广东农业科学 2019，46（7）：100–106
Guangdong Agricultural Sciences doi：10.16768/j.issn.1004–874X.2019.07.014

罗振亚，徐　淑，林开春 . 枯草芽孢杆菌 Yz 菌株丸化种衣剂配方筛选试验［J］. 广东农业科学，2019，46（7）：100–106.

枯草芽孢杆菌 Yz 菌株丸化种衣剂配方筛选试验

罗振亚[1]，徐　淑[1]，林开春[2]

（1. 广东省农业科学院植物保护研究所 / 广东省植物保护新技术重点实验室，广东 广州　510640；
2. 华中农业大学植物科学技术学院，湖北 武汉　430070）

摘　要：【目的】明确枯草芽孢杆菌 Yz 菌株发酵原粉对棉花苗期病害的抑菌活性，并以活芽孢下降率、棉花种子发芽率为指标筛选 Yz 菌株发酵原粉的丸化种衣剂配方。【方法】采用对峙培养法测定 Yz 菌株发酵原粉对棉花立枯病、炭疽病和红腐病的抑菌活性；采用 L_9（3^3）正交试验，测定不同助剂对 Yz 菌株发酵原粉活芽孢下降率及棉花种子发芽率的影响，筛选最佳丸化种衣剂配方。【结果】枯草芽孢杆菌 Yz 菌株发酵原粉 50 倍稀释液对棉花立枯病、棉花炭疽病和棉花红腐病的校正抑菌圈直径分别为 10.07、15.54、8.96 mm，随原粉浓度的降低，抑菌圈直径逐渐减小。最佳助剂分别为硅藻土、羧甲基纤维素钠、木质素磺酸钠。【结论】枯草芽孢杆菌 Yz 菌株发酵原粉对棉花立枯病、棉花炭疽病和棉花红腐病均有较好的抑菌活性。硅藻土、羧甲基纤维素钠、木质素磺酸钠和 Yz 原粉的最佳组合比例为 3∶0.8∶0.1∶1。

关键词：枯草芽孢杆菌；棉花；抑菌活性；助剂；发芽率；生物种衣剂
中图分类号：S482.2+92　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1004–874X（2019）07–0100–07

Screening of Formula for Seed Pelleting Agent of *Bacillus subtilis* Yz strain

LUO Zhenya[1], XU Shu[1], LIN Kaichun[2]

（1. *Plant Protection Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences / Guangdong Provincial Key Laboratory of High Technology for Plant Protection, Guangzhou* 510640, *China;*
2. *College of Plant Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan* 430070, *China*）

Abstract：【Objective】This study aims to clarify the bacteriostatic activity of the fermentation powder of *Bacillus subtilis* Yz strain on cotton seedling diseases, and screens the formula for seed pelleting agent with the decline rate of live spores and the germination rate of cotton seeds as indicators.【Method】The antibacterial activity of Yz strain fermentation powder against cotton damping–off, cotton anthracnose, and cotton red rot was determined by the confrontation culture method. In addition, by orthogonal design $L_9(3^3)$, the effects of different additives on the decline rate of live spores of fermentation powder of *B. subtilis* Yz strain and the germination rate of cotton seeds were determined to screen the best formula for seed pelleting agent.【Result】The corrected inhibitory zone diameter of fermentation powder of *B. subtilis* Yz strain with 50 times dilution for cotton damping–off, cotton anthracnose, and cotton red rot were 10.07mm, 15.54mm and 8.96mm, respectively. And the diameter of inhibitory zone decreased gradually with the decrease of the concentration of fermentation powder. The best additives were diatomite, sodium carboxymethyl cellulose and sodium lignosulfonate.【Conclusion】The fermentation powder of *B. subtilis* Yz strain show good antibacterial activity against cotton damping–off, cotton anthracnose, and cotton red rot. The optimum proportion is 3(diatomite) ： 0.8(sodium carboxymethyl cellulose) ： 0.1(sodium lignosulfonate) ： 1(Yz fermentation powder).

Key words：*Bacillus subtilis;* cotton; inhibition activity; additives; germination rate; biological seed–coating agent

收稿日期：2019–04–26
基金项目：广东省农业技术研发项目农业面源污染防控与产地环境安全共性技术创新团队（2018LM2151）
作者简介：罗振亚（1979—），男，硕士，助理研究员，研究方向为生物农药，E–mail: zhenyaluo@163.com

【研究意义】棉花是我国重要的经济作物，植棉业一直是我国农业的支柱产业之一，总产量居世界前列[1]。据记载，我国棉花病害有50多种，主要包括苗期、成株期、铃期病害等[2]，常见病害有枯萎病、黄萎病、立枯病、红腐病、炭疽病，其中立枯病、红腐病、炭疽病是苗期常发性病害，易造成枯苗、死苗。目前，化学农药防治仍是控制棉花病害的主要手段，但化学农药长期大量的使用易产生抗药性、农药残留、环境污染等问题。近年来，随着人们环保意识的提高，减少农药的使用、研制和开发生防菌剂已成为植保界和农药界共同关注的热点[3]。【前人研究进展】枯草芽孢杆菌 Bacillus subtilis 是防治植物病害的一种有效生防菌，抑菌范围较广泛[4-5]，其突出特征为生长速度快、营养简单，耐热抗逆性强且有利于生防菌的加工生产[6-7]。国外已有多个菌株获得商品化生产许可，如 GBO3、MBI600、QST713[8] 和解淀粉枯草芽孢杆菌变种 FZB24[9]，我国成功开发的制剂有百抗、麦丰宁、纹曲宁、萎菌净、亚宝等[10-11]。目前，市场上的枯草芽孢杆菌品种以可湿性粉剂、悬浮剂为主，使用方式为喷雾[7]。关于防治棉花病害的枯草芽孢杆菌丸化种衣剂以及配方筛选还未见相关报道。种衣剂以种子为载体，借助于成膜剂粘附在种子上，固化成为均匀的一层药膜，不易脱落。种衣剂具有保护种子、提高出苗率、促进幼苗生长、防治病虫害、增强抗逆性等作用[12-15]。以生物种衣剂和生物复合种衣剂为代表的新型种衣剂，能减少农药用量，降低病原菌、害虫产生抗药性的风险，具有广阔的发展前景[16]。【本研究切入点】本研究在前期研究工作中，已从土壤中分离筛选到一株对棉花苗期病害有抑制活性的枯草芽孢杆菌 Yz 菌株。通过室内生物活性测定，研究枯草芽孢杆菌 Yz 菌株对棉花苗期病害的抑制作用；并通过不同助剂的筛选，研制丸化种衣剂配方。【拟解决的关键问题】筛选对 Yz 菌株活性及对棉花种子发芽率影响较小的助剂，并确定各助剂的比例，为防治棉花苗期病害的生物型丸化种衣剂的研制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试棉花品种为鄂棉23号（裸种），由武汉市农业科学院提供。

供试菌株：棉花立枯病原菌（Rhizoctonia solani kuhn）、棉花炭疽病原菌 (Colletotricnum gossypii)、棉花红腐病原菌 (Fusarium moniliforme 和 F.graminearum) 均由武汉天惠生物工程有限公司提供，于2004年保存于华中农业大学农药研究室。枯草芽孢杆菌 Yz 菌剂发酵原粉（Bacillus subtilis）由武汉天惠生物工程有限公司提供，于2004年保存于华中农业大学农药研究室。

供试助剂：分散剂：十二烷基苯磺酸、NNO、拉开粉、木质素磺酸钠、XA-B，961。填料：糊精、膨润土、硅藻土、高岭土。粘结剂：羧甲基纤维素钠、明胶、果胶、黄原酸胶、海藻酸钠、阿拉伯树胶粉、聚乙烯吡咯烷酮、聚乙烯醇。

1.2 试验方法

1.2.1 *枯草芽孢杆菌 Yz 菌剂原粉对棉花苗期3种病害的抑菌活性试验* 采用对峙培养法，在马铃薯蔗糖琼脂培养基平板上的4个角点接上已经培养好的指示菌菌块，在28 ℃培养1~2 d后（根据病原菌的生长情况），将活菌数为 990×10^8 CFU/g Yz 原粉用浓度梯度稀释法依次稀释50、10^2、10^3、10^4、10^5、10^6、10^7、10^8 倍，取5 μL稀释菌悬液接于平板中央的双层滤纸片上，每个浓度接4个培养皿，28 ℃继续培养至对照刚长满整个培养皿后检查结果，测量 Yz 菌株的菌落大小和抑菌圈大小，记录拮抗活性和竞争作用的结果，以此判断 Yz 原粉对指示菌的生物活性。

1.2.2 *枯草芽孢杆菌 Yz 菌株发酵原粉丸化种衣剂不同类型助剂的筛选* 将各种助剂分别与 Yz 原粉按照1∶1（W/W）的比例混合均匀，密封储藏于54（±2）℃恒温箱中14 d，以未加助剂的 Yz 原粉为对照药剂，无菌水为空白对照，通过稀释平板计数法测定其菌数的数量，通过测定菌数的下降率判断各个助剂对 Yz 原粉生物活性的影响，进一步筛选出对 Yz 原粉活性影响较小的助剂。

1.2.3 *枯草芽孢杆菌 Yz 菌株发酵原粉丸化种衣剂配方的筛选* 根据1.2.2试验结果，选择几种不影响 Yz 原粉生物活性的助剂，按照种衣剂用途分成填充料、粘结剂和分散剂3类。通过棉花盆栽试验，以种子发芽率为种衣剂配方筛选的主要评价指标。进行第一轮 $L_9(3^3)$ 正交试验，确定不同类型助剂的最佳成分。再经过第二轮 $L_9(3^3)$ 正交试验，确定各个助剂的最佳用量，最终确定种衣剂的最优配方。

1.2.4 棉花盆栽试验　将种衣剂粗产品进行棉花种子包衣处理。棉种经过硫酸脱绒后加稀碱溶液水洗至 pH=7 左右后，精选饱满的种子，用枯草芽孢杆菌 Yz 菌剂原粉包衣后播于接入棉花立枯病菌的无菌沙（一根试管斜面病菌菌种接 500 g 无菌沙）中。无菌沙以塑料小碗分装，每碗装土 300 g，每碗播 15 粒种子，置于华中农业大学农药研究室网室中。每个处理 4 次重复。并设为空白对照鄂棉 23 号（裸种），出苗后 5~7 d 调查出苗率和棉苗发病情况。

采用 Excel（2007 版）软件对试验数据进行分析和正交数据的处理。

2　结果与分析

2.1　枯草芽孢杆菌 Yz 菌剂原粉对棉花苗期 3 种病原菌的抑菌活性

试验结果（表 1）表明，Yz 原粉 50 倍稀释液对棉花立枯病原菌、棉花炭疽病原菌、棉花红腐病原菌的校正抑菌圈直径分别为 10.07、15.54、8.96 mm。且随着浓度的降低，Yz 原粉对 3 种病原菌的抑菌圈也逐渐变小，不同浓度处理的抑菌圈直径差异显著。

表 1　Yz 原粉对棉花立枯病原菌、炭疽病原菌、红腐病原菌的抑菌活性试验结果

Table 1　Result of antimicrobial activity experiments of Yz fermentation powder against cotton damping–off, cotton anthracnose, and cotton red rot

Yz 原粉稀释倍数 Dilution ratio	棉花立枯病菌 Cotton damping–off		棉花炭疽病菌 Cotton anthracnose		棉花红腐病菌 Cotton red rot	
	校正抑菌圈直径 Calibration of inhibition zone diameter（mm）	菌落直径 Colony diameter（mm）	校正抑菌圈直径 Calibration of inhibition zone diameter（mm）	菌落直径 Colony diameter（mm）	校正抑菌圈直径 Calibration of inhibition zone diameter（mm）	菌落直径 Colony diameter（mm）
50	10.07a	10.48	15.54a	9.29	8.96 a	8.17
10^2	10.21a	10.02	14.21b	9.07	7.66 b	8.61
10^3	9.14b	10.09	13.94c	9.36	8.31 a	8.45
10^4	10.07a	8.37	13.65c	8.39	7.94 b	7.48
10^5	7.39c	9.62	12.13d	6.66	7.06 cd	5.83
10^6	6.01d	9.06	13.64c	6.92	7.3 bc	6.24
10^7	5.40e	8.33	10.87e	10.87	6.57 d	5.86
10^8	5.16e	7.80	10.21e	10.21	6.98 d	6.89

注：校正抑菌圈直径 = 抑菌圈直径 – 菌落直径。同列数据后小写英文字母不同者表示差异显著。

Note: Calibration of inhibition zone diameter = Inhibition zone diameter– colony diameter. Different lowercase letters in the same column represent significant difference.

2.2　枯草芽孢杆菌 Yz 菌株发酵原粉丸化种衣剂不同类型助剂的筛选

试验结果（表 2）表明，经 54 ℃恒温处理后，未添加任何助剂的 Yz 原粉活芽孢下降率为 68.5%。添加分散剂十二烷基苯磺酸钠、NNO、拉开粉、XA–B、961、木质素磺酸钠后，Yz 原粉活芽孢下降率分别为 70.80%、67.65%、67.60%、55.60%、60.50%、43.00%，各处理间差异显著；添加填料糊精、膨润土、硅藻土、高岭土后，Yz 原粉活芽孢下降率分别为 40.00%、57.50%、45.80%、63.00%，各处理间差异显著；添加粘结剂羧甲基纤维素钠、明胶、果胶、黄原酸胶、海藻酸钠、阿拉伯树胶粉、聚乙烯吡咯烷酮、聚乙烯醇后，Yz 原粉活芽孢下降率分别为 23.80%、61.40%、69.00%、54.30%、56.18%、71.86%、39.50%、22.50%，各处理间差异显著。在实际操作过程中，糊精、聚乙烯醇因物理性状过于粘结，在粉剂加工中较困难。

综合上述试验结果以及各助剂的理化性质，选择以下助剂进行正交试验，分别为：填料（膨润土、硅藻土、高岭土），粘结剂（羧甲基纤维素钠、聚乙烯吡咯烷酮、海藻酸钠），分散剂（木质素磺酸钠、XA–B、NNO）。

2.3　枯草芽孢杆菌 Yz 菌株发酵原粉丸化种衣剂助剂成分的优化

各种助剂和 Yz 原粉混合好后进行丸化种子包衣（填料：粘结剂：分散剂：YZ = 3 ： 0.25 ： 0.3 ： 1），完成包衣后分别测定棉

表 2　各个助剂因子对 Yz 原粉生物活性的影响

Table 2　Effects of various additives factors on the biological activity of Yz fermentation powder

编号 Number	助剂因子 Additives factors	活芽孢下降率 Reduction rate of living spores（%）	编号 Number	助剂因子 Additives factors	活芽孢下降率 Reduction rate of living spores（%）
1	十二烷基苯磺酸钠	70.80a	11	羧甲基纤维素钠	23.80g
2	NNO	67.65b	12	明胶	61.40c
3	拉开粉	67.60b	13	果胶	69.00ab
4	XA-B	55.60d	14	黄原酸胶	54.30d
5	961	60.50c	15	海藻酸钠	56.18d
6	木质素磺酸钠	43.00e	16	阿拉伯树胶粉	71.86a
7	糊精	40.00ef	17	聚乙烯吡咯烷酮	39.50f
8	膨润土	57.50cd	18	聚乙烯醇	22.50g
9	硅藻土	45.80e	19	热贮藏 Yz 干粉	68.50ab
10	高岭土	63.00c	20	未热储 Yz 干粉	0

注：各个助剂与 Yz 原粉的比例为 1∶1。同列数据后小写英文字母不同者表示差异显著。

Note: The ratio of additives factor to YZ fermentation powder is 1 ∶ 1. Different lowercase letters in the same column represent significant differences.

表 3　助剂种类正交试验 $L_9(3^3)$ 设计与结果

Table 3　Orthogonal test design of additives $L_9(3^3)$ and the results

试验号 Number	因子 Factor			发芽率 Seeds germination rate（%）
	A 填料 Filler	B 粘结剂 Binder	C 分散剂 Dispersant	
1	1	1	1	87.5
2	1	2	2	57.5
3	1	3	3	77.5
4	2	1	2	92.5
5	2	2	3	62.5
6	2	3	1	80.0
7	3	1	3	72.5
8	3	2	1	75.0
9	3	3	2	80.0
k_1	74.17	84.17	80.83	
k_2	78.33	65.00	76.67	
k_3	75.83	79.17	70.83	
R	4.16	19.17	10.00	

注：A 列中 1、2、3 分别为膨润土、硅藻土、高岭土，B 列中 1、2、3 分别为羧甲基纤维素钠、聚乙烯吡咯烷酮和海藻酸钠，C 列中 1、2、3 分别为木质素磺酸钠、X_{A-B}、NNO。k_1、k_2、k_3 分别代表填料、粘结剂、分散剂的 3 种因子与其他因素组合时棉花种子的发芽率。

Note: In column A, 1, 2 and 3 are bentonite, diatomite and kaolin, respectively. In column B, 1, 2 and 3 are sodium carboxymethyl cellulose, polyvinyl pyrrolidone and sodium alginate, respectively. In column C, 1, 2, and 3 are sodium lignosulfonate, XA-B, and NNO. k_1, k_2 and k_3 represent the germination rates of cotton seeds when the three factors of filler, binder and dispersant are combined with other factors.

花种子发芽率。试验结果（表 3）表明，粘结剂对棉花种子的发芽率影响较大，当组分为羧甲基纤维素钠时，棉花种子的发芽率较高，极差为 19.17；其次是分散剂，当组分为木质素磺酸钠时，棉花种子的发芽率较高，极差为 10.00；填料对棉花种子的发芽率影响相对较小，当组分为硅藻土时，棉花种子的发芽率较高，极差为 4.16。结合正交试验结果，最终分别选择硅藻土、羧甲基纤维素钠、木质素磺酸钠为助剂，进入下一轮正交试验。

2.4　枯草芽孢杆菌 Yz 菌株发酵原粉丸化种衣剂助剂含量优化

正交试验各个因子与水平的设置见表 4。各种助剂和 Yz 原粉按表 4 设置的配比混合好后进

表 4　助剂配比优化 $L_9(3^3)$ 正交试验设计与结果

Table 4　Orthogonal test design of optimization of the additives proportion $L_9(3^3)$ and the results

试验号 Number	因子 Factor			发芽率 Seeds germination rate（%）
	A 硅藻土 Diatomite	B 羧甲基纤维素钠 Sodium carboxymethyl cellulose	C 木质素磺酸钠 Sodium lignosulfonate	
1	1（2.5）	1（0.8）	1（0.1）	90.0
2	1（2.5）	2（1.0）	2（0.15）	81.7
3	1（2.5）	3（1.5）	3（0.2）	73.3
4	2（3.0）	1（0.8）	2（0.15）	86.7
5	2（3.0）	2（1.0）	3（0.2）	83.3
6	2（3.0）	3（1.5）	1（0.1）	96.7
7	3（3.5）	1（0.8）	3（0.2）	93.3
8	3（3.5）	2（1.0）	1（0.1）	83.3
9	3（3.5）	3（1.5）	2（0.15）	88.3
k_1	81.67	90.00	90.00	
k_2	88.89	82.78	85.56	
k_3	88.33	86.11	83.33	
R	6.66	7.22	6.67	

注：A 列中 1、2、3 分别为膨润土、硅藻土、高岭土，B 列中 1、2、3 分别为羧甲基纤维素钠、聚乙烯吡咯烷酮和海藻酸钠，C 列中 1、2、3 分别为木质素磺酸钠、X_{A-B}、NNO。K_1、K_2、K_3 分别代表填料、粘结剂、分散剂的 3 种因子与其他因素组合时棉花种子的发芽率。

Note: In column A, 1, 2 and 3 are bentonite, diatomite and kaolin, respectively. In column B, 1, 2 and 3 are sodium carboxymethyl cellulose, polyvinyl pyrrolidone and sodium alginate, respectively. In column C, 1, 2, and 3 are sodium lignosulfonate, XA–B, and NNO. k_1, k_2 and k_3 represent the germination rates of cotton seeds when the three factors of filler, binder and dispersant are combined with other factors.

行丸化包衣，完成包衣后分别测定发芽率。试验结果（表 4）表明，从极差 R 值可以看出，3 个因素对棉花种子发芽率影响的大小依次为 B ＞ C ＞ A，即羧甲基纤维素钠对棉花种子发芽率的影响最大，其次分别为木质素磺酸钠、硅藻土。从各因素的不同水平看，A 因素的第 2 个水平最好，B 因素和 C 因素第 1 个水平最好。所以助剂最优配方组合为 A2B1C1，即 Yz 种衣剂的最优配方为：A（硅藻土）：B（羧甲基纤维素钠）：C（木质素磺酸钠）：YZ ＝ 3.0 ： 0.8 ： 0.1 ： 1（W/W）。

3　讨论

枯草芽孢杆菌是一类嗜温性好氧产芽孢的革兰氏阳性杆状细菌，其很多菌株都能产生丰富的抗菌物质。众多研究表明，枯草芽孢杆菌具有较好的抑菌作用，对苹果轮纹菌、苹果霉心病菌、炭疽病菌、红霉病菌、尖孢镰孢菌、水稻白叶枯病菌等均有明显的抑菌活性[17–21]。本研究测定了枯草芽孢杆菌 Yz 菌株对棉花苗期 3 种病害的抑菌活性，结果表明 Yz 菌株对棉花立枯病、棉花炭疽病和棉花红腐病均有较好的抑制活性，且 Yz 菌株原粉浓度越大，抑菌作用越明显。本试验结果与前人研究结果类似。枯草芽孢杆菌 Yz 菌株是从土壤中分离得到的，其发酵原粉与土壤的兼容性较好，可以在土壤中长期成活，持效性较好，将其开发成生物型种衣剂既能保护环境又能保护害虫天敌，对维持生态平衡具有重要作用。

活体微生物较易受加工条件和环境因素的影响而失活，通常在微生物制剂加工过程中需要添加助剂以保护活性成分的有效性，延长商品制剂的货架期[22]。但是，微生物制剂中的助剂可能对制剂的理化性质以及微生物本身活性有较大影响，因此必须考虑助剂与活体微生物两者的相容性[23]。本研究通过稀释平板计数法研究了助剂与枯草芽孢杆菌的生物相容性，并通过正交试验对枯草芽孢杆菌 Yz 菌株丸化种衣剂的助剂进行筛选和优化，发现当粘结剂、分散剂、填料分别为羧甲基纤维素钠、木质素磺酸钠、硅藻土时，棉花种子的发芽率较高；枯草芽孢杆菌 Yz 菌株种衣剂的最佳组合配方为：硅藻土：羧甲基纤维素钠：木质素磺酸钠：YZ ＝ 3.0 ： 0.8 ： 0.1 ： 1。魏娇洋等[24]在制备解淀粉芽孢杆菌 X–278 片剂的过程中发现硅藻土为最佳载体，本研究结果与之类似。然而，孙朝华等[25]在对解淀粉芽孢杆菌 TS–1203 生防制剂研究发现，有机膨润土为最佳载体。这种现象可能与不同生防菌生物学及其

生物化学特性有关，不同微生物与载体的相容性不同。本研究仅对枯草芽孢杆菌 Yz 菌株的丸化种衣剂助剂进行了筛选和优化，其在田间应用效果还有待进一步验证和研究。

4 结论

本研究通过抑菌圈试验，探讨了枯草芽孢杆菌 Yz 菌株对 3 种棉花苗期病害的抑菌活性；并通过正交设计试验，对助剂种类进行了筛选，研制了其丸化种衣剂配方。Yz 菌株对棉花立枯病、棉花炭疽病和棉花红腐病均有较好的抑制活性，Yz 菌株原粉浓度越大，抑菌作用越明显。通过正交设计试验，筛选到 3 种最佳助剂，分别为羧甲基纤维素钠、木质素磺酸钠、硅藻土，与枯草芽孢杆菌 Yz 菌株的最佳配比为：硅藻土：羧甲基纤维素钠：木质素磺酸钠：YZ = 3.0：0.8：0.1：1。筛选到的丸化种衣剂配方在田间的应用效果有待进一步研究。

参考文献（References）：

[1] 麦尔哈巴·买买提, 张特, 赵强 . 不同外源物质对棉花脱叶催熟效果的影响[J]. 中国棉花, 2018, 45(12): 1-3,30. doi: 10.11963/1000-632X.mmzq.20181122.
MAIERHABA M M T, ZHANG T, ZHAO Q. Effects of different exogenous materials on the shedding and ripening of cotton leaves [J]. *China Cotton*, 2018, 45(12): 1-3,30. doi: 10.11963/1000-632X.mmzq.20181122.

[2] 陈其煐 . 我国棉花病害发生情况及防治进展[J]. 农药 , 1996, 35 (3): 6-9, 11. doi: 10.16820/j.cnki.1006-0413.1996.03.001.
CHEN Q Y. Occurrence and control progress of cotton diseases in China[J]. *Pesticide*, 1996, 35(3): 6-9, 11. doi: 10.16820/j.cnki.1006-0413.1996.03.001.

[3] 王军, 刘大勇, 许培援. 农药微乳剂型的研究进展[J]. 河南农业科学, 2005(6): 9-14. doi: 10.15933/j.cnki.1004-3268.2005.06.002.
WANG J, LIU D Y, XU P Y. Research progress of pesticide microemulsion preparation[J]. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2005(6): 9- 14. doi: 10.15933/j.cnki.1004-3268.2005.06.002.

[4] 孟兆禄 . *Bacillus Cereus* B-02 拮抗作用相关基因的克隆及其表达[D]. 淄博: 山东理工大学 , 2009.
MENG Z L. Cloning and expression of antagonism-related genes of *Bacillus cereus* B-02[D]. Zibo: *Shandong Universityof Technology*, 2009.

[5] 杨洪凤, 薛雅蓉, 余向阳, 刘常宏 . 内生解淀粉芽孢杆菌 CC09 菌株在小麦叶部的定殖能力及其防治白粉病效果研究[J]. 中国生物防治学报, 2014, 30(4): 481-488. doi: 10.16409/j.cnki.2095-039X.2014.04.010.
YANG H F, XUE Y R, YU X Y, LIU C H. Colonization of *Bacillus amyloliquefaciens* CC09 in wheat leaf and its biocontrol effect on powdery mildew diaease[J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2014, 30(4): 481-488. doi: 10.16409/ j.cnki.2095-039X.2014.04.010.

[6] ELLIOTT M L, JARDIN E A D, BATSON W E. Viability and Stability of biological control agents on cotton and snap bean seeds[J]. *Pest Management Science*, 2001, 57(8): 695-706. doi: 10.1002/ps.342.

[7] 揣红运, 谢学文, 石延霞, 柴阿丽, 李宝聚 . 枯草芽胞杆菌微粉剂的研制及其对黄瓜白粉病的防治效果 [J/OL]. 植物病理学报: 1-14[2019-05-08]. doi: 10.13926/j.cnki.apps.000387.
CHUAI H Y, XIE X W, SHI Y X, CHAI A L, LI B J. Preparation of micropowder of *Bacillus subtilis* and its control effect on cucumber powdery mildew[J/OL]. *Acta Phytopathologica Sinica*: 1-14[2019-05-08]. doi: 10.13926/j.cnki.apps.000387.

[8] United States Environmental Protection Agency. Office of Pesticide Program: Biopesticide[DB/OL]. [2017-12-23]. http: //www.epa.gov/pesticides/biopesticides.

[9] 黄曦, 许兰兰, 黄荣韶, 黄庶识 . 枯草芽孢杆菌在抑制植物病原菌中的研究进展[J]. 生物技术通讯 , 2010(1): 24-29. doi: 10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2010.01.026.
HUANG X, XU L L, HUANG R S, HUANG S S. Research advance in controlling plant diseases by *Bacillus subtilis*[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2010(1): 24-29. doi: 10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2010.01.026.

[10] 杜锦锦 . 生防菌株 BAB-1 芽胞耐热及灰霉菌对其抗性风险研究[D]. 保定: 河北农业大学 , 2013.
DU J J. Studies on spore heat resistance and resistance risk of biocontrol bacterial strain BAB-1[D]. Baoding: *Agricultural University of Hebei*, 2013.

[11] 毕方铖, 黄泽鹏, 孟祥春 . 枯草芽孢杆菌 Bs01 发酵条件的优化及对胶孢炭疽菌的抑制[J]. 保鲜与加工 , 2019, 19(1): 37-45. doi: 10.3969/j.issn.1009-6221.2019.01.007.
BI F C, HUANG Z P, MENG X C. Optimization of fermentation conditions of *Bacillus subtilis* Strain bs01 and its inhibition effects on *Colletotrichum gloeosporioides*[J]. *Storage and Process*, 2019, 19(1): 37-45. doi: 10.3969/j.issn.1009-6221.2019.01.007.

[12] 雷斌, 李进, 段留生, 张鹏忠, 李杰, 谭伟明 . 种衣剂对低温处理下棉花胚根及幼苗外部形态和超微结构的影响[J]. 中国农业气象, 2017, 38(4): 248-256. doi: 10.3969/j.issn.1000-6362.2017.04.006.
LEI B, LI J, DUAN L S, ZHANG P Z, LI J, TAN W M. Effect of seed coating agents on external morphology and ultrastructure of cotton radicles and seedlings under low temperature treatments[J]. *Chinese Journal of Agrometeorology*, 2017, 38(4): 248-256. doi: 10.3969/j.issn.1000-6362.2017.04.006.

[13] 刘铜, 申永强, 刘震, 韩冬, 崔佳, 左豫虎 . 3 种种衣剂对芸豆根腐病的防治效果[J]. 植物保护, 2017, 43(2): 216-219, 240. doi: 10.3969/ j.issn.0529-1542.2017.02.039.
LIU T, SHEN Y Q, LIU Z, HAN D, CUI J, ZUO Y H. Control effect of three kinds of seed-coating formulations on the root rot of kidney beans[J]. Plant Protection, 2017, 43(2): 216-219, 240. doi: 10.3969/j.issn.0529-1542.2017.02.039.

[14] 任美凤, 陆俊姣, 李大琪, 董晋明 . 2 种种衣剂对小地老虎幼虫的毒

力测定及保苗效果[J]. 中国植保导刊, 2017, 37(4): 68-70.
REN M F, LU J J, LI D Q, DONG J M. Toxicity Determination and seedling protection effect of two kinds of seed coat agents on the larvae of *Agrotis ypsilon*[J]. *China Plant Protection*, 2017, 37(4): 68-70.

[15] 崔文艳, 何鹏飞, 何朋杰, 吴毅歆, 李艳云, 杨丽娟, 何月秋. 微生物复合种衣剂对玉米发芽、苗期生理特性及产量的影响[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2016, 31(4): 630-636. doi: 10.16211/j.issn.1004-390X(n).2016.04.008.
CUI W Y, HE P F, HE P J, WU Y X, YI Y Y, YANG L J, HE Y Q. Effect of mirobial complex Seed-coating agent on germination, seedling biological traits and yield of maize[J]. *Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science)*, 2016, 31(4): 630-636. doi: 10.16211/j.issn.1004-390X(n).2016.04.008.

[16] 陈丽华, 何鹏飞, 袁德超, 欧晓慧, 吴毅歆, 何月秋. 一种防治棉花黄萎病的生物复合种衣剂的研制[J]. 棉花学报, 2018, 30(3): 282-290. doi: 10.11963/1002-7807.clhhyq.20180509.
CHEN L H, HE P F, YUAN D C, OU X H, WU Y X, HE Y Q. Development of a biological complex seed-coating agent to control verticillium wilt[J]. *Cotton Science*, 2018, 30(3): 282-290. doi: 10.11963/1002-7807.clhhyq.20180509.

[17] 赵白鸽, 孔建, 王文夕, 申效诚. 枯草芽孢杆菌B-903对苹果轮纹菌的抑菌作用及其对病害的控制效果[J]. 植物病理学报, 1997, 27(3): 213-214. doi: 10.13926/j.cnki.apps.1997.03.005.
ZHAO B G, KONG J, WANG W X, SHEN X C. Supression of apple ring rot pathogen (*Physalospora Piricola*) by *Bacillus subtilis* and its effect in field control[J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 1997, 27(3): 213-214. doi: 10.13926/j.cnki.apps.1997.03.005.

[18] 辛玉成. 枯草芽孢杆菌BL03对苹果霉心病和棉苗病害田间防治效果[J]. 中国生物防治, 000(1): 47. doi: 10.16409/j.cnki.2095-039x.2000.01.014.
XIN Y C. Control effects of Bacillus subtilis BL03 strain on alternaria alternata and colltotrichum gossypii in field[J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2000(1): 47. doi: 10.16409/j.cnki.2095-039x.2000.01.014.

[19] 林东, 徐庆, 刘艺舟, 魏军明, 翟礼嘉, 顾红雅, 陈章良. 枯草芽孢杆菌S0113分泌蛋白的抑菌作用及抗菌蛋白的分离纯化[J]. 农业生物技术学报, 2001, 9(1): 77-80.
LIN D, XU Q, LIU Y Z, WEI J M, ZHAI L J, GU H Y, CHEN Z L. The antibacterial effect of the secreted peptide from *Bacillus subtilis* SO113 and separation and purification of the antibacterial peptides[J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2001, 9(1): 77-80.

[20] 朱金英, 张书良, 郭建军, 丁方军, 付乃峰, 周波, 王明海, 李连庄. 枯草芽孢杆菌菌株AMCC 100001对棉花的促生效应[J]. 中国棉花, 2013, 40(9): 16-18.
ZHU J Y, ZHANG S L, GUO J J, DING F J, FU N F, ZHOU B, WANG M H, LI L Z. Effects of *Bacillus subtilis* AMCC 100001 on the promotion of cotton growth[J]. *China Cotton*, 2013, 40(9): 16-18.

[21] 刘欣, 刘丽媛, 王亚南, 胡同乐, 王树桐, 曹克强. 枯草芽孢杆菌Bs-0728对苹果再植病害的生防效果[J]. 河北农业大学学报, 2016, 39(3): 88-93,99. doi: 10.13320/j.cnki.jauh.2016.0065.
LIU X, LIU L Y, WANG Y N, HU T L, WANG S T, CAO K Q. Biocontrol effect of *Bacillus subtilis* Strain Bs-0728 against apple replant disease[J]. *Journal of Hebei Agricultural University*, 2016, 39(3): 88-93,99. doi: 10.13320/j.cnki.jauh.2016.0065.

[22] 刘振华, 邢雪琨. 微生物农药助剂研究进展[J]. 基因组学与应用生物学, 2016, 35(8): 2109-2113. doi: 10.13417/j.gab.035.002109.
LIU Z H, XING X K. Research progress of microbial pesticide additives[J]. *Genomics and Applied Biology*, 2016, 35(8): 2109-2113. doi: 10.13417/j.gab.035.002109.

[23] 凡超, 邵雪花, 匡石滋, 田世尧, 赖多. 发光杆菌可湿性粉剂的研制及对荔枝采后贮藏的影响[J]. 广东农业科学, 2017,44(12): 110-115. doi: 10.16768/j.issn.1004-874X.2017.12.017.
FAN C, SHAO X H, KUANG S Z, TIAN S Y, LAI D. Preparation of hotorhabdus luminescens wettable powder formulation and its effects on postharvest storability of litchi[J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2017,44(12): 110-115. doi: 10.16768/j.issn.1004-874X.2017.12.017.

[24] 魏娇洋, 冯龙, 陈英化, 李亚宁, 刘大群, 赤国彤. 解淀粉芽孢杆菌X-278片剂的研制、定殖及田间防效[J]. 农药学学报, 2014, 16(3): 347-353. doi: 10.3969/j.issn.1008-7303.2014.03.15.
WEI J Y, FENG L, CHEN Y H, LI Y N, LIU D Q, CHI G T. Development, colonization and field control efficacy of Bacillus amyloiquefaciens X-278 tablets[J]. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 2014, 16(3): 347-353. doi: 10.3969/j.issn.1008-7303.2014.03.15.

[25] 孙朝华, 侯宝宏, 张树武, 薛应钰, 张文军, 徐秉良. 解淀粉芽孢杆菌TS-1203生防制剂中助剂和载体的筛选及配方优化[J]. 农药学学报, 2017, 19(2): 254-265. doi: 10.16801/j.issn.1008-7303.2017.0034.
SUN C H, HOU B H, ZHANG S W, XUE Y Y, ZHANG W J, XU B L. Screening and optimizing of the adjuvant and carriers for the bio-control agent *Bacillus amyloliquefaciens*[J]. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 2017, 19(2): 254-265. doi: 10.16801/j.issn.1008-7303.2017.0034.

(责任编辑　杨贤智)