

## 研究报告

## 西藏扎布耶盐碱湖细菌的多样性与分离菌株的生长特性

陶宇杰<sup>1</sup>, 舒志万<sup>1</sup>, 郭敏<sup>1</sup>, 高翔<sup>1</sup>, 王嵘<sup>1</sup>, 沈国平<sup>1</sup>, 韩睿<sup>2</sup>, 朱德锐<sup>\*1</sup>

1 青海大学医学院基础医学研究中心, 青海 西宁 810016

2 青海大学农林科学院 青海省蔬菜遗传与生理重点实验室, 青海 西宁 810016

陶宇杰, 舒志万, 郭敏, 高翔, 王嵘, 沈国平, 韩睿, 朱德锐. 西藏扎布耶盐碱湖细菌的多样性与分离菌株的生长特性[J]. 微生物学通报, 2023, 50(12): 5286-5299.

TAO Yujie, SHU Zhiwan, GUO Min, GAO Xiang, WANG Rong, SHEN Guoping, HAN Rui, ZHU Derui. Bacterial diversity and growth characteristics of isolates from Zabuye Lake, Xizang[J]. Microbiology China, 2023, 50(12): 5286-5299.

**摘要:**【背景】扎布耶湖位于青藏高原地区, 是以水体中富含高浓度  $\text{CO}_3^{2-}$ 、 $\text{HCO}_3^-$  和  $\text{Na}^+$  为显著特性的盐碱湖, 因其地理位置高寒、高海拔, 人迹罕至, 涉及该盐湖微生物的研究相对较少。

【目的】系统探究湖水中细菌多样性和菌种资源等, 发掘可利用的潜在菌种。【方法】采用 Illumina 测序 16S rRNA 基因 V3-V4 区分析扎布耶湖细菌的群落结构组成、物种多样性特征; 采用纯培养筛选分离可培养细菌, 明确分离菌株分类学地位、生长特性及产酸能力, 同时测定分离菌株四氢嘧啶(ectoine)、吲哚乙酸(3-indoleacetic acid, IAA)和胞外聚合物(extracellular polymeric substances, EPS)的积聚量。【结果】Illumina 测序明确分类地位的细菌有 21 门 44 纲 86 目 583 属, 其中优势门类群是变形菌门(*Proteobacteria*, 25.11%–67.60%)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*, 4.84%–35.02%)和厚壁菌门(*Firmicutes*, 1.24%–11.01%), 优势属类群是克雷伯氏菌属(*Klebsiella*, 0.01%–9.53%)、盐单胞菌属(*Halomonas*, 0.54%–8.75%)、芽单胞菌属(*Gemmatimonas*, 2.39%–6.00%)和腈基降解菌属(*Nitriliruptor*, 1.27%–6.26%)。纯培养法筛选获得嗜盐碱菌 38 株, 其中芽孢杆菌属(*Bacillus*) 23 株(60.53%)和盐单胞菌属(*Halomonas*) 10 株(26.32%), 菌株均具有耐盐碱和产酸能力(19.80%–29.68%)。大多数菌株能积聚四氢嘧啶、IAA 和 EPS, 产量范围分别为 1.36–175.59、0.27–8.69 和 0.02–0.22 g/g。

【结论】扎布耶湖细菌群落结构与其他地区盐碱湖相似, 但存在大量未明确分类学地位的细菌, 分离菌株多具有耐盐碱及产酸特性。此外, 还发现 4 株高效生产四氢嘧啶、3 株生产吲哚乙酸和 3 株生产胞外聚合物的潜力菌株, 为扎布耶盐湖微生物资源的开发利用奠定了基础。

**关键词:** 扎布耶湖; 细菌多样性; 高通量测序; 纯培养法; 次级代谢物

资助项目: 国家自然科学基金(32260019); 青海省基础应用研究计划(2022ZJ771); 青海大学青年科研基金(2020-QNY-5)  
This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32260019), the Basic and Applied Research Program of Qinghai Province (2022ZJ771), and the Youth Research Fund of Qinghai University (2020-QNY-5).

\*Corresponding author. E-mail: zhuderui2005@126.com

Received: 2023-05-12; Accepted: 2023-07-22; Published online: 2023-09-14

## Bacterial diversity and growth characteristics of isolates from Zabuye Lake, Xizang

TAO Yujie<sup>1</sup>, SHU Zhiwan<sup>1</sup>, GUO Min<sup>1</sup>, GAO Xiang<sup>1</sup>, WANG Rong<sup>1</sup>, SHEN Guoping<sup>1</sup>, HAN Rui<sup>2</sup>, ZHU Derui<sup>\*1</sup>

1 Research Center of Basic Medical Sciences, Medical College, Qinghai University, Xining 810016, Qinghai, China

2 Qinghai Province Key Laboratory of Vegetable Genetics and Physiology, Academy of Agriculture and Forestry, Qinghai University, Xining 810016, Qinghai, China

**Abstract:** **[Background]** Zabuye Lake located in the Qinghai-Xizang Plateau in China is characterized by high concentrations of  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{HCO}_3^-$ , and  $\text{Na}^+$ . Due to the alpine climate, high altitude, and the location off the beaten track, few studies have been conducted on the microorganisms of Zabuye Lake. **[Objective]** To systematically explore the bacterial diversity and mine valuable strains in Zabuye Lake. **[Methods]** Illumina sequencing of the 16S rRNA gene V3–V4 region was carried out to analyze the bacterial community structure and diversity in Zabuye Lake. The pure culture method was used to isolate the culturable bacterial strains, and the taxonomic status, growth characteristics, and alkali-degrading capacity of the isolates were determined. Furthermore, the accumulation of ectoine, indole acetic acid (IAA), and extracellular polymeric substances (EPS) was determined for the isolates. **[Results]** Illumina sequencing yielded 583 genera of bacteria belonging to 86 orders, 44 classes, and 21 phyla. The dominant phyla were *Proteobacteria* (25.11%–67.60%), *Bacteroidetes* (4.84%–35.02%), and *Firmicutes* (1.24%–11.01%), and the dominant genera were *Klebsiella* (0.01%–9.53%), *Halomonas* (0.54%–8.75%), *Gemmatimonas* (2.39%–6.00%), and *Nitriiliruptor* (1.27%–6.26%). A total of 38 strains of haloalkaliphilic bacteria were isolated, including 23 (60.53%) strains of *Bacillus* and 10 (26.32%) strains of *Halomonas*. All the strains showed salinity tolerance and alkali-degrading capacity (19.80%–29.68%). Most strains were able to accumulate ectoine, IAA, and EPS with the yields of 1.36–175.59 mg/L, 0.27–8.69 mg/L, and 0.02–0.22 g/g, respectively. **[Conclusion]** The bacterial community structure of Zabuye Lake is similar to that of other saline lakes, while there are a large number of undefined bacteria taxa. Most of the strains isolated from Zabuye Lake have salinity tolerance and alkali-degrading capacity. In addition, 4, 3, and 3 potential strains for the efficient production of ectoine, IAA, and EPS, respectively, were identified. This study lays a foundation for the development and utilization of microbial resources and saline environment improvement in Zabuye Lake.

**Keywords:** Zabuye Lake; bacterial diversity; high-throughput sequencing; pure culture method; secondary metabolites

盐碱湖又称苏打湖, 属于碳酸型盐湖, 以水体富含高浓度  $\text{CO}_3^{2-}$ 、 $\text{HCO}_3^-$  和  $\text{Na}^+$  为显著特征<sup>[1]</sup>, 主要类型包括 3 种: 高碳酸盐型(盐度大

于 290 g/L)、中碳酸盐型(盐度 80–290 g/L)和弱碳酸盐型(盐度 1–80 g/L)<sup>[2]</sup>。世界范围内分布着诸多不同特征型的盐碱湖, 如西班牙的 Eras

Lake (富含高浓度氯化物和碳酸盐)、Alttillo Chica Lake (富含  $Mg^{2+}$ , 盐度 200–300 g/L)、印度的 Sambhar Salt Lake (富含  $Na^+$  和  $Cl^-$ ) 和美国的 Mono Lake (盐度 90 g/L, pH 9.8) 等<sup>[3-5]</sup>。盐碱湖生境中常栖息多种嗜盐碱微生物(如细菌、古菌、真菌和藻类等), 可能参与地质化学碳、氮和硫等重要元素的物质循环<sup>[6-10]</sup>。文献综合分析显示, 盐碱湖的优势类群多分布于变形菌门(*Proteobacteria*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*)及放线菌门(*Actinobacteria*); 优势属群是碱性杆菌属(*Alkalibacillus*)、盐单胞菌属(*Halomonas*)及盐红菌属(*Halorubrum*)等, 但因不同盐碱湖的水化学特征差异, 各类群的相对丰度可能存在差异<sup>[11]</sup>。

扎布耶盐碱湖(83°57′–84°15′E, 31°27′–31°34′N)位于青藏高原西藏日喀则地区, 地处高寒、偏僻地域, 水体富集扎布耶石、钾石盐、钾芒硝、氯碳钠镁石和天然碱等(矿化度 243–396 g/L, pH 9.0–9.5)<sup>[12]</sup>。Zheng<sup>[2]</sup>最早对扎布耶湖的嗜盐菌和盐藻等进行研究, 并在该区域首次发现了大量天然盐杆菌类和嗜盐藻类; Zhang 等<sup>[13]</sup>曾筛选出一株能高效分泌葡萄糖甘露聚糖酶的嗜盐碱芽孢杆菌 BG-CS10; Xue 等<sup>[14]</sup>和 Fan 等<sup>[15]</sup>曾分别筛选获得嗜盐菌新种西藏耐盐碱球菌(*Halalkalicoccus tibetensis*)和西藏盐红菌(*Halorubrum tibetense*), 这 2 株菌在盐杆菌科形成了一个独特的进化谱系。目前, 涉及扎布耶盐碱湖微生物的多样性及资源应用的系统研究相对较少, 有待系统探究。鉴于此, 本研究以扎布耶盐碱湖为研究对象, 借助高通量测序法和纯培养法, 深入揭示扎布耶盐碱湖细菌的物种多样性与理化特征, 并筛选可高效积聚四氢嘧啶(ectoine)、吲哚乙酸(3-indoleacetic acid, IAA)和胞外聚合物(extracellular polymeric substances, EPS)等化合物以及具有产酸能力的潜力菌株,

为后续盐碱湖泊细菌资源的挖掘与有效利用提供了参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 样品

2019年7月中旬采集扎布耶湖(83°57′–84°15′E, 31°27′–31°34′N)的沉积物样本共计 4 个, 即 Zb1 (83°98′E, 31°35′N)、Zb2 (83°95′E, 31°29′N)、Zb3 (84°01′E, 31°26′N)和 Zb4 (84°06′E, 31°32′N), 浑浊状态, 各样点间距 >100 m, 海拔 4 379 m, 采样深度为 10–25 cm, 温度约 19.3 °C。样本全部储存于 4 °C 车载冰箱, 带回实验室备用。

#### 1.1.2 主要试剂和仪器

NaCl 等分析纯, 天津大茂公司; *Taq* DNA 聚合酶, Thermo Scientific 公司; 细菌全基因提取试剂盒, TransGen Biotech 公司; 0.22 μm 聚醚砜醋酸纤维膜, 默克公司。PCR 仪, Bio-Rad 公司; MiSeq 系统, Illumina 公司; 高效液相色谱 (high performance liquid chromatography, HPLC), 安捷伦公司。

### 1.2 理化性质测定

试验样品的离子特征参数( $Na^+$ 、 $K^+$ 、 $Ca^{2+}$ 、 $Mg^{2+}$ 、 $Cl^-$ 、 $SO_4^{2-}$ 、 $CO_3^{2-}$  和  $HCO_3^-$ )和总盐度(total salinity, TS)测定采用离子色谱分析方法<sup>[12]</sup>, 由上海微谱化工技术服务有限公司完成。

### 1.3 高通量分析细菌多样性

采用 0.22 μm 聚醚砜醋酸纤维膜真空抽滤 4 个样品, 无菌剪碎滤膜, 参照细菌全基因提取试剂盒说明书提取基因组 DNA, 并分析 DNA 纯度。细菌采用 16S rRNA 基因引物 341F (5′-AC TCCTACGGGAGGCAGCA-3′)和 805R (5′-GGA CTACHVGGGTWTCTAAT-3′)进行 V3–V4 区序列扩增。PCR 反应体系(50 μL): 2×PCR Mix 25 μL, DNA 模板(10–20 ng/μL) 1 μL, 上、下游

引物(10  $\mu\text{mol/L}$ )各 2  $\mu\text{L}$ , ddH<sub>2</sub>O 20  $\mu\text{L}$ 。PCR 反应条件: 94  $^{\circ}\text{C}$  5 min; 94  $^{\circ}\text{C}$  30 s, 55  $^{\circ}\text{C}$  30 s, 72  $^{\circ}\text{C}$  1 min, 35 个循环; 72  $^{\circ}\text{C}$  7 min。使用荧光定量系统检测 PCR 产物, 由生工生物工程(上海)股份公司完成高通量测序。在 97%相似性水平上, 采用 USEARCH v.7.1 软件进行操作分类单元 (operational taxonomic unit, OTU) 聚类, 绘制群落结构组分柱状图(门、纲、目和属)。

#### 1.4 菌株分离和鉴定测序

菌株分离分别采用 5 种培养基进行, 即 Horikoshi-I 培养基<sup>[16]</sup>、OSM 培养基 (Oesterhelt-Stoeckenius medium)<sup>[17]</sup>、高氏 1 号培养基<sup>[18]</sup>、淀粉酪素培养基<sup>[18]</sup>和 ISP4 培养基<sup>[19]</sup>, 分别使用 NaCl 分析纯和 2 mol/L 的 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 溶液调整盐浓度和 pH 值, 固体培养基添加琼脂(16 g/L)。采用上述 5 种固体培养基, 设置盐度为 1.0、1.5 和 2.0 mol/L, 使用 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 溶液调节 pH 9.0。取扎布耶盐湖沉积物样本 200  $\mu\text{L}$  均匀涂布, 37  $^{\circ}\text{C}$  恒温箱培养 48 h。挑取不同形态菌落, 并在对应的固体培养基上划线纯化 3–4 次, 以获得分离的纯培养菌株。参考 Kroll<sup>[20]</sup>、Cao<sup>[21]</sup>和 Zhao 等<sup>[22]</sup>的嗜碱/盐菌分类标准进行菌株分类统计。以接种量 1% 将菌液接种于 Horikoshi-I 培养基中, 37  $^{\circ}\text{C}$ 、180 r/min 培养 12 h 后进行基因组提取和 PCR 扩增(方法同 1.3), 上、下游通用引物采用 27F 和 1492R<sup>[23]</sup>。获得的 16S rRNA 基因序列进行 NCBI 数据库比对(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)确定分类学地位。利用 MEGA v10.0 软件构建系统发育树(采用 neighbor-joining 法, bootstrap 为 1 000)<sup>[23]</sup>。

#### 1.5 菌株生长特性和产酸能力的测定

设置盐浓度梯度范围为 0.0–3.0 mol/L (间隔 0.5), pH 梯度范围 9.0–13.0 (间隔 1.0)。将菌株以 1% 的接种量接入 pH 10.0 的 LB 液体培养

基中, 37  $^{\circ}\text{C}$ 、180 r/min 培养 2 d 后观察菌株生长情况, 并测定 pH 值的变化情况, 菌株的产酸能力采用培养基 pH 的差值与初始 pH 的比值判定。

#### 1.6 菌株产四氢嘧啶、EPS 和 IAA 能力的测定

利用 Horikoshi-I 液体培养基于 37  $^{\circ}\text{C}$ 、180 r/min 培养菌株 48 h 后, OD<sub>600</sub> 检测其生长量和细菌干重, 并利用 HPLC 定量检测四氢嘧啶的胞内积聚量。四氢嘧啶的抽提与定量分析按参考文献[24]进行。HPLC 检测条件: 流动相水:乙腈体积比为 20:80, 检测波长 210 nm, 流速为 1.0 mL/min, 柱压 3.486–4.761 MPa, 柱温 30  $^{\circ}\text{C}$ , 上样量 15  $\mu\text{L}$ 。通过 EPS 重量和菌株干重的比值得出单位重量菌株的 EPS 产量<sup>[25]</sup>: 将初筛得到的耐盐菌株接入产 EPS 菌株发酵培养基<sup>[25]</sup>中, 接种量为 5%, 培养温度为 30  $^{\circ}\text{C}$ , 培养时间为 3 d。3 d 后取 1 mL 发酵液 4 000 r/min 离心 15 min 去除菌体, 菌体 105  $^{\circ}\text{C}$  烘干称重。上清液加入 3 倍体积 95% 乙醇进行醇沉, 4  $^{\circ}\text{C}$  过夜, 混合液 4 000 r/min 离心 30 min, 倒去上清液, 沉淀于 105  $^{\circ}\text{C}$  烘干称重。菌株产 IAA 的能力采用 Salkowski 比色法测定<sup>[25]</sup>, 菌株以 1% 的接种量接入 LB 液体培养基中, 37  $^{\circ}\text{C}$ 、180 r/min 振荡 2 d 后将菌液 10 000 r/min 离心 10 min, 取 1 mL 上清液加入相同体积的 Salkowski 试剂混合均匀, 于黑暗处反应 30 min 后测定溶液在 530 nm 处的吸光值, 通过标准曲线计算培养基中 IAA 的含量。

#### 1.7 NCBI 数据提交

分离的可培养菌株的 16S rRNA 基因序列均提交 NCBI 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), 登录号为 OP223343–OP223409; 高通量 16S rRNA 基因序列登录号为 SAMN35682213–SAMN35682216。

## 2 结果与分析

### 2.1 扎布耶盐碱湖的水化学特征和细菌多样性

采用离子色谱法分析扎布耶盐碱湖样本的水质离子特征,环境样本 Zb 的总盐度为 357.23 g/L,  $\text{CO}_3^{2-}$  和  $\text{HCO}_3^-$  分别为 23.98 g/L 和 20.61 g/L, pH 9.55, 湖水呈碱性,属于碳酸盐型超盐盐碱湖(饱和盐度 > 290 g/L)。通过 MiSeq 测序平台分析扎布耶盐碱湖 4 个样本的微生物多样性,获得细菌总优化序列 234 195 条,碱基平均长度分别为 405 bp。利用 Mothur 软件进行 rarefaction 分析表明,随着测序序列数目的增加,各样本曲线趋向平稳,群落覆盖度指数在 98.6%–99.5% 之间。微生物群落  $\alpha$  多样性分析(表 1)显示:物种丰富度指数 Sobs、Chao1 和 ACE 分别是 843–1 880、1 030.62–2 329.73 和 1 064.25–2 908.87,物种多样性 Shannon 指数和 Simpson 指数分别是 4.45–5.50 和 0.03–0.13。样本 Venn 图(图 1)分析显示,4 个样本的细菌共有属为 100 个,各样本的特有属分别为 26、114、33 和 50 个,说明各样本间的群落结构存在物种分布重叠,又具有差异性分布特点。

### 2.2 扎布耶盐碱湖细菌群落结构分析

通过在 RDP 和 Silva 数据库进行 OTU 注释和比对,分别在门(phylum)、纲(class)、目(order)和属(genus)分类水平上进行群落组成分析,绘

制细菌分类学水平的相对丰度柱状堆积图(图 2, 相对丰度  $\geq 1\%$ ),明确分类学地位的细菌共计 21 门 44 纲 86 目 583 属。在门水平上(图 2A),优势细菌门类群依次是变形菌门(*Proteobacteria*, 25.11%–67.60%)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*, 4.84%–35.02%)、厚壁菌门(*Firmicutes*, 1.24%–11.01%)和放线菌门(*Actinobacteria*, 2.18%–8.43%)。在纲水平上(图 2B),优势细菌纲类群依次是  $\beta$ -变形菌纲(*Betaproteobacteria*, 6.13%–43.34%)、 $\alpha$ -变形杆菌纲(*Alphaproteobacteria*, 14.69%–30.58%)、梭菌纲(*Clostridia*, 1.97%–25.27%)、放线菌纲(*Actinobacteria*, 4.61%–26.11%)和芽孢杆菌纲(*Bacilli*, 1.17%–3.83%)。在目水平上(图 2C),优势细菌目类群依次是海洋螺菌目(*Oceanospirillales*, 1.89%–7.01%)和鞘脂杆菌目(*Sphingobacteriales*, 1.40%–9.15%),且各采样点还存在大量未分类的细菌(unclassified, 32.69%–45.97%)。

在属水平上(图 2D),常见菌属(相对丰度  $\geq 1\%$ )主要有利托菌属(*Litoribacter*)、碱硝化菌属(*Nitrincola*)、噬氢菌属(*Hydrogenophaga*)、梭状单胞菌属(*Gracilimonas*)、克雷伯氏菌属(*Klebsiella*)、班努斯菌属(*Balneola*)、拟盐杆菌属(*Halobacteroides*)、光环菌属(*Halospina*)、莫赫氏菌属(*Moheibacter*)、细小杆菌属(*Parvibaculum*)、鲁布里维尔加属(*Rubrivirga*)、盐刚毛菌属(*Salisaeta*)、

表 1 扎布耶盐碱湖细菌多样性统计分析

Table 1 Statistical analysis of bacterial diversity in Zabuye Lake

Item	Zb1	Zb2	Zb3	Zb4
覆盖率 Coverage	0.995	0.986	0.990	0.989
丰富度指数 Richness index				
Sobs	843	1 880	1 564	1 498
Chao1	1 030.62	2 329.73	2 225.20	2 294.26
ACE	1 064.25	2 475.28	2 588.07	2 908.87
多样性指数 Diversity index				
Shannon	4.45	5.50	4.94	4.74
Simpson	0.13	0.03	0.02	0.03

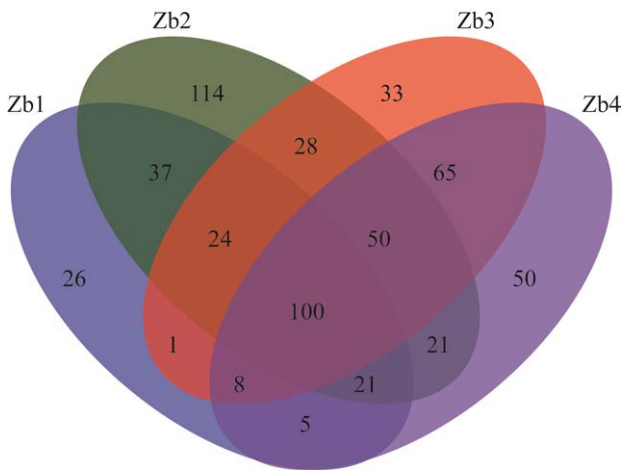


图1 扎布耶盐碱湖不同采样点细菌属类群 Venn 图  
Figure 1 Venn of the bacteria genus at different sampling points of Zabuye Lake.

脱硫杆菌属 (*Dethiobacter*)、海螺菌属 (*Marinospirillum*)、硝杆菌属 (*Nitrolancea*)、廷德氏属 (*Tindallia*)、嗜碱菌属 (*Alkaliphilus*)、马氏菌属 (*Mariniphaga*)、副球菌属 (*Paracoccus*) 和陶厄氏菌属 (*Thauera*)。四个样本的共有优势属是芽单胞菌属 (*Gemmatimonas*)、特珀氏属 (*Truepera*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、尤泽比亚属 (*Euzebya*)、红细菌属 (*Rhodobaca*)、洛克氏菌属 (*Loktanella*)、腈基降解菌属 (*Nitriliruptor*) 和盐单胞菌属 (*Halomonas*)，且各采样点具有大量未分类菌属 (unclassified, 20.98%–54.54%)。此外，样本 Zb1 特有优势属是盐单胞菌属 (*Halomonas*, 3.33%)，样本 Zb2 特有优势细菌属是假单胞菌属 (*Pseudomonas*, 10.99%)，样本 Zb3 特有优势细菌属是莞岛菌属 (*Wandonia*, 7.68%)，样本 Zb4 特有优势细菌属是固氮弓菌属 (*Azonexus*, 12.39%)。

### 2.3 纯培养菌株的鉴定及生长特性

对培养皿中菌落进行形态观察，发现在高氏 1 号培养基、淀粉酪素培养基和改良 ISP4 培养基中，菌落形态多为白色、较小、呈圆形，边缘多具有不规则分枝状，或呈绒毛状，或光

滑，菌落表面略凹陷；在 Horikoshi-I 培养基和 OSM 培养基中，菌落形态多为黄色和白色，呈较大圆形或大型膜泡状，边缘光滑，凸起且湿润。通过 5 种培养基筛选分离获得 38 株细菌，进行 16S rRNA 基因测序和 NCBI BLAST 比对分析，明确分类学地位细菌 3 门 5 属 13 种。优势分离菌属是芽胞杆菌属 23 株 (*Bacillus*, 约占 60.53%) 和盐单胞菌属 10 株 (*Halomonas*, 26.32%)，还包括气球菌属 1 株 (*Aerococcus*, 2.63%)、葡萄球菌属 1 株 (*Staphylococcus*, 2.63%) 以及碱性杆菌属 1 株 (*Alkalihalobacillus*, 2.63%)。参考“嗜盐碱菌”的分类标准 (盐度 > 0.5 mol/L, pH > 8.0)<sup>[21]</sup>，所有分离种均为嗜盐碱菌 (表 2)。结合嗜盐菌和嗜碱菌的具体分类标准<sup>[21-22]</sup> (表 3)，可知中度嗜盐碱菌 8 株 (0.85 mol/L < 盐度 < 1.5 mol/L, pH > 10.0, 21.05%)，极端嗜盐碱菌 30 株 (1.53 mol/L < 盐度 < 5.53 mol/L, pH > 10.0, 78.95%)，分离菌株普遍具有产酸能力 (19.80%–29.68%)。此外，嗜盐碱菌株四氢嘧啶的积聚量 (48 h) 结果显示，四氢嘧啶积聚浓度为 1.36–175.59 mg/L，其中盐单胞菌菌株 ZBG36、ZBG86 和 ZBG48，以及松鼠葡萄球菌 (*S. sciuri*) ZBG21 具有高效的四氢嘧啶积聚潜力，积聚量分别为 175.59、122.76、93.67 和 93.85 mg/L；嗜盐碱菌株 IAA 的积聚量 (48 h) 结果显示 IAA 积聚浓度范围为 0.27–8.69 mg/L，如短小芽孢杆菌 (*B. pumilus*) ZBG20、海恩西芽孢杆菌 (*B. haynesii*) ZBG37 和盐单胞菌 ZBG48 的 IAA 积聚量分别为 7.89、8.38 和 8.69 mg/L；嗜盐碱菌株 EPS 的积聚量 (72 h) 结果显示 EPS 浓度范围为 0.02–0.22 g/g，其中芽胞杆菌 ZBG35、地衣芽孢杆菌 (*B. licheniformis*) ZBG95 和 *Bacterium* ZBG4 具有高效的 EPS 积聚潜力，浓度分别为 0.17、0.18 和 0.22 g/g。

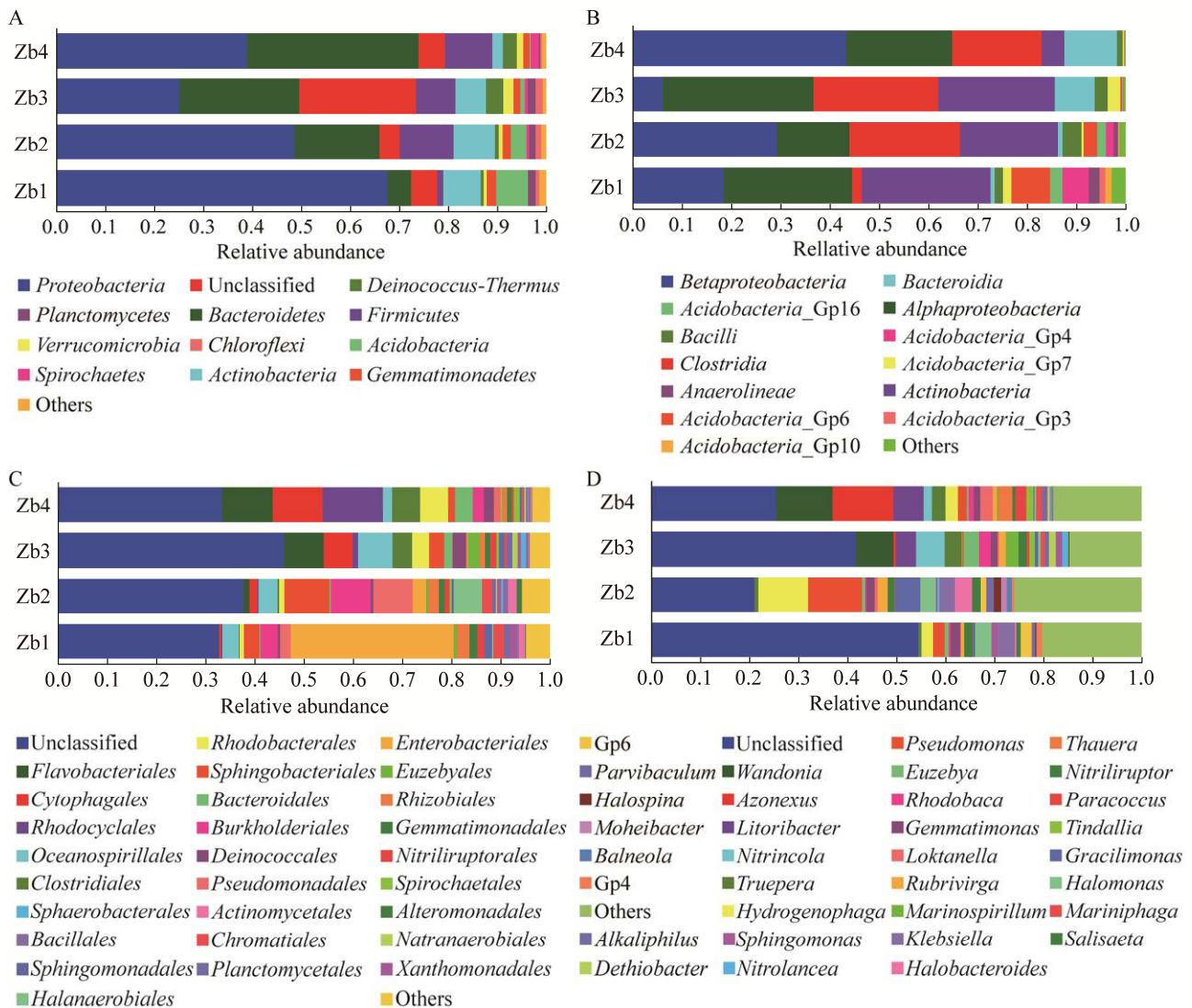


图 2 扎布耶盐碱湖细菌分类学水平的相对丰度统计分析(相对丰度 $\geq 1\%$ )

Figure 2 Statistical analysis of relative abundance of bacterial taxonomy levels in Zabuye Lake (Relative abundance  $\geq 1\%$ ). A: Bacteria phylum. B: Bacteria class. C: Bacteria order. D: Bacteria genus.

表 2 扎布耶盐碱湖优势菌株耐盐耐碱范围和次级代谢物积累量

Table 2 Salt and alkali tolerance range and secondary metabolite accumulation of dominant strains in Zabuye Lake

编号 No.	分类学定位 Taxonomic localization	相似度 Similarity (%)	耐盐范围 Salt tolerance range (mol/L)	耐碱范围 Alkali resistance range	产酸能力 Acid production capacity (%)	Ectoine (mg/L)	IAA (mg/L)	EPS (g/g)
ZBG11	<i>Aerococcus</i> sp.	100.00	0.0–1.5	8.0–12.0	25.58	40.66	ND	0.11
ZBG99	<i>Alkalihalobacillus kiskunsagensis</i>	99.37	0.0–3.0	8.0–11.0	21.44	ND	3.33	0.05

(待续)

(续表 2)

编号 No.	分类学定位 Taxonomic localization	相似度 Similarity (%)	耐盐范围 Salt tolerance range (mol/L)	耐碱范围 Alkali resistance range	产酸能力 Acid production capacity (%)	Ectoine (mg/L)	IAA (mg/L)	EPS (g/g)
ZBG90	<i>Bacillus agaradhaerens</i>	100.00	0.0–3.0	8.0–11.0	21.43	9.24	2.59	0.02
ZBG105	<i>Bacillus haynesii</i>	99.78	0.0–3.0	8.0–10.0	20.16	ND	2.98	0.13
ZBG37	<i>Bacillus haynesii</i>	99.97	0.0–1.0	8.0–11.0	27.90	ND	8.38	0.04
ZBG98	<i>Bacillus horikoshii</i>	99.86	0.0–3.0	8.0–11.0	22.32	6.6	4.20	0.05
ZBG103	<i>Bacillus licheniformis</i>	99.44	0.0–3.0	8.0–11.0	23.58	ND	2.93	0.09
ZBG39	<i>Bacillus licheniformis</i>	99.72	0.0–1.0	8.0–11.0	26.99	22.71	3.52	0.14
ZBG32	<i>Bacillus licheniformis</i>	99.79	0.0–2.5	8.0–12.0	23.81	1.36	3.82	0.04
ZBG95	<i>Bacillus licheniformis</i>	99.86	0.0–3.0	8.0–11.0	21.40	10.71	4.13	0.18
ZBG6	<i>Bacillus licheniformis</i>	99.93	0.0–2.5	8.0–12.0	23.78	46.96	1.07	0.09
ZBG33	<i>Bacillus licheniformis</i>	100.00	0.0–1.5	8.0–12.0	26.39	4.64	4.23	0.06
ZBG69	<i>Bacillus licheniformis</i>	100.00	0.0–3.0	8.0–13.0	24.77	82.27	2.79	0.09
ZBG89	<i>Bacillus licheniformis</i>	100.00	0.0–2.5	8.0–12.0	19.80	89.00	3.07	0.06
ZBG34	<i>Bacillus licheniformis</i>	100.00	0.0–2.5	8.0–12.0	20.94	3.65	3.37	0.05
ZBG38	<i>Bacillus licheniformis</i>	100.00	0.0–2.5	8.0–12.0	21.45	66.83	2.48	0.16
ZBG58	<i>Bacillus licheniformis</i>	100.00	0.0–2.5	8.0–13.0	28.95	86.80	3.37	0.05
ZBG20	<i>Bacillus pumilus</i>	99.79	0.0–2.5	8.0–11.0	22.01	8.56	7.89	0.15
ZBG10	<i>Bacillus pumilus</i>	99.86	0.0–2.5	8.0–12.0	28.38	ND	3.24	0.10
ZBG22	<i>Bacillus pumilus</i>	99.93	0.0–1.5	8.0–12.0	29.62	ND	ND	0.10
ZBG35	<i>Bacillus</i> sp.	99.79	0.0–2.5	8.0–12.0	24.98	7.56	2.03	0.17
ZBG96	<i>Bacillus</i> sp.	99.86	0.0–3.0	8.0–11.0	19.80	ND	0.40	0.11
ZBG1	<i>Bacillus</i> sp.	99.93	0.0–2.5	8.0–12.0	26.49	46.13	4.71	0.06
ZBG9	<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	99.79	0.0–1.0	8.0–12.0	27.71	ND	3.32	0.08
ZBG28	<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	99.86	0.0–1.0	8.0–11.0	23.85	64.65	ND	0.11
ZBG26	<i>Bacterium</i>	99.79	0.0–2.5	8.0–12.0	25.94	23.18	ND	0.10
ZBG4	<i>Bacterium</i>	100.00	0.0–2.0	8.0–12.0	29.61	ND	ND	0.22
ZBG12	<i>Halomonas alkaliphila</i>	100.00	0.0–2.5	8.0–12.0	26.59	39.84	0.39	0.02
ZBG107	<i>Halomonas chromatireducens</i>	99.85	0.0–3.0	8.0–11.0	24.57	9.54	5.13	0.07
ZBG74	<i>Halomonas</i> sp.	99.50	0.0–2.5	8.0–13.0	27.49	85.67	1.61	0.13
ZBG109	<i>Halomonas</i> sp.	99.57	0.0–3.0	8.0–11.0	20.50	9.05	ND	0.10
ZBG48	<i>Halomonas</i> sp.	100.00	0.0–2.0	8.0–13.0	27.84	93.67	8.69	0.04
ZBG3	<i>Halomonas</i> sp.	100.00	0.0–3.0	8.0–12.0	24.67	89.36	1.84	0.05
ZBG46	<i>Halomonas</i> sp.	100.00	0.0–2.5	8.0–12.0	26.33	36.73	ND	0.15
ZBG86	<i>Halomonas</i> sp.	100.00	0.0–2.5	8.0–13.0	29.68	122.76	2.96	0.06
ZBG36	<i>Halomonas</i> sp.	100.00	0.0–2.5	8.0–12.0	24.58	175.59	1.36	0.06
ZBG25	<i>Halomonas</i> sp.	100.00	0.0–2.5	8.0–13.0	29.12	88.53	3.44	0.07
ZBG21	<i>Staphylococcus sciuri</i>	100.00	0.0–1.5	8.0–11.0	29.60	93.85	0.27	0.08

ND: 未检测到

ND: Not detected.



表3 嗜盐碱细菌分类与统计

Table 3 Classification and statistics of haloalkaliphilic

分类	类型	生长特征定义	数量
Classify	Type	Definition of growth characteristics	Quantity
嗜盐类	非嗜盐微生物	生长无需 NaCl	0
Salinophile	Non-halophilic microorganism	NaCl is not required for growth	
	轻度嗜盐微生物	生长需少量 NaCl, 其生长最适 NaCl 浓度为 1%–3% (0.17–0.5 mol/L)	0
	Mildly saline microorganism	A small amount of NaCl is required for growth, and the optimal NaCl concentration for growth is 1%–3% (0.17–0.5 mol/L)	
	中度嗜盐微生物	生长需少量 NaCl, 其生长最适 NaCl 浓度为 5%–10% (0.85–1.7 mol/L)	8
	Moderately saline microorganism	A small amount of NaCl is required for growth, and the optimal NaCl concentration for growth is 5%–10% (0.85–1.7 mol/L)	
	极端嗜盐微生物	生长所需 NaCl 浓度为 9%–32.5% (1.53–5.53 mol/L)	30
	Extreme salinity microorganism	NaCl concentration required for growth is 9%–32.5% (1.53–5.53 mol/L)	
嗜碱类	耐碱微生物	pH 7.0–9.0 生长, pH>9.5 不能生长	0
Alkalophile	Alkali-resistant microorganism	Grows at pH 7.0–9.0, not at pH>9.5	
	嗜碱微生物	pH 10.0–12.0 生长	38
	Alkalophilic microorganism	Grows at pH 10.0–12.0	
	极端嗜碱微生物	最适生长 pH≥10.0, pH 低于 8.9–9.0 不生长	0
	Extremely alkalophilic microorganisms	Optimal growth pH≥10.0, no growth below pH 8.9–9.0	
	兼性嗜碱微生物	能在 2 种或 2 种以上不同环境生长	0
	Parthenogenetic alkalophilic microorganism	Able to grow in two or more different environments	

## 2.4 系统发育树分析

分离优势菌株的系统发育分析表明(图 3):具有明确分类学地位的细菌聚类为 3 个进化分支, 主要归为细菌域的 2 个门, 即厚壁菌门和变形菌门。变形菌门共聚类为 2 个亚进化分支, 如 ZBG86 (OP223383.1)、ZBG48 (OP223381.1)、ZBG3 (OP223377.1)和 ZBG46 (OP223380.1)等菌株与盐单胞菌(*Halomonas* sp.) WB-1 (GU3777269.1)聚类为同一进化分支, 序列相似性为 99.57%–100.00%, 表明进化同源; 菌株 ZBG74 (OP223382.1)单独聚类为同一进化分支, 且仅明确到盐单胞菌属, 可能为潜在新种。厚壁菌门共聚类为 2 个亚进化分支, 即 ZBG11 (OP223343.1)、ZBG4

(OP223373.1)、ZBG32 (OP223353.1)和 ZBG35 (OP223370.1)等菌株与气球菌(*Aerococcus* sp.) SI25 (MN923390.1)等聚类为同一进化分支, 相似性为 99.37%–100.00%, 表明进化同源。ZBG21 (OP223403.1)、ZBG58 (OP223404.1)和 ZBG98 (OP223407.1)聚类为同一进化分支, 相似性为 99.86%–100.00%, 表明进化同源。

## 3 讨论

### 3.1 扎布耶盐碱湖细菌的多样性

盐湖生态学显示, 盐碱湖中具有丰富的微生物群落结构<sup>[26]</sup>, 但是自然界中仅 1%的微生物可以纯培养获得<sup>[27]</sup>, 传统的纯培养法难以准确

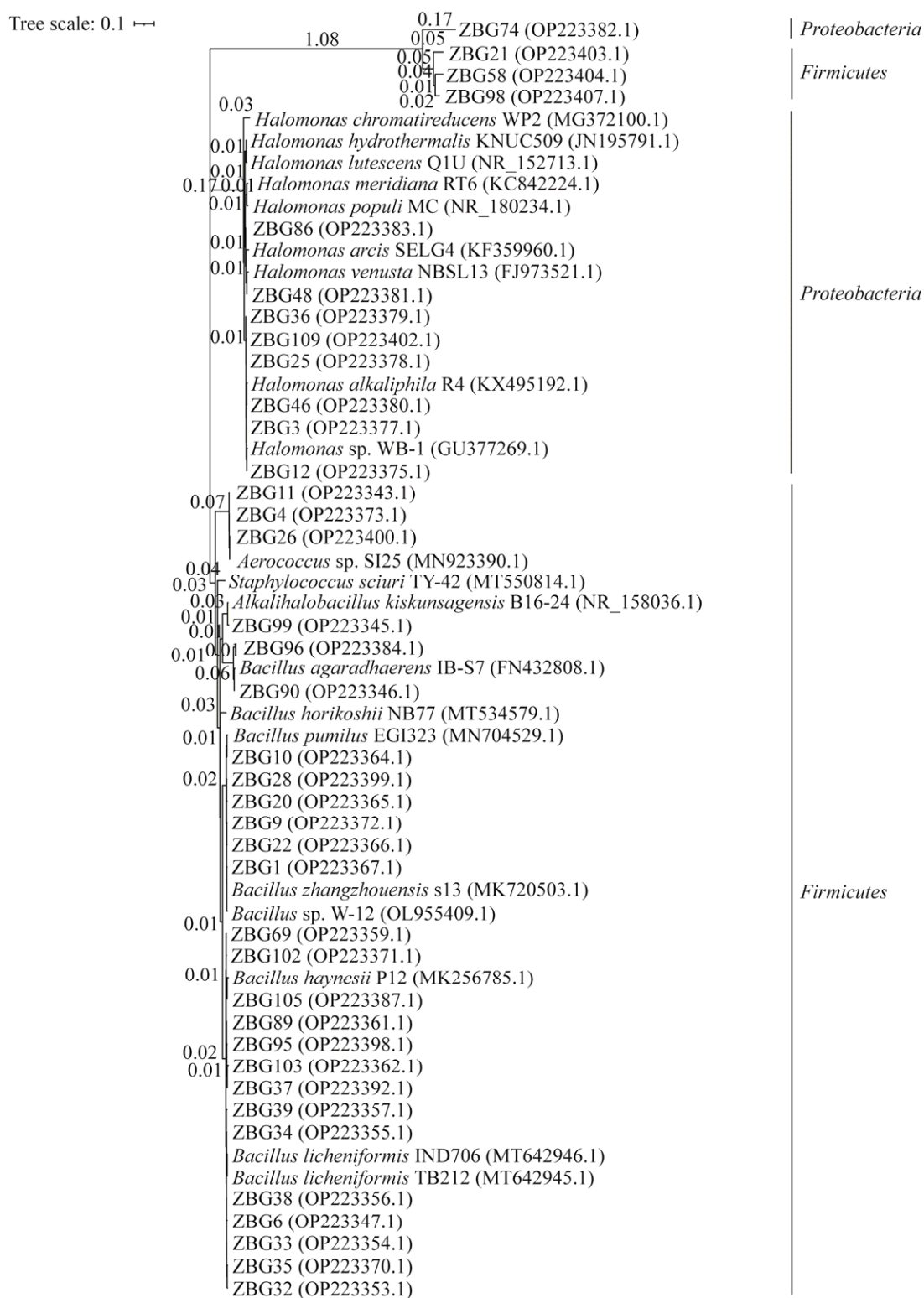


图3 优势菌株系统发育树 分支数字是相对长度. Tree scale: 进化距离

Figure 3 Phylogenetic tree of dominant strains. The branch numbers are the relative lengths. Tree scale: Evolutionary distance.

反映盐碱湖中微生物的群落结构。目前,高通量测序技术是进行微生物多样性分析的有效手段之一,沈国平等<sup>[28]</sup>分析青藏高原碳酸型盐湖的细菌多样性(Shannon 指数 4.69–6.19),表明优势细菌门是变形菌门(相对丰度 39.30%–52.84%)、厚壁菌门(5.77%–41.56%)和拟杆菌门(3.52%–27.01%); Simachew 等<sup>[29]</sup>研究 Abijata Soda Lake (矿化度 34–340 g/L, pH 9.73)的细菌多样性(Shannon 指数 0.11–3.73),表明优势类群是变形菌门(19.5%)和放线菌门(8.2%); Pal 等<sup>[30]</sup>研究 Sambhar Lake (矿化度 130–350 g/L, pH 9.5–10.5)的细菌多样性(Shannon 指数 3.2–4.3),表明优势菌门是变形菌门(8.61%–74.04%)、拟杆菌门(8.27%–44.18%)和厚壁菌门(1.00%–22.54%)。本研究结果显示,扎布耶盐碱湖(矿化度 357.23 g/L, pH 9.55)的优势菌门与世界范围典型盐碱湖的优势菌门相似,即以变形菌门(25.11%–67.60%)和拟杆菌门(4.84%–35.02%)为主,厚壁菌门(1.24%–11.01%)和放线菌门(2.18%–8.43%)次之。值得注意的是,除了克雷伯氏菌属(0.01%–9.53%)、盐单胞菌属(0.54%–8.75%)、芽单胞菌属(2.39%–6.00%)和脲基降解菌属(1.27%–6.26%)等优势属,扎布耶湖中存在大量未明确分类学地位的细菌(20.98%–54.54%),这可能与扎布耶盐碱湖的碳酸盐饱和浓度、高 pH 值以及地理生态位隔离有关。

### 3.2 扎布耶盐碱湖细菌的系统分离与特性研究

分离培养盐碱菌过程中,通常需要混合碳酸盐来维持培养基的碱性 pH<sup>[21]</sup>。孙莹等<sup>[31]</sup>采用 5 种添加 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 培养基从可可西里碱性土壤中分离纯化 4 种盐碱菌,如 Bennette 培养基分离获得游动微菌(*Planomicrobium*)、气球菌(*Aerococcus*)和喜盐地杆菌(*Geomicrobium*); 干酪素-淀粉培养基分离获得库克菌(*Kocuria*)和

芽孢杆菌(*Bacillus*),其中菌株嗜盐喜盐地杆菌(*Geomicrobium halophilum*) CCCC100153 具有利用果糖发酵产酸的能力。孙雪等<sup>[25]</sup>采用添加 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 溶液的 LB 培养基,从沿海盐碱土中获得一株海蓝盐单胞菌(*H. aquamarine*) DB01,该菌株具有产 EPS 和 IAA 以及产酸降碱的特性。陈义光等<sup>[32]</sup>采用添加 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 溶液的 GPY 和 ISP 琼脂培养基,从青海盐碱环境中获得 26 株抗肿瘤阳性菌株,典型代表如拟诺卡氏属(*Nocardopsis*)和链霉菌属(*Streptomyces*)。本研究采用 5 种添加 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 的培养基,筛选获得嗜盐碱菌共计 38 株;优势类群是变形菌门(17.91%)和厚壁菌门(77.61%),优势纲类群是芽孢杆菌纲(77.61%)和  $\gamma$ -变形菌纲(17.91%)。不同培养基因其成分特征造成制约影响,导致其中的菌落形态存在明显差异,如高氏 1 号培养基(碳源为淀粉)中,菌落形态多为白色较小圆形。分离菌株大多数具有较强的耐盐碱和产酸特性,耐受盐度 0.0–2.5 mol/L, pH 适应生长范围 8.0–12.0,产酸能力 19.80%–29.68%。此外,分离菌株大多数具有积聚四氢嘧啶(1.36–175.59 mg/L)、IAA (0.27–8.69 mg/L)和 EPS (0.02–0.22 g/g)的能力。整体而言,Horikoshi-I 培养基的分离效果最好,尤其适用于高盐碱环境样本的细菌分离。

### 3.3 芽孢杆菌的次级代谢物与实际应用

芽孢杆菌属是本次纯培养分离的优势菌属,且大多数菌株具有较强的耐盐碱特性。截至 2023 年 3 月,LPSN 数据库(<https://lpsn.dsmz.de/genus/bacillus>)共计收录芽孢杆菌 625 种典型代表菌株,如地衣芽孢杆菌(*B. licheniformis*)、短小芽孢杆菌(*B. pumilus*)和海恩西芽孢杆菌(*B. haynesii*)等。目前,芽孢杆菌的胞内次级代谢物已被广泛应用于工业、食品及生物医药业等领域(表 4)。例如,在 Khalikova 等<sup>[33]</sup>的综述中,有研究发现芽孢杆菌胞内可能存在 Fe<sup>3+</sup>敏

表 4 芽孢杆菌胞内次级代谢物的主要类型

Table 4 The main types of intracellular secondary metabolites in *Bacillus*

菌株	来源	类型	主要代表化合物	参考文献
Strains	Origin	Type	Mainly representative compounds	References
<i>Bacillus</i> sp.	Soil, water, air	Terpenes and derivatives	Carotenoids, astaxanthin and helixanthin	[33]
<i>B. circulans</i>	Soil, water	Sugars and derivatives	Alginate, glycerol glucoside and mannose	[33]
<i>B. circulans</i>	Soil, water	Organic acid	Formic, acetic and lactic acids	[33]
<i>B. halodurans</i>	Soil, water	Others	Siderophores	[33]
<i>Bacillus</i> sp.	Soil, water, air	Betaine	Betaine and dodecyl betaine	[34]
<i>B. atrophaeus</i>	Salt lake	Surfactant	Lipopeptide	[35]
<i>Bacillus</i> sp.	Soil, water, air	Pyrimidine and derivatives	Ectoine and hydroxyectoine	[35]
<i>Bacillus</i> sp.	Soil, water, air	Enzymes	Proteases, cellulases and amylases	[35]

感的铁载体类代谢物, 也有研究发现芽孢杆菌胞内存在耐碱蛋白酶类。四氢嘧啶作为细胞保护剂和稳定剂, 广泛存在于嗜盐/碱微生物。为了抵抗高盐或高 pH 环境冲击, 耐盐碱细菌的胞内常积聚四氢嘧啶以适应生存<sup>[34]</sup>。Kuhlmann 等<sup>[35]</sup>曾在 13 种芽孢杆菌中发现了 4 种不同的相容溶质, 如四氢嘧啶、脯氨酸、谷氨酸和羟基四氢嘧啶等。本研究中, 大多数分离菌株均可积聚四氢嘧啶、IAA 和 EPS 等化合物, 其中芽孢杆菌属分别为 18 株(62.07%)、21 株(67.74%)和 23 株(60.53%), 如堀越氏芽孢杆菌(*B. horikoshii*)、地衣芽孢杆菌(*B. licheniformis*)、短小芽孢杆菌(*B. pumilus*)和漳州芽孢杆菌(*B. zhangzhouensis*)均能积聚四氢嘧啶、IAA 和 EPS, 积聚量分别为 1.36–89.00 mg/L、0.40–8.38 mg/L 和 0.02–0.18 g/g, 而且这些芽孢杆菌属菌株均具有产酸能力(19.80%–29.62%), 可能具有潜在的开发价值。

## 4 结论

### 4.1 扎布耶盐碱湖细菌的多样性

通过高通量测序明确了扎布耶盐湖(碳酸钠型盐湖)的优势门类群为变形菌门(25.11%–67.60%)、拟杆菌门(4.84%–35.02%)、厚壁菌门(1.24%–11.01%)和放线菌门(2.18%–8.43%), 优

势属类群为克雷伯氏菌属(0.01%–9.53%)、盐单胞菌属(0.54%–8.75%)、芽单胞菌属(2.39%–6.00%)和脒基降解菌属(1.27%–6.26%)等, 并且存在着大量未明确分类学地位的细菌。

### 4.2 扎布耶盐碱湖分离优势细菌的多样性及其特性

本研究利用纯培养法从扎布耶盐湖水体中筛选分离获得 38 株细菌, 16S rRNA 基因测序显示分离优势种属为 *Bacillus* (23 株, 60.52%) 和 *Halomonas* (10 株, 26.32%), 其中 ZBG74 为疑似潜在新种。分离菌株大多具有较强的盐碱耐性以及降碱能力(19.80%–29.62%)。基于菌株次级代谢物的研究发现, 菌株 ZBG86、ZBG36、ZBG48 和 ZBG21 具有高效积聚生产四氢嘧啶(ectoine)的潜力(9.67–175.59 mg/L), 菌株 ZBG20、ZBG37 和 ZBG48 具有高效积聚生产 IAA 的潜力(7.89–8.69 mg/L), 菌株 ZBG35、ZBG95 和 ZBG4 具有高效积聚生产 EPS 的潜力(0.18–0.22 g/g)。本研究为扎布耶盐湖微生物资源的后续开发和利用提供了一定的资料支持。

## REFERENCES

- [1] SOROKIN DY, BANCIU HL, MUYZER G. Functional microbiology of soda lakes[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2015, 25: 88-96.
- [2] ZHENG MP. Discovery and study of halobacteria and

- halophilic algae in the zabuye caka[M]//An Introduction to Saline Lakes on the Qinghai—Tibet Plateau. Dordrecht: Springer Netherlands, 1997: 181-199.
- [3] CABESTRERO Ó, SANZ-MONTERO ME, ARREGUI L, SERRANO S, VISSCHER PT. Seasonal variability of mineral formation in microbial mats subjected to drying and wetting cycles in alkaline and hypersaline sedimentary environments[J]. *Aquatic Geochemistry*, 2018, 24(1): 79-105.
- [4] EDWARDSON CF, HOLLIBAUGH JT. Composition and activity of microbial communities along the redox gradient of an alkaline, hypersaline, lake[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 14.
- [5] KAJALE S, DESHPANDE N, SHOUCHE Y, SHARMA A. Cultivation of diverse microorganisms from hypersaline lake and impact of delay in sample processing on cell viability[J]. *Current Microbiology*, 2020, 77(5): 716-721.
- [6] JONES BF, EUGSTER HP, RETTIG SL. Hydrochemistry of the Lake Magadi basin, Kenya[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1977, 41(1): 53-72.
- [7] JONES BE, GRANT WD, DUCKWORTH AW, OWENSON GG. Microbial diversity of soda lakes[J]. *Extremophiles*, 1998, 2(3): 191-200.
- [8] HUMAYOUN SB, BANO N, HOLLIBAUGH JT. Depth distribution of microbial diversity in Mono Lake, a meromictic soda lake in California[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69(2): 1030-1042.
- [9] MA YH, ZHANG WZ, XUE YF, ZHOU PJ, VENTOSA A, GRANT WD. Bacterial diversity of the Inner Mongolian Baer Soda Lake as revealed by 16S rRNA gene sequence analyses[J]. *Extremophiles*, 2004, 8(1): 45-51.
- [10] DIMITRIU PA, PINKART HC, PEYTON BM, MORMILE MR. Spatial and temporal patterns in the microbial diversity of a meromictic soda lake in Washington State[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74(15): 4877-4888.
- [11] GRANT WD, SOROKIN DY. Distribution and diversity of soda lake alkaliphiles[M]//*Extremophiles Handbook*. Tokyo: Springer Japan, 2011: 27-54.
- [12] 张振维, 余石勇, 赵元艺, 郑绵平, 何志奎. 扎布耶盐湖太阳池中富锂混盐的矿物学与地球化学特征及意义[J]. *盐湖研究*, 2023, 31(1): 39-51.
- ZHANG ZW, YU SY, ZHAO YY, ZHENG MP, HE ZK. The mineralogical and geochemical characteristics and significance of lithium-rich mixed salt in the solar pond of Zabuye Salt Lake[J]. *Journal of Salt Lake Research*, 2023, 31(1): 39-51 (in Chinese).
- [13] ZHANG GM, LI SY, XUE YF, MAO LW, MA YH. Effects of salts on activity of halophilic cellulase with glucomannanase activity isolated from alkaliphilic and halophilic *Bacillus* sp. BG-CS10[J]. *Extremophiles*, 2012, 16(1): 35-43.
- [14] XUE YF, FAN HP, VENTOSA A, GRANT WD, JONES BE, COWAN DA, MA YH. *Halalkalicoccus tibetensis* gen. nov., sp. nov., representing a novel genus of haloalkaliphilic archaea[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2005, 55(6): 2501-2505.
- [15] FAN HP, XUE YF, MA YH, VENTOSA A, GRANT WD. *Halorubrum tibetense* sp. nov., a novel haloalkaliphilic archaeon from lake zabuye in Tibet, China[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2004, 54(4): 1213-1216.
- [16] KEVBRIN VV. Isolation and cultivation of alkaliphiles[M]//*Alkaliphiles in Biotechnology*. Cham: Springer International Publishing, 2019: 53-84.
- [17] 朱德锐, 龙启福, 沈国平, 李丹丹, 刘德立. 青海湖樊氏盐单胞菌 QHL5 四氢嘧啶合成影响因素分析[J]. *环境化学*, 2015, 34(1): 111-116.
- ZHU DR, LONG QF, SHEN GP, LI DD, LIU DL. Accumulation and influential factors of ectoine synthesis in *Halomonas ventosae* QHL5 isolated from Qinghai Lake[J]. *Environmental Chemistry*, 2015, 34(1): 111-116 (in Chinese).
- [18] 赵思捷, 王春苗, 王聪聪, 李甲, 郑文, 张璐, 岳泽惠, 李俊. 锡林郭勒盟高原盐湖放线菌资源勘探及抗菌活性筛选[J]. *中国抗生素杂志*, 2022, 47(5): 443-452.
- ZHAO SJ, WANG CM, WANG CC, LI J, ZHENG W, ZHANG L, YUE ZH, LI XJ. Exploration and antibacterial activity of actinomycetes isolated from saline lakes in Xilin Gol Plateau[J]. *Chinese Journal of Antibiotics*, 2022, 47(5): 443-452 (in Chinese).
- [19] 黄媛林, 潘信利, 陆璐, 李喆, 李菲, 赵静, 黄庶识, 胡文进. 一株红树林链霉菌所产抑菌活性化合物的分离及其生物合成基因簇的研究[J]. *中国抗生素杂志*, 2021, 46(12): 1090-1101.
- HUANG YL, PAN XL, LU L, LI Z, LI F, ZHAO J, HUANG SS, HU WJ. Isolation and identification of antifungal compound from a mangrove-derived *Streptomyces* sp. and its biosynthetic gene cluster analysis[J]. *Chinese Journal of Antibiotics*, 2021, 46(12): 1090-1101 (in Chinese).

- [20] KROLL RG. Alkaliphiles[M]. New York: McGraw-Hill, 1990.
- [21] CAO JW, SHEN P, LI CY. Extremophiles[M]. Wuhan: Wuhan University Press, 2004.
- [22] ZHAO BS, YAN YC, CHEN SL. How could haloalkaliphilic microorganisms contribute to biotechnology?[J]. Canadian Journal of Microbiology, 2014, 60(11): 717-727.
- [23] 张田田, 李永臻, 沈国平, 王嵘, 朱德锐, 邢江娃. 高盐盐湖可分离嗜盐耐盐菌的种群多样性及四氢嘧啶产量评价[J]. 生物技术通报, 2022, 38(1): 168-178. ZHANG TT, LI YZ, SHEN GP, WANG R, ZHU DR, XING JW. Population diversity of isolated halophilic and halotolerant bacteria from hypersaline salt lakes and evaluation of ectoine production[J]. Biotechnology Bulletin, 2022, 38(1): 168-178 (in Chinese).
- [24] 田磊, 张芳, 沈国平, 高翔, 龙启福, 朱德锐. Ectoine 高产菌株 *Halomonas* sp. XH26 的鉴定及紫外诱变选育[J]. 生物学杂志, 2020, 37(4): 31-35. TIAN L, ZHANG F, SHEN GP, GAO X, LONG QF, ZHU DR. Identification of high-yielding strain *Halomonas* sp. XH26 for producing ectoine and UV mutagenesis breeding[J]. Journal of Biology, 2020, 37(4): 31-35 (in Chinese).
- [25] 孙雪, 董永华, 王娜, 崔文会, 廖鲜艳, 刘莉. 耐盐碱促生菌的筛选及性能[J]. 生物工程学报, 2020, 36(7): 1356-1364. SUN X, DONG YH, WANG N, CUI WH, LIAO XY, LIU L. Screening and evaluation of saline-alkali-tolerant and growth-promoting bacteria[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2020, 36(7): 1356-1364 (in Chinese).
- [26] das SARMA S, das SARMA P. Halophiles[M]. eLS. John Wiley & Sons, 2002: 458-466.
- [27] TORSVIK V, ØVREÅS L. Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems[J]. Current Opinion in Microbiology, 2002, 5(3): 240-245.
- [28] 沈国平, 韩睿, 缪增强, 邢江娃, 李永臻, 王嵘, 朱德锐. 青藏高原4类典型水化学特征湖泊的细菌多样性差异及影响因素[J]. 生物多样性, 2022, 30(4): 85-99. SHEN GP, HAN R, MIAO ZQ, XING JW, LI YZ, WANG R, ZHU DR. Bacterial diversity differences and influence factors of four types of hydrochemical characteristic lakes in the Qinghai-Tibet Plateau[J]. Biodiversity Science, 2022, 30(4): 85-99 (in Chinese).
- [29] 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.
- [30] PAL S, BISWAS R, MISRA A, SAR A, BANERJEE S, MUKHERJEE P, DAM B. Poorly known microbial taxa dominate the microbiome of hypersaline Sambhar Lake salterns in India[J]. Extremophiles, 2020, 24(6): 875-885.
- [31] 孙莹, 苏进进, 李潮流, 康士昌, 魏玉珍, 李秋萍, 张玉琴, 余利岩. 可可西里碱性土壤样品细菌的分离和生物学特性[J]. 微生物学通报, 2011, 38(10): 1473-1481. SU Y, SUN JJ, LI CL, KANG SC, WEI YZ, LI QP, ZHANG YQ, YU LY. Isolation and biological characterization of the bacteria from the alkaline soil of Hoh Xil[J]. Microbiology China, 2011, 38(10): 1473-1481 (in Chinese).
- [32] 陈义光, 姜怡, 李文均, 崔晓龙, 徐丽华, 唐蜀昆, 陈华红, 张玉琴, 刘祝祥, 姜成林, 文孟良. 青海盐碱环境中具抗肿瘤活性放线菌的筛选和多样性研究[J]. 微生物学报, 2007, 47(5): 757-762. CHEN YG, JIANG Y, LI WJ, CUI XL, XU LH, TANG SK, CHEN HH, ZHANG YQ, LIU ZX, JIANG CL, WEN ML. Microbial diversity and screening of antitumor activity of actinomycete strains from saline and alkaline environments in the Qinghai Province, P. R. China[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2007, 47(5): 757-762 (in Chinese).
- [33] KHALIKOVA E, SOMERSALO S, KORPELA T. Metabolites produced by alkaliphiles with potential biotechnological applications[M]//Alkaliphiles in Biotechnology. Cham: Springer International Publishing, 2019: 157-193.
- [34] 张鑫, 舒志万, 李永臻, 邢江娃, 王嵘, 沈国平, 朱德锐. 相容溶质四氢嘧啶的微生物合成研究进展[J]. 生物工程学报, 2022, 38(3): 868-881. ZHANG X, SHU ZW, LI YZ, XING JW, WANG R, SHEN GP, ZHU DR. Advances in the microbial production of the compatible solute ectoine: a review[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2022, 38(3): 868-881 (in Chinese).
- [35] KUHLMANN AU, BREMER E. Osmotically regulated synthesis of the compatible solute ectoine in *Bacillus pasteurii* and related *Bacillus* spp.[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68(2): 772-783.