



## 芽孢杆菌促普通生酮基古龙酸菌产酸机制研究进展

张倩<sup>1</sup> 黄茂<sup>1</sup> 张玮丹<sup>1</sup> 李颖<sup>2</sup> 吕淑霞<sup>\*1</sup>

1 沈阳农业大学生物科学技术学院 辽宁 沈阳 110866

2 中国动物疾病预防控制中心动物产品安全检测室 北京 102600

**摘要:** 随着高通量测序技术、组学技术、生物信息学技术等多种技术的兴起与发展,关于维生素C混菌发酵中两菌作用关系的研究取得了一些成果。基于此,本文从芽孢、氨基酸、B族维生素、环境应力及小分子物质方面,对目前关于两菌间相互作用机制的研究进行综述,并为接下来的进一步研究提供新思路。

**关键词:** 维生素C, 2-酮基-L-古龙酸, 相互作用机制

## Research progress on the companion mechanism in *Ketogulonigenium vulgare* and *Bacillus* strain consortium

ZHANG Qian<sup>1</sup> HUANG Mao<sup>1</sup> ZHANG Wei-Dan<sup>1</sup> LI Ying<sup>2</sup> LYU Shu-Xia<sup>\*1</sup>

1 College of Bioscience and Biotechnology, Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning 110866, China

2 China Animal Disease Control Center, Animal Products Safety Testing Room, Beijing 102600, China

**Abstract:** With the rise and development of high-throughput sequencing technology, omics technology, bioinformatics technology, some achievements have been made in the study of the relationship between the two strains in vitamin C (Vc) microbial fermentation. Therefore, this paper reviews the current research on the companion mechanism between the two strains based on spores, amino acids, B-group vitamins, environmental stress and small molecular substances, and provides some new ideas for the further research.

**Keywords:** Vitamin C, 2-keto-L-gulonic acid, Companion mechanism

维生素C (Vitamin C, Vc)又名L-抗坏血酸,因具有参与氧化还原反应、促进抗体形成、增强免疫反应<sup>[1]</sup>等功效而广泛应用于制药、食品、化妆品以及饲料工业。目前实现工业化大规模Vc生产主要采用二步混菌发酵法。

二步混菌发酵是在莱氏法第一步发酵的基础

上利用普通生酮基古龙酸菌(*Ketogulonigenium vulgare*) (产酸菌)和芽孢杆菌属(*Bacillus* spp.) (伴生菌)混合发酵生成Vc前体物质2-酮基-L-古龙酸(2-keto-L-gulonic acid, 2-KGA),其中第二步发酵利用的普通生酮基古龙酸菌单独生长能力低、产酸量很低;芽孢杆菌属为主的伴生菌单独生长良好但

**Foundation items:** National Natural Science Foundation of China (31370077); Natural Science Foundation of Liaoning Province (20170540800)

**\*Corresponding author:** Tel: 86-24-88487163; E-mail: lushuxia@syau.edu.cn

**Received:** 28-01-2019; **Accepted:** 15-03-2019; **Published online:** 19-04-2019

**基金项目:** 国家自然科学基金(31370077); 辽宁省自然科学基金(20170540800)

**\*通信作者:** Tel: 024-88487163; E-mail: lushuxia@syau.edu.cn

**收稿日期:** 2019-01-28; **接受日期:** 2019-03-15; **网络首发日期:** 2019-04-19

没有产 2-KGA 的代谢途径, 只有当两菌混合发酵时才能更好地实现产酸<sup>[2]</sup>。因此, 两菌间有怎样的相互作用关系这一科学问题引起了广大研究人员的关注。

## 1 芽孢对产酸菌产酸的影响

目前进行研究的伴生菌主要有巨大芽孢杆菌 (*Bacillus megaterium*)、短小芽孢杆菌 (*Bacillus pumilus*)、枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*)、苏云金芽孢杆菌 (*Bacillus thuringiensis*)、地衣芽孢杆菌 (*Bacillus licheniformis*)、蜡状芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*)、内生芽孢杆菌 (*Bacillus endophyticus*); 此外, 类脱假丝酵母 (*Candida parapsilosis*)、胶红酵母 (*Rhodotorula mucilaginosa*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 等也有伴生作用, 并且不同伴生菌与产酸菌的搭配组合对 2-KGA 的产量有不同的影响。杨宇<sup>[3]</sup>通过比较两种不同伴生菌——*B. megaterium* 2980 和 *B. subtilis* A9 对产酸菌 *K. vulgare* 25-B-1 产酸能力的影响, 发现 *B. subtilis* A9 的促产酸能力更强; Mandlaa 等<sup>[4]</sup>研究发现 *B. cereus* 比 *B. megaterium* 更能促进产酸。大量的研究表明芽孢杆菌属的某些菌株虽伴生能力不同但都可以作为有效的伴生菌, 然而这究竟是巧合还是它们之间存在芽孢这一共有特性呢?

已有报道称伴生菌生成芽孢后 *K. vulgare* 生长迅速、产酸也迅速累积。为了研究伴生菌芽孢形成是否与产酸菌的生长产酸有关, Zhu 等<sup>[5]</sup>通过敲除 *B. megaterium* 的 *spoOA* 和 *spoVFA* 基因发现芽孢的稳定和生长是促进产酸菌生长和产酸的两个重要影响因素。Jia 等<sup>[6]</sup>基于比较基因组学分析了不同芽孢形成阶段的相关基因, 发现 *B. endophyticus*、*B. thuringiensis*、*B. megaterium*、*B. cereus* 中缺乏一些编码芽孢外衣糖基化的糖基转移酶的操纵子, 这些操纵子的缺乏可能提高了芽孢的疏水性和黏附能力, 可能在伴生中起到有益作用。结合本实验室近日关于混菌 (*B. endophyticus* 与 *K. vulgare*) 不同生长时期的扫描电镜结果 (结果未发表), 我们认为, 伴生菌在芽孢形成过程中吸引了产酸菌的聚集, 而后

芽孢进一步成熟、母细胞破裂释放出大量活性物质, 促进产酸菌的生长与产酸。

## 2 伴生菌代谢产物对产酸菌生长产酸的影响

### 2.1 氨基酸对产酸菌生长产酸的影响

氨基酸是蛋白质的基本组成结构, 早期研究发现, 在摇瓶分批发酵中添加关键氨基酸可以缩短发酵周期<sup>[7]</sup>; 添加明胶可代替 L-甘氨酸和 L-脯氨酸<sup>[8]</sup>提高生产强度。而后基于基因组学分析发现, 产酸菌 *K. vulgare* 基因组中虽然含有丰富的氨基酸转运和代谢相关蛋白的编码基因, 但是大部分氨基酸合成和代谢途径都有一个或几个关键酶的基因无法在注释中找到, 如组氨酸、甘氨酸、赖氨酸、脯氨酸、苏氨酸、蛋氨酸、亮氨酸和异亮氨酸合成中都缺乏关键酶<sup>[9-10]</sup>。Pan 等<sup>[11]</sup>通过构建 *K. vulgare* 工程菌重建苏氨酸生物合成途径, 不仅提高了生物量也提高了 2-KGA 产量。我们认为这样更进一步说明了 *K. vulgare* 的部分氨基酸合成途径缺陷且这些氨基酸对于 *K. vulgare* 的生长和产酸具有关键作用。

张静<sup>[9]</sup>通过蛋白质组学分析 *B. megaterium* 伴生与否对 *K. vulgare* 胞内蛋白的影响, 发现有 115 个蛋白在 *B. megaterium* 伴生时表达量上调至少 2 倍, 其中有 17 个蛋白上调至少 5 倍, 根据 COG 蛋白质功能分类表明与氨基酸代谢、蛋白质翻译和能量代谢相关的上调蛋白所占比重最大, 其中丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、甲硫氨酸、异亮氨酸、缬氨酸、苯丙氨酸和谷氨酰胺等代谢途径中多种酶蛋白水平显著上调。Jia 等<sup>[12-13]</sup>基于比较基因组学和代谢组学分析产酸菌与伴生菌间的适应性变化机制, 通过细菌传代培养发现继传代 150 代后产酸菌具有更高的生长量与产酸量, 且产酸菌和伴生菌中的某些氨基酸含量显著升高: 鸟氨酸、脯氨酸、赖氨酸和苏氨酸可能是混菌发酵体系中的关键氨基酸。朱益波<sup>[14]</sup>基于转录组学分析表明, 在混菌发酵条件下, 产酸菌中大量与氨基酸转运和代谢相关基因表达显著上调, 同时对发酵过程中伴生菌和产酸菌在氨基酸释放和吸收利用这一动态平衡变化的研究得出, 伴

生菌伴生时往胞外环境释放了大量的氨基酸, 这些氨基酸能被产酸菌迅速地利用, 从而促进产酸菌的生长。

## 2.2 维生素对产酸菌生长产酸的影响

B 族维生素是细胞中不可或缺的一类水溶性维生素, 能参与碳代谢。先前研究表明 *K. vulgare* 本身不能合成多种 B 族维生素, 而伴生菌却含有 B 族维生素的合成途径, 且能将合成的 B 族维生素提供给 *K. vulgare*, 维持其正常的生长代谢<sup>[15]</sup>。

Jia 等<sup>[6]</sup>基于基因组学比较了 *B. megaterium* 与 *B. endophyticus* Hbe603 的 VB 合成途径, 发现其具有 VB<sub>1</sub>、VB<sub>2</sub>、VB<sub>3</sub>、VB<sub>5</sub>、VB<sub>6</sub>、VB<sub>7</sub>、VB<sub>9</sub> 和 VB<sub>12</sub> 的合成途径, 但是两者在 VB<sub>12</sub> 合成途径中存在差异, 即: *B. megaterium* 由两个截然不同的基因和一个相对独立的 *cbiP* 基因构成 VB<sub>12</sub> 合成途径; *B. endophyticus* Hbe603 也具有这两个不同的基因, 但是 *cbiP* 基因却插入到了其中一个基因中, 而不是独立存在。基于基因的差异, 未来 *B. endophyticus* Hbe603 有望成为 VB<sub>12</sub> 的生产菌株为 *K. vulgare* 提供与代谢相关的辅因子。

张静<sup>[9]</sup>从产酸菌基因组中发现 84 个与辅因子代谢相关的蛋白基因, 其中包括维生素 B<sub>12</sub> 和 B<sub>1</sub> 转运蛋白, 表明产酸菌可以从外界摄取这两种维生素来满足自身需要, 但是并未发现细胞生长所需的烟酸和叶酸代谢途径相关的多种关键基因。

杨宇<sup>[3]</sup>通过外源添加叶酸和二氢叶酸比较其对产酸菌产酸的影响发现, 叶酸对产酸菌产酸没有显著的影响, 而低浓度的二氢叶酸却能显著提高产酸菌 2-KGA 的产量, 可能是由于产酸菌中缺乏叶酸还原酶, 无法将叶酸还原为二氢叶酸和四氢叶酸, 而外源添加二氢叶酸可以有效促进细胞生长, 从而提高 2-KGA 产量<sup>[16]</sup>; 并通过对不同伴生菌与产酸菌混合发酵过程中 B 族维生素含量变化进行分析, 发现不同混合菌系发酵液中叶酸含量有显著变化。朱益波<sup>[14]</sup>对发酵过程中核黄素和叶酸及其衍生物含量变化分析结果表明, 发酵液中这两种维生素的含量变化与伴生菌芽孢形成时细胞裂解有关, 这些

释放出的维生素有利于产酸菌的生长。

## 2.3 蛋白酶对产酸菌生长产酸的影响

先前研究表明伴生菌胞外分子量在 30–50 kD 及大于 100 kD 的蛋白质组分能明显促进产酸菌的生长和产酸<sup>[17-18]</sup>。而后 Jia 等<sup>[6]</sup>在蛋白质定位分析的基础上, 检测了 *B. endophyticus* Hbe603 释放到胞外环境中的蛋白质, 发现除了产孢和鞭毛相关蛋白外还有能够降解 *K. vulgare* 环境中大分子物质的胞外酯酶、氨基肽酶和多糖脱乙酰酶; 此外, 还存在可以去除 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 并保护 *K. vulgare* 免受氧化损伤的超氧化物歧化酶以及大量的氧化还原酶类蛋白。

由此我们认为伴生菌释放芽孢的过程中不仅为产酸菌提供生长因子也提供了清除环境中可能存在的氧化型物质的氧化还原酶类蛋白, 为产酸菌提供有利的生长与产酸的微环境。

## 3 环境应力对产酸菌生长产酸的影响

目前认为 *K. vulgare* 之所以生长缓慢、产酸低是由于受到了自身的氧化胁迫。本实验室<sup>[19]</sup>通过检测发酵体系氧化还原电位 (Oxidation reduction potential, ORP) 变化情况发现, 在 *K. vulgare* 单菌发酵体系中, ORP 随培养时间的增加而增加且在发酵终点达到最大值; 而在混菌体系中 ORP 随培养时间的增加而降低; 说明在 *K. vulgare* 单菌发酵体系中有大量的氧化型物质生成, 对细胞生长造成了氧化胁迫。廖林<sup>[20]</sup>发现伴生菌能诱导增加 *K. vulgare* 电子传递相关物质、抗氧化物酶以及产 2-KGA 相关酶的基因表达, 从而促进 *K. vulgare* 生长和产酸。麻浩等<sup>[21]</sup>基于蛋白质组学技术筛选出伴生菌伴生后与产酸菌产 2-KGA 相关的 8 个蛋白, 分别为烷基氢过氧化物酶、超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD)、巯基抗氧化蛋白、谷胱甘肽转移酶、分子伴侣蛋白 DnaK、转醛醇酶、醛脱氢酶小亚基和 2-脱氧-D-葡萄糖-3-脱氢酶, 其中参与产酸菌体内对抗活性氧 ROS 代谢过程的抗氧化蛋白与产酸菌产 2-KGA 有明显的正相关性。马倩等<sup>[22-24]</sup>基于二维凝胶电泳 (2-DE) 分离蛋白、MALDI-TOF

质谱鉴定蛋白,分析 Vc 工业生产过程中两株菌的蛋白随培养时间变化情况,发现 *K. vulgare* 中与抵抗活性氧相关蛋白的表达量在芽孢杆菌伴生时显著上调。

先前研究<sup>[24]</sup>表明,外源添加还原型谷胱甘肽可以显著提高 2-KGA 产量,促进产酸菌生长。Huang 等<sup>[25]</sup>基于抗氧化酶相关物质的酶活测定及基因相对表达量分析,研究外源添加还原型谷胱甘肽(GSH)和氧化型谷胱甘肽(GSSG)对产酸菌生长产酸的影响,发现外源添加 GSH 和 GSSG 都能提高 2-KGA 产量、缩短发酵周期,并伴随着总抗氧化能力(T-AOC)、总超氧化物歧化酶活力(T-SOD)、过氧化氢酶活力以及与解除氧化胁迫相关基因的表达上调。我们认为,*K. vulgare* 呼吸链底物端 CoQ 存在电子泄漏,生成能破坏呼吸链复合体 I/II/III 中 Fe-S 簇的 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 自由基,进而产生 ROS<sup>[20]</sup>,再加之 *K. vulgare* 无法合成足够的抗氧化物质清除 ROS,造成 ROS 代谢紊乱。而伴生菌能够诱导 *K. vulgare* 相关抗氧化物质的表达,解除氧化胁迫,维持其正常的生长与产酸。

Jia 等<sup>[6]</sup>认为伴生菌一定程度上为产酸菌提供有利于其生长的微环境,基于蛋白质组分析发现,*B. endophyticus* Hbe603 含有一个完整的热休克系统,可耐受高温;具有 Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>反向转运蛋白相关基因,可耐受碱性环境;具有甘氨酸甜菜碱合成酶(抗渗透压保护剂),使得 *B. endophyticus* Hbe603 可以适应高度可变的环境,也为产酸菌提供了一个较好的微环境。

#### 4 胞外小分子物质对产酸菌生长产酸的影响

先前研究表明,外源添加 Fe<sup>3+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Mn<sup>2+</sup>可显著提高 2-KGA 产量<sup>[26]</sup>;稀土离子<sup>[27]</sup>的添加对产酸菌的生长和产酸也有一定的增强作用。那么是否存在一些小分子物质在两菌间的相互作用关系中发挥显著的作用呢?本实验室近期的研究发现,有较好伴生能力的菌株都可产生铁载体。铁载体是一类分子量不超过 1 000 Da 的化合物,对 Fe<sup>3+</sup>具有

高特异性高亲和力,当环境中可利用的 Fe<sup>3+</sup>很低时产生<sup>[28]</sup>,并且铁载体对其他金属离子也具有一定的螯合力。目前研究表明,铁载体可作为生长促进因子,一些之前无法在合成培养基上生长的菌株能够在含有铁载体的培养基上生长<sup>[29]</sup>。朱益波<sup>[14]</sup>基于转录组学分析时发现,在单菌发酵模式下,大量与铁转运代谢相关基因表达上调且这些上调基因能编码与铁载体转运相关的蛋白。由于铁元素在微生物电子传递、代谢调控等生命活动中发挥着重要的作用,因此关于铁载体方面的研究对于进一步了解两菌间相互作用机制具有一定的价值。

群体感应效应是细菌根据细胞密度变化调控基因表达的一种机制。介导群体感应的信号系统有多种,其中广泛存在于革兰氏阴性菌中的为 AHLs-LuxR 系统,即 LuxI 型蛋白质催化产生某种 N-酰基高丝氨酸内酯(AHLs),该诱导物可以通过自由扩散的方式到达细胞外部,当其达到一定的浓度时,返回细胞内部并通过与 LuxR 类蛋白结合而启动特定基因表达。基于 NCBI 查询发现,产酸菌中含有 AHLs-LuxR 系统中的相关基因,但是关于两菌内部通讯关系的研究目前还没有记载,值得进行深入研究。

#### 5 展望

二步混菌发酵生产 2-KGA 的方法由于具有较高的糖酸转化率使我国现已成为 Vc 生产的最大出口国,市场占有率达到 85%以上。但是该方法中也存在一些问题使科研人员迫切希望开发新的生产工艺,然而目前报道表明新工艺距离实现工业化还有一定的差距。因此我们认为注重二步混菌发酵中两菌间存在的相互作用机制的研究具有深远的意义。总而言之,伴生菌能为产酸菌提供营养物质和适宜其生长的微环境。基于此,我们认为可以从以下几个方面进行进一步的研究:(1)目前关于两菌间可能存在的小分子物质的研究空白,通过对小分子物质展开详细研究、明确其相应的作用机制对于进一步了解两菌间的相互作用机制具有一定的价

值; (2) 结合目前已经获得的组学结果, 利用生物信息学技术在全基因组范围内筛选并鉴定与两菌间相互作用关系相关的关键基因以及差异表达基因; (3) 利用实时荧光定量 PCR 技术研究这些关键基因、关键酶在发酵过程中的变化规律, 构建关键基因相互作用网络; (4) 通过基因敲除技术, 将差异表达基因敲除, 分析突变株组成的新菌系与原始菌系的变化规律; (5) 如果确定某个基因具有关键作用, 还可以通过构建工程菌株让关键基因过表达或其他方式增加该通路的通量, 观察混菌体系中产酸的变化。

## REFERENCES

- [1] Chen SZ, Roffey DM, Dion CA, et al. Effect of perioperative vitamin C supplementation on postoperative pain and the incidence of chronic regional pain syndrome: a systematic review and meta-analysis[J]. *The Clinical Journal of Pain*, 2016, 32(2): 179-185
- [2] Lü SX, Zhao S, Yang Y, et al. Research progress on Vc precursor of 2-KGA production through mixed fermentation from L-sorbose[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2011(5): 50-54 (in Chinese)  
吕淑霞, 赵硕, 杨宇, 等. 混合菌发酵 L-山梨糖生产 Vc 前体 2-酮基-L-古龙酸研究进展[J]. *生物技术通报*, 2011(5): 50-54
- [3] Yang Y. Study on mechanism of different companion strains in vitamin C two-step fermentation[D]. Shenyang: Doctoral Dissertation of Shenyang Agricultural University, 2015 (in Chinese)  
杨宇. 维生素 C 二步发酵中两株不同伴生菌作用机制研究 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学博士学位论文, 2015
- [4] Mandlaa, Yang WC, Han LT, et al. Two-helper-strain co-culture system: a novel method for enhancement of 2-keto-L-gulonic acid production[J]. *Biotechnology Letters*, 2013, 35(11): 1853-1857
- [5] Zhu YB, Liu J, Du GC, et al. Sporulation and spore stability of *Bacillus megaterium* enhance *Ketogulonigenium vulgare* propagation and 2-keto-L-gulonic acid biosynthesis[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 107: 399-404
- [6] Jia N, Du J, Ding MZ, et al. Genome sequence of *Bacillus endophyticus* and analysis of its companion mechanism in the *Ketogulonigenium vulgare-Bacillus* strain consortium[J]. *PLoS One*, 2015, 10: e0135104
- [7] Gao Y. Nutriomics study in the second step of vitamin C fermentation[D]. Tianjin: Master's Thesis of Tianjin University, 2012 (in Chinese)  
高贻. 维生素 C 二步发酵营养组学的研究[D]. 天津: 天津大学硕士学位论文, 2012
- [8] Chen KJ. Study on 2-keto-L-gulonic acid fermentation process based on the analysis of physiological characteristics[D]. Wuxi: Master's Thesis of Jiangnan University, 2010 (in Chinese)  
陈克杰. 基于生理特性解析的 2-酮基-L-古龙酸发酵工艺研究[D]. 无锡: 江南大学硕士学位论文, 2010
- [9] Zhang J. Analysis of physiological relationship between vitamin C production strains based on biochemical strategy and omics technology[D]. Wuxi: Doctoral Dissertation of Jiangnan University, 2010 (in Chinese)  
张静. 基于生化策略与组学技术的维生素 C 生产菌株间生理关系解析[D]. 无锡: 江南大学博士学位论文, 2010
- [10] Liu LM, Chen KJ, Zhang J, et al. Gelatin enhances 2-keto-L-gulonic acid production based on *Ketogulonigenium vulgare* genome annotation[J]. *Journal of Biotechnology*, 2011, 156(3): 182-187
- [11] Pan CH, Wang EX, Jia N, et al. Reconstruction of amino acid biosynthetic pathways increases the productivity of 2-keto-L-gulonic acid in *Ketogulonigenium vulgare-Bacillus endophyticus* consortium via genes screening[J]. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2017, 44(7): 1031-1040
- [12] Jia N, Ding MZ, Du J, et al. Insights into mutualism mechanism and versatile metabolism of *Ketogulonigenium vulgare* Hbe602 based on comparative genomics and metabolomics studies[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 23068
- [13] Jia N, Ding MZ, Zou Y, et al. Comparative genomics and metabolomics analyses of the adaptation mechanism in *Ketogulonigenium vulgare-Bacillus thuringiensis* consortium[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 46759
- [14] Zhu YB. Mechanisms in the mutualism between *Bacillus megaterium* and *Ketogulonigenium vulgare*[D]. Wuxi: Doctoral Dissertation of Jiangnan University, 2012 (in Chinese)  
朱益波. 巨大芽孢杆菌与普通生酮基古龙酸菌互生作用研究 [D]. 无锡: 江南大学博士学位论文, 2012
- [15] Zhang J, Zhou JW, Liu J, et al. Development of chemically defined media supporting high cell density growth of *Ketogulonigenium vulgare* and *Bacillus megaterium*[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(7): 4807-4814
- [16] Leduc S, de Troostembergh JC, Lebeault JM. Folate requirements of the 2-keto-L-gulonic acid-producing strain *Ketogulonigenium vulgare* LMP P-20356 in L-sorbose/CSL medium[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2004, 65(2): 163-167
- [17] Lü SX, Feng S, Zhang ZZ, et al. The effect of *Bacillus megaterium* in vitamin C two-step fermentation[J]. *Microbiology China*, 2001, 28(5): 10-13 (in Chinese)  
吕淑霞, 冯树, 张忠泽, 等. Vc 二步发酵中伴生菌的作用机制[J]. *微生物学通报*, 2001, 28(5): 10-13
- [18] Lü SX, Niu JS, Ma D, et al. Effect of different components of *Bacillus megaterium* on *Gluconobacter oxydans* mix-cultured of vitamin C fermentation[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2011, 30(5): 700-704 (in Chinese)  
吕淑霞, 牛建双, 马镛, 等. Vc 混菌发酵中大菌不同胞外组分对小菌的影响[J]. *食品与生物技术学报*, 2011, 30(5): 700-704

- [19] Lü SX, Liao L, Zhang YH. Research progress on the oxidative stress relieving of acid-producing strain by companion strain in vitamin C mixed cultures fermentation[J]. Journal of Shenyang Agricultural University, 2017, 48(6): 641-646 (in Chinese)  
吕淑霞, 廖林, 张云鹤. Vc 混菌发酵中伴生菌解除产酸菌氧化胁迫的研究进展[J]. 沈阳农业大学学报, 2017, 48(6): 641-646
- [20] Liao L. Mechanisms on the oxidative stress relieving of *Ketogulonicigenium vulgare* by *Rhodotorula mucilaginosa* in vitamin C mixed culture fermentation[D]. Shenyang: Master's Thesis of Shenyang Agricultural University, 2018 (in Chinese)  
廖林. Vc 混菌发酵中胶红酵母解除普通生酮基古龙酸杆菌氧化胁迫的研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学硕士学位论文, 2018
- [21] Ma H, Li Y, Zhang L, et al. Research of the proteins relevant to 2-keto-L-gulonic acid produced during the mix culture fermentation[J]. Letters in Biotechnology, 2012, 23(5): 658-661 (in Chinese)  
麻浩, 李野, 张磊, 等. 混菌发酵中与普通生酮基古龙酸菌产 2-酮基-L-古龙酸相关功能蛋白的研究[J]. 生物技术通讯, 2012, 23(5): 658-661
- [22] Ma Q. The proteomic and metabolomic analyses of the consortia for vitamin C fermentation[D]. Tianjin: Doctoral Dissertation of Tianjin University, 2015 (in Chinese)  
马倩. 维生素 C 混菌发酵体系蛋白与代谢组学研究[D]. 天津: 天津大学博士学位论文, 2015
- [23] Ma Q, Zhang WW, Zhang L, et al. Proteomic analysis of *Ketogulonicigenium vulgare* under glutathione reveals high demand for thiamin transport and antioxidant protection[J]. PLoS One, 2012, 7: e32156
- [24] Zhou J, Ma Q, Yi H, et al. Metabolome profiling reveals metabolic cooperation between *Bacillus megaterium* and *Ketogulonicigenium vulgare* during induced swarm motility[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(19): 7023-7030
- [25] Huang M, Zhang YH, Yao S, et al. Antioxidant effect of glutathione on promoting 2-keto-L-gulonic acid production in vitamin C fermentation system[J]. Journal of Applied Microbiology, 2018, 125(5): 1383-1395
- [26] Ji K. Optimization of nutrients and environmental conditions for vitamin C fermentation[D]. Wuxi: Master's Thesis of Jiangnan University, 2009 (in Chinese)  
纪凯. 维生素 C 发酵营养与环境条件优化[D]. 无锡: 江南大学硕士学位论文, 2009
- [27] Lyu SX, Guo ZY, Pan J, et al. Effect of rare earth elements on vitamin C fermentation by mixed cultures[J]. International Journal of Agriculture and Biology, 2014, 16(6): 1135-1140
- [28] Winkelmann G. Microbial siderophore-mediated transport[J]. Biochemical Society Transactions, 2002, 30(4): 691-696
- [29] D'Onofrio A, Crawford JM, Stewart EJ, et al. Siderophores from neighboring organisms promote the growth of uncultured bacteria[J]. Chemistry & Biology, 2010, 17(3): 254-264