

研究报告

尕海湖湿地泥炭细菌多样性分析

靳亮¹ 高学梅² 杜建华³ 王洪秀⁴ 关丽梅¹ 王金昌¹ 魏国汶^{1*} 邱小忠¹

(1. 江西省科学院微生物研究所 江西 南昌 330029)

(2. 郑州大学生命科学学院 河南 郑州 450001)

(3. 南昌工学院 江西 南昌 330108)

(4. 江西省农业科学院农业应用微生物研究所 江西 南昌 330200)

摘要:【目的】探讨甘南尕海自然保护区湿地泥炭细菌的多样性和群落结构,通过3个不同地点的随机取样,对尕海自然保护区尕海湖的泥炭资源进行细菌多样性分析。【方法】运用 Illumina MiSeq 高通量测序平台,对尕海湖湿地泥炭的细菌群落进行宏基因组测序分析,检测了泥炭3个样本的细菌群落的差异性。【结果】通过对 Silva 数据库的比对,总共获得了 108 096 条优化序列代表。尕海自然保护区湿地泥炭样本的优势细菌群主要为 *Anaerolineaceae*-uncultured (厌氧绳菌目-不可培养)、*Micromonospora* (小单孢菌属)、*Brevundimong* (短波单孢菌属)和 *Nocardioidea* (诺卡氏菌属),3个样品细菌群落组成差异较大。【结论】首次阐明了尕海湖水陆过渡区泥炭地细菌群落的多样性,为下一步开发和利用泥炭的功能菌群、研究泥炭微生物群落生态网络结构如何响应环境变化提供了基础资料。

关键词: 甘南尕海湖湿地泥炭, 细菌群落多样性, 高通量测序

Peat bacterial diversity and community structure in Gahai Lake wetland in Gan'nan

JIN Liang¹ GAO Xue-Mei² DU Jian-Hua³ WANG Hong-Xiu⁴ GUAN Li-Mei¹
WANG Jin-Chang¹ WEI Guo-Wen^{1*} QIU Xiao-Zhong¹

(1. Institute of Microbiology, Jiangxi Academy of Sciences, Nanchang, Jiangxi 330029, China)

(2. School of Sciences, Zhengzhou University, Zhengzhou, He'nan 450001, China)

(3. Nanchang Institute of Science & Technology, Nanchang, Jiangxi 330108, China)

(4. Institute of Agricultural Applied Microbiology, Jiangxi Agricultural Academy of Sciences, Nanchang, Jiangxi 330200, China)

Abstract: [Objective] In order to identify peat bacterial diversity and community structure in Gahai Lake wetland in Gan'nan. [Methods] By Illumina MiSeq high-throughput DNA sequencing platforms,

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. 31260031); Major Science and Technology Project in Jiangxi Province (No. 20143ACF60002)

*Corresponding author: Tel: 86-791-88177556; E-mail: weiguowen@jxas.ac.cn

Received: May 08, 2016; Accepted: August 08, 2016; Published online (www.cnki.net): September 07, 2016
基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 31260031); 江西省科技支撑重大项目(No. 20143ACF60002)

*通讯作者: Tel: 86-791-88177556; E-mail: weiguowen@jxas.ac.cn

收稿日期: 2016-05-08; 接受日期: 2016-08-08; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2016-09-07

we studied the bacterial diversity from three samples of peat colonies. **[Results]** We obtained 108 096 non-redundant sequences by comparing the silva databases. The preponderant bacterium from three Gahai Lake wetland peat samples were *Anawerodineaceae*-uncultured, *Micromonospora*, *Brevundimong* and *Nocardioides*. **[Conclusion]** Peat bacterial diversity and community structure in Gahai Lake wetland can contribute to the development and utilization of functional bacteria.

Keywords: Peat of Gahai Lake wetland in Gan'nan, Diversity and community structure of the bacterial community, High-throughput sequencing

甘肃省甘南尕海自然保护区是我国重要的湿地保护区,典型的高寒湿地,海拔 3 430–3 590 m,总面积为 2 474.31 hm²,具有丰富的泥炭资源。泥炭地是典型的湿地生态系统,具有保持物种多样性等多种功能,而且在碳循环中有着极其重要的作用^[1]。泥炭是沼泽地特有的自然产物,它是由不同分解程度的松软有机质堆积物组成,其有机质含量占土壤干质量的 30%以上^[2]。土壤相对于地球上的水、空气等环境拥有更加多样化的细菌群落组成^[3]。土壤微生物是湿地生态系统的主要组成部分,在湿地元素循环、物质能量转化以及生态系统的稳定方面具有重要影响^[4]。微生物代谢活动几乎参与地球上所有地球化学循环过程,并且直接或间接影响着气候变化^[5-6]。

目前,国内外学者相继在尕海湖开展了尕海湿地生态系统土壤特征及温室气体排放以及尕海湿地土壤有机碳储量和碳密度分布、不同湿地类型土壤理化特性及其水涵养功能等研究^[7-13]。杨渐^[14]对青海省 9 个湖泊的沉积物样品中微生物群落多样性进行了调查研究,探讨了青藏高原湖泊微生物群落的构建机制,建立了青藏高原微生物群落预测模型。但是关于甘南尕海湖水陆过渡区天然泥炭的细菌多样性的调查尚未发现报道。本研究团队以尕海保护站提供的泥炭样品为材料,采用了 Illumina MiSeq 高通量测序技术对尕海湖水陆过渡区泥炭中的细菌多样性进行了初步分析和比较,为以后研究泥炭微生物群落生态网络结构如何响应环境变化奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 样品采集: 采样地点: 甘肃省尕海自然保

护区尕海湖保护站水陆过渡区泥炭地尕海(海拔高度 3 500 m; 经纬度分别为: 北纬 33°60', 东经 102°30'); 采样时间: 2015 年 8 月 20 日; 采样时, 取样点间距均大于 100 m; 采用直径为 9 cm 的土钻取样, 选取距离地表 0.5 m 深度的泥炭沉积物作为研究对象分别命名为样品 1、样品 2、样品 3。采样所用的器具全部都经过高压灭菌处理, 采样时佩戴一次性手套, 样品用 50 mL 无菌离心管保存。样品采集后迅速放入 4 °C 带回实验室中, 放入 -20 °C 保存备用。

1.1.2 引物序列: 本实验使用的上、下游引物为细菌通用引物^[15], 由上海生工生物工程有限公司合成, 引物序列如下: 338F :5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3'; 806R :5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'。通过上述引物扩增获得细菌 16S rRNA 基因的 V3+V4 区域。

1.1.3 主要试剂和仪器: 胶回收试剂盒, 美国 Omega Bio-Tek 公司胶回收试剂盒; 土壤 DNA 提取试剂盒, 美国(MOBIO PowerSoilDNA Isolation Kit)强力土壤 DNA 提取试剂盒; PCR 仪, 美国应用生物系统公司 ABI GeneAmp® 9700 型。

1.2 研究方法

1.2.1 泥炭样品基因组 DNA 抽提: 泥炭土样 DNA 的提取采用上述土壤 DNA 提取试剂盒提取; 完成基因组 DNA 抽提后, 利用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测抽提的基因组 DNA。

1.2.2 泥炭样品细菌 16S rRNA 基因的 PCR 扩增: 按指定测序区域, 采用通用引物 338F 和 806R 扩增土壤细菌 16S rRNA 基因。PCR 反应条件: 95 °C 3 min; 95 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 45 s, 30 个

循环;72 °C 10 min;10 °C 10 min。PCR 反应体系:5×PCR buffer (with Mg²⁺) 4 μL;2.5 mmol/L dNTP 2 μL;5 μmol/L P1 (338F) 0.8 μL;5 μmol/L P2 (806R) 0.8 μL;5 U/μL *Taq* 酶 0.4 μL;DNA 模板 2 μL;ddH₂O 10 μL;将同一样品 PCR 产物混合后经电泳检测,利用胶回收试剂盒进行纯化。

1.2.3 Illumina MiSeq PE250/PE300 上机测序: 使用 TBS-380 荧光计对 PCR 产物进行定量并均一化混匀,构建 MiSeq 文库,然后用 Illumina MiSeq PE250/PE300 上机测序。该测序工作是由上海美吉生物医药科技有限公司完成。

1.3 数据分析

1.3.1 OTU 聚类分析: OTU (Operational taxonomic units)是在系统发生学或群体遗传学研究中为了便于进行分析,人为给某一个分类单元(品系、属、种、分组等)设置的同一标志。通过归类操作,将序列按照彼此的相似性分为许多小组,一个小组就是一个 OTU。可根据不同的相似度水平对所有序列进行 OTU 划分,通常在 97%相似水平下的 OTU 进行生物信息统计分析。

聚类分析所用软件平台:Usearch (vsesion 7.1 <http://drive5.com/uparse/>);分析方法:对优化序列提取非重复序列,便于降低分析中间过程冗余计算量 (<http://drive5.com/usearch/manual/dereplication.html>),去除没有重复的单序列(<http://drive5.com/usearch/manual/singletons.html>),将所有优化序列 Map 至 OTU 代表序列,选出与 OTU 代表序列相似性在 97%以上的序列,生成 OTU 表格。

1.3.2 稀释性曲线(Rarefaction curve): 稀释性曲线^[16]是从样本中随机抽取一定数量的个体,统计这些个体所代表的物种数目,并以个体数与物种数来构建曲线。它可以用来比较测序数据量不同的样本中物种的丰富度,也可以用来说明样本的测序数据量是否合理。使用 97%相似度的 OTU,利用 Mothur 做 Rarefaction 分析,利用 R 语言工具制作曲线图。

1.3.3 多样性指数(Alpha-diversity): 群落生态学中研究微生物多样性,通过单样品的多样性分析(Alpha 多样性)可以反映微生物群落的丰度和多样性,包括一系列统计学分析指数估计环境群落的物种丰度和多样性。

Chao:是用 Chao1 算法估计样品中所含 OTU 数目的指数,Chao1 在生态学中常用来估计物种总数,由 Chao^[17]最早提出。Simpson:估算样品中微生物多样性指数之一,由 Simpson 等^[18]提出,在生态学中常用来定量描述一个区域的生物多样性。Shannon:估算样品中微生物多样性指数之一。它与 Simpson 多样性指数常用于反映 Alpha 多样性指数。Coverage:是指各样本文库的覆盖率,其数值越高,则样本中序列被测出的概率越高,而没有被测出的概率越低。该指数反映本次测序结果是否代表了样本中微生物的真实情况。

2 结果与分析

2.1 泥炭土壤样品测序结果及取样深度验证

表 1 为 3 个样品的统计数据,样品 1 的有效序列为 37 640 条,检测总碱基数为 16 455 496 bp,序列平均长度为 437.18 bp。样品 2 的有效序列为 38 603 条,检测总碱基数为 16 768 723 bp,序列平均长度为 434.39 bp。样品 3 的有效序列为 31 853 条,检测总碱基数为 13 801 021 bp,序列平均长度为 433.27 bp。从 3 个泥炭样品的 Coverage 来看,3 个样品的覆盖率分别达到 99.8%、99.6%和 99.6%,能够反映样品菌群的整体情况。

稀释曲线(Rarefaction curve)反映了样品的取样深度,可以用来评价测序量是否足以覆盖所有类群。从稀释曲线(图 1)中可知,3 个样品稀释曲线均基本趋于平缓,说明取样基本合理,3 个样品文库中克隆的随机取样量足以覆盖绝大多数细菌的多样性。真实环境中细菌群落结构的置信度较高,能够比较真实地反映泥炭样本的细菌群落。

表 1 3 个泥炭样品测序数据统计

Table 1 Sequencing data statistics of three peat samples							
名称 Sample	有效序列数量 Efficient sequence	检测总碱基数 Total nucleotides detected (bp)	序列平均长度 Average sequence length (bp)	Chao	Shannon	Simpson	Coverage (%)
1	37 640	16 455 496	437.18	605 (596, 625)	5.62 (5.61, 5.64)	0.0069 (0.0067, 0.0072)	99.8
2	38 603	16 768 723	434.39	589 (564, 637)	5.21 (5.19, 5.23)	0.0119 (0.0115, 0.0124)	99.6
3	31 853	13 801 021	433.27	605 (586, 642)	5.18 (5.15, 5.20)	0.0148 (0.0143, 0.0154)	99.6

注: 括号内数值为指数范围的上限值和下限值。

Note: The numerical value in parentheses is index range of upper limit and lower limit.

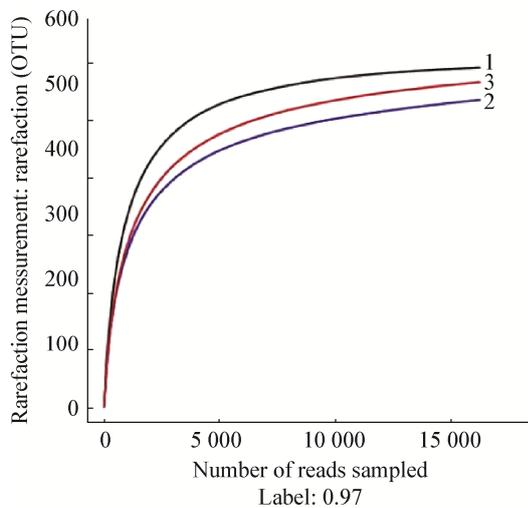


图 1 3 个泥炭土样的 Rarefaction curves

Figure 1 Rarefaction curves generated for analysed 16S rRNA genes in clone libraries from the gut samples of three peat samples

2.2 泥炭土壤样品细菌类群分析

对 3 个泥炭样品进行细菌类群分析(OUT 分析), 如图 2 所示。其中 1 号样品共得到了 591 个 OTU, 2 号样品共得到了 535 个 OTU, 3 号样品共得到了 566 个 OTU。3 个样品的相互之间共有菌群 466 个 OUT, 共有菌群所占 1 号样品菌群比例为 78%, 占 2 号样品菌群比例为 87%, 占 3 号样品菌群比例为 82%, 这表明 3 个样品的整体细菌类群比较一致。但是, 各个样品之间也有所差异: 其中 1 号样品与 2 号样品之间共有 134 个各自独有 OTU; 2 号样品与 3 号样品共有 111 个各自独有 OTU; 1 号样品与 3 号样品之间共有 87 个各自独有 OTU。

2.3 泥炭 3 个样品的菌落结构相似度对比

为了阐明 3 个样品之间的关系, 利用 OTU 矩阵, 计算 Bray-Curtis 遗传距离得到相似性矩阵。将样本间丰度相似性类聚, 将类聚结果表示在 Hearmap 图上(图 3)。在属的水平上, 可将高丰度和低丰度的物种分块聚集, 通过颜色梯度以及相似程度来反映多个样本在菌落组成的相似性和差异性^[19]。泥炭样品 2 与 3 具有较近的同源关系, 泥炭样品 1 和样品 2、3 细菌菌落差异明显。样品 1 的 KD4-96-norank (KD4-96-未分类)、Anaerolineaceae-uncultured (厌氧绳菌目-不可培养) 丰度最高, 样品 2 中 *Nocardioidea* (诺卡氏菌属) 丰度最高, 样品 3 中 Anaerolineae-uncultured (厌氧绳菌目-不可培养) 丰度最高。

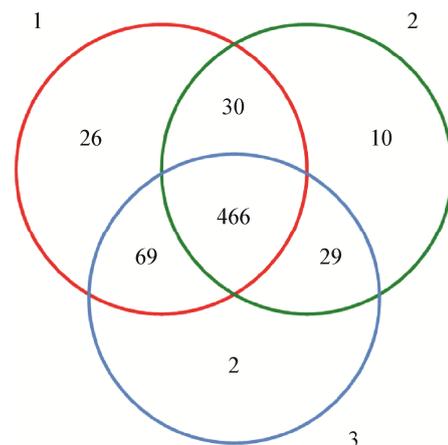


图 2 3 个泥炭土样的细菌 OTUs venn 图

Figure 2 OTUs venn of three peat samples

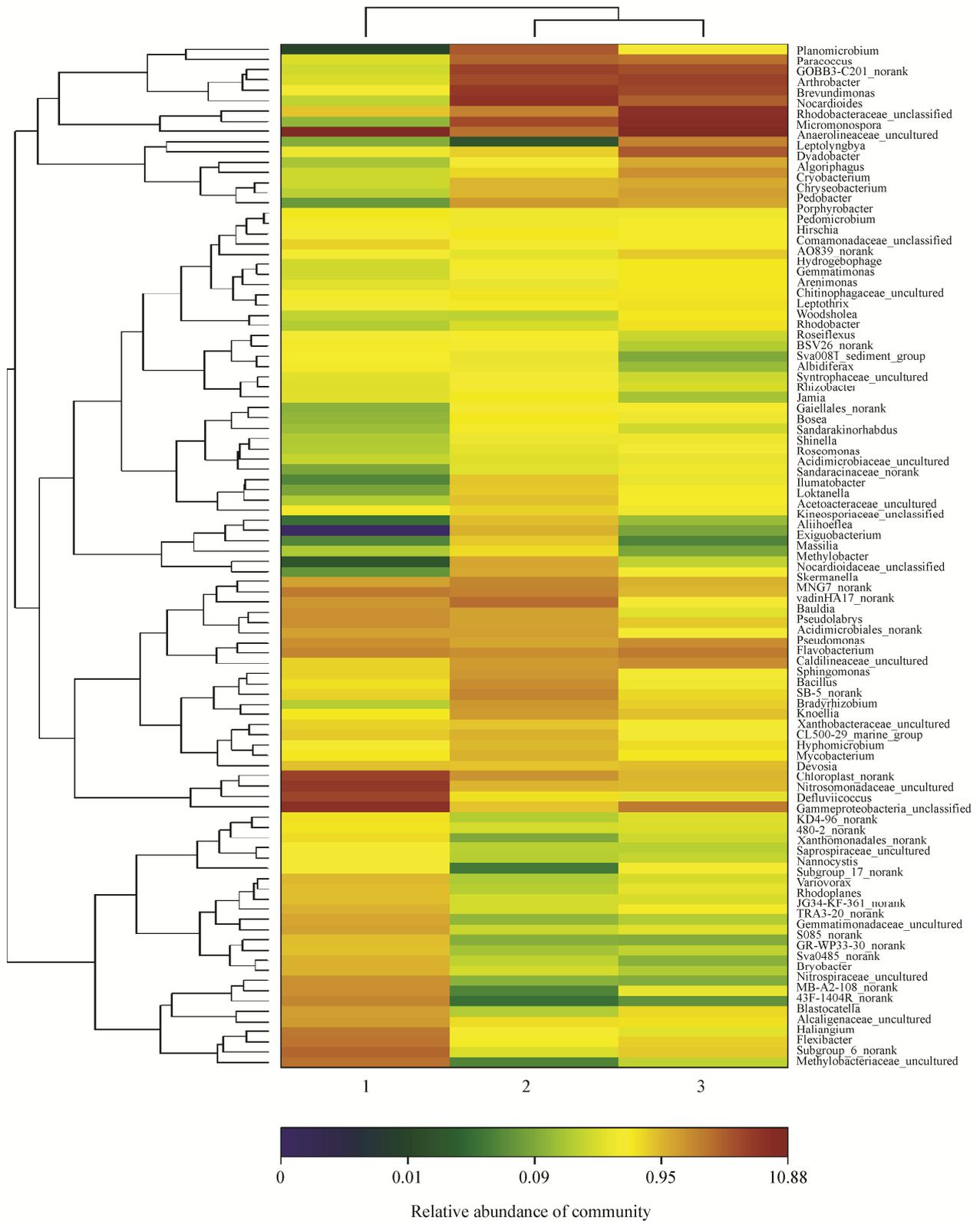


图3 杂海湖水陆过渡区泥炭采集样品的 Heatmap 图
 Figure 3 Heatmap of three peat samples from Gahai Lake

2.4 尕海湖泥炭样品群落结构分析

将 3 个泥炭样品的群落结构通过比较直观的柱状图等形式呈现^[20]。如图 4 所示, 3 个样本分别与 Silva 数据库进行对比^[21]。针对 3 个样品的 OTU 的种类分类情况进行统计分析发现: 3 个样品中除未知细菌丰度最高(所占比例分别为 38.14%、37.77%和 30.91)外, 其所占比例最多的细菌分别为 Anaerolineaceae-uncultured (厌氧绳菌目-不可培养)、*Nocardioidea* (诺卡氏菌)、Anaerolineaceae-uncultured (厌氧绳菌目-不可培养)

所占各自种群比列分别为 8.93%、5.84%、8.79%。泥炭样品 1 中含有较高比例的 KD4-96-norank (KD4-96-未分类)、*Defluviococcus* (聚糖菌)、Nitrosomonadaceae-uncultured (亚硝化单胞菌科-不可培养)、Gammaproteobacteria-unclassified (γ -变形菌纲)占泥炭样品种群的比例分别为 5.99%、5.01%、4.11%、3.87%。泥炭样品 2 中含有较高比例的 GOBB3-C201-norank (GOBB3-C201-未分类)、*Arthrobacter* (节杆菌属)、*Planomicrobium* (游动球菌属)占泥炭样品种群的比例分别为 4.14%、3.70%、3.04%。

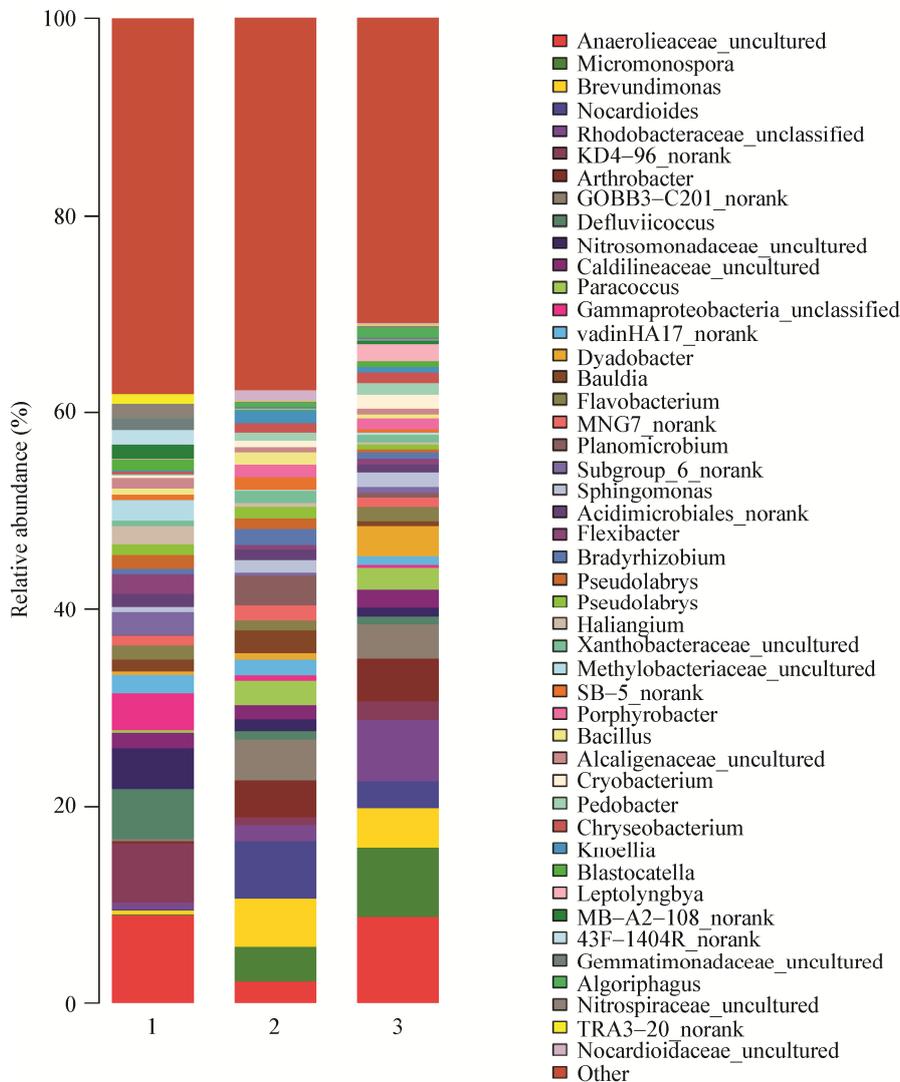


图 4 3 个泥炭样品种群中不同细菌发育类群所占菌株的相对比例组成图

Figure 4 Relative strain frequencies in the different bacterial phylogenetic groups prepared from the three peat samples of Gahai

泥炭样品 3 中含有较高比例的 *Micromonospora* (小单孢子菌属)、Rhodobacteraceae-unclassified (红杆菌科 - 未分类)、*Arthrobacter* (节杆菌属)、*Brevundimonas* (短波单孢菌属)、*Dyadobacter* (发酵成对杆菌属) 占泥炭样品种群的比例分别为 7.05%、6.24%、4.28%、3.98%、3.08%。样品 2 和样品 3 都含有较多的 *Arthrobacter* (节杆菌属)。

3 讨论

微生物在自然界中分布广泛,数量众多,传统分子技术(变性凝胶梯度电泳,片段多态性分析,克隆技术等)很难让我们全面地认识环境中微生物群落的多样性。近年来,分子生态学技术的发展和运用,特别是高通量测序技术的应用,大大地改观和革新我们对自然界微生物多样性的认识。

本文通过 Illumina MiSeq 高通量测序平台对甘肃省尕海自然保护区湿地泥炭的菌落进行了细菌多样性分析。这些研究结果对下一步开发尕海湖湿地泥炭的细菌资源以及研究细菌对尕海保护区湿地环境变化的影响打下基础。通过对 Silva 数据库的对比,总共获得了 108 096 条优化序列代表,这些序列划分 OTU 的最终优化序列。尕海湖湿地泥炭 3 个样品中细菌主要包括了数据库中的绝大多数门类,主要的细菌类群为 Anawerodineaceae-uncultured (厌氧绳菌目-不可培养)、*Micromonospora* (小单孢菌属)、*Brevundimong* (短波单孢菌属)、*Nocardioidea* (诺卡氏菌属)。

厌氧绳菌目作为在泥炭土壤的深层、拟穴青蟹的养殖水池和云南户用沼气池中均有报道^[22-24],但是厌氧绳菌目菌对环境的具体作用主要表现在分解腐殖酸、还原硫酸盐以及产甲烷等作用来改变周围的地质环境^[22]。在泥炭 2 号样品中发现大比例的 *Nocardioidea* (诺卡氏菌属)。该细菌属具备一定的纤维素分解酶特性^[25],这与尕海湿地泥炭的形成过程有关。甘南地区的尕海湿地位于青藏高原东部,气候寒冷潮湿,形成泥炭的植物主要为草本植物,是研究现代沼泽脂类生物标志化合

物地球化学的良好场所^[26]。泥炭中的有机质含有大量的纤维素、半纤维素、木质素、腐殖酸、沥青物质等,这就为产纤维素分解酶的菌株提供了一个天然的生存环境。对尕海泥炭土样的产纤维素酶的功能菌株的筛选将是我们下一步的工作方向。泥炭 3 号样品中含有较高比例的小单孢菌属。小单孢菌属在相比森林、草原生态系统而言,沼泽中由于水分和营养充分,腐殖质含量高,因此其中小单孢菌的种类和数量明显较多^[27]。而且小单孢菌属是一类分布广泛且具多种生物活性的稀有放线菌。它不仅能产生庆大霉素、罗沙米星、福堤霉素 A 等多种抗菌抗生素,还能产生一些具有独特结构的抗肿瘤抗生素,包括 Dynemicin A、加利车霉素(Calicheamicin)、埃斯波毒素(Esperamicin)和 Kerdarcidin 等^[28]。短波单孢菌属在 3 号样品也占有一定比例,王中华等发现短波单孢菌有降解原油的功能^[29]。

最近研究发现微生物的共存关系不一定是微生物个体的生理相互作用,而可能是对某种环境因素的响应^[30]。青藏高原分布着成千湖泊,具有许多环境梯度,比如盐度的跨度从淡水到饱和盐度。下一步我们将重点研究尕海泥炭微生物多样性与盐度、TOC 和 DOC 之间的关系,为尕海环境生态研究提供理论基础和数据支持。

在原核生物多样性研究中,基于 16S rRNA 基因的菌群多样性分析会引起一定程度的高估,V4-V5 区域显示了最低的高估程度(约为 3.0%),而 V6 区域的高估程度最高(约为 13%)^[31]。本文研究细菌 16S rRNA 基因区域为 V3+V4 区域,是相对稳定的作为焦磷酸测序的目的片段,也是细菌多样性研究中常用的研究区域^[32]。

综上所述,本研究通过 Illumina MiSeq 高通量测序平台对湿地泥炭样品进行测序,发现了大量的细菌菌群,得到了菌群的丰度和多样性分析,首次全面揭示了尕海自然保护区湿地泥炭细菌多样性。这些结果将为下一步开发和利用泥炭的功能菌群,以及深入了解细菌群落对尕海自然保护区湿地环

境变化的影响打下基础。

参 考 文 献

- [1] Yin CQ. The ecological function, protection and utilization of land/inland water ecotones[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 1995, 15(3): 331-335 (in Chinese)
尹澄清. 内陆水-陆地交错带的生态功能及其保护与开发前景[J]. *生态学报*, 1995, 15(3): 331-335
- [2] Wang M, Liu ZG, Ma XH, et al. Division of organic carbon reserves of peatlands in China[J]. *Wetland Science*, 2012, 10(2): 156-163 (in Chinese)
王铭, 刘子刚, 马学慧, 等. 中国泥炭地有机碳储量分区[J]. *湿地科学*, 2012, 10(2): 156-163
- [3] Roesch LFW, Fulthorpe RR, Riva A, et al. Pyrosequencing enumerates and contrasts soil microbial diversity[J]. *The ISME Journal*, 2007, 1(4): 283-290
- [4] Liu YY, Li F, Sun QY, et al. Review on the study of soil microorganisms in wetland ecosystems[J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2013, 19(3): 547-548 (in Chinese)
刘银银, 李峰, 孙庆业, 等. 湿地生态系统土壤微生物研究进展[J]. *应用与环境生物学报*, 2013, 19(3): 547-548
- [5] Bardgett RD, Freeman C, Ostle NJ. Microbial contributions to climate change through carbon cycle feedbacks[J]. *The ISME Journal*, 2008, 2(8): 805-814
- [6] Singh BK, Bardgett RD, Smith P, et al. Microorganisms and climate change: terrestrial feedbacks and mitigation options[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2010, 8(11): 779-790
- [7] Ma WW. The soil characteristics and emission of greenhouse gases from the Gahai wetland ecosystem[D]. Lanzhou: Doctoral Dissertation of Gansu Agricultural University, 2014 (in Chinese)
马维伟. 尕海湿地生态系统土壤特征及温室气体排放研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学博士学位论文, 2014
- [8] Ma WW, Wang H, Huang R, et al. Distribution of soil organic carbon storage and carbon density in Gahai Wetland ecosystem[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2014, 25(3): 738-744 (in Chinese)
马维伟, 王辉, 黄蓉, 等. 尕海湿地生态系统土壤有机碳储量和碳密度分布[J]. *应用生态学报*, 2014, 25(3): 738-744
- [9] Ma WW, Wang H, Wang XH, et al. Soil physical characteristics and water conservation function for four main wetland types in Gahai of Gannan[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2012, 26(4): 194-198, 220 (in Chinese)
马维伟, 王辉, 王修华, 等. 甘南尕海不同湿地类型土壤物理特性及其水源涵养功能[J]. *水土保持学报*, 2012, 26(4): 194-198, 220
- [10] Ma WW, Wang H, Wang XH, et al. Soil properties of meadow wetlands for different altitudes in Gahai of Gannan[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2012, 20(6): 1044-1050 (in Chinese)
马维伟, 王辉, 王修华, 等. 甘南尕海草甸湿地不同海拔高度土壤性状研究[J]. *草地学报*, 2012, 20(6): 1044-1050
- [11] Ma WW, Wang H, Wang YS, et al. Changes of soil properties and water conservation function in the degradation process of Gahai Peat Bog in Gannan[J]. *Journal of Natural Resources*, 2014, 29(9): 1531-1541 (in Chinese)
马维伟, 王辉, 王跃思, 等. 甘南尕海泥炭沼泽地退化过程土壤特征和水源涵养功能的变化[J]. *自然资源学报*, 2014, 29(9): 1531-1541
- [12] Wang YF, Wang H, Ma WW, et al. Physical and chemical properties of peat soil in Gahai Wetland[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2012, 26(3): 118-122 (in Chinese)
王元峰, 王辉, 马维伟, 等. 尕海湿地泥炭土土壤理化性质[J]. *水土保持学报*, 2012, 26(3): 118-122
- [13] Lian SQ, Wang H, Ma WW. Characteristics of peat soil nutrients in Gahai wetland of Gansu Province[J]. *Journal of Gansu Agricultural University*, 2009, 44(3): 128-132 (in Chinese)
连树清, 王辉, 马维伟. 尕海湿地泥炭土养分特征研究[J]. *甘肃农业大学学报*, 2009, 44(3): 128-132
- [14] Yang J. Microbial response to environmental Changes in Qinghai-Tibetan Lakes and its environmental implications[D]. Beijing: Doctoral Dissertation of China University of Geosciences, 2015 (in Chinese)
杨渐. 青藏高原湖泊微生物群落演替及其环境指示意义[D]. 北京: 中国地质大学博士学位论文, 2015
- [15] Zeng GM, Yu Z, Chen YN, et al. Response of compost maturity and microbial community composition to pentachlorophenol (PCP)-contaminated soil during composting[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(10): 5905-5911
- [16] Amato KR, Yeoman CJ, Kent A, et al. Habitat degradation impacts black howler monkey (*Alouatta pigra*) gastrointestinal microbiomes[J]. *The ISME Journal*, 2013, 7(7): 1344-1353
- [17] Chao A. Non-parametric estimation of the number of classes in a population[J]. *Scandinavian Journal of Statistics*, 1984, 11: 265-270
- [18] Simpson JM, Kocherginskaya SA, Aminov RI, et al. Comparative microbial diversity in the gastrointestinal tracts of food animal species[J]. *Integrative and Comparative Biology*, 2002, 42(2): 327-331
- [19] Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, et al. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools[J]. *Nucleic Acids Research*, 2013, 41(D1): D590-D596
- [20] Oberauer L, Zachow C, Lackner S, et al. The ignored diversity: complex bacterial communities in intensive care units revealed by 16S pyrosequencing[J]. *Scientific Reports*, 2013, 3: 1413
- [21] Jami E, Israel A, Kotser A, et al. Exploring the bovine rumen bacterial community from birth to adulthood[J]. *The ISME Journal*, 2013, 7(6): 1069-1079
- [22] Fan B, Yao SP, Li SP, et al. Distribution and geological significance of four anaerobic bacteria in peats[J]. *Geological Journal of China Universities*, 2007, 13(1): 30-34 (in Chinese)
樊奔, 姚素平, 李顺鹏, 等. 泥炭中厌氧细菌的数量分布及其地质意义[J]. *高校地质学报*, 2007, 13(1): 30-34
- [23] Li QM, Wu Y, Dong MH, et al. Prokaryotic community structure of household biogas digesters in the tropical climate zones of Yunnan[J]. *Microbiology China*, 2015, 42(1): 54-63 (in Chinese)
李秋敏, 吴燕, 董明华, 等. 云南热带户用沼气池的原核生物群落结构研究[J]. *微生物学通报*, 2015, 42(1): 54-63
- [24] Huang ST, Chen RY, Liu KS, et al. Comparative study of aquatic bacterial community from 4 ponds farming mud crabs, *Scylla paramamosain*[J]. *Journal of Oceanography in Taiwan Strait*, 2012, 31(3): 387-395 (in Chinese)
黄诗婷, 陈荣元, 刘克韶, 等. 四个拟穴青蟹养殖池水环境中细菌群落结构的比较研究[J]. *台湾海峡*, 2012, 31(3): 387-395
- [25] Wu HL, Zhang LQ, Fang P. Screening of a cellulose-producing *Nocardia* spp. strain and studying on the conditions for producing cellulase[J]. *Bulletin of Science and Technology*, 2008, 24(6): 768-773, 778 (in Chinese)
吴海龙, 张立青, 方萍. 一株产纤维素酶的诺卡氏属菌株筛选及产酶条件研究[J]. *科技通报*, 2008, 24(6): 768-773, 778
- [26] Duan Y. Compositional features of lipid compounds in

- sediments from Gannan Marsh, China[J]. *Geochimica*, 2002, 31(6): 525-531 (in Chinese)
段毅. 甘南沼泽沉积脂类生物标志化合物的组成特征[J]. *地球化学*, 2002, 31(6): 525-531
- [27] Chernov A V. River floodplains origin, development and sustainable use[J]. *Soros Obrazovat*, 1999(12): 47-48
- [28] Zhang XM, Liu Q, Liu X, et al. Research progress on the Micromonosporaceae family[J]. *Journal of Northwest A & F University (Nature Science Edition)*, 2013, 41(9): 175-185 (in Chinese)
张晓敏, 刘秋, 刘限, 等. 小单孢菌科研究进展[J]. *西北农林科技大学学报: 自然科学版*, 2013, 41(9): 175-185
- [29] Wang ZH, Li TW, Su XR, et al. Analysis of bacterial communities in crude oil by 6S rDNA-PCR-DGGE[J]. *Marine Environmental Science*, 2012, 31(1): 48-52 (in Chinese)
- 王中华, 李太武, 苏秀榕, 等. 原油降解中微生物群落的 16S rDNA-PCR-DGGE 分析[J]. *海洋环境科学*, 2012, 31(1): 48-52
- [30] Xiong JB, Liu YQ, Lin XG, et al. Geographic distance and pH drive bacterial distribution in alkaline lake sediments across Tibetan Plateau[J]. *Environmental Microbiology*, 2012, 14(9): 2457-2466
- [31] Sun DL, Jiang X, Wu QL, et al. Intragenomic heterogeneity of 16S rRNA genes causes overestimation of prokaryotic diversity[J]. *Appl Environ Microbiol* Applied and Environmental Microbiology, 2013, 79(19): 5962-5969
- [32] Zhou SS, Xu J, Zhu H, et al. Gut microbiota-involved mechanisms in enhancing systemic exposure of ginsenosides by coexisting polysaccharides in ginseng decoction[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 22474

科技信息摘录

微生物所在竞争性病毒 RNA 研究中获进展

众所周知,病毒 RNA (或 mRNA)的主要功能是作为模板翻译病毒蛋白,然而中国科学院微生物研究所孟颂东课题组近几年发现病毒 RNA 的新功能,即作为竞争性病毒 RNA (competitive virus RNA, ν vRNA) 直接参与调节病毒复制、感染和病理, ν vRNA 是该课题组提出的病毒与宿主相互作用的新模式。

该课题组最近研究发现乙肝病毒的 3 个 RNA (包括 pgRNA, Pre-S 和 S mRNA) 均含有宿主 miRNA (微小 RNA) let-7a 的结合位点,可吸附和降解肝细胞中 let-7a,进而引起 let-7a 的靶基因 c-myc、K-RAS 和 CCR7 等肿瘤基因表达的上调,从而促进肝癌的发生和进展。这为进一步揭示慢性乙肝感染引发肝癌发生的机制和发现治疗肝癌的新靶点提供了线索。

上述研究成果已经在线发表在 *Cancer letters* 杂志[383(1): 62-72, 2016],邓蒙蒙是第一作者,孟颂东和李长菲是通讯作者。这是该课题组在竞争性病毒 RNA 方面发表的第 3 篇论文,他们前期研究已经发现乙肝病毒 RNA 作为竞争性病毒 RNA 参与促进病毒复制、增强病毒适应肝细胞环境和诱导肝细胞癌发生,研究成果分别发表在 *Journal of Virology* (2013)和 *Scientific Reports* (2015)杂志。

——摘自《中国科学技术信息网》2016-10-09
<http://www.biotech.org.cn/information/143450>