

荔枝霜疫霉拮抗菌资源筛选与功能评价

梁秀贤^{1,2#}, 董红红^{2#}, 邓名荣², 王鹏¹, 朱红惠^{2*}

1 河北科技大学 化学与制药工程学院, 河北 石家庄

2 广东省科学院微生物研究所 华南应用微生物国家重点实验室 农业农村部农业微生物组学与精准应用重点实验室 农业农村部农业微生物组学重点实验室 广东省菌种保藏与应用重点实验室, 广东 广州

梁秀贤, 董红红, 邓名荣, 王鹏, 朱红惠. 荔枝霜疫霉拮抗菌资源筛选与功能评价[J]. 微生物学报, 2026, 66(4): 1747-1763.

LIANG Xiuxian, DONG Honghong, DENG Mingrong, WANG Peng, ZHU Honghui. Screening and functional evaluation of antagonistic bacterial resources against litchi downy blight[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2026, 66(4): 1747-1763.

摘要: 荔枝(*Litchi chinensis* Sonn.)是我国重要的热带、亚热带水果。由荔枝霜疫霉(*Peronophythora litchii* Chen ex Ko et al.)侵染引起的荔枝霜疫病严重危害荔枝的生产和采后贮藏过程, 是我国荔枝产业健康发展的重大威胁。【目的】筛选高效拮抗荔枝霜疫霉的细菌菌株并评价其植物促生潜力, 以丰富荔枝霜疫霉拮抗菌资源库。【方法】采集荔枝根围土壤样品, 采用高通量培养法分离细菌, 基于 16S rRNA 基因序列进行菌株鉴定。采用平板对峙法筛选拮抗荔枝霜疫霉的活性菌株, 并通过功能平板测定评价拮抗菌株的促生功能(溶磷、解钾、固氮、产铁载体、产吡啶乙酸)。【结果】共分离获得细菌 327 株, 其中 92 株对荔枝霜疫霉表现出拮抗活性(菌丝生长抑制率大于 40%, 分离到拮抗菌的阳性率达 28.13%)。这些拮抗菌株系统发育多样, 涵盖 4 门[主要为芽孢杆菌门(*Bacillota*)和假单胞菌门(*Pseudomonadota*)] 6 纲 12 目 20 科 42 属, 其中芽孢杆菌属(*Bacillus*)和类芽孢杆菌属(*Paenibacillus*)为优势属。对 92 株拮抗菌的促生功能评价显示: 55 株菌(占 59.8%)具备至少一种促生能力; 30 株菌(占 32.6%)同时具备 3 种以上促生能力。综合拮抗活性和促生功能, 发现兼具抗病和促生功能的短芽孢杆菌属(*Brevibacillus*)的菌株 T101、4 株类芽孢杆菌属(*Paenibacillus*)的菌株(T431、T270、T327 和 T234a), 及副伯克霍尔德氏菌属(*Paraburkholderia*)的菌株 R116b 是最具生防应用潜力的菌株。【结论】本研究成功筛选出多株兼具拮抗荔枝霜疫霉活性与多种促生功能(溶磷、解钾、固氮、产铁载体、产吡啶乙酸)的细菌菌株, 为荔枝霜疫病的绿色防控及荔枝生态友好型种植体系的构建提供了宝贵的微生物资源。

关键词: 荔枝; 荔枝霜疫霉; 荔枝霜疫病; 拮抗菌

资助项目: 广东特支计划(NYQN2025010); 广州市科技计划(2023E04J0947); 广东省种业振兴行动专项资金项目(2022-440000-43010104-9463); 广东省自然科学基金(2024A1515011067)

This work was supported by the Guangdong Special Support Program (NYQN2025010), the Guangzhou Science and Technology Plan (2023E04J0947), the Guangdong Seed Industry Revitalization Project (2022-440000-43010104-9463), and the Natural Science Foundation of Guangdong Province (2024A1515011067).

[#]These authors contributed equally to this work.

*Corresponding author. E-mail: zhuhh_gdim@163.com

Received: 2025-09-09; Accepted: 2025-12-02; Published online: 2025-12-16

Screening and functional evaluation of antagonistic bacterial resources against litchi downy blight

LIANG Xiuxian^{1,2#}, DONG Honghong^{2#}, DENG Mingrong², WANG Peng¹, ZHU Honghui^{2*}

1 School of Chemical and Pharmaceutical Engineering, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang, Hebei, China

2 State Key Laboratory of Applied Microbiology Southern China, Key Laboratory of Agricultural Microbiomics and Precision Application (MARA), Key Laboratory of Agricultural Microbiome (MARA), Guangdong Provincial Key Laboratory of Microbial Culture Collection and Application, Institute of Microbiology, Guangdong Academy of Sciences, Guangzhou, Guangdong, China

Abstract: Litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) is one of the important tropical and subtropical fruits in China. However, litchi downy blight caused by the infection of *Peronophythora litchii* (*Peronophythora litchii* Chen ex Ko et al.) a severe disease damaging litchi during production, storage, and transportation, seriously threatening the healthy development of China's litchi industry. **[Objective]** We screened effective antagonistic bacteria against *P. litchii* and evaluated their plant growth-promoting potential, aiming to enrich the resources of antagonistic bacteria against *P. litchii*. **[Methods]** Soil samples from the litchi rhizosphere were collected, and the bacteria in the samples were isolated through a high-throughput isolation and culture method. The strains were identified by means of 16S rRNA gene sequence analysis. The antagonistic strains against *P. litchii* were screened *via* the plate confrontation method, and the plant growth-promoting functions [phosphorus solubilization, potassium solubilization, nitrogen fixation, siderophore secretion, and indole-3-acetic acid (IAA) production] of the antagonistic strains were further evaluated through functional plates. **[Results]** A total of 327 bacterial strains were isolated in this study, among which 92 (28.13%) strains were identified as antagonists (with mycelial growth inhibition rates >40%) against *P. litchii*. These antagonistic strains belonged to 4 phyla, 6 classes, 12 orders, 20 families, and 42 genera, with *Bacillota* and *Pseudomonadota* being the dominant phyla, and *Bacillus* and *Paenibacillus* as the dominant genera. Functional evaluation of the 92 antagonistic strains revealed that 55 (59.8%) strains exhibited more than one plant growth-promoting function, while 30 (32.6%) strains possessed three or more such functions. Through comprehensive evaluation of antagonistic activity and plant growth-promoting functions, one *Brevibacillus* strain T101, four *Paenibacillus* strains (T431, T270, T327, and T234a), and one *Paraburkholderia* strain R116b were identified as the most promising strains for biocontrol applications. **[Conclusion]** Multiple antagonistic strains against *P. litchii*, with functions of phosphorus solubilization, potassium solubilization, nitrogen fixation, siderophore secretion, and IAA production, are screened out, which provides efficient strain resources for the green control of litchi downy blight.

Keywords: *Litchi chinensis* Sonn.; *Peronophythora litchii*; litchi downy blight; antagonistic strains

荔枝(*Litchi chinensis* Sonn.)作为广东省最具特色与优势的亚热带水果产业,在促进农民增收和推动乡村振兴中发挥着关键作用^[1-2]。随着市场需求的持续增长,荔枝种植规模不断扩大,种植年限也相应延长。然而,这一发展趋势也导致荔枝病害日益加剧,严重制约了产业的健康发展,其中以荔枝霜疫病、炭疽病、灰霉病等最为常见^[3-4]。

荔枝霜疫病(litchi downy blight)是由病原卵菌荔枝霜疫霉(*Peronophythora litchii*)侵染引起的,是荔枝在采前、采后贮藏及运输过程中最严重的病害,其影响范围不仅局限于近熟果实,还会扩展至叶片、嫩梢、花穗等多个部位^[5]。该病在流行年份可导致减产高达80%,造成巨大经济损失^[6],已成为危害荔枝产业最具毁灭性的病害之一。荔枝霜疫霉适应性极强,可在果园土壤中存活16个月。一旦环境条件适宜,病原菌能迅速完成侵染循环,从孢子萌发到病症显现不足24h,使得传统化学防治的窗口期极为短暂^[7]。目前,荔枝产业普遍依赖化学杀菌剂,但长期使用不仅会导致病原菌抗药性增强,还会引发农药残留超标及生态平衡破坏等日益突出的问题。

利用拮抗微生物进行植物病害生物防治,因其具有环境友好、无污染的优势,已成为替代或辅助传统化学防治的有效策略,符合现代农业可持续发展的核心理念。因此发展安全、高效且环境友好的绿色防控技术是保障荔枝产业可持续发展的迫切需求。微生物是荔枝霜疫病生防资源的一大宝库,但受限于分离培养技术,迄今发现的荔枝霜疫霉拮抗菌仍较为有限^[8]。已报道的拮抗菌主要以芽孢杆菌属(*Bacillus* sp.)为主,其中枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*) BS-2和TL2、解淀粉链芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*) PP19和LI24、短小芽孢杆菌(*B. pumilus*) PI26及地衣芽孢杆菌(*B. licheniformis*) HS10等可作为荔枝霜疫霉的生防细菌^[9-10],其中TB2和BS-2菌液抑制率可达60%以上^[10]。此

外,乙酰微小杆菌(*Exiguobacterium acetylicum*) SI17、多粘类芽孢杆菌(*Paenibacillus polymyxa*) CP7及发光杆菌(*Photobacterium* sp.) 1029等生防细菌对荔枝霜疫霉也有显著抑制作用^[2]。目前,尚未有研究对一份荔枝根围土壤样品中的所有拮抗微生物进行系统分离鉴定,因此对土壤中拮抗微生物的组成与多样性认识较为有限。

在微生物资源发掘研究中,分离培养是解析微生物群落组成及结构的重要方法,主要包括传统的分离培养和基于培养组学(culturomics)技术的分离手段^[11-12]。传统方法通过稀释涂板或使用选择性培养基分离微生物,经纯化获得单菌落后,依据形态学特征进行筛选和初步鉴定^[13]。该方法虽然具有快速、简便、易操作等优点且应用广泛,但也存在显著局限:其筛选过程主要依赖主观形态判断,易导致形态相似菌株的遗漏或对快速生长菌株的重复挑取,从而大幅增加研究工作量。研究表明,传统方法可能仅能分离出植物根际0.1%-10%的微生物,难以高效获取目标功能菌株^[13]。近年来,高通量培养组学技术的兴起为微生物分离提供了新思路。该方法通过设计多种培养条件与方法,结合96孔板高通量培养模式,对微生物进行大规模分离,并利用16S rRNA基因测序技术进行精准鉴定,显著提升了对细菌资源的获取能力与鉴定水平^[12]。

本研究采用高通量培养组学技术对一份荔枝根围土壤样品中的微生物进行分离,通过平板对峙培养法筛选对荔枝霜疫霉具有显著拮抗活性的生防菌株,利用功能平板系统评价拮抗菌株的植物促生性能,发掘兼具抗病与促生功能的优良微生物资源,以为荔枝产业的绿色、可持续发展提供核心菌株支撑。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品采集

细菌高通量分离试验所用的土壤样品于

2024年8月3日采集自广东省广州市华南农业大学荔枝资源圃(23°09'35.1756"N, 114°21'14.1156"E)。样地的土壤有机质、全氮、全磷、全钾含量分别为 12.47、0.36、0.48、17.43 g/kg, pH 5.89。采集前, 选择 3 棵长势一致的健康桂味荔枝 (*Litchi chinensis* Sonn.) 树作为生物学重复, 清除地表可见的石块和凋落物, 每棵树采用五点取样法用不锈钢土钻采集根围距离地表 8–15 cm 处的土壤, 5 钻混合为一份样品。样品过 2 mm 筛后充分混匀, 装入采样袋中于 4 °C 冰盒运输带回实验室用于细菌的分离。

1.1.2 主要试剂和仪器

PCR 扩增所用 *Taq* 酶, 南京诺唯赞生物科技股份有限公司; 细菌高通量分离培养和鉴定所用的第一轮和第二轮 PCR 引物及细菌 16S rRNA 基因鉴定通用引物 27F (5'-AGAGTTGATCCTGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-GGTTACCTGTTACGACTT-3') 均由安升达(南京)生命科学技术有限公司合成。

PCR 仪, 赛默飞世尔科技(中国)有限公司; 超净工作台, 苏州安泰空气技术有限公司; 生化培养箱, 天津市泰斯特仪器有限公司。

1.1.3 培养基

胡萝卜(carrot agar, CA)培养基参照赵冉^[1]的方法配制。R2A 培养基、无机磷细菌培养基、有机磷细菌培养基、无氮培养基、固氮菌用阿须贝氏培养基、M1997 培养基和 CAS 检测培养基均购自 Hopebio 公司。胰蛋白胨大豆肉汤培养基、营养肉汤培养基购自广东环凯微生物科技有限公司。CAS 检测液购自北京酷来搏科技有限公司; Salkowski 比色液: 50 mL 35% 的 HClO₄, 1 mL 0.5 mol/L FeCl₃, pH 7.4; 碱性裂解液: 25 mmol/L NaOH, 0.2 mmol/L Na₂-EDTA, pH 12.0; 中和缓冲液: 40 mmol/L Tris-HCl, pH 7.5。

1.2 荔枝根围土壤细菌高通量分离培养和鉴定

荔枝根围土壤细菌高通量分离培养和鉴定参考

Zhang 等^[14]的植物根系细菌高通量分离培养和鉴定方法, 主要流程如下: 首先通过梯度稀释法确定荔枝根围土壤样品的最适稀释浓度, 然后进行细菌的高通量培养(48 个 96 孔板), 进一步通过碱裂解法提取所有孔对应细菌的 DNA, 利用未标记的引物 799F (5'-AACMGATTAGATACCCCKG-3') 和 1193R (5'-ACGTCATCCCCACCTTCC-3') 进行第一轮 PCR 扩增。PCR 反应体系 (20 μL): Green *Taq* Mix (p131) 10 μL, 上、下游引物 (10 μmol/L) 各 0.9 μL, DNA 模板 3 μL, ddH₂O 5.2 μL。PCR 反应条件: 95 °C 预变性 3 min; 95 °C 变性 15 s, 55 °C 退火 15 s, 72 °C 延伸 15 s, 共 35 个循环; 72 °C 终延伸 5 min。完成第一轮 PCR 扩增后, 对 PCR 产物进行 120 倍稀释作为第二轮 PCR 的模板, 采用双侧标签 PCR 扩增法进行第二轮 PCR 扩增, 以添加孔和板的标签, 所用的 48 对带标签(barcode)和测序接头的引物参照 Zhang 等^[14]的报道。PCR 反应体系 (20 μL): Green *Taq* Mix (p131) 10 μL, 上、下游引物 (10 μmol/L) 各 1.5 μL, DNA 模板 1.5 μL, ddH₂O 5.5 μL。PCR 反应条件: 95 °C 预变性 3 min; 95 °C 变性 15 s, 55 °C 退火 15 s, 72 °C 延伸 15 s, 共 35 个循环; 72 °C 终延伸 5 min。最后将第二轮 PCR 每块板 (共 48 块) 的 96 个 PCR 产物混合为 1 个样品, 共计获得 48 个样品进行琼脂糖电泳分析, 切胶回收大小为 500 bp 的条带进行纯化, 并通过 NanoDrop 测定样品浓度。每个样品按照 100 ng 进行合并建库, 合并后的样品送上海美吉生物医药科技有限公司进行 Illumina 测序。

测序结果的生物信息学分析采用刘永鑫等^[15]开发的培养组学生物信息分析流程 Culturome (<http://bailab.genetics.ac.cn/culturome>) 和编写的 R 脚本进行。依次进行样本信息的编写、双端序列的合并、引物切除、基于 unoise3 算法去噪构建扩增子序列变体 (amplicon sequence variant, ASV) 表、基于 RDP 训练集建物种注释表等分析。

对测序结果分析后得到带有注释信息的选

菌表, 每一个 ASV 选取 1-3 个孔接种在 1/2 TSB 平板上进行反复纯化。利用碱性裂解液提取细菌 DNA, 利用通用引物 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-GGTTACCTTGTACGACTT-3') 进行 16S rRNA 基因扩增。PCR 反应体系 (25 μ L): Green *Taq* Mix (p131) 12.5 μ L, 上、下游引物 (10 μ mol/L) 各 1 μ L, DNA 模板 2 μ L, ddH₂O 8.5 μ L。PCR 反应条件: 95 $^{\circ}$ C 预变性 3 min; 95 $^{\circ}$ C 变性 15 s, 56 $^{\circ}$ C 退火 15 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 90 s, 共 35 个循环; 72 $^{\circ}$ C 终延伸 5 min。PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳检测后送至苏州金唯智生物科技有限公司进行 Sanger 测序。测序得到 27F 和 1492R 的两端序列, 用 DNAMAN 软件进行序列拼接, 获得 16S rRNA 基因全长序列, 最后通过 EzBioCloud (<https://www.ezbiocloud.net/>) 数据库^[16]对分离细菌的进行比对鉴定, 初步确定菌株的分类信息。

1.3 分离菌株对荔枝霜疫霉的拮抗活性筛选

1.3.1 荔枝霜疫霉菌株活化

取保存于试管的供试菌株, 用灭菌后的竹签将其移植到胡萝卜培养基平板上, 25 $^{\circ}$ C 培养 3 d。待生长出新的菌落后, 在菌落边缘切取菌丝块转移到新的胡萝卜培养基平板上培养, 获得生命力较强的新鲜菌落。

1.3.2 拮抗活性测定

采用平板对峙培养法^[17]测定荔枝根围土壤分离细菌对荔枝霜疫霉的拮抗活性。具体做法为: 用打孔器在新鲜培养的荔枝霜疫霉平板的菌落边缘打取直径为 8 mm 的菌饼, 放置于新鲜的胡萝卜培养基平板中心, 用接种针蘸取活化于 TSA 培养基中的候选拮抗菌菌液, 在距离菌饼 2.5 cm 处划线, 以只接荔枝霜疫霉的平板作为对照, 所有平板在 25 $^{\circ}$ C 下培养 7 d 后, 拍摄菌落生长照片并测量病原菌生长直径。菌丝生长抑制率的计算如公式(1)所示。

菌丝生长抑制率=(对照组菌丝生长量-拮抗菌处理组菌丝生长量)/对照组菌丝生长量 \times 100%^[4] (1)

1.4 高效荔枝霜疫霉拮抗菌株的抑菌机制研究

采用乙酸乙酯提取法对高效拮抗菌株的活性产物进行粗分离: 挑取新鲜活化的菌落接入 TSB 培养基中, 28 $^{\circ}$ C、200 r/min 培养 24 h 得种子液; 按 5% 接种量分别吸取种子液到 TSB 培养基中, 于 28 $^{\circ}$ C、200 r/min 摇床发酵 7 d。发酵液 8 000 r/min 离心 10 min 收集上清液, 上清液在室温下加入等体积乙酸乙酯混合摇匀, 静置 5-10 min 待上清液澄清后, 收集上层乙酸乙酯层溶液, 重复以上操作 3 次, 将有机相溶液旋干, 称重, -20 $^{\circ}$ C 保存。

用 DMSO 将粗提物溶解为浓度 100 mg/mL 的溶液, 用 0.22 μ m 滤膜过滤, 将荔枝霜疫霉菌原菌饼放在平板中间, 周边四孔分别加入 100 μ L 样品, 以加入无菌水作为对照, 25 $^{\circ}$ C 培养 5 d, 观察抑菌效果。

1.5 高效拮抗菌株的基因组测序及代谢潜能分析

高效拮抗菌株的基因组 DNA 采用细菌基因组 DNA 提取试剂盒 (Magen 公司) 进行提取, 经 16S rRNA 基因扩增验证正确后, 由上海美吉生物医药科技有限公司完成基因组测序、双端文库构建和 Illumina HiSeq 2500 测序。下机数据利用 SPAdes (v3.13.0) 软件^[18]进行基因组序列拼接组装。通过 antisMASH 6.0^[19]利用默认参数对高效拮抗菌株的基因组序列进行分析, 预测可能的次级代谢产物生物合成基因簇 (biosynthetic gene clusters, BCGs), 评估菌株的次级代谢产物合成能力。

1.6 荔枝霜疫霉拮抗菌株的促生功能测定

荔枝霜疫霉拮抗菌株的促生功能测定根据 Wang 等^[20]的研究方法进行: 将活化好的菌株挑单菌落分别点在无机磷细菌培养基、有机磷细菌培养基、无氮培养基、固氮菌用阿须贝氏培

培养基、M1997 培养基和 CAS 检测培养基的四周，倒置于 30 °C 培养箱培养 8 d，若细菌周围出现透明圈表明菌株具有解磷、固氮或解钾能力，透明圈越大表示菌株解磷、固氮或解钾能力越强。菌株的产铁载体能力则通过培养基是否出现橘黄色晕圈来判断，晕圈越大代表产铁能力越强。

菌株产吲哚-3-乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)的定量测定采用 Salkowski 比色法^[21]，具体做法为：将菌株的种子液 12 000 r/min 离心 5 min，取 50 μL 上清液于 96 孔板中，同时加入 50 μL Salkowski 比色液，孔板于室温避光放置 30 min 后，用酶标仪测 OD_{530} 的吸光值，以加入 50 μL 50 mg/L 的 IAA 标准品作为阳性对照。

菌株产铁能力的定量测定采用 CAS 检测法进行^[22]，具体做法为：取 100 μL 菌株上清液于 96 孔板中，加入 100 μL CAS 检测液混合均匀，静置 1 h 后，酶标仪测定 OD_{630} 的吸光值记为 A_s ，分别取 100 μL 的无菌水与 CAS 等体积混合，测定 OD_{630} 的吸光值记为 A_r ，菌株产生的铁载体量根据公式(2)计算，计算结果小于 10%，则认为铁载体分泌为阴性。

$$\text{铁载体量}=(A_r-A_s)/A_r\times 100\% \quad (2)$$

2 结果与分析

2.1 荔枝根围土壤中可培养细菌的高通量分离

在对荔枝根围土壤样品进行高通量培养时，预实验发现稀释倍数为 222 倍的 96 孔板中约有 30% 的孔变浑浊，因此确定 222 倍为最佳稀释浓度。培养 2 周后，对 48 个 96 孔板中的细菌进行鉴定，通过对所测得的细菌种类分析发现，随着测序量的增加，培养细菌的 ASV 序列逐渐增加，并趋于平缓，表明设置的稀释倍数合理，在此范围内有足够多的细菌被分离得到(图 1A)。本研究经过双侧标签 PCR 扩增建库、三代测序以及基于 Culturome v1.0 的生物信息学分析，共

鉴定到 827 个 ASVs。通过整合每个孔中 ASV 对应的测序量、纯度、ASV 编号和物种注释，最终获得了可分离的 460 个 ASVs 信息。在门水平上，培养细菌的 ASVs 主要属于芽孢杆菌门(*Bacillota*)、假单胞菌门(*Pseudomonadota*)、放线菌门(*Actinomycetota*)和拟杆菌门(*Bacteroidota*) (图 1B)。

对应培养组学鉴定的结果和每个孔的纯度对菌株进行活化与纯化鉴定，共得到 327 株菌，这些菌株分布于 5 门 8 纲 22 目 38 科 92 属(图 2)，其中，芽孢杆菌门(*Bacillota*)占据主导地位，共有 135 株，其次为假单胞菌门(*Pseudomonadota*)，有 127 株，再次为放线菌门(*Actinomycetota*)，有 57 株，拟杆菌门(*Bacteroidota*)和出芽单胞菌门(*Gemmatimonadota*)最少，分别为 7 株和 1 株(图 2A)。在科水平上，微杆菌科(*Paenibacillaceae*)分离菌株最多，共 65 株，占比 19.9%，其次为芽孢杆菌科(*Bacillaceae*)、伯克氏菌科(*Burkholderiaceae*)和微球菌科(*Micrococcaceae*)，占比分别为 18.3%、9.2% 和 7.6%(图 2B)。在属分类水平上，优势属为类芽孢杆菌属(*Paenibacillus*)，共分离出 48 株，占比 14.7%，其次为假单胞菌属(*Pseudomonas*)和芽孢杆菌属(*Bacillus*)，占比分别为 6.7% 和 5.5%。

进一步分析发现，分离的 327 株细菌中包含潜在新物种 90 株，占比 27.5%，这些潜在新物种分布在 5 门 8 纲 14 目 20 科 39 属中。其中，类芽孢杆菌属(*Paenibacillus*)菌株的占比最高，有 25 株，其次为科恩氏菌属(*Cohnella*)，有 10 株，再次为节杆菌属(*Arthrobacter*)和副伯克霍尔德氏菌属(*Paraburkholderia*)，分别有 6 株和 4 株(图 3)。

2.2 荔枝霜疫霉拮抗菌资源筛选及分类情况

采用平板对峙法对分离的 327 株细菌进行拮抗荔枝霜疫霉的试验，以菌丝生长抑制率 $\geq 40\%$ 为筛选标准，共筛选到 92 株拮抗菌株，这些拮抗菌分布在 4 门 6 纲 12 目 20 科 42 属中(图 4)。在门水平上，芽孢杆菌门(*Bacillota*)和假

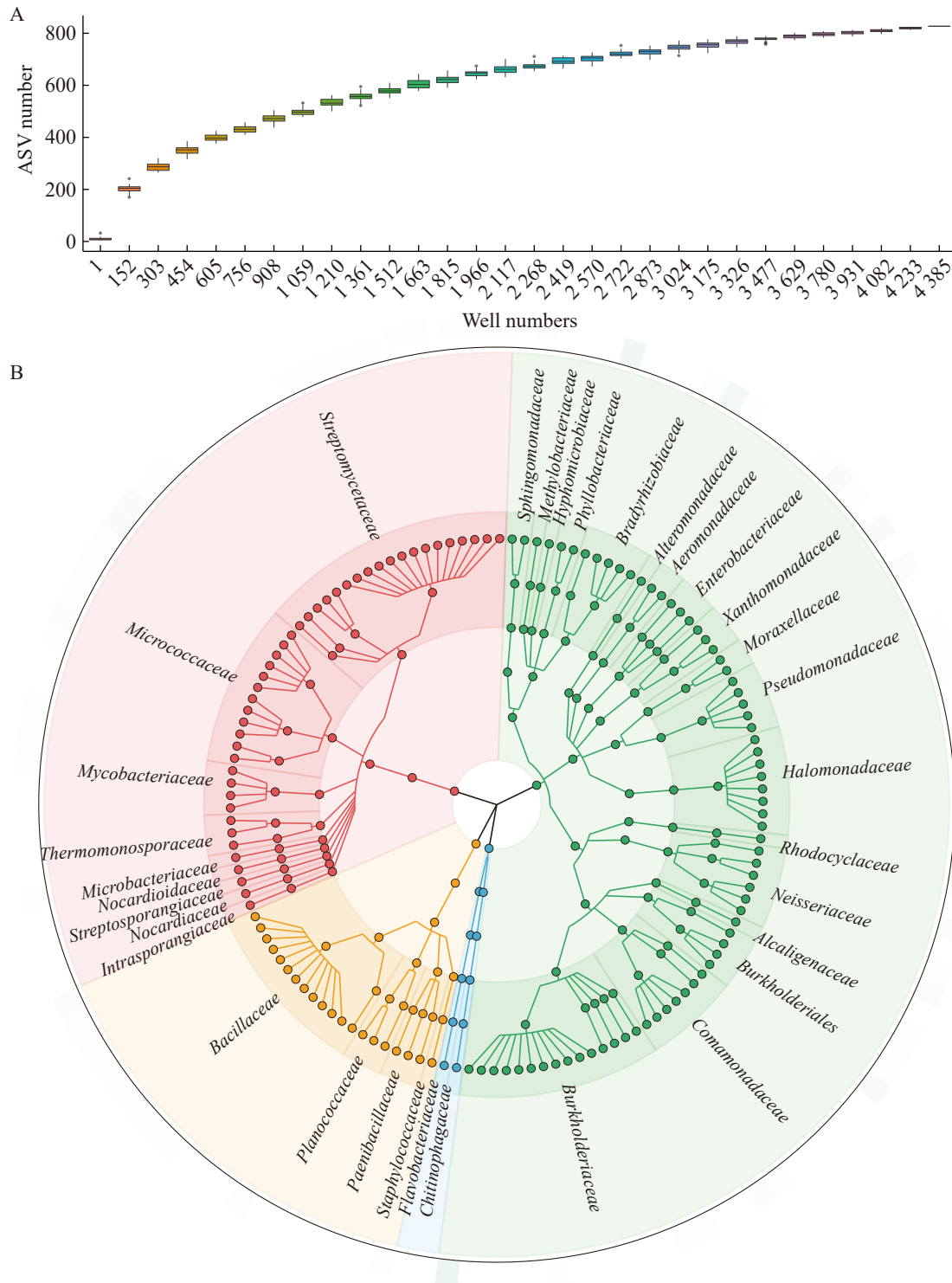


图1 荔枝根围土壤细菌培养的4 608个孔(48板)的测序分析结果

Figure 1 Sequencing analysis results of 4 608 wells (48 plates) from bacterial cultures in litchi rhizosphere soil.

A: Dilution boxplot illustrating the relationship between sequence diversity and total abundance of isolates;

B: The species tree diagram shows the distribution of cultivated bacteria across species.

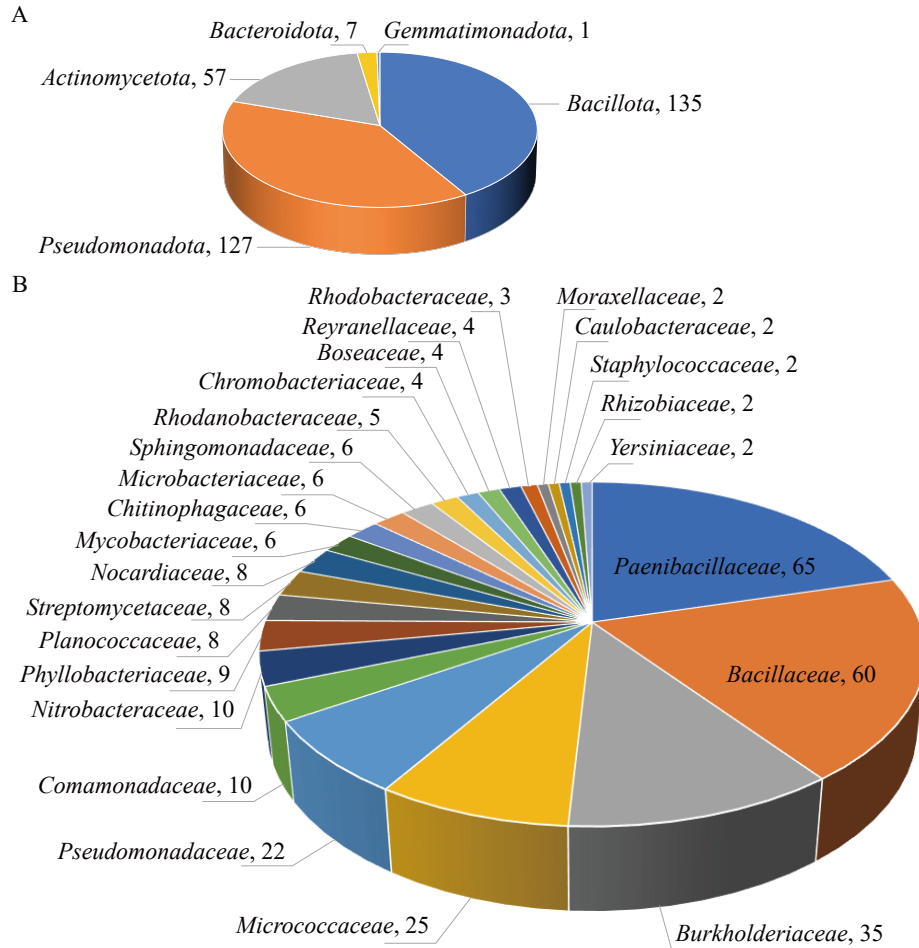


图2 327株荔枝根围土壤分离细菌在门水平(A)和科水平(B)的分类分布情况

Figure 2 The taxonomic distribution of 327 bacteria isolated from the rhizosphere soil at the phylum level (A) and family level (B).

单胞菌门(*Pseudomonadota*)为优势门, 分别有34株和33株, 其次是放线菌门(*Actinomycetota*), 有23株, 拟杆菌门(*Bacteroidota*)最少, 仅有2株(图4A)。在属水平上, 芽孢杆菌(*Bacillus*)和类芽孢杆菌(*Paenibacillus*)为优势属, 分别有11株和8株, 其次是伯克霍尔德氏菌属(*Burkholderia*), 有7株(图4B)。

对筛选到的92株荔枝霜疫霉拮抗菌株进行拮抗活性比较, 发现菌丝生长抑制率最高的为耐盐短芽孢杆菌(*Brevibacillus halotolerans*) T101, 达74.83%, 其次为4株类芽孢杆菌属的细菌, 分别为克里布所类芽孢杆菌(*Paenibacillus*

kribbensis) T431、污染类芽孢杆菌(*Paenibacillus contaminans*) T270、法拉珀类芽孢杆菌(*Paenibacillus farraposensis*) T327和克里布所类芽孢杆菌(*Paenibacillus kribbensis*) T234a(图5), 菌丝生长抑制率在72.56%–73.92%之间; 进一步分析了5株拮抗菌的无细胞发酵上清液(cell-free fermentation supernatant, CF)、加热处理后的无细胞发酵上清液(heat-treated cell-free supernatant, HCF)及乙酸乙酯萃取的粗提取物(ethyl acetate crude extract, EACr)对荔枝霜疫霉的拮抗活性, 发现5株菌的CF、HCF及EACr均对荔枝霜疫霉表现出显著的抑菌活性, 其中法拉珀类芽孢

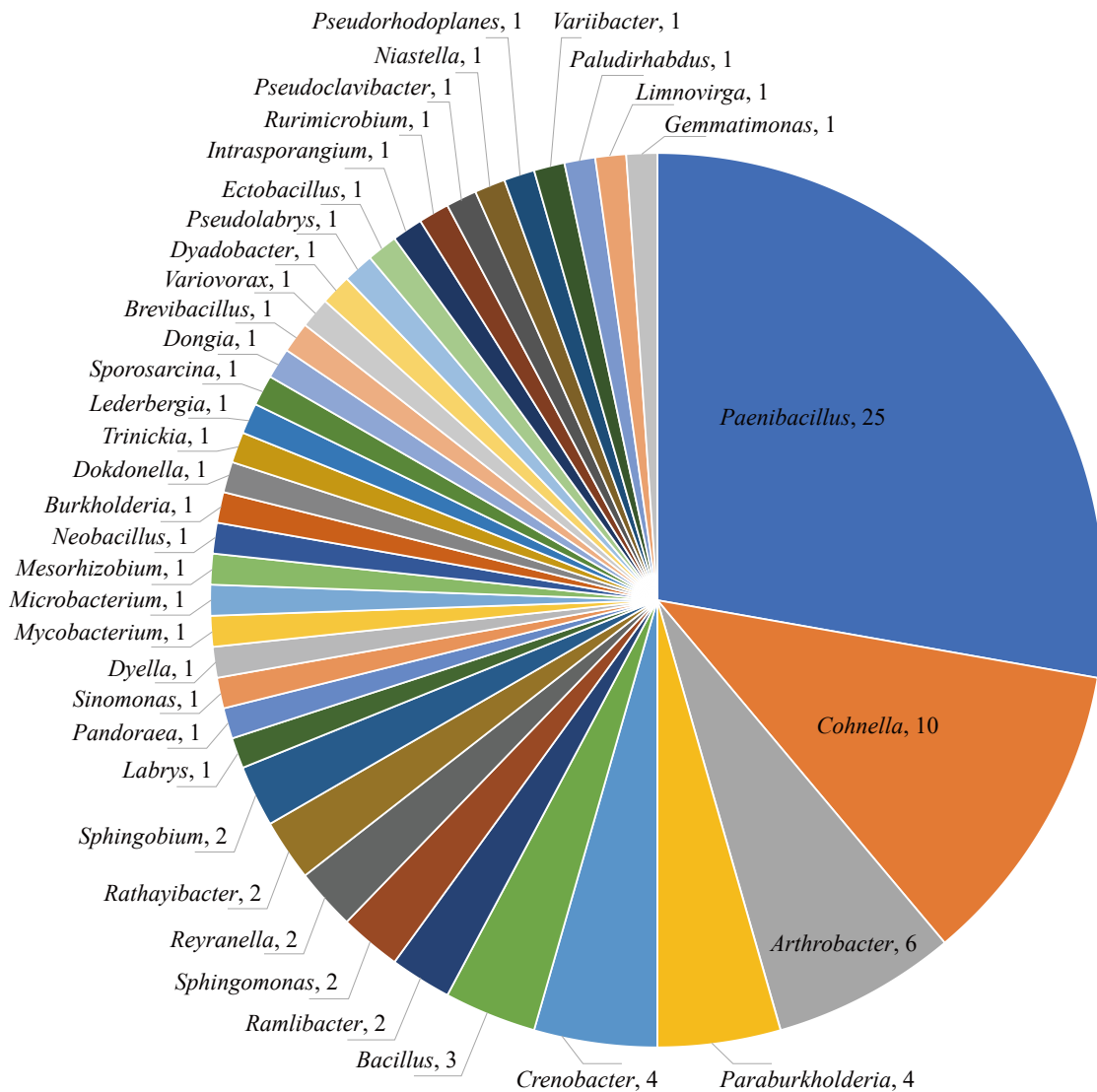


图3 90株潜在新种在属水平上的分布情况

Figure 3 Distribution of 90 potential novel species strains at the genus level.

杆菌(*P. farraposensis*) T327 和克里本类芽孢杆菌(*P. kribbensis*) T234a 的 HCF 的抑菌活性弱于 CF (图 5), 这表明其拮抗活性物质中还存在一些非蛋白类的次级代谢产物。EACr 活性测定结果显示耐盐短芽孢杆菌(*B. halotolerans*) T101 和法拉珀类芽孢杆菌(*P. farraposensis*) T327 的粗提物对荔枝霜疫霉表现出最强的抑菌活性(图 5), 暗示其基因组中可能含有高效的抑菌活性物质, 可作为新型活性物质分离的备选菌株。

2.3 高效拮抗菌株活性次级代谢产物分析

对 5 株高效菌株进行了全基因组测序分析, 并预测了各菌株基因组中的次级代谢产物生物合成基因簇(BGCs)。如表 1 所示, 发现耐盐短芽孢杆菌(*B. halotolerans*) T101 基因组中的 BGCs 总数最多, 共鉴定出 16 种不同类型的 BGCs, 其基因组覆盖率达 24.38% (表 1), 远高于其他菌株, 突出其强大的次级代谢物合成潜力。该菌株的 BGCs 类型丰富, 主要包括非核糖

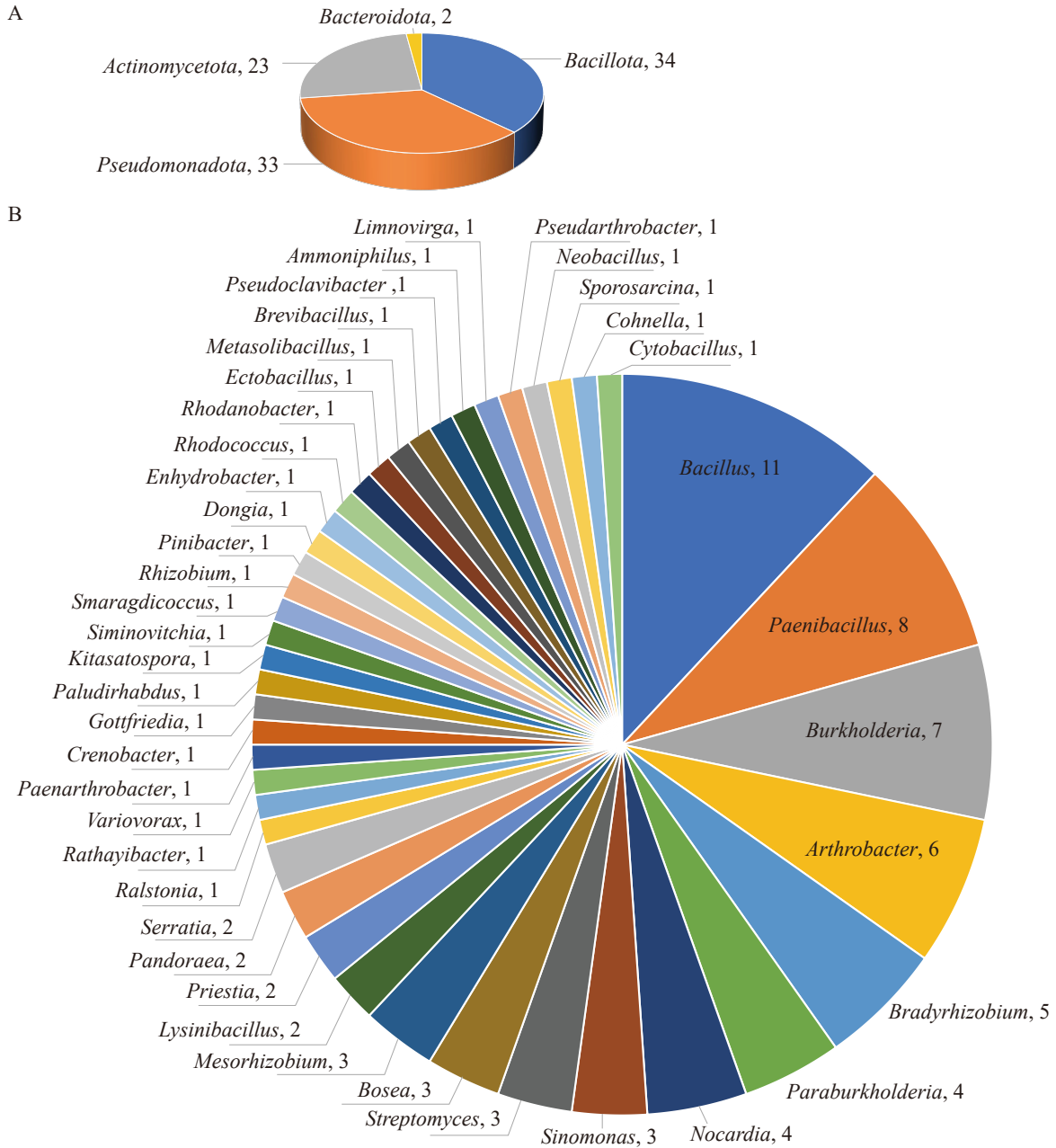


图4 荔枝根围土壤分离得到的拮抗菌在门水平(A)和属水平(B)的分类分布情况

Figure 4 The taxonomic distribution of antagonistic bacteria isolated from the rhizosphere soil of litchi at the phylum level (A) and genus level (B).

体多肽(non-ribosomal peptide synthetase, NRPS)、III型聚酮合酶(type III polyketide synthetase, T3PKS)、反式酰基转移酶-聚酮合酶(*trans*-acyltransferase polyketide synthase, *trans*AT-PKS)、I型聚酮合酶(type I polyketide synthase, T1PKS)、

萜烯(terpene)、类聚酮合酶(polyketide synthase-like enzyme, PKS-like)、RiPP前体识别元件(RiPP recognition element-containing protein, RRE-containing)、磷酸酯(phosphonate)、环内酯自诱导物(cyclic-lactone-autoinducer)、类非核糖体

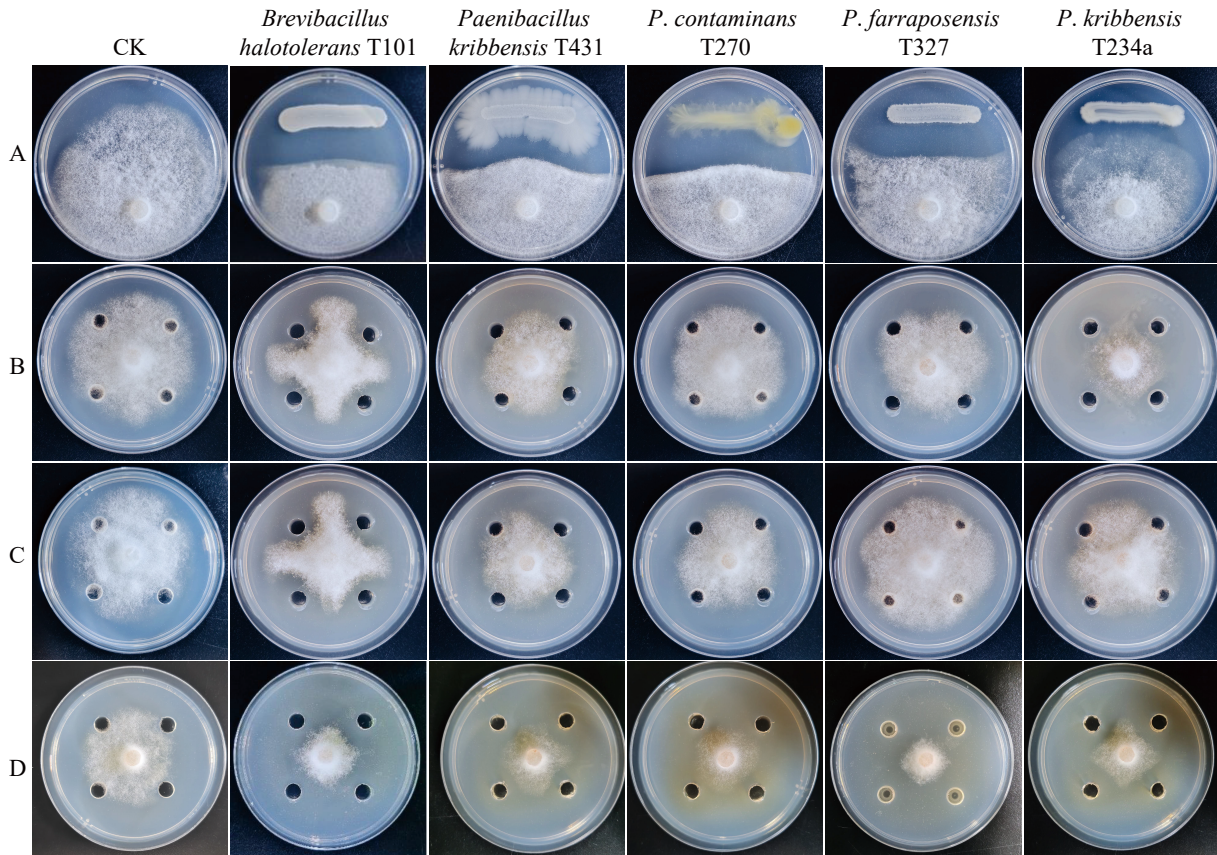


图5 五株高活性拮抗菌对荔枝霜疫霉的拮抗活性分析

Figure 5 Analysis of the antagonistic activity of five highly active antagonistic bacteria against *Peronophythora litchi*. A: Bacterial suspension; B: Cell-free fermentation supernatant; C: Cell-free fermentation supernatant heated at 100 °C; D: Crude extract of active substances obtained by ethyl acetate extraction.

肽合成酶(NRPS-like)、NRPS 非依赖性铁载体(NRPS-independent siderophore, NI-siderophore)、含唑类的核糖体合成和翻译后修饰肽(azole-containing ribosomally synthesized and post-translationally modified peptide, azole-containing-RiPP)、萜类前体(terpene-precursor)等。克里布所类芽孢杆菌(*P. kribbensis*) T431 含有 11 种 BGCs, 覆盖率为 9.54%; (*P. contaminans*) T270 的 BGCs 种类最少(7 个), 覆盖率仅为 2.71%; 法拉珀类芽孢杆菌(*P. farraposensis*) T327 和克里布所类芽孢杆菌(*P. kribbensis*) T234a 均有 12 种 BGCs, 覆盖率分别为 11.65% 和 11.23%。值得注意的是, 在 5 株高效拮抗菌株的次级代谢产

物分析预测结果中均预测到了非核糖体多肽(NRPS)、萜烯(terpene)、环内酯自诱导物(cyclic-lactone-autoinducer), 反映了这些拮抗菌株中普遍存在编码合成这些次级代谢产物的关键基因。

2.4 荔枝霜疫霉拮抗菌株的促生功能评价

通过功能平板对上述筛选到的 92 株荔枝霜疫霉拮抗菌进行了产 IAA、产铁载体、溶解有机磷、溶解无机磷、解钾和固氮等功能的评价, 结果发现 55 株拮抗菌具备至少一种促生能力, 占比 59.8%, 而具有 3 种以上促生能力的拮抗菌株有 30 株(图 6), 其中一株斯泰恩氏副伯克霍尔德氏菌(*Paraburkholderia steynii*) R116b 同时具有 6 种促生功能, 一株褪色沙雷氏菌(*Serratia*

表1 五株高活性拮抗菌基因组中生物合成基因簇的数量、分布及覆盖范围

Table 1 The number, distribution, and coverage of biosynthetic gene clusters across five antagonistic bacteria against *Peronophythora litchii*

Strains	Biosynthetic gene clusters	Coverage (%)
<i>B. halotolerans</i> T101	NRPS 5; T3PKS 1; transAT-PKS, NRPS 1; NRPS, transAT-PKS 1; NRPS, T1PKS, terpene 1; transAT-PKS, T3PKS, PKS-like 1; RRE-containing 2; transAT-PKS 1; Phosphonate 1; Cyclic-lactone-autoinducer 2; NRPS, NRPS-like 1; NI-siderophore 1; Azole-containing-RiPP 1; RiPP-like 1; NRPS, NRP-metallophore 1; NRPS-like, terpene-precursor 1	24.38
<i>P. kribbensis</i> T431	RRE-containing 2; Terpene-precursor 2; Terpene 2; Cyclic-lactone-autoinducer 2; NRPS 3; NI-siderophore 1; NRPS-like 1; NRP-metallophore, NRPS 1; Lasso peptide 1; Proteusin 1; Phosphonate 1	9.54
<i>P. contaminans</i> T270	Terpene-precursor, RRE-containing 1; Terpene-precursor 4; Terpene 2; Azole-containing-RiPP 2; Proteusin 1; RRE-containing 1; Ectoine 1	2.71
<i>P. farraposensis</i> T327	Terpene-precursor 2; Terpene, RiPP-like 1; NRPS-like 1; Phosphonate 1; Ranthipeptide 1; Proteusin 1; Lasso peptide 1; NRPS 5; Cyclic-lactone-autoinducer 4; RRE-containing 1; Terpene 1; NI-siderophore 1	11.65
<i>P. kribbensis</i> T234a	Terpene-precursor 2; Terpene 2; Cyclic-lactone-autoinducer 2; NRPS 5; NI-siderophore 1; NRPS-like 1; NRP-metallophore, NRPS 1; Lasso peptide 1; Proteusin 1; Phosphonate 1; RRE-containing 1; transAT-PKS, NRPS 1	11.23

marcescens) T307b 同时具有 5 种促生功能。此外, 本研究还筛选到了一些能够高效溶解有机磷、固氮和产铁载体的菌株, 这些拮抗菌主要是伯克霍尔德氏菌属(*Burkholderia*)的一些菌株, 如新洋葱伯克霍尔德氏菌(*Burkholderia cenocepacia*) R047a、污染伯克霍尔德氏菌(*Burkholderia contaminans*) T076a 和稳定伯克霍尔德氏菌(*Burkholderia stabilis*) T092 (图 7)。

3 讨论与结论

本研究应用高通量分离培养技术成功从一份健康荔枝根围土壤中分离获得 327 株细菌, 涵盖了丰富的物种多样性。尤为突出的是, 其中鉴定出 90 株潜在新物种, 广泛分布于 39 个属, 且显著富集于类芽孢杆菌属(*Paenibacillus*)和科恩氏菌属(*Cohnella*)。该分离效率远超传统稀释涂布平板法, 有力印证了高通量分离培养技术在发掘未(难)培养微生物资源方面的显著优势, 为深入解析荔枝根围土壤特异微生物组成提供了强有力的支撑。然而, 本研究中有 55% 的细菌 ASV 成功获得了纯培养物, 仍有 45% 未被捕获, 提示部分微生物类群的可培养性仍是

当前的技术瓶颈。此外, 分离过程仅使用了 TSA 和 R2A 培养基。已有研究表明, 组合应用多种培养基可有效提高细菌种类的可培养率^[12]。因此, 在具备充足资源的前提下, 后续研究应采用更广泛的培养基组合进行高通量分离, 以期更全面地覆盖荔枝根围的细菌多样性。

通过对 327 株分离菌株的抗菌活性进行系统性筛选, 共获得了 92 株对荔枝霜疫霉具有拮抗活性的菌株, 阳性率高达 28.1%。这一结果表明, 基于培养组学的高通量分菌技术除了能提高可培养菌株的分离效率外, 对于拮抗菌株的分离也具有显著的促进作用, 也提示荔枝果树根围土壤中蕴藏着极其丰富的生防微生物资源。对 92 株拮抗菌株的分类分布进行分析, 发现这些菌株分属于 4 门 42 属, 展现了高度的系统发育多样性, 暗示其在环境适应、生存竞争及抗菌物质产生方面可能具有普遍优势, 为开发新型生防制剂奠定了重要的资源基础。本研究也系统评估了 92 株拮抗菌株的植物促生潜力。结果显示, 59.8% (55 株) 的拮抗菌株至少具备一种促生功能, 其中 30 株同时具备 3 种以上的促生功能。这一现象支撑了植物根围微生物中普遍

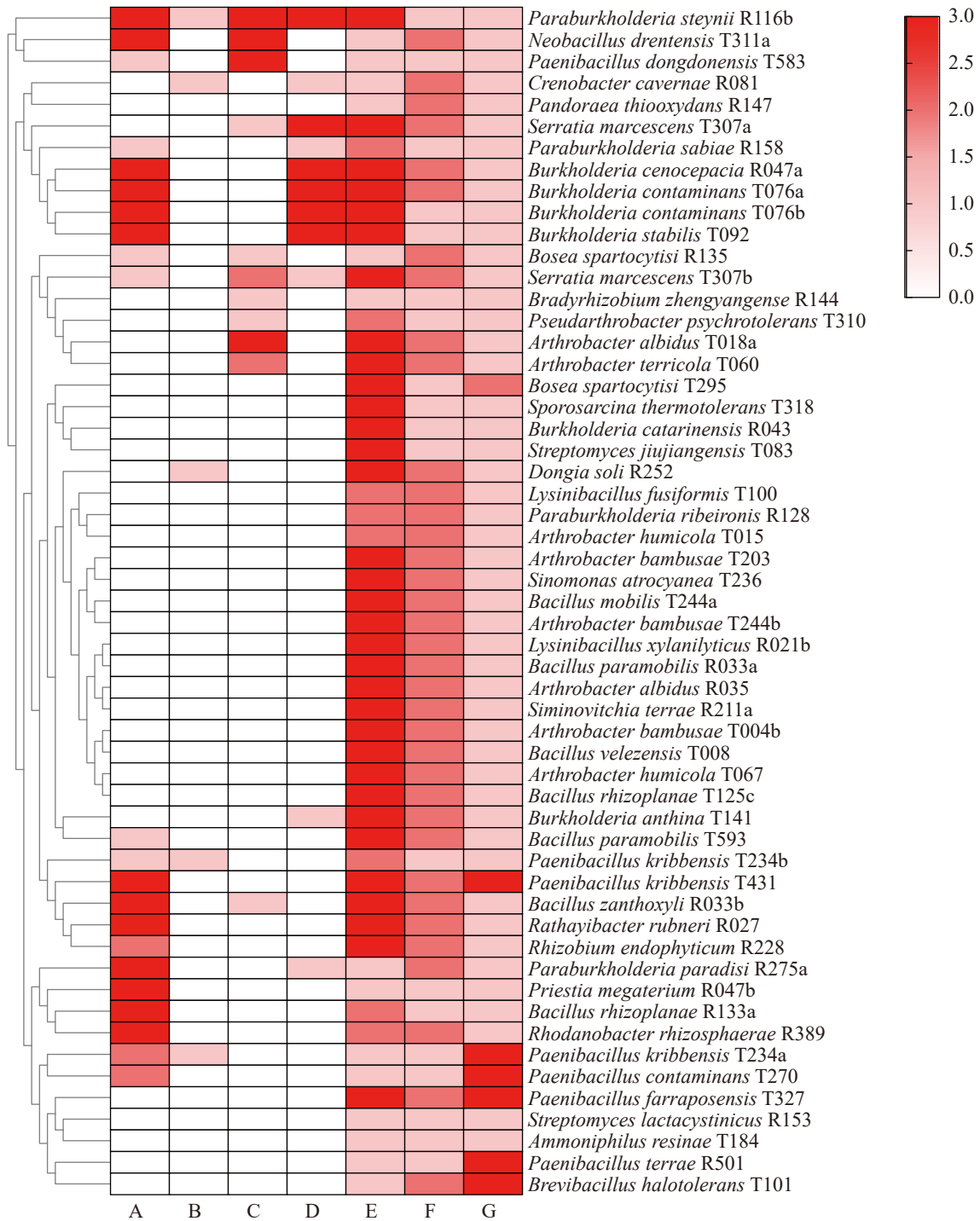


图6 部分高活性荔枝霜疫霉拮抗菌株的平板促生功能评价结果

Figure 6 Evaluation of plate growth-promoting activity of selected antagonistic bacteria against *Peronophythora litchii*. A: Solubilization of organic phosphorus; B: Solubilization of inorganic phosphorus; C: Nitrogen fixation; D: Potassium solubilization; E: Siderophore production; F: IAA production; G: Antagonism against *Peronophythora litchii*.

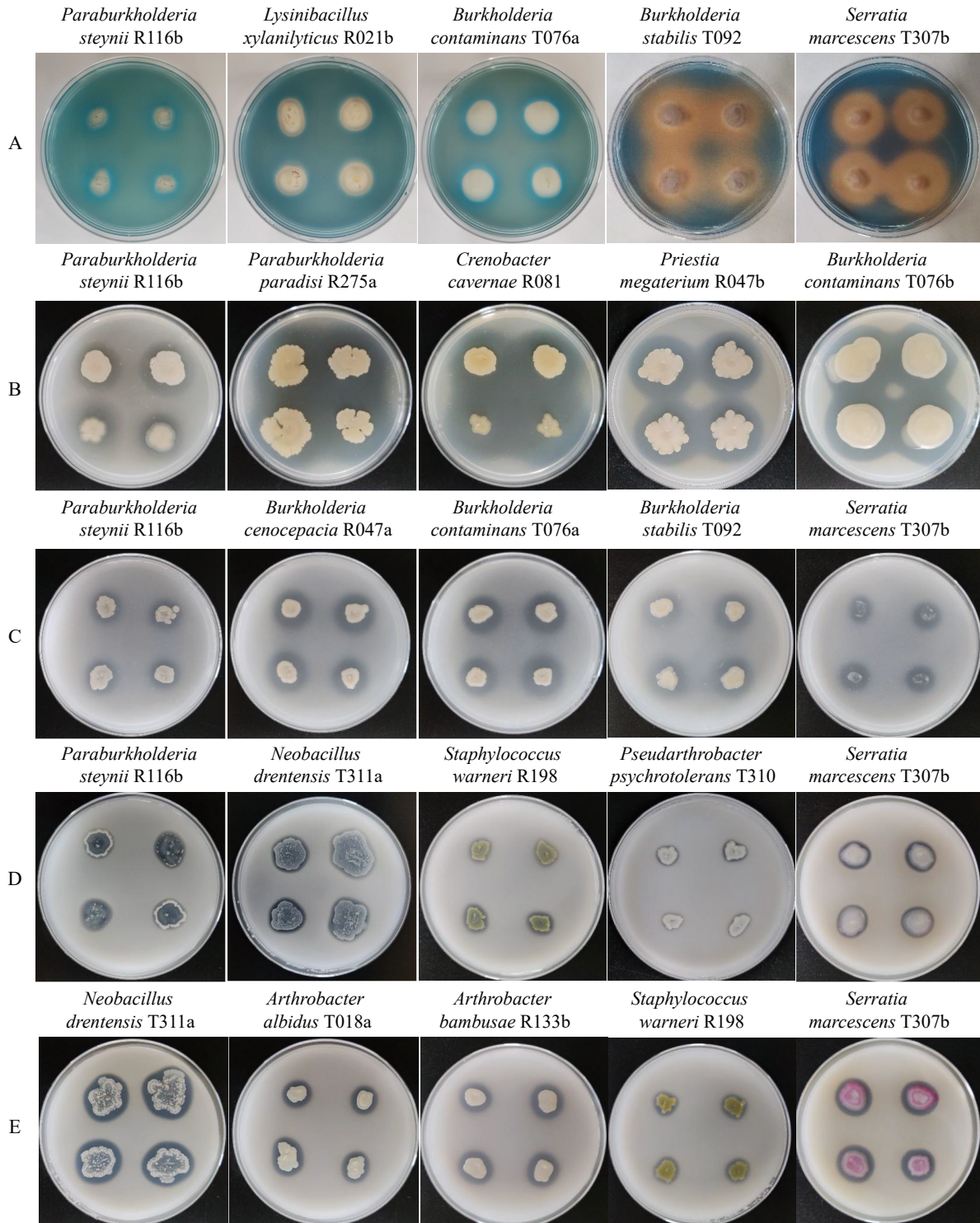


图7 部分高活性荔枝霜疫霉拮抗菌株的平板促生功能测定结果

Figure 7 Determination of plant growth-promoting effects on plate for some highly active antagonistic strains against *Peronophythora litchii*. A: Siderophore production; B: Organic phosphate solubilization; C: Potassium solubilization; D: Nitrogen fixation (Ashby's medium); E: Nitrogen fixation (nitrogen-free medium).

存在兼具拮抗病原菌与促进植物生长双重功能的益生菌这一观点^[23-24]。尤为突出的是, 斯泰恩氏副伯克霍尔德菌(*Paraburkholderia steynii*) R116b 和黏质沙雷氏菌(*Serratia marcescens*) T307b, 同时具备 5 种或以上促生功能。此类功能菌株不仅能通过直接拮抗作用保护植物免受病原菌侵害, 更能通过固氮、解磷、产 IAA 及产铁载体等多种机制协同促进植物生长并增强其整体抗逆性^[25-26]。

综合拮抗活性和促生功能, 本研究发现短芽孢杆菌属(*Brevibacillus*)的菌株 T101、4 株类芽孢杆菌(*Paenibacillus*)的菌株(T431、T270、T327 和 T234a)及副伯克霍尔德氏菌属(*Paraburkholderia*)的菌株 R116b 是最具生防应用潜力的菌株。例如, 耐盐短芽孢杆菌(*B. halotolerans*) T101 的拮抗活性显著高于其他菌株, 并且能够产生 IAA 和分泌铁载体。短芽孢杆菌属(*Brevibacillus*)作为抗菌活性物质的重要来源已获得广泛认可^[27]。短短芽孢杆菌(*B. brevis*)能合成短杆菌肽、伊短菌素等多种抑菌物质, 主要通过破坏病原菌细胞膜或干扰 DNA 复制、蛋白质翻译等机制发挥作用^[28-29]。值得注意的是, 目前针对耐盐短芽孢杆菌所产生的活性物质的结构、功能及其作用机制研究仍相当有限。虽有少量研究利用 antiSMASH 对其基因组进行了代谢产物预测分析^[30-31], 但该菌拮抗荔枝霜疫霉的具体机制尚未见系统报道, 未来值得深入探索。同时需要指出, 本研究的所有活性评价均在体外条件下完成, 高效拮抗菌株(如 T101)的实际田间防效仍需通过温室盆栽和田间试验进一步验证。

研究表明, 很多非核糖体多肽(NRPS)类产物具有抗菌、抗病毒、抗肿瘤等活性, 比如短杆菌肽是由 NRPS 合成的环肽类抗生素, 能通过改变细胞膜的通透性来抑制细菌生长^[28]。萜类化合物作为关键的次生代谢产物, 参与植物在逆境胁迫下的抗氧化、信号传递及气孔运动等生理过程, 在植物逆境响应中扮演着重要角

色。它们不仅可以直接参与植物的防御机制, 还能够作为信号分子调节植物间的相互作用, 影响植物群体的适应性和稳定性^[32]。本研究的 5 株高效拮抗菌株基因组中均预测到了不同数量的 NRPS 和萜类化合物, 这些化合物可能在其对荔枝霜疫霉的拮抗中发挥着重要作用; 此外, 还预测到一些与已知化合物相似度较低的 BCGs, 未来有必要对这些 BCGs 进行分离纯化, 这将为发掘新的化合物提供依据。

综上所述, 本研究通过对荔枝根围土壤细菌的高通量分离培养及多维度功能评价, 成功发掘了一系列对荔枝霜疫霉具有拮抗活性且同时具备多种植物促生功能的优良菌株。这不仅深化了对荔枝根围微生物群落结构和功能的认识, 也为后续深入探究微生物-植物互作机制、开发基于多功能益生菌的荔枝病害绿色防控策略提供了宝贵资源。

作者贡献声明

梁秀贤: 细菌分离鉴定、拮抗菌筛选、数据收集和处理、参与论文撰写; 董红红: 研究构思和设计、论文撰写和修改; 邓名荣: 项目管理、监督管理; 王鹏: 监督管理; 朱红惠: 获取基金、试验设计和论文修订。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在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] 赵冉. 荔枝品种对荔枝霜疫病的抗病性研究[D]. 广州: 华南农业大学, 2020.
Zhao R. Study on the resistance of *Litchi* cultivars to *Litchi* downy blight caused by *Peronophythora litchii*[D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2020 (in Chinese).
- [2] 孔广辉, 冯迪南, 李雯, 连帅利, 习平根, 姜子德. 荔枝霜疫病的研究进展[J]. 果树学报, 2021, 38(4): 603-612.
Kong GH, Feng DN, Li W, Lian SL, Xi PG, Jiang ZD. Research progress in studies on the downy blight disease in *Litchi*[J]. Journal of Fruit Science, 2021, 38(4): 603-612 (in Chinese).

- [3] Zheng L, Situ JJ, Zhu QF, Xi PG, Zheng Y, Liu HX, Zhou XF, Jiang ZD. Identification of volatile organic compounds for the biocontrol of postharvest *Litchi* fruit pathogen *Peronophythora litchii*[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2019, 155: 37-46.
- [4] Xu DD, Niu QH, Gao L, Wang Q, Lan CZ, Jiang ZD, Qiao F. Biocontrol potential of *Burkholderia gladioli* STPT16 on postharvest decay of *Litchi* fruit caused by *Peronophythora litchii* and *Colletotrichum fructicola*[J]. *Food Control*, 2025, 168: 110956.
- [5] Xu DD, Deng YZ, Xi PG, Zhu ZQ, Kong XY, Wan L, Situ J, Li MH, Gao LW, Jiang ZD. Biological activity of pterostilbene against *Peronophythora litchii*, the *Litchi* downy blight pathogen[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2018, 144: 29-35.
- [6] 姜子德, 刁平根, 洗继东, 彭埃天, 陈科伟. 对未来五年我国荔枝植保研究的思考[J]. *中国热带农业*, 2011(5): 61-63.
- [7] 戚佩坤, 潘雪萍, 刘任. 荔枝霜疫病的研究I. 病原菌的鉴定及其侵染过程[J]. *植物病理学报*, 1984, 14(2): 113-119.
- Qi PK, Pan XP, Liu R. On downy blight of *Litchi chinensis* sonn.i.the pathogen and its infection process[J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 1984, 14(2): 113-119 (in Chinese).
- [8] 徐迟默, 谢龙莲, 曾筱芬, 温衍生. 荔枝霜霉病生物防治研究进展[J]. *南方农业学报*, 2015, 46(1): 72-78.
- Xu CM, Xie LL, Zeng XF, Wen YS. Research progress on biological control of *Peronophythora litchii*[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2015, 46(1): 72-78 (in Chinese).
- [9] Situ J, Zheng L, Xu DD, Gu C, Xi PG, Deng YZ, Hsiang T, Jiang ZD. Screening of effective biocontrol agents against postharvest *Litchi* downy blight caused by *Peronophythora litchii*[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2023, 198: 112249.
- [10] 蔡学清, 林娜, 陈炜, 胡方平. 荔枝霜疫霉的生防菌株与化学制剂的筛选[J]. *福建农林大学学报(自然科学版)*, 2008, 37(5): 463-468.
- Cai XQ, Lin N, Chen W, Hu FP. Selection of the biological agents and fungicides against *Peronophthora litchii*[J]. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition)*, 2008, 37(5): 463-468 (in Chinese).
- [11] 凌春丽. 设施栽培草莓根系细菌多样性分析及有益微生物筛选[D]. 济南: 齐鲁工业大学, 2024.
- Ling CL. Analysis of root bacterial diversity and screening of beneficial microorganisms of strawberry cultivated in facilities[D]. Jinan: Qilu University of Technology, 2024 (in Chinese).
- [12] 冯志林, 李娜, 高庆波, 陈世龙, 邢睿. 基于高通量分离鉴定技术的黄绿卷毛菇子实体内生细菌分离鉴定[J]. *草原与草坪*, 2025, 45(3): 179-186.
- Feng ZL, Li N, Gao QB, Chen SL, Xing R. Isolation and characterization of endophytic bacteria from *Floccularia iuteovirens* based on high-throughput isolation and identification technique[J]. *Grassland and Turf*, 2025, 45(3): 179-186 (in Chinese).
- [13] Lewis WH, Tahon G, Geesink P, Sousa DZ, Ettema TJG. Innovations to culturing the uncultured microbial majority[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2021, 19(4): 225-240.
- [14] Zhang JY, Liu YX, Guo XX, Qin Y, Garrido-Oter R, Schulze-Lefert P, Bai Y. High-throughput cultivation and identification of bacteria from the plant root microbiota[J]. *Nature Protocols*, 2021, 16(2): 988-1012.
- [15] 刘永鑫, 秦媛, 郭晓璇, 白洋. 微生物组数据分析方法与应用[J]. *遗传*, 2019, 41(9): 845-862.
- Liu YX, Qin Y, Guo XX, Bai Y. Methods and applications for microbiome data analysis[J]. *Hereditas*, 2019, 41(9): 845-862 (in Chinese).
- [16] Yoon SH, Ha SM, Kwon S, Lim J, Kim Y, Seo H, Chun J. Introducing EzBioCloud: a taxonomically united database of 16S rRNA gene sequences and whole-genome assemblies[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2017, 67(5): 1613-1617.
- [17] Li S, He P, Fan HC, Liu LN, Yin KS, Yang BM, Li YP, Huang SM, Li XD, Zheng SJ. A real-time fluorescent reverse transcription quantitative PCR assay for rapid detection of genetic markers' expression associated with *Fusarium* wilt of banana biocontrol activities in *Bacillus*[J]. *Journal of Fungi*, 2021, 7(5): 353.
- [18] Bankevich A, Nurk S, Antipov D, Gurevich AA, Dvorkin M, Kulikov AS, Lesin VM, Nikolenko SI, Pham S, Prjibelski AD, Pyshkin AV, Sirotkin AV, Vyahhi N, Tesler G, Alekseyev MA, Pevzner PA. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing[J]. *Journal of Computational Biology*, 2012, 19(5): 455-477.
- [19] Blin K, Shaw S, Kloosterman AM, Charlop-Powers Z, van Wezel GP, Medema MH, Weber T. antiSMASH 6.0: improving cluster detection and comparison capabilities[J]. *Nucleic Acids Research*, 2021, 49(W1): W29-W35.
- [20] Wang D, Luo WZ, Zhang DD, Li R, Kong ZQ, Song J, Dai XF, Alkan N, Chen JY. Insights into the biocontrol function of a *Burkholderia gladioli* strain against *Botrytis cinerea*[J]. *Microbiology Spectrum*, 2023, 11(2): e04805-e04822.
- [21] Bric JM, Bostock RM, Silverstone SE. Rapid *in situ* assay for indoleacetic acid production by bacteria immobilized on a nitrocellulose membrane[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1991, 57(2): 535-538.
- [22] Pérez-Miranda S, Cabirol N, George-Téllez R, Zamudio-Rivera LS, Fernández FJ. O-CAS, a fast and universal method for siderophore detection[J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2007, 70(1): 127-131.
- [23] Liu YP, Zhang HH, Wang J, Gao WT, Sun XT, Xiong Q,

- Shu X, Miao YZ, Shen QR, Xun WB, Zhang RF. Nonpathogenic *Pseudomonas syringae* derivatives and its metabolites trigger the plant “cry for help” response to assemble disease suppressing and growth promoting rhizomicrobiome[J]. *Nature Communications*, 2024, 15: 1907.
- [24] 李笑淳, 宋凯, 陈博, 江连, 何亚文. 植物根际促生菌: 作用机制与未来[J]. *激光生物学报*, 2024, 33(3): 193-200.
Li XC, Song K, Chen B, Jiang L, He YW. Plant growth-promoting rhizobacteria: mechanisms and perspectives[J]. *Acta Laser Biology Sinica*, 2024, 33(3): 193-200 (in Chinese).
- [25] Trivedi P, Leach JE, Tringe SG, Sa TM, Singh BK. Plant-microbiome interactions: from community assembly to plant health[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2020, 18(11): 607-621.
- [26] 穆文强, 康慎敏, 李平兰. 根际促生菌对植物的生长促进作用及机制研究进展[J]. *生命科学*, 2022, 34(2): 118-127.
Mu WQ, Kang SM, Li PL. Advances in rhizosphere growth-promoting bacteria function on plant growth facilitation and their mechanisms[J]. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2022, 34(2): 118-127 (in Chinese).
- [27] Panda AK, Bisht SS, DeMondal S, Kumar NS, Gurusubramanian G, Panigrahi AK. *Brevibacillus* as a biological tool: a short review[J]. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2014, 105(4): 623-639.
- [28] Ghadbane M, Harzallah D, Laribi AI, Jaouadi B, Belhadj H. Purification and biochemical characterization of a highly thermostable bacteriocin isolated from *Brevibacillus brevis* strain GM100[J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2013, 77(1): 151-160.
- [29] Katak RM, Rocha EM, Oliveira JC, Muniz VA, Oliveira MR, Ferreira FAS, Silva WR, Roque RA, de Souza AQL, Souza-Neto JA, Terenius O, Marinotti O, Tadei WP. Larvicidal activities against *Aedes aegypti* of supernatant and pellet fractions from cultured *Bacillus* spp. isolated from Amazonian microenvironments[J]. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 2021, 6(2): 104.
- [30] Kim H, Lee Y, Hwang YJ, Lee MH, Balaraju K, Jeon Y. Identification and characterization of *Brevibacillus halotolerans* B-4359: a potential antagonistic bacterium against red pepper anthracnose in Korea[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 14: 1200023.
- [31] Le Han H, Jiang LM, Thu Tran TN, Muhammad N, Kim SG, Tran Pham VP, Ng YJ, Khoo KS, Chew KW, Phuong Nguyen TD. Whole-genome analysis and secondary metabolites production of a new strain *Brevibacillus halotolerans* 7WMA2: a potential biocontrol agent against fungal pathogens[J]. *Chemosphere*, 2022, 307: 136004.
- [32] 薛永常, 王贺贤, 赵娣, 郭静, 李澳. 植物萜类化合物生物合成及其功能研究进展[J]. *植物研究*, 2025, 45(4): 479-490.
Xue YC, Wang HX, Zhao D, Guo J, Li A. Research progress on the biosynthesis and functions of plant terpenoids[J]. *Bulletin of Botanical Research*, 2025, 45(4): 479-490 (in Chinese).