

# 珠穆朗玛峰北坡 6000 m 以上主要生境细菌群落特征

刘勇勤 姚檀栋 康世昌 焦念志 曾永辉 黄思军 骆庭伟

( 中国科学院青藏高原研究所, 北京 100085; 中国科学院冰冻圈科学国家重点实验室, 兰州 730000; 厦门大学近海海洋环境科学国家重点实验室, 厦门 361005. E-mail: yqliu@itpcas.ac.cn)

**摘要** 流式细胞技术及构建的细菌 16S rRNA 基因文库揭示了珠穆朗玛峰北坡 6600~8000 m 表层雪中细菌的数量, 以及 6000 m 冰塔林、6350 m 冰川融水和 6600 m 表层雪中细菌的群落特征. 珠峰北坡表层雪中细菌数量高于南极地区, 但与其他高山雪中相似. 表层雪中细菌的数量有随海拔升高而增多的趋势, 但与离子的浓度相关性不太. 珠峰北坡冰冻环境中的细菌 16S rRNA 序列与土壤、湖泊和河流、动植物体及其他冷冻环境中细菌的相似. 冰塔林、冰川融水和表层雪中细菌具不同的群落特征, *Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides* (CFB) 类群细菌在冰川融水中占绝对优势, 冰塔林中属于  $\beta$ -*Proteobacteria* 和 CFB 类的细菌为优势种, 而表层雪中细菌则以  $\beta$ -*Proteobacteria* 和 *Actinobacteria* 类的细菌为主, 不同生境中细菌群落的不同可能是由于细菌的沉积后变化引起.

**关键词** 珠穆朗玛峰 6000 m 以上 细菌数量 细菌 16S rRNA

珠穆朗玛峰以其独一无二的海拔高度, 在生态系统及全球变化研究中起着重要的作用. 珠峰是全球变化研究的热点地区, 冰川学家和气候学家对该地区冰雪的物理和化学性质进行了详细的研究<sup>[1~7]</sup>, 但对有机界的研究还很少. 前人对喜马拉雅山南坡 Yala 冰川的雪藻和 Gangotri 冰川的耐寒细菌进行了研究<sup>[8,9]</sup>, 在珠峰北坡仅对东绒布冰川 6500 m 垭口处雪坑中微生物进行了研究<sup>[10]</sup>. 近些年来, 作为全球变化敏感指示器之一的高山环境中微生物得到越来越多的研究, 但研究区大多在 2000~4000 m<sup>[11~14]</sup>, 已有研究表明, 海拔越高, 对气候变化的放大效应越强<sup>[15]</sup>. 因此, 作为气候变化的敏感区, 珠峰高海拔区微生物的群落及其与环境关系的研究具有重要的环境科学意义. 珠峰 6000 m 以上地区常年为冰雪覆盖, 仅有部分出露基岩, 无任何植被, 积雪压实成冰形成冰川, 冰川末端由于差异消融形成世界上最壮观的冰塔林, 冰川区季节性出现冰川融水, 对这种寒冷低温、寡营养、强辐射的极端环境中微生物的研究也同时具有重要的生物学意义.

本研究用流式细胞计数技术研究了珠峰北坡 6600~8000 m 表层雪中细菌数量, 并初步分析了细菌数量与环境的关系. 通过构建环境样品 16S rRNA 基因克隆文库, 研究了 6000 m 冰塔林、6350 m 冰川融

水和 6600 m 表层雪中细菌的多样性. 本研究的目的在于揭示珠峰高海拔区不同生境(冰、雪、冰川融水)中细菌的面貌.

## 1 材料与方法

( ) 样品的采集及实验室分析. 沿珠峰北坡登山线路采集表层(1~10 cm)雪样(图 1), 分装入 500 mL 洁净灭菌的 Nalgene 瓶中, 用以分析雪中细菌的数量. 在 6350 m 处取冰川融水 1 L, 在 6600 m 处取表层雪 2 L, 在 6000 m 冰塔林取冰一块, 用以分析细菌的多样性. 穿洁净服戴无菌手套进行所有操作. 在野外及运输过程中样品冷冻保存. 微生物的数量用厦门大学近海海洋环境科学国家重点实验室的流式细胞仪(Beckman Coulter 公司, 型号 Epics Altra )检测. 离子浓度由中国科学院青藏高原研究所环境与过程实验室 Dionex 2000 及 2500 型离子色谱仪测定.

( ) 环境 DNA 样品的提取及 16S rRNA 基因的扩增. 表层雪样置于 4 °C 下缓慢融化, 将约 600 mL 融水用 0.22  $\mu$ m 无菌 Millipore 微孔滤膜过滤. 将冰川融水样取出置于 4 °C 下缓慢融化后, 用 0.22  $\mu$ m 无菌 Millipore 微孔滤膜过滤. 冰塔林的冰块先在无菌操作台中用灭菌手术刀将外面约 5 cm 的外层刮去, 重复一次, 再用预冷 90%乙醇冲淋, 将处理后的冰块置

2007-03-29 收稿, 2007-05-24 接受

国家重点基础研究发展计划项目(批准号: 2005CB422004)、国家自然科学基金项目(批准号: 40121101, 40401054)、中国科学院创新项目(批准号: KZCX3-SW-339)、“百人计划”项目及国际社会公益项目(批准号: 2005DIA3J106)资助

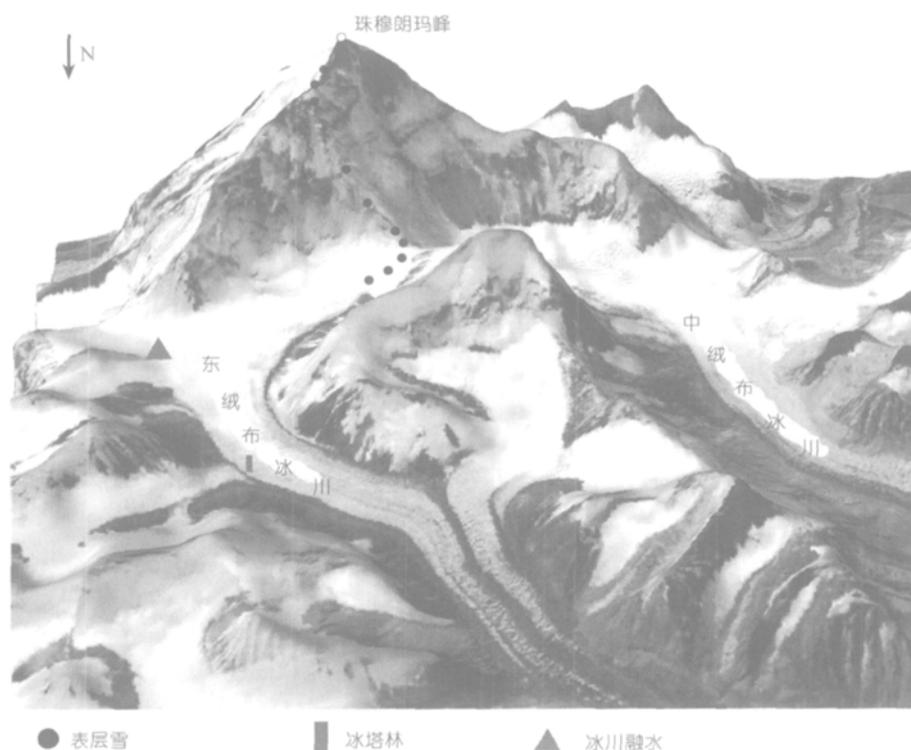


图 1 研究样品采集点

于密封容器中 4 ℃ 下缓慢融化后,再用 0.22 μm 无菌 Millipore 微孔滤膜过滤.将膜放入离心管中,加入 GTE 缓冲液(50 mmol/L 葡萄糖, 25 mmol/L Tris, 25 mmol/L Tris-HCl, 10 mmol/L EDTA (pH 8.0))及溶菌酶(终浓度 1 mg/mL), 37 ℃ 水浴 2 h 后将液体转入新的离心管,加入 10% SDS, 10 μL 蛋白酶 K (终浓度 0.2 mg/mL)及 5 mol/L NaCl, 53 ℃ 水浴后加入等体积的酚 氯仿 异戊醇(25:24:1)抽提,离心后取上清加入 2/3 体积的氯仿 异戊醇,离心后加入异丙醇置于 -20 ℃ 过夜沉淀.取出后高速离心,弃上清,加入 70% 预冷的乙醇清洗,弃上清室温下风干后加入 TE 缓冲液将 DNA 溶解, -20 ℃ 下保存.

以细菌通用引物 27f (5'-AGAGTTTGATCTGGC-TCAG-3')和 1392r (5'-ACGGGCGGTGTGTRC-3')对样品进行扩增.PCR 反应体系(30 μL)含: 1 μL DNA 模板, 3 μL 缓冲液, 1.8 μL dNTP, 正反向引物各 0.5 μL 及 0.2 μL La Taq DNA 聚合酶(宝生物工程大连有限公司).PCR 扩增条件是: 94 ℃ 预变性 5 min; 94 ℃ 变性 30 s, 55 ℃ 复性 1 min, 72 ℃ 延伸 1 min, 30 个循环; 72 ℃ 延伸 10 min.将灭菌水用同样方法过膜后提取 DNA

并扩增,用作阴性对照.

( ) 16S rRNA 基因克隆文库的构建及筛选.将 PCR 产物用 DNA 纯化试剂盒(宝生物工程公司)纯化后,连接克隆到 pMD18-T 载体(宝生物工程公司),并转入 *E. coli* DH5α 中,建立 16S rRNA 基因文库.每个基因文库中随机挑取 70~100 个克隆以 M13 正反向引物进行 PCR 扩增,扩增产物在 1.5%的琼脂糖胶中电泳,确定阳性克隆.将 15 μL 阳性克隆的 PCR 产物分别用 *Hha* 和 *Afa* 酶进行酶切,以 3%的琼脂糖凝胶电泳分析限制性酶切带型.不同的克隆根据酶切带型结果进行归类,每种带型中挑选一个克隆测序.所有测序在上海英骏生物技术有限公司 ABI 3730 测序仪上完成.根据文库酶切分型的结果计算克隆文库的覆盖率(coverage),并进行多样性分析;覆盖率 = [1-(带型仅出现一次的克隆子数/总克隆数)] × 100%<sup>[16]</sup>.

( ) 16S rRNA 基因序列的分析比较.所获得序列首先通过嵌合子检测程序 CHIMERA\_CHECK<sup>[17]</sup>检测是否为嵌合子序列.在 GenBank 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>)与已知细菌的 16S rRNA

基因序列进行比较. 所有序列在 Ribosomal Database Project 9.0 数据库 (<http://rdp.cme.msu.edu>) 中用“Classifier”程序以 80%的置信度确定其归属. 所得 16S rRNA 基因序列均已提交 GenBank 数据库, 序列登录号为: EF190114 ~ EF190144, DQ675465, DQ675469, DQ675500, DQ675487, DQ675470, DQ675471.

## 2 结果

### 2.1 珠峰北坡 6600~8000 m 表层雪中细菌的数量及主要离子的浓度

表 1 列出了珠峰北坡 6600~8000 m 不同海拔表层雪中细菌数及主要离子浓度. 表层雪中的细菌数量有随海拔升高而加大的趋势, 但与离子的相关性不大.

### 2.2 珠峰北坡 6000 m 以上主要生境中细菌群落特征

珠峰北坡不同海拔的冰、雪和冰川融水中 240 个(冰塔林中 71 个、冰川融水中 77 个、表层雪中 92 个)克隆子经 RFLP 分析, 共获得 37 条序列. 所有序列通过嵌合子检测程序验证表明均为正常的 16S rRNA 基因序列. 分别构建了 6000 m 冰塔林(ESE), 6350 m 冰川融水(L), 6600 m 表层雪(ESS) 3 个 16S rRNA 基因文库. 所建文库的覆盖率均大于 80%, 表明足以代表细菌的多样性.

( ) 6000 m 冰塔林中细菌的 16S rRNA 基因序列分属于  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ -*Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Firmicutes*, CFB, *Cyanobacteria* 7 大类.  $\beta$ -*Proteobacteria* 为其优势类群, 占全部克隆的 43.66%, 均属 *Oxalobacteraceae* 科未定属. 属于  $\beta$ -*Proteobacteria* 的 4 条序列中有 3 条最同源序列都源自冰川或冻土环境, 1 条序列的最同源序列源自土壤. 其中序列 ESE-2 占全部克隆的 40%, 其最同源细菌分离自南极 Canada 冰川 (AF479326, 相似度 98%). 属于 CFB,  $\gamma$ -*Proteobacteria* 和  $\alpha$ -*Proteobacteria* 的序列分别占总克隆的 21.31%, 14.08%和 12.68%, 大多数细菌的最同源序列

分离自土壤. 序列 ESE-68 属于  $\alpha$ -*Proteobacteria* 的 *Devosia* 属, 与分离自南极湖泊的序列 UBA440974, 北极海冰的序列 AF468359 相似度都达 97%, 与源于新西兰 Franz Josef Glaciers 的 AY315165 相似度达 98%.

( ) 6350 m 冰川融水细菌 16S rRNA 基因文库中 CFB 类 *Flavobacterium* 属占绝对优势(94.8%). 另外, 只有  $\beta$ -*Proteobacteria* 类的 *Acidovorax* 和 *Polaromonas* 属, 且只有 4 个克隆. 属于 *Flavobacterium* 属的 4 条序列中, 有 3 条序列的最同源细菌分离自南极湖泊, 1 条分离自河口沉积物. 其中序列 L-4-59 所代表的克隆占全部克隆的 85%, 其最同源序列分离自南极 Ardley Island 湖泊沉积物(AJ551150, 相似度 97%).  $\beta$ -*Proteobacteria* 类的 2 条序列的最同源细菌分别源自北极海冰(AF468326)和瓶装水中(AF442523), 相似度都为 99%. 6350 m 冰川融水中细菌多样性低且表现出强耐寒性的特征.

( ) 6600 m 表层雪 16S rRNA 基因文库中序列近一半属于  $\beta$ -*Proteobacteria* (占全部克隆的 45.65%), 其余分属于 *Actinobacteria* (34.78%),  $\alpha$ -*Proteobacteria* (13.04%), CFB (2.17%), *Deinococci* (2.17%)类群及未定类(2.17%). 序列的最同源序列分离自冰川、土壤及水生环境. ESS-2 在 RDP 数据库中以 100%的相似度归于 *Deinococci* 属, 最同源序列为分离自土壤 (AY960773)及新西兰 Franz Josef Glaciers 中 *Deinococci* 属细菌 (AY315162). *Deinococci* 类细菌具有特殊的抗强辐射的能力, 在南极极点附近雪中占 10%~20%.

### 2.3 珠峰北坡 6000 m 以上主要生境细菌相似性分析

通过 Blast 程序从 GenBank 数据库中提取了所有序列的最同源序列及最同源纯系. 所获得的 37 条珠峰 6000 m 以上冰冻圈细菌序列与现有序列的相似性为 93%~100%, 与现有纯系的相似性为 89%~100%. 23 条序列与现有序列相似性为 98%~100%, 占 62%; 21 条序列与现有纯系相似性 98%~100%, 占 58%.

表 1 珠峰北坡 6600~8000 m 表层雪中细菌的数量及主要离子的浓度

海拔/m	细菌数量/ $10^4$ 个·mL <sup>-1</sup>	Ca <sup>2+</sup> /μL·L <sup>-1</sup>	Mg <sup>2+</sup> /μL·L <sup>-1</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /μL·L <sup>-1</sup>	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> /μL·L <sup>-1</sup>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> /μL·L <sup>-1</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> /μL·L <sup>-1</sup>
6600	2.97	3978	160	638	220	12	599
6700	3.06	206	12	63	2	6	35
6800	4.03	2671	111	431	0.94	29	259
6900	4.74	111	4.42	40	3	16	23
7000	6.98	84	4.18	80	6	17	27
7500	2.11	6182	189	66	34	34	291
8000	9.44	-	-	-	-	-	-

以大于 97%为标准(同种的水平)从 GenBank 数据库中提取所有相似性序列的环境信息. 如表 2 所列, 37 条序列中, 8 条序列的相似序列来自南、北极或低纬度区冰川或冻土中, 12 条序列的相似序列分离自水生环境, 14 条序列的相似序列来自土壤和沉积物, 14 条序列的相似序列分离自与人、植物、动物相关的其他环境. 另 11 条序列与其最同源序列的相似性小于 97%.

### 3 讨论

#### 3.1 珠峰北坡 6600~8000 m 表层雪中细菌数量与环境的关系

表 1 列出了珠峰北坡 6600~8000 m 表层雪中细菌数及化学特征, 表层雪中主要离子的浓度可反映其营养状况, 从表 1 可见, 细菌数与离子的浓度不具有相同的变化趋势, 在  $PO_4^{3-}$ ,  $NO_3^-$ ,  $NH_4^+$  高值, 即营

表 2 珠峰北坡 6000 m 以上主要生境中细菌的分类及相似序列的分离环境<sup>a)</sup>

克隆	GenBank 登录号	类	RDP 属		NCBI 中相似序列(相似度>97%)及其分离环境			
			属名	相似度	水生环境	土壤/沉积物	冰冻环境	其他
ESE-7	EF190117	<i>α-Proteobacteria</i>	<i>Agrobacterium</i>	98%				
ESE-27	EF190122	<i>α-Proteobacteria</i>	<i>Agrobacterium</i>	93%				
ESE-59	EF190128	<i>α-Proteobacteria</i>	未分类	66%		+	+T	
ESE-68	EF190129	<i>α-Proteobacteria</i>	<i>Devosia</i>	100%		+	+G	+
ESE-29	EF190124	<i>β-Proteobacteria</i>	未分类	64%				
ESE-2	EF190114	<i>β-Proteobacteria</i>	未分类	64%	+		+G	+
ESE-14	EF190119	<i>β-Proteobacteria</i>	未分类	52%	+	+	+G	+
ESE-19	EF190120	<i>β-Proteobacteria</i>	未分类	52%	+	+	+G,P	
ESE-33	EF190126	<i>γ-Proteobacteria</i>	<i>Acinetobacter</i>	100%		+		+
ESE-8	EF190118	<i>γ-Proteobacteria</i>	<i>Acinetobacter</i>	100%				+
ESE-54	EF190127	<i>γ-Proteobacteria</i>	<i>Acinetobacter</i>	100%				+
ESE-72	EF190130	<i>γ-Proteobacteria</i>	<i>Acinetobacter</i>	100%		+		
ESE-21	EF190121	<i>Actinobacteria</i>	未分类	48%	+			
ESE-78	EF190132	<i>Actinobacteria</i>	<i>Brevibacterium</i>	100%	+			+
ESE-28	EF190123	<i>Firmicutes</i>	<i>Anoxybacillus</i>	100%		+		+
ESE-75	EF190131	<i>Firmicutes</i>	<i>Anoxybacillus</i>	100%		+		+
ESE-3	EF190115	<i>CFB</i>	未分类	38%	+			
ESE-4	EF190116	<i>CFB</i>	<i>Pedobacter</i>	100%				
ESE-32	EF190125	<i>Cyanobacteria</i>	未分类	17%				
L-4-25	DQ675500	<i>β-Proteobacteria</i>	<i>Acidovorax</i>	100%	+	+		+
L-4-30	DQ675487	<i>β-Proteobacteria</i>	<i>Polaromonas</i>	100%	+	+	+G,A,An	
L-2-12	DQ675465	<i>CFB</i>	<i>Flavobacterium</i>	100%				
L-4-24	DQ675469	<i>CFB</i>	<i>Flavobacterium</i>	100%				
L-4-59	DQ675470	<i>CFB</i>	<i>Flavobacterium</i>	100%				
L-4-62	DQ675471	<i>CFB</i>	<i>Flavobacterium</i>	100%				
ESS-45	EF190143	<i>α-Proteobacteria</i>	未分类	75%		+		+
ESS-31	EF190141	<i>α-Proteobacteria</i>	<i>Methylobacterium</i>	100%				
ESS-9	EF190134	<i>β-Proteobacteria</i>	未分类	52%				
ESS-13	EF190135	<i>β-Proteobacteria</i>	<i>Polaromonas</i>	100%	+	+		
ESS-14	EF190136	<i>β-Proteobacteria</i>	<i>Polaromonas</i>	96%				
ESS-22	EF190139	<i>β-Proteobacteria</i>	<i>Polaromonas</i>	100%			+A	
ESS-21	EF190138	<i>β-Proteobacteria</i>	未分类	56%	+			+
ESS-27	EF190140	<i>Actinobacteria</i>	<i>Kocuria</i>	100%	+	+		+
ESS-7	EF190133	<i>Actinobacteria</i>	未分类	58%				
ESS-19	EF190137	<i>CFB</i>	<i>Flavobacterium</i>	100%			+G	
ESS-32	EF190142	<i>Deinococci</i>	<i>Deinococcus</i>	100%				
ESS-81	EF190144	未分类		57%	+	+		

a) +T, 青藏高原冰芯; +An, 南极; +A, 北极; +G, 冰川; +P 冻土

养相对丰富的时期,细菌数并没出现相应的高值,表明表层雪的营养条件不是决定细菌数量的主导因素.已有的研究表明,细菌以冰核的形式悬浮于大气中,大气可以作为微生物的载体长距离运输和传送微生物<sup>[18,19]</sup>.对青藏高原马兰和普若岗日冰芯中微生物的研究也表明,冰川上的细菌多是由大气输送来的<sup>[20,21]</sup>.珠峰高海拔区雪中的细菌也可能主要是由大气从其他地区携带而来.马兰冰芯中细菌的数量与粉尘的数量密切相关<sup>[21]</sup>,普若岗日冰芯中细菌的数量也与钙离子的浓度正相关<sup>[20]</sup>,但珠峰地区表层雪中细菌数与钙离子的浓度关系不大,这是由于该地区钙离子浓度的变化主要是来自非常局地的岩石(如7000 m附近裸露的岩石).在珠峰南坡4000~6000 m处,雪藻的数量受温度、光照和营养条件的影响,随海拔高度的升高而减少<sup>[8]</sup>,但珠峰北坡表层雪中细菌的数量有随海拔升高而增多的趋势,雪中细菌数量受多方面的影响,如大气携带的细菌数量的多少、沉积后细菌生长的情况等.但现有的研究对珠峰高海拔区细菌的原位生长情况尚不清楚,现仅从大气携带和沉降这一环节,推测细菌数量变化的趋势可能是由于细菌随雪沉降的过程中,在高海拔区遇冷先冷凝沉降,使得高海拔区数量较多,也可能是由于高海拔区降雪量多的原因,对该地区细菌数量与环境的关系需在以后进一步加强采样和研究.

### 3.2 珠峰北坡表层雪与极地和其他高山雪的不同

珠峰地区表层雪中细菌的数量比南极地区表层雪中的要多,是后者的10~100倍.南极极点处表层雪中细菌为200~5000个/mL<sup>[22]</sup>,罗斯冰架处表层雪中为3000个/mL<sup>[23]</sup>.这可能是由于珠峰地区虽然海拔很高,但距离细菌源区要较南极近,有更多的细菌来源的原因.南极和山地的冰芯中细菌数有同样的规律<sup>[24]</sup>.珠峰地区表层雪中细菌的数量与其他高山环境相似,如奥地利Sonnblick山3106 m表层雪中细菌为 $9.5 \times 10^3 \sim 1.3 \times 10^4$ 个/mL,平均 $1.1 \times 10^4$ 个/mL<sup>[19]</sup>.日本Tateyama山2450 m处6 m的雪坑中细菌的数量从 $6.0 \times 10^3$ 到 $2.3 \times 10^5$ 个/mL,平均 $8.4 \times 10^3$ 个/mL<sup>[14]</sup>.

尽管珠峰地区和其他高山雪中细菌数相似,但由于地理环境的巨大差异,使得珠峰表层雪中细菌的群落特征与日本Tateyama山完全不同.后者在3、6和8月具不同的菌群结构,3月份雪中细菌主要为*Bacillus/Clostridium*,占36.1%,*Actinobacteria*其次,占34.8%, $\alpha, \beta, \gamma$ -*Proteobacteria*分别占10.6%,3%和

15.1%.6月份雪中细菌以 $\beta$ -*Proteobacteria*占优势(67.7%),CFB和 $\gamma$ -*Proteobacteria*类各占12.5%和7.3%. $\beta$ -*Proteobacteria*在8月份雪中仍为优势类,占52.9%,但在前2个月中较少的CFB类细菌在8月份雪中占35.6%.珠峰表层雪样取自4月,细菌的群落结构与上述3个月都不尽相同.这种不同可能是由于这两个地区雪中细菌由不同大气环流从不同的地区带来,也可能是由于Tateyama山表层雪中某些细菌的生长引起了群落结构的变化.

### 3.3 珠峰北坡6000 m以上不同生境中细菌的群落特征

本研究的3种介质(冰、雪、水)代表了珠峰北坡6000 m以上不同的细菌小生境,具有不同的环境意义.表层雪反映的是近期空气携带细菌的特征,但冰塔林中的细菌则已存在很长时间,冰川融水则是季节性的水体,只在融化季节时才存在.不同的生境中细菌的群落面貌也有很大的区别,冰川融水中细菌以CFB为绝对优势种,冰塔林和表层雪中细菌都以 $\beta$ -*Proteobacteria*为优势类群(图2),但冰塔林中CFB类细菌远多于表层雪,而*Actinobacteria*类细菌的数量大大小于表层雪.不同生境中细菌群落的不同可能反映了细菌随降雪沉降到该地区后的沉积后变化,在多次降雪积累于此并压实成冰的过程中,耐寒的 $\beta$ -*Proteobacteria*和CFB类细菌可能较多地存活下来,甚至在合适的季节生长,而*Actinobacteria*类细菌则由于不能适应恶劣的环境而减少.冰川融水中与冰雪中细菌的显著差别可能因为生境由固态冰雪到液态水的变化,某些适应种大幅增多.但本研究仅是初步探讨珠峰高海拔区不同生境中细菌群落特征的不同,对造成这种不同的机理及环境意义需在以后进

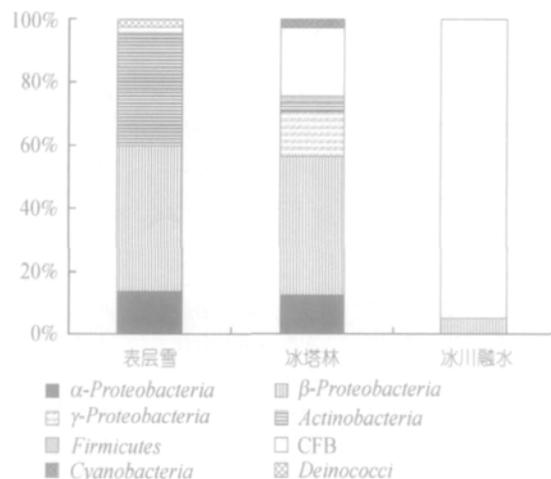


图2 珠峰北坡6000 m以上不同生境中细菌群落的比较

行更多的研究.

虽然不同生境中细菌的群落不同,但绝大多数细菌与其他环境中的克隆及纯系相似,可能是由大气环流从不同的环境中携带而至,也说明了珠峰高海拔地区细菌多种来源这一特性. 珠峰冰雪和冰川融水中细菌也呈现了较强的耐寒的特征,较多序列与分离自其他冷环境的序列相似,存在于南北极冰芯和其他山地冰川中嗜冷和耐冷的细菌,如 CFB 类 *Flavobacterium* 属和  $\beta$ -*Proteobacteria* 类 *Polaromonas* 属<sup>[24~28]</sup>也在珠峰 6000 m 以上地区发现.

#### 4 结论

珠峰北坡 6600~8000 m 表层雪中细菌的数量在  $2.11 \times 10^4 \sim 9.44 \times 10^4$  之间,是南极地区雪中细菌的 10~100 倍. 表层雪中细菌的数量有随海拔升高而增多的趋势,但与主要离子的浓度相关性不大,表明雪的营养状况不是决定细菌数量的主要因素. 表层雪中细菌的数量与其他高山雪相似,但细菌的群落特征不同,表明不同地理位置高山雪中细菌的多样性. 珠峰北坡冰冻环境中的细菌绝大多数与其他环境中的克隆及纯系相似,表明珠峰高海拔区细菌的多种来源,但较多细菌与分离自其他冰冻圈的细菌相似. 表层雪、冰塔林和冰川融水中细菌具不同群落特征,冰川融水细菌以 CFB 为绝对优势种,冰塔林和表层雪中细菌以  $\beta$ -*Proteobacteria* 为优势类群. 不同生境中细菌群落的不同可能是由于沉积后变化引起的.

#### 参 考 文 献

- 1 任贾文, 秦大河, 康世昌, 等. 喜马拉雅山中段冰川变化及气候暖干化特征. 科学通报, 2003, 48(23): 2478—2483
- 2 侯书贵, 秦大河, Wake C P, 等. 珠穆朗玛峰地区冰川净积累量变化的冰芯记录及其气候意义. 科学通报, 1999, 44(21): 2336—2342
- 3 Kang S C, Mayewski P A, Qin D H, et al. Glaciochemical records from a Mt. Everest ice core: Relationship to atmospheric circulation over Asia. Atmos Environ, 2002, 36(21): 3351—3361
- 4 Kang S C, Mayewski P A, Qin D H, et al. Seasonal differences in snow chemistry from the vicinity of Mt. Everest, central Himalayas. Atmos Environ, 2004, 38(18): 2819—2829
- 5 Kang S C, Mayewski P A, Qin D H, et al. Twentieth century increase of atmospheric ammonia recorded in Mount Everest ice core. J Geophys Res, 2002, 107(D20): 4595. 10.1029/2001JD001413, ACL13-1—ACL13-9
- 6 Kang S C, Qin D H, Mayewski P A, et al. Climatic and environmental records from the Far East Rongbuk ice core, Mt. Qomolangma (Everest). Episodes, 2001, 24(3): 176—181
- 7 Qin D H, Mayewski P A, Wake C P. Evidence for recent climate change from ice cores in the central Himalayas. Ann Glaciol, 2000, 31: 153—158
- 8 Yoshimura Y, Kohshima S, Ohtani S. A community of snow algae

- on Himalayan glacier: Change of algal biomass and community structure with altitude. Arct Alpine Res, 1997, 29(1): 126—137
- 9 Baghel V S, Tripathi R D, Ramteke P W, et al. Psychrotrophic proteolytic bacteria from cold environment of Gangotri glacier, Western Himalaya, India. Enzyme Microbiol Technol, 2005, 36(5-6): 654—659
- 10 刘勇勤, 姚檀栋, 康世昌, 等. 珠穆朗玛峰地区东绒布冰川冰雪微生物群落及其季节变化. 科学通报, 2006, 51(11): 1287—1297
- 11 Battin T J, Wille A, Psenner R, et al. Large-scale environmental controls on microbial biofilms in high-alpine streams. Biogeosciences, 2004, 1(2): 159—171
- 12 Carrillo P, Medina-Sanchez J M, Villar-Argaiz M. The interaction of phytoplankton and bacteria in a high mountain lake: Importance of the spectral composition of solar radiation. Limno Oceanogr, 2002, 47(5): 1294—1306
- 13 Medina-Sanchez J M, Villar-Argaiz M, Carrillo P. Neither with nor without you: A complex algal control on bacterioplankton in a high mountain lake. Limno Oceanogr, 2004, 49(5): 1722—1733
- 14 Segawa T, Miyamoto K, Ushida K, et al. Seasonal change in bacterial flora and biomass in mountain snow from the Tateyama Mountains, Japan, analyzed by 16S rRNA gene sequencing and real-time PCR. Appl Environ Microbiol, 2005, 71(1): 123—130
- 15 Giorgi F, Hurrell J W, Marinucci M R, et al. Elevation dependency of the surface climate change signal: A model study. J Clim, 1997, 10(2): 288—296
- 16 Kemp P F, Aller J Y. Bacterial diversity in aquatic and other environments: what 16S rDNA libraries can tell us. FEMS Microbiology Ecology, 2004, 47(2): 161—177
- 17 Cole J R, Chai B, Farris R J, et al. The Ribosomal Database Project (RDP-II): Sequences and tools for high-throughput rRNA analysis. Nucl Acids Res, 2005, 33(suppl\_1): D294—296
- 18 Hamilton W D, Lenton T M. Spora and Gaia: How microbes fly with their clouds. Ethol Ecol Evolution, 1998, 10(1): 1—16
- 19 Sattler B, Puxbaum H, Psenner R. Bacterial growth in supercooled cloud droplets. Geoph Res Lett, 2001, 28(2): 239—242
- 20 Zhang X, Yao T, An L Z, et al. A study on the vertical profile of bacterial DNA structure in the Puruogangri (Tibetan Plateau) ice core using denaturing gradient gel electrophoresis. Ann Glaciol, 2006, 43: 160—166
- 21 Yao T D, Xiang S R, Zhang X J, et al. Microorganisms in the Malan ice core and their relation to climatic and environmental changes. Glob Biogeochem Cycl, 2006, 20(1): GB1004
- 22 Carpenter E J, Lin S, Capone D G. Bacterial activity in South Pole snow. Appl Environ Microbiol, 2000, 66(10): 4514—4517
- 23 Garrison D L, Sullivan C W, Ackley S F. Sea ice microbial communities in Antarctica. Bioscience, 1986, 36: 243—250
- 24 Christner B C, Mosley-Thompson E, Thompson L G, et al. Recovery and identification of viable bacteria immured in glacial ice. Icarus, 2000, 144(2): 479—485
- 25 向述荣, 姚檀栋, 安黎哲, 等. 马兰冰芯细菌群落结构变化与气候环境的关系. 科学通报, 2004, 49(17): 1762—1769
- 26 向述荣, 姚檀栋, 安黎哲, 等. 慕士塔格冰芯可培养细菌的数量分布和主要菌群结构随深度的变化. 中国科学 D 辑: 地球科学, 2005, 35(3): 252—262
- 27 张晓君, 马晓军, 姚檀栋, 等. 马兰冰芯 16S rDNA 的多样性与影响冰芯中微生物的环境因素. 科学通报, 2003, 48(9): 947—951
- 28 Zhu F, Wang S, Zhou P J. *Flavobacterium xinjiangense* sp nov and *Flavobacterium omnivorum* sp nov, novel psychrophiles from the China No. 1 glacier. Int J Syst Evol Microbiol, 2003, 53: 853—857