

西藏土壤中耐辐射阿氏芽胞杆菌 T61 的分离和鉴定

冯玮 张蕾 宣慧娟 万平 李艳红 杨志伟*

(首都师范大学生命科学学院 北京 100048)

摘要:【目的】对分离自西藏土样的菌株 T61 进行分离、鉴定和 UV 辐射抗性分析。【方法】对菌株 T61 进行形态和生理生化鉴定; 对 16S rRNA 基因进行克隆和测序, 构建系统进化树; 测定脂肪酸成分和 GC 含量, 将 T61 与最相近种进行 DNA-DNA 杂交; 测定 T61 的 UV 辐射抗性曲线。【结果】T61 细胞杆状, 长度约为 2 μm , 直径约为 1 μm , 革兰氏阳性, 可产生内生孢子。G+C 含量为 38.02%。脂肪酸主要成分是 C14:0 iso、C15:0 iso 和 C15:0 anteiso。16S rRNA 基因与阿氏芽胞杆菌 B8W22^T 和巨大芽胞杆菌 IAM13418^T 相似度最高, 分别达到 99.93% 和 99.53%。DNA-DNA 杂交分析表明, T61 与阿氏芽胞杆菌 B8W22^T 的相似度为 81.4%, 而与巨大芽胞杆菌 IAM13418^T 的相似度只有 50.3%。UV 辐射抗性分析显示, T61 D_{10} 为 100 J/m², 远高于辐射敏感的大肠杆菌 K12 和枯草芽胞杆菌等菌株。【结论】菌株 T61 是一株阿氏芽胞杆菌, 命名为 *Bacillus aryabhattai* T61, 其对 UV 辐射具有较强的抗性。

关键词: 芽胞杆菌, 辐射抗性, 分离和鉴定, DNA-DNA 杂交

Isolation and identification of radiation resistant *Bacillus aryabhattai* T61 from Tibetan soil

FENG Wei ZHANG Lei XUAN Hui-Juan WAN Ping LI Yan-Hong YANG Zhi-Wei*

(College of Life Sciences, Capital Normal University, Beijing 100048, China)

Abstract: [Objective] To identify strain T61 which was isolated from Tibetan soil and analyze its radiation resistance. [Methods] First, investigate the morphological and biochemical characteristics of T61; Second, amplify the sequence of 16S rRNA gene and construct the phylogenetic tree; Third, determine compositions of fatty acids, DNA G+C content and DNA-DNA hybridization; Finally, analyze T61 survival curve after exposure to UV radiation. [Results] T61 cells were rod-shaped, 2 μm in length, 1 μm in diameter, gram-positive and endospore-forming. Strain T61 had a G+C content of 38.02%. The main Fatty acids were C14:0 iso, C15:0 iso and C15:0 anteiso. Phylogenetic analysis of the 16S rRNA gene showed that strain T61 had 99.93% and 99.53% similarities with *Bacillus aryabhattai* B8W22^T and *Bacillus megaterium* IAM13418^T, respectively. At the whole genome level, the DNA-DNA relatedness between T61 and *Bacillus aryabhattai* B8W22^T was 81.4%, but only 50.3%

Foundation item: Scientific Research Common Program of Beijing Municipal Commission of Education (No. KM201510028010)

*Corresponding author: Tel: 86-10-68901494; Fax: 86-10-68902029; E-mail: yangzw@cnu.edu.cn

Received: April 20, 2015; **Accepted:** May 18, 2015; **Published online** (www.cnki.net): June 02, 2015

基金项目: 北京市教育委员会科技计划面上项目(No. KM201510028010)

*通讯作者: Tel: 86-10-68901494; Fax: 86-10-68902029; E-mail: yangzw@cnu.edu.cn

收稿日期: 2015-04-20; **接受日期:** 2015-05-18; **优先数字出版日期**(www.cnki.net): 2015-06-02

with *Bacillus megaterium* IAM13418^T. D_{10} values of T61 after exposure to UV was 100 J/m², much higher than those of radiation-sensitive *Escherichia coli* K12 and *B. subtilis*. **[Conclusion]** Strain T61 was highly resistant to UV radiation. It was identified as *Bacillus aryabhattai* species, and was proposed the name *Bacillus aryabhattai* T61.

Keywords: *Bacillus*, Radiation resistance, Isolation and identification, DNA-DNA hybridization

耐辐射微生物是一类十分重要的极端环境微生物资源,对于电离辐射、UV射线、化学诱变剂、强氧化剂和干燥剂具有很强的抗性,目前在细菌、古菌和真核生物中都有报道^[1-5]。大多数耐辐射细菌是革兰氏阳性菌,包括*Deinococcus*、*Rubrobacter*、*Kocuria*、*Lactobacillus*、*Enterococcus*、*Kineococcus*和*Serratia*等属的菌株^[3-4,6]。只有少数耐辐射细菌是革兰氏阴性菌,例如*Methylobacterium*^[7]和*Chroococcidiopsis*^[8]等属的菌株。在所有耐辐射微生物中,耐辐射奇异球菌(*D. radiodurans*)是迄今发现的辐射抗性最强的菌株^[1,3],与它同属的细菌也大多具有较强的辐射抗性。在芽胞杆菌辐射抗性研究方面,目前大多数研究集中在芽胞抗性方面,对生长期细胞辐射抗性的研究不是十分深入。目前已报道从含盐土壤或热泉中分离得到 γ -射线耐受菌株*Bacillus* sp. HKG112^[9]和巨大芽胞杆菌WHO^[10-11]。Shivaji等报道阿氏芽胞杆菌B8W22生长期细胞具有较强的UV抗性^[12]。陈晓明等观察了枯草芽胞杆菌黑色变种营养体细胞对中子、脉冲X光和紫外线的耐受性^[13]。研究耐辐射芽胞杆菌的辐射抗性,不仅可以促进人们对生物体辐射抗性机理的了解,还有助于揭示辐射相关的抗氧化保护机制。

西藏自治区位于青藏高原的西南部,平均海拔在4 000 m以上,高寒、缺氧、降水少、日照长、辐射强。其独特的自然地理环境,使之蕴含着丰富的生物资源宝藏。在2010-2011年间,本课题组先后两次赴西藏采集了大量土壤样品,并已报道一株耐辐射革兰氏阴性菌株*Belnapia* sp. F-4的分离和鉴定^[14]。本研究对另一个耐辐射菌株*Bacillus aryabhattai* T61进行了分离鉴定和UV辐射抗性分析。

1 材料与方法

1.1 菌株和培养条件

菌株 T61 分离于西藏冈巴拉山土样,由本实验室分离保存。对照菌株耐辐射奇异球菌(*Deinococcus radiodurans*, CGMCC1.633)和枯草芽胞杆菌(*Bacillus subtilis*, CGMCC1.1391)购自中国科学院微生物研究所菌种保藏中心。大肠杆菌(*Escherichia coli* K12)由中国农业科学院张维研究员馈赠。巨大芽胞杆菌(*Bacillus megaterium*, ACCC10245)由中国农业微生物菌种保藏管理中心张晓霞副研究员馈赠。*Bacillus aryabhattai* DSM21047 购自德国微生物菌种保藏中心 DSMZ。T61、*Bacillus aryabhattai* DSM21047、*Bacillus megaterium* 和 *Deinococcus radiodurans* 用 TGY 培养基(g/L, 胰蛋白胨 5、酵母提取物 3、葡萄糖 1, pH 7.0) 30 °C 培养。*Escherichia coli* 用 LB (Luria-Bertani)培养基(g/L, 蛋白胨 10、酵母粉 5、NaCl 10, pH 7.0) 37 °C 培养。*Bacillus subtilis* 用 BPY (Beef-Protein-Yeast)培养基(g/L, 牛肉膏 5、蛋白胨 10、酵母粉 5、葡萄糖 5、NaCl 5, pH 7.0) 37 °C 培养。

1.2 菌株的分离和纯化

取 1 g 土样加入 5 mL 0.1 mol/L 磷酸钾缓冲液(pH 7.0)中,充分振荡 30 min,混匀静置 20 min 后,取 100 μ L 上清液涂布于 TGY 固体培养基,30 °C 培养。挑取单菌落在 TGY 培养基上划线纯化,获得纯培养菌株。

将菌株培养至对数早期($OD_{600}=0.3-0.4$),分别吸取 20 mL 菌液,5 000 r/min 离心 5 min,收集菌体沉淀。用 0.1 mol/L 磷酸钾缓冲液洗涤两次并等体积悬浮。之后分别吸取 1.5 mL 悬液加入直径 30 mm

的无菌培养皿中,放入灭菌磁针,开盖置于电动旋转平台上(转速 20–30 r/min),进行紫外线辐照,辐照剂量为 400 J/m²。UV 处理后,将菌液用 0.1 mol/L 磷酸钾缓冲液适当稀释,取 100 μ L 稀释液涂布 TGY 固体培养基。每个处理重复 3 次。以对数早期 *D. radiodurans* 和 *E. coli* K12 为对照,计算辐射存活率,选取辐射生存率较高的菌株进行下一步实验。

1.3 形态学观察和生理生化鉴定

采用 Leica-DMRE 显微镜(德国莱卡公司)和 Hitachi SU8010 冷场发射扫描电子显微镜(日本日立公司)观察菌株形态特征。革兰氏染色采用标准的革兰氏染色方法^[15]。采用 API 20E、API ZYM 和 API 50CHB/E 试剂条(BioMérieux inc.)测定菌株的生理生化特点,按照厂家说明书进行操作。生长温度测定:采用 TGY 固体培养基在 4、20、30、37 和 50 °C 培养 5 d,观察生长情况。生长 pH 测定:采用 TGY 液体培养基在 pH 5.0–10.0 范围内(间隔 1.0) 30 °C、200 r/min 培养 24 h,观察生长情况。抗生素抗性分析:采用药敏纸片(杭州微生物试剂有限公司),终浓度为(mg/L): 氨苄青霉素(Amp) 10、氯霉素(Cm) 30、卡那霉素(Km) 30、四环素(Tc) 30、链霉素(Sm) 10、红霉素(Erm) 15、壮观霉素(Spc) 100、利福平(Rif) 5。具体方法是:挑取 T61 单菌落于 5 mL TGY 液体培养基中,30 °C、200 r/min 培养 2–8 h。用灭菌棉拭子蘸取菌液,涂布整个 TGY 培养基表面。待平板上的水分被琼脂完全吸收后贴药敏纸片。经 30 °C 温箱培养 18–24 h 后,观察菌落生长情况。

1.4 总 DNA 提取和 16S rRNA 基因序列分析

菌株基因组 DNA 提取采用 CTAB 法^[16]。以菌株基因组 DNA 为模板,以细菌 16S rRNA 基因通用引物 27F (5'-AGAGTTTGTATCCTGGCTCA-3') 和 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3') 进行 PCR 扩增。反应体系(50 μ L): ddH₂O 37.75 μ L, 27F 和 1492R (10 μ mol/L)各 1 μ L, 10 \times 缓冲液(40 mmol/L Tris-HCl, 50 mmol/L KCl, 1.5 mmol/L MgCl₂, pH 8.3) 5 μ L, dNTPs 2 mmol/L 4 μ L, 模板 1 g/L 1 μ L, *Taq*

酶 5 U/ μ L 0.25 μ L。反应条件: 94 °C 5 min; 94 °C 30 s, 52 °C 90 s, 72 °C 90 s, 30 个循环; 72 °C 10 min。LYPCR 产物克隆到 pEASY-T3 (TransGen Biotech)载体上,转化 Trans1-T1 感受态细胞(TransGen Biotech)中,筛选正确的阳性克隆在生工生物工程(上海)有限公司进行测序。测序结果在 EzTaxon 网站与细菌模式菌株的 16S rRNA 基因序列进行比对。用 MEGA 5.0 对 16S rRNA 基因相似度高的菌株进行系统发育分析。

1.5 G+C 含量测定与脂肪酸含量测定

由中国科学院微生物研究所对菌株进行脂肪酸成分分析,所用仪器是美国 MIDI (Microbial Identification)公司 Sherlock 全自动细菌鉴定系统。深圳华大基因科技有限公司利用 Illumina Hiseq 2000 对菌株 T61 进行了全基因组测序,并根据基因组 DNA 的 G、C 碱基数目的比例,确定 G+C 含量^[9]。

1.6 DNA-DNA 杂交

DNA-DNA 杂交由中国工业微生物菌种保藏管理中心进行鉴定。所用仪器为 Beckman Coulter DU800 UV/VIS Spectrophotometer (德国贝克曼公司)。将实验菌株 T61 分别与巨大芽胞杆菌(*Bacillus megaterium* DSM32)和阿氏芽胞杆菌(*Bacillus aryabhattai* DSM21047)进行 DNA 杂交。

1.7 UV 辐射抗性实验

为避免芽胞对 UV 辐射抗性测定的影响,将芽胞杆菌 T61 新鲜液体培养过夜物按 1:3 000 的比例接入 TGY 液体培养基,30 °C、200 r/min 培养至对数早期(*OD*₆₀₀ 约为 0.3–0.4),另外两种对照菌 *B. megaterium* 和 *B. subtilis* 也按以上方法处理,在 Leica-DMRE 显微镜下镜检,没有观察到芽胞。之后按照 1.2 的方法,5 000 r/min 离心 5 min 收集菌体,用 0.1 mol/L 的磷酸钾缓冲液(pH 7.0)洗涤并悬浮。取 1.5 mL 细胞悬液加入直径 30 mm 无菌培养皿中,置于电动旋转平台上进行 UV 辐照,辐射波长 254 nm,辐照剂量为 0、200 和 400 J/m²。UV 处理后,用 0.1 mol/L 磷酸钾缓冲液适当稀释菌液,

取 100 μL 稀释液涂布于 TGY 固体培养基上, 每个处理重复 3 次。以对数早期 *D. radiodurans*、*E. coli* K12、*B. megaterium* 和 *B. subtilis* 为对照, 计算辐射存活率并绘制生存曲线。

2 结果与分析

2.1 菌株 T61 的分离和生理生化特征

从 400 J/m^2 UV 辐射后的西藏土壤样品中得到一株具有较强辐射抗性的菌株 T61。在 TGY 固体培养基 30 $^{\circ}\text{C}$ 培养 14 h 后, 菌落为圆形, 微黄色, 表面平坦湿润, 菌落内部呈黏液状, 直径大约 2–5 mm。菌株 T61 革兰氏反应阳性, 能运动, 可以产生内生孢子。在扫描电子显微镜下, T61 菌株的细胞形态为杆状, 长度约为 2 μm , 直径约为 1 μm (图 1)。生理生化实验显示, T61 与阿氏芽胞杆菌模式株 DSM21047 一致, 氧化酶、磷酸酶、酯酶、半乳糖苷酶等阳性, 胰蛋白酶、芳胺酶等阴性; 可以利用甘油、L-阿拉伯糖、核糖、D-木糖、半乳糖、葡萄糖、果糖、麦芽糖、海藻糖等产酸; 可以利用丙酮酸、葡萄糖、甘露醇、蔗糖、蜜二糖等碳源, 但不能利用山梨醇、鼠李糖等。T61 菌株在 10–37 $^{\circ}\text{C}$ 、pH 6.0–10.0 条件下可以生长, 最适温度 30 $^{\circ}\text{C}$, 最适 pH 7.0。抗生素试验显示, T61 对氨苄青霉素、氯霉素、卡那霉素、四环素、链霉素、红霉素、壮观

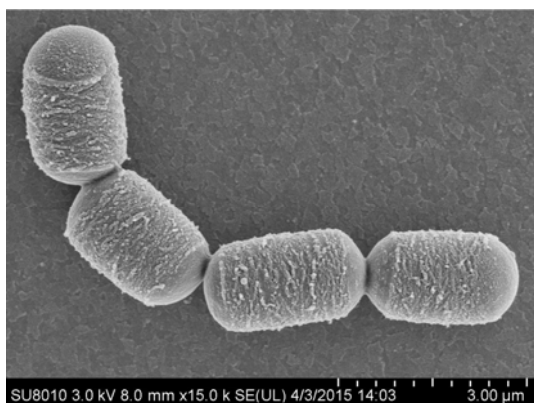


图 1 菌株 T61 的扫描电子显微镜图片 (液体 TGY 饱和培养物)

Figure 1 The scanning electron microscopic photographs T61 cells grown to saturation in TGY medium

霉素、利福平敏感, 不具抗性, 有利于细菌的遗传操作。

2.2 16S rRNA 基因序列测定和系统进化树分析

将 T61 的 16S rRNA 基因序列与 EzTaxon 细菌模式菌株的 16S rRNA 基因序列进行比较, 结果表明, T61 与阿氏芽胞杆菌 B8W22^T (*Bacillus aryabhattai* B8W22^T=DSM21047) 相似度最高, 达到 99.93%, 与巨大芽胞杆菌 IAM13418^T (*Bacillus megaterium* IAM13418^T=DSM32) 相似度为 99.53%。基于 16S rRNA 基因序列构建了 T61 与亲缘关系相近种的系统发育树 (图 2)。系统发育树表明菌株 T61 与阿氏芽胞杆菌和巨大芽胞杆菌的进化距离非常近, 是 *Bacillus* 属的一个菌株, 暂定名为 *Bacillus* sp. T61。

2.3 T61 的脂肪酸组成、G+C 含量和 DNA-DNA 杂交

脂肪酸组成测定表明 T61 含有 C14:0 iso、C14:0、C15:0 iso、C15:0 anteiso、C16:0 iso、C16:1 w11c、C16:0 和 C17:0-anteiso (表 1)。与阿氏芽胞杆菌和巨大芽胞杆菌模式株相比, 菌株 T61 的脂肪酸组成更接近于阿氏芽胞杆菌 B8W22^T。

T61 基因组 DNA 的 G+C 含量为 38.02%, 与阿氏芽胞杆菌模式菌株 B8W22^T 一致^[12]。DNA-DNA 杂交结果显示, 在全基因组水平上, T61 与阿氏芽胞杆菌 B8W22^T 的相似度为 81.4%, 而与巨大芽胞杆菌 IAM13418^T 的相似度只有 50.3%。根据以上结果, 确定 T61 为阿氏芽胞杆菌的一个菌株, 命名为 *Bacillus aryabhattai* T61。

2.4 阿氏芽胞杆菌 T61 在不同 UV 辐射剂量下的存活曲线

将菌株 T61 和对照株分别培养到对数生长早期 (OD_{600} 约为 0.3–0.4), 取细胞悬液接受不同剂量的 UV 辐射, 绘制生存曲线, 结果见图 3。可以看出, *B. aryabhattai* T61 菌株的辐射抗性显著高于辐射敏感的 *E. coli* K12、*B. megaterium* 和 *B. subtilis*, 而与耐辐射菌株 *D. radiodurans* 相接近。在辐射剂量达 100 J/m^2 时, *E. coli* K12 的存活率已降至 0.001%

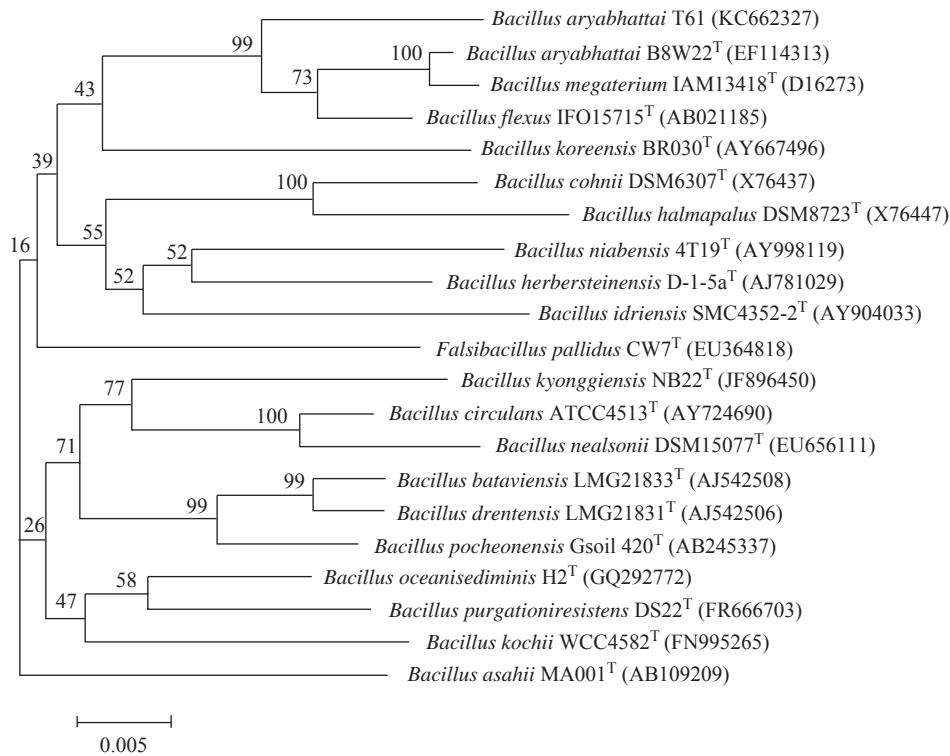


图 2 根据 16S rRNA 基因序列构建的 T61 与亲缘关系相近菌种的系统发育树

Figure 2 Phylogenetic dendrogram obtained by distance-matrix analysis of 16S rRNA gene sequences indicating the position of strain T61 among its phylogenetic neighbors

注: 括号里的数字为GenBank登录号; 节点上的数字为Bootstrap值(1 000次重复抽样的百分比); 比例尺代表每100个核苷酸中有0.5个核苷酸发生替代.

Note: Numbers in parentheses are GenBank accession numbers; Bootstrap values (expressed as percentages of 1 000 replications) are given at nodes; The scale bar represents 0.5 substitutions per 100 nucleotide positions.

表1 菌株T61与进化最相似菌株的脂肪酸含量 Table 1 Total fat acids compositions of T61 and its nearest phylogenetic neighbors (%)			
脂肪酸 Fatty acid	阿氏芽胞杆菌T61 <i>Bacillus aryabhattai</i> T61	阿氏芽胞杆菌 <i>Bacillus aryabhattai</i> B8W22 ^T (DSM21047)	巨大芽胞杆菌 <i>Bacillus megaterium</i> IAM13418 ^T (DSM32)
C14:0 iso	10.81	8.13	6.80
C14:0	2.05	2.25	1.62
C15:0 iso	32.13	28.87	24.98
C15:0 anteiso	44.77	45.68	49.95
C16:0 iso	1.69	2.27	2.46
C16:1 w11c	1.24	1.90	1.91
C16:0	3.10	5.43	4.72
C17:0 iso	—	1.35	1.85
C17:0 anteiso	1.76	3.25	4.87

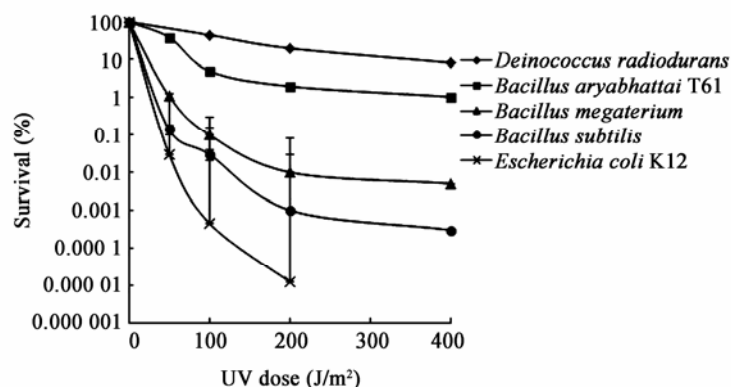


图3 菌株 T61 UV 辐射生存曲线

Figure 3 Survival curves of T61 after exposure to UV radiation

以下, 而 *B. aryabhattai* T61 的存活率仅下降 1 个数量级($D_{10}=100 \text{ J/m}^2$)。随着辐射剂量的增加, T61 依然保持较高的存活率, 而对照菌株 *B. megaterium* 和 *B. subtilis* 在辐照剂量超过 200 J/m^2 时, 存活率都下降至 0.01% 以下。

3 讨论

本研究从来自西藏冈巴拉山的土样中分离了一株耐辐射芽胞杆菌 T61。系统进化树分析表明, T61 与阿氏芽胞杆菌 B8W22^T 和巨大芽胞杆菌 IAM13418^T 的相似度最高, 16S rRNA 基因的相似度分别达到 99.93% 和 99.53%。但 DNA-DNA 杂交分析表明, 在全基因组范围内, T61 与阿氏芽胞杆菌 B8W22^T 的相似度为 81.4%, 而与巨大芽胞杆菌 IAM13418^T 的相似度只有 50.3%。结合形态和生理生化分析, 确定 T61 为阿氏芽胞杆菌的一个菌株, 命名为 *Bacillus aryabhattai* T61。T61 对 UVC 辐射具有较强抗性, 对数期细胞 D_{10} 为 100 J/m^2 。

目前在芽胞杆菌辐射抗性研究方面, 大多数研究集中在芽胞的辐射抗性方面, 常用的实验系统有枯草芽胞杆菌和短小芽胞杆菌等^[17-19]。近年来, 一些研究报道芽胞杆菌生长期细胞具有较强的辐射抗性。Gupta 等从含盐土壤中分离得到 *Bacillus* sp. HKG112, 在 γ -射线辐射下, 该菌株的对数期细胞 ($OD_{660}=0.3$) D_{10} 达到 12.5 kGy ^[9]。Yazdani 等报道

Bacillus megaterium WHO 的对数期细胞也表现出较强的 γ -射线辐射抗性, D_{10} 约为 10 kGy ^[10-11]。Shivaji 等对阿氏芽胞杆菌 B8W22 对数生长后期细胞 ($OD_{660}=1.0$) 进行 UV 抗性测定, 在 UV 剂量为 0.1 J/cm^2 时的存活率为 20%^[12]。陈晓明等将枯草芽胞杆菌黑色变种 37°C 、 200 r/min 培养 12 h 获得营养体细胞, 并测定了细胞对 X 光和紫外线的辐射抗性, 其中对 UVC 的 D_{10} 达到 16.68 J/cm^2 ^[13]。本研究以辐射敏感和抗性菌株为对照, 表明阿氏芽胞杆菌 T61 对数期细胞 (OD_{660} 约为 0.3–0.4) 对 UVC 具有较强的辐射抗性, 并且前期工作证实该菌株对 γ 射线也具有较强的抗性, D_{10} 值为 4 kGy ^[20]。需指出的是, 由于各研究组所用辐射设备和辐射条件不同, 受试菌株的生长期不一致, 因此难以对各菌株的辐射抗性强弱进行比较。

目前对芽胞杆菌的辐射抗性及其调控机理还所知甚少。在未来的工作中, 将以阿氏芽胞杆菌 T61 为实验系统, 进一步克隆和分析辐射抗性相关基因, 研究辐射抗性的转录调控机制, 以期拓宽对细菌辐射抗性机理的认识。同时, 利用耐辐射芽胞杆菌抗逆性很强的特点构建的工程菌, 将在污染环境的生物修复、饲料、肥料加工业等方面具有广阔的应用前景。

致谢: 感谢北京理工大学生命学院张建丽教授对 T61 菌株分离鉴定的指导和帮助。

参考文献

- [1] Cox MM, Battista JR. *Deinococcus radiodurans*-the consummate survivor[J]. Nature Reviews Microbiology, 2005, 3(11): 882-892
- [2] Confalonieri F, Sommer S. Bacterial and archaeal resistance to ionizing radiation[J]. Journal of Physics: Conference Series, 2011, 261(1): 012005
- [3] Slade D, Radman M. Oxidative stress resistance in *Deinococcus radiodurans*[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2011, 75(1): 133-191
- [4] Sun JH, Shen PH, Wu B. A new ionizing-radiation resistant strain WGR702 isolated, identified, and radioresistant character[J]. Microbiology China, 2008, 35(8): 1214-1218 (in Chinese)
孙继华, 申佩弘, 武波. 一株新的耐辐射菌 WGR702的分离鉴定及耐辐射特性[J]. 微生物学通报, 2008, 35(8): 1214-1218
- [5] Wang W, Zhu J, Zhang ZD, et al. Research progress and application prospect of radiation-resistant prokaryotic microbe[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2013, 27(2): 177-182 (in Chinese)
王玮, 朱静, 张志东, 等. 原核耐辐射微生物资源研究及其应用前景[J]. 核农学报, 2013, 27(2): 177-182
- [6] Yuan ML, Zhang WP, Dai SM, et al. *Deinococcus gobiensis* sp. nov., an extremely radiation-resistant bacterium[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2009, 59(Pt 6): 1513-1517
- [7] Nogueira F, Luisa Botelho M, Tenreiro R. Radioresistance studies in *Methylobacterium* spp.[J]. Radiation Physics and Chemistry, 1998, 52(1/6): 15-19
- [8] Baqué M, Viaggiu E, Scalzi G, et al. Endurance of the endolithic desert cyanobacterium *Chroococcidiopsis* under UVC radiation[J]. Extremophiles, 2013, 17(1): 161-169
- [9] Gupta AK, Pathak R, Singh B, et al. Proteomic analysis of global changes in protein expression during exposure of gamma radiation in *Bacillus* sp. HKG 112 isolated from saline soil[J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2011, 21(6): 574-581
- [10] Yazdani M, Naderi-Manesh H, Khajeh K, et al. Isolation and characterization of a novel γ -radiation-resistant bacterium from hot spring in Iran[J]. Journal of Basic Microbiology, 2009, 49(1): 119-127
- [11] Yazdani M, Naderi-Manesh H. Comparative proteomics analysis of a novel γ -radiation-resistant bacterium wild-type *Bacillus megaterium* strain WHO DQ973298 recovering from 5 kGy γ -irradiation[J]. Iranian Journal of Biotechnology, 2012, 10(2): 96-105
- [12] Shivaji S, Chaturvedi P, Begum Z, et al. *Janibacter hoylei* sp. nov., *Bacillus isronensis* sp. nov. and *Bacillus aryabhatai* sp. nov., isolated from cryotubes used for collecting air from the upper atmosphere[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2009, 59(12): 2977-2986
- [13] Chen XM, Cao YC, Xiao ZX. Radio resistance ability of a *Bacillus subtilis* radioresistant strain[J]. Environmental Science & Technology, 2011, 34(9): 1-4 (in Chinese)
陈晓明, 曹以诚, 萧主先. 一株耐辐射枯草芽孢杆菌的辐照抗性研究[J]. 环境科学与技术, 2011, 34(9): 1-4
- [14] Bai MY, Xuan HJ, Li L, et al. Identification of a radiation resistant *Belnapia* strain and proteomic analysis after exposure to gamma radiation[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2014, 28(2): 169-176 (in Chinese)
白明艳, 宣慧娟, 李利, 等. 耐辐射 *Belnapia* 菌株的分离和辐照后蛋白质组学分析[J]. 核农学报, 2014, 28(2): 169-176
- [15] Dong XZ, Cai MY. Identification Manual of Common Bacteria System[M]. Beijing: Science Press, 2001 (in Chinese)
东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001
- [16] Wilson K. Preparation of genomic DNA from bacteria[J]. Current Protocols in Molecular Biology, 2001, 2: 2.4.1-2.4.5
- [17] Moeller R, Stackebrandt E, Reitz G, et al. Role of DNA repair by nonhomologous-end joining in *Bacillus subtilis* spore resistance to extreme dryness, mono- and polychromatic UV, and ionizing radiation[J]. Journal of Bacteriology, 2007, 189(8): 3306-3311
- [18] Granger AC, Gaidamakova EK, Matrosova VY, et al. Effects of Mn and Fe levels on *Bacillus subtilis* spore resistance and effects of Mn^{2+} , other divalent cations, orthophosphate, and dipicolinic acid on protein resistance to ionizing radiation[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(1): 32-40
- [19] Vaishampayan PA, Rabbow E, Horneck G, et al. Survival of *Bacillus pumilus* spores for a prolonged period of time in real space conditions[J]. Astrobiology, 2012, 12(5): 487-497
- [20] Xuan HJ, Li L, Bai MY, et al. Radiation resistance of *Bacillus* sp. T61 and analysis of cellular protein changes after gamma-ray irradiation[J]. Journal of Radiation Research and Radiation Processing, 2014, 32(3): 030204 (in Chinese)
宣慧娟, 李利, 白明艳, 等. 芽孢杆菌 T61的辐射抗性和伽玛射线辐照后蛋白质组的变化分析[J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 2014, 32(3): 030204