

DOI:10.7522/j.issn.1000-0240.2023.0145

JIA Puchao, ZHANG Wei, LIU Yang, et al. Characteristics of culturable bacterial communities in the Dongkemadi Glacier on the Qinghai-Xizang (Tibet) Plateau[J]. Journal of Glaciology and Geocryology, 2023, 45(6):1897-1910. [贾谱超, 张威, 刘阳, 等. 青藏高原冬克玛底冰川可培养细菌群落特征研究[J]. 冰川冻土, 2023, 45(6):1897-1910.]

# 青藏高原冬克玛底冰川可培养细菌群落特征研究

贾谱超<sup>1,3,4</sup>, 张威<sup>1,3</sup>, 刘阳<sup>2,3,4</sup>, 田茂<sup>2,3,4</sup>, 张曷林<sup>2,3</sup>,  
章高森<sup>1,3</sup>, 刘光琇<sup>1,3</sup>, 陈拓<sup>2,3</sup>

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

**摘要:** 冬克玛底冰川作为重要的长江源头之一, 近年来主要以冰川气候、地质变化等自然地理方向的研究为主, 而对于冬克玛底冰川不同生境中可培养细菌多样性及群落构成的研究还鲜有报道。为了阐明冬克玛底冰川可培养细菌多样性及其与环境因子的相关关系, 发掘冰川微生物资源, 针对冬克玛底冰川雪、冰和融水3种生境开展了研究。采用传统可培养法分离菌株, 16S rRNA基因序列分析方法进行菌株鉴定, 统计学方法分析可培养细菌多样性及其影响因素。结果表明, 本研究中可培养细菌分属于放线菌门(Actinobacteria)、变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)和厚壁菌门(Firmicutes)。其中放线菌门为优势菌门, 库克菌属(*Kocuria*)、微杆菌属(*Microbacterium*)和马赛菌属(*Massilia*)为优势菌属。不同生境中的可培养细菌数量、群落结构和多样性均不同, 冰样中可培养细菌数量最多、群落结构复杂并且多样性最高。冬克玛底冰川分离的36个菌属中有8个菌属未从其他冰川分离出。冰川不同生境中可培养细菌群落结构差异较大;  $\text{Cl}^-$ 和 $\text{Ca}^{2+}$ 含量及pH是影响可培养细菌数量和多样性的主要环境因子; 可培养细菌中32.21%的菌株为潜在新种。冬克玛底冰川蕴含丰富的微生物资源库, 此次研究发现潜在新种46株, 可以为冰冻圈微生物资源开发及利用提供数据支撑及菌种资源。

**关键词:** 青藏高原; 冬克玛底冰川; 可培养细菌; 群落结构特征

**中图分类号:** Q938 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-0240(2023)06-1897-14

## 0 引言

冰川是由积雪经过多年反复融冻、累积和压实等作用而形成的复杂生态系统, 主要由雪、冰和融水3种相互关联的生境组成。冰川因其低温、寡营养、强辐射等恶劣的自然条件, 构成了冰川特有生态环境特征, 这种极端寒冷的生境中生存的大量微生物使其成为一个天然的微生物资源保藏库。随着全球气候变暖引发冰川消融, 大量封存在冰川中的微生物逐渐被释放出来<sup>[1]</sup>, 导致冰川中大量的微生物资源随着冰川的消融而流失。

冰川微生物主要来源于周围环境, 包括细菌、

病毒、原生生物和真菌及其孢子等等, 随着冰川发育, 这些微生物被封存在冰川冰中。在冰川微生物的研究中, 高通量测序、宏基因组等各种分子水平上的研究方法现已十分普遍, 但传统的培养方法因其可得到完整的生命体, 并能在个体水平研究微生物的各项生理生化指标, 是获得微生物资源和微生物全基因组的必要手段, 仍被广泛应用<sup>[2]</sup>。研究表明, 冰川中微生物细胞数量范围为 $2 \times 10^2 \sim 7 \times 10^7 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$  (colony forming units per milliliter)<sup>[3-8]</sup>, 细菌群落丰富度低于土壤、水体和其他富营养生境。大量研究中冰川可培养细菌大多来源于放线菌门、变形菌门、拟杆菌门和厚壁菌门, 但在不同生境中

收稿日期: 2022-06-15; 修订日期: 2022-10-30

基金项目: 国家自然科学基金项目(42071099); 中国科学院“西部之光”人才培养计划(xbzg-zdsys-202105)资助

作者简介: 贾谱超, 硕士研究生, 主要从事冰川微生物研究. E-mail: jiapuchao@lzb.ac.cn

通信作者: 张威, 研究员, 主要从事极端环境微生物研究. E-mail: ziaoshen@163.com

细菌群落结构不同,可培养细菌的数量也因生境的改变而不同<sup>[9-13]</sup>。然而,目前对于冰川微生物的可培养研究仍不够,且冰川微生物资源的流失从未停止。

冬克玛底冰川位于唐古拉山脉,其融水作为长江源头之一,部分冰川微生物会随融水进入下游,这些幸存者中包含一些远古时期的细菌,可能对下游生态系统造成重大影响。该区域的气候主要受西风带和印度洋季风的影响,呈现出冬季干冷、夏季暖湿的特性<sup>[14]</sup>,年平均气温为 $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ <sup>[15]</sup>,降水集中于5—9月,降水量436.6 mm,占全年比例为92.5%~94.1%<sup>[16]</sup>。相关可培养细菌的研究工作表明,冬克玛底冰川雪样中细菌来源于放线菌门、变形菌门和厚壁菌门,且放线菌门是优势门<sup>[13]</sup>;而冰川前沿土壤可培养细菌研究同样发现放线菌门是优势门,且 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养条件下分离的属的丰度和多样性大于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ <sup>[17]</sup>。通过非培养手段研究发现冬克玛底冰川末端表层冰和基底冰也具有不同的细菌群落<sup>[18]</sup>。这些研究表明:冰川中不同生境条件下,微生物的群落分布差异较大,可培养微生物在异质的生境中系统进化会发生改变<sup>[10]</sup>。目前,对于冬克玛底冰川微生物的研究不多,且都只研究了一种冰川生境,同时研究雪、冰和融水3种生境能够更系统全面地了解冰川生态系统可培养细菌多样性和群落构成。

本文通过可培养方法,研究冬克玛底冰川5 430 m、5 550 m和5 670 m海拔表层雪、表层冰及冰下融水3种生境中可培养细菌多样性及其群落结构特征,发现疑似新种48株,丰富了冬克玛底冰川微生物资源的理论基础,对唐古拉山区域生态环境评估及微生物物种资源发掘有一定参考价值,以期为之后的冰川微生物研究提供科学依据,为微生物资源库提供数据支撑及菌种资源。

## 1 材料和方法

### 1.1 样品采集

唐古拉山脉,位于中国西藏自治区东北部与青海省边境处,东段为西藏与青海的界山,东南部延伸接横断山脉的云岭和怒山。本研究样品于2021年9月下旬在唐古拉山冬克玛底冰川(图1),海拔每隔120 m采集冰、雪和融水样品,采集的所有样品用无菌采样袋(Bombardier, 加拿大)和无菌瓶(比克曼,中国)分装,每个海拔不同类型的样品均采集3

个平行样(图1)。将采集的样品放入冰箱 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温保存运回实验以进行后续细菌培养实验。

### 1.2 样品理化性质的测定

将解冻后的样品使用定性滤纸过滤,然后取其中一部分用pH测量仪(PT-10, Sartorius, 德国)对水体样品pH值进行测定;取另一部分样品用电导率测量仪(DDSJ-308A, 上海雷磁)对水体电导率(electrical conductance, EC)进行测量; $\text{Cl}^-$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 及 $\text{Ca}^{2+}$ 的含量均在中国科学院西北生态环境资源研究院冰冻圈科学国家重点实验室测定,具体方法参照文献<sup>[19]</sup>。

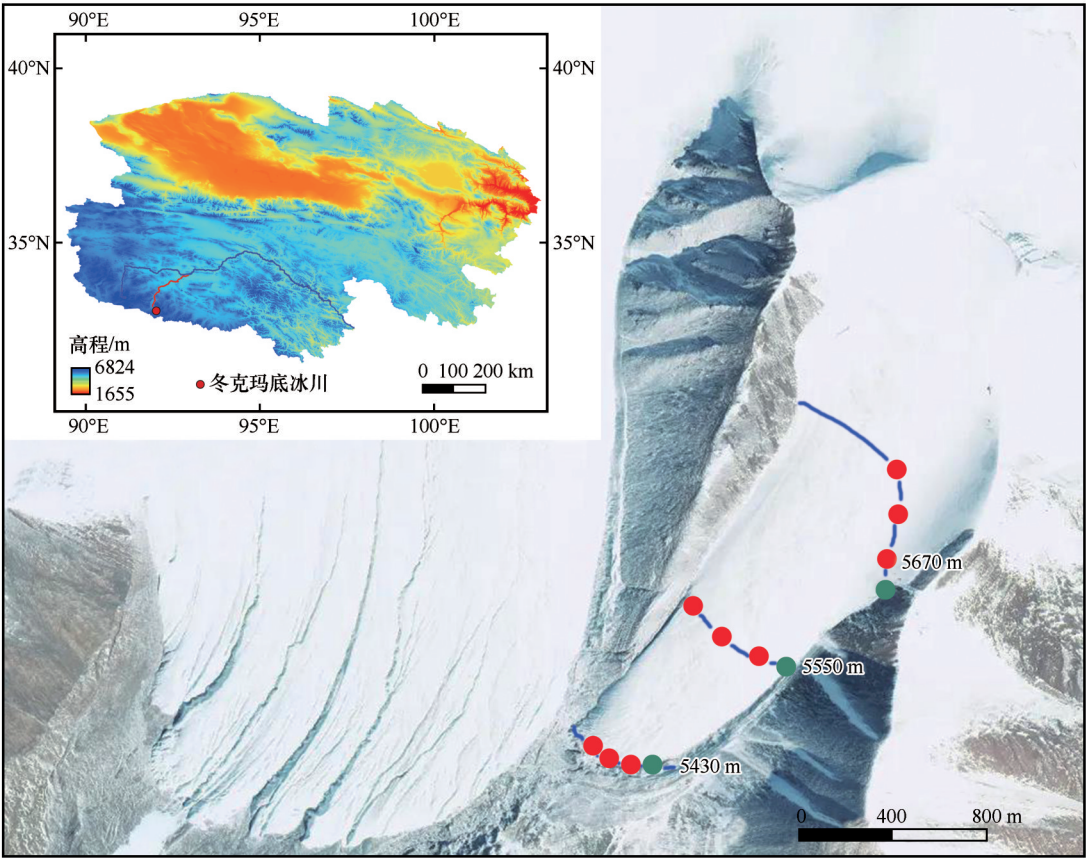
### 1.3 细菌分离培养

选用5种不同的培养基: $\text{R}_2\text{A}$ 琼脂培养基( $\text{R}_2\text{A}$ )、 $\text{R}_2\text{A}$ 改良琼脂培养基( $\text{R}_2\text{A-Y}$ ,培养基中每升额外添加1 g酵母膏)、营养琼脂、胰蛋白胨大豆肉汤培养基(TSB)和脑心浸出液肉汤(BHI),培养基参考德国菌种保藏中心(<https://www.dsmz.de>)配方。

在超净台中将冰样置于灭菌的5 L烧杯中,切除表面1 cm,取出冰样置于无菌瓶在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱缓慢融化,雪样同样置于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱缓慢融化。在超净台中从冰样和融水样分别取200  $\mu\text{L}$ 涂布于 $\text{R}_2\text{A}$ 、 $\text{R}_2\text{A-Y}$ 、营养琼脂、TSB和BHI琼脂培养基上。在超净台中将200 mL雪样融水过滤到0.22  $\mu\text{m}$ 无菌Millipor微孔滤膜上,将滤膜悬浮在2 mL 0.9%的生理盐水中,充分震荡以悬浮细菌细胞,然后取200  $\mu\text{L}$ 涂布在培养基表面进行培养。所有样品在无光条件下培养,每种培养基做6个平行样,其中3个置于 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下培养,另外3个置于 $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下培养。培养1周后开始对 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养箱的平板进行计数和不同表型特征菌落的分离和纯化,3周后开始对 $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养箱的平板进行同样操作。分离、纯化出的细菌加入25%的甘油混合后放置于冻存管中并保存至 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中。

### 1.4 可培养细菌的16S rRNA基因的扩增以及序列测定

对可培养细菌进行16S rRNA基因的扩增,引物采用通用引物27F(5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')和1492R(5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3')<sup>[20]</sup>。扩增体系(25  $\mu\text{L}$ ):12.5  $\mu\text{L}$ TaqDNA聚合酶,10.5  $\mu\text{L}$  ddH<sub>2</sub>O,1  $\mu\text{L}$ 引物。扩增反应条件:94  $^{\circ}\text{C}$ 预变性5 min;94  $^{\circ}\text{C}$ 变性30 s,55  $^{\circ}\text{C}$ 退火30 s和72  $^{\circ}\text{C}$ 延伸45 s进行30个循环;最后72  $^{\circ}\text{C}$ 延伸20 min。PCR扩增的产物送至西安擎科生物公司进行序列测定,将测定得到的16S rRNA基因序列提交至



注：红色点表示冰样和雪样的采集点，绿色点表示融水样品的采集点。  
Note: Red dots represent the collection points for ice and snow samples, while green dots represent the collection points for melt water samples.

图1 冬克玛底冰川采样点  
Fig. 1 Sampling sites of Dongkemadi Glacier

GeneBank (NCBI) 获取序列登录号：ON693689-ON693837。

1.5 序列比对及系统发育树的构建

将提交至 NCBI 的 16S rRNA 基因序列在 EZ-BioCloud 数据库进行比对(www.ezbiocloud.net); clustal muscle 方法进行比对,p-distance 方法计算的 距离,选择邻近相接法对序列进行分析;用 MEGA11 构建系统发育树。

2 结果与分析

2.1 冬克玛底冰川样品理化性质分析

冰川样品中,雪的 pH 值呈弱酸性,5.71~5.86; EC 较低,3.45~5.51  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ 。 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  和  $\text{Ca}^{2+}$  含量随着海拔变化差异显著;其中  $\text{Na}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  和  $\text{Ca}^{2+}$  含量随海拔增加含量降低(表1)。雪样的  $\text{SO}_4^{2-}$  和  $\text{K}^+$  含量随着海拔变化无显著性差异(表1)。  
冰的 pH 值的范围为 6.55~6.57,电导率较低,10.93~48.30  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ 。 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、

$\text{NO}_3^-$  和  $\text{SO}_4^{2-}$  含量随着海拔变化差异显著,其中  $\text{NO}_3^-$  和  $\text{SO}_4^{2-}$  含量随海拔增加而增加(表1)。

冰川融水的 pH 值的范围为 6.93~7.30;电导率 范围在 73.30~134.77  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  之间。 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{NO}_3^-$  和  $\text{SO}_4^{2-}$  含量随着海拔变化差异显著, 其中  $\text{Cl}^-$ 、 $\text{NO}_3^-$  和  $\text{SO}_4^{2-}$  含量随着海拔增加而增加(表1)。

2.2 冬克玛底冰川可培养细菌数量

不同温度下可培养细菌数量显著不同;在 10℃ 培养条件下,10℃培养温度下培养得到的细菌数量 平均值为 539 CFUs·mL<sup>-1</sup>,显著高于 25℃ 的 189 CFUs·mL<sup>-1</sup>[图2(a)]。雪样在 10℃培养条件下,可 培养细菌数量平均值是 8 CFUs·mL<sup>-1</sup>,在 25℃ 时是 12 CFUs·mL<sup>-1</sup>,10℃培养得到的数量平均值低于 25℃[图2(b)];冰样和融水样在 10℃培养条件下, 培养得到的细菌数量平均值(冰样 1567 CFUs·mL<sup>-1</sup>, 融水样 44 CFU·mL<sup>-1</sup>)均显著高于 25℃(冰样 528 CFU·mL<sup>-1</sup>,融水样 27 CFU·mL<sup>-1</sup>)[图2(c)~2(d)]。



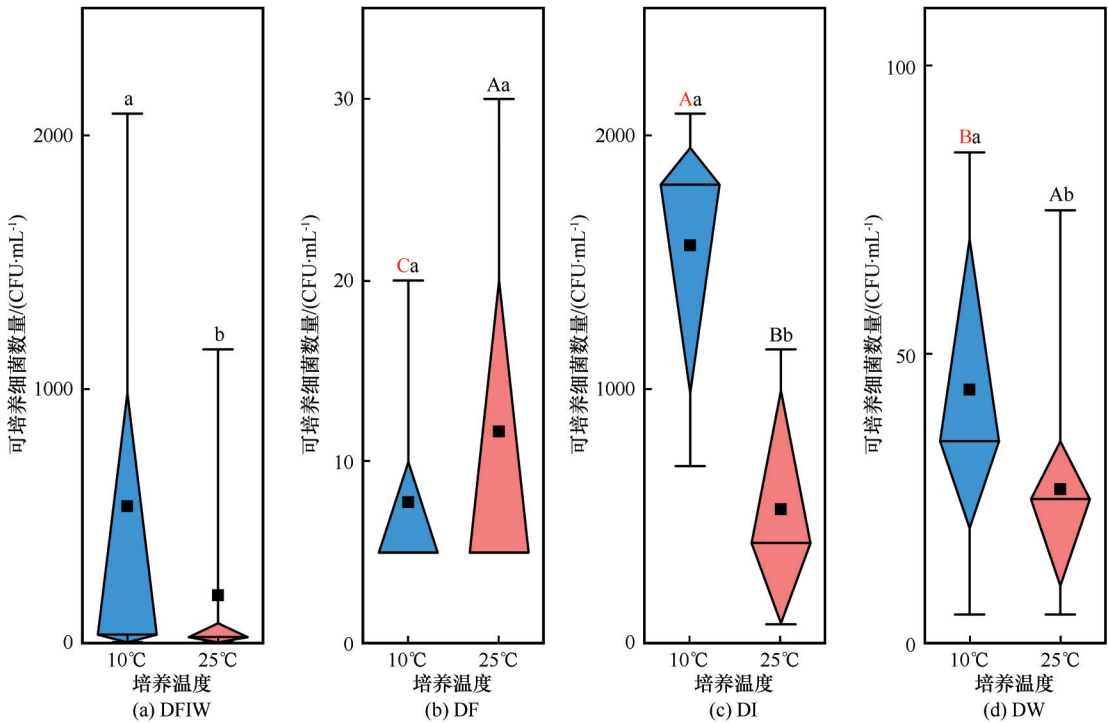
表 1 冬克玛底冰川样品理化性质

Table 1 The physic-chemical properties of the samples in the Dongkemadi Glacier

样品	pH	EC/( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ )	Cl <sup>-</sup> / ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> / ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> / ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Na <sup>+</sup> / ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	K <sup>+</sup> / ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Mg <sup>2+</sup> / ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Ca <sup>2+</sup> /( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )
DF1	5.86±0.02Ca	3.45±0.15Cb	20±2Cb	593±69Bb	159±33Ba	74±3Ca	22±3Ca	48±2Ca	725±25Ca
DF2	5.71±0.06Cb	5.51±0.34Ca	78±11Ca	1377±155Ba	186±12Ba	54±7Cb	21±4Ca	34±2Cb	627±21Cb
DF3	5.77±0.06Cab	3.50±0.57Cb	28±12Cb	555±171Bb	126±38Ba	24±6Cc	16±4Ca	19±2Cc	439±60Cc
DI1	6.56±0.07Ba	48.30±1.25Ba	330±5Bb	175±1Cb	78±15Bc	324±13Bb	399±8Ba	406±4Ba	9690±199Ba
DI2	6.57±0.29Ba	10.93±0.42Bc	247±4Bc	240±37Cac	107±7Bb	151±3Bc	122±3Bc	183±4Bb	2310±89Bc
DI3	6.55±0.06Ba	15.03±0.56Bb	352±3Ba	307±36Ca	246±7Ba	353±5Ba	235±5Bb	192±14Bb	2771±97Bb
DW1	6.93±0.27Aa	106.57±15.74Ab	367±4Ac	7551±43Ac	1471±98Ac	1960±19Ab	1704±17Aa	3572±26Aa	15222±3651Aab
DW2	7.24±0.04Aa	73.30±12.46Ac	399±2Ab	8785±79 Ab	2186±158Ab	1803±16Ac	478±11Ac	2821±47Ac	11464±2641Ab
DW3	7.30±0.16Aa	134.77±14.97Aa	497±3Aa	11693±99Aa	3681±201Aa	2377±26Aa	547±6 Ab	3289±44Ab	21777±3503Aa

注：DF1、DF2、DF3，DI1、DI2、DI3，DW1、DW2、DW3这三组样品分别为海拔5 430 m、5 550 m和5 670 m的雪样，海拔5 430 m、5 550 m和5 670 m的冰样，海拔5 430 m、5 550 m和5 670 m的融水样。不同大写字母表示不同生境差异显著（ $P<0.05$ ）；不同小写字母表示不同海拔差异显著（ $P<0.05$ ）。表中±后的值表示标准差。

Note: DF1, DF2, and DF3; DI1, DI2, and DI3; DW1, DW2, and DW3 represent snow samples at altitudes of 5 430 m, 5 550 m, and 5 670 m, respectively; Ice samples at altitudes of 5 430 m, 5 550 m, and 5 670 m; Melt water samples at altitudes of 5 430 m, 5 550 m, and 5 670 m. Different capital letters indicate significant differences in different habitats ( $P<0.05$ ); Different lowercase letters indicate significant differences in altitude ( $P<0.05$ ). The value after ± in the table represents the standard deviation.



注：图（a）~（d）分别表示冰川3种样品总的细菌数量、雪样的细菌数量、冰样的细菌数量和融水样的细菌数量。相同颜色不同大写字母（A，B）表示不同样品类型差异显著（ $P<0.05$ ）；不同小写字母（a，b）表示不同培养温度差异显著（ $P<0.05$ ）。DFIW表示样品总和。  
Note: Figures A, B, C, and D respectively represent the total bacterial count of the three types of glacier samples, the bacterial count of snow samples, the bacterial count of ice samples, and the bacterial count of melt water samples. The same color with different capital letters indicates significant differences in sample types ( $P<0.05$ ); Different lowercase letters indicate significant differences in culture temperatures ( $P<0.05$ ). DFIW represents the total of the samples.

图 2 冬克玛底冰川可培养细菌数量

Fig. 2 Abundance of the culturable bacteria from the Dongkemadi Glacier

研究还发现不同样品类型，培养得到的细菌数量也不同。在 10 ℃培养条件下从雪、冰和融水样培养得到的细菌数量显著不同，表现为冰样>融水样>雪样。在 25 ℃从雪、冰和融水样培养得到的细菌数

量同样表现为冰样>融水样>雪样,但雪样和融水样间的差异性不显著。

### 2.3 冬克玛底冰川可培养细菌群落结构特征

根据培养基上细菌菌落的表型特征,分离、纯化得到 149 株细菌。将这些细菌的 16S rRNA 基因序列在 EZBioCloud 数据库进行比对,分析发现冬克玛底冰川分离出的菌株分别归属于 4 个门,放线菌门(Actinobacteria)、变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)和厚壁菌门(Firmicutes)。

本次研究共分离得到了放线菌门中的 16 个属,分别是库克菌属(*Kocuria*)、微杆菌属(*Microbacterium*)、节杆菌属(*Arthrobacter*)、假节杆菌属(*Pseudarthrobacter*)、红球菌属(*Rhodococcus*)、土壤球菌属(*Agrococcus*)、密执安棍状杆菌属(*Clavibacter michiganensis*)、类诺卡氏菌属(*Nocardioides*)、纤维素单胞菌属(*Cellulomonas*)、血杆菌属(*Sanguibacter*)、链霉菌属(*Streptomyces*)、冷杆菌属(*Cryobacterium*)、气微菌属(*Aeromicrobium*)、居真菌细菌属(*Mycetocola*)、根戈德里谷氨酸杆菌属(*Paeniglutamicibacter*)和盐地杆菌属(*Salinibacterium*),库克菌属为优势属(图 3)。

变形菌门中分离得到 13 个属,分别是马赛菌属(*Massilia*)、鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)、短波单胞菌属(*Brevundimonas*)、鞘氨醇盒菌属(*Sphingopyxis*)、紫色杆菌属(*Janthinobacterium*)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)、副球菌属(*Paracoccus*)、嗜冷杆菌属(*Psychrobacter*)、极单胞菌属(*Polaromonas*)、皱纹单胞菌属(*Rugamonas*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、*Aquirhabdus* 和红育菌属(*Rhodoferrax*),马赛菌属为优势属(图 4)。

拟杆菌门中分离出 4 个属,分别是黄杆菌属(*Flavobacterium*)、薄层菌属(*Hymenobacter*)、土地杆菌属(*Pedobacter*)和 *Kaistella*,其中黄杆菌属是优势属(图 5)厚壁菌门分离出 3 个属,分别是芽孢杆菌属(*Bacillus*)、微小杆菌属(*Exiguobacterium*)和类芽孢杆菌属(*Paenibacillus*),芽孢杆菌属是优势属(图 6)。

研究表明,16S rRNA 基因同一性为 98.7% 作为物种级临界值<sup>[21]</sup>,本研究中发现与已分离发表的菌种相似度低于 98.7% 的细菌有 46 株,均为潜在新种。

### 2.4 冬克玛底冰川可培养细菌分布特征

统计不同温度下可培养细菌物种发现,不同培

养温度,培养得到的细菌群落结构不同,具体表现在物种数目和组成。在 10℃ 培养条件下,共分离出 55 个种(28 个属),而在 25℃ 只分离出 43 个种(23 个属)。有些细菌只在一个培养温度发现,气微菌属、冷杆菌属、居真菌细菌属、根戈德里谷氨酸杆菌属、盐地杆菌属、*Aquirhabdus*、副球菌属、嗜冷杆菌属、极单胞菌属、皱纹单胞菌属、假单胞菌属、黄杆菌属和土地杆菌属只从 10℃ 培养温度分离得到,纤维素单胞菌属、密执安棍状杆菌属、血杆菌属、不动杆菌属、副球菌属、鞘氨醇盒菌属、芽孢杆菌属和微小杆菌属只从 25℃ 培养温度分离得到,而其他属在两个培养温度下均能分离得到[图 7(a)]。

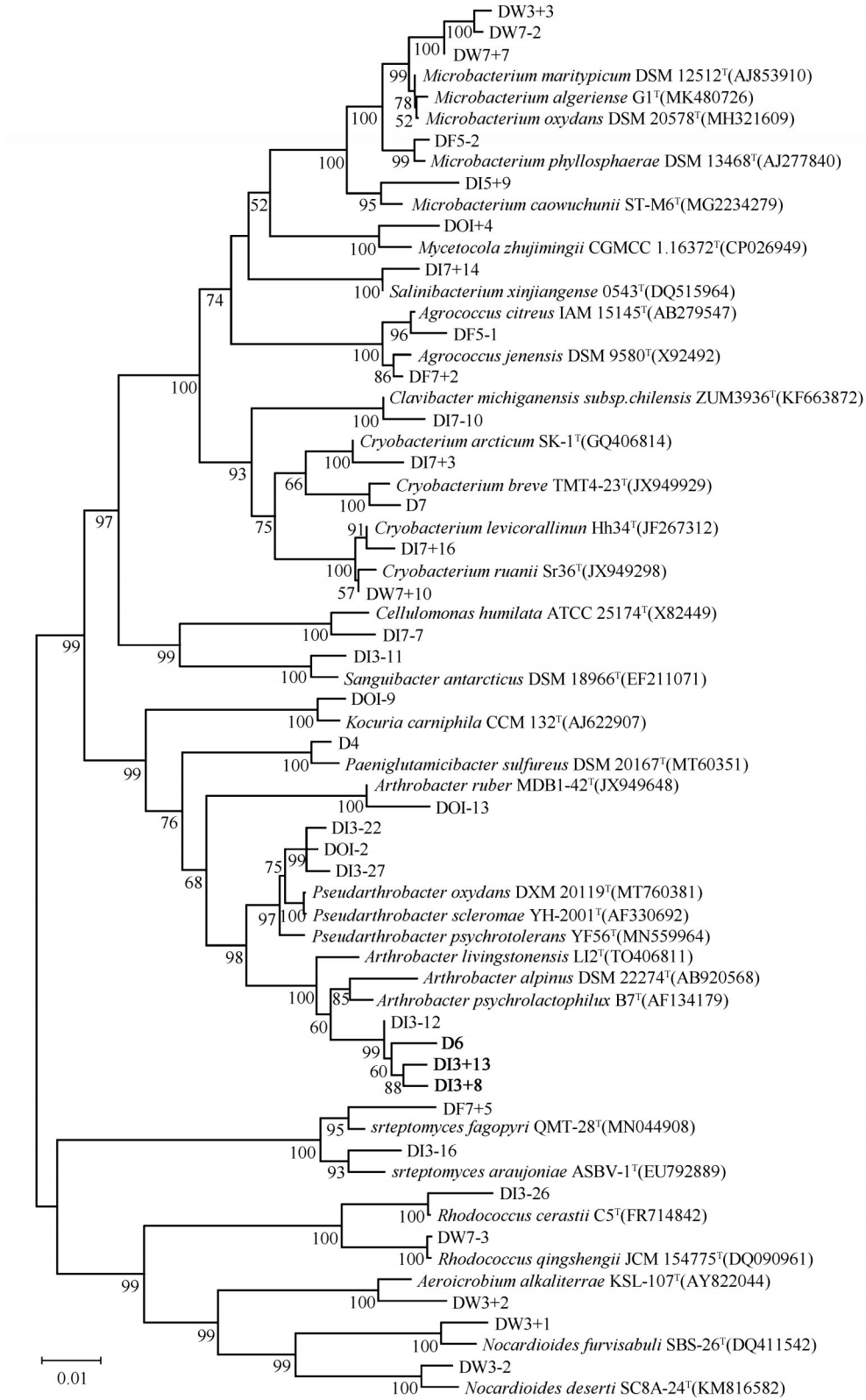
研究还发现,不同生境,培养得到的细菌群落结构也不同。本次培养共分离出 36 个属,雪中分离出 8 个属,冰中 28 个,融水中 14 个。在 10℃ 培养条件下,雪中分离出 5 个种,冰中 35 个,融水中 21 个;在 25℃ 下,雪中分离出 5 个种,冰中 32 个,融水中 8 个。微杆菌属在 3 种生境中均能分离得到,土壤球菌属仅在雪样中分离得到;纤维素单胞菌属、密执安棍状杆菌属、库克菌属、居真菌细菌属、根戈德里谷氨酸杆菌属、假节杆菌属、盐地杆菌属、血杆菌属、不动杆菌属、紫色杆菌属、嗜冷杆菌属、假单胞菌属、皱纹单胞菌属和微小杆菌属仅在冰样中分离得到;气微菌属、类诺卡氏菌属、*Aquirhabdus*、红育菌属、鞘氨醇盒菌属和类芽孢杆菌属仅在融水样中分离得到[图 7(a)]。

在 10℃ 和 25℃ 培养条件下,放线菌门均为优势门,分别占 60.64% 和 77.76%,在属水平上,以库克菌属(24.49% 和 44.31%)、微杆菌属(19.83% 和 25.52%)和马赛菌属(10.35% 和 4.48%)为优势属。冰样中的最优势属为库克菌属,而融水样和雪样中的最优势属均为微杆菌属[图 7(b)]。

### 2.5 冬克玛底冰川可培养细菌多样性

辛普森多样性指数(Simpson's diversity index)、物种均匀度指数(species evenness index)、香农-威纳指数(Shannon-Weiner index)和物种数目(number of species)4 个多样性指数的统计结果均表明不同培养温度,冬克玛底冰川 3 种样品总的可培养细菌多样性不同,且 10℃ 培养条件下,可培养细菌的多样性高于 25℃[图 8(a)]。

4 个多样性指数的统计结果均发现不同生境,可培养细菌多样性也不同。其中,香农-威纳指数和物种数目的统计结果一致,在 10℃ 和 25℃ 两个

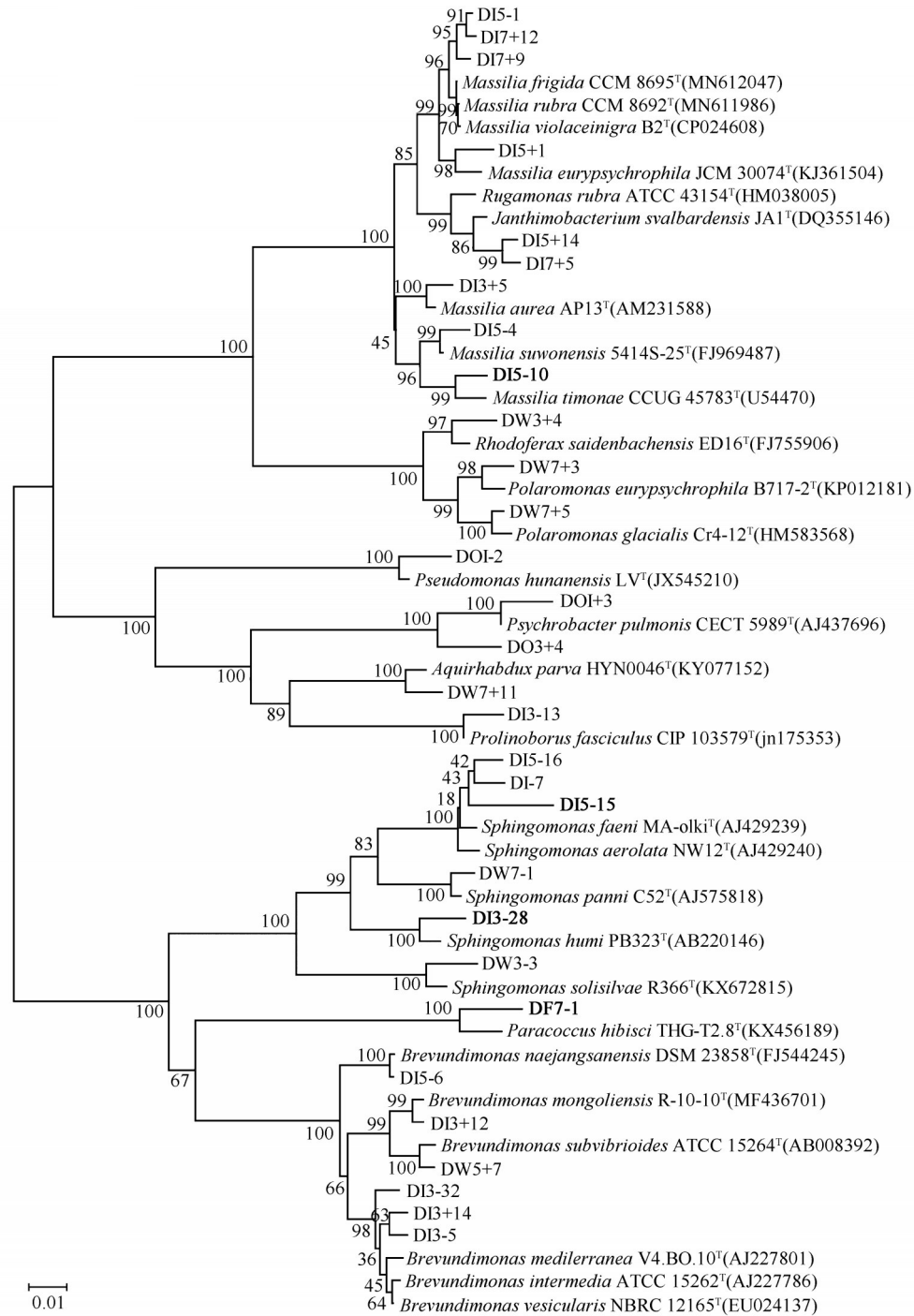


注：系统发育树采用近邻相接法构建。分支节点数值表示 Bootstrap 值（1 000 次重复的百分比）；标尺代表遗传变异系数。  
（详细信息见附表 1：<https://kdocs.cn/l/coqvtXRpvGGp>。）

Note: The phylogenetic tree is constructed using the nearest neighbor method. The branch node value represents the Bootstrap value (percentage of 1 000 repetitions); The ruler represents the coefficient of genetic variation. (Detailed information can be found in Appendix 1: <https://kdocs.cn/l/coqvtXRpvGGp>.)

图 3 放线菌门可培养细菌基于 16S rRNA 基因序列构建的系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree of Actinobacteria culturable bacteria based on 16S rRNA gene sequence



注: 系统发育树采用近邻相接法构建。分支节点数值表示 Bootstrap 值 (1 000 次重复的百分比); 标尺代表遗传变异系数。

(详细信息见附表 1: <https://kdocs.cn/l/coqvtXRpvGGp>。)

Note: The phylogenetic tree is constructed using the nearest neighbor method. The branch node value represents the Bootstrap value (percentage of 1 000 repetitions); The ruler represents the coefficient of genetic variation. (Detailed information can be found in Appendix 1: <https://kdocs.cn/l/coqvtXRpvGGp>。)

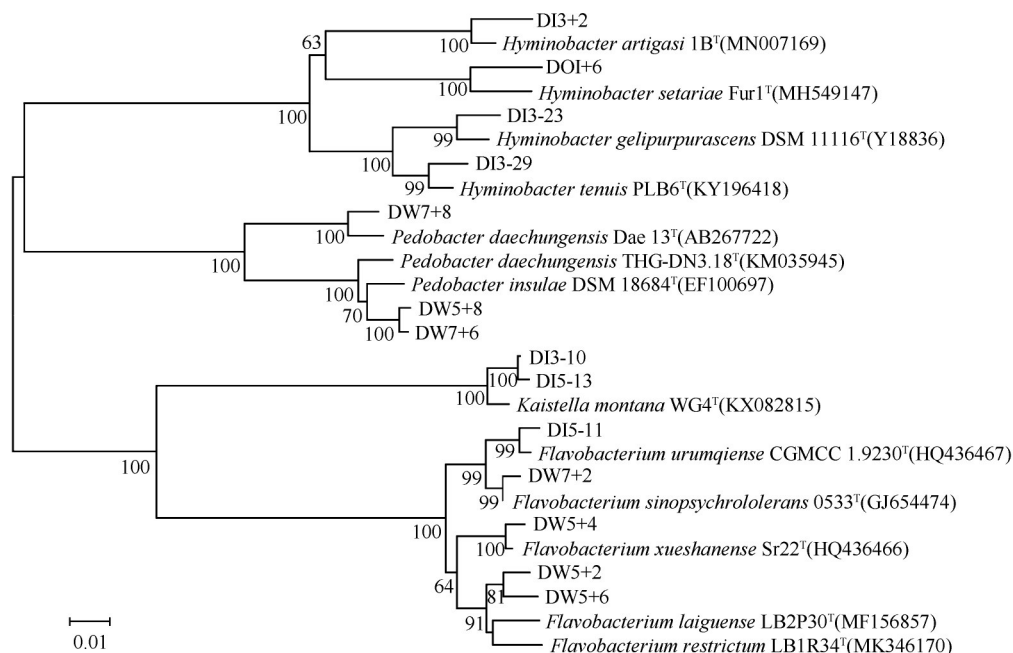
图 4 变形菌门可培养细菌基于 16S rRNA 基因序列构建的系统发育树

Fig. 4 Phylogenetic tree of Proteobacteria culturable bacteria based on 16S rRNA gene sequence

培养条件下多样性均表现为冰样>融水样>雪样。两个温度培养条件下辛普森多样性一致表现为融水样>冰样>雪样[图 8(a)]。10 °C 培养条件下物种均匀度:雪样>融水样>冰样;25 °C 培养条件下物种

均匀度:融水样>雪样>冰样[图 8(a)]。NMDS 图结果显示冬克玛底冰川 3 种不同生境的细菌群落结构明显不同,且相比雪样,冰样与融水样的可培养细菌群落结构更相近[图 8(b)]。



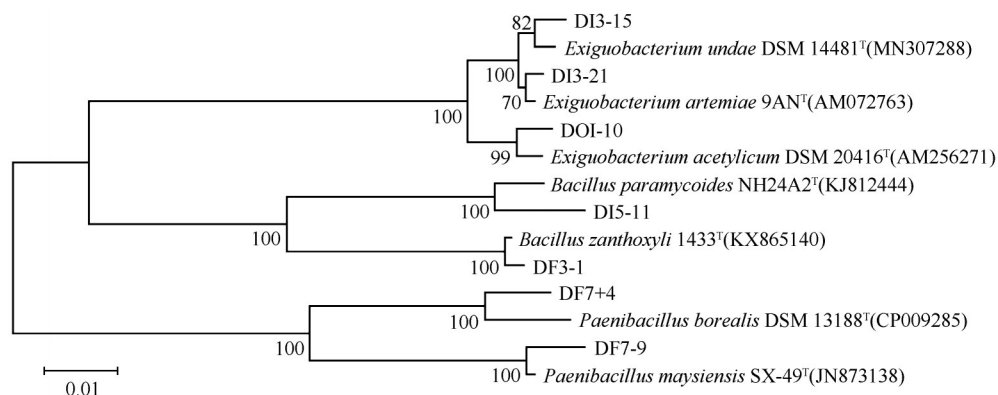


注：系统发育树采用近邻相接法构建。分支节点数值表示 Bootstrap 值（1 000 次重复的百分比）；标尺代表遗传变异系数。（详细信息见附表 1：<https://kdocs.cn/l/coqvtXRpvGGp>。）

Note: The phylogenetic tree is constructed using the nearest neighbor method. The branch node value represents the Bootstrap value (percentage of 1 000 repetitions); The ruler represents the coefficient of genetic variation. (Detailed information can be found in Appendix 1: <https://kdocs.cn/l/coqvtXRpvGGp>.)

图 5 拟杆菌门可培养细菌基于 16S rRNA 基因序列构建的系统发育树

Fig. 5 Phylogenetic tree of Bacteroidetes culturable bacteria based on 16S rRNA gene sequence



注：系统发育树采用近邻相接法构建。分支节点数值表示 Bootstrap 值（1 000 次重复的百分比）；标尺代表遗传变异系数。（详细信息见附表 1：<https://kdocs.cn/l/coqvtXRpvGGp>。）

Note: The phylogenetic tree is constructed using the nearest neighbor method. The branch node value represents the Bootstrap value (percentage of 1 000 repetitions); The ruler represents the coefficient of genetic variation. (Detailed information can be found in Appendix 1: <https://kdocs.cn/l/coqvtXRpvGGp>.)

图 6 厚壁菌门可培养细菌基于 16S rRNA 基因序列构建的系统发育树

Fig. 6 Phylogenetic tree of Firmicutes culturable bacteria based on 16S rRNA gene sequence

### 3 讨论

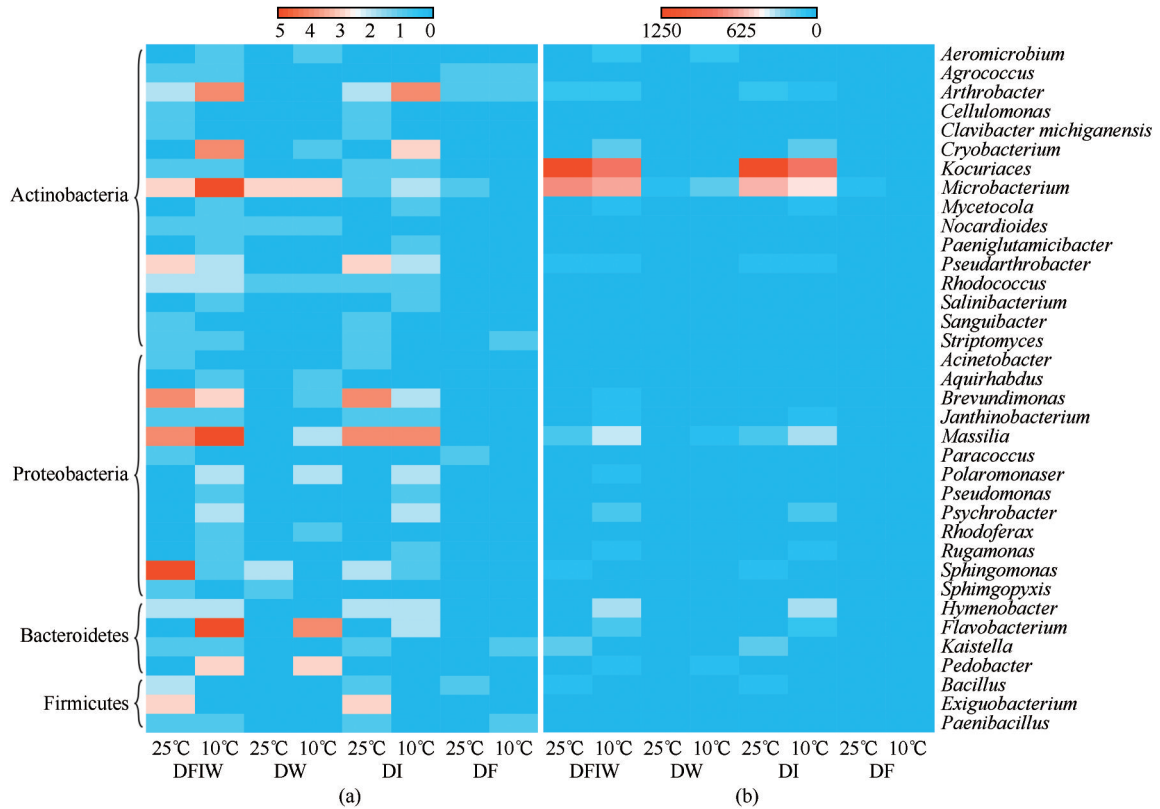
#### 3.1 可培养细菌群落结构特征

本研究从冬克玛底冰川分离得到的可培养细菌可分为 4 个门,分别是放线菌门、变形菌门、拟杆菌门和厚壁菌门,与其他冰川研究结果一致<sup>[10,13,22-24]</sup>。

无论在可培养细菌数量还是物种数目方面,放线菌门都是冰川生态系统的优势菌门<sup>[25-27]</sup>,本研究中冬克玛底冰川也有类似的结果。

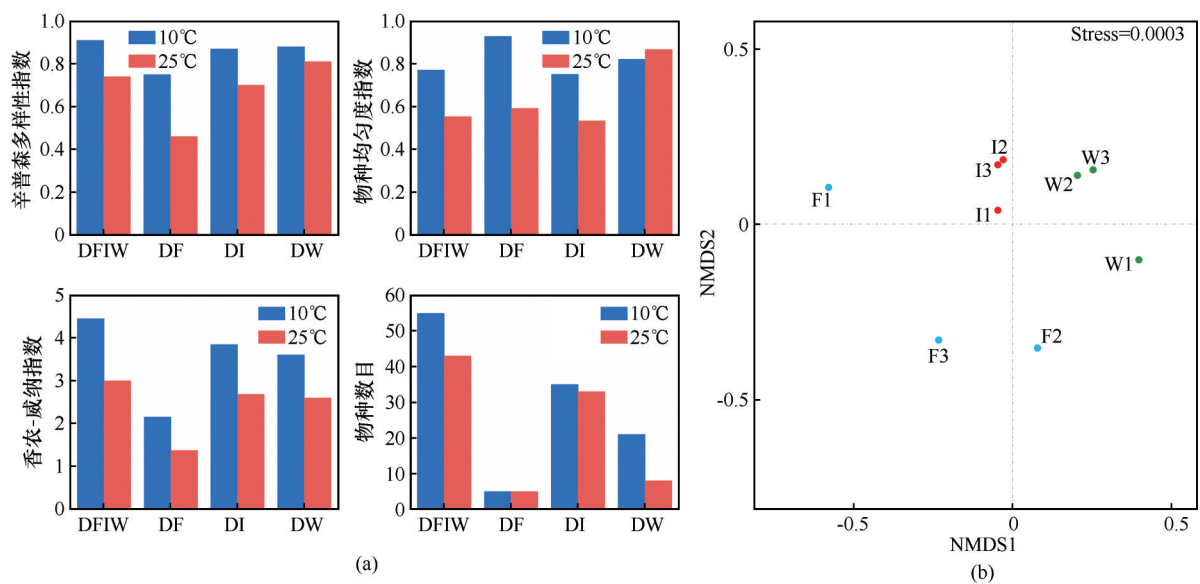
不同温度下冬克玛底冰川可培养细菌的数量显著不同,在 10 ℃ 培养条件下可培养细菌的数量高于 25 ℃。相关研究结果表明,不同培养温度下可培





注：DFIW、DF、DI和DW分别表示冰川3种样品总和、雪样、冰样和融水样。  
Note: DFIW, DF, DI, and DW respectively represent the total of the three types of glacier samples, snow samples, ice samples, and melt water samples.

图7 冬克玛底冰川可培养细菌物种数(a)和CFU(b)  
Fig. 7 Number of species (a) and colony forming units (b) of the culturable bacteria from the Dongkemadi Glacier



注：DFIW、DF、DI和DW分别表示冰川3种样品总和、雪样、冰样和融水样。F1~F3, I1~I3, W1~W3 三组样品分别表示海拔 5 430 m、5 550 m 和 5 670 m 的雪样，海拔 5 430 m、5 550 m 和 5 670 m 的冰样，海拔 5 430 m、5 550 m 和 5 670 m 的融水样。  
Note: DFIW, DF, DI, and DW respectively represent the total of the three types of glacier samples, snow samples, ice samples, and melt water samples. F1~F3, I1~I3, and W1~W3 samples represent snow samples at altitudes of 5 430 m, 5 550 m, and 5 670 m, ice samples at altitudes of 5 430 m, 5 550 m, and 5 670 m, and melt water samples at altitudes of 5 430 m, 5 550 m, and 5 670 m.

图8 冬克玛底冰川可培养细菌α-多样性(a)和β-多样性(b)  
Fig. 8 α-diversity (a) and β-diversity (b) of the culturable bacteria from the Dongkemadi Glacier

养细菌数量差异显著<sup>[17]</sup>,可培养细菌数量与温度呈负相关关系<sup>[28-29]</sup>。冰川细菌经过了一定时间的反复融冻和低温封存,冰样和融水样的细菌群落已发生了变化,部分不耐冷的细菌因不适应低温环境而被淘汰,存活下来的细菌可能更适应低温环境。冷杆菌属、嗜冷杆菌属和极单胞菌属等只在 10 ℃培养条件下被分离的耐冷细菌,极大可能在冰川消融的大趋势下消失;而纤维素单胞菌属、血杆菌属和副球菌属这些只在 25 ℃培养温度分离得到的非耐冷细菌,随着冰川消融,它们可能在经过低水温的冰前河流时就被淘汰。

本研究结果与其他冰川对比,包括安第斯山脉玻利瓦尔冰川<sup>[26]</sup>、北极斯瓦尔巴群岛冰川<sup>[30]</sup>、卓奥友峰冰川<sup>[31]</sup>、天山乌鲁木齐河源 1 号冰川<sup>[32-33]</sup>、老虎沟 12 号冰川<sup>[33-34]</sup>和慕士塔格冰川<sup>[22,33,35]</sup>等<sup>[11,36-38]</sup>。结果发现包括优势属(库克菌属、微杆菌属和马赛菌属)在内的 28 个属在其他冰川均被发现,而纤维素单胞菌属、假节杆菌属、根戈德里谷氨酸杆菌属、血杆菌属、*Aquirhabdus*、皱纹单胞菌属、鞘氨醇盒菌属和 *Kaistella* 在其他冰川未见报道。冬克玛底冰川发现的细菌门和优势属在其他冰川相关研究中也被发现,可能是由于这些冰川相似的极端环境对于细菌的选择性造就了细菌群落结构的相似性。冬克玛底冰川存在大量独有的属,这可能是由于其微生物来源不同,并且受到温度、湿度、太阳辐射程度和营养水平等一系列环境条件的影响而造成的<sup>[39]</sup>。研究还发现疑似新种 49 株,分离的可培养细菌中 32.21% 为潜在新种,说明冰川是一个极好的微生物资源库<sup>[40]</sup>,可以为冰冻圈微生物资源开发及利用提供数据支撑及菌种资源。目前,冰川消融的情况十分严峻,在冰川消失前相关领域的科研工作者应尽力保存微生物资源以便进一步研究和利用<sup>[41]</sup>。

### 3.2 不同生境中细菌群落结构差异

比较三种生境可培养细菌的多样性指数,发现不同生境中可培养细菌多样性不同。不同生境中

可培养细菌数量差异显著。在其他冰川也发现了类似现象,有研究表明崇测冰帽雪样、土样和冰碛物中的可培养细菌数量差异很大<sup>[10]</sup>;祁连山七一冰川雪和融水中的可培养细菌数量差异同样很大<sup>[38]</sup>。冰样中可培养细菌数量远高于融水样和雪样,这可能与样品中的非水溶性固形物有关,冰样中非水溶性固形物含量最多,为细菌提供了稳定栖息的微环境。

在属水平雪样、冰样和融水样中发现的细菌有重合,但部分属是单一样品独有的。相似结果在其他冰川也有报道,如崇测冰帽雪样、土样和冰碛物<sup>[10,42]</sup>;青藏高原竹溪冰川融化池和冰周河流<sup>[42]</sup>;玉龙雪山白水 1 号冰川前沿土壤和融水<sup>[44]</sup>。这 3 种生境重合的细菌是微杆菌属,在其他冰川的生境中也比较常见<sup>[24,27,45]</sup>,微杆菌属还是冬克玛底冰川的优势属,其很有可能在冰川生态系统中稳定发挥重要作用。冰样中发现的属最多,雪样有 75% 的属与冰样重合,融水样有 64.3% 的属与冰样重合,雪样只有 12.55% 的属与融水样重合;说明相比融水样,雪样和冰样的群落相似度更高;且相比雪样,融水样和冰样的群落相似度更高。冬克玛底冰川 9 月末的平均温度在 0 ℃以下<sup>[15]</sup>,冰川雪消融较少,冰川融水大部分来自受冰体压力和地热融化的底层冰,导致了雪与融水细菌群落差异巨大。

### 3.3 可培养细菌群落结构与环境因子相关性分析

研究发现冬克玛底冰川可培养细菌数量与  $\text{Cl}^-$ 、 $\text{K}^+$  和  $\text{Ca}^{2+}$  的含量,以及 pH 和 EC 呈正相关关系,与海拔(EL)呈反相关关系(表 2)。相关研究表明, $\text{K}^+$  和  $\text{Ca}^{2+}$  等离子浓度可代表冰雪中粉尘的含量<sup>[46-47]</sup>,粉尘不仅可作为细菌的“载体”,将微生物从冰川周围环境中携带至冰川,其中还含有微生物赖以生存的营养物质,为微生物提供了生存的微生态环境。已有的研究表明 pH 值同样对细菌数量影响显著<sup>[48-49]</sup>,主要原因可能是本次雪样的 pH 呈弱酸性,而冰和融水的 pH 值均在 7 左右,中性的环境更适合绝大多数细菌的生存。

表 2 可培养细菌多样性与环境因子的相关性

Table 2 Correlation between culturable bacterial diversity and environmental factor

指数	EL	pH	EC	$\text{Cl}^-$	$\text{Mg}^{2+}$	$\text{Ca}^{2+}$	$\text{NO}_3^-$	$\text{SO}_4^{2-}$	$\text{Na}^+$	$\text{K}^+$
香农-威纳指数	0.550**	0.634**	0.339**	0.712**	0.267**	0.367**	0.241**	0.320**	0.334**	0.166**
可培养细菌数量	-0.421**	0.104**	0.001	0.222*	-0.198**	0.103**	-0.311**	-0.279**	-0.199**	0.026*

注: \*表示显著相关 ( $P<0.05$ ), \*\*表示极显著相关 ( $P<0.01$ ); EL 表示海拔。

Note: \* represents significant correlation ( $P<0.05$ ), \*\* represents extremely significant correlation ( $P<0.01$ ); EL represents elevation.

研究表明,环境因子还会影响微生物群落的多样性<sup>[50-51]</sup>。在之前冰川微生物相关研究中未发现多样性与Cl<sup>-</sup>浓度的明显相关性,但在盐碱化土壤微生物的研究中发现了与本研究相似的结果<sup>[50]</sup>。对于pH值与细菌多样性的相关性,部分研究与本研究有类似的结论<sup>[52]</sup>,但还有研究结果表明pH值与细菌多样性在不同生境的相关关系不同<sup>[53]</sup>。pH值与细菌多样性的相关关系受生境酸碱性影响,大多微生物更适合中性环境,环境是酸性时,pH值与细菌多样性是正相关关系<sup>[54-55]</sup>,环境是碱性时,pH值与细菌多样性是负相关关系<sup>[56]</sup>。

#### 4 结论

本研究以冬克玛底冰川雪、冰和融水为研究对象,分离得到三类样品中放线菌门、变形菌门、拟杆菌门和厚壁菌门,其中放线菌门是优势菌门。雪样在不同培养温度下得到的可培养细菌数量差异不显著;而冰样和融水样在不同培养温度下得到的可培养细菌数量差异显著。

冰样中可培养细菌数量远高于融水样和雪样,这可能与样品中的非水溶性固形物有关,冰样中非水溶性固形物含量最多,为细菌提供了稳定栖息的微环境。在属水平,雪样、冰样和融水样中发现的细菌有重合,雪样和冰样的群落相似度更高。

Cl<sup>-</sup>、K<sup>+</sup>、Ca<sup>2+</sup>、Na<sup>+</sup>和Mg<sup>2+</sup>的含量和pH与冬克玛底冰川可培养细菌数量和多样性均呈正相关关系,且与Cl<sup>-</sup>、Ca<sup>2+</sup>的含量和pH的相关性较大,这可能与冰川中粉尘的含量有关。

研究发现疑似新种49株,分离的可培养细菌中32.21%为潜在新种,说明冰川是一个极好的微生物资源库,可以为冰冻圈微生物资源开发及利用提供数据支撑及菌种资源。

**致谢:**对唐古拉冰冻圈与环境观测研究站全体成员在本研究采样阶段提供的帮助与指导表示衷心的感谢。

#### 参考文献(References):

- [1] Irvine-Fynn T D L, Edwards A. A frozen asset: the potential of flow cytometry in constraining the glacial biome[J]. *Cytometry Part A*, 2014, 85(1): 3-7.
- [2] Luo Wei, Zhou Changtao, Ji Xiuling, et al. Advances in diversity of glacial microbe[J]. *Journal of Microbiology*, 2008, 28(3): 68-71. [罗伟, 周长涛, 季秀玲, 等. 冰川微生物多样性研究进展[J]. *微生物学杂志*, 2008, 28(3): 68-71.]
- [3] Carpenter E J, Lin S, Capone D G. Bacterial activity in South Pole snow [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66(10): 4514-4517.
- [4] Amato P, Parazols M, Sancelme M, et al. Microorganisms isolated from the water phase of tropospheric clouds at the Puy de Dôme: major groups and growth abilities at low temperatures [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2007, 59(2): 242-254.
- [5] Irvine-Fynn T D L, Edwards A, Newton S, et al. Microbial cell budgets of an Arctic glacier surface quantified using flow cytometry [J]. *Environmental Microbiology*, 2012, 14(11): 2998-3012.
- [6] Skidmore M, Anderson S P, Sharp M, et al. Comparison of microbial community compositions of two subglacial environments reveals a possible role for microbes in chemical weathering processes [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(11): 6986-6997.
- [7] Sheridan P P, Miteva V I, Brenchley J E. Phylogenetic analysis of anaerobic psychrophilic enrichment cultures obtained from a Greenland glacier ice core [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69(4): 2153-2160.
- [8] Christner B C, Prisco J C, Achberger A M, et al. A microbial ecosystem beneath the West Antarctic ice sheet [J]. *Nature*, 2014, 512(7514): 310-313.
- [9] Li Shiweng, Chen Tuo, Zhang Wei, et al. Cryomicrobiology: retrospect and prospect [J]. *Journal of Glaciology and Geocryology*, 2019, 41(5): 1221-1234. [李师翁, 陈拓, 张威, 等. 冰冻圈微生物学: 回顾与展望[J]. *冰川冻土*, 2019, 41(5): 1221-1234.]
- [10] Zhang Shuhong, Hou Shugui, Bao Gerile, et al. Difference of community structure among culturable bacteria in different glacial samples on Chongce Ice Cap [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2016, 56(4): 708-718. [张淑红, 侯书贵, 包格日乐, 等. 崇测冰帽不同的冰川样品可培养细菌群落结构差异[J]. *微生物学报*, 2016, 56(4): 708-718.]
- [11] Ma Xiaojun, Liu Wei, Hou Shugui, et al. Bacterial diversity and community at Yulong Mountains and their relationship to climatic and environmental changes [J]. *Journal of Lanzhou University (Natural Sciences)*, 2009, 45(6): 94-100. [马晓军, 刘伟, 侯书贵, 等. 玉龙雪山冰川雪坑中细菌多样性群落结构及其与气候环境的关系[J]. *兰州大学学报(自然科学版)*, 2009, 45(6): 94-100.]
- [12] Xing Tingting, Liu Yongqin, Wang Ninglian, et al. The physiological characteristics of culturable bacteria in Muztag, Yuzhufeng and Zadang Glaciers on Tibetan Plateau, China [J]. *Journal of Glaciology and Geocryology*, 2016, 38(2): 528-538. [邢婷婷, 刘勇勤, 王宁练, 等. 青藏高原木孜塔格冰川、玉珠峰冰川及扎当冰川可培养细菌的生理特征[J]. *冰川冻土*, 2016, 38(2): 528-538.]
- [13] Xie Jun, Wang Ninglian, Pu Jianchen, et al. Study of the bacterial diversity recovered from glacial snow of the northern Tibetan Plateau [J]. *Journal of Glaciology and Geocryology*, 2009, 31(2): 342-349. [谢君, 王宁练, 蒲健辰, 等. 青藏高原北部冰川雪中细菌多样性的研究[J]. *冰川冻土*, 2009, 31(2): 342-349.]
- [14] Liang Liqiao, Cuo Lan, Liu Qiang. Mass balance variation and associative climate drivers for the Dongkemadi Glacier in the central Tibetan Plateau [J]. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*, 2019, 124(20): 10814-10825.
- [15] Pu Hongzheng, Han Tianding, Ding Yongjian, et al. The changing features of total dissolved solids and suspended sediment in the Dongkemadi Glacier Catchment, Tanggula Mountains [J]. *Journal of Glaciology and Geocryology*, 2018, 40(5): 993-1003. [蒲红铮, 韩添丁, 丁永建, 等. 唐古拉山冬



- 克玛底冰川流域河水总溶解固体和悬移质的变化特征[J]. 冰川冻土, 2018, 40(5): 993-1003. ]
- [16] He Xiaobo, Ye Baisheng, Ding Yongjian. Bias correction for precipitation mesuament in Tanggula Mountain Tibetan Plateau [J]. *Advances in Water Science*, 2009, 20(3): 403-408. [何晓波, 叶柏生, 丁永建. 青藏高原唐古拉山区降水观测误差修正分析[J]. 水科学进展, 2009, 20(3): 403-408. ]
- [17] Liu Guangxiu, Hu Ping, Zhang Wei, et al. Variations in soil culturable bacteria communities and biochemical characteristics in the Dongkemadi Glacier forefield along a chronosequence [J]. *Folia Microbiologica*, 2012, 57(6): 485-494.
- [18] Ren Ze, Gao Hongkai, Luo W, et al. Bacterial communities in surface and basal ice of a glacier terminus in the headwaters of Yangtze River on the Qinghai-Tibet Plateau[J]. *Environmental Microbiology*, 2022, 17(1): 12.
- [19] Bao Shidan. Soil and agricultural chemistry analysis[M]. 3rd edition. Beijing: China Agriculture Press, 2000. [鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 第3版. 北京: 中国农业出版社, 2000. ]
- [20] Lane D J. 16S/23S rRNA sequencing [J]. *Nucleic acid techniques in bacterial systematics*, 1991: 115-175.
- [21] Chun J, Oren A, Ventosa A, et al. Proposed minimal standards for the use of genome data for the taxonomy of prokaryotes[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2018, 68(1): 461-466.
- [22] Li Mingyuan, Wang Jilian, Gulbahar Sawut. Culturable bacterial diversity in snow, ice and meltwater of the Yangbark Glacier, Muztag Ata[J]. *Journal of Glaciology and Geocryology*, 2015, 37(6): 1634-1641. [李明源, 王继莲, 古丽巴哈尔·萨吾提. 新疆东帕米尔高原慕士塔格峰洋布拉克冰川雪冰及融水中可培养细菌多样性分析[J]. 冰川冻土, 2015, 37(6): 1634-1641. ]
- [23] Li Wenyu, Li Haoyu, Sun Wanwan, et al. Diversity analysis of culturable low-temperature bacteria in vertical climate zone of Mingyong Glacier [J]. *Genomics and Applied Biology*, 2019, 38(5): 2070-2077. [李文玉, 李浩宇, 孙万万, 等. 明永冰川垂直气候带中可培养低温细菌多样性分析[J]. 基因组学与应用生物学, 2019, 38(5): 2070-2077. ]
- [24] Shen Liang, Liu Yongqin, Wang Ninglian, et al. Variation with depth of the abundance, diversity and pigmentation of culturable bacteria in a deep ice core from the Yuzhufeng Glacier, Tibetan Plateau[J]. *Extremophiles*, 2018, 22(1): 29-38.
- [25] Ali P, Chen Feng, Hassan F, et al. Bacterial community characterization of Batura Glacier in the Karakoram Range of Pakistan[J]. *International Microbiology*, 2021, 24(2): 183-196.
- [26] Rondón J, Gómez W, Ball M M, et al. Diversity of culturable bacteria recovered from Pico Bolívar's glacial and subglacial environments, at 4 950 m, in Venezuelan tropical Andes[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 2016, 62(11): 904-917.
- [27] Liu Yongqin, Yao Tandong, Jiao Nianzhi, et al. Culturable bacteria in glacial meltwater at 6 350 m on the East Rongbuk Glacier, Mount Everest [J]. *Extremophiles*, 2009, 13(1): 89-99.
- [28] Xiang S R, Yao T D, An L Z, et al. Bacterial diversity in Malan ice core from the Tibetan Plateau[J]. *Folia Microbiologica*, 2004, 49(3): 269-275.
- [29] Yao Tandong, Xiang Shurong, Zhang Xiaojun, et al. Microorganisms in the Malan ice core and their relation to climatic and environmental changes [J]. *Global Biogeochemical Cycles*, 2006, 20(1): GB1004.
- [30] Liu Jie, Li Shengnan, Guo Yudong, et al. Preliminary study on phylogenetic diversity of culturable bacteria and nitrogen-fixing bacteria in the svalbard glaciers of the Arctic[J]. *Chinese Journal of Polar Research*, 2017, 29(4): 496-505. [刘杰, 李胜男, 郭昱东, 等. 北极斯瓦尔巴群岛冰川流域可培养细菌的系统发育多样性及固氮菌初步研究[J]. 极地研究, 2017, 29(4): 496-505. ]
- [31] Ma Xiaojun, Liu Wei, Hou Shugui, et al. Culturable bacteria in snow pits of different type glaciers: diversity and relationship with environment[J]. *Journal of Glaciology and Geocryology*, 2009, 31(3): 483-489. [马晓军, 刘炜, 侯书贵, 等. 不同类型冰川雪中可培养细菌多样性变化及其与环境因子关系研究[J]. 冰川冻土, 2009, 31(3): 483-489. ]
- [32] Liu Qing. The Diversity and polyphasic taxonomy of bacteria isolated from Hailuoguo and Xinjiang No. 1 glacier in China [D]. Beijing: China Agricultural University, 2012. [刘庆. 中国海螺沟和新疆一号冰川细菌多样性及多相分类学研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2012. ]
- [33] Yang Lijuan. Diversity and low temperature adaptability of culturable bacteria in glacier snow pits in Qinghai-Tibet Plateau and its adjacent areas [D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2013. [杨丽娟. 青藏高原及其毗邻地区冰川雪坑中可培养细菌多样性及低温适应性的研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2013. ]
- [34] Ali B, Sajjad W, Ghimire P S, et al. Culture-dependent diversity of bacteria from Laohugou glacier, Qilian Mts., China and their resistance against metals[J]. *Journal of Basic Microbiology*, 2019, 59(11): 1065-1081.
- [35] Xiang Shurong, Yao Tandong, An Lizhe, et al. 16S rRNA sequences and differences in bacteria isolated from the Muztag Ata glacier at increasing depths[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(8): 4619-4627.
- [36] Zhang Shuhong, Baoge Rile, Li Zhiguo, et al. Study on bacterial diversity of glaciers in Xiongcaigangri Area, South Karakorum [J]. *Journal of Henan Agricultural University*, 2016, 50(2): 275-281. [张淑红, 包格日乐, 李治国, 等. 喀拉昆仑南部熊岗日地区冰川细菌多样性研究[J]. 河南农业大学学报, 2016, 50(2): 275-281. ]
- [37] Liu Xiaobo, Kang Shichang, Yao Tandong, et al. The seasonal change of bacterial abundance and diversity in snow of the Guoqu Glacier, Mt. Geladaindong [J]. *Journal of Glaciology and Geocryology*, 2009, 31(4): 634-641. [刘晓波, 康世昌, 姚檀栋, 等. 各拉丹冬峰果曲冰川雪中细菌的季节变化特征[J]. 冰川冻土, 2009, 31(4): 634-641. ]
- [38] Xie Jun, Wang Ninglian, Chen Liang, et al. Bacterial diversity recovered from Qiye Glacier and runoff, Qilian Mts [J]. *Chinese Journal of Environmental Science*, 2009, 30(9): 2735-2740. [谢君, 王宁练, 陈亮, 等. 祁连山七一冰川及融水中细菌多样性的研究[J]. 环境科学, 2009, 30(9): 2735-2740. ]
- [39] Zhang Wei, Zhang Gaosen, Liu Guangxiu, et al. Diversity and its temporal-spatial characteristics of eukaryotic microorganisms on Urumqi Glacier No. 1 at the Urumqi River Head, Tianshan Mountains [J]. *Journal of Glaciology and Geocryology*, 2010, 32(5): 906-913. [张威, 章高森, 刘光琇, 等. 天山乌鲁木齐河源1号冰川中真核微生物多样性分布及时空变化研究[J]. 冰川冻土, 2010, 32(5): 906-913. ]
- [40] Liu Guangxiu. Microbiology in extreme environments [M]. Beijing: Science Press, 2016. [刘光琇. 极端环境微生物学[M]. 北京: 科学出版社, 2016. ]
- [41] Chen Tuo, Zhang Wei, Liu Guangxiu, et al. Microbes in cryosphere: opportunities and challenges[J]. *Bulletin of the Chinese Academy of Sciences*, 2020, 35(4): 434-442. [陈拓, 张威, 刘光琇, 等. 冰冻圈微生物: 机遇与挑战[J]. 中国科学

- 院院刊, 2020, 35(4): 434-442. ]
- [42] Yang Guang li, Hou Shu gui, Le Baoge R, et al. Differences in bacterial diversity and communities between glacial snow and glacial soil on the chongce ice cap, West Kunlun Mountains [J]. Scientific Reports, 2016, 6(1): 36548.
- [43] Hu Yang, Yao Xin, Wu Yuanyuan, et al. Contrasting patterns of the bacterial communities in melting ponds and periglacial rivers of the Zhuxi glacier in the Tibet Plateau [J]. Microorganisms, 2020, 8(4): 509.
- [44] Sajjad W, Ali B, Bahadur A, et al. Bacterial diversity and communities structural dynamics in soil and meltwater runoff at the frontier of Baishui glacier No. 1, China [J]. Microbial Ecology, 2021, 81(2): 370-384.
- [45] Zhong Z P, Tian F N, Roux S, et al. Glacier ice archives nearly 15, 000-year-old microbes and phages [J]. Microbiome, 2021, 9(1): 160.
- [46] Zhang Shuhong, Hou Shugui, Qin Xiang, et al. Relation between bacteria in glacial snow with climate and environment in the Tibetan Plateau [J]. Research of Environmental Sciences, 2007, 20(5): 39-44. [张淑红, 侯书贵, 秦翔, 等. 青藏高原冰川雪细菌与气候环境的关系 [J]. 环境科学研究, 2007, 20(5): 39-44. ]
- [47] De Angelis M, Steffensen J P, Legrand M, et al. Primary aerosol (sea salt and soil dust) deposited in Greenland ice during the last climatic cycle: comparison with East Antarctic records [J]. Journal of Geophysical Research: Oceans, 1997, 102(C12): 26681-26698.
- [48] Dong Kang, Li Shiweng, Kang Wenlong, et al. Study of the changes in microbe amount and its affect factors in the soils along the Qinghai-Tibet Highway [J]. Journal of Glaciology and Geocryology, 2013, 35(2): 457-464. [董康, 李师翁, 康文龙, 等. 青藏公路沿线土壤微生物数量变化及其影响因素研究 [J]. 冰川冻土, 2013, 35(2): 457-464. ]
- [49] Yang Xiuli, Zhang Baogui, Zhang Wei, et al. Characteristics of cultivable bacterial community in rhizosphere soil of *Achnatherum splendens* Trin in the upper reaches of the Shule River, Qilian Mountains [J]. Journal of Glaciology and Geocryology, 2014, 36(1): 222-229. [杨秀丽, 张宝贵, 张威, 等. 祁连山疏勒河上游芨芨草根际可培养细菌群落特征研究 [J]. 冰川冻土, 2014, 36(1): 222-229. ]
- [50] Li Ming, Bi Jiangtao, Wang Jing. Bacterial community structure and key influence factors in saline soil of different sites in Ningxia [J]. Acta Ecologica Sinica, 2020, 40(4): 1316-1330. [李明, 毕江涛, 王静. 宁夏不同地区盐碱化土壤细菌群落多样性分布特征及其影响因子 [J]. 生态学报, 2020, 40(4): 1316-1330. ]
- [51] Liu Yang, Wang Xinyue, Chen Tuo, et al. The diversity of culturable bacteria in the eastern edge of Kumtag Desert, and the characteristic of their radiation-resistance and anti-oxidation, including the correlation and coupling of these capacities [J]. China Environmental Science, 2021, 41(12): 5921-5932. [刘阳, 王馨悦, 陈拓, 等. 可培养细菌多样性及抗辐射-抗氧化相关性特征: 以库姆塔格沙漠东缘为例 [J]. 中国环境科学, 2021, 41(12): 5921-5932. ]
- [52] Li Wei, Guan Wei, Chen Huai, et al. Variations of sediment archaea communities in different distribution areas of *Bruguiera gymnohiza* mangrove in Dongzhaigang, China [J]. Polish Journal of Environmental Studies, 2019, 28(5): 3343-3352.
- [53] Zhang Pan, Xie Xianjun, Li Qinghua, et al. Microbial community structure and its response to environment in mangrove sediments of Dongzhai Port [J]. Earth Science, 2022, 47(3): 1122-1135. [张攀, 谢先军, 黎清华, 等. 东寨港红树林沉积物中微生物群落结构特征及其对环境的响应 [J]. 地球科学, 2022, 47(3): 1122-1135. ]
- [54] Li Ziyang, Liu Zunchi, Yan Chuang, et al. The biomass-diversity relationship depends upon soil pH variations in Inner Mongolian grasslands: insight from comparison between gradient observations and manipulative experiments [J]. Acta Prataculturae Sinica, 2020, 29(1): 38-49. [李子雁, 刘尊驰, 鄢创, 等. 内蒙古草原不同土壤 pH 条件下植物生物量和多样性的关系: 样带调查和控制实验的比较研究 [J]. 草业学报, 2020, 29(1): 38-49. ]
- [55] Dan Junhao, Qi Shaowu, Li Juan, et al. Effect of quicklime on acid soil pH and metabolic functional diversity of microbial community [J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2017, 30(12): 2739-2745. [淡俊豪, 齐绍武, 黎娟, 等. 生石灰对酸性土壤 pH 值及微生物群落功能多样性的影响 [J]. 西南农业学报, 2017, 30(12): 2739-2745. ]
- [56] Zhang Wei, Zhang Gaosen, Liu Guangxiu, et al. Characteristics of cultivable microbial community number and structure at the southeast edge of Tengger Desert [J]. Acta Ecologica Sinica, 2012, 32(2): 567-577. [张威, 章高森, 刘光琇, 等. 腾格里沙漠东南缘可培养微生物群落数量与结构特征 [J]. 生态学报, 2012, 32(2): 567-577. ]

## Characteristics of culturable bacterial communities in the Dongkemadi Glacier on the Qinghai-Xizang (Tibet) Plateau

JIA Puchao<sup>1,3,4</sup>, ZHANG Wei<sup>1,3</sup>, LIU Yang<sup>2,3,4</sup>, TIAN Mao<sup>2,3,4</sup>, ZHANG Binglin<sup>2,3</sup>,  
ZHANG Gaosen<sup>1,3</sup>, LIU Guangxiu<sup>1,3</sup>, CHEN Tuo<sup>2,3</sup>

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

**Abstract:** As one of the important origins of the Yangtze River, the Dongkemadi Glacier has been mainly explored for glacier climate, geological changes, and other natural geographical directions. However, there are still few reports about the diversity and community composition of culturable bacteria in the different ambient medium of Dongkemadi Glacier. In order to clarify the cultivable bacterial diversity and the relationship between the cultivable bacterial diversity and environmental factors in Dongkemadi Glacier, and explore microbial resources, investigated the three habitats of snow, ice, and melt water of Dongkemadi Glacier. The strains were isolated by the traditional culturable method, identified by 16S rRNA Gene Sequence analysis, and the diversity of culturable bacteria and its influencing factors were analyzed by statistical method. The results showed that the culturable bacteria in this study belonged to Actinobacteria, Proteobacteria, Bacteroidetes, and Firmicutes. Among them, Actinobacteria is the dominant phylum, and *Kocuria*, *Microbacterium*, and *Massilia* are the dominant genus. The highest number of culturable bacteria, complex community structure, and diversity was higher in ice samples compared with snow and meltwater. In addition, 8 of the 36 genera isolated from the Dongkemadi Glacier were not reported from other glaciers; therefore, 32.21% of the culturable bacteria were potential new species. The community structure of culturable bacteria was distinct across the samples; pH,  $\text{Cl}^-$  and  $\text{Ca}^{2+}$  are the main environmental factors affecting the number and diversity of culturable bacteria. Dongkemadi Glacier contains rich microbial resources, 46 new species were isolated in this study, which could provide data support and strain resources for the developing and utilizing microbial resources in the cryosphere.

**Key words:** Qinghai-Xizang (Tibet) Plateau; Dongkemadi Glacier; culturable bacteria; characteristics of communities

(责任编辑: 吴晓东)