

## 芽胞杆菌拮抗人或动植物病毒的机制研究进展

王文迪<sup>1</sup>, 马红霞<sup>1,2</sup>, 么乃全<sup>1,2</sup>, 徐凤宇<sup>\*1,2</sup>, 高云航<sup>\*1,2</sup>

1 吉林农业大学动物科学技术学院/动物医学院, 吉林 长春 130118

2 动物生产及产品质量安全教育部重点实验室, 吉林 长春 130118

王文迪, 马红霞, 么乃全, 徐凤宇, 高云航. 芽胞杆菌拮抗人或动植物病毒的机制研究进展[J]. 微生物学通报, 2022, 49(5): 1969-1978

Wang Wendi, Ma Hongxia, Yao Naiquan, Xu Fengyu, Gao Yunhang. Research progress on antagonistic mechanisms of *Bacillus* species against human, animal or plant viruses[J]. Microbiology China, 2022, 49(5): 1969-1978

**摘要:** 病毒性疾病严重威胁着人类及动植物的健康。目前正在应用的防治病毒性疾病的方法及其作用有限, 开发无毒副作用、生态友好的抗病毒产品防控病毒性疾病非常必要。益生芽胞杆菌可产生核糖核酸酶、胞外聚合物等代谢物或成分, 通过增强机体免疫功能等机制发挥抗病毒作用, 有望被进一步开发用于病毒性疾病的防治。

**关键词:** 芽胞杆菌; 抵抗病毒; 机制

## Research progress on antagonistic mechanisms of *Bacillus* species against human, animal or plant viruses

WANG Wendi<sup>1</sup>, MA Hongxia<sup>1,2</sup>, YAO Naiquan<sup>1,2</sup>, XU Fengyu<sup>\*1,2</sup>, GAO Yunhang<sup>\*1,2</sup>

1 College of Animal Science and Technology, College of Veterinary Medicine, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, Jilin, China

2 Key Laboratory of Animal Production and Product Quality Safety of Ministry of Education, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, Jilin, China

**Abstract:** Viral disease threaten human beings, animal and plant health seriously. At present, the measures and effects for preventing and treating viral disease are limited. It is necessary to develop non-toxic and eco-friendly antiviral agents to prevent and control viral disease. Probiotics *Bacillus* species play an antiviral role by producing metabolites or components such as ribonuclease and

基金项目: 国家重点研发计划(2018YFD0501800, 2016YFD0501409); 吉林省科技发展计划(20170101055JC, 20190201296JC, 20210202051NC); 国家现代农业产业技术体系建设专项(CARS-37)

**Supported by:** National Key Research and Development Program of China (2018YFD0501800, 2016YFD0501409); Science and Technology Development Projects of Jilin Province (20170101055JC, 20190201296JC, 20210202051NC); National Modern Agricultural Industry Technology System Construction Project (CARS-37)

\*Corresponding authors: E-mail: XU Fengyu: 13756034228@163.com; GAO Yunhang: gaoyunhang@163.com

Received: 2021-07-23; Accepted: 2021-09-12; Published online: 2022-01-29

extracellular polymers, and enhancing immunity, which is expected to be further developed for the prevention and treatment of viral disease.

**Keywords:** *Bacillus* species; antiviral; mechanism

几个世纪以来,病毒引起的传染病威胁着人类及动植物的健康,也导致了严重的经济损失。在人类认识病毒的进程中,逐渐揭示了这类微小生物的形态、结构和致病机制,并运用这些性质分离、检测和防御有害病毒;但由于病毒具有变异和传播速度快等特性,以及目前应用的防治病毒性疾病措施应用范围有限等原因,致使病毒性疾病的发生猝不及防。探索生态友好、有效降低病毒感染的方法来应对病毒威胁非常必要<sup>[1]</sup>。在实施农产品绿色安全“菜篮子”工程的当下,无毒副作用的益生菌在动植物生产中越来越受到重视,其中芽胞杆菌作为

耐受性较强的植物根际促生菌(plant growth promoting rhizobacteria, PGPR)<sup>[2]</sup>及人和动物肠道的正常菌群组分备受关注<sup>[3]</sup>,近年来对其抗病毒作用<sup>[4]</sup>及机制研究也较多。本文针对芽胞杆菌的抗病毒机制进行综述,以期对芽胞杆菌在预防病毒感染中的应用提供科学依据。

## 1 芽胞杆菌抗植物病毒的机制

### 1.1 通过代谢产物或成分拮抗病毒

芽胞杆菌产生的核糖核酸酶(ribonuclease, RNase)等代谢产物或成分可拮抗植物病毒详见表 1。

表 1 芽胞杆菌产生拮抗植物病毒的代谢产物或成分及其作用

Table 1 Metabolites or components of antagonistic plant viruses produced by *Bacillus* species and their effects

抗病毒物质 Antiviral substances	菌株名称 Strain name	菌株来源 Sources of strain	目标病毒 Target virus	被抑制的病毒成分 Suppressed viral components	参考文献 References
核糖核酸酶 Ribonuclease (RNase)	苏云金芽胞杆菌 B-6066、B-6066 and 26D 芽胞杆菌 STL-7、芽胞杆菌 provided by the limited 菌 TS2、枯草芽胞杆菌 26D liability company <i>Bacillus thuringiensis</i> B-6066, <i>Bacillus</i> sp. STL-7, <i>Bacillus</i> sp. TS2, <i>Bacillus subtilis</i> 26D	Bashincom; STL7 derived from potato leaves; TS2 derived from <i>Triticum</i> <i>aestivum</i> L.	马铃薯 M、S、Y 病毒 PVX, PVS, PVY	ssRNA	[5]
环(L-亮氨酰-L-脯氨酰) (1) Cyclo(L-Leu-L-Pro) (1)	短小芽胞杆菌 E303035 <i>Bacillus pumilus</i> E303035	Qarhan Salt Lake in Qinghai, China	马铃薯 Y 病毒 PVY	<i>P3, HC-pro, Nib, NIa, VPg, 6K1</i> of PVY	[6]
2-(3-吡啶基)乙醇(4) 2-(3-Indolyl) ethanol (4)	短小芽胞杆菌 E303035 <i>Bacillus pumilus</i> E303035	Qarhan Salt Lake in Qinghai, China	马铃薯 Y 病毒 PVY	<i>P3, HC-pro, Nib, NIa, VPg, 6K1</i> of PVY	[6]
N-[2-(1H-吡啶-3-基)乙基]乙 酰胺(5) N-[2-(1H-indol-3-yl) ethyl] acetamide (5)	短小芽胞杆菌 E303035 <i>Bacillus pumilus</i> E303035	Qarhan Salt Lake in Qinghai, China	马铃薯 Y 病毒 PVY	<i>P3, VPg, 6K1</i> of PVY	[6]
对羟基苯乙醇(9) p-hydroxyphenethyl alcohol (9)	短小芽胞杆菌 E303035 <i>Bacillus pumilus</i> E303035	Qarhan Salt Lake in Qinghai, China	马铃薯 Y 病毒 PVY	<i>HC-pro, P3, Nib, VPg, 6K1</i> of PVY	[6]

RNase 可与 2',5'-寡腺苷酸和核苷酸结合而二聚化形成活性位点<sup>[7]</sup>, 切断病毒的 RNA (图 1)。Sorokan 等<sup>[5]</sup>研究了马铃薯内生芽胞杆菌 RNase 的活性, 这些菌在马铃薯植株地上部分可富集  $10^3$ - $10^5$  CFU/g 湿重; 培养苏云金芽胞杆菌 B-6066 和芽胞杆菌 STL-7、TS2 及枯草芽胞杆菌 26D 的培养基被检测到高水平的 RNase 活性; 在马铃薯植株内的芽胞杆菌菌株 B-6066、26D 和 TS2 RNase 活性持续时间较长; 芽胞杆菌在植株内的高定殖力及高 RNase 活性可降低马铃薯 M、S、Y 病毒所致疾病的发病率; 马铃薯产量的提高主要体现在块茎部分; 菌株 26D、TS2 的内生生活方式和 RNase 活性等可作为开发植物疫病生物防治制剂的依据。

Shen 等<sup>[6]</sup>研究了从青海省察尔汗盐湖土壤样品分离的嗜盐短小芽胞杆菌 E303035 的抗病毒活性, 发现其发酵液的乙酸乙酯提取物活性高于正丁醇提取物; 经纯化获得的化合物 1、5

和 9 对马铃薯 Y 病毒(potato virus Y, PVY)有明显抑制活性, 其  $EC_{50}$  值分别为 210.99、224.26 和 305.37  $\mu\text{g/mL}$ ; 化合物 1、4、5 和 9 (结构见图 2) 对 PVY 相关基因的抑制作用见表 1; 此外, 与对照组相比, 化合物 1、5 和 9 还可上调烟草植株基因 *cullin* (编码一种应激反应蛋白)和 *XTH* (编码木葡聚糖内转糖苷水解酶, 该酶参与细胞壁的延长和构建)的表达, 下调基因 *CPIP3*(编码与病毒衣壳蛋白作用的 CP 作用蛋白 3)的表达, 从而增强烟草植株抑制 PVY 增殖的能力。

## 1.2 通过微生物相关分子模式上调植物防御相关基因表达抵御病毒

解淀粉芽胞杆菌的微生物相关分子模式 (microbe associated molecular pattern, MAMP)促进植物抵御病毒。Vanthana 等<sup>[8]</sup>研究发现解淀粉芽胞杆菌 VB7 的 2 个 MAMP, 即鞭毛蛋白(Flg)和延长因子(EF-Tu)在诱导番茄抵御花生芽坏死病毒(groundnut bud necrosis tospovirus, GBNV)

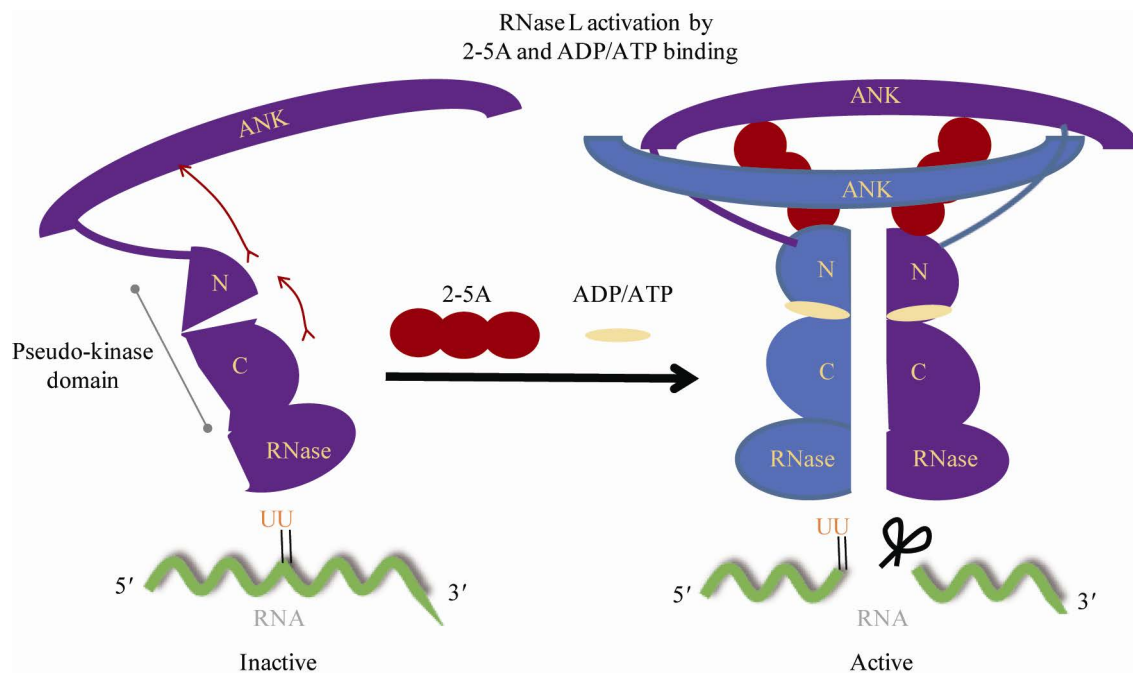


图 1 RNase L 的结构与激活<sup>[7]</sup>

Figure 1 Structures and activation of RNase L<sup>[7]</sup>.

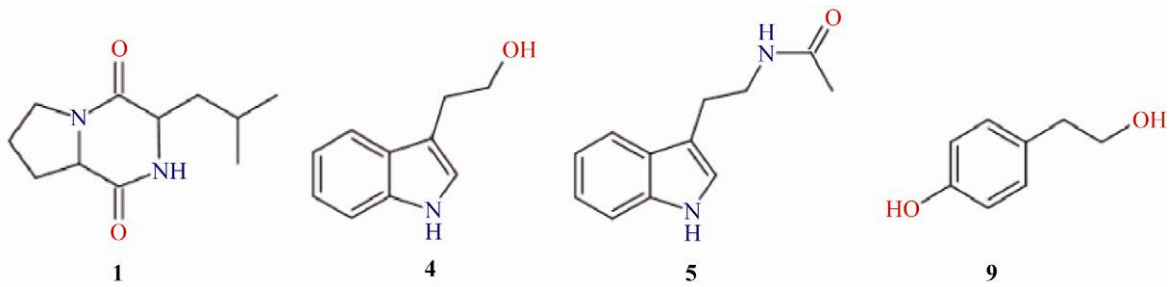


图 2 短小芽胞杆菌 E303035 株产生的化合物 1、4、5 和 9 的结构<sup>[6]</sup>

Figure 2 Structures of compounds 1, 4, 5 and 9 derived from *Bacillus pumilus* E303035<sup>[6]</sup>.

侵染中发挥作用；该菌株的次生代谢物可使 GBNV 所致的豇豆症状减轻 84%；用含 Flg (Ag-Ba.Flg)和 EF-Tu (Ag-Ba.Ef-Tu)基因的根癌农杆菌 EHA105 浇灌土壤和喷施叶面，可降低 GBNV 的滴度，两组  $OD_{405}$  值分别为 0.369 和 0.379，对照组  $OD_{405}$  值为 1.249；含 Ag-Ba.Flg 的根癌农杆菌可使疾病严重程度由 88.25%降低到 15%；番茄防御相关基因 *MAPKK1*、*WRKY33BB*、*NPR1* 和 *PR1* 表达也增加；证明了 MAMP 在番茄防御 GBNV 中的有效性。Rajamanickam 等<sup>[9]</sup>用根癌农杆菌表达了解淀粉芽胞杆菌菌株 CRN9 的鞭毛蛋白，发现 *WRKY33* 转录因子和水杨酸(salicylic acid, SA)反应性防御基因(*NPR1*、*PAL*、*PO* 和 *SAR8.2*)的转录水平提高；进一步分析表明，用解淀粉芽胞杆菌或苯并噻二唑(benzothiadiazole, BTH)处理的辣椒植株对茉莉酸反应相关的基因 *viz*、*PDF* 和 *LOX* 有显著诱导作用，而且防御反应和植物病程相关(pathogenesis related, PR)基因转录水平在接种后 72 h 仍显著高于对照组，qPCR 证实二者可降低 GBNV 滴度；说明鞭毛蛋白作为解淀粉芽胞杆菌菌株 CRN9 的 MAMP，能经 SA 和 JA/ET 信号通路通过激活诱导系统抗性(induced systemic resistance, ISR)，触发辣椒天然免疫，限制病毒繁殖。

### 1.3 上调植物抗病相关分子抵御病毒

解淀粉芽胞杆菌可上调 PR 基因的表达及

SA、茉莉酸(jasmonic acid, JA)的产生。Lee 等<sup>[10]</sup>经 3 年试验发现，叶片(樱桃树叶源)定殖的解淀粉芽胞杆菌菌株 5B6 可保护本氏烟和辣椒抗黄瓜花叶病毒(cucumber mosaic virus, CMV)；通过定量 RT-PCR 测定，与水对照组相比，5B6 处理可显著降低 CMV 衣壳蛋白 RNA 相对含量；可上调田间栽培的辣椒植株 PR 基因 *CaPR4*、*CaPR5* 和 *CaPR10* 的表达；菌株 5B6 处理叶面可减少蚕豆萎蔫病毒和胡椒斑驳病毒的积累，并与 *BTH* 处理效果相似；另外，该菌株可通过增强辣椒 SA 和 JA 防御信号启动，促进植物抵御病毒。Beris 等<sup>[11]</sup>也发现，在 2 种不同环境条件下，经水浸、叶面或土壤施用解淀粉芽胞杆菌菌株 MBI600 可使番茄斑萎病发病率降低 80%；分析与 SA 或 JA 相关的防御、启动或基础防御相关基因的转录情况，发现 MBI600 处理后的番茄 SA 信号通路被诱导。

地衣芽胞杆菌促进多酚类化合物积累。Abdelkhalek 等<sup>[12]</sup>以马铃薯为材料研究了地衣芽胞杆菌 POT1 抗苜蓿花叶病毒(alfalfa mosaic virus, AMV)的活性：在 AMV 接种叶片前、后 24 h，分别用 POT1 的培养滤液(culture filtrate, CF)喷施叶片，发现病毒积累水平降低 86.79%，生长参数明显改善；HPLC 分析结果表明，POT1 处理和未处理植株中的 20 种多酚类化合物累积量分别为 7 218.86 mg/kg 和 1 606.49 mg/kg；

对控制苯丙素、绿原酸和黄酮类物质生物合成途径的 13 个基因进行转录分析表明, 大部分基因在 POT1 处理后被诱导, 其中植物黄酮类合成关键酶 F3H 和花青素 2 转录因子 AN2 的表达量分别提高到 588.133 倍和 97.005 倍, 提示黄酮类物质特别是花青素的积累可能在防御病毒感染中发挥重要作用。

## 2 芽胞杆菌抗人或动物病毒的机制

### 2.1 通过代谢产物或成分拮抗人或动物病毒

研究表明, 芽胞杆菌产生的表面活性素 (surfactin) 等代谢产物或成分可拮抗人或动物病毒(表 2)。

#### 2.1.1 表面活性素抑制病毒囊膜与宿主细胞膜融合

膜融合是囊膜病毒侵袭细胞的关键步骤, 膜融合抑制剂可作为有效的抗病毒药物。Yuan 等<sup>[13]</sup>发现, 枯草芽胞杆菌产生的表面活性素(图 3) 在较低浓度(15–50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )时可抑制猪流行性腹泻病毒(porcine epidemic diarrhea virus, PEDV) 和传染性胃肠炎病毒(transmissible gastroenteritis virus, TGEV)在上皮细胞中增殖, 从而使其不产生细胞毒性; 实验表明, 表面活性素具有膜融合抑制作用, 可显著降低病毒融合到细胞膜的速率; 热力学实验表明, 少量表面活性素掺入可阻碍片层状脂质所致负曲率形成; 作者合成了类似表面活性素的荧光脂肽, 并用光谱学方法证实了

表 2 芽胞杆菌产生拮抗人或动物病毒的代谢产物或成分及其机制

Table 2 Metabolites or components of antagonistic human or animal viruses produced by *Bacillus* species and their mechanism

抗病毒物质	菌株名称	目标病毒	作用机制	参考文献
Antiviral substance	Strains' name	Target virus	Mechanism	References
表面活性素 Surfactin	枯草芽胞杆菌 OKB105 <i>Bacillus subtilis</i> OKB105	猪流行性腹泻病毒和传 染性胃肠炎病毒 PEDV, TGEV	Inhibit membrane fusion during invasion of epithelial cells by enveloped viruses	[13]
聚- $\gamma$ -谷氨酸 Poly- $\gamma$ -glutamic acid ( $\gamma$ -PGA)	堀越芽胞杆菌 APA <i>Bacillus horneckiae</i> APA	单纯疱疹病毒 1 型 HSV-1	Hindered the HSV-1 infection in the very early phase of virus replication	[14]
	枯草芽胞杆菌 chungkookjang <i>Bacillus subtilis</i> chungkookjang	小鼠诺如病毒 MNV	Increased serum IFN- $\beta$ levels	[15]
胞外聚合物 Exopolymer (EPSp)	地衣芽胞杆菌 IDN-EC <i>Bacillus licheniformis</i> IDN-EC	疱疹病毒、猪伪狂犬病 病毒和水泡性口炎病毒 HSV, PRV, VSV	Inhibiting viral entry	[16]
小非编码双链 RNA Small non-coding double stranded RNA (dsRNA)	枯草芽胞杆菌 MTCC5480 <i>Bacillus subtilis</i> MTCC5480	人免疫缺陷病毒 HIV	Inhibition of reverse transcription at the early stage of infection and suppression of translation at the post-integration stage	[17]
核糖核酸酶 Ribonuclease produced by <i>Bacillus</i> <i>pumilus</i> (binase)	短小芽胞杆菌 <i>Bacillus pumilus</i>	A 型流感病毒 IAV	Inversion of virus-induced proteomic changes	[18]

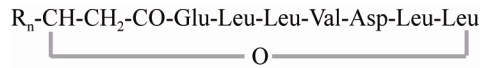


图3 常规表面活性素同系物的分子式<sup>[13]</sup>

Figure 3 General structural formula for surfactin homologues<sup>[13]</sup>.

其插入病毒囊膜的能力; 体内试验还表明口服表面活性素对仔猪有保护作用, 可预防 PEDV 感染。

### 2.1.2 胞外聚合物抑制病毒入侵

聚- $\gamma$ -谷氨酸(poly- $\gamma$ -glutamic acid,  $\gamma$ -PGA)是芽胞杆菌产生的胞外聚合物。Marino-Merlo等<sup>[14]</sup>研究发现, 耐热掘越芽胞杆菌(*Bacillus horneckiae*) APA 株产生的聚- $\gamma$ -谷氨酸( $\gamma$ -PGA-APA)有抗单纯疱疹病毒 1 型(herpes simplex virus type 1, HSV-1)特性和低细胞毒性, 此聚合物在 HSV-1 复制早期发挥作用。

Lee等<sup>[15]</sup>展示了 $\gamma$ -PGA(图4)抗诺如病毒效果, 通过诱导 IFN- $\beta$  产生, 分子量为 2 000 kDa 的 $\gamma$ -PGA能限制小鼠诺如病毒(murine norovirus, MNV)在 RAW264.7 中复制, 并抵抗病毒感染诱导的细胞死亡; 研究还表明 $\gamma$ -PGA可干扰病毒进入细胞, 此抗病毒作用与 TLR4 相关的辅助因子 MD2 和 CD14 对 $\gamma$ -PGA的感应有关; 在小鼠回肠离体培养中, $\gamma$ -PGA能选择性增加绒毛 IFN- $\beta$  的表达, 口服 $\gamma$ -PGA可提高小鼠血清中 IFN- $\beta$  水平而不诱导促炎细胞因子, 而且降低小鼠回肠 Peyer's 结和肠系膜淋巴结中 MNV 的负荷。

Sánchez-León等<sup>[16]</sup>对地衣芽胞杆菌 IDN-EC 产生的胞外聚合物(exopolymer, EPSp, 主要成分为磷壁酸多糖和聚谷氨酸, 图5)进行了分离

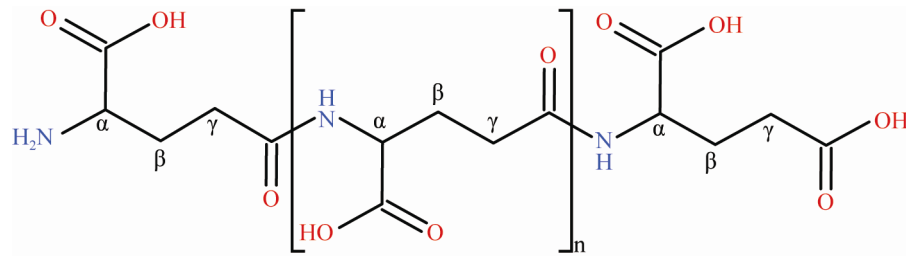


图4 聚- $\gamma$ -谷氨酸的分子结构<sup>[15]</sup>

Figure 4 Molecular structure of  $\gamma$ -PGA<sup>[15]</sup>.

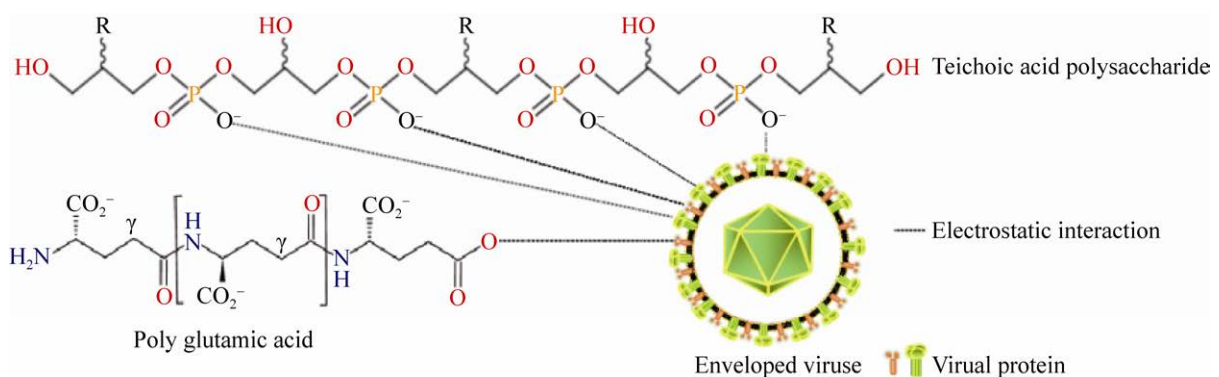


图5 地衣芽胞杆菌 IDN-EC 株产生的胞外聚合物的结构及其作用<sup>[16]</sup>

Figure 5 Structure and function of exopolymer derived from *Bacillus licheniformis* IDN-EC<sup>[16]</sup>.

和表征, 结果表明 EPSp 能有效抑制单纯疱疹病毒、猪伪狂犬病病毒和水泡性口炎病毒侵入, 但对非囊膜病毒无效; 在小鼠体内 EPSp 无毒性, 有望被用于医疗保健领域。

### 2.1.3 产生小型非编码调节 RNA 拮抗病毒

Imrat 等<sup>[17]</sup>评估了从印度东北部自然发酵大豆中分离的 12 种不同微生物产生的小非编码 dsRNA 的抗 HIV 活性, 发现枯草芽胞杆菌菌株 MTCC5480 产生的 34 个核苷酸的 dsRNA (序列为 3'-UUGGUACACGAGAUGGUUCGACUCG AUGAAGGGC-5', 图6)与 HIV-1 的碱基互补值远高于曾报道的 miRNAs; 作者分离此 dsRNA, 验证了其具有抗 JRCSF 株 HIV-1 感染外周血单核细胞的活性, 其  $EC_{50}$  值为 0.2–0.3  $\mu\text{mol/L}$ , 在 HIV-1 感染早期可抑制逆转录和整合后的翻译, 值得作为抗病毒治疗剂进一步研究。

### 2.1.4 核糖核酸酶预防病毒感染

Ulyanova 等<sup>[18]</sup>研究表明, 短小芽胞杆菌产生的 RNase 即 Binase, 可通过逆转病毒诱导的 A549 细胞蛋白组学变化, 抑制病毒相关过程, 从而实现抗 A 型流感病毒 H1N1pdm09 的活性, 包括在感染中期诱导的核糖核蛋白输出蛋白(NCL、NPM1、Nup205 和 Bax)及细胞骨架重塑蛋白(RDX、PFN1 和 TUBB)等, 免疫反应的调节也可能参与其中, 可见 Binase 以多种方式发挥抗病毒效应。

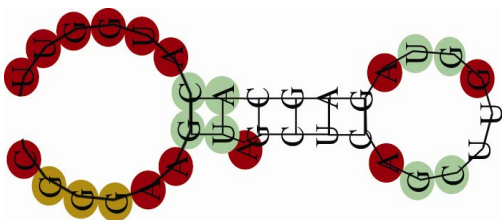


图 6 枯草芽胞杆菌 MTCC5480 株产生的 34 个核苷酸的小非编码 dsRNA 序列<sup>[17]</sup>

Figure 6 34 bases small non-coding dsRNA sequence produced by *Bacillus subtilis* MTCC5480<sup>[17]</sup>.

Andreeva 等<sup>[19]</sup>优化了苏云金芽胞杆菌分泌 RNase 的培养条件, 酶谱分析表明, 培养液中含有 55 kDa 及低分子量(15–20 kDa)的 RNase, 其含量取决于培养时间和培养条件, 培养滤液可有效抵抗流感病毒 A/Aichi/2/68 (H3N2); 选择有效的苏云金杆菌株培养滤液预防接种, 1 h 后以 10  $LD_{50}$  流感病毒感染小鼠, 发现可提供 50%的保护, 接近参考药物达菲。

## 2.2 激活动物细胞抵御病毒

肺泡巨噬细胞(alveolar macrophage, AM)是呼吸道中天然免疫细胞之一, 参与对呼吸道合胞病毒(respiratory syncytial virus, RSV)感染的保护; Hong 等<sup>[20]</sup>研究表明, 鼻内给予枯草芽胞杆菌可提高炎性细胞因子的产生, 激活 M1 巨噬细胞分化相关的部分基因, 明显降低 RSV 滴度和肺部病理损伤, 此效应依赖芽胞对 AM 的 TLR-MyD88 的信号转导。

Paparo 等<sup>[21]</sup>用细胞模型研究发现, 4 株(O/C、T、SIN 和 N/R)克劳斯芽胞杆菌(*Bacillus clausii*)混合物可保护肠细胞抵抗轮状病毒引起的跨膜电阻降低, 促进黏蛋白 5AC 和紧密连接蛋白(occludin 和 zonula occludens-1)的表达, 保护黏膜屏障; 克劳斯芽胞杆菌还能抑制轮状病毒感染细胞产生活性氧和促炎性细胞因子(IL-8 和 INF- $\beta$ ), 下调促炎 TLR3 通路基因表达。

## 2.3 调节动物免疫机能

Lai 等<sup>[22]</sup>研究了解淀粉芽胞杆菌对克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)感染白斑综合症病毒(white spot syndrome virus, WSSV)的影响, 发现饲料中添加解淀粉芽胞杆菌可显著降低血细胞凋亡率、WSSV 感染小龙虾的死亡率及 WSSV 的拷贝数, 定量分析表明其可增加 Toll 样受体、NF- $\kappa$ B 和 C 型凝集素等免疫相关基因的表达, 对血细胞总数、酚氧化酶活性和超氧化物歧化酶活性也有影响。

Han 等<sup>[23]</sup>研究表明枯草芽胞杆菌及其表面活性素可抑制病毒性出血性败血症病毒(viral hemorrhagic septicemia virus, VHSV)感染牙鲈肠上皮细胞,用口服枯草芽胞杆菌的鱼肠道匀浆处理的鲤鱼上皮细胞可抑制 VHSV,而对照组在接种 VHSV 48 h 后出现 CPE;攻毒 96 h 后,未服枯草芽胞杆菌鱼的头肾、脾匀浆处理组存在 CPE。由于枯草芽胞杆菌的免疫调节功能,研究人员将其作为免疫佐剂<sup>[24]</sup>或抗原运送载体<sup>[25-26]</sup>应用于疫苗研制中。

Waiyamitra 等<sup>[27]</sup>发现用添加 1%益生芽胞杆菌(由枯草芽胞杆菌、地衣芽胞杆菌和短小芽胞杆菌组成)的饲料饲喂的罗非鱼,在感染罗非鱼病毒后 5、6、9 和 12 d 的病毒载量明显低于添加 0.5%或不添加该混合菌饲喂的罗非鱼,鱼的 *il-8*、*ifn- $\gamma$* 、*irf-3*、*mx* 和 *rsad-2* 等免疫相关基因表达明显上调。

Tsai 等<sup>[28]</sup>给鸽感染圆环病毒,然后用鸽粪源贝莱斯芽胞杆菌饲喂鸽 60 d,发现贝莱斯芽胞杆菌可明显降低鸽脾和粪中圆环病毒载量,饲喂贝莱斯芽胞杆菌的试验鸽 IFN- $\gamma$ 、抗黏病毒 1 (myxovirus resistance 1, Mx1)、信号转导因子和转录激活因子 1 (signal transducers and activators of transcription 1, STAT1)的 mRNA 水平上调,TLR2 和 TLR4 也显著上调。

本实验室的研究表明,饲喂枯草芽胞杆菌 CCBS-1 可提高实验小鼠淋巴细胞转化率、NK 细胞活性及 IL-4、IFN- $\gamma$  表达量和非特异性 IgG 水平,从而提高昆明鼠对猪疱疹病毒 1 型的抵抗力<sup>[29]</sup>。

### 3 结语

综上所述,芽胞杆菌的抗病毒机制被逐渐揭示,部分产品在动物中应用的安全性也受到关注<sup>[30-31]</sup>,与其抗细菌、真菌等作用<sup>[32]</sup>一起,为

预防持续存在的人类或动植物疫病提供了一种可能方法。然而不同的芽胞杆菌其抗病毒机制不同,抗病毒谱也存在差异,抗病毒成分的含量与培养条件或发酵产物<sup>[33]</sup>相关,其抗病毒效果也不能与相关药物相比,在应用前尚需优化培养和使用条件、明确使用范围及与其他制剂联合使用的效果,使益生芽胞杆菌在促进动植物健康生长的同时更好地发挥抗病作用,使其在“禁抗”形势下遵循自然规律实现农业绿色发展及保障人类健康中更好地发挥作用。

### REFERENCES

- [1] Li Y, Xiao YS, Chen YC, Huang K. Nano-based approaches in the development of antiviral agents and vaccines[J]. Life Sciences, 2021, 265: 118761
- [2] Hashem A, Tabassum B, Fathi Abd\_Allah E. *Bacillus subtilis*: a plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress[J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2019, 26(6): 1291-1297
- [3] Khan S, Moore RJ, Stanley D, Chousalkar KK. The gut microbiota of laying hens and its manipulation with prebiotics and probiotics to enhance gut health and food safety[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2020, 86(13): e00600-20
- [4] 李静. 解淀粉芽胞杆菌对乳鼠感染轮状病毒防治作用研究[D]. 长春: 吉林农业大学硕士学位论文, 2015  
Li J. Studies on the effects of *Bacillus amyloliquefaciens* in prevention and treatment of *Rotavirus* infective suckling mice[D]. Changchun: Master's Thesis of Jilin Agricultural University, 2015 (in Chinese)
- [5] Sorokan A, Cherepanova E, Burkhanova G, Veselova S, Rumyantsev S, Alekseev V, Mardanshin I, Sarvarova E, Khairullin R, Benkovskaya G, et al. Endophytic *Bacillus* spp. as a prospective biological tool for control of viral diseases and non-vector *Leptinotarsa decemlineata* say. in *Solanum tuberosum* L[J]. Frontiers in Microbiology, 2020. DOI: 10.3389/fmicb.2020.569457
- [6] Shen S, Li W. The inhibitory effects of metabolites from *Bacillus pumilus* on potato virus Y and the induction of early response genes in *Nicotiana tabacum*[J]. AMB Express, 2020, 10(1): 152
- [7] Huang H, Zeqiraj E, Dong BH, Jha BK, Duffy NM,



- Orlicky S, Thevakumaran N, Talukdar M, Pillon MC, Ceccarelli DF, et al. Dimeric structure of pseudokinase RNase L bound to 2-5A reveals a basis for interferon-induced antiviral activity[J]. *Molecular Cell*, 2014, 53(2): 221-234
- [8] Vanthana M, Nakkeeran S, Malathi VG, Renukadevi P, Vinodkumar S. Induction of in planta resistance by flagellin (Flg) and elongation factor-TU (EF-Tu) of *Bacillus amyloliquefaciens* (VB<sub>7</sub>) against groundnut bud necrosis virus in tomato[J]. *Microbial Pathogenesis*, 2019, 137: 103757
- [9] Rajamanickam S, Nakkeeran S. Flagellin of *Bacillus amyloliquefaciens* works as a resistance inducer against groundnut bud necrosis virus in chilli (*Capsicum annum* L.)[J]. *Archives of Virology*, 2020, 165(7): 1585-1597
- [10] Lee GH, Ryu CM. Spraying of leaf-colonizing *Bacillus amyloliquefaciens* protects pepper from cucumber mosaic virus[J]. *Plant Disease*, 2016, 100(10): 2099-2105
- [11] Beris D, Theologidis I, Skandalis N, Vassilakos N. *Bacillus amyloliquefaciens* strain MBI600 induces salicylic acid dependent resistance in tomato plants against tomato spotted wilt virus and potato virus Y[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8: 10320
- [12] Abdelkhalek A, Al-Askar AA, Behiry SI. *Bacillus licheniformis* strain POT1 mediated polyphenol biosynthetic pathways genes activation and systemic resistance in potato plants against alfalfa mosaic virus[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10: 16120
- [13] Yuan LF, Zhang S, Wang YH, Li YC, Wang XQ, Yang Q. Surfactin inhibits membrane fusion during invasion of epithelial cells by enveloped viruses[J]. *Journal of Virology*, 2018, 92(21):e00809-18
- [14] Marino-Merlo F, Papaiani E, Maugeri TL, Zammuto V, Spanò A, Nicolaus B, Poli A, Donato P, Mosca C, Mastino A, et al. Anti-*Herpes simplex* virus 1 and immunomodulatory activities of a poly- $\gamma$ - glutamic acid from *Bacillus horneckiae* strain APA of shallow vent origin[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2017, 101(20): 7487-7496
- [15] Lee W, Kim M, Lee SH, Jung HG, Oh JW. Prophylactic efficacy of orally administered *Bacillus* poly- $\gamma$ -glutamic acid, a non-LPS TLR4 ligand, against *Norovirus* infection in mice[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8: 8667
- [16] Sánchez-León E, Bello-Morales R, López-Guerrero JA, Poveda A, Jiménez-Barbero J, Gironès N, Abrusci C. Isolation and characterization of an exopolymer produced by *Bacillus licheniformis*: *in vitro* antiviral activity against enveloped viruses[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2020, 248: 116737
- [17] Imrat, Labala RK, Velhal S, Bhagat S, Patel V, Jeyaram K. Small double-stranded RNA with anti-HIV activity abundantly produced by *Bacillus subtilis* MTCC5480 isolated from fermented soybean[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 161: 828-835
- [18] Ulyanova V, Shah Mahmud R, Laikov A, Dudkina E, Markelova M, Mostafa A, Pleschka S, Ilinskaya O. Anti-influenza activity of the ribonuclease binase: cellular targets detected by quantitative proteomics[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(21): 8294
- [19] Andreeva IS, Mazurkova NA, Zakabunin AI, Puchkova LI, Filippova EI, Safatov AS. Evaluation of the effectiveness of metabolites of bacterial strains *Bacillus thuringiensis* against human influenza virus A/Aichi/2/68 (H3N2) *in vitro* and *in vivo*[J]. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2020, 169(5): 653-656
- [20] Hong JE, Kye YC, Park SM, Cheon IS, Chu H, Park BC, Park YM, Chang J, Cho JH, Song MK, et al. Alveolar macrophages treated with *Bacillus subtilis* spore protect mice infected with respiratory syncytial virus A2[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 447
- [21] Paparo L, Tripodi L, Bruno C, Pisapia L, Damiano C, Pastore L, Berni Canani R. Protective action of *Bacillus clausii* probiotic strains in an *in vitro* model of *Rotavirus* infection[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10: 12636
- [22] Lai YY, Luo M, Zhu F. Dietary *Bacillus amyloliquefaciens* enhance survival of white spot syndrome virus infected crayfish[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2020, 102: 161-168
- [23] Han SR, Munang'andu HM, Yeo IK, Kim SH. *Bacillus subtilis* inhibits viral hemorrhagic septicemia virus infection in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) intestinal epithelial cells[J]. *Viruses*, 2020, 13(1): 28
- [24] Lee JE, Kye YC, Park SM, Shim BS, Yoo S, Hwang E, Kim H, Kim SJ, Han SH, Park TS, et al. *Bacillus subtilis* spores as adjuvants against avian influenza H9N2 induce antigen-specific antibody and T cell responses in White Leghorn chickens[J]. *Veterinary Research*, 2020, 51(1): 68
- [25] Jiang HY, Bian Q, Zeng WW, Ren PL, Sun HC, Lin ZP,

- Tang ZL, Zhou XY, Wang Q, Wang YY, et al. Oral delivery of *Bacillus subtilis* spores expressing grass carp reovirus VP<sub>4</sub> protein produces protection against grass carp reovirus infection[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 84: 768-780
- [26] Lü P, Song YY, Liu C, Yu LP, Shang YL, Tang H, Sun SH, Wang FK. Application of *Bacillus subtilis* as a live vaccine vector: a review[J]. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 2020, 82(11): 1693-1699
- [27] Waiyarnit P, Zoral MA, Saengtienchai A, Luengnaruemitchai A, Decamp O, Gorgoglione B, Surachetpong W. Probiotics modulate tilapia resistance and immune response against tilapia lake virus infection[J]. *Pathogens*, 2020, 9(11): 919
- [28] Tsai CY, Hu SY, Santos HM, Catulin GEM, Tayo LL, Chuang KP. Probiotic supplementation containing *Bacillus velezensis* enhances expression of immune regulatory genes against pigeon *Circovirus* in pigeons (*Columba livia*)[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2021, 130(5): 1695-1704
- [29] 王美玲. 枯草芽孢杆菌对猪疱疹病毒1型体内外拮抗作用研究[D]. 长春: 吉林农业大学硕士学位论文, 2017
- Wang ML. Study on the antagonism of *Bacillus subtilis* to suid herpesvirus type 1 *in vitro* and *in vivo*[D]. Changchun: Master's Thesis of Jilin Agricultural University, 2017 (in Chinese)
- [30] Xiao S, Dong YS, Hu KK, Hu DB, Zhou L, Wang YF. Acute and subchronic toxicities and safety pharmacology studies of a *Bacillus subtilis* in dogs[J]. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 2021, 44(2): 211-218
- [31] Yue SS, Li ZT, Hu FL, Picimbon JF. Curing piglets from diarrhea and preparation of a healthy microbiome with *Bacillus* treatment for industrial animal breeding[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10: 19476
- [32] Lastochkina O, Baymiev A, Shayahmetova A, Garshina D, Koryakov I, Shpirnaya I, Pusenkova L, Mardanshin I, Kasnak C, Palamutoglu R. Effects of endophytic *Bacillus subtilis* and salicylic acid on postharvest diseases (*Phytophthora infestans*, *Fusarium oxysporum*) development in stored potato tubers[J]. *Plants*, 2020, 9(1): 76
- [33] Padhi S, Sanjukta S, Chourasia R, Labala RK, Singh SP, Rai AK. A multifunctional peptide from *Bacillus* fermented soybean for effective inhibition of SARS-CoV-2 S1 receptor binding domain and modulation of toll like receptor 4: a molecular docking study[J]. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 2021. DOI: 10.3389/fmolb.2021.636647