王硕,杨敏,韩昱,等.蒙古黄芪根腐病病原分离与鉴定[J].山西农业大学学报(自然科学版),2025,45(6):100-108.
Wang S, Yang M, Han Y,et al.Isolation and characterization of root rot pathogens of *Astragalus membranaceus* var. *Mongholicus*[J].Journal of Shanxi Agricultural University(Natural Science Edition), 2025,45(6):100-108.
doi: 10.13842/j.cnki.issn1671-8151.202503027

蒙古黄芪根腐病病原分离与鉴定

王硕[1,2],杨敏[1],韩昱[1,2],孙天琦[1],唐毓蔓[1],王丽红[2],隋春[1*]

(1.中国医学科学院北京协和医学院 药用植物研究所/中草药物质基础与资源利用教育部重点实验室/濒危药材繁育国家工程实验室,北京 100193;2.佳木斯大学 药学院,黑龙江 佳木斯 154007)

摘　要:[目的]明确蒙古黄芪主产区根腐病病原菌类型及发病情况,为蒙古黄芪抗病品种培育及根腐病综合防治、提供理论依据。[方法]采用组织分离法对甘肃陇西县、甘肃岷县、山西五寨县、内蒙古固阳县4个蒙古黄芪主产区的病样进行病原真菌的分离纯化,建立致病性检测方法以测定病原菌的致病性并进行柯赫氏法则验证,结合形态学观察,采用分子生物学方法鉴定病原菌。[结果]从4个产地的病样中共分离得到61株真菌分离物,根据其菌落及孢子形态确定为16株菌株。当采用浓度为1×10^6个/mL的孢子悬浮液点接离体根段,侵染时间为7 d时,病斑明显,侵染层次较为分明,结果易于观察和比较,故为致病性测定的最佳条件。根据致病性测定结果及柯赫氏法则验证,具有致病性的菌株有12株,经分子生物学鉴定明确引起蒙古黄芪根腐病的病原菌有4种,3种为来自镰刀菌属(*Fusarium*)的真菌,包括锐顶镰刀菌(*F. acuminatum*)、尖孢镰刀菌(*F. oxysporum*)、茄腐镰刀菌(*F. solani*),1种为螺旋聚孢霉属(*Clonostachys*)的真菌粉红粘帚霉(*C. rosea*)。[结论]蒙古黄芪根腐病主要的病原菌有锐顶镰刀菌、尖孢镰刀菌、茄腐镰刀菌,其中锐顶镰刀菌在4个产地均有发现且致病性较强,为最主要的病原菌。而粉红粘帚霉仅在五寨县发现,相关报道较少,但其具有较强致病性,需引起关注。

关键词:蒙古黄芪; 根腐病; 病原菌分离; 致病性; 分子鉴定
中图分类号:S435.672　　**文献标识码:**A　　**文章编号:**1671-8151(2025)06-0100-09

Isolation and characterization of root rot pathogens of *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus*

Wang Shuo[1,2], Yang Min[1], Han Yu[1,2], Sun Tianqi[1], Tang Yuman[1], Wang Lihong[2], Sui Chun[1*]

(*1.Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College/ Key Laboratory of Bioactive Substances and Resources Utilization of Chinese Herbal Medicine, Ministry of Education/ National Engineering Laboratory for Breeding of Endangered Medicinal Materials, Beijing 10019, China; 2.College of pharmacy, Jiamusi University, Jiamusi 154007, China*)

Abstract:[Objective]This study aimed to identify the pathogen species and disease incidence of root rot in the main producing areas of *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus*, and to provide a theoretical basis for breeding resistant varieties and developing integrated control strategies against root rot disease. [Methods]Pathogenic fungi were isolated and purified from diseased samples collected from four main production areas, Longxi County and Min County in Gansu Province, Wuzhai County in Shanxi Province, and Guyang County in Inner Mongolia, using the tissue isolation method. Pathogenicity of the isolates was assessed using an established assay, followed by verification with Koch′s postulates. Fungal identification was performed by combining morphological observation with molecular biological methods. [Results]A total of 61 fungal isolates were obtained from diseased samples across the four regions. Based on colony and spore morphology, these were grouped into 16 representa-

收稿日期:2025-03-28　　**修回日期:**2025-05-19
基金项目:国家重点研发计划项目课题(2022YFC3501504)
作者简介:王硕(ORCID:0000-0002-2781-3277),硕士研究生,研究方向:植物保护
*通信作者:隋春(ORCID:0000-0002-4678-2218),研究员,博士,研究方向:药用植物栽培育种及次生代谢产物合成与调控,E-mail:csui@implad.ac.cn

tive strains. Optimal conditions for pathogenicity testing were determined as follows: inoculation of excised root segments with a spore suspension at 1×10^6 spores/mL, and an infection period of 7 days. Under these conditions, lesions were clearly visible and infection severity could be readily compared. Pathogenicity tests and fulfillment of Koch's postulates confirmed 12 strains as pathogenic. Molecular identification revealed four species responsible for root rot disease in *A. membranaceus* var. *mongholicus*: three *Fusarium* species, including *F. acuminatum*, *F. oxysporum*, and *F. solani*, and one species of *Clonostachys*, *C. rosea*. [Conclusion] The main pathogens causing root rot in *A. membranaceus* var. *mongholicus* were *F. acuminatum*, *F. oxysporum*, and *F. solan*. Among these, *F. acuminatum* was found in all four production areas and showed strong pathogenicity, indicating that it was the primary pathogen. *C. rosea* was only found in Wuzhai County. Although rarely reported, it exhibited high pathogenicity and thus warrants further attention.

Keywords: *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus*, Root rot, Pathogens isolation, Pathogenicity, Molecular characterization

根腐病是作物栽培过程中常见的毁灭性土传病害,由水分、土壤等非生物因素以及线虫、真菌、细菌等生物因素共同造成,具有易传染、发病率高、危害严重、防治困难等特点,对于以根及根茎作为收获部位的药用植物如三七、白术、当归、蒙古黄芪等影响深重,可导致产量和品质大幅度下滑,造成重大的经济损失[1-3]。

蒙古黄芪(*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao)为豆科(Fabaceae)黄芪属(*Astragalus*)植物,其根可作黄芪入药,具有补气升阳,固表止汗,利水消肿,生津养血等功效[4]。黄芪含有皂苷、多糖、黄酮等成分,抗炎、抗癌、抗氧化、免疫调节等生物活性作用突出,具有极高的药用价值[5-8]。黄芪不仅是临床常用的大宗药材,有"十药八芪"的说法,而且在2023年被纳入食药物质目录之后[9],市场需求与日俱增。目前市场上流通的黄芪商品大多为人工栽培的蒙古黄芪[10],主产于山西、内蒙古、甘肃、宁夏、陕西等地[11-13]。

然而随着生产规模的扩大,蒙古黄芪根腐病病害普遍发生。上个世纪90年代,王立新等[14]调查了内蒙古西部地区蒙古黄芪根腐病的发病情况,结果显示该地区一般地块发病率为30%,严重时可达80%;21世纪初,邓成贵[15]调查发现甘肃定西市蒙古黄芪根腐病发病率可达35%~92%;2013至2014年,根据高芬等[16]的调查,山西地区一般地块发病率为10%~30%,严重时可达60%。近十年,蒙古黄芪产地根腐病发病情况的详细报道较少。马瑞娟等[17]于2023年在甘肃和政县开展的田间试验显示,未进行病虫害综合防治区域的蒙古黄芪根腐病发病率达24.98%。2023年,Xu等[18]在甘肃渭源县一处1998平方米的蒙古黄芪种植田开展调查,发现根腐病发病率为10%,病斑占根表面积比例为5%~60%。蒙古黄芪根腐病是由病原菌和病原线虫共同作用引发[19],其中病原真菌的研究较为深入。与其它作物相同,镰刀菌属(*Fusarium*)的病原真菌也被认为是引起蒙古黄芪根腐病的主要致病菌[16]。近两年报道的病原菌有立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)AG-5[18]、燕麦镰刀菌(*Fusarium avenaceum*)、柔毛镰刀菌(*F. flocciferum*)[20]等。随着气候的变化及产区的迁移,根腐病病原菌类型及致病能力也会发生变化,因此还需持续关注。

植物根腐病致病性测定方法根据植物材料可分为盆栽实验法[15]、离体根部接种法[21]、下胚轴鉴定法[22]等,根据病原菌接种方式又可分为菌饼接种法[23]、孢子悬浮液灌根接种法[24]、孢子悬浮液点接法[25]、孢子悬浮液喷施法[26]等。其中离体根部接种法具有简便快捷、易操作、结果易进行观察比较等优点,在蒙古黄芪根腐病的研究中多采用菌饼进行离体根部接种[16,21],而孢子悬浮液点接法接种量易控制,准确性较高,但目前应用较少,具体的测定方法有待探究。

本研究采集了甘肃陇西县、甘肃岷县、山西五寨县、内蒙古固阳县4个蒙古黄芪主产区具有根腐病典型发病症状的病样,进行病原菌的多次分离纯化,建立致病性测定方法测定病原菌的致病性并进行柯赫氏法则验证,结合形态学观察,采用基因序列比对的分子生物学方法鉴定病原菌类型。在此基础上,明确蒙古黄芪根腐病的主要病原菌及发病情况,为蒙古黄芪抗病品种培育及根腐病综合防治提供理论依据。

1　材料和方法

1.1　试验材料

2023年2月至2024年5月于甘肃陇西县

(34°50′～35°23′N,104°18′～104°54′E)、甘肃岷县(34°07′～34°45′N,103°41′～104°59′E)、山西五寨县(38°44′～39°15′N,111°28′～112°E)、内蒙古固阳县(40°42′～41°29′N,109°38′～110°45′E)的蒙古黄芪种植区采集具有典型发病症状的蒙古黄芪根腐病病样。2023年12月,将健康蒙古黄芪种子播种于装有灭菌土壤的花盆中培育,于2024年6月采挖,取粗细适宜的健康根段用于致病性测定。

1.2 病原菌的分离与纯化

将有典型症状的病根流水冲洗约12 h后,在病健交界处切取0.5 cm×0.5 cm×0.5 cm大小的组织块,分为3份,用1.25%的NaClO溶液消毒1 min,无菌水清洗2次,在灭菌滤纸上吸干水分,转移至PDA培养基中,于25 ℃培养箱中培养3～7 d。待菌丝生长后切取菌落的尖端菌丝再转入PDA培养基上纯化,重复多次至仅观察到1种菌丝,用30%无菌甘油保存于-80 ℃冰箱,备用。

1.3 病原菌的形态观察

将菌株接种于PDA培养基上培养3～7 d,观察菌落形态、颜色等特征,切取菌落的尖端菌丝置于载玻片上,滴入1滴乳酸酚棉蓝染色液进行染色,于显微镜下观察其孢子形态,拍照记录。参照《真菌鉴定手册》[27],进行初步鉴定和分类。

1.4 致病性测定方法建立

接种浓度:根据预实验结果选择2株致病性较强的菌株,分别配制浓度梯度为1×10^5、1×10^6、1×10^7个/mL的孢子悬浮液,取健康蒙古黄芪的根部洗净,切成3 cm小段,消毒后刺伤表皮至轻微破损,将3组不同浓度菌液点于创口处10 μL,无菌水为对照,每个处理设置3个重复。将根段置于垫有无菌滤纸的培养皿中,无菌水喷洒滤纸保湿,黑暗条件下25 ℃密封保存,7 d后切开根段观察。接种方式:确定适宜接种浓度后,参照上述方法,根段处理采用3 cm根段,刺伤表皮后将菌液点于创口处10 μL;切片处理采用1 cm横切片,将菌液点于切片中心10 μL,每个处理设置3个重复。侵染时间:确定适宜接种浓度及方式后,参照上述方法,测定侵染时间为3、7、10 d的侵染效果,每个处理设置3个重复。最终确定,采用浓度为1×10^6个/mL的孢子悬浮液点接离体根段,侵染时间为7 d,为致病性测定的最佳方法。

1.5 病原菌的致病性测定

根据建立的致病性测定方法测定各菌株的致病性,以发病率和侵染面积作为衡量致病性强弱的标准。发病后进行病原菌的再分离与分子生物学鉴定,比较序列是否与原接种菌株相同,进行柯赫氏法则验证。

1.6 病原菌的分子鉴定

DNA提取:挑取少量菌丝放入已加入50 mmol/L NaOH溶液50 μL的1.5 mL离心管,涡旋打散菌丝。将离心管放入沸水浴中浸泡10 min。取出后,加入1 mol/L Tris-HCl(pH8.0)缓冲液5 μL,12 000 r/min离心10 min。取上清液,即为模板DNA,于-20 ℃保存备用。

PCR扩增:引物为通用真菌鉴定引物ITS1(5′-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3′)和ITS4(5′-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3′)。PCR反应体系:模板DNA 2 μL,10×Taq buffer 2 μL,2.5 mmol/L dNTP 1.6 μL,正反向引物各0.5 μL,5 U/μL Taq酶0.2 μL,ddH_2O补足至20 μL。PCR反应程序:95 ℃ 3 min;95 ℃ 30 s,56 ℃ 30 s,72 ℃ 2 min,30个循环;72 ℃ 8 min。将所得PCR产物进行电泳检测。

序列分析:将PCR产物测得的序列与NCBI数据库(http://www.ncbi.nlm.nih.gov)已有序列进行BLAST同源性比对。将测序结果上传至Gen Bank,申请登录号。利用MEGA-X软件对测得的序列连同从GenBank下载的基因序列进行多重对位排列并人工校正,采用NJ法构建系统发育树,自展检验1000次。

2 结果与分析

2.1 病原菌的分离与形态特征

从各个产地的蒙古黄芪病样中共分离得到61株真菌分离物,每株病样基本上可分离得到2～3株菌株。由表1可见,在陇西县收集到的病样数较多,因此分离得到的菌株数量最多,平均每株病样可分离到2.79株菌株。岷县及五寨县虽然病样数较少,但平均分离菌株数也较多,固阳县每株病样仅分离得到1株菌株,种类较单一。

根据菌落及孢子形态分析,61株真菌分离物来自16株菌株。有9株仅在陇西县发现;菌株A01在4个产地均有发现;菌株LMW在固阳县未有发

表1　各采样点病样菌株分离情况

Table 1　Isolation of disease samples at each sampling point

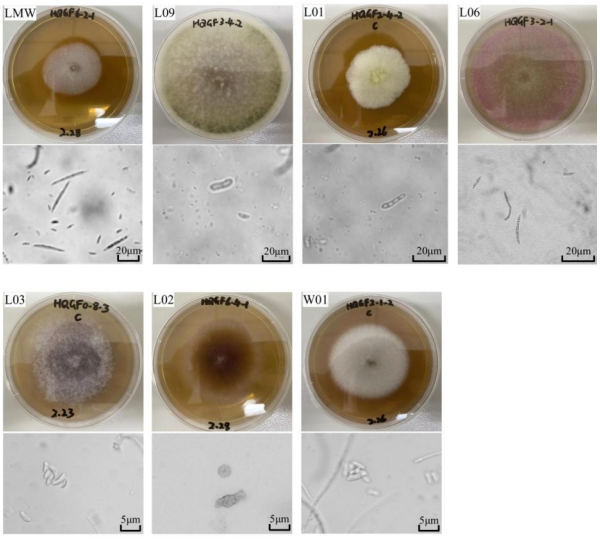
来源 Source	病样数量 Number of disease samples	分离菌株数 Number of isolated strains	平均分离菌株数 Average number of isolated strains
陇西县 Longxi County	14	39	2.79
岷县 Min County	5	10	2.00
五寨县 Wuzhai County	3	7	2.33
固阳县 Guyang County	5	5	1.00

现,而在另外3个产地普遍存在;菌株LWG未在岷县发现,在另外3个产地占比也较低;菌株LG1仅在陇西县和固阳县发现;菌株LM1在陇西县和岷县普遍存在;菌株M01仅在岷县发现;菌株W01仅在五寨县发现。

代表菌株的菌落及孢子形态见图1。菌株LMW的菌落呈白色丝状,圆形,边缘整齐,孢子细长两端较尖,有隔;菌株L04、L09、LWG可归为一类,菌落呈白色、浅黄色或黄绿色绒状,圆形,边缘整齐,孢子中间略弯曲,有隔;菌株L01、L08、M01、LG1可归为一类,菌落呈黄白色或浅绿色,圆形,边缘略不整齐,孢子略弯曲,有隔;菌株L06、LM1、A01可归为一类,菌落呈红色或粉色绒状,边缘较整齐,孢子多呈镰刀形,有隔;菌株L03的菌落呈浅紫色绒状,具丝状纹理,圆形,边缘略不整齐,孢子呈椭圆状且略弯曲;菌株L02、L05可归为一类,菌落呈棕色或暗粉色,表面光滑,边缘整齐,孢子呈球形;菌株L07、W01可归为一类,菌落呈灰白色,圆形,边缘整齐,L07未观察到孢子形态,W01孢子呈椭圆状。初步推测菌株L02、L03、L05、L07、W01不属于镰刀菌属,其余菌株均来自镰刀菌属。

2.2　病原菌的致病性测定方法

由图2可见,在孢子悬浮液浓度为1×10^5个/mL时,蒙古黄芪根段未表现出明显发病症状;在浓度为1×10^6个/mL时,出现了明显发病症状,侵染层次较为分明;在浓度为1×10^7个/mL时,全部发病,部分根段发生严重腐烂,层次不明显,因此采用1×10^6个/mL作为接种浓度。对于接种方式,



菌株LMW:白色丝状菌落,孢子细长有隔;菌株L09:黄绿色绒状菌落,孢子中间略弯曲且有隔;菌株L01:黄白色菌落,孢子略弯曲且有隔;菌株L06:粉色菌落,孢子呈镰刀状;菌株L03:浅紫色绒状有丝菌落,孢子呈椭圆状且略弯曲;菌株L02:棕色光滑菌落,孢子呈球形;菌株W01:灰白色菌落,孢子呈椭圆状

Strain LMW: The colony is white filamentous, and the spores with septa are elongated; Strain L09: The colony is yellow-green velvet, and the spores have septa and are slightly curved in the middle; Strain L01: The colony is yellowish-white, and the spores with septa are slightly curved; Strain L06: The colony is pink, and the spores are sickle-shaped; Strain L03: The colony is light purple velvet and filamentous, and the spores are elliptical and slightly curved; Strain L02: The colony is brown smooth, and the spores are spherical; Strain W01: The colony is off-white, and the spores are elliptical

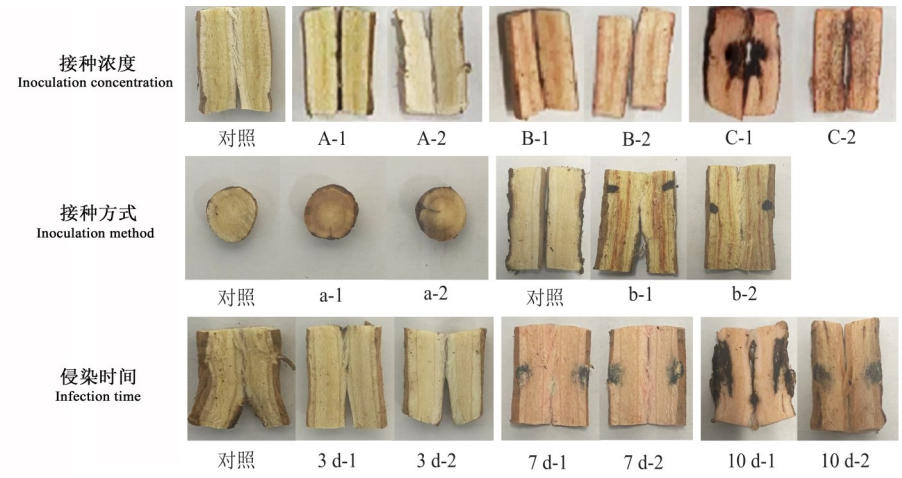
图1　部分菌落及孢子形态

Fig.1　Morphology of some colonies and spores

根段处理的侵染结果较为明显,可见轮廓清晰的黑色斑点,易于观察和比较致病性强弱;而切片处理侵染结果呈浸润状,侵染轮廓不清晰,不易比较,且同一菌株侵染效果存在差异,可能会对结果造成干扰,因此采用根段处理作为接种方式。对于侵染时间,当侵染时间为3 d时,基本不表现出发病症状;当侵染时间为7 d时,侵染层次较为分明,可见轮廓较清晰的黑色斑点;当侵染时间为10 d时,全部发病,部分根段发生严重腐烂,层次不明显,因此采用7 d作为侵染时间。

2.3　病原菌的致病性测定

根据侵染情况可将16株菌株分为4类,见图3。第Ⅰ类包括菌株L02、L03、L05、L07,侵染后未出现变色或腐烂,无明显发病症状,推测其不具有致病性。第Ⅱ类包括菌株L04、L08、L09、M01,侵染后根段颜色泛红,其中大部分根段接种位置出现明显黑褐色或黑色斑点,推测其具有致病性。



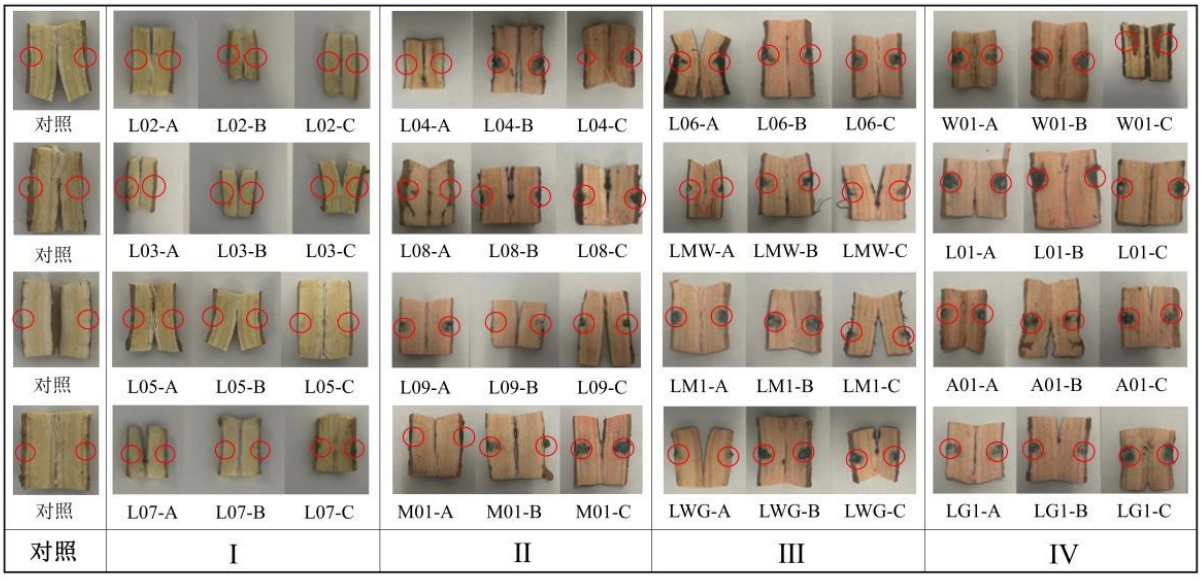
数字1、2代表不同的菌株。A:孢子悬浮液浓度为1×10^5个/mL;B:孢子悬浮液浓度为1×10^6个/mL;C:孢子悬浮液浓度为1×10^7个/mL。a:切片处理;b:根段处理;3 d:侵染时间为3 d;7 d:侵染时间为7 d;10 d:侵染时间为10 d。各处理均设置3个重复,图中仅展示代表性结果

The numbers 1 and 2 represent different strains; A: The concentration of spore suspension is 1×10^5 spores /mL; B: The concentration of spore suspension is 1×10^6 spores /mL; C: The concentration of spore suspension is 1×10^7 spores /mL; a: slice processing; b: root segment processing; 3 d: The infection time is 3 days; 7d: Infection time is 7 days; 10 d: The infection time is 10 days. Three replicates are set for each treat, and only representative results are shown

图2 不同处理方式的侵染效果

Fig.2 Infection effects of different treatments

第Ⅲ类包括菌株L06、LMW、LM1、LWG,根段接种位置出现颜色较深的黑色斑点,伴有腐烂现象,个别根段发病程度较轻,推测其具有较强致病性。第Ⅳ类包括W01、L01、A01、LG1,根段接种位置出现颜色较深且面积较大的黑色斑点,伴有腐烂现象,推测其致病性最强,其中W01发病症状最为显著。对发病后的根段进行病原菌的再分离及鉴定,所得菌株均与原接种菌株相同,符合柯赫氏法则,故后3类菌株均属于蒙古黄芪根腐病致病菌。



A、B、C代表重复;Ⅰ:无明显发病症状;Ⅱ:大部分根段有发病症状;Ⅲ:各根段均有明显发病症状;Ⅳ:各根段均有较严重发病症状

A, B, C represent duplicates; Ⅰ: no obvious symptoms; Ⅱ: individual root segments have symptoms; Ⅲ: Each root segment has obvious symptoms; Ⅳ: All root segments have severe symptoms

图3 致病性测定

Fig.3 Pathogenicity test

2.4 病原菌的分子鉴定

利用真菌rDNA-ITS通用引物对具有致病性的12个菌株进行PCR扩增,获得大小为550 bp左右片段,测得序列与GenBank中已有的序列进行

BLAST分析并建立系统发育树。由图4可见,菌株可聚类为4组,归属于4个种。第1组包含菌株LG1、M01、LM1、A01、L08、L06、L01,与GenBank登录号为KJ728693、OK338521、OM964482等的*F. acuminatum*菌株聚在一起。菌株LMW与GenBank登录号为OL348244、EU263916的*F. solani*菌株聚为第2组。菌株L04、L09、LWG与GenBank登录号为JN650598、PP843915、MH911393的*F. oxysporum*菌株聚为一类。菌株W01与GenBank登录号为PQ900717、OM965336的*Clonostachys rosea*菌株聚为第4组。

结合形态特征和分子鉴定结果,菌株LMW鉴定为茄腐镰刀菌(*F. solani*);菌株L04、L09、LWG鉴定为尖孢镰刀菌(*F. oxysporum*);菌株L01、L06、L08、LG1、LM1、A01、M01鉴定为锐顶镰刀菌(*F. acuminatum*);菌株W01鉴定为粉红粘帚霉(*C. rosea*)。各菌株的形态观察及分子鉴定结果基本一致。

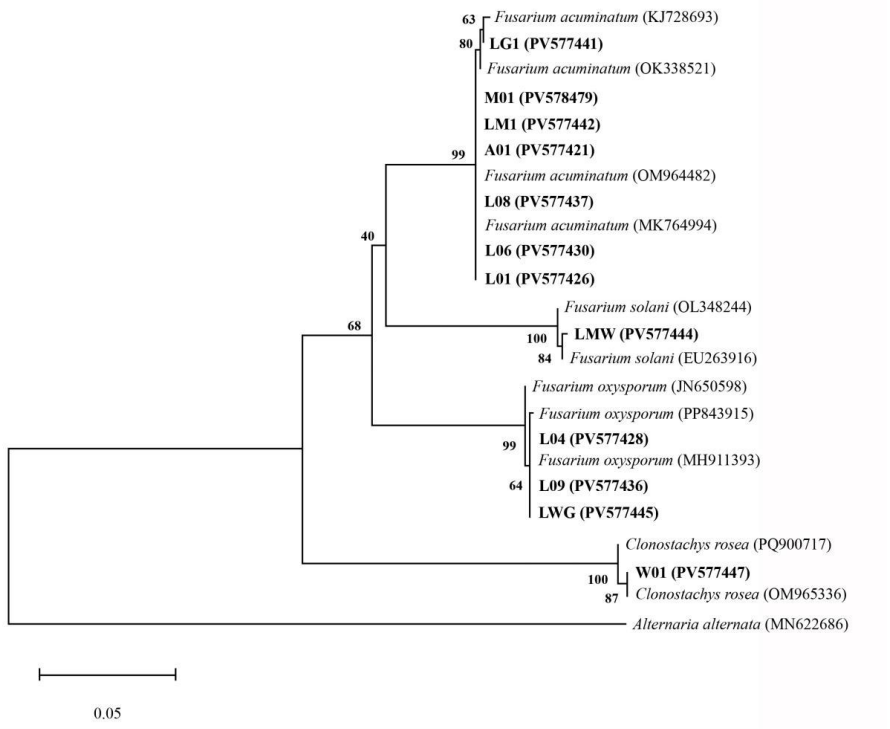


图4　基于rDNA-ITS序列构建蒙古黄芪根腐病病原菌株的系统发育树

Fig.4　Phylogenetic tree of pathogenic strains of *A. membranaceus* var. *mongholicus* root rot based on analysis rDNA-ITS sequences

2.5　病原菌的分离频率及发病情况

由表2可见,蒙古黄芪各个产地的根腐病病原菌类型和分离频率存在较大差异。锐顶镰刀菌在各个产地均有分布,是陇西县、岷县、五寨县的主要致病菌,在陇西县的分离频率高达46.15%;茄腐镰刀菌虽在固阳县未发现,但在其它3个地区分离频率均相对较高;尖孢镰刀菌在甘肃岷县未发现。粉红粘帚霉仅在五寨县发现,分离频率相对较高。从产地来看,甘肃地区陇西县和岷县以锐顶镰刀菌和茄腐镰刀菌为主;山西五寨县4种病原菌均有分布;内蒙古固阳县病原菌为锐顶镰刀菌及尖孢镰刀菌,其中锐顶镰刀菌占优。

3　讨论

本研究从蒙古黄芪的4个主产区甘肃陇西县、甘肃岷县、山西五寨县、内蒙古固阳县收集的蒙古黄芪根腐病病样中共分离到61个真菌分离物,菌落及孢子形态分析表明其来自16个菌株。建立致病性测定方法测定病原菌致病性强弱,结果表明其中12株菌株具有致病性,且符合柯赫氏法则,验证为蒙古黄芪根腐病病原菌。依据形态特征及分子生物学鉴定结果,明确蒙古黄芪根腐病病原菌共有4种,3种来自镰刀菌属,包括锐顶镰刀菌、尖孢镰刀菌、茄腐镰刀菌,及1种来自螺旋聚孢霉属

表2 不同产地病原菌类型及分离频率

Table 2 The number and isolation frequency of root rot pathogens in different producing areas

菌株类型 Types of pathogens	菌株分离频率/% Strain isolation frequency			
	陇西县 Longxi County	岷县 Min County	五寨县 Wuzhai County	固阳县 Guyang County
锐顶镰刀菌 *F. acuminatum*	46.15	60.00	28.57	80.00
茄腐镰刀菌 *F. solani*	28.21	40.00	28.57	—
尖孢镰刀菌 *F. oxysporum*	15.38	—	14.29	20.00
粉红粘帚霉 *C. rosea*	—	—	28.57	—
非致病性菌株 Non-pathogenic strains	10.26	—	—	—
总计 Total	100.00	100.00	100.00	100.00

(*Clonostachys*)的粉红粘帚霉。

本研究发现蒙古黄芪根腐病病原菌主要来自镰刀菌属,锐顶镰刀菌、茄腐镰刀菌和尖孢镰刀菌为主要致病菌,与高芬等[16]的研究结果一致。在地理分布上,甘肃产区的优势病原菌为锐顶镰刀菌及茄腐镰刀菌,尖孢镰刀菌占比较低,与已有报道不同[15,21];山西五寨县的病原菌类型多样,4种病原菌均有发现,之前该地区的研究中未报道粉红粘帚霉[16];内蒙古固阳县病原菌相对单一,以锐顶镰刀菌占优。相较于2000至2018年间的研究,各产区的优势病原菌及病原菌类型有所变化。除研究年份、取样点差异外,还可能与土壤、气候、种质等因素有关[28]。首先,部分老产区长期连作引发了土壤微生物群落的失衡,有研究发现在连作土壤中生长的蒙古黄芪植株根部镰刀菌属相对丰度有所提高[29],即连作可能诱导病原菌类型演变甚至新病原的出现。其次,在全球变暖背景下,暴雨、高温、干旱等极端气候频发,对病原菌的生长、繁殖和传播均有影响,不同病原菌的适应性存在差异[30]。同时,蒙古黄芪种质混杂和退化的问题较严重[31],可能导致其抗病性的变化,且蒙古黄芪生产中存在跨地区调运种子种苗的现象[31],加剧了病原菌扩散的风险。

2022年,Qi等[32]首次报道了于青海民和县发现的粉红粘帚霉引起的黄芪根腐病,此外该病原菌还可引发青稞[33]、太白贝母[34]等作物的根腐病。粉红粘帚霉在蒙古黄芪根腐病的研究中报道较少,本研究仅在山西五寨县发现,但其具有较强的致病性,需引起关注。值得注意的是,粉红粘帚霉还是一种分布广泛的重寄生菌,具有一定的生防促生、改善连作障碍作用[35],有研究表明其可防治由 *F. culmorum* 和 *Bipolaris sorokiniana* 引起的小麦病害[36]。

根腐病是由多种生物和非生物因素综合作用引起的,在研究中发现大多数病样均可分离得到2种病原菌,在五寨县的1株病样上甚至分离出了4种病原菌,说明蒙古黄芪的根腐病可能是由多种病原菌复合侵染形成的,因此还需要进一步探究病原菌的致病机制、发生规律,进行综合考量。目前蒙古黄芪根腐病的防治多集中于化学药剂[25]、微生物菌剂[37]的筛选与研发。其中微生物菌剂不仅具有良好的防治效果且对环境友好。在明确蒙古黄芪根腐病的主要病原菌及发病情况的基础上,可以根据主要病原菌的特性筛选对其有防治效果的生防微生物,实现对症下药、精准防控。而培育抗病品种也是防治蒙古黄芪根腐病的重要途径,可针对病原菌类型建立蒙古黄芪根腐病的抗病群体,采用分子育种技术进行高效育种。董林林等[38]曾采用DNA标记辅助育种结合系统选育的技术,选育了首个三七抗病新品种'苗乡抗七1号',其根腐病的发病率较常规栽培种下降了8.6%。此外,还需规范蒙古黄芪种子种苗的生产,减少跨区域调运,并注意田间管理,优化耕作制度[3]。

4 结论

综上所述,蒙古黄芪根腐病的主要病原菌为锐顶镰刀菌、尖孢镰刀菌、茄腐镰刀菌,其中锐顶镰刀菌是最主要的病原菌且致病性较强。粉红粘帚霉仅在五寨县发现,相关报道较少,但其具有较强致病性,需引起关注。本研究建立了孢子悬浮液点接离体根段的致病性测定方法,当采用浓度为1×10^6个/mL的孢子悬浮液点接离体根段,侵染时间为7 d时,病斑明显,侵染层次较分明,此方法可为蒙古黄芪及其它植物根腐病的病原菌致病性测定提供参考。

参 考 文 献

[1]张佳宁,谢田朋,杨林桦,等. 药用植物根腐病研究进展[J]. 中国野生植物资源,2024,43(6):60-67.
Zhang J N, Xie T P, Yang L H, et al. Research progress on root rot disease in medicinal plants[J]. Chinese Wild Plant Resources, 2024, 43(6): 60-67.

[2]廖长宏,陈军文,吕婉婉,等. 根和根茎类药用植物根腐病研究进展[J]. 中药材,2017,40(2):492-497.
Liao C H, Chen J W, Lü W W, et al. Research progress on root rot of medicinal plants of roots and rhizomes[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2017, 40(2): 492-497.

[3]高芬,任小霞,王梦亮,等. 中草药根腐病及其微生物防治研究进展[J]. 中国中药杂志,2015,40(21):4122-4126.
Gao F, Ren X X, Wang M L, et al. Research progress in root rot diseases of Chinese herbal medicine and control strategy by antagonistic microorganisms[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2015, 40(21): 4122-4126.

[4]国家药典委员会.中华人民共和国药典[S].北京:中国医药科技出版社,2020:315.
National Pharmacopoeia Committee. Pharmacopoeia of the People's Republic of China[S]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2020: 315.

[5]Chen G M, Jiang N, Zheng J P, et al. Structural characterization and anti-inflammatory activity of polysaccharides from *Astragalus membranaceus*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 241: 124386.

[6]Sheik A, Kim K, Varaprasad G L, et al. The anti-cancerous activity of adaptogenic herb *Astragalus membranaceus*[J]. Phytomedicine, 2021, 91: 153698.

[7]Sheng Z L, Jiang Y M, Liu J M, et al. UHPLC-MS/MS analysis on flavonoids composition in *Astragalus membranaceus* and their antioxidant activity[J]. Antioxidants, 2021, 10(11): 1852.

[8]Liu A J, Yu J, Ji H Y, et al. Extraction of a novel cold-water-soluble polysaccharide from *Astragalus membranaceus* and its antitumor and immunological activities[J]. Molecules, 2017, 23(1): 62.

[9]食品安全标准与监测评估司.关于党参等9种新增按照传统既是食品又是中药材的物质公告[EB/OL].(2023-11-9)[2024-12-27]. http://www.nhc.gov.cn/sps/s7892/202311/f0d6ef3033b54333a882e3d009ff49bf.shtml.
Department of Food Safety Standards, Monitoring and Evaluation. Announcement on nine newly added substances including *Codonopsis pilosula* that are both food and traditional Chinese medicinal materials according to tradition [EB/OL]. (2023-11-9) [2024-12-27]. http://www.nhc.gov.cn/sps/s7892/202311/f0d6ef3033b54333a882e3d009ff49bf.shtml.

[10]王芳,张鹏飞,田洪岭,等. 蒙古黄芪MSAP反应体系的建立与优化[J]. 世界科学技术-中医药现代化,2023,25(9):3174-3181.
Wang F, Zhang P F, Tian H L, et al. Establishment and optimization of MSAP reaction system of *Astragalus mongolica*[J]. Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica-World Science and Technology, 2023, 25(9): 3174-3181.

[11]薛嘉宁,赵容,蔡欣航,等.黄芪的本草考证及其研究进展[J]. 中国民族民间医药,2023,32(1):58-64.
Xue J N, Zhao R, Cai X H, et al. *Astragalus Membranaceus* medicinal herbs textual research and its research progress[J]. Chinese Journal of Ethnomedicine and Ethnopharmacy, 2023, 32(1): 58-64.

[12]秦雪梅,李震宇,孙海峰,等. 我国黄芪药材资源现状与分析[J]. 中国中药杂志,2013,38(19):3234-3238.
Qin X M, Li Z Y, Sun H F, et al. Status and analysis of Astragali Radix resource in China[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2013, 38(19): 3234-3238.

[13]李晶,包保全,薛晓聪,等. 不同产地和加工工艺蒙古黄芪饮片质量对比[J]. 中国民族民间医药,2024,33(19):48-53.
Li J, Bao B Q, Xue X C, et al. Quality comparison of decoction pieces of *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* from different origins and different processing technology[J]. Chinese Journal of Ethnomedicine and Ethnopharmacy, 2024, 33(19): 48-53.

[14]王立新,孙先荣,白全江,等. 黄芪根腐病病原菌鉴定[J]. 华北农学报,1994,9(2):107-109.
Wang L X, Sun X R, Bai Q J, et al. Pathogen identification of root rot in *Astragalus mongholicus*[J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 1994, 9(2): 107-109.

[15]邓成贵. 黄芪根腐病病原鉴定研究初报[J]. 中药材,2005,28(2):85.
Deng C G. Preliminary report on pathogen identification of *Astragalus membranaceus* root rot[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2005, 28(2): 85.

[16]高芬,赵晓霞,秦雪梅,等. 山西省蒙古黄芪根腐病优势致病菌群分析[J]. 植物保护学报,2018,45(4):878-885.
Gao F, Zhao X X, Qin X M, et al. Analysis of dominant pathogen community causing *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* root rot in Shanxi Province[J]. Journal of Plant Protection, 2018, 45(4): 878-885.

[17]马瑞娟,孔令慧,高泽鹏. 黄芪主要病虫害田间综合防治试验[J]. 乡村科技,2024,15(11):76-79.
Ma R J, Kong L H, Gao Z P. Field integrated control experiment of main diseases and pests of *Astragalus membranaceus*[J]. Rural Science and Technology, 2024, 15(11): 76-79.

[18]Xu S J, Jing Z Q, Guo Z J. Occurrence of *Rhizoctonia solani* AG-5 causing root rot on *Astragalus mongholicus* in northwestern China[J]. Plant Disease, 2025, 109(4): 940.

[19]南换杰,秦雪梅,武滨,等. 黄芪根腐病研究概况[J]. 山西中医学院学报,2009,10(1):67-70.
Nan H J, Qin X M, Wu B, et al. General situation of root rot of *Astragalus membranaceus*[J]. Journal of Shanxi College of Traditional Chinese Medicine, 2009, 10(1): 67-70.

[20]Qi H X, Qi X X, Xu W H, et al. First Report of Root Rot Caused by *Fusarium avenaceum* and *Fusarium flocciferum* on *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* in China[J].

Journal of Phytopathology,2024,172(5):e13397.

[21]牛世全,耿晖,韩彩虹,等. 甘肃陇西黄芪根腐病病原菌的分离与鉴定[J]. 西北师范大学学报(自然科学版),2016,52(2):75-78,83.
Niu S Q,Geng H,Han C H,et al. Isolation and identification of pathogens causing *Astragalus membranaceus* root rot in Gansu Longxi[J]. Journal of Northwest Normal University (Natural Science),2016,52(2):75-78,83.

[22]牛景萍,燕翔,石志勇,等.黄芪根腐病病原菌的分离鉴定及对其抑制作用分析[J].山西农业科学,2023,51(6):690-695.
Niu J P,Yan X,Shi Z Y,et al.Isolation and identification of pathogens causing *Astragalus membranaceus* root rot and analysis of its inhibition effects [J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences,2023,51(6):690-695.

[23]徐雪芬,李惠霞,倪春辉,等.甘肃省党参根腐病菌的分子生物学鉴定及区域分布[J].植物保护,2022,48(2):130-138.
Xu X F,Li H X,Ni C H,et al. Molecular biological identification and regional distribution of pathogens causing root rot of *Codonopsis pilosula* in Gansu Province [J]. Plant Protection,2022,48(2):130-138.

[24]姚光磊,郜惠苹,高新楼,等. 郑州草莓根腐病的病原菌鉴定及防治药剂初筛[J]. 中国植保导刊,2024,44(10):16-21.
Yao G L,Gao H P,Gao X L,et al. Pathogen identification of strawberry root rot in Zhengzhou and screening of fungicides [J]. China Plant Protection,2024,44(10):16-21.

[25]马桂花,段晓明,徐文华,等. 蒙古黄芪根腐病病原鉴定及防治药剂室内筛选[J]. 草地学报,2022,30(5):1122-1130.
Ma G H,Duan X M,Xu W H,et al. 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.

[26]林辉锋,许克正,曹奕骜,等. 兰花根腐病病原菌分离鉴定及室内药剂筛选[J]. 东南园艺,2024,12(5):350-357.
Lin H F,Xu K Z,Cao Y Y,et al. Isolation and identification of pathogen of orchid root rot and screening of laboratory agents [J]. Southeast Horticulture,2024,12(5):350-357.

[27]魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海:上海科学技术出版社,1979.
Wei J C. Manual of Fungal Identification [M]. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers,1979.

[28]丁新华,宋子硕,蒋旭东,等.新疆绿洲灌溉玉米产区玉米茎腐病优势病原菌分离与鉴定[J].植物保护学报,2023,50(3):733-74.
Ding X H,Song Z S,Jiang X D,et al. Isolation and identification of dominant pathogens causing maize stalk rot in the irrigated maize producing areas in Xinjiang oases [J]. Journal of Plant Protection,2023,50(3):733-74.

[29]Zhou Q,Wang Y,Yue L,et al. Impacts of continuous cropping on the rhizospheric and endospheric microbial communities and root exudates of *Astragalus mongholicus*[J]. BMC Plant Biology,2024,24(1):340.

[30]West J S,Townsend J A,Stevens M,et al. Comparative biology of different plant pathogens to estimate effects of climate change on crop diseases in Europe [J]. European Journal of Plant Pathology,2013,133(1):315-331.

[31]周盛茂,吴卫刚,郭亮,等.中国黄芪产区变迁及栽培产业发展历程[J].中国现代中药,2023,25(11):2428-24.
Zhou S M,Wu W G,Guo L,et al. Changes of Astragali Radix producing regions and development process of cultivation industry in China[J]. Modern Chinese Medicine,2023,25(11):2428-2433.

[32]Qi H X,Duan X M,Xu W H,et al. First report disease of *Clonostachys rosea* causing root rot on *Astragalus membranaceus* in China [J].Plant Disease,2022,106(6):175.

[33]李雪萍,许世洋,李建军,等.一种由粉红粘帚霉引起的青稞根腐病(英文)[J].微生物学通报,20,49(2):598-605.
Li X P,Xu S Y,Li J J,et al.*Clonostachys rosea*,a pathogen of root rot in naked barley (*Hordeum vulgare* L.var.*nudum* Hook. f.) on the Qinghai-Tibet Plateau,China [J]. Microbiology China,20,49(2):598-605.

[34]Wang H S,He W J,Chen J N,et al. First report of *Clonostachys rosea* causing bulb rot on *Fritillaria taipaiensis* in China[J]. Plant Disease,2024.

[35]杨涛,姚阳阳,张永涛,等. 不同植物激素和微生物对重茬地当归产量和品质的影响[J]. 中药材,2021,44(5):1065-1070.
Yang T,Yao Y Y,Zhang Y T,et al. Effects of different plant hormones and microorganisms on yield and quality of *Angelica sinensis* in continuous cropping land[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials,2021,44(5):1065-1070.

[36]Knudsen I M B,Hockenhull J,Jensen D F. Biocontrol of seedling diseases of barley and wheat caused by *Fusarium culmorum* and *Bipolaris sorokiniana*:effects of selected fungal antagonists on growth and yield components [J]. Plant Pathology,1995,44(3):467-477.

[37]张晓尘,张红杰,李生兵,等. 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 X C,Zhang H J,Li S B,et al. 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.

[38]董林林,陈中坚,王勇,等.药用植物DNA标记辅助育种(一):三七抗病品种选育研究[J].中国中药杂志,2017,42(1):56-62.
Dong L L,Chen Z J,Wang Y,et al. DNA marker-assisted selection of medicinal plants (Ⅰ):Breeding research of disease-resistant cultivars of *Panax notoginseng*[J]. China Journal of Chinese Materia Medica,2017,42(1):56-62.

(编辑:吕俊俐)