

网络出版时间:2012-05-22 16:25

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20120522.1625.009.html>

死海嗜盐耐盐放线菌分离方法研究

任海柯^a, 来航线^b, 王晨霞^b, 韦小敏^b

(西北农林科技大学 a 生命科学学院, b 资源环境学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘要] **【目的】**探讨死海高盐地区分离嗜盐耐盐放线菌的最佳方法,为高盐地区放线菌的分离提供理论依据。**【方法】**采用物理方法(微波)、化学方法(加入孢子活化剂)、富集培养法及3种方法的组合共计9种方法,对死海地区土样进行预处理,然后在3种复合盐含量(150, 225, 300 g/L)及不同培养基(ISP5、CMKA、HV)条件下,研究复合盐含量及培养基对分离放线菌种类和数量的影响,并筛选嗜盐耐盐放线菌的最佳分离方法。**【结果】**①在3种培养基上,对土样采用9种方法进行预处理,其中物理+化学方法处理后分离的放线菌种类明显高于其他预处理方法;富集培养法预处理土样分离的放线菌种类明显较少。②不同复合盐条件下,3种培养基分离的放线菌种类和数量表现为CMKA>HV>ISP5。③不同培养基上,3种复合盐条件下分离的放线菌种类总体上表现为300 g/L>225 g/L>150 g/L,分离的放线菌数量总体表现为150 g/L>225 g/L>300 g/L。**【结论】**比较筛选得到了分离死海高盐地区嗜盐耐盐放线菌的最佳方法,即土样经微波与化学孢子活化剂共同处理后,在含225 g/L复合盐的CMKA培养基上培养。

[关键词] 极端盐环境;嗜盐耐盐放线菌;分离方法;种类与数量

[中图分类号] S154.38⁺3

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2012)06-0141-06

Study on method of actinomycetes isolation from Dead Sea

REN hai-ke^a, LAI hang-xian^b, WANG chen-xia^b, WEI xiao-min^b

(a College of Life Sciences, b College of Natural Resources and Environment,
Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: **【Objective】** The study was to explore an optimal method of actinomycetes isolation from Dead Sea, so as to improve the isolation of actinomycetes from soil with high salt concentration. **【Method】** Actinomycete counts and numbers of actinomycete species were analyzed from three aspects: sample pre-treatments, cultural media and salt concentrations of media. Nine pre-treatments, including chemical, physical and accumulation culture methods, three types of cultural media, ISP5, HV and CMKA, and three salt concentrations of each medium (150, 225, 300 g/L) were tested. **【Result】** ① For sample pre-treatments, numbers of actinomycete species isolated from the chemical+physical pre-treated sample were apparently higher than that from others, whereas species numbers isolated from the accumulation cultured sample were the least on three media. ② With all of the three salt concentrations, numbers of actinomycete species and actinomycete counts isolated from soil samples both led a trend: CMKA>HV>ISP5. ③ On three media, numbers of actinomycete species isolated from samples showed: 300 g/L>225 g/L>150 g/L, while actinomycete counts showed: 150 g/L>225 g/L>300 g/L. **【Conclusion】** Pretreating soil samples with chemical+physical method and using 225 g/L salt concentration CMKA medium is the best way to isolate

* [收稿日期] 2011-12-05

[基金项目] 国家“十二五”科技支撑计划项目(2012BAD14B11)

[作者简介] 任海柯(1987—),女,陕西礼泉人,在读硕士,主要从事微生物生态和微生物资源与利用研究。

E-mail: renhaike_1987@163.com

[通信作者] 来航线(1964—),男,陕西礼泉人,副教授,博士,主要从事微生物生态和微生物资源与利用研究。

E-mail: laihangxian@163.com

actinomycetes from Dead Sea.

Key words: extreme salt environment; halophilic and halotolerant actinomycetes; isolation method; species and counts

放线菌是微生物中与人类关系非常密切且有实用价值的一类菌,从微生物中发现的大约 8 000 种生物活性物质中,有近 70%是放线菌产生的^[1],临床上使用的抗生素有 2/3 来自放线菌^[2],并且其合成的多种代谢产物(如氨基酸、酶制剂、维生素等)给人类带来了巨大的经济效益。目前,关于放线菌资源的研究主要集中在现有物种中新活性物质的开发以及新物种的分离 2 个方面。在极端环境下生存的微生物为了适应极端环境,形成了特殊的基因类型和生理机制,并伴随产生多种有重要应用价值的代谢产物^[3]。因此,对极端环境放线菌的研究是科学发展的一个重要趋势。

死海位于约旦、以色列及巴勒斯坦交界处,是地球上海拔最低的水域。由于常年高温少雨,死海海水中的盐浓度高达 25%~30%,生存环境极端严酷,并且其特殊的海水离子组成(高浓度的 2 价镁离子和钙离子)对于其中生存微生物,甚至是嗜盐微生物的生长也有一定的抑制作用。过去死海一直被认为没有活的生物体,直到 Volcani 等报道在死海海水和海底泥土中存在着多种微生物,并由其发现了其中存在的嗜盐杆菌属的 1 个新种,命名为 *Halobacterium rnarismortui* Volcani^[4]。近几年各地学者均认识到死海生态环境的特殊性,对其微生物的研究也逐渐增多。细菌是在死海中最早发现的,也是目前研究最多的微生物,真菌次之,但是对死海地区放线菌的分离研究尚鲜见报道,这可能是因为放线菌生长慢,分离困难,归根究底还是由于分

离方法不够完善所致。因此,研究死海地区放线菌分离方法对于该地区放线菌的分离及新物种的发现具有极其重要的意义,同时也可为后续死海地区土样中放线菌的分离提供理论依据。

放线菌常以休眠状态的孢子形式存在于土壤中,且会与土粒及其他微生物结合在一起形成土壤团聚体,导致 90%以上的放线菌被束缚^[5]。因此,最大限度地分散土壤团聚体及激活休眠态孢子是从土壤中分离放线菌的关键。本研究主要采用物理方法(微波法)、化学方法(不同孢子活化剂)及物理化学相结合的方法激活休眠孢子,再将部分经激活处理的土样进行液体富集培养,对最佳的土样预处理方法进行筛选。同时,考虑到不同高盐环境中盐离子组成和盐浓度存在较大差异^[6],分离培养放线菌过程中选择合适的复合盐及合适的盐浓度梯度尤为重要,本研究根据死海海水盐离子组成及浓度设计了不同的复合盐配方及盐浓度梯度,并选用了 3 种适宜分离嗜盐放线菌的培养基对死海土样进行分离,以期筛选分离死海高盐地区嗜盐耐盐放线菌的最佳盐浓度和培养基提供参考。

1 材料与方法

1.1 材 料

1.1.1 土壤样品 供试土样于 2010-10 采自死海地区(表 1),采样深度为 3~20 cm,所采土样置于无菌自封袋,于 4℃保存。供试死海高盐环境材料为 1,2,3 和 4 号土样按质量比 3:3:2:1 混合而成。

表 1 死海高盐环境土样采样点概况

Table 1 General situation of sampling points from Dead Sea

编号 No.	采样点 Sampling point	土壤类型 Soil type	植被 Vegetable type	经度 Longitude	纬度 Latitude	海拔/m Altitude
1	南部 South	盐土 Saline soil	盐蒿,橄榄林 <i>Artemisia halodendron, Olive</i>	+35°27'30.15"	+31°19'50.75"	-409
2	南部 South	盐土 Saline soil	无 No vegetation	+35°31'57.12"	+31°26'42.24"	-407
3	北部 North	沙土 Sandy soil	无 No vegetation	+35°33'16.21"	+31°42'42.53"	-410
4	北部 North	泥土 Clay	无 No vegetation	+35°32'46.55"	+31°38'34.30"	-409

1.1.2 培养基 分离培养基包括 HV 培养基^[7]、ISP5 培养基^[7]和 CMKA 培养基^[8]。

1.1.3 复合盐 MgCl₂、NaCl、CaCl₂、KCl 4 种无机盐按质量比 49:32:14:5 混合构成复合盐,3 种培养基各设置 150,225,300 g/L 3 个复合盐质量浓度梯度。

1.2 方 法

1.2.1 供试土样预处理方法 取部分供试土样置于阴凉通风处自然风干后,采用以下 9 种不同方法进行预处理。

(1)物理方法。取 5 g 土样,放入无菌离心管中,加入 2 mL 无菌水放置 10 min 使其充分润湿;将

离心管放入加有 400 mL 自来水的水浴杯中,于 120 W、2 450 MHz 微波条件下处理 3 min;加入 43 mL 无菌水,28 ℃振荡 20 min。

(2)化学方法。方法①:取 5 g 土样,放入装有 45 mL 无菌水的三角瓶中,制成土壤悬浮液;加入 3 g 酵母膏(YE)和 0.025 g 十二烷基硫酸钠(SDS),28 ℃振荡 20 min;方法②:取 5 g 土样,放入装有 45 mL 无菌水的三角瓶中,制成土壤悬浮液;加入 3 g YE 和 0.5 g 酪蛋白水解物(CA),28 ℃振荡 20 min。

(3)物理+化学方法。方法①:在物理方法(1)中,加入 43 mL 无菌水后,再加入 3 g YE 和 0.025 g SDS,28 ℃振荡 20 min;方法②:在物理方法(1)中,加入 43 mL 无菌水后,再加入 3 g YE 和 0.5 g CA,28 ℃振荡 20 min。

(4)富集培养方法。方法①:称取 5 g 土样放入无菌离心管中,加入 2 mL CMKA 液体培养基,放置 10 min;将离心管放入加有 400 mL 自来水的水浴杯中,于 120 W、2 450 MHz 微波条件下处理 3 min;加入 43 mL CMKA 液体培养基于 28 ℃振荡 7 d;方法②:取 5 g 土样放入无菌离心管中,加入 45 mL CM-

KA 液体培养基,再加入 3 g YE 和 0.5 g CA,28 ℃振荡 7 d;方法③:富集培养方法①中,加入 43 mL CMKA 液体培养基后,再加入 3 g YE 和 0.5 g CA,28 ℃振荡 7 d。

(5)对照(CK)。取 5 g 土样加入 45 mL 无菌水,28 ℃振荡 20 min。

1.2.2 放线菌的分离及培养 复合盐溶液和分离培养基分别灭菌后,充分混匀倒平板。采用稀释平板涂布法进行分离,置于 28 ℃下培养 30 d,观察并记录分离放线菌的种类和数量。

1.2.3 数据分析 数据采用 DPS 7.05 统计分析软件进行分析。

2 结果与分析

2.1 不同土样预处理方法对放线菌分离效果的影响

供试土样经 9 种不同方法预处理后,在复合盐质量浓度不同的 3 种培养基上进行分离,然后将同一培养基在 3 个复合盐质量浓度下分离的放线菌,通过菌落形态特征进行筛选去重,统计 9 种土样在 3 种培养基上分离到的放线菌种类,所得结果见表 2。

表 2 不同方法预处理土样在不同培养基中分离的放线菌种类数

Table 2 Numbers of actinomycete species isolated from soil samples with different pre-treatments on different media				
土样编号 No	预处理方法 Pre-treatment Method	CMKA	HV	ISP5
1	物理 Physics	33	32	7
2	化学① Chemistry ①	40	28	8
3	化学② Chemistry ②	25	28	6
4	物理+化学① Physics and chemistry ①	59	40	12
5	物理+化学② Physics and chemistry ②	48	37	12
6	富集培养① Enrichment culture ①	2	4	4
7	富集培养② Enrichment culture ②	5	4	1
8	富集培养③ Enrichment culture ③	3	6	1
9	CK	43	26	10

2.1.1 物理和化学方法及 2 种方法共同处理 由表 2 可以看出,在 CMKA、ISP5 培养基上,对土样单独进行物理或化学方法处理后分离的放线菌种类数均少于 CK,但在 HV 培养基上分离的放线菌种类数均多于 CK;在 HV、ISP5 和 CMKA 3 种培养基上,不论先前采用物理方法与否,采用化学方法处理后,添加 SDS 处理土样的放线菌种类多于或等于添加 CA 处理;在 HV、ISP5 和 CMKA 3 种培养基上,采用物理和化学相结合方法预处理土样后,分离的放线菌种类数均多于其他土样预处理方法,且分离效果最好。

上述结果表明,无论土样经微波处理与否,在经化学方法处理时,加入 YE 与 SDS 混合物的分离效

果均优于加入 YE 与 CA 混合物。采用物理和化学相结合方法对土样进行预处理,可明显增加土样中可培养放线菌的种类数。

2.1.2 富集培养方法处理 由表 2 可以看出,采用 3 种富集培养方法处理后,在 HV、ISP5 和 CMKA 3 种培养基上分离的放线菌种类数均较少,表明这 3 种方法不适合对土样进行预处理。初步分析可能是因为 3 种方法不仅有利于放线菌生长,而且有利于细菌的生长,在富集培养期间放线菌与细菌产生了竞争,而细菌的竞争优势更强,从而阻碍了放线菌的生长,最终使分离到的放线菌种类明显减少。此外,土样经这 3 种方法处理后,细菌、霉菌污染较严重,故在后续试验中对这 3 种培养方法不予考虑。

2.2 不同复合盐质量浓度和培养基对放线菌分离效果的影响

不同的 3 种培养基上进行分离,统计分离放线菌的种类和数量,结果见表 3 和表 4。

将不同方法预处理后的土样在复合盐质量浓度

表 3 不同方法预处理土样在复合盐质量浓度不同的 3 种培养基上分离的放线菌种类数

Table 3 Numbers of actinomycete species isolated from soil samples with different pre-treatments on three media with different salt concentrations

土样 编号 No	预处理方法 Pre-treatment Method	CMKA			HV			ISP5		
		150 g/L 复合盐	225 g/L 复合盐	300 g/L 复合盐	150 g/L 复合盐	225 g/L 复合盐	300 g/L 复合盐	150 g/L 复合盐	225 g/L 复合盐	300 g/L 复合盐
		150 g/L	225 g/L	300 g/L	150 g/L	225 g/L	300 g/L	150 g/L	225 g/L	300 g/L
		mixed salt	mixed salt	mixed salt	mixed salt	mixed salt	mixed salt	mixed salt	mixed salt	mixed salt
1	物理 Physics	13	16	13	4	29	9	3	1	3
2	化学① Chemistry ①	8	19	18	7	14	13	6	2	2
3	化学② Chemistry ②	7	9	15	14	12	11	4	4	1
4	物理+化学① Physics and chemistry ①	21	19	29	10	15	11	6	0	6
5	物理+化学② Physics and chemistry ②	9	17	27	10	13	10	6	3	3
9	CK	12	22	19	4	15	9	2	4	7

表 4 不同方法预处理土样在复合盐质量浓度不同的 3 种培养基上分离的放线菌数量

Table 4 Actinomycete counts isolated from soil samples with different pre-treatmentson three media with different salt concentrations

10³ cfu/g

土样 编号 No	预处理方法 Pre-treatment Method	CMKA			HV			ISP5		
		150 g/L 复合盐	225 g/L 复合盐	300 g/L 复合盐	150 g/L 复合盐	225 g/L 复合盐	300 g/L 复合盐	150 g/L 复合盐	225 g/L 复合盐	300 g/L 复合盐
		150 g/L	225 g/L	300 g/L	150 g/L	225 g/L	300 g/L	150 g/L	225 g/L	300 g/L
		mixed salt	mixed salt	mixed salt	mixed salt	mixed salt	mixed salt	mixed salt	mixed salt	mixed salt
1	物理 Physics	13.3±4.8 b	8.8±3.3 bc	1.2±0.3 c	29.8±9.1 a	15.8±2.8 b	2.7±2.1 c	—	—	—
2	化学① Chemistry ①	8.8±5.0 a	7.8±2.8 a	1.3±0.6 b	6.7±2.4 a	5.2±2.9 ab	0.5±0.5 b	—	—	—
3	化学② Chemistry ②	17.7±5.7 a	7.2±0.7 b	2.8±1.4 bc	6.0±2.3 b	3.7±0.8 bc	0.5±0.5 c	—	—	—
4	物理+化学① Physics and chemistry ①	25.2±2.1 a	32.0±5.1 a	9.3±1.0 b	31.7±7.2 a	28.0±2.3 a	3.3±0.8 b	—	—	—
5	物理+化学② Physics and chemistry ②	20.8±6.6 a	5.7±1.3 c	3.0±0.9 c	14.2±5.4 b	4.8±1.0 c	0.7±0.3 c	—	—	—
9	CK	12.8±2.6 c	16.0±0.5 bc	5.7±2.1 d	23.2±3.5 a	18.8±1.0 b	2.0±1.0 d	—	—	—

注:同行数据后标不同字母者表示差异达显著水平($P<0.05$)。“—”表示数据缺失。

Note: Different letters represent for significant difference ($P<0.05$) in each line. “—”mean data missed.

2.2.1 培养基 由表 3 可以看出,在复合盐质量浓度为 300 g/L 时,3 种培养基上分离到的放线菌种类表现为 CMKA>HV>ISP5;在其他复合盐质量浓度下,经不同方法预处理后,土样中分离到的放线菌种类数量变化无规律性。

由表 4 可以看出,当复合盐质量浓度相同时,在 CMKA 培养基上,除对照和物理方法预处理土样外,从其他土样中分离的放线菌数量均多于 HV 培养基。

综合放线菌种类和数量 2 个指标可知,鉴于死海盐分含量较高,因此要从该地区分离极端嗜盐耐盐放线菌,CMKA 是最佳的培养基。

此外,本研究中由于 ISP5 培养基被大量霉菌污染,严重影响放线菌的分离效果,从而导致分离的放线菌种类较少且不能准确计数(相关数据表 4 中未

列出),但是观察发现,在该培养基上可获得一些形态特殊的放线菌。因此采用此种培养基分离死海地区嗜盐耐盐放线菌时,首先要研究如何抑制霉菌的生长。

2.2.2 复合盐质量浓度 由表 3 可以看出,当用 CMKA 培养基进行分离培养时,除了物理方法和物理+化学方法①预处理的土样外,采用其余方法预处理的土样,在复合盐质量浓度为 225 和 300 g/L 时分离到的放线菌种类均较复合盐质量浓度为 150 g/L 时多。其中当复合盐质量浓度为 225 和 300 g/L 时分离到的放线菌种类,分别较复合盐质量浓度为 150 g/L 时多 23.1%~137.5%和 38.1%~200%。

当用 HV 培养基进行分离培养时,除化学方法②和物理+化学方法②预处理的土样外,在不同复

合盐质量浓度条件下,采用其余方法预处理土样中分离到的放线菌种类均表现为 $225\text{ g/L} > 300\text{ g/L} > 150\text{ g/L}$ 。当复合盐质量浓度为 225 和 300 g/L 时,分离到的放线菌种类分别较复合盐质量浓度为 150 g/L 时多 $30.0\% \sim 625.0\%$ 和 $0\% \sim 125\%$ 。

上述结果表明,在 CMKA 和 HV 2 种培养基上,均表现出 150 g/L 复合盐条件下分离的放线菌种类最少,说明死海土样中有许多嗜盐放线菌, 150 g/L 复合盐不能满足其生长要求,要想分离到该部分放线菌必须采用复合盐质量浓度较高的培养基。

由表 4 可以看出,在 CMKA、HV 2 种培养基上, 150 g/L 复合盐条件下从不同预处理土样中分离的放线菌数量较 300 g/L 复合盐条件下显著增加 ($P < 0.05$), 225 g/L 复合盐条件下分离到的放线菌数量也较 300 g/L 复合盐条件下多。表明死海土样中耐低盐或嗜低盐放线菌数量较多,耐高盐或嗜高盐放线菌数量较少,提高培养基中复合盐质量浓度将使耐低盐或嗜低盐放线菌无法生长。

综合放线菌种类与数量 2 个指标可以得出,培养基中复合盐的最适质量浓度为 225 g/L 。

3 结论与讨论

为了获得放线菌新资源,大部分学者都将研究目标投向了极端环境,但到目前为止,被有效发表的嗜盐放线菌只分布于 6 个属,有 16 个生效描述种,分别为:放线多孢菌属 *Actinopolyspora* 3 个有效种^[9-11],拟诺卡氏菌属 *Nocardiosis* 5 个有效种^[12-16],糖单胞菌属 *Saccharomonospora* 2 个有效种^[17-18],普氏菌属 *Prauserella* 2 个有效种^[19],链单胞菌属 *Streptomonospora* 2 个有效种^[20-21],涅斯捷连科氏菌 *Nesterenkonia* 2 个有效种^[22-23]。主要受分离方法的限制,嗜盐放线菌的研究进展较为缓慢,因此探讨极端盐环境下的放线菌分离方法,是发现嗜盐放线菌新资源的主要途径。死海是世界上最咸的湖,对于长期研究极端盐环境放线菌的研究者而言,该地区土样无疑是很好的研究材料。本研究针对死海土样采用 3 种培养基、3 种复合盐质量浓度和 9 种土样预处理方式,共分离获得了 370 株放线菌。16S 测序初步表明,本研究从该地区分离出稀有菌属 8 种,潜在新物种 3 株(相似度 97% 以下),并未分离到常见的链霉菌属放线菌。

本试验对死海地区土样进行了分离方法研究,不但获得了潜在的新资源,同时也为后续分离提供

了大量信息。本研究结果表明,对土样采用物理+化学方法进行预处理,可明显提高分离到的放线菌种类数,分离效果较好;在 CMKA 培养基上分离到的放线菌种类和数量均明显高于其他 2 种培养基。综合分离放线菌种类和数量 2 个因素认为,分离死海高盐地区土样的放线菌时,各培养基中复合盐的最适质量浓度为 225 g/L 。

在本试验中,培养基 ISP5 及富集处理方式均没有达到预期效果,主要是由于 ISP5 培养基霉菌污染严重,而经过富集培养处理的土样细菌污染严重,所以无法满足放线菌的正常生长,因此在后续分离方法的研究中,应对霉菌、细菌的抑制剂进行研究。

为了能获得更多的放线菌资源,在后续研究中也应考虑采样季节、采样点及采样深度等因素的影响。同时,在分离极端环境下的放线菌时,应尽量模拟土样原始生态背景(比如各大离子含量、pH),如本试验采用的复合盐组成是根据已有文献设计的^[24-25],未对试验中土样离子浓度进行测定,可能导致复合盐质量浓度或组成与供试土样原始生境的不一致,进而对分离效果产生影响。此外,本研究发现,在 300 g/L 复合盐条件下分离出的放线菌种类较多,因此在进行死海地区土样放线菌的分离研究时,应尽可能测定各大离子浓度,并设置复合盐质量浓度高于 300 g/L 的处理,以分离获得更多的放线菌新资源。

【参考文献】

- [1] 杨宇容,徐丽华.放线菌分离方法的研究[J].微生物学通报,1995,22(2):88-91.
Yang Y R,Xu L H. A study on isolation method of actinomycetes [J]. Microbiology,1995,22(2):88-91. (in Chinese)
- [2] 姜成林.放线菌分类学[M].昆明:云南大学出版社,1995.
Jang C L. Actinobacterial taxonomy [M]. Kunming: Yunnan University Press,1995. (in Chinese)
- [3] 李文均,徐平,徐丽华,等.极端环境中的放线菌资源[J].微生物学通报,2003,30(4):125-127.
Li W J,Xu P,Xu L H,et al. Actinomycete resources of extreme environment [J]. Microbiology,2003,30(4):125-127. (in Chinese)
- [4] Moiz F M,Helge L. *Halobacterium volcanii* sp. nov, a dead sea halobacterium with a moderate salt requirement [J]. Archives of Microbiology,1975,104:207-214.
- [5] Bowen T. Taxonomy, identification and selective isolation of members of the family psedonocardiaceae [M]. London: University of East London Press,1993.
- [6] 任培根,周培瑾.中度嗜盐菌的研究进展[J].微生物学报,2003,43(3):427-430.

- Ren P G, Zhou P J. Reseach progress of moderately halophilic eubacteria [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2003, 43(3): 427-430. (in Chinese)
- [7] 唐蜀昆, 姜 怡, 职晓阳. 嗜盐放线菌分离方法 [J]. 微生物学通报, 2007, 34(2): 390-392.
- Tang S K, Jiang Y, Zhi X Y. Isolation methods of halophilic actinomycetes [J]. Microbiology, 2007, 34(2): 390-392. (in Chinese)
- [8] 关统伟, 赵 珂. 新疆高盐环境土壤放线菌分离培养基比较 [J]. 应用与环境生物学报, 2010, 16(3): 429-431.
- Guan T W, Zhao K. Comparison of isolation media for actinobacteria from different saline environments in Xinjiang, China [J]. Chinese Journal of Applied & Environmental Biology, 2010, 16(3): 429-431. (in Chinese)
- [9] Margaret B, Gochnauer G, Leppard G, et al. Isolation and characterization of *Actinopolyspora Halophila*, gen. et sp. nov, an extremely halophilic actinomycete [J]. Canadian Journal of Microbiology, 1975, 21: 1500-1511.
- [10] Yoshida M, Matsubara K, Kudo T, et al. *Actinopolyspora mortivallis* sp. nov, a moderately halophilic actinomycete [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 1991, 41: 15-20.
- [11] Ruan J S, Amira M, Al-Tai A M, et al. *Actinopolyspora iraqiensis* sp. nov, a new halophilic actinomycete isolated from soil [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 1994, 44: 759-763.
- [12] Al-Tai A M, Ruan J S. *Nocardiopsis halophila* sp. nov, a new halophilic actinomycete isolated from soil [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 1994, 44: 474-478.
- [13] Chun J, Bae K, Moon S. *Nocardiopsis kunsanensis* sp. nov, a moderately halophilic actinomycete isolated from a saltern [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2000, 50: 1909-1913.
- [14] Li M G, Li W J, Xu P, et al. *Nocardiopsis xinjiangensis* sp. nov, a halophilic actinomycete isolated from a saline soil samples in the west of China [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2003, 53: 317-321.
- [15] Chen Y G, Zhang Y Q, Tang S K, et al. *Nocardiopsis terrae* sp. nov, a halophilic actinomycete isolated from saline soil [J]. Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology, 2010, 98(1): 31.
- [16] Li W J, Park D J, Tang S K, et al. *Nocardiopsis salina* sp. nov, a novel halophilic actinomycete isolated from saline soil in China [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2004, 54: 1805-1809.
- [17] Al-Zarban S S, Musallam A L. *Saccharomonospora halophila* sp. nov, a novel halophilic actinomycete isolated from marsh soil in Kuwait [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2002, 52: 555-558.
- [18] Li W J, Tang S K, Stackebrandt E, et al. *Saccharomonospora paurometabolica* sp. nov, a moderately halophilic actinomycete isolated from soil in China [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2003, 53: 1591-1594.
- [19] Li W J, Xu P, Tang S K, et al. *Prauserella halophila* sp. nov and *Prauserella alba* sp. nov, moderately halophilic actinomycetes from saline soil [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2003, 53: 1545-1549.
- [20] Cui X L, Mao P H, Zeng M, et al. *Streptomonospora alba* sp. nov, a novel halophilic actinomycete and emended description of the genus streptomonospora [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2001, 51: 357-363.
- [21] Li W J, Xu P, Zhang L P, et al. *Streptimonospora salina* gen. nov. sp. nov, a new member of the family nocardioseaceae [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2003, 53: 1421-1425.
- [22] Li W J, Zhang Y Q, Peter S, et al. *Nesterenkonkia halophila* sp. nov, a moderately halophilic, alkalitolerant actinobacterium isolated from a saline soil [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2008, 58: 1359-1363.
- [23] Matthew D C, Paul A L, Matthias L, et al. *Nesterenkonkia lacusekhoensis* sp. nov, isolated from hypersaline Ekho Lake, East Antarctica, and emended description of the genus Nesterenkonkia [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2002, 52: 1145-1150.
- [24] Bassam Z M. 死海海水作为土壤改良剂的实验 [J]. 岩土工程界, 2005, 8(2): 23-25.
- Bassam Z M. The expriment of Dead Sea seawater as for soil amendment [J]. Geotechnical Engineering World, 2005, 8(2): 23-25. (in Chinese)
- [25] 郭如新. 死海溴镁资源开发利用现状 [J]. 盐湖研究, 2005, 13(4): 62-65.
- Guo R X. Current state of the development and utilization of bromine and magnesium resources in Dead Sea [J]. Journal of Salt Lake Research, 2005, 13(4): 62-65. (in Chinese)