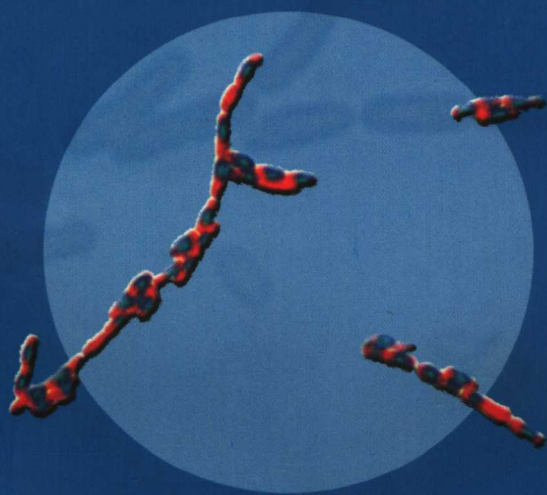


芽孢杆菌生物学及其应用

刘秀花 著



河南大学出版社

河南省教育厅自然基金项目
商丘师范学院学术著作出版基金资助

芽孢杆菌生物学及其应用

刘秀花 著

河南大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

芽孢杆菌生物学及其应用/刘秀花著. —开封:河南大学出版社, 2007. 9

ISBN 978-7-81091-618-9

I. 芽… II. 刘… III. ①芽孢杆菌属-生物学②芽孢杆菌属-应用 IV. Q939.124

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2007)第 090762 号

责任编辑 靳开川

装帧设计 马 龙

出 版 河南大学出版社

地址:河南省开封市明伦街 85 号 邮编:475001

电话:0378-2825001(营销部) 网址:www.hupress.com

排 版 郑州市今日文教印制有限公司

印 刷 辉县市文教印务有限公司

版 次 2007 年 9 月第 1 版 印 次 2007 年 9 月第 1 次印刷

开 本 890mm×1240mm 1/32 印 张 10.125

字 数 254 千字

定 价 25.00 元

(本书如有印装质量问题请与河南大学出版社营销部联系调换)

前 言

芽孢是某些细菌在生长后期产生的对热、辐射和化学物质有较强抗性的休眠孢子。自然界产芽孢的细菌种类和数量很多,与这类微生物能够产生抗逆性的芽孢有关。能产生芽孢的细菌菌体形状有螺旋状、球形、杆状和梭状等不同的形状,呼吸方式有好氧、兼性厌氧和厌氧之分。其中种类最多、研究和应用最广泛的是需氧的、产芽孢的杆状细菌,即在经典分类学中的芽孢杆菌属细菌,这里我们所提到的芽孢杆菌就是指的这一类细菌。

芽孢杆菌在自然界广泛存在,从土壤、水体、食品、用品、动植物体内和体表以及医学临床的样品中均可分离到芽孢杆菌。绝大多数的芽孢杆菌由于对人、畜无害以及在国民经济中有重要作用,因而受到国内外广大微生物学工作者的重视。芽孢杆菌在农业、工业,环境治理、医疗卫生和军事领域里得到广泛的应用,已经成为人类利用微生物资源的典范。近些年来,芽孢杆菌的研究飞速发展,枯草芽孢杆菌作为革兰氏阳性菌的模式菌株,在基因结构分析、基因功能分析、基因表达调控、功能蛋白表达等方面已经显示出越来越重要的地位,特别是枯草芽孢杆菌芽孢形成的时序调控已经成为微生物学性状时序表达的经典,为生命科学的发展做出了巨大的贡献。芽孢杆菌良好的分泌特性、在简单培养基上能良

好生长的特性以及抗逆特性,使得芽孢杆菌在食品发酵、医药和饲料生产等方面的应用研究也逐渐深入。有关芽孢杆菌的形态、分类、生理、生态、遗传和分子生物学方面的研究成果逐年增加,有关芽孢杆菌的应用研究和作用机理的研究论文也与日俱增,相信有关芽孢杆菌研究的队伍还会更加壮大。虽然有关芽孢杆菌的研究已经非常深入,应用极为广泛,但到目前为止,还没有一本较系统的、全面介绍芽孢杆菌的专著。我结合自己多年关于芽孢杆菌研究的成果,搜集整理了大量文献写成这本专著,希望它能给芽孢杆菌研究者提供一些帮助。

在本书的编著过程中,得到了许多同事、朋友的支持和鼓励,特别是梁峰博士不仅对本书提出了许多宝贵的意见,而且还对部分章节进行了审阅修改,花费了许多精力和时间,在此表示感谢。本书得到商丘师范学院学术著作出版基金和河南省教育厅自然基金的资助(项目编号:200510483001),本书的出版也得到河南大学出版社靳宇峰、靳开川等编辑的大力支持,在此一并表示感谢。

本书共分两大部分,包括 12 章,分别介绍芽孢杆菌的生物学研究进展和芽孢杆菌在农业、工业、医疗卫生等领域的应用。由于芽孢杆菌的生物学研究和实践应用的发展迅速,新的成果不断出现,尽管一直力求能够反映目前芽孢杆菌研究和应用的全貌,但鉴于本人水平有限,时间和精力有限,难免有许多遗漏和谬误,衷心希望读者给予批评指正。

刘秀花

2007 年 5 月于商丘

目 录

1	芽孢杆菌总论	(1)
1.1	芽孢杆菌的研究历史	(2)
1.2	芽孢杆菌与人类的关系	(6)
1.3	芽孢杆菌研究的意义	(10)
2	芽孢杆菌形态结构	(12)
2.1	芽孢杆菌群体形态	(12)
2.2	芽孢杆菌细胞结构	(13)
3	芽孢杆菌分类学	(24)
3.1	概述	(24)
3.2	芽孢杆菌的鉴定方法	(27)
3.3	芽孢杆菌分类学研究进展	(36)
3.4	重要芽孢杆菌菌种介绍	(45)
4	芽孢杆菌基因组特征	(57)
4.1	枯草芽孢杆菌基因组	(59)
4.2	耐盐芽孢杆菌基因组	(64)
4.3	蜡状芽孢杆菌基因组	(72)
4.4	炭疽芽孢杆菌基因组	(79)

4.5 芽孢杆菌基因组知识促进了基础科学生物的发展	(90)
4.6 比较转录组与蛋白质组学在工业微生物育种中的应用	(95)
5 芽孢杆菌生理学	(110)
5.1 芽孢杆菌的新陈代谢	(110)
5.2 芽孢杆菌的固氮与反硝化作用	(116)
5.3 芽孢形成的生理调控	(119)
5.4 枯草芽孢杆菌蛋白分泌途径	(121)
5.5 枯草芽孢杆菌蛋白酶	(128)
5.6 外源基因表达载体	(130)
5.7 枯草芽孢杆菌基因组及功能蛋白	(133)
6 芽孢形成的调控机制	(137)
6.1 概述	(137)
6.2 芽孢的形成与萌发	(138)
6.3 芽孢形成的基因调控	(142)
6.4 伴孢晶体形成与调控机制	(152)
7 芽孢杆菌生态学	(163)
7.1 研究方法	(163)
7.2 土壤中的芽孢杆菌	(168)
7.3 水体中的芽孢杆菌	(177)
7.4 空气中的芽孢杆菌	(179)
7.5 极端环境中的芽孢杆菌	(179)
7.6 植物与芽孢杆菌	(181)
7.7 动物益生芽孢杆菌	(185)
7.8 芽孢杆菌与环境污染的恢复	(190)
8 芽孢杆菌基因工程	(198)
8.1 芽孢杆菌基因工程载体系统	(198)

8.2	芽孢杆菌受体菌表达系统	(215)
9	芽孢杆菌杀虫剂	(225)
9.1	苏云金芽孢杆菌	(226)
9.2	球形芽孢杆菌	(237)
9.3	其他杀虫芽孢杆菌	(243)
9.4	杀虫剂的使用	(245)
10	芽孢杆菌的酶	(249)
10.1	蛋白酶	(250)
10.2	淀粉酶	(257)
10.3	脂肪酶	(261)
10.4	纤维素酶	(262)
10.5	β -甘露聚糖酶	(263)
10.6	几丁质酶	(264)
10.7	植酸酶	(266)
10.8	纳豆激酶	(270)
11	微生物肥料与植物病害防治	(274)
11.1	微生物肥料	(274)
11.2	芽孢杆菌与植物病害防治	(288)
12	炭疽芽孢杆菌与生物武器	(299)
12.1	概述	(299)
12.2	炭疽芽孢杆菌致病的分子机理	(302)
12.3	炭疽芽孢杆菌基因分型技术	(305)

1

芽孢杆菌总论

芽孢是某些细菌在生长后期产生的对热、辐射和化学物质有较强抗性的休眠孢子。芽孢杆菌是指好氧的、产芽孢的杆状细菌,在《伯杰细菌鉴定手册》第八版中被列入第十五部分“芽孢杆菌和球菌”的芽孢杆菌科(*Bacillaceae*)的芽孢杆菌属(*Bacillus*)。

芽孢杆菌属细菌是一类好氧或兼性厌氧、产生抗逆性内生孢子的杆状细菌,这类细菌多数为腐生菌,主要分布于土壤、植物体表面及水体中,由于它们能够产生对热、紫外线、电磁辐射和某些化学药品有很强抗性的芽孢,因此能忍受多种不良环境。芽孢杆菌中存在很多特殊功能的菌株,在工业、农业、医学、军事和科学研究中有广泛的应用价值:有的可以在高渗、高酸、高碱、高温、高寒的环境下良好生长,有较大的生态学价值;有的可分泌多种酶类,应用于酶制剂工业;有的可作为多种分泌蛋白基因表达受体,在基因工程和生物学研究领域中有较高的应用价值;除极个别的菌种外,多数菌种与动、植物关系密切并与其形成良好的共生体系,应用于益生菌制剂、微生物肥料的生产;有的菌种能产生对昆虫毒性较强的蛋白,用于微生物农药的生产;炭疽芽孢杆菌用于生物武器显示其重要的军事意义。芽孢杆菌属在自然界的广泛分布及其产生芽孢的特性,成为人们高度重视的微生物类群。

1.1 芽孢杆菌的研究历史

1.1.1 芽孢杆菌属的建立

对芽孢杆菌的研究最早可以追溯到 1835 年, Ehren-berg 发现和描述枯草芽孢杆菌, 限于当时分类学知识的限制, 把它命名为 *Vibrio subtilis*, 归为纤毛虫纲的弧菌属。1872 年, 德国 Breslau 大学植物生理研究所的 Ferdinand Cohn 首先提出芽孢杆菌属的分类单元, 把 *Vibrio subtilis* 改名为 *Bacillus subtilis*, 即枯草芽孢杆菌, 并把它作为芽孢杆菌属的模式菌株。到了 1938 年, Gibson 和 Topping 明确提出产生芽孢是芽孢杆菌属的主要分类特征, 至此, 好氧和产芽孢成了芽孢杆菌属的基本特征。

1.1.2 好氧芽孢杆菌的类群变迁

“伯杰氏手册”是国际上对细菌进行全面分类的权威著作, 最初是由美国宾夕法尼亚大学的细菌学教授伯杰(D. Bergey, 1860~1937)及其同事为细菌的鉴定而编写的, 名为《伯杰细菌鉴定手册》(*Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*), 简称“鉴定手册”。该书自 1923 年问世以来, 已进行过多次修订, 现已发行到第九版。从 1984 年开始, 细菌分类学家在鉴定手册的基础上开始编撰新的分类体系并定名为《伯杰细菌系统学手册》(*Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*), 简称“系统手册”, 第一版已分 4 卷陆续出版。系统手册在一些类群中增加了不少有关核酸杂交、16S rRNA 寡核苷酸序列等系统发育方面的资料, 特别是许多新的分类单元的划分, 都是经过核苷酸序列比较后提出的。但从总体上看, 由于细菌系统发育资料仍较零碎, 所以有相当一部分类群未能进行科目等级的分类, 对界、门、纲水平的分类也只提出了

初步的讨论意见,因而也就未能按照界、门、纲、目、科、属、种系统分类体系进行安排,而是从实用需要出发,主要根据表型特征将整个原核生物(包括蓝细菌)分为 33 组,芽孢杆菌被编在第二卷的第 13 组“形成芽孢的革兰氏阳性杆菌和球菌”。目前,系统手册第二版正在修订之中,共分五卷出版。据有关资料显示,芽孢杆菌被放在第三卷中的低 G+C 含量的革兰氏阳性细菌类群中的 22 组,即芽孢杆菌和乳杆菌。1994 年出版的鉴定手册第九版是将系统手册第一版中有关属以上分类单元的分类鉴定资料进行少量的修改补充后汇集而成,所以两个版本基本上是一样的。

芽孢杆菌的分类地位和类群组成是随着分类学的发展而不断发生变化的,这可以从每版伯杰氏手册的变化中看出。从伯杰氏手册第一版到第八版,好氧的产芽孢的细菌都归属芽孢杆菌属,仅仅是菌种数量发生了变化。自 1992 年以来,随着分类技术的进步,某些菌种陆续从芽孢杆菌属中分出,并被另立为新属,如:脂环酸芽孢杆菌属、类芽孢杆菌属、枝芽孢杆菌属及短芽孢杆菌属等。目前从芽孢杆菌属中独立出 8 个新属,预计系统手册第二版还会有新的类群独立出来。

虽然好氧和产芽孢是芽孢杆菌的典型特征,但多数芽孢杆菌菌种都还有其特定的表型特征,这虽然有助于芽孢杆菌的分类,但分类标准过于宽泛。核酸特征分析、全细胞脂肪酸或蛋白质等成分已经分析说明这是一大类差异较大的类群,不符合现代分类学的要求。因此,目前对于芽孢杆菌的分类已由原来的靠单一的表型或仅依据其基因型进行的单项分类转变为表型、基因型和系统发育信息综合评价的多相分类。国际系统细菌学委员会也设立一个芽孢杆菌属的多相分类研究项目,试图以 16S rRNA 的基因型为主要依据建立种描述的最小标准,对芽孢杆菌的命名进行修订。相信随着分类标准的系统化、标准化,芽孢杆菌的分类越来越趋于完善。

1.1.3 好氧芽孢杆菌研究的范畴

芽孢杆菌的分类标准逐渐细化,新的种类不断被发现,新的分类单元也会不断形成,会使芽孢杆菌的分类越来越科学化、准确化。但是在应用研究方面,从实用的角度出发,鉴定手册第八版的内容为更多的进行应用研究的微生物学工作者所接受。因此在本书中,芽孢杆菌的分类以及细菌名称还是以鉴定手册第八版的内容为准,特别是与人类关系密切的几种芽孢杆菌,如多粘芽孢杆菌、短小芽孢杆菌等。

鉴定手册第八版的第十五部分是芽孢杆菌和球菌,芽孢杆菌科包含5个属,属I是芽孢杆菌属,这里介绍了22个种和26个未确定的即未被广泛承认的种。

表 1-1 《伯杰细菌鉴定手册》第八版记载的芽孢杆菌属菌种

已经确定的种
枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i> (Ehren-berg) Cohn 1872, 174
短小芽孢杆菌 <i>Bacillus pumilus</i> Meyer & Gottheil in Gottheil 1901, 681
地衣芽孢杆菌 <i>Bacillus licheni formis</i> (Weigmann) Chester 1901, 287
蜡状芽孢杆菌 <i>Bacillus cereus</i> Frankland & Frankland 1887, 279
炭疽芽孢杆菌 <i>Bacillus anthracis</i> Cohn 1872, 177
苏云金芽孢杆菌 <i>Bacillus thuringiensis</i> Berliner 1915, 39
巨大芽孢杆菌 <i>Bacillus megaterium</i> de Bary 1884, 499
多粘芽孢杆菌 <i>Bacillus polymyxa</i> (Prazmowski) Macé 1889, 588
浸麻芽孢杆菌 <i>Bacillus macerans</i> Schardinger 1905, 772
环状芽孢杆菌 <i>Bacillus circulans</i> Jordan 1890, 831
嗜热脂肪芽孢杆菌 <i>Bacillus stearothermophilus</i> Donk 1920, 373
凝结芽孢杆菌 <i>Bacillus coagulans</i> Hammer 1915, 129
蜂房芽孢杆菌 <i>Bacillus alvei</i> Cheshire & Cheyne, 1885, 592
坚硬芽孢杆菌 <i>Bacillus firmus</i> Bredemann & Werner 1933, 470
侧孢芽孢杆菌 <i>Bacillus laterosporus</i> Laubach 1916, 511
短芽孢杆菌 <i>Bacillus brevis</i> Migula 1900, 583

球形芽孢杆菌 <i>Bacillus sphaericus</i> Meyer & Neide 1904, 350
巴氏芽孢杆菌 <i>Bacillus pasteurii</i> (Miquel) Chester 1898, 110
苛求芽孢杆菌 <i>Bacillus fastidiosus</i> den Dooren de Jong 1929, 349
幼虫芽孢杆菌 <i>Bacillus larvae</i> White 1906, 40
日本甲虫芽孢杆菌 <i>Bacillus popilliae</i> Dutky 1940, 57
缓病芽孢杆菌 <i>Bacillus lentimorbus</i> Dutky 1940, 57

未被广泛承认的种

解淀粉芽孢杆菌 <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> Fukumoto 1943, 488
极丑芽孢杆菌 <i>Bacillus medusa</i> Delaporte 1969, 1131
摩洛哥芽孢杆菌 <i>Bacillus maroccanus</i> Delaporte & Sasson 1967, 2346
太平洋芽孢杆菌 <i>Bacillus pacificus</i> 1967, 3071
缓慢芽孢杆菌 <i>Bacillus lentus</i> Gibson 1935, 368
植表芽孢杆菌 <i>Bacillus epiphytus</i> Zobell & Upham 1944, 266
蜂芽孢杆菌 <i>Bacillus apiarius</i> Katznelson 1955, 636
冷解糖芽孢杆菌 <i>Bacillus psychrosaccharolyticus</i> Larkin & Stokes 1967, 890
马阔里芽孢杆菌 <i>Bacillus macquariensis</i> Marshall & Ohye 1966, 45
左乳酸芽孢杆菌 <i>Bacillus laevolacticus</i> Nakayama & Yanoshi 1967, 149
消旋乳酸芽孢杆菌 <i>Bacillus racemilacticus</i> Nakayama & Yanoshi 1967, 150
丝状菌落芽孢杆菌 <i>Bacillus filicolonicus</i> Zobell & Upham 1944, 270
泛酸芽孢杆菌 <i>Bacillus pantothenicus</i> Proom & Knight 1950, 539
解维生素乙芽孢杆菌 <i>Bacillus thiaminolyticus</i> Kuno 1951, 364
生尘芽孢杆菌 <i>Bacillus pulvifaciens</i> Katznelson 1950, 155
丛毛芽孢杆菌 <i>Bacillus cirroflagellosus</i> Zobell & Upham 1944, 266
弗氏芽孢杆菌 <i>Bacillus freudenreichii</i> (Miquel) Chester 1898, 110
嗜碱芽孢杆菌 <i>Bacillus alcalophilus</i> Vedder 1934, 141
栗褐芽孢杆菌 <i>Bacillus badius</i> Batchelor 1919, 25
解硫胺素芽孢杆菌 <i>Bacillus aneurinolyticus</i> Kimura & Aoyama 1952, 127
延长芽孢杆菌 <i>Bacillus macroides</i> Bennett & Canale-Parola 1965, 204
噬胺芽孢杆菌 <i>Bacillus aminovorans</i> den Dooren de Jong 1926, 157
异常芽孢杆菌 <i>Bacillus insolitus</i> Larkin & Stokes 1967, 891

圆孢芽孢杆菌 <i>Bacillus globisporus</i> Larkin & Stokes 1967, 892
嗜冷芽孢杆菌 <i>Bacillus psychrophilus</i> Larkin & Stokes 1967, 894
酸热芽孢杆菌 <i>Bacillus acidocaldarius</i> Darland & Brock 1971, 9

1.2 芽孢杆菌与人类的关系

1.2.1 生物学理论的模式生物

芽孢杆菌是革兰氏阳性菌,由于其产生抗逆性的芽孢而使其成为一类独特的类群。由于芽孢具有较强的抗热性,所以在医疗、工业发酵等的灭菌过程中,是以杀死嗜热脂肪芽孢杆菌的条件来确定灭菌条件的。表 1-2 列出一些芽孢杆菌的耐热温度和时间。

表 1-2 芽孢杆菌的耐热性

细菌类型	致死温度及时间
炭疽芽孢杆菌	105℃, 5~10min 或 100℃, 20min
蜡状芽孢杆菌	100℃, 6min
枯草芽孢杆菌	100℃, 6~17min
嗜热脂肪芽孢杆菌	120~121℃, 12min
肉毒梭菌	100℃, 330min

芽孢是营养细胞生长到后期时产生的、用于度过不良环境的一个休眠体,芽孢启动形成的时间和营养细胞的信息接受、信号转导、代谢调控是密切联系着的,芽孢的启动形成和成熟反映了基因控制性状在时间和空间的有序性,是时序调控表达的典型代表。

芽孢杆菌良好的分泌特性已经成为科学家优先选用的基因表达载体,因此枯草芽孢杆菌作为革兰氏阳性菌的代表菌种在分泌结构、分泌机理和分泌过程等方面的研究成果极大地丰富了分子生物学的理论,也极大地推动了生命科学的发展。

在对芽孢杆菌作为表达载体的研究过程中发现,由于其良好的分泌特性和多数菌株产蛋白酶的特性,使得外源基因表达蛋白

量偏低,因此在菌种选育、菌种改造、生产工艺研究等方面进行了更深入的探讨。目前,主要的改进措施有两个方面:一是减少菌株产蛋白酶的量,例如构建蛋白酶突变菌株,采用很少或根本不分泌蛋白酶的菌株,控制外源蛋白在对数生长期分泌,采用蛋白酶抑制剂等;二是增加外源蛋白的分泌量,如采用分子伴侣及相关酶的协助作用,选择合适的信号肽并将其与成熟蛋白融合等。

1.2.2 用于生物农药的生产

自 1915 年德国科学家 Berliner 从地中海粉螟分离并命名起,苏云金芽孢杆菌(Bt)一直是生物农药研究的重要来源之一,这一研究也经历了一个漫长的发展过程。美国 1928 年启动了防治玉米螟计划,1929 年第一次大田应用,1938 年法国第一个产品 Sporeine 面世,20 世纪 50 年代许多国家进行了商业性生产。从发现该菌至今 100 多年历史中,世界上有超过万篇的研究报道,涉及生物学、分类命名、有效成分、杀虫机理、分子生物学、遗传学、产品化和安全性,包括近年来的转基因植物等诸多方面。

最近研究发现某些非杀虫的 Bt 株系的伴孢蛋白对体外培养的人癌细胞(MOLT-4、HeLa)具有毒杀能力。这类蛋白不属于已知的任何一种 Cry/Cyt 蛋白,其抗癌活性需经蛋白酶水解活化,所导致的细胞病变有明显的核凝聚和细胞肿胀过程。这个发现可能导致 Bt 在医疗上的新应用。

通常抗癌药物不能特异地作用于癌细胞,在杀死癌细胞的同时常伴随着正常体细胞的大量死亡。科学家研究发现,Bt 89-T-26-17 和 84-HS-1-11 菌株的水解产物能区别 MOLT-4 和正常 T 细胞,特异地杀死癌细胞;而 89-T-34-22 的毒蛋白虽然也会作用于正常 T 细胞,但它具有优先杀死 MOLT-4 的特点,在一定的浓度范围中,只杀死 MOLT-4 而不影响正常 T 细胞。这些研究展现了苏云金芽孢杆菌更广泛的应用价值。

球形芽孢杆菌的杀虫功能发现较晚,但目前研究已经广泛展开,菌株筛选、发酵生产、杀虫机理、基因工程等方面都有成果发表。另外,具有杀虫作用的芽孢杆菌还有蜂房芽孢杆菌、蜡状芽孢杆菌、幼虫芽孢杆菌、侧孢芽孢杆菌、日本甲虫芽孢杆菌、缓病芽孢杆菌、巨大芽孢杆菌、生尘芽孢杆菌等。

1.2.3 工业用酶重要生产菌

酶是活细胞产生的生物催化剂,芽孢杆菌产酶研究历史悠久,早在1917年,法国Boidin和Effront首创了用枯草芽孢杆菌生产淀粉酶,在纺织工业中用作退浆剂。1966年,我国自行选育的枯草芽孢杆菌1.398中性蛋白酶投入生产,至此我国的酶制剂工业迅速发展起来。据不完全统计,目前国内已经投产的以芽孢杆菌为主要生产菌株的酶制剂有 α -淀粉酶(BF7658、JD32 枯草芽孢杆菌)、碱性蛋白酶(2709 地衣芽孢杆菌、289 短小芽孢杆菌)、中性蛋白酶(1.398、5114 和 172 枯草芽孢杆菌),其他酶如纳豆激酶等也已投入试生产,部分已经批量生产。枯草芽孢杆菌是最早也是最多用于酶制剂生产的菌种,有关枯草芽孢杆菌酶的研究也是最深人的,例如高产菌株的选育、工程菌的研究、蛋白分泌机制的探讨等对提高酶产量和质量都起到了积极的推动作用。

芽孢杆菌能够形成的酶类达到几十种,比较典型的是蛋白酶和淀粉酶,其次是甘露聚糖酶、果胶酶、几丁质酶、木聚糖酶、纳豆激酶、 β -葡萄糖苷酶、纤维素酶、脂肪酶、植酸酶等常见酶,还有稀有的酶类,如 α -乙酰脱羧酶、超氧化物歧化酶、磷脂酶、木质素酶等。芽孢杆菌产酶的一个典型特点是胞外分泌酶,直接将酶分泌到培养基中,简化了工艺流程,从而节约了成本,适合于工业化生产。

1.2.4 制作多种微生物肥料

微生物肥料是一类含有活微生物的特定制剂,应用于农业生产中,能够获得特定的肥料效应。能够用作微生物肥料的芽孢杆菌种类很多,按其作用机理可分为根瘤菌肥料、固氮菌肥料、解磷类肥料、解钾类肥料等。

我国最早把芽孢杆菌作为微生物肥料生产菌种是在 20 世纪 50 年代,到现在已有近 60 年的历史。当时,从原苏联引进了能进行自生固氮的圆褐固氮菌、能够解磷的磷细菌巨大芽孢杆菌和解钾的硅酸盐细菌胶冻样芽孢杆菌(*Bacillus mucilaginosus*)作为生产菌种生产微生物肥料,这些微生物肥料曾经给我国农业生产带来了一定的增产效益。早在 1958 年,我国就明确提出要发展细菌肥料并写入国家农业发展纲要中。虽然经过了一些波折,到 2000 年,微生物肥料被国家科技部列为高科技产品并作为优先发展的农业项目。目前,我国微生物肥料的生产厂家超过 400 家,年产量达到 500 万吨左右。

经过几十年的研究和探索,我国已经自行筛选出多株有肥效功能的芽孢杆菌,如有固氮作用的短小芽孢杆菌、固氮芽孢杆菌(*B. azotofixans*)、环状芽孢杆菌等 10 多种,解磷的巨大芽孢杆菌、侧孢芽孢杆菌等,解钾的多粘芽孢杆菌、环状芽孢杆菌等。部分菌株已经投入生产。

芽孢杆菌不仅具有固氮、解磷和解钾的功能,而且还能分泌多种抗菌杀菌物质抑制多种病虫害的发生,如脂肽类、肽类、磷脂类、类噬菌体颗粒、细菌素、几丁质酶、蛋白酶等,不仅能够抑制或杀死病原菌,而且还可以克服病原菌对现有的抗菌素的抗性问题。我国利用芽孢杆菌防治植物病害的应用研究达到了世界先进水平,现已开发出一批生防作用优良的枯草芽孢杆菌菌株如 B916、B908、B3、B903、BL03、XM16,蜡状芽孢杆菌 R2 菌株,短小芽孢杆