

# 哈茨木霉 EMF910 对宁夏盐碱地区黄芪根腐病致病菌的防治作用

张晓尘<sup>1</sup>, 张红杰<sup>1</sup>, 李生兵<sup>2</sup>, 董振东<sup>1</sup>, 龙澍普<sup>2</sup>, 黄新国<sup>2</sup>, 郭兰萍<sup>3</sup>, 康传志<sup>3</sup>, 梁健<sup>\*1,4</sup>, 马小魁<sup>\*1</sup>

- 1 陕西师范大学 药用资源与天然药物化学教育部重点实验室, 西北地区濒危药材资源开发国家工程实验室, 陕西 西安 710055
- 2 盐池县科技服务中心, 宁夏 吴忠 751503
- 3 道地药材品质保证与资源持续利用全国重点实验室 中国中医科学院中药资源中心, 北京 100700
- 4 伊犁师范大学 生物与地理科学学院 资源与生态研究所, 新疆 伊宁 835000

张晓尘, 张红杰, 李生兵, 董振东, 龙澍普, 黄新国, 郭兰萍, 康传志, 梁健, 马小魁. 哈茨木霉 EMF910 对宁夏盐碱地区黄芪根腐病致病菌的防治作用[J]. 微生物学通报, 2024, 51(10): 4162-4180.

ZHANG Xiaochen, ZHANG Hongjie, LI Shengbin, DONG Zhengdong, LONG Shupu, HUANG Xinguo, GUO Lanping, KANG Chuanzhi, LIANG Jian, MA Xiaokui. The control effect of *Trichoderma harzianum* EMF910 on the root rot pathogens of *Astragalus membranaceus* in Ningxia saline-alkali regions[J]. Microbiology China, 2024, 51(10): 4162-4180.

**摘要:**【背景】根腐病分布广, 危害重, 是我国西北盐碱地区黄芪(*Astragalus membranaceus*)大规模人工种植过程中最常见的病害之一, 常引起黄芪产量及药材品质下降, 目前尚无有效的防治手段。哈茨木霉对根茎类作物根腐病的致病菌有显著的防治作用, 但在盐碱条件下的作用少见报道。【目的】明确引起我国西北盐碱地区黄芪根腐病的主要致病菌, 探究哈茨木霉(*Trichoderma harzianum*) EMF910 在盐碱条件下对这些主要致病菌的抑制效果。【方法】通过组织分离、离体回接、形态学和分子生物学方法等确定引起西北盐碱地区规模化种植黄芪根腐病的致病菌; 通过平板对峙试验研究哈茨木霉 EMF910 在盐碱条件下对该致病菌的抑制效果; 通过盆栽试验探究了哈茨木霉 EMF910 在盐碱土壤中对种植黄芪根腐病的防治效果。【结果】引起西北地区黄芪根腐病的致病菌为腐皮镰孢(*Fusarium solani*) X12 和斜隔孢镰孢(*Fusarium obliquiseptatum*) P1。在正常条件(0% NaCl, pH 自然)下培养 7 d 后, 哈茨木霉 EMF910 对菌株 X12 和 P1 的平板抑制率分别达到 77.93% 和 73.82%, 在盐碱条件(1% NaCl, pH 8.5)下培养 7 d 后, 哈茨木霉 EMF910 对菌株 X12 和

资助项目: 国家重点研发计划(2023YFC3503801); 新疆维吾尔自治区自然科学基金(2022D01C458); 宁夏拓明农业有限公司项目(2021064)

This work was supported by the National Key Research and Development Program of China (2023YFC3503801), the Natural Science Foundation of Xinjiang Uygur Autonomous Region (2022D01C458), and the Ningxia Tuoming Agriculture Limited Company Project (2021064).

\*Corresponding authors. E-mail: MA Xiaokui, bioma2003@163.com; LIANG Jian, liangjian@snnu.edu.cn

Received: 2023-12-10; Accepted: 2024-04-30; Published online: 2024-08-21

P1 的平板抑制率分别达到 70.22%和 67.95%; 在正常条件(0% NaCl, pH 自然)培养 12 h 后, 哈茨木霉 EMF910 对菌株 X12 和 P1 的孢子萌发抑制率分别为 87.21%和 86.11%, 在盐碱条件下培养 12 h 后, 哈茨木霉 EMF910 对菌株 X12 和 P1 的孢子萌发抑制率分别为 72.29%和 64.47%。盆栽试验表明, 在根腐病致病菌预侵染的成熟期黄芪中, 哈茨木霉 EMF910 菌剂处理组的黄芪存活率为 56.3%, 而未经哈茨木霉 EMF910 菌剂处理的清水对照组黄芪存活率仅为 12.5%; 统计存活黄芪根腐病发病率, 结果表明, 哈茨木霉 EMF910 菌剂处理组黄芪根腐病发病率为 33.3%, 而不施加哈茨木霉 EMF910 的清水对照组黄芪根腐病发病率则为 50.0%。【结论】引起我国西北盐碱地区黄芪根腐病的病原菌主要为腐皮镰孢与斜隔孢镰孢; 在盐碱条件(1% NaCl, pH=8.5)下, 哈茨木霉 EMF910 对这些致病菌生长和孢子萌发有较好的抑制作用, 但与正常条件(0% NaCl, pH 自然)的抑制效果相比有所下降; 哈茨木霉 EMF910 对盐碱土壤中种植黄芪根腐病具有较好的防治效果。该结果可为后续使用哈茨木霉 EMF910 菌剂对宁夏盐碱地区种植黄芪根腐病的生物防治提供数据支撑, 同时也可为我国其他盐碱地区利用哈茨木霉 EMF910 防治根腐病提供借鉴。

关键词: 黄芪; 根腐病; 哈茨木霉; 盐碱条件

## The control effect of *Trichoderma harzianum* EMF910 on the root rot pathogens of *Astragalus membranaceus* in Ningxia saline-alkali regions

ZHANG Xiaochen<sup>1</sup>, ZHANG Hongjie<sup>1</sup>, LI Shengbin<sup>2</sup>, DONG Zhengdong<sup>1</sup>, LONG Shupu<sup>2</sup>, HUANG Xinguo<sup>2</sup>, GUO Lanping<sup>3</sup>, KANG Chuanzhi<sup>3</sup>, LIANG Jian<sup>\*1,4</sup>, MA Xiaokui<sup>\*1</sup>

1 Key Laboratory of Medicinal Resources and Natural Pharmaceutical Chemistry, Ministry of Education, National Engineering Laboratory for Resource Development of Endangered Crude Drugs in Northwest of China, Shaanxi Normal University, Xi'an 710055, Shaanxi, China

2 Science and Technology Service Center of Yanchi County, Wuzhong 751503, Ningxia, China

3 State Key Laboratory for Quality Ensurance and Sustainable Use of Dao-di Herbs, National Resource Center for Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Science, Beijing 100700, China

4 College of Biologic and Geographical Science, Resources and Ecological Research Institution, Yili Normal University, Yining 835000, Xinjiang, China

**Abstract:** [Background] Root rot is widespread and harmful, being one of the most common diseases in the process of large-scale cultivation of *Astragalus membranaceus* in the northwest saline-alkali regions of China, which causes a decrease in yield and quality of *A. membranaceus*, and there is currently no effective control method. *Trichoderma harzianum* has a significant control effect on the pathogens causing root rot in rhizome crops, but its effect under saline-alkali conditions has been reported rarely. [Objective] To clarify the main pathogens causing root rot in *A. membranaceus* in the northwest saline-alkali areas of China, and to explore the inhibitory effect of *T. harzianum* EMF910 on these main pathogens under saline-alkali conditions. [Methods] The pathogens causing root rot of *A. membranaceus* in large-scale cultivation in the saline-alkali areas of northwest China were determined through

tissue isolation, *in vitro* tie-back, morphological, and molecular biology methods. The inhibitory effect of *T. harzianum* EMF910 on these pathogens under saline-alkali conditions was studied through plate confrontation experiments. The control effect of *T. harzianum* EMF910 on root rot in *A. astragalus* in saline-alkali soil was investigated by pot experiment. **[Results]** The main pathogens causing root rot in *A. astragalus* in the northwest region were identified as *Fusarium solani* X12 and *Fusarium obliquiseptatum* P1. After culturing for 7 days under normal conditions (0% NaCl, pH natural), the plate inhibition rates of *T. harzianum* EMF910 on X12 and P1 reached 77.93% and 73.82%, respectively. After culturing for 7 days under saline-alkali conditions (1% NaCl, pH=8.5), the plate inhibition rates of *T. harzianum* EMF910 on X12 and P1 reached 70.22% and 67.95%, respectively. After culturing for 12 hours under normal conditions (0% NaCl, pH natural), the spore germination inhibition rates of *T. harzianum* EMF910 on X12 and P1 reached 87.21% and 86.11%, respectively. After culturing for 12 hours under saline-alkali conditions, the spore germination inhibition rates of *T. harzianum* EMF910 on X12 and P1 reached 72.29% and 64.47%, respectively. The pot experiments showed that in *A. membranaceus* pre-infected with root rot pathogens, the survival rate of *A. membranaceus* treated with *T. harzianum* EMF910 was 56.3%, while the survival rate of the control group treated with water without *T. harzianum* EMF910 was only 12.5%. The statistical survival rate of *A. membranaceus* with root rot showed that the incidence rate of root rot in *T. harzianum* EMF910 treatment group was 33.3%, while that in the water control group without *T. harzianum* EMF910 was 50.0%. **[Conclusion]** The main pathogens causing root rot in *A. membranaceus* in the northwest saline-alkali areas of China are mainly *F. solani* and *F. obliquiseptatum*. *T. harzianum* EMF910 can effectively inhibit the growth and spore germination of these pathogens under saline-alkali conditions (1% NaCl, pH 8.5), but the inhibitory effect is lower compared to that under normal conditions (0% NaCl, pH natural). *T. harzianum* EMF910 has a good control effect on root rot in *A. membranaceus* in saline-alkali soil. These results provide data support for the biological control of root rot in *A. membranaceus* in saline-alkali areas of Ningxia using *T. harzianum* EMF910 and also provide a reference for the use of *T. harzianum* EMF910 to control the root rot in other saline-alkali areas of China.

**Keywords:** *Astragalus membranaceus*; root rot; *Trichoderma harzianum*; saline-alkali condition

豆科(*Leguminosae*)黄芪属黄芪(*Astragalus membranaceus*)根系可以入药,是人们熟知的药食同源植物<sup>[1]</sup>。黄芪具有补气生阳、固表止汗、利水消肿、生津止血等功效,可用于气虚乏力、中气下陷、久溃不敛<sup>[2]</sup>。随着中药材市场对黄芪需求量的增加,黄芪种植产业迅速发展,人工栽培面积逐渐扩大,但连作障碍与土传病害日趋严重。其中,根腐病作为一种具有毁灭性的土传病害,严重制约了黄芪产业的健康可持

续发展<sup>[3-6]</sup>。

我国宁夏、甘肃和新疆等西北地区常年干旱少雨,土壤多为盐碱化砂质土壤,这种独特的土壤气候条件造就了这些地区黄芪的优良品质。以宁夏回族自治区吴忠市黄芪种植基地为例,据黄芪种植基地人员介绍,目前在该基地黄芪的人工栽培面积高达 133 hm<sup>2</sup>,随着栽培面积的不断扩大,黄芪根系土传病害问题愈发突出,其中根腐病危害最为严重,据统计每年因

根腐病导致的黄芪减产可高达 50%左右。目前在大规模黄芪种植过程中对根腐病的防治仍以化学防治为主,以宁夏回族自治区吴忠市黄芪种植基地为例,种植人员常使用恶霉灵等化学农药在黄芪移栽前对黄芪种苗进行泡苗处理,在每年的 6–8 月份黄芪根腐病高发期,种植人员也会使用恶霉灵和戊唑醇等化学农药进行黄芪根腐病的防治,但随种植年限的增加,化学农药的施用使病原菌的耐药性增加,导致化学农药对黄芪根腐病的防治效果越来越差,同时化学农药的使用对生态环境和人体健康存在较大的潜在危害。在中草药种植过程中采用生物防治是指利用生物本身的活动或其代谢物抑制有害病原微生物,从而达到维护药用植物的健康生长,提高中药材品质和产量的目的<sup>[7]</sup>,因其对生态环境友好且无耐药性而被认为是未来规模化药用植物种植过程中病害防控的主要方向之一,但由于盐碱地区的特殊土壤理化性质,生物防治能否发挥其最佳效果还有待探究。

针对黄芪根腐病开展生物防治,首先要明确引起该病害的致病菌,再根据其类型及病原菌特性筛选对其有防治效果的生物防治微生物。目前对多种植物根腐病致病菌研究较为成熟,如引起甘薯根腐病的腐皮镰孢(*Fusarium solani*)<sup>[8]</sup>,引起烟草根腐病的尖孢镰孢(*Fusarium oxysporum*)<sup>[9]</sup>,引起洛神花根腐病的腐皮镰孢<sup>[10]</sup>和引起玉米根腐病的黄斑镰孢(*Fusarium macularis*)<sup>[11]</sup>等。已有报道表明,尖孢镰孢、腐皮镰孢及立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)是引起黄芪根腐病的主要致病菌<sup>[12-13]</sup>。

木霉属(*Trichoderma*)真菌是目前市面上最常见的生物防治菌剂之一。哈茨木霉(*T. harzianum*)作为木霉属真菌的种类之一,可以控制植物病害,促进植物生长,提高植物对非生物胁迫的耐受性。已有研究证明哈茨木霉对由烟草疫霉

(*Phytophthora nicotianae*)与尖孢镰孢引起的烟草黑胫病<sup>[14]</sup>、由齐整小核菌(*Sclerotium rolfsii*)引起的马铃薯茎腐病<sup>[15]</sup>等多种植物的真菌性病害具有较好的生物防治效果。有研究表明,耐盐哈茨木霉可以缓解核盘菌和盐度对菜豆幼苗的双重胁迫作用<sup>[16]</sup>。除对植物的土传病害具有较好的防治效果外,哈茨木霉也具有防治由真菌引起的其他植物病害的作用,有研究证明哈茨木霉菌 Tha739 对苹果采后的苦腐病病害具有较好的防治效果<sup>[17]</sup>。

在对镰孢属致病菌的生物防治中,木霉属(*Trichoderma*)真菌是最常见的生防菌剂之一,对仙人掌、花生等植物的根腐病防治均有显著的效果<sup>[18-19]</sup>。木霉制剂也被用于防治黄芪根腐病且效果显著<sup>[20-21]</sup>,但有关盐碱条件对木霉菌剂防治黄芪根腐病的影响还少见报道。我国宁夏盐碱地区土壤条件特殊,在大规模黄芪种植过程中根腐病的致病菌不明。因此,本文先对引起宁夏盐碱地区黄芪根腐病的病原菌进行分离鉴定,并研究了哈茨木霉 EMF910 在盐碱条件对黄芪致病菌的生防效果。实验结果有望为盐碱地种植黄芪根系病害的生物防治奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品

一年生的正常黄芪植株与疑似患根腐病症状的黄芪植株样品于 2021 年 6 月采自宁夏回族自治区吴忠市青山乡四滩村黄芪种植基地,该地土壤类型为暗棕壤土,土壤 pH 值在 8.2 左右,土壤全盐含量为 10 g/kg。采集正常与疑似患病黄芪植株样品共计 20–30 余株,对照观察并记录患病株的症状表现。本研究所用哈茨木霉 EMF910 为本课题组前期在土壤中分离所得,保藏于陕西师范大学生命科学学院微生物实验

室菌种库和中国典型培养物保藏中心(CCTCC No. M2021815)。

## 1.2 培养基、主要试剂及仪器

PDA 培养基和 PDB 培养基参考文献[22]配制；盐碱 PDA 培养基：在 PDA 培养基中加入 10.0 g/L 氯化钠，pH 8.5；酵母粉蛋白胨葡萄糖(YEPD)培养基(g/L)：酵母粉 10.0，蛋白胨 20.0，葡萄糖 20.0；盐碱 YEPD 培养基(g/L)：酵母粉 10.0，蛋白胨 20.0，葡萄糖 20.0，氯化钠 10.0，pH 8.5；哈茨木霉发酵培养基(g/L)：糖蜜 27.0，玉米粉 20.0，微量元素混合物 10.0。

真菌 DNA 提取试剂盒，天根生化科技(北京)有限公司；PCR 扩增引物及 PCR 试剂 2×Accurate Taq Master Mix，生工生物工程(上海)股份有限公司。PCR 仪，杭州博日科技有限公司；琼脂糖凝胶电泳仪，北京六一生物科技有限公司；凝胶成像仪，上海夏日科技有限公司；微量核酸定量仪，赛默飞世尔科技公司。

## 1.3 致病菌的分离及纯化

将有根腐病症状的黄芪根系放置于干净容器中，用流水冲洗表面泥沙后备用。采用常规组织分离法<sup>[23]</sup>在无菌条件下将病变组织切割成小块(5.0 mm×5.0 mm)，于 75%乙醇中浸泡 5 s 后取出，移至 1.5%次氯酸钠溶液中继续消毒 1 min。用无菌水冲洗 3 次，晾干后置于 PDA 培养基表面，28 °C 培养 3–4 d，待平板上长出真菌菌落，用接种铲铲取形态较规则的单一菌落转移至新的无菌 PDA 培养基上继续于 28 °C 培养 3–4 d，重复该操作多次后得到单一菌落。将纯化好的菌株分别接种在 PDA 斜面上，4 °C 保存备用。

## 1.4 致病菌的确证

采用离体根系组织回接法<sup>[23]</sup>，按照“科赫法则”分别对已分离到的菌株进行致病性检测。选择生长状况良好且无任何病害的一年生黄芪根

部，用剪刀将其根茎截成 5 cm 长的小段。用无菌组织刀在每小段上切割出 3 个伤口，在超净工作台中用 75%乙醇对其表面消毒。将单一菌落的菌饼面与黄芪伤口处贴合后用保鲜膜包裹，同时接种无菌 PDA 培养基作为阴性对照。每个分离到的菌株要用同样的方法重复处理 3 次。将每个处理的根部样本分别放置在垫有湿滤纸的培养皿中进行培养。在培养期间定期观察，待回接黄芪根部出现根腐病典型症状后，对其根部组织进行解剖并拍照记录。对所有接种后发病的根部组织处再次分离纯化菌株，并观察培养菌落形态、菌丝及孢子形态与原接种菌株是否相同。

## 1.5 致病菌的形态观察

将致病菌分别接种到 PDA 培养基上培养 5–7 d 后，观察并拍照记录其菌落形态、菌丝颜色。挑取菌丝制片，使用光学显微镜对其菌丝结构、孢子大小及孢子形态进行观察。根据《真菌鉴定手册》<sup>[24]</sup>中的分类方法和标准对致病菌进行形态学初步鉴定。

## 1.6 致病菌的分子生物学鉴定

以致病菌丝为原料提取 DNA，按照 1%接种量将致病菌孢子接种在 PDB 培养基，28 °C、160 r/min 培养 3–5 d，用抽滤装置获得菌丝，将菌丝在液氮中冷冻研磨后，参照真菌 DNA 提取试剂盒说明书提取。采用引物 ITS1 (5'-TCCG TAGGTGAACCTGCGG-3')和 ITS4 (5'-TCCTCC GCTTATTGATATGC-3')扩增 rDNA ITS 序列。PCR 反应体系(20 μL)：2×Accurate Taq Master Mix 10 μL，模板 DNA 1 μL，上、下游引物(10 μmol/L)各 1 μL，超纯水 7 μL。PCR 反应条件：94 °C 4 min；94 °C 45 s，55 °C 45 s，72 °C 1 min，共 30 个循环；72 °C 10 min；4 °C 保存。PCR 产物先进行含量初测，再经 1%琼脂糖凝胶电泳

进行验证,在凝胶成像分析仪下检查扩增结果,获取胶带处理样品后送生工生物工程(上海)股份有限公司测序。

将 rDNA ITS 测序结果在核酸序列数据库 GenBank (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) 进行同源序列分析比对,比较所测致病菌株 rDNA ITS 序列与该数据库中菌株的相似性,选择相似性程度较高的序列用 MEGA 11.0 软件通过邻接 (neighbor-joining, NJ) 法进行 1 000 次相似重复度计算并构建系统发育树。

### 1.7 哈茨木霉 EMF910 对黄芪根腐病致病菌的抑制作用分析

为了分析哈茨木霉 EMF910 在盐碱条件下的生防作用,结合宁夏回族自治区吴忠市黄芪种植基地的盐碱土壤特征,设置实验盐碱条件为 pH 8.5, NaCl 含量为 1%。分别在正常条件及盐碱条件下分析哈茨木霉 EMF910 对致病菌的抑制率及孢子萌发的抑制效果。

#### 1.7.1 哈茨木霉 EMF910 对致病菌抑制率的分析

采用平板对峙法<sup>[25]</sup>分析在正常和盐碱条件下哈茨木霉 EMF910 对致病菌的抑菌作用。在盐碱条件下,用打孔器分别取直径约为 8 mm 的致病菌与哈茨木霉 EMF910 菌饼,对称接种于 PDA 培养基距中心 20 mm 处,于(25±2) °C 培养箱中避光培养 7 d,以不接种哈茨木霉 EMF910 菌饼为对照,每个处理设置 3 个重复。接种后每日进行拍照观察,使用 ImageJ 软件对图像进行分析,分别测量哈茨木霉 EMF910 与致病菌的菌落面积(单位: mm<sup>2</sup>),通过面积比计算抑制率。

$$\text{抑制率(\%)} = \frac{\text{对照菌落面积} - \text{处理菌落面积}}{\text{对照菌落面积}} \times 100。$$

#### 1.7.2 哈茨木霉 EMF910 对致病菌孢子萌发抑制率的分析

孢子萌发选用 YEPD 培养基,致病菌孢悬

液浓度为 10<sup>5</sup> CFU/mL,哈茨木霉 EMF910 孢悬液浓度为 10<sup>6</sup> CFU/mL。10 mL 盐碱条件对照组培养基中含有 8 mL 盐碱 YEPD 培养基,1 mL 致病菌孢悬液和 1 mL 无菌水;10 mL 正常条件对照组培养基中含有 8 mL YEPD 培养基,1 mL 致病菌孢悬液和 1 mL 无菌水。10 mL 盐碱条件对峙试验组培养基中含有 8 mL 盐碱 YEPD 培养基,1 mL 致病菌孢悬液和 1 mL 哈茨木霉 EMF910 孢悬液;10 mL 正常条件的对峙试验组培养基中含有 8 mL YEPD 培养基,1 mL 致病菌孢悬液和 1 mL 哈茨木霉 EMF910 孢悬液。将各组样品于 28 °C、160 r/min 培养 12 h 后制片,在 40 倍显微镜下观察各组致病菌孢子的萌发情况,各组培养基中病原菌孢子的萌发率统计借助血球计数板上进行,统计每 100 个病原菌孢子中的萌发数。每个处理设置 3 组重复。

### 1.8 盆栽试验

通过黄芪盆栽试验测定哈茨木霉 EMF910 对由 2 株致病镰孢引起的黄芪根腐病的防治作用。盆栽试验设置 1 个清水对照与 1 个哈茨木霉 EMF910 菌剂共 2 个处理组,每个处理 2 个平行,盆栽试验所用黄芪移栽苗与盐碱土壤均来自于宁夏回族自治区吴忠市。

#### 1.8.1 哈茨木霉 EMF910 菌剂的制备

从已培养好的哈茨木霉 EMF910 平板上用无菌水冲洗制备成 10<sup>8</sup> CFU/mL 的孢子悬液,按照 5%的接种量接种至无菌哈茨木霉发酵培养基,28 °C、160 r/min 振荡培养 5–7 d,使用血球计数板测定最终的分生孢子浓度,发酵液中哈茨木霉 EMF910 的分生孢子数量达到 10<sup>8</sup> CFU/mL,储存备用。

#### 1.8.2 致病菌发酵液的制备

取已生长好的致病镰孢菌饼接种至 PDB 培养基中,28 °C、180 r/min 振荡培养 5–7 d,血球计数板测定最终孢子浓度,备用。

### 1.8.3 致病菌的接种方法

将已经培养好的致病菌发酵液预先拌入盆栽试验所用盐碱土壤中, 至土壤中的致病菌孢子浓度为  $10^7$  CFU/g<sup>[26]</sup>。

### 1.8.4 盆栽黄芪移植

盆栽试验中黄芪的移栽严格参照宁夏回族自治区吴忠地区黄芪的种植方式进行。黄芪幼苗为采自宁夏回族自治区吴忠市黄芪种植基地的一年生黄芪幼苗, 要求其根条形直、无分叉, 根长大于 25 cm, 光滑、无病斑、无锈斑、无机械损伤。

实验用花盆尺寸: 长 50 cm, 宽 20 cm, 高 17 cm。每盆装土高度约为 13 cm, 装土质量约为 15 kg。选取生长状况良好无病斑的黄芪幼苗共 16 株, 将其均匀分为 2 组, 每组黄芪幼苗初始状态及重量基本保持一致, 每个处理盆中各种植 8 株幼苗。芦头部位放置于每个花盆短边处, 间隔均匀摆放, 摆放深度约为 5 cm。

### 1.8.5 盆栽黄芪的菌剂处理及抗根腐鉴定

菌剂处理组的黄芪移栽后立即进行第 1 次哈茨木霉 EMF910 菌剂灌根, 发酵液稀释 10 倍后, 单盆单次 1 L。清水对照组的黄芪移栽后不施加菌剂, 单盆单次浇灌 1 L 清水。移栽后前 60 d 每隔 10 d 使用 1 次菌剂, 60 d 后每个处理均只使用清水维持植株正常生长。

### 1.8.6 盆栽黄芪的生长指标测定

黄芪移栽后在盆中生长 6 个月, 于收获期对黄芪植株存活率、黄芪根部患病情况及根重、根长进行统计。

黄芪植株存活率: 黄芪植株采挖后, 统计不同处理组花盆中地上部分完整的黄芪植株, 存活率为存活植株占移栽植株总数的比例。

黄芪根部病害发病率: 将采挖出的全部黄芪根中出现腐烂、黑斑等典型根腐病或黑斑病

症状的黄芪植株统计为根部病害发病植株, 发病率为发病黄芪植株占统计总株数的百分比。

## 1.9 数据处理

文中数据均采用 Microsoft Excel 2019 模块进行数据处理, 使用 SPSS 23.0 软件进行单因素方差分析, 采用软件 Origin11 作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 大田黄芪根腐病症状观察

正常黄芪茎秆粗壮, 叶片呈深绿色, 患根腐病的黄芪地上部分叶片发黄、变浅(图 1A, 圈内), 地下根茎部分颜色变黑, 出现纤维化腐烂, 严重时地上部分叶片枯萎(图 1B, 圈内), 外层韧皮部与中心维管部均出现颜色发黑现象(图 1C、1D)。

### 2.2 致病菌的分离纯化结果及致病性

多次从黄芪根部组织分离纯化后共得到 4 株潜在致病菌。其中菌株 X12 与 P1 在回接到健康黄芪根部组织第 7 天时均能够侵染发病, 具有较强致病性。相较于对照组(图 2A), 在黄芪根部伤口处接种致病菌 X12 菌饼时发现其根部段表面组织出现变黑、腐烂现象; 对其发病根段进行纵切解剖后发现, 发黑病斑已从接种 X12 菌饼处发展蔓延至整个根段(图 2B), 与大田发病株的发病症状基本一致。接种致病菌 P1 的根段表面组织也出现变黑和腐烂现象(图 2C)。分别从发病处分离到了接种菌株。根据“科赫原则”基本判定: 菌株 X12 与 P1 可能是引起黄芪根腐病的主要致病菌。

### 2.3 致病菌的形态观察

如图 3A 所示, 致病菌 X12 的菌丝为白色羽毛状, 生长从中心向外部扩散, 形成圆环状的菌落。显微观察显示, 其菌丝中存在隔膜, 平滑细长, 粗细不一, 菌丝内部的物质清晰可





图 1 黄芪根腐病症状 A: 根腐病症状较轻时的黄芪植株. B: 症状较重时的黄芪植株. C: 患根腐病的黄芪根系. D: 患根腐病的黄芪根系横切面

Figure 1 Symptoms of root rot of *Astragalus membranaceus*. A: *Astragalus* plants with mild symptoms of root rot. B: *Astragalus* plants with severe symptoms of root rot. C: The root of *A. membranaceus* with root rot. D: The cross section of the root of *A. membranaceus* with root rot.

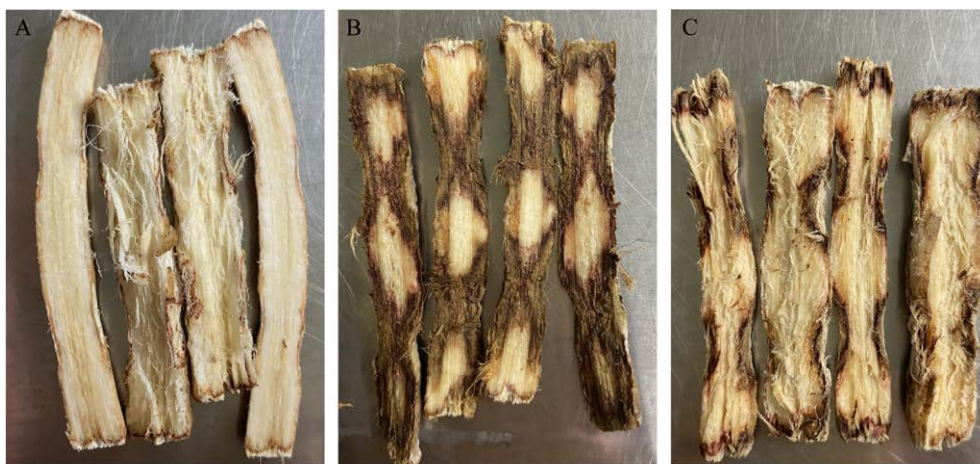


图 2 致病菌的离体组织回接 A: 对照组的根部剖面状态. B: 致病菌 X12 回接组的根部剖面状态. C: 致病菌 P1 回接组的根部剖面状态

Figure 2 *In vitro* tissue graft of pathogenic fungi. A: The root profile states of the control group. B: The root profile states of strain X12 return group. C: The root profile states of strain P1 return group.



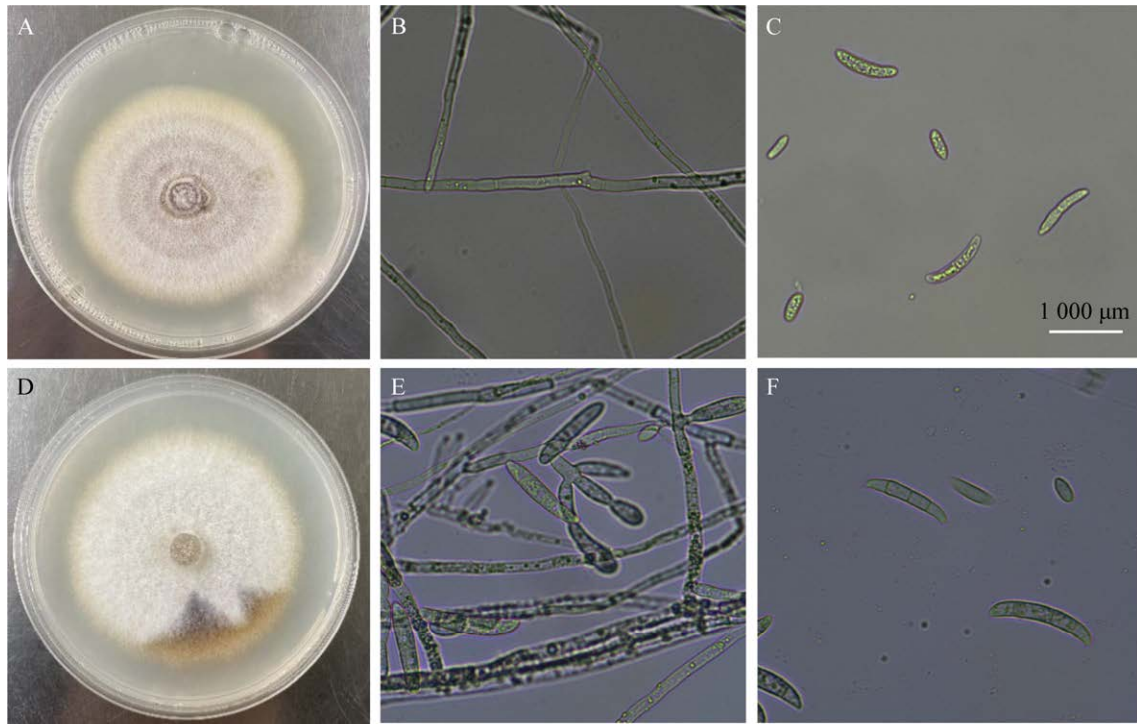


图3 致病菌的平板及显微形态 A–C 分别为致病菌 X12 的平板菌落形态、40 倍光学显微镜下菌丝及孢子形态；D–F 分别为致病菌 P1 的平板菌落形态、40 倍光学显微镜下菌丝及孢子形态

Figure 3 Plate morphology and microscopic morphology of pathogenic fungi. A–C are the plate colony morphology of pathogen fungus X12, and the mycelium and spore morphology (40 $\times$ ), respectively. D–F are the plate colony morphology of pathogen fungus P1, and the mycelium and spore morphology (40 $\times$ ), respectively.

见(图 3B)；孢子呈镰刀状(图 3C)。致病菌 P1 菌丝呈绒毛状，较为致密，菌落菌丝为白色，但部分菌丝随培养时间延长变为棕褐色，似有色素产生(图 3D)；显微结果显示，P1 菌丝中间存在隔膜，分枝，部分菌丝老化无隔膜(图 3E)，孢子梗有分枝，有分生孢子产生，孢子呈镰刀状，并且部分孢子存在隔膜(图 3F)。

#### 2.4 致病菌的分子生物学鉴定结果

系统发育树显示，菌株 X12 与 *Fusarium solani* 的相似性达到 99% (图 4A)，参照文献 [24,27] 结合其平板形态及显微形态，最终确定致病菌 X12 为腐皮镰孢(*Fusarium solani*)。菌株 P1 与 *Fusarium obliquiseptatum* 的相似性达

100% (图 4B)，最终确定致病菌 P1 为斜隔孢镰孢(*Fusarium obliquiseptatum*)。2 种测序菌株的 rDNA ITS 序列已提交至 GenBank，获得序列登录号分别为 OR121457.1 与 OR121458.1。

#### 2.5 哈茨木霉 EMF910 对根腐病致病菌的抑制作用

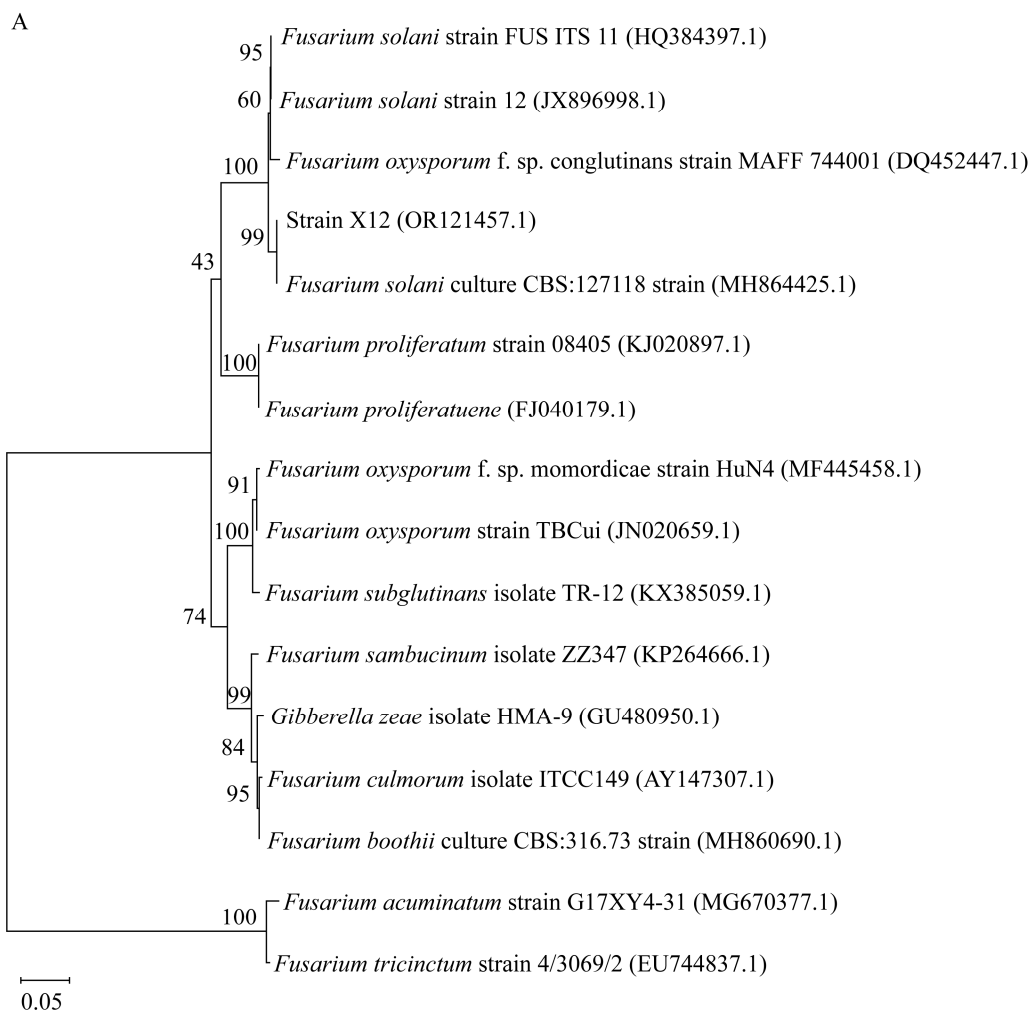
##### 2.5.1 菌株 EMF910 对致病菌菌丝生长的抑制作用

图 5 中，对峙组为盐碱与正常条件下，哈茨木霉 EMF910 与 2 株致病菌在培养第 5 天时的平板抑制效果。每个平板上左侧所接种的为致病菌，右侧所接种的为哈茨木霉 EMF910。在盐碱与正常条件下，哈茨木霉 EMF910 与致

病菌 X12 共培养时, 致病菌 X12 的生长均会受到抑制, 哈茨木霉 EMF910 与致病菌 P1 共培养时, 对菌株 P1 的菌丝生长有明显抑制作用, 且在正常条件下对 P1 生长的抑制效果更明显。

培养到第 7 天时, 测量平板对峙试验中各组的 2 株致病菌的菌落生长面积, 并计算哈茨木霉 EMF910 在盐碱及正常条件下对 2 株致病菌的抑制率。统计结果如图 6 所示。由图 6A 可知, 致病菌 X12 在盐碱与正常条件下的菌落生长面积具有极显著差异( $P<0.001$ ), 在正常条件下, 其菌落面积大于在盐碱条件下的菌落面积, 说明盐碱条件会抑制 X12 的菌丝生长; 致

病菌 P1 在正常条件下的菌落面积显著小于盐碱条件下的菌落面积( $P<0.01$ ), 说明盐碱条件可能会促进菌株 P1 的生长。由图 6B 可知, 正常条件下, 哈茨木霉 EMF910 对致病菌 X12 与致病菌 P1 的抑制率分别可以达到(77.93±0.00)%和(73.82±0.03)%, 盐碱条件下哈茨木霉 EMF910 对菌株 X12 与菌株 P1 的抑制率分别可以达到(70.22±0.02)%和(67.95±0.03)%, 盐碱条件下哈茨木霉 EMF910 对 2 株致病菌的抑制率显著小于正常条件下的抑制率( $P<0.05$ ), 说明哈茨木霉 EMF910 的生防效果可能会由于使用环境的盐碱化而受到抑制。



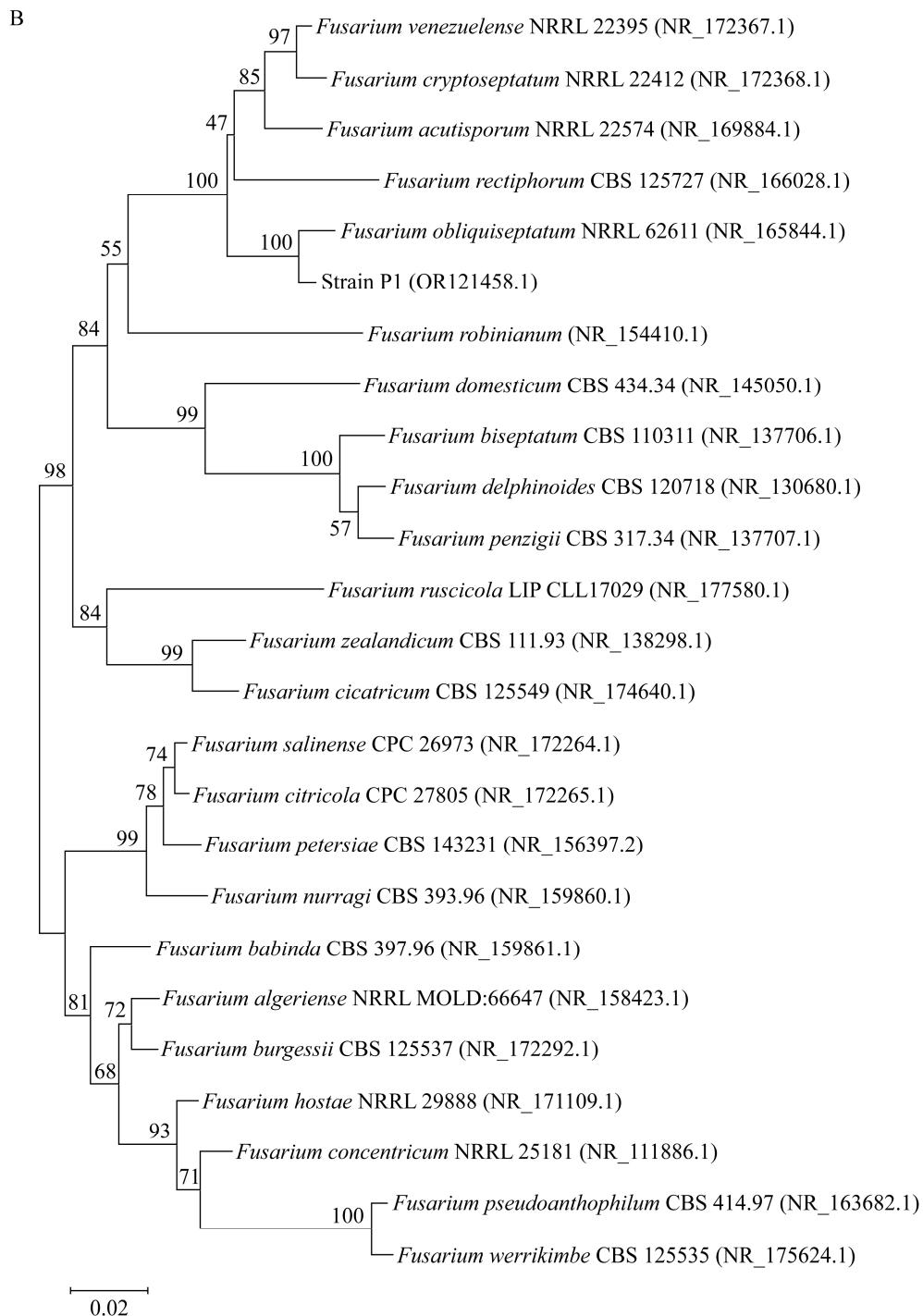
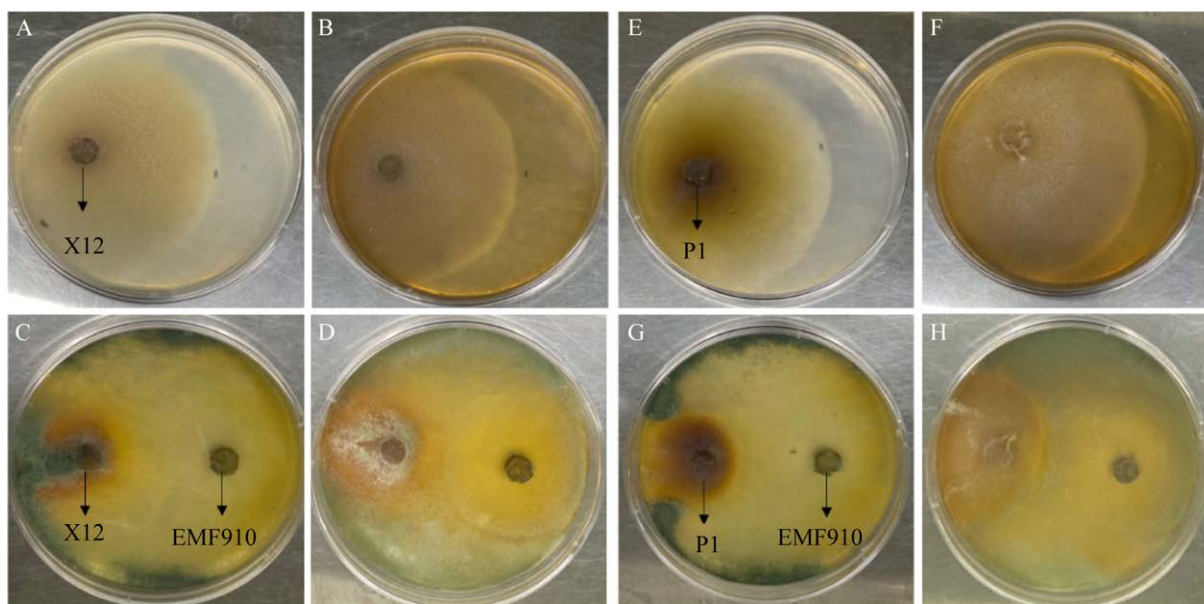


图 4 根腐病致病菌系统发育 A: 致病菌 X12. B: 致病菌 P1. 分支处数值表示 bootstrap 值; 括号内为 GenBank 登录号; 标尺数字代表序列进化的差异

Figure 4 Phylogenetic tree of root rot pathogen. A: Pathogen fungus X12. B: Pathogen fungi P1. The value at the branch represents the bootstrap value. The GenBank accession number is in parentheses, the scale numbers represent differences in sequence evolution.



**图 5 哈茨木霉 EMF910 对致病菌的平板对峙试验图** A–D 分别代表正常条件致病菌 X12, 盐碱条件下致病菌 X12, 正常条件下致病菌 X12 与哈茨木霉 EMF910 对峙, 盐碱条件下致病菌 X12 与哈茨木霉 EMF910 对峙; E–H 分别代表正常条件致病菌 P1, 盐碱条件下致病菌 P1, 正常条件下致病菌 P1 与哈茨木霉 EMF910 对峙, 盐碱条件下致病菌 P1 与哈茨木霉 EMF910 对峙

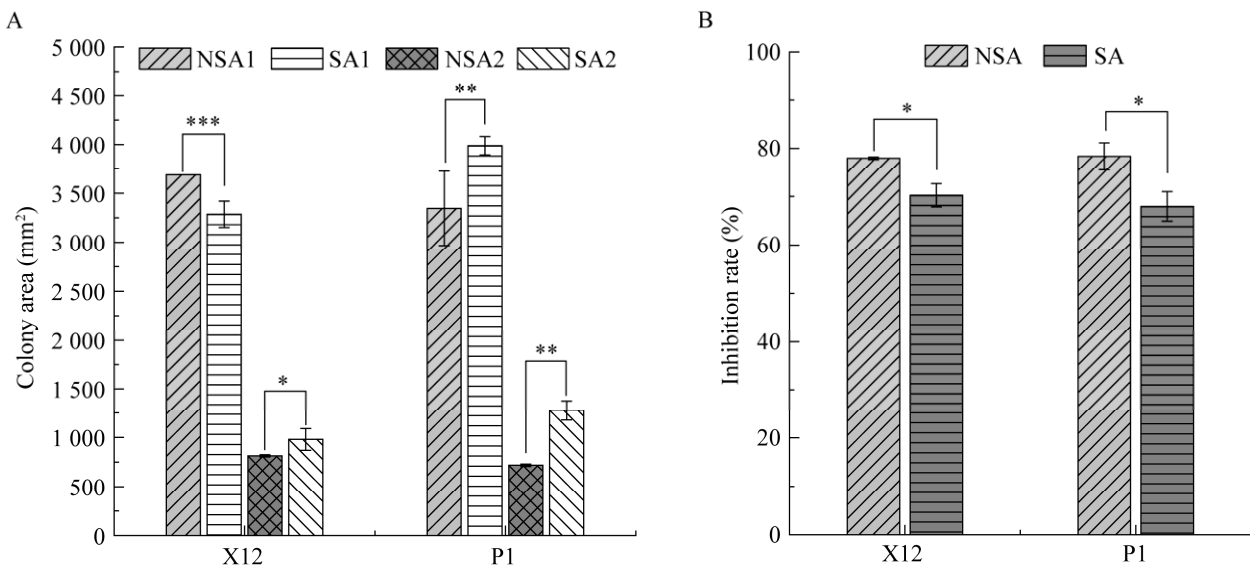
Figure 5 Plate confrontation experiment of *T. harzianum* EMF910 against pathogens. A to D represent pathogenic fungi X12 which under normal conditions, pathogenic fungi X12 which under saline-alkali conditions, the pathogenic fungi X12 confronts *Trichoderma harzianum* EMF910 under normal conditions, the pathogenic fungi X12 confronts *Trichoderma harzianum* EMF910 under saline-alkali conditions, respectively. E to H represent pathogenic fungi P1 which under normal conditions, pathogenic fungi P1 which under saline-alkali conditions, the pathogenic fungi P1 confronts *Trichoderma harzianum* EMF910 under normal conditions, the pathogenic fungi P1 confronts *Trichoderma harzianum* EMF910 under saline-alkali conditions, respectively.

### 2.5.2 菌株 EMF910 对致病菌孢子萌发的抑制效果

在盐碱或正常培养条件下, 致病菌 X12 和 P1 在培养 12 h 的孢子萌发情况如图 7 所示。观察可知, 在所观察视野内, 仅在正常培养时, 与哈茨木霉 EMF910 共培养组时的 2 株致病菌的分生孢子大部分未见萌发, 在盐碱条件下与哈茨木霉 EMF910 共培养组的 2 株致病菌分生孢子虽有萌发, 但萌发数与已萌发的菌丝长度均低于对照组。

对 2 种致病菌的孢子萌发率进行统计, 结

果如图 8A 所示。在正常和盐碱条件下致病菌 X12 在培养 12 h 后的萌发率分别为 95.56% 和 92.22%, 致病菌 P1 在培养 12 h 后的孢子萌发率分别为 80.00% 和 84.44%, 说明盐碱条件对 2 株致病菌的孢子萌发无显著影响 ( $P > 0.05$ )。当存在哈茨木霉 EMF910 时, 在正常与盐碱条件下致病菌 X12 的萌发率分别为 12.22% 和 25.56%, 致病菌 P1 的萌发率分别为 11.11% 和 30.00%, 这说明哈茨木霉 EMF910 的存在对 2 株致病菌的孢子萌发起到了抑制作用。分别对比在盐碱条件与正常条件下哈茨木霉 EMF910 对 2 种致



**图 6 平板对峙试验结果** A: 不同处理组的致病菌菌落面积统计. B: 哈茨木霉 EMF910 在盐碱与正常条件下对致病菌的抑制率. NSA: 正常条件; SA: 盐碱条件; NSA1: 正常条件, 仅致病菌对照组; SA1: 盐碱条件下, 致病菌对照组; NSA2: 正常条件下, 对峙组; SA2: 盐碱条件下, 对峙组. \*:  $0.01 < P \leq 0.05$ , \*\*:  $0.001 < P \leq 0.01$ , \*\*\*:  $P \leq 0.001$ . 下同

Figure 6 Results of plate confrontation experiment. A: Colony area of pathogens in different treatment groups. B: The inhibitory rate of *T. harzianum* EMF910 on pathogens under saline alkali and non-saline alkaline conditions. NSA: Non saline alkali conditions. SA: Saline alkali conditions. NSA1: Under non saline alkali conditions, only the pathogen control group. SA1: Under saline alkali conditions, only the control group of pathogen. NSA2: Confrontation group under non saline alkali conditions. SA2: Confrontation group under saline alkali conditions. \*:  $0.01 < P \leq 0.05$ , \*\*:  $0.001 < P \leq 0.01$ , \*\*\*:  $P \leq 0.001$ . The same as below.

病菌孢子萌发的抑制率(图 8B)可知, 在盐碱条件下哈茨木霉 EMF910 对 X12 和 P1 孢子萌发的抑制率分别为(72.29±0.06)%和(64.47±0.04)%, 在正常条件下对 X12 和 P1 孢子萌发的抑制率分别为(87.21±0.05)%和(86.11±0.05)%, 在正常条件下对 2 种致病菌孢子萌发的抑制作用更强。在正常条件与盐碱条件下哈茨木霉 EMF910 对 X12 的孢子萌发抑制率具有显著差异( $P < 0.05$ ), 对 P1 的孢子萌发抑制率具有极显著差异( $P < 0.01$ )。

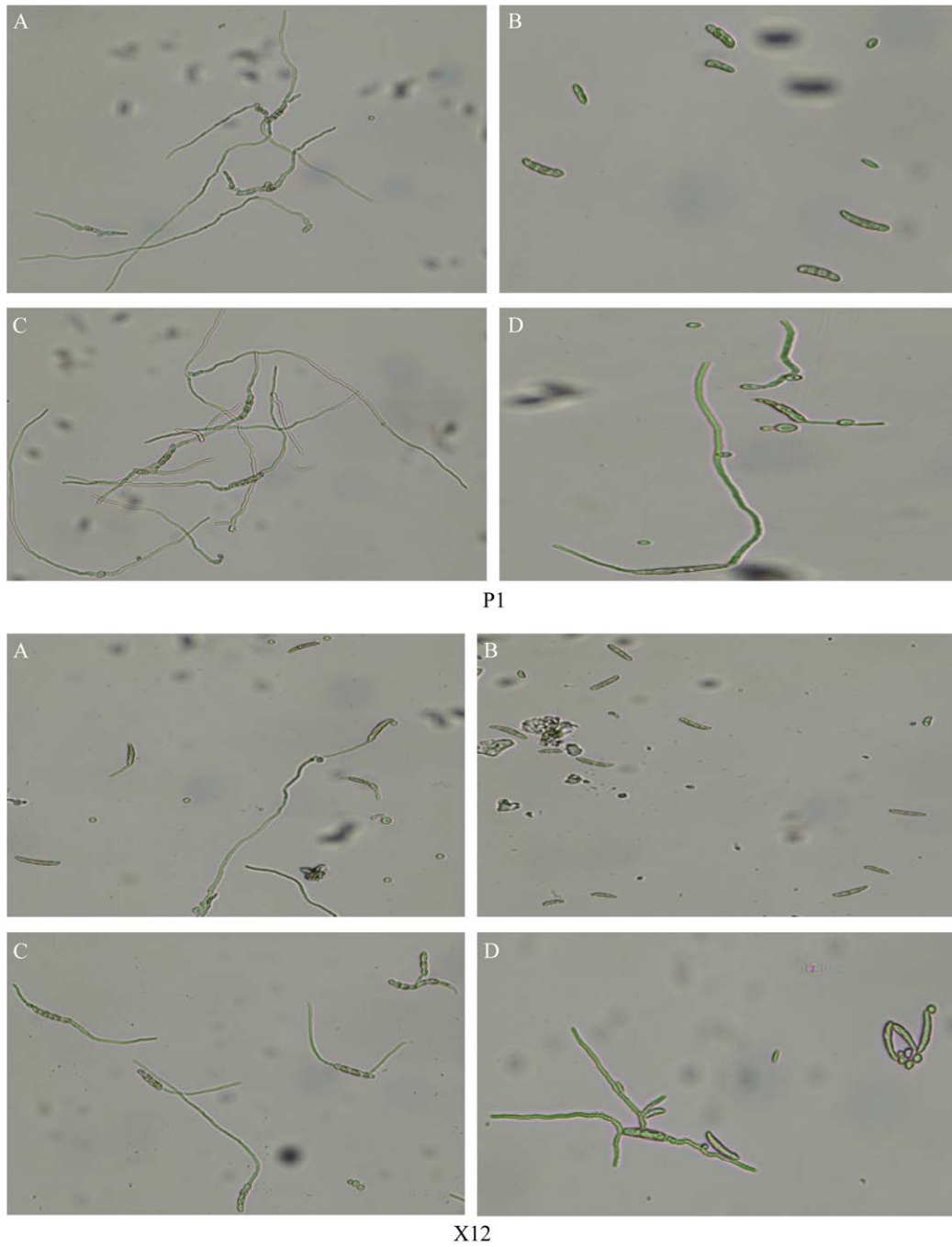
## 2.6 盆栽试验结果

盆栽试验中种植黄芪收获后的根部形态结果如图 9 所示。由图 9 可知, 黄芪植株在接种过病原菌孢子的盐碱土壤中生长 6 个月后出现

不同程度的植株死亡。清水对照组黄芪的存活总数为 2 株, 菌剂处理组黄芪的存活总数为 9 株。其中每个处理组最初移栽黄芪植株的总数量为 16 株, 清水对照组黄芪的存活率为 12.5%, 哈茨木霉 EMF910 菌剂处理组黄芪的存活率为 56.3%。

对收获期仍存活黄芪植株的根部发病情况进行统计, 统计结果见表 1, 由结果可知, 清水对照组黄芪的发病率为 50%, 菌剂处理组黄芪的发病率为 33.3%。存活植株中, 菌剂处理组与清水对照组相比黄芪根腐病发病率降低了 16.7%, 说明哈茨木霉 EMF910 在盐碱土壤中对黄芪根腐病具有一定的防治效果。





**图 7 致病菌 X12 与 P1 孢子在 40 倍物镜放大下的萌发情况** A: 正常条件下致病菌对照组. B: 正常条件下哈茨木霉 EMF910 处理组. C: 盐碱条件下仅致病菌对照组. D: 盐碱条件下哈茨木霉 EMF910 处理组

Figure 7 Germination maps of pathogen conidia under 40× objective magnification. A: Under normal conditions, only the pathogen control group. B: Under normal conditions, the group was treated with *T. harzianum* EMF910. C: Under saline alkali conditions, only the control group of pathogen. D: Under saline alkali conditions, the treatment group of *T. harzianum* EMF910.



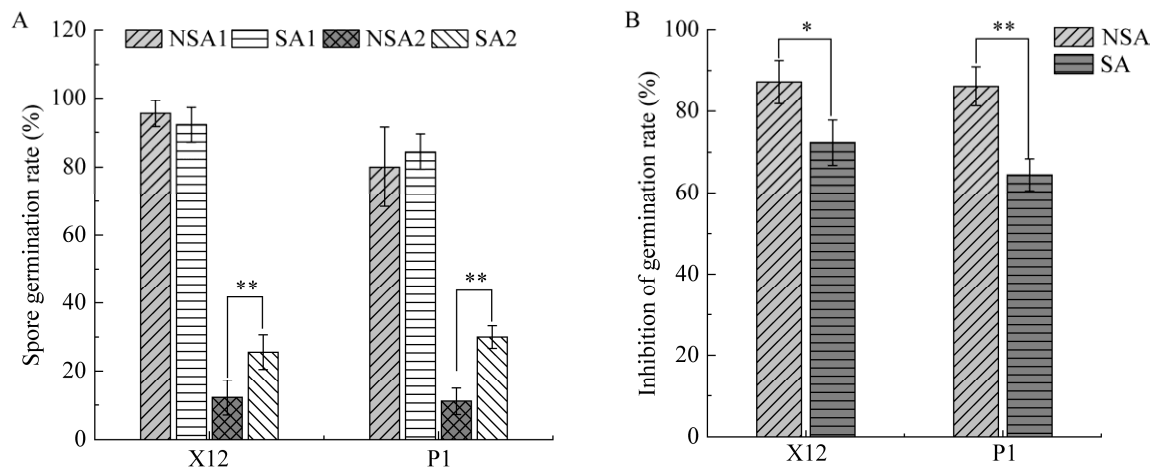


图 8 致病菌孢子萌发实验结果 A: 不同处理组的致病菌孢子萌发率. B: 在盐碱与正常条件下哈茨木霉对致病菌孢子萌发的抑制率

Figure 8 Result of Pathogenic Spore Germination Experiment. A: The germination rate of pathogenic spores in different treatment groups. B: Inhibition rate of *T. harzianum* EMF910 on pathogenic spore germination individually under saline alkali and normal conditions.



图 9 收获期黄芪根部状态 A: 清水对照组存活黄芪根部状态. B: 菌剂处理组存活黄芪根部状态

Figure 9 Root Status of astragalus after harvesting. A: The root status of astragalus membranaceus in the clear water control group. B: The root state of astragalus membranaceus in the *T. harzianum* EMF910 treatment group.

表 1 不同处理盆栽中黄芪植株存活及发病情况

Table 1 Survival and morbidity of *A. membranaceus* plants in pot culture with different treatments

Item	清水对照 Clear water control	哈茨木霉 EMF910 处理 <i>T. harzianum</i> EMF910 treatment
植株总数 Total number of transplants	16.0	16.0
存活植株数 Number of surviving plants	2.0	9.0
存活率 Survival (%)	12.5	56.3
患病植株数 Number of diseased plants	1.0	3.0
发病率 Morbidity (%)	50.0	33.3

### 3 讨论

本研究显示,在西北盐碱地区种植的黄芪患根腐病后叶片会变黄,根系会出现不同程度的腐烂。患根腐病的腐烂部位主要集中在根茎连接处,具体表现为根茎连接处韧皮部的纤维化腐烂以及中心维管部的组织颜色变黑。引起我国西北盐碱地区黄芪根腐病的主要致病菌为腐皮镰孢(*F. solani*)和斜隔孢镰孢(*F. obliquiseptatum*)。腐皮镰孢曾作为引起人参、滇黄精和甘薯等作物根腐病的主要致病菌被研究报道<sup>[26,28-29]</sup>,本研究发现其能够引起盐碱地大规模黄芪种植过程中的根腐病。斜隔孢镰孢也被认为是引起橡胶树溃疡病的主要致病菌之一,但其能够引起黄芪根腐病为本研究首次发现,在对根腐病的防治中应引起重视。对峙试验结果表明,哈茨木霉 EMF910 对腐皮镰孢 X12 与斜隔孢镰孢 P1 的生长具有抑制作用,在正常与盐碱条件培养 7 d 时,菌株 EMF910 对菌株 X12 的抑制率分别为 77.93%和 70.22%,对菌株 P1 的平板抑制率分别为 73.82%和 67.95%。通过对比在正常与盐碱条件下菌株 EMF910 对 2 种致病菌的抑制率可知,在盐碱条件下该哈茨木霉对 2 种致病菌的平板抑制率均显著低于正常条件下的抑制率( $P<0.05$ )。致病菌孢子萌发实验结果也证明了哈茨木霉 EMF910 对致病菌 X12 与菌株 P1 孢子萌发的抑制作用,在正常与盐碱条件下对菌株 X12 孢子萌发的抑制率分别为 87.21%和 72.29%,对菌株 P1 孢子萌发的抑制率分别为 86.11%和 64.47%。哈茨木霉 EMF910 在盐碱与正常条件下对 2 株致病菌的孢子萌发抑制率均具有显著差异( $P<0.05$ ),即在正常条件下对致病菌孢子萌发的抑制作用更强。有研究表明,对生防菌哈茨木霉而言,酸性无盐环境更适宜其生长,利于其更好地发挥生防作用<sup>[17]</sup>。由此我们推断,

在盐碱条件下哈茨木霉 EMF910 对 2 种致病菌抑制率减小的原因可能是盐碱条件抑制了 EMF910 菌丝的生长与生防作用。然而,根据 2 种致病菌在正常与盐碱条件下的菌落面积对比结果可知,盐碱条件反而会促进致病菌 P1 的生长,因此,在盐碱条件下菌株 EMF910 对菌株 P1 抑制率下降的原因一方面可能是盐碱条件抑制了菌株 EMF910 的生长与生防作用,而促进了菌株 P1 的生长。但盐碱环境如何影响哈茨木霉 EMF910 的生防作用还需要进一步的实验探究。

盆栽试验在黄芪植株存活率与存活黄芪根腐病发病率两方面评价了哈茨木霉 EMF910 在盐碱土壤中对黄芪根腐病的防治效果。两个不同处理组黄芪植株均出现植株死亡情况,这可能是由于前期向土壤中加入致病菌导致黄芪根腐病发,进而导致植株死亡,也可能是由于黄芪生长过程中由于环境因素影响导致植株抗逆能力减弱,进而影响植株的正常生长。黄芪植株死亡的因素可能会有多种,但菌剂处理组黄芪植株存活率高于清水对照组,说明哈茨木霉 EMF910 对盐碱土壤中黄芪的生长具有促进作用。对比清水对照组与菌剂处理组收获期仍存活的黄芪根腐病的发病率可知,菌剂处理组存活黄芪的根腐病发病率降低了 16.7%,这说明哈茨木霉 EMF910 在盐碱条件下对黄芪根腐病具有防治潜力,但结合哈茨木霉 EMF910 在盐碱条件下对致病菌的对峙试验结果,若可以提供一种手段减缓盐碱条件对哈茨木霉 EMF910 生防作用的抑制作用,可能会增强哈茨木霉 EMF910 在盐碱土壤中对黄芪根腐病的防治效果。盆栽试验结果可为后续宁夏盐碱地区大规模黄芪种植过程中哈茨木霉 EMF910 的使用提供理论基础。

目前盐碱地大规模黄芪种植过程中对根腐病的防治仍停留在使用化学农药的阶段,但化

学农药防治效果甚微，并且大量农药残留会对人体健康和环境造成潜在危害。本研究通过实验证明了哈茨木霉 EMF910 对 2 种致病菌在正常条件与盐碱条件下的抑制作用，在盐碱条件下哈茨木霉 EMF910 对致病菌的抑制作用会有所降低，但仍然有很好的抑制作用。哈茨木霉 EMF910 具有作为生防菌剂用于西北盐碱地区种植黄芪根腐病防治的潜力，为了保证哈茨木霉 EMF910 的使用效果，可以进一步探究哈茨木霉菌剂的合理使用方式。

## 4 结论

本研究对我国西北盐碱地区种植黄芪根腐病的主要致病菌进行了探究，并首次对比了正常条件与盐碱条件下哈茨木霉 EMF910 对致病菌的抑制作用，通过盆栽试验证明了哈茨木霉 EMF910 对黄芪根腐病的防治作用，为我国西北盐碱地区大规模黄芪种植过程中根腐病的生物防治提供了新手段和实验基础，具有广阔的应用前景和发展空间。我们下一步将对盐碱土壤中哈茨木霉 EMF910 菌剂的使用条件进行探索。

## REFERENCES

- [1] 江远玲, 冯楠, 邵欣宇, 黄佳. 黄芪的现代药理作用研究进展[J]. 西南医科大学学报, 2023, 46(5): 456-460.  
JIANG YL, FENG N, SHAO XY, HUANG J. Research progress of modern pharmacological function of *Astragalus membranaceus*[J]. Journal of Southwest Medical University, 2023, 46(5): 456-460 (in Chinese).
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 3 部[M]. 北京: 化学工业出版社, 2010.  
Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: 3[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2020 (in Chinese).
- [3] 马桂花, 段晓明, 徐文华, 周渊涛, 马海霞, 马伟丽, 祁鹤兴. 蒙古黄芪根腐病原鉴定及防治药剂室内筛选[J]. 草地学报, 2022, 30(5): 1122-1130.  
MA GH, DUAN XM, XU WH, ZHOU YT, MA HX, MA WL, QI HX. Identification and laboratory screening of chemical agents of root rot pathogens of *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus*[J]. Acta Agrestia Sinica, 2022, 30(5): 1122-1130 (in Chinese).
- [4] 祖未希, 赵晓霞, 高芬. 芽孢杆菌 R57 对黄芪的防病提质作用及其鉴定[J]. 中国农学通报, 2022, 38(21): 129-135.  
ZU WX, ZHAO XX, GAO F. Quality promotion and disease control effects of *Bacillus* strain R57 on *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* and its identification[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2022, 38(21): 129-135 (in Chinese).
- [5] 张爱梅, 李曦冉, 郭保民, 陈鑫. 黄芪根腐病生防菌株的筛选鉴定及其防效评价[J]. 西北农业学报, 2021, 30(12): 1905-1913.  
ZHANG AM, LI XR, GUO BM, CHEN X. Screening, identification, and biocontrol effect of antagonistic bacteria against *Astragalus membranaceus* root rot[J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2021, 30(12): 1905-1913 (in Chinese).
- [6] 赵晓霞, 牛世全, 文娜, 苏锋锋. 黄芪根腐病生防芽孢杆菌的筛选鉴定与盆栽防效试验[J]. 生物技术通报, 2019, 35(9): 107-111.  
ZHAO XX, NIU SQ, WEN N, SU FF. Screening and identification of biocontrol *Bacillus* sp. against *Astragalus* root rot and its pot experiment[J]. Biotechnology Bulletin, 2019, 35(9): 107-111 (in Chinese).
- [7] 于长平. 药用植物土传病害及生物防治的研究进展[J]. 吉林农业(下半月), 2018(8): 75.  
YU CP. Research progress on soil-borne diseases of medicinal plants and their biological control[J]. Jilin Nongye, 2018(8): 75 (in Chinese).
- [8] KIM S, KIM TH, CHUNG MN, LEE Y, LEE IB, LEE H, PARK W. Incidence rates of root rot in sweetpotato caused by cultivation soil and soil microorganisms during storage periods[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 897590.
- [9] TAN L, XIAO YS, ZENG WA, GU SS, ZHAI ZG, WU SL, LI PF, FENG K, DENG Y, HU QL. Network analysis reveals the root endophytic fungi associated with *Fusarium* root rot invasion[J]. Applied Soil Ecology, 2022, 178: 104567.
- [10] LIAO XF, HOU WH, TANG XF, ZHAO YH. Identification of the Roselle root rot pathogen and its

- sensitivity to different fungicides[J]. *Arabian Journal of Chemistry*, 2022, 15(7): 103932.
- [11] DINANGO VN, EKE P, YOUUMBI DY, KEPNGOP KOUOKAP LR, TOGHUEO KOUIPOU RM, TAMGHE GG, NGUEMNANG MABOU LC, WAKAM LN, BOYOM FF. Endophytic bacteria derived from the desert-spurge (*Euphorbia antiquorum* L.) suppress *Fusarium verticillioides*, the causative agent of maize ear and root rot[J]. *Rhizosphere*, 2022, 23: 100562.
- [12] 马莹莹, 关一鸣, 王秋霞, 李美佳, 潘晓曦, 张亚玉. 黄芪主要病害及防治措施研究进展[J]. *特产研究*, 2019, 41(4): 101-107.
- MA YY, GUAN YM, WANG QX, LI MJ, PAN XX, ZHANG YY. Research progress on main diseases and control measures of *Astragalus membranaceus*[J]. *Special Wild Economic Animal and Plant Research*, 2019, 41(4): 101-107 (in Chinese).
- [13] WANG JL, ZHANG JF, MA JX, LIU L, LI JJ, SHEN T, TIAN YQ. The major component of cinnamon oil as a natural substitute against *Fusarium solani* on *Astragalus membranaceus*[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2022, 132(4): 3125-3141.
- [14] 危潇, 黎妍妍, 姚经武, 曹春霞, 黄大野. 哈茨木霉 WF2 菌株鉴定及对烟草黑胫病的防效[J]. *中南农业科技*, 2023, 44(11): 12-15.
- WEI X, LI YY, YAO JW, CAO CX, HUANG DY. Identification of *Trichoderma harzianum* WF2 strain and its control effect on tobacco black shank disease[J]. *South-Central Agricultural Science and Technology*, 2023, 44(11): 12-15 (in Chinese).
- [15] CHOWDHURY MR, AHMED SF, KHALID B, BONY ZF, ASHA JF, BHUIYAN MKA. Biocontrol efficiency of microencapsulated *Trichoderma harzianum* coupled with organic additives against potato stem rot caused by *Sclerotium rolfsii*[J]. *Plant Stress*, 2023, 9: 100181.
- [16] ABDELRHIM AS, HEMEDA NF, ALI MWAHEB M, OMAR MOA, DAWOOD MFA. The role of *Trichoderma koningii* and *Trichoderma harzianum* in mitigating the combined stresses motivated by *Sclerotinia sclerotiorum* and salinity in common bean (*Phaseolus vulgaris*)[J]. *Plant Stress*, 2024, 11: 100370.
- [17] ZHANG HF, KONG N, LIU B, YANG YF, LI CH, QI JY, MA Y, JI SD, LIU ZH. Biocontrol potential of *Trichoderma harzianum* CGMCC20739 (Tha739) against postharvest bitter rot of apples[J]. *Microbiological Research*, 2022, 265: 127182.
- [18] Da SILVA BRITO F, Da COSTA DP, de SOUZA CAF, Da ROCHA GOMES FERREIRA de ALMEIDA DT, de LIMA LEITE ICH, GONÇALVES EP, de MEDEIROS EV. Selection and control efficacy of *Trichoderma* spp. against *Fusarium solani* and *Lasiodiplodia theobromae* causing root rot in forage *Cactus*[J]. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2022, 122: 101900.
- [19] ERAZO JG, PALACIOS SA, PASTOR N, GIORDANO FD, ROVERA M, REYNOSO MM, VENISSE JS, TORRES AM. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma harzianum* ITEM 3636 against peanut brown root rot caused by *Fusarium solani* RC 386[J]. *Biological Control*, 2021, 164: 104774.
- [20] 李阔, 王红阳, 郭秀芝, 张成才, 王月枫, 郭兰萍. 木霉属真菌诱导根及根茎类中药材抗根腐病的研究及应用进展[J]. *中国中药杂志*, 2023, 48(18): 4942-4949.
- LI K, WANG HY, GUO XZ, ZHANG CC, WANG YF, GUO LP. Advances in research and application of *Trichoderma* for inducing resistance against root rot diseases in root and rhizome of Chinese medicinal materials[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2023, 48(18): 4942-4949 (in Chinese).
- [21] 滕艳萍, 梁宗锁, 陈蓉. 木霉防治黄芪根腐病初步研究[J]. *西北农业学报*, 2006, 15(2): 69-71.
- TENG YP, LIANG ZS, CHEN R. Preliminary study of *Trichoderma* against the root rot disease of astragalus[J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2006, 15(2): 69-71 (in Chinese).
- [22] 陈成, 龚高芬, 梁锦有, 窦峥嵘, 丁佳洁, 姜北, 王开玲. 白马雪山云南黄芪与灰毛康定黄芪根际微生物物种多样性及抗生物膜活性菌株筛选[J]. *微生物学通报*, 2022, 49(9): 3813-3836.
- CHEN C, GONG GF, LIANG JY, DOU ZR, DING JJ, JIANG B, WANG KL. Rhizosphere microbial diversity of *Astragalus yunnanensis* and *A. tatsienensis* var. *incanus* in Baima Snow Mountain and screening of microorganisms with anti-biofilm activity[J]. *Microbiology China*, 2022, 49(9): 3813-3836 (in Chinese).
- [23] 方中达. 植病研究方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001: 6-13.
- FANG ZD. *Research Methods for Plant Diseases*[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2001: 6-13 (in

- Chinese).
- [24] 魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1979: 349-350.  
WEI JC. Handbook of Fungal Identification[M]. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers, 1979: 349-350. (in Chinese).
- [25] MIRONENKA J, RÓŻALSKA S, SOBÓŃ A, BERNAT P. *Trichoderma harzianum* metabolites disturb *Fusarium culmorum* metabolism: Metabolomic and proteomic studies[J]. Microbiological Research, 2021, 249: 126770.
- [26] 康贻军, 沈敏, 王欢莉, 赵庆新, 殷士学. 2株植物根际促生菌对番茄青枯病的生物防治效果评价[J]. 中国生物防治学报, 2012, 28(2): 255-261.  
KANG YJ, SHEN M, WANG HL, ZHAO QX, YIN TX. Biological control of tomato bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* with *Erwinia persicinus* Ra2 and *Bacillus pumilus* WP8[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2012, 28(2): 255-261 (in Chinese).
- [27] Booth. 镰刀菌属[M]. 陈其焜, 译. 北京: 中国农业出版社, 1988.  
Booth C. The Genus *Fusarium*[M]. Translated by CHEN QY. Beijing: China Agriculture Press, 1988 (in Chinese).
- [28] 杨林毅, 陈泽历, 赖清玉, 陈潞, 孙雁, 唐朝辉, 赵明富, 文国松. 滇黄精腐皮镰刀菌的分离鉴定[J]. 湖北农业科学, 2019, 58(3): 65-67, 101.  
YANG LY, CHEN ZL, LAI QY, LAI QY, LAI QY, TANG (C/Z)H, ZHAO MF, WEN GS. Isolation and identification of *Fusarium solani* from *Polygonatum kingianum*[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2019, 58(3): 65-67, 101 (in Chinese).
- [29] 梅玉琴, 雷剑, 王连军, 柴沙沙, 靳晓杰, 程贤亮, 杨新笋, 朱国鹏. 甘薯根腐病研究进展[J]. 江苏师范大学学报(自然科学版), 2022, 40(4): 37-41.  
MEI YQ, LEI J, WANG LJ, CHAI SS, JIN XJ, CHENG XL, YANG XS, ZHU GP. Research progress on root rot of sweetpotato[J]. Journal of Jiangsu Normal University (Natural Science Edition), 2022, 40(4): 37-41 (in Chinese).