解淀粉芽胞杆菌 B9601-Y2 对大白菜软腐病防治效果研究

崔文艳^{1#}, 何朋杰^{1#}, 杨丽娟², 李兴玉^{1,2},
王彪¹, 吴毅歆^{1,2}, 何鹏飞^{1,2*}, 何月秋^{1,2*}

(1. 云南农业大学, 昆明 650201; 2. 微生物菌种筛选与应用国家地方联合工程研究中心, 昆明 650207)

摘要 为了明确解淀粉芽胞杆菌 B9601-Y2(Y2)对大白菜软腐病的防治效果,本研究通过平板对峙和离体生防试验评估了 B9601-Y2 对软腐病的生防潜力,同时采用绿色荧光蛋白标记菌株 Y2-*gfp*,测定其在大白菜植株内的定殖能力,在温室研究了 B9601-Y2 对大白菜软腐病的防治和增产效果。结果表明,B9601-Y2 在 LB 平板和离体植物组织上均能有效地抑制软腐病原菌的生长;淋灌 Y2-*gfp* 发酵液后,标记菌在大白菜根际、根、茎、叶等组织内的种群数量呈现出“先上升后下降最后趋于平稳”的趋势,最终稳定在约 10^3 cfu/g 组织;温室防效试验结果表明,移栽生防苗后淋灌 Y2 菌悬液防治效果最佳,为 62.23%,仅移栽生防苗与移栽普通苗后淋灌 Y2 菌悬液防效分别为 28.87%与 49.48%,大白菜产量分别增加了 146.58%、47.52%及 109.37%。研究结果表明解淀粉芽胞杆菌 B9601-Y2 能够有效防控大白菜软腐病。

关键词 软腐病; 解淀粉芽胞杆菌 B9601-Y2; 土传病害; 漂浮育苗; 生物防治

中图分类号: S 476 **文献标识码:** A **DOI:** 10.16688/j.zwbh.2019038

Control effects of *Bacillus amyloliquefaciens* B9601-Y2 on soft rot of Chinese cabbage

CUI Wenyan^{1#}, HE Pengjie^{1#}, YANG Lijuan², LI Xingyu^{1,2}, WANG Biao¹,
WU Yixin^{1,2}, HE Pengfei^{1,2*}, HE Yueqiu^{1,2*}

(1. Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China; 2. National and Local Joint Engineering Research Center for Screening and Application of Microbial Strains, Kunming 650207, China)

Abstract To determine the control effect of *Bacillus amyloliquefaciens* B9601-Y2 (Y2) against Chinese cabbage soft rot caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (*Pcc*), it was evaluated by the plate confrontation and biocontrol activity tests *in vitro*. Its colonization ability was tested in Chinese cabbage by drenching Y2-*gfp* suspension, a *gfp*-labeled Y2 strain, and soft rot control and yield recovery effects were also studied in the greenhouse. The results indicated that the growth of *Pcc* on LB agar plate and in plant tissue *in vitro* was effectively inhibited by Y2. Y2 population in the rhizosphere, root, stem and leaf of cabbage after drenching showed a trend of rising first, decreasing and then leveling off; finally the colonization density kept at 10^3 cfu/g tissues. Moreover, the control effect of Y2 suspension drenching on Y2-cultured seedlings was 62.23%, while the control effect on Y2-cultured seedlings without Y2 suspension drenching was 28.87% and the control effect of Y2 suspension drenching on the seedlings without Y2-substrate was 49.48%. Meanwhile, the three treatments increased the fresh weight of cabbage by 146.58%, 47.52% and 109.37%, respectively. This study suggested that Y2 could efficiently control soft rot of Chinese cabbage.

Key words soft rot; *Bacillus amyloliquefaciens* B9601-Y2; soil-borne disease; float-seedling; biological control

由果胶杆菌 *Pectobacterium* spp. 引起的细菌性软腐病是大白菜的三大主要病害之一,一般发生在

大白菜结球的中后期,造成极大损失^[1]。与病毒病和霜霉病相比,软腐病在大白菜的种植、运输、储藏

收稿日期: 2019-01-21 修订日期: 2019-04-24

基金项目: 国家重点研发计划(2018YFD0201202)

* 通信作者 E-mail:何鹏飞 nanhudaozhu@sina.com; 何月秋 ynh2007@163.com

为并列第一作者

及销售过程中均会发生^[3]。近年来,国内软腐病发病面积急剧增加,严重危害大白菜等重要蔬菜作物的生产。果胶杆菌可随灌溉用水、大白菜的运输与贮藏及人类活动而传播,且对自然环境适应性强,是自然条件下地理分布与寄主范围最为广泛的植物病原菌之一^[4]。在田间一旦发现明显的软腐症状后再采取防治措施往往很难取得理想的防治效果。培育抗病品种是防治病害的最好选择,但是我国主栽大白菜品种对软腐病的抗性不理想;化学防治虽然有效但由于其对环境 and 农产品安全具有负面影响而难以成为首选;生物防治一般说来较为安全,已成为经济和有效的防控手段之一。

芽胞杆菌是最重要的植物病害生防资源菌之一,以其高效性和安全性而著称,能够拮抗常见的主要植物病原菌^[5-6]。解淀粉芽胞杆菌 *Bacillus amyloliquefaciens* B9601-Y2(下称 Y2)分离自小麦根际土壤,对多种植物病害有良好的生防效果,应用潜力巨大^[7-8],但是否能够防控大白菜软腐病仍不清楚。本文就室内拮抗、离体生防活性测试、植株内的定殖及温室防效等进行了初步研究,以期为大白菜软腐病的生物防治及 Y2 在农业生产中的应用提供参考。

1 材料与方 法

1.1 材 料

供试菌株:解淀粉芽胞杆菌 Y2 及其绿色荧光蛋白(GFP)标记菌株 Y2-*gfp* (下称 Y2-*gfp*)均系本实验室自有知识产权保存菌株(-80℃保存)。大白菜软腐病菌 *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Pcc),编号 E1(下称 E1),由本实验室分离鉴定保存。

供试品种与样品:‘青岛 83-1’是高感软腐病的大白菜品种,种子购自昆明市安宁市青龙镇农贸市场。健康的大白菜植株、黄瓜及马铃薯均购自昆明市龙头街农贸市场。商业育苗基质由微生物菌种筛选与应用国家地方联合工程研究中心提供。

1.2 试 验 方 法

1.2.1 E1 与 Y2 菌悬液的制备

分别挑取 E1 和 Y2 单菌落于 LB 液体培养基中,37℃、160 r/min 的条件下振荡培养 48 h,使用涂板梯度稀释法检测菌落数量后使用 PBS 缓冲液(pH 7.0)重悬备用。

1.2.2 室内平板拮抗试验

吸取 200 μ L 1×10^6 cfu/mL 的 E1 菌悬液至不同 LB 固体平板,使用涂布器轻轻涂布均匀,再使用

移液枪吸取 10 μ L Y2 菌悬液(1×10^7 cfu/mL)点滴到平板中央。以滴加等量 PBS 缓冲液作为阴性对照。每个处理 3 次重复。28℃ 恒温培养 24 h 后测定 Y2 菌落与抑菌圈的半径^[1]。

1.2.3 室内离体试验

参考 Garge 等^[9]的方法开展离体试验,略有修改。将健康的大白菜叶柄用水冲洗干净并表面消毒后,用灭菌水清洗干净,然后使用灭菌水果刀将其切割成碎片,大小约(3.5~4.0)cm $\times$ (5.5~6.5)cm。使用相同的方法将黄瓜及马铃薯切成厚约 0.5 cm 薄片备用。

1.2.3.1 Y2 的致病性测试

将大白菜叶柄碎片及黄瓜、马铃薯薄片放入预先铺有滤纸且润湿的无菌培养皿中,每皿 1 片。使用移液枪吸取 1×10^8 cfu/mL 的 Y2 菌悬液注射待测试的组织,每块组织碎片接种 10 μ L。重复 3 次,28℃ 恒温培养 24 h 后观察结果。

1.2.3.2 离体拮抗测试

预先将 Y2 与 E1 的菌悬液混合制备成混合接种液(终浓度均为 1×10^8 cfu/mL)。采用上文方法将 10 μ L 的混合接种液注射待测试的组织,接种等量无菌 PBS 缓冲液为阴性对照及 E1 重悬液(10^8 cfu/mL)为阳性对照。每个处理 3 次重复,28℃ 恒温培养 24 h 后观察结果,记录腐烂斑块与组织块的面积并统计腐烂率。腐烂率=腐烂表面积/组织总表面积 $\times 100\%$ 。

1.2.4 Y2 在大白菜根围和植株内的动态监测与回收

挑取 Y2-*gfp* 单菌落于 LB(含 10 μ g/mL 氯霉素)液体选择性培养基中,37℃、160 r/min 的条件下振荡培养 48 h。然后于 12 000 g 的条件下室温离心 2 min,弃上清收集菌体后加入等体积的无菌 PBS 缓冲液(pH 7.0)重悬菌体。相同方法重复离心 1 次,并使用 PBS 缓冲液重悬菌体至终浓度为 1×10^7 cfu/mL,4℃ 保存备用。

将无菌自然土分装入 21 cm $\times$ 21 cm 的营养盆内,将健康饱满的大白菜种子表面消毒^[10]后播种。出苗 7 d 后,选取长势一致的大白菜幼苗作为试验材料,采用淋灌的方法接种 Y2 菌体悬浮液。淋灌:将 Y2 菌悬液自幼苗茎部轻柔自上淋下,每盆均匀淋灌 100 mL Y2-*gfp* 的重悬液,淋灌时须保持土壤湿润但不能有水从盆底流出且不能溅至盆外。本试验同时设立野生型 Y2 和无菌水两个处理,每个处理设置 3 个重复。

在处理第 1、3、5、7、10、15、25、35、45 天分别

取样,结合选择性培养与光电折射仪,采用梯度稀释涂板法回收监测标记菌在大白菜的根际土、根、茎以及叶的定殖数量^[11-12]。

1.2.5 温室防病试验

1.2.5.1 生防育苗基质准备

生防育苗基质:加入一定量 Y2 菌悬液与自来水至商业育苗基质中(终浓度 1×10^7 cfu/g 基质),充分混匀后装入育苗盘内备用。普通育苗基质:加入等量的 PBS 缓冲液与自来水至商业育苗基质中,充分混匀后装入育苗盘内备用。

1.2.5.2 漂浮育苗

参考汪汉成等^[13]的方法进行育苗,略有改动。选取健康饱满的大白菜种子表面消毒后播种于预装有普通育苗基质或生防育苗基质的育苗盘(160 孔/盘)中,然后分别放入专门的育苗池内生长(下文中两处理的幼苗分别简称普通苗和生防苗)。每穴播种 3 颗种子,出苗 3 d 后每穴保留长势一致的幼苗 2 株。待大白菜幼苗长至 20 d 苗龄时备用。

1.2.5.3 温室试验设计

从漂盘内选取长势一致的大白菜幼苗移栽入温室内,每塘种植 1 株。移栽后第 2 天按照以下 4 种方式处理:CK,移栽普通苗,每塘淋灌 100 mL E1 菌悬液(1×10^6 cfu/mL);T1,移栽生防苗,每塘淋灌 100 mL E1 菌悬液(1×10^6 cfu/mL);T2,移栽普通苗,每塘淋灌 100 mL E1 菌悬液(1×10^6 cfu/mL),同时分别于移栽后第 2、9、16、23 天淋灌 100 mL Y2 菌悬液(1×10^7 cfu/mL);T3,移栽生防苗,后续处理方式与 T1 一致。温室试验地按面积划分为 12 个小区(约 20 m²/小区),3 种处理方式均匀分布在试验地内。

出苗 60 d 后采收大白菜,将所有大白菜小心拔起,用清水冲洗干净后调查病株数、病情等级,计算发病率、病情指数、防治效果,称量大白菜植株地上部鲜重并计算增产率^[1,8]。

根据离体试验中大白菜叶片被软腐病原菌侵染后出现的表型,并参考大白菜软腐病的单株分级标准^[1],将软腐病情按严重程度分为以下 5 个等级:0 级,无症状;1 级,仅外围叶片有极轻微的少量病斑,呈水浸状;2 级,外围叶片有明显可见的病斑;3 级,外围叶片部分腐烂且部分内部叶片有明显可见的病斑;4 级:植株大部分叶片叶柄大部分或全部腐烂。

发病率 = 病株数 / 调查总株数 $\times 100\%$;

病情指数 = $\Sigma(\text{病情等级} \times \text{病株数量}) / (4 \times \text{调查总株数}) \times 100$;

防治效果 = (对照区病情指数 - 处理区病情指

数) / 对照区病情指数 $\times 100\%$;

大白菜增产率 = (处理区地上部鲜重 - 对照区地上部鲜重) / 对照区地上部鲜重 $\times 100\%$ 。

1.3 数据分析

运用 SPSS 22.0 软件对试验数据进行单因素方差分析,采用 Duncan 氏新复极差法进行差异显著性检验($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 Y2 对大白菜软腐病菌的抑制作用

24 h 对峙培养后,与只接种 PBS 缓冲液相比,接种 Y2 菌悬液处理 Y2 菌落半径为(6.1 $\pm$ 0.2)mm,菌落周围观察到(8.4 $\pm$ 0.3)mm 的抑菌圈,表明 Y2 对果胶杆菌 E1 的生长有良好的抑制作用。

2.2 Y2 离体生防活性潜力评估

2.2.1 Y2 的无致病性测试

将 Y2 菌悬液注射接种至健康大白菜叶柄、黄瓜果实及马铃薯块茎 24 h 后,均未观察到浸渍症状(图 1b)。表明 Y2 不会引起软腐病,可用于后续的生防试验。

2.2.2 Y2 离体生防活性测试

各处理间软腐症状的严重程度差异显著(图 1 与表 1)。与空白对照(图 1a,接种灭菌水)相比,接种果胶杆菌 E1 后,黄瓜、马铃薯及大白菜测试组织上均出现了可见的严重腐烂斑块(图 1c),腐烂率分别达 66.35%、35.34% 及 44.37%。然而,当植物组织接种入 E1 和 Y2 的混合接种液后,腐烂的面积均显著减小(图 1d),其中黄瓜、马铃薯及大白菜测试组织的腐烂率分别下降了 32.47%、11.67% 及 23.26%,离体防效依次达 48.94%、33.02% 及 52.42%。

2.3 Y2-gfp 在大白菜根际土壤及植株内的定殖能力

在淋灌生防菌 Y2-gfp 菌悬液 1 d 后,大白菜的根系内即可检测到 Y2-gfp 菌株的存在,密度达 1.4×10^3 cfu/g 根,随着取样时间的推移,根系内菌落密度呈现出“先上升后下降,最后维持稳定”的趋势(图 2)。淋灌标记菌后第 10 天,大白菜根系内 Y2-gfp 菌落密度达到顶峰(1.1×10^4 cfu/g 根),此后逐渐下降,并在淋灌处理 15 d 后菌落定殖密度稳定在 $2 \times 10^3 \sim 5 \times 10^3$ cfu/g。在大白菜的茎、叶及根际土壤中,Y2 表现出相似的定殖规律,淋灌处理 45 d 后根际土壤中菌落数量仍然稳定在 2×10^4 cfu/g 土壤。接种 15 d 后 Y2-gfp 在叶组织中的定殖密度始终高于茎组织(约 3~5 倍),这可能与大白菜的叶片内营养更丰富有关。

图 1 解淀粉芽胞杆菌 Y2 在马铃薯、黄瓜和大白菜上对软腐病的离体生防效果

Fig. 1 Biocontrol effects of *Bacillus amyloliquefaciens* Y2 on soft rot of potato, cucumber and Chinese cabbage *in vitro*

表 1 解淀粉芽胞杆菌 Y2 对软腐病的离体生活活性¹⁾

Table 1 Biocontrol activity of *Bacillus amyloliquefaciens*

Y2 on soft rot *in vitro*

处理 Treatment	腐烂率/% Rotting rate		
	黄瓜 Cucumber	马铃薯 Potato	大白菜 Chinese cabbage
E1	(66.35±3.02)a	(35.34±0.81)a	(44.37±2.04)a
E1+Y2	(33.88±3.28)b	(23.67±1.63)b	(21.09±1.06)b

1) 表中数据为平均值±标准误, 同列数据后不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。下同。

The data in the table are mean±SE. Different letters in the same column indicate significant differences ($P < 0.05$). The same below.

图 2 淋灌的解淀粉芽胞杆菌绿色荧光蛋白标记菌株 Y2-gfp 在大白菜根、茎、叶内及根际土壤中的定殖量

Fig. 2 Colonization of *Bacillus amyloliquefaciens* Y2-gfp in root, stem, leaf and rhizosphere soil of Chinese cabbage by drenching

2.4 Y2 对软腐病防治效果

与空白对照相比, Y2 所有处理的病情指数均显著下降 ($P < 0.05$), 有效地减轻了软腐病对大白菜的危害(表 2)。其中, 仅移栽生防苗(T1)或移栽普通苗但淋灌 Y2 菌悬液(T2), 并不减少软腐病的发病率, 而病情指数由对照组的 67.36 分别显著下降到 47.92 及 34.03, 相应防治效果为 28.87% 与 49.48%。移栽生防苗后连续淋灌 4 次生防菌悬浮液(T3)的防控效果最好, 软腐病的发病率、病情指数和防治效果分别为 69.44%、25.44 和 62.23%, 表明同时在育苗与栽培阶段接种 Y2 更有利于软腐病的防控。不同处理的大白菜地上部产量总体上与其防病效果呈正相关, 淋灌 Y2 的保产增收效果显著高于仅移栽生防苗处理, 其中 T2 和 T3 增产 109.37% 和 146.58%, 显著高于 T1 的增产效果(47.52%)。

3 讨论

随着人类对农业生态、环境污染及食品安全的关注, 开发高效低毒生防制剂替代化学农药防控植物病害, 特别是粮油作物病害逐渐成为现阶段植保研究的热点^[14], 大量具有生防效应的微生物被开发

成生防制剂用于农业生产^[1,9]。本文以解淀粉芽胞杆菌 Y2 为材料研究了其对大白菜软腐病的生防效果。Y2 无论是在室内平板对峙,还是离体生防活性试验中均能有效地抑制软腐病病原菌的生长。在离体条件下,Y2 在黄瓜、马铃薯与大白菜组织上对软腐病都有良好的生防效果,离体防效分别为 48.94%、33.02%及 52.42%,这可能与 Y2 和果胶

杆菌 E1 在不同作物组织上的生长及侵染速度不同有关^[9]。离体试验结果也表明 Y2 对不同作物有良好的适应性,Wang 等^[15]在广东省发现一株解淀粉芽胞杆菌能够侵染马铃薯并在其块茎上形成典型的软腐病症状,而 Y2 在离体条件下对黄瓜、马铃薯及大白菜测试组织均安全无害,展现出了防控软腐病的生防潜力。

表 2 淋灌解淀粉芽胞杆菌 Y2 对大白菜软腐病的防病效果及对大白菜增产效果¹⁾

Table 2 Soft rot control and yield increase effect of *Bacillus amyloliquefaciens* Y2 by drenching

处理 Treatment	发病率/% Incidence	病情指数 Disease index	防治效果/% Control effect	产量/kg·m ⁻² Yield
CK	(100.00±0.00)a	(67.36±1.20)a	—	(10.67±1.56)d
T1	(97.22±4.81)a	(47.92±5.51)b	(28.87±8.18)c	(15.74±2.98)c
T2	(94.44±9.62)a	(34.03±4.34)c	(49.48±6.44)b	(22.34±3.32)b
T3	(69.44±12.73)b	(25.44±3.18)d	(62.23±4.72)a	(26.31±2.79)a

1) CK: 移栽普通苗; T1: 移栽生防苗; T2: 移栽普通苗,移栽后第 2、9、16、23 天淋灌 Y2 菌悬液; T3: 移栽生防苗,移栽后第 2、9、16、23 天淋灌 Y2 菌悬液。

CK: Chinese cabbage seedlings grown in inorganic substrate before transplanting; T1: In bio-organic substrate before transplanting; T2: In inorganic substrate before transplanting but treated by drenching Y2 suspension after transplanting at 2, 9, 16, 23 d, respectively; T3: In bio-organic substrate before transplanting but treated by drenching Y2 suspension after transplanting at 2, 9, 16, 23 d, respectively.

目前国内外利用生防菌来防治软腐病有较多报道,但大多在室内抑菌效果较好,在田间生防效果不佳,或田间效果好但是防效不稳定,这可能是在复杂多变的田间环境中,生防菌的存活、定殖能力、与病原菌营养竞争能力及与土壤微生物协同共存受到威胁等有关^[1,16]。本研究中使用绿色荧光标记菌株 Y2-*gfp* 为材料,研究其在大白菜根际土壤及植株内的定殖能力后发现,Y2 通过淋灌后不仅能够在植株根际土壤内存活,还能够快速定殖到大白菜植株内,优先占据生态位点,在 45 d 后,细菌数量仍能稳定在 10³ cfu/g 组织,从而能够有效发挥生防作用。故与对照相比,即使仅在漂浮育苗阶段使用生防育苗基质(含 Y2 10³ cfu/g 基质),对软腐病也有一定的防治效果(28.87%);移栽生防苗后连续淋灌 4 次 1×10⁷ cfu/mL 的 Y2 菌悬液,防效达 49.48%,它们的防治效果均低于移栽生防苗后淋灌同等浓度发酵液的处理(62.23%),后者出现双重叠加防效,这可能与这种处理方式下育苗阶段 Y2 已经占据大白菜根系、茎等组织的生态位点抑制病原菌的入侵^[5,16],同时温室种植阶段淋灌的 Y2 菌悬液又直接杀死大量病原菌或抢夺根际土壤内营养物质而影响病原菌的存活、繁殖有关^[16-17]。无论是育苗阶段,还是温室种植阶段,应用 Y2 后均可以使大白菜的产量增加

47.52%~146.58%,提高品质,产量增加与对病害的防效呈正相关,这些试验结果表明,合理的应用生防菌 Y2,能够有效地防控大白菜软腐病,减少软腐病造成的经济损失,还为其他作物难防病害提供一个范例,即减少化学农药的使用,在育苗与移栽后种植阶段同时应用生防制剂,可以更高效地防控植物难防病害。

参考文献

[1] TSUDA K, TSUJI G, HIGASHIYAMA M, et al. Biological control of bacterial soft rot in Chinese cabbage by *Lactobacillus plantarum* strain BY under field conditions [J]. *Biological Control*, 2016, 100: 63-69.

[2] 马燕勤,李勤菲,司军,等.甘蓝抗软腐病离体鉴定方法探究[J].*植物保护*,2018,44(6):136-140.

[3] 史国立,崔崇士,张耀伟.大白菜对软腐病抗性的快速鉴定方法研究[J].*植物保护*,2006,32(6):135-138.

[4] CHARKOWSKI A O. The soft rot *Erwinia* [M]//*Plant-associated bacteria*. Springer, Dordrecht, 2007: 423-505.

[5] 马佳,李颖,胡栋,等.芽胞杆菌生物防治作用机理与应用研究进展[J].*中国生物防治学报*,2018,34(4):639-648.

[6] CHOWDHURY S P, HARTMANN A, GAO Xuewen, et al. Biocontrol mechanism by root-associated *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42-a review [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 780.

2731 - 2739.

- [23] GRICE E A, KONG H H, CONLAN S, et al. Topographical and temporal diversity of the human skin microbiome [J]. *Science*, 2009, 324(5931): 1190 - 1192.
- [24] SANCHEZ-CONTRERAS M, VLISIDOU I. The diversity of insect bacteria interactions and its applications for disease control [J]. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 2008, 25(1): 303 - 344.
- [25] BUCHNER P. Symbiosis in animals which suck plant juices, in endosymbiosis of animals with plant microorganisms [M]. New York: Interscience, 1965: 210 - 432.
- [26] CHEN Deqiao, CAMPBELL B C, PURCELL A H. A new *Rickettsia* from a herbivorous insect, the pea aphid *Acyrtosiphon pisum* (Harris) [J]. *Current Microbiology*, 1996, 33(2): 123 - 128.
- [27] LI Tong, XIAO Jinhua, XU Zhaohuan, et al. A possibly new

Rickettsia-like genus symbiont is found in chinese wheat pest aphid, *Sitobion miscanthi* (Hemiptera: Aphididae) [J]. *Journal of Invertebrate Pathology*, 2011, 106(3): 418 - 421.

- [28] FUKATSU T, TSUCHIDA T, NIKOH N, et al. *Spiroplasma* symbiont of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum* (Insecta: Homoptera) [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67(3): 1284 - 1291.
- [29] KOGA R, TSUCHIDA T, FUKATSU T. Changing partners in an obligate symbiosis; a facultative endosymbiont can compensate for loss of the essential endosymbiont *Buchnera* in an aphid [J]. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2003, 270(1533): 2543 - 2550.
- [30] LI Tong, XIAO Jinhua, XU Zhaohuan, et al. Cellular tropism, population dynamics, host range and taxonomic status of an aphid secondary symbiont, SMLS (*Sitobion miscanthi* L type symbiont) [J/OL]. *PLoS ONE*, 2011, 6(7): e21944.

(责任编辑: 田 喆)

(上接 116 页)

- [7] 谢兰芬, 何鹏飞, 吴毅敬, 等. 解淀粉芽孢杆菌 B9601-Y2 对玉米叶斑病的防治效果 [J]. *玉米科学*, 2017, 25(2): 130 - 135.
- [8] 崔文艳, 何朋杰, 尚娟, 等. 解淀粉芽孢杆菌 B9601-Y2 对玉米的防病促生长效果研究 [J]. *玉米科学*, 2015, 23(5): 153 - 158.
- [9] GARGE S S, NERURKAR A S. Evaluation of quorum quenching *Bacillus* spp. for their biocontrol traits against *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* causing soft rot [J]. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2017, 9: 48 - 57.
- [10] LIU Chunming, YANG Zhenfu, HE Pengfei, et al. Deciphering the bacterial and fungal communities in clubroot-affected cabbage rhizosphere treated with *Bacillus subtilis* XF-1 [J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2018, 256: 12 - 22.
- [11] SHAO Jiahui, XU Zhihui, ZHANG Nan, et al. Contribution of indole-3-acetic acid in the plant growth promotion by the rhizospheric strain *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2015, 51(3): 321 - 330.
- [12] 何鹏飞. B9601-Y2 菌株的基因组解析及部分功能验证 [D].

武汉: 华中农业大学, 2014.

- [13] 汪汉成, 杨双剑, 许冬青, 等. 苯并噻二唑对漂浮育苗烟草白粉病的诱导抗性及其对烟苗安全性研究 [J]. *植物保护*, 2012, 38(6): 123 - 126.
- [14] 邱德文. 生物农药研究进展与未来展望 [J]. *植物保护*, 2013, 39(5): 81 - 89.
- [15] WANG Li, LI Xiaobao, SUO Haicui, et al. Soft rot of potatoes caused by *Bacillus amyloliquefaciens* in Guangdong province, China [J]. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 2017, 39(4): 533 - 539.
- [16] DES ESSARTS Y R, CIGNA J, QUÉTU-LAURENT A, et al. Biocontrol of the potato blackleg and soft rot diseases caused by *Dickeya dianthicola* [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2016, 82(1): 268 - 278.
- [17] HE Pengjie, CUI Wenyan, MUNIR S, et al. *Plasmodiophora brassicae* root hair interaction and control by *Bacillus subtilis* XF-1 in Chinese cabbage [J]. *Biological Control*, 2019, 128: 56 - 63.

(责任编辑: 田 喆)

(上接 128 页)

- [9] 陈绘画, 王坚妮, 徐志宏, 等. 基于响应面方法的马尾松毛虫发生量混沌特性检测及其预测 [J]. *东北林业大学学报*, 2011, 39(9): 94 - 96.
- [10] 田万银, 徐华潮. 浙江沿海防护林马尾松毛虫的预测预报模型 [J]. *环境昆虫学报*, 2012, 34(4): 401 - 406.
- [11] 费海泽, 王鸿斌, 孔祥波, 等. 马尾松毛虫发生相关气象因子筛选及预测 [J]. *东北林业大学学报*, 2014, 41(1): 136 - 140.
- [12] 王庆, 毕猛, 杜婷, 等. 基于气象因子的马尾松毛虫发生率空间格局研究 [J]. *林业科学研究*, 2016, 29(2): 256 - 260.

- [13] 张孝羲. 昆虫生态及预测预报 [M]. 第 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2006: 205 - 221.

- [14] 许章华, 李聪慧, 刘健. 马尾松毛虫害等级的 Fisher 判别分析 [J]. *农业机械学报*, 2014, 45(6): 401 - 406.
- [15] 徐克学. 生物数学 [M]. 北京: 科学出版社, 2002: 40 - 50.
- [16] 周夏芝, 王振兴, 余燕, 等. 马尾松毛虫幼虫高峰期发生量的预测模型研究 [J]. *应用昆虫学报*, 2017, 54(6): 1031 - 1043.

(责任编辑: 田 喆)