

## 一株简单芽孢杆菌的培养条件优化

周雪颖<sup>1</sup>, 王硕晗<sup>1</sup>, 李浩文<sup>1</sup>, 赫梓伶<sup>1</sup>, 陈玉杰<sup>2</sup>, 张超波<sup>1,2,\*</sup>

1. 聊城大学, 药学与食品工程学院, 山东 聊城, 252000

2. 山东农满谊农业科技有限公司, 山东 聊城, 252100

**摘要:** 简单芽孢杆菌 (*Bacillus simplex*) 是川藏高原的特色功能微生物, 在农业微生物菌剂开发应用中具有较高的潜力。本次研究对象是来自实验室的一株从川藏地区土壤样本中分离得到的简单芽孢杆菌, 并已经确认该菌株的生物学分类。本研究的主要内容是以 LB 培养基为基础, 通过对各成分含量进行单因素优化试验, 并根据单因素实验结果, 进一步通过 Box-Behnken 响应面法, 对酵母浸粉、胰蛋白胨、氯化钠的添加比例进行优化。最终, 单因素试验确定了各组分的适宜浓度范围, 并经响应面优化得到了最优培养基配方: 酵母浸粉 18.0 g/L、胰蛋白胨 10.0 g/L、氯化钠 5.0 g/L。在此培养条件下, 菌株 OD<sub>600</sub> 值可达 8.646, 与 LB 培养基相比, 提升了 26.11%。本研究通过搭建该菌株的高效培养体系, 为高原微生物菌剂的研发与应用提供理论参考与技术支撑。

**关键词:** 简单芽孢杆菌; 单因素试验; 响应面试验; 高原微生物菌剂

## Fermentation Condition Optimization of *Bacillus simplex* Strain

Zhou Xueying<sup>1</sup>, Wang Shuohan<sup>1</sup>, Li Haowen<sup>1</sup>, He Ziling<sup>1</sup>, Chen Yujie<sup>2</sup>, Zhang Chaobo<sup>1,2,\*</sup>

1. School of Pharmaceutical Sciences and Food Engineering, Liaocheng University, Liaocheng 252000, China

2. Shandong Nongmanyi Agricultural Technology Co., Ltd, Liaocheng 252100, China

**Abstract:** *Bacillus simplex* is a characteristic functional microorganism of the Sichuan-Tibet Plateau, with high potential for the development and application of agricultural microbial agents. The subject of this study is a simple *Bacillus* isolated from soil samples in the Sichuan-Tibet region from a laboratory, and the biological classification of this strain has been confirmed. The main content of this study is based on LB medium, conducting single-factor optimization experiments on the content of each component, and further optimizing the addition ratios of yeast infusion powder, tryptone, and sodium chloride using the Box-Behnken response surface method based on the single-factor experimental results. Finally, univariate experiments determined the suitable concentration range for each component, and the optimal medium formulation was optimized through response surface optimization: yeast extract powder 18.0 g/L, tryptone 10.0 g/L, sodium chloride 5.0 g/L. Under these culture conditions, the strain's OD<sub>600</sub> value reached 8.646, an increase of 26.11% compared to LB medium. This study establishes an efficient culture system for this strain, providing theoretical reference and technical support for the research and application of plateau microbial agents.

**Keywords:** Bacillus simple; Single-factor testing; Response surface testing; Plateau microbial agents

川藏高原土地贫瘠，主要因为海拔高、山地坡度大且本身土质保水保肥能力弱，导致表层和浅层有机质易流失，腐殖质含量极低。而高原地区的温差大和植被稀疏，导致微生物活性弱，植物残体少且分解缓慢，短时期内少量的有机质很难被分解并留在土壤表层。对于这种地区传统施肥的效果差，因为高原地区的土壤多为砂性土、砾石土吸附能力差，化肥易淋溶、挥发，作物难以吸收。还由于低温作物根系生长缓慢，吸收能力弱，肥料利用率极低。并且传统撒施、浅施，肥料易被雨水冲刷、大风带走；缺乏水肥配合，干旱时肥料无法溶解供作物吸收。

微生物菌剂是当地绿色农业的核心发展方向<sup>[1-3]</sup>。高原土壤中蕴藏着丰富的芽孢杆菌资源，但多数菌株的培养条件尚未得到系统性优化<sup>[4-6]</sup>。现有的基础培养基（如 LB 培养基）还未适配高原中简单芽孢杆菌的生长特性，存在生物量低、培养效率差的问题。针对特定菌株开展培养基优化，是提升发酵效率的关键环节<sup>[7-12]</sup>。本研究以来自川藏地区的简单芽孢杆菌为材料，通过单因素试验与响应面法来优化菌株的培养基配方，旨在解决规模化培养的瓶颈，为更好的利用高原特色微生物改善土壤环境提供技术基础，同时也为该菌株的工业化培养与应用提供依据。

简单芽孢杆菌 (*Bacillus simplex*) 是好氧型革兰氏阳性菌<sup>[4]</sup>，广泛分布在高原土壤<sup>[1,4-6]</sup>，具有耐贫瘠、抗逆性强、促生抑菌等特性<sup>[6]</sup>，是高原农业微生物菌剂的核心菌株<sup>[13-15]</sup>。该菌能够分泌促生长物质、降解土壤难溶性养分、抑制病原菌，而适配川藏地区高寒、贫瘠的生态环境，因此具备较高开发价值<sup>[16]</sup>。近年来，随着基因组学和代谢组学的发展，研究者已从分子水平揭示了该菌的抗菌物质合成基因簇及促生机制<sup>[16-18]</sup>。例如，Mushtaq 等发现 *B. simplex* 可通过产铁载体协同 L-色氨酸显著提升马铃薯营养品质<sup>[15]</sup>；Manetsberger 等证实该菌携带表面活性素、芬芥素等多种抗菌肽编码基因<sup>[16]</sup>。分类学上，Patel & Gupta 基于系统发育基因组学分析，已将 *Bacillus simplex* 重新划归至新属 *Peribacillus*<sup>[19]</sup>。因此，深入挖掘来自川藏高原的该菌株资源，具有重要的科学价值与应用前景。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

#### 1.1.1 菌种来源

本次研究的菌株来自于实验室菌种库，该菌株是从川藏地区土壤样本中分离得到的，并已经确认该菌株为简单芽孢杆菌。

#### 1.1.2 主要试剂

酵母浸粉、胰蛋白胨、氯化钠等试剂，均来自国药集团化学试剂有限公司。

#### 1.1.3 主要仪器

紫外可见分光光度计、高压蒸汽灭菌锅、恒温气浴摇床、恒温培养箱、超净工作台。

### 1.2 生长曲线的测定

采用基础 LB 液体培养基，将活化后的简单芽孢杆菌按 2% 接种量接入培养基，37°C、180 rpm 振荡培养，分别在 0、2、4、6、8、10、12、14、16、20 h 取样，以基础培养基为空白对照，测定菌液在 600 nm 波长下的吸光度值，绘制菌株生长曲线，确定菌株最佳生长取样时间。

### 1.3 单因素实验设计

以标准 LB 培养基为基础，固定其他培养条件（37°C、180 rpm、振荡培养 20 h），分别考察酵母浸粉、胰蛋白胨、氯化钠添加浓度对菌株生长的影响，每组设置 3 个平行重复，以 OD<sub>600</sub> 值反映菌体生物量。各因素浓度梯度设置如表 1。

表1 单因素实验表  
Table 1 Single-factor experiments

| 成分   | 浓度梯度 (g/L)                   |
|------|------------------------------|
| 酵母浸粉 | 2.0、5.0、10.0、15.0、20.0       |
| 胰蛋白胨 | 2.0、10.0、20.0、30.0、40.0      |
| 氯化钠  | 2.0、10.0、20.0、30.0、40.0、50.0 |

#### 1.4 响应面试验设计

依据单因素实验结果, 选取对菌株生长影响显著的酵母浸粉 (A)、胰蛋白胨 (B)、氯化钠 (C) 等三个要素为自变量, 以培养 20 h 的 OD<sub>600</sub> 值为响应值, 采用 Box-Behnken 中心组合设计进行三因素三水平响应面优化, 试验因素水平设置见表 2。

表2 响应面试验因素表  
Table 2 Response surface test factor table

| 因素   | 水平 (g/L) |      |      |
|------|----------|------|------|
|      | -1       | 0    | +1   |
| 酵母浸粉 | 12.0     | 15.0 | 18.0 |
| 胰蛋白胨 | 5.0      | 10.0 | 15.0 |
| 氯化钠  | 5.0      | 10.0 | 15.0 |

#### 1.5 数据处理

采用 Design-Expert 13.0 软件对响应面数据进行二次回归拟合、方差分析及模型验证; 运用 Origin 2022 软件绘制生长曲线、单因素曲线图、响应面图及交互作用图; 每组实验数据以三组平行实验平均值表示, 确保结果可靠性。

## 2 结果与分析

### 2.1 生长曲线测定与单因素优化结果

在 37°C、180 rpm 振荡培养的条件下, 测得的简单芽孢杆菌在 LB 液体培养基中的生长曲线如图 1 A 所示, 其生长过程呈现出典型的微生物分批培养动力学特征, 可划分为延迟期、对数生长期与稳定期三个阶段, 未观察到衰亡期特征, 通过计算得出菌株代时约为 2.3 h。本实验条件下, 简单芽孢杆菌的对数生长期为 2-14 h, 生物量的峰值出现在 20 h 左右, 后续的发酵优化或者菌体收集检测可选择在 12~16 h 的对数生长后期或者 20 h 的稳定期进行, 从而满足不同的实验需求。

酵母浸粉是微生物培养中应用最广泛的复合营养源之一, 不仅可以为菌体生长提供持续稳定的能源和碳架, 还作为有机氮源, 为菌体合成蛋白质、核酸等关键生物大分子提供原料。如图 1 B 所示从整体上来看, 实验数据反映出简单芽孢杆菌的生物量随着酵母浸粉浓度的改变而变化, 呈现先上升后下降的单峰变化趋势, 不同浓度的酵母浸粉浓度对于菌株生长的影响差异明显。浓度过低会因为营养不足而限制菌体增殖, 浓度过高则会因为渗透压改变、代谢副产物积累而产生轻微抑制。本实验条件下, 酵母浸粉的最适添加量为 15.0 g/L。

胰蛋白胨是 LB 培养基中核心的有机氮源, 可以直接影响菌体的增殖效率与生物量的积累水平。如图 1 C 所示, 从整体的实验数据来看, 简单芽孢杆菌的生物量对于胰蛋白胨浓度有着较高要求, 低浓度下的氮源供应严重短缺, 菌体生长量明显降低。将胰蛋白胨浓度提升到 10.0 g/L 后, 菌液的 OD<sub>600</sub> 迅速提升到 6.856, 该浓度下, 菌体生长的状态最佳。胰蛋白胨的浓度高于 10.0 g/L 后, 菌体

的生物量随浓度上升逐渐降低,抑制作用随浓度升高不断增强。

氯化钠是 LB 培养基中的关键无机组分,其浓度变化对于菌体的增殖效率与生物量积累具有突出影响。如图 1 D 所示,从整体实验数据的变化趋势可以看出,简单芽孢杆菌的生物量在氯化钠的浓度提高到 10.0 g/L 后,菌液 OD<sub>600</sub> 上升到 6.856,菌体的生物量达到整个浓度梯度的最大值。氯化钠的浓度超过 10.0g/L 后,菌体的生物量会随着浓度的升高持续下降,而且浓度越高,对生长的抑制作用就越明显。值得一提的是,即便在 50.0 g/L 的高盐浓度下,菌体依旧能保持一定的生长状态 (OD<sub>600</sub>=5.148),这说明简单芽孢杆菌对于高盐环境有一定的耐受能力。

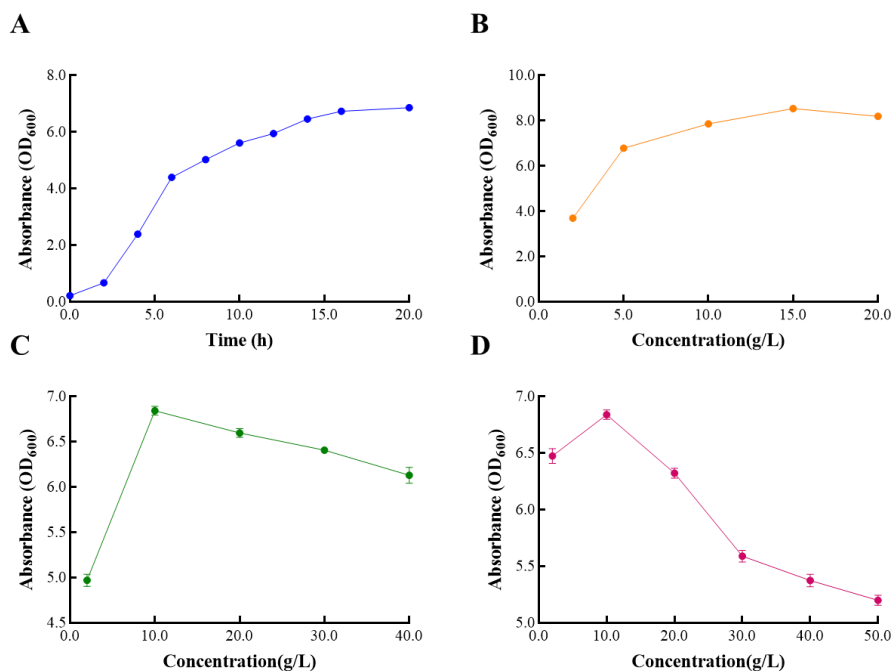


图 1 简单芽孢杆菌在 LB 液体培养基中的生长曲线 (A) 以及不同浓度酵母浸粉 (B)、胰蛋白胨 (C) 和氯化钠 (D) 对简单芽孢杆菌生长的影响

Fig. 1 Growth curve of *Bacillus simplex* in LB liquid medium (A) and the effects of different concentrations of yeast extract (B), tryptone (C), and sodium chloride (D) on the growth of *Bacillus simplex*

## 2.2 响应面优化结果与分析

在单因素试验基础上,选取对简单芽孢杆菌生长影响显著的酵母浸粉 (A)、胰蛋白胨 (B)、氯化钠 (C) 为考察因素,培养 20 h 后的菌液 OD<sub>600</sub> 值为响应值,采用 Box-Behnken 中心组合设计开展三因素三水平响应面优化试验。通过系统分析各因素独立效应、交互作用及整体响应曲面,明确培养基组分的最优组合方案,为简单芽孢杆菌的高效发酵培养提供理论依据。

### 2.2.1 实验设计与模型拟合度分析

#### 2.2.1.1 响应面实验设计

以单因素试验确定的最优水平为中心,设置三因素编码水平。酵母浸粉 (A) 为 12.0 (-1)、15.0 (0)、18.0 (+1) g/L; 胰蛋白胨 (B) 为 5.0 (-1)、10.0 (0)、15.0 (+1) g/L; 氯化钠 (C) 为 5.0 (-1)、10.0 (0)、15.0 (+1) g/L。共设计 15 组试验,其中 3 组为中心重复试验,用于评估试验误差,具体设计与实测结果见表 3。

表3 响应面试验设计

Table 3 Response Surface Experimental Design

| 实验序号 | A          | B          | C         | OD <sub>600</sub><br>(20 h) |
|------|------------|------------|-----------|-----------------------------|
|      | 酵母浸粉 (g/L) | 胰蛋白胨 (g/L) | 氯化钠 (g/L) |                             |
| 1    | 12         | 5          | 10        | 8.448                       |
| 2    | 18         | 5          | 10        | 8.228                       |
| 3    | 12         | 15         | 10        | 8.173                       |
| 4    | 18         | 15         | 10        | 7.766                       |
| 5    | 12         | 10         | 5         | 7.898                       |
| 6    | 18         | 10         | 5         | 8.646                       |
| 7    | 12         | 10         | 15        | 7.568                       |
| 8    | 18         | 10         | 15        | 8.085                       |
| 9    | 15         | 5          | 5         | 8.360                       |
| 10   | 15         | 15         | 5         | 7.997                       |
| 11   | 15         | 5          | 15        | 7.832                       |
| 12   | 15         | 15         | 15        | 7.601                       |
| 13   | 15         | 10         | 10        | 8.206                       |
| 14   | 15         | 10         | 10        | 7.986                       |
| 15   | 15         | 10         | 10        | 8.349                       |

## 2.2.1.2 回归模型构建与拟合度验证

采用 Design-Expert 软件对实验数据进行二次多项式回归拟合, 得到 OD<sub>600</sub> 响应值与三因素的回归方程:

$$OD=8.18+0.13A-0.21B-0.16C-0.07AB+0.07AC+0.02BC-0.09A^2-0.07B^2-0.13C^2$$

如图2所示, 横坐标为实验实测 OD<sub>600</sub> 值, 纵坐标为模型预测 OD<sub>600</sub> 值。数据点均匀分布于对角线两侧, 无明显离群点, 表明模型预测精度高, 可靠性强。模型方差分析 (ANOVA) 显示: 模型整体极显著 ( $p<0.0001$ ), 失拟项不显著 ( $p>0.05$ ), 决定系数  $R^2=0.968$ , 调整决定系数  $R^2_{adj}=0.931$ , 说明模型可解释 93.10%以上的响应值变异, 试验误差极小, 拟合度良好, 能准确反映因素与菌体生物量的真实关系。

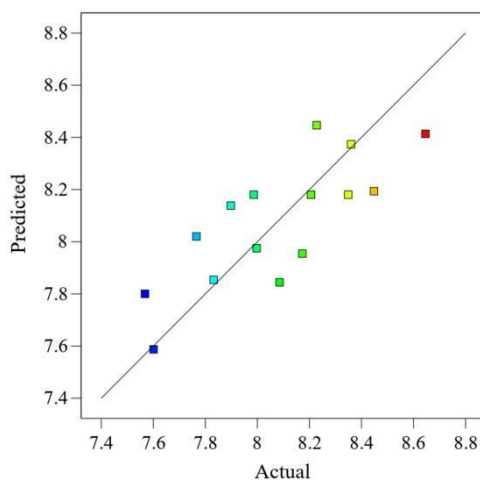


图2 模型预测值与实测值拟合关系图

Fig. 2 Fitted relationship between model predictions and measured values

## 2.2.2 单因素与扰动效应分析

### 2.2.2.1 因素扰动效应分析

扰动图 (Perturbation Plot) 可直观反映各因素在编码水平范围内对响应值的影响强度与方向, 曲线斜率绝对值越大, 因素影响越显著。如图 3 结果显示: 三因素对菌体生物量的影响排序为 C (氯化钠) > B (胰蛋白胨) > A (酵母浸粉)。氯化钠与胰蛋白胨均呈显著负效应, 浓度升高时 OD<sub>600</sub> 快速下降; 酵母浸粉呈弱正效应, 浓度升高时 OD<sub>600</sub> 缓慢上升, 与单因素试验“高盐、高胰蛋白胨抑制生长, 酵母浸粉促进生长”的规律完全一致。

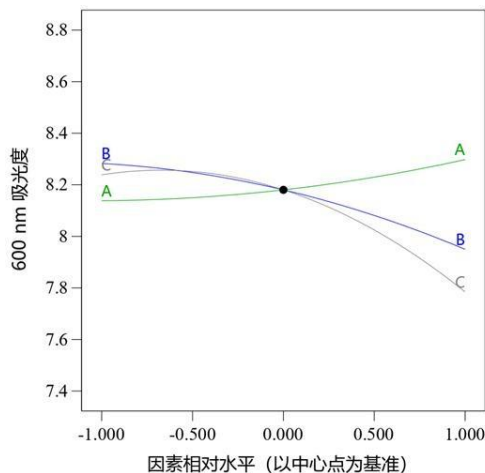


图 3 各因素对简单芽孢杆菌生物量的扰动效应曲线

Fig. 3 Disturbance effect curves of various factors on the biomass

### 2.2.2.2 单因素独立效应分析

单因素效应曲线 (One Factor Plot) 量化了各因素独立变化时对菌体生物量的影响, 结合 95.00% 置信区间 (CI) 可判断效应显著性。分析结果: (1) 酵母浸粉: 12.0~18.0 g/L 范围内, OD<sub>600</sub> 随浓度升高缓慢上升, 曲线平缓且 CI 区间较宽, 表明其独立效应不显著, 主要通过与其他因素的交互作用发挥影响 (图 4A); (2) 胰蛋白胨: 5.0~15.0 g/L 范围内, OD<sub>600</sub> 随浓度升高显著下降, 曲线斜率大且 CI 区间较窄, 表明其独立抑制效应显著 (图 4B); (3) 氯化钠: 5.0~15.0 g/L 范围内, OD<sub>600</sub> 随浓度升高快速下降, 降幅最大, CI 区间极窄, 证明其是影响菌体生长的最关键因素 (图 4C)。

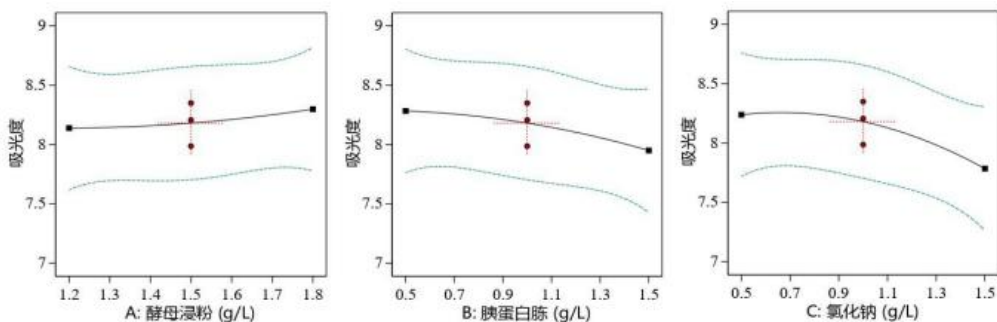


图 4 各单因素对简单芽孢杆菌 OD<sub>600</sub> 的效应曲线

Fig. 4 Effect curves of each single factor on OD<sub>600</sub>

### 2.2.3 两因素交互作用分析

通过 2D 响应曲面图与等高线图, 固定第三因素为中心水平, 分析任意两因素的交互作用对菌体生物量的影响, 结合交互效应线图综合判断因素间的协同/拮抗关系。

### 2.2.3.1 酵母浸粉 (A) 与胰蛋白胨 (B) 的交互作用

如图 5 (左) 所示, 固定氯化钠浓度为 10.0 g/L (中心水平), 分析两因素交互效应。从得到的交互线图能看到, 胰蛋白胨为 5.0 g/L 低浓度时, 菌体生物量整体更高,  $OD_{600}$  随酵母浸粉浓度升高缓慢上升; 胰蛋白胨为 15.0 g/L 高浓度时, 生物量整体下降, 且受酵母浸粉浓度变化的影响显著减小。如图 5 (右) 所示, 2D 响应面图呈左低右高、上低下高的形态, 说明低胰蛋白胨和高酵母浸粉的组合更利于菌体生长。两因素存在较弱的协同拮抗作用, 高浓度胰蛋白胨会抵消酵母浸粉带来的营养促生长效果。

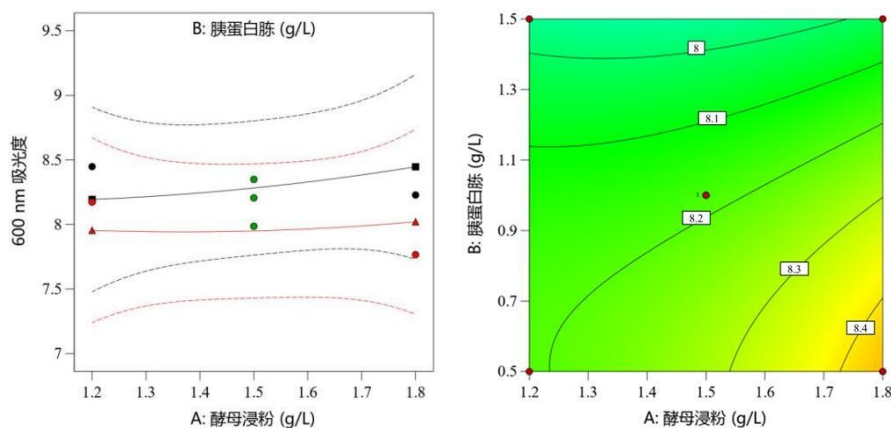


图 5 酵母浸粉与胰蛋白胨交互效应线图 (左) 与 2D 响应面图 (右)

Fig. 5 Interaction plot of yeast extract powder and tryptone (left) and 2D response surface plot (right)

### 2.2.3.2 酵母浸粉 (A) 与氯化钠 (C) 的交互作用

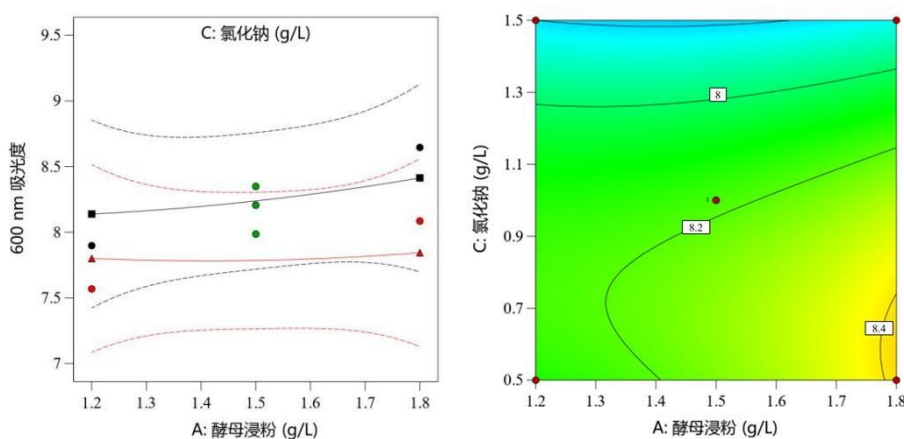


图 6 酵母浸粉与氯化钠交互效应线图 (左) 与 2D 响应面图 (右)

Fig. 6 Interaction effect line graph of yeast extract powder and sodium chloride (left) and 2D response surface graph (right)

如图 6 (左) 所示, 固定胰蛋白胨浓度为 10.0 g/L (中心水平), 分析两因素交互效应。从得到的交互线图能看到, 氯化钠处于低水平 (5.0 g/L) 时, 菌体生物量显著更高, 且  $OD_{600}$  随酵母浸粉浓度升高呈明显上升趋势, 在  $A=18.0$  g/L、 $C=5.0$  g/L 时达到全试验峰值 8.646; 氯化钠处于高水平 (15.0 g/L) 时, 生物量整体显著下降, 且随酵母浸粉浓度变化的幅度极小。如图 6 (右) 所示, 2D 响应面图呈现显著的“下坡型”曲面, 高值区集中于低氯化钠+高酵母浸粉区域, 低值区集中于高氯化钠区域, 证明两因素间存在显著拮抗交互作用: 高盐胁迫会严重抑制菌体生长, 即使提高酵母浸

粉浓度也难以逆转抑制效应，而低盐条件下酵母浸粉的营养作用可充分发挥。

### 2.2.3.3 胰蛋白胨 (B) 与氯化钠 (C) 的交互作用

如图 7 (左) 所示, 固定酵母浸粉浓度为 15.0 g/L (中心水平), 分析两因素交互效应。交互线图显示, 两因素浓度同时升高时,  $OD_{600}$  值呈显著下降趋势; 氯化钠处于低水平时, 胰蛋白胨浓度升高的抑制效应更明显。如图 7 (右) 所示, 2D 响应面图显示曲面呈“马鞍型”, 高值区集中于低胰蛋白胨+低氯化钠, 低值区集中于两因素高水平组合。结合实验 12 组 (A=15, B=15, C=15, OD=7.601) 的最低生物量结果, 证明胰蛋白胨与氯化钠存在协同抑制效应, 高浓度叠加会显著提高培养基渗透压, 导致菌体代谢能量被大量消耗于渗透压调节, 进而抑制增殖。

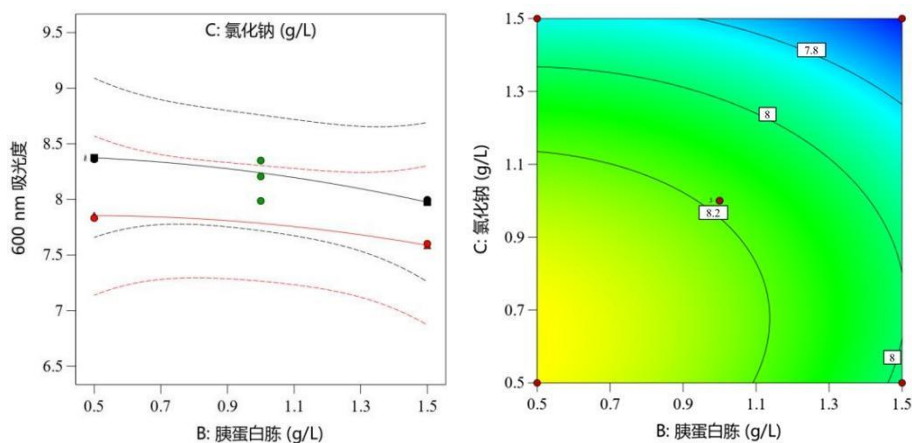


图 7 胰蛋白胨与氯化钠交互效应线图 (左) 与 2D 响应面图 (右)

Fig. 7 Interaction effect line graph of tryptone and sodium chloride (left) and 2D response surface graph (right)

### 2.2.4 三因素整体响应曲面与组合效应分析

#### 2.2.4.1 三因素响应曲面综合分析

如图 8 所示, 三张 3D 图均显示, 菌体生物量的高值区域集中于酵母浸粉高水平 (18.0 g/L)、胰蛋白胨低水平 (5.0~10.0 g/L)、氯化钠低水平 (5.0 g/L), 低值区域集中于三因素高水平组合。其中, 酵母浸粉×氯化钠的 3D 曲面坡度最陡, 进一步验证氯化钠是调控菌体生长的核心因素。

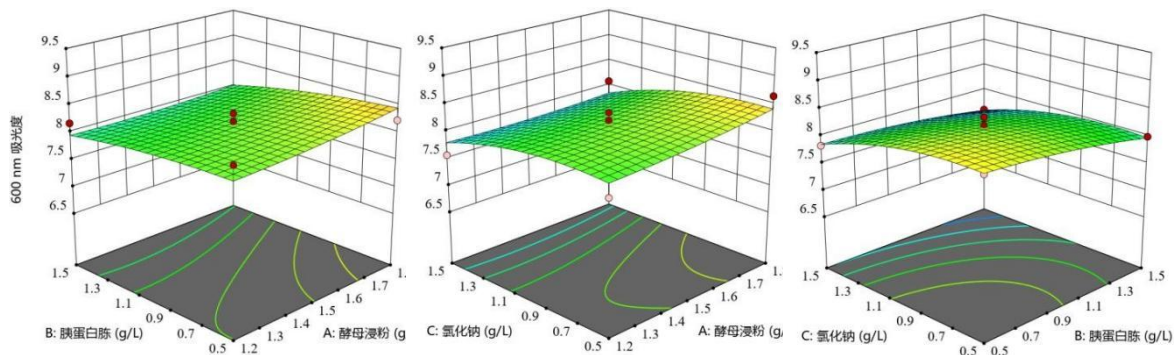


图 8 三因素两两交互作用对菌体生长影响的响应面及等高线总图

Fig. 8 Overall response surface and contour map of the effects of three factors' pairwise interactions on microbial growth

#### 2.2.4.2 三因素组合效应与最优条件预测

如图 9 所示, 立方体效应图 (Cube Plot) 可直观呈现三因素不同水平组合下的预测  $OD_{600}$  值, 快速识别最优组合区间。立方体图显示, 酵母浸粉 18.0 g/L、胰蛋白胨 10.0 g/L、氯化钠 5.0 g/L 组

合的预测  $OD_{600}$  值最高 (8.58898), 与实验第 6 组实测值 8.646 高度吻合; 而酵母浸粉 12.0 g/L、胰蛋白胨 15.0 g/L、氯化钠 15.0 g/L 组合的预测值最低 (7.601), 与实验第 12 组实测值一致。进一步证明低氯化钠、适宜胰蛋白胨、高酵母浸粉是核心条件。

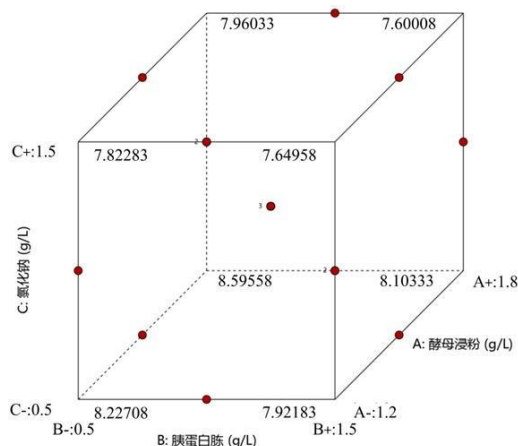


图 9 三因素不同水平组合的  $OD_{600}$  立方体效应图

Fig. 9  $OD_{600}$  Cube Effect Diagram of Different Combinations of Three Factors

### 2.2.5 最优条件验证

基于回归模型数值优化, 确定简单芽孢杆菌 LB 培养基的最优组分条件为: 酵母浸粉 18.0 g/L、胰蛋白胨 10.0 g/L、氯化钠 5.0 g/L。在该条件下, 菌株  $OD_{600}$  为 8.646, 较基础 LB 培养基 ( $OD_{600}=6.856$ ) 提升了 26.11%。

## 3 结论

(1) 在本研究中, 单因素试验结果表明, 酵母浸粉、胰蛋白胨、氯化钠浓度对简单芽孢杆菌生长影响显著, 菌株生物量随各因子浓度升高均呈先升后降趋势。

(2) 响应面优化试验的结果表明, 三种因素对菌株生物量的影响大小排序为氯化钠 > 胰蛋白胨 > 酵母浸粉。经过模型优化与实际验证, 确定简单芽孢杆菌的最优发酵工艺参数为: 酵母浸粉 18.0 g/L、胰蛋白胨 10.0 g/L、氯化钠 5.0 g/L。本研究成功建立了适配川藏源简单芽孢杆菌的高效培养方法, 为该菌株的实验室培养、规模化发酵, 以及高原农业微生物菌剂的研发, 提供了理论参考和技术支持。

## 参考文献

- [1] 靳贵梅, 德吉, 央桑, 等. 拉萨市林周县白朗村农田土壤原核微生物多样性分析[J]. 中国农学通报, 2020, 36(6): 74-81.
- [2] Yang N, Zhou C, Li Y, et al. Microbial specialists in high-altitude forest soils: environmental sensitivity and ecological significance[J]. Frontiers of Environmental Science & Engineering, 2024, 19(3): 30-30.
- [3] 法雪婷, 谢占玲, 董德誉, 等. 青海海西盐碱地菌剂浸种燕麦对细菌群落结构及土壤养分的响应[J]. 青海大学学报, 2025, 43(5): 27-37.
- [4] 谢永丽, 马莉贞, 徐志伟, 等. 冻土荒漠区分离低温适生 PGPR 菌的鉴定及其抗菌促生特性[J]. 中国生物防治学报, 2014, 30(1): 94-100.
- [5] 谢永丽, 高学文. 可可西里低温适生拮抗芽孢杆菌的筛选鉴定及脂肽化合物分析[J]. 应用生态学报, 2013, 24(1): 149-155.
- [6] 谢永丽. 青海不同生境芽孢杆菌多样性分析、生防菌筛选及其抗病促生机理研究[D]. 南京农业大学, 2014.
- [7] 刘芳, 廖先清, 周荣华, 等. 响应面法优化贝莱斯芽孢杆菌 CY30 发酵培养基的研究[J]. 湖北农业科学, 2019, 58(23):

- 91-94.
- [8] 邹娟, 黄悦, 姚蓉, 等. 响应面法优化芽孢杆菌 B-6 产絮凝剂的发酵培养基[J]. 生物数学学报, 2014,29(3): 538-546.
- [9] 马红珍, 闫敏, 李磊, 等. 基于响应面法优化贝莱斯芽孢杆菌 C44 发酵参数[J]. 山西农业科学,2023, 51(9): 1088-1097.
- [10] 饶彝, 周荣华, 闵勇, 等. 枯草芽孢杆菌的发酵培养基优化研究[J]. 湖北农业科学, 2018, 57(21):127-129.
- [11] 王文颖, 张淑曼, 马宏, 等. 一株羊肚菌促生细菌菌株 T3 的筛选、鉴定及其发酵条件优化[J]. 微生物学通报, 2025, 52(11): 5146-5159.
- [12] Liu X, Martin J J J, Li X, et al. Optimization of the fermentation culture conditions of *Bacillus amyloliquefaciens* ck-05 using response surface methodology[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2025. 16:1552645-1552645.
- [13] Hirsch M A, DeMason A D, Sanders R E, et al. *Bacillus simplex*—A Little Known PGPB with Anti-Fungal Activity—Alters Pea Legume Root Architecture and Nodule Morphology When Coinoculated with *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*[J]. *Agronomy*, 2013, 3(4): 595-620.
- [14] Hassen I A, Labuschagne N. Root colonization and growth enhancement in wheat and tomato by rhizobacteria isolated from the rhizoplane of grasses[J]. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 2010, 26(10): 1837-1846.
- [15] Mushtaq Z, Alwutayd M K. Siderophore-producing Bacteria *Bacillus simplex* and *Acinetobacter calcoaceticus* and L-Tryptophan Enhance the Nutritional, Antioxidant Activity and Volatile Compound Profiles of Potatoes[J]. *Potato Research*, 2025, 68(4): 1-14.
- [16] Manetsberger J, Gómez C N, Benomar N, et al. Antimicrobial activity of environmental *Bacillus* spp. and *Peribacillus* spp. isolates linked to surfactin, fengycin, bacillibactin and lantibiotics[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2025, 316(P1): 144644.
- [17] 刘亚勇, 张涛涛, 高琳, 等. 防治卵孢小奥德蘑蛛网病生防菌筛选及其基因组分析[J]. 微生物学报,2025, 65(2): 758-770.
- [18] Yoon H, Lee J, Kim Y, et al. Genome report of *Peribacillus simplex* strain IMG9 isolated from soil[J]. *Microbiology resource announcements*, 2025, 14(1): 0086024.
- [19] Sudip P, S R G. A phylogenomic and comparative genomic framework for resolving the polyphyly of the genus *Bacillus*: Proposal for six new genera of *Bacillus* species, *Peribacillus* gen. nov., *Cytobacillus* gen. nov., *Mesobacillus* gen. nov., *Neobacillus* gen. nov., *Metabacillus* gen. nov. and *Alkalihalobacillus* gen. nov.[J]. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 2020, 70(1): 406-438.

**基金项目:**校企合作项目—农用益生菌菌剂新产品开发 (K25LD128)。

**第 1 作者简介:**周雪颖 (2003-), 女, 本科在读, 研究方向: 微生物种质资源开发。E-mail: aaazxy8888@163.com。

**\*通讯作者简介:**张超波 (1982-), 男, 博士研究生, 副教授, 硕士生导师, 研究方向: 微生物种质资源开发。E-mail: zhangchaobo@lcu.edu.cn。