

海底深部生物圈菌株泛酸枝芽孢杆菌19R1-5的来源和代谢特征分析

胡新, 王佳华, 李江燕, 方家松

Origin and metabolic characteristics of deep seabed biosphere strain *Virgibacillus pantothenicus* 19R1-5

HU Xin, WANG Jiahua, LI Jiangyan, FANG Jiasong

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.12024/jsou.20210703503>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

[马里亚纳海沟表层沉积物中微生物的群落组成和功能特征](#)

Composition and metabolic potential of microbial communities in the surface sediments of the Mariana Trench

上海海洋大学学报. 2022, 31(5): 1235 <https://doi.org/10.12024/jsou.20210603484>

[海洋下沉颗粒相关微生物群落的相互作用和演替](#)

Interaction and successional dynamics of microbial communities associated with sinking particles in the Pelagic Ocean

上海海洋大学学报. 2022, (2): 594 <https://doi.org/10.12024/jsou.20210503441>

[不同剪切力对生物絮团粒径及其水处理效果的影响](#)

Effect of different shear forces on the particle size of biofloc and its water treatment effect

上海海洋大学学报. 2021, 30(4): 691 <https://doi.org/10.12024/jsou.20200202918>

[添加芽孢杆菌对草鱼池塘中真核微生物的影响](#)

Effect of *Bacillus* on eukaryotic microorganism in grass carp ponds

上海海洋大学学报. 2020, 29(2): 218 <https://doi.org/10.12024/jsou.20190102525>

[上海港到港船舶压载水沉积物细菌群落多样性](#)

Bacterial diversity of ship ballast water sediment in Shanghai Port

上海海洋大学学报. 2018, 27(3): 344 <https://doi.org/10.12024/jsou.20171210007>

文章编号: 1674-5566(2023)01-0244-07

DOI:10.12024/jsou.20210703503

海底深部生物圈菌株泛酸枝芽孢杆菌 19R1-5 的来源和代谢特征分析

胡 新¹, 王佳华¹, 李江燕¹, 方家松^{1,2}

(1. 上海海洋大学 海洋微生物学和生物地球化学实验室, 上海 201306; 2. 夏威夷太平洋大学 自然科学系, 檀香山 96813)

摘要: 河流输送大量的陆源有机物、无机物和微生物到海洋, 沉积到近海海盆。随着陆源和海源沉积物在盆地的逐渐堆积, 这些陆源微生物被埋藏, 进而逐渐演变为沉积物中固有微生物群体的一部分, 是研究微生物环境适应与进化的理想生态系统。本课题组从国际大洋钻探计划 (IODP) 337 航次的一个西太平洋煤层岩芯 (1 999 mbsf, meter below the seafloor) 中, 成功分离到一株革兰氏阳性细菌泛酸枝芽孢杆菌 19R1-5 (19R)。研究发现, 19R 与分离自陆源土壤的泛酸枝芽孢杆菌 DSM 26 (26^T) 相比, 16S rRNA 基因序列相似性为 100%, DNA 杂交同源性高达 91.7%。我们将 19R 和 26^T 作为研究对象, 从比较基因组的角度对 19R 的来源和代谢潜能进行研究。结果表明, 分离自海底深部的 19R 来源于陆地; 同时, 19R 较 26^T 拥有 3 个额外的磷酸葡萄糖转移酶系统 (PTS), 提示 19R 具有更强的糖利用能力, 使之能够适应原位中特殊的营养环境, 研究结果对探索海底深部生物圈微生物的来源及其在深海物质循环中的作用具有重要意义。

关键词: 海洋深部生物圈; 系统发育学; 基因组学; 糖代谢; 微生物

中图分类号: Q 933 **文献标志码:** A

20 世纪 90 年代之前, 人们普遍认为生物圈是指地表生物圈, 它分布在地表附近, 范围大约为海平面上下垂直 10 km, 依靠太阳辐射获取能量。直到 90 年代初, 奥地利科学家 GOLD^[1] 在美国国家科学院院刊发表题为“深部热生物圈”的论文, 指出除经典地表生物圈外, 于地下约 6 ~ 10 km 的高温、高压的极端环境中, 还存在另外一个生物圈, 即“深部热生物圈”。研究^[2] 表明, 深部生物圈中所含生物量非常大, 约占地球总生物量的 1/2 ~ 2/3。海洋深部生物圈 (Sub-seafloor deep biosphere) 是深部生物圈的组成部分, 通常指栖息在海底深部 (距海床表面 1.5 m 之下) 沉积物和洋壳中的生物群系^[3-4], 主要由微生物构成^[5-6]。2012 年的 IODP 337 航次, 是目前为数不多的针对海底深部生物圈的大洋钻探航次。该航次在日本下北半岛 C0020A 站点进行了 2 466 mbsf 的钻井作业, 取得了丰富的海底深部生物圈沉积物

样品。地质学研究表明, C0020A 在中新世早期是一片茂盛的海岸森林, 在漫长的地质过程中随太平洋板块俯冲而逐渐下沉, 形成富含有机质的弧前盆地并被海水吞没, 最终形成了以砂岩、粉砂岩和炭质页岩为主的褐煤层 (1.5 ~ 2.4 kmbsf)^[7]。岩石学分析发现, 含煤层以砂岩、粉砂岩和炭质页岩为主, 有机成分以木屑煤为主, 其中总有机碳 (TOC) 含量高达 30%, 并含有大量花粉和芽孢^[8]。INAGAKI 等^[8] 测定了煤层的含水量、颜色和镜质体反射率, 结果表明煤层中的煤为成熟度较低的褐煤, 呈生物扰动和压扁层理、透镜状层理或交错层理等沉积特征, 表明煤层环境具有明显的陆相特征, 为类似潮坪的近岸沉积环境^[8]。此外, 生物学研究表明, 煤层中的微生物数量远高于紧邻的上层沉积物^[8-9], 且群落结构与陆地表层土壤环境中相似^[9], 以厚壁菌门 (Firmicutes)、放线菌门 (Actinobacteria)、变形

收稿日期: 2021-07-08 修回日期: 2021-11-04

基金项目: 深部生物圈革兰氏阳性产孢子细菌孢子化及孢子活化的定量分析和碳同位素分馏研究 (41773069); 微生物驱动的海洋碳循环机制和生态过程研究 (91951210); National Key R&D Program of China (2018YFC0310600)

作者简介: 胡 新 (1995—), 男, 硕士研究生, 研究方向为海底深部微生物的基因组学。E-mail: 1039296390@qq.com

通信作者: 王佳华, E-mail: sjtu_wangjiahua@163.com

版权所有 © 《上海海洋大学学报》编辑部 (CC BY-NC-ND 4.0)

Copyright © Editorial Office of Journal of Shanghai Ocean University (CC BY-NC-ND 4.0)

<http://www.shhydx.com>

菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)和拟杆菌门(Bacteroidetes)为主^[10]。表明煤层中部分微生物可能为陆生来源,提示部分陆源微生物在进化过程中可能逐渐适应了煤层的营养和压力环境,并对深部生物圈中的营养要素循环起到重要作用。

1950年,PROOM等^[11]从土壤样本中分离得到1株细菌,命名为*Bacillus pantothenicus*(泛酸芽孢杆菌)。1998年,HEYNDRICKX^[12]通过扩增性rDNA限制性酶切片分析(amplified rDNA restriction analysis, ARDRA),将泛酸芽孢杆菌与芽孢杆菌属的其他种区别开来,并划分为一个新属“*Virgibacillus*”(枝芽孢杆菌属)。研究发现,枝芽孢杆菌属在环境中分布十分广泛,从海洋到陆地^[13-14],从动植物到人体肠道^[15-16]均有发现。从目前已发表的有关数据来看,糖类是该属的主要碳源^[10]。

FANG等^[10]从IODP 337航次中获得深部煤层沉积物样品,并首次从中分离到枝芽孢杆菌属菌株,经鉴定命名为*Virgibacillus pantothenicus*(泛酸枝芽孢杆菌)19R1-5(19R)。有趣的是,19R与分离自土壤的同种菌株26^T的16S rRNA基因序列相似度高达100%,DNA杂交同源性高达91.7%^[10],表明19R可能来源于陆生环境。有研究表明高压环境明显增加微生物对能量及营养物质的需求^[17],然而19R所处的煤层环境中惰性有机物含量较高,容易利用的有机物含量较低^[8,18]。那么,19R作为以糖类为主要碳源的微生物,是如何适应原位特殊的营养环境以及高压所造成的能量需求增加的呢?本研究对菌株19R和26^T进行了基因组测序,首先通过建立全基因组系统发育树确定19R的来源,继而二者代谢网络和转运蛋白进行比较,分析19R对糖类营养源的特殊利用能力。此外,本文也将对枝芽孢杆菌属的泛基因组构成进行分析,探讨19R能够在环境变迁中存活的分子基础。

1 材料和方法

1.1 实验材料

菌株19R和26^T分别购自日本微生物保藏中心(Japan Collection of Microorganisms, JCM)和中国海洋微生物菌种保藏管理中心(Marine Culture Collection of China, MCCC)。

1.2 菌株培养

菌株活化后,挑取单菌落进行摇床扩繁(35℃、200 rpm/min),培养基为海洋肉汤2216E。培养至OD₆₀₀值为1.2,取菌液50 mL,12 000 r/min,室温离心10 min,收集菌体。送上海美吉生物医药科技有限公司进行全基因组测序。其中26^T采用第二代、第三代测序技术相结合的方法测基因组完成图,19R采用第二代测序技术测基因组扫描图。

1.3 生物信息学分析

1.3.1 ORF预测及基因组注释

将两株菌的基因组序列分别上传至NCBI数据库并使用PGAP流程(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/annotation_prok/)进行ORF预测、tRNA和rRNA基因预测及蛋白序列注释。蛋白质信号肽由SignalP^[19]在线预测(<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>)。COG注释结果通过psi-blast^[20]与COG数据库比对获得,参数设置:identities 50%, coverage 50%, e-value 1×10^{-5} 。

1.3.2 系统发育分析

使用GTDB-tk^[21]软件对细菌120个单拷贝基因进行预测和多序列比对,参数为--locapair,--maxiterae 100。提取并去除多序列比对结果中含有50%以上gap的碱基,使用Fasttree^[22]建立最大似然性进化树,并利用iTOL^[23]进行系统发育树的可视化。

1.3.3 代谢网络的重建

使用KEGG BlastKOALA对基因组中所有蛋白序列进行在线注释(<https://www.kegg.jp/blastkoala/>)和代谢网络重建。

2 结果

2.1 19R和26^T的基因组特征

我们对26^T采取二代、三代结合的方法,对19R采用二代的方法测序,经拼接获得26^T的基因组完成图及19R的基因组草图,基本信息如表1所示。

19R的基因组草图为4 704 559 bp,包含27个Scaffold,GC含量仅为37.3 mol%。经ORF预测,该基因组编码4 067个蛋白编码基因,其中有3 268个可被COG注释。碳水化合物的转运和代谢(COG-G)、转录(COG-K)以及氨基酸的转运和

代谢(COG-E)在 COG 功能分类中均占绝大多数。26^T 的基因组由一个环状 DNA 构成,不含质粒,GC 含量为 37.3 mol%,基因组全长为 4 742 556 bp,预测包含 4 738 个蛋白编码基因,其中 3 743 个可被 COG 注释,各 COG 分类的数目与 19R 基因组十分接近。此外,26^T 基因组编码了 65 个 tRNA 和 18 个 rRNA。

表 1 19R 和 26^T 分离环境和基因组基本信息

Tab. 1 19R and 26^T isolated environmental and basic information of genomics

属性 Attribute	19R	26 ^T
分离环境 Isolated source	海底深部煤层沉积物	土壤
Scaffold 数量 Scaffold number	27	1
基因组大小 Genome size/bp	4 704 559	4 742 556
G + C 含量 G + C content/mol%	37.3	37.3
总基因数 Total genes	4 067	4 738
COG	3 268	3 743
tRNA 数量 tRNA number	65	65
rRNA 数量 rRNA number	18	18

值得注意的是,我们在 26^T 中发现 3 种序列异质性的 16S rRNA 序列(拷贝数分别为 4、1 和 1),相互间有若干单核苷酸多态性(SNP)的存在。鉴于二代测序读长较短,难以获得 19R 基因组的上述 SNP,我们使用 26^T 的各 16S rRNA 侧翼序列作为参考设计特异性引物(表 2),并结合 16S rRNA 通用引物对 19R 的 16S rRNA 基因序列进行巢式 PCR 扩增及测序。结果表明,二者对应的 16S rRNA 序列均完全一致,由此我们推测二者具有极高的亲缘关系。

2.2 系统发育分析

为研究 19R 的来源与演化,我们根据原核生物依据基因组分类数据库(GTDB)的 120 个保守蛋白序列,对 NCBI RefSeq 数据库中 Firmicutes 门全部基因组重新进行系统发育分析,确定了 25 个种属于枝芽孢杆菌属,其中包括 4 株分类错误的菌株(图 1)。重要的是,19R 在系统发育树中与 *V. pantothenicus* DSM 26, *V. pantothenicus* Marseille-P1102, *Bacterium* 1XD42-44, *Clostridium*

sp. 1xD42-85 和 *Negativibacillus sp.* 1xD8-3 等 5 株菌处于同一进化分支,而这 5 株菌均分离自陆地环境。表明 19R 极可能源自陆生环境,并在漫长的地壳运动中,与陆源有机质一起沉降、包埋,最终成为海洋沉积物中的微生物。

表 2 19R 的 16S rRNA 基因 PCR 所用引物

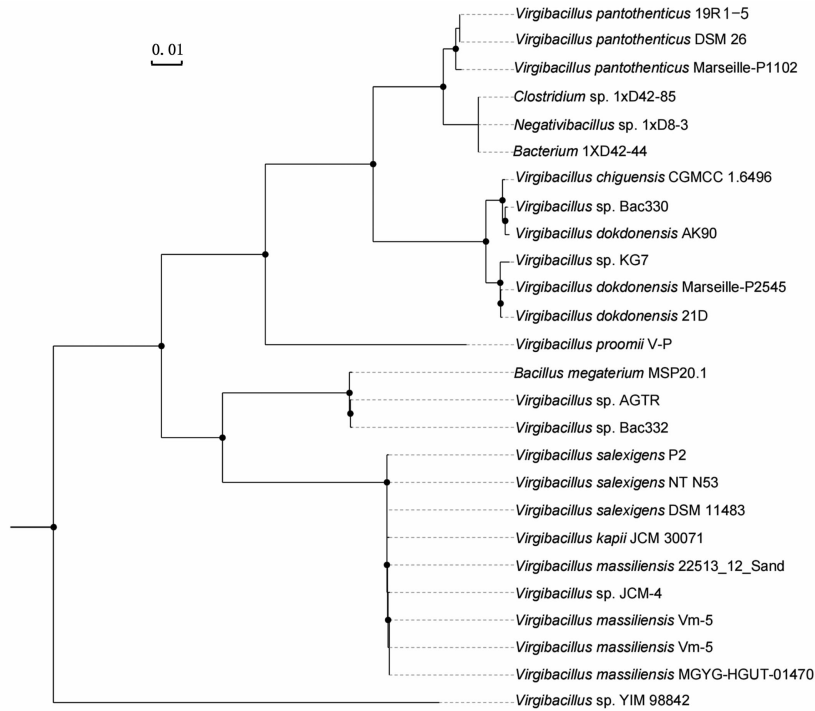
Tab. 2 Primers for PCR of 16S rRNA gene in 19R

目标基因 Target genes	引物序列 Primer sequence
<i>ssu1</i>	F: TGTCTGACTTCTGTGTTCCGT R: GGTGGGATGCTGGAATGGAA
<i>ssu2</i>	F: TGTCTGACTTCTGTGTTCCGT R: TCTGAGGGCGGATCTTGTA
<i>ssu3</i>	F: TGTCTGACTTCTGTGTTCCGT R: CCAAGCTGATGACGAGGCTT
<i>ssu4</i>	F: GGGGACTTGATATAGGGGT R: AGATCACACGGTTTCGGGTC
<i>ssu5</i>	F: CGAATTATCGTTGCGTGCCT R: AGATCACACGGTTTCGGGTC
<i>ssu6</i>	F: GGTCCGCGCTAACTATCCGAA R: GTCTACAACCCAGAAAGGC
细菌 16S rRNA 通用引物 Bacteria 16S rRNA universal primer	F: AGAGTTTGATCCTGGCTCAG F: GGTACCTTGTACACTT

2.3 19R 的糖类代谢基因分析

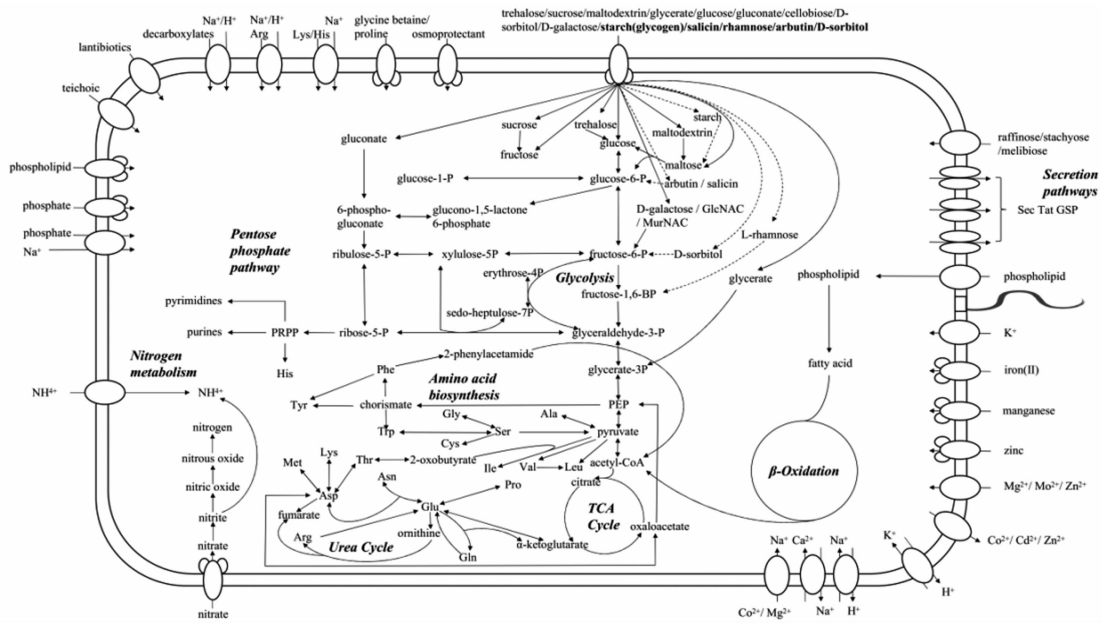
为研究 19R 对原位特殊营养环境的适应性机制,我们对 19R 和 26^T 进行了代谢网络的重塑和比较。分析发现,二者均具有完整的糖酵解、三羧酸循环和磷酸戊糖途径,但 D-山梨醇(D-sorbitol)代谢相关的 6-磷酸山梨醇-2-脱氢酶仅存在于 19R 中(图 2),表明 19R 可能具有比 26^T 更为广泛的糖类利用能力。

继而,我们对 19R 和 26^T 的蛋白序列进行 all-versus-all 比对。结果显示,3 779 个蛋白家族为二者共有,而有 314 个为 19R 独有,有 352 个为 26^T 独有(BLASTp 参数: identities 50%, coverage 50%, e-value 1×10^{-10})。对这些菌株特异性基因进行 KEGG 注释,我们发现 19R 除拥有 26^T 的全部磷酸葡萄糖转移酶系统(PTS)以外,还拥有 3 个特殊的 PTS,预测其糖类底物分别为 lactose/cellobiose(乳糖/纤维二糖)、glucitol/sorbitol(山梨糖醇/山梨醇)和 glucose(葡萄糖),见表 3。该结果与 FANG 等^[10]报道的 19R 具有更广泛的糖利用能力的结果相一致。



黑色的点表示 bootstrap 值在 60 ~ 100。
The black dots indicate a bootstrap value from 60 to 100.

图 1 枝芽孢杆菌属的系统发育树
Fig.1 Phylogenetic tree of *Virgibacillus*



外圈椭圆表示物质运输系统;加粗文字和虚线分别表示 19R 特异性的底物和通路。
The outer circle ellipse represents the material transport systems; The bold characters and dotted lines indicate 19R-specific substrate and pathway.

图 2 根据 KEGG 预测的 19R 的代谢网络图
Fig.2 Metabolic network of 19R predicted according to KEGG substrates and pathways, respectively

表 3 19R 相对于 26^T 特有的磷酸葡萄糖转移酶系统 (PTS)
 Tab. 3 Specific phosphoglucose transferase system (PTS) of 19R relative to 26^T

PTS	基因编号 Locus_tag	注释 Annotation
PTS I	KHP59_RS04010	PTS cellobiose transporter subunit IIC
	KHP59_RS04005	hypothetical protein
	KHP59_RS04000	PTS cellobiose transporter subunit IIB
	KHP59_RS03995	glycoside hydrolase family 1 protein
	KHP59_RS03990	6-phospho-beta-glucosidase
	KHP59_RS03985	PTS lactose/cellobiose transporter subunit IIA
PTS II	KHP59_RS03980	transcription antiterminator
	KHP59_RS10670	SDR family oxidoreductase
	KHP59_RS10675	BglG family transcription antiterminator
	KHP59_RS10680	transcriptional regulator GutM
	KHP59_RS10685	PTS glucitol/sorbitol transporter subunit IIC
	KHP59_RS10690	PTS glucitol/sorbitol transporter subunit IIB
PTS III	KHP59_RS10695	PTS glucitol/sorbitol transporter subunit IIA
	KHP59_RS10700	fructose-6-phosphate aldolase
	KHP59_RS02630	SPASM domain-containing protein
	KHP59_RS02620	sulfatase
	KHP59_RS02615	PTS glucose transporter subunit IIA

2.4 枝芽孢杆菌属泛基因组分析及 19R 糖类转运基因的来源

为研究 19R 对比于 26^T 所特有的糖类转运基因的来源,我们对上述进化树中全部菌株的蛋白序列进行 all-versus-all 的比对,并使用 OrthoMCL^[24] 软件进行聚类 (BLASTp 参数同上, mcl Inflation 为 1.4)。结果表明,枝芽孢杆菌属泛基因组 (Pan-genome) 共含有 26 246 个蛋白家族,泛基因组大小与基因组数目拟合关系如图 3 所示。值得注意的是,上述 3 个糖类转运蛋白所在的蛋白家族并非 19R 独有,这表明这些糖类转运相关基因为 26^T 所丢失,而非 19R 所特异性获得。此外,在 19R 所在分支的 6 个近缘菌株中,仅 19R 同时拥有这 3 个转运体蛋白,说明保留较多的糖类转运基因可能是 19R 能够在环境变迁中生存的原因之一。

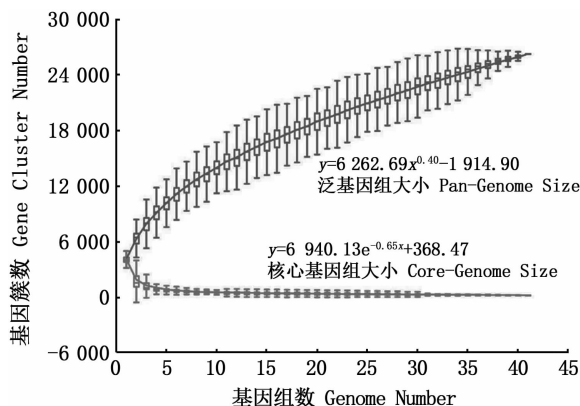


图 3 枝芽孢杆菌属泛基因组分析
 Fig. 3 Pan-genomic analysis of the genus *Virgibacillus*

3 讨论

关于日本下北半岛 C0020A 站点下的深部煤层微生物的来源,存在诸多假说^[7-9,16]。经过近十年的研究,科学家们从地质学和生物学的角度证明了该煤层微生物为陆生来源^[7-9]。本研究首次从系统发育的角度,确定分离自该煤层的菌株 19R 为陆生来源,为上述观点提供了新的证据。本研究表明,表层生物圈与深部生物圈之间存在一定关联,表明深部微生物可能影响海洋乃至深部生物圈中的元素循环过程。

微生物对极端环境的适应性的机制是生态学的重要问题之一。STARNAWSKI 等^[25] 通过 PCR 扩增测序和宏基因组测序技术对丹麦奥尔胡斯湾 (Aarhus Bay) 4 个站点的沉积物进行了研究,发现原本在陆地环境中丰度不高的微生物群落随地质活动被埋藏到海底深层沉积物中并逐渐占据主导地位,但它们的基因组鲜有突变^[25]。然而,该研究并未就水平基因转移在极端适应性方面的作用进行充分研究。在本研究中,我们发现在属水平上 19R 的 3 个 PTS 并非该菌株所独有,这表明 19R 广泛的糖利用能力并非从沉积物环境中通过水平转移获得。然而,19R 所在分支的 6 个近缘菌株中,仅 19R 同时拥有这 3 个 PTS,说明极端环境造成的选择压力促使 19R 保留更广泛的糖类利用基因。值得说明的是,由于 19R 并未测得基因组完成图,我们只对 PTS 基因的种类进行统计,但无法确定其拷贝数目,故不能确定基因扩增是否在 19R 适应深部煤层环境

的过程中起到作用。未来,获得 19R 的基因组完成图将有助于回答上述问题。

综上,本研究揭示了分离自海底深部生物圈的 19R 为陆生来源,随陆源有机质一起被埋藏至海底深部。19R 保留的较广泛的糖类利用能力可能是其适应海底深部特殊营养环境的分子基础之一。

参考文献:

- [1] GOLD T. The deep, hot biosphere[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1992, 89(13): 6045-6049.
- [2] WHITMANWB, COLEMAN D C, WIEBE W J. Prokaryotes: the unseen majority [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1998, 95(12): 6578-6583.
- [3] D' HONDT S, JØRGENSEN B B, MILLER D J, et al. Distributions of microbial activities in deep subseafloor sediments[J]. Science, 2004, 306(5705): 2216-2221.
- [4] 方家松, 张利. 探索深部生物圈[J]. 中国科学: 地球科学, 2011, 41(6): 750-759.
FANG J S, ZHANG L. Exploring the deep biosphere[J]. Science China Earth Sciences, 2011, 54(2): 157-165.
- [5] D' HONDTS, RUTHERFORD S, SPIVACK A J. Metabolic activity of subsurface life in deep-sea sediments [J]. Science, 2002, 295(5562): 2067-2070.
- [6] 董海良. 深地生物圈的最新研究进展以及发展趋势[J]. 科学通报, 2018, 63(36): 3883-3901.
DONG H L. Recent developments and future directions of deep biosphere research [J]. Chinese Science Bulletin, 2018, 63(36): 3883-3901.
- [7] JØRGENSEN B B. Microbial life in deep subseafloor coal beds[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2017, 114(44): 11568-11570.
- [8] INAGAKI F, HINRICHS K U, KUBO Y, et al. IODP expedition 337: deep coalbed biosphere off Shimokita - microbial processes and hydrocarbon system associated with deeply buried coalbed in the ocean[J]. Scientific Drilling, 2016, 21: 17-28.
- [9] INAGAKI F, HINRICHS K U, KUBO Y, et al. Exploring deep microbial life in coal-bearing sediment down to 2.5 km below the ocean floor[J]. Science, 2015, 349(6246): 420-424.
- [10] FANG J S, KATO C, RUNKO G M, et al. Predominance of viable spore-forming piezophilic bacteria in high-pressure enrichment cultures from 1.5 to 2.4 km-deep coal-bearing sediments below the ocean floor [J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 137.
- [11] PROOM H, KNIGHT B C J G. *Bacillus pantothenicus* (n. sp.) [J]. Journal of General Microbiology, 1950, 4(3): 539-541.
- [12] HEYNDRIKX M. *Virgibacillus*: a new genus to accommodate *Bacillus pantothenicus* (Proom and Knight 1950). Emended description of *Virgibacillus pantothenicus* [J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1998, 48(1): 99-106.
- [13] KÄMPFER P, ARUN A B, BUSSE H J, et al. *Virgibacillus soli* sp. nov., isolated from mountain soil [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2011, 61(2): 275-280.
- [14] YIN X J, YANG Y L, WANG S, et al. *Virgibacillus oceani* sp. nov. isolated from ocean sediment [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2015, 65(1): 159-164.
- [15] KHELAIPIA S, CROCE O, LAGIER J C, et al. Noncontiguous finished genome sequence and description of *Virgibacillus massiliensis* sp. nov., a moderately halophilic bacterium isolated from human gut [J]. New Microbes and New Infections, 2015, 8: 78-88.
- [16] TANASUPAWAT S, CHAMROENSAKSRI N, KUDO T, et al. Identification of moderately halophilic bacteria from Thai fermented fish (pla-ra) and proposal of *Virgibacillus siamensis* sp. nov. [J]. The Journal of General and Applied Microbiology, 2010, 56(5): 369-379.
- [17] SOUZA M O, CRECZYNSKI-PASA T B, SCOFANO H M, et al. High hydrostatic pressure perturbs the interactions between CF₀F₁ subunits and induces a dual effect on activity [J]. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 2004, 36(5): 920-930.
- [18] GLOMBITZA C, ADHIKARI R R, RIEDINGER N, et al. Microbial sulfate reduction potential in coal-bearing sediments down to 2.5 km below the seafloor off Shimokita Peninsula, Japan [J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 1576.
- [19] ARMENTEROS J J A, TSIRIGOS K D, SØNDERBY C K, et al. SignalP 5.0 improves signal peptide predictions using deep neural networks [J]. Nature Biotechnology, 2019, 37(4): 420-423.
- [20] ALTSCHUL S F, MADDEN T L, SCHØFFER A A, et al. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs [J]. Nucleic Acids Research, 1997, 25(17): 3389-3402.
- [21] CHAUMEIL P A, MUSSIG A J, HUGENHOLTZ P, et al. GTDB-Tk: a toolkit to classify genomes with the genome taxonomy database [J]. Bioinformatics, 2020, 36(6): 1925-1927.
- [22] PRICEMN, DEHAL P S, ARKIN A P. FastTree 2-approximately maximum-likelihood trees for large alignments [J]. PLoS One, 2010, 5(3): e9490.
- [23] LETUNIC I, BORK P. Interactive tree of life (iTOL) v3: an online tool for the display and annotation of phylogenetic and other trees [J]. Nucleic Acids Research, 2016, 44(W1): W242-W245.

- [24] LI L, STOECKERT JR C J, ROOS D S. OrthoMCL: Microbial community assembly and evolution in subseafloor identification of Orthologgroups for eukaryotic genomes[J]. *Genome Research*, 2003, 13(9): 2178-2189. *sediment [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2017, 114(11): 2940-2945.
- [25] STARNAWSKI P, BATAILLON T, ETTEMA T J G, et al.

Origin and metabolic characteristics of deep seabed biosphere strain *Virgibacillus pantothenicus* 19R1-5

HU Xin¹, WANG Jiahua¹, LI Jiangyan¹, FANG Jiasong^{1,2}

(1. *Laboratory of Marine Microbiology and Biogeochemistry, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China*;
2. *Department of Natural Sciences, Pacific University of Hawaii, Honolulu 96813, USA*)

Abstract: Rivers transport large amounts of terrestrial organic matter, inorganic matter, and microorganisms to the ocean, where they are deposited into offshore basins. With the gradual accumulation of terrigenous and marine sediments in the basin, these terrigenous microorganisms were buried and gradually evolved into a part of the inherent microbial community in the sediments. It is an ideal ecosystem for studying the adaptation and evolution of microbial environment. A Gram-positive bacterium *Virgibacillus pantothenicus* 19R1-5 (19R) was successfully isolated from a coal seam core (1 999 mbsf, meter below the seafloor) in the Western Pacific Ocean during the International Ocean Drilling Program (IODP) Expedition 337 by our research group. The 16S rRNA sequence of 19R was 100% similar to that of *Virgibacillus pantothenicus* DSM 26 (26^T) isolated from land-based soil, and the homology of DNA hybridization was 91.7%. We studied the origin and metabolic potential of 19R and 26^T from the perspective of comparative genomes. The results show that the 19R isolated from the deep seabed originated from the land. Compared with 26^T, 19R has three additional PTS systems, suggesting that 19R has stronger sugar utilization capacity, which enables it to adapt to the special nutritional environment in deep biosphere. The results of this study are of great significance for exploring the origin of microorganisms in the deep seabed biosphere and their role in the deep sea material circulation.

Key words: deep sea biosphere; phylogeny; genomics; glucose metabolism; microorganism