

贝莱斯芽孢杆菌 N46 对苦瓜白粉病的防治机理研究

项佳胤¹, 商 桑^{1,2*}, 田丽波^{2*}

1. 海南大学生命健康学院, 海南海口 570228; 2. 海南大学三亚南繁研究院, 海南三亚 572000

摘 要: 为探究贝莱斯芽孢杆菌 N46 对苦瓜白粉病的防治机理, 以前期分离得到的贝莱斯芽孢杆菌 N46 处理盆栽苦瓜, 通过检测白粉病病原菌 *Podosphaera xanthii* 的孢子萌发率、叶片防御酶活性的变化、活性氧积累、细胞过敏性坏死、木质素积累、抗病相关基因表达量的变化以及抗病表现的依赖途径, 开展 N46 的防治机理研究。结果表明: 高浓度 (6×10^8 CFU/mL) 的贝莱斯芽孢杆菌 N46 对苦瓜白粉病的防治效果达到 59.05%; N46 处理的苦瓜在病原菌侵染时其防御酶过氧化物酶 (POD)、过氧化氢酶 (CAT)、超氧化物歧化酶 (SOD) 活性的变化幅度和峰值出现了大幅增加, 活性氧 (ROS) 积累显著增加, 过敏性坏死率显著提高, 显著增强了细胞壁的木质素积累率, 同时观察到 N46 对叶面白粉病病原菌孢子萌发有显著的抑制作用。本研究检测了经 N46 处理的苦瓜的抗病相关基因: 茉莉酸 (jasmonic acid, JA) 反应性标记脂氧合酶基因 (LOC111018837)、水杨酸 (salicylic acid, SA) 反应性标记基因 (LOC111017362)、与过敏反应和细胞壁强化相关的过氧化物酶基因 (LOC111021192) 表达量的变化, 与对照相比, 这些基因在苦瓜被白粉病菌侵染时表达量显著增加, 其中处理组的 JA 反应性标记基因在未接触病原菌时也高于对照组的表达水平。说明 N46 处理的苦瓜在未接触病原菌时即保持了一定水平的抗性基因的“预启动”, 而在病原菌侵染时才出现更高的表达水平。通过布洛芬 (IBU) 抑制植株的 JA 反应途径, 使贝莱斯芽孢杆菌 N46 对于苦瓜白粉病的防效几乎消失, 表明 N46 诱导的苦瓜白粉病抗性的产生依赖于 JA 途径。综上所述, 贝莱斯芽孢杆菌 N46 通过抑制叶面白粉病菌孢子萌发和诱导苦瓜产生依赖于 JA 途径的抗病性起到对苦瓜白粉病的良好防治效果。本研究为苦瓜白粉病的生物防治提供了新方法, 为贝莱斯芽孢杆菌对苦瓜白粉病的防治作用提供理论依据。

关键词: 贝莱斯芽孢杆菌; 苦瓜白粉病; 防治机理; 诱导抗性

中图分类号: S476.1; S436.429 文献标志码: A

Control Mechanism of *Bacillus velezensis* N46 Against Powdery Mildew of Bitter Melon

XIANG Jiayin¹, SHANG Sang^{1,2*}, TIAN Libo^{2*}

1. School of Life and Health Science, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China; 2. Sanya Research Institute, Hainan University, Sanya, Hainan 572000, China

Abstract: Potted bitter melon was treated with *Bacillus velezensis* N46 to explore the mechanism of preventing powdery mildew of bitter melon. The prevention mechanism of N46 was studied by detecting the spore germination rate of powdery mildew pathogen (*Podosphaera xanthii*), changes in leaf defense enzyme activity, accumulation of reactive oxygen species, cell allergic necrosis, lignin accumulation, changes in the expression of disease-resistance related genes and disease-resistance pathways. The control effect of high concentration (6×10^8 CFU/mL) of *B. velezensis* N46 on powdery mildew of bitter melon reached 59.05%. In the N46 treatment group, the range and peak value of the activity of defense enzymes POD, CAT and SOD increased significantly, the accumulation of reactive oxygen species (ROS) increased significantly, the rate of anaphylactic necrosis increased significantly, and the rate of lignin accumulation in cell wall

收稿日期 2023-04-12; 修回日期 2023-05-26

基金项目 国家自然科学基金项目 (No. 32060682); 海南省重大科技计划项目 (No. ZDKJ2021010); 海南省自然科学基金项目 (No. 322RC576)。

作者简介 项佳胤 (1994—), 男, 硕士研究生, 研究方向: 微生物防治。*通信作者 (Corresponding author): 商 桑 (SHANG Sang), E-mail: fair.play@163.com; 田丽波 (TIAN Libo), E-mail: faiy7play@163.com。

was significantly enhanced. N46 had a significant inhibitory effect on the conidial germination of pathogen powdery mildew. The expression levels of JA reactive marker lipoyxygenase gene (LOC111018837), SA reactive marker gene (LOC111017362) and peroxidase gene (LOC111021192) associated with allergic reaction and cell wall strengthening were detected in the N46 treated bitter melon. Compared with the control group, the expression levels of the genes increased significantly when bitter melon was infected with the powdery mildew bacteria, and the expression levels of JA reactive marker genes in the treatment group were also higher than those in the control group when there was no contact with pathogenic bacteria. The results indicated that N46 treated bitter melon maintained a certain level of “preactivation” of resistance genes when it was not exposed to pathogenic bacteria, but showed a higher expression level when it was exposed to pathogenic bacteria. Finally, the JA response pathway was inhibited by ibuprofen (IBU), and the control effect of *B. velezensis* N46 on powdery mildew of bitter melon was almost disappeared, suggesting that the generation of N46 induced powdery mildew resistance of bitter melon depended on JA pathway. In conclusion, *B. velezensis* N46 has a good control effect on powdery mildew of bitter melon by inhibiting the conidium germination of *Megalomycetia* and inducing JA pathway dependent resistance of bitter melon. This study would provide a new method for the biological control of powdery mildew of bitter melon and a theoretical basis for the effect of *B. velezensis* on the control of powdery mildew of bitter melon.

Keywords: *Bacillus velezensis*; powdery mildew of bitter melon; control mechanism; induced systemic resistance

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2024.06.021

苦瓜 (*Momordica charantia* L.) 作为一年生的葫芦科苦瓜属的蔬菜作物, 广泛种植于亚洲和非洲的热带及温带地区^[1], 在我国尤其是南方地区广泛栽培^[2], 且栽培面积逐年上升。研究表明苦瓜含有高生物活性物质, 具有良好的医药应用价值^[3]和较高的经济价值。

白粉病作为苦瓜生产中最为严重的病害之一, 严重影响苦瓜的产量和品质, 是苦瓜生产中亟待解决的重要问题。据统计, 全世界范围内葫芦科白粉病的发病率在春秋两季高达 90%, 严重时可造成达 40% 的减产^[4]。单囊壳属 (*Sphaerotheca*) 的瓜类白粉病菌 (*Podosphaera xanthii*) 主要为害瓜类叶片, 是苦瓜白粉病的最主要病原菌, 白粉病菌的感染可引起叶片光合作用的降低, 严重时会引起植株衰弱直至死亡。

目前对于白粉病的防治, 仍以抗性品种的选育和使用农用化学杀菌剂为主。白粉病病原菌作为真核微生物有着较强的变异能力和适应性, 降低了抗病品种选育的实用度^[5], 选育的抗病品种可能再次受到变异病原菌的侵害。而杀菌剂在面对有耐药性的白粉菌变异种时防治效果较低, 过量使用农药还导致环境污染和严重的食品安全问题。目前对环境友好、有良好可持续性、安全性的生物防治逐渐成为防治白粉病的新趋势^[6]。

大量研究表明, 植物伴生细菌或者土壤中的植物有益细菌可以作为调控植物根际土壤微环境^[6]和促进植物健康生长^[8]的试剂来使用。其中芽孢杆菌属 (*Bacillus*) 的众多微生物被发现具有生物

防治潜力。芽孢杆菌属的生防菌主要通过直接抑制和间接抑制^[9]来控制植物病害。直接抑制主要是分泌对病原菌具有直接杀伤的代谢物质, 但这些代谢物会在土壤中扩散, 有较高的自然环境毒理风险, 需要严格的风险评估。并且这些代谢物在抗击病原菌的区域浓度和持续时间上都是难以量化和控制的问题^[10]。而间接抑制主要是刺激植物产生诱导抗性 (induced systemic resistance, ISR), 另一种是由病原菌攻击引起的抗病性称为系统获得性抗性 (systemic acquired resistance, SAR)。植物的抗病反应涉及植物活性氧积累、植物抗毒素的产生、酚类化合物和病程相关蛋白质的产生, 还会在物理层面增加防御, 比如植物细胞壁和角质层的加厚^[11], 这些增加抗性的生命活动均依赖于植物能量的消耗, SAR 持续性的抗性维持导致高昂的能量成本。与 SAR 的抗性反应不同, ISR 在非感染时期的预启动状态则允许植物在遭遇病原菌时以更快的速度更强地作出抗性反应, 这将显著降低植物体的能源成本。通过微生物本身或释放的信号化合物诱导植物对病原体的抗性不会对病原菌有选择压力, 这些微生物释放的信号化合物不直接与病原体相互作用, 因此, 不太可能导致病原菌对防治方式产生抵抗力^[12], 且以对植物抗性诱导为主要防治作用方式的微生物一般只考虑对人与动物的致病性, 不需要考虑生态毒理的风险性, 具有极好的应用前景。

贝莱斯芽孢杆菌 (*Bacillus velezensis*) 属于芽孢杆菌属, 为革兰氏阳性好氧细菌, 于 2005 年被

首次报道和命名。据研究,贝莱斯芽孢杆菌对于植物致病细菌有良好的防治效果,已报道的包括防治番茄青枯病^[13]、治疗水稻白叶枯病^[14],对金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)表现出良好的抑制作用^[15]。抗真菌方面也有较好效果,对番茄早疫病菌(*Alternaria solani*)具有良好的抑制效果^[16]。研究还发现使用贝莱斯芽孢杆菌处理植物有明显的促生作用^[17],对番茄植株的株高、茎粗、根系生长等生长参数均有显著提升^[18],且贝莱斯芽孢杆菌处理土壤中植物有益微生物的丰度和种类均有提升^[19]。贝莱斯芽孢杆菌大多能引起植物产生诱导抗性,但需要达到一定浓度,且一般在根部较易诱导植物抗性,而在叶面的诱导能力因不同菌株而异^[20]。贝莱斯芽孢杆菌分布范围极广,繁殖速度快,极易存活,具有较高的生物安全性^[21],有着优良的生物防治应用前景。

前人对于芽孢杆菌属微生物用于生物防治已有大量研究报道,但尚无利用贝莱斯芽孢杆菌防治苦瓜白粉病并明确其防治机理的研究。本研究通过实验室前期筛选获得的 1 株编号为 N46 的贝莱斯芽孢杆菌来探究其对苦瓜白粉病的防治效果。进一步通过检测病原菌孢子萌发率、苦瓜叶片防御酶活性变化、活性氧积累、细胞过敏性坏死、木质素积累、抗病相关基因的表达量变化和探究抗性反应作用途径来揭示拮抗菌对苦瓜白粉病的防治机理。为苦瓜生产中白粉病的防治提供新的方法,对于苦瓜生产具有十分重要的意义。

1 材料与方法

1.1 材料

贝莱斯芽孢杆菌 N46: 由本实验室筛选、编号、鉴定并保存。

病原菌: 苦瓜白粉病病原菌 (*Podosphaera xanthii*) 由本实验室分离、纯化并保存。

植物材料: 苦瓜纯合品系 25-15, 由本实验室保存、提供。

1.2 方法

1.2.1 贝莱斯芽孢杆菌 N46 培养条件 培养基配比为牛肉膏 0.93%、酵母提取物 0.52%、氯化钠 0.50%, 环境条件: 摇床转速为 220 r/min, 装液量为 35%, 接种量为 5%, 初始 pH 为 6, 培养温度为 32 ℃, 培养时间为 24 h。

1.2.2 贝莱斯芽孢杆菌 N46 菌悬液制备 以 1.2.1 培养条件对 N46 进行培养。对所得发酵液常

温 4000 r/min 离心 10 min, 弃上清液, 以无菌水重悬, 测定菌悬液的活菌浓度, 并稀释至 6×10^8 、 6×10^7 、 6×10^6 CFU/mL, 置于 4 ℃ 保存, 备用。

1.2.3 N46 对苦瓜白粉病的防治效果测定 (1) 苦瓜苗处理。取苦瓜纯合品系 25-15 的种子, 种子表面使用 75%乙醇浸泡消毒 3 min, 去除残余乙醇, 置于 55 ℃水浴 20 min 后取出, 30 ℃浸种 24 h 后催芽, 环境温度为 30 ℃。待苦瓜长至 7 日龄, 选取长势一致的苦瓜苗, 对叶面及根部喷施 N46 菌悬液共 10 mL, 每 2 d 喷施 1 次, 共施用 3 次。试验设置 3 个 N46 菌悬液处理: 6×10^8 CFU/mL (T_1); 6×10^7 CFU/mL (T_2); 6×10^6 CFU/mL (T_3)。以施用无菌水为阴性对照组 (CK^-), 施用 250 mg/L 三唑酮溶液为阳性对照组 (CK^+)。每个处理组 10 株苗, 重复 3 次。

(2) 白粉病病原菌接种。待上述处理的苦瓜叶片晾干后, 用 0.05% Tween-20 溶液配制成浓度为 1×10^6 个/mL 的新鲜白粉病菌孢子悬浮液, 并均匀喷施在苦瓜苗叶片上完成病原菌接种。

(3) 苦瓜叶片白粉病病情分级标准及相对防治率计算。接种病原菌 10 d 后, 统计各处理组中所有植株的第 1、2 片真叶, 参考 GB/T 17980.30—2000《农药 田间药效试验准则 (一) 杀菌剂防治黄瓜白粉病》的分级标准 (表 1)。

表 1 病叶级数标准	
Tab. 1 Diseased leaf series criteria	
病叶级数 Diseased leaf series	判断标准 Judgement standard
0	无病斑
1	病斑面积占整个叶片面积的 5%以下
3	病斑面积占整个叶片面积的 6%~10%
5	病斑面积占整个叶片面积的 11%~20%
7	病斑面积占整个叶片面积的 21%~50%
9	病斑面积占整个叶片面积的 51%以上

病情指数计算公式如下:

病情指数 =
$$\frac{\sum(\text{各级病叶数} \times \text{相对级数值})}{\text{调查总叶数} \times 9} \times 100$$

相对防治效果计算公式如下:

相对防治效果 =
$$\frac{\text{对照组病情指数} - \text{实验组病情指数}}{\text{对照组病情指数}} \times 100\%$$

1.2.4 N46 对苦瓜白粉病的防治机理研究 (1) 苦瓜防御酶活性测定。将待测苦瓜分为 4 个处理

组：仅喷施无菌水的健康对照组（CK）；喷施 6×10^8 CFU/mL N46 菌悬液的实验组（N46）；N46 菌悬液处理后再接种病原菌的实验组（N46+病原菌）；喷施等量无菌水后再接种病原菌的阳性对照组（病原菌）。对这些处理组在接种白粉病病原菌孢子后的 0、24、48、72、96 h 分别取样，每个处理组 5 株苗，重复 3 次。参考汪茜等^[22]的方法对苦瓜叶片的过氧化物酶（POD）、过氧化氢酶（CAT）、超氧化物歧化酶（SOD）活性进行测定。

（2）苦瓜叶片活性氧（ROS）积累测定。对 N46 处理组和 CK 喷施接种白粉病病原菌孢子悬浮液，接种 24、48、72、96 h 后分别随机取 3 株苦瓜的同一叶位的 3 片叶子，采用二氨基联苯胺（DAB）染色法进行活性氧积累的检测。叶片以 DAB 染色后 80℃ 下无水乙醇脱色 10 min，观察记录叶片出现的红褐色区域，以叶片出现红褐色区域占叶片总面积的百分比作为该叶片活性氧积累率。计算公式如下：

活性氧积累率 = $\frac{\text{红褐色区域面积}}{\text{叶片总面积}} \times 100\%$

（3）白粉病菌孢子萌发率及苦瓜叶片细胞过敏性坏死测定。以台盼蓝（TPB）染色观察和统计苦瓜叶片上白粉病菌孢子的萌发率和叶片细胞过敏性坏死的情况。对 N46 处理组和 CK 喷施接种白粉病菌孢子悬浮液，接种 0、24、48、72、96 h 后分别取样，叶片以 TPB 染色后于 80℃ 下无水乙醇脱色 10 min，取出叶片用显微镜观察。排除 0 h 时已萌发的孢子后再统计接种 24 h 时的叶面孢子萌发数，每个处理组随机取 5 株苦瓜的同一叶位的 2 片叶子进行统计，每组叶片统计 500 个孢子，计算白粉病菌孢子在 24 h 的孢子萌发率。每片叶片随机统计 30 个互作点，以互作点呈现蓝色区域数占统计总数的百分比作为该叶片细胞过敏性坏死率。计算公式如下：

孢子萌发率 = $\frac{\text{已萌发孢子数}}{\text{统计总孢子数}} \times 100\%$

过敏性坏死率 = $\frac{\text{蓝色区域数}}{\text{互作点总数}} \times 100\%$

（4）苦瓜叶片木质素沉积测定。用甲苯胺蓝染料对脱色后的苦瓜叶片进行染色，观察拮抗菌对植物与病原菌互作点处的木质素沉积情况。对 N46 处理组和 CK 喷施接种白粉病菌孢子悬浮液，接种 24、48、72、96 h 后分别随机取 3 株苦瓜的 3 片叶子，样品叶片以无水乙醇脱色后，置于 1% 甲苯胺蓝染料至没过叶片，避光浸泡 12 h，用蒸馏水漂洗去染料后使用显微镜观察植物与病原菌互作点的情况，每片叶片随机统计 30 个互作点，以互作点呈现蓝紫色区域数占统计总数的百分比作为该叶片病理互作点木质素积累率。计算公式如下：

木质素积累率 = $\frac{\text{统计的蓝紫色区域}}{\text{调查的互作点个数}} \times 100\%$

（5）苦瓜抗病调控基因表达的测定。对 N46 处理组和 CK 喷施接种白粉病菌孢子悬浮液，接种 0、24、48、72、96 h 后分别取 3 株苦瓜第 1、2 片真叶作为提取 RNA 样品。提取 RNA 后使用 NOVA 逆转录试剂盒对样品 RNA 进行反转录获取 cDNA，以反转录得到的苦瓜叶样品 cDNA 为模板，以肌动蛋白基因（*actin-7-like*, LOC111021666）为内参基因，参考 GARCÍA-GUTIÉRREZ 等^[23]在葫芦科植物甜瓜中检测的植物抗病有关的标记性基因，在 NCBI 中进行氨基酸序列比对以获得苦瓜的同源基因，对其进行 qRT-PCR 检测，试验所用引物见表 2。使用 qPCR 仪（Appliedbiosystems，赛默飞）进行荧光定量试验，样品 qPCR 所用试剂盒 MonAmpChemoHS qPCR Mix 由 Monad 公司提供。每个处理 3 次生物学重复。使用相对定量计算法对仪器测得的 Ct 值采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算。

表 2 抗性诱导相关基因 qRT-PCR 引物
Tab. 2 qRT-PCR primers for genes related to resistance induction

NCBI 编号 NCBI No.	引物序列（5'-3'）Primer sequence（5'-3'）	基因及其描述 Genes and their descriptions
LOC111021666	F: CCCTCCCTCATGCAATTCTC R: TCGGCAGTAGTGGTAAACATGTAAC	<i>actin-7-like</i> ，肌动蛋白
LOC111018837	F: GCCTGAAGTAGGCACTCCTG R: GTCCACTCAATGCTGGCTCT	<i>linoleate 9S-lipoxygenase 6-like</i> ，脂氧合酶，JA 反应标记性基因
LOC111017362	F: CAACACAAATCACCGCCGAC R: ACCAGAAACCCCAAGTGCTC	pathogenesis-related protein <i>PR-1</i> type-like，SA 反应标记性基因
LOC111021192	F: ACACCCTTTCCAGGAATCGC R: GTGCCAATTCTTCAGCCACC	<i>peroxidase 2-like</i> ，过氧化物酶，可被 JA/SA 诱导的与细胞过敏反应和细胞壁强化相关的基因

(6) 阻断茉莉酸 (JA) 途径对 N46 诱导苦瓜抗病性的影响。布洛芬 (IBU) 作为 JA 合成抑制剂可以阻断 JA 途径介导的抗病反应, 可作为探究 N46 对苦瓜抗病性的诱导途径。在接种病原菌前 24 h 以 5 mmol/L IBU 溶液涂于苦瓜第 1、2 片真叶。苦瓜苗的预处理同 1.2.3-(1)。设置 4 种处理: 无菌水处理后再接种病原菌 (A_1); 无菌水处理后涂抹 IBU, 再接种病原菌 (A_2); N46 菌悬液处理后再接种病原菌 (A_3); N46 菌悬液处理后涂抹 IBU, 再接种病原菌 (A_4)。14 h 光照 10 h 黑暗循环处理, 培养 10 d 叶片发病后观察记录接种病原菌叶片的病叶级数, 并计算植株病情指数。每个处理 10 株苗, 每组重复 3 次。

1.3 数据处理

采用 SPSS 20.0 和 Microsoft Excel 2013 软件对

试验数据进行处理分析和制作图表; 采用 Duncan's 新复极差法检验不同处理间的差异显著性。

2 结果与分析

2.1 贝莱斯芽孢杆菌 N46 对苦瓜白粉病的防治效果

由图 1、图 2 可以看出, 随着贝莱斯芽孢杆菌 N46 活菌浓度的增加, 对苦瓜白粉病菌的防治效果逐步提升。接种白粉病菌 10 d 时, CK^- 对白粉病的防治效果为 0%, 三唑酮处理 (CK^+) 的相对防治效果为 57.43%, T_1 、 T_2 、 T_3 处理对苦瓜白粉病的相对防治效果分别为 59.05%、33.65%、15.24%。表明 T_1 处理对苦瓜白粉病有较好的相对防治效果, 与市售真菌杀菌剂三唑酮的防治效果无显著差异。

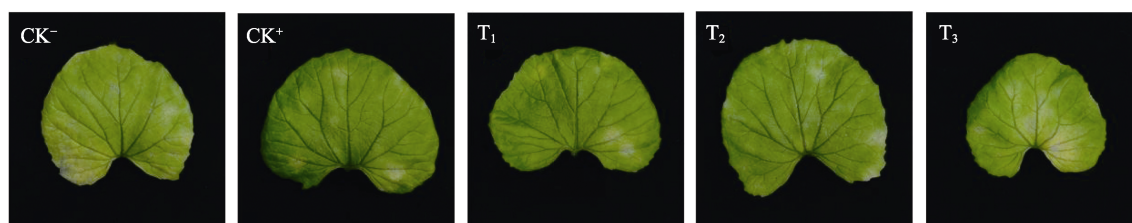
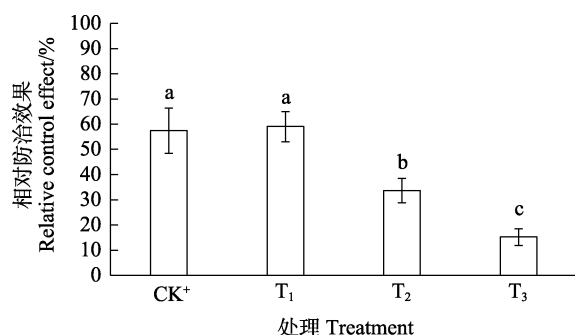


图 1 不同浓度 N46 对苦瓜白粉病的防治效果

Fig. 1 Control effect of different concentrations of N46 on bitter melon powdery mildew



不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

图 2 不同浓度 N46 对苦瓜白粉病的相对防治效果

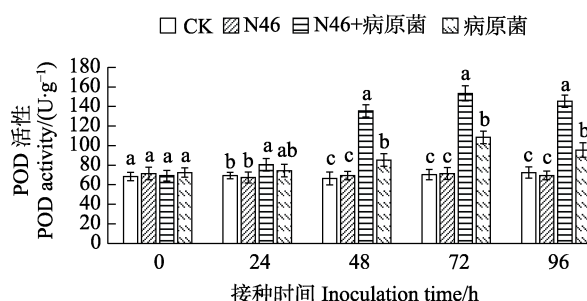
Fig. 2 Relative control effect of different concentrations of N46 on bitter melon powdery mildew

2.2 贝莱斯芽孢杆菌 N46 对苦瓜白粉病的防治机理

2.2.1 N46 处理对苦瓜防御酶活性的影响 由图 3 可知, 与未接种病原菌处理相比, 接种病原菌的 2 个处理的 POD 活性在接种 48、72、96 h 出现大幅提高且差异显著 ($P < 0.05$)。其中 N46+病原菌处理的 POD 活性的变化幅度和活性峰值均显著

高于仅接种病原菌处理组, 在接种 72 h 达到峰值 153.35 U/g, 比仅接种病原菌处理组高 41.50%, 并且与仅接种病原菌处理组差异显著 ($P < 0.05$)。

由图 4 可知, 与未接种病原菌处理相比, 接种病原菌的 2 个处理的 CAT 活性在接种 48、72、96 h 出现大幅提高且差异显著 ($P < 0.05$)。N46+病原菌处理在 48 h 出现 CAT 活性显著增高, 酶活性峰值比仅接种病原菌处理提高了约 57.00%,

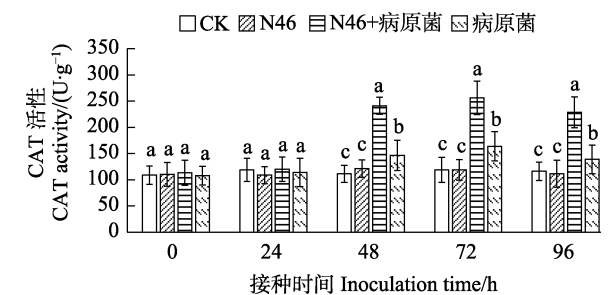


不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

图 3 N46 处理对苦瓜 POD 活性的影响

Fig. 3 Effect of N46 treatment on POD activity of bitter melon



不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

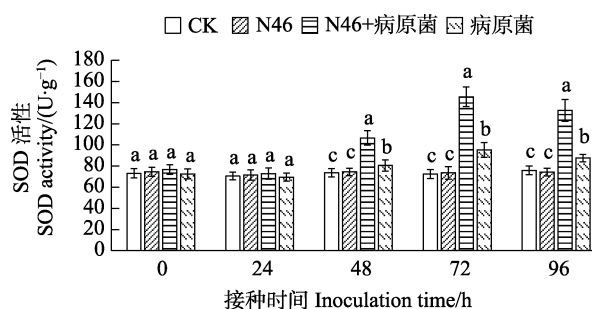
Different lowercase letters indicate significant difference ($P<0.05$).

图 4 N46 处理对苦瓜 CAT 活性的影响

Fig. 4 Effect of N46 treatment on CAT activity of bitter melon

在 48~96 h 间接种病原菌的 2 个处理的 CAT 活性变化幅度和峰值均有显著差异 ($P<0.05$)。

由图 5 可知,仅接种病原菌的处理在 48 h 时出现 SOD 活性增加,与 CK 差异显著 ($P<0.05$),但酶活性增幅较小,且在 96 h 出现酶活性下降;N46+病原菌处理的 SOD 活性在 48 h 出现显著增高 ($P<0.05$),于 72 h 达到峰值,比仅接种病原菌处理提高了约 53.00%,且 96 h 时酶活性下降不明显。



不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

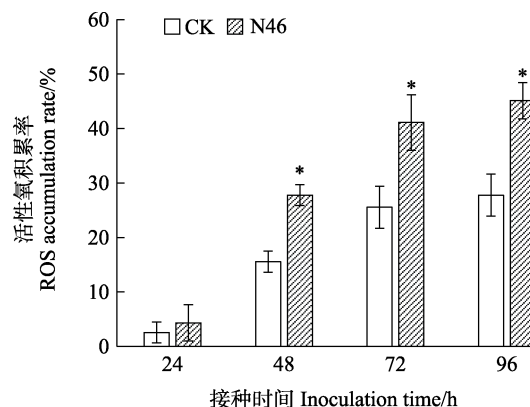
Different lowercase letters indicate significant difference ($P<0.05$).

图 5 N46 处理对苦瓜 SOD 活性的影响

Fig. 5 Effect of N46 treatment on SOD activity of bitter melon

2.2.2 N46 处理对苦瓜活性氧积累的影响 由图 6 可知,N46 处理和 CK 的活性氧积累均随接种时间的延长而增加,接种 24 h 时活性氧积累率分别为 4.30% 和 2.50%,48 h 起产生了较高的活性氧积累,CK 在接种 48、72、96 h 的活性氧积累率分别为 15.60%、25.60%、27.80%,N46 处理的活性氧积累率在接种 48、72、96 h 分别为 27.80%、41.10%、45.10%,与 CK 均有显著差异 ($P<0.05$)。

2.2.3 N46 处理对白粉菌分生孢子萌发及苦瓜叶片细胞过敏性坏死的影响 通过 TPB 染色观察和统计苦瓜叶片上白粉菌分生孢子的萌发率和叶片



*表示差异显著 ($P<0.05$)。

* indicates significant difference ($P<0.05$).

图 6 N46 处理对苦瓜活性氧积累的影响

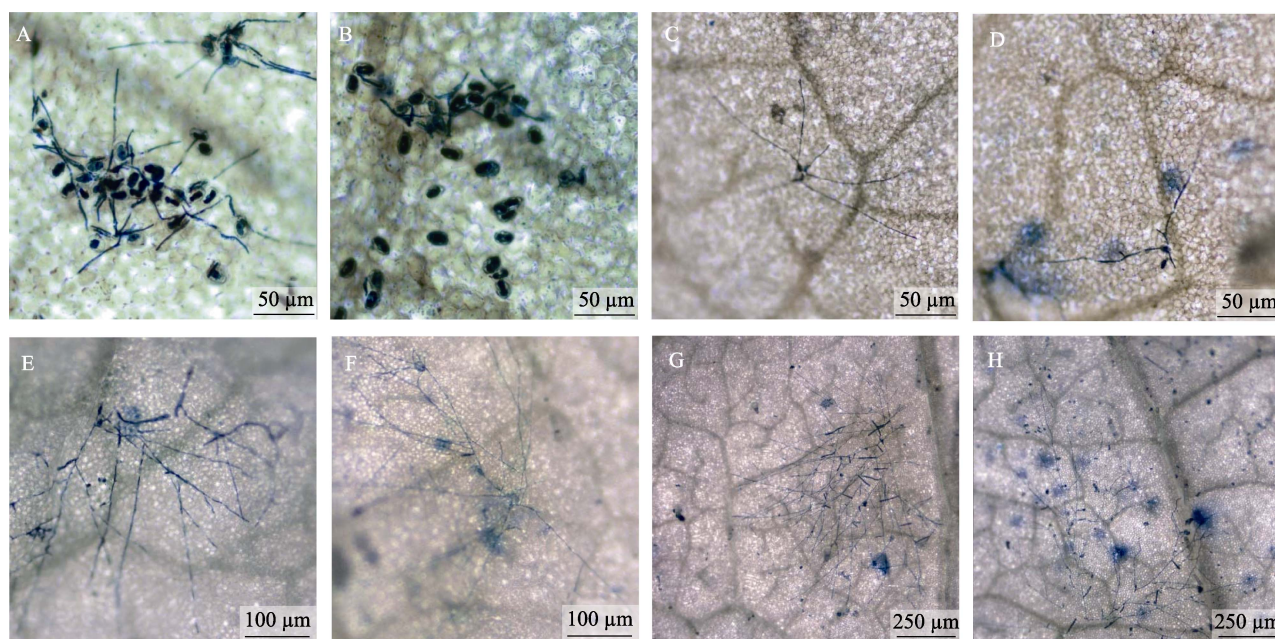
Fig. 6 Effect of N46 treatment on ROS accumulation in bitter melon

细胞过敏性坏死的情况。结果表明,接种 24 h 时,CK 叶面孢子萌发率为 30.67%,与 N46 处理的孢子萌发率 (18.80%) 差异显著 ($P<0.05$)。

由图 7、图 8 可知,各处理的叶片细胞过敏性坏死率均随接种时间的延长而增加。接种 24 h 时,CK 和 N46 处理的叶片细胞过敏性坏死率均较低,在 3.00% 以下;接种 48 h 时,CK 和 N46 处理分别为 11.00% 和 22.00%,二者差异显著 ($P<0.05$)。接种 72 h 时,N46 处理的过敏性坏死率达到峰值 30.00%,且在 96 h 时无明显下降。而 CK 在接种 48、72、96 h 的坏死率均无显著差异,最高仅 14.00%,而与 N46 处理差异显著 ($P<0.05$)。

2.2.4 N46 处理对苦瓜木质素沉积的影响 以甲苯胺蓝对脱色苦瓜叶片进行染色,观察病原菌与植物互作处的木质素积累情况。结果表明,接种 24 h 时,N46 处理和 CK 均未观察到因木质素积累而被染色的区域;接种 48~96 h,N46 处理和 CK 的木质素积累率均逐渐升高,CK 的木质素积累率分别为 5.70%、12.30%、14.60%,而接种 48 h 时,N46 处理组的木质素积累率即有 35.70%,72 h 时达到 68.70%,96 h 时达到最高值 92.60%。各时期 N46 处理和 CK 的木质素积累率均有显著差异 ($P<0.05$),且与 CK 相比,N46 处理木质素积累染色显示区域更大、染色程度更深,表明其在互作点的木质素积累量更大 (图 9,图 10)。

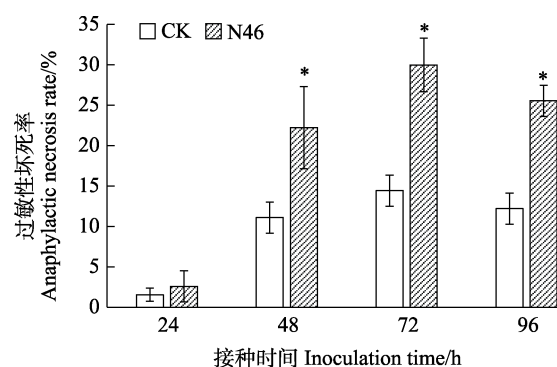
2.2.5 N46 对苦瓜抗病调控基因的影响 利用 qRT-PCR 技术对苦瓜调控抗病关键基因的表达量进行测定,结果表明,未接触病原菌的 0 h 时,N46 处理的 JA 反应应答的标记性基因(LOC1110--



A: CK, 24 h; B: N46, 24 h; C: CK, 48 h; D: N46, 48 h; E: CK, 72 h; F: N46, 72 h; G: CK, 96 h; H: N46, 96 h.

图 7 N46 对白粉菌分生孢子萌发及苦瓜叶片细胞过敏性坏死的影响

Fig. 7 Effect of N46 on conidial germination of powdery mildew and hypersensitivity necrosis of bitter melon leaf cells

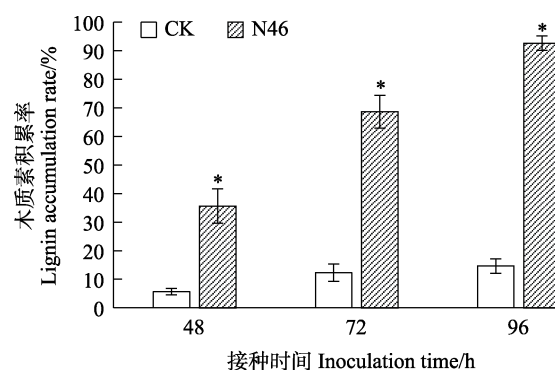


*表示差异显著 ($P<0.05$)。

* indicates significant difference ($P<0.05$).

图 8 N46 处理对苦瓜叶片过敏性坏死的影响

Fig. 8 Effect of N46 treatment on allergic necrosis of bitter melon leaves

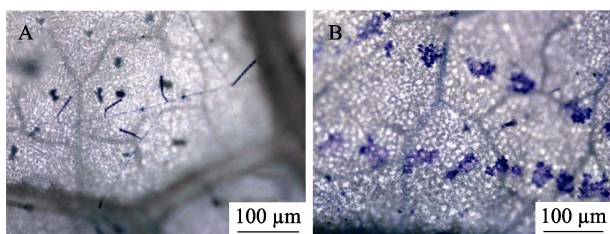


*表示差异显著 ($P<0.05$)。

* indicates significant difference ($P<0.05$).

图 10 N46 处理对苦瓜木质素积累的影响

Fig. 10 Effect of N46 treatment on lignin accumulation in bitter melon



A: CK, 96 h; B: N46, 96 h.

图 9 苦瓜叶片木质素积累的甲苯胺蓝染色

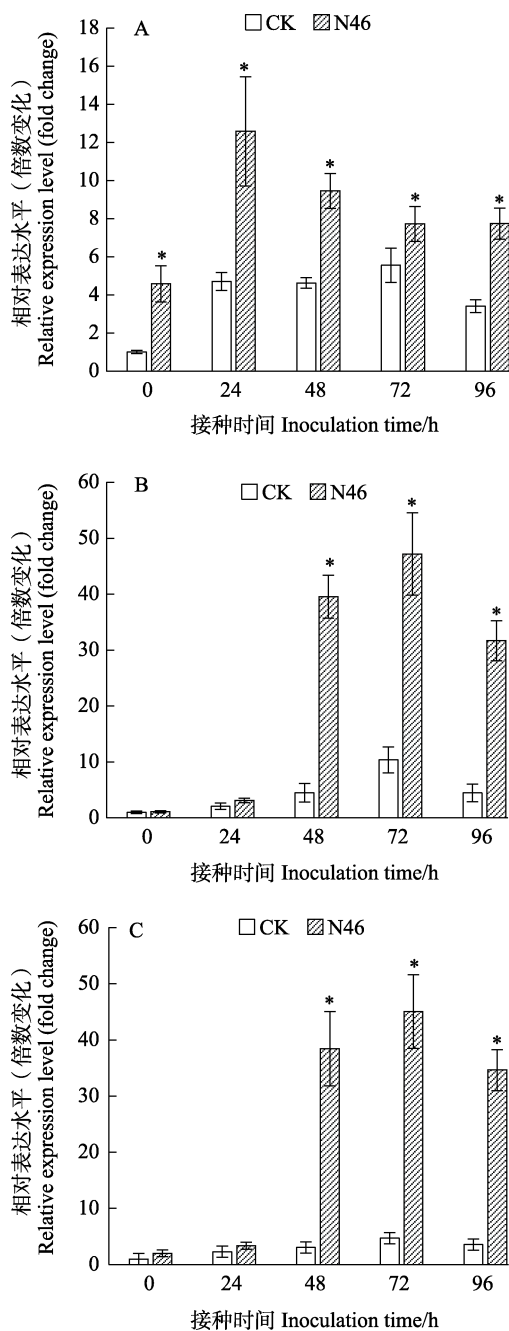
Fig. 9 Toluidine blue staining of lignin accumulation in bitter melon leaves

18837, linoleate 9S-lipoxygenase 6-like) 的表达量约为 CK 的 4.7 倍, 二者差异显著 ($P<0.05$); 接种病原菌 24 h 时, N46 处理的表达量达到峰值,

为 CK 的 2.7 倍, 之后随接种时间的延长 N46 处理的表达水平逐渐下降; 各时期 CK 的表达量均低于 N46 处理组, 二者均差异显著 ($P<0.05$, 图 11A)。

由图 11B 可知, 接种 48 h 时, N46 处理的 SA 反应应答的标记性基因 (LOC111017362, pathogenesis-related protein PR-1 type-like) 的表达水平出现大幅上调, 接种 72 h 时出现峰值, 接种 48~96 h N46 处理的表达量与 CK 均呈显著差异 ($P<0.05$)

由图 11C 可看出, 接种 48 h 时, N46 处理的由 JA/SA 诱导的与过敏反应和细胞壁强化相关的基因 (LOC111021192, peroxidase 2-like) 的表达水平出现大幅上调, 并在接种 72 h 达到峰值, 比



A: LOC111018837; B: LOC111017362; C: LOC111021192.

*表示差异显著 ($P < 0.05$)。

A: LOC111018837; B: LOC111017362; C: LOC111021192.

* indicates significant difference ($P < 0.05$).

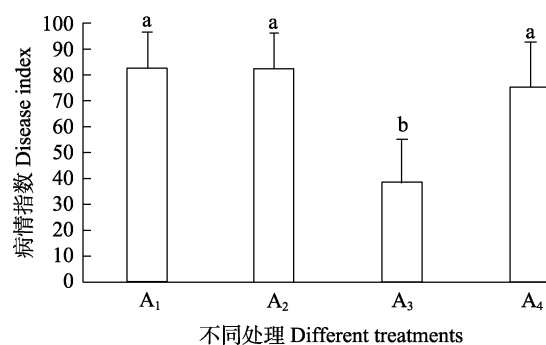
图 11 N46 处理对苦瓜抗病调控基因的影响

Fig. 11 Effect of N46 treatment on genes regulating disease resistance in bitter melon

CK 高 8.6 倍, 在接种 96 h 时略有下降, 但仍比 CK 高 8.7 倍。各时期 CK 的表达水平均较低, 接种 48~96 h CK 的表达水平与 N46 处理均呈显著差异 ($P < 0.05$)。

2.2.6 阻断 JA 途径对 N46 诱导苦瓜抗病性的影响 对 N46 处理后的苦瓜使用 IBU 阻断 JA 途径,

探究菌 N46 作用于苦瓜产生抗性诱导的依赖途径, 结果如图 12 所示。施用无菌水再接种病原菌 (A_1) 的病情指数为 83, 与仅施用 IBU 处理组 (A_2) 和施用 N46 后涂抹 IBU 再接种病原菌 (A_4) 处理组的病情指数无显著差异, 而 N46 处理的苦瓜病情指数仅 39, 与其他处理均呈差异显著 ($P < 0.05$)。



不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

图 12 IBU 对苦瓜应答 N46 抗性诱导的影响

Fig. 12 Effect of IBU on resistance induction of bitter melon response N46

3 讨论

因白粉病菌具有变异快、适应性强的生物学特性, 抗病育种和化学农药均面临着难以继续控制病害的局面。环保、可持续、高潜力的生物防治措施或将是未来的最佳选择。

近年来, 芽孢杆菌属微生物作为生物防治的热点研究菌群, 越来越多地被用于各种植物病害的控制。冉继平等^[24]从植物根际土壤中筛选到 2 株对刺梨白粉病具有突出防治效果的解淀粉芽孢杆菌 (*Bacillus amyloliquefaciens*) 和空气芽孢杆菌 (*B. aerius*)。谢德珊^[25]研究发现枯草芽孢杆菌对小麦白粉病有良好的控制效果, 在高浓度下的防效超过市售农药三唑酮, 且对植物有较好的促生效果。杨东亚等^[26]发现解淀粉芽孢杆菌和枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*) 对黄瓜茄病镰刀菌 (*Fusarium solani*) 具有良好的抑制效果。本研究中, 贝莱斯芽孢杆菌 (*B. velezensis*) N46 在 6×10^8 CFU/mL 浓度时对苦瓜白粉病具有显著的防治效果, 与上述研究结果较为相似。

杨胜清等^[16]研究发现贝莱斯芽孢杆菌对植物病害的防治主要有直接作用 (抑菌物质的分泌) 和间接作用 (诱导植物抗性) 2 种方式。由于分泌的抗菌物质本质与化学农药无太大区别, 且已

有较多研究阐述,本研究的关注点集中在贝莱斯芽孢杆菌使植物产生的诱导抗性。本研究发现,贝莱斯芽孢杆菌 N46 处理的苦瓜防御酶 POD、CAT 和 SOD 的活性在接种病原菌 48 h 时,出现大幅增加,且显著高于 CK。前期的研究表明,N46 处理能有效防控白粉病在苦瓜上的发生,而进一步研究表明,N46 处理对苦瓜防御酶活性的变化幅度也显著提高。这与前人研究发现的植物防御酶 POD、CAT、SOD 的活性高低及变化幅度在苦瓜中与其对白粉病的抗性呈正相关的规律^[27]相吻合,与其他研究者在番茄作物上以芽孢杆菌处理植物获得的规律^[28]类似。表明 N46 处理对苦瓜白粉病的良好防治效果有一部分来源于植物的防御酶响应变化的提升。本研究还观察到 N46 处理的苦瓜在接种白粉病菌时比 CK 有更高的活性氧(ROS)积累率,而 ROS 在植物抗病中有着至关重要的作用,包括直接杀死病原菌、氧化交联提高细胞壁强度、造成细胞过敏性坏死等^[29]。被侵染的植物细胞过敏性坏死并强化周边细胞的细胞壁可以有效阻止病害的传播,这是植物抗病能力的表现。N46 处理的过敏性坏死率显著高于 CK。木质素沉积能使植物在受到病原菌侵害时加强细胞壁结构,限制病原菌的活动范围,从而阻止病原菌的扩散。甲苯胺蓝染色后观察到 N46 处理的木质素积累率远高于 CK,与白红燕等^[30]使用贝莱斯芽孢杆菌处理棉花作物时的表现类似。

本研究通过 qRT-PCR 技术检测了抗病途径相关基因的表达水平,N46 处理的 JA 反应应答的标记性基因(LOC111018837)、SA 反应应答的标记性基因(LOC111017362)、由 JA/SA 诱导的与过敏反应和细胞壁强化相关基因(LOC111021192)的表达量高于 CK。N46 处理的 JA 反应应答的标记性基因表达量在 0 h 即与 CK 呈显著差异,表明 N46 处理的苦瓜在未接触病原菌时即保持了一定水平的抗性基因表达,但在本研究测定的生理生化指标中并未表现出明显差异,且在被病原菌侵染时抗病相关基因的表达量更高。这样的“预启动”效果在葫芦科甜瓜作物^[23]的诱导抗性研究中发现有类似的表现,“预启动”不同于使植物一直保持高水平的防御动作,“预启动”使植物仅在面对病原菌侵害时才触发植物防御动作,且比未经抗性诱导的植物反应更快、更强。通过抑制 JA 反应途径使 N46 对苦瓜白粉病的防效几乎消失,其染病严重程度与 CK 无显著区别。这些结果表

明依赖植物的 JA 途径产生 N46 诱导的苦瓜抗病性,与在模式植物拟南芥^[31]上得出的结论一致。而在抗病过程中也会使 SA 途径的抗病性增强,所以 N46 使苦瓜对白粉病抗病性提高是 JA 途径与 SA 途径协同作用的结果。进一步探究引起苦瓜抗病性的信号分子、植物细胞表面受体及其植物体中的信号转导,深入完整地揭示生物防治的作用机理是下一步的研究方向和目标。

本研究通过盆栽苦瓜测定并确认了贝莱斯芽孢杆菌 N46 对苦瓜白粉病的良好防治效果,进一步探究了其防治机理,研究表明贝莱斯芽孢杆菌 N46 通过抑制叶面白粉病孢子萌发和诱导苦瓜叶片产生依赖于 JA 途径的抗病性起到对白粉病的防治效果。

参考文献

- [1] CUI J J, YANG Y, LUO S B, WANG L, HUANG R K, WEN Q F, HAN X X, MIAO N S, CHENG J W, LIU Z J, ZHANG C Y, FENG C C, ZHU H S, SU J W, WAN X J, HU F, NIU Y, ZHENG X M, YANG Y L, SHAN D, DONG Z S, HE W M, NARINDER P S D, HU K L. Whole-genome sequencing provides insights into the genetic diversity and domestication of bitter melon (*Momordica* spp.)[J]. Horticulture Research, 2020, 7(1): 85.
- [2] 周萌萌, 田丽波, 商桑, 邹凯茜, 潘琼玉, 曾丽萍. 苦瓜白粉病病原菌和生理小种的鉴定及苦瓜对白粉病的抗性遗传分析[J]. 植物保护学报, 2019, 46(2): 313-322.
- [3] ZHOU M M, TIAN L B, SHANG S, ZOU K X, PAN Q Y, ZENG L P. Identification of powdery mildew physiological races and genetic resistance analysis of bitter melon to the disease[J]. Journal of Plant Protection, 2019, 46(2): 313-322. (in Chinese)
- [4] YANG S J, CHOI J M, PARK S E, RHEE E J, LEE W Y, OH K W, PARK S W, PARK C Y. Preventive effects of bitter melon (*Momordica charantia*) against insulin resistance and diabetes are associated with the inhibition of NF- κ B and JNK pathways in high-fat-fed OLETF rats[J]. The Journal of Nutritional Biochemistry, 2015, 26(3): 234-240.
- [5] CHEN Y, JING X, WANG S, WANG J, ZHANG S, SHI Q. Genome-wide analysis of WRKY transcription factor family in melon (*Cucumis melo* L.) and their response to powdery mildew[J]. Plant Molecular Biology Reporter, 2021, 39(4): 686-699.
- [6] TETTEH A Y, WEHNER T C, DAVIS A R. Identifying resistance to powdery mildew race 2W in the USDA - ARS watermelon germplasm collection[J]. Crop Science, 2010, 50(3): 933-939.

- [6] 卢幸蓉, 陈大为, 张树武, 刘佳, 徐秉良. 黄瓜白粉病菌拮抗真菌鉴定及生防效果评价[J]. 中国生物防治学报, 2017, 33(3): 427-432.
- LU X R, CHEN D W, ZHANG S W, LIU J, XU B L. Identification of antagonistic fungus against *Sphaerotheca fuliginea* and evaluation of its biocontrol efficacy[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2017, 33(3): 427-432. (in Chinese)
- [7] CHAUDHARY T, SHUKLA P. Bioinoculants for bioremediation applications and disease resistance: innovative perspectives[J]. Indian Journal of Microbiology, 2019, 59(2): 129-136.
- [8] HALLMANN J, QUADT-HALLMANN A, MAHAFFEE W F, KLOPPER J W. Bacterial endophytes in agricultural crops[J]. Canadian Journal of Microbiology, 1997, 43(10): 895-914.
- [9] TYŚKIEWICZ R, NOWAK A, OZIMEK E, JAROSZUK-ŚCISEŁ J. *Trichoderma*: the current status of its application in agriculture for the biocontrol of fungal phytopathogens and stimulation of plant growth[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(4): 2329.
- [10] MUDGAL S, DE T A, TOSTIVINT C, HOKKANEN H, CHANDLER D. Scientific support, literature review and data collection and analysis for risk assessment on microbial organisms used as active substance in plant protection products—Lot 1 environmental risk characterisation[J]. EFSA Supporting Publications, 2013, 10(12): 518E.
- [11] WIESEL L, NEWTON A C, ELLIOTT I, BOOTY D, GILROY E M, BIRCH P R J, HEIN I. Molecular effects of resistance elicitors from biological origin and their potential for crop protection[J]. Frontiers in Plant Science, 2014, 5: 655.
- [12] ROMANAZZI G, SANZANI S M, BI Y, TIAN S, MARTÍNEZ P G, ALKAN N. Induced resistance to control postharvest decay of fruit and vegetables[J]. Postharvest Biology and Technology, 2016, 122: 82-94.
- [13] CHEN M, WANG J, LIU B, ZHU Y, XIAO R, YANG W, GE C, CHEN Z. Biocontrol of tomato bacterial wilt by the new strain *Bacillus velezensis* FJAT-46737 and its lipopeptides[J]. BMC Microbiology, 2020, 20(1): 1-12.
- [14] JIN P F, WANG Y, TAN Z, LIU W B, MIAO W G. Antibacterial activity and rice-induced resistance, mediated by C₁₅ surfactin A, in controlling rice disease caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*[J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2020, 169: 104669.
- [15] 王青华, 唐旭, 孙晓晖, 万婧婷, 黄仕新, 徐长安. 深海贝莱斯芽孢杆菌 DH82 的抑菌活性物质初步分离纯化及其抑菌谱检测[J]. 应用海洋学学报, 2020, 39(1): 20-26.
- WANG Q H, TANG X, SUN X H, WAN J J, HUANG S X, XU C A. Isolation and purification of bioactive substances from *Bacillus thuringiensis* DH82 and its antimicrobial spectrum detection[J]. Journal of Applied Oceanography, 2020, 39(1): 20-26. (in Chinese)
- [16] 杨胜清, 张帆, 马贵龙. 贝莱斯芽孢杆菌 S6 拮抗物质分离纯化及抑菌机理[J]. 农药, 2017, 56(9): 645-648, 660.
- YANG S Q, ZHANG F, MA G L. Purification and inhibitive mechanism of antagonist substances from *Bacillus velezensis* S6 strain[J]. Agrochemicals, 2017, 56(9): 645-648, 660. (in Chinese)
- [17] MYO E M, LIU B, MA J, SHI L, JIANG M, ZHANG K, GE B. Evaluation of *Bacillus velezensis* NKG-2 for bio-control activities against fungal diseases and potential plant growth promotion[J]. Biological Control, 2019, 134: 23-31.
- [18] 耿妍, 郭荣君, 张爱香, GOVRIN E M, 李世东. 不同土壤水势下贝莱斯芽孢杆菌 B006 菌剂对茄子的促生增产作用[J]. 农业资源与环境学报, 2020, 37(3): 398-406.
- GENG Y, GUO R J, ZHANG A X, GOVRIN E M, LI S D. Growth and yield of eggplant promoted by the application of *Bacillus velezensis* B006 agent under different soil water potential conditions[J]. Journal of Agricultural Resources and Environment, 2020, 37(3): 398-406. (in Chinese)
- [19] WEI M, ZHANG M, HUANG G B, YUAN Y Y, FU C H, YU L J. Coculture with two *Bacillus velezensis* strains enhances the growth of *Anoectochilus* plants via promoting nutrient assimilation and regulating rhizosphere microbial community[J]. Industrial Crops and Products, 2020, 154: 112697.
- [20] STOLL A, SALVATIERRA-MARTÍNEZ R, GONZÁLEZ M, ARAYA M. The role of surfactin production by *Bacillus velezensis* on colonization, biofilm formation on tomato root and leaf surfaces and subsequent protection (ISR) against *Botrytis cinerea*[J]. Microorganisms, 2021, 9(11): 2251.
- [21] 林洋, 崔亚微, 曹艳子, 顾艳丽, 李锡臻, 王庭, 刘明春, 江国托. 一株贝莱斯芽孢杆菌抑菌特性研究及小鼠体内安全性评估[J]. 饲料研究, 2022, 45(20): 55-59.
- LIN Y, CUI Y W, CAO Y Z, GU Y L, LI X Z, WANG T, LIU M C, JIANG G T. Study on bacteriostatic characteristics of a strain of *Bacillus velezensis* and its safety evaluation in mice[J]. Feed Research, 2012, 45(20): 55-59. (in Chinese)
- [22] 汪茜, 覃晓娟, 陈廷速, 周生茂, 宋娟. 丛枝菌根真菌与深色有隔内生真菌对姜瘟病的防效及抗病机理初探[J]. 微生物学通报, 2023, 50(2): 788-801.
- WANG Q, QIN X J, CHEN T S, ZHOU S M, SONG J. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi and dark septate endophytic fungi on control of ginger blast and its resistance mechanism[J]. Bulletin of Microbiology, 2023, 50(2): 788-801. (in Chinese)
- [23] GARCÍA-GUTIÉRREZ L, ZERIOUH H, ROMERO D,

- CUBERO J, DE-VICENTE A, PÉREZ-GARCÍA A. The antagonistic strain *Bacillus subtilis* UMAF 6639 also confers protection to melon plants against cucurbit powdery mildew by activation of jasmonate-and salicylic acid-dependent defence responses[J]. *Microbial Biotechnology*, 2013, 6(3): 264-274.
- [24] 冉继平, 闫岩, 李岑, 毛玉涛, 肖玉, 冯婷婷. 刺梨白粉病拮抗菌生长条件优化及其发酵液抑菌稳定性探究[J]. *中国农业科技导报*, 2019, 21(11): 84-93.
- RAN J P, YAN Y, LI C, MAO Y T, XIAO Y, FENG T T. Growth conditions optimization of antagonistic bacteria against powdery mildew of *Rosa roxburghii* tratt and its fermentation broth antibacterial stability[J]. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2019, 21(11): 84-93. (in Chinese)
- [25] 谢德珊. 枯草芽孢杆菌 TP-08 诱导小麦抗白粉病机理研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2020.
- XIE D S. Studies on the mechanism of *Bacillus subtilis* TP-08 inducing wheat resistance against powdery mildew [D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2020. (in Chinese)
- [26] 杨东亚, 祁瑞雪, 李昭轩, 林薇, 马慧, 张雪艳. 黄瓜茄病镰刀菌拮抗芽孢杆菌的筛选、鉴定及促生效果[J]. *生物技术通报*, 2023, 39(2): 211-220.
- YANG D Y, QI R X, LI Z X, LIN W, MA H, ZHANG X Y. Screening, identification and growth-promoting effect of antagonistic *Bacillus* spp. against cucumber fusarium solani[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2023, 39(2): 211-220. (in Chinese)
- [27] 田丽波, 杨衍, 商桑, 司龙亭. 不同苦瓜品系的抗白粉病能力及其与防御酶活性的相关性[J]. *沈阳农业大学学报*, 2015, 46(3): 284-291.
- TIAN L B, YANG Y, SHANG S, SI L T. Correlation of bitter melon's resistance to powdery mildew and activities of defense enzymes[J]. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 2015, 46(3): 284-291. (in Chinese)
- [28] 周东兴, 王恩泽, 刘多, 金聪敏, 李欣, 姜姗, 白皓天. 番茄枯萎病生防细菌的筛选及对植株防御酶活性的影响[J]. *生态学杂志*, 2020, 39(5): 1753-1760.
- ZHOU D X, WANG E Z, LIU D, JIN C M, LI X, JIANG S, BAI H T. Screening of biocontrol bacteria against tomato wilt and the effect on defense enzyme activity of plants[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2020, 39(5): 1753-1760. (in Chinese)
- [29] 刘志文, 沙爱华, 王英. 活性氧物质在植物抗病中的作用[J]. *安徽农业科学*, 2005(9): 1705-1707.
- LIU Z W, SHA A H, WANG Y. Role of reactive oxygen species in plant resistance[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2005(9): 1705-1707. (in Chinese)
- [30] 白红燕, 赵丽红, 蒲丹丹, 冯自力, 魏锋, 冯鸿杰, 顾爱星, 朱荷琴, 彭军, 张亚林. 贝莱斯芽孢杆菌 EBV02 对棉花黄萎病的防治作用及机理[J]. *棉花学报*, 2022, 34(5): 443-457.
- BAI H Y, ZHAO L H, PU D D, FENG Z L, WEI F, FENG H J, GU A X, ZHU H Q, PENG J, ZHANG Y L. The control effect and mechanism of *Bacillus velezensis* EBV02 on cotton verticillium wilt[J]. *Journal of Cotton Science*, 2022, 34(5): 443-457. (in Chinese)
- [31] NIE P, LI X, WANG S, GUO J, ZHAO H, NIU D. Induced systemic resistance against *Botrytis cinerea* by *Bacillus cereus* AR156 through a JA/ET-and *NPR1*-dependent signaling pathway and activates PAMP-triggered immunity in *Arabidopsis*[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 238.