

# 一株新的拮抗细菌 SL19 及其抑菌活性物质

刘莲娜<sup>1</sup> 孙伟明<sup>2</sup> 郭巍<sup>1,2\*</sup> 冯丽娜<sup>2</sup> 徐大庆<sup>1</sup> 刘大群<sup>2\*</sup>

(1. 河北农业大学 生命科学学院 河北 保定 071000)

(2. 河北农业大学 植物保护学院 河北省农作物病虫害生物防治工程技术中心 河北 保定 071000)

**摘要:** 生防菌 SL19 对多种植物病原菌有抑菌活性。通过形态观察、生理生化实验和基于 16S rDNA 同源性序列分析构建系统发育树, 鉴定该菌为 *Bacillus velezensis*。利用对峙实验测定了该菌的抑菌谱, 发现该菌对大丽轮枝菌、尖孢镰刀菌、灰葡萄孢菌、立枯丝核菌、疮痂链霉菌等多种植物病原微生物有明显的抑菌作用。利用硫酸铵盐析法分离纯化活性物质, 并对其理化性质进行初步探索显示: 抑菌活性物质经 60 °C、80 °C 处理 20 min 后的抑菌活性不变; 经 100 °C 处理 20 min, 活性降低为原来的 75.3%; 经 120 °C 处理 20 min 后抑菌活性完全丧失。对胰蛋白酶、胃蛋白酶、蛋白酶 K、氯仿、紫外光均不敏感, SDS-PAGE 检测发现该抑菌活性物质中含有分子量约为 50 kD 的蛋白质, 初步推测该菌分泌的抑菌活性物质主要是蛋白质类物质。实验表明, 该抗菌蛋白能够抑制大丽轮枝菌菌丝的生长及孢子的萌发, 为该菌用于生物防治提供了理论基础。

**关键词:** *Bacillus velezensis*, 抑菌活性物质, 生物防治

## A novel antagonistic bacterium SL19 and its antifungal substance

LIU Lian-Na<sup>1</sup> SUN Wei-Ming<sup>2</sup> GUO Wei<sup>1,2\*</sup> FENG Li-Na<sup>2</sup> XU Da-Qing<sup>1</sup>  
LIU Da-Qun<sup>2\*</sup>

(1. College of Life Science, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071000, China)

(2. Biological Control Centre of Plant Diseases and Pests of Hebei Province, College of Plant Protection, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071000, China)

**Abstract:** Microbial biocontrol agents SL19 has strong antimicrobial activity to many plant pathogens. By morphological, physiological and biochemical experiments and 16S rDNA sequence homology analysis, SL19 was identified as *Bacillus velezensis*. Antifungal spectrum was confirmed by confrontation tests. The results showed that SL19 has significant inhibitory effect against *Verticillium dahliae*, *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani*, *Sreptomyces scabies*, etc. Active substances

基金项目: 国家 863 计划项目(No. 2006AA10A211); 国家 973 计划项目(No. 2009CB118902)

\* 通讯作者: 郭巍: Tel: 86-312-7528178; ✉: guowei@hebau.edu.cn

刘大群: Tel: 86-312-7528500; ✉: ldq@hebau.edu.cn

收稿日期: 2010-12-09; 接受日期: 2011-04-01

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>

were separated and purified using ammonium sulfate method, and physical and chemical properties were studied. Antifungal substances were heated at 60 °C, 80 °C for 20 min, respectively, and antifungal activity has no difference; After 100 °C treatment for 20 min, antifungal activity decreased to 75.3% of the control; after 120 °C treatment for 20 min, antifungal activity was completely lost. Antifungal substances were not sensitive to trypsin, pepsin, proteinase K, UV radiation and chloroform. SDS-PAGE analysis revealed that the antifungal substances contained a kind of about 50 kD protein. It can be preliminarily concluded that the antifungal substance secreted by this strain was mainly protein. Tests suggested that the antifungal protein could inhibit the growth of hyphae and spore germination of *Verticillium dahliae*. The study on this strain would provide theoretical basis for biological control.

**Keywords:** *Bacillus velezensis*, Antibacterial activity, Biological control

在农业生产过程中,植物病原菌引起植物病害,严重影响植物的生长发育和产量,甚至导致植物死亡。长期使用化学农药会使某些病原菌的抗性增加,还会造成环境污染<sup>[1]</sup>,因此生物农药的开发迫在眉睫,利用微生物来抑制植物病原菌为病害的生物防治提供了可能。其中,芽孢杆菌是植物病害生物防治的研究热点,因其菌体本身及其产生的抗菌物质在控制病害发生、促进植株生长等方面均有良好的表现,在植物病害生物防治中显示出了广阔的应用前景<sup>[2]</sup>。

芽孢杆菌在自然界中广泛存在,能够产生对热、紫外线、电磁辐射和某些化学药品稳定的物质,其芽孢具有抗逆性好、利于保藏的特点,又能忍受极端的外部环境而长期存活,适合于制成生防制剂<sup>[3]</sup>。目前,一些芽孢杆菌优势菌株已经作为生物农药投入到植物病害应用中,一些菌株在国外已登记为生物杀菌剂,用于防治白粉病、灰霉病、纹枯病、菌核病、晚疫病等多种气传和土传真菌病害<sup>[4]</sup>。国内外研究者对枯草芽孢杆菌、假单胞菌等的研究较为普遍,而对 *Bacillus velezensis* 的研究较少。美国研究者<sup>[5]</sup>发现, *Bacillus velezensis* AH2 菌株对葡萄孢菌、腐霉菌、疫霉菌、丝核菌、核盘菌、青霉菌、链格孢菌等均有强烈的抑制作用,通过叶片喷雾法实验证明, *Bacillus velezensis* s AH2 的生物制剂与化学药品相比,对植物病害的防治效果没有显著差异。韩国科学家 Mi-Young 等<sup>[6]</sup>筛选得到的 *Bacillus velezensis* G341 对稻瘟病、水稻纹枯病、辣椒炭疽病、番茄灰霉病、小麦根腐病、大麦白粉病等植物病害均有很强的抑制作用。王伟等<sup>[7]</sup>发现

*Bacillus velezensis* X-75 菌株对番茄灰霉病具有明显的拮抗作用。

本研究对筛选分离到的一株对大丽轮枝菌等具有较强拮抗作用的生防菌 SL19 进行了分类鉴定,该生防菌为 *Bacillus velezensis*, 测定其抑菌谱,并对菌株产生的活性物质进行提取,初步研究其部分理化特性,为该生防菌的进一步研究和应用打下了基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌株

大丽轮枝菌、尖孢镰刀菌、灰葡萄孢菌、立枯丝核菌、疮痂链霉菌等均由河北农业大学植物保护学院生物防治实验室提供。

### 1.2 培养基

NA 培养基:用于芽孢杆菌的平板培养及斜面保存;PDA 培养基:用于病原菌的培养和拮抗菌活性测定;TSB 培养基:用于芽孢杆菌的液体一级培养;NB 液体培养基:用于芽孢杆菌的发酵培养<sup>[8]</sup>。

### 1.3 试剂

DNA 凝胶回收纯化试剂盒、PCR 反应用的各种试剂均购自大连 TaKaRa 公司;基因组 DNA 提取用试剂盒购自百泰克生物公司。

### 1.4 菌株的形态及生理生化特性

参照文献<sup>[9]</sup>对菌株进行生理生化鉴定。

### 1.5 菌株 16S rDNA 分析

16S rDNA 的 PCR 扩增参照文献<sup>[10]</sup>,引物序列为:Primer 1 (F27): 5'-AGAGTTTGATCATGGCTCA G-3'; Primer 2 (R1492): 5'-TACGGTTACCTTGTTA

CGACTT-3'。PCR 产物用 DNA 凝胶回收纯化试剂盒纯化, 委托上海生工生物工程有限公司测序。将所得序列与数据库信息比对分析, 结合菌落菌体形态及生化测定确定生防菌株种类, 进行同源性分析, 并构建系统发育树。

## 1.6 抑菌谱的测定

参照文献[11], 利用对峙法对植物病原菌进行抑菌活性测定。

## 1.7 SL19 抑菌活性物质的初步研究

**1.7.1 抑菌活性物质的提取:** 从新鲜的斜面培养物中, 挑取一环接种于液体 TSB 培养基中, 28 °C、200 r/min 培养至对数生长末期, 在 500 mL 三角瓶中, 装液量为 150 mL 条件下, 以 2% 接种量接种于 NB 液体培养基振荡培养后, 将培养液于 4 °C、10 000 r/min 离心 15 min 去除菌体, 取上清液先用 3 层滤纸过滤, 再用 0.22 μm 细菌过滤器过滤。

分别取离心除菌体上清过滤液 20 mL 于 10 只大试管中, 依次缓慢加入硫酸铵至各个不同饱和度, 用振荡混匀器缓慢混匀, 于 4 °C 静置过夜。以 9 000 r/min 离心 15 min 后, 收集沉淀, 将沉淀溶于原体积 1/20 的 20 mmol/L pH 7.0 的磷酸盐缓冲液中, 再置于透析袋(8 000 D)用同样的缓冲液脱盐, 透析, 浓缩, 至此得到抑菌活性物质粗提液, 牛津杯法检测沉淀溶解液及抑菌活性物质提取过程中不同组分的抑菌活性<sup>[12]</sup>。

**1.7.2 抑菌活性物质产生的最佳时间:** 取不同时间点(12、24、36、48、60、72、84、96 h)的培养液, 经过滤除菌体后通过牛津杯定量扩散法测定对指示菌 *Verticillium dahliae* 的抑菌活性。

**1.7.3 pH 值稳定性:** 取适量抑菌活性物质粗提物, 并分别将其调成不同的 pH 值, 置 4 °C 过夜, 用乳酸和氢氧化钠将各 pH 值调回中性后检测活性。静置 20 min 后, 取一定量进行拮抗活性检测, 对照为未经酸、碱处理的原样品<sup>[13]</sup>。

**1.7.4 抑菌活性物质对温度稳定性的测定:** 取抗菌物质粗提液分别在 60 °C、80 °C、100 °C 和 120 °C 处理 20 min, 以 4 °C 放置的悬液做对照, 测定抗菌物质活性<sup>[13]</sup>。

**1.7.5 蛋白酶稳定性:** 取提取的抑菌活性物质分别与胃蛋白酶、胰蛋白酶、蛋白酶 K 混合, 并使酶的终浓度为 0.5 g/L, 37 °C 作用 3 h 后, 测定抗菌物质活性, 同时以未处理的抑菌活性物质和蛋白酶作对照, 观察抑菌状况和抑菌圈大小<sup>[2]</sup>。

**1.7.6 紫外线稳定性:** 抑菌活性物质置于 30 W 紫外灯下, 距离 30 cm 照射 24 h 后, 观察抑菌状况。

**1.7.7 氯仿稳定性:** 粗提液与等量氯仿混合振荡抽提 60 min, 离心, 取上清液, 待残留氯仿挥发后, 分别取 200 μL 水相和有机相做活性检测, 对照为等量氯仿和原样品<sup>[2]</sup>。

## 1.8 SDS-PAGE

抑菌活性物质的 SDS-PAGE 电泳分析所用分离胶浓度为 10%, 浓缩胶浓度为 5%。

## 1.9 抑菌活性物质对大丽轮枝菌菌丝及孢子的影响

挑取 PDA 斜面培养好的大丽轮枝菌菌丝, 加入 20 μL 过滤除菌的抑菌活性物质粗提液, 以凹玻片悬滴法<sup>[14]</sup>培养于纱布保湿的培养皿中, 28 °C 培养 24 h, 镜检。以无菌水为对照。

## 2 结果与分析

### 2.1 菌株的分类鉴定

**2.1.1 菌株的形态特征:** 菌体呈杆状, 革兰氏染色阳性, 染色均匀; 好氧, 产生芽孢, 芽孢中生, 芽孢囊不膨大, 呈椭圆形, 游离芽孢表面着色弱(图 1); 乳白色不透明菌落, 生长初期表面平滑凸起、湿润饱满, 后期干燥有褶皱, 表面粗糙, 菌落边缘不规则; 在多种培养基上均不产色素; 在液体培养基中静止培养, 表面形成白色菌膜。

**2.1.2 菌株的生理生化特征:** 该菌株的生理生化特征见表 1, 参考《伯杰氏细菌鉴定手册》和《常见细

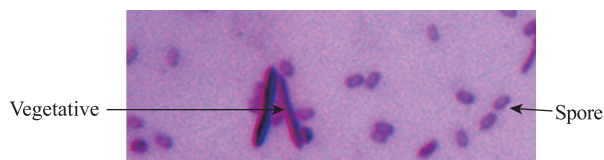


图 1 SL19 菌体及芽孢形态( $\times 400$ )

Fig. 1 The morphology and spore of SL19 ( $\times 400$ )

表 1 SL19 菌株的主要生理生化特性  
Table 1 Physiological and biochemical characteristics of SL19

| 生理生化特征<br>Physiological and biochemical characteristics | 结果<br>Results | 生理生化特征<br>Physiological and biochemical characteristics | 结果<br>Results |
|---|---------------|---|---------------|
| Gelatin liquefaction                                    | +             | Glucose zymolysis test                                  | +             |
| Methyl red test   | -             | D-Glucose   | +             |
| V-P test  | -             | D-Mannitol  | +             |
| Anaerobic Growth  | -             | D-Xylopyranose  | +             |
| Starchhydrolysis  | +             | D-Sucrose   | -             |
| Nitrate reduction test                                  | +             | D-Fructose  | +             |
| Citrate   | +             | Growth pH 6.8   | +             |
| Lecithin hydrolysis                                     | +             | Growth pH 7.2   | +             |
| Idol reaction   | +             | Moveability test  | -             |
| Catalase reaction                                       | +             | Litmus milk   | -             |
| Crystalline dextrin production test                     | -             | Tartrate utilization test                               | +             |
| Glucosamine   | +             | Propionate  | -             |

Note: +: Positive; -: Negative.

菌系统鉴定手册》，菌株与 *Bacillus velezensis* 非常相近。

**2.1.3 16S rDNA 序列测定及分析：**菌株 SL19 的 16S rDNA PCR 扩增产物电泳结果如图 2 所示。回收片段经测序后，提交该序列到 GenBank，序列号为 HM594179。用 ClustalX 和 MEGA 软件进行分析，Neighbour-Joining 法构建系统发育树，如图 3 所示。该菌株与 *Bacillus velezensis* 在一个分支上，且与登录号为 AY603658.1 菌株的同源性达 99.75%。综合以上菌株的形态特征和 16S rDNA 序列分析及生理生化特性鉴定的结果，最终确定该菌为 *Bacillus velezensis*。

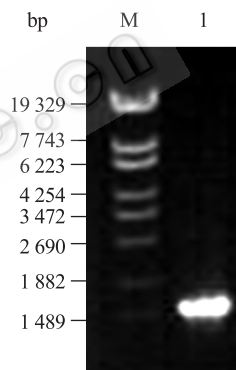


图 2 16S rDNA PCR 扩增产物

Fig. 2 Gel electrophoresis of the PCR product of 16S rDNA

Note: M:  $\lambda$ -EcoT14 marker; 1: PCR product.

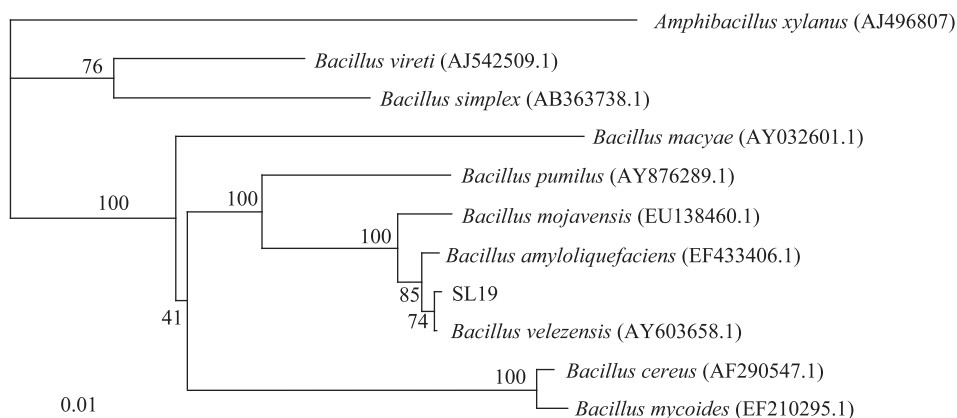


图 3 菌株 SL19 16S rDNA 序列的系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree based on 16S rDNA sequences of strain SL19

Note: The numbers at each branch points indicate the percentage supported by bootstrap. Numbers in parentheses are the 16S rDNA sequences accession number. Bar: 1% sequence divergence.

## 2.2 拮抗细菌的抗菌谱

该菌对大丽轮枝菌、尖孢镰刀菌、立枯丝核菌、灰葡萄孢菌、禾谷镰刀菌、疮痂链霉菌等多种病原真菌和细菌都有抑制作用, 其中对大丽轮枝菌的抑制效果尤为强烈(表 2)。

## 2.3 拮抗物质的理化性质分析

**2.3.1 培养时间对培养液抑菌活性的影响:** 由图 4 可见, SL19 在 24 h 时产生的抑菌活性物质的活性达到最大, 随着时间的增加, 抑菌活性有所下降。

**2.3.2 抑菌活性物质提取过程中不同组分对大丽轮枝菌的抑制作用:** 如表 3 所示, 带菌体的培养液对大丽轮枝菌的抑菌直径为 40.2 mm, 而无菌体的培

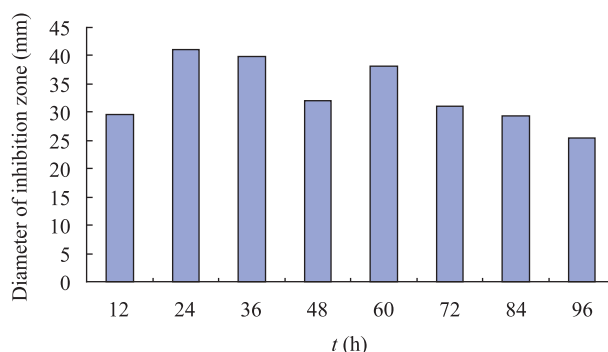


图 4 培养时间对培养液抑菌活性的影响

Fig. 4 Inhibition activity of SL19 filtrate against *Verticillium dahliae* under different culture time

养液的抑菌直径却达到了 35.3 mm, 在培养过程中抑菌活性物质大部分分泌到胞外; 在硫酸铵沉淀分离提取后, 沉淀物对指示菌有强的抑制作用, 而上清液的抑制作用很弱, 说明绝大部分抑菌活性物质能被硫酸铵沉淀回收。

**2.3.3 最佳硫酸铵饱和度的确定:** 由表 4 可见, 100% 硫酸铵饱和度得到的沉淀物最多, 但是抑菌活性却不是最高的, 说明沉淀中可能含有许多没有抑菌活性的杂质; 通过观察不同硫酸铵饱和度处理的抑菌活性物质粗提物对病原菌抑菌圈的大小, 确定最佳硫酸铵饱和度为 40%。

**2.3.4 pH 值稳定性:** 拮抗活性检测表明(图 5), 抑菌活性物质的 pH 值的适应范围较宽, 在 pH 5–10 之间都有较好的活性, 其中中性条件下活性最强, 比较耐碱性。

**2.3.5 温度敏感性:** 抑菌活性物质经 60 °C、80 °C 处理后, 抑菌活性与对照组相比无明显变化; 100 °C 处理后活性降低为对照的 75.3%; 120 °C 处理后, 抑菌活性完全丧失, 说明该菌株产生的抑菌活性物质有一定的耐高温能力。

| 病原菌<br>Pathogens                            | 植物病害<br>Plant disease | 抑菌圈平均直径<br>The average diameter of inhibition zone (mm) |
|---|-----------------------|---|
| 大丽轮枝菌<br><i>Verticillium dahliae</i>        | 棉花黄萎病                 | 36.4  |
| 尖孢镰刀菌<br><i>Fusarium oxysporum</i>          | 草莓重茬病                 | 28.4  |
| 立枯丝核菌<br><i>Rhizoctonia solani</i>          | 草莓枯萎病                 | 28.8  |
| 灰葡萄孢菌<br><i>Botrytis cinerea</i>            | 草莓灰霉病                 | 24.5  |
| 灰葡萄孢菌<br><i>Botrytis cinerea</i>            | 番茄灰霉病                 | 23.6  |
| 尖孢镰刀菌<br><i>Fusarium oxysporum</i>          | 黄瓜枯萎病                 | 21.5  |
| 禾谷镰刀菌<br><i>Fusarium graminearum</i>        | 小麦赤霉病                 | 20.7  |
| 疮痂链霉菌<br><i>Sreptomycetes scabies</i>       | 马铃薯疮痂病                | 18.9  |
| 密执安棒形杆菌<br><i>Clavibacter michiganensis</i> | 番茄溃疡病                 | 18.8  |
| 瓜壳二孢菌<br><i>Ascochyta citrullina</i>        | 黄瓜蔓枯病                 | 17.5  |

| 待测组分<br>Components tested                 | 菌体培养液<br>Bacteria fermentation | 无菌体培养液<br>Fermentation without bacteria | 菌体<br>Bacteria | 硫酸铵沉淀后所得粗提物<br>Precipitation after ammonium sulfate treatment | 硫酸铵沉淀后上清液<br>Supernatant after ammonium sulfate treatment |
|---|--------------------------------|---|----------------|---|---|
| 抑菌圈直径<br>Diameter of inhibition zone (mm) | 40.2                           | 35.3                                    | 10.3           | 29.5  | 5.4   |

表4 不同饱和度的硫酸铵沉淀对抑菌效果的影响  
Table 4 Effects of different saturation of ammonium sulfate on inhibiting activity

| 硫酸铵饱和度<br>Ammonium sulfate saturation (%) | 20   | 30   | 40   | 50   | 60   | 70   | 80   | 90   | 100  |
|---|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 沉淀重量<br>Sediment weight (g)               | 4.73 | 4.38 | 5.15 | 4.66 | 4.63 | 4.92 | 4.43 | 4.70 | 5.70 |
| 抑菌圈直径<br>Diameter of inhibition zone (mm) | 16.5 | 28.4 | 30.2 | 27.5 | 24.2 | 20.1 | 19.3 | 18.8 | 20.0 |

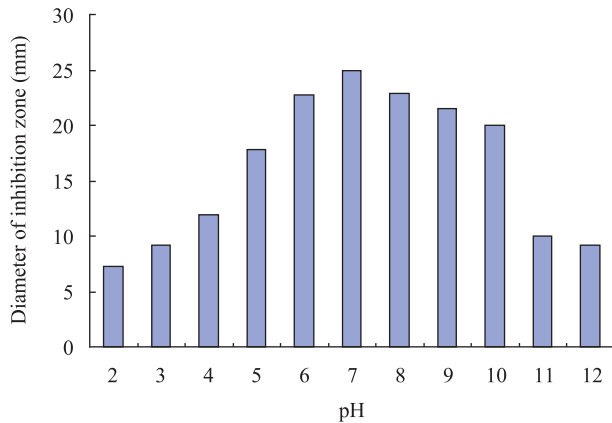


图5 不同 pH 值对抑菌效果的影响

Fig. 5 Effects of different pH on inhibiting activity

**2.3.6 蛋白酶敏感性:** 抑菌活性物质经胰蛋白酶、胃蛋白酶、蛋白酶 K 处理后, 抑菌圈平均直径分别为 22.90 mm、23.00 mm、22.85 mm, 而对照的抑菌圈直径为 22.90 mm, 处理组与对照相比没有明显变化, 说明抑菌活性物质对蛋白酶不敏感。

**2.3.7 紫外线稳定性:** 经活性检测, 该菌产生的抑菌活性物质粗提物经紫外线照射 24 h 后, 抑菌圈平均直径为 22.85 mm, 对照组抑菌圈平均直径为 22.90 mm, 二者抑菌活性基本无差别, 表明该抑菌活性物质耐受紫外光照射。

**2.3.8 氯仿稳定性:** 抑菌活性物质经氯仿处理后, 水系部分抑菌圈直径为 22.84 mm, 有机部分及氯仿对大丽轮枝菌均无抑菌活性, 而未经氯仿处理的粗提液抑菌圈直径为 22.90 mm, 抑菌效果与对照相比没有明显降低, 因此粗提液对氯仿不敏感。

## 2.4 SDS-PAGE 电泳

SDS-PAGE 对抑菌活性物质检测发现一条分子量约为 50 kD 的条带(如图 6 中箭头所示)。结合上

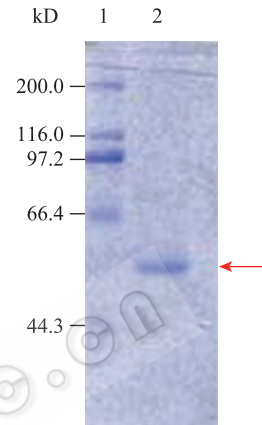


图6 SDS-PAGE 电泳结果

Fig. 6 SDS-PAGE electrophoresis of antagonistic protein

Note: 1: Protein marker; 2: Antagonistic protein.

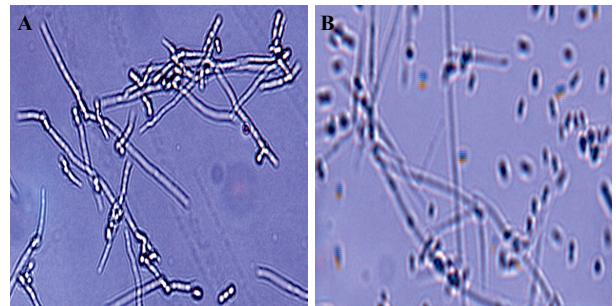


图7 抗菌蛋白对大丽轮枝菌菌丝及孢子的影响

Fig. 7 Effect of antagonistic protein on the hypha and spore of *Verticillium dahliae*

Note: A: Treated with antagonistic protein; B: Control.

述理化性质, 初步推测该抑菌活性物质为蛋白质类物质。

## 2.5 抑菌活性物质对大丽轮枝菌菌丝的影响

如图 7 所示, 大丽轮枝菌菌丝经抗菌蛋白处理 24 h 后, 大部分菌丝断裂, 原生质浓缩, 孢子萌发受到抑制。

### 3 讨论

本研究对生防菌 *Bacillus velezensis* SL19 进行了生理生化鉴定以及 16S rDNA 序列聚类分析, 最终鉴定为 *Bacillus velezensis*。该菌对环境要求简单, 所需营养要求也不高, 抑菌谱广, 抑菌活性物质产量大, 分离简便, 稳定性强。这些都显示了该菌在农业生物防治上潜在的应用价值, 为植物病害的生物防治提供了新的微生物资源。本研究中, *Bacillus velezensis* SL19 菌株在培养过程中, 培养条件简单, 产生大量的抑菌活性物质并分泌到胞外, 其有效成分的分离也较为简便, 这些为发酵工程奠定了基础。*Bacillus velezensis* SL19 产生的抑菌活性物质具有耐热、稳定性好、耐受蛋白酶和氯仿等特征, 显示了很好的田间应用价值。

据文献报道, *Bacillus velezensis* 能产生与枯草芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌等其它芽孢杆菌一样的抗菌物质, 如: 蛋白质、脂肽类<sup>[15-17]</sup>等, 其中, 脂肽类物质包括表面活性素(Surfactin)、伊枯草菌素(Iturin)和芬枯草菌素(Fengicin), 这些抗菌肽对植物病原真菌具有很强烈的抑制作用。本研究中菌株 *Bacillus velezensis* SL19 具有广谱抗菌活性, 尤其对大丽轮枝菌表现很强的抑制作用。目前, 国内外关于 *Bacillus velezensis* 防治植物病害的报道较少, 而且抑菌谱较窄。田祖光等<sup>[17]</sup>筛选分离得到了对棉花黄萎病菌有拮抗作用的细菌 *Bacillus velezensis* 12-34 并分离纯化得到了 35 kD 的抗菌蛋白。王纳贤等<sup>[18]</sup>筛选得到的 *Bacillus velezensis* 5-20 对西瓜枯萎病菌有抑制作用, 粗蛋白溶液经 DEAE Sepharose Fast Flow 阴离子交换层析后分离纯化到分子质量约为 13 kD 的抗菌蛋白。但国内均未对这些抗菌蛋白的分子结构进行深入的研究。本文分离纯化得到的抑菌活性物质有很强的稳定性, 根据抑菌活性物质的理化性质及 SDS-PAGE 结果, 初步推测 *Bacillus velezensis* SL19 的抑菌活性物质主要是分子量约为 50 kD 的蛋白质类物质。*Bacillus velezensis* SL19 产生的蛋白质特性与枯草芽孢杆菌<sup>[19]</sup>、地衣芽孢杆菌<sup>[20]</sup>及解淀粉芽孢杆菌<sup>[21]</sup>相比有一定的相似性而又有差异。

芽孢杆菌的控病作用机制包括竞争作用、拮抗作用、溶菌作用、诱导植物产生抗性促进植物生长等方面, 可以使病原真菌菌丝发生扭曲、变形、菌丝细胞壁肿胀裂解、细胞质聚集、原生质体外溢或裸露等异常现象<sup>[22]</sup>。本研究对 *Bacillus velezensis* SL19 的应用性进行了初步探索, 经对峙实验发现, *Bacillus velezensis* SL19 对包括大丽轮枝菌在内的多种植物病原真菌具有一定的体外抑菌活性, 并且产生的抑菌活性物质能够使大部分菌丝断裂、原生质浓缩、孢子萌发受到抑制, 从而起到抑菌作用。虽然 *Bacillus velezensis* SL19 显示了很好的抑菌特性, 但是该菌防效的稳定性及能否应用于生产实践来防治植物病原菌, 有待于进一步的实验室和田间实验验证。在植物病害发生严重的地区使用拮抗微生物进行生物防治, 可以有效地减少化学农药的使用, 特别是在病原菌已产生抗药性的地区, 使用拮抗微生物更是抗药性治理的一项有效措施。我们期待能够发掘该菌在农业生产上的潜在应用价值, 为利用其进行微生物防治及微生态制剂的研究打下基础。

### 参考文献

- [1] Schallmeyer M, Singh A, Ward OP. Developments in the use of *Bacillus* species for industrial production[J]. Canadian Journal of Microbiology, 2004, 50(1): 1-17.
- [2] 王静, 赵廷昌, 孔凡玉, 等. 枯草芽孢杆菌 SH7 抑菌物质及其特性[J]. 植物保护学报, 2007, 34(4): 443-444.
- [3] 李永刚, 宋兴舜, 马凤鸣, 等. 水稻稻瘟病拮抗菌 L1 鉴定及抑菌特性的初步研究[J]. 微生物学通报, 2008, 35(6): 898-902.
- [4] Nam MH, Park MS, Kim HG, et al. Biological control of strawberry *Fusarium wilt* caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* using *Bacillus velezensis* BS87 and RK1 formulation[J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2009, 19(5): 520-524.
- [5] Ana Isabel FM, Mario Jorge VF, Juan Antonio CR, et al. Pure culture of strain ah2 of the *Bacillus velezensis* species and a product for the biological control of phytopathogenic fungi: USA, 20100179060 [P]. 2010-07-15.
- [6] Mi-Young Yoon, Won Gi Kim, Myung Soo Park, et al. Isolation and characterization of antifungal antibiotics from *Bacillus velezensis* G341 antagonistic to disease complex caused by *Meloidogyne incognita* and *Fusarium*

- oxysporum* f. sp. *lycopersici*. <http://www.chempolicy.or.kr/fileDownload.chem.jsessionid=9528D55383A7AB46429E209A97539F20?boardFile.fileId=351368&requiredUriId=35>.
- [7] 王伟, 李术娜, 李红亚, 等. 番茄灰霉病拮抗细菌的筛选与 X-75 菌株鉴定[J]. 园艺学报, 2010, 37(2): 307-312.
- [8] 沈萍, 范秀容, 李广武. 微生物学实验[M]. 第3版. 北京: 高等教育出版社, 1999.
- [9] 布坎南 RE, 吉本斯 NE. 伯杰氏细菌鉴定手册[M]. 第8版. 北京: 科学出版社, 1984: 729-797.
- [10] 陈力, 王中康, 黄冠军, 等. 柑橘溃疡病生防菌株 CQBS03 的鉴定及其培养特性研究[J]. 中国农业科学, 2008, 41(8): 2537-2545.
- [11] 齐爱勇, 魏东盛, 刘大群, 等. 番茄灰霉病菌拮抗细菌 B21 的鉴定[J]. 植物保护科学, 2006, 22(9): 360-363.
- [12] 李术娜, 杜红方, 袁洪水, 等. 棉花黄萎病拮抗细菌 LC-04 菌株的抗菌蛋白产生条件研究[J]. 棉花学报, 2006, 18(4): 233-237.
- [13] 徐杨, 王楠, 李伟, 等. 海洋枯草芽孢杆菌 3512A 抗真菌脂肽的分离纯化及结构特性鉴定[J]. 中国生物防治, 2009, 25(4): 328-333.
- [14] 陶慰孙. 蛋白质分子基础[M]. 北京: 高等教育出版社, 1981.
- [15] Kour A, Shawl AS, Rehman S, et al. Isolation and identification of an endophytic strain of *Fusarium oxysporum* producing podophyllotoxin from *Juniperus recurva*[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2008, 24(7): 1115-1121.
- [16] 连玲丽, 谢荔岩, 郑璐平, 等. 拮抗菌 SB1 的鉴定及其抗菌物质的分析[J]. 微生物学通报, 2010, 37(7): 986-991.
- [17] 田祖光. 棉花黄萎病拮抗细菌 12-34 菌株的分离鉴定及抗菌蛋白纯化[D]. 保定: 河北农业大学硕士学位论文, 2009.
- [18] 王纳贤. 尖孢镰刀菌拮抗细菌的筛选与抗菌蛋白的分离[D]. 保定: 河北大学硕士学位论文, 2010.
- [19] 陈夕军, 李娟, 孙启利, 等. 水稻内生枯草芽孢杆菌 G87 抗菌蛋白的分离纯化及理化特性[J]. 微生物学报, 2010, 50(10): 1353-1357.
- [20] 纪兆林, 唐丽娟, 张清霞, 等. 地衣芽孢杆菌 W10 抗菌蛋白的分离纯化及其理化性质研究[J]. 植物病理学报, 2007, 37(3): 260-264.
- [21] 张宝俊, 张家榕, 韩巨才, 等. 内生解淀粉芽孢杆菌 LP-5 抗菌蛋白的分离纯化及特性[J]. 植物保护学报, 2010, 37(2): 143-146.
- [22] 陈中义, 张杰, 黄大昉. 植物病害生防芽孢杆菌抗菌机制与遗传改良研究[J]. 植物病理学报, 2003, 33(2): 97-103.

## 书 讯

### 父亲和我们

——纪念中国首批青霉素的研制者和命名者樊庆笙教授百年诞辰

本书作者樊真美以女儿的视角叙述了父亲坎坷的不平凡的一生, 也记录了儿女们受父母的影响和教育曲折的成长过程. 凸显了父亲这样一个老一代知识分子赤诚的爱国之心, 为实现强国梦付出毕生心血的奉献精神 and 历经磨难的不屈不挠的奋斗精神.

本书由北京时代文献出版社出版。

定价: 38 元

邮费: 1 本 5.5 元, 2 本 7 元, 3 本 9 元(一律加挂号费 3 元)

需购者请与作者樊真美联系。

地址: 南京嫩江路 20 号四季园 23 号 402 室

邮编: 210036

电话: 010-83418856