



贝莱斯芽孢杆菌 XY40-1: 全基因组特征分析及对辣椒疫病的生物防治效果评价

周池^{1,2}, 周诗晶^{1,2}, 陶禹^{1,2}, 张评美³, 邱芳颖^{1,2}, 彭宇翔⁴, 李雪峰^{1,2}, 李鑫^{1,2*}

1 湖南省蔬菜研究所, 湖南 长沙 410125

2 植物内生微生物资源挖掘与利用湖南省工程研究中心, 湖南 长沙 410125

3 湖南农业大学, 湖南 长沙 410125

4 湖南大学 研究生院 隆平分院, 湖南 长沙 410125

周池, 周诗晶, 陶禹, 张评美, 邱芳颖, 彭宇翔, 李雪峰, 李鑫. 贝莱斯芽孢杆菌 XY40-1: 全基因组特征分析及对辣椒疫病的生物防治效果评价[J]. 微生物学报, 2024, 64(12): 4882-4901.

ZHOU Chi, ZHOU Shijing, TAO Yu, ZHANG Pingmei, QIU Fangying, PENG Yuxiang, LI Xuefeng, LI Xin. *Bacillus velezensis* XY40-1: whole genomic characteristics and biocontrol effects on pepper *Phytophthora* blight[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2024, 64(12): 4882-4901.

摘要: 【目的】评估辣椒内生菌贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*) XY40-1 的生防能力和促生效果, 了解菌株的抑菌机制, 为辣椒疫病的生物防治菌剂研发提供优良菌种及技术理论支撑。【方法】采用平板对峙、活体接种及显微镜观察法评估贝莱斯芽孢杆菌 XY40-1 对辣椒疫病的抑制效果和对辣椒的促生效果; 采用基因组学和代谢组学方法确定其抗菌代谢物与拮抗功能物质合成通路, 明确其抗菌机制。【结果】菌株 XY40-1 对辣椒疫病、白绢病、炭疽病、黑斑病、枯萎病和根腐病 6 种病原真菌展现出较强的抑制效果, 具广谱抗性。当菌液浓度为 10^7 CFU/mL 时, 其对辣椒疫病的防治效果可达 66.13%。此外, 该菌株还具有解磷、解钾和固氮能力, 对辣椒苗具有明显的促生效果。菌株 XY40-1 携带大量酮类及萜类抗生素合成基因, 能产生包括诺加霉素、大蒜素、利福昔明、西拉菌素、阿维菌素和安丝菌素 P-3 等在内的多种胞外代谢产物, 这些代谢产物对病原真菌活性具有显著抑制作用。酮体的合成和降解、萜类骨架生物和抗生素合成通路均有助

资助项目: 国家重点研发计划(2022YFD1700100); 湖南省重点研发计划(2023NK2030); 邹学校院士创新工作站平台建设支撑项目(TL2023YF007)

This work was supported by the National Key Research and Development Program of China (2022YFD1700100), the Key Research and Development Program of Hunan Province (2023NK2030), and the Innovation Workstation Platform Construction Support Project of Zou Xuexiao Academician (TL2023YF007).

*Corresponding author. E-mail: s2007203272@yeah.net

ORCID: ZHOU Chi (0000-0001-8624-381X)

Received: 2024-07-24; Accepted: 2024-09-29; Published online: 2024-10-09

于菌株 XY40-1 的拮抗功能, 其中, 次生代谢产物的生物合成为其核心代谢通路。【结论】辣椒内生菌贝莱斯芽孢杆菌 XY40-1 对辣椒疫病具有良好生防能力, 同时兼具促生效果, 可作为辣椒病害生物防治的多功能优质菌种。

关键词: 生防菌; 辣椒疫病; 内生菌; 全基因组; 次级代谢产物; 比较基因组学

***Bacillus velezensis* XY40-1: whole genomic characteristics and biocontrol effects on pepper *Phytophthora* blight**

ZHOU Chi^{1,2}, ZHOU Shijing^{1,2}, TAO Yu^{1,2}, ZHANG Pingmei³, QIU Fangying^{1,2}, PENG Yuxiang⁴, LI Xuefeng^{1,2}, LI Xin^{1,2*}

1 Hunan Vegetable Research Institute, Changsha 410125, Hunan, China

2 Hunan Engineering Research Center on Excavation and Utilization of the Endophytic Microbial Resources of Plants, Changsha 410125, Hunan, China

3 Hunan Agricultural University, Changsha 410125, Hunan, China

4 Long Ping Branch, Graduate School, Hunan University, Changsha 410125, Hunan, China

Abstract: [Objective] To evaluate the biocontrol and growth-promoting effects and reveal the antifungal mechanisms of the pepper endophyte *Bacillus velezensis* XY40-1, thus providing elite bacterial strains and technical support for the development of biocontrol agents for pepper *Phytophthora* blight. **[Methods]** Plate confrontation, *in vivo* inoculation assay, and microscopic observation were employed to determine the biocontrol and growth-promoting effects of *B. velezensis* XY40-1 on pepper. Genomics and metabolomics methods were adopted to determine the antifungal metabolites of the strain and the synthesis pathways of substances involved in antifungal effects, on the basis of which the antifungal mechanisms were explored. **[Results]** Strain XY40-1 exhibited strong inhibitory effects on six pathogenic fungi: *Phytophthora capsici*, *Sclerotium rolfsii*, *Colletotrichum scovillei*, *Alternaria alternate*, *Fusarium oxysporum*, and *F. solani*, that infected pepper, and it demonstrated broad-spectrum resistance. The strain suspension at 10⁷ CFU/mL showcased the control effect of 66.13%. Moreover, it possessed the abilities to solubilize phosphorus and potassium and fix nitrogen, thus promoting the growth of pepper seedlings. XY40-1 carried a large number of genes involved in the synthesis of ketone and terpenoid antibiotics, which enabled it to produce extracellular metabolites such as nogalamycin, megalomicin, rifaximin, avermectin ala, avermectin, and ansamitocin P-3 to inhibit pathogenic fungi. The synthesis and degradation of ketone bodies, as well as the biosynthetic pathways of terpenoid skeletons and antibiotics, contributed to the antagonistic function of XY40-1. The core metabolic pathway was the biosynthesis of secondary metabolites. **[Conclusion]** *B. velezensis* XY40-1, an endophyte of pepper, possesses excellent biocontrol and growth-promoting effects on pepper, being a multifunctional and high-quality strain for the biocontrol of pepper diseases.

Keywords: biocontrol bacteria; pepper *Phytophthora* blight; endophyte; whole genome; secondary metabolites; comparative genomics

辣椒作为我国种植面积最大的蔬菜^[1], 2023 年全国累计种植面积达 84.8 万 hm^2 , 产量约 2 101 万 t, 是我国农业发展的支柱产业之一^[2-3]。然而, 辣椒在生产过程中易感染土传真菌病害, 如辣椒疫病, 严重时田间死株率可达 80% 以上, 严重影响了辣椒产业的发展。辣椒疫霉菌 (*Phytophthora capsici*) 感染性和破坏性极强^[4], 不仅危害辣椒的根、茎、叶和果实, 还可侵染某些茄科、豆类和大多数瓜类作物^[5], 造成植株整株萎蔫和果实腐烂, 严重影响其产量和品质、制约产业发展^[6]。

目前, 辣椒疫病的防治主要以化学农药为主, 如甲霜灵、丙森锌和烯酰吗啉等, 其防治效果可达 50%–90%, 见效快, 但长期使用易引起病原菌耐药性与环境污染等问题^[7]。抗病品种选育是预防辣椒疫病的理想方法, 但辣椒疫霉菌的异株二倍体特性和易突变性使得其对抗性基因产生抗性, 导致目前市场上的辣椒品种都难以完全避免疫病的发生^[8]。随着我国农业绿色发展的推进, 利用微生物(细菌、真菌和放线菌)和植物源物质等的生物防治措施成为现代农业防控的重要方向^[9]。生物防治不仅可有效抑制侵染病原菌的数量, 还能增强植株抗病防御能力, 从而达到减轻、防治病害的目的, 其田间效果可媲美化学农药^[10-12]。杜公福等^[13]研究发现, 枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) 微胶囊菌剂能增加辣椒根际土壤优势细菌的多样性, 抢占辣椒疫霉菌的生存空间, 以抑制其侵染能力; Yang 等^[14]研究发现解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*) Zy44 的粗脂肽提取物能显著降低辣椒疫病病情指数; 赵岩^[15]发现解淀粉芽孢杆菌 YP4 能造成辣椒疫霉菌菌丝畸形, 以达到防治疫病的目的。贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*) 作为芽孢杆菌属(*Bacillus*) 的新种, 能够产生多种具有抑菌活性的次级代

谢产物, 如脂肽类抗生素、聚酮类抗生素、细菌素类物质和抑菌蛋白等, 在植物病害方面表现出优良的防治效果^[16-17]。贝莱斯芽孢杆菌抗菌肽类物质的合成由多基因控制, 这些基因通常会成簇地存在于基因组上^[18]。目前, 多种组学技术被应用于探究生防菌的抑菌机制, 全基因组技术可以准确预测生防菌的抗菌次级代谢产物^[19]、比较基因组技术可以分析各生防菌的特点^[20]。

本研究以分离自辣椒叶片组织的贝莱斯芽孢杆菌 XY40-1 为主要研究对象, 探究其对辣椒疫霉菌的抑制能力及其生理生化特性; 利用全基因组测序、代谢组学和比较基因组学分析方法, 挖掘菌株 XY40-1 潜在的抗病基因和抗菌产物, 分析其可能的抗菌机制; 通过活体抑菌试验探究菌株 XY40-1 对辣椒疫病的拮抗能力及其对辣椒品质的影响, 并验证对辣椒苗的促生效果, 以期为菌株 XY40-1 在辣椒疫病生物防治生物菌剂的开发提供科学依据和理论支持。

1 材料与方法

1.1 材料

贝莱斯芽孢杆菌 XY40-1 是从 2021 年湖南湘研种业有限公司试验品种 XY40 的健康辣椒叶片上分离得到的。将田间采集的辣椒叶片清洗干净, 依次用无水乙醇、4% 次氯酸钠溶液进行表面消毒, 随后用大量无菌水洗去残留的消毒剂。将最后一次漂洗的无菌水涂布于 PDA 培养基, 28 °C 下培养 7 d, 无菌落生长证明本次表面消毒彻底。在无菌条件下, 加入 10 mL 无菌水将辣椒叶片研磨成浆液, 静置 30 min 后梯度(10^{-1} – 10^{-7})稀释, 每梯度取 1 mL 菌液涂布于 LB 平板, 30 °C 下培养 3–7 d, 挑取单菌落划线纯化, 最终获得菌落形态一致的纯培养细菌菌落。分离获得的 XY40-1 菌种保藏于中国典型培养物保藏中心, 保藏编号 CCTCC No: M2022342。

供试病原真菌：辣椒疫霉菌(*Phytophthora capsici*)、辣椒白绢病菌(*Sclerotium rolfsii*)、辣椒炭疽病菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)、辣椒黑斑病菌(*Alternaria alternata*)、辣椒枯萎病菌(*Fusarium oxysporum*)和辣椒根腐病菌(*Fusarium solani*)均由本实验室保藏。

LB 培养基用于细菌的培养；PDA 培养基用于真菌的培养^[21]；PKO 培养基和蒙金娜培养基^[22]分别用于菌株溶无机磷和有机磷能力的测定；阿须贝无氮固体培养基用于菌株固氮能力的测定；亚历山鲍罗夫培养基用于菌株解钾能力的测定^[23]。

供试辣椒品种为‘兴蔬 211’。

1.2 XY40-1 对辣椒病原菌的抑制效果测定

采用平板对峙法测定菌株 XY40-1 对辣椒病原真菌的抑制效果。取已培养好的病原真菌，用打孔器打取直径 5 mm 的菌块，置于 PDA 培养基平板(直径 8.6 cm)中心。随后将培养好的 XY40-1 单菌落均匀点接于病原菌四周(距中心 2.0 cm)，于 25 °C 培养 5–10 d。每处理 3 次重复，以不点接 XY40-1 菌落的 PDA 平板为对照。测量各组病原真菌的菌落直径，如公式(1)所示计算抑菌率。

$$\text{抑菌率} = (\text{对照菌落直径} - \text{处理菌落直径}) / \text{对照菌落直径} \times 100\% \quad (1)$$

1.3 XY40-1 菌液抑菌性能测定

1.3.1 对辣椒疫霉菌菌丝生长的影响

向长满辣椒疫霉菌的培养皿中注入 2–5 mL 无菌水，轻刮菌丝表面，微振平板，然后吸回液体。采用显微镜计数法测定孢子液浓度，制成不同浓度辣椒疫霉菌孢子液备用。挑取活化的 XY40-1 单菌落接种至 50 mL 液体 LB 培养基中，37 °C、220 r/min 下培养过夜，在显微镜下计数得到菌液浓度，制成菌株母液备用。

取 5 mL 不同浓度 XY40-1 菌液(10^4 、 10^5 、 10^6 、 10^7 、 10^8 、 10^9 CFU/mL)加入 45 mL PDA 培

基，混合均匀。在培养基中心放置直径为 5 mm 的辣椒疫霉菌菌块，28 °C 下培养 10 d，计算抑菌率，见公式(1)。同时在菌落边缘挑取少量菌丝，制片，采用显微镜观察菌丝生长情况。以不加菌液的 PDA 培养基为对照，每处理 3 次重复。

1.3.2 对辣椒疫霉菌孢子萌发的影响

取 5 mL 不同浓度 XY40-1 菌液(10^4 、 10^5 、 10^6 、 10^7 、 10^8 、 10^9 CFU/mL)，与辣椒疫霉菌孢子悬浮液等量均匀混合，在 28 °C、180 r/min 条件下培养 16 h。随后随机统计显微镜视野下 100 个孢子的萌发数，计算孢子萌发抑制率，计算如公式(2)所示。以加等量 LB 液体培养基处理为对照，每处理 3 个重复。

$$\text{抑制率} = (\text{对照组孢子数} - \text{处理组孢子数}) / \text{对照组孢子数} \times 100\% \quad (2)$$

1.4 XY40-1 生理生化特性的测定

将 XY40-1 接种于 50 mL 液体 PKO 和蒙金娜培养基中，以未接菌的培养基作空白对照，28 °C、180 r/min 振荡培养 7 d。将培养好的菌液在 4 °C、6 000 r/min 离心 15 min，取 1 mL 上清液稀释 2–10 倍，钼锑抗比色法测定有效磷含量^[24]。

将 XY40-1 接种至 50 mL 亚历山鲍罗夫液体培养基中，以未接菌的培养基作空白对照，28 °C、180 r/min 振荡培养 7 d。将培养好的菌液在 4 °C、6 000 r/min 离心 15 min，收集上清液，火焰分光光度计法测定有效钾含量^[25]。

将 XY40-1 接种至 50 mL 灭菌阿须贝液体培养基，28 °C、100 r/min 培养 7 d 后，取 20 mL 菌液加入带塞注射瓶，注入 10 mL 高纯乙炔，封好瓶塞，28 °C 下振荡培养 1 h，测定固氮酶活性^[26]。

1.5 XY40-1 全基因组测序及分析

XY40-1 全基因组检测、文库构建、质控、测序及分析等均由百迈客云科技(武汉)有限公司完成，库检合格后利用测序系统 PacBio Sequel 和 Illumina NovaSeq PE150 进行基因组

测序。分别使用 Hifiasm 软件将获得的三代序列数据进行组装和校正, Circlator v1.5.5 软件进行环化和调整起始位点, Pilon v1.2.2 软件对二代数据进一步纠错, 最终获得准确度更高的基因组以备后续分析。

1.6 XY40-1 代谢组学检测及分析

委托百迈克云科技(武汉)有限公司对 XY40-1 进行代谢组学分析。挑取活化的 XY40-1 单菌落接种到液体 LB 培养基中, 37 °C、220 r/min 下培养 24 h 后, 使用血球计数板计数法记录菌液浓度, 即得到代谢组分析的菌液(发酵液), 备用; 同时取 25 mL 菌液 12 000 r/min 离心 5 min, 留取上清液, 备用。使用 Waters Acquity I-Class PLUS 超高效液相联合 Waters Xevo G2-XS QToF 高分辨质谱仪进行液质测定。使用 MassLynx v4.2 采集软件原始数据, 使用 Proogene QI 对原始数据进行峰提取、峰对齐等数据处理, 基于 Proogene QI 软件在线 METLIN 数据库和生物标志物自建库进行鉴定, 理论碎片鉴定母离子质量数偏差 100 mg/L、碎片离子质量数偏差 50 mg/L 以内。

1.7 XY40-1 与其他芽孢杆菌比较基因组分析

在 NCBI 下载各芽孢杆菌模式菌株的基因组序列信息(贝莱斯芽孢杆菌 FZB42、SQR9、DSM7^T 和 UCMB5036、枯草多黏芽孢杆菌 168 和 W23、地衣多黏芽孢杆菌 ATCC 14580、死谷多黏芽孢杆菌 DSM 11031 和多黏芽孢杆菌 ATCC 842), 与菌株 XY40-1 进行比较基因组分析; 利用 Mauve 软件对菌株 XY40-1 与其他 4 株芽孢杆菌基因组进行共线性分析; 使用 antiSMASH 网站预测其中 5 株贝莱斯芽孢杆菌的次级代谢产物基因簇并比较分析差异。

1.8 XY40-1 对辣椒生防及促生能力的测定

1.8.1 生防效果

选取无菌育苗盘中 8–12 叶期、长势均一的辣椒幼苗进行移栽, 每盆一株幼苗, 每处理 9

盆, 3 次重复。采用灌根接种法定殖贝莱斯芽孢杆菌、接种疫霉菌, 首先向土壤中灌注 10 mL 辣椒疫霉菌孢子悬浮液(浓度 10⁶ 个/mL), 25 °C、高湿度、黑暗条件下培养 3 d 后, 灌注 10 mL XY40-1 菌液(浓度 10⁴、10⁵、10⁶、10⁷、10⁸、10⁹ CFU/mL), 每 3 d 加灌 1 次; 对照组灌注等量无菌水。以第 1 次灌根 XY40-1 菌液为第 1 天, 在 25 °C、高湿度、光照 16 h/d 下培养 14 d, 每日观察记录病情, 根据病情分级标准统计病情指数, 计算防治效果^[26-27]。计算如公式(3)和公式(4)所示。

$$\text{病情指数} = \frac{\sum(DG_i \times n_i)}{n \times DG_{\text{imax}}} \times 100\% \quad (3)$$

式中: DG_i 为病情等级, n_i 为在该等级的植株数, n 为总植株数。

$$\text{防治效果} = (\text{对照组病情指数} - \text{处理组病情指数}) / \text{对照组病情指数} \times 100\% \quad (4)$$

1.8.2 促生作用

以灌施 10 mL 10⁸ CFU/mL XY40-1 菌液为试验处理, 灌施等量无菌水为对照, 每处理 9 盆, 每盆 1 株, 重复 3 次, 辣椒幼苗培养过程及条件同 1.8.1。25 °C、光照 16 h/d 条件下培养 14 d 后, 测定植株总根长、株高、冠幅及根尖数。

1.9 XY40-1 对辣椒果实品质及光合特性的影响

按体积分数分别为 50%、30% 和 20% 的比例将田园土、基质土和蛭石混合。在辣椒幼苗期、开花期和结果期各浇 1 次 10⁸ CFU/mL XY40-1 菌液, 每次每株苗灌根 200 mL, 共 600 mL, 以等量无菌水为对照, 每处理 6 次重复。在日光温室条件下培养, 昼夜平均温度分别为 (25±5) °C 和 (15±3) °C。于果熟期采集果实, 测定单果重、横纵径、维生素 C、可溶性纤维和辣椒素; 选取健康成熟的叶片, 测定其净光合速率、蒸腾速率、胞间 CO₂ 浓度和气孔导度。

1.10 数据统计分析

用 MEGA 6.0 软件和邻接法构建系统发育树,

SPSS 29 软件中单因素进行数据分析统计各处理平均值的差异, Duncan 多重比较对所得数据进行差异性显著检验, 采用 Origin 2024 进行作图。

2 结果与分析

2.1 XY40-1 对辣椒病原菌的抑制效果

平板对峙试验结果表明, 菌株 XY40-1 对

多种辣椒病害的病原真菌具有明显抑制效果 (图 1), 其中对辣椒疫病菌的抑制率为 85.78%, 抑制效果最好; 对辣椒炭疽病、白绢病、黑斑病、根腐病和枯萎病病原菌的抑菌效率分别为 81.70%、80.72%、77.41%、76.22%和 74.10% (表 1)。XY40-1 对多种辣椒真菌病害具有生物防治潜力。

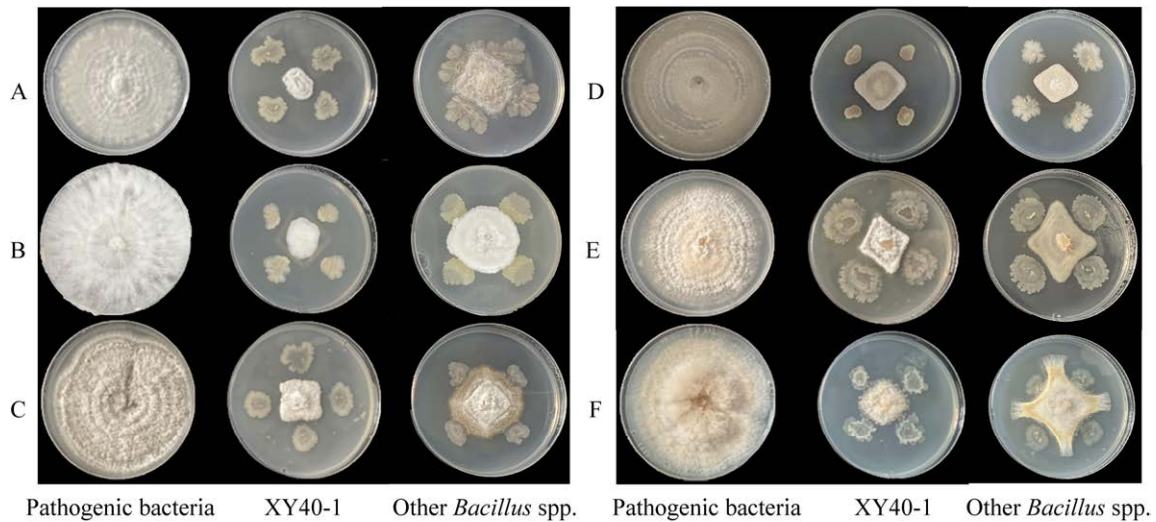


图 1 菌株 XY40-1 对辣椒病害病原真菌的抑制效果

Figure 1 Inhibition of strain XY40-1 on pathogenic fungi of pepper disease. A: *Phytophthora capsici*. B: *Sclerotium rolfsii*. C: *Colletotrichum gloeosporioides*. D: *Alternaria alternata*. E: *Fusarium oxysporum*. F: *Fusarium solani*.

表 1 菌株 XY40-1 对植物病原真菌的抑制率

Table 1 Inhibition rate of XY40-1 on plant pathogens

病原真菌	对照菌落直径	处理菌落直径	抑菌率
Pathogenic fungi	Colony diameter of CK (cm)	Colony diameter of XY40-1 (cm)	Fungistatic rate (%)
辣椒疫霉菌 <i>Phytophthora capsici</i>	8.30±0.00	1.18±0.17bc	85.78±2.05
辣椒白绢病菌 <i>Sclerotium rolfsii</i>	8.30±0.00	1.60±0.12d	80.72±1.45
辣椒炭疽病菌 <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	8.20±0.10	1.50±0.06cd	81.70±0.73
辣椒黑斑病菌 <i>Alternaria alternata</i>	8.10±0.10	1.83±0.12abc	77.41±1.48
辣椒枯萎病菌 <i>Fusarium oxysporum</i>	8.30±0.00	2.15±0.17a	74.10±2.05
辣椒根腐病菌 <i>Fusarium solani</i>	8.20±0.10	1.95±0.58ab	76.22±4.08

The data in the table are mean±SD. Different lowercase letters in the same column represent the significant differences between treatments ($P<0.05$). The same as below.

2.2 不同浓度 XY40-1 菌液对辣椒疫霉菌的抑制效果

不同浓度 XY40-1 菌液对辣椒疫病菌生长的影响差异显著(图 2A、表 2)。当 XY40-1 菌液浓度为 10^4 CFU/mL 时,对辣椒疫霉菌的抑菌率为 78.01%;随着 XY40-1 菌液浓度的升高,其对辣椒疫霉菌的抑菌率也逐渐提高,当 XY40-1 菌液的浓度为 10^9 CFU/mL 时,抑菌率可达 100%。培养 16 h 后观察孢子萌发情况,结果显示不同浓度 XY40-1 菌液对孢子萌发均

有抑制作用,且菌液浓度越高,其对孢子萌发的抑制效果也越强。菌液浓度为 10^4 CFU/mL 时,其对孢子萌发的抑制率为 68.57%,当浓度提高至 10^9 CFU/mL 时,抑菌率可达 94.08%。

通过显微镜观察发现,培养 10 d 后,对照组正常生长的疫霉菌菌丝纤细直长,粗细均匀一致,线条流畅,分枝正常,而经 XY40-1 菌液处理后的菌丝出现卷曲皱缩的现象(图 2B),说明 XY40-1 通过影响辣椒疫霉菌的生长而达到抑菌效果。

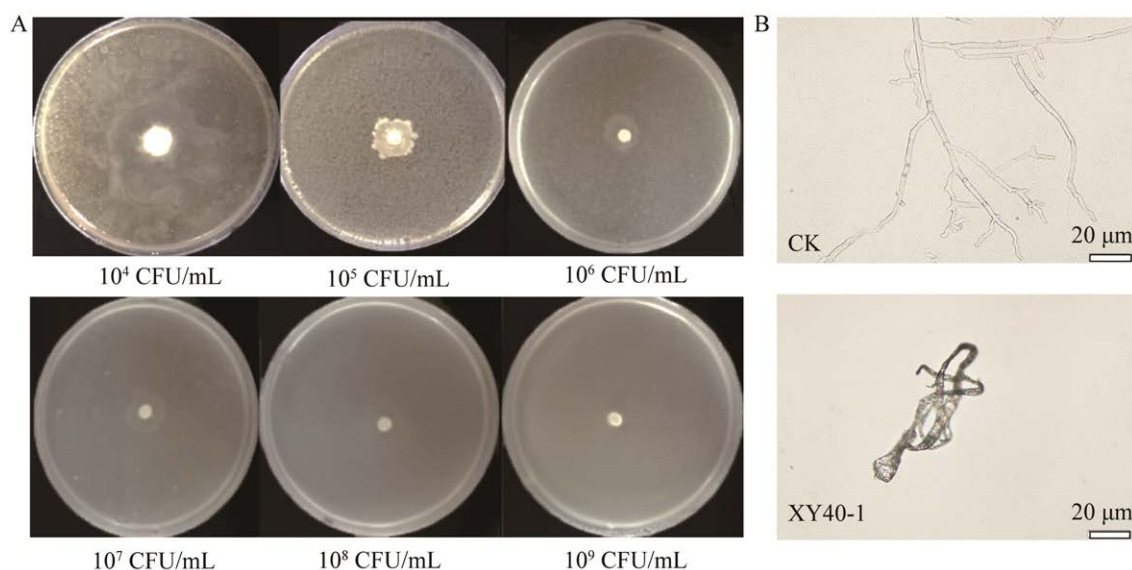


图 2 菌株 XY40-1 对辣椒疫病菌生长的影响

Figure 2 Effects of strain XY40-1 on growth of pepper *Phytophthora capsici*. A: Effects of different concentrations of fermentation broth of strain XY40-1 on *Pepper capsici*. B: Effect of strain XY40-1 on hyphae growth of *Phytophthora capsici*.

表 2 不同浓度 XY40-1 菌液对辣椒疫病菌的抑制效果

Table 2 Inhibitory effect of different concentrations of fermentation broth of XY40-1 on *Phytophthora capsici*

菌液浓度	菌落直径	抑菌率	孢子萌发抑制率
Bacterial concentration (CFU/mL)	Colony diameter (cm)	Fungistatic rate (%)	Spore germination inhibition ratio (%)
CK	7.73±0.10a	–	–
10^4	1.70±0.10b	78.01±1.29e	68.57±4.39d
10^5	1.07±0.18c	86.16±2.33b	75.44±1.76cd
10^6	0.68±0.21c	91.20±2.72c	77.73±2.38bc
10^7	0.24±0.10d	96.90±1.29d	84.90±2.52b
10^8	0.19±0.04d	97.54±0.52d	92.93±1.50a
10^9	0.00±0.00e	100.00±0.00e	94.08±1.48a

– indicates that no inhibitory effect was observed.

2.3 菌株 XY40-1 的生理生化特性

测定结果显示, 菌株 XY40-1 解有机磷活性为 17.69 mg/L, 解无机磷活性为 17.38 mg/L, 解钾活性为 3.17 mg/L, 固氮酶活性为 96.17 nmol/(mL·h), XY40-1 具有较好的解磷、解钾和固氮的活性。

2.4 菌株 XY40-1 的鉴定及全基因组和代谢组学分析

通过 PCR 扩增获得菌株 XY40-1 的 16S rRNA 基因片段, 其序列长度为 1 556 bp (GenBank 登录号为 PP897142)。系统发育树结果显示(图 3), XY40-1 与贝莱斯芽孢杆菌在同一分支亲缘关系最近, 表明 XY40-1 属于贝莱斯芽孢杆菌。

如图 4A 所示, 菌株 XY40-1 基因组通过组装、优化和校正后获得环状染色体基因组。菌株基因组全长 3 955 067 bp, G+C 占比 46.6%; 含有 7 560 个基因, 3 780 个编码序列, 总长度为 3 511 809 bp, 占总长度的 88.8%; 共含有 114 个 RNA 基因, 包括 87 个 tRNA 基因和

27 个 rRNA 基因。XY40-1 基因组仅有一个 4 504 bp 的重复序列, 占总长度的 0.11%。此外, XY40-1 基因组中还存在 4 个基因岛和 4 个 CRISPERs。

在进一步分类的二级功能类别中, XY40-1 注释到 48 条 KEGG 二级功能类别, 共 2 143 个 KEGG 常规代谢通路相关基因(图 4B)。其中, 首要的代谢通路为 ABC 转运蛋白(ABC transporters, 122 个基因), 其次为双组分代谢(two-component system, 113 个基因)。与抗菌相关的 5 类常规通路及其基因数量分别为碳水化合物代谢(carbohydrate metabolism) 99 个、萜类骨架生物合成(terpenoid backbone biosynthesis) 14 个、链霉素生物合成(streptomycin biosynthesis) 9 个、酮体合成与降解(synthesis and degradation of ketone bodies) 8 个和青霉素和头孢菌素生物合成(penicillin and cephalosporin biosynthesis) 2 个(附表 1, 数据已提交国家微生物科学数据中心, 编号: NMDCX0001732)。

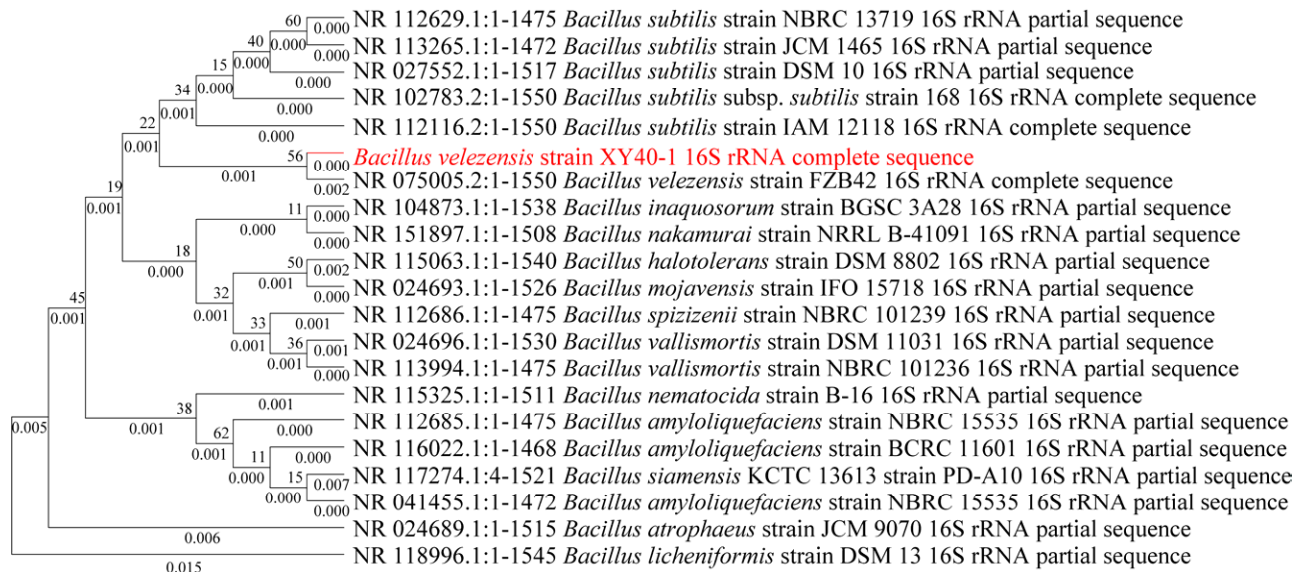


图 3 菌株 XY40-1 和相关芽孢杆菌基于 16S rRNA 基因序列构建的系统发育树

Figure 3 Phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequences of strain XY40-1 and related *Bacillus* species. The tree was constructed with MEGA 6.0 software. The number at each node indicates the bootstrap support and the bar indicates expected number of substitutions per site. The red font refers to the study object strain XY40-1.

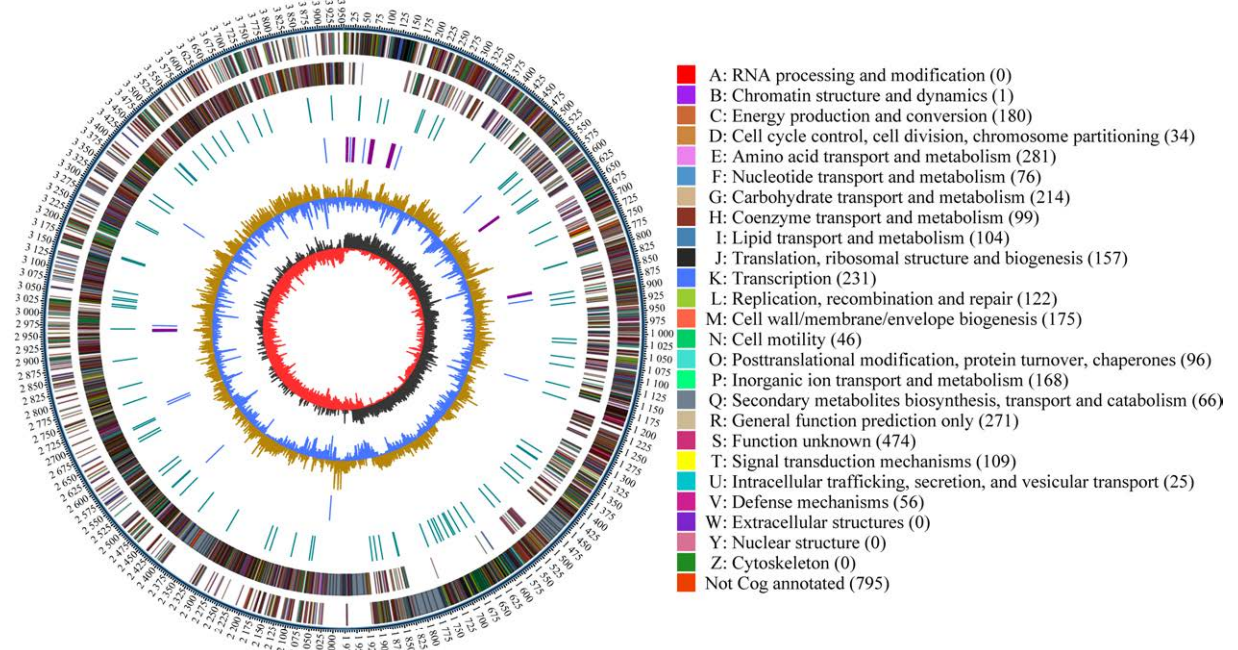
对菌株 XY40-1 菌液和上清液进行代谢组学分析发现,XY40-1 菌液和上清液中共检测出 1 271 种代谢物,979 种代谢物显著差异,其中,上调(菌液>上清液)代谢物 395 种,下调(菌液<上清液)代谢物 584 种。通过人类代谢组数据库(human metabolome database, HMDB)对显著差异的代谢物进行注释,得到 115 种与抗菌、提高植物抗逆性相关的机制较为明确的代谢物,按其天然结构可分为酮类及其类似物(50 种)、脂类和类脂分子(46 种)、生物碱(18 种)和醛类(1 种)4 类代谢物(附表 2,数据已提交国家微生物科学数据中心,编号:NMDCX0001732)。基于 KEGG 功能通路对差异表达的代谢物进行注释,获得 18 个不同代谢功能通路(图 4C),并富集到 42 种与次生代谢物相关、8 种与辅因子相关和 2 种与细菌趋化性相关的差异代谢物;其中,上调(菌液>上清液)代谢物 15 种,下调(菌液<上清液)代谢物 27 种。进一步筛选出 7 种 XY40-1 胞外(上清液)含量显著上调的抗菌代谢物,即 XY40-1 产生的主要抗菌代谢物有类脂质分子类的诺加霉素(nogalamycin)、有机硫化合物的大蒜素 C1 (megalomicin C1)、聚酮类化合物类的利福昔明(rifaximin)、阿维菌素(ivermectin B1a)、利福霉素 S (rifamycin S)、西拉菌素(ivermectin A1a)和安丝菌素 P-3 (ansamitocin P-3)(附表 3,数据已提交国家微生物科学数据中心,编号:NMDCX0001732),其共同的代谢通路为次生代谢产物生物合成通路。差异代谢物 KEGG 富集网络图(图 4E)显示,XY40-1 的核心代谢主要为氰基氨基酸代谢(cyanoamino acid metabolism)、花生四烯酸代谢(arachidonic acid metabolism)、D-氨基酸代谢(D-amino acid metabolism)、卟啉代谢(porphyrin metabolism)、叶酸合成(folate biosynthesis)5 种。此外,XY40-1 菌株还存在多种未探明的抗生素

与植物生长素的合成途径,可以合成多种抗生素,具有较强的抑制真菌效果。

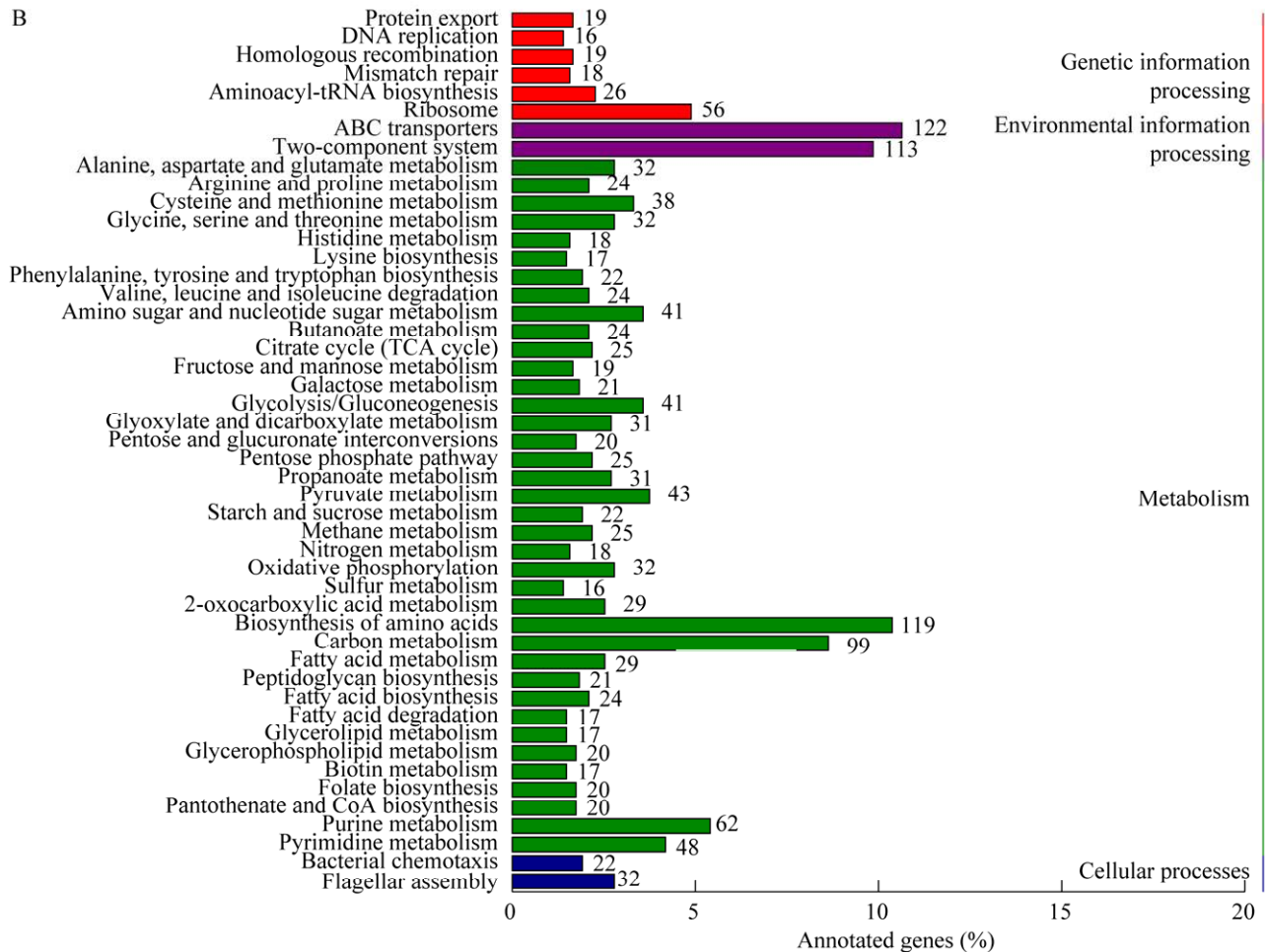
2.5 比较基因组学分析

菌株 XY40-1 与其他 9 株芽孢杆菌基因组特征比较结果显示(表 3),XY40-1 的基因组与其他贝莱斯芽孢杆菌基因组大小相似,略小于 SQR9 及其他芽孢杆菌。泛基因组分析如图 5A 所示,10 株芽孢杆菌的核心基因组趋势相比泛基因组趋势更平稳,这说明核心基因组更保守。由 2.4 中菌株 XY40-1 的系统发育树(图 3)可知,XY40-1 与菌株 FZB42 的亲缘关系最近,因此进一步选取同为贝莱斯芽孢杆菌的模式菌株 FZB42、SQR9、DSM7^T 和 UCMB5036,对其核心基因进行同源分析,结果如图 5B 所示。XY40-1 与 FZB42 等贝莱斯芽孢杆菌共有的核心基因数为 3 644 个,多数是参与基础生命活动的基因,占 XY40-1 基因组总核心基因数的 99%,其中仅 1 个为 XY40-1 所特有;此外,XY40-1 有 3 466 个核心基因与 FZB42 重合,这表明 XY40-1 在某些核心基因的功能方面与 FZB42 类似。5 株贝莱斯芽孢杆菌的共线性分析结果如图 5C 所示,XY40-1 与 FZB42、SQR9、DSM7^T 和 UCMB5036 的大部分基因均存在直接的线性对应关系,但也存在局部共线块排列顺序颠倒、翻转、异位等基因组重排的现象。通过 antiSMASH 预测 XY40-1 的次级代谢产物合成基因簇(biosynthetic gene clusters, BGCs),结果显示(表 4),XY40-1 含有 13 个次生代谢产物合成基因簇,主要为聚酮合酶类(polyketide synthases, PKS)。其中有 6 个与已知基因簇相似度为 100%,分别合成 macrolactin H、bacillaene、fengycin、difficidin 以及 butirosin A/B。比对 XY40-1 与其他 4 株贝莱斯芽孢杆菌次生代谢产物合成基因簇的位置和产物显示,5 株菌株的基因簇均表现为直接线性对应,这与共线性分析结果吻合(图 5D)。

A



B



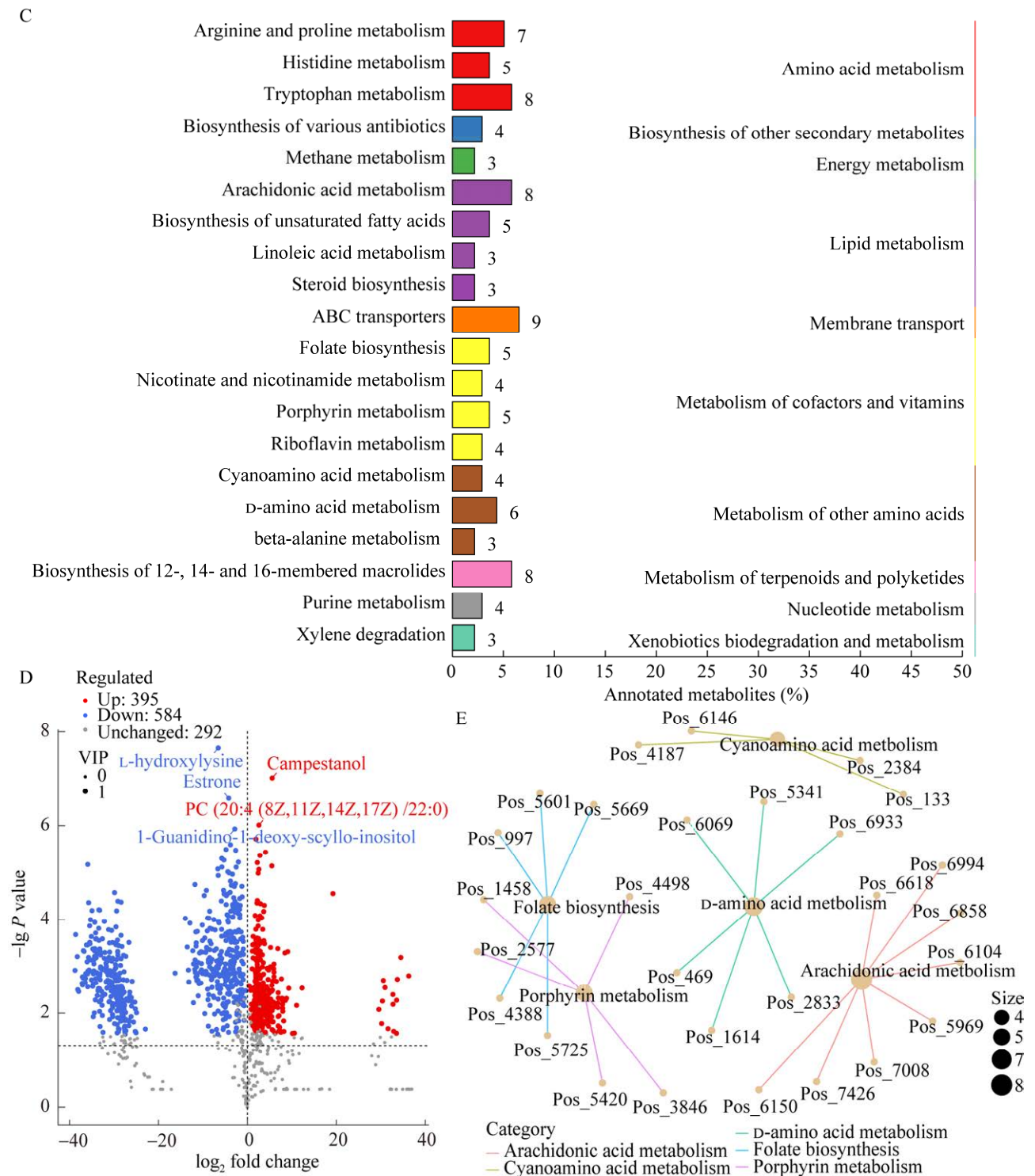


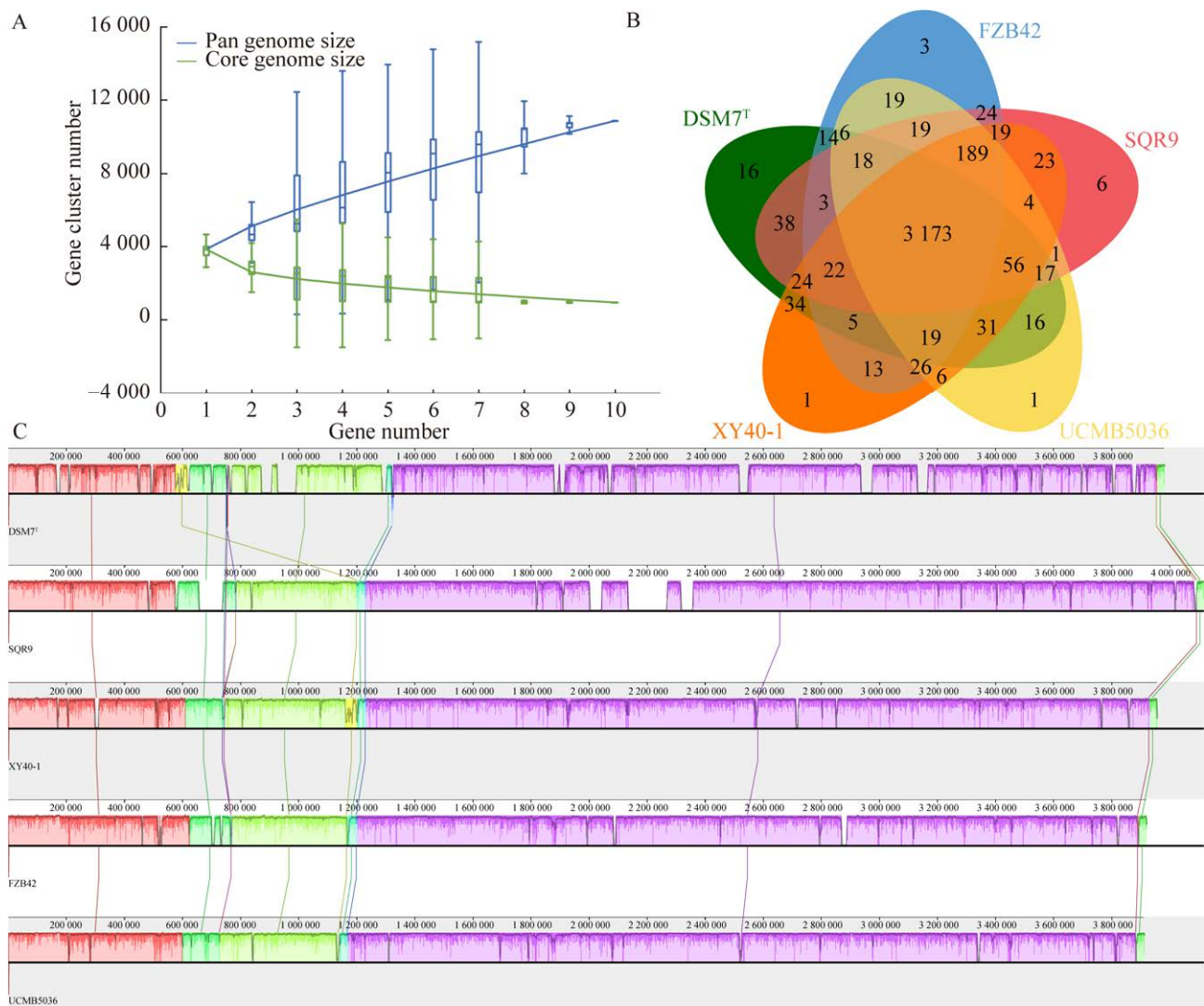
图 4 菌株 XY40-1 全基因组及代谢组学分析

Figure 4 Diagram of whole genome analysis. A: Circular genome map of strain XY40-1. The circular distribution from outside to inside indicates genome size, positive chain gene, negative chain gene, repeat sequence, tRNA (blue) and rRNA (purple), G+C content and GC-skew. B: KEGG function classification of consensus sequence. C: Metabolome KEGG annotation classification statistical chart. D: Volcano diagram of different groups. E: KEGG enrichment network diagram of differential metabolites.

表 3 菌株 XY40-1 与其他芽孢杆菌的基因组特征比较

Table 3 Comparison of genomic characteristics of strain XY40-1 with other *Bacillus* species

Strain	GenBank number	Genome size (Mb)	G+C content (%)	Protein coding sequences	rRNA	tRNA	Isolation source	
<i>Bacillus velezensis</i>	XY40-1	NC_CP158669	3.96	46.6	3 780	27	87	Pepper leaves
	FZB42	NC_CP009725.2	3.92	46.5	3 680	29	88	Beet
	SQR9	NZ_CP006890.1	4.12	46.0	3 904	21	72	Cucumber rhizosphere
	UCMB5036	NC_020410.1	3.91	46.5	3 687	29	88	Cotton
	DSM7 ^T	NC_014551.1	3.98	46.0	3 870	30	93	Laboratory
<i>Bacillus subtilis</i>	168	NC_000964.3	4.22	43.5	4 237	30	85	Laboratory
	W23 (subspecies)	NC_014479.1	4.03	44.0	3 896	24	77	Laboratory
<i>Bacillus licheniformis</i>	ATCC 14580	NZ_CP034569.1	4.24	46.0	4 183	24	81	Laboratory
<i>Bacillus vallismortis</i>	DSM 11031	NZ_CP026362.1	4.29	44.0	4 205	30	87	Soil
<i>Paenibacillus polymyxa</i>	ATCC 842	NZ_CP024795.1	5.92	45.0	5 245	42	91	Soil



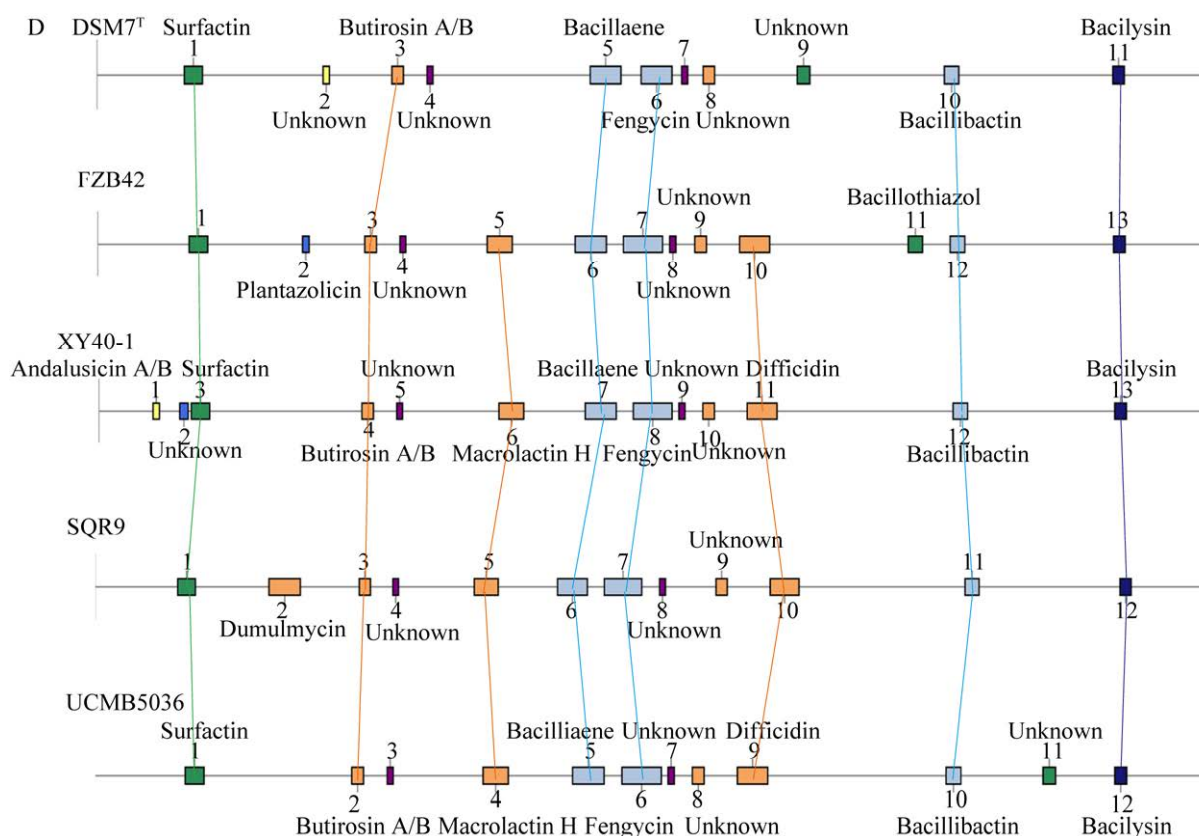


图 5 菌株 XY40-1、FZB42、SQR9、DSM7^T 和 UCMB5036 的比较基因组分析

Figure 5 Comparative genomic analysis among strains XY40-1, FZB42, SQR9, DSM7^T, and UCMB5036. A: Core-pan-genome plot of strains XRD006, FZB42, SQR9, DSM7^T, UCMB5036 and other *Bacillus* species (168, W23, ATCC 14580, DSM 11031 and ATCC 842). B: Venn diagram of core genes, unique genes and accessory genes of strains XY40-1, FZB42, SQR9, DSM7^T and UCMB5036. C: Collinearity analysis. The boxes with the same color are represented the syntenic regions, rearrangements are shown by colored lines. D: Comparison of the locations and products of the secondary metabolite gene clusters of XY40-1, FZB42, SQR9, DSM7^T and UCMB5036.

表 4 XY40-1 的次级代谢产物合成基因簇分类表

Table 4 antiSMASH annotation functional classification chart of XY40-1

基因簇编号	类型	起始位置	终止位置	推测产物	相似度
Cluster ID	Type	Start	End	Putative production	Similarity (%)
Cluster 1	Lanthipeptide-class-iii	193 714	216 329	Andalusicin A/B	100
Cluster 2	Thiopeptide, LAP	288 450	318 183	Unknown	—
Cluster 3	NRPS	329 692	394 554	Surfactin	91
Cluster 4	PKS-like	936 194	977 438	Butirosin A/B	7
Cluster 5	Terpene	1 063 057	1 080 356	Unknow	—
Cluster 6	TransAT-PKS	1 423 622	1 511 453	Macrolactin H	100
Cluster 7	TransAT-PKS, T3PKS, NRPS	1 730 988	1 831 722	Bacillaene	100
Cluster 8	NRPS, TransAT-PKS, betalactone	1 901 548	2 039 207	Fengycin	100
Cluster 9	Terpene	2 063 335	2 085 218	Unknown	—
Cluster 10	T3PKS	2 148 685	2 189 785	Unknown	—
Cluster 11	TransAT-PKS	2 318 550	2 412 345	Difficidin	100
Cluster 12	NRPS, RiPP-like	3 038 393	3 090 183	Bacillibactin	100
Cluster 13	Other	3 613 244	3 654 662	Bacilysin	100

2.6 对辣椒的生防及促生能力验证

试验结果显示, 接种疫霉菌后的辣椒苗在第 4 天时开始发病, 随后逐渐加重。14 d 后对照组辣椒叶片出现灰褐色病斑且萎蔫严重, 同时伴随叶片脱落、茎部发黑等病害现象; 而浇

灌 XY40-1 菌液处理组的辣椒叶片病斑较少、程度较轻, 生长状况较为良好(图 6A)。由表 5 可知, 施用浓度为 10^7 CFU/mL 的 XY40-1 菌液对辣椒疫病的防治效果可达 66.13%, 能有效降低疫霉菌对辣椒的侵染。

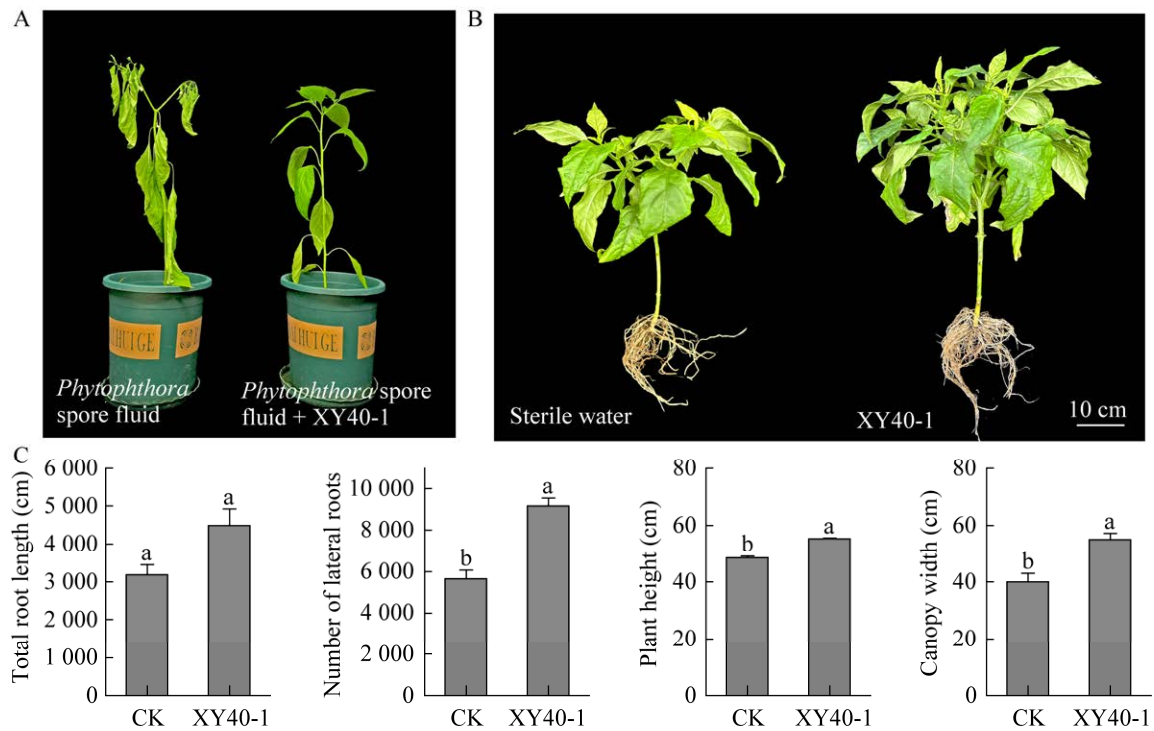


图 6 XY40-1 菌液对辣椒疫病的生防及促生效果

Figure 6 Biocontrol and growth-promoting effects of XY40-1 bacterial liquid on pepper *Phytophthora* blight. A: The control effect of XY40-1 bacterial liquid on pepper *Phytophthora* blight. B: Growth-promoting effect of XY40-1 bacterial liquid on pepper after 14 d. C: Effects of XY40-1 bacterial liquid on the growth characteristics of peppers.

表 5 XY40-1 菌液拮抗辣椒疫病效果

Table 5 The antagonistic effect of fermentation broth of strain XY40-1 on pepper *Phytophthora* blight

浓度 Concentration (CFU/mL)	病情指数 Disease indice	防治效果 Suppression rate (%)
0 (CK)	54.33±3.86a	—
10^4	40.77±5.78b	24.97
10^5	37.33±5.09bc	31.29
10^6	23.43±0.81ef	56.87
10^7	18.40±1.01f	66.13
10^8	28.20±0.82de	48.10
10^9	33.73±1.86cd	37.91

— indicates that no inhibitory effect was observed.

培养 14 d 后, XY40-1 菌液处理的植株的生长状况明显优于对照组(图 6B), 其总根长、株高、根尖数、冠幅均高于对照(图 6C), 且株高、根尖数和冠幅均与对照间差异显著 ($P<0.05$)。XY40-1 对辣椒植株具有较好的促生效果。

2.7 XY40-1 菌液对辣椒果实品质及光合特性的影响

由图 7A 可知, 施用 XY40-1 菌液能显著促进辣椒果实纵向和横向生长, 导致其单果重显著增加, 产量提高。施用 XY40-1 菌液后的辣

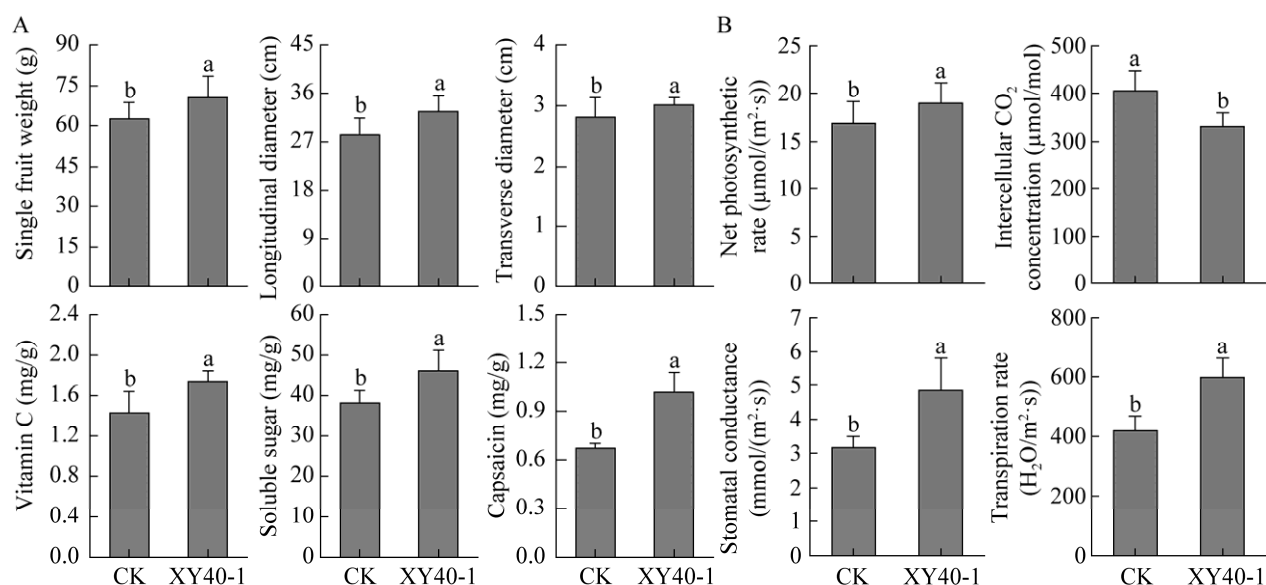


图 7 XY40-1 菌液对辣椒果实品质及光合特性的影响

Figure 7 Effects of XY40-1 bacteria liquid on pepper fruit quality and photosynthetic characteristics. A: Pepper fruit quality. B: Photosynthetic characteristics. Different letters indicate statistical significance ($P < 0.05$).

椒单果重可达 70.58 g, 较对照提高了 13.64%。对辣椒果实内在品质而言, 灌施 XY40-1 菌液显著提高了其维生素 C、可溶性糖和辣椒素含量, 较对照分别提高了 20.98%、20.15% 和 52.24%。施用 XY40-1 菌液提高了辣椒的光合能力(图 7B), 除胞间 CO_2 浓度显著低于对照外, 施用 XY40-1 菌液后其净光合速率、气孔导度和蒸腾速率均显著高于对照。对辣椒净光合速率而言, 施用 XY40-1 菌液后, 其净光合速率较对照提高了 12.68%, 达到 $(19.02 \pm 2.17) \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。

3 讨论

毁灭性土传病害辣椒疫病已对全国各辣椒产区造成严重经济损失^[27], 利用有益微生物对辣椒疫病进行生物防治是辣椒绿色可持续发展的途径^[28]。由于芽孢杆菌属细菌繁殖速度快、对营养要求简单且定殖能力强, 已成为植物病害生物防治中研究应用最多的一类生

防微生物^[29], 其中, 新种贝莱斯芽孢杆菌较其他芽孢杆菌属菌株更具有应用潜力。本研究中分离自辣椒叶片的贝莱斯芽孢杆菌 XY40-1, 对于辣椒疫病、辣椒炭疽病、辣椒白绢病等多种真菌病害的病原菌有较好的抑制作用, 具有广谱抑菌活性, 这为辣椒真菌病害的生物防治提供了新的微生物资源。同时, 本研究发现菌株 XY40-1 具有较好的解磷、解钾和固氮活性, 施用菌液后的辣椒幼苗生长状况明显优于未施用菌液的对照。结果显示, 菌液处理后的辣椒幼苗其株高、冠幅及根尖数均显著高于对照组, 对辣椒植株生长表现出积极的促进作用。这说明菌株 XY40-1 在有效防治辣椒疫病的同时兼具促进植株生长的特性, 在微生物菌肥研制中也具有较大潜力。同样地, 冯宝珍等^[30]发现番茄内生菌 FQ-G3 可以预防由灰葡萄孢引起的腐烂损失; 王海霞等^[21]从燕麦中筛选出能够有效防治燕麦炭疽病的内生菌 YN-J3, 其对燕麦有

促生效果。以上结果说明从植物组织中筛选出的内生微生物较土壤、根际微生物在防治植物病害、促进植物生长方面更具优势,在开发成生物菌剂中具有非常大的潜力。

XY40-1 与其他芽孢杆菌、贝莱斯芽孢杆菌模式菌株基因组特征比较结果显示,XY40-1 基因组较小,仅 3.96 Mb,表明其基因组较为紧凑。分析发现,XY40-1 与贝莱斯芽孢杆菌 FZB42 的亲缘关系较近,可以推测 XY40-1 具有和 FZB42 相似的功能。antiSMASH 分析结果显示,XY40-1 基因组含有 13 个次级代谢产物基因簇,其中有 5 个产物均与聚酮合酶 (polyketide synthase, PKS) 相关,分别为 macrolactin H、bacillaene、fengycin、difficidin 以及 butirosin A/B,还有相似度高的 bacilysin 以及 surfactin 合成基因簇。其中,cluster 4 的推测产物 butirosin A/B 与数据库中已知序列的相似度仅 7%,说明其在 XY40-1 中可能具备全新的结构。作为贝莱斯芽孢杆菌产生的主要抗菌物质,fengycin 具有干扰细胞膜和诱导植物系统抗性的双重抗菌机制^[31-32]。Surfactin 在抗菌方面具有广谱性,能够改变细胞膜的结构发挥抗菌和抗病毒活性^[33],也能在极端 pH 值、温度和盐浓度下发挥作用^[34]。Macrolactins、bacillaene 与 difficidin 这 3 类抗生素均能破坏细胞膜的完整结构,从而抑制细胞内蛋白质、核酸等生物大分子的合成或造成其外泄,进而对土传病原菌如青枯菌、尖孢镰刀菌等生长具有明显抑制效果^[35-36]。Bacilysin 作为一种铁载体类抗生素,对镰刀菌、胡萝卜软腐果胶杆菌等多种土传病原菌具有杀菌活性^[37]。此外,菌株 XY40-1 另外 4 个与已知基因簇无相似度的 thiopeptide、type III polyketide synthase (T3PKS) 和 2 个 terpene 相关物质在同种菌株 JJYY 中也有报道^[38],说明菌株 XY40-1 不仅通过分泌已知的

抗生素发挥抑菌活性,还可能产生新的、未知的抗生素。

对 XY40-1 进行代谢组学分析发现,该菌株主要抗菌物质为聚酮类化合物,分别是大环内酯类、安莎霉素及相关聚酮类化合物(安丝菌素和利福霉素)、芳香族聚酮类化合物(四环素)和黄酮类化合物。大环内酯类抗生素的靶标是病原菌的 50S 核糖体亚基与 23S RNA,能够阻止病原菌的蛋白质合成、群体感应并减少生物膜的形成^[39];安莎霉素类化合物通过攻击 RNA 聚合酶 β 亚基,抑制细菌的蛋白质合成来杀菌^[40];芳香族聚酮类化合物虽可导致病原菌在合成蛋白质的翻译过程中读码错误而死亡^[41],但其杀菌效果有浓度依赖性,在酸性和碱性环境中不稳定;黄酮类化合物主要是抑制细菌生物膜的形成,阻止细菌黏附到宿主受体^[42],具有较强的抗真菌活性^[43]。以上物质大都对革兰氏阳性菌具有靶向作用,因而 XY40-1 对革兰阳性菌的抑菌效果显著。XY40-1 基因组和代谢组 KEGG 通路富集分析都涉及了新霉素、卡那霉素、庆大霉素、安沙霉素、四环素的生物合成等通路,说明其可能合成以上多种抗生素。此外,XY40-1 还富集了酮体的合成和降解、萜类骨架生物、抗生素合成通路和细胞运动性通路,说明该菌株有抑制病原菌、促进植物生长、可诱导植物系统抗性的作用,证实了其应用潜力。在微生物生命活动过程中,其次生代谢产物的种类远多于预测识别到基因簇的数量。这是因为许多次生代谢产物是通过复杂的生物合成途径产生的,这些途径可能涉及多个基因簇的协同作用或同一基因簇的不同表达模式。本研究中,通过 antiSMASH 预测 XY40-1 的次级代谢产物合成基因簇结果显示(表 5),XY40-1 含有 13 个基因簇,包括 9 个与已知产物具有相似序列的基因簇和 4 个未知基因簇。

4 结论

本研究首先通过抑菌试验确定了菌株 XY40-1 对辣椒疫病等辣椒真菌病害具有抑制效果, 同时测定了其生理生化特性, 发现 XY40-1 具有较好的解磷、解钾和固氮的能力; 随后通过活体抑菌试验和促生试验, 表明其具备良好的生防和促生能力; 利用组学技术挖掘了 XY40-1 的抗病基因和抗菌产物, 揭示了 XY40-1 与同属模式菌株间的亲缘关系, 其在长期的进化中仍然保持高度的水平基因转移。本研究不仅为辣椒病害的生物防治研究提供了理论基础, 还丰富了生防菌资源, 为新生物农药的开发应用提供了坚实可靠的依据。

致谢

感谢湖南省蔬菜研究所张清壮、邱芳颖、张明星对本研究试验工作的指导。

作者贡献声明

周池: 论文构思和框架设计; 周诗晶: 论文起草和修改; 陶禹: 数据收集; 张评美: 数据统计分析; 邱芳颖: 数据收集; 彭宇翔: 协助实验操作; 李雪峰: 提供技术支持; 李鑫: 研究构思和设计。

作者利益冲突公开声明

作者声明没有任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

[1] 邹学校, 马艳青, 戴雄泽, 李雪峰, 杨莎. 辣椒在中国的传播与产业发展[J]. 园艺学报, 2020, 47(9): 1715-1726.
ZOU XX, MA YQ, DAI XZ, LI XF, YANG S. Spread and industry development of pepper in China[J]. *Acta*

Horticulturae Sinica, 2020, 47(9): 1715-1726 (in Chinese).
[2] 丁海凤. 中国蔬菜新品种保护状况与机制研究[D]. 北京: 中国农业科学院硕士学位论文, 2006.
DING HF. Study on the protection status and mechanism of new vegetable varieties in China[D]. Beijing: Master's Thesis of Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2006 (in Chinese).
[3] 吴璐瑶, 乔立娟. 我国城乡居民辣椒消费现状及趋势分析[J]. 中国瓜菜, 2022, 35(8): 109-113.
WU LY, QIAO LJ. Analysis on the current situation and trend of pepper consumption of urban and rural residents in China[J]. *China Cucurbits and Vegetables*, 2022, 35(8): 109-113 (in Chinese).
[4] QUESADA-OCAMPO LM, PARADA-ROJAS CH, HANSEN Z, VOGEL G, SMART C, HAUSBECK MK, CARMO RM, HUITEMA E, NAEGELE RP, KOUSIK CS, TANDY P, LAMOUR K. *Phytophthora capsici*: recent progress on fundamental biology and disease management 100 years after its description[J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2023, 61: 185-208.
[5] 廖宏娟, 张志斌, 江玉梅, 朱笃. 微生物次级代谢产物抗辣椒疫霉的研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2023, 35(4): 705-721.
LIAO HJ, ZHANG ZB, JIANG YM, ZHU D. Research progress of microbial secondary metabolites against *Phytophthora capsici*[J]. *Natural Product Research and Development*, 2023, 35(4): 705-721 (in Chinese).
[6] 张锐, 尚伟, 韦新宇, 曾跃辉, 吴立东, 许旭明. 辣椒疫病的发生及疫病抗性连锁标记适用性评价[J]. 分子植物育种, 2022, 20(10): 3285-3293.
ZHANG R, SHANG W, WEI XY, ZENG YH, WU LD, XU XM. Occurrence of pepper *Phytophthora capsici* and the applicability evaluation of linkage markers for disease resistance[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2022, 20(10): 3285-3293 (in Chinese).
[7] 李伟山, 纠敏, 周冬梅, 姚壮豪, 周阳, 魏利辉. 寡雄腐霉 GAQ1 对辣椒疫病的防效及对辣椒的促生作用[J]. 植物保护学报, 2022, 49(3): 956-965.
LI WS, JIU M, ZHOU DM, YAO ZH, ZHOU Y, WEI LH. Biological control and growth-promotion effects of mycoparasitic fungus *Pythium oligandrum* GAQ1 against *Phytophthora* blight in pepper[J]. *Journal of Plant Protection*, 2022, 49(3): 956-965 (in Chinese).
[8] TRUONG HTH, KIM JH, CHO MC, CHAE SY, LEE HE. Identification and development of molecular markers linked to *Phytophthora* root rot resistance in pepper (*Capsicum annuum* L.)[J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2013, 135(2): 289-297.

- [9] 席飞, 汤静, 吕凤霞, 孙佩馨, 张国华, 肖红梅. 青皮核桃采后病害生防菌贝莱斯芽胞杆菌 XRD006 全基因组分析及防治效果研究[J]. 微生物学报, 2024, 64(1): 303-322.
XI F, TANG J, LÜ FX, SUN PX, ZHANG GH, XIAO HM. Whole genome analysis and control effect of *Bacillus Velezensis* XRD006, a biocontrol bacterium for postharvest diseases of green walnut[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2024, 64(1): 303-322 (in Chinese).
- [10] SYED AB RAHMAN SF, SINGH E, PIETERSE CMJ, SCHENK PM. Emerging microbial biocontrol strategies for plant pathogens[J]. Plant Science, 2018, 267: 102-111.
- [11] BALDERAS-RUIZ KA, BUSTOS P, SANTAMARIA RI, GONZÁLEZ V, CRISTIANO-FAJARDO SA, BARRERA-ORTÍZ S, MEZO-VILLALOBOS M, ARANDA-OCAMPO S, GUEVARA-GARCÍA ÁA, GALINDO E, SERRANO-CARREÓN L. *Bacillus velezensis* 83 a bacterial strain from mango phyllosphere, useful for biological control and plant growth promotion[J]. AMB Express, 2020, 10(1): 163.
- [12] PALMIERI D, IANIRI G, del GROSSO C, BARONE G, de CURTIS F, CASTORIA R, LIMA G. Advances and perspectives in the use of biocontrol agents against fungal plant diseases[J]. Horticulturae, 2022, 8(7): 577.
- [13] 杜公福, 黄永, 黄大野, 倪征平, 李晓亮, 彭家丽, 刘维侠, 戚志强. 不同微生物菌剂对辣椒疫病防控效果及土壤细菌群落结构的影响[J]. 热带作物学报, 2023, 44(6): 1214-1223.
DU GF, HUANG Y, HUANG DY, NI ZP, LI XL, PENG JL, LIU WX, QI ZQ. Control efficacy of different microbial agent on pepper *Phytophthora* blight and effects on soil bacterial community[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2023, 44(6): 1214-1223 (in Chinese).
- [14] YANG RX, FAN XJ, CAI XQ, HU FP. The inhibitory mechanisms by mixtures of two endophytic bacterial strains isolated from *Ginkgo biloba* against pepper *Phytophthora* blight[J]. Biological Control, 2015, 85: 59-67.
- [15] 赵岩. 解淀粉芽胞杆菌 YP4 对辣椒疫病的生防效应及根际微生态调控研究[D]. 太谷: 山西农业大学硕士学位论文, 2023.
ZHAO Y. Biological control and rhizosphere microecological regulation of *Bacillus amyloliquefaciens* YP4 on *Pepper blight*[D]. Taigu: Master's Thesis of Shanxi Agricultural University, 2023 (in Chinese).
- [16] 张德锋, 高艳侠, 王亚军, 刘春, 石存斌. 贝莱斯芽胞杆菌的分类、拮抗功能及其应用研究进展[J]. 微生物学通报, 2020, 47(11): 3634-3649.
ZHANG DF, GAO YX, WANG YJ, LIU C, SHI CB. Advances in taxonomy, antagonistic function and application of *Bacillus velezensis*[J]. Microbiology China, 2020, 47(11): 3634-3649 (in Chinese).
- [17] 曹艳子, 顾艳丽, 高丽, 范雪, 王效禹, 刘源超, 刘艳, 江国托, 崔亚微, 林洋. 贝莱斯芽胞杆菌的研究现状与应用展望[J]. 中国微生态学杂志, 2024, 36(3): 351-356, 362.
CAO YZ, GU YL, GAO L, FAN X, WANG XY, LIU YC, LIU Y, JIANG GT, CUI YW, LIN Y. Research status and prospect of *Bacillus velezensis*[J]. Chinese Journal of Microecology, 2024, 36(3): 351-356, 362 (in Chinese).
- [18] 张文静, 徐大勇, 吴倩琳, 杨佛, 信丙越, 曾昕, 李峰. 拮抗番茄灰霉病的贝莱斯芽胞杆菌 XDY66 基因组分析[J]. 园艺学报, 2024, 51(6): 1413-1425.
ZHANG WJ, XU DY, WU QL, YANG F, XIN BY, ZENG X, LI F. Genome analysis of *Bacillus velezensis* XDY66, an antagonist of tomato *Botrytis cinerea*[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2024, 51(6): 1413-1425 (in Chinese).
- [19] CHEN XH, KOUMOUTSI A, SCHOLZ R, EISENREICH A, SCHNEIDER K, HEINEMEYER I, MORGENSTERN B, VOSS B, HESS WR, REVA O, JUNGE H, VOIGT B, JUNGBLUT PR, VATER J, SÜSSMUTH R, LIESEGANG H, STRITTMATTER A, GOTTSCHALK G, BORRISS R. Comparative analysis of the complete genome sequence of the plant growth-promoting bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42[J]. Nature Biotechnology, 2007, 25(9): 1007-1014.
- [20] WANG JR, XING JY, LU JK, SUN YJ, ZHAO JJ, MIAO SH, XIONG Q, ZHANG YG, ZHANG GS. Complete genome sequencing of *Bacillus velezensis* WRN014, and comparison with genome sequences of other *Bacillus velezensis* strains[J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2019, 29(5): 794-808.
- [21] 王海霞, 郑成忠, 东保柱, 孟焕文, 周洪友, 孙瑞峰, 郑红丽. 燕麦内生细菌 YN-J3 的分离鉴定及防病促生作用研究[J]. 中国生物防治学报, 2022, 38(2): 447-457.
WANG HX, ZHENG CZ, DONG BZ, MENG HW, ZHOU HY, SUN RF, ZHENG HL. Isolation and

- identification of oat endophytic bacteria YN-J3 and study on its growth promotion and disease control effects[J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2022, 38(2): 447-457 (in Chinese).
- [22] 韩玉竹, 赵建军, 曾兵, 明晓燕, 朱全伟. 多花黑麦草根际解磷菌的分离及解磷能力测定[J]. *草地学报*, 2011, 19(5): 766-770.
HAN YZ, ZHAO JJ, ZENG B, MING XY, ZHU QW. Isolation and the phosphate solubilizing capacity of Italian ryegrass rhizosphere phosphate-solubilizing microorganism[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2011, 19(5): 766-770 (in Chinese).
- [23] 刘悦, 徐伟慧, 王志刚. 大豆根际促生菌的筛选鉴定与促生效应[J]. *浙江农业学报*, 2023, 35(12): 2775-2784.
LIU Y, XU WH, WANG ZG. Screening and identification of soybean rhizosphere growth-promoting bacteria and their growth-promoting effects[J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2023, 35(12): 2775-2784 (in Chinese).
- [24] 朱颖, 姚拓, 李玉娥, 孙红阳. 红三叶根际溶磷菌分离及其溶磷机制初探[J]. *草地学报*, 2009, 17(2): 259-263.
ZHU Y, YAO T, LI YE, SUN HY. Screening of phosphate-solubilizing bacteria and their acting mechanisms in the rhizosphere of red clover[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2009, 17(2): 259-263 (in Chinese).
- [25] 韩晓阳, 周波, 董玉惠, 张丽霞, 侯剑, 向勤程, 黄晓琴. 山东茶园土壤高活性解钾细菌的筛选鉴定及肥效研究[J]. *茶叶科学*, 2018, 38(1): 78-86.
HAN XY, ZHOU B, DONG YH, ZHANG LX, HOU J, XIANG QZ, HUANG XQ. Screening, identification and fertilizer efficiency of potassium bacterium from the soils of tea garden in Shandong[J]. *Journal of Tea Science*, 2018, 38(1): 78-86 (in Chinese).
- [26] 靳海洋, 王慧, 张燕辉, 胡天龙, 林志斌, 刘本娟, 蔺兴武, 谢祖彬. 基于基因组的一株土壤固氮菌分离菌株鉴定及其促生作用[J]. *微生物学报*, 2021, 61(10): 3249-3263.
JIN HY, WANG H, ZHANG YH, HU TL, LIN ZB, LIU BJ, LIN XW, XIE ZB. Genome-based identification and plant growth promotion of a nitrogen-fixing strain isolated from soil[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2021, 61(10): 3249-3263 (in Chinese).
- [27] 易图永, 谢丙炎, 张宝玺, 高必达. 辣椒疫病防治研究进展[J]. *中国蔬菜*, 2002(5): 52-55.
YI TY, XIE BY, ZHANG BX, GAO BD. Research progress on the prevention and control of pepper *Phytophthora capsici*[J]. *China Vegetables*, 2002, (5): 52-55 (in Chinese).
- [28] 邱思鑫, 何红, 阮宏椿, 关雄, 胡方平. 内生芽孢杆菌 TB2 防治辣椒疫病效果及其机理初探[J]. *植物病理学报*, 2004, 34(2): 173-179.
QIU SX, HE H, RUAN HC, GUAN X, HU FP. Biological control of pepper *Phytophthora* blight by endophytic TB2 (*Bacillus* sp.)[J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2004, 34(2): 173-179 (in Chinese).
- [29] BORRISS R. Use of Plant-associated *Bacillus* Strains as Biofertilizers and Biocontrol Agents in Agriculture[M]. *Bacteria in Agrobiolgy: Plant Growth Responses*. Berlin, Heidelberg: Springer, 2011: 41-76.
- [30] 冯宝珍, 李培谦, 刘缙, 杨燕丽, 王晓静. 番茄内生菌的分离鉴定及菌株 FQ-G3 抗病促生特性[J]. *微生物学报*, 2024, 64(1): 208-219.
FENG BZ, LI PQ, LIU J, YANG YL, WANG XJ. Isolation and identification of a tomato endophyte FQ-G3 and its disease-resistant and growth-promoting properties[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2024, 64(1): 208-219 (in Chinese).
- [31] ONGENA M, JOURDAN E, ADAM A, PAQUOT M, BRANS A, JORIS B, ARPIGNY JL, THONART P. Surfactin and fengycin lipopeptides of *Bacillus subtilis* as elicitors of induced systemic resistance in plants[J]. *Environmental Microbiology*, 2007, 9(4): 1084-1090.
- [32] WANG CC, YE XJ, NG TB, ZHANG WJ. Study on the biocontrol potential of antifungal peptides produced by *Bacillus velezensis* against *Fusarium solani* that infects the passion fruit *Passiflora edulis*[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69(7): 2051-2061.
- [33] SCHUBERT M, LINDGREEN S, ORLANDO L. AdapterRemoval v2: rapid adapter trimming, identification, and read merging[J]. *BMC Research Notes*, 2016, 9: 88.
- [34] TANG J, HE JG, LIU TT, XIN XD, HU HZ. Removal of heavy metal from sludge by the combined application of a biodegradable biosurfactant and complexing agent in enhanced electrokinetic treatment[J]. *Chemosphere*, 2017, 189: 599-608.
- [35] NI J, YU L, LI F, LI YL, ZHANG MF, DENG YP, LIU XL. Macrolactin R from *Bacillus siamensis* and its antifungal activity against *Botrytis cinerea*[J]. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 2023, 39(5): 117.
- [36] YUAN WF, RUAN S, QI GF, WANG R, ZHAO XY. Plant growth-promoting and antibacterial activities of cultivable bacteria alive in tobacco field against

- Ralstonia solanacearum*[J]. Environmental Microbiology, 2022, 24(3): 1411-1429.
- [37] CAULIER S, GILLIS A, COLAU G, LICCIARDI F, LIÉPIN M, DESOIGNIES N, MODRIE P, LEGRÈVE A, MAHILLON J, BRAGARD C. Versatile antagonistic activities of soil-borne *Bacillus* spp. and *Pseudomonas* spp. against *Phytophthora infestans* and other potato pathogens[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 143.
- [38] 王麒, 许婧霞, 张亚妮, 孙婧, 张升潮, 王腊, 冯作山, 易菊平, 杨亚珍, 胡洪涛. 贝莱斯芽孢杆菌 (*Bacillus velezensis*) JJYY 防控土传病害效果评价及其全基因组测序分析和抗菌成分鉴定[J]. 微生物学通报, 2024, 51(1): 155-171.
- WANG Q, XU JX, ZHANG YN, SUN J, ZHANG SC, WANG L, FENG ZS, YI JP, YANG YZ, HU HT. *Bacillus velezensis* JJYY against soil-borne diseases: biocontrol effect, whole genome sequencing, and antimicrobial components[J]. Microbiology China, 2024, 51(1): 155-171 (in Chinese).
- [39] 张健, 徐海华. 抗生素类药物临床应用现状及作用机制分析[J]. 中国药物滥用防治杂志, 2023, 29(6): 999-1001, 1011.
- ZHANG J, XU HH. Analysis of clinical application and mechanism of antibiotics[J]. Chinese Journal of Drug Abuse Prevention and Treatment, 2023, 29(6): 999-1001, 1011 (in Chinese).
- [40] 邹菊花. 新安莎 Verransamycins 的定向发现与两株链霉菌的天然产物挖掘[D]. 济南: 山东大学硕士学位论文, 2023.
- ZOU JH. Targeted discovery of verransamycins and natural products mining of two *Streptomyces*[D]. Jinan: Master's Thesis of Shandong University, 2023 (in Chinese).
- [41] 张友旺. 含四环素的有机肥对土壤微生物及小白菜生长的影响[D]. 杨凌: 西北农林科技大学硕士学位论文, 2013.
- ZHANG YW. Effects of tetracycline contained organic fertilizers on soil miceobe and pakchoi growth[D]. Yangling: Master's Thesis of Northwest A&F University, 2013 (in Chinese).
- [42] 柯春林, 任茂生, 王娣, 谢海伟, 黄斌, 赵阳. 黄酮化合物抗菌机理的研究进展[J]. 食品工业科技, 2015, 36(2): 388-391.
- KE CL, REN MS, WANG D, XIE HW, HUANG B, ZHAO Y. Research progress on the antibacterial mechanism of flavonoids[J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(2): 388-391 (in Chinese).
- [43] WU JT, LV SD, ZHAO L, GAO T, YU C, HU JN, MA F. Advances in the study of the function and mechanism of the action of flavonoids in plants under environmental stresses[J]. Planta, 2023, 257(6): 108.