



# 小柴旦盐湖脱硫棒状菌属的环境适应性机制分析

曾健雄<sup>1</sup>, 常利草<sup>2</sup>, 胡文哲<sup>2</sup>, 刘俊<sup>2</sup>, 蒋宏忱<sup>3</sup>, 方云<sup>1\*</sup>

1 武汉工程大学环境生态与生物工程学院 教育部绿色化工过程重点实验室, 湖北 武汉 430205

2 华中农业大学 农业微生物学国家重点实验室, 湖北 武汉 430070

3 中国地质大学(武汉) 生物地质与环境地质国家重点实验室, 湖北 武汉 430074

曾健雄, 常利草, 胡文哲, 刘俊, 蒋宏忱, 方云. 小柴旦盐湖脱硫棒状菌属的环境适应性机制分析[J]. 微生物学报, 2023, 63(6): 2109-2119.

ZENG Jianxiong, CHANG Licao, HU Wenzhe, LIU Jun, JIANG Hongchen, FANG Yun. The environmental adaptation mechanism of *Desulfotignum* in Xiaochaidan Lake[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2023, 63(6): 2109-2119.

**摘要:** 【目的】青藏高原小柴旦盐湖富含硫酸盐卤水, 宏基因组学分析揭示该生境蕴藏着丰富的具有耐盐、固碳和脱硫功能的微生物。本研究拟通过生物信息学分析揭示潜在的固碳脱硫微生物脱硫棒状菌(*Desulfotignum*)的代谢多样性和环境适应性机制。【方法】利用宏基因组分箱分析和公共数据库下载获得小柴旦盐湖脱硫棒状菌属的基因组, 通过文献跟踪和 16S rRNA 基因数据库检索揭示脱硫棒状菌的全球生境分布, 基于基因组分类数据库(genome taxonomy database, GTDB)中 120 个细菌标记蛋白的系统发育树对脱硫棒状菌属的亚群进行分类, 通过重构脱硫棒状菌属不同亚群的生理代谢潜能以及基因组比较分析来解析其环境适应机制和代谢多样性。【结果】脱硫棒状菌属全球分布广泛且主要栖息在高盐生境。小柴旦盐湖沉积物中共得到了 9 个脱硫棒状菌基因组, 结合公共数据库中 2 个基因组, 根据基因组系统发育分析、平均核苷酸一致性(average nucleotide identity, ANI)和平均氨基酸一致性(average amino acid identity, AAI)分析将这 11 个脱硫棒状菌基因组分为了 2 个亚群(G1 和 G2)。脱硫棒状菌属的代谢通路重构显示其存在 Wood-Ljungdahl (WL)途径和还原甘氨酸(reductive glycine, rGly)途径 2 条潜在固碳途径, 其中 G1 亚群可利用亚硝酸盐、硫酸盐、氧气作为电子受体, 还可进行乳酸发酵、硫代硫酸盐歧化以及通过鞭毛进行趋化运动; 而 G2 亚群参与部分硝化作用, 可利用硫酸盐和氧气作为电子受体, 或进行硫代硫酸盐歧化以及通过菌毛扭动方式来运动。这代表脱硫棒状菌属可能是混合营养型微生物, 同时利用有机碳和无机碳作为碳源来生长。G1 和 G2 亚群均通过 Trk 系统摄入  $K^+$  来对抗高盐环境。【结论】本研究扩展了脱硫棒状菌属的物

资助项目: 国家自然科学基金(42077281, 91751206); 中国博士后科学基金(2022M711263)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (42077281, 91751206) and the China Postdoctoral Science Foundation (2022M711263).

\*Corresponding author. Tel: +86-27-65522073, E-mail: fangy@wit.edu.cn

Received: 2022-10-23; Accepted: 2022-11-27; Published online: 2022-12-01

种多样性, 率先揭示了该属的生理代谢潜能和潜在的环境适应机制。

关键词: 宏基因组学; 小柴旦盐湖; 脱硫棒状菌属; 代谢通路

## The environmental adaptation mechanism of *Desulfotignum* in Xiaochaidan Lake

ZENG Jianxiong<sup>1</sup>, CHANG Licao<sup>2</sup>, HU Wenzhe<sup>2</sup>, LIU Jun<sup>2</sup>, JIANG Hongchen<sup>3</sup>,  
FANG Yun<sup>1\*</sup>

1 Key Laboratory of Green Chemical Process of Ministry of Education, School of Environmental Ecology and Biological Engineering, Wuhan Institute of Technology, Wuhan 430205, Hubei, China

2 State Key Laboratory of Agricultural Microbiology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, Hubei, China

3 State Key Laboratory of Biogeology and Environmental Geology, China University of Geosciences, Wuhan 430074, Hubei, China

**Abstract: [Objective]** The Xiaochaidan Lake on the Qinghai-Tibetan Plateau is rich in sulfate brine. The metagenomics study has demonstrated that Xiaochaidan Lake harbors abundant microorganisms with salt tolerance and the potential of carbon fixation and desulfurization. This paper aims to reveal the metabolic diversity and environmental adaptation mechanism of *Desulfotignum* via bioinformatics analysis. **[Methods]** The genomes of *Desulfotignum* in Xiaochaidan Lake were obtained via metagenomic analysis and public database. The global habitat distribution of *Desulfotignum* was revealed through literature tracking and 16S rRNA database retrieval. *Desulfotignum* subgroups were classified based on the phylogenetic analysis of 120 marker proteins in genome taxonomy database (GTDB). The environmental adaptation mechanism and metabolic diversity of *Desulfotignum* were analyzed through metabolic reconstruction. **[Results]** *Desulfotignum* is widely distributed in the world, and most of its habitats have high salinity. Eleven *Desulfotignum* genomes (nine from the sediments of Xiaochaidan Lake and two from the public database) were clustered into two groups (G1 and G2) according to the phylogenetic tree, average nucleotide identity (ANI), and average amino acid identity (AAI). Metabolic reconstruction indicated that *Desulfotignum* may be mixotrophic bacteria (using organic carbon and inorganic carbon as carbon sources) with Wood-Ljungdahl (WL) and reductive glycine (rGly) pathways for carbon fixation. The members in G1 can use nitrite, sulfate, and oxygen as electron receptors and carry out lactate fermentation, thiosulfate disproportionation, and chemotaxis through flagella. The members in G2 can use sulfate and oxygen as electron acceptors, participate in partial nitrification and thiosulfate disproportionation, and move via pilus twisting. Both G1 and G2 can take K<sup>+</sup> through the Trk system to adapt to the high salt environment. **[Conclusion]** Our study expands new branches of *Desulfotignum* and predicts the potential metabolic diversity and environmental adaptation mechanism of *Desulfotignum*.

**Keywords:** metagenomics; Xiaochaidan Lake; *Desulfotignum*; metabolic pathway

极端环境往往是生物栖息环境中一种或多种物理化学指标超过了大多数生物生存的极限。然而,在极端环境中依然存在着大量微生物,它们也被称为极端微生物。极端微生物根据生存的环境可以分为嗜热菌、嗜盐菌、嗜酸菌和嗜碱菌等(分别在高温、高盐、低 pH 和高 pH 环境中生长)<sup>[1]</sup>。极端微生物通过改变膜组分、蛋白修饰、代谢调节(如利用有机或无机碳源,以小分子有机物、氢气、一氧化碳等多种电子供体、以硫酸盐、硝酸盐、氧气等多种电子受体、多种电子传递途径进行呼吸等)和应激响应(包括温度适应、渗透压适应、重金属解毒、氧化压力适应和多种运动系统)等多种方式来适应极端环境<sup>[2]</sup>。研究极端环境(盐湖、深海、热泉、酸性矿山废水等)中的极端微生物参与的地球化学元素循环,对于揭示生命起源,阐明生物多样性形成的机制,认识生物与环境的相互作用的规律等,都具有极为重要的科学意义和应用价值。

青藏高原是世界上面积最大且海拔最高的高原,其中青藏高原柴达木盆地有着丰富的盐碱湖泊资源。高原盐湖具有常年低温、高盐和高 pH 特征,其中的微生物如嗜盐细菌和古菌有着特殊的生理结构和代谢机制,在盐湖生态系统的物质循环与能量流动中发挥了重要作用<sup>[3]</sup>。微生物要在高盐环境中生存,必须要应对环境的渗透压力。在以前的研究中,微生物为了应对渗透压力通常采用了 2 套策略:(1) 依靠来自周围环境的离子的流入平衡渗透压;(2) 通过在细胞质中积累低分子量相容溶质(例如谷氨酸、谷氨酰胺、脯氨酸和甘氨酸甜菜碱等)来平衡高渗透压环境<sup>[4]</sup>。

小柴旦盐湖位于柴达木盆地北部,含有丰富的硫酸盐。前期研究从小柴旦盐湖不同盐度的区域采集了 25 个沉积物样本,利用宏基因组分箱分析获得了 117 个具有固碳潜力的宏基因组组装基因组(metagenomic assembly genomes, MAGs)<sup>[5]</sup>。基因组系统发育分析发现了 9 个具

有潜在固碳脱硫能力的基因组,其属于 *Desulfobacteraceae* 科 *Desulfotignum* 属中新的亚群成员,且在高盐环境(盐度>80 g/L)中占据了较高的丰度(0.7%),这为我们研究盐湖中极端微生物的环境适应机制提供了很好的样本。目前公共数据库中已知的脱硫棒状菌属基因组仅有 2 个,它们从海岸带沉积物环境中获得。基于 16S rRNA 基因数据库和文献检索发现脱硫棒状菌属分布广泛,在巴勒斯坦加沙地带<sup>[6]</sup>、中国广东省恩平市沙湖镇<sup>[7]</sup>、中国西藏青藏高原<sup>[8]</sup>、中国台湾兖州地区<sup>[9]</sup>、德国瓦登海<sup>[10]</sup>、俄罗斯的卡辛湖和埃尔顿湖<sup>[11]</sup>、阿根廷的纽克盆地<sup>[12]</sup>、美国索尔顿海<sup>[13]</sup>、法国地中海贝雷泻湖<sup>[14]</sup>和丹麦的波罗的海<sup>[15]</sup>都有报道。对脱硫棒状菌属的研究报道最早可以追溯到 1998 年的墨西哥瓜伊马斯盆地,当时只关注了其对于苯矿化的功能<sup>[16]</sup>。2001 年–2014 年期间,每隔几年都有新的亚种发现,对其代谢功能的研究也逐渐扩展,然而过往研究主要集中在硫代谢(例如同化硫酸盐还原和异化硫酸盐还原)<sup>[6,12,10,17-18]</sup>、铁代谢<sup>[7,11]</sup>和碳代谢(例如芳香族化合物苯和甲苯的降解)<sup>[16]</sup>。直到宏基因组学技术的出现,为我们探索微生物群落多样性提供了极大的帮助。2017 年 Saad 等广泛关注了脱硫棒状菌属多方面代谢功能,有碳代谢(糖酵解、丙酮酸代谢、三羧酸循环等)、氨基酸代谢和电子转运功能等<sup>[10]</sup>。但脱硫棒状菌如何适应高盐环境还未有报道。探究脱硫棒状菌属环境适应性,不仅丰富了极端微生物多样性和环境适应性机制的认识,促进了极端微生物基因组基础理论的研究,而且为开发极端环境微生物菌种资源提供了新的思路。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 基因组下载

先前研究从小柴旦盐湖获得了 9 个隶属于

*Desulfobacteraceae*、*Desulfotignum* 的新亚群成员基因组，目前对该亚群的了解较少。本研究从基因组分类数据库(genome taxonomy database, GTDB)<sup>[19]</sup>中，根据 *Desulfobacteraceae*、*Desulfotignum* 这一分类信息，仅下载得到了 2 个代表性基因组(*Desulfotignum phosphitoxidans* DSM 13687 和 *Desulfotignum balticum* DSM 7044)。采用软件 CheckM<sup>[20]</sup>来评估所有分析基因组的完整度、污染度和异质性。根据评估数据中基因组完整度和污染度，MAGs 质量可以分为高、中、低 3 种质量。其中，完整度>90%、污染度<5%为高质量 MAGs，中质量 MAGs 标准是完整度≥50%、污染度<10%，低质量 MAGs 标准是完整度<50%、污染度<10%<sup>[21]</sup>。

## 1.2 系统发育分析

从 GTDB 数据库中下载与脱硫棒状菌分类地位较近的代表性基因组以及结合 2.1 所获得的基因组，基于 120 个细菌标记蛋白的串联序列，使用软件 iq-tree<sup>[22]</sup>来构建系统发育树，参数为“LG+F+R6-mlt 1000-bb 1000”，使用 iTol<sup>[23]</sup>对系统发育树进行修饰与美化。分别使用平均核苷酸一致性(average nucleotide identity, ANI)在线软件(<https://www.ezbiocloud.net/tools/ani>)和

EzAAI<sup>[24]</sup>计算 11 个脱硫棒状菌基因组的平均核苷酸同源性 OrthoANIu 和平均氨基酸同源性(average amino acid identity, AAI)值。

## 1.3 基因注释

对于上述得到的基因组，使用 Prodigal<sup>[25]</sup>进行蛋白编码序列的预测。对于蛋白质编码序列，将其比对已知的注释信息数据库美国国立生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)的 NR 数据库<sup>[26]</sup>、京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)<sup>[27]</sup>和蛋白质直系同源簇数据库(cluster of orthologous group, COG)<sup>[28]</sup>得到功能注释，并手动检测注释的准确性，使用参数为 E-values<10<sup>-5</sup>。

# 2 结果与讨论

## 2.1 脱硫棒状菌基因组的基本特征

共获得了 11 个脱硫棒状菌基因组(表 1)。基因组大小约 2.67–5.11 Mb，GC 含量约 50.0%–54.2%，除 S08.Bin157 基因组完整度为 58.3%，其余基因组完整度在 60.00%–99.35%之间，高质量基因组有 7 个，中等质量基因组有 4 个，污染度均<1.67%。

表 1 脱硫棒状菌基因组信息

Table 1 *Desulfotignum* genome information

Bin ID	Genome size (bp)	GC content (%)	Completeness (%)	Contamination (%)
S08.Bin157	2 661 042	50.0	58.30	1.67
S09.Bin188	3 890 845	50.7	96.80	0.00
S10.Bin027	2 959 073	51.2	77.30	0.11
S14.Bin031	3 895 822	51.1	98.40	0.00
S15.Bin083	2 560 689	50.1	60.00	0.00
S24.Bin131	3 262 001	50.3	72.60	0.80
S25.Bin111	3 476 580	50.5	92.60	0.00
S25.Bin119	3 785 624	53.5	96.70	0.00
S23.Bin123	3 107 377	54.2	94.40	0.80
<i>Desulfotignum phosphitoxidans</i> DSM 13687	4 998 761	51.3	99.35	0.00
<i>Desulfotignum balticum</i> DSM 7044	5 118 755	52.3	99.35	0.00

### 2.2 系统发育分析

基于 120 个串联的细菌保守基因蛋白质序列, 对 11 个脱硫棒状菌基因组进行系统发育分析(图 1)。结果显示, 11 个基因组形成了 2 个分支, 分别用 G1 和 G2 组表示。S23.Bin123 与 S25.Bin119 之间具有相对密切的进化关系, 为 G2 组, 与它们最近的亲缘物种为 *Desulfotignum balticum* DSM7044 和 *Desulfotignum phosphitoxidans* DSM13687。S23.Bin123、S25.Bin119、*Desulfotignum phosphitoxidans* DSM

13687 和 *Desulfotignum balticum* DSM 7044 的 orthoANI 值在 84%–96% 之间, AAI 值在 86%–97% 之间(图 1), 表明它们属于同一个属。G1 组包含 S09.Bin188、S08.Bin157、S25.Bin111、S15.Bin083、S24.Bin131、S14.Bin031 和 S10.Bin027, 几个基因组之间的 orthoANI 值在 81%–92% 之间, AAI 值在 83%–93% 之间(图 1)。G1 组基因组与 G2 组基因组之间的 orthoANI 值在 78%–80% 之间, AAI 值在 78%–80% 之间, 表明它们属于同一个属, 即脱硫棒状菌属 *Desulfotignum*。

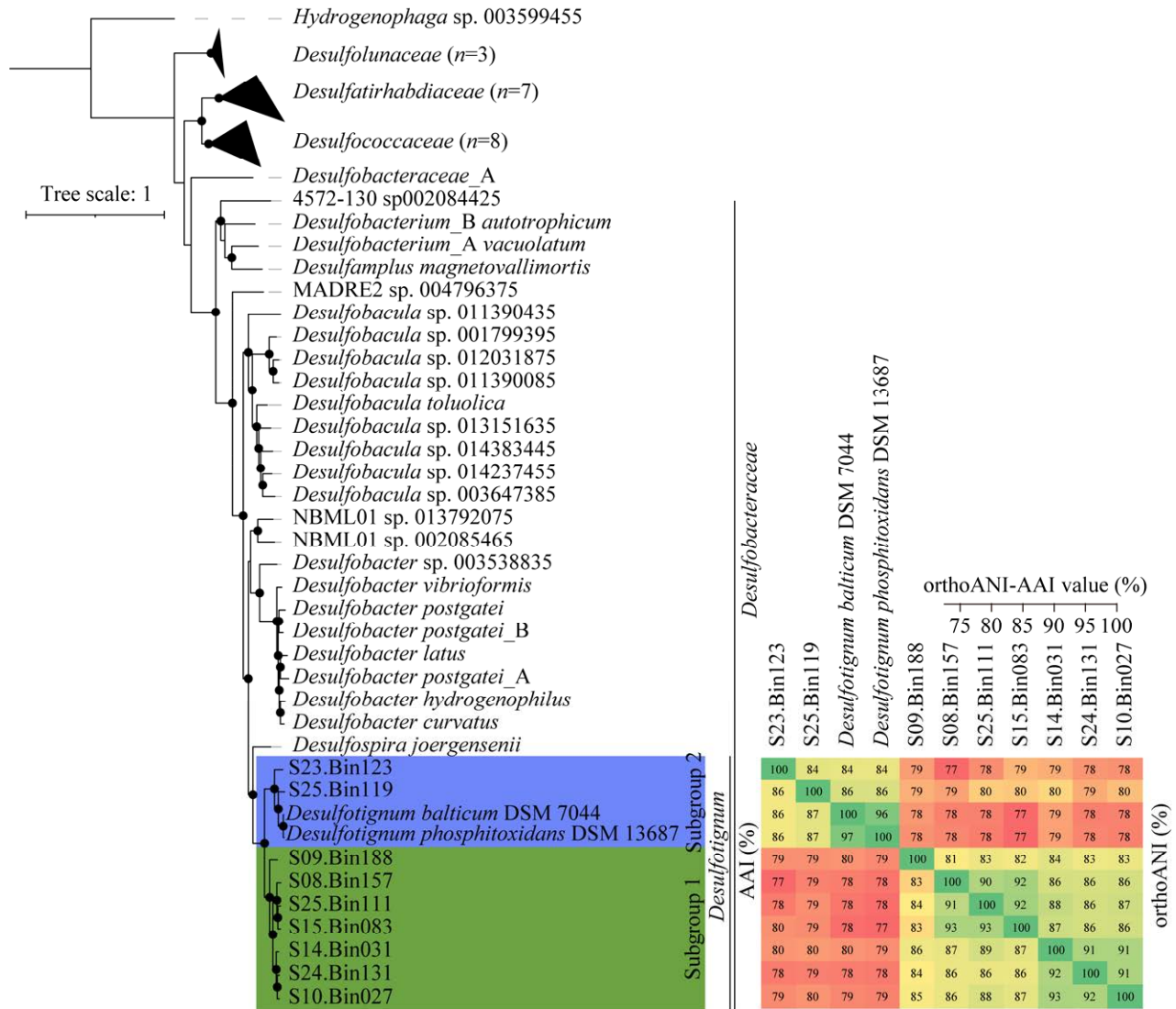


图 1 基于 120 个标记蛋白串联构建的脱硫棒状菌系统发育树和 orthoANI/AAI 值

Figure 1 Phylogenetic tree of genus *Desulfotignum* was constructed based on 120 marker proteins and orthoANI/AAI value.

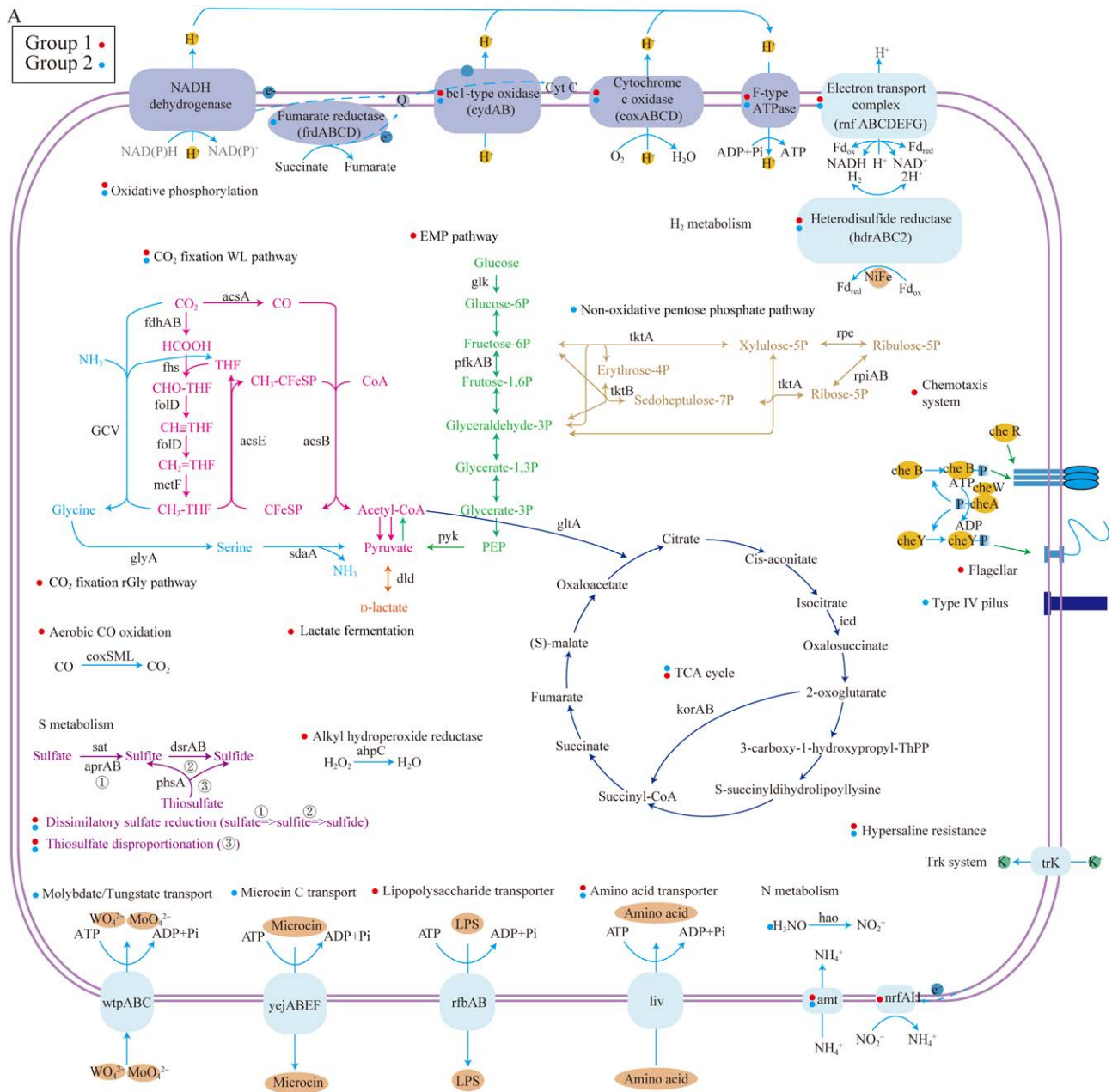
### 2.3 代谢潜能

根据新亚群各个代谢途径的基因拷贝数信息,绘制脱硫棒状菌代谢重建图和不同脱硫棒状菌亚群的代谢特征图(图 2)。

#### 2.3.1 应激响应

基于盐湖的高盐特征,在对渗透压的适应方面,几乎所有的基因组(除 S15.Bin083)都找到了编码 Trk 家族的 K<sup>+</sup>摄取蛋白的基因(*trkAH*),说

明在小柴旦盐湖发现的脱硫棒状菌新亚群主要通过摄入 K<sup>+</sup>来对抗高盐环境。Trk 家族 K<sup>+</sup>摄取蛋白广泛存在于耐受高盐环境的细菌和古菌中,是由跨膜蛋白 TrkH 和细胞质膜表面蛋白 TrkA 组成,通常与 H<sup>+</sup>转运相关联<sup>[29]</sup>。此外,我们在 G1 组 S09.Bin188、S25.Bin111 两个基因组中找到胆碱/甘氨酸/脯氨酸甜菜碱转运蛋白(*betT*),表明部分脱硫棒状菌也可通过积累相容性溶质来





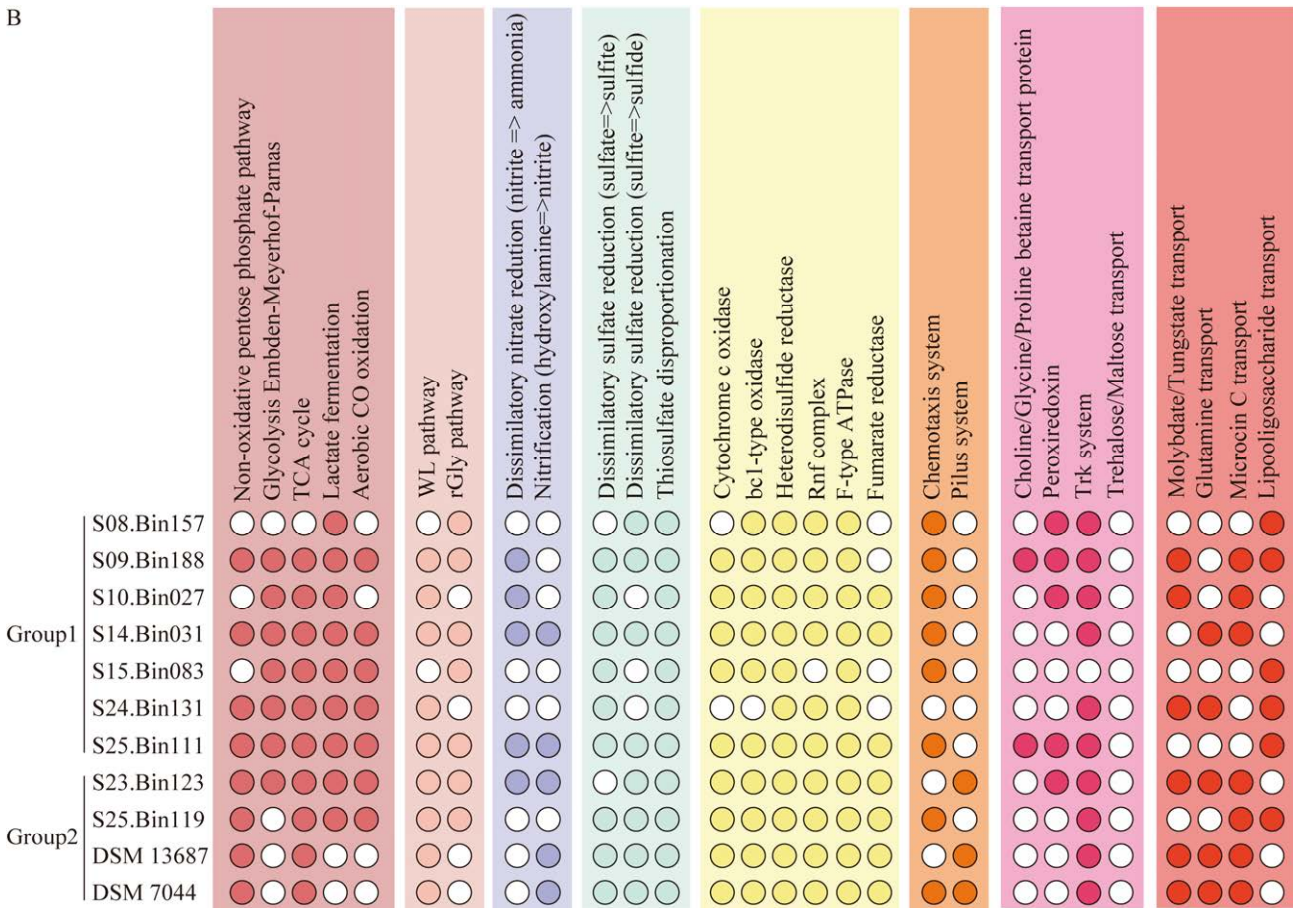


图 2 不同脱硫状菌亚群的代谢重建

Figure 2 Metabolic reconstruction of different *Desulfotignum* subgroups. The metabolic function of each subgroup is marked in the figure. A: The red dot indicates that G1 group obtains this function, the blue dot indicates that G2 group obtains this function, and the gray translucent metabolic diagram means that neither G1 nor G2 group has this function. B: The colored solid circle indicates that the subspecies has the function, and the white circle indicates that the function does not exist.

平衡渗透压<sup>[4]</sup>。而在氧化应激功能中, 2 组统计结果都具有编码硫氧还蛋白还原酶(*trxB*)的潜力。硫氧还蛋白还原酶可在 NADPH 存在条件下还原硫氧还蛋白, 还原型硫氧还蛋白进一步将活性氧分子如过氧化氢还原为水。2 个分支表现出差异的是在生成过氧化物氧还蛋白(*ahpC*)潜力上。其中 G1 分支含有 *ahpC* 基因, 而 G2 分支不含该基因。过氧化物氧还蛋白包含 2 个不变的半胱氨酸残基, 一个在 N 端附近, 另一个在 C 端附近, 每个紧接着脯氨酸残基, 保护 DNA 免受过氧化氢诱导氧化压力损伤<sup>[30]</sup>。

### 2.3.2 碳代谢

目前, 已知的碳固定途径至少有 7 种, 如卡尔文(Calvin-Benson-Bassham, CBB)循环、还原柠檬酸(reductive tricarboxylic acid, rTCA)循环、Wood-Ljungdahl (WL) 途径、3-羟基丙酸(3-hydroxypropionate, 3-HP)双循环、3-羟基丙酸/4-羟基丁酸(3-hydroxypropionate/4-hydroxybutyrate, 3-HP/4-HB)循环、二羧酸/4-羟基丁酸(dicarboxylate/4-hydroxybutyrate, DC/4-HB)循环和还原甘氨酸(rGly)途径<sup>[31-32]</sup>。统计结果显示, G1 组 S08.Bin157、S09.Bin188、

S14.Bin031、S15.Bin083、S25.Bin111 和来自 G2 组的 S23.Bin123、S25.Bin119 具有 WL 和 rGly 两条潜在固碳途径。此外，来自 G1 组的 S09.Bin188、S14.Bin031、S15.Bin083 和 S25.Bin111 还具有 CO 好氧氧化的潜力，可以将 CO 氧化为 CO<sub>2</sub>，随后进行碳固定。表明 S09.Bin188、S14.Bin031、S15.Bin083 和 S25.Bin111 具有在碳源受限的条件下，利用 CO 作为碳源的潜能，提高其在极端环境中的生存能力。

碳代谢除了碳合成代谢，还包括碳分解代谢（例如戊糖磷酸途径、糖酵解途径和三羧酸循环等）。碳分解代谢是指将糖类、脂质和氨基酸等有机底物分解代谢产生 ATP 以及必需的生物合成前体，为生物提供能量和物质基础。结果显示，2 个分支的基因组均具有三羧酸循环的潜力，G1 组具有糖酵解、乳酸发酵潜力，而 G2 组则具有非氧化磷酸戊糖途径。因此，我们推测脱硫棒状菌可能是混合营养型，可以利用有机碳、无机碳作为碳源。一些已经分离培养的脱硫棒状菌也证实了我们的推测。比如 *Desulfotignum phosphitoxidans* DSM 13687 (*Desulfotignum phosphitoxidans* FiPS-3) 被报道可以利用 WL 途径自养固定 CO<sub>2</sub>，且可以利用葡萄糖、阿拉伯糖和木糖作为底物生长<sup>[33]</sup>。而 *Desulfotignum balticum* DSM 7044 则是可以利用苯甲酸、丁酸盐等作为碳源生长<sup>[18]</sup>。小柴旦盐湖沉积物在高盐梯度中(盐度 > 70 g/L)，其总有机碳小于 2.70 mg/g，孔隙水可溶性有机碳含量小于 61.4 mg/L，在这种环境中，脱硫棒状菌具有多种碳源获取途径，参与小柴旦盐湖的碳周转的同时，也增强了其环境适应性。

### 2.3.3 硫代谢

硫主要作为生物的氨基酸成分(例如半胱氨酸和蛋氨酸)、酶辅助因子(例如生物素、辅酶 A、硫胺素和硫辛酸)和氧化还原反应的组成部分(例如铁硫中心和二硫键作为氧化还原活性成

分)。此外，硫化物可以在氧化还原反应中，作为电子供体和受体<sup>[34]</sup>。硫代谢包括同化硫酸盐还原途径、异化硫酸盐还原途径、异化硫化物氧化途径、硫代硫酸盐氧化途径和亚硫酸盐氧化途径等。长久以来，脱硫棒状菌被认为是硫酸盐还原细菌。我们也在大多数脱硫棒状菌基因组中找到 *dsrAB*、*aprAB* 基因，表明脱硫棒状菌存在通过异化硫酸盐还原途径进行呼吸的潜能。此外，我们还发现脱硫棒状菌基因组中含有硫代硫酸盐歧化的潜力，这与之前报道的脱硫棒状菌可以利用硫代硫酸盐一致<sup>[15]</sup>。小柴旦盐湖中存在着丰富的硫酸盐，脱硫棒状菌可能是参与盐湖中硫元素循环的功能微生物。

### 2.3.4 氮代谢

氮是蛋白质和核酸等关键细胞成分生物合成所必需的。在氮循环代谢中，氮气经过固定、同化形成有机氮。有机氮被降解、氨化，释放出氨，随后氨通过硝化作用氧化为硝酸盐，最终又通过反硝化作用或厌氧氨氧化转化为氮气，从而完成一个循环<sup>[35]</sup>。微生物参与氮代谢途径包括异化硝酸盐还原、同化硝酸盐还原、反硝化作用、硝化作用以及尿素代谢等。分析脱硫棒状菌中新亚群在氮代谢方面的功能表现，结果显示，脱硫棒状菌的 G1 组具有异化硝酸盐还原途径(亚硝酸盐→氨)的关键基因，即编码亚硝酸盐还原酶(*nrfABDH*)的基因。G2 组具有部分硝化作用的关键基因包括羟胺脱氢酶(*hao*)、硝酸还原酶/亚硝酸盐氧化还原酶(*nxrAB*)的基因。推测 G1 组具有异化硝酸盐还原途径，而 G2 则是具有部分硝化作用。

### 2.3.5 电子传递与氢代谢

脱硫棒状菌氧化磷酸化途径系统包括：底物脱氢酶，它通过氧化供体(如 NADH、H<sub>2</sub> 和 CO 等)获得电子，并将电子传递与跨膜的 H<sup>+</sup>或 Na<sup>+</sup>



传递耦合; 携带电子的辅助因子(如泛醌、细胞色素)在膜内相对较大的酶复合物之间穿梭, 并通过细胞色素末端氧化酶将电子传递给电子受体(如  $O_2$ 、 $NO_2^-$ 等); ATP 合酶进行跨膜质子转运, 建立跨膜动力势, 驱动 ATP 合酶合成 ATP<sup>[36]</sup>。此外杂二硫还原酶(*hdrABC*)、Rnf 复合物可能参与脱硫棒状菌氢气代谢和电子传递。脱硫棒状菌基因组均分离自浅层沉积物环境, 其电子传递和氢气代谢特征也符合其生境适应性。

### 2.3.6 运动系统

微生物的运动主要依赖鞭毛和菌毛这 2 种结构。鞭毛往往参与了微生物的趋化性, 运动细胞通过跨膜化学感受器检测特定化合物浓度来实现趋化运动。化学感受器接受信息后, 通过磷酸化的形式活化或抑制一些蛋白, 从而触发信号系统, 信号系统再影响鞭毛马达的旋转, 进而引起运动方向的变化<sup>[37]</sup>。菌毛是菌毛蛋白的细胞外复合物。菌毛的马达蛋白基部通过聚合(延伸)和解聚(收缩)来提供动力<sup>[38]</sup>。G1 组脱硫棒状菌含有双组分系统的传感器激酶(*cheA*)、趋化蛋白(*cheY*)以及鞭毛运动开关蛋白(*fliGMN*), 其运动方式可能为通过鞭毛进行趋化作用。与 G2 组不同, G1 组中并未找到鞭毛相关基因, 而只有菌毛结构相关基因如菌毛组装蛋白基因(*pilABE*), 因此我们推测 G2 组主要通过菌毛扭动进行运动。

### 2.3.7 转运系统

ABC 转运蛋白是在细菌中普遍存在的膜蛋白, 通过与 ATP 水解偶联可将不同底物进行跨细胞膜转运。不同 ABC 转运蛋白功能不同, 既可以输入必需营养素到胞内, 也可以排出一些有毒物质<sup>[39]</sup>。分析显示 G1 组具有脂寡糖转运功能, 而 G2 组具有钼酸盐/钨酸盐和微菌素 C 转运功能。ABC 转运系统为脱硫棒状菌底物获取或分泌提供了更多的可能性。

## 3 结论

本研究采集小柴旦盐湖沉淀样本分离出的脱硫棒状菌 MAGs, 通过分析脱硫棒状菌基因组信息探究其环境适应性机制, 主要结论如下: 在碳固定方面都具有 WL 途径, 部分基因组具有 rGly 途径固碳潜力, 2 组共有三羧酸循环潜力。其差异表现在仅 G1 具有糖酵解、乳酸发酵、CO 好氧氧化的代谢潜力, 而仅 G2 组具有非氧化磷酸戊糖的代谢潜力。在氮代谢途径中, G1 组具有异化硝酸盐还原途径(亚硝酸盐→氨)潜力, G2 组具有部分硝化作用(羟胺→亚硝酸盐)潜力。在硫代谢功能中, 该菌都具有异化硫酸盐还原途径和硫代硫酸盐歧化途径潜力。2 组均具有较完整的氧化磷酸化途径和氢气代谢途径。在运动系统中, 2 组表现差异较大, G1 具有趋化功能及形成鞭毛结构的潜力, G2 组仅具有形成菌毛结构的潜力。在转运系统中, G1 组仅具有脂寡糖转运的潜力, 而 G2 组具有钼酸盐/钨酸盐转运、谷氨酰胺转运和微菌素 C 转运的潜力。G1 和 G2 组均通过 Trk 系统摄入  $K^+$  来对抗高盐环境。

综合来看, 脱硫棒状菌可能是混合营养型微生物, 存在 WL 和 rGly 两条固碳途径。G1 组可利用亚硝酸盐、硫酸盐和氧气作为电子受体, 或可进行乳酸发酵和硫代硫酸盐歧化, 通过鞭毛进行趋化运动; G2 组参与部分硝化作用, 可利用硫酸盐、氧气作为电子受体, 或进行硫代硫酸盐歧化, 且运动方式是通过菌毛扭动。脱硫棒状菌代谢的多样性造就了其较强的环境适应能力, 且在高硫酸盐环境有较高的丰度。对脱硫棒状菌基因组的系统发育地位和代谢潜能进行了深入探究, 不仅有助于深入理解脱硫棒状菌在高原盐湖生态系统和地球化学元素循环中发挥的作用, 同时也为今后分离培养条件的优化提供丰富的数据支持。

## 参考文献

- [1] ROTHSCHILD LJ, MANCINELLI RL. Life in extreme environments[J]. *Nature*, 2001, 409(6823): 1092-1101.
- [2] SOMAYAJI A, DHANJAL CR, LINGAMSETTY R, VINAYAGAM R, SELVARAJ R, VARADAVENKATESAN T, GOVARTHANAN M. An insight into the mechanisms of homeostasis in extremophiles[J]. *Microbiological Research*, 2022, 263: 127115.
- [3] 刘静, 张欣, 沈国平, 封希媛, 龙启福, 朱德锐. 青藏高原小柴旦盐湖微生物群落结构及多样性[J]. *水生生态学杂志*, 2017, 38(5): 55-64.
- LIU J, ZHANG X, SHEN GP, FENG XY, LONG QF, ZHU DR. Microbial community structure and diversity of Xiaochaidan salt lake on the Tibetan Plateau[J]. *Journal of Hydroecology*, 2017, 38(5): 55-64 (in Chinese).
- [4] BOSCARI A, MANDON K, DUPONT L, POGGI MC, LE RUDULIER D. BetS is a major glycine betaine/proline betaine transporter required for early osmotic adjustment in *Sinorhizobium meliloti*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2002, 184(10): 2654-2663.
- [5] FANG Y, LIU J, YANG J, WU G, HUA ZS, DONG HL, HEDLUND BP, BAKER BJ, JIANG HC. Compositional and metabolic responses of autotrophic microbial community to salinity in lacustrine environments[J]. *mSystems*, 2022, 7(4): e0033522.
- [6] ABED RMM, MUSAT N, MUSAT F, MÜBMANN M. Structure of microbial communities and hydrocarbon-dependent sulfate reduction in the anoxic layer of a polluted microbial mat[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2011, 62(3): 539-546.
- [7] YU HY, WANG YK, CHEN PC, LI FB, CHEN MJ, HU M, OUYANG XG. Effect of nitrate addition on reductive transformation of pentachlorophenol in paddy soil in relation to iron(III) reduction[J]. *Journal of Environmental Management*, 2014, 132: 42-48.
- [8] ZHANG R, WU QL, PICENO YM, DESANTIS TZ, SAUNDERS FM, ANDERSEN GL, LIU WT. Diversity of bacterioplankton in contrasting Tibetan Lakes revealed by high-density microarray and clone library analysis[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2013, 86(2): 277-287.
- [9] CHENG TW, CHANG YH, TANG SL, TSENG CH, CHIANG PW, CHANG KT, SUN CH, CHEN YG, KUO HC, WANG CH, CHU PH, SONG SR, WANG PL, LIN LH. Metabolic stratification driven by surface and subsurface interactions in a terrestrial mud volcano[J]. *The ISME Journal*, 2012, 6(12): 2280-2290.
- [10] SAAD S, BHATNAGAR S, TEGETMEYER HE, GEELHOED JS, STROUS M, RUFF SE. Transient exposure to oxygen or nitrate reveals ecophysiology of fermentative and sulfate-reducing benthic microbial populations[J]. *Environmental Microbiology*, 2017, 19(12): 4866-4881.
- [11] EMMERICH M, BHANSALI A, LÖSEKANN-BEHRENS T, SCHRÖDER C, KAPPLER A, BEHRENS S. Abundance, distribution, and activity of Fe(II)-oxidizing and Fe(III)-reducing microorganisms in hypersaline sediments of lake kasin, southern Russia[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(12): 4386-4399.
- [12] GRIGORYAN AA, CORNISH SL, BUZIAK B, LIN SP, CAVALLARO A, ARENSDORF JJ, VOORDOUW G. Competitive oxidation of volatile fatty acids by sulfate- and nitrate-reducing bacteria from an oil field in Argentina[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74(14): 4324-4335.
- [13] DILLON JG, MCMATH LM, TROUT AL. Seasonal changes in bacterial diversity in the Salton Sea[J]. *Hydrobiologia*, 2009, 632(1): 49-64.
- [14] MUSAT F, WIDDEL F. Anaerobic degradation of benzene by a marine sulfate-reducing enrichment culture, and cell hybridization of the dominant phylotype[J]. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(1): 10-19.
- [15] KUEVER J, KÖNNEKE M, GALUSHKO A, DRZYZGA O. Reclassification of *Desulfobacterium phenolicum* as *Desulfobacula phenolica* comb. nov. and description of strain SaxT as *Desulfotignum balticum* gen. nov., sp. nov.[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2001, 51(1): 171-177.
- [16] PHELPS CD, KERKHOFF LJ, YOUNG LY. Molecular characterization of a sulfate-reducing consortium which mineralizes benzene[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 1998, 27(3): 269-279.
- [17] GITTEL A, KOFOED MVW, SØRENSEN KB, INGORSSEN K, SCHRÄMM A. Succession of *Deferribacteres* and *Epsilonproteobacteria* through a nitrate-treated high-temperature oil production facility[J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 2012, 35(3): 165-174.
- [18] OMMEDAL H, TORSVIK T. *Desulfotignum toluenicum* sp. nov., a novel toluene-degrading, sulphate-reducing bacterium isolated from an oil-reservoir model column[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2007, 57(12): 2865-2869.
- [19] CHAUMEIL PA, MUSSIG AJ, HUGENHOLTZ P, PARKS DH. GTDB-tk: a toolkit to classify genomes with the genome taxonomy database[J]. *Bioinformatics*, 2020, 36(6): 1925-1927.
- [20] PARKS DH, IMELFORT M, SKENNERTON CT, HUGENHOLTZ P, TYSON GW. CheckM: assessing the quality of microbial genomes recovered from isolates, single cells, and metagenomes[J]. *Genome Research*, 2015, 25(7): 1043-1055.

- [21] BOWERS RM, KYRPIDES NC, STEPANAUSKAS R, HARMON-SMITH M, DOUD D, REDDY TBK, SCHULZ F, JARETT J, RIVERS AR, ELOE-FADROSH EA, TRINGE SG, IVANOVA NN, COPELAND A, CLUM A, BECRAFT ED, MALMSTROM RR, BIRREN B, PODAR M, BORK P, WEINSTOCK GM, et al. Minimum information about a single amplified genome (MISAG) and a metagenome-assembled genome (MIMAG) of bacteria and archaea[J]. *Nature Biotechnology*, 2017, 35(8): 725-731.
- [22] NGUYEN LT, SCHMIDT HA, von HAESLER A, MINH BQ. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2015, 32(1): 268-274.
- [23] LETUNIC I, BORK P. Interactive tree of life (iTOL): an online tool for phylogenetic tree display and annotation[J]. *Bioinformatics*, 2007, 23(1): 127-128.
- [24] KIM D, PARK S, CHUN J. Introducing EzAAI: a pipeline for high throughput calculations of prokaryotic average amino acid identity[J]. *Journal of Microbiology*, 2021, 59(5): 476-480.
- [25] HYATT D, CHEN GL, LOCASCIO PF, LAND ML, LARIMER FW, HAUSER LJ. Prodigal: prokaryotic gene recognition and translation initiation site identification[J]. *BMC Bioinformatics*, 2010, 11: 119.
- [26] YU K, ZHANG T. Construction of customized sub-databases from NCBI-nr database for rapid annotation of huge metagenomic datasets using a combined BLAST and MEGAN approach[J]. *PLoS One*, 2013, 8(4): e59831.
- [27] KANEHISA M, GOTO S. KEGG: Kyoto encyclopedia of genes and genomes[J]. *Nucleic Acids Research*, 2000, 28(1): 27-30.
- [28] TATUSOV RL, FEDOROVA ND, JACKSON JD, JACOBS AR, KIRYUTIN B, KOONIN EV, KRYLOV DM, MAZUMDER R, MEKHEDOV SL, NIKOLSKAYA AN, RAO BS, SMIRNOV S, SVERDLOV AV, VASUDEVAN S, WOLF YI, YIN JJ, NATALE DA. The COG database: an updated version includes eukaryotes[J]. *BMC Bioinformatics*, 2003, 4: 41.
- [29] KRAEGELOH A, AMENDT B, KUNTE HJ. Potassium transport in a halophilic member of the Bacteria domain: identification and characterization of the K<sup>+</sup> uptake systems TrkH and TrkI from *Halomonas elongata* DSM 2581<sup>T</sup>[J]. *Journal of Bacteriology*, 2005, 187(3): 1036-1043.
- [30] ROCHA ER, SMITH CJ. Role of the alkyl hydroperoxide reductase (ahpCF) gene in oxidative stress defense of the obligate anaerobe *Bacteroides fragilis*[J]. *Journal of Bacteriology*, 1999, 181(18): 5701-5710.
- [31] MUÑOZ-ELÍAS EJ, MCKINNEY JD. Carbon metabolism of intracellular bacteria[J]. *Cellular Microbiology*, 2006, 8(1): 10-22.
- [32] HÜGLER M, SIEVERT SM. Beyond the Calvin cycle: autotrophic carbon fixation in the ocean[J]. *Annual Review of Marine Science*, 2011, 3: 261-289.
- [33] SCHINK B, THIEMANN V, LAUE H, FRIEDRICH MW. *Desulfotignum phosphitoxidans* sp. nov., a new marine sulfate reducer that oxidizes phosphite to phosphate[J]. *Archives of Microbiology*, 2002, 177(5): 381-391.
- [34] WU B, LIU FF, FANG WW, YANG T, CHEN GH, HE ZL, WANG SQ. Microbial sulfur metabolism and environmental implications[J]. *The Science of the Total Environment*, 2021, 778: 146085.
- [35] KUYPERS MMM, MARCHANT HK, KARTAL B. The microbial nitrogen-cycling network[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2018, 16(5): 263-276.
- [36] KRACKE F, VASSILEV I, KRÖMER JO. Microbial electron transport and energy conservation-the foundation for optimizing bioelectrochemical systems[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 575.
- [37] SOWA Y, BERRY RM. Bacterial flagellar motor[J]. *Quarterly Reviews of Biophysics*, 2008, 41(2): 103-132.
- [38] RAINA JB, FERNANDEZ V, LAMBERT B, STOCKER R, SEYMOUR JR. The role of microbial motility and chemotaxis in symbiosis[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2019, 17(5): 284-294.
- [39] HOLLENSTEIN K, DAWSON RJ, LOCHER KP. Structure and mechanism of ABC transporter proteins[J]. *Current Opinion in Structural Biology*, 2007, 17(4): 412-418.

方云，武汉工程大学特聘教授。2015年毕业于中南大学资源加工与生物工程学院获得微生物学理学博士学位。先后在广东省微生物研究所、中国地质大学(武汉)、美国迈阿密大学从事博士后研究。近年来主要从事重金属矿区、盐湖等极端环境微生物领域的研究。现已主持国家自然科学基金面上项目、国家自然科学基金青年科学基金项目、中国博士后科学基金面上项目，并作为骨干参与国家自然科学基金重大研究计划重点项目、国家重点研发计划重点专项等各类项目 20 余项。在 *mBio*、*The ISME Journal*、*Applied and Environmental Microbiology*、*Environmental Science & Technology* 等国际期刊发表论文 20 余篇，申请授权国家专利 4 项，获广州市科学技术进步奖 1 项。

