

贝莱斯芽孢杆菌 DSSR-2 鉴定及其对林下丹参的促生与抗根腐病作用研究

吴皓 白格格 张蕾 韩立荣*

(西北农林科技大学, 陕西 杨凌 712100)

摘要: 针对陕西省商洛市林下丹参根腐病频发问题, 采用组织分离法从发病丹参根部分离病原菌。通过形态学和分子生物学方法鉴定致病菌, 并评价生防菌株 DSSR-2 的抗病促生效果。结果表明: 商洛市林下丹参根腐病的主要致病菌为尖孢镰刀菌 *Fusarium oxysporum* Schltdl., 生防菌 DSSR-2 为贝莱斯芽孢杆菌 *Bacillus velezensis* Ruiz-García.; DSSR-2 对尖孢镰刀菌等 8 种植物病原菌具有显著拮抗活性, 抑制率为 80.56%~97.56%, 该菌株具备分泌吲哚乙酸 (IAA)、铁载体及溶磷酶等促生功能; DSSR-2 发酵液对丹参根腐病的防治效果为 65.56%, 并能显著提高丹参植株的叶长、叶宽、地上部及地下部鲜重。生理生化分析表明, DSSR-2 可以增强丹参根系超氧化物歧化酶 (SOD) 和过氧化物酶 (POD) 活性, 降低丙二醛 (MDA) 含量, 从而缓解氧化损伤。研究证实贝莱斯芽孢杆菌 DSSR-2 兼具抗病与促生双重功效, 为丹参根腐病绿色防控及林药复合系统可持续发展提供了理论依据与技术支持。

关键词: 根腐病; 丹参; 贝莱斯芽孢杆菌; 生物防治

中图分类号: S763.19

文献标识码: A

文章编号: 2097-5279(2025)04-0050-12

Identification of *Bacillus velezensis* DSSR-2 and its role in promoting growth and root rot resistance of *Salvia miltiorrhiza* under forest

WU Hao BAI Gege ZHANG Lei HAN Lirong*

(Northwest A & F University, Yangling 712100, China)

Abstract: To resolve the frequent occurrence of root rot in *Salvia miltiorrhiza* Bunge under forest plantations in Shangluo, Shaanxi Province, China, this study isolated pathogenic fungi from infected roots using tissue isolation. The pathogenic fungi were identified by morphological and molecular biological methods, and the effect of biocontrol strain DSSR-2 *Bacillus velezensis* Ruiz-García. on disease resistance and growth promotion was evaluated. *Fusarium oxysporum* Schltdl. was identified as the primary pathogen causing root rot in *Salvia miltiorrhiza* Bunge. under forest plantations in Shangluo Shaanxi province. The biocontrol strain DSSR-2 was identified as *Bacillus velezensis* Ruiz-García.. Plate confrontation assays demonstrated that DSSR-2 exhibits significant antagonistic activity against eight plant pathogenic fungi, including *F. oxysporum*, with inhibition rates ranging from 80.56% to 97.56%. Additionally, this strain possesses plant growth-promoting traits, evidenced by its ability to produce indole-3-acetic acid (IAA), siderophores, and phosphate-solubilizing enzymes. DSSR-2 fermentation broth achieved a 65.56% control efficacy against *S. miltiorrhiza* root rot and significantly increased leaf length, leaf width, and fresh weights of both above-ground and underground parts. Physiological and biochemical analyses revealed that DSSR-2 enhances the activities of superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD) in the roots of *S. miltiorrhiza*, reduces malondialdehyde (MDA) content, and thereby alleviates oxidative damage. This study confirms that *B. velezensis* DSSR-2 possesses dual beneficial effects of disease suppression and growth promotion. It provides both a theoretical basis and technical support for the green control of *S. miltiorrhiza* root rot and the sustainable development of integrated forest-medicinal plant systems.

Keywords: root rot; *Salvia miltiorrhiza* Bunge; *Bacillus velezensis* Ruiz-García.; biological control

丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bunge 为唇形科 Lamiaceae 多年生草本植物, 具有活血化瘀、通经止痛、凉血消

的大宗药材之一(王婷婷和张渊, 2025)。近代药理学研究表明, 丹参中的活性成分还具有抗炎和抗肿瘤等作用, 在临床上被广泛应用于心脑血管及肿瘤

收稿日期: 2025-06-17; 修回日期: 2025-07-18。

基金项目: 陕西林业科技创新重点专项 (SXLK2023-02-31); 渭南市重点研发计划 (2024ZDYFJH-734)。

* 通信作者: 韩立荣 (E-mail: hanlr@nwfufu.edu.cn), 教授。

等疾病的治疗(尹爱武和高鹏飞, 2021)。随着丹参需求量的不断增长以及野生资源的日益减少, 人工栽培品种成为现在市面上丹参药材的主要来源。陕西省是我国丹参主产区和道地产区之一, 丹参年产量约占全国总产量的30%。其中, 商洛丹参因有效成分丹参酮含量高而闻名海内外, 已获批成为中国国家地理标志产品(陆淑静和文家富, 2023)。随着丹参道地产区集约化种植规模的扩大, 重茬种植问题日益凸显, 不仅打破了生态系统原有的平衡, 引发的连作障碍也制约了丹参产量、品质的提升和生态系统的协调发展。

丹参根腐病主要由镰孢属 *Fusarium* 真菌层出镰刀菌 *F. proliferatum* (Matsush.) Nirenberg ex Gerlach & Nir (Yang et al., 2021)、腐皮镰刀菌 *F. solani* (Mart.) Appel & Wollenw、尖孢镰刀菌 *F. oxysporum* Schldl.(杨瑾等, 2021) 和木贼镰刀菌 *F. equiseti* (Corda) Sacc.(李程锦等, 2022) 单独或复合侵染导致, 病原菌具体优势种群因产地而异。丹参植株染病后长势衰弱, 须根减少, 主根根尖腐烂, 严重时地上部枯死, 根髓部完全腐烂。丹参根腐病造成丹参产量显著降低, 外观性状和品质也严重下降。该病害的连年发生已经严重威胁到商洛地区林下中药材种植业。长期以来, 该病害的防治主要依赖化学药剂, 如丙环唑、苯醚甲环唑等。虽然这类药剂能快速有效地控制植物病害, 但长期不合理使用会导致病原物抗性增强、土壤微生物种群多样性降低、农药残留超标等, 进而影响人类健康、动物安全及生态环境平衡。生物防治具有环保、安全、高选择性等优点, 更易维持土壤微生态平衡, 已成为中药材可持续生产研究的热点。

近年来, 利用生防菌株开展的中药材生物防治研究已有广泛报道。例如, 枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn (Sa et al., 2022)、丛枝菌根真菌 *Glomus versiforme* (Karsten) Berch、哈茨木霉 *Trichoderma harzianum* Rifai 等可有效防治丹参根腐病(王雪等, 2014); 华氏链霉菌 F3 *Streptomyces werraensis* 发酵液对人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 根腐病、锈腐病具有显著抑制效果, 并且能够促进人参种子萌发、改良土壤 pH 和微生物群落结构(Qi et al., 2021)。部分生防菌如多粘类芽孢杆菌 *Paenibacillus polymyxa* (Prazmowski) (Ash et al) 可提高丹参对干旱胁迫的耐受力, 还能够促进丹参地下部生物量增加和丹参酮类活性成分的积累(Jia et al., 2025)。目前, 在商洛市林下丹参特定生态系统中, 兼具高效、稳定、抗病与促生功能的土著生防菌资源仍需深入挖掘。现有研究多侧重于单一防

治效果或促生作用, 而对菌株通过调节宿主生理以增强对生物和非生物胁迫耐受性的作用机理尚缺乏系统性探索。

本研究对陕西省商洛市林下丹参种植区的丹参根腐病病原进行分离鉴定, 并在此基础上以实验室前期分离获得的生防菌 DSSR-2 为研究对象, 结合平板对峙和盆栽药效试验测定其抑菌谱、促生特性、对丹参根腐病的防效及植株防御酶系统的调节作用, 为开发针对商洛市林下丹参根腐病的绿色生防菌剂提供菌株资源和理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

丹参根腐病病株采自陕西省商洛市山阳县延坪镇林下丹参种植区(33°18'N, 110°7'E, 海拔 980 m)。

生防菌 DSSR-2 *Bacillus velezensis* Ruiz-Garcia., 由本实验室分离自上述丹参种植区健康丹参根际土壤, 菌株保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心(China General Microbiological Culture Collection Center, CGMCC), 保藏号为 CGMCC 31207。

1.2 培养基配方

马铃薯葡萄糖培养基(potato dextrose agar, PDA): 马铃薯 200 g/L, 葡萄糖 20 g/L, 琼脂 15~20 g/L, 不调节 pH; 液体培养基不添加琼脂。

溶菌肉汤培养基(luria-bertani, LB): 胰蛋白胨 10 g/L, 酵母提取物 5 g/L, NaCl 10 g/L, 琼脂 15~20 g/L, pH=7.0; 液体培养基不添加琼脂。

1.3 丹参根腐病病原菌分离与鉴定

1.3.1 病原菌分离、纯化与形态学鉴定

病原菌的分离与纯化参考吴皓等(2023)方法, 稍作修改。将丹参病根切下, 自来水冲洗干净, 75% 乙醇消毒 30 s, 2% 次氯酸钠消毒 10 min, 无菌水漂洗 3~5 次, 无菌滤纸吸干水分后将病根置于超净工作台中。用无菌手术刀从根部病健交界处切取大小为 5 mm×5 mm 的组织块, 接种至 PDA 培养基上, 于 28°C 恒温生化培养箱中倒置培养, 挑取菌丝尖端多次纯化并保存。

将丹参根腐病病原菌接种至 PDA 平板上, 置于 28°C 恒温培养箱中倒置培养 5~7 d, 观察其菌丝生长状况、菌落颜色和质地。挑取菌丝体置于光学显微镜下观察其显微形态、孢子类型、孢子形状等。参考《植物病原真菌学》(张中义, 1988), 根据其形态特征鉴定病原菌。

1.3.2 病原菌致病性测定

将待测菌株接种至 PDA 平板中活化培养 5~7 d,

使用无菌打孔器($\varphi=8\text{ mm}$)打制菌饼。选取2 a 生健康丹参植株,清洗消毒(步骤同1.3.1),将其置于铺有无菌脱脂棉的托盘中,用无菌手术刀在其根段表面横向划制伤口,并接种病原菌菌饼,以接种无菌PDA块为空白对照,每处理重复3次。将托盘用保鲜膜覆盖后移至28°C人工气候箱内。3~5 d后观察丹参根部发病情况,并切取发病组织接种至PDA平板内继续分离单菌落,将分离获得的病原菌与接种菌株进行比对,完成柯赫氏法则验证。

1.3.3 病原菌分子生物学鉴定

采用CTAB法(cetyltrimethylammonium bromide)提取病原菌总DNA,使用真菌rDNA-ITS序列通用引物ITS4:5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'和ITS5:5'-GGAAGTAAAGTCGTAACAAGG-3'以及延伸因子*EF-1 α* 引物EF1-728F:5'-CATCGAGAAGTTCGAG AAGG-3'和EF1-986R:5'-TACTTGAAGGAACCTTA CC-3'分别对目标病原菌的ITS和*EF-1 α* 序列进行扩增,引物由擎科生物科技股份有限公司(北京)合成。PCR反应体系(25 μL):上下游引物各1.0 μL 、DNA模板1.0 μL 、PCR Mix 12.5 μL 、 ddH_2O 9.5 μL 。反应条件:94°C预变性5 min;94°C变性30 s,56°C退火30 s,72°C延伸1 min,32个循环;72°C再延伸5 min。扩增产物进行1%的琼脂糖凝胶电泳检测并送至擎科生物科技股份有限公司(北京)进行测序。所得序列提交至NCBI数据库(National Center for Biotechnology Information,美国国家生物技术信息中心)并进行在线BLAST比对分析,下载相似度较高的参比菌株序列。利用PhyloSuiteV1.2.2将目的序列串联,结合MrBayes进行数据集同质性检验;使用MEGA6.0软件计算遗传距离并用Neighbor-Joining法构建系统发育树,确定菌株分类地位。丹参根腐病病原菌DSGFB的ITS、*EF-1 α* 序列提交至NCBI并获取GeneBank登录号。

1.4 生防菌DSSR-2鉴定

1.4.1 生防菌DSSR-2形态及生理生化特征鉴定

通过革兰氏染色观察生防菌DSSR-2形态特征(Froböse et al., 2020)。挑取DSSR-2完全纯化后的单菌落,混入适量超纯水中形成菌液,将其均匀涂布至洁净载玻片上,经火焰固定后按革兰氏染色试剂盒(货号G1060,北京索莱宝科技有限公司)说明书进行染色操作,染色完成后用油镜观察菌体颜色及形态,测量50个菌体的大小取平均值。菌株碳氮源利用、接触酶测定、柠檬酸盐利用、丙酸盐利用、生长pH范围及NaCl耐受范围等生理生化特征的测定参照《常见细菌系统鉴定手册》进行(东秀珠和蔡妙英,2001)。

1.4.2 生防菌DSSR-2分子生物学鉴定

使用CTAB法提取生防菌DSSR-2基因组DNA,设计引物扩增促旋酶B亚基基因*gyrB*和16s rRNA,引物分别为*gyrB*-F:5'-CAGTCAGGAAATGCGTACGT CCTT-3',*gyrB*-R:5'-CAAGGTAATGCTCCAGGCAT TGCT-3';27F:5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3',1492R:5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3'。PCR扩增、测序及系统发育树构建同1.3.3所述,以确定生防菌DSSR-2的分类地位。

1.5 生防菌DSSR-2对丹参抗病促生效果评价

1.5.1 生防菌DSSR-2离体抑菌活性测定

采用平板对峙法(石义妃等,2023)测定生防菌DSSR-2抑菌活性,目标菌株由实验室前期自丹参病叶、病根分离得到,包括尖孢镰刀菌、层出镰刀菌、腐皮镰刀菌、烟草疫霉菌*Phytophthora nicotianae* Breda de Haan、多主棒孢霉*Corynespora cassicola* (Berk & Curt.) Wei、交链孢菌*Alternaria alternata* (Fr.) Keissl.、极细链格孢*Alternaria tenuissima* (Nees & T.Nees:Fr.) Wiltshire、灰葡萄孢菌*Botrytis cinerea* Pers.:Fr.等8种病原菌。具体操作如下:选取活化后的病原菌,使用灭菌的打孔器打制直径0.5 cm的菌饼,并将其接种于PDA培养基平板中心位置;距病原菌3 cm处划线接种DSSR-2,并设3个重复;将接种后的培养皿置于28°C恒温培养箱中培养,3~5 d后观察、测量,按公式(1)计算抑制率,初步评价DSSR-2的拮抗活性。

$$\text{抑制率(\%)} = (\text{对照组菌落扩展直径} - \text{处理组菌落短轴直径}) / \text{对照组菌落扩展直径} \times 100 \quad (1)$$

1.5.2 生防菌DSSR-2对植物生长的促进及胞外酶能力测定

将生防菌DSSR-2活化培养16 h后,分别接种至阿须贝氏(Ashby)固氮检测培养基、铬天青(CAS)铁载体检测培养基(王莉等,2024)、硅酸盐解钾检测培养基(林勇等,2024)。分别使用Pikovskaya和卵黄培养基平板检测其溶解无机磷和有机磷能力(Castaldi et al., 2021;徐欢等,2016)。使用葡聚糖酶鉴定培养基、纤维素酶鉴定培养基、几丁质酶鉴定培养基检测胞外酶能力(蒋冬阳等,2024)。此外,使用Salkowski比色液检测其分泌IAA能力(张莲朋等,2025)。试验重复3次,接种后将各检测平板移至28°C生化培养箱内培养4~7 d,观察菌落外围有无透明圈或橘黄色晕圈出现,并观察Salkowski比色液颜色是否转粉。

1.5.3 生防菌DSSR-2对丹参植株促生效果评价

选取移栽后的健康丹参幼苗,采用灌根法接种

生防菌。灌根前用 10 mL 无菌水浸润土壤, 在丹参根际浇灌 10 mL 浓度为 10^6 CFU/mL 的 DSSR-2 发酵液, 每隔 5 d 灌根 1 次, 连续灌根 3 次。以 LB 液体培养基 10 倍稀释液处理为空白对照, 每组处理 6 株, 重复 3 次。于第一次灌根处理后 28 d 测定各处理组丹参植株的株高、叶宽、叶长、叶片数、地上及地下部分鲜重。测定方法如下: 株高, 从茎基部到新叶顶端的高度; 叶长和叶宽, 完全展开的第一片新叶的最长和最宽处; 地上、地下部鲜重, 将地上部和地下部切断, 去除根际土壤后称重。

1.5.4 盆栽条件下生防菌 DSSR-2 对丹参根腐病的防治效果测定

选取长势一致的 1 a 生健康丹参幼苗, 移栽至装有混合营养土(营养土: 蛭石: 珍珠岩=3: 1: 1)、高 24 cm、宽 17 cm 的塑料花盆中, 每盆 1 株。移栽 7 d 后接种 DSSR-2 发酵液(1×10^7 CFU/mL), 3 d 后采用伤根灌注法接种丹参根腐病病原菌孢子悬浮液(1×10^7 CFU/mL), 对照组以等量无菌水代替, 每组处理 12 盆, 重复 3 次。

将上述各处理组移至西北农林科技大学林学院温室大棚中继续培养 28~35 d, 观察统计发病情况, 计算病情指数及防治效果。针对丹参根腐病发病程度, 将其分为 5 个等级(游川等, 2024): 0 级表示根系健康未发病; 1 级表示腐烂仅发生在块根表面, 且根系腐烂面积小于 25%, 叶片正常; 2 级表示叶片变黄, 腐烂已扩展至内部, 且根系腐烂面积达 25%~50%; 3 级表示叶片枯萎, 腐烂已扩展至内部, 须根全部腐烂, 且根系腐烂面积达 50%~75%, 叶片枯萎; 4 级表示叶片完全干枯, 整个块根完全腐烂, 且根系腐烂面积达 75% 以上。分别按照下列公式计算丹参根腐病发病率、病情指数和防治效果。

$$\text{发病率(\%)} = \frac{\text{处理组发病株数}}{\text{处理组总株数}} \times 100 \quad (2)$$

$$\text{病情指数(\%)} = \frac{\sum (\text{各级病株数} \times \text{相应病情等级})}{(\text{调查总株数} \times \text{最高病情等级})} \times 100 \quad (3)$$

$$\text{防治效果(\%)} = \frac{(\text{对照组病情指数} - \text{处理组病情指数})}{\text{对照组病情指数}} \times 100 \quad (4)$$

1.5.5 生防菌 DSSR-2 处理后丹参根系防御酶及相关代谢产物的测定

选取上述试验 DSSR-2 发酵液处理后的丹参植株, 切取根系洗净晾干, 使用液氮速冻后置于 -80°C 冰箱保存待测。分别测定样品的超氧化物歧化酶(SOD)活力、过氧化物酶(POD)活力、过氧化氢酶(CAT)活

力、丙二醛(MDA)含量, 以 LB 液体培养基 10 倍稀释液处理组丹参作为空白对照, 试验重复 3 次。

SOD 酶活测定: 采用氮蓝四唑(NBT)法测定(沈文彪等, 1996), 定义反应中氮蓝四唑光氧化还原反应抑制率达 50% 时所对应的酶量为 1 个 SOD 活力单位(U), 酶活力用 $\text{U}/(\text{g} \cdot \text{FW} \cdot \text{h})$ 表示;

POD 酶活测定: 采用愈创木酚法测定(Wu et al., 2024), 定义体系中每克鲜组织每分钟 A_{470} 值变化 0.10 为 1 个 POD 活力单位(U), 酶活力用 $\text{U}/(\text{g} \cdot \text{FW} \cdot \text{h})$ 表示;

CAT 酶活测定: 采用紫外吸收法测定(Wu et al., 2024), 定义体系中每克鲜组织每分钟 A_{240} 值降低 0.10 为一个 CAT 活力单位(U), 酶活力用 $\text{U}/(\text{g} \cdot \text{FW} \cdot \text{h})$ 表示;

MDA 含量测定: 采用硫代巴比妥(TBA)显色法测定(Suzuki et al., 2015), 为去除组织中糖类物质对 MDA-TBA 反应的干扰, 采用下式计算 MDA 在反应体系中的浓度, 进一步可计算出单位重量丹参根系鲜组织中 MDA 含量($\mu\text{mol}/\text{g}$)。

$$C(\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}) = 6.45 \times (A_{532} - A_{600}) - 0.56A_{450} \quad (5)$$

式中 C 为 MDA 含量, A_{532} 、 A_{600} 和 A_{450} 分别表示反应体系在 532、600 和 450 nm 处吸光度。

2 结果与分析

2.1 丹参根腐病症状及致病菌分离

田间调查表明, 丹参根腐病多与枯萎病复合发生, 在高湿黏土地块尤其严重, 且随着连作年限的延长, 病害程度呈现显著加剧的趋势。发病初期, 须根呈水渍状褐腐, 逐步蔓延至主根; 后期, 木质部完全腐烂变黑、纤维化, 植株萎蔫死亡(图 1A), 导致产量与品质严重下降。

采集病样组织并纯化分离获得 3 个菌株(DSGFA、DSGFB、DSGFC)。致病性检验结果表明, 对照组根部纵切外观正常(图 1B), 仅菌株 DSGFB 处理可引起典型根腐症状(图 1D), 其余 2 个菌株不致病(图 1C、E)。接种 DSGFB 菌株 28 d 后, 病株萎蔫、须根腐烂及木质部褐化, 符合柯赫氏法则, 确证其为丹参根腐病的病原菌。

2.2 丹参根腐病病原菌 DSGFB 鉴定

菌株 DSGFB 于 28°C 、PDA 平板中培养 5 d 后, 观察到气生菌丝呈紫色绒毛状, 生长致密旺盛, 基内菌丝为淡紫色至紫色(图 2A、B)。小型分生孢子数量较多, 呈卵圆形或肾形, 大小为 $(10.53 \sim 11.95) \mu\text{m} \times (3.14 \sim 3.77) \mu\text{m}$; 大型分生孢子镰刀形, 常具 3 隔(图 2C); 厚垣孢子球形, 单生或串生, 直径 $7.08 \sim 10.53 \mu\text{m}$ 。根

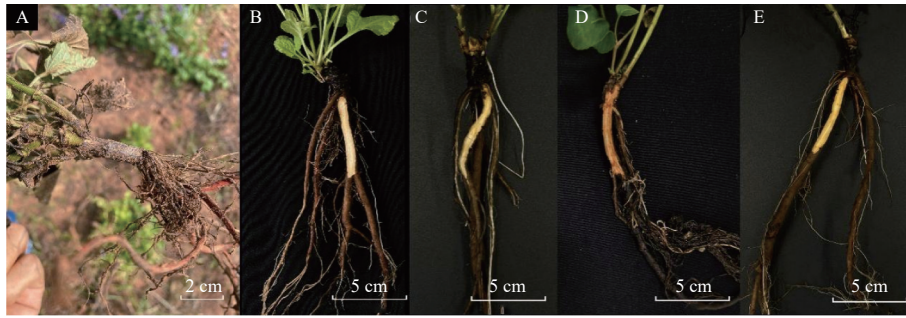


图1 丹参根腐病病株田间发病症状及其病原菌致病性检测

Fig. 1 Field symptoms of *Salvia miltiorrhiza* root rot and pathogenicity testing of the causal agent

注: A. 丹参根腐病病株根部及茎基部田间病状; B. 健康丹参根部纵切外观; C、D、E. 分别接种 DSGFA、DSGFB、DSGFC 的丹参根部纵切外观。

Notes: A. Field symptoms on the root and crown region of *Salvia miltiorrhiza* plants infected with root rot; B. Longitudinal section of a healthy *S. miltiorrhiza* root; C, D, E. Longitudinal section of a *S. miltiorrhiza* root inoculated with strain DSGFA, DSGFB and DSGFC.

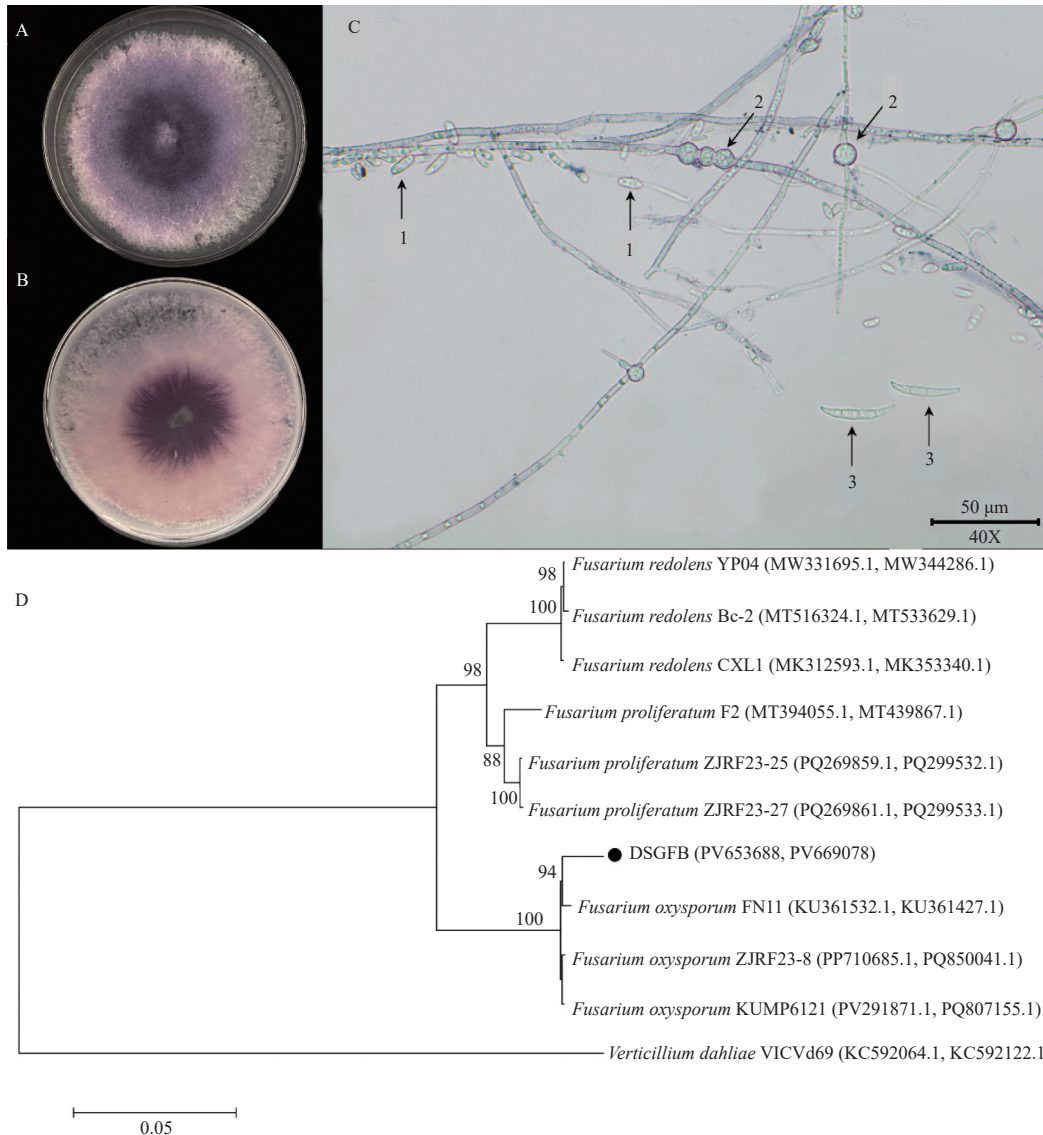


图2 丹参根腐病病原菌 DSGFB 形态学特征观察 (400×) 及其系统发育分析

Fig. 2 Morphological characteristics of *Salvia miltiorrhiza* root rot pathogens DSGFB (400×)

注: A. 菌落正面形态; B. 菌落背面形态; C. 菌丝及分生孢子显微形态, 其中 1 为分生孢子, 2 为厚垣孢子, 3 为大型分生孢子; D. 菌株 DSGFB 基于 ITS-*EF-1α* 串联序列构建系统发育树。

Notes: A. Frontal view of bacterial colonies; B. Backside of the morphology of colony; C. Microscopic morphology of hyphae and conidia; 1 Conidia, 2 Chlamydoconidia, and 3 Sickle-shaped conidia; D. Phylogenetic tree based on concatenated sequences of ITS and *EF-1α* sequences of strain DSGFB.

据形态学初步将其鉴定为瘤座孢科 Tuberculariaceae 镰刀菌属 *Fusarium* 真菌(王艳霞等, 2025)。

进一步采用多基因联合系统发育分析, 构建 ITS-*EF-1α* 串联数据集 (833 bp)。BLAST 比对分析结果显示, 其与尖孢镰刀菌 *F. oxysporum* 相似性均在 99% 以上。构建的系统发育树如图 2D 所示, 菌株 DSGFB 与尖孢镰刀菌聚为一支, 分支 Bootstrap 检验值为 100。结合上述形态学鉴定结果, 将丹参根腐病病原菌 DSGFB 鉴定为尖孢镰刀菌。

2.3 生防菌 DSSR-2 鉴定结果

2.3.1 生防菌 DSSR-2 培养性状及生化特征

生防菌 DSSR-2 在 LB 培养基上形成白色至淡黄

色菌落。培养初期菌落表面光滑; 后期表面有褶皱, 边缘呈云雾状扩散, 中间略有凸起(图 3A)。革兰氏染色呈阳性, 细胞呈杆状, 菌体长 1.70~2.01 μm, 宽约 1.09 μm(图 3B)。进一步的生理生化试验结果如表 1 所示, 生防菌 DSSR-2 能分解利用 D-葡萄糖、D-山梨醇、蔗糖、甘露醇及麦芽糖, 接触酶反应呈阳性, 氧化酶反应呈阴性。柠檬酸盐利用结果呈阳性, 丙酸盐利用结果呈阴性。此外, 生防菌 DSSR-2 可以在 NaCl 浓度为 0.05%~7.00% 的培养基上正常生长, 生长酸度(pH)为 3.0~10.0(图 4)。根据 DSSR-2 的菌株培养性状、显微形态及生理生化特征, 初步将其鉴定为芽孢杆菌属 *Bacillus* 细菌(Du et al., 2019)。

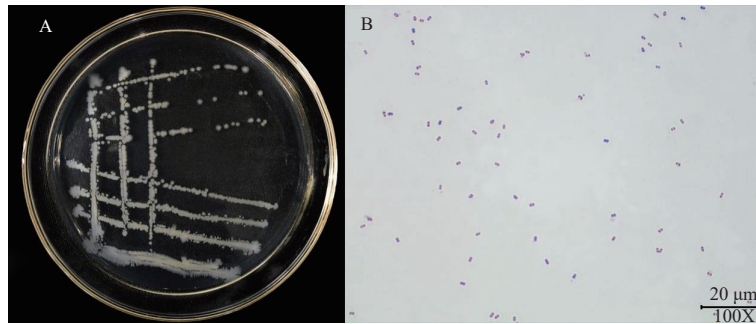


图 3 生防菌 DSSR-2 在光学显微镜下形态及革兰氏染色结果 (100×)

Fig. 3 Morphology and Gram staining of strain DSSR-2 under optical microscopy (100×)

注: A. DSSR-2 在 LB 培养基上外观形态; B. DSSR-2 经革兰氏染色显微观察结果。

Notes: A. Bacterial colony morphology of strain DSSR-2 cultured on LB media; B. Observations under an optical microscope after Gram-staining.

表 1 生防菌 DSSR-2 生理生化试验结果

Tab. 1 Physiological and biochemical test results of strain DSSR-2

测试项目 Test item	接触酶 Catalase	氧化酶 Oxidase	唯一碳源利用 Utilization of sole carbon sources						
			D-葡萄糖 D-Glucose	D-山梨醇 D-Sorbitol	蔗糖 Sucrose	甘露醇 Mannitol	麦芽糖 Maltose	柠檬酸盐 Citrate	丙酸盐 Propionate
反应结果 Result	+	-	+	+	+	+	+	+	-

注: 表中“+”表示阳性, “-”表示阴性。

Notes: In this table, "+" denotes a positive result and "-" denotes a negative result based on standard microbiological testing protocol.

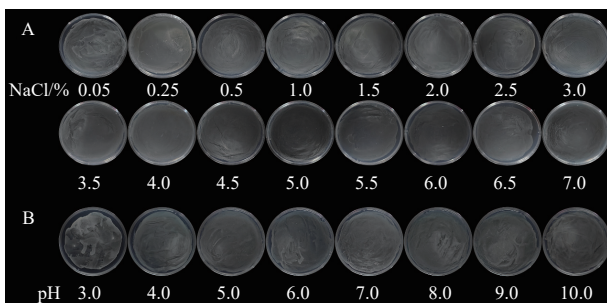


图 4 生防菌 DSSR-2 生长特性测定结果

Fig. 4 Growth response of strain DSSR-2 to environmental stress

注: A. 生防菌 DSSR-2 在含 NaCl(0.05%~7.00%) 的 LB 培养基上的生长情况; B. 生防菌 DSSR-2 在不同 pH(3.0~10.0) 的 LB 培养基上的生长情况。

Notes: A. Growth in LB medium supplemented with NaCl (0.05%~7.00%, w/v); B. Growth in LB medium at adjusted pH (3.0~10.0).

2.3.2 生防菌 DSSR-2 分子生物学特征

经 PCR 扩增和测序后, 获得生防菌 DSSR-2 的 16S rRNA 序列 1408 bp, *gyrB* 序列 886 bp。经 NCBI GeneBank 数据库 Blast 比对分析, 该菌株 16S rRNA 序列与贝莱斯芽孢杆菌属细菌 *Bacillus velezensis* SF148 (OM758197.1) 相似性最高 (99.79%), *gyrB* 与贝莱斯芽孢杆菌属细菌 *Bacillus velezensis* YMQY7 (MW051618.1) 相似性最高 (100.00%), 满足属内鉴定要求。对 16S rRNA 和 *gyrB* 序列进行遗传进化分析并构建系统发育树, 两序列构建的系统发育树结果中生防菌 DSSR-2 均与贝莱斯芽孢杆菌聚为一支, Bootstrap 检验值分别为 100 和 99(图 5)。结合上述菌株菌落形态和生理生化特征, 可鉴定生防菌 DSSR-2 为贝莱斯芽孢杆菌。

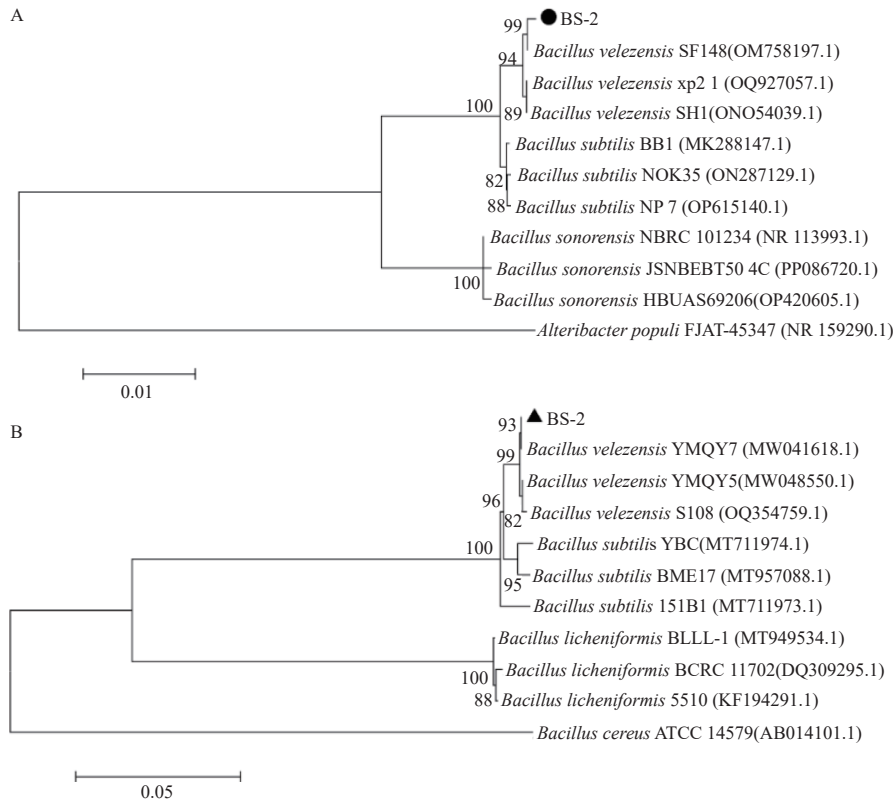


图5 生防菌 DSSR-2 保守基因序列遗传进化分析结果

Fig. 5 Sequence analysis of conserved gene of strain DSSR-2

注: A. 基于菌株 16s rRNA 序列构建的系统发育树; B. 基于菌株 *gyrB* 序列构建的系统发育树。

Notes: A. Phylogenetic tree built using 16S rRNA sequences; B. Phylogenetic tree built using *gyrB* sequences.

2.4 生防菌 DSSR-2 对丹参抗病促生效果评价

2.4.1 生防菌 DSSR-2 对丹参病原菌离体抑菌活性测定结果

生防菌 DSSR-2 对供试 8 种病原菌均表现出优良体外抑制活性 ($P < 0.05$), 抑制率为 80.56%~97.56%, 其中对灰葡萄孢菌 *Botrytis cinerea* Pers.:Fr. 的抑制效果最强, 对交链孢菌 *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. 的抑制效果最弱 (表 2)。

2.4.2 生防菌 DSSR-2 促生特性及产胞外酶测定结果

生防菌 DSSR-2 不具备固氮和解钾能力, 能溶解利用有机磷、无机磷, 可分泌产生铁载体、纤维素酶、几丁质酶、 β -1,3 葡聚糖酶以及吲哚乙酸 (IAA) (表 3), 表明生防菌 DSSR-2 具备较大促生潜力。

2.4.3 生防菌 DSSR-2 对丹参植株的促生效果

与对照相比, 生防菌 DSSR-2 发酵液处理 28 d 后, 丹参植株的株高、叶宽、叶长、叶片数、地上及地下部分鲜重均有不同程度的增加。经过生防菌 DSSR-2 发酵液的处理, 丹参的叶长增加了 154.42%, 叶宽增加了 153.10%, 地上及地下部的鲜重分别提高了 87.36% 和 71.88%。结果表明, 生防菌 DSSR-2 对丹参植株的生长具有显著促进效果 (图 6, 表 4)。

表 2 贝莱斯芽孢杆菌 DSSR-2 对供试病原菌的抑制作用测定

Tab. 2 Inhibition of *Bacillus subtilis* DSSR-2 against fungal pathogens

病原菌 Pathogen	抑制率/% Inhibition rate
尖孢镰刀菌 <i>Fusarium oxysporum</i> Schldt.	93.19 ± 2.13 b
层出镰刀菌 <i>F. proliferatum</i> (Matsush.) Nirenberg ex Gerlach & Nir	81.72 ± 1.58 c
腐皮镰刀菌 <i>F. solani</i> (Mart.) Appel & Wollenw	90.14 ± 2.41 b
烟草疫霉菌 <i>Phytophthora nicotianae</i> Breda de Haan	96.97 ± 1.25 a
多主棒孢霉 <i>Corynespora cassicola</i> (Berk & Curt.) Wei	81.23 ± 2.88 c
交链孢菌 <i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl.	80.56 ± 3.21 c
极细链格孢 <i>Alternaria tenuissima</i> (Nees & T.Nees:Fr.) Wiltshire	89.42 ± 1.77 b
灰葡萄孢菌 <i>Botrytis cinerea</i> Pers.:Fr.	97.56 ± 2.86 a

注: 表中数据为平均值±标准差, 同列数据后不同小写字母表示在 $P < 0.05$ 水平差异显著。

Notes: Data are expressed as the mean±standard deviation. Different lowercase letters following the values in each column indicate significant differences ($P < 0.05$).

表 3 生防菌 DSSR-2 促生特性及产胞外酶测定结果

Tab. 3 Results Physiological characterization of plant growth-promoting traits of strain DSSR-2

	固氮 Nitrogen fixation	解钾 Potassium solubilization	溶磷 Phosphate solubilization		产铁载体 Siderophore production	产纤维素酶 Cellulase production	产几丁质酶 Chitinase production	产β-1,3葡聚糖酶 β-1,3-Glucanase production	产吲哚乙酸 Indole-3-acetic acid (IAA) production
			有机磷 Organic phosphate	无机磷 Inorganic phosphate					
反应 结果 Results	-	-	+	+	+	+	+	++	++

注：“-”表示不具备；“+”表示具备；“++”表示具备且较显著。

Notes：“-” denotes negative; “+” denotes positive; “++” denotes positive and significant.



图 6 生防菌 DSSR-2 促进丹参生长盆栽试验结果

Fig. 6 The effects of strain DSSR-2 on the growth of *Salvia miltiorrhiza* plant in the pot experiment

注：左侧为生防菌 DSSR-2 发酵液处理，右侧为清水对照处理（图中左、右两侧各 6 盆植株）。

Notes: The left side shows plants treated with DSSR-2 fermentation broth; the right side shows plants treated with water (control). (Six pots per treatment are displayed on each side).

表 4 生防菌 DSSR-2 发酵液处理对丹参植株生长影响

Tab. 4 The effects of strain DSSR-2 fermentation broth on the growth of *Salvia miltiorrhiza* plant

处理组别 Treatment group	株高/cm Plant height	叶宽/cm Leaf width	叶长/cm Leaf length	叶片数/片 Number of leaves	地上部分鲜重/g Fresh weight of above-ground part	地下部分鲜重/g Fresh weight of below-ground part
DSSR-2 发酵液 DSSR-2 fermentation broth	16.77 ± 1.05*	3.67 ± 0.24*	5.47 ± 0.39*	12.32 ± 0.67*	170.56 ± 2.12*	112.12 ± 6.06*
空白对照 Blank control	9.53 ± 1.10	1.45 ± 0.21	2.15 ± 0.18	6.70 ± 1.33	90.73 ± 4.08	65.23 ± 4.07

注：表中数据为平均值±标准差，*表示在 P<0.05 水平差异显著。

Notes: Data are expressed as the mean ± standard deviation. Different lowercase letters following the values in each column indicate significant differences (P<0.05).

2.4.4 盆栽条件下生防菌 DSSR-2 对丹参根腐病的防治效果

生防菌 DSSR-2 发酵液对丹参根腐病具有显著的保护作用。处理 28 d 后，防治效果可达到 65.56% (表 5)。与对照相比，DSSR-2 发酵液处理组丹参地上部生长正常，未出现明显萎蔫、干枯等根腐病典型病状 (图 7A、B)，根部表皮有轻微腐烂，纵切后根系内部健康 (图 7C、D)。

2.4.5 生防菌 DSSR-2 对丹参根系防御酶及相关代谢产物影响

生防菌 DSSR-2 发酵液处理后，丹参根部抗氧化酶活力出现不同程度的变化。其中 SOD 和 POD 酶活力在 24 h 内升高 (图 8A、B)，在处理后的 18 h 时达到峰值，分别为对照组的 1.24 倍和 1.52 倍。而发酵

表 5 DSSR-2 发酵液处理对丹参根腐病防效测定

Tab. 5 Control effect of tomato root rot disease under DSSR-2 fermentation broth in the pot experiment

处理组别 Treatment Group	病情指数 Disease index	防治效果/% Disease control efficacy
DSSR-2 发酵液 DSSR-2 fermentation broth	28.38 ± 1.76	65.56 ± 2.25
空白对照 Blank control	82.41 ± 1.15*	-

注：表中数据为平均值±标准差，*表示在 P<0.05 水平差异显著。

Notes: Data are expressed as the mean ± standard deviation. * Indicates significant difference levels at P<0.05.

液处理 30 h 后，丹参根部 SOD 和 POD 酶活力有少量增加但其变化未达显著水平。此外，在整个试验过程中，CAT 酶活未观察到显著变化，这可能与菌株特异性有关 (图 8C)。



图7 生防菌 DSSR-2 防治丹参根腐病盆栽药效试验结果
Fig. 7 Control effect of *Salvia miltiorrhiza* root rot disease under DSSR-2 fermentation broth in the pot experiment

注: A. 生防菌 DSSR-2 发酵液处理后丹参病株外观; B. 对照处理丹参病株外观; C. 生防菌 DSSR-2 发酵液处理后丹参根部纵切外观; D. 对照处理丹参根部纵切外观。

Notes: A. Appearance of *Salvia miltiorrhiza* root treated with DSSR-2 fermentation broth; B. Appearance of *S. miltiorrhiza* root rot treated with water; C. Longitudinal section of *S. miltiorrhiza* root treated with DSSR-2 fermentation broth; D. Longitudinal section of *S. miltiorrhiza* root treated with water.

喷施 DSSR-2 发酵液后, 丹参根部 MDA 含量在 0~24 h 内升高, 并在 18 h 时达到峰值, 为对照处理的

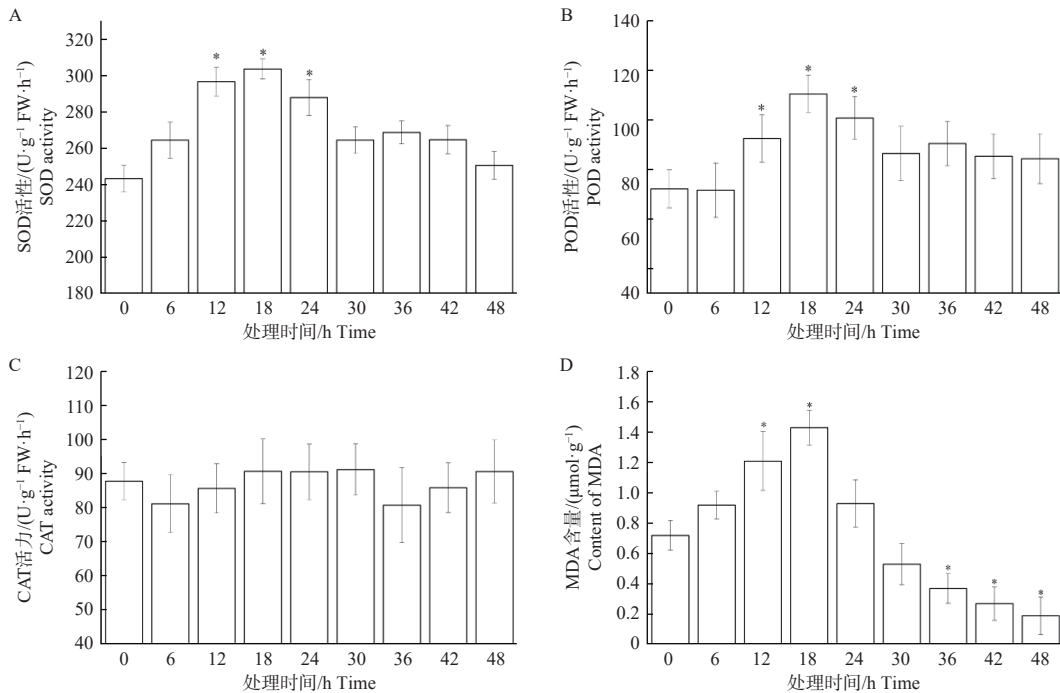


图8 施用生防菌 DSSR-2 发酵液对丹参根部抗氧化酶活力及 MDA 含量的影响
Fig. 8 Malondialdehyde (MDA) content and antioxidant enzyme activities of *Salvia miltiorrhiza* treated with DSSR-2 fermentation broth

注: A. 丹参根部 SOD 活力测定结果; B. 丹参根部 POD 活力测定结果; C. 丹参根部 CAT 活力测定结果; D. 丹参根部 MDA 含量测定结果。*表示在 $P < 0.05$ 水平差异显著。

Notes: A. Superoxide dismutase (SOD) activity; B. Peroxidase (POD) activity; C. Catalase (CAT) activity; D. The malondialdehyde (MDA) production was measured. * Indicates significant difference levels at $P < 0.05$.

1.98 倍 (图 8D), 表明根部细胞受到一定的氧化应激损伤。这一结果与 0~24 h 观察到 SOD 和 POD 酶活显著升高相对应。DSSR-2 发酵液处理后 36、42 和 48 h, 丹参根部细胞中 MDA 含量持续降低, 与 0 h 相比, 分别降低了 48.6%、62.5% 和 73.6%。上述结果表明, 生防菌 DSSR-2 能通过调节丹参植株抗氧化酶系活力来增强抗逆性。

3 讨论

陕西省商洛市地处陕南东部秦岭腹地, 是全国两大中药材优生区之一。农林(药)复合系统作为一种传统农作模式, 在缓解农林用地竞争矛盾、提升资源利用效率以及实现生态与经济协同发展等方面具有重要作用 (Jia et al., 2022)。近年来, 商洛市林下种植丹参面积不断扩大, 虽带来了良好经济效益, 但种植品种单一、自然抗性低、连作障碍等问题也随之凸显。本研究将商洛市林下丹参种植区引起丹参根腐病的病原菌鉴定为尖孢镰刀菌, 与已报道的云南文山 (龙月娟等, 2024)、山东蒙阴 (李程锦等, 2022) 和山东莱芜 (濮春娟等, 2022) 等地区丹参根腐病主要致病菌一致。此外, 腐皮镰刀菌、木贼镰刀菌、层

出镰刀菌、大丽轮枝菌 *Verticillium dahlia* Kleb. 等病原菌也有分离报道(杨瑾等, 2021)。该病害具有较强的隐蔽性, 严重影响丹参的生物学性状和药用成分含量。

抗病品种选育、轮作、间作等农事措施可减轻丹参根腐病的发生。如金宏荣等(2022)采用小麦-玉米-马铃薯轮作使党参 *Radix Codonopsis Pilosulae* 根腐病的发病率降至 12.4% 以下。但该类措施成本高、针对性弱, 仅可用于预防, 治疗效果较差。在生产实际中, 根腐病的防控主要依赖化学杀菌剂, 且主要参考农作物上类似病害选用药剂(如棉隆、氯化苦、甲基硫菌灵、咯菌腈等), 但由于中药材对应登记的农药品类较少, 造成乱用滥用现象频发, 导致农残超标等安全问题。刘莞汐等(2022)分析显示, 近 5 a, 20 种大宗药材中高毒及禁用农药时有检出, 且多未登记在相应品种中。因此, 在丹参等药材生产过程中, 推进农药的合理使用、替代与减量工作已势在必行。

生物防治具有安全、环境友好等特点, 利用微生物源菌剂和植物源药剂的生物防治技术是绿色种植的方向。本研究结合形态学特征观察、生化特征鉴定和系统发育分析等系统鉴定了对丹参根腐病具有显著拮抗活性的生防菌株贝莱斯芽孢杆菌 DSSR-2。近年来, 也有多种拮抗中药材根腐病的生防菌筛选报道, 例如张爱梅等(2021)针对黄芪根腐病筛选获得的特基拉芽孢杆菌 *Bacillus tequilensis* Gatson *et al.*, 菌株发酵液对黄芪根腐病防治效果达 65.68%; 王莉等(2024)分离获得的灰橙链霉菌 *Streptomyces griseoaurantiacus* Preobrazhenskaya 和巴西链霉菌 *S. brasiliensis* Falcão 对黄芩根腐病的盆栽防效分别达到 77.30% 和 72.20%。据报道, 芽孢杆菌属部分生防菌的拮抗机制主要是通过分泌抗真菌肽来抑制真菌细胞壁和细胞膜的生物合成, 以及对细胞膜的氧化损伤(Lecante *et al.*, 2022)。例如, 巨型芽孢杆菌 *B. megaterium* de Bary 已经被证明能分泌小分子抗真菌肽, 可抑制黄曲霉中黄曲霉素 B1(AFB1)的生物合成(Delgado *et al.*, 2017)。夏明聪等(2021)研究发现, 贝莱斯芽孢杆菌 YB-145 对禾谷丝核菌 *Rhizoctonia cerealis* van der Hoeve 有较强抑制作用, 且该菌株可分泌蛋白酶和 β -1,3 葡聚糖酶。类似地, 本研究中分离的贝莱斯芽孢杆菌 DSSR-2 在培养基平板上对包括尖孢镰刀菌在内的 8 种植物病原菌均有较强的抑制作用, 且该菌株能分泌纤维素酶、 β -1,3 葡聚糖酶, 这可能是生防菌 DSSR-2 发挥拮抗作用的重要原因之一。此外, 部分生防菌不仅有直接抑菌作用, 还具有促进植物生长、增强植物抗

逆性等功效(Javed *et al.*, 2022)。例如, 李坤等(2024)对贝莱斯芽孢杆菌 TC-52 的促生能力进行测定发现, 该菌株具有固氮、产铁载体和生长素能力, 使用发酵液浸种处理可使水稻胚根生长量提高 19%, 主根长度增长 25%。本研究中, 生防菌 DSSR-2 发酵液可显著提高丹参地上地下部生物量, 且该菌株具有溶磷能力和分泌产生铁载体和 IAA 的能力, 这可能是其具有促生作用的主要原因。以上研究结果表明, 生防菌 DSSR-2 在丹参根腐病防治上具有良好的生防潜力。

4 结论

本研究结合致病性测定、形态学观测和系统发育分析, 确定引起陕西省商洛市林下丹参根腐病的病原菌为尖孢镰刀菌, 并明确了高效生防菌 DSSR-2 为贝莱斯芽孢杆菌。经平板对峙及盆栽试验证实, 生防菌 DSSR-2 具有较为广谱的抑菌活性, 且对丹参根腐病有较强的保护活性, 可通过代谢产生铁载体、生长素、胞外酶等多重途径协同作用促进丹参植株生长。进一步对丹参抗病相关生化指标测定结果表明, 生防菌 DSSR-2 可有效增强丹参根系细胞的抗氧化能力, 维持其细胞氧化环境稳态, 提高抗病性。综上所述, 本研究系统揭示了贝莱斯芽孢杆菌 DSSR-2 兼具抗病与促生的双重功效, 为丹参根腐病的生物防治提供了新策略。下一步将针对生防菌 DSSR-2 抗病促生作用的分子机制、与其他拮抗菌的协同效应和田间应用技术进行深入研究, 以期为生防菌 DSSR-2 的菌剂研发和田间生产应用提供科学依据。

参 考 文 献

- 东秀珠, 蔡妙英. 2001. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 349-388.
- Dong X Z, Cai M Y. 2001. Handbook for identification of common bacterial systems[J]. Beijing: Science Press, 349-388. (in Chinese)
- 蒋冬阳, 吴冰越, 季文平, 等. 2024. 拮抗放线菌 2-1-2F 的鉴定及其对黄瓜枯萎病的防效[J]. 中国生物防治学报, 40(2): 411-423.
- Jiang D Y, Wu B Y, Ji W P, *et al.* 2024. Identification of antagonistic actinomycetes 2-1-2F and its control effect on cucumber fusarium wilt[J]. Chinese Journal of Biological Control, 40(2): 411-423. (in Chinese)
- 金宏荣, 陈红, 姚彦斌. 2022. 连作和倒茬对党参根腐病的影响研究[J]. 中兽医医药杂志, 41(3): 40-42.
- Jin H R, Chen H, Yao Y B. 2022. Effects of continuous cropping and rotation cropping on root rot of *Codonopsis pilosula*[J]. Journal of Traditional Chinese Veterinary Medicine, 41(3): 40-42. (in Chinese)
- 李程锦, 尚怀国, 苏霞, 等. 2022. 丹参根腐病病原菌的分离、鉴定及防控药剂筛选[J]. 山东农业科学, 54(9): 119-125.

- Li C J, Shang H G, Su X, *et al.* 2022. Isolation and identification of root rot pathogens of *Salvia miltiorrhiza* and fungicide screening[J]. Shandong Agricultural Sciences, 54(9): 119–125. (in Chinese)
- 李坤, 洪秀杰, 王欣悦, 等. 2024. 贝莱斯芽孢杆菌 TC-52 的分离鉴定及其对水稻幼苗生长和立枯病的影响[J]. 江苏农业科学, 52(10): 129–137.
- Li K, Hong X J, Wang X Y, *et al.* 2024. Isolation and identification of *Bacillus velezensis* TC-52 and its effect on rice seedling growth and blight[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 52(10): 129–137. (in Chinese)
- 林勇, 刁彦花, 李俊磊, 等. 2024. 释硅类芽孢杆菌 CBP-2 的筛选鉴定及对种子萌发的影响[J]. 种子, 43(1): 52–58, 91.
- Lin Y, Xi Y H, Li J L, *et al.* 2024. Screening and identification of silicon solubilizing *Paenibacillus rylanilyticus* strain CBP-2 and its effect on seed germination[J]. Seed, 43(1): 52–58, 91. (in Chinese)
- 刘芫汐, 辜冬琳, 苟琰, 等. 2022. 中药材种植中农药使用情况及残留现状分析[J]. 中国药事, 36(5): 503–510.
- Liu Y X, Gu D L, Gou Y, *et al.* 2022. Analysis of pesticide application and pesticide residues in traditional Chinese medicine cultivation[J]. Chinese Pharmaceutical Affairs, 36(5): 503–510. (in Chinese)
- 龙月娟, 潘应姝, 钱闪, 等. 2024. 文山紫丹参根腐病菌的鉴定[C]//中国植物病理学会. 中国植物病理学会 2024 年学术年会论文集. 北京: 中国农业科学技术出版社: 375.
- Long Y J, Pan Y S, Qian S, *et al.* 2024. Identification of root rot pathogen of *Salvia miltiorrhiza* in Wenshan[C]//The Chinese society of plant pathology. Proceedings of the 2024 academic annual meeting of the Chinese society of plant pathology. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press: 375. (in Chinese)
- 陆淑静, 文家富. 2023. 丹参根腐病和枯萎病全生育期防治研究[J]. 安徽农学通报, 29(8): 127–129.
- Lu S J, Wen J F. 2023. Integrated management of root rot and wilt disease in *Salvia miltiorrhiza* throughout the entire growth cycle[J]. Anhui Agricultural Science Bulletin, 29(8): 127–129. (in Chinese)
- 濮春娟, 刘莎, 陆祖瑜, 等. 2022. 尖孢镰刀菌和大丽轮枝菌对丹参的致病力及诱导抗性的研究[J]. 中国中药杂志, 47(21): 5832–5837.
- Pu C J, Liu S, Lu Z Y, *et al.* 2022. Pathogenicity and induced systemic resistance of *Fusarium oxysporum* and *Verticillium dahlia* to *Salvia miltiorrhiza*[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 47(21): 5832–5837. (in Chinese)
- 沈文彪, 徐朗莱, 叶茂炳, 等. 1996. 氮蓝四唑光化还原法测定超氧化物歧化酶活性的适宜条件[J]. 南京农业大学学报, 19(2): 101–102.
- Shen W B, Xu L L, Ye M B, *et al.* 1996. The suitable conditions for determining sod activity by nitro blue tetrazolium (nbt) photoreduction method[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 19(2): 101–102. (in Chinese)
- 石义妃, 耿佩冰, 吴皓, 等. 2023. 金黄垂直链霉菌 DF06 的分类鉴定及防病促生作用[J]. 中国生物防治学报, 39(2): 407–417.
- Shi Y F, Geng P B, Wu H, *et al.* 2023. Classification and identification of *Streptomyces aureovorticillatus* DF06 and its effect on disease control and growth promotion[J]. Chinese Journal of Biological Control, 39(2): 407–417. (in Chinese)
- 王莉, 王雅竹, 张如, 等. 2024. 黄芩根腐病生防菌的筛选鉴定及生防作用测定[J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 44(5): 68–77.
- Wang L, Wang Y Z, Zhang R, *et al.* 2024. Selection, identification, and biocontrol efficacy assessment of biocontrol bacteria against *Scutellaria baicalensis* root rot disease[J]. Journal of Shanxi Agricultural University (Natural Science Edition), 44(5): 68–77. (in Chinese)
- 王婷婷, 张渊. 2025. 丹参的临床药理研究新进展[J]. 临床合理用药, 18(11): 164–167.
- Wang T T, Zhang Y. 2025. New progress in clinical pharmacological research of *Salvia miltiorrhiza*[J]. Chinese Journal of Clinical Rational Drug Use, 18(11): 164–167. (in Chinese)
- 王雪, 陈美兰, 杨光, 等. 2014. 丛枝菌根真菌与哈茨木霉菌合用对连作丹参生长及质量的影响[J]. 中国中药杂志, 39(9): 1574–1578.
- Wang X, Chen M L, Yang G, *et al.* 2014. Effect of *Glomus versiforme* and *Trichoderma harzianum* on growth and quality of *Salvia miltiorrhiza*[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 39(9): 1574–1578. (in Chinese)
- 王艳霞, 陈姝哲, 陈勇, 等. 新化多花黄精根腐病原菌的鉴定与致病力测定[J/OL]. 分子植物育种, 1–8[2025-07-23]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20250520.1527.006.html>.
- Wang Y X, Chen S Z, Chen Y, *et al.* 2025. Identification and pathogenicity determination of the pathogen of *Polygonatum cyrtoneura* root rot in Xinhua[J/OL]. Molecular Plant Breeding, 1–8[2025-07-23]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20250520.1527.006.html>. (in Chinese)
- 吴皓, 喻婷婷, 袁治春, 等. 2023. 陕西省华中五味子根腐病原鉴定与防治药剂筛选[J]. 植物病理学报, 53(3): 491–497.
- Wu H, Yu T T, Yuan Z C, *et al.* 2023. Pathogen identification and effective fungicides screening of root rot of *Schisandra sphenanthera* in Shaanxi Province[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 53(3): 491–497. (in Chinese)
- 夏明聪, 邓晓旭, 齐红志, 等. 2021. 贝莱斯芽孢杆菌 YB-145 对小麦纹枯病的防治效果及促生作用[J]. 河南农业科学, 50(10): 76–83.
- Xia M C, Deng X X, Qi H Z, *et al.* 2021. Biological control of sharp eyespot and growth promotion in wheat by *Bacillus velezensis* YB-145[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 50(10): 76–83. (in Chinese)
- 徐欢, 俞新玲, 林勇明, 等. 2016. 桉树根际土壤解磷细菌的分离、筛选及其解磷效果[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 45(5): 529–535.
- Xu H, Yu X L, Lin Y M, *et al.* 2016. Isolation, screening of phosphate solubilizing capacity of phosphate solubilizing bacteria in Eucalyptus species[J]. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition), 45(5): 529–535. (in Chinese)
- 杨瑾, 文艺, 高素霞, 等. 2021. 河南产区丹参根腐病原鉴定[J]. 河南农业科学, 50(10): 92–98.
- Yang J, Wen Y, Gao S X, *et al.* 2021. Identification of pathogens causing *Salvia miltiorrhiza* root rot disease in Henan Province[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 50(10): 92–98. (in Chinese)
- 游川, 张驰, 袁若钰, 等. 2024. 产酶溶杆菌生物有机肥对丹参根腐病的防控效果及微生态机制解析[J/OL]. 土壤学报, 1–13[2025-07-23]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/32.1119.P.20241119.1636.002.html>.
- You C, Zhang C, Yuan R Y, *et al.* 2024. The biocontrol effect and microecological mechanism of lysobacter enzymogenes bio-organic fertilizer on *Salvia miltiorrhiza* root rot[J/OL]. Acta Pedologica Sinica, 1–13[2025-07-23]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/32.1119.P.20241119.1636.002.html>. (in Chinese)
- 尹爱武, 高鹏飞. 2021. 丹参在肝脏疾病防治中的应用及作用机制研究

- 进展[J]. 天然产物研究与开发, 33(6): 1057–1062.
- Yin A W, Gao P F. 2021. Research progress in application and mechanism of Danshen in the prevention and treatment of liver disease[J]. *Natural Product Research and Development*, 33(6): 1057–1062. (in Chinese)
- 张爱梅, 李曦冉, 郭保民, 等. 2021. 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*, 30(12): 1905–1913.
- Zhang A M, Li X R, Guo B M, *et al.* 2021. Screening, identification, and biocontrol effect of antagonistic bacteria against *Astragalus membranaceus* root rot[J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 30(12): 1905–1913. (in Chinese)
- 张莲朋, 徐敏, 杨建新, 等. 2025. 三门峡烟株内生真菌分离及功能菌株筛选和鉴定[J]. *农药学报*, 27(3): 513–524.
- Zhang L P, Xu M, Yang J X, *et al.* 2025. Isolation of endophytic fungi from tobacco plants in Sanmenxia and screening and identification of functional strains[J]. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 27(3): 513–524. (in Chinese)
- 张中义. 1988. 植物病原真菌学[M]. 成都: 四川科学技术出版社.
- Zhang Z Y. 1988. Plant pathogenic mycology[M]. Chengdu: Sichuan Science and Technology Press. (in Chinese)
- Castaldi S, Petrillo C, Donadio G, *et al.* 2021. Plant growth promotion function of *Bacillus* sp. strains isolated from salt-pan rhizosphere and their biocontrol potential against *Macrophomina phaseolina*[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7): 3324.
- Delgado J, Owens R A, Doyle S, *et al.* 2017. Quantitative proteomics reveals new insights into calcium-mediated resistance mechanisms in *Aspergillus flavus* against the antifungal protein PgAFP in cheese[J]. *Food Microbiology*, 66: 1–10.
- Du Y P, Xu Z C, Yu G L, *et al.* 2019. A newly isolated *Bacillus subtilis* strain named WS-1 inhibited diarrhea and death caused by pathogenic *Escherichia coli* in newborn piglets[J]. *Frontiers in Microbiology*, 10: 1248.
- Froböse N J, Bjedov S, Schuler F, *et al.* 2020. Gram Staining: a comparison of two automated systems and manual staining[J]. *Journal of clinical microbiology*, 58(12): e01914–e01920.
- Javed J, Rauf M, Arif M, *et al.* 2022. Endophytic fungal consortia enhance basal drought-tolerance in *Moringa oleifera* by upregulating the antioxidant enzyme (APX) through heat shock factors[J]. *Antioxidants*, 11(9): 1669.
- Jia H M, Zhou J, Zhao W C, *et al.* 2025. β -Elemonic acid mediated enrichment of *Paenibacillus* to help *Salvia miltiorrhiza* Bunge alleviate drought stress[J]. *Microbiome*, 13(1): 153.
- Jia W J, Wang S, He X H, *et al.* 2022. Different factors drive the assembly of pine and *Panax notoginseng*-associated microbiomes in *Panax notoginseng*-pine agroforestry systems[J]. *Frontiers in Microbiology*, 13: 1018989.
- Leconte A, Tourmant L, Muchembled J, *et al.* 2022. Assessment of lipopeptide mixtures produced by *Bacillus subtilis* as biocontrol products against apple scab (*Venturia inaequalis*)[J]. *Microorganisms*, 10(9): 1810.
- Qi Y Q, Li X W, Wang J H, *et al.* 2021. Efficacy of plant growth-promoting bacteria *Streptomyces werraensis* F3 for chemical modifications of diseased soil of ginseng[J]. *Biocontrol Science and Technology*, 31(2): 219–233.
- Sa R B, He S, Han D D, *et al.* 2022. Isolation and identification of a new biocontrol bacteria against *Salvia miltiorrhiza* root rot and optimization of culture conditions for antifungal substance production using response surface methodology[J]. *BMC Microbiology*, 22(1): 231.
- Suzuki K, Aoki N, Matsumura H, *et al.* 2015. Cooling water before panicle initiation increases chilling-induced male sterility and disables chilling-induced expression of genes encoding OsFKBP65 and heat shock proteins in rice spikelets[J]. *Plant, Cell & Environment*, 38(7): 1255–1274.
- Wu H, Sun Y B, Ma L, *et al.* 2024. Microbial exopolysaccharide EPS66A inducing walnut (*Juglans regia*) resistance to bacterial blight[J]. *Food Chemistry*, 435: 137551.
- Yang J, Wang F, Wen Y, *et al.* 2021. First report of *Fusarium proliferatum* causing root rot disease in *Salvia miltiorrhiza* in China[J]. *Plant Disease*, 105(4): 1210.