



南极三洋藓(*Sanionia uncinata*)细菌群落组成分析

肖瑶 肖逸林 吴含 柴光俊 李志勇*

上海交通大学生命科学技术学院 微生物代谢国家重点实验室 上海 200240

摘要:【背景】南极苔藓中蕴藏着丰富的极地微生物资源,然而目前对南极苔藓细菌群落组成的研究较少,限制了对这类极端生境微生物资源的开发和应用。【目的】在南极长城站不同地点随机取样,揭示南极三洋藓(*Sanionia uncinata*)的细菌群落结构组成。【方法】采用 Illumina HiSeq 高通量测序技术对 3 个苔藓样品的 16S rRNA 基因 V4 区进行测序及生物信息学分析。【结果】3 个苔藓样品中共获得细菌总优化序列 273 367 条。基于 97% 序列相似度,细菌优化序列聚类为 9 579 个 OTU。分类地位明确的细菌可归为 14 门 27 纲 50 属。优势类群是变形菌门(*Proteobacteria*) (30.70%)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*) (19.67%)、疣微菌门(*Verrucomicrobia*) (12.43%)、蓝细菌门(*Cyanobacteria*) (10.55%) 及放线菌门(*Actinobacteria*) (9.36%)。在属水平上,56.73% 属于未知细菌。【结论】南极三洋藓(*Sanionia uncinata*)中具有丰富多样的细菌,该研究为今后极地微生物研究奠定了基础。

关键词: 南极, 三洋藓, 细菌多样性

Bacterial community composition of the Antarctic moss

Sanionia uncinata

XIAO Yao XIAO Yi-Lin WU Han CHAI Guang-Jun LI Zhi-Yong*

State Key Laboratory of Microbial Metabolism, School of Life Sciences and Biotechnology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China

Abstract: [Background] Antarctic bryophytes harbor highly diverse polar microbes. However, the composition of Antarctic bryophyte bacterial communities is not well understood, which limits the development and application of microbial resources in extreme habitats. [Objective] This study reveals the bacterial community of the Antarctic moss *Sanionia uncinata* sampled randomly around the Antarctic Great Wall Station. [Methods] We used Illumina HiSeq high-throughput sequencing technology to analyse the 16S rRNA gene V4 region of the bacteria. [Results] A total of 273 367 bacterial sequences were obtained from the three moss samples. Totally, 9 579 OTUs (operational taxonomic unit) belonging to 14 phyla, 27 classes, and 50 genera, were grouped based on 97% sequence similarity. The dominant groups were *Proteobacteria* (30.70%), *Bacteroidetes* (19.67%), *Verrucomicrobia* (12.43%), *Cyanobacteria* (10.55%), and *Actinobacteria* (9.36%). Particularly, 56.73% of the bacteria in this moss were unclassified at the genus level. [Conclusion] The Antarctic moss *Sanionia uncinata* hosts phylogenetically diverse bacteria. This study provides a basis for the in-depth study of polar microbes.

Keywords: Antarctica, *Sanionia uncinata*, Bacterial diversity

*Corresponding author: Tel: 86-21-34204036; E-mail: zyli@sjtu.edu.cn

Received: 09-01-2020; Accepted: 08-03-2020; Published online: 09-04-2020

*通信作者: Tel: 021-34204036; E-mail: zyli@sjtu.edu.cn

收稿日期: 2020-01-09; 接受日期: 2020-03-08; 网络首发日期: 2020-04-09

南极地区自然环境特殊,蕴藏着巨大的微生物资源,是新颖微生物的重要来源^[1-5]。国内外研究人员对极地环境微生物的种类、数量、分布的研究发现了一些微生物新种属^[6-11]。极地微生物长期适应极地寒冷环境,造就了代谢产物的独特性、多样性,应用潜力不可估量,因此极地微生物是各国竞相争夺的宝贵资源^[12-20]。

苔藓中的 *Sanionia uncinata* (Hedw.) Loeske (*Amblystegiaceae*: *Bryophyta*) 作为南极最主要的植被之一, 常年在寡营养、强辐射、低温的环境条件下生长, 因此与其相关的微生物具有极大的潜在应用价值^[21-24]。然而, 目前关于南极三洋藓(*Sanionia uncinata*)微生物多样性的深入研究依然比较欠缺^[25-26], 急需更多的研究找到三洋藓(*Sanionia uncinata*)细菌组成的结构特征。因此, 本研究采用 Illumina HiSeq 高通量测序平台对南极三洋藓(*Sanionia uncinata*)中的细菌多样性进行研究, 对于下一步揭示其生态学功能、响应极地气候变化的机制具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 样品采集

2018年1月参加中国第34次南极科考, 在南极洲南设得兰群岛乔治王岛西部菲尔德斯半岛的长城站附近(海拔 14.1 m, 62°13.233'S, 58°57.304'W) 3个地点(间距均大于 100 m)采集地表植物苔藓 *Sanionia uncinata* 3份样品(GM1、GM2、GM3)。在采样之前, 所有待用的工具都已经高压灭菌, 佩戴一次性乳胶手套进行采样, 样品采集后用 RNAlater 固定, 并装在无菌离心管中。样品采集后及运输途中保持 4 °C, 运回实验室后放在 -20 °C 冰箱保存备用。

1.2 主要试剂和仪器

PowerSoil DNA Isolation Kit, Mobio 公司; Premix Taq, TaKaRa 公司; E.Z.N.A.® Gel Extraction Kit 凝胶回收试剂盒, Omega 公司。PCR 仪, Bio-Rad 公司; 体式显微镜, 莱卡公司; NanoDrop One 微量分光光度计, Thermo Fisher Scientific 公司。

1.3 苔藓样品鉴定

采用分子标签和形态学鉴定结合的方法对苔藓样品进行种属鉴定。采用引物 18-*aduF* (5'-GGAAGGATCATTGCACACACG-3') 和 26SR (5'-CCGCCAGATTTTCACGCTGGGC-3') 扩增苔藓样品 ITS1 和 ITS2 区。PCR 反应体系(50 μL): 2×Premix Taq 25 μL, 正、反向引物(10 μmol/L)各 1 μL, DNA 模板 3 μL, ddH₂O 20 μL。PCR 反应条件: 95 °C 5 min; 95 °C 30 s, 50 °C 30 s, 72 °C 90 s, 35 个循环; 72 °C 8 min。用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物的片段长度和浓度并送至上海派森诺生物科技股份有限公司测序, 序列在 NCBI 中 BLAST 比对。采用莱卡体式显微镜拍照观察形态特征。

1.4 DNA 的提取与 PCR 扩增

采用 PowerSoil DNA Isolation Kit 提取苔藓 *Sanionia uncinata* 总基因组 DNA。首先用无菌水冲洗样品表面 3 次, 去除其表面附生的微生物。随后在研钵中加入液氮研磨样品, 按试剂盒说明书操作其余步骤。利用 1% 琼脂糖凝胶电泳分析 DNA 样品, 利用 NanoDrop One 检测 DNA 的浓度和纯度, 提取的总 DNA 保存于 -80 °C。采用细菌引物 515F (5'-GGACTACHVGGGTWCTAAT-3') 和 806R (5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3') 扩增 16S rRNA 基因 V4 区。PCR 反应体系(50 μL): 2×Premix Taq 25 μL, 正、反向引物(10 μmol/L)各 1 μL, DNA 模板 3 μL, ddH₂O 20 μL。PCR 反应条件: 94 °C 5 min; 94 °C 30 s, 52 °C 30 s, 72 °C 30 s, 30 个循环; 72 °C 10 min。通过琼脂糖凝胶电泳检测的样品可进行后续的步骤。

用 GeneTools Analysis 软件比对各 PCR 产物浓度后, 遵照等质量原则混合各 PCR 产物。用胶回收试剂盒和 TE 缓冲液进行 PCR 混合产物的回收, 按照 Illumina® 标准流程进行建库。委托广东美格基因科技有限公司在 Illumina HiSeq 2500 平台开展建库后的测序工作。

1.5 测序数据优化处理

(1) 原始序列 (raw reads) 的过滤: 用 Trimmomatic 软件进行过滤, 保留不含氮元素的、

质量值高于 20 的序列。同时,若过滤后序列长度低于 100 bp 的序列,也一并去除。最终得到双端清洗后的序列(clean reads)^[27]。

(2) 双端清洗后序列的拼接:由于每对双端测序的序列之间会有重叠(overlap),可据此将每对双端测序序列拼成一条序列。采用 Flash 软件进行拼接,重叠长度最小值设置为 10 bp 进行筛选,从而得到原始拼接序列(raw tags)。

(3) 原始拼接序列的过滤:用 Mothur 软件根据序列首尾两端的 DNA 条形码标记(barcode)等,对序列进行分类,随后去除条形码等标记,最终得到过滤后的拼接序列(clean tags)。

1.6 数据分析

1.6.1 OTU 聚类

聚类所有样品中的有效拼接片段,把相似性大于 97% (identity \geq 97%)的序列聚类成为一个 OTU。聚类时采用 USEARCH 软件中的 UPARSE 方法。该软件在聚类时会剔除嵌合体和低丰度序列(singleton)。随后,选取每个 OTU 的代表性序列为出现频数最高的序列,并用于后续注释。

1.6.2 代表性序列物种注释

利用 QIIME 软件中的 assign_taxonomy.py 脚本将上一步骤中得到的每个 OTU 代表序列与 16S rRNA 基因扩增子注释数据库 SILVA 比对,获得 OTU 代表序列的物种注释信息。采用 RDP Classifier 方法并设置置信度为 0.5 以上进行比对。物种注释信息的分类学结果分为界、门、纲、目、科、属和种 7 个层级。将不能注释到界的和注释为线粒体或叶绿体的 OTU 及其拼接片段去除,取得最终用于

分析的有效 OTU 及其分类学信息表。以拥有最少序列数的样品作为归一化的标准,后续的分析都是基于归一化处理后的有效 OTU 及分类学信息表。

1.6.3 α 多样性分析

α 多样性指数计算:使用 QIIME 软件包(V1.9.1)中的 alpha_diversity.py 脚本,基于上一步骤中得到的均一化的 OTU 丰度表,进行菌种丰富度指数(Chao1)、香农-威纳指数(Shannon)、辛普森多样性指数(Simpson)的计算。

稀释曲线:基于 OTU 丰度表,进行香农-威纳指数稀释曲线数据的计算,该计算使用了 QIIME 软件包中的相关脚本。采用 R 语言绘制稀释曲线。

1.6.4 物种群落结构分析

基于有效 OTU 及分类学综合信息表中各个分类等级上物种的相对丰度,使用 R 软件绘制相应的柱状图及热图。

1.7 序列登录号

研究所得序列均已提交至 GenBank 数据库中, BioProject 编号为 PRJNA588835。细菌 BioSample 登录号为 SAMN13258556-SAMN13258558。苔藓样品 ITS 基因序列号为 MN809340。

2 结果与分析

2.1 样品鉴定

将苔藓样品的 ITS 序列提交至 NCBI 数据库进行 BLAST 比对,结果表明该序列与苔藓 *Sanionia uncinata* 的 ITS 基因序列最相似,相似度为 99.72%,因此该苔藓应属于 *Sanionia uncinata*。苔藓样品莱卡体式显微镜照片如图 1 所示,与分子鉴定结果一致。

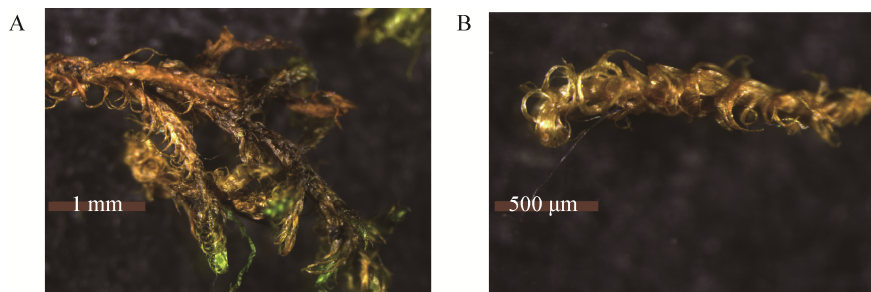


图 1 苔藓 *Sanionia uncinata* 样品体视镜照片
Figure 1 Stereoscopic picture of *Sanionia uncinata*

注: A: 苔藓样品整体照; B: 苔藓样品细节照。

Note: A: The picture of whole *Sanionia uncinata*; B: The enlarged picture of partial *Sanionia uncinata*.

2.2 高通量测序数据优化分析

质控去除不合格序列后, 3 个苔藓样品中共获得细菌总优化序列 273 367 条(表 1)。基于 97%相似性, 样品 GM1、GM2、GM3 的 OTU 数量分别为 2 693、3 495 和 3 391。稀释曲线(rarefaction curve)如图 2 所示。由图 2 可知, 当序列数达到 10 000 以上时, 曲线逐渐趋于平坦。由表 1 可知, 本次测序各样品测得序列数均远大于 10 000, 说明可以很好地反映样品中微生物多样性的主要信息。

2.3 南极长城站三洋藓(*Sanionia uncinata*)中主要细菌群落分布

根据 OTU 分类学注释结果, 按照门、纲、属 3 个水平分别提取序列信息, 并计算各物种的相对丰度, 同时选取相对丰度在 1%以上的物种绘制物种相对丰度分布图(图 3)。从图 3A 可知, 南极三洋

藓(*Sanionia uncinata*)细菌门类群多集中于变形菌门(*Proteobacteria*) (30.70%)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*) (19.67%)、疣微菌门(*Verrucomicrobia*) (12.43%)、蓝细菌门(*Cyanobacteria*) (10.55%)及放线菌门(*Actinobacteria*) (9.36%), 其他细菌门类所占比例相对较少。通过纲分类层次(图 3B)分析, 表明南极三洋藓(*Sanionia uncinata*)以拟杆菌纲(*Bacteroidia*) (19.07%)、疣微菌纲(*Verrucomicrobiae*) (12.43%)为主, 其次为 γ -变形菌纲(*Gammaproteobacteria*) (12.16%)、生氧光细菌(*Oxyphotobacteria*) (10.51%)、 δ -变形菌纲(*Deltaproteobacteria*) (9.81%)、 α -变形菌纲(*Alphaproteobacteria*) (8.62%)、放线菌纲(*Actinobacteria*) (7.81%), 其他所占比例相对较少。属水平上的统计分析(图 3C)显示, 南极苔藓 *Sanionia uncinata* 中 56.73%以上的细菌属于未知。

表 1 3 个苔藓样品测序数据统计

Table 1 Sequencing data of three moss samples

名称	序列数	OTUs	Chao1 index	Shannon index	Simpson index
Sample ID	Numbers of sequences				
GM1	57 948	2 693	3 034	8.17	0.989
GM2	104 625	3 495	3 257	8.02	0.977
GM3	110 794	3 391	3 098	8.48	0.990

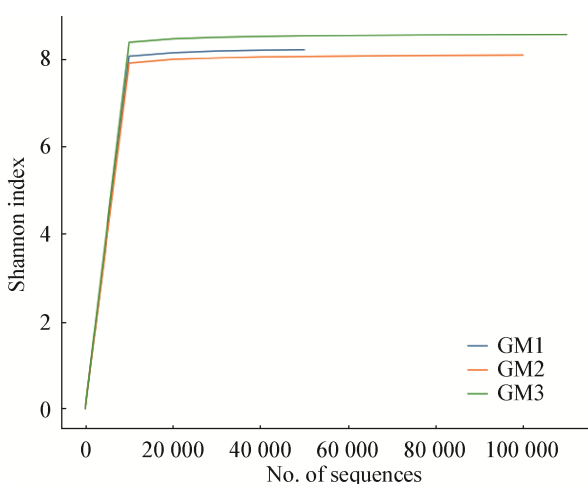


图 2 稀释曲线

Figure 2 Rarefaction curve

2.4 南极长城站苔藓微生物丰度及相似性聚类分析

选取属分类水平丰度排名前 30 的物种绘制热图(图 4), 并从属水平分类和各样品之间差异这两个层面进行聚类。聚类分析显示, 苔藓样品 2 与 3 的细菌群落组成更接近, 样品 1 与二者有一定差异。细菌群落聚类样品 1 以独岛菌属(*Dokdonella*)、嗜酸菌属(*Acidiphilium*)相对丰度较高, 样品 2 以 *Nostoc_PCC-73102*、wb1-P19 相对丰度最高, 样品 3 以 *Haliangium* 相对丰度较高。

3 讨论与结论

本研究首次采用 Illumina HiSeq 测序平台开展

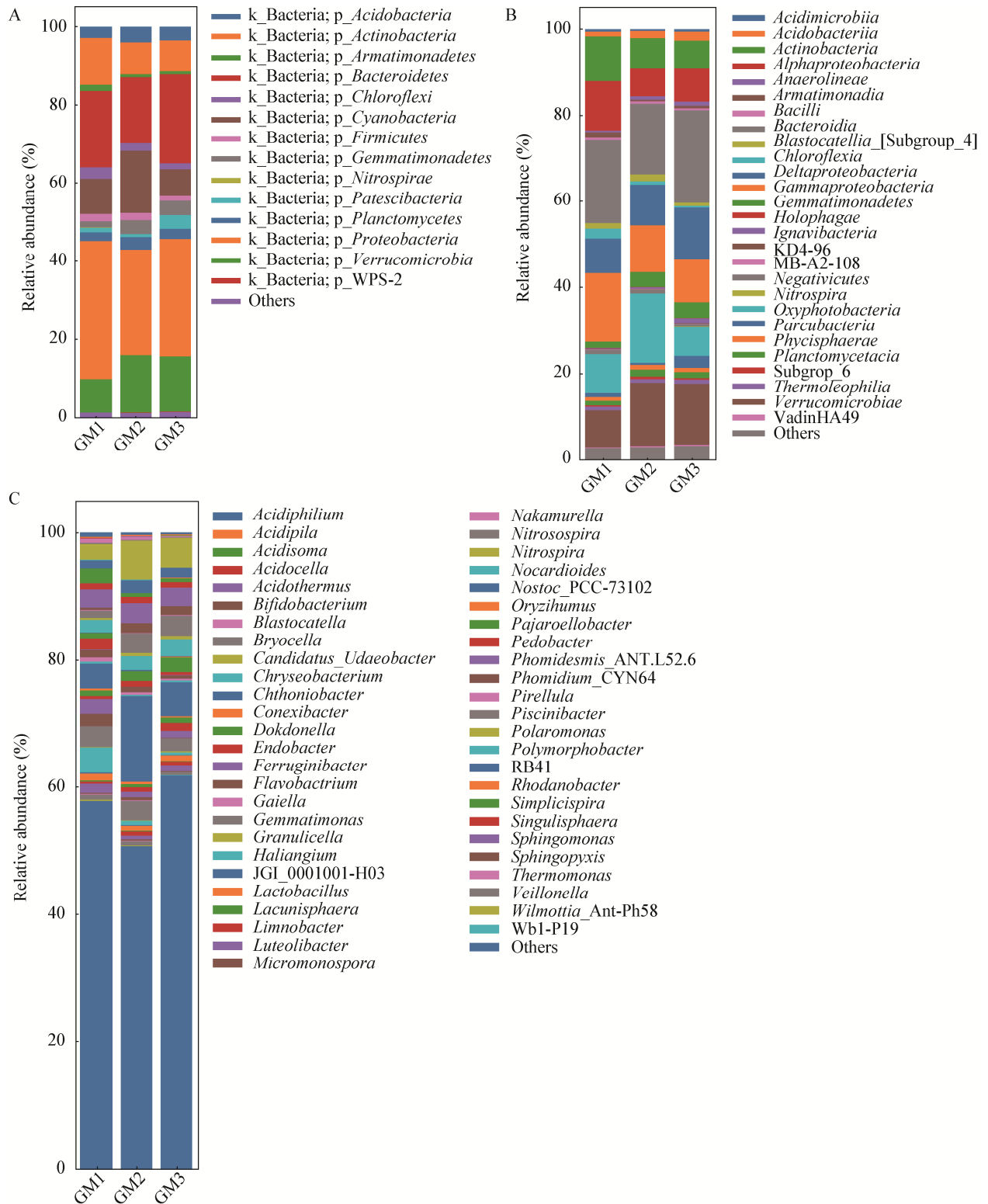


图 3 南极三洋藓(*Sanionia uncinata*)中细菌在 3 个分类学水平的相对丰度统计分析

Figure 3 Statistical analysis of relative abundance of bacteria at three taxonomic levels from the Antarctic *Sanionia uncinata*

注: A: 门水平; B: 纲水平; C: 属水平.

Note: A: Phylum level; B: Class level; C: Genus level.

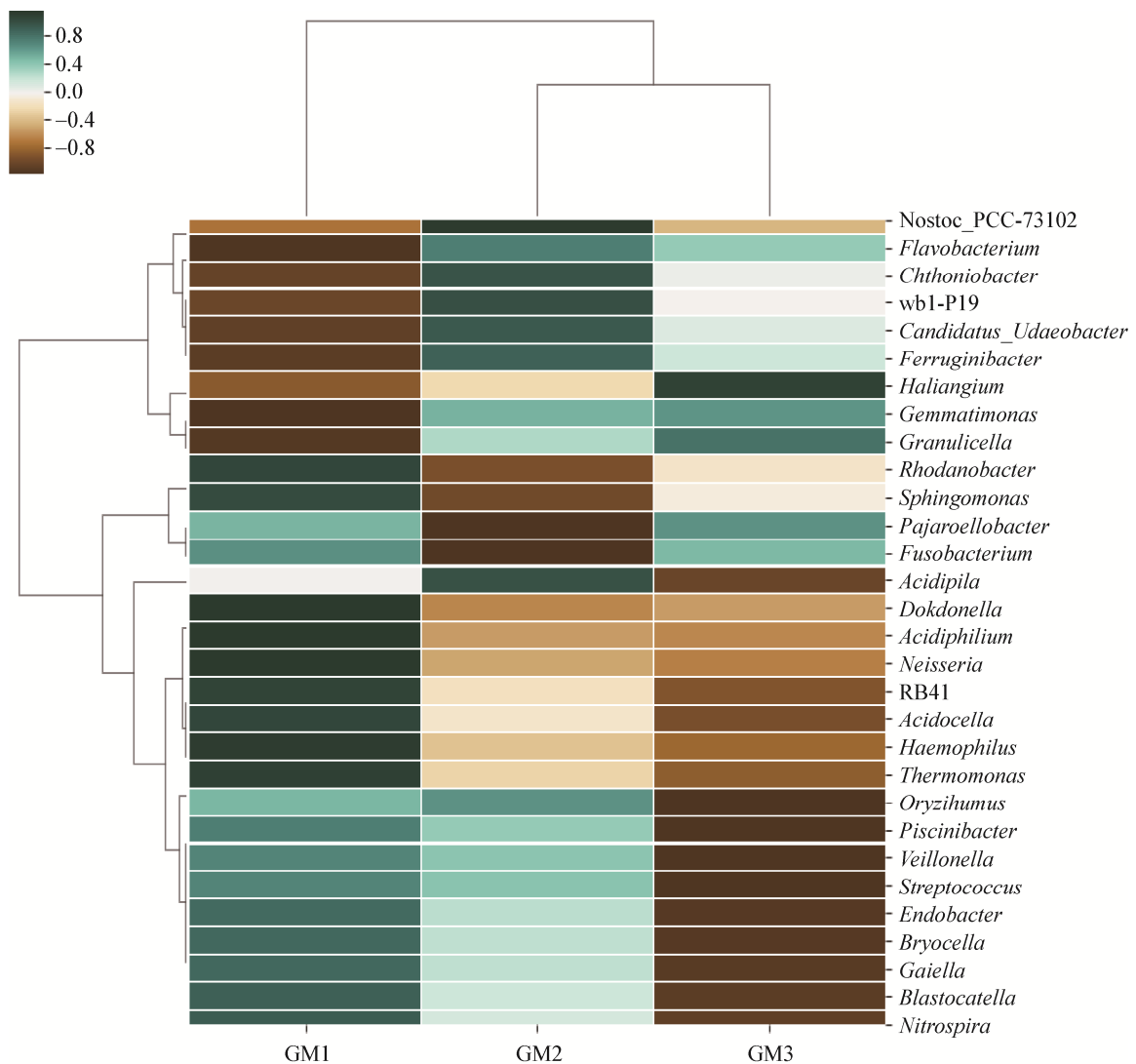


图4 南极苔藓(*Sanionia uncinata*)中细菌属水平下的热图与相似性分析

Figure 4 Heatmap analysis and similarity tree of bacterial community of the Antarctic moss *Sanionia uncinata* at the genus level

了南极三洋藓(*Sanionia uncinata*)细菌多样性研究。在此之前, Park 等采用 16S rRNA 焦磷酸测序的方法探究了南极三洋藓(*Sanionia uncinata*)地上部分与地下部分的细菌群落组成差异, 结果显示二者细菌群落组成基本相似, 仅 α -变形菌门占比有显著差异, 地上部分仅占比 2%, 而地下部分有 12%^[25], 本研究中 α -变形菌门占比为 8.62%。本研究针对南极三洋藓(*Sanionia uncinata*)的细菌多样性进行了深度挖掘, 不仅揭示了 Park 等研究中提及的 *Proteobacteria*、*Actinobacteria*、*Firmicutes*、

Bacteroidetes 这些细菌门类群, 还揭示出了 *Acidobacteria*、*Armatimonadetes*、*Planctomycetes*、*Chloroflexi*、*Cyanobacteria*、*Gemmatimonadetes*、*Nitrospirae*、*Patescibacteria*、*Verrucomicrobia*、WPS-2 等相对丰度较低的细菌门类群, 使得人们对于南极三洋藓(*Sanionia uncinata*)的细菌多样性有了进一步的认识; 结果还显示南极三洋藓(*Sanionia uncinata*)含有较高丰度的未知细菌, 例如在属水平, 56.73%属于未知菌, 这有待进一步研究和探索。

三洋藓(*Sanionia uncinata*)从北温带到北极、南

温带到南极以及热带和亚热带的高海拔地区都有分布^[26]。Tang 等^[28]在西藏采集到了三洋藓(*Sanionia uncinata*)并采用 16S rRNA 基因 Illumina 测序方法研究分析了其细菌多样性, 结果显示其主要门类群为 *Proteobacteria*、*Actinobacteria*、*Acidobacteria*、*Bacteroidetes*、*Armatimonadetes* 和 *Planctomycetes* 以及丰度较低的 *Chloroflexi*、*Firmicutes*、*Chlamydiae* 和 TM6。西藏三洋藓(*Sanionia uncinata*)的主要细菌门类群与本研究结果具有显著差异, 其特有的门类为 *Chlamydiae* 和 TM6。本研究中南极 *Sanionia uncinata* 特有的门类为 *Cyanobacteria*、*Gemmatimonadetes*、*Nitrospirae*、*Patescibacteria*、*Verrucomicrobia* 和 WPS-2。Holland-Moritz 等^[22]在位于北极附近的美国阿拉斯加州也采集到三洋藓(*Sanionia uncinata*), 并对其细菌多样性进行了测序分析, 结果显示其主要门类群为 *Proteobacteria*、*Actinobacteria*、*Acidobacteria*、*Bacteroidetes*、*Planctomycetes*、*Cyanobacteria*、*Verrucomicrobia* 和 WPS-2, 与本研究结果一致。此外, 研究发现南极三洋藓(*Sanionia uncinata*)还具有如下特有门类群: *Gemmatimonadetes*、*Nitrospirae*、*Patescibacteria*、*Armatimonadetes*、*Chloroflexi* 和 *Firmicutes*。以上数据显示, 分布在南极、北极、西藏的三洋藓(*Sanionia uncinata*)的细菌多样性具有显著差异, 说明生境是三洋藓(*Sanionia uncinata*)细菌多样性的重要影响因素。更多关于三洋藓(*Sanionia uncinata*)的世界范围采样工作有待开展, 从而进一步探明生境对该苔藓细菌多样性的影响。

近年来, 很多学者通过高通量测序手段开展了南极各个生境的细菌多样性研究。Martinez-Alonso 等^[29]采用 Illumina MiSeq 测序平台分析了南极冰川细菌多样性, 其主要门类群为 *Actinobacteria* (30%)、*Bacteroidetes* (27%)、*Cyanobacteria* (19%)、*Proteobacteria* (15%)。Li 等^[30]高通量测序分析南极淡水湖微生物多样性的研究显示, 细菌多样性组成的主要门类为 *Bacteroidetes*、*Actinobacteria* 及 *Proteobacteria*, 三者共占有 OTU 的 85%。Lee

等^[31]研究了湿度对南极土壤细菌群落结构的影响, 发现在不同湿度的土壤中主要的共有细菌门类有 *Acidobacteria*、*Actinobacteria*、*Bacteroidetes*、*Chloroflexi*、*Cyanobacteria*、*Firmicutes* 和 *Proteobacteria*。Park 等^[32]通过高通量测序研究分析了南极地衣的细菌多样性, 结果显示其主要细菌门类群为 *Proteobacteria*、*Acidobacteria*、*Bacteroidetes*、*Actinobacteria* 和 *Armatimonadetes*。基于以上数据, 相比于北极、西藏三洋藓(*Sanionia uncinata*), *Armatimonadetes*、*Cyanobacteria* 和 *Chloroflexi* 可能是南极生境三洋藓(*Sanionia uncinata*)特有的细菌类群。

综上所述, 本研究基于 3 个样品初步揭示了南极三洋藓(*Sanionia uncinata*)的细菌多样性, 尤其是发现了一些未知细菌类群和南极三洋藓特有的类群, 这些结果将为开发与利用南极微生物资源奠定基础。同时, 研究结果对于今后了解南极苔藓微生物群落适应极地环境与全球气候变化具有重要意义。

REFERENCES

- [1] Campen R, Kowalski J, Lyons WB, et al. Microbial diversity of an Antarctic subglacial community and high-resolution replicate sampling inform hydrological connectivity in a polar desert[J]. *Environmental Microbiology*, 2019, 21(7): 2290-2306
- [2] Coleine C, Stajich JE, Pombubpa N, et al. Altitude and fungal diversity influence the structure of Antarctic cryptoendolithic bacteria communities[J]. *Environmental Microbiology Reports*, 2019, 11(5): 718-726
- [3] Lamilla C, Pavez M, Santos A, et al. Bioprospecting for extracellular enzymes from culturable Actinobacteria from the South Shetland Islands, Antarctica[J]. *Polar Biology*, 2017, 40(3): 719-726
- [4] Cox F, Newsham KK, Robinson CH. Endemic and cosmopolitan fungal taxa exhibit differential abundances in total and active communities of Antarctic soils[J]. *Environmental Microbiology*, 2019, 21(5): 1586-1596
- [5] Cerro-Gálvez E, Casal P, Lundin D, et al. Microbial responses to anthropogenic dissolved organic carbon in the Arctic and Antarctic coastal seawaters[J]. *Environmental Microbiology*, 2019, 21(4): 1466-1481
- [6] Núñez-Montero K, Lamilla C, Abanto M, et al. Antarctic *Streptomyces fildesensis* So13.3 strain as a promising source

- for antimicrobials discovery[J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 7488
- [7] Bueno JL, Santos PAD, da Silva RR, et al. Biosurfactant production by yeasts from different types of soil of the South Shetland Islands (Maritime Antarctica)[J]. Journal of Applied Microbiology, 2019, 126(5): 1402-1413
- [8] Vallesi A, Sjödin A, Petrelli D, et al. A new species of the γ -Proteobacterium *Francisella*, *F. adeliensis* sp. nov., endocytobiont in an antarctic marine ciliate and potential evolutionary forerunner of pathogenic species[J]. Microbial Ecology, 2019, 77(3): 587-596
- [9] Lavian IL, Vishnevetsky S, Barness G, et al. Soil microbial community and bacterial functional diversity at Machu Picchu, King George Island, Antarctica[J]. Polar Biology, 2001, 24(6): 411-416
- [10] Benavent-González A, Delgado-Baquerizo M, Fernández-Brun L, et al. Identity of plant, lichen and moss species connects with microbial abundance and soil functioning in maritime Antarctica[J]. Plant and Soil, 2018, 429(1/2): 35-52
- [11] Roesch LFW, Fulthorpe RR, Pereira AB, et al. Soil bacterial community abundance and diversity in ice-free areas of Keller Peninsula, Antarctica[J]. Applied Soil Ecology, 2012, 61: 7-15
- [12] Cox F, Newsham KK, Bol R, et al. Not poles apart: Antarctic soil fungal communities show similarities to those of the distant Arctic[J]. Ecology Letters, 2016, 19(5): 528-536
- [13] Chong CW, Silvaraj S, Supramaniam Y, et al. Effect of temperature on bacterial community in petroleum hydrocarbon-contaminated and uncontaminated Antarctic soil[J]. Polar Biology, 2018, 41(9): 1763-1775
- [14] Niederberger TD, Sohm JA, Gunderson TE, et al. Microbial community composition of transiently wetted Antarctic Dry Valley soils[J]. Frontiers in Microbiology, 2015, 6: 9
- [15] Mangano S, Caruso C, Michaud L, et al. First evidence of quorum sensing activity in bacteria associated with Antarctic sponges[J]. Polar Biology, 2018, 41(7): 1435-1445
- [16] Makhalyane TP, van Goethem MW, Cowan DA. Microbial diversity and functional capacity in polar soils[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2016, 38: 159-166
- [17] Bowman JS. Identification of microbial dark matter in Antarctic environments[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 3165
- [18] Wei STS, Lacap-Bugler DC, Lau MCY, et al. Taxonomic and functional diversity of soil and hypolithic microbial communities in Miers Valley, McMurdo Dry Valleys, Antarctica[J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 1642
- [19] Newsham KK, Hopkins DW, Carvalhais LC, et al. Relationship between soil fungal diversity and temperature in the maritime Antarctic[J]. Nature Climate Change, 2016, 6(2): 182-186
- [20] Castro-Sowinski S. The Ecological Role of Micro-Organisms in the Antarctic Environment[M]. Cham: Springer, 2019
- [21] Zhang T, Zhang YQ, Liu HY, et al. Diversity and cold adaptation of culturable endophytic fungi from bryophytes in the Fildes Region, King George Island, maritime Antarctica[J]. FEMS Microbiology Letters, 2013, 341(1): 52-61
- [22] Holland-Moritz H, Stuart J, Lewis LR, et al. Novel bacterial lineages associated with boreal moss species[J]. Environmental Microbiology, 2018, 20(7): 2625-2638
- [23] Tojo M, van West P, Hoshino T, et al. *Pythium polare*, a new heterothallic oomycete causing brown discoloration of *Sanionia uncinata* in the Arctic and Antarctic[J]. Fungal Biology, 2012, 116(7): 756-768
- [24] Yamazaki Y, Tojo M, Hoshino T, et al. Characterization of *Trichoderma polysporum* from Spitsbergen, Svalbard archipelago, Norway, with species identity, pathogenicity to moss, and polygalacturonase activity[J]. Fungal Ecology, 2011, 4(1): 15-21
- [25] Park M, Lee H, Hong SG, et al. Endophytic bacterial diversity of an Antarctic moss, *Sanionia uncinata*[J]. Antarctic Science, 2013, 25(1): 51-54
- [26] Hedenäs L. Global phylogeography in *Sanionia uncinata* (amblystegiaceae: Bryophyta)[J]. Botanical Journal of the Linnean Society, 2011, 168(1): 19-42
- [27] Bolger AM, Lohse M, Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data[J]. Bioinformatics, 2014, 30(15): 2114-2120
- [28] Tang JY, Ma J, Li XD, et al. Illumina sequencing-based community analysis of bacteria associated with different bryophytes collected from Tibet, China[J]. BMC Microbiology, 2016, 16(1): 276
- [29] Martínez-Alonso E, Peña-Perez S, Serrano S, et al. Taxonomic and functional characterization of a microbial community from a volcanic englacial ecosystem in Deception Island, Antarctica[J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 12158
- [30] Li W, Morgan-Kiss RM. Influence of environmental drivers and potential interactions on the distribution of microbial communities from three permanently stratified Antarctic lakes[J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 1067
- [31] Lee KC, Caruso T, Archer SDJ, et al. Stochastic and deterministic effects of a moisture gradient on soil microbial communities in the McMurdo Dry Valleys of Antarctica[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 2619
- [32] Park CH, Kim KM, Kim OS, et al. Bacterial communities in Antarctic lichens[J]. Antarctic Science, 2016, 28(6): 455-461