

绿针假单胞菌 Rhs-P27 的杀线活性及 对松材线虫病的防效研究

薛娟娟¹ 梁超琼² 王婷¹ 孙孟娇¹ 唐光辉¹ 李培琴^{1*}

(1. 西北农林科技大学林学院, 陕西 杨凌 712100; 2. 陕西省林业科学院, 陕西 西安 710016)

摘要: 松材线虫病 (pine wilt disease, PWD) 严重威胁中国松林生态健康, 利用微生物资源开展生物防治是绿色防控的重要途径。本研究结合形态学观察与 16S rDNA 序列分析, 对油松 *Pinus tabulaeformis* Carrière 根际土壤细菌 Rhs-P27 进行鉴定; 研究该菌株对松材线虫 *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner & Buhner) Nickle 的影响和对松材线虫病的防治效果。结果表明, Rhs-P27 的 16S rDNA 序列与绿针假单胞菌 *Pseudomonas chlororaphis* (Guignard & Sauvageau) Bergey 的同源性达 98% 以上, 因此将其鉴定为绿针假单胞菌。Rhs-P27 发酵菌悬液 (Bacterial fermentation suspension, BFS) 和发酵滤液原液 (Bacterial fermentation filtrate, BFF) 对松材线虫均表现出极强的毒杀活性, 经这两种液体处理后的线虫繁殖系数分别是 -0.41 和 0.79, 产卵量约为对照的 0.01 和 0.03 倍; 经油红 O 染色发现, Rhs-P27 可破坏松材线虫体内的脂滴形态, 使其粒径显著减小。盆栽试验对 Rhs-P27 的防治效果评估表明, 使用 Rhs-P27 发酵菌悬液进行预防性注干处理, 能有效减轻松材线虫病的症状, 接种线虫后 35 d 的防效可达 54.17%; 松苗体内的线虫密度显著降低, 仅为对照的 0.41 倍, 且该处理诱导油松苗体内过氧化氢酶 (catalase, CAT)、多酚氧化酶 (polyphenol oxidase, PPO)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 和苯丙氨酸解氨酶 (phenylalanine ammonia-lyase, PAL) 的活性提升。本研究揭示了绿针假单胞菌 Rhs-P27 在松材线虫病防控中具有显著的生物防治潜力, 可为该病害高效绿色防控技术研究提供理论基础和菌种资源。

关键词: 松材线虫病; 生防菌; 绿针假单胞菌; 毒杀活性; 生防效果

中图分类号: S763.16 文献标识码: A 文章编号: 2097-5279(2026)01-0045-11

Nematicidal activity of *Pseudomonas chlororaphis* Rhs-P27 and its biocontrol efficacy against pine wilt disease

Xue Juanjuan¹ Liang Chaoqiong² Wang Ting¹ Sun Mengjiao¹ Tang Guanghui¹ Li Peiqin^{1*}

(1. College of Forestry, Northwest A & F University, Yangling 712100, China; 2. Shaanxi Academy of Forestry, Xi'an 710016, China)

Abstract: Pine wilt disease (PWD) poses a serious threat to the ecological health of pine forests in China. Utilizing microbial resources for biological control represents an important approach for its environmentally friendly management. In this study, a bacterial strain Rhs-P27, isolated from the rhizosphere soil of *Pinus tabulaeformis* Carrière, was identified based on morphological characteristics and 16S rDNA sequence analysis. Its effects on *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner & Buhner) Nickle and its control efficacy against PWD were investigated. The results indicated that the 16S rDNA sequence of Rhs-P27 exhibited over 98% identity with that of *Pseudomonas chlororaphis* (Guignard & Sauvageau) Bergey, leading to its identification as *P. chlororaphis*. The impact of Rhs-P27 on *B. xylophilus* was manifested as potent nematicidal activity exhibited by both its bacterial fermentation suspension (BFS) and bacterial fermentation filtrate (BFF). After treatment with these liquids, the nematode reproduction coefficients were -0.41 and 0.79, respectively, and egg production was reduced to 0.01-fold and 0.03-fold of the control, respectively. Oil Red O staining revealed that Rhs-P27 disrupted the morphology of lipid droplets in *B. xylophilus* and significantly reduced their size. Pot experiments were conducted to evaluate the control efficacy of Rhs-P27 against PWD. The results indicated that preventive trunk injection with Rhs-P27 BFS effectively alleviated PWD symptoms, achieving a control efficacy of 54.17% at

收稿日期: 2025-08-07; 修回日期: 2025-10-24。

基金项目: 陕西省林业科技创新重大专项 (SXLK2024-0101); 陕西省林业科技创新重点专项 (SXLK2023-02-40)。

* 通信作者: 李培琴 (E-mail: lipq@nwsuaf.edu.cn), 副教授。

引文格式: 薛娟娟, 梁超琼, 王婷, 等. 2026. 绿针假单胞菌 Rhs-P27 的杀线活性及对松材线虫病的防效研究[J]. 树木医学, 3(1): 45-55.

Xue J J, Liang C Q, Wang T, et al. 2026. Nematicidal activity of *Pseudomonas chlororaphis* Rhs-P27 and its biocontrol efficacy against pine wilt disease[J]. Tree Health, 3(1): 45-55.

35 days after inoculation. It also significantly reduced the nematode density in pine seedlings to 0.41-fold that of the control and induced increased activities of defense enzymes, including catalase (CAT), polyphenol oxidase (PPO), superoxide dismutase (SOD), and phenylalanine ammonia-lyase (PAL). This study reveals that *P. chlororaphis* RhS-P27 possesses significant biocontrol potential against PWD, providing a theoretical foundation and microbial resource for the development of efficient and environmentally friendly control technologies.

Keywords: pine wilt disease; biocontrol bacteria; *Pseudomonas chlororaphis* (Guignard & Sauvageau) Bergey; nematicidal activity; biocontrol efficacy

松材线虫 *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner & Buhner) Nickle (*Bx*) 被列为我国头号林业检疫性有害生物, 其引发的松材线虫病 (pine wilt disease, PWD) 是一种毁灭性森林病害, 具有传播迅速、致死率高、防治难度大等特点, 对亚洲乃至全球松林生态系统构成严重威胁。PWD 的发生涉及病原线虫、媒介昆虫、寄主松树和环境因子之间复杂的互作关系, 进一步增加了防控难度。当前, 防控主要依赖检疫封锁、疫木清理和化学药剂施用等综合措施 (叶建仁, 2019), 其中树干注射化学杀线虫剂仍是主要防控措施, 常用药剂包括阿维菌素 (abamectin) (陈伟, 2017)、甲氨基阿维菌素苯甲酸盐 (emamectin benzoate) (张欣伟等, 2019; Xu et al., 2024) 及吡虫啉 (imidacloprid) (向帆等, 2025) 等。然而, 长期化学用药不仅带来环境污染和潜在的人畜健康风险, 还可能诱导松材线虫产生抗药性。生物防治因其环境兼容性好、不易产生抗性等优势, 被视为替代或补充化学防治、实现 PWD 绿色可持续治理的有效途径。因此, 亟需开发专门针对 PWD 的生物防治技术和产品。

在众多生防因子中, 微生物资源因其种类繁多、繁殖迅速、作用方式多样 (包括寄生、产生毒素、竞争营养、诱导抗性等) 而备受关注。已报道的 PWD 生防菌包括真菌和细菌两大类。其中, 真菌包括已实现制剂化应用的内寄生菌伊氏杀线真菌 *Esteya vermicola* J.Y. Liou, J.Y. Shih & Tzean (Xue et al., 2014; Wang et al., 2017; 茅裕婷等, 2020) 和烟曲霉 *Aspergillus fumigatus* Fresen (Hayashi et al., 2007)、赤霉 *Fusarium bulbicola* Nirenberg & O'Donnell (Shimada et al., 2010)、木霉菌 *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckf. & Nirenberg (Chen et al., 2024) 等。在相关的细菌研究中, 嗜麦芽窄食单胞菌 *Stenotrophomonas maltophilia* (Hugh and Ryschenkow) Palleroni and Bradbury Smal-007 实现制剂化应用 (姚伍等, 2018; 李莉, 2022); 芽孢杆菌属 *Bacillus* spp. 和假单胞菌属 *Pseudomonas* spp. 等细菌因其强定殖能力成为研究热点, 如苏云金芽孢杆菌 *B. thuringiensis* Berliner (Guo et al., 2022)、蜡样芽孢杆菌 *B. cereus* Frankland & Frankland、短小芽孢杆菌 *B.*

pumilus Trevisan (李亮亮等, 2017), 简单芽孢杆菌 *B. simplex* Priest、恶臭假单胞菌 *P. putida* (Trevisan) Migula (Nascimento et al., 2013), 铜绿假单胞菌 *P. aeruginosa* (Schroeter) Migula (贺丽娜等, 2022) 和冷杉假单胞菌 *P. abietaniphila* Mohn (Peng et al., 2024) 等均被报道具备作为 PWD 生防菌的潜力。

然而, 现有 PWD 生防菌来源多样, 分离自不同生境, 常导致其不同地理区域和气候条件下的田间应用效果波动显著。因此, 筛选和开发能适应当地特定生态环境的功能菌株, 对提高生防的稳定性和实用性至关重要。基于此, 本研究聚焦秦岭地区 PWD 的防控需求, 结合前期对油松根际土壤微生物杀线活性的筛选结果, 于 2023—2024 年对油松根际土壤细菌 RhS-P27 进行鉴定, 系统分析其对松材线虫的毒杀活性、繁殖抑制和脂滴的影响, 并检测该菌株对 PWD 的防治效果, 以期开发秦岭林区 PWD 绿色防控技术和产品提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试线虫分离与培养

供试松材线虫为本实验室前期分离自陕西省安康市宁陕县秦岭林区 (33°18'25"N, 108°18'39"E) PWD 油松疫木 (Sun et al., 2024) 的虫株 QL-1, 于长满灰葡萄孢菌 *Botrytis cinerea* Pers 的 PDA (Potato dextrose agar) 培养基上 25 °C 避光培养 7 d 进行繁殖。待灰葡萄孢菌菌丝被完全取食后, 用无菌水洗涤并离心富集 (1 500 r/min, 3 min), 在奥林巴斯 (Olympus Corporation BX53F) 光学显微镜下镜检确认活力备用。

1.1.2 供试微生物

菌株 RhS-P27 分离自陕西省安康市宁陕县林区 (33°18'25"N, 108°18'39"E) 20 年生的健康油松 *P. tabulaformis* 根际土壤, 保藏于中国典型培养物保藏中心 (CCTCC M 20242846)。

1.1.3 供试植物

供试油松苗共 60 株, 均为 3 年生实生苗, 平均株高 50 cm, 来源于陕西省西安市周至县苗圃。栽培基

质的体积比为营养土:有机肥:蛭石=3:1:1。所有油松盆栽苗培养于西北农林科技大学植物培养间,培养条件为(25±1)℃、湿度75%、光周期12L:12D。

1.2 Rhs-P27 的鉴定

1.2.1 Rhs-P27 菌落形态观察及芽孢染色

采用 LBA(Luria-Bertani agar)培养基培养 Rhs-P27,观察其菌落形态特征,记录其表面结构、边缘特征及色素分泌情况。通过芽孢染色法(沈萍和陈向东,2018)检测 Rhs-P27 是否具备形成芽孢的能力。

1.2.2 Rhs-P27 的分子生物学鉴定

采用 16S rDNA 序列分析法对 Rhs-P27 进行分子生物学鉴定(Sun et al., 2024)。使用试剂盒提取 Rhs-P27 的总 DNA。引物为 27F(5'-AGAGTTTGATCCTG GCTCAG -3')和 1492R(5'-TACGGCTACCTTGTTACGA CTT-3'),使用 PCR 扩增 16S rDNA 序列,扩增产物经琼脂糖凝胶电泳检测合格后,委托生工生物工程(上海)有限公司测序。将所得序列在美国国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)中进行 BLAST 同源比对分析,下载同源性较高的参比菌株的基因序列,使用 MEGA 11 软件基于邻接法(Neighbor-joining, NJ)构建系统发育树,分析 Rhs-P27 的系统发育关系。最后,将该菌株的 16S rDNA 序列提交到 GenBank 数据库并获取登录号,其登录号为 OQ581531。

1.3 Rhs-P27 的活化及发酵培养

1.3.1 Rhs-P27 活化及种子液制备

将-80℃冷冻保存的 Rhs-P27 甘油菌种滤纸片接种于 LBA 平板,25℃培养 2~3 d 后挑取典型单菌落;经 LB(Luria-Bertani)液体培养基活化培养 2~3 次,再通过平板划线纯化,获得备用菌株。使用无菌牙签或打孔器从 Rhs-P27 菌落上取菌块,转入盛有 30 mL LB 液体培养基的三角瓶中,每瓶接种 2~3 个菌饼,以未接菌的 LB 液体培养基作为对照,置于摇床上 25℃、125 r/min 振荡培养 48 h,得到种子液。

1.3.2 Rhs-P27 发酵菌悬液和发酵滤液及其稀释液制备

取 1 mL 种子液接种至 20 mL LB 中,在 25℃、125 r/min 条件下培养 96 h,获得 Rhs-P27 的发酵菌悬液原液(Bacterial fermentation suspension, 1×BFS),其菌体浓度为 1×10⁶ CFU/mL,经 LB 液体培养基依次稀释 5 倍和 10 倍,获得 0.2×BFS 和 0.1×BFS 稀释液。此外,将 1×BFS 离心,收集上清液并经 0.22 μm 无菌过滤器过滤,获得 Rhs-P27 发酵滤液原液(Bacterial fermentation filtrate, 1×BFF)。采用相同方法制备 0.2×BFF 与 0.1×BFF 稀释液。

1.4 Rhs-P27 对松材线虫的影响

1.4.1 Rhs-P27 对松材线虫的毒杀活性测定

松材线虫悬浮液的制备、松材线虫与菌株发酵液共培养及存活率检测参照孙孟娇等(2025)报道的方法。具体操作如下:将 20 μL 松材线虫悬浮液(含不同虫龄混合松材线虫约 200 头)分别与 480 μL 不同浓度的 BFS 或 BFF(1×、0.2×、0.1×)置于离心管中混匀,在 25℃共培养 24 h 后,通过番红染色结合形态观察的方式检测松材线虫存活情况——死亡个体被染为红色并呈“C”或“J”形,对物理刺激无反应;存活个体不着色并呈现弯曲活动状态。以 LB 培养基处理作为对照,每个处理重复 3 次。采用以下公式计算松材线虫的死亡率和校正死亡率(Corrected mortality, CM),其中 CM 用于评价 Rhs-P27 对松材线虫的毒杀活性,CM 越大则杀线活性越强。

$$\text{死亡率}(\%) = \frac{\text{死亡松材线虫数量}}{\text{总松材线虫数量}} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{校正死亡率}(\%) = \frac{\text{处理组松材线虫死亡率} - \text{对照组松材线虫死亡率}}{1 - \text{对照组松材线虫死亡率}} \times 100 \quad (2)$$

1.4.2 Rhs-P27 对松材线虫繁殖的影响

参照 Sun 等(2024)的方法分析 Rhs-P27 对松材线虫繁殖的影响。分别评估菌株 Rhs-P27 的细菌发酵滤液(BFF)与细菌发酵菌悬液(BFS)对松材线虫繁殖的影响。BFF 处理组:将 3 等份 20 μL 松材线虫悬浮液(每等份含 200 头松材线虫,为不同虫龄的混合物)呈“品”字形接种在灰葡萄孢菌落上,在每个松材线虫接种点加入 0.5 mL Rhs-P27 的 BFF。BFS 处理组:方法同上,但在每个松材线虫接种点加入 0.5 mL BFS,以等量 LB 培养基为对照(CK),25℃避光培养 7 d 后,收集松材线虫悬浮液,通过光学显微镜观察统计存活的松材线虫和卵的数量,每个处理重复 3 次。根据以下公式计算松材线虫的繁殖系数。通过繁殖系数和新产卵量评价 Rhs-P27 对松材线虫繁殖的影响,繁殖系数数值越小,抑制能力越强。

$$\text{繁殖系数} = \frac{\text{培养7d后松材线虫数量}}{\text{初始松材线虫接种量}} \quad (3)$$

1.4.3 Rhs-P27 对松材线虫脂滴形态的影响

参照黄林玲等(2021)报道的油红 O 染色法,分析 Rhs-P27 对松材线虫脂滴形态的影响。对松材线虫的处理同 1.4.1。处理后的松材线虫经 1% 多聚甲醛固定后,置于-80℃环境冷冻 15 min,室温解冻后离心,弃上清液,离心管底部的松材线虫用 PBS(phosphate buffered saline)洗涤 3 次,用 60% 异丙醇脱

水 2 min, 随后用油红 O 工作液 (5 g/L) 染色 1 h, 经 PBS 洗涤 3 次后, 在光学显微镜下观察松材线虫体内脂滴形态的变化。

1.5 Rhs-P27 对 PWD 的盆栽防治效果检测

1.5.1 人工接种松材线虫及菌株发酵悬浮液施用

参照 Sun 等 (2024) 报道的方法评估 Rhs-P27 对 PWD 的防治效果。前期试验表明, Rhs-P27 发酵菌悬液对松材线虫的毒杀活性和繁殖抑制效果均优于发酵滤液, 因此本研究选择发酵菌悬液原液进行盆栽防治效果分析。以 3 年生健康油松苗为试验对象, 设置 5 个处理组, 分别为: CK 组 (仅用 LB 培养基处理)、Bx 组 (仅接种松材线虫悬浮液)、Rhs-P27 组 (仅接种 Rhs-P27 发酵菌悬液)、Rhs-P27-Bx 组 (先接种 Rhs-P27 发酵菌悬液, 7 d 后再接种松材线虫悬浮液) 和 Bx-Rhs-P27 组 (先接种松材线虫悬浮液, 7 d 后再接种 Rhs-P27 发酵菌悬液)。每个处理包含 4 株油松苗, 共重复 3 次。将所有处理的油松苗均置于植物培养室内培养。

使用电钻在每棵油松苗主干上制备 2 个直径 4.5 mm、深 5 mm 小孔, 两孔间距 10 cm。CK 组中, 每个小孔先用无菌棉包裹, 再向其中加入 5 mL LB 培养基, 随后用保鲜膜包覆防止蒸发, 7 d 后去除无菌棉和保鲜膜; Bx 组中, 每个小孔先接种 20 μ L 松材线虫悬浮液 (不同虫龄松材线虫, 3 000 头), 并用塑料膜包覆接种位点, 7 d 后去除; Rhs-P27 组的操作与 CK 组一致, 仅以 Rhs-P27 发酵菌悬液替换 LB 培养基; Rhs-P27-Bx 组, 每个小孔先用无菌棉包裹, 接种 5 mL 发酵菌悬液, 用保鲜膜包覆以防止蒸发, 7 d 后去除无菌棉和塑料膜, 再向每孔接种 20 μ L 松材线虫悬浮液, 并用塑料膜包裹接种孔, 7 d 后去除保鲜膜; Bx-Rhs-P27 组, 每个小孔先接种 20 μ L 松材线虫悬浮液, 7 d 后采用与 Rhs-P27 组相同的方法进行发酵菌悬液处理。

接种松材线虫后, 每 7 d 观察并拍照, 统计发病率至松材线虫组全部死亡。根据孙孟娇等 (2025) 的方法对各处理组油松苗病情严重程度进行分级, 并统计发病率、病情指数和防治效果, 计算公式如下:

$$\text{发病率}(\%) = \frac{\text{各处理组发病的油松苗数量}}{\text{各处理组油松苗总数}} \times 100 \quad (4)$$

$$\text{病情指数} = \frac{\sum \text{各病级油松苗} \times \text{各病害严重程度表值}}{\text{总段数} \times 4} \times 100 \quad (5)$$

$$\text{防治效果}(\%) = \frac{\text{对照组病情指数} - \text{处理组病情指数}}{\text{对照组病情指数}} \times 100 \quad (6)$$

1.5.2 线虫密度检测

在接种松材线虫后 35 d, Bx 组的 12 株油松苗均处于萎蔫死亡状态, 分别收集 Bx 组、Rhs-P27-Bx 组和 Bx-Rhs-P27 组每株油松苗的根、茎和叶, 剪成小块, 混合均匀, 称重。采用贝尔曼漏斗法分离松材线虫 (冯士明, 2005), 并在显微镜下统计松材线虫数量 (number of nematode, NN)。不同处理下油松苗中的松材线虫密度用每克油松鲜重组织 (fresh weight, FW) 中含有的线虫数表示 (NN/g FW)。采用如下公式计算松材线虫密度:

$$\text{松材线虫密度}(\text{NN/g FW}) = \frac{\text{每株油松苗中Bx总数}}{\text{每株油松苗鲜重}} \quad (7)$$

1.6 Rhs-P27 对油松防御酶活性的影响

对 1.5.1 所述的 5 种不同处理的油松苗防御酶活性进行了检测与分析, 包括过氧化物酶 (peroxidase, POD)、过氧化氢酶 (catalase, CAT)、多酚氧化酶 (polyphenol oxidase, PPO)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、苯丙氨酸解氨酶 (phenylalanine ammonia-lyase, PAL) 和几丁质酶 (chitinase, CHI)。松材线虫侵染后, 松树最早表现出的可见症状为针叶异常, 且采集针叶可实现非破坏性连续监测, 因此本研究选择针叶作为防御酶活性检测的材料。分别于各处理起始后 0、7、14、21、28、35 d 采集样品, 每株幼苗收集 3 束针叶。POD、PPO、CHI 和 PAL 粗酶液的提取参照 Li 等 (2016) 报道的方法, CAT 和 SOD 粗酶液的提取参照 Li 等 (2024) 报道的方法; SOD 活性采用氮蓝四氮唑法测定 (Jiang et al., 2020), CHI 活性采用 Ferrari 等 (2014) 报道的方法测定, POD 活性测定方法参照 Li 等 (2016) 报道的方法测定, CAT、PPO 和 PAL 活性采用相应的酶联免疫试剂盒进行测定。每个处理设置 3 个重复。

1.7 数据分析

采用 SPSS 18.0 软件对数据进行统计分析, 利用 Duncan 氏新复极差法进行差异显著性检验 ($P < 0.05$), 并使用 Microsoft Office Excel 2021 绘制图表。

2 结果与分析

2.1 Rhs-P27 种类鉴定

在 LBA 平板上, 菌株 Rhs-P27 的菌落呈橙黄色, 微隆起, 表面干燥粗糙, 不透明, 边缘较整齐 (图 1A); 显微镜下可见菌体呈现短杆状, 产芽孢 (图 1B)。菌株 Rhs-P27 的 16S rDNA 序列长度为 1 428 bp, GenBank 登录号为 OQ581531。通过 BLAST 比对, 发现其与绿针假单胞菌 *Pseudomonas chlororaphis* (Guignard & Sauvageau) Bergey 的同源性最高, 均达 98% 以上; 聚

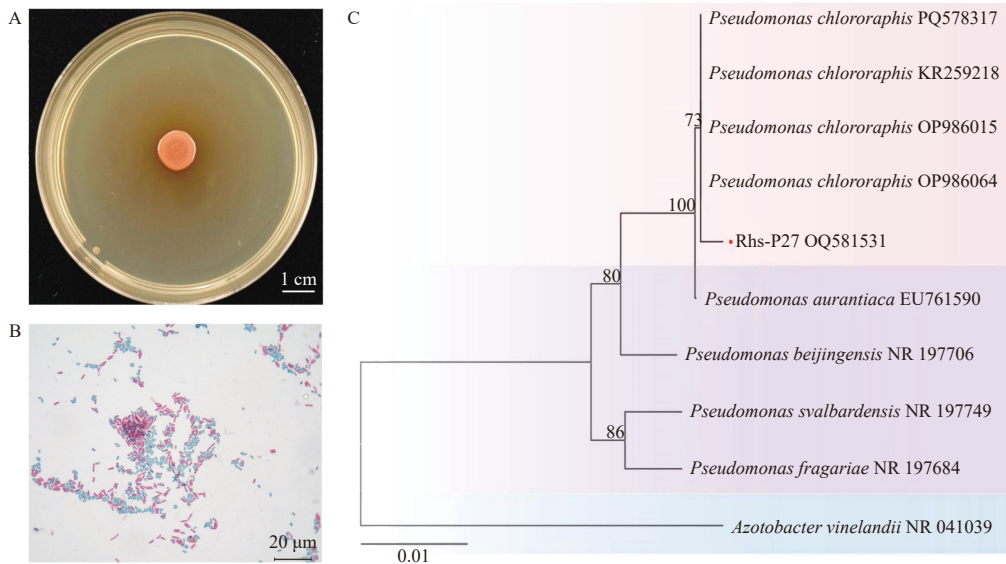


图 1 Rhs-P27 的鉴定分析
Fig. 1 Identification of Rhs-P27

注: A. Rhs-P27 菌落; B. 芽孢染色; C. 基于 16S rDNA 序列构建的系统发育树。

Notes: A. Colony of Rhs-P27; B. Endospore staining; C. Phylogenetic tree based on 16S rDNA sequences.

类分析结果也表明 Rhs-P27 与绿针假单胞菌聚于一支 (图 1C)。结合 Rhs-P27 菌株形态学特征和 16S rDNA 鉴定结果, 将其鉴定为绿针假单胞菌 *P. chlororaphis*。

2.2 绿针假单胞菌 Rhs-P27 对松材线虫的影响

2.2.1 对毒杀活性的影响

绿针假单胞菌 Rhs-P27 发酵菌悬液 (BFS) 与发酵滤液 (BFF) 对松材线虫的毒杀活性分析结果表明,

BFS 与 BFF 的杀线活性随稀释倍数增加而下降。与对照组相比 (图 2A), Rhs-P27 的 1×BFS 与 1×BFF 毒杀 24 h 后, 松材线虫虫体僵直、并全被番红染液染为红色, 说明松材线虫被完全杀死 (图 2B、C), 二者对松材线虫的毒杀活性均达 100% (表 1); 0.2×BFS 与 0.1×BFS 杀线活性分别为 37.77% 和 22.57%, 0.2×BFF 与 0.1×BFF 杀线活性分别为 28.88% 和 19.65% (表 1)。

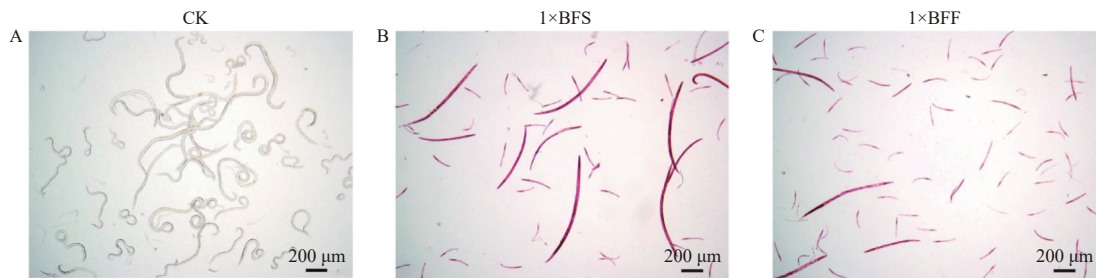


图 2 绿针假单胞菌 Rhs-P27 对松材线虫存活的影响
Fig. 2 Effect of *P. chlororaphis* Rhs-P27 on the survival of *B. xylophilus*

表 1 绿针假单胞菌 Rhs-P27 对松材线虫的毒杀活性分析

Tab. 1 The nematocidal activity analyses of *P. chlororaphis* Rhs-P27 against *B. xylophilus*

处理 Treatment	<i>Bx</i> 校正死亡率/% Corrected mortality	
	BFS	BFF
1×	100.00±0.00 a	100.00±0.00 a
0.2×	37.77±2.91 b	28.88±0.93 b
0.1×	22.57±2.50 c	19.65±3.83 c

注: 表中数据为平均值±标准差, 不同小写字母表示不同处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

Notes: Data in the table are mean±SD. Different lowercase letters indicate significant differences among treatments ($P < 0.05$).

2.2.2 对繁殖的影响

绿针假单胞菌 Rhs-P27 的 BFF 和 BFS 均能极显著抑制松材线虫繁殖, 其中 BFS 的抑制效果更显著 (表 2)。CK 组松材线虫繁殖系数高达 55.56, 经 Rhs-P27 BFF 和 BFS 处理后, 其繁殖系数分别为 0.79 和 -0.41; CK 组每皿松材线虫平均产卵量高达 4 165.33 个, BFF 和 BFS 处理后每皿平均产卵量分别为 138.67 个和 58.67 个, 约为 CK 的 0.03 倍和 0.01 倍 (表 2)。

表 2 绿针假单胞菌 Rhs-P27 对松材线虫繁殖的影响
Tab. 2 Effects of *P. chlororaphis* Rhs-P27 on the reproduction of *B. xylophilus*

处理组 Treatment group	繁殖系数 Reproductive coefficient	卵数量/个 Egg amount
发酵菌悬液 Bacterial fermentation suspension	-0.41±0.29 c	58.67±8.50 c
发酵滤液 Bacterial fermentation filtrate	0.79±0.05 b	138.67±11.93 b
CK	55.56±7.2 a	4165.33±299.10 a

注:表中数据为平均值±标准差,同列数据后不同小写字母表示不同处理间差异显著($P<0.05$)。

Notes: Data in the table are mean±SD. Different lowercase letters after the same column indicate significant differences among treatments ($P<0.05$).

2.2.3 对脂滴形态的影响

Rhs-P27 处理会使松材线虫的脂滴粒径减小。CK

组松材线虫脂滴的平均粒径为(6.33 ± 2.35) μm (图 3A); 经过 Rhs-P27 BFS 处理后,松材线虫脂滴的平均粒径为(2.48 ± 1.08) μm (图 3B),仅为 CK 组的 0.39 倍; BFF 处理后,松材线虫脂滴的平均粒径为(3.73 ± 1.37) μm (图 3C),仅为 CK 组的 0.59 倍。

2.3 绿针假单胞菌 Rhs-P27 对 PWD 的盆栽防治效果

与 CK 组的油松苗(图 4A、B)相比, Rhs-P27 组的油松苗(图 4C、D)生长状态良好,未出现任何毒害症状,说明 Rhs-P27 对油松苗无毒害作用; Bx 组在接种松材线虫后 14 d 开始发病,发病率和病情指数分别为 58.33% 和 16.67(表 3、4);病程延长至 35 d,所有油松苗均发病(图 4E、F),病情指数达到峰值 100.00(表 4)。因此,本研究将接种松材线虫后 35 d 设定为防效分析的最终时间点。

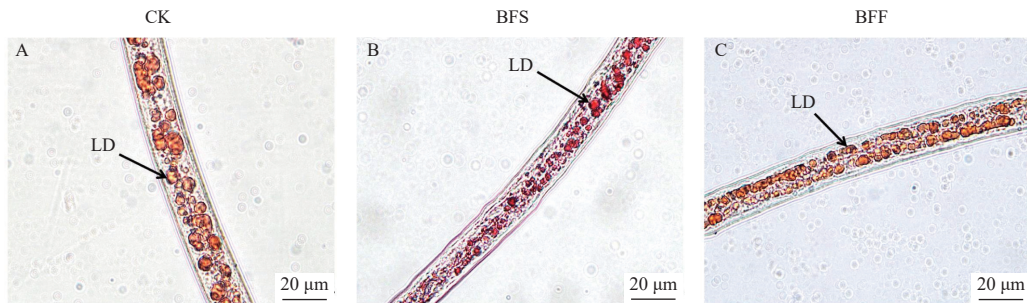


图 3 绿针假单胞菌 Rhs-P27 对松材线虫脂滴形态的影响

Fig. 3 Effect of *P. chlororaphis* Rhs-P27 on lipid droplet morphology in *B. xylophilus*

注: A. CK 组松材线虫脂滴形态; B. BFS 处理后松材线虫脂滴形态; C. BFF 处理后松材线虫脂滴形态。LD: 脂滴。

Notes: A. Lipid droplet morphology of *B. xylophilus* in CK group; B. *B. xylophilus* lipid droplet morphology after BFS treatment; C. *B. xylophilus* lipid droplet morphology after BFF treatment. LD: lipid droplet.

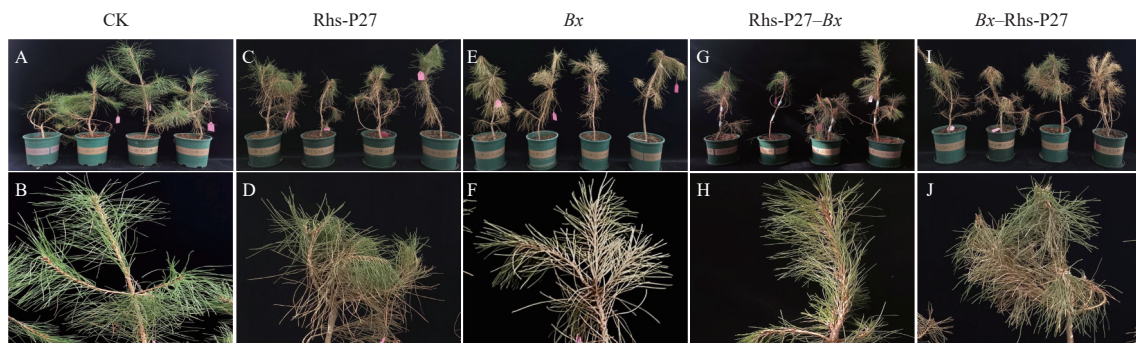


图 4 不同处理下的油松苗症状

Fig. 4 Symptoms of *P. tabulaeformis* seedlings under different treatments

注: A-B. CK 组油松苗; C-D. Rhs-P27 组油松苗; E-F. 仅接种松材线虫后 35 d 的油松苗; G-H. Rhs-P27-Bx 组在接种松材线虫后 35 d 的油松苗; I-J. Bx-Rhs-P27 组在接种松材线虫后 35 d 的油松苗。

Notes: A-B. *P. tabulaeformis* seedlings of CK group; C-D. *P. tabulaeformis* seedlings of Rhs-P27 group; E-F. *P. tabulaeformis* seedlings at 35 days post-inoculation with *B. xylophilus*; G-H. *P. tabulaeformis* seedlings of the Rhs-P27-Bx group at 35 days post-inoculation with *B. xylophilus*; I-J. *P. tabulaeformis* seedlings of the Bx-Rhs-P27 group at 35 days post-inoculation with *B. xylophilus*.

通过分析 Rhs-P27 两种不同的施用组合对 PWD 发生的影响,发现 Rhs-P27-Bx 组能减轻 PWD 的发生(图 4G、H)。在接种松材线虫 21、28、35 d 后,该处

理对 PWD 的防效分别为 42.50%、53.16% 和 54.16%(表 5); 而 Bx-Rhs-P27 组对 PWD 的发生和发展没有显著的抑制作用(图 4I、J),接种松材线虫 35 d 时,该

组油松苗的发病率与 *Bx* 组无差异(表 3), 病情指数也高达 79.17(表 4)。进一步分析了 *Bx* 组、Rhs-P27-*Bx* 组和 *Bx*-Rhs-P27 组在接种 35 d 时油松苗中的松材线

虫密度, 发现 Rhs-P27 能显著抑制松材线虫在松树体内的繁殖, *Bx*-Rhs-P27 组和 Rhs-P27-*Bx* 组中的松材线虫密度分别 *Bx* 组的 0.65 倍和 0.41 倍(表 6)。

表 3 油松苗接种松材线虫后不同时间的发病率分析

Tab. 3 Analyses of incidence rates in *P. tabuliformis* seedlings at different times post-inoculation with *B. xylophilus*

处理 Treatment	发病率/% Incidence of different days after inoculation with <i>B. xylophilus</i>				
	7 d	14 d	21 d	28 d	35 d
<i>Bx</i>	0.00±0.00 a	58.33±38.19 a	100.00±0.00 a	100.00±0.00 a	100.00±0.00 a
Rhs-P27- <i>Bx</i>	0.00±0.00 a	8.33±17.67 c	58.33±17.68 b	83.33±17.68 a	83.33±17.68 a
<i>Bx</i> -Rhs-P27	0.00±0.00 a	33.33±17.68 b	100.00±0.00 a	100.00±0.00 a	100.00±0.00 a

注: 表中数据为平均值±标准差。同列数据后不同小写字母表示同一时间不同处理组间差异显著 ($P<0.05$)。

Notes: Data in the table are mean±SD. Different lowercase letters after the same column indicate significant differences among treatment groups ($P<0.05$).

表 4 油松苗接种松材线虫后不同时间的病情指数分析

Tab. 4 Analyses of disease index in *P. tabuliformis* seedlings at different times post-inoculation with *B. xylophilus*

处理 Treatment	病情指数 Disease index				
	7 d	14 d	21 d	28 d	35 d
<i>Bx</i>	0.00±0.00 a	16.67±7.22 a	62.50±12.50 a	89.58±7.22 a	100.00±0.00 a
Rhs-P27- <i>Bx</i>	0.00±0.00 a	8.33±3.61 b	35.42±3.61 c	41.67±3.61 c	45.67±9.55 c
<i>Bx</i> -Rhs-P27	0.00±0.00 a	10.42±3.61 b	45.83±3.61 b	66.67±3.61 b	79.17±6.25 b

注: 表中数据为平均值±标准差。同列数据后不同小写字母表示同一时间不同处理组间差异显著 ($P<0.05$)。

Notes: Data in the table are mean±SD. Different lowercase letters after the same column indicate significant differences among treatment groups ($P<0.05$).

表 5 绿针假单胞菌 Rhs-P27 对油松苗松材线虫病的防治效果分析

Tab. 5 Control efficacy analyses of *P. chlororaphis* Rhs-P27 against pine wilt disease in *P. tabuliformis* seedlings

处理 Treatment	防治效果/% Control efficacy		
	21 d	28 d	35 d
Rhs-P27- <i>Bx</i>	42.50±6.61 ab	53.16±6.92 a	54.16±9.54 a
<i>Bx</i> -Rhs-P27	24.72±15.15 b	25.47±2.07 b	20.83±7.21 b

注: 表中数据为平均值±标准差。不同小写字母表示不同处理间差异显著 ($P<0.05$)。

Notes: Data in the table are mean±SD. Different lowercase letters indicate significant differences among treatments ($P<0.05$).

表 6 油松苗在接种松材线虫 35 d 时的线虫密度分析

Tab. 6 *B. xylophilus* density analyses in *P. tabuliformis* seedlings at 35 d post-inoculation

处理 Treatment	松材线虫密度/ $\text{NN}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$ Density of <i>B. xylophilus</i>
<i>Bx</i>	1 454.33±375.57 a
Rhs-P27- <i>Bx</i>	594.33±173.39 b
<i>Bx</i> -Rhs-P27	951.00±252.25 ab

注: 表中数据为平均值±标准差。不同小写字母表示不同处理间差异显著 ($P<0.05$)。

Notes: Data in the table are mean±SD. Different lowercase letters indicate significant differences among treatments ($P<0.05$).

2.4 绿针假单胞菌 Rhs-P27 对油松防御酶活性的影响

分析 Rhs-P27 各处理组对油松苗防御酶活性的影响, 发现 Rhs-P27 对油松苗中 POD、CAT、PPO、SOD、PAL 和 CHI 活性均产生了不同程度的影响。

单独施用 Rhs-P27 (Rhs-P27 组) 的油松苗在处理的中期 (7~28 d) POD 活性均显著高于 *Bx* 组 (图 5A); 单独施用 Rhs-P27 (Rhs-P27 组) 的油松苗在处理的前中期 (7~21 d) CAT 活性也均高于 *Bx* 组, 先接种线虫后施菌 (*Bx*-Rhs-P27 组) 的治疗处理在 14 d 和 28 d 显著提升了 CAT 活性 (图 5B); 先施菌后接种线虫 (Rhs-P27-*Bx* 组) 的预防处理, 在前中期 (7~21 d) 显著增强了 PPO 活性, 并于 14 d 达到峰值 (图 5C); 经预防处理 (Rhs-P27-*Bx* 组) 和治疗处理 (*Bx*-Rhs-P27 组) 的油松苗在处理后期 (21~35 d) SOD 活性显著高于 *Bx* 组, 且能够将 SOD 维持在一定范围内保持与 CK 组相当的水平 (图 5D); 预防处理和治疗处理的油松苗在处理中后期 (21~35 d) PAL 活性略高于 *Bx* 组 (图 5E); 然而, 在处理后相同时间点, 不同处理组油松苗的 CHI 活性无显著差异 (图 5F)。

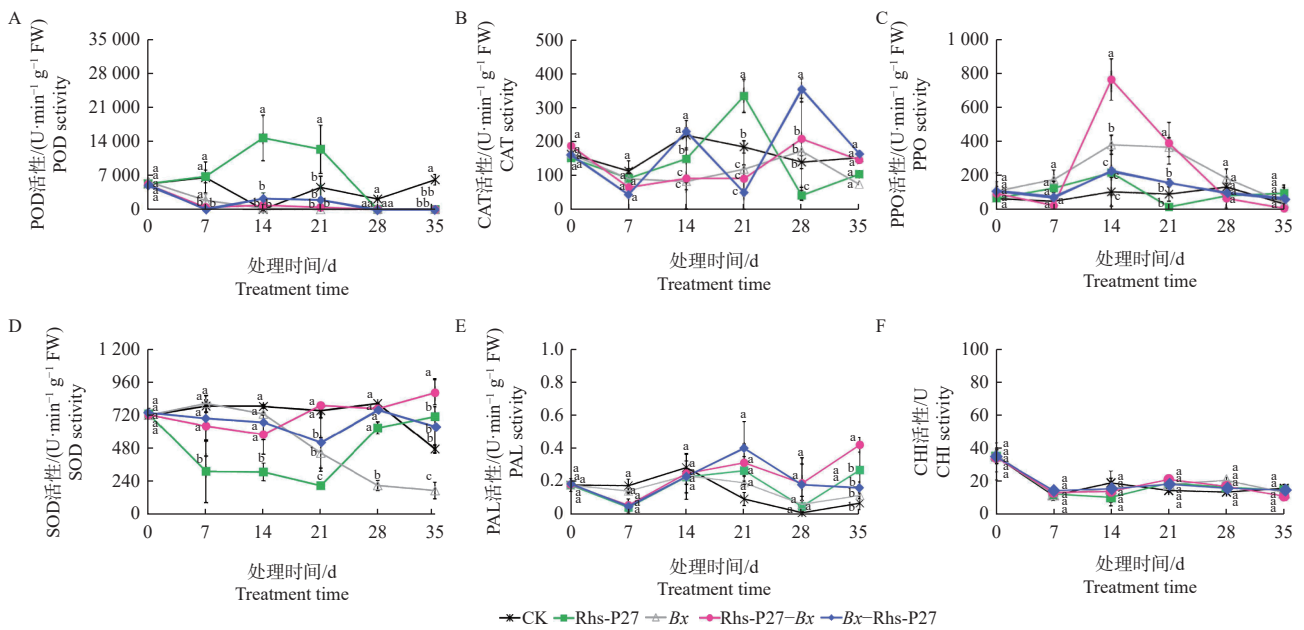


图5 不同处理下油松幼苗防御酶活性的动态变化

Fig. 5 Dynamics of defensive enzyme activities in *P. tabulaeformis* seedlings under different treatments

注: A. POD 活性; B. CAT 活性; C. PPO 活性; D. SOD 活性; E. PAL 活性; F. CHI 活性。不同小写字母表示在同一时间不同处理组之间差异显著 ($P < 0.05$)。

Notes: A. POD activity; B. CAT activity; C. PPO activity; D. SOD activity; E. PAL activity; F. CHI activity. Different lowercase letters indicate significant differences among treatments at the same time point ($P < 0.05$).

3 讨论

3.1 绿针假单胞菌 Rhs-P27 对松材线虫的毒杀活性及其作用机制

绿针假单胞菌 Rhs-P27 对松材线虫具有显著的毒杀活性、强烈的繁殖抑制效应及明显的脂滴破坏作用, 这些功能可能与其分泌的次生代谢物密切相关。

目前, 利用生防菌防治 PWD 已成为维持森林健康可持续发展的重要措施之一。不同活性菌株对松材线虫的毒杀活性存在显著差异。本研究结果表明, 油松根际土壤细菌绿针假单胞菌 Rhs-P27 对松材线虫具有显著的毒杀活性, 其发酵菌悬液和发酵滤液原液处理松材线虫 24 h 后, 毒杀活性均高达 100%。铜绿假单胞菌 NZM13-11 的发酵滤液原液 24 h 对松材线虫的毒杀活性为 97.2% (贺丽娜等, 2022), 低于 Rhs-P27 的杀线活性; 而恶臭假单胞菌 UW4 虽然能诱导松树产生 PWD 抗性, 但其发酵滤液和细胞裂解液对松材线虫均无毒杀活性 (Nascimento et al., 2013)。

在抑制松材线虫繁殖方面, 谢婉凤等 (2025) 发现粘质沙雷氏菌 *Serratia* sp. BRC-CXG2 可在松材线虫体内定殖并传代, 显著降低松材线虫产卵量、卵孵化率和雌雄比; 而许嘉麟等 (2021) 发现蜡样芽孢杆菌 NJSZ-13 发酵菌悬液和发酵滤液均可抑制松材线虫产卵、卵孵化和繁殖; 本研究表明绿针假单胞菌 Rhs-P27

的发酵菌悬液和发酵滤液均可强烈抑制松材线虫产卵和繁殖。

此外, 本研究还发现 Rhs-P27 能破坏松材线虫脂滴形态, 导致脂滴粒径显著减小, 此现象与 Pan 等 (2023) 及 Zhou 等 (2020) 报道的其他生防因子作用一致。脂滴是松材线虫储存能量的关键细胞器, 对其生存和侵染至关重要, 尤其是休眠 4 龄幼虫 (J4) 完全依赖消耗脂质储备完成新寄主的侵染过程。因此, Rhs-P27 引起的脂滴粒径减小直接反映了线虫能量储备的严重耗竭。这种能量匮乏预期将显著削弱线虫活力, 干扰其发育, 特别是关键阶段的转换, 进而从根本上损害其侵染能力和致病力 (于浩和吴海燕, 2009; 王博文等, 2017; Pimentel and Ayres, 2022)。

本研究结果表明, 绿针假单胞菌 Rhs-P27 发酵菌悬液的杀线活性、对松材线虫繁殖的抑制、对松材线虫脂滴影响均高于发酵滤液, 但是二者差异不显著, 表明其杀线活性成分可能主要存在于胞外分泌的代谢产物中。现有研究表明, PWD 生防菌可产生多种具有杀线虫活性的物质, 如木霉菌 *Trichoderma* sp. YMF 1.004 16 产生的 6-戊基-2H-吡喃-2-酮 (6-pentyl-2H-pyran-2-one) (Yang et al., 2012)、淡紫拟青霉菌 *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson ZBY-1 产生的脑苷脂 cerebroside (张壤心等, 2018)、苏云金芽孢杆菌产生的多种晶体

蛋白毒素(Guo et al., 2022)及蜡样芽孢杆菌 NJSZ-13 分泌的蛋白酶(孙玉凤等, 2023)等。目前, 尚未见与绿针假单胞菌次生代谢产物分离鉴定及其对松材线虫毒杀活性的相关研究, 本研究首次系统揭示了绿针假单胞菌对松材线虫的毒杀活性, 后期可深入鉴定其活性化合物, 并通过基因编辑构建工程菌株, 为 PWD 防治提供新资源。

3.2 绿针假单胞菌 Rhs-P27 对油松的 PWD 的预防效应及其与诱导抗病性的关联

PWD 的发生与寄主、病原以及环境互作密切相关。因此, 生防菌筛选需兼顾体外毒杀活性和实际防效。本研究通过盆栽试验评估绿针假单胞菌 Rhs-P27 对油松 PWD 的防治潜力。结果表明, 接种松材线虫前用 Rhs-P27 预处理能显著减轻 PWD 的发生, 而接种松材线虫后再用 Rhs-P27 处理防治效果不显著。由此说明, Rhs-P27 对 PWD 主要表现为预防效应, 其作用机制可能依赖于诱导松树产生系统性抗病性。

诱导植物抗病性是重要的生防机制, 如 Han 等(2025)发现苏云金芽孢杆菌 SD30 发酵菌悬液对马尾松和落叶松的 PWD 具有显著的预防效果; Mannaa 等(2025)发现枯草芽孢杆菌 *B. subtilis* (Ehrenberg) Cohn JCK-1 398 预处理能显著减轻赤松 PWD 的萎蔫程度, 但该菌对松材线虫无直接毒杀作用。生防菌诱导植物抗病性是一系列复杂防御反应的激活与调控, 包括细胞膜脂质过氧化减少、防御酶活性增强和防御相关基因上调等(Guzmán-Guzmán and Santoyo, 2022)。本研究发现 Rhs-P27 菌株处理能提高油松苗体内 PPO、CAT、SOD、POD 和 PAL 5 种抗病相关酶活性, 这与吴佳雯等(2022)报道的蜡样芽孢杆菌 NJSZ-13 对马尾松 PWD 防效相关研究结果一致。PPO 和 PAL 与植物木质素及相关抗病抑菌物质的合成具有重要的关联, 可以通过促进植物组织木质化或抑制病原菌的生长来增强植株的抗病能力(温欣等, 2020; Tang et al., 2021), SOD 可以催化超氧阴离子自由基生成过氧化氢和氧气, CAT 和 POD 这两种防御酶能将过氧化氢转化为水等无毒产物, 三者共同清除细胞内的活性氧, 减少脂质过氧化损伤的程度, 维持细胞膜完整性和功能稳定性(Li et al., 2016)。这些发现为 Rhs-P27 诱导油松抗性提供了生理生化证据, 还需进一步开展具体的诱导抗病性分子机制研究, 从而为该菌株的合理利用提供依据。

4 结论

本研究首次证实了绿针假单胞菌 Rhs-P27 对松

材线虫具有显著的直接毒杀活性、高效的繁殖抑制能力及破坏其脂滴的作用。盆栽试验表明, 以预防性方式施用 Rhs-P27 可产生明确防效, 并能显著诱导油松多种防御酶活性升高。尽管其盆栽防效存在局限性, 但鉴于绿针假单胞菌作为植物根际促生菌具有良好的定殖能力, 且在直接毒杀线虫与诱导植物抗性方面表现突出, 后续可深入研究该菌株对 PWD 的林间防效, 并考虑将其与其他作用机制互补的生防菌株组合, 构建复合微生物菌剂, 为秦岭地区 PWD 的生物防治提供更高效、稳定和可持续的解决方案。

参 考 文 献

- 陈伟. 2017. 阿维菌素乳油注干防治松材线虫病的效果[J]. 江苏林业科技, 44(4): 33-35.
- Chen W. 2017. Effect of dry injection of abamectin EC on controlling pine wood nematode disease[J]. Journal of Jiangsu Forestry Science & Technology, 44(4): 33-35. (in Chinese)
- 冯士明. 2005. 简介松材线虫的分离方法[J]. 云南林业, (2): 29.
- Feng S M. 2005. Introduction to the Isolation Methods of Pine Wood Nematode[J]. Yunnan Forestry, (2): 29. (in Chinese)
- 贺丽娜, 冯源, 石慧敏, 等. 2022. 具有杀线活性马尾松内生细菌的筛选与鉴定[J]. 生物技术通报, 38(8): 159-166.
- He L N, Feng Y, Shi H M, et al. 2022. Screening and identification of endophytic bacteria with nematicidal activity against *Bursaphelenchus xylophilus* in *Pinus massoniana*[J]. Biotechnology Bulletin, 38(8): 159-166. (in Chinese)
- 黄林玲, 周湘, 胡加付, 等. 2021. 松材线虫脂滴 4 种染色方法的比较[J]. 浙江农林大学学报, 38(4): 878-882.
- Huang L L, Zhou X, Hu J F, et al. 2021. Comparison of four lipid droplets staining methods in *Bursaphelenchus xylophilus*[J]. Journal of Zhejiang A & F University, 38(4): 878-882. (in Chinese)
- 李莉. 2022. 应用 Smal-007 菌剂防治松材线虫病的效果研究[J]. 农业技术与装备(1): 138-139.
- Li L. 2022. Effect of smal-007 bacterial agent on pine wood nematode disease[J]. Agricultural Technology & Equipment, (1): 138-139. (in Chinese)
- 李亮亮, 谈家金, 陈凤毛. 2017. 两株松材线虫拮抗细菌的筛选和鉴定[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 41(4): 37-41.
- Li L L, Tan J J, Chen F M. 2017. The screening and identification of two bacterial strains with nematicidal activity against *Bursaphelenchus xylophilus*[J]. Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition), 41(4): 37-41. (in Chinese)
- 茅裕婷, 马涛, 蓝来娇, 等. 2020. 松材线虫生防真菌伊氏线虫菌研究进展[J]. 林业科学, 56(1): 180-190.
- Mao Y T, Ma T, Lan L J, et al. 2020. Advances in *Esteya vermicola*, a potential biocontrol fungus for pine wood nematode[J]. Scientia Silvae Sinicae, 56(1): 180-190. (in Chinese)
- 沈萍, 陈向东. 2018. 微生物学实验[M]. 北京: 高等教育出版社: 272.
- Shen P, Chen X D. 2018. Microbiological Experiment[M]. Beijing: Higher Education Press: 272. (in Chinese)

- 孙孟娇, 梁超琼, 符晓, 等. 2025. 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]. 植物病理学报, 55(5): 1135–1149.
- Sun M J, Liang C Q, Fu X, *et al.* 2025. Biocontrol efficiency of *Bacillus velezensis* strain P87 against pine wilt disease and its biocontrol effects under different application methods[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 55(5): 1135–1149. (in Chinese)
- 孙玉凤, 谈家金, 赵晓佳, 等. 2023. 蜡样芽胞杆菌 NJSZ-13 致死松材线虫的因子[J]. 东北林业大学学报, 51(1): 127–131.
- Sun Y F, Tan J J, Zhao X J, *et al.* 2023. *Bacillus cereus* NJSZ-13 lethal effect on *Bursaphelenchus xylophilus*[J]. Journal of Northeast Forestry University, 51(1): 127–131. (in Chinese)
- 王博文, 刘伟璐, 王峰, 等. 2017. 低温调控 Bx-SCD 促进松材线虫脂肪积累[J]. 东北林业大学学报, 45(7): 89–93.
- Wang B W, Liu W L, Wang F, *et al.* 2017. Fat accumulation in *Bursaphelenchus xylophilus* by positively regulating bx-SCD under low temperature[J]. Journal of Northeast Forestry University, 45(7): 89–93. (in Chinese)
- 温欣, 秦红艳, 艾军, 等. 2020. 不同抗性猕猴桃材料接种溃疡病菌后防御酶活性变化研究[J]. 特产研究, 42(3): 6–11.
- Wen X, Qin H Y, Ai J, *et al.* 2020. Study on the change of defense enzyme activities of kiwifruit materials with different resistance after inoculation with *Pseudomonas syringae* pv. *Actinidiae*[J]. Special Wild Economic Animal and Plant Research, 42(3): 6–11. (in Chinese)
- 吴佳雯, 尹楠楠, 谈家金, 等. 2022. 蜡样芽胞杆菌 NJSZ-13 菌株诱导马尾松松材线虫病研究[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 46(4): 53–58.
- Wu J W, Yin Y N, Tan J J, *et al.* 2022. A preliminary study on resistance of *Pinus massoniana* induced by *Bacillus cereus* NJSZ-13 strain to *Bursaphelenchus xylophilus*[J]. Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition), 46(4): 53–58. (in Chinese)
- 向帆, 刘玉琢, 叶建仁, 等. 2025. 注干施用 3 种药剂防治松材线虫病研究[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 49(6): 95–101.
- Xiang F, Liu Y Z, Ye J R, *et al.* 2025. Study on the control of *Bursaphelenchus xylophilus* by trunk injection with three kinds of agents[J]. Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition), 49(6): 95–101. (in Chinese)
- 谢婉凤, 邱文婧, 许绍斌, 等. 2025. 粘质沙雷氏菌 BRC-CXG2 对松材线虫繁殖的影响[J/OL]. 福建农林大学学报(自然科学版): 1–17. (2025-06-18). [https://doi.org/10.13323/j.cnki.j.fafu\(nat.sci.\).202502014](https://doi.org/10.13323/j.cnki.j.fafu(nat.sci.).202502014).
- Xie W F, Qiu W J, Xu S B, *et al.* 2025. Effect of *Serratia marcescens* BRC-CXG2 on the reproductive of pine wood nematode[J/OL]. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition): 1–17. (2025-06-18). [https://doi.org/10.13323/j.cnki.j.fafu\(nat.sci.\).202502014](https://doi.org/10.13323/j.cnki.j.fafu(nat.sci.).202502014). (in Chinese)
- 许嘉麟, 谈家金, 郝德君. 2021. 蜡样芽胞杆菌 NJSZ-13 菌株对松材线虫产卵和繁殖的影响[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 45(5): 209–214.
- Xu J L, Tan J J, Hao D J. 2021. Effect of *Bacillus cereus* NJSZ-13 strain on oviposition and reproduction of *Bursaphelenchus xylophilus*[J]. Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition), 45(5): 209–214. (in Chinese)
- 姚伍, 郑催云, 陈红梅, 等. 2018. 福建三明市应用 Smal-007 菌剂防治松材线虫病的效果[J]. 林业科学, 54(1): 168–173.
- Yao W, Zheng C Y, Chen H M, *et al.* 2018. Control effect of pine wilt disease using a biological control agent of smal-007 in Sanming, Fujian Province[J]. Scientia Silvae Sinicae, 54(1): 168–173. (in Chinese)
- 叶建仁. 2019. 松材线虫病在中国的流行现状、防治技术与对策分析[J]. 林业科学, 55(9): 1–10.
- Ye J R. 2019. Epidemic status of pine wilt disease in China and its prevention and control techniques and counter measures[J]. Scientia Silvae Sinicae, 55(9): 1–10. (in Chinese)
- 于浩, 吴海燕. 2009. 植物寄生线虫滞育机制研究进展[J]. 植物保护, 35(4): 20–24.
- Yu H, Wu H Y. 2009. Research progresses in the mechanism of dormancy and diapause in plant parasitic nematodes[J]. Plant Protection, 35(4): 20–24. (in Chinese)
- 张壤心, 梁英辉, 逯昕明, 等. 2018. 杀松材线虫活性菌株筛选及活性成分分析[J]. 吉林农业大学学报, 40(2): 157–163.
- Zhang R X, Liang Y H, Lu X M, *et al.* 2018. Screening of an active strain of *Bursaphelenchus xylophilus* and analysis of its active ingredients[J]. Journal of Jilin Agricultural University, 40(2): 157–163. (in Chinese)
- 张欣伟, 韩群瑞, 汪天娜, 等. 2019. 注干用 10% 甲氨基阿维菌素苯甲酸盐可溶粒剂的研制及对松材线虫病的防治效果[J]. 农药学报, 21(4): 538–544.
- Zhang X W, Han Q Q, Wang T N, *et al.* 2019. Preparation of 10% emamectin benzoate soluble granule for trunk injection and its control efficacy on pine wilt disease[J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 21(4): 538–544. (in Chinese)
- Chen J, Jiao N, Ran Y D, *et al.* 2024. Assessing effect of *Trichoderma asperellum* T16 on management of *Bursaphelenchus xylophilus*[J]. Industrial Crops and Products, 215: 118628.
- Ferrari A R, Gaber Y, Fraaije M W. 2014. A fast, sensitive and easy colorimetric assay for chitinase and cellulase activity detection[J]. Biotechnology for Biofuels, 7(1): 37.
- Guo Y J, Weng M Q, Sun Y Z, *et al.* 2022. *Bacillus thuringiensis* toxins with nematocidal activity against the pinewood nematode *Bursaphelenchus xylophilus*[J]. Journal of Invertebrate Pathology, 189: 107726.
- Guzmán-Guzmán P, Santoyo G. 2022. Action mechanisms, biodiversity, and omics approaches in biocontrol and plant growth-promoting *Pseudomonas*: An updated review[J]. Biocontrol Science and Technology, 32(5): 527–550.
- Han S J, Zhao L L, Pan M, *et al.* 2025. Screening of larch endophytic bacteria with nematocidal activity against *Bursaphelenchus xylophilus* and the biocontrol potential for pine wilt disease[J]. Pest Management Science, 81(9): 5630–5648.
- Hayashi A, Fujioka S, Nukina M, *et al.* 2007. Fumiquinones a and B, nematocidal quinones produced by *Aspergillus fumigatus*[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 71(7): 1697–1702.
- Jiang D, Tan M T, Wang Q, *et al.* 2020. Evaluating the ecotoxicological effects of Pb contamination on the resistance against *Lymantria dispar* in forest plant, *Larix olgensis*[J]. Pest Management Science, 76(7): 2490–2499.

- Li P Q, Liang C Q, Jiao J H, *et al.* 2024. Exogenous priming of chitosan induces resistance in Chinese prickly ash against stem canker caused by *Fusarium zanthoxylif*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 259: 129119.
- Li P Q, Linhardt R J, Cao Z M. 2016. Structural characterization of oligochitosan elicitor from *Fusarium sambucinum* and its elicitation of defensive responses in *Zanthoxylum bungeanum*[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(12): 2076.
- Mannaa M, Park A R, Kim J C, *et al.* 2025. Microbial allies recruited by *Bacillus subtilis* JCK-1398 to defend pine trees against pinewood nematode[J]. *Scientific Reports*, 15: 9670.
- Nascimento F X, Vicente C S L, Barbosa P, *et al.* 2013. Evidence for the involvement of ACC deaminase from *Pseudomonas putida* UW4 in the biocontrol of pine wilt disease caused by *Bursaphelenchus xylophilus*[J]. *BioControl*, 58(3): 427-433.
- Pan M, Xu J L, Han S J, *et al.* 2023. Effects of *Bacillus cereus* NJSZ-13 on fatty acid metabolism of *Bursaphelenchus xylophilus*[J]. *Forests*, 14(10): 2065.
- Peng Y Y, Tang Y W, Li D, *et al.* 2024. The growth-promoting and colonization of the pine endophytic *Pseudomonas abietaniphila* for pine wilt disease control[J]. *Microorganisms*, 12(6): 1089.
- Pimentel C S, Ayres M P. 2022. Life-history strategies and virulence in the pinewood nematode[J]. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 117: 101756.
- Shimada A, Fujioka S, Koshino H, *et al.* 2010. Nematicidal activity of beauvericin produced by the fungus *Fusarium bulbicola*[J]. *Zeitschrift Fur Naturforschung. C, Journal of Biosciences*, 65(3/4): 207-210.
- Sun M J, Liang C Q, Fu X, *et al.* 2024. Nematicidal activity and biocontrol efficacy of endophytic *Bacillus velezensis* Pt-RP9 from *Pinus tabulaeformis* against pine wilt disease caused by *Bursaphelenchus xylophilus*[J]. *Biological Control*, 196: 105579.
- Tang Y C, Liu Y J, He G R, *et al.* 2021. Comprehensive analysis of secondary metabolites in the extracts from different lily bulbs and their antioxidant ability[J]. *Antioxidants*, 10(10): 1634.
- Wang Z, Zhang Y A, Wang C Y, *et al.* 2017. *Esteya vermicola* controls the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, in pine seedlings[J]. *Journal of Nematology*, 49(1): 86-91.
- Xu Y, Chen H Y, Xu Z M, *et al.* 2024. Determination of the control effect of 2% emamectin benzoate emulsifiable concentrate on pine wood nematode disease[J]. *Forest Research*, 37(5): 116-123.
- Xue J J, Hou J G, Zhang Y A, *et al.* 2014. Optimization of storage condition for maintaining long-term viability of nematophagous fungus *Esteya vermicola* as biocontrol agent against pinewood nematode[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(11): 2805-2810.
- Yang Z S, Yu Z F, Lei L P, *et al.* 2012. Nematicidal effect of volatiles produced by *Trichoderma* sp.[J]. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 15(4): 647-650.
- Zhou X, Chen S N, Lu F, *et al.* 2020. Nematotoxicity of a Cyt-like protein toxin from *Conidiobolus obscurus* (Entomophthoromycotina) on the pine wood nematode *Bursaphelenchus xylophilus*[J]. *Pest Management Science*, 77(2): 686-692.