

新疆典型硫酸盐和碳酸盐型盐湖嗜盐细菌群落特征及酶活特性

高琳^{1#}, 谢卓斌^{1#}, 王芸^{1*}, 蒋刚强², 韩燕燕³, 陈雪莹¹, 孙鹏¹

- 1 岭南师范学院 生命科学与技术学院, 广东 湛江
2 乌鲁木齐海关技术中心, 新疆 乌鲁木齐
3 新疆林业学校, 新疆 乌鲁木齐

高琳, 谢卓斌, 王芸, 蒋刚强, 韩燕燕, 陈雪莹, 孙鹏. 新疆典型硫酸盐和碳酸盐型盐湖嗜盐细菌群落特征及酶活特性[J]. 微生物学报, 2025, 65(6): 2499-2513.

GAO Lin, XIE Zhuobin, WANG Yun, JIANG Gangqiang, HAN Yanyan, CHEN Xueying, SUN Peng. Community structure and enzyme activity characteristics of halophilic bacteria in sulfate- and carbonate-type salt lakes in Xinjiang, China[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2025, 65(6): 2499-2513.

摘要:【目的】探究嗜盐细菌在中国新疆 2 种不同类型盐湖中的分布特征及其酶学特性。【方法】采集代表性硫酸盐型(七角井)和碳酸盐型(南湖碱湖)盐湖土壤样本, 分析其理化性质, 并结合培养实验比较 2 个盐湖的微生物多样性、嗜盐细菌优势类群及其酶活特性。【结果】2 种类型盐湖的理化性质存在显著差异, 七角井盐湖盐度高达 227.15 g/kg, 高于南湖碱湖的 158.61 g/kg, 其余 pH、 HCO_3^- 、 Cl^- 、 Mg^{2+} 和 K^+ 含量也均有显著差异。Spearman 相关性分析发现, Cl^- 和 Mg^{2+} 含量与多数优势菌属丰度呈正相关, 如海洋杆菌属(*Pontibacter*)和拟杆菌属(*Bacteroides*)。细菌 16S rRNA 基因 Illumina MiSeq 测序结果显示, 南湖碱湖的 Simpson 和 Shannon 指数均显著高于七角井, 嗜盐细菌分布于 37 门 590 属, 优势类群包括拟杆菌门(*Bacteroidota*, 33.41%)、芽孢杆菌门(*Bacillota*, 24.71%)、放线菌门(*Actinomycetota*, 14.64%)和假单胞菌门(*Pseudomonadota*, 10.58%)。碳酸盐型南湖以拟杆菌门(*Bacteroidota*, 35.05%)为主, 硫酸盐型七角井则以 *Bacillota* (44.66%) 为主。南湖碱湖嗜盐细菌丰富度显著高于七角井盐湖, *Pontibacter* 为两盐湖的优势类群。嗜盐菌分离培养结果显示, 两盐湖共获得 1 130 株, 隶属于 4 门 7 科 9 属, *Bacillota* 占 40.53%、*Actinomycetota* 占 36.81%、*Pseudomonadota* 占 21.15%。在 7 种分离培养基中, F6 培养基对嗜盐微生物的选择性最佳。两盐湖的优势物种组成相似, 多为群落中的低丰度类群, 以拟诺卡氏菌属(*Nocardiopsis*)和芽孢杆菌属(*Bacillus*)为主。酶活筛选结果显示, 46.81% 的嗜盐细菌产酯酶,

资助项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金(2024D01A25); 国家自然科学基金(31400438)

This work was supported by the Natural Science Foundation of Xinjiang Uygur Autonomous Region (2024D01A25) and the National Natural Science Foundation of China (31400438).

[#]These authors contributed equally to this work.

*Corresponding author. E-mail: wang_xju@163.com

Received: 2024-12-22; Accepted: 2025-03-02; Published online: 2025-04-22

44.07%的菌产纤维素酶, 20.88%的菌产淀粉酶, 其中 *Bacillus* 的综合产酶能力最强。【结论】新疆硫酸盐型(七角井)与碳酸盐型(南湖碱湖)盐湖的嗜盐微生物种类存在显著差异, 碳酸盐型(南湖碱湖)的嗜盐细菌群落多样性更高, 并展现出广泛的酶活性。本研究为盐湖微生物资源的开发利用和生态保护提供了科学依据。

关键词: 嗜盐细菌; 盐湖; Illumina MiSeq 测序; 可培养微生物; 功能酶

Community structure and enzyme activity characteristics of halophilic bacteria in sulfate- and carbonate-type salt lakes in Xinjiang, China

GAO Lin^{1#}, XIE Zhuobin^{1#}, WANG Yun^{1*}, JIANG Gangqiang², HAN Yanyan³, CHEN Xueying¹, SUN Peng¹

1 School of Science and Technology, Lingnan Normal University, Zhanjiang, Guangdong, China

2 Urumqi Customs Technology Center, Urumqi, Xinjiang, China

3 Xinjiang Forestry School, Urumqi, Xinjiang, China

Abstract: [Objective] To study the distribution characteristics and enzyme potential of halophilic bacteria in two distinct types of salt lakes located in Xinjiang, China. **[Methods]** Soil samples were collected from sulfate-type (Qijiaojing) and carbonate-type (Nanhu Alkaline Lake) salt lakes, and their physicochemical properties were analyzed. The diversity, dominant taxa, and enzyme activities of halophilic bacteria were compared between the two salt lakes by Illumina MiSeq and culture experiments. **[Results]** The physicochemical properties of soil differed significantly between the two salt lakes, and the soil salinity of Qijiaojing salt lake (227.15 mg/g) was higher than that of Nanhu Alkaline Lake (158.61 mg/g). Significant differences were also observed in pH, HCO_3^- , Cl^- , Mg^{2+} , and K^+ content. Spearman correlation analysis revealed positive correlations between Cl^- and Mg^{2+} content and the relative abundance of dominant bacterial genera such as *Pontibacter* and *Bacteroides*. Illumina MiSeq results of bacterial 16S rRNA genes indicated that the Simpson and Shannon indexes of Nanhu Alkaline Lake were significantly higher than those of Qijiaojing. Halophilic bacteria belonging to 590 genera of 37 phyla were identified, including *Bacteroidota* (33.41%), *Bacillota* (24.71%), *Actinomycetota* (14.64%), and *Pseudomonadota* (10.58%). The dominant phylum was *Bacteroidota* (35.05%) in Nanhu Alkaline Lake, while it was *Bacillota* (44.66%) in Qijiaojing. The richness of halophilic bacteria in Nanhu Alkaline Lake exceeded that in Qijiaojing, with *Pontibacter* identified as the dominant genus in both lakes. A total of 1 130 strains were obtained from two salt lakes, belonging to 9 genera, 7 families of 4 phyla, among which *Bacillota*, *Actinomycetota*, and *Pseudomonadota* accounted for 40.53%, 36.81%, and 21.15%, respectively. The results of culture experiments with seven different media indicated that the F6 medium exhibited the highest selectivity towards halophilic microorganisms. Culture

experiments demonstrated similar dominant species in both lakes, primarily comprising low-abundant bacteria, such as *Nocardiopsis* and *Bacillus*. Enzyme activity screening results revealed that 46.81%, 44.07%, and 20.88% of halophilic bacteria produced esterase, cellulase, and amylase, respectively, with *Bacillus* exhibiting the highest overall enzyme production capability. **[Conclusion]** There are significant differences in the halophilic bacterial diversity between sulfate- and carbonate-type salt lakes in Xinjiang. The halophilic bacteria in the carbonate-type Nanhu Alkaline Lake salt lake have higher diversity and exhibit stronger enzyme activities. This investigation contributes valuable insights for the advancement and sustainable utilization of microbial resources and the ecological preservation in salt lakes.

Keywords: halophilic bacteria; salt lake; Illumina MiSeq; culturable microorganism; functional enzyme

盐湖是地球上独特而重要的生态系统, 具有高盐度、高 pH 值和高矿化度等极端环境特征, 是重要的矿产资源和生物资源宝库^[1]。作为拥有众多盐湖的国家, 中国分布有 1 000 个大小不等的盐湖^[2]。一般而言, 盐浓度大于 50 g/L 的湖泊即可称为盐湖^[3]。盐湖卤水的化学性质也是湖泊类型划分的重要依据, 根据瓦里亚什科水化学分类方案, 盐湖可分为碳酸盐型、硫酸盐型和氯化物型盐湖^[4]。在盐湖的演化进程中, 随着水分蒸发, 饱和矿物离子析出沉淀, 盐湖卤水内的主要离子成分也随之发生变化, 表现为从碳酸盐型向硫酸盐型直至氯化物型的演化历程^[3,5]。

极端环境条件孕育了盐湖中独特的微生物群落, 其中嗜盐微生物为主要组成。根据嗜盐菌最适生长 NaCl 浓度的不同, Kushner^[6]将其划分为轻度嗜盐菌(0.2–0.5 mol/L NaCl)、中度嗜盐菌(0.5–2.0 mol/L NaCl)和极端嗜盐菌(2.0–5.2 mol/L NaCl)。其中, 中度嗜盐菌分布广泛, 涵盖了现有已知微生物的主要类群。嗜盐菌能够在高盐环境中生存, 得益于它们进化出的一系列适应机制^[7-8], 如相容溶质的积累、离子泵的调节等, 使其能够产生一些具有特殊性质的酶和代谢产物, 如嗜盐淀粉酶、蛋白酶、脂肪酶等^[9]。这些特殊的酶和代谢产物在食品、制药、环境治理等领域具有广阔的应用前景^[9]。因此, 研究盐湖

嗜盐细菌的多样性及其功能特性, 对于了解极端环境微生物的适应机制, 并为开发新型生物资源提供重要理论基础。

我国新疆地处欧亚大陆腹地, 远离海洋, 气候干旱, 蒸发强烈, 是我国盐湖资源最为丰富的地区之一^[3]。新疆盐湖类型多样, 其卤水水化学类型以硫酸盐型居多, 氯化物型和碳酸盐型盐湖极少, 与青海、内蒙古和西藏盐湖片区相比, 新疆盐湖有着自身独特性^[3]。不同类型盐湖的理化性质存在显著差异, 可能会导致其微生物群落结构和功能的差异。因此, 对比研究不同类型盐湖的微生物多样性具有重要的科学意义。

当前对新疆盐湖嗜盐菌的研究相对有限, 尤其是缺乏不同类型盐湖嗜盐菌多样性的比较研究, 以及对其功能特性的深入分析。本研究选择新疆典型的硫酸盐型(七角井)和碳酸盐型(南湖碱湖)盐湖作为研究对象, 采用 Illumina MiSeq 测序技术与传统培养方法相结合的方法, 揭示新疆典型硫酸盐型和碳酸盐型盐湖嗜盐菌的多样性特征, 比较两类盐湖嗜盐菌群落组成的异同, 分析土壤理化性质与微生物群落多样性的关系, 评估不同培养基的分离效果, 筛选具有潜在应用价值的嗜盐细菌株。本研究结果将有助于深入了解新疆盐湖微生物资源, 为盐湖生态系统的保护和可持续利用提供科学依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

1.1.1 样品采集

土壤样品采集自新疆七角井盐湖和南湖碱湖, 两盐湖位于我国新疆维吾尔自治区哈密地区吐哈盆地, 气候终年干旱, 从自20世纪50年代起两盐湖已无地表水, 属于典型的干盐湖, 七角井盐湖常有人开采制盐。根据郑喜玉^[3]对两盐湖矿物质的测定, 七角井盐湖属于硫酸盐型盐湖, 南湖碱湖属于碳酸盐型盐湖。在两盐湖核心区域采集不同地貌植被类型的土壤样本, 使用无菌袋分装后带回实验室, 于4℃保存。南湖碱湖采样区位于42°34′-42°31′N, 93°36′-93°43′E区域内, 七角井采样区位于43°26′N, 91°29′E区域内。

1.1.2 主要试剂和仪器

HS Taq 酶, TaKaRa 公司; PowerSoil[®] DNA Isolation Kit, 深圳市安必胜科技有限公司; DNA marker, 生工生物工程(上海)股份有限公司。

PCR 仪, ThermoFisher Scientific 公司; pH 计, 上海理达仪器厂; 电导率仪, 上海仪电科学仪器股份有限公司; 火焰光度计, 上海精密科学仪器有限公司。

1.1.3 培养基

F1 培养基(g/L)^[10]: 酵母膏 0.5, L-天门冬酰胺 0.1, 甘油 1 mL, K₂HPO₄ 0.1, KNO₃ 0.5, 琼脂 20, pH 7.2-7.5, 去离子水 1 000 mL; F2 培养基: 在 F1 基础上改良, 将去离子水改为海水, 其余成分不变; F3 培养基(g/L)^[11]: 酵母提取物 0.02, 胰蛋白胨 0.02, 甘氨酸 0.01, MgSO₄·7H₂O 5.0, Na₂CO₃ 1.0, NaHCO₃ 0.5, 山梨醇 0.02, 琼脂 20.0, pH 7.2-7.5; F4 培养基^[11]: 将 F3 中的山梨醇改为海藻糖, 其余成分不变; F5 培养基(g/L)^[12]: 淀粉 10.0, 酸水解酪蛋白 0.3, KNO₃ 2.0, MgSO₄·7H₂O 0.05, K₂HPO₄ 2.0, CaCO₃ 0.02, FeSO₄ 0.001, 琼脂 20.0, 蒸馏水 1 000 mL, pH 7.2-7.5; F6 培养基

(R2A) (g/L): 蛋白胨 0.5, 酵母浸出粉 0.5, 葡萄糖 0.5, 酸水解酪蛋白 0.5, 可溶性淀粉 0.5, KH₂PO₄ 0.3, MgSO₄ 0.024, 丙酮酸钠 0.3, 琼脂 20.0, 海水 1 000 mL, pH 7.2; F7 培养基(高氏) (g/L): 可溶性淀粉 20.0, KNO₃ 1.0, K₂HPO₄ 0.5, MgSO₄·7H₂O 0.5, FeSO₄·7H₂O 0.01, 琼脂 20.0, 蒸馏水 1 000 mL, pH 7.4-7.6。

1.2 盐湖土壤理化性质分析

采集南湖碱湖土壤样品 8 份, 七角井盐湖土壤样品 7 份。盐湖土壤理化性质测定方法具体参照《土壤农业化学分析方法》^[13]: 土壤水溶性盐总量的测定采用残渣烘干-质量法; pH 采用电位测定法; 土壤电导率采用导电法; 土壤 CO₃²⁻和 HCO₃⁻采用双指示剂中和法; Ca²⁺和 Mg²⁺采用 EDTA 络合滴定法; Cl⁻采用 AgNO₃ 滴定法; K⁺和 Na⁺采用火焰光度法; SO₄²⁻采用 EDTA 间接滴定法。

1.3 Illumina MiSeq 测序分析盐湖土壤生物多样性

根据 PowerSoil[®] DNA Isolation Kit 的操作步骤提取盐湖土壤微生物基因组 DNA。将提取满足要求的基因组 DNA 交由北京诺禾致源科技股份有限公司利用 Illumina MiSeq 平台进行高通量测序。引物选取细菌的 16S rRNA 基因的 V3-V4 区, 引物为 341F (5′-CCTACGGGNGGCW GCAG-3′) 和 785R (5′-GG ACTACHVGGGTWT CTAATCC-3′)^[14]。数据分析采用 QIIME 2 软件包, 根据 97% 的相似度进行可操作分类单元 (operational taxonomic unit, OTU) 划分、嵌合体移除和分类地位鉴定等分析^[15]。

1.4 盐湖嗜盐细菌的分离与纯化

为了评估当前常用嗜盐细菌分离培养基的分离效果, 本研究通过文献调研, 选取 7 种培养基, 在 5%、10% 和 15% NaCl 浓度条件下进行嗜盐菌株分离。首先取出冰箱中保存的合并好的 2 份盐湖土样, 各称取 2 g 置于锥形瓶中, 用无菌水按 1:10 比例制作土壤稀释液, 将其振

荡混合充分后吸取 100 μL 稀释液, 采用涂布平板法接种到各分离培养基, 使其均匀分布, 倒置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温箱培养 7–14 d。根据菌株的形态特征、颜色和大小进行筛选, 选择形态存在明显差异的菌株并记录菌株生长信息, 挑选每种培养基中的单菌落在 F1 培养基平板进行菌株纯化, 去除重复菌株。

1.5 嗜盐代表菌株的鉴定

基因组提取与扩增参考文献[16]完成, 使用 Chelex-100 法提取菌株基因组 DNA, 使用细菌通用引物 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-TACGGYTACCTTGTTA GGACTT-3') 进行细菌 16S rRNA 基因扩增。PCR 反应体系 (50 μL): DNA 1 μL , 2 \times Taq PCR MasterMix 溶液 25 μL , 上、下游引物 (20 $\mu\text{mol/L}$) 各 1 μL , ddH₂O 22 μL 。PCR 反应程序: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 1 min, 55 $^{\circ}\text{C}$ 复性 5 min, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1.5 min, 共 29 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 终延伸 10 min。将扩增产物送至生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。测序结果通过 EzBioCloud 数据库 (<https://www.ezbiocloud.net/>)^[17] 进行相似性比对, 确定其分类地位。

1.6 嗜盐代表菌株功能特性研究

按照李泉泉等^[18]的研究方法, 分别配制淀粉酶、纤维素酶和酯酶筛选培养基对代表菌株进行酶活功能筛选。

1.7 数据处理

应用 SPSS (v17.0) 对土壤理化性质环境因子进行独立样本 *t* 检验(检验显著性水平为 $P < 0.05$)

和 Spearman 相关性分析。利用 PAST (v4.09) 软件对分离微生物进行 α 多样性分析, 采用 GraphPad Prism (v8.0) 绘图。

2 结果与分析

2.1 两盐湖土壤理化性质

南湖碱湖和七角井两盐湖土壤的主要理化性质存在明显差异。如表 1 所示, 两盐湖土壤的 pH 值均为 8.50 左右, 属于盐碱土。七角井土壤的电导率和总盐含量分别为 59.28 ms/cm 和 227.15 g/kg, 高于南湖碱湖土壤。此外, 两盐湖土壤的 pH、HCO₃⁻、Cl⁻、Mg²⁺ 和 K⁺ 含量差异显著: 南湖碱湖土壤的 HCO₃⁻ 和 K⁺ 含量明显高于七角井, 而七角井土壤的 Cl⁻ 和 Mg²⁺ 含量则高于南湖碱湖土壤 4 倍以上。

2.2 两盐湖土壤微生物多样性及群落结构

2.2.1 基于免培养技术的微生物群落组成分析

Illumina MiSeq 测序数据分析显示(图 1A), 新疆两盐湖微生物多样性丰富, 嗜盐细菌分布于 37 门 82 纲 150 目 286 科 590 属。门级优势菌群主要为拟杆菌门 (*Bacteroidota*, 33.41%)、芽孢杆菌门 (*Bacillota*, 24.71%)、放线菌门 (*Actinomycetota*, 14.64%) 和假单胞菌门 (*Pseudomonadota*, 10.58%)。南湖碱湖以 *Bacteroidota* (35.05%) 和 *Bacillota* (19.83%) 为优势门, 七角井以 *Bacillota* (44.66%) 和拟杆菌门

表1 两盐湖土壤样品的理化性质

Table 1 Physicochemical properties of two salt lake soil samples

Sample	pH	Conductivity (ms/cm)	Physical and chemical factors (g/kg)								
			Total salt	CO ₃ ²⁻	HCO ₃ ⁻	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Na ⁺	K ⁺
Nanhu	8.51±	35.84±21.21	158.61±	0.05±	0.39±	22.66±	75.12±	4.46±	0.49±	43.26±	2.64±
Alkaline Lake	0.52**		95.75	0.04	0.23**	17.91	54.84	1.98	0.35	26.16	7.43*
Qijiaojing	8.44±	59.28±30.41	227.15±	0.03±	0.17±	90.82±	48.45±	6.81±	2.23±	69.94±	0.30±
	0.24		121.30	0.03	0.07	74.77*	43.87	4.11	1.61***	41.95	0.25

*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$.

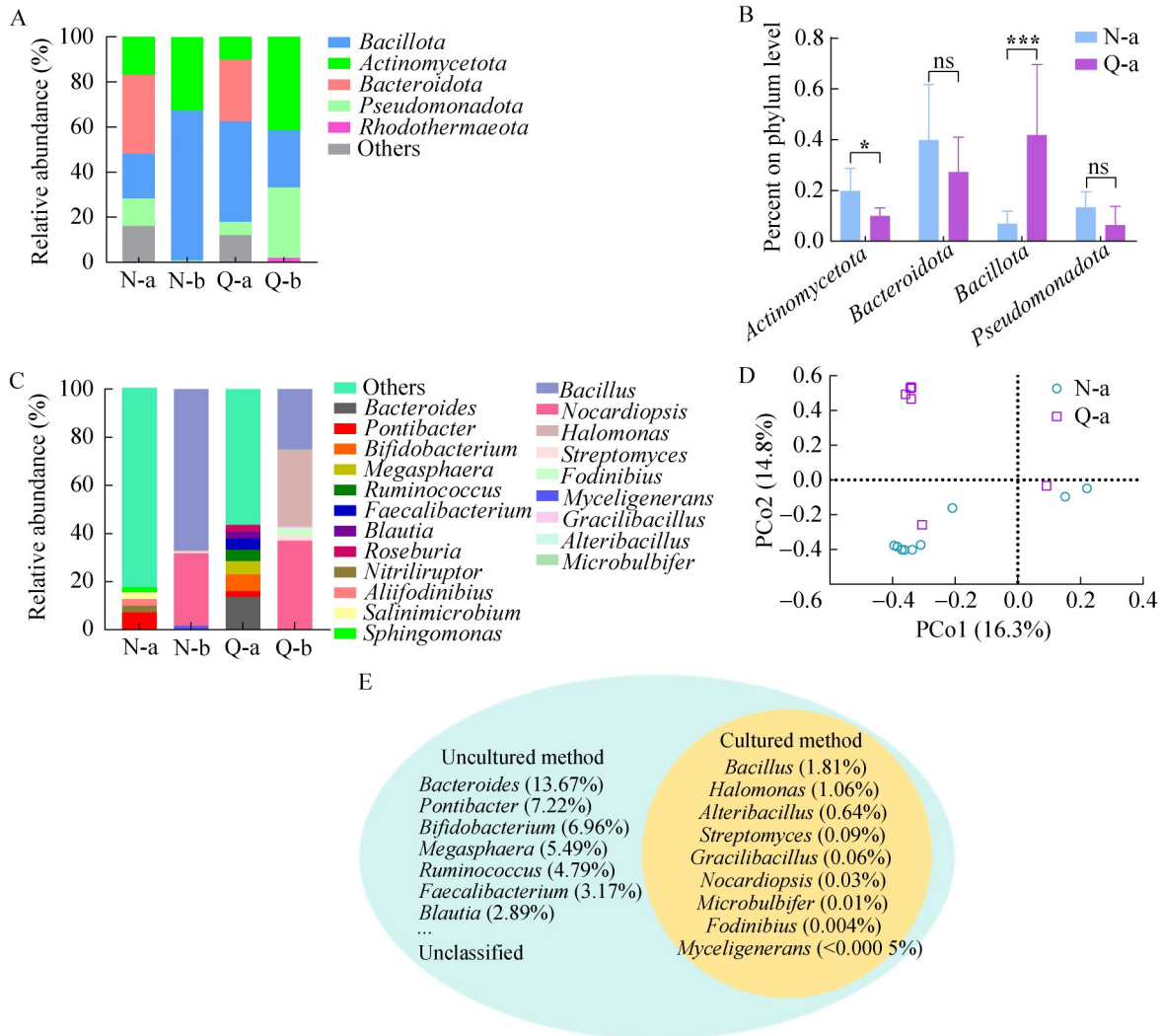


图1 两盐湖微生物物种多样性。A: 门水平; B: 属水平; C: 主要细菌群落的丰度差异(门水平); D: 基于Bray Curtis距离的主坐标分析; E: Illumina MiSeq测序与培养法的微生物差异韦恩图(属水平)。N: 南湖碱湖; Q: 七角井; a: Illumina MiSeq测序; b: 可培养; *: $P < 0.05$; ***: $P < 0.001$; ns: 无显著性。
Figure 1 Microbial species diversity in the two salt lakes. A: Phylum level; B: Genus level; C: The difference in the abundance of the main bacterial flora (phylum level); D: Principal coordinate analysis generated using Bray Curtis distance; E: Venn maps of microbial differences obtained by two methods (genus level). N: Nanhu Alkaline Lake; Q: Qijiaoing; a: Illumina MiSeq sequencing; b: Pure culture; *: $P < 0.05$; ***: $P < 0.001$; ns: No significant.

(27.43%)为优势门。两盐湖放线菌门和芽孢杆菌门的丰度差异显著(图 1B)。

在属水平(图 1C), 两盐湖微生物群落结构显著不同。南湖碱湖以海洋杆菌属(*Pontibacter*)为优势属(7.22%), 而在七角井中仅为 2.29%,

七角井则以拟杆菌属(*Bacteroides*)为主(13.68%)。七角井中栖粪杆菌属(*Faecalibacterium*)、瘤胃球菌属(*Ruminococcus*)、巨球形菌属(*Megasphaera*)和双歧杆菌属(*Bifidobacterium*)等类群丰度接近 4.64%–6.96%, 与 *Bacteroides* 共同组成主要群

落。与之相比,南湖碱湖解脲杆菌属(*Nitriiruptor*)、别样矿生菌属(*Aliifodinibius*)、盐坑微生物属(*Salinimicrobium*)和鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)等类群丰度为 2.32%–2.77%,与 *Pontibacter* 共同构成优势群落。两盐湖未知属级类群分别占 57.79% 和 24.36%,显示出丰富的微生物资源。

通过对比 2 个盐湖的微生物 α 多样性指数(表 2),发现南湖碱湖的 Simpson 指数明显高于七角井。这表明碳酸盐型的南湖碱湖微生物群落多样性远高于硫酸盐型的七角井。同时,南

表2 两盐湖微生物群落 α 多样性指数

Table 2 Alpha diversity index of microbial community in two salt lakes

Diversity index	Illumina MiSeq sequencing		Pure culture	
	Nanhu Alkaline Lake	Qijiaojing	Nanhu Alkaline Lake	Qijiaojing
Simpson	0.94±0.04***	0.74±0.004	0.06±0.11	0.18±0.21
Shannon	4.06±0.58***	2.83±0.32	0.13±0.23	0.28±0.28

***: $P < 0.001$.

表3 土壤理化性质与主要细菌的相关性(属水平)

Table 3 Correlation analysis between soil physical and chemical properties and main bacteria (genus level)

Phylum	Genus	pH	Conductivity	Total salt	CO ₃ ²⁻	HCO ₃ ⁻	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Na ⁺	K ⁺
<i>Actinomycetota</i>	<i>Bifidobacterium</i>	-0.34	0.26	0.18	-0.23	-0.47	0.52*	-0.33	0.07	0.59*	0.22	-0.20
	<i>Kocuria</i>	0.75***	0.13	0.20	0.75***	0.86***	-0.21	0.77***	0.10	-0.33	0.18	0.34
	<i>Nitriiruptor</i>	0.38	-0.34	-0.23	0.16	0.59*	-0.53*	0.39	-0.19	-0.40	-0.22	0.01
<i>Bacteroidota</i>	<i>Bacteroides</i>	-0.24	0.36	0.31	-0.07	-0.38	0.60*	-0.30	0.25	0.53*	0.29	-0.12
	<i>Parabacteroides</i>	-0.12	0.41	0.36	0.02	-0.32	0.62**	-0.26	0.32	0.51*	0.35	-0.02
	<i>Pontibacter</i>	0.54*	0.18	0.33	0.46	0.66**	-0.25	0.75***	0.15	0.02	0.29	0.28
<i>Balneolota</i>	<i>Aliifodinibius</i>	-0.24	-0.56*	-0.49	-0.31	-0.24	-0.49	-0.25	-0.33	-0.33	-0.54*	0.04
<i>Bacillota</i>	<i>Clostridium</i>	-0.34**	0.19	0.11	-0.29*	-0.53***	0.56	-0.52***	0.15	0.48	0.15	-0.11
	<i>Dialister</i>	-0.22	0.29	0.21	-0.12	-0.39	0.62*	-0.33	0.15	0.50*	0.23	0.04
	<i>Faecalibacterium</i>	-0.16	0.39	0.34	-0.01	-0.36	0.65**	-0.29	0.32	0.55*	0.34	-0.00
	<i>Fusicatenibacter</i>	-0.24	0.35	0.26	-0.09	-0.41	0.67**	-0.35	0.21	0.52*	0.28	-0.01
	<i>Planococcus</i>	0.55*	-0.03	0.10	0.30	0.72**	-0.40	0.67**	0.08	-0.12	0.09	0.25
	<i>Roseburia</i>	-0.14	0.41	0.36	0.00	-0.34	0.65**	-0.27	0.31	0.53*	0.35	-0.01
	<i>Ruminococcus</i>	-0.15	0.41	0.36	0.00	-0.35	0.65**	-0.27	0.30	0.54*	0.35	-0.01
	<i>Methanobacteriota</i>	<i>Halalkalicoccus</i>	0.53*	0.22	0.25	0.45	0.67**	0.05	0.55*	0.42	-0.04	0.21
<i>Pseudomonadota</i>	<i>Sphingomonas</i>	0.00	-0.56*	-0.46	-0.10	0.06	-0.66**	-0.01	-0.61*	-0.56*	-0.44	-0.20
<i>Rhodothermaeota</i>	<i>Salinibacter</i>	-0.53*	-0.09	-0.13	-0.31	-0.53*	0.180	-0.41	-0.20	0.15	-0.17	-0.01

Relative abundance > 2%. *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$.

湖碱湖的 Shannon 指数与七角井存在显著差异,表明南湖碱湖具有更高的物种丰富度和均匀度。基于 Bray Curtis 距离的主坐标分析(PCoA)结果(图 1D)显示,新疆碳酸盐型和硫酸盐型干盐湖的土壤微生物群落组成差异显著。

通过 Spearman 相关性分析(表 3),本研究探讨了 2 个盐湖中高丰度土壤微生物类群(>1%)与相关土壤理化因子之间的关系。结果表明,Cl⁻和 Mg²⁺是关键土壤理化因子,与大部分细菌属丰度呈显著正相关;pH 与考克氏菌属(*Kocuria*)正相关,与梭菌属(*Clostridium*)负相关;电导率

与 *Aliifodinibius* 和 *Sphingomonas* 呈显著负相关; CO_3^{2-} 与 *Kocuria* 正相关; HCO_3^- 与 *Kocuria*、*Pontibacter*、游动球菌属(*Planococcus*)和盐碱球菌属(*Halalkalicoccus*)正相关, 与 *Clostridium* 负相关; SO_4^{2-} 与 *Kocuria*、*Pontibacter* 和 *Planococcus* 正相关, 与 *Clostridium* 负相关; Ca^{2+} 与 *Sphingomonas* 负相关; Na^+ 与 *Aliifodinibius* 负相关; K^+ 与 *Halalkalicoccus* 正相关。总盐含量与菌属无显著相关性, 可能是由于样品间差异较大所致, 尤其是七角井盐湖, 部分样品含有结晶盐矿, 总盐含量高达 488.5 g/kg。

2.2.2 基于可培养技术的微生物群落组成分析

通过 7 种培养基、3 种 NaCl 浓度以及平板稀释涂布, 共获得 1 130 株菌株(南湖碱湖 391 株, 七角井 739 株)。在 5% 和 10% NaCl 浓度的培养基中主要分离到的是嗜盐细菌和放线菌。大部分菌落呈白色或乳白色, 对这些菌株进行形态学特征分析后进行纯化和去重复。选取 50 株代表性嗜盐菌株进行 16S rRNA 基因序列相似性分析, 登录号为 PP411945-PP411975 (表 4)。菌株隶属于 4 门 7 科 9 属, *Bacillota* 占 40.53%、*Actinomycetota* 占 36.81%、*Pseudomonadota* 占 21.15%、*Balneolota* 占 1.50% (图 1A)。南湖碱湖以 *Bacillota* 为主 (67.26%), 七角井以 *Actinomycetota* (39.24%) 和 *Pseudomonadota* (32.07%) 为优势。Illumina MiSeq 测序显示 *Bacteroidota* 为绝对优势门, 但可培养实验未获得更多该门菌株, 这表明目前常用的嗜盐菌分离培养基的配方设计还有待进一步完善。

在属水平(图 1C), 南湖碱湖的优势菌群为 *Bacillus* (67.01%) 和 *Nocardiopsis* (30.18%)。七角井的优势菌群为 *Nocardiopsis* (37.08%)、盐单胞菌属(*Halomonas*, 31.80%) 和 *Bacillus* (25.17%)。南湖碱湖特有的菌属为生菌丝菌属(*Myceligenans*), 七角井特有的菌属为另类芽孢杆菌属(*Alteribacillus*)、矿生菌属(*Fodinibius*) 和微泡菌属(*Microbulbifer*)。尽管南湖碱湖和七

角井的优势物种组成相似, 但菌属类群的丰度存在显著差异。通过韦恩图比较发现(图 1E), 可培养获得的 9 个属中, 绝大部分并非 Illumina MiSeq 测序中的高丰度类群, 仅 *Bacillus* 和 *Halomonas* 在南湖碱湖中丰度较高。

如表 2 所示, 2 个盐湖中微生物物种分布及其 α 多样性指数存在差异。七角井所获的嗜盐微生物数量(739 株)远多于南湖碱湖(391 株)。七角井的 Simpson 指数和 Shannon 指数高于南湖碱湖, 但差异未达到统计学显著性水平。

2.3 两盐湖嗜盐细菌组成分析

Illumina MiSeq 测序结果无法区分轻度、中度和极端嗜盐菌的组成。为进一步了解盐湖中不同嗜盐细菌的分布情况, 本研究选取丰度大于 0.5% 的 49 个属级类群进行分析。通过查阅相关文献并结合盐度实验数据, 确定了这些菌属的嗜盐性特征[原始数据储存在国家微生物科学数据中心 (<http://nmdc.cn>), 编号为 NMDCX0002079]。研究发现, 18 个属为轻度嗜盐菌, 包括 *Bacteroides*、*Nitrospirillum* 和 *Ruminococcus* 等; 19 个属为中度嗜盐菌, 包括 *Aliifodinibius*、*Bacillus* 和 *Halomonas* 等; 以及 1 个极端嗜盐菌属盐场杆菌属(*Salinibacter*)。此外, 还有 11 个属尚未见嗜盐性相关报道。

Illumina MiSeq 测序显示(图 2A), 南湖碱湖和七角井盐湖中丰度超过 0.5% 的属级类群均为 22 个, 但嗜盐细菌分布差异显著。南湖碱湖中度嗜盐细菌属有 11 个, 占群落丰度的 12.13%; 七角井仅有 2 个, 占 1.59%。在两盐湖的高丰度类群中, 轻度嗜盐细菌占有较高比例; 而极端嗜盐细菌仅在七角井中发现有较高丰度的属。两盐湖高丰度中度嗜盐细菌属存在明显差异(图 2A), 例如 *Aliifodinibius* 在南湖碱湖中的丰度为 2.72%, 而在七角井中仅为 0.22%; 乳杆菌属(*Lactobacillus*) 在七角井中的丰度为 0.74%, 而在南湖碱湖中仅为 0.007%。

总体而言, 两盐湖间嗜盐细菌群落结构差异大, 以轻度嗜盐细菌为主, 南湖碱湖中的中

表4 新疆两盐湖嗜盐微生物代表菌株分类地位及产酶活性

Table 4 Taxonomic position and functional enzyme activity of moderate halophiles isolated from Xinjiang salt lakes

Phylum	Genus	Strain	Count	The closest species	Similarity (%)	GenBank	NaCl optimum (%)	Amylase	Cellulase	Esterase	
<i>Actinomycetota</i>	<i>Myceligenans</i>	4 364	6	<i>Myceligenans salitolerans</i> XHU 5031	99.68	PP411948	5	-	++	++	
		<i>Nocardiopsis</i>	4 004	235	<i>Nocardiopsis aegyptia</i> DSM 44442 ^T	100.00	PP411954	5	-	-	+++
	4 074		20	<i>Nocardiopsis aegyptia</i> DSM 44442 ^T	100.00	PP411947	5	-	-	+++	
	4 076		1	<i>Nocardiopsis akebiae</i> HDS12 ^T	100.00	PP411965	5	ND	ND	ND	
	4 130		13	<i>Nocardiopsis akebiae</i> HDS12 ^T	98.95	PP411955	5	+	++	+++	
	4 210		1	<i>Nocardiopsis akebiae</i> HDS12 ^T	99.05	PP411953	5	-	++	+++	
	4 325		92	<i>Nocardiopsis alba</i> DSM 43377 ^T	98.80	PP411968	5	ND	ND	ND	
	4 382		23	<i>Nocardiopsis alba</i> DSM 43377 ^T	98.80	PP411969	10	-	-	+++	
	4 053		3	<i>Nocardiopsis chromatogenes</i> YIM 90109 ^T	99.68	PP411946	10	-	-	+++	
	4 402		1	<i>Nocardiopsis eucommiae</i> HDS5 ^T	98.63	PP411970	5	+	++	+++	
	4 148		1	<i>Nocardiopsis halophila</i> KCTC 9825 ^T	99.14	PP411966	10	-	++	+++	
	4 393	2	<i>Nocardiopsis synnemataformans</i> DSM 44143 ^T	98.75	PP411945	5	++	++	+++		
	<i>Streptomyces</i>	4 201	1	<i>Streptomyces mangrovicola</i> GY1	99.83	PP411959	5	+	++	-	
		4 287	1	<i>Streptomyces ochraceiscleroticus</i> NRRL ISP-5594	99.14	PP411967	10	+	-	+++	
		4 387	1	<i>Streptomyces ochraceiscleroticus</i> NRRL ISP-5594	99.14	PP411956	5	-	++	++	
		4 178	3	<i>Streptomyces pini</i> PL19 ^T	99.38	PP411952	5	++	++	+++	
	4 087	12	<i>Streptomyces sparsus</i> YIM 90018 ^T	99.83	PP411963	10	-	++	+		
	<i>Balneolota</i>	<i>Fodiniobius</i>	4 159	13	<i>Aliifodiniobius salipaludis</i> WN023 ^T	97.78	PP411972	5	ND	ND	ND
	<i>Bacillota</i>	<i>Aliifodiniobius salipaludis</i> WN023 ^T	4 164	1	<i>Aliifodiniobius salipaludis</i> WN023 ^T	97.7	PP411973	10	+++	+	-
			4 240	3	<i>Aliifodiniobius salipaludis</i> WN023 ^T	98.23	PP411975	10	ND	ND	ND
<i>Alteribacillus</i>	<i>Alteribacillus bidgolensis</i> IBRC-M1 0614 ^T	4 126	4	<i>Alteribacillus bidgolensis</i> IBRC-M1 0614 ^T	99.37	PP411971	10	+++	+	-	
<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus vallismortis</i> DV1-F-3 ^T	4 057	186	<i>Bacillus vallismortis</i> DV1-F-3 ^T	99.84	PP411950	10	+++	+++	+++	
		4 259	15	<i>Bacillus vallismortis</i> DV1-F-3 ^T	99.84	PP411949	10	+++	+++	+++	
		4 308	3	<i>Bacillus vallismortis</i> DV1-F-3 ^T	99.83	PP411964	5	+++	++	+++	
		4 368	244	<i>Bacillus vallismortis</i> DV1-F-3 ^T	99.84	PP411951	5	-	++	-	
		4 041	5	<i>Gracilibacillus salitolerans</i> SCU50 ^T	99.66	PP411962	5	+++	-	-	
<i>Gracilibacillus</i>	<i>Gracilibacillus salitolerans</i> SCU50 ^T	4 395	1	<i>Gracilibacillus salitolerans</i> SCU50 ^T	99.83	PP411957	5	-	++	-	
		<i>Halomonas</i>	4 169	235	<i>Halomonas elongata</i> DSM 2581 ^T	100.00	PP411974	15	ND	ND	ND
			4 390	1	<i>Halomonas xinjiangensis</i> TRM0175 ^T	98.15	PP411960	5	+	-	-
			4 399	1	<i>Halomonas xinjiangensis</i> TRM0175 ^T	98.15	PP411961	5	-	++	+++
<i>Microbulbifer</i>	<i>Microbulbifer halophilus</i> YIM91118 ^T	4 174	2	<i>Microbulbifer halophilus</i> YIM91118 ^T	99.68	PP411958	5	-	++	++	

+: Functional enzyme activity; -: Negative; ND: No data.

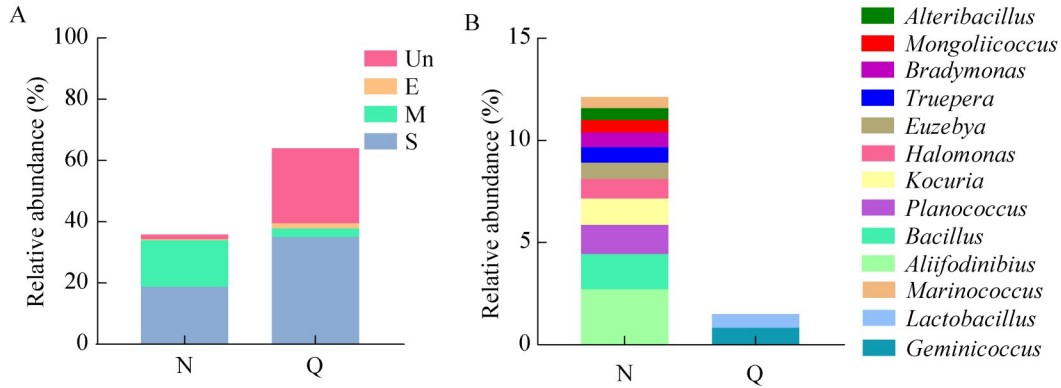


图2 两盐湖嗜盐细菌多样性。A: 嗜盐细菌多样性; B: 中度嗜盐细菌多样性。S: 轻度嗜盐细菌; M: 中度嗜盐细菌; E: 极端嗜盐细菌; Un: 未分类; N: 南湖碱湖; Q: 七角井; 相对丰度>0.5%。

Figure 2 High abundance halophiles bacteria diversity in the two salt lake. A: Halophiles bacteria diversity; B: Moderate halophiles bacteria diversity. S: Slight halophiles bacteria; M: Moderately halophiles bacteria; E: Extreme halophiles bacteria; Un: Unclassified; N: Nanhu Alkaline Lake; Q: Qijiaojing; Relative abundance>0.5%.

度嗜盐细菌相较于七角井更为丰富。

2.4 培养基分离效果的比较

本研究采用7种不同的分离培养基从2个盐湖土壤样本中分离获得1130株嗜盐细菌(图3A)。结果表明,培养基F6能最有效地分离嗜盐细菌,共分离到490株,涵盖了5个菌属;其次是培养

基F5和F3,分别分离得到344株和194株。不同培养基的多样性指数分析结果也表明,F1、F2、F4、F6和F7培养基分离的可培养微生物多样性明显高于F3和F5培养基(表5)。进一步分析种属发现(图3B),*Nocardiopsis*在F4、F5和F7培养基中占绝对优势,尤以F5培养基最高达98.84%。

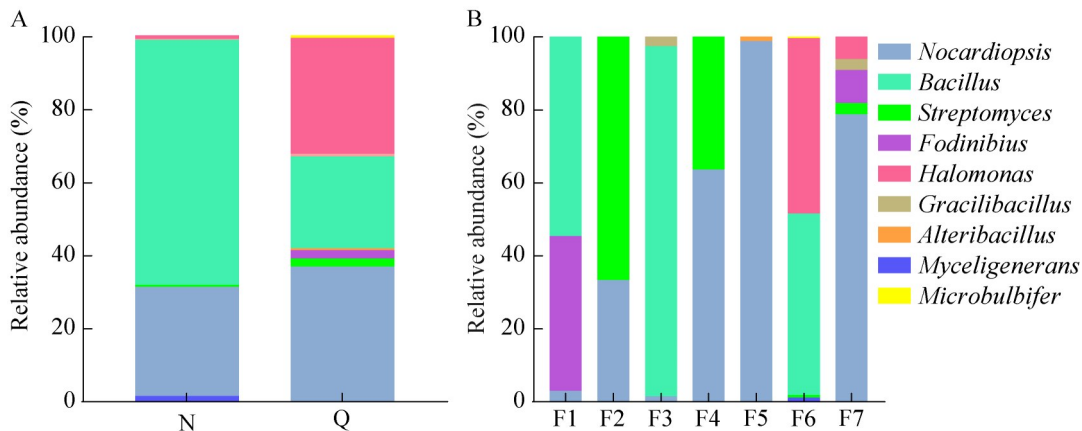


图3 不同培养基获得的嗜盐细菌多样性比较。A: 两盐湖可培养菌群多样性(N: 南湖碱湖; Q: 七角井); B: 7种培养基嗜盐细菌的多样性。

Figure 3 Comparison of halophilic bacterial diversity obtained from different culture media. A: Diversity of culturable halophiles in two salt lakes (N: Nanhu Alkaline Lake; Q: Qijiaojing); B: Diversity composition of halophiles in seven media.

表5 可培养嗜盐细菌物种多样性指数

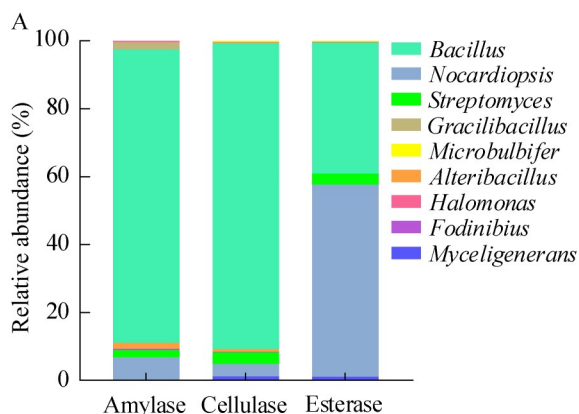
Table 5 Diversity index of culturable halophiles bacteria

Culture media	Diversity index	
	Simpson	Shannon
F1	0.54	0.83
F2	0.67	0.80
F3	0.08	0.20
F4	0.48	0.67
F5	0.02	0.06
F6	0.52	0.81
F7	0.38	0.85

Bacillus 在 F1、F3 和 F6 培养基中为优势类群，以 F3 培养基最高达 93.88%。此外，*Alteribacillus* 仅在 F5 培养基中分离获得，而 *Myceligenerans* 和 *Microbulbifer* 属则仅在 F6 培养基中分离获得。综上所述，合理选择培养基对于获得目标菌属至关重要。本研究发现，F5 培养基对放线菌 *Nocardiopsis* 的分离效果最佳，而 F6 培养基则对 *Bacillus* 和 *Halomonas* 的分离效果最优。

2.5 可培养微生物产酶特性

通过可培养嗜盐细菌功能酶筛选发现(图 4A)，



产酯酶和纤维素酶的菌株数量最多，分别占菌株总数的 46.81% 和 44.07%，产淀粉酶的菌株占 20.88%。从菌群类别来看，*Bacillus* 在产淀粉酶和纤维素酶方面的能力最强，占产淀粉酶和纤维素酶菌数的 86.44% 和 89.96%。相比之下，*Nocardiopsis* 在产酯酶方面的能力最强，占 56.52%，*Bacillus* 次之(38.56%)。从菌株分布来看(图 4B)，产淀粉酶和酯酶的菌株主要分布在七角井，产纤维素酶的菌株在南湖碱湖和七角井的分布量相近。综合分析可知，两盐湖土壤可培养菌株中，有 69.56% 的菌株具有产胞外酶的能力，*Bacillus* 在 3 种功能酶的综合产酶能力方面最为突出。

3 讨论与结论

嗜盐微生物是盐湖微生态系统中的主要类群，它们通过积累胞内小分子相容溶质以抵御渗透压，其多样性的代谢特征和产多功能酶的特性展现出巨大的工业应用潜力^[9]。七角井盐湖和南湖碱湖虽然地理位置接近，且均为干盐湖，但水化学性质存在差异，是研究盐湖演化类型对嗜盐微生物群落组成和结构影响的理想样地。

根据盐湖演化进程，硫酸盐型盐湖的成盐

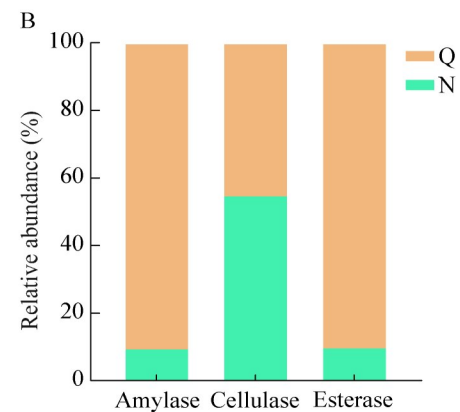


图4 两盐湖功能酶分析。A：嗜盐细菌的功能酶活多样性；B：两盐湖的酶活性分布(N：南湖碱湖；Q：七角井)。

Figure 4 Functional diversity of halophiles in two salt lakes. A: Functional diversity of moderate halophiles bacteria at genus level; B: Enzyme activity in two salt lakes (N: Nanhu Alkaline Lake; Q: Qijiaojing).

年代比碳酸盐型盐湖更早^[3], 其含盐量通常高于碳酸盐型盐湖, 主要理化性质也存在显著差异, 因此推测其微生物群落可能存在明显差异。本研究中两盐湖土壤理化性质测定结果表明, 硫酸盐型(七角井)盐湖的总盐含量高于碳酸盐型(南湖碱湖), 其余因子如 pH、 HCO_3^- 、 Cl^- 、 Mg^{2+} 、 K^+ 含量也存在显著差异, 这些理化因子在一定程度上对两盐湖土壤微生物群落组成和数量具有显著影响^[9]。来自 111 项研究的统计结果表明, 盐度是影响微生物群落结构的一项决定性因素^[19], 通常认为随着盐度的升高, 会导致环境中细菌多样性下降^[20-21]。对两盐湖 Illumina MiSeq 测序结果进行 α 多样性分析发现, 总盐度更高的七角井盐湖, 其嗜盐细菌群落多样性低于南湖碱湖, 现有研究表明地理位置、盐度、温度和季节等环境因素都会显著影响不同盐湖中微生物群落的结构和功能^[22]。本研究的相关性分析结果揭示, Cl^- 和 Mg^{2+} 浓度是关键土壤理化因子, 对盐湖土壤微生物群落结构产生重要影响。这与先前研究发现 Cl^- 含量是影响盐碱土土壤细菌群落组成的重要因素一致^[23]。Wallis 等^[24]的研究也发现, Mg^{2+} 含量与土壤细菌群落结构和组成显著相关。综上所述, 在分离嗜盐微生物时, 不仅需要考虑到 NaCl 浓度, 还可以加入适量浓度的 MgCl_2 。

通过 Illumina MiSeq 测序分析, 发现两盐湖均蕴含丰富的嗜盐细菌微生物资源, 共有 37 门 82 纲 150 目 286 科 590 属。Bacteroidota、Bacillota、Actinomycetota 和 Pseudomonadota 为两盐湖普遍存在的核心类群。对比其他盐湖研究结果发现, 盐湖中优势的嗜盐微生物类群在门级分类水平上存在一定的共性, 主要优势类群包括假单胞菌门、芽孢杆菌门、拟杆菌门^[25]; 然而, 由于不同盐湖的水化学特性或其他因素存在差异, 这些优势类群在各盐湖中的相对丰度也会有所不同。韩晶等^[26]对硫酸盐型艾比湖研究发现 Pseudomonadota 为第一优势群, 朱德锐等^[27]发现青藏高原盐湖微生物以 Bacillota 为

优势群, 且 Bacillota 的丰度比例与盐湖总盐度相关, 这与七角井的结果一致。嗜盐微生物会根据不同的环境变化进行适应性调整, 例如 Bacteroidota 可能是逐渐适应干旱区的一类微生物^[28], 这与盐湖水域面积减少、逐步趋向于干旱密切相关^[29]。Pseudomonadota 在环境中广泛存在, 在大部分有水盐湖中通常为优势门或次优势门^[25-26,29], 而在两盐湖中为低丰度类群, 可能与两盐湖均为干盐湖有关。

两个盐湖在属级类群分布上存在显著差异, 除 Pontibacter 为两盐湖共有的高丰度类群外, 其余丰度 >0.5% 的类群在另一湖中的丰度普遍低于 0.1%。七角井中丰度较高的 Faecalibacterium、Ruminococcus 和 Megasphaera 均属于 Bacillota, 其内生孢子的能力使其能在极端条件下正常繁殖和生存^[30]。值得注意的是, 七角井富含高丰度的 Bifidobacterium (6.97%), 文献报道 Bifidobacterium 是维持人和动物肠道健康的重要益生菌, 最适生存 pH 在 6.0-7.0 之间, 当 NaCl 浓度超过 2% 时, 其生长会受到显著抑制^[31-32]。目前尚未有报道在盐湖中分离获得 Bifidobacterium, 极端环境下的双歧杆菌的生理特性有待进一步探索。

尽管通过可培养方法可以探究盐湖嗜盐细菌的多样性, 但该方法存在明显局限性。大部分分离菌株属于低丰度类群, 如 Myceligenerans、Nocardiopsis、Streptomyces、Fodinibius、Alteribacillus、Gracilibacillus 和 Microbulbifer, 其丰度均低于 0.5%, 并非盐湖中主要的嗜盐细菌群。本研究主要从 5% 盐浓度培养基中分离获得了中度嗜盐细菌, 其中南湖碱湖的优势类群为 Bacillus, 七角井的优势类群为放线菌 Nocardiopsis。Bacillus、Nocardiopsis、Halomonas 和 Streptomyces 等属被认为是代表性的中度嗜盐菌, 广泛分布于盐湖^[33-34]、海洋沉积物^[35]、盐场^[36]等盐环境, 是目前研究较为深入的嗜盐细菌。值得注意的是, 在碳酸盐型南湖碱湖中, Pontibacter 作为第一优势类群, 在硫酸盐型七

角井中的丰度也达 2.29%，但本次分离未获得该菌属。根据文献报道，*Pontibacter* 可在 0–8% 盐浓度下生长，最佳生长盐浓度为 2%–3%^[37]，培养基盐度设置过高可能是本研究未获得该属的主要原因。*Pontibacter* 已在新疆沙漠、胡杨根际土壤等干旱环境中报道^[38–39]。本研究还发现 *Pontibacter* 的丰度与盐湖 HCO_3^- 和 SO_4^{2-} 含量呈显著正相关，盐湖 HCO_3^- 和 SO_4^{2-} 含量是划分碳酸盐型和硫酸盐型的重要理化因子。因此，在未来的可培养实验中，应充分考虑微生物生长所需的环境条件。此外，盐湖中还有 19.82% 的未分类菌属类群，表明盐湖中丰富的新物种资源有待进一步开发。

不同培养基分离结果显示，F6 (R2A) 培养基获得的嗜盐细菌株数和菌株种类最为丰富，是一款优秀的分离培养嗜盐细菌的培养基。Oren^[40] 曾指出，丙酮酸钠对嗜盐细菌的生长非常重要，我们在此前分离极端嗜盐菌时也发现了这一规律^[18]。由此可见，在分离微生物菌群时，尤其是获取某一特定菌群，应当结合其原始生存环境特性和对不同离子成分的偏好等特征设计培养基，以简化菌属分离培养工作，从而获得目标菌群。

本次酶活筛选结果显示，可培养嗜盐细菌产功能酶的能力较强，其中产酯酶和纤维素酶的嗜盐细菌数量最多，而产淀粉酶菌株较少。*Bacillus* 是两盐湖中主要的产功能酶类群，芽孢杆菌被广泛应用于工业生产多种功能酶和有机代谢物，据估计，总酶市场中近 50% 的酶由枯草芽孢杆菌生产^[41]。如 *Nocardiopsis* 通过分泌纤维素、淀粉、蛋白质等水解酶从环境中吸收营养，使其能够适应多种环境。天然高盐碱生拟诺卡氏菌具有丰富的物种多样性、代谢产物多样性和产酶能力，是拟诺卡氏菌资源研究的热点，且在食品、环境等领域展现出巨大的应用潜力^[42]。同时，结果进一步说明高氏培养基也适用于嗜盐放线菌的分离。研究表明，嗜盐酶和耐盐酶通常对高盐环境具有高耐受性，在生

物能源、生物修复和生物医学等领域具有潜在的应用价值^[43]。综上所述，嗜盐细菌具有强大的生物技术应用和发展潜力，深入研究嗜盐细菌群的功能及其酶系统有助于我们更好地将其转化为功能性生产资源。

本研究联合 Illumina MiSeq 测序和传统培养方法，探究了新疆碳酸盐型(南湖碱湖)和硫酸盐型(七角井) 2 种类型盐湖中嗜盐细菌的生物多样性。研究发现，2 个盐湖的微生物群落结构存在显著差异，碳酸盐型南湖碱湖更有利于嗜盐细菌的生存。不同培养基分离获得的嗜盐微生物类群为后续特定菌株的获取提供了理论参考。此外，两盐湖微生物的功能特性研究对开发利用盐湖嗜盐微生物在生物资源库、酶制剂和生物新功能等领域具有重要的理论意义。

作者贡献声明

高琳：利用传统微生物学方法对两盐湖进行菌种分离，以及初稿的撰写；谢卓斌：高通量测序数据分析，以及全文撰写与修改；王芸：全文指导与修改；蒋刚强：盐湖土壤样品的采集；韩燕燕：土壤样品理化性质的测定；陈雪莹：数据收集和处理；孙鹏：提供技术支持。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

- [1] 郑喜玉. 中国盐湖志[M]. 北京: 科学出版社, 2002. ZHENG XY. Annals of Salt Lakes in China[M]. Beijing: Science Press, 2002 (in Chinese).
- [2] 郭佩, 李长志. 含油气盆地蒸发盐矿物成因类型及其地质意义[J]. 古地理学报, 2022, 24(2): 210–225. GUO P, LI CZ. Genesis of evaporites in petroliferous basins and the sedimentary and climatic significances[J]. Journal of Palaeogeography, 2022, 24(2): 210–225 (in Chinese).
- [3] 郑喜玉. 新疆盐湖[M]. 北京: 科学出版社, 1995. ZHENG XY. Xinjiang Salt Lake[M]. Beijing: Science Press, 1995 (in Chinese).
- [4] M.Г. 瓦里亚什科, 范立. 钾盐矿床形成的地球化学规律[M]. 北京: 中国工业出版社, 1965.

- M. Г. Валяцко, FAN L. Geochemical Law of Formation of Potassium Salt Deposit[M]. Beijing: China Architecture & Building Press, 1965 (in Chinese).
- [5] LOWENSTEIN TK, JAGNIECKI EA, CARROLL AR, SMITH ME, RENAUT RW, OWEN RB. The green river salt mystery: what was the source of the hyperalkaline lake waters? [J]. *Earth-Science Reviews*, 2017, 173: 295-306.
- [6] KUSHNER DJ. *Microbial Life in Extreme Environments*[M]. London: Academic Press, 1978.
- [7] VENTOSA A, NIETO JJ, OREN A. Biology of moderately halophilic aerobic bacteria[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 1998, 62(2): 504-544.
- [8] OREN A. Microbial life at high salt concentrations: phylogenetic and metabolic diversity[J]. *Saline Systems*, 2008, 4(1): 2.
- [9] MAHESHWARI D, SARAF M. *Halophiles. Sustainable Development and Biodiversity*[M]. Switzerland: Springer International Publishing, 2015.
- [10] 唐蜀昆, 姜怡, 职晓阳, 姜恺, 李文均, 徐丽华. 嗜盐放线菌分离方法[J]. *微生物学通报*, 2007, 34(2): 390-392. TANG SK, JIANG Y, ZHI XY, LOU K, LI WJ, XU LH. Method for separate halophilic actinomycetes[J]. *Microbiology*, 2007, 34(2): 390-392 (in Chinese).
- [11] 田蕾. 艾丁湖可培养嗜盐细菌多样性及功能菌的筛选[D]. 雅安: 四川农业大学, 2017. TIAN L. Diversity and functional enzymes, screening of culturable halophilic bacteria from Aiding Lake[D]. Yaan: Master's Thesis of Sichuan Agricultural University, 2017 (in Chinese).
- [12] TANG SK, TIAN XP, ZHI XY, CAI M, WU JY, YANG LL, XU LH, LI WJ. *Haloactinospora alba* gen. nov., sp. nov., a halophilic filamentous actinomycete of the family Nocardioseae[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2008, 58(9): 2075-2080.
- [13] 鲁如坤. *土壤农业化学分析方法*[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000. LU RK. *Methods of Soil Agrochemical Analysis*[M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000 (in Chinese).
- [14] KLINDWORTH A, PRUESSE E, SCHWEER T, PEPLIES J, QUAST C, HORN M, GLÖCKNER FO. Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies[J]. *Nucleic Acids Research*, 2013, 41(1): e1.
- [15] HALL M, BEIKO RG. 16S rRNA gene analysis with QIIME 2[J]. *Methods in Molecular Biology*, 2018, 1849: 113-129.
- [16] 周双清, 黄小龙, 黄东益, 胡新文, 陈吉良. Chelex-100快速提取放线菌DNA作为PCR扩增模板[J]. *生物技术通报*, 2010, 26(2): 123-125. ZHOU SQ, HUANG XL, HUANG DY, HU XW, CHEN JL. A rapid method for extracting DNA from actinomycetes by Chelex-100[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2010, 26(2): 123-125 (in Chinese).
- [17] YOON SH, HA SM, KWON S, LIM J, KIM Y, SEO H, CHUN J. Introducing EzBioCloud: a taxonomically united database of 16S rRNA gene sequences and whole genome assemblies[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2017, 67(5): 1613-1617.
- [18] 李泉泉, 王芸, 王科珂, 倪萍, 孙鹏, 苏为涌, 张碧柳. 新疆两盐湖可培养极端嗜盐菌组成及功能多样性研究[J]. *微生物学报*, 2022, 62(6): 2074-2089. LI QQ, WANG Y, WANG KK, NI P, SUN P, SU WY, ZHANG BL. Composition and functional diversity of extreme halophiles isolated from two salt lakes in Xinjiang[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(6): 2074-2089 (in Chinese).
- [19] LOZUPONE CA, KNIGHT R. Global patterns in bacterial diversity[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(27): 11436-11440.
- [20] SIMACHEW A, LANZÉN A, GESSESSE A, ØVREÅS L. Prokaryotic community diversity along an increasing salt gradient in a soda ash concentration pond[J]. *Microbial Ecology*, 2016, 71(2): 326-338.
- [21] WU QL, ZWART G, SCHAUER M, KAMST-VAN AGTERVELD MP, HAHN MW. Bacterioplankton community composition along a salinity gradient of sixteen high-mountain lakes located on the Tibetan Plateau, China[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(8): 5478-5485.
- [22] SALMASO N, BOSCAINI A, PINDO M. Unraveling the diversity of eukaryotic microplankton in a large and deep perialpine lake using a high throughput sequencing approach[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 789.
- [23] 郑敏娜, 梁秀芝, 韩志顺, 康佳惠, 陈燕妮. 不同改良措施对盐碱土土壤细菌群落多样性的影响[J]. *草地学报*, 2021, 29(6): 1200-1209. ZHENG MN, LIANG XZ, HAN ZS, KANG JH, CHEN YN. Effects of different improvement measures on the diversity of soil bacteria communities in salt-alkali soil[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2021, 29(6): 1200-1209 (in Chinese).
- [24] WALLIS PD, HAYNES RJ, HUNTER CH, MORRIS CD. Effect of land use and management on soil bacterial biodiversity as measured by PCR-DGGE[J]. *Applied Soil Ecology*, 2010, 46(1): 147-150.
- [25] 李二阳, 马雪莉, 吕杰, 马媛, 吕光辉. 新疆天山北坡不同盐湖微生物菌群结构及其影响因子[J]. *生态学报*, 2021, 41(18): 7212-7225. LI EY, MA XL, LÜ J, MA Y, LÜ GH. Microbial community structure and its influencing factors of different salt lakes on the northern slope of Tianshan Mountains, Xinjiang[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2021, 41(18): 7212-7225 (in Chinese).
- [26] 韩晶, 胡文革, 王艳萍, 武菲, 张晓红, 王翠华. 新疆艾比湖湿地博乐河入口处土壤细菌多样性分析[J]. *微生物学通报*, 2014, 41(11): 2244-2253. HAN J, HU WG, WANG YP, WU F, ZHANG XH, WANG CH. Bacterial diversity in Bole river entrance soil of Ebinur Lakewetland, Xinjiang by 16S rRNA gene sequence analysis[J]. *Microbiology China*, 2014, 41(11): 2244-2253 (in Chinese).
- [27] 朱德锐, 韩睿, 石晴, 沈国平, 龙启福, 双杰. 青藏高原盐湖细菌群落与超盐环境因素的相关性[J]. *中国环境科学*, 2017, 37(12): 4657-4666.

- ZHU DR, HAN R, SHI Q, SHEN GP, LONG QF, SHUANG J. Correlation analysis of bacterial community and hypersaline environmental factors in extreme salt lakes on the Qinghai-Xizang Plateau[J]. *China Environmental Science*, 2017, 37(12): 4657-4666 (in Chinese).
- [28] 杜洽军. 中国干旱区土壤微生物多样性格局及影响因素研究[D]. 兰州: 兰州大学博士学位论文, 2021.
DU QJ. The patterns and determinants of soil microbial diversity in China's drylands[D]. Lanzhou: Doctoral Dissertation of Lanzhou University, 2021 (in Chinese).
- [29] 刘永红, 房保柱, 高磊, 李丽, 王爽, 蒋宏忱, 李文均. 巴里坤盐湖退化区土壤微生物群落结构及生态功能分析[J]. *微生物学报*, 2022, 62(6): 2053-2073.
LIU YH, FANG BZ, GAO L, LI L, WANG S, JIANG HC, LI WJ. Community structure and ecological functions of soil microorganisms in the degraded area of Barkol Lake[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(6): 2053-2073 (in Chinese).
- [30] ADHIKARI NP, ADHIKARI S, LIU XB, SHEN L, GU ZQ. Bacterial diversity in alpine lakes: a review from the third pole region[J]. *Journal of Earth Science*, 2019, 30(2): 387-396.
- [31] JAKUBCZYK D, LESZCZYŃSKA K, PACYGA-PRUS K, KOZAKIEWICZ D, KAZANA-PLUSZKA W, GELEJ D, MIGDAŁ P, KRUSZAKIN R, ZABŁOCKA A, GÓRSKA S. What happens to *Bifidobacterium adolescentis* and *Bifidobacterium longum* ssp. *longum* in an experimental environment with eukaryotic cells? [J]. *BMC Microbiology*, 2024, 24(1): 60.
- [32] DURANTI S, LUGLI GA, NAPOLI S, ANZALONE R, MILANI C, MANCABELLI L, ALESSANDRI G, TURRONI F, OSSIPRANDI MC, SINDEREN DV, VENTURA M. Characterization of the phylogenetic diversity of five novel species belonging to the genus *Bifidobacterium*: *Bifidobacterium castoris* sp. nov., *Bifidobacterium callimiconis* sp. nov., *Bifidobacterium goeldii* sp. nov., *Bifidobacterium samirii* sp. nov. and *Bifidobacterium dolichotidis* sp. nov.[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2019, 69(5): 1288-1298.
- [33] 李怡歆, 陈勇, 刘晓禄, 艾尼江·尔斯满, 徐李娟, 刘倩倩, 包晓玮, 宋素琴. 新疆达坂城盐湖嗜盐细菌分离鉴定及活性分析[J]. *新疆农业科学*, 2023, 60(7): 1766-1772.
CHEN YX, LI Y, LIU XL, ERSIMAN AINIJIANG, XU LJ, LIU QQ, BAO XW, SONG SQ. Isolation identification and activity of halophilic bacteria from Dabancheng Salt Lake, Xinjiang[J]. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 2023, 60(7): 1766-1772 (in Chinese).
- [34] 沈硕. 青藏高原察尔汗盐湖地区可培养中度嗜盐菌的群落结构与多样性[J]. *微生物学报*, 2017, 57(4): 490-499.
SHEN S. Community structure and diversity of culturable moderate halophilic bacteria isolated from Qrhan Salt Lake on Qinghai-Xizang Plateau[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2017, 57(4): 490-499 (in Chinese).
- [35] 刘双霜. 东海海域具潜在应用价值的微生物筛选与鉴定[D]. 上海: 东华大学硕士学位论文, 2010.
LIU SS. Screening and identification on the microorganism with potential applications from the East sea[D]. Shanghai: Master's Thesis of Donghua University, 2010 (in Chinese).
- [36] 常显波, 刘文正, 张晓华. 青岛泊子盐场放线菌多样性及其功能酶的筛选[J]. *干旱地区农业研究*, 2015, 33(1): 233-237.
CHANG XB, LIU WZ, ZHANG XH. Biodiversity of actinomycetes from Pozi saltern in Qingdao and the screening for functional enzymes[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2015, 33(1): 233-237 (in Chinese).
- [37] MA KJ, YE YL, FU YH, FU GY, SUN C, XU XW. Genomic and phylotypic properties of three novel marine *Bacteroidota* from bare tidal flats reveal insights into their potential of polysaccharide metabolism[J]. *Frontiers in Marine Science*, 2023, 10: 1222157.
- [38] DAI J, XU MB, PENG F, JIANG F, CHEN X, WANG Z, FANG CX. *Pontibacter soli* sp. nov., isolated from the soil of a *Populus* rhizosphere in Xinjiang, China[J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2014, 105(1): 65-72.
- [39] ZHANG L, ZHANG QJ, LUO XS, TANG YL, DAI J, LI YW, WANG Y, CHEN G, FANG CX. *Pontibacter korlensis* sp. nov., isolated from the desert of Xinjiang, China[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2008, 58(5): 1210-1214.
- [40] OREN A. Pyruvate: a key nutrient in hypersaline environments?[J]. *Microorganisms*, 2015, 3(3): 407-416.
- [41] SINGH V, SHOW PL. *Biomanufacturing for Sustainable Production of Biomolecules*[M]. Singapore: Springer Singapore, 2023.
- [42] 李文均, 张永光. 拟诺卡氏菌属放线菌研究进展[J]. *微生物学通报*, 2016, 43(5): 1123-1135.
LI WJ, ZHANG YG. Advances in studies on the genus *Nocardiopsis*[J]. *Microbiology China*, 2016, 43(5): 1123-1135 (in Chinese).
- [43] BENÍTEZ-MATEOS AI, PARADISI F. *Halomonas elongata*: a microbial source of highly stable enzymes for applied biotechnology[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2023, 107(10): 3183-3190.