

3 株乳酸芽孢杆菌的筛选、初步鉴定及应用试验

徐春厚, 潘俊福, 相菲, 韩伟, 谢为天

(广东海洋大学 动物医学系, 广东 湛江 524088)

摘要:通过对41株产酸芽孢杆菌 *Bacillus* 培养物的 HPLC 分析及抑菌活性和芽孢形成检测, 筛选出3株能产生乳酸、有抑菌活性、易形成芽孢的乳酸芽孢杆菌. 通过形态染色特性观察、Biolog 系统鉴定及16S rDNA 碱基序列分析, 初步鉴定3株菌为芽孢杆菌 SC *Bacillus* sp. SC、芽孢杆菌 TR *B. sp.* TR 和蜡状芽孢杆菌 SL1 *B. cereus* strain SL1. 动物饲养试验显示, 乳酸芽孢杆菌益生菌能提高三黄鸡血清钙、磷、总蛋白、球蛋白、溶菌酶、IgG、IgA 含量及脾脏、胸腺和法氏囊指数; 饲料中添加5 g/kg 的乳酸芽孢杆菌益生菌, 可使56日龄三黄鸡的平均日增质量提高13.61%, 料质量比降低18.37%.

关键词:乳酸芽孢杆菌; 筛选; 鉴定; 应用试验; 三黄鸡

中图分类号: TQ920.6; Q939.9

文献标识码: A

文章编号: 1001-411X(2010)02-0117-04

Screening, Preliminary Identification and Application Test of Three *Bacillus* Strains Producing Lactic Acid

XU Chun-hou, PAN Jun-fu, XIANG Fei, HAN Wei, XIE Wei-tian

(Department of Animal Medicine, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China)

Abstract: The culture of 41 *Bacillus* strains producing acid was analysed by detection of HPLC, bacteriostatic activity and sporulation. Three lactic acid *Bacillus* strains producing lactic acid, antibacterial substance and spore were identified. According to the morphological characteristics, staining property, Biolog systematic identification and 16S rDNA sequence analysis, three strains were identified as *Bacillus* sp. SC, *B. sp.* TR and *B. cereus* strain SL1. Animal feeding trials showed that lactic acid *Bacillus* probiotics could increase content of calcium, phosphorus, total protein, globulin, lysozyme, IgG, IgA in serum of three buff chickens, and indexes of spleen, thymus, bursa of three buff chickens. To 56 day-old three buff chickens, 5 g/kg probiotics in feedingstuff could raise average daily gain to 13.61%, reduce feed to gain ratio to 18.37%.

Key words: lactic acid *Bacillus*; screening; identification; application test; three buff chickens

微生态制剂是近年来国内外迅速崛起的饲料添加剂, 具有调节肠道功能紊乱、维持肠道内菌群平衡、促进生长和提高机体免疫力等作用, 且能够解决服用抗生素带来的耐药性、二重感染及药物残留等问题, 已被广泛地应用于畜牧、水产养殖及饲料等行业^[1-3]. 微生态制剂的制备需要益生菌, 而产乳酸芽孢杆菌 *Bacillus* 因其同时具有乳酸菌和芽孢杆菌的优点而成为最为理想的益生菌之一^[4]. 本文从41株产酸芽孢杆菌中筛选鉴定出了3株产乳酸芽孢杆菌, 并用三黄鸡作为试验动物进行了应用试验, 以期将来的开发和应用奠定基础.

1 材料与方法

1.1 产乳酸芽孢杆菌的筛选

1.1.1 产酸芽孢杆菌 产酸芽孢杆菌共41株, 由广东海洋大学动物微生物学实验室从红树根际土壤、菜园土壤、甘蔗根毛、酸菜、饲料及动物肠道内容物等样品中分离获得, 培养物 pH 均在4.5以下.

1.1.2 产酸种类检测 用 HPLC (日本岛津, LC-20 A), 以色谱纯的乳酸标准品做为参照进行测定.

1.1.3 抑菌活性检测 指示菌及指示菌液的制备:

收稿日期: 2009-08-20

作者简介: 徐春厚(1962—), 男, 教授, E-mail: xuchunhou@sina.com

基金项目: 广东省科技计划项目(2006B20301023)

金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus*、大肠埃希菌 *Escherichia coli*、鸡白痢沙门菌 *Salmonella pullorum*、多杀性巴氏杆菌 *Pasteurella multocida* 和枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis*, 购于中国兽医药品监察所. 将5种指示菌分别接种到普通肉汤培养基, 37 °C 培养 18 h, 配制成 10^6 cfu/mL 的菌液作为指示菌液. 待测样品的制备: 将产乳酸芽孢杆菌在 GYP 培养基 (葡萄糖 0.02 kg/L, 蛋白胨 0.005 kg/L, 酵母提取物 0.005 kg/L, pH 7.0) 上连续传 3 代, 将第 3 代 37 °C、48 h 培养物离心, 上清液即为待测样品. 抑菌圈大小测定: 用牛津杯双层平板定量扩散法测定产乳酸芽孢杆菌代谢产物有无抑菌活性.

1.1.4 芽孢形成检测 将产乳酸芽孢杆菌的 37 °C、48 h 培养物置于 80 °C 恒温水浴锅中 20 min, 用 GYP 平板上生长的菌落数表示该菌的芽孢数.

1.2 产乳酸芽孢杆菌的鉴定

1.2.1 形态学观察 将筛选出的产乳酸芽孢杆菌涂片、革兰染色、芽孢染色, 显微镜观察其形态和染色特性.

1.2.2 Biolog 系统鉴定 将筛选出的产乳酸芽孢杆菌用 Biolog 自动微生物鉴定系统 (美国, Biolog Micro Station 4.2) 进行鉴定.

1.2.3 16S rDNA 寡核苷酸序列测定 将 3 株产乳酸芽孢杆菌用 Fastprep fp120 型核酸快速提取仪提取细菌总 DNA, 设计 PCR 引物分别是: 正向引物为 27f (5' - AGAGTTTGGATCCTGGCTCAG - 3'), 反向引物为 1492 r (5' - GGTTACCTTGTTACGACTT - 3'); PCR 反应条件为: 94 °C 预变性 5 min, 然后 94 °C 50 s、60 °C 50 s、72 °C 90 s, 35 个循环, 最后 72 °C 延伸 10 min; PCR 产物回收纯化并测序, 将所测得的序列提交给 GenBank, 并与 GenBank 中的 16S rRNA 序列进行 Blastn 分析比较, 确定其相似性.

1.3 乳酸芽孢杆菌益生菌对三黄鸡的作用

1.3.1 乳酸芽孢杆菌益生菌的制备 将 3 株产乳酸芽孢杆菌接种于发酵培养基 (黄豆汁、甘蔗汁和少量无机盐), 37 °C、120 r/min 振荡培养 24 h, 再静置发酵 48 h, 即为乳酸芽孢杆菌培养物. 将该培养物用麸皮吸附低温烘干, 即为乳酸芽孢杆菌益生菌, 活菌数为 5.6×10^9 cfu/mL.

1.3.2 动物试验 将 1 日龄健康三黄鸡分为 5 个组, 每组设 2 个重复, 每个重复各 10 只雏鸡. 对照组饲喂基础日粮, 抗生素组饲喂添加 2 g/kg 恩诺沙星的基础日粮, 试验组 I、II、III 饲喂添加乳酸芽孢杆菌益生菌的基础日粮, 添加量分别为 5、10、15 g/kg, 试验进行 8 周, 试验鸡按常规方法进行饲养管理, 于 7 日龄免疫新城疫、传染性支气管炎二联活疫苗.

1.3.3 测定指标及方法 生产性能: 试验鸡每周第 1 d 早上 8:00 空腹以重复为单位称体质量, 并称剩、给料量, 在三黄鸡 1~28、29~56 及 1~56 日龄阶段

结算平均日采食量、日增体质量和料质量比. 血清指标: 试验鸡于 28、56 日龄采血, 分离血清, 用南京建成生物工程研究所提供的试剂盒测定血清钙、磷、总蛋白、白蛋白、球蛋白、胆固醇和溶菌酶的含量; 在广东医学院附属医院测定血清 IgG、IgA 含量. 免疫器官指数: 于 28、56 日龄每重复随机抽取 2 只试验肉鸡, 屠宰后取其胸腺、脾脏、法氏囊, 剔除周围脂肪, 称鲜质量, 准确记录数据, 并按 (免疫器官鲜质量/活质量) $\times 100\%$ 计算免疫器官指数.

1.3.4 数据统计分析 采用 SPSS 13.0 统计软件进行单因素方差分析, 以 LSD 多重比较显著水平.

2 结果与分析

2.1 产乳酸芽孢杆菌的筛选

2.1.1 产酸种类检测 用 HPLC 检测 41 株分离菌的产酸量及保留时间, 有 6 株分离菌的保留时间为 2.624~2.648 min, 与色标乳酸的保留时间 (2.628 min) 相近, 说明这 6 株菌所产酸为乳酸; 其中 SC、TR、SL1 株产乳酸量最高, 分别为 3.86、3.52、3.53 $\mu\text{L}/\text{mL}$.

2.1.2 抑菌活性检测 由表 1 可看出, 3 株产乳酸芽孢杆菌对革兰染色阳性菌的抑菌活性较强, 对阴性菌较弱.

表 1 3 株产乳酸芽孢杆菌培养物的抑菌圈直径

Tab.1 Inhibition zone diameter of culture of three *Bacillus* strains producing lactic acid cm

菌株	指示菌				
	金黄色葡萄球菌	大肠埃希菌	鸡白痢沙门菌	多杀性巴氏杆菌	枯草芽孢杆菌
SC	2.80	1.15	0.90	1.15	2.65
TR	2.45	1.05	1.00	1.00	2.25
SL1	2.10	1.00	0.90	1.00	2.35

2.1.3 芽孢形成检测 产乳酸芽孢杆菌 SC、TR、SL1 株的芽孢数分别为: 9.6×10^8 、 9.9×10^8 、 7.9×10^8 cfu/mL.

2.2 产乳酸芽孢杆菌的初步鉴定

2.2.1 形态学观察 由图 1 可见, 3 株产乳酸芽孢杆菌均为革兰染色阳性菌, 能形成芽孢.

2.2.2 Biolog 系统鉴定 3 株菌的 GP2 培养鉴定板经读数后给出结果, 显示出 3 株菌均为芽孢杆菌属, 但不能定出具体种名. 与 SC、TR 株相似性较大的芽孢杆菌有: 幼虫芽孢杆菌 *Bacillus larvae*、热葡萄糖苷酶地芽孢杆菌 *Geobacillus thermoglucosidasius*、苛求芽孢杆菌 *B. fastidiosus*、解淀粉芽孢杆菌 *B. amyloliquefaciens*、巨大芽孢杆菌 *B. megatherium* 等; 与 SL1 株相似性较大的芽孢杆菌有: 蜡状芽孢杆菌 *B. cereus*、覃状芽孢杆菌 *B. mycoides*、栗褐芽孢杆菌 *B. badius*、巨大芽孢杆菌 *B. megatherium* 等.

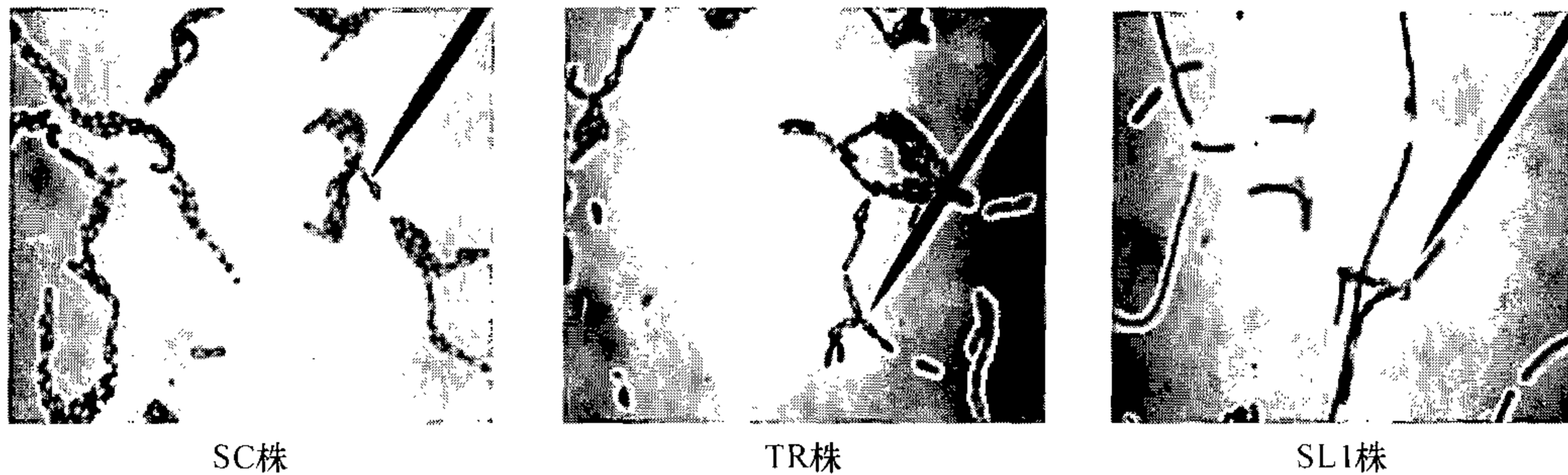


图1 3株乳酸芽孢杆菌的革兰染色图片(10×100)

Fig. 1 The microscope picture of three lactic acid *Bacillus* strains (10 × 100)

2.2.3 16S rDNA 碱基序列分析 菌株 SC、TR、SL1 的 16S rDNA 基因扩增产物测得序列长度分别为 1 457、1 469、1 459 bp. NCBI Blastn 分析表明 SC 株的 16S rDNA 基因序列与 *Bacillus* sp. (EU584539, EU584537, FJ529033)、*Bacillus* sp. AH 526 (AF290562)、*Bacillus cereus* partial 16S rRNA gene, strain ATCC 4342 (AJ577288) 的相似性均为 99%; TR 株的 16S rDNA 基因序列与 *Bacillus* sp. GV (FJ824088) 的相似性为 100%; SL1 株的 16S rDNA 基因序列与 *Bacillus cereus* strain ATCC 21281 (FJ501984)、*Bacillus cereus* strain ATCC11778 (AF290546) 相似性均为 99%.

综合分析,可以将 3 株菌初步鉴定为芽孢杆菌 SC *Bacillus* sp. SC、芽孢杆菌 TR *B. sp.* TR 和蜡状芽孢杆菌 SL1 *B. cereus* strain SL1.

2.3 3株乳酸芽孢杆菌益生菌对三黄鸡的作用

2.3.1 乳酸芽孢杆菌益生菌对三黄鸡生产性能的影响 由表 2 可看出,饲料中添加 3 个剂量的益生菌均能显著降低 1~28 和 1~56 日龄三黄鸡的料质量比;5 g/kg 益生菌能显著提高 1~28、29~56 和 1~56 日龄三黄鸡的平均日增质量,15 g/kg 益生菌能显著提高 29~56、1~56 日龄三黄鸡的平均日增质量.

表 2 乳酸芽孢杆菌益生菌对三黄鸡生产性能的影响¹⁾Tab. 2 Effect of lactic acid *Bacillus* probiotics on growth performance in three buff chickens

组别	1~28 日龄			29~56 日龄			1~56 日龄		
	日采食量/ (g·只 ⁻¹)	日增质量/ (g·只 ⁻¹)	料质 量比	日采食量/ (g·只 ⁻¹)	日增质量/ (g·只 ⁻¹)	料质 量比	日采食量/ (g·只 ⁻¹)	日增质量/ (g·只 ⁻¹)	料质 量比
对照组	22.00±4.22a	7.70±1.24a	2.74±0.19a	46.71±1.97a	10.52±0.98a	4.23±0.36a	34.56±3.94a	9.11±0.85a	3.48±0.27a
抗生素	21.76±3.77a	7.98±1.15a	2.62±0.17b	40.63±5.23b	12.61±1.31b	3.96±0.42ac	34.05±3.74a	10.29±1.03b	3.29±0.28a
5 g/kg 益生菌	19.17±3.02b	9.72±1.66b	1.99±0.10c	44.70±1.13a	15.16±1.23c	3.11±0.31b	31.94±3.64b	12.44±1.22c	2.55±0.21b
10 g/kg 益生菌	19.54±2.79b	8.28±1.42a	2.46±0.16d	46.60±1.68a	11.87±1.65ab	4.03±0.58a	33.07±3.83a	10.08±1.15ab	2.46±0.11b
15 g/kg 益生菌	19.31±2.91b	8.40±1.32a	2.30±0.09e	46.07±1.88a	12.30±2.38b	3.58±0.51c	32.69±3.84b	10.35±1.41b	2.94±0.30c

1)表中数据为平均数±标准差;同列数据后凡有一个相同字母者,表示差异不显著($P>0.05$,LSD 多重比较).

2.3.2 乳酸芽孢杆菌益生菌对三黄鸡血清生化及部分免疫指标的影响 由表 3、表 4 可看出,乳酸芽孢杆菌益生菌能提高三黄鸡血清钙、磷、总蛋白和球蛋白含量,有效改善三黄鸡血清生化结构水平及降低三黄鸡生长期血清胆固醇含量的作用;28 日龄时,

3 个试验组的溶菌酶和 IgG 含量及 5、15 g/kg 益生菌组的 IgA 含量与对照组比较差异显著($P<0.05$);56 日龄时,3 个试验组的溶菌酶和 IgG 含量及 5、10 g/kg 益生菌组的 IgA 含量与对照组比较差异不显著($P>0.05$).

表 3 乳酸芽孢杆菌益生菌对 28 日龄三黄鸡血清生化及免疫指标的影响¹⁾Tab. 3 Effect of lactic acid *Bacillus* probiotics on serum biochemical and immune parameters in three buff chickens of 28 days

组别	c(钙)/ (mmol·L ⁻¹)	c(磷)/ (mmol·L ⁻¹)	ρ(总蛋白)/ (g·L ⁻¹)	ρ(白蛋白)/ (g·L ⁻¹)	ρ(球蛋白)/ (g·L ⁻¹)	ρ(白蛋白): ρ(球蛋白)	c(胆固醇)/ (mmol·L ⁻¹)	ρ(溶菌酶)/ (μg·mL ⁻¹)	ρ(IgG)/ (g·L ⁻¹)	ρ(IgA)/ (g·L ⁻¹)
对照组	2.18±0.03a	1.92±0.18a	20.23±2.03a	9.81±3.97a	10.69±1.65a	0.92±0.72a	3.82±0.10a	7.86±0.93ac	2.98±0.98a	0.19±0.14a
抗生素	2.61±0.12b	2.43±0.01b	30.08±3.17b	11.56±4.12a	18.52±0.95b	0.64±0.25b	3.43±0.14ab	6.71±0.62a	4.52±0.50b	0.31±0.02b
5 g/kg 益生菌	2.88±0.42bd	2.59±0.16b	31.65±1.21b	10.08±0.34ac	21.57±1.55bc	0.47±0.05c	3.34±0.11b	10.69±2.82b	3.49±0.63c	0.31±0.01b
10 g/kg 益生菌	3.33±0.19c	2.49±0.25b	30.93±3.11b	14.71±0.63b	16.23±2.48bd	0.92±0.10a	3.01±0.15b	8.31±2.36cd	4.81±0.82b	0.19±0.01a
15 g/kg 益生菌	2.95±0.001d	2.00±0.43a	31.32±3.50a	8.47±1.60c	13.40±1.15ad	0.63±0.07b	3.24±0.44b	9.15±0.59d	3.16±0.71c	0.31±0.02b

1)表中数据为平均值±标准差;同列数据后凡有一个相同字母者,表示差异不显著($P>0.05$,LSD 多重比较).

表4 乳酸芽孢杆菌益生菌对56日龄三黄鸡血清生化及免疫指标的影响¹⁾Tab.4 Effect of lactic acid *Bacillus* probiotics on serum biochemical and immune parameters in three buff chickens of 56 days

组别	c(钙)/ (mmol·L ⁻¹)	c(磷)/ (mmol·L ⁻¹)	ρ(总蛋白)/ (g·L ⁻¹)	ρ(白蛋白)/ (g·L ⁻¹)	ρ(球蛋白)/ (g·L ⁻¹)	ρ(白蛋白): ρ(球蛋白)	c(胆固醇)/ (mmol·L ⁻¹)	ρ(溶菌酶)/ (μg·mL ⁻¹)	ρ(IgG)/ (g·L ⁻¹)	ρ(IgA)/ (g·L ⁻¹)
对照组	2.58±1.29a	1.84±0.27a	22.80±0.28a	9.38±0.05a	11.41±0.22a	0.83±0.01a	2.30±0.16a	6.91±0.24a	3.44±0.58a	0.29±0.03a
抗生素	3.41±0.28b	2.38±0.37b	45.04±5.63b	14.22±4.03b	30.81±1.59b	0.46±0.11b	2.04±0.02ab	6.90±0.12a	3.45±0.57a	0.33±0.20ab
5 g/kg 益生菌	3.61±0.28b	2.59±0.16b	35.33±0.62b	11.23±0.42a	23.49±3.37c	0.52±0.10b	1.94±0.18b	6.89±0.28a	3.07±0.01a	0.31±0.05ab
10 g/kg 益生菌	3.82±0.22b	2.43±0.32b	39.97±10.69bc	16.51±0.70c	23.46±0.74c	0.82±0.33a	1.80±0.61b	7.02±0.37a	3.53±0.53a	0.31±0.03ab
15 g/kg 益生菌	3.49±0.11b	1.88±0.13a	40.39±0.42c	16.59±2.00c	23.80±1.58c	0.71±0.13a	1.70±0.38b	6.91±0.10a	3.83±0.17a	0.37±0.05b

1)表中数据为平均值±标准差;同列数据后凡有一个相同字母者,表示差异不显著($P>0.05$,LSD 多重比较)。

2.3.3 乳酸芽孢杆菌益生菌对三黄鸡免疫器官指数的影响 由表5可看出,与对照组相比乳酸芽孢杆菌益生菌能不同程度地提高三黄鸡的脾脏、胸腺和法氏囊指数;28日龄时,以15 g/kg 益生菌添加组

的法氏囊指数提高得最多,为62.56%,其次是胸腺指数,为42.83%;56日龄时,以15 g/kg 益生菌添加组的法氏囊指数提高最多,为78.48%,其次是5 g/kg 益生菌添加组的脾脏指数,提高36.50%。

表5 乳酸芽孢杆菌益生菌对三黄鸡免疫器官指数的影响¹⁾Tab.5 Effect of lactic acid *Bacillus* probiotics on index of immune organ in three buff chickens

组别	28日龄			56日龄		
	胸腺指数	脾脏指数	法氏囊指数	胸腺指数	脾脏指数	法氏囊指数
对照组	6.28±1.03a	1.90±0.26a	4.54±0.44a	4.62±0.39ab	2.00±0.15a	1.58±0.56a
抗生素	6.78±1.03ab	2.18±0.25ab	4.92±0.75ab	4.25±0.70a	3.12±0.52b	2.40±0.71b
5 g/kg 益生菌	7.65±1.52b	2.38±0.30b	4.88±0.49ab	5.28±0.51b	2.73±0.32a	1.59±0.37a
10 g/kg 益生菌	6.29±0.74a	2.08±0.27ab	5.25±0.68b	4.63±0.67ab	2.17±0.11ab	2.12±0.95ab
15 g/kg 益生菌	8.97±0.29c	2.30±0.39b	7.38±0.64c	4.85±1.61ab	2.59±0.41b	2.82±0.93b

1)表中数据为平均值±标准差;同列数据后凡有一个相同字母者,表示差异不显著($P>0.05$,LSD 多重比较)。

3 讨论

3.1 产乳酸芽孢杆菌的筛选

参考白冬梅等^[5]的方法,以色标乳酸作为参照,用HPLC对41株产酸芽孢杆菌的发酵培养物作检测,结果表明有6株菌的培养物与色标乳酸在相同的时间段有吸收峰,表明6株菌均能产生乳酸,其中SC、TR和SL1 3株菌产乳酸的能力最强.通过抑菌活性和芽孢形成检测,表明产乳酸芽孢杆菌SC、TR和SL1株对革兰阳性菌有较强的抑制作用,而对革兰阴性菌的抑菌活性较弱;3株菌培养均易形成芽孢。

3.2 产乳酸芽孢杆菌的初步鉴定

3株产乳酸芽孢杆菌形态学观察为革兰染色阳性,杆菌,能形成芽孢.经Biolog系统鉴定及16S rDNA碱基序列分析,表明3株菌均属于芽孢杆菌属,其中SC和TR株未确定出种名,暂命名为芽孢杆菌SC *Bacillus* sp. SC和芽孢杆菌TR *B.* sp. TR;SL1株为蜡状芽孢杆菌 *B. cereus* strain SL1。

3.3 乳酸芽孢杆菌益生菌对三黄鸡的作用

黄素芳等^[6]研究表明,在日粮中添加 10^6 cfu/g活菌的绿禽康(短芽孢杆菌制剂),可使12周龄肉鸡平均体质量与对照组的比增率为16.25%。云月英等^[7]报道,饲喂 *Lactobacillus casei* 的小鼠血清胆固醇含量显著降低.本试验在三黄鸡的日粮中添加了3个剂量的乳酸芽孢杆菌益生菌,均有显著降低料质

量比和不同程度提高平均日增质量的作用,其中5 g/kg 添加量效果最好,与对照组比较,料质量比降低18.37%,平均日增质量提高13.61%。此外,乳酸芽孢杆菌益生菌还能提高三黄鸡血清钙、磷、总蛋白、球蛋白、溶菌酶、IgG、IgA的含量,能不同程度地提高三黄鸡脾脏、胸腺和法氏囊指数,对28日龄及56日龄三黄鸡血清胆固醇的含量均有显著降低作用。

参考文献:

- [1] 朱元招. 微生态制剂的应用现状及发展趋势[J]. 饲料研究, 2008, 8: 20-24.
- [2] 海存秀. 饲用微生态制剂的应用研究进展[J]. 青海大学学报: 自然科学版, 2006, 24(1): 52-55.
- [3] GOMZE R, GEOVANNY D, LUIS B J, et al. Probiotics as control agents in aquaculture[J]. Journal of Ocean University of China, 2007, 6(1): 76-78.
- [4] 相菲, 徐春厚. 芽孢乳酸菌类微生态制剂在畜牧业中的应用[J]. 畜牧兽医杂志, 2009, 28(1): 42-44.
- [5] 白冬梅, 班睿. 反相高效液相色谱法测定米根霉乳酸发酵液中的乳酸[J]. 色谱, 2000, 18(6): 527-528.
- [6] 黄素芳, 苏明星, 史怀, 等. 益生菌“绿禽康”对肉鸡生产性能的影响及防病效果[J]. 中国农学通报, 2009, 8: 16-18.
- [7] 云月英, 王立平, 张和平, 等. 饲喂 *Lactobacillus casei* Zhang 对大鼠体内脂质代谢的影响[J]. 微生物学通报, 2006, 33(3): 60-64.

【责任编辑 柴 焰】