

## 研究报告

## 拮抗两种辣椒病害的菌株鉴定及生防潜力评价

秦菁菁<sup>1,3</sup>, 曹璐<sup>2,3</sup>, 付威<sup>4</sup>, 王吐虹<sup>3</sup>, 邓稳桥<sup>5</sup>, 宋志强<sup>3</sup>, 程毅<sup>\*3</sup>, 李魏<sup>\*1</sup>

1 湖南农业大学植物保护学院, 湖南 长沙 410128

2 湖南农业大学园艺学院, 湖南 长沙 410128

3 中国农业科学院麻类研究所, 湖南 长沙 410205

4 岳阳县植保植检站, 湖南 岳阳 414100

5 长沙市农业科学院, 湖南 长沙 410003

秦菁菁, 曹璐, 付威, 王吐虹, 邓稳桥, 宋志强, 程毅, 李魏. 拮抗两种辣椒病害的菌株鉴定及生防潜力评价[J]. 微生物学通报, 2024, 51(7): 2450-2462.

QIN Jingjing, CAO Lu, FU Wei, WANG Tuhong, DENG Wenqiao, SONG Zhiqiang, CHENG Yi, LI Wei. Identification and biocontrol potential of a strain against two pepper diseases[J]. Microbiology China, 2024, 51(7): 2450-2462.

**摘要:**【背景】由齐整小核菌(*Sclerotium rolfsii*)引起的辣椒白绢病和辣椒疫霉(*Phytophthora capsici*)引起的辣椒疫病, 严重影响了辣椒的产量及品质。【目的】获得两种辣椒病害的高效拮抗生防细菌, 为生防菌剂开发提供理论基础。【方法】从前期保存的微生物资源库中筛选到一株对两种病原菌均有良好抑制效果的菌株 SEC-197。对菌株进行形态、生理生化和分子鉴定, 分析其产胞外酶和植物促生特性, 通过 PCR 扩增检测抑菌促生相关基因, 并进一步通过盆栽试验评价该菌株的生防效果和促生作用。【结果】菌株 SEC-197 对齐整小核菌和辣椒疫霉的平板抑制率分别为 76.59%±0.59% 和 74.85%±0.35%。经鉴定菌株 SEC-197 为贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*), 该菌株可以形成生物膜, 并且具有分泌蛋白酶、纤维素酶、溶解有机磷和无机磷、产铁载体以及固氮的能力, 经测定菌株具有 *srfAB*、*fenB* 和 *ysnE* 等抑菌促生基因, 盆栽试验显示该菌株对辣椒白绢病和辣椒疫病的防效分别达 72.08% 和 70.42%, 且该菌株发酵液能显著提高辣椒植株的茎宽、鲜重和干重等生长指标。【结论】菌株 SEC-197 对辣椒白绢病和辣椒疫病均具有显著的拮抗活性且促生效果良好。该研究结果为辣椒的生产应用提供了理论依据与试验基础。

**关键词:** 贝莱斯芽孢杆菌; 辣椒白绢病; 辣椒疫病; 抑菌活性; 生防效果

资助项目: 中国农业科学院创新工程(ASTIP-IBFC-04); 湖南省农业种质资源普查保护利用项目(XCNZ-202223); 湖南省植保植检站植物防疫防控科研项目(HNZB202103)

This work was supported by the Innovation Project of Chinese Academy of Agricultural Sciences (ASTIP-IBFC-04), the Hunan Province Agricultural Germplasm Resources Census Protection and Utilization Project (XCNZ-202223), and the Hunan Provincial Plant Protection and Plant Inspection Station Plant Disease Prevention and Control Research Project (HNZB202103).

\*Corresponding authors. E-mail: CHENG Yi, chengyi@caas.cn; LI Wei, Liwei350511@163.com

Received: 2023-10-11; Accepted: 2023-12-19; Published online: 2024-02-20

# Identification and biocontrol potential of a strain against two pepper diseases

QIN Jingjing<sup>1,3</sup>, CAO Lu<sup>2,3</sup>, FU Wei<sup>4</sup>, WANG Tuhong<sup>3</sup>, DENG Wenqiao<sup>5</sup>, SONG Zhiqiang<sup>3</sup>, CHENG Yi<sup>\*3</sup>, LI Wei<sup>\*1</sup>

1 College of Plant Protection, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, Hunan, China

2 College of Horticulture, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, Hunan, China

3 Institute of Bast Fiber Crops, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Changsha 410205, Hunan, China

4 Yueyang County Plant Protection and Plant Inspection Station, Yueyang 414100, Hunan, China

5 Changsha Academy of Agricultural Sciences, Changsha 410003, Hunan, China

**Abstract: [Background]** Pepper southern blight caused by *Sclerotium rolfsii* and pepper blight caused by *Phytophthora capsici* have seriously affected the yield and quality of peppers (*Capsicum annuum*). **[Objective]** To obtain efficient antagonistic bacteria for the biocontrol of two pepper diseases and provide a theoretical basis for the development of biocontrol agents. **[Methods]** From the pre-preserved microbial resource library, the strain SEC-197 with strong inhibitory effects on both pathogens was screened out. It was identified by morphological, physiological, biochemical, and molecular analyses. The production of extracellular enzymes and plant growth-promoting effect of the strain were assessed. PCR amplification was employed to mine the genes associated with the inhibitory and promoting effects. Furthermore, the biocontrol and plant growth-promoting effects of the strain were evaluated by pot experiments. **[Results]** The strain SEC-197 showed inhibitory rates of 76.59%±0.59% and 74.85%±0.35% against *S. rolfsii* and *P. capsici*, respectively. Strain SEC-197 was identified as *Bacillus velezensis*, which can form biofilms and had the ability to secrete proteases and cellulases, dissolve organic and inorganic phosphorus, produce siderophores, and fix nitrogen. The strain carried biocontrol and growth promotion-related genes such as *srfAB*, *fenB*, and *ynsE*. The pot experiment results showed that the strain had the control effects of 72.08% and 70.42% against pepper southern blight and pepper blight, respectively. Moreover, the strain's fermentation broth significantly increased growth indicators such as stem width, fresh weight, and dry weight of pepper plants. **[Conclusion]** The strain SEC-197 has significant antagonistic activity against both pepper southern blight and pepper blight and an obvious plant growth-promoting effect. The research finding provide a theoretical basis and experimental foundation for the practical application of pepper production.

**Keywords:** *Bacillus velezensis*; pepper southern blight; pepper blight; antagonistic activity; biocontrol effect

辣椒(*Capsicum annuum*)是重要的经济作物,其营养物质丰富,深受消费者喜欢,除食用价值外,辣椒素和辣椒碱在医疗和工业等领域均具有重要应用价值<sup>[1]</sup>。近年来,我国辣椒

产业飞速发展,辣椒面积稳定在 210 万 hm<sup>2</sup> 以上,是中国种植面积最大的蔬菜<sup>[2]</sup>。随着种植面积扩大,土壤中病原菌不断积累,辣椒土传病害的发生危害日益严重。其中分别由齐整小

核菌(*Sclerotium rolfsii*)和辣椒疫霉(*Phytophthora capsici*)引起的辣椒白绢病和辣椒疫病在全国均有发生,造成植物整株萎蔫和果实腐烂,且发病速度极快难以控制,严重影响辣椒的质量和产量<sup>[3-4]</sup>。

目前主要以化学药剂防治辣椒病害,但药剂的过量使用造成病原菌抗药性增强、农药残留和一些环境污染问题等。随着绿色植保战略的实施,生物防治的地位日益增加。利用生防菌剂防治辣椒病害对提高其产量与品质、推进产业可持续发展具有重要意义<sup>[5-6]</sup>。芽孢杆菌(*Bacillus* sp.)、假单胞菌(*Pseudomonas* sp.)、木霉菌(*Trichoderma* sp.)和粘帚菌(*Gliocladium* sp.)等许多微生物已经用于防治辣椒病害,对辣椒疫病、枯萎病和炭疽病等病害都表现出有较好的生防效果<sup>[7-12]</sup>。其中芽孢杆菌作为自然界中广泛分布的生防细菌,在实际生产中应用较多。由江苏省农科院植保所研发的解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*) B1619 能够有效防治番茄枯萎病<sup>[13]</sup>。百抗、纹曲宁和麦丰宁等商品制剂均以枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)为主要成分,被用于防治水稻、小麦等作物上的病害<sup>[14]</sup>。目前,在中国农药信息网(<http://www.chinapesticide.org.cn/>)可查到已登记的芽孢杆菌农药有 326 条记录,其中多为枯草芽孢杆菌和苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*),贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*)的登记仅有两条,均由贝莱斯芽孢杆菌 CGMCC No. 14384 制成,能够防治烟草黑胫病、茶树炭疽病和黄瓜白粉病等多种病害。但在登记结果中并未发现对辣椒白绢病及辣椒疫病均有防治效果的芽孢杆菌菌剂。

本研究为获得对这两种辣椒病害均有良好抑制效果的生防细菌,拟以齐整小核菌和辣椒疫霉为靶标病原菌,针对中国农业科学院南方经济作物中心前期筛选的辣椒等主要经济作物根际

微生物资源,通过形态学、生理生化试验和分子生物学手段对该菌株进行鉴定,测验其体外产酶、固氮、溶磷及产铁载体等方面的能力与潜力,结合盆栽试验进一步验证该菌株对两种病害的生防效果和促生效果,为研制绿色、高效的生物菌剂奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品

微生物资源库菌株由中国农业科学院南方经济作物中心从辣椒、瓜类等经济作物根际土壤中分离,且对多种病原菌具有良好的抑菌效果。

供试病原菌:齐整小核菌(*Sclerotium rolfsii*)、辣椒疫霉(*Phytophthora capsici*)由中国农业科学院南方经济作物中心保存。

长研青香辣椒种子,长沙春润种业有限公司。

### 1.2 培养基

LB 培养基、马铃薯葡萄糖培养基和 V8 培养基参考文献[15]配制;难溶性无机磷培养基参考文献[16]配制;解钾培养基参考文献[17]配制;固氮培养基参考文献[18]配制;蛋白酶、纤维素酶、几丁质酶和  $\beta$ -1,3-葡聚糖酶活性检测培养基参考文献[19]配制;有机磷培养基和 CAS 检测培养基购于青岛海博生物技术有限公司。

### 1.3 主要试剂和仪器

湘晖农业育苗基质营养土,湖南省湘晖农业技术开发有限公司;24 g/L 噻唑酰胺,上海沪联生物药业股份有限公司;3%甲霜恶霉灵,河北中保绿农作物科技有限公司;HBI 芽孢杆菌生化鉴定条、棉子糖、糖原、乳糖、ONPG 和松二糖,青岛海博生物技术有限公司;2×EasyTaq PCR Super Mix,北京全式金生物技术有限公司。生化培养箱,上海博迅实业有限公司;恒温培养振荡器,上海智城分析仪器制造有限公司;超低温保存箱,青岛海尔股份有限公司;PCR 仪,东

胜创新生物科技有限公司；电泳仪，北京六一生物技术有限公司；紫外凝胶成像仪，湖南肯基仪器有限公司。

#### 1.4 菌株的筛选与抑菌活性测定

通过平板对峙法从微生物资源库中筛选出对齐整小核菌和辣椒疫霉均有抑制作用的菌株，挑选抑制效果突出的菌株 SEC-197 用于复筛，复筛具体操作如下：在 PDA 培养基中央接种病原菌饼( $d=7\text{ mm}$ )，在菌饼四周  $2.5\text{ cm}$  处接种  $50\text{ }\mu\text{L}$  菌液，以接种无菌 LB 液体培养基的平板为阴性对照，以接种  $240\text{ mg/L}$  的噻呋酰胺药剂平板为齐整小核菌对峙试验的阳性对照，以接种  $100\text{ mg/L}$  的甲霜恶霉灵药剂平板为辣椒疫霉对峙试验的阳性对照，试验重复 3 次。由于噻呋酰胺和甲霜恶霉灵两种药剂常用于两种辣椒病害的田间防治，因此选取两种药剂作为两种辣椒病害的阳性对照，所用浓度为推荐剂量。待阴性对照菌丝长满平皿时计算抑菌率，抑菌率( $\%$ )=(对照组菌落直径-处理组菌落直径)/(对照组菌落直径-病原菌初始直径) $\times 100$ 。

#### 1.5 菌株 SEC-197 的鉴定

##### 1.5.1 形态学观察及生理生化鉴定

将菌株 SEC-197 在 LB 平板划线， $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  培养  $48\text{ h}$  后在光学显微镜下对单菌落的形态、颜色等进行观察；挑取单菌落至 LB 液体培养基， $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $180\text{ r/min}$  培养  $16\text{ h}$ ， $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $8\text{ }000\times g$  离心  $5\text{ min}$  收集菌体，加入  $2.5\%$  戊二醛  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  静置  $2\text{ h}$  以上，以  $1\times\text{PBS}$  缓冲液重悬 3 次，再经乙醇梯度脱水和临界点干燥后送至科学指南针公司，进行扫描

电镜观察菌体形态特征。参考海博生物说明书和《常见细菌系统鉴定手册》<sup>[20]</sup>对菌株 SEC-197 进行革兰氏染色、淀粉水解等生理生化特征研究。

##### 1.5.2 抗病促生特性鉴定

将菌株 SEC-197 接种至难溶性无机磷平板， $5\text{ d}$  后观察其有无透明圈<sup>[16]</sup>；将菌株接种至解钾培养基， $5\text{ d}$  后观察其有无透明圈<sup>[17]</sup>；蛋白酶、纤维素酶、几丁质酶和  $\beta$ -1,3-葡聚糖酶活性检测参考赵文娟等<sup>[19]</sup>，菌株生物膜的测定参考 Sun 等<sup>[21]</sup>，根据海博生物说明书进行产铁载体和溶解有机磷能力检测。

##### 1.5.3 16S rRNA 基因序列及 *gyrA* 基因序列分析

采用煮沸法提取菌株 DNA 作为模板，以引物对 27F/1492R 和引物对 42F/1066R 分别对菌株 SEC-197 的 16S rRNA 基因和 *gyrA* 基因进行 PCR 扩增，引物序列见表 1，PCR 反应体系及条件参考黄慧婧等<sup>[22]</sup>。PCR 产物送至湖南擎科生物技术有限公司进行测序，在 NCBI 中进行测序结果比对，采用 MEGA 7.0 软件中 MUSCLE 进行多序列比对，使用 neighbor-joining 法构建系统发育树，bootstrap 数值设为 1 000。

#### 1.6 菌株 SEC-197 抑菌、促生相关基因 PCR 检测

参考刘雪娇等<sup>[23]</sup>、申云鑫等<sup>[24]</sup>实验方法对菌株进行抑菌、促生相关基因的检测，并将 PCR 产物送至湖南擎科生物技术有限公司进行测序验证。本研究中 9 对基因引物均由湖南擎科生物技术有限公司合成，其中 *ysnE* 为促进生长关键基因<sup>[25]</sup>，其他为抑菌基因(表 2)。

表 1 16S rRNA 及 *gyrA* 基因引物序列

Tabel 1 Primer sequences for 16S rRNA and *gyrA* gene

基因名称	引物名称	引物序列
Gene name	Primer name	Primer sequence (5'→3')
16S rRNA	27F	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG
	1492R	TACGGCTACCTTGTACGACTT
<i>gyrA</i>	42F	CAGTCAGGAAATGCGTACGTCCTT
	1066R	CAAGGTA ATGCTCCAGGCATTGCT

表 2 本研究用于功能基因检测的引物

Tabel 2 Primers for functional genes detection in this study

编码蛋白	编码基因	引物序列	扩增长度
Encoding protein	Encoding gene	Primer sequence (5'→3')	Amplification size (bp)
Surfactin	<i>srfAB</i>	F: GTTCTCGCAGTCCAGCAGAAG R: GCCGAGCGTATCCGTACCGAG	308
Fengycin	<i>fenB</i>	F: CTATAGTTTGTGACGGCTC R: CAGCACTGGTCTTGTCGCA	1 600
	<i>fenD</i>	F: CAGCACTGGTCTTGTCGCA R: TGCTCATCGTCTTCCGTTTC	293
Iturin	<i>ituA</i>	F: ATGTATACCAGTCAATTCC R: GATCCGAAGCTGACAATAG	1 047
	<i>ituC</i>	F: TTCACCTTTTGATCTGGCGAT R: CGTCCGGTACATTTTCAC	575
	<i>ituD</i>	F: GATGCGATCTCCTTGGATGT R: ATCGTCATGTGCTGCTTGAG	647
Bacillomycin D	<i>bymA</i>	F: AAAGCGGCTCAAGAAGCGAAACCC R: CGATTCAAGCTCATCGACCAGGTAGGC	1 200
	<i>bymB</i>	F: AATAGAAGAACTGCTGGCGT R: GCCTTCCCGACACGACACT	983
Auxin	<i>ysnE</i>	F: GGCTGTGAACCTTGCTATG R: GCTGTTCGGGTCTCTTTAT	455

### 1.7 生防效果评估

菌株 SEC-197 对辣椒白绢病的盆栽防治效果：试验共 3 个处理，每个处理 24 株辣椒苗，分别用 15 mL 菌株发酵液、无菌 LB 液体培养基、240 mg/L 噻呋酰胺灌溉；5 d 后刺伤辣椒根基部，在伤口处接菌丝块( $d=7$  mm)并覆上无菌棉球保湿。5 d 后记录发病情况，植株的发病程度、病情指数及防治效果计算均参考文献[26]。

菌株 SEC-197 对辣椒疫病的盆栽防治效果：试验共 3 个处理，每个处理 18 株 3–4 叶期辣椒幼苗，分别用 10 mL 菌株发酵液、无菌 LB 液体培养基、100 mg/L 甲霜恶霉灵灌溉；2 d 后刺伤辣椒根基部以 10 mL  $1 \times 10^5$  CFU/mL 辣椒疫霉孢子液灌根，接种孢子液 5 d 后记录发病情况，病情分级标准参考 Zhang 等<sup>[27]</sup>。病情指数与防治效果计算同菌株 SEC-197 对辣椒白绢病的盆栽防效测定。

### 1.8 促生效果评价

试验共 3 个处理，每个处理 24 株 3–4 叶期辣椒幼苗，以 10 mL 菌株发酵液、无菌 LB 液体培

养基和水每 3 d 灌溉 1 次。25 d 后观察植株形态，同时将植株取出并洗净根表泥土，测量植株茎宽、根长和株高，称量鲜重，50 °C 烘至恒重后称量干重，并计算植株各生长指标的增长率。增长率(%)=(处理组–无菌水对照组)/无菌水对照组 $\times 100$ <sup>[13]</sup>。

### 1.9 数据分析与处理

采用 WPS Excel 工作表进行数据统计，利用 SPSS 软件进行单因素方差分析，Duncan 氏新复极差法进行处理间差异显著性检验。

## 2 结果与分析

### 2.1 菌株 SEC-197 对齐整小核菌和辣椒疫霉的拮抗活性测定

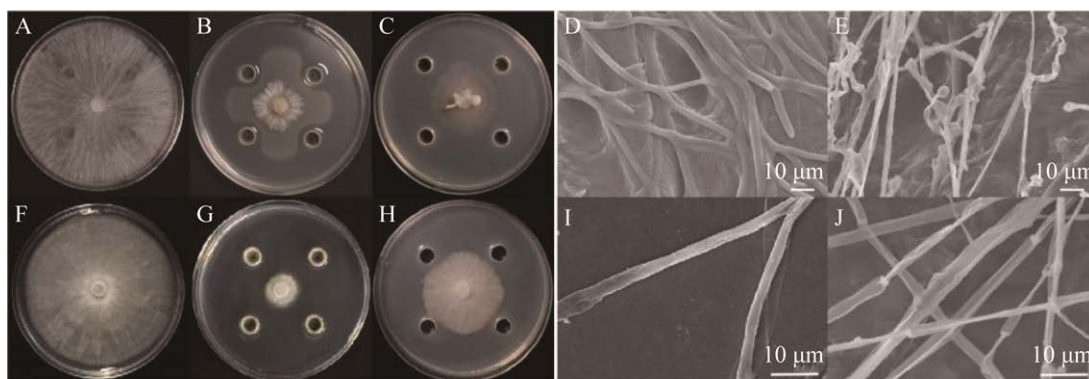
经筛选发现菌株 SEC-197 对两种病原菌的抑制效果突出，与齐整小核菌阴性对照相比(图 1A)，菌株 SEC-197 对该病菌的平板抑制率达 76.59% $\pm$ 0.59% (图 1B)，而噻呋酰胺对该病菌的平板抑制率为 63.28% $\pm$ 0.72% (图 1C)，明显低于菌株 SEC-197 的抑制效果；通过扫描电镜观察

齐整小核菌健康菌丝及菌株 SEC-197 抑制后菌丝状态, 可见健康菌丝形态饱满且表面光滑(图 1D), 菌株 SEC-197 抑制后菌丝则出现皱缩和干瘪, 甚至断裂(图 1E)。与辣椒疫霉阴性对照相比(图 1F), 菌株 SEC-197 对该病菌的平板抑制率达  $74.85\% \pm 0.35\%$  (图 1G), 而甲霜恶霉灵对该病原菌的平板抑制率为  $63.28\% \pm 0.72\%$  (图 1H), 也明显低于菌株 SEC-197 对病原菌的抑制效果;

同样通过扫描电镜观察辣椒疫霉健康菌丝及菌株 SEC-197 抑制后菌丝状态, 结果与齐整小核菌丝状态相似(图 1I、1J)。

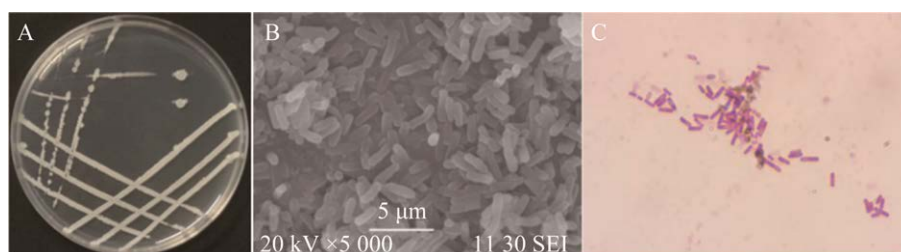
## 2.2 菌株 SEC-197 的鉴定结果

在 LB 培养基划线后  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  培养 48 h (图 2A), 所得菌株单菌落直径为 1–3 mm, 外观形态为白色, 质地干燥, 边缘不规则; 菌体呈杆状, 大小为  $(0.5\text{--}1.0)\text{ }\mu\text{m} \times (2.0\text{--}4.0)\text{ }\mu\text{m}$  (图 2B)。



**图 1** 菌株 SEC-197 对齐整小核菌和辣椒疫霉的抑制活性 A: 齐整小核菌阴性对照. B: 菌株 SEC-197 对齐整小核菌的拮抗作用. C: 噻呋酰胺对齐整小核菌的拮抗作用. D: 齐整小核菌健康菌丝电镜照片. E: 菌株 SEC-197 抑制齐整小核菌后的菌丝电镜照片. F: 辣椒疫霉阴性对照. G: 菌株 SEC-197 对辣椒疫霉的拮抗作用. H: 甲霜恶霉灵对辣椒疫霉的拮抗作用. I: 辣椒疫霉健康菌丝电镜照片. J: 菌株 SEC-197 抑制辣椒疫霉后的菌丝电镜照片

Figure 1 Inhibition effect of strain SEC-197 on *Sclerotium rolfii* and *Phytophthora capsici*. A: Negative control of *S. rolfii*. B: Inhibition effect of strain SEC-197 on *S. rolfii*. C: Inhibition effect of thifluzamid on *S. rolfii*. D: Mycelial growth of *S. rolfii*. E: Mycelial growth of *S. rolfii* under the effect of SEC-197 antagonism. F: Negative control of *P. capsici*. G: Inhibition effect of strain SEC-197 on *P. capsici*. H: Inhibition effect of hymexazol on *P. capsici*. I: Mycelial growth of *P. capsici*. J: Mycelial growth of *P. capsici* under the effect of SEC-197 antagonism.



**图 2** 菌株 SEC-197 的形态学特征 A: 菌株 SEC-197 培养 48 h 后的菌落形态. B: 菌株 SEC-197 在电镜下的菌体形态(5 000×). C: 菌株 SEC-197 的革兰氏染色

Figure 2 Morphological characteristics of strain SEC-197. A: Colony morphology of strain SEC-197 after 48 h. B: Individual form of strain SEC-197 under scanning electron microscope (5 000×). C: Gram stain of SEC-197.

生理生化结果显示, 菌株 SEC-197 革兰氏染色试验(图 2C)、硝酸盐还原反应、淀粉水解试验、ONPG 试验、接触酶和氧化酶试验结果均为阳性, VP 试验结果为阴性, 可在 7% NaCl 和 pH 5.7 环境中生长, 能利用柠檬酸盐、D-木糖、L-阿拉伯糖、D-甘露醇、棉子糖和糖原, 不可利用丙氨酸、乳糖和松二糖(表 3)。

菌株 SEC-197 的抗病促生平板试验表明(表 4, 图 3), 菌株可以分泌蛋白酶、纤维素酶, 溶解有机磷和无机磷, 产铁载体及固氮, 无分泌几丁质酶和  $\beta$ -1,3-葡聚糖酶及解钾的能力。通过生物膜测定试验发现试管壁上有明显紫色晕圈, 表明该菌可以形成生物膜。

表 3 菌株 SEC-197 的生理生化试验

Table 3 Physiological and biochemical tests of strain SEC-197

测试项目 Test item	结果 Result
Gram stain	+
VP	-
Citrate	+
Propionate	-
D-xylose	+
L-arabinose	+
D-mannitol	+
Gelatin liquefaction	+
7% NaCl	+
pH 5.7	+
Nitrate reduction	+
Starch hydrolysis	+
Lactose	-
Raffinose	+
Pine disaccharide	-
Glycogen	+
ONPG	+
Contact enzyme	+
Oxidase	+

+: 阳性; -: 阴性

+: Positive; -: Negative.

表 4 菌株 SEC-197 的抗病促生试验

Table 4 Disease resistance and growth promotion experiment of strain SEC-197

测试项目 Test item	结果 Result
Protease	+
Inorganic phosphate solubilization	+
Organic phosphate solubilization	+
Cellulase	+
Siderophores production	+
Release potassium	-
Nitrogen fixation	+
Biofilm	+
Chitinase	-
$\beta$ -1,3-glucanase	-

+: 阳性; -: 阴性

+: Positive; -: Negative.

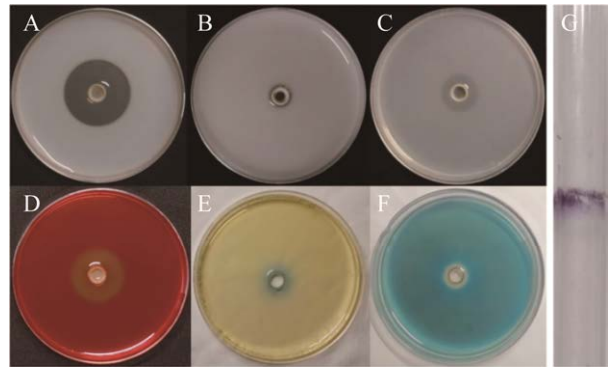


图 3 菌株 SEC-197 的抗病促生试验 A: 蛋白酶. B: 无机磷. C: 有机磷. D: 纤维素酶. E: 固氮. F: 产铁载体. G: 生物膜

Figure 3 Disease resistance and growth promotion experiment of strain SEC-197. A: Protease. B: Inorganic phosphate solubilization. C: Organic phosphate solubilization. D: Cellulase. E: Nitrogen fixation. F: Siderophores production. G: Biofilm.

菌株 SEC-197 的 16S rRNA 基因和 *gyrA* 基因序列分析: 将菌株 SEC-197 的 16S rRNA 基因和 *gyrA* 基因序列提交至 NCBI 数据库, 获得 GenBank 登录号分别为 OR398623 和 OR405540 (NCBI 数据库中该菌株为 B\_197, 与 SEC-197 为同一菌株)。基于两种基因序列分别构建系统

发育树,发现分别与 *B. velezensis* strain JIN4 (CP087137)、*B. velezensis* strain FJAT-45028 (CP047157)、*B. velezensis* strain H1 (OM523097)

在同一分支上(图 4A、4B),结合形态学和生理生化特征最终将菌株 SEC-197 鉴定为贝莱斯芽孢杆菌。

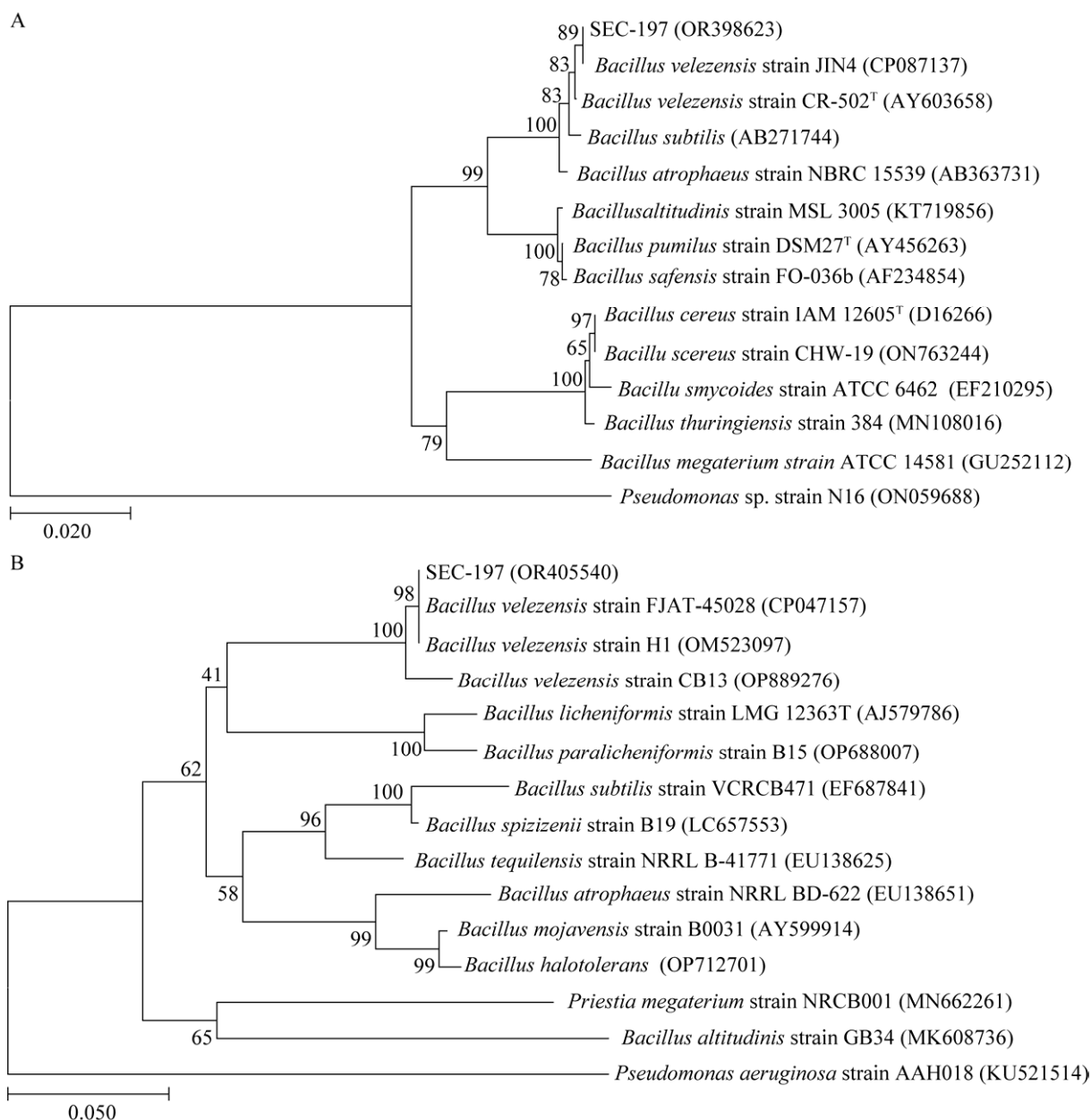


图 4 基于菌株 SEC-197 16S rRNA 基因序列(A)和 *gyrA* 基因序列(B)构建的系统发育树 括号内为 GenBank 登录号; 分支上数字为自展值; 标尺为核苷酸置换率

Figure 4 Phylogenetic tree constructed based on 16S rRNA gene and *gyrA* gene sequence of strain SEC-197. GenBank accession numbers in parentheses; The numbers on the branches are bootstrap values; The scale represents nucleotide substitution rate.

### 2.3 菌株 SEC-197 抑菌、促生相关基因 PCR 检测结果

对菌株 SEC-197 进行相关抑菌抗病及促生关键基因检测, PCR 产物经凝胶电泳检测并进行了测序验证, 发现菌株具有 *srfAB* 和 *fenB* 等抑菌基因及 *ysnE* 促生关键基因(图 5), 推测该菌株具有合成表面活性素、泛草素、伊枯草菌素、杆菌霉素 D 和吲哚乙酸(indoleacetic acid, IAA)多种抑菌促生物质的潜力。

### 2.4 菌株 SEC-197 对辣椒白绢病的盆栽防治效果

接种辣椒白绢病菌 5 d 后观察和收集数据(表 5, 图 6), 结果显示, 阴性对照组几乎全部萎蔫, 病情指数为 96.88, 而菌株 SEC-197 处理过的辣椒苗病情指数为 27.09, 与阳性对照组的病情指数并无显著性差异, 且处理组的相对防效达 72.08%, 接近噻呋酰胺处理后的防效。

### 2.5 菌株 SEC-197 对辣椒疫病的盆栽防治效果

接种辣椒疫霉孢子液 5 d 后观察和收集数据(表 6, 图 7)。结果显示阴性对照组大部分幼苗根基部缢缩严重, 呈倒伏状态, 病情指数高达 78.89。而菌株 SEC-197 处理过的辣椒苗病情指数为 23.33, 显著低于阴性对照组的病情指数, 且相对防效达 70.42%, 明显高于甲霜恶霉灵药剂处理后的效果。



图 5 菌株 SEC-197 抑菌促生相关基因 PCR 产物凝胶电泳图 M: DL2000 DNA Marker; 1: *srfAB* (303 bp); 2: *fenD* (287 bp); 3: *ituC* (546 bp); 4: *ituD* (620 bp); 5: *ysnE* (371 bp); 6: *fenB* (1 305 bp); 7: *ituA* (1 033 bp); 8: *bymA* (1 080 bp); 9: *bymB* (950 bp)

Figure 5 Gel electrophoresis of PCR products of antagonistic and promote growth genes in strain SEC-197. M: DL2000 DNA Marker; 1: *srfAB* (303 bp); 2: *fenD* (287 bp); 3: *ituC* (546 bp); 4: *ituD* (620 bp); 5: *ysnE* (371 bp); 6: *fenB* (1 305 bp); 7: *ituA* (1 033 bp); 8: *bymA* (1 080 bp); 9: *bymB* (950 bp).

表 5 菌株 SEC-197 对辣椒白绢病的盆栽防治效果

Table 5 The control efficacy of strain SEC-197 against pepper southern blight

处理	病情指数	防治效果
Treatment	Disease index	Control efficacy (%)
SEC-197	27.09b	72.08
CK1 (LB)	96.88a	/
CK2 (thifluzamid)	18.06b	81.39

表格中不同小写字母代表处理之间存在差异显著 ( $P<0.05$ ); /: 无数据. 下同

Different lowercase letters indicated significant differences between treatments ( $P<0.05$ ); /: No data. The same below.

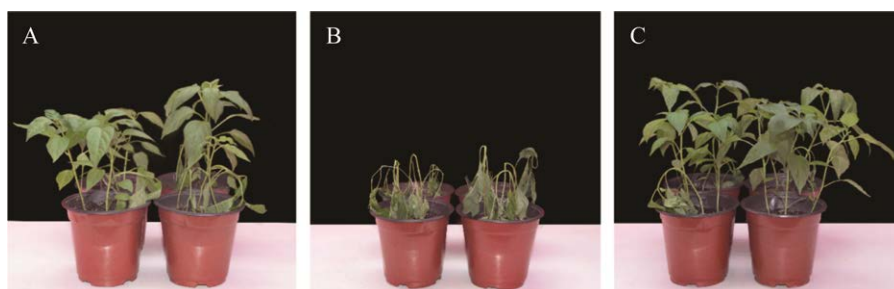


图 6 菌株 SEC-197 对辣椒白绢病的盆栽防治效果 A: 菌株 SEC-197 发酵液. B: CK1 (LB). C: CK2 (thifluzamid)

Figure 6 The control efficacy of different treatments against pepper southern blight. A: Fermentation broth of strain SEC-197. B: CK1 (LB). C: CK2 (thifluzamid).

表 6 菌株 SEC-197 对辣椒疫病的盆栽防治效果  
Table 6 The control efficacy of strain SEC-197 against pepper blight

处理	病情指数	防治效果
Treatment	Disease index	Control efficacy (%)
SEC-197	23.33c	70.42
CK1 (LB)	78.89a	/
CK2 (hymexazol)	55.56b	29.57

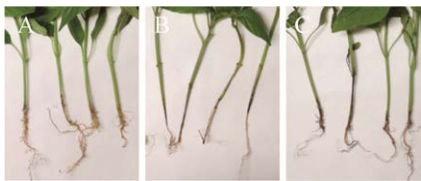


图 7 菌株 SEC-197 对辣椒疫病的盆栽防治效果  
A: 菌株 SEC-197 发酵液. B: CK1 (LB). C: CK2 (hymexazol)  
Figure 7 Effect of different treatments on the root basal part of peppers. A: Fermentation broth of strain SEC-197. B: CK1 (LB). C: CK2 (hymexazol).

**2.6 菌株 SEC-197 对辣椒植株的促生作用**  
经菌株 SEC-197 灌根后, 从植株表型上看明显高于对照组 CK1 和 CK2 (图 8), 通过测量和计算植株的各项生理指标, 发现菌株 SEC-197 处理组与 CK2 对照组相比, 植株茎宽增加 28.38%, 根长增加 38.95%, 株高增加 35.60%, 鲜重增加 81.38%, 干重增加 82.35% (表 7)。结果表明该菌株具有良好的促生效果。



图 8 不同处理对辣椒植株的促生作用 A: 菌株 SEC-197 发酵液. B: CK2 (水). C: CK1 (LB)  
Figure 8 The strain SEC-197 on the growth promotion of pepper plants. A: Fermentation broth of strain SEC-197. B: CK2 (water). C: CK1 (LB).

表 7 菌株 SEC-197 对辣椒植株的促生作用  
Table 7 Growth promotion effect of strain SEC-197 on pepper plants

处理 Treatment	SEC-197	CK1 (LB)	CK2 (Water)
茎宽	2.85a	1.95c	2.22b
Stem width (mm)			
茎宽增长率	28.38	/	/
Increase on stem width (%)			
株高	22.55a	13.62c	16.63b
Shoot length (cm)			
株高增长率	35.60	/	/
Increase on shoot length (%)			
根长	9.24a	4.13c	6.65b
Root length (cm)			
根长增长率	38.95	/	/
Increase on root length (%)			
鲜重	3.41a	1.12c	1.88b
Fresh weight (g)			
鲜重增长率	81.38	/	/
Increase on fresh weigh (%)			
干重	0.31a	0.08c	0.17b
Dry weight (g)			
干重增长率	82.35	/	/
Increase on dry weight (%)			

### 3 讨论与结论

微生物防治是实现植物病害绿色防控的有效技术手段, 发掘有益微生物是实施植物病害微生物防治的前提<sup>[12]</sup>, 本文通过离体平板拮抗与活体盆栽试验相结合的方式筛选获得一株对两种辣椒病害均有效的生防菌株是一种有益的探索。菌株 SEC-197 对辣椒白绢病和辣椒疫病的盆栽防治效果分别达 72.08% 和 70.42%, 与之前报道的芽孢杆菌 CZ1、CB13、BS193 和 CRJ-9 的防效数据相当<sup>[10,15,28-29]</sup>, 具有较好的生防潜力。另外, 本研究中菌株 SEC-197 在离体平板试验中对整齐小核菌的抑制率高于噻呋酰胺药剂, 但在盆栽试验中的防治效果却低于噻呋酰胺药剂,

说明该菌株本身在不同的生境中会表现出功能差异,这可能与微生物的定殖能力、环境适应性等诸多性能相关。

研究发现生防芽孢杆菌常见的抑菌机制有多种,如拮抗作用、竞争作用、促生作用和诱导植物系统抗性,其中拮抗作用主要通过产生脂肽类抗生素和蛋白类物质来抑制病菌生长<sup>[14]</sup>。脂肽类抗生素主要包括伊枯草菌素、表面活性素、泛革素和杆菌霉素 D,多数生防芽孢杆菌能够同时产生两种及以上的脂肽类抗生素,这些代谢产物在抑菌时发挥重要作用<sup>[30]</sup>。研究报道贝莱斯芽孢杆菌 V4 产生伊枯草菌素等抑菌物质,这些物质能导致杀鲑气单胞菌(*Aeromonas salmonicida*)的细胞膜破裂,造成细胞内容物流失及细胞裂解<sup>[31]</sup>。刘雪姣等<sup>[23]</sup>发现贝莱斯芽孢杆菌 3A3-15 能产生表面活性素等抑菌物质,导致尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)菌丝扭曲、膨大和畸形,且对孢子萌发抑制率高达 93.2%。拮抗蛋白类物质主要包括蛋白酶、纤维素酶和几丁质酶等细胞壁降解酶类,导致植物病原菌丝畸形,抑制其生长<sup>[14]</sup>。本研究中菌株 SEC-197 能够分泌蛋白酶和纤维素酶,能够有效抑制齐整小核菌和辣椒疫霉菌丝生长;通过 PCR 检测发现该菌株具有合成表面活性素、泛革素、伊枯草菌素和杆菌霉素 D 的潜力,然而具体是哪种物质起关键作用还有待进一步研究。

竞争作用和促生作用是生防芽孢杆菌发挥作用的重要途径。研究表明芽孢杆菌主要靠抢占生态位及争夺营养元素与病原菌竞争。在抢占生态位时,其通过在植株根围形成生物膜来抵御病原菌的侵染<sup>[32]</sup>,本研究中菌株 SEC-197 具备形成生物膜的能力,能够在提高自身定殖能力的同时增强植株抗性。在营养竞争中,铁载体对铁元素的竞争常作为生物防治的一个重要指标,Yu 等<sup>[33]</sup>研究发现铁载体不仅能够显著降低辣椒枯

萎病的发生,同时对植物的生长起重要作用。通过 CAS 平板检测发现菌株 SEC-197 也具备产铁载体的能力,说明在与植物病原菌竞争时更具优势。同时,在盆栽试验中,该菌株能显著促进辣椒植株的茎宽、株高和鲜重等生长性状,这可能要归功于其产 IAA 的潜力、固氮和溶磷的能力。

综上,菌株 SEC-197 对两种辣椒病害的防治效果良好,能够合成 *srfAB*、*ysnE* 等抑菌促生基因,通过产生蛋白酶和纤维素酶两种细胞壁降解酶造成病原菌丝畸形断裂,并且具备生物膜合成、固氮、溶磷及产铁载体的能力,对辣椒植株具有良好的促生作用。本研究为防治辣椒白绢病和辣椒疫病提供了试验依据,可作为防控两种辣椒病害、促进辣椒植株生长的功能微生物资源,具有良好的开发和应用潜力,但其在根际定殖和发酵工艺优化等方面仍需深入研究。

## REFERENCES

- [1] 林巧,辛竹琳,孔令博,王晓梅,杨小微,何微.我国辣椒产业发展现状及育种应对措施[J].中国农业大学学报,2023,28(5):82-95.  
LIN Q, XIN ZL, KONG LB, WANG XM, YANG XW, HE W. Current situation of pepper industry development and breeding countermeasures in China[J]. Journal of China Agricultural University, 2023, 28(5): 82-95 (in Chinese).
- [2] 邹学校,马艳青,戴雄泽,李雪峰,杨莎.辣椒在中国的传播与产业发展[J].园艺学报,2020,47(9):1715-1726.  
ZOU XX, MA YQ, DAI XZ, LI XF, YANG S. Spread and industry development of pepper in China[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2020, 47(9): 1715-1726 (in Chinese).
- [3] 王俊莹,朱春晖,易希,罗萌,彭月,李雪峰,马艳青,郑井元.多种杀菌剂对辣椒白绢病防效的综合评价[J].中国蔬菜,2023(7):75-83.  
WANG JY, ZHU CH, YI X, LUO M, PENG Y, LI XF, MA YQ, ZHENG JY. Comprehensive evaluation about control effect of various fungicides on pepper southern blight[J]. China Vegetables, 2023(7): 75-83 (in Chinese).
- [4] 王燕,王晓莉,王源超.作物疫病菌致病机制研究进展与面临的挑战[J].中国科学基金,2020,34(4):393-400.

- WANG Y, WANG XL, WANG YC. Sustainable Control of *Phytophthora* diseases: progress and challenge[J]. Bulletin of National Natural Science Foundation of China, 2020, 34(4): 393-400 (in Chinese).
- [5] 李兴龙, 李彦忠. 土传病害生物防治研究进展[J]. 草业学报, 2015, 24(3): 204-212.
- LI XL, LI YZ. Research advances in biological control of soil-borne disease[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2015, 24(3): 204-212 (in Chinese).
- [6] 邱德文. 生物农药研究进展与未来展望[J]. 植物保护, 2013, 39(5): 81-89.
- QIU DW. Research progress and prospect of bio-pesticides[J]. Plant Protection, 2013, 39(5): 81-89 (in Chinese).
- [7] RAGAB MMM, ASHOUR AMA, ABDEL-KADER MM, EL-MOHAMADY R, ABDEL-AZIZ A. *In vitro* evaluation of some fungicides alternatives against *Fusarium oxysporum* the causal of wilt disease of pepper (*Capsicum annum* L.)[J]. International Journal of Agriculture and Forestry, 2012, 2(2): 70-77.
- [8] 吕翠. 辣椒果实胎座内生细菌的分离及其功能研究[D]. 长沙: 湖南农业大学硕士学位论文, 2020.
- LÜ C. Isolation and functional study of endophytic bacteria from the placenta of pepper fruit[D]. Changsha: Master's Thesis of Hunan Agricultural University, 2020 (in Chinese).
- [9] CHEN YY, CHEN PC, TSAY TT. The biocontrol efficacy and antibiotic activity of *Streptomyces plicatus* on the oomycete *Phytophthora capsici*[J]. Biological Control, 2016, 98: 34-42.
- [10] 程睿君, 原晨虹, 成巨龙, 张家韬, 陈国参, 安德荣. 一株抗辣椒疫霉的根际细菌 CRJ-9 的筛选、鉴定及防治效果研究[J]. 河北农业大学学报, 2019, 42(1): 83-89.
- CHENG RJ, YUAN CH, CHENG JL, ZHANG JT, CHEN GS, AN DR. Screening, identification and control efficacy of rhizosphere bacterial CRJ-9 against *Phytophthora capsici*[J]. Journal of Hebei Agricultural University, 2019, 42(1): 83-89 (in Chinese).
- [11] 徐沛东, 朱植银, 黄加诚, 肖永良, 谢远芳, 魏方林. 新型生物农药棘孢木霉菌防治辣椒疫病应用研究[J]. 生物灾害科学, 2017, 40(3): 172-175.
- XU PD, ZHU ZY, HUANG JC, XIAO YL, XIE YF, WEI FL. Application of *Trichoderma asperellum* to control pepper blight[J]. Biological Disaster Science, 2017, 40(3): 172-175 (in Chinese).
- [12] 卯婷婷, 陶刚, 赵兴丽, 王琦, 李世东. 4 种微生物菌剂对辣椒主要病害的生物防治作用[J]. 中国生物防治学报, 2020, 36(2): 258-264.
- MAO TT, TAO G, ZHAO XL, WANG Q, LI SD. Biological control of four kinds of microbial preparations against main diseases of pepper[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2020, 36(2): 258-264 (in Chinese).
- [13] 王璐瑶, 李兴东, 段天凤, 杨晓云, 刘永峰, 陈志谊. 解淀粉芽孢杆菌 B1619 防控设施番茄枯萎病田间使用技术与示范[J]. 中国生物防治学报, 2017, 33(4): 512-518.
- WANG LY, LI XD, DUAN TF, YANG XY, LIU YF, CHEN ZY. Application technologies and demonstration trials in fields of *Bacillus amyloliquefaciens* B1619 against tomato *Fusarium* wilt[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2017, 33(4): 512-518 (in Chinese).
- [14] 马佳, 李颖, 胡栋, 彭杰丽, 贾楠, 张翠绵, 王旭, 王占武. 芽孢杆菌生物防治作用机理与应用研究进展[J]. 中国生物防治学报, 2018, 34(4): 639-648.
- MA J, LI Y, HU D, PENG JL, JIA N, ZHANG CM, WANG X, WANG ZW. Progress on mechanism and applications of *Bacillus* as a biocontrol microbe[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2018, 34(4): 639-648 (in Chinese).
- [15] 王荣波, 陈姝樽, 肖小露, 李本金, 刘裴清, 石茗月, 陈庆河, 翁启勇. 枯草芽孢杆菌 BS193 对辣椒疫霉的拮抗作用及其相关生防因子检测[J]. 农业生物技术学报, 2022, 30(4): 772-782.
- WANG RB, CHEN SZ, XIAO XL, LI BJ, LIU PQ, SHI MY, CHEN QH, WENG QY. Antagonistic activity and related biocontrol factors detection of *Bacillus subtilis* BS193 on *Phytophthora capsici*[J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2022, 30(4): 772-782 (in Chinese).
- [16] 杨顺, 杨婷, 林斌, 刘杏忠, 向梅春. 两株溶磷真菌的筛选、鉴定及溶磷效果的评价[J]. 微生物学报, 2018, 58(2): 264-273.
- YANG S, YANG T, LIN B, LIU XZ, XIANG MC. Isolation and evaluation of two phosphate-dissolving fungi[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2018, 58(2): 264-273 (in Chinese).
- [17] 褚睿, 李昭轩, 张学青, 杨东亚, 曹行行, 张雪艳. 黄瓜枯萎病拮抗芽孢杆菌的筛选、鉴定及其生防潜力[J]. 生物技术通报, 2023, 39(8): 262-271.
- CHU R, LI ZX, ZHANG XQ, YANG DY, CAO HH, ZHANG XY. Screening and identification of antagonistic *Bacillus* spp. Against cucumber *Fusarium* wilt and its biocontrol effect[J]. Biotechnology Bulletin, 2023, 39(8): 262-271 (in Chinese).
- [18] 何艳慧. 解盐促生菌 *Pseudomonas* sp. rs-198 全基因组学分析及其与植物根际互作机制研究[D]. 石河子: 石河子大学博士学位论文, 2020.
- HE YH. Genomic analysis of *Pseudomonas* sp. rs-198 and its interaction mechanism with plant rhizosphere[D]. Shihezi: Doctoral Dissertation of Shihezi University, 2020 (in Chinese).
- [19] 赵文娟, 付博, 徐升运, 任平. 生防菌 SF1103、SF1104 对黄瓜枯萎病菌的拮抗作用[J]. 西北农业学报, 2017, 26(10): 1537-1543.

- ZHAO WJ, FU B, XU SY, REN P. Antagonism of biocontrol bacteria SF1103 and SF1104 on wilt pathogen in cucumber[J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2017, 26(10): 1537-1543 (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. Handbook of Identification of Common Bacterial Systems[M]. Beijing: Science Press, 2001 (in Chinese).
- [21] SUN DL, ZHUO T, HU X, FAN XJ, ZOU HS. Identification of a *Pseudomonas putida* as biocontrol agent for tomato bacterial wilt disease[J]. Biological Control, 2017, 114: 45-50.
- [22] 黄慧婧, 高香辉, 陈舒, 靳智晓, 朱丽娜, 罗坤. 一株番茄青枯病菌拮抗细菌的筛选、发酵条件优化及田间小区防效[J]. 微生物学通报, 2022, 49(2): 606-619.
- HUANG HJ, GAO XH, CHEN S, JIN ZX, ZHU LN, LUO K. Screening, fermentation condition optimization, and field control effect evaluation of an antagonistic bacterium against *Ralstonia solanacearum*[J]. Microbiology China, 2022, 49(2): 606-619 (in Chinese).
- [23] 刘雪娇, 李红亚, 李术娜, 朱宝成, 高同国. 贝莱斯芽孢杆菌 3A3-15 生防和促生机制[J]. 河北大学学报(自然科学版), 2019, 39(3): 302-310.
- LIU XJ, LI HY, LI SN, ZHU BC, GAO TG. Biocontrol and growth promotion mechanisms of *Bacillus velezensis* 3A3-15[J]. Journal of Hebei University (Natural Science Edition), 2019, 39(3): 302-310 (in Chinese).
- [24] 申云鑫, 施竹凤, 周旭东, 李铭刚, 张庆, 冯路遥, 陈齐斌, 杨佩文. 三株具生防功能芽孢杆菌的分离鉴定及其生物活性研究[J]. 生物技术通报, 2023, 39(3): 267-277.
- SHEN YX, SHI ZF, ZHOU XD, LI MG, ZHANG Q, FENG LY, CHEN QB, YANG PW. Isolation, identification and bio-activity of three *Bacillus* strains with biocontrol function[J]. Biotechnology Bulletin, 2023, 39(3): 267-277 (in Chinese).
- [25] 周小江. 2 株海洋生境芽孢杆菌的抑菌促生长作用及有关控制基因[D]. 青岛: 青岛科技大学硕士学位论文, 2015.
- ZHOU XJ. Antibacterial and growth-promoting effects of two strains of *Bacillus* in marine habitats and related control genes[D]. Qingdao: Master's Thesis of Qingdao University of Science & Technology, 2015 (in Chinese).
- [26] 彭启超, 黄德龙, 张志鹏, 魏浩, 吴书凤, 吴妍, 李俊, 邓祖科, 王宗抗. 贝莱斯芽孢杆菌 DPT-03 对花生白绢病菌的防控效果[J]. 河南农业科学, 2022, 51(2): 97-103.
- PENG QC, HUANG DL, ZHANG ZP, WEI H, WU SF, WU Y, LI J, DENG ZK, WANG ZK. The biocontrol effect of *Bacillus velezensis* DPT-03 on *Sclerotium rolfsii* in peanut[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2022, 51(2): 97-103 (in Chinese).
- [27] ZHANG SA, WHITE TL, MARTINEZ MC, McINROY JA, KLOPPER JW, KLASSEN W. Evaluation of plant growth-promoting rhizobacteria for control of *Phytophthora* blight on squash under greenhouse conditions[J]. Biological Control, 2010, 53(1): 129-135.
- [28] 施春兰, 朱国渊, 秦得强, 叶坤浩, 杨丽, 魏朝霞, 曾华兰, 叶鹏盛, 吴国星. 附子白绢病拮抗细菌 CZ1 的分离鉴定、发酵条件优化及防效测定[J]. 微生物学通报, 2023, 50(10): 4485-4498.
- SHI CL, ZHU GY, QIN DQ, YE KH, YANG L, WEI ZX, ZENG HL, YE PS, WU GX. An antagonistic bacterial strain CZ1 against southern blight on *Aconitum carmichaelii*: isolation, identification, optimization of fermentation conditions, and evaluation of control effect[J]. Microbiology China, 2023, 50(10): 4485-4498 (in Chinese).
- [29] JIA S, SONG C, DONG H, YANG XJ, LI XH, JI MS, CHU J. Evaluation of efficacy and mechanism of *Bacillus velezensis* CB13 for controlling peanut stem rot caused by *Sclerotium rolfsii*[J]. Frontiers in Microbiology, 2023, 14: 1111965.
- [30] 索雅丽, 李术娜, 李红亚, 王全, 王树香, 朱宝成. 番茄灰霉病菌拮抗菌株的筛选及功能基因的分析[J]. 中国植保导刊, 2010, 30(8): 7-10.
- SUO YL, LI SN, LI HY, WANG Q, WANG SX, ZHU BC. Screening of antagonistic strain against *Botrytis cinerea* and analysis of its functional gene[J]. China Plant Protection, 2010, 30(8): 7-10 (in Chinese).
- [31] GAO XY, LIU Y, MIAO LL, LI EW, SUN GX, LIU Y, LIU ZP. Characterization and mechanism of anti-*Aeromonas salmonicida* activity of a marine probiotic strain, *Bacillus velezensis* V4[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2017, 101(9): 3759-3768.
- [32] CHEN Y, CHAI YR, GUO JH, LOSICK R. Evidence for cyclic Di-GMP-mediated signaling in *Bacillus subtilis*[J]. Journal of Bacteriology, 2012, 194(18): 5080-5090.
- [33] YU XM, AI CX, XIN L, ZHOU GF. The siderophore-producing bacterium, *Bacillus subtilis* CAS15, has a biocontrol effect on *Fusarium* wilt and promotes the growth of pepper[J]. European Journal of Soil Biology, 2011, 47(2): 138-145.