网络出版时间:2025-11-26 DOI:10.13207/j.jnwafu.2026.05.016

贝莱斯芽孢杆菌Y426-7可湿性粉剂研制及其对人参疫病的防治效果

李丽程,邱莉童,王婧宇,杨丽娜,卢宝慧,王雪,高洁
(吉林农业大学 植物保护学院,吉林 长春 130118)

[摘 要] 【目的】研制贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*)Y426-7可湿性粉剂,并测定其对人参疫病的预防效果和治疗效果,为人参疫病的生物防治提供参考。【方法】以贝莱斯芽孢杆菌Y426-7菌株为研究对象,以悬浮率、芽孢含量和润湿时间等为评价指标,通过对载体、润湿剂、分散剂、紫外保护剂的类型及用量进行筛选,创制贝莱斯芽孢杆菌Y426-7可湿性粉剂,并通过室内离体接种法评价其对人参根疫病的预防效果及治疗效果。【结果】贝莱斯芽孢杆菌Y426-7可湿性粉剂最佳配方为:母粉(87%,硅藻土与贝莱斯芽孢杆菌发酵液的质量比1∶2),润湿剂木质素磺酸钠(4.8%),分散剂NNO(7.2%),紫外保护剂抗坏血酸(1%)。质量检测结果表明,该可湿性粉剂有效活菌数为2.5×10^9 CFU/g,悬浮率为85%,pH 7.4,润湿时间14.7 s,细度92%,干燥减量2%,杂菌率为0,4和25 ℃条件下贮藏180 d,芽孢存活率分别可达88.45%和80.37%,各项技术指标均符合国家质量控制标准。活体组织接种试验结果表明,在使用剂量为(5.0×10^6~2.0×10^7)CFU/mL时,Y426-7可湿性粉剂对人参根疫病的预防作用要明显高于治疗作用,处理后第10天对人参根疫病的预防效果为53.70%~81.01%,高于对照的生物菌剂,但治疗效果仅为39.86%~49.03%。【结论】成功研制了贝莱斯芽孢杆菌Y426-7可湿性粉剂,且室内活体组织试验结果表明其对人参疫病具有明显的预防效果,为贝莱斯芽孢杆菌Y426-7的开发利用及人参疫病的生物防治提供参考。

[关键词] 人参;疫病;恶疫霉;贝莱斯芽孢杆菌;可湿性粉剂;生物防治
[中图分类号] S476.1 [文献标志码] A [文章编号] 1671-9387(2026)05-0155-10

Development of *Bacillus velezensis* Y426-7 wettable powder and its biocontrol effect against ginseng *Phytophthora* blight

LI Licheng, QIU Litong, WANG Jingyu, YANG Lina, LU Baohui, WANG Xue, GAO Jie
(*College of Plant Protection, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin* 130118, *China*)

Abstract: 【Objective】 The study aimed to develop wettable powder of *Bacillus velezensis* Y426-7 and determine its preventive and therapeutic effects against ginseng blight, to provide a reference for the biological control of ginseng *Phytophthora* blight. 【Method】 Taking *Bacillus velezensis* strain Y426-7 as the research object, with suspension rate, spore content, and wetting time as evaluation indicators, the wettable powder of *B. velezensis* Y426-7 was developed by screening the types and dosages of carriers, wetting agents, dispersants, and UV protectants. In vitro inoculation method was used to evaluate its preventive and therapeutic effects against ginseng root rot. 【Result】 The optimal formulation of *Bacillus velezensis* Y426-7 wettable powder was determined

[收稿日期] 2025-03-28 [修回日期] 2025-05-26
[基金项目] 吉林省科技发展计划项目(20220101308JC)
[作者简介] 李丽程(1999—),女,内蒙古赤峰人,在读硕士,主要从事人参病害生物防治研究。E-mail:15547652753@163.com
[通信作者] 王雪(1981—),女,辽宁沈阳人,副教授,博士,硕士生导师,主要从事植物病害生物防治研究。E-mail:wangxue813@126.com
高洁(1964—),女,吉林梨树人,教授,博士,博士生导师,主要从事植物病害综合治理研究。E-mail:jiegao115@126.com

as follows: mother powder (87%, the mass ratio of diatomite to *Bacillus velezensis* fermentation broth: 1∶2), wetting agent sodium lignosulfonate (4.8%), dispersant NNO (7.2%), and UV protectant ascorbic acid (1%). Quality testing showed that the wettable powder contained 2.5×10^9 CFU/g of viable bacteria, with a suspension rate of 85%, pH of 7.4, wetting time of 14.7 s, fineness of 92%, drying loss of 2%, and zero bacterial contamination. After 180 days of storage at 4 and 25 ℃, the spore survival rates were 88.45% and 80.37%, respectively, with all technical indicators meeting national quality control standards. In vivo tissue inoculation tests demonstrated that, at concentrations of ($5.0\times10^6-2.0\times10^7$) CFU/mL, the preventive efficacy of Y426-7 wettable powder against ginseng root rot was significantly higher than its therapeutic efficacy. On the 10th day after treatment, the preventive efficacy ranged from 53.70% to 81.01%, surpassing that of the biological fungicide as the control, whereas the therapeutic efficacy was only 39.86%—49.03%.【Conclusion】The *Bacillus velezensis* Y426-7 wettable powder was successfully developed, and preliminary *in vivo* tissue tests confirmed its significant preventive efficacy against ginseng *Phytophthora* blight. This study provides a valuable reference for the further development and utilization of *B. velezensis* Y426-7 as well as the biological control of ginseng *Phytophthora* blight.

Key words: *Panax ginseng*; blight; *Phytophthora cactorum*; *Bacillus velezensis*; wettable powder; biological control

人参(*Panax ginseng* C. A. Mey.)为五加科人参属多年生药用植物,是我国名贵的中药材,具有大补元气、固脱生津和安神益智等功效,药用价值广泛[1],主要分布在中国东北长白山脉[2]。人参性喜阴凉,由于生长环境的特殊且种植周期长,导致病害发生严重,对人参品质和产量造成严重影响[3-4]。由恶疫霉(*Phytophthora cactorum*)侵染引起的人参疫病是人参生产中一种重要病害[5],该病在我国吉林、辽宁、黑龙江等人参主产区常年普遍发生,严重时发病率高达70%[6]。该病不仅为害植株茎叶使其提前枯萎,而且还能引起人参根腐烂,造成严重的经济损失,且田间具有极强的流行性,防治起来极为困难[7-9]。目前对于人参疫病的防治仍以化学防治为主,已正式登记用于人参疫病防治的药剂主要有烯酰吗啉、双炔酰菌胺、甲霜·霜霉威、霜脲·锰锌等化学药剂,截至目前尚无微生物菌剂正式登记用于人参疫病的防治。但化学药剂的长期大量使用极易造成人参农药残留超标,病原菌产生抗药性,环境污染等问题,基于环境保护和绿色人参产业发展的需要,利用拮抗微生物创制新型高效生物农药防治人参疫病是有效手段和产业发展方向[10-11]。目前关于人参疫病生物防治的研究报道相对较少,尤其是能应用于田间防治的生防菌剂更是鲜有报道,生防资源极为匮乏,因此筛选高效的生防菌株,创制微生物制剂产品,明确其应用技术,对人参疫病的生物防治具有重要意义。

贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*)Y426-7为吉林农业大学药用植物有害生物绿色防控实验室分离自人参根际土壤的一株生防细菌,课题组前期研究发现,该菌株对人参疫病菌及多种作物疫病菌拮抗效果显著,具有一定的生防潜力。为加速其产业化进程,使其更加高效地应用于人参疫病的生物防治,本研究将以该菌株为对象,通过对载体、润湿剂、分散剂、紫外保护剂及其复配比例的筛选优化,创制贝莱斯芽孢杆菌Y426-7可湿性粉剂,并明确其对人参疫病的预防效果和治疗效果,以期为贝莱斯芽孢杆菌Y426-7的开发利用及人参疫病的生物防治提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试菌株 贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*)Y426-7、人参恶疫霉(*Phytophthora cactorum*),均由吉林农业大学药用植物有害生物绿色防控实验室保存并提供。

1.1.2 供试药剂 载体:高岭土(kaolinite)、硅藻土(diatomite)、白炭黑(white carbon black)、滑石粉(talc)、膨润土(bentonite)、轻质碳酸钙(light calcium carbonate)和凹凸棒土(concave convex rod soil);润湿剂:木质素磺酸钠(sodium lignosulfonate)、可溶性淀粉(soluble starch)、十二磺基苯磺酸钠(sodium dodecyl benzenesulfonate)和拉开粉(nekal BX);分散剂:羟丙基纤维素(hydroxypropyl cellulose)、木质素磺酸钙(calcium lignosulfonate)、NNO(dispersant NNO)和聚乙二醇PEG8000(polyethylene glycol);紫外保护剂:抗坏血酸(ascorbic

acid）、羧甲基纤维素钠（sodium carboxymethyl cellulose）、糊精（dextrin）、海藻酸钠（sodium alginate）和十二烷基硫酸钠（sodium dodecyl sulfate，SDS）。上述所有试剂均为工业级，购自石家庄市灵寿县佰顺矿产品有限公司。

对照药剂：23.4% 双炔酰菌胺悬浮剂，购自先正达南通作物保护有限公司；1×10^{10} CFU/mL 枯草芽孢杆菌悬浮剂，购自江苏省扬州绿源生物化工有限公司。

1.1.3　*供试培养基*　PDA 培养基、LB 培养基、NA 培养基、LA 培养基和 V8 培养基，其具体配方参考文献[12]；Y426-7 菌株发酵液体培养基：可溶性淀粉 25 g、胰蛋白胨 15 g、NaCl 10 g，蒸馏水定容至 1 000 mL，调整 pH 6.5。

1.2　贝莱斯芽孢杆菌 Y426-7 可湿性粉剂研制

1.2.1　*种子液和发酵液制备*　种子液制备。将培养好的贝莱斯芽孢杆菌 Y426-7 菌株用接种针划线接种于 NA 固体培养基上，28 ℃倒置培养 24 h，获得单菌落，接种于 LB 液体培养基，28 ℃、180 r/min 振荡培养 24 h，得到种子液。

发酵液制备。将贝莱斯芽孢杆菌 Y426-7 种子液，以 5% 接种量接入 Y426-7 菌株发酵液体培养基，装瓶量为 125 mL，30 ℃、180 r/min 振荡培养 72 h，制得 1×10^{10} CFU/mL 菌株发酵液。

1.2.2　*载体、助剂与菌株生物相容性测定*　将 Y426-7 菌株发酵液用无菌蒸馏水稀释 10^7 倍后，取 0.1 mL 分别涂布在含不同添加剂的平板上。将载体按 50 g/L、润湿剂 0.25 g/L、分散剂 1.5 g/L、保护剂 0.05 g/L 的比例与 LA 培养基混合，灭菌后制成平板，以不含添加剂的 LA 平板为对照，每个处理设 3 次重复。置于 28 ℃培养 3 d。记录活菌数，筛选对 Y426-7 生长无影响的载体及各种助剂。

1.2.3　*可湿性粉剂载体筛选及母粉制备*　分别准确称取 5.0 g 7 种载体于烧杯中，逐渐加入 Y426-7 发酵液，不断搅拌使载体充分吸附，当载体不结块且烧杯中无流水时停止加入滤液，记录添加发酵液用量，并计算最大吸附量。将发酵液分别与 7 种供试载体混合均匀后放入鼓风干燥箱 50 ℃烘至质量恒定后研磨成粉末，完成母粉制备。综合考虑芽孢含量、悬浮率、润湿时间、吸附容量 4 个因素，选择最优载体[13]。

1.2.4　*助剂种类、配比及用量的筛选*　分别将具有相容性的 2 种润湿剂和 4 种分散剂按 10% 添加量加入到等量母粉中，混合均匀，经气流粉碎机粉碎后测定制剂的悬浮率、润湿时间以及芽孢含量，确定润湿剂和分散剂的种类。将上述筛选出的最适润湿剂和分散剂分别按照 1∶9，2∶8，3∶7，4∶6，5∶5，6∶4，7∶3，8∶2 和 9∶1 的质量比与等量母粉混合均匀，其添加量均为 10%，通过测定不同配比条件下制剂的悬浮率和润湿时间，确定润湿剂和分散剂的最佳配比。在此基础上，将上述所筛选出的润湿剂和分散剂按最优配比混合后，使二者的总含量分别为 2%，4%，6%，8%，10%，12%，14% 和 16%，之后与等量母粉混匀，测定不同含量制剂的悬浮率和润湿时间及芽孢含量，确定助剂的用量。

1.2.5　*紫外保护剂的筛选*　将 1% 紫外保护剂分别添加到初加工的母粉中，设未添加紫外保护剂为对照组（紫外灯不照射为 CK1，紫外灯照射为 CK2），稀释后，涂布在平板上，在距离 40 cm 处用 254 nm 紫外灯（20 W）分别照射 12 和 24 h 后，统计活菌落数，计算存活率，筛选最适紫外保护剂。试验设置 3 个重复。测定各处理的芽孢含量和存活率。

存活率＝紫外处理后总活菌数/紫外处理前总活菌数×100%。

1.3　贝莱斯芽孢杆菌 Y426-7 可湿性粉剂质量检测

参照《中华人民共和国国家标准》测定制备的可湿性粉剂各项指标。润湿时间测定参照 GB 5451－2001[14]，悬浮率测定参照 GB/T 14825－2023[15]，细度测定参照 GB/T 16150－1995[16]，pH 测定参照 GB/T 1601－1993，干燥减量测定参照 NY/T 2293.1－2012，活菌数和杂菌率根据文献[17-18]进行测定。

1.4　贝莱斯芽孢杆菌 Y426-7 可湿性粉剂贮存稳定性检测

将贝莱斯芽孢杆菌 Y426-7 可湿性粉剂分别在低温（4 ℃）和室温（25 ℃）条件下连续贮存 180 d，期间每隔 10 d 采用平板计数法检测 1 次活菌数，并计算存活率。

1.5　贝莱斯芽孢杆菌 Y426-7 可湿性粉剂对人参疫病的生防效果

1.5.1　*药剂及处理剂量*　将贝莱斯芽孢杆菌 Y426-7 可湿性粉剂分别配制成 2.0×10^7，1.0×10^7 和 5.0×10^6 CFU/mL 3 个浓度，对照药剂 23.4% 双炔酰菌胺悬浮剂和枯草芽孢杆菌悬浮剂含量分别配制成 0.4 μL/mL 和 5.0×10^7 CFU/mL。

1.5.2　*预防效果*　将 3 年生健康人参用质量分数 1% NaClO 表面消毒 3 min，用无菌水冲洗 3 次后无菌条件下风干，将参根置于不同浓度药液中浸泡 20 min

后在超净工作台中风干。待参根干燥后将配置好的人参疫病菌孢子悬浮液(10^6个/mL)均匀喷雾接种于参根表面,每株人参均匀喷雾接种2 mL,以清水喷雾处理作为空白对照,每处理3次重复,每个重复6根人参。所用接种处理的人参均放于垫有保湿无菌滤纸的无菌盘中,用塑料膜封闭保湿培养。接种后第7天和第10天分别调查发病情况,计算病情指数和预防效果。参根疫病分级标准参考赵曰丰等[19]的分级标准。0级,无可见病斑;1级,发病面积占参根的1%~5%;2级,发病面积占参根的6%~25%;3级,发病面积占参根的26%~50%;4级,发病面积占参根的51%~75%;5级,发病面积占参根的76%~95%;6级,发病面积占参根的96%~100%。

病情指数=∑(各级数×各级代表值)/(调查总数×最高级代表值)×100;

防治效果=(对照病情指数-处理病情指数)/对照病情指数×100%。

1.5.3 *治疗效果* 首先将人参根喷雾接种人参疫病菌孢子悬浮液(10^6个/mL),每株人参均匀喷雾接种2 mL孢子悬浮液,风干备用。24 h后用不同浓度药液喷雾处理,每株人参均匀喷雾2 mL,每处理3次重复,每个重复6根人参,以喷雾清水处理作为空白对照。喷药处理后第7天和第10天调查发病情况,计算病情指数及防治效果,计算方法同1.5.2节。

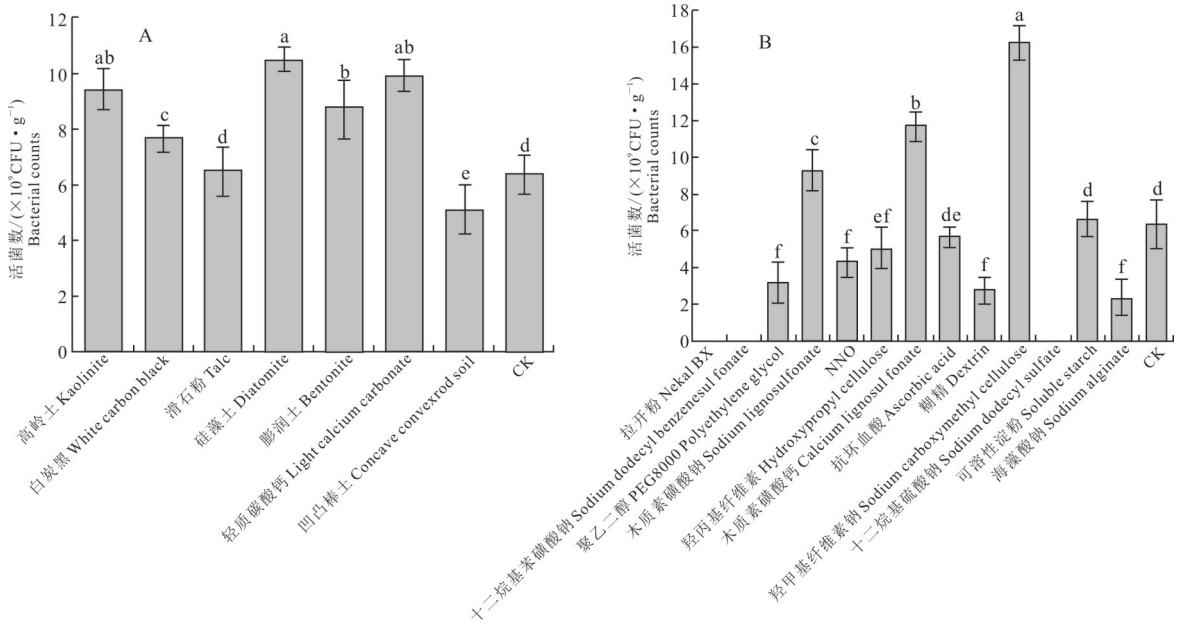
1.6 数据处理与分析

试验数据采用SPSS 27.0进行统计分析,采用单因素方差分析法分析组间差异显著性($P<0.05$)。

2 结果与分析

2.1 载体和助剂与贝莱斯芽孢杆菌Y426-7菌株的生物相容性

由图1可知,除拉开粉、十二烷基苯磺酸钠和十二烷基硫酸钠3种添加剂添加后导致菌株Y426-7不能正常生长外,其他供试载体和助剂添加后菌株均可正常生长。与对照相比,部分载体和助剂对Y426-7菌体生长还表现出一定的促进作用,可作为备选材料。



图柱上标不同小写字母表示不同处理间差异显著($P<0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant differences among treatments ($P<0.05$).

图1 不同载体和助剂对贝莱斯芽孢杆菌Y426-7生长的影响

Fig. 1 Effects of different carriers and reagents on the growth of *Bacillus velezensis* Y426-7

2.2 贝莱斯芽孢杆菌Y426-7可湿性粉剂的研制

2.2.1 *载体的筛选* 以吸附容量、悬浮率、湿润时间和芽孢含量为评价指标筛选最适载体。结果(表1)表明,供试7种载体各方面性能存在显著差异。其中白炭黑、凹凸棒土和硅藻土的吸附性表现良好,吸附容量分别达到4.73,2.79和2.04 mL/g;硅藻土的润湿时间最短,仅为11.25 s;以硅藻土和凹凸棒土为载体时悬浮率相对较高,分别为48.47%和54.04%;且以硅藻土作为载体时芽孢含量最高,达到4.08×10^9 CFU/g。综合各项评价指标,最终选择硅藻土作为创制贝莱斯芽孢杆菌Y426-7可湿性粉剂的载体。

2.2.2　润湿剂和分散剂的筛选　以悬浮率、湿润时间以及芽孢含量为评价标准，筛选最适润湿剂和分散剂种类。由表 2 可知，以木质素磺酸钠作为润湿剂时湿润时间最短，为 26.17 s，以 NNO 和羟丙基纤维素作为分散剂时，其湿润时间分别为 40.86 和 36.22 s；以 NNO 为分散剂时的悬浮率最高，达到 77.93%；木质素磺酸钙和木质素磺酸钠的悬浮率分别为 71.83% 和 70.01%；可溶性淀粉的悬浮率最低，为 20.72%。以木质素磺酸钠作为润湿剂时，芽孢含量达到 4.59×10^9 CFU/g；以 NNO 作为分散剂时，芽孢含量为 5.57×10^9 CFU/g。综合上述结果，选择 NNO 作为分散剂，木质素磺酸钠作为润湿剂。

表 1　不同载体对制剂评价指标的影响

Table 1　Effects of different carriers on evaluation indicators of formulations

载体 Carrier	芽孢含量/($\times10^9$ CFU·g^{-1}) Spore content	吸附容量/(mL·g^{-1}) Adsorption capacity	悬浮率/% Suspensibility	湿润时间/s Wetting time
高岭土 Kaolinite	3.99±0.85 ab	1.88±0.06 d	46.60±0.65 b	62.79±0.74 d
白炭黑 White carbon black	3.38±0.20 ab	4.73±0.69 a	37.22±3.30 c	80.47±1.44 c
滑石粉 Talc	3.93±0.14 ab	0.85±0.05 f	45.81±0.52 b	89.19±0.74 b
硅藻土 Diatomite	4.08±0.33 a	2.04±0.37 c	48.47±2.33 b	11.25±0.74 f
膨润土 Bentonite	3.86±0.34 ab	1.91±0.02 d	48.00±1.00 b	53.17±1.65 e
轻质碳酸钙 Light calcium carbonate	2.44±0.32 b	1.15±0.14 e	42.27±1.45 c	64.28±0.64 d
凹凸棒土 Concave convex rod soil	4.63±0.64 a	2.79±0.17 b	54.04±1.70 a	101.67±6.57 a

注：同列数据后标不同小写字母表示处理间差异显著（$P<0.05$）。下同。

Note: Different lowercase letters after the same column of data indicate significant differences between treatments ($P<0.05$). The same below.

表 2　不同润湿剂和分散剂对制剂评价指标的影响

Table 2　Effects of different wetting agents and dispersants on evaluation indicators of formulations

项目 Item	种类 Type	湿润时间/s Wetting time	悬浮率/% Suspensibility	芽孢含量/($\times10^9$ CFU·g^{-1}) Spore content
润湿剂 Wetting agent	可溶性淀粉 Soluble starch	69.91±0.96 a	20.72±1.17 e	5.41±0.41 a
	木质素磺酸钠 Sodium lignosulfonate	26.17±0.73 f	70.01±0.76 b	4.59±0.46 a
	聚乙二醇 PEG8000 Polyethylene glycol	49.67±0.89 c	41.80±0.98 d	2.53±0.28 b
分散剂 Dispersant	木质素磺酸钙 Calcium lignosulfonate	60.51±1.44 b	71.83±0.60 b	2.60±0.30 b
	NNO	40.86±2.31 d	77.93±0.64 a	5.57±0.55 a
	羟丙基纤维素 Hydroxypropyl cellulose	36.22±0.62 e	49.69±1.19 c	1.89±0.25 b

2.2.3　润湿剂和分散剂最佳配比的筛选　由表 3 可知，随着润湿剂木质素磺酸钠含量的增多，制剂的湿润时间显著延长，芽孢含量缓慢下降，但差异不显著。当木质素纤维素钠与 NNO 质量比为 7∶3，4∶6，6∶4 时，悬浮率相对较高；当木质素磺酸钠与 NNO 质量比为 1∶9，2∶8，3∶7 和 4∶6 时，湿润时间均小于 25 s；当木质素磺酸钠与 NNO 质量比为 1∶9，2∶8 和 4∶6 时，其芽孢含量相对较高，分别为 3.06×10^9，3.11×10^9 和 2.89×10^9 CFU/g。综合湿润时间、悬浮率及芽孢含量结果，确定木质素磺酸钠与 NNO 的最佳配比为 4∶6。

表 3　润湿剂与分散剂不同配比对制剂评价指标的影响

Table 3　Effects of different ratios of wetting agents to dispersants on evaluation indicators of formulations

木质素磺酸钠∶NNO Sodium lignosulfonate∶NNO	湿润时间/s Wetting time	悬浮率/% Suspensibility	芽孢含量/($\times10^9$ CFU·g^{-1}) Spore content
1∶9	10.34±0.62 g	76.74±0.64 c	3.06±0.23 a
2∶8	22.96±0.99 f	67.51±0.37 e	3.11±0.11 a
3∶7	23.08±1.45 ef	81.36±0.70 b	2.73±0.15 a
4∶6	23.17±1.17 e	83.92±0.97 b	2.89±0.41 a
5∶5	36.07±1.48 d	80.95±0.62 b	2.63±0.31 a
6∶4	44.69±1.46 c	82.91±0.81 b	2.59±0.20 a
7∶3	52.39±1.41 b	86.47±1.01 a	2.56±0.29 a
8∶2	52.86±1.74 b	71.55±0.87 d	2.48±0.26 a
9∶1	69.78±6.22 a	82.44±0.87 b	2.46±0.27 a

2.2.4　润湿剂和分散剂含量的筛选　由表 4 可知，随着润湿剂和分散剂含量的增加，贝莱斯芽孢杆菌 Y426-7 可湿性粉剂的湿润时间逐渐缩短，悬浮率逐渐提高，表明增加润湿剂和分散剂含量对制剂的

湿润性能和悬浮率均有促进作用;但制剂中的芽孢含量有下降趋势。结合湿润时间、悬浮率以及芽孢含量,选择润湿剂和分散剂含量为12%,该处理贝莱斯芽孢杆菌Y426-7可湿性粉剂的湿润时间为13.27 s,悬浮率为85.24%,芽孢含量为2.80×10^9 CFU/g。

表4 润湿剂和分散剂总含量对制剂评价指标的影响

Table 4 Effects of total content of wetting agents and dispersants on evaluation indicators of formulations

润湿剂和分散剂总含量/% Wetting agent and dispersants total content	湿润时间/s Wetting time	悬浮率/% Suspensibility	芽孢含量/($\times10^9$ CFU·g^{-1}) Spore content
2	55.18±1.57 a	58.37±1.80 e	3.26±0.21 a
4	41.75±1.54 b	66.33±1.12 d	3.23±0.34 a
6	21.30±1.63 c	78.05±1.99 c	3.29±0.20 a
8	37.70±1.26 b	80.12±1.88 cb	2.99±0.25 a
10	23.27±1.41 c	81.65±2.04 cb	2.92±0.03 b
12	13.27±2.61 d	85.24±2.72 ab	2.80±0.58 b
14	19.27±1.06 c	88.50±0.88 a	1.94±0.14 b
16	18.44±1.55 c	88.59±0.42 a	1.93±0.10 b

2.2.5 紫外保护剂的筛选 由表5和图2可知,与CK1(未添加保护剂,紫外灯不照射)和CK2(未添加保护剂,紫外灯照射)相比,紫外保护剂的添加可降低紫外胁迫对芽孢存活率的影响,其中以1%抗坏血酸作为紫外保护剂时芽孢存活率最高,照射12和24 h后芽孢存活率分别为93.44%和45.58%,明显高于其他紫外保护剂效果。因此选择1%抗坏血酸作为创制贝莱斯芽孢杆菌Y426-7可湿性粉剂的紫外保护剂。

表5 不同紫外保护剂对制剂中芽孢含量和存活率的影响

Table 5 Effects of different protectants on spore content and survival rate of wettable powder

紫外保护剂 Protectant	芽孢含量/($\times10^9$ CFU·g^{-1}) Spores content			存活率/% Survival rate	
	照射前 Preirradiation	照射12 h Irradiation for 12 h	照射24 h Irradiation for 24 h	照射12 h Irradiation for 12 h	照射24 h Irradiation for 24 h
抗坏血酸 Ascorbic acid	2.60±0.17 a	2.40±0.09 a	1.09±0.15 b	93.44±9.07 a	45.58±3.00 b
糊精 Dextrin	2.37±0.48 a	1.10±0.07 bc	0.88±0.16 b	50.89±11.08 bc	39.19±9.82 b
羧甲基纤维素钠 Sodium carboxymethyl cellulose	2.55±0.51 a	2.00±0.01 ab	0.95±0.06 b	86.69±20.66 ab	42.15±12.15 b
海藻酸钠 Sodium alginate	2.34±0.39 a	1.09±0.07 bc	0.65±0.16 b	50.52±12.34 bc	27.00±3.74 b
CK1	2.62±0.94 a	2.62±0.94 a	2.62±0.94 a	100.00±0.00 a	100.00±0.00 a
CK2	2.57±0.40 a	0.35±0.02 c	0.05±0.02 b	14.50±2.98 c	2.15±0.80 c

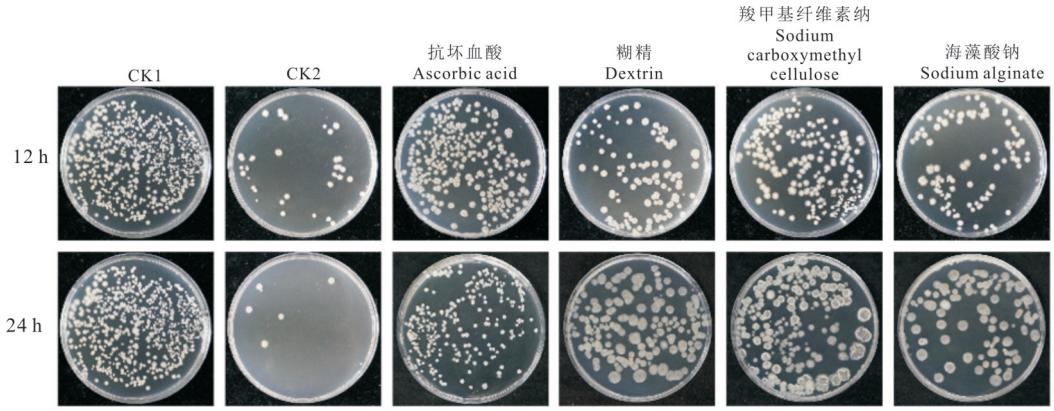


图2 不同紫外保护剂对制剂中芽孢含量的影响

Fig. 2 Effects of different protectants on spore content in formulations

2.2.6 贝莱斯芽孢杆菌Y426-7可湿性粉剂制备及质量检测 按上述试验筛选结果,将贝莱斯芽孢杆菌Y426-7发酵液与粉碎后的载体(硅藻土)、润湿剂(木质素磺酸钠)、分散剂(NNO)和紫外保护剂(抗坏血酸)混合,边搅拌边进行喷雾干燥,制得贝莱斯芽孢杆菌Y426-7可湿性粉剂,对其各项性能指标进行

质量检测，结果（表 6）表明，贝莱斯芽孢杆菌 Y426-7 可湿性粉剂的细度为 92%，润湿时间为 14.7 s，悬浮率为 85%，干燥减量为 2%，pH 7.4，活菌数为 2.5×10^9 CFU/g，杂菌率为 0。表明研制的贝莱斯芽孢杆菌 Y426-7 可湿性粉剂各项指标均符合国家质量检测标准。

表 6　贝莱斯芽孢杆菌 Y426-7 可湿性粉剂的质量检测

Table 6　Quality detection of *Bacillus velezensis* Y426-7 wettable powder

指标 Index	国家标准 National standard	测定值 Measured value
细度/% Fineness	≥90	92
湿润时间/s Wetting time	180	14.7
悬浮率/% Suspensibility	70	85
干燥减量/% Loss on drying	≤6	2
pH	5.0～8.0	7.4
活菌数/($\times10^9$ CFU·g^{-1}) Bacterial counts	无国家标准 No national standards	2.5
杂菌率/% Bacterial contamination rate	≤3	0

2.3　贝莱斯芽孢杆菌 Y426-7 可湿性粉剂的贮存稳定性

将制备的贝莱斯芽孢杆菌 Y426-7 可湿性粉剂分别置于室温（25 ℃）和低温（4 ℃）条件下，连续贮存 180 d，期间每隔 10 d 测定 1 次该菌剂中的芽孢含量，计算芽孢存活率。结果（图 3）表明，贝莱斯芽孢杆菌 Y426-7 可湿性粉剂在低温（4 ℃）条件下贮存 180 d 后，其芽孢存活率仍可达到 88.45%；在室温（25 ℃）条件下贮存 180 d，其芽孢存活率也可达到 80.37%，说明研制的贝莱斯芽孢杆菌 Y426-7 可湿性粉剂具有一定的贮存稳定性。

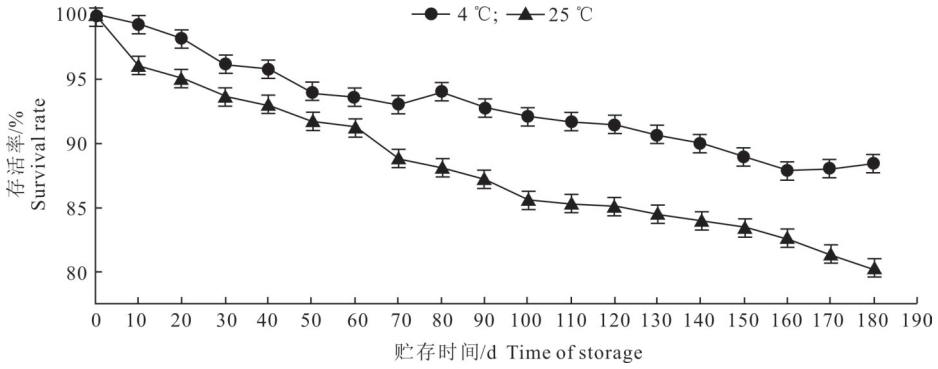


图 3　贝莱斯芽孢杆菌 Y426-7 可湿性粉剂的贮存稳定性

Fig. 3　Storage stability of *Bacillus velezensis* Y426-7 wettable powder

2.4　贝莱斯芽孢杆菌 Y426-7 可湿性粉剂对人参疫病的防效

2.4.1　预防效果　由表 7 可知，喷药后第 7 天调查时发现，各处理对人参根疫病的预防效果并不明显，防治效果仅为 15.78%～50.87%；但随着病情的扩展，该菌剂的预防效果逐渐增强，第 10 天调查时 5.0×10^6 CFU/mL Y426-7 可湿性粉剂对人参疫病的防治效果高达 81.01%，显著高于对照的化学药剂和生物菌剂，表明该菌剂对人参疫病具有较好的预防作用。

表 7　贝莱斯芽孢杆菌 Y426-7 可湿性粉剂对人参根疫病的预防效果

Table 7　Preventive effects of *Bacillus subtilis* Y426-7 wettable powder on ginseng root blight

处理 Treatment	7 d		10 d	
	病情指数 Disease index	防治效果/% Effect of prevention	病情指数 Disease index	防治效果/% Effect of prevention
5.0×10^6 CFU/mL Y426-7 WP	25.93±0.93 cd	50.87±1.75 a	14.81±0.92 d	81.01±3.85 a
1.0×10^7 CFU/mL Y426-7 WP	31.48±5.63 c	40.34±10.67 b	21.30±0.00 bc	72.71±0.00 b
2.0×10^7 CFU/mL Y426-7 WP	44.44±0.00 b	15.78±0.00 d	36.11±0.92 b	53.70±3.86 c
0.4 μL/mL 23.4% 双炔酰菌胺悬浮剂 0.4 μL/mL 23.4% Diacetylacetamide suspension	28.15±0.93 d	46.66±1.76 b	21.29±2.78 c	72.69±11.58 b
5.0×10^7 CFU/mL 枯草芽孢杆菌悬浮剂 5.0×10^7 CFU/mL *Bacillus subtilis* suspension	41.67±2.78 b	21.04±5.26 c	47.22±2.45 b	39.46±10.21 d
CK	52.77±0.00 a		78.17±0.93 a	

2.4.2 治疗效果 由表8可知,从整体来看,Y426-7可湿性粉剂对人参疫病的治疗作用低于预防作用,且与预防作用相比,其对人参疫病的治疗作用主要表现在发病前期,在第7天调查时,5.0×10^6 CFU/mL Y426-7可湿性粉剂在离体条件下对人参根疫病的防治效果高达66.36%,但与对照的化学药剂防治效果差异不显著;随着病情扩展,Y426-7可湿性粉剂对人参疫病的防效逐渐下降,第10天调查时发现其对人参疫病的防效低于50%,表明该菌剂对人参疫病的治疗作用持效期低于其预防作用的持效期。

表8 贝莱斯芽孢杆菌Y426-7可湿性粉剂对人参根疫病的治疗效果

Table 8 Therapeutic effects of *Bacillus subtilis* Y426-7 wettable powder on ginseng root blight

处理 Treatment	7 d		10 d	
	病情指数 Disease index	防治效果/% Control efficiency	病情指数 Disease index	防治效果/% Control efficiency
5.0×10^6 CFU/mL Y426-7 WP	28.70±2.45 d	66.36±2.87 a	40.29±0.92 c	49.03±3.85 b
1.0×10^7 CFU/mL Y426-7 WP	40.74±3.70 c	52.26±4.34 b	53.70±0.00 bc	40.87±0.00 b
2.0×10^7 CFU/mL Y426-7 WP	49.92±1.67 b	41.49±1.95 c	54.63±0.92 b	39.86±3.86 d
0.4 μL/mL 23.4% 双炔酰菌胺悬浮剂 0.4 μL/mL 23.4% Diacetylacetamide suspension	19.28±2.78 d	77.50±3.25 a	41.67±2.78 c	54.13±11.58 a
5.0×10^7 CFU/mL 枯草芽孢杆菌悬浮剂 5.0×10^7 CFU/mL *Bacillus subtilis* suspension	40.74±3.70 c	52.26±4.34 b	56.48±2.45 b	37.82±10.21 d
CK	85.67±0.33 a		90.83±0.93 a	

3 讨 论

近年来,随着人参种植面积逐年增多,病害问题日趋严重[20],其中人参疫病具有极强的流行性,田间一旦发生很难控制,会对人参产量和品质造成严重影响[21]。生物防治因其安全无残留等特点,在药用植物病害防治上具有明显优势[22-24]。国内外关于辣椒疫病、马铃薯晚疫病、大豆疫霉病等作物疫病生防细菌筛选的报道较多[25-28],但目前对于人参疫病生物防治的研究报道相对较少,且仅是在生防菌株筛选过程中以人参疫病菌为靶标进行了室内抑菌活性测定[29-30],但对于其生防产品的开发利用及其对人参疫病的生防效果评价及抑菌机制尚无深入研究。本研究在获得高效生防菌株的基础上创制其可湿性粉剂产品,并评价其对人参根疫病的离体生防效果,初步明确其生防潜力,但对于该制剂田间的应用效果及其抑菌机制有待进一步深入研究。

与液体制剂和其他固体制剂相比,可湿性粉剂剂型具有生产成本低、有效成分含量高、湿润性好、便于运输与贮存等诸多优点,在生产中得到广泛应用[31]。本研究创制的贝莱斯芽孢杆菌Y426-7可湿性粉剂对人参疫病具有明显的离体生防效果,在人参疫病的科学防控中具有一定的应用潜力。作为可湿性粉剂配方中的主要组成部分,载体具有重要作用。本研究发现,载体在可湿性粉剂中的占比较高,且不同载体对可湿性粉剂的性能有显著影响。综合相容性、吸附容量、悬浮率和润湿时间等多项指标,确定贝莱斯芽孢杆菌Y426-7可湿性粉剂的最适载体为硅藻土,这与已有研究[32-33]略有不同,可能是不同菌株对不同载体的适应能力不同,且同种载体对不同菌株的生物相容性亦存在差异。与其他载体相比,硅藻土具有高吸附性,良好悬浮性、分散性和流动性,且成本低等优点,是生物农药可湿性粉剂制备的重要填料。

本研究还发现,Y426-7可湿性粉剂在试验剂量下对人参根疫病的预防作用明显高于治疗作用,且随着病情的扩展,该菌剂的预防效果表现愈加明显,且具有一定的持效期。已有研究表明,微生物菌剂的作用机制一方面是在病原菌入侵前即可通过快速繁殖占据植物根际或叶面生态位,形成物理屏障,进而抑制病原菌的定殖和侵染,如哈茨木霉菌通过分泌几丁质酶降解病原菌细胞壁[34],同时竞争营养和空间资源;另一方面可通过激发植物的系统抗性(SAR),提升防御相关酶的活性水平,从而达到增强植物的抗病能力,如淡紫拟青霉可激活植物茉莉酸信号通路[35]。关于贝莱斯芽孢杆菌Y426-7对人参疫病的作用机制还有待后续研究。

4 结 论

本研究以悬浮率、芽孢含量、湿润时间等为评价指标,对可湿性粉剂的载体、润湿剂、分散剂和紫外保护剂的类型及用量进行筛选,确定贝莱斯芽孢杆菌Y426-7可湿性粉剂的最佳配方为:母粉(87%,硅藻土与贝莱斯芽孢杆菌发酵液质量比1∶2),润湿剂木质素磺酸钠(4.8%),分散剂NNO(7.2%),紫外保护剂抗坏血酸(1%)。检测发现该制剂的细度

为 92%，润湿时间为 14.7 s，悬浮率为 85%，干燥减量为 2%，pH 7.4，活菌数为 2.5×10^9 CFU/g，杂菌率为 0，符合国家质量控制标准。室内活体组织试验结果表明，在使用剂量为（5.0×10^6～2.0×10^7）CFU/mL 时，贝莱斯芽孢杆菌 Y426-7 可湿性粉剂对人参根疫病具有良好的预防作用和治疗作用，且预防作用明显高于治疗作用。

[参考文献]

[1] KIM S W，GUPTA R，LEE S H，et al. An integrated biochemical，proteomics，and metabolomics approach for supporting medicinal value of *Panax ginseng* fruits[J]. Frontiers in Plant Science，2016，7：994.

[2] BAEG I H，SO S H. The world ginseng market and the ginseng（Korea）[J]. Journal of Ginseng Research，2013，37（1）：1-7.

[3] 史帧婷，杨梅玲，周亚荣，等. 人参根际微生态研究进展[J]. 中国微生态学杂志，2024，36（8）：974-979，984.
SHI Z T，YANG M L，ZHOU Y R，et al. Progress in research on ginseng rhizosphere microecology[J]. Chinese Journal of Microecology，2024，36（8）：974-979，984.

[4] CHEN J M，ZHANG X J，LIU X X，et al. Ginsenoside Rg1 promotes cerebral angiogenesis *via* the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in ischemic mice[J]. European Journal of Pharmacology，2019，856：172418.

[5] 张国珍，丁万隆. 人参根疫病研究初报[J]. 中国中药杂志，1990，15（1）：18-19，62.
ZANG G Z，DING W L. A preliminary report on the *Phytophthora* root rot of *Panax ginseng* C. A. Meyer[J]. China Journal of Chinese Materia Medica，1990，15（1）：18-19，62.

[6] 刘敏，丁万隆，高原，等. ge15 菌株的鉴定及其对人参病害的防治效果[J]. 中国中药杂志，2014，39（24）：4754-4758.
LIU M，DING W L，GAO Y，et al. Identification of bacterial strain ge15 and its controlling effect on ginseng diseases[J]. China Journal of Chinese Materia Medica，2014，39（24）：4754-4758.

[7] 赵曰丰，吴连举，杨依军，等. 人参疫病病原菌的研究[J]. 植物病理学报，1993，23（3）：260.
ZHAO Y F，WU L J，YANG Y J，et al. Studies on the pathogen of ginseng *Phytophthora* blight[J]. Acta Phytopathologica Sinica，1993，23（3）：260.

[8] 杨丽娜，王雪，白庆荣，等. 72% 霜脲·锰锌可湿性粉剂防治人参苗期疫病田间药效试验[J]. 农药科学与管理，2018，39（10）：43-45.
YANG L N，WANG X，BAI Q R，et al. The field effect of cymoxanil·mancozeb 72% WP against ginseng *Phytophthora* blight[J]. Pesticide Science and Administration，2018，39（10）：43-45.

[9] 华霜. 基于 CRISPR/Cas9 系统对人参抗疫病基因的编辑[D]. 北京：中国农业科学院，2021.
HUA S. Editing of ginseng *Phytophthora* resistance genes based on CRISPR/Cas9 system[D]. Beijing：Chinese Academy of Agricultural Sciences，2021.

[10] 高涛，王立莹. 我国人参市场现状及前景展望[J]. 人参研究，2006，18（3）：5-6.
GAO T，WANG L Y. Present situation and prospect of ginseng market in China[J]. Ginseng Research，2006，18（3）：5-6.

[11] 王莹，王赵，岳志华，等. 国产人参中农药残留风险评估[J]. 中国中药杂志，2019，44（7）：1327-1333.
WANG Y，WANG Z，YUE Z H，et al. Risk assessment of pesticide residues in domestic ginsengs[J]. China Journal of Chinese Materia Medica，2019，44（7）：1327-1333.

[12] 方中达. 植病研究方法[M]. 第 3 版. 北京：中国农业出版社，1998.
FANG Z D. Plant pathology research methods[M]. 3rd ed. Beijing：China Agriculture Press，1998.

[13] 黄永迪. 烟草疫霉拮抗菌 D5-8 抑菌促生特性及可湿性粉剂的制备与应用[D]. 昆明：云南农业大学，2023.
HUANG Y D. Bacteriostatic and growth-promoting characteristics of antagonistic strain D5-8 against *Phytophthora nicotianae* and preparation and application of wettable powder[D]. Kunming：Yunnan Agricultural University，2023.

[14] 国家质量监督检验检疫总局. GB/T 5451－2001 农药可湿性粉剂润湿性测定方法[S]. 北京：中国标准出版社，2004.
General Administration of Quality Supervision，Inspection and Quarantine of the People's Republic of China. GB/T 5451－2001 Testing method for the wettability of dispersible powders of pesticides[S]. Beijing：Standards Press of China，2004.

[15] 国家市场监督管理总局，国家标准化管理委员会. GB/T 14825－2023 农药悬浮率测定方法[S]. 北京：中国标准出版社，2023.
General Administration of Quality Supervision，Inspection and Quarantine of the People's Republic of China，Standardization Administration of the People's Republic of China. GB/T 14825－2023 Determination method of suspensibility for pesticides[S]. Beijing：Standards Press of China，2023.

[16] 国家技术监督局. GB/T 16150－1995 农药粉剂、可湿性粉剂细度测定方法[S]. 北京：中国标准出版社，2004.
State Bureau of Quality and Technical Supervision of the People's Republic of China. GB/T 16150－1995 Seive test for dustable and wettable powders of pesticides[S]. Beijing：Standards Press of China，2004.

[17] 中华人民共和国农业部. NY/T 2293.1－2012 细菌微生物农药 枯草芽孢杆菌第 1 部分：枯草芽孢杆菌母药[S]. 北京：中国农业出版社，2013.
Ministry of Agriculture of the People's Republic of China. NY/T2293.1－2012 Bacterial microbial pesticideBacillus subtilis part 1：*Bacillus subtilistechnical* concentrates[S]. Beijing：China Agriculture Press，2013.

[18] 国家质量监督检验检疫总局，中国国家标准化管理委员会. GB/T 30361－2013 农药干燥减量的测定方法[S]. 北京：中国标准出版社，2014.
General Administration of Quality Supervision，Inspection and Quarantine of the People's Republic of China，Standardization Administration of the People's Republic of China. GB/T

30361－2013 Testing method of loss in weight for pesticides [S]. Beijing:Standards Press of China,2014.

[19] 赵曰丰,杨依军. 恶疫霉菌卵孢子和游动孢子在人参疫病侵染循环中的作用[J]. 特产研究,1992,14(4):9-11,60-61.
ZHAO Y F,YANG Y J. Roles of *Phytophthora cactorum* oospores and zoospores in infection cycle of ginseng blight[J]. Special Wild Economic Animal and Plant Research,1992,14(4):9-11,60-61.

[20] 闫孟红,蔡正求,韩继刚,等. 植物内生细菌在防治植物病害中的应用研究[J]. 生物技术通报,2004,20(3):8-12,22.
YAN M H,CAI Z Q,HAN J G,et al. The applied research of endophytic bacteria in biological control of plant disease[J]. Biotechnology Information,2004,20(3):8-12,22.

[21] 赵曰丰,吴连举,杨依军,等. 人参疫病发生和综合防治的研究[J]. 植物保护学报,1993,20(4):301-306.
ZHAO Y F,WU L J,YANG Y J,et al. Studies on the occurrence and integrated control of ginseng blight in China[J]. Journal of Plant Protection,1993,20(4):301-306.

[22] 张均田. 人参皂苷Rg1的促智作用机制:对神经可塑性和神经发生的影响[J]. 药学学报,2005,40(5):385-388.
ZHANG J T. Nootropic mechanisms of ginsenoside Rg1:influence on neuronal plasticity and neurogenesis[J]. Acta Pharmaceutica Sinica,2005,40(5):385-388.

[23] RISTAINO J B. Spatial and temporal dynamics of *Phytophthora* epidemics in commercial bell pepper fields[J]. Phytopathology,1993,83(12):1312.

[24] KHATUN A,FARHANA T,SABIR A A,et al. *Pseudomonas* and *Burkholderia* inhibit growth and asexual development of *Phytophthora capsici*[J]. Journal of Biosciences,2018,73(3/4):123-135.

[25] WANG X,LIU Y F,HE B P,et al. Screening of Streptomyces strains helping arbuscular mycorrhizal symbiosis against pepper (*Capsicum annuum* L.) *Phytophthora* blight[J]. Pedosphere,2024,34(2):438-446.

[26] 尹敬芳,张文华,李健强,等. 辣椒疫病生防菌的筛选及其抑菌机制初探[J]. 植物病理学报,2007,37(1):88-94.
YIN J F,ZHANG W H,LI J Q,et al. Screening and antagonistic mechanism of biocontrol agents against pepper *Phytophthora* blight[J]. Acta Phytopathologica Sinica,2007,37(1):88-94.

[27] 魏佩霞,付海燕,周双,等. 马铃薯晚疫病生防菌研究进展[J]. 中国农学通报,2023,39(22):144-151.
WEI P X,FU H Y,ZHOU S,et al. Advances in biocontrol microbes of potato late blight[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin,2023,39(22):144-151.

[28] 曹舜. 短小芽孢杆菌BS-4菌株对大豆疫病的生防作用及其机制研究[D]. 合肥:安徽农业大学,2015.
CAO S. Study on biological control effect and mechanism of *Bacillus pumilus* BS-4 strain on soybean blight[D]. Hefei:Anhui Agricultural University,2015.

[29] 张晓云,丁万隆,王蓉,等. 人参病害生防细菌分离鉴定及其抑菌活性测定[J]. 中国现代中药,2018,20(11):1387-1391.
ZHANG X Y,DING W L,WANG R,et al. Isolation, identification of antagonistic strains against phytopathogens of *Panax ginseng* and determination of antimicrobial activity[J]. Modern Chinese Medicine,2018,20(11):1387-1391.

[30] 王铁霖,赵东岳,陈美兰,等. 人参根际拮抗细菌RS-3的鉴定及其对人参常见病原菌的抑制作用[J]. 中国中药杂志,2016,41(24):4564-4567.
WANG T L,ZHAO D Y,CHEN M L,et al. Isolation and identification of rhizobacteria RS-3 from *Panax ginseng* and evaluation of its antagonistic activity[J]. China Journal of Chinese Materia Medica,2016,41(24):4564-4567.

[31] 刘振华,罗远婵,张道敬,等. 农用微生物杀菌剂剂型研究进展[J]. 农药学学报,2014,16(5):497-507.
LIU Z H,LUO Y C,ZHANG D J,et al. Research progress and prospects of microbial pesticide formulation for plant disease control[J]. Chinese Journal of Pesticide Science,2014,16(5):497-507.

[32] 陈茹,曹雪梅,吴海霞,等. 海洋多黏类芽孢杆菌可湿性粉剂的研制[J]. 植物保护,2020,46(3):62-69.
CHEN R,CAO X M,WU H X,et al. Preparation of *Paenibacillus polymyxa* wettable powder[J]. Plant Protection,2020,46(3):62-69.

[33] 张维,吕朝阳,李博雅,等. 甲基营养型芽孢杆菌NKG-1可湿性粉剂的制备及药效研究[J]. 中国农学通报,2022,38(15):130-138.
ZHANG W,LV Z Y,LI B Y,et al. *Bacillus methylotrophicus* NKG-1 wettable powder:preparation and efficacy study[J] Chinese Agricultural Science Bulletin,2022,38(15):130-138.

[34] 常峻嘉,盖佳鑫,陶刚,等. 哈茨木霉菌对烟草的促生及其黑胫病的诱导抗性评价[J]. 中国农业科技导报,2024,26(10):168-176.
CHANG J J,GAI J X,TAO G,et al. Evaluation of the growth-promoting effect of *Trichoderma harzianum* on tobacco and its induced resistance to black shank disease[J]. Journal of Agricultural Science and Technology,2024,26(10):168-176.

[35] 甄静,武艳芳,郭光光,等. 基于非靶向代谢组学分析淡紫拟青霉发酵黄芩药渣的代谢产物特征[J]. 西南农业学报,2024,37(10):2178-2184.
ZHEN J,WU Y F,GUO G G,et al. Metabolic characteristics of *Scutellaria baicalensis* residue fermented by *Paecilomyces lilacinus* based on non-targeted metabolomics[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences,2024,37(10):2178-2184.

(责任编辑:陈丽)