

# 舟山地区嗜盐菌的分离和产胞外多糖菌株的筛选

周旭华, 王 勇, 吴 敏\*

(浙江大学 生命科学学院, 浙江 杭州 310027)

**摘 要:**对浙江舟山地区近海和盐田的样品进行分离检测. 从 11 份泥样和 16 份水样中共分离纯化 120 株嗜盐菌, 其中多数为中度嗜盐菌或耐盐菌, 颜色以白色为主, 其次是红色和黄色, 细胞形态多为杆状或球状, 革兰氏阴性菌株占 81.6%. 研究表明, 嗜盐菌在该地区具有广泛的分布和一定的多样性. 以分离菌株为材料筛选产胞外多糖的菌株, 发现 19 株能产生胞外多糖, 其中菌株 HS239 产量较高.

**关 键 词:**嗜盐菌; 舟山地区; 胞外多糖; 海洋微生物

中图分类号: Q939

文献标识码: A

文章编号: 1008-9497(2007)03-335-05

ZHOU Xu-hua, WANG Yong, WU Min(College of Life Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China)

**Isolation and exopolysaccharide screening of halophiles from Zhoushan Islands.** Journal of Zhejiang University(Science Edition), 2007, 34(3): 335~339

**Abstract:** Totally 120 halophilic strains were isolated from mud and water samples from Zhoushan Islands. Most of the isolates are moderately halophilic or halotolerant, in which, white colonies are dominant species while red and yellow colonies are also popular. Cells of the isolates are mainly cocci or rod-shaped and approximately 81.6% of the strains are Gram-negative. The results indicated that the communities of halophiles are widely distributed in Zhoushan Islands and possess diversity. All the isolates were screened for EPS, among which 19 strains showed positive in EPS-producing. The strain HS239 displayed high EPS productivity.

**Key words:** halophiles; Zhoushan Islands; EPS; marine microorganism

海洋是生命的发源地. 高盐、高压、低温、低营养、无光照的特殊环境, 造就了海洋生物的多样性远远超过陆地生物. 适应海洋环境的生物, 其机体组分和代谢产物也与陆生生物大不相同, 蕴藏着大量的新型化合物. 近年来, 从海洋生物中分离筛选免疫活性多糖的研究, 已成为海洋活性物质研究的热点之一<sup>[1~7, 19]</sup>. 海洋细菌湿润黄杆菌(*Flavobacterium uliginosum* MP-55)产生的胞外多糖“海拿登”(Marinactan), 由于特殊的多糖成分和显著的抗肿瘤活性, 已进入多糖抗肿瘤新药的临床阶段<sup>[1]</sup>.

嗜盐菌是一类生长在高盐环境下的微生物, 在古菌域和细菌域中都存在, 地理分布广泛. 海洋也是嗜盐菌的主要栖息地之一. 目前, 国内外已对海洋微生物多糖进行初步研究<sup>[7~16]</sup>, 但海洋嗜盐菌产胞外

多糖的研究极少. 本文从分离自浙江舟山地区海洋嗜盐菌中筛选产胞外多糖的菌株, 为海洋嗜盐微生物的开发利用提供一定科学依据.

## 1 材料与方法

### 1.1 样 品

盐田、海泥和海水样品, 采自浙江舟山地区定海、嵊泗、舟山、朱家尖、岱山和衢山六个地区的不同位点. 采样时间为 2004 年 7 月 28 日, 样品采集后立即放于 4℃ 冰箱保存, 分离时间为 2004 年 9 月至 2005 年 5 月.

### 1.2 培养基

修正培养基(MGM): 12% MGM, 18% MGM,

收稿日期: 2005-11-15.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30370029); 国家重点基础研究发展规划项目(973 计划)子项目(2004CB719604-3).

作者简介: 周旭华(1982-), 女, 硕士, 主要从事海洋嗜盐菌胞外多糖的研究.

\* 通讯作者: 吴 敏, 教授, E-mail: wumin@zju.edu.cn.

23% MGM 和 25% MGM<sup>[17]</sup>; 培养基 D<sup>[21]</sup>; 培养基 E<sup>[22]</sup>.

培养基 B (DSMZ Medium 97, /L): 7.50 g Casamino acids (Difco), 10.00 g Yeast extract (Difco), 3.00 g 柠檬酸三钠, 2.00 g KCl, 20.00 g MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O, 0.05 g FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O, 0.20 mg MnSO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O, 250.00 g NaCl, pH 7.4.

培养基 C (DSMZ Medium 823, /L): 125.00 g NaCl, 160.00 g MgCl<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O, 5.00 g K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0.10 g CaCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O, 1.00 g Yeast extract (Difco), 1.00 g Casamino acids (Difco), 2.00 g 淀粉, pH 7.0.

培养基 HM(/L): 100.00 g NaCl, 2.00 g KCl, 1.00 g MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O, 0.36 g CaCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O, 0.23 g NaBr, 0.06 g NaHCO<sub>3</sub>, 0.20 mg FeCl<sub>3</sub>, 5.00 g Protease-peptone (Difco), 10.00 g Yeast extract (Difco), 1.00 g 葡萄糖, pH 7.2~7.4.

发酵培养基 HS(/L): 50.00 g NaCl, 2.00 g MgCl<sub>2</sub>, 6.80 g MgSO<sub>4</sub>, 2.80 g KCl, 0.16 g CaCl<sub>2</sub>, 0.32 g NaBr, 10.00 g 葡萄糖, 0.20 mg FeCl<sub>3</sub>, 10.00 g 蔗糖, 1.00 g Yeast extract (Difco), 5.00 g Protease-peptone (Difco), pH 7.5.

发酵培养基 YT(/L): 120.00 g NaCl, 2.00 g MgCl<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O, 2.80 g KCl, 0.16 g CaCl<sub>2</sub>, 0.20 mg FeCl<sub>3</sub>, 36.00 mg FeCl<sub>2</sub> · 4H<sub>2</sub>O, 0.36 mg MnCl<sub>2</sub> · 4H<sub>2</sub>O, 10.00 g 葡萄糖, 5.00 g Yeast extract (Bacto), 2.00 g Protease-peptone (Difco), pH 7.0.

### 1.3 菌株分离与纯化

取水样 100~200 μL 涂布平板, 37 °C 摇床培养, 挑取单菌落反复划线纯化, 直至获得纯培养. 土样则先经适当浓度的盐溶液悬浮, 再取悬浮液进行培养. 纯化好的菌株以液蜡室温保存, 同时以甘油管 -80 °C 保存.

### 1.4 形态学特征

菌体形态: 革兰氏染色后用普通光学显微镜观察(Olympus, B071).

菌落形态: 观察平板上菌落培养 2~4 d 后的形状、大小、色素、边缘、透明程度和突起等.

### 1.5 生理学特征

NaCl 生长浓度 在含有 0%, 0.5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 8%, 10%, 12%, 15%, 20%, 25%, 28% NaCl 的液体培养基 37 °C 培养, 接种量为 1%, 定时测定菌悬液的光吸收值(OD<sub>600</sub>).

MgCl<sub>2</sub> 生长浓度 在分离培养基其他成分不变的条件下, Mg<sup>2+</sup> 浓度分别为 0, 0.005, 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.5, 1 mol/L, 接种量为 1%, 37 °C 培

养, 定时测定菌悬液的光吸收值(OD<sub>600</sub>).

### 1.6 多糖产生及测定

菌株分别在 HS 和 YT 发酵培养基中培养至对数生长期末期, 菌液 9 800 g 离心 20 min, 上清液用去离子水透析 24 h 除盐, 加入 3 倍 φ=95% 的乙醇并置 4 °C 沉淀过夜. 153 00 g 离心 20 min 弃上清, 沉淀以蒸馏水按原体积溶解, 用苯酚-硫酸法<sup>[18]</sup>测定粗多糖含量.

## 2 结果

### 2.1 菌株的分离

从 11 份海水样品和 16 份盐田样品中分别分离纯化 54 株和 66 株单菌, 共 120 株菌株, 这些菌株大部分可以在中等盐浓度的培养基中生长. 图 1 为分别从各个培养基中分离得到的菌株数比例.

### 2.2 菌落形态

菌落呈白、红、黄、粉红、乳黄等不同颜色. 其中白色菌落居多, 其次是红色和黄色, 分别占菌株总数的 58%、18% 和 13% (见图 2). 绝大部分菌落呈圆形, 直径为 0.5~3 mm; 表面光滑或粗糙; 大多数不透明, 少数半透明或透明.

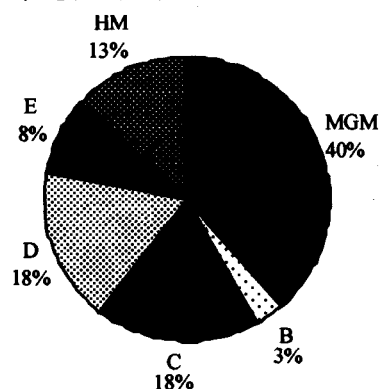


图 1 不同培养基分离菌株数比例

Fig. 1 Distribution of strains in different media

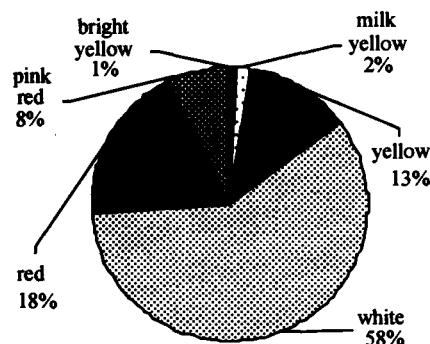


图 2 平板培养的不同颜色菌株间的比例关系

Fig. 2 Distribution of strains with different pigment on agar plates

2.3 细胞形态

绝大部分分离菌株的细胞呈杆状,其次为球状,少量具有多种形态.革兰氏染色结果表明,革兰氏阴性细菌占大多数,约为 81.6%,革兰氏阳性细菌约为 18.4%,这与大多数盐环境下观察的结果一致<sup>[24]</sup>.

2.4 生理学特征

通过对供测试菌菌落和细胞形态学特征的观察,选择有代表性的 30 株菌株进行生理学特征检测

(见表 1).

2.5 产糖菌株的筛选

在供测试的 120 株嗜盐菌中,筛选到 19 株能产生胞外多糖的菌,8 株见表 1(菌株编号为斜体),其余为:HS201 60.3 mg/L,HS213 36.7 mg/L,HS223 100.3 mg/L,HS242 61.4 mg/L,HS227 29.6 mg/L,HS232 60.3 mg/L,HS236 86 mg/L,HS246 104.4 mg/L,HS254 78.8 mg/L,YT213 71.6mg/L, YT235 68.6mg/L.

表 1 部分分离菌株的表性特征和产糖

Table 1 Phenotypic features and EPS of the isolated strains

菌株编号	形态学特征		生理学特征			生长			EPS 产量 (mg · L <sup>-1</sup> )
	菌落(2 d,直径单位: mm)	菌落细胞	菌落 颜色	革兰氏 染色	NaCl 生长 浓度范围	最适 NaCl 浓度	最适 MgCl <sub>2</sub> 浓度 (mol · L <sup>-1</sup> )	MgCl <sub>2</sub> 生长 浓度范围 (mol · L <sup>-1</sup> )	
HS206	圆,不透明,隆起,Φ=1	球形	白色	-	2%~15%	4%	0.02	0.005~0.1	40.8
HS207	圆,隆起,不透明,Φ=1	球形	白色	-	2%~15%	5%~8%	0.01	0.005~0.1	0
HS208	圆,不透明,隆起,Φ=1	球形	白色	-	0~15%	2%	0.02	0~0.5	0
HS210	圆,不透明,扁平,Φ=1	球形	红色	-	5%~20%	12%	0.02	0.01~0.5	0
HS212	圆,隆起,Φ=1	球形	白色	+	0.5%~15%	3%~5%	0.02	0~0.5	0
HS214	圆,隆起,Φ=0.6	弯曲杆状	土黄	-	1%~12%	5%	0	0~0.1	0
HS215	圆,隆起,Φ=0.8	不规则球形	乳黄	-	0%~15%	4%	0	0~0.1	0
HS225	圆,扁平,Φ=1	不规则球形	白色	-	0%~20%	3%	0	0~0.1	65.5
HS226	圆,扁平,Φ=1	不规则球形	土黄	-	0%~20%	5%	0	0~0.5	0
HS234	圆,微隆,Φ=1	不规则球形	白色	-	0.5%~20%	3%~5%	0.02	0~0.1	107.5
HS239	圆,隆起,Φ=0.8	短杆状,球形	白色	+	0%~20%	2%~5%	0.005	0~0.5	168.0
HS240	圆,半透明,Φ=0.5,隆起	杆状	白色	+	0%~20%	2%	0.02	0~0.5	0
HS244	圆,隆起,Φ=1	球形	土黄	-	0%~15%	4%	0	0~0.1	0
HS249	圆,半透明,Φ=1,隆起	短杆状,串杆	白色	+	0%~20%	3%~5%	0.05	0~0.5	0
HS251	圆,扁平,不透明,Φ=1	不规则球形	白色	-	0.5%~15%	2%	0	0~0.5	98.3
HS252	圆,扁平,Φ=1	球形	土黄	-	0%~15%	3%	0.05	0~0.1	0
HS253	圆,隆起,Φ=0.5	杆状	土黄	-	0.5%~15%	2%~5%	0.01	0~0.5	0
YT205	圆,隆起,Φ=1	杆状	黄色	-	2%~15%	8%	0.02	0.005~0.1	76.3
YT207	圆,隆起,Φ=0.2	弯曲杆状	白色	-	5%~20%	8%	0.01	0.005~0.1	0
YT210	圆,隆起,Φ=1	球,椭球形	铁红	-	1%~12%	3%	0.05	0~1	0
YT217	圆,隆起,Φ=0.8	短杆状	米黄	+	5%~20%	10%	0.01	0~0.5	0
YT218	圆,隆起,Φ=1	球形	白色	-	3%~15%	5%	0.005	0~0.1	59
YT221	圆,隆起,Φ=0.2	短杆状	白色	+	5%~20%	8%	0.01	0.005~0.1	0
YT222	圆,扁平,Φ=0.5	短杆,串杆状	白色	+	4%~20%	8%	0.01	0.005~0.1	0
YT225	圆,半透明,Φ=0.5,微隆	弯曲杆状	白色	+	8%~20%	8~12%	0.1	0~0.5	0
YT226	圆,隆起,Φ=0.5	球形	铁红	-	3%~20%	8%	0.1	0~1	0
YT228	圆,扁平,Φ=0.8	球形	淡红	-	0.5%~15%	5%	0.02	0~0.5	0
YT233	圆,隆起,Φ=1	球形	白色	-	0.5%~15%	3~5%	0.01	0~0.1	30.2
YT234	圆,隆起,Φ=1.5	球形	乳黄	-	5%~15%	10~12%	0.02	0.01~0.1	0
YT236	圆,扁平,Φ=1	球形	淡红	-	0.5%~20%	5%	0.5	0~1	0

+: 阳性;-: 阴性。+: Positive;-: Negative

### 3 讨论

近年来随着海洋活性物质的研究,海洋微生物多糖愈来愈成为该领域的研究热点.在深海热液口<sup>[3,11,12]</sup>,浅海温泉<sup>[8,12,20]</sup>,海边盐场<sup>[4,12]</sup>都有报道发现产体外多糖的微生物.海洋微生物多糖具有有别于陆地微生物多糖的新颖结构,因此物化性质和生物活性也是独特的.例如,水溶性多糖与重金属有极强的亲和力,可以用于污水处理和塑料的生物降解<sup>[3,4,8,12,13]</sup>;具有极好的剪切变稀性质<sup>[3,10]</sup>;小分子硫酸化多糖可抑制凝血酶产生<sup>[3]</sup>,多糖还可用于发展细菌疫苗,作为抗 HTV 药物以及用于增加非特异性免疫<sup>[13]</sup>;不溶于水的多糖可以用于骨修复,细菌 *Vibrio diabolicus* 产生的由线性四糖重复单元组成的多糖,已成功应用于骨再生<sup>[3]</sup>;具有很强的表面活性剂活性<sup>[20]</sup>和热稳定性,可用于包装,改善聚合材料性质;胶凝性质和乳化性质可应用于石油开发<sup>[13]</sup>.

因此海洋微生物是获取新型糖类药物,表面活性剂等功能性物质的宝贵资源库.国内有关海洋微生物产体外多糖的研究报道不多<sup>[5,7,15,16,19]</sup>,而海洋嗜盐菌产体外多糖的研究更少.海洋嗜盐菌由于其耐高盐的特性,产生的多糖具有更广泛的应用.如石油沉积层的环境经常是盐水环境,因此使用抗盐的表面活性剂更为有力.

耐盐菌是指能耐盐的非嗜盐菌;生长范围超过 2.5 mol/L 盐可被认为是极端耐盐微生物.中度嗜盐菌是指在含 0.5~2.5 mol/L 盐的培养基中生长最好.轻度嗜盐菌是指在含 0.2~0.5 mol/L 盐的培养基中生长最好<sup>[24]</sup>.本文的生理学特征检测结果表明,大部分菌株的最适生长 NaCl 浓度为 3%~15%,属于中度嗜盐菌或耐盐菌,少部分为轻度嗜盐菌,最适 NaCl 生长浓度为 2%,均分离自海水水样.不同的菌株对  $Mg^{2+}$  的需求也不一样,大部分菌株可以在无  $Mg^{2+}$  的培养基中生长,少数的菌株必须在一定的  $Mg^{2+}$  浓度下才能生长,而过高的  $Mg^{2+}$  浓度通常会抑制菌株的生长.大部分菌株的最适  $Mg^{2+}$  生长浓度为 0.01~0.02 mol/L;少数菌株在无  $Mg^{2+}$  时生长最快,例如 HS214;也有少数的菌株需要较高的  $Mg^{2+}$  浓度,例如 YT236.

海水平均含盐量为 3.5%,生活在海洋中的多数为嗜盐或耐盐菌,常见菌种有假单胞菌、弧菌、螺菌、无色杆菌、黄杆菌等.通过对舟山地区近海和盐田嗜盐菌的研究表明,菌株形态和菌落颜色多样,具

有一定的生物多样性.而进一步的限制因子实验说明大部分菌株为中度嗜盐菌或耐盐菌,少数为轻度嗜盐菌.来自海水样品的菌株颜色以白色和黄色为主,表明细菌占大多数.而分离自盐田样品的菌株有 44.6%呈红色,表明分离到的菌株部分为嗜盐古菌,结果需要进一步的实验确认.

在供测试的 120 株嗜盐菌中,筛选到 19 株能产生胞外多糖的菌,其中菌株 HS239 产量较高为 168.0 mg/L.与目前国外报道的海洋嗜盐菌 *Halomonas maura* 产糖量 3.8 g maura/L 发酵液<sup>[4]</sup>和国内报道的海洋细菌 12 028.3 g/L 发酵液<sup>[23]</sup>相比,产量仍较低,需要经过进一步筛选或发酵条件优化来提高产量.

本文通过对舟山地区近海和盐田嗜盐菌部分性质的研究和 EPS 的筛选,为海洋嗜盐微生物资源的利用提供了一定的科学依据.目前我们对海洋嗜盐菌的了解还远远不够,因此,对于该类微生物的研究和开发极具吸引力.在海洋生物资源探索备受瞩目的大背景下,必将有更多的有价值的海洋嗜盐菌被分离,并应用于制药、食品工业及其他领域.

#### 参考文献(References):

- [1] UMEZAWA H, OKAMI Y, KURASAWA S, et al. Marinactan, antitumor polysaccharides produced by Marine Bacteria[J]. *J Antibiotics (Tokyo)*, 1983, 36 (5): 471-477.
- [2] JOUAULT S C, CHEVOLOT L, HELLEY D, et al. Characterization, chemical modifications and in vitro anticoagulant properties of an exopolysaccharide produced by *Alteromonas infernos*[J]. *Biochimica et biophysica Biophysica Acta*, 2001, 1528: 141-151.
- [3] GUEZENNEC J. Deep-sea hydrothermal vents: a new source of innovative bacterial exopolysaccharides of biotechnological interest[J]. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 2002, 29(4): 204-208.
- [4] ARIAS S, MORAL A, MARIA R F, et al. Maura, an exopolysaccharide produced by the halophilic bacterium *Halomonas maura*, with a novel composition and interesting properties for biotechnology[J]. *Extremophiles*, 2003, 7: 319-326.
- [5] 苏文金,黄益丽,黄耀坚,等.产免疫调节活性多糖海洋放线菌的筛选[J]. *海洋学报*, 2001, 23(6): 114-119. SU Wen-jin, HUANG Yi-li, HUANG Yao-jian, et al. Screening of marine actinomycetes producing polysaccharides with immunomodulating activity [J]. *Acta Oceanologica Sinica*, 2001, 23(6): 114-119.

- [6] SWAAF M E, GROBBEN G J, EGGINK G, et al. Characterisation of extracellular polysaccharides produced by *Cryptocodium cohnii* [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2001, 57(3): 395-400.
- [7] 黄耀坚,黄益丽,刘三震,等. 具有免疫活性多糖海洋细菌菌株的筛选[J]. 台湾海峡, 2004, 23(1): 38-42. HUANG Yao-jian, HUANG Yi-li, LIU San-zhen, et al. Screening of marine bacterial strain with Immunoactive exopolysaccharide[J]. *Journal of Oceanography in Taiwan Strait*, 2004, 23(1): 38-42.
- [8] TERESA L, MAUGERI, CONCETTA G, et al. A halophilic thermotolerant *Bacillus* isolated from a marine hot spring able to produce a new exopolysaccharide[J]. *Biotechnology Letters*, 2002, 24: 515-519.
- [9] SCHIANO M V, LAMA L, POLI A, et al. Production of exopolysaccharides from a thermophilic microorganism isolated from a marine hot spring in flegrean areas[J]. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 2003, 30: 95-101.
- [10] MURALI DHARAN J, JAYACHANDRAN S. Physicochemical analyses of the exopolysaccharides produced by a marine biofouling bacterium, *Vibrio alginolyticus* [J]. *Process Biochemistry*, 2003, 38: 841-847.
- [11] RAGUENES G, CAMBON-BONAVITA M A, LOHIER J F, et al. A novel, highly viscous polysaccharide excreted by an *Alteromonas* isolated from a deep-sea hydrothermal vent shrimp[J]. *Current Microbiology*, 2003, 46: 448-452.
- [12] NICOLAUS B, SCHIANO M V, LAMA L, et al. Polysaccharides from extremophilic microorganisms [J]. *Orig Life Evol Biosph*, 2004, 34(12): 159-169.
- [13] VISHAL S, ARABINDA R, NIKKI G, et al. Characterization of the extracellular polysaccharide produced by a marine Cyanobacterium *Cyanothece* sp. ATCC 51142, and its exploitation toward metal removal from solutions [J]. *Current Microbiology*, 2000, 40: 274-278.
- [14] ZINKEVICH V, BOGDARINA I, KANG H, et al. Characterization of exopolymers produced by different isolates of marine sulphate-reducing bacteria[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 1996, 1:163-172.
- [15] 郭志勇,余志刚,陈东森,等. 南海海洋红树林种子内生真菌 2508 号多糖 G-22a 的研究[J]. 中山大学学报:自然科学版, 2003, 42(4): 127-128. GUO Zhi-yong, YU Zhi-gang, CHENG Dong-shen, et al. Study of isolation and composition of the extracellular polysaccharide G-22a of marine endophytic fungus No. 2508 from the South China Sea [J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni*, 2003, 42(4): 127-128.
- [16] 韩文君,路新枝,肖琳,等. 一株产褐藻酸多糖的海洋假单胞菌 *Pseudomonas* sp. QDA 的筛选和鉴定[J]. 中国海洋大学学报, 2004, 34(1): 60-64. HAN Wen-jun, LU Xin-zhi, XIAO Lin, et al. Screening of an alginate-producing marine bacterium *Pseudomonas* sp. Strain QDA and its characterization [J]. *Journal of Ocean University of China*, 2004, 34(1): 60-64.
- [17] MIKE D S. *The Halohandbook: Protocols for Halobacterial Genetics (Version 3.0)* [M]. Melbourne: Melbourne Press, 2000.
- [18] 张惟杰. 糖复合物生化研究技术 [M]. 2 版. 杭州:浙江大学出版社, 1999: 11-12. ZHANG Wei-jie. *Biochemistry Research Techniques of Saccharide Complex* [M]. 2nd ed. Hangzhou: Zhejiang University Press, 1999: 11-12.
- [19] 黄益丽,郑天凌. 海洋生物活性多糖的研究现状与展望[J]. 海洋科学, 2004, 28(4): 58-61. HUANG Yi-li, ZHENG Tian-ling. Studies on polysaccharides from marine organism, a review [J]. *Ocean Science*, 2004, 28(4): 58-61.
- [20] GUGLIANDOLO C, MAUGERI T L, CACCAMO D, et al. *Bacillus aeolius* sp. nov. a novel thermophilic, halophilic marine bacillus species from Eolian Islands (Italy) [J]. *Syst Appl Microbiol*, 2003, 26(2): 172-176.
- [21] XIN H, ITOH T, ZHOU P, et al. *Natronobacterium nitratireducens* sp. nov., a haloalkaliphilic archaeon isolated from a soda lake in China [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2001, 51: 1825-1829.
- [22] OESTERHELT D, STOECKENIUS W. Isolation of the cell membrane of *Halobacterium halobium* and its fractionation into red and purple membrane [J]. *Methods Enzymol*, 1974, 31: 667-678.
- [23] 郑忠辉,刘三震,黄益丽,等. 海洋细菌 1202 菌株产胞外多糖的适宜条件[J]. 厦门大学学报:自然科学版, 2003, 23(5): 661-664. ZHENG Zhong-hui, LIU San-zhen, HUANG Yi-li, et al. Suitable culture conditions for exopolysaccharides produced by marine bacterial strain 1202 [J]. *Journal of Xiamen University: Natural Science Edition*, 2003, 23(5): 661-664.
- [24] KUSHNER, SOKATCH D J, ORNSTON J R, et al. The halobacteriaceae. In the bacteria, a treatise on structure and function [J]. *Academic Press*, 1985, 8: 171-206.