

# 极端生境土壤 DNA 的宏转录组学: 微生物多样性对环境胁迫的响应策略

胡昕

上海巷西环境科技有限公司

DOI:10.32629/eep.v9i3.3108

**[摘要]** 沙漠、盐碱地与矿区等极端生境中,土壤微生物同时面临干旱、渗透压失衡、重金属及氧化等多重胁迫。本研究选取腾格里沙漠、艾比湖盐碱地及德兴铜矿尾矿库,同时提取土壤总RNA与DNA,开展宏转录组与16S/ITS扩增子测序。结果表明: DNA与RNA揭示的群落结构显著解耦,厚壁菌门与异常球菌门在转录水平上的活性远超其DNA丰度; 功能基因表达呈现“模块化+生境特异性”模式,渗透调节、抗氧化、DNA修复及金属外排系统协同响应; 稀有类群(丰度<0.1%)贡献了超过30%的独特转录本,携带新型视紫红质及汞还原等潜在抗逆基因。本研究从活性层面揭示了极端土壤微生物的实时适应策略,为生物修复与抗逆资源挖掘提供了理论依据。

**[关键词]** 极端生境; 宏转录组学; 活性微生物; 环境胁迫; 稀有生物圈

**中图分类号:** P342+.3 **文献标识码:** A

## Metatranscriptomics of Soil DNA in Extreme Habitats: Response Strategies of Microbial Diversity to Environmental Stresses

Xin Hu

Shanghai Xiangxi Environmental Technology Co., Ltd.

**[Abstract]** Soil microorganisms in extreme habitats such as deserts, saline-alkali lands and mining areas are simultaneously exposed to multiple stresses including drought, osmotic imbalance, heavy metals and oxidative stress. In this study, total RNA and DNA were extracted from soils collected from the Tengger Desert, Ebinur Lake saline-alkali land and tailings reservoir of Dexing Copper Mine, followed by metatranscriptomic sequencing and 16S/ITS amplicon sequencing. The results showed significant decoupling of community structures revealed by DNA and RNA; the transcriptional activities of Firmicutes and Deinococcus were far higher than their DNA abundances. The expression of functional genes exhibited a "modular + habitat-specific" pattern, with osmotic regulation, antioxidant systems, DNA repair and metal efflux systems responding synergistically. Rare taxa (relative abundance < 0.1%) contributed more than 30% of unique transcripts, harboring potential stress-resistant genes such as novel rhodopsin and mercuric reductase. This study reveals the real-time adaptive strategies of extreme soil microorganisms at the active level, providing a theoretical basis for bioremediation and the exploration of stress-resistant genetic resources.

**[Key words]** extreme habitats; metatranscriptomics; active microorganisms; environmental stresses; rare biosphere

### 引言

极端生境(干旱沙漠、高盐碱地、重金属尾矿)是研究微生物极限适应性的天然实验室。传统基于DNA的扩增子测序能够描绘群落“潜在多样性”,但无法区分存活、休眠与死亡细胞,更无法反映微生物在胁迫下的实时代谢状态<sup>[1-3]</sup>。宏转录组学通过测序环境总RNA,直接捕获具有代谢活性的群落成员及其瞬

时表达的基因图谱,实现了从“能做什么”到“正在做什么”的跨越<sup>[4]</sup>。然而,极端土壤中腐殖酸、盐分及重金属严重抑制RNA提取效率,且rRNA占比过高影响mRNA覆盖度<sup>[5]</sup>。此外,大量未培养类群缺乏参考基因组,导致转录本注释困难。本研究优化了共提取方案,系统对比三类极端生境中微生物群落的DNA蓝图与RNA实况,重点回答:(1)活性群落结构与总群落结构有何差异?

(2)不同胁迫下微生物通过哪些共性与特异性通路适应? (3)稀有类群是否贡献了不成比例的功能转录本?

## 1 材料与方法

### 1.1 采样点

沙漠: 腾格里沙漠东南缘流动沙丘(37° 32' N, 105° 02' E), 0-5cm表层, 年均降水186 mm。盐碱地: 新疆艾比湖干涸湖滨(44° 54' N, 82° 99' E), pH 8.7-9.4, 电导率12.8-25.6 mS/cm。矿区: 江西德兴铜矿1号尾矿库(28° 95' N, 117° 72' E), pH 3.2-4.1, Cu含量1870-3400 mg/kg。每类生境5个样方, 每样方9个子样混合, 液氮速冻后-80℃保存<sup>[6-7]</sup>。

### 1.2 RNA与DNA共提取

采用改良SDS-苯酚-氯仿法: 裂解液中添加1% PVPP吸附腐殖酸; 盐碱地样品预先用无菌水洗滌降盐; 矿区样品加入5 mM EDTA与0.5 mM DTT。总RNA经DNase I消化后, 用Ribo-Zero Gold去除rRNA。DNA使用PowerSoil Pro Kit提取。RNA质量RIN≥6.5方可建库。

### 1.3 测序与生物信息学

去除rRNA后反转录为cDNA, 构建链特异性文库。16S V4区(515F/806R)及ITS2区(fITS7/ITS4)扩增子测序。Illumina NovaSeq 6000 PE150。宏转录组每样品12-15 Gb clean reads。使用Trinity进行de novo组装, CD-HIT去冗余, Bowtie2计算TPM表达量<sup>[8]</sup>。DIAMOND注释KEGG、COG。稀有类群定义为相对丰度<0.1%且平均丰度<0.05%的ASV或unigene簇。差异表达采用DESeq2(p<0.05, |log<sub>2</sub>FC|>1)。

## 2 结果

### 2.1 DNA与RNA群落结构的解耦

16S测序显示, 三类生境中细菌以放线菌门(24.7%-41.3%)、变形菌门(18.2%-32.6%)和厚壁菌门(8.5%-19.4%)为主。盐碱地中盐厌氧菌门(Euryarchaeota)占7.2%。矿区酸杆菌门(9.8%)较高。然而宏转录组(以16S rRNA转录本占比代表活性)显示: 厚壁菌门在沙漠和盐碱地的活性占比(32.7%、28.5%)远超其DNA占比(13.2%、9.8%)。异常球菌-栖热菌门在沙漠转录组中占5.6%, 而DNA仅0.7%。相反, 放线菌门DNA占优但转录占比低8-15个百分点, 提示大量休眠个体。PCoA证实DNA与RNA群落结构在每类生境内均显著分离(PERMANOVA, R<sup>2</sup>=0.31, p=0.002), 且分离方向一致——厚壁菌门和异常球菌门呈现“活性上升”。

### 2.2 核心胁迫响应模块与生境特异性

识别出三类生境共上调的62个基因家族, 归为五大模块:

(1)渗透调节: 甘氨酸甜菜碱合成基因betA/betB在盐碱地表达最高(TPM 187), 沙漠中treS(海藻糖合成)特异性上调(log<sub>2</sub>FC=3.2), 盐碱地以proV转运体高表达为特征(log<sub>2</sub>FC=4.1)。矿区渗透基因整体较低, 但gltB(谷氨酸合成)升高, 提示以谷氨酸为相容溶质。

(2)氧化应激: katE(过氧化氢酶)在沙漠中最高(TPM 423), 矿区以sodM(超氧化物歧化酶)占优(TPM 356), 矿区ohr(有机过氧化物抗性)较其他生境高10倍以上。

(3)DNA修复: recA、uvrD在沙漠和矿区高表达, 沙漠recA达TPM 312, 与强紫外线相关。

(4)金属稳态: 矿区copA(铜外排)和arsC(砷还原)显著表达(TPM 145, 98), 并检测到两个新型zntA变体(相似度<70%)。盐碱地高表达nhaA和kdp系统<sup>[9]</sup>。

(5)能量重塑: 沙漠中proteorhodopsin(光驱动质子泵)转录本占2.1%, 主要源于未培养α-变形菌。矿区soxB/sqr(硫氧化)活跃。盐碱地ackA/pta(乙酸盐生成)高表达, 提示局部缺氧。

### 2.3 稀有类群的独特转录贡献

稀有类群(丰度<0.1%)在总转录本丰度中仅占12.4%-18.7%, 但其贡献的独特基因簇(优势类群未表达)占比达28.9%-34.6%。沙漠中一株未培养芽单胞菌(丰度0.03%)表达了完整视紫红质光能转换系统及海藻糖合成途径, 其视紫红质在关键残基(D85, D96)存在非典型替换。盐碱地中丰度0.06%的盐红菌谱系高表达ggpS(古菌膜脂合成酶), 其转录本丰度为优势盐古菌同源基因的8倍。矿区中丰度<0.01%的嗜酸放线菌表达了完整汞还原酶merA/merB基因簇, 尽管背景汞浓度仅0.23 mg/kg。

### 2.4 代谢通路的共性重塑与分化

与对照相比, 三类生境中TCA循环基因整体下调(log<sub>2</sub>FC=-1.2~-0.8), 而乙醛酸循环(aceA/aceB)和磷酸戊糖途径(zwf/gnd)上调, 将碳流转向生物合成前体并增强NADPH。沙漠特异富集“两组分系统”与“海藻糖代谢”并通过treR下调耦合。盐碱地富集“泛醌合成”(ubiE高表达), 产生低氧亲和力的甲基萘醌。矿区协同上调“硫代谢”与“铁载体合成”(ρ=0.73, p<0.01), 通过硫氧化获能并分泌铁载体缓解铁离子毒害。

## 3 讨论

通过对比三类极端生境土壤微生物的DNA蓝图与RNA实况, 发现了一个系统性且非随机的群落结构解耦现象。放线菌门在DNA水平上占据优势, 但其rRNA转录本占比显著低于DNA占比, 差值达8至15个百分点, 表明该类群中相当比例的个体处于休眠或代谢静息状态。这一现象与放线菌广泛产孢的生物学特性相符——孢子作为持久性结构可在土壤中存续数年, 但其代谢活动极低。相反, 厚壁菌门和异常球菌-栖热菌门在转录水平上的活性强度远超其DNA丰度, 尤其在沙漠生境中, 异常球菌门的转录占比(5.6%)较其DNA占比(0.7%)高出8倍。这一差异并非技术误差, 反映了不同类群在胁迫下采取的分化生存策略: 厚壁菌门中的部分芽孢杆菌演化出了“持续营养生长但低分裂速率”的模式, 通过组成高表达胁迫蛋白而非进入休眠来应对环境波动; 异常球菌门则以其卓越的DNA修复能力和抗氧化酶系统著称, 在干旱与强紫外辐射下维持基础代谢的同时高效修复损伤。从方法论层面, 这一发现对传统以“扩增子为主、辅以宏基因组”的极端环境微生物调查范式提出了重要修正——仅依赖DNA水平的物种丰度排序来推断“关键功能类群”可能导致误导, 宏转录组学应当被视为功能生态学研究的核心手段而非补充视角。研究识别出的五大胁迫响应模块(渗透调节、氧化防御、DNA修复、金属稳态与能量重塑)并非孤立运作, 而是通过转录调控网络形成

紧密的协同响应。例如,沙漠样品中recA的高表达不仅服务于DNA损伤修复,还参与SOS反应对氧化胁迫的间接调控;盐碱地中nhaA与kdp系统的协同表达将钠外排与钾内收耦合,共同维持细胞离子稳态;这种模块化架构使得微生物能够以有限的基因组资源应对多重胁迫组合。更为关键的是,模块内部的基因使用模式呈现出鲜明的生境特异性:盐碱地优先启用甘氨酸甜菜碱系统(能量效率高但需外源胆碱或胆碱前体),沙漠则依赖海藻糖合成(能量成本高但底物自足,且海藻糖同时提供膜稳定性与玻璃化保护的双重功能),矿区转而采用谷氨酸途径(合成途径简单且兼有金属螯合能力)。这种“因地制宜”的策略反映了微生物在长期适应过程中对能量分配与物质成本的精细优化——在碳极度匮乏的沙漠中,使用葡萄糖骨架合成海藻糖看似奢侈,但其综合保护效益优于需要额外转运底物的甘氨酸甜菜碱系统。

研究也存在若干局限性。首先,宏转录组反映的是取样时刻的瞬时转录状态,无法区分持续性转录与应激诱导的爆发式转录;后续需引入时间序列采样(如季节性对比或模拟干湿交替的微宇宙实验)以解析胁迫响应的动态过程。其次,由于极端生境中大量微生物缺乏闭合参考基因组,de novo组装产生的unigenes在物种归属和基因边界判定上存在误差;长读长测序技术(如Nanopore或PacBio HiFi)结合Hi-C辅助组装有望显著提升基因组的完整性。第三,约23%的unigenes无法注释到已知数据库,这部分“暗物质”转录本可能编码全新类型的胁迫响应蛋白(如非常规氨基酸合成酶或非编码RNA调控元件),亟需开发基于结构预测和共表达网络的注释策略。最后,本研究未在蛋白或代谢物层面验证关键基因的功能,未来可将宏转录组学与宏蛋白质组学、代谢组学及稳定同位素探针技术联用,从“表达”进一步推进到“通量”层面,量化特定类群对元素循环的实际贡献。尽管存在上述局限,本研究仍从转录活性层面提供了极端土壤微生物适应多重胁迫的深层见解,并为基于原位功能导向的微生物资源挖掘与生境修复奠定了理论依据与技术范式。

#### 4 结论

极端生境土壤微生物的DNA组成与RNA活性谱系统性解耦,厚壁菌门和异常球菌门活性高于DNA丰度,放线菌门存在大量休眠个体。微生物通过五大功能模块协同响应胁迫,但模块内基因使用呈生境特异性:沙漠优先海藻糖,盐碱地依赖甘氨酸甜菜碱,矿区启用硫酸化-铁载体耦合。稀有类群(丰度<0.1%)贡献近三分之一独特转录本,表达新型视紫红质、膜脂合成酶及汞还原系统等,构成极端环境功能种子库。上述发现为基于原位功能导向的微生物资源挖掘与极端生境修复提供了理论依据。

#### 【参考文献】

- [1]陈拓,张威,章高森,等.极端环境微生物的生存策略与资源开发[J].微生物学通报,2018,45(9):2011-2018.
- [2]焦硕,戚杰军,刘洋,等.干旱胁迫下土壤微生物活性与群落结构响应[J].生态学报,2020,40(12):4080-4090.
- [3]李海峰,曾军,马小龙.盐碱地土壤微生物多样性及耐盐机制研究进展[J].土壤学报,2019,56(4):789-799.
- [4]王光鹏,贺纪正.宏转录组学在土壤微生物生态学中的应用与挑战[J].生态毒理学报,2017,12(6):21-29.
- [5]刘国红,刘波,朱育菁.土壤RNA提取方法优化及其在微生物活性评价中的应用[J].福建农业学报,2021,36(2):210-218.
- [6]周宇光,东秀珠.未培养微生物研究的理论与方法[J].微生物学杂志,2016,36(1):1-9.
- [7]马晓军,陈拓,张满效.干旱区微生物渗透调节策略及其分子基础[J].中国沙漠,2019,39(3):156-164.
- [8]姚鹏,杨云锋.土壤稀有微生物类群的生态功能与挖掘策略[J].生物多样性,2022,30(5):21456.
- [9]朱永官,彭静静,韦革.土壤微生物组与重金属污染的协同演化[J].中国科学院院刊,2017,32(6):585-593.

#### 作者简介:

胡昕(1989--),女,汉族,山东人,研究生,中级职称,研究方向:生态修复与生物。