

# 枯草芽孢杆菌 BS-Z15 代谢产物抗真菌活性 及对小鼠给药的安全性评价

赵歉歉<sup>1,2</sup>, 吴梦君<sup>1</sup>, 董袁袁<sup>1</sup>, 王庆月<sup>1</sup>, 林荣荣<sup>2</sup>, 赵和平<sup>2</sup>, 赵惠新<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>新疆师范大学生命科学学院 干旱区植物逆境生物学实验室, 乌鲁木齐 830054;

<sup>2</sup>北京师范大学生命科学学院, 抗性基因资源与分子发育北京市重点实验室, 北京 100875

**摘要:** 本文就枯草芽孢杆菌 BS-Z15 发酵液粗提抗真菌活性物质的抑真菌谱及对动物的安全性进行了研究。结果表明, 除尖孢镰刀菌外, 其对他大丽轮枝菌、黄曲霉、白色念珠菌等几种有害真菌有拮抗作用, 抗菌有效浓度为 0.10 mg/mL; 用 32.67 mg/kg 粗提活性物质灌胃处理小白鼠 60 天, 未出现中毒症状, 且死亡率下降; 对小鼠脏器指数、心脏和肝脏组织特征无显著性影响, 肝组织抗氧化酶活性显著提高, 肝脏 MDA 含量显著下降。表明 BS-Z15 抗真菌粗提活性物质对哺乳动物安全无毒, 可在动植物病害防治中开发利用。

**关键词:** 枯草芽孢杆菌 BS-Z15; 抗真菌活性物质; 小鼠; 安全性

中图分类号: R96; Q93

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2018.9.023

## Antifungal Activity of BS-Z15 Metabolites and Its Safety in Mice

ZHAO Qian-qian<sup>1,2</sup>, WU Meng-jun<sup>1</sup>, DONG Yuan-yuan<sup>1</sup>, WANG Qing-yue<sup>1</sup>,  
LIN Rong-rong<sup>2</sup>, ZHAO He-ping<sup>2</sup>, ZHAO Hui-xin<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Key Laboratory of Plant Stress Biology in Arid Land, College of Life Sciences, Xinjiang

Normal University, Urumqi 830054, China; <sup>2</sup>Key Laboratory of Gene Resource and

Molecular Development of Beijing, College of Life Sciences, Beijing Normal University, Beijing 100875, China

**Abstract:** In this paper, the antifungal spectrum and its safety to animals of crude antifungal from *Bacillus subtilis* BS-Z15 fermentation broth was studied. The results showed that, with the exception of *Fusarium oxysporum*, the crude active substance of BS-Z15 had antagonistic effect on several harmful fungi, such as *Verticillium dahliae* Kleb, *Aspergillus flavus*, *Candida albican* and so on, and the effective concentration of crude substance is 0.10 mg/mL. Its safety was evaluated to the crude antifungal, through acute toxicity oral test on model mice by 32.67 mg/kg lavage. And the results showed, no symptoms of poisoning were detected, death rate of the tested mice was reduced, no significant influence on viscera index, heart and liver tissue characteristics. but it was significant that the activity of antioxidant enzymes was increased, the content of MDA was decreased in liver. In conclusion, the crude antifungal extract from BS-Z15 was safe for mammals and has the potential to be used in the prevention and control of fungal diseases in animals and plants.

**Key words:** *Bacillus subtilis* BS-Z15; antifungal active substance; mice; safety

枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 能分泌多种抗菌代谢产物, 并具有多功能、高效等优点, 被广泛应用于医药、农业、科研等研究领域<sup>[1]</sup>。目前研究多为环脂肽类的抗菌物质, 如表面活性素 (Surfactin)、伊枯草素 (Iturin)、芬枯草素 (Fengycin)<sup>[2,3]</sup>; 及链肽类抗菌物质<sup>[4]</sup>, 并且枯草芽孢杆菌及其分泌的次生

代谢产物多具有广谱抑菌性<sup>[5,6]</sup>。芽孢杆菌产生的次生代谢产物具有良好的生物防治潜能。但该属菌株的代谢产物可能具有细胞毒活性<sup>[7]</sup>, 随着世界各国对人类健康、生态环境、食品安全等方面的问题关注度日益提升, 生物农药进行风险评估的必要性正越发现<sup>[8]</sup>, 因此, 开发利用拮抗菌进行作物病害的生物防治首先要评价其对非靶标生物的毒性作用及对生态环境的干扰程度<sup>[9-11]</sup>。

前期从新疆和硕地区土壤中筛选获得了枯草芽孢杆菌 BS-Z15, 其次生代谢产物拮抗真菌能力强, 且拮抗稳定性好<sup>[12]</sup>。本文就枯草芽孢杆菌 BS-Z15

收稿日期: 2018-02-02 接受日期: 2018-05-30

基金项目: 新疆师范大学重点实验室“干旱区植物逆境生物学实验室”开放课题 (XJNUSYS112017A04); 国家自然科学基金 (U1703112); 新疆维吾尔自治区研究生科研创新项目 (XJGR12016102)

\* 通信作者 Tel: 86-013319807862; E-mail: zhaohuixin101@sina.com

发酵液粗提抗真菌活性物质的抑菌谱及对动物的安全性进行了研究。为该次生代谢物质在动植物病害防治中的安全应用提供依据。

## 1 材料与仪器

### 1.1 实验菌株和实验动物

#### 1.1.1 实验菌株

枯草芽孢杆菌 BS-Z15 由本实验室自主分离纯化<sup>[13]</sup>,尖孢镰刀菌 (*Fusarium oxysporum*)、白色念珠菌 (*Candida albican*) 由北京师范大学提供,大丽轮枝菌 (*Voticiillium dahliae* kleb) Vd991 由新疆农科院提供,黄曲霉 (*Aspergillus flavus*) 购自中国工业微生物菌种保藏管理中心 (CICC),酿酒酵母、青霉 (*Penicillium*)、黑曲霉 (*Aspergillus niger*)、灰葡萄孢霉 (*Botrytis cinerea*) 为本实验室保存。

#### 1.1.2 实验动物

昆明种远交群六周龄小鼠 (KM 小鼠), 体重为 18~22 g, 60 只, 雌雄各半, 由新疆医科大学实验动物中心提供, 生产许可证号: SCXK (新) 2016-0003。

### 1.2 试剂

丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 检测试剂盒、丙二醛 (MDA) 测定试剂盒、总抗氧化能力 (T-AOC) 测定试剂盒、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 测定试剂盒 (南京建成生物工程研究所)。

### 1.3 仪器

AHB-III 循环水式多用真空泵 (郑州长城科工贸有限公司); 旋转蒸发器 RE-52AA (上海亚荣生化仪器厂); 电子天平 (梅特勒-托利多仪器有限公司); SIGMA 3K30 离心机; UNIC 2800 型紫外可见分光光度计 (上海且鼎国际贸易有限公司); DK-8D 数显恒温水浴锅 (江苏金怡仪器科技有限公司); 立式蒸汽压力灭菌锅 (上海东亚压力容器制造有限公司)。

## 2 实验方法

### 2.1 BS-Z15 抗真菌粗提物的制备

参照赵君洁<sup>[12]</sup> 活性物质提取方法: BS-Z15 菌液离心过滤获得无菌发酵液, 酸沉淀过夜后无菌水溶解, 有机溶剂萃取获得 BS-Z15 抗真菌粗提液, 冷冻干燥备用。

### 2.2 不同浓度 BS-Z15 抗真菌粗提物对大丽轮枝菌和酿酒酵母生长量的影响

向查氏液体培养基中, 按 1% (v/v) 接入分别大丽轮枝菌孢子和酿酒酵母悬液, 并加入 BS-Z15 抗真

菌粗提物至终浓度分别至 0、0.02、0.05、0.10、0.30 mg/mL, 25 °C, 180 rpm, 黑暗条件下振荡培养。分别于 48 h 后取适量菌液, 测定 600 nm 处的吸光度值, 检测生长情况。所有处理均设 3 个重复。

### 2.3 BS-Z15 抗真菌粗提物抑菌谱测定

取大丽轮枝菌、黄曲霉、白色念珠菌、酿酒酵母、青霉、黑曲霉、灰葡萄孢霉、尖孢镰刀菌发酵液 100 μL 分别涂布于查氏固体双层培养基, 将浓度为 17 mg/mL 的 BS-Z15 抗真菌粗提物 100 μL 利用打孔法进行平板抑菌, 平板置 25 °C, 黑暗条件下培养 7 天后测量抑菌圈大小。所有处理均设 3 个重复。

### 2.4 动物分组、一般体征观察及处理

取健康合格, 体重为 (20 ± 2) g 的昆明种小鼠 60 只, 雌雄各半。雌雄各随机分成 2 组, 每组 15 只。即: 正常雄性对照组、正常雌性对照组、和 BS-Z15 抗真菌粗提物雌性处理组、BS-Z15 抗真菌粗提物雄性处理组。受试组的剂量为 32.67 mg/kg 浓度的 BS-Z15 抗真菌粗提物 0.2 mL/d。正常对照组等量生理盐水灌胃, 每日 1 次, 共 60 天。分别在 15、30、60 天记录小鼠的皮毛光泽度、饮水量、反应灵敏度、精神状态、进食量等指标, 并分别每组随机取 4 只禁食, 不禁水, 20 h 后, 各组小鼠摘眼球取血并取相关脏器进行测定。

### 2.5 BS-Z15 抗真菌粗提物对小鼠脏器指数的影响

取血后立即脱颈椎处死小鼠, 在生理盐水水浴的冰盘上, 快速剖腹取出肝脏、脾脏和胸腺, 用冰生理盐水漂洗去除积血, 用滤纸吸去生理盐水后称重并记录, 计算肝脏、脾脏和胸腺指数。

### 2.6 小鼠病理组织学观察

将新鲜的肝脏和心脏切成厚度约 2 mm 的组织块, 置于 4 °C, 10% 甲醛固定液中过夜, 脱水、透明、石蜡包埋, 常规切片, HE 染色, 光学显微镜下观察。

### 2.7 BS-Z15 抗真菌粗提物对小鼠谷丙转氨酶及抗氧化酶活性的影响

眼球取血, 血液在 3 000 rpm 条件下, 离心 10 min, 分离血清, 做丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 的检测; 小鼠脱颈椎处死, 迅速取肝脏组织以 0~4 °C 的生理盐水洗净血渍, 以滤纸吸干水分后称质量, 按 1:9 取相应体积的 0~4 °C 生理盐水于冰浴中将肝组织剪碎、在玻璃匀浆器中制成匀浆液, 以 3 500 rpm 离心 15 min, 上清液即为 10% 肝组织匀浆液, 取适量测定丙二醛 (MDA)、总抗氧化能力 (T-AOC)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX)。

## 2.8 统计学分析

实验数据用  $\bar{x} \pm s$  表示,以 SPSS 19.0 统计软件进行单因子方差分析(One-Way ANOVA),各组间比较用 Duncan 法,  $P < 0.05$  有统计学意义,作图使用 SigmaPlot 10.0。

## 3 实验结果

### 3.1 不同浓度 BS-Z15 抗真菌粗提物对大丽轮枝菌和酿酒酵母生长量的影响

由表 1 可知,用不同浓度 BS-Z15 抗真菌粗提物处理大丽轮枝菌和酿酒酵母 36 h 后,0 mg/mL 处理即不添加 BS-Z15 抗真菌粗提物组 36 h 后大丽轮枝

表 1 不同浓度 BS-Z15 抗真菌粗提物对大丽轮枝菌和酿酒酵母生长的影响 ( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

Table 1 Effect of different concentrations of crude antifungal extract from BS-Z15 on the growth of *Verticillium dahliae* Kleb and *Saccharomyces cerevisiae* growth ( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

处理浓度 Concentration treatments (mg/mL)	36 h 后大丽轮枝菌 OD <sub>600</sub> OD <sub>600</sub> of <i>Verticillium dahliae</i> Kleb after 36 h	36 h 后酿酒酵母 OD <sub>600</sub> OD <sub>600</sub> of <i>Saccharomyces cerevisiae</i> after 36 h
0.00	1.70 ± 0.12	0.73 ± 0.00
0.02	0.08 ± 0.02 <sup>**</sup>	0.74 ± 0.03
0.05	0.14 ± 0.02 <sup>**</sup>	0.74 ± 0.03
0.10	0.16 ± 0.05 <sup>**</sup>	0.01 ± 0.00 <sup>**</sup>
0.30	0.24 ± 0.07 <sup>**</sup>	0.01 ± 0.00 <sup>**</sup>

注:与 0.00 mg/mL 比较, \*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ 。

Note: compared with the 0.00 mg/mL, \*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ .

表 2 枯草芽孢杆菌 BS-Z15 抗真菌粗提物的抑菌谱 ( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

Table 2 The antifungal spectrum of crude antifungal extract from by *Bacillus subtilis* BS-Z15 ( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

指示菌 Indicator	来源 Origin	抑菌圈大小 Inhibition zone size (mm)
青霉 <i>Penicillium</i>	本实验室保藏 Preservation of the laboratory	27.67 ± 0.30
酿酒酵母 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	本实验室保藏 Preservation of the laboratory	27.67 ± 1.22
大丽轮枝菌 <i>Verticillium dahliae</i> Kleb 991	新疆农业科学院 Xingjiang Academy of Agricultural Sciences	24.17 ± 0.76
灰葡萄孢霉 <i>Botrytis cinerea</i>	本实验室保藏 Preservation of the laboratory	23.57 ± 0.99
黑曲霉 <i>Aspergillus niger</i>	本实验室保藏 Preservation of the laboratory	22.33 ± 1.10
白色念珠菌 <i>Candida albican</i>	北京师范大学 Beijing Normal University	21.57 ± 0.65
黄曲霉 <i>Aspergillus flavus</i>	中国工业微生物菌种保藏管理中心(CICC) China Center of Industrial Culture Collection (CICC)	19.00 ± 1.00
尖孢镰刀菌 <i>Fusarium oxysporum</i>	北京师范大学 Beijing Normal University	0

### 3.3 小鼠一般体征观察及 BS-Z15 抗真菌粗提物对小鼠脏器指数影响

由表 3 可知, BS-Z15 抗真菌粗提物处理小鼠 60 天,供试鼠的进食、饮水、皮毛光泽度等均未受到影响,但是反应灵敏度及精神状态明显优于对照组,

菌和酿酒酵母菌体量均显著增长;0.02 mg/mL BS-Z15 抗真菌粗提物即可极显著抑制大丽轮枝菌的生长,浓度为 0.10 mg/mL 可极显著抑制大丽轮枝菌的生长酿酒酵母的生长,更高浓度处理大丽轮枝菌和酿酒酵母菌体未有显著生长。

### 3.2 BS-Z15 抗真菌粗提物的抑菌谱

由表 2 可知,枯草芽孢杆菌 BS-Z15 所产次生代谢物质对大丽轮枝菌、黄曲霉、白色念珠菌、酿酒酵母、青霉、黑曲霉、灰葡萄孢霉有抑制作用,对尖孢镰刀菌无抑制作用。结果显示该抗真菌粗提物的抑菌谱较广,不仅对某些植物病原菌有抑制作用,还对人体病原菌有较强抑菌效果。

未出现明显中毒迹象,实验过程中,对照组出现两例死亡现象,实验组未出现死亡。由表 4 可知,处理 15、30、60 天实验组小鼠的脾脏、肝脏、肾脏和胸腺指数与对照组均无统计学差异。

表 3 小鼠毒性体征情况  
Table 3 The toxicity signs of mice

观测指标 Observation index	处理时间 Treatment time		
	15 d (n=30)	30 d (n=16)	60 d (n=8)
皮毛光泽度 Fur burnish	正常 Normal	正常 Normal	正常 Normal
饮水量 Water consumption	正常 Normal	正常 Normal	正常 Normal
反应灵敏度 Response sensitivity	较对照组灵敏 More sensitive than control group	较对照组灵敏 More sensitive than control group	较对照组灵敏 More sensitive than control group
精神状态 Mental condition	较对照组好 Better than control group	较对照组好 Better than control group	较对照组好 Better than control group
进食量 Food consumption	正常 Normal	正常 Normal	正常 Normal

表 4 BS-Z15 抗真菌粗提物对小鼠脏器指数的影响 ( $n=4, \bar{x} \pm s$ )

Table 4 Effect of crude antifungal extract from BS-Z15 on the organ index of mice ( $n=4, \bar{x} \pm s$ )

脏器指数 Organ index (%)	雌雄 Female or male	15 d		30 d		60 d	
		对照组 Control group	实验组 Experimental group	对照组 Control group	实验组 Experimental group	对照组 Control group	实验组 Experimental group
脾脏指数 Spleen index	雄 Male	0.23 ± 0.03	0.22 ± 0.05	0.22 ± 0.01	0.24 ± 0.04	0.30 ± 0.04	0.28 ± 0.08
	雌 Female	0.22 ± 0.07	0.30 ± 0.05	0.34 ± 0.02	0.34 ± 0.04	0.35 ± 0.03	0.28 ± 0.06
肝脏指数 Liver index	雄 Male	5.37 ± 0.97	5.70 ± 0.90	4.39 ± 0.64	4.26 ± 0.36	5.02 ± 0.25	4.57 ± 0.25
	雌 Female	4.97 ± 0.35	5.13 ± 0.43	4.54 ± 0.61	3.69 ± 0.78	4.68 ± 0.92	4.93 ± 0.38
肾脏指数 Kidney index	雄 Male	1.43 ± 0.27	1.48 ± 0.18	1.38 ± 0.10	1.53 ± 0.15	1.39 ± 0.32	1.55 ± 0.14
	雌 Female	1.38 ± 0.23	1.35 ± 0.36	1.30 ± 0.04	1.24 ± 0.10	1.38 ± 0.22	1.21 ± 0.12
胸腺指数 Thymus index	雄 Male	0.27 ± 0.02	0.23 ± 0.05	0.20 ± 0.03	0.17 ± 0.00	0.18 ± 0.08	0.12 ± 0.08
	雌 Female	0.38 ± 0.08	0.34 ± 0.06	0.36 ± 0.02	0.31 ± 0.03	0.26 ± 0.06	0.22 ± 0.08

注:与对照组比较, \*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ 。

Note: compared with the control group, \*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ .

### 3.4 BS-Z15 抗真菌粗提物对小鼠形态学影响

由图 1 可知,显微镜下实验组与对照组小鼠的心肌纤维排列规则,结构清晰,细胞核染色质均匀分布,核呈椭圆形,心肌细胞之间排列紧密,细胞核致密,大小形状规则;由图 2 可知,小鼠肝小叶轮廓清晰,肝细胞胞质丰富而均匀,BS-Z15 抗真菌粗提物处理后并无肝脏异常。

### 3.5 BS-Z15 抗真菌粗提物对小鼠谷丙转氨酶及抗氧化酶系统的影响

由图 3 可知,血清中 ALT 活性测定结果表明,随 BS-Z15 抗真菌粗提物处理时间的延长可在一定程度上提高 ALT 活性,但差异不显著 ( $P > 0.05$ )。

由图 4 可知,与对照组相比,BS-Z15 抗真菌粗提物能够显著提高肝组织的 T-AOC 活性 ( $P < 0.05$ ),对肝组织 MDA 具有显著降低作用 ( $P < 0.05$ )。BS-Z15 抗真菌粗提物处理 15 天的小鼠

GSH-PX 活性实验组较对照组高 ( $P < 0.01$ );处理 30 d 和处理 60 d 的小鼠 GSH-PX 活性与对照组无显著差异 ( $P > 0.05$ );由图 5 可知,BS-Z15 抗真菌粗提物处理 60 天的小鼠实验组能显著提高 T-AOC 活性 ( $P < 0.05$ ),15、30 天差异不显著;由图 6 可知,60 天处理对肝组织 MDA 含量具有显著降低作用 ( $P < 0.05$ ),降低幅度为 40.14%;15、30 天处理较对照组略有降低,但差异不显著。

## 4 讨论

枯草芽孢杆菌是一种有益的土壤细菌,具有对环境友好,对人畜无害等优点,被广泛研究<sup>[14]</sup>。许多研究发现枯草芽孢杆菌产生的环脂肽和直链肽类抗菌物质等具有抑菌活性的代谢产物无急性毒害作用,如孙力军等<sup>[15]</sup>发现主要成分是表面活性素、芬芥素和伊枯草菌素三种抗菌脂肽同系物的混合物的

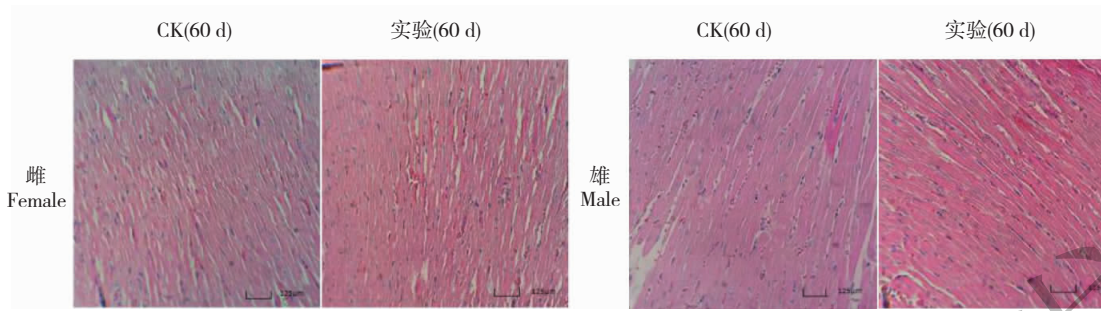


图1 小鼠心脏切片 HE 染色后显微照片(×400)

Fig.1 Microphotographs of mice cardiac paraffin section after HE staining(×400)

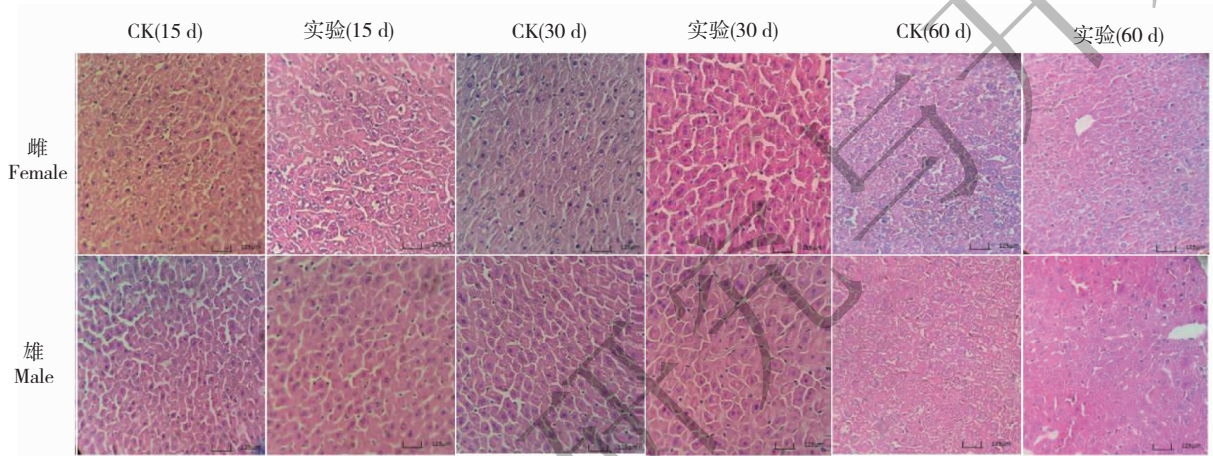


图2 小鼠肝脏切片 HE 染色后显微照片(×400)

Fig.2 Microphotographs of liver paraffin section after HE staining(×400)

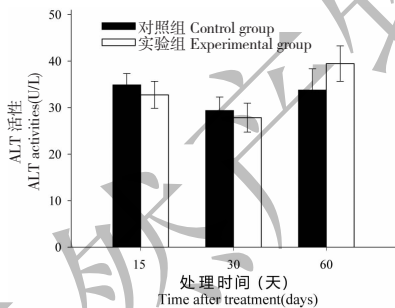


图3 BS-Z15 抗真菌粗提物对小鼠丙氨酸氨基转移酶(ALT)活性的影响

Fig.3 Effect of crude antifungal extract from BS-Z15 on alanine aminotransferase (ALT) activity in mice

注:与对照组比较,\* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ 。

Note:Compared with the control group,\* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ 。

新型抗菌肽 APNT-6 在体外有溶血毒性但经口服对小鼠没有急性毒性作用,Youn-Hwan Hwang 等<sup>[16]</sup>发现 500 mg/kg 的表面活性素 C 对小鼠没有显示出任何毒性作用,该研究结果与本研究相似。

谷丙转氨酶是动物体内参与氨基酸代谢的关键

酶,是目前检测肝功能损害最为敏感的指标,处理 30 天和 60 天血清中的 ALT 活性稍有提高,脏器指数、心脏肝脏切片与对照组相比差异不显著,由此可见,BS-Z15 次生代谢物质在饲喂中对小鼠肝肾等脏器的功能可能产生了一定的影响,小鼠通过肝脏进行解毒;通常,机体通过两种途径清除氧自由基而维

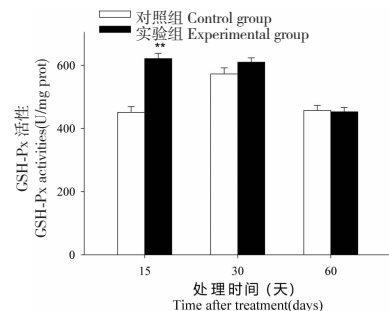


图4 BS-Z15 抗真菌粗提物对小鼠谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性的影响

Fig.4 Effect of crude antifungal extract from BS-Z15 on the activity of glutathione peroxidase (GSH-Px) in mice

注:与对照组比较,\* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ 。

Note:Compared with the control group,\* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ 。

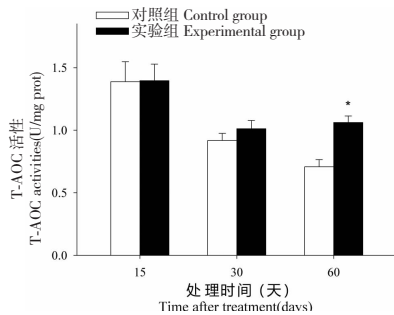


图5 BS-Z15 抗真菌粗提物对小鼠总抗氧化能力(T-AOC)活性的影响

Fig. 5 Effects of crude antifungal extract from BS-Z15 on the activity of total antioxidant capacity (T-AOC) in mice

注:与对照组比较,\*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ 。

Note: Compared with the control group, \*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ .

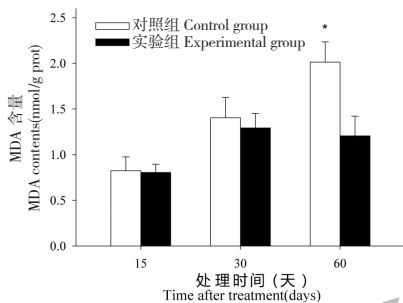


图6 BS-Z15 抗真菌粗提物对小鼠丙二醛(MDA)含量的影响

Fig. 6 Effect of crude antifungal extract from BS-Z15 on the content of malondialdehyde (MDA) in mice

注:与对照组比较,\*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ 。

Note: Compared with the control group, \*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ .

持生理平衡,一种是酶促反应,如过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)等酶促反应,另一种是如VE、VC、谷胱甘肽(GSH)等氧化剂的氧化反应<sup>[17]</sup>;丙二醛(MDA)因是脂质过氧化的最终产物,因此MDA含量可作为衡量机体内自由基的敏感指标客观反映机体内产生自由基水平<sup>[18]</sup>;T-AOC是反映机体整体水平的抗氧化水平高低的重要指标<sup>[19]</sup>。BS-Z15抗真菌粗提物灌胃处理小鼠后,能显著提高小鼠肝脏中的T-AOC活性、GSH-PX活性,显著降低MDA含量,说明该活性物质能够促进动物防御脂质过氧化的酶促反应相关酶活性,提高动物机体抗氧化能力。但该活性物质在小鼠的体内代谢方式等问题,还有待于通过荧光检测技术或同位素示踪技术进一步研究。另外,实验中活性物

质灌胃处理小鼠的浓度远远高于活性物质的抗真菌有效浓度,因此选用BS-Z15抗真菌活性物质的抗真菌有效浓度进行生物防治等开发利用,是完全安全的。

综上所述,BS-Z15抗真菌粗提物具有广谱抑菌性,并且在极低浓度0.02 mg/mL即可显著抑制大丽轮枝菌生长,0.10 mg/mL可显著抑制酿酒酵母的生长,对小鼠无毒副作用,并且有良好的体内抗氧化作用,由此推断BS-Z15抗真菌粗提物对哺乳动物安全无毒副作用,可在农业生产中使用。

本研究所使用的为BS-Z15抗真菌粗提物,因此对小鼠谷丙转氨酶及抗氧化酶的影响是否为抗真菌活性物质还有待进一步研究。

#### 参考文献

- 1 Li M(李明), Shuang B(双宝), Li HT(李海涛), et al. Progress and application of *Bacillus subtilis* in different fields [J]. *J Northeast Agric Univ* (东北农业大学学报), 2009, 40:111-114.
- 2 Stein T. *Bacillus subtilis* antibiotics: structures, syntheses and specific functions [J]. *Mol Microbiol*, 2005, 56:845-57.
- 3 Foster JW, Woodruff HB. Antibiotic substances produced by bacteria [J]. *Ann NY Acad Sci*, 2010, 1213:125-136.
- 4 Zou YJ(邹远军), Song XP(宋欣沛), Zheng YM(郑一敏), et al. Separation and purification of straight-chain peptide metabolites produced by *Bacillus subtilis* SC-2 [J]. *Mod Food Sci Technol* (现代食品科技), 2017, 5:85-90.
- 5 Sun S(孙珊), Hao L(郝林), Wang Q(王倩). Physical and chemical properties and antimicrobial spectrum of antibacterial substances from *Bacillus subtilis* W321 [J]. *Food Ind* (食品工业), 2012, 11:110-112.
- 6 Mu JJ(穆静娟), Jiao JG(焦加国), Ge XC(葛新成), et al. Isolation and identification of a plant pathogenic fungi and broad-spectrum antagonistic bacterium *Bacillus subtilis* M29 and its antibiotic mechanism [J]. *J Nanjing Agric Univ* (南京农业大学学报), 2017, 1:84-92.
- 7 Wang HP(王宏鹏), Lou J(楼坚), Chen LC(陈丽春), et al. Cyclodipeptides from *Bacillus* sp. HZ16 [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2017, 29:783-786.
- 8 Dewhurst IC. Toxicological assessment of biological pesticides [J]. *Toxicol Lett*, 2001, 120(1):67-72.
- 9 Grisolia C, Oliveira-Filho EF, Lopes M, et al. Acute toxicity and cytotoxicity of *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus sphaericus* strains on fish and mouse bone marrow [J]. *Ecotoxicology*, 2009, 18:22.