

DOI:10.13364/j.issn.1672-6510.20220087

## 西藏五个盐湖浮游生物组成与微生物多样性

杨欢, 高美荣, 韩学凯, 段虎, 王振乾, 隋丽英  
(亚洲区域卤虫参考中心, 天津科技大学海洋与环境学院, 天津 300457)

**摘要:** 西藏蕴藏着丰富的盐湖资源,为了调查西藏盐湖的生物资源多样性,分别于2019年9月和2020年7月对西藏那曲市和阿里地区的30个湖泊进行了调查.采集了当穹错、班戈错、洞错、聂尔错和盐湖乡5个盐湖(盐度为40~110)的水体和底泥样品,进行了湖水离子组成分析、浮游生物检测、底泥微生物多样性分析以及细菌的分离鉴定.所有盐湖水中共检测到5门36属53种浮游植物(包含未定种),在洞错盐湖固定后的水样中除卤虫外还发现了5种其他的浮游动物(包括3种轮虫和2种桡足类动物).当穹错、班戈错、聂尔错的卤虫种群密度为 $3.1 \times 10^3 \sim 6 \times 10^4 \text{ m}^{-3}$ ,并且不同盐湖中无节幼体/后无节幼体/幼虫/成虫的比例和雌雄比例存在差异.高通量测序表明,盐湖底泥的微生物多样性与盐度成反比,其中盐度较低的洞错盐湖底泥的微生物多样性最高.典型关联分析表明,影响洞错盐湖底泥微生物多样性的主要因素是pH和盐度,而当穹错和班戈错盐湖底泥的微生物多样性主要与碳酸盐和硫酸盐浓度相关.当穹错、盐湖乡、班戈错、聂尔错和洞错盐湖底泥微生物的优势属分别为碱扰菌属(*Alkaliflexus*, 33.0%)、*Salipaludibacillus* (12.0%)、盐单胞菌属(*Halomonas*, 9.0%)、粉色海生菌属(*Roseimarinus*, 8.1%)和*Izimaplasma* (2.3%).从盐湖底泥样品中分离获得了28株嗜盐微生物,16S rDNA鉴定结果表明,其中20株属于变形菌门(Proteobacteria),13株属于盐单胞菌属.本研究提供了西藏盐湖生物资源的最新信息,旨在为西藏盐湖生物资源的开发利用奠定理论基础.

**关键词:** 盐湖; 生物多样性; 卤虫

中图分类号: S963.21

文献标志码: A

文章编号: 1672-6510(2022)05-0030-08

## Planktonic Composition and Microbial Biodiversity in Five Salt Lakes in Tibet

YANG Huan, GAO Meirong, HAN Xuekai, DUAN Hu, WANG Zhenqian, SUI Liying  
(Asian Regional Artemia Reference Center, College of Marine and Environmental Sciences,  
Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

**Abstract:** Tibet is rich in salt lake resources. To investigate the biodiversity in salt lakes, the surveys on 30 lakes located in Nagqu and Ngari region were conducted in September of 2019 and July of 2020. The water and sediment samples were collected from five salt lakes, namely Dangqiong Co, Bongo Co, Dong Co, Nier Co and Yanhu Lake (salinity 40-110), and analyzed for ionic composition, planktonic composition, microbial diversity of sediment and bacterial isolation and identification. Through investigation, a total of 53 phytoplankton species in 5 phyla and 36 genera (including undetermined species) were observed in all salt lake water samples. Besides *Artemia*, 5 other zooplankton species (including 3 rotifer species and 2 copepod species) were also found in Dong Co. The *Artemia* population density in Dangqiong Co, Bongo Co and Nier Co ranged from  $3.1 \times 10^3 \text{ m}^{-3}$  to  $6 \times 10^4 \text{ m}^{-3}$ . The proportion of nauplii/metanauplii/juveniles/adults and ratio of female/male were differed in different salt lakes. The high-throughput sequencing analysis showed that the microbial diversity of sediment was inversely proportional to water salinity, and the highest values were obtained in Dong Co. Canonical correlation analysis indicated that the biodiversity of Dong Co correlated to pH and salinity, while the content of carbonate and sulfate were the main factors influencing the biodiversity of Dangqiong Co and Bongo Co. The dominant genus were *Alkaliflexus* (33.0%), *Salipaludibacillus* (12.0%), *Halomonas* (9.0%), *Roseimarinus* (8.1%) and *Izimaplasma* (2.3%) in the sediments of Dangqiong

收稿日期: 2022-03-29; 修回日期: 2022-05-30

作者简介: 杨欢(1996—),女,内蒙古呼伦贝尔人,硕士研究生;通信作者:隋丽英,教授, suily@tust.edu.cn

Co, Yanhu Lake, Bongo Co, Nier Co and Dong Co, respectively. We isolated 28 strains of halophilic microorganisms from the sediment samples. 16S rDNA identification results showed that the main phylum and genus were Proteobacteria (20 isolates) and *Halomonas* (13 isolates). Our survey has provided the latest information on microbial biodiversity, and phytoplanktonic composition and *Artemia* resources in Tibet salt lakes, and has laid a theoretical foundation for the exploration and utilization of biological resources in Tibet salt lakes.

**Key words:** salt lakes; biodiversity; *Artemia*

西藏蕴藏着丰富的盐湖资源. 西藏盐湖多为碳酸盐型或硫酸盐型盐湖, 主要分布在平均海拔为 4 000 ~ 4 500 m 西藏北部的那曲市和阿里地区<sup>[1]</sup>. 该地区的主要气候特征为辐射强、日照短、气温低、降水少和气压低等. 20 世纪 60 年代, 我国科技工作者开始进行西藏盐湖生态和生物资源的调查研究<sup>[2-4]</sup>. 虽然大多数西藏盐湖为寡营养状态, 但仍从中发现了具有经济价值的浮游动植物, 包括螺旋藻 (*Spirulina* sp.)、杜氏盐藻 (*Dunaliella* sp.)、褶皱臂尾轮虫 (*Brachionus plicatilis*)、萝卜螺 (*Radix* sp.)、西藏拟蚤 (*Daphniopsis tibetana*) 和卤虫 (*Artemia* sp.) 等<sup>[5-7]</sup>. 西藏盐湖卤虫资源已被成功地进行了商业化开发, 带来可观的经济效益. 研究人员对卤虫的分类<sup>[8]</sup>、种群分布<sup>[6, 9-10]</sup>、种质特征<sup>[11-12]</sup>及其在海洋鱼类<sup>[13]</sup>和凡纳滨对虾<sup>[14]</sup>等经济水产动物养殖中的应用进行研究. 随着培养方法的改进和分子生物学技术的发展, 人们对西藏盐湖微生物的多样性、丰度及其与环境因素之间的关系有了更多的认识<sup>[15]</sup>. 研究人员通过构建系统发育树发现了一些新的原核生物分支<sup>[16]</sup>. 虽然西藏盐湖生物资源研究取得了一些进展, 但由于藏北地区气候恶劣、交通不便, 许多盐湖的生物资源情况仍不清楚.

本研究对我国西藏的那曲市和阿里地区的 30 个湖泊进行调查. 采集了当穹错、班戈错、洞错、聂尔错和盐湖乡 5 个盐湖的水体和底泥样品, 进行了湖水离子组成分析、浮游生物种群组成 (特别是卤虫) 检测、底泥微生物多样性分析以及细菌的分离鉴定, 旨在分析盐湖的微生物多样性及浮游生物组成, 为西藏盐湖资源的开发利用奠定理论基础.

## 1 材料与方法

### 1.1 盐湖信息

2019 年 9 月和 2020 年 7 月, 对我国西藏北环沿线 30 个湖泊进行了调查 (图 1). 盐湖的水体盐度和地理信息见表 1. 对其中盐度超过 40 的 5 个盐湖 (当穹错、班戈错、洞错、聂尔错和盐湖乡) 进行了浮游生物组成和微生物多样性分析.

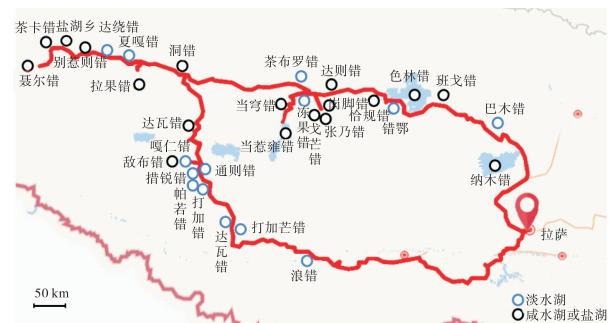


图 1 西藏盐湖生物资源考察路线图

Fig. 1 Route map for investigation of biological resources in Tibet salt lakes

表 1 盐湖的水体盐度和地理信息

Tab. 1 Water salinity and geographic information of salt lakes

盐湖名称	盐度	海拔/m	纬度	经度
纳木错	17	4 718	30.30°N	90.16°E
巴木错	<10	4 555	—	—
班戈错	70	4 468	31.70°N	89.45°E
色林错	18	4 530	31.34°N	88.33°E
错鄂	<10	4 562	—	—
恰规错	10	4 513	31.84°N	88.34°E
达则错	20	4 439	31.85°N	87.60°E
岗脚错	15	4 592	31.60°N	87.36°E
戈芒错	20	4 577	31.57°N	87.35°E
张乃错	10	4 583	31.57°N	87.35°E
当穹错	110	4 428	31.59°N	86.79°E
当惹雍错	15	4 514	31.37°N	86.69°E
茶布罗错	<10	4 425	31.94°N	86.99°E
洞错	40	4 365	32.12°N	84.75°E
拉果错	45	4 443	32.04°N	84.06°E
夏嘎错	<10	4 326	32.31°N	83.80°E
达绕错	<10	4 406	32.45°N	83.20°E
别惹则错	20	4 371	32.41°N	82.97°E
茶卡错	50	4 312	32.53°N	82.50°E
聂尔错	100	4 365	32.24°N	82.23°E
盐湖乡	50	4 311	32.53°N	82.50°E
达瓦错	20	4 601	31.23°N	85.08°E
嘎仁错	<10	4 622	30.80°N	85.00°E
敌布错	10	4 623	30.82°N	84.84°E
措锐错	<10	4 779	30.60°N	85.12°E
通则错	<10	4 798	30.56°N	85.16°E
帕若错	<10	4 821	30.46°N	85.20°E
打加错	<10	5 125	29.89°N	85.75°E
打加芒错	<10	5 041	29.67°N	85.73°E
浪错	<10	4 275	29.21°N	87.39°E

### 1.2 水样理化参数分析

用温度计和盐度计(日本 ATAGO 公司)现场测定水体的温度和盐度. 将水样带回实验室, 用 pH 计(美国 Mettler Toledo 公司)测定 pH. 5 个盐湖水样的主要离子组成参照文献[17]的方法进行测定: 重量法测定  $\text{SO}_4^{2-}$  和  $\text{K}^+$ , 酸碱滴定法测定  $\text{CO}_3^{2-}$ , 络合滴定法测定  $\text{Cl}^-$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  和  $\text{Ca}^{2+}$ , 电感耦合法定测定  $\text{Na}^+$ .

### 1.3 浮游生物组成及卤虫种群分析

使用 25#浮游植物网和 13#浮游动物网(北京普瑞特仪器有限公司)过滤收集 5 个盐湖的浮游植物和浮游动物, 并将样品放置在密封塑料瓶中, 加入 37% 甲醛溶液进行固定. 在 DM500 型显微镜(德国 Leica 公司)和 SZ2-ILST 型体视显微镜(日本 Olympus 公司)下观察样品中的浮游生物, 参考分类学专著对浮游动植物种类进行鉴定<sup>[18-20]</sup>.

采用浮游生物网(孔径 150  $\mu\text{m}$ )过滤 20 L 湖水收集卤虫, 每个盐湖设定 5 个采样点共 100 L 水体(以盐湖中心为第 1 个取样点, 分别向四周延伸 50 m 设定其他 4 个取样点). 将卤虫样品置于塑料瓶中, 添加甲醛溶液进行固定. 根据发育阶段, 将卤虫分为无节幼体、后无节幼体、幼虫和成虫 4 个类群. 在体视显微镜下观察并统计不同发育阶段的卤虫、雌性和雄性成虫的数量, 计算卤虫种群密度、雌性/雄性比例、无节幼体/后无节幼体/幼虫/成虫的比例. 种群密度为每立方米水体中卤虫个体的总数.

### 1.4 盐湖底泥微生物多样性分析

使用天根生化(北京)科技公司的 TIANamp 细菌基因组 DNA 提取试剂盒提取 5 个盐湖底泥样品的基因组 DNA, 送至北京诺禾致源科技股份有限公司进行高通量测序. 使用通用细菌引物 515F/806R 扩增 16S rDNA 基因的 V4 片段. PCR 反应条件: 98  $^{\circ}\text{C}$  预变性 1 min; 98  $^{\circ}\text{C}$  变性 10 s, 50  $^{\circ}\text{C}$  退火 30 s, 72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 30 s, 30 个循环; 72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 5 min 终止反应. 用纯化试剂盒(德国 Qiagen 公司)对 PCR 产物进行纯化. 使用 TruSeq<sup>®</sup> DNA PCR-Free 试剂盒(美国 Illumina

公司)制备文库. 采用 Qubit@2.0 型荧光仪(美国 Thermo Scientific 公司)和 Agilent Bioanalyzer 2100 系统评估文库质量, 在 Illumina NovaSeq 平台上进行测序, 输出 250 bp 片段的信息. 利用 UPARSE 软件进行序列分析, 将相似性  $\geq 97\%$  的序列归为相同的操作分类单元(OTUs), 对每个 OTUs 的代表性序列进行筛选, 以便进一步注释. 根据 OTUs 计算香农-维纳多样性指数( $H$ )和辛普森多样性指数( $D$ ), 以评估各样本的微生物多样性. 通过物种的相对丰度和典型关联分析(CCA), 比较不同盐湖中的微生物群落组成.

### 1.5 盐湖底泥微生物的分离鉴定

根据盐湖水样的盐度和主要离子组成配制培养基, 并添加 10 g/L 酵母提取物和 7.5 g/L 酸水解酪蛋白作为营养物质. 取 5 g 底泥, 加入 100 mL 新鲜培养基, 28  $^{\circ}\text{C}$  培养 1 d, 之后将 3 mL 上清液转入新鲜培养基, 28  $^{\circ}\text{C}$  富集培养 3~4 d. 将富集后的菌液分别稀释  $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$  和  $10^{-7}$  后涂布到固体培养基上, 28  $^{\circ}\text{C}$  培养 7 d. 挑取不同形态、颜色、大小的单菌落, 转入新鲜的液体培养基, 并通过划线法纯化菌株. 使用华大基因合成的通用引物(27F: 5'-AGAGTTTGATCCTGG CTCAG-3'; 1492R: 5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3')扩增分离菌株的 16S rDNA 序列并测序. 测序结果在美国国家生物技术信息中心(NCBI)(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)数据库进行比对分析, 选取相似性  $\geq 99\%$  的比对结果作为菌种鉴定依据.

## 2 结果与分析

### 2.1 盐湖水样的主要离子组成

当穹错、班戈错、洞错、聂尔错和盐湖乡水样盐度均超过 40, pH 为 7.66~9.38, 均为碱性盐湖. 根据离子组成分析结果和盐湖分类标准<sup>[21]</sup>, 确定当穹错、班戈错为碳酸盐型盐湖, 洞错、聂尔错和盐湖乡为硫酸盐型盐湖(表 2).

表 2 盐湖的盐度、温度、pH 和离子组成

Tab. 2 Salinity, temperature, pH and ion composition of the salt lakes

盐湖名称	盐度	温度/ $^{\circ}\text{C}$	pH	质量浓度/( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )							盐湖类型
				$\text{SO}_4^{2-}$	$\text{CO}_3^{2-}$	$\text{Cl}^-$	$\text{Na}^+$	$\text{K}^+$	$\text{Mg}^{2+}$	$\text{Ca}^{2+}$	
洞错	40	15.2	8.82	$2.38\times 10^4$	654	$4.93\times 10^3$	$1.27\times 10^4$	$3.50\times 10^3$	—	39.20	硫酸盐型
盐湖乡	50	15.5	7.66	$1.38\times 10^4$	360	$2.45\times 10^4$	$1.17\times 10^4$	$1.54\times 10^4$	610.70	181.50	硫酸盐型
班戈错	70	16.2	8.85	$3.63\times 10^4$	$2.40\times 10^3$	$8.72\times 10^3$	$1.84\times 10^4$	$6.47\times 10^3$	—	1.70	碳酸盐型
聂尔错	100	15.5	8.25	$1.03\times 10^4$	$1.62\times 10^3$	$5.64\times 10^4$	$3.03\times 10^4$	$1.58\times 10^4$	$1.06\times 10^3$	169.10	硫酸盐型
当穹错	110	16.2	8.66	$1.10\times 10^5$	$7.05\times 10^3$	$4.10\times 10^4$	$2.98\times 10^4$	$1.23\times 10^3$	—	7.00	碳酸盐型

注: —表示未检出

### 2.2 盐湖水质样的浮游植物组成

5 个盐湖浮游植物样品中共发现 5 门 36 属 53 种浮游植物(包含未定种), 其中硅藻门 11 属 25 种,

绿藻门 14 属 15 种, 蓝藻门 9 属 11 种, 黄藻门 1 种, 裸藻门 1 种(表 3).

表 3 盐湖中的浮游植物种类

Tab. 3 Phytoplankton species in the salt lakes

门	物种	当穹错	洞错	班戈错	聂尔错	盐湖乡	门	物种	当穹错	洞错	班戈错	聂尔错	盐湖乡
	<i>Navicula pupula</i>	+		+	+	+		<i>Phormidium tenue</i>				+	+
	<i>Navicula simples</i>	+	+	+	+	+		<i>Phormidium</i> sp.		+		+	+
	<i>Navicula minima</i>	+			+			<i>Oscillatoria tenuis</i>		+		+	+
	<i>Navicula viridula</i>		+					<i>Oscillatoria major</i>	+	+	+	+	+
	<i>Navicula membranacea</i>	+			+			<i>Spirulina major</i>		+	+	+	+
	<i>Navicula</i> spp.	+	+	+	+	+	蓝藻门	<i>Microcystis</i> sp.	+	+			+
	<i>Cymbella cymbiformis</i>				+			<i>Aphanocapsa</i> sp.	+	+			
	<i>Cymbella pusilla</i>				+			<i>Aphanothece</i> sp.	+		+		
	<i>Cymbella</i> sp.				+			<i>Leptolyngbya</i> sp.	+	+			+
	<i>Synedra ulna</i>				+			<i>Nostoc</i> spp.	+			+	
	<i>Synedra</i> sp.		+					<i>Chroococcus</i> sp.	+	+			
	<i>Pinnularia borealis</i>	+		+	+			<i>Dunaliella salina</i>	+				+
硅藻门	<i>Pinnularia major</i>		+	+	+	+		<i>Mallomonas</i> sp.	+				
	<i>Pinnularia viridis</i>				+			<i>Westella</i> sp.	+				
	<i>Pinnularia</i> spp.	+			+	+		<i>Closterium</i> sp.		+		+	
	<i>Cymatopleura</i> sp.	+						<i>Closteriopsis</i> sp.	+				+
	<i>Fragilaria</i> sp.		+					<i>Chlamydomonas ovalis</i>					+
	<i>Nitzschia palea</i>				+	+		<i>Chlamydomonas</i> sp.	+		+	+	+
	<i>Nitzschia amphibia</i>		+		+	+	绿藻门	<i>Netrium</i> sp.	+			+	
	<i>Nitzschia</i> spp.	+	+			+		<i>Actinotaenium</i> sp.	+				
	<i>Frustulia</i> spp.	+	+		+	+		<i>Desmidium</i> sp.	+				
	<i>Eunotia</i> sp.	+		+	+	+		<i>Ankistrodesmus falcatus</i>			+	+	+
	<i>Surirella linearis</i>	+			+	+		<i>Stigeoclonium</i> sp.	+		+	+	+
	<i>Surirella</i> sp.	+				+		<i>Spirogyra</i> sp.			+		
	<i>Stauroneis anceps</i>		+		+	+		<i>Zygnemopsis tibetica</i>			+		
黄藻门	<i>Heterotrichales</i> sp.	+			+	+		<i>Micractinium</i> sp.	+				
裸藻门	<i>Euglena</i> sp.	+	+			+							

注: +表示检出

### 2.3 盐湖水质样的浮游动物组成

在 5 个盐湖水质样中均发现了卤虫卵或卤虫幼体, 在洞错盐湖水质样中发现了 3 种轮虫为褶皱臂尾轮虫 (*Branchionus plicatilis*)、壶状臂尾轮虫 (*B. urceolaris*)、小种轮虫 (*B. rotundiformis*), 以及 2 种桡足类为新月北镖水蚤 (*Arctodiaptomus stewartianus*) 和锯齿棘猛水蚤 (*Attheyella dentata*). 对班戈错、聂尔错和当穹错 3 个盐湖的卤虫成虫性别比例、种群密度和组成进行了统计分析. 结果表明, 成虫雌性/雄性的比例为 1.0 : 1 ~ 1.9 : 1, 其中当穹错雌性占比最高. 班戈错卤虫种群密度为  $6 \times 10^4 \text{ m}^{-3}$ , 远高于其他盐湖. 各盐湖无节幼体/后无节幼体/幼虫/成虫的比例也有差异, 其中聂尔错以成虫为主(表 4).

表 4 卤虫的性别比、种群密度和种群组成

Tab. 4 Sex ratio, population density and population composition of *Artemia*

盐湖名称	雌性/雄性的比例	种群密度/ $\text{m}^{-3}$	无节幼体/后无节幼体/幼虫/成虫的比例
班戈错	1.7 : 1	$66\,200 \pm 9\,900$	1 : 0.4 : 0.4 : 1.3
聂尔错	1.0 : 1	$2\,270 \pm 1\,000$	1 : 0 : 0.8 : 5.5
当穹错	1.9 : 1	$2\,080 \pm 1\,330$	1 : 4 : 12.5 : 7.3

### 2.4 盐湖底泥的微生物多样性

香农-维纳多样性指数表示样品中的分类总数及其占比, 辛普森多样性指数表征群落内物种分布的多样性和均匀度. 洞错盐湖底泥的这两个指数均高于其他 4 个盐湖, 表明其微生物多样性最丰富. 除了班戈错外, 其余盐湖底泥的微生物多样性与水体盐度有

关, 盐度越高微生物多样性越低(表 5)。

表 5 盐湖底泥的微生物多样性分析

Tab. 5 Analysis of microbial diversity of salt lake sediments

盐湖名称	盐度	H	D
洞错	40	8.261	0.990
盐湖乡	50	6.516	0.962
班戈错	70	7.175	0.980
聂尔错	100	6.792	0.970
当穹错	110	5.683	0.879

CCA 分析表明, 影响洞错盐湖底泥微生物多样性的主要因素是 pH 和盐度, 而当穹错和班戈错盐湖底泥的微生物多样性主要与盐湖中  $\text{CO}_3^{2-}$  和  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度有关(图 2)。

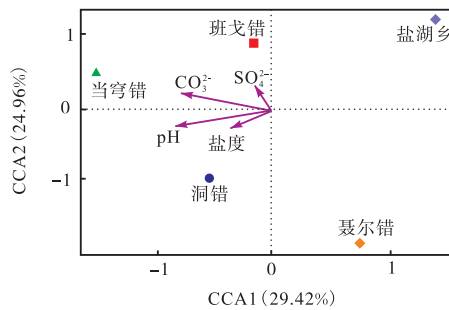


图 2 盐湖底泥微生物多样性与  $\text{CO}_3^{2-}$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ 、pH、盐度的典型关联分析

Fig. 2 Canonical correlation analysis of sediment microorganisms correlated with  $\text{CO}_3^{2-}$  and  $\text{SO}_4^{2-}$  content, pH and salinity

根据 OTUs 聚类分析, 获得了盐湖底泥微生物中相对丰度较高的 10 个属, 其中: 当穹错盐湖底泥微生物的优势属为碱抗菌属 (*Alkaliflexus*), 所占比例为 33%; 盐湖乡盐湖底泥微生物的优势属为 *Salipaludibacillus*, 所占比例为 12.0%; 班戈错盐湖底

泥微生物的优势属为盐单胞菌属 (*Halomonas*), 所占比例为 9.0%; 聂尔错盐湖底泥微生物的优势属为粉色海生菌属 (*Roseimarinus*), 所占比例为 8.1%; 洞错盐湖底泥微生物的优势属为 *Izimaplasma*, 所占比例为 2.3%(表 6)。

表 6 盐湖底泥微生物中相对丰度较高的 10 个属

Tab. 6 Top 10 bacterial genus of relative abundance in salt lake sediments

属	相对丰度/%				
	洞错	盐湖乡	班戈错	聂尔错	当穹错
<i>Alkaliflexus</i>	1.9	0.4	0.6	0.8	33.0
<i>Salipaludibacillus</i>	0.2	12.0	1.2	0.4	0.2
<i>Halomonas</i>	1.2	11.6	9.0	2.6	2.6
<i>Marinobacter</i>	1.0	11.3	0.8	3.5	2.4
<i>Fusibacter</i>	1.1	8.2	0.3	1.8	0.5
<i>Roseimarinus</i>	0.9	0.2	0.6	8.1	1.1
未鉴定 Cyanobacteria	1.0	0.5	0.6	7.5	0.2
<i>Izimaplasma</i>	2.3	0.3	0.6	7.0	0.2
<i>Roseibaca</i>	1.6	0.4	6.5	1.1	1.8
未鉴定 Mollicutes	0.9	0.6	0.2	6.0	0.5

### 2.5 盐湖底泥微生物的分离鉴定

筛选菌落形态、颜色、大小不同的 28 株菌, 进行 16S rDNA 分子鉴定. 比对结果发现, 其中 27 株鉴定到属(表 7). 在门水平上, 大部分菌株属于变形菌门 (Proteobacteria, 20 株, 71.43%), 其次是厚壁菌门 (Firmicutes, 5 株, 17.86%) 和放线菌门 (Actinobacteria, 2 株, 7.14%). 在属水平上, 大部分菌株属于盐单胞菌属 (*Halomonas*, 13 株, 46.43%), 其次是盐弧菌属 (*Salinivibrio*, 3 株, 10.71%)、嗜盐嗜碱菌属 (*Alkalibacterium*, 2 株, 7.14%)、芽孢杆菌属 (*Bacillus*, 2 株, 7.14%) 和海源杆菌属 (*Idiomarina*, 2 株, 7.14%)。

表 7 盐湖底泥中分离的微生物

Tab. 7 Microorganisms isolated from salt lake sediments

名称	属	门	菌落形态	盐度	盐湖名称
CHNTB-FFS-40-1	<i>Flaviflexus salsibiostraticola</i>	Actinobacteria	浅黄色、圆形、表面光滑	40	洞错
CHNTB-LBR-40-1	<i>Leucobacter</i> sp.	Actinobacteria	白色、圆形、表面光滑	40	洞错
CHNTB-ATS-40-1	<i>Atopostipes</i> sp.	Firmicutes	白色、圆形、表面光滑	40	洞错
CHNTB-UBRM-40-1	不可培养细菌	—	白色、圆形、表面光滑	40	洞错
CHNTB-HMS-50-1	<i>Halomonas alkaliphila</i>	Proteobacteria	白色、不透明、圆形、表面光滑	50	盐湖乡
CHNTB-HMS-50-2	<i>Halomonas alkaliphila</i>	Proteobacteria	浅粉色、圆形、表面光滑	50	盐湖乡
CHNTB-HMS-50-3	<i>Halomonas alkaliphila</i>	Proteobacteria	浅粉色、边缘不规则、表面光滑	50	盐湖乡
CHNTB-IMA-50-1	<i>Idiomarina</i> sp.	Proteobacteria	白色、半透明、圆形、表面光滑	50	盐湖乡
CHNTB-IML-50-2	<i>Idiomarina loihiensis</i>	Proteobacteria	黄色、半透明、圆形、表面光滑	50	盐湖乡
CHNTB-OSM-50-1	<i>Oceanisphaera marina</i>	Proteobacteria	浅粉色、半透明、圆形、表面光滑	50	盐湖乡
CHNTB-HMS-68-1	<i>Halomonas</i> sp.	Proteobacteria	橙色、圆形、表面光滑	70	班戈错
CHNTB-HMS-68-2	<i>Halomonas alkaliphila</i>	Proteobacteria	白色、圆形、表面光滑	70	班戈错
CHNTB-BLS-110-1	<i>Bacillus beveridgei</i>	Firmicutes	橙色、边缘不规则、表面光滑	70	班戈错
CHNTB-ALB-68-1	<i>Alkalibacterium</i> sp.	Firmicutes	白色、边缘不规则、表面粗糙	70	班戈错
CHNTB-AMA-68-1	<i>Aliidiomarina</i> sp.	Proteobacteria	橙色、边缘不规则、表面粗糙	70	班戈错

续表

名称	属	门	菌落形态	盐度	盐湖名称
CHNTB-HMS-100-1	<i>Halomonas alkaliphila</i>	Proteobacteria	黄色、圆形、表面光滑	100	聂尔错
CHNTB-HMS-100-2	<i>Halomonas alkaliphila</i>	Proteobacteria	白色、边缘不规则、表面粗糙	100	聂尔错
CHNTB-HMS-100-3	<i>Halomonas alkaliphila</i>	Proteobacteria	浅黄色、圆形、表面粗糙	100	聂尔错
CHNTB-HMS-100-4	<i>Halomonas alkaliphila</i>	Proteobacteria	白色、圆形、表面光滑	100	聂尔错
CHNTB-SVO-100-1	<i>Salinivibrio</i> sp.	Proteobacteria	白色、边缘不规则、表面粗糙	100	聂尔错
CHNTB-SVO-100-2	<i>Salinivibrio costicola</i>	Proteobacteria	橙色、圆形、表面光滑	100	聂尔错
CHNTB-SVO-100-3	<i>Salinivibrio costicola</i>	Proteobacteria	黄色、边缘不规则、表面粗糙	100	聂尔错
CHNTB-ALM-100-1	<i>Alkalibacterium putridalgalicola</i>	Firmicutes	白色、透明、圆形、表面光滑	100	聂尔错
CHNTB-HMS-110-1	<i>Halomonas</i> sp.	Proteobacteria	白色、边缘不规则、表面粗糙	110	当穹错
CHNTB-HMS-110-2	<i>Halomonas</i> sp.	Proteobacteria	浅黄色、圆形、表面粗糙	110	当穹错
CHNTB-HMS-110-3	<i>Halomonas</i> sp.	Proteobacteria	黄色、圆形、表面粗糙	110	当穹错
CHNTB-HMS-110-4	<i>Halomonas</i> sp.	Proteobacteria	白色、半透明、圆形、表面粗糙	110	当穹错
CHNTB-BLS-110-2	<i>Bacillus beveridgei</i>	Firmicutes	黄色、圆形、表面粗糙	110	当穹错

### 3 讨论

研究位于我国西藏那曲市和阿里地区 5 个盐湖的浮游生物发现, 盐度是影响高盐环境中生物多样性和丰度的主要参数. 随着水体盐度的增加, 生物多样性逐渐减少, 但耐盐生物的种群密度则会逐渐提高<sup>[22]</sup>. 本研究在盐度范围 40~110 的 5 个盐湖水样

中, 共鉴定到 5 门 36 属 53 种浮游植物(包含未定种), 其中硅藻门、蓝藻门和绿藻门的种类较多. 在这些盐湖中还发现了以浮游植物为食的小型甲壳浮游动物卤虫, 在低盐度盐湖(洞错)中除卤虫外, 还存在耐盐的轮虫、水蚤和桡足类等, 而在中、高盐度盐湖水样中没有发现其他浮游动物. 研究人员<sup>[23-26]</sup>对西藏地区盐湖浮游植物种类的研究发现, 硅藻门占比最高, 这与本研究结果一致(见表 8).

表 8 与调查区域相近的盐湖浮游生物和微生物研究

Tab.8 Research on plankton and microorganism in salt lake similar to the surveyed zone

取样年份	地区	盐湖名称	浮游植物	浮游动物	底泥微生物	参考文献
2006	西藏阿里地区	结则茶卡等 21 个盐湖	5 门 49 属 105 种(变种), 硅藻门为主(19 属 63 种)	11 属 14 种, 桡足类为主(5 属 7 种)		[23]
2009	西藏那曲市	多格错仁盐湖	4 门 72 属 231 种, 硅藻门为主(32 属 164 种)			[24]
2009	西藏那曲市	东月湖等 12 个盐湖	6 门 39 属 58 种, 硅藻门为主(19 属 34 种)			[25]
2009	西藏羌北无人区	白滩湖等 24 个盐湖	6 门 50 属 96 种, 硅藻门为主(24 属 56 种)	原生动物 38 种, 肉足虫纲为主(22 种)		[26]
2011	西藏那曲市	普许错等 6 个盐湖	5 门 24 属 38 种, 硅藻门为主(12 属 23 种)			[26]
2012	西藏那曲市	它日错等 8 个盐湖	4 门 43 属 100 种, 硅藻门为主(21 属 68 种)			[26]
2015	青藏高原	小柴旦盐湖			多样性: 细菌 18 门 135 属(厚壁菌门为主); 古菌 2 门 22 属(沃斯古菌门为主)	[28]
2017	青藏高原北部	洱海湖等 6 个盐湖			分离菌株: 4 门 90 属 210 种, 厚壁菌门为主(占 43.2%)	[29]
2019/2020	西藏那曲市和阿里地区	洞错等 5 个盐湖	5 门 36 属 53 种	6 种, 以卤虫居多	多样性: 细菌 36 门 414 属(变形菌门为主) 分离菌株: 3 门 10 属 28 种, 变形菌门为主(占 71.43%)	本研究

硅藻门在西藏盐湖中广泛分布且具有较高的多样性. 究其原因, 西藏盐湖平均水温较低, 而硅藻对低温的耐受力较强, 在水温较低的情况下易成为优势

种. 崇璘璇等<sup>[24]</sup>对西藏多格错仁盐湖(盐度 135~140)的浮游植物群落结构进行了分析, 在 58 个站点中共发现了 310 种浮游植物, 但在靠近中心的站点中

类较为单一,如 N38 表层水体中仅发现了 13 种硅藻. 相较而言,本研究中的浮游植物种类更为丰富. 霍元子等<sup>[27]</sup>对内蒙古锡林郭勒盟的盐湖浮游生物的群落特征进行研究,共检出 59 种浮游植物和 34 种浮游动物. 与之相比,西藏盐湖浮游生物多样性较低,且两者的优势藻存在差异,这可能与西藏所处的特殊高原环境有关.

目前,卤虫是西藏盐湖中唯一商业化的生物资源,可用于观赏鱼、海水鱼虾等经济水产动物的养殖<sup>[13-14]</sup>. 2020 年西藏盐湖(其香错和拉果错)的卤虫卵总产量超过 600 吨,占中国总产量的 1/3. 20 世纪 90 年代初,研究人员从西藏拉果错盐湖收集了卤虫并进行分类研究,将其定为西藏卤虫(*A. tibetiana*)<sup>[8]</sup>. 本研究统计发现卤虫成虫雌性/雄性的比例为 1.0 : 1 ~ 1.9 : 1,表明这些盐湖存在两性卤虫. 不同年份之间盐湖卤虫的种群密度和卤虫卵产量存在较大差异,推测其主要影响因素为气候和生态环境. 7 月份班戈错的卤虫种群密度为  $6.6 \times 10^4 \text{ m}^{-3}$ ,远高于聂尔错( $2.3 \times 10^3 \text{ m}^{-3}$ )和当穹错( $2.1 \times 10^3 \text{ m}^{-3}$ ). 在相同季节,渤海湾盐场卤水处于富营养状态,卤虫的种群密度为  $2 \times 10^4 \sim 7 \times 10^4 \text{ m}^{-3}$ <sup>[30]</sup>. 由此可见,班戈错的卤虫种群密度与渤海湾盐场相近. 然而西藏年平均气温较低<sup>[1]</sup>,导致卤虫生长和传代缓慢.

西藏盐湖蕴藏了丰富的微生物资源,其中大部分为耐盐或嗜盐微生物<sup>[6,10]</sup>. CCA 分析表明,5 个盐湖底泥的微生物多样性与阴离子浓度、pH 和水体盐度有关. 其中  $\text{CO}_3^{2-}$  浓度和 pH 是影响微生物组成的主要因素,其次是盐度和  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度. 同处于青藏高原的小柴旦盐湖属于硫酸盐型盐湖,与聂尔错盐湖类似,但其总盐度(108.82 ~ 113.84)高于聂尔错盐湖的总盐度,接近于当穹错盐湖的总盐度. 当穹错和聂尔错盐湖底泥微生物的优势属分别为 *Alkaliflexus* (33%) 和 *Roseimarinus* (8.1%),但在小柴旦盐湖水样和底泥混合样品中芽孢杆菌属(*Bacillus*)为优势属,约占 21.53%<sup>[28]</sup>. 此外,新疆艾比湖(盐度约为 112.4)也属于硫酸盐型盐湖,其优势属为 *Halofilum*<sup>[31]</sup>. 这表明除了盐度外,湖泊的化学组成也会影响微生物多样性. 由于盐湖和盐场的气候和生态特征不同,分离获得的菌株也存在较大差异. 黄建蓉<sup>[31]</sup>从青藏高原北部 6 个不同盐度湖泊中分离获得了 4 门 90 属 210 种微生物. 上述研究中分离得到的微生物除 *Halomonas* 和 *Bacillus* 外,其余均与本研究不同. 这可能与湖水的离子组成及所处环境有关. 本研究从盐度为 40 ~

110 的 5 个盐湖中分离出 13 个具有不同形态特征的 *Halomonas* 菌株,表明 *Halomonas* 耐盐范围较广. 不仅如此,*Halomonas* 在新疆达坂盐湖、罗布泊盐湖和四川大古盐井中均有分布,且均为优势菌群<sup>[32]</sup>. *Halomonas* 富含多种生物活性物质,如聚羟基脂肪酸、四氢嘧啶和羟基四氢嘧啶、碱性酶等,这些活性物质在化妆品、生物医药和水产养殖等领域中具有广阔的应用前景<sup>[33-34]</sup>. 因此,*Halomonas* 作为天然代谢产物的物质基础,具有较高的研究价值和开发利用价值. 此外,本课题组发现通过高通量测序得到的微生物种类明显多于分离获得的菌株,而菌株的分离培养是对其进行深入研究的基础,因而高效分离培养基的设计和培养方法的改进仍是未来研究的重要方向.

#### 4 结 语

本研究对我国西藏北部那曲市和阿里地区的 5 个盐湖进行了湖水离子组成分析、浮游生物检测、底泥微生物多样性分析以及分离筛选,发现西藏盐湖中的主要浮游动物为卤虫,且多为两性卤虫,其种群密度和卤虫卵产量受气候和环境影响较大. 不同盐湖细菌的优势属种类均不相同,有其独特的菌群结构. 盐湖底泥微生物多样性与盐度成反比,但在高盐盐湖中优势菌群的占比更高. 除了盐度外,盐湖的化学组成也会影响微生物群落结构. 本研究结果为西藏盐湖生物资源的开发利用奠定了理论基础.

致谢:本项目得到中国农业农村部渔业渔政管理局援藏项目的支持. 感谢天津科技大学张翠霞老师在样本浮游动植物分析方面的支持,以及郭亚飞、李珑和王士强老师在水样离子组成分析中给予的帮助.

#### 参考文献:

- [1] 郑喜玉,张明刚,徐昶,等. 中国盐湖志[M]. 北京:科学出版社,2002:415.
- [2] 沈嘉瑞,宋大祥. 中国西藏日喀则和江孜地区桫足类的研究[J]. 动物学报,1963(1):79-97.
- [3] 沈嘉瑞,宋大祥. 西藏枝角类的初步研究[J]. 动物学报,1964(1):61-69.
- [4] 王家辑. 青藏高原部分地区的原生动物[J]. 动物学报,1977(2):131-160.
- [5] ZHAO W, ZHENG M P, XU X Z, et al. Biological and ecological features of saline lakes in northern Tibet, China[J]. Hydrobiologia, 2005, 541(1):189-203.
- [6] LIU S S, LIU X F, JIA Q X, et al. Assessment of spatial

- distribution and cysts resources of *Artemia* in late autumn in Dangxiong Co salt lake[J]. *Acta ecologica sinica*, 2014, 34(1): 26–33.
- [ 7 ] ZHAO W, YOU Z X, WEI J, et al. Compensatory population growth in *Daphniopsis tibetana* Sars (Crustacea: Cladocera) following starvation[J]. *Limnology*, 2017, 18: 167–174.
- [ 8 ] ABATZOPOULOS T J, ZHANG B, SORGELOOS P. *Artemia tibetana*: preliminary characterization of a new *Artemia* species found in Tibet (the People's Republic of China) [J]. *International study on Artemia*, 1998, 7: 41–44.
- [ 9 ] 刘晓翠, 邓洪刚, 高美荣, 等. 不同产地卤虫幼体对云石斑鱼幼苗生长和抗胁迫能力的影响[J]. *天津科技大学学报*, 2022, 29(2): 18–23.
- [ 10 ] JIA Q X, ANUFRIIEVA E, LIU X F, et al. Intentional introduction of *Artemia sinica* (Anostraca) in the high-altitude Tibetan lake Dangxiong Co: the new population and consequences for the environment and for humans [J]. *Journal of oceanology and limnology*, 2015, 33(6): 1451–1460.
- [ 11 ] 贾沁贤, 刘喜方, 王洪平, 等. 西藏盐湖生物与生态资源及其开发利用[J]. *科技导报*, 2017, 35(12): 19–26.
- [ 12 ] 于秀玲, 辛乃宏. 四种西藏卤虫卵的生物学特性分析[J]. *海湖盐与化工*, 2006, 35(12): 25–26.
- [ 13 ] VAN S G, SUI L Y, XIN N H, et al. Characterization of high-altitude *Artemia* populations from the Qinghai-Tibet Plateau, PR China [J]. *Hydrobiologia*, 2003, 500(15): 179–192.
- [ 14 ] 邢明威, 邓洪刚, 高美荣, 等. 不同产地卤虫幼体对凡纳滨对虾仔虾生长、肌肉组分和抗胁迫能力的影响[J]. *中国水产科学*, 2022, 29(1): 70–78.
- [ 15 ] 朱德锐, 韩睿, 石晴, 等. 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(12): 4657–4666.
- [ 16 ] 张现辉, 孔凡晶. 西藏扎布耶盐湖细菌多样性的免培养技术分析[J]. *微生物学杂志*, 2010, 50(3): 334–341.
- [ 17 ] 中国科学院青海盐湖所分析室. 卤水和盐的分析方法[M]. 2版. 北京: 科学出版社, 1988.
- [ 18 ] 中科院中国孢子植物志编辑委员会. 中国海藻志[M]. 北京: 科学出版社, 2018.
- [ 19 ] KOSTE W. Die rädetiere mitteleuropas[M]. 2nd ed. Gebrüder Borntraeger: Berlin and Stuttgart, 1978.
- [ 20 ] 中国科学院. 中国动物志节肢动物门甲壳纲[M]. 北京: 科学出版社, 1979.
- [ 21 ] 周彦男, 韩凤清, 马海州. 利用 GUI 用户界面进行盐湖化学组成的分类[J]. *盐湖研究*, 2015, 23(4): 39–44.
- [ 22 ] DAVIS J. Biological management for the nutrients rich Chinese solar saltworks [C]//Proceeding of International Symposium on Biotechnology of Saltponds. Tianjin, China: 1990, 128–132.
- [ 23 ] 袁显春, 郑绵平, 赵文, 等. 西藏阿里地区盐湖浮游生物生态调查[J]. *地质学报*, 2007, 81(12): 1754–1763.
- [ 24 ] 崇璘璇, 贾沁贤, 刘喜方, 等. 西藏多格错仁盐湖表、底层浮游植物群落结构[J]. *上海海洋大学学报*, 2018, 27(6): 875–883.
- [ 25 ] 陈立婧, 杨菲, 吴淑贤, 等. 西藏那曲地区盐湖浮游植物群落结构的特征[J]. *上海海洋大学学报*, 2013, 22(4): 577–585.
- [ 26 ] 杨菲. 西藏盐湖浮游植物及原生动物群落结构特征的研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2014.
- [ 27 ] 霍元子, 赵文, 张永生, 等. 内蒙古锡林郭勒盟盐湖浮游生物的群落特征[J]. *湖泊科学*, 2005, 17(3): 243–250.
- [ 28 ] 刘静, 张欣, 沈国平, 等. 青藏高原小柴旦盐湖微生物群落结构及多样性[J]. *水生态学杂志*, 2017, 38(5): 55–64.
- [ 29 ] 黄建蓉. 盐度对青藏高原湖泊微生物群落结构与功能稳定性的影响[D]. 北京: 中国地质大学, 2021.
- [ 30 ] 李荣超, 隋丽英, 张波, 等. 天津塘沽盐场卤虫种群生态调查[J]. *天津科技大学学报*, 2018, 33(5): 57–62.
- [ 31 ] 李二阳, 雪莉, 吕杰, 等. 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.
- [ 32 ] 吴海平, 王真辉, 杨礼富. 新疆达坂盐湖沉积土壤嗜盐细菌的定向富集与多样性分析[J]. *微生物学通报*, 2010, 37(7): 956–961.
- [ 33 ] YOO W, KIM B, JEON S, et al. Identification, characterization, and immobilization of a novel YbFf esterase from *Halomonas elongate* [J]. *International journal of biological macromolecules*, 2020, 165: 1139–1148.
- [ 34 ] LI S N, SHANG Y, ZHAO Q, et al. Promoter engineering for high ectoine production in a lower saline medium by *Halomonas hydrothermalis* Y2 [J]. *Biotechnology letters*, 2021, 43: 825–834.

责任编辑: 郎婧