

DOI:10.11686/cyxb2024187

http://cyxb.magtech.com.cn

姚博, 朱瑞芬, 徐远东, 等. 基于Meta评估生防菌剂对饲草作物真菌病害防效及其影响因素. 草业学报, 2025, 34(4): 189—200.

YAO Bo, ZHU Rui-fen, XU Yuan-dong, *et al.* Effect of biocontrol agents to control forage crop fungal diseases and factors influencing their effectiveness: A Meta-analysis. *Acta Prataculturae Sinica*, 2025, 34(4): 189—200.

基于Meta评估生防菌剂对饲草作物真菌病害防效及其影响因素

姚博^{1,2}, 朱瑞芬^{1,2}, 徐远东^{1,2}, 孙万斌^{1,2}, 刘畅^{1,2}, 陈积山^{1,2*}

(1. 重庆市畜牧科学院, 重庆 402460; 2. 重庆市草业工程技术研究中心, 重庆 402460)

摘要: 真菌病害是制约饲草作物优质高产的主要因素, 生防菌剂因其环保、无害的特点成为病害绿色防控的首选, 其对饲草作物真菌病害的总体防效及其影响因素亟待明确。本研究搜集截至2024年3月已发表的文献共24篇(79组病害防控数据), 采用Meta分析方法系统评估了芽孢杆菌、木霉、丛枝菌根真菌等常见生防菌剂对苜蓿、燕麦、青贮玉米、黑麦草、三叶草、箭筈豌豆和鸭茅等主栽饲草广泛发生的根腐病、锈病、白粉病、叶斑病和炭疽病的防控效果, 同时探讨了影响其防效的多种因素并量化了其防效。结果表明, 生防菌剂对饲草作物真菌病害具有显著防控效果, 其总体平均防效达49.85%。异质性检验表明病原种类、菌剂浓度、施用次数、作物种类、病害类型和菌剂类型6种因素显著影响防效, 而试验类型、施用模式和生防菌种的影响不显著。综合而言, 1) 生防菌剂对主要饲草作物苜蓿和燕麦的根腐病、白粉病的防效均高于总体平均防效; 2) 生防菌应针对病原菌筛选特异高效的菌种; 3) 兼顾经济和防效时生防菌剂浓度宜采用 10^8 CFU·mL⁻¹, 施用次数为2次。本研究结果为后续研究以及实际生产中应用生防菌剂防控饲草作物真菌病害提供了切实的依据。

关键词: 生防菌剂; 饲草作物; 病害; 防效; Meta分析

Effect of biocontrol agents to control forage crop fungal diseases and factors influencing their effectiveness: A Meta-analysis

YAO Bo^{1,2}, ZHU Rui-fen^{1,2}, XU Yuan-dong^{1,2}, SUN Wan-bin^{1,2}, LIU Chang^{1,2}, CHEN Ji-shan^{1,2*}

1. *Chongqing Academy of Animal Sciences, Chongqing 402460, China*; 2. *Pratacultural Engineering and Technology Research Center of Chongqing, Chongqing 402460, China*

Abstract: Fungal diseases significantly constrain the productivity and quality of forage crops. Biocontrol agents, recognized for their ecological compatibility and safety, have emerged as the favored method for plant disease management. Further research is needed to elucidate the overall efficacy of these agents in controlling fungal diseases in forage crops, as well as the factors influencing their effectiveness. Based on 24 papers published by March 2024 on the use of biocontrol agents (*Bacillus*, *Trichoderma*, and arbuscular mycorrhizal fungi, etc) to control root rot, rust, powdery mildew, leaf spot, and anthracnose disease of major forage crops such as alfalfa (*Medicago sativa*), oat (*Avena sativa*), silage maize (*Zea mays*), ryegrass (*Lolium perenne*), alsike clover (*Trifolium hybridum*), common vetch (*Vicia sativa*), and orchardgrass (*Dactylis glomerata*), we conducted a Meta-analysis to evaluate

收稿日期: 2024-05-21; 改回日期: 2024-07-15

基金项目: 国家重点研发计划项目(2022YFD1300805), 重庆市现代农业产业体系(草食牲畜: CQMAITS202313), 重庆市畜牧科学院畜牧科技创新团队培育项目(2452624)和重庆市畜牧科学院市级财政资金项目(24503C)资助。

作者简介: 姚博(1994—), 男, 甘肃通渭人, 在站博士后, 博士。E-mail: yaob_chongq@163.com

* 通信作者 Corresponding author. E-mail: cjshlj@163.com

the effect of biocontrol agents to control diseases of forage crops, and to analyze the impacts of a variety of factors on the effectiveness of control. The results show that biocontrol agents are remarkably effective in controlling fungal diseases of forage crops, with a total biological control effect of 49.85%. Heterogeneity testing revealed that the pathogen species, the type, concentration, and application frequency of the biocontrol agent, the forage crop species, and the disease type were the factors significantly impacting the effectiveness of control. However, the type of experiment, application mode, and biocontrol species had no significant impact on the effectiveness of control. Overall, the analysis showed that: 1) Compared with the overall average control effect, the biocontrol agents had stronger control effects on root rot and powdery mildew in major forage crops such as alfalfa and oat. 2) Biocontrol species should be screened to identify specific and highly effective strains targeting pathogens. 3) Considering both the economic cost and control effect, the concentration of biocontrol agents should be 10^8 CFU·mL⁻¹ and the number of applications should be two. The findings of this study provide practical guidelines for the use of biocontrol agents in actual production to control fungal diseases of forage crops, and pointers for future research.

Key words: biocontrol agent; forage crop; disease; control effect; Meta-analysis

饲草作物 (forage crops) 指用于放牧或生产干草和青贮饲料的多年生牧草、一年生饲草及不以收籽实为目的的粮食作物等,其地位与粮食、油料、棉花 (*Gossypium* spp.)、蔬菜和糖料等一致^[1]。近年来,我国草牧业发展迅速,苜蓿 (*Medicago sativa*)、燕麦 (*Avena sativa*)、青贮玉米 (*Zea mays*)、黑麦草 (*Lolium perenne*)、三叶草 (*Trifolium hybridum*)、箭筈豌豆 (*Vicia sativa*) 和鸭茅 (*Dactylis glomerata*) 等饲草作物种植区域和面积逐年增加。以传统粮食作物种植为主的重庆市为例,至 2025 年域内饲草作物种植面积将由 3 万 hm² 增加至 4 万 hm²,增幅达 25.00%。然而,普遍发生的真菌病害严重制约着饲草作物的健康稳定生产^[2-3]。使用化学农药是常用的病害防控手段,但其在以收获营养体为目标的全株饲草上的残留对家畜以及人类的危害巨大^[4]。对病原真菌具有拮抗作用的微生物可利用重寄生、抗生作用、竞争作用或诱导寄主抗性等机制达到防控病害的目的^[5],所开发的生防菌剂具有环境友好、安全无害、防效持久等优点^[6],是饲草作物病害绿色防控的理想途径。

生防菌剂在粮食作物病害防控中应用广泛,年均防病面积超 1100 万 hm²^[7]。与之相比,尽管饲草作物病害生防研究起步较晚且基础薄弱,但其未来可应用推广的前景巨大,大力开展相关研究对推动饲草产业健康可持续发展具有重要意义。然而,以往研究表明,生防菌剂的防控效果易受各种因素的影响,如使用的菌种、剂型、浓度以及环境因素等是导致病害生防效果不稳定的可能因素^[8-9]。张睿芳等^[10]采用枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 和哈茨木霉 (*Trichoderma harzianum*) 防控燕麦叶斑病时发现其防效有明显差异,其中枯草芽孢杆菌防效高达 80.34%,而冶福春等^[11]使用枯草芽孢杆菌防控该病时防效仅为 38.80%。因此,亟须系统分析并明确影响饲草作物真菌病害生防效果的关键因素,为科学指导其理论研究以及推动相关产品在饲草产业实际生产中发挥稳定、高效的防控效率奠定基础。

Meta 分析 (Meta-analysis) 可将诸多相同主题的研究及其结果汇总整合,系统地进行定量化统计分析,得出影响某个处理措施效果的主要因素^[12]。本研究汇总了以往公开发表的关于生防菌剂防控饲草作物病害的中文研究文献,采用 Meta 分析系统研究全国区域内施用生防菌剂对饲草作物真菌病害的综合防效,进一步评估菌剂本身因素及环境因素对防效的影响程度,所得结果为饲草作物生防菌剂开发与应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 文献收集

本研究文献数据来源于中国知网 (China national knowledge infrastructure, CNKI)、万方数据库和维普数据库。为了全面筛选生防菌剂防控饲草作物真菌性病害的相关文献,分别以我国主要饲草作物苜蓿、燕麦、青贮玉米、黑麦草、三叶草、箭筈豌豆和鸭茅搭配根腐病、锈病、霜霉病、黑穗病、白粉病、叶斑病和炭疽病作为检索词进行

搜索,截止时间为 2024 年 3 月 1 日。生防菌种与菌剂类型以检索到的文献中所提供的信息为准,主要包括隶属于芽孢杆菌属(*Bacillus*)、木霉属(*Trichoderma*)、丛枝菌根真菌(arbuscular mycorrhizal fungi, AMF)等的物种。

1.2 文献筛选

文献筛选标准为:1) 包括一个不施用生防菌剂的对照组;2) 具有病情指数指标的均值、重复数(至少 3 个重复);3) 数据重复的文献仅选其中之一;4) 如果一篇文献中包括多个地点的数据,将其视为独立数据。根据以上标准,研读文献并去除不符合的文献。

本研究将符合的 24 篇文献^[10-11,13-34]中的 79 组数据纳入 Meta 分析,并汇总以下数据信息:施用生防菌剂的处理组(t)和未施用生防菌剂对照组(c)病情指数的均值(X)、重复数(N)和标准差(standard deviation, SD)。若文献中给出的是标准误(standard error, SE),则采用如下换算公式获得 SD:

$$SD = SE \sqrt{N} \quad (1)$$

若文献没有包括 SD 或 SE 值时,SD 被指定为平均值的 $1/10$ ^[35]。此外,提取汇总作物种类、生防菌种、试验类型、菌剂类型、施用模式、病害类型、病原种类、施用次数以及菌剂浓度(CFU·mL⁻¹)等数据。数据收集过程中,文献中表格和正文中的数据直接提取,图片数据采用 GetData Graph Digitizer(V. 2. 26. 0. 20)软件提取。

1.3 数据分析

本研究采用 Meta 分析评估生防菌剂对饲草作物真菌性病害的防效及其影响因素。Meta 分析采用 R 软件的 Metafor 包,根据病情指数指标计算效应值(effect size, E)及其 95% 置信区间,E 值大小表征影响因素对生防菌剂防效的影响强弱。采用自然对数转换的响应比(response ratio, RR)量化效应值,计算公式为:

$$E = RR = \ln\left(\frac{X_t}{X_c}\right) \quad (2)$$

式中: X_t 和 X_c 分别为处理组和对照组病情指数平均值。与效应值相对应的研究内方差(v)的计算公式为:

$$v = \frac{SD_t^2}{N_t \times X_t^2} + \frac{SD_c^2}{N_c \times X_c^2} \quad (3)$$

式中: SD_t 和 SD_c 分别为处理组和对照组的标准差, N_t 和 N_c 分别为处理组和对照组的重复数。

在使用 Metafor 软件包进行合并分析之前,要对效应值进行异质性检验和发表偏倚检验。异质性检验标准是如果其 Q 值显著性检验值 $P < 0.05$,表示异质性强,需采用随机效应模型并引入解释变量(本研究为影响因素)进一步深入分析,反之则表示异质性弱并采用固定效应模型。发表偏倚检验采用失安全系数法(fail safe number),所得 N 值大于 $5k + 10$ (k 为研究的个数)则说明无发表偏倚,Meta 分析结论科学可靠。

采用随机效应模型评估解释变量的加权平均效应值(E_+)和 95% 置信区间,如果 E_+ 的 95% 置信区间不与零重叠,则表示该因素对防效的影响具有显著性。研究中方差(τ)的估计使用限制性最大似然法(restricted maximum likelihood, REML),计算公式为:

$$E_+ = RR_+ = \frac{\sum_{i=1}^k w_i RR_i}{\sum_{i=1}^k w_i} \quad (4)$$

$$w_i = \frac{1}{v_i + \tau_i} \quad (5)$$

$$95\% \text{ 置信区间} = E_+ \pm 1.96 \times \sqrt{\frac{1}{\sum_{i=1}^k w_i}} \quad (6)$$

式中: w_i 为单个研究权重; k 为研究个数; v_i 为研究内方差。

1.4 数据处理

利用 Excel 2021 软件进行文献数据汇总,利用 R 语言中的“ggplot 2”包和 Adobe Illustrator 2022 软件进行绘图。

2 结果与分析

2.1 生防菌剂对饲草作物真菌性病害的总体防效

基于病情指数进行 Meta 分析得出的总体平均效应值 E 为 -0.6905 , 根据自然对数响应比公式换算得出, 施用生防菌剂可显著降低饲草作物真菌性病害的病情指数, 总体防效为 49.85% (表 1)。异质性 Q 值检验得出其显著性 $P < 0.0001$, 表明异质性极强, 需进一步引入解释变量进行分析。此外, 失安全系数法检验发表偏倚结果显示 N 值为 3343 , 而 $5k + 10 = 405$, 表明本研究中 Meta 分析结果受发表偏倚的影响不大, 结论可靠。

表 1 Meta 分析随机效应模型整体结果

Table 1 The overall results of the random-effects model in Meta-analysis

E	k	P_E	Ci. lb	Ci. ub	Q	P_Q	N
-0.6905	79	<0.0001	-0.7915	-0.5895	23165.92	<0.0001	3343

E : 总体平均效应值 Overall average effect size; k : 总体样本量 Total number of studies; P_E : E 值的显著性检验值 Significance test value for E ; Ci. lb: 95% 置信区间下限 Lower bound of the 95% confidence interval for E ; Ci. ub: 95% 置信区间上限 Upper bound of the 95% confidence interval for E ; Q : 整体异质性检验值 Test statistic for overall heterogeneity; P_Q : Q 值的显著性检验值 Significance test value for Q .

2.2 影响生防菌剂对饲草作物真菌性病害防效的主要因素

对 9 个解释变量引起的异质性 Q 值及其显著性检验值进行分析 (表 2), 得出作物种类、菌剂类型、病害类型、病原种类、施用次数和菌剂浓度 6 个影响因素 QM 显著性检验值 $P_{QM} < 0.05$, 表明其对生防菌剂防控饲草作物真菌性病害有显著影响; 而生防菌种、试验类型和施用模式 $P_{QM} > 0.05$, 说明其影响较小。

表 2 解释变量的异质性检验

Table 2 Heterogeneity test of factors

编号 Code	影响因素 Influencing factor	k	QM	P_{QM}
A	作物种类 Species of forage crop	79	22.06	0.001
B	生防菌种 Microbial biocontrol agent	79	37.84	0.080
C	试验类型 Type of experiment	79	2.51	0.113
D	菌剂类型 Type of biocontrol agent	79	6.32	0.042
E	施用模式 Application method	79	8.34	0.080
F	病害类型 Type of disease	79	10.42	0.034
G	病原种类 Species of pathogen	79	82.42	<0.001
H	施用次数 Frequency of application	79	22.37	<0.001
I	菌剂浓度 Concentration of the microbial agent	50	30.62	<0.001

k : 影响因素的样本量 Sample size of the influencing factors; QM : 影响因素异质性 Q 值 Heterogeneity Q value for the influencing factors; P_{QM} : QM 的显著性检验值 Significance test value for QM .

2.3 作物种类对生防菌剂防效的影响

饲草作物种类对生防菌剂防效的影响显著不同 (图 1a)。具体而言, 生防菌剂对三叶草和青贮玉米真菌性病害的防控效果不显著, 对苜蓿 (防效为 63.65%)、燕麦 (50.14%)、鸭茅 (51.86%)、黑麦草 (65.18%) 和箭筈豌豆 (37.69%) 等 5 种饲草作物病害具有显著的防控作用 (图 1b)。

2.4 菌剂类型对生防菌剂防效的影响

3 种菌剂类型的平均效应值相差较大且置信区间均小于 0, 表明单独施用液体菌剂、固体菌剂或复合施用固体和液体菌剂均对饲草作物病害的生防效果具有显著影响 (图 2a)。3 种菌剂类型对饲草作物病害的防效为 $40.37\% \sim 69.88\%$ (图 2b), 其中复合施用固体和液体菌剂的防效最高, 而单独施用固体菌剂的防效最低。

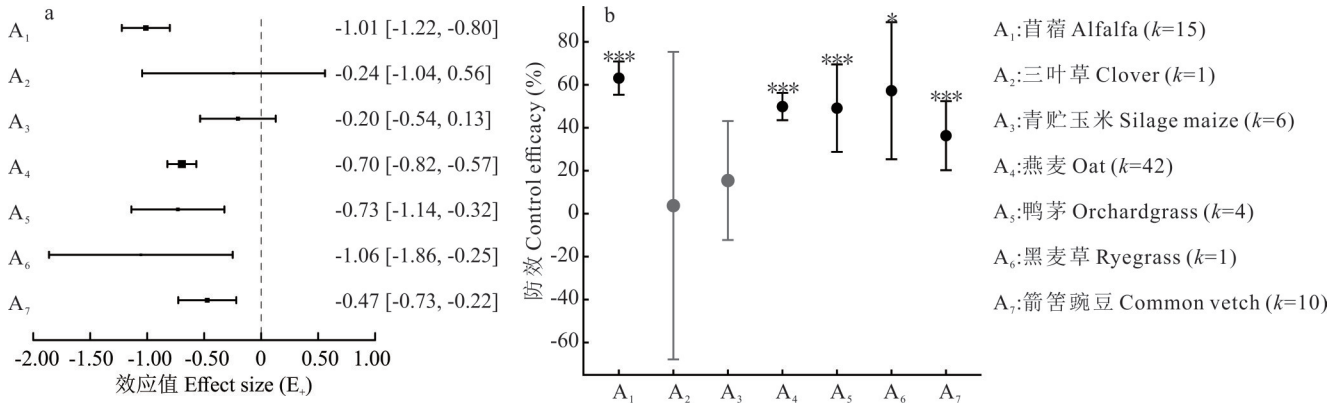


图 1 不同作物种类对生防菌剂防效的影响

Fig. 1 Effects of different forage crop species on the control efficacy of biocontrol agents

a: 病情指数效应值 Disease index effect size; 图中显示加权平均效应值和 95% 置信区间 The Figure shows the weighted average effect size and 95% confidence interval; b: 防效值 Control effect value; 图中圆点表示平均防效值, 点的误差棒表示 95% 置信区间, 灰色代表影响不显著的样本 The dots in the Figure represent the average preventive efficacy, the error bars of the points represent the 95% confidence interval, and the gray represents the samples with no significant influence; 图例中 k 表示样本数 In the legend, k represents the number of samples; *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$; 下同 The same below.

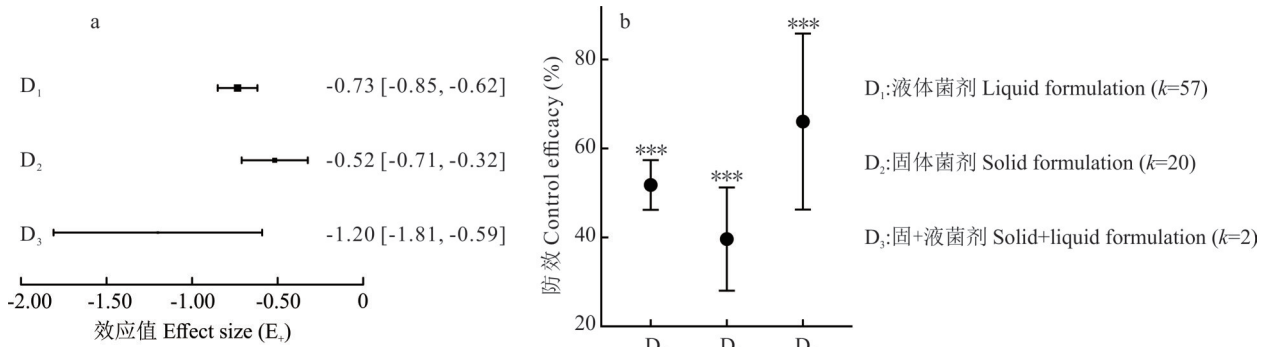


图 2 不同菌剂类型对生防菌剂防效的影响

Fig. 2 Effects of different biocontrol agent type on the control efficacy of biocontrol agents

2.5 病害类型对生防菌剂防效的影响

施用生防菌剂对饲草作物的炭疽病、叶斑病、白粉病、根腐病和锈病等真菌性病害均有显著的防效,其效应值置信区间均小于 0(图 3a)。在根腐病的防控中,生防菌剂的防效最高,达到了 64.87%;白粉病(59.75%)、叶斑病(46.63%)、炭疽病(45.17%)依次降低,锈病防效最低,为 43.22%(图 3b)。

2.6 病原种类对生防菌剂防效的影响

病原种类对生防菌剂防效的影响显著不同(图 4),18 种病原中互隔链格孢(*Alternaria alternata*)、玉蜀黍平脐蠕孢(*Bipolaris maydis*)、大斑凸脐蠕孢(*Exserohilum turcicum*)、菠菜炭疽菌(*Colletotrichum spinaciae*)、白粉菌(*Erysiphe* sp.)、半裸镰刀菌(*Fusarium semitectum*)和条形柄锈菌(*Puccinia sorghi*)置信区间与 0 重叠,表明生防菌剂对这 7 种饲草作物常见病原的防效不显著,对其余 11 种病原具有显著防效(44.23%~82.59%)。

2.7 施用次数对病害生防效果的影响

不同施用次数的效应值置信区间均小于 0,表明其对生防菌剂的防效均具有显著影响(图 5)。具体而言,施用生防菌剂 2 次的防效最高,达到 77.58%;施用 1 和 4 次的防效接近,分别为 48.68% 和 45.23%。

2.8 菌剂浓度对病害生防效果的影响

不同菌剂浓度的效应值置信区间均未与 0 重叠,说明其对生防菌剂的防效具有显著影响(图 6)。其中,当生防菌剂浓度 $\geq 10^9$ CFU·mL⁻¹ 时,其防效可达 80% 以上;当浓度在 10^7 CFU·mL⁻¹ 时,其防效最差,仅为 44.68%。

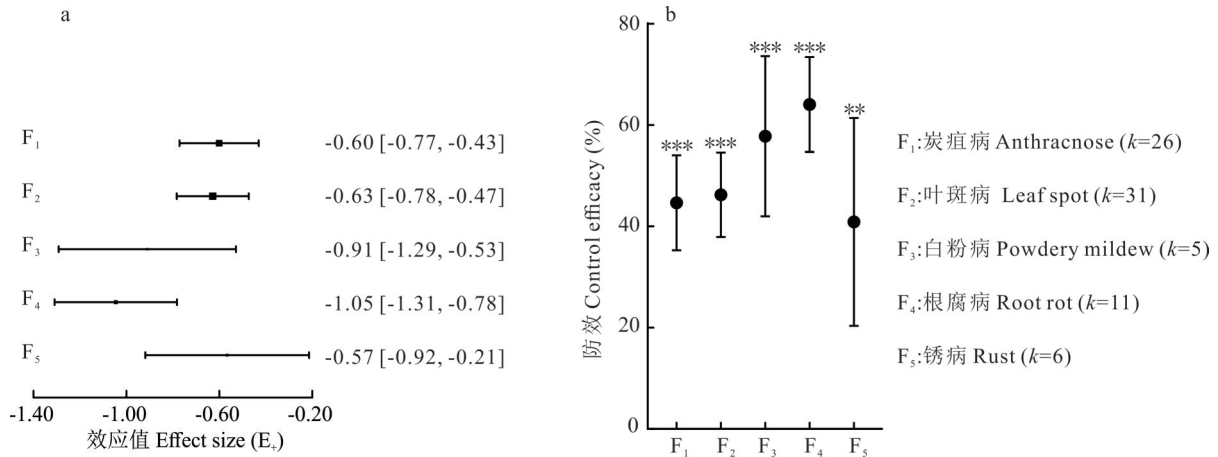
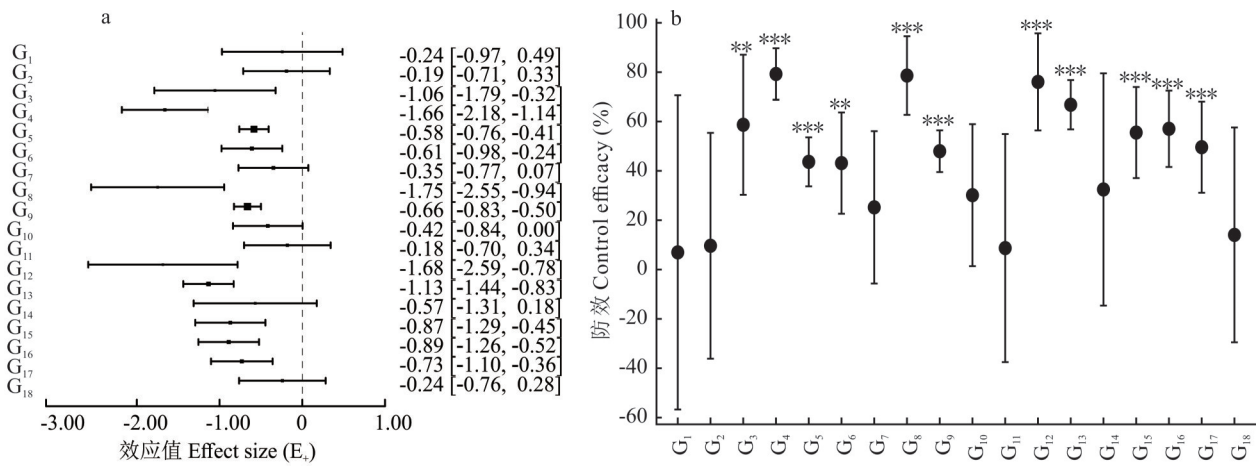


图3 不同病害类型对生防菌剂防效的影响

Fig. 3 Effects of different disease type on the control efficacy of biocontrol agents



- G₁: 互隔链格孢 *A. alternata* (k=1)
- G₂: 玉蜀黍平脐蠕孢 *B. maydis* (k=2)
- G₃: 麦根腐平脐蠕孢 *Bipolaris sorokiniana* (k=1)
- G₄: 禾本科布氏白粉菌燕麦转化型 *Blumeria graminis* (DC.) f. sp. *avenae* (k=2)
- G₅: 燕麦炭疽病菌 *Colletotrichum graminicola* (k=18)
- G₆: 小扁豆刺盘孢 *Colletotrichum lentis* (k=4)
- G₇: 菠菜炭疽菌 *C. spinaciae* (k=3)
- G₈: 平头刺盘孢 *Colletotrichum truncatum* (k=1)
- G₉: 燕麦内脐蠕孢 *Drechslera avenae* (k=21)

- G₁₀: 白粉菌 *Erysiphe* sp. (k=3)
- G₁₁: 大斑凸脐蠕孢 *E. turcicum* (k=2)
- G₁₂: 燕麦镰孢菌 *Fusarium avenaceum* (k=1)
- G₁₃: 尖孢镰刀菌 *Fusarium oxysporum* (k=6)
- G₁₄: 半裸镰刀菌 *F. semitectum* (k=1)
- G₁₅: 腐皮镰刀菌 *Fusarium solani* (k=3)
- G₁₆: 苜蓿茎点霉 *Phoma medicaginis* (k=4)
- G₁₇: 柄锈菌 *Puccinia* sp. (k=4)
- G₁₈: 条形柄锈菌 *P. sorghi* (k=2)

图4 不同病原种类对生防菌剂防效的影响

Fig. 4 Effects of different pathogens on the control efficacy of biocontrol agents

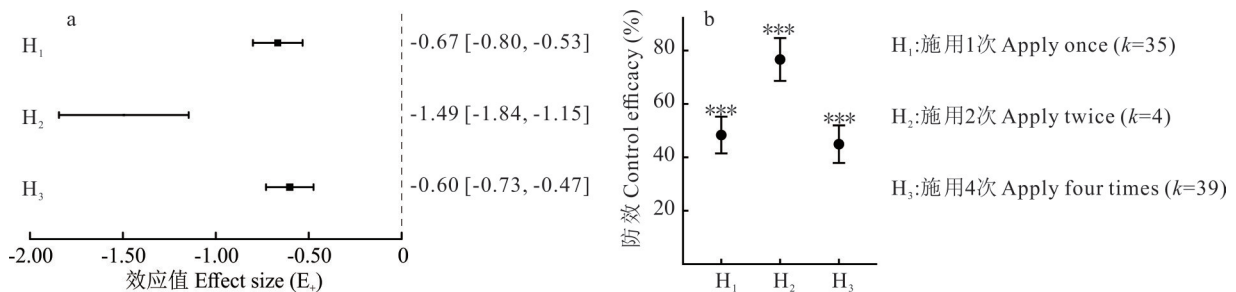


图5 不同施用次数对生防菌剂防效的影响

Fig. 5 Effects of different frequency of application on the control efficacy of biocontrol agents

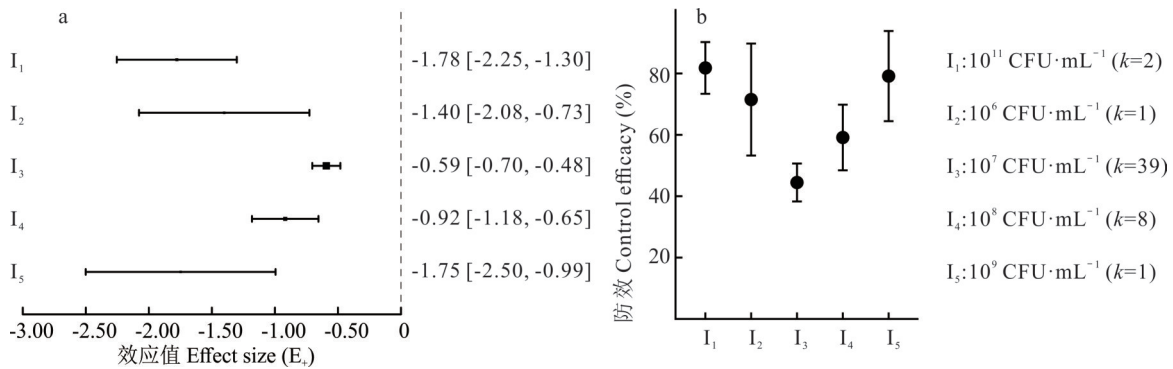


图 6 不同菌剂浓度对生防菌剂防效的影响

Fig. 6 Effects of different concentrations of the microbial agent on the control efficacy of biocontrol agents

3 讨论

本研究汇总提取了 79 组生防菌剂防控饲草作物病害的现有文献数据,采用 Meta 分析得出以有益细菌或真菌为主的微生物菌剂对苜蓿、燕麦、青贮玉米等主要饲草作物常见真菌病害具有显著的防控效果,其总体平均防效达到 49.85%。对各影响因素引起的异质性 Q 值及其 P 值进行排序得出,病原种类、菌剂浓度、施用次数、作物种类、病害类型和菌剂类型 6 种因素对生防菌剂防效影响显著且其影响程度依次降低,而试验类型、施用模式和生防菌种的影响不显著。

3.1 病原种类影响生防菌剂的防效

生防菌剂防控饲草作物病害的防效会因病原菌的不同而变化。首先,本研究发现生防菌剂对同属不同种的病原防效具有显著差异,分别防控 4 种炭疽菌属 (*Colletotrichum*) 和镰刀菌属 (*Fusarium*) 病原时,对其中的菠菜炭疽菌和半裸镰刀菌的防效不显著。徐伟芳等^[36]使用生防细菌抑制 4 种炭疽病菌时也发现其抑菌率差异很大,说明不同菌种与生防菌之间的互作具有特异性。究其原因,一方面可能与病原真菌孢子的传播和生存能力有关。菠菜炭疽菌依靠镰形的分生孢子传播和侵染植物寄主,可传播至菠菜 (*Spinacia oleracea*)、箭筈豌豆、黄芪 (*Astragalus membranaceus*)、紫云英 (*Astragalus sinicus*) 以及藜麦 (*Chenopodium quinoa*) 等不同科属植物叶片上生存并引致病害^[37-41],且在 15~33 °C 的温度下该菌分生孢子生长良好且均可导致病害^[37]。Oliveira 等^[42]以不同接种浓度测定半裸镰刀菌对甜瓜 (*Cucumis melo*) 寄主的致病性时得出,最小的接种浓度 (10 孢子·mL⁻¹) 依然可以导致病害,说明其孢子具有强大的生存能力。另一方面可能与病原真菌产生的次生代谢产物有关。有研究表明,菠菜炭疽菌产生的 20-羟基蜕皮素、2,3,10,11-tetrahydropyrenophorol、 β -谷甾醇等次生代谢产物是首次从炭疽菌物种中分离得到的特有次生代谢物^[43],其中 β -谷甾醇具有广泛的抗菌活性^[44-45]。本研究其他镰刀菌属物种与半裸镰刀菌不同的是其可产生 Fusapyrone 和 Deoxyfusapyrone 两种抗菌次生代谢产物^[46]。其次,生防菌剂虽然对内脐蠕孢菌属 (*Drechslera*) 的 *Drechslera avenae* 以及炭疽菌属的 *C. lentis* 和 *C. graminicola* 的拮抗有显著性,但其防效均低于总体平均防效,今后应重点开展针对这 3 种主要病原真菌的生防菌剂研究。病原真菌是引起饲草作物病害的核心角色,本研究认为针对其生防菌剂筛选的策略应以特异性为首要,广谱性为次要,着重研究生防菌种与病原真菌之间的作用靶点以及互作机制,为高效防控奠定基础。

3.2 菌剂浓度和施用次数影响生防菌剂的防效

本研究得出菌剂浓度和施用次数均对生防菌剂的防效具有显著影响,结果符合预期。本研究中 10⁶、10⁹、10¹¹ CFU·mL⁻¹ 菌剂浓度所纳入的研究文献数据较少,其结果不具有代表性,此处不予讨论。研究中常用的菌剂浓度是 10⁷ 和 10⁸ CFU·mL⁻¹,其中 10⁸ CFU·mL⁻¹ 的生防菌剂防效更优。菌剂浓度决定了施用后参与拮抗病原真菌的生防菌细胞数量,其拮抗策略主要包括营养竞争、产生抑菌物质或诱导寄主抗性等^[47],更大的菌剂浓度有助于生防菌建立更大的优势,以提升防控效果。施用次数也与生防菌的细胞数量有关,但并非次数越多就防效越好。本

研究得出生防菌剂施用2次时防效最好,而施用1或4次的防效均低于总体平均防效。唐清等^[48]采用不同杀菌剂并设置1至4次施用次数防控小麦(*Triticum aestivum*)赤霉病时也发现大多数杀菌剂施用2或3次时防效较好。在实际生产中,要想采用生防菌剂替代化学农药进行病害防控,除了生防菌本身的抑菌能力之外,还需要考虑菌剂生产和施用的成本。综合成本和防效因素,本研究建议菌剂浓度为 10^8 CFU·mL⁻¹,施用次数2次。

3.3 作物种类影响生防菌剂的防效

本研究得出,生防菌剂对豆科饲草三叶草、箭筈豌豆和禾本科青贮玉米的真菌病害防效不佳。其中,三叶草病害生防效果不佳可能是由于纳入研究的样本量太小导致的。近年来,红三叶、白三叶因其抗逆性强、营养价值高而被广泛应用于天然草地改良、人工草地建植以及林下种草等草牧业生产中^[49-50],但其病害研究长期被忽视,采用生防措施防控更是欠缺,今后应加大此方面的研究。箭筈豌豆和青贮玉米对其真菌病害生防效果的影响可能与其自身抗性对生防菌的响应有关。研究表明,生防菌诱导寄主植物产生系统抗性(induced systemic resistance, ISR)是其防治病害的策略之一,如诱导植物产生病程相关蛋白(plant pathogenesis-related protein, PR蛋白)、细胞壁木质素以及抗氧化酶等物质参与抗病^[51]。因此,本研究推测相较于苜蓿等饲草作物,可能生防菌诱导箭筈豌豆和青贮玉米产生的系统抗性较小,导致防效较差。此外,生防菌在植物寄主上的定殖量与生防效果息息相关^[52],箭筈豌豆和青贮玉米根际或叶际等部位分泌的物质可能是影响生防菌防效的重要因素。因此,研究并阐明生防菌剂与饲草作物互作方面的机理或许是提高生防效果的有效途径。

3.4 病害类型和菌剂类型影响生防菌剂的防效

病害类型显著影响生防菌剂的防效,结果显示生防菌剂对饲草作物根腐病的防效(64.87%)最好,对白粉病(59.75%)次之,而对叶斑病(46.63%)、炭疽病(45.17%)和锈病(43.22%)的防效均低于总体平均防效。扈进冬等^[53]探究影响生防木霉菌剂防效因素时发现病害类型也显著影响生防效果,但对根腐病和白粉病的防效较低,本研究结果与其相反。根腐病和白粉病是苜蓿、燕麦等主栽饲草作物的主要病害,其生防菌包含细菌和真菌^[13-14],多样的生防菌种可能提升了该病害的防效。值得注意的是,南方地区青贮玉米等饲草种植面积逐年增大^[15],其适宜的温湿条件使得锈病的发生日益严重,但生防研究还很薄弱,未来应加大此方面研究。此外,菌剂类型也显著影响生防菌防效。固体加液体菌剂的样本量小,不予讨论。单独施用液体菌剂防效优于固体菌剂,操一凡等^[8]评估木霉菌防效时发现固体菌剂优于液体菌剂,本研究结果与其相反。与该研究不同的是,本研究中固体菌剂菌种以生防真菌为主,而液体菌剂菌种以生防细菌为主。因此,菌剂制备时建议生防真菌以固体菌剂为主,而生防细菌以液体菌剂为主。

3.5 对生防菌剂防效影响不显著的因素

本研究发现生防菌种对饲草作物真菌病害防治效果无显著影响,这是分析79组数据得出的总体结果($P_{QM}=0.08$)。也就是说,本研究中纳入的生防菌种总体上对饲草作物真菌病害的生防效果影响不显著。究其原因,虽然生防菌种是多样的,但其在病害防控中采取的防控策略是类似的,如芽孢杆菌属、假单胞菌属(*Pseudomonas*)的生防细菌以及木霉属的生防真菌均可合成次级代谢产物发挥抑菌作用^[54]。此外,试验类型和施用模式对生防效果影响不显著,这与扈进冬等^[53]的结果一致。这可能是由于盆栽和大田等试验类型以及喷施、灌根、层铺等施用模式并不会影响生防菌剂活性物质的释放。

3.6 对饲草作物真菌病害生防研究的启发

Meta整体分析表明生防菌剂对主要饲草作物真菌病害具有显著防效,但总体平均防效尚低于50%,未来可提升的空间很大。结合本研究对影响因素的评估结果,提出以下问题:1) 现有研究主要关注生防菌通过抑菌物质或营养竞争等方式拮抗病原菌,而关于病原菌对生防菌是否有抑制作用研究太少,尤其是在大田环境下;2) 生防菌对饲草作物抗性的诱导以及促生等方面已有研究,而饲草作物对生防菌的影响几乎空白,如作物的代谢产物、内生微生物等是否影响生防菌的定殖和生存;3) 诸多研究表明生防菌在实验室条件下防效很好,但田间应用

时防效不佳,田间环境因素对生防菌的影响知之甚少;4)长期施用生防菌对环境(如草地生态系统)的影响有待研究,如对根际、叶际或土壤微生物以及土壤状况等影响。综上,采用生防菌剂防控饲草作物真菌病害是重要的绿色防控手段,未来应围绕生防菌剂与病原菌、饲草作物、环境之间的相互影响开展全面、系统的研究(图7),为防控饲草作物主要真菌病害的优质菌剂开发提供技术保障。

4 结论

施用生防菌剂对饲草作物真菌病害具有显著的防控效果,但是当病原种类、菌剂浓度、施用次数、作物种类、病害类型和菌剂类型等因素不同时防效会有所差别。总体而言,生防菌种筛选应遵循特异高效的原则,生防菌剂制备时浓度可采用 10^8 CFU·mL⁻¹,生防菌剂施用可分2次进行,现阶段生防菌剂对苜蓿和燕麦的根腐病、白粉病的防效较好。本研究基于现有文献数据评估了影响饲草作物真菌病害生防效果的因素,结果为实际生产中应用生防菌剂防控饲草病害提供了参考。同时要注意的是,由于文献数据缺乏,还有其他影响因素未纳入本研究进行整合分析,未来开展生防菌与病原菌、饲草作物以及环境之间的互作研究是必要的,可为充分挖掘生防菌剂对饲草作物病害的防控潜力奠定基础。

参考文献 References:

- [1] Zhang Y J. The industrial development of forage crops in China. *China Dairy*, 2019(4): 2–9.
张英俊. 我国饲草作物的产业发展. *中国乳业*, 2019(4): 2–9.
- [2] Li Y Z, Yang B. Research progress on alfalfa verticillium wilt caused by *Verticillium alfalfae*. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2024, 54(1): 1–14.
李彦忠, 杨波. 紫花苜蓿黄萎病研究进展. *植物病理学报*, 2024, 54(1): 1–14.
- [3] Li C J, Chen T X, Zhao G Q, *et al.* Progress in research on diseases of *Avena sativa*. *Acta Prataculturae Sinica*, 2017, 26(12): 203–222.
李春杰, 陈泰祥, 赵桂琴, 等. 燕麦病害研究进展. *草业学报*, 2017, 26(12): 203–222.
- [4] Jia Q, Liao G, Chen L, *et al.* Pesticide residues in animal-derived food: Current state and perspectives. *Food Chemistry*, 2024, 438: 137974.
- [5] Montoya-Martínez A C, Ruiz V V, Chávez-Luzanía R A, *et al.* Biological control agents for mitigating plant diseases// Santos-Villalobos S d l. *New insights, trends, and challenges in the development and applications of microbial inoculants in agriculture*. London: Academic Press, 2024: 27–35.
- [6] Raymaekers K, Ponet L, Holtappels D, *et al.* Screening for novel biocontrol agents applicable in plant disease management—A review. *Biological Control*, 2020, 144: 104240.
- [7] Zhuo F Y, Zhang H J, Liu W C, *et al.* Review and prospects on microbiological pesticides used on grain crops in China. *Chinese Journal of Biological Control*, 2023, 39(4): 747–751.
卓富彦, 张宏军, 刘万才, 等. 我国微生物农药在粮食作物上应用回顾及发展建议. *中国生物防治学报*, 2023, 39(4): 747–751.
- [8] Cao Y F, Shen Z Z, Liu S S, *et al.* Evaluation of effect of *Trichoderma* controlling fusarium wilt disease and its influencing factors with Meta-analysis in China. *Acta Pedologica Sinica*, 2019, 56(3): 716–727.
操一凡, 沈宗专, 刘珊珊, 等. Meta分析评估中国木霉对枯萎病防控效果及其影响因素. *土壤学报*, 2019, 56(3): 716–727.
- [9] Lahlali R, Ezrari S, Radouane N, *et al.* Biological control of plant pathogens: A global perspective. *Microorganisms*, 2022, 10(3): 596.

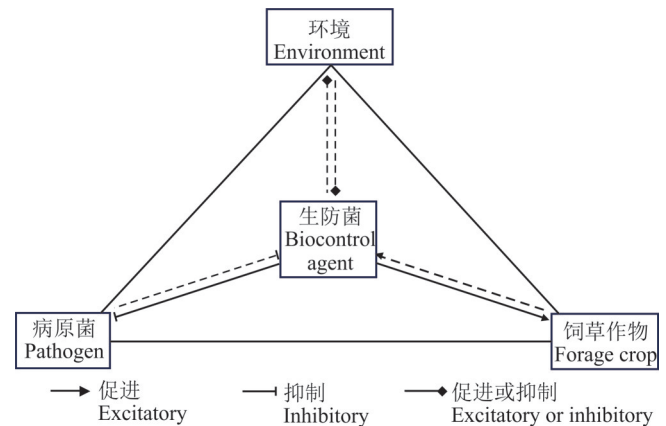


图7 生防菌与病原菌、饲草作物和环境互作示意图

Fig. 7 Schematic diagram of interaction among biocontrol agents and pathogens, forage crops and environment

图中实线表示相关内容已有较多研究;虚线表示相关内容研究较少或空白。In the Figure, the solid line indicates that there has been more research on the related content, while the dotted line indicates that the related content is less or blank.

- [10] Zhang R F, Zhao G Q, Zeng L, *et al.* A study on the effectiveness of bio-medicaments in controlling oat leaf spot. *Pratacultural Science*, 2022, 39(11): 2393–2402.
张睿芳, 赵桂琴, 曾亮, 等. 不同生防药剂对燕麦叶斑病的防治效果. *草业科学*, 2022, 39(11): 2393–2402.
- [11] Ye F C, Ma W L, Yang X L. Control effect of *Bacillus subtilis* Qh-618 on oat leaf spot. *Chinese Journal of Biological Control*, 2021, 37(4): 785–795.
冶福春, 马文林, 杨晓龙. 枯草芽胞杆菌 Qh-618 对燕麦叶斑病防治效果研究. *中国生物防治学报*, 2021, 37(4): 785–795.
- [12] Field A P, Gillett R. How to do a meta-analysis. *British Journal of Mathematical and Statistical Psychology*, 2010, 63(3): 665–694.
- [13] Ren N P, Liu X P, Tang J L, *et al.* Prevention effect of *Penicillium canescens* BIBA-G563 on *Fusarium* root rot of alfalfa. *Chinese Journal of Grassland*, 2023, 45(3): 95–103.
任乃芃, 刘香萍, 唐佳琳, 等. 变灰青霉 BIBA-G563 对紫花苜蓿镰刀菌根腐病的防效. *中国草地学报*, 2023, 45(3): 95–103.
- [14] Sun H Y. Study on resistance evaluation of oat germplasm to powdery mildew and its biocontrol. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2019.
孙浩洋. 燕麦种质白粉病抗性评价及生物防治研究. 兰州: 甘肃农业大学, 2019.
- [15] Liu Y, Zhou S, Zhang Y, *et al.* Field control effects of 5 fungicides on 3 diseases of silage maize. *Plant Protection*, 2019, 45(5): 280–284.
刘勇, 周俗, 张玉, 等. 5 种杀菌剂对青贮玉米 3 种病害的田间防治效果. *植物保护*, 2019, 45(5): 280–284.
- [16] Cai K. Screening, identification, and characterization of endophytic plant growth-promoting and biocontrol bacteria in *Dactylis glomerata*. Chongqing: Southwest University, 2020.
蔡恺. 鸭茅内生促生菌和生防菌的筛选、鉴定及特性研究. 重庆: 西南大学, 2020.
- [17] Zeng L, Chai J K, Zhao G Q, *et al.* Screening, identification and control effect of biocontrol fungi against alfalfa root rot. *Acta Agrestia Sinica*, 2019, 27(4): 825–831.
曾亮, 柴继宽, 赵桂琴, 等. 苜蓿根腐病生防真菌筛选鉴定及其防治效果研究. *草地学报*, 2019, 27(4): 825–831.
- [18] Deng J. Mechanisms of the effects of arbuscular mycorrhizal fungus and grass endophyte on leaf spot of perennial ryegrass. Lanzhou: Lanzhou University, 2021.
邓杰. AM 真菌与禾草内生真菌影响多年生黑麦草叶斑病的机制研究. 兰州: 兰州大学, 2021.
- [19] Gao P. Disease preventing and growth promoting effects of arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobium on alfalfa root rot and leaf spot. Lanzhou: Lanzhou University, 2017.
高萍. 丛枝菌根真菌和根瘤菌对苜蓿根腐病和叶斑病的防病促生作用. 兰州: 兰州大学, 2017.
- [20] Hu J L. Biological control effect and mechanism of *Bacillus amyloliquefaciens* against anthracnose of alfalfa. Lanzhou: Lanzhou University, 2021.
胡进玲. 解淀粉芽孢杆菌对苜蓿炭疽病的生物防治效果及机理研究. 兰州: 兰州大学, 2021.
- [21] Li F X. Damage and biocontrol of anthracnose on four common vetch varieties in Xiahe, Gannan. Lanzhou: Lanzhou University, 2022.
李法喜. 甘南夏河四个箭筈豌豆品种炭疽病的危害与生物防治. 兰州: 兰州大学, 2022.
- [22] Li Y D, Duan T Y. Effects of AM fungi on alfalfa leaf spot caused by *Phoma medicaginis* and pea aphids *Acyrtosiphon pisum*. *Chinese Journal of Ecology*, 2020, 39(4): 1214–1221.
李应德, 段廷玉. AM 真菌对紫花苜蓿茎点霉叶斑病及豌豆蚜为害的影响. *生态学杂志*, 2020, 39(4): 1214–1221.
- [23] Liang W C, Han B, Jiang H T, *et al.* Identification of a *Streptomyces tanashiensis* T2 strain and its control effect on alfalfa root rot. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary*, 2023(23): 77–82, 135–136.
梁文超, 韩冰, 蒋惠婷, 等. 1 株田无链霉菌 T2 的鉴定及其对紫花苜蓿根腐病的防效研究. *黑龙江畜牧兽医*, 2023(23): 77–82, 135–136.
- [24] Liang W C, Han B, Jiang H T, *et al.* Biocontrol effect of *Pseudomonas* S10B9 on *Fusarium* root rot of alfalfa. *Grassland and Turf*, 2023, 43(6): 1–8.
梁文超, 韩冰, 蒋惠婷, 等. 假单胞菌属 S10B9 菌株对紫花苜蓿镰刀菌根腐病的生防作用. *草原与草坪*, 2023, 43(6): 1–8.
- [25] Liu S S, Cheng Y Y, Zhang D, *et al.* Isolation, identification, and biocontrol effects of *Bacillus* spp. from the rhizosphere of alfalfa. *Acta Prataculturæ Sinica*, 2015, 24(9): 96–103.
刘莎莎, 程园园, 张丹, 等. 两株紫花苜蓿根际芽孢杆菌的筛选及生防效果研究. *草业学报*, 2015, 24(9): 96–103.
- [26] Shang N. Study on the control mechanism of white clover disease and the effect on plant growth by *Trichoderma longibrachiatum*. Liaocheng: Liaocheng University, 2021.
商娜. 长枝木霉菌对白三叶草病害的防治机理及其对植物生长影响的研究. 聊城: 聊城大学, 2021.

- [27] Shi Y M, Zhang Y L, Zhang Y, *et al.* Identification of *Bacillus* YB-2 from alfalfa rhizosphere and analysis of its biocontrol and growth-promoting ability. *Journal of Plant Protection*, 2023, 50(2): 391–401.
史怡梦, 张旖璐, 张莹, 等. 紫花苜蓿根际芽胞杆菌 YB-2 的鉴定及其生防和促生能力分析. *植物保护学报*, 2023, 50(2): 391–401.
- [28] Wang H X. Isolation, identification and functional study of endophytic bacteria in oat. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2022.
王海霞. 燕麦内生细菌的分离鉴定及其功能研究. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2022.
- [29] Wang X Y, Ding T T, Li Y Z, *et al.* Effects of an arbuscular mycorrhizal fungus and a rhizobium species on *Medicago sativa* wilt and *Fusarium oxysporum* root rot. *Acta Prataculturae Sinica*, 2019, 28(8): 139–149.
王晓瑜, 丁婷婷, 李彦忠, 等. AM 真菌与根瘤菌对紫花苜蓿镰刀菌萎蔫和根腐病的影响. *草业学报*, 2019, 28(8): 139–149.
- [30] Wen C H. Root rot and its biological control of lucerne growing at Huanxian County, Gansu Province. Lanzhou: Lanzhou University, 2015.
文朝慧. 甘肃环县紫花苜蓿根腐病及其生物防治. 兰州: 兰州大学, 2015.
- [31] Zhang J Q, Wu K L, Zhang X M, *et al.* Identification of a biocontrol strain of oat root rot and its control effect. *Pratacultural Science*, 2021, 38(11): 2266–2273.
张建强, 吴康莉, 张晓梦, 等. 一株燕麦根腐病生防菌的鉴定及其防治效果. *草业科学*, 2021, 38(11): 2266–2273.
- [32] Zhang W Z, Ding T T, Duan T Y. Effect of two kinds of arbuscular mycorrhizal fungi on plant growth and anthracnose of *Vicia sativa*. *Pratacultural Science*, 2020, 37(2): 320–329.
张伟珍, 丁婷婷, 段廷玉. 两种 AM 真菌对箭筈豌豆生长及炭疽病发生的影响. *草业科学*, 2020, 37(2): 320–329.
- [33] Zhang W Z, Duan T Y. Effects of two kinds of AM fungi on *Vicia sativa* powdery mildew. *Ecological Science*, 2020, 39(2): 82–89.
张伟珍, 段廷玉. 两种 AM 真菌对箭筈豌豆白粉病的防治效果. *生态科学*, 2020, 39(2): 82–89.
- [34] Zhang W Z. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on *Vicia sativa* anthracnose. Lanzhou: Lanzhou University, 2019.
张伟珍. 丛枝菌根真菌对箭筈豌豆炭疽病的影响. 兰州: 兰州大学, 2019.
- [35] Luo Y, Hui D, Zhang D. Elevated CO₂ stimulates net accumulations of carbon and nitrogen in land ecosystems: A meta-analysis. *Ecology*, 2006, 87(1): 53–63.
- [36] Xu W F, Li H Y, Zhang H, *et al.* Efficacy and its mechanism of bacterial strain HX0037 on the control of anthracnose disease of *Trichosanthes kirilowii* Maxim. *Biotechnology Bulletin*, 2024, 40(4): 228–241.
徐伟芳, 李贺宇, 张慧, 等. 生防细菌 HX0037 对栝楼炭疽病的防病能力及其机制. *生物技术通报*, 2024, 40(4): 228–241.
- [37] Uysal A, Kurt Ş. Influence of inoculum density, temperature, wetness duration, and leaf age on infection and development of spinach anthracnose caused by the fungal pathogen *Colletotrichum spinaciae*. *European Journal of Plant Pathology*, 2017, 149(4): 1041–1052.
- [38] Wang Q, Duan T Y, Nan Z B. First report of anthracnose caused by *Colletotrichum spinaciae* on *Vicia sativa* in China. *Plant Disease*, 2019, 103(8): 2138.
- [39] Jin M, Yang C, Yang L, *et al.* Isolation and identification of a new *Colletotrichum* species causing anthracnose of *Astragalus membranaceus*. *Crop Protection*, 2021, 143: 105470.
- [40] Li F, Zhu R, Gao F, *et al.* Prior infection by *Colletotrichum spinaciae* lowers the susceptibility to infection by powdery mildew in common vetch. *Plants*, 2024, 13(1): 52.
- [41] Wei L, Li W, Hu R, *et al.* First report of *Colletotrichum spinaciae* causing leaf anthracnose on Quinoa in China. *Plant Disease*, 2023, 107(12): 4028.
- [42] Oliveira M J, Laranjeira D, Câmara M P S, *et al.* Effects of wounding, humidity, temperature, and inoculum concentrations on the severity of corky dry rot caused by *Fusarium semitectum* in melon fruits. *Acta Scientiarum-Agronomy*, 2014, 36(3): 281.
- [43] Ren T. Studies on secondary metabolites and their bioactivities of *Colletotrichum spinaciae* and *Vicia sativa* infected with this pathogenic fungus. Lanzhou: Lanzhou University, 2024.
任婷. 春箭筈豌豆炭疽病植株及病原菌的次生代谢物和生物活性研究. 兰州: 兰州大学, 2024.
- [44] Moosavi B, Liu S, Wang N N, *et al.* The anti-fungal β -sitosterol targets the yeast oxysterol-binding protein Osh4. *Pest Management Science*, 2020, 76(2): 704–711.
- [45] Xie Y, Peng Q, Ji Y, *et al.* Isolation and identification of antibacterial bioactive compounds from *Bacillus megaterium* L2. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 645484.
- [46] Evidente A, Conti L, Altomare C, *et al.* Fusapyrone and deoxyfusapyrone, two antifungal alpha-pyrones from *Fusarium semitectum*. *Natural Toxins*, 1994, 2(1): 4–13.
- [47] Zhang N, Wang Z, Shao J, *et al.* Biocontrol mechanisms of *Bacillus*: Improving the efficiency of green agriculture. *Microbial*

- Biotechnology, 2023, 16(12): 2250–2263.
- [48] Tang Q, Guo Z G, Xie Y L, *et al.* The efficacy of different fungicides applied at different frequencies against *Fusarium* head blight. China Plant Protection, 2017, 37(6): 66–68, 85.
唐清, 郭自国, 谢原利, 等. 不同杀菌剂不同施用次数对小麦赤霉病的防效. 中国植保导刊, 2017, 37(6): 66–68, 85.
- [49] Yu Y W, Xu Z, Miao J X, *et al.* The growing characteristics of perennial ryegrass (*Lolium perenne*) and white clover (*Trifolium repens*) and their coexisted behave performance in mixed pasture. Acta Prataculturae Sinica, 2002, 11(3): 34–39.
于应文, 徐震, 苗建勋, 等. 混播草地中多年生黑麦草与白三叶的生长特性及其共存表现. 草业学报, 2002, 11(3): 34–39.
- [50] Zheng R C, Nan Z B, Duan T Y. Diseases of red clover in Min County, Gansu Province and their effects on the growth and quality of red clover. Acta Agrestia Sinica, 2024, 32(5): 1303–1313.
郑荣春, 南志标, 段廷玉. 甘肃岷县红三叶病害及其对红三叶生长和品质的影响. 草地学报, 2024, 32(5): 1303–1313.
- [51] Li X L, Li Y Z. Research advances in biological control of soil-borne disease. Acta Prataculturae Sinica, 2015, 24(3): 204–212.
李兴龙, 李彦忠. 土传病害生物防治研究进展. 草业学报, 2015, 24(3): 204–212.
- [52] Yang W, Liu S M, Guo J H. Relationship between bacterial colonization and biocontrol efficacy. Chinese Journal of Biological Control, 2010, 26(S1): 90–94.
杨威, 刘苏闵, 郭坚华. 细菌定殖能力与其生物防治功能相关性研究进展. 中国生物防治, 2010, 26(S1): 90–94.
- [53] Hu J D, Liu M M, An S H, *et al.* *Trichoderma* biocontrol agent controlling plant disease and its influencing factors with Meta analysis. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2022, 50(10): 212–216.
扈进冬, 刘敏敏, 安淑辉, 等. 木霉菌剂对植物病害防治效果及其影响因素的Meta分析. 安徽农业科学, 2022, 50(10): 212–216.
- [54] Ayaz M, Li C H, Ali Q, *et al.* Bacterial and fungal biocontrol agents for plant disease protection: Journey from lab to field, current status, challenges, and global perspectives. Molecules, 2023, 28(18): 6735.