graphpad Prism 软件制图。

2 结果与分析

2.1 病害调查结果

通过对海南省魔芋主产区软腐病病害的调查，结果表明，海南省魔芋主要种植于遮阴网大棚、橡胶林和光伏板下，以珠芽魔芋为主，该品种的软腐病呈单株零星发生；而花魔芋和白魔芋软腐病则成片发生，严重时可导致植株全部死亡，其他魔芋品种在海南省种植较少，仅在儋州发现少量疣柄魔芋，且调查时未见其发生软腐病（表 4）。发病率统计结果发现，儋州试验场三队发病率最高（46.01%），文昌种植基地较低（8.25%）。

表 4 海南省魔芋软腐病发病情况
Tab. 4 Incidence of konjac soft rot in Hainan

地区 Region	主栽品种发病情况 Incidence of main cultivation varieties				种植情况 Planting status
	珠芽魔芋 <i>A. bulbifer</i>	花魔芋 <i>A. konjac</i>	白魔芋 <i>A. albus</i>	其他品种 Other varieties	
海口	单株零星发生	—	—	—	大棚
琼海	单株零星发生	—	—	—	大棚、橡胶林、光伏板下
文昌	单株零星发生	—	—	—	大棚
儋州	单株零星发生	成片发生	成片发生	疣柄魔芋，未见发病	大棚、橡胶林下
保亭	单株零星发生	—	—	—	大棚
白沙	单株零星发生	—	—	—	大棚
白沙	单株零星发生	—	—	—	大棚

注：—表示未见种植。
Note: — represents no planting observed.

2.2 病原菌的分离、纯化与致病性测定

魔芋软腐病的田间症状表现为：发病早期，叶柄基部出现暗绿色水渍状纵长条纹，逐渐软化，

凹陷成沟槽状；中期叶柄基部完全软腐，失去支撑力，植株从茎基部折断倒伏，但倒伏的叶片仍保持绿色，病菌沿维管束向上蔓延，导致叶片萎

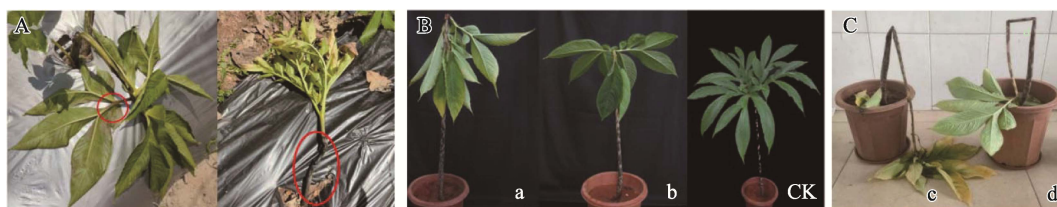
蔫黄化。叶片感病时,首先在边缘或叶尖出现墨绿色油渍状不规则病斑,沿叶脉向两侧呈放射状扩展;湿度高时,病斑表面溢出黄色脓状菌液,使流经处的组织迅速腐烂(图 1A)。

共采集 280 份样品,并从采集的样品中分离出 225 株细菌进行科赫法则验证,选取接种 3 d 后叶柄出现明显软腐病现象、叶片垂下有水渍(图 1B),且接种 5 d 后整株变黄腐烂、散发恶臭味(图 1C)菌株,最终选取 44 株接种后发病症状与田间魔芋软腐病症状表现一致的菌株,进一步开展相关研究。

2.3 病原菌分子鉴定

2.3.1 单基因的分子鉴定分析 采用 *16S rDNA*、*proA*、*mdh* 和 *gapA* 基因对 44 个致病菌株进行 PCR 扩增,可扩增片段大小分别约为 1500、720、450、

500 bp,图 2 是其中 24 个软腐病致病菌株的电泳图(约 1500 bp)。经转化连接,克隆目的基因后送测序。通过序列拼接和比对,挑选部分菌株构建系统发育树(图 3A),结果表明,菌株 QH15 和 BT10 与已报道的芋头果胶杆菌(*Pectobacterium colocasium* MT27-1, CP140126.1)相似性最高,该菌株在海南魔芋尚未见报道;菌株 BT16 和 BT20 与环状果胶杆菌(*P. aroidearum* QJ315, CP-090590.1)相似性最高,其余菌株均与方中达迪基氏菌(*Dickeya fangzhongdai*)相似性最高(由于比对结果相同,因此,仅选取其中的 4 个菌株作为代表菌株)。海南魔芋软腐病主要病原菌初步鉴定为 *Pectobacterium* spp. 和 *Dickeya* spp., 与崔双^[5]的研究结果一致。



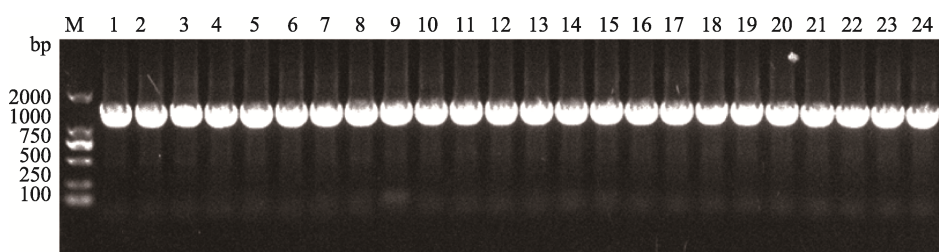
A: 大田发病症状; B、C: 科赫法则验证, a 为接种菌株 DZ16 3 d 后的发病症状, b 为接种菌株 BT20 3 d 后发病症状,

CK 为无菌水对照植株, c 为接种菌株 DZ16 5 d 后的发病症状, d 为接种菌株 BT20 5 d 后发病症状。

A: Symptoms of naturally infected plants under field conditions; B, C: Koch's Law Verification Test, a represents the symptoms of the disease 3 days after inoculation with strain DZ16, b represents the symptoms of the disease 3 days after inoculation with strain BT20, CK was the control plant injected with sterile water, c is the symptoms of the disease 5 days after inoculation with strain DZ16, d is the symptoms of the disease 5 days after inoculation with strain BT20.

图 1 魔芋软腐病症状

Fig. 1 Symptoms of konjac soft rot



M: DL200 DNA marker; 1~24: 软腐病致病菌株。

M: DL200 DNA marker; 1~24: Pathogenic strains of konjac soft rot.

图 2 16S rDNA 部分电泳图

Fig. 2 Partial electrophoresis image of 16S rDNA

2.3.2 多基因序列分析 对分离获得的 44 个菌株基因组的 3 个管家基因进行序列拼接比对,构建基于 *proA*、*mdh* 和 *gapA* 的多基因联合系统发育树(图 3B)。结果表明,其中 DZ36、BT24、QH31 等 39 个菌株聚在同一个分支且同源性较高,均属于 *D. fangzhongdai*; 菌株 BT20 和 BT16 聚在同一个分支,属于 *P. aroidearum*; 菌株 BT10

和 QH15 聚在同一个分支,属于 *P. colocasium*,与 2.3.1 中单基因发育树分析的结果一致。

通过对病原菌进行分离鉴定,发现海南魔芋软腐病病原菌有 3 种: *Dickeya fangzhongdai*、*Pectobacterium aroidearum* 和 *P. colocasium*, 其中 *D. fangzhongdai* 为主要病原菌,占 88.64%; 分布最为广泛,每个种植区均能分离到; *P. aroidearum*

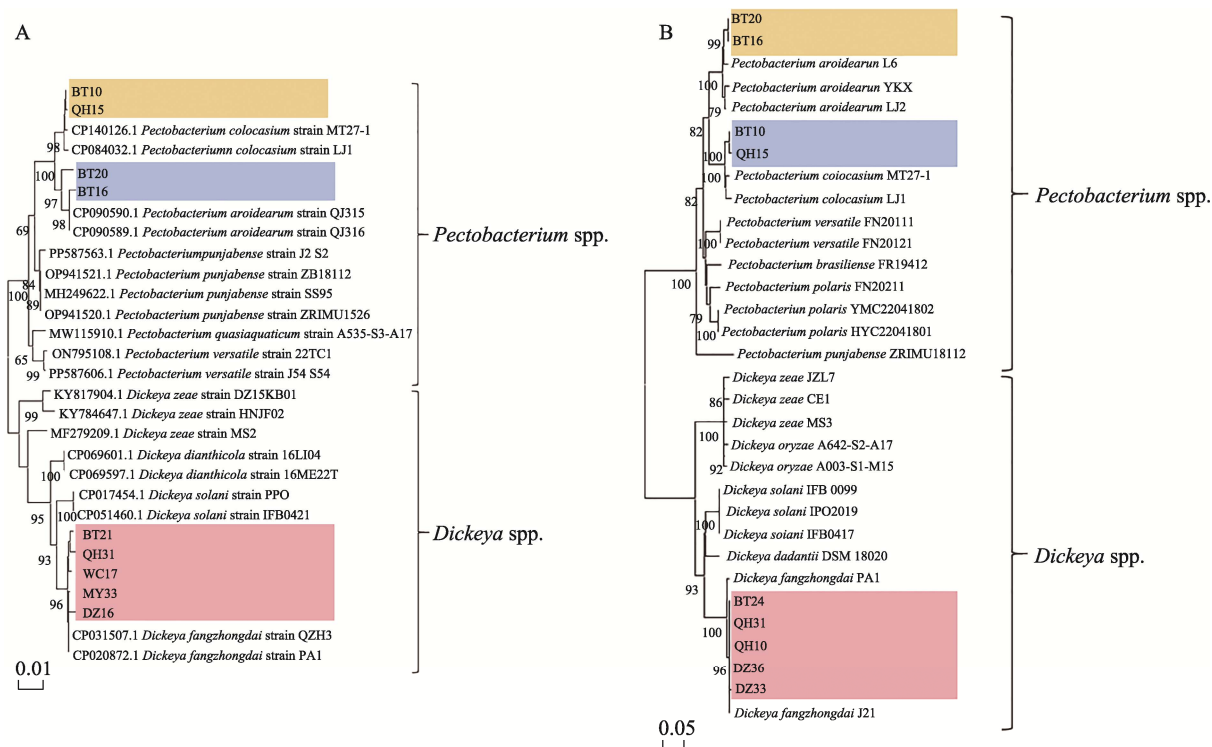


图 3 基于 16S rDNA 单基因 (A) 及基于 *proA*、*mdh* 和 *gapA* 多基因联合系统发育树 (B)
Fig. 3 Phylogenetic tree based on 16S rDNA (A) and the combined phylogenetic tree based on *proA*, *mdh* and *gapA* (B)

占 6.82%，仅分布在儋州市和保亭县；*P. colocasium* 占 4.54%，仅分布在保亭县和琼海市（表 5）。

2.4 病原菌的形态学测定

从 44 个菌株中挑选具有代表性的主要致病菌 *D. fangzhongdai* 及 2 个不同种的致病菌（*P. aroidearum* 和 *P. colocasium*）进行形态学鉴定，所选菌株分别为 BT20（*P. aroidearum*）、BT10（*P.*

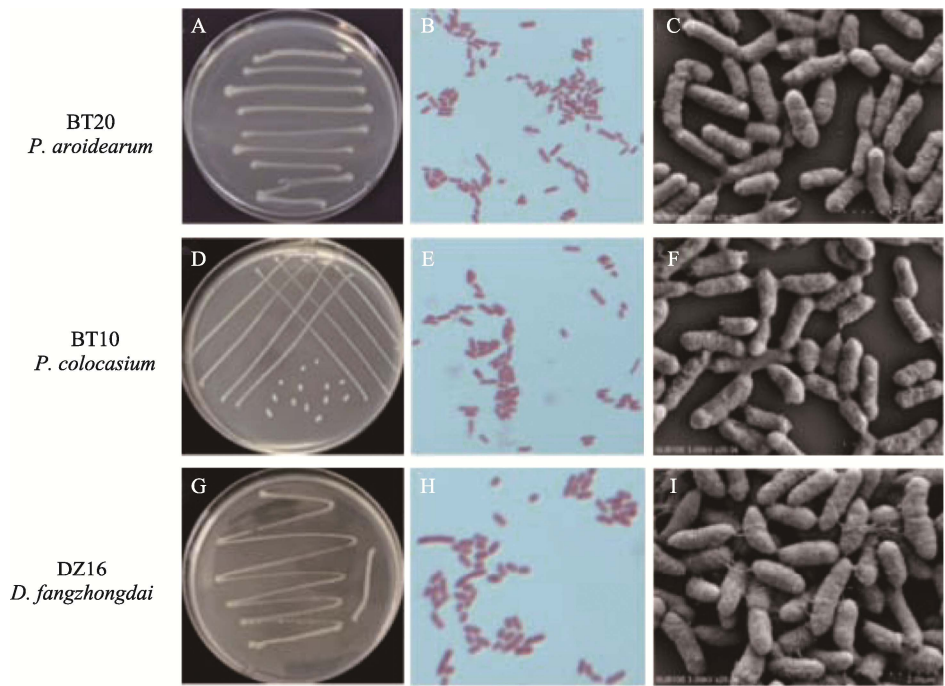
colocasium）和 DZ16（*D. fangzhongdai*）。在 LB 固体培养基上，3 个菌株的菌落形态相似，均呈乳白色、半透明的圆形，菌落中央隆起，表面光滑，边缘整齐；革兰氏染色结果均为阴性；扫描电镜观察显示，三者菌体形态呈短杆状，两头稍钝圆，菌株 DZ16 的尺寸略大于 BT20 和 BT10（图 4）。

表 5 病原菌分布信息表
Tab. 5 Distribution information of pathogens

菌株 Strain	来源 Source	病原菌种类 Pathogenic bacteria species	菌株 Strain	来源 Source	病原菌种类 Pathogenic bacteria species
DZ1	儋州	<i>D. fangzhongdai</i>	BT4	保亭	<i>D. fangzhongdai</i>
DZ24	儋州	<i>D. fangzhongdai</i>	BT10	保亭	<i>P. colocasium</i>
DZ33	儋州	<i>D. fangzhongdai</i>	BT14	保亭	<i>D. fangzhongdai</i>
DZ16	儋州	<i>D. fangzhongdai</i>	BT16	保亭	<i>P. aroidearum</i>
DZ23	儋州	<i>P. aroidearum</i>	BT20	保亭	<i>P. aroidearum</i>
HK6	海口	<i>D. fangzhongdai</i>	BT21	保亭	<i>D. fangzhongdai</i>
HK25	海口	<i>D. fangzhongdai</i>	BT23	保亭	<i>D. fangzhongdai</i>
BS1	白沙	<i>D. fangzhongdai</i>	BT24	保亭	<i>D. fangzhongdai</i>
BS2	白沙	<i>D. fangzhongdai</i>	BT27	保亭	<i>D. fangzhongdai</i>
BS6	白沙	<i>D. fangzhongdai</i>	DZ59	儋州	<i>D. fangzhongdai</i>
BS12	白沙	<i>D. fangzhongdai</i>	DZ44	儋州	<i>D. fangzhongdai</i>
BT1	保亭	<i>D. fangzhongdai</i>	DZ50	儋州	<i>D. fangzhongdai</i>
BT2	保亭	<i>D. fangzhongdai</i>	DZ28	儋州	<i>D. fangzhongdai</i>

续表 5 病原菌分布信息表
Tab. 5 Distribution information of pathogens (continued)

菌株 Strain	来源 Source	病原菌种类 Pathogenic bacteria species	菌株 Strain	来源 Source	病原菌种类 Pathogenic bacteria species
QH1	琼海	<i>D. fangzhongdai</i>	QH36	琼海	<i>D. fangzhongdai</i>
QH4	琼海	<i>D. fangzhongdai</i>	WC6	文昌	<i>D. fangzhongdai</i>
QH10	琼海	<i>D. fangzhongdai</i>	WC7	文昌	<i>D. fangzhongdai</i>
QH15	琼海	<i>P. colocasium</i>	WC11	文昌	<i>D. fangzhongdai</i>
QH22	琼海	<i>D. fangzhongdai</i>	WC15	文昌	<i>D. fangzhongdai</i>
QH28	琼海	<i>D. fangzhongdai</i>	WC17	文昌	<i>D. fangzhongdai</i>
QH31	琼海	<i>D. fangzhongdai</i>	WC19	文昌	<i>D. fangzhongdai</i>
QH32	琼海	<i>D. fangzhongdai</i>	WC20	文昌	<i>D. fangzhongdai</i>
QH35	琼海	<i>D. fangzhongdai</i>	WC22	文昌	<i>D. fangzhongdai</i>



左图为 LB 平板培养特征；中间为革兰氏染色图（100×）；右图为扫描电镜图（2000×）。
The left figures show the characteristics of LB plate culture; The middle figures show Gram staining images (100×);
The right figures show the scanning electron microscopy images (2000×).

图 4 3 个致病菌株的形态特征

Fig. 4 Morphological characteristics of three pathogenic strains

2.5 病原菌 Biolog 生理生化特性

选取具有代表性的菌株 DZ16 (*D. fangzhongdai*) 和 BT10 (*P. colocasium*) 进行 Biolog 生理生化测定，结果表明，二者均能利用以下物质：D-纤维二糖、龙胆二糖、蔗糖、 α -D-乳糖、 β -甲基-D-葡萄糖苷、D-水杨苷、N-乙酰-D-葡萄糖胺、 α -D-葡萄糖、D-甘露糖、D-半乳糖、粘液酸、D-葡糖二酸、万古霉素、四唑紫、四唑蓝、柠檬酸、L-羟基丁二酸、1%乳酸钠、D-甘露醇、肌醇、丙三醇、D-葡萄糖-6-磷酸、D-果糖-6-磷酸、D-天冬氨酸、利福霉素 SV、L-天门冬氨酸、L-丝氨酸、

林可霉素、硫酸四癸钠、半乳糖醛酸、L-半乳糖酸、D-葡萄糖酸和氯化锂（表 6）。

2.6 病原菌致病力测定

对分离的 44 株魔芋软腐病菌株进行致病力测定，结果显示，所有菌株均表现出中等致病力及以上水平，其中，菌株 DZ16、BS1、BS6、BS12、DZ59、QH28 和 WC20 的致病力最强，病斑直径为 40.0 mm，均为 *D. fangzhongdai*；菌株 BT14、DZ1、BT16、BT1、DZ33、DZ28、BT24、QH22 和 BT23 均为中等致病力；其余菌株均为高致病力，病斑直径均大于 30.0 mm（表 7）。

表 6 2 株病原菌的 Biolog 生理生化测定结果
Tab. 6 Biolog physiological and biochemical results of two pathogenic strains

编号 No.	项目 Item	BT10	DZ16	编号 No.	项目 Item	BT10	DZ16
A1	阴性对照	—	—	C9	肌苷	—	—
A2	葡聚糖	W	W	C10	1%乳酸钠	+	+
A3	D-麦芽糖	—	W	C11	梭链孢酸	+	W
A4	D-海藻糖	+	W	C12	D-丝氨酸	—	—
A5	D-纤维二糖	+	+	D1	D-山梨醇	—	W
A6	龙胆二糖	+	+	D2	D-甘露醇	+	+
A7	蔗糖	+	+	D3	D-阿糖醇	—	—
A8	D-松二糖	—	—	D4	肌醇	+	+
A9	水苏糖	—	W	D5	丙三醇	+	+
A10	阳性对照	+	+	D6	D-葡萄糖-6-磷酸	+	+
A11	pH6	+	+	D7	D-果糖-6-磷酸	+	+
A12	pH5	W	W	D8	D-天冬氨酸	+	+
B1	D-蜜三糖	W	+	D9	D-丝氨酸	—	—
B2	α -D-乳糖	+	+	D10	醋竹桃霉素	W	W
B3	D-蜜二糖	W	+	D11	利福霉素 SV	+	+
B4	β -甲基-D-葡萄糖苷	+	+	D12	二甲胺四环素	—	—
B5	D-水杨苷	+	+	E1	明胶	—	W
B6	N-乙酰-D-葡萄糖胺	+	+	E2	甘氨酸-L-脯氨酸	—	W
B7	N-乙酰- β -D-甘露糖胺	—	W	E3	L-丙氨酸	W	W
B8	N-乙酰-D-半乳糖胺	—	—	E4	L-精氨酸	—	—
B9	N-乙酰甘露糖胺丙酮酸	—	—	E5	L-天门冬氨酸	+	+
B10	1% NaCl	+	+	E6	L-谷氨酸	W	W
B11	4% NaCl	+	W	E7	L-组氨酸	—	—
B12	8% NaCl	W	—	E8	L-焦谷氨酸	—	—
C1	α -D-葡萄糖	+	+	E9	L-丝氨酸	+	+
C2	D-甘露糖	+	+	E10	林可霉素	+	+
C3	D-果糖	+	W	E11	盐酸胍	W	W
C4	D-半乳糖	+	+	E12	硫酸四癸钠	+	+
C5	3-甲基葡萄糖	—	—	F1	果胶	W	+
C6	D-岩藻糖	—	—	F2	半乳糖醛酸	+	+
C7	L-岩藻糖	—	—	F3	L-半乳糖酸	+	+
C8	L-鼠李糖	W	—	F4	D-葡萄糖酸	+	+
F5	葡萄糖醛酸	+	W	G9	溴代琥珀酸	W	W
F6	葡萄糖酰胺	W	W	G10	茶啉酮酸	—	—
F7	粘液酸	+	+	G11	氯化锂	+	+
F8	奎尼酸	—	—	G12	亚碲酸钾	—	—
F9	D-葡糖二酸	+	+	H1	吐温 40	—	—
F10	万古霉素	+	+	H2	γ -氨基丁酸	—	—
F11	四唑紫	+	+	H3	α -羟基丁酸	—	—
F12	四唑蓝	+	+	H4	β -羟基丁酸	—	—
G1	对羟基苯乙酸	—	—	H5	α -丁酮酸	—	—
G2	丙酮酸盐	W	+	H6	乙酰乙酸	W	—
G3	D-乳酸甲酯	—	—	H7	丙酸	—	—
G4	L-乳酸	—	+	H8	醋酸	W	+
G5	柠檬酸	+	+	H9	甲酸	W	W
G6	α -酮戊二酸	—	—	H10	氨基南	—	—
G7	D-羟基丁二酸	—	+	H11	丁酸钠	+	W
G8	L-羟基丁二酸	+	+	H12	溴酸钠	—	—

注：+为阳性；W 为弱阳性；—为阴性
Note: + is positive; W is weakly positive; — is negative.

表 7 不同病原菌致病力测定结果
Tab. 7 Results of pathogenicity of different pathogens

菌株 Strain	病斑直径 Diameter of the lesion/mm	致病力等级 Pathogenicity class	菌株 Strain	病斑直径 Diameter of the lesion/mm	致病力等级 Pathogenicity class
DZ16	40.0	H	HK6	34.7	H
BS1	40.0	H	QH31	34.2	H
BS6	40.0	H	QH32	34.2	H
BS12	40.0	H	QH10	33.8	H
DZ59	40.0	H	DZ50	33.6	H
QH28	40.0	H	BT10	33.5	H
WC20	40.0	H	HK25	33.2	H
WC15	39.4	H	QH36	32.5	H
DZ44	38.8	H	WC6	32.5	H
WC17	38.7	H	WC11	32.1	H
BT27	38.4	H	BT2	31.2	H
QH1	36.7	H	DZ23	30.5	H
DZ24	36.4	H	QH4	30.4	H
QH35	36.4	H	BT14	28.9	M
BT20	35.7	H	DZ1	28.8	M
QH15	35.7	H	BT16	27.3	M
BS2	35.6	H	BT1	25.5	M
BT4	35.6	H	DZ33	25.2	M
WC7	35.6	H	DZ28	25.2	M
WC19	35.5	H	BT24	24.7	M
WC22	35.5	H	QH22	24.1	M
BT21	34.8	H	BT23	22.1	M

2.7 病原菌生长曲线和不同 pH 对病原菌的影响

在 28 ℃ 条件下, 将菌株 DZ16(*D. fangzhong-dai*)、BT10 (*P. colocasium*) 和 BT20 (*P. aroidearum*) 接种至 LB 液体培养基中培养。震荡培养 3 h 后, 3 菌株均进入对数生长期; 12 h 后菌株 BT10 和 BT20 的生长速率减缓, 进入缓慢生长期, 而菌株 DZ16 则在培养 14 h 后才开始缓慢生长。

此外, 在 28 ℃ 培养过程中, 菌株 DZ16 在稳定期的 OD₆₀₀ 显著低于 BT10 和 BT20 (图 5A)。

菌株 BT10、DZ16 和 BT20 在 pH 4.0~10.0 范围内均能生长, 但最适 pH 存在差异。菌株 BT10 在 pH 为 4.0~6.5 时, 生长量随 pH 升高而增加, 在 pH 为 6.5~10.0 时, 其生长量随 pH 升高而下降, 该菌株的最适生长 pH 为 6.5。菌株 DZ16 和 BT20

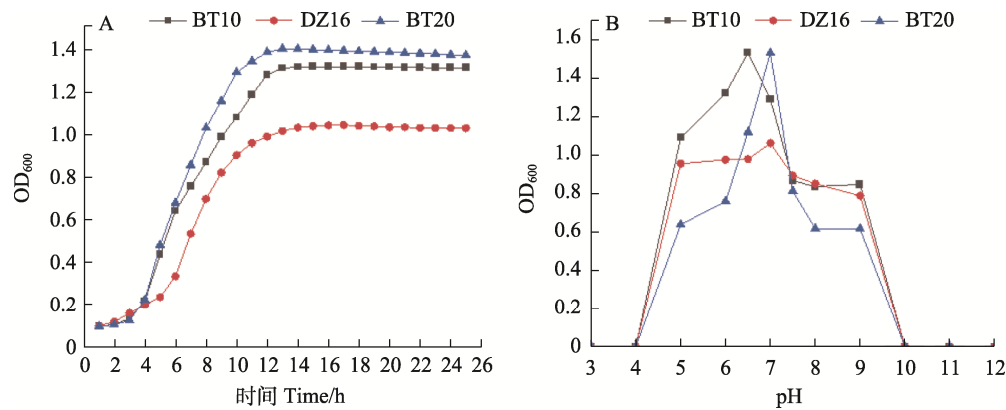
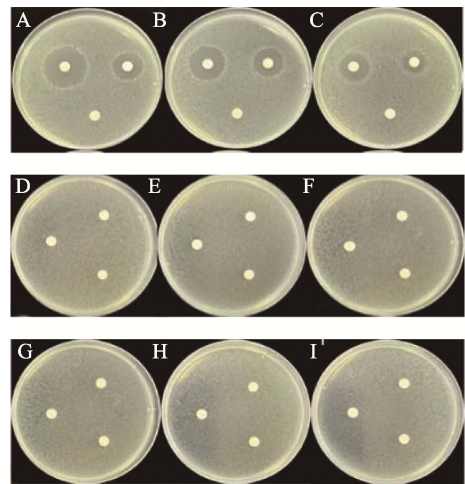


图 5 菌株 BT10、DZ16 和 BT20 的生长曲线 (A) 及不同 pH 对病原菌的影响 (B)
Fig. 5 Growth curves of strains BT10, DZ16 and BT20 (A) and effects of different pH on pathogens (B)

的最适生长 pH 为 7.0，过酸或过碱条件下均会影响菌株生长（图 5B）。

2.8 病原菌室内药物筛选和 MIC 测定分析

挑选海南魔芋软腐病主要致病菌 *D. fangzhongdai* 中的代表性菌株 DZ16 进行药剂筛选，将 12 种杀菌剂分别稀释 500、1000 倍通过平板扩散法测定药效（图 6）。结果表明，仅有 0.3%四霉素、25%溴菌腈和 80%乙蒜素有显著抑菌效果。其中 500 μg/mL 25%溴菌腈和 6 μg/mL 0.3%四霉素的抑制效果最好，抑菌率分别为 77.47%和 72.62%（表 8）。通过测定这 3 种杀菌剂对菌株 DZ16 的最低抑制浓度（MIC）表明，0.3%四霉素、25%溴菌腈和 80%乙蒜素的 MIC 分别为 1.825、125.000、25.000 μg/mL。结果表明，0.3%四霉素的毒力最强，其次为 80%乙蒜素、25%溴菌腈。



A: 25%溴菌腈; B: 0.3%四霉素; C: 80%乙蒜素;
D: 20%溴硝醇; E: 0.3%丁香酚; F: 20%噻森铜;
G: 1.8%辛菌胺醋酸盐; H: 20%噻霉酮; I: CK。
A: 25% bromonitrile; B: 0.3% tetramycin; C: 80% ethylallicin;
D: 20% bromonitrol; E: 0.3% eugenol; F: 20% thiazene copper;
G: 1.8% octamine acetate; H: 20% tiametrone; I: CK.

图 6 不同杀菌剂对菌株 DZ16 的平板抑制效果

Fig. 6 Plate inhibition effect of different fungicides on strain DZ16

2.9 菌株 DZ16 侵染后对魔芋生理生化指标的影响

如图 7A 所示，软腐病菌 DZ16 菌株侵染魔芋叶柄组织后，随侵染时间的延长，SOD 活性逐渐增加，0~48 h 酶活性缓慢上升，48~74 h 则快速上升，72 h 时达到最大值（182.57 U/g），为 CK 的 2.27 倍。侵染初期（24 h）SOD 活性与 CK 差异不显著，侵染 48、72 h 与 CK 差异显著，

表 8 3 种杀菌剂对菌株 DZ16 的抑菌率
Tab. 8 Bacteriostatic rate of three fungicides against strain DZ16

药剂 Fungicide	稀释浓度 Dilution concentra- tion/(μg·mL ⁻¹)	抑菌率 Antibacterial rate/%
0.3%四霉素	6	72.62 ^b
	3	65.59 ^d
25%溴菌腈	500	77.47 ^a
	250	69.30 ^c
80%乙蒜素	1600	66.70 ^d
	800	54.37 ^e

注：不同小写字母表示差异显著（ $P<0.05$ ）。

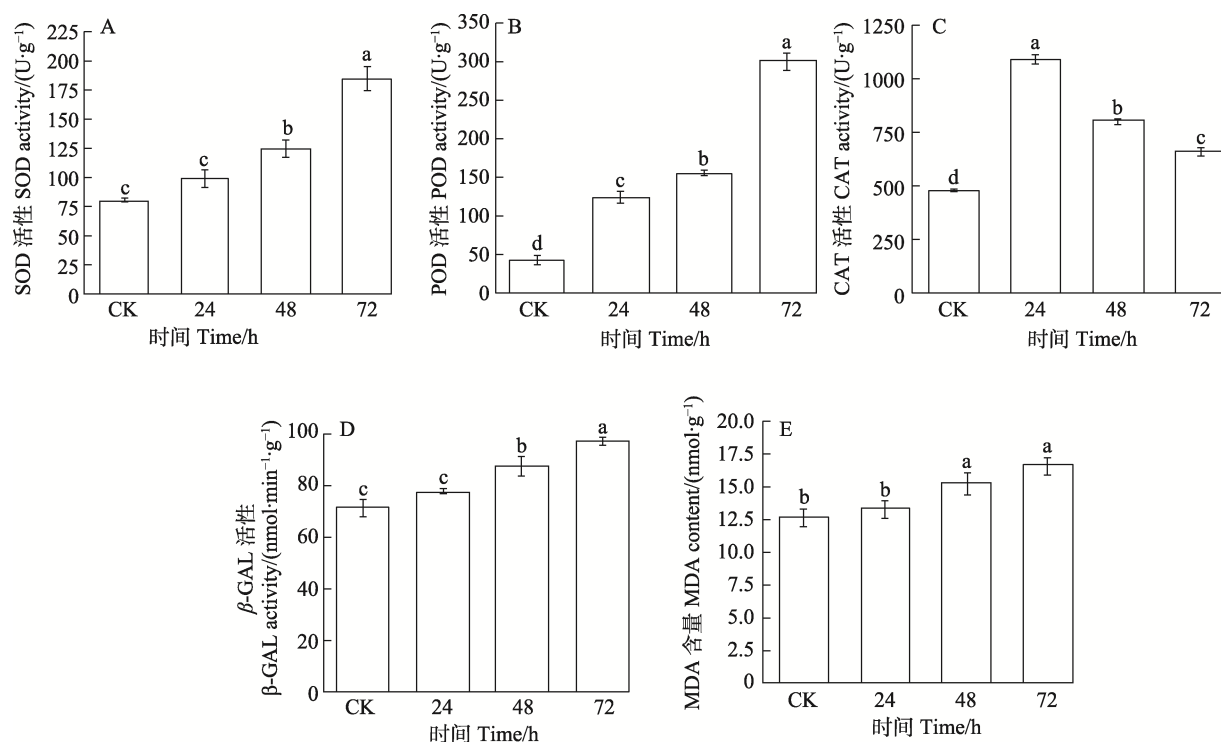
Note: Different lowercase letters indicate significant difference ($P<0.05$).

侵染 24、48、72 h 之间的酶活性差异显著。表明魔芋在受到病原菌持续侵染时，通过提高 SOD 活性来增强其抗氧化能力，以抵御病原菌的侵害。

如图 7B 所示，DZ16 菌株侵染魔芋叶柄组织后，随着侵染时间的延长，POD 活性逐渐增加，侵染 72 h 达到最大值（300.33 U/g），为 CK 的 7.03 倍，侵染 24、48 h 的 POD 活性比 CK 分别提高 289%和 364%。各个处理组和 CK 之间差异显著。

过氧化氢酶（CAT）在植物中是重要的抗氧化酶，其可催化过氧化氢分解为水和氧气进而清除体内的过氧化氢，保护细胞免受氧化应激损伤。CAT 活性测定结果如图 7C 所示，随病原菌侵染时间的延长，0~72 h 魔芋叶柄组织的 CAT 活性呈先升后降的变化趋势。侵染 24 h，CAT 活性显著上升，急剧升至峰值（1093.67 U/g），为 CK 的 2.27 倍；随后 CAT 活性显著下降，侵染 48 h，CAT 活性为 802.45 U/g，是 CK 的 1.67 倍；侵染 72 h 时 CAT 活性显著下降至 658.01 U/g，是 CK 的 1.37 倍，表明病原胁迫后期宿主的抗氧化能力逐步衰退。

β -半乳糖苷酶（ β -GAL）是一种糖苷水解酶，可以通过降解植物细胞壁中的半乳糖苷，参与细胞壁的重塑来增强植物的抗病能力。如图 7D 所示，随着侵染时间的延长，0~72 h 魔芋叶柄组织的 β -GAL 活性逐渐升高。侵染 24 h， β -GAL 活性上升至 77.47 nmol/(min·g)，比 CK 增加 9.30%，无显著差异；侵染 48 h， β -GAL 活性则显著上升至 87.62 nmol/(min·g)，比 CK 增加 23.62%；侵染 72 h， β -GAL 活性显著上升达到最大值 97 nmol/(min·g)，比 CK 增加 36.86%。



不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference ($P<0.05$).

图 7 软腐病原菌侵染后魔芋生理生化指标的变化

Fig. 7 Changes in physiological and biochemical indicators of konjac after infection by soft rot pathogen

丙二醛 (MDA) 是植物细胞膜脂过氧化的产物之一, 它能反映植物细胞膜的损伤程度和抗氧化能力。当植物受到干旱、寒冷等胁迫时, 细胞内活性氧 (ROS) 会大量积累, 导致膜脂过氧化, 进而产生 MDA。MDA 含量的增加通常意味着细胞膜损伤程度加重, 同时也反映了植物的抗氧化能力。如图 7E 所示, 随着侵染时间的延长, 0~72 h 魔芋叶柄组织的 MDA 含量逐渐增加。侵染 24 h, MDA 含量呈上升趋势, 但与 CK 无显著差异, 而 48、72 h 时 MDA 含量则显著高于 CK, 分别增加 19.49% 和 30.51%。表明在侵染 48 h 后魔芋叶柄组织的细胞膜损伤程度明显, 受到生物胁迫急剧上升。

3 讨论

通过对海南省魔芋主产区软腐病的调查发现, 该病害在儋州、白沙、琼海等地普遍发生, 其中儋州试验场三队发病率最高 (46.01%), 文昌文教镇最低 (8.25%)。软腐病为土传病害, 病原菌可在土壤中长期潜伏。推测其原因可能是儋州长期连作导致病害高发, 而文昌通过规范管理和实施轮作制度, 有效降低了发病率。

近 20 a 来, 软腐病菌的分类体系因技术发展而得以细化。基于此, 孙苗苗^[14]鉴定出湖北宜昌魔芋软腐病的优势病原菌为 *P. aroidearum* (占 66.7%), 其次为 *D. fangzhongdai* (占 33.3%); 贵州魔芋软腐病的病原菌以 *P. aroidearum* 为主 (占 70.0%), 分布广泛, *D. fangzhongdai* 次之 (28.0%)。相比之下, 陕西安康、汉中地区则以 *P. carotovorum* 为主, 而四川宜宾和云南富源则分离出 *P. aroidearum*^[5]。由此可见, 魔芋软腐病病原菌具有多样性。本研究通过科赫法则从 44 株致病菌中鉴定出 3 种病原菌: *D. fangzhongdai* (88.64%)、*P. aroidearum* (6.82%) 和 *P. colocasium* (4.54%)。其中, *D. fangzhongdai* 为海南优势种, 分布最广且致病力最强; *P. aroidearum* 的致病力中等, 仅见于儋州、保亭; *P. colocasium* 的致病力强, 但分布有限 (仅保亭、琼海), 且为海南省首次报道该病原菌引起魔芋软腐病。研究显示, *D. fangzhongdai* (最适温度为 30 °C, 耐高温) 比 *P. aroidearum* (最适温度 28 °C) 更适应海南的高温环境^[7], 这可能是其成为当地优势菌的原因。全球变暖可能加剧其扩散风险, 需予以重视。3 种病原菌在 LB 培养基上的菌落均呈乳白色、圆形,

革兰氏阴性,短杆状。生长特性显示,菌株 DZ16 的对数生长期较长,但稳定期生物量 (OD_{600}) 显著低于其余 2 种;各菌株在 pH 为 4~10 均可生长,最适 pH 为 6.5~7.0。致病性测定表明,3 株菌株的致病力均达中等以上,其中菌株 DZ16、BS1 的致病性最强,病斑直径达 40.0 mm。*D. fangzhongdai* 的侵染过程始于其分泌的果胶酶与纤维素酶对植物细胞壁的降解作用^[17-18]。为成功定殖,该病原菌可进一步利用多种碳源和有机酸作为营养物质,并通过过氧化氢酶等抗氧化酶系统抵御宿主产生的氧化应激反应。在室内药剂筛选方面,平板试验表明,0.3%四霉素、25%溴菌腈和 80%乙蒜素的抑菌效果显著,其中,0.3%四霉素的毒力最强 (MIC 为 1.825 $\mu\text{g/mL}$),可作为田间防控的首选药剂。

在 *D. fangzhongdai* 侵染过程中,魔芋体内的活性氧 (ROS) 平衡被打破。SOD 作为清除 ROS 的核心首道抗氧化酶,与 POD 等协同作用,共同维持氧化代谢平衡;同时,POD 还参与木质素合成,通过细胞壁增强物理抗性间接抵御病原菌侵染。当 ROS 积累超过阈值时,将引发膜脂过氧化反应,导致丙二醛 (MDA) 含量升高,进而标志细胞膜完整性受损。因此,SOD、POD 活性及 MDA 含量可作为评价植株抗病性的关键生理指标^[19-22]。本研究结果表明,软腐病菌侵染可激活魔芋的抗氧化系统,表现为 SOD、POD 活性持续上升,以清除过量积累的 ROS。然而,CAT 活性在侵染后期显著下降,导致 H_2O_2 积累,加剧了膜脂过氧化反应,进而表现为 MDA 含量持续升高,标志着细胞损伤加剧。同时, β -GAL 活性显著增强,可能通过参与细胞壁重塑^[23]以强化植物物理屏障,在抗病过程中发挥重要作用。各防御酶间的协同或拮抗关系共同调控魔芋的最终抗病表现。

本研究主要结论:(1)海南魔芋软腐病调查发现,儋州发病率最高(46.01%),病原以 *D. fangzhongdai* (88.64%) 为绝对优势种,且首次发现 *P. colocasium* 为其致病菌。(2)3 株代表性病原菌在 pH 为 4~10 均可生长;其生长曲线显示,菌株 DZ16 的对数生长期长,且稳定期生物量 (OD_{600}) 最低。(3)菌株 DZ16 能利用多种碳源;药敏试验中,0.3%四霉素对菌株 DZ16 的抑制效果与毒力均最强 (MIC 为 1.825 $\mu\text{g/mL}$)。(4)病原侵染引发魔芋体内防御酶系动态变化,SOD、POD、 β -GAL 活性持续上升,CAT 则先升后降;与此同

时,MDA 含量随侵染时间逐渐增加,标志着细胞膜氧化损伤不断加剧。

魔芋是一种具有重要经济价值的作物,广泛应用于食品、医药和化工等领域。近年来,海南魔芋产业发展迅速,然而魔芋软腐病的发生造成重大损失。本研究通过系统性调查海南主要魔芋种植基地的软腐病发生情况,对病原菌进行鉴定,明确了主要致病菌种类;进一步运用转录学和代谢组学技术,深入解析魔芋响应病原侵染机制,为构建海南魔芋软腐病综合防控体系及研究魔芋抗病机制提供科学理论依据。

参考文献

- [1] DEVARAJ R D, CHAGAM K R, XU B J. Health-promoting effects of konjac glucomannan and its practical applications: a critical review[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 126: 273-281.
- [2] 陆庆志. 海南橡胶林下发展魔芋产业的潜力及对策[J]. 现代农业科技, 2019(21): 102-103.
LU Q Z. Potential and countermeasures of developing konjac industry under Hainan rubber plantation[J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2019(21): 102-103. (in Chinese)
- [3] 马晓冉, 金鑫, 韩茜, 牛义, 马冠华, 郑阳, 陈国康. 魔芋软腐病的病原检测及治理策略[J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 2025, 45(1): 10-20.
MA X R, JIN X, HAN X, NIU Y, MA G H, ZHENG Y, CHEN G K. Pathogen detection and treatment strategies of konjac soft rot[J]. Journal of Shanxi Agricultural University (Natural Science Edition), 2025, 45(1): 10-20. (in Chinese)
- [4] 白凌. 魔芋软腐病综合防治[J]. 云南农业, 2020(8): 54-55.
BAI L. Integrated control of soft rot disease of konjac[J]. Yunnan Agriculture, 2020(8): 54-55. (in Chinese)
- [5] 崔双. 魔芋软腐病病原菌的鉴定、生物学特性及贝莱斯芽孢杆菌的防效[D]. 海口: 海南大学, 2021.
CUI S. Identification and biological characteristics of pathogenic bacteria of the konjac soft rot and control effect of *Bacillus velezensis*[D]. Haikou: Hainan University, 2021. (in Chinese)
- [6] 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.
DAI X F. Evaluation of soft rot resistance of konjac germplasm resources and screening of antagonistic actinomycetes[D]. Chongqing: Southwest University, 2022. (in Chinese)
- [7] 冯道, 黄显进, 刘羽, 吴林秀, 严凯, 李树江, 方玉梅, 郭丽娜, 陈志霞, 张晓勇. 六盘水地区魔芋软腐病病原菌鉴

- 定及侵染特性研究[J]. 中国蔬菜, 2024(2): 68-77.
- FENG D, HUANG X J, LIU Y, WU L X, YAN K, LI S J, FANG Y M, GUO L N, CHEN Z X, ZHANG X Y. Identification and infected characteristics of pathogens causing soft rot on konjac (*Amorphophallus konjac*) in Liupanshui[J]. China Vegetables, 2024(2): 68-77. (in Chinese)
- [8] HARDIYANTI S, SUPRIADI, RAHAYUNINGSIH S, TITIEK Y. Pests and diseases management of konjac (*Amorphophallus muelleri* Blume)[J]. Journal of Agricultural Science, 2022, 4(3): 595-603.
- [9] 王敏珍, 刘润妮, 党丹州, 王珊珊, 叶龙. 魔芋软腐病症状、影响因素与防治措施[J]. 西北园艺, 2021(3): 47-48.
- WANG M Z, LIU R N, DANG D Z, WANG S S, YE L. Symptoms, influencing factors and control measures for konjac soft rot disease[J]. Northwest Horticulture, 2021(3): 47-48. (in Chinese)
- [10] 黄露, 周兵正, 安星宇, 王莉爽, 姚令, 陈小均, 何海永, 吴石平. 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.
- HUANG L, ZHOU B Z, AN X Y, WANG L S, YAO L, CHEN X J, HE H Y, WU S P. Molecular identification based on multiple genes and pathogenicity analysis of soft rot pathogens of *Amorphophallus konjac* in Guizhou[J]. Plant Protection, 2023, 49(4): 115-124. (in Chinese)
- [11] GONZÁLEZ J E, KESHAVAN N D. Messing with bacterial quorum sensing[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2006, 70(4): 859-875.
- [12] 付欣. 香豆素-3-羧酸抑菌谱测定及其抑菌机制研究[D]. 黑龙江: 八一农垦大学, 2024.
- FU X. Determination of antibacterial spectrum and study on antibacterial mechanism of coumarin-3-carboxylic acid[D]. Heilongjiang: Bayi Agricultural University, 2024. (in Chinese)
- [13] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001.
- DONG X Z, CAI M Y. Manual for the systematic identification of common bacteria[M]. Beijing: Science Press, 2001. (in Chinese)
- [14] 孙苗苗. 魔芋软腐病病原鉴定及快速检测技术研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2019.
- SUN M M. Pathogen identification and rapid detection method development for soft rot of *Amorphophallus konjac*[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2019. (in Chinese)
- [15] 周雪. 魔芋软腐病病原鉴定、防控药物筛选及其抑菌机制研究[D]. 贵阳: 贵州大学, 2024.
- ZHOU X. Identification of the pathogen causing konjac soft rot, screening of control agents, and their bacteriostatic mechanisms[D]. Guiyang: Guizhou University, 2024. (in Chinese)
- [16] 刘玉庆, 李璐璐, 骆延波, 廖晓萍, 吴聪明, 尹红. EUCAST 欧盟药敏试验标准[M]. 北京: 中国标准出版社, 2015.
- LIU Y Q, LI L L, LUO Y B, LIAO X P, WU C M, YIN H. EUCAST standard for antimicrobial susceptibility testing[M]. Beijing: China Standards Press, 2015. (in Chinese)
- [17] TIAN Y L, ZHAO Y Q, YUAN X L, YI J P, FAN J Q, XU Z G, HU B S, SOOLKE H D B, LI X. *Dickeya fangzhongdai* sp. nov., a plant-pathogenic bacterium isolated from pear trees (*Pyrus pyrifolia*)[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2016, 66(8): 2831-2835.
- [18] ZHANG J X, HU J, SHEN H F, ZHANG Y C, SUN D Y, PU X M, YANG Q Y, FAN Q R, LIN B R. Genomic analysis of the *Phlaenopsis* pathogen *Dickeya* sp. PA1, representing the emerging species *Dickeya fangzhongdai*[J]. BMC Genomics, 2018, 19(1): 782.
- [19] FRIDOVICH I. Superoxide radical and superoxide dismutases[J]. Annual Review of Biochemistry, 1995, 64: 97-112.
- [20] 崔孝平. 苧麻炭疽病病原鉴定和抗病生化机制研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2009.
- CUI X P. Studies on identification of ramie anthracnose and biochemical mechanism of ramie resistance[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2009. (in Chinese)
- [21] 朱圣杰. 番茄抗青枯病生理生化机制的研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2004.
- ZHU S J. Studies on mechanism of physiological and biochemical resistance of tomato to bacterial wilt[D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2004. (in Chinese)
- [22] 陈义挺, 赖瑞联, 冯新, 高敏霞, 程春振, 陈文光, 吴如健. 猕猴桃 POD 基因的克隆和表达分析[J]. 热带亚热带植物学报, 2019, 27(1): 11-18.
- CHEN Y T, LAI R L, FENG X, GAO M X, CHENG C Z, CHEN W G, WU R J. Cloning and expression analysis of POD genes in kiwifruit[J]. Journal of Tropical and Subtropical Botany, 2019, 27(1): 11-18. (in Chinese)
- [23] ALMEIDA I B P. *Arabidopsis* cell wall β -galactosidase gene family: expression, catalytic activities and biological function in galactose dynamics[D]. West Lafayette: Purdue University, 2004.