微生物学通报
Microbiology China
tongbao@im.ac.cn

Sep. 20, 2014, 41(9): 1733−1740
© 2014 by Institute of Microbiology, CAS
DOI: 10.13344/j.microbiol.china.130783

研究报告

比什凯克盐碱土壤可培养细菌的多样性

王宁[1] 包慧芳[1] 崔卫东[1] 龙宣杞[1] 王炜[2*]

(1. 新疆农业科学院微生物应用研究所 新疆 乌鲁木齐 830091)
(2. 中国科学院新疆分院 新疆 乌鲁木齐 830011)

摘 要：【目的】通过对吉尔吉斯共和国比什凯克地区一处盐碱土壤样品可培养细菌的分离筛选，初步了解该地区土壤微生物生理多样性和系统发育多样性。【方法】利用加盐(NaCl 5%)的R2A、TSB、1/4×NA 和 Gause No.1 培养基筛选耐盐碱菌株。对部分分离菌株的革兰氏染色、耐盐性、生长温度范围、pH 耐受、产酶性能进行了比较，进而采用核糖体 DNA 扩增片段限制性酶切分析(ARDRA)研究了比什凯克地区耐盐碱细菌的群落结构和多样性。【结果】从比什凯克地区盐碱土样中分离得到 120 株耐盐碱细菌，通过限制性内切酶 *Hae* III 对纯化菌株的 16S rRNA 基因进行酶切分型，根据 ARDRA 的酶切图谱，将其划分为 19 个操作分类单元。16S rRNA 基因序列测定和系统发育分析结果显示，分离菌株分布于厚壁菌门、放线菌门、变形菌门下的 17 个种属，且部分菌株的 16S rRNA 基因序列同源性低于 97%，可能是潜在的新种。【结论】比什凯克地区盐碱土样中的耐盐碱细菌不仅具有丰富的多样性，还蕴藏着具有地域特点的新菌种资源。

关键词：可培养，ARDRA，耐盐碱细菌多样性，菌种资源

Diversity of bacteria isolated from saline alkali soil of Bishkek region in Kyrgyzstan

WANG Ning[1] BAO Hui-Fang[1] CUI Wei-Dong[1] LONG Xuan-Qi[1] WANG Wei[2*]

(1. *Institute of Microbiology of Xinjiang Academy of Agricultural Sciences*, *Urumqi*, *Xinjiang* 830091, *China*)
(2. *Xinjiang Branch of Chinese Academy of Sciences*, *Urumqi*, *Xinjiang* 830011, *China*)

Abstract: [Objective] The diversity of culturable bacteria in saline alkali soil of Bishkek region in Kyrgyzstan was detected by Physiological test and phylogenetic analysis. **[Methods]** Using the screening media (R2A, TSB, 1/4 x NA and Gause No. 1 medium) containing 5% NaCl, salt resistant strains were screened. Based on morphological characteristics involving gram staining, salt resistance, growth temperature, pH tolerance and enzyme production performance, we researched the taxonomic identity and genetic variability of strains isolated by ARDRA classification map. **[Results]** One hundred and twenty salt-tolerant strains were isolated from Bishkek saline soil samples. Restriction enzyme *Hae* III was applied in ARDRA and 19 operational taxonomic units (OTUs) were assigned on the basis of the ARDRA patterns. Each OTU was randomly chosen for 16S rRNA gene

基金项目：国家国际科技合作计划项目(No. 2010DFA92720-11-4)；科技支疆项目(No. 201091227)
*通讯作者：Tel：86-991-3632675；✉：whangwei0718@126.com
收稿日期：2013-11-15；接受日期：2014-02-25；优先数字出版日期(www.cnki.net)：2014-03-17

sequencing. The phylogenetic analysis on the basis of 16S rRNA gene homology showed that all isolates affiliated to 17 genera, belonged to Firmicutes, Proteobacteria and Actinobacteria. Two of the isolates showed less affilation with known taxon (<97% sequence similarity) and may represent novel taxa. **[Conclusion]** The results suggest that the salt-tolerant bacteria are abundant, and some unknown taxa maybe exist in Bishkek region.

Keywords: Culturable bacteria, ARDRA, Diversity, Culture collection

盐碱地是由于干旱地区蒸发量大，导致土壤中所含盐分在地表逐渐积累的现象[1]。盐碱土的有机质含量少，理化性状差，有害离子多，对地表植被的生长易产生不良影响。研究表明，全球25%的土地面积受盐渍化影响[2]。盐碱环境属于一种极端环境，极端环境中生存着嗜极微生物(Extremophiles)。这些微生物具有极为特殊的生理机制，并产生特殊的代谢产物，如多种多样的特殊酶类(耐热酶、碱性酶等)及各种生物活性物质，具有广泛的应用价值[3]。随着极端环境微生物的广泛研究，盐碱环境下微生物的生态研究也越来越受到人们的关注。国内已有诸多学者对我国新疆、青海盐碱环境中古菌、细菌多样性进行了研究[4-6]。

吉尔吉斯共和国(简称吉国，下同)地处中亚中心位置，整体上是半干旱、干旱、极度干旱交错的区域。半荒漠和干旱草原以及寒冷冻土带、“永冻”雪层和冰川等多种自然景观带均有分布，也有森林、湿地等各类生态系统。比什凯克位于吉尔吉斯山北麓的楚河谷地中心，地貌类型包括丘陵和中低山，为明显干旱的大陆性气候带，其气候特点是夏季凉爽，冬季寒冷。冬季平均气温为 −7 °C，全年平均气温不超过 10 °C，全年降水量 400 mm[7]。

由此可见，吉国具有特殊多样的生态环境，必定孕育了特殊多样的微生物资源，是一个亟待开发的生物资源库，可为生物技术研究与应用提供丰富而多样的基础生物材料。另外，吉国紧临我国新疆，对吉国微生物多样性进行研究，可提升我国对吉国生态与微生物资源的认识。但目前关于吉国特殊环境微生物多样性的报道极少，亦未见关于比什凯克地区盐碱生境下土壤微生物多样性的报道。因此，本研究采用可培养方法对此地区一处盐碱土壤细菌进行多样性分析，为下一步对吉国其它环境土壤微生物群落构成分析奠定基础，也为当地微生物资源的保护开发提供一定的依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂和仪器：PCR 反应试剂盒购自宝生物工程(大连)有限公司，PCR 扩增引物合成及样品测序由上海生工生物工程技术服务有限公司完成。离心机为 Eppendorf Centrifuge 5417R，PCR 仪为 Eppendorf Mastercycler® ep。

1.1.2 样品采集及土壤理化性质分析：2012 年 7 月，土壤样品采自吉国距比什凯克市区 11.92 km (42°45′N，74°33′E)的盐碱地，海拔 1 149 m，地表植被为少量苜蓿。随机选取 5 点深度为 10–20 cm 的土壤样品，混匀后装入无菌容器内，4 °C 保存备用。运至实验室后，按样品与蒸馏水 1∶3 的比例在摇床振荡 10 min 后静置 30 min，用水浸法测定土壤浸出液 pH 值，质量法检测水溶性盐总量。土壤理化性质检测参照文献[7-9]。

1.1.3 培养基：加盐(NaCl 5%)的 R2A、TSB、1/4×NA 和 Gause No.1 培养基[10]。

1.2 方法

1.2.1 菌株的分离与纯化：依据梯度稀释法[11]，称取 10 g 土壤样品于 90 mL 无菌生理盐水中，30 °C 活化 30 min 后进行梯度稀释，选取 10^{-2}、10^{-3} 和 10^{-4} 稀释液分别涂布于分离培养基平板，每个处理 3 个重复。R2A、TSB、1/4×NA 平板置 37 °C 培养，Gause No.1 平板置 28 °C 培养。待长出菌落后挑取形状、大小、颜色等不同的菌落分别划线接

种于相应的平板，直至无杂菌落。所得纯培养物转接至加有 5% NaCl 的 TSB 或 Gause No.1 斜面培养基，4 °C 保藏备用。或将液体纯培养物补充15%的灭菌甘油冷冻保藏在−70 °C 冰箱。

1.2.2 菌株部分生理生化特征：革兰氏染色：分别对各菌株进行革兰氏染色，电子显微镜观察染色结果[12]；NaCl 耐受实验：在培养基中分别添加 0、5%、10%、15%、20%的NaCl，将各菌株分别接种至相应平板，观察生长情况；pH 耐受实验：将分离用的液体培养基 pH 分别调制为 5–10，将各菌株接种至不同酸碱度的试管中振荡培养 72 h，观察生长情况；生长温度范围检测：设置 10–60 °C 6 个温度梯度，将各菌株分别接种至相应平板，培养 72 h 后观察生长情况；酶活性检测：在分离培养基中分别加入相应底物，进行淀粉酶、酯酶(短链脂肪酶)、蛋白酶的测定[13]。

1.2.3 16S rRNA 基因的扩增：牙签挑取新鲜培养的菌落，接至 1 mL ddH_2O 中，振荡，取 1 μL 作 PCR 模板[14]。用细菌 16S rRNA 基因通用引物[15](27F：5′-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3′，1492R：5′-AAGGATGGTGATGCCGCA-3′)进行 PCR 扩增。反应条件为：95 °C 5 min；95 °C 45 s，57 °C 30 s，72 °C 1.5 min，30 个循环；72 °C 7 min。PCR 扩增产物以 0.8%琼脂糖凝胶电泳检测。

1.2.4 PCR 产物的 ARDRA 分析：酶切反应体系为 15 μL，其中 10×Buffer 1.5 μL，限制性内切酶(*Hae* III) 2 μL，PCR 产物 10 μL，ddH_2O 补充体系至 15 μL，混匀后置于 37 °C 酶切 1 h。取酶切产物 15 μL 于 2.0%琼脂糖凝胶，100 V 电压下电泳 1 h 后进行酶切带型的分析[16]，带型相同的菌株归为同一分类单元(OTU)。

1.2.5 系统进化分析：ARDRA 带型不同的扩增产物送至上海生工生物工程技术服务有限公司测序。将所得序列用 EzTaxon server 2.0 在线进行相似性分析，用 ClustalX 按照最大同源性的原则进行排序，采用 Kimura-2 计算核苷酸差异值，利用 MEGA 5.0 软件包采用邻接法(Neighbor-Joining)进行系统进化树的构建及多样性分析，自展数(Bootstrap)为 1 000[17-18]。

1.2.6 细菌多样性分析：基于 OTU 的丰度，运用 Microsoft Office Excel 2007 中文版软件评估该样点可培养细菌的多样性，各公式计算如下[19]：

Simpson 指数(D)：$D=1-\sum P_i^2$；

Shannon-Wiener 指数(H')：$H'=-\sum P_i \ln P_i$；

Pielou 均匀度指数(E)：$E=H'/\ln S$；

式中 $P_i = N_i/N$，N_i 是第 i 属的菌株数，$N=\sum N_i$ 为全部属的菌株数之和；S 为群落中的总物种数。

1.2.7 核苷酸序列 GenBank 登录号：将测序获得的 16S rRNA 基因序列提交 GenBank 数据库，数据库登录号为：KF555351−KF555369。

2 结果与分析

2.1 土壤基本理化性质

分析吉国比什凯克地区盐碱地土壤理化性质可知：土壤 pH 为 8.26；总盐含量为 76.8 g/kg；含水率 4.39%；有机质含量 7.794 g/kg；全氮 0.355 g/kg；全磷 0.711 g/kg；全钾 13.636 g/kg；速效氮 25.4 mg/kg；速效磷 8.6 mg/kg；速效钾 201 mg/kg；土壤较贫瘠，呈低氮高钾趋势。

2.2 菌株分离及培养结果

采用 1.2.1 的方法进行菌株分离，根据菌落的大小、颜色、凸起特征、边缘特征、表面光滑与否和透明度等肉眼可辨的特性，对该样点分离到的培养物去冗余[20]，共得到菌株 120 株，编号为 KB1−KB120。

对部分菌株的生理特征进行检测，结果见表 1。革兰氏染色表明，13 株为革兰氏阳性，其余为革兰氏阴性；将 NaCl 浓度设计为 0–20%，用于检测菌株耐盐程度，KB62 在 20%的 NaCl 浓度下可生长，KB4、KB18 在 15%的 NaCl 浓度下可生长，多数菌株(占供试菌株的 68.42%)对 NaCl 耐受浓度

表 1 比什凯克盐碱地部分菌株的特性

Table 1 characteristics of the bacteria isolated from Bishkek region

菌株 Strain	生长特性 Growth characteristics				产酶特性 Enzyme production characteristics			系统发育关系 Phylogenetic affiliations			
	革兰氏 Gram staining	耐盐范围 NaCl (%)	pH 范围 pH	温度范围 Temperature (°C)	蛋白酶 Protease	淀粉酶 Amylase	酯酶 Esterase	操作分类单元 OTU	菌数 No. of strains	参考物种 Reference taxa	相似性 Similarity (%)
KB4	+	5–15	5–10	20–60	–	–	–	OTU1	13	*Bacillus anthracis* ATCC 14578^T	99.647
KB11	+	5–10	5–10	10–40	–	–	–	OTU2	2	*Streptomyces resistomycificus* NBRC 12814^T	96.130
KB12	–	0–10	6–8	20–40	+	–	+	OTU3	4	*Stenotrophomonas rhizophila* e-p10^T	99.520
KB15	+	0–5	5–8	20–40	+	–	–	OTU4	4	*Planococcus citreus* NCIMB 1493^T	99.456
KB16	–	0–5	5–8	20–40	+	–	+	OTU5	2	*Lysobacter capsici* YC5194^T	100
KB17	+	0–10	5–10	10–60	+	–	+	OTU6	3	*Bacillus pumilus* ATCC 7061^T	99.587
KB18	+	0–15	5–10	10–30	–	–	–	OTU7	13	*Brevibacterium frigoritolerans* DSM 8801^T	99.479
KB20	–	0–5	6–8	20–40	–	–	–	OTU8	5	*Rhizobium radiobacter* ATCC 19358^T	99.398
KB22	+	5–10	5–9	10–60	–	–	–	OTU9	3	*Brevibacillus laterosporus* DSM 25^T	98.778
KB26	+	0–10	5–9	10–50	+	+	–	OTU10	10	*Arthrobacter nitroguajacolicus* G2-1^T	99.161
KB27	–	0–5	5–8	20–40	+	–	+	OTU11	4	*Pseudomonas arsenicoxydans* VC-1^T	99.438
KB31	+	0–10	6–10	20–50	–	–	+	OTU12	16	*Streptomyces prasinus* NRRL B-2712^T	99.608
KB35	–	0–5	5–8	10–40	–	–	–	OTU13	2	*Ochrobactrum ciceri* Ca-34^T	95.483
KB42	+	5–10	5–10	10–40	–	–	–	OTU14	6	*Nocardia soli* DSM 44488^T	99.290
KB45	–	0–5	6–9	10–40	–	+	–	OTU15	6	*Proteus hauseri* DSM 14437^T	99.119
KB48	+	5–10	6–8	10–40	–	+	–	OTU16	3	*Sporosarcina luteola* Y1^T	98.974
KB56	+	0–10	5–9	10–40	–	–	+	OTU17	14	*Paenibacillus apiarius* NRRL NRS-1438^T	98.671
KB62	+	5–20	5–9	10–50	+	–	–	OTU18	3	*Exiguobacterium mexicanum* 8N^T	99.368
KB112	+	5–10	6–8	20–50	–	–	+	OTU19	7	*Corynebacterium casei* LMG S-19264^T	98.975

注：+：阳性；–：阴性.

Note: +: Positive; –: Negative.

的上限为 10%；生长 pH 范围测定结果表明，6 株菌在 pH 10 的条件下可生长，5 株菌在 pH 9 的条件下可生长，所有菌株在弱酸至中性环境下(pH 5–7)均可生长；设置 10–60 °C 6 个梯度对菌株生长进行检测，结果显示所有菌株在 20–40 °C 的中温条件下可生长，最适生长温度为 30 °C，其中 KB4、KB17、KB22 在 60 °C 也能生长，因此，比什凯克盐碱生境的供试菌株多为盐度及 pH 耐受范围较宽的中温菌。同时，本次实验还对分离的这 19 株菌进行了酶活测定，产蛋白酶菌株有 7 株，淀粉酶 3 株，酯酶 7 株。

2.3 ARDRA 及多样性分析

纯化后的 120 株细菌使用通用引物进行其 16S rRNA 基因的 PCR 扩增。PCR 产物用限制性内切酶 *Hae* III 进行单酶酶切分析。根据酶切图谱的差异聚类，划分为 19 种不同的 ARDRA 类型(见表 1、图 1)。其中属于 OTU12 的有 16 个菌株，OTU17 的有 14 个菌株，OTU1 和 OTU7 的各有 13 个菌株，分别占总菌数的 13.33%、11.67%及 10.83%，为优势菌群。基于 OTU 的丰度，运用 EXCEL 软件计算该样点可培养细菌的 Simpson 多样性指数为 0.08，Shannon-Wiener 多样性指数为 2.72，Pielou 均匀度指数为 1.97。ARDRA 类型及数据统计显示吉国比什凯克盐碱土壤细菌多样性较丰富且部分菌株有明显优势。

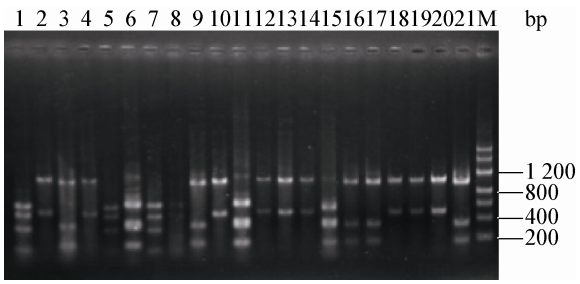

图 1 部分菌株 16S rRNA 基因片段 ARDRA 结果

Figure 1 ARDRA analysis of 16S rRNA gene fragments obtained from bacterial strains

Note: M: 200 bp DNA ladder; 1–21: 16S rRNA gene restriction fragments.

2.4 系统发育分析

根据上述 ARDRA 分析结果，将代表不同谱型的 19 株菌进行 16S rRNA 基因序列测定，将所测结果提交至 EzTaxon server 2.0 等数据库中进行相似性比较，选定其中同源性较高的相关菌株并与其标准序列构建成系统发育树(图 2)。从系统发育树来看，自比什凯克分离获得的细菌归为细菌域的 3 个门，即厚壁菌门(Firmicutes)、变形杆菌门(Proteobacteria)和放线菌门(Actinobacteria)，分布在短芽孢杆菌属(*Brevibacillus*)、芽孢八叠球菌属(*Sporosarcina*)、动性球菌属(*Planococcus*)、类芽孢杆菌属(*Paenibacillus*)、微小杆菌属(*Exiguobacterium*)、短杆菌属(*Brevibacterium*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、寡养单胞菌属(*Stenotrophomonas*)、溶杆菌属(*Lysobacter*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、变形杆菌属(*Proteus*)、根瘤菌属(*Rhizobium*)、苍白杆菌属(*Ochrobactrum*)、诺卡氏菌属(*Nocardia*)、棒状杆菌属(*Corynebacterium*)、节杆菌属(*Arthrobacter*)、链霉菌属(*Streptomyces*)等 17 个属，其中优势菌群为 *Streptomyces*、*Bacillus*、*Brevibacillus* 和 *Paenibacillus*。

属于厚壁菌门(低G+C mol%革兰氏阳性细菌)分支的细菌数量最多、种类最丰富，共有 8 个 OTUs，占总分离菌株的 46.67%。通过在 EzTaxon server 2.0 数据库中比对，OTU9 的代表性菌株 KB22 与 *Brevibacillus* 属的模式菌株同源性达到 98.778%；OTU17 的代表性菌株 KB56 与 *Paenibacillus* 属的模式菌株同源性达到 98.671%，且在数据库中与这两株菌相似性大于 97%的模式菌株都只搜索到一个，按 16S rRNA 序列相似性小于97%的菌株是属于不同物种的归类原则[21]，这两种酶切带型的 OUT 下的其它菌是否与模式菌株也有种内同源性还需进一步鉴定。

放线菌门(高G+C mol%革兰氏阳性细菌)分支的细菌有 5 个 OTUs，OTU10、OTU12、OTU13、OTU14 和 OTU19 的代表性菌株分别与 *Arthrobacter*、*Streptomyces*、*Nocardia* 属中标准菌株的 16S rRNA 序列相似性达到了 100%–98%；OTU2 (代表性菌

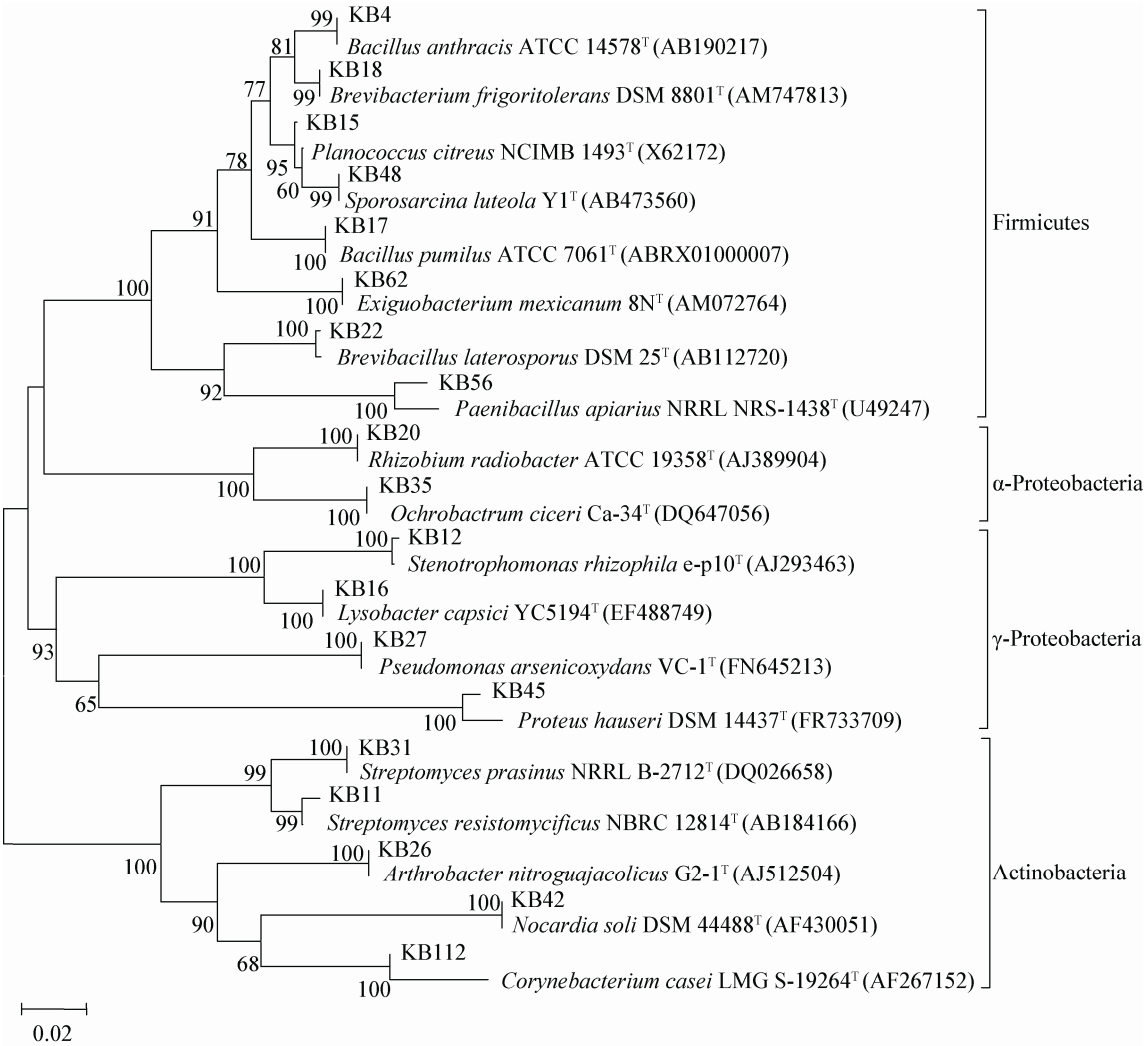

图 2 基于 16S rRNA 基因序列构建的系统发育树

Figure 2 Phylogenetic neighbour-joining tree based on the 16S rRNA gene sequences of strains

注：分支上的数据表示 Bootstrap 检验的支持百分率；括号内为菌株的 GenBank 序列号；标尺参数表示进化距离.

Note: The confidence values of 50 or above from 1 000 replicate bootstrap samplings are shown at each node. GenBank accession numbers are shown in the parentheses. Bar: 0.02 substitutions per nucleotide.

株 KB11) 与最近缘的模式菌株 *Streptomyces resistomycificus* NBRC 12814^T 相似性达到 96.130%，可能为 *Streptomyces* 属的新种。

变形杆菌门是比什凯克地区盐碱土可培养细菌中仅次于革兰氏阳性细菌的另一大发育谱系，由 6 种带型的菌株组成，占总分离菌株的 19.17%，聚类于 α-Proteobacteria 和 γ-Proteobacteria 两个菌纲。代表性菌株 KB35 与最近缘的模式菌株 *Ochrobactrum ciceri* Ca-34^T 同源性仅为 95.483%，可能为该属的新种。

3 讨论

耐盐碱菌是盐生生态系统重要的组成之一，在地球物理循环中起着关键作用[22]。有研究表明，土壤环境存在大量未知(未获得纯培养、未经鉴定)的微生物，可培养的微生物仅为 1%，甚至更少[3]。但是要了解微生物在生物圈行使的生态功能，仍需要对其进行分离纯化，因此分离培养工作仍然是研

究微生物多样性的一个不可缺少的手段[23]。本文采用可培养法和基于16S rRNA基因序列的系统进化分析对吉国比什凯克地区盐碱土样品中可培养细菌的多样性进行了研究，应用4种培养基(R2A、TSB、1/4×NA和Gause No.1)从采样地点分离到120株菌，经初步鉴定属于厚壁菌门、放线菌门和变形菌门下的17个属的类群，其结果初步揭示了该生境下可培养的耐盐碱菌的多样性及其系统发育。为了更全面的了解该土壤中微生物多样性，在后续研究中，可以结合其它分子技术如DGGE等方法对该地土壤微生物进行多样性分析。

本次分离到的2株菌KB11和KB35可能为潜在的新种，这一结果表明吉国比什凯克地区细菌群落有自己的独特性，并表明该区域或许仍有许多尚未被分离培养的微生物。在后续研究中，可对此两株菌进行G+C%含量、DNA杂交、细胞壁脂肪酸含量分析等多相分类指标[24]，同时可对吉国特殊生境土壤微生物多样性进行全面系统研究。

盐碱环境是筛选天然生理活性物质产生菌的重要生境[25]。本研究所分离获得的微生物中，产蛋白酶菌株有7株，淀粉酶3株，酯酶7株。同时，KB22与产抗菌肽的*Brevibacillus laterosporus*[26]同源性为98%，KB20相同种内的菌株也有报道是辅酶Q10的高产菌[27]；KB48同属的细菌具有固氮作用，可用于土壤环境的改良[28]。因此，今后可以对所分离菌株进行生理活性物质测定，以期为当地微生物资源的开发利用奠定基础。

参 考 文 献

[1] Nautiyal CS, Bhadauria S, Kumar P, et al. Stress induced phosphate solubilization in bacteria isolated from alkaline soils[J]. FEMS Microbiology Letters, 2000, 182(2): 291-296.

[2] Zhang L, Fan J, Meng Q, et al. Caragana fabr. promotes revegetation and soil rehabilitation in saline-alkali wasteland[J]. International Journal of Phytoremediation, 2013, 15(1):38-50.

[3] 姜怡, 李文均, 徐平, 等. 盐碱环境放线菌多样性研究[J]. 微生物学报, 2006, 46(2): 191-195.

[4] 郑贺云, 黎志坤, 李超, 等. 新疆阿克苏地区盐碱地细菌类群多样性及优势菌群分析[J]. 微生物学通报, 2012, 39(7): 1031-1043.

[5] 孙莹, 苏进进, 李潮流, 等. 可可西里碱性土壤样品细菌的分离和生物学特性[J]. 微生物学通报, 2011, 38(10): 1473-1481.

[6] 顾晓颖, 李冠, 吴敏. 巴里坤湖和玛纳斯湖嗜盐菌的分离及功能酶的筛选[J]. 生物技术, 2007, 17(3): 27-30.

[7] Vats P, Ray K, Majumadar D, et al. Changes in cardiovascular functions, lipid profile, and body composition at high altitude in two different ethnic groups[J]. High Altitude Medicine & Biology, 2013, 14(1): 45-52.

[8] Martine C, René VG, Pieter DB. Comparison of grazing emission XRF with total reflection XRF and other X-Ray emission techniques[J]. X-Ray Spectrometry, 1998, 26(4): 153-158.

[9] Nosrati K. Assessing soil quality indicator under different land use and soil erosion using multivariate statistical techniques[J]. Environmental Monitoring and Assessment, 2013, 185(4): 2895-2907.

[10] Kim JK, He D, Liu QM, et al. *Novosphingobium ginsenosidimutans* sp. nov., with the ability to convert ginsenoside[J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2013, 23(2): 444-450.

[11] 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: 364-398.

[12] Burke V. Notes on the gram stain with description of a new method[J]. Journal of Bacteriology, 1922, 7(2): 159-182.

[13] Ji H, Sun HT, Xiong DM. Studies on activity, distribution, and zymogram of protease, α-amylase, and lipase in the paddlefish Polyodon spathula[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2012, 38(3): 603-613.

[14] Kim SB, Yoon JH, Kim H, et al. A phylogenetic analysis of the genus *Saccharomonospora* conducted with 16S rRNA gene sequences[J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1995, 45(2): 351-356.

[15] OREN A. Halophilic Microorganisms and Their Environments[M]. Dordrecht: Kluw er Adaemic Publishers, 2002: 13-19.

[16] Dunbar J, Ticknor LO, Kuske CR. Assessment of microbial diversity in four southwestern United States soils by 16S rRNA gene terminal restriction fragment analysis[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000, 66(7): 2943-2950.

[17] Chun J, Lee JH, Jung Y, et al. EzTaxon: a web-based tool for the identification of prokaryotes based on 16S ribosomal RNA gene sequences[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2007, 57(9): 2259-2261.

[18] Heringa J. Two strategies for sequence comparison:

profile-preprocessed and secondary structure-induced multiple alignment[J]. Journal of Computational Chemistry, 1999, 23(2): 341-364.

[19] 孔凡洲, 于仁成, 徐子钧, 等. 应用 Excel 软件计算生物多样性指数[J]. 海洋科学, 2012, 36(4): 57-62.

[20] 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[J]. 生物多样性, 2009, 17(3): 288-295.

[21] 潘海莲, 周成, 王红蕾, 等. 内蒙古锡林浩特地区嗜盐古菌多样性的研究[J]. 微生物学报, 2006, 46(1): 1-6.

[22] 冯伟, 孙瑞, 高广海, 等. 天津团泊湖地区盐碱土壤中可培养微生物群落结构和归属分析[J]. 农业环境科学学报, 2013, 32(5): 1028-1035.

[23] Øvreås L, Torsvik VV. Microbial diversity and community structure in two different agricultural soil communities[J]. Microbial Ecology, 1998, 36(3): 303-315.

[24] David R, Arahal M, Marquez C. *Bacillus marismortui* sp. nov., a new moder-atelyhalophilic species from the Dead Sea[J]. International Journal Systematic Evolutionary Microbiology, 1999, 49(Pt2): 521-530.

[25] Guo XJ, Yuan DH, Jiang JY, et al. Detection of dissolved organic matter in saline-alkali soils using synchronous fluorescence spectroscopy and principal component analysis[J]. Spectrochimica acta. Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2013, 104(1): 280-286.

[26] Gomare SS, Parshetti GK, Govindwar SP. Biodegradation of malachite green by *Brevibacillus laterosporus* MTCC 2298[J]. Water Environment Research, 2009, 81(11): 2329-2336.

[27] Seo MJ, Kook MC, Kim SO. Association of colony morphology with coenzyme Q(10) production and its enhancement from *Rhizobium radiobacter* T6102W by addition of isopentenyl alcohol as a precursor[J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2012, 22(2): 230-233.

[28] Tominaga T, An SY, Oyaizu H, et al. *Sporosarcina luteola* sp. nov. isolated from soy sauce production equipment in Japan[J]. Journal of General Microbiology, 2009, 55(3): 217-223.

编辑部公告

关于《微生物学通报》专题刊申请的通知

当前，随着生物技术的飞速发展，微生物学涵盖的领域越来越广，交叉学科的研究也越来越受到关注。除了已有的微生物学、病毒学、基因工程、细胞工程、酶工程、发酵工程之外，基因组学、代谢工程、纳米科学、生物炼制、生物质能等也逐步成为微生物学研究的热门领域。为了更加系统、集中地反映各个领域的研究成果，以及该领域学科的热点难点问题，充分发挥《微生物学通报》的学科引领和导向作用，促进学科发展，为某个领域的科研人员提供一个交流的平台，《微生物学通报》编委会决定自 2008 年起，每年出版一定数量的专题刊。专题刊将系统地反映微生物学相关领域或新学科生长点的最新进展，及时介绍国内外微生物相关前沿领域的突破性成果，以及面向国家和社会发展需要并具有重大应用前景的研究成果。真诚欢迎本领域各学科的学术带头人，申请并组织专题刊。申请得到编委会批准后，申请人将被邀请担任本专题刊的特邀编辑，负责组织稿件、确定审稿专家，并撰写专题刊序言。

根据专刊工作计划，现将有关事项通知如下：

1. 专刊申请的有关规定附在通知的下面，请申请者仔细阅读；
2. 提交形式：请到我刊主页(http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn)的“下载专区”下载专题刊申请表；填写好之后，以 E-mail 附件的形式发送到编辑部信箱：tongbao@im.ac.cn ，并请在邮件主题中注明：“专题刊申请”字样；
3. 申请者如有疑问，请咨询编辑部，联系方式：Tel：010-64807511；E-mail：tongbao@im.ac.cn