

芽胞杆菌分类与应用研究进展

刘国红 刘波* 王阶平 车建美 朱育菁 葛慈斌 陈峥

(福建省农业科学院农业生物资源研究所 福建 福州 350003)

摘要: 芽胞杆菌是一类产生具有抗逆特性芽胞的重要微生物资源, 研究其分类地位对挖掘和利用芽胞杆菌功能菌株具有重要科学意义。基于基因组学的多相分类法, 使得芽胞杆菌分类地位更加精确。截至 2016 年 6 月, 全世界芽胞杆菌种类达 813 种, 来自于 5 个科, 即芽胞杆菌科、脂环酸芽胞杆菌科、类芽胞杆菌科、动球菌科、芽胞乳杆菌科, 74 个属。中国芽胞杆菌研究从 2004 年开始发表新种, 目前, 中国学者发表中国分离的芽胞杆菌新种达 176 种。本文就当前芽胞杆菌主要分类鉴定方法及应用进展进行了描述, 希望为国内外芽胞杆菌同行研究者提供一定的帮助。

关键词: 芽胞杆菌, 分类鉴定, 应用研究

Advances in taxonomy and application of *Bacillus*

LIU Guo-Hong LIU Bo* WANG Jie-Ping CHE Jian-Mei ZHU Yu-Jing
GE Ci-Bin CHEN Zheng

(Agricultural Bio-resources Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou, Fujian 350003, China)

Abstract: *Bacillus* is an important microbial resource forming endospore to resist stress. Taxonomy research is vital to explore and utilize functional *Bacillus* strains. Based on the taxono-genomic method, the classification status of *Bacillus* is becoming more and more precise. Untill to June 2016, 813 *Bacillus*-like species have been reported worldwide, belonging to 74 genera within 5 Families including Bacillaceae, Alicyclobacillaceae, Paenibacillaceae, Planococcaceae, and Sporolactobacillaceae. The first new species of *Bacillus*-like bacteria was published by Chinese scientists in 2004. Up to now, 176 *Bacillus*-like new species have been recognized, which were isolated from China. In this

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. 31370059); Fujian Key Science and Technology Special Projects-Key Agricultural Science and Technology Special Project (No. 2015NZ0003); Seed Industry Innovation and Industrialization Project of Fujian Province (No. FJZZZY-1544); “Fujian Resource Preservation Center of the Bacillus-like Bacteria” in the Seed Industry Innovation of Project of Fujian Province; Doctoral Fund of Fujian Academy of Agricultural Sciences (No. 2014BS-3); Youth Elite Plan Project of Fujian Academy of Agricultural Sciences (No. YC2015-17)

*Corresponding author: Tel: 86-591-87884601; E-mail: fzliubo@163.com

Received: May 18, 2016; **Accepted:** August 11, 2016; **Published online** (www.cnki.net): September 07, 2016

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 31370059); 福建省科技重大专项项目农业科技重大专项(No. 2015NZ0003); 福建省种业创新与产业化工程项目(No. FJZZZY-1544); 福建省种业创新项目“福建省芽胞杆菌资源保藏中心”; 福建省农业科学院博士基金(No. 2014BS-3); 福建省农业科学院青年英才计划(No. YC2015-17)

*通讯作者: Tel: 86-591-87884601; E-mail: fzliubo@163.com

收稿日期: 2016-05-18; **接受日期:** 2016-08-11; **优先数字出版日期**(www.cnki.net): 2016-09-07

review, we describe the present taxonomy method for *Bacillus* and their application in different fields, aiming to provide relevant information for peers.

Keywords: *Bacillus*, Classification and identification, Application research

1872年,德国微生物学家科赫(Cohn)根据形态特征,第一次命名了芽胞杆菌属(*Bacillus*),将细弱弧菌(*Vibrio subtilis*)重新定名为枯草芽胞杆菌(*Bacillus subtilis*),并作为模式种,从此芽胞杆菌种的数量开始了漫长的演变旅程。1923–1939年出版的第1–5版《伯杰氏鉴定细菌学手册》(Bergey's Manual of Determinative Bacteriology)均只包括一个芽胞杆菌属(*Bacillus*),其中,1923年第1版收录了75种,1925年第2版保留了75种,1930年第3版收录了93种,1934年第4版收录了93种,1939年第5版收录了146种。由于从芽胞杆菌属(*Bacillus*)中划分出多个芽胞杆菌近缘属,第6至第8版《伯杰氏鉴定细菌学手册》中芽胞杆菌属种的数量锐减。1948年第6版收录了33种,1957年第7版收录了25种,1974年第8版收录了22种。1984–1986年,《伯杰氏鉴定细菌学手册》更名为《伯杰氏系统细菌学手册》(Bergey's Manual of Systematic Bacteriology)。1984年第一版分4卷出版,1994年将原1–4卷中有关属以上分类单元进行修改补充后汇集成一册,称为《伯杰氏鉴定细菌学手册》第9版,在该版中形成芽胞的细菌划分为35个属,共收录了409种,包括91个同物异名。2001–2012年,《伯杰氏系统细菌学手册》第2版分5卷出版,收录了35个芽胞杆菌属及其近缘属,共332种。

刘波等^[1]根据LPSN (<http://www.bacterio.cict.fr/>)网站中“具有命名地位的原核生物名称的名录”的更新版本(截至2014年12月底)和《伯杰氏系统细菌学手册》第2版第3卷厚壁菌门的相关信息,整理出芽胞杆菌相关科5个,属71个,种类752种,研究了芽胞杆菌属及其近缘属的分类地位的变动情况,给出了收集种类的中文学名,使得芽胞杆菌全部具有了中文学名。

随着微生物分类研究技术的发展和方法的改进,分类地位的划分更加准确,越来越多的芽胞杆

菌种类被发现与鉴定。精确的分类地位,对芽胞杆菌资源利用和开发具有重要的意义。芽胞杆菌在农业、工业、医学等领域具有重要应用价值和经济价值。本文就近年来国内外研究者对芽胞杆菌分类和应用方面的进展进行综述。

1 芽胞杆菌分类鉴定方法

1.1 芽胞杆菌系统分类

根据《伯杰氏系统细菌学手册》第2版和原核生物新种鉴定标准所述,芽胞杆菌分类鉴定指标主要为综合表型、化学和基因特征等^[2-4]。

表型特征:形态特征和生理生化特征。形态特征主要是细胞形状及大小、运动性、芽胞形状及位置、菌落大小等。芽胞杆菌产生的芽胞为内生芽胞,大多为椭圆形或球形。生理生化特征指标主要为碳源和氮源利用、明胶水解、硝酸还原、V-P反应等。

化学特征:主要是细胞壁组分、呼吸醌、极性脂和脂肪酸成分等。大部分芽胞杆菌肽聚糖类型为meso-DAP,少数为L-Lys-D-Glu^[5]、Orn-D-Glu^[6]和L-Orn-D-Asp^[7]。呼吸醌主要为MK-7,脂肪酸主要为iso-C_{15:0}和anteiso-C_{15:0}^[8-9]。

基因特征:16S rRNA基因序列分析是原核生物分类鉴定过程中最重要的指标。一般认为,两种菌间16S rRNA基因相似性低于97%,判断为不同种类^[3]。结合基因组分析,Kim等^[10]建议将16S rRNA基因序列相似性98.65%作为判断种的阈值,16S rRNA基因相似性低于95%时,应考虑分类单元划分为1个新属^[11]。芽胞杆菌分类鉴定常用网站为韩国EzTaxon-e server (<http://www.ezbiocloud.net/>)^[12]。

此外,还有一些等同于16S rRNA基因的保守基因,如gyrB基因^[13]、rpoB基因适合类芽胞杆菌属^[14],recN适于*Genobacillus*^[15],MLST(多位点序列分型)和MLSA(多位点序列分析)则是选择多个

保守基因对芽胞杆菌进行系统发育分析^[16-17]。Tindall 等^[3]建议当 16S rRNA 基因相似性高于 97% 时, 需要进行 DNA-DNA 杂交 (DNA-DNA hybridization, DDH) 进一步确定目标菌株的分类地位。DDH 低于 70% 时判断为一个新物种^[18], 但不是严格定义种的界值^[19]。

常用 DDH 值测定方法为热变性法^[20], 此技术方法操作复杂, 费时且对实验人员技术能力要求高, 结果可重复性差, 不同实验室结果可比性不强。DNA G+C 含量主要采用 HPLC 和热变性法测定, 芽胞杆菌属 DNA G+C% 含量的范围为 32 mol%–66 mol%^[21]。芽胞杆菌亚种或菌株水平鉴定常用手段有 AFLP (扩增片段长度多态性)、RAPD (随机扩增的多态性 DNA) 技术、rep-PCR (细菌基因组重复序列 PCR) 技术、ERIC (肠杆菌基因间重复一致序列)、BOX-PCR (盒子 PCR) 技术、(GTG)₅-PCR 等。

1.2 芽胞杆菌基因组分类

随着技术发展, 第二代测序使细菌基因组测序速度更快、成本更低。基因组 (Genome) 为芽胞杆菌分类地位带来革命性的变化, 系统分类学与基因组学的结合将会提高芽胞杆菌分类地位的可靠性^[22], 为芽胞杆菌资源分类和开发利用提供了巨大的帮助。Rosselló-Móra^[23]、Konstantinidis 等^[24]和 Richter 等^[25]提出了基因组平均核苷酸一致性 (Average nucleotide identity, ANI) 来判断细菌种的鉴定阈值, 即当两菌间的 ANI ≤ 95% (等同于 DDH < 70%) 它们属于不同物种。Kim 等^[10]分析了 6 787 种原核生物间的 ANI, 发现种水平 ANI 范围在 95%–96% 之间。刘波等^[26]分析芽胞杆菌全基因组之间平均核苷酸同源性 (ANI) 的特征性, 提出了芽胞杆菌属间的 ANI 低于 70%, 芽胞杆菌种间的 ANI 低于 94%, 芽胞杆菌亚种间的 ANI 低于 97%。

基于基因组的 ANI 分析, 鉴定发现了一些芽胞杆菌新种, 如兵马俑芽胞杆菌^[27]。德国 DSMZ 首次提出了利用 GGDC (Genome-to-genome distance calculator) (<http://ggdc.dsmz.de/distcalc2.php>) 计算两

菌间的相似性^[28-30]。Ramasamy 等^[31]评估了基因组序列在分类上的优缺点, 提出了基因组分类 (Taxono-genomics) 概念, 这对细菌系统分类具有很大的贡献。Stropko 等^[32]根据基因组比较进行了食物芽胞杆菌 (*Bacillus cibi*) 和印度芽胞杆菌 (*Bacillus indicus*) 间的 ANI、AAI 和 *is*DDH 分析, 发现其属于同物异名, 为同一种芽胞杆菌。Qin 等^[33]提取 NCBI 数据库所有原核生物标准菌株的基因组序列, 通过 16S rRNA 基因和 ANI 相似性分析发现 ANI 不适合用于建属, 于是提出并制定了属的划分指标 POCP (Percentage of conserved proteins)。当 POCP 低于 50% 时, 被认为是一个新属。基于基因组分类, 促进了芽胞杆菌系统发育的研究。

截止 2015 年 10 月 8 日 根据 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/>) 数据统计, 已经完成基因组测序的芽胞杆菌为 222 个种, 约 1 500 多株。作者所在研究团队于 2014 年启动了芽胞杆菌全基因组测序项目, 拟对 180 种未测序的芽胞杆菌标准菌株进行基因组测序, 已完成了 80 多株芽胞杆菌标准菌株的基因组测序工作, 占全球芽胞杆菌全基因组测序种类的 30%。通过对芽胞杆菌基因组序列比较分析, 试图建立基于基因组芽胞杆菌属及近缘属的分类标准, 逐步地建立以芽胞杆菌全基因组分析的分类鉴定系统, 实现网络远程鉴定, 为从事芽胞杆菌分类研究的国内外同行提供一定的帮助和理论基础。

1.3 芽胞杆菌脂肪酸分类

脂肪酸是微生物细胞生物膜的重要组成物质, 具有芽胞杆菌种属遗传稳定性。不同种类含有的脂肪酸种类不同, 是特别有效的分类生物标记^[34-37]。微生物脂肪酸的气相色谱检测是一种便宜、快速、简便的方法, 自动化程度很高。常用的脂肪酸鉴定系统为美国 MIDI 公司开发的 Sherlock 脂肪酸微生物鉴定系统 [Sherlock Microbial Identification System (MIS, Microbial ID, Inc. MIDI), Newark, Delaware, USA]。细菌脂肪酸分为饱和脂肪酸与不饱和脂肪酸两大类, 芽胞杆菌属的脂肪酸大多为支链饱和脂肪

酸,只有少数种类产生不饱和脂肪酸,如炭疽芽胞杆菌、蜡状芽胞杆菌及苏云金芽胞杆菌等产生 iso-C_{17:1} ω5c。支链饱和脂肪酸含有一个甲基,当甲基位于倒数第二位置时该脂肪酸称为 iso,位于倒数第三位置时称为 anteiso。Saito^[38]报道 iso-C_{15:0} 和 anteiso-C_{15:0} 是芽胞杆菌的主要脂肪酸标记。Kaneda^[9]利用脂肪酸标记和含量将 22 株芽胞杆菌分为 6 个群,且这 22 株菌皆含有 iso-和 anteiso-饱和支链脂肪酸。

刘波^[34]分析了细菌 61 个属的 4 800 多个菌株的脂肪酸,出版了《微生物脂肪酸生态学》,将细菌划分成 4 个脂肪酸群(型),芽胞杆菌划分在细菌脂肪酸 IV 型内,发现支链脂肪酸在细菌进化史上起着重要的作用。细菌脂肪酸含量的变化可以反映外界环境瞬时变化而产生的变异,因此脂肪酸的检测结果是十分精确的^[39-41]。刘波等^[8]测定芽胞杆菌属 90 个种的脂肪酸成分,检测到 29 个脂肪酸生物标记,脂肪酸碳链长度从 10 到 20,前 6 个相对百分比含量总和最大的脂肪酸是 15:0 anteiso、15:0 iso、17:0 anteiso、16:0、17:0 iso 和 16:0 iso。在测定的 90 种芽胞杆菌的脂肪酸组中,15:0 anteiso 和 15:0 iso 属于高含量完全分布,17:0 anteiso、16:0、17:0 iso 和 16:0 iso 属于中含量不完全分布,其余 23 个标记属于低含量不完全分布。根据脂肪酸生物标记分布特性,选取 10 种脂肪酸参数即 16:0 iso、16:0、17:0 iso、17:0 anteiso、15:0 iso、15:0 anteiso、15:0 iso/15:0 anteiso、17:0 iso/17:0 anteiso 以及香农指数(*H*)和均匀度指数(*J*),构建芽胞杆菌属种类的脂肪酸系统发育分类体系,可将 90 种芽胞杆菌分为 5 个脂肪酸群,分别为窄温(第 I 群)、广温(第 II 群)、嗜碱(第 III 群)、嗜酸(第 IV 群)和嗜温(第 V 群)的芽胞杆菌脂肪酸群。因此,芽胞杆菌的脂肪酸群的系统发育分类体系具有生物学意义,这是其他分类方法所不具有的,有望成为一种新的分类体系。

1.4 芽胞杆菌物质组学分类

芽胞杆菌种类丰富性导致其代谢产物种类和结构多样性不同种类产生的代谢产物或分泌的物

质种类不同,日常实验室常用的物质检测仪器有 GC-MS、MALDI-TOF MS 和 Q-TOF (LC-MS-MS) 等。MALDI-TOF MS 是一种新型的简单高效的软电离生物质谱,它不仅可以用于人类病原菌的日常医疗诊断分析,还能鉴定环境微生物种类^[42-43]。由于分类标记 16S rRNA 基因序列相似性的局限性,MALDI-TOF MS 是种水平上分类鉴定 16S rRNA 基因序列相似性介于 97%–99% 之间菌株的可靠技术手段之一^[44-46]。利用 MALDI-TOF MS 技术,许多芽胞杆菌新物种被发现鉴定,如 *Bacillus massiliosenegalensis*、*Bacillus massiliogorillae* 等^[47-48]。

作者所在实验室在芽胞杆菌物质方面进行了大量的研究工作。目前,通过 GC-MS 和 Q-TOF (LC-MS-MS) 已完成了 100 多种 200 多株芽胞杆菌次生代谢物的检测,为芽胞杆菌的分类和应用研究提供重要的理论基础。陈峥等^[49]利用气质联用 (GC-MS) 进行基于物质组的芽胞杆菌分类系统研究,对芽胞杆菌属、类芽胞杆菌属和短芽胞杆菌属 3 个属的胞外代谢物进行了 PCA 和聚类分析,得出不同属间胞外代谢物种类和含量不同,聚为不同分支。刘国红等^[50]比较分析了兵马俑芽胞杆菌和与其相近菌的胞外物质成分,与其他菌明显区分开来,表明可以从代谢水平上对芽胞杆菌进行分类。

1.5 芽胞杆菌资源研究

芽胞杆菌资源研究始于 1872 年,德国微生物学家科赫(Cohn)定名的枯草芽胞杆菌。芽胞杆菌经过了系统进化演替和分类系统变动,其范围被定义为能产生内生芽胞的种名含有‘*Bacillus*’的芽胞杆菌属及其近缘属,包括芽胞杆菌目的 5 个科,即芽胞杆菌科、脂环酸芽胞杆菌科、类芽胞杆菌科、动球菌科、芽胞乳杆菌科,74 个属。截止 2016 年 6 月,全世界芽胞杆菌种类达 813 种。中国芽胞杆菌研究从 2004 年开始发表新种,第一个发表的芽胞杆菌新种为好纪湖兼性芽胞杆菌(*Amphibacillus haojiensis*),到 2016 年 6 月,中国学者发表中国分离的芽胞杆菌新种达 176 种。

国内研究芽胞杆菌系统发育的科研单位不多。根据 LPSN 和国际系统与进化微生物学杂志 IJSEM (International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology) 统计, 以 2015 年为例, 全世界发表的芽胞杆菌新种有 55 种, 其中中国科学家发表的有 26 种, 占 52%。中国有 14 个机构发表了芽胞杆菌新种, 分别为中国科学院(4 种)、东北农业大学(2 种)、四川大学(2 种)、华中农业大学(1 种)、国家海洋局第三海洋研究所(1 种)、新疆农业科学院(2 种)、云南师范大学(1 种)、中国农业科学院(3 种)、南京农业大学(2 种)、东北大学(1 种)、上海大学(1 种)、台湾中兴大学(1 种)、浙江大学(1 种)和福建省农业科学院(4 种), 该年福建省农业科学院发表芽胞杆菌分别为慈湖芽胞杆菌(*Bacillus cihuensis*)、武夷山芽胞杆菌(*Bacillus wuyishanensis*)、台湾芽胞杆菌(*Bacillus taiwanensis*)、茄科芽胞杆菌(*Bacillus solani*)^[51-54]。

福建省农业科学院芽胞杆菌研究团队长期从事芽胞杆菌样品收集和分类工作, 引进模式菌株 260 余种, 收集保存了 17 个国家、中国 30 个省份土壤 15 800 余份, 从中分离保存芽胞杆菌 34 892 株, 发现芽胞杆菌潜在新种 60 个, 形成了全国最大的芽胞杆菌专业资源库, 建立芽胞杆菌资源保藏中心。同时, 向国内企业、科研单位和教学单位提供菌株 2 000 多株。此外, 还进行了芽胞杆菌功能菌株的筛选, 如分析了 7 个属 120 个种芽胞杆菌的产淀粉酶、蛋白酶、纤维素酶、木聚糖酶、果胶酶、支链淀粉酶、几丁质酶、植酸酶的能力, 得到了高产木聚糖酶和蛋白酶的沙福芽胞杆菌(*B. safensis*) FJAT-14260, 产果胶酶和支链淀粉酶的解淀粉芽胞杆菌(*B. amyloliquefaciens*) FJAT-2349, 具有高产纤维素酶和淀粉酶复合酶的解淀粉芽胞杆菌 FJAT-8754。

2 芽胞杆菌的应用研究进展

芽胞杆菌是一类产生抗逆性芽胞的重要微生物资源, 产生多种功能代谢产物, 用于生物农药、生物肥料、生物饲料、生物降污、生物保鲜、生物修复、益生菌、医药保健等领域。

2.1 芽胞杆菌在农业上的应用

芽胞杆菌在农业上主要是在农作物的杀虫防病和畜牧业上的应用。为防治农作物害虫, 化学杀虫剂的使用越来越广泛。随着化学杀虫剂的使用所导致的害虫抗药性及环境污染和生态平衡被破坏等问题的出现, 迫切需要其他更为安全和有效的害虫综合防治方法。因此, 生物防治已成为病虫害防治的重要手段。我国已取得登记的芽胞杆菌生物农药有苏云金芽胞杆菌(库斯塔克亚种、以色列亚种)、赖氨酸球形芽胞杆菌、枯草芽胞杆菌、蜡状芽胞杆菌、地衣芽胞杆菌、多粘类芽胞杆菌等^[55]。

苏云金芽胞杆菌(Bt)对鳞翅目、双翅目、鞘翅目、螨类等许多有害昆虫及线虫具有毒杀作用, 而对人类、动物和农作物无害, 是目前国内外产量最大、应用范围最广的微生物杀虫剂。苏云金芽胞杆菌(Bt)产生有杀虫效应的 δ -内毒素的伴胞晶体, Cry1A 毒素由于长期使用而导致防效下降, Cry2A 弥补了 Cry1A 的不足, 害虫不易对其产生抗药性^[56-57]。本实验室筛选到一株高毒力 Bt 菌株 FJAT-12, 克隆到新型 *cry2Ab30* 基因, 获得国际 Bt 命名委员会正式命名。生物耦联是蛋白质修饰的重要手段之一, 即利用生物耦联剂将具有活性的小分子, 多肽或蛋白质等固定在靶标蛋白上, 提高靶标蛋白的生物活性, 具有重要的应用前景。刘波研究员提出耦合型生物农药, 实现 Bt 晶体与生物毒素阿维菌素在零长度耦联剂 EDC 介导下的耦联, 形成新毒素 BtA, 其对小菜蛾具有胃毒、触杀、拒食和亚致死作用, 并对天敌具有较低的负作用^[58-60]。国家自然科学基金项目“基于生物耦联技术的蛋白修饰对 Bt 杀虫活性增效机理的研究”(31371999), 采用新型耦联剂 EDC+NHS, 比较不同构象的阿维菌素对耦联效能的影响^[61]。

芽胞杆菌除了具有高效杀虫效果外, 产生的各种功能代谢产物还具有广谱抑菌和促生作用, 可用于生物肥料和生物保鲜研发。短芽胞杆菌属是一个功能属^[62], 作者所在实验室筛选到一株短短芽胞杆菌 JK-2 对大丽轮枝菌(*V. dahliae*)、黑白轮枝菌

(*Verticillium albo-atrum*)、真菌轮枝霉(*V. fungicola*)、胶孢炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.)、桃褐腐丛梗孢(*Monilia laxa*)和青枯雷尔氏菌(*Ralstonia solanacearum*)都具有较强的抑制作用,对植物生长也有很重要的促生作用^[63-66]。周先治等^[67]研究发现球形芽胞杆菌(*L. sphaericus*)菌株 Bs-8093 的发酵上清液也对青枯雷尔氏菌强致病力菌株有抑制作用。邱孙全等^[68]从滇池水生植物中得到 1 株内生短短芽胞杆菌(*B. brevis*) MHQ1,该菌对杨桃炭疽病菌(*C. gloeosporioides*)、香石竹疫霉(*Phytophthora nicotianae*)和腐皮镰刀菌(*Fusarium solani*)等多种植物病原真菌有着较强的拮抗作用,抑菌活性物质主要存在于正丁醇相。侧孢短芽胞杆菌(*B. laterosporus*)对尖孢镰刀菌和立枯丝核菌^[69]具有很强的抑制作用。林营志等^[70]发现多粘类芽胞杆菌对香蕉枯萎病病原菌镰刀菌具有很强的抑制作用。界面活性剂产生菌浸麻类芽胞杆菌(*Paenibacillus macerans*)所产生生物界面活性对烟曲霉(*Aspergillus fumigatus*)、尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)、大肠杆菌(*E. coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)和绿脓假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*) K187 等皆有抑制效果,且可应用于草莓的保存^[71]。泛酸枝芽胞杆菌(*V. pantothenicus*) ZJUT-K15 对烟草黑胥病菌等多种植物病原菌和金黄色葡萄球菌有明显的抑制作用^[72]。

益生芽胞杆菌是指那些对动、植物不但无害,反而有利于增进其健康生长的芽胞杆菌。目前用于畜禽养殖的芽胞杆菌生物饲料菌剂主要为枯草芽胞杆菌(*B. subtilis*)、纳豆芽胞杆菌(*B. subtilis natto*)、凝结芽胞杆菌(*B. coagulans*)、环状芽胞杆菌(*B. circulans*)、巨大芽胞杆菌(*B. megaterium*)、坚强芽胞杆菌(*B. firmus*)、短小芽胞杆菌(*B. pumilus*)、东洋芽胞杆菌等。益生菌“绿禽康”(益生菌短短芽胞杆菌(*B. brevis*) YSJ-0401 活菌含量为 1×10^9 CFU/g,可增强肉鸡的抗病能力,提高肉鸡体重和肉料比^[73]。生长肥育猪饲料中添加凝结芽胞杆菌(*B. coagulans*)制剂可显著提高猪的平均日增重,降低饲料成本,饲

养效果与抗菌药利菌净没有显著差异^[74]。多粘类芽胞杆菌对金黄色葡萄球菌有显著的抑制能力,基本不能在蛋鸡肠道内定殖^[75]。

作者研究团队致力于功能性生防菌株筛选,获得了 8 个具有自主知识产权且适用于不同气候、土壤、季节和作物的高效生防菌株,即地衣芽胞杆菌 FJAT-4、侧孢芽胞杆菌 WY9701、枯草芽胞杆菌 NH-BS-2000 和 BS-09、生物保鲜剂短短芽胞杆菌 JK-2、蜡样芽胞杆菌 ANTI-8098、解淀粉芽胞杆菌 FJAT-8754,兵马俑芽胞杆菌 FJAT-13831 等,开展了生防菌株的微生物学特性、发酵条件、抑菌机理等研究。获得国家发明专利 5 项,与企业结合共同研发,实现了生防菌剂创制的产业化。

2.2 芽胞杆菌在工业上的应用

芽胞杆菌是工业上产酶的重要菌种来源,如蛋白酶、纤维素酶、木聚糖酶、淀粉酶、脂酶等。碱性纤维素酶是重要的洗涤剂添加剂,不仅可以去除衣物上的污渍,还可以软化衣服和提升色泽度。近年来,国内外对由耐盐碱芽胞杆菌产生的碱性纤维素酶进行了广泛的研究。郭成栓等^[76]概述了其编码的碱性纤维素酶的性质,编码酶的基因、基因的克隆、表达以及作为洗涤剂添加剂的去污机理,指出了今后的研究方向。孔庆祥等^[77]利用多粘芽胞杆菌 T1163 对红麻脱胶有良好的效果,为实现麻类脱胶现代化提供了很好的前景。

芽胞杆菌在生物修复上具有良好应用前景。田美娟^[78]对太平洋深海多金属结核区进行了重金属抗性菌调查结果表明,芽胞杆菌是深海重金属抗性菌中不可忽视的一大类群。短芽胞杆菌属是一个多功能属,罗平等^[79-80]从活性污泥中筛选得到一株具有较高絮凝活性的短短芽胞杆菌(*B. brevis*),对多种固体悬浊液都有明显的净化效果。多粘类芽胞杆菌(*P. polymyxa*)能产生絮凝剂^[81],可用于工矿业及废水处理方面。美国环保署(EPA)将多粘类芽胞杆菌列为商业应用微生物,我国农业部也将其列为免安全鉴定的一级菌种。刘婕和杨博^[82]从餐馆隔油池废水中获得一株快速高效降解油脂的解淀粉类芽胞

杆菌(*P. amyloliquefaciens*), 在 48 h 内油脂去除率为 97.3%, COD_{Cr} 的去除率为 91.9%。赖氨酸球形芽胞杆菌(*L. sphaericus*)可以高效降解苯酚, 并能以苯酚为唯一碳源, 在 30 °C 和 pH 7.0 时 42 h 内能将 800 mg/L 的苯酚彻底降解^[83]。

笔者所在的研究团队长期从事微生物发酵床大栏养猪研究, 即将先导菌短短芽胞杆菌和凝结芽胞杆菌加入垫料中进行发酵除去臭味, 达到真正的零污染、零排放效果, 实现了猪粪便的原位降解。微生物发酵床对猪舍大肠杆菌能起到显著的生物防治作用, 能抑制大肠杆菌特别是携带毒素基因大肠杆菌的生长, 且对大肠杆菌的生防效果随使用时间的延长而增加^[84]。当前采用宏基因组学正对不同发酵级别的微生物发酵床垫料中微生物群落结构进行分析, 希望能揭示微生物发酵床大栏养猪无臭降解机理。

2.3 芽胞杆菌在医学上的应用

芽胞杆菌种类的多样性必然导致其产生代谢产物的多样性, 代谢产物的多样性造成在医学的应用不同。目前, 市场上常见芽胞杆菌药剂主要为枯草芽胞杆菌、凝结芽胞杆菌、地衣芽胞杆菌等。Sumi 等^[85]指出芽胞杆菌产生的抗菌肽 AMPs 是一种新型抗菌药物, 可以防止抗生素的抗性, 这为人类抗生素研发带来了新时代。医学上一些多肽抗生素是由芽胞杆菌产生的, 如杆菌肽、多粘菌素、短杆菌肽和短杆菌酪肽等^[86]。Torres 等^[87]从解淀粉芽胞杆菌(*B. amyloliquefaciens*)分离到 Subtilosin 并首次报道该肽具有抗病毒活性。莫哈维芽胞杆菌(*Bacillus mojavensis*)产生多种肽的混合物, 对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌及真菌都有抑制效果^[88]。枯草芽胞杆菌是一种新型疫苗载体, 它可以表达细菌、病毒和吸虫等病原体的多种蛋白^[89]。维生素 K 存在于枯草芽胞杆菌 B53 的发酵液中, 枯草芽胞杆菌 B53 是维生素 K 的一种生产菌^[90]。

基于 GC-MS 和 LC-MS-MS, 本实验大量检测分析了芽胞杆菌的胞外物质成分, 发现了 6 种具有免疫抑菌特性的芽胞杆菌功能物质, 分别为: 对枯

萎病原和青枯病原抑菌物质: 羟苯乙酯; 多醚类抗生素: 尼日利亚菌素; 非蛋白质氨基酸: 今可豆氨酸; 聚醚类离子载体抗生素: 莫能菌素; 免疫抑制剂: 来氟米特^[91]; 生物防腐剂: 苯乳酸。

3 总结

综上所述, 芽胞杆菌是一类非常重要的微生物资源, 芽胞杆菌分类地位的准确性对有效利用芽胞杆菌的功能具有重要意义。化学农药的过量使用导致生态环境的污染严重, 高效、安全的微生物农药的研发迫在眉睫。大多数芽胞杆菌能分泌大量的活性物质, 对许多细菌和真菌有抑制活性, 能提高植物的抗病能力, 促进植物生长, 提高产量。另外, 芽胞杆菌还具有多种酶活、环境修复和医药制剂等功能。随着芽胞杆菌分类和功能利用研究的深入, 它们在工农业、医药领域及生物学理论研究方面将有更广阔的应用前景。

参 考 文 献

- [1] Liu B, Wang JP, Tao TS, et al. List of species name for the *Bacillus*-like bacteria[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2015, 30(1): 38-59 (in Chinese)
刘波, 王阶平, 陶天申, 等. 芽胞杆菌属及其近缘属种名目录[J]. 福建农业学报, 2015, 30(1): 38-59
- [2] Stackebrandt E, Frederiksen W, Garrity GM, et al. Report of the ad hoc committee for the re-evaluation of the species definition in bacteriology[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2002, 52(3): 1043-1047
- [3] Tindall BJ, RossellóMóra R, Busse HJ, et al. Notes on the characterization of prokaryote strains for taxonomic purposes[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2010, 60(1): 249-266
- [4] Logan NA, Berge O, Bishop AH, et al. Proposed minimal standards for describing new taxa of aerobic, endospore-forming bacteria[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2009, 59(8): 2114-2121
- [5] Ahmed I, Yokota A, Fujiwara T. *Gracilibacillus boracitolerans* sp. nov., a highly boron-tolerant and moderately halotolerant bacterium isolated from soil[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2007, 57(4): 796-802
- [6] Abd El-Rahman HA, Fritze D, Spröer C, et al. Two novel psychrotolerant species, *Bacillus psychrotolerans* sp. nov. and *Bacillus psychrodurans* sp. nov., which contain ornithine in their cell walls[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2002, 52(6): 2127-2133
- [7] Suresh K, Prabakaran SR, Sengupta S, et al. *Bacillus indicus* sp. nov., an arsenic-resistant bacterium isolated from an aquifer in West Bengal, India[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2004, 54(4): 1369-1375
- [8] Liu B, Liu GH, Lin NQ. Phylogeny of the genus *Bacillus* based on fatty acids biomarkers[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2014, 54(2): 139-158 (in Chinese)
刘波, 刘国红, 林乃铨. 基于脂肪酸生物标记芽胞杆菌属种类

- 的系统发育[J]. 微生物学报, 2014, 54(2): 139-158
- [9] Kaneda T. Fatty acids of the genus *Bacillus*: an example of branched-chain preference[J]. Bacteriological Reviews, 1977, 41(2): 391-418
 - [10] Kim M, Oh HS, Park SC, et al. Towards a taxonomic coherence between average nucleotide identity and 16S rRNA gene sequence similarity for species demarcation of prokaryotes[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2014, 64(2): 346-351
 - [11] Yarza P, Richter M, Peplies J, et al. The all species living tree project: a 16S rRNA-based phylogenetic tree of all sequenced type strains[J]. Systematic and Applied Microbiology, 2008, 31(4): 241-250
 - [12] Kim OS, Cho YJ, Lee K, et al. Introducing EzTaxon-e: a prokaryotic 16S rRNA gene sequence database with phylotypes that represent uncultured species[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2012, 62(3): 716-721
 - [13] Wang, LT, Lee FL, Tai CJ, et al. Comparison of *gyrB* gene sequences, 16S rRNA gene sequences and DNA-DNA hybridization in the *Bacillus subtilis* group[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2007, 57(8): 1846-1850
 - [14] da Mota FF, Gomes EA, Paiva E, et al. Assessment of the diversity of *Paenibacillus* species in environmental samples by a novel *rpoB*-based PCR-DGGE method[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2005, 53(2): 317-328
 - [15] Zeigler DR. Application of a *recN* sequence similarity analysis to the identification of species within the bacterial genus *Geobacillus*[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2005, 55(3): 1171-1179
 - [16] Priest FG, Barker M, Baillie LWJ, et al. Population structure and evolution of the *Bacillus cereus* group[J]. Journal of Bacteriology, 2004, 186(23): 7959-7970
 - [17] Sorokin A, Candelon B, Guilloux K, et al. Multiple-locus sequence typing analysis of *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* reveals separate clustering and a distinct population structure of psychrotrophic strains[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006, 72(2): 1569-1578
 - [18] Wayne LG, Brenner DJ, Colwell RR, et al. Report of the ad hoc committee on reconciliation of approaches to bacterial systematics[J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1987, 37(4): 463-464
 - [19] Ursing JB, Rosselló-Móra RA, García-Valdés E, et al. Taxonomic note: a pragmatic approach to the nomenclature of phenotypically similar genomic groups[J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1995, 45(3): 604
 - [20] de Ley J, Cattoir H, Reynaerts A. The quantitative measurement of DNA hybridization from renaturation rates[J]. European Journal of Biochemistry, 1970, 12(1): 133-142
 - [21] Logan NA, de Vos P. Genus I. *Bacillus*[A]/Garrity GM, Jones D, Krieg NR, et al. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology[M]. New York: Springer, 2009: 21-128
 - [22] Chun J, Rainey FA. Integrating genomics into the taxonomy and systematics of the *Bacteria* and *Archaea*[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2014, 64(2): 316-324
 - [23] Rosselló-Móra R. Updating prokaryotic taxonomy[J]. Journal of Bacteriology, 2005, 187(18): 6255-6257
 - [24] Konstantinidis KT, Tiedje JM. Genomic insights that advance the species definition for prokaryotes[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2005, 102(7): 2567-2572
 - [25] Richter M, Rosselló-Móra R. Shifting the genomic gold standard for the prokaryotic species definition[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2009, 106(45): 19126-19131
 - [26] Liu B, Hu GP, Tang WQ. Characteristic of average nucleotide identity (ANI) based on the whole genomes from *Bacillus* species in *Bacillus*-like genus[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2013, 28(9): 833-843 (in Chinese)
 - 刘波, 胡桂萍, 唐唯其. 基于全基因组的芽孢杆菌平均核苷酸同源性(ANI)分析[J]. 福建农业学报, 2013, 28(9): 833-843
 - [27] Liu B, Liu GH, Hu GP, et al. *Bacillus bingmayongensis* sp. nov., isolated from the pit soil of Emperor Qin's Terra-cotta Warriors in China[J]. Antonie van Leeuwenhoek, 2014, 105(3): 501-510
 - [28] Meier-Kolthoff JP, Auch AF, Klenk HP, et al. Genome sequence-based species delimitation with confidence intervals and improved distance functions[J]. BMC Bioinformatics, 2013, 14(1): 60
 - [29] Auch AF, Klenk HP, Göker M. Standard operating procedure for calculating genome-to-genome distances based on high-scoring segment pairs[J]. Standards in Genomic Sciences, 2010, 2(1): 142-148
 - [30] Auch AF, von Jan M, Klenk HP, et al. Digital DNA-DNA hybridization for microbial species delineation by means of genome-to-genome sequence comparison[J]. Standards in Genomic Sciences, 2010, 2(1): 117-134
 - [31] Ramasamy D, Mishra AK, Lagier JC, et al. A polyphasic strategy incorporating genomic data for the taxonomic description of novel bacterial species[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2014, 64(2): 384-391
 - [32] Stropko SJ, Pipes SE, Newman JD. Genome-based reclassification of *Bacillus cibi* as a later heterotypic synonym of *Bacillus indicus* and emended description of *Bacillus indicus*[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2014, 64(11): 3804-3809
 - [33] Qin QL, Xie BB, Zhang XY, et al. A proposed genus boundary for the prokaryotes based on genomic insights[J]. Journal of Bacteriology, 2014, 196(12): 2210-2215
 - [34] Liu B. Microbial Ecology Fatty Acids[M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2011 (in Chinese)
 - 刘波. 微生物脂肪酸生态学[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2011
 - [35] Lan JL, Liu B, Chen L, et al. Characteristics of PLFA biomarkers for the endophytic bacteria inside *Musa* plants[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2010, 43(10): 2045-2055 (in Chinese)
 - 蓝江林, 刘波, 陈璐, 等. 芭蕉属植物内生细菌磷脂脂肪酸(PLFA)生物标记特性的研究[J]. 中国农业科学, 2010, 43(10): 2045-2055
 - [36] Liu ZH, Cai XS, Zhu PB, et al. Study on species identification of *Mycobacteria* by gas chromatography analysis of whole-cell fatty acid[J]. Chinese Journal of Tuberculosis and Respiratory Diseases, 2005, 28(6): 403-406 (in Chinese)
 - 刘志辉, 蔡杏珊, 竺澎波, 等. 应用气相色谱技术分析全细胞脂肪酸快速鉴定分枝杆菌[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2005, 28(6): 403-406
 - [37] Guinebreière MH, Auger, S, Galleron N, et al. *Bacillus cytotoxicus* sp. nov. is a novel thermotolerant species of the *Bacillus cereus* group occasionally associated with food poisoning[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2013, 63(1): 31-40
 - [38] Saito K. Chromatographic studies on bacterial fatty acids[J]. The Journal of Biochemistry, 1960, 47(6): 699-709
 - [39] Wang QH, Lan JL, Zhu YJ, et al. Fingerprint analysis on methyl fatty acid and its applications in microbial study[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2007, 22(2): 213-218 (in Chinese)
 - 王秋红, 蓝江林, 朱育菁, 等. 脂肪酸甲酯谱图分析方法及其在微生物学领域的应用[J]. 福建农业学报, 2007, 22(2): 213-218
 - [40] Zhu YJ, Su MX, Huang SF, et al. Effect of cultural condition on fatty acid composition of *Ralstonia solanacearum*[J]. Microbiology China, 2009, 36(8): 1158-1165 (in Chinese)
 - 朱育菁, 苏明星, 黄素芳, 等. 培养条件对青枯雷尔氏菌脂肪

- 酸组成的影响[J]. 微生物学通报, 2009, 36(8): 1158-1165
- [41] Liu GH, Lin YZ, Liu B, et al. Comparison of *Bacillus* species identification based on its and fatty acid analysis[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2012, 27(2): 173-180 (in Chinese)
刘国红, 林营志, 刘波, 等. 芽胞杆菌属种类脂肪酸鉴定与分子鉴定方法的比较[J]. 福建农业学报, 2012, 27(2): 173-180
- [42] Cayrou C, Raoult D, Drancourt M. Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry for the identification of environmental organisms: the *Planctomycetes paradigm*[J]. Environmental Microbiology Reports, 2010, 2(6): 752-760
- [43] Ruelle V, El Moualij B, Zorzi W, et al. Rapid identification of environmental bacterial strains by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry[J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2004, 18(18): 2013-2019
- [44] de Bruyne K, Slabbinck B, Waegemann W, et al. Bacterial species identification from MALDI-TOF mass spectra through data analysis and machine learning[J]. Systematic and Applied Microbiology, 2011, 34(1): 20-29
- [45] Teramoto K, Kitagawa W, Sato H, et al. Phylogenetic analysis of *Rhodococcus erythropolis* based on the variation of ribosomal proteins as observed by matrix-assisted laser desorption ionization-mass spectrometry without using genome information[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2009, 108(4): 348-353
- [46] Welker M, Moore ERB. Applications of whole-cell matrix-assisted laser-desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry in systematic microbiology[J]. Systematic and Applied Microbiology, 2011, 34(1): 2-11
- [47] Ramasamy D, Lagier JC, Gorlas A, et al. Non contiguous-finished genome sequence and description of *Bacillus massiliosenegalensis* sp. nov.[J]. Standards in Genomic Sciences, 2013, 8(2): 264-278
- [48] Keita MB, Diene SM, Robert C, et al. Non-contiguous finished genome sequence and description of *Bacillus massiliogorillae* sp. nov.[J]. Standards in Genomic Sciences, 2013, 9(1): 93-105
- [49] Chen Z, Liu B, Shi H, et al. Metabonomic heterogeneity of extracellular metabolites of three *Bacillus* genera[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2012, 27(12): 1347-1351 (in Chinese)
陈峥, 刘波, 史怀, 等. 基于代谢组学的芽胞杆菌属间胞外代谢物异质性研究[J]. 福建农业学报, 2012, 27(12): 1347-1351
- [50] Liu GH, Liu B, Lin NQ, et al. Identification of *Bacillus* species FJAT-13831 based on the gas chromatography/mass spectrometer[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2014, 5(10): 3305-3312 (in Chinese)
刘国红, 刘波, 林乃铨, 等. 基于 GC/MS 对 1 株芽胞杆菌 FJAT-13831 的鉴定[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 5(10): 3305-3312
- [51] Liu B, Liu GH, Sengonca C, et al. *Bacillus solani* sp. nov., isolated from rhizosphere soil of a potato field[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2015, 65(11): 4066-4071
- [52] Liu B, Liu GH, Sengonca C, et al. *Bacillus wuyishanensis* sp. nov., isolated from rhizosphere soil of a medical plant, *Prunella vulgaris*[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2015, 65(7): 2030-2035
- [53] Liu B, Liu GH, Sengonca C, et al. *Bacillus taiwanensis* sp. nov., isolated from a soil sample from Taiwan[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2015, 65(7): 2078-2084
- [54] Liu B, Liu GH, Cetin S, et al. *Bacillus gobiensis* sp. nov., isolated from a soil sample[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2016, 66(1): 379-384
- [55] Wang YY, Yuan SK, Li FG. Microbial pesticide registration and management[J]. Agrochemicals, 2009, 48(2): 79-81,95 (in Chinese)
王以燕, 袁善奎, 李富根. 微生物农药登记管理[J]. 农药, 2009, 48(2): 79-81,95
- [56] Downes S, Parker T, Mahon R. Incipient resistance of *Helicoverpa punctigera* to the Cry2Ab Bt toxin in Bollgard II® cotton[J]. PLoS One, 2010, 5(9): e12567
- [57] Li J, Zhang XH, Ma Y, et al. Study on detection technology and survival competitiveness of transgenic *Cry1Ac* plus *Cry2Ab* cotton in case of target pests not be controlling[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2013, 41(6): 2523-2526 (in Chinese)
李捷, 张兴华, 马艳, 等. 转双价抗虫基因(*Cry1Ac*+*Cry2Ab*)棉靶标害虫不防治环境下检测技术和生存竞争能力研究[J]. 安徽农业科学, 2013, 41(6): 2523-2526
- [58] Liu B, Zhu YJ, Sengonca C. Laboratory studies on the effect of the bioinsecticide GCSC-BtA-on mortality and feeding of diamondback moth *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera, Plutellidae) larvae on cabbage[J]. Journal of Plant Disease and Protection, 2006, 113(1): 31-36
- [59] Liu B, Sengonca C. Investigations on side-effects of the mixed biocide GCSC-BtA-on different predators of *Plutella xylostella* (L.) (Lep., Plutellidae) in southeastern China[J]. Anzeiger für Schädlingkunde/Journal of Pest Science, 2002, 75(3): 57-61
- [60] Liu B, Sengonca C. Conjugation of δ -endotoxin from *Bacillus thuringiensis* with abamectin of *Streptomyces avermitilis* as a new type of biocide, GCSC-BtA, for control of agricultural insect pests[J]. Anzeiger für Schädlingkunde/Journal of Pest Science, 2003, 76(2): 44-49
- [61] Pan ZZ, Zhu YJ, Chen Z, et al. A protein engineering of *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxin by conjugating with 4"-O-succinoyl abamectin[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2013, 62: 211-216
- [62] Panda AK, Bisht SS, DeMondal S, et al. *Brevibacillus* as a biological tool: a short review[J]. Antonie Van Leeuwenhoek, 2014, 105(4): 623-639
- [63] Ge CB, Liu B, Lan JL, et al. Inhibition activity of biocontrol bacteria strain JK-2 on *Fusarium oxysporum*[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2009, 24(1): 29-34 (in Chinese)
葛慈斌, 刘波, 蓝江林, 等. 生防菌 JK-2 对尖孢镰刀菌抑制特性的研究[J]. 福建农业学报, 2009, 24(1): 29-34
- [64] Che JM, Fu P, Liu B, et al. The preservation feature of a freshness-keeping function bacterium strain FJAT-0809-GLX to *Dimocarpus longanan Lour*[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2010, 31(9): 1632-1640 (in Chinese)
车建美, 付萍, 刘波, 等. 保鲜功能微生物 FJAT-0809-GLX 对龙眼保鲜特性的研究[J]. 热带作物学报, 2010, 31(9): 1632-1640
- [65] Che JM, Zheng XF, Liu B, et al. Preparation of *Brevibacillus brevis* FJAT-0809-GLX agent and study on its effect on Loquats (*Eriobotrya japonica*) [J]. Storage and Process, 2011, 11(5): 6-9 (in Chinese)
车建美, 郑雪芳, 刘波, 等. 短短芽胞杆菌 FJAT-0809-GLX 菌剂的制备及其对枇杷保鲜效果的研究[J]. 保鲜与加工, 2011, 11(5): 6-9
- [66] Che JM, Liu B, Guo HH, et al. Growth-promoting effect of *Brevibacillus brevis* FJAT-0809-GLX on tomato[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2015, 30(5): 498-503 (in Chinese)
车建美, 刘波, 郭慧慧, 等. 短短芽胞杆菌 FJAT-0809-GLX 对番茄促生长作用的研究[J]. 福建农业学报, 2015, 30(5): 498-503
- [67] Zhou XZ, Zhang QW, Zhu YJ, et al. Inhibitory efficacy of the supernatant fluid fermented by strain Bs-8093 *Bacillus sphaericus* on *Ralstonia solanacearum*[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2006, 21(1): 21-23 (in Chinese)
周先治, 张青文, 朱育菁, 等. 球形芽胞杆菌 Bs-8093 发酵上清液对青枯雷尔氏菌的抑菌作用[J]. 福建农业学报, 2006,

- 21(1): 21-23
- [68] Qiu SQ, Yang H, Zhao CA, et al. Identification of an endophytic *Brevibacillus brevis* and its antifungal activities against phytopathogens[J]. Natural Product Research and Development, 2009, 21(S): 30-33 (in Chinese)
邱孙全, 杨红, 赵春安, 等. 一株内生短短芽孢杆菌的鉴定及其抗菌活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2009, 21(S): 30-33
- [69] Zhang Y. The antifungal protease from *Brevibacillus laterosporus*[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2006, 22(2): 146-149 (in Chinese)
张楹. 侧孢芽孢杆菌产生的抑真菌蛋白酶[J]. 中国生物防治, 2006, 22(2): 146-149
- [70] Lin YZ, Liu GH, Liu B, et al. Screening biological control agents *Bacillus* spp., against *Fusarium oxysporum* sp. *cubense* and its inhibitory characteristics[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2011, 26(6): 1007-1015 (in Chinese)
林营志, 刘国红, 刘波, 等. 香蕉枯萎病芽孢杆菌生防菌的筛选及其抑菌特性研究[J]. 福建农业学报, 2011, 26(6): 1007-1015
- [71] Wu JZ. Production and characterization of biosurfactants from *Paenibacillus macerans* TKU029[D]. Xinbei: Master's Thesis of Tamkang University, 2011 (in Chinese)
吴佳真. *Paenibacillus macerans* TKU029 产生生物界面活性剂之条件与特性分析[D]. 新北: 淡江大学硕士学位论文, 2011
- [72] Wang K, Cui ZF, Qiu JP, et al. Isolation, identification and antagonistic research of *Virgibacillus* sp. ZJUT-K15[J]. Journal of Zhejiang University of Technology, 2009, 37(5): 525-529 (in Chinese)
汪琨, 崔志峰, 裘娟萍, 等. 烟草黑胫病菌拮抗菌的筛选及鉴定[J]. 浙江工业大学学报, 2009, 37(5): 525-529
- [73] Huang SF, Su MX, Shi H, et al. Effect of probiotics "Luqingkang" on growth performance and disease control of meat chicken[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2009, 25(8): 16-18 (in Chinese)
黄素芳, 苏明星, 史怀, 等. 益生菌“绿禽康”对肉鸡生产性能的影响及防病效果[J]. 中国农学通报, 2009, 25(8): 16-18
- [74] Li GJ. Effects of replacement of antibiotics with condensate Bacilli on pig performance[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2004(10): 72-74 (in Chinese)
李国建. 凝结芽孢杆菌替代抗生素对猪生产性能的影响[J]. 河南农业科学, 2004(10): 72-74
- [75] Li FB, Chen BJ, Yu HM, et al. Study on stress resistance and probiotic characteristics of *Bacillus polymyxa* *in vitro*[J]. Journal of Agricultural University of Hebei, 2010, 33(3): 78-82 (in Chinese)
李福彬, 陈宝江, 于会民, 等. 多粘类芽孢杆菌抗逆性与益生性的体外评价[J]. 河北农业大学学报, 2010, 33(3): 78-82
- [76] Guo CS, Cui TB, Guo Y. Developments in alkaline cellulase from alkaliphilic *Bacillus*[J]. Amino Acids & Biotic Resources, 2007, 29(1): 35-38 (in Chinese)
郭成栓, 崔堂兵, 郭勇. 嗜碱芽孢杆菌产碱性纤维素酶研究概况[J]. 氨基酸和生物资源, 2007, 29(1): 35-38
- [77] Kong QX, Luo CA, Liu ZC, et al. Study on bacterial degumming for jute and kenaf: II. cultivation and degumming experiment of artificial inoculation of *B. polymyxa* T1163[J]. China's Fiber Crops, 1991(1): 42-46 (in Chinese)
孔庆祥, 罗才安, 刘正初, 等. 黄麻和红麻微生物脱胶研究: II. 多粘芽孢杆菌(*B. polymyxa*) T1163 的扩大培养及人工接种脱胶试验[J]. 中国麻作, 1991(1): 42-46
- [78] Tian MJ, Shao ZZ. Isolation and characterization of manganese resistant bacteria from deep sea sediments[J]. Journal of Xiamen University (Natural Science), 2006, 45(S): 272-276 (in Chinese)
田美娟, 邵宗泽. 深海抗锰细菌的分离鉴定[J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 2006, 45(S): 272-276
- [79] Luo P, Luo GY, Zuo ZH. Flocculation performance of *Bacillus brevis* RL-2[J]. Industrial Water & Wastewater, 2006, 37(4): 61-63 (in Chinese)
罗平, 罗固源, 左赵宏. 短芽孢杆菌 RL-2 的絮凝性能研究[J]. 工业用水与废水, 2006, 37(4): 61-63
- [80] Luo P, Zou XB, Luo GY. Characteristics of extracellular bioflocculant *Bacillus brevis*[J]. Technology of Water Treatment, 2005, 31(6): 20-23 (in Chinese)
罗平, 邹小兵, 罗固源. 胞外多糖生物絮凝剂 RL-2 的性能研究[J]. 水处理技术, 2005, 31(6): 20-23
- [81] Yang ZH, Tao R, Zeng GM, et al. Culture medium and grading culture technics for bioflocculant production by *Paenibacillus polymyxa* GA1[J]. Environmental Science, 2006, 27(7): 1444-1449 (in Chinese)
杨朝晖, 陶然, 曾光明, 等. 多粘类芽孢杆菌 GA1 产絮凝剂的培养基和分段培养工艺[J]. 环境科学, 2006, 27(7): 1444-1449
- [82] Liu J, Yang B. Isolation, identification and characteristics of a high effective oil-degrading strain[J]. China Oils and Fats, 2010, 35(1): 41-44 (in Chinese)
刘婕, 杨博. 一株高效油脂降解菌的分离鉴定及其性能研究[J]. 中国油脂, 2010, 35(1): 41-44
- [83] Wang TP. Isolation and identification of a phenol-degrading strain[J]. Journal of Henan Institute of Science and Technology (Natural Sciences Edition), 2011, 39(1): 43-46, 55 (in Chinese)
王太平. 苯酚降解菌的筛选与鉴定[J]. 河南科技学院学报: 自然科学版, 2011, 39(1): 43-46, 55
- [84] Lu SX. Microbiological community and biocontrol effects of microbial-fermentation bed piggery on the pig bacterial pathogens[D]. Fuzhou: Master's Thesis of Fujian Agriculture and Forestry University, 2011 (in Chinese)
卢舒娴. 养猪发酵床垫料微生物群落动态及其对猪细菌病原生防作用的研究[D]. 福州: 福建农林大学硕士学位论文, 2011
- [85] Sumi CD, Yang BW, Yeo IC, et al. Antimicrobial peptides of the genus *Bacillus*: a new era for antibiotics[J]. Canadian Journal of Microbiology, 2015, 61(2): 93-103
- [86] Awais M, Shah AA, Hameed A, et al. Isolation, identification and optimization of bacitracin produced by *Bacillus* sp.[J]. Pakistan Journal of Botany, 2007, 39(4): 1303-1312
- [87] Torres NI, Noll KS, Xu SQ, et al. Safety, formulation and *in vitro* antiviral activity of the antimicrobial peptide subtilisin against herpes simplex virus type 1[J]. Probiotics and Antimicrobial Proteins, 2013, 5(1): 26-35
- [88] Ayed HB, Hmidet N, Béchet M, et al. Identification and biochemical characteristics of lipopeptides from *Bacillus mojavensis* A21[J]. Process Biochemistry, 2014, 49(10): 1699-1707
- [89] Li WG, Chen YT. Status of research on recombinant *Bacillus subtilis* vaccines against pathogens[J]. Journal of Pathogen Biology, 2014, 9(7): 651-656, 660 (in Chinese)
李文桂, 陈雅棠. 病原体重组枯草芽孢杆菌疫苗的研制现状[J]. 中国病原生物学杂志, 2014, 9(7): 651-656, 660
- [90] Hui M, Tian Q, Deng FN. Production of Vitamin K by fermentation with *Bacillus subtilis* B53[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2009, 37(8): 3450-3452 (in Chinese)
惠明, 田青, 邓凤妮. 利用枯草芽孢杆菌 B53 发酵法生产维生素 K[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(8): 3450-3452
- [91] Chen Z, Liu B, Zhu YJ, et al. Analysis and testing on leflunomide from *Bacillus gibsonii* FJAT-10019[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2014, 5(11): 3672-3678 (in Chinese)
陈峥, 刘波, 朱育菁, 等. 吉氏芽孢杆菌来源来氟米特分析与检测[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 5(11): 3672-3678