

## 研究报告

## 一株花椒根腐病拮抗菌的分离鉴定及全基因组序列分析

田凤鸣<sup>\*1,2</sup>, 陈强<sup>1,2</sup>, 何九军<sup>1,2</sup>, 卓平清<sup>1,2</sup>, 王让军<sup>1,2</sup>, 王国斌<sup>3</sup>, 张晓娜<sup>1,2</sup>

1 陇南师范高等专科学校农林技术学院, 甘肃 陇南 742500

2 陇南特色农业生物资源研究开发中心, 甘肃 陇南 742500

3 武都区花椒服务中心, 甘肃 陇南 742500

田凤鸣, 陈强, 何九军, 卓平清, 王让军, 王国斌, 张晓娜. 一株花椒根腐病拮抗菌的分离鉴定及全基因组序列分析[J]. 微生物学通报, 2022, 49(8): 3205-3219

Tian Fengming, Chen Qiang, He Jiujun, Zhuo Pingqing, Wang Rangjun, Wang Guobin, Zhang Xiaona. Isolation, identification, and whole genome analysis of a strain against *Zanthoxylum bungeanum* root rot[J]. Microbiology China, 2022, 49(8): 3205-3219

**摘要:**【背景】花椒根腐病的防治一直是生产中难以解决的问题, 优良生防菌的筛选是微生物菌剂研发的重要方向。【目的】解析花椒根腐病拮抗菌 T-1 的遗传信息, 深入挖掘其拮抗基因簇资源, 揭示该菌的拮抗机制。【方法】采用平板对峙法、形态观察、生理生化测定结合分子生物学等方法进行拮抗菌的分离鉴定, 同时对菌株进行全基因组测序, 并对其序列进行分析及比较基因组学分析。【结果】分离获得的菌株经鉴定为贝莱斯芽孢杆菌, 编号 T-1, 该菌对花椒根腐病的抑制率可达 72%, 可使菌丝前端的生长严重受阻, 抑菌谱检测和花椒根片的离体拮抗试验结果表明, 拮抗菌 T-1 具有较广的抑菌活性且离体状态下对花椒根片具有一定的拮抗作用。其全基因组序列数据提交到 NCBI 的 SRA 数据库中获得登录号为 SRX11086663, 基因组总长为 3 886 726 bp, GC 含量为 46.42%, 全基因组中有 4 015 个编码基因, 占总基因组的 89.74%, 比较基因组学分析结果显示, 菌株 T-1 与贝莱斯芽孢杆菌模式菌株 FZB42 相似性高, 拮抗基因簇预测结果发现 *B. velezensis* T-1 基因组序列中有 12 个编码次级代谢产物基因合成簇, 其中 8 个与已知功能基因簇高度相似, 分别为 butirosin A/butirosin B、macrolactin H、backland、泛革素(fengycin)、difficidin、bacillibactin、溶杆菌素(bacilysin)和表面活性素(surfactant), 4 个基因簇功能未知。【结论】本研究明确了拮抗菌 T-1 全基因组的遗传信息, 获得了拮抗基因相关的基因簇, 为后期研究该菌株在抑菌方面的分子机理提供了参考。

**关键词:** 贝莱斯芽孢杆菌; 全基因组序列; 拮抗基因; 次级代谢产物

基金项目: 甘肃省青年科技基金(21JR7RK913); 2021 年度陇南市科技计划(2021-13); 2021 年甘肃省高等学校创新基金(2021B-376)

Supported by: Science and Technology Fund for Youths of Gansu Province (21JR7RK913); Longnan Science and Technology Project in 2021 (2021-13); Higher Education Innovation Foundation of Gansu Province in 2021 (2021B-376)

\*Corresponding author: E-mail: tianfengming2010@163.com

Received: 2022-01-20; Accepted: 2022-04-13; Published online: 2022-05-09

# Isolation, identification, and whole genome analysis of a strain against *Zanthoxylum bungeanum* root rot

TIAN Fengming<sup>\*1,2</sup>, CHEN Qiang<sup>1,2</sup>, HE Jiuju<sup>1,2</sup>, ZHUO Pingqing<sup>1,2</sup>, WANG Rangjun<sup>1,2</sup>, WANG Guobin<sup>3</sup>, ZHANG Xiaona<sup>1,2</sup>

1 College of Agriculture and Forestry Technology, Longnan Teachers College, Longnan 742500, Gansu, China

2 Center for Research and Development of Longnan Characteristic Agro-Bioresource, Longnan 742500, Gansu, China

3 Prickly Ash Peel Service Center of Wudu District, Longnan 742500, Gansu, China

**Abstract: [Background]** It remains a challenge to prevent and control *Zanthoxylum bungeanum* root rot in production, and the screening of biocontrol bacteria for the development of microbial agents seems to be a promising solution. **[Objective]** To analyze the genetic information of the antagonistic strain T-1, explore the root rot-antagonizing gene clusters, and reveal the antagonistic mechanism. **[Methods]** The methods of plate confrontation, morphological observation, physiological and biochemical index determination, and molecular biology were used to isolate and identify the antagonistic bacteria. The whole genome of the strain was sequenced, followed by sequence analysis and comparative genomics analysis. **[Results]** The strain was identified as *Bacillus velezensis* and numbered T-1. It inhibited 72% of the *Fusarium solani*, the pathogen of *Z. bungeanum* root rot, and hindered the growth of the front end of the mycelia. The results of *in vitro* antagonism experiments showed that T-1 had a wide range of antibacterial activities and had certain antagonistic effect on *Z. bungeanum* root pieces *in vitro*. Its whole-genome sequence data were submitted to SRA of NCBI to yield the accession number of SRX11086663. The genome was 3 886 726 bp, with GC content of 46.42% and 4 015 coding genes (89.74% of the genome). Comparative genomics analysis suggested that it had a high homology with the model strain *B. velezensis* FZB42, and the antagonistic gene cluster prediction indicated 12 gene clusters encoding the secondary metabolites in T-1 genome. Eight of them had functions known (butirosin A/butirosin B, macrolactin H, backland, fengycin, difficidin, bacillibactin, bacilysin, and surfactant), and the rest four had functions unknown. **[Conclusion]** This paper dissects the whole genome of *B. velezensis* T-1 and clarifies the gene clusters related to antagonism, which can serve as a reference for further research on the molecular antibacterial mechanism of this strain.

**Keywords:** *Bacillus velezensis*; whole genome sequence; antagonist genes; secondary metabolites

花椒(*Zanthoxylum bungeanum* Maxim.)是有刺灌木或小乔木,为芸香科花椒属,有着悠久的栽培历史,是一种具有重要经济价值和药用价值的多年生香料和油料树种<sup>[1-2]</sup>。甘肃省陇南市武都区位于甘肃省南部,地处秦巴山地结合部,属中国南北气候的过渡区,日照充足,气候温暖,是中国花椒最佳适生区之一。近年来,

武都区花椒种植园出现了多种病害,其中根腐病是引起椒树死亡及重茬病害的最典型也最严重的病害之一,已造成了较大的经济损失。我们前期试验中已经对引起花椒根腐病的病原菌进行了分离鉴定,并确定引起该病害的主要病原菌为腐皮镰刀菌<sup>[3]</sup>。为了实现花椒根腐病的绿色防控,生物防治已成为科学研究领域的热

点,但目前有关花椒根腐病生物防治方面的报道较少。郭志斌等<sup>[4]</sup>研究发现淡紫拟青霉(*Paecilomyces lilacinus*)对花椒根腐病菌腐皮镰刀菌(*Fusarium solani*)具有拮抗作用,李姝江等<sup>[5]</sup>分离出的蜡样芽孢杆菌对花椒根腐病菌具有很强的拮抗作用,田凤鸣等<sup>[6]</sup>研究发现绿色木霉和哈茨木霉按照 1:1 的比例配比后对腐皮镰刀菌的抑制率高达 88%,除此之外再无相关报道。

芽孢杆菌在自然界中分布广泛且极易分离培养,具有广谱抗菌活性和极强的抗逆能力<sup>[7]</sup>。贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*)是芽孢杆菌属的一个新种<sup>[8]</sup>。自然界中贝莱斯芽孢杆菌普遍存在,如植物组织、土壤、海洋等<sup>[9-11]</sup>。近年来,国内外有关贝莱斯芽孢杆菌的报道很多,研究主要集中在动植物的促生作用、植物病原菌的拮抗作用、次级代谢产物的分离、新的抑菌基因簇的挖掘及分子拮抗机制等方面<sup>[12-15]</sup>,但贝莱斯芽孢杆菌在花椒根腐病防治中的研究及应用未见相关报道。

本文以引起花椒根腐病病害的主要致病真菌腐皮镰刀菌为靶菌,从健康花椒根际土壤中分离筛选拮抗菌,同时测定了拮抗菌的抑菌效果,证实了其抗菌活性,为了挖掘有用的次级代谢产物合成基因簇,对菌株 T-1 进行了全基因组测序,同时借助生物信息学软件预测菌株 T-1 的各类相关功能基因,以期为后续研究该菌株在花椒根腐病中的拮抗机制提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 菌株

供试菌株花椒根腐病的病原菌腐皮镰刀菌(*Fusarium solani*) H1 和花椒根腐病拮抗菌 T-1 分别从患有花椒根腐病的花椒根部和健康花椒根部根系土壤中分离获得,广谱抑菌试验的供

试病原菌由江西师范大学杨慧林老师惠赠,大蒜茎腐病病原菌分离鉴定由本学院微生物实验室分离获得,将获得的病原菌保存于 4 °C 冰箱备用。

#### 1.1.2 培养基

PDA 培养基(g/L):马铃薯 200.0,葡萄糖 20.0,琼脂 15.0–20.0,103.4 kPa 灭菌 21 min 后倒平板。

LB 培养基(g/L):胰蛋白胨 10.0,酵母提取物 5.0,NaCl 10.0,摇动容器直至溶质溶解,用 5.0 mol/L NaOH 调 pH 值至 7.0,去离子水定容至 1 L,103.4 kPa 灭菌 21 min。

#### 1.1.3 主要试剂和仪器

葡萄糖、琼脂、胰蛋白胨、酵母提取物和氢氧化钠,国药集团化学试剂有限公司;细菌基因组提取试剂盒,天根生化科技(北京)有限公司。气浴式摇床,常州高德仪器制造有限公司;立式压力蒸汽灭菌器,上海申安医疗器械厂。

## 1.2 方法

#### 1.2.1 拮抗菌株的分离筛选

称取花椒根部土壤 10.0 g,放入 100 mL 无菌水三角瓶中,28 °C、180 r/min 培养 30 min,静置 30 min 后,取上清液 1 mL,梯度稀释为  $10^{-1}$ – $10^{-6}$ ,各取  $10^{-5}$  和  $10^{-6}$  浓度 100  $\mu$ L 涂布于 LB 培养基中,37 °C 倒置培养 24 h 后,挑取单菌落进行传代培养,培养好的菌液保存于 4 °C 冰箱备用,将一株分离菌编号为 T-1。

#### 1.2.2 拮抗菌 T-1 形态学鉴定及生理生化测定

形态观察及理化试验参考文献<sup>[16-17]</sup>。将分离筛选的拮抗菌株置于体视显微镜(放大倍数为 150 $\times$ )下,观察拮抗菌 T-1 菌落形态。

#### 1.2.3 拮抗菌 T-1 分子生物学鉴定及系统发育树的构建

将菌株 T-1 接种于 LB 液体培养基中,30 °C、180 r/min 培养后提取菌株 T-1 基因组 DNA,利用细菌通用引物 27F (5'-AGAGTTTG ATCMTGGCTCAG-3')和 1492R (5'-T8ACGGYT

ACCTTGTTACGACT-3')<sup>[18]</sup>进行 16S rRNA 基因片段的扩增。PCR 反应体系(30  $\mu$ L): Super Mix (1.1 $\times$ ) 15  $\mu$ L, Primer F (10  $\mu$ mol/L) 1  $\mu$ L, Primer R (10  $\mu$ mol/L) 1  $\mu$ L, 模板(ng/ $\mu$ L) 1  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 12  $\mu$ L。PCR 反应条件: 96  $^{\circ}$ C 5 min; 96  $^{\circ}$ C 20 s, 62  $^{\circ}$ C 20 s, 72  $^{\circ}$ C 30 s, 30 个循环; 72  $^{\circ}$ C 10 min。用 1.0%的琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物, 观察目的条带性状。测序由北京六合华大基因科技有限公司完成, 将测序结果与数据库 NCBI 中已知的序列进行 Nucleotide BLAST 同源性比对, 运用 MEGA 7.0 中 neighbor-joining 法构建系统发育树。

### 1.2.4 平板对峙法

以花椒根腐病病原菌腐皮镰刀菌为指示菌, 用打孔器(直径为 6 mm)将指示菌打成菌饼接种在 PDA 培养基的中央, 将拮抗菌等距离接种在花椒根腐病病原菌的周围, 点接处距离病原中心 2 cm, 培养 5 d 后统计拮抗菌 T-1 对病原菌的抑制率, 抑制率=(对照病原菌的直径-处理组病原菌直径)/对照病原菌直径 $\times$ 100%。

### 1.2.5 拮抗菌 T-1 对花椒根腐病病原菌前端菌丝生长影响的观察

将 1.2.4 中的抑菌平板放置于体视显微镜(放大倍数为 150 $\times$ )下, 观察拮抗菌 T-1 对花椒根腐病病原菌前端菌丝生长的影响。

### 1.2.6 拮抗菌真菌抑菌谱的检测

采用平板对峙法进行拮抗菌真菌抑菌谱的检测, 将病原真菌打成 6 mm 的菌饼接种在 PDA 培养基的中央, 将拮抗菌菌液按照品字形等距离接种在病原菌的周围, 点接处距离病原中心 2 cm, 每种病原菌设置 3 个重复, 培养 5 d 后计算拮抗菌 T-1 对病原菌的抑制率。抑制率=(对照病原菌的直径-处理组病原菌直径)/对照病原菌直径 $\times$ 100%。

### 1.2.7 拮抗菌 T-1 对花椒根片的离体拮抗试验

病原菌孢子液的制备: 将病原菌接种在 PDA 培养基中 28  $^{\circ}$ C 培养 3-5 d, 加入适量的无菌水冲洗提前培养好的孢子并对其进行过滤, 制成  $1.0\times 10^6$  个/mL 浓度的孢子液。

拮抗菌菌液的制备: 将培养好的菌液浓度稀释为  $1.0\times 10^8$  CFU/mL。

花椒根片的离体拮抗试验: 取新鲜花椒主根经 75%的酒精消毒后, 用无菌单面刀片切成 3-5 mm 的薄片, 在无菌水中漂洗 3-5 次, 按照品字形放置于提前铺好无菌滤纸的培养皿中, 加入 8 mL 的无菌水保持湿度, 分别在根片中接入 100  $\mu$ L 的拮抗菌菌液、然后再接入 100  $\mu$ L 病原菌孢子液, 28  $^{\circ}$ C 恒温培养 3-7 d 后, 每种处理 3 个重复, 观察拮抗菌 T-1 对花椒根腐病病原菌的拮抗作用。

## 1.3 菌株 T-1 全基因组测序及分析

将菌株 T-1 接种于 LB 液体培养基中, 30  $^{\circ}$ C、180 r/min 培养过夜, 4  $^{\circ}$ C、12 000 r/min 离心 10 min 后弃上清, 提取基因组 DNA, 对其进行全基因组分析, 后续高通量测序委托上海唯那科技有限公司完成。二代测序结果通过与 COG、NR、SWISS-PROT、PFAM、KEGG 和 GO 六大数据库进行比对后获得相应的注释信息, 利用多种绘图工具对注释信息进行汇总。通过 BLAST+ 软件 (<ftp://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/blast/executables/blast+/2.3.0/>)与碳水化合物活性酶数据库(CAZy, <http://www.cazy.org/>)比较, 获取相关基因的遗传信息。通过 antiSMASH (<https://dl.secondarymetabolites.org/releases/4.0.2/>)软件对样本的次级代谢产物合成基因簇进行预测, 获得代谢产物预测结果。

## 1.4 比较基因组学分析

从 NCBI 中获得模式菌株 *B. velezensis* FZB42

(NC\_009725.2)的全基因组序列,与 *B. velezensis* T-1 的全基因组序列进行比较基因组学分析。

2 结果与分析

2.1 拮抗菌 T-1 的菌落形态及生理生化测定

体视显微镜下的拮抗菌 T-1 形态结果显示,菌落大而微黄,边缘不规则,表面不平整且有褶皱,革兰氏染色为阳性菌(图 1)。

生理生化结果显示,菌株 T-1 能分解利用

D-葡萄糖、L-阿拉伯糖、D-甘露糖,鸟氨酸脱羧酶、赖氨酸脱羧酶、能水解明胶、淀粉和酪蛋白,接触酶反应、吲哚试验、V-P 反应、硝酸盐还原反应和过氧化酶反应均呈阳性(表 1)。

2.2 拮抗 T-1 对花椒根腐病的拮抗效果及对病原菌前端菌丝生长的影响结果

菌丝抑制试验结果表明,拮抗菌 T-1 对花椒根腐病具有很好的抑制作用,培养 5 d 后的对照病原菌菌落直径可达 80.0 mm (图 2A),接种

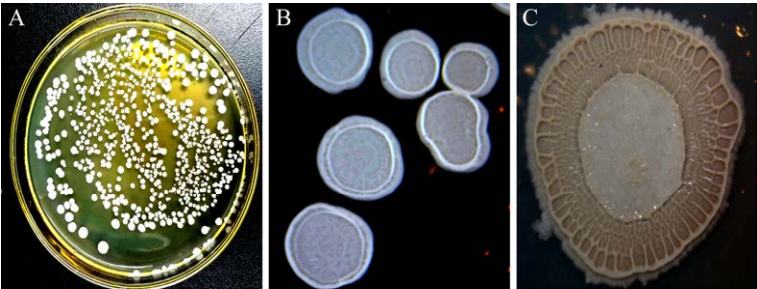


图 1 拮抗菌 T-1 的菌落形态 A: 拮抗菌 T-1 菌落; B、C: 拮抗菌 T-1 单菌落形态。A、B 为培养 3 d 后的菌落形态; C 在体视显微镜下的放大倍数为 150×

Figure 1 Colony morphology of antagonistic strain T-1. A: Colony of antagonistic bacteria T-1; B, C: Single colony morphology of antagonistic strain T-1. A and B show the colony morphology after 3 days of culture; C: Magnification under stereomicroscope is 150×.

表 1 菌株 T-1 的生理生化特性

Table 1 Physiological and biochemical characteristics of strain T-1

Item	Result	Item	Result
D-葡萄糖 D-glucose	+	肌醇 Inositol	—
L-阿拉伯糖 L-arabinose	+	尿素酶 Urease	—
D-甘露糖 D-mannose	+	硫化氢产生 Hydrogen sulfide production	—
D-阿拉伯糖 D-arabinose	—	氧化酶试纸 Oxidase test paper	—
水解明胶 Hydrolyzed gelatin	+	丙二酸盐 Malonate	—
水解淀粉 Hydrolyzed starch	+	鸟氨酸脱羧酶 Ornithine decarboxylase	+
水解酪蛋白 Hydrolyzed casein	+	赖氨酸脱羧酶 Lysine decarboxylase	+
接触酶反应 Contact enzyme reaction	+	半固体琼脂 Semi-solid agar	—
吲哚试验 Indole test	+	硝酸盐还原反应 Nitrate reduction reaction	+
V-P 反应 V-P reaction	+	过氧化物酶反应 Peroxidase reaction	+

注: +: 阳性; —: 阴性  
Note: +: Positive; —: Negative.

了拮抗菌 T-1 的病原菌直径为 22.5 mm (图 2B), 抑制率可达 72%; 用体视显微镜观察了拮抗菌株 T-1 对病原菌前端菌丝生长的影响: 对照病原菌的菌丝前端菌丝呈放射状、菌丝蓬松、浓密, 生长粗细均匀(图 2C); 而接种了拮抗菌 T-1 的病原菌菌丝前端失去了延伸性, 菌丝稀薄, 扭曲变形成畸形(图 2D)。这说明拮抗菌 T-1 分泌的次级代谢产物对花椒根腐病病原菌腐皮镰刀菌具有很好的抑制作用。

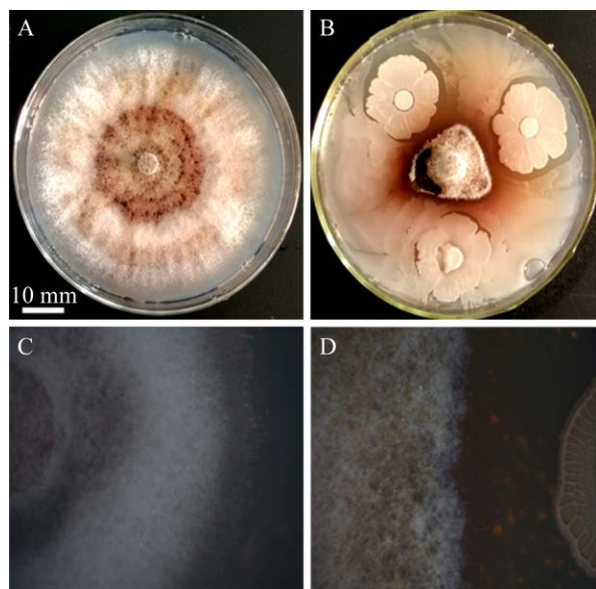


图 2 菌株 T-1 对花椒根腐病病原菌的拮抗效果及对病原菌前端菌丝生长的影响 A: 花椒根腐病病原菌的菌落; B: 菌株 T-1 对病原菌的抑制; C: 病原菌前端菌丝形态; D: 菌株 T-1 对病原菌前端菌丝的影响

Figure 2 The antagonistic effect of strain T-1 on the pathogen of *Zanthoxylum bungeanum* root rot and its influence on the growth of the frontal hyphae of the pathogen. A: The colony of the pathogen of *Zanthoxylum bungeanum* root rot; B: Inhibition of the pathogen by the strain T-1; C: Morphology of pathogens precursor hyphae; D: The influence of the strain T-1 on the pathogens precursor hyphae.

## 2.3 拮抗菌 T-1 抑菌谱的检测结果

抑菌谱试验检测结果显示, 拮抗菌 T-1 对多种病原真菌具有较广的抑菌活性, 检测的 6 种病原真菌除对禾谷镰刀菌抑菌效果较差外, 对其他 5 种病原菌抑菌效果都很好, 抑菌率均可达到 70%以上(图 3), 表明拮抗菌 T-1 后期可作为防治花椒根腐病微生物菌剂的优良菌种。

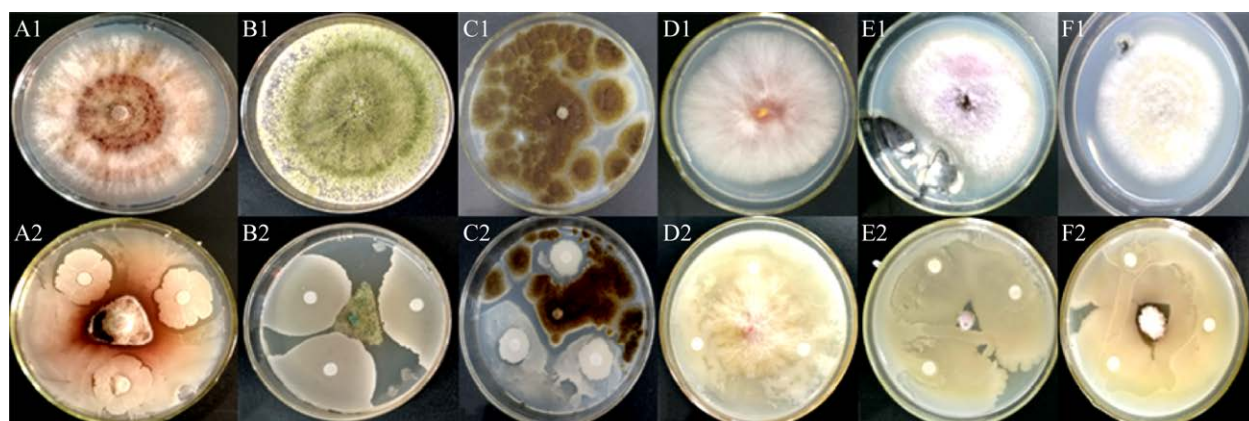
## 2.4 拮抗菌 T-1 对花椒根片的离体拮抗试验结果

为进一步确定菌株 T-1 对花椒根腐病的拮抗效果, 本文进行了离体拮抗试验, 试验结果表明, 接种了无菌水的根片 7 d 后依然保有原有色泽, 根皮和木质部未发生分离, 无异味产生, 根片周围也无褐色液体流出(图 4A); 接种了花椒病原菌的根片在离体培养 3 d 后根片开始发病, 颜色发黑, 根片上附着有浓密的病原菌菌丝, 7 d 后颜色加重, 根片变软, 根皮与木质部完全分离, 同时有股臭味, 这与大田中患有根腐病的花椒根部散发出的异味相同(图 4B); 而接种了拮抗菌 T-1 菌液和病原菌孢子液的根片发病症状与只接种病原菌的花椒根片相比较轻, 根片颜色较浅, 7 d 根片未出现变软现象, 同时根皮和根片未发生完全的分离(图 4C)。结果说明, 拮抗菌 T-1 在离体状态下对花椒根腐病表现出良好的拮抗效果, 这与 2.2 中的试验结果一致。

## 2.5 拮抗菌 T-1 的分子生物学鉴定和 16S rRNA 基因系统发育树构建

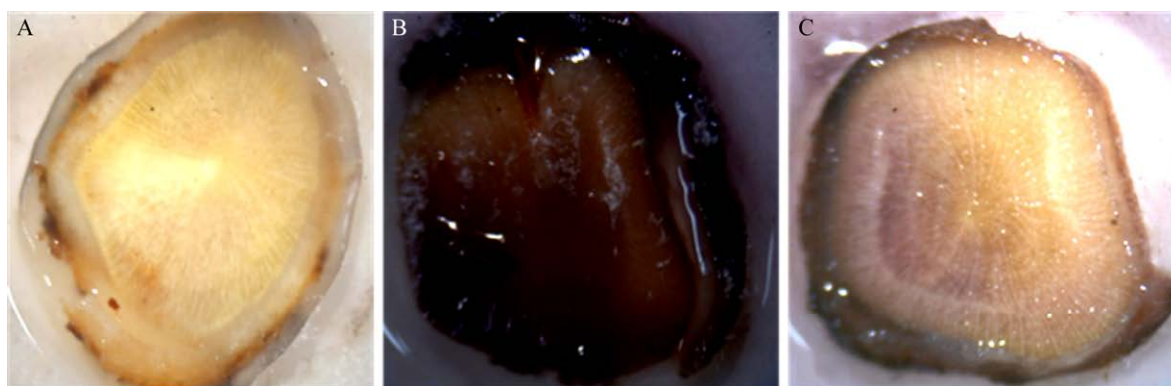
采用通用引物 27F 和 1492R 对拮抗菌进行 16S rRNA 基因的 PCR 扩增, 在 1 000–2 000 bp 之间出现了特异性条带, 经序列测定其有效片段的大小为 1 444 bp。得到的测序结果经 BLAST 比对, 选取代表性的 13 个菌株与菌株 T-1 进行系统发育树构建, 使用软件 MEGA X, 采用最大似然法与 Tamura-Nei 模型, 如图 5 所





**图 3 拮抗菌 T-1 对病原真菌广谱抑菌效果** A1: 花椒根腐病病原菌腐皮镰刀菌; A2: 拮抗菌 T-1 对花椒根腐病病原菌的拮抗效果; B1: 大蒜茎腐病病原菌; B2: 拮抗菌 T-1 对大蒜茎腐病病原菌的拮抗效果; C1: 黑曲霉; C2: 拮抗菌 T-1 对黑曲霉的拮抗效果; D1: 禾谷镰刀菌; D2: 拮抗菌 T-1 对禾谷镰刀菌的拮抗效果; E1: 梅毒镰刀菌; E2: 拮抗菌 T-1 对梅毒镰刀菌的拮抗效果; F1: 藤仓赤霉菌; F2: 拮抗菌 T-1 对藤仓赤霉菌的拮抗效果

Figure 3 The broad-spectrum antibacterial effect of antagonistic strain T-1 on pathogenic fungi. A1: *Zanthoxylum bungeanum* root rot pathogens *Fusarium solani*; A2: The antagonistic effect of antagonistic strain T-1 on the pathogen of *Zanthoxylum bungeanum* root rot; B1: The pathogen bacteria of garlic stem rot; B2: The antagonistic effect of antagonistic strain T-1 on the pathogen of garlic stem rot; C1: *Aspergillus niger*; C2: The antagonistic effect of antagonistic strain T-1 on *Aspergillus niger*; D1: *Fusarium graminearum*; D2: Antagonistic effect of antagonistic strain T-1 against *Fusarium graminearum*; E1: *Fusarium syphilis*; E2: Antagonistic effect of antagonistic strain T-1 against *Fusarium syphilis*; F1: *Gibberella fujikura*; F2: Antagonistic effect of antagonistic strain T-1 against *Gibberella fujikura*.



**图 4 拮抗菌 T-1 对花椒根片的拮抗作用** A: 接入无菌水根片; B: 接种病原菌根片; C: 接种拮抗菌 T-1 对根片的抑制

Figure 4 Antagonistic effect of antagonistic strain T-1 on *Zanthoxylum bungeanum* root slices. A: Connecting sterile water root tablets; B: Inoculating pathogenic mycorrhizal tablets; C: Inhibition of root pieces by inoculation antagonistic strain T-1.

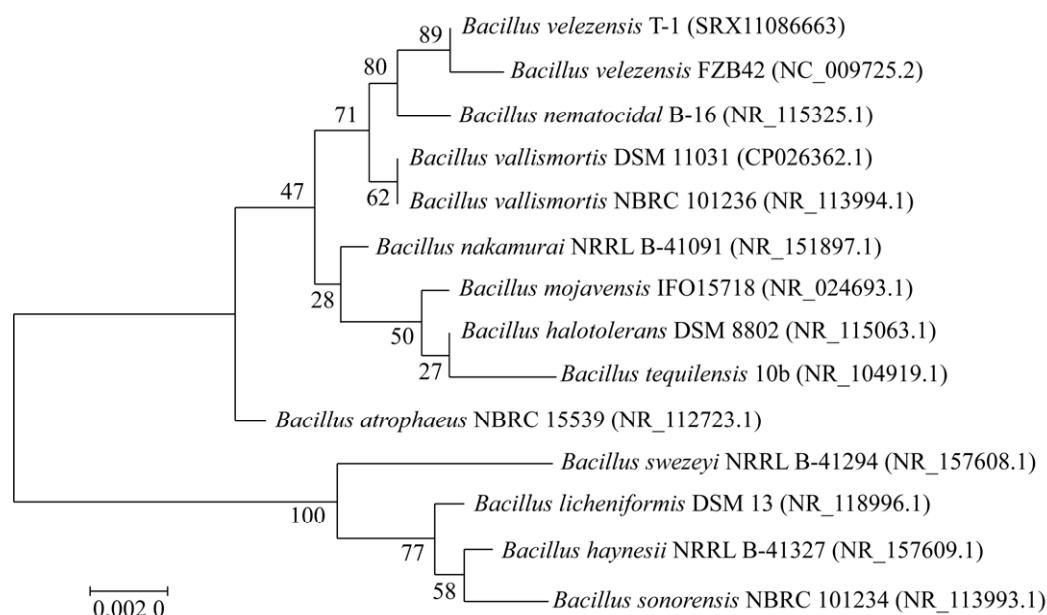


图 5 基于 16S rRNA 基因构建的拮抗菌 T-1 系统发育树 Bootstrap 次数设置为 1 000; 左上角标尺表示 0.2% 的序列进化差异; 分支点上的数字表示 bootstrap 的支持率; 括号内表示 GenBank 登录号

Figure 5 An antagonistic T-1 phylogenetic tree constructed based on 16S rRNA gene sequence. Bootstrap times are set to 1 000; Ruler represents 0.2% of sequence evolutionary differences; The numbers on the branch points indicate the support rate for bootstrap; The parentheses represent the GenBank accession No..

示, 菌株 T-1 与 FZB42 的亲缘关系最近, 同属于贝莱斯芽孢杆菌。

## 2.6 菌株 T-1 全基因组序列分析结果

测序结果发现, *B. velezensis* T-1 基因序列全长 3 886 726 bp, N 50 (bp) 的长度为 2 061 294, N 90 (bp) 长度为 264 523, GC 含量为 46.42%, 包括 82 个 tRNA、9 个 rRNA 和 4 015 个编码基因, 占总基因组的 89.74%, 其中编码假设蛋白的基因含有 704 个基因, 基因组圈图见图 6。

COG 注释结果显示, 最终得到 2 984 个基因注释(图 7), 占总基因的 74.32%, 功能未知蛋白的基因占基因预测总数的 25.3%, 共分 20 类基因注释结果, 其中较为丰富的是氨基酸代谢及转运(amino acid transport and metabolism) 287 个, 占注释基因的 9.6%; 转录 232 个, 占注释基因的 7.8%; 碳水化合物转运和代谢

222 个, 占注释基因的 7.4%; 此外还有 755 个功能未知的基因, 占注释基因的 25.3%, 需要后续加强探索其功能。GO 注释结果显示, GO 功能共分三类, 分别为: 生物过程中含有 1 357 个基因, 细胞组分中含有 1 339 个基因, 以及分子功能中含有 2 267 个基因。KEGG 注释结果显示共含有 2 220 个基因, 约占菌总基因数的 55.3%, 共计有 41 条代谢通路。

碳水化合物活性酶分析结果显示, *B. velezensis* T-1 菌株编码的 CAZy 酶类基因家族有 126 个, 菌株 T-1 中存在与代谢有关的很多酶基因, 如编码  $\beta$ -葡萄糖苷酶(EC 3.2.1.21)、内切葡聚糖酶(EC 3.2.1.4)、 $\beta$ -半乳糖苷酶(EC 3.2.1.23)等基因, 能从基因水平更加深入地探索菌株 T-1 的生防机制。同时, 该菌能够产生一些与降解病原菌细胞壁有关的酶, 如蛋白酶、 $\beta$ -1,4-葡聚糖



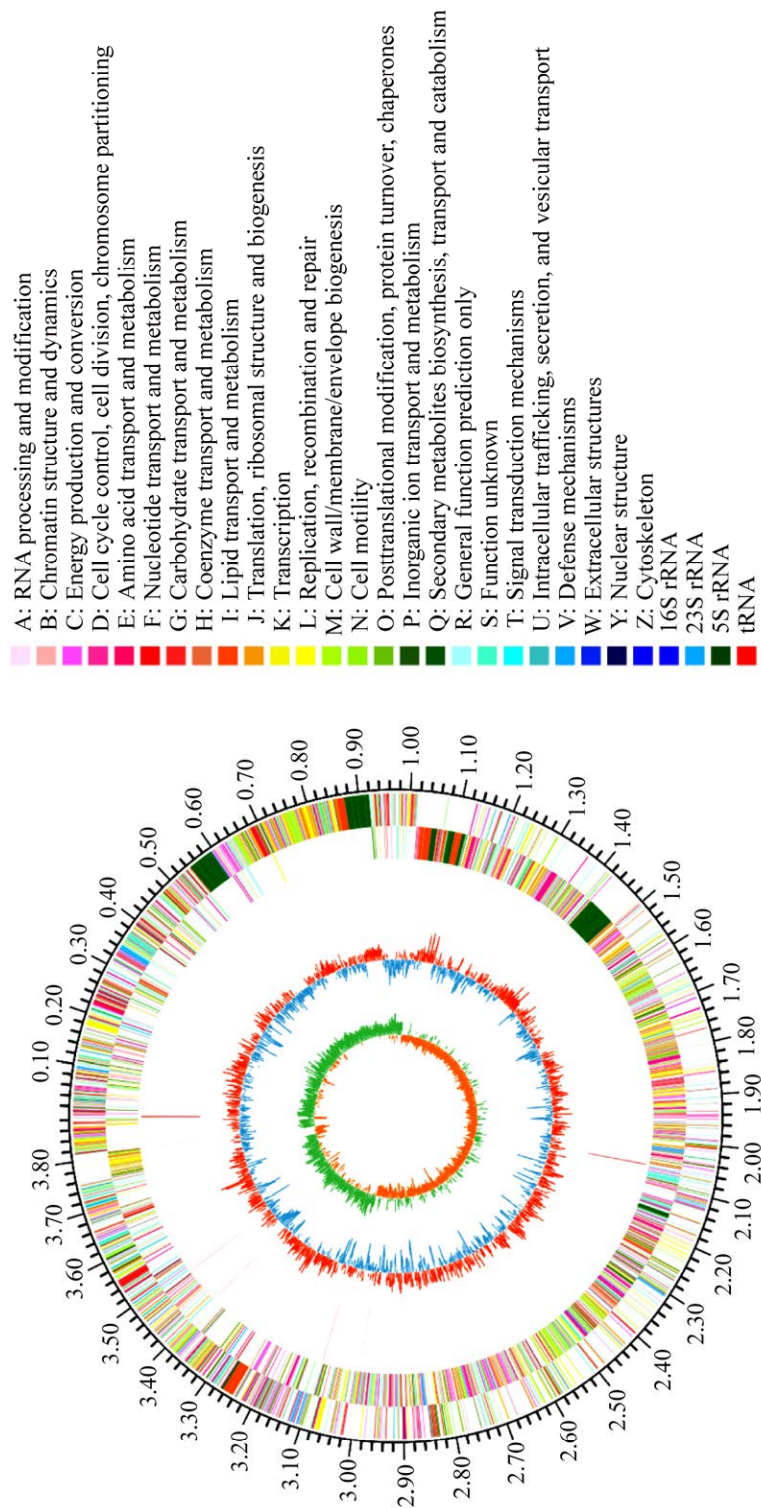


图 6 *B. velezensis* T-1 基因组圈图 *B. velezensis* T-1 菌株基因组圈图从里到外：最内圈为 GC-skew 值；第 5 圈为 GC 含量；向内的蓝色表示 GC 含量低于基因组水平，向外的红色表示 GC 含量高于基因组水平；第 4 圈为 rRNA 和 tRNA；第 2、3 圈为正、负链上的 CDS，CDS 不同的 COG 的功能分类用不同颜色区分；最外圈为基因组大小

Figure 6 Circle map of the genome of *B. velezensis* T-1. *B. velezensis* T-1 strain genome circle diagram from inside to outside: the innermost circle is the GC-skew value; The fifth circle is the GC content; The inward blue indicates that the GC content is lower than the genome level, and the outward red indicates the GC content is higher than the genome level; The fourth circle is rRNA and tRNA; The second and third circles are the CDS on the positive and negative strands. The functional classifications of COGs of different CDS are distinguished by different colors; The outermost circle is the genome size.

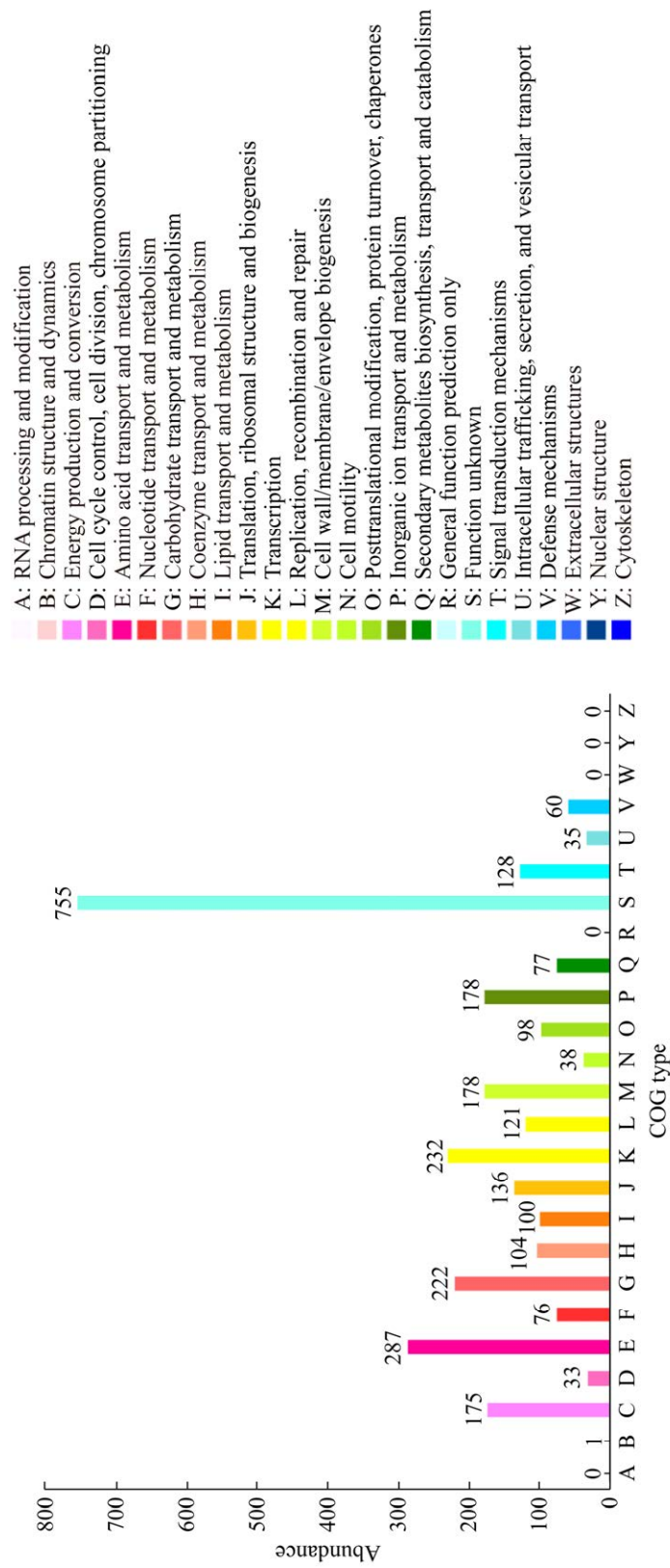


图 7 COG 注释分类统计图  
Figure 7 Statistical chart of COG annotation classification.

酶(EC 3.2.1.74)、几丁质酶(EC 3.2.1.14),同时发现约 50 个残基的模块附着在来自 GH18、GH19、GH23、GH24、GH25 和 GH73 家族的各种酶上,即分解几丁质或肽聚糖的酶。该菌还能产生与菌株抗逆性密切相关的基因海藻糖(EC 3.2.1.28),海藻糖(trehalose)是菌株在恶劣环境中的一种保护剂<sup>[19]</sup>。以上分析结果表明,菌株 T-1 是通过产生水解酶而实现对病原菌细胞壁的降解,并且分泌的代谢产物有适应极端环境的潜力,这与 *B. velezensis* L-1、C2、RB.DS29<sup>[10,20-21]</sup>这 3 株菌能产生拮抗蛋白类抗菌物质的分析结果类似。

antiSMASH 分析结果发现, *B. velezensis* T-1 共预测到 12 个次级代谢产物合成基因簇,其中有明确信息的为 8 个,分别是 butirosin A/butirosin B、macrolactin H、backland、泛革素(fengycin)、difficidin、bacillibactin、溶杆菌素(bacilysin)和表面活性素(surfactant),这些肽聚糖和聚酮糖类抗性化合物是防治花椒根腐病害的主要物质基础,其中菌株 T-1 中的 butirosin 基因簇相似性仅为 7%,该基因簇有可能会产生新的抑菌物质,有待深入研究。同时该菌基因组中存在 4 个未知的次级代谢产物合成基因簇(cluster 2、3、7、8),这就说明该菌株 T-1 可能存在新的拮抗物质相关的基因簇,在后期农业生产中具有很大的应用潜力。

## 2.7 比较基因组学分析结果

通过分析比较 *B. velezensis* T-1 与模式 *B. velezensis* FZB42 两株菌的共有基因和特有基因,结果显示,2 个菌株共有基因家族(core gene family) 3 280 个,占总基因家族的 99.4%,说明两株菌相似度极高,这与 2.4 中构建的系统发育树中两株菌聚在同一支的结果相一致。其中, FZB42 特有的基因家族 7 个,在基因组

上共有 19 个基因;而菌株 T-1 特有的基因家族为 11 个(图 8),在基因组上共计 27 个基因(表 2),总长 28 353 bp,其中 6 个基因是已知基因家族的基因,分别为: gene0235 和 gene3168 的基因名称是 *norG*,是编码一类磷酸吡哆醛(pyridoxal phosphate, PLP)依赖性转氨酶的基因,是转氨酶家族的成员; gene1103 和 gene1207 的基因名称是 *yobL*,是核糖核酸酶 YeeF 蛋白家族的成员; gene3275 和 gene3274 的基因名称是 *dndB* (DNA 降解基因 B),是编码有关修饰/降解的基因簇 *dnd*,这个家族的基因包含 4 个与 DNA 修饰必需的基因,分别是 *dndA*、*dndB*、*dndC* 和 *dndD*。其中菌株 T-1 中未知名称的特有基因功能预测与 DNA 修饰、降解、结合和核糖体的合成与修饰、蛋白质、产孢及离子转运等相关,同时还存在一些未知功能的基因,需要后期深入研究。通过 Gene Family 分析结果显示, *B. velezensis* T-1 与 *B. velezensis* FZB42 能够聚类到 Gene Family 中的基因数分别为 3 540 个和 3 570 个,未聚类到一起的基因数是 448 个和 160 个(图 9)。

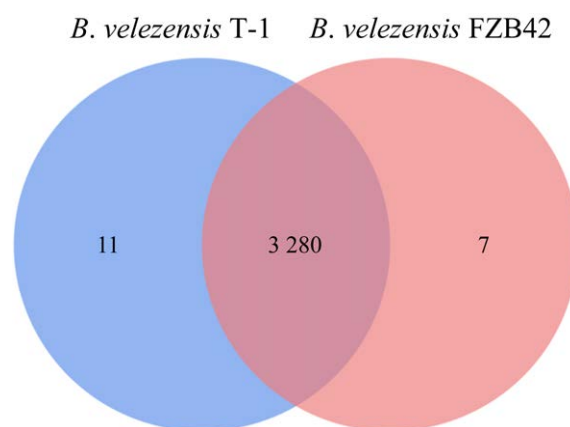


图 8 同源基因家族分析图

Figure 8 Gene family analysis diagram of homologous genes.

表 2 *B. velezensis* T-1 的特有基因Table 2 The unique genes of *B. velezensis* T-1

The number of gene family	ID of the unique gene
OG0000032	gene0340, gene1103, gene1207, gene3278, gene3562, gene3759
OG0000249	gene0413, gene2260, gene2261
OG0003289	gene0235, gene3168
OG0003290	gene0389, gene0391
OG0003291	gene1662, gene0427
OG0003292	gene1660, gene0428
OG0003293	gene1667, gene0939
OG0003294	gene1082, gene1081
OG0003295	gene2475, gene2474
OG0003296	gene2690, gene2689
OG0003297	gene3275, gene3274

*B. velezensis* T-1 与 *B. velezensis* FZB42 两菌株次级代谢产物合成基因簇的比较结果显示, 合成与拮抗相关的基因簇的数量分别是 12 个和 13 个, 其中 8 个次级代谢产物簇(butirosin A/butirosin B、macrolactin H、backland、fengycin、difficidin、bacillibactin、bacilysin 和

surfactant)在两菌株中高度保守, *B. velezensis* FZB42 菌中不同的代谢产物簇是 plantazolicin, 该基因簇大小约 10 kb, 由 12 个基因组成的基因簇决定<sup>[22]</sup>。周亮亮<sup>[23]</sup>分离的 *B. velezensis* QC-J 产生的次级代谢产物簇(xenematide)是该菌特有的。这说明不同来源的贝莱斯芽孢杆菌产生的次级代谢产物具有差异性。

### 3 讨论与结论

尽管越来越多的贝莱斯芽孢杆菌在植物病害的防治中发挥着极其重要的作用, 但在实际生产应用中, 该菌受到多种环境因素的影响而降低了生防效果, 因此, 筛选适应特定地域环境的优良菌株尤为必要<sup>[24]</sup>。李永丽等<sup>[25-26]</sup>从特有树种新疆野苹果中分离出贝莱斯芽孢杆菌 Pm9 和 Mr12, 这 2 株菌对苹果轮纹病菌具有较强的拮抗作用。臧超群等<sup>[27]</sup>从花生叶片上分离筛选到贝莱斯芽孢杆菌 BP-1, 其对花生网斑病菌具有较强的抑菌活性。沙月霞等<sup>[28]</sup>分离出的

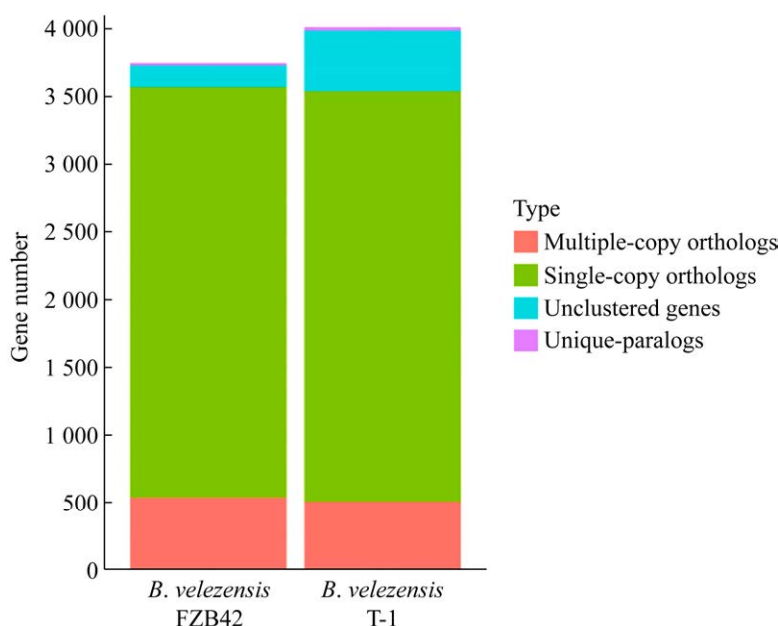


图 9 同源基因聚类分析

Figure 9 Cluster analysis of homologous genes.



贝莱斯芽孢杆菌 E69 在预防稻瘟病方面具有很好的生物防治效果。本文从花椒根系土壤中分离到的拮抗菌 T-1 经鉴定为贝莱斯芽孢杆菌,并且研究表明,菌株 T-1 对花椒根腐病致病菌具有良好的拮抗效果,其抑制率可达 72%,同时对大蒜茎腐病、黑曲霉、禾谷镰刀菌、梅毒镰刀菌及藤仓赤霉菌多种病原真菌也具有广泛的抑菌作用,证实了菌株 T-1 广泛的抗菌活性,推测该菌未来具有很好的应用潜力。

细菌能够产生结构多样的次级代谢物,如聚酮合酶(PKS)、核糖体合成和翻译后修饰肽(RiPPs)及非核糖体肽合成酶(NRPS)等。据相关研究报道,已被分离鉴定的贝莱斯芽孢杆菌产生的次生代谢产物具有优良的抗菌活性,具有潜在的农业应用价值。目前已知且研究最广泛的可引起植物诱导性系统抗性的脂多糖是 surfactin、fengycin 和 iturin 家族<sup>[29-31]</sup>, surfactin 和 fengycin 基因簇在菌株 T-1 中存在,而 iturin 在菌株 T-1 基因组中未发现,从基因组水平能够证实 *B. velezensis* T-1 菌株对花椒根腐病具有很好的防治潜力。

据报道,6 个次级代谢产物(fengycin、bacilaene、surfactin、bacillibactin、bacilysin 和 terpene)在 52 株芽孢杆菌中均存在,说明与抑菌相关的基因簇在菌中都非常保守。本文分离的 *B. velezensis* T-1 中同样存在以上次级代谢产物基因簇,这说明菌株 T-1 存在着抑菌潜力,与前期试验结论一致。

在比较基因组分析结果中发现,菌株 T-1 与菌株 FZB42 的基因组序列有着高度的一致性,其中共有的基因为 3 280 个,模式菌株 *B. Velezensis* FZB42 不仅可以抑制植物病原细菌和真菌的生长,而且是良好的根际促生菌,还能引起植物的诱导性系统抗性<sup>[32]</sup>。菌株 FZB42 被作为生物防治剂已被商业化应用<sup>[33]</sup>。进一步判定了菌株 T-1 后期的应用潜力,以上结果为今后深度挖掘

*B. velezensis* T-1 生防潜力和发现新型抑菌物质提供了基础。

利用生物信息学技术分析细菌全基因组测序序列是研究分子机理的重要工具,如今被广泛用于遗传进化关系的研究、未知功能的预测及相关功能基因的鉴定、优势菌种的基因改造等领域,能够为生防菌的分子机理研究及开发利用提供理论指导<sup>[34]</sup>。

## REFERENCES

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典-二部: 2010 年版[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010  
State Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China-Volume II: 2010 Edition[M]. Beijing: Pharmaceutical Science and Technology Press, 2010 (in Chinese)
- [2] 宋荣, 曹亮, 周佳民, 邓凯, 朱校奇. 花椒种质资源及其功能成分和生物学效应研究进展[J]. 湖南农业科学, 2014(17): 23-26, 29  
Song R, Cao L, Zhou JM, Deng K, Zhu XQ. Research progress in *Zanthoxylum* germplasm resources and chemical composition and biological effects[J]. Hunan Agricultural Sciences, 2014(17): 23-26, 29 (in Chinese)
- [3] 田凤鸣, 陈强, 王瀚, 卓平清, 孙杰. 陇南花椒根腐病病原菌的分离鉴定及生物学特性的研究[J]. 东北农业科学, 2022, 47(1): 95-99, 107  
Tian FM, Chen Q, Wang H, Zhuo PQ, Sun J. Isolation, identification and biological characteristics of the pathogen bacteria of *Zanthoxylum bungeanum* root rot in Longnan[J]. Journal of Northeast Agricultural Sciences, 2022, 47(1): 95-99, 107 (in Chinese)
- [4] 郭志斌, 王曦苗, 汪来发, 朱天辉. 淡紫拟青霉对花椒根腐病菌拮抗作用的初步研究[A]//中国植物病理学会. 中国植物病理学会 2011 年学术年会论文集[C]. 中国植物病理学会: 中国植物病理学会, 2011: 539-542  
Guo ZB, Wang XZ, Wang LF, Zhu TH. Preliminary study on the antagonistic effect of *Paecilomyces lilacinus* on the root rot fungus of Chinese prickly ash[A]//Chinese Society of Phytopathology. Proceedings of the 2011 Annual Academic Conference of Chinese Phytopathology Society[C]. Chinese Society of Phytopathology: Chinese Society of Phytopathology, 2011: 539-542 (in Chinese)



- [5] 李姝江, 朱天辉, 谯天敏, 韩珊. 花椒根腐病生防芽孢杆菌的筛选鉴定及定殖和防治效果[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2016, 44(4): 114-122  
Li SJ, Zhu TH, Qiao TM, Han S. Screening, identification, colonization and control effect of biocontrol *Bacillus* sp. against root rot of *Zanthoxylum bungeanum* Maxim[J]. Journal of Northwest A & F University: Natural Science Edition, 2016, 44(4): 114-122 (in Chinese)
- [6] 田凤鸣, 陈强, 何九军, 卓平清. 两种木霉对陇南花椒根腐病原菌的拮抗作用研究[J]. 宁夏师范学院学报, 2021, 42(4): 44-50  
Tian FM, Chen Q, He JJ, Zhuo PQ. Study on the antagonistic effects of two kinds of *Trichoderma* on the pathogen of *Zanthoxylum bungeanum* root rot in Longnan[J]. Journal of Ningxia Normal University, 2021, 42(4): 44-50 (in Chinese)
- [7] 马新, 黄永, 程娟, 王伟. 枯草芽孢杆菌微囊剂的制备及其对番茄立枯病的防治效果[J]. 农药学报, 2015, 17(4): 462-468  
Ma X, Huang Y, Cheng J, Wang W. Microencapsulation of *Bacillus subtilis* and its control of *Rhizoctonia solani* damping-off of tomato[J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2015, 17(4): 462-468 (in Chinese)
- [8] Ruiz-García C, Béjar V, Martínez-Checa F, Llamas I, Quesada E. *Bacillus velezensis* sp. nov., a surfactant-producing bacterium isolated from the river Vélez in Málaga, southern Spain[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2005, 55(Pt 1): 191-195
- [9] Gao ZF, Zhang BJ, Liu HP, Han JC, Zhang YJ. Identification of endophytic *Bacillus velezensis* ZSY-1 strain and antifungal activity of its volatile compounds against *Alternaria solani* and *Botrytis cinerea*[J]. Biological Control, 2017, 105: 27-39
- [10] 孙平平, 崔建潮, 贾晓辉, 王文辉. 贝莱斯芽孢杆菌 L-1 对梨灰霉和青霉病菌的抑制作用评价及全基因组分析[J]. 微生物学报, 2018, 58(9): 1637-1646  
Sun PP, Cui JC, Jia XH, Wang WH. Complete genome analysis of *Bacillus velezensis* L-1 and its inhibitory effect on pear gray and blue mold[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2018, 58(9): 1637-1646 (in Chinese)
- [11] 杨可, 郑柯斌, 黄晓慧, 袁静, 陈杰. 海洋生境贝莱斯芽孢杆菌 TCS001 的鉴定及抑真菌活性[J]. 农药学报, 2018, 20(3): 333-339  
Yang K, Zheng KB, Huang XH, Yuan J, Chen J. Identification and antifungal activity of marine *Bacillus velezensis* strain TCS001[J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2018, 20(3): 333-339 (in Chinese)
- [12] 迟惠荣, 张亚惠, 曾欣, 陈卫良, 毛碧增. 多花黄精内生贝莱斯芽孢杆菌的分离鉴定及其抗菌与促生作用分析[J]. 植物保护, 2019, 45(4): 122-131  
Chi HR, Zhang YH, Zeng X, Chen WL, Mao BZ. Isolation and identification of antagonistic endophytic *Bacillus velezensis* from *Polygonatum cyrtoneura* Hua and analysis of its antimicrobial and growth-promoting activity[J]. Plant Protection, 2019, 45(4): 122-131 (in Chinese)
- [13] 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
- [14] Cao Y, Pi HL, Chandransu P, Li YT, Wang YQ, Zhou H, Xiong HQ, Helmann JD, Cai YF. Antagonism of two plant-growth promoting *Bacillus velezensis* isolates against *Ralstonia solanacearum* and *Fusarium oxysporum*[J]. Scientific Reports, 2018, 8: 4360
- [15] Chen L, Heng JY, Qin SY, Bian K. A comprehensive understanding of the biocontrol potential of *Bacillus velezensis* LM2303 against *Fusarium* head blight[J]. PLoS One, 2018, 13(6): e0198560
- [16] 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 for Identification of Common Bacterial Systems[M]. Beijing: Science Press, 2001 (in Chinese)
- [17] Buchanan RE, Gibbons NE. 伯杰氏细菌鉴定手册[M]. 中国科学院微生物研究所, 译. 8 版. 北京: 科学出版社, 1984  
Buchanan RE, Gibbons NE. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology[M]. Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, trans. 8th ed. Beijing: Science Press, 1984 (in Chinese)
- [18] 张子玉, 谢学文, 石延霞, 柴阿丽, 李磊, 李宝聚. 白菜黑腐病拮抗菌 *Lysobacter enzymogenes* CX03 的分离鉴定及生防效果研究[J]. 中国生物防治学报, 2021, 37(6): 1221-1230  
Zhang ZY, Xie XW, Shi YX, Chai AL, Li L, Li BJ. Isolation, identification and biocontrol effect of *Lysobacter enzymogenes* CX03[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2021, 37(6): 1221-1230 (in Chinese)
- [19] Duan J, Jiang W, Cheng ZY, Heikkilä JJ, Glick BR. The complete genome sequence of the plant

- growth-promoting bacterium *Pseudomonas* sp. UW<sub>4</sub>[J]. PLoS One, 2013, 8(3): e58640
- [20] Dhoub H, Zouari I, Ben Abdallah D, Belbahri L, Taktak W, Triki MA, Tounsi S. Potential of a novel endophytic *Bacillus velezensis* in tomato growth promotion and protection against Verticillium wilt disease[J]. Biological Control, 2019, 139: 104092
- [21] Trinh THT, Wang SL, Nguyen VB, Tran MD, Doan CT, Vo TPK, Huynh QV, Nguyen AD. A potent antifungal rhizobacteria *Bacillus velezensis* RB.DS29 isolated from black pepper (*Piper nigrum* L.)[J]. Research on Chemical Intermediates, 2019, 45(11): 5309-5323
- [22] 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: Basel, Switzerland, 2019, 24(6): 1046
- [23] 周亮亮. 柑橘溃疡病生防菌 *Bacillus velezensis* QC-J 全基因组测序及比较基因组学分析[D]. 赣州: 江西理工大学硕士学位论文, 2021
- Zhou LL. Complete genome sequencing and comparative genomic analysis of *Bacillus velezensis* QC-J strain[D]. Ganzhou: Master's Thesis of Jiangxi University of Science and Technology, 2021 (in Chinese)
- [24] 张德锋, 高艳侠, 王亚军, 刘春, 石存斌. 贝莱斯芽孢杆菌的分类、拮抗功能及其应用研究进展[J]. 微生物学通报, 2020, 47(11): 3634-3649
- Zhang DF, Gao YX, Wang YJ, Liu C, Shi CB. Advances in taxonomy, antagonistic function and application of *Bacillus velezensis*[J]. Microbiology China, 2020, 47(11): 3634-3649 (in Chinese)
- [25] 李永丽, 周洲, 尹新明. 贝莱斯芽孢杆菌 Mr12 预防苹果轮纹病等病害的潜力及其全基因组分析[J]. 果树学报, 2021, 38(9): 1459-1467
- Li YL, Zhou Z, Yin XM. Potential and genome-wide analysis of *Bacillus velezensis* Mr12 in preventing apple ring rot and other diseases[J]. Journal of Fruit Science, 2021, 38(9): 1459-1467 (in Chinese)
- [26] 李永丽, 周洲, 曲良建, 尹新明. 贝莱斯芽孢杆菌 Pm<sub>9</sub>生物防治潜力及全基因组分析[J]. 河南农业大学学报, 2021, 55(6): 1081-1088
- Li YL, Zhou Z, Qu LJ, Yin XM. Biological control potential and complete genome analysis of *Bacillus velezensis* Pm<sub>9</sub>[J]. Journal of Henan Agricultural University, 2021, 55(6): 1081-1088 (in Chinese)
- [27] 臧超群, 林英, 谢瑾卉, 刘晓舟, 裴雪, 梁春浩. 贝莱斯芽孢杆菌 BP-1 对花生网斑病菌的抑菌机制初探[J]. 扬州大学学报(农业与生命科学版), 2021, 42(5): 130-134
- Zang CQ, Lin Y, Xie JH, Liu XZ, Pei X, Liang CH. Preliminary study on antimicrobial mechanism of *Bacillus velezensis* against *Peyronellaea arachidicola*[J]. Journal of Yangzhou University: Agricultural and Life Science Edition, 2021, 42(5): 130-134 (in Chinese)
- [28] 沙月霞, 隋书婷, 曾庆超, 沈瑞清. 贝莱斯芽孢杆菌 E69 预防稻瘟病等多种真菌病害的潜力[J]. 中国农业科学, 2019, 52(11): 1908-1917
- Sha YX, Sui ST, Zeng QC, Shen RQ. Biocontrol potential of *Bacillus velezensis* strain E69 against rice blast and other fungal diseases[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2019, 52(11): 1908-1917 (in Chinese)
- [29] Farace G, Fernandez O, Jacquens L, Coutte F, Krier F, Jacques P, Clément C, Barka EA, Jacquard C, Dorey S. Cyclic lipopeptides from *Bacillus subtilis* activate distinct patterns of defence responses in grapevine[J]. Molecular Plant Pathology, 2015, 16(2): 177-187
- [30] Li YL, Chen SF. Fusaricidin produced by *Paenibacillus polymyxa* WLY78 induces systemic resistance against Fusarium wilt of cucumber[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(20): 5240
- [31] Ongena M, Jourdan E, Adam A, Paquot M, Brans A, Joris B, Arpigny JL, Thonart P. Surfactin and fengycin lipopeptides of *Bacillus subtilis* as elicitors of induced systemic resistance in plants[J]. Environmental Microbiology, 2007, 9(4): 1084-1090
- [32] Fan B, Wang C, Song XF, Ding XL, Wu LM, Wu HJ, Gao XW, Borriss R. *Bacillus velezensis* FZB42 in 2018: the Gram-positive model strain for plant growth promotion and biocontrol[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 2491
- [33] Fan B, Wang C, Ding XL, Zhu BY, Song XF, Borriss R. AmyloWiki: an integrated database for *Bacillus velezensis* FZB42, the model strain for plant growth-promoting Bacilli[J]. Database, 2019, 2019(10.1093): database
- [34] 高圣风, 徐毕爽, 陆大倩, 刘爱勤, 苟亚峰, 孙世伟, 王政, 孟倩倩. 生防菌株 *Bacillus velezensis* Z 全基因组测序分析[J]. 热带作物学报, 2021, 42(5): 1216-1222
- Gao SF, Xu BS, Lu DQ, Liu AQ, Gou YF, Sun SW, Wang Z, Meng QQ. Whole genome sequencing and analysis of the bio-control strain *Bacillus velezensis* Z[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2021, 42(5): 1216-1222 (in Chinese)