

宋文欣,陈清华,杨惠贞,等. 桑枝枯菌核病病菌拮抗芽孢杆菌的筛选和鉴定[J]. 江苏农业科学,2020,48(22):106-110.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.22.020

# 桑枝枯菌核病病菌拮抗芽孢杆菌的筛选和鉴定

宋文欣<sup>1</sup>, 陈清华<sup>1</sup>, 杨惠贞<sup>2</sup>, 蒙姣荣<sup>1</sup>, 李界秋<sup>3</sup>

(1. 广西大学农学院,广西南宁 530004; 2. 广西大学生命科学与技术学院,广西南宁 530004;

3. 广西大学农牧产业发展研究院,广西南宁 53000)

**摘要:**为获得有效防治桑枝枯菌核病的生防菌,通过对峙培养法筛选对桑枝枯菌核病病菌具有抑制作用的拮抗菌株,获得 6 株抑制作用较强的芽孢杆菌,其菌丝抑制率在 65.41%~91.41% 之间。叶片离体试验结果显示,6 个菌株均能较好地抑制病斑的发展,其防治效果在 50.00%~85.71% 之间,均高于化学药剂对照 40% 咪霉胺可湿性粉剂的防治效果(47.62%),其中以 NN05 菌株的防治效果最好,达 85.71%。胞外酶活性检测结果显示,6 个拮抗菌株均能产生胞外蛋白酶,均不能产生几丁质酶;除了 NN05 菌株外,其他 5 个菌株均具有溶磷作用;还有 3 株菌株(NN01、NN04 和 NN05)可以产生  $\beta$ -1,3-葡聚糖酶,3 株菌株(NN05、NN11 和 NN29)可以产生纤维素酶。经 16S rDNA 序列和 *gyrB* 基因序列分析,将 NN01、NN04、NN05 菌株鉴定为贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*),NN11、NN25、NN29 菌株鉴定为枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)。本研究结果可以为桑枝枯菌核病的生物防治提供菌种资源。

**关键词:**桑枝枯菌核病;生物防治;胞外酶活性;贝莱斯芽孢杆菌;枯草芽孢杆菌;拮抗菌

**中图分类号:**S888.71<sup>+</sup>3 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2020)22-0106-05

桑枝枯菌核病是春季桑园中常见的桑树真菌性病害,该病主要危害春季新萌发的桑芽及枝梢,在芽基部形成褐色病斑,皮层组织严重腐烂,导致桑枝折断,造成桑芽、新梢枯萎,严重发生时全田倒伏,春梢枯死<sup>[1-2]</sup>,遇上 3 月天气异常(特别偏冷或偏暖)年份,桑枝枯菌核病常常大面积暴发,造成桑叶年产量减少,严重影响桑蚕生产<sup>[2]</sup>。目前,对于桑枝枯菌核病的防治,主要强调种植抗病品种、清洁田园、及时清除病残枝,并加强桑园田间管理以培育健壮植株,必要的时候要进行化学防治<sup>[2-3]</sup>。然而,化学防治会对环境造成污染,且易造成家蚕中毒<sup>[2]</sup>。生物防治对环境污染小,能发挥持续的控制作用,具有安全、成本低的特点,是当前植物病害绿色防控的主要措施之一。芽孢杆菌(*Bacillus* spp.)是主要的植物病害生防菌种类<sup>[4]</sup>,针对桑树病害病原菌的芽孢杆菌类拮抗菌的筛选与鉴定已有一些相关的报道。王若琳等从健康桑树茎中分

离获得内生贝莱斯芽孢杆菌(*B. velezensis*)NPJ13 菌株,对桑断枝烂叶病菌(*Boeremia exigua*)具显著的拮抗作用<sup>[5]</sup>。方翔等也从桑树健康植株中分离获得对肥大性桑葚菌核病菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)具有较强抑制作用的贝莱斯芽孢杆菌菌株<sup>[6-7]</sup>。谢洁等从桑树中分离到枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)菌株 7PJ-16,对桑葚缩小性菌核病菌(*S. shiraiana*)有明显的抑制作用<sup>[8-9]</sup>。除此之外,国内外尚未有专门针对桑枝枯菌核病生物防治研究的相关报道。蛋白酶、几丁质酶、纤维素酶和  $\beta$ -1,3-葡聚糖酶等由拮抗菌分泌的胞外酶均与生防菌的防病及促生效果直接相关<sup>[4,10]</sup>。了解拮抗菌产生胞外酶的种类,可以对其抑菌机制及应用潜力作出初步的评价。

前期研究中,蒙朋从桑园土壤、桑根和桑枝上获得一批对桑树细菌性枯萎病病菌有抑制作用的芽孢杆菌菌株<sup>[11]</sup>,为探明这些菌株是否同时对桑枝枯菌核病病菌具有抑制作用,本研究选择其中 10 个菌株,采用对峙培养法测定其对桑枝枯菌核病病菌菌丝的抑制作用,同时进行离体接种初步评估其防治效果,用透明平板法对其产生胞外酶的种类进行初步检测,以期筛选出桑枝枯菌核病潜在的生防菌株,为桑枝枯菌核病的生物防治提供菌种资源,同时为研究拮抗菌的抑菌机制奠定基础。

收稿日期:2020-03-01

基金项目:广西壮族自治区自然科学基金重点项目(编号:2017GXNSFDA198004、2011GXNSFD018019)。

作者简介:宋文欣(1995—),女,山东莒县人,硕士研究生,主要从事植物病理学研究。E-mail:1093441288@qq.com。

通信作者:李界秋,硕士,高级实验师,主要从事植物病害防治研究。E-mail:ljq@geu.edu.cn。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试病原菌: 桑枝枯菌核病病菌 (*S. sclerotiorum*), 由亚热带农业生物资源保护与利用国家重点实验室(广西大学)分离并鉴定。

候选拮抗芽孢杆菌菌株来源: 10 株候选拮抗菌株为笔者所在实验室前期研究获得, 其中 NN04、NN05、NN25 从桑根分离得到, NN01、NN09、NN12 从桑茎分离得到, NN11、NN29、NN31、NN82 从桑园土壤中分离得到<sup>[11]</sup>。试验用马铃薯葡萄糖(PDA)培养基、LB(Luria-Bertani)培养基、牛肉膏蛋白胨(NA)培养基及其培养液均按照常规方法配制。

40% 咪霉胺可湿性粉剂和枯草芽孢杆菌可湿性粉剂(1 000 亿个/g), 均由中国农业科学院植物保护所廊坊农药中试厂生产。胶回收试剂盒购自 OMEGA 公司, 2 × ES Taq Master Mix 购自康为世纪, 引物由北京三博远志生物技术有限责任公司合成。

本试验于 2015—2019 年间在广西大学农学院及亚热带农业生物资源保护与利用国家重点实验室(广西大学)完成。

### 1.2 试验方法

1.2.1 桑枝枯菌核病病菌拮抗细菌的筛选 参照文献采用平板对峙培养法<sup>[12]</sup>进行拮抗细菌的筛选, 稍有改动。桑枝枯菌核病病菌在 PDA 平板上 28 ℃ 条件下培养 3~5 d, 用内径 6 mm 的打孔器在平板上取菌饼, 并倒置于牛肉膏蛋白胨培养基中央, 在距离病原菌菌片约 2.0 cm 处接种拮抗细菌, 划成长度约 1 cm 的接种带, 每种拮抗菌 3 次重复, 以只接病原菌不接拮抗菌的平皿为对照, 重复 2 次。在 28 ℃ 恒温条件下培养, 对照平皿上病原菌菌丝长满整个培养皿后, 测量菌丝带的宽度及对照的菌落直径, 按如下公式计算菌丝生长抑制率: 菌丝生长抑制率 = (1 - 处理菌落净生长量/对照菌落净生长量) × 100%; 净生长量 = 菌落直径 - 菌饼直径。

1.2.2 离体叶片接种病斑抑制效果的测定 拮抗菌用 LB 培养基培养 3 d, 离心(10 000 r/min, 离心 10 min)取上清发酵液喷雾健康桑叶正面和背面各 3 次, 即整张叶片全部湿润、晾干、再喷雾, 重复 3 次, 晾干后接种直径为 0.6 cm 生长一致的桑枝枯菌核病病菌菌丝圆片, 每张叶片 2 个接种点, 每个拮抗菌株处理 2 张叶片, 在 28 ℃ 条件下保湿, 4 d 后采用十字交叉法测量病斑直径。以同样的方法喷雾

40% 咪霉胺可湿性粉剂(稀释 1 500 倍)和枯草芽孢杆菌可湿性粉剂(1 000 亿个/g, 稀释 1 000 倍)分别作为化学防治及生物防治药剂的对照, 以接种病原菌而不喷拮抗菌的健康桑叶为空白对照, 并按如下公式计算防治效果: 防治效果 = (1 - 处理病斑直径/对照病斑直径) × 100%。采用 SPSS 18.0 软件对菌丝生长抑制率和防治效果等试验数据进行统计分析, 并进行差异显著性检验。

1.2.3 拮抗菌胞外酶活性的测定 蛋白酶检测培养基、纤维素酶检测培养基、β-1,3-葡聚糖酶检测培养基和几丁质酶检测培养基参照王芳等的方法<sup>[10]</sup>进行配制及检测各酶的活性, 用来检测无机磷溶解能力的改良 PVK 培养基参照李海云等的方法<sup>[13]</sup>进行配制及测定。

1.2.4 拮抗芽孢杆菌的分子鉴定 参照文献[14]中的方法提取拮抗芽孢杆菌菌株的总 DNA。以总 DNA 作为模板, 引物 fD2/rP1 扩增 16S rDNA 序列, 引物 UP1/UP2 扩增 *gyrB* 基因部分序列<sup>[11]</sup>。反应体系总体积为 50 μL, 其中 2 × TSINGKE Master Mix 25 μL、总 DNA(10~20 ng/μL) 2 μL、上下游引物各 2 μL、ddH<sub>2</sub>O 19 μL; 反应程序为 95 ℃ 预变性 30 s; 94 ℃ 变性 30 s, 55 ℃ (16S rDNA) 或者 57 ℃ (*gyrB* 基因) 退火 30 s, 72 ℃ 延伸 45 s, 30 个循环; 72 ℃ 延伸 5 min。上述反应获得的 PCR 产物经过 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测进行胶回收纯化, 克隆至 pEASY-T1 载体, 转化大肠杆菌 (*Escherichia coli*) DH5α 感受态细胞, 在含 50 mg/L 氨苄青霉素的 LA 平板上挑取单菌落, 进行菌落 PCR 鉴定, 提取阳性克隆质粒, 测序。序列结果在 NCBI 数据库进行 BLASTn (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) 比对, 下载相似性较高的标准菌株核苷酸序列, 使用 Mega X 软件进行序列的多重比对, 并采用邻接法构建系统发育树。

## 2 结果与分析

### 2.1 拮抗菌的筛选

以桑枝枯菌核病病菌作为靶标, 用室内平板对峙生长法测定前期研究获得的 10 个芽孢杆菌菌株的抑菌效果, 结果显示, NN01、NN04、NN05、NN11、NN25 和 NN29 等 6 个菌株对桑枝枯菌核病病菌的菌丝生长具有明显的抑制作用, 抑菌率在 65.41%~91.41% 之间; 其他 4 个菌株(NN31 等)没有明显的抑菌作用(图 1)。进行第 2 次重复筛选, 除了 NN29 菌株外, 其他菌株的菌丝抑菌率均高于 45.00%。

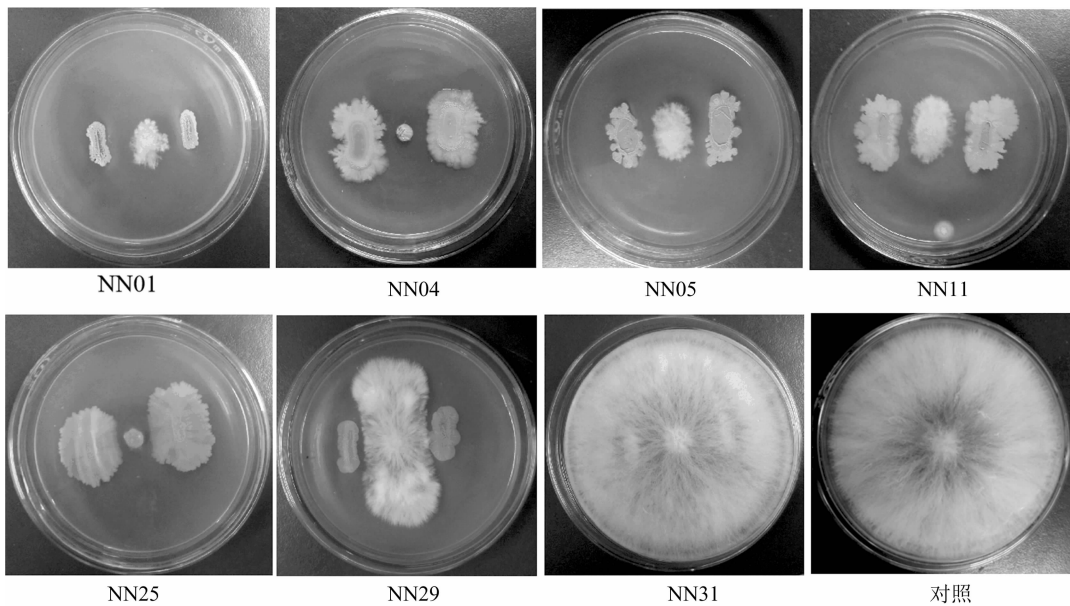


图1 拮抗细菌对桑枝枯菌核病病菌菌丝生长的抑制作用

2.2 拮抗菌的离体防治效果

叶片离体接种结果显示,在桑叶上 6 个拮抗菌菌株的发酵液均能有效抑制病斑的扩展。温度为 28 ℃ 条件下,接种 4 d 后,对照桑叶的病斑直径达到 (4.2 ± 0.21) cm,而拮抗菌处理的桑叶病斑直径均在 (2.1 ± 0.50) cm 以下,防治效果在 50.0% ~ 85.71% 之间,其中以 NN05 菌株的防治效果最好,NN01 菌株的次之,其防治效果分别为 85.71%、78.57%,再次是菌株 NN25、菌株 NN04,其防治效果分别为 66.67%、64.29%,均显著高于化学防治对照 40% 咪霉胺可湿性粉剂的防治效果 (47.62%); NN11、NN29 菌株的防治效果较低,分别为 52.38%、50.00%,与 40% 咪霉胺可湿性粉剂的防治效果相当 (表 1)。

表 1 离体条件下 6 株拮抗菌株培养液对桑枝枯菌核病的防治效果

处理	病斑直径 (cm)	防治效果 (%)
NN05 菌株	0.6 ± 0.10	85.71 ± 2.39a
NN01 菌株	0.9 ± 0.20	78.57 ± 4.76b
NN25 菌株	1.4 ± 0.20	66.67 ± 4.77c
NN04 菌株	1.5 ± 0.20	64.29 ± 4.78c
NN11 菌株	2.0 ± 0.20	52.38 ± 4.76d
NN29 菌株	2.1 ± 0.50	50.00 ± 11.90d
40% 咪霉胺可湿性粉剂	2.2 ± 0.30	47.62 ± 7.14e
枯草芽孢杆菌可湿性粉剂	2.6 ± 0.10	38.10 ± 2.39f
对照	4.2 ± 0.21	

注:同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著 (P < 0.05)。

2.3 拮抗菌株的胞外酶活性

胞外酶活性检测结果 (表 2) 显示,6 个拮抗菌株在蛋白酶培养基上都可以产生透明酶解圈,在几丁质酶检测培养基上都不产生透明酶解圈,表明所有拮抗菌株均能产生胞外蛋白酶,均不能产生几丁质酶;除了 NN05 菌株外,其他 5 个菌株在改良 PVK 培养基上均能产生透明圈,显示其具有解磷作用;菌株 NN11、NN05、NN29 在纤维素酶培养基上可以产生透明圈,表明可以产生纤维素酶;菌株 NN01、NN04、NN05 在 β-1,3-葡聚糖酶培养基上可以产生透明圈,说明可以产生 β-1,3-葡聚糖酶。以 NN05 产生的物质种类较多,可以同时产生蛋白质酶、纤维素酶和 β-1,3-葡聚糖。

表 2 拮抗菌株产生的胞外酶及解磷作用

培养基	菌株					
	NN05	NN01	NN25	NN04	NN11	NN29
蛋白酶检测培养基	+	+	+	+	+	+
纤维素酶检测培养基	+	-	-	-	+	+
β-1,3-葡聚糖酶检测培养基	+	+	-	+	-	-
改良 PVK 培养基	-	+	+	+	+	+
几丁质酶检测培养基	-	-	-	-	-	-

注:“+”表示可以产生透明圈。“-”表示不产生透明圈。

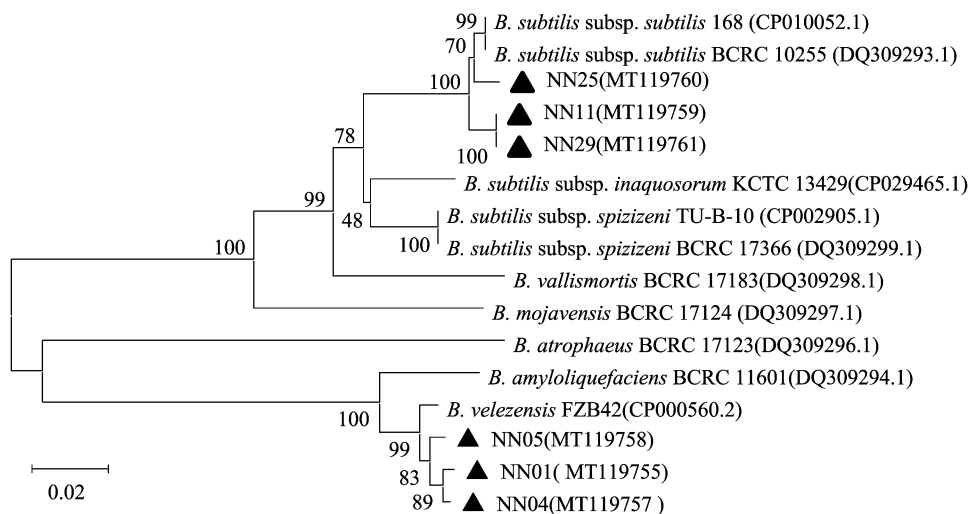
2.4 拮抗芽孢杆菌的分子鉴定

提取拮抗菌株总 DNA 作为模板,以引物 fD2/rp1 进行 PCR 扩增得到一个大小为 1 500 bp 左右的特异性条带,测序结果显示,所有菌株的目标 16S

rDNA 序列长度为 1 513 bp,不同菌株间 16S rDNA 序列相似性在 99.3% ~ 99.9% 之间(登录号为 MT114568, MT114570 ~ MT114574)。BLASTn 比对结果显示,这些菌株的 16S rDNA 序列与枯草芽孢杆菌复合群内种类的相似性均超过 93.3%,其中 NN05、NN01、NN04 菌株与贝莱斯芽孢杆菌(*B. velezensis*)和解淀粉芽孢杆菌(*B. amyloliquefaciens*)的相似性最高,分别为 99.8%、99.7%; NN25、NN29、NN11 菌株与枯草芽孢杆菌枯草亚种(*B. subtilis* subsp. *subtilis*)的相似性最高,达 99.8%。

同样,以 6 个菌株的基因组 DNA 为模板扩增 *gyrB* 基因部分片段,测序结果显示,所有菌株 *gyrB* 基因目标片段序列的长度均为 1 259 bp,不同菌株 *gyrB* 基因序列相似性在 80.3% ~ 98.9% 之间(登录号为 MT119755, MT119757 ~ MT119761)。BLASTn 比对结果显示,NN01、NN04、NN05 菌株 *gyrB* 基因与贝莱斯芽孢杆菌(*B. velezensis*)的相似性最高,达到

98.2%,与解淀粉芽孢杆菌(*B. amyloliquefaciens*)的相似性次之,为 95.9%;与枯草芽孢杆菌复合群其他种的相似性则比较低,如与枯草芽孢杆菌枯草亚种的相似仅有 79.9%。NN11、NN25、NN29 菌株 *gyrB* 基因序列则与枯草芽孢杆菌枯草亚种的相似性最高,为 98.2%,与枯草芽孢杆菌斯氏亚种(*B. subtilis* subsp. *spizizeni*)和枯草芽孢杆菌沙漠亚种(*B. subtilis* subsp. *inaquosorum*)的相似性依次为 94.1%、93.4%。基于 *gyrB* 基因构建的系统进化树结果显示,菌株 NN01、NN04、NN05 与贝莱斯芽孢杆菌(*B. velezensis*)聚集为独立的分支,亲缘关系较近;菌株 NN25、NN29、NN11 则与枯草芽孢杆菌枯草亚种聚集为独立的分支(图 2)。依据 16S rDNA 序列和 *gyrB* 基因序列及系统进化树的分析结果,将菌株 NN01、NN04、NN05 鉴定为贝莱斯芽孢杆菌,菌株 NN11、NN25、NN29 鉴定为枯草芽孢杆菌。



括号内数字为菌株的GenBank登录号;▲标注为本研究获得的菌株;*B. velezensis* 为死亡谷芽孢杆菌;  
*B. mojavensis* 为摩加夫芽孢杆菌;*B. atrophaeus* 为萎缩芽孢杆菌

图2 基于 *gyrB* 基因序列构建的系统进化树

### 3 讨论与结论

枯草芽孢杆菌复合群内种间具有较高的遗传相似性,通过 16S rDNA 序列比对难以准确确定其种水平的分类地位<sup>[15]</sup>。目前已有多种编码蛋白的基因,如 *gyrB* 基因等被用于枯草芽孢杆菌复合群分类研究中<sup>[5,15]</sup>。本研究测定了 6 株拮抗菌株的 16S rDNA 序列,比对结果显示,所有菌株的 16S rDNA 序列与枯草芽孢杆菌复合群内的大多种类核苷酸水平的相似性均高于 99.3%,结合 *gyrB* 基因的序列分析及系统进化树分析,将它们分别鉴定为贝

莱斯芽孢杆菌和枯草芽孢杆菌。枯草芽孢杆菌具有较高的防病促生功能和较强的抗逆能力,是最早被应用于作物病害生物防治的菌种之一<sup>[4,10]</sup>。贝莱斯芽孢杆菌具有广谱抑菌活性和促进植物生长的作用,在农业生产中具有较好的开发潜力<sup>[16-19]</sup>。本研究获得的枯草芽孢杆菌和贝莱斯芽孢杆菌菌株对桑枝枯菌核病菌菌丝具有较强的抑制作用,离体接种防治试验结果显示其防治效果均高于 50.00%,具有较好的生防潜力。今后将进一步验证其田间的防治效果,最终为桑枝枯菌核病的生物防治提供优良的生防菌株。

拈抗芽孢杆菌通常可以产生一些胞外酶,如  $\beta$ -1,3-葡聚糖酶、几丁质酶、蛋白酶和纤维素酶等。邢介帅等从小麦根际土壤中分离得到的生防细菌 T2 菌株高产蛋白酶<sup>[20]</sup>。孙建波等筛选出对香蕉枯萎病有强抑制作用的拈抗菌株具有较高的几丁质酶活性<sup>[21]</sup>。 $\beta$ -1,3-葡聚糖酶是拈抗菌常见的拈抗蛋白,异源枯草芽孢杆菌 Em7 菌株的  $\beta$ -1,3-葡聚糖酶基因,其产物可以有效抑制病原菌菌丝的生长<sup>[22]</sup>。有研究显示,能产生多种胞外酶的拈抗菌株的生防效果较好<sup>[10]</sup>。本研究获得的 6 个拈抗菌株多数均能产生 2 种或 2 种以上的胞外酶,其中以 NN05 菌株产生的种类最多,可以同时产生蛋白酶、纤维素酶和  $\beta$ -1,3-葡聚糖酶,离体接种结果也显示 NN05 菌株的防治效果最好,离体防效达 85.71%,是最具有应用潜力的拈抗菌株。微生物溶磷可转化水体和土壤中难溶性无机磷,促进植物生长,改善土壤磷肥状况<sup>[23]</sup>,那些同时具有抑菌能力和解磷能力的菌株除了具有生物防治的效果,还可以促进植物生长,具有用于制备新型抑菌生物菌肥的潜力<sup>[24]</sup>。本研究中获得 5 个具有解磷能力的菌株,在今后复合生防菌的利用中,可以考虑使用这些具有解磷能力的菌株,以增强其促生作用,提高生防效果。

#### 参考文献:

- [1] 李乙,朱方容,陈小青,等. 广西桑树主要病害调查初报[J]. 广西蚕业,2010,47(2):23-26.
- [2] 谢锦灵. 宜州市桑枝枯菌核病发生流行规律及综合防治措施[J]. 广西植保,2016,29(1):18-20.
- [3] 毛建萍,浦冠勤,薛忠庆,等. 桑枝枯菌核病药剂防治试验[J]. 江苏蚕业,2002(1):52-54.
- [4] 马佳,李颖,胡栋,等. 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.
- [5] 王若琳,徐伟芳,王飞,等. 桑树内生拈抗菌的分离鉴定及其对桑断枝烂叶病的生防初探[J]. 微生物学报,2019,59(11):2130-2143.
- [6] 方翔,徐伟芳,牛娜,等. 一株桑树内生拈抗菌的分离、鉴定及发酵条件优化[J]. 微生物学报,2018,58(12):2147-2160.
- [7] Xu W F, Wang F, Zhang M, et al. Diversity of cultivable endophytic bacteria in mulberry and their potential for antimicrobial and plant growth-promoting activities[J]. Microbiological Research, 2019, 229:126328.
- [8] 谢洁,任慧爽,唐翠明,等. 一株桑树内生细菌的鉴定和对桑椹核地杖菌的拈抗作用[J]. 蚕业科学,2015,41(5):815-824.
- [9] Xu W F, Ren H S, Ou T, et al. Genomic and functional characterization of the endophytic *Bacillus subtilis* 7PJ-16 strain, a potential biocontrol agent of mulberry fruit sclerotiniase[J]. Microbial Ecology, 2019, 77(3):651-663.
- [10] 王芳,吕顺,刘文清,等. 香蕉枯萎病生防菌的筛选及生防物质分析[J]. 江西农业大学学报,2014,36(6):1264-1269.
- [11] 蒙月月. 桑树细菌性枯萎病菌生物学特性研究及其拈抗细菌和防治药剂筛选[D]. 南宁:广西大学,2014.
- [12] Khamna S, Yokota A, Lumyong S. Actinomycetes isolated from medicinal plant rhizosphere soils: diversity and screening of antifungal compounds, indole-3-acetic acid and siderophore production[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2009, 25(4):649-655.
- [13] 李海云,牛世全,孔维宝,等. 猪粪堆肥中一株溶磷菌的筛选鉴定及溶磷能力初步测定[J]. 环境科学学报,2015,35(5):1464-1470.
- [14] 奥斯伯 F. M., 布伦特 R., 金斯顿 R. E., 等. 精编分子生物学实验指南[M]. 金由辛,包慧中,赵丽云,等译. 5 版. 北京:科学出版社,2008:39-40.
- [15] 曹凤明,杨小红,马鸣超,等. 枯草芽孢杆菌近缘种群鉴定方法研究进展[J]. 微生物学通报,2014,41(5):968-974.
- [16] Hashem A, Tabassum B, Fathi Abd Allah E. *Bacillus subtilis*: a plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress[J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2019, 26(6):1291-1297.
- [17] Dunlap C A, Kim S J, Kwon S W, et al. *Bacillus velezensis* is not a later heterotypic synonym of *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus methylotrophicus*, *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* and '*Bacillus oryzicola*' are later heterotypic synonyms of *Bacillus velezensis* based on phylogenomics[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2016, 66(3):1212-1217.
- [18] Rabbee M F, Ali M S, Choi J, et al. *Bacillus velezensis*: a valuable member of bioactive molecules within plant microbiomes[J]. Molecules, 2019, 24(6):1046.
- [19] 陶永梅,潘洪吉,黄健,等. 新型生防微生物因子贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*)的研究与应用[J]. 中国植保导刊, 2019, 39(9):26-33.
- [20] 邢介帅,李然,赵蕾,等. 产蛋白酶生防细菌的筛选及其对病原真菌的拈抗作用[J]. 西北农业学报,2008,17(1):106-109.
- [21] 孙建波,王宇光,李伟,等. 产几丁质酶香蕉枯萎病拈抗菌的筛选、鉴定及抑菌作用[J]. 果树学报,2010,27(3):427-430.
- [22] Wang N N, Gao X N, Yan X, et al. Purification, characterization, and heterologous expression of an antifungal protein from the endophytic *Bacillus subtilis* strain Em7 and its activity against *Sclerotinia sclerotiorum*[J]. Genetics and Molecular Research: GMR, 2015, 14(4):15488-15504.
- [23] 宫安东,孔宪巍,翟新可,等. 枯草芽孢杆菌 WY8-7 的溶磷、抑菌及促生长作用[J]. 南京农业大学学报,2019,42(4):697-705.
- [24] 郭立佳,汪军,杨腊英,等. 芽孢杆菌 JK05 的鉴定及其对香蕉、玉米的促生和生防潜能研究[J]. 热带作物学报,2020,41(2):351-358.