

# 研究报告

## 中度嗜盐或耐盐放线菌生长对阴离子选择性研究\*

王 栋<sup>1,2</sup> 唐蜀昆<sup>1</sup> 李文均<sup>1\*\*</sup> 陈华红<sup>1</sup> 徐丽华<sup>1</sup> 姜成林<sup>1</sup>

(云南大学云南省微生物研究所教育部微生物资源开放研究重点实验室 昆明 650091)<sup>1</sup>

(红河大学理学院 蒙自 661100)<sup>2</sup>

**摘要:** 长期以来  $\text{Cl}^-$  被作为主要阴离子来分离和培养中度嗜盐放线菌, 但是盐湖中还含有  $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{CO}_3^{2-}$  和  $\text{HCO}_3^-$  等阴离子。培养基中只加入含有  $\text{Cl}^-$  的盐, 不能完全模拟出自然界的环境, 因此对中度嗜盐或耐盐放线菌的研究会有一定的限制。实验通过研究部分中度嗜盐或耐盐放线菌菌株生长对阴离子的选择影响, 结果发现中度嗜盐或耐盐放线菌对部分阴离子如  $\text{NO}_3^-$  和  $\text{SO}_4^{2-}$  没有太大的选择性,  $\text{Cl}^-$  可以被  $\text{NO}_3^-$  和  $\text{SO}_4^{2-}$  所代替; 但有些阴离子如  $\text{CO}_3^{2-}$  和  $\text{HCO}_3^-$  仅对拟诺卡氏菌属 (*Nocardiopsis*) 影响较小, 对盐碱环境中的其他属的放线菌, 如普氏菌属 (*Prauserella*)、链单孢菌属 (*Streptomonospora*)、糖单孢菌属 (*Saccharomonospora*) 等影响较大。

**关键词:** 嗜盐放线菌, 阴离子, 选择性

**中图分类号:** Q93 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2005) 01-0001-04

## Study on the Growth for Selectivity to Negative Ion of Moderately Halophilic Actinomycetes

WANG Dong<sup>1,2</sup> TANG Shu-Kun<sup>1</sup> LI Wen-Jun<sup>1\*\*</sup> CHENG Hua-Hong<sup>1</sup> XU Li-Hua<sup>1</sup>  
JIANG Cheng-Lin<sup>1</sup>

(The Key Laboratory for Microbial Resources of Ministry of Education, Yunnan Institute of Microbiology,  
Yunnan University, Kunming 650091)<sup>1</sup>

(Science College, Honghe University, Mengzi 661100)<sup>2</sup>

**Abstract:**  $\text{Cl}^-$  was used as main negative ion long time for isolation and culture of moderately halophilic or halotolerant actinomycetes, but there are other negative ions such as  $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{CO}_3^{2-}$  and  $\text{HCO}_3^-$  in salt lake. Media with only  $\text{Cl}^-$  could not reflect their living natural environments, which was limited to study on moderately halophilic or halotolerant actinomycetes. In this study, the results show that some negative ion, such as  $\text{NO}_3^-$  and  $\text{SO}_4^{2-}$ , have not much more selectivity to moderately halophilic or halotolerant actinomycetes,  $\text{Cl}^-$  can be substituted by  $\text{NO}_3^-$  and  $\text{SO}_4^{2-}$ .  $\text{CO}_3^{2-}$  and  $\text{HCO}_3^-$  has little effect on the genus *Nocardiopsis*, but have much more on other genera such as *Prauserella*, *Streptomonospora* and *Saccharomonospora*, etc. These results will be some instructive to the isolation and cultivation of moderately halophilic or halotolerant actinomycetes.

**Key words:** Moderate halophilic actinomycetes, Negative ion, Selectivity

\* 云南省科委应用基础基金项目 (No. 2001c0001Q)

云南省教委基金项目资助 (No. 02QJ077)

\*\* 联系人 Tel: 86-871-5033790, Fax: 86-871-5173878, E-mail: liaact@hotmail.com, wjli@ynu.edu.cn

收稿日期: 2004-03-03, 修回日期: 2004-07-14

过去对中度嗜盐或耐盐放线菌的分离和培养多采用  $\text{Cl}^-$  为主要阴离子, 但研究中发现新疆、青海等地的盐湖卤水中不仅含有  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{CO}_3^{2-}$  和  $\text{HCO}_3^-$  等阴离子, 而且含量也较高<sup>[1,2]</sup>。新疆还有硝酸盐类盐湖, 其中还富含一定数量的  $\text{NO}_3^-$  和  $\text{NO}_2^-$  成分。实践证明, 以  $\text{Cl}^-$  为主要阴离子的培养方式, 不能完全反映盐湖中的原始环境, 会在一定程度上影响盐湖放线菌的分离和培养。因此需要研究放线菌与各种阴离子的关系, 在生理上进一步认识阴离子对放线菌生长的影响。

本实验选择了新疆、青海和河北等地高盐碱环境中分离到的 5 个属的 18 株中度嗜盐或耐盐放线菌以及 3 株典型菌株, 通过研究其与  $\text{Cl}^-$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{CO}_3^{2-}$  和  $\text{HCO}_3^-$  等阴离子的关系, 来探讨其对这些阴离子是否有一定的选择性。这些研究结果将对今后高盐环境放线菌的分离和培养有一定的指导和参考价值。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌种

从新疆、青海和河北等地采集的盐碱地土样中分离获得嗜盐或耐盐放线菌菌株, 从中选取 18 株作为实验菌株, 另外还选择了 3 株典型菌株: 多皱普氏菌 (*Prauserella rugosa*) DSM 43194<sup>T</sup>, 耐盐拟诺卡氏菌 (*Nocardiopsis halotolerans*) DSM 44410<sup>T</sup> 和嗜盐拟诺卡氏菌 (*Nocardiopsis halophila*) DSM 44494<sup>T</sup> 作为对照。

### 1.2 中度嗜盐放线菌对阴离子的选择性的实验

实验所用基础培养基为 ISP5 培养基: 天门冬酰胺 1g, 甘油 10g,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  1g, agar 20g, 蒸馏水定容至 1L。所选用的盐种类为  $\text{NaCl}$ 、 $\text{NaNO}_3$ 、 $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  和  $\text{NaHCO}_3$ , 所取浓度如表 1。培养基与盐分别灭菌后充分混匀, 倒平板。28℃ 培养。每隔 10d 观察记录 1 次, 到 30d 后结束, 重复 2~3 次。

表 1 实验中所选用的盐浓度

| 盐的类型  | 溶解度 (g) |      |      | 浓度 (mmol/L) |      |      |      |      |
|---|---------|------|------|-------------|------|------|------|------|
| $\text{NaCl}$                                       | 36.0    | 0.50 | 0.90 | 2.00        | 2.56 | 3.42 | 4.27 | 5.13 |
| $\text{NaNO}_3$                                     | 92.0    | 0.35 | 0.59 | 1.18        | 1.76 | 2.35 | 2.94 | 3.53 |
| $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ | 29.4    | 0.11 | 0.18 | 0.35        | 0.52 | 0.70 | 0.87 | 1.05 |
| $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ | 28.0    | 0.09 | 0.16 | 0.31        | 0.47 | 0.62 | 0.78 |      |
| $\text{NaHCO}_3$                                    | 10.3    | 0.35 | 0.59 | 1.18        |      |      |      |      |

## 2 结果与讨论

实验结果如表 2。多数中度嗜盐或耐盐放线菌实验菌株生长所需的  $\text{Cl}^-$  可被  $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$  所代替。对于  $\text{CO}_3^{2-}$  和  $\text{HCO}_3^-$  来说, 虽对大部分中度嗜盐或耐盐放线菌, 尤其是拟诺卡氏菌属的菌株没有明显的选择性, 但对其它属菌株, 例如, 普氏菌属 (YIM 90001 和 YIM 90005)、链单孢菌属 (YIM 90003)、糖单孢菌属 (YIM 90007) 以及部分拟诺卡氏菌属菌株 (YIM 90006 和 DSM 44410<sup>T</sup>), 却有一定的选择性, 这些菌株均不能在含有  $\text{NaHCO}_3$  或  $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  的培养基上生长。

表 2 不同浓度的 Cl<sup>-</sup>、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>和 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>对放线菌生长的影响

| 菌株                     | 属名                       | 分离地点  | 在不同阴离子钠盐下的生长范围 (mol/L) |                   |  |                    |  |
|------------------------|--------------------------|-------|------------------------|-------------------|--|--------------------|--|
|                        |                          |       | NaCl                   | NaNO <sub>3</sub> | Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> · 10H <sub>2</sub> O | NaHCO <sub>3</sub> | Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> · 10H <sub>2</sub> O |
| YIM 90001              | <i>Prauserella</i>       | 新疆盐碱土 | 0.20 ~ 3.42            | 0.12 ~ 2.94       | 0.16 ~ 0.78  | 0                  | 0  |
| YIM 90003              | <i>Streptomonospora</i>  | 新疆盐碱土 | 0.20 ~ 2.56            | 0.12 ~ 1.18       | 0.03 ~ 0.78  | 0                  | 0  |
| YIM 90004              | <i>Nocardiopsis</i>      | 新疆盐碱土 | 0.50 ~ 2.56            | 0.59 ~ 1.18       | 0.47 ~ 0.78  | 0.59 ~ 1.18        | 0.035  |
| YIM 90005              | <i>Prauserella</i>       | 新疆盐碱土 | 0 ~ 3.42               | 0.12 ~ 3.53       | 0.03 ~ 0.78  | 0                  | 0.035  |
| YIM 90006              | <i>Nocardiopsis</i>      | 新疆盐碱土 | 0.50 ~ 2.56            | 0.35 ~ 1.18       | 0.31 ~ 0.78  | 0                  | 0  |
| YIM 90007              | <i>Saccharomonospora</i> | 新疆盐碱土 | 0.50 ~ 2.56            | 1.76 ~ 3.53       | 0.31 ~ 0.78  | 0                  | 0  |
| YIM 90008              | <i>Nocardiopsis</i>      | 河北碱地  | 0.20 ~ 2.56            | 0.35 ~ 2.94       | 0.093 ~ 0.78   | 0.12 ~ 1.18        | 0.035 ~ 1.050  |
| YIM 90009              | <i>Nocardiopsis</i>      | 河北碱地  | 0.20 ~ 2.56            | 0.12 ~ 3.53       | 0.093 ~ 0.78   | 0.12 ~ 1.18        | 0.035 ~ 1.050  |
| YIM 90010              | <i>Nocardiopsis</i>      | 新疆盐碱土 | 0.20 ~ 2.56            | 0.12 ~ 3.53       | 0.31 ~ 0.78  | 0.12 ~ 1.18        | 0.035 ~ 1.050  |
| YIM 90011              | <i>Nocardiopsis</i>      | 河北碱地  | 0.20 ~ 2.56            | 0.12 ~ 2.35       | 0.47 ~ 0.78  | 0.59 ~ 1.18        | 0.175 ~ 1.050  |
| YIM 90013              | <i>Nocardiopsis</i>      | 青海盐碱土 | 0.20 ~ 2.56            | 0.12 ~ 0.59       | 0.03 ~ 0.78  | 0.12 ~ 0.35        | 0.035 ~ 0.175  |
| YIM 90014              | <i>Nocardiopsis</i>      | 青海盐碱土 | 0.20 ~ 2.56            | 0.12 ~ 2.94       | 0.09 ~ 0.78  | 0.12 ~ 1.18        | 0.035 ~ 1.050  |
| YIM 90015              | <i>Nocardiopsis</i>      | 青海盐碱土 | 0.20 ~ 2.56            | 0.12 ~ 2.94       | 0.31 ~ 0.78  | 0.12 ~ 1.18        | 0.035 ~ 1.050  |
| YIM 90016              | <i>Nocardiopsis</i>      | 青海盐碱土 | 0.20 ~ 2.56            | 0.12 ~ 2.35       | 0.31 ~ 0.78  | 0.35 ~ 1.18        | 0.035 ~ 1.050  |
| YIM 90017              | <i>Streptomyces</i>      | 青海盐碱土 | 0 ~ 2.56               | 0.12 ~ 1.76       | 0.03 ~ 0.78  | 0.12               | 0.035  |
| YIM 90018              | <i>Streptomyces</i>      | 青海盐碱土 | 0 ~ 2.56               | 0.12 ~ 1.76       | 0.03 ~ 0.78  | 0.12               | 0.035  |
| YIM 90025              | <i>Nocardiopsis</i>      | 青海盐碱土 | 0 ~ 2.56               | 0.12 ~ 2.35       | 0.03 ~ 0.78  | 0.12 ~ 1.18        | 0.035 ~ 0.520  |
| YIM 90039              | <i>Nocardiopsis</i>      | 青海盐碱土 | 0.20 ~ 2.56            | 0.12 ~ 1.76       | 0.03 ~ 0.78  | 0.12 ~ 0.35        | 0.035 ~ 0.105  |
| DSM 43194 <sup>T</sup> | <i>Prauserella</i>       | 不详    | 0 ~ 2.56               | 0.12 ~ 2.94       | 0.03 ~ 0.78  | 0.12               | 0.035  |
| DSM 44494 <sup>T</sup> | <i>Nocardiopsis</i>      | 伊拉克   | 0 ~ 2.56               | 0.12 ~ 2.35       | 0.03 ~ 0.78  | 0.12               | 0.035 ~ 1.050  |
| DSM 44410 <sup>T</sup> | <i>Nocardiopsis</i>      | 科威特   | 0 ~ 2.56               | 0.12 ~ 2.94       | 0.09 ~ 0.78  | 0                  | 0.035  |

2.1 根据菌株的类型

对于嗜盐放线菌，分离自青海的菌株全部可以在含有 NaHCO<sub>3</sub> 或 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> · 10H<sub>2</sub>O 的培养基上生长，而分离自新疆的菌株，除一拟诺卡氏菌菌株 YIM 90004 能在 NaHCO<sub>3</sub> 浓度较高的条件下会生长外，其余均不能在含有 NaHCO<sub>3</sub> 或 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> · 10H<sub>2</sub>O 的培养基上生长；对于耐盐放线菌，分离自青海的菌株全部可以在含有 NaHCO<sub>3</sub> 或 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> · 10H<sub>2</sub>O 的培养基上生长，分离自新疆的耐盐普氏放线菌属菌株 YIM 90005 不能在含有 NaHCO<sub>3</sub> 的培养基上生长，在 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> · 10H<sub>2</sub>O 浓度较低的条件才可生长。

2.2 根据菌株对 NaHCO<sub>3</sub> 和 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> · 10H<sub>2</sub>O 的适应范围

2.2.1 在含 NaHCO<sub>3</sub> 或 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> · 10H<sub>2</sub>O 的培养基上不能生长或只能在较低浓度下生长的菌株：YIM 90001，YIM 90003，YIM 90006 和 YIM 90007 在含有 NaHCO<sub>3</sub> 或 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> · 10H<sub>2</sub>O 的培养基上不能生长，YIM 90005 和 *Nocardiopsis halotolerans* DSM 44410<sup>T</sup> 在 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> · 10H<sub>2</sub>O 浓度较低 (0.035 mol/L) 的情况下才能生长，在含有 NaHCO<sub>3</sub> 的培养基上不能生长；YIM 90013、YIM 90017、YIM 90018、YIM 90039、*Prauserella rugosa* DSM 43194<sup>T</sup> 和 *Nocardiopsis halophila* DSM 44494<sup>T</sup> 在 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> · 10H<sub>2</sub>O (<0.175 mol/L) 和 NaHCO<sub>3</sub> (<0.35mol/L) 浓度较低的情况下才能生长。经多相分类研究，菌株 YIM90001、YIM 90005 隶属于普氏菌属 (*Prauserella*)<sup>[3]</sup>，菌株 YIM 90003 属于链单孢菌属 (*Streptomonospora*)<sup>[4]</sup>，菌株 YIM 90007 属于糖单孢菌属 (*Saccharomonospora*)<sup>[5]</sup>，

菌株 YIM 90017、YIM 90018 属于链霉菌属 (*Streptomyces*), 菌株 YIM 90006、YIM 90013 和 YIM 90039 属于拟诺卡氏菌属 (*Nocardiopsis*)。

2.2.2 在含有  $\text{NaHCO}_3$  或  $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  的培养基上生长较好的菌株: 菌株 YIM 90008、YIM 90009、YIM 90010、YIM 90011、YIM 90014、YIM 90015 和 YIM 90016 可以在含有  $\text{NaHCO}_3$ 、 $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  的培养基上生长, 菌株 YIM 90011 则必须要在比较高的  $\text{NaHCO}_3$  和  $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  浓度下 (分别为  $0.175 \sim 1.050 \text{ mol/L}$  和  $0.59 \sim 1.18 \text{ mol/L}$ ) 才可以生长, 经多相分类发现这几株菌全部属于拟诺卡氏菌属, 这说明  $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  或  $\text{NaHCO}_3$  对拟诺卡氏菌属放线菌的影响比较小, 也从一方面解释了拟诺卡氏菌属放线菌是盐碱环境中可培养的优势放线菌。

由以上结果可知,  $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  或  $\text{NaHCO}_3$  对拟诺卡氏菌属放线菌的影响要小, 对盐碱环境中的其他属如普氏菌属, 链单孢菌属和糖单孢菌属的影响较大。

### 2.3 菌株的分离地点

分离自青海的菌株全部可以在含有  $\text{NaHCO}_3$  或  $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  的培养基上生长, 分离自新疆的菌株大部分不能在含有  $\text{NaHCO}_3$  或  $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  的培养基上生长。因此菌株对  $\text{CO}_3^{2-}$  和  $\text{HCO}_3^-$  的适应与分离地点有关。土样离子成分的组成和放线菌对  $\text{CO}_3^{2-}$  和  $\text{HCO}_3^-$  的适应类型的相互关系值得进一步研究。

### 2.4 培养基的 pH

含有  $\text{NaCl}$ 、 $\text{NaNO}_3$  和  $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  的培养基 pH 值为 7 左右, 含有  $\text{NaHCO}_3$  的培养基 pH 值为  $7.5 \sim 8.0$ , 含有  $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  的培养基 pH 值为 10 左右。因此菌株在含有  $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  的培养基上不能生长可能是因为 pH 值太高, 但菌株 *Präuserella alba* (YIM 90005), *Nocardiopsis halotolerans* DSM 44410<sup>T</sup> 在  $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  浓度较低 ( $0.035 \text{ mol/L}$ ) 的情况下可以生长, 在含有  $\text{NaHCO}_3$  的培养基上却不能生长, 说明菌株不能在含有  $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  的培养基上生长不完全是 pH 值的原因。

唐蜀昆等<sup>[6]</sup>的研究发现不同嗜盐放线菌对  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  和  $\text{Ca}^{2+}$  的适应有选择性, 有些嗜盐放线菌的生长离不开  $\text{Na}^+$ , 对  $\text{Na}^+$  有较大的选择性。本实验通过研究中度嗜盐或耐盐放线菌对盐碱环境中含量较高的几种阴离子的适应性发现, 中度嗜盐或耐盐放线菌对阴离子的选择利用没有太大的选择性。 $\text{Cl}^-$  可以被  $\text{NO}_3^-$  和  $\text{SO}_4^{2-}$  所代替;  $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  或  $\text{NaHCO}_3$  对拟诺卡氏菌属放线菌的影响要小, 但对盐碱环境中的其他属, 例如普氏菌属, 链单孢菌属和糖单孢菌属的放线菌菌株则影响较大。这说明对于中度嗜盐或耐盐放线菌来说, 阳离子比阴离子的意义要大, 这一结果对今后中度嗜盐或耐盐放线菌的分离和培养有一定的指导和参考价值。

### 参 考 文 献

- [1] 郑喜玉, 李秉孝, 高章洪, 等著. 新疆盐湖. 北京: 科学出版社, 1995.
- [2] 张彭熹, 陈克造, 于升松, 等著. 柴达木盆地盐湖. 北京: 科学出版社, 1987.
- [3] Li W J, Xu P, Tang S K, et al. Int J Syst Evol Microbiol, 2003, 53: 1545 ~ 1549.
- [4] Li W J, Xu P, Zhang L P, et al. Int J Syst Evol Microbiol, 2003, 53: 1421 ~ 1425.
- [5] Li W J, Tang S K, Stackebrandt E, et al. Int J Syst Evol Microbiol, 2003, 53: 1591 ~ 1594.
- [6] 唐蜀昆, 李文均, 张永光, 等. 微生物学通报, 2003, 30 (4): 15 ~ 19.