

张振清,张曷林,张威,等.河西走廊黑戈壁生态系统中可培养细菌分布特征及抗辐射活性[J].中国沙漠,2020,40(4):52-62.

# 河西走廊黑戈壁生态系统中可培养细菌 分布特征及抗辐射活性

张振清<sup>1ab,2</sup>, 张曷林<sup>1bc</sup>, 张威<sup>1ab</sup>, 刘光琇<sup>1ab</sup>, 陈拓<sup>1bc</sup>,  
刘阳<sup>1b,3</sup>, 陈警伟<sup>4</sup>, 田茂<sup>1ab,2</sup>

(1.中国科学院西北生态环境资源研究院 a.中国科学院沙漠与沙漠化重点实验室, b.甘肃省极端环境微生物资源与工程重点实验室, c.冰冻圈科学国家重点实验室, 甘肃 兰州 730000; 2.中国科学院大学, 北京 100049; 3.西北师范大学, 甘肃 兰州 730000; 4.兰州大学, 甘肃 兰州 730000)

**摘要:**黑戈壁区域具有干旱、强辐射等极端环境条件,鲜有人类踪迹,相关生物学报道较少,其中微生物研究未见报道。本研究首次针对黑戈壁生态系统中微生物分布特征开展研究,对河西走廊黑戈壁生态系统中不同生境土壤样品进行可培养细菌分离。结果表明:河西走廊黑戈壁生态系统中每克土壤可培养细菌数量(CFU)为 $2.3 \times 10^4 \sim 1.49 \times 10^6$ ,不同生境土壤的可培养细菌具有明显差异,可培养细菌主要富集于石下生境,黑戈壁中砾石下为微生物提供了相对较适宜的生境;土壤总碳是影响黑戈壁土壤细菌数量的主要因素。结合16S rRNA基因序列比对,分析共鉴定可培养细菌118株菌株,菌株主要归类于放线菌门(Actinobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)、变形菌门(Proteobacteria)和异常球菌-栖热门(Deinococcus-Thermus)4个类群,其中放线菌门和厚壁菌门是优势门;芽孢杆菌属(*Bacillus*)、链霉菌属(*Streptomyces*)是优势属,10株细菌菌株为潜在新种。从分离菌株中筛选出了多株抗辐射活性较高的菌株,其中7株活性显著高于阳性对照耐辐射奇球菌(*Deinococcus radiodurans*),为进一步筛选研究细菌抗辐射机制及抗辐射活性物质提供菌株资源。

**关键词:**黑戈壁;微生物;可培养细菌;抗辐射

文章编号:1000-694X(2020)04-052-11

DOI: 10.7522/j.issn.1000-694X.2020.00014

中图分类号:Q938

文献标志码:A

## 0 引言

沙漠生态系统气候干旱、地表缺水、岩石裸露或沙砾覆盖地面,是常见的自然地理景观<sup>[1]</sup>。在这一极端环境中,栖息着大量的微生物,且分布广泛,微生物对构建稳定的沙漠生态系统具有重要的生态学意义。微生物作为分解者能分解动植物残体,参与物质循环,促进植物的生长<sup>[2]</sup>,同时亦在沙漠治理方面发挥作用<sup>[3]</sup>。沙漠中动物稀少,植被覆盖率低<sup>[4-5]</sup>,微生物是沙漠生态系统中极其重要和最为活跃的部分,它的群落结构和多样性可以敏感地反映沙漠的生态功能和环境变化<sup>[6]</sup>,生态学意义突出。

戈壁是沙漠地貌的一种,主要分布于干旱或极端干旱区地势开阔地带,长期受到强烈的风蚀或物理风化作用。黑戈壁是一类特殊的戈壁地貌,地表被黑色砾石覆盖。黑戈壁仅分布于中国西部甘肃与新疆交界的大约20万km<sup>2</sup>的区域<sup>[7]</sup>。由于青藏高原以及周边山脉的阻挡,热带洋面上的水汽很难深入到这一区域,因此该区域干旱、多风,大陆性气候特别明显,年降水量一般小于100mm,大部分区域小于50mm,日照时间长,蒸发量极高,是降水量的十几倍<sup>[8-10]</sup>。目前关于黑戈壁区域的研究较少,仅限于地貌、气候、水文、土壤及动植物资源,微生物学相关研究未见报道。同时,由

收稿日期:2019-11-23; 改回日期:2020-01-17

资助项目:国家自然科学基金项目(31870479,31570498);中国科学院对外合作重点项目(131B62KYSB20160014);中国科学院“西部之光”人才培养计划项目

作者简介:张振清(1994—),女,山东人,硕士研究生,研究方向为微生物生态学。E-mail:1298576321@qq.com

通信作者:张威(E-mail: ziaoshen@163.com)

于黑戈壁区域表面的黑色砾石具有很强的太阳光吸收能力,导致它比其他戈壁区接受的辐射更强<sup>[11]</sup>。也就意味着生存其中的微生物需具备较强的抗辐射活性来应对环境胁迫,对其研究有望深入讨论极端环境下微生物的生态适应机制。

本研究首次针对河西走廊黑戈壁生态系统中可培养细菌开展研究,以期阐明其在黑戈壁生境下的分布特征,结合土壤理化因子分析阐明其分布的影响因素,通过对菌株抗辐射活性进行研究探讨其生态适应机制,所获得菌株亦可为这一特殊生境中微生物资源开发提供数据支撑及菌株资源。

## 1 材料和方法

### 1.1 样品采集

采样地点位于河西走廊甘肃省酒泉市瓜州县双塔镇(图1)。使用无菌铲和无菌勺分别采集黑戈壁砾石上表面土、砾石石下土、砾石间隙土、深层土(50 cm深度)4种土壤生境样品。具体采集方法为:

每个采样点随机选取5个平行位点进行样品混合,位点间隔>200 m。砾石间隙土直接用无菌勺收进无菌袋,深层土用无菌铲挖深50 cm,后用无菌勺收进无菌袋,砾石石下土直接用无菌勺进行刮取,收进无菌袋,将取过砾石石下土的石头收进无菌袋带回实验室处理。每份样品50~100 g,4℃低温保存和冰袋运输。样品运输至实验室后4℃低温保存,并于48 h内进行微生物分离实验和理化性质测定,剩余样品储存在-20℃冰箱内。

### 1.2 土壤理化性质分析

土壤含水量(SWC)采用烘干法测定(105℃,8 h)。土壤总碳(TC)、有机碳(TOC)和总氮(TN)用高温燃烧法测定,用孔径为2 mm的筛子过滤后的风干土测定。将10 g土溶于50 mL的去离子水,然后振荡30 min,再静置10 min,之后用pH测量仪(PT-10, sartorius)测量土壤pH,用电导率仪(DDSJ-308A)测量电导率(EC)和盐度。因砾石上表面上样品量少,未进行理化性质测定。

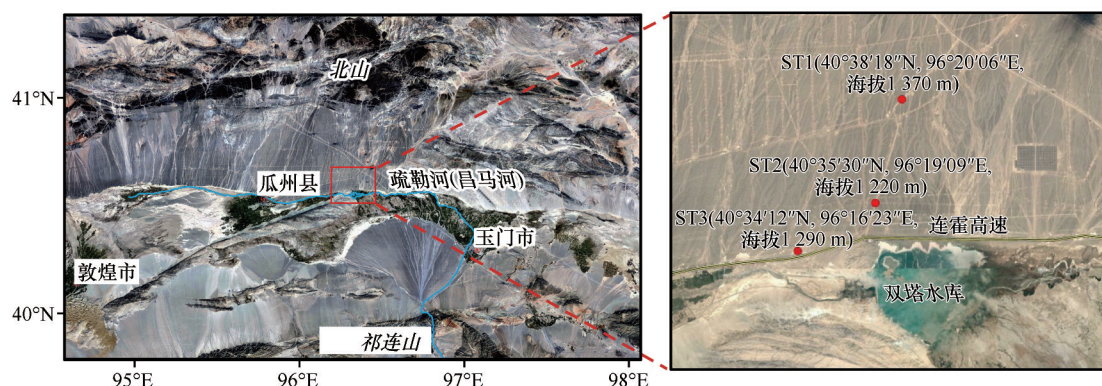


图1 河西走廊黑戈壁采样点位置示意图

Fig.1 Map of sampling points in black gobi of the Hexi Corridor

### 1.3 土壤细菌分离培养

#### 1.3.1 培养基

固体培养基平板选用R<sub>2</sub>A和LB培养基。R<sub>2</sub>A固体培养基:酵母粉0.5 g,胰蛋白胨0.5 g,酪蛋白氨基酸0.5 g,葡萄糖0.5 g,可溶性淀粉0.5 g,磷酸氢二钾0.5 g,七水硫酸镁0.5 g,丙酮酸钠0.5 g,琼脂15 g,1 L蒸馏水,pH值7.2(用磷酸氢二钾或磷酸二氢钾调节),121℃灭菌20 min。LB固体培养基:胰蛋白胨10 g,酵母提取物5 g,氯化钠10 g,琼脂15 g,1 L蒸馏水,121℃灭菌20 min。

液体培养基选用R<sub>2</sub>A液体培养基,配方同R<sub>2</sub>A

固体培养基,仅不包含琼脂。

#### 1.3.2 培养方法

砾石石下土、砾石间隙土、深层土的处理方式:将土壤样品按梯度稀释,在无菌条件下,1 g土壤样品加入9 mL无菌生理盐水,用混匀器充分振荡5 min,静置10 min后取上清液1 mL加入9 mL无菌生理盐水稀释得10<sup>-1</sup>稀释溶液,从10<sup>-1</sup>稀释溶液取1 mL用9 mL无菌生理盐水稀释10<sup>-2</sup>稀释溶液,再反复3次,最终获得10<sup>-1</sup>、10<sup>-2</sup>、10<sup>-3</sup>、10<sup>-4</sup>、10<sup>-5</sup>共5个浓度梯度的稀释溶液,每个梯度分别取100 μL溶液涂布在固体培养基平板上,置于25℃培养箱,培养7~15 d。

砾石上表面土的处理方式: 在无菌条件下, 砾石样品用无菌棉签蘸取无菌生理盐水反复擦拭, 将砾石表面的土壤清洗至无菌的试管中, 再按梯度稀释。取静置 10 min 的溶液上清液 1 mL 加入 9 mL 无菌生理盐水稀释得  $10^{-1}$  稀释溶液, 从  $10^{-1}$  稀释溶液取 1 mL 用 9 mL 无菌生理盐水稀释  $10^{-2}$  稀释溶液, 再反复 3 次, 最终获得  $10^{-1}$ 、 $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$  共 5 个浓度梯度的稀释溶液, 每个梯度分别取 100  $\mu$ L 溶液涂布在固体培养基平板上, 置于 25  $^{\circ}$ C 培养箱, 培养 7~15 d。

#### 1.4 分离菌株的 16S rRNA 基因测序分析

挑取平板上生长的单菌落, 在培养基平板上进行划线纯化、编号并记录菌落形态特征。将纯化后的菌株保存在保种液(30% 培养基, 70% 甘油)中, 放于 -80  $^{\circ}$ C 超低温冰箱保藏。同时, 使用 PCR 扩增的方法, 用细菌通用引物 27F 与 1492R 扩增细菌的 16S rRNA 基因。经琼脂糖凝胶电泳检测, 将扩增成功的 PCR 产物寄至西安擎科测序公司测序, 将获得的 16S rRNA 基因序列用 BLAST 核酸比对工具与 NCBI 的核酸数据库进行比对。

#### 1.5 菌株抗辐射活性测定

用  $R_2A$  液体培养基将要筛选的菌制备成菌悬液 ( $OD=1$ ,  $OD$  值用紫外分光光度计在波长 600 nm 下测定), 取稀释到  $10^{-4}$  的菌悬液 1 mL 平铺到平板中, 放入紫外箱中照射 20 min (辐照强度为 1 000  $J \cdot m^{-2}$ ), 之后取 100  $\mu$ mL 到固体培养基平板上进行涂布, 取未照射过的  $10^{-4}$  菌液 100  $\mu$ mL 涂布到固体培养基平板上作为对照, 每个做 3 个平行, 培养 7~15 d 后进行计数, 计算菌株存活率。

#### 1.6 数据统计分析

数据的统计分析与处理在 SPSS 和 Origin 程序中进行。P 值为所做的显著性分析。P<0.05, 表示两组存在显著差异, P<0.001, 表示两组的差异极其显著, 两组之间有相关性, 然后再看 R 值, |R| 值越大, 相关性越好, 正数代表正相关, 负数代表负相关。

## 2 结果

### 2.1 黑戈壁土壤的理化性质

河西走廊黑戈壁不同土壤理化因子特征不同 (图 2)。土壤平均含水量和电导率表现出深层土>

砾石间隙土>砾石石下土的特征。深层土平均含水量为 11.45%, 显著高于砾石间隙土(2.27%)和砾石石下土(1.02%)。深层土平均电导率为 5.02  $mS \cdot cm^{-1}$ , 是砾石间隙土平均电导率(2.73  $mS \cdot cm^{-1}$ )的 1.83 倍, 是砾石石下土(2.00  $mS \cdot cm^{-1}$ )的 2.51 倍。土壤平均总碳显示出深层土<砾石间隙土<砾石石下土, 深层土总碳含量显著低于砾石石下土和砾石间隙土。砾石石下土有机碳含量显著高于砾石间隙土和深层土, 砾石间隙土和深层土有机碳含量接近且无显著差异。总氮浓度 0.03%~0.11%, 深层土平均总氮的含量高于砾石石下土和砾石间隙土。土壤的盐度 0.08%~0.34%, pH 值 8.22~8.64, 但是不同样品间无显著差异。理化性质的不同表明了黑戈壁生境的异质性。

### 2.2 黑戈壁土壤可培养细菌数量分布特征

可培养细菌的数量随取样地点的不同而有显著差异, 可培养细菌数量分布特征呈现为: 砾石石下土>砾石间隙土>深层土>砾石上表面土, 砾石上表面土、砾石石下土、砾石间隙土、深层土每克土壤可培养细菌数量(CFU)平均值分别是  $2.33 \times 10^4$ 、 $9.00 \times 10^5$ 、 $3.50 \times 10^5$ 、 $2.93 \times 10^5$  (图 3)。

### 2.3 黑戈壁土壤可培养细菌菌群组成

通过平板筛选, 依据菌株形态差异共获得 198 株菌株, 通过 16S rRNA 基因测定及序列比对分析, 最终得到 118 株菌株, 分属于 4 个门: 放线菌门(Actinobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)、变形菌门(Proteobacteria)和异常球菌-栖热门(Deinococcus-Thermus)。其中, 放线菌门和厚壁菌门为优势菌门, 3 个样点所占比例分别为 64.06% 和 26.56%、45.41% 和 44.95%、67.46% 和 18.21% (表 1)。

118 株菌株分属于 32 个属: 土壤球菌属(Agrococcus)、Arsenicicoccus、节细菌属(Arthrobacter)、Auraticoccus、Amycolatopsis、固氮螺菌属(Azospirillum)、芽孢杆菌属(Bacillus)、Belnapia、芽球菌属(Blastococcus)、短波单胞菌属(Brevundimonas)、Candidimonas、克洛氏菌属(Crossiella)、异常球菌属(Deinococcus)、肠杆菌属(Enterobacter)、肠球菌属(Enterococcus)、两面神菌属(Janibacter)、草螺菌属(Herbaspirillum)、动球菌属(Kineococcus)、考克氏菌属(Kocuria)、列契瓦尼而氏菌属(Lechevalieria)、Massilia、Methylobacterium、细杆菌属(Microbacteri-



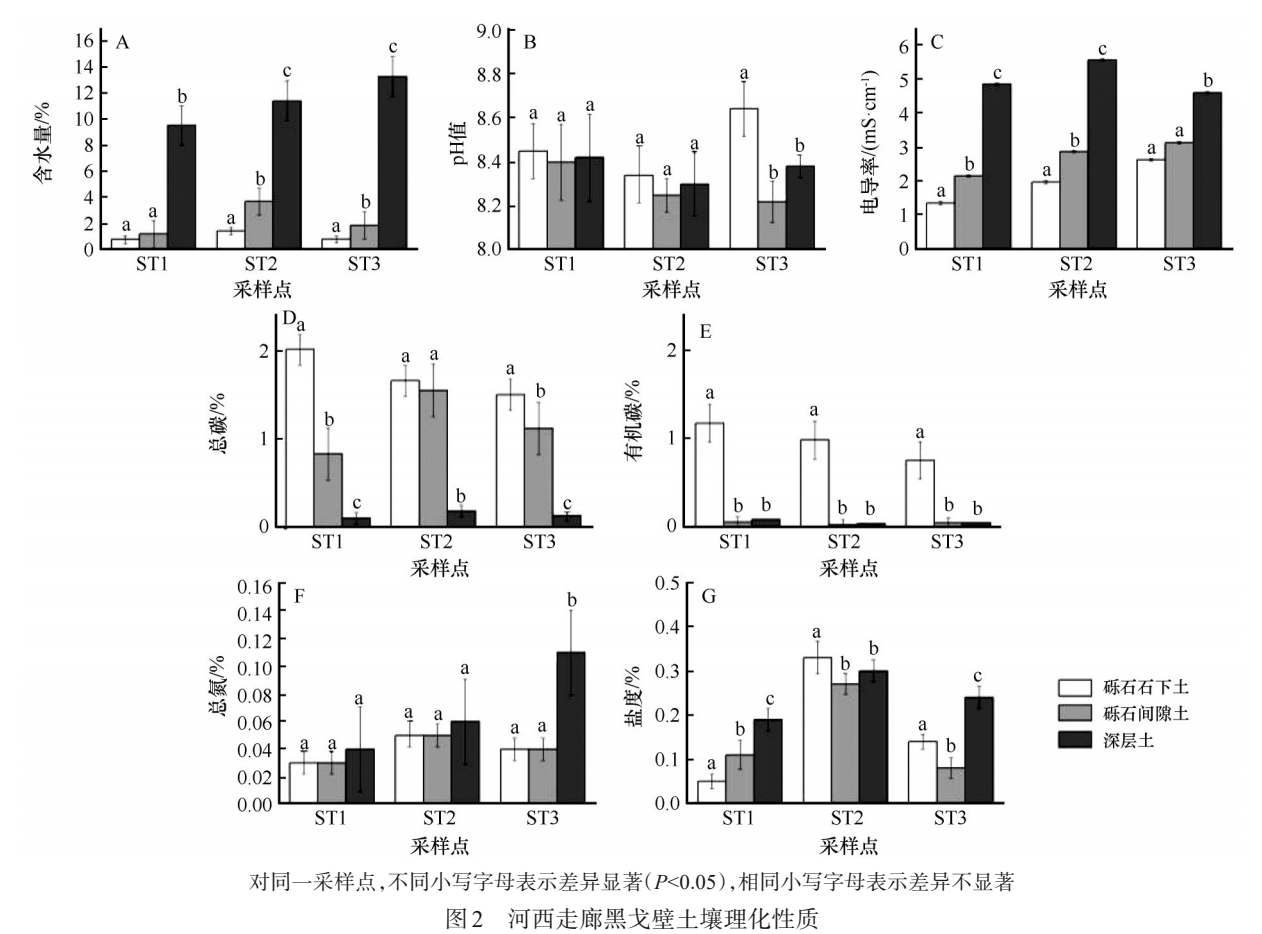


Fig.2 Physical and chemical properties of soil in black gobi of the Hexi Corridor

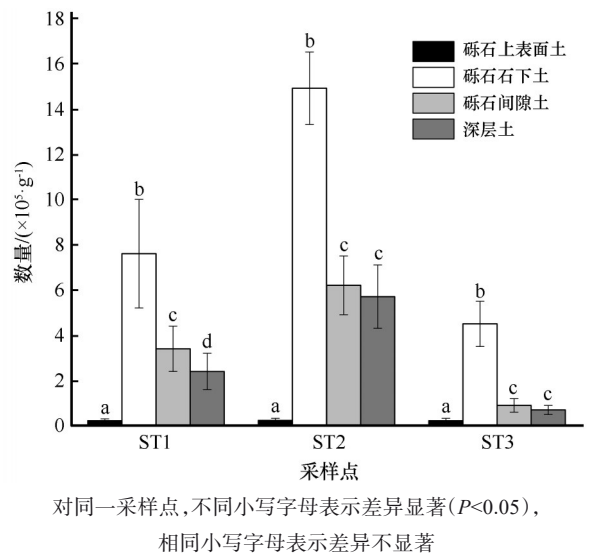


图3 河西走廊黑戈壁土壤可培养细菌数量分布特征  
Fig.3 Distribution characteristics of soil culturable bacteria in black gobi of the Hexi Corridor

um)、Microvirga、贫养杆菌属(*Modestobacter*)、类芽胞杆菌属(*Paenibacillus*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、假诺卡氏菌属(*Pseudonocardia*)、玫瑰单胞菌属(*Roseomonas*)、糖丝菌属(*Saccharothrix*)、葡萄球菌属(*Staphylococcus*)、链霉菌属(*Streptomyces*)。其中芽孢杆菌属、链霉菌属是优势菌属,在土壤中相对丰度分别为20.88%和31.81%(图4)。

菌属(*Staphylococcus*)、链霉菌属(*Streptomyces*)。其中芽孢杆菌属、链霉菌属是优势菌属,在土壤中相对丰度分别为20.88%和31.81%(图4)。

河西走廊黑戈壁不同生境土壤中可培养细菌分布有所异同,其中链霉菌属和芽孢杆菌属为优势菌属,在不同生境土壤广泛分布。链霉菌属在砾石上表面土、砾石石下土、砾石间隙土和深层土的相对丰度分别为32.26%、41.03%、20.20%和28.75%,在砾石石下土分布更广泛。芽孢杆菌属在砾石上表面土、砾石石下土、砾石间隙土和深层土的相对丰度分别为16.13%、19.05%、25.00%和20.89%,在砾石间隙土分布更为广泛(图4)。

所有菌株中,有10株菌株16S rRNA基因序列比对相似度 $\leq 97\%$ ,为潜在新种资源,其中放线菌门5株,变形菌门2株,厚壁菌门2株,异常球菌-栖热门1株(表1)。

研究区可培养细菌Shannon多样性指数呈现特征为:深层土>砾石间隙土>砾石石下土>砾石上表面土;Simpson多样性指数呈现特征为:深层土<砾石间隙土<砾石石下土<砾石上表面土(表2)。

表 1 河西走廊黑戈壁土壤可培养细菌菌株

Table 1 Culturable bacteria strains isolated from soil in black gobi of the Hexi Corridor

门	属	编号	相似菌株	登录号	相似 度/%	属	编号	相似菌株	登录号	相似 度/%		
Actinobacteria	Agrococcus	ST2LB-2	A. citreus ZBGKL11	KJ734880	99.71	Streptomyces	ST2SX-8	S. africanus E3SQ	MH472998	98.80		
		ST1-1-2-2	A. jenensis DW414	KR856324	97.32		ST1-1-2-5	S. cacaoi Ru87	KY818662	97.87		
		ST3-6	A. jenensis Y25	MK721042	99.34		ST3-3-2-5	S. capoamus JCM 4734	NR_040856	99.56		
		ST3-4	A. jenensis Y14	MK721034	99.26		ST3-3-2-6-1	S. chryseus HBUM174847	EU841613	97.51		
		ST3-3	A. terreus BT116	MH934923	99.85		ST2-S1	S. coeruleoaurantiacus K7	KR023963	99.85		
	Amycolatopsis	ST3-18	A. nigrescens CSC17Ta-90	NR_043880	97.93	ST1-1-1-13	S. coeruleofuscus MR-18	KY753217	99.85			
	Arsenicococcus	ST1-1-1-17-1	A. bolidensis CCUG 47306	NR_025598	99.93	ST1SX-8	S. glaucescens NRRL B-2706	NR_115773	99.93			
	Arthrobacter	ST3-16	A. agilis IHBB 11164	KR085842	99.01	ST1SX-14	S. gobitricini LMG 19910	AJ781335	100.00			
		ST3-15	A. agilis II/11	KM036066	99.71	ST3-2-1-10-2	S. lavendulicolor NBRC 12881	NR_112317	99.93			
		ST1-1-2-7	A. crystallopoietes MR-15	KY753214	99.93	ST3B1	S. litmodini HBUM175011	FJ486428	98.65			
	Auraticoccus	ST3-10	A. monumenti AL12	KU258209	98.17	ST1-1-2-4	S. lunaelactis 244-HNR7	MF077012	99.11			
		ST3-2	A. monumenti MON 2.2	LT629688	99.55	ST3-24-1-1	S. lunaelactis MM109	CP026304	99.12			
		ST3-21	A. sp. R-68201	KY386505	95.24	ST1-1-2-3	S. lunaelactis MMun143	MG980181	99.19			
		ST3-22	A. monumenti AL12	KU258209	94.31	ST3-2-1-1-2-1	S. misionensis 12-4	KJ571074	99.49			
		Blastococcus	ST1-1-1-16	B. aggregatus 1P10AnA	EU977831	99.63	ST3-2-1-8-1	S. misionensis cfcc3147	FJ792563	99.63		
		ST3-5-2	B. capsensis R9	MK696404	99.63	ST1-1-2-10-1	S. palmae CMU-AB199	LC413945	98.02			
		ST3-24-1-3	B. capsensis RQ2	MK696394	99.09	ST1-1-2-10	S. palmae CMU-AB204	NR_152026	97.47			
		ST2B4	B. endophyticus YIM 68236	NR_108608	99.32	ST2SB-6	S. piloviolofuscus 174468	EU593715	97.66			
		ST3-12-1	B. saxobsidens DD2	FO117623	99.78	ST3-2-2-2	S. pulveraceus MR-27	KY753226	96.65			
		ST3-24	B. saxobsidens BC444	NR_117019	99.33	ST3-3-2-6	S. sp. Z594b	MN371360	97.72			
		ST2SX-1	B. saxobsidens BC448	NR_025482	99.64	ST2SX-5-2	S. rimosus PSK5-20B	MN421096	96.81			
	Crossiella	ST3SX-11	C. equi NRRL B-24104	NR_025088	99.18	ST1-3-2-2	S. sioyaensis W24	KP718602	99.12			
	Janibacter	ST1-1-2-11	J. terrae CS12	NR_036868	99.85	ST3-2-1-9-1	S. spinoverrucosus 173372	EU570683	98.89			
	Kineococcus	ST2SS-1	K. radiotolerans SRS30216	NR_074542	99.00	ST3-12	S. spinoverrucosus 174464	EU593714	99.05			
	Kocuria	ST1-1-1-24-2	K. gwangalliensis SJ2	NR_116266	99.93	ST2SX7	S. spinoverrucosus NBRC 14228	NR_041159	97.81			
		ST3-24-1-2	K. indica SJU27	MN511772	99.86	ST3SX-4	S. spinoverrucosus Ng2-6	MK519101	98.62			
		ST2LB-1	K. rosea 5	KF923415	99.78	ST1-1-2-9	S. sp. NO8	KC200022	100.00			
	Lechevalieria	ST1SX-6-2	L. atacamensis 41-HR6	MF077035	99.46	ST2-5	S. xinghaiensis S15077	MG563223	99.78			
		ST2SX-6	L. atacamensis C61	NR_116354	95.81	Saccharothrix	ST2B-10-4	S. lopnurensis YIM LPA2h	NR_145947	98.62		
		ST1SX-10	L. xinjiangensis R24	NR_044009	99.26	ST3-3-1	S. yanglingensis Hhs.015	NR_117283	99.55			
	Microbacterium	ST2LB-3	M. kitamiense kitami C2	NR_112042	99.71	Modestobacter	ST3-14	M. caceresii KNN 45-2b	NR_137398	99.56		
		ST3-6	M. oxydans 4-46-1-1-1	MK425667	99.85	ST3-1-1-13	M. marinus BC501	FO203431	99.93			
		Pseudonocardia	ST1SX-2	P. hierapolitana PM2084	NR_126236	99.26						
	Deinococcus- Thermus	Deinococcus	ST1SX-4	D. sp. 4B4	EU029131	97.07						
			ST1-1-1-9	D. sp. 4B6	EU029132	99.83						
	Firmicutes	Bacillus	ST1-1-1-24-1	B. amyloliquefaciens HX2016004	MN176577	100.00	Bacillus	ST1SX-3	B. atrophaeus XAAS.xj4	MN187264	99.86	
			ST1-1-1-17	B. amyloliquefaciens KB-82	KM269197	100.00		ST2SX-3	B. atrophaeus Y27	MK721044	100.00	
			ST2SS3-1	B. atrophaeus HAB_5	MK310269	99.93		ST1-1-1-9	B. cereus LH8	KC248215	99.93	
			ST1-1SX-3	B. atrophaeus MER_TA_30	KT719435	99.93		ST2-19-2	B. cereus st2	MF102134	99.93	
			ST1-1-1-17-2	B. licheniformis D69	KU922147	99.86		ST1-1-2-6	B. foraminis CD5	MK216757	99.64	
ST2-19-1			B. mojavensis h	MG839268	100.00	ST3-1-1-3-1		B. halotolerans FJAT-45391	KY849471	100.00		
ST1SX8-1			B. paramycoides OOF5	MH542275	99.86	ST2-26		B. subtilis GuanMX	MN473282	100.00		
ST1-1-2-13			B. pumilus D51	JX293284	99.93	ST3-2		B. subtilis PSBnR5	MH257752	100.00		
ST1SX-5			B. safensis MDL5	MN493773.1	100.00	ST1-1-1-20		B. subtilis Sk01A	MH210872	99.79		
ST3-27			B. safensis YZ1709B01	MK748241.1	99.79	ST3-5		B. tequilensis 6MS1	MK713704	97.32		
ST2-29			B. simplex ZLynn1000-56	KY316470	99.57	ST1-1-2-1		B. vallismortis 70.LE.1	MN149347	99.93		
ST3SS4-1			B. subtilis 2/30	MN435586	100.00	ST2B8		B. vallismortis Y	MG839261	98.57		
ST3-2-2-12			B. velezensis N8	KX588164	100.00							
Paenibacillus			ST2-28	P. harenae NJY-3	MF101120	95.90		Enterococcus	ST3-2-1-9-3	E. sp. 79w3	AB675140	94.50
			ST3-24-2	P. polymyxa RCP6	GU369972	99.63		Staphylococcus	ST2SS2-1	S.saprophyticus subsp.saprophyticus zxx27	KJ009395	99.51
Proteobacteria		Azospirillum	ST3SX-5	A. palatum ww10	EU747318	94.87	Massilia	ST3-20	M. varians 66-LR14-2	MF077216	99.48	
			ST2SX5-1	A. sp. NCCP-699	LC193946	96.99	Methyloburum	ST2SX-5-1	M. pseudosaxae IMB16-188	MG190781	100.00	
		Belnapia	ST1SX-20	B. moabensis CP2C	NR_042371	99.20	Microvirga	ST3-2-1-6	M. aerilata KBL26	MG576179	98.19	
			ST3-2-1-11	B. rosea CPCC 100156	NR_109297	99.85		ST3-2-1	M. aerilata NBRC 106137	NR_114298	100.00	
		Brevundimonas	ST2-2	B. diminuta 264AG7	KF836539	99.78		ST3-13	M. ossetica V5/5K	KX576554	98.36	
	ST2-10		B. diminuta HMS9	MK696984	99.92		ST3-2-1-10	M. sp. R491-7	KX444133	98.89		
	ST3SS-7		B. naejangsanensis 5S3	KM374767	99.69	Pseudomonas	ST2SS3-2	P. fluorescens psf14	MN256400	99.58		
		ST3-27-2	B. vesicularis CX-89	MH368406	99.70		ST3-2-3-12-1-1	P. putida YP2	KP313537	100.00		
	Candidimonas	ST1-3-2-5	C. bauzanensis BZ59	NR_108569	98.23		ST1-1-2-2-1	P. stutzeri SYJ1-8	KR262851	99.57		
	Enterobacter	ST1SX-6-1	E. hormaechei SCEH020042 chromosome	CP028538	99.71	Roseomonas	ST3-1-1-14	R. oryzae JC288	NR_137403	98.34		
Herbaspirillum	ST3-2-1-12	H. sp. 1NM-18	JQ608328	97.76	Stenotrophomonas	ST3-3-1-2	S. rhizophila EGE-B-6	KP050794	99.71			

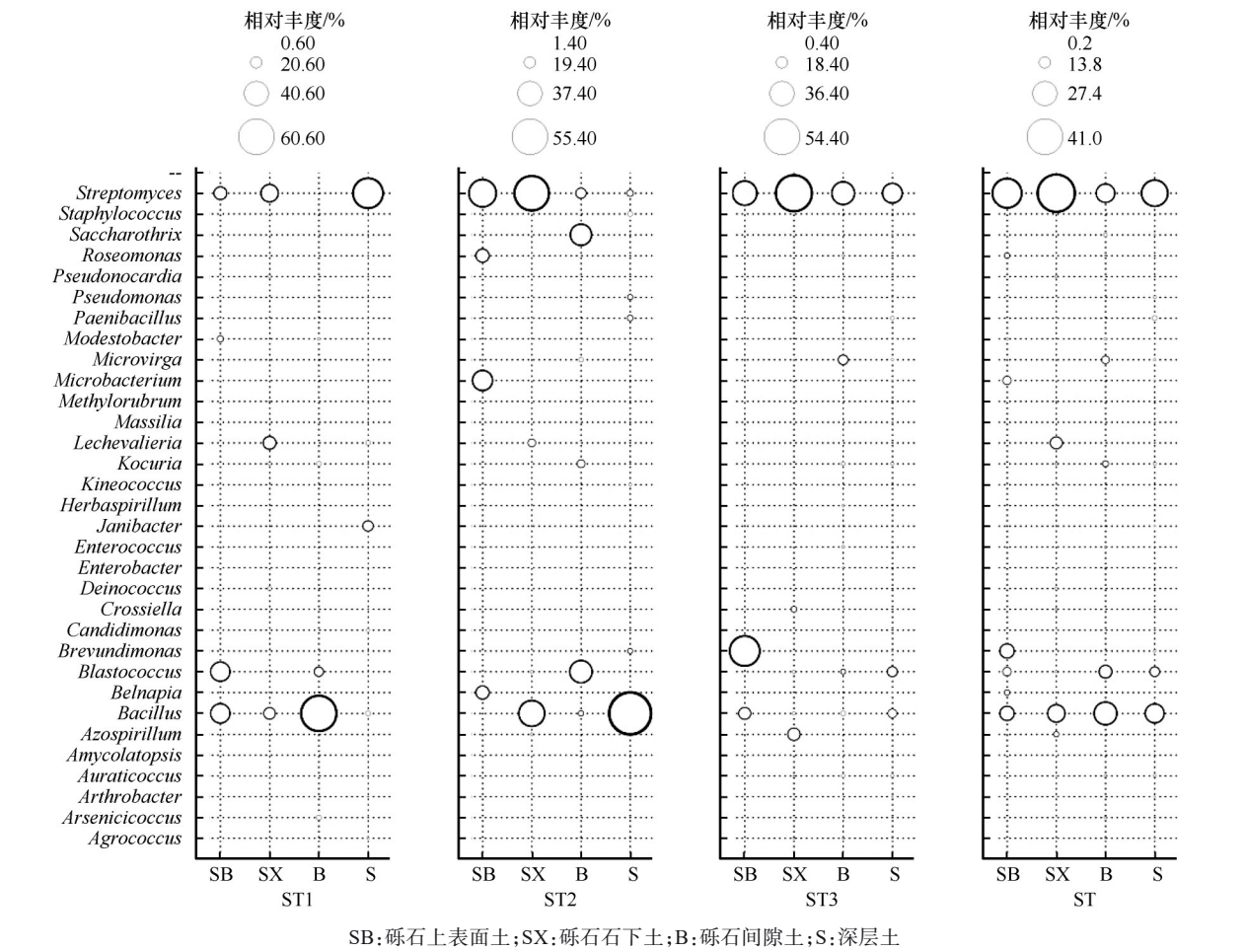


图4 河西走廊黑戈壁土壤菌株相对丰度气泡图

Fig.4 Relative abundance bubble diagram of culturable bacteria strains in black gobi of the Hexi Corridor

表 2 河西走廊黑戈壁可培养细菌多样性指数

Table 2 Species diversity indexes of culturable bacteria in black gobi of the Hexi Corridor

土壤生境	Shannon 多样性指数	Simpson 多样性指数
砾石上表面土	2.3804	0.1009
砾石石下土	3.2668	0.0518
砾石间隙土	3.4482	0.0379
深层土	3.8591	0.0253

2.4 可培养细菌数量及多样性与土壤理化因子的相关性

CCA 分析表明：土壤细菌数量与有机碳、总碳正相关，与总氮、含水量和盐度负相关；Shannon 多样性指数与 pH 负相关(图 5)。Person 相关性分析表明：土壤细菌数量与总碳显著正相关( $R=0.783, P=0.013$ )。

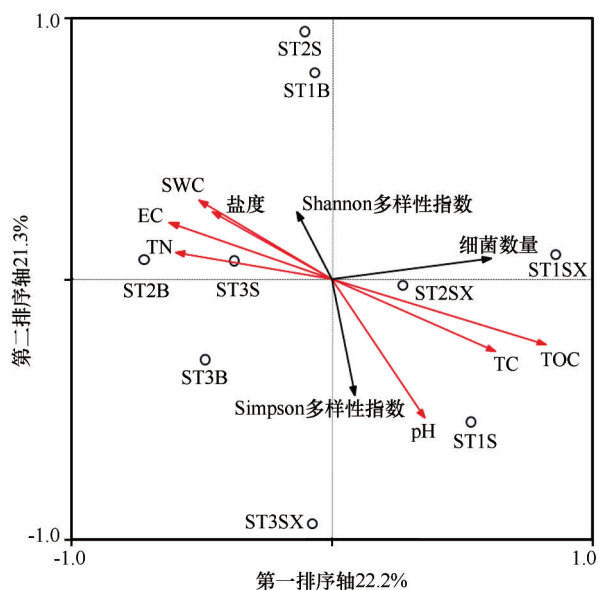
2.5 分离菌株的抗辐射活性

对可培养分离出的菌株进行抗辐射的筛选，其

中 30 株菌在经过辐射后仍具有生长活性(选用耐辐射奇球菌(*Deinococcus radiodurans*)作为阳性对照，大肠杆菌(*Escherichia coli*)作为阴性对照)。辐射过后，有 7 株菌的存活率要显著高于阳性对照耐辐射奇球菌( $P<0.001$ )。其中有两株高达 90% 以上，菌株 ST1-1-2-9 达到 92.06%，属于链霉菌属，菌株 ST3-24-2 达到 90.00%，属于类芽孢杆菌属(图 6)。还有 5 株菌辐射活性较高，ST2-5 能达到 50%，ST3-6 达到 48.30%，ST3-5 达到 40.00%，ST1SX-6-1 达到 39.27%，ST1-1-1-13 达到 43.98%(图 6)。此外有 3 株菌的存活率与阳性对照耐辐射奇球菌无显著差异(3 株均为  $P=0.382$ )，17 株菌的存活率显著低于阳性对照耐辐射奇球菌但显著高于阴性对照大肠杆菌(0.42%~31.58%)，3 株菌的存活率显著低于阴性对照大肠杆菌( $<0.42\%$ )。

3 讨论

河西走廊黑戈壁环境条件恶劣，但仍分离了许



SB:砾石上表面土;SX:砾石下土;B:砾石间隙土;S:深层土  
图5 河西走廊黑戈壁可培养细菌和土壤理化因子之间的典型对应分析(CCA)

Fig.5 Typical correspondence analysis (CCA) between soil factors and culturable bacteria in black gobi of the Hexi Corridor

多可培养细菌菌株,每克土壤可培养细菌数量(CFU)为 $2.33 \times 10^4 \sim 9.00 \times 10^5$ ,与干旱的沙漠生境中的可培养细菌数量( $10 \sim 1.6 \times 10^7$ )相似<sup>[12]</sup>。已有研究发现,世界不同地区沙漠中微生物数量亦随环境差异而存在较大的差异,如智利阿塔卡马沙漠表层的每克土壤可培养微生物数量为 $10^3 \sim 10^4$ ,深层每克土壤的可培养微生物数量为 $9 \times 10^4 \sim 5.4 \times 10^5$ ,美国索诺兰沙漠表层每克土壤可培养微生物数量为 $9.6 \times 10^6$ <sup>[13]</sup>,瑞士马特洪峰谷沙漠表层每克土壤可培养微生物数量为 $0 \sim 2 \times 10^2$ <sup>[14]</sup>,亚洲库布齐沙漠表层每克土壤可培养微生物数量为 $10^4 \sim 1.6 \times 10^5$ <sup>[15]</sup>。相似的干旱环境下,河西走廊黑戈壁可培养细菌数量相对更少,这可能与其极端的高辐射、干旱环境密切相关。本研究中,黑戈壁可培养细菌主要富集于石下土环境中,每克土壤可培养细菌数量最高可达 $1.49 \times 10^6$ 。石下土微生物为定殖在岩石的底部或岩石界面的微生物及微生物群落。这类微生物群落在沙漠(戈壁)中常见,例如,美国莫哈韦沙漠<sup>[16]</sup>、以色列内盖夫沙漠<sup>[17]</sup>、非洲纳米布沙漠<sup>[18]</sup>、南极韦斯特福尔山脉<sup>[19]</sup>。岩石的底部为微生物提供了一个可以保持湿度和避免高光强辐照保护区,使得石下生微生物免受极端干旱和光化学氧化胁迫的伤害<sup>[20]</sup>。

黑戈壁生境中可培养细菌主要富集于石下生境,表明该生态系统中砾石下为该生态系统中的微生物提供了相对较适宜的生境。

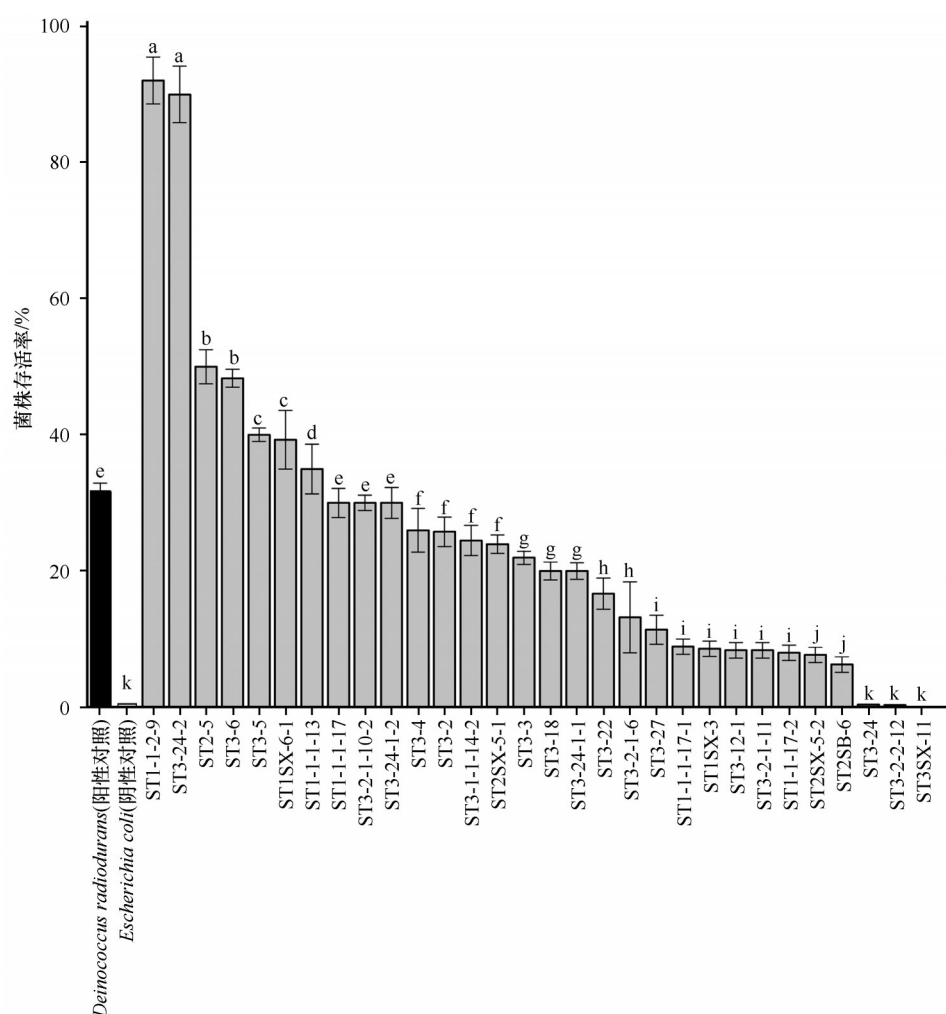
河西走廊黑戈壁可培养细菌主要归类于放线菌门、厚壁菌门、变形菌门和异常球菌-栖热门。其中,放线菌门和厚壁菌门为优势菌门。已有研究指出,亚洲沙漠区域土壤细菌主要是放线菌门、厚壁菌门、变形菌门、拟杆菌门(Bacteroides)和芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)<sup>[21-29]</sup>;美洲沙漠区域土壤细菌主要是放线菌门、厚壁菌门、浮霉菌门(Planctomycetes)、绿弯菌门(Chloroflexi)和酸杆菌门<sup>[30-34]</sup>;非洲沙漠区域土壤细菌主要是放线菌门、厚壁菌门、浮霉菌门、绿弯菌门、变形菌门和拟杆菌门<sup>[35-36]</sup>。澳洲沙漠区域土壤细菌主要是放线菌门、厚壁菌门、绿弯菌门、变形菌门和芽单胞菌门<sup>[37-38]</sup>。这表明,相似的干旱胁迫环境下,黑戈壁与其他沙漠环境形成了相似的菌群结构来应对环境胁迫,黑戈壁具有与沙漠生境相似的菌群结构。

河西走廊黑戈壁可培养细菌优势属为链霉菌属和芽孢杆菌,且广泛分布于各不同生境土壤中。已有研究亦发现链霉菌属和芽孢杆菌是沙漠环境中的广分布菌属<sup>[12]</sup>。链霉菌属会产生耐热和抗干燥的孢子,可以在不利环境下长期存活,具有较高的环境抗逆性<sup>[39-41]</sup>。芽孢杆菌能产生抗逆芽孢,而具有很强的适应能力,可以抗干旱,抗辐射,抗低温<sup>[42-43]</sup>。因此,这两类菌属以极高的抗逆活性而广泛分布于黑戈壁生境中,并随时间推移成为优势菌属。

相关性分析表明可培养细菌数量与总碳(TC)呈显著正相关关系( $R=0.783, P=0.013$ )。河西走廊黑戈壁土壤样品营养元素匮乏,土壤营养元素营养物质的缺少是制约细菌数量主要因素,在这其中总碳(TC)的含量不足2%,有机碳(TOC)含量不足1.3%,总氮(TN)含量在不同生境土壤没有显著变化。这与相关土壤微生物生物量影响因素的研究报道一致,土壤中的碳含量与微生物的生物量显著相关<sup>[44]</sup>。多个研究发现在门水平上,放线菌门、变形菌门、酸杆菌门(Acidobacteria)等菌门的丰度与土壤总碳(TC)呈正相关<sup>[45-47]</sup>。

在戈壁中,干旱和强辐射是持久的<sup>[48]</sup>,因此该区域的微生物长期受到强辐射的影响。辐射能破坏微生物中的DNA或RNA的分子结构,会造成生





不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ ), 相同小写字母表示差异不显著

图6 河西走廊黑戈壁部分可培养菌株抗辐射存活率(耐辐射奇球菌(*Deinococcus radiodurans*)作为阳性对照,大肠杆菌(*Escherichia coli*)作为阴性对照)

Fig.6 Radiation-tolerant survival rate of culturable strains in black gobi of the Hexi Corridor

长性细胞死亡和(或)再生性细胞死亡,来达到杀死微生物的效果<sup>[49]</sup>。河西走廊黑戈壁中可培养细菌对紫外辐射表现出了较高的耐受活性。研究表明,紫外灯杀菌消毒时,94.85 J·m<sup>-2</sup>紫外辐照,杀菌率可达到99%<sup>[50]</sup>。本研究的辐射强度达到了1 000 J·m<sup>-2</sup>,将辐射强度提高约10倍来模拟一个高辐射的环境来筛选菌株,筛选出7株抗辐射活性高的菌株,其中抗辐射活性最高的菌株是ST1-1-2-9,其抗辐射存活率达到92.06%。ST1-1-2-9在NCBI最相近菌株是*Streptomyces* sp. NO8,该菌株分离自辐射污染土壤中,抗辐射活性强。链霉菌属可以在不利环境下长期存活,能产生各类生物活性物质<sup>[51]</sup>,具有一定的抗逆性<sup>[39-41]</sup>。极端环境中的链霉菌在环境胁迫下能产生新的代谢途径和次生化合物<sup>[52]</sup>。另一株抗辐

射活性较高的菌株是ST3-24-2(*Paenibacillus polymyxa* RCP6),其抗辐射存活率达到90.00%。类芽孢杆菌属跟芽孢杆菌属一样,具有很强的拮抗性,对逆境具有很好的适应性<sup>[53]</sup>。因此河西走廊黑戈壁中强辐射环境下孕育了具高效抗辐射活性的菌株资源。

#### 参考文献:

- [1] 刘光琇. 极端环境微生物学[M]. 北京: 科学出版社, 2016: 112-138.
- [2] 陈永胜. 沙漠化土地治理中土壤微生物对生物结皮作用的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古师范大学, 2007.
- [3] 孔剑捷, 陈萍, 黄顺心, 等. 微生物矿化与植物共同作用下荒漠风积沙固化试验研究[J]. 浙江理工大学学报(自然科学版), 2019, 41(5): 688-696.



- [4] 夏延国, 宁宇, 李景文, 等. 中国黑戈壁地区植物区系及其物种多样性研究[J]. 西北植物学报, 2013(9): 196–205.
- [5] 王健铭, 董芳宇, 巴海·那斯拉, 等. 中国黑戈壁植物多样性分布格局及其影响因素[J]. 生态学报, 2016(12): 3488–3498.
- [6] 王晓蕾, 张琇, 周云锋, 等. 沙漠微生物群落功能多样性分析[J]. 水土保持通报, 2012, 32(3): 91–95.
- [7] 中国黑戈壁地区生态本底科学考察队. 中国黑戈壁研究[M]. 北京: 科学出版社, 2014.
- [8] 咸迪, 郑新江, 李雪. 中国黑戈壁地区气候变化特征[J]. 气象与环境学报, 2014, 30(2): 81–87.
- [9] 王学全. 中国黑戈壁地区水文和水化学调查研究[J]. 人民黄河, 2014, 36(9): 80–82.
- [10] 李雪, 郑新江, 咸迪, 等. 中国黑戈壁地区日照时数时空变化及影响因素[J]. 干旱气象, 2013(3): 24–28.
- [11] Gleason K E, McConnell J R, Arienzo M M, et al. Four-fold increase in solar forcing on snow in western U.S. burned forests since 1999[J]. Nature Communication, 2019, 10(1): 2026.
- [12] 李婷, 张威, 刘光琇, 等. 荒漠土壤微生物群落结构特征研究进展[J]. 中国沙漠, 2018, 38(2): 329–338.
- [13] Navarro-González R, Rainey F A, Molina P, et al. Mars-like soils in the Atacama Desert, Chile, and the dry limit of microbial life[J]. Science, 2003, 302(5647): 1018–1021.
- [14] Cameron R E, Kink J, David C N, et al. Microbiology, ecology and microclimatology of soil sites in dry valleys of southern Victoria Land, Antarctica[M]//Holdgate M W. Antarctic Ecology. London, UK: Academic Press, 1970: 702–716.
- [15] Martina K, Henry M, Elshahat M, et al. Desert farming benefits from microbial potential in arid soils and promotes diversity and plant health[J]. Plos One, 2011, 6(9): e24452.
- [16] Schlesinger W H, Phippen J S, Wallenstein M D, et al. Community composition and photosynthesis by photoautotrophs under Quartz Pebbles, Southern Mojave Desert[J]. Ecology, 2003, 84(12): 3222–3231.
- [17] Berner T, Evenari M. The influence of temperature and light penetration on the abundance of the hypolithic algae in the Negev desert of Israel[J]. Oecologia, 1978, 33(2): 255–260.
- [18] Büdel B, Lange O. Water status of green and blue-green phycobionts in Lichen Thalli after hydration by water vapor uptake: Do they become turgid[J]. Botanica Acta, 1991, 104(5): 361–366.
- [19] Smith M C, Bowman J P, Scott F J, et al. Sublithic bacteria associated with Antarctic quartz stones[J]. Antarctic Science, 2000, 12(2): 177–184.
- [20] 吴明辉, 章高森, 陈拓, 等. 石生微生物研究进展[J]. 微生物学杂志, 2017, 37(4): 64–73.
- [21] Wu N, Zhang Y M, Pan H X, et al. The role of nonphotosynthetic microbes in the recovery of biological soil crusts in the Gurbantunggut Desert, Northwestern China[J]. Arid Soil Research and Rehabilitation, 2010, 24(1): 15.
- [22] An S, Couteau C, Luo F, et al. Bacterial diversity of surface sand samples from the Gobi and Taklamaken Deserts[J]. Microbial Ecology, 2013, 66(4): 850–860.
- [23] Sterflinger K, Tesi D, Zakharova K. Fungi in hot and cold deserts with particular reference to microcolonial fungi[J]. Fungal Ecology, 2012, 5(4): 453–462.
- [24] Grishkan I, Nevo E. Spatiotemporal distribution of soil microfungi in the Makhtesh Ramon area, central Negev desert, Israel[J]. Fungal Ecology, 2010, 3(4): 326–337.
- [25] Yadav A N, Sachan S G, Verma P, et al. Prospecting cold deserts of north western Himalayas for microbial diversity and plant growth promoting attributes[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2015, 119(6): 683–693.
- [26] Orlando J, Alfaro M, Bravo L, et al. Bacterial diversity and occurrence of ammonia-oxidizing bacteria in the Atacama Desert soil during a “desert bloom” event[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2010, 42(7): 1183–1188.
- [27] Zhang W, Zhang G S, Liu G X, et al. Bacterial diversity and distribution in the southeast edge of the Tengger Desert and their correlation with soil enzyme activities[J]. Journal of Environmental Sciences, 2012, 24(11): 2004–2011.
- [28] 吕星宇, 张志山. 固沙植被区土壤质地与土壤微生物数量的关系[J]. 中国沙漠, 2019, 39(5): 71–79.
- [29] Goswami D, Pithwa S, Dhandhukia P, et al. Delineating *Kocuria turfanensis* 2M4 as a credible PGPR: a novel IAA-producing bacteria isolated from saline desert[J]. Journal of Plant Interactions, 2014, 9(1): 566–576.
- [30] 刘少芳, 王若愚. 植物根际促生细菌提高植物耐盐性研究进展[J]. 中国沙漠, 2019, 39(2): 1–12.
- [31] Lester E D, Satomi M, Ponce A. Microflora of extreme arid Atacama Desert soils[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2007, 39(2): 704–708.
- [32] Andrew D R, Fitak R R, Munguia-Vega A, et al. Abiotic factors shape microbial diversity in Sonoran Desert soils[J]. Applied Environmental Microbiology, 2012, 78(21): 7527–7537.
- [33] Yu L Z, Luo X S, Liu M, et al. Diversity of ionizing radiation-resistant bacteria obtained from the Taklimakan Desert[J]. Journal of Basic Microbiology, 2015, 55(1): 135–140.
- [34] Goodfellow M, Busarakam K, Idris H, et al. *Streptomyces asenjonii* sp. nov., isolated from hyper-arid Atacama Desert soils and emended description of *Streptomyces viridosporus* Pridham et al. 1958[J]. Antonie Van Leeuwenhoek, 2017, 110: 1133–1148.
- [35] Chanal A, Chapon V, Benzerara K, et al. The desert of Tataouine: an extreme environment that hosts a wide diversity of microorganisms and radiotolerant bacteria[J]. Environmental Microbiology, 2006, 8(3): 514–525.
- [36] Prestel E, Salamitou S, Dubow M S. An examination of the bacteriophages and bacteria of the Namib desert[J]. Journal of Microbiology, 2008, 46(4): 364.
- [37] Winsley T, van Dorst J M, Brown M V, et al. Capturing greater

- 16S rRNA gene sequence diversity within the domain Bacteria [J]. *Applied Environmental Microbiology*, 2012, 78 (16): 5938–5941.
- [38] Holmes A J, Bowyer J, Holley M P, et al. Diverse, yet-to-be-cultured members of the Rubrobacter subdivision of the Actinobacteria are widespread in Australian arid soils [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2000, 33(2): 111–120.
- [39] 申枚灵, 赵翀, 廖萍, 等. 塔里木盆地光果甘草内生放线菌的分离鉴定及抗逆、促生特性 [J]. *草业科学*, 2018, 35(7): 1624–1633.
- [40] 梁亚萍, 宗兆锋, 马强. 6 株野生植物内生放线菌防病促生作用的初步研究 [J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2017, 35(7): 131–136.
- [41] 杨雅琳, 赵翀, 廖萍, 等. 塔里木盆地胀果甘草内生放线菌多样性及抗菌活性分析 [J]. *微生物学通报*, 2016, 43(10): 2138–2147.
- [42] 谢永丽. 青海柴达木极端干旱沙地分离芽孢杆菌的分子鉴定及拮抗活性分析 [J]. *微生物学通报*, 2012, 39(8): 1079–1086.
- [43] 马欣, 刘俊, 乔俊卿, 等. 利用转座子 TnYLB-1 构建枯草芽孢杆菌的突变体文库 [J]. *南京农业大学学报*, 2011, 34(6): 77–81.
- [44] 廖畅, 田秋香, 汪东亚, 等. 外源碳输入对中亚热带森林深层土壤碳矿化和微生物群落的影响 [J]. *应用生态学报*, 2016, 27(9): 2848–2854.
- [45] 胡华英, 殷丹阳, 周垂帆. 生物炭对杉木人工林土壤磷素有效性的影响机制 [C]//中国土壤学会土壤环境专业委员会第二十次会议暨农田土壤污染与修复研讨会论文集. 2018.
- [46] 王佩雯, 朱金峰, 陈征, 等. 高通量测序技术下连作植烟土壤细菌群落与土壤环境因子的耦合分析 [J]. *农业生物技术学报*, 2016, 24(11): 1754–1763.
- [47] 姚钦. 生物炭施用对东北黑土土壤理化性质和微生物多样性的影响 [D]. 长春: 中国科学院东北地理与农业生态研究所, 2017.
- [48] Gonçalves V N, Cantrell C L, Wedge D E, et al. Fungi associated with rocks of the Atacama Desert: taxonomy, distribution, diversity, ecology and bioprospection for bioactive compounds [J]. *Environmental Microbiology*, 2016, 18(1): 232–245.
- [49] 谢自力, 张荣, 修向前, 等. 用于紫外探测器 DBR 结构的高质量 AlGaIn 材料 MOCVD 生长及其特性研究 [J]. *物理学报*, 2007(11): 6717–6721.
- [50] 邓小宁. 紫外线杀菌作用的研究 [J]. *中国照明电器*, 1994(6): 39–41.
- [51] 代芳平, 李师翁. 链霉菌次级代谢物及其应用研究进展 [J]. *生物技术通报*, 2014(3): 30–35.
- [52] Wilson Z E, Brimble M A. Molecules derived from the extremes of life [J]. *Natural Product Reports*, 2009, 26(1): 44–71.
- [53] 李生樟, 陈颖, 杨瑞环, 等. 一株拮抗黄单胞菌的贝莱斯芽孢杆菌的分离和鉴定 [J]. *微生物学报*, 2019, 59(10): 1969–1983.

## Distribution characteristics and anti-radiation activity of culturable bacteria in black gobi ecosystem of the Hexi Corridor

Zhang Zhenqing<sup>lab,2</sup>, Zhang Binglin<sup>bc</sup>, Zhang Wei<sup>lab</sup>, Liu Guangxiu<sup>lab</sup>, Chen Tuo<sup>bc</sup>,  
Liu Yang<sup>lb,3</sup>, Chen Jingwei<sup>4</sup>, Tian Mao<sup>lab,2</sup>

(1. a.Key Laboratory of Desert and Desertification / b.Gansu Province Key Laboratory of Extreme Environmental Microbial Resources and Engineering / c.State Key Laboratory of Cryospheric Sciences, Northwest Institute of Eco-Environment and Resources, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. Northwest Normal University, Lanzhou 730000, China; 4. Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

**Abstract:** The black gobi region has been occupied by extreme environmental conditions such as drought and strong radiation. Unfortunately, the area is almost negligible for human activities and biological research. Therefore, particular studies are required that cover microbial distribution characteristics of the black gobi ecosystem together valuable information. In the current study, the culturable method was used to analyse different types of soil in the Hexi Corridor. The results showed that the number of culturable bacteria in the study area was  $2.3 \times 10^4$ - $1.49 \times 10^6$  CFU·g<sup>-1</sup>soil, where the differences in culturable bacteria of different types of soil were obviously varied. The culturable bacteria were mainly enriched in the subsoil habitat, which indicated that the gravel in the Black Gobi provided an ideal colonization site for microorganisms. Furthermore, the statistical analysis showed that soil organic carbon was the main influencing factor on the bacteria number. About, 118 different bacterial strains were obtained through 16S rRNA gene sequencing. The strains were mainly classified into Actinobacteria, Firmicutes, Proteobacteria, and Deinococcus-Thermus, respectively. The Actinobacteria and Firmicutes were the dominant phyla, and *Bacillus* and *Streptomyces* were the dominant genera. Ten bacterial strains were found to be the potential new species. Among the higher anti-radiation activity screening, seven strains had shown higher activity than positive control of *Deinococcus radiodurans*. This study expanded the source of desirable strains and their further screening of active substances resistant to radiation.

**Key words:** black gobi; microorganism; culturable bacteria; antiradiation