特 约 稿 件
Invited Paper

苏云金芽胞杆菌—开放的基因组与多种功能

王 奎[1,2]， 束长龙[1]， 李一梅[1]， 张 杰[1*]

（1. 中国农业科学院植物保护研究所植物病虫害生物学国家重点实验室，北京 100193；
2. 东北农业大学生命科学学院，哈尔滨 150030）

摘要 苏云金芽胞杆菌 *Bacillus thuringiensis*（Bt）作为微生物杀虫剂，被广泛应用于农业、林业和卫生害虫的防治；而利用 Bt 杀虫基因研制的转基因植物，也在全球植物害虫防治中发挥了重要作用。近年来，随着科学技术的发展与社会需求的拓展，Bt 新的功能被不断发掘出来。这些新的功能包括抗线虫、抗病杀菌、促进植物生长、环境修复等。本文从 Bt 的泛基因组结构及其遗传学特性分析入手，在详细介绍了近来 Bt 杀虫基因发掘进展的同时，分析了泛基因组与 Bt 新的功能之间可能存在的关系，旨在为我国 Bt 资源的研究与应用提供参考。

关键词 苏云金芽胞杆菌； 泛基因组； 杀虫基因； 抗菌作用； 促进植物生长； 环境修复

中图分类号： Q 939.9 **文献标识码：** A **DOI：** 10.3969/j.issn.0529 - 1542.2017.04.001

Bacillus thuringiensis—Open pan-genome and various functions

Wang Kui[1,2]， Shu Changlong[1]， Li Yimei[1]， Zhang Jie[1]

（1. *State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests*，*Institute of Plant Protection*，*Chinese Academy of Agricultural Sciences*，*Beijing* 100193，*China*；2. *College of Life Science*，*Northeast Agricultural University*，*Harbin* 150030，*China*）

Abstract As an important biological insecticide，*Bacillus thuringiensis* has been widely used to control agricultural，forest and medical insect pests. Bt toxin genes have also been extensively used as gene source in genetically modified crops. In recent years，with the development of science，technology and social demands，some other new functions of Bt have been explored，including resistance to nematodes，antagonistic effects against plant pathogenic fungi and bacteria，plant growth-promoting activities，and environmental bioremediation. Based on the pan-genome analysis and genetic peculiarity of Bt，we reviewed recent advances in Bt insecticidal genes，and analyzed the relationship between pan-genome and various new functions of Bt，in order to provide a guide for the research and application of Bt in China.

Key words *Bacillus thuringiensis*； pan-genome； insecticidal gene； antagonistic effect； plant growth-promoting rhizobacteria（PGPR）； environmental bioremediation

苏云金芽胞杆菌 *Bacillus thuringiensis*（Bt）是革兰氏阳性的昆虫病原细菌[1]，可产生芽胞及多种杀虫活性物质，在害虫防治方面的研究与应用一直是人们关注的热点。其产生的杀虫蛋白对多种昆虫都具有杀虫活性，例如鳞翅目、鞘翅目、双翅目昆虫[2-4]等。目前，Bt 不仅作为微生物杀虫剂被广泛开发应用，其编码的杀虫蛋白基因还被成功地用作转基因抗虫植物开发[5-7]，在虫害控制中发挥了巨大作用。因此，分离与鉴定 Bt 菌株是当前害虫防治领域的一项重要工作[8-9]。

随着研究的深入，除了杀虫活性之外，Bt 的多种新功能特性也逐渐被关注和发现。这些新功能包括对植物和动物致病微生物的拮抗作用[10]、合成纳米杀虫材料[11]、抗癌细胞活性[12-13]、促植物生长活性[14]以及重金属和其他化学品污染的生物修复[15]等，虽然 Bt 的新功能研究起步较晚，相对较弱，但已

收稿日期： 2017 - 06 - 16 **修订日期：** 2017 - 06 - 19
基金项目： 国家重点研发计划重点专项（SQ2017ZY060066 - 04）
* 通信作者 E-mail：jzhang@ippcaas.cn

经展示了良好的前景。本文结合比较基因组数据，探讨 Bt 功能性的遗传学基础对基因组结构、Bt 杀虫蛋白以及近期探索的 Bt 的多种新功能的影响，旨在多角度对 Bt 及其潜在应用前景进行综述分析，为国内学者的科研与生产实践提供参考。

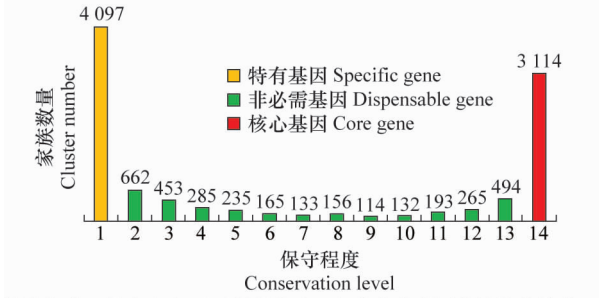
1 Bt 具有开放型的泛基因组结构

新一代测序和组学技术，包括基因组学、转录组学、蛋白质组学和代谢组学的发展加深了我们对芽胞杆菌种群以及不同 Bt 亚种和菌株之间基因组多样性的认识与理解。到目前为止，GenBank 中已登录了 87 个 Bt 菌株（包括 35 个完成基因组和 52 个草图基因组）的全部和部分基因组序列。

“泛基因组”（pan-genome）是 2005 年 Tettelin 等人首次提出的可以用来描述菌株特征的概念，表示一个物种全部的基因组成，主要由三部分组成：核心基因（core gene）、非必需基因（dispensable gene）以及菌株特有基因（strain-specific gene）[16]。根据物种的泛基因组大小与菌株数目的关系，将物种的泛基因组分为开放型泛基因组（open）和闭合型泛基因组（close）。开放型泛基因组是指，随着测序的基因组数目的增加，物种的泛基因组大小也不断增加。闭合型的泛基因组是指，随着测序的基因组数目增加，物种的泛基因组大小增加到一定程度后不再增加[17]。

为了探索 Bt 的泛基因组特征，我们利用泛基因组自动化分析软件（pan-genome analysis pipeline，PGAP）[18]对 NCBI 中已有基因组完成图数据的 14 株 Bt 菌株的染色体和质粒分别进行泛基因组分析。通过 GF（gene family）方法对这 14 株 Bt 菌株染色体上的 76 480 个功能基因进行鉴定，结果显示共鉴定出了 10 498 个基因家族，图 1 为不同保守程度的基因家族数量的比较结果，其中，特有基因家族共 4 097 个（图 1，黄色图柱），占总基因家族数量的 39.06%；菌株核心基因家族共 3 114 个（图 1，红色图柱），占总基因家族数量的 29.66%；非必需基因家族共 3 287 个（图 1，绿色图柱），占总基因家族数量的 31.31%。菌株特有基因通常是细菌进化过程中新产生的基因，而从图 1 中可以看出，Bt 染色体基因组中特有基因所占比例最高。

进一步利用泛基因组数据分析软件（Pan-Genome Profile Analyze Tool，PanGP）分析泛基因组大小与菌株数目之间的关系。图 2 分别是 14 株 Bt 菌株质粒和染色体的泛基因组特征图。



横坐标表示保守程度，不同的数值表示包含共有基因家族的菌株数目，数值为1表示只有一株菌株含有某基因家族，因此代表特有基因家族；2~13代表在14株菌株中有2~13株菌株含有某共有基因家族，因此代表非必需基因家族；14表示14株菌株中均含有某共有基因家族，因此代表核心基因家族。纵坐标表示基因家族数量

The abscissa represents conservation level, and different values indicate the number of strains sharing the same gene cluster. 1 represents the specific gene cluster; 2-13 represent dispensable gene clusters; 14 represents core gene cluster. The ordinate denotes the number of gene cluster

图 1 不同保守程度家族数量比较

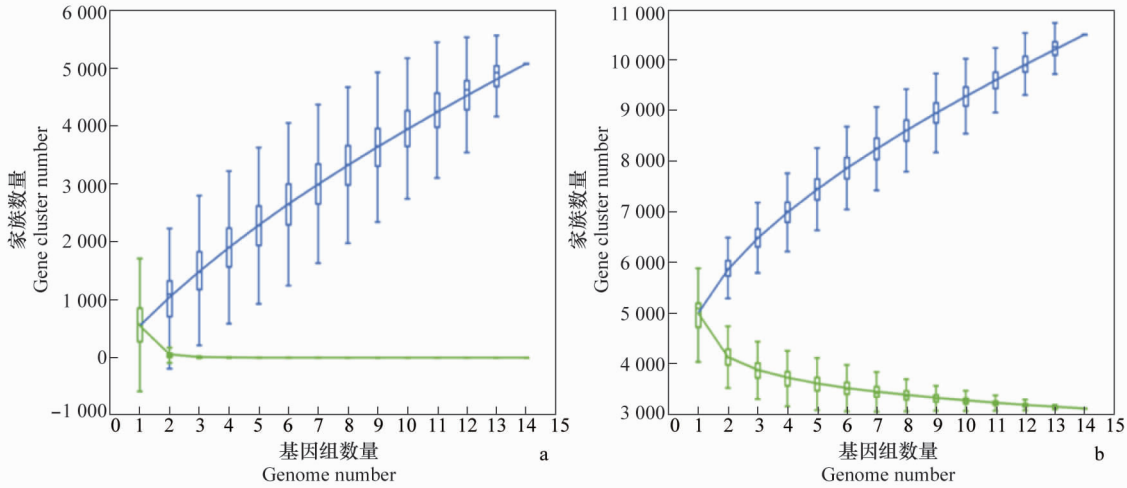
Fig. 1 The comparison of the numbers of gene families with different conservation levels

由于质粒被认为是细菌外源基因的重要来源，首先利用 PanGP 软件对质粒泛基因组及核心基因组大小与被测基因组数目的关系曲线进行非线性拟合分析（图 2a），得到泛基因组大小与被测基因组数目的函数关系式为 $y=816.2x^{0.71}-283.36$（y 表示质粒的泛基因组大小，x 表示被测基因组数目），表明随着被测基因组数目的不断增加，泛基因组大小基本呈现线性增加的状态。而核心基因组大小与基因组数目的函数关系式为 $y=5\ 303.03e^{-2.26x}+0.94$（$y$ 表示质粒的核心基因组大小，x 表示被测基因组数目），根据拟合的关系式发现，质粒上几乎不存在核心基因组。

染色体是细菌的主要遗传物质，进一步对 Bt 染色体上泛基因组及核心基因组大小与被测基因组数目的关系曲线进行非线性拟合分析（图 2b），得到泛基因组大小与被测基因组数目的函数关系式是 $y=1\ 802.16x^{0.52}+3\ 229.48$（$y$ 表示染色体的泛基因组大小，x 表示被测基因组数目），表明随着被测基因组数目的不断增加，泛基因组大小基本呈现线性增加的状态。而核心基因组大小与基因组数目的函数关系式为 $y=2\ 487.19e^{-0.4x}+3\ 213.38$（$y$ 表示染色体的核心基因组大小，x 表示被测基因组数目），根据拟合的关系式发现，当被测菌株数目不断增加时，染色体上核心基因组数目会最终基本稳定在 3 213 个左右，鉴于 Bt 质粒上几乎不存在核心基因（图 2a），说明

Bt 菌株共同包含的核心基因数目在 3 213 个左右。

综上所述,Bt 的质粒和染色体基因组均不保守,具有开放性,而正是质粒和染色体的这种开放性引起了 Bt 菌株的功能多样性。目前研究主要集中在 Bt 杀虫相关的功能方面,而其他功能研究较少。泛基因组相关研究的结果显示了 Bt 在其他方面的潜能,因此进一步深入挖掘 Bt 新的功能,对充分发掘和利用 Bt 菌株资源具有重要的意义。



a和b分别是14株Bt菌株质粒和染色体的泛基因组特征图。横坐标表示Bt基因组数目,纵坐标表示基因家族数目,图中蓝色曲线表示随着分析的基因组数目的增加,Bt菌株的泛基因组大小(Bt菌株群体内所有的基因家族数目)的变化趋势;绿色曲线表示,随着分析的基因组数目的增加,Bt的核心基因数目(在所有菌株中都存在的基因)的变化趋势

Dendrograms of pan-genome analysis of plasmid (a) and chromosome (b) genes for 14 Bt strains. Abscissa represents Bt genome number, and the ordinate represents gene cluster number. The blue curve in the diagram indicates the size of pan-genome (the global gene repertoire of all the 14 Bt strains) with the number of Bt genome; the green curve indicates the size of core genome (the genes shared by all the 14 Bt strains) with the number of Bt genome

图 2　14 株 Bt 菌株质粒和染色体的泛基因组特征图

Fig. 2　Pan-genome analysis of plasmid and chromosome genes of 14 Bt strains

2　Bt 抗虫功能的研究与应用

2.1　Bt 杀虫基因

作为昆虫病原微生物,Bt 的主要杀虫物质是在芽胞形成阶段产生的伴胞晶体,也称为 δ-内毒素或杀虫晶体蛋白(insecticidal crystal proteins,ICPs),分为两个家族:Cry 和 Cyt 蛋白[19]。另一类杀虫蛋白是在 Bt 营养生长期分泌的(vegetative insecticidal proteins,Vip)[20]。Crickmore 等提出以杀虫蛋白编码的氨基酸序列相似性为规则对发现的各类杀虫蛋白进行命名(http://www.lifesci.sussex.ac.uk/home/Neil_Crickmore/Bt/)[21]。目前的命名规则将 Cry 蛋白分为 4 个等级,分别以 45%、78% 和 95%的氨基酸序列一致性为分界。根据这个数据库最新更新的数据(2017 年 5 月),目前在全球不同地区分离得到的 Bt 菌株中识别并命名的杀虫蛋白基因有 975 个,包括 789 个 *cry* 基因(*cry*1～*cry*74),38 个 *cyt* 基因(*cyt*1～*cyt*3),以及 142 个 *vip* 基因(*vip*1～*vip*4)。

目前发现 Bt 菌株对鳞翅目、双翅目、鞘翅目、膜翅目等害虫,甚至螨虫和线虫都具有毒杀活性[22-23]。这些杀虫活性是由杀虫蛋白决定的。不同杀虫蛋白的杀虫谱不同,例如 Cry1 蛋白家族分为 14 个亚族(Cry1A～N),包括 280 个蛋白,其中大部分对鳞翅目昆虫有活性[2,24],来自该家族的 Cry1B 和 Cry1I 蛋白也对鞘翅目昆虫有活性[25];Cry2 蛋白家族分为 2 个亚族,包括 85 个蛋白,其中大部分对鳞翅目或双翅目有活性[3-4];Cry3 蛋白家族分为 3 个亚族,包含 19 个蛋白,其中大部分对鞘翅目昆虫有活性[26]。此外,在过去 20 年间,有研究发现有一些 Cry 蛋白,例如 Cry5、Cry6、Cry12、Cry13、Cry14、Cry21 和 Cry55 会对植物和动物线虫有活性[27-28]。目前已经发现的 38 个不同的 Cyt 蛋白的活性主要针对双翅目昆虫,尤其是蚊子和蚋[29-30]。Vip1 和 Vip2 活性主要针对某些鞘翅目昆虫[31-32],以及半翅目刺吸害虫棉蚜 *Aphis gossypii*[33]。而 Vip3 主要对鳞翅目有活性[34]。此外,还有一类分泌期杀虫蛋白(secreted insecticidal protein,Sip)对某些鞘翅目昆虫有活性[35-36]。并且有部分 Cry 蛋白,也称抗癌晶体蛋白(parasporin,PS),具有特异地杀灭癌细胞的活性,

在抗肿瘤方面表现出一定的潜力[12-13]。

目前,针对半翅目刺吸式昆虫的杀虫基因的筛选与克隆是杀虫基因研究的热点,目前研究人员已经证实了 Cry15 与 Cry51 类蛋白对盲蝽的杀虫活性[37-38],中国农业科学院植物保护研究所也筛选到对稻飞虱具有高活性的杀虫蛋白[39],相关研究对进一步筛选出对刺吸式害虫有效的 Bt 杀虫蛋白具有重要的指导意义。

2.2 Bt 的杀线虫功能

迄今已有多项研究测试了 Bt 菌株对多种不同线虫的活性,包括自由生活线虫(*Caenorhabditis elegans*)[40-41];动物寄生线虫(*Ascaris suum*、*Haemonchus contortus*、*Trichostrongylus colubriformis* 和 *Ostertagia circumcincta*)[27,42];植物寄生线虫(北方根结线虫 *Meloidogyne hapla*)[43-44]等。研究发现,有些 Bt 菌株可以感染线虫的消化系统,并且萌发和增殖[28]。此外,Bt 产生的一些其他物质,如苏云金素[45],几丁质酶[46],金属蛋白酶[22],羊毛硫抗生素、肠毒素、溶血素以及一些由转录调节因子 PlcR 控制的蛋白酶等[28,47]也具有杀线虫活性。

在大多数对线虫高效 Bt 菌株报道中,对线虫表现出杀虫效果的 Cry 蛋白/芽胞的浓度均较低,这为将来 Bt 菌株应用为生物杀线虫剂带来了希望。然而,目前世界上还没有商业化的 Bt 杀线虫剂。Bt 杀线虫产品剂型和使用技术的探索将是研究热点之一,这将为实现杀线虫 Bt 产品的登记和商业化奠定基础。

2.3 转基因抗虫作物

由于转基因作物在社会经济和生态环境方面的优势,在过去 20 年间,全球转基因作物的种植面积大幅增加,在 2016 年已达到 1.851 亿 hm^2[7]。其中抗除草剂和抗虫是应用最为广泛的两大性状,而抗虫性状的基因来源主要是 Bt 杀虫基因。2016 年,Bt 转基因作物的全球种植面积约为 9 850 万 hm^2(7 540万 hm^2 重组 Bt /抗除草剂作物和 2 310 万 hm^2 Bt 转基因作物),这些 Bt 转基因作物中包含一种或多种不同的抗鳞翅目和/或鞘翅目害虫的 *cry* 基因[7]。

自 1996 年以来,共有 289 种 Bt 转基因作物品系被批准用于商业化种植(ISAAA's GM Approval Database 2017)。常用到的基因包括 *cry1A*、*cry1Ab*、*cry1A*. 105、*cry1Ab-Ac*、*cry1Ac*、*cry1F*、*cry2Ab*、*cry1C*、*cry9C*、*cry2Ae*、*vip3A*、*cry3A*、*cry3Bb1*、*cry34Ab1* 和 *cry35Ab1* 这 15 种,其中 *cry1Ab*、*cry1F*、*cry2Ab*、*cry3A* 和 *cry* 34*Ab1*- *cry* 35*Ab1* 是最常用到的基因。有些 Bt 转基因作物中会包含多个 *cry* 或 *vip* 基因(2 个或 3 个),这种基因叠加的方法可以延迟害虫对 Bt 转基因作物的抗性,这其中还有一些品系可以同时抗鳞翅目和鞘翅目害虫。

2.4 利用 Bt 合成杀虫纳米材料

金属纳米粒子(metal nanoparticals, NPs)由于其高级的理化特性及其在不同行业中的广泛应用而引起人们的深切关注。NPs 可以通过各种生物系统,例如细菌、真菌、植物提取物和其他生物产品进行绿色合成[48]。这种利用微生物合成的 NPs 具有显著的优点,如清洁、无毒、环保等。

而近来的一些研究也已经证明 Bt 菌株具有产 NPs 的能力,如银[49]和钴[50]。2010 年,Jain 等首次报道了通过 Bt 胞晶混合物合成银纳米粒子的研究,显示出合成的高效性和绿色无污染的优势[49]。其合成的银纳米粒子平均粒径约为 15 nm,具有混合(立方和六边形)结构,对多种多抗药性的人类病原菌具有高毒性,包括大肠杆菌 *Escherichia coli*、铜绿假单胞菌 *Pseudomonas aeruginosa* 和金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus*。由于部分细菌含有将金属离子还原成纳米粒子的还原酶,人们推测 Bt 菌株可能也含有用于纳米粒子生物合成的还原酶。随后,Marimuthu 等成功使用一株 Bt 菌株合成了钴纳米粒子,并探索了该合成产物对害虫的杀虫活性,例如,该钴纳米粒子对疟疾媒介亚相按蚊 *Anopheles subpictus* 和登革热媒介埃及伊蚊 *Aedes aegypti*(双翅目:蚊科)幼虫具有高活性,LC_{50} 值分别为 3.59 mg/L 和 2.87 mg/L[50]。

Bt 合成的 NPs 及其在杀虫活性方面的效果,为进一步提高 Bt 杀虫剂的功效提供了新的思路,进一步的研究工作可围绕 NPs 的合成工艺、成本及其对环境的影响方面开展。

3 Bt 抗病功能的研究与应用

3.1 Bt 的抗真菌功能

真菌是引起植物病害的一类重要病原物,会对农业生产造成巨大损失。目前,生物防治中通常是使用各种微生物合成的抗真菌化合物,例如抗生素、脂肽、铁载体、挥发性有机化合物、次级代谢产物和

细胞壁降解酶等来控制真菌。

几丁质酶被认为是 Bt 菌株中检测到的最重要的抗真菌活性成分之一。卢伟等对 995 株 Bt 菌株的几丁质酶及其基因的检测结果证明几丁质酶普遍存在于 Bt 菌株中,同时筛选出了 19 株对小麦赤霉病菌效果较好的 Bt 菌株[51]。此后多项研究发现产几丁质酶的 Bt 菌株对多种真菌具有高活性,例如引起莴苣滴虫病的小核盘菌 *Sclerotinia minor* 和核盘菌 *S. sclerotiorum*[52],轮枝镰孢菌 *Fusarium verticillioides* 等[53]。

Bt 还可以通过产生丰原素类环脂肽和挥发性化合物发挥抑菌功能。Bt-CMB26 菌株中纯化出的一种脂肽对植物病原真菌胶孢炭疽菌 *Colletotrichum gloeosporioides*、大肠杆菌 *E. coli* 和卷心菜粉蝶(纹白蝶 *Pieris rapae crucivora*)具有有效的活性[54]。而 Bt-TB72 菌株产生的挥发性化合物(包括 2-壬酮、β-苯乙胺、2-癸酮和百里酚等)不仅可以分别抑制胶孢炭疽菌 *Colletotrichum gloeosporioides* 菌丝在 PDA 平板上的生长,还可以抑制对芒果的感染[55]。此外,Bt 可以通过诱导植物系统抗性的方式提高植物的抗真菌能力,例如,Bt-199 菌株可以通过增加植物总酚(1.7倍)和防御相关酶,包括多酚氧化酶(1.3 倍)、苯丙氨酸裂解酶(1.8 倍)和过氧物酶(1.4 倍)的含量,诱导番茄对尖孢镰刀菌 *F. oxysporum* 产生抗性[10]。

在目前 Bt 的应用中,抗真菌的能力没有得到重视,相关产品也未见报道,Bt 在抗真菌方面的应用潜力值得关注。

3.2　Bt 的抗细菌功能

病原细菌可以引起动植物病害,影响人类的生产生活。有研究发现 Bt 可以通过降解 *N*-酰基高丝氨酸内酯(AHL)来干扰细菌群体感应的信号[56]或以产生细菌素[57]的方式发挥抑菌活性。因此,抗细菌活性物质是 Bt 的又一重要资源。

Bt 菌株产生的 AHL 降解酶(AiiA)可以抑制植物病原细菌的活性,例如欧文氏杆菌 *Erwinia carotovora*[56],进一步研究表明 AiiA 的抑菌活性是通过群体感应信号猝灭来实现的[58]。在应用研究上,Bt(营养细胞)与其他细菌(柠檬酸农杆菌 *Citrobacter farmer* 和阿维链霉菌 *Streptomyces avermectinius*)或真菌(宛氏拟青霉菌 *Paecilomyces variotii*、木霉 TPJS-1 *Trichoderma parareesei* TPJ-S-1 和绿色木霉 TVJ-S-1 *T. viride* TVJ-S-1)拮抗剂的混合使用能够显著提高它们对纳加辣椒[59]、番茄[60]和桉树[61]中青枯菌 *Ralstonia solanacearum* 的活性。

细菌素是在稳定期通过核糖体合成的分子量在 3～12 kDa 之间的小型耐热抗菌肽,它们主要影响其他细菌的生长和(或)活力[62]。Bt 产生的细菌素对不同植物病原细菌具有抑菌活性,例如灰霉菌 *Botrytis cinerea*[57]等。此外,部分学者的研究结果表明 Bt 产生的细菌素可能成为人或动物病原菌的抗生素替代品与安全的食品防腐剂[62-63]。

4　Bt 促进植物生长与环境修复功能

4.1　Bt 的促生长功能

通常,对植物生长和发育具有有益影响的细菌被称为植物根际促生菌(plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR)[64]。有些 Bt 菌株能够在植物根系定殖,并在非生物胁迫条件下产生一些促进植物生长的代谢物,包括 ACC 脱氨酶、吲哚-3-乙酸(IAA)、脯氨酸和磷酸溶解酶等。目前研究结果显示 Bt 具有多种不同的促植物生长的机制,在农业生产中这些 Bt 菌株可以作为生物肥料单独使用或与其他微生物群体混合使用[65]。

Bai 等证实当 Bt-NEB17 菌株与慢生型大豆根瘤菌 *Bradyrhizobium japonicum* 共同接种到大豆植株后,能显著提高大豆的结瘤数、生长速率和产量[66]。Mishra 等证实与单独接种豆科根瘤菌-PR1 *Rhizobium leguminosarum-PR*1 相比,其与产吲哚-3-乙酸(IAA)的 Bt-KR1 菌株的共接种可以显著促进红豌豆和小扁豆的生长[64]。

Armada 等研究表明,当 Bt 单独使用或与丛枝菌根真菌(AMF)混合使用时,可显著提高苗的生长速度、生物量(超过 20%)以及植物芽中的微量营养元素的含量,还可以通过增加抗氧化酶(超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和抗坏血酸过氧化物酶)的活性和降低植物脂质(丙二醛)的氧化性损伤来显著降低氧化胁迫[65]。此外,Bt 和 AMF 的混合使用还可以通过增加营养物质含量和相对含水量,以及降低气孔导度、电解质渗出率、脯氨酸含量和抗坏血酸过氧化物酶的活性,从而显著提高干旱条件下白车轴草 *Trifolium repens* 缓解水分胁迫的能力[67]。Bt 细菌素对 Bt 的促生长也很重要,在水分胁迫条件下,细菌素 thuricin-17 与 *B. japonicum*-SB1 的共使用可以显著提高植物生物量(17%)、根系生物量

(37%)、根瘤生物量(55%)、根脱落酸含量(30%)和总氮量(17%)[14]。

上述研究结果显示 Bt 具有作为微生物肥料的巨大应用潜力,然而,目前在生物肥料市场上也没有商品化的 Bt 微生物肥料。与其他微生物肥料相比,Bt 不仅促进植物生长,而且可以对土壤中线虫及地下害虫具有杀灭活性,具有多重功效,因此进一步探索 Bt 微生物肥料的应用对目前国家倡导的"减肥、减药"具有重要的意义。

4.2 Bt 的环境修复功能

重金属、杀虫剂、除草剂和石油衍生物被认为是目前影响环境和人类健康的主要因素。这些化合物容易在食物链中累积,进而会对更高的营养级造成危害[68]。有研究显示,部分 Bt 菌株可以通过对有毒的重金属进行积聚、降解或矿化作用,从而有效地清除一些有毒污染物。目前已经有过基于 Bt 的针对砷、镉、铅、铜、镍、锌、铬、汞和铀等重金属的生物修复剂的报道。此外,Bt 菌株还表现出在杀虫剂和除草剂方面的修复能力,例如毒死蜱[69]、三苯基锡(有机锡除草剂)、二苯锡和单苯锡[68]等。在石油污染物修复方面 Bt 也表现出较好的潜力,例如柴油[15]、有机废物(类黑精[70])以及塑化剂材料(邻苯二甲酸二甲酯[71])。

Bt 在污染物修复方面的潜力对其研究与应用将有一定的促进作用,进一步要对 Bt 在实际环境中修复污染物的效率及影响因素等方面进行研究,为 Bt 进一步在环境修复方面的应用奠定基础。

5 展望

Bt 杀虫剂及表达其杀虫蛋白的转基因作物在过去的几十年里已经为虫害的绿色防控发挥了重要作用。我国当前农业生产工作中,由于化学农药的过量使用面临着巨大的环境压力,"十三五"期间,我国启动了"化学肥料和农药减施增效综合技术研发"试点专项,围绕化学肥料和农药减施增效方面开展了系统的研究。Bt 杀虫剂将围绕筛选、改造高毒杀虫微生物株系,优化生产工艺,并进一步深入研究 Bt 杀虫剂与化学杀虫剂的协同作用及其在延缓化学杀虫剂抗性方面的作用等方面,为国家"减肥减药"战略提供解决方案。

随着 Bt 在抗病杀菌、促植物生长以及环境修复方面作用的挖掘,Bt 的研究领域进一步得到拓展,然而相关领域的研究尚未进入应用阶段。泛基因组分析表明,Bt 属于开放型的泛基因组,具有强大的接受新基因的能力,不同菌株间的基因组成差别极大,这些遗传分析数据表明 Bt 在功能方面具有强大的多样性。因此进一步挖掘 Bt 新功能并探索推进其在新领域的应用,对促进 Bt 资源高效利用将有重要意义。

参考文献

[1] Raymond B, Johnston P R, Nielsenleroux C, et al. *Bacillus thuringiensis*: An impotent pathogen? [J]. Trends in Microbiology, 2010, 18(5): 189-194.

[2] Song Fuping, Zhang Jie, Gu Aixing, et al. Identification of *cry1I*-type genes from *Bacillus thuringiensis* strains and characterization of a novel *cry1I*-type gene [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69(9): 5207-5211.

[3] 李长友,张杰,宋福平,等. 苏云金芽孢杆菌 B-Pr-88 菌株中 *cry2Ab4* 基因的表达和杀虫活性研究[J]. 生物工程学报, 2007, 23(4): 634-638.

[4] Shu Changlong, Zhang Jie, Chen Guihua, et al. Use of a pooled clone method to isolate a novel *Bacillus thuringiensis*, Cry2A toxin with activity against *Ostrinia furnacalis* [J]. Journal of Invertebrate Pathology, 2013, 114(1): 31-33.

[5] Sanchis V. From microbial sprays to insect-resistant transgenic plants: History of the biopesticide *Bacillus thuringiensis* [J]. Agronomy for Sustainable Development, 2011, 31(1): 217-231.

[6] Bravo A, Likitvivatanavong S, Gill S S, et al. *Bacillus thuringiensis*: A story of a successful bioinsecticide [J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2011, 41(7): 423-431.

[7] James C. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2016 ISAAA Brief No 52 [R]. ISAAA: Ithaca, NY, 2016.

[8] 束长龙,谷少华,窦黎明,等. 对小地老虎具有杀虫毒力的苏云金芽孢杆菌菌株的分离及鉴定[J]. 植物保护, 2007, 33(5): 41-44.

[9] 刘东明,束长龙,宋福平,等. 北京植物园苏云金芽胞杆菌菌株的分离鉴定[J]. 植物保护, 2012, 38(1): 65-70.

[10] Akram W, Mahboob A, Javed A A. *Bacillus thuringiensis* strain 199 can induce systemic resistance in tomato against *Fusarium* wilt [J]. European Journal of Microbiology & Immunology, 2013, 3(4): 275-280.

[11] Singh M, Kumar P, Patel S, et al. Production of polyhydroxyalkanoate co-polymer by *Bacillus thuringiensis* [J]. Indian Journal of Microbiology, 2013, 53(1): 77-83.

[12] Katayama H, Yokota H, Akao T, et al. Parasporin-1, a novel cytotoxic protein to human cells from non-insecticidal parasporal inclusions of *Bacillus thuringiensis* [J]. Journal of Biochemistry, 2005, 137(1): 17-25.

[13] Brasseur K, Auger P, Asselin E, et al. Parasporin-2 from a new *Bacillus thuringiensis* 4R2 strain induces caspases activation and apoptosis in human cancer cells [J]. PLoS ONE, 2015, 10(8): e0135106.

[14] Prudent M, Salon C, Souleimanov A, et al. Soybean is less impacted by water stress using *Bradyrhizobium japonicum* and thuricin-17 from *Bacillus thuringiensis* [J]. Agronomy for Sustainable Development, 2015, 35(2): 1-9.

[15] Kebria D Y, Khodadadi A, Ganjidoust H, et al. Isolation and characterization of a novel native *Bacillus* strain capable of degrading diesel fuel [J]. International Journal of Environmental Science and Technology, 2009, 6(3): 435-442.

[16] Tettelin H, Masignani V, Cieslewicz M J, et al. Genome analysis of multiple pathogenic isolates of *Streptococcus agalactiae*: Implications for the microbial 'pan-genome'[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2005, 102(39): 13950-13955.

[17] Medini D, Donati C, Tettelin H, et al. The microbial pan-genome[J]. Current Opinion in Genetics and Development, 2005, 15(6): 589-594.

[18] Zhao Yongbin, Wu Jiayan, Yang Junhui, et al. PGAP: pan-genomes analysis pipeline [J]. Bioinformatics, 2012, 28(3): 416-418.

[19] Höfte H, Whiteley H. Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis* [J]. Microbiological Reviews, 1989, 53(2): 242-255.

[20] Estruch J J, Warren G W, Mullins M A, et al. Vip3A, a novel *Bacillus thuringiensis* vegetative insecticidal protein with a wide spectrum of activities against lepidopteran insects[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1996, 93(11): 5389-5394.

[21] Crickmore N, Zeigler D R, Feitelson J, et al. Revision of the nomenclature for the *Bacillus thuringiensis* pesticidal crystal proteins[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 1998, 62(3): 807-813.

[22] Luo Xiaoxia, Chen Ling, Huang Qiong, et al. *Bacillus thuringiensis* metalloproteinase Bmp1 functions as a nematicidal virulence factor [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2013, 79(2): 460-468.

[23] Dunstand-Guzmán E, Peña-Chora G, Hallal-Calleros C, et al. Acaricidal effect and histological damage induced by *Bacillus thuringiensis*, protein extracts on the mite *Psoroptes cuniculi* [J]. Parasites and Vectors, 2015, 8(1): 285-293.

[24] Xue Jing, Liang Gemei, Crickmore N, et al. Cloning and characterization of a novel Cry1A toxin from *Bacillus thuringiensis* with high toxicity to the Asian corn borer and other lepidopteran insects [J]. FEMS Microbiology Letters, 2008, 280(1): 95-101.

[25] Nazarian A, Jahangiri R, Jouzani G S, et al. Coleopteran-specific and putative novel *cry* genes in Iranian native *Bacillus thuringiensis* collection [J]. Journal of Invertebrate Pathology, 2009, 102(2): 101-109.

[26] Sick A, Gaertner F, Wong A. Nucleotide sequence of a coleopteran-active toxin gene from a new isolate of *Bacillus thuringiensis* subsp. *tolworthi* [J]. Nucleic Acids Research, 1990, 18(5): 1305.

[27] Jr Urban J, Hu Yan, Miller M M, et al. *Bacillus thuringiensis*-derived Cry5B has potent anthelmintic activity against *Ascaris suum* [J]. PLoS Neglected Tropical Diseases, 2013, 7(6): e2263.

[28] Ruan Lifang, Crickmore N, Peng Donghai, et al. Are nematodes a missing link in the confounded ecology of the entomopathogen *Bacillus thuringiensis* [J]. Trends in Microbiology, 2015, 23(6): 341-346.

[29] Bravo A, Gill S S, Soberón M. Mode of action of *Bacillus thuringiensis*, Cry and Cyt toxins and their potential for insect control [J]. Toxicon, 2007, 49(4): 423-435.

[30] Bendov E. *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* and its dipteran-specific toxins [J]. Toxins, 2014, 6(4): 1222-1243.

[31] Warren G W, Koziel M G, Mullins M A, et al. Auxiliary proteins for enhancing the insecticidal activity of pesticidal proteins: US, US5770696 [P/OL]. 1998. http://xueshu.baidu.com/s?wd=paperuri%3A%28f5f4ce8e630c8551eb1d031432d4fdf1%29&filter=sc_long_sign&tn=SE_xueshusource_2kduw22v&sc_vurl=http%3A%2F%2Fwww.freepatentsonline.com%2F5770696.html&ie=utf-8&sc_us=4790129465868586729.

[32] Bi Yang, Zhang Yanrui, Shu Changlong, et al. Genomic sequencing identifies novel *Bacillus thuringiensis*, Vip1/Vip2 binary and Cry8 toxins that have high toxicity to Scarabaeoidea larvae [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2015, 99(2): 753-760.

[33] Sattar S, Maiti M K. Molecular characterization of a novel vegetative insecticidal protein from *Bacillus thuringiensis* effective against sap-sucking insect pest [J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2011, 21(9): 937-946.

[34] Chakroun M, Ferré J. *In vivo* and *in vitro* binding of Vip3Aa to *Spodoptera frugiperda* midgut and characterization of binding sites using 125I-radiolabeling [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2014, 80(20): 6258-6265.

[35] Donovan W, Engleman J, Donovan J, et al. Discovery and characterization of Sip1A: A novel secreted protein from *Bacillus thuringiensis* with activity against coleopteran larvae [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2006, 72(4): 713-719.

[36] 张金波,李海涛,刘荣梅,等. Bt 菌株 DQ89 的 *sip* 基因的克隆、表达及杀虫活性分析[J]. 中国生物防治学报, 2015, 31(4): 598-602.

[37] Baum J A, Sukuru U R, Penn S R, et al. Cotton plants expressing a hemipteran-active *Bacillus thuringiensis* crystal protein impact the development and survival of *Lygus hesperus* (Hemiptera: Miridae) nymphs [J]. Journal of Economic Entomology, 2012, 105(2): 616-624.

[38] 张学雯,束长龙,陆宴辉,等. 对绿盲蝽具有杀虫活性 Bt 菌株的筛选及 Cry15Aa 蛋白活性的研究[J]. 植物保护, 2016, 42(3): 56-62.

[39] 刘永磊. 苏云金芽胞杆菌对灰飞虱高效杀虫新基因的挖掘与功能研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2015.

[40] Iatsenko I, Boichenko I, Sommer R J. *Bacillus thuringiensis* DB27 produces two novel protoxins, Cry21Fa1 and Cry21Ha1, which act synergistically against nematodes[J]. Applied & Environmental Microbiology, 2014, 80(10): 3266-3275.

[41] Luo Hui, Xiong Jing, Zhou Qiaoni, et al. The effects of *Bacillus thuringiensis*, Cry6A on the survival, growth, reproduction, locomotion, and behavioral response of *Caenorhabditis elegans* [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2013, 97(23): 10135-10142.

[42] Kotze A C, O'Grady J, Gough J M, et al. Toxicity of *Bacillus thuringiensis* to parasitic and free-living life-stages of nematode parasites of livestock [J]. International Journal for Parasitology, 2005, 35(9): 1013-1022.

[43] Yu Ziquan, Xiong Jing, Zhou Qiaoni, et al. The diverse nematicidal properties and biocontrol efficacy of *Bacillus thuringiensis* Cry6A against the root-knot nematode *Meloidogyne hapla* [J]. Journal of Invertebrate Pathology, 2015, 125: 73-80.

[44] Zhang Fengjuan, Peng Donghai, Ye Xiaobo, et al. *In vitro* uptake of 140 kDa *Bacillus thuringiensis* nematicidal crystal proteins by the second stage juvenile of *Meloidogyne hapla* [J]. PLoS ONE, 2012, 7(6): e38534.

[45] Devidas P, Rehberger L A. The effects of exotoxin (Thuringiensin) from *Bacillus thuringiensis* on *Meloidogyne incognita* and *Caenorhabditis elegans* [J]. Plant and Soil, 1992, 145(1): 115-120.

[46] Vu K D, Yan S, Tyagi R D, et al. Induced production of chitinase to enhance entomotoxicity of *Bacillus thuringiensis* employing starch industry wastewater as a substrate[J]. Bioresource Technology, 2009, 100(21): 5260-5269.

[47] Zhou Mengzhou, Yu Hai , Yin Xianhua, et al. *Lactobacillus zeae* protects *Caenorhabditis elegans* from enterotoxigenic escherichia coli-caused death by inhibiting enterotoxin gene expression of the pathogen [J]. PLoS ONE, 2014, 9(2): e89004.

[48] Juibari M, Abbasalizadeh S, Jouzani G, et al. Intensified biosynthesis of silver nanoparticles using a native extremophilic *Ureibacillus thermosphaericus* strain[J]. Materials Letters, 2011, 65(6): 1014-1017.

[49] Jain D, Kachhwaha S, Jain R, et al. Novel microbial route to synthesize silver nanoparticles using spore crystal mixture of *Bacillus thuringiensis* [J]. Indian Journal of Experimental Biology, 2010, 48(11): 1152-1156.

[50] Marimuthu S, Rahuman A A, Kirthi A V, et al. Eco-friendly microbial route to synthesize cobalt nanoparticles using *Bacillus thuringiensis* against malaria and dengue vectors [J]. Parasitology Research, 2013, 112(12): 4105-4112.

[51] 卢伟，赵秋敏，陈艳玲，等. 几丁质酶在苏云金芽胞杆菌中的分布及抑小麦赤霉菌菌株的筛选[J]. 南开大学学报(自然科学版)，2007,40(3): 97-101.

[52] Shrestha A, Sultana R, Chae J C, et al. *Bacillus thuringiensis*, C25 which is rich in cell wall degrading enzymes efficiently controls lettuce drop caused by *Sclerotinia minor* [J]. European Journal of Plant Pathology, 2015, 142(3): 577-589.

[53] Rocha L O, Tralamazza S M, Reis G M, et al. Correction: Multi-method approach for characterizing the interaction between *Fusarium verticillioides* and *Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki* [J]. PLoS ONE, 2015, 10(10): e92189.

[54] Kim P I, Bai H, Bai D, et al. Purification and characterization of a lipopeptide produced by *Bacillus thuringiensis* CMB26 [J]. Journal of Applied Microbiology, 2004, 97(5): 942-949.

[55] Zheng Min, Shi Jingying, Shi Jian, et al. Antimicrobial effects of volatiles produced by two antagonistic *Bacillus*, strains on the anthracnose pathogen in postharvest mangos [J]. Biological Control, 2013, 65(2): 200-206.

[56] Dong Yihu, Zhang Xifen, Xu Jinling, et al. Insecticidal *Bacillus thuringiensis* silences *Erwinia carotovora* virulence by a new form of microbial antagonism, signal interference [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2004, 70(2): 954-960.

[57] Chi E H, Jo S H, Ju Y M, et al. Isolation of novel leaf-inhabiting endophytic bacteria in *Arabidopsis thaliana*, and their antagonistic effects on phytopathogens [J]. Plant Biotechnology Reports, 2015, 9(6): 451-458.

[58] Park S J, Park S Y, Ryu C M, et al. The role of AiiA, a quorum-quenching enzyme from *Bacillus thuringiensis*, on the rhizosphere competence [J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2008, 18(9): 1518-1521.

[59] Bora L C, Kataki L, Talukdar K, et al. Molecular characterizations of microbial antagonists and development of bioformulations for management of bacterial wilt of Naga chilli (*Capsicum chinens* Jacq.) in Assam [J]. Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences, 2015, 3(2): 109-122.

[60] Elsharkawy M M, Mai N, Nishimura M, et al. Control of tomato bacterial wilt and root-knot diseases by *Bacillus thuringiensis* CR-371 and *Streptomyces avermectinius* NBRC14893 [J]. Acta Agriculturae Scandinavica, 2015, 65(6): 575-580.

[61] Santiago T R, Grabowski C, Rossato M, et al. Biological control of eucalyptus bacterial wilt with rhizobacteria [J]. Biological Control, 2015, 80: 14-22.

[62] Nm F S, Casadosvázquez L E, Barbozacorona J E. Bacteriocins of *Bacillus thuringiensis* can expand the potential of this bacterium to other areas rather than limit its use only as microbial insecticide [J]. Canadian Journal of Microbiology, 2013, 59(8): 515-522.

[63] Barbozacorona J E, De l F N, Alvamurillo N, et al. Activity of bacteriocins synthesized by *Bacillus thuringiensis* against *Staphylococcus aureus* isolates associated to bovine mastitis [J]. Veterinary Microbiology, 2009, 138 : 179-183.

[64] Mishra P K, Mishra S, Selvakumar G, et al. Coinoculation of *Bacillus thuringiensis*-KR1 with *Rhizobium leguminosarum* enhances plant growth and nodulation of pea (*Pisum sativum* L.) and lentil (*Lens culinaris* L.)[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2009, 25(5): 753-761.

[65] Armada E, Probanza A, Roldán A, et al. Native plant growth promoting bacteria *Bacillus thuringiensis*, and mixed or individual mycorrhizal species improved drought tolerance and oxidative metabolism in *Lavandula dentata* plants [J]. Journal of Plant Physiology, 2016, 192: 1-12.

[66] Bai Yuming, Zhou Xiaomin, Smith D L. Enhanced soybean plant growth resulting from coinoculation of *Bacillus* strains with *Bradyrhizobium japonicum* [J]. Crop Science, 2003, 43(5): 1774-1781.

(下转 35 页)

rus in bottle gourd in Taiwan [M]// Plant virus disease of horticultural crop in tropics and subtropics. Food Fertilizer Technology Center for Asian and Pacific Region. Taiwan: Book Series, 1986, 33: 38 - 42.

[6] Choi Gugseoun, Choi G S. Occurrence of two Tobamovirus diseases in cucurbits and control measures in Korea [J]. Plant Pathology Journal, 2001, 17(5):243 - 248.

[7] 李立梅，吴元华，赵秀香，等. 西瓜感染黄瓜绿斑驳花叶病毒后糖的变化与倒瓤关系的研究[J]. 植物病理学报，2011，41(3):319 - 323.

[8] 李立梅，吴元华，赵秀香，等. 黄瓜绿斑驳花叶病毒对西瓜产量、品质及种子带毒的影响[J]. 植物保护，2010，36(6):82 - 86.

[9] 李立梅，陈越渠，李晓冬，等. 人工接种 CGMMV 后与西瓜倒瓤相关部分生理指标的研究[J]. 植物病理学报，2015，45(5): 461 - 467.

[10] 杨志晓，丁燕芳，张小全，等. 赤星病胁迫对不同抗性烟草品种光合作用和叶绿素荧光特性的影响[J]. 生态学报，2015，35(12): 4146 - 4154.

[11] 彭晏辉，雷娟丽，黄黎锋，等. 马铃薯 Y 病毒侵染对叶绿体超微结构、光合和荧光参数的影响[J]. 植物病理学报，2004，34(1):32 - 36.

[12] 郭兴启，温孚江，朱汉城. 马铃薯 Y 病毒(PVY)的侵染对烟草叶片光合作用的影响[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版)，2000，26(1):75 - 78.

[13] 洪健，徐颖，徐正. 植物病毒感染寄主叶绿体的形态结构变化[J]. 电子显微学报，2000，19(3):335 - 336.

[14] Doke L. Incorporation of $^{14}CO_2$ into free and bound amino acids in tobacco leaves infected with *Tobacco masaic virus*[J]. Phytopathology, 1972, 73:215 - 226.

[15] David M M, Coelho D, Barrote I. Leaf age effects on photosynthetic activity and sugar accumulation in droughted and rewatered *Lupinus albus* plants[J]. Australian Journal of Plant Physiology, 1998, 25:299 - 306.

[16] Funayama S, Sonoike K, Terashima I. Photosynthetic properties of leaves of *Eupatorium makinoi* infected by a geminivirus [J]. Photosynthesis Research, 1997, 53: 253 - 261.

[17] 苏小记，贾丽娜，王亚红，等. 2.0%氨基寡糖素水剂防治西瓜病毒病药效试验[J]. 陕西农业科学，2004(4):8 - 9

[18] 郝建军，刘延吉. 植物生理学实验技术[M]. 沈阳：辽宁科学技术出版社，2001.

[19] 薛应龙. 植物生理学实验手册[M]. 上海：上海科学技术出版社. 1985.

[20] 裘维蕃. 植物病毒学(修订版)[M]. 北京：农业出版社，1984: 253 - 270.

[21] 洪健，徐颖，黎军英，等. 芜菁花叶病毒(TuMV)侵染对寄主植物光合作用的影响[J]. 电子显微学报，2002，21(2):110 - 113.

[22] 王春梅，施定基，朱水芳，等. 黄瓜花叶病毒对烟草叶片和叶绿体光合活性的影响[J]. 植物学报，2000，42(4):355 - 392.

[23] 沈喜，李红玉. 病毒侵染后植物叶绿体光合作用变化的分子机制[J]. 2003，33(4): 289 - 291.

[24] Roger D A, Corbett M K. Reduced photosynthesis in tobacco plant infected with *Tobacco ring spot virus*[J]. Phytopathology, 1965, 55: 370 - 371.

[25] Hall A E, Loomis R S. An explanation for the difference in photosynthetic capabilities of healthy and beet yellows virus-infected sugar beets(*Beta vulgaris* L.)[J]. Plant Physiology, 1972, 50: 576 - 580.

[26] 李燕宏，洪健，谢礼，等. 蚕豆萎蔫病毒 2 号分离物侵染对蚕豆叶片光合活性和叶绿体超微结构的影响[J]. 植物生理与分子生物学学报，2006，32(4): 490 - 496.

[27] 宋丽丽，郭延平，徐凯，等. 温州蜜柑叶片光合作用光抑制的保护机理[J]. 应用生态学报，2003，14(1): 47 - 50.

[28] Li X G, Meng Q W, Jiang G Q, et al. The susceptibility of cucumber and sweet pepper to chilling under low irradiance is related to energy dissipation and water-water cycle [J]. Photosynthetica, 2003, 41(2): 259 - 265.

[29] Willekens H, van Camp W, van Montagu M, et al. Ozone, sulfurdioxide, and ultraviolet B have similar effects on mRNA accumulation of antioxidant genes in *Nicotiana plumbaginifolia* L. [J]. Plant Physiology, 1994, 106(3): 1007 - 1014.

[30] Sakaki T, Kondo N, Sugahra K. Breakdown of photosynthetic pigment and lipids in spinach leaves with ozone fumigation: Role of active oxygen [J]. Physiologia Plantarum, 1983, 59(1): 28 - 34.

[31] 潘瑞志. 植物生理学[M]. 北京：高等教育出版社，2001.

（责任编辑：田　喆）

（上接 8 页）

[67] Ortiz N, Armada E, Duque E, et al. Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi and/or bacteria to enhancing plant drought tolerance under natural soil conditions: effectiveness of autochthonous or allochthonous strains [J]. Journal of Plant Physiology, 2015, 174: 87 - 96.

[68] Huang Jie, Ye Jinshao, Ma Jiawen, et al. Triphenyltin biosorption, dephenylation pathway and cellular responses during triphenyltin biodegradation by *Bacillus thuringiensis* and tea saponin [J]. Chemical Engineering Journal, 2014, 249: 167 - 173.

[69] Aceves-Diez A E, Estrada-Castañeda K J, Castañeda-Sandoval L M, Use of *Bacillus thuringiensis* supernatant from a fermentation process to improve bioremediation of chlorpyrifos in contaminated soils [J]. Journal of Environmental Management, 2015, 157: 213 - 219.

[70] Kumar P, Chandra R. Decolourisation and detoxification of synthetic molasses melanoidins by individual and mixed cultures of *Bacillus* spp. [J]. Bioresource Technology, 2006, 97(16): 2096 - 2102.

[71] Brar S K, Verma M, Tyagi R D, et al. Concurrent degradation of dimethyl phthalate (DMP) during production of *Bacillus thuringiensis* based biopesticides [J]. Journal of Hazardous Materials, 2009, 171: 1016 - 1023.

（责任编辑：田　喆）