

新疆达坂盐湖沉积土壤嗜盐细菌的 定向富集与多样性分析

吴海平^{1,2} 王真辉¹ 杨礼富^{1*}

(1. 中国热带农业科学院橡胶研究所 农业部橡胶树生物学重点开放实验室 海南 儋州 571737)
(2. 海南大学 环境与植物保护学院 海南 儋州 571737)

摘要: 采集新疆达坂盐湖的沉积土壤样品, 以选择性富集培养获得的嗜盐细菌基因组 DNA 为模板, 扩增 16S rRNA 基因, 在此基础上构建嗜盐细菌的 16S rRNA 基因文库, 随机挑选文库中的 100 个阳性克隆子进行群落结构多样性分析。16S rRNA 基因序列分析结果表明: 100 个克隆分属于细菌域 9 个属的 27 个种, 其中芽孢杆菌属(*Bacillus*)为优势菌群(48%), 喜盐芽孢杆菌属(*Halobacillus*)(14%)、盐单胞菌属(*Halomonas*)(13%)为次优势菌群。分析的阳性克隆子中, 10 个克隆子与 GenBank 中已报道 16S rRNA 基因序列的相似性在 88.80%到 96.90%之间, 可能代表新属或新种。研究结果表明, 新疆达坂盐湖沉积土壤的富集培养物中存在种类较为丰富的嗜盐细菌。
关键词: 嗜盐菌, 定向富集, 16S rRNA 基因, 系统发育

The Selective Enrichment and Diversity Analysis of Halophilic Bacteria in Sedimental Sample from Daban Salt Lake in Xinjiang

WU Hai-Ping^{1,2} WANG Zhen-Hui¹ YANG Li-Fu^{1*}

(1. Rubber Research Institute Chinese Academy of Tropical Agriculture Sciences, and Key Laboratory of Rubber Biology, Ministry of Agriculture, Danzhou, Hainan 571737, China)
(2. College of Environment and Plant Protection, Hainan University, Danzhou, Hainan 571737, China)

Abstract: The genomic DNA isolated from enriched culture of sedimentary soil samples from Daban Salt Lake in Xinjiang was used as PCR template to amplify 16S rRNA gene and the library carrying 16S rRNA genes of halophilic bacteria was constructed, 100 clones of the library were selected randomly and sequenced for molecular systematic analysis. Phylogenetic analysis indicated that 100 selected clones were clustered into twenty-seven species of nine genera, a lineage of the domain bacteria. Among them, *Bacillus* was the most dominant genus as represents 48% of the clones, followed by *Halobacillus* (14%) and *Halomonas* (13%). Furthermore, ten clones may be potential novel species or genera. The results show that the halophilic bacteria population diversity is abundant in enriched culture of sedimentary soil from Daban Salt Lake in Xinjiang.

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 30960009)

* 通讯作者: Tel: 86-898-23300595; Fax: 86-898-23300315; ✉: ylfri@126.com © 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>
收稿日期: 2010-01-21; 接受日期: 2010-03-29

Keywords: Halophilic bacteria, Enriched culture, 16S rRNA, Phylogenetic analysis

嗜盐菌(Halophiles)指在一定 NaCl 浓度下有最适生长的微生物,它们通过多种复杂的分子机制得以在盐湖、晒盐池、盐矿和盐碱湖等高盐环境中生长、繁殖^[1-2]。根据耐盐程度的不同,可将嗜盐菌分为轻度、中度、极端嗜盐菌三大类^[3]。由于具有独特的耐盐机制,多样化的代谢产物和潜在的应用价值,嗜盐菌在过去几十年受到广泛关注,微生物学工作者从各种地域条件下的高盐环境中分离和鉴定了多种嗜盐菌新种属,如: *Halobacillus alkaliphilus*^[4]、*Salinicoccus halodurans*^[5]等。随着研究的不断深入,新的嗜盐菌还在不断被发现^[6]。我国有大小盐湖 1000 多个,主要分布于西藏、青海、新疆、内蒙古等地区,在这些盐湖中蕴藏着大量的嗜盐菌资源。新疆达坂盐湖是离海洋最远的内陆盐湖,湖水含盐量高达 23% (W/V)。该湖独特的地理环境和自然条件与中东的“死海”极其相似,被誉为“中国死海”。已有的研究表明,内陆地区高盐环境中存在的微生物区系组成有别于海洋或沿海高盐环境^[7],对这类环境中的微生物进行多样性分析,了解此类环境中的微生物分布情况,是合理开发和利用资源的重要前提。

近年来,随着分子生物学研究技术和生物信息学的发展,基于 16S rRNA 基因序列的细菌群落结构多样性分析已成为研究高盐环境细菌种类和遗传多样性的一种新的分析手段,并已经逐渐被应用到高盐环境的细菌多样性研究^[8-9],并发现了多种新的嗜盐细菌类群。本文运用定向富集嗜盐细菌的培养方法,对新疆达坂盐湖沉积土壤样品进行选择富集培养,通过提取富集培养物的总基因组 DNA 和基于 16S rRNA 基因的序列分析,对新疆达坂盐湖地区的嗜盐细菌进行多样性分析,以便深入揭示新疆达坂盐湖地区嗜盐细菌物种及基因资源的多样性。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品采集: 土壤样品采自新疆达坂盐湖(88°03'53" E-88°12'15" E, 43°21'00" N-43°25'25" N)。该湖位于新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市东郊, pH 8.4, 湖表卤水的 Na⁺质量浓度为 24102 mg/L, K⁺质量浓度为 206.74 mg/L。沿湖区周围用样品采集器采集

约 20 cm 深的沉积土样,分装于灭菌的 50 mL 离心管中, -80℃ 保存备用。

1.1.2 主要试剂: 蛋白酶 K、溶菌酶、Premix-Taq 酶、 λ -Hind III DNA 标准分子量、DL2000 DNA 标准分子量和 pMD18-T 均购自 TaKaRa 公司; DNA 胶回收试剂盒购自 Omega 公司, PCR 引物由上海英俊生物公司合成。

1.1.3 培养基: 富集培养采用含 5% NaCl 的 Gibbison 培养基(g/L): 酪蛋白 5, 酵母粉 10, NaCl 50, 胰蛋白胨 5, KCl 2, 柠檬酸三钠 3, MgSO₄·7H₂O 20, pH 7.5; LB 培养基配方为(g/L): 胰蛋白胨 10, 酵母粉 5, NaCl 10, pH 7.0。

1.2 实验方法

1.2.1 嗜盐细菌的定向富集与收集: 称取 5 g 土壤样品于 45 mL 无菌水中, 37℃、250 r/min 振荡 30 min, 按 1:50 的比例将土壤样品的混悬液接种于 Gibbison 培养基中, 37℃、200 r/min 摇床培养 3 d。取 30 mL 富集培养的菌悬液, 500 × g、10℃ 离心 5 min, 取上清液; 所得上清液于 10000 × g、4℃ 离心 10 min, 以回收菌体细胞; 所得细胞用 1 × TES 溶液洗涤菌体 2-3 次, 所得沉淀放置 -20℃ 过夜。

1.2.2 总基因组 DNA 的提取与纯化: 总基因组 DNA 的提取方法参照文献[10]。将置于 -20℃ 过夜的菌体室温冻融, 用 3 mL 的 1 × TES 溶液充分悬浮菌体后提取 DNA, 电泳检测 DNA 的浓度和纯度, 置于 -20℃ 保存备用。

1.2.3 16S rRNA 基因的扩增: 选取细菌 16S rRNA 通用引物 P1 (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAGAA CGAACGCT-3', 对应于大肠杆菌 8-37 位置)和 P6 (5'-TACGGCTACCTTGTTACGACTTCACCCC-3', 对应于大肠杆菌的第 1479-1506 位置)扩增总基因组的 16S rRNA 基因。

PCR 反应体系和反应条件参照文献[11]的方法进行。1%琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 扩增产物, 并用 DNA 胶回收试剂盒回收产物。

1.2.4 16S rRNA 基因文库的构建和测序: 将 16S rRNA 与 pMD18-T 载体于 16℃ 连接 12 h, 然后用连接产物电转化 DH5 α 感受态细胞, 构建嗜盐富集培养物的 16S rRNA 基因文库, 文库中每个克隆子所包含的序列长度均在 1.5 kb 左右。从文库中随

机挑选 100 个克隆子进行测序, 测序工作由英俊公司完成。

1.2.5 序列分析: 将16S rRNA的测序结果在GenBank中做BLAST比对, 用MEGA 3.1中的ClustalX程序^[12]进行多序列比对; 用Neighbor-joining方法^[13], 选择Bootstrap为1000个重复构建进化树, 将序列相似性大于97%以上的16S rRNA基因确定为同一操作分类单位^[14]。

2 结果与分析

2.1 16S rRNA 基因的扩增和基因文库的构建

利用含 5% NaCl 的 Gibbson 培养基对新疆达坂盐湖沉积土壤样品中的嗜盐细菌进行富集培养, 然后提取富集培养物的总基因组 DNA。以总基因组 DNA 为模板扩增 16S rRNA 基因, 得到大小为 1.5 kb 的特异性条带。将 PCR 产物连接到 pMD18-T 载体,

构建获得包含 6050 个克隆的 16S rRNA 基因文库。

2.2 嗜盐富集培养物 16S rRNA 基因文库分析

随机挑选嗜盐富集培养物 16S rRNA 基因文库的 100 个克隆进行序列测定, 共获得 100 条有效序列, 这些序列在 GenBank 中的登录号为 GQ903380–GQ903479。相似性比对结果表明(表 1), 被分析的 16S rRNA 分属于 9 个属 27 个种。除了克隆子 XJSL4-8 (GQ903417–GQ903428)与相关有效发表种的典型菌株的 16S rRNA 基因序列相似性为 100%外, 其他克隆子与其相关有效发表种典型菌株的序列相似性在 88.80%–99.90%之间, 说明大部分与其系统关系最密切的典型菌株之间存在一定的遗传差异。

基于 16S rRNA 基因序列的系统发育分析结果(图 1)表明, 100 个克隆属于细菌域的厚壁菌门(*Firmicutes*)和变形菌门 γ 亚群(*γ -proteobacteria*) 2 个

表 1 富集培养物中部分克隆与 GenBank 中亲缘关系最近有效发表种的相似性分析
Table 1 Similarity analysis of partial enriched culture clones and their most closely related species in GenBank

Genus	Representative isolate (Accession No.)	Number of clones	Type strain (Accession No.)	Similarity (%)
<i>Bacillus</i>	XJSL1-1 (GQ903380–GQ903397)	18	<i>Bacillus firmus</i> IAM 12464 ^T (D16268)	99.00
	XJSL3-4 (GQ903403)	1		96.90
	XJSL3-1 (GQ903398–GQ903402)	5	<i>Bacillus baekryungensis</i> CGMCC 1.7241 (AY505507)	99.90
	XJSL3-8 (GQ903407–GQ903409)	3	<i>Bacillus foraminis</i> CV53 ^T (AJ717382)	98.00
	XJSL4-5 (GQ903414)	1		95.30
	XJSL4-2 (GQ903411–GQ903413)	3	<i>Bacillus licheniformis</i> N8 ^T (DQ350834)	98.70
	XJSL4-6 (GQ903415–GQ903416)	2	<i>Bacillus endophyticus</i> 2D ^T (AF295302)	99.60
	XJSL4-8 (GQ903417–GQ903428)	12	<i>Bacillus pumilus</i> ATCC 7061 ^T (AY876289)	100
	XJSL3-6 (GQ903405)	1		88.80
	XJSL3-5 (GQ903404, GQ903406)	2	<i>Bacillus aerophilus</i> 28K ^T (AJ831844)	95.00
<i>Salimicrobium</i>	XJSL4-1 (GQ903410)	1	<i>Bacillus halophilus</i> DSM 4771 ^T (AJ243920)	98.20
<i>Salinicoccus</i>	XJSL5-10 (GQ903429–GQ903432)	4	<i>Salinicoccus roseus</i> DSM 5351 ^T (X94559)	99.70
<i>Thalassobacillus</i>	XJSL7-7 (GQ903446–GQ903450)	5	<i>Thalassobacillus devorans</i> G-19.1 ^T (AJ717299)	99.70
<i>Virgibacillus</i>	XJSL9-6 (GQ903465–GQ903468)	4	<i>Virgibacillus picturae</i> LMG 19492 ^T (AJ315060)	99.00
	XJSL9-10 (GQ903469)	1		97.80
<i>Ornithinibacillus</i>	XJSL10-1 (GQ903470)	1	<i>Ornithinibacillus bavariensis</i> WSBC 24001 ^T (Y13066)	98.50
	XJSL10-2 (GQ903471–GQ903473)	3		96.90
	XJSL10-5 (GQ903474–GQ903475)	2		96.90
	XJSL10-7 (GQ903476)	1		96.30
<i>Oceanobacillus</i>	XJSL10-9 (GQ903477–GQ903478)	2	<i>Oceanobacillus oncorhynchi</i> R-2 ^T (AB188089)	98.30
	XJSL10-10 (GQ903479)	1		95.90
<i>Halobacillus</i>	XJSL8-2 (GQ903451–GQ903455)	5	<i>Halobacillus dabanensis</i> D-8 ^T (AY351395)	99.80
	XJSL9-3 (GQ903462–GQ903464)	3		96.50
	XJSL8-9 (GQ903456–GQ903458)	3	<i>Halobacillus trueperi</i> DSM 10404 ^T (AJ310149)	99.80
	XJSL9-1 (GQ903460–GQ903461)	2		94.20
<i>Halomonas</i>	XJSL8-10 (GQ903459)	1	<i>Halobacillus litoralis</i> DSM 10405 ^T (X94558)	99.10
	XJSL6-4 (GQ903433–GQ903437)	5	<i>Halomonas salina</i> F8-11 ^T (AJ295145)	99.80
	XJSL6-9 (GQ903438–GQ903445)	8	<i>Halomonas ventosae</i> DSM 15911 ^T (AY268080)	98.90

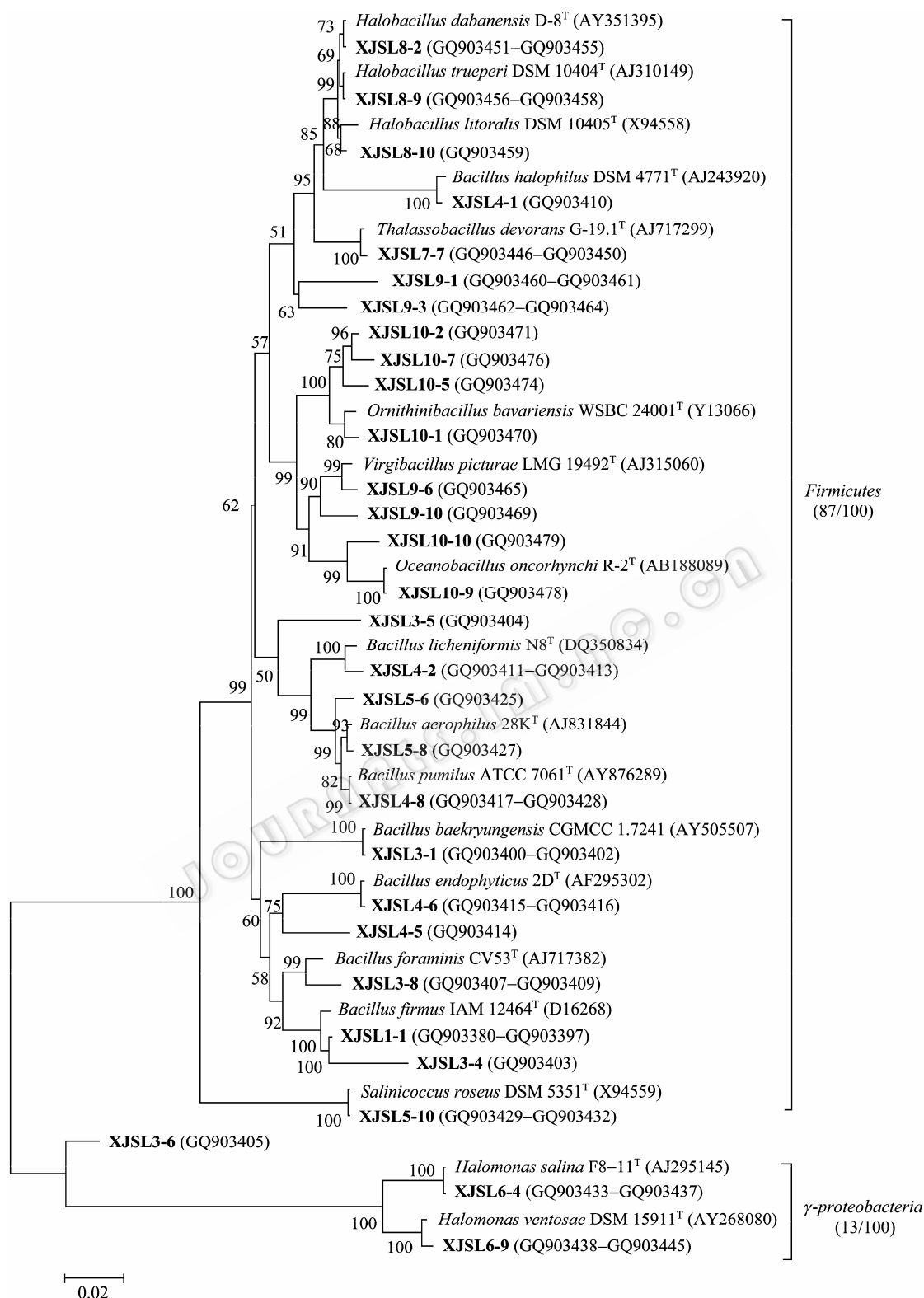


图 1 基于 16S rRNA 基因序列构建的新疆达坂盐湖沉积土壤富集培养样品中嗜盐细菌群落的系统发育树

Fig. 1 Phylogenetic tree constructed by using the neighbour-joining method based on the 16S rRNA gene sequences of enrichment samples obtained from sedimentary soil of Daban salt lake in Xinjiang

注: 圆括号内为序列登录号; Bootstrap 值(百分值)(1000 次抽样)标注在分支处。

Note: GenBank accession numbers are given in parentheses. Bootstrap values (percent) calculated from 1000 resamplings are shown at branch nodes.

大的系统发育类群,包括盐单胞菌属(*Halomonas*)、枝芽孢杆菌属(*Virgibacillus*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、喜盐芽孢杆菌属(*Halobacillus*)、盐水球菌属(*Salinicoccus*)、*Ornithinibacillus*、*Oceanobacillus*、*Thalassobacillus*和*Salimicrobium* 9个属;其中 *Firmicutes* 门菌株所占比例最大(87%),其次是 γ -*proteobacteria*亚门(13%)。

由系统发育树可知: *Firmicutes*类群在新疆达坂盐湖沉积土壤富集培养物中所占比例最高,为优势类群,其中43个克隆子在亲缘关系上与*Bacillus*关系密切,16S rRNA基因的序列相似性为98%–100%;其中,12个克隆子与短小芽孢杆菌(*Bacillus pumilus*) ATCC 7061^T之间的同源性达100%,5个与*Bacillus baekryungensis* CGMCC 1.7241之间的相似性达99.90%,18个与坚强芽孢杆菌(*Bacillus firmus*) IAM 12464^T之间也存在较高的同源性。值得注意的是,XJSL3-6、XJSL4-5、XJSL3-5和XJSL3-4四个克隆子与最相近有效发表菌株之间的相似性介于88.80%–96.90%之间,均低于97%,其中,XJSL3-6与*B. pumilus* ATCC 7061^T的16S rRNA基因序列相似性为88.80%,XJSL4-5与*Bacillus foraminis* CV53^T为95.30%,XJSL3-4与*B. firmus* IAM 12464^T为96.90%,XJSL3-5与*Bacillus aerophilus* 28K^T为95%,表明这些克隆子对应的菌株可能代表新的分类单元;20个克隆子与*Halobacillus*、*Thalassobacillus*和*Salimicrobium* 3个属的细菌关系密切,其中XJSL8-2、XJSL8-9、XJSL8-10和XJSL7-7分别与其最相近菌株的相似性达99%,XJSL4-1与*Bacillus halophilus* DSM 4771^T相似性为98.20%,而XJSL9-3、XJSL9-1与数据库中已知菌达坂喜盐芽孢杆菌(*Halobacillus dabanensis*) D-8^T、楚氏喜盐芽孢杆菌(*Halobacillus trueperi*) DSM 10404^T的相似性仅为96.50%和94.20%,可能为新种或新属。*Firmicutes*类群另有8个克隆子在系统学上与*Virgibacillus*、*Ornithinibacillus*和*Oceanobacillus* 3个属之间存在较高的同源性,其中,XJSL9-6、XJSL10-1和XJSL10-9分别与其相近菌株*Virgibacillus picturae* LMG 19492^T、*Ornithinibacillus bavariensis* WSBC 24001^T和*Oceanobacillus oncorhynchi* R-2^T之间的相似性达98%以上,而XJSL10-2、XJSL10-5、XJSL10-7和XJSL10-10与各自最相近菌株*O. bavariensis* WSBC 24001^T和*O. oncorhynchi* R-2^T之间的相似性均低于

97%,可能代表新种或新属。

变形菌门 γ 亚群的13个克隆子与*Halomonas*属菌株16S rRNA基因序列之间的相似性均大于97%,其中XJSL6-4与*Halomonas salina* F8-11^T的相似性为99.80%,XJSL6-9与*Halomonas ventosae* DSM 15911^T之间的相似性为98.90%。

3 讨论

本研究采用富集培养法和基于16S rRNA的系统发育分析,对新疆达坂盐湖沉积土壤中的嗜盐细菌进行了多样性研究。研究结果表明,新疆盐湖沉积土壤的定向富集培养物中,嗜盐细菌的种类较为丰富,100个克隆分属于细菌域9个属的27个种,其中以*Bacillus*、*Halobacillus*和*Halomonas*最为丰富。大部分克隆子的16S rRNA基因序列与其系统发育关系最密切的已知典型菌株16S rRNA基因序列相似度大于98%,另有XJSL3-6、XJSL4-5、XJSL9-1、XJSL9-3等10个克隆子的16S rRNA基因序列与已知的菌株16S rRNA基因序列相似度在88.8%–96.9%,可能代表新种或新属。

国内相关学者采用纯培养方法对新疆达坂盐湖嗜盐古菌和中度嗜盐菌的多样性研究表明^[15–16],该盐湖的嗜盐古菌分属于盐深红菌属(*Halorubrum*)、盐盒菌属(*Haloarcula*)、盐陆生菌属(*Haloterrigena*)和钠白菌属(*Natrialba*) 4个属的16个种;中度嗜盐菌分属于盐单胞菌属(*Halomonas*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、盐水球菌属(*Salinicoccus*)、喜盐芽孢杆菌属(*Halobacillus*)、海球菌属(*Marinococcus*)、涅斯捷连科氏菌属(*Nesterenkonia*)、*Thalassobacillus* 7个属的17个种,以*Bacillus*和*Halomonas*最为丰富,为优势菌属。本文的研究结果表明,*Halobacillus*也是新疆达坂盐湖中的优势细菌类群之一,而且大部分菌株与其系统发育关系最密切的已知物种典型菌株之间的16S rRNA基因序列都存在一定的差异,表明新疆盐湖中的嗜盐细菌存在丰富的遗传多样性。

将本研究获得的新疆达坂盐湖嗜盐细菌类型与新疆罗布泊盐湖和四川大古盐井的嗜盐细菌类群进行比较,发现*Halomonas*和*Halobacillus*在新疆达坂盐湖、罗布泊盐湖^[17]和四川大古盐井^[18]中均有分布,并且都属于优势菌群,反映出不同地域的嗜盐细菌在组成上具有一定的相似性,说明*Halomonas*和*Halobacillus*对不同地域的高盐环境均具有较强

的适应能力。但是, 由于不同地域条件下的高盐环境在形成过程、气候特征及盐分组成方面具有较大差异, 因此, 蕴藏于其中的嗜盐细菌群落结构组成也会各有不同。*Oceanobacillus*和*Virgibacillus*在新疆达坂盐湖和四川大公古盐井中均有发现, 但在新疆罗布泊盐湖中还未发现;*Bacillus*和*Salinicoccus*在新疆达坂盐湖和罗布泊盐湖中均有分布, 其中*Bacillus*是新疆达坂盐湖嗜盐细菌的最优势菌群, 但是在四川大公古盐井中未被发现。本研究表明, 新疆达坂盐湖中还存在着一些独特的嗜盐细菌类群, 如*Thalassobacillus*、*Ornithinibacillus*和*Salimicrobium*, 这些细菌类群在盐碱湖^[19]、南海南沙沉积物^[20]、沿海表层沉积物^[21]和海洋型晒盐场^[22]中均分离获得, 但在罗布泊盐湖等内陆湖中尚未被发现, 表明新疆达坂盐湖的富集培养物中的嗜盐细菌存在丰富的多样性。

参 考 文 献

- [1] Oren A, Larimer F, Richardson P, *et al.* How to be moderately halophilic with broad salt tolerance: clues from genome of *Chromohalobacter salexigens*. *Extremophiles*, 2005, **9**(4): 275–279.
- [2] Ashrafaddin S, Aliasghar K, Rastgar J. Identification and characterization of salt-inducible polypeptide in *paenibacillus* spp., a moderately halophilic bacterium. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2005, **100**(5): 573–575.
- [3] 沈萍. 微生物学. 北京: 高等教育出版社, 2000: 297.
- [4] Romano I, Finore I, Nicolaus G, *et al.* *Halobacillus alkaliphilus* sp. nov., a halophilic bacterium isolated from a salt lake in Fuente de Piedra, southern Spain. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2008(58): 886–890.
- [5] Wang XW, Xue XF, Yuan SQ, *et al.* *Salinicoccus halodurans* sp. nov., a moderately halophilic bacterium isolated from the black mangrove *Avicennia germinans*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2008(58): 1537–1541.
- [6] Arenas M, Banon PI, Copa-Patino, *et al.* *Halomonas ilicicola* sp. nov., a moderately halophilic bacterium isolated from a saltern. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2009, **59**(3): 578–582.
- [7] 任培根, 周陪瑾. 中度嗜盐菌的研究进展. *微生物学报*, 2003, **43**(3): 427–431.
- [8] 关统伟, 赵珂, 夏占峰, 等. 新疆于田盐池放线菌群落结构. *微生物学报*, 2009, **36**(4): 515–521.
- [9] Jiang HC, Dong HL, Zhan GX, *et al.* Microbial diversity in water and sediment of Lake Chaka, an Athalassohaline Lake in northwestern China. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, **72**(6): 3832–3845.
- [10] Zhou JZ, Bruns MA, Tiedje JM. DNA recovery from soils of diverse composition. *Applied Environmental Microbiology*, 1996, **62**(2): 316–322.
- [11] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册. 北京: 科学出版社, 2001: 101.
- [12] Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, *et al.* The Clustal X Windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*, 1997, **25**(24): 4876–4882.
- [13] Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 1987, **4**(4): 406–425.
- [14] Suzuki MT, Rappe MS, Haimberger ZW, *et al.* Bacterial diversity among small-subunit rRNA gene clones and cellular isolates from the same seawater sample. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, **63**(3): 983–989.
- [15] 张立丰. 新疆达坂城盐湖嗜盐古菌 16S rDNA 序列分析和细菌视紫红质基因序列的研究. 新疆师范大学硕士学位论文, 2006.
- [16] 刘会强. 新疆达坂城盐湖中度嗜盐菌的微生物多样性的研究与 *Athelia rolfsii* 酸性甘露糖酶的分离纯化及性质的研究. 新疆师范大学硕士学位论文, 2006.
- [17] 罗明, 韩剑, 蒋平安, 等. 新疆罗布泊地区可培养嗜盐细菌多样性. *生物多样性*, 2009, **17**(3): 288–295.
- [18] Xiang WL, Guo JH, Feng W, *et al.* Community of extremely halophilic bacteria in historic Dagong Brine Well in southwestern China. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 2008, **24**(10): 2297–2305.
- [19] Rohban R, Amoozegar MA, Ventosa A. Screening and isolation of halophilic bacteria producing extracellular hydrolyses from Howz Soltan Lake, Iran. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2009, **36**(3): 333–340.
- [20] 孙凤芹, 汪保江, 李光玉, 等. 南海南沙海域沉积物中可培养微生物及其多样性分析. *微生物学报*, 2008, **48**(12): 1578–1587.
- [21] Mayr R, Busse HJ, Worliczek HL, *et al.* *Ornithinibacillus* gen. nov., with the species *Ornithinibacillus bavariensis* sp. nov. and *Ornithinibacillus californiensis* sp. nov.. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2006(56): 1383–1389.
- [22] Yoon JH, Kang SJ, Oh TK. Reclassification of *Marinococcus albus* Hao *et al.* 1985 as *Salimicrobium album* gen. nov., comb. nov. and *Bacillus halophilus* Ventosa *et al.* 1990 as *Salimicrobium halophilum* comb. nov., and description of *Salimicrobium luteum* sp. nov.. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2007(7): 2406–2411.