

青藏高原盐湖微型和微微型真核浮游生物

王家利^{1,2}, 储立民¹

1. 中国水利水电科学研究院流域水循环模拟与调控国家重点实验室, 北京 100038
2. 山东江河湿地研究院, 莱芜 271100

摘要 微型与微微型真核浮游生物通常是指粒径在0.2~20 μm之间的真核浮游生物。高原盐湖中微型与微微型真核生物具有丰富的遗传多样性,近年来对高原盐湖中微型与微微型真核生物的研究日渐增多。本文综述了国内外微型与微微型真核浮游生物主要类群的分类学和多样性研究进展,论述了青藏高原柴达木盆地盐湖微型与微微型真核浮游生物的群落结构、在不同盐湖中的分布差异及分子生物学研究方法自身的局限。最后对中国未来加强盐湖中微型与微微型真核浮游生物研究提出了4个建议:加强盐湖微型与微微型真核浮游生物遗传多样性研究,开展盐湖微型与微微型真核浮游生物的纯培养技术研究,充分挖掘盐湖微型与微微型真核浮游生物在生物进化研究中的潜力,以及推动盐湖微型与微微型真核浮游生物功能研究。

关键词 青藏高原;盐湖;微型真核生物;微微型真核生物

盐湖蕴含丰富的矿产资源和生物资源。人类对盐湖的矿产资源开发与利用历史悠久,例如开采盐湖食盐,可追溯至距今4600年前^[1]。随着世界科技的快速发展,20世纪70年代以后,盐湖研究已大大超越了地质矿产和湖泊学的范围,盐湖与其他盐境盐生物学的研究广泛开展^[2],并进入分子生物学层次。盐湖生物研究领域一系列重要发现已经引起研究者的极大关注,在每隔3年举行一届的国际盐湖学术讨论会上,盐湖生物资源和生态学的研究一直是大会的主要议题之一。已有数据显示,在盐湖水体、底泥、湖滨土壤存在着种类丰富的生物类群。迄今,盐湖水体中浮游生物类群与群落结构已经得到了较为全面的解析^[3];一些未知物种得到鉴定,新的生物分类阶元得到明确。国内研究者孔凡晶等^[4-5]、郑绵平等^[6]、赵文等^[6]全面概述了中国盐湖生物学研究取得的成果,对盐湖中嗜盐细菌、盐藻、卤虫、盐生植物、盐湖生物资源的开发利用等做了详尽的综述。由于在盐湖环境中高渗透胁迫威胁着生物细胞的各项生理活动,真核生物一度被认为很难在高盐环境中(盐度大于50 g/L)生存。因此,在相当长的一段时间里,研究者对盐湖中真核生物的关注相对较少。近几年,微型与微微型真核浮游生物在海洋生态系统中得到广泛研究。尤其是随着分子生物学技术的快速发展,越来越

多的证据显示微型与微微型真核浮游生物在海洋生态系统中处于十分重要的地位^[7]。有研究者尝试采用现代分子生物学的技术,分析高盐度盐湖中的微型与微微型真核浮游生物^[8-9]。在过去的几年里关于盐湖微型与微微型真核生物生态学的报道日渐增多,并取得了一些重要进展,积累了宝贵的资料。研究数据显示,在高盐度盐湖中的真核生物主要是微型与微微型真核浮游生物^[9-10]。本文将系统阐述微型与微微型真核浮游生物的划分,以及国内外在海洋及高原盐湖微型及微微型真核浮游生物类群多样性研究中取得的成果,重点综述近年来青藏高原盐湖微型及微微型真核浮游生物研究的新进展。

1 微型和微微型真核浮游生物

浮游生物(plankton)于1887年由Hensen首先提出,是指在水流运动的作用下,被动地漂浮在水层中的生物类群。这些生物一般都个体微小,隶属于不同的门类。因此,浮游生物这个名词主要指的是生态学上的意义,而非分类学上的意义。它们分布于已知分类系统中几乎所有分枝中,要对其进行精确细致的描述十分困难。自然界中浮游生物种类和数量如此众多,以至于研究者在分析其遗传多样性、丰度以及

收稿日期:2016-11-15;修回日期:2016-12-07

基金项目:流域水循环模拟与调控国家重点实验室自主研究课题(2016TS01)

作者简介:王家利,讲师,研究方向为生态学,电子信箱:jialiwang76@163.com

引用格式:王家利,储立民. 青藏高原盐湖微型和微微型真核浮游生物[J]. 科技导报, 2017, 35(12): 32-38; doi: 10.3981/j.issn.1000-7857.2017.12.004

动态分布时很难按照传统分类方法给出一个较全面的概貌^[11]。迄今,对于浮游生物的划分一直存在争议,尽管近几年分子生物学从正反两方面提供了理论依据,但仍然无法得出一个普遍接受的观点。而且,不同研究者侧重于不同的研究对象与研究目的,针对其研究对象使用的术语也比较混乱。一般认为在海洋微型食物网中摄食者一般只能摄取大约为自身1/10大小的生物^[12],因此部分研究者按照粒径大小对微型浮游生物进行区分。通常定义粒径在20~200 μm的浮游生物为小型浮游生物(microplankton),粒径在2.0~20 μm的浮游生物为微型浮游生物(nanoplankton),粒径在0.2~2 μm的浮游生物被定义为微微型浮游生物(picoplankton)。极微型浮游生物(femtoplankton)粒径范围在0.02~0.2 μm。考虑到自然界中许多真核生物的粒径在2~5 μm,有研究者提出用超微型浮游生物(ultraplankton)来定义粒径≤5 μm的生物^[13]。值得注意的是,按照粒径定义没有排除任何粒径在定义范围内的真核生物或原核生物,甚至浮游病毒(femtoplankton)。因此,按照粒径大小对微型浮游生物进行区分与浮游生物系统进化上的分类有着本质区别。另外,微生物(microorganisms)和微生物(microbes)在英文术语上是一致的,但前者更强调生物颗粒的大小,包括单细胞的原核和真核生物及没有细胞结构的病毒^[14]。

根据生物的进化、细胞结构及营养类型,可将微型浮游生物分为微型原核生物(nanoprokaryotes)和微型真核生物(nanoekaryotes),微型原核生物主要是微型光合原核生物(photosynthetic nanoprokaryotes);微型真核生物可分为微型光合真核生物(photosynthetic nanoekaryotes)和微型原生动物(nanoprotozoan)。也有研究者认为微型浮游生物包括微型原生动物(nanoprokaryotes)、微型光合真核生物(photosynthetic nanoekaryotes)和微型光合原核生物(photosynthetic nanoprokaryotes)。同样,微微型浮游生物分为微微型原核生物(picoprokaryotes)和微微型真核生物(picoekaryotes)。微微型原核生物可分为微微型光合原核生物(photosynthetic picoprokaryotes)、化能自养浮游细菌(chemoautotrophic bacterioplankton)和异养浮游细菌(heterotrophic bacterioplankton)。微微型真核生物与粒径为2~5 μm的微型真核生物(nanoekaryotes)共同构成超微型真核生物(ultraekaryotes),超微型真核生物又被划分为超微型光合真核生物(photosynthetic ultraekaryotes)和超微型原生动物(ultraprotozoan)。不过,这些类型区分没有考虑一些混合营养类群(mixotrophic group)。自然界中混合营养型浮游生物分布广泛,可进行光合营养和吞噬营养^[15]。例如,鞭毛虫(flagellate)是对具鞭毛、能主动运动的原生生物的统称,是一个多源起源的类群组合,许多门类进化上相距甚远,通常按其营养方式分为自养(色素型)鞭毛虫(autotrophic flagellates)、异养鞭毛虫(heterotrophic flagellates)和混合营养鞭毛虫3类。另外,就微型真核浮游生物这一类群而言,有些文献还习惯使用“原生生物”(protists)这一

名词来统称除了真菌、植物和动物之外的单细胞微型真核生物。但是原生生物作为生物分类上的一个门类,也不能包括所有的微型真核生物,例如小真菌。在一些较早的文献中,还经常出现“微藻”(microalgae)^[16]和“原生动物”(protozoa)这2个词。其中“微藻”是指那些光合自养的单细胞真核浮游生物类群,而作为对称的“原生动物”,则是指异养的单细胞真核浮游生物。

微微型真核生物中的浮游植物在近岸海域和寡营养大洋水体的真光层对生物量和初级生产力具有重要贡献。通常微微型真核浮游植物丰度为 $10^2\sim 10^4$ 个/mL,最高可达 10^5 个/mL。迄今报道的微微型真核浮游植物大约有40多个属,属于13个纲。目前研究得最为详尽的微微型真核浮游植物之一是青绿藻纲(Prasinophyceae),青绿藻纲的典型代表种青绿藻(*Ostreococcus tauri*)即迄今发现最小的光合自养真核生物。此外二甲基硫丙酸(DMSP)的高产藻株球石藻(*Emiliania huxleyi*)和棕囊藻(*Phaeocystis globosa*)也是典型的真核生物藻种。

2 高盐度盐湖真核浮游生物

高盐度盐湖中几乎不存在用肉眼观察到的生物。在相当长的一段时间内,研究者对盐湖中真核生物的关注相对较少。尽管微型与微微型真核浮游生物在海洋生态系统中已得到广泛研究,但是直到最近几年才有研究者尝试采用分子生物学手段分析高盐度盐湖中的微型与微微型真核浮游生物。高通量测序结果显示,高盐度的盐湖中也存在丰富的微型与微微型真核生物类群。本研究组的最新研究数据显示,青藏高原柴达木盆地高盐度盐湖中的浮游生物类群主要是微型与微微型浮游生物(研究数据待发表)。由于研究方法以及人类认知的局限,很长一段时间以来,很少有研究者将真核浮游生物和微型与微微型真核浮游生物分开研究。因此,在综述高原盐湖微型与微微型真核浮游生物之前,有必要对高盐度盐湖中真核浮游生物的相关研究做一简单概述。

长久以来,仅有少数几个真核生物种类被认为能生活在高盐度盐湖水体中。杜氏藻类属(*Dunaliella*)的绿藻在很多高盐环境中被认为是主要的甚至是唯一的初级生产者。在高盐碱湖达格音淖尔(Dagenoer)中,盐生微囊藻(*Pico-cystis salinarum*)是占优势的类群^[17]。高盐环境中也检测到*Picochlorum*属的序列^[18]、青霉属部分菌种、嗜盐黑色酵母(*Hortaea iverneckii*)^[19]、嗜盐白色丝状真菌(*Streptospora halophila gen.nov.sp.nov*)、原生动物有鞭毛虫类(Zooflagellate)和肉足虫(Sarcodine)类。*Halocafeteria seosinensis*、*Placididea*及*Trimyema*种类也在高盐环境中被发现。饱和盐水中发现*Heterolobosean flagellate*的存在。Orsi等^[20]在深海高盐环境中检测到*Scuticociliate*和*Oligohymenophorean*的序列信息。盐生杜氏藻(*Dunaliella salina*)是研究抗盐性生理及其分子机制的模式生物,广泛分布于世界各地的盐湖和海水中,是一种

单细胞绿藻, 归属于绿藻纲(Chlorophyceae)、绿藻门(Chlorophyta)。研究发现杜氏藻具双鞭毛、单核、没有细胞壁; 新陈代谢旺盛, 细胞纺锤形、椭圆形、卵圆形、侧卵球形、球形。杜氏藻富含胡萝卜素及高蛋白, 可以直接作为食品, 或作为精细化工生产胡萝卜素的原料; 而且还是表达外源蛋白的新型生物反应器。杜氏藻是目前研究较为深入的盐湖真核生物, 孔凡晶等^[21]对百余年来杜氏藻研究的进程和重要的研究成果进行了回顾和评述。

Triadó-Margarit 等^[22]对 34 个西班牙沿海和内陆盐池(Saline ponds, 12.5~384 g/L)的真核浮游生物做了分析。在所分析的高盐水体中(≥ 65 g/L), 真核生物的序列分布在 8 个高级分类单元中, 约 27 纲; 至少有 10% 的测序序列与 GenBank 已知的序列比对相似性低于 90%。Casamayor 等^[23]应用变性梯度凝胶电泳(denatured gradient gel electrophoresis, DGGE)技术研究了西班牙 Monegros 沙漠地区 11 个浅水盐湖(saline shallow lakes)中的真核生物群落结构, 这些浅水盐湖的盐度为 27~221 g/L。研究者在绿色藻类(Trebouxiophyceae 和 Chlorophyceae)、真菌(Chytridiomycota-like)、纤毛虫(Euplotes)、不等鞭毛类群(Pedinellales)及囊泡类群(Colpodelli)中发现了数量众多的新种系类型。

Tyrrell 盐湖是位于澳大利亚的季节性海盐型盐湖, Heidelberg 等应用 18S rRNA 的全长序列分析了其水体中的真核生物群落结构^[9]。分析结果显示, Tyrrell 盐湖真核生物多样性比较低, 以序列相似性 97% 为阈值, 研究者得到 35 个独有种系型(Unique phylotypes)。水体中占优势地位的浮游真核生物是 Alveolate Colpodella 中一个新的类群(在夏季水体测序样品中约占检测序列 96.3%, 在冬季样品中约占检测序列的 96.2%)。夏季 Tyrrell 盐湖水体(盐度 250~300 g/L)中杜氏盐藻约占测序序列的 3.4%, 冬季盐湖水体(盐度 > 330 g/L)中杜

氏盐藻约占测序序列的 2.4%。

3 青藏高原盐湖微型与微微型真核生物

青藏高原是现代盐湖最发育的地区之一, 盐湖集中分布于干燥度很大的羌塘和柴达木盆地 2 个地区。Wu 等^[24]采用末端限制性片段长度多样性(T-RFLP)和变性梯度凝胶电泳(DGGE)分析技术, 以 18S rDNA 为谱系基因分析了青藏高原东部 11 个湖泊中真核浮游生物群落结构。这 11 个湖泊的水体盐度在 0.2~187.1 g/L(淡水湖-高盐度盐湖)。研究结果显示, 每个湖的水体样品中都存在与其他湖泊差别显著的电泳条带和末端限制性酶切片段(terminal restriction fragments, TRFs), 暗示各湖中真核浮游生物具有丰富的遗传多样性。一些 DGGE 条带(大部分是原生动物的)指向的是尚未获得培养的类群, 还有部分克隆序列无法明确划分为已知的类群或分枝。青藏高原东部的盐湖研究发现多数真核生物的序列隶属于绿藻类(Chlorophyta)、沟鞭藻(Dinophyceae)及纤毛亚门(Ciliophora)。

采用高通量技术, 本课题组分析了位于青藏高原柴达木盆地中 6 个盐湖中微型和微微型浮游真核生物的遗传多样性。这 6 个盐湖是托素湖(总溶解性固体 20~35 g/L)、大苏干湖(总溶解性固体 30~33 g/L)、尕斯库勒湖(总溶解性固体 92~96 g/L)、小柴旦盐湖(总溶解性固体 94~99 g/L)和尕斯库勒湖(总溶解性固体 317~344 g/L)。高通量测序结果显示, 盐湖中存在种类丰富的微型与微微型真核浮游生物(表 1)。完全动物(Holozoa)、不等鞭毛类群(Stramenopiles)和囊泡虫类群(Alveolates)是所调查盐湖中常见的微型与微微型真核浮游生物类群。值得注意的是, 定鞭藻类群(Haptophyta)在小柴旦盐湖中具有较高的丰度。此外, 还检测到有孔虫类群(Rhizaria)、Discoba、Chloroplastida、隐藻(Cryptophyceae)等类群。

表 1 柴达木盆地盐湖微型与微微型真核浮游生物分类组成

Table 1 Statistics of taxonomic composition of investigated lakes in the Qaidam Basin

	样品	界	门	纲	目	科	属	OTU
中盐度盐湖	T3	8	12	30	43	50	59	128
	T11	10	12	28	40	46	49	111
	T12	7	9	22	32	35	40	95
	D10	5	9	22	27	30	30	75
	D11	7	11	24	35	40	42	105
高盐度盐湖	M1	9	12	36	62	73	86	238
	M7	8	12	26	38	40	42	101
	X12	7	10	24	34	40	43	103
	X15	7	10	24	31	35	38	95
	G1	7	13	31	56	69	78	144
	G3	8	12	32	59	74	85	174

注: M—尕斯库勒盐湖; G—尕斯海盐湖; D—大苏干盐湖; T—托素湖; K—可鲁克湖; X—小柴旦盐湖; OTU—operational taxonomic unit。

3.1 盐湖中微型与微微型真核浮游群落结构

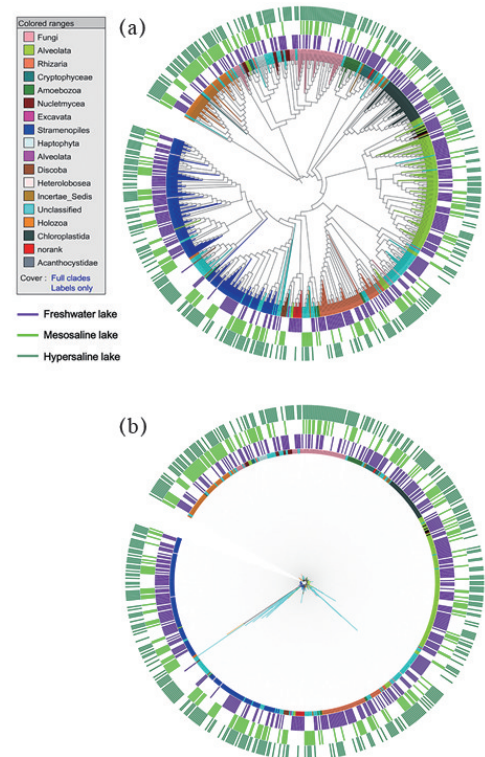
位于青藏高原柴达木盆地的大苏干湖和托素湖是中盐度湖泊。在中盐度盐湖中发现微型与微微型真核浮游生物38纲,其中16个纲的微型与微微型真核浮游生物无法进行准确分类。完全动物类群是中盐度盐湖中第1大类群,约占扩增序列的48.13%。不等鞭毛类群是中盐度盐湖中第2大类群,约占扩增序列26.25%。囊泡虫类群是中盐度盐湖中的第3大类群,约占扩增序列的10.84%。Craspedida是调查湖泊中种类最丰富的一纲,约占扩增序列的26.52%。9.04%的序列不能归类于目前任何已知的真核生物分类阶元中。

尕海、小柴旦及尕斯库勒盐湖是高盐度盐湖。本次调查在高盐度盐湖中发现真核生物53纲。至少有19个纲的真核生物无法进行准确分类。高盐度盐湖中存在种类丰富的微型与微微型真核浮游生物,这与过去人类对高盐度盐湖的认识截然不同。高盐度盐湖中占优势的生物类群也是完全动物类生物(39.10%)。不等鞭毛类是中盐度盐湖中第2大类群,约占扩增序列的25.45%。囊泡虫类群是中盐度盐湖中的第3大类群,约占扩增序列的19.73%。在纲这一阶元的分析中发现,Animalia是柴达木盆地高盐度湖泊中种类最丰富的一纲,约占扩增序列的21.98%。值得注意的是高盐度盐湖中约有23.78%的序列不能归入目前任何已知的真核生物中纲级别的类群。具体到湖泊来看,小柴旦、尕斯库勒及尕海中分别约有14.85%、2.85%和29.85%的序列,不能进行真核生物类群划分。盐湖中存在大量的微型与微微型真核浮游生物无法明确分类,有些微型与微微型真核浮游生物命名、合理性及其所处的分类阶元需进一步研究和评价。有一些序列是之前没有检测到的序列,结合进化树分析,可以推测其为潜在的新物种。目前可以确定,在一些高盐度盐湖中,尽管用肉眼很难观察到生命的迹象,但是这些盐湖蕴藏着种类丰富的生物(图1)^[8]。

3.2 微型与微微型真核浮游生物在不同盐湖中的分布差异显著

微型与微微型真核浮游生物在不同盐湖之间、同一个盐湖不同采样点之间的分布差异显著,这一点需引起研究者的重视。因为盐湖多处于边远地区,交通不便,这让采集样品变得困难。盐湖采集的样品很难反映整个盐湖的微型与微微型真核浮游生物群落结构。

尽管小柴旦湖和尕海盐湖水体矿化度差异并不显著,但是二者生物组成差异非常显著。与大多数调查的盐湖相类似,尕海盐湖中丰度最高的微型与微微型真核浮游生物类群是完全动物类群,约占分析样品中生物的30.15%。在尕海盐湖中约有29.85%的微型与微微型真核浮游生物不能归类到目前已知的真核生物类别中,即在尕海盐湖中存在数量众多的未知微型与微微型真核浮游生物类群。囊泡虫类(Alveolates)在水体矿化度大于35 g/L的水体中普遍分布。在尕海盐湖中约有19.00%的微型与微微型真核浮游生物是囊泡虫类。然而,在其他盐湖中丰度较高的微型与微微型真核浮游



(a) 忽略分支距离的进化树;(b) 考虑分支距离的进化树

图1 基于18S rDNA标记序列的柴达木盆地盐湖微型与微微型真核生物进化树

Fig. 1 ML phylogenetic tree with 18S rDNA sequences of picoeukaryotes retrieved from the investigated lakes in the Qaidam Basin

生物类群完全动物类,仅占小柴旦盐湖全部分析真核生物的11.70%。小柴旦盐湖中丰度最高的微型与微微型真核浮游生物类群是不等鞭毛类(Stramenopiles),约占所分析真核生物的34.10%。不等鞭毛类的微型与微微型真核浮游生物类群在淡水湖泊中分布丰度也很高。这个结果暗示小柴旦盐湖水体经历过剧烈的变化。一些原来适于盐生环境的古老真核生物灭绝,代之而在小柴旦盐湖兴旺的是现代淡水中生活的一些微型与微微型真核浮游生物类群。

尕海和尕斯库勒盐湖相距遥远,两地采样点的微型和微微型浮游真核生物组成差别并不显著。采样点G1(尕海1)和M1(尕斯库勒1)微型与微微型真核浮游生物主要由Mammalia属生物组成,分别占28.81%和23.35%。然而,小柴旦采样点X15占优势的微型与微微型真核浮游生物是Bicosoecida属的类群,约占测序序列的31.20%。物种稀疏曲线表明,在生物多样性方面,尕海盐湖最丰富,尕斯库勒盐湖的丰富性次之,小柴旦盐湖的丰富度最低。高盐度盐湖中真核生物多样性丰富。对测序序列进行进化分析显示,中盐度盐湖及高盐度盐湖中分别有9.04%和15.85% OTUs不能准确地划分到真核生物类群中,这些序列代表着新的真核生物类群。在美

国立生物技术信息中心(National Center of Biotechnology Information)网站中序列比对的结果和进化树分析的结果均支持这一结论。综合不同方法分析的结果,依据本次调查的结果,推测在中盐度盐湖中至少有4个微型与微微型真核浮游生物类群是柴达木盆地盐湖特有的真核生物类群;而在高盐度盐湖中至少存在18个微型与微微型真核浮游生物新类群^[8]。

3.3 微型与微微型真核浮游生物研究方法的制约

微微型真核生物多样性研究常用的靶标基因包括真核生物保守基因,如18S rDNA、ITS序列等,其中18S rDNA是最常用的靶标基因之一。研究者选取该基因的原因主要是:首先,该基因编码的18S rRNA为所有真核生物所共有,对其进行扩增,理论上可以获得样品中所有真核生物的遗传信息;其次,该基因具有保守性,便于对其进行引物设计;最后,该基因中亦存在可变区,不同种微微型真核生物的可变区均有差异。故而,该基因成为研究微微型真核生物多样性的靶标基因。有学者指出,不同生物单个细胞内含有的18S rDNA拷贝数不同,可能会影响多样性分析结果。然而,由于微微型真核生物的基因组普遍偏小,其18S rDNA基因的拷贝数不多,因而利用该基因进行多样性分析不会产生过大偏差。

尽管分子生物学技术为微微型真核生物多样性研究带来了新突破,但是分子生物学技术,如聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)等,本身存在的缺陷会对研究结果的可靠性产生一定的影响^[25]。首先,扩增过程中存在PCR假象。对环境DNA直接进行PCR扩增,由于环境DNA是多种微微型真核生物DNA的混合物,异源片段在PCR扩增过程中可能结合而形成PCR假象,干扰试验结果。此外,引物偏好会造成一些微微型真核生物无法得到有效扩增。其次,采用构建基因组文库挑取克隆子测序时,无法保证把每一个指向待测生物的克隆子都挑取并测序。迄今为止对微微型真核生物分子多样性研究中进行测序或DNA指纹分析的克隆数均未达到饱和点。最后,系统进化树构建。由于长枝吸引现象和所选序列不足往往能错误地将非姐妹源关系的分类群聚在一起,从而导致系统分析结果有误。2009年, Somogyi等^[26]分析了欧洲匈牙利境内苏打盐湖中的微微型真核生物,分子系统进化树分析显示克隆ACT 1025和克隆ACT 1026序列是2个新进化枝。然而, Felföldi^[27]以16S rRNA基因和蛋白操纵子基因(Phycocyanin operon, PC)为谱系基因对盐湖样品进行了重新分析,测序结果显示克隆ACT 1025和克隆ACT 1026序列与Group A中的成员序列完全匹配,这2个克隆并非是新进化枝。因此,利用系统进化树分析盐湖微型与微微型真核生物的生物多样性要特别谨慎,避免取样不足和数据检索以及分析手段带来的误差。

4 展望

生活在极端环境中的生物是生命的奇迹,它们具有特殊

的遗传特性和代谢机制。*HAK1*、*HAL2*、*TRK1*等这些从真核微生物中分离得到的耐盐基因有可能增加一些植物种类的耐盐性,从而帮助克服农田盐碱化的全球问题。另外,生活在极端环境中的生物蕴涵着生命进化历程的丰富信息,代表生命对于环境的高度适应能力,是人类进一步认识生命本质的重要途径。在高盐环境中长期生活的微型与微微型真核浮游生物,对于高盐环境中生物区系形成和维持贡献极大。令人遗憾的是,由于分析技术和观察手段的限制,加之高盐度盐湖所处区域多自然环境恶劣、交通条件较差,研究者关注较少,目前对高盐度盐湖生态系统的认识还十分不够。

4.1 加强盐湖微型与微微型真核浮游生物遗传多样性研究

目前对盐湖微微型浮游生物的分子生态研究主要还处于“发现”阶段,离全面阐述其遗传多样性还有相当一段差距。由于微微型浮游生物形体微小且缺乏明显形态学特点,难以利用电镜观察等传统方法进行研究。加之,以前对盐湖微型与微微型生物研究未给予足够重视,对其形态结构、种类组成等知之甚少,其分布、生态生理和进化等方面的资料亦十分欠缺。今后,需要加强对全球盐湖生态系统中浮游生物遗传多样性进行全面的探究,探测更多不同地理区域的盐湖,尤其是某些有代表性的特殊环境,例如高海拔地区的盐湖。总之,加强对盐湖微型浮游生物多样性构成、分布与变动及驱动变化的因子研究,将有助于加深对盐湖生物多样性和生态系统的整体认识,为盐湖生态系统结构和功能及盐湖资源开发等重大问题的解析提供新的视角。

4.2 亟待开展盐湖微型与微微型真核浮游生物的纯培养技术研究

利用分子技术研究自然生境中微型与微微型真核浮游生物多样性的免培养法被越来越多地使用,在很大程度上跨越了遏制微生物研究必须纯培养这个瓶颈,不断地揭示出自然界新的物种类型。免培养法替代可培养法比较微型与微微型真核浮游生物群落的组成、多样性和结构逐渐成为趋势。不过,一些微生物学家仍然认为“微生物学是关于有机体的科学”。利用免培养资料作为建立分类单元或某个分子标记用于细菌系统发生关系的信息时,人造臆象的产生会凸现此类研究的冒险性;这些类群的形态、生理代谢、遗传和生态功能等方面的知识仅靠推测而获得。因此,分子生物学资料应只是其他信息的补充而不是完全替代。自然培养和近自然纯培养长久以来都是微生物生态学家关注的重要课题。根据国内外经验,很难设计出对所有样品都“好”的分离方法。由于分离培养基和培养方式的限制,可培养的微型与微微型真核浮游生物非常有限。寻找新途径,改进分离方法和培养条件,实现对极端环境下发现的微型与微微型真核浮游生物的培养是当前盐湖生物工作者面临的重大课题之一。

4.3 充分挖掘盐湖微型与微微型真核浮游生物在生物进化研究中的潜力

自达尔文的进化论至21世纪70年代,科学家们一直为

生物进化研究“黑洞”所困惑,由于缺少多样性极为丰富的微生物群体而使得进化研究不能成为一门完整的学科^[28]。由于物种的进化历史难以再现,很难获取绝对的“生命之树”。对盐湖微型与微微型真核浮游生物的研究可以得到一些“黑洞”生物的宝贵资料,通过与现代生物相应DNA的比较,不但可以从序列上确定某些“微生物暗物质”的系统位置,有效地补充利用现代DNA建立起来的谱系,还能用所得到的DNA信息鉴别和确定某些生物祖先性状,从而提高谱系的精度。另外,盐湖微型与微微型真核浮游生物自身的分类研究还存在一些问题,盐湖微型与微微型真核浮游生物的认定标准混乱,给分类工作带来一定困难,一些盐湖微型与微微型真核浮游生物的命名、合理性和分类地位需进一步研究和评价;有性态与无性态的联系需进一步确定;以形态学特征为基本分类依据的分子分类标准需要建立。以形态学特征为基本分类依据,对微型与微微型真核浮游生物疑难种、可疑种和新种进行分子鉴定,准确确定它们的分类地位是盐湖生物工作者面临的重要任务之一。

4.4 推动盐湖微型与微微型真核浮游生物功能研究

盐湖微型浮游生物分子生态学研究将逐渐从物种组成多样性向功能多样性转变,对于微型与微微型真核浮游生物在盐湖环境中的作用与功能研究具有重要意义。对盐湖微型与微微型真核浮游生物多样性研究不仅需要得出大量的关于“有什么”的信息,同时也需要知道微型与微微型真核浮游生物是“做什么”的信息。极端环境中真核微生物能够产生各种具有特殊功能的酶类及其他活性物质,在医药、食品、化工、环保等领域有重大应用潜力。未来盐湖微型与微微型真核浮游生物研究开发利用过程中,对盐湖微型与微微型真核浮游生物的耐盐碱、抗低温等抗逆基因的研究具有科学和实用价值。加强高盐环境下微型与微微型真核浮游生物的功能研究势在必行。

5 结论

青藏高原盐湖区矿产资源丰富,经济价值巨大,是中国西部地区资源开发和推进工业化的重点地区。然而,历史时期不合理的人类活动兼之气候变化的影响使得本区盐湖生态形势危机重重。青藏高原盐湖微型浮游生物多样性构成、分布与变动及驱动变化的因子研究是当前亟待推进的课题;寻找新途径,改进分离方法和培养条件,实现对青藏高原盐湖中微型与微微型真核浮游生物的培养是未来一段时间里值得研究的重要课题。

参考文献 (References)

- [1] Zheng M P. Salinology: Research and prospects[J]. Geological Review, 2006, 52(6): 737-746.
- [2] Williams W D. Microbiology and biogeochemistry of hypersalin environments[J]. International Journal of Salt Lake Research, 1999, 8(2): 177-178.
- [3] Ventosa A, de la Haba R R, Sánchez-Porro C, et al. Microbial diversity of hypersaline environments: A metagenomic approach[J]. Current Opinion in Microbiology, 2015, 25(5): 80-87.
- [4] Kong F J, Zheng M P, Jia Q X, et al. Retrospect and prospect of study on saline lake biology in China[J]. Mineral Deposits, 2002, (Suppl 1): 18-19.
- [5] Kong F J, Zheng M P. Research progress in saline lake biology: A review of the 2nd Conference of "saline lake biology and its relationship with petroleum generation"[J]. Acta Geoscientia Sinica, 2007, 28(6): 603-608.
- [6] Zhao W. The current research status and prospective of organisms in Chinese saline lakes[J]. Journal of Dalian Fisheries University, 2009, 24(5): 1440-1443.
- [7] Lane C E. Biodiversity: More surprises from the smallest marine eukaryotes[J]. Current Biology, 2017, 27(3): R121-R122.
- [8] Wang J L, Wang F, Chu L M, et al. High genetic diversity and novelty in eukaryotic plankton assemblages inhabiting saline lakes in the Qaidam Basin[J]. Plos One, 2014, 9(11): e112812.
- [9] Heidelberg K B, Nelson W C, Holm J B, et al. Characterization of eukaryotic microbial diversity in hypersaline Lake Tyrrell, Australia[J]. Frontiers in Microbiology, 2013, 4(115): 1-14.
- [10] Schapira M, Buscot M J, Pollet T, et al. Distribution of picophytoplankton communities from brackish to hypersaline waters in a South Australian coastal lagoon[J]. Aquatic Biosystems, 2010, 6(1): 2.
- [11] Thyssen M, Beker B, Ediger D, et al. Phytoplankton distribution during two contrasted summers in a Mediterranean harbour: Combining automated submersible flow cytometry with conventional techniques[J]. Environmental Monitoring and Assessment, 2011, 173(1): 1-16.
- [12] Sieburth J M, Smetacek V, Lenz J. Pelagic ecosystem structure: Heterotrophic compartments of the plankton and their relationship to plankton size fractions[J]. Limnology and Oceanography, 1978, 23(6): 1256-1263.
- [13] Keresztes Z G, Felföldi T, et al. First record of picophytoplankton diversity in Central European hypersaline lakes[J]. Extremophiles, 2012, 16(5): 759-769.
- [14] Jiao N. Marine microbial ecology[M]. Beijing: Modern Education Press, 2009.
- [15] Dai C J, He J F, Wang G Z, et al. A review of ecological research on mixotrophic plankton ecological science[J]. Acta Ecologica Sinica, 2005, 25(9): 2400-2402.
- [16] Huss V A R, Cimiglia C, Cennamo P, et al. Phylogenetic relationships and taxonomic position of Chlorella-like isolates from low pH environments (pH<3.0)[J]. BMC Evolutionary Biology, 2002, 2(1): 1-9.
- [17] Kong F J, Jia Q X, Jia E, et al. Characterization of a eukaryotic picoplankton alga, strain DGN-Z1, isolated from a soda lake in inner Mongolia, China[J]. Natural Resources & Environmental Issues, 2009(1): 185-189.
- [18] Somogyi B, Vörös L, Pálffy K, et al. Picophytoplankton predominance in hypersaline lakes (Transylvanian Basin, Romania) [J]. Extremophiles, 2014, 18(6): 1075-1084.
- [19] Gunde-Cimerman N, Zalar P, de Hoog G S, et al. Hypersaline water in salterns: natural ecological niches for halophilic black yeasts[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2000, 32(3): 235-240.
- [20] Orsi W, Charvet S, Vd'Acny P, et al. Prevalence of partnerships between bacteria and ciliates in oxygen-depleted marine water columns [J]. Frontiers in Microbiology, 2012, 3(3):341.
- [21] Kong F, Zheng M. Retrospect and prospect of study on dunaliella in salt lakes[J]. Journal of Salt & Chemical Industry, 2007, 36(5): 27-33.

- [22] Triadó-Margarit X, Casamayor E O. High genetic diversity and novelty in planktonic protists inhabiting inland and coastal high salinity water bodies[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2013, 85(1): 27–36.
- [23] Casamayor E O, Triadó-Margarit X, Castañeda C. Microbial biodiversity in saline shallow lakes of the Monegros Desert, Spain[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2013, 85(3): 503–518.
- [24] Wu Q L, Chatzinotas A, Wang J, et al. Genetic diversity of eukaryotic plankton assemblages in Eastern Tibetan lakes differing by their salinity and altitude[J]. *Microbial Ecology*, 2009, 58(3): 569–581.
- [25] Wang M, Bai X G, Liang Y T, et al. Summer distribution of picophytoplankton in the North Yellow Sea[J]. *Journal of Plant Ecology*, 2008, 32(5): 1184–1139.
- [26] Somogyi B, Felföldi T, Vanyovszki J, et al. Winter bloom of picoeukaryotes in Hungarian shallow turbid soda pans and the role of light and temperature[J]. *Aquatic Ecology*, 2009, 43(3): 735–744.
- [27] Felföldi T, Somogyi B, Múrialigeti K, et al. Notes on the biogeography of non-marine planktonic picocyanobacteria: Re-evaluating novelty[J]. *Journal of Plankton Research*, 2011, 33(10): 1622–1626.
- [28] Dong X Z. Archaea: The transition from prokaryotes to eukaryotes[J]. *Microbiology China*, 1999(6): 426–430.

Eukaryotic pico- and nano-plankton community in Qinghai-Tibetan Plateau saline lakes

WANG Jiali^{1,2}, CHU Limin¹

1. State Key Laboratory of Simulation and Regulation of Water Cycle in River Basin, China Institute of Water Resources and Hydropower Research, Beijing 100038, China
2. Institute of Shandong River Wetlands, Laiwu 271100, China

Abstract The Saline Lake storage of the rich mineral resources and biological resources provides an optimum contribution to the economy and the development of industry and agriculture. The eukaryotic pico- and nano-plankton is usually defined as a plankton in the range from 0.2 to 3 μm diameter. The high genetic diversity of the eukaryotic pico- and nano-plankton communities is observed in the High-Mountain saline lakes. In recent years, the eukaryotic pico- and nano-plankton attracts attentions of many researchers and many useful observations were made in the literature. The present paper summarizes the recent research progresses in systematic and biodiversity of the eukaryotic pico- and nano-plankton, the composition and the distribution of the inhabiting saline lakes in the Qaidam Basin of the Qinghai-Tibetan Plateau. And it is pointed out that each kind of molecular biology research techniques has limitations. Some suggestions are made about the studies of the eukaryotic pico- and nano-plankton inhabiting saline lakes, including how to promote the research of genetic diversity of eukaryotic pico- and nano-plankton inhabiting saline lakes, how to carry out the research work based on the microbial cultivation and the pure culture isolation for eukaryotic pico- and nano-plankton inhabiting saline lakes, how to tap the potential of research for the evolutionary studies based on the eukaryotic pico- and nano-plankton inhabiting saline lakes, and how to promote the studies of the biological functions of the eukaryotic pico- and nano-plankton inhabiting saline lakes.

Keywords Qinghai-Tibetan Plateau; hypersaline lake; eukaryotic picoplankton; eukaryotic nanoplankton

(编辑 王志敏)