



新疆两盐湖可培养极端嗜盐菌组成及功能多样性研究

李泉泉¹, 王芸^{1*}, 王科珂², 倪萍³, 孙鹏¹, 苏为涌¹, 张碧柳¹

1 岭南师范学院生命科学与技术学院, 广东 湛江 524048

2 乌鲁木齐海关技术中心, 新疆 乌鲁木齐 830063

3 新疆医科大学基础医学院形态中心, 新疆 乌鲁木齐 830011

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. 微生物学报, 2022, 62(6): 2074–2089.

Li Quanquan, Wang Yun, Wang Keke, Ni Ping, Sun Peng, Su Weiyong, Zhang Biliu. Composition and functional diversity of extreme halophiles isolated from two salt lakes in Xinjiang. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(6): 2074–2089.

摘要:【目的】通过分析不同成盐类型盐湖中的极端嗜盐菌群落组成差异, 探究可培养极端嗜盐菌的功能特性。【方法】采集新疆硫酸盐型盐湖七角井和碳酸盐型盐湖南湖的土壤样品, 通过平板稀释涂布法分离极端嗜盐菌, 经过形态学观察、特征分析获取代表菌株, 通过耐盐性测定和 16S rRNA 基因序列测序等对代表菌株进行鉴定, 并对极端嗜盐菌的蛋白酶、淀粉酶、纤维素酶和酯酶活性进行筛选, 同时检测苯酚降解能力。【结果】本研究共获得 1 679 株极端嗜盐菌, 代表菌株 45 株, 隶属于 5 门 14 个属, 古菌数量(70.58%)明显多于细菌, 最优盐浓度生长范围为 18.4%–20.0%。在属水平上, 盐湖中优势类群为古菌的 *Haloterrigena* 属(32.94%)和 *Natrialba* 属(26.03%), 以及细菌的 *Aquisalimonas* 属(9.85%)和 *Aliifodinibius* 属(8.10%)。两盐湖中, 盐度较低的南湖物种丰富度高于七角井盐湖, 古菌物种组成相似, 均以 *Haloterrigena* 属为主; 细菌群落组成有差异, 南湖以 *Aquisalimonas* 属为主, 而七角井以 *Aliifodinibius* 属为主。功能筛选表明, 盐湖中 80% 的嗜盐菌功能筛选至少有一种为阳性, 产淀粉功能酶菌株占 42.58%, 多属于

基金项目: 湛江市科技攻关项目(2021B01374); 国家自然科学基金(31400438); 新疆维吾尔自治区自然科学基金(2021D01C248); 南海海洋生物医药资源研发公共服务平台子项目(XM-202008-01B2)

Supported by the Zhanjiang Science and Technology Entry Program (2021B01374), by the National Natural Science Foundation of China (31400438), by the Natural Science Foundation of Xinjiang Uygur Autonomous Region (2021D01C248) and by the Public Service Platform of Biomedical Resources Research and Development of South China Sea (XM-202008-01B2)

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

Received: 27 February 2022; Revised: 13 April 2022; Published online: 16 May 2022

Natrialba 属。产蛋白酶、纤维素酶和脂肪酶的菌株分别占 9.71%、9.29%和 7.21%，降解苯酚菌株占 11.14%。【结论】本研究揭示了新疆盐湖中可培养极端嗜盐菌的多样性，古菌是优势菌群，细菌种类多样，菌株各类功能酶活性显著，同时，优势的 *Natrialba*、*Haloterrigena*、*Aquisalimonas* 和 *Aliifodinibius* 属菌株均极具应用潜力，可为今后研究应用提供和丰富了菌种资源，具有较大的挖掘潜力。

关键词：嗜盐微生物；极端嗜盐菌；盐湖；功能多样性；高盐环境

Composition and functional diversity of extreme halophiles isolated from two salt lakes in Xinjiang

LI Quanquan¹, WANG Yun^{1*}, WANG Keke², NI Ping³, SUN Peng¹, SU Weiyong¹, ZHANG Biliu¹

1 Life Science and Technology School, Lingnan Normal University, Zhanjiang 524048, Guangdong, China

2 Urumqi Customs Technology Center, Urumqi 830063, Xinjiang, China

3 Morphological Center, Basic Medical College of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, Xinjiang, China

Abstract: [Objective] To investigate the functional characteristics of cultivable extreme halophiles by analyzing the differences of community composition of extreme halophiles in salt lakes with different types of salt formation. **[Methods]** Soil samples were collected from Qijiaoqing Salt Lake (sulfate type) and Nanhu Salt Lake (carbonate type) in Xinjiang, and extreme halophiles were isolated by the dilution plating method. By morphological observation and characteristic analysis, the representative strains were screened. The salt-tolerance of the strains was tested and the 16S rRNA gene sequencing was performed. Functional activities of the extreme halophiles were also detected, including protease, amylase, cellulase and lipase activities as well as phenol degradation ability. **[Results]** A total of 1 679 strains of extreme halophiles were obtained, and 45 representative strains were screened, which belonged to 5 phyla and 14 genera, and the number of archaea (accounting for 70.58%) was significantly more than that of bacteria. The optimal salt concentration for growth was in the range of 18.4%–20.0%. At the genus level, the dominant groups were *Haloterrigena* (32.94%) and *Natrialba* (26.03%) in archaea, and *Aquisalimonas* (9.85%) and *Aliifodinibius* (8.10%) in bacteria. In the two salt lakes, the species richness of Nanhu Salt Lake with lower salinity was higher than that of Qijiaoqing Salt Lake, but the composition of archaea species was similar, mainly *Haloterrigena*. There were differences in bacterial community composition; specifically, *Aquisalimonas* was dominant in Nanhu Salt Lake, while *Aliifodinibius* was dominant in Qijiaoqing Salt Lake. Functional diversity screening showed that the total positive rate was 80%, and 42.58% of the strains produced amylase and were classified into *Natrialba*. Extreme halophiles producing protease, cellulase and lipase accounted for 9.71%, 9.29% and 7.21%, respectively, and phenol degrading strains occupied 11.14%. **[Conclusion]** This study revealed the diversity of cultivable extreme halophiles in Xinjiang salt lakes. Archaea was the dominant group and there were also diverse bacterial species, displaying significant activity of

various functional enzymes. Additionally, the dominant *Natrialba*, *Haloterrigena*, *Aquisalimonas* and *Aliifodiniibius* had great application potential, which could enrich bacterial resources for future research and application, and were worthy mining.

Keywords: halophilic microorganisms; extreme halophiles; salt lake; functional diversity; hypersaline ecosystems

嗜盐菌(halophile)是一类能够在高盐环境中生存、繁殖的特殊微生物,广泛分布于细菌、古菌和真核生物中^[1]。在盐湖、盐矿、盐沼等高盐环境中,根据对盐耐受性的划分,中度嗜盐菌(0.5–2.5 mol/L)和极端嗜盐菌(2.5–5.2 mol/L)是优势类群,包括细菌和古菌^[2]。嗜盐菌有着独特的盐耐受机制,例如盐杆菌具有吸收外部的钾离子而向胞外排放钠离子的能力,从而适应了高盐环境。有些菌还表现出代谢的多样性,如有氧和无氧的光养菌、好氧化学有机异养菌和化能无机自养菌、发酵菌、反硝化菌、硫酸盐还原菌、产甲烷菌和乙酸菌等^[3],不同类群嗜盐微生物应对高盐环境采用了不同的适应策略^[4],体现了嗜盐菌为适应极端环境所具有的顽强生命力。

目前,国内外学者对各类盐环境中的轻度、中度嗜盐细菌研究较多,而对极端嗜盐菌的关注较少,对极端嗜盐菌的研究又多集中于嗜盐古菌。目前研究的极端嗜盐细菌主要分布在 *Proteobacteria*、*Firmicutes* 和 *Actinobacteria* 门^[5],如 *Halomonas*、*Alteribacillus*、*Gracilibacillus*、*Aquisalimonas* 等属^[6–7]。古菌是极端嗜盐菌中的优势类群,现有类群大都属于 *Euryarchaeota* 门,作为盐环境的土著类群,嗜盐菌驱动着盐环境生态系统的生物地球化学循环,在理论研究和应用领域具有重要的研究价值。由于嗜盐菌的耐盐特性,尤其是极端嗜盐菌普遍耐受高达 20% 的盐浓度,使得嗜盐菌有着广泛的应用前景,在应对那些对环境盐浓度要求较高的生

物治理、酶制剂、生物电子和医药工业等领域上均具有极大的利用价值,这些促使着国内外学者不断探索极端嗜盐微生物^[8–9]。

盐湖中蕴藏着丰富的嗜盐菌资源。我国学者陆续发表了多个极端嗜盐古菌新属,如 *Halopiger*、*Halostagnicola*、*Halovivax* 和 *Natronolimnobiis*,并描述了多个新种。崔恒林课题组系统研究了国内西藏改则盐湖^[10]、新疆塔里木盆地^[11]、青海湖盐湖^[12]等盐湖的极端嗜盐古菌,发现极端嗜盐菌种类丰富。新疆有大小盐湖 220 余个,根据盐湖化学类型,新疆的盐湖以硫酸盐型为主,碳酸盐型和氯化物型较少,由于盐湖演化阶段及富含矿质元素的不同,不同类型的干盐湖中极端嗜盐菌种类的差异性还很少有学者关注^[12]。

为研究新疆干盐湖中极端嗜盐菌种群组成,并比较不同成盐类型盐湖中极端嗜盐菌的差异,本研究选取了新疆干盐湖中的七角井盐湖和南湖碱湖为研究对象。郑喜玉等^[13]根据地形地势和盐湖的分布位置,将新疆盐湖区划分成 5 个盐湖分布区。七角井盐湖和南湖碱湖都属于天山山间盆地盐湖区,其中七角井为硫酸盐型盐湖,南湖碱湖为碳酸盐型盐湖^[14]。本文通过平板稀释涂布法,研究新疆这 2 种最具代表性的硫酸盐型盐湖和碳酸盐型盐湖中极端嗜盐菌组成的差异,以及菌株对淀粉、蛋白、纤维素、脂肪、苯酚的功能多样性,同时探讨不同分离培养基对盐湖嗜盐微生物分离的影响。此项研究对于我们认识盐湖这一特殊的极端高

盐环境中微生物物种多样性组成具有重要的意义, 对极端环境微生物资源的开发利用具有潜在的应用价值。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

1.1.1 样品采集

土壤样品于2019年9月采集自新疆七角井盐湖、南湖碱湖。七角井盐湖位于新疆维吾尔自治区哈密市七角井镇, 该盐湖属于硫酸盐型硫酸钠亚型盐湖^[14], 面积40 km², 海拔855.8 m, 属于无湖表卤水的干盐湖, 地理坐标: 91°26'43"E, 43°26'15"N。

南湖碱湖位于哈密市长流水乡境内, 是干盐湖, 属于碳酸盐型盐湖, 地理坐标: 93°50'57"E, 40°27'12"N。

使用样品采集器在每个盐湖采集约0–20 cm深的沉积土样各9份, 分别分装于灭菌的取样袋中, 记上标记, 于–4 °C保存备用。

1.1.2 培养基及培养条件

通过查阅文献, 本研究采用4种培养基NHM、HM、AOM和NOM^[10–11,15]进行嗜盐菌分离培养, 菌株纯化和菌株形态观察采用改良ISP 5培养基^[16], 具体配方如下:

NHM培养基(g/L): 酵母膏 0.05, 蛋白胨 0.25, KCl 5.4, CaCl₂ 0.29, NH₄Cl 0.27, MgSO₄·7H₂O 36, MgCl₂·6H₂O 24, NaCl 184, KH₂PO₄ 0.3, 丙酮酸钠 1, 琼脂 2%, pH 7.0–7.2。

HM培养基(g/L): 酵母膏 1, 蛋白胨 1, KCl 5.4, CaCl₂ 0.29, NH₄Cl 0.27, MgSO₄·7H₂O 36, MgCl₂·6H₂O 24, NaCl 184, KH₂PO₄ 0.3, 琼脂 2%, pH 7.0–7.2。

AOM培养基(g/L): 酵母膏 0.05, 蛋白胨 0.05, KCl 5.4, CaCl₂ 0.29, NH₄Cl 0.27, MgSO₄·7H₂O 36, MgCl₂·6H₂O 24, NaCl 184,

KH₂PO₄ 0.3, 丙酮酸钠 1, 琼脂 2%, pH 7.0–7.2。

NOM培养基(g/L): 酵母膏 0.05, 蛋白胨 0.05, KCl 5.4, CaCl₂ 0.29, NH₄Cl 0.27, MgSO₄·7H₂O 36, MgCl₂·6H₂O 24, NaCl 184, KH₂PO₄ 0.3, 丙酮酸钠 1.0, 硝酸钠 0.5, 琼脂 2%, pH 7.0–7.2。

改良ISP 5培养基(g/L)^[17]: 酵母膏 5, L-门冬酰胺 1, 甘油 10, K₂HPO₄ 1, KNO₃ 5, NaCl 184, 琼脂 2%, pH 7.2–7.5。

1.1.3 主要试剂和仪器

PCR仪, Thermo Fisher Scientific公司; 电泳仪, 六一公司; 凝胶成像分析系统, 上海天能公司; *Taq* 酶, TaKaRa试剂公司; DNA Marker, 生工生物工程(上海)股份有限公司。

1.2 极端嗜盐菌的分离培养与纯化

1.2.1 分离培养

在无菌环境下, 将两盐湖的各9份土壤样品从冰箱取出, 在超净工作台内操作, 各取10 g混合均匀。取5 g土样, 加入已灭菌盛有45 mL水的三角瓶, 振荡0.5 h, 后取1 mL加入已灭菌盛有9 mL水的试管, 样品稀释浓度依次为10⁻¹和10⁻²。振荡混匀后各取100 μL稀释液, 进行稀释涂布平板后置于37 °C培养箱培养6个月。

1.2.2 菌株分离纯化

经过培养, 4种培养基上共计获得1 679个单菌落。根据菌落形态, 挑取不同的单菌落于ISP 5改良平板上用连续划线法进行分离纯化, 直到获得单一纯菌。在ISP 5培养基上, 根据菌落形态与颜色特征不同, 对其进行合并归类, 获得45株代表菌株。将获得的纯菌株保存于20%的甘油中, 置于–80 °C冰箱长期保存。

1.3 代表菌株NaCl浓度生长范围测定

使用ISP 5改良培养基, 对45株代表菌株进行NaCl浓度耐受实验测试, 浓度分别为0、

5%、10%、15%、20%、21%、22%、23%和 25%。

1.4 菌株鉴定

对 45 株代表菌株进行鉴定。菌株基因组 DNA 的提取按照 TaKaRa 试剂盒说明书方法(型号 9769S), 以提取的基因组 DNA 为模板, 细菌利用通用引物 27F (5'-AGAGTTTGATCCTG GCTCAG-3')和 1492R (5'-TACGGTTACCTTGT TACGACTT-3')扩增细菌 16S rRNA 基因。若细菌引物扩增失败便使用古菌引物扩增, 嗜盐古菌 16S rRNA 基因的扩增引物为 20F (5'-ATTCC GGTGATCCTGCCGG-3')和 1452R (5'-AGGAG GTGATCCAGCCGAG-3')。PCR 扩增体系和反应条件参照文献[18]的方法。PCR 产物经 1%琼脂糖凝胶电泳检测合格后, 送至生工生物工程(上海)股份有限公司进行纯化和测序。获得的 16S rRNA 基因序列通过 EzBioCloud (<https://www.ezbiocloud.net/>)数据库^[19], 与模式菌株进行相似性比对, 确定其分类地位, 序列上传至 GenBank 数据库, 登录号为 OM085696-OM085740。

1.5 酶活筛选

在改良 ISP5 培养基中分别添加 1%可溶性淀粉、1%羧甲基纤维素钠、1%脱脂奶粉、1% Tween 80, 分别用来检测菌株是否产有降解淀粉、纤维素、蛋白、吐温的胞外酶^[20]。

1.6 苯酚降解菌筛选

为了探究菌株对苯酚的降解能力, 制作 MP 培养基平板^[21], 划线培养后观察是否有菌落生长。

1.7 两盐湖极端嗜盐菌物种组成及多样性分析

采用 PAST3 软件^[22]对两盐湖的 α 多样性进行分析, 分别计算了 Shannon、Simpson 和 Evenness 指数^[23], Shannon、Simpson 指数越大代表物种丰富度越高, 而 Evenness 指数是衡量

物种在群落中均匀分布的指数。从出菌率和菌群组成比较两盐湖的多样性差异及菌株功能特性。使用 GraphPad Prism (version 8.0)绘制相对丰度图。

2 结果与分析

2.1 菌落形态特征

4 种固体培养基上共形成 1 679 个菌落, 菌落形态均为圆形, 均易挑起, 凸出培养基表面。经测序后发现嗜盐古菌有红、橘红、粉红、淡黄 4 种颜色类型, 嗜盐细菌有淡黄、橘红、白 3 种类型。嗜盐古菌菌落大多数不透明, 少数透明; 嗜盐细菌菌落均大多数透明, 少数不透明。根据菌落的形态与颜色特征, 挑取 45 株形态特征不同的单菌落作为代表菌株进行后续实验, 其中古菌 23 株, 细菌 22 株。

2.2 菌株 NaCl 浓度耐受性

挑选的 45 株代表菌株均能在 5.0%-18.4% NaCl 浓度上生长, 有 20 株菌株的 NaCl 浓度生长范围为 5%-25%, 最优盐浓度范围为 18.4%-20.0%, 是典型的极端嗜盐菌, 具体结果见表 1。

在古菌中, *Haloterrigena* 属可在 0-25%盐浓度生长, 属于耐盐菌, 相比其他古菌耐盐范围广。大部分细菌的耐盐范围为 5%-25% (表 1), 其中 *Alteribacillus* 属菌株耐盐范围最广, 为 0-25%。其余 *Aliifodinibius* 属也有耐盐菌。总之, 分离的菌株耐盐范围普遍较广, 但最适生长盐浓度普遍在 18.4%-20.0%。

2.3 可培养极端嗜盐微生物组成分析

盐湖中共计分离出极端嗜盐古菌 1 185 株 (70.58%), 嗜盐细菌 494 株 (29.42%), 古菌是盐湖中的优势类群(表 2)。通过对 45 株代表菌进行 16S rRNA 基因序列分析, 结果显示, 分离的嗜盐菌隶属于 5 个门 14 个属。

表 1 新疆盐湖 45 株极端嗜盐菌代表菌株分类地位及功能性活性
Table 1 Classification status and functional enzyme activity of extreme halophiles isolated from Xinjiang salt lakes

Kingdom	Phylum	Genus	Strain No.	The closest species	Similarity/ %	Color	NaCl range/%	NaCl optimum/%	Protease	Amylase	Lipase	Cellulase	Phenol
Bacteria	<i>Actinobacteria</i>	<i>Actinopolyspora</i>	5193	<i>Actinopolyspora dayingensis</i> TRM 4064 ^T	99.86	White	5–25	18.4–20	–	–	+	–	+
		<i>Haloactinospora</i>	5130	<i>Haloactinospora alba</i> YIM 90648 ^T	99.45	White	5–25	18.4–20	–	–	–	+	–
		<i>Saccharomonospora</i>	5003	<i>Saccharomonospora paurometabolica</i> YIM 90007 ^T	99.58	White	5–25	18.4–20	–	–	–	–	–
	<i>Rhodothermaeota</i>	<i>Aliifodinibius</i>	5188	<i>Aliifodinibius halophilus</i> 2W32 ^T	97.36	Orange	5–25	18.4–20	–	+	–	–	+
			5400	<i>Aliifodinibius salipaludis</i> WN023 ^T	97.43	Orange	0–18.4	15–18.4	–	–	–	–	+
	<i>Firmicutes</i>	<i>Bacillus</i>	5115	<i>Bacillus aidingensis</i> 17-5 ^T	98.06	White	5–25	18.4–20	–	–	–	–	–
		<i>Gracilibacillus</i>	5138	<i>Gracilibacillus orientalis</i> XH-63 ^T	99.58	White	5–20	15–18.4	–	–	–	+	–
		<i>Alteribacillus</i>	5199	<i>Alteribacillus bidgolensis</i> IBRC-M10614 ^T	98.31	Light yellow	0–25	15–18.4	+	+	–	–	–
			5456	<i>Alteribacillus bidgolensis</i> P4B ^T	99.17	Light yellow	5–25	18.4–20	–	+	+	–	+
	<i>Proteobacteria</i>	<i>Halofilum</i>	5137	<i>Halofilum ochraceum</i> SN213 ^T	97.88	Light yellow	5–25	18.4–20	+	+	+	+	+
		<i>Halomonas</i>	5032	<i>Halomonas elongate</i> DSM 2581 ^T	100.00	Light yellow	5–25	18.4–20	–	–	–	–	–
		<i>Aquisalimonas</i>	5080	<i>Aquisalimonas halophila</i> YIM 95345 ^T	99.44	Light yellow	5–25	18.4–20	–	+	–	–	–
	<i>Archaea</i>	<i>Haloterrigena</i>	5029	<i>Haloterrigena salifodinae</i> ZY19 16S ^T	99.44	Orange	0–25	18.4–20	–	–	–	–	–
			5154	<i>Haloterrigena salina</i> JCM 13891 ^T	99.86	Orange	0–24	18.4–20	–	+	–	–	+

(待续)

(续表 1)

5048	<i>Haloterrigena turkmenica</i> DSM 5511 ^T	98.59	Orange	5-25	18.4-20	-	-	-	-	-
5027	<i>Haloterrigena turkmenica</i> JCM 9101 ^T	98.31	Orange	5-25	18.4-20	-	+	-	-	-
5112	<i>Natrialba aegyptia</i> 40 ^T	99.86	Pink	5-25	18.4-20	-	+	+	-	-
5057	<i>Natrialba aegyptia</i> DSM 12281 ^T	99.72	Pink	5-25	18.4-20	-	+	-	-	-
5122	<i>Natrialba aegyptia</i> JCM 11194 ^T	99.72	Pink	5-25	18.4-20	-	+	+	-	-
5401	<i>Natrialba asiatica</i> DSM 12278 ^T	99.45	Pink	5-25	18.4-20	-	+	-	-	-
5061	<i>Natrialba asiatica</i> JCM 9576 ^T	100.00	Pink	5-25	18.4-20	-	+	-	-	+
5051	<i>Natrialba taiwanensis</i> JCM 9577 ^T	100.00	Pink	5-25	18.4-20	+	+	+	+	-
5021	<i>Natrinema pallidum</i> JCM 8980 ^T	99.86	Light yellow	5-25	18.4-20	-	+	-	-	-
5024	<i>Natrinema salaciae</i> MDB25(T) ^T	97.5	Light yellow	5-18.4	15-18.4	-	-	-	-	-
5180	<i>Natrinema versiforme</i> XF10 ^T	98.34	Light yellow	5-25	18.4-20	-	-	-	+	-
5141	<i>Halalkalicoccus tibetensis</i> DS12 ^T	99.02	Red	5-25	18.4-20	-	-	+	-	-

表 2 菌株分布及数量

Table 2 Distribution and quantity of extreme halophiles

Kingdom	Phylum	Genus	Number	Percentage/%
Archaea	<i>Euryarchaeota</i>	<i>Haloterrigena</i>	553	32.94
		<i>Halalkalicoccus</i>	17	1.01
		<i>Natrialba</i>	437	26.03
		<i>Natrinema</i>	178	10.60
Bacteria	<i>Proteobacteria</i>	<i>Aquisalimonas</i>	140	8.34
		<i>Halomonas</i>	82	4.88
		<i>Halofilum</i>	12	0.71
	<i>Rhodothermaeota</i>	<i>Aliifodinibius</i>	136	8.10
	<i>Firmicutes</i>	<i>Alteribacillus</i>	58	3.45
		<i>Bacillus</i>	36	2.14
		<i>Gracilibacillus</i>	4	0.24
	<i>Actinobacteria</i>	<i>Saccharomonospora</i>	13	0.77
		<i>Haloactinospora</i>	8	0.48
		<i>Actinopolyspora</i>	5	0.30

嗜盐古菌分布于 1 个门 4 个属, *Euryarchaeota* 门菌株占优势, 分别为 *Haloterrigena* (32.94%)、*Natrialba* (26.03%)、*Natrinema* (10.60%) 以及 *Halalkalicoccus* 属 (1.01%)。 *Haloterrigena* 属和 *Natrialba* 属菌株占到总数的 50% 以上, 是该生境的优势属 (表 1)。

嗜盐细菌分布于 4 个门 10 个属, 分别是 *Proteobacteria* 门的 3 个属 *Aquisalimonas* (8.34%)、*Halomonas* (4.88%) 和 *Halofilum* (0.71%) ; *Rhodothermaeota* 门的 *Aliifodinibius* (8.10%) ; *Firmicutes* 门的 3 个属 *Alteribacillus* (3.45%)、*Bacillus* (2.14%) 和 *Gracilibacillus* (0.24%) , 以及 *Actinobacteria* 门的 3 个属 *Saccharomonospora* (0.77%)、*Haloactinospora* (0.48%) 和 *Actinopolyspora* (0.30%)。结果表明, *Aquisalimonas* 属 (8.34%) 和 *Aliifodinibius* 属 (8.10%) 是极端嗜盐细菌的优势菌群 (表 2)。

总体而言, 两盐湖中极端嗜盐古菌占优势, 其中 *Haloterrigena* 属、*Natrialba* 属、*Natrinema* 属菌株和嗜盐细菌中的 *Aliifodinibius* 属、*Aquisalimonas* 属菌株是新疆两盐湖中的优势类群。

2.4 新疆两盐湖可培养极端嗜盐微生物多样性比较

2.4.1 南湖和七角井可培养极端嗜盐菌物种 α 多样性比较

从表 3 可看出, 盐湖极端嗜盐菌丰富度高, 但不均一。总体上南湖中物种多样性、均一性高于七角井。同时, 南湖古菌的物种多样性也高于七角井。此外, 在所采样品总体中 (图 1A), 分离所得的嗜盐细菌 (10 个属) 的物种种类要高于嗜盐古菌 (4 个属)。

2.4.2 南湖和七角井可培养极端嗜盐菌物种组成比较

在南湖土壤样品中分离得到的嗜盐古菌 (图 1A), *Haloterrigena* 属 324 株 (占南湖总菌数的 32.24%), *Natrialba* 属 243 株 (24.18%), *Natrinema* 属 109 株 (10.85%), *Halalkalicoccus* 属 11 株 (0.90%)。从七角井盐湖所分离得到的嗜盐古菌中 (图 1A), *Haloterrigena* 属 229 株 (占七角井分离总数的 33.98%), *Natrialba* 属 194 株 (28.78%), *Natrinema* 属 69 株 (10.24%), *Halalkalicoccus* 属 6 株 (0.59%) 优势物种与南湖同为 *Haloterrigena* 属。

表 3 两盐湖可培养嗜盐菌物种多样性指数

Table 3 Diversity index of culturable halophilic extreme halophiles in two salt lakes

Diversity index	General index		Halophilic archaeae		Halophilic bacteria	
	南湖	七角井	南湖	七角井	南湖	七角井
	Nanhu	Qijiaojing	Nanhu	Qijiaojing	Nanhu	Qijiaojing
Shannon index	1.93	1.82	1.08	1.05	1.80	1.70
Simpson index	0.80	0.78	0.63	0.68	0.79	0.79
Evenness index	0.49	0.47	0.74	0.72	0.60	0.68

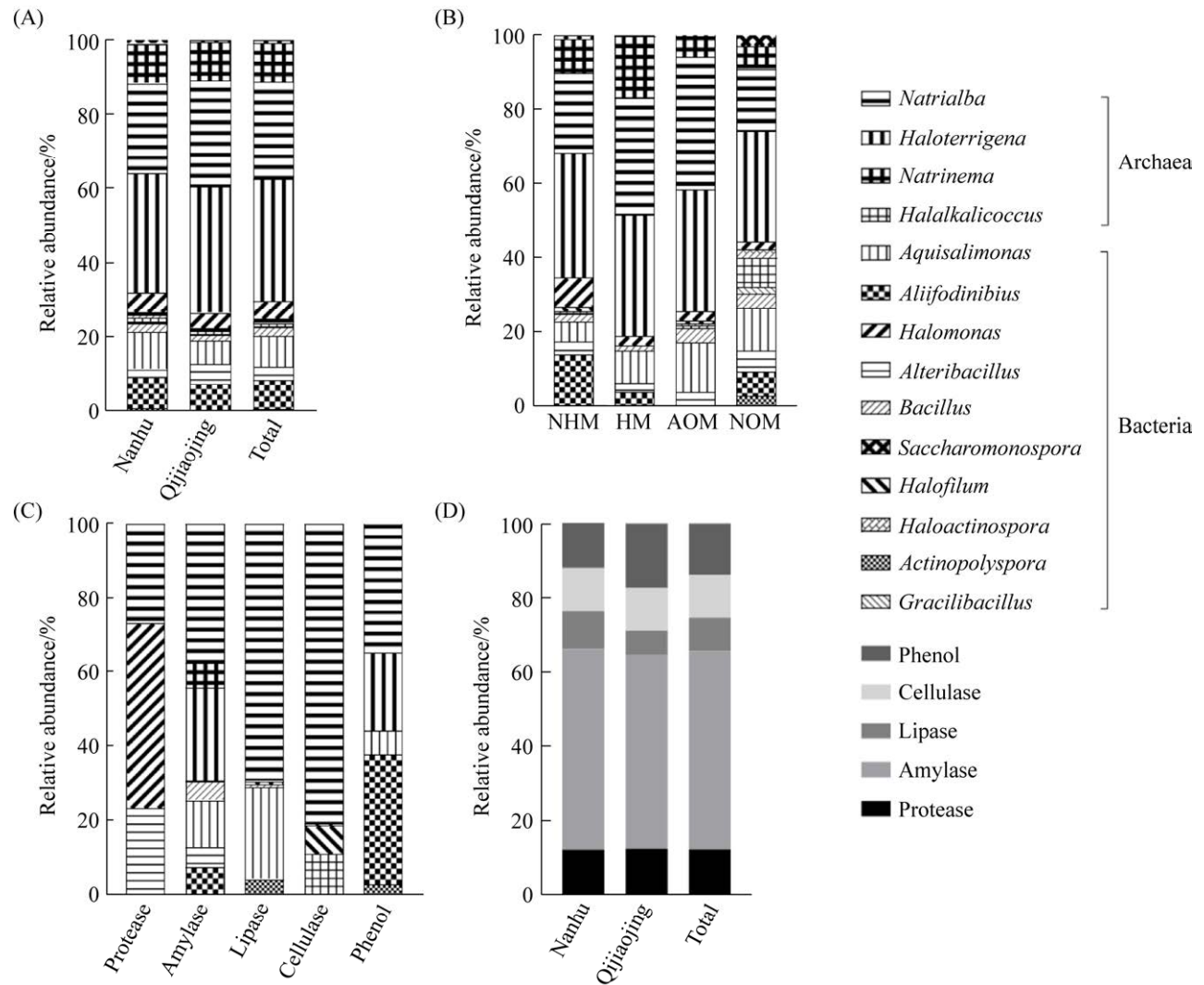


图 1 嗜盐微生物物种分布与功能多样性

Figure 1 Species distribution and functional diversity of extreme halophiles. A: diversity of extreme halophiles in salt lakes; B: diversity composition of extreme halophiles in four media; C: functional diversity of extreme halophiles at different genus level; D: enzyme activity in salt lakes.

总体研究结果显示,在属级水平上,七角井和南湖样品中优势类群差异显著,南湖以 *Aquisalimonas* 属菌株为主,而七角井以 *Aliifodinibius* 属菌株为主。从数量上比较,新疆南湖中的嗜盐菌数量(59.86%)远多于七角井(40.14%);从类群上比较,从新疆南湖分离到嗜盐古菌和嗜盐细菌也都明显多于七角井盐湖;从嗜盐菌组成上比较,2个盐湖的极端嗜盐微生物组成较为相似(图 1A),古菌类群都以 *Haloterrigena* 属为主,细菌都以 *Aquisalimonas* 属和 *Aliifodinibius* 属为主,南湖样品包含了七角井盐湖中嗜盐微生物类群,但在细菌丰度上有差异,南湖还存在一些特有类群,如 *Actinopolyspora*、*Gracilibacillus* 属(图 1A)。

2.5 不同培养基分离效果比较分析

2.5.1 不同培养基筛选可培养极端嗜盐微生物 α 多样性比较

计算 4 种培养基分离菌株的总体、嗜盐古菌和嗜盐细菌的 Simpson 指数和 Shannon 指数如表 4 所示。从数据上看, NOM 培养基的 2 个指数都最高,分离的可培养菌株的物种多样性均高于其余 3 种。此外,在 4 种培养基分离的可培养菌株的物种多样性中,嗜盐细菌的 2 个指数都高于古菌,因此分离所得的细菌的物种

多样性要高于嗜盐古菌。这说明 NOM 培养基很适合用于盐湖中极端嗜盐菌的分离,分离到的极端嗜盐菌无论是古菌还是细菌,多样性都比其余几种培养基丰富。本次 NOM 培养基分离到 5 门、13 个属,除了 *Halofilum* 属没有分到,是一款优秀的培养基(图 1B)。

2.5.2 不同培养基筛选可培养极端嗜盐微生物组成比较

4 种筛选培养基 NHM、HM、AOM 和 NOM 上分别获得菌株 751 株、514 株、234 株和 180 株(表 5), 占总菌株数的 44.73%、30.61%、13.94%和 10.72%。数据表明, NHM 培养基分离出的嗜盐菌数量最多,其次为 HM 培养基。NOM 虽然分离到的数量不多,但多样性丰富。

4 种筛选培养基中, NHM 中酵母膏、蛋白胨相对于 HM 较少,多了 1 g/L 丙酮酸钠,其余配方一致。而 NOM 的成分是在 AOM 的基础上多了硝酸钠。4 种筛选培养基分别获得古菌菌株 484 (40.84%)、416 (35.11%)、176 (14.85%)、109 (9.20%)株。其中,培养基 NHM 分离古菌菌株最多,其次为 HM 培养基,该 2 种培养基更加适合古菌的生长。总体上看,4 种培养基筛选古菌的数量都高于细菌,其中,优势菌 *Haloterrigena* 属和 *Natrialba* 属菌株在 4 种培养

表 4 四种培养基筛选可培养嗜盐菌物种多样性指数

Table 4 Diversity index of culturable extreme halophiles screened from four media

Diversity index	General index				Halophilic archaea				Halophilic bacteria			
	HNM	HM	AOM	NOM	HNM	HM	AOM	NOM	HNM	HM	AOM	NOM
Shannon index	1.89	1.62	1.61	2.18	0.99	1.05	0.95	1.21	1.66	1.43	1.33	1.94
Simpson index	0.80	0.75	0.73	0.85	0.59	0.64	0.57	0.66	0.76	0.70	0.65	0.81

表 5 四种培养基分离菌株数量

Table 5 The number of isolates from four media

Culture medium	NHM	HM	AOM	NOM
All	751 (44.73%)	514 (30.61%)	234 (13.94%)	180 (10.72%)
Archaea	484 (40.84%)	416 (35.11%)	176 (14.85%)	109 (9.20%)
Bacteria	267 (54.05%)	98 (19.84%)	58 (11.74%)	71 (14.37%)

基中都占据优势(图 1B)。4 种筛选培养基分别获得嗜盐细菌 267 (54.05%)、98 (19.84%)、58 (11.74%)、71 (14.37%)株。其中, 培养基 NHM 分离菌株最多, 其次是 HM 培养基, 表明这 2 种培养基对分离极端嗜盐细菌和古菌都是合适的(图 1B)。

在 4 种培养基中基本上都分离到两盐湖的优势菌株, 古菌 *Haloterrigena* 和 *Natrialba* 属, 细菌 *Aquisalimona* 和 *Aliifodinibius* 属菌株。其中, 仅 AOM 培养基没有分离到 *Aliifodinibius* 属菌株。在所分离得到的 14 个属中, 尤其是优势属菌株, 都较多来自 NHM 培养基, HM 培养基次之(图 1B)。

在所获得的菌株中, *Actinopolyspora* 属菌株只被 NOM 培养基分离出来, 其余 3 种培养基上均无该属菌株。而 *Gracilibacillus* 属菌株只被 NOM 和 NHM 培养基筛选, 其余 2 种培养基上没有存在该属菌株。说明培养基对一些极端嗜盐菌类群具有选择性。

2.6 产酶特性

菌株功能性筛选发现, 80%菌株具有功能活性。其中, 产淀粉酶菌株最多(占总功能活性菌株的 53.28%)、其次为产蛋白酶菌株(12.15%)、产脂肪酶菌株(9.02%)、产纤维素酶菌株(11.62%)和降解苯酚菌株(13.92%) (图 1D)。

在细菌中, 44.33%菌株产淀粉酶, 其次为产蛋白酶菌株(24.09%), 最少为产纤维素酶菌(6.07%)。在古菌中, 41.86%菌株产淀粉酶, 其次为纤维素酶(12.07%), 最少为蛋白酶(3.71%)。从结果看, 本研究的产淀粉功能酶的嗜盐细菌最多, 而在古菌中有较多的菌株产纤维素酶, 较少的菌株产蛋白酶, 细菌则反之。因此, 在工业上可以有目的地在细菌或者古菌上选取不同功能菌株。

在两盐湖中, 南湖的产酶微生物资源比七

角井丰富(图 1D), 筛选出降解的淀粉菌株均为最多, 其次是产蛋白酶菌株。其次, 南湖中能同时降解 4 种物质的菌株总数也比七角井要多。因此, 在新疆南湖可以更好地获得在极端盐浓度环境下产功能酶的菌株(图 1D)。

我们还发现在功能阳性菌株中, 有 32%菌株来自 *Natrialba* 属, 该属中有 62%菌株产淀粉酶(图 1C), 证明 *Natrialba* 属中功能性菌株较多, 可为今后研究提供一定的参考。而优势属 *Haloterrigena*、*Natrialba* 等暂时未发现具体的应用, 其潜在价值有待研究者的开发。

2.7 苯酚降解

降解苯酚的菌株分离得 187 株, 占菌株总数的 11.14%。在南湖和七角井都有降解苯酚的菌株, 分别获得 105 株和 82 株。因此, 南湖可以更好地筛选降解苯酚的菌株。其中, 有 44%来自细菌, 有 56%来自古菌(图 1D)。细菌 *Aliifodinibius* 属与古菌 *Natrialba* 属菌株都获得 65 株降解苯酚嗜盐菌, 是本研究中筛选得到降解苯酚菌株最多的属, 该 2 种菌属可为日后生产降解苯酚治理环境污染的菌株做参考指导。

3 讨论与结论

经过半年时间的培养, 共获得 5 个门与 14 个属的极端嗜盐菌。优势类群包括极端嗜盐古菌 *Euryarchaeota* (70.58%)、极端嗜盐细菌 *Proteobacteria* (13.94%)、*Rhodothermaeota* (8.1%)、*Firmicutes* (5.84%)、*Actinobacteria* (1.55%), 包含 *Haloterrigena*、*Natrialba* 等 4 个极端嗜盐古菌类群和 *Aliifodinibius*、*Aquisalimonas* 等 10 个属的极端嗜盐细菌类群, 展示了新疆盐湖丰富的嗜盐微生物多样性。

国内外学者对极端嗜盐菌的研究多集中于嗜盐古菌类群, 而本研究对细菌和古菌同时进行研究。在本研究所分离的嗜盐古菌中, 有

Haloterrigena、*Natrialba* 和 *Natrinema* 等 4 个极端嗜盐古菌类群, *Haloterrigena* 属与 *Natrialba* 属都是新疆七角井盐湖、南湖中的优势类群。依妮皮姑丽·麦麦提依明等^[24]在新疆尉犁县黑湖中发现古菌 *Halorubrum* 等 5 个属, 而 *Haloterrigena* 属与 *Natrialba* 属也是优势古菌类群, 这与本研究结果相同, 而且大部分菌株与其物种典型菌株之间的 16S rRNA 基因序列存在一定的差异, 这表明新疆盐湖中的嗜盐微生物存在丰富的遗传多样性。陈礼楠等^[25]、许文梅^[12]分别在安徽定远盐矿、青海湖也发现古菌 *Haloterrigena* 属菌株与 *Natrialba* 属菌株存在, 但丰度都很低, 并非是优势物种。这说明该 2 属优势菌株并非在各种盐矿生境中均能取得优势地位, 而在新疆两盐湖中的优势地位可能由于其具有比该自然环境中其他属细菌更强的耐盐性。再经过耐盐性研究结果显示, 这 2 种属的菌株物较其他属的细菌具有更强的耐盐性, 能在 25% 盐浓度环境中生存。因此, 这 2 种极端嗜盐古菌比其余菌株能更容易获得以及有望广泛地推广在高盐浓度的工业应用研究上。

在本研究所分离的极端嗜盐细菌, *Aquisalimonas* 属菌株和 *Aliifodinibius* 属菌株均为新疆 2 个盐湖嗜盐细菌的优势物种。陈礼楠等在安徽定远盐矿中也发现有 *Aliifodinibius* 属物种存在, 但并非为优势物种^[25], 同时, 他们获得的嗜盐细菌物种分别来自于 *Pseudomonas*、*Aliifodinibius*、*Halobacillus*、*Halomonas* 和 *Halospina* 等 5 个属。根据本研究得到的数据对其进一步推测, 他们的菌株中或许含有某些极端嗜盐菌, 需要进一步地实验研究。此外, 在国内外其他高盐环境中也有发现 *Aquisalimonas* 属菌株(如国外西班牙的圣塔波拉盐湖、中国的云南的矿盐土壤), 与本

研究结果相同均为优势物种^[26-27]。这说明这 2 个属的菌株对高盐极端环境具有较强的适应能力, 文献报道未发现具体的应用, 它们极大几率在高盐的食品发酵、酶生产、有机物降解有广阔前景以及应用潜力, 这些都有待日后研究者的发掘。而同样在新疆, 向慧平等^[28]在巴里坤、七角井和台特玛盐湖中没有发现该 2 个属的菌株。这也说明了该 2 个属的菌株并非在各种盐矿生境中均能取得优势地位, 也可能是分离培养基的选择性造成的结果。

新疆七角井为硫酸盐型盐湖, 南湖碱湖为碳酸盐型盐湖, 从文献资料中得知, 七角井盐浓度较高(322-358 g/L), 南湖较低(306 g/L)^[14], 南湖出菌数(1 005 株)明显高于七角井(674 株)、嗜盐菌的物种丰富度也高, 说明了盐度是制约物种多样性的关键因素^[29]。南湖中特有的 *Actinopolyspora*、*Gracilibacillus* 属菌株耐盐度也相对较低, 其中 *Gracilibacillus* 属菌株在 5%-20% 盐浓度中可生长。七角井与南湖同属天山山间盆地盐湖区, 虽然两盐湖类型不同, 七角井为硫酸盐型盐湖, 南湖碱湖为碳酸盐型盐湖, 但优势物种类似, 说明地理气候对微生物的分布有重要影响。

在 4 种筛选培养基 NHM、HM、AOM 和 NOM 上分别获得菌株占比为 44.73%、30.61%、13.94%、和 10.72%。其中, 每种培养基上获得的嗜盐古菌数量均高于嗜盐细菌。优势菌株 *Haloterrigena* 和 *Natrialba* 属菌株在 4 种培养基中都占据优势。NHM 与 HM 相比配方几乎一样, 只是 NHM 中酵母膏、蛋白胨相对少了, 却多了丙酮酸钠, 属于寡营养培养基。从总体看, NHM 的物种多样性高于 HM, 并且在 NHM 中分离到的 *Gracilibacillus*、*Haloactinospira*、*Halofilum* 属菌株是 HM 中没有的。另外, NOM

培养基的成分在 AOM 培养基的基础上多了硝酸钠,且在 NOM 中获得了 4 种 AOM 中没有的菌株,分别为 *Actinopolyspora*、*Aliifodinibius*、*Gracilibacillus*、*Saccharomonospora* 属,推测这些属都有潜在的反硝化性能。通过比较物种组成多样性,我们得出 NOM 培养基在总体、嗜盐古菌和嗜盐细菌方面上,Simpson 和 Shannon 指数均为最高,分离的可培养菌株的物种多样性均高于其余 3 种培养基。因此,我们可认为 NOM 培养基对新疆两盐湖的嗜盐菌株筛选效果最好。*Actinopolyspora* 属菌株只被 NOM 培养基筛选获得,而 *Gracilibacillus* 属菌株只被 NOM 和 NHM 培养基筛选得到,这证明了 NOM 培养基在更为适合筛选极端嗜盐菌。极端嗜盐菌在合成的许多其他产品(如细菌视紫红质、酶、多糖、多羟基烷烃酸盐、生物表面活性剂、抗菌剂)和代谢分解过程中(如降解有毒化合物)都已经发现了不同领域的实际与潜在商业用途^[30-33],而极端嗜盐菌株的分离培养是其一用途的至关重要的流程,本研究的 4 种培养基的筛选效果可为今后的菌株筛选培养做参考,极大地方便了极端嗜盐菌的应用探究。

在菌株产酶特性上,我们分别研究了 45 株代表菌株对蛋白、淀粉、脂肪、纤维素、苯酚 5 种物质的利用能力,功能筛选研究结果证明,阳性菌株共 1 342 株,占总体菌株 80%。对蛋白、淀粉、脂肪、纤维素、苯酚有降解能力的菌株分别有 163 (12.15%)、715 (53.28%)、121 (9.02%)、156 (11.62%)、187 (13.92%)株。其中有大部分的菌株都产胞外淀粉酶,这表明了新疆两盐湖可能蕴含大量的在极端盐浓度环境下能产淀粉酶的可培养微生物,这对工业上极端环境的生产、物质提取等提供较好的设计方案。

而在产胞外酶的 1 342 株菌中,有 588 株菌株来自 *Natrialba* 属,且该属菌株大部分都有产淀粉酶。这说明了 *Natrialba* 属中功能性菌株较多,也是产淀粉酶菌株的良好来源菌属。与中嗜盐酶相比,极端嗜盐酶和耐盐性酶在广泛的盐度范围内都有活性,可以用于许多具有挑战性的工业过程,不需要担心高盐浓度会抑制酶转化。如产蛋白酶嗜盐菌 *Halobacterium* sp. SP1(1)在食品生产中作为起始发酵菌用于生产鱼酱油,使其发酵效率提高了 1 倍^[33]。此类菌酶适应盐的特征是蛋白质表面酸性氨基酸过量,疏水氨基酸频率普遍降低^[34-36]。

近年来,极端嗜盐菌的产功能酶特性应用甚广,包括纤维素酶、蛋白酶和脂肪酶在内的几种嗜盐酶被纯化应用,如本研究发现的 *Bacillus* 和 *Halomonas* 属的一些嗜盐菌株因可以产生纤维素降解酶,而被用于纺织品处理、洗涤工业以及食品加工等领域^[37]。同时,*Bacillus* sp. IFO15718 和 *Halomonas* sp. LC6(T)的提取物对细胞的恶性增殖具有较强的抑制活性^[38],*Halobacterium* sp. IBRC M10715 菌株的代谢物对前列腺癌细胞系具有细胞毒性并不伤害正常细胞^[39],说明了嗜盐微生物在癌症预防和治疗上有着一定的应用潜力和研究价值。*Halomonas* sp. TD01 菌株在工业上用于生产聚羟基丁酸酯,进行多种塑料和生物材料的生产^[40]。本研究中的 *Halofilum* 与 *Natrialba* 属相对来说盐浓度生长范围广、产酶多,像这样的菌适应性强,更利于应用。如 *Natrialba taiwanensis* JCM 9577 和 *Halofilum ochraceum* SN213 能在盐浓度 5%–25%范围内生长,并产 4 种功能酶,因此,该类菌株在各方面的研究应用上具有巨大价值。

本研究通过探究新疆两盐湖极端嗜盐菌组

成及功能多样性比较,证明了极端嗜盐菌均具有丰富的物种多样性和功能多样性,可为今后研究应用提供菌种资源库,同时,得到的功能性菌株有望在生物燃料生产^[41]、食品加工^[42]以及有机污染物的生物降解方面提供良好的方法^[43-44]。

参考文献

- [1] Oren A. Diversity of halophilic microorganisms: environments, phylogeny, physiology, and applications. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2002, 28(1): 56–63.
- [2] 崔恒林. 嗜盐古菌分类学研究进展. 微生物学通报, 2016, 43(5): 1113–1122.
Cui HL. Taxonomy of halophilic archaea: a review. *Microbiology China*, 2016, 43(5): 1113–1122. (in Chinese)
- [3] Mcgenity TJ, Oren A. Hypersaline environments. Life at extremes: environments, organisms and strategies for survival. UK: CABI Publishing, 2012.
- [4] Gunde-Cimerman N, Plemenitaš A, Oren A. Strategies of adaptation of microorganisms of the three domains of life to high salt concentrations. *FEMS Microbiology Reviews*, 2018, 42(3): 353–375.
- [5] Oren A. Life in hypersaline environments. In their world: a diversity of microbial environments, advances in environmental microbiology. Switzerland: Springer International Publishing, 2016.
- [6] 淑军, 吕明生, 焦豫良, 刘姝, 房耀维, 黄秋. 一株海洋嗜盐菌 *Halomonas* sp. TN2-3 的分离筛选和鉴定. 计算机工程与应用, 2011, 29(4): 454–457.
Shu J, Lv MS, Jiao YL, Liu S, Fang YW, Huang Q. Isolation, screening and identification of a marine *Halomonas* sp. tn2-3. *International Conference on Machine Intelligence*, 2011, 29(4): 454–457. (in Chinese)
- [7] 陈锐, 李玥, 韩丽萍, 沈俭, 孙晓宇, 路鹏鹏, 门欣, 黄继红, 沈卫荣. 陕西定边盐湖嗜盐菌 A393 的分离及其种属鉴定. 微生物学杂志, 2012, 32(5): 28–31.
Chen R, Li Y, Han LP, Shen J, Sun XY, Lu PP, Men X, Huang JH, Shen WR. Isolation and identification of halophilic bacteria A393 from Dingbian salt lake. *Journal of Microbiology*, 2012, 32(5): 28–31. (in Chinese)
- [8] 赵百锁, 王慧, 毛心慰. 嗜盐微生物在环境修复中的研究进展. 微生物学通报, 2007, 34(6): 1209–1212.
- [9] 庄原, 彭程, 叶波平. 极端微生物及其功能和应用研究进展. 药物生物技术, 2016, 23(5): 442–446.
Zhuang Y, Peng C, Ye BP. Research advances on the functions and applications of extremophile. *Pharmaceutical Biotechnology*, 2016, 23(5): 442–446. (in Chinese)
- [10] 吕真真. 西藏改则盐湖嗜盐古菌多样性与脂质体研究. 江苏大学硕士学位论文, 2018.
- [11] 周瑶. 新疆地区盐碱环境嗜盐古菌多样性与胞外蛋白酶研究. 江苏大学硕士学位论文, 2018.
- [12] 许文梅. 青海和内蒙古盐湖可培养嗜盐古菌多样性及胞外蛋白酶的初步研究. 江苏大学硕士学位论文, 2017.
- [13] 郑喜玉, 张明刚, 徐昶, 李秉孝. 中国盐湖志. 北京: 科学出版社, 2002.
- [14] 郑喜玉, 新疆盐湖. 新疆盐湖. 北京: 科学出版社, 1995.
- [15] 侯靖, 徐佳琪, 李杨, 周瑶, 崔恒林. 一平浪盐矿产蛋白酶嗜盐古菌的鉴定及其酶学性质. 食品工业科技, 2017, 38(23): 124–128, 136.
Hou J, Xu JQ, Li Y, Zhou Y, Cui HL. Identification of halophilic Archaea producing protease from Yipinglang salt mine and its enzymatic properties. *Science and Technology of Food Industry*, 2017, 38(23): 124–128, 136. (in Chinese)
- [16] 唐蜀昆, 姜怡, 职晓阳, 娄恺, 李文均, 徐丽华. 嗜盐放线菌分离方法. 微生物学通报, 2007, 34(2): 390–392.
Tang SK, Jiang Y, Zhi XY, Lou K, Li WJ, Xu LH. Isolation method of halophilic *Actinomycetes*. *Microbiology China*, 2007, 34(2): 390–392. (in Chinese)
- [17] Shirling EB, Gottlieb D. Methods for characterization of *Streptomyces* species. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1966, 16(3): 313–340.
- [18] Feng YZ, Chunyu WX, Liang R, Hahnke RL, Schumann P, Zhao YR, Gao S, Yin M, Ji Y, Sun L, Zhi XY, Tang SK. *Vallicoccus soli* gen. nov., sp. nov., a novel actinobacterium isolated from soil, and description of *Vallicoccaceae* fam. nov., *Motilibacterales* ord. nov. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2020, 113(12): 2155–2165.
- [19] 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. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2017, 67(5): 1613–1617.
- [20] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册. 北京: 科学出版, 2001.
- [21] 王芸, 倪萍, 蒋刚强, 黄玲, 唐蜀昆, 包慧芳. 新疆艾丁湖中度嗜盐苯酚降解菌多样性研究. *微生物学杂志*, 2018, 38(4): 18–24.
Wang Y, Ni P, Jiang GQ, Huang L, Tang SK, Bao HF. Diversity of moderately halophilic phenol-degrading bacteria from ayding lake Xinjiang. *Journal of Microbiology*, 2018, 38(4): 18–24. (in Chinese)
- [22] Hammer O, Harper D, Ryan P. PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*, 2001, 4(1): 9.
- [23] Hill TCJ, Walsh KA, Harris JA, Moffett BF. Using ecological diversity measures with bacterial communities. *FEMS Microbiology Ecology*, 2003, 43(1): 1–11.
- [24] 依妮皮姑丽·麦提依明, 迪丽拜尔·托乎提, 阿依安·布胡达西, 果海尔·克热木. 新疆尉犁县黑湖嗜盐嗜碱菌的分离及系统发育学分析. *微生物学通报*, 2016, 43(12): 2601–2608.
Henipigul M, Dilbar T, Ayan B, Goher K. Isolation and phylogenetic analysis of haloalkalophilic bacteria in the black lake of Yuli County in Xinjiang. *Microbiology China*, 2016, 43(12): 2601–2608. (in Chinese)
- [25] 陈礼楠, 李峰, 孙思琪, 许瑶, 陈绍兴. 安徽定远盐矿可培养嗜盐微生物多样性. *微生物学通报*, 2019, 46(9): 2186–2197.
Chen LN, Li F, Sun SQ, Xu Y, Chen SX. Species diversity of culturable halophilic microorganisms isolated from Dingyuan salt mine, Anhui. *Microbiology China*, 2019, 46(9): 2186–2197. (in Chinese)
- [26] Carmen ID, Cristina SP, Antonio V. *Aquisalimonas lutea* sp. nov., a moderately halophilic bacterium from a saltern. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2015, 65(4): 1354–1359.
- [27] Zhang YJ, Jia M, Ma YC, Lu KY, Tian F, Klenk HP, Zhou Y, Tang SK. *Aquisalimonas halophila* sp. nov., a moderately halophilic bacterium isolated from a hypersaline mine. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2014, 64(7): 2210–2216.
- [28] 向慧平, 关统伟, 赵顺先, 张习超, 欧梦莹, 林宜锦, 王鹏昊. 新疆巴里坤、七角井和台特玛盐湖沉积物中免培养放线菌群落组成与离子成分分析. *微生物学通报*, 2018, 45(6): 1228–1236.
- Xiang HP, Guan TW, Zhao SX, Zhang XC, Ou MY, Lin YJ, Wang PH. Actinobacterial community and ionic composition in sediment of Xinjiang saline lakes: Barkol, Qijiaoqing and Taitema. *Microbiology China*, 2018, 45(6): 1228–1236. (in Chinese)
- [29] Tang X, Xie G, Shao K, Tian W, Gao G, Qin B. Aquatic bacterial diversity, community composition and assembly in the semi-arid Inner Mongolia Plateau: combined effects of salinity and nutrient levels. *Microorganisms*, 2021, 9(2): 208.
- [30] Liu C, Baffoe DK, Zhan Y, Zhang M, Li Y, Zhang G. Halophile, an essential platform for bioproduction. *Journal of Microbiological Methods*, 2019, 166: 105704.
- [31] Yin J, Chen JC, Wu Q, Chen GQ. Halophiles, coming stars for industrial biotechnology. *Biotechnology Advances*, 2015, 33(7): 1433–1442.
- [32] Giani M, Garbayo I, Vilchez C, Martínez-Espinosa RM. Haloarchaeal carotenoids: healthy novel compounds from extreme environments. *Marine Drugs*, 2019, 17(9): 524.
- [33] Corral P, Amoozgar MA, Ventosa A. Halophiles and their biomolecules: recent advances and future applications in biomedicine. *Marine Drugs*, 2020, 18(1): 33.
- [34] Akolkar AV, Durai D, Desai AJ. *Halobacterium* sp. SP1 (1) as a starter culture for accelerating fish sauce fermentation. *Journal of Applied Microbiology*, 2010, 109(1): 44–53.
- [35] Tadeo X, López-Méndez B, Trigueros T, Laín A, Castaño D, Millet O. Structural basis for the aminoacid composition of proteins from halophilic archaea. *PLoS Biology*, 2009, 7(12): e1000257.
- [36] Siglioccolo A, Paiardini A, Piscitelli M, Pascarella S. Structural adaptation of extreme halophilic proteins through decrease of conserved hydrophobic contact surface. *BMC Structural Biology*, 2011, 50: 11.
- [37] 郝闯, 唐兵, 唐晓峰. 嗜盐微生物的工业应用研究及进展. *生物资源*, 2019, 41(4): 281–288.
Hao C, Tang B, Tang XF. Recent progress in industrial application of halophiles. *Biotic Resources*, 2019, 41(4): 281–288. (in Chinese)
- [38] Sarvari S, Seyedjafari E, Amoozgar MA, Bakhshandeh B. The effect of moderately halophilic bacteria supernatant on proliferation and apoptosis of cancer cells and mesenchymal stem cells. *Cellular and Molecular Biology: Noisy Le Grand, France*, 2015, 61(3): 30–34.

- [39] Safarpour A, Ebrahimi M, Shahzadeh FSA. Supernatant metabolites from halophilic archaea to reduce tumorigenesis in prostate cancer *in vitro* and *in vivo*. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2019, 18(1): 241–253.
- [40] Tan D, Xue YS, Aibaidula G. Unsterile and continuous production of polyhydroxybutyrate by *Halomonas* TD01. *Bioresource Technology*, 2011, 102(17): 8130–8136.
- [41] Amoozegar MA, Safarpour A, Noghabi KA, Bakhtiary T, Ventosa A. Halophiles and their vast potential in biofuel production. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 1895.
- [42] Cai ZW, Ge HH, Yi ZW, Zeng RY, Zhang GY. Characterization of a novel psychrophilic and halophilic β -1,3-xylanase from deep-sea bacterium, *Flammeovirga pacifica* strain WPAGA1. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 118(Pt B): 2176–2184.
- [43] Le Borgne S, Paniagua D, Vazquez-Duhalt R. Biodegradation of organic pollutants by halophilic bacteria and archaea. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 2008, 15(2/3): 74–92.
- [44] Fathepure BZ. Recent studies in microbial degradation of petroleum hydrocarbons in hypersaline environments. *Frontiers in Microbiology*, 2014, 5: 173.

王芸, 博士, 岭南师范学院副研究员, 毕业于上海交通大学微生物学专业。主要从事嗜盐菌资源挖掘, 分类与系统学研究, 关注不同盐环境嗜盐菌的生态适应机制及功能特性。目前累计发表嗜盐菌新属 3 个, 新种 28 个。主持国家自然科学基金 1 项、获得发明专利 2 项。在 *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* (IJSEM)、*Antonie van Leeuwenhoek*、*Arch Microbiology*、*Scientific Report*、*mSystems*、*Chemosphere* 等期刊上发表论文 20 余篇。

