

# 贵州浓香型白酒窖池可培养细菌系统发育分析

张霞<sup>1</sup>, 武志芳<sup>1</sup>, 张胜潮<sup>1</sup>, 胡承<sup>1</sup>, 张文学<sup>2</sup>

(1.四川大学生命科学学院,生物资源与生态环境教育部重点实验室,四川 成都 610064;

2.四川大学轻纺与食品学院,四川 成都 610065)

**摘要:** 从贵州某名酒厂浓香型白酒窖泥和酒醅中分离到 477 株细菌,通过形态特征和生理特性检测等传统方法鉴定,发现绝大多数为芽孢杆菌(446 株),占总细菌株数的 93.50%,将形态和生理生化特征一致的芽孢杆菌归类为 XJ-1~XJ-20 二十大类群。并采用 16S rDNA 序列分析和测序,构建系统发育树。结果表明,芽孢杆菌属菌株中,以地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)为主,占总芽孢杆菌数的 32.96%,枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、蜡状芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)和栗褐芽孢杆菌(*Bacillus badius*)也占有相当的比例,还有一定数量的 *Bacillus niabensis* 和巴达维亚芽孢杆菌(*Bacillus bataviensis*)以及少量的球状芽孢杆菌(*Bacillus sphaericus*)和不确定种芽孢杆菌(*Bacillus sp.*)。除芽孢杆菌属菌株之外,还分离出极少量的短短芽孢杆菌属(*Brevibacillus*)的不确定种菌株,占已分离总芽孢杆菌数的 1.57%。表明贵州地区浓香型白酒窖池中微生物具有明显的多样性,且地衣芽孢杆菌为其明显的优势种群,这和四川境内酒厂中的微生物类群相似,但也有区别。

**关键词:** 微生物; 窖泥; 酒醅; 芽孢杆菌; 16S rDNA 序列; 系统发育分析

中图分类号:Q93-3;TS262.31;TS261.4 文献标识码:A 文章编号:1001-9286(2010)12-0023-05

## Phylogenetic Analysis of Cultured Bacteria in Luzhou-flavor Liquor Pits in Guizhou

ZHANG Xia<sup>1</sup>, WU Zhi-Fang<sup>1</sup>, ZHANG Sheng-Chao<sup>1</sup>, HU Cheng<sup>1</sup> and ZHANG Wen-Xue<sup>2</sup>

(1.Key Lab of Bio-resources and Eco-environment of Ministry of Education, College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610064;2.Textile Industry & Food Science College of Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610064, China)

**Abstract:** 477 bacteria strains were isolated from pit mud and fermented grains of a famous distillery in Guizhou. Through morphological and physiological characterization, it was found that most bacteria were *Bacillus* (446 strains), accounted for 93.50%. And these bacteria were sub-divided into 20 groups (XJ-1 ~ XJ-20). Using 16S rDNA sequencing and homologous analysis, we succeeded in constructing phylogenetic tree. The results showed that these *Bacillus* were mainly *Bacillus licheniformis* (32.96%). In addition, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* and *Bacillus badius* also held high proportion. There were a certain amount of *Bacillus niabensis* and *Bacillus bataviensis*. A handful of uncertain *Bacillus sp.* and *Bacillus sphaericus* were discovered at the same time. Besides, a little bit of undefined *Brevibacillus sp.* (1.57% of the total) were found unexpectedly. These results indicated that there was high bio-diversity of *Bacillus* in Luzhou-flavor liquor pits in Guizhou and *Bacillus licheniformis* was the dominant species, which was quite similar with Luzhou-flavor liquor pits in Sichuan but there was also difference between them.

**Key words:** microbe; pit mud; fermented grains; *Bacillus*; sequence of 16S rDNA; phylogenetic analysis

浓香型白酒的生产以泥窖窖池为基础,发酵过程是栖息在窖池糟醅、窖泥中的庞大微生物群落在糟醅固、液、气三相界面进行着复杂的物质能量代谢过程。发酵过程中产生的黄水充当着窖泥与糟醅物质交换的载体,封窖发酵形成的窖内压力变化使酒糟中的养分和来自曲药、环境中的微生物及其代谢产物不断通过黄水进入泥中,而窖泥中长期驯化的微生物种群及其代谢产物又不断地进入糟醅中,物质能量交换不断影响着窖泥生态环

境,促进了窖泥老熟和酒质的提高<sup>[1]</sup>。然而特定的地理、气候等环境条件造就了特定的微生物生长环境,所以,不同的酒厂生产的白酒呈现出不同的风味和品质。因此,分析白酒窖池中微生物的群落结构和亲缘关系,对于研究中国白酒风味因子形成机理、有效的控制生产环境条件和名优白酒生产的品质,有着积极的意义<sup>[2]</sup>。

大分子 rRNA 及其基因 rDNA 已被作为一个分子指标,广泛地应用于各种微生物的遗传特征和分子差异的

基金项目:黔科合重大专项字[2010]6004号。

收稿日期:2010-10-22

作者简介:张霞(1986-),女,山东滕州人,硕士研究生,研究方向:工业微生物。

通讯作者:胡承,男,副教授,硕士生导师,E-mail:hucheng@scu.edu.cn。

研究<sup>[3]</sup>。把待测菌株的 16S rDNA 序列测定出来,然后与数据库中的已知菌种进行比较,即可确定供试菌株的分类地位。这种方法不仅最大程度地保证结果的准确性和客观性,而且对于微生物资源和环境的研究也有重要的价值。因此,本试验通过对分离到的细菌进行 16S rDNA 的序列分析,探讨贵州地区浓香型白酒窖泥和酒醅中微生物的组成和系统发育情况,并且和四川境内的酒厂做了比较。前人对四川浓香型白酒糟醅中原核微生物已经做了大量研究<sup>[4]</sup>。在本研究中,贵州地区浓香型白酒窖池中微生物和四川境内酒厂中的微生物类群相似,但也有区别。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂、仪器及培养基

PCR 仪为 LangGene MG96G; 菌株 DNA 提取、16S rDNA 片段扩增和纯化所用的各种酶、Marker、dNTPs、Buffer 等试剂为上海生物工程技术服务有限公司产品(Sangon);其余试剂均为国产分析纯。

牛肉膏蛋白胨培养基:牛肉膏 3.0 g,蛋白胨 10.0 g,氯化钠 5.0 g,琼脂 20.0 g,蒸馏水 1000 mL,pH7.2~7.4,121 °C 灭菌 20 min。液体牛肉膏蛋白胨培养基不加琼脂。

### 1.2 样品的采集和菌株的分离

#### 1.2.1 样品来源

样品来自贵州某名酒厂盛夏生产用新窖窖池中的酒醅,发酵周期为 60 d,发酵正常。新窖窖龄为 2 年,取样时每个样品分单粮上层、中层,多粮上层、中层不同部位采集;另外,还采集了窖壁泥、窖底泥和窖皮泥,所有样品采集后抽真空冷冻保藏。

#### 1.2.2 菌株的分离

分别取样,加入约 1 倍的灭过菌的 PBS 缓冲液,用涡旋振荡器振荡 5 min,于 3000 r/min 离心 5 min,取上清液于 10000 r/min 离心 2 min,弃上清液,沉淀重复洗涤 2 次,收集菌体备用。用无菌生理盐水对收集的菌体做 10 倍梯度的逐级稀释,在牛肉膏蛋白胨<sup>[5]</sup>平板上涂布分离,挑取形态有差异的单菌落,初步识别后,转种于牛肉膏蛋白胨琼脂斜面培养基,编号保存,进行菌株的表型性状观察和实验。

### 1.3 菌株的初步鉴定和归类

按照《伯杰氏细菌鉴定手册》(第八版)<sup>[6]</sup>和《微生物学实验手册》<sup>[7]</sup>等的鉴定方法,对所分离到的菌株进行形态学特征的观察和生理学特性的测试。并根据所观测到的结果对所有菌株进行归类,将形态特征和生理学特性高度一致的归为同一个类群。

### 1.4 基因组 DNA 的提取

参照《精编分子生物学实验指南》<sup>[8]</sup>的方法,略做修改。取 1.5 mL 的培养菌液 4000 r/min 离心 2 min;沉淀物加入 565  $\mu$ L 的 TE 缓冲液重悬,加入 30  $\mu$ L 10 % 的 SDS、10  $\mu$ L 20 mg/mL 的蛋白酶 K 和 10  $\mu$ L 10 mg/mL 的溶菌酶,混匀,于 37 °C 温浴 1 h;再加入 NaCl 和 CTAB/NaCl 混合液,65 °C 温浴 10 min;然后用 Phenol:Chloroform: Isoamyl Alcohol (25:24:1) 混合液和 Chloroform: Isoamyl Alcohol (24:1) 混合液分别抽提。上清液加入异丙醇,混匀后于 -20 °C 下沉淀 30 min,12000 r/min 离心弃上清液,最后用无水乙醇洗涤 1 遍,弃乙醇。向 DNA 沉淀中加入 30  $\mu$ L TE 缓冲液(内含 10 mg/mL 的 RNaseA),37 °C 温浴 30 min。所得 DNA 溶解于 TE 缓冲液中,置于 -20 °C 保存备用。

### 1.5 16S rDNA 的 PCR 扩增及测序

以细菌基因组 DNA 为模板,采用细菌 16S rDNA 的通用引物<sup>[9]</sup>进行 PCR 扩增。PCR 反应条件为:95 °C 预变性 5 min,95 °C 变性 1 min,55 °C 退火 1 min,72 °C 延伸 100 s,共进行 35 个循环,最后 72 °C 延伸 10 min。经 PCR 反应扩增出 16S rDNA,用 PCR 及酶反应产物纯化试剂盒将 PCR 产物进行纯化,送交上海生物工程技术服务有限公司测序。

### 1.6 系统发育分析

将测得的 16S rDNA 序列在 NCBI 中进行 Blast 比对,将获得的同源序列和测定序列在 Clustal X 软件包中进行分析,形成一个多重序列匹配排列阵。导入 MEGA4.0 软件,采用邻位相连(Neighbor-joining)法构建系统发育树。

## 2 结果与分析

### 2.1 菌株的形态特征和生理学特性

从以上酒醅样品中分离出 203 株细菌,窖泥样品中分离出 274 株细菌(其中,窖皮泥 95 株,窖底泥 92 株,窖壁泥 87 株)。经过细菌形态学特征、菌落形态和生理学特性的观察,初步鉴定这 477 株细菌中绝大多数是芽孢杆菌属细菌(446 株),这 446 株芽孢杆菌属细菌又分别归为 XJ-1~XJ-20 二十大类群(其中,XJ-2、XJ-4、XJ-5、XJ-7、XJ-8、XJ-10、XJ-11、XJ-18 和 XJ-19 为酒醅样品;XJ-1、XJ-6、XJ-13 和 XJ-14 为窖皮泥样品;XJ-3、XJ-9、XJ-16 和 XJ-17 为窖底泥样品;XJ-12、XJ-15 和 XJ-20 为窖壁泥样品)。

### 2.2 16S rDNA 的 PCR 纯化结果

对分离菌株进行 16S rDNA 的 PCR 纯化,其结果见图 1。

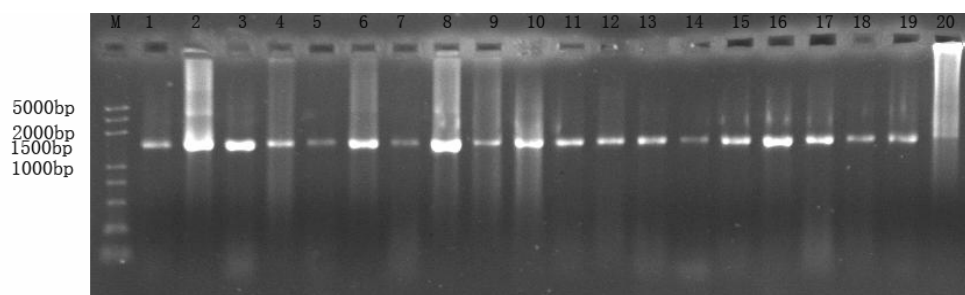


图1 窖池中芽孢杆菌属的16S rDNA的PCR纯化的片段电泳图  
(从左向右的片段依次为XJ-1~XJ-20类群的代表菌株)

*Bacillus subtilis*、*Bacillus sphaericus* 和 *Bacillus niabensis*; 窖底泥样品中含有 *Bacillus bataviensis*、*Bacillus cereus* 和 *Brevibacillus*, 还有很少量的没有鉴定到种的芽孢杆菌属细菌; 窖壁泥样品中主要是 *Bacillus licheniformis*, 也有一定比例的 *Bacillus badius*。

## 2.4 16S rDNA 序列的系统发育

### 分析

表1 各类群代表菌株16S rDNA的同源性分析结果

| 检测类群          | 相近菌株                          | 同源性 (%) | 占总芽孢杆菌菌数比例 (%) |
|---------------|-------------------------------|---------|----------------|
| XJ-I (26株)    | <i>Bacillus niabensis</i>     | 99.56   | 5.83           |
| XJ-II (31株)   | <i>Bacillus bataviensis</i>   | 99.23   | 6.95           |
| XJ-III (147株) | <i>Bacillus licheniformis</i> | 99.59   | 32.96          |
| XJ-IV (81株)   | <i>Bacillus subtilis</i>      | 100.00  | 18.16          |
| XJ-V (20株)    | <i>Bacillus sp.</i>           | 98.77   | 4.48           |
| XJ-VI (59株)   | <i>Bacillus badius</i>        | 100.00  | 13.23          |
| XJ-VII (66株)  | <i>Bacillus cereus</i>        | 100.00  | 14.80          |
| XJ-VIII (9株)  | <i>Bacillus sphaericus</i>    | 99.57   | 2.02           |
| XJ-IX (7株)    | <i>Brevibacillus sp.</i>      | 99.43   | 1.57           |

将9个类群的各代表菌株和用Blast检索到的与之有高度同源性菌株的16S rDNA序列通过Clustal X和MEGA4.0构建N-J系统发育树,结果见图2。

从图2可以看出,多粮窖池中的芽孢杆菌分别为菌株XJ-1代表的*Bacillus niabensis*,菌株XJ-3代表的*Bacillus bataviensis*,类群XJ- (XJ-2、XJ-4、XJ-5、XJ-7、XJ-10、XJ-11、XJ-13、XJ-15、XJ-19和XJ-20)代表的*Bacillus licheniformis*,类群XJ- (XJ-6、XJ-8和XJ-18)代表的*Bacillus subtilis*,菌株XJ-9代表的*Bacillus sp.*,菌株XJ-12代表的*Bacillus badius*,菌株XJ-14代表的*Bacillus sphaericus*,菌株XJ-16代表的*Brevibacillus sp.*和菌株XJ-17代表的*Bacillus cereus*。

在进化树上,类群XJ- 代表的*Bacillus subtilis*和类群XJ- 代表的*Bacillus licheniformis*进化上的亲缘关系相对较近,而XJ-9代表的芽孢杆菌目前还没有从基因库中找到序列很相近的菌株,但它和类群XJ- 代表的*Bacillus subtilis*和类群XJ- 代表的*Bacillus licheniformis*进化上的亲缘关系相对较近,表明菌株XJ-9也是芽孢杆菌属的一种。类群XJ- 和类群XJ- 包括的很多菌株,应该是分属于*Bacillus licheniformis*和*Bacillus subtilis*不同的亚种。其中,XJ-12代表的*Bacillus badius*与XJ-3代表的*Bacillus bataviensis*亲缘关系

由图1可以看出,已分离芽孢杆菌属代表菌株的16S rDNA的分子大小基本上都在1400~1500 bp之间。

### 2.3 16S rDNA 序列同源性分析

从20个类群中各取一株代表菌株,将其16S rDNA序列在NCBI中用BLAST进行同源性分析,结果又发现高度一致的菌株,这20个类群又归为9个类群,各类群(代表菌株)编号分别为XJ- (XJ-1)、XJ- (XJ-3)、XJ- (XJ-2、XJ-4、XJ-5、XJ-7、XJ-10、XJ-11、XJ-13、XJ-15、XJ-19和XJ-20)、XJ- (XJ-6、XJ-8和XJ-18)、XJ- (XJ-9)、XJ- (XJ-12)、XJ- (XJ-17)、XJ- (XJ-14)和XJ- (XJ-16)。其同源性分析结果见表1。

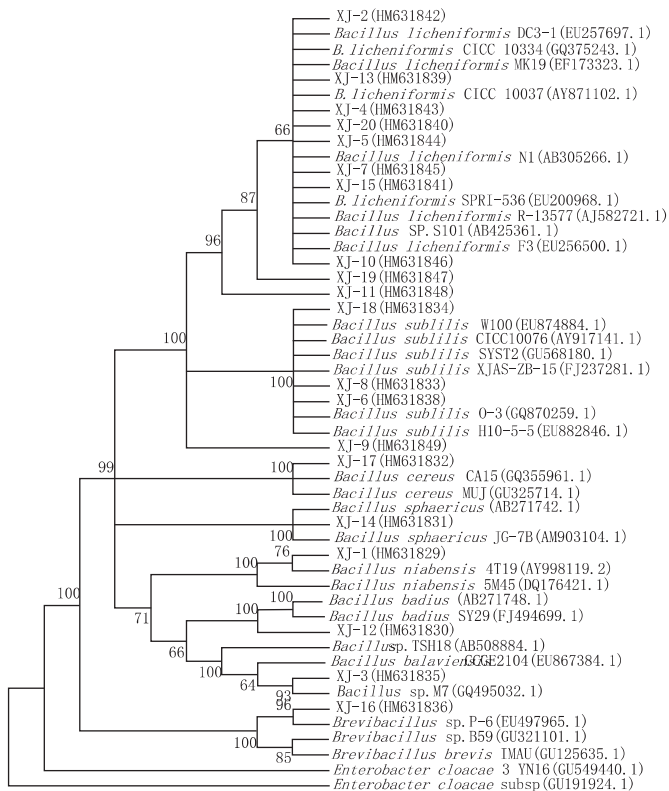
从表1可以看出,所有代表菌株的16S rDNA序列通过Blast检索,都能在GenBank中找到同源性非常高的相近菌株的相应序列。所分析的多粮窖池样品中细菌绝大多数为芽孢杆菌,并以芽孢杆菌属(*Bacillus*)的菌株为主,占总芽孢杆菌菌数的98.43%。

芽孢杆菌属菌株中,又以*Bacillus licheniformis*为主,占总芽孢杆菌菌数的32.96%;*Bacillus subtilis*、*Bacillus cereus*和*Bacillus badius*也占有相当的比例,还有一定数量的*Bacillus niabensis*和*Bacillus bataviensis*以及极少量的*Bacillus sphaericus*和不确定种芽孢杆菌(*Bacillus sp.*)。

除芽孢杆菌属菌株之外,还分离出极少量的*Brevibacillus*的不确定种菌株,占已分离总芽孢杆菌菌数的1.57%。

在已分离芽孢杆菌菌株中,菌株XJ-12与*Bacillus badius*、XJ-8与*Bacillus subtilis*和XJ-17与*Bacillus cereus*的同源性分别都达到了100%,其他的代表菌株与其相似菌株的同源性也都达到了99%,表明这些已分离菌株都已经在GenBank中找到相似度非常高的菌株。

由表1还可以看出,贵州浓香型白酒生产窖池酒醅中*Bacillus licheniformis*占绝大多数,还有少量的*Bacillus subtilis*,都是常规的已知菌。而窖泥样品中的菌种数就比较多,其中窖皮泥样品中包含*Bacillus licheniformis*、



注: 菌株 *Enterobacter cloacae* 3YN16 和 *Enterobacter cloacae* subsp. 被用作外类群, 在树节上的数字代表 1000 取样的百分比, 仅显示大于等于 50 % 的情况, 括号中为代表菌株的 GenBank 登录号(从 HM631829 到 HM631836, 从 HM631838 到 HM631849)。

图 2 根据 16S rDNA 序列为基础的窖池中芽孢杆菌的系统发育树

相对远点, 这两株又和 XJ-1 代表的 *Bacillus niabensis* 亲缘关系较近。XJ-14 代表的 *Bacillus sphaericus* 与 XJ-17 代表的 *Bacillus cereus* 的亲缘关系相对较近,

从发育树中可以看出, 除 XJ-16 代表的 *Brevibacillus* sp. 以外, 其他 8 个类群菌株亲缘关系比较近, 都属于同一个属, 而 XJ-16 代表的 *Brevibacillus* sp. 和其他菌株的亲缘关系则相对较远。

从整体来说, 此贵州名酒厂多粮浓香窖池中的芽孢杆菌有着较高的遗传多样性, 且优势种群较明显。

### 3 讨论

在 Genbank 中用 Blast 比对分析发现, 从多粮窖池中分离到的芽孢杆菌与常规已知菌都有很高的同源性。其中, 99 %~100 % 全序列相似性的判定为一个种, 97 %~99 % 全序列相似性的判定为一个属<sup>[10-11]</sup>。根据上述标准, 多粮窖池中分离到的这些芽孢杆菌大都能直接鉴定到种, 只有一类菌同源性为 98 %, 只能鉴定到属。由于微生态环境的差异和微生物长期的驯化作用使得贵州地区浓香型白酒窖池中可培养的细菌以芽孢杆菌属为主。

曾经报道的大多是四川境内白酒厂窖池或酒醅的微生物情况<sup>[12-14]</sup>, 而且大都研究的是细菌或者真菌、酵母类微生物<sup>[15-19]</sup>, 专门对窖泥和酒醅中细菌的一个属做出研究的还是少数。本文就贵州地区某名酒厂窖泥和酒醅中的芽孢杆菌属做了分析。通过比较发现, 两地的酒厂窖池中细菌都是以芽孢杆菌为主。四川地区的酒厂中芽孢杆菌中又主要以 *Bacillus licheniformis* 和 *Bacillus amyloliquefaciens* 为主, 还有一定的 *Bacillus circulans*<sup>[4]</sup>。而本文在贵州酒厂采集的样品中的芽孢杆菌以 *Bacillus licheniformis* 为主, 其中 *Bacillus subtilis*、*Bacillus cereus* 和 *Bacillus badius* 也占有相当的比例。不过, 本实验在此贵州名酒厂分离的菌株中并未发现有 *Bacillus amyloliquefaciens*, 而在四川酒厂中 *Bacillus amyloliquefaciens* 还是主要菌种, 也没有发现有 *Bacillus circulans*。本实验中分离到的芽孢杆菌中, 包括 *Bacillus niabensis*、*Bacillus bataviensis*、*Bacillus sphaericus*、*Brevibacillus* sp. 和 *Bacillus badius*, 而这些菌株在以前研究过的四川地区白酒厂的窖池中并未发现过。这些不同的菌株所属种群乃至其构成的微生物群落, 应该是贵州地区酒的风味个性化的微生物基础之一。

从本实验中可以看出, 如果仅仅运用传统的微生物菌落形态和生理生化鉴定, 并不能得到非常准确的结果, 运用分子生物学的方法鉴定菌株能在一定程度上弥补了传统微生物鉴定的缺陷, 使相关菌株分类鉴定更加科学和符合实际。即便如此, 在细菌类鉴定中, 用 16S rDNA 序列分析方法鉴定菌株一般也只能鉴定到属或种的层面上, 要想更进一步地鉴定要亚种, 还需要生物技术分析方法<sup>[20-21]</sup>。

由于窖池中的生态环境复杂多变, 以及微生物之间的共栖关系, 窖池中还有一部分包括芽孢杆菌在内的微生物无法分离培养。因此, 仅仅分析可培养的微生物不能完全反映窖池中的情况, 对不可培养芽孢杆菌的分析尚待进一步工作来完成。另外, 随着发酵时间的推移、生态环境的改变, 微生物种群结构也会相应地发生变化, 因此, 还需对发酵过程进行动态跟踪。

### 参考文献:

- [1] 余有贵, 李侦, 熊翔, 等. 窖泥微生态的主要特征研究[J]. 食品科学, 2009, 21(30): 258-261.
- [2] 向文良, 张文学, 胡承, 等. 中国浓香型白酒窖池中原核微生物的特性及系统发育分析[J]. 四川大学学报(工程科学版), 2005, 37(1): 39-40.
- [3] Bruno G G, Sonia S R, Alejandra G G, et al. Molecular identification of vibrio harvey i-related isolates associated with diseased aquatic organisms [J]. Microbiology, 2004, 150 (6): 1769-1777.

- [4] 罗俊成,胡佳,胡承,等. 酒醅中芽孢杆菌属细菌的 16S rDNA 全序列系统学分析[J]. 酿酒科技, 2007, (2): 19.
- [5] 乔宗伟,张文学,张丽莺,等. 浓香型白酒糟醅微生物分离培养基的选择研究[J]. 酿酒科技, 2004, (6): 30-32.
- [6] RE 布坎南, NE 吉本斯编. 中国科学院微生物研究所《伯杰氏细菌鉴定手册》翻译组译. 伯杰氏细菌鉴定手册(第八版)[M]. 北京: 科学出版社, 1984.
- [7] 周德庆. 微生物学实验手册[M]. 上海: 科学技术出版社, 1983.
- [8] F. 奥斯伯. 精编分子生物学实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 1998.
- [9] Takeshi Watanabe, Susumu Asakawa, Asumi Nakamura, et al. DGGE method for analyzing 16S rDNA of methanogenic archaeal community in paddy field soil [J]. FEMS Microbiology Letters, 2004, 232: 153-163.
- [10] Drancourt M, Bollet C, Carlizot R, et al. 16S ribosomal DNA sequence analysis of a large collection of environmental and clinical unidentifiable bacterial isolates[J]. Clin Microbiol, 2000, 38: 3623-3630.
- [11] Janda J M, Abbott S L. Bacterial identification for publication: when is enough enough? [J]. Clin Microbiol, 2002, 40: 1887-1891.
- [12] 吴衍庸. 白酒工业微生物资源的发掘与应用[J]. 酿酒科技, 2006, 146 (11): 111-113.
- [13] 岳元媛,张文学,刘霞,等. 浓香型白酒窖泥中兼性厌氧细菌的分离鉴定[J]. 微生物学通报, 2007, 34 (2): 251-255.
- [14] 李佑红,吴衍庸. 四川浓香型与酱香型酒曲细菌区系构成的比较研究[J]. 微生物学通报, 1992, 19 (4): 211-214.
- [15] 施安辉. 浓香型白酒发酵过程窖中微生物区系的分析[J]. 酿酒, 1986, (4): 24-29.
- [16] 庄名扬,王仲文,陈星国. 酱香型习酒功能菌的选育及特征组分的研究[J]. 酿酒科技, 1996, 75 (3): 17.
- [17] 唐玉明,姚万春,任道群,等. 酱香型白酒窖内发酵过程中糟醅的微生物分析[J]. 酿酒科技, 2007, 162(12): 50-53.
- [18] 王海燕,张晓君,徐岩,等. 浓香型和芝麻香型白酒酒醅中微生物菌群的研究[J]. 酿酒科技, 2008, 164 (2): 86-91.
- [19] 赵东,乔宗伟,彭志云. 浓香型白酒发酵过程中酒醅微生物区系及其生态因子演变研究[J]. 酿酒科技, 2007, 157 (7): 37-39.
- [20] Vladislav V, Khrustalev Eugene V, Barkovsky. Study of completed archaeal genomes and proteomes: Hypothesis of strong mutational AT pressure existed in their common predecessor [J]. Genomics Proteomics Bioinformatics, 2010, 8(1): 22-32.
- [21] 刘佩,周倩,沈生荣,等. 产共轭亚油酸植物乳杆菌的筛选、鉴定与诱变[J]. 食品科学, 2010, 31(9): 135-137.

## 贵州金沙窖酒酒业有限公司“金沙及图”荣获中国驰名商标新闻发布会在贵阳召开

本刊讯 2010年11月2日在贵阳喜来登贵航酒店召开了贵州金沙窖酒酒业有限公司“金沙及图”荣获中国驰名商标新闻发布会,出席新闻发布会的有贵州省经济与信息化委员会、贵州省工商行政管理局、贵州省酿酒工业协会、贵州省食品工业协会、毕节地区行署、毕节地区工商行政管理局、毕节地区工业与能源委员会、金沙县四大班子、贵州金沙窖酒酒业有限公司等的领导,各大新闻媒体、社会各界代表、经销商代表共150余人参加了新闻发布会。

新闻发布会由金沙县委书记丁翊强主持,贵州金沙窖酒酒业有限公司注册的“金沙及图”于2010年10月8日被国家工商总局认定为“中国驰名商标”。会上省工商局罗保林副局长宣读了国家工商局的认定文件并讲话,省经济与信息化委员会党组成员孔黔筑、毕节地区行署副专员王玉屏共同为贵州金沙窖酒酒业有限公司“金沙及图”荣获中国驰名商标授牌。贵州金沙窖酒酒业有限公司董事长、总经理孙长旭在新闻发布会上做了金沙酒业的发展报告,并对金沙酒业的产品进行了展示。

根据商标法的定义,中国驰名商标是指在中国为相关公众所知晓,并享有较高声誉的商标。“金沙及图”获得中国驰名商标,实现了贵州省毕节地区中国驰名商标“零”突破!也是继“贵州茅台”、“MOUTAI及图”、“习酒”之后,贵州省白酒行业通过行政程序认定的第四件驰名商标,同时,贵州金沙窖酒酒业有限公司也是继茅台集团后贵州的第二个获得中国驰名商标的白酒生产企业。

贵州金沙窖酒酒业有限公司生产的金沙回沙酒是贵州老牌名酒,曾荣获首届中国食品博览会金奖、酒文化节金奖、历届贵州省名牌产品及贵州群众最喜爱的产品杜鹃杯等奖。

据统计,迄今,贵州总共拥有了24件中国驰名商标,这标志着贵州的企业在新时期实现了新的快速发展,并得到了市场的充分认可。(莹子)



贵州金沙窖酒酒业有限公司董事长、总经理孙长旭在新闻发布会上做报告