

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*
54 (2) :139 - 158; 4 February 2014
ISSN 0001 - 6209; CN 11 - 1995/Q
http://journals.im.ac.cn/actamicrocn
doi: 10.13343/j.cnki.wsxb.2014.02.003

基于脂肪酸生物标记芽胞杆菌属种类的系统发育

刘波¹, 刘国红^{1,2}, 林乃铨²

¹福建省农业科学院农业生物资源研究所, 福建 福州 350003

²福建农林大学植物保护学院, 福建 福州 350002

摘要: 【目的】测定芽胞杆菌属 90 个种(亚种)的脂肪酸成分, 构建芽胞杆菌属脂肪酸系统发育分类体系。【方法】利用脂肪酸微生物鉴定系统(MIS)分析供试芽胞杆菌种类脂肪酸生物标记, 根据脂肪酸生物标记分布特性, 选取 10 种脂肪酸参数即 16:0 iso、16:0、17:0 iso、17:0 anteiso、15:0 iso、15:0 anteiso、15:0 iso/15:0 anteiso、17:0 iso/17:0 anteiso 以及香农指数(H)和均匀度指数(J)构建芽胞杆菌属种类的脂肪酸系统发育分类体系, 【结果】从芽胞杆菌属 90 个种(亚种)共检测到 29 个脂肪酸生物标记, 脂肪酸碳链长度从 10 到 20, 前 6 个相对百分比含量总和最大的脂肪酸是 15:0 anteiso、15:0 iso、17:0 anteiso、16:0、17:0 iso 和 16:0 iso; 在测定的 90 个种(亚种)的脂肪酸组成中, 15:0 anteiso 和 15:0 iso 属于高含量完全分布, 17:0 anteiso、16:0、17:0 iso 和 16:0 iso 属于中含量不完全分布, 其余 23 个标记属于低含量不完全分布。可将 90 种(亚种)芽胞杆菌分为 5 个脂肪酸群, 分别为第 I 群窄温芽胞杆菌脂肪酸群、第 II 群广温芽胞杆菌脂肪酸群、第 III 群嗜碱芽胞杆菌脂肪酸群、第 IV 群嗜酸芽胞杆菌脂肪酸群、第 V 群嗜温芽胞杆菌脂肪酸群。【结论】芽胞杆菌属的脂肪酸生物标记系统发育分析, 可将其划分为 5 个类群, 且各类群的特性与芽胞杆菌的生长特性和生理生化特紧密相关, 这是其他分类方法所不具有的, 有望成为一种新的分类体系。

关键词: 芽胞杆菌属, 脂肪酸, 系统发育分析

中图分类号: Q939 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209(2014)02-0139-20

芽胞杆菌属 (*Bacillus*) 属于细菌界 (Bacteria), 厚壁菌门 (Firmicutes), 芽胞杆菌纲 (Bacilli), 芽胞杆菌目 (Bacillales), 芽胞杆菌科 (Bacillaceae)。芽胞杆菌属的种类广泛地分布在各种环境中, 如南极^[1]、火山^[2]、沙漠^[3-4]、深海^[5]、温泉^[6]、矿藏^[7]等, 常有芽胞杆菌的踪迹。由于芽胞杆菌产芽胞的特性, 适合与工业菌剂的生产, 许多芽胞杆菌种类在工业、医学和商业上都具有重要的应用价值^[8-11]。研究它们的系统发育对其更好地应用到实践中具有

重要的意义。

根据“List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature”统计, 芽胞杆菌属共有 180 个种^[12]。芽胞杆菌的系统发育分析方法主要是以 16S rRNA 序列相似性为依据, 当两个芽胞杆菌的 16S rRNA 序列相似性小于 97%、DNA-DNA 同源性小于 70%, 则认定为不同的种^[13-15]。虽然 16S rRNA 序列分类具有相当高的稳定性, 但是芽胞杆菌属的有些种间亲缘关系极其相近, 难以利用 16S rRNA 区分开。

基金项目: 国家“973 项目”前期(2011CB111607); 科技部国际合作基金(2012DFA31120); 农业部“948 项目”(2011-G5); 国家自然科学基金(31370059)

作者简介: 刘波(1957-), 男, 福建惠安人, 博士, 研究员, 从事微生物生物技术和芽胞杆菌系统发育。Tel: +86-591-83793035; Fax: +86-591-83768251; E-mail: fzliubo@163.com

收稿日期: 2013-06-13; **修回日期:** 2013-10-10

同时,16S rRNA 分类与芽胞杆菌的生物学特征联系较少,许多嗜温、嗜酸、嗜碱、嗜盐的芽胞杆菌分为一类。作者利用脂肪酸进行芽胞杆菌分群,试图弥补以上缺陷。芽胞杆菌的脂肪酸检测与系统发育分析操作简单,不仅可以反映芽胞杆菌属种间的亲缘关系,还具有生物学意义。脂肪酸是细胞生物膜的重要组成部分,与芽胞杆菌细胞识别、种类特异性和细胞免疫等有密切关系;是遗传特性的表征物质,具有芽胞杆菌种属遗传稳定性。此外,脂肪酸还具有结构多样性,可以敏感地表征芽胞杆菌得生物学特异性,是特别有效的分类生物标记^[16-18]。

细菌脂肪酸分为饱和脂肪酸与不饱和脂肪酸两大类,如 15:0 iso 等为饱和脂肪酸,17:1 iso ω 5c 等为不饱和脂肪酸。芽胞杆菌属杆菌的脂肪酸大多为支链饱和脂肪酸,支链饱和脂肪酸含有一个甲基,当甲基位于倒数第二位置时该脂肪酸称为 iso,位于倒数第三位置时称为 anteiso。芽胞杆菌属只有少数种产生不饱和脂肪酸,如炭疽芽胞杆菌、蜡状芽胞杆菌及苏云金芽胞杆菌等产生 17:1 iso ω 5c。Saito^[19]报道 15:0 iso 和 15:0 anteiso 是芽胞杆菌的主要脂肪酸类型。Abel 等^[20]研究表明气相色谱 GLC 得出的细胞脂肪酸可以成功地鉴定细菌,且细菌脂肪酸碳原子数为 9-20。Kaneda^[21]利用脂肪酸将 22 株芽胞杆菌分为 6 个群,这些菌都含有 iso 和 anteiso 饱和支链脂肪酸。刘波^[16]在《微生物脂肪酸生态学》著作中,利用脂肪酸分析了 61 个细菌属的 4800 多个菌株,将常见细菌属分为 4 个脂肪酸型,芽胞杆菌划分在细菌脂肪酸 IV 型内,发现了支链脂肪酸在细菌进化史上起着重要的作用。同时,比较了芽胞杆菌脂肪酸鉴定与 16S rRNA 序列鉴定的相似性大于 98%^[16,22],但在系统发育树的结构上具有较大的差异。

细菌脂肪酸的气相色谱检测是一种便宜、快速、简便方法,自动化程度很高。该技术已被大多数实验室用于细菌的日常鉴定,如脂肪酸微生物鉴定系统 [Sherlock Microbial Identification System (MIS, Microbial ID, Inc. MIDI), Newark, Delaware, USA], 含有 1500 多种嗜氧菌和 800 多种厌氧菌,其中含有芽胞杆菌属 25 个种^[23]。从质上来讲,芽胞杆菌脂肪酸生物标记为 DNA 表达产物,具有高度遗传保守性。从量上来讲,尽管微生物脂肪酸含量的变化可以反映生长环境的瞬时变化产生很大的变异,芽胞

杆菌脂肪酸的检测是十分精确的^[24-25]。目前,已发现细菌细胞中含有 300 多种脂肪酸生物标记,它们碳链长度、双键位置和功能团等的不同,这些特性使得脂肪酸成为一种有用的分类标记^[16,26-27]。尽管芽胞杆菌种类脂肪酸鉴定研究有了较大的进展,利用脂肪酸进行芽胞杆菌系统发育研究未见报道。

有鉴于此,本研究选择了芽胞杆菌属的 90 个种类(其中 3 个亚种),进行脂肪酸生物标记测定,分析脂肪酸生物标记在芽胞杆菌分布特性,构建芽胞杆菌系统发育分析的脂肪酸参数统计指标,进行芽胞杆菌属种类的脂肪酸系统发育聚类分析,并对聚类结果划分的脂肪酸群的生物学特性进行比较,评估该体系在芽胞杆菌系统发育中的作用。现将研究结果小结如下。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌株:选取 90 种芽胞杆菌的模式菌株为研究对象,具体见表 1。菌株均在 TSB 培养基上 28℃ 培养 24 h。

1.1.2 主要试剂和仪器:TSBA 培养基 [胰蛋白胍大豆肉汤 (TSB) 30 g、15 g 琼脂] 及培养管购自美国 BD 公司。气相色谱仪为安捷伦 7890。脂肪酸提取溶液 I:NaOH 45 g, 甲醇 150 mL, 超纯水 150 mL; 溶液 II:6.0 mol/L HCL 325 mL, 甲醇 275 mL; 溶液 III:己烷 200 mL, 甲基三丁基乙醚 200 mL; 溶液 IV:NaOH 10.8 g, 超纯水 900 mL。以上有机溶剂为色谱纯, 化学试剂为优级纯。

1.2 芽胞杆菌属种类脂肪酸生物标记测定

芽胞杆菌属种类脂肪酸提取主要参考 Sasser^[28]描述的方法。按四区划线法将新鲜待测菌株接种至新鲜的 TSBA 平板上,28℃ 培养 24 h。刮取 20 mg 新鲜菌体置于试管,加入 1 mL 溶液 I,100℃ 水浴 30 min;冷却至室温后加入 1.5 mL 溶液 II,混匀后 80℃ 水浴 10 min;用流水迅速冷却至室温,加入 1.25 mL 溶液 III;震荡 10 min,吸弃下层溶液;加入 3 mL 溶液 IV 及几滴饱和 NaCl 溶液,震荡 5 min,静止片刻,待分层后,吸取上层液体于 GC 管中进行检测分析。细菌脂肪酸成分检测采用微生物鉴定系统进行分析(美国 MIDI 公司产品),该系统包括了 Agilent 7890 N 型气相色谱系统, Sherlock MIS 6.0

表 1. 供试菌株信息

Table 1. Information of tested strains

strain No.	original strain No.	species	Chinese name	strain No.	original strain No.	species	Chinese name
FJAT-14221	DSM 18954	<i>B. acidicer</i>	酸快生芽胞杆菌	FJAT-8771	CCUG 7422	<i>B. licheniformis</i>	地衣芽胞杆菌
FJAT-14829	DSM 14745	<i>B. acidicola</i>	-	FJAT-14206	DSM 18845	<i>B. luciferensis</i>	-
FJAT-14209	DSM 23148	<i>B. acidiproducens</i>	-	FJAT-14248	DSM 16346	<i>B. macyae</i>	马氏芽胞杆菌
FJAT-10013	DSM 8721	<i>B. agaradhaerens</i>	黏琼脂芽胞杆菌	FJAT-14235	DSM 16204	<i>B. marisflavi</i>	黄海芽胞杆菌
FJAT-276	ATCC 27647	<i>B. alacalphilus</i>	嗜碱芽胞杆菌	FJAT-8773	CCUG 49529	<i>B. massiliensis</i>	马塞芽胞杆菌
FJAT-2286	DSM 16976	<i>B. alkalielluris</i>	碱土芽胞杆菌	FJAT-8774	CCUG 1817	<i>B. megaterium</i>	巨大芽胞杆菌
FJAT-10025	DSM 21631	<i>B. altitudinis</i>	高地芽胞杆菌	FJAT-10005	DSM 9205	<i>B. mojavensis</i>	莫哈维芽胞杆菌
FJAT-8754	CCUG 28519	<i>B. amyloliquefaciens</i>	解淀粉芽胞杆菌	FJAT-14208	DSM 16288	<i>B. muralis</i>	壁芽胞杆菌
FJAT-14220	DSM 21047	<i>B. aryabhatai</i>	阿氏芽胞杆菌	FJAT-14258	DSM 19154	<i>B. murimartini</i>	马丁教堂芽胞杆菌
FJAT-8755	CCUG 28524	<i>B. atrophaeus</i>	矮缩芽胞杆菌	FJAT-8775	DSM 2048	<i>B. mycoides</i>	蕈状芽胞杆菌
FJAT-8757	CCUG 7412	<i>B. badius</i>	栗褐芽胞杆菌	FJAT-14216	DSM 15077	<i>B. nealsonii</i>	尼氏芽胞杆菌
FJAT-10043	DSM 15601	<i>B. bataviensis</i>	巴达维亚芽胞杆菌	FJAT-14217	DSM 17723	<i>B. niabensis</i>	农研所芽胞杆菌
FJAT-14214	DSM 19037	<i>B. beijingensis</i>	北京芽胞杆菌	FJAT-14202	DSM 2923	<i>B. niacini</i>	烟酸芽胞杆菌
FJAT-14268	DSM 17376	<i>B. boroniphilus</i>	嗜硼芽胞杆菌	FJAT-14227	DSM 15603	<i>B. novalis</i>	休闲地芽胞杆菌
FJAT-14236	DSM 18926	<i>B. butanolivorans</i>	食丁酸芽胞杆菌	FJAT-14201	DSM 18869	<i>B. odysseyi</i>	奥德赛芽胞杆菌
FJAT-10029	DSM 17613	<i>B. carboniphilus</i>	嗜碳芽胞杆菌	FJAT-2235	DSM 23308	<i>B. okhensis</i>	奥哈芽胞杆菌
FJAT-10015	DSM 2522	<i>B. cellulosityticus</i>	解纤维芽胞杆菌	FJAT-14823	DSM 13666	<i>B. okuhidensis</i>	-
FJAT-8760	CCUG 7414	<i>B. cereus</i>	蜡状芽胞杆菌	FJAT-14224	DSM 9356	<i>B. oleronius</i>	蔬菜芽胞杆菌
FJAT-14272	DSM 16189	<i>B. cibi</i>	食物芽胞杆菌	FJAT-2285	DSM 19096	<i>B. panaciterrae</i>	人参地块芽胞杆菌
FJAT-8761	CCUG 7416	<i>B. circulans</i>	环状芽胞杆菌	FJAT-10053	ATCC 14576	<i>B. pantothenicus</i>	-
FJAT-8762	CCUG 47262	<i>B. clausii</i>	克劳氏芽胞杆菌	FJAT-14218	DSM 16117	<i>B. patagoniensis</i>	巴塔哥尼亚芽胞杆菌
FJAT-520	ASI. 2009	<i>B. coagulans</i>	凝结芽胞杆菌	FJAT-14237	DSM 8725	<i>B. pseudocaliphilus</i>	假嗜碱芽胞杆菌
FJAT-10017	DSM 2528	<i>B. cohnii</i>	科氏芽胞杆菌	FJAT-14225	DSM 12442	<i>B. pseudomycoides</i>	假蕈状芽胞杆菌
FJAT-14222	DSM 17725	<i>B. decisifrondis</i>	腐叶芽胞杆菌	FJAT-8778	CCUG 28882	<i>B. psychrosaccharolyticus</i>	忍冷芽胞杆菌
FJAT-14274	DSM 14890	<i>B. decolorationis</i>	脱色芽胞杆菌	FJAT-14255	DSM 11706	<i>B. psychrotolerans</i>	-
FJAT-10044	DSM 15600	<i>B. drentensis</i>	钻特省芽胞杆菌	FJAT-8779	CCUG 26016	<i>B. pumilus</i>	短小芽胞杆菌
FJAT-10010	DSM 13796	<i>B. endophyticus</i>	内生芽胞杆菌	FJAT-14825	DSM 17057	<i>B. raris</i>	农庄芽胞杆菌
FJAT-274	ATCC 29313	<i>B. fastidiosus</i>	苛求芽胞杆菌	FJAT-14260	DSM 19292	<i>B. safensis</i>	沙福芽胞杆菌
FJAT-8765	CCUG 28525	<i>B. flexus</i>	弯曲芽胞杆菌	FJAT-14262	DSM 18680	<i>B. selenatarsenatis</i>	硒砷芽胞杆菌
FJAT-10032	DSM 16014	<i>B. fordii</i>	福氏芽胞杆菌	FJAT-14261	DSM 15326	<i>B. selenitireducens</i>	还原硒酸盐芽胞杆菌
FJAT-10033	DSM 16012	<i>B. fortis</i>	强壮芽胞杆菌	FJAT-14231	DSM 16464	<i>B. seohaeanensis</i>	西岸芽胞杆菌
FJAT-8766	CCUG 28888	<i>B. fusiformis</i>	纺锤形芽胞杆菌	FJAT-14257	DSM 18868	<i>B. shackletonii</i>	沙氏芽胞杆菌
FJAT-10034	DSM 15595	<i>B. galactosidilyticus</i>	解半乳糖芽胞杆菌	FJAT-2295	DSM 30646	<i>B. simplex</i>	简单芽胞杆菌
FJAT-10035	DSM 15865	<i>B. gelatini</i>	明胶芽胞杆菌	FJAT-14822	DSM 13140	<i>B. siralis</i>	青贮窖芽胞杆菌
FJAT-14270	DSM 18134	<i>B. ginsengihumi</i>	人参土芽胞杆菌	FJAT-14232	DSM 15604	<i>B. soli</i>	土壤芽胞杆菌
FJAT-519	ATCC 23301	<i>B. globisporus</i>	-	FJAT-14256	DSM 13779	<i>B. sonorensis</i>	索诺拉沙漠芽胞杆菌
FJAT-10037	DSM 16731	<i>B. hemicellulosityticus</i>	解半纤维素芽胞杆菌	FJAT-9	FJAT-9	<i>B. sphaericus</i>	球形芽胞杆菌
FJAT-14233	DSM 6951	<i>B. horikoshii</i>	堀越氏芽胞杆菌	FJAT-8784	CCUG163	<i>B. subtilis</i>	枯草芽胞杆菌
FJAT-14211	DSM 16318	<i>B. humi</i>	土地芽胞杆菌	FJAT-14251	DSM 22148	<i>B. subtilis</i> subsp. <i>inaquosorum</i>	枯草芽胞杆菌 inaquosorum 亚种
FJAT-14212	DSM 15820	<i>B. indicus</i>	印度芽胞杆菌	FJAT-14250	DSM 15029	<i>B. subtilis</i> subsp. <i>spizizenii</i>	枯草芽胞杆菌斯氏亚种
FJAT-14252	DSM 21046	<i>B. isronensis</i>	-	FJAT-14254	DSM 10	<i>B. subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i>	枯草芽胞杆菌枯草亚种
FJAT-14210	DSM 16467	<i>B. koreensis</i>	韩国芽胞杆菌	FJAT-14	FJAT-14	<i>B. thuringiensis</i>	苏云金芽胞杆菌
FJAT-14240	DSM17871	<i>B. kribbensis</i>	韩研所芽胞杆菌	FJAT-14844	DSM11031	<i>B. vallismortis</i>	死谷芽胞杆菌
FJAT-14213	DSM 19099	<i>B. lehensis</i>	列城芽胞杆菌	FJAT-14842	DSM 9768	<i>B. vedderi</i>	威氏芽胞杆菌
FJAT-275	ATCC 14707	<i>B. lentimorbus</i>	-	FJAT-14850	DSM 18898	<i>B. vietnamensis</i>	越南芽胞杆菌

处理软件。色谱分析柱温采用二阶顺序升温法,即第一阶段 170℃ 起始,每分钟升温 5℃,升至 260℃,第二阶段再每分钟升温 40℃,升至 310℃,维持 90 s;汽化室温度 250℃、检测器温度 300℃;载气为氢气(2 mL/min)、尾吹气为氮气(30 mL/min);柱前压 68.95 kpa;进样量 1 μL,进样分流比 100:1。

1.3 芽胞杆菌属种类脂肪酸生物标记分布特性

利用林营志等^[29]编写的程序,将 Sherlock MIS6.0 检测出的芽胞杆菌属每个种的脂肪酸检测数据转换成以芽胞杆菌为样本,以脂肪酸生物标记为指标的数据矩阵 Excel 文件。统计每种脂肪酸标记在不同芽胞杆菌中分布的相对百分比含量总和(以下简称总和)、平均值和最大值,分析脂肪酸在芽胞杆菌分布统计特性。基于该统计结果,利用 SPSS16.0 生物统计软件,以脂肪酸总和、平均值、最大值为指标,以脂肪酸生物标记为样本,构建数据矩阵,以欧氏距离为尺度,采用类平均法对脂肪酸生物标记进行系统聚类,分析基于统计特性的脂肪酸生物标记分组特性,选择用于芽胞杆菌系统发育分析的脂肪酸指标。

1.4 基于脂肪酸生物标记的芽胞杆菌属种系统发育分析

构建芽胞杆菌 10 个脂肪酸生物标记统计参数,为系统发育参数指标,即(1) 16:0 代表细菌特征,(2) 16:0 iso 代表细菌特征^[24],(3) 15:0 iso 代表芽胞杆菌属的特征,(4) 15:0 anteiso 代表芽胞杆菌属的特征^[19],(5) 17:0 iso 代表芽胞杆菌属的特征,(6) 17:0 anteiso 代表芽胞杆菌属的特征,(7) 15:0 iso/15:0 anteiso 代表芽胞杆菌属的分化,(8) 17:0 iso/17:0 anteiso 代表芽胞杆菌种的分化^[30],(9) 脂肪酸生物标记香农指数(H')用于平衡脂肪酸生物标记奇异产生,(10) 脂肪酸生物标记均匀度指数(J)用于平衡脂肪酸生物标记检测误差。

芽胞杆菌脂肪酸生物标记香农指数(H')按照公式(1)计算。

$$H' = - \sum_{i=1}^s p_i \ln p_i \quad (1)$$

其中, p_i 为芽胞杆菌第 i 个脂肪酸生物标记含量占脂肪酸含量总和的比例, s 为脂肪酸生物标记的个

数。

芽胞杆菌脂肪酸生物标记均匀度指数(J)按照公式(2)计算。

$$J = \frac{H'}{H'_{\max}} \quad (2)$$

其中 H' 为香农指数, H'_{\max} 为 H' 的最大值。

以芽胞杆菌 10 个脂肪酸生物标记统计参数为指标,90 个芽胞杆菌属种类(亚种)为样本,构建数据矩阵如下:

$$\begin{pmatrix} X_{11} & X_{12} & \cdots & \cdots & \cdots & X_{1n} \\ X_{21} & X_{22} & \cdots & \cdots & \cdots & X_{2n} \\ X_{31} & X_{32} & \cdots & \cdots & \cdots & X_{3n} \\ X_{41} & X_{42} & \cdots & \cdots & \cdots & X_{4n} \\ & & & & \vdots & \\ X_{m1} & X_{m2} & \cdots & \cdots & \cdots & X_{mn} \end{pmatrix}$$

其中, $1-n$ 表示脂肪酸标记, $1-m$ 表示芽胞杆菌种类。

利用 SPSS16.0 生物统计软件,以欧式距离为尺度,用类平均法进行系统聚类,分析芽胞杆菌因脂肪酸指标组建的脂肪酸群系统发育特征。

2 结果和分析

2.1 芽胞杆菌属种类的脂肪酸生物标记测定

实验结果见表 2。芽胞杆菌属 90 个种(亚种)的脂肪酸生物标记测定结果表明,共检测到 29 个芽胞杆菌属的脂肪酸生物标记,碳链长度从 10 到 20。其中主要的脂肪酸生物标记有 8 个,即 15:0 anteiso、15:0 iso、16:0 iso、17:0 anteiso、16:0、14:0 iso、14:0 和 17:0 iso,它们的含量较高,存在于大部分的芽胞杆菌属种类中,分布概率在 95% 以上。其余 21 个脂肪酸生物标记的含量较低,在芽胞杆菌属种类中分布极不均匀。饱和脂肪酸除了 16:0(细菌的特征脂肪酸)在所有的种类有分布外,其余 10:0、12:0、14:0、17:0、18:0、19:0、20:0 在芽胞杆菌种中分布较少,分布的种类范围在 4-71 种,分布概率在 4.4% - 78.8% 之间。不饱和脂肪酸在芽胞杆菌属中的分布种类和相对含量百分比比较低。

表 2. 芽胞杆菌属种类脂肪酸生物标记

Table 2. Detection of phospholipid fatty acid biomarkers for *Bacillus* species

species	17:0 iso	17:1 iso ω5c	18:1 ω9c	12:0 iso	14:0 iso	16:0	17:0	20:0	18:0	19:0	10:0	12:0	14:0	19:0 iso	16:1 ω11c	17:0 iso 30H	13:0 anteiso	17:1 anteiso a	17:0 anteiso	17:1 iso ω10c	13:0 iso	16:1 ω7c alcohol	15:0 iso	15:0 anteiso	summed feature 4	summed feature 8	summed feature 3	summed feature 2	summed feature 1	16:0 iso
<i>B. acidiceles</i>	0	0	0	0	4.08	4.67	0	0	0	0	0	0	2.225	0	0	0	0	5.19	0	0	0	15.125	57.485	0	0	0	0	0	0	9.35
<i>B. acidicola</i>	3.19	0	0	0	1.59	9.01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14.43	0	0	0	4.07	47.89	0	0	0	0	0	0	17.96
<i>B. acidiproducens</i>	0.00	0	0	0	4.01	9.64	0	0	1.22	0	0	0	3.74	0	0	0	0	13.06	0	0	0	6.35	53.845	0	0	0	0	0	0	7.56
<i>B. agaradhaerens</i>	11.09	0	1.73	0	1.71	15.08	0	0	5.05	3.17	0	1.37	0	0	0	0	0	9.49	0	0	0	15.73	23.37	0	4.45	0	0	0	0	1.59
<i>B. alacalphilus</i>	3.82	0	0.48	0	0.64	13.15	0	0	0.69	0	0.52	0.84	3.71	0	0.53	0	0.41	0	6.23	0	0.79	0	28.09	35.73	0	0	0.7	0	0	1.05
<i>B. alkalitelluris</i>	3.42	0	0	0	2.98	20.37	0	0	1.49	0	0	0	2	0	2.52	0	0	0	3.01	0	0	0	20.54	34.26	0	0	2.88	0	0	2.67
<i>B. altitudinis</i>	6.15	0	0	0	1.26	2.40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4.52	0	0	0	52.01	25.75	0	0	0	0	0	3.10
<i>B. amyloliquefaciens</i>	12.66	0	0	0	1.26	3.79	0	0	0.49	0	0	0	0.48	0	0.39	0	0	0	9.44	0.7	0.39	0	31.35	35.19	0.28	0	0	0	0	3.6
<i>B. aryabhatai</i>	3.34	0	0.37	0	4.13	6.59	0	0	0.65	0	0	0.21	1.65	0	0.88	0	0.13	0	4.07	0.17	0.37	0.13	38.68	36.03	0	0	0	0	0	1.88
<i>B. atrophaeus</i>	6.93	0	0.75	0	1.03	3.83	0.13	0	2.68	0	0	0.2	0.51	0	0.73	0	0.15	0	16.34	1.5	0	0.57	13.13	45.13	1.51	0.2	0	0	0	3.43
<i>B. badius</i>	2.88	0	0	0	1.59	5.06	0	0	0	0	0	0	2.69	0	5.34	0	0	0.5	5.19	4.85	0.12	3.35	45.47	10.67	3.3	0	3.84	0	0	4.89
<i>B. bataviensis</i>	2.80	0	1.07	0	3.38	3.35	0	0	1.5	0	0	0	0.53	0	4.33	0	0	0	2.85	2.81	0	2.62	35.21	33.12	1.4	0	0	0	0	2.95
<i>B. beijingensis</i>	2.91	0	0	0	1.94	2.70	0	0	0	0	0	0	0.42	0	2.05	0	0	0	18.05	1	0	2.18	23.12	39.09	2.24	0	0	0	0	3.69
<i>B. boroniphilus</i>	9.14	0	0	0	0.00	9.00	0	0	3.32	0	0	0	1.29	0	4.78	0	0	0	12.56	4.99	0	0	35.93	10.11	4.92	0	0	0	0	2.01
<i>B. butanolivorans</i>	1.37	0	0.34	0	7.67	6.91	0.30	1.89	0.37	0	0.12	0.18	2.38	0.17	4.12	0	0.27	0	3.24	0.59	0.08	4.32	12.05	43.47	0.8	0	0.11	0	0.1	7.56
<i>B. carboniphilus</i>	6.08	0	0.27	0	5.38	4.16	0.21	0	0.58	0.12	0.13	0.07	1.92	0.16	1.76	0	0.07	0	1.96	4.49	0.29	1.15	47.05	17.92	0.46	0.04	0.09	0	0	4.29
<i>B. cellulosilyticus</i>	5.85	0	1.16	0	1.71	15.4	0.80	0	5.82	0	0.86	1.49	2.52	0	2.38	0	0	0	6.85	0.61	0.64	0.81	22.09	23.18	1.11	1.68	0	0	0	3.68
<i>B. cereus</i>	11.84	5.53	0	0	2.97	6.11	0	0	0.50	0	0	0	2.38	0	0	0	0	1.06	2.11	4.61	6.62	0	29.19	4.398	0	0	8.432	2.39	0	5.99
<i>B. cibi</i>	5.39	0	0	0	4.77	4.43	0	0	0	0	0	0	1.27	0	2.31	0	0	0	5.70	2.61	0	2.43	45	14.66	1.13	0	0	0	0	8.32
<i>B. circulans</i>	1.33	0	0.13	0	4.54	4.25	0	0	0.21	0	0	0.11	6.33	0	3.07	0	0.16	0	9.85	0.47	0.29	1.56	14.02	44.83	1.15	0	0.16	0.09	0	5.58
<i>B. clausii</i>	15.58	0	0	0	2.06	8.14	0.59	0	1	0	0.1	0.24	0.99	0.29	3.03	0	0	0	10.2	0.66	0.2	1.69	32.7	18.24	0.55	0	0	0	0	3.48
<i>B. coagulans</i>	9.23	0	0	0	0.00	3.45	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12.30	0	0	0	32.07	31.2	0	0	0	0	0	3.91
<i>B. cohnii</i>	3.25	0	0.61	0	2.24	3.52	0	0	0.76	0	0.3	0.45	1.22	0	4.01	0	0.16	0	6.29	6.95	0.16	1.13	38.11	23.44	2.56	0	0	0	0	4.64
<i>B. decisifrondis</i>	2.63	0	0.25	0	4.33	1.70	0	0.24	0.86	0	0	0.2	0.49	0.21	1.6	0	0	0	1.42	0.57	0.22	12.54	53.52	6.13	0.47	0.14	0	0	0	11.27
<i>B. decolorationis</i>	8.79	0	0	0	0.00	9.40	0	0	0	0	1.33	0	1.71	0	0	0	0	0	9.10	0	0	0	38.29	27.6	0	0	0	0	0	1.54
<i>B. drementensis</i>	0.00	0	0	0	1.04	1.69	0	0	0	0	0	0	1.36	0	0	0	0	0	13.89	0	0	0	5.47	59.16	0	1.97	0	0	0	10.52
<i>B. endophyticus</i>	2.16	0	0	0	5.59	10.83	0	0	0.54	0	0	0	2.72	0	2.17	0	0.32	0	10.64	0.28	0.2	1.29	16.09	38.68	0.74	0	0	0	0	7.76
<i>B. fastidiosus</i>	10.41	0	0	0	0.67	15.73	0.16	0	0.75	0	0.05	0.22	2.05	0	1.72	0	0.11	0	5.91	0.83	0.35	0.08	26.73	32.29	0.39	0	0	0	0	1.22
<i>B. flexus</i>	4.29	0	0	0	3.97	3.69	0	0	0.54	0	0	0	0.96	0	5.64	0	0	0	8.02	3.6	0	2.62	26.42	33.28	3.98	0	0	0	0	2.66
<i>B. fordii</i>	8.47	0	0.44	0	1.35	1.59	0.4	0.18	0.45	0	0	0	0.31	0.11	2.2	0	0.07	0	16.03	1.69	0.11	2.43	33.17	24.35	1.16	0	0.12	0	0	4.81
<i>B. fortis</i>	5.67	0	0	0	0.00	2.21	0	0	0	0	0	0	0	0	1.09	0	0	0	14.39	0	0	0	36.89	28.12	0	1.98	0	0	0	3.09
<i>B. fusiformis</i>	6.98	0	0	0	2.36	3.51	0	0	0.49	0	0	0.24	0.71	0	2.12	0	0	0	3.71	0.89	0	6.99	47.35	11.08	0.78	0	0	0	0	12.79
<i>B. galactosidilyticus</i>	1.27	0	0	0	2.82	34.24	0	0	1.79	0	0	0	6.54	0	0	0	0	0	5.85	0	0	0	16.07	27.1	0	0	0	0	0	2.08
<i>B. gelatini</i>	3.23	0	0	0	1.97	1.61	0	4.24	2.53	0	0	0	1.16	1.39	0	0	0	0	6.86	0	1.49	0	13.91	54.64	0	0	0	0	0	1.46
<i>B. ginsengihumi</i>	4.70	0	0	0	0.00	2.07	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	35.29	0	0	0	19.92	33.59	0	0	0	0	0	1.61

续表 2

species	17:0 iso	17:1 iso ω5c	18:1 ω9c	12:0 iso	14:0 iso	16:0	17:0	20:0	18:0	19:0	10:0	12:0	14:0	19:0 iso	16:1 ω11c	17:0 iso 3OH	13:0 anteiso	17:1 anteiso a	17:0 anteiso	17:1 iso ω10c	13:0 iso	16:1 ω7c alcohol	15:0 iso	15:0 anteiso	summed feature 4	summed feature 8	summed feature 3	summed feature 2	summed feature 1	16:0 iso		
<i>B. globisporus</i>	8.77	0	0	0	1.02	3.34	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9.34	0	0	0	35.46	33.93	0	0	0	0	0	0	3.44		
<i>B. hemicellulosilyticus</i>	3.98	0	0	0	0.88	10.94	0	0	1.46	0	0.74	0.69	2.16	0	0	0	0.32	0	11.67	0	0.5	0.25	20.13	42.45	0	0	0	0	0	2.85		
<i>B. horikoshii</i>	5.35	0	0	0	0.00	8.13	0	0	0	0	0	0	1.61	0	8.64	0	0	0	10.38	9.69	0	2.84	28.03	9.845	6.635	0	0	0	0	3.96		
<i>B. humi</i>	0.39	0	0	0	13.43	1.74	0	0	0.17	0	0.24	0.07	0.98	0	2.2	0	0.33	0	3.27	0.15	0.29	1.97	16.45	51.24	0.26	0	0	0	0	6.29		
<i>B. indicus</i>	3.77	0	0	0	5.22	5.48	0	0	0	0	0	0	1.96	0	4.42	0	0	0	5.19	2.96	0	4.02	39.57	15.41	1.65	0	0	0	0	8.56		
<i>B. isronensis</i>	3.92	0	0	0	4.17	3.34	0	0	0	0	0	0	0	0	2.62	0	0	0	1.40	3.73	0	14.77	50.17	3.68	0	0	0	0	0	4.94		
<i>B. koreensis</i>	3.48	0	0	0	3.56	4.67	0	1.50	1.24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5.44	0	0	0	37.27	33.66	0	0	0	0	0	0	4.92	
<i>B. kröbensis</i>	0.00	0	0	0	3.47	2.98	0	0	0	0	0	0	1.5	0	0	0	0	0	10.72	0	0	0	9.35	66.28	0	0	0	0	0	0	3.90	
<i>B. lehensis</i>	8.90	0	1.65	0	4.13	13.39	0	0	3.115	0	0	0	3.72	0	0	0	0	0	4.22	0	0	0	33.07	17.59	0	0	1.02	0	0	0	3.85	
<i>B. lentimorbus</i>	8.33	0	0	0.1	1.09	2.96	0	0	0.16	0	0	0	0.51	0	0.24	0	0.39	0	8.67	0.3	0.4	0.17	37.74	34	0.17	0	0	0	0	0	3.59	
<i>B. licheniformis</i>	10.72	0	0	0	0.95	3.09	0	0.19	0	0	0	0	0.37	0	0.55	0	0	0	10.56	1.21	0	0.55	37.28	29.35	0.62	0	0	0	0	0	4.56	
<i>B. luciferensis</i>	2.16	0	0	0	3.97	4.23	0	0	0	0	0	0	1.43	0	0	0	0	0	5.43	0	0	1	30.44	39.46	0	0	0	0	0	0	8.28	
<i>B. macyae</i>	0.77	0	1.59	0	1.88	11.08	0.40	0.32	8.69	0	0	0.7	1.59	0	0.4	0	0	0	17.66	0	0	0.4	3.11	42.27	0	0.67	0	0	0	0	7.51	
<i>B. marisflavi</i>	1.69	0	0	0	5.27	2.79	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11.18	0	0	0.5	28.27	36.875	0	0	0	0	0	0	8.41	
<i>B. massiliensis</i>	5.37	0	0.14	0	1.85	2.98	0.17	0	0.32	0	0	0.11	0.31	0	1.02	0	0	0	5.97	0.3	0.11	1.85	53.62	12.94	0.23	0.08	0.19	0	0	0	12.26	
<i>B. megaterium</i>	1.79	0	0	0	8.66	5.82	0	0	0	0	0	0	1.37	0	1	0	0	0	4.31	0	0.44	0.64	30.72	41.72	0	0	0	0	0	0	3.53	
<i>B. mojavensis</i>	6.36	0	0	0	1.4	3.17	0	0	0.28	0	0	0	0.31	0	1.43	0	0	0	15.39	2.57	0	0.9	15.35	44.86	2.17	0	0	0	0	0	5.26	
<i>B. muralis</i>	1.94	0	0.29	0	4.02	7.22	0	0	0.74	0	0	0	2.13	0	2.32	0	0.38	0	2.48	0.42	0	0.93	18.42	54.62	0.35	0	0	0	0	0	3.48	
<i>B. murimartini</i>	9.88	0	0	0	1.29	3.23	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	10.17	1.05	0	0	28.63	36.58	0	0	0	0	0	0	3.93	
<i>B. mycoides</i>	11.01	2.03	0	1.11	2.84	10.04	0	0	0.8	0	0	0.55	3.96	0	1.79	0	1.8	0.54	2.66	6.86	9.54	1.36	22.51	3.92	0	0	6.98	0	0	0	6.82	
<i>B. nealsonii</i>	2.46	0	0	0	5.99	12.85	0	0	0.00	0	0	0	10.24	0	0	0	0	0	4.81	0	1.63	0	20.39	32.60	0	0	0	0	0	0	4.09	
<i>B. niabensis</i>	2.46	0	0	0	5.61	24.26	0	0	2.01	0	0	0	2.8	0	0	0	0	0	9.90	0	0	0	8.13	38.08	0	0	0	0	0	0	5.90	
<i>B. niacini</i>	6.24	0	0	0	6.37	6.60	0.52	0	2.15	0	0	0	0.96	0	7.38	0	0.12	0	4.04	3.17	0.61	3.63	30.14	18.28	0.97	0	0.31	0	0	0	7.11	
<i>B. novalis</i>	1.35	0	0.28	0	2.63	6.7	0	0	0.52	0	0	0.29	1.73	0	0.32	0	0	0	3.74	0	0.19	0	39.89	38.59	0	0	0	0	0	0	2.97	
<i>B. odysseyi</i>	5.62	0	0.15	0	2.61	1.78	0	0	0.31	0	0	0.15	0.38	0	1.53	0	0	0	3.17	1.02	0.29	7.73	51.63	10.9	0.68	0.14	0.19	0	0	0	10.80	
<i>B. okhensis</i>	1.61	0	1.40	0	1.43	28.58	0	0	2.20	0	0	1.29	4.17	0	4.72	0	0	0	4.47	0	0	0	9.72	33.75	0	0	2.43	0	0	0	4.25	
<i>B. okukhidensis</i>	5.84	0	0	0	1	10.63	0.15	0	0.18	0	1.65	0.43	2.36	0	0.33	0	0.16	0	8.75	0	0.26	0	31.42	34.32	0	0	0.25	0	0	0	2.02	
<i>B. oleronius</i>	9.44	0	0	0	0.00	2.94	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20.48	0	0	0	40.48	19.39	0	0	0	0	0	0	2.43	
<i>B. panaciterrae</i>	2.73	0	0.75	0	7.29	7.03	0.12	0	1.24	0	0	0.28	5.45	0	0.92	0	0.47	0	2.08	0.36	2	0.64	39.03	22.57	0.38	0.27	1.38	0	1.5	0	2.76	
<i>B. pantothenicus</i>	4.94	0	0	0	1.08	5.73	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	28.89	0	0	0	9.16	41.32	0	0	0	0	0	0	0	5.32
<i>B. patagoniensis</i>	5.77	0	0	0	4.11	3.38	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7.39	0	0	1.23	38.32	31.56	0	0	0	0	0	0	0	5.96
<i>B. pseudocaliphilus</i>	1.40	0	0	0	3.99	6.01	2.38	6.19	5.53	2.85	0	0	1.29	0	0	0	0	0	10.42	0	0	1.3	20.65	26.97	1.22	0	0	0	0	0	6.41	
<i>B. pseudomycoides</i>	14.78	0	0	4.51	2.7	8.82	0.53	0	0.93	0	0	0.67	2.33	0	0	3.81	3.72	1.1	2.59	0	8.81	0	17.64	3.31	0	0	13.37	2.24	0	0	6.86	
<i>B. psychrosaccharolyticus</i>	4.18	0	0	0	1.48	3.63	0	0	1.67	0	0	0	1.17	0	1.75	0	0	0	2.70	3	0	1.82	30.82	40.74	2.47	0	0	0	0	0	1.13	
<i>B. psychrotolerans</i>	0.34	0	0.2	0	11.02	1.23	0	0	0.41	0	0	0.27	2.61	0	3.98	0	0.13	0	2.28	0.3	0.27	8.64	30.29	32.22	2.65	0.13	0.26	0	0	0	1.77	
<i>B. pumilus</i>	6.31	0	0	0	1.87	2.93	0	0	0	0	0	0	0.92	0	0.7	0	0.11	0	3.58	1.01	0.96	0.54	51.48	26.35	0.24	0	0	0	0	0	3.02	

续表 2

species	17:0 iso	17:1 iso ω5c	18:1 ω9c	12:0 iso	14:0 iso	16:0	17:0	20:0	18:0	19:0	10:0	12:0	14:0	19:0 iso	16:1 ω11c	17:0 iso 30H	13:0 anteiso	17:1 anteiso a	17:0 anteiso	17:1 iso ω10c	13:0 iso	16:1 ω7c alcohol	15:0 iso	15:0 anteiso	summed feature 4	summed feature 8	summed feature 3	summed feature 2	summed feature 1	16:0 iso	
<i>B. raris</i>	4.02	0	0.33	0	1.21	28.15	0.51	0	0.95	0	0	0.22	2.19	0	0	0	0.29	0	8.91	0	0	0	10.6	38	0	0	0	0	0	0	3.37
<i>B. safensis</i>	5.57	0	0	0	1.06	1.97	0	0	0.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5.04	0	0	0	51.43	27.81	0	0	0	0	0	0	3.67
<i>B. selenatarsenatis</i>	2.08	0	0.44	0	0.48	1.62	0	0	0.74	0	0.21	0.12	1.15	0	0.72	0	0.17	0	21.25	1.01	0.11	0.16	38.65	26.22	1.06	0.2	0.11	0	0	3.41	
<i>B. seleniireducens</i>	3.10	0	0	0	0.00	3.84	0	0	0.00	0	0	0	5.02	0	14.11	0	0	0	0.86	9.14	0	1.15	50.93	3.93	2.83	0	0	0	0	0	
<i>B. seohaeanensis</i>	1.82	0	0	0	1.46	7.18	0	0	1.31	0	0	0	1.44	0	0	0	0	0	14.46	0	0	0	7.26	55.8	0	0	0	0	0	0	5.23
<i>B. shackletonii</i>	2.04	0	0	0	0.00	1.67	0	0	0.00	0	0	0	1.02	0	0	0	0	0	19.17	0.87	0	0	39.29	28.61	0	0	0	0	0	0	2.95
<i>B. simplex</i>	1.74	0	0	0	3.34	8.37	0	0	0.00	0	0	0	2.5	0	2.05	0	0	0	2.76	0	0	0	14.78	56.97	0	0	0	0	0	0	2.93
<i>B. siralis</i>	4.00	0	0	0	4.23	21.49	0	0	1.14	0	0	0	4.01	0	2.11	0	0	0	3.77	0	0	0	31.85	17.54	0	0	0	0	0	0	5.75
<i>B. soli</i>	3.44	0	0	0	3.59	3.09	0	0	0.00	0	0	0	1.02	0	1.80	0	0	0	3.05	1.55	0	1.64	39.48	34.16	0	0	0	0	0	0	3.21
<i>B. sonorensis</i>	7.60	0	1.69	0	0.00	5.52	0	0	1.50	0	0	0	0	0	0.00	0	0	0	12.36	1.36	0	0	24.7	29.42	0	0	0	0	0	0	3.62
<i>B. sphaericus</i>	3.78	0	0	0	2.11	1.71	0	0	0.32	0	0	0.23	0.42	0	1.71	0	0	0	2.14	1.41	0	9.17	57.73	9.63	1.02	0	0	0	0	0	6.64
<i>B. subtilis</i>	12.21	0	0	0	1.83	3.78	0	0	0.35	0	0	0	0.35	0	0.89	0	0	0	10.71	1.45	0	0	21.38	39.76	0.69	0	0	0	0	0	5.09
<i>B. subtilis</i> subsp. <i>inaquosorum</i>	12.41	0	0	0	1.34	4.06	0	0	0.7	0	0	0	0.4	0	0.54	0	0	0	10.14	1	0	0	25.93	34.85	0.33	0	0	0	0	0	4.4
<i>B. subtilis</i> subsp. <i>spizizenii</i>	12.32	0	0	0	1	3.15	0	0	0.88	0	0	0	0.27	0	0.43	0	0	0	15.47	1.03	0	0	19.94	38.55	0.8	0	0	0	0	0	3.6
<i>B. subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i>	11.15	0	0	0	1.61	3.09	0	0	0.22	0	0	0	0.29	0	0.67	0	0	0	9.19	1.5	0	0	29.24	35.84	0.63	0	0	0	0	0	4.54
<i>B. thuringiensis</i>	10.74	5.74	0	0	2.08	4.75	0	0	0	0	0	0	3.16	0	0	0	1.56	0	1.24	0	14.56	0	34.15	5.09	0	0	9.15	1.29	0	0	2.18
<i>B. vallismortis</i>	10.53	0	2.06	0	1.17	6.13	0	0	2.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9.22	1.92	0	0	23.12	29.69	1.05	0	0	0	0	0	4.17
<i>B. vedderi</i>	2.07	0	0	0	1.06	4.41	0	0	0	2.44	0	0	0	0	0	0	0	0	25.81	0	0	0	4.48	31.08	0	0	0	0	0	0	26.14
<i>B. vietnamensis</i>	1.27	0	0	0	2.92	2.37	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11.88	0	0	1.93	19.24	46.82	4	0	0	0	0	0	3.93

Summed feature 4, 17:1 anteiso b and/or iso i; summed feature 8, 18:1 ω6c and/or 18:1 ω7c; summed feature 3, 16:1 ω6c and/or 16:1 ω7c; summed feature 2, 14:0 30H and/or 16:1 iso I/14:0 30H; summed feature 1, 13:0 30H and/or 15:1 iso H.

2.2 芽胞杆菌属种类脂肪酸生物标记分布特性

脂肪酸生物标记、香农指数、均匀度指数统计结果见表3。结果表明,前6个总和最大的脂肪酸标记是15:0 anteiso、15:0 iso、17:0 anteiso、16:0、17:0 iso和16:0 iso,总和分别为2776.80、2560.10、776.50、613.50、473.00和452.50。对单个芽胞杆

菌种的脂肪酸生物标记最大值进行考查,前6个最大含量的脂肪酸生物标记是15:0 anteiso、15:0 iso、17:0 anteiso、16:0、16:0 iso和17:0 iso,最大值分别为66.30%、57.70%、35.30%、34.20%、26.10%、15.60%。

表3. 芽胞杆菌属种类脂肪酸生物标记统计参数

Table 3. Statistical parameters of fatty acid biomarkers distributed in *Bacillus* species

fatty acids	relative percentage of fatty acid biomarkers /%				shannon index	evenness index
	distribution No	sum	average	maximum		
15:0 anteiso	90	2777	30.85	66.30	6.3142	0.9726
15:0 iso	90	2560	28.45	57.70	6.3139	0.9726
16:0	90	614	8.63	35.30	6.0266	0.9283
17:0 anteiso	89	776	6.82	34.20	6.1403	0.9482
16:0 iso	89	452	5.26	15.60	6.1927	0.9563
17:0 iso	86	473	5.03	26.10	6.1053	0.9501
14:0 iso	80	244	2.71	13.40	5.9783	0.9456
14:0	71	140	1.56	10.20	5.7031	0.9274
18:0	56	79	1.46	14.10	5.1636	0.8892
16:1 ω11c	54	132	1.33	14.80	5.2243	0.9078
17:1 iso ω10c	49	106	1.17	9.70	4.9859	0.8880
16:1 ω7c alcohol	46	120	0.88	8.70	4.7407	0.8583
summed feature 4	43	62	0.69	6.60	4.8978	0.9026
13:0 iso	33	53	0.59	14.60	3.3891	0.6719
12:0	28	12	0.58	13.40	4.3040	0.8953
18:1 ω9c	25	19	0.21	2.10	4.1997	0.9044
13:0 anteiso	24	12	0.16	6.20	3.5636	0.7772
summed feature 3	20	52	0.15	5.70	3.0946	0.7160
17:0	15	7	0.13	1.50	3.3293	0.8522
summed feature 8	12	12	0.13	3.70	2.5910	0.7228
10:0	12	6	0.13	4.50	2.9520	0.8234
20:0	8	15	0.10	3.20	2.1268	0.7090
19:0 iso	6	2	0.08	2.40	1.9159	0.7412
19:0	4	9	0.07	1.70	1.6481	0.8241
summed feature 2	4	6	0.07	2.40	1.6360	0.8180
17:1 anteiso a	4	3	0.06	4.50	1.8960	0.9480
17:1 iso ω5c	3	13	0.04	1.10	1.4619	0.9224
12:0 iso	3	6	0.03	1.40	0.8296	0.5234
summed feature 1	2	1	0.02	1.50	0.0000	0.0000

基于芽胞杆菌属种类的脂肪酸生物标记分布特性的聚类分析结果见图1。当 $\lambda = 5.2$ 时,芽胞杆菌属种类的脂肪酸生物标记分为3类。

第I类,脂肪酸高含量完全分布类型,即脂肪酸生物标记含量最大值较高,完全分布在90个芽胞杆菌种(亚种)中;该类包含脂肪酸生物标记15:0

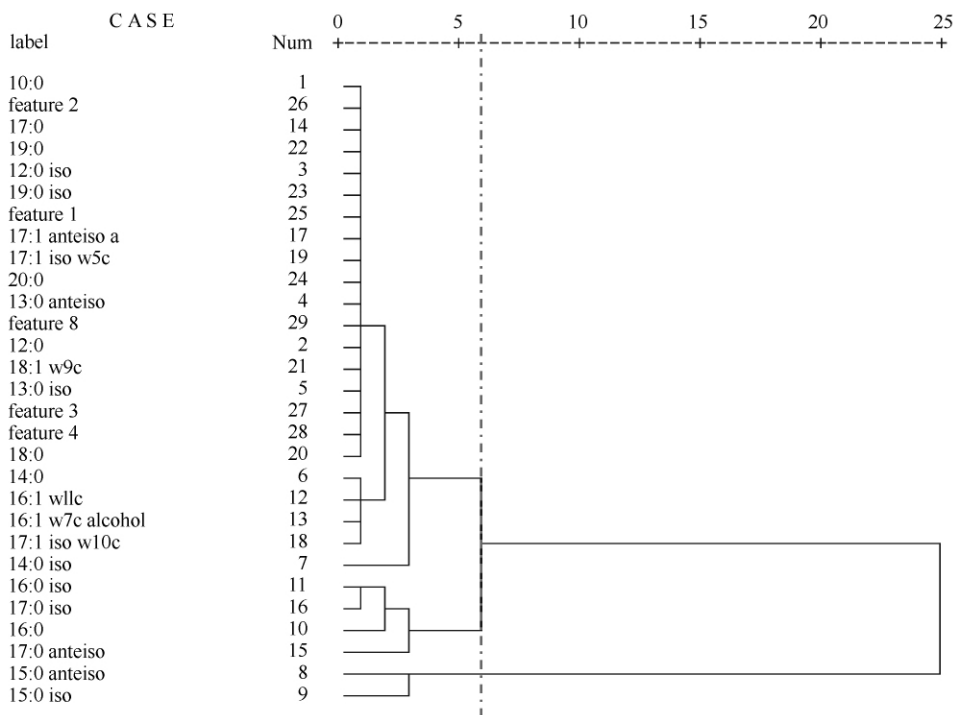


图 1. 芽胞杆菌属脂肪酸生物标记分布特性

Figure 1. Distribution characteristics of fatty acid biomarkers in the genus *Bacillus*.

anteiso (含量最大值 66.30%) 和 15:0 iso (含量最大值 57.70%), 为芽胞杆菌属特征脂肪酸, 可选作为芽胞杆菌脂肪酸系统发育分析的基础生物标记。

第 II 类, 脂肪酸中含量不完全分布类型, 即脂肪酸生物标记含量最大值中等, 分布在 90 个芽胞杆菌种 (亚种) 的大部分种类中; 该类包含 4 个脂肪酸生物标记即 17:0 anteiso (含量最大值 35.30%)、16:0 (含量最大值 34.20%)、17:0 iso (含量最大值 15.60%) 和 16:0 iso (含量最大值 26.10%), 为芽胞杆菌属分种的特征脂肪酸, 可选作为芽胞杆菌脂肪酸系统发育分析的基础生物标记。

第 III 类, 脂肪酸低含量不完全分布类型, 即脂肪酸生物标记含量最大值较低, 分布在 90 个芽胞杆菌种 (亚种) 的少部分种类中; 该类包含了其余的 23 个脂肪酸生物标记, 其含量最大值范围为 1.1% - 13%。该类脂肪酸生物标记可用于标识芽胞杆菌种内脂肪酸的差异性。

2.3 基于脂肪酸生物标记的芽胞杆菌属系统发育分析

芽胞杆菌脂肪酸系统发育参数计算结果见表 4。基于脂肪酸统计参数的芽胞杆菌系统发育聚类结果见图 2。当 $\lambda = 20$ 时, 可将芽胞杆菌属 90 个种

(亚种) 分为 5 个脂肪酸群。

第 I 群, 定义为窄温芽胞杆菌脂肪酸群。该群的脂肪酸 15:0 iso/15:0 anteiso 比值都大于 1.5, 比值范围 1.64 - 13.57; 17:0 iso/17:0 anteiso 比值小于 9, 范围 0.5 - 9。该群种类主要脂肪酸为 15:0 iso (相对含量百分比范围为 17% - 58%)、15:0 anteiso (3% - 28%) 和 17:0 iso (2% - 16%), 都含有较高含量的 15:0 iso。此外, 16:0 iso (0 - 12.79%)、16:0 (1.7% - 21.49%) 和 17:0 anteiso (0.86% - 12.56%), 香农指数范围 1.83 - 3.62, 均匀度指数范围 0.54 - 0.9。该群内的芽胞杆菌好氧生长。适应于中性偏碱 pH 条件下生长, pH 适宜生长众数范围为 7 - 11。适应生长温度范围较窄, 为 10 - 40°C。耐盐性较差, 耐盐浓度平均为 2%。该群包含了 26 个种, 即 *B. altitudinis*、*B. pumilus*、*B. safensis*、*B. cohnii*、*B. panaciterrae*、*B. cibi*、*B. indicus*、*B. badius*、*B. carboniphilus*、*B. isronensis*、*B. selenitireducens*、*B. massiliensis*、*B. odyseyi*、*B. fusiformis*、*B. decisifrondis*、*B. sphaericus*、*B. mycooides*、*B. pseudomycooides*、*B. cereus*、*B. thuringiensis*、*B. boroniphilus*、*B. horikoshii*、*B. lehensis*、*B. niacini*、*B. clausii* 和 *B. sivalis* 等。利用 15:0 iso/15:0 anteiso

表 4. 芽胞杆菌属种类脂肪酸系统发育统计参数的数据矩阵

Table 4. Data matrix of statistical parameters of fatty acid phylogeny in the genus *Bacillus*

species	16:0 iso	16:0 16:0	15:0 iso	15:0 anteiso	17:0 iso	17:0 anteiso	15:0 iso/ 15:0 anteiso	17:0 iso/ 17:0 anteiso	shannon index	evenness index
<i>B. acidicerler</i>	9.35	4.67	15.13	57.49	0	5.19	0.26	0	1.94	0.69
<i>B. acidicola</i>	17.96	9.01	4.07	47.89	3.19	14.43	0.09	0.22	2.13	0.76
<i>B. acidiproducens</i>	7.56	9.64	6.35	53.85	0	13.06	0.12	0	2.17	0.72
<i>B. agaradhaerens</i>	1.59	15.08	15.73	23.37	11.09	9.49	0.67	1.17	3.06	0.85
<i>B. alacalphilus</i>	1.05	13.15	28.09	35.73	3.82	6.23	0.79	0.61	2.54	0.63
<i>B. alkalitelluris</i>	2.67	20.37	20.54	34.26	3.42	3.01	0.60	1.13	2.61	0.75
<i>B. altitudinis</i>	3.10	2.40	52.01	25.75	6.15	4.52	2.02	1.38	1.83	0.65
<i>B. amyloliquefaciens</i>	3.60	3.79	31.35	35.19	12.66	9.44	0.89	1.35	2.40	0.65
<i>B. aryabhatai</i>	1.88	6.59	38.68	36.03	3.34	4.07	1.08	0.80	2.30	0.58
<i>B. atrophaeus</i>	3.43	3.83	13.13	45.13	6.93	16.34	0.29	0.42	2.60	0.62
<i>B. badius</i>	4.89	5.06	45.47	10.67	2.88	5.19	4.25	0.56	2.90	0.74
<i>B. bataviensis</i>	2.95	3.35	35.21	33.12	2.80	2.85	1.06	0.97	2.62	0.69
<i>B. beijingensis</i>	3.69	2.70	23.12	39.09	2.91	18.05	0.59	0.16	2.50	0.70
<i>B. boroniphilus</i>	2.01	9.00	35.93	10.11	9.14	12.56	3.55	0.72	2.89	0.84
<i>B. butanolivorans</i>	7.56	6.91	12.05	43.47	1.37	3.24	0.28	0.44	2.90	0.64
<i>B. carboniphilus</i>	4.29	4.16	47.05	17.92	6.08	1.96	2.63	3.05	2.65	0.59
<i>B. cellulosityticus</i>	3.68	15.4	22.09	23.18	5.85	6.85	0.95	0.86	3.29	0.77
<i>B. cereus</i>	5.99	6.11	29.19	4.40	11.84	2.11	6.64	5.62	3.31	0.85
<i>B. cibi</i>	8.32	4.43	45.00	14.66	5.39	5.70	3.06	0.95	2.66	0.74
<i>B. circulans</i>	5.58	4.25	14.02	44.83	1.33	9.85	0.31	0.13	2.70	0.64
<i>B. clausii</i>	3.48	8.14	32.70	18.24	15.58	10.20	1.80	1.53	2.91	0.70
<i>B. coagulans</i>	3.91	3.45	32.07	31.20	9.23	12.30	1.03	0.75	2.15	0.83
<i>B. cohnii</i>	4.64	3.52	38.11	23.44	3.25	6.29	1.63	0.52	2.87	0.69
<i>B. decisifrondis</i>	11.27	1.7	53.52	6.13	2.63	1.42	8.77	1.86	2.37	0.56
<i>B. decolorationis</i>	1.54	9.40	38.29	27.60	8.79	9.10	1.39	0.97	2.28	0.76
<i>B. drentensis</i>	2.20	2.27	33.43	27.68	3.79	1.79	1.21	2.12	1.80	0.60
<i>B. endophyticus</i>	7.76	10.83	16.09	38.68	2.16	10.64	0.42	0.21	2.79	0.71
<i>B. fastidiosus</i>	1.22	15.73	26.73	32.29	10.41	5.91	0.83	1.76	2.62	0.63
<i>B. flexus</i>	2.66	3.69	26.42	33.28	4.29	8.02	0.79	0.54	2.86	0.77
<i>B. fordii</i>	4.81	1.59	33.17	24.35	8.47	16.03	1.36	0.53	2.76	0.64
<i>B. fortis</i>	3.09	2.21	36.89	28.12	5.67	14.39	1.31	0.40	2.20	0.73
<i>B. fusiformis</i>	12.79	3.51	47.35	11.08	6.98	3.71	4.27	1.89	2.59	0.68
<i>B. galactosidilyticus</i>	2.08	34.24	16.07	27.10	1.27	5.85	0.59	0.22	2.43	0.77
<i>B. gelatini</i>	1.46	1.61	13.91	54.64	3.23	6.86	0.25	0.46	2.22	0.62
<i>B. globisporus</i>	3.44	3.34	35.46	33.93	8.77	9.34	1.05	0.95	2.12	0.75
<i>B. hemicellulosityticus</i>	2.85	10.94	20.13	42.45	3.98	11.67	0.47	0.34	2.50	0.66
<i>B. horikoshii</i>	3.96	8.13	28.03	9.85	5.35	10.38	2.86	0.52	3.10	0.90
<i>B. humi</i>	6.29	1.74	16.45	51.24	0.39	3.27	0.32	0.12	2.30	0.56
<i>B. indicus</i>	8.56	5.48	39.57	15.41	3.77	5.19	2.57	0.73	2.87	0.80
<i>B. isronensis</i>	4.94	3.34	50.17	3.68	3.92	1.40	13.57	2.79	2.30	0.69
<i>B. koreensis</i>	4.92	4.67	37.27	33.66	3.48	5.44	1.11	0.65	2.25	0.71
<i>B. kribbensis</i>	3.90	2.98	9.35	66.28	0	10.72	0.14	0	1.66	0.59
<i>B. lehensis</i>	3.85	13.39	33.07	17.59	8.90	4.22	1.88	2.12	2.80	0.81
<i>B. lentimorbus</i>	3.59	2.96	37.74	34.00	8.33	8.67	1.11	0.95	2.28	0.57
<i>B. licheniformis</i>	4.56	3.09	37.28	29.35	10.72	10.56	1.27	1.01	2.42	0.65

续表 4

species	16:0 iso	16:0	15:0 iso	15:0 anteiso	17:0 iso	17:0 anteiso	15:0 iso/ 15:0 anteiso	17:0 iso/ 17:0 anteiso	shannon index	evenness index
<i>B. luciferensis</i>	8.28	4.23	30.44	39.46	2.16	5.43	0.77	0.41	2.26	0.71
<i>B. macyae</i>	7.51	11.08	3.11	42.27	0.77	17.66	0.07	0.05	2.65	0.66
<i>B. marisflavi</i>	8.41	2.79	28.27	36.88	1.69	11.18	0.77	0.15	2.25	0.75
<i>B. massiliensis</i>	12.26	2.98	53.62	12.94	5.37	5.97	4.16	0.90	2.31	0.54
<i>B. megaterium</i>	3.53	5.82	30.72	41.72	1.79	4.31	0.74	0.42	2.29	0.66
<i>B. mojavensis</i>	5.26	3.17	15.35	44.86	6.36	15.39	0.34	0.42	2.53	0.68
<i>B. muralis</i>	3.48	7.22	18.42	54.62	1.94	2.48	0.34	0.76	2.27	0.58
<i>B. murimartini</i>	3.93	3.23	28.63	36.58	9.88	10.17	0.78	0.97	2.25	0.75
<i>B. mycoides</i>	6.82	10.04	22.51	3.92	11.01	2.66	5.77	4.07	3.62	0.85
<i>B. nealsonii</i>	4.09	12.85	20.39	32.60	2.46	4.81	0.63	0.52	2.64	0.83
<i>B. niabensis</i>	5.90	24.26	8.13	38.08	2.46	9.90	0.21	0.25	2.52	0.80
<i>B. niacini</i>	7.11	6.6	30.14	18.28	6.24	4.04	1.64	1.55	3.19	0.78
<i>B. novalis</i>	2.97	6.7	39.89	38.59	1.35	3.74	1.03	0.38	2.11	0.57
<i>B. odysseyi</i>	10.8	1.78	51.63	10.90	5.62	3.17	4.73	1.75	2.47	0.59
<i>B. okhensis</i>	4.25	28.58	9.72	33.75	1.61	4.47	0.29	0.36	2.77	0.75
<i>B. okuhidensis</i>	2.02	10.63	31.42	34.32	5.84	8.75	0.92	0.66	2.51	0.63
<i>B. oleronius</i>	2.43	2.94	40.48	19.39	9.44	20.48	2.09	0.46	2.09	0.81
<i>B. panaciterrae</i>	2.76	7.03	39.03	22.57	2.73	2.08	1.73	1.29	2.89	0.66
<i>B. patagoniensis</i>	5.96	3.38	38.32	31.56	5.77	7.39	1.21	0.78	2.27	0.76
<i>B. pseudalcaliphilus</i>	6.41	6.01	20.65	26.97	1.40	10.42	0.77	0.13	3.14	0.83
<i>B. pseudomycoides</i>	6.86	8.82	17.64	3.31	14.78	2.59	5.33	5.69	3.52	0.86
<i>B. psychrosaccharolyticus</i>	1.13	3.63	30.82	40.74	4.18	2.70	0.76	1.56	2.42	0.65
<i>B. psychrotolerans</i>	1.77	1.23	30.29	32.22	0.34	2.28	0.94	0.13	2.68	0.63
<i>B. pumilus</i>	3.02	2.93	51.48	26.35	6.31	3.58	1.95	1.75	2.14	0.56
<i>B. ruris</i>	3.37	28.15	10.60	38.00	4.02	8.91	0.28	0.45	2.43	0.66
<i>B. safensis</i>	3.67	1.97	51.43	27.81	5.57	5.04	1.85	1.12	1.83	0.65
<i>B. selenatarsenatis</i>	3.41	1.62	38.65	26.22	2.08	21.25	1.48	0.10	2.38	0.55
<i>B. selenitireducens</i>	0	3.84	50.93	3.93	3.10	0.86	13.05	3.60	2.21	0.70
<i>B. seohaeanensis</i>	5.23	7.18	7.26	55.80	1.82	14.46	0.13	0.12	2.03	0.64
<i>B. shackletonii</i>	2.95	1.67	39.29	28.61	2.04	19.17	1.37	0.10	2.02	0.67
<i>B. simplex</i>	2.93	8.37	14.78	56.97	1.74	2.76	0.26	0.61	2.00	0.63
<i>B. siralis</i>	5.75	21.49	31.85	17.54	4.00	3.77	1.82	1.05	2.66	0.80
<i>B. soli</i>	3.21	3.09	39.48	34.16	3.44	3.05	1.15	1.10	2.26	0.65
<i>B. sonorensis</i>	3.62	5.52	24.70	29.42	7.60	12.36	0.84	0.61	2.49	0.79
<i>B. sphaericus</i>	6.64	1.71	57.73	9.63	3.78	2.14	6.01	1.81	2.22	0.58
<i>B. subtilis</i>	5.09	3.78	21.38	39.76	12.21	10.71	0.54	1.14	2.50	0.70
<i>B. subtilis</i> subsp. <i>inaquosorum</i>	4.4	4.06	25.93	34.85	12.41	10.14	0.74	1.23	2.46	0.69
<i>B. subtilis</i> subsp. <i>spizizenii</i>	3.6	3.15	19.94	38.55	12.32	15.47	0.52	0.79	2.45	0.68
<i>B. subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i>	4.54	3.09	29.24	35.84	11.15	9.19	0.82	1.22	2.42	0.68
<i>B. thuringiensis</i>	2.18	4.75	34.15	5.09	10.74	1.24	6.71	8.92	2.98	0.80
<i>B. vallismortis</i>	4.17	6.13	23.12	29.69	10.53	9.22	0.78	1.14	2.72	0.79
<i>B. vietnamensis</i>	3.93	2.37	19.24	46.82	1.27	11.88	0.41	0.11	2.22	0.70
<i>B. ginsengihumi</i>	1.61	2.07	19.92	33.59	4.70	35.29	0.59	0.13	1.96	0.76
<i>B. pantothenicus</i>	5.32	5.73	9.16	41.32	4.94	28.89	0.22	0.17	2.13	0.76
<i>B. vedderi</i>	26.14	4.41	4.48	31.08	2.07	25.81	0.14	0.08	2.27	0.76

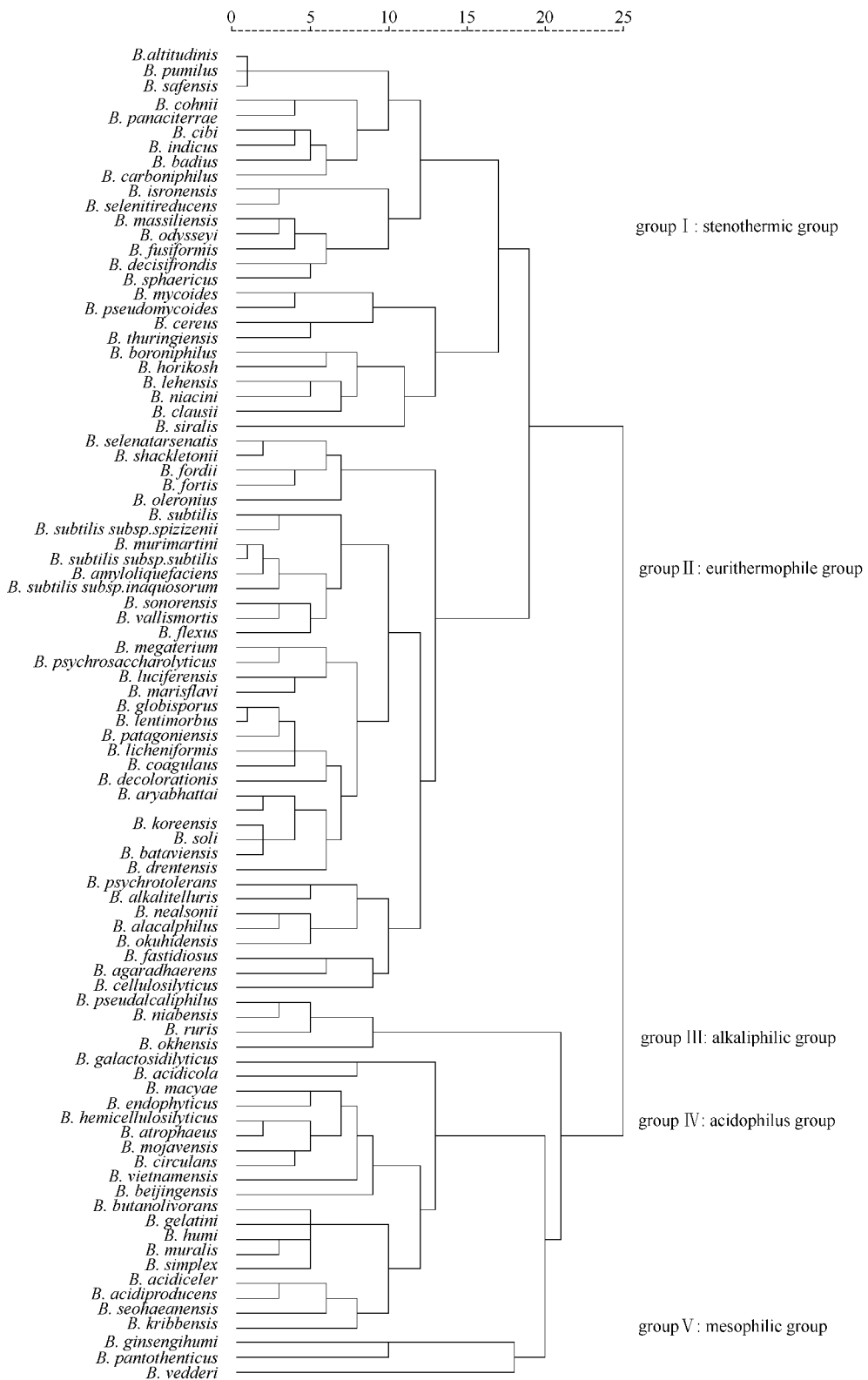


图 2. 基于脂肪酸生物标记特征指数的芽胞杆菌属系统发育聚类分析

Figure 2. Phylogeny analysis of the genus *Bacillus* based on feature indexes of fatty acid biomarkers.

比值和 10 种参数可以进一步分为 5 个亚群。

第 II 群, 定义为广温芽胞杆菌脂肪酸群。该群的脂肪酸 15:0 iso/15:0 anteiso 比值小于 1.5, 比值范围 0.5 - 1.5 (除了 *B. oleronius* 比值为 2.09 之外); 17:0 iso/17:0 anteiso 比值小于 1.8, 范围 0.1 - 1.8。该群种类主要脂肪酸为 15:0 iso (15% - 41%)、15:0 anteiso (19% - 42%) 和 17:0 anteiso (2% - 22%), 都含有较高含量的 15:0 anteiso。此外, 16:0 iso (1.05% - 10.52%)、16:0 (1.23% - 20.37%) 和 17:0 iso (0 - 12.66%), 香农指数范围 1.8 - 3.29, 均匀度指数范围 0.55 - 0.85。该群内的芽胞杆菌基本好氧生长。适应于中性偏碱 pH 条件下生长, pH 适宜生长众数范围 7 - 11。适应生长温度范围较宽, 为 5 - 50℃。耐盐性较差, 平均耐盐浓度为 4%。该群包含了 40 个种, 即 *B. selenatarsenatis*、*B. shackletonii*、*B. fordii*、*B. fortis*、*B. oleronius*、*B. murimartini*、*B. subtilis* subsp. *subtilis*、*B. amyloliquefaciens*、*B. subtilis* subsp. *inaquosorum*、*B. coagulans*、*B. sonorensis*、*B. vallismortis*、*B. flexus*、*B. subtilis*、*B. subtilis* subsp. *spizizenii*、*B. beijingensis*、*B. aryabhattai*、*B. novalis*、*B. koreensis*、*B. soli*、*B. bataviensis*、*B. globisporus*、*B. lentimorbus*、*B. patagoniensis*、*B. licheniformis*、*B. decolorationis*、*B. drementensis*、*B. megaterium*、*B. psychrosaccharolyticus*、*B. luciferensis*、*B. marisflavi*、*B. psychrotolerans*、*B. alkalitelluris*、*B. nealsonii*、*B. alacalphilus*、*B. okuhidensis*、*B. fastidiosus*、*B. agaradhaerens*、*B. cellulossilyticus*、*B. pseudalcaliphilus*。该类群内的成员比较多, 脂肪酸生物标记差异性较大, 因此可进一步再分为 4 个亚群。

第 III 群, 定义为嗜碱芽胞杆菌脂肪酸群。该群的脂肪酸 15:0 iso/15:0 anteiso 比值小于 0.6, 比值范围 0.2 - 0.6; 17:0 iso/17:0 anteiso 比值小于 0.5, 范围 0.2 - 0.5。该群种类主要脂肪酸为 15:0 iso (8% - 16%)、15:0 anteiso (27% - 38%) 和 16:0 (24% - 35%), 都含有较高含量的 15:0 anteiso。此外, 16:0 iso (2.08% - 5.9%)、17:0 iso (1.27% - 4.02%) 和 17:0 anteiso (4.47% - 9.9%), 香农指数范围 2.43 - 2.77, 均匀度指数范围 0.6 - 0.88。该群内的芽胞杆菌兼性厌氧生长。适应于碱性 pH 条件下生长, pH 适宜生长众数范围为 8 - 11。适应生

长温度较窄, 范围为 25 - 40℃。耐盐性较差, 平均耐盐浓度为 4%。该群包含 4 个种, 即 *B. nealsonii*、*B. ruris*、*B. okhensis*、*B. galactosidilyticus* 等。

第 IV 群, 定义为嗜酸芽胞杆菌脂肪酸群。该群的脂肪酸 15:0 iso/15:0 anteiso 比值小于 0.5, 比值范围 0.05 - 0.5; 17:0 iso/17:0 anteiso 比值小于 0.8, 范围 0 - 0.8。该群种类主要脂肪酸为 15:0 iso (3% - 21%)、15:0 anteiso (38% - 66%) 和 17:0 anteiso (2% - 18%), 都含有较高含量的 15:0 anteiso。此外, 16:0 iso (1.46% - 9.35%)、16:0 (1.61% - 11.08%) 和 17:0 iso (0 - 6.93%), 香农指数范围 1.66 - 2.9, 均匀度指数范围 0.56 - 0.76。该群内的芽胞杆菌兼性好氧生长。适应于中性偏酸 pH 条件下生长, pH 适宜生长众数范围 4 - 7。适应生长温度范围较宽, 范围为 5 - 55℃。耐盐性较差, 平均耐盐浓度为 4%。该群包含 18 种, 即 *B. acidicola*、*B. macyae*、*B. endophyticus*、*B. hemicellulosilyticus*、*B. atrophaeus*、*B. mojavensis*、*B. circulans*、*B. vietnamensis*、*B. butanolivorans*、*B. gelatini*、*B. humi*、*B. muralis*、*B. simplex*、*B. acidiceler*、*B. acidiproducens*、*B. seohaeanensis*、*B. kribbensis*。根据 15:0 iso/15:0 anteiso 比值可进一步分为 3 个亚群。

第 V 群, 定义为嗜温芽胞杆菌脂肪酸群。该群的脂肪酸 15:0 iso/15:0 anteiso 比值小于 0.6, 比值范围 0.1 - 0.6; 17:0 iso/17:0 anteiso 比值小于 0.2, 范围 0.08 - 0.20。该群种类主要脂肪酸型为 15:0 iso (4% - 20%)、15:0 anteiso (30% - 42%) 和 17:0 anteiso (25% - 36%), 都含有较高含量的 15:0 anteiso。此外, 16:0 iso (1.61% - 26.14%)、16:0 (2.07% - 4.41%) 和 17:0 iso (2.07% - 4.7%), 香农指数范围 1.96 - 2.27, 均匀度指数均为 0.76。该群内的芽胞杆菌兼性好氧, 适应于中性偏碱 pH 条件下生长, pH 适宜生长众数范围 7 - 11。适应高温生长, 范围为 25 - 50℃。具有较强的耐盐性, 平均耐盐浓度为 10%。该群包含 3 个种, 即 *B. ginsengihumi*、*B. pantothenicus* 和 *B. vedderi*。

3 讨论

本研究利用脂肪酸微生物鉴定系统 (Sherlock MIS) 检测了芽胞杆菌属 90 种 (亚种) 的脂肪酸成

分,共检测到 29 个脂肪酸生物标记,其中,含量最高的前 6 个脂肪酸生物标记即 16:0、16:0 iso、15:0 iso、15:0 anteiso、17:0 iso 和 17:0 anteiso 是芽胞杆菌属脂肪酸分群的主要指标。16:0 是革兰氏阳性细菌特征脂肪酸,15:0 iso 和 15:0 anteiso 是芽胞杆菌分属特征脂肪酸,17:0 iso 和 17:0 anteiso 是芽胞杆菌分种特征脂肪酸,15:0 iso/15:0 anteiso 比值是芽胞杆菌分群特特征脂肪酸。芽胞杆菌脂肪酸的种类和数量变动与其细胞生物学特性相关,Kaneda^[21]发现细菌细胞膜的流动性水平主要受支链脂肪酸 12(和 13) methyl C14:0 的影响。支链脂肪酸在细菌分类学上具有重要的价值,它的组成和含量通常可以作为一种分类标记。芽胞杆菌属脂肪酸大多为支链饱和脂肪酸,其特征脂肪酸为 15:0 anteiso、15:0 iso 和 17:0 anteiso。脂肪酸在微生物分类鉴定方面具有广泛地应用,如邝玉斌等^[31]通过气相色谱对气相色谱对 10 种芽胞杆菌模式菌株,Diogo 等^[32]发现利用脂肪酸可以区分 *Legionella* 属大部分种类,Whittaker 等^[33]证明脂肪酸分析可以快速灵敏地鉴定 *Francisella tularensis*。

通过大量统计分析实验,作者从芽胞杆菌脂肪酸生物标记的数据中,选择了 6 个基础脂肪酸,构建了 10 个脂肪酸生物标记统计量,组成芽胞杆菌脂肪酸系统发育分析指标,即 16:0 iso、16:0、15:0 iso、15:0 anteiso、17:0 iso、17:0 anteiso、15:0 iso/15:0 anteiso、17:0 iso/17:0 anteiso、脂肪酸生物标记的香农指数(H')和均匀度指数(J)。其中,15:0 iso/15:0 anteiso 代表芽胞杆菌属的分化^[30],17:0 iso 和 17:0 anteiso 比值代表芽胞杆菌种的分化,脂肪酸生物标记香农指数(H')用于平衡脂肪酸生物标记奇异产生,脂肪酸生物标记均匀度指数(J)用于平衡脂肪酸生物标记检测误差。利用以上 10 个脂肪酸参数对芽胞杆菌属 90 种(亚种)进行聚类,可将芽胞杆菌属分为 5 个脂肪酸群,即窄温芽胞杆菌脂肪酸群、广温芽胞杆菌脂肪酸群、嗜碱芽胞杆菌脂肪酸群、嗜酸芽胞杆菌脂肪酸群和嗜温芽胞杆菌脂肪酸群,这些类群的划分,展示出了与芽胞杆菌生物学特性相关的脂肪酸群系统发育的概况。

脂肪酸是微生物系统发育研究中的一个重要指标,其组成和含量具有微生物种属特异性。Sasser^[34]研究假单胞菌和其他一些具有相同表型的纯培养物时,结果表明脂肪酸甲酯分析与 rRNA 及

rDNA 分析结果具有良好的一致性。Holmes 等^[35]通过脂肪酸组成来分析比较 *Achromobacter* 各菌株间的关系,这种关系与全细胞蛋白电泳图谱分析、DNA-DNA 及 rRNA-DNA 杂交结果一致。Kämpfer^[30]研究结果表明,脂肪酸生物标记具有较稳定的遗传性,很可能会成为芽胞杆菌属分类鉴定的一种快速有效的手段。Sikorski 等^[36]研究 *B. simplex* 在以色列“进化谷”中的系统发育关系,模拟了进化谷的生态环境,分析结果证明微生物系统发育包含多种脂肪酸成分、基因和细胞膜变化。Ehrhardt 等^[37]通过脂肪酸成分可以区分不同培养上的蜡状芽胞杆菌的芽胞,表明脂肪酸分析是一种研究芽胞杆菌营养条件系统发育的有效手段。以上研究结果为芽胞杆菌属脂肪酸系统发育分析提供了坚实的基础和可靠性。

窄温芽胞杆菌脂肪酸群中的脂肪酸 15:0 iso/15:0 anteiso 比值大于 1.5,特征脂肪酸为 17:0 iso 和 16:0,这与 Kämpfer^[30]研究结论一致。*B. safensis*、*B. altitudinis* 和 *B. pumilus* 3 种菌的脂肪酸系统发育关系很近,本研究与 Satomi^[38]和 Shivaji^[39]利用 16S rRNA 研究的结果一致,他们研究发现 *B. pumilus* 的近缘种为 *B. safensis* 和 *B. altitudinis*,利用 16S rRNA 序列难以将其分开,作者利用脂肪酸系统发育能很好地将这 3 个种分开。*B. cohnii* 和 *B. panaciterrae* 的脂肪酸成分相似,系统发育亲缘关系很近,这与 Kämpfer^[30]报道结果一致。*B. cibi*、*B. indicus*、*B. badius*、*B. carboniphilus* 聚为一个大分支,很大的可能是因为同时含有一定量的 16:1 ω 7c alcohol 和 16:1 ω 11c。16:1 ω 7c alcohol 和 16:1 ω 11c 可能为特征性脂肪酸,目前未见文献报道这些种的脂肪酸成分的可比较数据。球形芽胞杆菌、纺锤形芽胞杆菌、*B. odysseyi* 和 *B. massiliensis* 的脂肪酸类型相似,四者的亲缘关系也较相近^[40-41]。*B. isronensi* 和 *B. decisifrondis* 利用脂肪酸微生物鉴定系统(Sherlock MIS)检测匹配为球形芽胞杆菌,其原因为该系统中没有这 2 个种的信息,推断这 2 种可能与球形芽胞杆菌系统发育亲缘关系密切。Shivaji 等^[42]研究发现 *B. isronensi* 与球形芽胞杆菌的亲缘关系很近,Zhang 等^[43]证明 *B. decisifrondis* 与球形芽胞杆菌具有很高的亲缘关系,两人的研究结果证明了本群的推断,这表明芽胞杆菌脂肪酸系统发育分析的可靠性。*B. selenitireducens* 与 *B.*

isonensi 聚为一个分支, 主要是根据两者的脂肪酸生物标记指数非常相近。蜡状芽胞杆菌、苏云金芽胞杆菌、蕈状芽胞杆菌和假蕈状芽胞杆菌的脂肪酸成分与 Lawrence 等^[44]、Kämpfer^[30]、Kaneda^[21, 41] 的报道一致, 含有高的 15:0 iso 和低量的 15:0 anteiso。Nakamura and Jackson^[45] 研究证明蜡状芽胞杆菌与蕈状芽胞杆菌及蜡状芽胞杆菌与苏云金芽胞杆菌的 DNA-DNA 同源性分别为 22% - 44% 和 59% - 69%。假蕈状芽胞杆菌可以通过脂肪酸生物标记 12:0 iso 和 13:0 anteiso 与蕈状芽胞杆菌区分开, 通过 12:0 iso、12:0、15:0 iso 和 16:0 与蜡状芽胞杆菌区分开, 这与 Nakamura^[46] 发表假蕈状芽胞杆菌时的脂肪酸结果相同。尽管窄温芽胞杆菌脂肪酸群的种类相互之间很难用 DNA 分子手段区分开, 但是通过脂肪酸组成可以快速且明显地将彼此区分开。*B. boroniphilus*、*B. panaciterrae* 的脂肪酸组成与前人^[30, 47] 研究结果基本一致, *B. lehensis* 与其发表时的原始文献中描述的不完全相同^[48]。目前为止, 未见 *B. horikoshi*、*B. siralis* 和 *B. niacini* 脂肪酸相关数据的文献报道。

广温芽胞杆菌脂肪酸群中的脂肪酸 15:0 iso/15:0 anteiso 比值小于 1.5, 该群的特征脂肪酸为 17:0 anteiso 和 16:0。*B. fortis*、*B. shackletonii* 和 *B. fordii* 皆与 *B. oleronius* 的脂肪酸成分与已知文献报道基本一致, 脂肪酸系统发育分析结果与 DNA 分子系统发育分析结果基本一致^[49-50], *B. selenatarsenatis* 的脂肪酸与原始文献有一定差异^[51], 可能与测定条件有一定相关性。该群中的枯草芽胞杆菌、解淀粉芽胞杆菌、*B. sonorensis*、*B. vallismortis* 的脂肪酸成分与文献报道基本相同, 在系统发育上, 用 DNA 和脂肪酸分析的结果一致^[4, 30, 52]。从形态特征、生理生化特征和 16S rRNA 分析结果, 无法将上述芽胞杆菌与枯草芽胞杆菌相互区分开, 而通过脂肪酸分析能够轻易分开。*B. novalis*、*B. soli* 和 *B. bataviensis* 脂肪酸成分与 Heyrman 等^[53] 报道一致, 它们 16S rRNA 相似性很高 (98% 以上), 难以区分, 但通过脂肪酸系统发育可以将其准确区分开。*B. globisporus* 与 *B. lentimorbus* 的脂肪酸类型相似, 但是两者的 DNA 分子亲缘关系相差较大, 其原因值得进一步研究。本群中 8 种菌 *B. agaradhaerens*、*B. alacalphilus*、*B. alkalitelluris*、*B. cellulosityticus*、*B. fastidiosus*、*B.*

nealsonii、*B. okuhidensis*、*B. pseudalacaliphilus* 的脂肪酸系统发育分析, 发现它们的亲缘关系较近, 聚为一个分支。除了芽胞杆菌属的特征脂肪酸 (15:0 iso 和 15:0 anteiso) 外, 16:0 脂肪酸含量较高 (10% - 21%)。16S rRNA 分析结果表明, 它们之间的亲缘关系也较近^[54]。本群中 *B. alkalitelluris* 和 *B. alacalphilus* 的脂肪酸成分前人报道的一致^[55]。目前, 未见该群中其他 6 种脂肪酸成分分析的报道。

嗜碱芽胞杆菌脂肪酸群中的脂肪酸 15:0 iso/15:0 anteiso 比值小于 0.6, 该群的种类都含有高含量的 16:0, 为该群的特征脂肪酸。*B. ruris*、*B. niabensis*、*B. galactosidilyticus* 的脂肪酸成分与前人报道一致 Heyndrickx 等^[56]。本文首次报道了 *B. okhensis* 的脂肪酸成分。脂肪酸系统发育分析与 DNA 分子系统发育分析结果一致, 表明它们与 *B. galactosidilyticus* 的亲缘关系很近^[57]。

嗜酸芽胞杆菌脂肪酸群中的脂肪酸 15:0 iso/15:0 anteiso 比值小于 0.5。*B. muralis* 与 *B. simplex* 的分子系统发育结果表明两者具有较近的亲缘关系^[58], 本群种类的脂肪酸系统发育分析结果与 DNA 分子系统发育分析结果完全一致。*B. kribbensis* 和 *B. acidiproducens* 与文献^[59-60] 报道的脂肪酸成分相同。*B. mojavensis*^[61] 和 *B. atrophaeus*^[62] 是从枯草芽胞杆菌分化出来的种, 根据脂肪酸类型发现两者与枯草芽胞杆菌非同一种。目前, 尚未见 *B. macyae* 脂肪酸数据的可比较报道。

嗜温芽胞杆菌脂肪酸群中的脂肪酸 15:0 iso/15:0 anteiso 比值小于 0.6。该群的种类都含有高含量的 17:0 anteiso, 为该群的特征脂肪酸。*B. pantothenicus* 的脂肪酸含量及 15:0 iso/15:0 anteiso 比值与 Kämpfer^[30] 的结果一致。

脂肪酸系统发育分析与 16S rRNA 系统发育分析具有互补性, 一些用 16S rRNA 无法鉴定到种的芽胞杆菌, 可以通过脂肪酸鉴定加以区分, 同时, 16S rRNA 分类的保守性和稳定性又补充了脂肪酸分类的过于灵敏性和受环境影响的特性。通过本文研究发现脂肪酸系统发育分析具有生物学意义可以弥补 16S rRNA 系统发育分析脱离生物学特性的缺陷。刘波的《微生物脂肪酸生态学》^[16] 中比较分析了脂肪酸与 16S rRNA 两种鉴定方法, 结果表明, 98% 的芽胞杆菌种类用脂肪酸鉴定结果与 16S rRNA 分子鉴定结果相同, 可以作为脂肪酸芽胞杆菌种类鉴定

可以作为芽胞杆菌快速鉴定的方法,特别在 16S rRNA 分子鉴定无法区别时,脂肪酸鉴定表现出其的细胞脂肪酸组分及其含量的特异性。张晓霞等^[63]利用脂肪酸成分对不动杆菌进行鉴定,研究结果表明脂肪酸鉴定结果和 16S rRNA 基因分析结果一致,在种水平上利用 16S rRNA 基因系统发育分析结果与脂肪酸组分分析的结果可互为补充,相互印证。因此,脂肪酸生物标记成为芽胞杆菌系统发育分析的重要指标,并且与芽胞杆菌的生物学特性相关联,具有独特的优越性。

参考文献

- [1] Timmerly S, Hu X, Mahillon J. Characterization of *Bacilli* isolated from the confined environments of the Antarctic Concordia station and the International Space Station. *Astrobiology*, 2011, 11 (4) : 323-334.
- [2] Kim YH, Kim IS, Moon EY, Park JS, Kim SJ, Lim JH, Park BT, Lee EJ. High abundance and role of antifungal bacteria in compost-treated soils in a wildfire area. *Microbial Ecology*, 2011, 62 (3) : 725-737.
- [3] Koberl M, Muller H, Ramadan EM, Berg G. Desert farming benefits from microbial potential in arid soils and promotes diversity and plant health. *PLoS One*, 2011, 69: e24452.
- [4] Palmisano MM, Nakamura LK, Duncan KE, Istock CA, Cohan FM. *Bacillus sonorensis* sp. nov., a close relative of *Bacillus licheniformis*, isolated from soil in the Sonoran Desert, Arizona. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2001, 51: 1671-1679.
- [5] Gartner A, Blumel M, Wiese J, Imhoff JF. Isolation and characterisation of bacteria from the Eastern Mediterranean deep sea. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2011, 100 (3) : 421-435.
- [6] Yazdani M, Naderi-Manesh H, Khajeh K, Soudi MR, Asghari SM, Sharifzadeh M. Isolation and characterization of a novel gamma-radiation-resistant bacterium from hot spring in Iran. *Journal of Basic Microbiology*, 2009, 49 (1) : 119-127.
- [7] Valverde A, Gonzalez-Tirante M, Medina-Sierra M, Santa-Regina I, Garcia-Sanchez A, Igual JM. Diversity and community structure of culturable arsenic-resistant bacteria across a soil arsenic gradient at an abandoned tungsten-tin mining area. *Chemosphere*, 2011, 85 (1) : 129-134.
- [8] Che J, Fu P, Liu B, Zheng X, Lin K. The Preservation feature of a freshness-keeping function bacterium strain FJAT-0809-GLX to *Dimocarpus longanan* Lour. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2010, 31 (9) : 1632-1640. (in Chinese)
车建美, 付萍, 刘波, 郑雪芳, 林抗美. 保鲜功能微生物 FJAT-0809-GLX 对龙眼保鲜特性的研究. *热带作物学报*, 2010, 31 (9) : 1632-1640.
- [9] Che J, Zheng X, Liu B, Su M, Zhu Y. Preparation of *Brevibacillus brevis* FJAT-0809-GLX agent and study on its effect on Loquats (*Eriobotrya japonica*). *Storage & Process*, 2011, 11 (5) : 6-9. (in Chinese)
车建美, 郑雪芳, 刘波, 苏明星, 朱育菁. 短短芽胞杆菌 FJAT-0809-GLX 菌剂的制备及其对枇杷保鲜效果的研究. *保鲜与加工*, 2011, 11 (5) : 6-9.
- [10] 刘波, 朱昌雄. 微生物发酵床零污染养猪技术的研究与应用. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2009.
- [11] Liu B, Zhu YJ, Sengonca C. Laboratory studies on the effect of the bioinsecticide GCSC-BtA (*Bacillus thuringiensis-Abamectin*) on mortality and feeding of diamondback moth *Plutella xylostella* L. (*Lepidoptera: Plutellidae*) larvae on cabbage. *Journal of Plant Diseases Protection*, 2006, 113: 31-36.
- [12] Euz éby JP. LPSN: List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature Formerly List of Bacterial names with Standing in Nomenclature LPSN. <http://www.bacterio.cict.fr/>. 2013.
- [13] Stackebrandt E, Goebel BM. Taxonomic note: a place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1994, 44: 46-849.
- [14] Stackebrandt E, Frederiksen W, Garrity GM, Grimont PAD, Kämpfer P, Maiden MCJ, Nesme X, Rosselló-Mora R, Swings J, Trüper HG, Vauterin L, Ward AC, Whitman WB. Report of the ad hoc committee for the re-evaluation of the species definition in bacteriology. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2002, 52: 1043-1047.
- [15] Wayne LG, Brenner, DJ, Colwell RR, Grimont PAD,

- Kandler O, Krichevsky MI, Moore LH, Moore WEC, Murray RGE, other authors. International Committee on Systematic Bacteriology. Report of the ad hoc committee on reconciliation of approaches to bacterial systematics. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1987, 37: 463-464.
- [16] 刘波. 微生物脂肪酸生态学. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2011.
- [17] Lan J, Liu B, Chen L, Xiao R, Shi H, Su M. Characteristics of PLFA biomarkers for the endophytic bacteria inside musa plants. *Scientia Agricultura Sinica*, 2010, 43 (10): 2045-2055. (in Chinese)
蓝江林, 刘波, 陈璐, 肖荣凤, 史怀, 苏明星. 芭蕉属植物内生细菌脂肪酸生物标记特性的研究. 中国农业科学, 2010, 43 (10): 2045-2055.
- [18] Liu Z, Cai X, Zhu P, Guan P, Xu W, Wu L. Study on species identification of Mycobacteria by gas chromatography analysis of whole-cell fatty acid. *Chinese Journal of Tuberculosis and Respiratory Diseases*, 2005, 28: 403-406. (in Chinese)
刘志辉, 蔡杏珊, 竺澎波, 关平, 许婉华, 吴龙章. 应用气相色谱技术分析全细胞脂肪酸快速鉴定分枝杆菌. 中华结核和呼吸杂志, 2005, 28: 403-406.
- [19] Saito K. Chromatographic studies on bacterial fatty acids. *Journal of Biochemistry*, 1960, 47: 699-719.
- [20] Abel K, Deschmertzing H, Peterson JI. Classification of microorganisms by analysis of chemical composition. I. Feasibility of utilizing gas chromatography. *Journal of Bacteriology*, 1963, 85: 1039-1044.
- [21] Kaneda T. Fatty acids of the genus *Bacillus*: an example of branchedchain preference. *Bacteriological Reviews*, 1977, 41: 391-418.
- [22] Liu G, Lin Y, Liu B, Lin N. Comparison of *Bacillus* species identification based on its and fatty acid analysis. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2012, 27 (2): 173-180. (in Chinese)
刘国红, 林营志, 刘波, 林乃铨. 芽胞杆菌属种类脂肪酸鉴定与分子鉴定方法的比较. 福建农业学报, 2012, 27 (2): 173-180.
- [23] Vandamme P, Pot B, Gillis M, De Vos P, Kersters K, Swings J. Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. *Microbiology Reviews*, 1996, 60 (2): 407-438.
- [24] Wang Q, Lan J, Zhu Y, Xiao R, Ge C, Lin Y, Chen L, Liu B. Fingerprint analysis on methyl fatty acid and its applications in microbial study. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2007, 22 (2): 212-218. (in Chinese)
王秋红, 蓝江林, 朱育菁, 肖荣凤, 葛慈斌, 林营志, 陈亮, 刘波. 脂肪酸甲酯谱图分析方法及其在微生物学领域的应用. 福建农业学报, 2007, 22 (2): 212-218.
- [25] Zhu Y, Su M, Huang S, Wang Q, Liu B. Effect of cultural condition on fatty acid composition of *Ralstonia solanacearum*. *Microbiology China*, 2009, 12, 36 (8): 1158-1165. (in Chinese)
朱育菁, 苏明星, 黄素芳, 王秋红, 刘波. 培养条件对青枯雷尔氏菌脂肪酸组成的影响. 微生物学通报, 2009, 12, 36 (8): 1158-1165.
- [26] 陶天申, 杨瑞馥, 东秀珠. 原核生物系统学. 北京: 化学工业出版社, 2007.
- [27] Dawyndt P, Vancanneyt M, Snauwaert C, De Baets B, De Meyer H, Swings J. Mining fatty acid databases for detection of novel compounds in aerobic bacteria. *Journal of Microbiology Method*, 2006, 66 (3): 410-433.
- [28] Sasser M. Identification of bacteria by gas chromatography of cellular fatty acids. // Klement S, Rudolf K, Sands D. Budapest Methods in Phytobacteriology. Akademiai Kiado, 1990: 199-204.
- [29] Lin Y, Liu B, Zhang Q, Fu X. The development of the program PLFAEco for analysis of the Phospholipid Fatty Acids (PLFAs) biomarkers detected from the microbial community in soil samples. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2009, 25 (14): 286-290. (in Chinese)
林营志, 刘波, 张秋芳, 傅秀荣. 土壤微生物群落磷脂脂肪酸生物标记分析程序 PLFAEco. 中国农学通报, 2009, 25 (14): 286-290.
- [30] Kämpfer P. Limits and possibilities of total fatty acid analysis for classification and identification of *Bacillus* species. *Systematic and Applied Microbiology*, 1994, 17: 86-98.
- [31] Kuang Y, Fang C, Zhang L, Guo A, Yue Y, Tao T. Analysis of cellular fatty acids for ten type strains of *Bacillus* by gas chromatography. *Journal of Analytical*

- Science, 2000, 16 (4) : 270-273. (in Chinese)
- 邝玉斌, 方呈祥, 张珞珍, 郭爱玲, 岳莹玉, 陶天申. 芽孢杆菌模式菌株细胞脂肪酸组分的气相色谱分析. 分析科学学报, 2000, 16 (4) : 270-273.
- [32] Diogo A, António VS, Fernanda NM, Da Costa MS. Usefulness of fatty acid composition for differentiation of *Legionella* species. *Journal of Clinical Microbiology*, 1999, 37 (7) : 2248-2254.
- [33] Whittaker P, Day JB, Curtis SK, Fry FS. Evaluating the use of fatty acid profiles to identify *Francisella tularensis*. *Journal of Microbiology Methods*, 2007, 90 (2) : 465-469.
- [34] Sasser M, Smith DH. Parallels between ribosomal RNA and DNA homologies and fatty acid composition in *Pseudomonas*. Abstr. 87th Ann. Meeting Amer. Soc. Microbiol, 1987.
- [35] Holmes B, Moss CW, Daneshvar MI. Cellular fatty acid compositions of "Achromobacter groups B and E". *Journal of Clinical Microbiology*, 1993, 31 (4) : 1007-1008.
- [36] Sikorski J, Brambilla E, Kroppenstedt RM, Tindall BJ. The temperature-adaptive fatty acid content in *Bacillus simplex* strains from 'Evolution Canyon', Israel. *Microbiology*, 2008, 154 : 2416-2426.
- [37] Ehrhardt CJ, Chu V, Brown TC, Simmons TL, Swan BK, Bannan J, Robertson JM. Use of fatty acid methyl ester profiles for discrimination of *Bacillus cereus* T-strain spores grown on different media. *Applied and Environmental Microbiology*, 2010, 76 (6) : 1902-1912.
- [38] Satomi M, La Duc MT, Venkateswaran K. *Bacillus safensis* sp. nov., isolated from spacecraft and assembly-facility surfaces. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2006, 56 : 1735-1740.
- [39] Shivaji S, Chaturvedi P, Suresh K, Reddy GSN, Dutt CBS, Wainwright M, Narlikar JV, Bhargava PM. *Bacillus aerius* sp. nov., *Bacillus aerophilus* sp. nov., *Bacillus stratosphericus* sp. nov. and *Bacillus altitudinis* sp. nov., isolated from cryogenic tubes used for collecting air samples from high altitudes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2006, 56 : 1465-1473.
- [40] Ahmed I, Yokota A, Yamazoe A, Fujiwara T. Proposal of *Lysinibacillus boronitolerans* gen. nov. sp. nov. and transfer of *Bacillus fusiformis* to *Lysinibacillus fusiformis* comb. nov. and *Bacillus sphaericus* to *Lysinibacillus sphaericus* comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2007b, 50 (7) : 1117-1125.
- [41] Jung MY, Kim JS, Paek WK, Styarak I, Park IS, Sin Y, Paek J, Park KA, Kim H, Kim HL, Chang YH. Description of *Lysinibacillus sinduriensis* sp. nov. and transfer of *Bacillus massiliensis* and *Bacillus odysseyi* to the genus *Lysinibacillus* as *Lysinibacillus massiliensis* comb. nov. and *Lysinibacillus odysseyi* comb. nov. with emended description of the genus *Lysinibacillus*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2012, 62 : 2347-2355.
- [42] Shivaji S, Chaturvedi P, Begum Z, Pindi PK, Manorama R, Padmanaban DA, Shouche YS, Pawar S, Vaishampayan P, Dutt CBS, Datta GN, Manchanda RK, Rao UR, Bhargava PM, Narlikar JV. *Janibacter hoylei* sp. nov., *Bacillus isronensis* sp. nov. and *Bacillus aryabhatai* sp. nov., isolated from cryotubes used for collecting air from the upper atmosphere. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2009, 59 : 2977-2986.
- [43] Zhang L, Xu Z, Patel BKC. *Bacillus decisifrondis* sp. nov., isolated from soil underlying decaying leaf foliage. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2007, 57 : 974-978.
- [44] Lawrence JR, Korber DR, Hoyle BD, Costerton JW, Cadwell DE. Optical sectioning of microbial biofilms. *Journal of Bacteriology*, 1991, 173 : 6558-6567.
- [45] Nakamura LK, Jackson MA. Clarification of the Taxonomy of *Bacillus mycoides*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1995, 45 : 46-49
- [46] Nakamura LK. *Bacillus pseudomycoides* sp. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1998, 48 : 1031-1035.
- [47] Ahmed I, Yokota A, Fujiwara T. A novel highly boron tolerant bacterium, *Bacillus boroniphilus* sp. nov., isolated from soil, that requires boron for its growth. *Extremophiles*, 2007a, 11 : 217-224.
- [48] Ghosh A, Bhardwaj M, Satyanarayana T, Khurana M, Mayilraj S, Jain RK. *Bacillus lehensis* sp. nov., an

- alkalitolerant bacterium isolated from soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2007, 57: 238-242.
- [49] Logan NA, Lebbe L, Verhelst A, Goris J, Forsyth G, Rodríguez-Díaz M, Heyndrickx M, De Vos P. *Bacillus shackletonii* sp. nov., from volcanic soil on Candlemas Island, South Sandwich archipelago. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2004, 54: 373-376.
- [50] Scheldeman P, Rodríguez-Díaz M, Goris J, Pil A, De Clerck E, Herman L, De Vos P, Logan NA, Heyndrickx M. *Bacillus farraginis* sp. nov., *Bacillus fortis* sp. nov. and *Bacillus fordii* sp. nov., isolated at dairy farms. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2004, 54: 1355-1364.
- [51] Yamamura S, Yamashita M, Fujimoto N, Kuroda M, Kashiwa M, Sei K, Fujita M, Ike M. *Bacillus selenatarsenatis* sp. nov., a selenate- and arsenate-reducing bacterium isolated from the effluent drain of a glass-manufacturing plant. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2007, 57: 1060-1064.
- [52] Roberts MS, Nakamura LK, Cohan FM. *Bacillus vallismortis* sp. nov., a close relative of *Bacillus subtilis*, isolated from soil in Death Valley, California. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1996, 46: 470-475.
- [53] Heyrman J, Vanparys B, Logan NA, Balcaen A, Rodríguez-Díaz M, Felske A, De Vos P. *Bacillus novalis* sp. nov., *Bacillus vireti* sp. nov., *Bacillus soli* sp. nov., *Bacillus bataviensis* sp. nov. and *Bacillus drentensis* sp. nov., from the Drentse A grasslands. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2004, 54: 47-57.
- [54] Nielsen P, Fritze D, Priest FG. Phenetic diversity of alkaliphilic *Bacillus* strains: proposal for nine new species. *Microbiology*, 1995, 141: 1745-1761.
- [55] Lee JC, Lee GS, Park DJ, Kim CJ. *Bacillus alkalitelluris* sp. nov., an alkaliphilic bacterium isolated from sandy soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2008, 58: 2629-2634.
- [56] Heyndrickx M, Scheldeman P, Forsyth G, Lebbe L, Rodríguez-Díaz M, Logan NA, De Vos P. *Bacillus ruris* sp. nov., from dairy farms. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2005, 55: 2551-2554.
- [57] Kwon SW, Lee SY, Kim BY, Weon HY, Kim JB, Go SJ, Lee GB. *Bacillus niabensis* sp. nov., isolated from cotton-waste composts for mushroom cultivation. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2007, 57: 1909-1913.
- [58] Heyrman J, Logan NA, Rodríguez-Díaz M, Scheldeman P, Lebbe L, Swings J, Heyndrickx M, De Vos P. Study of mural painting isolates, leading to the transfer of '*Bacillus maroccanus*' and '*Bacillus carotarum*' to *Bacillus simplex*, emended description of *Bacillus simplex*, re-examination of the strains previously attributed to '*Bacillus macroides*' and description of *Bacillus muralis* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2005, 55: 119-131.
- [59] Jung MY, Kim JS, Chang YH. *Bacillus acidiproducens* sp. nov., vineyard soil isolates that produce lactic acid. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2009, 59: 2226-2231.
- [60] Lim JM, Jeon CO, Lee JR, Park DJ, Kim CJ. *Bacillus kribbensis* sp. nov., isolated from a soil sample in Jeju, Korea. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2007, 57: 2912-2916.
- [61] Roberts MS, Nakamura LK, Cohan FM. *Bacillus mojavensis* sp. nov., distinguishable from *Bacillus subtilis* by sexual isolation, divergence in DNA sequence and difference in fatty acid composition. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1994, 44: 256-264.
- [62] Nakamura LK. Taxonomic relationship of black-pigmented *Bacillus subtilis* strains and a proposal for *Bacillus atrophaeus* sp. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1989, 39: 295-300.
- [63] Zhang X, Wang Z, Li S, Gu J, Jiang R. Identification of *Acinetobacter* spp. using fatty acid compositions analysis. *Biotechnology Bulletin*, 2009, 6: 150-153. (in Chinese) 张晓霞, 王直强, 李世贵, 顾金刚, 姜瑞波. 脂肪酸组分分析在不动杆菌鉴定中的应用. 生物技术通报, 2009, 6: 150-153.

Phylogeny of the genus *Bacillus* based on fatty acids biomarkers

Bo Liu^{1*}, Guohong Liu^{1,2}, Naiquan Lin²

¹Agricultural Bio-resource Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350003, Fujian Province, China

²Department of Plant Protection, Fujian Agricultural and Forest University, Fuzhou 350002, Fujian Province, China

Abstract: [Object] The phylogenetic relationship of 90 species of the genus *Bacillus* was analyzed using fatty acid biomarkers. [Methods] Fatty acid biomarkers were detected by Microorganism Identification System (Sherlock MIS) with gas chromatography (Agilent 7890 N, MIDI Inc., Newark, DE). Based on the distribution characteristics of fatty acid, 10 parameters e. g. 16:0 iso, 16:0, 17:0 iso, 17:0 anteiso, 15:0 iso, 15:0 anteiso, 15:0 iso/15:0 anteiso, 17:0 iso/17:0 anteiso, diversity index (H) and evenness index (J) were constructed to perform fatty acid phylogeny of the genus *Bacillus*. [Results] In the 90 *Bacillus* species 29 fatty acid biomarkers were found with the carbon lengths ranging from 10 to 20. From statistical analysis, sum of relative percentage content of the 6 largest fatty acid biomarkers were 15:0 anteiso, 15:0 iso, 17:0 anteiso, 16:0, 17:0 iso and 16:0 iso. Among them, 15:0 anteiso and 15:0 iso possessed high content with fully distribution in all species tested. Of the biomarkers, 17:0 anteiso, 16:0, 17:0 iso and 16:0 iso had middle content, being not fully distributed, and the rest belonged to low content and not fully distributed. Ninety *Bacillus* species were divided into five fatty acid groups, e. g. stenothermic group, eurithermophile group, alkaliphilic group, acidophilus group and mesophilic group. The cluster analyses of phenetic classification and fatty acid classification were further compared to find that both classification systems yielded an identical result. [Conclusion] Phylogenetic classification system of the genus *Bacillus* using fatty acid biomarkers embraces *Bacillus* phylogeny with physiological and biochemical characteristics. This fatty acid-based phylogenetic system may become a new system for classification.

Keywords: genus *Bacillus*, fatty acid biomarkers, phylogenetic analysis

(本文责编:张晓丽)

Supported by the National Key Project of Fundamental Scientific Research (2011CB111607), by the Program of International Science & Technology Cooperation the International Cooperation Project (2012DFA31120), by the National "948" Project (2011-G25) and by the National Natural Science Foundation of China (31370059)

* Corresponding author. Tel: +86-591-83793035; Fax: +86-591-83768251; E-mail: fzliubo@163.com

Received: 13 June 2013 / Revised: 10 October 2013