汪晶晶,曹雪梅,李　欢,等. 抗菌海洋解淀粉芽孢杆菌 GM－1－2 菌株摇瓶发酵培养基和发酵条件优化[J]. 江苏农业科学,2018,46(8):291－295.
doi:10.15889/j.issn.1002－1302.2018.08.071

抗菌海洋解淀粉芽孢杆菌 GM－1－2 菌株摇瓶发酵培养基和发酵条件优化

汪晶晶[1], 曹雪梅[1], 李　欢[1], 暴增海[1], 马桂珍[1], 贾　杰[2], 王淑芳[1], 罗志会[2]
(1.淮海工学院,江苏连云港 222005; 2.江苏耕耘化学有限公司,江苏连云港 222005)

摘要:海洋解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)GM－1－2 菌株是在连云港海域海水中分离得到的 GM－1 菌株的自发突变菌株,对白色念珠菌(*Canidia albicans*)的生长具有明显的抑制作用。为提高 GM－1－2 菌株发酵液的抑菌效果,以 GM－1－2 菌株发酵液的 $D_{600\ nm}$ 及其无菌滤液对白色念珠菌的抑制作用为检测指标,采用单因素试验和正交试验对其发酵培养基和发酵条件进行优化。结果表明,GM－1－2 菌株生长及产生抑菌物质的适宜培养基配方为 200.00 g/L 马铃薯、17.50 g/L 葡萄糖、12.50 g/L 酵母膏、0.12 g/L 硫酸亚铁。最佳发酵条件:pH 值为 7,温度为 28 ℃,摇床转速为 180 r/min,培养时间为 30 h,装液量为 60 mL(250 mL 三角瓶),种子液浓度为 10^8 CFU/mL 时接种量为 10%。优化后,菌株 GM－1－2 的抑菌带宽度和菌体生长量均有明显提高,$D_{600\ nm}$ 由 1.228 0 增加至 1.672 7,抑菌带宽度由 20.00 mm 增加至 38.67 mm。

关键词:解淀粉芽孢杆菌;白色念珠菌;摇瓶发酵;抑菌作用;发酵条件;优化
中图分类号:TQ920.6　　**文献标志码**:A　　**文章编号**:1002－1302(2018)08－0291－05

白色念珠菌(*Canidia albicans*)是深部真菌感染中最主要的病源真菌,可以感染人体皮肤、黏膜、消化道及其他脏器,是临床重要的条件致病性真菌[1－2]。近年来,白色念珠菌感染率和对唑类药物耐药性逐年增加,而新型药物的研发较为迟缓,开发新型抗菌化合物为白色念珠菌引发的疾病进行有效治疗[3],是目前亟待解决的问题。

微生物生长过程中能够产生多种抗真菌和抗细菌的代谢产物,如酶类、脂肽、β－1,3 葡聚糖酶及伊枯草菌素等,其中部分代谢物对白色念珠菌具有明显的抑制作用[4－8]。Wang 等从虎杖的根部分离到 1 株内生链霉菌 A0916,它对白色念珠菌的抑菌带宽度达 18.3 mm[9]。杨胜远等从菜园土壤中分离到 1 株对白色念珠菌具有抑制作用的解淀粉芽孢杆菌 K6,它对白色念珠菌的抑菌带宽度为 16.3 mm[10]。马莉等的研究结果表明,枯草芽孢杆菌 LL18－4 产生的细菌素对白色念珠菌的抑制带宽度大于 16 mm[11]。王勇勇等从渤海湾分离得到 4 株对白色念珠菌有抑制作用的真菌,其中 BH431 菌株发酵液具有较广泛的酸碱适应范围及耐高温特性,具有广泛的生物活性[12]。张辉等从土壤中筛选出对白色念珠菌具有抑制作用的 2 株放线菌,并对其中 1 株放线菌的发酵条件进行优化,得到该菌株的最适发酵时间为 96 h,发酵培养基的 pH 值为 7.1,温度为 29 ℃,转速为 220 r/min,最佳碳源为淀粉,最佳氮源为玉米粉[13]。

海洋芽孢杆菌具有生长繁殖快、代谢周期短、耐受性强、非致病性且能够产生种类丰富、结构新颖的次级代谢产物等特点,成为工业生产的重要菌质资源,具有广阔的应用前景[14－16]。GM－1－2 菌株是在江苏省连云港海域海水中分离到的海洋解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)GM－1 菌株的自发变异菌株,该菌株及其发酵液对白色念珠菌(*C. albicans*)、小麦根腐病病菌(*Bipolaris sorokiniana*)、棉花黄萎病病菌(*Verticillium dahliae* Kleb)、小麦赤霉病病菌(*Fusarium graminearum*)等多种病原真菌具有明显的抑制作用(待发表),初步研究结果表明,GM－1－2 菌株具有良好的开发应用前景。本试验以白色念珠菌为指示菌,采用单因素试验和正交试验对变异菌株 GM－1－2 摇瓶发酵的最适培养基成分和发酵条件进行优化,旨在为该菌株的大规模发酵工艺研究提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　试验菌株

海洋解淀粉芽孢杆菌 GM－1－2 菌株,由 GM－1 菌株变异而来,指示菌为白色念珠菌,均由笔者所在实验室保存。

1.2　培养基

GM－1－2 菌株及指示菌菌种活化培养基为 PDA 培养基,GM－1－2 菌株种子液培养基及指示菌培养基为 PD 培养液。发酵培养基及其配方如表 1 所示。

1.3　抑菌活性检测

采用琼脂扩散法。在 PDA 平板上涂布 100 μL 培养 24 h 浓度为 10^6 CFU/mL 的白色念珠菌菌液,每个涂菌平板上等距离摆放 4 个牛津杯,每个牛津杯中加入 200 μL GM－1－2

收稿日期:2016－11－16
基金项目:江苏省科技厅(现代农业)重点研发计划(编号:BE2016335);江苏省连云港市科技局产业前瞻与共性关键技术项目(编号:CG1513)。
作者简介:汪晶晶(1991—),女,江苏连云港人,硕士研究生,主要从事抗菌海洋微生物及其代谢产物利用等研究。E－mail:763041067@qq.com。
通信作者:暴增海,硕士,教授,研究方向为植物病害生物防治。E－mail:baozh2008@aliyun.com。

表 1　发酵培养基及其配方

培养基	配方
2216E	5.00 g 蛋白胨,1.00 g 酵母膏,0.01 g 磷酸高铁,1 000 mL 水
NA	10 g 蛋白胨,3 g 牛肉膏,10 g NaCl,1 000 mL 水
YPAD	10 g 酵母膏,20 g 蛋白胨,20 g 葡萄糖,1 000 mL 水
NYDA	10 g 葡萄糖,8 g 牛肉膏,5 g 酵母膏,1 000 mL 水
BPY	5 g 葡萄糖,10 g 蛋白胨,5 g 牛肉膏,5 g NaCl,1 000 mL 水
LB	10 g 蛋白胨,5 g 酵母膏,10 g NaCl,1 000 mL 水
PDB	200 g 马铃薯,20 g 葡萄糖,1 000 mL 水
NB	3.0 g 牛肉膏,5.0 g 酵母膏,2.5 g 葡萄糖,3.0 g NaCl,5.0 mg $MnSO_4$,1 000 mL 水
BPDB	200 g 马铃薯,20 g 葡萄糖,20 g 牛肉膏,1 000 mL 水

菌株的无菌发酵液(无菌发酵液制备方法参照文献[17]),以等量的发酵培养基为对照,28 ℃培养 24 h,测定抑菌带宽度,重复 3 次。

1.4　初始发酵培养基的筛选

选择 9 种不同发酵培养基(表 1),将浓度为 10^8 CFU/mL 的 GM－1－2 菌株种子液按 10% 的接种量分别接于不同发酵培养基中,于 28 ℃、180 r/min 条件下培养 60 h,测定发酵液的 $D_{600\ nm}$ 和无菌发酵液的抑菌带宽度,每种发酵培养基 3 次重复。

1.5　发酵培养基优化的单因素试验

1.5.1　培养基最佳成分的确定　分别用 20 g/L 的葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、可溶性淀粉、甘油、半乳糖、果糖、α－乳糖、玉米糊精代替初始发酵培养基中的碳源;加入 10 g/L 的蛋白胨、豆饼粉、牛肉膏、酵母膏、大豆粉、麦麸作为有机氮源;加入 5 g/L 氯化铵、硫酸铵、硝酸钾、硝酸钠作为无机氮源;加入 1 g/L 磷酸氢二钾、氯化钠、碳酸钙、硫酸镁,0.1 g/L 硫酸锌、硫酸亚铁、硫酸钼、硫酸铜作为无机盐,加入等量的猪肝、番茄、维生素 C、低聚果糖、胡萝卜作为生长因子。以初始发酵培养液为对照,每个处理 3 次重复,测定发酵液的 $D_{600\ nm}$ 和抑菌带宽度。确定发酵培养基的最佳碳源、氮源、无机盐和生长因子。

1.5.2　培养基成分最佳浓度的确定　根据筛选的最佳碳源、氮源、无机盐和生长因子,设定不同浓度配制成不同浓度碳源、氮源和无机盐培养基进行发酵,测定不同浓度碳源、氮源和无机盐发酵液的 $D_{600\ nm}$ 和抑菌带宽度。以初始发酵培养液为对照,每个处理 3 次重复。确定发酵培养基的最佳碳源、氮源、无机盐和生长因子。

1.6　发酵培养基优化的正交试验

将筛选得到的最佳碳源、氮源、无机盐等 3 个重要的培养基因素按正交试验 $L_9(3^4)$ 设计,pH 值为 7.0,在 28 ℃、180 r/min 振荡培养 60 h,以 $D_{600\ nm}$ 和抑菌带宽度为指标考察 4 因素 3 水平对发酵水平的影响,确定最佳培养基配方。

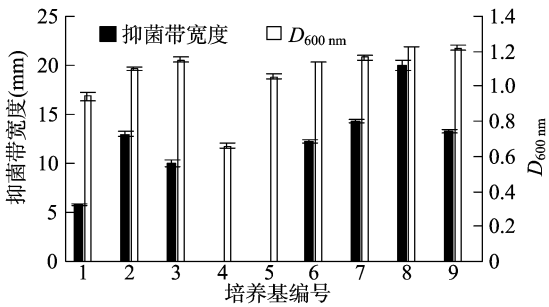
1.7　发酵条件的优化

在优化后的发酵培养基基础上,进行发酵条件的优化。种子液浓度为 10^8 CFU/mL 时接种量为 10%,装液量为 50 mL/250 mL,在 28 ℃条件下,180 r/min 振荡培养 60 h,分别优化发酵时间、初始 pH 值、培养温度、转速、接种量、装液量,设置不同的梯度,测定发酵液的 $D_{600\ nm}$ 和抑菌带宽度,每个处理重复 3 次。

2　结果与分析

2.1　初始发酵培养基筛选结果

由图 1 可知,GM－1－2 菌株在 8 号和 9 号培养基中发酵时,其发酵液菌体密度较高,$D_{600\ nm}$ 分别为 1.228 0、1.221 0,其次是 3 号和 7 号培养基,$D_{600\ nm}$ 分别为 1.152 0、1.165 0。在 8 号培养基中发酵液对白色念珠菌的抑制作用最强,抑菌带宽度达到 20.00 mm。因此,选择 8 号培养基(PDB 培养基)为 GM－1－2 菌株发酵的初始发酵培养基。

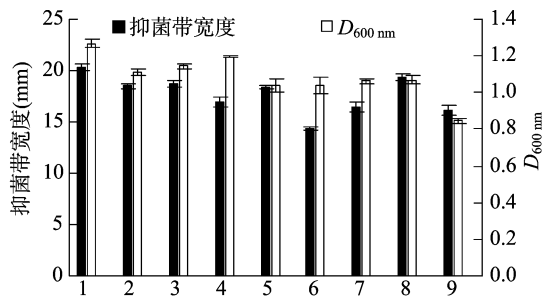


1—2216E 培养基;2—BPDB 培养基;3—BPY 培养基;4—LB 培养基;5—NA 培养基;6—NB 培养基;7—NYDA 培养基;8—PDB 培养基;9—YPAD 培养基

图1　GM－1－2 菌株在不同培养基发酵液中的抑菌带宽度和 $D_{600\ nm}$

2.2　发酵培养基筛选的单因素试验结果

2.2.1　碳源种类及浓度筛选结果　由图 2 可知,GM－1－2 菌株在以葡萄糖为碳源的培养基中发酵时,发酵液菌体密度和抑菌活性最高,$D_{600\ nm}$ 为 1.269 0,抑菌带宽度为 20.33 mm,其次是为果糖时,抑菌带宽度为 19.33 mm,$D_{600\ nm}$ 为 1.067 0。另外果糖的成本明显高于葡萄糖,因此选择葡萄糖作为 GM－1－2 菌株发酵培养基的最佳碳源。



1—葡萄糖;2—蔗糖;3—麦芽糖;4—可溶性淀粉;5—甘油;6—半乳糖;7—α-乳糖;8—果糖;9—玉米糊精

图2　GM－1－2 菌株在不同碳源培养基发酵液中的抑菌带宽度和 $D_{600\ nm}$

由图 3 可知,不同葡萄糖浓度对 GM－1－2 菌株的抑菌带宽度及菌体生长量均有较大影响。当葡萄糖浓度为 17.5 g/L 时,抑菌带宽度和 $D_{600\ nm}$ 均达到最高值,分别为

20.83 mm、1.225 0。因此,选择 15.0、17.5、20.0 g/L 葡萄糖作为碳源的 3 个水平进行正交试验。

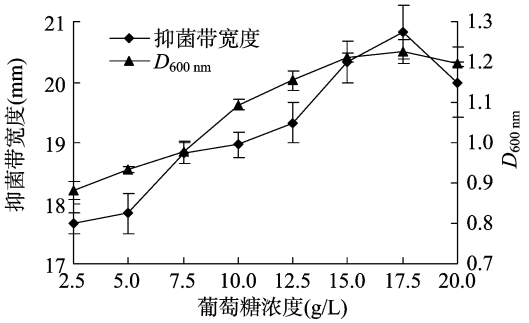
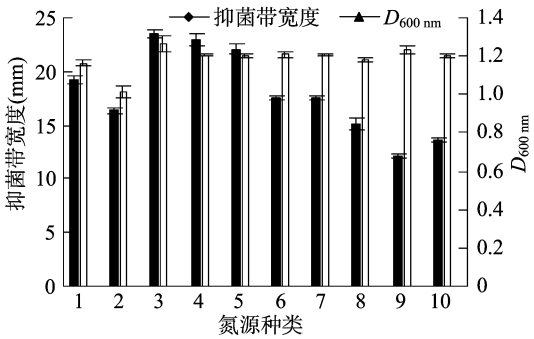


图3　GM-1-2 菌株在不同葡萄糖浓度的培养基发酵液中的抑菌带宽度和$D_{600\ nm}$

2.2.2　氮源种类及浓度筛选结果　由图 4 可知,3 号、4 号、5 号有机氮源发酵液的抑菌带宽度和菌体密度均有所提高,其中,以酵母膏作为氮源的培养基抑菌带宽度和 $D_{600\ nm}$ 均最高,分别为 23.50 mm、1.264 0。因此,选择酵母膏作为 GM-1-2 菌株发酵的最佳有机氮源。



1—蛋白胨;2—豆饼粉;3—酵母膏;4—牛肉膏;5—大豆粉;6—麦麸;7—氯化铵;8—硫酸铵;9—硝酸钾;10—硝酸钠

图4　GM-1-2 菌株在不同氮源发酵液中的抑菌带宽度和$D_{600\ nm}$

由图 5 可知,GM-1-2 菌株在不同酵母膏浓度下的抑菌活性和菌体生长量均有明显变化。当酵母膏浓度为 2.5 ~ 10.0 g/L 时,抑菌带宽度、$D_{600\ nm}$ 均明显上升。当酵母膏浓度为 10.0 g/L 时,抑菌带宽度、$D_{600\ nm}$ 均达到最高值,分别为 23.43 mm、1.279 0。当酵母膏浓度高于 10.0 g/L 时,抑菌带宽度、$D_{600\ nm}$ 均逐渐下降。因此,选择 7.5、10.0、12.5 g/L 酵母膏作为氮源的 3 个水平进行正交试验。

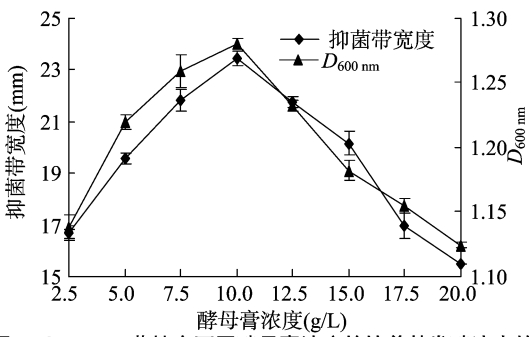
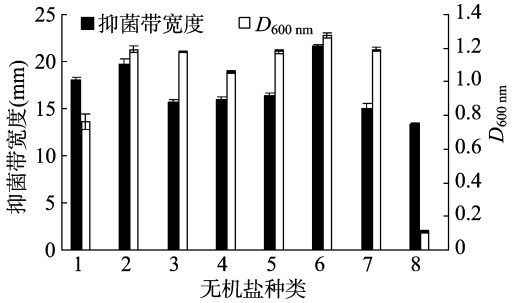


图5　GM-1-2 菌株在不同酵母膏浓度的培养基发酵液中的抑菌带宽度和 $D_{600\ nm}$

2.2.3　无机盐种类及浓度筛选结果　由图 6 可知,无机盐种类不同对海洋解淀粉芽孢杆菌 GM-1-2 菌株抑菌活性和菌体密度的影响均较为明显。含有硫酸亚铁发酵液的抑菌带宽度、$D_{600\ nm}$ 均最高,分别达到 21.67 mm、1.275 0,其次是含有磷酸氢二钾发酵液的抑菌带宽度,为 19.73 mm。结果表明,在培养基中添加硫酸亚铁有利于 GM-1-2 菌株的生长和抑菌物质的产生。



1—硫酸锌;2—磷酸氢二钾;3—氯化钠;4—碳酸钙;5—硫酸镁;6—硫酸亚铁;7—硫酸钼;8—硫酸铜

图6　GM-1-2 菌株在不同无机盐培养基发酵液中的抑菌带宽度和$D_{600\ nm}$

由图 7 可知,当硫酸亚铁的浓度为 0.12 g/L 时,抑菌带宽度、$D_{600\ nm}$ 均较高,抑菌带宽度为 22.23 mm,$D_{600\ nm}$ 为 1.296 5,当硫酸亚铁的浓度为 0.10、0.14 g/L 时次之。因此,选择 0.10、0.12、0.14 g/L 硫酸亚铁作为氮源的 3 个水平进行正交试验。

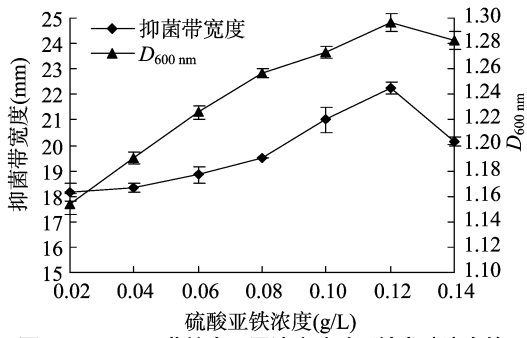
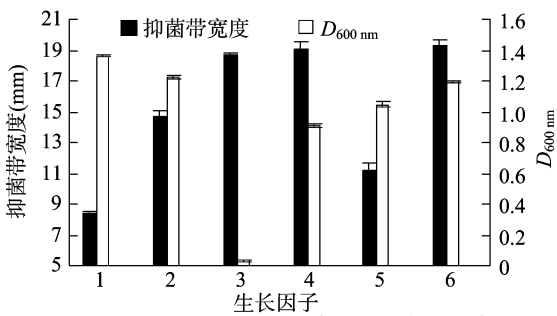


图7　GM-1-2 菌株在不同浓度硫酸亚铁发酵液中的抑菌带宽度和$D_{600\ nm}$

2.2.4　生长因子种类及浓度筛选结果　由图 8 可知,GM-1-2 菌株发酵液中加入不同生长因子时,对其抗菌活性及菌体生长量均无明显的促进作用。因此,正交试验中不加入生长因子。



1—猪肝;2—番茄;3—维生素 C;4—低聚果糖;5—胡萝卜;6—对照

图8　GM-1-2 菌株在不同生长因子培养基发酵液的抑菌带宽度和$D_{600\ nm}$

2.3　海洋解淀粉芽孢杆菌 GM-1-2 菌株培养基优化的正交试验结果

由表 2 可知,6 号组合培养基的抑菌带宽度、$D_{600\ nm}$ 均达

到最高值，抑菌带宽度为 26.67 mm，$D_{600\ nm}$ 为 1.276 0，与其他培养基差异显著。因此，选择 6 号组合作为 GM－1－2 菌株液体发酵培养基，其配方为 200.00 g/L 马铃薯、17.50 g/L 葡萄糖、12.50 g/L 酵母膏、0.12 g/L 硫酸亚铁，1 000 mL 水。

表 2　海洋解淀粉芽孢杆菌 GM－1－2 菌株培养基发酵液优化的正交试验结果

编号	培养基组成成分(g/L)			抑菌带宽度(mm)	$D_{600\ nm}$
	葡萄糖	酵母膏	硫酸亚铁		
1	1(15.0)	1(7.5)	1(0.10)	14.71±0.29f	1.160 7±0.007d
2	1	2(10.0)	2(0.12)	17.85±0.44e	1.193 7±0.009cd
3	1	3(12.5)	3(0.14)	22.74±0.33b	1.264 3±0.018ab
4	2(17.5)	1	3	20.79±0.33cd	1.220 0±0.008bc
5	2	2	1	19.80±0.17d	1.213 7±0.026c
6	2	3	2	26.67±0.17a	1.276 0±0.008a
7	3(20.0)	1	2	22.55±0.44b	1.237 7±0.021abc
8	3	2	3	21.76±0.29bc	1.220 0±0.012bc
9	3	3	1	20.98±0.17c	1.212 7±0.017c

注：同列数据后不同小写字母表示差异显著（$P<0.05$）。

2.4　菌株 GM－1－2 发酵条件筛选结果

2.4.1　菌株 GM－1－2 发酵时间优化　由图 9 可知，菌株 GM－1－2 在 0～22 h 内菌体密度逐渐上升，同时菌株开始产生抑菌物质；22～32 h 菌株 GM－1－2 的菌体生长平稳，进入稳定期。30 h 时抑菌带宽度、$D_{600\ nm}$ 均达到最大值，分别为 38.00 mm、1.542 0；32 h 后进入衰亡期，发酵液菌体密度逐渐下降，抑菌带宽度逐渐减小。因此，菌株 GM－1－2 的最佳发酵时间为 30 h。

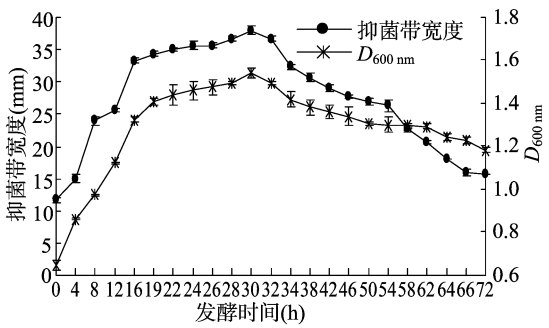


图9　菌株 GM－1－2 在不同发酵时间时发酵液的抑菌带宽度和 $D_{600\ nm}$

2.4.2　GM－1－2 菌株发酵初始 pH 值优化　由图 10 可知，不同初始 pH 值发酵液对 GM－1－2 菌株的抑菌活性影响较大。当初始 pH 值为 5～7 时，抑菌带宽度、$D_{600\ nm}$ 均明显上升；当初始 pH 值为 7 时，抑菌带宽度、$D_{600\ nm}$ 均达到最大值，分别为 37.67 mm、1.566 0；当初始 pH 值为 7～10 时，抑菌带宽度、$D_{600\ nm}$ 均逐渐下降。因此，GM－1－2 菌株发酵的最佳初始 pH 值为 7。

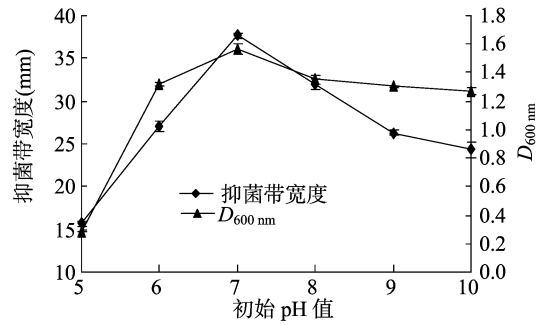


图10　GM－1－2 菌株在不同初始 pH 值条件下发酵液的抑菌带宽度和 $D_{600\ nm}$

2.4.3　GM－1－2 菌株发酵摇床转速优化　由图 11 可知，当转速为 180、200 r/min 时，GM－1－2 菌株的菌体密度较高，其 $D_{600\ nm}$ 分别为 1.527 7、1.510 7。且转速为 180 r/min 时，GM－1－2 菌株的抑菌带宽度达到最大值，为 37.67 mm。因此，选择 180 r/min 作为 GM－1－2 菌株发酵的最佳转速。

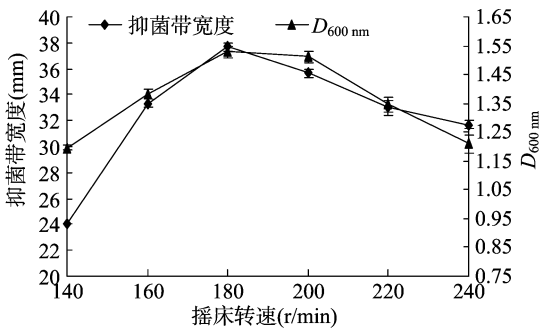


图11　GM－1－2菌株在不同摇床转速发酵条件下发酵液的抑菌带宽度和 $D_{600\ nm}$

2.4.4　GM－1－2 菌株发酵接种量优化　由图 12 可知，当接种量为 10% 时，菌株 GM－1－2 的抑菌带宽度、菌体密度均达到最大值，此时抑菌带宽度为 37.67 mm，$D_{600\ nm}$ 为 1.526 7。因此，选择接种量为 10% 作为 GM－1－2 菌株的最佳接种量。

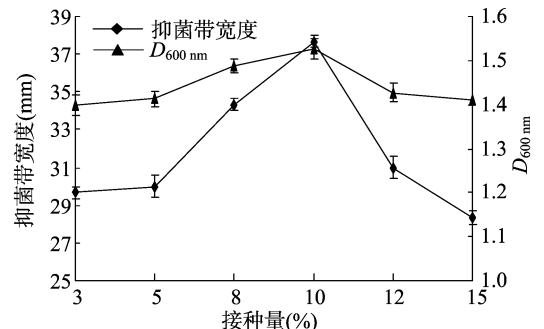


图12　GM－1－2 菌株在不同接种量条件下发酵液的抑菌带宽度和 $D_{600\ nm}$

2.4.5　GM－1－2 菌株发酵温度优化　由图 13 可知，当发酵温度为 28 ℃时，GM－1－2 菌株的抑菌活性和菌体密度均达到最大值，此时抑菌带宽度为 38.0 mm，$D_{600\ nm}$ 为 1.560 0。因此，选择 28 ℃作为 GM－1－2 菌株发酵的最佳温度。

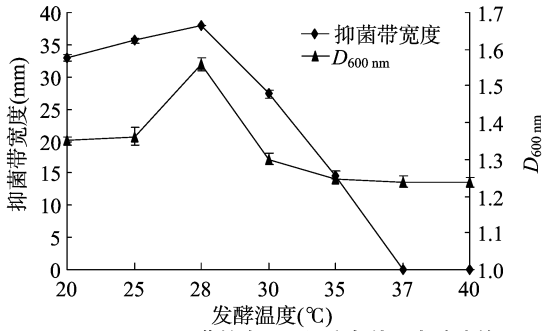


图13　GM-1-2 菌株在不同温度条件下发酵液的抑菌带宽度和$D_{600\ nm}$

2.4.6　GM－1－2 菌株发酵装液量优化　由图 14 可知，当装液量为 60 mL(250 mL 三角瓶)时，$D_{600\ nm}$达到 1.672 7，抑菌带宽度为 38.0 mm，均为最大值，此时最适合 GM－1－2 菌株抑菌活性物质的产生与菌体的生长。因此，选择装液量为 60 mL(250 mL 三角瓶)作为 GM－1－2 菌株的最佳装液量。

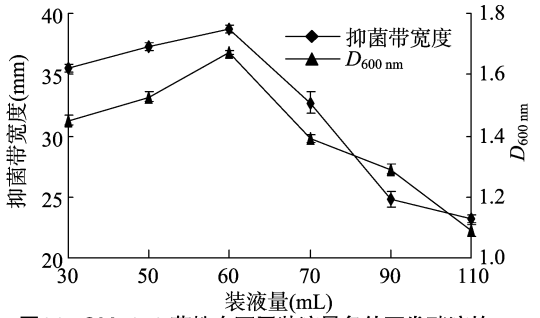


图14　GM-1-2 菌株在不同装液量条件下发酵液的抑菌带宽度和$D_{600\ nm}$

3　讨论与结论

摇瓶发酵培养过程中，GM－1－2 菌株发酵液的抑菌作用随着其菌体生长量的增加而增强，表明 GM－1－2 菌株产生的抑菌物质来源于产能的初级代谢，属于生长相关型代谢产物。因此，在后期工业生产大规模发酵研究中，可采用补料发酵的方式，进一步提高 GM－1－2 菌株的菌体生长量和抑菌物质产量。

本研究通过单因素试验和正交设计试验，对海洋解淀粉芽孢杆菌 GM－1－2 菌株发酵培养基及其发酵条件进行优化，结果表明，GM－1－2 菌株摇瓶发酵的最佳培养基配方为 17.50 g/L 葡萄糖、12.50 g/L 酵母膏、0.12 g/L 硫酸亚铁、200.00 g 马铃薯、1 000 mL 水。最佳发酵条件：28 ℃恒温培养，初始 pH 值为 7，180 r/min 摇床培养 30 h，装液量为 60 mL(250 mL 三角瓶)，种子液浓度为 10^8 CFU/mL 时接种量为 10%。菌株 GM－1－2 在培养基及发酵条件优化后的菌体生长量和抑菌带宽度均有明显提高，$D_{600\ nm}$由 1.228 0 增加到 1.672 7，抑菌带宽度由 20.00 mm 增加到 38.67 mm，比优化前抑菌带宽度提高 93.3%。本试验的结果可以为菌株 GM－1－2 的进一步开发应用提供理论基础。

参考文献：

[1]Nobile C J，Fox E P，Hartooni N，et al. A histone deacetylase complex mediates biofilm dispersal and drug resistance in *Candida albicans*[J]. MBio，2014，5(3)：e01201－e01214.

[2]Saghrouni F，Ben Abdeljelil J，Boukadida J，et al. Molecular methods for strain typing of *Candida albicans*：a review[J]. Journal of Applied Microbiology，2013，114(6)：1559－1574.

[3]陈　新，吴晓松，陈越英，等. 24 株医院感染白色念珠菌对醋酸氯己定的抗性研究[J]. 中国消毒学杂志，2016，33(5)：429－434.

[4]周　涛，肖亚中，李妍妍，等. 茜草内生菌的分离鉴定及其抗菌活性物质研究生[J]. 生物学杂志，2007，24(2)：9－12.

[5]曹建斌，于慧瑛，李　新. 耐盐芽孢杆菌 LAY 的分类鉴定及其抗白色念珠菌活性研究[J]. 生物技术通报，2015，31(9)：163－169.

[6]卢贻会，李　帅，周端顼，等. 白蚁巢拮抗放线菌 BYC01 代谢产物的分离和鉴定[J]. 微生物学报，2014，54(7)：754－759.

[7]矫文策，王玉梅，陈　超，等. 海洋来源链霉菌 M10 抗白色念珠 7 菌活性物质研究[J]. 应用海洋学学报，2013，32(2)：199－204.

[8]裘纪莹，陈相艳，吴发萍，等. 解淀粉芽孢杆菌 NCPSJ7 菌株高产抗菌物质的发酵条件优化[J]. 江苏农业科学，2016，44(1)：311－315.

[9]Wang L，Qiu P，Long X F，et al. Comparative analysis of chemical constituents，antimicrobial and antioxidant activities of ethylacetate extracts of *Polygonum cuspidatum* and its endophytic actinomycete，*Streptomyces* sp. A0916[J]. Chinese Journal of Natural Medicines，2016，14(2)：117－123.

[10]杨胜远，韦　锦，李　云，等. 一株产抗菌活性物质解淀粉芽孢杆菌的筛选及鉴定[J]. 食品科学，2010，31(21)：208－212.

[11]马　莉，罗俊成，张宿义，等. 固定枯草芽孢杆菌发酵生产类细菌素的研究[J]. 食品与发酵工业，2006，32(11)：39－42.

[12]王勇勇，蒙春蕾，蔡　爽，等. 抗白色念珠菌海洋真菌的筛选及抑菌活性初探[J]. 中国酿造，2015，34(2)：55－59.

[13]张　辉，杨俊青，周天惠，等. 抗菌拮抗放线菌的筛选以及发酵工艺的优化[J]. 河北师范大学学报(自然科学版)，2013，37(4)：397－401.

[14]柏凤月，倪孟祥. 海洋微生物来源的抗菌活性物质研究进展[J]. 化学与生物工程，2016，33(5)：15－20.

[15]田新朋，张　偲，李文均. 海洋放线菌研究进展[J]. 微生物学报，2011，51(2)：161－169.

[16]Bull A T，Stach J E. Marine actinobacteria：new opportunities for natural product search and discovery[J]. Trends in Microbiology，2007，15(11)：491－499.

[17]马桂珍，葛平华，刘兆普，等. 海洋解淀粉芽孢杆菌 GM－1 培养基及摇瓶发酵条件优化[J]. 作物杂志，2013(3)：36－41.