

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*  
52(6):769-775; 4 June 2012  
ISSN 0001-6209; CN 11-1995/Q  
<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>

## 新疆顿巴斯他乌盐湖沉积物免培养古菌多样性

朱莉<sup>1,2</sup>, 杨红梅<sup>2</sup>, 王芸<sup>2</sup>, 廖先燕<sup>1,2</sup>, 邓丽娟<sup>2</sup>, 李珊<sup>1,2</sup>, 娄恺<sup>2</sup>, 艾尔肯·热合曼<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>新疆大学生命科学与技术学院, 乌鲁木齐 830046

<sup>2</sup>新疆农业科学院微生物应用研究所, 乌鲁木齐 830091

**摘要:**【目的】了解新疆顿巴斯他乌盐湖沉积物免培养古菌组成及多样性。【方法】利用免培养法直接从顿巴斯他乌盐湖沉积物样品中提取环境总 DNA, 采用古菌通用引物对 16S rRNA 基因进行扩增, 构建基因克隆文库。对随机挑选的 59 个阳性克隆进行 *Hae* III 限制性酶切分型并测序、BLAST 比对及构建 16S rRNA 基因系统发育树。【结果】文库覆盖率为 89%, Shannon-Wiener 指数为 2.69, 共得到 21 个不同的可操作分类单元, 分属于广古菌门 (Euryarchaeota, 92%) 和泉古菌门 (Crenarchaeota, 8%), 其中多数为盐杆菌科 (Halobacteriaceae, 88%) 的盐杆菌属 (*Halobacterium*, 24%)、盐盒菌属 (*Haloarcula*, 18%)、盐碱红菌属 (*Natronorubrum*, 14%)、盐红菌属 (*Halorubrum*, 8%) 等, 与海盐环境 (thalassohaline) 获得的 16S rRNA 基因序列相似性最高 (> 95%); 整个文库中约 11% 的克隆与可培养古菌多个属的相似性小于 97%。【结论】顿巴斯他乌盐湖古菌多样性略低于同类高盐环境, 组成较为一致, 只是各类群所占百分比稍有不同, 且可能存在一些潜在新物种或新类群。

**关键词:** 高盐环境, 盐湖, 海盐环境 (thalassohaline), 古菌多样性, 16S rDNA 同源性

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209 (2012) 06-0769-07

盐湖, 是含盐量较高的咸化湖泊<sup>[1]</sup>。作为湖泊的极端类型, 它是多因素、多物源和极端环境下综合作用的产物<sup>[2]</sup>。在湖泊向盐湖演化的过程中, 时刻经历着水源的注入、卤水的蒸发、盐类的析出等, 尤其是干旱-半干旱地区, 湖水蒸发相对较多, 会出现不同高浓度盐类的沉积, 主要有氯化物盐类、硫酸盐类、碳酸盐类、硼酸盐类和硝酸盐类<sup>[3]</sup>。此类环境中生存着大量微生物, 其对盐湖生态系统的物质和能量循环起重要作用, 如光合藻类是高盐水体生态系统的初级生产者, 厌氧细菌参与有机物的氧化分解、硫酸盐的生物还原及碳源的循环和利用<sup>[4]</sup>。分

析此环境下微生物多样性可以为盐湖生态系统的深入研究提供参考。同时, 高盐极端环境在一定程度上抑制了部分微生物的生长<sup>[5]</sup>, 却是古菌孕育和繁殖的良好栖息地。

古菌广泛存在于各种极端环境中, 如高温 (121℃), 高盐 (5.2 mol NaCl/L), 强酸 (pH = 0) 等<sup>[6]</sup>。盐湖作为极端环境之一, 国内外学者对其地质、水文、矿产等方面<sup>[5,7]</sup>做了大量研究。有关盐湖古菌的报道较多, 包括可培养菌株表型、生理生化、酶学活性研究等<sup>[8]</sup>。对免培养古菌多样性及组成的报道表明: NaCl 盐场及海盐 (thalassohaline) 类型

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金 (20112111B41); 新疆特殊环境微生物实验室开放课题 (XJYS0203-2010-05)

\* 通信作者。Tel/Fax: +86-991-8583450; E-mail: erkin1106@163.com

作者简介: 朱莉 (1986-), 女, 新疆人, 硕士, 主要从事特殊生境环境微生物的研究。E-mail: hello466725@126.com

收稿日期: 2011-12-16; 修回日期: 2012-02-27

的盐湖中,与盐杆菌属(*Halobacterium*)、盐盒菌属(*Haloarcula*)、盐红菌属(*Halorubrum*)等相似性最高的菌群较为常见,*Haloquadratum walsbyi*也常作为优势类群频繁出现<sup>[9-11]</sup>;印度—NaCl盐场获得的古菌优势类群与*Natrinema versiforme*相似性最高<sup>[12]</sup>。相应地,智利—非海盐(athalassohaline)类型的盐湖中,与*Haloarcula marismortui*相距最近的菌群为优势类群<sup>[13]</sup>;而中国Chaka盐湖沉积物中获得的古菌类群多与甲烷有关的菌群相似性最高<sup>[14]</sup>。

新疆是我国面积最大的干旱—半干旱盐湖分布区,也是世界盐湖分布最集中的地区之一<sup>[3]</sup>,其盐类沉积类型多样,在此环境中孕育的古菌与其他类型高盐环境相比是否具有一致性,值得我们深入研究。新疆顿巴斯他乌盐湖位于昌吉和木垒交界处(91°13'308"E 44°46'467"N),该盐湖为中—新生代山间构造断陷盆地中的次一级盆地或洼地,是一个无湖表卤水的干盐湖或砂下湖,固体盐类沉淀主要是石盐,为氯化物盐类沉积<sup>[3]</sup>。而关于该盐湖古菌的研究至今未见报道。本文通过构建顿巴斯他乌盐湖沉积物样品古菌16S rRNA基因克隆文库,了解其免培养古菌组成及多样性,为盐湖微生物的潜在应用提供依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

**1.1.1 样品采集:**采样地点为新疆地区顿巴斯他乌盐湖(又名盐池),该盐湖与北塔山盐池位于同一山间盆地,地质地理情况相似<sup>[3]</sup>。参照徐赢华等<sup>[15]</sup>的方法,对该盐湖随机设置长为80 m的样带,每隔20 m采集该盐湖沉积物样品1份(深度为10 cm),共5份,混匀,装入50 mL无菌离心管中,冷藏运输,4℃保藏。

**1.1.2 主要试剂和仪器:**小型台式高速离心机(Eppendorf,德国)、Taq酶(上海生物工程有限公司)、PCR引物(上海生物工程有限公司)、PCR扩增仪(Eppendorf,德国)、电泳仪(Bio-Rad)、凝胶成像系统(Bio-Rad)、琼脂糖凝胶回收试剂盒(Bio Teke)、pMD18-T vector(TaKaRa,大连)、*Hae* III限制性内切酶(TaKaRa,大连)等。

### 1.2 样品理化性质分析

样品经自然风干后,采用双指示剂中和滴定法

测定 $\text{CO}_3^{2-}$ 和 $\text{HCO}_3^-$ ,离子色谱法测定 $\text{Cl}^-$ 和 $\text{SO}_4^{2-}$ ,EDTA络合滴定法测定 $\text{Mg}^{2+}$ 和 $\text{Ca}^{2+}$ ,火焰光度计法测定 $\text{Na}^+$ 和 $\text{K}^+$ ,全盐含量采用算法获得<sup>[16]</sup>。

### 1.3 样品总DNA提取及16S rDNA扩增

参考孙超等<sup>[4]</sup>的方法进行样品总DNA提取,采用古菌16S rDNA通用引物3F(5'-TTCCGGTTGATCCTGCCGGA-3')和927R(5'-CCCGCCAATTCCTTTAAGTTTC-3')<sup>[15]</sup>进行16S rRNA基因扩增。PCR反应体系及条件参照文献<sup>[17]</sup>。

### 1.4 16S rRNA基因克隆文库构建

利用琼脂糖凝胶回收试剂盒纯化和回收16S rDNA扩增产物,连接pMD18-T载体,转化*E. coli* DH5 $\alpha$ 感受态细胞。以氨苄青霉素(100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )抗性和蓝白斑法筛选阳性转化子。采用T载体通用引物进行菌液PCR,限制性内切酶*Hae* III分型,每个不同的酶切电泳带型作为一个可操作分类单元(OTUs,Operational Taxonomic Units),其对应克隆子的PCR产物测序由上海生工生物工程技术有限公司完成。

### 1.5 序列分析

采用contig1、DNAMAN等软件,及在线网站([http://www.bioinformatics.org/sms/rev\\_comp.html](http://www.bioinformatics.org/sms/rev_comp.html))对测序结果进行编辑、分析,将整理后的序列在NCBI中进行同源性比对(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>),利用RDP(<http://35.8.164.52/cgiis/chimera.cgi>)数据库在线对其进行归类,并用Mega 4.0邻接法(Neighbor-Joining method)构建系统发育树。所得古菌16S rDNA序列已提交GenBank核苷酸数据库,序列登录号为JQ033962-JQ033982。

### 1.6 数据处理

参照文献<sup>[15]</sup>的方法计算古菌Shannon-Wiener多样性指数。运用公式 $C = 1 - (n/N)$ 计算文库覆盖率, $n$ 代表在文库分型时仅出现一次的带型数, $N$ 代表文库容量。利用EstimateS 8.0软件进行文库稀有度曲线分析。

## 2 结果

### 2.1 顿巴斯他乌盐湖样品理化性质分析

顿巴斯他乌盐湖样品pH略显碱性, $\text{Na}^+$ 、 $\text{Cl}^-$ 和 $\text{SO}_4^{2-}$ 浓度较高(表1)。根据盐的来源,高盐环境

一般可分为 thalassohaline (以 NaCl 为主要浓缩盐) 和 athalassohaline (富含  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$  两种阳离子及非  $\text{Cl}^-$  的阴离子) 两类<sup>[10, 18]</sup>。顿巴斯他乌盐湖固体

沉积主要为石盐 ( $\text{NaCl}$ )<sup>[3]</sup>, 初步判定为 thalassohaline 高盐环境。

表 1 顿巴斯他乌盐湖沉积物理化性质

Table 1 Physicochemical parameters of the sediments from Dunbasitawu salt lake

Item	pH	Total Salinity (g/Kg)	Main cations (g/Kg)				Main anions (g/Kg)			
			$\text{Na}^+$	$\text{Mg}^{2+}$	$\text{K}^+$	$\text{Ca}^{2+}$	$\text{Cl}^-$	$\text{HCO}_3^-$	$\text{CO}_3^{2-}$	$\text{SO}_4^{2-}$
	8.77	97.7	38	2.7	0.359	3.6	39	1.4	0.013	29.4

## 2.2 顿巴斯他乌盐湖古菌克隆文库库容的评价

克隆文库的覆盖率  $C = 89\%$ , 表明 59 个古菌克隆子能比较全面地反映顿巴斯他乌盐湖免培养古菌种群多样性。而且从稀有度曲线 (图 1) 可以看出, 当克隆子数达到 50 时, 曲线已接近平缓, 也说明该文库库容已基本达到饱和。

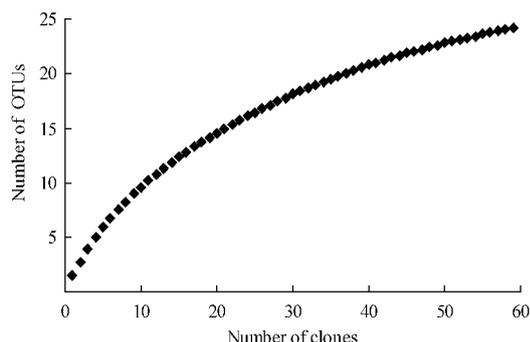


图 1 顿巴斯他乌盐湖沉积物古菌 16S rDNA 克隆文库稀有度曲线

Fig. 1 Rarefaction curve of associated Archaeal 16S rDNA clone library of Dunbasitawu salt Lake sediment.

## 2.3 顿巴斯他乌盐湖古菌 16S rDNA 系统发育分析

从克隆文库中随机挑取 59 个阳性克隆, 采用限制性内切酶 *Hae* III 进行 RFLP 分型, 最终得到 21 个古菌 OTUs, Shannon-Wiener 指数为 2.69, 与同类环境相比 (突尼斯盐场为 3.04<sup>[9]</sup>), 物种多样性略低。在 GenBank 数据库中对其进行 Blast 比对, 并根据 16S rRNA 基因克隆文库的系统发育分析 (图 2) 及 RDP 归类, 归为两个类群, 广古菌门 (Euryarchaeota) 和泉古菌门 (Crenarchaeota)。而整个文库中约 58% 的克隆与可培养古菌盐杆菌属 (*Halobacterium*)、盐盒菌属 (*Haloarcula*)、盐红菌属 (*Halorubrum*)、*Natronorubrum*、*Halonotius* 等 5 个属具有较高的 16S rRNA 基因序列相似性 (97% - 100%), 11% 的克隆与可培养古菌多个属的古菌相似性小于 97%,

31% 的克隆与 GenBank 中已存古菌 16S rRNA 基因序列 (包括分类地位仅到目、科的序列及免培养古菌序列) 具有较高的序列相似性。

广古菌门是顿巴斯他乌盐湖 16S rRNA 基因克隆文库的优势类群 (92%), 共包括 18 个基因型, 分为 4 个亚群 group1、group2、group3 和 group4。group1 亚群包括 7 个基因型, 占广古菌门的 20.3%。克隆子 MG1 (JQ033962)、MG14 (JQ033966)、MG24 (JQ033968) 与不同高盐环境获得的菌株聚为一支。其中克隆子 MG1 (JQ033962) 与澳大利亚高盐结晶盐池可培养菌株 *Halonotius pteriodes* (AY498646) 相似性为 99%。该菌株仅与盐红菌属 (*Halorubrum*) 序列相似性最高 (86.6% - 87.6%), 在系统发育进化树上明显聚为一支。克隆子 MG71 (JQ033974)、MG53 (JQ033973) 和 MG32 (JQ033969) 聚为一支, 与盐红菌属的相似性分别为 95%、98% 和 98%。克隆子 MG19 (JQ033978) 与其他序列分歧明显, 与突尼斯日光盐场沉积物中一株 Uncultured *halobacterium* (FN391290) 仅具有 92% 的序列相似性。group2 亚群包括 5 个基因型, 占广古菌门的 40.7%, 明显分为两支。克隆子 MG5 (JQ033965) 和 MG9 (JQ033976) 与来自内陆盐湖-死海 *Haloarcula marismortui* (AY596298) 具有超过 97% 的序列相似性。克隆子 MG3 (JQ033964) 与马拉斯盐场盐杆菌属 (*Halobacterium*, AY987820) 序列相似性最高, 为 99%。克隆子 MG13 (JQ033977) 与中国 Chaka 盐湖 uncultured archaeon 克隆子仅具有 95% 的序列相似性。group3 亚群也包括 5 个基因型, 占广古菌门的 27.1%。克隆子 MG58 (JQ033982) 与盐杆菌目 (*Halobacteriales*, AB576119) 具有 93% 的序列相似性。克隆子 MG40 (JQ033971) 和 MG52 (JQ033972) 与海洋日光盐场的盐杆菌科 (*Halobacteriaceae*, GU941430) 和 *Halomicrobium zhouii* (HM063952) 分别具有 98% 和

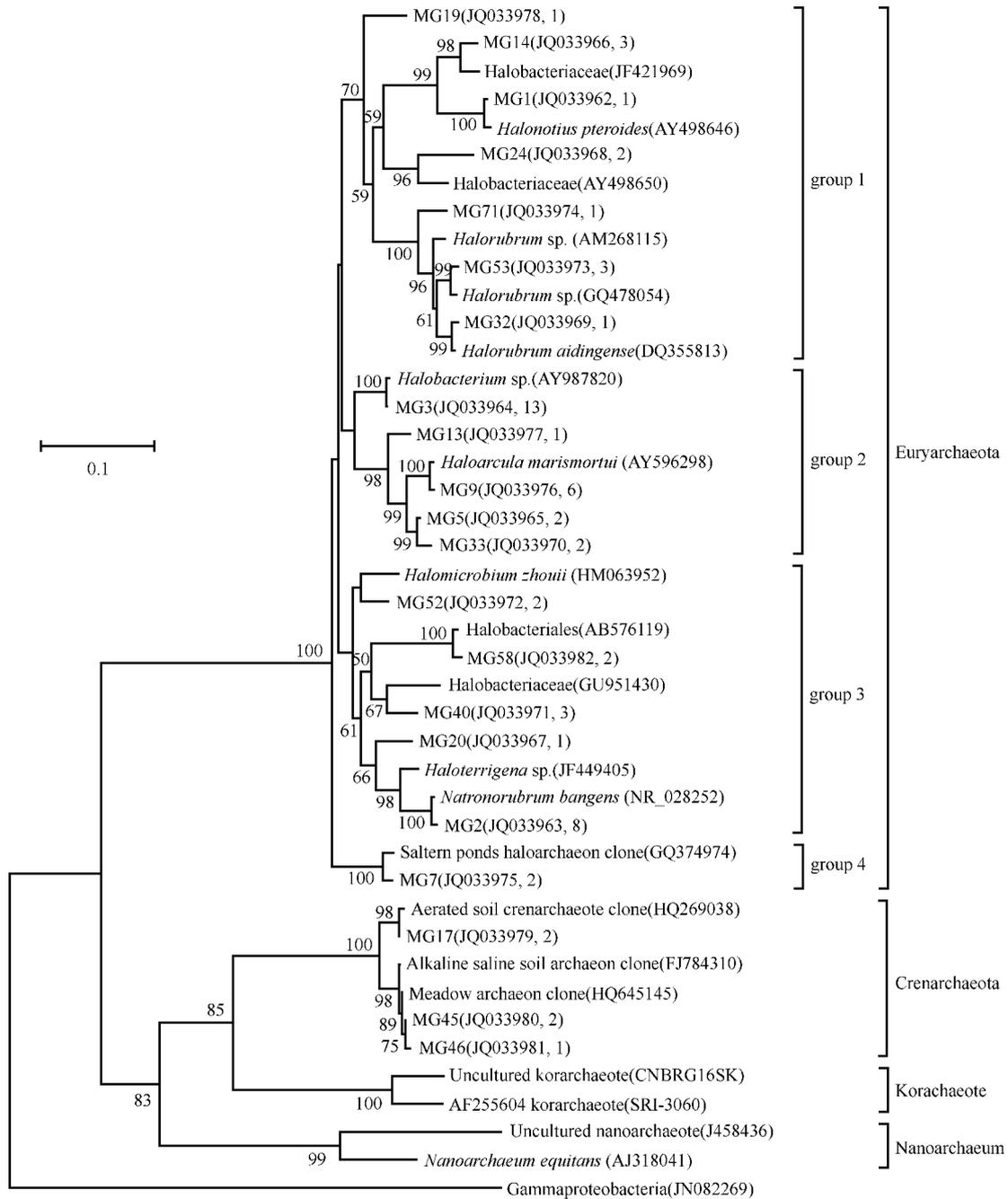


图2 新疆顿巴斯他乌盐湖沉积物古菌 16S rRNA 基因克隆文库的系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree based on the 16S rRNA sequences ( accession number is in the brackets from JQ033962 to JQ033982 , following is the number of clones ) obtained from Dunbasitawu salt lake sediment of Xinjiang using neighbor-joining method. Uncultured Gammaproteobacteria was used as the outgroup sequence. The scale bar represents 0.1 substitutions per nucleotide position. Bootstrap values (the number at the nodes) are based on 1000 replicates , only values > 50% are shown.

93% 的序列相似性。克隆子 MG2 ( JQ033963 ) 与 *Natronorubrum bangens* ( NR\_028252 ) 具有 98% 的序列相似性。克隆子 MG20 ( JQ033967 ) 和盐陆红菌属 (*Haloterrigena* JF449405) 具有 93% 的序列相似性。group4 亚群仅包括 1 个基因型 MG7 ( JQ033975 ) , 其

与澳大利亚高盐结晶盐池一株免培养盐杆菌科菌株克隆子 ( *Halobacteriaceae* , GQ374974 ) 相似性高达 98% , 形成一个簇群。

泉古菌门包括 3 个基因型 , 占整个文库的 8% 。其中克隆子 MG17 ( JQ033979 ) 与一土壤样品中免培

养甲烷相关古菌进化地位较近,序列相似性为99%。克隆子 MG45 (JQ033980) 和 MG46 (JQ033981) 与来自中国青海湖的免培养古菌 (HQ645145) 分别具有99%和98%的序列相似性,且与来自墨西哥盐碱湖土样的免培养古菌 (FJ84310) 分别具有同样的序列相似性。

### 3 讨论

本研究通过构建 thalassohaline 类型顿巴斯他乌盐湖古菌 16S rRNA 基因克隆文库,系统发育分析结果显示所有克隆子归属于两个门:广古菌门 (Euryarchaeota) 和泉古菌门 (Crenarchaeota)。前者是绝对优势类群(92%),其中多数与盐杆菌科(占广古菌门的96%)的盐杆菌属 (*Halobacterium*)、盐盒菌属 (*Haloarcula*)、盐红菌属 (*Halorubrum*) 等具有较高的相似性,而且它们在 NaCl 盐场及 thalassohaline 类型的盐湖<sup>[9-11]</sup>中也较为常见,只是不同的环境中各类群所占的百分比略有不同(如盐杆菌属在本盐湖中约占24%,在马拉加斯盐场为31%<sup>[10]</sup>)。除此之外,它们还常被发现于缺氧淡水及高盐水或沉积物中、甚至是稻田环境<sup>[19]</sup>,说明其分布广泛、且并不完全依赖于盐存在。可能是因为盐杆菌科的多个属其世系发育及功能多样性相对较高的缘故<sup>[19]</sup>。但埃及一 thalassohaline 型盐湖 (Tuz湖<sup>[11]</sup>) 及干旱地区的一些盐场(如马拉加斯盐场<sup>[10]</sup>、突尼斯盐场<sup>[9]</sup>) 中 *Haloquadratum walsbyi* 频繁被验证为优势类群;而印度泰米尔纳德邦盐场<sup>[12]</sup> 优势类群是与 *Natrinema versiforme* 相近的古菌,在其他盐场中用免培养法都未得到<sup>[9-11]</sup>,是该盐场特有的古菌类群。各类高盐环境中,盐分是微生物多样性及分布的重要影响因子,但环境中不同的离子比例对微生物也至关重要,因为溶液中一定水平溶解盐的渗透压强度会随主要离子效价而改变<sup>[13]</sup>,从而导致相同类型的高盐环境中具有不同的古菌多样性。

本研究结果还显示,顿巴斯他乌盐湖古菌 16S rRNA 基因克隆文库中16%的克隆与盐碱红菌属 (*Natronorubrum*) 及 *Halonotius* 的相似性超过98%,而在相同类型的高盐环境中,这类序列较少得到<sup>[9,18]</sup>。可能的原因是:包裹古菌的石盐或沉积物会发生形态学的改变,导致细胞变小,实验过程中损

失,或者形成较厚的包膜,在DNA提取时难以破壁而最终没有出现<sup>[20]</sup>。本盐湖样品盐分较高且略显碱性(表1),为其存在创造了良好的条件。

同时,国内外学者对埃及<sup>[21]</sup>、智利<sup>[13]</sup>、中国<sup>[17]</sup>等地区 athalassohaline 环境沉积物古菌做了大量研究,发现智利一盐湖获得的古菌与 thalassohaline 环境中的盐盒菌属 (*Haloarcula*)、盐红菌属 (*Halorubrum*) 相距较远,相似性为93% - 94%;中国青藏高原地区 Chaka 盐湖沉积物中获得的免培养古菌多数与甲烷相关的类群相似性最高<sup>[17]</sup>等。顿巴斯他乌盐湖与之相比,差异较大,可能的原因总结为两条,首先两类高盐环境离子组成和比例明显不同,形成的盐类沉积物的异质性导致沉积物中具有不同的压力和温度<sup>[20]</sup>,及 pH<sup>[22-23]</sup>、有机碳<sup>[23]</sup>等;其次是周围的地形、地质及气候条件的影响<sup>[7]</sup>,如降雨<sup>[24]</sup>、蒸发<sup>[24]</sup>、紫外线<sup>[25]</sup>等。本研究检测到了小部分(2%)与甲烷古菌相关的类群。一般情况下,甲烷相关古菌可以利用环境中的化学能厌氧自养生存,近年来也被发现于反刍动物的瘤胃、人类的消化系统、水稻田、湖泊或海底沉积物、高原湿地土、热油层和盐池,以及污泥消化和沼气反应器等人工环境中<sup>[26]</sup>,其对各种环境高强的适应性是长期进化的结果<sup>[27]</sup>。

本研究通过构建顿巴斯他乌盐湖古菌 16S rRNA 基因克隆文库,结果显示该文库中多数与 thalassohaline 高盐环境的盐杆菌属 (*Halobacterium*)、盐盒菌属 (*Haloarcula*)、盐红菌属 (*Halorubrum*) 等具有最高的序列相似性,整个文库中约11%的克隆与可培养古菌多个属的相似性小于97%,今后应结合可培养法,充分挖掘该盐湖的未知新种属。

### 参考文献

- [1] 郑绵平. 中国盐湖资源与生态环境. 地质学报 (*Acta Geologica Sinica*), 2010, 84(11): 1613-1622.
- [2] 孔凡晶, 郑绵平. 盐湖生物学研究进展. 地球学报 (*Acta Geoscientia Sinica*), 2007, 28(6): 603-608.
- [3] 郑喜玉. 中国盐湖志. 北京: 科学出版社, 2002: 1-195.
- [4] 孙超. 新疆地区若干盐湖基于16S rDNA的原核生物多样性研究. 浙江大学硕士学位论文, 2007.
- [5] Oren A. Halophilic microorganisms and their environments. Dordrecht: First edition. Kluwer Academic Publishers, 2002: 471-533.

- [ 6 ] Jiang HC , Dong HL , Zhang GX , Yu BS , Ye Q , Shen J , Rowe H , Zhang CL. Dominance of putative marine benthic archaea in Qinghai Lake , north-western China. *Environmental Microbiology* , 2008 , 10(9) : 2355-2367.
- [ 7 ] Last WM. Geolimnology of salt lakes. *Geosciences Journal* , 2002 , 6(4) : 347-369.
- [ 8 ] Burns DG , Janssen PH , Itoh T , Kamekura M , Echigo A , Dyall-Smith ML. *Halonotius pteroides* gen. nov. , sp. nov. , an extremely halophilic archaeon recovered from a saltern crystallizer. *Society for General Microbiology* , 2010 , 60(5) : 1196-1199.
- [ 9 ] Baati H , Guermazi S , Amdouni R , Gharsallah N , Sghir A , Ammar E. Prokaryotic diversity of a Tunisian multipond solar saltern. *Extremophiles* , 2008 , 12(4) : 505-518.
- [10] Maturrano L , Santos F , Rossello-Mora R , Antón J. Microbial diversity in Maras salterns , a hypersaline environment in the Peruvian Andes. *Applied and Environmental Microbiology* , 2006 , 72(6) : 3887-3895.
- [11] Mutlu MB , Martínez-García M , Santos F , Peñina A , Guven K. Prokaryotic diversity in Tuz Lake , a hypersaline environment in Inland Turkey. *Microbial Ecology* , 2008 , 65(3) : 474-483.
- [12] Manikandan M , Kannan V , Pašić L. Diversity of microorganisms in solar salterns of Tamil Nadu , India. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* , 2009 , 25(6) : 1007-1017.
- [13] Demergasso C , Casamayor EO , Chong G , Galleguillos P , Escudero L , Pedros-Alio C. Distribution of prokaryotic genetic diversity in athalassohaline lakes of the Atacama Desert , Northern Chile. *Microbiology Ecology* , 2004 , 48(1) : 57-69.
- [14] Jiang HC , Dong HL , Zhang GX , Yu BS , Chapman LR , Fields MW. Microbial diversity in water and sediment of lake chaka , an athalassohaline lake in northwestern china. *Applied and Environmental Microbiology* , 2006 , 72(6) : 3832-3845.
- [15] 徐赢华 , 张涛 , 李智 , 徐建华 , 毛培宏 , 金湘 , 娄恺. 灌木林土壤古菌群略结构对地表野火的快速响应. *生态学报 (Acta Ecologica Sinica)* , 2010 , 30(24) : 6804-6811.
- [16] 马小龙 , 王芸 , 杨红梅 , 王纯利 , 毛培宏 , 金湘 , 常玮 , 房世杰 , 张评许 , 娄恺. 新疆泥火山细菌遗传多样性. *生态学报 (Acta Ecologica Sinica)* , 2009 , 29(7) : 3722-3728.
- [17] Jiang HC , Dong HL , Yu BS , Liu XQ , Li YL , Ji SS , Zhang CL. Microbial response to salinity change in Lake Chaka , a hypersaline lake on Tibetan plateau. *Environmental Microbiology* , 2007 , 9(10) : 2603-2621.
- [18] 杨益芬. 四川大英盐湖原核生物多样性初步研究. 四川大学硕士学位论文 , 2009.
- [19] Scholten JCL , Joye SB , Hollibaugh JT , Murrell JC. Molecular analysis of the sulfate reducing and archaeal community in a meromictic Soda Lake ( Mono Lake , California ) by targeting 16S rRNA , mcrA , apsA , and dsrAB genes. *Microbial Ecology* , 2005 , 50(1) : 29-39.
- [20] Radax C , Gruber C , Stan-Lotte H. Novel haloarchaeal 16S rRNA gene sequences from Alpine Permo-Triassic rock salt. *Extremophiles* , 2001 , 5(4) : 221-228.
- [21] Cytryn E , Minz D , Oremland R , Cohen Y. Distribution and diversity of archaea corresponding to the limnological cycle of a hypersaline stratified lake ( Solar Lake , Sinai , Egypt ). *Applied and Environmental Microbiology* , 2000 , 66(8) : 3269-3276.
- [22] Löhr AJ , Laverman AM , Braster M , Straalen NM , Rölting WFM. Microbial communities in the world's largest Acidic Volcanic Lake , Kawah Ijen in Indonesia , and in the Banyupahit River originating from it. *Microbial Ecology* , 2006 , 52(4) : 609-618.
- [23] Jiang HC , Dong HL , Yu BS , Ye Q , Shen J , Rowe H , Zhang CL. Dominance of putative marine benthic archaea in Qinghai Lake , north-western China. *Environmental Microbiology* , 2008 , 10(9) : 2355-2367.
- [24] Mcgenity TJ , Gemmell RT , Grant WD , Stan-Lotter H. Origins of halophilic microorganisms in ancient salt deposits. *Environmental Microbiology* , 2000 , 2(3) : 243-250.
- [25] Hahn MW. The microbial diversity of inland waters. *Current Opinion in Biotechnology* , 2006 , 17(3) : 256-261.
- [26] 朱晨光 , 许政暄 , 宋任涛. 产甲烷古菌. *生命的化学 (Chemistry of Life)* , 2009 , 29(1) : 129-139.
- [27] 刘海昌 , 兰贵红 , 刘全全 , 张文静 , 曹毅 , 邓宇 , 张辉. 高温油藏采出液中嗜热产甲烷古菌的分离鉴定. *生物工程学报 (Chinese Journal of Biotechnology)* , 2010 , 26(7) : 1009-1013.

# Archaeal diversity in sediment of Dunbasitawu salt lake , Xinjiang , China , estimated by 16S rRNA gene sequence analyses

Li Zhu<sup>1 2</sup> , Hongmei Yang<sup>2</sup> , Yun Wang<sup>2</sup> , Xianyan Liao<sup>1 2</sup> , Lijuan Deng<sup>2</sup> , Shan Li<sup>1 2</sup> , Kai Lou<sup>2</sup> , Erkin Rahman<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> College of Life Science and Technology of Xinjiang University , Urumqi 830046 , China

<sup>2</sup> Institutes of Microbiology , Xinjiang Academy of Agriculture Science , Urumqi 830091 , China

**Abstract:** [Objective] We surveyed the composition and diversity of uncultured archaea in Xinjiang Dunbasitawu salt Lake sediment. [Methods] Environmental total DNA was directly extracted from the sediment. We constructed clone library of 16S rRNA gene amplified with archaea-specific primers. A total of 59 positive clones were randomly selected from the library and identified by restriction length polymorphism (RFLP) with enzyme *Hae* III. Clones with the unique RFLP pattern were sequenced , and then by phylogenetic analysis. [Results] The clone coverage C value was 89% , and Shannon-Wiener index was 2.69. In total , 21 Operational Taxonomic Units (OTUs) were obtained and affiliated with Euryarchaeota (92%) and Crenarchaeota (8%). The most of clones were affiliated to *Halobacterium* (24%) , *Haloarcula* (18%) , *Natronorubrum* (14%) , and *Halorubrum* (8%) , which belonged to family Halobacteriaceae (88%) with high similarity to that from thalassohaline environment. In addition , 11% of clones had less than 97% similarity with archaea sequences deposited in GenBank database. [Conclusion] Compared with other similar Hypersaline environments , archaea diversity in Dunbasitawu salt lake was a little lower. The proportion of archara was different , but the composition is consistent. It was implied that some potential new species or lineages maybe exist in Dunbasitawu salt lake.

**Keywords:** Hypersaline environment , salt lake , thalassohaline , archaea diversity , 16S rRNA homogeny

(本文责编:王晋芳)

---

Supported by the Natural Science Foundation of Xinjiang Uygur Autonomous Region (2011211B41) and by the Open Project of the Key Lab of Microorganisms in Xinjiang Specific Environment (XJYS0203-2010-05)

\* Corresponding author. Tel/Fax: +86-991-8583450; E-mail: erkin1106@163.com

Received: 16 December 2011 / Revised: 27 February 2012