

研究报告

贝莱斯芽孢杆菌 MY1 的分离鉴定及其对酿酒高粱真菌的拮抗作用

丁少晨¹, 宁欣强¹, 周丽洪^{1*}, 郭晓艺², 雷雨¹, 余雪¹

1 四川轻化工大学 生物工程学院, 四川 宜宾 644000

2 四川省农业科学院 水稻高粱研究所 农业部西南水稻生物学与遗传育种重点实验室, 四川 德阳 618000

丁少晨, 宁欣强, 周丽洪, 郭晓艺, 雷雨, 余雪. 贝莱斯芽孢杆菌 MY1 的分离鉴定及其对酿酒高粱真菌的拮抗作用[J]. 微生物学通报, 2026, 53(1): 373-388.

DING Shaochen, NING Xinqiang, ZHOU Lihong, GUO Xiaoyi, LEI Yu, YU Xue. Isolation and identification of *Bacillus velezensis* MY1 and evaluation of its antagonistic effect on fungi infecting brewing sorghum[J]. Microbiology China, 2026, 53(1): 373-388.

摘要: 【背景】高粱是我国酿酒工业的重要原料, 但在收获和贮藏过程中易受链格孢属(*Alternaria*)、镰刀菌(*Fusarium*)、弯孢霉(*Curvularia*)及曲霉(*Aspergillus*)等真菌侵染, 导致霉变及真菌毒素污染, 严重影响酿酒品质与食品安全。化学防治存在污染环境的风险, 而生物防治因其环境友好等特性受到重视。【目的】筛选对酿酒高粱真菌具有拮抗作用的微生物菌株, 为开发生物制剂提供候选菌株, 同时为完善我国酿酒高粱储藏防控体系提供理论依据。【方法】以损毁链格孢菌(*Alternaria destruens*) GN3、木贼镰孢菌(*Fusarium equiseti*) GN5、谢瓦曲霉(*Aspergillus chevalieri*) GN11、假中弯孢菌(*Curvularia pseudointermedia*) GN19 和近平滑念珠菌(*Candida parapsilosis*) GN10 为指示菌株, 采用平板对峙法筛选获得拮抗菌株 MY1。通过形态学、生理生化及分子生物学鉴定菌种。利用打孔法测定无菌发酵滤液的抑菌活性, 双皿对扣法确定其挥发性代谢产物的抑菌特性, 同时检测其胞外水解酶的产生情况。【结果】菌株 MY1 对 5 种测试真菌均表现出显著抑制效果, 抑菌率均超过 50.00%, 菌株 MY1 鉴定为贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*)。其无菌滤液在 0.8% 的低浓度下即可抑制损毁链格孢菌 GN3 生长, 导致菌丝形态异常, 抑菌率达到 53.95%。MY1 能分泌蛋白酶和纤维素酶, 并产生挥发性抑菌物质, 对多种病原真菌具有广谱抑制活性。【结论】拮抗菌 MY1 对酿酒高粱真菌具有显著拮抗作用, 具备作为生物防治菌剂的潜力。**关键词:** 酿酒高粱; 贝莱斯芽孢杆菌; 拮抗菌; 生物防治; 抑菌活性; 鉴定

资助项目: 宜宾市科技局项目(2022NY019); 四川省自然科学基金(2023NSFSC1260); 四川轻化工大学人才引进项目(2015RC46)

This work was supported by the Yibin Science and Technology Bureau Program (2022NY019), the Natural Science Foundation of Sichuan Province (2023NSFSC1260), and the Talent Introduction Project of Sichuan University of Science & Engineering (2015RC46).

*Corresponding author. E-mail: 397372718@qq.com

Received: 2025-04-18; Accepted: 2025-07-05; Published online: 2025-07-30

Isolation and identification of *Bacillus velezensis* MY1 and evaluation of its antagonistic effect on fungi infecting brewing sorghum

DING Shaochen¹, NING Xinqiang¹, ZHOU Lihong^{1*}, GUO Xiaoyi², LEI Yu¹, YU Xue¹

1 School of Biological Engineering, Sichuan University of Science & Engineering, Yibin 644000, Sichuan, China

2 Key Laboratory of Southwest Rice Biology and Genetic Breeding, Rice and Sorghum Institute, Sichuan

Academy of Agricultural Sciences, Deyang 618000, Sichuan, China

Abstract: [Background] Sorghum serves as a crucial raw material for China's brewing industry. However, during harvest and storage, it is susceptible to infections by *Alternaria*, *Fusarium*, *Curvularia*, and *Aspergillus*, which lead to mold growth and mycotoxin contamination. These issues severely compromise the quality of brewing products and pose food safety risks. While chemical control methods may cause environmental pollution, biocontrol has emerged as a research hotspot due to its eco-friendly characteristics. [Objective] To screen the microbial strains exhibiting antagonistic effects against fungi infecting brewing sorghum, providing candidate strains for biocontrol agent development. Additionally, it sought to establish a theoretical foundation for improving China's brewing sorghum storage and fungal control systems. [Methods] Taking *Alternaria destruens* GN3, *Fusarium equiseti* GN5, *Aspergillus chevalieri* GN11, *Curvularia pseudointermedia* GN19, and *Candida parapsilosis* GN10 as indicator strains and using the plate confrontation method, we isolated the antagonistic strain MY1 and further identified this strain based on its morphological features, physiological and biochemical properties, and molecular evidence. The inhibitory activity of the sterile fermentation filtrate of this strain was assessed via the agar well diffusion assay, while that of volatile metabolites was evaluated via the double-plate confrontation method. Additionally, extracellular hydrolase production was detected. [Results] Strain MY1 exhibited significant inhibitory effects on all the five tested fungal strains, with the inhibition rates exceeding 50.00%. It was identified as *Bacillus velezensis*. The sterile fermentation filtrate inhibited the growth of *A. destruens* GN3 at a low concentration of 0.8%, causing abnormal mycelial morphology and achieving an inhibition rate of 53.95%. Furthermore, MY1 demonstrated protease and cellulase secretion capabilities and produced volatile antifungal compounds, displaying broad-spectrum inhibitory activity against multiple pathogenic fungi. [Conclusion] The antagonistic strain MY1 shows remarkable inhibitory activity against fungi infecting brewing sorghum and holds potential as a biocontrol agent for fungal contamination management.

Keywords: brewing sorghum; *Bacillus velezensis*; antagonistic strain; biocontrol; antifungal activity; identification

高粱(*Sorghum bicolor* L.)因其淀粉、单宁等成分的独特配比,成为我国传统酿酒工业中不可替代的原料作物^[1-2]。我国高粱年种植面积持续稳定在130万hm²规模,总产400万t^[3-5]。但

由于其营养丰富,在收获和储存过程中易受链格孢属(*Alternaria*)、镰刀菌(*Fusarium*)、弯孢霉(*Curvularia*)和曲霉(*Aspergillus*)等霉菌的侵染,造成15%–30%的产量损失,导致酿酒高粱的营

养价值和经济效益降低^[6]。链格孢属在高粱收获初期占优势,可产生链格孢酚等有毒代谢物,降低籽粒发芽率,诱发酒体异味^[7];镰刀菌可分泌脱氧雪腐镰刀菌烯醇等毒素,易使酒体杂醇油含量升高,导致发酵异常^[8-9];弯孢霉会破坏高粱胚乳结构,使淀粉转化率下降 10%–15%^[10-11];曲霉产生的黄曲霉毒素具有强致癌性,并且耐高温蒸煮,直接威胁饮酒安全^[10-11]。因此,开发高效的酿酒高粱霉变防控技术,已成为酿酒原料安全与品质保障亟待解决的关键问题。

目前,化学杀菌剂仍是防治霉变的主要手段,但长期使用会破坏土壤生态平衡,引发病原菌产生抗药性。而生物防治因具有环境友好、可持续等优势备受关注^[12]。其中,贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*)展现出良好的应用潜力。李成江等^[13]的研究表明,贝莱斯芽孢杆菌 f-20 能分泌多种抗菌物质,具有广谱抑菌特性,对哈密瓜细菌性果斑病有较好的防治效果。黄倩等^[14]发现贝莱斯芽孢杆菌 HX-6 的发酵液和无细胞上清液均对青枯病菌(*Ralstonia solanacearum*)有显著的抑制作用。Peng 等^[15]验证了贝莱斯芽孢杆菌产生的乙酰丙酮能诱导植物的系统抗性,从而提高植物抗病性。针对酿酒高粱储存过程中的真菌病害,本研究以从四川省宜宾市糯红高粱中分离出的 5 种酿酒高粱有害真菌为防治对象,筛选、鉴定出高效拮抗菌株,并评价其抑菌效果,以期开发高粱霉变生物防治技术提供菌种资源,助力解决酿酒原料储藏损失与安全质控难题。

1 材料与方 法

1.1 供试菌株

共选用 11 株真菌,其中 5 株真菌分离自四川省宜宾市糯红高粱植株与种子,由四川轻化工大学四川省酿酒专用粮工程技术研究中心保存,为损毁链格孢菌(*Alternaria destruens*) GN3、木贼镰孢菌(*Fusarium equiseti*) GN5、谢瓦曲霉(*Aspergillus chevalieri*) GN11、假中弯孢菌

(*Curvularia pseudointermedia*) GN19 和近平滑念珠菌(*Candida parapsilosis*) GN10; 6 株常见作物病原真菌,分别为芒果采后炭疽病菌(*Colletotrichum asiamum*) JBAA1、指状青霉(*Penicillium digitatum*) GJLM、意大利青霉(*Penicillium italicum*) GJJ、葡萄座腔菌(*Botryosphaeria dothidea*) JHAD2、草酸青霉(*Penicillium oxalicum*) CSQM 和小新壳梭孢(*Neofusicoccum parvum*) JHAA2,保存于四川轻化工大学食品科学与工程学科果蔬采后生理科研团队。供试细菌为实验室保存的分离自高粱、小麦、烟草土壤中的细菌,共 50 株。

1.2 培养基

LB 培养基、营养琼脂(nutrient agar, NA)培养基、PDA 培养基、脱脂牛奶培养基、羧甲基纤维素培养基、茯苓粉培养基和胶状几丁质培养基参照文献^[16]配制。

胶状几丁质培养基(g/L): 1%胶体几丁质 2 mL, K_2HPO_4 0.7 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5 g, KH_2PO_4 0.3 g, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.01 g, $ZnSO_4$ 0.001 g, 琼脂 20.0 g, pH 7.0–7.2。

脱脂牛奶培养基(g/L): 10%脱脂牛奶 10 mL, NaCl 10 g, 酵母浸粉 5 g, 琼脂 15 g, pH 7.0–7.2。

羧甲基纤维素培养基(g/L): K_2HPO_4 2.5 g, Na_2HPO_4 2.5 g, 羧甲基纤维素钠 20 g, 蛋白胨 2.0 g, 酵母浸粉 0.5 g, 琼脂 14.0 g, pH 7.2。

茯苓粉培养基(g/L): KH_2PO_4 6.8 g, Na_2HPO_4 17.9 g, 酵母浸粉 6.7 g, 茯苓粉 4.0 g, 苯胺蓝 60 mg, 琼脂 12.0 g, pH 6.8。

1.3 主要试剂和仪器

LB 培养基、营养琼脂培养基、PDA 培养基,青岛海博生物;细菌基因组 DNA 提取试剂盒,广州湾区生物科技有限公司;2×TSINGKE Master Mix,北京擎科生物科技股份有限公司;电子分析天平,上海力辰仪器科技有限公司;紫外可见分光光度计,翱艺仪器(上海)有限公司;离心机,上海博讯实业有限公司。

1.4 拮抗菌的筛选

采用平皿对峙法从实验室保存的 50 株细菌中筛选具有抑菌活性的菌株^[17]。以 5 株酿酒高粱真菌：损毁链格孢菌(*Alternaria destruens*) GN3、木贼镰孢菌(*Fusarium equiseti*) GN5、谢瓦曲霉(*Aspergillus chevalieri*) GN11、假中弯孢菌(*Curvularia pseudointermedia*) GN19、近平滑念珠菌(*Candida parapsilosis*) GN10 为目标测试菌。在 PDA 培养基中央放置 5 mm 真菌菌饼，四周 2.5 cm 处分别点接 5 μ L 细菌菌液，以未接菌液的平板作为对照。培养 7 d 后观察抑菌圈大小，采用十字交叉法测量病原菌菌落直径，并采用公式(1)计算抑制率^[18-19]。

抑制率(%)=(对照菌落直径-处理菌落直径)/
对照菌落直径 \times 100 (1)

1.5 拮抗菌的鉴定

1.5.1 形态学鉴定及生理生化鉴定

依据文献[20-21]的分类标准，对抑菌效果最显著的菌株 MY1 进行形态学观察和生理生化特性分析^[22-23]，并与已报道的菌株对比验证。

1.5.2 分子生物学鉴定

采用细菌基因组 DNA 提取试剂盒提取菌株 MY1 的基因组 DNA。选用细菌 16S rRNA 基因通用引物 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGC TCAG-3')和 1492R (5'-CGGTTACCTTGTTACG ACTT-3')进行 PCR 扩增^[24]。PCR 反应体系和条件参照吴国平等^[24]的方法。产物经上海杰李生物技术有限公司测序后，将获得的序列与 NCBI 数据库进行比对分析，利用 MEGA 11 软件构建系统发育树进行分子鉴定。

1.6 拮抗菌的拮抗特性

1.6.1 拮抗菌株发酵上清液的制备

挑取菌株 MY1 的单菌落接种于 100 mL LB 培养基中，28 $^{\circ}$ C、180 r/min 振荡培养 18 h 后以 1%接种量转接至 LB 培养基，相同条件下培养 48 h 获得发酵液，调整其 OD_{600} 为 1.0^[25]。发酵液经 12 000 r/min 离心 10 min，收集上清液经 0.22 μ m 无菌滤膜过滤，得到菌株 MY1 的无

菌滤液^[26]。

1.6.2 拮抗菌上清液对酿酒高粱真菌的拮抗特性

以 5 株有害酿酒高粱真菌为目标测试菌，采用打孔法^[27]将直径 0.5 cm 菌饼接种于 PDA 平板中央，用打孔器在距菌落 2.5 cm 的 4 个方向各打一孔，并滴加 50 μ L 无菌上清液，于 28 $^{\circ}$ C 培养 7 d，每个处理接种 3 个平板，以未滴加上清液的平板作为空白对照(CK)，以加入无菌水的平板作为阴性对照(NC)，观察抑菌效果，计算抑制率^[28]。

1.6.3 无菌滤液的抑菌率测定

将菌株 MY1 的无菌滤液按不同体积浓度 (0.1%、0.2%、0.4%、0.5%、0.8%、1.0%、2.0%) 分别与温热的 PDA 培养基混合后倒平板，以 LB 培养基与 PDA 混合作为对照(CK)^[29]。将测试菌 GN3 菌饼接种于各处理平板中央后，于 28 $^{\circ}$ C 培养 7 d，观察不同体积浓度滤液的抑菌效果，测量菌落直径并计算抑菌率。

1.6.4 无菌滤液对测试菌 GN3 菌丝的影响

真菌于 28 $^{\circ}$ C 培养 3-5 d 后，用直径 5 mm 无菌打孔器打取菌块，倒置于 PDA 平板中央，在距菌饼 2.5 cm 处打孔，加入 50 μ L 拮抗菌上清液，于 28 $^{\circ}$ C 恒温培养 5-7 d 后镜检观察^[30]。

1.7 拮抗菌株胞外水解酶的产生情况

1.7.1 几丁质酶检测

参照王蕊等^[31]的方法进行几丁质酶检测。

1.7.2 蛋白酶检测

参照胡少震等^[32]的方法进行蛋白酶检测。

蛋白酶活力测定参照张颖等^[33]的方法，绘制标准曲线，得线性方程为 $y=0.010\ 46x+0.001\ 667$ ($R^2=0.995\ 3$)。

1.7.3 纤维素酶检测

参照吴凤康等^[34]的方法进行纤维素酶检测。

纤维素酶活力测定参照康鑫^[35]的方法，绘制葡萄糖标准曲线，得线性方程为 $y=1.456x-0.023\ 71$ ($R^2=0.998\ 2$)。

1.7.4 β -1,3-葡聚糖酶检测

参照陈福生等^[36]的方法进行 β -1,3-葡聚糖酶检测。

1.8 拮抗菌株挥发性物质抑菌效果测定

取 200 μL 拮抗菌悬液(浓度为 1×10^7 CFU/mL)均匀涂布于 LB 平板上,于 28 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养 2 d。将 5 株测试真菌菌饼接种于 PDA 平板中央,将 PDA 平板倒扣在 LB 平板上方,使用封口膜将其密封,继续培养 5 d^[37]。以不涂布拮抗菌悬液的空白 LB 平板为对照,测量测试真菌的菌落直径,计算抑菌率并分析^[38]。

1.9 拮抗菌株的抑菌谱测定

为探究菌株 MY1 是否具有抑菌广谱性,采用 1.4 中对峙培养法测定菌株 MY1 的对另外 6 种病原真菌的抑菌效果^[39],选用的病原真菌见 1.1。

2 结果与分析

2.1 拮抗菌筛选结果

用平板对峙法筛选出了 5 株具有抑菌活性的菌株,选取拮抗作用最佳的 1 株,编号为 MY1。其对 5 株目标测试菌均表现出明显抑制作用(图 1A、1B),对损毁链格孢菌(*Alternaria destruens*) GN3、木贼镰孢菌(*Fusarium equiseti*) GN5、谢瓦曲霉 (*Aspergillus chevalieri*) GN11、假中弯孢菌 (*Curvularia pseudointermedia*) GN19、近平滑念珠菌(*Candida parapsilosis*) GN10 平均抑制率分别为 70.71%、67.24%、54.34%、75.26%、69.04% (图 1C)。

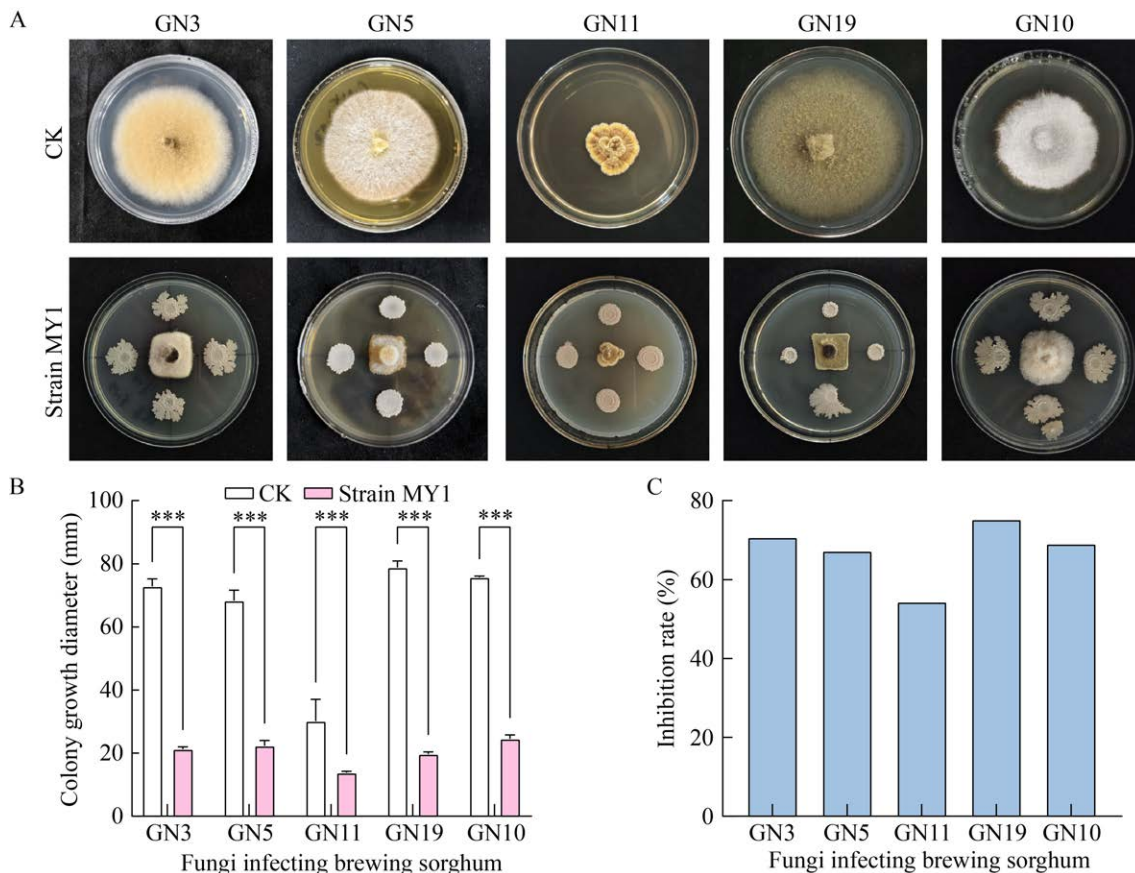


图 1 菌株 MY1 对 5 株测试菌的菌落生长影响和抑菌率统计 A: 菌株 MY1 对 5 种测试菌的拮抗效果图; B: 拮抗菌 MY1 对不同真菌菌落直径的影响; C: 菌株 MY1 对 5 种测试菌的抑菌率。

Figure 1 Statistics on the effect of strain MY1 on colony growth and inhibition of five tested fungal strains. A: Graph of antagonistic effect of strain MY1 on five tested fungal strains; B: Effect of antagonistic strain MY1 on the colony diameter of different fungus; C: Statistics of inhibition rate of strain MY1 on five tested fungal strains. ***: $P < 0.001$.

2.2 拮抗菌 MY1 的鉴定结果

形态学鉴定结果显示,菌株 MY1 在 NA 平板上生长 24 h 后菌落呈乳白色,多数菌落中央轻微隆起,表面有褶皱(图 2A、2B)。细胞呈杆状,革兰氏染色为阳性(图 2C、2D)。扫描电镜形态如图 2E。

生理生化鉴定结果显示,除接触酶试验和甲基红试验结果为阴性外,该菌株的 V-P 测定、硝酸盐还原、柠檬酸盐利用、淀粉水解、氧化酶、明胶液化等试验均为阳性(表 1)。与宋根等^[23]的贝莱斯芽孢杆菌 HM-3 及王春玲等^[40]的结果相似。

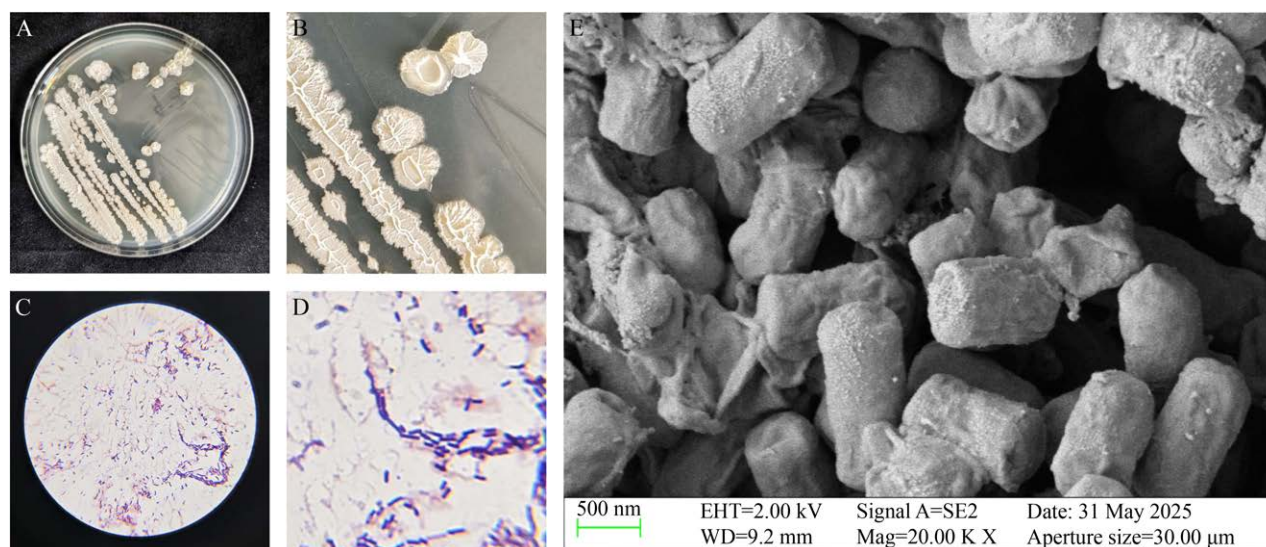


图 2 菌株 MY1 的形态特征 A-B: 菌株 MY1 的菌落形态; C-D: 菌株 MY1 的显微形态(10×100); E: 菌株 MY1 的扫描电镜形态。

Figure 2 Morphological characteristics of strain MY1. A-B: Colony morphology of strain MY1; C-D: Microscopic morphology of strain MY1 (10×100); E: Scanning electron microscopy morphology of strain MY1.

表 1 菌株 MY1 的生理生化鉴定结果

Table 1 Physiological and biochemical identification of strain MY1

实验项目 Test item	结果 Result	实验项目 Test item	结果 Result
接触酶试验 Catalase test	-	葡萄糖 Glucose	+
甲基红试验 Methyl red test	-	蔗糖 Sucrose	+
V-P 测定 Vogen-Prokauer test	+	果糖 Fructose	+
硝酸盐还原 Nitrate reduction	+	木糖 Xylose	+
柠檬酸盐利用 Citrate utilization	+	乳糖 Lactose	+
淀粉水解 Starch hydrolysis	+	肌醇 Inositol	+
氧化酶 Oxidase	+	山梨醇 Sorbitol	+
明胶液化 Gelatin liquefaction	+	甘露醇 Mannitol	+
pH 5.7	+	1% NaCl	+
2% NaCl	+	5% NaCl	+
7% NaCl	+	10% NaCl	+

+: 阳性; -: 阴性。

+: Positive; -: Negative.

2.3 分子生物学鉴定结果

从基于邻接法构建的 16S rRNA 基因系统发育树可以发现(图 3): 菌株 MY1 (PV495902) 与模式菌株贝莱斯芽孢杆菌(ON597433.1)聚类在同一分支内(支持率 100% MP), 最终确定菌株 MY1 为贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*)。

2.4 拮抗菌抑菌活性及抑菌效果

相较于空白对照(CK)与阴性对照(NC), 菌株 MY1 的无菌滤液极显著地抑制了 5 种有害酿酒高粱真菌菌丝的生长(图 4A、4B), 表现为测试菌 GN3、GN5、GN11、GN19、GN10 的生长抑菌率分别为 62.75%、51.45%、50.83%、64.83%、58.35% (图 4C)。

2.5 无菌滤液的抑菌率

菌株 MY1 无菌滤液浓度梯度平皿抑制试验

结果(图 5)表明, 随着菌株 MY1 的无菌滤液浓度递增(0.1%<0.2%<0.4%<0.5%<0.8%<1.0%<2.0%), 测试菌 GN3 菌落的平均直径逐渐减小(图 5B-5H)。由此可知, 菌株 GN3 的菌落直径与滤液浓度呈显著负相关, 菌株 MY1 抑菌效率随浓度升高而增强。相较于对照组, 0.1%低浓度滤液即可实现 27.98%的抑菌率, 而 1.0%和 2.0%浓度时抑菌率超过 60.00%。

2.6 无菌滤液对真菌 GN3 的菌丝影响结果

显微观察发现对照组 GN3 的菌丝粗细均匀、生长良好(图 6A), 经菌株 MY1 无菌发酵滤液处理后, 菌丝生长受到抑制, 出现菌丝膨大(图 6B)、扭曲变形(图 6C)、溢缩加粗(图 6D)的现象。

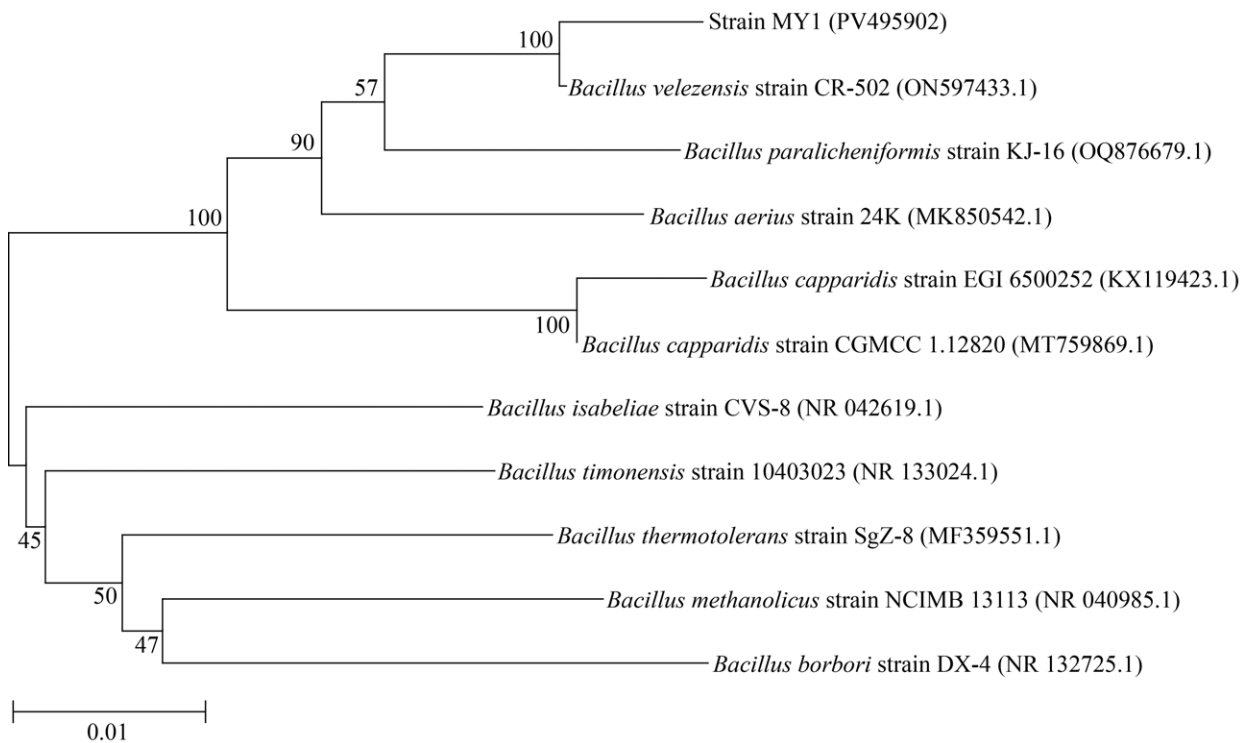


图 3 菌株 MY1 基于 16S rRNA 基因序列的系统发育树 系统发育树括号中为 GenBank 登录号, 分支节点数值为自展值, 比例尺 0.01 表示核苷酸替代率。

Figure 3 Phylogenetic tree of strain MY1 based on 16S rRNA gene sequences. The numbers in parentheses in the phylogenetic tree represent GenBank accession numbers, the branch node values represent log-scale values, and the scale of 0.01 represents the nucleotide substitution rate.

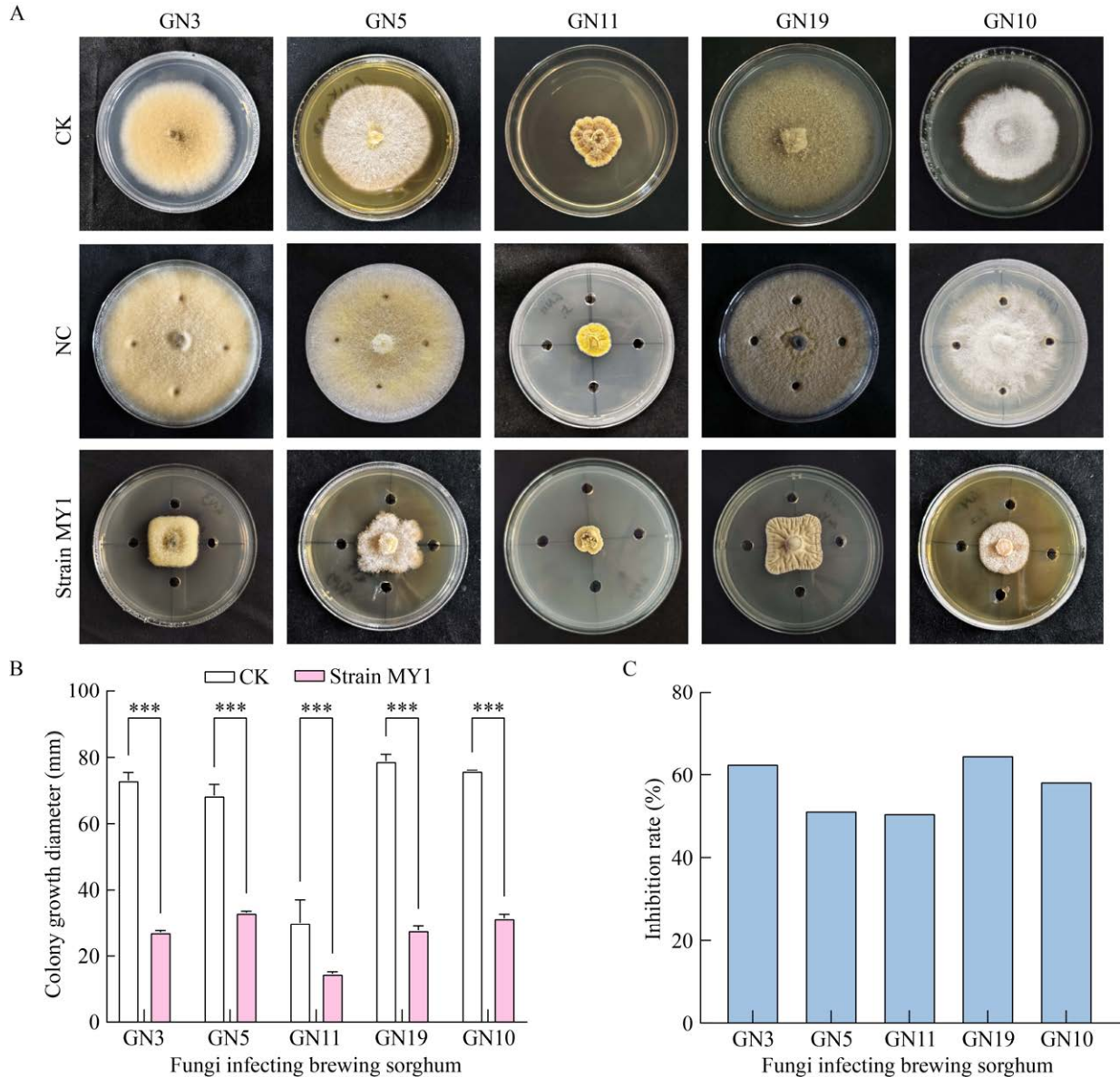


图4 菌株MY1无菌滤液对5种测试菌生长的影响 A: 菌株MY1上清液对5种测试菌的拮抗效果图; B: 菌株MY1无菌滤液对不同真菌菌落直径的影响; C: 菌株MY1上清液对5种测试菌的抑菌率统计。

Figure 4 Effect of strain MY1 sterile filtrate on growth of five tested fungal strains. A: Graph of antagonistic effect of strain MY1 supernatant on five tested fungal strains; B: Effect of the cell-free filtrate of strain MY1 on the colony diameter of different fungus; C: Statistics of inhibition rate of strain MY1 supernatant on five tested fungal strains. ***: Differences are highly significant at the 0.05 level.

2.7 拮抗菌株MY1胞外水解酶的产生

由图7可知, 菌株MY1在纤维素酶检测平板(图7A)和蛋白酶检测平板(图7B)均形成明显的透明圈, 表明菌株MY1具有分泌纤维素酶和蛋白

酶的能力。其发酵液的蛋白酶活力为81.10 U/mL, 羧甲基纤维素酶活力为18.90 U/mL。但在几丁质酶和 β -1,3-葡聚糖酶检测平板上未观察到明显的透明圈或晕圈。

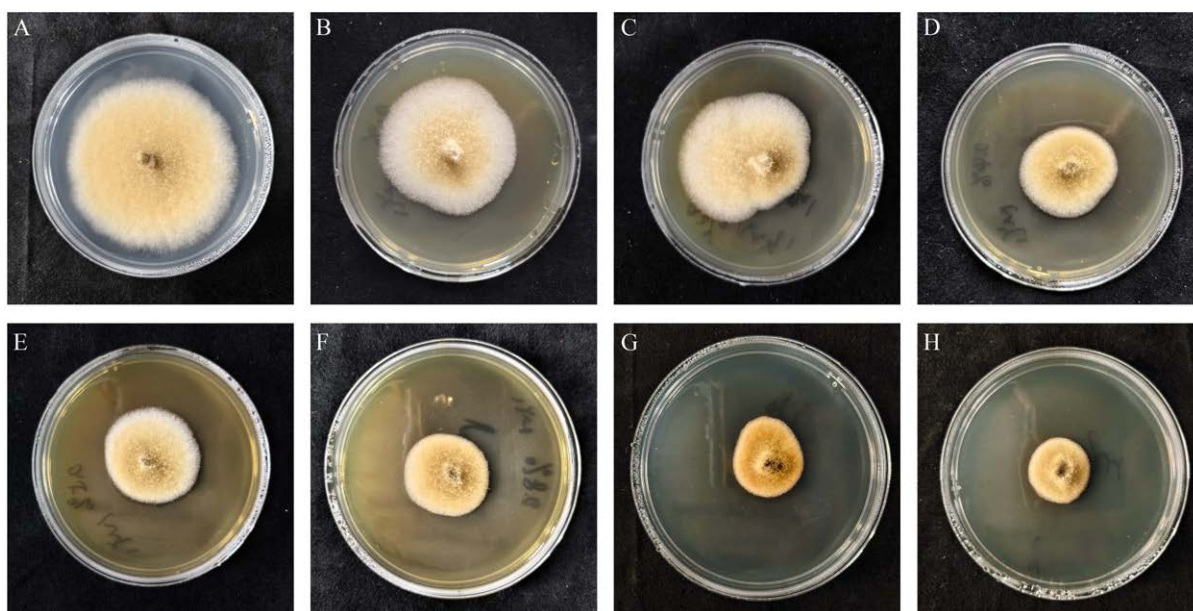


图 5 不同浓度菌株 MY1 无菌滤液对酿酒高粱真菌 GN3 的抑菌率 A: LB 培养基对照; B-H: 拮抗菌 MY1 无菌滤液占培养基体积浓度的 0.1%、0.2%、0.4%、0.5%、0.8%、1.0%、2.0%。

Figure 5 Inhibition rate of different concentrations of strain MY1 sterile filtrate against fungi infecting brewing sorghum GN3. A: LB medium control; B-H: 0.1%, 0.2%, 0.4%, 0.5%, 0.8%, 1.0%, and 2.0% of the volume concentration of medium by antagonist MY1 sterile filtrate.

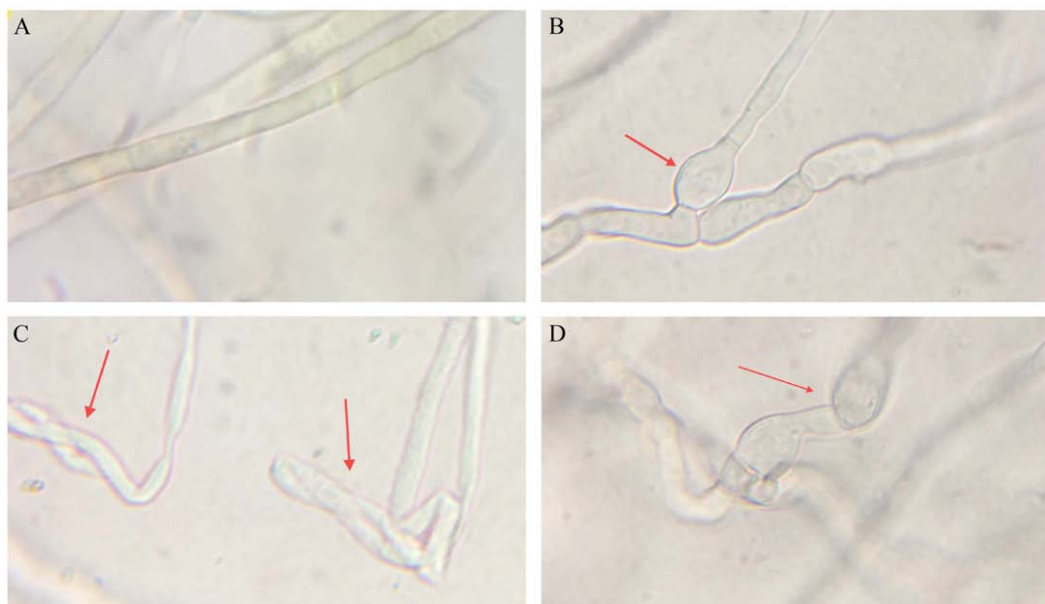


图 6 拮抗菌 MY1 无菌发酵滤液对 GN3 菌丝的影响 A: 对照; B-D: 拮抗菌 MY1 发酵滤液处理后 GN3 菌丝形态(箭头标示菌丝畸变部分)。

Figure 6 Effect of antagonist bacterium MY1 sterile fermentation filtrate on GN3 mycelium. A: Control; B-D: Morphology of GN3 mycelium (arrows mark the aberrant part of the mycelium) after treatment with the fermentation filtrate of the antagonist bacterium MY1.

2.8 拮抗菌株挥发性物质抑菌效果

双平板对抗法的实验结果(图 8)表明, 菌株 MY1 产生的挥发性物质对 5 株测试真菌的生长有显著的抑制作用, 菌株 GN3、GN5、GN11、GN19、GN10 抑制率分别为 45.76%、48.10%、47.93%、34.98%、46.93%。

2.9 拮抗菌株的抑菌谱测定

抑菌谱测定结果(图 9)表明, 菌株 MY1 对芒果采后炭疽菌(*Colletotrichum asianum*) JBAA1、指状青霉(*Penicillium digitatum*) GJLM、葡萄座

腔菌(*Botryosphaeria dothidea*) JHAD2、草酸青霉(*Penicillium oxalicum*) CSQM、小新壳梭孢(*Neofusicoccum parvum*) JHAA2、意大利青霉(*Penicillium italicum*) GJJ 均具有良好的广谱抑菌性, 抑菌率分别为 67.43%、52.82%、63.34%、45.92%、61.78%、49.47%。

3 讨论

贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*)是芽孢杆菌属的新种, 与解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus*

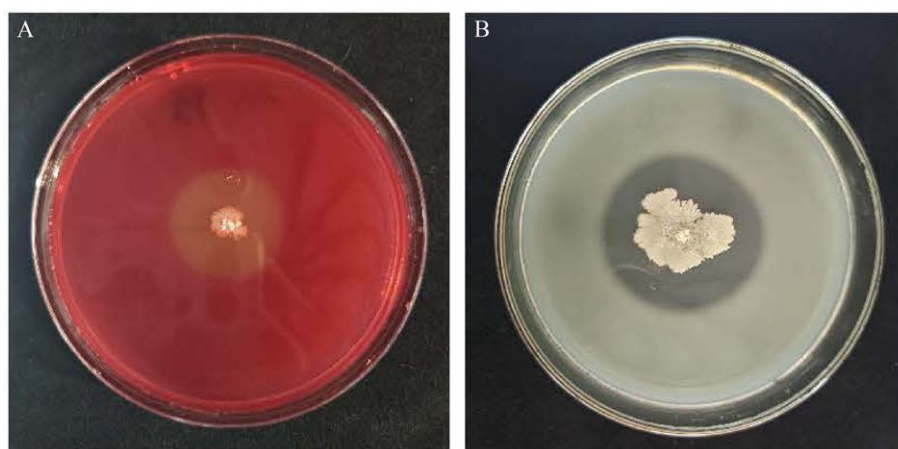


图 7 菌株 MY1 产生纤维素酶(A)和蛋白酶(B)

Figure 7 Production of cellulase (A) and protease (B) by strain MY1.

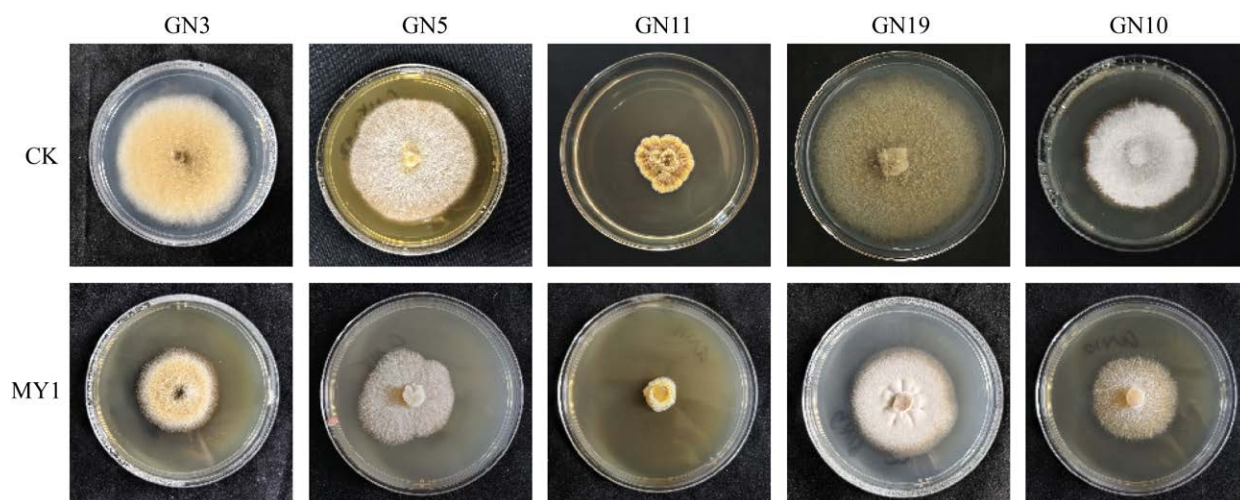


图 8 菌株 MY1 产生的挥发性有机化合物对测试菌的抑菌效果

Figure 8 Inhibitory effect of volatile organic compounds produced by strain MY1 on the test fungus.

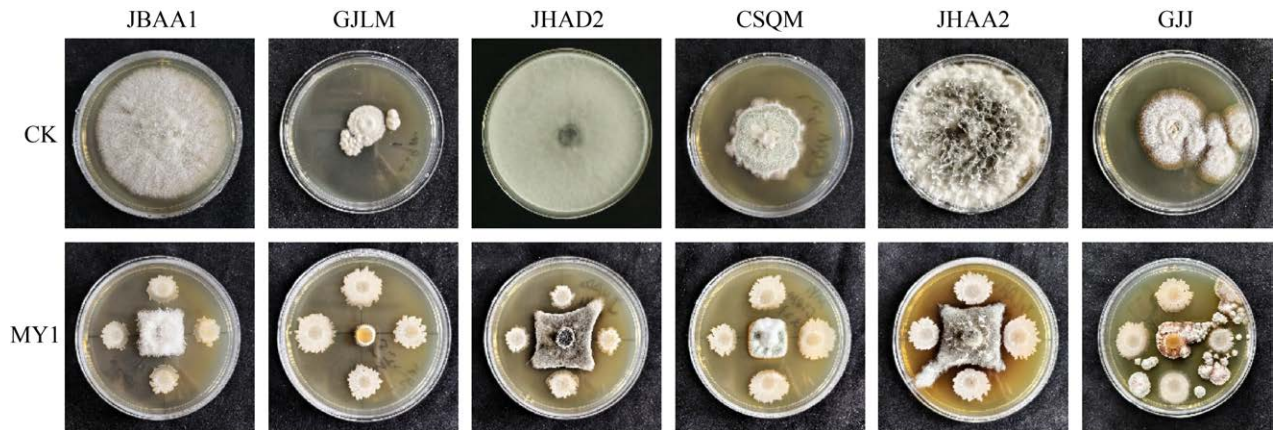


图9 菌株 MY1 对 6 种病原菌的拮抗效果图

Figure 9 Graph of antagonistic effect of strain MY1 against six pathogenic bacteria.

amyloliquefaciens)具有高度亲缘关系,于1999年被首次分离,直至2005年被正式报道和命名^[41]。近年来,随着基因组测序技术的发展,该菌种因其突出的拮抗病原菌特性而受到广泛关注^[41-42]。贝莱斯芽孢杆菌具有独特的次级代谢产物合成基因簇,为其突出的生物防治功能提供了遗传基础。基因组中含有多个非核糖体肽合成酶和聚酮合酶基因簇,能够合成结构多样的抗菌物质^[43]。其拮抗机理主要包括抗菌代谢产物的分泌、竞争生态位和营养资源、诱导植物系统抗性^[44]及促进植物生长等^[44]。

本研究采用贝莱斯芽孢杆菌 MY1 的发酵液和上清液,对5种从酿酒高粱中筛选得到的有害真菌进行拮抗试验。结果显示,菌株 MY1 对所有测试菌均表现出显著的抑制效果。经菌株 MY1 无菌发酵滤液处理的测试菌 GN3 的菌丝形态发生明显畸变:菌丝异常膨大,出现扭曲变形的情况,说明其能够分泌破坏真菌细胞壁结构成分的抑菌物质。与罗映清等^[45]的研究相符,贝莱斯芽孢杆菌 SB023 发酵液使尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)的菌丝出现原生质体聚集和菌丝泡状化膨大的情况一致。高绍凯等^[46]的研究也发现,贝莱斯芽孢杆菌 C3 菌株对辣椒炭疽病菌(*Colletotrichum capsici*)具有较强拮抗效果,抑菌率达到 80.26%。褚凌龙等^[47]的研究

发现贝莱斯芽孢杆菌 HN-2 正丁醇提取物对果生刺盘孢菌(*Colletotrichum fructicola*)具有拮抗作用,诱导其产生大量黑色素沉积,导致果生刺盘孢菌菌丝膨大。

此外,菌株 MY1 无菌发酵滤液的抑菌效果随浓度升高而增强,当滤液浓度从 0.2%递增至 1.0%时,对菌株 GN3 的抑制率从 27.98%提升 60.83%。即使在 0.8%的低浓度下,抑制率仍可达到 53.95%。这一结果与王晶等^[22]报道的贝莱斯芽孢杆菌 Q-2-2 的无菌发酵滤液对芭蕉炭疽菌(*Colletotrichum musae*)的抑制效果(1%浓度下抑制率 41.05%)相似。王玉鹏等^[48]的研究同样发现,贝莱斯芽孢杆菌 G18 的无菌滤液在 50%的体积分数下对腐皮镰刀菌(*Fusarium solani*)的抑菌效果达 52.48%。这些一致性的结果充分证明菌株 MY1 具有广谱的抗菌活性和高效的抑菌能力,是一株极具应用潜力的生防菌株。

已有研究表明,贝莱斯芽孢杆菌产生的挥发性物质包括:(1)含硫化合物,如二甲基二硫醚、二甲基三硫醚;(2)酮类,如2-壬酮、2-庚酮;(3)吡嗪类衍生物,如2,5-二甲基吡嗪等^[49-51]。含硫化合物通过破坏病原菌细胞膜完整性并干扰硫代谢途径,显著抑制灰霉病菌和青枯病菌的生长^[52-54];2-壬酮则能特异性抑制镰刀菌的菌丝延伸和孢子萌发^[55-56];苯乙醇和

乙酸乙酯等醇酯类化合物可扰乱细胞膜电位并抑制能量代谢^[57-58]；而吡嗪类物质通过阻断群体感应系统降低病原菌毒力，如抑制黄曲霉毒素合成基因表达^[59]。本研究发现贝莱斯芽孢杆菌 MY1 产生的挥发性气体对酿酒高粱真菌也具有抑制作用，具体物质还需进一步实验证明。

大量研究表明，贝莱斯芽孢杆菌可通过分泌胞外水解酶直接破坏病原菌细胞壁或抑制其生长^[59-60]。通过酶解作用破坏细胞壁的完整性，使内容物泄漏和菌体裂解；或通过分解环境中的大分子有机物，与真菌竞争营养，限制其生长繁殖^[61-62]。本研究发现，菌株 MY1 能够分泌纤维素酶和蛋白酶这 2 种关键水解酶。纤维素酶可通过特异性降解病原菌细胞壁中的 β -1,4-糖苷键^[63-64]，直接破坏如镰刀菌等病原菌的细胞壁结构，还能分解黄单胞菌(*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*)等病原细菌形成的胞外多糖生物膜，削弱其定殖能力^[65-67]。蛋白酶则通过水解病原菌的关键功能蛋白，如黏附素和毒力因子，抑制其致病性，特别是对丝状真菌的菌丝生长具有显著抑制作用^[68-70]。这 2 种酶还能增强贝莱斯芽孢杆菌其他抗菌物质的渗透性和活性^[64,71]，使得贝莱斯芽孢杆菌在生物防治中表现出高效、广谱的拮抗特性，为开发新型微生物菌剂和绿色农业应用提供了重要理论基础和实践依据。

4 结论

本研究筛选获得 1 株生防菌株 MY1，鉴定其为贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*)。菌株 MY1 对 5 种有害酿酒高粱真菌具有极显著的拮抗活性，抑菌率均在 50.00%以上，能够产生纤维素酶和蛋白酶等抑菌物质及挥发性气体，具有广谱抑菌性。进一步了解生防菌发挥生物防治作用的抑菌机制，为开发高粱霉变生物防治技术提供优良菌种资源，也为提升我国酿酒高粱储藏技术提供理论依据。

作者贡献说明

丁少晨：方案设计，执行调研，数据收集与监管，项目管理，数据分析，撰写文章；宁欣强：项目管理，论文审阅，方案设计，稿件润色修改；周丽洪：提出概念，方案设计，数据收集与验证，监督指导，获取基金，提供材料，审阅，稿件润色修改；郭晓艺：执行调研，监督指导；雷雨：提供材料，提供资源；余雪：数据收集与验证。

作者利益冲突公开声明

作者声明绝无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。

REFERENCES

- [1] 袁华梅. 酿酒高粱种植技术和病虫害防治[J]. 河北农机, 2024(12): 97-99.
YUAN HM. Planting techniques and pest control for brewing sorghum[J]. Hebei Agricultural Machinery, 2024(12): 97-99 (in Chinese).
- [2] 魏铭, 何宏魁, 李玥, 刘卓, 汪啸天, 常晓娇, 王耀鹏. 我国主要种植高粱品种蜀黍甾苷含量比较分析[J]. 粮油食品科技, 2025, 33(2): 105-110.
WEI M, HE HK, LI Y, LIU Z, WANG XT, CHANG XJ, WANG YP. Comparative analysis on dhurrin content of main sorghum cultivars in China[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2025, 33(2): 105-110 (in Chinese).
- [3] 罗巧玲, 钟一帆, 陈迎, 张歆, 张依梦, 王强, 周奎兵. 专用粮产业发展模式分析及经验启示: 基于宜宾地区的调研[J]. 南方农机, 2023, 54(16): 87-90.
LUO QL, ZHONG YF, CHEN Y, ZHANG X, ZHANG YM, WANG Q, ZHOU KB. Analysis of the development model and experience of specialty grain industry based on a survey of Yibin region[J]. South China Agricultural Machinery, 2023, 54(16): 87-90 (in Chinese).
- [4] 崔小亮, 安明哲, 周刚, 闻勇. 宜宾糯红高粱产业发展现状问题及对策[J]. 南方农业, 2024, 18(19): 149-153.
CUI XL, AN MZ, ZHOU G, WEN Y. Current situation, problems and countermeasures of the development of glutinous red sorghum industry in Yibin[J]. South China Agriculture, 2024, 18(19): 149-153 (in Chinese).
- [5] 卢庆善, 丁国祥, 邹剑秋, 朱凯. 试论我国高粱产业发展: 二论高粱酿酒业的发展[J]. 杂粮作物, 2009, 29(3): 174-177.
LU QS, DING GX, ZOU JQ, ZHU K. Discussion on the development of China's sorghum industry: second discussion on the development of sorghum brewing industry[J]. Horticulture & Seed, 2009, 29(3): 174-177 (in Chinese).
- [6] 赵霞, 陶亚萍, 曹宝明. 中国粮食产后损失评估分析[J]. 干旱区资源与环境, 2022, 36(6): 1-7.
ZHAO X, TAO YP, CAO BM. Assessment on post-harvest losses of grains in China[J]. Journal of Arid Land Resources and Environment, 2022, 36(6): 1-7 (in Chinese).

- [7] TRALAMAZZA SM, PIACENTINI KC, IWASE CHT, de OLIVEIRA ROCHA L. Toxigenic *Alternaria* species: impact in cereals worldwide[J]. *Current Opinion in Food Science*, 2018, 23: 57-63.
- [8] 吴茜茜, 张鹏宇. 尖刀镰刀菌对储藏小麦霉变过程中品质的影响[J]. *安徽农业科学*, 2023, 51(7): 171-174. WU QQ, ZHANG PY. Effects of *Fusarium oxysporum* on the quality of stored wheat during mildew[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2023, 51(7): 171-174 (in Chinese).
- [9] PASCARI X, MARIN S, RAMOS AJ, SANCHIS V. Relevant *Fusarium* mycotoxins in malt and beer[J]. *Foods*, 2022, 11(2): 246.
- [10] MATUMBA L, MONJEREZI M, KHONGA EB, LAKUDZALA DD. Aflatoxins in sorghum, sorghum malt and traditional opaque beer in southern Malawi[J]. *Food Control*, 2011, 22(2): 266-268.
- [11] MAGAN N, ALDRED D. Post-harvest control strategies: minimizing mycotoxins in the food chain[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2007, 119(1/2): 131-139.
- [12] NEME K, MOHAMMED A. Mycotoxin occurrence in grains and the role of postharvest management as a mitigation strategies: a review[J]. *Food Control*, 2017, 78: 412-425.
- [13] 李成江, 王勇, 刘玉敏, 陈猛, 周莲, 谢小林, 朱红惠. 贝莱斯芽孢杆菌的分离鉴定及对哈密瓜细菌性果斑病的防治效果[J]. *应用与环境生物学报*, 2025, 31(9): 1456-1466. LI CJ, WANG Y, LIU YM, CHEN M, ZHOU L, XIE XL, ZHU HH. Isolation and identification of *Bacillus velezensis* and its efficacy in controlling bacterial fruit blotch in Hami melon[J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2025, 31(9): 1456-1466 (in Chinese).
- [14] 黄倩, 崔瑞瑞, 王德瑞, 衣悦涛, 冯大伟. 生防细菌 HX-6 菌株对青枯病菌的抑制效果及作用机制[J]. *农药学报*, 2025, 27(2): 322-331. HUANG Q, CUI RR, WANG DR, YI YT, FENG DW. Antagonistic effects and action mechanism of *Bacillus velezensis* HX-6 against *Ralstonia solanacearum*[J]. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 2025, 27(2): 322-331 (in Chinese).
- [15] PENG G, ZHAO XY, LI YZ, WANG R, HUANG Y, QI GF. Engineering *Bacillus velezensis* with high production of acetoin primes strong induced systemic resistance in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Microbiological Research*, 2019, 227: 126297.
- [16] 黄华毅, 田呈明, 梁小文. 克里本类芽孢杆菌 TRCC 82001 抑菌活性分析及发酵条件优化[J]. *西北林学院学报*, 2022, 37(6): 153-160. HUANG HY, TIAN CM, LIANG XW. Antifungal activity of *Paenibacillus kribbensis* TRCC 82001 and optimization of fermentation conditions[J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2022, 37(6): 153-160 (in Chinese).
- [17] 卫鑫辰, 刘易, 杨茹薇, 段广荣, 谢学文, 石延霞, 柴阿丽, 李宝聚, 李磊. 马铃薯疮痂病拮抗菌 ZF517 的分离鉴定及生防效果初步研究[J]. *中国生物防治学报*, 2025, 41(2): 411-422. WEI XC, LIU Y, YANG RW, DUAN GR, XIE XW, SHI YX, CHAI AL, LI BJ, LI L. Isolation and identification of *Bacillus subtilis* ZF517 and its control effect on potato common scab[J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2025, 41(2): 411-422 (in Chinese).
- [18] 王卓妮, 覃良红, 王丽, 侯琿, 袁洪波, 周厚成, 巩文峰, 涂洪涛. 草莓病害拮抗细菌的筛选及其对草莓褐色叶斑病的防效[J]. *中国蔬菜*, 2023(2): 63-71. WANG ZN, QIN GH, WANG L, HOU H, YUAN HB, ZHOU HC, GONG WF, TU HT. Screening of antagonistic bacteria from strawberry and their biocontrol effect against Tan-brown leaf spot of strawberry[J]. *China Vegetables*, 2023(2): 63-71 (in Chinese).
- [19] 古丽孜热·曼合木提, 徐琳赞, 李燕, 韩剑, 郁帆, 罗明. 库尔勒香梨腐烂病拮抗菌的筛选及其防效测定[J]. *中国农学通报*, 2020, 36(19): 127-134. Gulizige·Manhemuti, XU LY, LI Y, HAN J, YU F, LUO M. Antagonistic bacteria against Korla fragrant pear canker: screening and control effects[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2020, 36(19): 127-134 (in Chinese).
- [20] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001. DONG XZ, CAI MY. *Common Bacterial System Identification Manual*[M]. Beijing: Science Press, 2001 (in Chinese).
- [21] 布坎南 RE, 吉本斯 NE. 伯杰细菌鉴定手册[M]. 8 版. 中国科学院微生物研究所《伯杰细菌鉴定手册》翻译组译. 北京: 科学出版社, 1984. BUCHANAN RE, GIBBONS NE. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*[M]. 8th Edition. Translation team of the Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences. Beijing: Science Press, 1984 (in Chinese).
- [22] 王晶, 周燕, 覃秋梅, 韦丽媛, 唐湘兰, 姜民国. 香蕉炭疽病拮抗菌的筛选、鉴定及生防机制[J/OL]. *分子植物育种*, 2025: 1-17. (2025-02-08). <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/detail.aspx?filename=FZZW20250207001&dbname=CJFD&dbcode=CJFQ>. WANG J, ZHOU Y, QIN QM, WEI LY, TANG XL, JIANG MG. Screening, identification and biological control mechanism of antagonistic bacteria against *Colletotrichum musae*[J/OL]. *Molecular Plant Breeding*, 2025: 1-17. (2025-02-08). <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/detail.aspx?filename=FZZW20250207001&dbname=CJFD&dbcode=CJFQ> (in Chinese).
- [23] 宋根, 刘晴晴, 张宝海, 贾振华, 崔继荣, 郭丁鑫, 韩丽丽, 吴艳红, 冯建龙, 高妍, 刘明英, 宋春光, 吉国佳, 张志伟. 贝莱斯芽孢杆菌 HM-3 分离鉴定及生防作用[J]. *安徽农业科学*, 2025, 53(5): 96-100, 110. SONG G, LIU QQ, ZHANG BH, JIA ZH, CUI JR, GUO DX, HAN LL, WU YH, FENG JL, GAO Y. Isolation, identification and biocontrol effects of *Bacillus velezensis* HM-3[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2025, 53(5): 96-100, 110 (in Chinese).
- [24] 吴国平, 杨利娟, 张春祥, 高苇, 姜永成, 卫勇, 刘慧芳, 王勇. 黄瓜根腐病生防芽孢杆菌的筛选、鉴定及协同效应[J]. *山东农业科学*, 2025, 57(2): 134-140. WU GP, YANG LJ, ZHANG CX, GAO W, JIANG YC, WEI Y, LIU HQ, WANG Y. Screening, identification and synergistic effects of biocontrol *Bacillus* for cucumber root rot[J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2025, 57(2): 134-140 (in Chinese).

- [25] 薛琳琳, 张朋振, 杨小进, 范收武, 李旺. 玉米赤霉烯酮降解菌的筛选鉴定及降解效果评价[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2025, 53(1): 13-22.
XUE LL, ZHANG PZ, YANG XJ, FAN SW, LI W. Screening, identification and degradation efficacy evaluation of zearalenone degrading bacteria[J]. Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition), 2025, 53(1): 13-22 (in Chinese).
- [26] 常艳华, 刘华峰, 刘小红, 辛原仪, 文国琴, 宋波, 张廷富. 苦瓜黑腐病菌的分离鉴定及其高效生防芽孢杆菌筛选[J]. 华北农学报, 2025, 40(4): 194-202.
CHANG YH, LIU HF, LIU XH, XIN YY, WEN GQ, SONG B, ZHANG TF. Isolation and identification of black rot pathogen on bitter melon and screening of *Bacillus* spp. for hyper-effective biocontrol[J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2025, 40(4): 194-202 (in Chinese).
- [27] 翟佳琳, 赵景娜, 王丹丹, 扎木苏, 陈永福. 具有抑菌活性植物乳杆菌的筛选及抑菌物质特性的研究[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(13): 84-90.
ZHAI JL, ZHAO JN, WANG DD, ZHA MS, CHEN YF. Screening of *Lactiplantibacillus plantarum* with bacteriostatic activity and study on properties of bacteriostatic substances[J]. Food and Fermentation Industries, 2022, 48(13): 84-90 (in Chinese).
- [28] 谢林艳, 狄义宁, 何丽莲, 刘鲁峰, 沈先岳, 李富生. 甘蔗赤腐病内生拮抗菌 YC89 的筛选及鉴定[J]. 微生物学报, 2020, 60(4): 739-748.
XIE LY, DI YN, HE LL, LIU LF, SHEN XY, LI FS. Screening and identification of endophytic antagonistic bacteria YC89 in sugarcane red rot[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2020, 60(4): 739-748 (in Chinese).
- [29] 詹艺舒, 李婕, 褚秀丹, 蔡志英, 纪鹏伟, 陈炳智, 江玉姬. 一株真菌拮抗细菌 Z21 的筛选与鉴定及其发酵条件优化[J]. 微生物学通报, 2020, 47(5): 1503-1514.
ZHAN YS, LI J, CHU XD, CAI ZY, JI PW, CHEN BZ, JIANG YJ. Screen, identification and fermentation optimization of an antifungal bacterium Z21[J]. Microbiology China, 2020, 47(5): 1503-1514 (in Chinese).
- [30] 郑昭焕, 余函纹, 梁笑, 张玉洁, 王铁霖, 蒋超, 池秀莲, 查良平, 桂双英, 刘娟. 桔梗根腐病拮抗菌的筛选及生防机制初探[J]. 药学学报, 2025, 60(3): 825-833.
ZHENG ZH, YU HW, LIANG X, ZHANG YJ, WANG TL, JIANG C, CHI XL, ZHA LP, GUI SY, LIU J. Screening and biocontrol mechanism of antagonistic bacteria against root rot of *Platycodon grandiflorum*[J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2025, 60(3): 825-833 (in Chinese).
- [31] 王蕊, 林星荣, 王婉婷, 沈迎芳, 张清泽. 一株蛙源几丁质分解菌 JD-3 的分离鉴定、全基因组测序及功能分析[J]. 微生物学报, 2025, 65(4): 1571-1586.
WANG R, LIN XR, WANG WT, SHEN YF, ZHANG XZ. Isolation, identification, whole genome sequencing, and functional analysis of a frog-derived chitin-degrading bacterium JD-3[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2025, 65(4): 1571-1586 (in Chinese).
- [32] 胡少震, 代良超, 张书文, 吕加平, 李莲瑞, 逢晓阳. 原料乳和牧场环境中嗜冷菌多样性及蛋白酶水解特性研究[J]. 食品与发酵工业, 2024, 50(8): 24-30.
HU SZ, DAI LC, ZHANG SW, LYU JP, LI LR, PANG XY. Diversity and protease hydrolysis characteristics of psychrophilic in raw milk and pasture environment[J]. Food and Fermentation Industries, 2024, 50(8): 24-30 (in Chinese).
- [33] 张颖, 邹谋勇, 周红丽. 腐乳中高产蛋白酶菌株的筛选及发酵呈味研究[J]. 北京农学院学报, 2025, 40(2): 72-78.
ZHANG Y, ZOU MY, ZHOU HL. Screening of protease-producing strains from sufu and study on taste in fermentation[J]. Journal of Beijing University of Agriculture, 2025, 40(2): 72-78 (in Chinese).
- [34] 吴凤康, 牛新湘, 李红, 楚敏, 杨红梅, 包慧芳, 王宁, 詹发强, 杨蓉, 娄恺, 史应武. 棉花黄萎病拮抗促生菌筛选鉴定及其活性评价[J]. 微生物学通报, 2025, 52(9): 4094-4107.
WU FK, NIU XX, LI H, CHU M, YANG HM, BAO HF, WANG N, ZHAN FQ, YANG R, LOU K, SHI YW. Screening and identification of antagonistic growth-promoting bacteria against cotton *Verticillium* wilt and evaluation of their activities[J]. Microbiology China, 2025, 52(9): 4094-4107 (in Chinese).
- [35] 康鑫. 高产纤维素酶菌株筛选、诱变选育及其秸秆降解效果研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2022.
KANG X. Screening, mutation breeding and straw degradation effect of high-yield cellulase strains[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2022 (in Chinese).
- [36] 陈福生, 王勇, 陈九武. β -1,3 葡聚糖酶高产菌株的筛选及其产酶条件研究[J]. 食品科学, 2004, 25(5): 31-35.
CHEN FS, WANG Y, CHEN JW. Study on high β -1,3-glucanase strain screening from soil and enzyme producing conditions[J]. Food Science, 2004, 25(5): 31-35 (in Chinese).
- [37] 黄伟, 王宁, 张苗苗, 詹发强, 王苏玲, 秦新政, 张丽娟, 王玮. 拮抗放线菌 A89 的鉴定及其挥发性物质对葡萄采后灰霉病的抑制效果[J]. 食品工业科技, 2025, 46(20): 172-181.
HUANG W, WANG N, ZHANG MM, ZHAN FQ, WANG SL, QIN XZ, ZHANG LJ, WANG W. Identification of antagonistic actinomycete A89 and the inhibitory effect of its volatile compounds on postharvest gray mold of grape[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(20): 172-181 (in Chinese).
- [38] 黄伟, 王宁, 宋博, 王苏玲, 秦新政, 宋素琴, 罗义, 魏增宙, 张丽娟, 王玮. 不同相态娄彻氏链霉菌 A144 挥发性物质对苹果树腐烂病菌的抑制效果[J]. 新疆农业科学, 2024, 61(10): 2475-2483.
HUANG W, WANG N, SONG B, WANG SL, QIN XZ, SONG SQ, LUO Y, WEI ZZ, ZHANG LJ, WANG W. Inhibitory effect of different phases of *Streptomyces rochei* A144 volatile substances on *Valsa mali* var. *mali*[J]. Xinjiang Agricultural Sciences, 2024, 61(10): 2475-2483 (in Chinese).
- [39] 马利军, 武娜娜, 徐秉良, 刘佳, 张树武. 绿色木霉 B3 菌株的抑菌谱及其抑菌活性[J]. 浙江农业学报, 2024, 36(10): 2257-2263.
MA LJ, WU NN, XU BL, LIU J, ZHANG SW. Determination of antifungal spectrum and evaluation of antifungal activity of *Trichoderma viride* B3 strain[J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2024, 36(10): 2257-2263 (in Chinese).

- [40] 王春玲, 黄钰婷, 刘星, 徐良雄, 王艳君, 肖海霞, 朱柏诗, 毛露甜. 一株贝莱斯芽孢杆菌鉴定、全基因组学分析及其抗病促生特性[J]. 微生物学报, 2025, 65(2): 745-757.
WANG CL, HUANG YT, LIU X, XU LX, WANG YJ, XIAO HX, ZHU BS, MAO LT. Identification, genomic analysis, and disease-resistant and plant growth-promoting characterization of a *Bacillus velezensis*[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2025, 65(2): 745-757 (in Chinese).
- [41] 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. 贝莱斯芽孢杆菌的研究现状与应用展望[J]. 中国微生物生态学杂志, 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).
- [42] 皮娜娜, 王玺茜, 罗建军, 翁群芳. 贝莱斯芽孢杆菌防控植物病害的研究进展[J]. 广东农业科学, 2024, 51(6): 48-59.
PI NN, WANG XQ, LUO JJ, WENG QF. Research progress on the prevention and control of plant diseases by *Bacillus velezensis*[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2024, 51(6): 48-59 (in Chinese).
- [43] 许沛冬. 贝莱斯芽孢杆菌 HAB-2 菌株抑菌次级代谢产物基因簇及调控基因 *yabN* 的研究[D]. 海口: 海南大学, 2022.
XU PD. The research of antibacterial secondary metabolites gene clusters and functional gene *yabN* of *Bacillus velezensis* HAB-2[D]. Haikou: Hainan University, 2022 (in Chinese).
- [44] 苏杭, 成胜, 孟祥佳, 韦远标, 吕国荣, 周焱, 黄江荣. 半夏立枯病菌拮抗内生细菌的分离鉴定及功能分析[J]. 南方农业学报, 2023, 54(11): 3277-3291.
SU H, CHENG S, MENG XJ, WEI YB, LYU GR, ZHOU Y, HUANG JR. Isolation, identification and functional study of antagonistic endophytic bacteria against *Pinellia ternata* damping off (*Rhizoctonia solani*)[J]. Journal of Southern Agriculture, 2023, 54(11): 3277-3291 (in Chinese).
- [45] 罗映清, 赵欢, 谭兆云, 文国琴, 杨春艳, 张廷富. 高粱镰刀茎腐病菌的分离鉴定及贝莱斯芽孢杆菌对其抑菌活性的评价[J]. 四川农业大学学报, 2025, 43(1): 128-137, 175.
LUO YQ, ZHAO H, TAN ZY, WEN GQ, YANG CY, ZHANG TF. Isolation and identification of pathogens of *Fusarium* stalk rot on sorghum and evaluation of inhibitory activity of *Bacillus velezensis* against the pathogens[J]. Journal of Sichuan Agricultural University, 2025, 43(1): 128-137, 175 (in Chinese).
- [46] 高绍凯, 邓金奇, 李晨曦, 朱桓吾, 李陈贞, 罗坤. 辣椒炭疽病拮抗内生细菌的分离鉴定及防效试验[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2024, 50(4): 60-64.
GAO SK, DENG JQ, LI CX, ZHU HW, LI CZ, LUO K. Isolation and identification of antagonistic endophytic bacteria in capsicum and the control efficiency on capsicum anthracnose[J]. Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences), 2024, 50(4): 60-64 (in Chinese).
- [47] 褚凌龙, 娄嘉雯, 刘文波, 靳鹏飞, 缪卫国. 橡胶炭疽菌 HD-1 的鉴定及拮抗药剂筛选[J]. 生物学杂志, 2023, 40(6): 32-38.
CHU LL, LOU JW, LIU WB, JIN PF, MIAO WG. Identification of *Colletotrichum fructicola* HD-1 and screening of antagonistic agents[J]. Journal of Biology, 2023, 40(6): 32-38 (in Chinese).
- [48] 王玉鹏, 何静, 陈伟, 王斌, 张崇庆, 李南, 李瑞芸, 颜宇科. 贝莱斯芽孢杆菌 G18 的抑菌及促生作用研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2025, 53(5): 64-75.
WANG YP, HE J, CHEN W, WANG B, ZHANG CQ, LI N, LI RY, YAN YK. Study on the antifungal and plant-growth promotion effects of *Bacillus velezensis* G18[J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 2025, 53(5): 64-75 (in Chinese).
- [49] 张铭, 朱帆, 张辉, 程元, 谢宪, 张星耀, 梁军. 生防菌株森吉木霉 M75 挥发性气体的抑菌活性分析[J]. 林业科学研究, 2024, 37(4): 127-135.
ZHANG M, ZHU F, ZHANG H, CHENG Y, XIE X, ZHANG XY, LIANG J. Analysis of antifungal activity of volatile gas from biocontrol strain *Trichoderma songyi* M75[J]. Forest Research, 2024, 37(4): 127-135 (in Chinese).
- [50] 周萍, 王赤恒, 仇剑波, 高弢. 贝莱斯芽孢杆菌 6W1 挥发性有机物对禾谷镰刀菌的抑菌抑毒作用[J]. 微生物学通报, 2024, 51(9): 3484-3496.
ZHOU P, WANG CH, QIU JB, GAO T. Volatile organic compounds of *Bacillus velezensis* 6W1 inhibit the growth and toxin production of *Fusarium graminearum*[J]. Microbiology China, 2024, 51(9): 3484-3496 (in Chinese).
- [51] 孙力. 贝莱斯芽孢杆菌 CanL-30 挥发性有机物活性研究及菌剂研制[D]. 武汉: 华中农业大学, 2020.
SUN L. Bioactivities of the volatile organic compounds of *Bacillus velezensis* CanL-30 and formulation of a wettable powder[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2020 (in Chinese).
- [52] 张明明. 含硫化合物的电化学合成及其抑菌活性研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2022.
ZHANG MM. Electrochemical synthesis and antibacterial activity of sulfur-containing compounds[D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2022 (in Chinese).
- [53] 廖静静, 刘屹湘, 杨敏, 张彧, 何霞红, 朱书生. 大蒜挥发物和浸提液对辣椒疫霉菌的抑菌活性分析[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2014, 29(3): 337-346.
LIAO JJ, LIU YX, YANG M, ZHANG Y, HE XH, ZHU SS. The inhibitory activity of garlic volatiles and extracts to *Phytophthora capsici*[J]. Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science), 2014, 29(3): 337-346 (in Chinese).
- [54] 苟绍华, 陈洪超. 一种含硫杂环化合物对水稻常见病菌的生物活性[J]. 农药, 2008, 47(7): 521-522, 531.
GOU SH, CHEN HC. Biological activity of a novel sulfur containing heterocyclic compound to common bacteria of rice plant[J]. Agrochemicals, 2008, 47(7): 521-522, 531 (in Chinese).
- [55] 吴颖, 王双旦, 唐文, 刘晴, 王佳其, 张蓓婷. 金盏菊乙酸乙酯萃取物的酚酮类物质含量及其抗氧化、抑菌和酪氨酸酶抑制活性[J]. 食品工业科技, 2023, 44(19): 347-355.
WU Y, WANG SD, TANG W, LIU Q, WANG JQ, ZHANG BT. Phenolic ketone contents and antioxidant, antibacterial properties and inhibitory tyrosinase

- activity of the ethyl acetate extracted from *Calendula officinalis* L.[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(19): 347-355 (in Chinese).
- [56] 王智敏, 马金伶, 孙兆勇, 石莹莹, 李东炎, 石晶盈. 甘薯黑斑病拮抗细菌抑菌性能及抑菌物质鉴定[J]. 食品工业科技, 2023, 44(4): 50-58.
WANG ZM, MA JL, SUN ZY, SHI YY, LI DY, SHI JY. Antimicrobial activity and identification of antimicrobial substances of antagonistic bacteria against black spot of sweet potato[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(4): 50-58 (in Chinese).
- [57] 陈姗. 生防放线菌代谢产物对桃褐腐病抑菌控病机制研究[D]. 重庆: 西南大学, 2023.
CHEN S. Antagonistic and disease-control mechanisms of biocontrol actinomycetes metabolites on *Monilinia fructicola*[D]. Chongqing: Southwest University, 2023 (in Chinese).
- [58] 李凤福, 潘美晨, 胡惠月, 王莉颖, 李长田. 裂褶菌乙酸乙酯萃取物对尖孢镰刀菌的抑制机制[J]. 食用菌学报, 2024, 31(6): 59-68.
LI FF, PAN MC, HU HY, WANG LY, LI CT. Inhibition mechanism of ethyl acetate extract of *Schizophyllum commune* on *Fusarium oxysporum*[J]. Acta Edulis Fungi, 2024, 31(6): 59-68 (in Chinese).
- [59] 张余珍, 刘向荣, 杨再文, 赵顺省. 吡嗪类碳酰肼化合物与 CT-DNA 相互作用及体外抑菌活性[J]. 合成化学, 2023, 31(1): 40-51.
ZHANG YZ, LIU XR, YANG ZW, ZHAO SS. Interactions between pyrazine carbazide compounds with CT-DNA and *in vitro* antibacterial activity[J]. Chinese Journal of Synthetic Chemistry, 2023, 31(1): 40-51 (in Chinese).
- [60] 黄勋, 刘霞, 邓琳梅, 王兴国, 徐亚锦, 杨艳丽. 马铃薯疮痂病生防菌 1X1Y 的鉴定及其生防促生特性研究[J]. 园艺学报, 2025, 52(1): 229-246.
HUANG X, LIU X, DENG LM, WANG XG, XU YJ, YANG YL. Identification and study on its biocontrol and growth promoting properties of *Bacillus velezensis* 1X1Y against potato common scab[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2025, 52(1): 229-246 (in Chinese).
- [61] 孙琰. 蓝莓链格孢菌腐烂病拮抗菌的筛选鉴定及抑菌机理研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2023.
SUN Y. Screening and identification of antagonistic pathogen against *Alternaria blueberry* rot and study on their inhibition mechanism[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2023 (in Chinese).
- [62] 朱春节, 胡宗山, 骆伟政, 巫倩倩, 李滢媛, 莫春娜, 黄碧莹, 庄满娇. 金黄色葡萄球菌肽聚糖水解酶 Ami 的异源表达与纯化研究[J]. 中国抗生素杂志, 2025, 50(10): 1172-1179.
ZHU CJ, HU ZS, LUO WZ, WU QQ, LI JY, MO CN, HUANG BY, ZHUANG MJ. Heterologous expression and purification of *Staphylococcus aureus* peptidoglycan hydrolase Ami[J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2025, 50(10): 1172-1179 (in Chinese).
- [63] SUN XL, XU ZH, XIE JY, HESSELBERG-THOMSEN V, TAN TM, ZHENG DY, STRUBE ML, DRAGOŠ A, SHEN QR, ZHANG RF, KOVÁCS ÁT. *Bacillus velezensis* stimulates resident rhizosphere *Pseudomonas stutzeri* for plant health through metabolic interactions[J]. The ISME Journal, 2022, 16(3): 774-787.
- [64] FARHANGI Z, YAZDI FT, YAKHCHALI B. Simultaneous expression of recombinant cellulase and protease in an indigenous *Bacillus cereus* strain[J]. Iranian Journal of Biotechnology, 2024, 22(4): e3840.
- [65] 马佳, 胡栋, 田硕, 彭杰丽, 张翠绵, 贾楠, 王占武. 尖孢镰刀菌 HG-11 响应解淀粉芽胞杆菌 B501 胁迫的机制分析[J]. 西北农业学报, 2021, 30(11): 1695-1707.
MA J, HU D, TIAN S, PENG JL, ZHANG CM, JIA N, WANG ZW. Mechanism analysis of *Fusarium oxysporum* HG-11 responses to biocontrol agent *Bacillus amyloliquefaciens* B501[J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2021, 30(11): 1695-1707 (in Chinese).
- [66] 曹晴亚. 纤维素降解菌在抑菌、秸秆降解和土壤微生物生态方面的影响[D]. 太谷: 山西农业大学, 2019.
CAO QY. Effects of cellulose degradation bacteria on bacteriostat, straw degradation and soil microecological[D]. Taigu: Shanxi Agricultural University, 2019 (in Chinese).
- [67] 苏如意, 王宏杰, 戴潇雨, 高思涵, 王卿怡, 冯超颖, 张华华, 郭威. 大豆斑疹病菌胞外纤维素酶编码基因的鉴定及其调控分析[J]. 植物病理学报, 2020, 50(3): 292-300.
SU RY, WANG HJ, DAI XY, GAO SH, WANG QY, FENG CY, ZHANG PH, GUO W. Identification and regulation analysis of genes encoding extracellular cellulase in soybean pathogen *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2020, 50(3): 292-300 (in Chinese).
- [68] FIGUEIREDO J, SOUSA SILVA M, FIGUEIREDO A. Subtilisin-like proteases in plant defence: the past, the present and beyond[J]. Molecular Plant Pathology, 2018, 19(4): 1017-1028.
- [69] SONG P, ZHANG X, WANG SH, XU W, WANG F, FU RZ, WEI F. Microbial proteases and their applications[J]. Frontiers in Microbiology, 2023, 14: 1236368.
- [70] 黄春风, 周涛, 高彦平, 欧小宏, 王艳红, 郭兰萍, 袁青松. 太子参叶斑病生防菌发酵液的抑菌稳定性研究[J]. 中药材, 2024, 47(11): 2707-2712.
HUANG CF, ZHOU T, GAO YP, OU XH, WANG YH, GUO LP, YUAN QS. Study on the antimicrobial stability of fermentation broth from biocontrol bacteria against *Pseudostellaria heterophylla* leaf spot disease[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2024, 47(11): 2707-2712 (in Chinese).
- [71] OSÉS-RUIZ M, CRUZ-MIRELES N, MARTIN-URDIROZ M, SOANES DM, ESEOLA AB, TANG BZ, DERBYSHIRE P, NIELSEN M, CHEEMA J, WERE V, EISERMANN I, KERSHAW MJ, YAN X, VALDOVINOS-PONCE G, MOLINARI C, LITTLEJOHN GR, VALENT B, MENKE FLH, TALBOT NJ. Appressorium-mediated plant infection by *Magnaporthe oryzae* is regulated by a Pmk1-dependent hierarchical transcriptional network[J]. Nature Microbiology, 2021, 6(11): 1383-1397.