

柯乐猪源 *Bacillus velezensis* YY24 的鉴定及产酶特性分析

王敏乐¹, 王娅丽¹, 吴诗卉¹, 周桂仙¹, 杨颖^{1,2*}

(1. 贵州大学动物科学学院, 贵州贵阳 550025; 2. 贵州省动物生物制品工程技术研究中心, 贵州贵阳 550025)

摘要: 为发掘柯乐猪肠道纤维素降解菌资源, 本研究对其粪便源分离菌 YY24 进行鉴定及产酶特性分析。通过刚果红染色法检测菌株纤维素酶活性, 结合形态观察与分子生物学对菌株进行菌种鉴定; 采用单因素试验优化产酶条件; 并开展全基因组测序与功能注释分析。刚果红染色结果显示, 菌株在 CMC-Na 平板上形成明显水解圈, 透明圈直径/菌落直径 (D/d) 为 4.5。综合菌种鉴定结果, 确定其为贝莱斯芽孢杆菌 (*Bacillus velezensis*)。初步探究产酶条件发现: 培养时间 48 h、pH 7.0、接种龄 3 d、接种量 5% 条件下酶活最高, 达 (17.33±0.27) U/mL。进一步开展全基因组测序与注释分析, 拼接获得 3.95 Mb 基因组草图, GC 含量为 46.45%。KEGG 注释共识别 1 896 个功能基因, 其中碳水化合物代谢通路基因最丰富; CAZy 注释识别到 61 个碳水化合物活性酶基因, 涵盖 GH、AA 等多个家族。综合注释结果发现候选基因 *eglS*, 其编码蛋白属于 GH5 家族成员内切葡聚糖酶, 是一类稳定且亲水的分泌蛋白, 功能域明确、柔性良好、结构简单。本研究结果为 YY24 的功能挖掘及在饲料微生态制剂领域的开发提供理论依据与候选菌株资源。

关键词: 柯乐猪; 纤维素降解菌; 贝莱斯芽孢杆菌; 产酶优化; 内切葡聚糖酶

中图分类号: S828.5

文献标识码: A

DOI 编号: 10.19556/j.0258-7033.20250526-03

纤维素广泛存在于植物细胞壁中, 是由 β -1,4- 糖苷键连接而成的多糖大分子, 容易形成结晶和原纤维结构, 常规方法难以对其进行分解吸收^[1-2]。在畜禽养殖中, 植物源性饲料含有的纤维素成分通常会增加摄食动物消化道食糜的粘度, 降低动物肠道对营养物质的消化吸收, 甚至可能加重动物消化系统负担, 增加胃肠相关疾病, 危害畜禽健康^[3-4]。目前有研究表明^[5-7], 在动物饲料中添加纤维素酶可以催化降解纤维素及其衍生物, 释放出细胞内的蛋白质等易于机体消化吸收的营养成分, 还能降低食糜粘度, 提高饲料中营养物质的吸收率, 改善动物生长性能。

柯乐猪是贵州省优良地方猪种之一, 广泛分布于

黔西北地区。依托当地特有的自然环境和饲养条件, 柯乐猪具备良好的耐粗饲性能^[8]。研究发现, 柯乐猪耐粗饲性能与其肠道微生物出色的纤维素消化能力有着密切联系^[9-10], 提示其肠道菌群可能蕴含高效的纤维素降解菌资源。贝莱斯芽孢杆菌作为一种新型益生菌, 具有丰富的胞外酶系 (包括纤维素酶等)^[11]。已有研究从发酵产物^[12]、野猪肠道^[13]等多种来源中分离出高产纤维素酶的贝莱斯芽孢杆菌, 展现出良好的降解能力与应用前景。本研究选取实验室前期自柯乐猪粪便分离得到的菌株 YY24 作为研究对象, 对其进行菌种鉴定及产纤维素酶能力探究, 为后续研究及应用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料 菌株 YY24 由贵州大学动物科学学院预防兽医学实验室从健康柯乐猪的新鲜粪便中分离并保存。LB 液体培养基: 由 10.0 g/L 胰蛋白胨, 5.0 g/L 酵母浸粉及 10.0 g/L NaCl 组成; LB 固体培养基: 在 LB 液体培养基的组分上, 额外添加 20.0 g/L 的琼脂粉以固化培养基; CMC-Na 固体培养基: 由 20.0 g/L 羧甲基纤维素钠 (CMC-Na, 粘度 300~800 mPa.s), 2.5 g/L 胰

收稿日期: 2025-05-26; 修回日期: 2025-06-23

资助项目: 2023 年度贵州省基础研究计划项目 (自然科学类) (黔科合基础-ZK[2023] 一般 105); 2024 年度贵州大学校级课程思政示范项目 (kcsz2024032)

作者简介: 王敏乐 (2000-), 男, 陕西宝鸡人, 硕士研究生, 主要从事动物肠道益生菌研究, E-mail: gs.wangml23@gzu.edu.cn

* 通信作者: 杨颖 (1985-), 女, 贵州遵义人, 博士, 讲师, 主要从事兽医微生物研究, E-mail: yang_ying510@163.com

蛋白胨, 0.5 g/L 酵母浸粉, 2.5 g/L NaH_2PO_4 , 1.5 g/L KH_2PO_4 及 20.0 g/L 琼脂粉组成; 液体发酵培养基: 由 10.0 g/L 羧甲基纤维素钠 (CMA-Na, 粘度: 300~800 mPa.s), 10.0 g/L 胰蛋白胨, 5.0 g/L KH_2PO_4 , 1.5 g/L KCl, 0.2 g/L MgSO_4 及 5.0 g/L NaCl 组成。

1.2 试验方法

1.2.1 菌株 YY24 纤维素分解能力初步评估 取新鲜菌液均匀涂布于 CMC-Na 固体培养基表面, 37 °C 培养 48 h, 配制 1 mg/mL 浓度的刚果红溶液对培养基进行染色处理, 染色时间为 15 min。染色完成后, 弃去染液, 使用 1 mol/L 的 NaCl 溶液清洗 2 次, 每次 15 min。观察平板上菌落周围是否形成透明圈, 测量并计算透明圈直径 (D) 与菌落直径 (d) 比值 (D/d), 以初步评估菌株 YY24 的纤维素分解能力。

1.2.2 菌株 YY24 鉴定 形态学鉴定: 将菌株 YY24 接种于 LB 固体培养基表面, 37 °C 培养 24 h 后观察其菌落生长状况。挑取单菌落使用革兰氏染色试剂盒进行染色处理, 通过显微镜观察并记录细菌在染色后的形态及染色特征。分子生物学鉴定: 将 YY24 株接种至 LB 液体培养基中, 于 37 °C 培养 24 h。培养完成后采用通用基因组提取试剂盒提取 YY24 株基因组。以提取产物为模板, 使用通用 16S rRNA 基因引物 27F (5'-AGAGTTTG ATCCTGGCTCAG-3') F 和 1492R (5'-AAGTCGTAACA AGGTAAC-3') 进行 PCR 扩增, 目标片段约 1 500 bp。PCR 反应体系总量为 50 μL : 2 $\times$ SanTaq PCR Mix (含蓝染料) 25 μL , DNA 模板 1 μL , 上游引物与下游引物 (10 $\mu\text{mol/L}$) 各 2 μL , 灭菌双蒸水 (ddH_2O) 20 μL 。PCR 扩增程序如下: 94 °C 预变性 5 min; 随后进行 35 个循环, 包括 94 °C 变性 30 s、55 °C 退火 30 s、72 °C 延伸 45 s; 最后在 72 °C 进行 10 min 的终延伸。反应结束后, 取扩增产物进行 1% 琼脂糖凝胶电泳分析检测片段大小, 将符合预期的扩增产物送至上海生工测序。测序结果在 NCBI 上用 BLAST 进行同源性分析, 选取 15 条高同源性序列 (Per. Ident > 95%) 及 1 条亲缘关系远的序列, 使用 MEGA 12 进行序列比对并构建系统发育树。

1.2.3 纤维素酶活力测定 本研究使用苏州格锐思生物科技有限公司生产的内切 - β -1,4- 葡聚糖酶 / 纤维素酶试剂盒进行纤维素酶活力测定。具体操作步骤为: 取 5 mL 新鲜菌液, 转移至离心管中, 在 4 °C 条件下以 12 000 r/min 离心 10 min, 收集上清液作为粗酶液备

用。随后, 酶标仪预热 30 min, 并将检测波长设置为 540 nm。测定管中加入 50 μL 样本和 150 μL 试剂二, 对照管中加入 50 μL 样本和 150 μL 试剂一。混匀后, 于 37 °C 下孵育 60 min。反应结束后, 两组分别加入 150 μL 试剂三, 并在 95 °C 水浴反应 5 min 混合, 随后用自来水冷却至室温。取 200 μL 澄清液体至 96 孔板中测定吸光值 A, 并计算吸光值差值 ΔA (A 测定管 - A 对照管)。同时制备 2 mg/mL 葡萄糖标准溶液, 并用 ddH_2O 配制为 0、0.2、0.6、1.0、1.4、1.8 mg/mL, 依照对照管加样操作, 根据酶标仪测定结果绘制标准曲线。

酶活力定义: 每毫升粗酶液每分钟催化产生 1 μg 还原糖定义为 1 个酶活力单位, 以 U/mL 表示。

1.2.4 菌株 YY24 产酶条件初步探究 本试验通过分别设置培养时间 (12、24、36、48、60、72 h)、接种量 (1%、2%、3%、4%、5%、6%)、接种龄 (1、2、3、4 d) 和初始 pH (3.0、5.0、7.0、9.0) 4 种因素的变化, 每次实验仅改变 1 个因素, 其余因素保持在最优或固定水平。例如, 当改变培养时间时, 其余条件分别为接种量 1%, 接种龄 2 d, 初始 pH 7.0; 当改变接种量时, 培养时间保持最优, 接种龄为 2 d, 初始 pH 为 7.0; 以此类推。在 37 °C、170 r/min 条件下摇床培养后, 对菌液进行离心处理, 收集上清使用纤维素酶试剂盒测定 CMC 酶活, 以研究上述因素变化对 YY24 株产酶能力的影响。每个实验均进行 3 次重复。

1.2.5 菌株 YY24 全基因组测序与分析 菌株 YY24 接种于 LB 液体培养基, 在 37 °C 条件下培养过夜, 取 1 mL 菌液密封冷藏, 送至上海生工生物进行 Illumina 文库构建与高通量测序。原始数据经 Fastp 质控后, 使用 SPAdes 软件进行 de novo 组装, 结合 GapFiller 和 PrInSeS-G 进行缺口补全和错误校正, 获得较高质量的基因组序列。通过 PGAP 对基因组进行结构注释, 识别 CDS、rRNA、tRNA 等元件。将基因组预测得到的蛋白序列提交至 KEGG Automatic Annotation Server (KAAS) 进行 KEGG 功能注释, 分配相应的 KO (KEGG Orthology) 编号。同时使用 HMMER3 比对 CAZy 数据库, 识别属于碳水化合物活性酶 (Carbohydrate-Active enZymes, CAZymes) 数据库的功能基因。

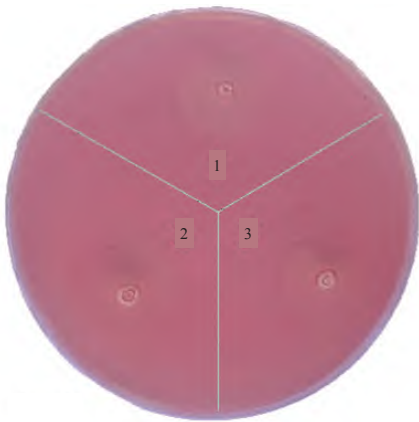
1.2.6 菌株 YY24 产酶基因的挖掘及预测分析 为系统挖掘菌株 YY24 的产纤维素酶基因, 本文对其全基因组的 KEGG 与 CAZy 注释结果进行了联合分析。首先,

基于 KEGG 注释结果筛选与碳水化合物代谢密切相关的功能通路，重点关注 ko00500（淀粉和蔗糖代谢）等可能参与纤维素降解的代谢路径；随后结合 CAZy 数据库注释，关注 GH1、GH5、GH9 等在文献中常与纤维素水解功能相关的优势家族。

通过将代谢通路定位(KEGG)与结构功能注释(CAZy)进行交叉比对，旨在精准筛选出具有明确降解功能的关键纤维素酶基因。同时使用 UniProt BLAST、ProtParam、SMART、DeepTMHMM、SOPMA 与 SWISS-MODEL 对其进行预测分析，为后续功能表达、菌株改良等提供理论依据。

2 结果

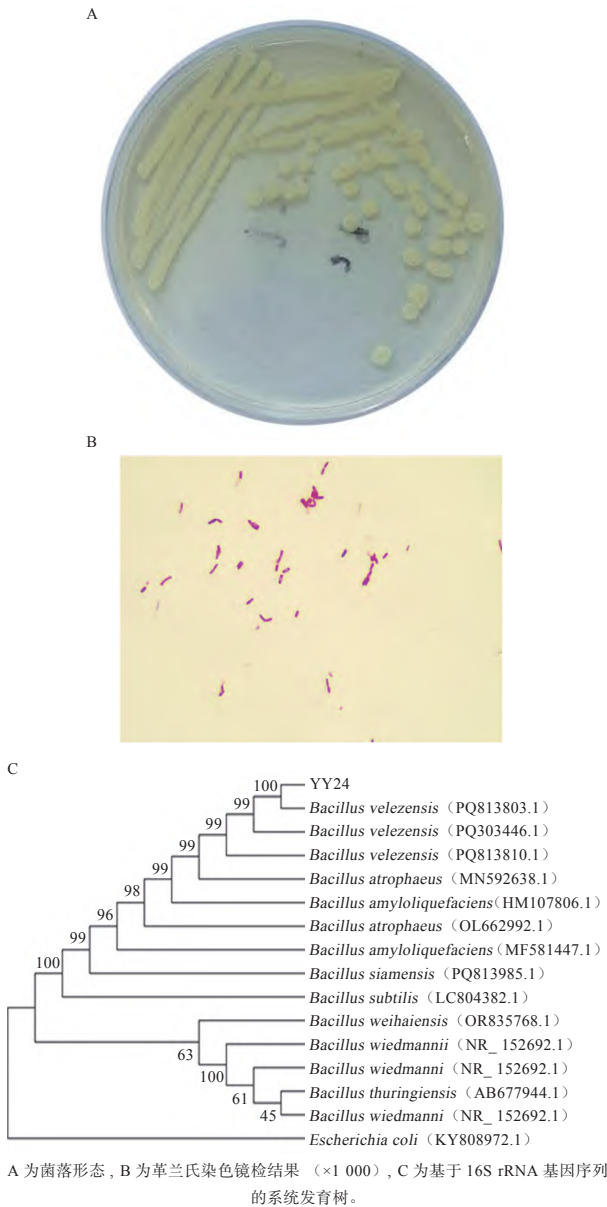
2.1 菌株 YY24 纤维素分解能力初步评估 菌株 YY24 经刚果红染色能产生明显水解圈（图 1）。通过 3 次重复测得其透明圈直径（D）分别为 19.5、20.2、19.4 mm，菌落直径（d）分别为 4.1、4.7、4.4 mm。计算得到 D/d 值为 4.5±0.38。



1~3 分别为 3 个重复。
图 1 菌株 YY24 刚果红染色结果

2.2 菌株 YY24 的鉴定结果 形态学鉴定如图 2A 所示，菌株 YY24 在 LB 固体培养基上形成白色的圆形菌落，质地粘稠、湿润、表面带有褶皱；镜检观察到该菌为短杆状，两端呈钝圆形，革兰氏染色阳性，可观察到芽孢（图 2B）。1% 琼脂糖凝胶电泳结果显示，PCR 扩增产物大小约 1 500 bp 的条带。从系统发育树（图 2C）可以看出，YY24 株与贝莱斯芽孢杆菌（登录号：PQ813803.1）亲缘关系最近。

2.3 标准曲线建立 根据 6 个稀释度葡萄糖溶液测定结果，确定标准曲线方程（图 3）为 $y=0.0128x-0.033$ ，此



A 为菌落形态，B 为革兰氏染色镜检结果（×1 000），C 为基于 16S rRNA 基因序列的系统发育树。

图 2 菌株 YY24 菌种鉴定结果

方程相关系数 $R^2=0.9978$ ；根据标准曲线方程可得到纤维素酶活力计算公式为 $[(\Delta A+0.033) \div 0.0128] \div V \div T$ ，其中 V 为样本体积即 0.05 mL，T 为反应时间即 60 min，经简化可得纤维素酶活力 $=26.04 \times (\Delta A+0.033)$ 。

2.4 菌株 YY24 产酶条件初步探究 培养时间为 12 h 时，纤维素酶活力最低，仅为 (0.98 ± 0.06) U/mL，说明此时菌株几乎不产酶。随后纤维素酶活力逐渐升高，在 48 h 时纤维素酶活力达到最高值 (15.13 ± 0.75) U/mL，48 h 后，可能由于营养物质减少，代谢产物堆积等原因，纤维素酶活力逐渐降低。

接种量为 1%~5% 时，纤维素酶活力呈逐渐升高趋

势,在 5% 时达到最高值 (15.39 ± 0.03) U/mL,接种量为 6% 时纤维素酶活力降为最低值 (10.82 ± 0.28) U/mL。可能由于接种量过低时,菌体增长缓慢;过高又会导致菌数增长过快及产生过多代谢产物,不利于菌体产酶。

接种龄为 1 d 时,纤维素酶活力为最低 (9.88 ± 0.11) U/mL,之后逐渐升高,在 3 d 时达到峰值 (16.05 ± 0.13) U/mL。接种龄对菌株 YY24 产纤维素酶能力呈

现先升高后降低的趋势变化,可能是由于不同接种龄菌体处于不同生长阶段。

当初始 pH 为 3.0 时,纤维素酶活力仅为 (1.46 ± 0.02) U/mL,可能由于菌株 YY24 在此 pH 条件下几乎不生长或纤维素酶失活。当初始 pH 为 7.0 时,纤维素酶活力达到最高值 (17.33 ± 0.27) U/mL。

2.5 菌株 YY24 全基因组测序与分析 菌株 YY24 的基因

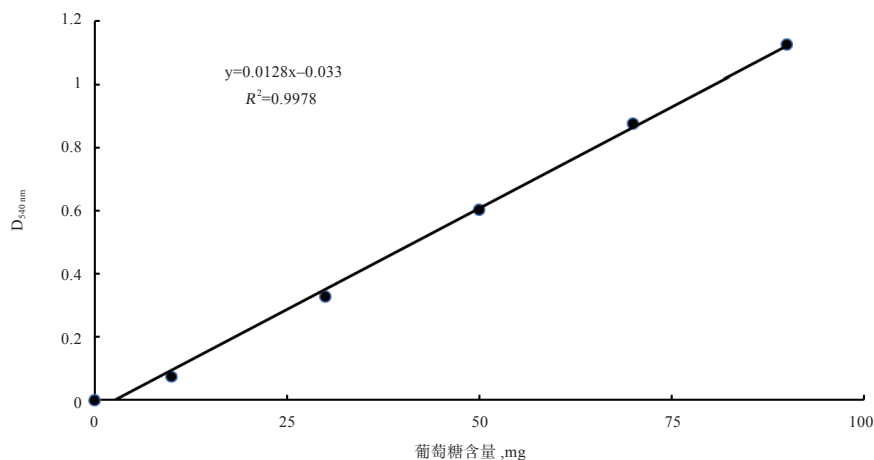
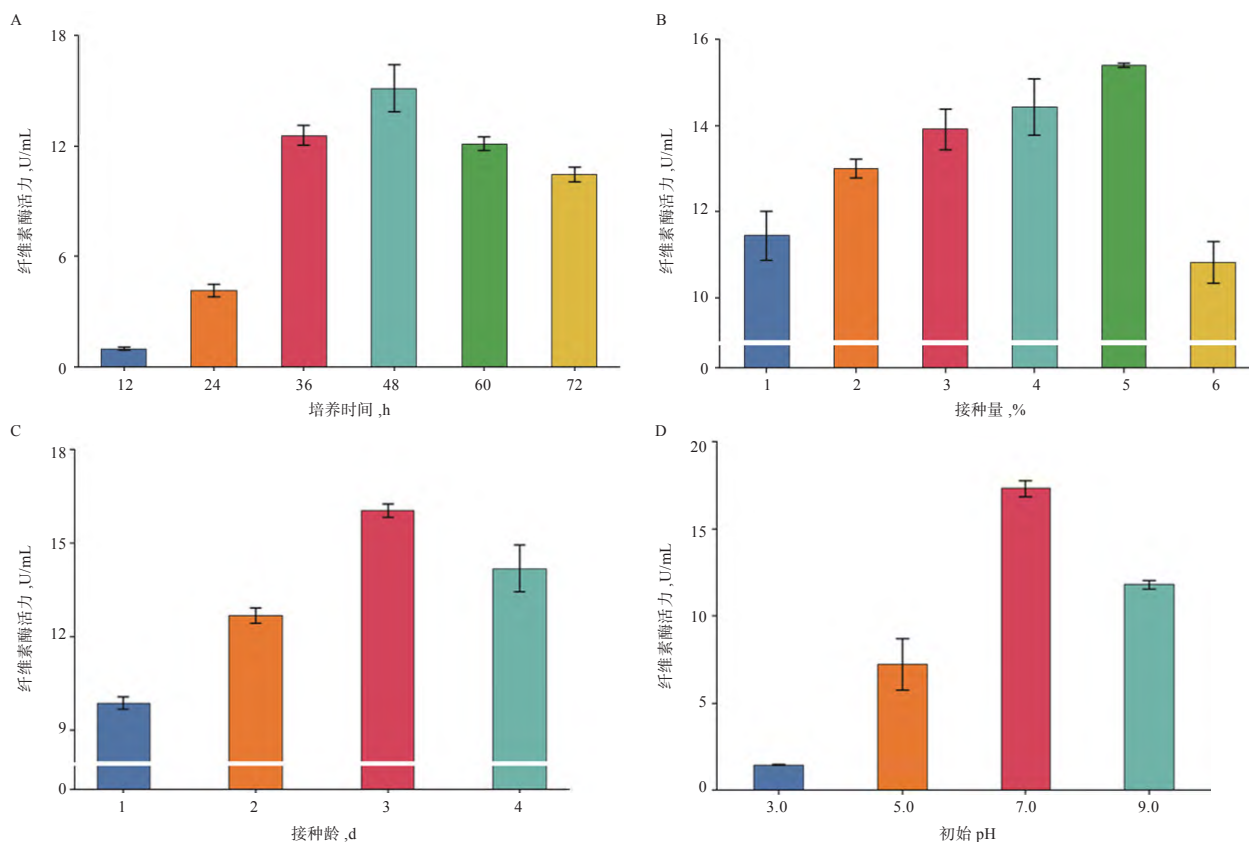


图 3 标准曲线



A~D 分别为培养时间、接种量、接种龄和初始 pH 对菌株 YY24 产纤维素酶能力的影响。

图 4 菌株 YY24 产酶条件初步探究结果

组经 Illumina 测序后, 采用 SPAdes 等工具完成拼接, 共获得 20 条长度不等的 contigs, 总长度为 3 945 102 bp, GC 含量为 46.45%, N50 为 439 317 bp。PGAP 共预测到 3 824 个 CDS、9 个 rRNA (包含 7 个 5S, 1 个 16S 及 1 个 23S)、81 个 tRNA 和 1 个 ncRNA, 所获得的基因组测序数据已成功上传至 NCBI 数据库中, 登录号为 PRJNA1263740。

KEGG 注释共识别到 1 896 个功能基因, 涵盖碳水化合物代谢、氨基酸代谢、能量代谢等 31 个二级通路 (图 5)。其中, 碳水化合物代谢通路相关基因最多, 占比达 11.97% (227/1896), 涉及糖酵解 / 糖异生 (ko00010)、磷酸戊糖 (ko00030)、淀粉和蔗糖代谢 (ko00500) 等核心代谢通路。共 26 个基因注释到 ko00500 通路, 包括内切葡聚糖酶 (EC3.2.1.4)、 α -葡萄糖苷酶 (EC 3.2.1.20)、葡萄糖-6-磷酸异构酶 (EC 5.3.1.9) 等, 表明菌株具备较强的多糖分解与糖代谢能力。

CAZy 数据库注释共识别到 61 个碳水化合物活性酶相关基因, 涵盖 GH (糖苷水解酶)、CE (碳水化合物酯酶)、AA (辅助活性酶)、GT (糖基转移酶) 和 PL (多糖裂解酶) 五大类 (图 6)。其中 GH 类最多, 占比 26.2% (16/61)。与纤维素降解密切相关的 GH1、GH5 和 AA10 家族成员共 5 个: GH1 主要编码 β -葡萄糖苷酶, 负责将纤维寡糖水解为葡萄糖; GH5 包

含典型的内切葡聚糖酶, 是断裂纤维素主链 β -1,4 糖苷键的关键酶; AA10 家族具有辅助裂解晶体纤维素的氧化活性, 能增强整体纤维素水解效率。

2.6 菌株 YY24 产酶基因的挖掘及预测分析 通过 KEGG 与 CAZy 联合注释分析, 在菌株 YY24 的基因组中发现一条既被归类为 GH5 家族成员, 又在 KEGG 中被注释为内切葡聚糖酶 (Endoglucanase) 的功能基因。该基因在结构和功能层面均与纤维素水解密切相关, 具备明确的降解潜力, 将其命名为 *eglS*, 并选为后续研究对象。

eglS 全长 1 500 bp, 编码 499 个氨基酸, UniProt BLAST 结果显示其比对到 10 个已验证的内切葡聚糖酶, 氨基酸序列一致性为 53.2%~98.6%, 与 *Bacillus subtilis* 来源的内切葡聚糖酶 (UniProt ID: P07983) 最高。ProtParam 分析显示其分子量为 55.12 kDa, 等电点 8.11, 不稳定系数为 30.19, GRAVY 值为 -0.564, 整体稳定且亲水, 具有良好的异源表达潜力。SMART 与 DeepTMHMM 预测其 N 端 1~29 aa 为信号肽, 无跨膜结构, 推测其为分泌蛋白; Pfam 注释显示该蛋白包含 Cellulase 催化结构域 (50~297 aa) 与 CBM_3 结合模块 (356~437 aa), 具备纤维素底物识别和降解双重功能 (图 7A、7C)。SOPMA 分析显示该蛋白主要由无规则卷曲 (53.91%) 和 α -螺旋 (23.45%) 构成, 结

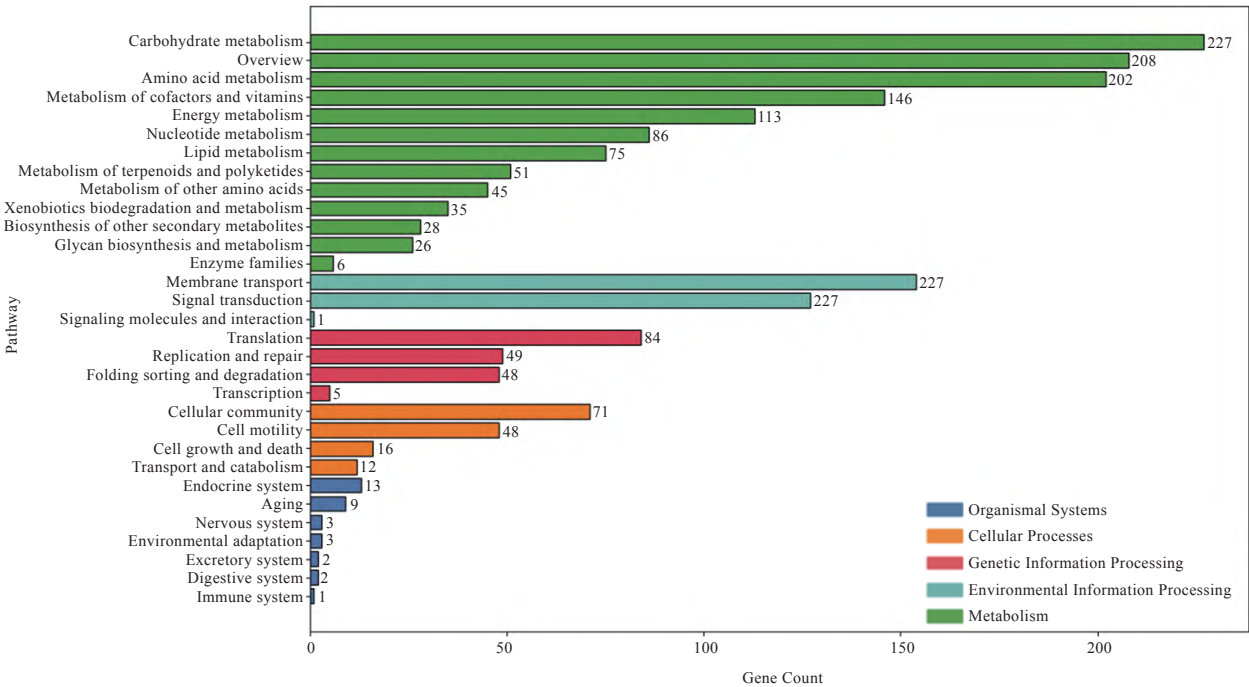


图 5 KEGG 注释结果

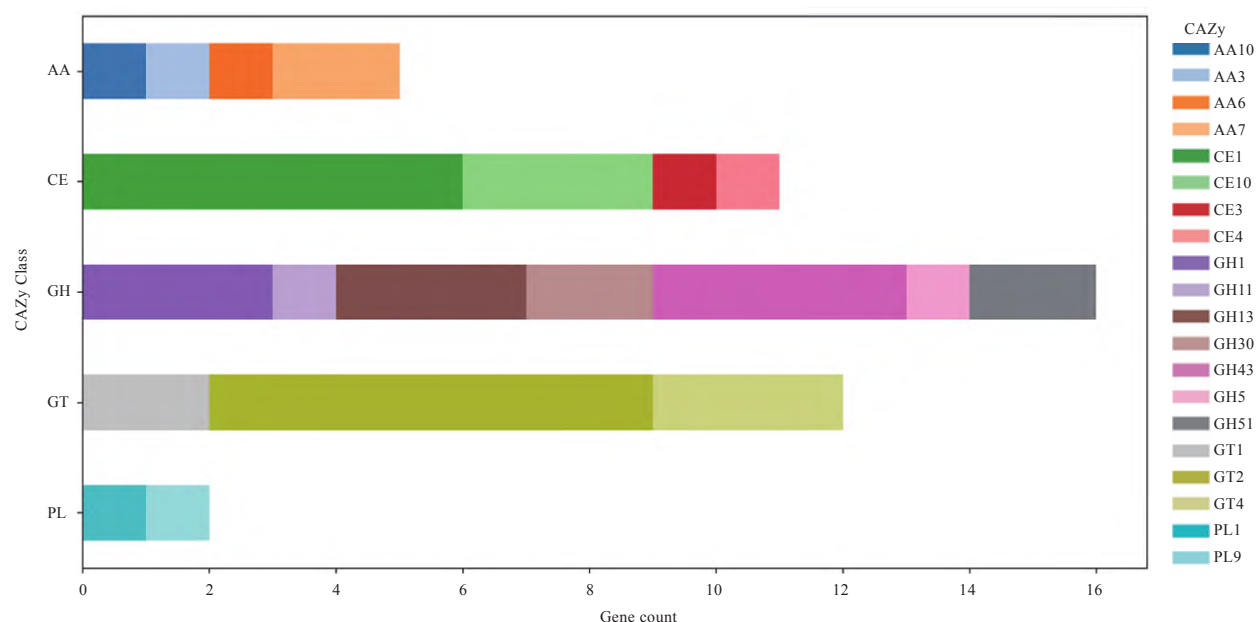


图 6 CAZy 注释结果

构柔性较强，可能适应于复杂纤维素基质（图 7B）。SWISS-MODEL 建模显示，该蛋白与 *Bacillus subtilis* 来源的内切 β -1,4- 葡聚糖酶（PDB: 3pzt.1.A）序列同源性 61%，解析度 1.97 Å，建模可信度较高，预测结构整体紧凑、简单明了（图 7D）。综合以上，*eglS* 编码蛋白属于 GH5 家族成员内切葡聚糖酶，是一类稳定且亲水的分泌蛋白，功能域明确、柔性良好、结构简单，具备良好的应用价值。

3 讨论

目前，从不同动物胃肠道内容物分离筛选到的高产纤维素酶菌株受到越来越多的关注，布氏田鼠盲肠^[14]、猪盲肠^[15]、牦牛粪便^[16]及大熊猫粪便^[17]等均被作为产纤维素酶菌株的分离来源。本文研究对象 YY24，来源于可能具有优质纤维素分解菌资源的柯乐猪肠道，经鉴定为贝莱斯芽孢杆菌（*Bacillus velezensis*），其在刚果红染色培养基上形成明显水解圈，D/d 值达 4.5，优于已报道的 8 株布氏田鼠盲肠源^[14]及 66 株马盲肠源纤维素降解菌^[18]，表明其具备较强的纤维素分解能力。

贝莱斯芽孢杆菌因其能分泌纤维素酶等多种酶类，具有解磷、产生物膜、产铁载体、次级代谢产物含多种抑菌物质等特性，被广泛应用于生物防治^[19]，促进植物生长^[20]，纤维素分解^[21]，改善动物肠道健康^[11]等方向，发展前景与应用潜力巨大。本研究分离自柯乐猪肠道的

Bacillus velezensis YY24，通过产纤维素酶条件初步探究发现，培养时间 48 h、初始 pH 7.0、接种龄 3 d、接种量 5% 条件下酶活最高，达（17.33±0.27）U/mL，较单因素试验初期的（15.13±0.75）U/mL 提升 14.5%。该结果与田思齐等^[17]从大熊猫粪便中筛选得到的高纤维素酶活菌株优化结果相似，进一步验证了优化培养条件对酶产量的提升作用。

当前，利用全基因组数据可以更全面地揭示细菌功能基因组成，开展功能基因挖掘^[22]。本研究通过 Illumina 测序组装获得 3.95 Mb 的高质量基因组草图，仅包含 20 条 contigs，N50 达 439 317 bp，组装质量优于部分同属研究报道^[23]。KEGG 功能注释结果显示，与碳水化合物代谢相关的通路最为丰富，特别是 ko00500（淀粉与蔗糖代谢）通路中标注了多种糖苷酶类基因。CAZy 数据库注释结果中，GH 类酶占比最高，且 GH5、GH1、AA10 等与纤维素降解密切相关的家族^[24]均有分布。马建飞等^[25]指出 ko00500 代谢通路与 GH 家族在纤维素降解中有着重要地位，支持本研究菌株在该功能上的遗传潜力。

纤维素的生物降解通常依赖多种酶的协同作用，其中内切葡聚糖酶通过断裂纤维素主链、创造反应位点，被视为关键酶类^[24]。本研究通过 KEGG 与 CAZy 联合注释，识别出候选基因 *eglS*，其定位于 ko00500 通路下的 K01179，同时隶属 GH5 家族内切葡聚糖酶。研究发

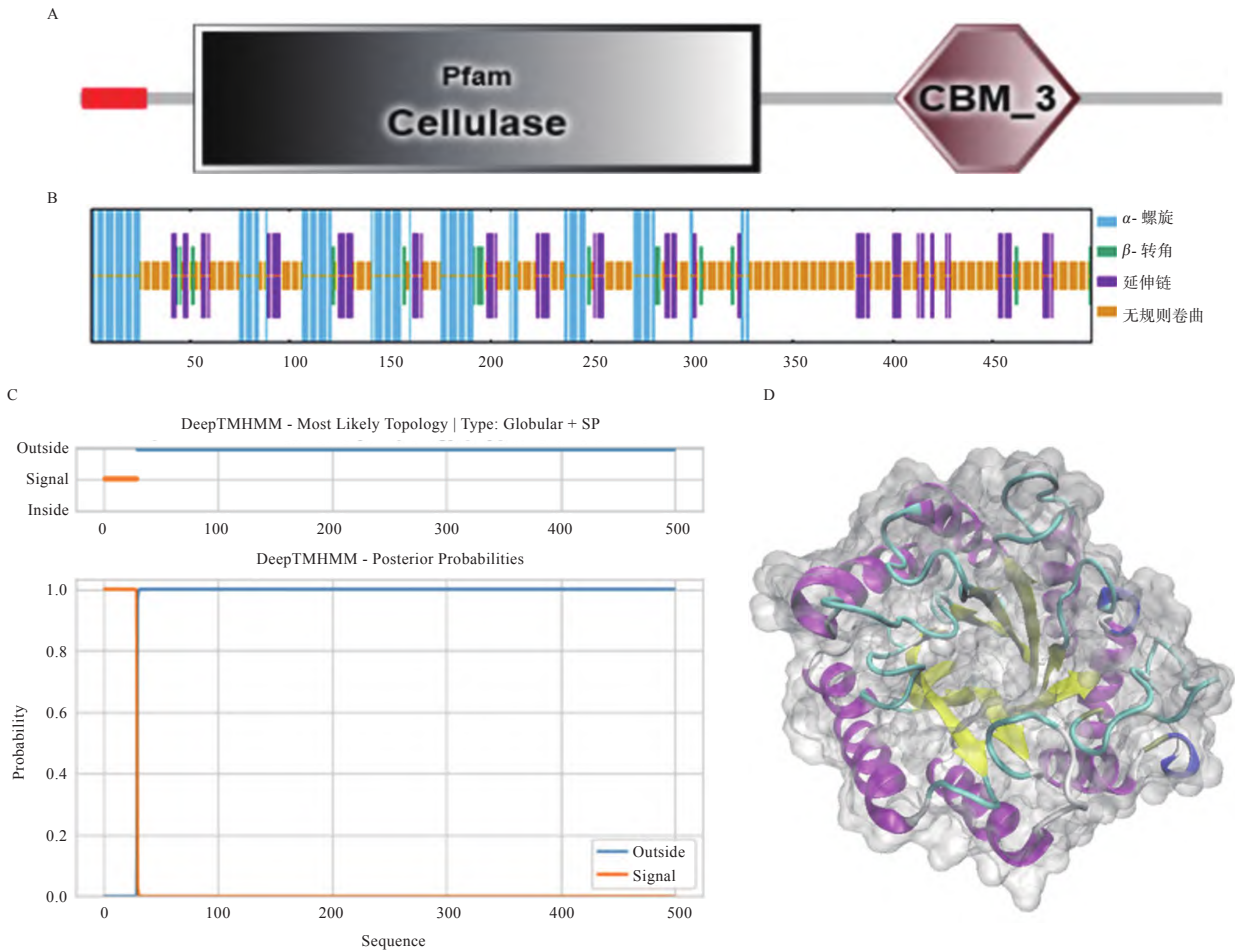


图 7 *egIS* 预测分析结果

现, GH5 家族结构包括 (β/α) 8-TIM 桶状催化结构域 (CD), 部分还具有碳水化合物结合模块 (CBM) [26-27]。结构域预测显示, *egIS* 蛋白同时具有 CD 与 CBM, 符合 GH5 多结构模块构型, 在结合难溶性纤维素方面具有天然优势。此外, UniProt 数据库 BLAST 结果显示, 本研究菌株的 *egIS* 蛋白与数据库中 10 个已验证的内切葡聚糖酶具有高同源性, 其中与 *B.subtilis* 来源的酶同源性达到 98.6%, 说明其结构保守, 功能潜力可靠。已有研究从不同来源微生物 [28-30] 中克隆高效内切葡聚糖酶并用于表达与应用验证, *egIS* 蛋白展示出良好的稳定性和亲水性, 具备异源表达潜力, 可为后续酶工程改造与酶制剂开发提供有力靶标与理论依据。

4 结 论

本文以柯乐猪肠道分离菌株 YY24 为研究对象, 证实其为具纤维素降解能力的贝莱斯芽孢杆菌。菌株在优

化条件下产酶活性得到提升, 展现出良好的应用潜力。基因组注释发现其含多种与纤维素降解相关的功能基因, 其中 GH5 家族内切葡聚糖酶 *egIS*, 经生物信息学工具预测具备良好的结构特征。该菌株有望作为纤维素酶制剂研发的重要候选资源。

参考文献:

[1] Bajaj P, Mahajan R. Cellulase and xylanase synergism in industrial biotechnology[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2019, 103(21-22): 8711-8724.

[2] 朱旗军, 刘魏魏, 杨培龙, 等. 我国秸秆转化技术及其在畜牧业上的应用 [J]. 中国饲料, 2024(13): 1-7.

[3] Sutaoney P, Rai S N, Sinha S, et al. Current perspective in research and industrial applications of microbial cellulases[J]. Int J Biol Macromol, 2024, 264(Pt 1): 130639.

[4] 阳治康, 殷运菊, 徐伟伟, 等. 纤维素酶的酶学特性及在禽生产中的应用研究进展 [J]. 中国畜牧杂志, 2024, 60(5): 88-93.

[5] 朱波, 赵青海, 钟蕾, 等. 金针菇菌渣饲料中添加纤维素酶及甘露寡糖对草鱼生长、肠道结构及血清生化指标的

- 影响[J]. 饲料工业, 2021, 42(4): 41-47.
- [6] Raza A, Bashir S, Pothula R, *et al.* Expression and functional characterization in yeast of an endoglucanase from *Bacillus sonorensis* BD92 and its impact as feed additive in commercial broilers[J]. *Int J Biol Macromol*, 2021, 176: 364-375.
- [7] 黄志远. 饲料中添加纤维素酶对肉鸡的影响[J]. 中国畜牧业, 2024(15): 53-55.
- [8] 王圣, 宋德荣, 侯健, 等. 贵州省赫章县柯乐猪产业现状及可持续性发展探索[J]. 养殖与饲料, 2024, 23(7): 42-45.
- [9] 杨莲, 燕志宏, 黄维江, 等. 纯种柯乐猪与巴×柯杂交猪肠道菌群结构的研究[J]. 动物营养学报, 2021, 33(3): 1359-1371.
- [10] 杨仕钰. 不同养殖模式柯乐猪大肠微生物区系及其纤维降解菌筛选研究[D]. 贵阳: 贵州大学, 2021.
- [11] 赵婷婷, 孙佳琪, 王文迪, 等. 贝莱斯芽胞杆菌对动物的益生作用研究进展[J]. 中国畜牧杂志, 2023, 59(7): 82-86.
- [12] 吴诗丽, 谢莹莹, 段雪凝, 等. 产纤维素酶菌株的筛选及其酶学性质研究[J]. 食品工业科技, 2024: 1-14.
- [13] 林淑华, 谭娟娟, 杨贝莹, 等. 野猪肠道菌群多样性分析及其益生菌的分离筛选[J]. 微生物学通报, 2025, 52(2): 757-770.
- [14] 顾明慧, 范瑞洋, 王道晨, 等. 布氏田鼠盲肠中纤维素分解菌的分离鉴定及其产酶条件优化[J]. 扬州大学学报(农业与生命科学版), 2023, 44(4): 90-97.
- [15] Abel-AzizHussein, 吴家勇, 姜海龙. 猪盲肠中纤维素分解菌的分离鉴定[J]. 吉林畜牧兽医, 2019, 40(8): 5-8.
- [16] 姜立春, 付丹阳, 赵欣悦, 等. 麦洼牦牛粪便纤维素降解菌的筛选、鉴定及产酶条件优化[J]. 江苏农业科学, 2024, 52(7): 223-230.
- [17] 田思齐, 郭爱伟, 和芳, 等. 大熊猫源纤维素分解菌的筛选及产酶发酵条件优化研究[J]. 西南林业大学学报(自然科学), 2023, 43(4): 197-204.
- [18] 李村院, 李晓悦, 刘夏, 等. 马盲肠纤维素分解菌的分离鉴定与酶活分析[J]. 家畜生态学报, 2022, 43(5): 28-34.
- [19] Kenfaoui J, Dutilloy E, Benchlih S, *et al.* *Bacillus velezensis*: a versatile ally in the battle against phytopathogens-insights and prospects[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2024, 108(1): 439.
- [20] 张津浩, 邓辉, 张清壮, 等. 贝莱斯芽胞杆菌 XY40-1 对百合球茎生长、品质及镉含量的调控作用[J]. 生物技术通报, 2025, 41(7): 271-291.
- [21] 黄悦姝, 邓超, 张馨月, 等. 贝莱斯芽胞杆菌 D103 产纤维素酶优化及途径分析[J]. 生物技术, 2023, 33(5): 632-640.
- [22] Lu W, Zha B, Lyu J, *et al.* Whole-genome sequencing and genomic analysis of four *Akkermansia* strains newly isolated from human feces[J]. *Front Microbiol*, 2024, 15: 1500886.
- [23] 王春玲, 黄钰婷, 刘星, 等. 一株贝莱斯芽胞杆菌鉴定、全基因组学分析及其抗病促生特性[J]. 微生物学报, 2025, 65(2): 745-757.
- [24] Suchova K, Feher C, Ravn J L, *et al.* Cellulose- and xylan-degrading yeasts: Enzymes, applications and biotechnological potential[J]. *Biotechnol Adv*, 2022, 59: 107981.
- [25] 马建飞, 徐均钊, 胡宗福, 等. 蒙古牛瘤胃微生物的宏基因组学分析[J]. 中国畜牧杂志, 2025, 61(3): 260-268.
- [26] Zheng F, Vermaas J V, Zheng J, *et al.* Activity and thermostability of GH5 endoglucanase chimeras from mesophilic and thermophilic parents[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2019, 85(5): e02079-18.
- [27] 杨俊钊, 张新蕊, 赵国柱, 等. 新型 GH5 家族多结构域纤维素酶的结构与功能研究[J]. 生物技术通报, 2023, 39(4): 71-80.
- [28] Zhang S, Xu Z, Wang T, *et al.* Endoglucanase improve the growth of homofermentative *Lactobacillus* spp. in ensilages[J]. *J Biotechnol*, 2019, 295: 55-62.
- [29] 圣弟青, 钮成拓, 闫亚楠, 等. 低温 β -1,4- 内切葡聚糖酶的基因挖掘、异源表达及其酶学性质表征[J]. 食品与发酵工业, 2024, 50(4): 17-24.
- [30] 沈晓静, 赵健, 王海娟, 等. 1 株内切葡聚糖酶基因 *Cel042* 的克隆与表达[J]. 安徽农业科学, 2025: 1-5.

(责任编辑: 周会会)