

## 研究报告

# 一种最适碳源-氨基酸复配培养基对新疆典型生境土壤微生物分离培养的影响

李畅, 许苗, 游国浩, 匡丹, 罗晓霞\*

塔里木大学 生命科学与技术学院 塔里木盆地生物资源保护利用省部共建国家重点实验室培育基地,  
新疆 阿拉尔 843300

李畅, 许苗, 游国浩, 匡丹, 罗晓霞. 一种最适碳源-氨基酸复配培养基对新疆典型生境土壤微生物分离培养的影响[J]. 微生物学通报, 2025, 52(5): 2087-2106.

LI Chang, XU Miao, YOU Guohao, KUANG Dan, LUO Xiaoxia. Effect of an optimal carbon source-amino acid compound medium on the isolation and culture of soil microorganism from typical habitats in Xinjiang, China[J]. Microbiology China, 2025, 52(5): 2087-2106.

**摘要:** 【背景】新疆由于环境特殊, 人为干扰较少, 拥有巨大的微生物资源宝库, 但是目前通过传统培养方法如降低培养基营养成分、添加选择性抑制剂或生长因子等, 能分离到的微生物不到总量的 0.1%–1.0%, 大部分微生物资源无法被我们所用。【目的】筛选一种对新疆典型生境土壤微生物分离培养较好的最适碳源-氨基酸复配培养基, 为新疆典型生境土壤微生物资源的挖掘奠定基础。【方法】采用基础培养基(g/L) [(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1.0, CaCl<sub>2</sub> 2.0, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1.0, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 1.0, NaCl 1.0, 琼脂 16.0, 蒸馏水 1 000 mL, 制霉菌素 0.01 和放线菌酮 0.025]加入脯氨酸, 再分别添加海藻糖、3-吗啉丙磺酸、丙烯酰胺和乙二胺四乙酸等 4 种不同的碳源, 结合稀释涂布平板法选出最适碳源; 采用基础培养基加入海藻糖, 再分别添加脯氨酸、精氨酸和谷氨酸等 20 种氨基酸, 结合稀释涂布平板法选出最适氨基酸; 以海藻糖-脯氨酸(trehalose-proline, TP)培养基为对照, 在基础培养基中添加最适碳源和最适氨基酸进行复配, 对新疆 3 种典型生境戈壁土、怪柳根际土和沙土中的微生物进行分离培养, 结合稀释涂布平板法和 16S rRNA 基因测序和序列比对分析比较数量和种类的差异; 并结合扩增子测序技术, 将其与利用可培养技术分离的菌株进行比较, 从而分析最适复配培养基对新疆典型生境土壤微生物分离培养的影响。【结果】海藻糖和甲硫氨酸是分离新疆典型生境土壤微生物的最适碳源和最适氨基酸; 扩增子测序共检测到 1 031 个属中有 11 个在可培养过程中成功分离, 其中有 6 个属只通过海藻糖-甲硫氨酸(trehalose-methionine, TM)培养基分离得到; 用 TM 培养基对新疆典型生境土壤微生物进行分离培养, 共分离得到 130 株菌, 是 TP 培养

资助项目: 第三次新疆综合科学考察计划(2022xjkk020601); “西部之光”青年学者项目(2022-XBQNXZ-019)

This work was supported by the Third Xinjiang Comprehensive Scientific Investigation Program (2022xjkk020601) and the “Light of the West” Young Scholars Program (2022-XBQNXZ-019).

\*Corresponding author. E-mail: xxluo415@163.com

Received: 2024-09-01; Accepted: 2024-12-13; Published online: 2025-01-09

基分离菌株数的 1.76 倍; 其分属于 3 门 5 纲 10 目 12 科 20 属 43 种, 共获得了 44 株潜在新物种。

【结论】TM 培养基是一种较好的分离新疆典型生境土壤微生物的培养基, 为新疆特殊生境微生物资源的挖掘奠定了基础。

关键词: 最适碳源; 最适氨基酸; 分离培养

## Effect of an optimal carbon source-amino acid compound medium on the isolation and culture of soil microorganism from typical habitats in Xinjiang, China

LI Chang, XU Miao, YOU Guohao, KUANG Dan, LUO Xiaoxia\*

State Key Laboratory Incubation Base for Conservation and Utilization of Bio-Resource in Tarim Basin, College of Life Sciences and Technology, Tarim University, Alar 843300, Xinjiang, China

**Abstract:** [Background] Xinjiang is a tremendous treasure house of microbial resources due to its special environment and less humanity interference. Nevertheless, at present, less than 0.1%–1.0% of the total microorganisms can be isolated by conventional culture methods such as reducing the nutrient content and adding selective inhibitors or growth factors. As a result, the majority of the microbial resources cannot be used. [Objective] To screen an optimal carbon source-amino acid compound medium for the isolation and culture of soil microorganism from typical habitats in Xinjiang and lay a foundation for mining soil microbial resources from typical habitats of Xinjiang. [Methods] We used the basic medium (g/L) [(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1.0, CaCl<sub>2</sub> 2.0, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1.0, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 1.0, NaCl 1.0, agar 16.0, distilled water 1 000 mL, nystatin 0.01, and cycloheximide 0.025], and added proline and then added respectively four different carbon sources (such as trehalose, 3-morpholinopropanesulfoinc acid, acrylamide and ethylene diamine tetraacetic acid) to select the optimal carbon source by using the dilution-plate coating approach. We added trehalose and then added respectively twenty amino acids such as proline, arginine, and glutamic acid to the basic medium, and selected the optimal amino acid by using the dilution-plate coating method. With the trehalose-proline (TP) medium as the control, the best culture medium was prepared with the optimal carbon source, the optimal amino acid, and the basic medium. The compound medium was then used to isolate microorganism from Gobi soil, rhizosphere soil of *Tamarix chinensis*, and sand soil in Xinjiang. The differences in the number and species were analyzed by the dilution-plate coating method, 16S rRNA gene sequencing, and sequence comparison. Amplicon sequencing results were compared with the strains isolated by the culture method, on the basis of which the effect of the optimal compound medium on the isolation and culture of soil microorganism from typical habitats in Xinjiang was assessed. [Results] Trehalose and methionine were the optimal carbon source and amino acid, respectively, for the isolation of soil microorganism from typical habitats in Xinjiang. Amplicon sequencing detected that 11 of the 1 031 genera were successfully isolated during the culture process, of which 6 genera were isolated only by the trehalose-methionine (TM) medium. The

TM medium was then used to isolate soil microorganism from typical habitats in Xinjiang. A total of 130 strains were isolated, which was 1.76 times the number of strains isolated by the trehalose-proline medium. The isolates belonged to 43 species, 20 genera, 12 families, 10 orders, 5 classes of 3 phyla, and a total of 44 strains of potential novel species were obtained. **[Conclusion]** The TM medium is conducive to the isolation of soil microorganism from typical habitats in Xinjiang, which lays a foundation for the mining of microbial resources from special habitats in Xinjiang.

**Keywords:** optimal carbon source; optimal amino acid; isolation and culture

极端微生物的研究一直处于微生物学的前沿,为我们理解生命及其极限开辟了未被探索的领域<sup>[1]</sup>。我国新疆地处亚欧大陆中心,受四周高山影响,海洋湿气难以到达,因此具有显著的温带大陆性气候特征。气温变化大,日照时间长,降水量少,逐渐形成了戈壁、荒漠等极端干旱生态环境<sup>[2]</sup>,在这些极端生境中,仍存在可以生长的微生物即极端微生物<sup>[3]</sup>,其种类繁多、生理生化作用复杂,在生态系统中起着重要作用<sup>[4]</sup>。然而,极端微生物通常无法在标准的实验室条件下生长。目前,我们主要依靠传统分离培养方法获得的菌株仅仅约占微生物物种总量的 0.1%–1.0%<sup>[5]</sup>。因此,新的培养方法对于培养微生物暗物质<sup>[6]</sup>中仍未被培养的部分至关重要。

对此问题,国内外开展了较多改进微生物培养方法、开发新型培养技术方面的研究工作<sup>[7]</sup>。改进微生物培养方法,如采用寡营养培养、延长培养时间和梯度稀释等方法对微生物的分离都取得了成效,马欣等<sup>[8]</sup>通过寡营养培养、富集培养和梯度稀释等方法,从青藏高原地区尕斯库勒盐湖中分离到的微生物,除可培养的巴纽尔斯菌门(*Balneolota*)、假单胞菌门(*Pseudomonadota*)和放线菌门(*Actinomycetota*)等,也可培养出难以培养的矿生菌属(*Fodinibius*)和盐杆形菌属(*Halohasta*)。培养基的设计可以增加不同微生物的数量,包括改变培养基成分、添加特定的化学物质和促进剂,以及改变胶凝剂等<sup>[9]</sup>。为了有效地培养特定环境中的微生物,首先必须解决其生理和代谢需求<sup>[10]</sup>,而培养基中的基本

成分碳源和氮源等就是影响微生物生理和代谢需求的主要因素。碳源如牛肉膏、蛋白胨和葡萄糖<sup>[11]</sup>等已被广泛应用于微生物的分离培养基中。然而,使用这些碳源时,常见微生物的分离率往往较高。因此,探索最适宜的碳源对于微生物的分离至关重要。彭云霞等<sup>[12]</sup>采用 5 g/L 的海藻糖、0.1%的 3-吗啉丙磺酸(3-morpholine propane sulfoinc acid, MOPS)、0.2%的丙烯酰胺(acrylamide, AM)和 0.2%乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA),稀有放线菌的出菌率超过 50%。陈正军等<sup>[13]</sup>采用海藻糖、棉籽糖、木聚糖、壳聚糖为碳源的不同培养基分离放线菌,其研究结果表明海藻糖、甘露醇是分离高盐环境放线菌的最佳碳源。氮源如牛肉膏、酵母膏、尿素等<sup>[10]</sup>都是常用氮源,再使用这些氮源,常见微生物的出菌率也会很大。陈正军等<sup>[13]</sup>采用肌酸、天冬氨酸和谷氨酸等作为氮源对新疆硝尔库勒盐湖的放线菌进行分离,其研究结果表明肌酸作为氮源的培养基分离效果最好,能分离到 10 个属 16 个不同种的放线菌,这表明氨基酸在微生物的分离中也具有重要的作用。

近年来,随着原位培养(主要包括扩散室法、分离芯片法、Trap 技术、Isolation-Tip 技术和胶囊包埋技术)、微流控培养技术和基于细胞分选的培养技术等新型培养技术的不断发展,以及高通量测序技术的快速发展,分离了许多难以培养的微生物以及新物种<sup>[14]</sup>。然而,新型方法尚不能大规模推广,并且目前国内外对其关键营养元素、复苏过程和机理、微生物相互

作用机理等方面的研究还非常缺乏。因此,熊盈盈等<sup>[14]</sup>认为可以采取传统培养法+新型培养法、培养法+多组学技术等方法的结合去分离难培养微生物。培养组学<sup>[1]</sup>是一种通过同时使用多种培养基将下一代测序与高通量培养相结合的新方法,其目的是鉴定给定样品中最能促进不同微生物生长的不同成分。该策略利用了上述培养改进以及高通量方法来检索大量的微生物菌落。培养组学是以恢复稀有和/或新的微生物谱系为目标而出现的,基于培养组学的方法,人们可以从各种极端环境中对极端微生物进行分离培养<sup>[15]</sup>。目前,培养组学<sup>[16]</sup>主要应用于培养和鉴定人类肠道微生物,未来可将该技术应用于环境微生物的分离培养。

本研究以新疆典型生境土壤为研究对象,对4种碳源与20种氨基酸,结合稀释涂布平板法进行最适碳源和氨基酸的筛选,并进行复配。用最适复配培养基对新疆典型生境土壤样品中的微生物进行分离培养,结合稀释涂布平板法和16S rRNA基因测序比较数量和种类差异,挖掘可培养微生物资源;并结合扩增子测序技术,与利用可培养技术分离的菌株进行比较,从而分析最适复配培养基对新疆典型生境土壤

微生物分离培养的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品

于2023年5月从我国新疆维吾尔自治区库勒市使用随机抽样方法随机采集沙土(柽柳沙堆,84°39'E,41°62'N,海拔850.9 m)、柽柳根际土(柽柳,84°94'E,41°68'N,海拔846.3 m)和戈壁土(无植被,84°94'E,41°68'N,海拔846.3 m)3种土壤样品。采集沙土和戈壁土时,先用无菌铲将表层土壤挖去,从0–20 cm的深度采集0.5 kg的土,取3个点(相距1 m)的样品合并作为一个单一样品。采集根际土时使用无菌铲去除地表植被,从0–20 cm的深度采集0.5 kg的土,取3个点(相距1 m)的样品合并作为一个单一样品。过2 mm (10目)筛网,将其各分为2个子样品,一份置于4℃保存,用于测定土壤基本理化特质,其结果如表1所示;另外一份样品置于–20℃保存,用于培养基的筛选及微生物的分离等后续实验。

### 1.2 主要试剂和仪器

海藻糖、MOPS,上海源叶生物科技有限公司;脯氨酸(proline, Pro)、放线菌酮(cycloheximide,

表1 新疆3种典型生境土壤基本理化性质

Table 1 Basic physical and chemical properties of soil from three typical habitats in Xinjiang

| 指标 Index                                  | 样品来源 Sample source |                                                       |                  |
|-------------------------------------------|--------------------|-------------------------------------------------------|------------------|
|                                           | 沙土<br>Sand soil    | 柽柳根际土<br>Rhizosphere soil of <i>Tamarix chinensis</i> | 戈壁土<br>Gobi soil |
| pH                                        | 8.44               | 8.70                                                  | 8.13             |
| 全磷 Total phosphorus (g/kg)                | 0.56               | 0.48                                                  | 0.50             |
| 总无机磷 Total inorganic phosphorus (g/kg)    | 0.42               | 0.44                                                  | 0.38             |
| 总有机磷 Total organic phosphorus (g/kg)      | 0.02               | 0.04                                                  | 0.01             |
| 全氮 Total nitrogen (g/kg)                  | 0.16               | 0.32                                                  | 0.25             |
| 总有机碳 Total organic carbon (g/kg)          | 3.44               | 4.47                                                  | 3.61             |
| 全钾 Total potassium (g/kg)                 | 17.33              | 16.68                                                 | 17.91            |
| 铵态氮 Ammonium nitrogen (mg/kg)             | 3.64               | 2.35                                                  | 0.90             |
| 硝态氮 Nitrate nitrogen (mg/kg)              | 37.57              | 27.54                                                 | 38.95            |
| 水溶性有机碳 Dissolved organic carbon (mg/kg)   | 479.77             | 67.30                                                 | 27.25            |
| 水溶性有机氮 Dissolved organic nitrogen (mg/kg) | 15.06              | 8.05                                                  | 15.03            |

CHX), 北京博奥拓达科技有限公司; AM, 上海麦克林生化科技股份有限公司; 甲硫氨酸(methionine, Met)、苏氨酸(threonine, Thr)和制霉菌素(nystatin), 北京酷来搏科技有限公司; EDTA和精氨酸(arginine, Arg), 北京索莱宝科技有限公司; 谷氨酸(glutamic acid, Glu), 天津市风船化学试剂科技有限公司; *Taq* DNA 聚合酶, 北京全式金生物技术股份有限公司; 引物 27F 和 1492R, 北京擎科生物科技股份有限公司西安分公司; 环境 DNA 提取试剂盒, Omega 公司; Q5<sup>®</sup> High-Fidelity DNA Polymerase, NEB 公司; 凝胶回收试剂盒, Axygen 公司。

高速冷冻离心机, 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司; 电泳仪, 北京六一生物技术有限公司; PCR 仪, 杭州朗基科学仪器有限公司; 凝胶成像分析系统, 伯乐生命医学产品(上海)有限公司; Illumina NovaSeq PE250 平台, Illumina 公司。

### 1.3 培养基

(1) 胰蛋白胨大豆琼脂(tryptose soy agar, TSA)培养基<sup>[17]</sup>, 加入 10 mg/mL 的制霉菌素, 用于微生物菌落计数; (2) 基础培养基(g/L): (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1.0, CaCl<sub>2</sub> 2.0, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1.0, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 1.0, NaCl 1.0, 琼脂 16.0, 蒸馏水 1 000 mL, pH 7.2, 加入 0.01 的制霉菌素和 0.025 的放线菌酮; (3) 碳源筛选培养基: 在基础培养基中加入脯氨酸 1.0 g/L, 分别添加 5.0 g/L 的海藻糖、MOPS、AM、EDTA, 用于最适碳源的筛选; (4) 氨基酸筛选培养基: 在基础培养基中加入海藻糖 5.0 g/L, 分别添加 1.0 g/L 的 Pro、Arg 和 Glu 等 20 种氨基酸, 用于最适氨基酸的筛选; (5) 最适复配培养基: 在基础培养基中添加 5.0 g/L 的最适碳源和 1.0 g/L 的最适氨基酸, 用于新疆典型生境土壤微生物的分离; (6) 溶菌肉汤培养基(LB 培养基)<sup>[18]</sup>, 用于微生物的分离纯化。

### 1.4 新疆典型生境土壤微生物菌落数的测定

参照李顺鹏<sup>[19]</sup>的方法, 对新疆 3 种典型生

境的土壤菌悬液以 10<sup>-1</sup>–10<sup>-6</sup> 梯度进行稀释涂布, 每个稀释度涂 3 个平板, 将涂布好的平板倒置于 37 °C 培养 2 d, 取出平板计算每个培养皿中的菌落数、同一稀释度的 3 次重复的平均数, 并按照以下公式计算每克土样中的菌落形成单位。每克土样中菌落形成单位(CFU)=同一稀释度 3 次重复的平均数×10<sup>稀释倍数</sup>×10。

### 1.5 最适碳源-氨基酸复配培养基的筛选及对新疆典型生境土壤微生物的分离培养

参照李顺鹏<sup>[19]</sup>的方法, 在基础培养基中加入脯氨酸, 分别添加海藻糖、EDTA、AM、MOPS 为碳源进行最适碳源的筛选; 在基础培养基中加入海藻糖, 分别添加 Pro、Arg 和 Glu 等 20 种氨基酸进行最适氨基酸的筛选, 对新疆 3 种典型生境土壤进行稀释涂布, 每个稀释度涂 3 个平板, 将涂布好的平板倒置于 28 °C 培养 3–4 d, 取出平板计算每个培养皿中的菌落数、同一稀释度的 3 次重复的平均数。采用最适碳源-氨基酸复配培养基对新疆典型生境中的土壤微生物进行分离培养, 对新疆 3 种典型生境土壤进行稀释涂布, 每个稀释度涂 3 个平板, 将涂布好的平板倒置于 28 °C 培养 7–10 d, 通过对微生物的形态及生长特点的对比, 去除菌落特征类似的菌株, 并将所分离的微生物接种于 LB 固体培养基上, 37 °C 培养 1–2 d, 平板划线 2–3 次对分离菌株进行单菌落纯化培养。

### 1.6 微生物种类的鉴定

参照张哲瑄<sup>[20]</sup>提取 DNA 的方法提取分离菌株的 DNA, 采用细菌通用引物 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTC-3')和 1492R (5'-CGGCTACCTTGTTACGACTT-3')对纯化菌株的 16S rRNA 基因进行 PCR 扩增。PCR 反应体系(20 μL): 模板 DNA 2 μL, 10×*EasyTaq* Buffer 2 μL, 二甲基亚砜(纯度≥99.5%) 2 μL, 引物混合液(27F 和 1492R 浓度均为 10 μmol/L) 2 μL, dNTPs (2.5 mmol/L) 1.5 μL, *Taq* DNA 聚合酶(5 U/μL) 0.2 μL, ddH<sub>2</sub>O 10.3 μL。PCR 反应条件: 94 °C 4 min; 94 °C 30 s, 56 °C 30 s, 72 °C 2 min,

35 个循环; 72 °C 10 min; 4 °C 保存。用 1% 琼脂糖凝胶检测 PCR 产物的质量, 将清晰且单一的 1 500 bp 目标条带的 PCR 扩增产物送往生工生物工程(上海)股份有限公司西安分公司测序, 将测序结果序列采用 SeqMan Pro v7.1.0 软件进行拼接, 用 EzBioCloud 数据库 (<https://www.ezbiocloud.net/>) 进行相似度比对, 根据相似性比对结果判断出微生物的种属关系。

### 1.7 土壤 DNA 的提取及扩增子测序

参照杨果等<sup>[21]</sup>的方法对新疆典型生境土壤 DNA 进行提取及扩增子测序。

### 1.8 新疆典型生境土壤微生物群落组成分析

参照刘忆思等<sup>[22]</sup>的方法对扩增子测序数据进行生物信息学分析, 结合扩增子测序技术和可培养技术对新疆典型生境土壤微生物群落组成进行分析, 从而分析最适复配培养基对新疆典型生境土壤微生物分离培养的影响。

## 2 结果与分析

### 2.1 新疆典型生境土壤微生物菌落数的测定及其最适稀释梯度

为了确定新疆典型生境土壤的最适稀释梯度, 便于后续培养基的筛选, 本研究采用稀释涂布平板法测定了菌落数, 结果如表 2 所示。

在  $10^{-1}$  下观察到沙土和根际土的菌落数均超过 300 CFU, 戈壁土的菌落数为 157 CFU。在  $10^{-2}$  下观察到沙土的菌落数为 129 CFU, 根际土的菌落数为 33 CFU, 戈壁土的菌落数极少。通过统计, 沙土中菌落数为  $1.29 \times 10^5$  CFU/g, 根际土中菌落数为  $3.3 \times 10^4$  CFU/g, 戈壁土中菌落数为  $1.57 \times 10^4$  CFU/g, 每克沙土微生物的菌落数 > 每克怪柳根际土微生物的菌落数 > 每克戈壁土微生物的菌落数。其中沙土和怪柳根际土在  $10^{-2}$  稀释梯度下获得的菌落数在 30–300 内, 戈壁土在  $10^{-1}$  稀释梯度下获得的菌落数在 30–300 内, 便于计数统计。

表 2 新疆 3 种典型生境土壤菌落计数表

Table 2 Soil colony count table from three typical habitats in Xinjiang

| 样品来源<br>Sample<br>source                                        | 稀释度<br>Dilutability | 每皿菌落数<br>Number of<br>colonies per dish<br>(CFU) |     |     | 平均菌落数<br>Average<br>colony count<br>(CFU) |
|-----------------------------------------------------------------|---------------------|--------------------------------------------------|-----|-----|-------------------------------------------|
| 沙土<br>Sand soil                                                 | $10^{-2}$           | 164                                              | 102 | 122 | 129±31                                    |
|                                                                 | $10^{-3}$           | 2                                                | 8   | 5   | 5±3                                       |
|                                                                 | $10^{-4}$           | 0                                                | 1   | 0   | —                                         |
|                                                                 | $10^{-5}$           | 1                                                | 0   | 1   | —                                         |
|                                                                 | $10^{-6}$           | 0                                                | 1   | 0   | —                                         |
| 怪柳根际土<br>Rhizosphere<br>soil of<br><i>Tamarix<br/>chinensis</i> | $10^{-2}$           | 22                                               | 14  | 63  | 33±26                                     |
|                                                                 | $10^{-3}$           | 2                                                | 0   | 0   | —                                         |
|                                                                 | $10^{-4}$           | 0                                                | 0   | 1   | —                                         |
|                                                                 | $10^{-5}$           | 2                                                | 0   | 0   | —                                         |
|                                                                 | $10^{-6}$           | 0                                                | 1   | 1   | —                                         |
| 戈壁土<br>Gobi soil                                                | $10^{-1}$           | 143                                              | 168 | 160 | 157±12                                    |
|                                                                 | $10^{-2}$           | 3                                                | 0   | 0   | —                                         |
|                                                                 | $10^{-3}$           | 0                                                | 0   | 0   | —                                         |
|                                                                 | $10^{-4}$           | 0                                                | 0   | 0   | —                                         |
|                                                                 | $10^{-5}$           | 0                                                | 0   | 0   | —                                         |
|                                                                 | $10^{-6}$           | 0                                                | 0   | 0   | —                                         |

—: 无法计算平均值。

—: The average cannot be calculated.

### 2.2 最适碳源的筛选结果

为了探究海藻糖、EDTA、AM、MOPS 对新疆典型生境土壤微生物分离的影响, 确定最适碳源, 本研究采用稀释涂布平板法对 4 种不同的碳源进行筛选, 3 次重复后的菌落数结果如图 1 所示。采用海藻糖作为碳源时, 获得的总菌落数最多, 共获得了 481 CFU, 其中沙土获得的菌落数最多为 257 CFU。采用 MOPS 作为碳源时, 共获得了 254 CFU, 沙土获得的菌落数最多为 119 CFU。采用 AM 作为碳源时, 共获得了 94 CFU, 沙土获得的菌落数最多为 49 CFU。采用以上 3 种碳源时, 获得菌落数均为沙土 > 怪柳根际土 > 戈壁土; 采用 EDTA 作为碳源时, 获得的总菌落数最少, 共获得了 64 CFU。结果表明采用海藻糖作为碳源时, 获得的总菌落数最多。

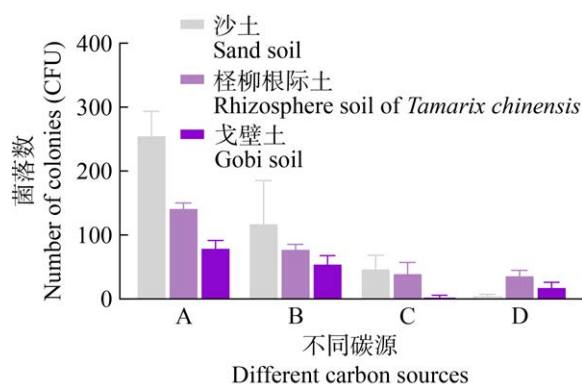


图1 四种碳源的筛选结果 A: 海藻糖; B: 3-吗啉丙磺酸; C: 丙烯酰胺; D: 乙二胺四乙酸。  
Figure 1 Screening results of four carbon sources. A: Trehalose; B: 3-morpholine propane sulfoinc acid (MOPS); C: Acrylamide (AM); D: Ethylene diamine tetraacetic acid (EDTA).

对沙土-柽柳根际土、沙土-戈壁土和柽柳根际土-戈壁土进行多重  $t$  检验。如图 2A 所示, 沙土-柽柳根际土存在显著差异的碳源为海藻糖和 EDTA; 如图 2B 所示, 沙土-戈壁土存在显著差异的碳源为海藻糖、AM 和 EDTA; 如图 2C 所示, 柽柳根际土-戈壁土存在显著差异的碳源为海藻糖、MOPS、AM 和 EDTA; 结果表明在 3 种典型生境中均存在显著差异的碳源为海藻

糖和 EDTA。以海藻糖为碳源的培养基对新疆典型生境分离微生物有显著性的差异, 并且出菌数最高, 表明海藻糖是分离新疆典型生境土壤微生物的最适碳源。

## 2.3 最适氨基酸的筛选结果

为了探究 20 种氨基酸对新疆典型生境土壤微生物分离的影响, 确定最适氨基酸, 本研究采用稀释涂布平板法对 20 种氨基酸进行初次筛选, 3 次重复后的菌落数结果如图 3 所示。

沙土在添加脯氨酸(Pro)、赖氨酸(lysine, Lys)、精氨酸(arginine, Arg)、谷氨酸(glutamic acid, Glu)、苏氨酸(threonine, Thr)、苯丙氨酸(phenylalanine, Phe)、天冬酰胺(asparagine, Asn)、亮氨酸(leucine, Leu)和丙氨酸(alanine, Ala)时, 平板上得到的菌落数均为 300 CFU 以上, 占比分别为 8.95%、6.45%、9.22%、6.22%、7.37%、6.47%、6.26%、6.18%和 6.38%, 其中添加精氨酸(Arg)时沙土出菌数最高, 为 473 CFU, 占比为 9.22%。柽柳根际土在添加脯氨酸(Pro)、精氨酸(Arg)、谷氨酸(Glu)、苏氨酸(Thr)、天冬酰胺(Asn)、谷氨酰胺(Gln)、丙氨酸(Ala)和甲硫氨酸(Met)时, 平板上得到的菌落数均为 300 CFU 以上, 占比分别为 7.41%、8.43%、9.58%、9.50%、6.49%、6.25%、

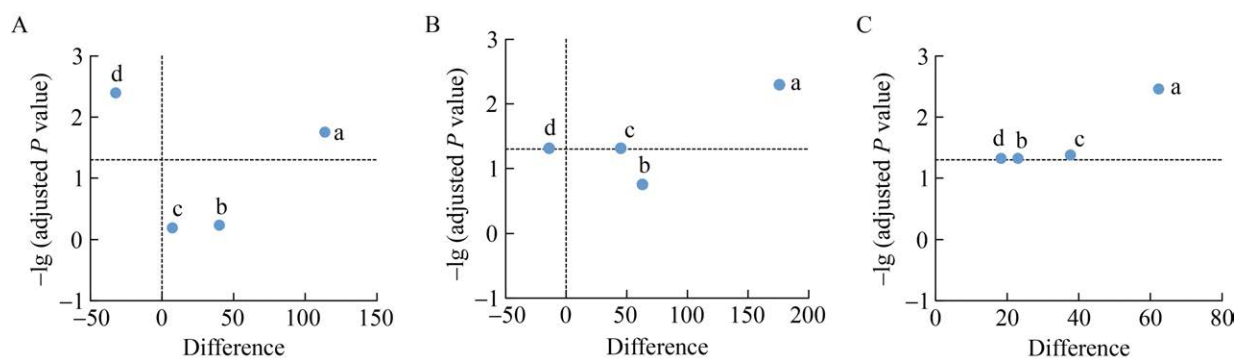
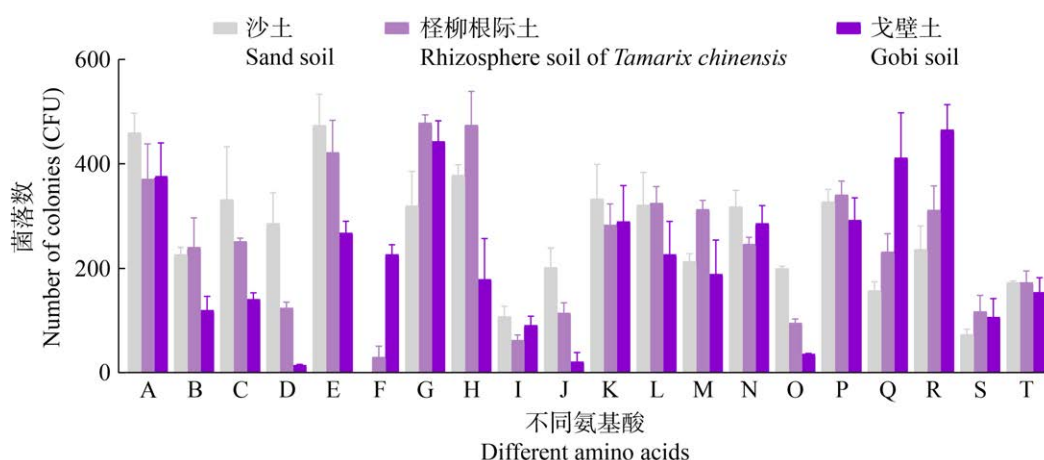


图2 四种碳源的多重  $t$  检验结果火山图 A: 沙土-柽柳根际土; B: 沙土-戈壁土; C: 柽柳根际土-戈壁土。a: 海藻糖; b: 3-吗啉丙磺酸; c: 丙烯酰胺; d: 乙二胺四乙酸。  
Figure 2 Volcanic map of multiple  $t$ -test results of four carbon sources. A: Sand soil-rhizosphere soil of *Tamarix chinensis*; B: Sand soil-Gobi soil; C: Rhizosphere soil of *Tamarix chinensis*-Gobi soil. a: Trehalose; b: 3-morpholine propane sulfoinc acid (MOPS); c: Acrylamide (AM); d: Ethylene diamine tetraacetic acid (EDTA).





**图3 二十种氨基酸的初筛结果** A: 脯氨酸; B: 酪氨酸; C: 赖氨酸; D: 组氨酸; E: 精氨酸; F: 天冬氨酸; G: 谷氨酸; H: 苏氨酸; I: 半胱氨酸; J: 色氨酸; K: 苯丙氨酸; L: 天冬酰胺; M: 谷氨酰胺; N: 亮氨酸; O: 丝氨酸; P: 丙氨酸; Q: 缬氨酸; R: 甲硫氨酸; S: 甘氨酸; T: 异亮氨酸。  
Figure 3 Preliminary screening results of 20 amino acids. A: Proline (Pro); B: Tyrosine (Tyr); C: Lysine (Lys); D: Histidine (His); E: Arginine (Arg); F: Aspartic acid (Asp); G: Glutamic acid (Glu); H: Threonine (Thr); I: Cysteine (Cys); J: Tryptophan (Trp); K: Phenylalanine (Phe); L: Asparagine (Asn); M: Glutamine (Gln); N: Leucine (Leu); O: Serine (Ser); P: Alanine (Ala); Q: Valine (Val); R: Methionine (Met); S: Glycine (Gly); T: isoleucine (Ile).

6.81%和 6.23%, 其中添加谷氨酸(Glu)时柽柳根际土出菌数最高, 为 478 CFU, 占比为 9.58%。戈壁土在添加脯氨酸(Pro)、精氨酸(Arg)、天冬氨酸(Asp)、谷氨酸(Glu)、苯丙氨酸(Phe)、天冬酰胺(Asn)、亮氨酸(Leu)、丙氨酸(Ala)、缬氨酸(valine, Val)和甲硫氨酸(Met)时, 平板上得到的菌落数均为 200 CFU 以上, 占比分别为 8.69%、6.17%、5.25%、10.21%、6.68%、5.22%、6.59%、6.73%、9.50%和 10.75%, 其中在添加甲硫氨酸(Met)时戈壁土出菌数最高, 为 465 CFU, 占比为 10.75%。结果表明, 添加精氨酸(Arg)、谷氨酸(Glu)和甲硫氨酸(Met)时分别有利于分离新疆沙土、柽柳根际土和戈壁土中的微生物。除此之外, 添加脯氨酸(Pro)和苏氨酸(Thr)时 3 种生境获得的总菌落数也均超过了 1 000 CFU。综上, 初次筛选出了利于分离新疆典型生境土壤微生物的 5 种氨基酸, 脯氨酸(Pro)、精氨酸(Arg)、谷氨酸(Glu)、苏氨酸(Thr)和甲硫氨酸(Met)。

为了确定最适氨基酸, 对脯氨酸(Pro)、精氨酸(Arg)、谷氨酸(Glu)、苏氨酸(Thr)和甲硫氨酸

(Met)这 5 种氨基酸进行复筛, 测定了新疆典型生境土样在这 5 种培养基的平板上的菌落数, 其 3 次重复后的菌落数结果如图 4 所示。在添加甲硫氨酸(Met)时, 获得的总菌落数最多, 共获得了 990 CFU, 戈壁土获得的菌落数最多为 457 CFU。在添加脯氨酸(Pro)时, 共获得了 830 CFU, 戈壁土获得的菌落数最多为 411 CFU。在添加精氨酸(Arg)时, 共获得了 808 CFU, 戈壁土获得的菌落数最多为 313 CFU。在添加谷氨酸(Glu)时, 共获得了 797 CFU, 戈壁土获得的菌落数最多为 396 CFU。在添加苏氨酸(Thr)时, 获得的总菌落数最少, 共获得了 629 CFU, 戈壁土获得的菌落数最多为 320 CFU。结果表明添加甲硫氨酸(Met)时, 获得的总菌落数最多。

对沙土-柽柳根际土、沙土-戈壁土和柽柳根际土-戈壁土进行多重 *t* 检验。如图 5A 所示, 添加脯氨酸(Pro)、谷氨酸(Glu)、苏氨酸(Thr)、精氨酸(Arg)和甲硫氨酸(Met)时均不存在显著差异; 如图 5B 所示, 添加脯氨酸(Pro)、谷氨酸(Glu)、苏氨酸(Thr)和甲硫氨酸(Met)时均存



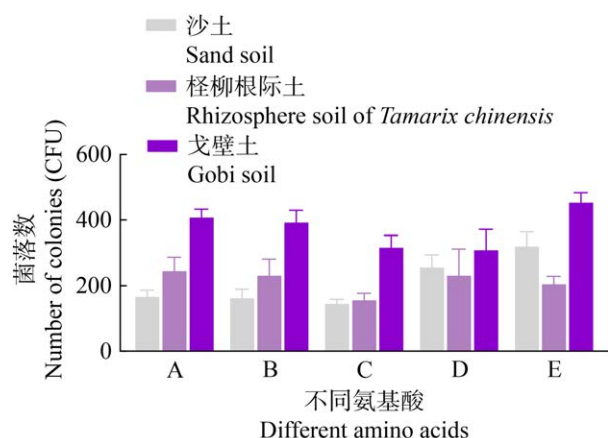


图4 五种氨基酸的复筛结果 A: 脯氨酸; B: 谷氨酸; C: 苏氨酸; D: 精氨酸; E: 甲硫氨酸。  
Figure 4 The rescreening results of five amino acids. A: Pro; B: Glu; C: Thr; D: Arg; E: Met.

在显著差异; 如图5C所示, 添加脯氨酸(Pro)、谷氨酸(Glu)、苏氨酸(Thr)和甲硫氨酸(Met)时均存在显著差异; 结果表明在2种典型生境中均存在显著差异的氨基酸为脯氨酸(Pro)、谷氨酸(Glu)、苏氨酸(Thr)和甲硫氨酸(Met)。综上, 添加甲硫氨酸(Met)的培养基对新疆典型生境柽柳根际土和戈壁土分离微生物有显著性的差异, 并且出菌数最高, 表明甲硫氨酸(Met)是分离新疆典型生境土壤微生物的最适氨基酸。

## 2.4 新疆典型生境土壤微生物群落组成分析结果

### 2.4.1 新疆典型生境土壤免培养微生物群落结构

对新疆典型生境土壤微生物进行物种注释, 共检测出58个门161个纲298个目488个科1031个属, 如图6所示, 其中丰度较高的前10个门的种类分别是变形菌门(*Proteobacteria*)、放线菌门(*Actinomycetota*)、拟杆菌门(*Bacteroidota*)、出芽单胞菌门(*Gemmatimonadota*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)、TM7、绿弯菌门(*Chloroflexota*)、蓝细菌门(*Cyanobacteria*)、浮霉状菌门(*Planctomycetota*)、广古菌门(*Euryarchaeota*), 丰度较高的前10个属的种类分别是尤泽比氏菌属(*Euzebya*)、Unclassified\_Gemm\_4、KSA1、*Ectothiorhodospiraceae\_Group*、海杆菌属(*Marinobacter*)、盐单胞菌属(*Halomonas*)、解脲杆菌属(*Nitriiliruptor*)、Unclassified\_MB\_A2\_108、盐坑微菌属(*Salinimicrobium*)、*Rhodothermaceae\_Group*。其中沙土群落组成最为丰富(50个门131个纲226个目353个科623个属), 柽柳根际土(38个门102个纲181个目309个科584个属)和戈壁土(34个门86个纲159个目270个科509个属)在各分类水平上逐渐减少。

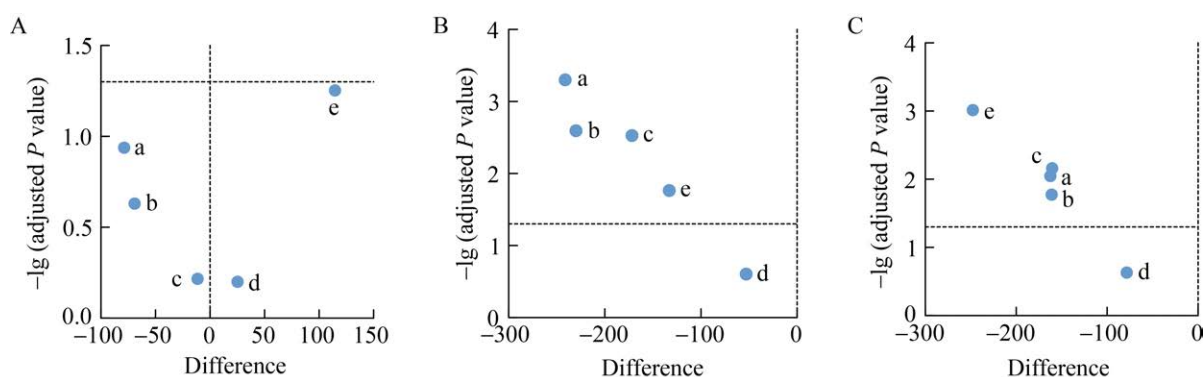


图5 五种氨基酸的多重t检验结果火山图 A: 沙土-柽柳根际土; B: 沙土-戈壁土; C: 柽柳根际土-戈壁土。a: 脯氨酸; b: 谷氨酸; c: 苏氨酸; d: 精氨酸; e: 甲硫氨酸。

Figure 5 Volcanic map of multiple *t*-test results of five amino acids. A: Sand soil-rhizosphere soil of *Tamarix chinensis*; B: Sand soil-Gobi soil; C: Rhizosphere soil of *Tamarix chinensis*-Gobi soil. a: Pro; b: Glu; c: Thr; d: Arg; e: Met.

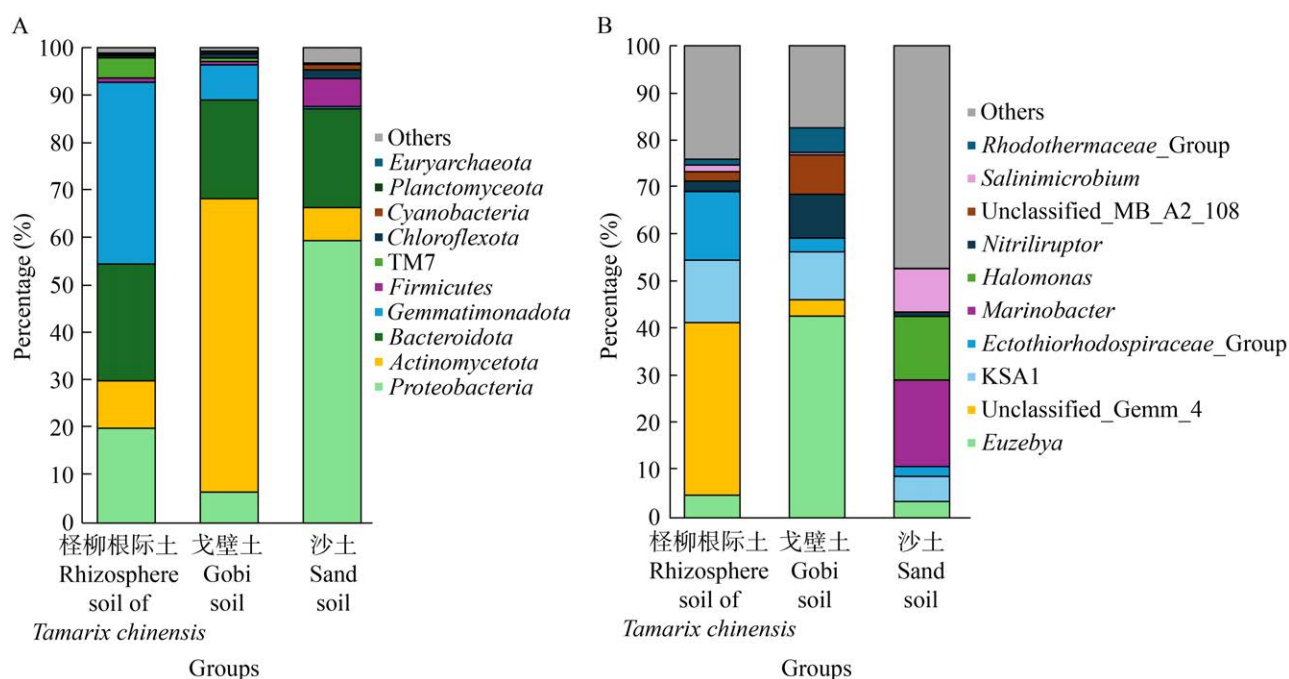


图 6 新疆典型生境土壤微生物门水平群落组成(A)及(B)属水平群落组成 A: 相对丰度前 10 的门; B: 相对丰度前 10 的属。

Figure 6 Soil microbial phylum level community composition (A) and genus level community composition (B) from typical habitats in Xinjiang. A: Top 10 phyla in relative abundance; B: Top 10 genera in relative abundance.

#### 2.4.2 新疆典型生境土壤可培养微生物群落结构

由 2.2 和 2.3 的结果表明最适复配培养基为海藻糖-甲硫氨酸(trehalose-methionine, TM)培养基。以海藻糖-脯氨酸(trehalose-proline, TP)培养基<sup>[20]</sup>为对照,采用稀释涂布平板法用 TM 培养基对新疆典型生境土壤中的微生物进行分离培养,经 16S rRNA 基因测序和序列比对分析,共得 204 株菌[相关数据已提交至国家微生物科学数据中心 (<https://nmdc.cn/resource/attachment/detail/NMDCX0001765>), 编号为 NMDCX0001765]和核酸序列(存储在国家微生物科学数据中心编号为 NMDCN0005UAR-NMDCN0005UH6), 分属于 3 个门 5 个纲 11 个目 14 个科 25 个属, 共 55 个种(表 3)。

#### 2.4.3 新疆典型生境土壤免培养与可培养微生物群落多样性的异同

本研究以新疆典型生境土壤微生物为研究

对象,通过免培养和可培养技术比较其微生物群落组成差异(图 7),结果表明采用可培养技术得到的微生物在 5 个分类水平上的数量都要比免培养技术的要少。

经过扩增子测序的深入分析, *Proteobacteria*、*Actinomycetota*、*Bacteroidota*、*Gemmatimonadota*、*Firmicutes* 这 5 个菌门在样本中的丰度最高。其中 *Proteobacteria*、*Actinomycetota*、*Firmicutes* 这 3 个菌门不仅在扩增子测序结果中显示出较高的丰度,同时在可培养分离过程中也获得了这 3 个优势菌门。此外,扩增子测序共检测到 1 031 个属中有 11 个在可培养过程中成功分离,其中如图 8 所示, *Bacillus*、短芽孢杆菌属(*Brevibacillus*)、类芽孢杆菌属(*Paenibacillus*)和链霉菌属(*Streptomyces*)这 4 个属在 TP 培养基和 TM 培养基中都分离得到了,考克氏菌属(*Kocuria*)只在 TP 培养基分离得到,芽殖球菌属(*Blastococcus*)、糖霉菌属(*Glycomyces*)、

表 3 分离培养获得的新疆典型生境土壤微生物

| Phylum         | Class         | Order                   | Family                   | Genus                     | Species                             | Strain number                                                                                                                |
|----------------|---------------|-------------------------|--------------------------|---------------------------|-------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Actinomycetota | Actinomycetia | Geodermatophilales      | Geodermatophilaceae      | <i>Blastococcus</i>       | <i>B. capsensis</i>                 | TRMMKY61                                                                                                                     |
|                |               |                         |                          |                           | <i>B. jejuensis</i>                 | TRMMKD32                                                                                                                     |
|                |               |                         |                          |                           | <i>B. saxobsidens</i>               | TRMMKY60                                                                                                                     |
|                |               |                         | <i>Glycomycetales</i>    | <i>Glycomyces</i>         | <i>G. harbinensis</i>               | TRMMKW13, TRMMKW22, TRMMKW26                                                                                                 |
|                |               |                         |                          |                           |                                     | TRMPKW6, TRMPKY4                                                                                                             |
|                |               |                         |                          |                           |                                     | TRMMKW30                                                                                                                     |
|                |               | <i>Micrococcales</i>    | <i>Micrococcaceae</i>    | <i>Kocuria</i>            | <i>K. salina</i>                    | TRMPKW11, TRMMKW29, TRMMKW31                                                                                                 |
|                |               |                         |                          |                           | <i>S. bellus</i>                    | TRMPKY1, TRMMKW5, TRMMKW14, TRMMKW21, TRMMKW23, TRMMKW25, TRMMKW28, TRMMKY5                                                  |
|                |               | <i>Streptomycetales</i> | <i>Streptomycetaceae</i> | <i>Streptomyces</i>       | <i>S. lusitanus</i>                 | TRMMKW6, TRMMKW9, TRMMKW18                                                                                                   |
|                |               |                         |                          |                           | <i>S. mangrovi</i>                  | TRMPKY1, TRMMKW5, TRMMKW14, TRMMKW21, TRMMKW23, TRMMKW25, TRMMKW28, TRMMKY5                                                  |
| Firmicutes     | Bacilli       | Bacillales              | Bacillaceae              | <i>Alkalihalobacillus</i> | <i>S. radiopugnans</i>              | TRMMKW6, TRMMKW9, TRMMKW18                                                                                                   |
|                |               |                         |                          |                           | <i>S. salilacus</i>                 | TRMMKW1                                                                                                                      |
|                |               |                         |                          |                           | <i>S. spinoverrucosus</i>           | TRMPKW15, TRMMKW35                                                                                                           |
|                |               |                         |                          |                           | <i>S. thinghirensis</i>             | TRMMKW33                                                                                                                     |
|                |               |                         |                          |                           | <i>Bacillus suaedae</i>             | TRMPKW3, TRMPKW7, TRMPKY5, TRMPKY11, TRMPKY31, TRMPKY32, TRMMKD16, TRMMKW15, TRMMKY1, TRMMKY35, TRMMKY39, TRMMKY48, TRMMKY51 |
|                |               |                         |                          |                           | <i>Halalkalibacter urbisdiaboli</i> | TRMPKY19, TRMMKY7                                                                                                            |
|                |               |                         |                          |                           | <i>B. mesophilus</i>                | TRMPKY25, TRMPKY38                                                                                                           |
|                |               |                         |                          |                           | <i>B. paralicheniformis</i>         | TRMPKD20                                                                                                                     |
|                |               |                         |                          |                           |                                     |                                                                                                                              |
|                |               |                         |                          |                           |                                     |                                                                                                                              |

(待续)

(续表 3)

| Phylum            | Class          | Order             | Family             | Genus               | Species                      | Strain number                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|-------------------|----------------|-------------------|--------------------|---------------------|------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Firmicutes</i> | <i>Bacilli</i> | <i>Bacillales</i> | <i>Bacillaceae</i> | <i>Bacillus</i>     | <i>B. paramobilis</i>        | TRMPKD11, TRMPKW16                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|                   |                |                   |                    |                     | <i>B. rugosus</i>            | TRMPKD2                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|                   |                |                   |                    |                     | <i>B. swazeyi</i>            | TRMMKW2, TRMMKW3,<br>TRMMKW10, TRMMKW11,<br>TRMMKW12                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|                   |                |                   |                    |                     | <i>B. velezensis</i>         | TRMPKW13, TRMPKY12,<br>TRMMKY22, TRMMKY36                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|                   |                |                   |                    |                     | <i>B. zhangzhouensis</i>     | TRMPKD10, TRMMKY50                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|                   |                |                   |                    | <i>Bacillus_g28</i> | <i>Bacillus taeanensis</i>   | TRMPKD15, TRMPKD16,<br>TRMPKD18, TRMPKD19,<br>TRMMKD12, TRMMKD17,<br>TRMMKD18, TRMMKD23,<br>TRMMKD24, TRMMKD26                                                                                                                                                                                                                                                       |
|                   |                |                   |                    |                     | <i>C. oceanisediminis</i>    | TRMMKD20, TRMMKD22                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|                   |                |                   |                    |                     | <i>Bacillus cheonanensis</i> | TRMMKW16                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|                   |                |                   |                    |                     | <i>L. salsa</i>              | TRMPKD3, TRMPKW9,<br>TRMPKW10, TRMPKW12,<br>TRMPKW14, TRMPKY2,<br>TRMPKY3, TRMPKY6,<br>TRMPKY9, TRMPKY14,<br>TRMPKY16, TRMPKY21,<br>TRMPKY26, TRMPKY28,<br>TRMPKY29, TRMPKY35,<br>TRMPKY37, TRMPKY40,<br>TRMMKW19, TRMMKW20,<br>TRMMKW24, TRMMKY6,<br>TRMMKY8, TRMMKY10,<br>TRMMKY11, TRMMKY13,<br>TRMMKY15, TRMMKY16,<br>TRMMKY18, TRMMKY19,<br>TRMMKY23, TRMMKY25, |
|                   |                |                   |                    | <i>Cytobacillus</i> |                              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|                   |                |                   |                    | <i>Litchfieldia</i> |                              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |

(待续)

| (续表 3)     |         |            |             |              |             |                                                                                                                                                                 |                 |                       |                     |               |                    |                    |               |                     |      |
|------------|---------|------------|-------------|--------------|-------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|-----------------------|---------------------|---------------|--------------------|--------------------|---------------|---------------------|------|
| Phylum     | Class   | Order      | Family      | Genus        | Species     | Strain number                                                                                                                                                   |                 |                       |                     |               |                    |                    |               |                     |      |
| Firmicutes | Bacilli | Bacillales | Bacillaceae | Litchfieldia | L. salsa    | TRMMKY28, TRMMKY29, TRMMKY32, TRMMKY33, TRMMKY34, TRMMKY37, TRMMKY41, TRMMKY43, TRMMKY53, TRMMKY58                                                              |                 |                       |                     |               |                    |                    |               |                     |      |
|            |         |            |             |              |             | TRMMKW17                                                                                                                                                        |                 |                       |                     |               |                    |                    |               |                     |      |
|            |         |            |             |              |             | TRMPKW2, TRMPKW5, TRMPKW8, TRMPKY10, TRMPKY24, TRMPKY30, TRMPKY42, TRMMKW8, TRMMKY20, TRMMKY38, TRMMKY55                                                        |                 |                       |                     |               |                    |                    |               |                     |      |
|            |         |            |             |              |             | TRMPKD9, TRMMKD1, TRMMKD5, TRMMKD11                                                                                                                             |                 |                       |                     |               |                    |                    |               |                     |      |
|            |         |            |             |              |             | TRMPKD4, TRMPKD5, TRMPKD6, TRMPKD7, TRMPKD8, TRMPKD13, TRMPKD14, TRMPKD17, TRMMKD3, TRMMKD7, TRMMKD8, TRMMKD9, TRMMKD28, TRMMKD29, TRMMKD30, TRMMKD31, TRMMKW27 |                 |                       |                     |               |                    |                    |               |                     |      |
|            |         |            |             |              |             | TRMPKD1, TRMMKD4, TRMMKD6, TRMMKD13, TRMMKD15, TRMMKD25, TRMMKD27, TRMMKY63                                                                                     |                 |                       |                     |               |                    |                    |               |                     |      |
|            |         |            |             |              |             | TRMMKD14                                                                                                                                                        |                 |                       |                     |               |                    |                    |               |                     |      |
|            |         |            |             |              |             | TRMMKD2, TRMMKD21                                                                                                                                               |                 |                       |                     |               |                    |                    |               |                     |      |
|            |         |            |             |              |             | TRMPKW4                                                                                                                                                         |                 |                       |                     |               |                    |                    |               |                     |      |
|            |         |            |             |              |             | TRMMKD19                                                                                                                                                        |                 |                       |                     |               |                    |                    |               |                     |      |
|            |         |            |             | Metabacillus | M. bambusae | M. crassostreae                                                                                                                                                 | M. endolithicus | M. halosaccharovorans | M. rhizohycopersici | M. schmidteae |                    |                    |               |                     |      |
|            |         |            |             |              |             |                                                                                                                                                                 |                 |                       |                     |               | M. sediminilitoris | P. frigoritolerans | P. salsuginis |                     |      |
|            |         |            |             |              |             |                                                                                                                                                                 |                 |                       |                     |               |                    |                    |               | Pseudalkalibacillus | (待续) |

(续表 3)

| Phylum              | Class               | Order             | Family             | Genus                   | Species                       | Strain number                                                                            |
|---------------------|---------------------|-------------------|--------------------|-------------------------|-------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|
| Firmicutes          | Bacilli             | Bacillales        | Paenibacillaceae   | Rosellomorea            | CP033051_s                    | TRMPKY43                                                                                 |
|                     |                     |                   |                    | Brevibacillus           | B. dissolubilis               | TRMPKY7, TRMMKY2, TRMMKY30                                                               |
|                     |                     |                   |                    | Paenibacillus           | AB637268_s                    | TRMPKW1, TRMPKY27, TRMMKW4, TRMMKW7, TRMMKY3, TRMMKY4, TRMMKY14, TRMMKY46                |
|                     |                     |                   |                    |                         | AB637269_s                    | TRMMKY40, TRMMKY56                                                                       |
|                     |                     |                   |                    |                         | HQ697916_s                    | TRMPKD12                                                                                 |
|                     |                     |                   |                    | P. auburnensis          |                               | TRMPKY8                                                                                  |
|                     |                     |                   |                    | P. bouchedurhonensis    |                               | TRMMKY49                                                                                 |
|                     |                     |                   |                    | P. lactis               |                               | TRMPKY18                                                                                 |
|                     |                     |                   |                    | P. pabuli               |                               | TRMMKY21, TRMMKY31                                                                       |
|                     |                     |                   |                    | P. sambharensis         |                               | TRMMKY59                                                                                 |
|                     |                     |                   |                    | P. tarimensis           |                               | TRMPKY20, TRMMKY12, TRMMKY24, TRMMKY27, TRMMKY45, TRMMKY47, TRMMKY52, TRMMKY54, TRMMKY57 |
|                     |                     |                   |                    |                         |                               | TRMMKW32, TRMMKW34                                                                       |
|                     |                     |                   |                    | Lysinibacillus          | L. capsici                    | TRMMKY17                                                                                 |
|                     |                     |                   |                    | Psychrobacillus         | P. glaciei                    | TRMMKY42                                                                                 |
|                     |                     |                   |                    | Nitratireductor         | N. luteus                     | TRMPKY17, TRMPKY23                                                                       |
|                     |                     |                   |                    | Azospirillum            | A. agricola                   | TRMMKY62                                                                                 |
|                     |                     |                   |                    | Caenispirillum          | C. humi                       | TRMPKY41                                                                                 |
|                     |                     |                   |                    | Alteripontixanthobacter | A. muriae                     | TRMPKY34, TRMPKY44, TRMMKY26                                                             |
|                     |                     |                   |                    | Croceibacterium         | C. soli                       | TRMMKY44                                                                                 |
| Proteobacteria      | Alphaproteobacteria | Rhizobiales       | Planococcaceae     | Alcaligenes             | A. faecalis subsp. phenolicus | TRMMKY44                                                                                 |
|                     |                     |                   | Phyllobacteriaceae | Halomonas               | H. qijiaojingensis            | TRMMKD10                                                                                 |
|                     |                     |                   | Azospirillaceae    | Pseudomonadaceae        | P. simiae                     | TRMMKY9                                                                                  |
|                     |                     |                   | Rhodospirillaceae  |                         |                               |                                                                                          |
|                     |                     |                   | Erythrobacteraceae |                         |                               |                                                                                          |
|                     |                     |                   |                    |                         |                               |                                                                                          |
|                     |                     |                   |                    |                         |                               |                                                                                          |
|                     |                     |                   |                    |                         |                               |                                                                                          |
|                     |                     |                   |                    |                         |                               |                                                                                          |
|                     |                     |                   |                    |                         |                               |                                                                                          |
| Betaproteobacteria  | Betaproteobacteria  | Burkholderiales   | Alcaligenaceae     |                         |                               |                                                                                          |
|                     |                     |                   |                    |                         |                               |                                                                                          |
|                     |                     |                   |                    |                         |                               |                                                                                          |
| Gammaproteobacteria | Gammaproteobacteria | Oceanospirillales | Halomonadaceae     |                         |                               |                                                                                          |
|                     |                     |                   | Pseudomonadaceae   |                         |                               |                                                                                          |



*Halomonas*、赖氨酸芽孢杆菌属(*Lysinibacillus*)、硝酸盐还原菌属(*Nitratireductor*)和假单胞菌属(*Pseudomonas*)这 6 个属只在 TM 培养基分离得到。而产碱菌属(*Alcaligenes*)、嗜碱盐芽孢杆菌属(*Alkalihalobacillus*)、另类海黄杆菌属(*Alteripontixanthobacter*)、固氮螺菌属(*Azospirillum*)、*Bacillus\_g28*、污泥螺菌属(*Caenispirillum*)、金黄

色杆菌属(*Croceibacterium*)、泡状芽孢杆菌属(*Cytobacillus*)、利齐菲尔德氏菌属(*Litchfieldia*)、副芽孢杆菌属(*Metabacillus*)、近芽孢杆菌属(*Peribacillus*)、假碱芽孢杆菌属(*Pseudalkalibacillus*)、嗜冷芽孢杆菌属(*Psychrobacillus*)、罗塞略莫拉氏菌属(*Rossellomorea*)这 14 个属只通过可培养分离得到,其中 *Alteripontixanthobacter*、*Azospirillum*、

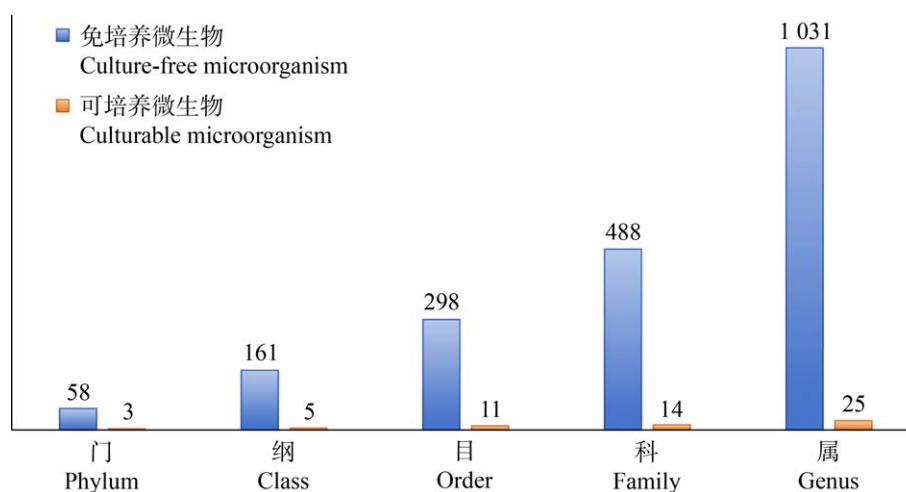


图 7 新疆典型生境免培养和可培养微生物不同分类水平数量比较

Figure 7 Comparison of the number of different classification levels of uncultured and culturable microorganism from typical habitats in Xinjiang.

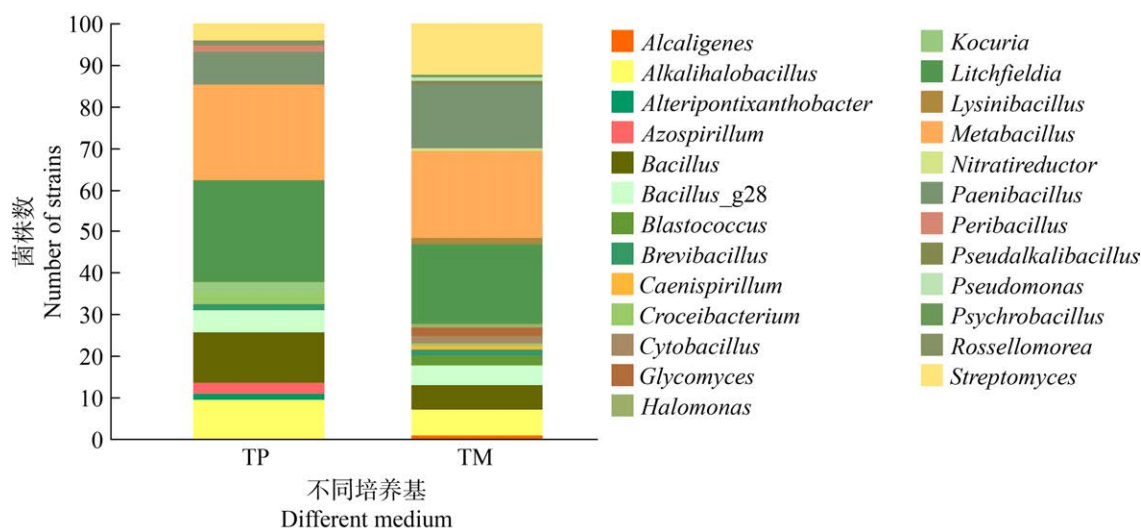


图 8 新疆典型生境可培养微生物在 TP 和 TM 培养基的菌属分布

Figure 8 The distribution of culturable microorganism in TP and TM media from typical habitats in Xinjiang.

*Peribacillus* 和 *Rossellomorea* 这 4 个属只通过 TP 培养基分离得到, *Alcaligenes*、*Caenispirillum*、*Cytobacillus*、*Pseudalkalibacillus* 和 *Psychrobacillus* 这 5 个属只通过 TM 培养基分离得到。结果表明, 添加甲硫氨酸的 TM 培养基比添加脯氨酸的 TP 培养基的分离效果好。

新疆 3 种典型生境土壤免培养获得的微生物群落和可培养获得的微生物群落在属水平上存在结构差异, 在戈壁土土样中, 共检出 509 个菌属, 其中 4 个菌属已获得可培养的菌株, 另有 6 个属仅能通过可培养的方法获得。在柽柳根际土样中, 共检出 584 个菌属, 其中 4 个菌属已获得可培养的菌株, 另有 6 个属仅能通过可培养的方法获得。在沙土土样中, 共检出 623 个菌属, 其中 7 个菌属已获得可培养的菌株, 另有 11 个属仅能通过可培养的方法获得。新疆 3 种典型生境土壤之间可培养获得的微生物的数量和群落结构差异如图 9 所示, 戈壁土土样共得 52 株菌, TM 培养基得 32 株菌, 为 TP 培养基的 1.60 倍; 柽柳根际土土样共得 51 株菌,

TM 培养基得 35 株菌, 为 TP 培养基的 2.19 倍; 沙土土样共得 101 株菌, TM 培养基得 63 株菌, 为 TP 培养基的 1.66 倍。对 204 株菌进行鉴定, 3 种典型生境均分离获得了 *Alkalihalobacillus*、*Bacillus*、*Litchfieldia*、*Metabacillus* 和 *Paenibacillus* 这 5 个属, 但其分离出来的微生物类群也有差异, 沙土土样分离得到 18 个菌属中有 10 个独特菌属, 其中 *Alcaligenes*、*Caenispirillum*、*Nitratireductor*、*Pseudomonas*、*Psychrobacillus* 为 TM 培养基分离, *Alteripontixanthobacter*、*Azospirillum*、*Brevibacillus*、*Croceibacterium*、*Rossellomorea* 为 TP 培养基分离。柽柳根际土土样分离得到 10 个菌属中有 3 个独特菌属, 其中 *Glycomyces*、*Lysinibacillus* 为 TM 培养基分离, *Peribacillus* 为 TP 培养基分离。戈壁土土样分离得到 10 个菌属中有 4 个独特菌属, 其中 *Bacillus\_g28* 在 TP 培养基和 TM 培养基中都分离到了, *Cytobacillus*、*Halomonas*、*Pseudalkalibacillus* 在 TM 培养基分离到。结果表明, 新疆 3 种典型生境土壤通过免培养和可培养获得的微生物群落结构在属

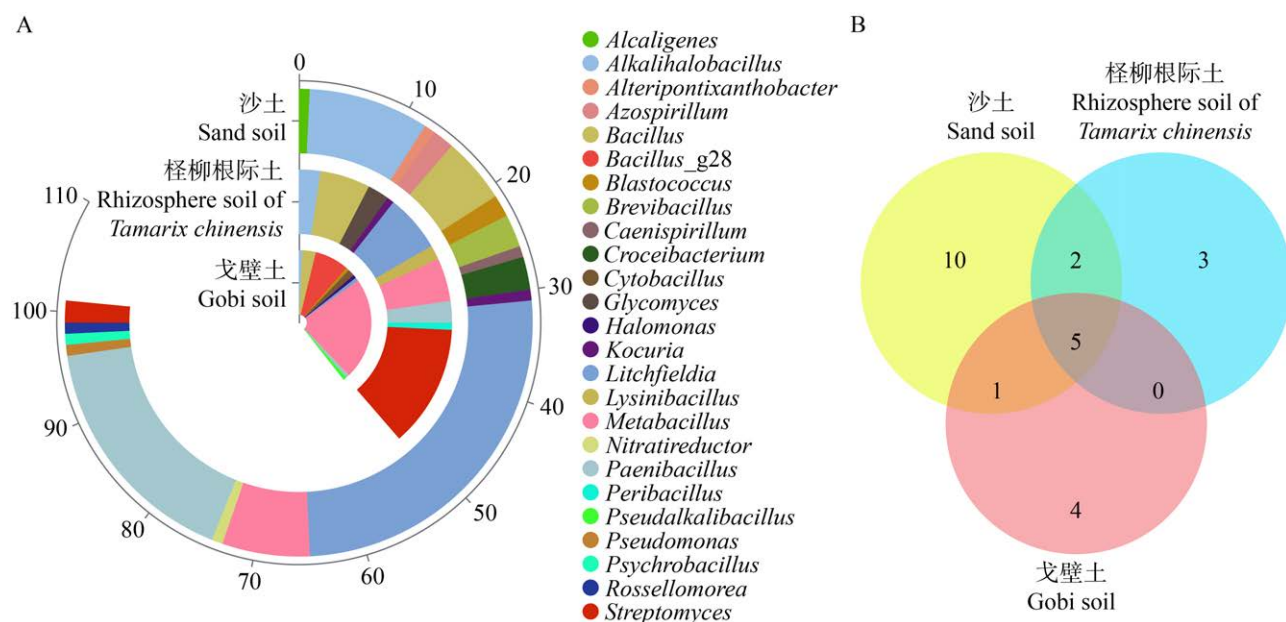


图 9 新疆典型生境土壤可培养微生物属水平群落结构(A)及属水平数目韦恩图(B)

Figure 9 The community structure of soil culturable microorganism at genus level (A) and the number of genera at genus level (B) were isolated from typical habitats in Xinjiang.

水平上有较大差异,并且新疆沙土中可培养微生物和独特菌属的数量最多, TM 培养基分离任一生境中的菌株数都比 TP 培养基的多。

### 3 讨论

鉴于新疆典型生境中的土壤微生物是一类具有巨大应用潜力的微生物资源库,而分离技术长期以来一直是制约微生物资源开发和利用的瓶颈,因此,探索新的思路和分离方法已成为研究新疆典型生境土壤微生物资源的关键任务之一。本研究对海藻糖等 4 种碳源进行筛选,发现海藻糖是分离新疆典型生境土壤微生物的最适碳源。与陈正军等<sup>[13]</sup>认为海藻糖是分离高盐环境放线菌的最佳碳源的结果一致。这可能是因为海藻糖是一种重要的抗逆物质,具有很强的稳定性,可以在细胞表面形成一层特殊的保护膜,有效地阻止生物活性物质变性和失活,是生物体应对逆境的一种应激代谢物<sup>[23]</sup>。本研究也对脯氨酸等 20 种氨基酸进行了筛选,发现甲硫氨酸是分离新疆典型生境土壤微生物的最适氨基酸。这可能是甲硫氨酸作为一种氨基酸,既能为微生物的生长提供氮源,又能作为氧化应激清除剂,保护微生物免受损伤<sup>[24]</sup>。

采用 TM 培养基对新疆典型生境土壤中的微生物进行分离培养,共分离到 130 株菌,而 TP 培养基只分离到 74 株菌; TM 培养基获得了 11 个独特菌属,而 TP 培养基只获得了 5 个独特菌属; TM 培养基获得了 44 株潜在新物种,而 TP 培养基只获得了 27 株潜在新物种。 TM 培养基不仅获得的菌株数比 TP 培养基多,并且其获得种属、独特菌属和潜在新物种的数量也比 TP 培养基多。本研究结果表明,与脯氨酸相比,甲硫氨酸更有利于新疆典型生境土壤微生物的生长,与李春等<sup>[25]</sup>和 Campbell 等<sup>[26]</sup>的结果一致。李春等<sup>[25]</sup>发现在嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*)中添加适量的甲硫氨酸,能延长菌株的对数生长期促进菌株生长。Campbell 等<sup>[26]</sup>发现在培养基中添加微量甲硫氨酸能清除胞内

氧化应激,减少细胞损伤。以上研究结果均表明添加甲硫氨酸有利于微生物的生长。

经过扩增子测序和可培养技术物种组成分析, *Proteobacteria*、*Actinomycetota* 和 *Bacteroidota* 这 3 个菌门均显示出较高的丰度,与 Hussain<sup>[27]</sup>的研究结果一致,但是通过可培养分离技术获得的 5 个分类水平的微生物数量均低于免培养扩增子测序检测得到的微生物数量,与文凤<sup>[28]</sup>的研究结果一致。此外,扩增子测序共检测到 1 031 个属中有 11 个在可培养过程中成功分离, *Blastococcus*、*Glycomyces*、*Halomonas*、*Lysinibacillus*、*Nitratireductor* 和 *Pseudomonas* 这 6 个属只通过 TM 培养基分离得到,比 TP 培养基数量多。虽然本研究采用的最适复配培养基 TM 培养基培养策略能够有效分离新疆典型生境土壤中的微生物,然而,为了更好地开发利用可培养微生物资源,需要对其分离技术进行进一步的研究与改进。

新疆 3 种典型生境土壤样品免培养获得的微生物群落和可培养获得的微生物群落在属水平上存在结构差异,在戈壁土土样中,共检出 509 个菌属,其中 4 个菌属已获得可培养的菌株,另有 6 个属仅能通过可培养的方法获得。在怪柳根际土样中,共检出 584 个菌属,其中 4 个菌属已获得可培养的菌株,另有 6 个属仅能通过可培养的方法获得。在沙土土样中,共检出 623 个菌属,其中 7 个菌属已获得可培养的菌株,另有 11 个属仅能通过可培养的方法获得。新疆 3 种典型生境土壤样品之间可培养获得的微生物的数量和群落结构也存在差异,在数量上戈壁土土样共得 52 株菌,怪柳根际土土样共得 51 株菌,沙土土样共得 101 株菌,沙土中分离的可培养微生物最多。在荒漠这种干旱生态系统中,降雨稀少、沙漠化严重、土壤养分贫瘠是其主要特点<sup>[29]</sup>。虽然生活条件非常苛刻,但是在世界各地的沙漠中,微生物数量和种类都很多<sup>[30]</sup>。生存在极端恶劣的沙漠环境中的微生物具备特殊的抗逆能力,是生物工程、

生物医药等领域中重要的资源,其抗逆基因及活性天然产物具有重要的研究价值<sup>[31-35]</sup>。3种生境分离出来的微生物类群也有差异(数据NMDCX0001765 存储在国家微生物科学数据中心,链接为 <https://nmdc.cn/resource/attachment/detail/NMDCX0001765>),沙土土样分离得到18个菌属,其中厚壁菌门(85.15%)是优势菌门,并获得了30株潜在新物种和2株潜在新属,这与刘阳<sup>[36]</sup>和 Neveu 等<sup>[37]</sup>的研究结果一致。戈壁土土样分离得到10个菌属,其中厚壁菌门(96.15%)是优势菌门,这与张振清等<sup>[38]</sup>的研究结果一致。这可能是因为厚壁菌门主要由革兰氏阳性菌组成,其被认为比革兰氏阴性细菌更能适应高水位渗透势<sup>[39]</sup>。这是由于它们具有保守的生物学特性,例如坚固的细胞壁、高效的渗透压调节能力及孢子形成能力。桤柳根际土土样分离得到10个菌属,其中厚壁菌门(58.82%)是优势菌门,但是放线菌门(41.18%)占比比沙土和戈壁土高,这与高欢欢等<sup>[40]</sup>的研究结果一致,这可能是因为根际放线菌从植物和土壤中摄取必需的营养与能量,并通过其生命活动释放嘌呤类似物,以调控土壤健康和根系的生存环境<sup>[41]</sup>。其与土壤和植物之间存在着显著的互惠互利关系,在干旱和贫瘠的沙漠土壤中占据着至关重要的地位<sup>[42]</sup>。

## 4 结论

本研究采用传统的稀释涂布平板法,通过最适碳源与氨基酸的复配,改良了传统的微生物分离方法,从新疆典型生境土壤中分离获得了204株菌,分属于3个门5个纲11个目14个科25个属,共55个种,其优势菌门为厚壁菌门(*Firmicutes*),优势菌纲为芽孢杆菌纲(*Bacilli*),优势菌目为芽孢杆菌目(*Bacillales*),优势菌科为芽孢杆菌科(*Bacillaceae*),优势菌属为 *Metabacillus*,其占比为21.57%,其中有71株菌最大相似度低于98.65%为潜在新物种,2株菌最大相似度低于95%为潜在新属。本研究从

新疆典型生境土壤中分离获得了丰富的微生物资源及大量潜在新物种,对丰富微生物资源具有重大意义。

## 作者贡献声明

李畅:实验设计、数据整理与分析、初稿撰写和修订;许苗:参与微生物种类的鉴定实验;游国浩:参与最适碳源-氨基酸复配培养基的筛选实验;匡丹:参与新疆典型生境土壤微生物菌落数的测定实验;罗晓霞:文稿修订监督。

## 作者利益冲突公开声明

作者声明绝无任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

## REFERENCES

- [1] SCHULTZ J, MODOLON F, PEIXOTO RS, ROSADO AS. Shedding light on the composition of extreme microbial dark matter: alternative approaches for culturing extremophiles[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 14: 1167718.
- [2] 夏占峰. 新疆极端环境放线菌多相分类及抑菌活性物质研究[D]. 武汉: 华中农业大学博士学位论文, 2015.  
XIA ZF. Polyphasic identification and antifungal metabolite of extreme *Actinomyces* isolated in Xinjiang[D]. Wuhan: Doctoral Dissertation of Huazhong Agricultural University, 2015 (in Chinese).
- [3] 李沛霖, 李力. 极端微生物及其应用研究进展[J]. 福建轻纺, 2024(2): 48-54.  
LI PL, LI L. Research progress of extreme microorganism and its application[J]. *The Light & Textile Industries of Fujian*, 2024(2): 48-54 (in Chinese).
- [4] 谢夏, 杨建兰, 刘新育. 土壤中细菌菌落总数的测定条件优化[J]. 中国农学通报, 2020, 36(11): 92-95.  
XIE X, YANG JL, LIU XY. Optimizing the determination conditions of total bacterial colonies in soil[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2020, 36(11): 92-95 (in Chinese).
- [5] 李斌斌, 吴丹妮, 聂国兴, 周宇光, 蔡曼, 李文均. 未/难培养微生物可培养策略研究: 机遇与挑战[J]. 微生物学通报, 2023, 50(2): 832-844.  
LI BB, WU DN, NIE GX, ZHOU YG, CAI M, LI WJ. Isolation and culture techniques of uncultured microorganisms: challenges and opportunities[J]. *Microbiology China*, 2023, 50(2): 832-844 (in Chinese).
- [6] MARCY Y, OUVENEY C, BIK EM, LÖSEKANN T, IVANOVA N, MARTIN HG, SZETO E, PLATT D, HUGENHOLTZ P, RELMAN DA, QUAKE SR. Dissecting biological "dark matter" with single-cell genetic analysis of rare and uncultivated TM7 microbes

- from the human mouth[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(29): 11889-11894.
- [7] ZENGLER K, TOLEDO G, RAPPE M, ELKINS J, MATHUR EJ, SHORT JM, KELLER M. Cultivating the uncultured[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, 99(24): 15681-15686.
- [8] 马欣, 马想蓉, 朱德锐, 李轩领, 沈国平, 邢江娃. 青藏高原尕斯库勒盐湖可培养嗜盐耐盐微生物的群落结构与分离方法对比研究[J]. *海洋与湖沼*, 2024, 55(4): 916-930.
- MA X, MA XR, ZHU DR, LI XL, SHEN GP, XING JW. Community structure of culturable halophilic and halotolerant microorganisms in gasikule salt lake on the Qinghai-Xizang plateau and comparison of different isolation methods[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2024, 55(4): 916-930 (in Chinese).
- [9] PHAM VHT, KIM J. Cultivation of unculturable soil bacteria[J]. *Trends in Biotechnology*, 2012, 30(9): 475-484.
- [10] HENSON MW, PITRE DM, WECKHORST JL, LANCLOS VC, WEBBER AT, THRASH JC. Artificial seawater media facilitate cultivating members of the microbial majority from the gulf of Mexico[J]. *mSphere*, 2016, 1(2): e00028-16.
- [11] 周德庆. 微生物学教程[M]. 3 版. 北京: 高等教育出版社, 2011.
- ZHOU DQ. Microbiology Course[M]. 3rd ed. Beijing: Higher Education Press, 2011 (in Chinese).
- [12] 彭云霞, 姜怡, 段淑蓉, 李文均, 徐丽华. 稀有放线菌的选择性分离方法[J]. *云南大学学报(自然科学版)*, 2007, 29(1): 86-89.
- PENG YX, JIANG Y, DUAN SR, LI WJ, XU LH. Selective isolation methods of rare actinomycetes[J]. *Journal of Yunnan University (Natural Sciences Edition)*, 2007, 29(1): 86-89 (in Chinese).
- [13] 陈正军, 关统伟, 张利莉. 新疆确尔库勒盐湖放线菌分离方法的初步研究[J]. *塔里木大学学报*, 2012, 24(2): 50-55.
- CHEN ZJ, GUAN TW, ZHANG LL. The preliminary investigation of isolation methods for *Actinobacteria* of xiaoerkule lake from Xinjiang[J]. *Journal of Tarim University*, 2012, 24(2): 50-55 (in Chinese).
- [14] 熊盈盈, 莫祯妮, 邱树毅, 曾祥勇. 未培养环境微生物培养方法的研究进展[J]. *微生物学通报*, 2021, 48(5): 1765-1779.
- XIONG YY, MO ZN, QIU SY, ZENG XY. Research progress on culture methods of uncultured environmental microorganisms[J]. *Microbiology China*, 2021, 48(5): 1765-1779 (in Chinese).
- [15] SYSOEV M, GRÖTZINGER SW, RENN D, EPPINGER J, RUEPING M, KARAN R. Bioprospecting of novel extremozymes from prokaryotes-the advent of culture-independent methods[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 630013.
- [16] LAGIER JC, DUBOURG G, MILLION M, CADORET F, BILEN M, FENOLLAR F, LEVASSEUR A, ROLAIN JM, FOURNIER PE, RAOULT D. Culturing the human microbiota and culturomics[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2018, 16: 540-550.
- [17] 黄谕, 王琳, 麦志茂, 李洁, 张偲. 南海热带岛礁生物土壤结皮中细菌的分离及其固砂特性初步研究[J]. *热带海洋学报*, 2023, 42(6): 101-110.
- HUANG Y, WANG L, MAI ZM, LI J, ZHANG S. Isolation and characterization of sand fixation ability of bacteria in biological soil crusts of the tropical islands, South China Sea[J]. *Journal of Tropical Oceanography*, 2023, 42(6): 101-110 (in Chinese).
- [18] 薛德星, 李美, 孙作文, 李纪顺, 扈进冬, 高兴祥, 李健. 枯草芽孢杆菌 KC1723 的鉴定及生物学特征研究[J]. *山东农业科学*, 2023, 55(9): 154-158.
- XUE DX, LI M, SUN ZW, LI JS, HU JD, GAO XX, LI J. Identification and biological characteristics of *Bacillus subtilis* KC1723[J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2023, 55(9): 154-158 (in Chinese).
- [19] 李顺鹏. 微生物学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003.
- LI SP. Microbiological Experiment Manual[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2003 (in Chinese).
- [20] 张哲瑄. 塔克拉玛干沙漠东缘土壤细菌多样性分析[D]. 阿拉尔: 塔里木大学硕士学位论文, 2021.
- ZHANG ZX. Diversity of soil bacterial communities in the eastern margin of the Taklimakan Desert[D]. Ala'er: Master's Thesis of Tarim University, 2021 (in Chinese).
- [21] 杨果, 赵迪迪, 王殿付, 郑金水, 万传星, 张利莉, 罗晓霞. 塔里木盆地 3 种生境土壤细菌群落多样性[J]. *微生物学通报*, 2024, 51(6): 2030-2048.
- YANG G, ZHAO DD, WANG DF, ZHENG JS, WAN CX, ZHANG LL, LUO XX. Diversity of soil bacterial communities in three habitats of the Tarim Basin[J]. *Microbiology China*, 2024, 51(6): 2030-2048 (in Chinese).
- [22] 刘忆思, 张瑾, 毛梦婷, 刘仁宗, 段泽东, 陈波, 廖丽. 高通量微液滴技术在南大洋沉积物微生物分离培养中的应用研究[J/OL]. *极地研究*, 2024. DOI: 10.13679/j.jdyj.20240053.
- LIU YS, ZHANG J, MAO MT, LIU RZ, DUAN ZD, CHEN B, LIAO L. Application of high-throughput microdroplet technology in the isolation and culture of microorganisms in the sediments of the Southern Ocean[J/OL]. *Chinese Journal of Polar Research*, 2024. DOI: 10.13679/j.jdyj.20240053 (in Chinese).
- [23] 邱尉宸, 恽奕轩, 蒋小岗. 海藻糖药理作用研究进展[J]. *天然产物研究与开发*, 2024, 36(10): 1813-1819.
- QIU WC, YUN YX, JIANG XG. Research progress on pharmacological effects of trehalose[J]. *Natural Product Research and Development*, 2024, 36(10): 1813-1819 (in Chinese).
- [24] 任梦梦. 甲硫氨酸添加对嗜热厌氧杆菌 (*Thermoanaerobacterium aotearoense*) 产乙醇的影响及机制研究[D]. 广州: 华南理工大学硕士学位论文, 2019.
- REN MM. Effects and mechanism of methionine addition on ethanol production by *Thermoanaerobacterium aotearoense*[D]. Guangzhou: Master's Thesis of South China University of Technology, 2019 (in Chinese).
- [25] 李春, 刘扬, 张国芳, 毛雪, 刘丽波, 赵裕才, 王婷婷, 王晶莹, 段春颖. L-蛋氨酸对发酵干酪用嗜热链球菌生长及代谢的影响[J]. *中国食品学报*, 2018, 18(3): 90-96.
- LI C, LIU Y, ZHANG GF, MAO X, LIU LB, ZHAO YC, WANG TT, WANG JY, DUAN CY. The influence of adding L-methionine on growth and metabolism of *Streptococcus thermophilus*[J]. *Journal of Chinese*

- Institute of Food Science and Technology, 2018, 18(3): 90-96 (in Chinese).
- [26] CAMPBELL K, VOWINCKEL J, KELLER MA, RALSER M. Methionine metabolism alters oxidative stress resistance *via* the pentose phosphate pathway[J]. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2016, 24(10): 543-547.
- [27] HUSSAIN F. 基于纯培养和免培养技术研究不同来源沙漠样品原核微生物多样性[D]. 昆明: 云南大学博士学位论文, 2017.
- HUSSAIN F. Prokaryotic microbial diversity of desert samples from different sources was studied based on pure culture and culture-free techniques[D]. Kunming: Doctoral Dissertation of Yunnan University, 2017 (in Chinese).
- [28] 文凤. 塔克拉玛干沙漠中部细菌资源挖掘及多样性[D]. 阿拉尔: 塔里木大学硕士学位论文, 2024.
- WEN F. Bacterial resources Excavation and diversity in the middle of the Taklimakan Desert[D]. Alaer: Master's Thesis of Tarim University, 2024 (in Chinese).
- [29] NOY-MEIR I. Desert ecosystems: environment and producers[J]. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 1973, 4: 25-51.
- [30] SKUJINS J. Microbial ecology of desert soils[M]//*Advances in Microbial Ecology*. Boston, MA: Springer US, 1984: 49-91.
- [31] COWAN DA, HOPKINS DW, JONES BE, MAGGS-KÖLLING G, MAJEWSKA R, RAMOND JB. Microbiomics of Namib Desert habitats[J]. *Extremophiles*, 2020, 24(1): 17-29.
- [32] EIDA AA, ZIEGLER M, LAFI FF, MICHELL CT, VOOLSTRA CR, HIRT H, SAAD MM. Desert plant bacteria reveal host influence and beneficial plant growth properties[J]. *PLoS One*, 2018, 13(12): e0208223.
- [33] MENG FQ, BAR-SHMUEL N, SHAVIT R, BEHAR A, SEGOLI M. Gut bacteria of weevils developing on plant roots under extreme desert conditions[J]. *BMC Microbiology*, 2019, 19(1): 311.
- [34] PERERA I, SUBASHCHANDRABOSE SR, VENKATESWARLU K, NAIDU R, MEGHARAJ M. Consortia of cyanobacteria/microalgae and bacteria in desert soils: an underexplored microbiota[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2018, 102(17): 7351-7363.
- [35] 刘光琇. 极端环境微生物学[M]. 北京: 科学出版社, 2016.
- LIU GX. *Extreme Environmental Microbiology*[M]. Beijing: Science Press, 2016 (in Chinese).
- [36] 刘阳. 塔克拉玛干沙漠可培养微生物多样性及抗辐射—抗氧化代谢机制研究[D]. 兰州: 西北师范大学硕士学位论文, 2020.
- LIU Y. Diversity and metabolomics mechanism of radiation-resistance and antioxidation of culturable microorganisms in the Taklimakan Desert[D]. Lanzhou: Master's Thesis of Northwest Normal University, 2020 (in Chinese).
- [37] NEVEU J, REGEARD C, DuBOW MS. Isolation and characterization of two serine proteases from metagenomic libraries of the Gobi and Death Valley deserts[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2011, 91(3): 635-644.
- [38] 张振清, 张景林, 张威, 刘光琇, 陈拓, 刘阳, 陈警伟, 田茂. 河西走廊黑戈壁生态系统中可培养细菌分布特征及抗辐射活性[J]. *中国沙漠*, 2020, 40(4): 52-62.
- ZHANG ZQ, ZHANG BL, ZHANG W, LIU GX, CHEN T, LIU Y, CHEN JW, TIAN M. Distribution characteristics and anti-radiation activity of culturable bacteria in black Gobi ecosystem of the Hexi Corridor[J]. *Journal of Desert Research*, 2020, 40(4): 52-62 (in Chinese).
- [39] ROKITKO PV, ROMANOVSKAIA VA, MALASHENKO IR, CHERNAIA NA, GUSHCHA NI, MIKHEEV AN. Soil drying as a model for the action of stress factors on the natural bacterial population[J]. *Mikrobiologiya*, 2003, 72(6): 854-861.
- [40] 高欢欢, 曾凡江, 赵秀芳, 朱心宁, 张倩, 丁泽华. 干旱沙漠区 2 种深根植物根际微生物数量分布及根际效应研究[J]. *现代农业科技*, 2019(8): 172-175, 183.
- GAO HH, ZENG FJ, ZHAO XF, ZHU XN, ZHANG Q, DING ZH. Quantity distribution and rhizosphere effect of rhizosphere microorganisms of two deep-root plants in arid desert area[J]. *Modern Agricultural Science and Technology*, 2019(8): 172-175, 183 (in Chinese).
- [41] LESLIE GUNATILAKA AA. Natural products from plant-associated microorganisms: distribution, structural diversity, bioactivity, and implications of their occurrence[J]. *Journal of Natural Products*, 2006, 69(3): 509-526.
- [42] McLELLAN CA, TURBYVILLE TJ, KITHSIRI WIJERATNE EM, KERSCHEN A, VIERLING E, QUEITSCH C, WHITESELL L, LESLIE GUNATILAKA AA. A rhizosphere fungus enhances *Arabidopsis* thermotolerance through production of an HSP90 inhibitor[J]. *Plant Physiology*, 2007, 145(1): 174-182.