

## 南极中山站附近海水微生物多样性和宏基因组分析

翟万营, 汪倩, 王佳华, 陈良标

## Microbial diversity and metagenomic analysis of seawater microorganism near Zhongshan Station, Antarctica

ZHAI Wanying, WANG Qian, WANG Jiahua, CHEN Liangbiao

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.12024/jsou.20210403373>

### 您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

#### [基于公海换水的压载水微生物多样性分析](#)

Analysis of microbial diversity of ballast water based on open sea water exchange

上海海洋大学学报. 2018, 27(3): 372 <https://doi.org/10.12024/jsou.20171210010>

#### [上海港到港船舶压载水沉积物细菌群落多样性](#)

Bacterial diversity of ship ballast water sediment in Shanghai Port

上海海洋大学学报. 2018, 27(3): 344 <https://doi.org/10.12024/jsou.20171210007>

#### [Miseq测序分析围垦后海三棱草湿地土壤微生物群落多样性的季节变化](#)

Using Miseq sequencing to analyze seasonal soil microbial community dynamics in reclaimed *Scirpus mariqueter* coastal wetlands

上海海洋大学学报. 2018, 27(5): 718 <https://doi.org/10.12024/jsou.20180202226>

#### [基于16S rRNA高通量测序的鳢肠道微生物群落结构研究](#)

Microbial community in intestine of snakehead based on 16S rRNA high-throughput sequencing

上海海洋大学学报. 2020, 35(5): 693 <https://doi.org/10.16535/j.cnki.dlhyxb.2019-258>

#### [稻蟹共作与蟹单作模式下中华绒螯蟹肠道及养殖环境细菌群落组成比较](#)

A comparative study of microbiota from the intestine of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) and their culture environment, between rice-crab co-culture and crab monoculture models

上海海洋大学学报. 2017, 26(5): 682 <https://doi.org/10.12024/jsou.20170301999>

文章编号: 1674-5566(2022)01-0288-10

DOI:10.12024/jsou.20210403373

## 南极中山站附近海水微生物多样性和宏基因组分析

翟万营<sup>1,2</sup>, 汪倩<sup>1,2</sup>, 王佳华<sup>3</sup>, 陈良标<sup>1,2</sup>

(1. 上海海洋大学水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室, 上海 201306; 2. 上海海洋大学海洋生物科学国际联合研究中心, 上海 201306; 3. 上海海洋大学深渊科学技术研究中心, 上海 201306)

**摘要:** 以中国第 34 次南极科考采集的中山站附近海域 5 个站点海水样品为研究对象, 通过 Illumina 高通量测序, 鉴定微生物组成和微生物群落结构, 发现中山站取样的海水中变形菌门 (Proteobacteria) 和拟杆菌门 (Bacteroidetes) 最为丰富, 其次为蓝细菌 (Cyanobacteria), 属水平上黄杆菌属 (*Flavobacterium*) 和嗜冷杆菌属 (*Psychrobacter*) 含量最多, 均超过 20%。首次在南极海水中发现 UBA1315 属微生物, 功能注释分析显示含有丰富的 DNA 修复基因, 可能有助于适应南极恶劣环境。对中山站和罗斯海上层海水以及南北极不同地理位置海水微生物比较发现, 变形菌门、拟杆菌门和蓝细菌在所有海水中普遍存在, 变形菌门为优势菌, 蓝细菌在南极海水中含量丰富, 罗斯海上层海水比中山站海水微生物多样性丰富, 且主要菌群丰度不同。初步揭示了中山站附近海域微生物群落组成, 为后续进一步研究南极中山站海水微生物资源调查和功能开发研究提供一定的基础数据。

**关键词:** 南极; 中山站; 微生物; 宏基因组; 适应

**中图分类号:** P 745 **文献标志码:** A

全球气候变化影响是当前科学研究的热点。南极是全球气候系统敏感的关键区, 其水文、地形效应和营养成分的变化, 对南极生态过程和全球变暖都有重要影响。南极具有低温、强紫外线、极昼极夜等环境, 是一个独特的生态系统, 被认为是天然的低温实验室。南、北极作为地球表面的两大冷源, 其地理位置和独特的气候环境特点被认为是全球气候变化的主要驱动器; 同时, 极地环境和生物对全球气候变化反应又十分敏感, 表现出明显的放大作用。因此, 越来越多的科学家开展了对南北极环境气候和生物生态的研究<sup>[1-2]</sup>。在南极海洋生态系统中, 微生物在生物量和分类多样性方面占据主导地位, 由于其高度的代谢可塑性, 在生态系统功能中发挥着至关重要的作用。近年来, 低温环境下的微生物研究取得了快速发展, 尤其是微生物生态学研究。杨

大群等<sup>[3]</sup>发现天山永久冻土中有酸杆菌门 (Acidobacteria)、放线菌门 (Actinobacteria)、芽胞菌门 (Gemmatimonadetes)、绿弯菌门 (Chloroflexi)、厚壁菌门 (Firmicutes)、变形菌门 (Proteobacteria) 和拟杆菌门 (Bacteroidetes) 等 7 大类群细菌, 以及广古菌门 (Euryarchaeota) 和泉古菌门 (Crenarchaeota) 2 个门类的古菌。LU 等<sup>[4]</sup>发现海冰融化和极地上升流等因素对南极海水中叶绿素 a 的含量变化有重要影响。

中国南极中山站位于东南极大陆拉斯曼丘陵 (69°22'S, 76°22'E), 近来由于对东南极气候生态的关注, 越来越多的学者对南极中山站的温度<sup>[5]</sup>、气象<sup>[6]</sup>、海冰<sup>[7]</sup>、大气化学<sup>[8]</sup>等多领域进行观测, 这对于我们了解东南极地区的气候、气象及海冰变化等有重要意义, 然而应用高通量测序对中山站附近海水微生物群落组成进行深入调

收稿日期: 2021-04-03 修回日期: 2021-05-25

**基金项目:** 国家自然科学基金委国际 (地区) 合作与交流项目 (41761134050); 上海市科委“一带一路”国际联合实验室项目 (19590750500); 上海市教委科研创新计划项目 (2017-01-07-00-10-E00060); 国家海洋局极地办协同创新平台项目 (JDXT-2019-01)

**作者简介:** 翟万营 (1985—), 男, 博士研究生, 研究方向为南极微生物。E-mail: wyzhai@shou.edu.cn

**通信作者:** 陈良标, E-mail: lbchen@shou.edu.cn

查并对其环境适应分析的相关研究却鲜有报道。在过去的十多年里,DNA 测序技术的进步加快了微生物群落组成的研究。本研究基于 Illumina 高通量测序平台,深入调查南极中山站附近的海水微生物群落结构,对其宏基因组功能进行初步研究,以期为后续中山站附近及南极海洋微生物资源开发和利用提供一些基础数据和参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 样本采集

于 2017 年 12 月至 2018 年 1 月在中山站附近海域(69°02'S ~ 69°22'S, 76°21'E ~ 76°23'E) 设置 5 个站点,采集表层水样,每个采样点采集 3 L 海水,用抽滤泵抽滤海水至 0.22  $\mu\text{m}$  的混合硝酸纤维素膜(Millipore, USA)上,每个滤膜过滤 1 L 水,过滤后的滤膜置于无菌离心管中,放置在 -80  $^{\circ}\text{C}$  冰箱保存,后续用于微生物多样性和宏基因组分析。

### 1.2 DNA 提取及 PCR 扩增

使用 FastDNA<sup>TM</sup> SPIN DNA Isolation Kit (MP Biomedicals Inc., USA) 提取中山站海水微生物 DNA,经过质量检测后放置于 -20  $^{\circ}\text{C}$  保存,后续进行 16S rRNA 基因 PCR 扩增。上、下游引物分别为 338F: 5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3' 和 806R: 5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'。PCR 反应体系为:预混液(5  $\times$  Prime HotMaster Mix) 10  $\mu\text{L}$ ,引物各 0.5  $\mu\text{L}$ ,DNA 模板 1  $\mu\text{L}$ ,补足 ddH<sub>2</sub>O 至 20  $\mu\text{L}$ 。用 Bio-Rad C1000 (Bio-Rad, USA) PCR 仪进行扩增。PCR 反应程序设置:95  $^{\circ}\text{C}$  预变性 5 min,然后 95  $^{\circ}\text{C}$  变性 30 s;55  $^{\circ}\text{C}$  退火 30 s;72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 30 s,29 次循环,最后 72  $^{\circ}\text{C}$  终延伸 10 min。阴性对照实验与实验样品一起操作,模板则用无菌水代替。

PCR 产物用 2% 琼脂糖胶电泳,然后用 Axyprep DNA 胶回收试剂盒 (Axygen Biosciences, USA) 进行 PCR 产物纯化,后用 QuantiFluor<sup>TM</sup>-ST (Promega, USA) 进行定量。使用 NextFlex Rapid DNA-Seq Kit (PerkinElmer, USA) 进行建库,在上海美吉生物公司用 Illumina 平台进行高通量测序。

### 1.3 16S 扩增子数据分析

测序数据从 Illumina MiSeq 下机后,对数据进行质控、剪切、拼接,所得序列以相似度 97% 的

阈值为基础来进行 OTUs 归类。采用 Silva 数据库中 SSU138 (138/16s\_bacteria) 细菌数据信息,设置比对阈值为 70%。利用序列最少的样本对 OTUs 丰度进行归一化处理,进行 Alpha 多样性和 Beta 多样性分析。Alpha 多样性包括 Sob 指数、Chao 指数、香农指数、辛普森指数、物种丰富度估计和覆盖度等。 $\beta$  多样性分析主要进行非度量多维尺度分析(non-metric multidimensional scaling, NMDS)。以上生物信息分析通过上海美吉生物云在线平台(<https://cloud.majorbio.com/>)进行。

为鉴定中山站附近海水与其他南北极不同海域的微生物不同,本研究将其与同一次南极科考的罗斯海(74°54'S ~ 77°7'S, 163°47'E ~ 177°42'E) 表层水样进行了比较,从 NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra>) 下载了南北极海域(北极,挪威斯瓦尔巴特群岛、南极西南极半岛)的海水微生物数据,与中山站附近海水比较微生物组成和群落结构差异。

### 1.4 宏基因组数据分析

挑选中山站采集的 3 个水环境样品分别进行微生物 DNA 提取、宏基因组建库,在上海美吉生物公司 IlluminaNovaSeq 6000 平台进行高通量测序。数据下机后,使用 fastQC 质控,然后使用 IDBA\_UD 对优化序列进行拼接组装,参数为 `mink 20, maxk 150, k-step 6`,“预校正”(“`--pre-correction`”)。使用 Bowtie 2、SAMtools 和 BamM 对拼接结果中的 scaffolds 进行 reads 比对、比对结果过滤(identities 95%, coverage 95%) 和丰度计算(TPMEAN 算法)。使用 Prodigal 对 scaffolds 进行 ORF 预测,所用参数为“`--meta`”。使用 BLASTP 将非冗余基因集序分别与 NR 数据库和 eggNOG 数据库(Version 4.5) 比对进行物种分类学注释(BLAST 比对参数设置期望值  $e\text{-value}$  为  $10^{-5}$ ),通过 eggNOG 数据库获得基因对应的 COG,使用 COG 对应的基因丰度总和计算该 COG 的丰度。使用 KEGG GhostKOALA 模块在线对蛋白序列进行 KEGG 预测和代谢网络重建,并对 KO、Pathway、EC、Module 对应的基因丰度(即其所在 scaffold 的丰度)进行各功能类别的丰度合并计算。

使用 R 语言包 `mmgenome2` 内置的 BH-t-SNE 算法对 scaffolds 的 4mer 矩阵进行降维、聚类,根据聚类的可视化结果手动进行分箱(bin),根

据 scaffolds 丰度对所获得的 bin 进行再分箱 (rebinning) 以去除来自其他基因组序列的污染, 最终获得宏基因组组装基因组 (Metagenomics assembles genomes, MAG)。使用 CheckM 对各 MAG 进行完整度、污染度评估, 并去除完整度小于 50% 或污染度大于 5% 的 MAG。使用 GTDBtk (genome taxonomy database, gtdb) 工具对高质量的 MAG 进行物种分类鉴定。

### 1.5 直系同源蛋白家族聚类

使用 BLASTP (参数设置为 identities 30%, coverage 50%, e-value 为  $10^{-10}$ ) 对感兴趣的 MAG 及相关基因组的蛋白序列进行 all-vs-all 比对, 使用 OrthoMCL 软件 (参数 inflation 1.4) 对对比结果进行直系同源蛋白家族聚类分析。

## 2 结果

### 2.1 中山站附近海水细菌多样性分析

5 个中山站海水样本中总共产生了 360 307 条原始序列。去除低质量序列后共获得 354 630 条高质量序列, 占总序列的 98.4%。所有样品归一化处理后进行后续分析。从 5 个水样中共鉴定出 733 个操作分类单元 (OTUs), 结果显示, 中山站海水在 OTUs 水平上有较大的变化, 但在门水平上差别不大。 $\alpha$  多样性指数结果显示 5 个站点有丰富的微生物群落结构, 所测微生物覆盖度都  $\geq 99\%$ , 满足后续分析要求。

从中山站水样中共鉴定得到 11 个门的细菌, 主要是变形菌门 (Proteobacteria) 和拟杆菌门 (Bacteroidetes), 其次是蓝细菌 (Cyanobacteria), 3 个门的细菌占了总数的 98.44% (图 1a)。在科水平上, 共观察到 116 个科, 含量最多的 5 个科为黄杆菌科 (Flavobacteriaceae)、莫拉菌科 (Moraxellaceae)、红杆菌科 (Rhodobacteraceae), norank\_o\_Chloroplast 和希瓦氏菌科 (Shewanellaceae), 共占中山站水体细菌 88.6%。在属水平上, 黄杆菌属 (*Flavobacterium*) 和嗜冷杆

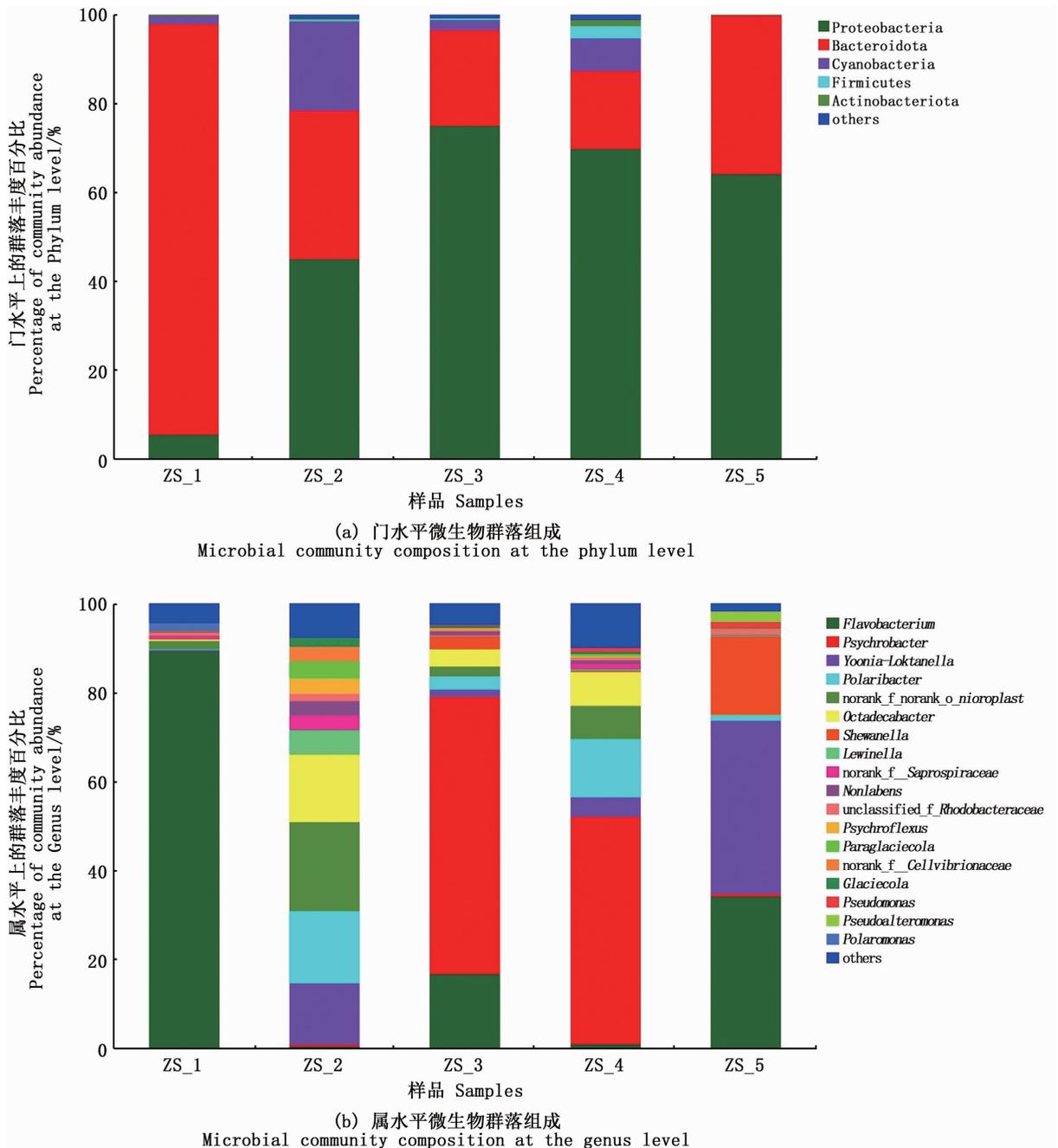
菌属 (*Psychrobacter*) 占主要地位, 每个属占比都超过 20%, 陆丹氏菌 (*Loktanella*)、norank\_f\_norank\_o\_Chloroplast 和十八杆菌 (*Octadecabacter*) 含量也比较丰富 (图 1b), 前 5 个属微生物在中山站采集的水环境样本中占 70.26%。

### 2.2 中山站与罗斯海表层海水微生物群落比较

将中山站海水样品 (ZS) 和罗斯海表层海水样品 (RS) 微生物比较发现, 罗斯海上层海水比中山站海水微生物多样性丰富, 且主要菌群丰度不同, 黄杆菌属和嗜冷杆菌属在中山站水样中含量丰富, 罗斯海上层海水中 norank\_f\_norank\_o\_Chloroplast 和极地杆菌属 (*Polaribacter*) 含量较多 (图 2a)。对两个海域的微生物其进行  $\beta$  多样性分析, NMDS 结果显示, 两个位置的微生物群落结构不同, 在 OTU 水平 (stress: 0.059,  $R = 0.7960$ ,  $P = 0.003$ ) 上两个地理位置的海水微生物群落结构在两个集群 (图 2b)。

### 2.3 中山站与南、北极不同地点海水微生物比较

中山站海水 (ZS) 与南极半岛海水 (WA)、北冰洋 (Arc) 和挪威斯瓦尔巴群岛海水 (NSv) 微生物组成结果显示: 变形杆菌门、拟杆菌门和蓝细菌门在所有海水中普遍存在, 且数量丰富 (图 3a)。3 个门类细菌在中山站、罗斯海和西南极的南极半岛海水中含量超过 98%, 在北冰洋占 54.66%, 在挪威斯瓦尔巴群岛占 77.99%。变形杆菌门为优势菌, 占 32.26% 至 52.34% 不等, 西南极的南极半岛蓝细菌最多, 其次为罗斯海上层海水, 挪威斯瓦尔巴群岛海水中最少。Unclassified\_k\_norank\_d\_Bacteria 和放线菌在北冰洋海水中达到 27.28%, 绿弯菌门 (Chloroflexi) 在北冰洋中含量 8.58%, 髌骨细菌门 (Patescibacteria) 在挪威斯瓦尔巴特群岛水样品微生物中占 6.39%。NMDS 结果 (stress: 0.125,  $R = 0.9209$ ,  $P = 0.001$ ) 表明, 南极 (南极半岛、中山站和罗斯海) 和北极 (北冰洋和挪威斯瓦尔巴群岛) 的水微生物群落存在明显差异 (图 3b)。

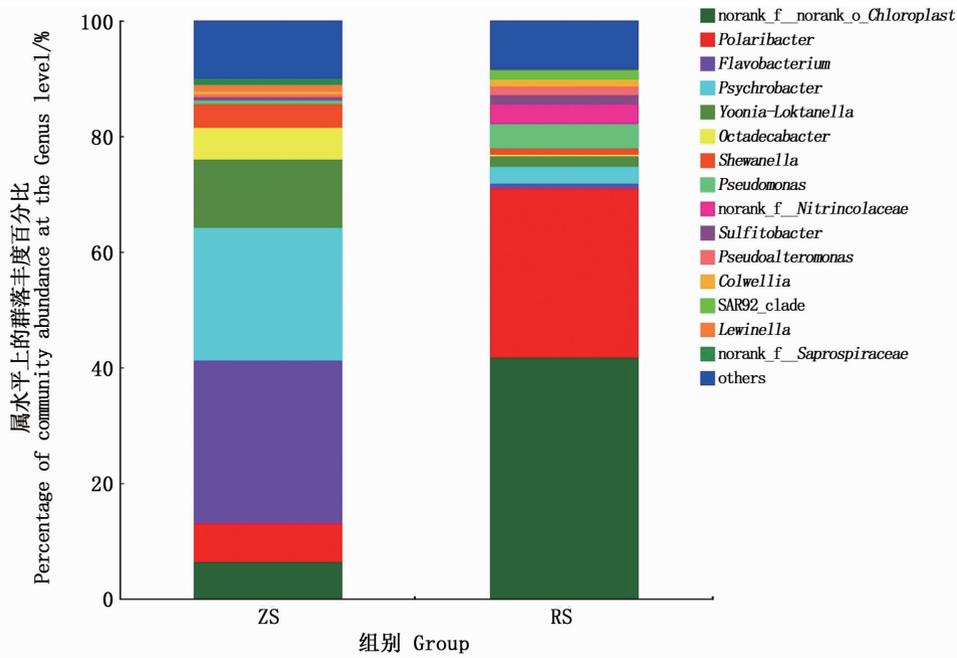


“other”包括未分类序列相对丰度小于1%的所有家族的总和。

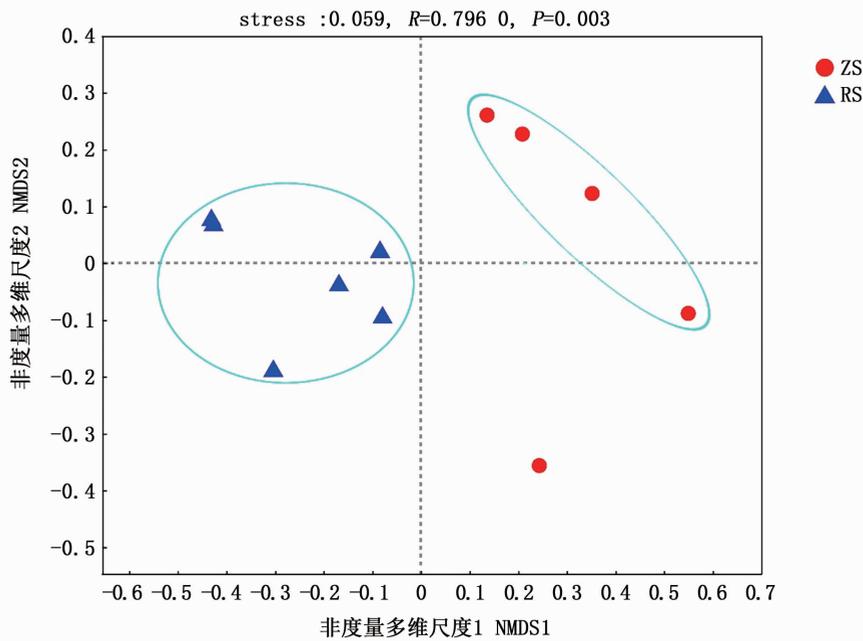
The “others” including unclassified sequences were the sum of all families that occurred at less than 1% relative abundance.

图1 中山站海水环境微生物群落结构

Fig.1 Bacterial community structures and relative abundance of the seawater at Zhongshan Station



(a) 属水平微生物群落组成  
Microbial community composition at the genus level



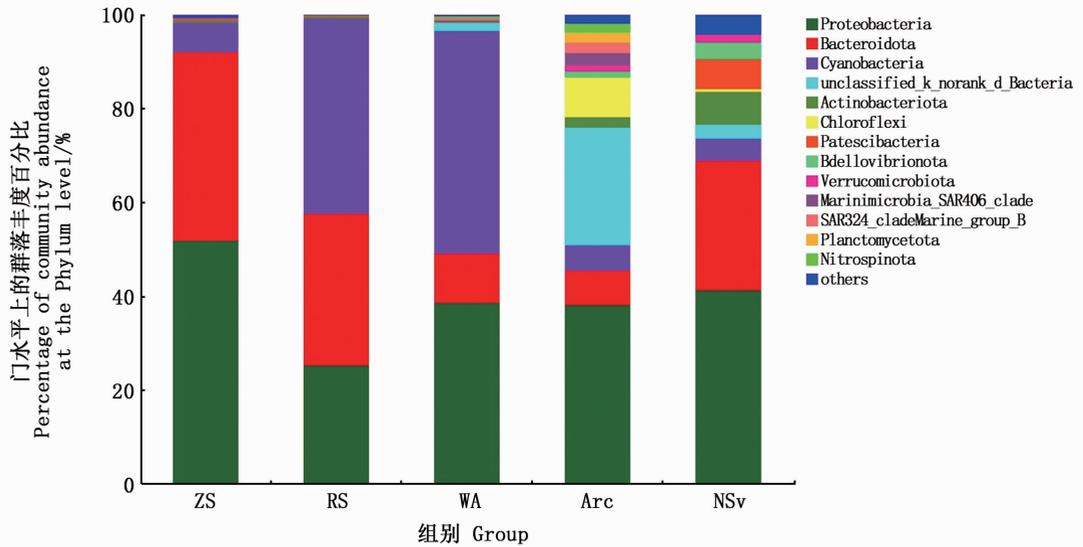
(b) OTU水平非度量多维尺度分析  
NMDS analysis at the OUT level

“other”包括未分类序列相对丰度小于1%的所有家族的总和。

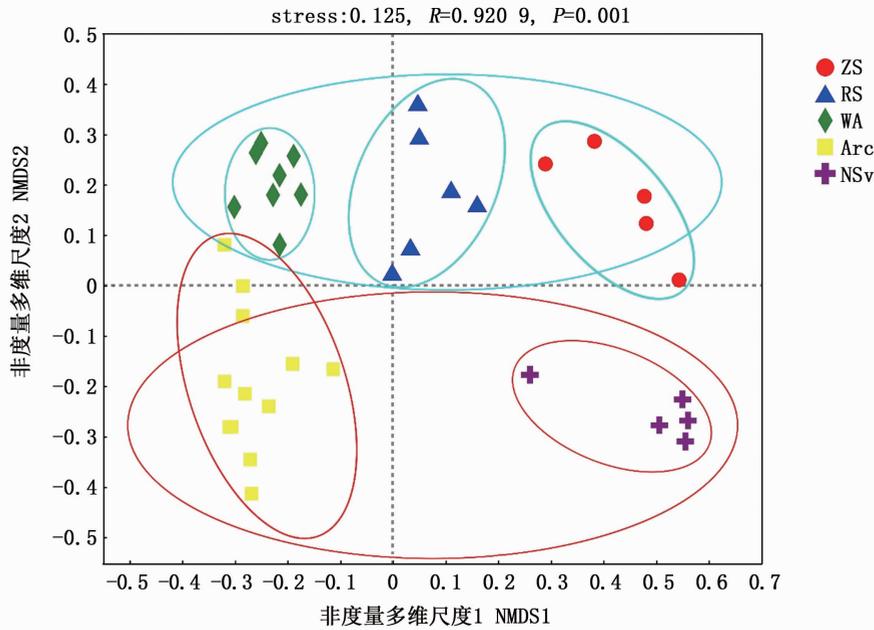
The “others” including unclassified sequences were the sum of all families that occurred at less than 1% relative abundance.

图2 中山站与罗斯海上层海水微生物组成比较分析

Fig.2 Comparative analysis of microbial composition in the upper seawater of Ross Sea and Zhongshan Station



(a) 门水平微生物群落组成  
Microbial community composition at the phylum level



(b) OTU水平非度量多维尺度分析  
NMDS analysis at the OUT level

“other”包括未分类序列相对丰度小于1%的所有家族的总和。

The “others” including unclassified sequences were the sum of all families that occurred at less than 1% relative abundance.

图3 南北极不同地理位置海水微生物组成比较分析

Fig.3 Comparative analysis of sea water microbial composition in different geographical locations of Antarctica and Arctica

### 2.4 中山站海水宏基因组

3个宏基因组进行分箱 (binning) 获得共计100个宏基因组组装基因组 (Metagenomics assembles genomes, MAG), 其中完整度超过50%并且污染度小于5%的高质量MAG为34个。对

其中完整度最高且目前没有获得纯培养和生态功能报道的ZS\_3\_bin2进行深入分析。

基因组分析结果显示,ZS\_3\_bin2基因组大小为2.81 Mb,预测含有2580蛋白编码基因。使用GTDB分类的120个单拷贝持家基因的蛋白序

列建立的系统发育树,显示 ZS\_3\_bin2 属于在疣微菌目 (Verrucomicrobiales) 阿克曼氏菌科 (Akkermansiaceae) UBA1315 属。OrthoMCL 同源蛋白聚类结果显示,538 个蛋白家族为该属共有。与 NR 数据库序列比对,获得了 3 个该属的特征性蛋白 (scaf76\_ORF21、Scaf5\_ORF72、Scaf543\_ORF5)。

对 ZS\_3\_bin2 基因进行 KEGG、COG 和 NR 库注释。结果表明,该基因组具有大量 DNA 损伤修复基因 (表 1),包括 ABC 核酸外切酶 (excinuclease ABC,由 uvrABC 基因编码)、脱氧核糖二嘧啶光裂解酶(由 *phrB* 基因编码)及相关蛋白。

表 1 微生物 ZS\_3\_bin2 的 DNA 损伤修复基因

Tab.1 DNA damage repair gene of microorganism ZS\_3\_bin2

开放阅读框 ORF	最佳匹配 NCBI top hits	基因名缩写 Gene abbreviations	注释信息 Annotation
scaf27_ORF29	MBG7608615.1	uvrB	excinuclease_ABC_subunit_UvrB
scaf2_ORF52	MBG7607255.1	uvrC	excinuclease_ABC_subunit_UvrC
scaf5_ORF18	RPJ35947.1	uvrA	excinuclease_ABC_subunit_A
<b>scaf81_ORF19 *</b>	<b>WP_073129078.1</b>	<b>phrB</b>	DNA_photolyase
<b>scaf403_ORF2 *</b>	<b>TAE72983.1</b>	<b>phrB</b>	deoxyribodipyrimidine_photo-lyase/cryptochrome_family_protein
scaff42_ORF76	RPJ33469.1	phrB	deoxyribodipyrimidine_photo-lyase
scaf70_ORF29 *	MBC7980280.1	rhIB	glycosyltransferase_family_1_protein
scaf70_ORF30	MBC7979523.1	lhrB	ligase-associated_DNA_damage_response_DEXH_box_helicase
scaf70_ORF31	MBC7979522.1	-	cryptochrome/photolyase_family_protein

注: \* 表示仅在 ZS\_3\_bin2 中存在的基因。

Notes: \* represents the gene was only found in the ZS\_3\_Bin2 genome.

## 2.5 中山站海水微生物功能预测

为研究南极中山站附近海水微生物环境适应机制,对 3 个站点中山站海水样品进行宏基因组分析。物种注释结果显示,中山站附近海水中共包含细菌、真菌、古生菌、病毒等 5 个域,122 门 2 549 属 9 941 物种。微生物宏基因组 KEGG 功能注释(表 2)代谢结果显示,主要富集在氨基酸的生物合成 (Biosynthesis of amino acids)、碳代谢 (Carbon metabolism)、嘌呤代谢 (Purine metabolism) 和嘧啶代谢 (Pyrimidine metabolism) 等。

表 2 中山站水样宏基因组 KEGG 功能注释

Tab.2 KEGG function annotation result information of Zhongshan Station samples

信号通路 Pathway	描述 Description	百分比 Percent/%
ko01230	Biosynthesis of amino acids	0.042
ko01200	Carbon metabolism	0.041
ko02020	Two-component system	0.033
ko00230	Purine metabolism	0.031
ko02010	ABC transporters	0.030
ko00240	Pyrimidine metabolism	0.023
ko02024	Quorum sensing	0.017
ko00620	Pyruvate metabolism	0.017
ko00190	Oxidative phosphorylation	0.016
ko00630	Glyoxylate and dicarboxylate metabolism	0.015

## 3 讨论

地球上大约 85% 的生物圈永远低于 5℃,大部分的生物都生存在海洋深处、冰川、高山和极地等<sup>[9]</sup>低温寒冷的环境中,它们能够在低温下生存、茁壮成长维持代谢活动,适应寒冷的环境。极地海洋生态系统由于受海冰动力学的显著影响<sup>[10]</sup>,极易受到气候变化的影响,海洋微生物群落在不断变化的海洋环境中,经过漫长的进化历程,形成了巨大的功能恢复能力<sup>[11]</sup>。随着世界各国对全球气候和南北极研究的深入,越来越多的科学家关注南北极的微生物生态及其对全球气候的影响,目前对南北极海洋水体微生物的研究大多集中在微生物群落结构和组成分析,近来逐渐关注宏基因组研究<sup>[12-15]</sup>。在已知的研究南北极和世界各地的海水和底泥中,变形菌门和拟杆菌门都为代表性菌群。本研究的中山站附近海水样品中,两种细菌含量均超过 78.4%,这可能是因为变形菌可以在很宽广的温度范围内生长,并且能在低温下迅速繁殖<sup>[16]</sup>。研究<sup>[17]</sup>发现拟杆菌可以编码一个与冰晶结合的结构域,防止宿主冻伤。

本研究发现黄杆菌属 (*Flavobacterium*) 和嗜冷杆菌属 (*Psychrobacter*) 在中山站海水中含量丰富, 先前的研究在南极半岛土壤和南极海水中发现大量黄杆菌<sup>[18]</sup>, 其在低温下有很高的酶活性, 可能帮助营养物质的消化吸收<sup>[19-20]</sup>。嗜冷杆菌大多存在于南北极等极端寒冷的环境中, 通过许多潜在的适应寒冷的核心基因 (如 ClpX、DsbC、GroEL/GroES 和 MutS2) 等适应寒冷环境。先前研究<sup>[21]</sup> 发现陆生和海生的嗜冷杆菌都是由同一个嗜中温细菌的祖先进化而来的, 通过积累不同的基因蛋白表达以适应低温和各自栖息地。WANG 等<sup>[22]</sup> 从一株南极嗜冷杆菌的研究中发现其编码冷适应酶, 在低温下有较高的催化效率, 并且有显著的耐盐性, 这都有助于嗜冷杆菌适应南极极端低温和高盐环境。

SUH 等<sup>[23]</sup> 对韩国南部 Gosung Bay 不同季节两个地点的细菌多样性及群落结构超过 1 年的观测, 发现水环境中的细菌全年和冬夏存在周期性变化。本研究在罗斯海上层海水中发现大量高温水环境常见的蓝细菌, 暗示其可能适应南极的极端寒冷环境, 通过光合作用固定水中无机碳变成有机碳提供充足的碳源作为能源, 维持南极海洋良好发展的生态系统<sup>[24]</sup>, 蓝细菌也是南极和北极地区许多地表水微生物群落的主要组成部分, 如南极洲维斯福德山脉的湖泊和加拿大高北极地区的北部海岸线<sup>[25]</sup>。本研究中, 中山站 (2017 年 12 月底和 2018 年 1 月初)、罗斯海 (2018 年 1 月底和 2 月初) 和南极西南半岛 (2013 年 2 月中旬) 海水中都有较多的蓝细菌, 并且在夏季的时间越长, 水样中蓝细菌越多。与此相反, 北冰洋水样 (2014 年 3 月、2015 年 4 月至 6 月) 和挪威斯瓦尔巴群岛 (2017 年 8 月底和 9 月初) 水样中蓝细菌含量较少, 可能是因为北冰洋采样时候还未到北极的夏季, 挪威斯瓦尔巴群岛虽然细菌多样性最为丰富, 但可能受人类影响, 蓝细菌含量较少。

海洋微生物在海洋的能量传递和食物链中起着重要的作用, 先前有许多研究关于海洋微生物在具体的地理位置和特定环境中的多样性和群落结构<sup>[26]</sup>。本研究中, 中山站附近的海水微生物比罗斯海上层海水的微生物多样性低, 后者有较丰富的微生物多样性, 可能是罗斯海水样采集时在极昼后期, 大量海冰融化, 影响浮游细菌群

落组成, 浮游植物繁殖, 细菌产量和多样性增加<sup>[27]</sup>。LU 等<sup>[4]</sup> 在对南极海洋叶绿素 a 的空间变化研究发现, 极地附近的深水上涌造成合适的温度和营养注入也可能是提高初级生产力的最重要原因。

在南北极不同地理位置的环境微生物群落结构比较研究中, NMDS 结果显示不同地点的海水微生物群落相对独立聚集成簇, 表明位置不同, 微生物群落组成不同。LAVY 等<sup>[28]</sup> 发现河岸带微生物群落比山坡群落的固碳、固氮能力低。虽然南极西南半岛、罗斯海和中山站的水样品都为南极海水样品, 但是后两者海水微生物较为相似, 可能是因为其距离最近, 且本研究发现中山站微生物与挪威斯瓦尔巴群岛样品也比较接近, 这可能是人类的干扰和污染对南极和北极的海洋微生物有较大的影响<sup>[29]</sup>。

本研究在 ZS\_3\_bin2 宏基因组发现的 UBA1315 属微生物与 TARA OCEAN 等项目宏基因组拼接序列比对发现, 除分布于土壤、河流及海洋沉积物外, 首次在南极海洋中发现。代谢网络分析表明该属可利用广泛的糖类、氨基酸和肽类作为碳源生长。本研究发现 *phrB* 基因在其他基因组中仅含有 1 个拷贝, ZS\_3\_bin2 含有 3 个拷贝, 其中两个拷贝在该属其他基因组无在同源蛋白。以上结果提示 ZS\_3\_bin2 通过水平基因转移获得额外的光损伤修复基因, 并可能因此获得了对南极强紫外线的抵抗能力。南极强紫外易引起 DNA 损伤, 而在 ZS\_3\_bin2 基因组中发现大量 DNA 损伤修复基因, 并且有 3 个拷贝, 这有利于该微生物适应南极环境<sup>[30-31]</sup>。

本研究通过高通量测序鉴定中山站附近海域的微生物组成, 发现变形菌门和拟杆菌门含量最为丰富, 在属水平上黄杆菌属和嗜冷杆菌属含量最多。首次在南极海水中发现 UBA1315 属微生物, 功能注释分析显示含有丰富的 DNA 修复基因。通过其与南北极不同位置的海水微生物研究比较发现, 微生物组成在不同地理位置差别很大。目前对南极中山站微生物的研究还较少, 受限于微生物分离和培养技术不能实现将这些鉴定的菌种分离, 但是, 本研究结果初步揭示了中山站附近海域微生物组成和功能, 为后续进一步研究南极中山站附近海域水环境微生物提供了一定的理论基础和依据。

## 参考文献:

- [1] PEDRÓS-ALIÓ C, POTVIN M, LOVEJOY C. Diversity of planktonic microorganisms in the Arctic Ocean[J]. *Progress in Oceanography*, 2015, 139: 233-243.
- [2] KLEINTEICH J, HILDEBRAND F, BAHRAM M, et al. Pole-to-pole connections: similarities between arctic and antarctic microbiomes and their vulnerability to environmental change[J]. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 2017, 5: 137.
- [3] 杨大群. 天山冷环境中微生物系统多样性及分布特征的研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2008.
- YANG D Q. Phylogenetic diversity and distribution of microorganisms in the Tianshan Mountains [D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2008.
- [4] LU Z B, LIU D D, LIAO J S, et al. Characterizing spatial distribution of chlorophyll a in the Southern Ocean on a circumpolar cruise in summer [J]. *Science of The Total Environment*, 2020, 708: 134833.
- [5] 卞林根, 马永锋, 逯昌贵, 等. 南极长城站(1985—2008)和中山站(1989—2008)地面温度变化[J]. *极地研究*, 2010, 22(1): 1-9.
- BIAN L G, MA Y F, LU C G, et al. Temperature variations at the Great Wall Station (1985-2008) and Zhongshan Station (1989-2008), Antarctic [J]. *Chinese Journal of Polar Research*, 2010, 22(1): 1-9.
- [6] HUAI B J, WANG Y T, DING M H, et al. An assessment of recent global atmospheric reanalyses for Antarctic near surface air temperature[J]. *Atmospheric Research*, 2019, 226: 181-191.
- [7] YU L J, YANG Q H, ZHOU M Y, et al. The variability of surface radiation fluxes over landfast sea ice near Zhongshan station, east Antarctica during austral spring [J]. *International Journal of Digital Earth*, 2019, 12(8): 860-877.
- [8] ZHANG M M, CHEN L Q, XU G J, et al. Linking phytoplankton activity in polynyas and sulfur aerosols over Zhongshan station, east Antarctica [J]. *Journal of the Atmospheric Sciences*, 2015, 72(12): 4629-4642.
- [9] MARGESIN R, MITEVA V. Diversity and ecology of psychrophilic microorganisms[J]. *Research in Microbiology*, 2011, 162(3): 346-361.
- [10] DONEY S C, RUCKELSHAUS M, DUFFY J E, et al. Climate change impacts on marine ecosystems[J]. *Annual Review of Marine Science*, 2012, 4: 11-37.
- [11] HUTCHINS D A, FU F X. Microorganisms and ocean global change[J]. *Nature Microbiology*, 2017, 2(6): 17058.
- [12] WILKINS D, VAN SEBILLE E, RINTOUL S R, et al. Advection shapes Southern Ocean microbial assemblages independent of distance and environment effects[J]. *Nature Communications*, 2013, 4(1): 2457.
- [13] HAMDAN L J, COFFIN R B, SIKAROODI M, et al. Ocean currents shape the microbiome of Arctic marine sediments [J]. *The ISME Journal*, 2013, 7(4): 685-696.
- [14] MIKAN M P, HARVEY H R, TIMMINS-SCHIFFMAN E, et al. Metaproteomics reveal that rapid perturbations in organic matter prioritize functional restructuring over taxonomy in western Arctic Ocean microbiomes[J]. *The ISME Journal*, 2020, 14(1): 39-52.
- [15] CAO S N, ZHANG W P, DING W, et al. Structure and function of the Arctic and Antarctic marine microbiota as revealed by metagenomics [J]. *Microbiome*, 2020, 8(1): 47.
- [16] PARRILLI E, TEDESCO P, FONDI M, et al. The art of adapting to extreme environments: the model system *Pseudoalteromonas* [J]. *Physics of Life Reviews*, 2021, 36: 137-161.
- [17] RAYMOND J A. Dependence on epiphytic bacteria for freezing protection in an Antarctic moss, *Bryum argenteum* [J]. *Environmental Microbiology Reports*, 2016, 8(1): 14-19.
- [18] MATSUI M, KAWAMATA A, KOSUGI M, et al. Diversity of proteolytic microbes isolated from Antarctic freshwater lakes and characteristics of their cold-active proteases [J]. *Polar Science*, 2017, 13: 82-90.
- [19] HERRERA L M, GARCIA-LAVINA C X, MARIZCURENA J J, et al. Hydrolytic enzyme-producing microbes in the Antarctic oligochaete *Grania* sp. (Annelida) [J]. *Polar Biology*, 2017, 40(4): 947-953.
- [20] ARAUJO L S, KAGOHARA E, GARCIA T P, et al. Screening of microorganisms producing cold-active oxidoreductases to be applied in enantioselective alcohol oxidation: an antarctic survey[J]. *Marine Drugs*, 2011, 9(5): 889-905.
- [21] BAKERMANS C. Adaptations to marine versus terrestrial low temperature environments as revealed by comparative genomic analyses of the genus *Psychrobacter* [J]. *Fems Microbiology Ecology*, 2018, 94(7): fiy102.
- [22] WANG Y T, HOU Y H, NIE P, et al. A novel cold-adapted and salt-tolerant mase r from antarctic sea-ice bacterium *Psychrobacter* sp. ANT206 [J]. *Molecules*, 2019, 24(12): 2229.
- [23] SUH S S, PARK M, HWANG J, et al. Seasonal dynamics of marine microbial community in the south sea of Korea [J]. *PLoS One*, 2015, 10(6): e0131633.
- [24] SINGH S M, ELSTER J. Cyanobacteria in Antarctic lake environments [M]//SECKBACH J. *Algae and Cyanobacteria in Extreme Environments*. Dordrecht: Springer, 2007: 303-320.
- [25] VINCENT W F. Cold tolerance in cyanobacteria and life in the cryosphere [M]//SECKBACH J. *Algae and Cyanobacteria in Extreme Environments*. Dordrecht: Springer, 2007: 287-301.
- [26] HARLEY C D G, HUGHES A R, HULTGREN K M, et al. The impacts of climate change in coastal marine systems [J]. *Ecology Letters*, 2006, 9(2): 228-241.

- [27] LURIA C M, AMARAL-ZETTLER L A, DUCKLOW H W, et al. Seasonal succession of free-living bacterial communities in coastal waters of the western antarctic peninsula [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 1731.
- [28] LAVY A, MCGRATH D G, CARNEVALI P B M, et al. Microbial communities across a hillslope-riparian transect shaped by proximity to the stream, groundwater table, and weathered bedrock [J]. *Ecology and Evolution*, 2019, 9 (12): 6869-6900.
- [29] WYNN-WILLIAMS D D. Ecological aspects of antarctic microbiology [M]//MARSHALL KC. *Advances in Microbial Ecology*. Boston: Springer, 1990: 71-146.
- [30] PROCÓPIO L, PÁDULA M, VAN ELSAS J D, et al. Adaptative transcriptional response of *Dietzia cinnamea* P4 strain to sunlight simulator [J]. *Archives of Microbiology*, 2020, 202(7): 1701-1708.
- [31] MEGNA M, LEMBO S, BALATO N, et al. "Active" photoprotection: sunscreens with DNA repair enzymes [J]. *Giornale Italiano di Dermatologia e Venereologia*, 2017, 152 (3): 302-307.

## Microbial diversity and metagenomic analysis of seawater microorganism near Zhongshan Station, Antarctica

ZHAI Wanying<sup>1,2</sup>, WANG Qian<sup>1,2</sup>, WANG Jiahua<sup>3</sup>, CHEN Liangbiao<sup>1,2</sup>

(1. Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Ministry of Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. International Research Center for Marine Bioscience, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 3. Shanghai Engineering Research Center of Hadal Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

**Abstract:** Five seawater samples were collected near Zhongshan Station during the 34th Antarctic Expedition from China, through Illumina high-throughput sequencing, the microbial composition and microbial community structure were identified. At the phylum level, Proteobacteria and Bacteroidetes were the most abundant, followed by Cyanobacteria. *Flavobacterium* and *Psychrobacter* were dominant genera, each of them exceeded 20%. The genus UBA1315 was found for the first time in Antarctic seawater, and the function annotation results showed that there are abundant DNA repair genes in the seawater microorganism, which suggested that it might be helpful to adapt to the harsh environment. By comparison of the microbial community structure between Zhongshan Station and the upper waters of the Ross Sea, the results showed that the microbial diversity is higher in Ross sea upper water, and the abundance of the bacterial is different. In the Antarctic and Arctic seawaters, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* and *Cyanobacteria* are ubiquitously and abundantly present. Proteobacteria is the dominant phylum of waters from both polar regions, and *Cyanobacteria* is most abundant in the Southern Ocean. This study has preliminarily revealed the microbial composition of the seawater near Zhongshan Station, and provided some basic data for further research on marine microbial resources investigation and development of Zhongshan Station in Antarctica.

**Key words:** Antarctic; Zhongshan Station; microbe; metagenomics; adaptation