



## 青海湖与中国内陆盐湖古菌群落组成的比较

殷婷婷<sup>#</sup>, 温洪宇<sup>\*\*</sup>, 袁振亚, 王秀颖, 王国振

江苏师范大学生命科学学院, 江苏 徐州 221116

**摘要:**【目的】本研究旨在全面揭示中国最大的内陆咸水湖——青海湖的古菌群落结构, 并对青海湖与盐湖的古菌多样性及群落结构进行比较。【方法】随机选取了青海省的茶卡盐湖、陕西省的花马池盐湖和苟池盐湖以及山西省的运城盐湖作为盐湖组。青海湖与盐湖组每个湖泊各采取 5 个样品, 采用针对 16S rRNA 基因的高通量测序技术分析 5 个湖泊中的古菌群落组成。【结果】研究发现, 青海湖的优势菌群为 DHVEG-6\_norank、*Methanomicrobia\_unclassified*、*Methanobacterium* (甲烷细菌属)、*Methanolobus* (甲烷叶菌属)、*Candidatus\_Methanomethylophilus*、*Miscellaneous\_Euryarchaeotic\_Group* (MEG)\_norank、AMOS1A-4113-D04\_norank、*Methanosarcina* (甲烷八叠球菌属)、*Miscellaneous\_Crenarchaeotic\_Group\_norank*。其中, DHVEG-6\_norank (70.46%)占绝对优势, 但该类群在盐湖中含量极少。4 个盐湖的共有优势属为 *Halonotius*、*Halorubrum* (盐红菌属)、*Natronomonas* (嗜盐碱单孢菌属)、*Halobellus* 和 *Haloarcula* (盐盒菌属)。对于青海湖与盐湖之间的古菌群落多样性, 影响最大的因素为湖水的矿化度, 矿化度与 5 个湖泊的古菌多样性呈负相关, 矿化度较低的青海湖群落组成与其他 4 个盐湖差异显著, 无共同优势菌; 其次为 pH, pH 与湖泊中古菌群落多样性呈微弱正相关, 小幅度影响到某些菌属的丰度; 而本文研究范围内的海拔与其群落结构及多样性没有明显相关性。【结论】青海湖与其他 4 个盐湖之间的群落结构及多样性有显著差异, 矿化度对古菌群落多样性具有显著影响。另, 本次测序发现 5 个湖泊中均有大量未分类的古菌, 应为潜在的新种。

**关键词:** 古菌, 群落结构, 多样性, 青海湖, 咸水湖, 盐湖

我国拥有丰富的湖泊类型, 包括淡水湖、咸水湖和盐湖。矿化度大于 1 g/L 定义为咸水湖, 大于 35 g/L 的则是盐湖。盐湖富集着多种盐类, 是重要的矿产资源<sup>[1]</sup>, 孕育着丰富的耐盐或嗜盐微

生物<sup>[2]</sup>。咸水湖是湖泊由淡水湖向盐湖演变过程中的必经环节<sup>[3]</sup>, 研究咸水湖及盐湖之间微生物多样性差异及影响因素有助于全面了解湖泊演化过程中微生物群落演变规律。

基金项目: 江苏高校优势学科建设工程资助项目

\*通信作者。Tel/Fax: +86-516-83536173; E-mail: wenhy@jsnu.edu.cn

<sup>#</sup>并列第一作者。

收稿日期: 2016-10-11; 修回日期: 2017-04-05; 网络出版日期: 2017-05-19

不同的咸水湖有不同的水化学成分和自然环境条件, 会被优先选为微生物生态多样性和微生物资源的研究对象<sup>[4]</sup>。就古菌而言, 其与真核生物的亲缘关系比与细菌更近。但古菌的进化进程比细菌和真核生物要慢, 可能为了保持适应极端环境下特殊表型基因的稳定表达, 因此古菌被认为是地球最早出现的生命形式而受到各领域研究者的重视。研究表明, 随着水体矿化度、盐浓度的增加, 古菌类群呈现出一定的变化规律<sup>[5]</sup>。对于淡水而言, 微生物的分布和多样性是由环境因素和空间因素共同决定的<sup>[6]</sup>。然而低浓度盐环境与高盐环境较为特殊, 其古菌群落结构和多样性可能与淡水并不相同。且咸水湖和盐湖之间的矿化度的差异较大, 研究其特殊资源古菌的群落结构及多样性有重要意义。

青海湖地处青藏高原东北部, 其矿化度为 18.1 g/L, 属咸水湖<sup>[7]</sup>。而盐湖是湖泊经历了淡水湖、咸水湖, 最终演化至盐湖<sup>[8]</sup>。青海湖对丰富青藏高原的生物多样性、调节当地地区气候、涵养水源、维护生态平衡起到了不可替代的作用。近年来, 西北地区的湖泊环境受气候变暖和人类活动影响, 水位持续下降, 生态环境恶化, 很多咸水湖有向盐湖演化的趋势。而青海湖地处我国高原干旱与半干旱的环境敏感带, 其盐度近年来有明显上升<sup>[7]</sup>, 有向盐湖演化的趋势, 因此对其研究极具生态环境价值和学术重要性。本文选取了与青海湖距离较近的均属青海省的盐湖茶卡盐湖和零散地分布于山西省的运城盐湖、陕西省的花马池盐湖和苟池盐湖作为研究盐湖与咸水湖古菌多样性的对照组, 采用针对 16S rRNA 基因的高通量测序技术研究咸水湖青海湖与盐湖的古菌多样性及群落结构差异, 可为研究古菌的生命代谢、遗传进化及生态功能打下基础, 为盐湖古菌资源的开发提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 采样

于 2014 年 6 月, 在青海湖(中国, 青海省)采用多点混合采样法采集卤水样品, 在湖水中部以 100 m 为正方形边长圈水面, 分别在各点及中心采 1000 mL 5 个水样。同时, 选取相近的青海省茶卡盐湖(青海省)并随机选取零散分布于中国其他地区且距离较远的 3 个盐湖, 即运城盐湖(山西省)、花马池盐湖(陕西省)和苟池盐湖(陕西省)作为盐湖组数据与青海湖进行比较对照, 采用同样的方法分别取 5 个样品, 共 25 个样。将各样地样品分别各自混合, 标记为 QH(青海湖)、CK(茶卡盐湖)、YC(运城盐湖)、HMC(花马池盐湖)、GC(苟池盐湖)。采集的样品一部分 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜过滤后, 用干冰运送至实验室,  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  进行保存。另一部分装入无菌离心管中, 用于 pH 和矿化度的测定。

矿化度的测定采用重量法<sup>[9]</sup>公式(1)。(1) 过滤去除水样中的漂浮物及沉降型固体物; (2) 将洗净的蒸发皿置入  $105\text{ }^{\circ}\text{C}$  烘箱中烘 2 h, 冷却至室温后称重, 重复烘干称重, 直至恒重; (3) 对每一水样分别取 100 mL 于已恒重的 100 mL 小烧杯中, 然后在蒸汽浴上蒸干; (4) 若蒸干残渣有色, 滴加 (1+1) 的过氧化氢溶液去除有机物, 再次蒸干, 直至残渣变白或颜色稳定不变为止; (5) 蒸发皿于  $105\text{ }^{\circ}\text{C}$  烘箱下烘 2 h, 冷却至室温后称重, 重复烘干称重, 直至恒重。

$$\text{矿化度(g/L)} = \frac{(W - W_0)}{V} \quad \text{公式(1)}$$

式中,  $W$ : 烧杯及残渣的总重量(g),  $W_0$ : 烧杯重量(g),  $V$ : 水样的体积(L)。

### 1.2 DNA 提取、PCR 扩增及高通量测序

(1) 将经过滤的滤膜剪成碎片, 使用 OMEGA

公司 E.Z.N.A soil DNA 试剂盒抽提基因组 DNA, 1%琼脂糖凝胶电泳检测获得的 DNA;(2) 将 DNA 产物进行 PCR 扩增, 引物为古菌 16S rRNA 基因引物 344F\_915R<sup>[10]</sup>。PCR 20  $\mu$ L 反应体系: 5 $\times$ FastPfu buffer 4  $\mu$ L, 2.5 mm dNTPs 2  $\mu$ L, 正向引物(5  $\mu$ mol/L) 0.8  $\mu$ L, 反向引物(5  $\mu$ mol/L) 0.8  $\mu$ L, FastPfu 聚合酶 0.4  $\mu$ L, 模板 DNA 10 ng, 补 ddH<sub>2</sub>O 至 20  $\mu$ L。采用 AxyPrepDNA 凝胶回收试剂盒切胶回收 PCR 产物, 经过 Tris-HCl 洗脱, 2%琼脂糖电泳检测;(3) 将 PCR 产物使用 Promega 公司的 QuantiFluor<sup>TM</sup>-ST 蓝色荧光定量系统进行检测。按照测序量需要确定相应比例进行混合, 使用 Illumina MiSeq PE250 平台进行测序。

### 1.3 序列数据分析及统计分析

MiSeq 测序后, 将得到的双端序列数据拼接同时进行质控过滤得到有效数据: 去除掉有效序列末尾端的不可利用序列, 如质量值 20 以下的碱基、引物接头序列、标签序列、短于 200 bp、模糊碱基数大于 0 的序列, 过滤 overlap 区错配比率大于 0.2 的序列。

使用 Usearch (vsesion 7.1 <http://drive5.com/uparse/>)将所得序列以 16S rRNA 基因序列相似度低于 97%为标准划分为不同的分类单元(OTU), 与 SILVA 库中 16S rRNA 基因序列数据库进行比对, 使用 Mothur 软件进行 OTU 聚类分析, 并构建稀疏曲线。根据 SILVA (Release119 <http://www.arb-silva.de>)<sup>[11]</sup>数据库中的参考序列对 OTU 进行种属鉴定和分类学分析。利用 R 软件制作热图, 并进行多样性与海拔、pH、矿化度之间的皮尔逊相关性分析。菌群丰度(Chao1、Ace)、菌群多样性指

数(Shannon)、测序深度指数、稀疏曲线利用 Mothur (version v.1.30.1 [http://www.mothur.org/wiki/Schloss\\_SOP#Alpha\\_diversity](http://www.mothur.org/wiki/Schloss_SOP#Alpha_diversity))计算。

## 2 结果和分析

### 2.1 样本基本信息统计

5 个湖泊矿化度呈现出的趋势为: GC>CK>HMC>YC>QH; 且 QH 极低, GC 极高(表 1)。5 个湖泊中, YC 的 pH 为 5.1, 呈酸性, 其余均偏碱性。经统计, 5 个湖之间的距离如下: CK-QH 151.8 km; CK-YC 1395.9 km; CK-HMC 958.1 km; CK-GC 957.7 km。CK 和 HMC 的距离非常近, 仅 11.1 km; CK 和 QH 的距离也较近。QH 与 CK 海拔高度相近, 5 个湖中最高; HMC 与 GC 相近, YC 最低。

### 2.2 古菌群落多样性及相似性分析

高通量测序结果显示, GC、HMC、YC、CK 与 QH 样本分别得到 20781、22029、15117、10804、15785 条序列, 分别归入了 230、90、98、86、69 个 OTU 中(表 2)。按照序列 3%的相似度绘制稀疏曲线(图 1)显示, 所有样本的曲线都趋于平缓, 表明采样与测序深度足够大; 由 Coverage 指数可得出同样的结果(表 2)。

表 1. 各样本的海拔、pH 和矿化度统计

Table 1. Altitude, pH and degree of mineralization of the samples

Items	QH	CK	HMC	GC	YC
Altitude/km	3196	3059	1310	1303	311
pH	9.1	7.8	7.9	7.3	5.1
Degree of mineralization/(g/L)	18.1	330.8	315.4	362.3	245.3

表 2. 各样本古菌测序序列总数、OTU 总数及群落多样性指数

Table 2. Diversity indices, reads numbers and OTUs numbers of the archaea in the 5 samples

Sample ID	Reads	OTU	Ace	Chao	Coverage	Shannon
QH	15785	230	230 (230, 233)	230 (230, 0)	0.999937	4.80 (4.78, 4.81)
CK	10804	90	90 (90, 90)	90 (90, 90)	1.000000	2.95 (2.92, 2.98)
HMC	22029	98	101 (99, 110)	100 (98, 110)	0.999728	2.84 (2.82, 2.86)
GC	20781	86	88 (86, 94)	89 (86, 103)	0.999759	2.63 (2.61, 2.65)
YC	15117	69	75 (71, 90)	74 (70, 92)	0.999471	2.49 (2.47, 2.52)

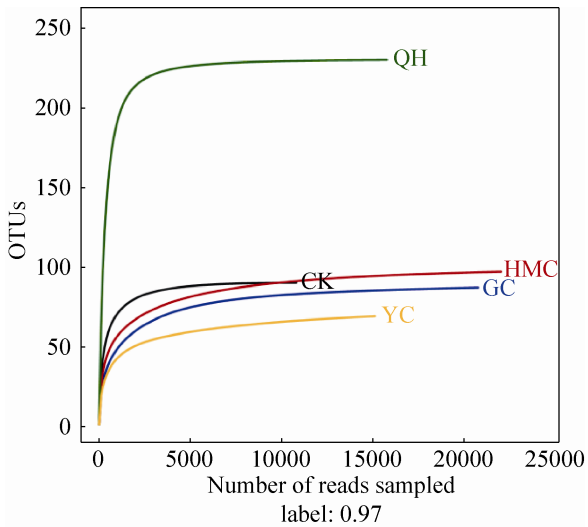


图 1. 古菌稀疏曲线

Figure 1. Rarefaction curves of archaea.

对于各样本的古菌丰度，由图 1 稀疏曲线可以看出，QH 的丰度高于其他样本，HMC、GC 与 CK 相似，丰度最低的是 YC。OTU、ACE 指数、

Chao1 指数均表现出一致的趋势为：QH>HMC>CK>GC>YC，且 QH 的古菌丰度明显高于其他样本。此结果与稀疏曲线所展现的相一致。就各样本古菌的多样性而言，Shannon 显示了如下趋势：QH>CK>HMC>GC>YC。总体而言，QH 的多样性远高于其他样本，其他样本的多样性大小较为相似。

### 2.3 古菌群落结构

据图 2，CK 的序列全部归入广古菌门 (Euryarchaeota) 中，GC、HMC、YC 分别有 99.99%、99.49%、99.89% 的序列归入了 Euryarchaeota 中，极少数归入 Archaea\_unclassified 中。而 QH 除 Euryarchaeota 外还有部分序列归入 Thaumarchaeota (奇古菌门) 中，占总数的 1.75%。

属水平上，QH 与其余各样本差异性极大。从热图可看出(图 3)，QH 的亮色区域集中于下方，

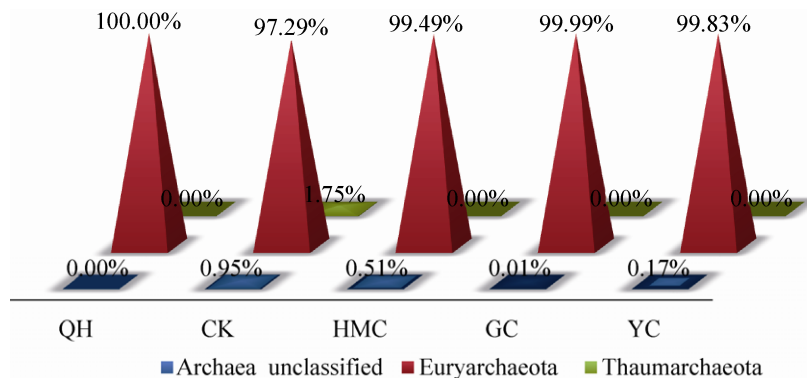


图 2. 青海湖、茶卡盐湖、花马池、苟池和运城盐湖的古菌在门水平上的分布图

Figure 2. The abundance of the dominant archaeal phyla in Qinghai Lake, Chaka Salt Lake, Huamachi Salt Lake, Gouchi Salt Lake and Yuncheng Salt Lake.

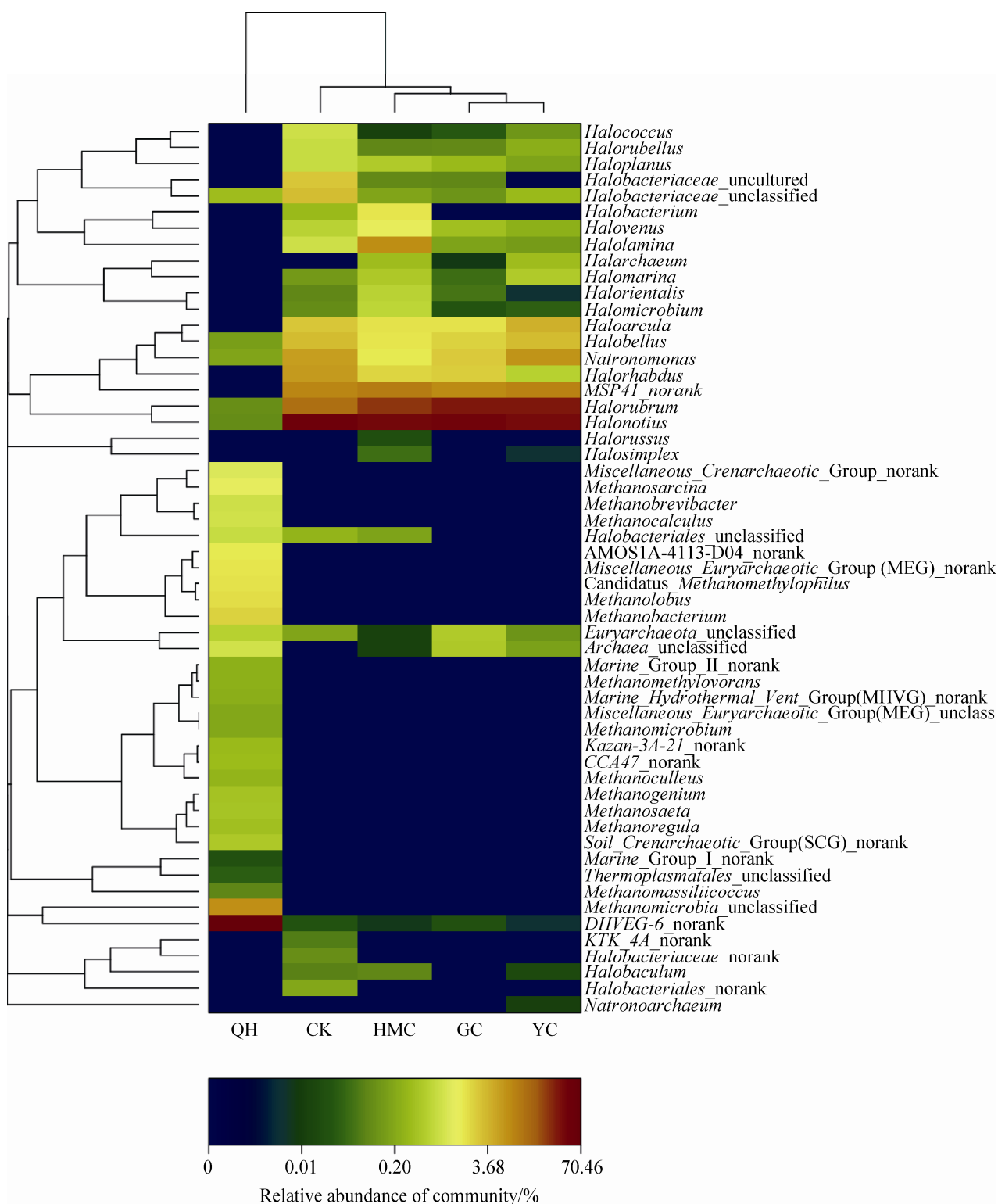


图 3. 青海湖、茶卡盐湖、花马池、苟池和运城盐湖的古菌组成在属水平上的热图

Figure 3. Heatmap at genus level of archaeal composition in the water of Qinghai Lake, Chaka Salt Lake, Huamachi Salt Lake, Gouchi Salt Lake and Yuncheng Salt Lake.

与其他 4 个样本无明显重合区域。因此仅有 7 个属为 5 个样本所共有, 且丰度差异较大, 分别为: *Halobacteriaceae\_unclassified*、*Halobellus*、*Natronomonas* (嗜盐碱单孢菌属)、*Halorubrum* (盐红菌属)、*Halonotius*、*Euryarchaeota\_unclassified*、*DHVEG-6\_norank*。

QH 的优势菌属为: *DHVEG-6\_norank*、*Methanomicrobia\_unclassified*、*Methanobacterium* (甲烷细菌属)、*Methanolobus* (甲烷叶菌属)、*Candidatus\_Methanomethylophilus*、*Miscellaneous\_Euryarchaeotic\_Group* (MEG)\_*norank*、*AMOS1A-4113-D04\_norank*、*Methanosarcina* (甲烷八叠球菌属)、*Miscellaneous\_Crenarchaeotic\_Group\_norank*。其中, *DHVEG-6\_norank* 占绝对优势, 相对丰度为 70.46%, 远高于次优势菌; 且仅 *DHVEG-6\_norank* 在其他 4 个样本中均有出现。

其余 4 样本 CK、GC、HMC、YC 中, 由图 3 可以看出, 其亮色区在此 4 样本中非常集中, 均集中于中上部及中下部 2 个属中。*Halonotius* 均为其最大的优势菌属, 相对丰度为 40.07%–48.08%; *Halorubrum* 其次, 相对丰度为 12.94%–34.47%, 且 *Halonotius* 与 *Halorubrum* 的遗传距离较为相近。再者即为 *Natronomonas*、*Halobellus*、*Haloarcula*, 在各样本中相对丰度为 1.79%–6.66%, 而此 3 个属也遗传距离较近, 相似度较高。盐杆状菌属 (*Halorhabdus*) 在 CK、GC、HMC 中为优势菌属,

而在 YC 中相对丰度较小, 为 0.60%。CK 中有独特的优势菌属, 为 *Halobacteriaceae* (盐杆菌科) 下未被分类过的和不可培养的菌属 *Halobacteriaceae\_unclassified*、*Halobacteriaceae\_uncultured*; HMC 中有独特的优势菌属为 *Halolamina* (盐薄片菌属) (7.64%) 和 *Halovenus* (1.62%)。

除此之外, CK、QH、GC、HMC、YC 样本中分别有 15.92%、87.27%、9.10%、10.70%、9.40% 的序列未被分类到具体的属, 它们应为潜在的新种。QH 中的未知菌属尤为庞大, 70.46% 归入 *DHVEG-6* 中。

由热图(图 3)上方样品距离图可看出, CK、HMC、GC、YC 之间的距离较近, 表明其属水平上群落相似度高; 而 QH 与其他 4 个样品距离很远, 代表其与其他 4 个样品的古菌群落结构差距非常大。

## 2.4 古菌群落多样性与湖水矿化度、pH 和海拔的相关性

由表 3 可知: (1) 海拔与古菌多样性的相关系数的 *P* 值为 0.1603, 大于 10% 的显著性水平, 说明零假设成立, 二者不存在明显的相关关系; (2) pH 对古菌多样性的影响在 10% 的显著性水平下通过检验, 相关系数为 0.8132, 说明二者之间存在着微弱的正相关性; (3) 矿化度对古菌多样性的影响在 5% 的显著性水平下通过检验, 但相关系数为

表 3. 各样本古菌群落多样性与湖水矿化度、pH、海拔之间的相关性检验

Table 3. The correlation between the archaeal community diversity and the salinity, pH and altitude of the lake

Test object	Correlation	<i>T</i> -test	Confidence interval (95%)	<i>P</i> value
Archaeal diversity and salinity	-0.9045	-3.6724	(-0.9937, 0.1098)	0.03494**
Archaeal diversity and pH	0.8132	2.4199	(-0.2445, 0.9872)	0.09418*
Archaeal diversity and altitude	0.7312	1.8568	(-0.4256, 0.9808)	0.16030

\*: Passed the test at the 10% significance level; \*\*: Passed the test at the 5% significance level.

-0.9045, 说明矿化度与古菌多样性呈显著的负相关, 矿化度越高, 古菌多样性越低。

### 3 讨论

本研究样本采集于咸水湖青海湖和 4 个盐湖即青海省茶卡盐湖、山西省运城盐湖、陕西省花马池盐湖、苟池盐湖, 采用针对 16S rRNA 基因的高通量测序技术揭示了各湖泊存在的古菌资源多样性, 并比较了各湖泊古菌的群落结构。

青海湖与新疆一典型微咸水湖即柴窝堡湖<sup>[4]</sup>的群落结构不相同。在门水平上, 两湖序列归入的共同的门为: Euryarchaeota (广古菌门)和 Thaumarchaeota (奇古菌门)。而柴窝堡湖还有一部分序列归入 Crenarchaeota (泉古菌门), 且与青海湖的优势门不同: 青海湖优势门为 Euryarchaeota 而柴窝堡湖为 Thaumarchaeota。其与新疆赛里木湖<sup>[4]</sup>的群落结构完全不同, 赛里木湖的序列全部归入了 Crenarchaeota。这可能是由于柴窝堡湖和赛里木湖的矿化度较青海湖低, 更适合 Crenarchaeota 的生长。4 个盐湖样品中的优势菌属与李璐等<sup>[12]</sup>所研究的内蒙古巴丹吉林沙漠碱性盐湖、崔恒林等<sup>[13]</sup>研究的新疆艾比湖、艾丁湖等盐湖相似, 其共有的优势菌属为 *Haloarcula* (盐盒菌属)、*Halorubrum* (盐红菌属)或 *Halonotius*, 而本研究中发现的其他菌属未见有太多报道。这可能由于此前多数研究是采用的可培养方法、培养基比较单一, 而很多古菌需要特殊的能源物质。

4 个盐湖样品的古菌群落组成结构相对较为相似, 多样性差异不大。而 QH 的古菌群落结构与 4 个盐湖差异性很大。多样性指数及海拔、pH、矿化度的相关系数表明, 矿化度对古菌的群落多样性影响很大, 而 QH 为咸水湖, 矿化度相比于

其他 4 个盐湖非常低。由此可知, 作为咸水湖与盐湖的最重要的区别, 矿化度也是影响咸水湖与盐湖中古菌群落多样性最重要的因素。

QH 最大的优势菌属 DHVEG-6\_norank 是一种嗜盐古菌, 此前在很多非高盐环境(包括热液沉积物<sup>[14]</sup>、盐湖<sup>[15]</sup>中、城市污水甲烷处理反应器<sup>[16]</sup>、淡水湖和咸水湖)中被发现, 在我国的太湖(中国五大淡水湖之一)中也被检测到过<sup>[17]</sup>, 但在盐湖中存在的量很少。有研究表明, DHVEG-6 能在蓝藻丰富的地方存在<sup>[17]</sup>, 而蓝藻本身便能驱动湖水中的氮循环和磷循环, 有些蓝藻具有固氮能力<sup>[18]</sup>。在本研究中, 推测其在 QH 中大量存在而在 4 个盐湖中仅少量存在的原因是, 作为咸水湖的青海湖比其他 4 个盐湖中有更多的可参与氮磷循环的微生物, 为其提供了代谢底物。而其理化性质等未见任何报道, 有待进行深入研究。

相关系数分析表明, pH 可微弱影响到古菌多样性, pH 越高, 古菌多样性越高。这可能是由于大部分嗜盐古菌容易在偏碱性的环境下生存。前人研究发现, *Halorhabdus* 的可生长 pH 范围为 5.5–8.5, 最适宜 pH 为 6.7–7.1<sup>[19]</sup>; 而 YC 的 pH 为 5.1。但我们在此 pH 环境下还是发现少量 *Halorhabdus*, 说明 *Halorhabdus* 下的某些种可能会在更低的 pH 下生存, 进一步研究可能会将其可生长 pH 范围更新为 5.1–8.5。而其他 3 个样本 pH 均在其生长范围内, 且 *Halorhabdus* 是其优势菌。

另外, 4 个盐湖中古菌群落结构相似, 而茶卡盐湖与运城盐湖、花马池、苟池之间的地理距离较远、海拔差距较大; 花马池与苟池距离非常近、海拔近乎相同, 但花马池与苟池之间的相似性较苟池与运城盐湖间的低, 可见 4 个盐湖的地理距离及海拔与其群落结构及多样性没有明显相关

性, 与本文的相关系数分析结果一致。

前人研究表明, 在淡水湖中以中泉古菌类群和产甲烷类广古菌占优势<sup>[17]</sup>; 咸水湖中除了中泉古菌类群和产甲烷类广古菌类群, 还存在一些嗜盐碱的广古菌类群<sup>[20-21]</sup>; 而演变至盐湖则为广古菌门类群占据绝对优势, 并且基本都为盐杆菌科中嗜盐或者极端嗜盐类群<sup>[22-23]</sup>。综上所述, 本文研究通过高通量测序揭示了 5 个湖泊包括咸水湖青海湖与其他盐湖的古菌群落结构组成, 比较得知其古菌群落组成及多样性基本符合上述规律。另外, 本次测序发现五个盐湖中均有大量未分类的古菌, 它们应为潜在的新种。近期研究显示, 人们对于盐环境中新物种的报道也在不断增多<sup>[24-25]</sup>, 其中有很大一部分属于古菌。因此考虑可对培养基进行改良, 增添特殊的营养物质如淀粉、微晶纤维素、干酪素、酵母粉、腐植酸等来进行分离筛选可能会培养出更多的可培养古菌并筛选出新物种。

## 参 考 文 献

- [1] Song PS, Li W, Sun B, Nei Z, Bu LZ, Wang YS. Recent development on comprehensive utilization of salt lake resources. *Chinese Journal of Inorganic Chemistry*, 2011, 27(5): 801–815. (in Chinese)  
宋彭生, 李武, 孙柏, 乜贞, 卜令忠, 王云生. 盐湖资源开发利用进展. *无机化学学报*, 2011, 27(5): 801–815.
- [2] Borsodi AK, Ruzsnyák A, Molnár P, Vladár P, Reskóné MN, Tóth EM, Sipos R, Gedeon G, Márialigeti K. Metabolic activity and phylogenetic diversity of reed (*Phragmites australis*) periphyton bacterial communities in a Hungarian shallow soda lake. *Microbial Ecology*, 2007, 53(4): 612–620.
- [3] Jiang JH, Huang Q. Analysis on utilization of the lacustrine water resources and the salinization of lacustrine water in west China. *Arid Land Geography*, 2004, 27(3): 300–304. (in Chinese)  
姜加虎, 黄群. 我国西部地区湖泊水资源利用与湖水咸化状况分析. *干旱区地理*, 2004, 27(3): 300–304.
- [4] Deng LJ, Lou K, Zeng J, Xu YH, Shi YW, Zhang YX. Archaea diversity in water of two typical brackish lakes in Xinjiang. *Acta Ecologica Sinica*, 2012, 32(21): 6811–6818. (in Chinese)  
邓丽娟, 娄恺, 曾军, 徐赢华, 史应武, 张煜星. 新疆两典型微咸水湖水体免培养古菌多样性. *生态学报*, 2012, 32(21): 6811–6818.
- [5] 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.
- [6] Logue JB, Bürgmann H, Robinson CT. Progress in the ecological genetics and biodiversity of freshwater bacteria. *BioScience*, 2008, 58(2): 103–113.
- [7] Yang JX, Qi HF, Shi JQ, Chen DQ, Huang FX, Tang HY. Hydrochemistry property and water quality analysis of Qinghai Lake. *Freshwater Fisheries*, 2005, 35(3): 28–32. (in Chinese)  
杨建新, 祁洪芳, 史建全, 陈大庆, 黄福祥, 唐洪玉. 青海湖水化学特性及水质分析. *淡水渔业*, 2005, 35(3): 28–32.
- [8] 郑喜玉, 张明刚, 徐昶, 李秉孝. 中国盐湖志. 北京: 科学出版社, 2002.
- [9] Zhou GQ, Wang Q. Approach to determination of degree of mineralization for shallow groundwater. *Environmental Engineering*, 2003, 21(3): 65–67. (in Chinese)  
周国强, 王强. 浅层地下水矿化度测定方法的探讨. *环境工程*, 2003, 21(3): 65–67.
- [10] Yu ZT, García-González R, Schanbacher FL, Morrison M. Evaluations of different hypervariable regions of archaeal 16S rRNA genes in profiling of methanogens by *Archaea*-specific PCR and denaturing gradient gel electrophoresis. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74(3): 889–893.
- [11] Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T, Yarza P, Peplies J, Glöckner FO. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research*, 2013, 41: D590–D596.
- [12] Li L, Hao CB, Wang LH, Pei LX. Microbial diversity of salt lakes in Badain Jaran desert. *Acta Microbiologica Sinica*, 2015, 55(4): 412–424. (in Chinese)  
李璐, 郝春博, 王丽华, 裴理鑫. 巴丹吉林沙漠盐湖微生物多样性. *微生物学报*, 2015, 55(4): 412–424.
- [13] Cui HL, Yang Y, Dilbr T, Zhou PJ, Liu SJ. Biodiversity of halophilic archaea isolated from two salt lakes in Xinjiang region of China. *Acta Microbiologica Sinica*, 2006, 46(2):



- 171–176. (in Chinese)  
崔恒林, 杨勇, 迪丽拜尔·托乎提, 周培瑾, 刘双江. 新疆两盐湖可培养嗜盐古菌多样性研究. *微生物学报*, 2006, 46(2): 171–176.
- [14] Nunoura T, Oida H, Nakaseama M, Kosaka A, Ohkubo SB, Kikuchi T, Kazama H, Hosoi-Tanabe S, Nakamura K, Kinoshita M, Hirayama H, Inagaki F, Tsunogai U, Ishibashi J, Takai K. Archaeal diversity and distribution along thermal and geochemical gradients in hydrothermal sediments at the Yonaguni Knoll IV hydrothermal field in the Southern Okinawa Trough. *Applied and Environmental Microbiology*, 2010, 76(4): 1198–1211.
- [15] Schneider D, Arp G, Reimer A, Reitner J, Daniel R. Phylogenetic analysis of a microbialite-forming microbial mat from a hypersaline lake of the Kiritimati Atoll, Central Pacific. *PLoS ONE*, 2013, 8(6): e66662.
- [16] Bandara WMKRTW, Kindaichi T, Satoh H, Sasakawa M, Nakahara Y, Takahashi M, Okabe S. Anaerobic treatment of municipal wastewater at ambient temperature: Analysis of archaeal community structure and recovery of dissolved methane. *Water Research*, 2012, 46(17): 5756–5764.
- [17] Fan XF, Xing P. The vertical distribution of sediment archaeal community in the “Black Bloom” disturbing Zhushan Bay of Lake Taihu. *Archaea-An International Microbiological Journal*, 2016, 2016: Article ID 8232135.
- [18] Cottingham KL, Ewing HA, Greer ML, Carey CC, Weathers KC. Cyanobacteria as biological drivers of lake nitrogen and phosphorus cycling. *Ecosphere*, 2015, 6(1): 1–19.
- [19] Werner J, Ferrer M, Michel G, Mann AJ, Huang SX, Juarez S, Ciordia S, Albar JP, Alcaide M, La Cono V, Yakimov MM, Antunes A, Taborda M, Da Costa MS, Hai T, Glöckner FO, Golyshina OV, Golyshin PN, Teeling H. Halorhabdus tiamatea: proteogenomics and glycosidase activity measurements identify the first cultivated euryarchaeon from a deep-sea anoxic brine lake as potential polysaccharide degrader. *Environmental Microbiology*, 2014, 16(8): 2525–2537.
- [20] Cytryn E, Minz D, Oremland RS, 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.
- [21] Swan BK, Ehrhardt CJ, Reifel KM, Moreno LI, Valentine DL. Archaeal and bacterial communities respond differently to environmental gradients in anoxic sediments of California Hypersaline Lake, the Salton Sea. *Applied and Environmental Microbiology*, 2010, 76(3): 757–768.
- [22] Birbir M, Calli B, Mertoglu B, Bardavid RE, Oren A, Ogmen MN, Ogan A. Extremely halophilic Archaea from Tuz Lake, Turkey, and the adjacent Kaldirim and Kayacik salterns. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 2007, 23(3): 309–316.
- [23] Mwirichia R, Cousin S, Muigai AW, Boga HI, Stackebrandt E. Archaeal diversity in the Haloalkaline Lake Elmenteita in Kenya. *Current Microbiology*, 2010, 60(1): 47–52.
- [24] Liu KH, Ding XW, Wang HF, Zhang XM, Hozzein WN, Wadaan MAM, Lan AF, Zhang B, Li WJ. Eukaryotic microbial communities in hypersaline soils and sediments from the alkaline hypersaline Huama Lake as revealed by 454 pyrosequencing. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2014, 105(5): 871–880.
- [25] Lizama C, Monteoliva-Sánchez M, Prado B, Ramos-Cormenzana A, Weckesser J, Campos V. Taxonomic study of extreme halophilic archaea isolated from the “Salar de Atacama”, Chile. *Systematic and Applied Microbiology*, 2001, 24(3): 464–474.

# Comparison of archaeal community composition between Qinghai Lake and other salt lakes in China

Tingting Yin<sup>#</sup>, Hongyu Wen<sup>##</sup>, Zhenya Yuan, Xiuying Wang, Guozhen Wang

School of Life Sciences, Jiangsu Normal University, Xuzhou 221116, Jiangsu Province, China

**Abstract:** [Objective] We compared the difference of community structure of archaea between Qinghai Lake (the largest inland saltwater lake in China) and several other salt lakes in China. [Methods] Chaka Salt Lake in Qinghai Province, Huamachi Salt Lake and Gouchi Salt Lake in Shaanxi Province, and Yuncheng Salt Lake in Shanxi Province were randomly selected as the sample pool. From each lake five samples were taken and analyzed with the high-throughput sequencing technology for 16S rRNA gene. [Results] The dominant genera of Qinghai Lake were DHVEG-6\_norank, *Methanomicrobia\_unclassified*, *Methanobacterium*, *Methanolobus*, *Candidatus\_Methanomethylophilus*, *Miscellaneous\_Euryarchaeotic\_Group(MEG)\_norank*, AMOS1A-4113-D04\_norank, *Methanosarcina*, *Miscellaneous\_Crenarchaeotic\_Group\_norank*. Among them DHVEG-6\_norank (70.46%) was absolutely dominant whereas it was hardly found in other salt lakes. On the contrary, the dominant genera in the other 4 salt lakes are *Halonotius*, *Halorubrum*, *Natronomonas*, *Halobellus* and *Haloarcula*. Degree of mineralization was the most influential factor that affected the structure of the archaea communities in Qinghai Lake and other salt lakes. The community structure of Qinghai Lake with a low degree of mineralization was significantly different from that of the other 4 salt lakes. The second factor is pH that affected the abundance of some species. However, no significant correlation between the altitude and the community structure was found. [Conclusion] The community structure and diversity of Qinghai Lake was significantly different from that of other 4 salt lakes and it was mainly influenced by the degree of mineralization.

**Keywords:** archaea, community structure, diversity, Qinghai Lake, saltwater lake, salt lake

(本文责编: 李磊)

---

Supported by the Priority Academic Program Development of Jiangsu Higher Education Institutions (PAPD)

\*Corresponding author. Tel/Fax: +86-516-83536173; E-mail: wenhy@jsnu.edu.cn

<sup>#</sup>Those authors contributed equally to this work.

Received: 11 October 2016; Revised: 5 April 2017; Published online: 19 May 2017