



黄馨玉,朱晓峰,王媛媛,刘晓宇,赵迪,杨宁,段玉玺,陈立杰,范海燕. 贝莱斯芽胞杆菌Sneb2562的鉴定及其对黄瓜根结线虫病的防效[J]. 中国农业大学学报, 2025,30(11):27-39.

HUANG Xinyu, ZHU Xiaofeng, WANG Yuanyuan, LIU Xiaoyu, ZHAO Di, YANG Ning, DUAN Yuxi, CHEN Lijie, FAN Haiyan. Identification of *Bacillus velezensis* Sneb2562 and its efficacy in controlling cucumber root knot nematode disease[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2025,30(11):27-39.

DOI: 10.11841/j.issn.1007-4333.2025.11.03

贝莱斯芽胞杆菌 Sneb2562 的鉴定及其对黄瓜根结线虫病的防效

黄馨玉¹ 朱晓峰¹ 王媛媛² 刘晓宇³ 赵迪⁴ 杨宁¹ 段玉玺¹
陈立杰¹ 范海燕^{1*}

(1. 沈阳农业大学 植物保护学院, 沈阳 110866;

2. 沈阳农业大学 生命科学与技术学院, 沈阳 110866;

3. 沈阳农业大学 理学院, 沈阳 110866;

4. 沈阳农业大学 分析测试中心, 沈阳 110866)

摘 要 为筛选能有效防治黄瓜根结线虫病的微生物资源,通过离体线虫毒性试验从本实验室保存的52株细菌中筛选优良菌株,对筛选得到的菌株形态特征、生理生化和分子生物学特性进行鉴定,并测定其对根结线虫卵孵化的抑制率及黄瓜种子萌发率的影响,通过盆栽及田间试验分析其对黄瓜根结线虫病的防治效果。结果表明:从52株细菌中筛选到1株对南方根结线虫二龄幼虫(J2)具有良好毒杀活性的菌株Sneb2562,对J2处理24 h的致死率为79.25%;结合形态特征、生理生化特性以及分子生物学方法将其鉴定为贝莱斯芽胞杆菌(*Bacillus velezensis*);Sneb2562处理能显著抑制线虫卵的孵化,具有产蛋白酶、磷酸酯酶、淀粉酶和解磷能力,且处理后的黄瓜种子发芽率比LB液体培养基(LB)高4.00%($P>0.05$)。盆栽试验结果显示,Sneb2562可显著减少线虫侵染后黄瓜植株的根结数量,根结减退率和防治效果分别为50.27%和52.00%;该菌株能显著增加黄瓜植株株高和株鲜重,与LB相比,株高和株鲜重分别升高16.05%和63.68%($P<0.05$)。此外,2024年第1次田间试验结果表明,Sneb2562对黄瓜根结线虫病防治效果为42.03%,其处理的黄瓜植株鲜重与LB相比显著增加4.01%($P<0.05$),第2次田间试验结果表明,Sneb2562对黄瓜根结线虫病田间的防治效果为53.73%,其处理的黄瓜植株株高、株鲜重比LB分别增加25.18 cm、29.41 g($P<0.05$)。综上,贝莱斯芽胞杆菌Sneb2562能有效防治黄瓜根结线虫病,具有开发应用潜力,可作为该病害新的潜在生物防治资源。

关键词 南方根结线虫;芽胞杆菌;鉴定;防治效果

中图分类号 S476

文章编号 1007-4333(2025)11-0027-13

文献标志码 A

Identification of *Bacillus velezensis* Sneb2562 and its efficacy in controlling cucumber root knot nematode disease

HUANG Xinyu¹, ZHU Xiaofeng¹, WANG Yuanyuan², LIU Xiaoyu³, ZHAO Di⁴, YANG Ning¹,
DUAN Yuxi¹, CHEN Lijie¹, FAN Haiyan^{1*}

(1. College of Plant Protection, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China;

2. College of Biotechnology, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China;

3. College of Science, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China;

4. Analysis and Test Center, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China)

收稿日期: 2025-02-09

基金项目: 中国博士后科学基金(2022T150442, 2021M692234);国家寄生虫资源库(NPRC-2019-194-30);国家自然科学基金(32372481)

第一作者: 黄馨玉(ORCID:0009-0009-2991-1418),硕士研究生,E-mail:2023220500@stu.syau.edu.cn

通讯作者: 范海燕(ORCID:0000-0001-9534-900X),副教授,主要从事植物病害生物防治研究,E-mail:fanhaiyan2017@syau.edu.cn

Abstract In order to screen microbial resources that can effectively prevent and control cucumber root knot nematode disease, excellent strains were selected through in vitro nematocidal assays. The strains were identified based on their morphological characteristics, physiological and biochemical properties, and determined by molecular biology methods. The effects on nematode egg hatching rate and cucumber seed germination rate were determined, and the control effects of the strains on cucumber root knot nematode disease were further determined through pot and field experiments. The results showed that strain Sneb2562 displayed high toxicity activity against second-stage juvenile (J2) of *Meloidogyne incognita* was screened from 52 bacterial strains preserved in this study. After 24 h of treatment, the mortality rate of *M. incognita* J2 exposed to Sneb2562 reached 79.25%. Based on morphological characteristics, physiological and biochemical properties, and molecular biology methods, the strain Sneb2562 was identified as *Bacillus velezensis*. *B. velezensis* Sneb2562 treatment significantly inhibited the hatching of nematode eggs, exhibited the capabilities to produce protease, phosphatase, amylase, and solubilize phosphate. The germination rate of cucumber seeds treated with *B. velezensis* Sneb2562 increased by 4.00% compared with the LB control ($P>0.05$). The results of the pot experiment showed that Sneb2562 significantly reduced the number of root galls on cucumber plants after nematode infestation, with a root gall reduction rate and control effect of 50.27% and 52.00%, respectively. Additionally, this strain significantly increased the height and fresh weight of cucumber plants, with the plant height and fresh weight increasing by 16.05% and 63.68% compared to the LB control, respectively ($P<0.05$). In addition, the field trial results in the 1st field experiment of 2024 showed that the control effect of strain Sneb2562 on cucumber root knot nematode disease was 42.03%. The fresh weight of cucumber plants treated with this strain increased significantly by 4.01% compared to LB ($P<0.05$). The experimental results in the 2nd field experiment of 2024 showed that strain Sneb2562 had a 53.73% control effect on cucumber root knot nematode disease, and the plant height and fresh weight of cucumber plants treated with it were significantly higher than LB, increasing by 25.18 cm and 29.41 g, respectively ($P<0.05$). In summary, *B. velezensis* Sneb2562 can effectively control cucumber root knot nematode disease, and has great potential for development and application, and can be used as a new potential biocontrol resource for the biological control of this disease.

Keywords *Meloidogyne incognita*; *Bacillus* spp.; identification; biocontrol effect

植物寄生线虫引起的线虫病目前已成为危害农业生产的第二大类病害,每年造成世界范围内经济损失超1730亿美元^[1-2]。根结线虫(*Meloidogyne* spp.)是严重危害农业生产的植物寄生线虫之一,每年造成我国蔬菜产量减少30%以上^[3-4]。在我国,由南方根结线虫(*M. incognita*)引起的黄瓜根结线虫病普遍发生,已成为黄瓜生产中最具破坏性的威胁之一,严重影响黄瓜的产量和品质^[5-7]。目前对根结线虫病的防治主要以化学药剂防治为主,常用的化学药剂包括噻唑膦、阿维菌素、氟噻虫砒等^[8]。频繁使用化学农药导致了严重的环境污染、线虫的抗药性持续增强和对人畜不安全等问题。相较于化学防治,生物防治展现出对环境的友好性、不易产生抗性以及对人畜的无害性等特点,更符合现代农业的绿色可持续发展理念^[9-11]。因此,利用生防微生物防治根结线虫病,探寻绿色高效的防治措施,对黄瓜产业可持续发展具有重要的意义。

芽胞杆菌属(*Bacillus* spp.)因其具有较强的定

殖和抗逆能力,可通过多种生防机制保护植物免受病原侵染,是防治根结线虫病的主要生防微生物资源^[12-13]。付艳艳等^[14]报道坚强芽胞杆菌 YB-1503 发酵滤液处理 48 h,南方根结线虫二龄幼虫的死亡率达 73.0%。刘雅洁等^[15]分离筛选获得的解淀粉芽胞杆菌 HJ03 能显著抑制南方根结线虫卵的孵化,抑制率为 71.1%。盆栽和田间试验结果表明,蜡样芽胞杆菌 Bc-cm103 可显著减少根结数量,有效防控黄瓜根结线虫病^[16]。Ji 等^[17]发现贝莱斯芽胞杆菌 TA-1 通过诱导番茄产生系统抗性进而防治番茄根结线虫病。李德全等^[18]研究表明,枯草芽胞杆菌 NH-8 对番茄根结线虫病的防效为 81.8%,同时对番茄植株生长具有促进作用。目前,高效、稳定的黄瓜根结线虫病生防资源的研究鲜见报道。本研究以南方根结线虫为靶标,筛选对南方根结线虫 J2 具有良好毒杀活性的菌株并进行鉴定,进一步测定其对南方根结线虫卵孵化的抑制作用、生防特性、对黄瓜种子的萌发及生长的影响、盆栽及田间条件

下对黄瓜根结线虫病的防治效果,旨在丰富黄瓜根结线虫病绿色防控的微生物资源,以期对黄瓜根结线虫病的生物防治提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

供试 52 株细菌均由沈阳农业大学北方线虫研究所分离保藏。供试细菌培养温度为 37℃,培养基为肉膏蛋白胨培养基。选用南方根结线虫感病黄瓜品种‘中农 6 号’,购于北京中蔬种业科技有限公司。供试线虫为南方根结线虫,从辽宁省沈阳市辽中区四方台镇八音台村(122°99′ E, 41°59′ N)南方根结线虫病发病严重的黄瓜大棚中采集病根,在北方线虫研究所温室的黄瓜植株上进行单卵囊扩繁。

试验所用肉膏蛋白胨培养基(LB)^[19](购于青岛海博生物技术有限公司)、蛋白酶检测培养基^[20]、磷酸酯酶检测培养基^[21]、淀粉酶检测培养基^[22]、几丁质酶检测培养基^[23]、β-1,3 葡聚糖酶检测培养基^[19]、纤维素酶检测培养基^[23]、解磷培养基^[24]、解钾培养基(碳酸钙 0.1 g/L,氯化铁 0.2 g/L,玻璃粉 1 g/L,硫酸镁 0.5 g/L,磷酸二氢钠 2 g/L,蔗糖 5 g/L,琼脂 15 g/L)。除 LB 培养基 121℃ 高压灭菌 30 min 外,其余培养基均 121℃ 高压灭菌 20 min。

1.2 细菌发酵液及发酵滤液的制备

将供试细菌活化于 LB^[19]平板上,37℃ 倒置培养 12 h。挑取生长状态良好的单菌落接种于 5 mL LB 液体培养基中,37℃、200 r/min 振荡培养 12 h,获得细菌发酵液(浓度为 1×10⁸ CFU/mL)并用 LB 液体培养基稀释至所需浓度进行后续试验。将上述细菌发酵液 8 000 r/min 离心 5 min,取上清液,用 0.22 μm 微孔滤膜过滤菌体,获得细菌发酵滤液。

1.3 南方根结线虫 J2 及卵悬液的制备

选取 1.1 中温室培养的南方根结线虫病发病重的黄瓜根系,用 1% (w/V) NaClO 消毒 3 min,无菌水冲洗 3 次,挑取单卵囊放入含无菌水的孵化池中,置于 25℃ 条件下孵化,收集孵化的南方根结线虫 J2 悬液,用无菌水(ddH₂O)调节至所需浓度,用于杀线虫生防菌筛选试验^[14]。部分卵囊用无菌昆虫针挑破用于制备卵悬液,无菌水(ddH₂O)调节至所需浓度,用于卵孵化抑制试验^[25]。

1.4 防治南方根结线虫 J2 的生防细菌筛选

取不同供试细菌菌株发酵滤液 400 μL 加入

24 孔板中,每孔加入 100 μL 的线虫悬液(约 30 条南方根结线虫 J2),设置加入等量 LB 液体培养基处理(LB)为对照。将 24 孔板放于 25℃ 培养箱内培养 12 和 24 h 后,在体视显微镜(SMZ-161-BLED,沈阳宁远技术服务有限公司)下观察并记录线虫死亡数,毛针拨动无反应视为死亡,计算线虫死亡率和校正死亡率^[26]。

死亡率 = 死亡线虫总数 / 处理线虫总数 × 100%;

校正死亡率 = (处理线虫死亡率 - 对照线虫死亡率) / (100 - 对照线虫死亡率) × 100%。

选择 24 h 毒杀南方根结线虫校正死亡率 ≥ 80% 以上的菌株进行复筛,每孔加入 100 μL 的线虫悬液(约 100 条南方根结线虫 J2),其余试验流程同上,每个处理 3 次重复。

1.5 菌株 Sneb2562 的鉴定

采用平板划线法将菌株 Sneb2562 接种于 LB 平板上,37℃ 培养 12 h 形成单菌落后,观察菌落颜色、形状及透明度等形态学特征。并采用革兰氏染色法^[15]观察菌体颜色。

根据《常见细菌鉴定手册》^[27]及《伯杰细菌鉴定手册》^[28]对菌株 Sneb2562 进行甲基红、V-P、接触酶、氧化酶、硫化氢、淀粉水解、明胶液化、吡啶、柠檬酸盐、1%~7% (w/V) NaCl、pH 5.7 等项目的生理生化特性测定。

参考 Sutyak 等^[29]方法提取 Sneb2562 的基因组 DNA,使用引物 27 F (5'-AGAGTTTGATCCTG-GCTCAG-3')、1492 R (5'-ACGGCTACCTTGT-TACGACTT-3')和 *gyrA* F (5'-CAGTCAGGAAAT-GCGTACGTCCTT-3')、*gyrA* R (5'-CAAGGTA-ATGCTCCAGGCATTGCT-3') 分别扩增 Sneb2562 的 16S rDNA 和 *gyrA* 序列,PCR 反应体系(25 μL): ddH₂O 8.5 μL,上下游引物各 1 μL,细菌基因组 DNA 2 μL,2×Taq Master Mix 12.5 μL。扩增程序:95℃ 预变性 90 s;94℃ 变性 30 s,55℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 50 s,循环 30 次;72℃ 延伸 5 min。扩增产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测后,送至生工生物工程(上海)股份有限公司测序。测序结果在 NCBI 数据库进行比对分析,利用 MEGA 11 软件以 Neighbor-joining 法构建系统发育进化树。将 Sneb2562 的 16S rDNA 和 *gyrA* 序列提交至 GenBank,获得基因登录号。

1.6 Sneb2562发酵滤液对南方根结线虫卵孵化的影响

取400 μL Sneb2562发酵滤液于24孔板中,每孔加入100 μL 的南方根结线虫卵悬液(约含200粒卵),以等量无菌水(ddH_2O)和LB液体培养基处理(LB)分别作为对照,每个处理3次重复。将24孔板放于25 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵化,于24、48 h分别用体式显微镜观察卵孵化情况,计算卵孵化率和相对抑制率^[30]。

孵化率=(孵化线虫数/供试卵数) $\times 100\%$;

相对抑制率=[(对照孵化率-处理孵化率)/对照孵化率] $\times 100\%$ 。

1.7 Sneb2562的生防特性测定

取2 μL 菌株Sneb2562发酵液接种至蛋白酶^[20]、磷酸酯酶^[21]、淀粉酶^[22]、几丁质酶^[23]、 β -1,3葡聚糖酶^[19]、纤维素酶^[23]、解磷^[24]和解钾检测培养基中央,每个检测平板重复3次。28 $^{\circ}\text{C}$ 培养5 d后,观察菌落周围是否有透明圈产生,若有则证明待检测菌株具有相应活性。

1.8 Sneb2562发酵液对黄瓜种子萌发及胚根生长影响的测定

将健康饱满、大小相近的黄瓜种子用0.5%(w/V)NaClO消毒3 min,无菌水冲洗3次并晾干。将晾干的黄瓜种子放于Sneb2562发酵液中(浓度为 1×10^8 CFU/mL)浸泡处理5 min,取出晾干后整齐摆放于含无菌湿滤纸的培养皿中。分别以浸泡在等量无菌水(ddH_2O)和LB液体培养基(LB)中的种子作为对照,每个处理3次重复,每个重复25粒种子。将培养皿放于28 $^{\circ}\text{C}$ 保湿、避光催芽,以黄瓜种子露白长度 $\geq 1/2$ 种子长度计为发芽,每天记录1次发芽种子数,培养5 d后,测量胚根长度,计算发芽率和发芽指数。

发芽率=(发芽种子个数/25) $\times 100\%$

发芽指数(GI)= $\Sigma(G_t/D_t)$

式中: G_t 为第 t 天的种子发芽数; D_t 为相应发芽时间,d。

1.9 Sneb2562发酵液对黄瓜根结线虫病盆栽防效试验

挑选健康饱满、大小相近的黄瓜种子,0.5%(w/V)NaClO消毒3 min,无菌水冲洗3次后晾干。将晾干的黄瓜种子置于含无菌湿滤纸的培养皿中催芽,种子露白后播种于含灭菌基质土($w_{\text{基质}}:w_{\text{沙}}=1:1$)的育苗盘(4 cm $\times$ 4 cm $\times$ 9 cm)

中。黄瓜幼苗长至两叶一心时,移栽至含灭菌营养土($w_{\text{基质}}:w_{\text{沙}}:w_{\text{土}}=2:2:1$)的塑料杯中,每个塑料杯1株黄瓜苗,将塑料杯随机放在25 $^{\circ}\text{C}$ 、16 h光/8 h暗的温室中进行正常水肥管理。待黄瓜幼苗2片真叶完全展开后,采用灌根法^[31],将Sneb2562发酵液(浓度为 1×10^8 CFU/mL)10 mL灌根接种于黄瓜苗根部,分别以等量清水(H_2O)、LB液体培养基(LB)、1.8%阿维菌素乳油1 000 $\times$ 稀释液(AVM)灌根处理作为对照,同时接种南方根结线虫J2悬液2 mL(约1 000条J2),每个处理5次重复,每个重复1株苗。将塑料杯随机摆放于25 $^{\circ}\text{C}$ 、16 h光/8 h暗的温室中并进行正常水肥管理,30 d后测量黄瓜植株的株高、株鲜重、根长、根鲜重,调查黄瓜植株的发病情况,统计根结数量,计算根结减退率、根结指数和防效。根结指数分级标准:0级,无根结;1级,须根有少量小根结;2级,须根有少量明显小根结、主根无根结;3级,须根有一些较大根结、主根无根结;4级,须根以大根结为主、主根无根结;5级,50%根系有根结、主根部分有根结;6级,主根出现较大根结;7级,所有主根有根结、根系未变形;8级,所有主根有根结、根系变形;9级,所有根系有根结;10级,所有根系根结严重、植株通常已死亡^[32]。

根结减退率=[(对照根结数-处理根结数)/对照根结数] $\times 100\%$ 。

根结指数=[Σ (各级病株数 $\times$ 各级代表值)/(调查总株数 $\times$ 最高级代表值)] $\times 100\%$;

防效=[(对照根结指数-处理根结指数)/对照根结指数] $\times 100\%$ 。

1.10 Sneb2562发酵液对黄瓜根结线虫病田间防效试验

于2024年5月在辽宁省鞍山市海城市前公村(122 $^{\circ}56'$ E,41 $^{\circ}06'$ N)南方根结线虫病发病较重的温室大棚开展第1次田间试验,垄长4.00 m,垄间距0.40 m,植株间距0.25 m,每垄种植约12株黄瓜苗。同年6月在辽宁省沈阳市辽中区大黑岗子镇茨梅花岗子村(122 $^{\circ}35'$ E,41 $^{\circ}44'$ N)发病较重的温室大棚开展第2次田间试验,垄长6.00 m,垄间距0.65 m,植株间距0.30 m,每垄种植约12株黄瓜苗。种子处理方法同1.9,待黄瓜幼苗培养至四叶期后移栽至田间。移栽当天对黄瓜幼苗进行灌根处理,每株苗灌根200 mL Sneb2562

发酵液 10× 稀释液(浓度为 1×10⁷ CFU/mL),分别以等量清水(H₂O)、LB 液体培养基(LB)、1.8% 阿维菌素乳油 1 000× 稀释液(AVM)灌根处理为对照,每处理 3 次重复,每个重复 4 株黄瓜苗,试验小区随机分布。处理 30 d 后,将黄瓜植株挖出,保留完整根系,测量生理指标,调查所有黄瓜植株的发病情况,计算根结指数和防效,计算公式同 1.9。

1.11 数据统计分析

采用 Excel 2021 和 SPSS statistics 27.0 软件对试验数据进行统计分析,采用 Duncan’s 新复极差法($P<0.05$)进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 南方根结线虫生防细菌的筛选

由表 1 可知,52 株细菌发酵滤液处理 24 h 后,对南方根结线虫 J2 的校正死亡率>80% 的有 2 株,71%~80% 的菌株有 8 株,61%~70% 的菌株有 4 株。以细菌发酵滤液处理 24 h 时,J2 的校正死亡率>80% 为复筛标准,选取 2 个菌株进行复筛。2 个细菌菌株发酵滤液对南方根结线虫 J2 有高毒杀活性,其致死效果随着处理时间的增加而增强;其中,Sneb2562 处理 12、24 h 时 J2 校正死亡率均为最高,分别为 23.46%、79.25%(表 2)。因此,选择菌株 Sneb2562 为研究对象进行后续试验。

表 1 52 株细菌对南方根结线虫 J2 的毒杀活性测定

Table 1 Bioassay of toxic activity of 52 bacterial strains against J2 of <i>M. incognita</i>											%
菌株 Strain	校正死亡率 Corrected mortality rate		菌株 Strain	校正死亡率 Corrected mortality rate		菌株 Strain	校正死亡率 Corrected mortality rate		菌株 Strain	校正死亡率 Corrected mortality rate	
	12 h	24 h		12 h	24 h		12 h	24 h		12 h	24 h
8-8	34.48	86.21	33-3	20.83	62.50	42A	3.57	19.23	30W	9.81	12.09
Sneb2562	25.93	81.48	36-11	7.14	60.71	29E	3.23	17.05	30U	3.69	11.33
43-2	20.69	79.31	49-5	7.41	55.56	23E	3.83	16.35	28e	10.34	10.71
29-4	14.29	78.57	49-16	2.61	44.35	26I	7.64	15.82	26T	13.24	10.14
47-1	14.81	77.78	53F	10.24	36.79	30d	12.89	15.41	25J	2.64	8.61
43-1	11.54	76.92	57F	8.38	31.36	25k	1.86	14.84	25W	2.30	7.74
10-5	33.33	76.67	30c	0.25	31.12	30b	1.86	14.84	29f	2.14	7.34
52E	13.10	75.14	25Q	21.52	29.80	30R	13.10	14.29	23H	3.33	7.05
10L	24.31	74.26	49P	11.22	28.30	26E	4.51	13.46	28I	8.49	5.22
30-2	11.54	73.08	27I	0.53	25.82	22K	0.26	13.25	10D	4.10	4.99
32-8	13.79	68.97	29C	20.42	21.70	29a	15.95	12.95	30h	2.14	4.44
24H	22.32	65.14	30a	1.86	20.33	30T	10.16	12.59	13N	0.00	3.85
29-5	11.11	62.96	30K	13.79	19.64	30V	12.23	12.34	29W	2.46	2.04

表 2 待测菌株发酵滤液对南方根结线虫 J2 的毒杀活性

Table 2 The toxicity of fermentation filtrates of the selected strains against J2 of <i>M. incognita</i>				
处理 Treatment	死亡率/% Mortality rate		校正死亡率/% Corrected mortality rate	
	12 h	24 h	12 h	24 h
LB	2.02±1.01 ^c	4.39±1.55 ^c		
Sneb2562	25.01±2.49 ^a	80.76±2.40 ^a	23.46±2.54	79.25±3.49
8-8	15.82±3.17 ^b	68.31±5.23 ^b	14.09±3.23	66.35±6.16

注:LB ,LB 液体培养基;Sneb2562,菌株 Sneb2562 发酵滤液;8-8,菌株 8-8 发酵滤液。数据为平均值±标准差,同列不同小写字母表示经 Duncan’s 法检验在 $P<0.05$ 水平差异显著。下同。
Note: LB ,LB liquid medium; Sneb2562,fermentation filtrate of the selected strain Sneb2562;8-8,fermentation filtrate of the selected strain 8-8. Data are presented as mean ±SD. Different lowercase letters in the same column indicate a significant difference at the $P<0.05$ level according to Duncan’s test. The same below.

2.2 菌株 Sneb2562 的鉴定

由图 1 可知, Sneb2562 在 LB 培养基上形成的菌落呈圆形或近圆形, 初期呈白色不透明, 表面湿

润有黏性, 后期菌落呈淡黄色, 表面皱缩干燥。菌株 Sneb2562 革兰氏染色后菌体呈紫色, 为革兰氏阳性菌。

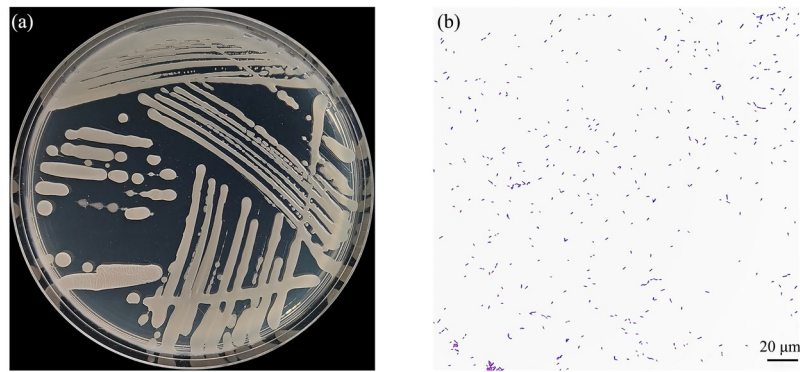


图 1 Sneb2562 的菌落形态(a)及革兰氏染色(b)

Fig.1 Colony morphology (a) and gram staining (b) of Sneb2562

由表 3 可知, Sneb2562 具有淀粉水解、明胶液化的能力, 不产吲哚和 H₂S, 接触酶反应和 VP 反应呈

阳性, 在 pH 5.7 及 1%~7% (w/V) NaCl 条件下均能生长, 可初步确定 Sneb2562 为芽胞杆菌属。

表 3 菌株 Sneb2562 的生理生化特性

Table 3 The biochemical and physiological characteristics of strain Sneb2562

项目 Item	结果 Result	项目 Item	结果 Result
甲基红 Methyl red	-	吲哚试验 Indole test	-
V-P 试验 V-P test	+	柠檬酸盐 Citrate	-
接触酶 Contact enzymes	+	1% (w/V) NaCl	+
氧化酶 Oxidase	-	3% (w/V) NaCl	+
硫化氢 Hydrogen sulfide	-	5% (w/V) NaCl	+
淀粉水解 Starch hydrolysis	+	7% (w/V) NaCl	+
明胶液化 Gelatin Liquefaction	+	pH 5.7	+

注: “+”表示为阳性反应, “-”表示为阴性反应。
Note: “+” represents positive reaction, and “-” represents negative reaction.

通过 16S rDNA 序列测序分析构建了 Sneb2562 的 16S rDNA 系统发育树。Sneb2562 与贝莱斯芽胞杆菌 (*Bacillus velezensis*) 具有较高的同源性 (图 2 (a))。为了进一步确定 Sneb2562 的分类地位, 构建了 Sneb2562 的 *gyrA* 序列系统发育树, Sneb2562 与贝莱斯芽胞杆菌 (*B. velezensis*) 具有较高的同源性 (图 2(b))。Sneb2562 的 16S rDNA 和 *gyrA* 基因序列已提交 GenBank 数据库, 登录号分别为 PQ892074 和 PV089818。

因此, 结合形态学特征 (图 1)、生理生化特性

(表 3) 和分子生物学 (图 2) 分析, 将 Sneb2562 鉴定为贝莱斯芽胞杆菌 (*B. velezensis*)。

2.3 Sneb2562 发酵滤液对南方根结线虫卵孵化的影响

由图 3 可知, Sneb2562 发酵滤液处理显著抑制南方根结线虫卵孵化, 抑制率随处理时间的延长呈上升趋势。处理 24 h 时, 无菌水 (ddH₂O) 和 LB 液体培养基 (LB) 的卵孵化率分别为 13.90% 和 13.08%。与 LB 相比, Sneb2562 发酵滤液处理后南方根结线虫卵孵化率降低 68.88% ($P < 0.05$); 处理

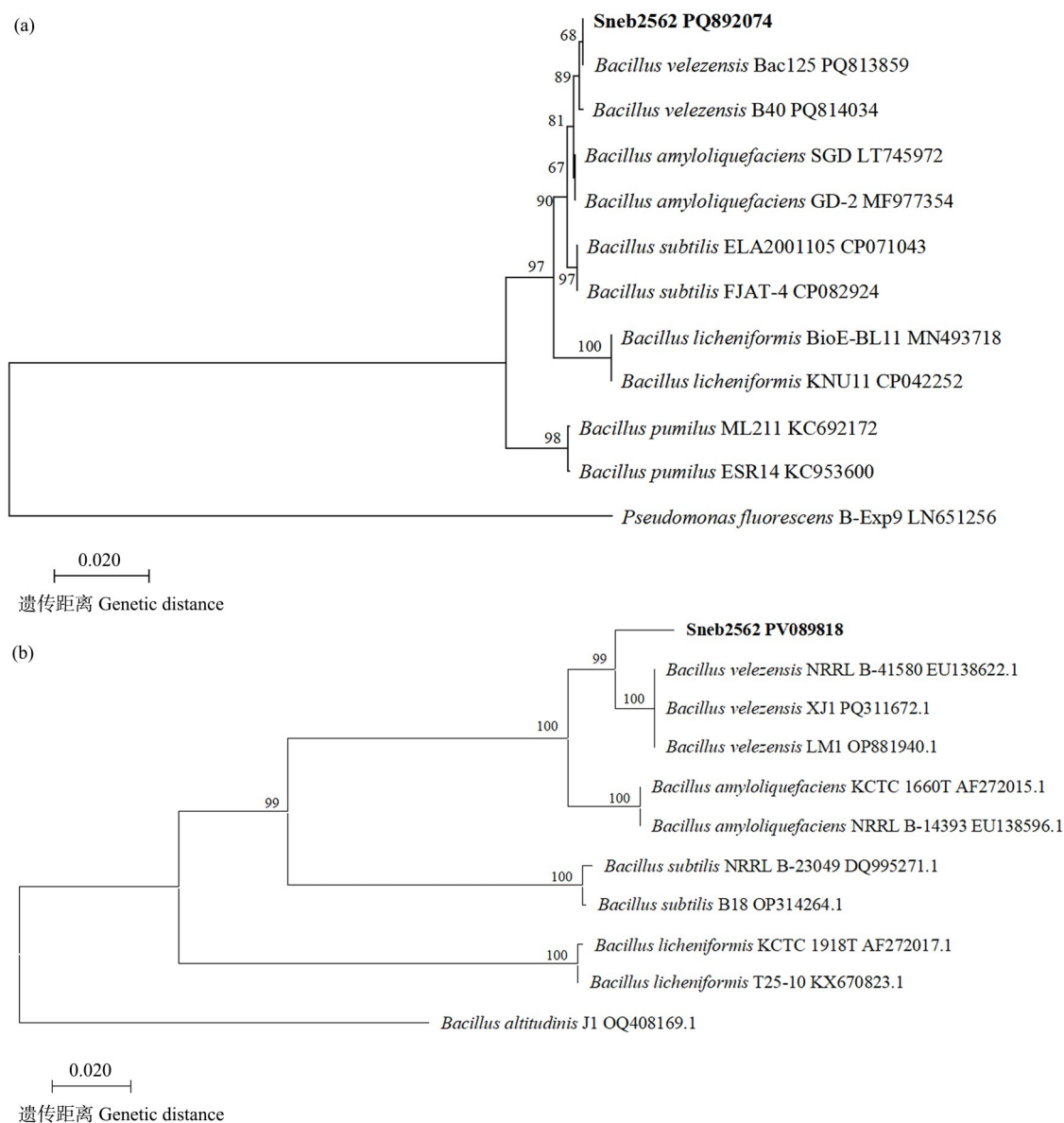


图 2 Sneb2562 的 16S rDNA (a) 和 *gyrA* 基因 (b) 序列系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic trees of strain Sneb2562 based on 16S rDNA (a) and *gyrA* gene sequences (b)

48 h 时, Sneb2562 发酵滤液的南方根结线虫卵孵化率为 5.26%, 均显著低于 ddH₂O 和 LB 处理, 抑制率为 77.58% ($P < 0.05$)。

2.4 Sneb2562 生防特性分析

由图 4 可知, 培养 5 d 后, Sneb2562 在蛋白酶、磷酸酯酶、淀粉酶、解磷检测培养基上均能产生透明圈, 说明 Sneb2562 具有产蛋白酶、磷酸酯酶、淀粉酶和解磷能力; 在几丁质酶、纤维素酶、 β -1,3 葡聚糖酶、解钾检测培养基上均无透明圈的产生, 说明菌株 Sneb2562 没有产几丁质酶、纤维素酶、 β -1,3 葡聚糖酶及解钾能力。

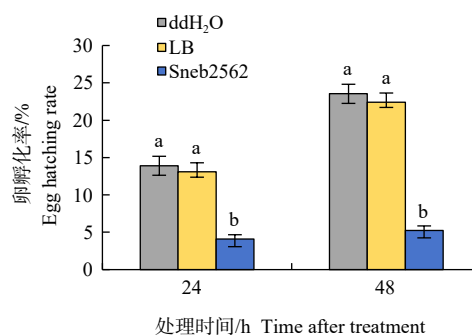


图 3 不同处理的南方根结线虫卵孵化率

Fig. 3 The egg hatching rates of *M. incognita* treated with different treatments

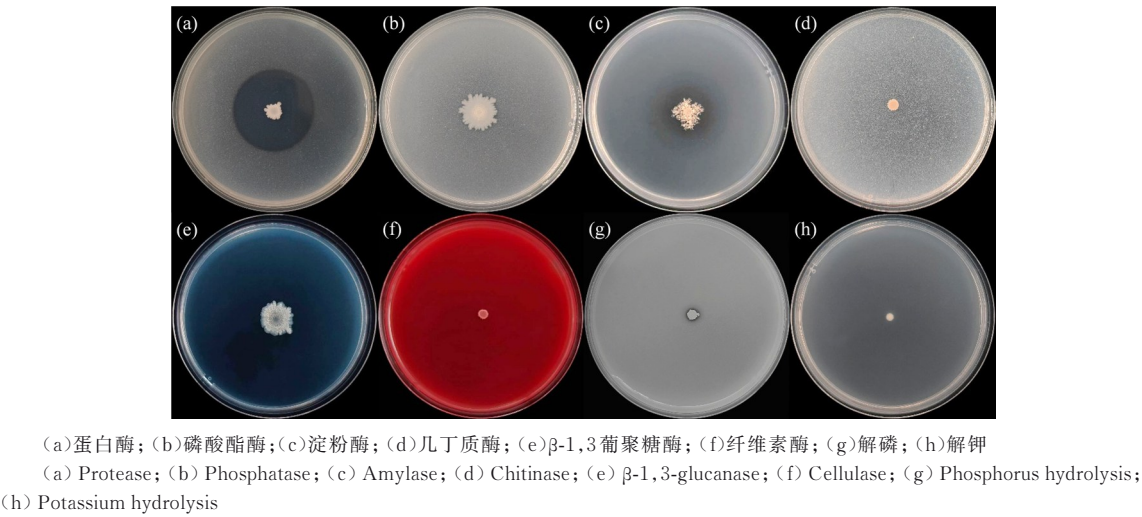


图4 贝莱斯芽胞杆菌 Sneb2562 的生防特性

Fig. 4 The biocontrol characteristics of *B. velezensis* Sneb2562

2.5 Sneb2562发酵液对黄瓜种子萌发及生长的影响

由图5和表4可知,Sneb2562发酵液处理可显著提高黄瓜种子发芽指数,但对种子的发芽率和胚根长度无显著影响。培养5 d后,无菌水(ddH₂O)和

LB液体培养基处理(LB)的发芽指数分别为2.29和2.44,经Sneb2562处理的黄瓜种子发芽指数为2.57,与LB相比,发芽指数升高4.8%,发芽率、胚根长度则均无显著差异($P>0.05$)。



图5 不同处理下黄瓜种子胚根的生长情况

Fig. 5 The growth of radicle in cucumber seeds under different treatments

表4 不同处理下黄瓜种子萌发及胚根生长指标($n=75$)

Table 4 The germination of cucumber seeds and radicle growth indices under different treatments

处理 Treatment	发芽率/% Germination rate	发芽指数 Germination index	胚根长度/cm Radicle length
ddH ₂ O	84.00±4.00 ^a	2.49±0.03 ^b	2.53±0.64 ^a
LB	82.67±6.11 ^a	2.44±0.02 ^b	2.50±0.13 ^a
Sneb2562	86.67±2.31 ^a	2.57±0.02 ^a	2.61±0.29 ^a

2.6 Sneb2562 发酵液对黄瓜根结线虫病的盆栽防效分析

由表 5 可知,接种南方根结线虫 J2 30 d 后,清水(H₂O)和 LB 液体培养基(LB)处理的根结数量分别为 110.60 和 101.20,根结指数分别为 98.00 和 94.00,经 Sneb2562 发酵液和阿维菌素(AVM)处理的黄瓜植株的根结数量分别降低至 55.00 和 43.00($P<0.05$),根结指数分别降低为 48.00 和

38.00($P<0.05$),根结减退率分别为 50.27% 和 61.12%,防效分别为 52.00% 和 62.00%。此外,与 LB 相比,Sneb2562 发酵液处理的黄瓜地上部分的株高、株鲜重分别增加 16.05%、63.68% ($P<0.05$),根长及根鲜重则与 LB 无显著差异。因此,在盆栽条件下,Sneb2562 发酵液能有效防治黄瓜根结线虫病,并对黄瓜植株的生长具有促进作用。

表 5 盆栽条件下不同处理的黄瓜根结线虫病防治效果及植株的生长指标($n=5$)

Table 5 The control efficacy against cucumber root knot nematode disease and plant growth indices under different treatments in pot experiments

处理 Treatment	根结数量 Root galls	根结减退率/% Root galls reduction rate	根结指数 Galling index	防效/% Control efficacy	株高/cm Shoot length	株鲜重/g Shoot fresh weight	根长/cm Root length	根鲜重/g Root fresh weight
H ₂ O	110.60±2.30 ^a		98.00±4.47 ^a		16.27±0.40 ^d	4.35±0.42 ^c	11.73±0.43 ^a	5.82±0.30 ^a
LB	101.20±6.22 ^b	8.50±5.62 ^c	94.00±5.48 ^a	6.00	17.70±0.70 ^c	4.26±0.49 ^c	11.81±0.41 ^a	5.88±0.59 ^a
AVM	43.00±4.74 ^d	61.12±4.29 ^a	38.00±4.47 ^c	62.00	30.24±0.69 ^a	14.96±0.60 ^a	10.85±0.44 ^a	6.17±0.44 ^a
Sneb2562	55.00±4.64 ^c	50.27±4.19 ^b	48.00±4.47 ^b	52.00	21.16±1.04 ^b	11.77±0.55 ^b	11.12±0.44 ^a	6.29±0.42 ^a

注:AVM,1.8% 阿维菌素乳油 1 000× 稀释液。下同。
Note: AVM,1.8% avermectin emulsifiable concentrate 1 000 × diluent. The same below.

2.7 Sneb2562 发酵液对黄瓜根结线虫病的大田防效分析

由表 6 可知,2024 年第 1 次田间试验结果表明,在黄瓜移栽至田间 30 d 后,清水(H₂O)和 LB 液体培养基(LB)的根结指数分别为 95.83 和 91.67,阿维菌素乳油 1 000× 稀释液(AVM)和 Sneb2562 发酵液处理后,黄瓜植株的根结指数较 LB 均显著下降,

分别为 52.78 和 55.56 ($P<0.05$);防效分别为 44.93% 和 42.03%,Sneb2562 与 AVM 处理的防效无显著差异。同时,Sneb2562 发酵液处理的黄瓜植株的株鲜重比 LB 增加 4.01% ($P<0.05$),株高、根长和根鲜重分别增加 3.95%、4.54% 和 1.45%,但差异均未达显著水平。2024 年第 2 次田间试验得到了类似的试验结果。在黄瓜移栽至田间 30 d 后,

表 6 田间试验中不同处理的黄瓜根结线虫病防治效果及黄瓜植株的生长指标($n=12$)

Table 6 The control efficacy against cucumber root knot nematode disease and growth indices of cucumber plants under different treatments in field trials

试点 Location	处理 Treatment	根结指数 Galling index	防效/% Control efficacy	株高/cm Shoot length	株鲜重/g Shoot fresh weight	根长/cm Root length	根鲜重/g Root fresh weight
海城市前公村 (2024-05)	H ₂ O	95.83±4.17 ^a		152.48±5.51 ^b	140.30±7.31 ^b	10.38±1.67 ^a	5.65±1.02 ^a
	LB	91.67±4.17 ^a	4.35	156.11±8.74 ^{ab}	143.19±5.04 ^b	10.70±1.18 ^a	6.03±0.99 ^a
	AVM	52.78±8.67 ^b	44.93	156.70±7.34 ^{ab}	145.41±5.30 ^{ab}	11.16±1.57 ^a	6.20±0.93 ^a
	Sneb2562	55.56±6.36 ^b	42.03	162.99±9.85 ^a	149.41±6.49 ^a	11.27±1.04 ^a	6.29±1.13 ^a
辽中区茨梅花岗 子村 (2024-06)	H ₂ O	98.77±2.14 ^a		146.75±4.25 ^c	156.56±7.53 ^b	18.16±2.72 ^a	19.37±5.44 ^a
	LB	96.30±3.70 ^a	2.50	147.68±8.55 ^c	158.32±6.74 ^b	18.29±1.65 ^a	19.38±3.67 ^a
	AVM	46.91±5.66 ^b	52.50	154.32±6.40 ^b	161.30±8.24 ^b	19.00±2.41 ^a	19.47±3.51 ^a
	Sneb2562	45.68±4.28 ^b	53.75	172.86±6.52 ^a	187.73±8.77 ^a	19.23±3.84 ^a	19.78±2.82 ^a

AVM处理的根结指数为46.91, Sneb2562发酵液处理的根结指数为45.68, 均显著低于LB(96.30) ($P < 0.05$); Sneb2562防效为53.75%, 略高于AVM的防效(52.50%)。同时, 经Sneb2562发酵液处理的黄瓜植株的株高、株鲜重均显著高于LB ($P < 0.05$), 分别增加25.18 cm、29.41 g; 根长和根鲜重与LB无显著差异。综上, 贝莱斯芽胞杆菌Sneb2562在田间能够有效防治黄瓜根结线虫病, 并能够促进黄瓜植株的生长。

3 讨 论

随着设施蔬菜的连作障碍日益加重, 根结线虫危害日益加剧^[33]。化学农药的过度使用造成环境污染、线虫抗药性增强、危害人类健康和破坏生态平衡等问题, 因此, 利用芽胞杆菌开发生物杀线剂, 以生物防治的方式来应对根结线虫危害, 已成为根结线虫病害防治的重要研究方向之一^[34]。芽胞杆菌作为生态环境中的优势微生物种群, 能分泌多种次生代谢产物, 是其发挥生防功效的重要机制之一^[35]。Tian等^[36]研究发现, 贝莱斯芽胞杆菌Bv-25产生的挥发性有机物2-庚酮、3-甲基硫代丁酸S-甲酯、二甲基二硫化物、三氯甲烷和2,6-二甲基吡嗪等对南方根结线虫均具有抑制作用。短小芽胞杆菌S1-10产生的2-甲氨基乙醇对南方根结线虫有很强的熏蒸活性^[37]。巨大芽胞杆菌GIUBAM-2020的次生代谢物2-(乙基-咪唑基)乙酸盐对南方根结线虫J2具有致死效果^[38]。Chen等^[39]从阿氏芽胞杆菌MCCC 1K02966发酵液中鉴定出硫代乙酸甲酯, 其对南方根结线虫有触杀、熏蒸、趋避及抑制卵孵化的作用。本研究发现贝莱斯芽胞杆菌Sneb2562在体外表现出良好的毒杀J2活性和抑制卵孵化的效果, 其代谢产物中毒杀线虫的活性物质仍有待深入研究。

芽胞杆菌能产生胞外酶、有机酸、铁载体等物质, 改善土壤结构, 加快氮、磷、钾、铁等营养元素转化^[40], 从而促进作物生长^[41]。袁洪波等^[42]研究发现, 贝莱斯芽胞杆菌P2-1具有蛋白酶和纤维素酶活性, 可分解草莓褐色叶斑病菌细胞壁, 抑制菌丝生长, 还能促进草莓植株生长。王海霞等^[43]研究发现, 解淀粉芽胞杆菌YN-J3能够通过解磷、解钾和产生吡啶乙酸等方式促进燕麦生长。枯草芽胞杆菌CLB-17能产生蛋白酶、葡聚糖酶、磷酸酯酶及铁

载体, 对烟草的生长具有促进作用^[44]。Margalef等^[45]研究表明, 磷酸酯酶能将不可利用的磷转化为可同化的磷, 与促进植物生长密切相关。本研究发现贝莱斯芽胞杆菌Sneb2562能分泌蛋白酶、磷酸酯酶、淀粉酶并具有解磷能力, 盆栽和田间条件下均能显著促进黄瓜植株生长, 但其促生机制还需进一步研究解析。

生防菌的施用方式多样, 不同施用方式对其在寄主体内的吸收、传播和活性影响不同, 进而影响其防治效果^[46]。因此, 研究生防菌的施用方式是十分关键的。周园园等^[47]利用巨大芽胞杆菌Sneb207包衣处理大豆种子可降低大豆根及周围土壤中的胞囊数量。贝莱斯芽胞杆菌TB-68灌根处理对烟草根结线虫病防效可达64.4%^[48]。孙孟娇等^[49]通过研究贝莱斯芽胞杆菌P87不同施用方式对松材线虫病防治效果的影响发现, 树干注射方式的防治效果可达96.5%, 显著高于喷雾和灌根方式。本研究结果表明, 贝莱斯芽胞杆菌Sneb2562发酵液灌根处理黄瓜植株, 能有效防控黄瓜根结线虫病。在农业生产中, 灌根处理是防治线虫病害比较高效的方法, 后续可以开展贝莱斯芽胞杆菌Sneb2562的不同施用方法对根结线虫病的防效试验, 以探明该菌株在大田生产中的最佳施用方式。

4 结 论

从52株细菌中筛选得到1株可有效拮抗南方根结线虫的贝莱斯芽胞杆菌Sneb2562, 处理24 h的南方根结线虫J2校正死亡率为79.25%, 48 h卵孵化抑制率为77.58%, 具有产蛋白酶、磷酸酯酶、淀粉酶和解磷能力, 不影响黄瓜种子萌发及胚根生长, 盆栽试验防效为52.00%, 2次田间试验防效分别为42.03%和53.73%, 对黄瓜植株生长具有促进作用, 贝莱斯芽胞杆菌Sneb2562在防治黄瓜根结线虫病方面具有良好的应用前景。

参考文献 References

- [1] Elling A A. Major emerging problems with minor *Meloidogyne* species [J]. *Phytopathology*, 2013, 103(11): 1092-1102
- [2] 王佳, 曾广智, 汪哲, 谭宁华. 杀线虫植物以及植物源杀线虫活性化合物研究与应用进展[J]. *中国生物防治学报*, 2018, 34(3): 469-479
Wang J, Zeng G Z, Wang Z, Tan N H. Research and application on nematicidal plants and phytochemicals [J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2018, 34(3): 469-479 (in Chinese)

- [3] Phani V, Khan M R, Dutta T K. Plant-parasitic nematodes as a potential threat to protected agriculture: Current status and management options [J/OL]. *Crop Protection*, (2021-02-11), DOI: doi. org/10.1016/j. cropro. 2021. 105573
- [4] 彭德良. 植物线虫病:我国粮食安全面临的重大挑战[J]. 生物技术通报, 2021, 37(7): 1-2
- Peng D L. Plant nematode diseases: Serious challenges to China's food security[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2021, 37(7): 1-2 (in Chinese)
- [5] Zhang L D, Zhang J L, Christie P, Li X L. Effect of inoculation with the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* on the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* in cucumber [J]. *Journal of Plant Nutrition*, 2009, 32(6): 967-979
- [6] Ji X X, Li J J, Meng Z, Li N, Dong B, Zhang S A, Qiao K. Fluopimomide effectively controls *Meloidogyne incognita* and shows a growth promotion effect in cucumber[J]. *Journal of Pest Science*, 2020, 93(4): 1421-1430
- [7] Zhao Z Y, Wang L, Ali Khan R A, Song X J, Najeeb S, Zhao J L, Yang Y H, Ling J, Mao Z C, Jiang X Z, Xie B Y, Li Y. *Methylobacterium rhodesianum* M520 as a biocontrol agent against *Meloidogyne incognita* (Tylenchida: Heteroderidae) J2s infecting cucumber roots [J/OL]. *Journal of Applied Microbiology*, (2023-01-05). DOI: doi. org/10.1093/ jambio/txad001
- [8] Zhao X Y, Lin C C, Tan J, Yang P, Wang R, Qi G F. Changes of rhizosphere microbiome and metabolites in *Meloidogyne incognita* infested soil[J]. *Plant and Soil*, 2023, 483(1): 331-353
- [9] Amorim D J, Tsujimoto T F, Baldo F B, Leite L G, Harakava R, Wilcken S R S, Gabia A A, Amorim D J. *Bacillus*, *Pseudomonas* and *Serratia* control *Meloidogyne incognita* (Rhabditida: Meloidogynidae) and promote the growth of tomato plants [J/OL]. *Rhizosphere*, (2024-07-08). DOI: doi. org/10.1016/j. rhisph. 2024. 100935
- [10] 李磊, 赵俊杰, 刘莹莹, 甄静, 李亮亮, 陈国参, 慕琦, 王继雯. 高效根结线虫生防真菌筛选及其性能研究[J]. 生物学杂志, 2021, 38(6): 70-74, 81
- Li L, Zhao J J, Liu Y Y, Zhen J, Li L L, Chen G C, Mu Q, Wang J W. Screening and performance of high-efficiency root-knot nematode biocontrol fung [J]. *Journal of Biology*, 2021, 38(6): 70-74, 81 (in Chinese)
- [11] 王秀娟, 张树武, 徐秉良. 木霉菌对植物寄生线虫防治作用机制[J]. 中国生物防治学报, 2022, 38(1): 133-139
- Wang X J, Zhang S W, Xu B L. Control mechanism of *Trichoderma* against plant parasitic nematodes [J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2022, 38(1): 133-139 (in Chinese)
- [12] Cruz- Magalhães V, Guimarães R A, da Silva J C P, de Faria A F, Pedrosa M P, Campos V P, Marbach P A, de Medeiros F H V, De Souza J T. The combination of two *Bacillus* strains suppresses *Meloidogyne incognita* and fungal pathogens, but does not enhance plant growth[J]. *Pest Management Science*, 2022, 78(2): 722-732
- [13] Xiang N, Lawrence K S, Donald P A. Biological control potential of plant growth-promoting rhizobacteria suppression of *Meloidogyne incognita* on cotton and *Heterodera glycines* on soybean: A review [J]. *Journal of Phytopathology*, 2018, 166(7-8): 449-458
- [14] 付艳艳, 张洁, 朱文倩, 夏明聪, 孙润红, 徐文, 郎剑锋, 潘娅梅, 武超, 杨丽荣, 吴艳兵, 李东梅. 南方根结线虫生防菌 YB-1503 菌株鉴定及作用机理研究[J]. 中国生物防治学报, 2023, 39(2): 429-437
- Fu Y Y, Zhang J, Zhu W Q, Xia M C, Sun R H, Xu W, Lang J F, Pan Y M, Wu C, Yang L R, Wu Y B, Li D M. Identification and mechanism of strain YB-1503 for biological control of *Meloidogyne incognita* [J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2023, 39(2): 429-437 (in Chinese)
- [15] 刘雅洁, 罗书介, 蒋晓惠, 张清霞, 魏霜. 两株芽胞杆菌的分离鉴定及其对根结线虫病的防治效果[J]. 植物病理学报, 2024, 54(3): 625-637
- Liu Y J, Luo S J, Jiang X H, Zhang Q X, Wei S. Identification and biocontrol effect of two *Bacillus* strains against root-knot nematode disease [J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2024, 54(3): 625-637 (in Chinese)
- [16] Yin N, Zhao J L, Liu R, Li Y, Ling J, Yang Y H, Xie B Y, Mao Z C. Biocontrol efficacy of *Bacillus cereus* strain Bc-cm103 against *Meloidogyne incognita* [J]. *Plant Disease*, 2021, 105(8): 2061-2070
- [17] Ji X X, Liu B J, Fan M, Zhang S Q, Liu Y, Zhang S A, Wang Z T, Qiao K. Biocontrol of *Meloidogyne incognita* by *Bacillus velezensis* TA-1 through induction of host resistance in tomato [J]. *Journal of Pest Science*, 2024, 97(4): 2227-2236
- [18] 李德全, 邓自发, 曹云英, 孙利军. 芽胞杆菌 NH-8 对番茄根结线虫病的生防效果[J]. 江苏农业科学, 2020, 48(8): 108-110
- Li D Q, Deng Z F, Cao Y Y, Sun L J. Biocontrol effect of *Bacillus* NH-8 on tomato root-knot nematode disease [J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2020, 48(8): 108-110 (in Chinese)
- [19] 姜向弟, 周强, 贺江, 张向向, 王永慧, 熊建华, 郝彦彦. 贝莱斯芽胞杆菌 PJP10 的抑菌物质稳定性及活性代谢产物挖掘[J]. 微生物学通报, 2024, 51(3): 935-949
- Lou X D, Zhou Q, He J, Zhang X X, Wang Y H, Xiong J H, Gao Y Y. Stability evaluation and genome mining of antimicrobial metabolites of *Bacillus velezensis* PJP10 [J]. *Microbiology China*, 2024, 51(3): 935-949 (in Chinese)
- [20] 刘东岳, 李敏, 孙文献, 刘润进. 拮抗尖孢镰刀菌的 PGPR 筛选与抑菌机制的初步研究[J]. 植物病理学报, 2017, 47(5): 704-715
- Liu D Y, Li M, Sun W X, Liu R J. Screening and antibiosis study of PGPR strains against *Fusarium oxysporum* and preliminary study on their antibacterial mechanisms [J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2017, 47(5): 704-715 (in Chinese)
- [21] 李红晓. 解淀粉芽胞杆菌抑菌作用机理的探究[D]. 沈阳: 沈阳师范大学, 2016
- Li H X. Exploration of the antibacterial mechanism of *Bacillus amyloliquefaciens* [D]. Shenyang: Shenyang Normal University, 2016 (in Chinese)
- [22] 姜雅倩, 成娜娜, 李培根, 卢毅, 王彦刚, 林榕娜, 周波, 王冰. 解淀粉芽胞杆菌 *Bacillus amyloliquefaciens* T-6 的分离鉴定及抗病促生潜力[J]. 生物技术通报, 2020, 36(9): 202-210
- Yao Y Q, Cheng N N, Li P G, Lu Y, Wang Y G, Lin R S, Zhou B, Wang B. Isolation, identification of *Bacillus amyloliquefaciens* T-6 and its potential of resisting disease and promoting growth [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2020, 36(9): 202-210 (in Chinese)
- [23] 吴际, 朱晓峰, 王媛媛, 刘晓宇, 赵迪, 杨宁, 段玉玺, 范海燕, 陈立杰. 生防细菌 Sneb2010 的鉴定及其对甜瓜枯萎病的防治效果研究[J]. 中国生物防治学报, 2024, 40(6): 1331-1346
- Wu J, Zhu X F, Wang Y Y, Liu X Y, Zhao D, Yang N, Duan Y X, Fan H Y, Chen L J. Identification of bacteria strain Sneb2010 and its control effect on melon *Fusarium* wilt [J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2024, 40(6): 1331-1346 (in Chinese)
- [24] 王继元. 促植物生长根际细菌对辣椒的促生作用及其机制初步研究[D]. 郑州: 河南农业大学, 2014
- Wang J Y. Preliminary study on the growth-promoting effect and

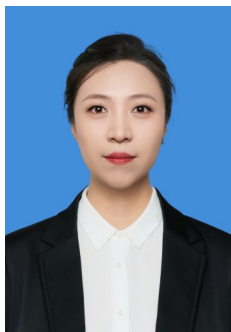
- mechanism of plant growth-promoting rhizobacteria on pepper [D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2014 (in Chinese)
- [25] 王丽菲, 武小斌, 朱晓峰, 王媛媛, 赵迪, 杨宁, 刘晓宇, 段玉玺, 范海燕, 陈立杰. 南方根结线虫生防真菌的筛选鉴定及防效研究[J]. 植物保护, 2024, 50(6): 62-70, 125
- Wang L F, Wu X B, Zhu X F, Wang Y Y, Zhao D, Yang N, Liu X Y, Duan Y X, Fan H Y, Chen L J. Screening, identification and efficiency of biocontrol fungi against southern root-knot nematode [J]. *Plant Protection*, 2024, 50(6): 62-70, 125 (in Chinese)
- [26] Yin N, Liu R, Zhao J L, Ali Khan R A, Li Y, Ling J, Liu W, Yang Y H, Xie B Y, Mao Z C. Volatile organic compounds of *Bacillus cereus* strain Bc-cm103 exhibit fumigation activity against *Meloidogyne incognita* [J]. *Plant Disease*, 2021, 105(4): 904-911
- [27] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001
- Dong X Z, Cai M Y. *Common Bacterial Systematic Identification Manual* [M]. Beijing: Science Press, 2001 (in Chinese)
- [28] Buchanan R E, Gibbons N E. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* [M]. 8th ed. Baltimore: Williams & Wilkins Company, 1974
- [29] Sutyak K E, Wirawan R E, Aroutcheva A A, Chikindas M L. Isolation of the *Bacillus subtilis* antimicrobial peptide subtilisin from the dairy product-derived *Bacillus amyloliquefaciens* [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2008, 104(4): 1067-1074
- [30] 黄典, 余豪, 陈稳, 程万里, 邵宗泽, 张吉斌. 独岛枝芽胞杆菌 MCCC 1A00493 产生的 4-乙烯基苯酚鉴定和作用南方根结线虫特性研究[J]. 微生物学报, 2022, 62(1): 346-356
- Huang D, Yu H, Chen W, Cheng W L, Shao Z Z, Zhang J B. Identification and characteristics of 4-vinylphenol from *Virgibacillus dokdonensis* MCCC 1A00493 against *Meloidogyne incognita* [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(1): 346-356 (in Chinese)
- [31] 赵晓曼. 贝莱斯芽胞杆菌 Bv-25 对南方根结线虫的生防作用分析[D]. 新乡: 河南科技学院, 2021
- Zhao X M. Analysis of the biocontrol effect of *Bacillus velezensis* Bv-25 on *Meloidogyne incognita* [D]. Xinxiang: Henan Institute of Science and Technology, 2021 (in Chinese)
- [32] Bridge J, Page S L J. Estimation of root-knot nematode infestation levels on roots using a rating chart[J]. *Tropical Journal of Pest Management*, 1980, 26(3): 296-298
- [33] 吴超群, 杨泽茂, 吴才君, 杨有新. 设施蔬菜根结线虫危害及其防控机制研究进展[J]. 北方园艺, 2018, (11): 164-172
- Wu C Q, Yang Z M, Wu C J, Yang Y X. Progress in protected vegetable root-knot nematodes interaction mechanism and its protection in greenhouse vegetable [J]. *Northern Horticulture*, 2018, (11): 164-172 (in Chinese)
- [34] Engelbrecht G, Horak I, Van Rensburg P J, Claassens S. *Bacillus*-based bionematicides: Development, modes of action and commercialisation [J]. *Biocontrol Science and Technology*, 2018, 28(7): 629-653
- [35] Miljaković D, Marinković J, Balešević-Tubić S. The significance of *Bacillus* spp in disease suppression and growth promotion of field and vegetable crops[J/OL]. *Microorganisms*, (2020-07-13). DOI: doi.org/10.3390/microorganisms8071037
- [36] Tian X L, Zhao X M, Zhao S Y, Zhao J L, Mao Z C. The biocontrol functions of *Bacillus velezensis* strain Bv-25 against *Meloidogyne incognita* [J]. *Frontiers in Microbiology*, (2022-04-07). DOI: doi.org/10.3389/fmicb.2022.843041
- [37] Dai M M, Liu R, Jiang H, Zhang X P, Song W W, Zhang J, Liang C, Zhao H H, Shi Q Q. Volatile organic compounds of *Bacillus pumilus* strain S1-10 exhibit fumigant activity against *Meloidogyne incognita* [J]. *Plant Disease*, 2023, 107(10): 3057-3063
- [38] Maqsood A, Aslam M N, Khaliq H, Shakeel M T, Wu H Y, Fahad S. Endophytic *Bacillus* spp mediated plant growth promotion of tomato seedlings and suppression of *Meloidogyne incognita* and *Fusarium oxysporum* disease complex [J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2024, 43(7): 2454-2469
- [39] Chen W, Wang J P, Huang D, Cheng W L, Shao Z Z, Cai M M, Zheng L Y, Yu Z N, Zhang J B. Volatile organic compounds from *Bacillus aryabhattai* MCCC 1K02966 with multiple modes against *Meloidogyne incognita* [J/OL]. *Molecules*, (2021-12-24). DOI: doi.org/10.3390/molecules27010103
- [40] 马佳, 李颖, 胡栋, 彭杰丽, 贾楠, 张翠绵, 王旭, 王占武. 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
- Ma J, Li Y, Hu D, Peng J L, Jia N, Zhang C M, Wang X, Wang Z W. Progress on mechanism and applications of *Bacillus* as a biocontrol microbe [J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2018, 34(4): 639-648 (in Chinese)
- [41] Etesami H, Glick B R. Halotolerant plant growth-promoting bacteria: Prospects for alleviating salinity stress in plants [J/OL]. *Environmental and Experimental Botany*, (2020-05-23). DOI: doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104124
- [42] 袁洪波, 王卓妮, 袁梦佳, 覃良红, 史冰柯, 周厚成, 侯琿, 王丽, 涂洪涛. 贝莱斯芽胞杆菌菌株 P2-1 对草莓褐色叶斑病菌的抑制活性及其促生作用[J]. 果树学报, 2023, 40(1): 126-132
- Yuan H B, Wang Z N, Yuan M J, Qin G H, Shi B K, Zhou H C, Hou H, Wang L, Tu H T. Antagonistic activity of *Bacillus velezensis* strain P2-1 against tan-brown leaf spot of strawberry and its growth-promoting effect [J]. *Journal of Fruit Science*, 2023, 40(1): 126-132 (in Chinese)
- [43] 王海霞, 郑成忠, 东保柱, 孟焕文, 周洪友, 孙瑞锋, 郑红丽. 燕麦内生细菌 YN-J3 的分离鉴定及防病促生作用研究[J]. 中国生物防治学报, 2022, 38(2): 447-457
- Wang H X, Zheng C Z, Dong B Z, Meng H W, Zhou H Y, Sun R F, Zheng H L. Isolation and identification of oat endophytic bacteria YN-J3 and study on its growth promotion and disease control [J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2022, 38(2): 447-457 (in Chinese)
- [44] 赵倩, 李军民, 雷庭, 王静, 蔡宪杰. 嗜酸性 PGPR 菌株 CLB-17 的筛选、鉴定及其对烟草青枯病菌的生防活性[J]. 植物保护学报, 2022, 49(2): 528-538
- Zhao Q, Li J M, Lei T, Wang J, Cai X J. Screening, identification and evaluation of acidophilic *Bacillus subtilis* CLB-17 for biocontrol of *Ralstonia solanacearum* causing tobacco wilt [J]. *Journal of Plant Protection*, 2022, 49(2): 528-538 (in Chinese)
- [45] Margalef O, Sardans J, Fernández-Martínez M, Molowny-Horas R, Janssens I A, Ciais P, Goll D, Richter A, Obersteiner M, Asensio D, Peñuelas J. Global patterns of phosphatase activity in natural soils [J/OL]. *Scientific Reports*, (2017-05-02). DOI: doi.org/10.1038/s41598-017-01418-8
- [46] 王鹏程, 金光辉, 张春雨, 李鑫. 不同生防菌剂组合及施用方式对马铃薯疮痂病的防治效果及促生作用[J]. 西南农业学报, 2022, 35(4): 797-803
- Wang P C, Jin G H, Zhang C Y, Li X. Biological control and growth promoting effect of potato common scab with different biocontrol agents and application method [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2022, 35(4): 797-803 (in Chinese)
- [47] 周园园, 郭永霞, 段玉玺, 李海燕, 陈立杰. 巨大芽胞杆菌 Sneb207 诱导大

- 豆抗胞囊线虫病的防效及光合响应[J]. 大豆科学, 2020, 39(4): 605-611
- Zhou Y Y, Guo Y X, Duan Y X, Li H Y, Chen L J. Prevention effect and photosynthetic performance in *Bacillus megaterium* Sneb207 against soybean cyst nematode disease in soybean[J]. *Soybean Science*, 2020, 39(4): 605-611 (in Chinese)
- [48] 付博, 张洁, 张蒙蒙, 都亚飞, 王静, 彭建斐. 烟草根结线虫病生防菌株 TB-68 的鉴定及室内防效测定[J]. 烟草科技, 2021, 54(7): 17-22
- Fu B, Zhang J, Zhang M M, Du Y F, Wang J, Peng J F. Identification of biocontrol strain TB-68 and its control efficiency against tobacco root knot nematode in greenhouse[J]. *Tobacco Science & Technology*, 2021, 54(7): 17-22 (in Chinese)
- [49] 孙孟娇, 梁超琼, 符晓, 王婷, 何群, 唐光辉, 李培琴. 贝莱斯芽胞杆菌 P87 对松材线虫病的生防作用及其不同施用方式的生防效果分析[J/OL]. 植物病理学报, (2024-11-06). [http: 10.13926/j.cnki.apps.001668](http://10.13926/j.cnki.apps.001668)
- Sun M J, Liang C Q, Fu X, Wang T, He Q, Tang G H, Li P Q. Biocontrol efficiency of *Bacillus velezensis* strain P87 against pine wilt disease and its biocontrol effects under different application methods [J/OL]. *Acta Phytopathologica Sinica*, (2024-11-06). [http: 10.13926/j.cnki.apps.001668](http://10.13926/j.cnki.apps.001668) (in Chinese)

责任编辑: 吕晓梅



第一作者简介: 黄馨玉, 沈阳农业大学植物保护学院植物病理学硕士研究生。曾参与蔬菜根结线虫的综合防控技术(国家寄生虫资源库项目;NPRC-2019-194-30)科普服务宣传文稿的撰写, 参与中国博士后科学基金特别资助(站中)项目(2022T150442)、国家自然科学基金(32372481)、中国博士后科学基金(2021M692234)项目等 4 项。2024 年获沈阳农业大学暑期社会实践先进个人及二等学业奖学金。



通讯作者简介: 范海燕, 博士, 沈阳农业大学植物保护学院副教授, 硕士生导师, 主要从事植物线虫病综合治理、植物病害生物防治与微生物生态学等方面研究。植物病理学会青年学术委员会委员, 辽宁省植物病理学会理事、辽宁省植物病理学副秘书长。主持国家自然科学基金青年基金 1 项、博士后科学基金特别资助(站中)项目 1 项、博士后面项目 1 项、国家重点研发计划项目子课题 2 项、辽宁省科技厅面上项目 1 项、辽宁省科技厅博士启动科研基金 1 项、沈阳农业大学引进人才科研基金 1 项; 参加国家自然科学基金、现代农业产业技术体系专项、农业部公益性行业科研项目、辽宁省重点研发项目、辽宁省重点实验室项目等, 发表学术论文 46 篇, 参编教材 3 部。获辽宁省科学技术进步二等奖 1 项(2019 年, 排名 9)、神农中华农业科技奖一等奖 1 项(2021 年, 排名 13)。