

夏雨晨,朱永兴,马东方,等.小麦赤霉病菌拮抗菌的分离及鉴定[J].江西农业大学学报,2019,41(1):33-42.



小麦赤霉病菌拮抗菌的分离及鉴定

夏雨晨^{1,2},朱永兴^{1,2},马东方^{1,2,3},刘乐承^{1,2},尹军良^{1,2*}

(1.长江大学 农学院/主要粮食作物产业化湖北省协同创新中心,湖北 荆州 434025;2.长江大学 园林园艺学院,湖北 荆州 434025;3.中国农业科学院 植物保护研究所 植物病虫害生物学国家重点实验室,北京 100193)

摘要:小麦赤霉病是由禾谷镰刀菌(*Fusarium graminearum*)引发的真菌性病害,严重威胁我国小麦的安全生产和粮食安全。生物防治是一种绿色高效且相对安全的防治措施,契合农业可持续发展的要求,近年来逐渐受到重视。研究旨在从小麦内生菌中筛选出小麦赤霉病拮抗菌,为植物生防提供理论依据。试验采用平板对峙法从小麦根、茎、叶、穗中筛选对小麦赤霉菌具有高效拮抗作用的内生菌株。共得到7株小麦赤霉菌拮抗菌,其中从小麦叶部分离到的WY-3表现最强的拮抗能力,抑菌圈直径达到26.3 mm。通过生理生化特征以及16S rDNA序列分析,初步鉴定WY-3为暹罗芽孢杆菌(*Bacillus siamensis*)。WY-3对火龙果炭疽病菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)、棉花立枯病菌(*Rhizoctonia solani*)、白绢病菌(*Sclerotium rolfsii*)、梨黑斑病菌(*Alternaria kikuchiana*)也表现较好的拮抗活性。WY-3可被酪素、淀粉以及明胶所水解液化,表明其可降解。WY-3对氯霉素和氨苄西林钠均表现极强的耐药性。研究结果表明WY-3对小麦赤霉菌拮抗效果好且对环境友好,是开展生物防治的理想菌株。

关键词:小麦赤霉病;芽孢杆菌;拮抗菌;内生菌

中图分类号:S435.121.4*5 **文献标志码:**A **文章编号:**1000-2286(2019)01-0033-10

Isolation and Identification of Antagonistic Strain of *Fusarium graminearum*

XIA Yu-chen^{1,2}, ZHU Yong-xing^{1,2}, MA Dong-fang^{1,2,3},
LIU Le-cheng^{1,2}, YIN Jun-liang^{1,2*}

(1.College of Agronomy/College of Crops Industry,Hubei Collaborative Innovation Center,Yangtze University, Jingzhou, Hubei 434025, China; 2. College of Horticulture and Gardening, Yangtze University, Jingzhou, Hubei 434025, China; 3. State Key Laboratory of Biology of Plant Diseases and Insects/Institute of Protection, Beijing 100193, China)

Abstract: Wheat gibberellic disease, caused by *Fusarium graminearum*, is one of the critical fungal diseases. It seriously threatens the safe production of wheat, and thus imperils food security. As one kind of effective and safe biodegradable prevention and control measures, biological control has the potential of sustainable development and has been paid more and more attention in recent years. The purpose of this study was to determine the antagonism to wheat scab and to provide theoretical basis for biological control. In this experiment, en-

收稿日期:2018-04-22 **修回日期:**2018-05-16

基金项目:国家自然科学基金项目(31701911)和植物病虫害生物学国家重点实验室开放基金(SKLOF201707)

Project supported by The National Natural Science Foundation of China (31701911) and Open Fund for State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests (SKLOF201707)

作者简介:夏雨晨(1994—),女,硕士生,主要从事作物逆境机制研究,xxxyc18627869706@163.com; *通信作者:尹军良,讲师,博士,w.yinzi@163.com。

dophytic strains were isolated from wheat roots, stems, leaves, and spikes and were screened by plate confrontation method to test their antagonistic level to *Fusarium graminearum*. The results showed that 7 strains isolated from wheat were the antagonistic strains, and the strain WY-3 from leaves performed the best antagonistic effect, and the inhibition zone diameter reached 26.3 mm. The physiological and biochemical characteristics of WY-3 were compared and analyzed by 16S rDNA sequence, and the result revealed that it was *Bacillus siamensis*. WY-3 also showed good antagonism to *Colletotrichum gloeosporioides*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, and *Alternaria kikuchiana*, the four common pathogenic bacteria. WY-3 could be hydrolyzed by hydrolysis with casein, starch, and gelatine and showed strong resistance to antibiotics of chloramphenicol and ampicillin sodium. The antagonistic strain WY-3 has good antibacterial activity against *Fusarium graminearum* and is comparatively friendly to environment, thus it is a valuable antagonistic strain for biological control.

Keywords: wheat scab; bacillus; antagonistic bacteria; endophytes

小麦赤霉病(*Fusarium head blight*, FHB)是由禾谷镰刀菌(*F. graminearum*)引起的一种世界性真菌病害^[1]。自 1884 年在英格兰首次报道以来^[2],赤霉病的发生频率不断增加,发生范围也不断扩大,成为威胁小麦安全生产最为严重的病害之一^[3]。赤霉病在我国多发生于长江中下游麦区、华南冬麦区以及东北春麦区,由于缺乏抗病品种,以及其它防治策略防效有限,近年来发病区域呈现逐渐蔓延的趋势^[4]。小麦整个生育期均可受到赤霉菌的侵染,并引发根腐病、幼苗枯萎病、茎腐病以及穗腐疾病等^[5],严重降低小麦产量和粮食品质。更为严重的是镰刀菌侵染过程中通过次生代谢产生脱氧雪腐镰刀菌烯醇(DON)和玉米赤霉烯酮(Zeranolone, Zen)等真菌毒素^[6],不仅抑制植物对氨基酸的吸收和蛋白质的合成,影响小麦产量,而且对人畜有毒,引发癌症畸形等疾病^[7]。目前,该病害的防治高度依赖化学农药,但是如多菌灵等农药的长期使用导致病菌抗药性日益增强,在部分地区已经面临防治失效的风险^[4]。因此,开发新的赤霉病防控策略已成为保障小麦安全生产所亟待解决的关键问题。

植物内生菌分布广泛,种类繁多,在多种水生、陆生植物中均有发现^[8]。目前,全球科研工作者已在至少 80 个属的 290 多种禾本科植物中发现了内生真菌的存在,而且在各种农作物及经济作物中发现的内生细菌已超过 120 种^[9]。内生真菌对植物形成不明显侵染,与植物互惠共生^[10]。大量研究表明,相比于未感染内生菌的植物,感染了内生菌的植物在抗逆性(如抗高温、抗干旱等)、抗病虫害、生长发育等方面具有明显的优势,具备更高的生存竞争力^[11]。对棉花^[12]、烟草^[13]、玉米^[14]、水稻^[15]、马铃薯^[16]、番茄^[17]、辣椒^[18]等作物拮抗内生菌的研究已经充分证明了这一点。例如,夏艳等^[13]研究发现拮抗菌能显著促进烟草株高、鲜质量及干质量等指标,明显降低烟草青枯病的发病率;徐立新等^[14]从甜玉米植株中分离筛选得到菌株 A16,对玉米小斑病菌及多种病原真菌均有明显的拮抗作用;陈志谊等^[15]试验表明拮抗菌 B-916 是一种较优的综合生物防治因子,能在水稻病虫害防治中发挥理想作用;江欢欢等^[18]从辣椒根际土壤中分离筛选到菌株 a45 对辣椒青枯病致病菌(*Ralsonia solanacearum*)具有较强拮抗效果。

小麦中, Khan 等^[19]、Yoshida 等^[20]、余桂容等^[21]分别从不同组织中分离筛选到多个内生菌株,这些内生菌对小麦赤霉菌具有明显的拮抗生物防治作用^[22]。同附生菌和腐生菌相比,内生菌在植物组织内受到良好的保护,生存环境比较稳定,不易受外界环境的影响,因此较易发挥作用^[23]。目前筛选到的赤霉菌拮抗菌株以细菌为主,其中以芽孢杆菌属(*Bacillus*)、假单胞杆菌属(*Pseudomonas*)、土壤放射杆菌(*Agrobacterium radiobacter*)等生防细菌的应用较多^[24]。在微生物生态体系中,芽孢杆菌属是相对有优势的一类生物防治细菌种群,具有显著的生防潜力和环境适应性^[25],可拮抗较多的病原菌且抗逆性强,其对生物病害防治效果十分理想^[26-27]。例如,胡晓丹等^[24]从土壤中分离到的 1 株对小麦赤霉菌具有显著拮抗作用的枯草芽孢杆菌 AF0907,该菌株对小麦赤霉菌及其他多种植物病原菌都具有很好的拮抗效果。Palazzini 等^[28]从小麦花粉中分离了多株能抑制禾谷镰刀菌的生长和减少小麦中 DON 含量的拮抗菌株。He 等^[29]从农田土壤及庄稼残茬中分离的菌株可降低作物中 DON 的产生量,明显降低赤霉病病害程度。上述研究表明,生物防治以其安全高效、对生态环境无污染等特点成为防治小麦赤霉病的较好选择,利

用植株内生菌进行小麦赤霉病菌的生物防治具有可行性^[30]。

本研究以湖北荆州赤霉病发病区扬花期健壮小麦植株为实验材料,对其各组织内生菌进行分离,筛选出1株对小麦赤霉病有拮抗作用的内生菌 WY-3,并对其分类、拮抗谱、降解性、耐药性等多方面进行了研究。本研究可为利用拮抗菌株 WY-3 生物防治小麦赤霉病提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试植物

湖北省荆州市发生小麦赤霉病的农田里进行样品采集,按五点取样法采集健壮小麦数株,放入无菌袋中用于分离内生菌。

1.2 供试植物病原菌

小麦赤霉病菌(*Fusarium graminearum*)、火龙果炭疽病菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)、棉花立枯病菌(*Rhizoctonia solani*)、白绢病菌(*Sclerotium rolfsii*)、梨黑斑病菌(*Alternaria kikuchiana*)均由长江大学农学院植物病原真菌与基因组学研究室提供。

1.3 内生细菌的分离纯化

将小麦的茎和叶剪成5 cm左右的小段,先用自来水冲洗30 min,再用无菌水冲洗3次。然后用浓度为75%的乙醇浸泡5 min,无菌水冲洗1次,放入0.1%升汞中浸泡5 min,无菌水冲洗3次。将经过消毒的材料放入盛有少量石英沙的无菌研钵中,加入10 mL无菌水研碎成汁液,用移液器取100 μ L的汁液涂布于马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)和营养琼脂培养基(NA)上28 $^{\circ}$ C恒温培养。挑取不同形态的菌落分别于PDA及NA培养基上培养。

1.4 小麦赤霉病菌拮抗细菌的筛选

采用对峙培养法,在直径90 mm的马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)平板中央接种直径5 mm的小麦赤霉病菌菌饼,在周围距离中心45 mm处接种纯化后的内生细菌(图1),以无菌水处理作为对照,每个处理重复3次,置于28 $^{\circ}$ C恒温培养3~4 d,待空白对照长满整个培养皿时,测量抑菌圈直径判断拮抗效果。

1.5 拮抗菌 WY-3 菌株的鉴定

1.5.1 拮抗菌 WY-3 的拮抗谱测定 采用平板对峙法对棉花立枯病、白绢病菌、火龙果炭疽病菌、梨黑斑病菌4种植物病原真菌的拮抗特征进行测定。

1.5.2 生理生化特征鉴定 对菌株的碳源利用情况、氮源利用情况、生长曲线、生长最适温度、最适pH、明胶液化、酪素水解、淀粉水解、耐药性等生理生化特征进行测定^[31]。制备含有抗生素的NA培养基平板,对氯霉素(Chl)、链霉素(Str)、四环素

(Tet)、卡那霉素(Kan)、氨苄青霉素(Amp)5种常见抗生素进行耐药性测试,抗生素的终浓度分别为25, 100, 25, 50, 10 μ g/mL。将WY-3接种于含不同抗生素的平板上,于28 $^{\circ}$ C恒温培养箱培养培养2 d。菌落0~8 mm抗生素无作用,9~17 mm弱作用, $\geq$ 17 mm强作用。

1.5.3 拮抗菌 WY-3 的鉴定 采用改良的CTAB法^[29]提取拮抗菌株 WY-3 的基因组DNA,并以此为PCR扩增模板,通过16S rDNA通用引物(正向引物:5'-CAGAGTTTGATCCTGGCT-3';反向引物:5'-AGGAG-GTGATCCAGCCGCA-3')PCR扩增细菌DNA,PCR产物送南京金斯瑞公司测序。测序结果通过NCBI网站(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)进行blast比对,确定细菌的种类。

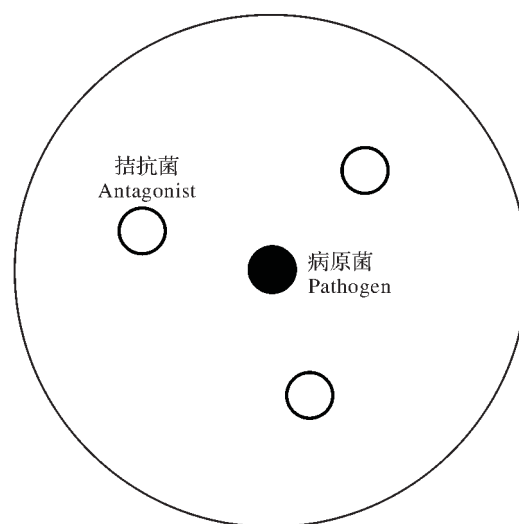


图1 离体拮抗试验示意

Fig.1 The diagram of antagonistic in vitro

2 结果与分析

2.1 抗内生细菌的筛选

根据菌落形态和颜色等差异性,在小麦不同组织内共分离到 56 株细菌菌株。经过平板对峙法测定,从中共筛选出了 7 株对小麦赤霉病菌有拮抗作用的菌株(表 1),占所分离内生细菌总数的 14 %。其中菌株 WY-3 的拮抗效果最好,其抑菌圈的宽度达 26.3 mm(图 2)。

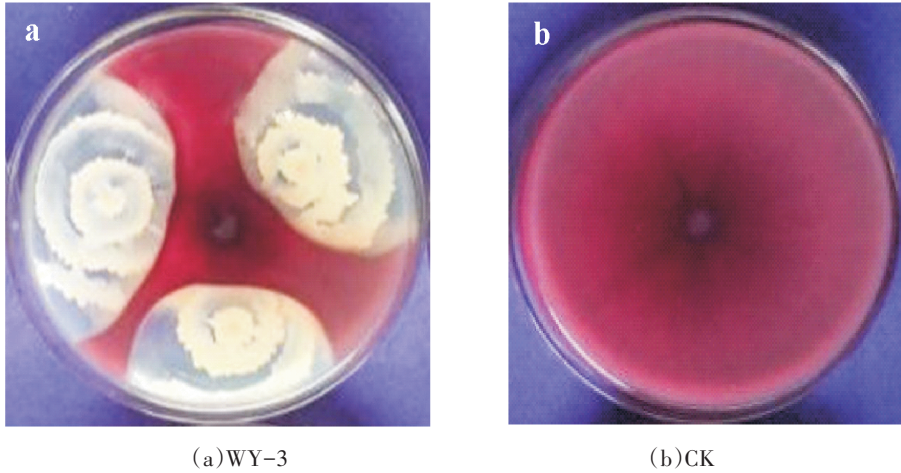
2.2 WY-3 菌株拮抗谱测定

为了测定菌株 WY-3 的拮抗谱,笔者采用对峙培养法测试了该菌株对其它 4 种供试病原菌生长的抑制效果。由表 2 可知,WY-3 菌株对 4 种供试病原菌的生长均有抑制效果,为广谱性拮抗菌,其中对白绢病菌的抑菌圈平均直径为 32.167 mm,抑制效果最好。

表 1 分离到的拮抗菌及其来源

Tab.1 Separation of antagonistic bacteria and their source mm

菌株名称 Antagonistic bacteria	来源 Source	抑菌圈直径 Antibacterial circle diameter
XY-1	叶	24.0±2.4
XY-2	叶	18.9±1.2
WY-3	叶	26.3±1.3
XJ-2	茎	28.4±2.1
XJ-3	茎	30.14±2.1
XS-2	穗	20.8±0.9
XG-7	根	27.3±1.1



(a)WY-3 (b)CK
图 2 拮抗菌株 WY-3 对小麦赤霉病菌的拮抗效果

Fig.2 Antifungal activities of WY-3 against *Fusarium graminearum* on PDA plate

表 2 拮抗菌株 WY-3 对 4 种病原菌的拮抗效果

Tab.2 Antagonistic activities of strain WY-3 against four plant pathogens

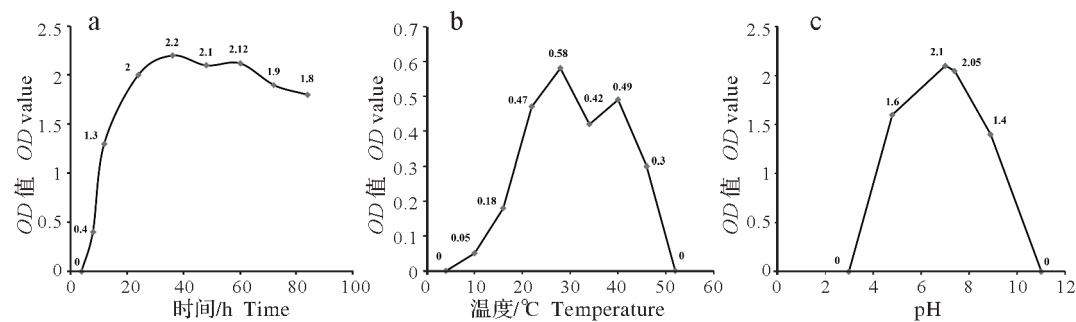
病原菌 Pathogen	抑菌圈直径/mm Antibacterial circle diameter			平均值/mm Average value
火龙果炭疽病菌 <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	25.9	19.8	23.3	23±3.1 ^c
棉花立枯病 <i>Rhizoctonia solani</i>	26.1	23.5	27.0	25.5±1.8 ^{bc}
梨黑斑病菌 <i>Alternaria kikuchiana</i>	31.0	24.9	30.3	28.7±3.3 ^{ab}
白绢病菌 <i>Sclerotium rolfsii</i>	30.9	30.3	35.3	32.2±2.7 ^a

2.3 WY-3拮抗菌株生理生化特征测定

2.3.1 培养条件测试

为了观察 WY-3 的生长情况,接种菌液到 NA 培养液中,于 28 ℃下振荡(160 r/min)培养,在 625 nm 波

长下测其OD值。由图3a可以看出,WY-3菌株在接种到NA培养液后的24 h内为对数期;接种24~60 h内为稳定期;60 h后进入衰退期。为了研究WY-3的最适生长温度,接种菌液于NA培养液中(pH 7.0),在恒温箱培养,在625 nm波长下测其OD值。由图3b可知,WY-3菌株能在10~50℃环境下生长,且生长最适温度为28℃。为了研究WY-3最适生长pH,接种菌液于不同pH值的灭菌NA培养液中,于28℃下振荡(160 r/min)培养,在625 nm波长下测其OD值。由图3c可知,WY-3菌株在pH 4.0~10.0范围内都能生长,其中适宜生长的pH值范围为5.0~9.0,最适pH值为7.0~7.4。



(a)生长曲线图,(b)WY-3最适温度生长曲线图,(c)WY-3最适pH生长曲线图
(a) The growth curve of WY-3, (b) Optimal temperature growth curve of WY-3, (c) Optimal pH growth curve of WY-3

图3 WY-3培养条件测试

Fig.3 Test of WY-3 growth conditions

2.3.2 生化特征实验结果 为了研究WY-3对碳源、氮源的利用情况,笔者用蔗糖、葡萄糖、乳糖、果糖、甘露醇等作为碳源,以蛋白胨、牛肉浸膏、酵母浸膏、硝酸钾等作为氮源,分别加到灭菌的基础培养基中。移菌液于各处理培养基内,于28℃下振荡(160 r/min)培养观察,以不接菌的培养基为对照,如果培养液明显比对照管浑浊者,则为可利用碳源或氮源,否则为不可利用。结果表明,WY-3可将蔗糖、葡萄糖、甘露醇、乳糖作为碳源,可将牛肉膏、硝酸铵、酵母膏、蛋白胨作为氮源(表3)。

为了研究WY-3是否能被水解,笔者将菌种分别接在明胶培养基、酪素水解培养基、淀粉水解培养基上,适温培养,记录菌落是否已被分解液化。结果表明,酪素水解、淀粉水解及明胶液化都可被水解。

表3 WY-3生化特征

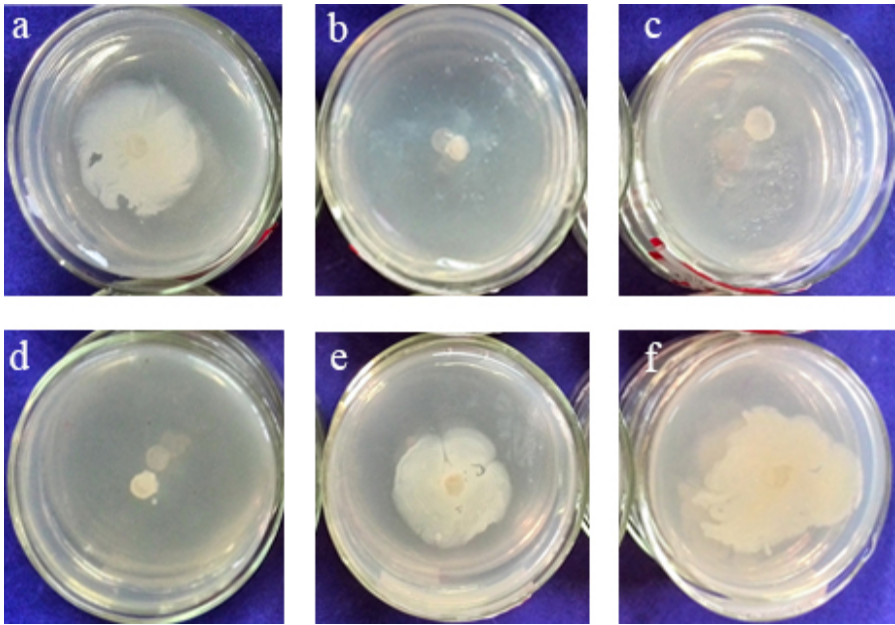
Tab.3 Biochemical characteristics of WY-3

特征 Characteristic	实验结果 Experimental result	特征 Characteristic	实验结果 Experimental result
葡萄糖 Glucose	+	牛肉膏 Beef extract	+
乳糖 Lactose	+	硝酸铵 Ammonium nitrate	+
甘露醇 Mannitol	+	酵母膏 Yeast extract	+
蔗糖 Sucrose	+	蛋白胨 Peptone	+
明胶液化 Gelatin liquefaction	+	酪素水解 Casein hydrolysis	+
淀粉水解 Amylohydrolysis	+		

“+”表示生长或反应阳性
“+”represent for growth of positive reaction

2.4 WY-3拮抗菌株耐药性测定结果与分析

为明确拮抗菌株 WY-3 对常见抗生素的耐药性,笔者制备了含有氯霉素(Ch1)、链霉素(Str)、四环素(Tet)、卡那霉素(Kan)、氨苄青霉素(Amp)的 NA 培养基平板,于 28 ℃ 恒温培养箱培养培养 2 d 后统计菌斑直径。结果发现,WY-3 对 5 种抗生素的抗性不同,由图 4 可以看出,与对照相比,拮抗菌 WY-3 在氯霉素和氨苄西林钠 2 种抗生素培养基中有较大直径,分别达到了 39.6 和 25.9 mm,表明拮抗菌 WY-3 对氯霉素和氨苄西林钠有较强的耐药性,而 WY-3 在链霉素、四环素、卡那霉素 3 种 NA 平板上的生长直径均小于 9 mm,表明 WY-3 对这 3 种抗生素的耐药性较弱(表 4)。



(a)氯霉素,(b)链霉素,(c)四环素,(d)卡那霉素,(e)氨苄西林钠,(f)CK
(a) Chloramphenicol, (b) Streptomycin, (c) Tetracycline, (d) Kanamycin, (e) Ampicillin sodium, (f) CK
图4 拮抗菌 WY-3 在加入不同抗生素的培养基中培养 2 d 后的实验效果

Fig.4 Antagonistic bacteria WY-3 in different antibiotics added to the culture medium after 2 d renderings

表 4 拮抗菌 WY-3 耐药性实验结果
Tab.4 Antagonistic bacteria WY-3 drug resistance experimental results

抗生素 Antibiotics	用药浓度/(mg·mL ⁻¹) Drug concentration	菌落直径/mm Colony diameter			平均菌落直径/mm Average colony diameter	耐药性强弱 Drug resistance
氯霉素 Chloramphenicol	25	36	38.9	44.0	39.6±4.1 ^a	强
链霉素 Streptomycin	100	8.1	8.3	8.2	8.0±0.1 ^c	弱
四环素 Tetracycline	25	8.3	9.0	8.8	9.0±0.4 ^c	弱
卡那霉素 Kanamycin	50	8.3	8.2	8.4	8.0±0.1 ^c	弱
氨苄西林钠 Ampicillin sodium	10	24.8	23.9	28.9	25.9±2.7 ^b	强
对照 CK	—	40.1	41.3	39.9	40.4±0.8 ^a	—

2.5 拮抗菌 WY-3 鉴定结果

测序结果显示,WY-3 菌株的 16S rDNA 序列长度为 1 509 bp。将该序列在 NCBI 数据库中进行 blast 比对(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>),采用 MEGA5.2 对序列进行系统进化树分析并绘制系统进化树(图 5),图 5 表明 WY-3 属于芽胞杆菌属,与暹罗芽胞杆菌(*Bacillus siamensis*)同源率为 98%,结合其生理生化特征可将 WY-3 菌株初步鉴定为暹罗芽胞杆菌。

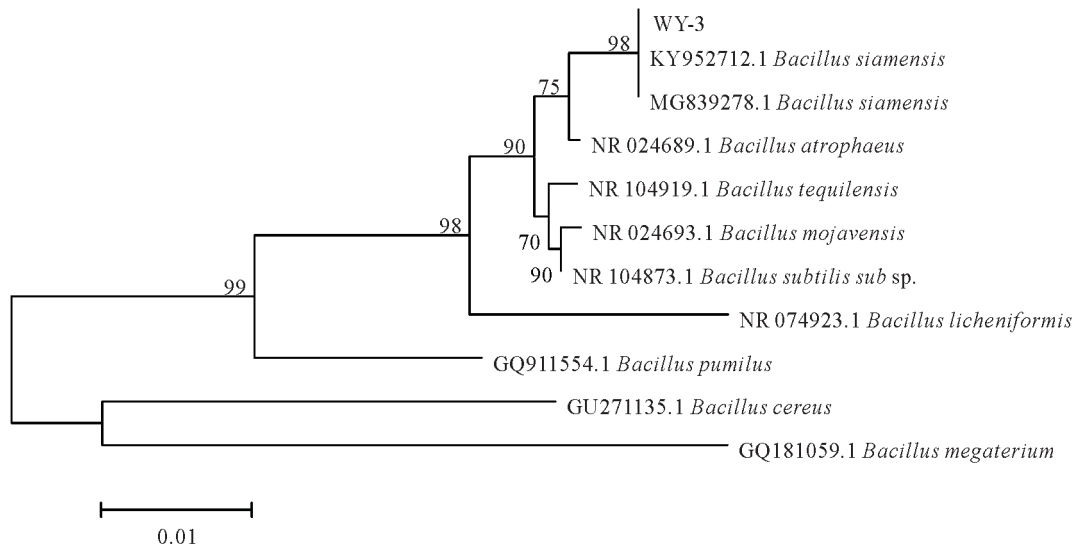


图 5 根据 16S rRNA 序列构建系统发育树

Fig.5 Maximum-likelihood phylogenetic trees based on 16S rRNA gene nucleotide sequences

3 结论与讨论

温暖湿润环境下赤霉病迅速发生和流行,不仅造成严重的经济损失,而且会引发食品安全问题,因此,赤霉病已成为威胁小麦安全生产的重要限制因素之一。而在发病早期对小麦等农作物进行生物防治可以降低赤霉病爆发程度,保护作物的产量和品质。

本研究从小麦赤霉病发生区采集健康小麦植株,并从中分离得到 1 株对小麦赤霉病有良好拮抗效果的菌株 WY-3,通过 16S rDNA 序列分析鉴定为暹罗芽胞杆菌属。笔者对该菌株的生理生化特征进行了研究,结果表明,该菌株不仅对小麦赤霉病有良好的拮抗作用,同时对火龙果炭疽病菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)、棉花立枯病菌(*Rhizoctonia solani*)、白绢病菌(*Sclerotium rolfsii*)、梨黑斑病菌(*Alternaria kikuchiana*) 4 种病原菌都有良好的拮抗效果,说明 WY-3 具有较宽的拮抗谱,可作为生防资源应用在多种病害的防治工作中。同时,WY-3 对抗生素氯霉素和氨苄西林钠具有极强的耐药性,为与抗生素类药物配合使用防治病害奠定了基础,也进一步凸显了该菌在生防中的应用潜力。目前对暹罗芽胞杆菌的研究较少,但其在各种生物中广泛分布,其相对优势性对植物生防有良好的实际应用前景。例如,陈倩倩等^[32]的研究发现暹罗芽胞杆菌 FJAT-28592 发酵液和提取的发酵液粗产物对尖孢镰刀菌有很好的抑菌效果。芽胞杆菌对植物病原真菌的拮抗作用已为许多实验所证实^[33-35],刘伟成等^[36]研究证明芽胞杆菌 B08 的菌悬液及灭菌后的发酵液均具较好的田间防病作用,对小麦赤霉病菌抑制作用明显而稳定持久。

拮抗菌株 WY-3 是在叶部分离得到的,能否在植物其他部位产生拮抗作用以及能否由叶运输到其他器官还有待研究。此外,目前实验均在实验室完成,而植物内生菌的实际生产应用中还存在许多的问题需要解决,例如植物的栽培环境,栽培方式,微生态环境^[37],内生菌的种类和数量,内生菌的生防机制及内生菌形态稳定性等都对内生菌的生物防治效果的发挥有影响。植物内生菌具有一定的宿主专一性,表现在只有对宿主植物以及取食或侵染宿主植物的生物有影响,对宿主植物本身及其它植物几乎没有影响,而且内生菌可以通过人工接种被导入不同的植物并可以通过植物种子进行遗传,因此具有作为

生物农药开发的优良特性^[38]。在未来的生防研究中,这种直接、所需时间短、效果明显的方法有很大的发展潜力。植物内生菌在未来生物防治的研究中有巨大潜力,对内生菌的深入研究可能实现内生菌对植物更多的有益影响^[38]。

参考文献:

- [1] 张丽,畅志坚,李雪,等.小麦赤霉病抗性新种质的筛选与鉴定[J].植物保护学报,2011,38(6):569-570.
Zhang L, Chang Z J, Li X, et al. Screen and identification of wheat new resistant germplasms to *Fusarium* head blight[J]. Journal of Plant Protection, 2011, 38(6): 569-570.
- [2] 喻大昭.麦类赤霉病研究进展[J].植物保护,2009,35(3):1-6.
Yu D Z. Advances in the research of *Fusarium* head blight of wheat and barley[J]. Plant Protection, 2009, 35(3): 1-6.
- [3] Hernandez Nopsa J F, Baenziger P S, Eskridge K M, et al. Differential accumulation of deoxynivalenol in two winter wheat cultivars varying in FHB phenotype response under field conditions[J]. Canadian Journal of Plant Pathology, 2012, 34(3): 380-389.
- [4] 王艳,冯艺,孙俊,等.小麦赤霉病防治研究进展[J].现代农业科技,2013,23(22):109-111.
Wang Y, Feng Y, Sun J, et al. Review of controlling wheat scab[J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2013, 23(22): 109-111.
- [5] 石洁.玉米镰刀菌型茎腐、穗腐、苗期根腐病的相互关系及防治[D].保定:河北农业大学,2002.
Shi J. Correlation and prevention of *Fusarium* stem rot, ear rot, seedling stage root rot[D]. Baoding: Agricultural University of Hebei Province, 2002.
- [6] 封薇.小麦中镰刀菌毒素污染和脱氧雪腐镰刀菌烯醇(DON)积累分析[D].雅安:四川农业大学,2010.
Feng W. Analysis of *Fusarium* mycotoxin contamination and DON accumulation in wheat[D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2010.
- [7] 李海军,孙苏阳,王永军,等.小麦赤霉病的鉴别与防治[J].安徽农业科学,2009,37(35):17499-17500.
Li H J, Sun S Y, Wang Y J, et al. Identification and prevention of wheat scab[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2009, 37(35): 17499-17500.
- [8] 邹文欣,谭仁祥.植物内生菌研究新进展[J].植物学报:英文版,2001,43(9):881-892.
Zhou W X, Tan R X. Recent advances on endophyte research[J]. Acta Botanica Sinica: English edition, 2001, 43(9): 881-892.
- [9] 石晶盈,陈维信,刘爱媛.植物内生菌及其防治植物病害的研究进展[J].生态学报,2006,26(7):2395-2401.
Shi J Y, Chen W X, Liu A Y. Advances in the study of endophytes and their effects on control of plant diseases[J]. Acta Ecologica Sinica, 2006, 26(7): 2395-2401.
- [10] 任安芝,高玉葆.植物内生真菌:一类应用前景广阔的资源微生物[J].微生物学通报,2001,28(6):90-93.
Ren A Z, Gao Y B. Plant endophytic fungi: a kind of resource microorganism with broad prospect[J]. Journal of Microbiology, 2001, 28(6): 90-93.
- [11] 宋薇薇,朱辉,余凤玉,等.植物内生菌及其对植物病害的防治作用[C]//中国植物病理学会2015年学术年会论文集,2015.
Song W W, Zhu H, Yu F Y, et al. The effect of endophytic bacteria and its control on plant diseases[C]// Proceedings of the academic annual conference of Chinese Society for Plant Pathology. 2015.
- [12] Misaghi I J, Donndeinger C R. Endophytic bacteria in symptom-free cotton plants[J]. Phytopathology, 1990, 80(9): 79-82.
- [13] 夏艳,徐茜,董瑜,等.烟草青枯病菌拮抗菌的筛选、鉴定及生防特性研究[J].中国生态农业学报,2014,22(2): 201-207.
Xia Y, Xu Q, Dong Y, et al. Screening, identification and characterization of antagonistic bacteria against *Ralstoniasolanacearum*[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2014, 22(2): 201-207.
- [14] 徐立新,董章勇,纪春艳,等.玉米内生拮抗菌枯草芽孢杆菌A16对小斑病菌拮抗作用的研究[J].广东农业科学,

- 2010,37(9):20-22.
- Xu L X, Dong Z Y, Ji C Y, et al. Study on antagonistic entophytic bacteria *Bacillus subtilis* A16 in sweet corn against *Bipolarismaydis* [J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2010, 37(9): 20-22.
- [15] 陈志谊, 许志刚, 高泰东, 等. 水稻纹枯病拮抗细菌的评价与利用[J]. 中国水稻科学, 2000, 14(2): 98-102.
- Chen Z Y, Xu Z G, Gao T D, et al. Evaluation and utilization of antagonistic bacteria against rice sheath blight [J]. Chinese Journal of Rice Science, 2000, 14(2): 98-102.
- [16] 崔林, 孙振, 袁军, 等. 马铃薯内生细菌的分离及环腐病拮抗菌的筛选鉴定[J]. 植物病理学报, 2003, 33(4): 353-358.
- Cui L, Sun Z, Yuan J, et al. Isolation of endophytic bacteria from potato and selection of antagonistic bacteria to potato ring rot disease [J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2003, 33(4): 353-358.
- [17] 刘卹洲, 陈志谊, 梁雪杰, 等. 番茄枯萎病和青枯病拮抗细菌的筛选、评价与鉴定[J]. 中国生物防治学报, 2012, 28(1): 101-108.
- Liu Y Z, Chen Z Y, Liang X J, et al. Screening, evaluation and identification of antagonistic bacteria against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and *Ralstonia solanacearum* [J]. Chinese Journal of Biological Control, 2012, 28(1): 101-108.
- [18] 江欢欢, 程凯, 杨兴明, 等. 辣椒青枯病拮抗菌的筛选及其生物防治效应[J]. 土壤学报, 2010, 47(6): 1225-1231.
- Jiang H H, Cheng K, Yang X M, et al. Selection of antagonistic bacteria and biological control effect of chilies [J]. Acta Pedologica Sinica, 2010, 47(6): 1225-1231.
- [19] Khan N I, Schisler D A, Boehm M J, et al. Selection and evaluation of microorganisms for biocontrol of *Fusarium* head blight of wheat incited by *Gibberella zeae* [J]. Plant Disease, 2001, 85(12): 1253-1258.
- [20] Yoshida S, Ohba A, Liang Y M, et al. Specificity of *Pseudomonas* isolates on healthy and *Fusarium* head blight-infected spikelets of wheat heads [J]. Microbial Ecology, 2012, 64(1): 214-225.
- [21] 余桂容, 叶华智, 张敏, 等. 小麦赤霉病的生物防治研究 II. 拮抗芽孢杆菌在麦穗上的消长动态及生物学特性[J]. 四川农业大学学报, 2002, 20(4): 324-327.
- Yu G R, Ye H Z, Zhang M, et al. Studies on biological control of wheat head blight with *Bacillus Subtilis* II. The dynamics of population on wheat ears and biological characters of *Bacillus* antagonists [J]. Journal of Sichuan Agricultural University, 2002, 20(4): 324-327.
- [22] 赵凯铭, 华荣, 周轩正. 小麦赤霉病抗源鉴定研究进展[J]. 安徽农业科学, 2013, 41(14): 6259-6261.
- Zhao K M, Hua R, Zhou X Z. Research progress on identification of germplasm for resistance to *Fusarium* head blight in wheat [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2013, 41(14): 6259-6261.
- [23] 杨海莲, 孙晓璐, 宋未. 植物内生细菌的研究[J]. 微生物学通报, 1998, 25(4): 224-227.
- Yang H L, Sun X L, Song M. The research of endogenous bacteria in plants [J]. Microbiology China, 1998, 25(4): 224-227.
- [24] 胡晓丹, 王建伟, 李孝敬, 等. 赤霉病菌拮抗菌 *Bacillus subtilis* AF0907 抗菌物质研究[J]. 中国生物防治学报, 2015, 31(3): 378-385.
- Hu X D, Wang J W, Li X J, et al. Study of antagonistic substance from *Bacillus subtilis* AF0907 against *Fusarium graminearum* [J]. Chinese Journal of Biological Control, 2015, 31(3): 378-385.
- [25] Huang X, Yong X, Zhang R, et al. The supernatant of *Bacillus pumilus* SQR-N43 has antifungal activity towards *Rhizoctonia solani* [J]. Journal of Basic Microbiology, 2013, 53(8): 657-663.
- [26] Park J Y, Oh S A, Anderson A J, et al. Production of the antifungal compounds phenazine and pyrrolnitrin from *Pseudomonas chlororaphis* O6 is differentially regulated by glucose [J]. Letters in Applied Microbiology, 2011, 52(5): 532-537.
- [27] Ghasemi S, Ahmadian G, Sadeghi M, et al. First report of a bifunctional chitinase/lysozyme produced by *Bacillus pumilus* SG2 [J]. Enzyme & Microbial Technology, 2011, 48(3): 225-231.
- [28] Palazzini J M, Ramirez M L, Torres A M, et al. Potential biocontrol agents for *Fusarium* head blight and deoxynivalenol production in wheat [J]. Crop Protection, 2007, 26(11): 1702-1710.
- [29] 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.

- [30] 周苗苗,刘振林,唐丽霖,等.小麦赤霉病菌拮抗内生菌的抑菌活性及鉴定[J].核农学报,2016,30(3):460-467.
Zhou M M, Liu Z L, Tang L L, et al. Antifungal activity and identification of antagonistic endophytic on *Fusarium graminearum*[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2016, 30(3): 460-467.
- [31] 李峰,徐大勇,王光利,等.一株拮抗赤霉病的小麦内生细菌的筛选和抑菌活性[J].生态学杂志,2011,30(8):1738-1743.
Li F, Xu D Y, Wang G L, et al. Screening and fungistatic activity of an endophytic bacterial strain from wheat against *Fusarium graminearum*[J]. Chinese Journal of Ecology, 2011, 30(8): 1738-1743.
- [32] 陈倩倩,刘波,王阶平,等.芽孢杆菌 FJAT-28592 抗真菌脂肽的研究[J].农业生物技术学报,2016,24(2):261-269.
Chen Q Q, Liu B, Wang J P, et al. Anti-fungal lipopeptides produced by *Bacillus siamensis* FJAT-28592[J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2016, 24(2): 261-269.
- [33] Pusey P L. Postharvest biological control of stone fruit brown rot by bacillus subtilis [J]. Plant Disease, 1984, 68 (9) : 753-756.
- [34] Paulitz T C, Bélanger R R. Biological control in green-house systems [J]. Annual Review of Phytopathology, 2003, 39 (1) : 103-133..
- [35] 顾真荣,马承铸,韩长安.产几丁质酶芽孢杆菌对病原真菌的抑菌作用[J].上海农业学报,2001,17(4):88-92.
Gu Z R, Ma C Z, Han C A. Inhibitory action of chitinase producing *Bacillus* spp. to pathogenic fungi [J]. Shanghai Academy of Agricultural Sciences, 2001, 17(4): 88-92.
- [36] 刘伟成,潘洪玉,席景会,等.小麦赤霉病拮抗性芽孢杆菌生防作用的研究[J].麦类作物学报,2005,25(4):95-100.
Liu W C, Pan H Y, Xi J H, et al. Biocontrol effects of some antifungal strains from *Bucillus* against pathogens of wheat head blight [J]. Journal of Triticeae Crops, 2005, 25(4): 95-100.
- [37] 胡桂萍,郑雪芳,尤民生,等.植物内生菌的研究进展[J].福建农业学报,2010,25(2):226-234.
Hu G P, Zheng X F, You M S, et al. Recent advances in research on endophytes [J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2010, 25(2): 226-234.
- [38] 文才艺,吴元华,田秀玲.植物内生菌研究进展及其存在的问题[J].生态学杂志,2004,23(2):86-91.
Wen C Y, Wu Y H, Tian X L. Recent advances and issues on the endophyte [J]. Chinese Journal of Ecology, 2004, 23(2): 86-91.