

# Bacillus 属嗜盐嗜碱细菌的研究进展

李冬莹<sup>1</sup>, 王爽<sup>2</sup>, 肖洋<sup>1\*</sup>

(1. 黑龙江大学现代农业与生态环境学院, 黑龙江哈尔滨 150080; 2. 黑龙江省农业科学院土壤肥料与环境资源研究所, 黑龙江哈尔滨 150086)

**摘要** *Bacillus* 属由于其成员表现出广泛的多系性以及彼此间几乎没有共同点, 长期以来一直被认为是分类和系统发育异常的属。随着测序技术和纯培养技术的进步, 自 Cohn 建立 *Bacillus* 属以来, 不断有新的菌株从不同生境中被分离, 也有许多该属的成员被重新分类为其他的属。*Bacillus* 属由于其具有芽孢的特性而广泛分布于自然界的不同环境, 其嗜盐嗜碱成员已经成为人们高度重视的双重极端微生物类群, 在盐碱的双重压力下经过长期的进化选择, 形成了独特的生物活性物质代谢途径、新的调控机制及与这些生理生化特征有关的新基因类型。因此, 针对 *Bacillus* 属中嗜盐嗜碱菌的发现历史、分布与分类现状、生理生化特征及应用前景进行综述, 以期对嗜盐嗜碱芽孢杆菌新物种资源的挖掘及功能的开发利用提供参考。

**关键词** 嗜盐嗜碱细菌; 芽孢杆菌; 分类; 嗜盐机制; 嗜碱机制

**中图分类号** Q935 **文献标识码** A

**文章编号** 0517-6611(2022)09-0019-04

**doi:** 10.3969/j.issn.0517-6611.2022.09.006



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

## Research Progress on Halophilic and Alkaliphilic Bacteria of Genus *Bacillus*

LI Dong-ying<sup>1</sup>, WANG Shuang<sup>2</sup>, XIAO Yang<sup>1</sup> (1. College of Modern Agriculture and Ecological Environment, Heilongjiang University, Harbin, Heilongjiang 150080; 2. Institute of Soil Fertilizer and Environmental Resources, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086)

**Abstract** The genus *Bacillus* has long been recognized as a taxonomic and phylogenetic anomaly as its different members exhibit extensive polyphyly and share very little in common with one another. As the development of sequencing and pure culture technology, since Cohn established the genus *Bacillus*, many novel strains have been isolated from various habitats, and some members of this genus have been reclassified into other genera. *Bacillus* spp. was widely distributed in different natural environments because of its spore producing. Halophilic and alkaliphilic bacillus have become a type of double extremophiles functioning optimally in saline and alkaline habitats. Under the dual pressure of salinity and alkalinity, through long-term evolutionary selection, these microorganisms have formed unique metabolic pathways of bioactive substances, new regulatory mechanisms and new gene type related to these physiological and biochemical characteristics. Therefore, in this paper, the discovery history, distribution and classification status, physiological and biochemical characteristics and application prospects of halophilic and alkaliphilic *Bacillus* spp. were reviewed, in order to provide reference for the exploration of new species resources and the development and utilization of functions of halophilic and alkaliphilic *Bacillus* spp.

**Key words** Halophilic and alkaliphilic bacteria; *Bacillus*; Taxonomy; Halophilic mechanism; Alkaliphilic mechanism

由于盐化或碱化导致的土壤退化问题是一个重大的环境障碍, 给农业生产及可持续发展带来了不利影响。据统计, 我国盐碱化土壤总面积超过 3 000 万  $\text{hm}^2$ , 并占据总耕地面积的 10%, 甚至更多<sup>[1]</sup>。苏打盐碱土对作物的危害程度较其他盐碱土亚类重, 不仅形成缺苗烧苗现象, 而且作物生长期间也常因碱害而出现黄萎、烂根等病症, 使植株生长不旺、产量低。我国的苏打盐碱土主要分布于黑龙江、吉林两省的西部区域与内蒙古东部的草原与干草原的碱池子(即塘)周围和低湿地区<sup>[2]</sup>。

苏打盐碱土的盐分积累虽然与含有苏打的地下水有关, 但苏打的形成则与土壤中微生物活动有密切的关系<sup>[3]</sup>。 $\text{Na}_2\text{CO}_3$  和  $\text{NaHCO}_3$  是苏打盐碱土中盐分的重要成分, 而硫酸盐和氯盐含量只在苏打盐碱土中占有较小的比例, 土壤呈强碱性反应(pH 9~10)<sup>[4]</sup>, 同时土壤胶体中有多量的代换性钠, 土壤遇水易分散, 干后板结坚硬, 耕性差。在这些条件下生存的生物无疑具有独特的生理特征、表型特性和适应机制, 这些机制能够控制细胞膜的通透性、控制细胞内渗透平衡、细胞壁的稳定性和细胞内蛋白质和其他细胞成分<sup>[5]</sup>。由

于这些生物具有在盐和碱环境中生长的适应能力, 所以有越来越多的嗜盐和嗜碱性的微生物被发现。芽孢杆菌属中包含极端微生物, 并有非常大的核糖体 16S 多样性, 具有显著的生物技术潜力。芽孢杆菌相关菌种可在各种环境中生长(pH 2~12, 温度 5~78 °C, 盐度 0~30% NaCl)<sup>[6]</sup>。自 1986 年以来, 我国已经发表了近 2 000 篇关于嗜盐嗜碱芽孢杆菌的科学论文, 该研究综述嗜盐嗜碱菌中芽孢杆菌的发展和其独特的生理机制, 特别是在现代各领域上的应用, 以期对嗜盐嗜碱芽孢杆菌新物种资源的挖掘及功能的开发利用提供参考。

### 1 嗜盐嗜碱 *Bacillus* 细菌的分布与分类多样性

早在 2.5 亿年前, *Bacillus* spp. 作为土壤中的腐生菌就大量存在, 可见, 对于芽孢杆菌属的研究有着十分漫长的历程, 该属在微生物学的领域中具有举足轻重的地位<sup>[7]</sup>。它们在自然界中分布十分广泛, 从荒漠<sup>[8]</sup>、温泉<sup>[9]</sup>到北极土壤<sup>[10]</sup>, 从淡水<sup>[11]</sup>到海洋沉积物<sup>[12]</sup>, 甚至存在于饮用水处理厂<sup>[13]</sup>、古墓<sup>[14]</sup>和生物电能源<sup>[15]</sup>中, 这类革兰氏阳性的芽孢杆菌无处不在<sup>[16]</sup>。Kushner<sup>[17]</sup> 定义嗜盐菌为最适生长盐浓度在 0.2 mol/L(相当于 1.17% NaCl)以上。随后, Kroll<sup>[18]</sup> 定义嗜碱菌最适生长 pH 为 9.0 以上。Chester 于 1889 首次描述了嗜碱细菌 *Sporosarcina pasteurii* (旧分类系统里称 *Bacillus pasteurii*), 1934 年, Vedder<sup>[19]</sup> 报道 *Bacillus alcalophilus* 为 *Bacillus* 属的第二个嗜碱成员, 可在 pH 8.6~11.0 的条件下

**作者简介** 李冬莹(1996—), 男, 吉林四平人, 硕士研究生, 研究方向: 盐碱土微生物。\* 通信作者, 副教授, 博士, 从事农业水土保持的研究。

**收稿日期** 2021-08-10

生长良好,但是在“普通”pH条件下不能生长。1982年,Gordon和Hyde将为数众多的嗜碱 *Bacillus* 菌株进行分类。2020年,Patel等<sup>[20]</sup>将部分嗜盐嗜碱 *Bacillus* 菌株归类为 *Alkalihalobacillus* 属。

## 2 嗜盐嗜碱 *Bacillus* 细菌的特征

*Bacillus* 属的成员一般为严格好氧或兼性厌氧的化能有机营养类型,革兰氏阳性、内生孢子、直或弯曲的杆状细菌(图1)。然而,非孢子构成的细菌在这个属里被发现,这些细菌是否缺少孢子形成的基因,是否在进化过程中失去了这些基因(或部分基因),亦或在生理上无法成功地形成孢子,仍有待澄清<sup>[21]</sup>。*B. saliphilus* 是芽孢杆菌属中唯一的嗜盐嗜碱的非孢子球菌<sup>[22]</sup>。*Bacillus* 属的菌株菌落不透明、乳白色或褐色,在某些培养基上可以产生色素,如Wang等<sup>[23]</sup>报道的嗜盐碱芽孢杆菌属的新种 *Bacillus daqingensis*,其模式菌株 X10-1 可在 DSM 752 培养基(DSMZ)上显橙色菌落(图2)。跟大多数细菌的运动方式一样,嗜碱芽孢杆菌利用丝状或螺旋浆状鞭毛来运动。对嗜碱芽孢杆菌的调查表明,嗜碱芽孢杆菌 C-125 的鞭毛蛋白与枯草芽孢杆菌有较高的同源性,该菌株的鞭毛形成与 pH 有关,在碱性 pH 条件下鞭毛呈扁平状,具有很强的动力;在中性 pH 条件下只有少量的直鞭毛,且鞭毛不活动,嗜碱芽孢杆菌的运动也是具有  $\text{Na}^+$  依赖性的。

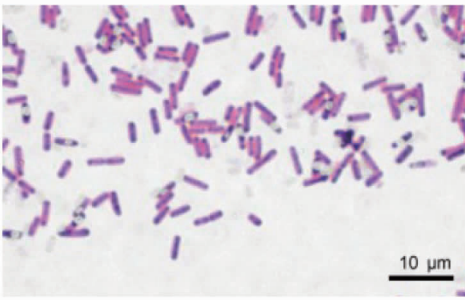


图1 *Bacillus subtilis* 的革兰氏染色结果

Fig. 1 Gram staining results of *Bacillus subtilis*

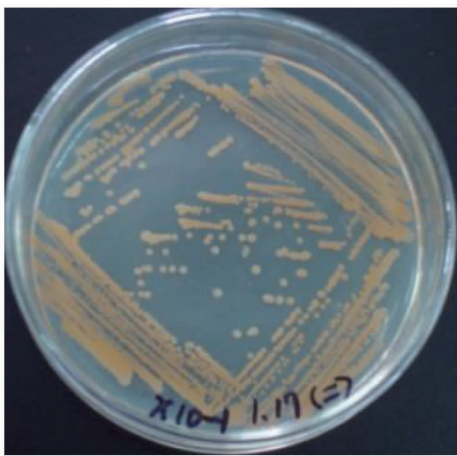


图2 *Bacillus daqingensis* 在 DSM medium 752 上的形态特征

Fig. 2 Morphological characteristics of *Bacillus daqingensis* in DSM Medium 752

## 3 嗜盐嗜碱微生物的生理机制

嗜盐(halophilic)和耐盐(halotolerant)的微生物细胞具

有吸  $\text{K}^+$  排  $\text{Na}^+$  的作用,在维持细胞内渗透压的过程中起到至关重要的作用<sup>[24]</sup>。而且嗜盐微生物会摄取、合成并积累具有亲和性的溶质,如氨基酸、嘧啶、糖类等小分子物质,这些物质都是高度可溶的,在此过程中,细胞的代谢并不受影响,同时胞内的水活度也得到了提高。这些亲和性溶质的聚集恰好填补了外界高渗透压条件下导致的内外部渗透压的不均衡,在缓解高渗透压环境对于细胞的胁迫中具有一定的支撑作用,同时也有助于嗜盐微生物顺利应对高盐环境下的渗透压<sup>[25-26]</sup>。

嗜碱(alkaliphilic)和耐碱(alkalitolerant)的微生物可以耐受对于嗜中性微生物来说致命性的环境,然而相比较外界的碱性 pH,这些微生物的细胞质 pH 是维持近中性的<sup>[27]</sup>。细胞外被(细胞壁和细胞膜)在碱的耐受过程中起了重要作用,细胞壁充当许多生物体的第一道屏障。相对于嗜中性菌而言,嗜碱菌的膜与壁有着更加特殊的成分,嗜碱菌的细胞壁具有很多酸性化合物,如半乳糖醛酸、葡糖酸、谷氨酸、磷酸,这些化合物均带有负电荷,因而可降低细胞表面 pH,这是嗜碱菌对碱性环境的适应。此外,嗜碱菌的质膜能够通过  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ 、 $\text{K}^+/\text{H}^+$  反向转运载体系统来维持细胞内 pH 的相对稳定<sup>[28-29]</sup>。

## 4 嗜盐嗜碱 *Bacillus* 细菌基因组研究

嗜盐嗜碱 *Bacillus* 细菌的 G+C 含量普遍不高,单纯嗜盐的 *Bacillus* 中 G+C 含量普遍在 35.0%~48.6%,单纯嗜碱的 *Bacillus* 中 G+C 含量普遍在 33.5%~43.9%,既嗜盐又嗜碱的 *Bacillus* 中 G+C 含量普遍在 36.3%~48.9%。嗜盐嗜碱 *Bacillus* 细菌的基因组大小差异显著,普遍在 3.28~5.87 Mb。嗜碱杆菌是工业微生物中最重要的主力,为了获得高 pH 条件下生理适应性的分子信息和研究这些嗜碱杆菌的工业潜力,特别是嗜碱杆菌菌株产生的独特碱性酶的应用,第一个嗜碱芽孢杆菌 *Bacillus halodurans* C-125 的全基因组序列于 2000 年被测定<sup>[30]</sup>。后来,学者又分别测定了 *B. halodurans* C-125(2000)和 *B. clausii* KSM-K16(2005)等嗜碱杆菌的全基因组序列。虽然目前已发表的嗜盐嗜碱 *Bacillus* 细菌的基因组数量较少,但其功能基因具有潜在的开发价值,其基因产物可运用于工业、农业、医学等领域。因此,对嗜盐嗜碱 *Bacillus* 细菌基因组数据的补充和分析是非常有必要的,不仅有利于揭示嗜盐嗜碱 *Bacillus* 细菌的相关生理特性,还能在基因组水平上对具有不同生理代谢能力的嗜盐嗜碱 *Bacillus* 细菌进行分析和比较,为未来嗜盐嗜碱 *Bacillus* 细菌工程菌的遗传改造提供必要的遗传基础。

## 5 嗜盐嗜碱 *Bacillus* 细菌的应用

*Bacillus* 属成员的数量如此之大,毋庸置疑地说明了这个属在环境中的重要性<sup>[31]</sup>。嗜盐嗜碱芽孢杆菌在工业、农业、医学方面具有重要的作用。

**5.1 工业** 近年来,对嗜碱 *Bacillus* 菌株研究的加强除了在分类学和生理学方面外,对于其应用方面也更为关注,由于它们能够生产嗜碱酶,所以在工业上具有广泛的应用价值<sup>[32-33]</sup>。嗜碱 *Bacillus* 生产的木聚糖酶具有水解木聚糖产

生木糖和寡聚糖的能力,可用于处理人造纤维废物,而碱性 $\beta$ -甘露聚糖酶降解甘露聚糖产生的寡糖可作为保健品的添加剂<sup>[34]</sup>。此外,来自嗜盐碱的芽孢杆菌菌株中的碱性纤维素酶和碱性蛋白酶经常用于生物洗涤剂的添加剂,例如 *Bacillus halodurans* CAS6 和 *Bacillus horikoshii* 可以产生碱性蛋白酶<sup>[35-36]</sup>,而碱性纤维素酶具有去除衣物污渍的作用,同时也能使衣服变得更加软化和鲜艳,是一种工业上十分重要的洗涤剂<sup>[37]</sup>。这种酶可以利用碱性环麦芽糖糊精葡聚糖来生产环糊精,大大降低生产成本,为环糊精在食品、化工和医药领域的大批量应用开辟了新的市场<sup>[38]</sup>。

**5.2 农业** 来自不同物种的盐碱压力耐受基因今后可能用于提高转基因植物品系的产量,对农业生产具有重要意义<sup>[39]</sup>。嗜盐碱芽孢杆菌及其产生的脂肽抗菌物质对水稻纹枯病、三期根腐病、烟草黑胫病等植物病害都具有良好的防治效果,国内已开发成功并投入商业化生产<sup>[40]</sup>。来自土壤的苏云金芽孢杆菌 *Bacillus thuringiensis* 的“晶体蛋白”基因用在棉花这类作物遗传改造中的应用,也显著表明来自嗜盐嗜碱生物的基因可以为农业生产带来新的变革<sup>[41-42]</sup>。朱燕云等<sup>[43]</sup>研究发现,由嗜盐性的 *Bacillus subtilis* subspecies *stercoris* strain XP 菌株合成的球形生物纳米硒针对草莓病原真菌具有潜在的生防功能,并表现出了剂量依赖的效应,即纳米硒越高其抑制活性越好,此研究还发现这种高浓度生物纳米硒对处理草莓枯萎病病原菌、紫斑病病原菌、红叶病病原菌均具有显著的抑制效果,为草莓种植过程中有害病原真菌的防控提供了宝贵的参考信息,同时菌株 XP 合成的生物纳米硒也有望在提高草莓品质方面发挥积极作用。

**5.3 医学** 随着医学的不断进步,芽孢杆菌在医药方面也有很多应用。嗜盐碱性芽孢杆菌菌株中的碱性蛋白酶在医疗上可以用于消肿、清炎等各种炎症的治疗<sup>[44]</sup>。嗜碱性的 *Bacillus* sp. 菌株分泌的 CK11-4 具有溶解纤维蛋白的能力,能够在医学上用于溶解血栓<sup>[45]</sup>。此外,在国际市场中,这种碱性蛋白酶在胰岛素、分析和药物用酶中具有广泛的应用<sup>[46]</sup>。我国在研究蛋白酶上也有了较大的进步,其中嗜碱性短小芽孢杆菌 B45 等分泌的蛋白酶已经得到了广泛地生产和应用<sup>[47]</sup>。Özgören 等<sup>[48]</sup>研究发现,从嗜碱性的 *Bacillus marismaris* DSM 21297 分离出的 PHB 具有生产生物聚合物的能力,并且比市面上的 PHB 更耐高温,是制备用于组织工程应用的纳米纤维复合支架的潜在候选材料,由于其毒性风险更低,因此对污染的耐药性可能在医学应用上具有更大的优势。

## 6 结论与展望

由于高盐碱环境中的微生物具有丰富的物种多样性、耐盐碱基因多样性和代谢机制多样性,具有产生多样的生理活性物质的巨大潜力,因而将高盐碱环境微生物作为寻求创新药物的来源已成为众多研究者的目标之一。伴随嗜盐嗜碱芽孢杆菌新物种的不断增多,将会有越来越多的嗜盐嗜碱芽孢杆菌基因组被测序,从而有助于进一步研究嗜盐嗜碱芽孢杆菌的耐盐碱分子机制,发掘出更多新的和耐盐碱相关的基因资源,并广泛应用于改造农作物、增加粮食产量等领域。

为了澄清嗜盐嗜碱芽孢杆菌领域的生态功能和环境变化之间的关系,今后的研究工作不应仅局限于分离和保藏新的菌种,还要结合宏基因组技术来研究不同环境的嗜盐嗜碱芽孢杆菌的多样性,以加强人们对嗜盐嗜碱芽孢杆菌这一极端微生物类群的生长环境及其分布特征的了解。另外,在基于群体遗传学基础上对许多细菌菌株的多基因位点进行遗传分析,将有助于进一步揭示嗜盐嗜碱芽孢杆菌的进化过程与环境分布之间的关系。

## 参考文献

- [1] 范王涛. 土壤盐碱化危害及改良方法研究[J]. 农业与技术, 2020, 40(23): 114-116.
- [2] 杨真, 王宝山. 中国盐渍土资源现状及改良利用对策[J]. 山东农业科学, 2015, 47(4): 125-130.
- [3] 杨赛, 俞冰倩, 胡信玉, 等. 东北苏打盐碱土壤微生物群落对植被进展演替的响应[J]. 土壤通报, 2019, 50(3): 632-640.
- [4] 俞冰倩, 杨赛, 朱琳, 等. 响应土壤阴离子类型的盐碱土古细菌群落多样性研究[J]. 中国环境科学, 2018, 38(7): 2731-2739.
- [5] MESBAH N M, WIEGEL J. Life under multiple extreme conditions; Diversity and physiology of the halophilic alkalithermophiles[J]. Applied and environmental microbiology, 2012, 78(12): 4074-4082.
- [6] TAKAMI H. Genomics and evolution of alkaliphilic *Bacillus* species[M]// HORIKOSHI K. Extremophiles handbook. Tokyo: Springer, 2011: 183-211.
- [7] VREELAND R H, ROSENZWEIG W D, POWERS D W. Isolation of a 250 million-year-old halotolerant bacterium from a primary salt crystal[J]. Nature, 2000, 407(6806): 897-900.
- [8] ZHANG L, WU G L, WANG Y, et al. *Bacillus deserti* sp. nov., a novel bacterium isolated from the desert of Xinjiang, China[J]. Antonie van Leeuwenhoek, 2011, 99(2): 221-229.
- [9] NAZINA T N, LEBEDEVVA E V, POLTARAUS A B, et al. *Geobacillus gargensis* sp. nov., a novel thermophile from a hot spring, and the reclassification of *Bacillus vulcani* as *Geobacillus vulcani* comb. nov. [J] International journal of systematic and evolutionary microbiology, 2004, 54(6): 2019-2024.
- [10] YOU Z Q, LI J, QIN S, et al. *Bacillus abyssalis* sp. nov., isolated from a sediment of the South China Sea[J]. Antonie van Leeuwenhoek, 2013, 103(5): 963-969.
- [11] BAIK K S, LIM C H, PARK S C, et al. *Bacillus rigui* sp. nov., isolated from wetland fresh water[J]. Journal of systematic and evolutionary microbiology, 2009, 60(Pt9): 2204-2209.
- [12] JUNG M Y, KIM J S, PAK W K, et al. *Bacillus manliponensis* sp. nov., a new member of the *Bacillus cereus* group isolated from foreshore tidal flat sediment[J]. The journal of microbiology, 2011, 49(6): 1027-1032.
- [13] VAZ-MOREIRA I, FIGUEIRA V, LOPES A R, et al. *Bacillus purgationiresistans* sp. nov., isolated from a drinking-water treatment plant[J]. International journal of systematic and evolutionary microbiology, 2012, 62(Pt1): 71-77.
- [14] GATSON J W, BENZ B F, CHANDRASEKARAN C, et al. *Bacillus tequilensis* sp. nov., isolated from a 2000-year-old Mexican shaft-tomb, is closely related to *Bacillus subtilis*[J]. International journal of systematic and evolutionary microbiology, 2006, 56(Pt7): 1475-1484.
- [15] MA C, ZHUANG L, ZHOU S G, et al. Alkaline extracellular reduction: Isolation and characterization of an alkaliphilic and halotolerant bacterium, *Bacillus pseudofirmus* MC02[J]. Journal of applied microbiology, 2012, 112(5): 883-891.
- [16] DASTAGER S G, MAWLANKAR R, TANG S K, et al. *Bacillus enclensis* sp. nov., isolated from sediment sample[J]. Antonie van Leeuwenhoek, 2014, 105(1): 199-206.
- [17] KUSHNER D J. Life in high salt and solute concentrations; Halophilic bacteria[M]//KUSHNER D J. Microbial life in extreme environments. London: Academic Press, 1978: 317-368.
- [18] KROLL R G. Alkaliphiles[M]//EDWARDS C. Microbiology of extreme environments. New York: Oppen University Press, 1990: 55-92.
- [19] VEDDER A. *Bacillus alcalophilus* n. sp.; benevens enkele ervaringen met sterk alkalische voedingsbodems[J]. Antonie van Leeuwenhoek journal of microbiology and serology, 1934, 1(1): 141-147.
- [20] PATEL S, GUPTA R S. A phylogenomic and comparative genomic framework for resolving the polyphyly of the genus *Bacillus*; Proposal for six new genera of *Bacillus* species, *Peribacillus* gen. nov., *Cytobacillus* gen. nov., *Mesobacillus* gen. nov., *Neobacillus* gen. nov., *Metabacillus* gen.

- nov. and *Alkalihalobacillus* gen. nov. [J]. International journal of systematic and evolutionary microbiology, 2020, 70(1): 406–438.
- [21] FRITZE D. Taxonomy of the genus *Bacillus* and related genera: The aerobic endospore-forming bacteria [J]. Phytopathology, 2004, 94(11): 1245–1248.
- [22] ROMANO I, LAMA L, NICOLAUS B, et al. *Bacillus saliphilus* sp. nov., isolated from a mineral pool in Campania, Italy [J]. International journal of systematic and evolutionary microbiology, 2005, 55(Pt1): 159–163.
- [23] WANG S, SUN L, WEI D, et al. *Bacillus daqingensis* sp. nov., a halophilic, alkaliphilic bacterium isolated from saline-sodic soil in Daqing, China [J]. Journal of microbiology, 2014, 52(7): 548–553.
- [24] 许珂, 陈红, 刘志干, 等. 新疆盐碱地土壤耐盐芽胞杆菌的分离和鉴定 [J]. 生物资源, 2019, 41(2): 174–178.
- [25] 王伟伟, 唐鸿志, 许平. 嗜盐菌耐盐机制相关基因的研究进展 [J]. 微生物学通报, 2015, 42(3): 550–558.
- [26] VENTOSA A, NIETO J J, OREN A. Biology of moderately halophilic aerobic bacteria [J]. Microbiology and molecular biology reviews, 1998, 62(2): 504–544.
- [27] HORIKOSHI K. General physiology of alkaliphiles [M]//HORIKOSHI K, ANTRANIKIAN G, BULL A T, et al. Extremophiles handbook. Tokyo: Springer, 2011.
- [28] 孙莹, 苏进, 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.
- [29] 王建国, 关统伟, 贺江舟, 等. 嗜碱菌的研究进展及利用前景 [J]. 陕西农业科学, 2008, 54(1): 83–86.
- [30] TAKAMI H, NAKASONE K, TAKAKI Y, et al. Complete genome sequence of the alkaliphilic bacterium *Bacillus halodurans* and genomic sequence comparison with *Bacillus subtilis* [J]. Nucleic acids research, 2000, 28(21): 4317–4331.
- [31] YANG G Q, CHEN M, YU Z, et al. *Bacillus composti* sp. nov. and *Bacillus thermophilus* sp. nov., two thermophilic, Fe(III)-reducing bacteria isolated from a compost [J]. International journal of systematic and evolutionary microbiology, 2013, 63(8): 3030–3036.
- [32] HORIKOSHI K. Alkaliphiles; Some applications of their products for biotechnology [J]. Microbiology and molecular biology reviews, 1999, 63(4): 735–750.
- [33] NOGI Y, TAKAMI H, HORIKOSHI K. Characterization of alkaliphilic *Bacillus* strains used in industry: Proposal of five novel species [J]. International journal of systematic and evolutionary microbiology, 2005, 55(Pt6): 2309–2315.
- [34] TAMAKI H, SEKIGUCHI Y, HANADA S, et al. Comparative analysis of bacterial diversity in freshwater sediment of a shallow eutrophic lake by molecular and improved cultivation-based techniques [J]. Applied and environmental microbiology, 2005, 71(4): 2162–2169.
- [35] ANNAMALAI N, RAJESWARI M V, THAVASI R, et al. Optimization, purification and characterization of novel thermostable, haloalkaline, solvent stable protease from *Bacillus halodurans* CAS6 using marine shellfish wastes: A potential additive for detergent and antioxidant synthesis [J]. Bioprocess and biosystems engineering, 2013, 36(7): 873–883.
- [36] JOO H S, CHANG C S. Oxidant and SDS-stable alkaline protease from a halo-tolerant *Bacillus clausii* I-52: Enhanced production and simple purification [J]. Journal of applied microbiology, 2005, 98(2): 491–497.
- [37] 郭成栓, 崔堂兵, 郭勇. 嗜碱芽胞杆菌产碱性纤维素酶研究概况 [J]. 氨基酸和生物资源, 2007, 29(1): 35–38.
- [38] HORIKOSHI K. Introduction and history of alkaliphiles [M]//HORIKOSHI K. Extremophiles handbook. Tokyo: Japan, 2011: 22–24.
- [39] DAS P, BEHERA B K, MEENA D K, et al. Salt stress tolerant genes in halophilic and halotolerant bacteria: Salt stress adaptation and osmoprotection [J]. International journal of current microbiology and applied sciences, 2005, 4(1): 642–658.
- [40] 林玲. 内生芽胞杆菌及抗菌物质的鉴定和对作物黄萎病的防治效果 [D]. 南京: 南京农业大学, 2009.
- [41] 张文飞. 苏云金芽胞杆菌分离与新型 *cry* 基因资源的挖掘 [D]. 南宁: 广西大学, 2011.
- [42] JENKINS J N, PARROTT W L, MCCARTY J C, et al. Field test of transgenic cottons containing a *Bacillus thuringiensis* gene [J]. Technical bulletin-mississippi agricultural and forestry experiment station (USA), 1991, 174(9): 174–176.
- [43] 朱燕云, 孔祥平, 吴妮娟, 等. 耐高盐枯草芽胞杆菌 XP 合成球形纳米硒及其抑制草莓病原真菌生物活性 [J]. 生物工程学报, 2021, 37(8): 2825–2835.
- [44] 贾天梅. 产耐热型碱性蛋白酶菌株筛选、发酵条件优化及其酶学性质研究 [D]. 杭州: 浙江工商大学, 2018.
- [45] KIM W, CHOI K, KIM Y, et al. Purification and characterization of a fibrinolytic enzyme produced from *Bacillus* sp. Strain CK 11-4 screened from Chungkook-Jang [J]. Applied and environmental microbiology, 1996, 62(7): 2482–2488.
- [46] 杨丽媛. 碱性蛋白酶的分离纯化及其酶学特性的研究 [D]. 长春: 东北师范大学, 2015.
- [47] 姚刚, 程建军, 孙鹏, 等. 枯草芽胞杆菌发酵产碱性蛋白酶的研究 [J]. 食品科学, 2009, 30(23): 347–351.
- [48] ÖZGÖREN T, PINAR O, BOZDAĞ G, et al. Assessment of poly(3-hydroxybutyrate) synthesis from a novel obligate alkaliphilic *Bacillus marmarensis* and generation of its composite scaffold via electrospinning [J]. International journal of biological macromolecules, 2018, 119: 982–991.

(上接第 18 页)

- [30] 张国辉, 任永权, 李娇梅, 等. 华重楼软腐病的病原鉴定与病害分析 [J]. 中国农学通报, 2014, 30(7): 306–308.
- [31] 陈江华, 王轩轩, 崔雪婧, 等. 柑橘根霉软腐病的病原菌分离与鉴定 [J]. 植物病理学报, 2020, 50(3): 255–260.
- [32] 赵振玲, 张金渝, 陈翠, 等. 滇重楼 2 种真菌性叶斑病的初步研究 [J]. 西南农业学报, 2012, 25(1): 318–321.
- [33] FU R T, CHEN C, WANG J, et al. Identification of *Alternaria tenuissima* causing brown leaf spot on *Paris polyphylla* var. *chinensis* in China [J]. Journal of phytopathology, 2019, 167(7/8): 440–444.
- [34] 伏荣桃, 王剑, 陈诚, 等. 四川地区华重楼 (*Paris polyphylla* var. *chinensis*) 主要病害调查及病原菌鉴定 [J]. 分子植物育种, 2021, 19(1): 209–217.
- [35] FU R T, CHEN C, WANG J, et al. First report of *Epicoccum sorghinum* causing leaf spot on *Paris polyphylla* in China [J]. Plant disease, 2019, 103(6): 1426–1427.
- [36] ZHONG J, LI C X, ZHONG S Y, et al. First report of leaf spot caused by *Colletotrichum spaethianum* on *Paris polyphylla* in China [J]. Plant disease, 2020, 104(3): 972.
- [37] 何翔, 李翱, 李楚, 等. 滇重楼稻曲拟盘多毛孢叶斑病病原鉴定及其生物学特性测定 [J]. 植物保护, 2020, 46(6): 47–54, 64.
- [38] 克永霞, 伏荣桃, 刘圆, 等. 华重楼叶斑病的病原菌鉴定与室内药剂筛选 [J]. 西南大学学报 (自然科学版), 2020, 42(5): 63–68.
- [39] 伏荣桃, 王剑, 陈诚, 等. 华重楼 2 种叶斑病病原菌分离与鉴定 [J]. 中药材, 2019, 42(12): 2741–2745.
- [40] 伏荣桃, 陈诚, 王剑, 等. 华重楼斑枯病病原菌鉴定 [J]. 植物病理学报, 2020, 50(3): 261–266.
- [41] ZHOU X Z, LI M, RAO B R, et al. First report of anthracnose on *Paris polyphylla* var. *chinensis* caused by *Colletotrichum fructicola* in Northern Fujian, China [J]. Plant disease, 2020, 104(10): 2728–2729.
- [42] 陈中坚, 马小涵, 董林林, 等. 药用植物 DNA 标记辅助育种 (三) 三七新品种——“苗乡抗七 1 号”的抗病性评价 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(11): 2046–2051.
- [43] 沈亮, 徐江, 孟祥霄, 等. 人参属药用植物无公害种植技术探讨 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(23): 8–17.
- [44] 克永霞, 李学学, 蔡晓霞, 等. 防治华重楼叶斑病的药剂筛选及田间应用 [J]. 中国植保导刊, 2019, 39(10): 61–63.
- [45] 李高宏. 镇巴县重楼茎腐病绿色防治技术研究 [J]. 现代农业科技, 2021(2): 81–82.
- [46] 孙桂丽, 陈有为, 夏国兴, 等. 云南重楼植物内生真菌的分离及抗菌活性筛选 [J]. 微生物学杂志, 2005, 25(6): 59–62.
- [47] 施蕊, 王娟, 叶敏, 等. 滇重楼内生菌分离及其发酵液抑菌活性 [J]. 江苏农业科学, 2017, 45(6): 86–88.
- [48] 中国农药信息网. 农药登记数据 [EB/OL]. [2020–12–30]. <http://www.icama.org.cn/hysj/index.jhtml>.
- [49] 刘佩. 不同药剂防治重楼灰霉病的药效试验 [J]. 农业科技与信息, 2020(22): 37–38.
- [50] 段宝忠, 马维忠, 刘玉雨, 等. 滇重楼无公害栽培关键技术 [J]. 世界中医药, 2018, 13(12): 2975–2979.
- [51] 陈士林, 徐江. 人参农田栽培学研究 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 208–209.
- [52] 王以燕, 袁奎奎, 苏天运, 等. 我国生物源农药的登记和发展现状 [J]. 农药, 2019, 58(1): 1–5, 10.