

哈茨木霉菌HNA12在防控玉米黄曲霉毒素污染中的应用

张丽芳, 许旖旎, 曹阳, 刘力强

引用本文:

张丽芳, 许旖旎, 曹阳, 刘力强. 哈茨木霉菌HNA12在防控玉米黄曲霉毒素污染中的应用[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(12): 2688-2693.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2022-1056>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

花生黄曲霉毒素产毒菌种群区系和地理分布

白艺珍, 岳晓凤, 张奇, 李培武

农业环境科学学报. 2022, 41(12): 2577-2583 <https://doi.org/10.11654/jaes.2022-1159>

不同生物制剂对南方根结线虫杀虫活性与防治效果

李运朝, 李洪涛, 及华, 李俊花, 李超楠, 章丽, 金小艳

农业环境科学学报. 2022, 41(12): 2810-2816 <https://doi.org/10.11654/jaes.2022-1146>

黄曲霉*ste20-like*基因功能鉴定及与*ste20*基因功能的比较

马龙雪, 李旭, 邢福国

农业环境科学学报. 2022, 41(12): 2660-2671 <https://doi.org/10.11654/jaes.2022-1110>

北苍术根腐病病原菌分离鉴定及其生防菌筛选

李超楠, 李洪涛, 李运朝, 李俊花, 及华, 章丽, 王琳

农业环境科学学报. 2022, 41(12): 2824-2830 <https://doi.org/10.11654/jaes.2022-1131>

兼具苯酚降解和禾谷镰刀菌生防功能菌的活性验证

王晨骄, 陈颖, 李蕾, 郭嘉航, 唐光美, 官会林, 黄晶心

农业环境科学学报. 2020, 39(11): 2548-2553 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0409>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

张丽芳, 许旖旎, 曹阳, 等. 哈茨木霉菌 HNA12 在防控玉米黄曲霉毒素污染中的应用[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(12): 2688–2693.

ZHANG L F, XU Y N, CAO Y, et al. *Trichoderma harzianum* HNA12 and its application in controlling aflatoxin contamination in maize[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2022, 41(12): 2688–2693.



开放科学 OSID

哈茨木霉菌 HNA12 在防控玉米黄曲霉毒素污染中的应用

张丽芳¹, 许旖旎¹, 曹阳¹, 刘力强²

(1. 江苏食品药品职业技术学院, 江苏 淮安 223003; 2. 河北科技大学, 石家庄 050018)

摘要:为从源头控制真菌毒素污染, 本实验开展了玉米黄曲霉毒素污染拮抗微生物高通量筛选及生物防治研究。从江苏、山东、山西和河南等主产区的健康玉米籽粒内分离到 1 055 株木霉菌, 其中, 10 株木霉菌拮抗带宽超过 8 mm, 抑制率为 36.5%~90.0%。活体实验发现, 7 株木霉对黄曲霉菌有较强的抑制作用, 抑制率为 44.2%~87.0%, 对黄曲霉毒素污染的抑毒率为 40.5%~85.0%。试验菌株中, HNA12、T40-3 和 T85-5 对黄曲霉菌的防治效果最高, 分别达到 87.0%、68.8% 和 64.5%, HNA12、T21-1 和 T40-3 抑毒率最强, 分别达到 85.0%、75.2% 和 68.5%。田间试验显示, 菌株 HNA12 的促生率及抑毒率最高, 分别达到 10.5% 及 90.5%, 生防潜力巨大。经形态学及分子生物学分析, 菌株 HNA12 被鉴定为哈茨木霉。拮抗机制实验证明, 菌株 HNA12 发酵产物及其蛋白提取物对黄曲霉菌生长有较强的抑制能力, 可以作为微生物制剂开发应用。

关键词:玉米; 真菌毒素; 污染; 木霉菌; 生物控制

中图分类号: TS201.3 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2022)12-2688-06 doi:10.11654/jaes.2022-1056

Trichoderma harzianum HNA12 and its application in controlling aflatoxin contamination in maize

ZHANG Lifang¹, XU Yini¹, CAO Yang¹, LIU Liqiang²

(1. Jiangsu Food and Pharmaceutical Science College, Huai'an 223003, China; 2. Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang 050018, China)

Abstract: To control mycotoxin contamination from the source, high throughput screening and biological control of antagonistic microorganisms against aflatoxin contamination of maize were carried out in this study. In total, 1 055 strains of *Trichoderma* were isolated from healthy maize seeds collected from Jiangsu, Shandong, Shanxi and Henan provinces. Among them, 10 isolates showed antagonistic activity with a band width of more than 8 mm, and the inhibition rate was ranged from 36.5% to 90.0%. Vivo experiments showed that 7 *Trichoderma* strains had potent inhibitory effects against *A. flavus* with a rate of 44.2% to 87.0%, and the inhibition rate against aflatoxin ranged from 40.5% to 85.0%. Among the strains tested, the control efficiency of HNA12, T40-3, and T85-5 against *A. flavus* was 87.0%, 68.8%, and 64.5%, respectively. The strains with the highest inhibition rates of 85.0%, 75.2%, and 68.5% against aflatoxin were HNA12, T21-1, and T40-3, respectively. Field trial results showed that HNA12 had the highest growth promotion and aflatoxin inhibition rates of 10.5% and 90.5%, respectively, indicating a great potential for biocontrol. Based on morphological and molecular biological analyses, strain HNA12 was identified as *Trichoderma harzianum*. Antagonistic mechanism test showed that the fermentation product and the protein extract of the strain HNA12 had a strong inhibition ability on the growth of *A. flavus*, and it could be used as a microbial agent with broad application prospect.

Keywords: maize; mycotoxin; contamination; wood fungus; biological control

收稿日期: 2022-10-24 录用日期: 2022-11-22

作者简介: 张丽芳(1977—), 女, 硕士研究生, 副教授, 从事食品微生物学及发酵研究。E-mail: 913475389@qq.com

玉米是世界上重要的粮食作物和经济作物,对世界粮食安全具有重要的影响。玉米从播种、收获、储藏、运输、加工到消费等各个环节都可能受到黄曲霉等不同真菌毒素的污染,因此对于黄曲霉毒素的控制依然是一个世界性的难题。黄曲霉毒素是由黄曲霉、寄生曲霉、烟曲霉等曲霉属真菌产生的一种真菌毒素,其理化性质和结构相当稳定^[1]。全世界每年因黄曲霉毒素污染造成的经济损失在百亿美元以上,特别是玉米、花生、油菜和水稻等作物受到的危害最大,影响最广^[2-3]。

黄曲霉毒素具有极强的致癌性、致畸性、致突变性和毒性,食用黄曲霉毒素污染的农产品会导致人畜机体病变甚至死亡,严重威胁人体健康^[1],已引起世界各国的广泛重视,因此,加强玉米等农产品中黄曲霉毒素污染的防控刻不容缓。

黄曲霉对玉米等作物的侵染及其毒素污染发生在生长、储运和加工的各个环节,防控难度较大。但农作物及其产品中的黄曲霉菌主要来自田间和生长期,因此开展黄曲霉毒素污染的源头控制尤为关键。目前,在玉米等农作物的生产中,黄曲霉毒素污染主要以化学防控为主,但化学防治污染环境,对农业生态环境造成严重破坏,同时黄曲霉菌极易产生抗药性,因此,寻找对环境安全、对人体健康无害的控制措施逐渐受到青睐^[4]。目前,已经发现自然界存在许多种真菌和细菌能够控制黄曲霉对作物的侵染和毒素污染,降低农产品中生物毒素的污染水平。利用有益微生物来控制农产品中的生物毒素污染,不仅不会导致农产品质量安全降低、不会破坏生态环境,而且能够显著降低毒素污染,其中一些功能微生物还能提升农产品品质和产量。目前,国内外主要利用功能微生物来防控玉米的病虫草害,但用来控制黄曲霉侵染和毒素污染的研究报道较少,为此,我们开展了玉米黄曲霉毒素污染生物防控研究,以期为我国农产品真菌毒素污染控制提供一个新的视角和途径。

1 材料与方法

1.1 试验材料

黄曲霉菌菌株由本实验室从不同种植区域的玉米籽粒中分离。木霉从我国不同主产区玉米籽粒中筛选获得。供试的玉米品种为郑单958。

1.2 拮抗木霉分离

从采自于江苏、河南、山东等主产区的健康玉米籽粒中分离木霉菌。首先,用3%的次氯酸钠溶液浸

泡玉米籽粒,表面灭菌5 min,然后用无菌蒸馏水冲洗3~5次,待水分晾干后将籽粒用镊子捏碎放置于PDA平板上进行培养,在28℃培养箱中培养5 d,每天观察菌落的生长状况,挑取木霉单菌落转接到PDA平板上进行纯化培养,同时对木霉菌进行编号和保存^[5]。

1.3 拮抗菌离体筛选

利用对峙培养法开展拮抗木霉菌的筛选。将预先培养的黄曲霉菌碟放置于平板的中央,然后用移液枪吸取0.5 mL木霉孢悬液(1×10^6 CFU·mL⁻¹),等距离接种在PDA平板上,然后放置于28℃培养箱中进行培养,重复3次,7 d后观察拮抗效果。筛选出拮抗效果较好的菌株在玉米籽粒上进行活体拮抗实验。

1.4 拮抗木霉活体筛选

1.4.1 发酵液制备

利用接种针挑取拮抗效果较强的木霉菌株接种到内含50 mL PD(马铃薯葡萄糖液体培养基)培养液的三角瓶中进行发酵培养,于28℃150 r·min⁻¹振荡培养3~5 d,得到种子液;利用移液枪吸取1 mL种子液(1.0×10^8 CFU·mL⁻¹)至含有50 mL PD的三角瓶中,于28℃150 r·min⁻¹振荡培养5~7 d,制备拮抗木霉菌发酵液。

1.4.2 拮抗木霉活体筛选

将培养7 d的拮抗木霉菌和黄曲霉菌发酵液(孢子最终浓度为 3.0×10^6 CFU·mL⁻¹)分别接种到玉米籽粒中(各浸种5 min),然后放置于无菌平板中,每个平板10~20颗玉米籽粒。在温度28℃,湿度70%~80%的光照培养箱中培养5~7 d。以不接种木霉处理为对照,每个处理3个重复。

1.5 大田试验

田间试验在江苏食品药品职业技术学院实验基地完成,试验设置3个处理,即拮抗木霉菌处理(含孢子 1×10^6 个·g⁻¹)、化学农药处理(70%甲基托布津可湿性粉剂)及空白对照,每个处理3次重复,每个小区面积为90 m²(15 m×6 m)。木霉菌在玉米播种时随基肥一起施入,化学农药采取玉米籽粒拌种的方法施用。每个小区采用五点取样的方式,每个点取10~20株玉米,详细调查玉米上黄曲霉毒素污染防控效果。

抑毒率=(对照毒素量-处理毒素量)/对照毒素量×100%

玉米促生率=(对照株高-处理株高)/对照株高×100%

1.6 木霉菌鉴定

真菌目前主要有两种分类鉴定技术,一种是基于

真菌的形态学特征等指标进行分类,一种是基于分子生物学手段进行鉴定,但这两种方法都存在不足之处。为了能够快速、准确和高效地对真菌进行分类鉴定,本实验结合两种分类方法进行鉴定,以提高真菌鉴定的准确率。

1.6.1 木霉形态学鉴定

形态学分类鉴定主要依据真菌的孢子形态、大小、纹饰、时间、颜色、菌落特征和生长速度等指标完成^[6]。

1.6.2 分子生物学鉴定

木霉菌分子生物学鉴定中DNA扩增所用引物为ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATT GATATGC-3'), ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAG G-3')。PCR反应体系:10×Taq reaction buffer 缓冲液 5.0 μL, dNTP (2.5 mol·L⁻¹) 4.0 μL, 引物ITS4 (10 μmol·L⁻¹) 1 μL, 引物ITS5 (10 μmol·L⁻¹) 2.0 μL, 1387R (10 μmol·L⁻¹) 2.0 μL, Template 2.0 μL, Taq DNA 聚合酶 1.0 μL, ddH₂O 35.0 μL。扩增条件:94 ℃ 5 min; 94 ℃ 45 s, 50 ℃ 45 s, 72 ℃ 1 min, 72 ℃ 8 min, 35个循环^[7]。木霉菌DNA测序利用BLAST软件,在GenBank数据库中进行同源性比对,从而对拮抗木霉菌进行鉴定。

1.7 木霉菌代谢产物的抑毒作用

1.7.1 木霉菌代谢产物的制备

首先将生防木霉菌接种到PDA平板上进行活化,然后利用接种针挑取木霉菌丝接种于装有50 mL PD培养液的350 mL三角瓶中进行发酵培养,于28 ℃ 160 r·min⁻¹振荡培养72 h,制备发酵液;将发酵液于11 000 r·min⁻¹条件下离心10~15 min,制备上清液;然后采用0.22 μm过滤器,制备木霉菌过滤液;将上清液和过滤液在4 ℃冰箱中过夜保存,制备冻过滤液和冻上清液。

1.7.2 木霉菌悬液制备

将上述发酵液过滤后用无菌水冲洗3次,然后12 000 r·min⁻¹离心10~15 min,弃上清液,再用无菌水制备木霉菌悬液。

1.7.3 蛋白粗提液

将上述制备的过滤液中加入固体硫酸铵至70%饱和度,然后在4 ℃条件下静置过夜;将液体于4 ℃ 11 000 r·min⁻¹条件下离心10~15 min,将上清液中的沉淀用pH 7.0的磷酸缓冲液进行悬浮,然后再用0.22 μm过滤器进行过滤,去掉沉淀物中可能存在的真菌或细菌繁殖体后备用。

1.7.4 木霉菌代谢物对黄曲霉的抑制作用

将活化后的黄曲霉制备成孢子悬液(1.5×10⁶

CFU·mL⁻¹),然后接种到保持温度为45 ℃的PDA培养基的三角瓶中,顺时针摇晃3~5 min后倒入培养皿中。在PDA培养基的中央用打孔器等距离打3个孔,利用移液枪分别接种0.5 mL木霉菌上清液、冻上清、过滤液、冻过滤及蛋白粗提液,放置于光照培养箱中培养5~7 d,观察各处理抑菌圈的半径和黄曲霉生长状况,每个处理3个重复。

1.7.5 黄曲霉毒素HPLC检测

本实验利用HPLC方法对黄曲霉毒素进行检测,检测分3个步骤进行:首先以甲醇:水为6:4的比例进行萃取,再利用免疫亲和柱对玉米样品中的残留毒素进行提取,最后对净化提取的玉米样品用HPLC进行检测。

2 结果与讨论

2.1 木霉菌的分离

经过对全国不同种植区域玉米籽粒上木霉的分离发现,不同主产区玉米上木霉的丰度和种群差异较大,地处南方的江苏省木霉菌丰度高于北方,其中从江苏种植区玉米籽粒上分离到木霉350株,河南玉米籽粒上分离到200株,山东玉米籽粒上分离到255株,山西玉米籽粒上分离到250株,共计分离到木霉菌株1 055株。鉴于我国不同种植区域玉米上木霉菌的种类和多样性的差异,在控制真菌毒素污染过程中,应更多考虑本地丰富的功能微生物资源,这样筛选获得的有益微生物才能更好地适应土壤生态环境,提高对逆境胁迫的抵抗能力^[8-10]。

2.2 拮抗木霉筛选

将上述不同主产区玉米籽粒上分离获得的木霉菌株同黄曲霉菌株在平板上对峙培养,筛选对黄曲霉抑制效果较好的拮抗菌株。对峙实验结果(表1)显示,有10株木霉菌对黄曲霉菌株拮抗效果显著,木霉菌的抑菌带宽均在8 mm以上,其中菌株HNA12对黄曲霉菌的抑制率最高,达90.0%,其次为菌株T12-1和T95-2,抑制率分别达到85.5%和75.5%。从离体实验结果可以看出,北方玉米上筛选获得的对黄曲霉毒素污染效果较好的拮抗木霉菌株比例较高,原因应该同土壤生态环境和气候有关。干旱的土壤逆境胁迫条件下,木霉等腐生真菌较其他真菌能更好地适应生态环境,同时具有更强的占位效应和竞争能力。

2.3 活体筛选

玉米籽粒上开展的活体实验结果(表2)表明,获得的拮抗木霉菌在玉米籽粒上表现出较好的抑菌控

表1 木霉菌株对花生黄曲霉菌的抑制率

Table 1 Inhibition rate of Trichoderma strain against <i>A. flavus</i>				
拮抗菌 Antagonistic strain	抑制率 Inhibition rate/%	菌种来源 Trichoderma source	地点 Site	区域 Region
HNA12	90.0	玉米粒	山东	华北
T12-1	85.5	玉米粒	江苏	华东
T95-2	75.5	玉米粒	山东	华北
T85-5	65.0	玉米粒	山西	华北
T21-2	50.5	玉米粒	山东	华北
T40-3	50.0	玉米粒	江苏	华东
T100	45.6	玉米粒	河南	华北
T22-1	40.0	玉米粒	山东	华北
T50-3	40.0	玉米粒	江苏	华东
T10-2	36.5	玉米粒	山东	华北

注:数据为3次重复的平均值。下同。
Note: Data is the average of three replicates. The same below.

毒效果。拮抗菌株对黄曲霉的防治效果为44.2%~87.0%,其中,菌株HNA12对黄曲霉菌的抑制效果最高,达87.0%,其次为菌株T12-1和T40-3,抑制效果分别达到69.5%和68.8%。抑毒效果较好的菌株分别为HNA12、T21-2及T40-3,抑毒率分别为85.0%、75.2%及68.5%,对于这些拮抗效果较高的菌株将继续开展大田实验研究。实验结果表明,离体条件下和活体条件下筛选获得的拮抗菌在抗病性上具有一定的差异。由于拮抗菌的拮抗机理较复杂,如诱导抗性、营养竞争、空间竞争、占位效应和直接的寄生作用等,平板离体条件下筛选的拮抗菌存在一定的弊端,常会遗漏拮抗效果较好的菌株,因此,活体条件下筛选获得拮抗效果较好的菌株的概率会更大,更能体现出筛选拮抗菌的科学性。

2.4 田间试验

研究结果(表3)表明,筛选获得的生防木霉菌对玉米生长表现出一定的促生效果,对黄曲霉毒素污染抑制率较高。拮抗效果较好的木霉菌株普遍对玉米生长具有一定的促生效果,其中,菌株HNA12促生效果最高,为10.5%,其次为菌株T95-2和T40-3,促生效果分别为5.5%和4.5%。抑毒效果较好的菌株分别为HNA12、T40-3及T85-5,抑毒率分别为

表3 木霉菌对黄曲霉菌抑制率及对玉米的促生作用(%)

Table 3 Inhibitory rate of Trichoderma against <i>A. flavus</i> and growth promoting effect on maize (%)							
指标 Index	HNA12	T95-2	T85-5	T12-1	T21-2	T40-3	T100
促生率 Growth promotion rate	10.5	5.5	0	2.5	2.7	4.5	0
抑毒率 Inhibitory poison rate	90.5	50.5	58.3	50.8	53.2	60.5	23.5

90.5%、60.5%及58.3%,这3株菌具有进一步研究的价值。木霉菌是植物病害生物防治中应用较多的一种有益微生物,由于其对环境的适应能力和繁殖能力较强,及具有复杂的拮抗机理,因而受到众多科研人员的青睐^[11-13]。田间试验结果表明,筛选获得的拮抗木霉菌对黄曲霉及其毒素等有害生物控制效果较好,同时也具有促进玉米生长的能力,以上田间试验表现出良好的抗逆效果,为筛选获得拮抗木霉奠定了基础。

土壤共生微生物是作物健康生长的基础和保障,包括玉米在内的农作物是微生物生存的重要载体和生境。相较于土壤环境,植物体内的共生微生物不易受外界环境条件的影响,其生存概率更强,对逆境胁迫的适应能力也更高,能够在植物体内持续的繁殖、生长和定殖,可成为一种有潜力的生防菌而加以开发和利用^[14-15]。

2.5 生防木霉菌鉴定

2.5.1 形态学鉴定

经鉴定,木霉菌株HNA12为哈茨木霉。HNA12的鉴定特征如下:在PDA培养基上,木霉菌株在20℃培养5d的菌落直径为8.8cm,生长速度较快,白色的羊毛状或蛛丝状菌丝,菌落整体为绿色,菌落生长后期呈淡绿色或浅绿色;菌丝主枝宽4.0~5.5μm,侧枝较多,最后形成金字塔形菌丝,具有多分枝的树状分生孢子梗,最后形成疏松的菌丛或菌落;木霉菌丝上的侧生瓶梗可达4个或5个,成轮状规则排列,或单个沿小侧枝不规则排列;侧生瓶梗约(5.0~6.6)μm×(3.0~3.8)μm,顶生或不典型的瓶梗约(13.0~16.0)μm×(2.6~3.8)μm;大部分瓶梗以大角度在其菌丝上着生;瓶梗孢子大部分为球状或倒卵形的分生孢子,

表2 拮抗菌对黄曲霉菌的防治效果及抑毒率(%)

Table 2 Control effect and inhibition rate of antagonists against <i>A. flavus</i> (%)							
指标 Index	HNA12	T95-2	T85-5	T12-1	T21-2	T40-3	T100-1
防效 Control effect	87.0	60.0	64.5	69.5	44.7	68.8	44.2
抑毒率 Inhibitory poison rate	85.0	64.5	59.0	60.8	75.2	68.5	40.5

孢子壁比较光滑,浅绿色,(2.5~3.0) $\mu\text{m}\times(2.3\sim2.5)\mu\text{m}$ (图1a)。

2.5.2 分子生物学鉴定

通过对木霉 HNA12 的 ITS 区测序,获得木霉菌株 ITS 区测序结果。序列比对分析的结果表明,菌株 HNA12 与 *T.harzianum* 相似度最高,在 99% 以上,再结合 HNA12 菌株的形态学特征,初步把 HNA12 鉴定为 *T.harzianum*。进一步将 HNA12 菌株与 NCBI 中的木霉属菌株进行序列比对,构建木霉种系统发育树(图 1b),清楚地显示出木霉各种间遗传进化关系,同时获得完整的菌株 HNA12 与已知木霉菌种的亲缘关系。

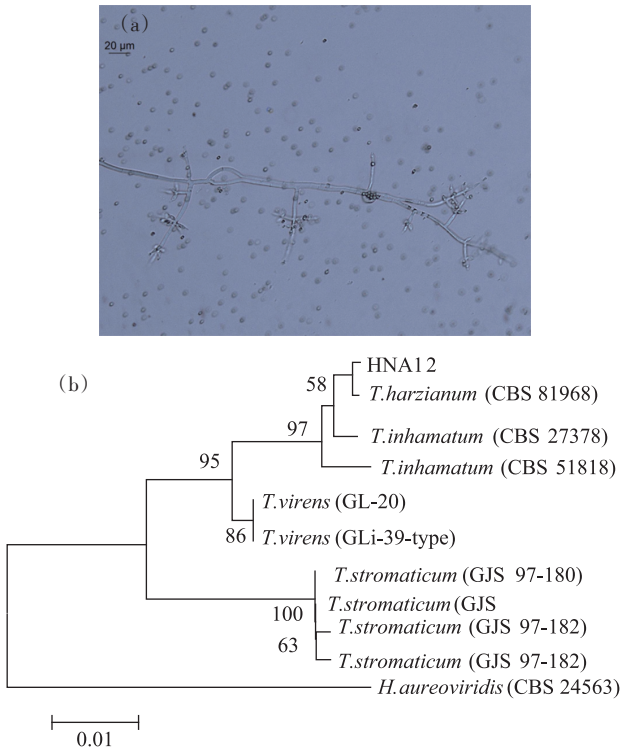


图1 木霉 HNA12 的形态学鉴定(a)和分子鉴定(b)

Figure 1 The morphological(a) and molecular(b) identification of *Trichoderma* HNA12

2.6 拮抗菌对黄曲霉毒素的抑制效果

试验结果(表4)显示,木霉菌发酵液对黄曲霉生长的抑制作用在95%以上;蛋白粗提液的抑制作用在96%以上;木霉菌过滤液抑菌率均在30%以上,其中HNA12对黄曲霉的抑制作用最强,抑菌率在60%以上,其他菌株的控制效果也较好,其中T85-5和T95-2分别达到57.3%和50.5%;HNA12菌株的上清液和冻上清抑菌率表现较好,均在65%以上,HNA12

表4 拮抗菌代谢产物对黄曲霉菌菌丝生长的抑制作用

Table 4 Inhibitory effects of biocontrol metabolites on the growth of *Aspergillus flavus* mycelium

菌株 Strain	抑菌率 Inhibition rate/%					
	过滤液 Filtrate	上清液 Supernate	冻过滤 Filtrate	冻上清 Supernate	发酵液 Fermented filtrate	粗蛋白 Protamine
HNA12	60.5	65.0	58.5	68.0	98.5	98.8
T95-2	50.5	60.5	50.0	54.5	98.2	98.5
T85-5	57.3	58.5	55.5	63.2	95.3	98.5
T12-1	44.2	56.5	48.3	55.0	99.5	96.7
T21-2	45.0	60.5	46.5	45.5	98.5	96.6
T40-3	30.8	55.0	42.5	45.5	97.5	96.4

菌株对黄曲霉的抑制率最强,可达65.0%,其次是T85-5,达到58.5%。

我国是重要的玉米进口国,玉米对我国粮食安全和食品安全至关重要。目前我国的玉米主要用于饲料原材,但近几年玉米上黄曲霉等真菌毒素污染较重,严重威胁到了家畜的健康。本研究为解决玉米真菌毒素污染提供了优良拮抗菌种资源,为消除玉米等粮油作物及其产品上的毒素污染提供了技术支撑。

3 结论

(1)本研究从我国不同主产区玉米上分离获得木霉菌株1055株,其中菌株HNA12拮抗效果最强,对玉米黄曲霉侵染和毒素污染的控制效果均在90%以上,且促生作用显著,具有较强的环境适应性和应用潜力。

(2)拮抗机制试验表明,菌株HNA12的发酵代谢物,特别是蛋白类物质,对黄曲霉抑制作用显著,未来可以作为生态制剂开发应用。但木霉菌株HNA12对产毒真菌的拮抗机理、解毒机制、同环境中的微生物的共生作用、定殖能力、生态效应等有待进一步深入探索和研究。

参考文献:

[1] LIU X. Strengthen research work of exposure and control of mycotoxin [J]. *Chinese Journal of Preventive Medicine*, 2006, 40: 307-308.
[2] PAL K, GARDENER G. Biological control of plant pathogens[J]. *The Plant Health Instructor*, 2006, 17: 2-8.
[3] DORNER J W. Biological control of aflatoxin contamination of crops[J]. *Toxin Reviews*, 2004, 23(2): 425-450.
[4] 李强, 李小林, 黄羽佳, 等. 偏肿栓菌内生木霉菌菌株18-21抑菌效果研究[J]. *微生物学杂志*, 2016, 36(1): 17-21. LI Q, LI X L, HUANG Y J, et al. Biocontrol effect of *Trichoderma viridescens* strain

- 18–21 screened from fruiting bodies of *Trametes gibbosa*[J]. *Journal of Microbiology*, 2016, 36(1):17–21.
- [5] HOWELL C R. Cotton seedling preemergence damping-off incited by *Rhizopus oryzae* and *Pythium* spp. and its biological control with *Trichoderma* spp.[J]. *Phytopathology*, 2002, 92:177–180.
- [6] 文成敬, 陶家凤, 陈文瑞. 中国西南地区木霉属分类研究[J]. 真菌学报, 1993, 12:128–130. WEN C J, TAO J F, CHEN W R. Taxonomic study on *Trichoderma* from southwest China[J]. *Acta Mycologica Sinica*, 1993, 12:128–130.
- [7] BIGIRIMANA J. Induction of systemic resistance on bean (*Phaseolus vulgaris*) by *Trichoderma harzianum*[J]. *Med Fac Landbouww Univ Gent*, 1997, 62:1001–1007.
- [8] JI X L, LU G B, GAI Y P. Biological control against bacterial wilt and colonization of mulberry by an endophytic *Bacillus subtilis* strain[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2008, 65(3):565–573.
- [9] KIRK G D, BAH E, MONTESANO R. Molecular epidemiology of human liver cancer: Insights into etiology, pathogenesis and prevention from the Gambia[J]. *Carcino Genesis*, 2006, 27:70–82.
- [10] GROOPMAN J D, KENSLER T W, WILD C P. Protective interventions to prevent aflatoxin-induced carcinogenesis in developing countries[J]. *Annual Review of Public Health*, 2008, 29:187–203.
- [11] WU F, KHLANDWISSET P. Health economic impacts and costeffectiveness of aflatoxin reduction strategies in Africa: Case studies in biocontrol and postharvest interventions[J]. *Food Additives and Contaminants*, 2010, 27:496–509.
- [12] LIU Y, WU F. Global burden of aflatoxin-induced hepatocellular carcinoma: A risk assessment[J]. *Environmental Health Perspectives*, 2010, 118:18–24.
- [13] EGMOND V, DRAGACCI S. Liquid chromatographic method for aflatoxin M1 in milk[J]. *Methods in Molecular Biology*, 2001, 157:59–69.
- [14] TEKINSEN K, EKEN H S. Aflatoxin M1 levels in UHT milk and kashar cheese consumed in Turkey[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2008, 46:3287–3289.
- [15] KIRK G D, BAH E, Montesano R. Molecular epidemiology of human liver cancer: Insights into etiology, pathogenesis and prevention from the Gambia[J]. *Carcinogenesis*, 2006, 27:2070–2082.

(责任编辑:朱晓昱)