

草莓炭疽病拮抗木霉菌筛选、鉴定及功能评价

刘建华¹, 蒋艳青¹, 李红梅¹, 杨建闻², 魏艳丽¹, 刘宝军¹, 李纪顺¹, 扈进冬^{1*}

(1. 齐鲁工业大学(山东省科学院)生态研究所 山东省应用微生物重点实验室, 山东 济南 250103;
2. 山东泰诺药业有限公司, 山东 潍坊 262200)

摘要:针对当前草莓炭疽病发生严重并且难防难治的问题,以引起草莓炭疽病的暹罗炭疽为靶标,采用平板对峙、平板对扣等方法,筛选获得高效防治草莓炭疽病的生防木霉菌株 HB 23422,经分子生物学和形态学特征观察鉴定为类棘孢木霉。该菌在 PDA 平板上对暹罗炭疽菌 CM9 具有强烈抑制作用,抑制率可达 74.55%;离体叶片试验和盆栽试验表明该菌的孢子悬液可有效降低草莓炭疽病发病率。类棘孢木霉 HB 23422 生长速度快,产孢能力强,防治效果好,具有开发成微生物农药用于草莓炭疽病绿色防治的潜力。

关键词:暹罗炭疽菌;木霉;分离鉴定;抑菌率

中图分类号:S182 文献标志码:A 文章编号:1002-4026(2025)06-0060-09

开放科学(资源服务)标志码(OSID):



Screening, identification and functional evaluation of trichoderma strains antagonistic to strawberry anthracnose

LIU Jianhua¹, JIANG Yanqing¹, LI Hongmei¹, YANG Jianwen², WEI Yanli¹,
LIU Baojun¹, LI Jishun¹, HU Jindong^{1*}

(1. Shandong Provincial Key Laboratory of Applied Microbiology, Ecology Institute, Qilu University of Technology
(Shandong Academy of Sciences), Jinan 250103, China; 2. Shandong Tenov Pesticide Co., Ltd., Weifang 262200, China)

Abstract: In response to the severe incidence and management challenges of strawberry anthracnose, this study targeted *Colletotrichum siamense*, the pathogen responsible for the disease. We used dual culture and sealed-plate assays to screen for the effective biocontrol *Trichoderma* strain HB 23422, which exhibited strong antagonistic activity against strawberry anthracnose, and was identified based on morphological characteristics and molecular biology as *Trichoderma asperellum*. On PDA plates, HB 23422 exhibited a strong inhibitory effect on *Colletotrichum siamense* CM9, with an inhibition rate of more than 74.55%. Vitro leaf experiments and pot experiments showed that the spore suspension of this

收稿日期:2025-03-16 修回日期:2025-05-13

基金项目:枣庄市国家可持续发展议程创新示范区科技专项项目(2024SFQZX007);齐鲁工业大学(山东省科学院)科教产融合试点工程重大创新类项目(2025ZDZX18)

作者简介:刘建华(2000—),男,硕士研究生,研究方向为微生物资源开发与利用。E-mail:liujianhua12123@163.com

* 通信作者,扈进冬(1977—),男,研究员,研究方向为生物农药研发。E-mail:hujd@sas.org

strain could effectively reduce the incidence of strawberry anthracnose. The strain HB 23422 grows rapidly, produces abundant spores, and has excellent disease control efficacy, indicating its potential for development as microbial pesticide for environment friendly control of strawberry anthracnose.

Key words : *Colletotrichum siamense*; *Trichoderma*; separation and identification; inhibition rate

草莓(*Fragaria ananassa* Duch.)隶属于蔷薇科,是一种多年生长的草本植物。其外观光鲜夺目,果实甘美且富含多种营养成分,被誉为“果中之后”,深受大众青睐^[1]。草莓营养价值很高,含有多种矿质元素、维生素以及抗氧化物质,在提高人体免疫力、促进肠胃吸收和抗衰老等方面有较好功效^[2]。山东省位于华东沿海及黄河下游,凭借其优越的地理位置与气候环境,奠定了其在全国草莓生产领域的显著地位。近年来,山东地区的草莓种植业迅猛崛起,已成为助力农村经济增收的重要途径之一。但是,草莓在其生长阶段面临着众多且错综复杂的病虫害侵袭,这极大地削弱了其产量并损害了品质。尤其在高温高湿天气下,草莓苗期病害尤为严重,其中以草莓炭疽病最为突出^[3]。

草莓炭疽病,是一种由炭疽菌属(*Colletotrichum* spp.)真菌导致的植物疾病,通常它会对草莓的叶子、果实、匍匐茎和花序等多个部分造成严重的损害^[4]。草莓在育苗和定植的早期阶段,疾病的发生率有时可以高达80%。在严重的情况下,这会导致草莓幼苗大规模的枯萎和死亡,进而对草莓的产量和品质产生严重的负面影响^[5]。如今,草莓炭疽病的防治大多依赖于化学药剂,尽管种植了一些高抗性的品种,然而,鉴于病原菌耐药性日趋严重,依赖化学杀菌剂以遏制炭疽菌的策略,其成效已难以令人满意。该手段亦可能引发环境污染及药品残留问题,对我国生态农业的稳健推进形成潜在隐患^[6]。当下,生态防控手段在全球范围内备受瞩目,正迅速崛起为各国竞相探索的前沿领域。由于其具备环保和安全的特性,它越来越受到公众的重视^[7-8]。在生物防治制剂领域,木霉菌(*Trichoderma* spp.)被认为是当前研究的热门菌种之一。

木霉菌(*Trichoderma* spp.)属丝孢纲丝孢目丛梗孢科,通常定居在腐烂的木材或其他形式的有机植物物质内^[9]。目前广泛报道的木霉研究主要集中在哈茨木霉(*T. harzianum*)、康氏木霉(*T. koningii*)、深绿木霉(*T. atroviride*)、刺孢木霉(*T. asperellum*)、绿色木霉(*T. viride*)、钩状木霉(*T. hamatum*)、里氏木霉(*T. reesei*)等^[10-11]。木霉以其迅速的繁殖速率和卓越的环境适应力著称,并能大量繁殖孢子,因而在防治植物病害领域展现出显著的实用效能^[12-13]。木霉菌拥有在植物组织、根际及根部高效定植的本领,还能产出众多兼具抗菌功效(诸如细胞壁分解酶、抗菌素、挥发性及非挥发性化合物)与生物激发作用(例如植物激素及植物调节物质)的代谢产物^[14-15]。鉴于各异的木霉菌株展现出独特的生物防治效能,挑选兼具高效性与广谱性的木霉菌株,并辅以恰当的施肥策略,显得至关重要^[16-17]。

近年来研究表明,种类不同的木霉菌(如*T. atroviride*、*T. viride*、*T. harzianum*)在许多果蔬病害(如黄瓜枯萎病、番茄灰霉病等)防治中表现出显著效果^[18-19]。特别是在果蔬根际微生态调控方面,木霉菌表现出了优秀的共生能力与田间稳定性,为其在草莓病害防治中的应用奠定了坚实的理论与实践基础。已有研究表明,木霉菌对*Colletotrichum gloeosporioides*、*C. acutatum*等草莓炭疽病常见病原菌具有较强的体外抑制作用^[20],在体内试验中也可大幅度降低病害发生率,表明其在草莓炭疽病防控中具有靶向性与可行性。

本研究的目的是筛选出对草莓炭疽病具有抑菌效果的木霉菌。我们分析了在炭疽病胁迫条件下,木霉菌对草莓根系活力的影响,并评估了其促生防病的效果。这将为草莓炭疽病的绿色防控提供科学依据,同时也为木霉菌剂的研发提供了宝贵的微生物资源。

1 材料与方法

1.1 实验菌株

菌株 HB 23422,分离自黑龙江省伊春市小兴安岭林地。

供试病原菌:暹罗炭疽菌(*Colletotrichum siamense*),由齐鲁工业大学(山东省科学院)生态研究所环境微

生物研究室保存。菌株采用马铃薯葡萄糖琼脂(potato dextrose agar, PDA)培养基活化两次,28℃培养。

1.2 主要仪器和试剂

HPS-160 生化培养箱(哈尔滨市东联电子技术开发有限公司);YXQ-LS-S II 全自动立式电热压力蒸汽灭菌器(上海博迅实业有限公司医疗设备厂);DHG-9070A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司);DK-80 电热恒温水槽(浙江恒岳仪器有限公司);高速离心机(山东德瑞克仪器股份有限公司);CX-31 电子显微镜(奥林巴斯公司),其他常用试剂为国产分析纯试剂。

1.3 培养基

马铃薯葡萄糖琼脂(PDA,potato dextrose agar)培养基:马铃薯 180 g、葡萄糖 18 g、琼脂 15 g、蒸馏水 1 000 mL。

合成低营养琼脂(SNA,synthetic low nutrient agar)培养基:KNO₃1.0 g、KH₂PO₄ 1.0 g、MgSO₄·7H₂O 0.5 g、KCl 0.5 g、葡萄糖 0.2 g、蔗糖 0.2 g、琼脂 15 g、蒸馏水 1 000 mL。

麦芽提取物琼脂(MEA,malt extract agar)培养基:麦芽提取物 20 g、琼脂 15 g、蒸馏水 1 000 mL。

玉米粉琼脂 CMD(corn meal dextrose)培养基:玉米粉 30 g、葡萄糖 20 g、琼脂 15 g、蒸馏水 1 000 mL。

1.4 实验方法

1.4.1 木霉菌株 HB 23422 形态学鉴定

取-80℃保存的木霉菌株 HB 23422 菌液,接种在 PDA 培养基上,28℃恒温培养活化 2 次,取活化平板上同一位置菌饼分别转接到 PDA、SNA、CMD 和 MEA 平板上培养木霉菌株,置于 28℃恒温培养,定期观察记录木霉在培养基上的菌落特征、分生孢子梗、分生孢子发育形态,并拍照记录。

1.4.2 木霉菌株 HB 23422 分子生物学鉴定

参照罗中钦等^[21]的方法制备木霉 HB 23422 模板 DNA。采用木霉通用引物 ITS1/ITS4 和 TRPB2-7F/TRPB2-5E,用来扩增 ITS 和 RPB 基因序列。聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)体系为 25 μL; 2×PCR 反应缓冲液 12.5 μL, DNA 模板 1 μL, 10 μmol/L 引物 1 μL, 双重去离子水(ddH₂O)补充 10.5 μL。PCR 反应程序:95℃ 3 min;95℃ 10 s;53℃ 30 s;72℃ 20 s,35 个循环;72℃ 5 min。本次研究的目的是为了验证目的片段的准确性,通过 1%琼脂糖凝胶电泳对扩增产物进行检测。目标片段经电泳处理后,再经胶回收提纯处理,经测序处理后送样给上海生工生物工程(上海)有限公司。测序结果通过 SeqMan 软件处理,确保了可靠、准确的数据。随后,我们在 NCBI(美国国家生物技术信息中心,National Center for Biotechnology Information)的 BLAST 程序中进行了同源性分析,下载了包含 ITS 和 TRPB 在内的高度相似的基因序列,对样本特征进行进一步验证。最终利用 MEGA 11 软件进行数列比分析,利用邻接树(neighbor-joining tree)方法,对样本间的演化关系进行探索,构建系统发育树。通过这一系列实验步骤,我们能够深入理解目标基因的特性及其在生物分类学中的位置,为后续研究提供重要数据支持。

1.4.3 木霉菌株 HB 23422 对病原真菌的抑制作用

利用平板对峙法^[22]评估木霉 HB 23422 对致病真菌的抑菌效能,将木霉菌与致病真菌分别接种于 90 mm PDA 培养基表面,两者位于平板直径线的两端,各自距离中心 35 mm。同时设立仅接种致病真菌的对照组,每种处理进行 3 次平行实验,全部置于 28℃恒温室中培养 5 d。随后,借助直尺测定致病真菌在对峙方向上的扩展半径,进而推导出抑菌率。抑制率计算见公式(1):

$$I = \frac{R_0 - R}{R_0} \times 100\%, \quad (1)$$

公式(1)中对照病原真菌的半径记为 R_0 ,处理病原真菌的半径记为 R 。

利用平板对扣法^[23]来评估木霉 HB 23422 产挥发性气体对致病真菌的抑菌效能,将木霉菌与致病真菌分别接种于 90 mm PDA 培养基中间位置,待生长出菌丝以后,将两个平板对扣,用封口膜密封。设置对照为只接种病原菌。每种处理进行 3 次平行实验,全部置于 28℃恒温室中培养 5 d。随后,借助直尺测定致病真

菌在对峙方向上的扩展半径,进而推导出抑菌率。抑制率计算公式与对峙法相同。

1.4.4 木霉菌株 HB 23422 孢子悬液离体叶片实验

用5周龄无毒培养的草莓苗作为实验试材,剪取同一株草莓苗的叶片后用无菌水清洗,清洁后用75%的乙醇中浸泡杀菌1 min,之后用无菌水冲洗掉剩余乙醇,将叶片放入含有无菌滤纸片的平板中后放置超净台吹干。将2 mL孢子悬液滤液喷洒在草莓叶上(对照组喷洒无菌水),并用封口膜将平板密封。在30℃下放置12 h,使叶片充分吸收。将6 mm的CM9菌饼放置叶片中央,随后放入无菌的透明塑料箱中,在28℃恒温箱中培养4 d后测量病斑半径。该实验每个处理组中包括来自40株草莓苗的至少120个叶片,且该实验重复3次。采用交叉法测量CM9菌落中心与边缘菌丝之间的距离。采用以公式(2)计算抑制率。数据使用Excel软件进行处理。

$$\text{抑制率} = \frac{(L_0 - L_1)}{L_0} \times 100\%, \quad (2)$$

其中 L_0 为对照处理暹罗炭疽菌菌丝长度, L_1 为孢子悬液处理后的暹罗炭疽菌菌丝长度。

1.4.5 温室盆栽实验

选取5周龄的草莓苗(红颜)移栽到装有300 g土壤的塑料盆中,每盆移植1株草莓苗。本实验设3个处理组:空白对照组(CK,每盆浇灌定量清水)、暹罗炭疽菌CM9病原菌对照组(CM9,每盆浇灌 1×10^6 cfu/mL孢子悬液)、HB 23422孢子悬液处理组(每盆同时浇灌 1×10^7 cfu/mL HB 23422孢子悬液与 1×10^6 cfu/mL CM9孢子悬液)。每个处理组12盆。盆栽试

表1 病害严重程度分级

Table 1 Disease severity rating

级别	病害严重程度
0级	健康,全株无发病症状
1级	根系的发病率不超过30%,叶片则正常
2级	根系发病率大于30%,不超过60%,叶子状态正常
3级	根系发病率大于60%,不超过80%,叶子呈现黄色
4级	根系的发病率超过80%,叶子呈现枯黄状态
5级	整株死亡,叶片干枯

验的温度环境维持在28~30℃,湿度为65%~70%。记录每天的各处理组草莓植株的发病情况和病害严重程度,并在移栽后30 d计算各处理组的发病率、病情指数(DSI)和防治效果,实验重复3次。

病害严重程度分为6级,见表1。

病情指数和防治效果计算公式见式(3)~(4):

$$\text{病情指数} = \sum \frac{\text{各病级株数} \times \text{各病级代表值}}{\text{总株数} \times \text{最高病级代表值}} \times 100, \quad (3)$$

$$\text{防治效果} = \frac{\text{对照病情指数} - \text{处理病情指数}}{\text{对照病情指数}} \times 100\%。 \quad (4)$$

2 结果与分析

2.1 木霉菌株 HB 23422 形态学特征

对木霉菌株 HB 23422 进行种类鉴定,该菌株采集自黑龙江省伊春市小兴安岭林地,位置为127°37'E,46°28'N。图1展示了木霉菌株 HB 23422 在各种培养基上的菌落形态特点。在本研究中,我们对菌株 HB 23422 在不同培养基(SNA、CMD、PDA、MEA)上的生长特征进行了观察。培训条件为28℃,培训时间5 d。菌株 HB 23422 在 SNA 和 CMD 培养基上,菌落表面的气生菌丝呈疏松状态,分生孢子为绿色,边缘有绿色的产孢簇,形状呈锯齿状,同心轮纹,基质上无水溶性色素分布,菌落反面无色。在 PDA 培养基上,菌落表面呈丝绒状,边界清晰,中央有一条分生孢子的主要生产区,具有绿色稠密的分生孢子、背面白色的菌落和椰香味气体所产生的相对致密的圆盘状结构。在 MEA 的培养基上,能产生致密的菌丝,且颜色为深绿色。菌落特征和分生孢子的形成方式在 CMD 和 SNA 上相同。在分生孢子簇内,分生孢子梗上的瓶梗,为对称分布,有两个或者多个瓶梗

在顶端,瓶梗宽度为 2.8~5.4 μm ,主轴顶端下面生出的初次分枝常呈对生,与主轴的夹角为近 90° 。

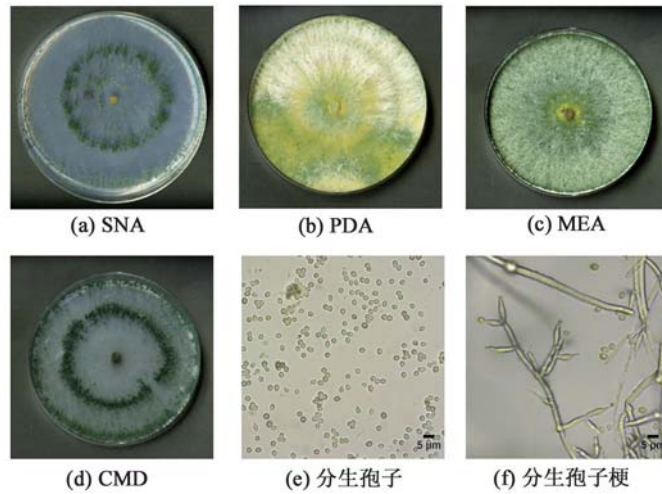


图1 木霉菌株 HB 23422 的形态特征

Fig.1 Morphological characteristics of *Trichoderma* strain HB 23422

2.2 木霉菌株 HB 23422 的分子生物学鉴定

木霉菌株 HB 23422 的分子鉴定研究中,通过 PCR 扩增技术获得 ITS 和 RPB 基因序列(见图 2),分别为 566 bp 和 1 090 bp。提交序列至 GenBank 数据库,通过与已知真菌基因组的比对,结果显示菌株 HB 23422 与类棘孢木霉 *Trichoderma asperelloides* 具有最为密切的亲缘关系。为了进一步确认其系统发育地位,构建了系统发育树,分析结果再次证实了菌株 HB 23422 属于类棘孢木霉。

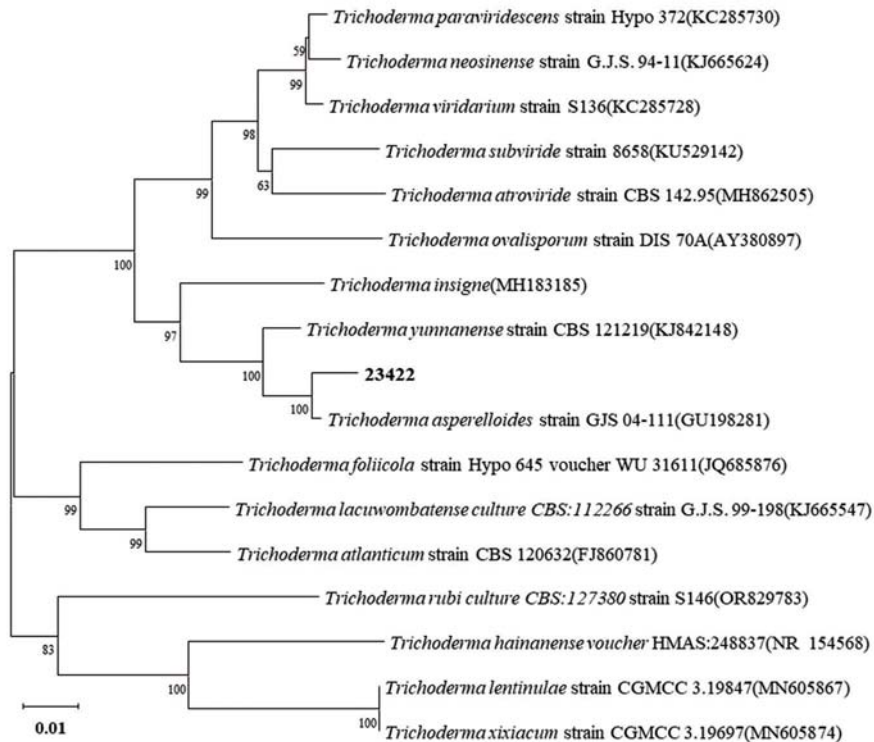


图2 基于 ITS 和 TRPB 基因序列合并构建的木霉菌株 HB 23422 系统发育树

Fig.2 Phylogenetic tree of *Trichoderma* strain HB 23422 constructed based on combined ITS and TRPB gene sequences

2.3 木霉菌株 HB 23422 对暹罗炭疽的抑制效果

木霉菌株 HB 23422 对供试的暹罗炭疽 CM9 具有强烈抑制效果(如图 3~4),对峙实验中木霉几乎完全

覆盖住病原菌 CM9,背面木霉菌丝能够阻止病原菌生长。对扣实验可以看出木霉菌 HB 23422 所产生的挥发性气体对 CM9 生长具有明显抑制效果。抑制率见表 2~3,HB 23422-CM9 平板对峙抑制率为 74.55%,HB 23422 产生的挥发性物质对 CM9 的抑制率为 65.00%。

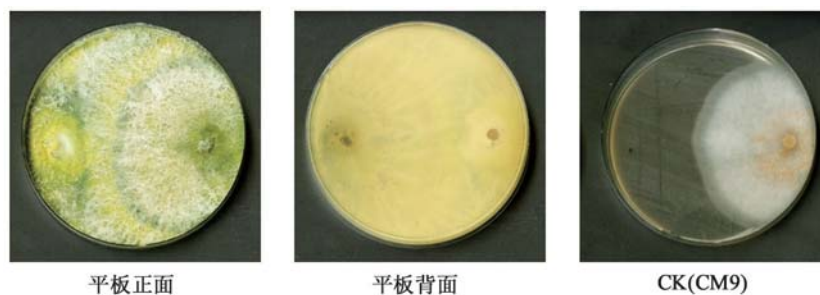


图3 木霉菌株 HB 23422 对病原菌 CM9 的抑制作用(平板对峙法)

Fig.3 Inhibition of *Trichoderma* strain HB 23422 on pathogenic bacterium CM9 (dual culture assay)

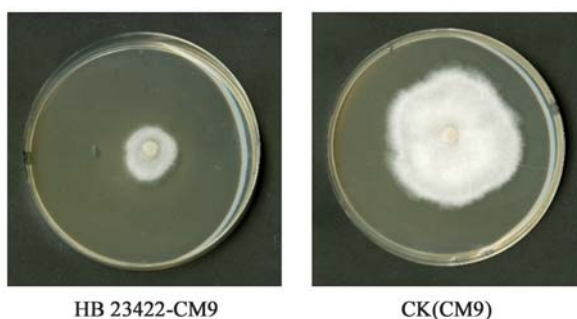


图4 木霉菌株 HB 23422 挥发性物质对病原菌 CM9 的抑制作用(平板对扣法)

Fig.4 Inhibition of volatile compounds of *Trichoderma* strain HB 23422 on pathogenic bacterium CM9(sealed-plate assay)

表2 菌株 HB 23422 的菌落半径和平板对峙法对病原菌的抑制率

Table 2 Colony radius of strain HB 23422 and its inhibition rate against pathogenic bacteria in a dual culture assay

菌株	平板对峙法菌落半径/cm	平板对峙法抑制率/%
HB 23422	1.12±0.02 ^b	74.55
CK	4.40±0.01 ^a	—

注:不同英文小写字母表示差异显著性($P<0.05$)。

表3 菌株 HB 23422 的菌落半径和平板对扣法对病原菌的抑制率

Table 3 Colony radius of strain HB 23422 and its inhibition rate against pathogenic bacteria in a sealed-plate assay

菌株	平板对扣法菌落半径/cm	平板对扣法抑制率/%
HB 23422	1.96±0.05 ^b	65.00
CK	5.60±0.08 ^a	—

注:不同英文小写字母表示差异显著性($P<0.05$)。

2.4 木霉菌株 HB 23422 孢子悬液体外抑菌实验结果

本实验采用离体叶片进一步研究了 HB 23422 对暹罗炭疽菌 CM9 的防治效果。如图 5 所示,在暹罗炭疽菌 CM9 侵染草莓叶片时,接种部位变黑并向四周蔓延。此外,接种部位还会产生致密菌丝体。HB 23422 孢子悬液显著抑制了 CM9 引起的病害,不同浓度孢子悬液对暹罗炭疽菌的抑制率也不相同,B1 组为接种孢子悬液 1×10^6 cfu/mL,其对暹罗炭疽菌的抑制率达到了 $(86.10\pm 1.56)\%$ ($P<0.05$),B2 组为接种孢子悬液

1×10^7 cfu/mL, 其对暹罗炭疽菌的抑制率达到了 $(90.10 \pm 1.58)\%$ ($P < 0.05$)。



图5 孢子悬液对草莓叶片上的CM9活性影响

Fig.5 Effect of spore suspension on the activity of CM9 on strawberry leaves

2.5 草莓盆栽试验结果

盆栽试验研究了 HB 23422 对 CM9 草莓炭疽病的生防效果(盆栽试验植株数据见表4)。图6显示 HB 23422 组对草莓炭疽病具有较高的生防活性。其中孢子悬液处理组对草莓炭疽病的防治效率为 60.61%。病情指数调查统计显示,HB 23422孢子悬液-CM9 处理组的草莓植株病情指数多为二级,而只加入 CM9 孢子悬液的对照组病情指数多为五级。孢子悬液处理过的草莓根系长度与病原菌对照相比有显著提升。此外,我们还观察了不同处理组暹罗炭疽菌对草莓根茎部位的侵染情况,暹罗炭疽菌引起的草莓炭疽病对草莓根茎的侵染路径是由茎内向茎外,被侵染的部位随时间的推移会变成暗红色。草莓茎部用无菌的解剖刀切开观察发现,CM9 处理组的草莓茎部已经完全变为暗红色,HB 23422-CM9 处理组的草莓茎部没有明显发病症状,CK 清水对照组未发现有 CM9 侵染现象。

表4 盆栽试验植株数据

Table 4 Experimental data for potted plants

处理	发病率/%	株高/cm	鲜重/g	发病指数	抑菌率/%
CK	—	13.39 ± 0.55^c	6.09 ± 0.37^{ab}	—	—
CM9	92.31	—	1.28 ± 0.17^c	84.62	—
HB 23422-CM9	36.36	15.38 ± 1.18^{ab}	5.29 ± 0.46^a	41.82	60.61

注:表中不同小写字母表示 $P < 0.05$ 水平差异显著。



(a) 温室条件下不同处理组对草莓根腐病病害防治的影响 (c) 不同处理组草莓苗根部示意图

注:①CK(清水);②CK(CM9);③HB 23422-CM9 孢子悬液。

图6 盆栽试验结果

Fig.6 Results of the pot experiment

3 讨论与结论

伴随着草莓产业的不断发展,草莓病害的问题日益显著,在这其中,炭疽病已成为继白粉病与灰霉病之

后,制约着我国草莓产业进一步发展的第三大病害^[24]。本研究通过系统筛选与鉴定,成功获得一株高效拮抗草莓炭疽病的类棘孢木霉(*Trichoderma asperelloides*)菌株 HB 23422。实验表明,该菌株对暹罗炭疽菌(*Colletotrichum siamense*) CM9 的平板对峙抑制率达 74.55%,挥发性物质抑菌率为 65.00%,离体叶片实验中 1×10^7 cfu/mL 孢子悬液对病斑抑制率高达 90.43%,盆栽试验防效为 60.61%,显著优于常规木霉菌株。

依据赵玳琳等^[25]的研究成果,草莓炭疽菌能够通过根部侵袭至整株草莓,接种后叶片会显现出典型的炭疽病斑。考虑到木霉菌在土壤中的习性及其与病原菌的优良互作特性,因此,本实验中木霉菌和病原菌均采用孢子悬液灌根的方式对草莓植株进行接种。韩国兴等^[26]揭示,对多菌灵及乙霉威具备高度抗性的病原菌株占比已逾九成。这一现象昭示,依赖化学药剂进行防治不仅易导致化学残留与环境污染问题,更会增加炭疽菌的耐药性。借助拮抗性生物防治菌种,不仅能有效规避上述弊端,且兼具安全性与高效性,对生态环境的维护大有成效。陈哲等^[27]探讨了 5 种芽胞杆菌在不同配比及组合方式下对草莓炭疽病菌的抑制作用。实验数据揭示,Y-30 与 CM3 以 2:1 的比例混合培育出的菌种,展现出卓越的抗菌性能,其抗菌效率高达 59.46%。这一突破性成果暗示,芽胞杆菌的联合应用有望提升其抗病能力,蕴含着巨大的实用价值。

通过离体叶片与盆栽试验对比发现,两者防效差距过大,原因可能包括但不限于:离体实验通常在恒温恒湿箱中进行,病原菌活性稳定;盆栽受自然温湿度波动影响,病原菌侵染动态不同;离体叶片可能使用纯培养病原菌,而盆栽土壤中可能混有其他微生物竞争或抑制病原菌;离体叶片依赖培养基水分,而盆栽植株可能因缺水或营养缺乏更易感病;盆栽试验可能因环境开放导致二次感染,离体实验无此干扰。针对出现的这些问题,在接下来的实验中,可以通过以下措施进行改进:记录盆栽试验的温湿度变化,对比离体条件,必要时增设环境控制组;对盆栽土壤进行灭菌处理,排除微生物群落干扰;监测盆栽植株的水分和营养状态,确保与离体条件匹配;隔离盆栽试验组,定期检查病原菌扩散情况。

本研究体现了类棘孢木霉对草莓炭疽病的拮抗作用,为靶向生防菌开发提供分子依据,其挥发性物质的高效抑菌特性拓展了木霉菌功能研究的维度。当前研究需突破菌剂田间稳定性、成本控制及商业化标准制定等产业化难题;同时,需评估其在复杂土壤微生物群落中的竞争定殖能力。若能在上述方向取得进展,菌株 HB 23422 或将成为替代化学农药的核心生防资源,推动草莓产业向生态集约化转型,为草莓产业的可持续发展提供范例。

参考文献:

- [1] 宁志怨, 钱小强, 伊兴凯, 等. 氨基酸水溶肥对促进草莓产量、品质及生长特性的影响[J]. 浙江农业科学, 2020, 61(12): 2565-2567. DOI: 10.16178/j.issn.0528-9017.20201237.
- [2] 王鸣谦, 薛莉, 赵珺, 等. 世界草莓生产及贸易现状[J]. 中国果树, 2021(2): 104-108. DOI: 10.16626/j.cnki.issn1000-8047.2021.02.025.
- [3] 姜秋同, 张爽, 朱洪坤, 等. 草莓病害的发生与防治措施[J]. 现代农村科技, 2023(7): 49-50.
- [4] HIRAYAMA Y, ASANO S, OKAYAMA K, et al. Weeds as the potential inoculum source of *Colletotrichum fructicola* responsible for strawberry anthracnose in Nara, Japan[J]. Journal of General Plant Pathology, 2018, 84(1): 12-19. DOI: 10.1007/s10327-017-0753-4.
- [5] 胡德玉, 钱春, 刘雪峰. 草莓炭疽病研究进展[J]. 中国蔬菜, 2014(12): 9-14.
- [6] 吉沐祥, 杨敬辉, 吴祥, 等. 草莓炭疽病的生物防治[J]. 江苏农业学报, 2012, 28(6): 1498-1500.
- [7] 陈官菊, 厉晓腊, 金轶伟, 等. 草莓炭疽病的发生危害和药剂防治[J]. 浙江农业科学, 2010, 51(6): 1344-1346. DOI: 10.16178/j.issn.0528-9017.2010.06.055.
- [8] 邱德文. 生物农药的发展现状与趋势分析[J]. 中国生物防治学报, 2015, 31(5): 679-684. DOI: 10.16409/j.cnki.2095-039x.2015.05.008.
- [9] MUKHOPADHYAY R, KUMAR D. *Trichoderma*: A beneficial antifungal agent and insights into its mechanism of biocontrol potential[J]. Egyptian Journal of Biological Pest Control, 2020, 30(1): 133. DOI: 10.1186/s41938-020-00333-x.

- [10]张成, 廖文敏, 薛鸣, 等. 棘孢木霉 DQ-1 分生孢子固体发酵优化及其对 4 种作物幼苗生长的影响[J]. 中国生物防治学报, 2021, 37(2): 315-322. DOI: 10.16409/j.cnki.2095-039x.2021.02.002.
- [11]孙丽丽, 曹传旺, 薛绪亭, 等. 棘孢木霉可湿性粉剂研制及杀菌活性测定[J]. 北京林业大学学报, 2015, 37(6): 45-52. DOI: 10.13332/j.1000-1522.20140438.
- [12]邹佳迅, 范晓旭, 宋福强. 木霉 (*Trichoderma* spp.) 对植物土传病害生防机制的研究进展[J]. 大豆科学, 2017, 36(6): 970-977. DOI: 10.11861/j.issn.1000-9841.2017.06.0970.
- [13]张广志, 杨合同, 张新建, 等. 木霉现有种类名录[J]. 菌物学报, 2014, 33(6): 1210-1230. DOI: 10.13346/j.mycosystema.140183.
- [14]KUMAR G, MAHARSHI A, PATEL J, et al. *Trichoderma*: A potential fungal antagonist to control plant diseases [J]. Satsa Mukhapatra-Annual Technical Issue, 2017(21): 206-218.
- [15]LORITO M, WOO S L, HARMAN G E, et al. Translational research on *Trichoderma*: From 'omics to the field [J]. Annual Review of Phytopathology, 2010, 48: 395-417. DOI: 10.1146/annurev-phyto-073009-114314.
- [16]卢洁. 草莓种质资源炭疽病抗性分析及生防菌株筛选[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2023. DOI: 10.27327/d.cnki.gshnu.2023.000499.
- [17] KUMAR S, THAKUR M, RANI A. *Trichoderma*: Massproduction, formulation, qualitycontrol, delivery and its scope in commercialization in India for the management of plant diseases [J]. African Journal of Agricultural Research, 2014, 9(53): 3838-3852. DOI: 10.5897/AJAR2014.9061.
- [18]廉华, 刘静依, 马光恕, 等. 生物炭和木霉菌对黄瓜生长及枯萎病防治效果的影响 [J]. 干旱地区农业研究, 2024, 42(6): 206-215.
- [19]王丹丹, 张庆银, 李燕, 等. 枯草芽孢杆菌和哈茨木霉菌对番茄灰霉病的防治效果 [J]. 河北农业科学, 2024, 28(1): 66-73. DOI: 10.12148/hbnykx.20240022.
- [20]陈捷, 朱洁伟, 张婷, 等. 木霉菌生物防治作用机理与应用研究进展 [J]. 中国生物防治学报, 2011, 27(2): 145-151. DOI: 10.16409/j.cnki.2095-039x.2011.02.002.
- [21]罗中钦, 程琳, 张茜, 等. 丝状真菌 PCR 模板 DNA 的快速制备方法 [J]. 生物技术通报, 2015, 31(9): 79-83. DOI: 10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2015.09.010.
- [22]李纪顺, 陈凯, 王贻莲, 等. 防治西洋参立枯病木霉菌株的筛选鉴定及其小区防治效果 [J]. 山东科学, 2019, 32(5): 62-70. DOI: 10.3976/j.issn.1002-4026.2019.05.007.
- [23]扈进冬, 隋丽娜, 李玲, 等. 深绿木霉 HB20111 产挥发性物质及其功能分析 [J]. 植物保护, 2021, 47(5): 58-63. DOI: 10.16688/j.zwbh.2020655.
- [24]朱炳煜, 王嘉艳. 草莓炭疽病的发生、检测与防治 [J]. 农业知识, 2024(9/10): 63-65.
- [25]赵玳琳, 何海永, 吴石平, 等. 棘孢木霉 GYSW-6m1 对草莓炭疽病的生防机制及其防病促生作用研究 [J]. 中国生物防治学报, 2020, 36(4): 587-595. DOI: 10.16409/j.cnki.2095-039x.2020.04.020.
- [26]韩国兴, 礼茜, 孙飞洲, 等. 杭州地区草莓炭疽病病原鉴定及其对多菌灵和乙霉威的抗药性 [J]. 浙江农业科学, 2009, 50(6): 1169-1172. DOI: 10.3969/j.issn.0528-9017.2009.06.046.
- [27]陈哲, 黄静, 赵佳, 等. 防治草莓炭疽病的芽胞杆菌组合的筛选 [J]. 中国生物防治学报, 2018, 34(4): 582-588. DOI: 10.16409/j.cnki.2095-039x.2018.04.013.

