

一株盐湖生防芽孢杆菌 YH7-4 对大豆根腐病的防效测定及全基因组测序分析

杨瑾, 李珍华, 王传旭, 冯宝珍, 李培谦, 刘缙*

运城学院 生命科学系, 山西 运城

杨瑾, 李珍华, 王传旭, 冯宝珍, 李培谦, 刘缙. 一株盐湖生防芽孢杆菌 YH7-4 对大豆根腐病的防效测定及全基因组测序分析[J]. 微生物学报, 2026, 66(4): 1704-1725.

YANG Jin, LI Zhenhua, WANG Chuanxu, FENG Baozhen, LI Peiqian, LIU Jin. Biocontrol effect assessment and whole genome sequencing of *Bacillus* sp. YH7-4 from salt lake against soybean root rot[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2026, 66(4): 1704-1725.

摘要: 层出镰孢菌(*Fusarium proliferatum*)是大豆根腐病的一种重要病原菌, 前期从运城盐湖中分离到一株耐盐生防芽孢杆菌 YH7-4。【目的】探究菌株 YH7-4 对大豆生长的影响及对根腐病的防治效果, 并从全基因组层面解析其抑菌机理、挖掘抗菌基因。【方法】采用平板对峙培养检测 YH7-4 的抑菌效果; 利用盆栽接种试验测定 YH7-4 对大豆幼苗的安全性和对根腐病的防效等; 利用 Illumina 和 PacBio 平台相结合的测序技术对菌株 YH7-4 进行全基因组测序, 并进行代谢系统分析、毒力基因预测、转运蛋白分析、与生防作用相关基因分析、比较基因组学分析以及生化测定等。【结果】菌株 YH7-4 对大豆根腐病层出镰孢菌、大豆疫霉、炭疽菌、拟茎点种腐病菌等病原菌的抑菌率均达到 75.00% 以上。盆栽试验结果显示, YH7-4 菌悬液在 OD_{600} 为 0.8 时对大豆幼苗的根长和干重有显著促进作用, 浓度过高则失去促进作用; 其对层出镰孢菌引起的大豆根腐病的防治效果达到 56.02%。全基因组测序结果显示, 其基因组全长为 3 945 352 bp, G+C 含量为 46.51%, 预测到 3 756 个编码基因。将预测得到的基因序列分别与 NR、Swiss-Prot、Pfam、COG、GO、KEGG 等数据库比对, 分别有 3 753、3 537、3 358、3 082、1 756 和 2 845 个基因得到注释。其中, 有 130 个蛋白质结构域属于 CAZy 家族; 12 个次级代谢产物基因簇, 包括: 8 个已知抗生素合成基因簇(surfactin、macrolactin H、bacillaene、fengycin、difficidin、bacillibactin、bacilysin 和 butirosin A/butirosin B)和 4 个未知功能基因簇。此外, 还发现 2 个与铁离子转运相关的基因、1 个与诱导抗性相关的基因以及 15 个与生物膜形成相关的基因。比较基因组学分析结果显示, YH7-4 属于贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*), 直系同源核心基因簇有 2 898 个。生化特征结

资助项目: 山西省基础研究计划(自由探索类)(202203021212176, 20210302124526); 运城市基础研究计划(自由探索类)(YCKJ-2023031); 运城学院博士科研启动基金(YQ-2020002)

This work was supported by the Basic Research Program of Shanxi Province (Free Exploration) (202203021212176, 20210302124526), the Yuncheng Basic Research Program (Free Exploration) (YCKJ-2023031), and the Doctoral Scientific Research Program of Yuncheng University (YQ-2020002).

*Corresponding author. E-mail: liuj4037@163.com

Received: 2025-11-10; Accepted: 2025-12-25; Published online: 2026-01-14

果表明, YH7-4 具有产生淀粉酶、蛋白酶、果胶酶、纤维素酶等特性。【结论】从运城盐湖中分离到的耐盐贝莱斯芽孢杆菌 YH7-4 对大豆根腐病具有较好的防治效果, 且含有与生防特性相关的基因以及产生多种抗菌物质的基因, 为植物真菌病害的防治提供了应用材料。本研究将盐湖中分离到的细菌菌液应用于植物根部, 对大豆生长产生了一定影响, 为进一步解析贝莱斯芽孢杆菌 YH7-4 的抑菌机制提供了理论基础。

关键词: 大豆根腐病; 全基因组测序; 贝莱斯芽孢杆菌; 次级代谢合成基因簇; 比较基因组

Biocontrol effect assessment and whole genome sequencing of *Bacillus* sp. YH7-4 from salt lake against soybean root rot

YANG Jin, LI Zhenhua, WANG Chuanxu, FENG Baozhen, LI Peiqian, LIU Jin*

Life Sciences Department, Yuncheng University, Yuncheng, Shanxi, China

Abstract: *Fusarium proliferatum* is a critical pathogenic fungus causing soybean root rot. A halotolerant biocontrol strain *Bacillus* sp. YH7-4 was isolated from the Yuncheng Salt Lake. **[Objective]** To investigate strain YH7-4 in terms of the effect on soybean growth and the control efficacy against soybean root rot. Additionally, we sought to elucidate the antifungal mechanisms of this strain and identify antimicrobial genes through whole genome sequencing. **[Methods]** The plate dual-culture method was adopted to assess the antifungal activity of strain YH7-4. Pot experiments were conducted to evaluate the safety of the strain to soybean seedlings and the control efficacy against root rot. Illumina and PacBio platforms were used for whole genome sequencing of YH7-4. Subsequent analyses included metabolic system assessment, virulence factor prediction, transporter analysis, identification of genes related to biocontrol functions, comparative genomics, and biochemical assays. **[Results]** Strain YH7-4 demonstrated the inhibition rates exceeding 75.00% against several plant pathogens, including *F. proliferatum*, *Phytophthora sojae*, *Colletotrichum truncatum*, and *Phomopsis longicolla*. Pot experiments showed that at the OD_{600} value of 0.8, YH7-4 suspension significantly increased the root length and dry weight of soybean seedlings, while excessively high concentrations abolished this effect. The control efficacy of YH7-4 against *F. proliferatum*-induced soybean root rot reached 56.02%. Whole genome sequencing revealed a genome of 3 945 352 bp with the G+C content of 46.51% and 3 756 predicted coding genes. These genes were annotated against databases including NR, Swiss-Prot, Pfam, COG, GO, and KEGG, with 3 753, 3 537, 3 358, 3 082, 1 756, and 2 845 sequences successfully annotated, respectively. Among the proteins encoded by these genes, 130 proteins belonged to the CAZy family. Twelve secondary metabolite biosynthetic gene clusters were identified, including eight known biosynthetic gene clusters for antibiotics (surfactin, macrolactin H, bacillaene, fengycin, difficidin, bacillibactin, bacilysin, and butirosin A/butirosin B) and four gene clusters with unknown functions. Additionally, two siderophore-related genes, one gene encoding 2,3-butanediol (associated with induced systemic resistance), and 15 genes involved in

biofilm formation were identified. Comparative genomics analysis indicated that YH7-4 was a strain of *Bacillus velezensis* and shared 2 898 orthologous core gene clusters. Biochemical characterization showed that YH7-4 had the ability to produce amylase, protease, pectinase, and cellulase. **[Conclusion]** The halotolerant strain *B. velezensis* YH7-4 isolated from the Yuncheng Salt Lake shows excellent control efficacy against soybean root rot. Its genome harbors genes linked to biocontrol traits and antimicrobial substance production, which makes this strain a promising candidate for managing soybean root rot and other plant fungal diseases. This study applies salt lake-derived bacteria to plant roots, demonstrating their influence on soybean growth while providing a theoretical basis for further elucidating the antifungal mechanisms of *B. velezensis* YH7-4.

Keywords: soybean root rot; whole genome sequencing; *Bacillus velezensis*; secondary metabolite biosynthetic gene clusters; comparative genomics

镰孢菌根腐病是全球几乎所有大豆产区最具破坏性的土传病害之一，它不仅导致大豆产量大幅下降，还会造成重大经济损失。据报道，2015–2019年美国 and 加拿大安大略省因镰孢菌属 (*Fusarium* spp.) 真菌引发的大豆枯萎和根腐病，估计5年减产约 520 887 kg^[1]。通过探究大豆连作和间作模式下大豆根腐病的发生情况发现，2018年连作模式下大豆根腐病发病率高达 61.02%，间作模式下为 24.28%^[2]。层出镰孢菌 (*F. proliferatum*) 是其中一种重要的病原菌，同时也是玉米^[3]、小麦^[4]、高粱^[5]、香蕉^[6]、番茄^[7]等多种植物的主要致病菌，可引起叶腐、根腐、茎腐、穗腐、果实腐烂等症状。其侵染作物后，不仅会导致减产，还会使侵染的种子携带真菌毒素。然而，目前对于层出镰孢菌的研究主要集中于产毒种类和产毒能力领域，对于其防治方法的研究较少。生物防治可缓解化学污染、生物杀灭剂抗性、生物多样性丧失、栖息地破坏等全球性环境变化问题^[8]。

目前，用于生物防治的微生物种类主要有细菌、真菌、放线菌和病毒。其中，芽孢杆菌具有易于从土壤、植物及动物尸体中获得，生长速度快，产生的芽孢抗逆性强，易于产业化，易于在环境中存活、定殖与繁殖等优点^[9]，在生物防治领域占有重要地位。刘冬等^[10]分离获得

一株芽孢杆菌 JDF3，该菌株能有效地抑制大豆疫霉菌丝的生长和孢子囊的形成，对细极链格孢、小麦全蚀病菌和西瓜炭疽病菌的抑制率高于 70%；盆栽结果显示，细菌 JDF3 对大豆疫病的防治率为 70.7%。芽孢杆菌的作用机理主要包括竞争作用、抑菌作用、促生作用及诱导植物产生抗性^[10-12]。陈爽等^[11]发现贝莱斯芽孢杆菌 HM3-3 对大豆具有促生作用，对大豆根腐病有显著防治作用，并且解析了生防菌 HM3-3 可诱导大豆体内防御酶的活性，还能通过分泌相关溶解致病菌的酶类，破坏致病菌的细胞壁。王芳等^[12]筛选鉴定的暹罗芽孢杆菌 20-8 对于防治禾谷镰孢菌 (*Fusarium graminearum*) 引起的大豆根腐病具有良好的防治效果，且该菌株具有解磷、解钾、固氮以及产铁载体及多种胞外酶的功能。

生防菌的生防功能机制解析与应用潜力挖掘是目前研究的热点。基因组测序技术的飞速发展生防菌研究提供了高效、精准的技术支撑，极大地推动了生防菌的分类鉴定^[13]、功能基因挖掘、代谢通路解析、生防机制阐明^[14]及生防菌遗传改良等方面的研究。从中国贵州炭疽病发病田块中种植的健康辣椒植株根际土壤中分离出贝莱斯芽孢杆菌 GUAL210 菌株，并对其进行全基因组测序，预测该菌株的生防机制

可能与具有抗真菌活性的次级代谢产物相关^[15]。对生防菌绿针假单胞菌 ZL3 进行全基因组测序分析, 成功筛选出与萜类和聚酮类代谢途径相关基因 *atoB*, 并构建了重组菌株大肠埃希氏菌 (*Escherichia coli*) BL21(DE3)/pET32-*atoB*, 该重组菌株对 7 种病原菌具有较好抑菌效果, 且提高了樱桃过氧化氢酶(catalase, CAT)、几丁质酶(chitinase, CHI)和苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine aminolyase, PAL)活性, 明确了菌株 ZL3 对灰葡萄孢的抑菌机理^[16]。通过全基因组测序, 在贝莱斯芽孢杆菌 S161 菌株中鉴定出 3 个与几丁质降解相关的基因, 分别编码几丁质酶 ChiA、ChiB 以及裂解性多糖单加氧酶(lytic polysaccharide monooxygenase, LPMO10); 在大肠埃希氏菌中对 ChiA、其截短突变体 ChiA2 以及 ChiB 蛋白进行异源表达, 纯化的酶可高效降解胶体几丁质, 并能抑制指状青霉的孢子萌发^[17]。通过全基因组测序技术来研究生防菌的抑菌机理已被广泛应用。

研究表明, 高温^[18-19]、低温^[20]、干旱^[21]、生物土壤结皮^[22]、盐湖^[23-25]等极端环境中含有丰富的具有抗菌活性的微生物。前期从运城盐湖中分离到一株耐盐生防芽孢杆菌 YH7-4^[26], 该菌株对层出镰孢菌具有显著的抑制作用。本研究进一步探究其对大豆根腐病的生防效果及促生特性, 并基于全基因组测序预测其促生相关基因及抑菌活性物质, 以期解析其抑菌机理提供生物信息学基础, 为防治大豆根腐病提供生物防治材料。

1 材料与方 法

1.1 材料

层出镰孢菌(*F. proliferatum*) Fp6-1、大豆拟茎点种腐病菌(*Phomopsis longicolla*)、炭疽病菌(*Colletotrichum truncatum*)、大豆疫霉菌(*Phytophthora sojae*) P6497 等菌株由南京农业

大学植物保护学院王源超教授提供; 草莓灰霉病菌(*Botrytis cinerea*) LK-7 由运城学院生命科学系冯宝珍教授分离提供; 葡萄座腔菌(*Botryosphaeria dothidea*)、链格孢菌(*Alternaria alternata*)由本实验室分离保存。

蛋白酶、淀粉酶、纤维素酶、几丁质酶、果胶酶和葡聚糖酶测定培养基等的配制方法参考娄向弟等^[27]的研究方法。

1.2 菌株的抑菌性测定

采用平板对峙法, 将菌株 YH7-4 分别与供试菌株对峙培养。将直径为 5 mm 的待测菌菌盘接种在 PDA 平板中央, 其中大豆疫霉菌接种在 V8 培养基平板中央。YH7-4 于 28 °C、200 r/min 培养 24 h 后, 在每个平板上距离中心菌盘 25 mm 处对称放置 2 个直径 5 mm 的无菌滤纸片, 在无菌滤纸片上滴加 5 μL 菌液, 28 °C 恒温培养箱培养 6 d, 测量菌落直径, 每个处理设 3 个重复, 并进行 3 次独立重复实验, 按公式(1)计算抑菌率。

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

1.3 YH7-4 菌液对大豆幼苗的安全性测定

YH7-4 菌液对大豆幼苗的安全性测定方法参考曾钰涵等^[28]的研究方法。挑选健康、大小一致的中黄 13 大豆种子, 用 3% 次氯酸钠溶液处理 3 min, 再用无菌水冲洗 3 次, 用灭菌滤纸擦净种子表面残留水分, 播种于盛有灭菌蛭石的高 10 cm、直径 15 cm 的花盆中, 每盆播种 10 粒种子。将 YH7-4 接种于 200 mL LB 液体培养基, 28 °C、200 r/min 培养 24 h, 随后 5 000 r/min 离心 10 min, 弃上清, 收集菌体; 用 PBS 缓冲液悬浮菌体, 获得 OD_{600} 值分别为 0.2、0.4、0.6、0.8 和 1.0 的 YH7-4 菌悬液, 同时以 PBS 缓冲液为对照(CK), 分别用不同 OD_{600} 的菌悬液连续 3 d 浇灌在灭菌蛭石中播种的大豆种子。每个处理 30 粒种子, 每天各处理浇灌菌悬液 30 mL。

各处理于 25 °C、16 h 光/8 h 暗条件下培养 4 d 后, 统计发芽率, 之后观察大豆幼苗生长状况, 各处理发芽率的计算如公式(2)所示。

$$\text{发芽率} = (\text{种子总数量} - \text{未发芽种子数量}) / \text{种子总数量} \times 100\% \quad (2)$$

每盆保留 5 株长势相近的幼苗, 每个处理 4 盆, 共 20 株, 每株浇灌 10 mL 菌液, 继续浇灌菌液 3 次后, 每隔 4 d 浇水。从播种开始 15 d 后, 将大豆幼苗小心移出, 洗净根部, 吸干水分, 测量各处理 20 株大豆幼苗的株高、根长、鲜重、干重等, 明确各菌悬液处理对大豆幼苗生长的影响。

1.4 YH7-4 菌液对大豆根腐病的盆栽防效测定

将菌株 YH7-4 接种于 200 mL LB 液体培养基, 28 °C、200 r/min 培养 24 h, 5 000 r/min 离心 10 min, 弃上清, 收集菌体; 用 PBS 缓冲液悬浮菌体, 获得 OD_{600} 值为 0.8 的 YH7-4 菌悬液。大豆的播种方法同上, 每盆播种 10 粒种子, 每个处理设 3 盆, 播种当天开始用 OD_{600} 为 0.8 的 YH7-4 菌悬液灌根, 同时以 PBS 缓冲液为对照(CK), 按照每粒种子 1 mL, 连续灌根 3 d。将在直径为 9 cm 的 PDA 培养基上生长 5–7 d 的层出镰孢菌用灭菌超纯水每隔 0.5 h 反复冲洗, 冲洗 6 次后, 加 20 mL 灭菌超纯水于 25 °C 黑暗放置, 5 h 后收集孢子悬浮液, 经两层纱布过滤除菌丝后, 在显微镜下计数, 并用无菌水稀释分生孢子浓度为 1×10^6 个/mL 的孢子悬浮液。播种第 4 天, 用层出镰孢菌分生孢子悬浮液灌根, 同时以灌蒸馏水为对照, 按照每棵幼苗 10 mL, 连续灌根 3 d。

病害评估与数据记录: 播种 15 d 后, 将大豆幼苗从基质中取出, 用流动自来水冲洗干净, 随后评估其根腐病症状及病害严重程度。病害严重程度采用 0–4 级分级标准(参照 Chang 等^[2]的方法并稍作修改)。0 级: 无任何症状; 1 级: 轻微症状(仅出现变色, 无可见病斑); 2 级: 明显病斑(严重变色, 侧根数量减少); 3 级: 严重

病斑(主根和侧根均出现严重病斑, 植株生长势减弱); 4 级: 茎部腐烂, 植株死亡。同时, 按公式(3)计算病情指数(disease severity index, DSI), 按公式(4)计算防治效果, 并记录大豆幼苗的株高和鲜重。重复 3 次。

$$\text{病情指数} = \frac{\sum(\text{各级病株数} \times \text{对应级数})}{(\text{调查总数} \times \text{最高级别值})} \times 100\% \quad (3)$$

$$\text{防治效果} = \frac{(\text{对照病情指数} - \text{处理病情指数})}{(\text{对照病情指数})} \times 100\% \quad (4)$$

1.5 YH7-4 菌株的培养和全基因组测序

将菌株 YH7-4 在 LB 培养基上纯化 5 代后, 转接至 LB 液体培养基中, 于 28 °C、200 r/min 培养 10 h, 将 300 mL 菌液转移至旋盖尖底离心管中, 于室温下 $14\ 000 \times g$ 离心 5 min, 弃上清, 将沉淀的菌体转移到 1.5 mL 的灭菌离心管中(沉淀称重 0.5–1.0 g), 送往上海美吉生物医药科技有限公司进行全基因组测序。

采用 PacBio+Illumina 测序平台, 进行从头组装, 利用 PacBio HiFi reads 和 Illumina PE150 的测序数据, 通过生物信息学手段从头组装得到基因组序列。采用 RepeatMasker 4.1.5 软件, 对散在重复序列进行分类, 利用 TRF 4.09.1 (参数: Match=2, Mismatch=7, Delta=7, PM=80, PI=10, MinScore=80, MaxPeriod=500) 对串联重复序列进行分析, 用 TransposonPSI 对转座子进行分析, 用 Infernal 1.1.5 预测 sRNA, 用 Barrnap 0.9 预测 rRNA, 用 IslandPath-DIMOB 1.0.0 对基因组岛进行分析。通过 Circos 0.69.6 软件绘制基因组圈图。

1.6 功能注释

利用 Prodigal 2.6.3 和 GeneMarkS 4.3 软件对基因组中的编码序列(coding sequence, CDS)进行预测。将预测得到的基因序列分别与 NR (<ftp://ftp.ncbi.nih.gov/pub/nrdb/>)、Swiss-Prot (<https://www.uniprot.org/>)、Pfam (<http://pfam.xfam.org/>)、COG (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/COG/>)、GO (<https://geneontology.org/>)、KEGG (<https://www.KEGG.org/>)

kegg.jp)等数据库进行比对($E\text{-value}\leq 1\times 10^{-5}$), 以完成基因注释。

1.7 基因分析

通过与 CAZy (<http://www.cazy.org/>)数据库比对($E\text{-value}\leq 1\times 10^{-5}$)分析碳水化合物相关情况。利用 antiSMASH 7.0.0 软件对样本的次级代谢产物合成基因簇进行预测。使用 Diamond 0.8.35 软件与 VFDB Database 20240301 数据库 (<http://www.mgc.ac.cn/VFs/main.htm>)进行比对以预测毒力基因。与 TCDB Database v20240820 数据库 (<http://www.tcdb.org/>)进行比对以预测转运蛋白。

1.8 比较基因组分析

通过菌株 YH7-4 的 31 个看家基因序列 (*dnaG*、*frr*、*infC*、*nusA*、*pgk*、*pyrG*、*rplA*、*rplB*、*rplC*、*rplD*、*rplE*、*rplF*、*rplK*、*rplL*、*rplM*、*rplN*、*rplP*、*rplS*、*rplT*、*rpmA*、*rpoB*、*rpsB*、*rpsC*、*rpsE*、*rpsI*、*rpsJ*、*rpsK*、*rpsM*、*rpsS*、*smpB*、*tsf*), 筛选出与其系统发育关系接近的 6 个标准菌株, 包括 *Bacillus amyloliquefaciens* DSM7 (GCF_000196735.1)、*Bacillus nakamurai* NRRL B-41091 (GCF_001584325.1)、*Bacillus pumilus* 36R_ATNSAL (GCF_002744245.1)、*Bacillus siamensis* KCTC 13613(T) (GCF_000262045.1)、*Bacillus tequilensis* 13622(T) (GCF_000507145.1) 和 *Bacillus velezensis* NRRL B-41580 (GCF_001461825.1)。使用 MEGA 6.0 软件选择邻接(neighbor-joining, NJ)法构建系统发育树。从 NCBI genome 数据库获取该 6 株菌株的完整基因组序列及蛋白质序列。通过 ANI calculator 在线工具 (<https://www.ezbiocloud.net/tools/ani>) 计算平均核苷酸一致性 (average nucleotide identity, ANI) 分数。使用 GGDC 3.0 在线工具 (https://ggdc.dsmz.de/ggdc_background.php), 通过计算同一性与高分片段对 (high-scoring segment pair, HSP) 长度

的比值确定菌株 YH7-4 与标准菌株的数字 DNA-DNA 杂交 (digital DNA-DNA hybridization, dDDH) 值^[29]。

基于 OrthoVenn3 (<https://orthovenn3.bioinfo.toolkits.net/task/create>) 对菌株 YH7-4 与最相似菌株 *B. amyloliquefaciens* DSM7 (GCF_000196735.1)、*B. nakamurai* NRRL B-41091 (GCF_001584325.1)、*B. siamensis* KCTC 13613(T) (GCF_000262045.1) 和 *B. velezensis* NRRL B-41580 (GCF_001461825.1) 进行全基因组直系同源基因簇分析, 将 5 株菌株的基因组序列和蛋白质序列上传至 OrthoVenn3, 分析其核心基因簇、非必需基因簇以及特异基因簇。

1.9 YH7-4 菌株的生化特征测定

挑取活化好的菌落分别在蛋白酶、淀粉酶、果胶酶、纤维素酶、几丁质酶和葡聚糖酶测定培养基上点接和划线^[27], 28 °C 培养 48 h, 重复 3 次, 观察相应培养基上菌落周围是否有透明圈产生; 测定淀粉酶活性的培养基长出菌斑后, 加入碘液, 观察菌落周围是否有透明圈; 在长出菌斑的纤维素酶、果胶酶和几丁质酶测定培养基中倒入 0.5% 的刚果红染料, 染色 50 min 后倒出染料, 加入 5% 的 NaCl 溶液, 浸泡 1 h 后倒出, 观察菌落周围有无透明圈。接触酶实验、甲基红实验和 V-P 测试参照东秀珠等^[30]的细菌生化特征测定方法。

2 结果与分析

2.1 菌株 YH7-4 的抑菌能力测定

前期研究筛选到 1 株细菌生防菌 YH7-4, 通过与层出镰孢菌 (*F. proliferatum*) Fp6-1 对峙培养, 结果显示菌株 YH7-4 对 Fp6-1 有明显的抑制作用, 抑菌率达到 84.96% (图 1B)。将菌株 YH7-4 分别与大豆疫霉菌 (*P. sojae*) P6497、大豆拟茎点种腐病菌 (*P. longicolla*)、大豆炭疽病菌 (*C. truncatum*)、草莓灰霉病菌 (*B. cinerea*) LK-7、

月季黑斑病葡萄座腔菌(*B. dothidea*)和链格孢菌(*A. alternata*)等对峙培养,结果显示 YH7-4 对这 6 种病菌具有不同程度的拮抗作用(图 1、表 1)。其中,对大豆拟茎点种腐病菌的抑菌率最高,高达 81.19%(图 1H);其次是大豆疫霉,抑菌率达到 80.42%(图 1D)。

2.2 YH7-4 菌液对大豆幼苗的影响

采用不同浓度的 YH7-4 菌悬液对表面消毒的大豆种子连续浇灌 3 d, 统计其对大豆种子发芽率的影响。结果表明,与对照组(PBS 处理)相比,不同菌悬液浇灌处理对种子发芽率无显著影响,发芽率为 83.67%–94.22%(图 2C)。各处理组的大豆幼苗生长 15 d 后,统计 20 株幼苗的根长、株高和干重。与对照组相比, OD_{600} 为

0.6 和 0.8 的处理组对大豆幼苗的株高具有显著的抑制作用(图 2B),对根长有促进作用(图 2A),对发芽率无显著影响,但使大豆幼苗的鲜重和干重明显提高(图 2D、表 2)。

2.3 YH7-4 对大豆根腐病的防治效果测定

室内盆栽试验测定 YH7-4 对大豆根腐病的防效,结果显示,与单独接种根腐病层出镰孢菌 Fp6-1 处理相比, YH7-4 预防处理的大豆幼苗根长、鲜重和干重均显著提高。YH7-4 影响了大豆幼苗生长及根系发育,降低了大豆根腐病的病情指数,其防效达到 56.02%(表 2)。结果表明, YH7-4 对根腐病预防治疗效果显著。

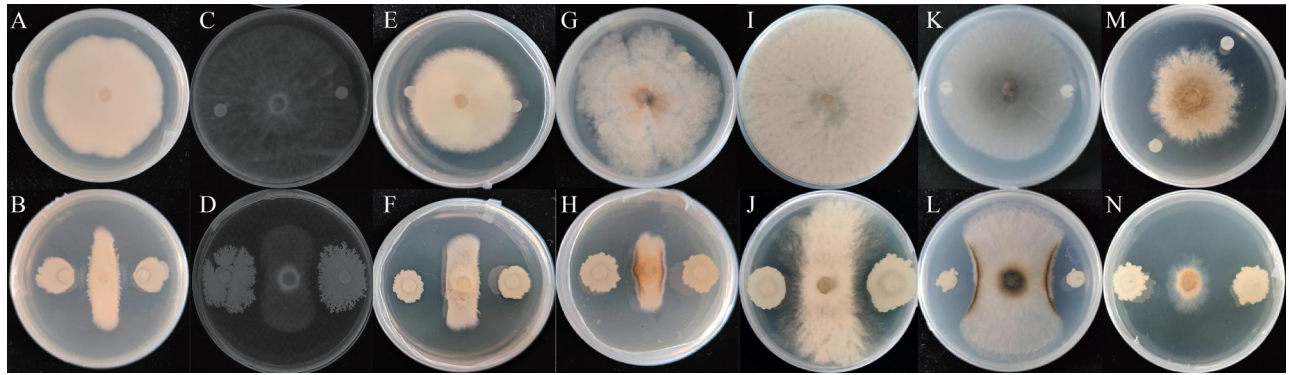


图1 菌株YH7-4的抑菌谱测定

Figure 1 Determination of broad-spectrum antibacterial activity of YH7-4. A, B: *F. proliferatum*; C, D: *P. sojae*; E, F: *C. truncatum*; G, H: *P. longicolla*; I, J: *B. dothidea*; K, L: *A. alternata*; M, N: *B. cinerea* LK-7. A, C, E, G, I, K and M: CK; B, D, F, H, J, L and N: YH7-4.

表1 菌株YH7-4对6种供试菌株的拮抗效果

Table 1 Antimicrobial effect of YH7-4 against six pathogens

Pathogenic fungi	Control colony diameter (cm)	Treatment colony diameter (cm)	Inhibition rate (%)
<i>P. sojae</i> P6497	8.53±0.14	1.67±0.19*	80.42±2.68a
<i>C. truncatum</i>	4.63±0.14	1.13±0.14*	75.53±3.30a
<i>P. longicolla</i>	7.07±0.37	1.33±0.14*	81.19±3.36a
<i>B. dothidea</i>	8.83±0.26	3.80±0.09*	56.95±1.81c
<i>A. alternata</i>	7.10±0.32	3.77±0.23*	46.93±2.95d
<i>B. cinerea</i> LK-7	6.00±0.44	1.90±0.24*	68.24±4.55b

Data in the table are mean±SD. * indicate significant difference at $P<0.05$ level. Different lowercase letters in the same column indicate significant difference at $P<0.05$ level by Duncan's new multiple range test.

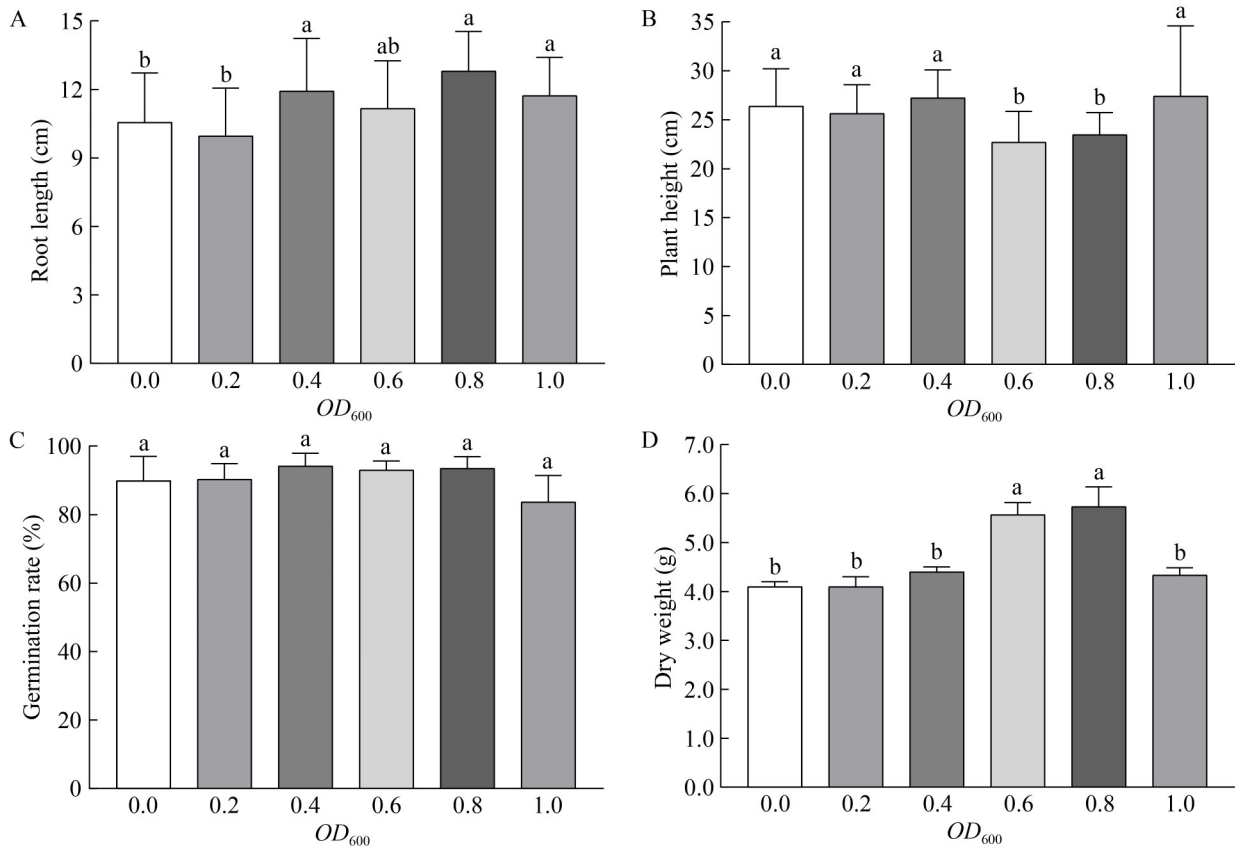


图2 菌株YH7-4不同浓度菌液处理后大豆发芽及幼苗生长情况

Figure 2 Germination rate and growth index of soybean seedlings after different concentration treatments of YH7-4 suspension. A: Root length of soybean; B: Plant height; C: Germination rate; D: Dry weight (20 seedlings). Different lowercase letters indicate significant difference at $P < 0.05$ level by Duncan’s new multiple range test.

表2 菌株YH7-4对层出镰孢菌引起的大豆根腐病的防治效果

Table 2 Effects of YH7-4 suspension on soybean root rot caused by *Fusarium proliferatum*

Treatment	Root length (cm)	Plant height (cm)	Fresh weight (g)	Dry weight (g)	Disease index (%)	Control efficiency (%)
CK	10.71±0.10b	26.08±0.33a	1.95±0.04b	0.23±0.01b	–	–
YH7-4	10.84±0.09a	24.28±0.15b	2.19±0.09a	0.26±0.03a	–	–
Fp6-1	5.27±0.42d	10.32±0.58c	0.95±0.01c	0.11±0.01d	69.44±2.55a	–
YH7-4+Fp6-1	10.02±0.49c	23.73±0.77b	1.89±0.02b	0.20±0.01c	30.56±1.92b	56.02±1.38

Data in the table are mean±SD. Different lowercase letters in the same column indicate significant difference at $P < 0.05$ level by Duncan’s new multiple range test.

2.4 菌株 YH7-4 的全基因组测序分析

2.4.1 菌株 YH7-4 全基因组概况

对菌株 YH7-4 进行全基因组测序后, 采用 Circos v0.69.6 软件绘制基因组圈图, 全面

展示 YH7-4 基因组的特征。其基因组全长为 3 945 352 bp, G+C 含量为 46.51%, 其中预测到 3 756 个 CDS, 占基因组总长度的 88.29%。含有 tRNA 基因 91 个, 5S rRNA、16S rRNA 和

23S rRNA 基因各 10 个(图 3)。基因组中有 sRNA 82 个, 短分散重复序列(short interspersed nuclear elements, SINEs) 17 个, 长分散重复序列(long interspersed nuclear elements, LINEs) 26 个, 长末端重复序列(long terminal repeat, LTR) 3 个, 串联重复序列(tandem repeat, TR) 70 个, DNA 转座子 2 个。基因组中存在基因组岛 (gene island, GI) 31 个, 前噬菌体(prophage) 1 个。将菌株 YH7-4 测序数据上传至 NCBI, 获得基因登录号 CP199915。

2.4.2 菌株 YH7-4 的基因注释

将预测得到的 3 756 个编码基因序列分别与 NR、Swiss-Prot、Pfam、COG、GO 和 KEGG 等

数据库进行比对, 开展基因注释。其中, 在 NR 数据库中得到功能注释的基因最多, 有 3 753 个, 占基因总数的 99.92%; 在 Swiss-Prot、Pfam、COG、GO 和 KEGG 数据库中得到功能注释的基因分别为 3 537、3 358、3 082、1 756 和 2 845 个。

COG 基因功能注释结果共分为 23 类(图 3), 其中氨基酸运输和代谢(amino acid transport and metabolism)的注释结果最为丰富, 有 308 个, 占注释基因数的 9.99%; 其次是转录基因(transcription), 有 294 个, 可能调控生防相关基因的表达; 次级代谢物生物合成、运输与分解(secondary metabolites biosynthesis, transport and

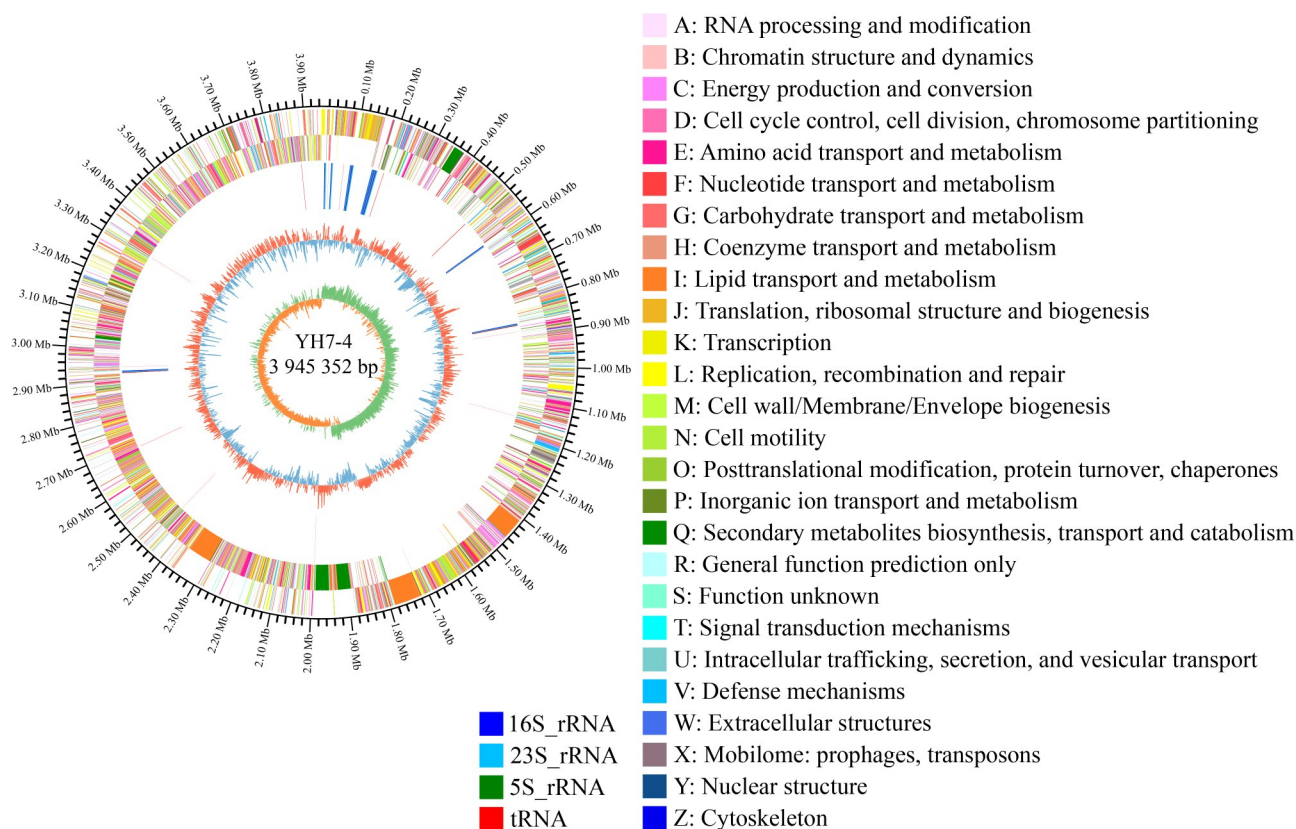


图3 菌株YH7-4基因组圈图

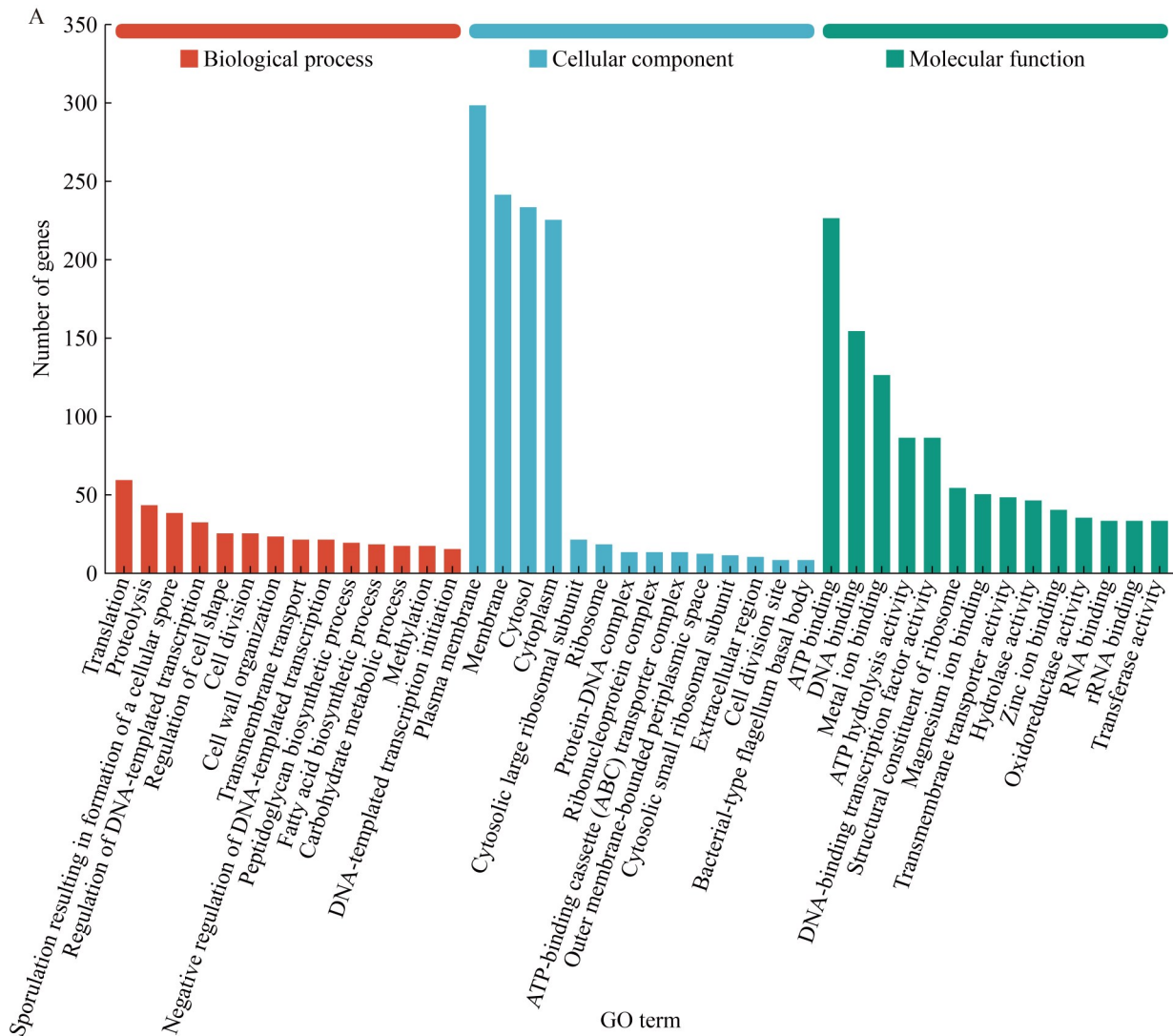
Figure 3 Circular maps of the complete genome of strain YH7-4. The circular map contains six circles. Marked information is displayed from the outer circle to the innermost circle, as follows: genome size, CDSs on the forward strand, CDSs on the reverse strand (Different colors indicate the functional classification of CDSs into different COGs), rRNA and tRNA, G+C content, and G+C skew.

catabolism)的基因有 79 个; 无机离子运输和代谢(inorganic ion transport and metabolism)基因有 176 个, 可能与高盐环境下的离子平衡调控有关。GO 注释从细胞组分(cellular component)、生物学过程(biological process)、基因的分子功能(molecular function) 3 个类别对编码蛋白进行了注释。其中, 与分子功能相关的基因数量最多, 有 1 428 个基因, 依次为 ATP 结合(ATP binding)、DNA 结合(DNA binding)和金属离子结合(metal ion binding)等功能的基因数量较多; 1 122 个基因参与细胞组分, 1 026 个基因参与

生物学过程(图 4A)。KEGG 注释结果显示, 2 845 个基因共被关联到 43 条通路中, 其中代谢(metabolism)关联基因(2 159 个)占比最高(75.89%), 说明菌株 YH7-4 代谢活跃, 可高效合成抗菌物质、降解植物残体获取能量, 为其在植物根际的生存及生防作用提供保障(图 4B)。

2.4.3 YH7-4 的代谢产物分析

将基因组序列与 CAZy 数据库进行比对, 发现菌株 YH7-4 的基因组中共有 130 个蛋白质结构域属于 CAZy 家族, 分别为 44 个糖苷水解



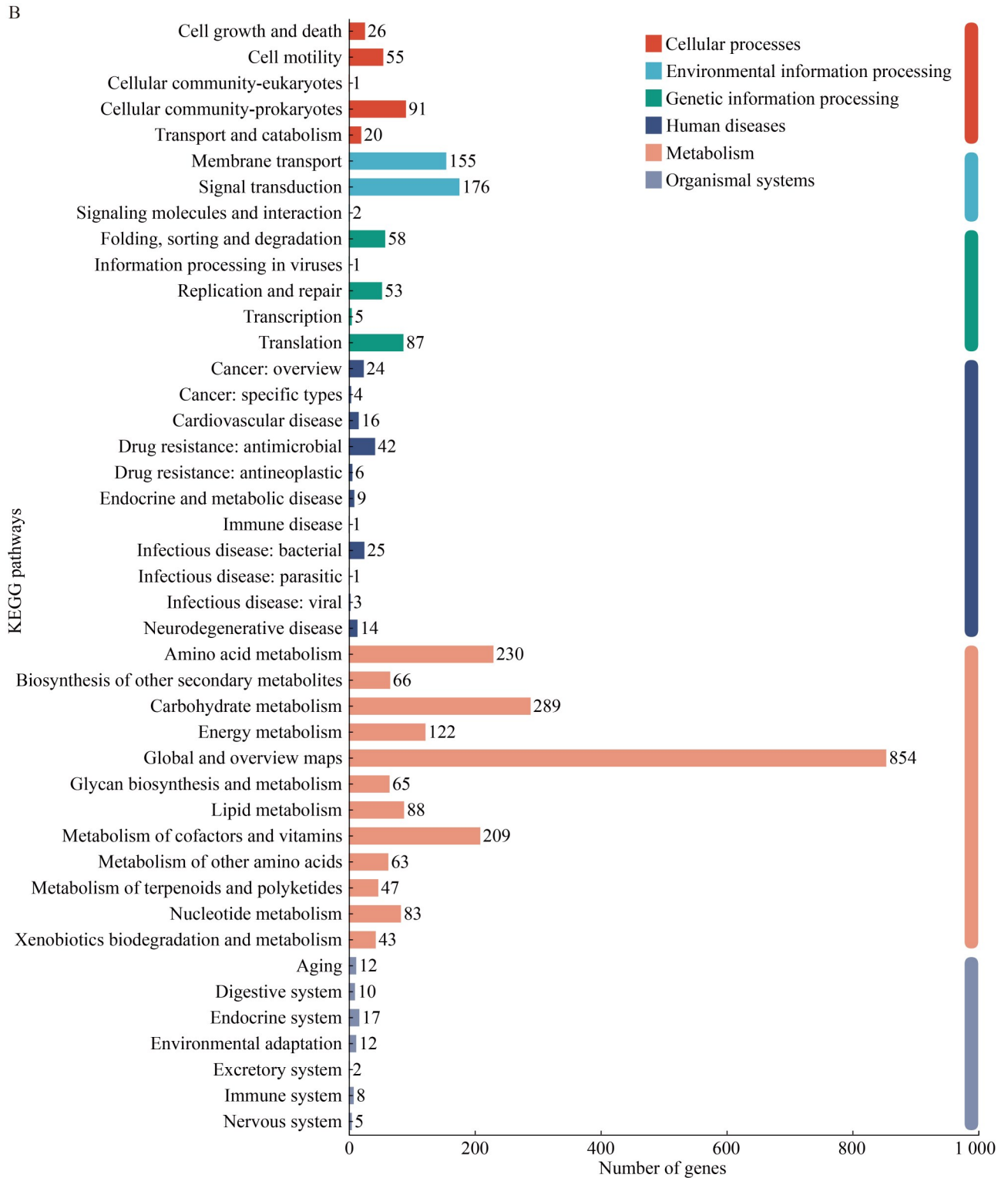


图4 菌株YH7-4基因组GO和KEGG分类统计

Figure 4 GO and KEGG functional classification of strain YH7-4. Gene ontology (GO) (A) and kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) annotation of YH7-4 (B).

酶(glycoside hydrolases, GH)、41个糖基转移酶(glycosyl transferases, GT)、31个碳水化合物酯酶(carbohydrate esterases, CE)、9个辅助氧化还原酶(auxiliary activities, AA)、3个多糖裂解酶(polysaccharide lyases, PL)和2个碳水化合物结合模块(carbohydrate-binding modules, CBD)。对碳水化合物的功能注释对于揭示 YH7-4 在盐湖生境中对碳水化合物的代谢机制具有非常重要的意义。

用 antiSMASH 软件对菌株 YH7-4 基因组进行次级代谢产物合成分析, 预测得到 483 个基因, 分属于 12 个次级代谢产物基因簇, 包括: 6 个抗生素合成基因簇(macrolactin H、bacillaene、fengycin、difficidin、bacillibactin 和 bacilysin), 与已知基因簇相似度达到 100%; 1 个基因簇, 与 surfactin 基因簇相似度为 82%; 1 个相似度仅为 7% 的 butirosin A/butirosin B 基因簇; 4 个未知功能的基因簇(表 3)。这表明菌株 YH7-4 中可能存在产生新型抑菌物质的基因簇。

2.4.4 毒力基因预测

毒力因子是促进微生物自身侵染并引起特定宿主疾病的物质, 传统毒力因子包括分泌型

蛋白质, 如蛋白质毒素和酶类, 以及细胞表面结构, 如荚膜多糖、脂多糖和外膜蛋白, 这些物质可直接参与疾病发生过程^[31]。在 YH7-4 菌株中预测到 476 个毒力基因, 对注释到的毒力因子进行分类, 其中免疫调节(immune modulation)相关基因数量最多, 占 24.37%; 其次是营养/代谢因子(nutritional/metabolic factor), 占 21.01%; 此外还有运动性(motility)、外毒素(exotoxin)、调控(regulation)、效应子传递系统(effector delivery system)、胁迫存活(stress survival)、黏附作用(adherence)、生物膜(biofilm)、胞外酶(exoenzyme)、入侵(invasion)、翻译后修饰(post-translational modification)、抗菌活性/竞争优势(antimicrobial activity/competitive advantage)以及其他类别(图 5)。这些毒力因子可能参与菌株在盐湖环境中获取营养, 在遭遇胁迫环境(如高盐、营养缺乏等不利条件)时通过启动自身生理调控机制, 或帮助其构建微生物群落生态系统, 或分泌抗菌物质抑制周边其他微生物生长, 进而在群落竞争中获得竞争优势等。

2.4.5 转运蛋白分析

膜转运蛋白是一类多样性丰富的蛋白质, 它们构成复杂的网络, 该网络包含通道蛋白、

表3 菌株YH7-4次级代谢产物基因簇分析表

Table 3 Analysis table of secondary metabolite gene clusters of the strain YH7-4

Cluster ID	Type	MIBiG accession	Similar cluster	Similarity (%)	Gene No.
Cluster 1	NRPS	BGC0000433	Surfactin	82	40
Cluster 2	PKS-like	BGC0000693	Butirosin A/butirosin B	7	41
Cluster 3	Terpene	-	-	-	23
Cluster 4	Lanthipeptide-class-ii	-	-	-	30
Cluster 5	TransAT-PKS	BGC0000181	Macrolactin H	100	44
Cluster 6	TransAT-PKS	BGC0001089	Bacillaene	100	44
Cluster 7	NRPS	BGC0001095	Fengycin	100	63
Cluster 8	Terpene	-	-	-	22
Cluster 9	T3PKS	-	-	-	50
Cluster 10	TransAT-PKS	BGC0000176	Difficidin	100	40
Cluster 11	NRPS	BGC0000309	Bacillibactin	100	45
Cluster 12	Other	BGC0001184	Bacilysin	100	42

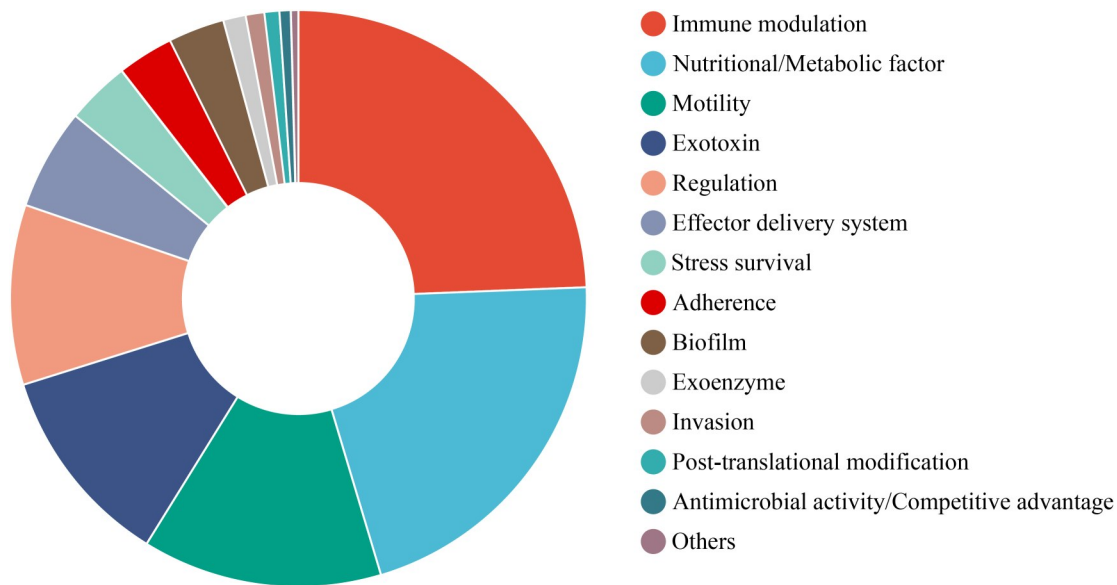


图5 菌株YH7-4毒力基因分类图

Figure 5 The classification diagram of virulent factors in YH7-4.

载体蛋白、泵蛋白、基团转移酶以及电子传递载体，这些组分共同决定细胞的分子组成和能量状态；这类蛋白质约占所有细胞蛋白质的10%，负责将营养物质、代谢终产物、有毒物质、大分子物质、信号分子、药物、电子等从来源处转运至作用靶点，最终实现细胞对各类化合物及能量来源的摄取与排出^[32]。已有研究表明其在多种生物应对常见胁迫的过程中发挥作用^[33-34]，通过将 YH7-4 基因组测序结果与 TCDB 数据库进行比对，共预测到 822 个转运蛋白。这些转运蛋白被分为以下 7 个不同类别：初级主动转运蛋白(primary active transporters)、电化学势驱动的转运蛋白(electrochemical potential-driven transporters)、未完全表征的转运系统(incompletely characterized transport systems)、基团转运蛋白(group translocators)、通道/孔道(channels/pores)、参与转运的辅助因子(accessory factors involved in transport)和跨膜电子载体(transmembrane electron carriers)。其中，初级主动转运蛋白的数量最多，注释的基因数达到 288 个(图 6)；而跨膜电子载体的基因数最

少，仅占注释到的基因数量的 1.09%。前期研究表明，YH7-4 对 10% 的 NaCl 具有耐盐性^[26]，转运蛋白的注释有助于深入理解菌株 YH7-4 的化学物质和信号分子的转运机制，对于解析其对盐湖生境高盐的适应能力至关重要。

2.4.6 生防特性相关基因分析

在 YH7-4 的 NR 注释结果中检索与促生、诱导植物抗性和生物膜形成相关的基因，并比较其与 NR 库中比对到的目标序列的相似度。结果显示，在菌株 YH7-4 中发现 2 个与铁离子(siderophore)转运相关的基因；与诱导抗性相关的基因仅检索到一个 2,3-丁二醇(2,3-butanediol)合成基因，与目标序列相似度为 100.0%；15 个基因与生物膜的形成(biofilm formation)相关(表 4)。这表明菌株 YH7-4 具有一定的促生和诱导抗性的能力，且能通过植物根际形成生物膜达到防治病害的目的。

2.4.7 比较基因组分析

通过 16S rRNA 基因序列比对发现，YH7-4 与芽孢杆菌属(*Bacillus*)菌株具有高度相似性，其中与解淀粉芽孢杆菌(*B. amyloliquefaciens*)和贝

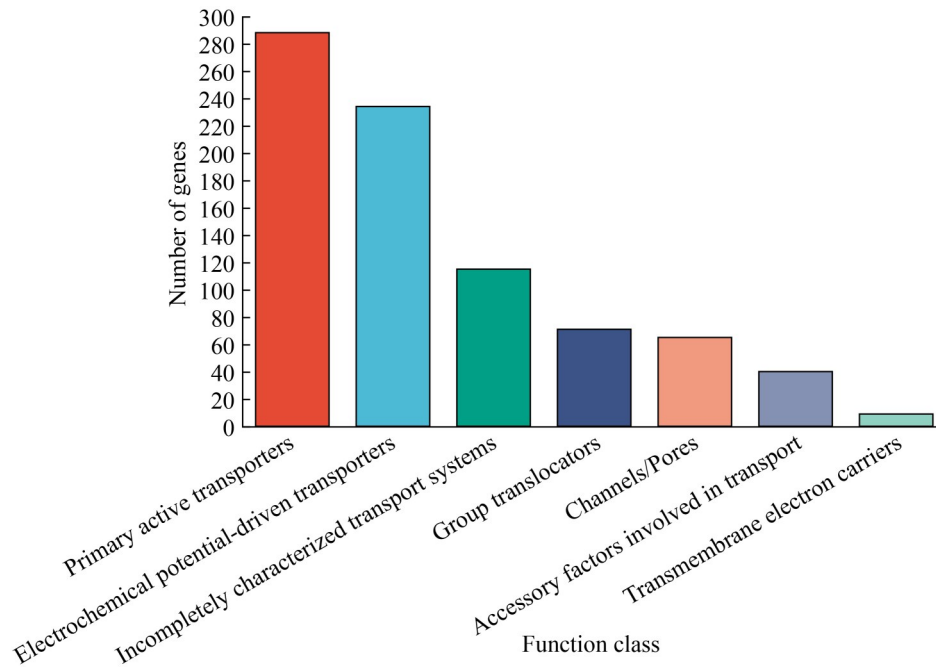


图6 YH7-4转运蛋白功能分类图

Figure 6 Functional classification diagram of transport proteins in YH7-4.

表4 生防特性相关基因分析

Table 4 Biocontrol characteristics-related genes of YH7-4

NR annotation	Gene ID	Identity (%)
Siderophore	Gene 0411	100.0
	Gene 1000	100.0
2,3-butanediol	Gene 0653	100.0
Biofilm formation	Gene 0122	34.8
	Gene 0233	28.8
	Gene 0836	28.7
	Gene 1665	28.3
	Gene 2644	30.4
	Gene 2811	38.6
	Gene 2906	32.3
	Gene 3187	25.3
	Gene 3233	29.0
	Gene 3331	33.1
	Gene 3403	36.7
	Gene 3470	47.4
	Gene 3624	28.8
Gene 3664	26.5	
Gene 3799	37.5	

莱斯芽孢杆菌(*B. velezensis*)的相似性均超过99%。因此,采用各样本的31个看家基因对该菌株进行进一步分类,并构建系统发育树(图7)。结果显示,菌株YH7-4与贝莱斯芽孢杆菌(*B. velezensis*)位于同一节点。同时开展了ANI与dDDH分析。结果显示,YH7-4与贝莱斯芽孢杆菌(*B. velezensis*) NRRL B-41580 (GCF_001461825.1)菌株对比时,ANI值超过95.00%,dDDH值高于70.00%;与之相反,其他芽孢杆菌属(*Bacillus* spp.)菌株与YH7-4的ANI值均低于95.00%,dDDH值均低于70.00%(表5)。依据已确立的物种界定阈值(ANI≥95.00%且dDDH≥70.00%)^[35],可将YH7-4归为贝莱斯芽孢杆菌(*B. velezensis*)。

基于31个看家基因序列比对结果,选择与菌株YH7-4序列相似度较高的芽孢杆菌属的4株标准菌株进行全基因组比较。所选菌株包括*B. amyloliquefaciens* DSM7 (GCF_000196735.1)、*B. nakamurai* NRRL B-41091 (GCF_001584325.1)、*B. siamensis* KCTC 13613(T) (GCF_000262045.1)、

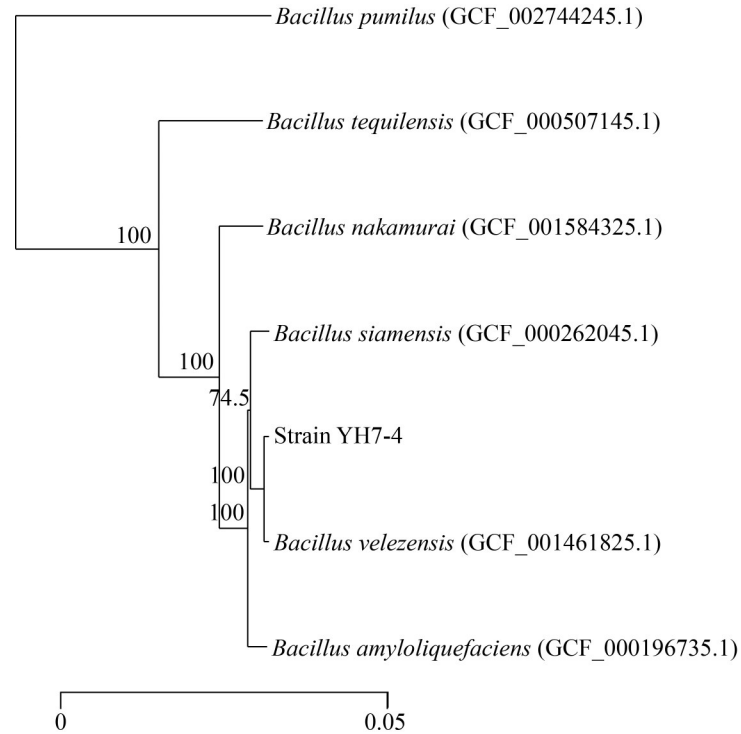


图7 基于31个看家基因构建的系统发育树

Figure 7 The neighbor-joining phylogenetic tree was constructed based on 31 house-keeping gene sequences of strain YH7-4 with closely related type species.

表5 菌株YH7-4与其近缘物种之间的ANI值和dDDH值

Table 5 ANI and dDDH values between strain YH7-4 and related species

Species	Gene ID	ANI (%)	dDDH (%)
<i>B. amyloliquefaciens</i> DSM7	GCF_000196735.1	93.99	55.50
<i>B. nakamurai</i> NRRL B-41091	GCF_001584325.1	86.47	30.90
<i>B. pumilus</i> 36R_ATNSAL	GCF_002744245.1	70.43	18.50
<i>B. siamensis</i> KCTC 13613(T)	GCF_000262045.1	94.35	56.70
<i>B. tequilensis</i> 13622(T)	GCF_000507145.1	77.38	21.00
<i>B. velezensis</i> NRRL B-41580	GCF_001461825.1	98.27	84.50

B. velezensis NRRL B-41580 (GCF_001461825.1)。对5株菌株进行全基因组直系同源基因簇分析,结果显示共18 685条蛋白序列,形成3 887个基因簇,2 857个单拷贝基因簇,1 003个单拷贝基因(表6)。

基于5个菌株的蛋白和基因组序列进行核心基因簇分析,发现YH7-4和菌株*B. amyloliquefaciens* DSM7、*B. nakamurai* NRRL

B-41091、*B. siamensis* KCTC 13613(T)、*B. velezensis* NRRL B-41580的核心基因簇有2 898个,4个菌株共有的基因簇有390个,3个菌株共有的基因簇有236个,2个菌株共有的基因簇有324个,1个菌株特有的基因簇有39个,然而YH7-4特有的基因簇仅有2个(图8)。

2.5 YH7-4的生化特征分析

通过点接法和划线法分别检测YH7-4的产

表6 菌株YH7-4与其相似种的全基因组直系同源分析表

Table 6 Orthologous clusters in the whole genomes of the strains YH7-4 and similar species

Species	Proteins	Clusters	Singletons
YH7-4	3 756	3 572	141
<i>B. amyloliquefaciens</i> DSM7 (GCF_000196735.1)	3 922	3 586	253
<i>B. nakamurai</i> NRRL B-41091 (GCF_001584325.1)	3 526	3 243	256
<i>B. siamensis</i> KCTC 13613(T) (GCF_000262045.1)	3 691	3 521	146
<i>B. velezensis</i> NRRL B-41580 (GCF_001461825.1)	3 790	3 546	207

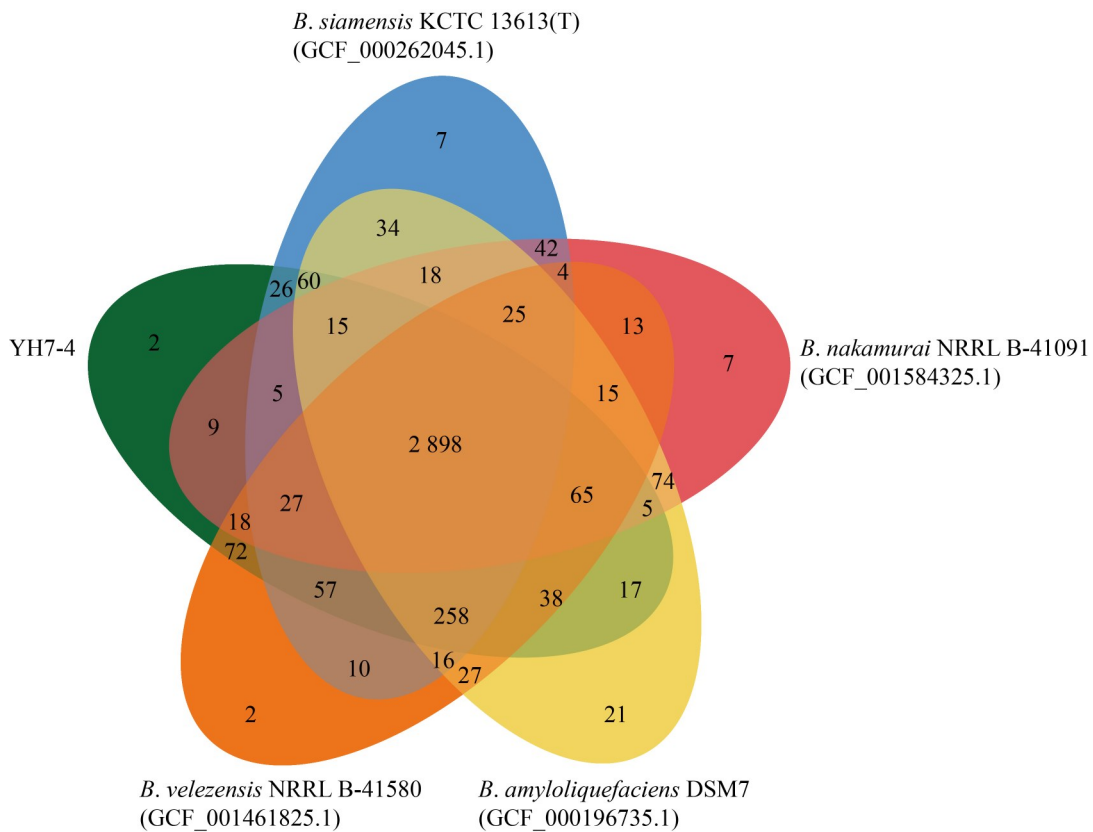


图8 菌株YH7-4全基因组直系同源基因簇分析的韦恩图

Figure 8 Venn diagram of the orthologous gene clusters in the whole genome of the strain YH7-4.

酶活性, 结果显示菌株能够在淀粉酶、蛋白酶、果胶酶、纤维素酶测定培养基上生长并产生透明圈(图 9), 在几丁质酶和葡聚糖酶测定培养基上能生长但不产生透明圈, 接触酶实验和 V-P 测试阳性, 甲基红实验阴性(表 7)。这表明菌株 YH7-4 能够产生丰富的酶类活性物质, 这为其具有广谱的拮抗活性奠定了基础。

3 讨论与结论

大豆根腐病是一种常见病害, 其病原种类较多, 在不同地区具有不同的优势菌群。层出镰孢菌是大豆根腐病的一种重要病原菌^[36-38], 且是多种植物病害的致病菌, 然而目前针对层出镰孢菌的生物防治研究较少。近年来, 对盐湖(如死海)微生物群落多样性以及有益微生物的

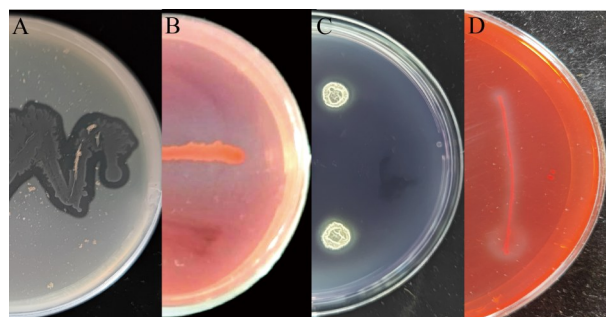


图9 菌株YH7-4的产酶活性

Figure 9 Enzyme activity results of strain YH7-4. A: Protease; B: Cellulase; C: Amylase; D: Pectinase.

表7 菌株YH7-4生化特征

Table 7 The biochemical characteristics of YH7-4

Characteristics	Results
Protease	+
Cellulase	+
Amylase	+
Pectinase	+
Chitosanase	-
Glucanase	-
Catalase test	+
Methyl test	-
V-P test	+

+: Positive reactions; -: Negative reactions.

探索逐年增多^[39]。运城盐湖作为高盐的特殊生态环境，微生物资源极为丰富^[40-41]。

前期研究从运城盐湖中分离到一株耐盐芽孢杆菌 YH7-4，发现其对大豆根腐病的层出镰孢菌、大豆疫霉、大豆拟茎点种腐病菌、大豆炭疽病菌均有显著的拮抗作用，表明该菌株具备防治大豆根腐病的潜力。此外，该菌株对草莓灰霉病病菌、月季黑斑病的病原菌葡萄座腔菌和链格孢菌也均具有较强的抑菌活性，这表明该菌株具有广谱的抑菌活性，有防治多种植物真菌病害的应用潜力。曾钰涵等^[28]筛选到一株大豆根际细菌 IRHB 47，发现处理浓度过高会抑制大豆幼苗的株高和根长。与此类似，将 YH7-4 菌液浇灌于大豆根部，发现当浓度在

$OD_{600}=0.6$ 和 0.8 时对大豆植株的根长以及干重有促进作用；而浓度过高时则失去促进作用，但无明显抑制作用。这可能是因为菌株 YH7-4 分离自盐湖，并非大豆根际促生菌，但由于其基因组中含有与促生相关的基因(表 4)，从而对大豆的根长和干重有一定的促进作用。通过室内盆栽试验测定菌株 YH7-4 对层出镰孢菌引起的大豆根腐病的防治效果，防效达到 56.02%。王传旭等^[42]从运城盐湖中分离到一株芽孢杆菌 AF-1，其对尖孢镰孢菌有较好的抑菌作用；邵高祥等^[23]从茶卡盐湖中筛选到 13 株细菌，对 13 种真菌病害均有显著抑菌作用。这表明盐湖微生物资源中存在大量广谱生防菌资源，具有在高盐地区应用的潜力。

为解析盐湖菌株 YH7-4 的抑菌机制，对其进行全基因组测序分析。YH7-4 基因组大小为 3 945 352 bp，G+C 含量为 46.51%，含有 3 756 个编码基因。在 NR、Swiss-Prot、Pfam、COG、GO 和 KEGG 数据库中得到功能注释的基因数量分别为 3 753 个(99.92%)、3 537 个(94.17%)、3 358 个(89.40%)、3 082 个(82.06%)、1 756 个(46.75%)和 2 845 个(75.74%)。菌株 VJH504 的基因组大小为 3 980 733 bp，G+C 含量为 46.46%，包含 4 104 个编码基因，被 NR、Swiss-Prot、COG、GO 和 KEGG 数据库注释到的基因数量分别为 4 068 个(99.12%)、3 545 个(86.38%)、3 137 个(76.44%)、3 094 个(75.39%)和 2 251 个(54.85%)^[13]。菌株 GX0002980 基因组中分别有 2 962 个(75.23%)、2 328 个(59.13%)和 2 511 个(63.77%)基因在 COG、GO 和 KEGG 数据库中获得注释^[43]。与之相比，YH7-4 的编码基因在 GO 数据库中的注释率较低，提示该菌株可能含有大量未知功能基因，这些基因可能是其适应极端生境或具备独特功能的关键因子。通过与 CAZy 数据库比对，贝莱斯芽孢杆菌 YA215 共预测到 127 个碳水化合物活性酶^[14]，而菌株 YH7-4 共预测到 130 个蛋白质属于碳水化合物活性酶。YH7-4 基因组中 12.86% 的基因与次级

代谢产物合成相关。从中国新疆盐碱土中分离的贝莱斯芽孢杆菌 C4341 菌株的完整基因组大小为 3 963 750 bp, G+C 含量为 46.4%, 包含 4 019 个开放阅读框(ORFs), 其中有 5.9% 的基因与次级代谢产物合成相关^[44]。与菌株 C4341 相比, YH7-4 具有更丰富的次级代谢产物。

对菌株 YH7-4 的次级代谢产物进行分析, 发现该菌株次级代谢产物包含 12 个基因簇。相似度较高的化合物基因簇包括丰原素(fengycin)、大环内酯素 H (macrolactin H)、地非西丁(difficidin)、杆菌烯(bacillaene)、儿茶酚型嗜铁素(bacillibactin)、杆菌溶素(bacilysin)和脂肽类化合物表面活性素(surfactin)等次级代谢产物, 这些化合物均对细菌或真菌具有显著的抗菌活性^[43]。贝莱斯芽孢杆菌主要通过产生脂肽类和聚酮类抗生素发挥其抗菌作用, 脂肽类物质的抗菌机制主要作用于细胞壁与细胞膜, 其中脂肽类化合物表面活性素(surfactin)和丰原素(fengycin)具有广谱抗菌活性, 在抑制真菌生长方面表现优异, 表面活性素因具备显著的表面活性剂功能, 且兼具抗真菌、抗支原体及抗病毒作用, 已受到广泛关注^[45]。大环内酯素 H (macrolactin H)是具有大环内酯结构特征的一类物质, 通过 I 型聚酮合成酶(type I polyketide synthase, PKS)途径进行生物合成, 并伴随环氧化、糖基化、酰基化等不同修饰步骤, 具有强效抗细菌活性^[46]。地非西丁(difficidin)已被证实对多种植物病原菌具有强效抑制作用, 并能增强植物的抗性^[47]。杆菌烯(bacillaene)是由芽孢杆菌菌株产生的一种线性聚酮/非核糖体肽类物质, 它凭借复杂的化学结构、独特的生物合成机制、强效的生物活性, 以及在生物竞争中发挥的重要作用, 成为抵御其他微生物、维持根际最佳环境的理想“抗生素武器”^[48]。杆菌溶素(bacilysin)是一种二肽类抗生素化合物, 对真菌和细菌均具有广谱抑制活性, 该物质在微生物体内的合成途径十分复杂, 这使其成为近年来天然产物领域的研究热点化合物^[49]。儿茶酚型嗜铁素(bacillibactin)是一种对三

价铁离子(Fe^{3+})具有强结合亲和力的铁载体, 它能够通过限制病原菌正常代谢所需铁元素的供应, 从而抑制病原菌的生长^[50]。许多研究表明贝莱斯芽孢杆菌具有合成多种次级代谢产物的能力^[14,43,51-53]。此外, 菌株 YH7-4 还有一个相似度仅为 7% 的 butirosin A/butirosin B 基因簇和 4 个未知功能的基因簇。Butirosin A/butirosin B 基因簇属于氨基糖苷类抗生素, 主要是由芽孢杆菌属细菌产生的天然抗菌代谢产物, 常用于抑制革兰氏阴性菌等病原微生物^[54]。菌株 GX0002980 的全基因组测序结果显示, 该菌株基因组中包含 14 个抗菌物质生物合成基因簇, 包括与 YH7-4 相同功能分类的 12 个基因簇, 还包括 kijanimicin 和 plantazolicin 2 种活性物质^[43], 其抗菌活性物质比 YH7-4 更多。YH7-4 中预测到 12 个次级代谢产物基因簇类型, 与陆富海等^[55]的研究结果相似。这表明菌株 YH7-4 含有丰富的抗菌活性物质, 并且具有合成新型抑菌物质的潜力。

生物膜是由分化细胞群构成的微生物群落, 这些细胞群被自身合成的胞外基质包裹^[56]。目前普遍认为, 在自然环境、临床场景及工业环境中绝大多数微生物均以生物膜的形式附着于非生物表面和生物表面^[57]。许多枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)菌株能够在植物根部表面形成生物膜, 且这种能力在抑制植物病原菌的过程中至关重要, 生物膜的形成不仅能提高细胞的定殖效率, 还能提升根部周围抗生素的局部浓度, 这些抗生素中部分可能发挥信号分子的作用, 从而进一步刺激生物膜的形成^[58]。许多芽孢杆菌具有促进植物生长和诱导植物抗性的特性^[13,59-62]。本研究在基因注释的基础上对菌株的毒力因子、转运蛋白和与生防促生特性相关的基因进行了分析, 发现有 15 个基因与生物膜的形成相关, 这为解析菌株 YH7-4 在植物根系的定殖^[63]以及对病原真菌的抑制作用提供了重要依据。此外, 将菌株 YH7-4 与其同源菌株进行全基因组比较分析发现, YH7-4 特有的基因簇

仅有 2 个, 这 2 个基因簇中的 4 个基因可能与其对高盐环境的适应性相关。

综上所述, 从运城盐湖中分离到的耐盐贝莱斯芽孢杆菌 YH7-4 在室内盆栽试验中对大豆根腐病具有显著的防治效果, 且含有促生和产生多种抗菌物质的基因, 有望为大豆根腐病及其他植物真菌病害的防治提供应用材料。本研究将从盐湖中分离到的细菌应用于植物根部, 结果显示该菌株的菌液对植物的生长产生了一定的影响。同时, 本研究为进一步解析贝莱斯芽孢杆菌 YH7-4 的抑菌机制提供了理论基础。

致谢

感谢南京农业大学植物保护学院王源超教授提供的层出镰孢菌、大豆拟茎点种腐病菌、炭疽病菌、大豆疫霉菌等菌株, 在此表示衷心感谢!

作者贡献声明

杨瑾: 实验构思和设计、数据收集、论文撰写和修改; 李珍华: 实验构思、数据分析; 王传旭: 提供技术支持; 冯宝珍: 提供草莓灰霉病菌菌株; 李培谦: 指导实验设计; 刘缙: 实验构思、数据监管、提供资源。

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] Bradley CA, Allen TW, Sisson AJ, Bergstrom GC, Bissonnette KM, Bond J, Byamukama E, Chilvers MI, Collins AA, Damicone JP, Dorrance AE, Dufault NS, Esker PD, Faske TR, Fiorellino NM, Giesler LJ, Hartman GL, Hollier CA, Isakeit T, Jackson-Ziems TA, et al. Soybean yield loss estimates due to diseases in the United States and Ontario, Canada, from 2015 to 2019[J]. *Plant Health Progress*, 2021, 22(4): 483-495.
- [2] Chang XL, Yan L, Naeem M, Khaskheli MI, Zhang H, Gong GS, Zhang M, Song C, Yang WY, Liu TG, Chen WQ. Maize/soybean relay strip intercropping reduces the occurrence of *Fusarium* root rot and changes the diversity of the pathogenic *Fusarium* species[J]. *Pathogens*, 2020, 9(3): 211.
- [3] Gargouri S, Masiello M, Somma S, Haidukowski M,

Khaterchi R, Chekali S, Derouich S, Balmas V, Moretti A. Maize-*Fusarium* interactions: tunisian insights into mycotoxin ecology[J]. *Fungal Biology*, 2024, 128(8): 2460-2470.

- [4] Meca G, Sospedra I, Soriano JM, Ritiene A, Moretti A, Mañes J. Antibacterial effect of the bioactive compound beauvericin produced by *Fusarium proliferatum* on solid medium of wheat[J]. *Toxicon*, 2010, 56(3): 349-354.
- [5] Scott PM. Recent research on fumonisins: a review[J]. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 2012, 29(2): 242-248.
- [6] Li J, Jiang GX, Yang B, Dong XH, Feng LY, Lin S, Chen F, Ashraf M, Jiang YM. A luminescent bacterium assay of fusaric acid produced by *Fusarium proliferatum* from banana[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2012, 402(3): 1347-1354.
- [7] Gao ML, Yao SY, Liu Y, Yu HN, Xu PS, Sun WH, Pu ZJ, Hou HM, Bao YM. Transcriptome analysis of tomato leaf spot pathogen *Fusarium proliferatum*: *de novo* assembly, expression profiling, and identification of candidate effectors[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(1): 31.
- [8] Schaffner U, Heimpel GE, Mills NJ, Muriithi BW, Thomas MB, Gc YD, Wyckhuys KAG. Biological control for one health[J]. *Science of the Total Environment*, 2024, 951: 175800.
- [9] Mota MS, Gomes CB, Souza IT Jr, Moura AB. Bacterial selection for biological control of plant disease: criterion determination and validation[J]. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2017, 48(1): 62-70.
- [10] 刘冬, 胡九龙, 李坤缘, 李萍, 高智谋. 大豆疫霉生防菌解淀粉芽孢杆菌 JDF3 的鉴定[J]. *安徽农业大学学报*, 2022, 49(1): 1-5.
Liu D, Hu JL, Li KY, Li P, Gao ZM. Identification of *Bacillus amyloliquefaciens* JDF3 as a biocontrol agent against *Phytophthora sojae*[J]. *Journal of Anhui Agricultural University*, 2022, 49(1): 1-5 (in Chinese).
- [11] 陈爽, 王继华, 张必弦, 刘秀林. 贝莱斯芽孢杆菌对大豆根腐病盆栽防效及防御酶活性检测[J]. *分子植物育种*, 2022, 20(19): 6492-6500.
Chen S, Wang JH, Zhang BX, Liu XL. Control effect of *Bacillus velezensis* on soybean root rot in pot and detection of defensive enzyme activity[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2022, 20(19): 6492-6500 (in Chinese).
- [12] 王芳, 于璐, 齐泽铮, 周长军, 于吉东. 大豆镰刀菌根腐病拮抗菌的筛选及生防效果[J]. *生物技术通报*, 2024, 40(7): 216-225.
Wang F, Yu L, Qi ZZ, Zhou CJ, Yu JD. Screening and biocontrol effect of antagonistic bacteria against soybean root rot[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2024, 40(7): 216-225 (in Chinese).
- [13] Yang F, Jiang HY, Ma K, Wang X, Liang S, Cai YX, Jing YC, Tian BM, Shi XJ. Genome sequencing and analysis of *Bacillus velezensis* VJH504 reveal biocontrol mechanism against cucumber *Fusarium* wilt[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 14: 1279695.

- [14] Yu FT, Shen YY, Chen SL, Fan HL, Pang YY, Liu MY, Peng JJ, Pei XD, Liu XL. Analysis of the genomic sequences and metabolites of *Bacillus velezensis* YA215[J]. *Biochemical Genetics*, 2024, 62(6): 5073-5091.
- [15] Zhou ZC, Tang XY, Peng LJ, Ding HX. Complete genome sequence of *Bacillus velezensis* GUAL210, a potential biocontrol agent isolated from pepper rhizosphere[J]. *Plant Disease*, 2023, 107(3): 915-918.
- [16] 袁胜楠, 袁佳琪, 王梦茜, 王燕, 王美琴, 王春伟. 绿针假单胞菌 ZL3 全基因组测序及 *atoB* 重组菌株对灰葡萄孢的抑菌活性[J]. *园艺学报*, 2025, 52(11): 3044-3056.
- Yuan SN, Yuan JQ, Wang MX, Wang Y, Wang MQ, Wang CW. Whole genome sequencing of *Pseudomonas chlororaphis* ZL3 and antifungal activity of *atoB* gene recombinant strain against *Botrytis cinerea*[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2025, 52(11): 3044-3056 (in Chinese).
- [17] Liu F, Chen S, Chen XB, Yong B, He B. Identification of chitinase from *Bacillus velezensis* strain S161 and its antifungal activity against *Penicillium digitatum*[J]. *Protein Expression and Purification*, 2024, 223: 106562.
- [18] Lai CR, Chen JY, Liu J, Tian DM, Lan DH, Liu TZ, Wu B, Bi HK, Tang JS. New polyketides from a hydrothermal vent sediment fungus *Trichoderma* sp. JWM29-10-1 and their antimicrobial effects[J]. *Marine Drugs*, 2022, 20(11): 720.
- [19] Aanniz T, Ouadghiri M, Melloul M, Swings J, Elfahime E, Ibjibijien J, Ismaili M, Amar M. Thermophilic bacteria in Moroccan hot springs, salt marshes and desert soils[J]. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2015, 46(2): 443-453.
- [20] Silva LJ, Crevelin EJ, Souza DT, Lacerda-Júnior GV, de Oliveira VM, Ruiz ALTG, Rosa LH, Moraes LAB, Melo IS. Actinobacteria from *Antarctica* as a source for anticancer discovery[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10: 13870.
- [21] Nithya K, Muthukumar C, Biswas B, Alharbi NS, Kadaikunnan S, Khaled JM, Dhanasekaran D. Desert Actinobacteria as a source of bioactive compounds production with a special emphases on Pyridine-2,5-diacetamide a new pyridine alkaloid produced by *Streptomyces* sp. DA3-7[J]. *Microbiological Research*, 2018, 207: 116-133.
- [22] Eckstien D, Maximov N, Margolis N, Raanan H. Towards sustainable biocontrol: inhibition of soil borne fungi by microalgae from harsh environments[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2024, 15: 1433765.
- [23] 邵高祥, 束长龙, 耿丽丽, 高继国, 刘贵明, 张达, 张杰. 茶卡盐湖中耐盐抗真菌芽孢杆菌的分离和鉴定[J]. *中国生物防治学报*, 2016, 32(4): 440-448.
- Shao GX, Shu CL, Geng LL, Gao JG, Liu GM, Zhang D, Zhang J. Isolation and identification of antifungal *Bacillus* with salt-tolerant in caka salt lake[J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2016, 32(4): 440-448 (in Chinese).
- [24] Al-Daghistani HI, Zein S, Abbas MA. Microbial communities in the Dead Sea and their potential biotechnological applications[J]. *Communicative & Integrative Biology*, 2024, 17: 2369782.
- [25] Di Onofrio V, Maione A, Guida M, de Castro O, Liguori R, Carraturo F, Galdiero E. Screening and isolation of microbes from a Mud Community of Ischia Island Thermal Springs: preliminary analysis of a bioactive compound[J]. *Journal of Preventive Medicine and Hygiene*, 2021, 62(2): E479-E488.
- [26] 杨瑾, 高佳欣, 李珍华, 张甜, 刘缙. 月季黑斑病原菌的分离及生防菌的筛选[J]. *运城学院学报*, 2025, 43(3): 35-40.
- Yang J, Gao JX, Li ZH, Zhang T, Liu J. Isolation of pathogenic bacteria and screening of biocontrol bacteria against rose black spot disease[J]. *Journal of Yuncheng University*, 2025, 43(3): 35-40 (in Chinese).
- [27] 娄向弟, 周强, 贺江, 张向向, 王永慧, 熊建华, 郜彦彦. 贝莱斯芽孢杆菌 PJP10 的抑菌物质稳定性及活性代谢产物挖掘[J]. *微生物学通报*, 2024, 51(3): 935-949.
- Lou XD, Zhou Q, He J, Zhang XX, Wang YH, Xiong JH, Gao YY. Stability evaluation and genome mining of antimicrobial metabolites of *Bacillus velezensis* PJP10[J]. *Microbiology China*, 2024, 51(3): 935-949 (in Chinese).
- [28] 曾钰涵, 赵心宇, 胡玉, 魏登琴, 尚静, 常小丽. 大豆根腐病生防链霉菌 IRHB47 的鉴定、生物学特性及防治效果[J]. *四川农业大学学报*, 2023, 41(5): 801-810.
- Zeng YH, Zhao XY, Hu Y, Wei DQ, Shang J, Chang XL. Identification, biological characteristics and control efficacy of *Streptomyces virginiae* IRHB47 against soybean root rot[J]. *Journal of Sichuan Agricultural University*, 2023, 41(5): 801-810 (in Chinese).
- [29] Meier-Kolthoff JP, Auch AF, Klenk HP, Göker M. Genome sequence-based species delimitation with confidence intervals and improved distance functions[J]. *BMC Bioinformatics*, 2013, 14: 60.
- [30] 东秀珠, 周宇光, 朱红惠. 常见细菌与古菌系统分类鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2023: 515-519.
- Dong XZ, Zhou YG, Zhu HH. *Manual for Systematic Classification and Identification of Common Bacteria and Archaea*[M]. Beijing: Science Press, 2023: 515-519 (in Chinese).
- [31] Chen L. VFDB: a reference database for bacterial virulence factors[J]. *Nucleic Acids Research*, 2004, 33: D325-D328.
- [32] Saier MH, Reddy VS, Moreno-Hagelsieb G, Hendargo KJ, Zhang YC, Iddamsetty V, Lam KJK, Tian N, Russum S, Wang JN, Medrano-Soto A. The transporter classification database (TCDB): 2021 update[J]. *Nucleic Acids Research*, 2021, 49(D1): D461-D467.
- [33] Xie YR, Chen L, Sun T, Zhang YN, Li T, Song XY, Zhang WW. Transporters related to stress responses and their potential application in *Synechocystis* sp. PCC 6803[J]. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 2018, 1080: 27-53.
- [34] Peng R, Ai L, Mei FW. An overview of the role of membrane proteins in microbial solvents tolerance[J]. *Protein & Peptide Letters*, 2023, 30(2): 137-145.
- [35] Chun J, Oren A, Ventosa A, Christensen H, Arahall DR, da Costa MS, Rooney AP, Yi HN, Xu XW, De Meyer S, Trujillo ME. Proposed minimal standards for the use of genome data for the taxonomy of prokaryotes[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary*

- Microbiology, 2018, 68(1): 461-466.
- [36] 曹舜, 迟元凯, 徐阿妹, 何艳秋, 戚仁德, 赵伟. 安徽北部大豆根腐病原鉴定与致病力测定[J/OL]. 植物病理学报, 2025: 1-20. (2025-09-17). <https://doi.org/10.13926/j.cnki.apps.000998>.
- Cao S, Chi YK, Xu AM, He YQ, Qi RD, Zhao W. Identification and virulence of *Fusarium* spp. causing soybean root rot in Northern Anhui Province[J/OL]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2025: 1-20. (2025-09-17). <https://doi.org/10.13926/j.cnki.apps.000998> (in Chinese).
- [37] 李蕾蕾, 从韞喆, 贾凯华, 蒲艳艳, 宫永超, 田汝美, 辛富刚, 李娜娜. 山东省大豆镰刀菌根腐病鉴定及生防菌防效评价[J]. 山东农业科学, 2025, 57(5): 155-162.
- Li LL, Cong YZ, Jia KH, Pu YY, Gong YC, Tian RM, Xin FG, Li NN. Identification of *Fusarium* root rot in soybeans in Shandong Province and efficacy evaluation of biocontrol fungi[J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2025, 57(5): 155-162 (in Chinese).
- [38] 李红菊, 李晓迪, 陈思怡, 戴浩, 常小丽. 套作大豆根腐病与玉米茎腐病致病镰孢菌的相互感染关系研究[J]. 四川农业大学学报, 2020, 38(5): 551-557.
- Li HJ, Li XD, Chen SY, Dai H, Chang XL. Infection relationship of *Fusarium* spp. causing soybean root rot and maize stalk rot in maize-soybean relay strip intercropping[J]. *Journal of Sichuan Agricultural University*, 2020, 38(5): 551-557 (in Chinese).
- [39] Jacob JH, Hussein EI, Ali K Shakhathreh M, Cornelison CT. Microbial community analysis of the hypersaline water of the Dead Sea using high-throughput amplicon sequencing[J]. *MicrobiologyOpen*, 2017, 6(5): e00500.
- [40] 郭浩然, 王帆, 田连祥, 王传旭, 李文均, 房保柱, 李新, 王卓. 山西运城盐湖土壤沉积物细菌多样性及影响因素分析[J]. 微生物学报, 2024, 64(6): 1891-1905.
- Guo HR, Wang F, Tian LX, Wang CX, Li WJ, Fang BZ, Li X, Wang Z. Bacterial diversity and influencing factors in soil sediments of Yuncheng Salt Lake, Shanxi[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2024, 64(6): 1891-1905 (in Chinese).
- [41] 王传旭, 杨静, 王卓, 李云杰, 于慧瑛, 陆春霞, 杨瑾, 李新. 运城盐湖细菌群落结构及生态多样性分析[J]. 微生物学报, 2024, 64(6): 1906-1921.
- Wang CX, Yang J, Wang Z, Li YJ, Yu HY, Lu CX, Yang J, Li X. Community structure and ecological diversity of bacteria in Yuncheng Salt Lake[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2024, 64(6): 1906-1921 (in Chinese).
- [42] 王传旭, 于慧瑛, 赵爱华, 李新. 一株盐湖芽孢杆菌 AF-1 的鉴定及其抗尖孢镰刀菌活性研究[J]. 云南大学学报(自然科学版), 2019, 41(1): 164-171.
- Wang CX, Yu HY, Zhao AH, Li X. Identification of *Bacillus* sp. AF-1 from a salt lake in Yuncheng and the antimicrobial activity against *Fusarium oxysporum*[J]. *Journal of Yunnan University (Natural Sciences Edition)*, 2019, 41(1): 164-171 (in Chinese).
- [43] Wang J, Xie XY, Li B, Yang LF, Song FQ, Zhou Y, Jiang MG. Complete genome analysis and antimicrobial mechanism of *Bacillus velezensis* GX0002980 reveals its biocontrol potential against mango anthracnose disease[J]. *Microbiology Spectrum*, 2025, 13(6): e02685-e02624.
- [44] Zhu LY, Liu N, Wang HQ, Zhang ZD, Jiang L, Huang H. Draft genome sequence of broad-spectrum antifungal-producing *Bacillus velezensis* C4341 isolated from a saline-alkali soil sample in China[J]. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 2019, 16: 291-293.
- [45] Saiyam D, Dubey A, Ahmad Malla M, Kumar A. Lipopeptides from *Bacillus*: unveiling biotechnological prospects: sources, properties, and diverse applications[J]. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2024, 55(1): 281-295.
- [46] Wu T, Xiao F, Li WL. Macrolactins: biological activity and biosynthesis[J]. *Marine Life Science & Technology*, 2021, 3(1): 62-68.
- [47] Rabbee MF, Ali MS, Choi J, Hwang BS, Jeong SC, Baek KH. *Bacillus velezensis*: a valuable member of bioactive molecules within plant microbiomes[J]. *Molecules*, 2019, 24(6): 1046.
- [48] Miao S, Liang JH, Xu Y, Yu GH, Shao MW. Bacillaene, sharp objects consist in the arsenal of antibiotics produced by *Bacillus*[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2023: jcp.30974.
- [49] Islam T, Rabbee MF, Choi J, Baek KH. Biosynthesis, molecular regulation, and application of bacilysin produced by *Bacillus* species[J]. *Metabolites*, 2022, 12(5): 397.
- [50] Dimopoulou A, Theologidis I, Benaki D, Koukounia M, Zervakou A, Tzima A, Diallinas G, Hatzinikolaou DG, Skandalis N. Direct antibiotic activity of bacillibactin broadens the biocontrol range of *Bacillus amyloliquefaciens* MBI600[J]. *mSphere*, 2021, 6(4): e00376-21.
- [51] Wang Z, Zhang WW, Wang ZY, Zhang ZX, Liu Y, Liu SY, Wu QL, Saiding E, Han JJ, Zhou J, Xu JJ, Yi XH, Zhang Z, Wang RX, Su XR. Analysis of antimicrobial biological activity of a marine *Bacillus velezensis* NDB[J]. *Archives of Microbiology*, 2024, 206(3): 131.
- [52] Sam-on MFS, Mustafa S, Mohd Hashim A, Yusof MT, Zulkifly S, Malek AZA, Roslan MAH, Mohd Asrore MS. Mining the genome of *Bacillus velezensis* FS26 for probiotic markers and secondary metabolites with antimicrobial properties against aquaculture pathogens[J]. *Microbial Pathogenesis*, 2023, 181: 106161.
- [53] Cheng YQ, Lou HX, He HL, He XY, Wang ZC, Gao X, Liu JF. Genomic and biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* using an extracellular extract from *Bacillus velezensis* 20507[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2024, 15: 1385067.
- [54] Horii S, Nogami I, Mizokami N, Arai Y, Yoneda M. New antibiotic produced by bacteria, 5- β -d-xylofuranosylneamine[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1974, 5(6): 578-581.
- [55] 陆富海, 彤丽格, 魏浩, 吴书凤, 冉兆晋, 李家丞, 梁家灿, 张志鹏. 一株具有广谱抑菌活性的贝莱斯芽孢杆菌全基因组分析[J/OL]. 安徽农业科学, 2025: 1-8. (2025-09-01). <https://link.cnki.net/urlid/34.1076>.

- s.20250829.1757.030.
- Lu FH, Tong LG, Wei H, Wu SF, Ran ZJ, Li JC, Liang JC, Zhang ZP. Whole genome analysis of a *Bacillus velezensis* strain with broad-spectrum antimicrobial activity[J/OL]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2025: 1-8. (2025-09-01). <https://link.cnki.net/urlid/34.1076.s.20250829.1757.030> (in Chinese).
- [56] O'Toole G, Kaplan HB, Kolter R. Biofilm formation as microbial development[J]. Annual Review of Microbiology, 2000, 54: 49-79.
- [57] Davey ME, O'Toole GA. Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2000, 64(4): 847-867.
- [58] Chen Y, Yan F, Chai YR, Liu HX, Kolter R, Losick R, Guo JH. Biocontrol of tomato wilt disease by *Bacillus subtilis* isolates from natural environments depends on conserved genes mediating biofilm formation[J]. Environmental Microbiology, 2013, 15(3): 848-864.
- [59] Arnaouteli S, Bamford NC, Stanley-Wall NR, Kovács ÁT. *Bacillus subtilis* biofilm formation and social interactions[J]. Nature Reviews Microbiology, 2021, 19(9): 600-614.
- [60] 王金昌. 多粘类芽胞杆菌 T-9 全基因组测序及生物信息分析[J]. 中国生物防治学报, 2025, 41(4): 836-850.
- Wang JC. Whole genome sequencing and bioinformatics analysis of *Paenibacillus polymyxa* T-9[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2025, 41(4): 836-850 (in Chinese).
- [61] 王飞, 李雪梦, 杨瑾, 高素霞, 郭治辰, 秦艳红, 文艺, 鲁书豪, 赵莹, 宋露洋, 杨健, 万修福, 李绍建. 生防菌 Pc01-6 对丹参根腐病的生防效果及基因组学分析[J]. 中国生物防治学报, 2025, 41(3): 542-553.
- Wang F, Li XM, Yang J, Gao SX, Guo ZC, Qin YH, Wen Y, Lu SH, Zhao Y, Song LY, Yang J, Wan XF, Li SJ. Biocontrol effects of antagonistic isolate Pc01-6 on *Salvia miltiorrhiza* root rot and its genomic analysis[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2025, 41(3): 542-553 (in Chinese).
- [62] 周嘉敏, 赵阿慧, 郑琳冉, 崔永和, 蒋春号, 李江舟, 代快, 牛冬冬. 烟草黑胫病生防菌的筛选鉴定及防治效果研究[J]. 植物病理学报, 2025, 55(4): 898-910.
- Zhou JM, Zhao A/E/EH, Zheng LR, Cui YH, Jiang CH, Li JZ, Dai K, Niu DD. Screening, identification and biocontrol potential of antagonistic bacteria against tobacco black shank[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2025, 55(4): 898-910 (in Chinese).
- [63] 毛辉, 龙宪军, 苏红标, 向锦, 刘灿, 张健, 余佳龙, 黄琪, 周枫, 巢进, 田明慧, 刘旭东, 陈武. 烟草镰刀菌根腐病生防菌 LS06 的基因组分析及其防病效果[J/OL]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2025: 1-8. (2025-10-17). <https://link.cnki.net/urlid/43.1257.S.20251016.1828.002>.
- Mao H, Long XJ, Su HB, Xiang J, Liu C, Zhang J, Yu JL, Huang Q, Zhou F, Chao J, Tian MH, Liu XD, Chen W. Genomic analysis and control efficacy of biocontrol strain LS06 against tobacco *Fusarium* root rot[J/OL]. Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences), 2025: 1-8. (2025-10-17). <https://link.cnki.net/urlid/43.1257.S.20251016.1828.002> (in Chinese).