

# 多粘类芽孢杆菌及其产生的生物活性物质研究进展

杨少波 刘训理\*

(山东农业大学林学院 泰安 271018)

**摘要:** 多粘类芽孢杆菌(*Paenibacillus polymyxa*)对人或动植物没有致病性,某些菌株可产生如抗生素、拮抗蛋白、植物激素、酶、絮凝剂等多种生物活性物质。这些活性物质在植物病害防治以及人和动物疾病治疗方面具有诱人的应用前景。本文对近年来多粘类芽孢杆菌及其产生的生物活性物质的研究进展进行了综述。

**关键词:** 多粘类芽孢杆菌, 生物活性物质, 抗生素, 抗菌蛋白, PGPR

## Research Advances in *Paenibacillus polymyxa* and Their Bioactive Substances

YANG Shao-Bo LIU Xun-Li\*

(College of Forestry, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018)

**Abstract:** Many beneficial bioactive substances were produced by *Paenibacillus polymyxa* such as antibiotics, antimicrobial proteins, plant hormones and flocculants. These bioactive substances also could be produced by *Paenibacillus polymyxa* making it show excellent prospect in biological control of plant diseases, treatment of mankind and animals. This article summarizes research advances in *Paenibacillus polymyxa* and their bioactive substances.

**Keywords:** *Paenibacillus polymyxa*, Bioactive substances, Antibiotics, Antimicrobial proteins, PGPR

1994年, Ash等<sup>[1]</sup>在分子生物学研究结果的基础上建立了类芽孢杆菌属,并将多粘类芽孢杆菌(*Paenibacillus polymyxa*)立为类芽孢杆菌属的模式菌种。多粘类芽孢杆菌是少数能够产生具有临床应用价值的抗生素的细菌之一,由它产生的多粘菌素B(polymyxins B, PMB)和多粘菌素E(colistin)已在临床上用于抗细菌感染。其中的某些菌株也是重要的植物生防细菌和植物根际促生菌(plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR),并且在农业领域已

得到广泛的应用<sup>[2,3]</sup>。此外,多粘类芽孢杆菌及其代谢产物在工矿业及废水处理方面也有应用<sup>[4]</sup>。由于其诱人的应用前景,美国环保署(EPA)将它列为可商业上应用的微生物之一,我国农业部也将其列为免做安全鉴定的一级菌种。

### 1 多粘类芽孢杆菌的分类地位

多粘类芽孢杆菌原名多粘芽孢杆菌(*Bacillus polymyxa*),以形态学为分类基础,早期研究将其归

入芽孢杆菌属。1994年, Ash等<sup>[1]</sup>通过PCR探针试验分析了几株芽孢杆菌的16S rRNA序列, 分析显示芽孢杆菌至少包括五种系统发生线, 并发现一些芽孢杆菌与其他芽孢杆菌的表型特征差异极大, 16S rRNA序列存在高度特异性。在此研究结果的基础上, Ash将多粘芽孢杆菌等11个种从芽孢杆菌属中分离出来, 另立类芽孢杆菌属, 并将多粘类芽孢杆菌立为类芽孢杆菌的模式菌种, 至今类芽孢杆菌已有23个种。多粘类芽孢杆菌细胞呈杆状, 革兰氏染色阳性、阴性或可变, 接触酶阳性, 氧化酶反应可变, 厌氧条件下所测定的大多数菌株固定氮。

## 2 多粘类芽孢杆菌产生的生物活性物质

多粘类芽孢杆菌可产生多种生物活性物质, 如酶、抗菌物质、植物激素以及絮凝剂等, 这些活性物质大多为蛋白质、多糖、多肽等。多粘类芽孢杆菌产生的抗菌物质按其物质类型及分子大小可分为小分子的多肽抗生素类、大分子的拮抗蛋白(酶)类等。这些抗菌物质性质比较稳定, 如耐高温、高压, 对酸碱稳定, 对蛋白酶不敏感等。

### 2.1 多肽抗生素类

多肽抗生素是多粘类芽孢杆菌产生的一类非核糖体肽类抗生素, 结构多种多样, 有线状、环状和线环状, 分子中常含有一些特殊的基团, 如乙醇胺、亚精胺、2,4-二氨基丁酸和甲酰基等。与抗菌蛋白相比多肽抗生素分子量较小, 一般在1 kD~2 kD之间。

多粘菌素(polymyxins)是多粘类芽孢杆菌产生的一类碱性线环状阳离子多肽抗生素, 含有疏脂性和亲脂性基团及一个多肽尾, 图1为多粘菌素的结构示意图。根据结构差异将其分为多粘菌素A、B、C、D和E等组分, 分子量都在1200 D左右。多粘菌素(polymyxins) A-E具有相似的抗菌谱, 对多种革兰氏阴性菌具有强烈的杀菌作用, 研究表明, 多粘菌素(polymyxins)可破坏革兰氏阴性细菌细胞质膜的通透性, 致使胞内物质泄漏从而起到杀菌作用。由于多粘菌素B(polymyxins B, PMB)不仅对多种革兰氏阴性细菌具有杀菌作用, 而且对如革兰氏阴性菌的内毒素(LPS)等细菌的致病因子具有明显的拮抗作用, 因而越来越引起人们的重视。多粘菌素B具有肾毒性和神经毒性, 一度限制了它在临床上的应用, 但是, 由于临床上多药耐药(multidrug resistance MDR)革兰氏阴性杆菌等缺乏有效的治疗

药物, 以及多粘菌素B九肽(polymyxin B nonapeptide)(采用酶裂解PMB后得到的毒性降低但保留了抗内毒素活性的PMB衍生物)<sup>[6]</sup>的出现, 使PMB又重新受到人们的重视。多粘菌素E(colistin)是一种狭效性抗生素, 虽然其抗菌效果较PMB差, 但是它毒性小、副作用低, 因此, 它在禽畜的临床应用上较PMB多, 目前已广泛应用于禽畜的饲料添加剂。

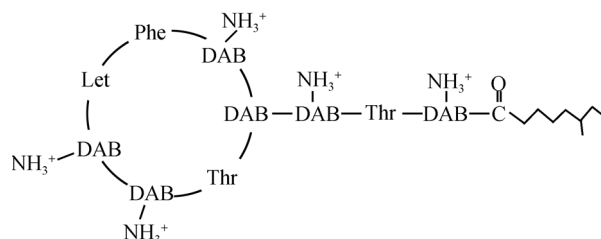


图1 多粘菌素的结构

Fig. 1 Structure of polymyxins

Fusaricidins 是一类从多粘类芽孢杆菌中分离的由六个氨基酸残基和一个2-胍基-3-羟基十五烷酸(GHPD)组成的环状多肽类抗生素, 图2为Fusaricidins的结构示意图。它包括Fusaricidins A-D几种结构类似的组分。Fusaricidins对尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)、黑曲霉(*Aspergillus niger*)、米曲霉(*Aspergillus oryzae*)、黄海葵附生真菌(*Penicillium thomii*)等具有很好的拮抗作用, 对白色念珠菌(*Candida albicans*)、酿酒酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*)具有显著的拮抗作用, 对金黄葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)等革兰氏阳性细菌具有很高的杀菌活性<sup>[7]</sup>。Soo-Keun Choi等<sup>[8]</sup>将多粘类芽孢杆菌E681(*Paenibacillus polymyxa* E681)的培养液离心后, 用甲醇抽提菌体得到Fusaricidins, 通过液相色谱质谱联用仪分析其氨基酸序列, 并测定了Fusaricidins合成酶的基因序列, 为该抗生素的工业化生产奠定了基础。

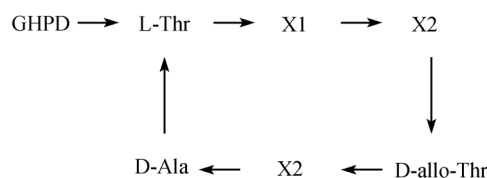


图2 Fusaricidins 的结构

Fig. 2 Structure of Fusaricidins

另外, 还有多种多肽类抗生素在多粘类芽孢杆菌的发酵液中被发现。Brigitte Pichard等<sup>[9]</sup>在多粘类芽孢杆菌BP1(*Paenibacillus polymyxa* BP1)的培养肉

汤中分离得到两种新的多肽抗生素,分别命名为 Gavaserin 和 Saltavalin。Gavaserin 分子量为 911 D, 含有谷氨酸、丙氨酸、缬氨酸、丝氨酸、2,4-二氨基丁酸以及辛酸。Saltavalin 分子量为 903 D, 含有丝氨酸、丙氨酸、亮氨酸、苏氨酸、缬氨酸、2,4-二氨基丁酸,在这种多肽中没有发现脂肪酸。近年来,又有多种多粘类芽孢杆菌产生的多肽抗生素被发现,周华强等<sup>[10]</sup>用加热法从多粘类芽孢杆菌 LM-3(*Paenibacillus polymyxa* LM-3)发酵液中纯化得到一种极端嗜热多肽 APPLM3,该多肽对稻瘟病菌有较强的拮抗作用,且热稳定性相当高。多粘类芽孢杆菌产生的多肽抗生素大多为多种组分抗生素,它们往往是一族对特定病原菌具有很高活性、结构相似的抗生素,分子量在 1000 D 左右。

## 2.2 拮抗蛋白

多粘类芽孢杆菌产生的具有抗菌活性的蛋白质大多数为核糖体合成的细胞壁降解酶类,如  $\beta$ -1,3-葡聚糖酶、几丁质酶等。 $\beta$ -1,3-葡聚糖多聚物是大多数植物病原真菌细胞壁的主要成分, $\beta$ -1,3-葡聚糖酶可水解  $\beta$ -1,3-葡聚糖中的  $\beta$ -1,3-糖苷键,从而抑制植物病原真菌的生长与增殖。同时, $\beta$ -葡聚糖酶还是一种极具经济价值的工业用酶。可溶性非淀粉多糖是饲料原料中主要的抗营养因子,它可增加动物肠道的粘性从而阻碍对营养物质的吸收,在饲料中添加  $\beta$ -葡聚糖酶可水解饲料中的可溶性非淀粉多糖。在啤酒生产中加入  $\beta$ -葡聚糖酶可解决  $\beta$ -葡聚糖引起的大麦难降解、黏度大的问题,以提高啤酒的质量与稳定性。

包括多粘类芽孢杆菌在内的多种杆菌可产生  $\beta$ -葡聚糖酶,李卫芬等<sup>[11]</sup>对 1 株多粘类芽孢杆菌产生的  $\beta$ -葡聚糖酶特性进行了分析,克隆了该酶基因的全长 DNA 序列,该序列长度为 734 bp,其中开放阅读框架长 714 bp,编码 238 个氨基酸,Blast 分析结果显示,该序列与已经登录的多粘类芽孢杆菌 X5709 (*Paenibacillus polymyxa* X5709) 同源性为 99.04%。姚乌兰等<sup>[12]</sup>通过 DEAE-Sephadex A-50 离子交换层析、Sephacryl S-200 分子筛层析,从多粘类芽孢杆菌 WY110(*Paenibacillus polymyxa* WY110)菌株发酵液中分离纯化到一种分子量为 26 kD 的蛋白质 P<sub>2</sub>,该蛋白对稻瘟病菌的不同菌株表现出抑菌活性。蛋白质 P<sub>2</sub> N-末端 24 个氨基酸测序为 H<sub>2</sub>N-Ala-Asn-Val-Phe-Trp-Glu-Pro-Leu-Ser-Tyr-Tyr-Asn-Pro-Ser-Thr-

Trp-Gln-Lys-Ala-Asp-Gly-Tyr-Ser-Asn-。Blast P 检索结果表明,P<sub>2</sub> 蛋白与 1 株已报道的多粘类芽孢杆菌  $\beta$ -1,3-1,4-葡聚糖酶基因 *gluB* 同源性为 84%。用此酶的特异底物地衣多糖进行了定性检测,验证了 P<sub>2</sub> 蛋白具有  $\beta$ -1,3-1,4-葡聚糖酶的活性。几丁质是绝大多数真菌细胞壁的结构物质,同时还是昆虫中肠围食膜的主要成分。几丁质酶可催化水解几丁质的  $\beta$ -1,4-糖苷键,它在植物病虫害的防治方面,以及在几丁质废物的转化和利用等方面都具有重要作用。Mavingui 等<sup>[13]</sup>从 1 株多粘类芽孢杆菌中分离获得了具有抗菌活性的几丁质酶。人们还发现,某些多粘类芽孢杆菌还可产生多种蛋白酶、核糖核酸酶等<sup>[14,15]</sup>。

多粘类芽孢杆菌还可以产生一些不具酶活性的拮抗蛋白。Saravanakumar Kavitha 等<sup>[16]</sup>将多粘类芽孢杆菌 VLB 16(*Paenibacillus polymyxa* VLB 16)的发酵液用 40% 的硫酸铵沉淀,沉淀物溶解后经 Sephadex G-200 分子筛层析,得到一种分子量为 37 kD 的蛋白质,该抗菌蛋白对稻瘟病菌和丝核菌具有拮抗作用。研究表明,该拮抗蛋白可作用于病原真菌的细胞壁及菌丝,引起细胞形态发生改变,但未发现该蛋白具有酶活性。傅里叶变换红外光谱仪检测结果显示,该蛋白的高级结构主要由无规则卷曲、 $\beta$ -转角、 $\beta$ -折叠构成,热稳定性高且对链酶蛋白酶以及一些蛋白质变性剂不敏感。陈雪丽等<sup>[17]</sup>通过硫酸铵沉淀、Sephadex G-50 分子筛层析,在多粘类芽孢杆菌 BRF-1(*Paenibacillus polymyxa* BRF-1)发酵液中分离纯化到一种对大豆立枯丝核菌具有拮抗活性的抗菌蛋白,经 SDS-PAGE 检测 BRF-1 抗菌蛋白的分子量为 35.4 kD,其结构尚不明确。

## 2.3 多粘类芽孢杆菌及其产生的其他生物活性物质

多粘类芽孢杆菌产生的多种抗生素和酶已应用于临床和植病生防。除此之外,多粘类芽孢杆菌还可以产生植物激素、凝絮剂、表面活性剂等其他生物活性物质。这些物质是多粘类芽孢杆菌作为 PGPR 以及在废水处理、矿物浮选等领域应用的物质基础。

**2.3.1 多粘类芽孢杆菌产生的植物激素:**微生物可产生吲哚乙酸(IAA)、生长素(auxins)、双萜化合物类的赤霉素(gibberellins)、腺嘌呤衍生物类的细胞分裂素(cytokinins)、乙烯(ethylene)等植物激素,这些植物激素可以促进植物生长。很早人们就发现多粘类芽孢杆菌可产生植物激素,1988 年, Holl

等<sup>[18]</sup>发现一种可产生吲哚-3-乙酸的多粘类芽孢杆菌, 这种吲哚乙酸(IAA)类植物激素可促进大麦草等植物的生长。Timmusk S 等<sup>[19]</sup>用高效液相色谱法在多粘类芽孢杆菌 B2(*Paenibacillus polymyxa* B2)的发酵液中分离得到一种促进植物生长的植物激素, 经气质联用法分析为一种细胞分裂素(cytokinins)。

**2.3.2 多粘类芽孢杆菌产生的絮凝剂:**絮凝剂可通过改变胶体间静电作用或通过聚合物架桥作用使分散状态颗粒聚集起来, 得到较大的颗粒从而引起固液分离。絮凝剂在污水处理、矿物浮选方面有非常重要的作用。微生物产生的具有絮凝剂功能的物质包括一些胞外多糖、蛋白质、有机酸等。多粘类芽孢杆菌产生的絮凝剂在污水处理方面也有应用。Partha Patra 等<sup>[5]</sup>从多粘类芽孢杆菌 NCIM 2539 (*Paenibacillus polymyxa* NCIM 2539)培养基中分离得到两种具有絮凝剂作用的物质, 一种为胞外多糖(ECP)另一种为一种胞外蛋白(EBP)。

### 3 多粘类芽孢杆菌的应用

#### 3.1 多粘类芽孢杆菌作为 PGPR 的应用

PGPR 可以促进植物生长、提高作物产量。研究表明, PGPR 的作用机制包括以下几个方面: (1) 作为微生物肥料。PGPR 可通过生物固氮作用、解磷作用、解钾作用等促进植物对这些物质的吸收, 或者可促进有益微生物与植物的共生等; (2) 产生植物激素。一些 PGPR 菌株可以通过分泌植物激素以促进植物根部的生长及影响根部形态; (3) 诱导植物抗性(Induced Systemic Resistance, ISR)。植物本身对植物病原体存在着潜在的防御机制, 这种防御机制可被病原体或者 PGPR 菌株诱发<sup>[20]</sup>; (4) 生物防治作用。PGPR 通过竞争作用或拮抗作用来抑制植物病原菌的侵染或生长以促进植物生长, 其中以拮抗作用为主。还有报道称某些 PGPR 菌株可修复受有机物污染的土壤环境, 以改善植物生长的环境从而促进植物生长。

近年来, PGPR 的应用研究成为农业微生物的热点, Choong-Min Ryu 等<sup>[3]</sup>报道, 一株多粘类芽孢杆菌 E681(*Paenibacillus polymyxa* E681)可以抑制猝倒病等多种芝麻土传病害, 促进芝麻的生长。研究还表明多粘类芽孢杆菌 E681(*Paenibacillus polymyxa* E681)抑菌谱广, 对终极腐霉菌(*Pythium ultimum*)、德巴利腐霉(*Pythium debaryanum*)、立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)、尖孢镰刀菌(*Fusarium ox-*

*ysporum*)、灰葡萄孢菌(*Botrytis cinerea*)、番茄叶霉病菌(*Cladosporium fulvum*)等具有明显的抑制作用。Dilfuza Egamberdiyeva<sup>[2]</sup>研究了多粘类芽孢杆菌 BcP26(*Paenibacillus polymyxa* BcP26)在不同肥力条件下对玉米生长的影响, 该研究表明, 在贫瘠土壤中多粘类芽孢杆菌 BcP26 (*Paenibacillus polymyxa* BcP26)更能促进玉米对氮、磷、钾的吸收。许多多粘类芽孢杆菌是非常具有应用潜力的 PGPR, 但是要实现商业化, 还必须加强高产菌株的选育、培养基及培养条件优化、制剂研制等方面的研究。

#### 3.2 多粘类芽孢杆菌在选矿方面的应用

多粘类芽孢杆菌在生物诱导选矿(选择性浮选和选择性絮凝)中具有重要的应用潜力, 它可以通过附着在矿物表面形成生物膜以改变矿物的表面化学组成, 或者产生一些如有机酸、多糖、氨基化合物、还原剂等代谢产物, 催化矿物的氧化还原反应或吸附、聚集、沉淀一些矿物成分。

Partha Patra 等<sup>[4]</sup>研究了多粘类芽孢杆菌 NCIM 2539(*Paenibacillus polymyxa* NCIM 2539)细胞及代谢产物用于选择性分离黄铁矿和方铅矿过程中矿石的表面化学, 当矿石表面吸附细菌及其代谢产物并相互作用后, 通过絮凝和浮选可成功地将这两种金属从混合矿物中选择性的分离出来。Vijayalakshmi S P 等<sup>[21]</sup>用生物絮凝法代替传统的重力浓缩技术处理高灰印度煤, 研究表明, 利用一株多粘类芽孢杆菌对高灰煤样品进行选择性絮凝处理, 除灰率高达 60%。生物选矿与传统的选矿方法相比具有无可比拟的优势, 例如生物选矿具有分离率高、成本低、无污染等优点, 特别是对品位低、细分散及难处理的矿石。但要实现多粘类芽孢杆菌作为选矿药剂的工业化, 多粘类芽孢杆菌与矿物表面作用机理的研究以及优良菌株的选育是非常必要的。

### 4 展望

传统农业中化学农药、化学肥料的过量使用不仅导致了许多作物病虫害的抗药性, 更造成了农业生态环境的日趋恶化。在这种情况下高效且对生态和环境安全的微生物农药、生物肥料受到越来越多的关注。多粘类芽孢杆菌产生的多肽类抗菌物质对植物病原真菌具有很好的拮抗活性, 且性质比较稳定, 因此, 多粘类芽孢杆菌是极具开发前景的生防细菌。同时, 可进一步通过氨基酸序列分析, 克隆其编码基因, 采用基因工程手段将这些抗性基因导入

作物,进行作物的抗病育种。多粘类芽孢杆菌作为 PGPR 用于微生物肥料也正在受到重视,国内外已经报道有多株可作为 PGPR 的多粘类芽孢杆菌,并且具有可商业化生产的潜力。

在上世纪六、七十年代,多粘菌素类抗生素曾在临床上应用于治疗革兰氏阴性细菌的感染,由于其具有肾毒性和神经毒性,在八十年代被淘汰。近年来,耐药性成为全球关注的热点,多耐药性假单胞杆菌属、不动杆菌属以及产超广谱  $\beta$ -内酰胺酶(ESBL)细菌的出现使得多粘菌素类抗生素被重新重视起来。多粘菌素九肽的出现也为多粘菌素类抗生素的应用提供了一种新的思路,可以通过对多粘菌素的结构改造来获得具有更好临床效果且毒副作用小的衍生物。

生物选矿方法凭借其优势逐渐受到人们的关注,近十年来多粘类芽孢杆菌作为选矿药剂的应用研究在国外成为一研究热点。目前多粘类芽孢杆菌对黄铁矿、方铅矿、黄铜矿、赤铁矿等矿物的生物选矿已被广泛报道。

## 参 考 文 献

- [1] Ash C, Priest FC, Collins MD. Molecular identification of rRNA group 3 bacilli using a PCR probe test. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 1994, **64**: 253–260.
- [2] Dilfuza Egamberdiyeva. The effect of plant growth promoting bacteria on growth and nutrient uptake of maize in two different soils. *Applied Soil Ecology*, 2007, **36**(2-3): 184–189.
- [3] Choong-Min Ryu, Jinwoo Kim, Okhee Choi, *et al.* Improvement of biological control capacity of *Paenibacillus polymyxa* E681 by seed pelleting on sesame. *Biological Control*, 2006, **39**(3): 282–289.
- [4] Partha Patra, Natarajan KA. Surface chemical studies on selective separation of pyrite and galena in the presence of bacterial cells and metabolic products of *Paenibacillus polymyxa*. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2006, **298**(2): 720–729.
- [5] Jörg Howe, Malte Hammer U, Klaus Brandenburg. Calorimetric investigations of the effect of polymyxin B on different Gram-negative bacteria. *Thermochimica Acta*, 2007, **458**(1–2): 34–37.
- [6] Hardwin O'Dowd, Bum Kim, Peter Margolis, *et al.* Preparation of tetra-Boc-protected polymyxin B nonapeptide. *Tetrahedron Letters*, 2007, **48**(11): 2003–2005.
- [7] Kajimura Y, Kaneda M. Fusaricidins B, C, and D, new depsipeptide antibiotics produced by *Bacillus polymyxa* KT-8: isolation, structure elucidation and biological activity. *J Antibiot*, 1997, **50**: 220–228.
- [8] Soo-Keun Choi, Soo-Young Park, Rumi Kim, *et al.* Identification and functional analysis of the fusaricidin biosynthetic gene of *Paenibacillus polymyxa* E681. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2008, **365**(1): 89–95.
- [9] Brigitte Pichard, Jean-Pierre Larue, Daniel Thouvenot. Gavaserin and saltavalin, new peptide antibiotics produced by *Bacillus polymyxa*. *FEMS Microbiology Letters*, 1995, **133**(3): 215–218.
- [10] 周华强, 谭芙蓉, 周 颖, 等. 多粘类芽孢杆菌极端嗜热多肽的纯化及性质研究. *现代农药*, 2007, **6**(3): 40–43.
- [11] 李卫芬, 陆 平, 周绪霞. 多粘芽孢杆菌 -葡聚糖酶特性及其基因克隆. *浙江大学学报*, 2004, **30**(3): 331–335.
- [12] 姚乌兰, 王云山, 韩继刚, 等. 水稻生防菌株多粘类芽孢杆菌 WY110 抗菌蛋白的纯化及其基因克隆. *遗传学报*, 2004, **31**(9): 878–887.
- [13] Patrick Mavingui, Thierry Heulin. *In vitro* chitinase and antifungal activity of a soil, rhizosphere and rhizoplane population of *Bacillus polymyxa*. *Soil Biology and Biochemistry*, 1994, **26**(6): 801–803.
- [14] Larson NK, Ismail B, Nielsen SS, *et al.* Activity of *Bacillus polymyxa* protease on components of the plasmin system in milk. *International Dairy Journal*, 2006, **16**: 586–592.
- [15] Lebedev AA, Shlyapnikov SV, Pustobaev VN, *et al.* Structural characterization of extracellular ribonuclease of *Bacillus polymyxa*: amino acid sequence determination and spatial structure prediction. *FEBS Letters*, 1996, **392**: 105–109.
- [16] Saravanakumar Kavitha, Sivanesan Senthilkumar, Samuel Gnanamanickam, *et al.* Isolation and partial characterization of antifungal protein from *Bacillus polymyxa* strain VLB16. *Process Biochemistry*, 2005, **40**(10): 3236–3243.
- [17] 陈雪丽, 郝再彬, 王光华, 等. 多粘类芽孢杆菌 BRF-1 抗菌蛋白的分离纯化. *中国生物防治*, 2007, **23**(2): 156–159.
- [18] Holl FB, Chanway CP, Turkington R, *et al.* Response of crested wheatgrass (*Agropyron cristatum* L.), perennial ryegrass (*Lolium perenne* and white clover (*Trifolium repens* L.) to inoculation with *Bacillus polymyxa*. *Soil Biology and Biochemistry*, 1988, **20**(1): 19–24.
- [19] Timmusk S, Nicander B, Granhall U, *et al.* Cytokinin production by *Paenibacillus polymyxa*. *Soil Biology and Biochemistry*, 1999, **31**: 1847–1852.
- [20] Dutta S, Mishra AK, Dileep Kumar BS. Induction of systemic resistance against fusarial wilt in pigeon pea through interaction of plant growth promoting rhizobacteria and rhizobia. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, **40**(2): 452–461.
- [21] Vijayalakshmi SP, Raichur AM. Bioflocculation of high-ash Indian coals using *Paenibacillus polymyxa*. *Int J Miner Process*, 2002, **67**: 199–210.