

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2015 年 12 月 10 日 (10.12.2015) WIPO | PCT



(10) 国际公布号
WO 2015/184935 A1

- (51) 国际专利分类号:
C12N 1/20 (2006.01) *C12R 1/125* (2006.01)
C02F 3/34 (2006.01) *C12R 1/10* (2006.01)
C12R 1/07 (2006.01) *C12R 1/11* (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2015/077473
- (22) 国际申请日: 2015 年 4 月 26 日 (26.04.2015)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
201410241782.8 2014 年 6 月 3 日 (03.06.2014) CN
- (71) 申请人: 江南大学 (JIANGNAN UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国江苏省无锡市蠡湖大道 1800 号张梁, Jiangsu 214122 (CN)。泰州绿圣元生物科技有限公司 (TAIZHOU LVSHENGYUAN BIOLOGICAL CO. LTD.) [CN/CN]; 中国江苏省泰州市姜堰经济开发区淮海西路南侧石孔泉, Jiangsu 225500 (CN)。江苏大有生物科技发展有限公司 (JIANGSU DAYOU BIOLOGICAL DEVELOPMENTAL CO. LTD.) [CN/CN]; 中国江苏省无锡市中国江苏省无锡市高浪东路 999 号 A1 号楼 319 室唐旭彪, Jiangsu 214131 (CN)。
- (72) 发明人: 张梁 (ZHANG, Liang); 中国江苏省无锡市江苏省无锡市蠡湖大道 1800 号张梁, Jiangsu 214122 (CN)。石孔泉 (SHI, Kongquan); 中国江苏省泰州市姜堰经济开发区淮海西路南侧石孔泉, Jiangsu 225500 (CN)。唐旭彪 (TANG, Xubiao); 中国江苏省无锡市高浪东路 999 号 A1 号楼 319 室唐旭彪, Jiangsu 214131 (CN)。
- (74) 代理人: 无锡华源专利事务所 (普通合伙) (WUXI HUAYUAN PATENT ATTORNEYS (GENER-

AL PARTNERSHIP)); 中国江苏省无锡市学前街 168 号科技大厦聂启新 309-1, Jiangsu 214100 (CN)。

- (81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。
- (84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

根据细则 4.17 的声明:

- 关于申请人有权申请并被授予专利(细则 4.17(ii))
- 发明人资格(细则 4.17(iv))

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。
- 包括按细则 13 之二规定在说明书以外提交的关于生物材料保藏的说明(细则 13 之二.4(d)(i)和 48.2(a)(viii))。

(54) Title: EFFICIENT BOTTOM TREATMENT BACILLUS, COMPOSITE BOTTOM TREATMENT INOCULANT PREPARED USING SAME AND APPLICATIONS THEREOF

(54) 发明名称: 一株高效底改芽孢杆菌及其制成的复合底改菌剂和应用

(57) Abstract: Provided is a bacillus tequilensis ZSGD5, which is preserved on January 6, 2014 with an accession number being CCTCC NO: M 2014004. Also provided is a composite micro-ecological bacillus preparation, which is composed of the following strains: bacillus tequilensis, the first kind of bacillus subtilis, the second kind of bacillus subtilis, the first kind of bacillus licheniformis, the second kind of bacillus licheniformis, bacillus pumilus and bacillus megatherium. The bacillus tequilensis is capable of efficiently purifying the bottom of a water body, rapidly decomposing and reducing sludge on the bottom of a pool and effectively improving the black water and muddy water phenomena of an environmental water body, and can be used in water environment treatment in aquaculture and municipal wastewater treatment.

(57) 摘要: 提供了一株特基拉芽孢杆菌(Bacillus tequilensis)ZSGD5, 保藏编号为 CCTCC NO: M 2014004, 保藏日期为 2014 年 1 月 6 日。还提供了一种复合微生态芽孢杆菌制剂, 由以下菌种组成: 特基拉芽孢杆菌、第一类枯草芽孢杆菌、第二类枯草芽孢杆菌、第一类地衣芽孢杆菌、第二类地衣芽孢杆菌、短小芽孢杆菌、巨大芽孢杆菌。所述特基拉芽孢杆菌具有高效水体底部净化能力, 能快速分解和降低池底污泥, 有效改善环境水体的黑水、浑水现象, 可以用于水产养殖的水体环境处理和城市废水治理中。



WO 2015/184935 A1

发明名称：一株高效底改芽孢杆菌及其制成的复合底改菌剂和应用技术领域

[0001] 本发明涉及工业生物技术领域，尤其是涉及一种特基拉芽孢杆菌以及由其制备而成的复合菌剂在水产养殖及废水治理中的应用。

背景技术

[0002] 利用微生态制剂进行水质处理或改良，维护良好生态环境，是现代生物工程技术与实际应用有效结合的一个典型。但由于各种微生物的效用差别较大，如何用最有效和最少量的微生物来达到优异的处理效果，是各科研机构、学校和企业进行不断研究和开发的方向。

[0003] 现在水产养殖中的残余饵料以及养殖对象的排泄物对养殖环境造成严重影响，许多城市的河道，也因为人类的生活垃圾污水排放，导致河道有机质富集，最终造成河水发黑等现象。利用各种不同功效微生物的自身特性，开发有效的微生物种群组合来对养殖水体以及城市河道中的多余有机质进行处理，对于未来的水质改良和处理，具有十分积极的意义。

技术问题

[0004] 针对现有技术存在的上述问题，本申请人提供了一株高效底改芽孢杆菌及其制成的复合底改菌剂和应用。本发明所提供的特基拉芽孢杆菌具有高效水体底部净化能力，能快速分解和降低池底污泥，有效改善环境水体的黑水、浑水现象，可以用于水产养殖的水体环境处理和城市废水治理中。

问题的解决方案

技术解决方案

[0005] 本发明的技术方案如下：

[0006] 本申请人提供了一株特基拉芽孢杆菌（*Bacillus tequilensis*）ZSGD5，保藏编号为CCTCC NO: M 2014004，保藏日期为2014年1月6日，保藏地点为中国典型培养物保藏中心，中国，武汉，武汉大学。

[0007] 本申请人提供了一种复合微生态芽孢杆菌制剂，由以下菌种组成复合菌剂：

[0008] 特基拉芽孢杆菌、第一类枯草芽孢杆菌、第二类枯草芽孢杆菌、第一类地衣芽孢杆菌、第二类地衣芽孢杆菌、短小芽孢杆菌、巨大芽孢杆菌；

[0009] 所述特基拉芽孢杆菌的保藏编号为CCTCC NO: M 2014004、第一类枯草芽孢杆菌的保藏编号为CCCTC NO: M 2011443、第一类地衣芽孢杆菌的保藏编号为CCTCC NO: M 2012458，保藏地点均为中国典型培养物保藏中心；其余菌种为市售产品。

[0010] 所述复合微生态芽孢杆菌制剂的有效活菌数为 $5.0 \times 10^8 \sim 2.0 \times 10^{10}$ cfu/g，使用量为每亩使用20-100 g，各菌种的组成如下：

[0011] 菌种 每克产品对应菌种活菌数，单位为cfu/g

[0012] 特基拉芽孢杆菌 $1.0 \times 10^8 \sim 5.0 \times 10^9$

[0013] 第一类枯草芽孢杆菌 $1.0 \times 10^8 \sim 5.0 \times 10^9$

[0014] 第二类枯草芽孢杆菌 $1.0 \times 10^8 \sim 5.0 \times 10^9$

[0015] 第一类地衣芽孢杆菌 $5.0 \times 10^7 \sim 1.0 \times 10^9$

[0016] 第二类地衣芽孢杆菌 $0.8 \times 10^7 \sim 5.0 \times 10^8$

[0017] 短小芽孢杆菌 $0.2 \times 10^7 \sim 1.0 \times 10^8$

[0018] 巨大芽孢杆菌 $5.0 \times 10^7 \sim 1.0 \times 10^9$

[0019] 总活菌数 $5.0 \times 10^8 \sim 2 \times 10^{10}$ 。

[0020] 本申请人提供了一种复合微生态芽孢杆菌制剂的应用，用于水产养殖对象的池底水质底改中，可以有效控制养殖水体中饵料残渣以及养殖对象排泄物造成的污染，保持溶氧的增长、抑制池底青苔，降低氨氮、亚硝酸盐、硫化氢的量。

[0021] 本申请人提供了一种复合微生态芽孢杆菌制剂的应用，用于城市河道黑水、浑水的治理中，可以改善河道死黑水的状态，降低河道的河水COD为40%。

[0022] 特基拉芽孢杆菌的主要生物学特征为：革兰氏阳性细菌，杆状，大小 $0.7-0.8 \mu\text{m} \times 2-3 \mu\text{m}$ ，无荚膜，有鞭毛，能运动。

[0023] 特基拉芽孢杆菌菌株的来源为水产养殖池塘的底泥，筛选方法为：将从水产养殖池塘中取得的底泥加入无菌生理盐水，在 37°C 摇床上120 rpm条件下振荡20 min，吸取上清液，加入其他污染河流底泥为基质的液体中，振荡6 hr，将富集液稀释10000倍后，用涂布棒涂布到该污染河流底泥为唯一基质的固体平板中，

在37°C恒温培养箱中培养40~48 hr，得到在平板上生长的菌株，扩培后进行筛选。

[0024] 特基拉芽孢杆菌菌株的培养方法为：

[0025] (1) 种子培养基配方：蛋白胨10 g/l，氯化钠10 g/l，酵母粉5 g/l，用蒸馏水配制，全部溶解后调节pH 7.5~7.6，固体培养基在调节pH后在往培养基中添加15 g/l琼脂粉，上述配制好的溶液在121°C下灭菌20min。

[0026] (2) 从平板上挑取1环芽孢杆菌移入灭菌的试管固体斜面培养基中，37°C培养18~24hr。

[0027] (3) 将上述长好的菌株斜面在95~100°C水浴中热处理5~10min，取出迅速冷却至室温，挑取1环接种于装有50ml液体培养基的500ml三角瓶中，在37°C下摇床150 rpm培养18~24 hr，得到的菌液中活菌数为 $1 \times 10^7 \sim 3 \times 10^{10}$ 个/ml。

[0028] (4) 该菌株能在以硝酸盐或亚硝酸盐为单一氮源的培养基中良好生长，单一硝化培养基为：葡萄糖20 g/l，硝酸钠2 g/l（或者亚硝酸钠2 g/l），磷酸二氢钾2 g/l，硫酸镁0.5 g/l，pH 6.0~6.2。

[0029] 特基拉芽孢杆菌菌株的扩大培养方法为：

[0030] 扩大培养基配方：葡萄糖20 g/l，酵母粉10 g/l，蛋白胨15 g/l，磷酸二氢钾5 g/l，硫酸镁1 g/l，pH 7.0。扩大培养方法：在液体发酵罐中进行液体发酵，过程维持通气量1:2 vvm，搅拌200 rpm，压力1 kg/m²，用NaOH或者HCl溶液控制过程pH 6.0。

[0031] 在上述条件下培养24~48小时后，可以得到菌种的芽孢体，芽孢占活菌总数的95%以上，发酵液中的总芽孢数可以达到 $1 \times 10^9 \sim 5 \times 10^{10}$ cfu/ml。发酵液经过离心、板框过滤等手段收集菌体，再将菌体经过喷雾干燥即可获得所需的芽孢。将获得的芽孢体菌种，用作配制本发明中复合底改菌剂的菌种原料。

发明的有益效果

有益效果

[0032] 本发明有益的技术效果在于：

[0033] 本发明所制备的微生物复合菌剂，经过高温造粒，仍然能保持内部添加菌种的高效性，在不同的养殖水体和城市河道来源水体的试验中，该复合微生物菌剂

菌表现出了良好的功效性，以及内部添加微生物菌剂的高存活性。

- [0034] 本发明所制备的微生物制剂菌种，能迅速分解处理对象水体底部的有机质（养殖水体的饵料、粪便等）使其彻底转化，去除底部臭味；防止池底发黑、发臭；控制池中的硫化氢、氨氮等有毒有害物质；预防黄泥水、酱油水的发生、红水、浓水、浊水，对青苔、蓝藻等有害藻类的生长有明显的抑制作用，使对象水体维持良好的生态环境。

发明实施例

本发明的实施方式

- [0035] 1、高效底改菌种的筛选

- [0036] 从水产养殖池塘的底泥及水体中分离得到适合水质改良的微生物菌株，通过对菌株进行形态学观察、生理生化实验、16S rDNA分析等手段有效而准确的确定菌种的属种。

- [0037] 将从江苏泰州姜堰某螃蟹养殖池塘中取得的底泥样品称取2 g，加入98 ml无菌生理盐水，在37℃摇床上120 rpm条件下振荡20 min，吸取上清液1 ml加入取自无锡市某污染河底泥为基质的液体中，振荡6 hr，将富集液稀释10000倍后，用涂布棒涂布到该河流底泥为唯一基质的固体平板中，在37℃恒温培养箱中培养40~48 hr，得到三株在平板上生长的菌株，编号为ZSGD-1，ZSGD-5，ZSGD-9，并挑取单菌落进行扩培，后利用扩培得到的菌体进行污染河水的处理测试试验，挑选出效果较好的其中一株菌种ZSGD-5，经过16S rDNA及生理生化性能的鉴定和测试，该菌种属于特基拉芽孢杆菌，该芽孢杆菌能在低氧浓度下快速生长消耗污染水体的营养物质。

- [0038] n-1的分类命名为特基拉芽孢杆菌（*Bacillus tequilensis*），于2014年1月6日保藏于中国典型培养物保藏中心，保藏编号为CCTCC M 2014004。

- [0039] 2、菌株扩大培养及产品收集

- [0040] 按照前面所述菌株的培养和扩大培养方法，将斜面的特基拉芽孢杆菌CCTCC M 2014004进行扩培，得到一定浓度的枯草芽孢杆菌的孢子液，再将其经过离心和喷雾干燥等手段，得到芽孢粉剂产品。

- [0041] 3、复合底改菌剂（即复合微生物芽孢杆菌制剂）制作方法

[0042] 将筛选到的特基拉芽孢杆菌以及其它有效菌株按照各自固体菌粉的活菌数配比比例混合，其中各个有效菌株固体菌粉的活菌添加比例（按照占产品的总活菌数计算）如下：

[0043] 菌种 每克产品对应菌种活菌数（cfu/g）

[0044] 特基拉芽孢杆菌（CCCTC M 2014004） 1.0×10^9

[0045] 第一类枯草芽孢杆菌（CCCTC M 2011443） 1.0×10^9

[0046] 第二类枯草芽孢杆菌 1.0×10^9

[0047] 第一类地衣芽孢杆菌（CCTCC M 2012458） 1.0×10^8

[0048] 第二类地衣芽孢杆菌 0.8×10^8

[0049] 短小芽孢杆菌 0.2×10^8

[0050] 巨大芽孢杆菌 1.0×10^8

[0051] 总活菌数 5.0×10^9

[0052] 上述保藏编号均为中国典型培养物保藏中心保藏，而第二类枯草芽孢杆菌、第二类地衣芽孢杆菌、短小芽孢杆菌、巨大芽孢杆菌均是由泰州绿圣元生物科技有限公司提供。

[0053] 上述各菌粉按照既定比例混合均匀后，添加载体（麸皮粉、葡萄糖、玉米粉、米糠粉，沸石粉、硅藻土，活性炭、绢云母粉）中的一种或者几种补充到总重量的100%（以芽孢杆菌作为有效成分，加入载体使产品总重量满足最终的活菌数达到 5.0×10^9 cfu/g），并进行造粒，得到菌剂颗粒，然后投入使用。

[0054] 各个有效单菌粉按照上述方法严格配制，即可得到本发明所述的复合微生物底改菌剂，又称为复合微生态芽孢杆菌制剂。该产品用于对各种有机质污染水体进行有效底改，使底泥从黑变黄，可以降低养殖水体池底残饵、粪便，有效去除池底的氨氮、亚硝酸盐、硫化氢等物质。

[0055] 上述整个加工过程应保证操作环境的清洁，避免污染。控制环境湿度在70%以下，各原料水分含量低于15%，该产品制成后常温下保存18个月，-18℃下保存期限可以达到36个月，保质期内活菌数稳定。

[0056] 4、检测例1：复合微生态芽孢杆菌制剂用于鲫鱼养殖水体的改性。

[0057] 水样取样：苏州太仓某养殖池塘，离岸1.5m，水面下30cm水样，按照《海洋监

测规范》进行处理。测试时养殖水温为22-27℃，对照池为不添加本复合底改菌剂的结果。每亩·米池塘中撒入500g菌剂颗粒，处理结果如表1所示。

[0058] 表1

[0059]

[XXXX

]

[0060] 从表1的数据可以看到，使用本复合菌剂，可以有效降低水体的氨氮、亚硝酸盐、总无机氮、磷酸盐，同时增加水体溶解氧含量。

[0061] 5、检测例2：复合微生态芽孢杆菌制剂用于河道黑水处理。

[0062] 取自无锡某河道不同位置的污染水体2份，分别使用本菌剂进行处理试验，对照组为不进行处理，试验规模为5L，按照国标检测COD。按照重量每亩·米水体加入500g菌剂颗粒，处理结果如表2所示。

[0063] 表2

[XXXX

]

[0064] 从表2的数据可以看到，使用本菌剂处理河道污水，可以有效降低河道污水的COD。

权利要求书

- [权利要求 1] 一株特基拉芽孢杆菌（*Bacillus tequilensis*）ZSGD5，保藏编号为CCTCC NO: M 2014004，保藏日期为2014年1月6日，保藏地点为中国典型培养物保藏中心，中国，武汉，武汉大学。
- [权利要求 2] 一种复合微生态芽孢杆菌制剂，其特征在于由以下菌种组成复合菌剂：
- 特基拉芽孢杆菌、第一类枯草芽孢杆菌、第二类枯草芽孢杆菌、第一类地衣芽孢杆菌、第二类地衣芽孢杆菌、短小芽孢杆菌、巨大芽孢杆菌；
- 所述特基拉芽孢杆菌的保藏编号为CCTCC NO: M 2014004、第一类枯草芽孢杆菌的保藏编号为CCCTC NO: M 2011443、第一类地衣芽孢杆菌的保藏编号为CCTCC NO: M 2012458，保藏地点均为中国典型培养物保藏中心；其余菌种为市售产品。
- [权利要求 3] 根据权利要求2所述的复合微生态芽孢杆菌制剂，其特征在于所述复合微生态芽孢杆菌制剂的有效活菌数为 $5.0 \times 10^8 \sim 2.0 \times 10^{10}$ cfu/g，使用量为每亩使用20-100 g，各菌种的组成如下：
- | 菌种 | 每克产品对应菌种活菌数，单位为cfu/g |
|-----------|---|
| 特基拉芽孢杆菌 | $1.0 \times 10^8 \sim 5.0 \times 10^9$ |
| 第一类枯草芽孢杆菌 | $1.0 \times 10^8 \sim 5.0 \times 10^9$ |
| 第二类枯草芽孢杆菌 | $1.0 \times 10^8 \sim 5.0 \times 10^9$ |
| 第一类地衣芽孢杆菌 | $5.0 \times 10^7 \sim 1.0 \times 10^9$ |
| 第二类地衣芽孢杆菌 | $0.8 \times 10^7 \sim 5.0 \times 10^8$ |
| 短小芽孢杆菌 | $0.2 \times 10^7 \sim 1.0 \times 10^8$ |
| 巨大芽孢杆菌 | $5.0 \times 10^7 \sim 1.0 \times 10^9$ |
| 总活菌数 | $5.0 \times 10^8 \sim 2 \times 10^{10}$ 。 |
- [权利要求 4] 一种权利要求书2所述的复合微生态芽孢杆菌制剂的应用，其特征在于用于水产养殖对象的池底水质底改中。

- [权利要求 5] 根据权利要求4所述的应用，其特征在于所述的复合微生态芽孢杆菌制剂可以有效控制养殖水体中饵料残渣以及养殖对象排泄物造成的污染，保持溶氧的增长、抑制池底青苔，降低氨氮、亚硝酸盐、硫化氢的量。
- [权利要求 6] 一种权利要求书2所述的复合微生态芽孢杆菌制剂的应用，其特征在于在用于城市河道黑水、浑水的治理中。
- [权利要求 7] 根据权利要求6所述的应用，其特征在于所述的复合微生态芽孢杆菌制剂可以改善河道死黑水的状态，降低河道的河水COD为40%。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2015/077473**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**

C12N 1/20 (2006.01) i; C02F 3/34 (2006.01) i; C12R 1/07 (2006.01) i; C12R 1/125 (2006.01) i; C12R 1/10 (2006.01) i; C12R 1/11 (2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12N; C02F; C12R

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNXTX; EPTXT; CNABS; CPEA; TWMED; KRTXT; JPTXT; KRABS; JPABS; DWPI; ILABS; GBTXT; SIPOABS; AUABS; CNMED; CPRSABS; CJFD; TWTXT; RUTXT; RUABS; HKABS; TWABS; DETXT; MOABS; DEABS; USTXT; CATXT; WOTXT; SGTXT; SGABS: purif+, CCTCC, M2014004, bacillus tequilensis, ZSGD5, sewage

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN 104017757 A (JIANGNAN UNIVERSITY), 03 September 2014 (03.09.2014), claims 1-7	1-7
A	KR 1273444 B1 (UKYK UNIV. KYUNGPOOK NAT. IND. ACAD. COOP. FOUND), 11 June 2013 (11.06.2013), see the whole document	1-7
A	CN 103031253 A (SHANGHAI ECO-WELL BIOSCIENCE CO., LTD.), 10 April 2013 (10.04.2013), see the whole document	1-7

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date	“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	“&” document member of the same patent family
“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 22 July 2015 (22.07.2015)	Date of mailing of the international search report 05 August 2015 (05.08.2015)
Name and mailing address of the ISA/CN: State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No.: (86-10) 62019451	Authorized officer WANG, Huimei Telephone No.: (86-10) 62416241

International application No.
PCT/CN2015/077473

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 2009)

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2015/077473

A. 主题的分类		
C12N 1/20(2006.01)i; C02F 3/34(2006.01)i; C12R 1/07(2006.01)i; C12R 1/125(2006.01)i; C12R 1/10(2006.01)i; C12R 1/11(2006.01)i		
按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类		
B. 检索领域		
检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)		
C12N; C02F; C12R		
包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献		
在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))		
CNTXT; EPTXT; CNABS; CPEA; TWMED; KRTXT; JPTXT; KRABS; JPABS; DWPI; ILABS; GBTXT; SIPOABS; AUABS; CNMED; CPRSABS; CJFD; TWTXT; RUTXT; RUABS; HKABS; TWABS; DETXT; MOABS; DEABS; USTXT; CATXT; WOTXT; SGTXT; SGABS:purif+, 特基拉芽孢杆菌, CCTCC, 净化, M2014004, bacillus tequilensis, ZSGD5, 污水		
C. 相关文件		
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
PX	CN 104017757 A (江南大学) 2014年 9月 3日 (2014 - 09 - 03) 权利要求1-7	1-7
A	KR 1273444 B1 (UKYK UNIV KYUNGPOOK NAT IND ACAD COOP FOUND) 2013年 6月 11日 (2013 - 06 - 11) 参见全文	1-7
A	CN 103031253 A (上海环伟生物科技有限公司) 2013年 4月 10日 (2013 - 04 - 10) 参见全文	1-7
☐ 其余文件在C栏的续页中列出。 ☒ 见同族专利附件。		
* 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 “T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件		
国际检索实际完成的日期		国际检索报告邮寄日期
2015年 7月 22日		2015年 8月 5日
ISA/CN的名称和邮寄地址		授权官员
中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN) 北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 中国		王慧梅
传真号 (86-10)62019451		电话号码 (86-10)62416241

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2015/077473

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
CN	104017757	A	2014年 9月 3日	无	
KR	1273444	B1	2013年 6月 11日	KR	20130026769 A 2013年 3月 14日
CN	103031253	A	2013年 4月 10日	CN	103031253 B 2014年 5月 7日