

陈文华,殷宪超,武德亮,等. 小麦赤霉病生物防治研究进展[J]. 江苏农业科学,2020,48(4):12-18.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.04.002

小麦赤霉病生物防治研究进展

陈文华^{1,2}, 殷宪超¹, 武德亮¹, 徐剑宏¹, 赵凤春², 杨正友², 史建荣¹

(1. 江苏省农业科学院农产品质量安全与营养研究所/江苏省食品质量安全重点实验室-省部共建国家重点实验室培育基地/农业农村部农产品质量安全风险评估实验室(南京),江苏南京 210014; 2. 山东农业大学生命科学院/山东省农业微生物重点实验室,山东泰安 271018)

摘要:小麦赤霉病是造成小麦减产的重要病害之一,病原菌产生的镰刀菌毒素严重威胁食品安全。近年来赤霉病的频繁发生和镰刀菌毒素污染超标问题日趋严重,而赤霉病抗性品种缺乏和多菌灵等化学药剂的耐药性致使现今对赤霉病控制乏力。因此,采取包括生物防治在内的赤霉病综合防控策略成为近年来赤霉病防控的研究热点。市场上可应用的生防制剂较少,防治效果不稳定。本文从拮抗菌的筛选、效果评价、拮抗机制与应用策略等方面对当前小麦赤霉病的生物防治策略进行了综述,并针对现有赤霉病生物防治存在的问题提出了相应改进策略。

关键词:小麦;赤霉病;生物防治;防治机制;应用策略

中图分类号: S435.121.4⁺5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2020)04-0012-07

小麦赤霉病(*Fusarium head blight*, FHB)是由多种镰刀菌引起的真菌病害,在世界范围内均有发生^[1]。我国长江中下游地区是小麦赤霉病的高发地区,已造成了严重的经济损失^[2-3]。赤霉病不但会造成作物减产、谷物品质下降,还会降低种子的萌发率。然而,赤霉病最大的危害是产生镰刀菌毒素,危害食品安全。镰刀菌毒素是镰刀菌的次级代谢产物,绝大多数具有热稳定性和化学稳定性,会通过受污染的饲料流入动物体内,并且对哺乳动物的肝脏、肾脏、免疫系统和神经系统带来损伤^[4]。禾谷镰刀菌是造成小麦赤霉病的四大主要病原真菌之一^[5]。它可以产生 B 型单端孢霉毒素,例如脱氧雪腐镰刀菌烯醇(DON)、雪腐镰刀菌烯醇(NIV)及其乙酰化衍生物和玉米赤霉烯酮(ZEN)^[6]。

禾谷镰刀菌主要侵染小麦、大麦和玉米等作物。然而,近年有研究发现,从杂草、大豆等非谷物宿主中也能分离出禾谷镰刀菌^[7-8]。小麦从扬花期到蜡熟初期均有可能受到空气中孢子的侵染^[9]。其中,扬花期是最敏感阶段,尤其是在温暖潮湿的

气候条件下^[10]。禾谷镰刀菌的孢子可以附着在作物残茬上越冬,是次年感染作物的主要病原菌来源^[11]。直接播种的耕作方法、种植感病品种、使用含有甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂及开花时遇到潮湿的天气条件等均是增加赤霉病发病率的重要因素^[12]。

抗赤霉病小麦品种选育是最直接的赤霉病控制方式,但是由于赤霉病抗原较少,抗性机制较为复杂,难以将农艺与抗病抗性相结合,因此尚未获得高抗赤霉病且适宜大范围推广种植的小麦品种^[13]。目前,使用杀菌剂、合理处置作物残茬及采用适宜的轮作耕种等多种防治措施相结合的方式,在一定程度上减少了赤霉病的发生。近年来,利用具有特异性抑菌效果的微生物及其衍生物的生物防治措施日益受到人们关注,如含有拮抗菌的窄谱生物制剂,仅对靶向病原菌起到抑制效果,而对非靶向的菌群没有影响^[14]。目前,已知能够有效抑制赤霉病发病的拮抗菌有芽孢杆菌属、假单胞菌属及链霉菌属等^[15-17]。历经 70 多年的研究,虽然目前已经取得了一定理论上的成果,但是其应用能力仍不能满足现有的实际生产需求。

生防制剂的发展应用受限的一部分原因是由于市场监管及相关法律制定的复杂性,更大的原因是应用技术发展面临巨大挑战。本文通过总结近年来的相关研究,对赤霉病的生物防治进行概述。简要总结了不同作用方式的生物防治措施,对已知的拮抗菌活性及作用方式进行了比较,最后就生防制剂应用的相关问题进行了讨论,并且对未来生物

收稿日期:2019-01-25

基金项目:国家重点研发计划(编号:2018YFD0200500);国家自然科学基金(编号:31601594、31872914);江苏省农业科技自主创新资金[编号:CX(17)1003]。

作者简介:陈文华(1992—),女,山东潍坊人,硕士研究生,主要从事小麦赤霉病生物防治研究。E-mail:lanbohehi@sina.com。

通信作者:史建荣,博士,研究员,主要从事真菌毒素风险评估与控制技术研究。E-mail:jianrong63@126.com。

防治技术的应用提出了一些改进建议。

1 现有的小麦赤霉病生防菌

目前具有防治小麦赤霉病功能的生防菌涵盖了细菌、真菌等多个种属,最常见的有芽孢杆菌、酵母菌、霉菌、放线菌。

1.1 芽孢杆菌属

芽孢杆菌属是一类荚膜杆菌,具有良好的抗逆性,革兰氏染色呈阳性。该类菌可以产生枯草菌素、丰源素以及表面活性剂等环脂肽,对多种植物病原菌具有良好的抑制效果。2013 年,林宝英研究发现,枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) B25 对尖孢镰刀菌具有良好的抑制效果,并经研究证明起拮抗作用的主要成分为抗菌肽^[18]。Qaiser 等发现解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*) Y1 可产生环肽,作用于镰刀菌从而起到减少小麦赤霉病发生的作用^[19]。

1.2 酵母

酵母是一类兼性厌氧的单细胞真菌。因其抑菌作用方式多数属于种间竞争,较少产生具有拮抗作用的次级代谢产物,应用较为安全,可作为生防菌进行使用。2013 年 Armando 等从动物消化系统中分离得到的酿酒酵母和 2002 年 Schisler 等从小麦花药中分离得到的隐球酵母 *Cryptococcus* sp. OH 71.4 与 *C. flavescent* OH 182.9 都可以通过竞争营养与空间的作用抑制温室及田间镰刀菌的生长,并减少赤霉病的发生^[20-21]。

1.3 木霉

木霉属于半知菌,它产生的水解酶裂解病原菌的细胞壁后通过微寄生作用抑制病原菌的生长。2003 年, Lutz 等试验证实从环境中分离得到的木霉 (*Trichoderma atroviride*) 菌株 P1 可以通过寄生作用抑制小麦叶片原位镰刀菌,从而抑制小麦赤霉病^[22]。2012 年, Matarese 等从土壤中分离得到木霉 *T. gamsii* 6085 同样可以抑制小麦及水稻植株上的赤霉病^[23]。

1.4 放线菌

链霉菌 (*Corynebacterium glutamicum*) 是产抗生素的主要菌群,它产生的抗生素可以抑制多种病原菌的生长,链霉菌可在植物病原菌的防治中起到一定的作用。2006 年, Nourozian 等从小麦籽粒中分离得到的链霉菌 *Streptomyces* sp. strain 3 可以抑制人工培养基上的镰刀菌,并经研究证实是该菌产生的抗生素起到了抑制作用^[24]。2007 年, Palazzini 等从小

麦花药中分离到的链霉菌 *Streptomyces* sp. RC87B 通过产生抗生素可以抑制培养基上镰刀菌的生长,并且经温室试验证实该菌在小麦幼苗上依然有较好的抑制效果^[25]。

2 生防菌防治赤霉病的作用方式

在自然界生态系统中,病原微生物可能存在多个“天敌”或者“竞争对手”,因此这部分能够杀死或者抑制病原菌的微生物就是潜在的生防菌。生防菌有可能源自植物体内组织,也有可能是源自相关生物的生存环境。传统保护即引入拮抗菌抑制赤霉病发病。理论上拮抗菌与病原菌的数目可以维持相对稳定,并且可以持续有效,然而实质上接种少量的拮抗菌仅可以在一段时间内抑制病原菌。这些生防菌的作用方式可分为浸没型、控制型和保护型。浸没型生物防治则是周期性的接种大量的拮抗菌。控制型拮抗菌可有效防止病原菌侵染宿主后进一步扩散。保护型的作用原理则是应用植物体原位有潜在拮抗作用的菌株占据植物体的表位,减少病原菌侵染几率。

拮抗菌产生的微生物拮抗物质同样可以广泛应用于多种病虫害的防治。微生物拮抗剂可通过寄生、抗生或竞争直接产生效果,也可通过诱导植物自身的抗性起到间接效果。微生物拮抗剂的作用效果并非相互独立,而是紧密相关的,可相互促进或效果叠加。病原菌与拮抗菌之间也存在相互竞争与抑制,下面总结了镰刀菌拮抗菌的主要作用方式。

2.1 寄生作用

真菌寄生作用是一种真菌以另一种真菌为宿主的现象,早在 4 亿年前就已经存在。与寄生作用相关的机制主要包括形成次生代谢产物,产生几丁质酶、壳聚糖酶或者其他可降解细胞壁的酶^[26]。与表达上述产物及酶相关的基因则是该作用机制的关键拮抗基因。真菌寄生菌涵盖多种菌,已知木霉属中部分营腐生的真菌,可通过寄生作用抑制多种病原菌。其中深绿木霉 (*T. atroviride*) 与绿色木霉 (*T. virens*) 已经应用于生物防治。与里氏木霉 (*T. reesei*) 相比,它们可应用于生物防治,但是不能寄生在宿主体内。研究显示,这类拮抗菌中与裂解细胞壁相关酶基因的表达具有相似性,但是与其他木霉属的菌种有较大差异。系统发育树分析显示,这 3 个物种均由木霉进化而来,但是里氏木霉存在明显

的基因丢失,因此形成了不同的分支有着不同的拮抗机制。分支杆菌(*Mycobacterium leprae*)是其中一种,对灰霉病在内的多种植物病原菌具有良好的生物防治作用。粉红黏帚霉(*Clonostachys*)可以特异性地抑制禾谷镰刀菌与核盘霉引起的植物病害。木霉属的拮抗作用通常还与竞争以及抗生素的产生有着密切关系^[27]。

2.2 抗生素作用

有些拮抗菌会在自己生长过程中产生对其他微生物有毒害作用的次级代谢产物(例如抗生素等)也是常见的拮抗机制。这类拮抗菌的代表有芽孢杆菌、植物乳杆菌(*Lactobacillus bacteriophage*)、产酶乳杆菌(*Lactobacillus enzyme*)、荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)以及链霉菌等^[28-30]。此外还发现部分类似于木霉的真菌也存在这类抑制作用。众多抗生素、细菌素、酶和挥发性物质在一些植物真菌病害中发挥的作用均有报道。一种拮抗菌可产生多种拮抗物质,能有效抑制特定的植物病原菌。例如,荧光假单胞菌可产生吩嗪、2,4-二乙酰间苯三酚等^[31]。这些代谢产物各不相同,但是均可有效抑制小麦锈病与黑斑病。芽孢杆菌产生的丰源素与伊枯草菌素可有效抑制禾谷镰刀菌引起的小麦赤霉病。2013 年,Dunlap 等通过对拮抗菌解淀粉芽孢杆菌 AS43.3 进行全基因组测序发现,有 9 个基因簇与产生抑制赤霉病的次级代谢产物有关,其中 5 个非核糖体多肽合成酶基因编码的 3 种脂肽分别是伊枯草菌素、丰源素、表面活性素,一种含铁因子为杆菌素,一种为溶杆菌素。发现了 3 组聚酮酸合成酶基因编码的杀菌成分例如细菌素、难溶蛋白及巨泌乳素,此外还发现了 1 个核糖体生物合成簇编码的抗生素——苯乙肼(PZN)^[32]。上述拮抗物质并非涵盖所有拮抗菌抑制病原菌的物质。

2.3 竞争作用

自然界中不同菌种间的竞争是微生态中常见的现象,不同菌群位于相同的生态位且营养需求相同就会影响彼此的生长动力学曲线。土壤中存在大量的拮抗菌与植物真菌病原菌竞争营养与空间从而抑制土壤中病原菌孢子的萌发。拮抗菌可以在特定的条件下比病原菌更高效地利用营养物质,这种竞争是生物防治的重要机制,如荧光假单胞菌通过竞争微量元素(例如铁)抑制病原菌的生长从而减少病害^[33]。同时还有研究发现,在解淀粉芽孢杆菌 AS43.3 中存在竞争优势的含铁细胞表达的基

因簇。随着高通量测序技术的不断完善和发展,其高效率、低成本等特点有利于我们在更深层次上了解多种拮抗菌的拮抗机制。

2.4 其他作用方式

2018 年,Chen 等通过研究假单胞菌与镰刀菌的互作过程发现,细菌分泌的一种酰胺类化合物(苯那嗪-1-羧基酰胺)可以直接影响真菌蛋白 FgGen5 的活性^[34]。FgGen5 是 SAGA 络合物的组蛋白乙酰转移酶,可以导致镰刀菌中 H2BK11、H3K14、H3K18 和 H3K27 等相关组蛋白去乙酰化,从而抑制真菌生长与霉菌毒素合成。因此,拮抗细菌可以通过操纵真菌组蛋白修饰来抑制植物致病性真菌的生长和毒素的产生。

3 生防效率评价方法

3.1 体外生防效果评价

拮抗菌通过产生拮抗物质对病原菌起抑制作用,或者通过菌体自身的生长竞争抑制病原菌。因此我们须要针对不同的病原菌及不同的作用方式选择适合的测评方法。常用的测评方法为扩散法,在适合的培养基上涂布或者浇注病原指示菌,将蘸有拮抗菌发酵液的滤纸片干燥后放置到平板上,根据抑菌圈的大小判断其生防效果。该方法适用于拮抗细菌生防效果的判断,但是无法判断拮抗菌是否抑制病原菌的生长,是否能够杀死病原菌,更不适用于测定拮抗剂的最小抑菌浓度。牛津杯法与此方法类似,只是将拮抗物质或者拮抗菌的发酵液直接加到培养基的孔洞中,省去载体的使用,减少杂菌的污染。毒素培养基的方式则适用于测定抗真菌药物的活性,在相应的培养基中加入拮抗物质或者特定的毒素,根据其抑菌率测评其抑菌效果。该方法适用于霉菌毒素降解菌生防效果的测评。抗菌梯度试纸(Etest)是目前已经商业化的测评方法,将已经筛选得到的拮抗菌或拮抗物质制备成带梯度的试纸条,按照扩散方法中的方式进行操作,该方法可较为准确地测定最低抑菌浓度,从而更准确地判断生防效果^[35]。

3.2 原位生防效果评价

筛选得到的生防菌或制备得到的生防制剂最终都要应用到植物体上确定其原位生防效果。作用于麦穗的生防制剂,可通过整穗喷洒拮抗剂后接种病原菌,或将拮抗剂与病原菌混合后接种到宿主,通过宿主的发病情况确定其抑菌效果。作用于

作物根际土壤的拮抗剂可处理土壤后播种或处理种子后播种,通过发病率确定其生防效果。此外还应该检测拮抗菌对土壤质量的影响。土壤质量指标包括物理指标(土壤质地)、化学指标(C/N)和生物指标(微生物丰富度)等。通过上述指标可以描述土壤变化,评价质量与功能。指标应有一定的适应性、应用的广泛性与实用性,从而对土壤的环境进行长期的生态监控^[36]。

新一代测序技术的使用将有利于评估拮抗菌群对土壤原位生态环境的影响,这类新型技术的发展能为拮抗菌的实际应用提供可靠的数据支撑,也有可能成为未来监测管理的关键性技术。

4 生防菌应用策略

目前已筛选到众多对禾谷镰刀菌有抗性的真菌和细菌,并在可控条件下进行了体外及植物体原位等试验,均表现出一定的抑菌效果。小麦主要在 3 个时期易受赤霉病感染:萌发期种子易在土壤中受到土壤残留病原菌的侵染;扬花期花药易受空气或雨水中弥散孢子的感染;蜡熟期小穗同样易受空气中孢子的侵染。因此,在小麦的整个生长周期中或许需要多种拮抗菌的共同作用方能达到更好的防治效果,但这是一个漫长而复杂的过程。因此,可以紧密结合小麦的生长周期、病原菌繁殖特点、拮抗菌的来源及作用位点等多因素采取合理的联合防治措施,这可以使生物防治技术的应用具有更好的针对性。

4.1 拮抗菌处理田间残茬减少田间菌源量

赤霉病的主要病原菌禾谷镰刀菌具有在稻茬等作物残茬上越冬的特性,通过来年形成子囊孢壳并在温湿度适宜时弹射子囊孢子的作用方式来侵染小麦麦穗^[37]。因此用拮抗菌处理作物残茬,可以从源头减少病原菌,减轻病害的发生。营腐生的真菌通过营养或者空间竞争来限制禾谷镰刀菌的生长,是可应用于田间处理作物残茬的拮抗菌种。哈茨木霉(*Microspheeropsis* sp.)和粉红黏帚菌(*C. rosea*)等对残茬上的病原菌有较好的抑制效果^[38]。此外链霉菌属的菌株 RC87B 也表现出这一活性^[39]。2007 年 Inch 等探索了拮抗菌的最佳使用时间,研究表明,在接触病原菌前 24 h 内接种拮抗菌效果较好,抑制率可高达 90%,因为拮抗菌优先占据该生态位,才可以更有效地抑制禾谷镰刀菌^[40]。

4.2 拮抗菌处理种子或土壤保护小麦种子

有些微生物处理种子可以促进种子萌发,促进植

株生长并对其起到保护作用。有研究显示,有益微生物可以短时间内(一般不超过 15 d)保护植株^[41]。还有一类拮抗菌可以定殖在植物某一特定组织中,可促进植物生长并且与土传病原菌进行竞争,从而抵抗病原菌^[42-43]。考虑到拮抗菌的定殖特性,从小麦根际土壤中筛选得到的拮抗菌应用在土壤中或处理种子表面更有助于植物抵抗多种病原菌^[44]。

4.3 拮抗菌处理麦穗减少小麦扬花期染病

虽然小麦的整个生命周期中都有可能受到禾谷镰刀菌的侵染,但是扬花期更易受到感染,因此扬花期也成为了拮抗菌应用的关键时期。从小麦穗中分离得到的许多拮抗菌可以在扬花期抑制禾谷镰刀菌在小穗上定殖,减少发病率,并间接减少毒素的积累^[45-46]。拮抗菌应用的时间与频率对拮抗效果有着重要影响。在扬花期小穗感染病原菌之前使用拮抗菌,抑制效果会在一定程度上提高。2015 年 Baffoni 等在田间使用植物乳杆菌 SLG17 和解淀粉芽孢杆菌 FLN13 比较 2 种拮抗菌分别在扬花初期与盛花期使用的作用效果,结果发现,在扬花初期使用拮抗菌使小麦赤霉病发病率降低了 49.6%^[47]。在小麦敏感期直接应用有抑菌效果的脂肽,如丰源素、伊枯草菌素等天然衍生物也可以降低发病率^[48]。

4.4 拮抗菌处理收获后小麦减少霉菌毒素积累

虽然小麦是在田间感染禾谷镰刀菌,但是收获后存储在一定的温度、湿度等条件下,病原菌还可以继续产生相应的毒素。因此在存储过程中应用拮抗菌抑制病原菌的生长,减少霉菌毒素的产生与积累也是很有效的防治措施^[49]。多黏芽孢杆菌 W1-14-3C 和 1-8-b 可以抑制镰刀菌生长并且能够降低 DON 毒素的产生^[50]。乳酸菌既可以抑制病原真菌的生长,又可以减少霉菌毒素的产生^[51]。值得注意的是抑制病原菌的生长并不等于减少相应毒素的产生。

目前已知的减少霉菌毒素的方式有 2 种:一种是吸附作用,可以结合霉菌毒素并沉降,从而减少毒素污染,例如细菌与酵母等^[52],但是吸附之后毒素依然存在,因此只能一定程度上减少霉菌毒素的污染。另一种是生物转化的方式,将有毒的物质通过裂解、脱羧等化学反应转化成无毒或者毒性较低的代谢产物。有些拮抗菌可以与肠道细胞互作通过上述 2 种方式减少受污染饲料中的霉菌毒素^[53]。通常拮抗菌是通过抑制镰刀菌从而间接减少霉菌

毒素的产生与积累,虽然这类拮抗菌尚未应用于生产实践中,但是依然有较好的发展前景。

5 生物防治策略的改进

过去的几十年中大量研究工作集中在筛选能抑制禾谷镰刀菌的拮抗菌上。尽管筛选到的拮抗菌都有抑制病原菌的潜力,但是目前被开发为生物农药并申请专利投入市场使用的仅有少数芽孢杆菌。迄今为止仅有 1 种防治小麦赤霉病的生物农药 Polyversum[®]于 2015 年在法国授权投入市场使用。因此将试验得到的生防菌制备成生防制剂并且投入使用是漫长而复杂的过程。阻碍从生防菌发展到生防制剂的主要因素一方面是大田环境比实验室环境及温室环境要复杂很多;另一方面生防制剂在大田中使用时往往重复性较差、效果不稳定。因此,想要提高生防制剂的应用须要从以下诸多方面进行全面开发、改进以适应不同的生产需求与市场监管要求。

5.1 拮抗菌的筛选

新生防制剂的开发源自新生防菌的发现,因此可以尽量丰富生防菌来源。微生物有着广泛的生存空间,宿主体内及其周围的生存环境都可以作为生防菌的来源。如上面所述,应充分了解病原菌的生命周期,从而针对不同阶段的特点选择合适的生防菌,以达到更好的防治效果。小麦从扬花期到蜡熟期更易感染赤霉病的病原菌。因此,从小麦的花药中分离拮抗菌^[54-55]。此外,作物残茬中的病原菌以菌丝或者孢子的形式在土壤中越冬,故也可从作物根际土壤中分离拮抗菌,应用于抑制土壤中残留的病原菌。在根、茎与叶中也存在抑制禾谷镰刀菌生长的微生物^[56-57]。将分离得到的菌株分别应用到大田、温室中进行原位接种^[57],进行拮抗效果与降霉菌毒素效果测评,发现从各个部位分离得到的拮抗菌对病原菌存在不同程度的抑制作用,但是值得注意的是,不同菌株之间可能存在协同作用,因此多种拮抗菌联合使用可能起到更好的拮抗效果^[59]。

此外,还可以通过作用方式的差异进行拮抗菌的筛选。经分析发现,拮抗菌产生的抗真菌化合物与拮抗菌相关基因的表达密切相关。例如,从解淀粉芽孢杆菌中找到编码杆菌素的基因;表达水解酶可以裂解病原菌;通过表达相应载体与病原竞争环境中的微量元素。另外拮抗菌代谢特殊的碳源氮

源,也可以通过竞争作用抑制病原菌,例如从小麦花药中分离到的胆碱代谢菌株 AS64.4。结合已知的相关基因及 PCR 等技术对源自小麦籽粒、花药甚至是整株小麦中的菌株进行预设功能的筛选,从而得到相应的拮抗菌。

5.2 生防制剂的制备

开发与优化现有拮抗菌的制剂配方是将拮抗菌推向市场应用的又一挑战。为了优化最终产品,须要进一步明确生防制剂批量生产与配方工艺参数,每一步加工过程都会对产品的功效、保质期、使用方法等造成影响^[60]。在大量发酵过程之前应该进行相关发酵条件的优化。生防制剂的基本配方应包括生防菌及其所需的基本营养物质,如碳源氮源等。此外还应具备相应的保护剂,从而保证生防制剂在保存运输等过程中不会丧失其拮抗功效。而后经过冷冻干燥,喷雾干燥或微胶囊等方式制备生防制剂。此外,Köhl 等提出市场规模、生产成本、安全性以及环境风险等方面也应充分考虑^[61]。

6 存在问题与展望

近年来,针对小麦赤霉病生物防治研究已经筛选出多种对镰刀菌有拮抗效果的菌株,也制备出诸多生防制剂并经田间试验证实可在一定程度上减少小麦赤霉病的发生。但是距离生防菌在田间的广泛应用还有差距,可以从以下几方面改进:首先,目前筛选得到的拮抗菌主要通过产生拮抗物质起到防治小麦赤霉病的效果。虽然部分拮抗菌产生的拮抗物质已经明确,但是产量低、效果不稳定等因素制约了其应用。因此应从提高拮抗物质的产量,优化提纯方式入手,推进拮抗物质的应用。其次,生防制剂的安全性须要通过风险评估进行明确,评估过程应包括对小麦产量、品质的测定,对牲畜健康的潜在影响,对生态环境的潜在影响等诸多方面。此外,目前生防制剂的应用尚不规范,应从制剂的生产、使用与监管等方面进行规范。基于上述问题进一步研究将有助于早日实现生防制剂的综合应用,使生物防治真正发挥作用。

参考文献:

- [1] Bai G, Shaner G. Scab of wheat: prospects of control[J]. Plant Dis, 1994, 78: 760 - 766.
- [2] Chen Y, Chen C, Wang J, et al. Genetic study on JS399 - 19 resistance in hyphal fusion of *Fusarium graminearum* by using nitrate nonutilizing mutants as genetic markers[J]. Journal of Genetics and

- Genomics,2007,34(5):469–476.
- [3] 史建荣,仇剑波,董 飞,等. 小麦镰刀菌毒素及其发生风险研究进展[J]. 麦类作物学报,2016,36(2):129–135.
 - [4] Champeil A, Dore T, Fourbet J F. *Fusarium* head blight; epidemiological origin of the effects of cultural practices on head blight attacks and the production of mycotoxins by *Fusarium* in wheat grains[J]. Plant Science,2004,166(6):1389–1415.
 - [5] Dean R, Van Kan J A L, Pretorius Z A, et al. The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology [J]. Molecular Plant Pathology,2012,13(4):414–430.
 - [6] Maiorano A, Blandino M, Reyneri A, et al. Effects of maize residues on the *Fusarium* spp. infection and deoxynivalenol (DON) contamination of wheat grain [J]. Crop Protection,2008,27(2):182–188.
 - [7] Mourellos C, Malbrún I, Balatti P, et al. Gramineous and non – gramineous weed species as alternative hosts of *Fusarium graminearum*, causal agent of *Fusarium* head blight of wheat, in Argentina[J]. Crop Protection,2014,65(4):100–104.
 - [8] Barros G G, Zanon M S A, Chiotta M L, et al. Pathogenicity of phylogenetic species in the *Fusarium graminearum* complex on soybean seedlings in Argentina [J]. European Journal of Plant Pathology,2014,138(2):215–222.
 - [9] Pritsch C, Muehlbauer G, Bushnell W, et al. Fungal development and induction of defense response genes during early infection of wheat spikes by *Fusarium graminearum*[J]. Plant Microbe Interact,2000,13(2):159–169.
 - [10] Wachowska U, Irzykowski W, Jedryczka M A, et al. Biological control of winter wheat pathogens with the use of antagonistic *Sphingomonas bacteria* under greenhouse conditions[J]. Biocontrol Science and Technology,2013,23(10):1110–1122.
 - [11] Lawrence E, Osborne, Jeffrey M. Epidemiology of *Fusarium* head blight on small – grain cereals[J]. International Journal of Food Microbiology,2007,119(1):103–108.
 - [12] Buerstmayr H, Lemmens M, Hartl L. Molecular mapping of QTLs for *Fusarium* head blight resistance in spring wheat. I. Resistance to fungal spread (type II resistance) [J]. Theoretical & Applied Genetics,2002,104(1):84–91.
 - [13] Anand A, Zhou T, Trick H N, et al. Greenhouse and field testing of transgenic wheat plants stably expressing genes for thaumatin – like protein, chitinase and glucanase against *Fusarium graminearum*[J]. Journal of Experimental Botany,2003,54(384):1101–1111.
 - [14] Alabouvette C, Olivain C, Steinberg C. Biological control of plant diseases; the European situation [J]. European Journal of Plant Pathology,2006,114(3):329–341.
 - [15] Palazzina J M, Ramirez M L, Torres A M. Potential biocontrol agents for *Fusarium* head blight and deoxynivalenol production in wheat[J]. Crop Protection,2007,26(11):1702–1710.
 - [16] Schisler D A, Khan N I, Boehm M J, et al. Selection and evaluation of the potential of choline – metabolizing microbial strains to reduce *Fusarium* head blight[J]. Biological Control,2006,39(3):497–506.
 - [17] Wang L Y, Xie Y S, Cui Y Y, et al. Conjunctively screening of biocontrol agents (BCAs) against *Fusarium* root rot and *Fusarium* head blight caused by *Fusarium graminearum*[J]. Microbiological Research,2015,177:34–42.
 - [18] 林宝英. 枯草芽孢杆菌 B25 抗真菌活性物质的部分特性分析及分离纯化[D]. 海口:海南大学,2013.
 - [19] Qaiser J, Jeong – Yong C, Moon, et al. Purification and antifungal characterization of cyclo (d – Pro – l – Val) from *Bacillus amyloliquefaciens* Y1 against *Fusarium graminearum* to control head blight in wheat [J]. Biocatalysis & Agricultural Biotechnology, 2017,10:141–147.
 - [20] Armando M R, Dogi C A, Poloni V, et al. *In vitro* study on the effect of *Saccharomyces cerevisiae* strains on growth and mycotoxin production by *Aspergillus carbonarius* and *Fusarium graminearum* [J]. International Journal of Food Microbiology,2013,161(3):182–188.
 - [21] Schisler D, Khan N. Greenhouse and field evaluation of biological control of *Fusarium* head blight on durum wheat[J]. Plant Disease, 2002,86(12):1350–1356.
 - [22] Lutz M, Feichtinger G, Defago G, et al. Mycotoxigenic *Fusarium* and deoxynivalenol production repress chitinase gene expression in the biocontrol agent *Trichoderma atroviride* PI [J]. Applied & Environmental Microbiology,2003,69(6):3077–3084.
 - [23] Matarese F, Sarrocco S, Gruber S, et al. Biocontrol of *Fusarium* head blight; interactions between *Trichoderma* and mycotoxigenic *Fusarium* [J]. Microbiology,2012,158(1):98–106.
 - [24] Nourozian J, Etebarian H R, Khodakaramian G. Biological control of *Fusarium graminearum* on wheat by antagonistic bacteria [J]. Songklanakarin Journal of Science and Technology,2006,28(1):29–38.
 - [25] Palazzini J, Yerkovich N, Alberione E, et al. Reprint of “An integrated dual strategy to control *Fusarium graminearum* sensu stricto by the biocontrol agent *Streptomyces* sp. RC 87B under field conditions” [J]. Plant Gene,2017,11(A):2–7.
 - [26] Zeng F, Gong X, Mahammad I, et al. A fungal cell wall integrity – associated MAP kinase cascade in *Coniothyrium minitans* is required for conidiation and *Mycoparasitism*[J]. Fungal Genetics & Biology, 2012,49(5):347–357.
 - [27] Ghisalberti E, Sivasithamparam K. Antifungal antibiotics produced by *Trichoderma* spp. [J]. Soil Biology & Biochemistry,1991,23(23):1011–1020.
 - [28] Shi C J, Yan P S, Li J F, et al. Biocontrol of *Fusarium graminearum* growth and deoxynivalenol production in wheat kernels with bacterial antagonists[J]. International Journal of Environmental Research and Public Health,2014,11(1):1094–1105.
 - [29] Lavermicocca P, Valerio F, Evidente A. Purification and characterization of novel antifungal compounds from the sourdough *Lactobacillus plantarum* strain 21B[J]. Applied & Environmental Microbiology,2000,66:4084–4090.
 - [30] Pal K K, Tilak K V, Saxena A K, et al. Suppression of maize root diseases caused by *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium moniliforme* and *Fusarium graminearum* by plant growth promoting rhizobacteria

- [J]. Microbiological Research, 2001, 156(3): 209–223.
- [31] Haas H. Molecular genetics of fungal siderophore biosynthesis and uptake; the role of siderophores in iron uptake and storage [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2003, 62(4): 316–330.
- [32] Dunlap C A, Bowman M J, Schisler D A. Genomic analysis and secondary metabolite production in *Bacillus amyloliquefaciens* AS 43. 3: A biocontrol antagonist of *Fusarium* head blight [J]. Biological Control, 2013, 64(2): 166–175.
- [33] Lemanceau P, Alabouvette C. Suppression of *Fusarium* wilts by fluorescent pseudomonads; mechanisms and applications [J]. Biocontrol Science & Technology, 1993, 3(3): 219–234.
- [34] Chen Y, Wang J, Yang N, et al. Wheat microbiome bacteria can reduce virulence of a plant pathogenic fungus by altering histone acetylation [J]. Nature Communications, 2018, 9(1): 3429.
- [35] Balouiri M, Sadiki M, Koraichi I, Ibnouda S. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: a review [J]. Journal of Pharmaceutical Analysis, 2016, 6(2): 71–79.
- [36] Montesinos E. Development, registration and commercialization of microbial pesticides for plant protection [J]. International Microbiology, 2003, 6(4): 245–252.
- [37] 仇剑波, 董飞, 俞明正, 等. 前茬作物对禾谷镰刀菌种群和毒素合成的影响 [C]// 上海: 中国菌物学会 2015 年学术年会论文集, 2015.
- [38] Bujold I, Paulitz T, Carisse O. Effect of *Microsphaeropsis* sp. on the production of perithecia and ascospores of *Gibberella zeae* [J]. Plant Disease, 2001, 85(9): 977–984.
- [39] Palazzini J M, Groenenboom – De Haas B H, Torres A, et al. Biocontrol and population dynamics of *Fusarium* spp. on wheat stubble in Argentina [J]. Plant Pathology, 2013, 62(4): 859–866.
- [40] Inch S, Gilbert J. Effect of *Trichoderma harzianum* on perithecial production of *Gibberella zeae* on wheat straw [J]. Biocontrol Science & Technology, 2007, 17(6): 635–646.
- [41] Larran S, Simon M R, Moreno M V, et al. Endophytes from wheat as biocontrol agents against tan spot disease [J]. Biological Control, 2016, 92: 17–23.
- [42] Diaz Herrera S, Grossi C, Zawoznik M A. Wheat seeds harbour bacterial endophytes with potential as plant growth promoters and biocontrol agents of *Fusarium graminearum* [J]. Microbiological Research, 2016, 186: 37–43.
- [43] Huang Y L, Kuang Z Y, Wang W F, et al. Exploring potential bacterial and fungal biocontrol agents transmitted from seeds to sprouts of wheat [J]. Biological Control, 2016, 98: 27–33.
- [44] Adesemoye A O, Kloepper J W. Plant – microbes interactions in enhanced fertilizer – use efficiency [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2009, 85(1): 1–12.
- [45] Dunlap C, Schisler D, Neil P, et al. Cyclic lipopeptide profile of three *Bacillus subtilis* strains; antagonists of *Fusarium* head blight [J]. Journal of Microbiology, 2001, 49(4): 603–609.
- [46] Palazzini J M, Alberione E, Torres A, et al. Biological control of *Fusarium graminearum* sensu stricto, causal agent of *Fusarium* head blight of wheat, using formulated antagonists under field conditions in Argentina [J]. Biological Control, 2016, 94: 56–61.
- [47] Baffoni L, Gaggia F, Dalanaj N, et al. Microbial inoculants for the biocontrol of *Fusarium* spp. in durum wheat [J]. BMC Microbiology, 2015, 15(1): 242.
- [48] Ongena M, Jacques P. *Bacillus* lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol [J]. Trends in Microbiology, 2008, 16(3): 115–125.
- [49] Magan N, Aldred D, Mylona K, et al. Limiting mycotoxins in stored wheat [J]. Food Additives & Contaminants (Part A), 2010, 27(5): 644–650.
- [50] He J, Boland G J, Zhou T. Concurrent selection for microbial suppression of *Fusarium graminearum*, *Fusarium* head blight and deoxynivalenol in wheat [J]. Journal of Applied Microbiology, 2009, 106(6): 1805–1817.
- [51] Dalie D, Pinson – Gadais L, Atanasova – Penichon V, et al. Impact of *Pedococcus pentosaceus* strain L006 and its metabolites on fumonisin biosynthesis by *Fusarium verticillioides* [J]. Food Control, 2012, 23(2): 405–411.
- [52] Huwig A, Freimund S, Kappeli O, et al. Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents [J]. Toxicology Letters, 2001, 122(2): 179–188.
- [53] Di G, Mayra C, Diane V, et al. Mineral adsorbents for prevention of mycotoxins in animal feeds [J]. Toxin Reviews, 2014, 33(3): 11.
- [54] Trail F. For blighted waves of grain: *Fusarium graminearum* in the postgenomics era [J]. Plant Physiology, 2009, 149(1): 103–110.
- [55] Zhao Y E, Selvaraj J N, Xing F G, et al. Antagonistic action of *Bacillus subtilis* strain SG6 on *Fusarium graminearum* [J]. PLoS One, 2014, 9(3): 10–11.
- [56] Bello D, Mónico C, Simón M. Biological control of seedling blight of wheat caused by *Fusarium graminearum* with beneficial rhizosphere microorganisms [J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2002, 18(7): 627–636.
- [57] Wang J, Liu J, Chen H, et al. Characterization of *Fusarium graminearum* inhibitory lipopeptide from *Bacillus subtilis* IB [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2007, 76(4): 889–894.
- [58] Campos S B, Lisboa B B, Camargo F A, et al. Soil suppressiveness and its relations with the microbial community in a Brazilian subtropical agroecosystem under different management systems [J]. Soil Biology & Biochemistry, 2016, 96: 191–197.
- [59] Wu Q, Zhang L, Xia H, et al. Omics for understanding synergistic action of validamycin A and *Trichoderma asperellum* GDFS 1009 against maize sheath blight pathogen [J]. Scientific Reports, 2017, 7: 40140.
- [60] Fravel D R. Commercialization and implementation of biocontrol [J]. Annual Review of Phytopathology, 2005, 43(1): 337–359.
- [61] Köhl J, Postma J, Nicot P, et al. Stepwise screening of microorganisms for commercial use in biological control of plant – pathogenic fungi and bacteria [J]. Biological Control, 2011, 57: 1–12.