

# 解淀粉芽孢杆菌菌株HRH317对感染串珠镰孢菌玉米幼苗伏马毒素B<sub>1</sub>含量及相关防御酶活性的影响

赵 欣<sup>1,2</sup> 郝 林<sup>1\*</sup>

(1. 山西农业大学农学院, 太谷 030801; 2. 山西省生物研究院有限公司, 太原 030006)

**摘要:** 为探讨解淀粉芽孢杆菌 *Bacillus amyloliquefaciens* 菌株 HRH317 对感染串珠镰孢菌 *Fusarium moniliforme* 玉米幼苗产生伏马毒素 B<sub>1</sub> (FB<sub>1</sub>) 的影响, 采用牛津杯法测定菌株 HRH317 对串珠镰孢菌的抑制活性, 并通过浸种处理进行盆栽试验, 应用高效液相色谱技术对生长至 3 叶期后不同时间玉米幼苗叶片中 FB<sub>1</sub> 含量进行测定, 同时于室内测定玉米幼苗叶片防御酶超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 和过氧化物酶 (POD) 的活性。结果表明: 解淀粉芽孢杆菌菌株 HRH317 能明显抑制串珠镰孢菌生长, 抑菌圈直径平均可达 33.31 mm; 玉米幼苗生长至 3 叶期后 1~6 d, 菌株 HRH317 能有效抑制玉米植株体内 FB<sub>1</sub> 含量, 经串珠镰孢菌分生孢子悬浮液与菌株 HRH317 菌悬液 1:1 混合液处理玉米种子后, 对幼苗中 FB<sub>1</sub> 的抑制率为 59.20%~75.70%; 而玉米种子先接种菌株 HRH317 菌悬液后接种串珠镰孢菌分生孢子悬浮液处理对幼苗中 FB<sub>1</sub> 的抑制率为 76.77%~88.10%。且这 2 种处理中幼苗叶片的 SOD、CAT、PAL 和 POD 活性均较对照有不同程度提高, 其峰值是对照的 1.24~5.45 倍。表明解淀粉芽孢杆菌菌株 HRH317 可通过抑制 FB<sub>1</sub> 产生来降低串珠镰孢菌对玉米幼苗的侵害, 同时能诱导玉米植株体内防御酶活性的表达而增强其系统抗性, 在防治玉米穗腐病方面具有潜在的应用价值。

**关键词:** 解淀粉芽孢杆菌菌株 HRH317; 串珠镰孢菌; 伏马毒素 B<sub>1</sub>; 防御酶; 玉米穗腐病

## The impact of *Bacillus amyloliquefaciens* strain HRH317 on fumonisin B<sub>1</sub> content in maize seedlings infected with *Fusarium moniliforme* and defense-related enzymatic activities

ZHAO Xin<sup>1,2</sup> HAO Lin<sup>1\*</sup>

(1. College of Agriculture, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, Shanxi Province, China;

2. Biology Institute of Shanxi Company Limited, Taiyuan 030006, Shanxi Province, China)

**Abstract:** In order to analyze the impact of *Bacillus amyloliquefaciens* strain HRH317 on fumonisin B<sub>1</sub> (FB<sub>1</sub>) produced in maize seedlings infected by *Fusarium moniliforme*, the inhibitory activity of strain HRH317 was detected by using the Oxford plate assay system. The pot experiments were conducted through maize seed inoculation, and high-performance liquid chromatography (HPLC) was used to determine the content of FB<sub>1</sub> during different growth periods after trefoil stage of maize seedlings. The activities of defense enzymes including superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), phenylalanine ammonia-lyase (PAL), peroxidase (POD) were measured during different growth periods after trefoil stage. The results showed that *B. amyloliquefaciens* strain HRH317 could obviously inhibit the growth of *F. moniliforme* and resulted in inhibition zones on PDA medium, with a diameter of 33.31 mm; and the

基金项目: 国家科技支撑计划(2012BAD38B07), 山西省高等学校131领军人才工程

\* 通信作者 (Author for correspondence), E-mail: haolinsxnd@126.com

收稿日期: 2019-07-04

strain HRH317 showed great promise for inhibiting the production of FB<sub>1</sub> within one to six days after trefoil stage. The inhibition ratio of FB<sub>1</sub> in maize seedlings reached 59.20%–75.70% by seed co-inoculations with strain HRH317 and *F. moniliforme* (1:1 mixed suspension); the inhibition ratio of FB<sub>1</sub> in maize seedlings reached 76.77%–88.10% by seed treatment with strain HRH317's cell suspensions first and then being submerged in *F. moniliforme*'s conidial suspension. The enzyme activities of SOD, CAT, PAL and POD in the leaves of maize seedlings under the above two different treatments were increased to different degrees as compared to the control, with a peak value of 1.24–5.45 folds of the control. These results indicated that *B. amyloliquefaciens* strain HRH317 could weaken the infection of *F. moniliforme* in maize seedlings through inhibiting FB<sub>1</sub> production; meanwhile, the strain HRH317 could induce the expression of defense enzymes in maize plants and enhance the systemic resistance of maize plants, and thus has the potential for preventing ear rot of maize.

**Key words:** *Bacillus amyloliquefaciens* strain HRH317; *Fusarium moniliforme*; fumonisin B<sub>1</sub>; defense enzyme; maize ear rot

玉米是我国重要的农业经济作物,穗腐病不仅是世界性玉米病害,也是我国最主要的玉米病害,会导致玉米减产、品质下降,甚至引发食品安全问题,进而影响玉米整体产业的发展(da Costa et al., 2010; Ely et al., 2016; de Jong et al., 2018)。玉米穗腐病主要是由镰孢菌引起,对我国多个玉米种植主产区的调查发现,串珠镰孢菌 *Fusarium moniliforme* 是玉米穗腐病中检出频率最大、分离率最高的优势致病菌(谢敏,2011),其产生的伏马毒素不仅对玉米植株本身造成严重伤害,长期积累还会通过食物链的传递危害人畜健康,据估计全球超过一半的玉米及其玉米制品都不同程度受到伏马毒素的污染(Pagliuca et al., 2005; Mogensen et al., 2011)。在已发现的伏马毒素种类中,伏马毒素B<sub>1</sub>(fumonisin B<sub>1</sub>,FB<sub>1</sub>)占比最大,可达70%,且毒性最强,危害也最严重(Wang et al., 2008)。FB<sub>1</sub>能在较低范围内对植物的正常生理活动造成干扰,还会造成寄主细胞质膜系统结构发生改变,膜结构和功能受损,对植株造成伤害(王绍新等,2006)。FB<sub>1</sub>污染的玉米被人畜以食物或饲料摄入,会引发小鼠患马脑白质软化症、猪肺水肿、动脉粥样硬化及神经管缺陷症等,而且作为潜在的促癌剂,甚至能引发癌症(Gbore, 2010)。

目前玉米穗腐病的防治主要为化学防治,但由于农药残留、病原菌耐药性等问题,对生态环境会造成破坏,因而防治措施逐步转向环境友好、安全的生物防治,利用生防菌进行生物防治能从源头控制病害的发生,对保障农产品质量安全有重要意义。解淀粉芽胞杆菌 *Bacillus amyloliquefaciens* 作为芽孢杆菌属的一种生防菌被广泛应用于病害防治。如李冰(2015)研究发现解淀粉芽胞杆菌菌株SQR9菌体

本身及其发酵液对土传病原菌大丽轮枝菌 *Verticillium dahliae*、核盘菌 *Sclerotinia sclerotiorum*、尖孢镰刀菌 *Fusarium oxysporum*、立枯丝核菌 *Rhizoctonia solani*、山药腐皮镰刀菌 *Fusarium solani* 以及烟草疫霉 *Phytophthora nicotianae* 的生长发育均有较强的抑制作用;曹晶晶等(2016)研究结果表明解淀粉芽胞杆菌对小麦黄花叶病有很好的生防效果,对病情抑制率可达84.55%;Gotor-Vila et al.(2017)报道解淀粉芽胞杆菌菌株CPA-8对引起甜樱桃病害的核果链核盘菌 *Monilinia laxa*、桃褐腐病菌 *Monilinia fructicola* 和灰霉病菌 *Botrytis cinerea* 有很好的抑制作用;侯宝宏(2016)利用解淀粉芽胞杆菌菌株TS-1203制备生防菌剂,其对苹果树腐烂病的防效可达78.56%。目前,关于串珠镰孢菌引致病害的生物防治研究报道还较少。刘春静等(2011)从土壤中分离筛选到6株放线菌对串珠镰孢菌有抑制作用;胡梁斌等(2010)从被油菜菌核病菌 *Sclerotinia sclerotiorum* 侵染的油菜茎秆内分离到枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis* 菌株B-FS01,其对串珠镰孢菌有很强的抑制作用。

目前,有关解淀粉芽胞杆菌防治玉米穗腐病并其对串珠镰孢菌产FB<sub>1</sub>的影响研究尚未见报道。本课题组从山西农业大学玉米农田土壤中分离获得了1株解淀粉芽胞杆菌菌株HRH317,经前期预试验发现该菌株对串珠镰孢菌有较好的抑制作用,在此基础上本研究拟探讨该菌株对玉米苗期串珠镰孢菌所产FB<sub>1</sub>的抑制作用,以及对玉米幼苗相关防御酶活性的影响,以期明确菌株HRH317作为生防菌控制玉米穗腐病的作用,为有效将其作为生放菌应用于玉米病害防治提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试植物及菌种:玉米品种先玉1662,种子由山西省农业科学院旱地农业研究中心提供。解淀粉芽孢杆菌菌株HRH317保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心(编号CGMCC No. 7314),串珠镰孢菌保藏于甘肃省科学院生物研究所(编号60603),均由山西农业大学生物工程实验室提供。

供试土壤:采集山西农业大学玉米试验田中健康玉米植株的根际土壤,取离土表10~15 cm的根际土,于180℃下灭菌4 h,晾干后分装于直径15 cm×高12 cm的花盆中,备用。

培养基:细菌液体培养基:牛肉膏0.5 g、蛋白胨1.0 g、氯化钠0.5 g、蒸馏水100 mL, pH 7.0;基础发酵液培养基:葡萄糖2.0 g、蛋白胨0.5 g、酵母浸膏1.0 g、氯化钠0.5 g、硫酸镁1.0 g、蒸馏水100 mL, pH 7.0;马铃薯葡萄糖琼脂(potato dextrose agar, PDA)培养基:马铃薯200 g、葡萄糖20 g、琼脂20 g、蒸馏水1 L;PDA培养基中不加琼脂为PD液体培养基。

试剂:50 μg/mL FB<sub>1</sub>标准溶液,以色列Fermentek生物科技公司;甲醇(色谱纯),天津市康科德科技有限公司;SAX固相萃取小柱,天津博纳艾杰尔科技有限公司;其余试剂均为国产分析纯。

仪器:GSP-9270MBE型隔水式恒温培养箱,上海博迅实业有限公司医疗设备厂;5427型真空冷冻离心机,德国Eppendorf公司;UV-1601紫外可见分光光度计,北京瑞利分析仪器公司;Agilent 1100高效液相色谱仪(配有荧光检测器),美国安捷伦科技有限公司;26080型固相萃取仪,北京豫维泰克科技有限公司;NAI-DCY-12GD型氮气吹干仪,上海那艾精密仪器有限公司;JT-C型均质器,河南漯河市金田试验设备研究所。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 菌株HRH317对串珠镰孢菌的抑制作用测定

用接种环挑取少量菌株HRH317菌体,接种于装有45 mL基础发酵液培养基的三角瓶中,37℃、166 r/min条件下摇培25 h后,用无菌水制成浓度为1.0×10<sup>6</sup> CFU/mL的菌悬液。在串珠镰孢菌保存斜面中加入9 mL无菌生理盐水,用无菌玻璃棒刮取斜面上的分生孢子并搅混,用移液枪反复冲洗后吸取1 mL分生孢子悬浮液于9 mL无菌生理盐水中,再用血球计数器统计分生孢子悬浮液浓度,并用无菌生理盐水将其浓度调至1.0×10<sup>6</sup>个/mL,备用。

无菌操作条件下,在灭菌干燥的培养皿中倾倒

15~20 mL PDA培养基,凝固后用移液枪吸取0.2 mL串珠镰孢菌分生孢子悬浮液,用无菌涂布器均匀涂布后在培养皿中放置1个牛津杯,其中加入0.2 mL解淀粉芽孢杆菌菌株HRH317菌悬液;另取串珠镰孢菌分生孢子悬浮液涂布后的PDA平板,其上放置2个牛津杯,分别加入0.2 mL无菌生理盐水和0.2 mL细菌液体培养基作为空白对照;盖好培养皿盖,将培养皿平稳放置于4℃冰箱中24 h后,于28℃恒温培养箱暗室内培养3~5 d,观察菌体生长情况,取出培养皿测量抑菌圈直径并记录,以抑菌圈直径为指标表征菌株HRH317抑制活性的大小(刘冬梅等,2006)。每组试验3次重复。

#### 1.2.2 菌株HRH317对玉米幼苗FB<sub>1</sub>含量的影响测定

用1% NaClO对先玉1662玉米种子消毒10 min,再用75%酒精对其表面消毒30~60 s,最后用无菌水反复冲洗数次,晾干备用。本试验设5个处理:(1)空白对照:玉米种子完全浸泡于0.85%的30 mL无菌生理盐水中20 min;(2)接种生防菌处理:玉米种子完全浸泡于1.0×10<sup>6</sup> CFU/mL的30 mL菌株HRH317菌悬液中20 min;(3)接种病原菌处理:玉米种子完全浸泡于1.0×10<sup>6</sup>个/mL的30 mL串珠镰孢菌分生孢子悬浮液中20 min;(4)病原菌与生防菌以体积比1:1混合处理:玉米种子完全浸泡于1.0×10<sup>6</sup>个/mL的30 mL串珠镰孢菌分生孢子悬浮液和1.0×10<sup>6</sup> CFU/mL的30 mL菌株HRH317菌悬液的体积比1:1混合液中20 min;(5)先接种生防菌后接种病原菌处理:将玉米种子先完全浸泡于1.0×10<sup>6</sup> CFU/mL的30 mL菌株HRH317菌悬液中20 min,再浸泡于1.0×10<sup>6</sup>个/mL的30 mL串珠镰孢菌分生孢子悬浮液20 min。以上5个浸种处理均于28℃、相对湿度60%的培养箱暗室中进行,取出后于装有灭菌土壤的花盆内播种,每盆播种6粒,每处理3次重复,每重复30盆。待玉米幼苗生长至3叶期时,分别取生长1、2、3、4、5、6 d的幼苗茎以上整株叶片备用。

选取同一时间同种处理不同盆中的玉米幼苗叶片混合,剪碎混匀,称取约10 g于研钵中研磨成匀浆并转移至均质杯中,加入75%甲醇溶液50 mL,均质器均质3 min,静置10 min后将提取液的上清液过滤,收集滤液,用1 mol/L NaOH调节滤液pH为5.8~6.5,备用。在固相萃取仪上安装SAX固相萃取小柱,先用5 mL甲醇淋洗,再用75%甲醇溶液5 mL淋洗,取提取液2 mL,以低于2 mL/min的流速缓慢流过SAX固相萃取小柱,用75%甲醇溶液5 mL淋洗,再用甲醇3 mL淋洗小柱,再用体积比1:99的乙酸-甲醇溶液10 mL,以小于1 mL/min的速度缓慢流过

小柱,洗脱FB<sub>1</sub>,将洗脱液收集于具塞试管中,用氮吹仪于60℃条件下吹干,再用1 mL甲醇冲洗试管溶解残留物,继续吹干,最后加50%甲醇溶液200 μL溶解,待衍生化后备用。为确定FB<sub>1</sub>测定的色谱条件,分别取进入3叶期后生长2 d的玉米幼苗叶片样品衍生化后的溶液20 μL和FB<sub>1</sub>标准溶液20 μL,采用高效液相色谱仪(high performance liquid chromatography,HPLC)参照侯红漫等(2006)方法进行测定,并略有改动。根据标准溶液的出峰时间来确定FB<sub>1</sub>的分流情况,由标准溶液色谱图中的峰面积计算样品中FB<sub>1</sub>含量。最终确定优化后的色谱检测条件:色谱柱为Eclipse plus C18柱,内径4.6 mm×柱长150 mm,填料颗粒直径5 μm;流动相为0.1 mol/L体积比77:23的甲醇-磷酸二氢钠溶液,磷酸调节pH为3.3,用0.22 μm滤膜过滤;流速为0.8 mL/min;荧光检测器波长:发射波长为335 nm,激发波长为440 nm;柱温为室温;进样量为20 μL。

取玉米幼苗叶片样品处理液和FB<sub>1</sub>标准溶液各50 μL,分别加入150 μL衍生剂混匀,在2 min内过0.22 μm滤膜,基于上述色谱条件采用HPLC测定样品中FB<sub>1</sub>含量。同时,为明确菌株HRH317对玉米幼苗产生FB<sub>1</sub>的抑制效果,通过计算FB<sub>1</sub>抑制率对病原菌与生防菌1:1混合处理和先接种生防菌后接种病原菌处理的抑制效果进行比对,FB<sub>1</sub>抑制率=(接种病原菌样品FB<sub>1</sub>含量-病原菌与生防菌1:1混合处理样品(或先接种生防菌后接种病原菌处理样品)FB<sub>1</sub>含量)/接种病原菌样品FB<sub>1</sub>含量×100%。

### 1.2.3 菌株HRH317对玉米防御酶活性的影响测定

超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)活性测定:分别取1.2.2中各处理玉米幼苗叶片0.5 g于预冷研钵中,加入含有1%聚乙烯吡咯烷酮的pH 7.8的0.05 mol/L磷酸缓冲液,在冰浴下研磨成匀浆,用磷酸缓冲液定容至10 mL,4℃、10 000 r/min条件下离心15 min,收集上清液,即为SOD粗酶液。采用氮蓝四唑光还原法,在紫外分光光度计上测定波长560 nm处的吸收值,以抑制氮蓝四唑光化学反应50%所需的酶量为1个酶活单位(高俊凤,2006)。

过氧化氢酶(catalase,CAT)活性测定:分别取1.2.2中各处理玉米幼苗叶片1.0 g于预冷研钵中,加适量pH 7.0的0.05 mol/L磷酸缓冲液及少量石英砂,在冰浴下研磨成匀浆,用磷酸缓冲液定容至10 mL,4℃、12 000 r/min条件下离心15 min,收集上清液,即为CAT粗酶液。在紫外分光光度计上测定波长240 nm处的吸收值,以1 min内吸光值降低0.1为1个酶活单位(高俊凤,2006)。

苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonialyase,PAL)活性测定:分别取1.2.2中各处理玉米幼苗叶片1.0 g于预冷研钵中,加入0.05 mol/L硼酸缓冲液(含有5%聚乙烯吡咯烷酮、5%甘油、含巯基乙醇的1.0 mmol/L EDTA-Na<sub>2</sub>)溶液,在冰浴下研磨成匀浆,用硼酸缓冲液定容至10 mL,搅拌后纱布过滤,4℃、10 000 r/min条件下离心15 min,收集上清液,即为PAL粗酶液。在紫外分光光度计上测定波长为290 nm处的吸光值,以反应液每小时吸光值增加0.01为1个酶活单位(高俊凤,2006)。

过氧化物酶(peroxidase,POD)活性测定:分别取1.2.2中各处理玉米幼苗叶片1.0 g于预冷研钵中,加少量石英砂和碳酸钙,冰浴下研磨成匀浆,蒸馏水定容至50 mL,4℃、10 000 r/min条件下离心15 min,收集上清液,即为POD粗酶液。采用愈创木酚法配制4-甲氧基苯酚的标准系列溶液,测定波长为470 nm处的吸光值,以1 min内吸光值变化0.01为1个酶活单位(高俊凤,2006)。

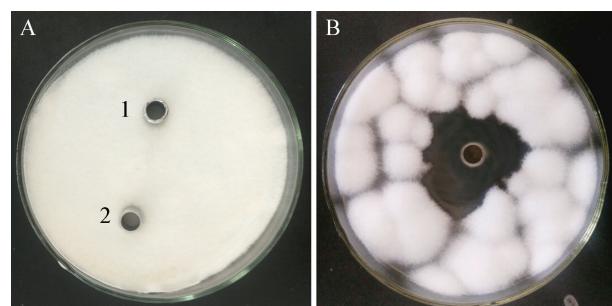
### 1.3 数据分析

采用SPSS 19.0软件对数据进行统计分析,应用Duncan氏新复极差法和t测验法进行差异显著性检验。

## 2 结果与分析

### 2.1 菌株HRH317对串珠镰孢菌的抑制作用

串珠镰孢菌在PDA培养基上生长的菌落呈白色絮状,对照组牛津杯中分别加入无菌生理盐水和细菌液体培养基,无抑菌圈产生(图1-A),而处理组牛津杯中加入解淀粉芽孢杆菌菌株HRH317菌悬液,培养5 d后牛津杯周围有抑菌圈出现,抑菌圈平均直径为33.31 mm(图1-B)。表明生防菌菌株HRH317对病原菌串珠镰孢菌有很好的抑制活性。



A: 对照组,1为无菌生理盐水,2为细菌液体培养基;B: 处理组。A: Control group, 1 is sterile saline, 2 is liquid culture medium; B: treatment group.

图1 解淀粉芽孢杆菌菌株HRH317对串珠镰孢菌的抑制效果

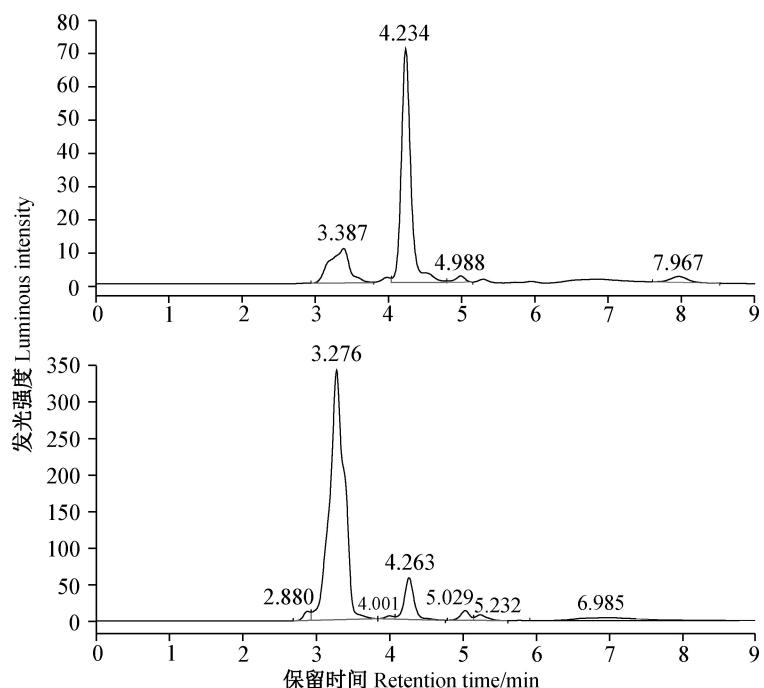
Fig. 1 Inhibitory effects of *Bacillus amyloliquefaciens* strain HRH317 against *Fusarium moniliforme*

## 2.2 菌株HRH317对玉米幼苗FB<sub>1</sub>含量的影响

浓度为1.0 μg/mL的FB<sub>1</sub>标准溶液在液相色谱图中的色谱峰保留时间为4.234 min(图2-A),利用HPLC测定玉米幼苗生长至3叶期后2 d时叶片中的FB<sub>1</sub>含量,在保留时间为4.263 min处出现相应FB<sub>1</sub>色谱峰,且峰形较好(图2-B),说明FB<sub>1</sub>得到了良好的分离,该HPLC检测条件是合适的。

玉米幼苗生长至3叶期后1~6 d,接种生防菌HRH317的所有处理的幼苗叶片中FB<sub>1</sub>含量均较单独接种病原菌处理显著降低,且先接种生防菌HRH317后接种病原菌处理幼苗叶片中FB<sub>1</sub>含量明显低于病原菌+生防菌HRH317混合接种处理,表明生防菌HRH317能有效抑制串珠镰孢菌侵染玉米并

产生FB<sub>1</sub>。随着幼苗生长,单独接种病原菌处理的FB<sub>1</sub>含量不断增加,在玉米植株体内持续累积,由生长1 d的3.24 μg/g显著升高至生长6 d的7.36 μg/g,而病原菌+生防菌HRH317混合接种处理和先接种生防菌HRH317后接种病原菌处理在幼苗生长1~6 d时,FB<sub>1</sub>含量小幅升高,分别在1.23~2.90 μg/g和0.44~1.65 μg/g之间,且生长第6天的FB<sub>1</sub>含量均显著高于生长第1天时,表明生防菌HRH317对FB<sub>1</sub>能起到持续稳定的抑制作用(表1)。单独接种生防菌HRH317处理与空白对照的FB<sub>1</sub>含量基本相近,始终处于较低水平。因此,可以将生放菌HRH317制成种子包衣制剂,使种子免受病原菌侵害以预防玉米穗腐病的发生。



A: 伏马毒素B<sub>1</sub>标准溶液; B: 样品。A: Standard solution of fumonisin B<sub>1</sub>; B: treated sample.

图2 伏马毒素B<sub>1</sub>的液相色谱图  
Fig. 2 HPLC chromatogram of fumonisin B<sub>1</sub>

表1 玉米种子经4种不同方式处理后3叶期幼苗叶片中伏马毒素B<sub>1</sub>的含量

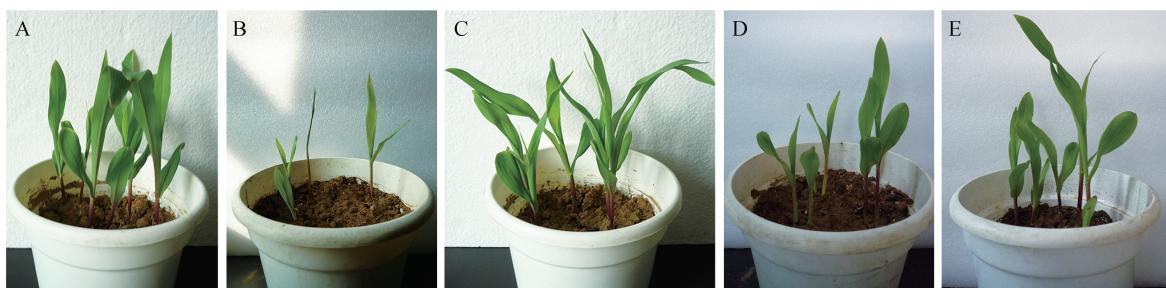
Table 1 The contents of fumonisin B<sub>1</sub> in seedling leaves at trefoil stage under four different treatments with maize seeds

生长时间/d Growth stage	空白对照 Negative control	接种病原菌 Inoculated with <i>F. moniliforme</i>	接种生防菌 Inoculated with strain HRH317	接种病原菌+生防菌 Inoculated with <i>F. moniliforme</i> and strain HRH317 together	先接生防菌后接病原菌 Inoculated with strain HRH317 first and then <i>F. moniliforme</i>
1	0.02±0.01 Ca	3.24±0.59 Ab	0.03±0.01 Cb	1.23±0.27 Bb	0.44±0.16 BCc
2	0.02±0.01 Ba	5.19±0.91 Aab	0.05±0.02 Bb	1.47±0.48 Bab	0.65±0.24 Bbc
3	0.03±0.01 Ba	6.60±1.44 Aab	0.05±0.02 Bb	1.64±0.43 Bab	0.82±0.25 Babc
4	0.04±0.01 Ca	6.88±1.21 Aab	0.05±0.02 Cb	2.40±0.49 Bab	1.31±0.37 BCabc
5	0.04±0.02 Ca	7.34±1.29 Aa	0.15±0.06 Ca	2.38±0.36 Bab	1.49±0.30 BCab
6	0.05±0.02 Ca	7.36±1.17 Aa	0.08±0.03 Cab	2.90±0.53 Ba	1.65±0.30 BCa

表中数据为平均数±标准误。同行不同大写字母、同列不同小写字母表示经Duncan氏新复极差法检验在P<0.05水平差异显著。Data are mean±SE. Different uppercase letters in the same row and different lowercase letters in the same column indicate significant difference at P<0.05 level by Duncan's new multiple range test, respectively.

玉米幼苗生长至3叶期后4 d,空白对照幼苗生长状态良好,叶片绿色饱满(图3-A);单独接种病原菌的幼苗生长缓慢,叶片稀少,窄细,株型矮小且长势弱,甚者叶片卷曲枯萎(图3-B);单独接种生防菌HRH317处理幼苗生长正常,与空白对照相比无明显差异(图3-C);无论是病原菌+生防菌HRH317混合接种还是先接种生防菌后接种病原菌的幼苗,均呈现出良好的生长态势,苗壮,叶片绿色饱满(图3-D~E),表明解淀粉芽孢杆菌菌株HRH317作为生防

菌在一定程度上对病原菌串珠镰孢菌的侵染能起到防御保护作用。且生防菌HRH317以不同方式处理玉米种子后对幼苗叶片中FB<sub>1</sub>均有一定抑制效果,先接种生防菌后接种病原菌处理组对FB<sub>1</sub>的抑制率在76.77%~88.10%之间,均高于病原菌+生防菌HRH317混合接种处理对幼苗叶片中FB<sub>1</sub>的抑制率59.20%~75.70%,且两者的抑制效果在玉米幼苗进入3叶期生长1 d和3 d时差异显著(表2)。



A: 空白对照; B: 接种病原菌; C: 接种生防菌; D: 接种病原菌+生防菌; E: 先接种生防菌后接种病原菌。A: Control; B: inoculated with *F. moniliforme*; C: inoculated with strain HRH317; D: inoculated with *F. moniliforme* and strain HRH317 together; E: inoculated with strain HRH317 first and then *F. moniliforme*.

图3 玉米种子经4种不同方式处理后幼苗生长至3叶期4 d后的对比情况

Fig. 3 Comparison of the growth of maize seedlings on the 4th day after trefoil stage under four different treatments with maize seeds

表2 玉米种子经2种不同方式处理后对3叶期幼苗叶片中伏马毒素B<sub>1</sub>的抑制效果

Table 2 The inhibition effect on fumonisin B<sub>1</sub> in seedling leaves at trefoil stage under two different treatments with maize seeds

生长时间/d Growth stage	抑制率 Inhibiting rate/%	
	接种病原菌+生防菌 Inoculated with <i>F. moniliforme</i> and strain HRH317 together	
	先接生防菌后接病原菌 Inoculated with strain HRH317 first and then <i>F. moniliforme</i>	
1	62.77±1.92	87.30±2.90*
2	73.30±4.57	87.70±3.36
3	75.70±1.36	88.10±1.17*
4	65.50±2.10	78.57±9.29
5	66.27±6.18	79.27±3.82
6	59.20±8.04	76.77±4.79

图中数据为平均数±标准误。\*表示2种处理间经t测验法检验在P<0.05水平差异显著。Data are mean±SE. \* indicates significant difference between two treatments at P<0.05 level by t test.

### 2.3 菌株HRH317对玉米相关防御酶活性的影响

与空白对照相比,玉米种子经过4种方式处理后,幼苗生长至3叶期后1~6 d叶片中SOD、CAT、PAL、POD的活性均有不同程度提高(表3)。其中,单独接种生防菌HRH317处理时玉米幼苗生长至3叶期后第6天,SOD活性达最大值18.68 U·g<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>,显著高于进入3叶期后生长2~5 d幼苗的SOD活性,是同时期空白对照的3.35倍( $P<0.05$ );病原菌+生防菌HRH317混合接种处理和先接种生防菌HRH317后接种病原菌处理时幼苗同样在生长至3叶期后第

6天时SOD活性达最大值,分别为30.35 U·g<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>和25.14 U·g<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>,且前者显著高于后者,而两者均显著高于进入3叶期生长1~5 d幼苗的SOD活性,分别为同时期空白对照的5.45倍和4.51倍( $P<0.05$ )。

单独接种生防菌HRH317处理时玉米幼苗在进入3叶期生长1 d后CAT活性即达最高值,为31.12 U·g<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>,之后在生长3~6 d时CAT活性显著下降,其中第5天降至最低值8.59 U·g<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>;病原菌+生防菌HRH317混合接种处理时幼苗的CAT

活性在3叶期第4天达最高值37.58 U·g<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>,且显著高于同时期其余接种生防菌HRH317的处理和空白对照,是空白对照的2.07倍。先接种生防菌HRH317后接种病原菌处理时幼苗的CAT活性在生长至3叶期第6天达到最高值24.90 U·g<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>,在3叶期4~5 d时的CAT活性显著低于病原菌+生防菌HRH317混合接种处理,但与同时期空白对照无显著差异。

病原菌+生防菌HRH317混合接种处理时玉米幼苗进入3叶期生长4 d时PAL活性达到最高值,为2 700.09 U·g<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup>,且在生长4~6 d内酶活性小幅波动,差异不显著,但均显著高于同时期单独接种生防菌HRH317处理和空白对照,是空白对照的2.76倍;先接种生防菌HRH317后接种病原菌处理时幼苗生

长至3叶期1~6 d时PAL活性维持在较平稳状态,无显著差异,在生长4 d和6 d时PAL活性显著低于同时期病原菌+生防菌HRH317混合接种处理,其中生长至第6天时幼苗的PAL活性1 788.18 U·g<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup>显著高于空白对照,是空白对照的3.48倍。

病原菌+生防菌HRH317混合接种处理时玉米幼苗的POD活性在生长至3叶期第4天时达到最高值,为114.31 μg·g<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>,显著高于同时期各处理和空白对照,为空白对照的1.24倍;先接种生防菌HRH317后接种病原菌处理时幼苗的POD活性在3叶期1~5 d变化不明显,无显著差异,第6天显著降至最低值57.16 μg·g<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>,且在3叶期第4~6天内的POD活性显著低于同时期病原菌+生防菌HRH317混合接种处理,但与同时期空白对照差异不大。

表3 在不同处理方式和不同生长时间下玉米3叶期幼苗体内相关防御酶活性的变化

Table 3 Activities of defense-related enzymes in seedlings at trefoil stage during different periods under different treatments

相关防御酶 Defense- related enzyme	生长 时间 Growth stage/d	空白对照 Blank control	接种病原菌 Inoculated with <i>F. moniliforme</i>	接种生防菌 Inoculated with strain HRH317	接种病原菌+生防菌 Inoculated with <i>F.</i> <i>moniliforme</i> and strain HRH317 together	先接种生防菌后接病原菌 Inoculated with strain HRH317 first and then <i>F. moniliforme</i>
SOD/ (U·g <sup>-1</sup> ·min <sup>-1</sup> )	1	8.33±0.81 BCa	10.21±1.13 Bd	15.51±1.04 Aab	6.52±1.31 Cc	6.52±0.74 Cc
	2	8.64±1.24 Ca	17.34±1.31 Ac	10.25±1.41 BCc	13.09±1.17 ABb	13.79±1.38 ABb
	3	9.57±1.27 Aa	13.54±1.58 Acd	11.05±1.08 Abc	12.73±1.66 Ab	10.75±1.47 Abc
	4	7.47±1.34 BCa	16.47±1.55 Ac	6.84±1.95 Cc	16.28±1.45 Ab	11.94±0.97 ABb
	5	6.36±1.64 Ba	25.23±1.93 Ab	11.02±1.44 Bbc	6.99±1.91 Bc	6.79±1.39 Bc
	6	5.57±1.59 Ea	38.56±0.28 Aa	18.68±1.45 Da	30.35±1.79 Ba	25.14±2.03 Ca
CAT/ (U·g <sup>-1</sup> ·min <sup>-1</sup> )	1	17.96±1.28 Bab	11.98±2.05 Ce	31.12±1.48 Aa	7.11±1.63 Cd	7.55±1.23 Cd
	2	11.51±1.54 Bcd	9.97±1.83 Be	28.92±1.48 Aa	13.58±1.61 Bc	14.80±1.96 Bc
	3	9.43±1.04 Dd	35.41±1.83 Ac	12.26±1.14 CDbc	14.55±1.39 BCc	18.43±1.81 Bbc
	4	18.18±1.22 Cab	27.70±1.70 Bd	17.10±1.81 Cb	37.58±1.91 Aa	21.37±1.25 Cab
	5	14.37±1.40 Cbc	66.84±2.71 Aa	8.59±1.59 Dc	36.80±1.67 Ba	16.76±1.22 Cbc
	6	21.94±1.52 Ca	46.33±1.96 Ab	12.45±1.54 Dbc	29.26±1.80 Bb	24.90±2.10 BCa
PAL/ (U·g <sup>-1</sup> ·h <sup>-1</sup> )	1	1 242.83±107.61 Bbc	1 586.02±207.77 ABC	2 195.45±259.87 Aa	1 853.13±231.67 ABb	2 036.78±225.88 Aa
	2	1 981.82±199.86 ABa	2 156.67±220.75 Abc	2 045.81±83.29 Aa	1 397.16±200.52 Bb	1 804.09±152.12 ABa
	3	1 283.27±113.38 Abc	1 463.75±339.22 Ac	1 175.55±218.41 Ab	1 698.72±166.48 Ab	1 417.66±450.29 Aa
	4	977.42±95.08 Bc	1 678.14±234.27 Bc	1 400.37±265.97 Bab	2 700.09±136.60 Aa	1 691.06±310.60 Ba
	5	1 435.24±150.95 Bb	2 577.13±251.98 Aab	1 675.72±366.80 Bab	2 591.90±146.65 Aa	2 167.89±223.68 ABa
	6	513.85±97.95 Dd	3 303.46±214.81 Aa	1 694.73±169.01 Cab	2 472.89±108.77 Ba	1 788.18±160.95 Ca
POD/ (μg·g <sup>-1</sup> ·min <sup>-1</sup> )	1	71.95±6.45 Abc	76.06±2.44 Ad	88.34±5.66 Ab	88.68±6.23 Abcd	86.83±6.56 Aa
	2	82.52±6.13 Bab	97.80±4.20 Ab	102.03±2.80 Aa	77.24±2.83 Bd	82.41±6.10 Ba
	3	68.28±3.67 Bbc	89.31±4.56 Abc	68.28±3.67 Bc	93.25±4.66 Abc	94.46±4.47 Aa
	4	92.21±2.72 BCa	101.60±4.07 Bb	56.66±2.01 Dc	114.31±4.96 Aa	82.33±3.40 Ca
	5	72.51±3.81 Dbc	147.63±3.79 Aa	89.40±4.26 BCb	101.81±3.50 Bab	86.05±4.98 Ca
	6	59.44±5.03 Bc	78.76±3.70 Acd	82.22±3.99 Ab	83.96±3.51 Acd	57.16±2.80 Bb

表中数据为平均数±标准误。同行不同大写字母、同列不同小写字母表示经Duncan氏新复极差法检验在P<0.05水平差异显著。Data are mean±SE. Different uppercase letters in the same row and different lowercase letters in the same column indicate significant difference at P<0.05 level by Duncan's new multiple range test, respectively.

### 3 讨论

与枯草芽孢杆菌类似,解淀粉芽孢杆菌也具有广泛抑制真菌和细菌活性的作用,是生物防治较理想的研究对象。周青等(2012)通过解淀粉芽孢杆菌菌株BS2004抑制青枯病菌*Ralstonia solanacearum*的研究结果表明,发酵条件优化后菌株BS2004对青枯病菌的抑菌圈直径达21.75 mm,对土壤中根肿菌*Plasmoidiophora brassicae*休眠孢子的抑制率达62%;陈敏等(2015)研究了解淀粉芽孢杆菌菌株SC1150对香蕉枯萎病菌*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* 4号生理小种的抑制作用,抑菌圈直径达28.33 mm;本研究发现解淀粉芽孢杆菌菌株HRH317能明显抑制串珠镰孢菌的生长,抑菌圈直径可达33.31 mm,与上述研究结果基本一致。

串珠镰孢菌为玉米穗腐病的优势病原菌,主要以附着于种子的形式侵染玉米植株,其产生的真菌毒素FB<sub>1</sub>会对植株造成严重伤害,引发玉米穗腐病(Ncube et al., 2018)。目前有研究者已通过分子手段对玉米品种进行改良,从而降低FB<sub>1</sub>对玉米造成的污染,如Duvick(2001)培育出抗玉米穗腐病的玉米新品种,可以减少毒素的侵染。但新型抗性玉米品种的研制开发受周期长、成本高等多方面因素影响,具有一定的局限和难度(肖淑芹等,2017)。化学试剂井冈霉素A对串珠镰孢菌产生伏马毒素有一定的抑制效果,但对生态环境会造成一定的污染(Yu et al., 2015)。考虑到环境友好且对人类健康安全等因素,生物防治越来越受到广泛关注,如Lizárraga-Sánchez et al.(2015)从墨西哥玉米种植区分离到蜡样芽孢杆菌*Bacillus cereus*菌株B25,对玉米种子进行处理后,伏马毒素对玉米的污染降低了93.9%。利用生物防治减少FB<sub>1</sub>的危害研究主要集中在微生物对真菌毒素的降解及微生物基因转导方面,其中微生物对毒素的降解主要通过代谢机制,将真菌毒素作为营养源进行吸收、转化,从而达到降解毒素的目的,抑制毒素产生(徐瑾等,2013)。Duvick(2001)报道有几种微生物(包括真菌和细菌)能代谢伏马毒素碳链骨架产生CO<sub>2</sub>,例如黑酵母菌*Aureobasidium pullulans*可以在以伏马毒素为唯一碳源的条件下生长,并产生分解代谢伏马毒素的酶。Blackwell et al.(1999)发现棘状外瓶霉*Exophiala spinifera*纯培养时能够分泌细胞外酯酶,将伏马毒素转化为氨基酸多元醇。胡梁斌等(2010)研究发现枯草芽孢杆菌菌株B-FS01的代谢产物芬枯草菌素能明显降低从串

珠镰孢菌中提取出的FB<sub>1</sub>含量。本研究应用不同方式对玉米种子进行处理,在玉米幼苗生长至3叶期时采用高效液相色谱法测定幼苗叶片中FB<sub>1</sub>的含量,其中利用解淀粉芽孢杆菌菌株HRH317处理的玉米种子,幼苗中FB<sub>1</sub>含量均有一定程度减少,抑制率最高可达88.10%,因此可利用菌株HRH317作为玉米种子包衣制剂,从玉米种植的源头进一步控制玉米穗腐病的发生。

解淀粉芽孢杆菌的生防机制主要包括分泌次生代谢产物抑制病原菌的生长,以及诱导植株产生系统抗性,增强自身免疫机制以提高抗病能力(王继华等,2017)。生防菌在植株受到病原菌侵害时,会促使植株本身产生系统抗性,诱导相关防御酶系活性发生变化,从而抵御病害的发生。大量研究显示植物体内的防御酶如SOD、CAT、PAL和POD等在抵抗病原菌侵染方面发挥着重要作用,其中SOD和CAT可以清除活性氧自由基,以减轻其对植株的危害;PAL是一种常见的酚类氧化酶,也是代谢途径中的关键酶和限速酶,是植株体内多种类黄酮植保素、木质素、次生酚类化合物等相关抗菌物质合成的前体,能发挥重要的抗病作用;POD能催化以H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>为氧化剂的氧化还原反应,清除植物体内病菌侵害后产生的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,以及参与木质素等抗菌物质的合成(Duan et al., 2014; Fortunato et al., 2015; Zhang & Liu, 2015)。寄主植株产生系统抗性时,对病害进行防御反应的相关防御酶活性可作为植株抗性指标,以判断植株所受侵害程度(Mehdy, 1994)。周登博等(2013)研究发现生防菌甲基营养型芽孢杆菌*Bacillus methylotrophicus*菌株4-L-16可以诱导香蕉植株中SOD、CAT、POD、PPO活性发生变化;张淑梅等(2014)研究报道了解淀粉芽孢杆菌菌株TF28可诱导番茄叶片内防御酶活性升高,从而有效防止番茄灰霉病对植株的侵染;侯彩霞等(2012)研究结果表明枯草芽孢杆菌菌株S37和S44能诱导番茄植株体内与抗逆相关的PPO、POD和SOD活性升高,有效抵抗番茄根腐病的发生;连玲丽等(2009)通过短小芽孢杆菌*Bacillus pumilus*菌株EN16处理番茄叶片后再接种青枯病菌,发现菌株EN16能增强番茄植株中PPO、POD和PAL等防御酶的活性。本研究在利用串珠镰孢菌侵染玉米幼苗时,解淀粉芽孢杆菌菌株HRH317能诱导玉米幼苗产生系统抗性,叶片中防御酶SOD、CAT、PAL、POD的活性均较对照有不同程度的升高,其峰值是对照的1.24~5.45倍,玉米幼苗基本能保持正常的生理状态,表明解淀粉芽

胞杆菌菌株HRH317在一定程度上能抵御病害的发生。防御酶系中各防御酶对玉米植株都能起到一定的保护作用,但必须在一定的时间、空间及各种防御酶协调配合下才能充分发挥其作用,以实现保护植株正常生长的目的。

综上所述,解淀粉芽孢杆菌菌株HRH317作为生防菌有较好的应用前景,能有效抑制玉米植株中FB<sub>1</sub>的产生,同时能诱导植株对病原菌产生防御反应,提高防御酶活性的表达,增强系统抗病性,有效预防玉米幼苗早期玉米穗腐病的发生,但其抑菌调控体系中病原菌、植株、生防菌三者之间的互作机制还有待进一步深入研究。

### 参 考 文 献 (References)

- BLACKWELL BA, GILLIAM JT, SAVARD ME, MILLER DJ, DUVICK JP. 1999. Oxidative de-amination of hydrolyzed fumonisins B(1) (AP(1)) by cultures of *Exophiala spinifera*. *Natural Toxins*, 7(1): 31–38
- CAO JJ, YANG HY, XIE XS, TIAN J, WU YF, AN DR. 2016. Control effect of *Bacillus amyloliquefaciens* on wheat yellow mosaic disease. *Journal of Plant Protection*, 43(4): 588–593 (in Chinese) [曹晶晶, 杨海艳, 谢咸升, 田佳, 吴云锋, 安德荣. 2016. 解淀粉芽孢杆菌对小麦黄花叶病的生物防治. 植物保护学报, 43(4): 588–593]
- CHEN M, GUO XW, LI CY, ZHANG H, SONG YY, ZENG RS. 2015. Studies on fungicidal activity and liquid fermentation optimization of *Bacillus amyloliquefaciens* strain SC1150. *Ecological Science*, 34(3): 7–12 (in Chinese) [陈敏, 郭旭文, 李春远, 张晖, 宋圆圆, 曾任森. 2015. 解淀粉芽孢杆菌SC1150的抑菌活性及其液体发酵条件的优化. 生态科学, 34(3): 7–12]
- DA COSTA RV, DA SILVA D, COTA LV, PARREIRA DF, FEFERIA AS, CASELA CR. 2010. Incidence of *Colletotrichum graminicola* in stalk from maize genotypes. *Summa Phytopathologica*, 36(2): 122–128
- DE JONG G, PAMPLONA AKA, VON PINHO RG, BALESTRE M. 2018. Genome-wide association analysis of ear rot resistance caused by *Fusarium verticillioides* in maize. *Genomics*, 110(5): 291–303
- DUAN L, LIU HB, LI XH, XIAO JH, WANG SP. 2014. Multiple phytohormones and phytoalexins are involved in disease resistance to *Magnaporthe oryzae* invaded from roots in rice. *Physiologia Plantarum*, 152(3): 486–500
- DUVICK J. 2001. Prospects for reducing fumonisin contamination of maize through genetic modification. *Environmental Health Perspectives*, 109(S2): 337–342
- ELY A, GEALL S, SONG Y. 2016. Sustainable maize production and consumption in China, practices and politics in transition. *Journal of Cleaner Production*, 134: 259–268
- FORTUNATO A, DEBONA D, BERNARDELI AMA, RODRIGUES FA. 2015. Defence-related enzymes in soybean resistance to target spot. *Journal of Phytopathology*, 163(9): 731–742
- GAO JF. 2006. *Plant physiology experiment instruction*. Beijing: Higher Education Press, pp. 214–216 (in Chinese) [高俊凤. 2006. 植物生理学实验指导. 北京: 高等教育出版社, pp. 214–216]
- GBORE FA. 2010. Brain and hypophyseal acetylcholinesterase activity of pubertal boars fed dietary fumonisins B<sub>1</sub>. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 94(5): e123-9
- GOTOR-VILA A, TEIXID N, DI FRANCESCO A, USALL J, UGOLINI L, TORRES R, MARI M. 2017. Antifungal effect of volatile organic compounds produced by *Bacillus amyloliquefaciens* CPA-8 against fruit pathogen decays of cherry. *Food Microbiology*, 64: 219–225
- HOU BH. 2016. Studies and on analysis of antagonistic substances research of biocontrol agents for *Bacillus amyloliquefaciens* TS-1203. Master Thesis. Lanzhou: Gansu Agricultural University (in Chinese) [侯宝宏. 2016. 解淀粉芽孢杆菌TS-1203抑菌活性物质分析及制剂研制. 硕士学位论文. 兰州: 甘肃农业大学]
- HOU CX, REN J, ZHAO SF, ZHANG H, DU J. 2012. Efficacy and mechanism of two *Bacillus subtilis* against processing tomato root-rot disease. *Journal of Shihezi University (Natural Science)*, 30(2): 152–156 (in Chinese) [侯彩霞, 任娟, 赵思峰, 张慧, 杜鹃. 2012. 2株枯草芽孢杆菌防治加工番茄根腐病的效果和防治机理研究. 石河子大学学报(自科版), 30(2): 152–156]
- HOU HM, ZHANG X, ZHANG H, CHEN L, LIU Y. 2006. Isolation and toxin determination of strains producing fumonisins. *Food Science*, 27(12): 691–693 (in Chinese) [侯红漫, 张笑, 张昊, 陈莉, 刘阳. 2006. 伏马菌素产生菌的分离及其产毒检测. 食品科学, 27(12): 691–693]
- HU LB, ZHOU W, ZHANG T, YANG ZM, XU JH, SHI ZQ. 2010. Mechanism of inhibition to *Fusarium moniliforme* by antimicrobial peptide fengycins. *Microbiology*, 37(2): 251–255 (in Chinese) [胡梁斌, 周威, 章挺, 杨志敏, 徐剑宏, 石志琦. 2010. 抗菌肽 Fengycins 抑制串珠镰刀菌的初步机制. 微生物学通报, 37(2): 251–255]
- LI B. 2015. The antagonistic mechanism of *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 against soil-borne pathogens and in situ rhizosphere antibiotic gene expression. Master Thesis. Nanjing: Nanjing Agricultural University (in Chinese) [李冰. 2015. 根际促生解淀粉芽孢杆菌SQR9对土传病原菌的拮抗机制及拮抗基因根际表达研究. 博士学位论文. 南京: 南京农业大学]
- LIAN LL, XIE LY, ZHENG LP, LIN QY. 2009. Induced resistance to bacterial wilt of tomato by *Bacillus pumilus* strain EN16. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition)*, 38(5): 460–464 (in Chinese) [连玲丽, 谢荔岩, 郑璐平, 林奇英. 2009. 短小芽孢杆菌EN16诱导番茄对细菌性青枯病的抗性. 福建农林大学学报(自然科学版), 38(5): 460–464]
- LIU CJ, WANG CL, CHEN MH, WANG YR, LI FJ, BAN Z. 2011. Screening and identification of *Fusarium moniliforme* and its inhibition effect. *Cereal and feed industry*, (1): 41–42, 52 (in Chinese) [刘春静, 王昌禄, 陈勉华, 王玉荣, 李风娟, 班昭. 2011. 串珠镰刀菌拮抗菌的分离筛选及其抑菌作用. 粮食与饲料工

- 业, (1): 41–42, 52]
- LIU DM, LI L, YANG XQ, LIANG SZ. 2006. Determination of the antimicrobial activity of probiotic by oxford plate assay system. Food Research and Development, 27(3): 110–111 (in Chinese) [刘冬梅, 李理, 杨小泉, 梁世中. 2006. 用牛津杯法测定益生菌的抑制活力. 食品研究与研发, 27 (3): 110–111]
- LIZÁRRAGA-SÁNCHEZ GJ, LEYVA-MADRIGAL KY, SÁNCHEZ-PENA P, QUIROZ-FIGUEROA FR, MALDONADO-MENDOZA IE. 2015. *Bacillus cereus sensu lato* strain B25 controls maize stalk and ear rot in Sinaloa, Mexico. Field Crops Research, 176: 11–21
- MEHDY MC. 1994. Active oxygen species in plant defense against pathogens. Plant Physiology, 105(2): 467–472
- MOGENSEN JM, SORENSEN SM, SULYOKB M, VAN DER WES-THUIZENC L, SHEPHARD GS, FRISVADA JC, THRANE U, KRSKAB R, NIELSENA KF. 2011. Single-kernel analysis of fumonisins and other fungal metabolites in maize from South African subsistence farmers. Food Additives and Contaminants Part A: Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment, 28(12): 1724–1734
- NCUBE E, FLETT BC, VAN DEN BERG J, ERASMUS A, VILJOEN A. 2018. *Fusarium* ear rot and fumonisins in maize kernels when comparing a *Bt* hybrid with its non-*Bt* isohybrid and under conventional insecticide control of *Busseola fusca* infestations. Crop Protection, 110: 183–190
- PAGLIUCA G, ZIRONI E, CECCOLINI A, MTERA R, SERRAZANETTI GP, PIVA A. 2005. Simple method for the simultaneous isolation and determination of fumonisin B<sub>1</sub> and its metabolite aminopentol-1 in swine liver by liquid chromatography – fluorescence detection. Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences, 819(1): 97–103
- WANG J, ZHOU Y, LIU W, ZHU XC, DU LC, WANG QM. 2008. Fumonisin level in maize-based food and feed from Linxian County, a high-risk area for esophageal cancer in China. Food Chemistry, 106(1): 241–246
- WANG JH, XU SQ, ZHANG MQ. 2017. Research progress on *Bacillus amyloliquefaciens*. Subtropical Agriculture Research, 13(3): 191–195 (in Chinese) [王继华, 徐世强, 张木清. 2016. 解淀粉芽孢杆菌的研究进展. 亚热带农业研究, 13(3): 191–195]
- WANG SX, LIU YC, LI ZP, DONG JG. 2006. Study of interaction between specific toxin produced by *Exserohilum turcicum* and membrane protein. Journal of Hebei University (Natural Science Edition), 26(1): 66–69, 76 (in Chinese) [王绍新, 刘颖超, 李正平, 董金皋. 2006. 玉米大斑病菌HT-毒素特异性组分与原生质膜蛋白互作研究. 河北大学学报(自然科学版), 26(1): 66–69, 76]
- XIAO SQ, LI GF, LU YY, MA CG, XUE CS, CHEN J. 2017. Occurrence condition and chemical forward control on maize *Fusarium* ear rot. Journal of Maize Sciences, 25(3): 144–147 (in Chinese) [肖淑芹, 李国福, 路媛媛, 马昌广, 薛春生, 陈捷. 2017. 玉米镰孢穗腐病发生条件及化学防治效果研究. 玉米科学, 25 (3): 144–147]
- XIE M. 2011. Causal organisms and impact factors of corn ear rot and resistance of corn varieties to *Fusarium* ear rot in Sichuan. Master Thesis. Ya'an: Sichuan Agricultural University (in Chinese) [谢敏. 2011. 四川玉米穗腐病病原菌、影响因子及四川主栽品种对串珠镰刀菌的抗病性研究. 硕士学位论文. 雅安: 四川农业大学]
- XU J, WU SL, CHANG XJ, SHEN H, SUN CP. 2013. The development of research on fumonisins' biosynthesis and degradation. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 28(7): 119–123, 128 (in Chinese) [徐瑾, 伍松陵, 常晓娇, 沈晗, 孙长坡. 2013. 伏马毒素生物合成和降解的研究进展. 中国粮油学报, 28(7): 119–123, 128]
- YU J, YAO LM, CHEN J. 2015. A novel *Trichoderma*-based seed coating agent in controlling maize seedling stalk rot. Journal of Shanghai Jiaotong University (Agricultural Science), 33(6): 23–29
- ZHANG SM, JIANG W, MENG LQ, LI J, CAO X, CHEN JY, YIN DL. 2014. Induced resistance of tomato to grey mould by anti-fungal endophytic *Bacterium* TF28. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 42(11): 3253–3256 (in Chinese) [张淑梅, 姜威, 孟利强, 李晶, 曹旭, 陈静宇, 尹德亮. 2014. 内生细菌TF28对番茄灰霉病的诱导抗性研究. 安徽农业科学, 42(11): 3253–3256]
- ZHANG XB, LIU CJ. 2015. Multifaceted regulations of gateway enzyme phenylalanine ammonia-lyase in the biosynthesis of phenylpropanoids. Molecular Plant, 8(1): 17–27
- ZHOU DB, JING T, TAN X, ZHANG XY, FU LX, GAO ZF, HUANG X, LIU XY. 2013. Effects of six substrates of fermentation fluid with antagonistic on banana wilt disease and disease resistance related enzymes. Chinese Journal of Tropical Crops, 34(5): 947–951 (in Chinese) [周登博, 井涛, 谭昕, 张锡炎, 符良贤, 高祝芬, 黄霄, 刘小玉. 2013. 6种基质拮抗菌发酵液对香蕉枯萎病及相关防御酶的影响. 热带作物学报, 34(5): 947–951]
- ZHOU Q, WANG X, SU T, LU M, XIE GL. 2012. Optimization of medium and cultural conditions for biocontrol bacterial strain BS2004 against *Ralstonia solanacearum* and *Plasmoidiophora brassicae*. Chinese Journal of Biological Control, 28(4): 537–544 (in Chinese) [周青, 王笑, 苏婷, 路梅, 谢关林. 2012. 青枯病和根肿病生防细菌BS2004的发酵培养基和培养条件优化. 中国生物防治学报, 28(4): 537–544 ]

(责任编辑:李美娟)