

三亚天涯海角潮间带趋磁细菌特性

徐 丛^{1,2,3}, 陈海涛^{4,5}, 张文燕^{1,3}, 陈一然^{1,3}, 董 逸^{1,3}, 潘红苗^{1,3}, 杜海舰^{1,3},
王明玲^{1,3}, 刘 佳^{1,2,3}, 滕兆洁^{1,2,3}, 肖 天^{1,3}

(1. 中国科学院海洋研究所 海洋生态与环境科学重点实验室, 山东 青岛 266071; 2. 中国科学院大学, 北京 100049; 3. 青岛海洋科学与技术国家实验室 海洋生态与环境科学功能实验室, 山东 青岛 266071; 4. 中国科学院 三亚深海科学与工程研究所, 海南 三亚 572000; 5. 中国科学院 中法生物矿物与纳米结构联合实验室, 海南 三亚 572000)

摘要: 在三亚天涯海角潮间带沉积物中发现了一定量的海洋趋磁细菌, 最大丰度可达 100 个/cm³。透射电子显微镜(TEM)观察发现该区域趋磁细菌绝大多数为趋磁球菌。磁小体形状单一, 皆为棱柱形; 磁小体排列方式多样, 以链状排列为主, 包括单链、双链, 也有少数成簇排列。高分辨率透射电子显微镜(HRTEM)与 X-射线能谱仪(EDXS)结果表明, 磁小体成分为 Fe₃O₄。趋磁细菌的铁含量平均为 2.05% (0.70%~7.53%)。通过 16S rRNA 基因文库的构建与测序, 在 78 个阳性克隆中得到了 16 个趋磁细菌序列, 分属 9 个 OTU。系统发育分析结果表明, 其中 8 个 OTU 属于 α -变形菌纲, 1 个 OTU 属于 γ -变形菌纲。在全部 9 个 OTU 中, 有 8 个 OTU 与已知趋磁细菌序列的相似性低于 97%, 有 5 个 OTU 与已知趋磁细菌序列的相似性低于 93%, 说明该区域存在可观的趋磁细菌资源。

关键词: 潮间带; 趋磁细菌; 多样性; 磁小体; 16S rRNA 基因

中图分类号: Q938 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2016)07-0008-09

doi: 10.11759/hyxx20150929001

趋磁细菌(magnetotactic bacteria)是一类能够沿磁力线运动的特殊细菌^[1], 趋磁性源于其含有的磁小体(magnetosome)与鞭毛, 其中磁小体起导向作用, 鞭毛提供运动动力^[2]。趋磁细菌形态多样, 有单细胞的球菌、杆菌、弧菌、螺旋菌以及多细胞趋磁原核生物^[3]。磁小体通常呈链状排列, 有单链、双链以及多链, 少数趋磁细菌的磁小体不成链排列^[4-5]。磁小体的大小、形状以及成分具有种属特异性^[4-8]; 趋磁细菌广泛分布于湖泊和海洋环境中, 在全球铁、硫、氧及氮等元素的地球化学循环和生态环境中扮演重要角色^[9]。意大利学者 Bellini 在 1963 年首次发现了趋磁细菌^[1, 10], 自 1975 年美国学者 Blakemore 在 Science 上报道趋磁细菌^[11]之后, 科学家陆续由海洋、湖泊以及土壤等不同水陆生境中发现了趋磁细菌^[3, 12]。目前已发现的趋磁细菌属于变形菌门的 α -变形菌纲、 γ -变形菌纲与 δ -变形菌纲, 硝化螺旋菌门以及 Candidate division OP3^[3]; GenBank(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)收录的趋磁细菌 16S rRNA 基因序列约有 2200 个记录(截至 2015 年 9 月)。在中国, 趋磁细菌被发现于多种生境, 这些生境主要分布在

四个地区: 温带的北京湖泊水库(北海、密云水库等)、西安湖泊河流(曲江池、护城河、未央湖)、山东半岛沿岸的海湾潟湖(汇龙湾、胶州湾、月湖等)以及热带的海南岛^[12-16]。在海洋环境中发现了形态相异、生理特点不同、分属不同分类单元的趋磁细菌^[14-18]。本文收集了三亚天涯海角潮间带沉积物中的海洋趋磁细菌, 对趋磁细菌的形态、大小, 磁小体大小、数目、排列方式以及 16S rRNA 基因系统发育进行了分析, 并对其与不同地域、不同环境的趋磁细菌群落构成进行了比较。

收稿日期: 2015-09-29; 修回日期: 2016-01-08

基金项目: 国家自然科学基金项目(41276170, 41206150, 41330962); 三亚市院地科技合作项目(2014YD02); 国家基金委-山东省联合基金项目“海洋生态与环境科学”(U1406403)

[Foundation: National Natural Science Foundation of China, No. 41276170, No. 41206150, No. 41330962; Project of Academy Locality Science and Technology Cooperation of Sanya City, China, No. 2014YD02; NSFC-Shandong Joint Fund “Marine Ecology & Environmental Sciences”, No. U1406403]

作者简介: 徐丛(1989-), 男, 山东济南人, 博士研究生, 从事海洋微生物生态学研究, 电话: 0532-82898584, E-mail: xucong112@mails.ucas.ac.cn; 肖天, 通信作者, 研究员, 博士生导师, 电话: 0532-82898586, E-mail: txiao@qdio.ac.cn

1 材料与amp;方法

1.1 样品采集

采样点位于海南三亚天涯海角南海沿岸(18°17'29"N, 109°20'59"E)。2014年3月份在采样点2次采集表层沉积物(0~10 cm), 分别装在500 mL的塑料采样瓶中, 每瓶沉积物约100~150 g, 之后向瓶中注入原位海水(沉积物与原位海水的比例约为1:1), 带回实验室避光静置2周, 进行后续实验。

1.2 趋磁细菌的收集

将磁铁粘贴在采样瓶的外壁, S极朝向收集瓶。30 min后, 用巴斯德管吸取磁铁附近的样品约500 μ L, 注入100 mL螺口玻璃瓶中进行二次磁收, 瓶中菌液约40 mL。使用相同方法对二次磁收瓶中的样品进行磁富集。之后采用“T-T”法进一步富集趋磁细菌^[19]: 将5 mL移液器吸头的顶端插入无菌离心管中, 离心管与移液器吸头的顶端都注满0.22 μ m滤膜过滤的无菌原位海水, 将二次磁收集所得的菌液由移液器吸头的粗端注入无菌原位海水中, 置于匀强磁场(磁场强度约0.35 mT), 待离心管底端出现明显的灰色菌斑, 则停止收集。取离心管底端菌液进行显微观察与种类鉴定。

1.3 趋磁细菌计数、形态观察与磁小体成分测定

使用Olympus BX51显微镜的微分干涉(Differential Interference Contrast, DIC)模式, 悬滴法观察趋磁细菌并计数。计数方法是, 在采样瓶磁铁附近吸取菌液约1500 μ L置于离心管, 混匀后吸取其中30 μ L进行悬滴法观察计数, 得趋磁细菌数目 N , 则原始样品中细菌丰度为 $50N/V$ (V 为沉积物体积)。将磁收集的菌液, 滴在铜网上(北京中镜科仪技术有限公司), 待样品干后, 用透射电子显微镜(HITACHI H8100, 中国海洋大学电镜室)对菌体与磁小体进行观察, 包括趋磁细菌菌体形态和大小, 磁小体形态、大小、数目及排列方式。用高分辨率透射电子显微镜(JEM2100, 山东大学化学与化工学院结构成分测试中心)对磁小体成分进行分析 X-射线能量色散谱(EDXS)分析磁小体的成分; 拍摄磁小体条纹像, 测量晶体面间距, 与国际粉末衍射文件 The Powder Diffraction File, PDF-2 中的铁氧化物或铁硫化物参数进行比较。

1.4 趋磁细菌遗传多样性分析

1.4.1 制备DNA模板

取T-T方法收集的菌液, 用DEPC水洗涤3次,

以去除海水中的离子。而后用液氮与80℃水浴反复冻融三次, 使细胞壁破碎、细胞内DNA溶出。

1.4.2 扩增16S rRNA基因

参照Bosshard等的方法进行PCR^[20]。采用细菌16S rRNA基因通用引物27f(5'-AGA GTY TGA TCC TGG CTC AG-3')与1492r(5'-GGT TAC CTT GTT ACG ACT T-3')。PCR的反应条件是: 首先94℃预变性10 min, 然后94℃ 1 min, 50℃ 45 s, 72℃ 1 min, 循环25次, 72℃延伸10 min。利用浓度为0.1 g/L的琼脂糖凝胶对PCR扩增产物进行电泳检测, 并用琼脂糖凝胶DNA回收试剂盒(北京康为世纪生物科技有限公司)回收PCR产物。

1.4.3 连接、转化与克隆及DNA序列测定

将自琼脂糖凝胶中回收的PCR产物连接到载体pMD18-T(Takara, Japan)上, 转化入*E. coli* Top10感受态细胞(北京全式金生物技术有限公司)中, 在含有X-gal、IPTG与氨苄青霉素的Super Optimal Broth (SOB)固体培养基上培养感受态细胞。选择具有氨苄青霉素抗性的菌落, 挑出少量菌体作为模板, 用引物M13-47 (5'-CGC CAG GGT TTT CCC AGT CAC GAC-3')与RV-M (5'-GAG CGG ATA ACA ATT TCA CAC AGG-3')进行菌落PCR。扩增产物通过浓度为0.1 g/L的琼脂糖凝胶电泳, 检验其是否为阳性。将阳性克隆交予南京金斯瑞生物科技有限公司进行测序, 从而获得16S rRNA基因序列。

1.4.4 16S rRNA基因序列分析

将16S rRNA基因序列进行BLAST比对(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), 得到与实验所得的各条序列相似性最高的已知序列。通过BioEdit软件进行相似性分析, 以MEGA3.1软件的邻位相接法进行系统进化分析。

2 结果

2.1 趋磁细菌的丰度

通过光学显微镜镜检计数, 经计算三亚天涯海角潮间带沉积物中趋磁细菌丰度最高可达100 ind./cm³。

2.2 趋磁细菌的形态

通过透射电子显微镜(TEM)观察, 发现三亚天涯海角趋磁细菌绝大多数为球形与卵圆形(图1), 菌体大小为(1.70±0.22) μ m ×(1.30±0.15) μ m($n=32$), 宽长比为0.77±0.09($n=32$)。

2.3 磁小体的多样性与成分

通过透射电子显微镜观察, 可以发现三亚天涯

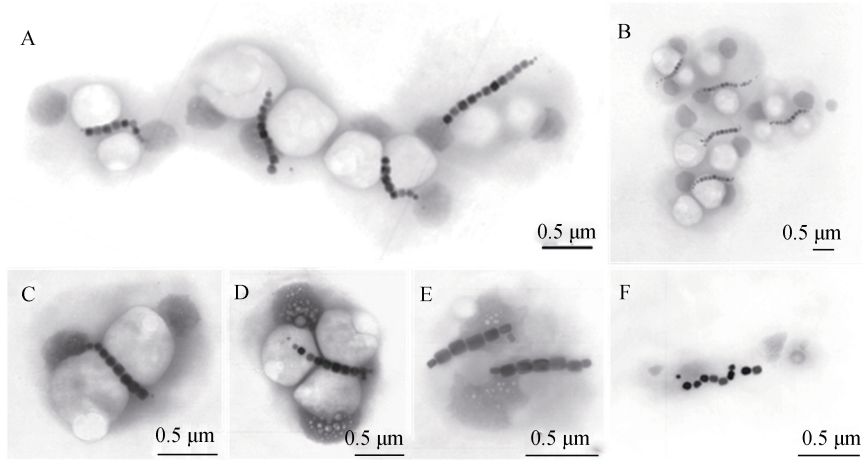


图 1 透射电子显微镜下趋磁细菌的形态

Fig. 1 Images showing the morphology of magnetotactic bacteria using transmission electron microscopy

A, B: 聚集在一起的多个趋磁球菌; C, D: 具有一条磁小体链的趋磁球菌; E: 具有两条磁小体链的趋磁球菌; F: 杆状趋磁细菌

A, B: Magnetotactic bacteria in a cluster; C, D: Magnetotactic bacteria with only one chain of magnetosomes; E: Magnetotactic bacteria with two chain of magnetosomes; F: Rod-shaped magnetotactic bacteria

海角趋磁细菌的磁小体链排列方式多样, 磁小体个数、大小存在差别。图 2 显示了数量占优的趋磁细菌中磁小体的各种排列方式。88%的趋磁细菌仅含有一条磁小体链, 9%的趋磁细菌含有两条磁小体链, 还有3%的趋磁细菌的磁小体不成链排列。每个趋磁细菌所含磁小体个数不等, 数量介于8~15个, 平均为11个。磁小体大小为 $(80.52 \pm 7.17) \text{ nm} \times (71.88 \pm 5.83) \text{ nm}$ ($n=345$), 平均体积介于 $2.65 \times 10^5 \sim 6.24 \times 10^5 \text{ nm}^3$ ($n=345$)。X-射线能谱显示趋磁细菌的磁小体成分主要为Fe与O, 结

合高分辨率透射电子显微镜(晶格像面间距为 2.11 \AA 。)结果(图 3), 推测磁小体化学成分为 Fe_3O_4 。据估算本实验中趋磁细菌的含铁元素量范围在 $0.70\% \sim 7.53\%$ 之间, 平均为 2.05% (铁元素含量= $[V(\text{磁小体}) \times \rho(\text{Fe}_3\text{O}_4) \times M(\text{Fe}) / M(\text{Fe}_3\text{O}_4)] / [V(\text{菌体}) \times \rho(\text{菌体}) \times (1-85\%)]$, $\rho(\text{菌体}) = 1 \text{ g/cm}^3$, 设趋磁细菌含水率为 85% 。

2.4 趋磁细菌遗传多样性分析

2.4.1 趋磁细菌 16S rRNA 基因序列测定

对得到的 78 个阳性克隆进行测序与比对分析, 发现其中属于趋磁细菌的序列有 16 条, 分属 9 个 OTU(相似性 $<97\%$), 分别为: XC-S6、XC-S7、XC-S14、XC-S29、XC-S58、XC-S62、XC-S83、XC-S93、XC-S230。根据遗传多样性分析, 有 8 条序列所代表的细菌属于 OTU(XC-S29), 优势度达 50.00% 。其余各 OTU 都只有一条序列。香农-威纳群落多样性指数(Shannon-Weaver index of diversity)为 2.50 nit , 均匀性指数为 0.78 。

2.4.2 趋磁细菌 16S rRNA 基因的系统发育分析

结果显示(图 4), 本实验所发现的趋磁细菌 OTU XC-S29、-S58、-S62、-S230 与 *Magnetococcus marinus* strain SS-1 (JN896752.1)最接近(95.77% 、 89.33% 、 92.72% 、 88.60%), XC-S6 与 *Uncultured Magnetococcus* sp. clone MRT-130 (EF371494.1)最接近(92.01%), XC-S7 与 *Uncultured Magnetococcus* sp. clone MRT-82 (EF371483.1)最接近(95.97%), XC-S14 与 *Uncultured Magnetococcus* sp. clone M-67 (EF371491.1)最接近(98.63%), XC-S83 与 *Uncultured Magnetococcus* sp.

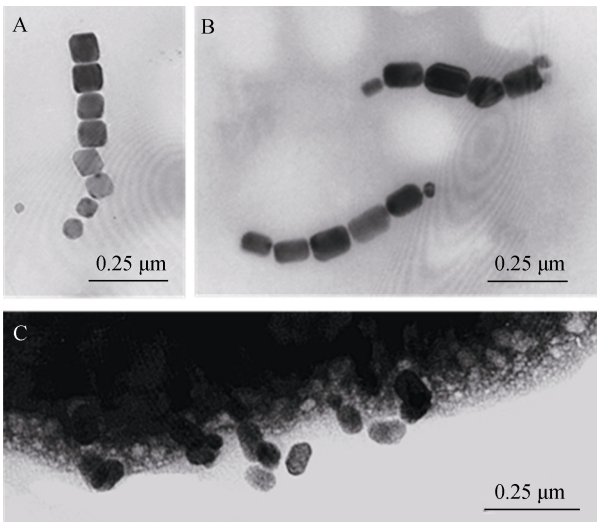


图 2 透射电子显微镜下趋磁细菌的不同磁小体排列方式
Fig. 2 Images showing magnetosomes in different modes using transmission electron microscopy

A: 单条磁小体链; B: 平行的两条磁小体链; C: 成簇的磁小体
A: One chain of magnetosomes; B: Two parallel chains of magnetosomes; C: Magnetosomes in a cluster

clone M-12 (EF371481.1)最接近(96.62%), XC-S93 与 Magnetic bacterium strain rj520 (Y13207.1)最接近(91.41%)。相似度情况见表 1。

系统发育分析显示, 8 个 OTU 都属于 α -变形菌

纲, 1 个属于 γ -变形菌纲(XC-S83)。根据 Stackebrandt 等^[21]认为 16S rRNA 基因相似性小于 97%属于不同的种, 小于 93%属于不同的属。对 9 个 OTU 相似性分析表明, 其中有 8 个 OTU(XC-S6、XC-S7、XC-S29、

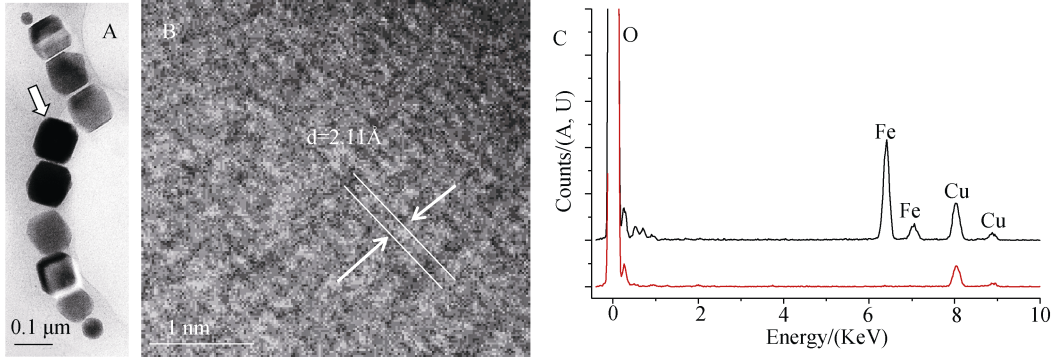


图 3 HRTEM(B)与 EDS(C)分析磁小体化学成分(图 A 箭头所示磁小体为检测对象)

Fig. 3 Image showing the chemical composition of a magnetosome using HRTEM (A) and EDXS (B) (The arrow points to the magnetosome which was analyzed) arrow points to was analyzed

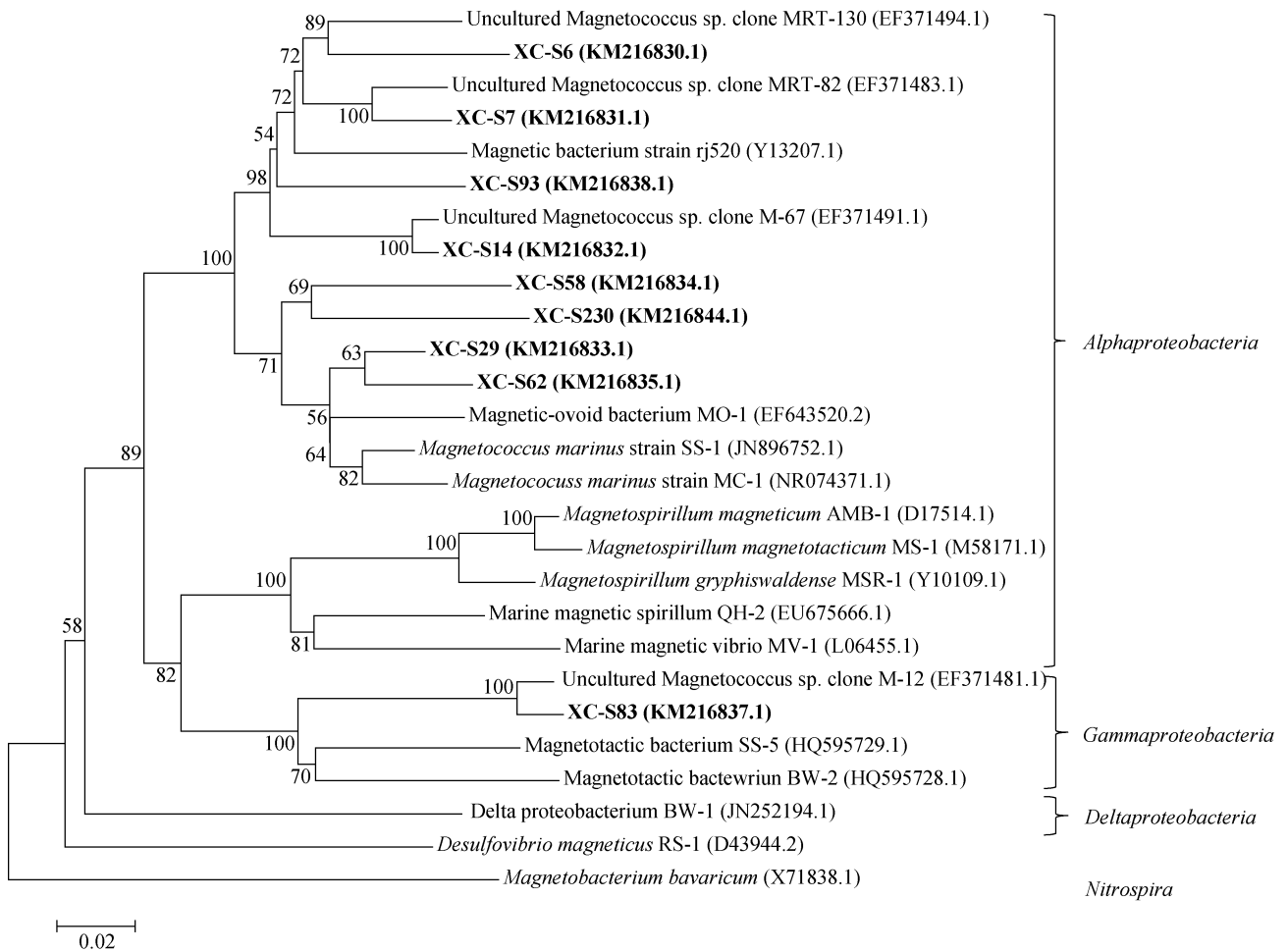


图 4 趋磁细菌 16S rRNA 基因序列的遗传发育树(加粗的是本实验所获得的序列)

Fig. 4 Phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequence analysis. (The sequences determined in this study are shown in bold)

表 1 GenBank 中与本实验所发现的 OTU 最相似的序列

Tab. 1 The most similar sequences in GenBank compared with OTUs discovered in this study

OTU	最相似序列	相似性/%
XC-S29	<i>Magnetococcus marinus</i> strain SS-1 (JN896752.1)	95.77
XC-S58	<i>Magnetococcus marinus</i> strain SS-1 (JN896752.1)	89.33
XC-S62	<i>Magnetococcus marinus</i> strain SS-1 (JN896752.1)	92.72
XC-S230	<i>Magnetococcus marinus</i> strain SS-1 (JN896752.1)	88.60
XC-S6	Uncultured <i>Magnetococcus</i> sp. clone MRT-130 (EF371494.1)	92.01
XC-S7	Uncultured <i>Magnetococcus</i> sp. clone MRT-82 (EF371483.1)	95.97
XC-S14	Uncultured <i>Magnetococcus</i> sp. clone M-67 (EF371491.1)	98.63
XC-S83	Uncultured <i>Magnetococcus</i> sp. clone M-12 (EF371481.1)	96.62
XC-S93	Magnetic bacterium strain rj520 (Y13207.1)	91.41

XC-S58、XC-S62、XC-S83、XC-S93、XC-S230) 与已知趋磁细菌序列的相似性小于 97%(88.60%~96.62%); 其中 5 个 OTU(XC-S6、XC-S58、XC-S62、XC-S93、XC-S230)与已知趋磁细菌序列的相似性小于 93%(88.60%~92.72%)。

3 讨论

三亚天涯海角位于旅游景区边缘, 潮间带底质为沙滩、礁石混合型^[22]。该环境沉积物中趋磁细菌的丰度可达 100 个/cm³, 较已报道的一般环境中趋磁细菌的丰度(10³~10⁴ 个/cm³)低^[23], 远低于 Files 等报道的淡水环境沉积物中的趋磁细菌丰度(10⁴ 个/cm³)^[24], 与三亚红树林趋磁细菌丰度(10²~10³ 个/cm³)的最低值一致^[25]。

在多次富集的样品中, 观察到的趋磁细菌绝大多数为趋磁球菌。已有研究表明, 无论是在海洋还是淡水生境中, 趋磁球菌在数量上都占优势^[26-31]。本调查发现趋磁球菌占绝对优势(>99%)。透射电子显微镜下可以观察到磁小体的排列方式与数目各异。潘红苗等^[32]在青岛汇泉湾调查发现该地潮间带趋磁细菌磁小体几乎全部为双链排列, 我们此前在青岛太平湾调查发现趋磁细菌磁小体双链排列的占 50%以上^[33], 天涯海角趋磁细菌的磁小体单链排列的占接近 90%, 说明该地趋磁细菌磁小体排列异于上述两区域。

Fe 是地壳中含量第四高的元素, 也是几乎所有生物必需的元素; 同时 Fe 循环也是生物地球化学循环的关键过程之一; 趋磁细菌在 Fe 循环的过程中十分重要^[34-35]。铁元素一般可以占到趋磁细菌干重的 2%~3%, 这个比例比其他生物高几个数量级^[36]。本研究估算出三亚天涯海角潮间带趋磁细菌平均含铁

元素质量比为 2.05%, 与文献报道一致。趋磁细菌是地质微生物学和生物矿化作用研究的模式微生物^[3]。趋磁细菌主动吸收环境中的 Fe²⁺ 与 Fe³⁺, 积累在成分为 Fe₃O₄ 或 Fe₃S₄ 的磁小体中^[37]; 趋磁细菌死亡后磁小体中的 Fe 有的以离子形式回到环境里, 有的沉淀到沉积物中^[38]; 还有的 Fe 由于趋磁细菌被捕食者捕食而进入食物链^[39]。林巍等认为每平方千米湖泊趋磁细菌磁铁矿年产量为 0.95 kg(假设沉积物最上层 10 cm 存在趋磁细菌, 每立方厘米的沉积物含有 1000 个趋磁细菌, 每个趋磁细菌含 20 个磁小体, 每个磁小体体积为 1.25×10⁻⁴ μm³, 趋磁细菌的代时为 12 h)^[38]。本研究每立方厘米的沉积物中含有 100 个趋磁细菌, 每个趋磁细菌平均有磁小体 11 个, 每个磁小体平均体积为 4.23×10⁻⁴ μm³, 则每平方千米潮间带趋磁细菌可产生磁铁矿 0.18 kg。虽然三亚天涯海角趋磁细菌磁小体平均体积较大, 但是丰度与每个细菌的磁小体个数都少于淡水, 所以单位面积年平均磁铁矿产量不及淡水, 也少于青岛太平湾的产量(1.92 kg; 磁小体平均体积 8.02×10⁻⁴ μm³, 丰度为 350 ind./cm³, 每个趋磁细菌平均含 18 个磁小体)^[33]。Chen 等根据磁学方法估算, 认为群落中趋磁细菌更新一次需要 28.3 天, 一年更新 12.9 次^[40]; 以此参数计算, 则三亚天涯海角每平方千米潮间带趋磁细菌磁铁矿产量更低。使用不同的参数估算, 结果相差显著, 趋磁细菌对 Fe 循环的真实贡献尚需深入研究。

在三亚天涯海角获得了 16 条趋磁细菌序列, 可以分作 9 个 OTU(97%), 其中又有 8 个与已知趋磁细菌序列相似性小于 97%, 5 个与已知趋磁细菌序列相似性小于 93%, 说明热带潮间带的趋磁细菌相比于温带^[32-33]可能具有更高的多样性。

与对青岛太平湾趋磁细菌的调查结果比较(图

5)。太平湾趋磁细菌分为 13 个 OTU^[33, 41]。两者采样均在 2014 年春季三月份, 但两地没有相同的 OTU, 且相似性小于 92%。两地趋磁细菌群落的 Jaccard 群落相似性指数为 0; Jaccard 群落相似性指数取值范围为 0~1, 值越小, 则群落相似性越低。两地虽同属潮间带, 但是趋磁细菌群落的种类构成差别显著, 而且遗传发育树显示天涯海角趋磁细菌在遗传发育上差别更大。这可能与两地纬度差异大、距离相距远、气候差异巨大有关。首先, 三亚天涯海角与青岛太平湾

相距 18 个纬度, 直线距离相距 2200 余千米, 两地不仅物种交流机会少, 年均气温也差异巨大。天涯海角属于热带、太平湾属于温带, 天涯海角所在的三亚市年均气温与海水水温都在 20℃以上; 太平湾所在的青岛市则四季分明, 冬季风大温低, 持续时间较长(中国气象局公共气象服务中心)。此外, 三亚天涯海角采样地位于核心景区边缘, 距离海水浴场较近, 人类活动比较频繁, 对潮间带环境影响较大; 太平湾的采样地不在海水浴场范围内, 人类活动对该地影响较小。

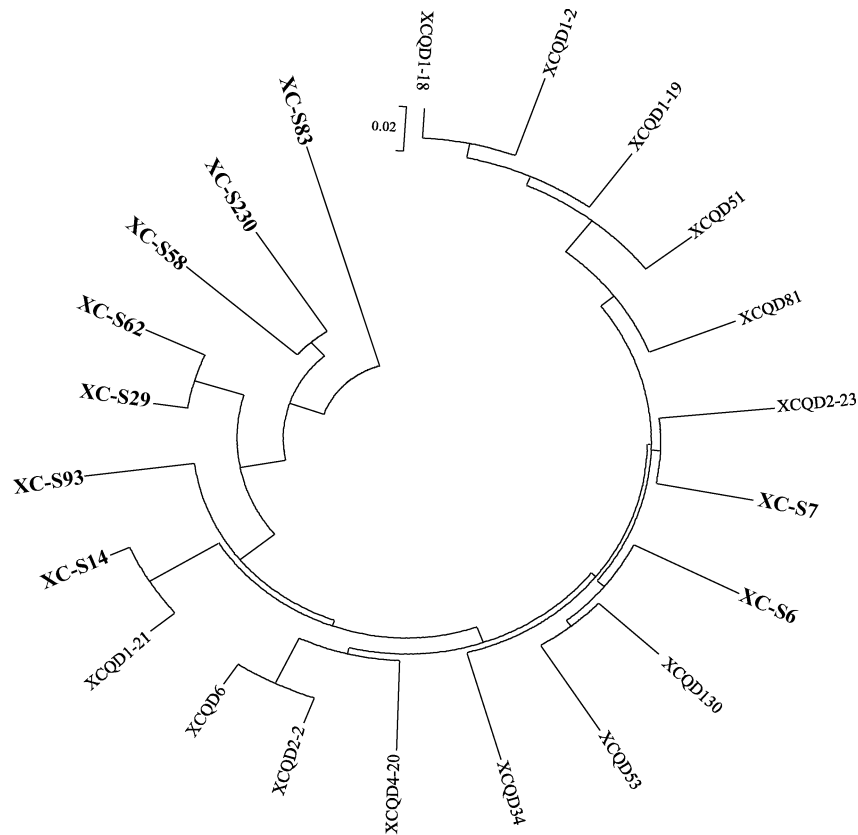


图 5 天涯海角趋磁细菌与青岛太平湾趋磁细菌的遗传发育树(加粗的是本实验所获得的序列)

Fig. 5 Phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequence analysis of magnetotactic bacteria found in Tianyahaijiao and Taiping Bay, Qingdao (The sequences determined in this study are shown in bold)

与法国地中海 Gulf of Fos 潮间带趋磁细菌群落比较。Gulf of Fos 的潮间带(43°26'N, 4°49'E)受石油精炼与钢铁冶炼活动的影响, 在这里发现了球形、弧状、杆状的趋磁细菌, 磁小体的形状仅有立方体形, 仅发现 4 个与已知趋磁细菌序列相似性小于 97%的 OTU^[42]。而三亚天涯海角采样地旅游活动频繁, 没有重工业分布, 发现的与已知趋磁细菌序列相似性小于 97%的 OTU 数量是 Gulf of Fos 的两倍多, 表明不同的环境、不同的污染类型都有可能影响趋磁细菌的多样性。

综上, 独特的地理位置与环境可能是造成三亚天涯海角趋磁细菌异于其他地区的重要因素。该地区趋磁细菌不仅具有其独特性, 而且多样性非常丰富, 更充分的调查研究和资源收集十分必要。

致谢: 本研究的样品由中国科学院海洋研究所徐剑虹老师与张蕊老师协助采集, 电子显微镜的使用得到中国海洋大学姜明老师与山东大学马希骋老师的倾力协助, 谨致谢忱。

参考文献:

[1] Frankel R B. The discovery of magnetotactic/magneto-

- sensitive bacteria[J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 2009, 27(1): 1-2.
- [2] Frankel R B, Bazylinski D A, Johnson M S, et al. Magneto-aerotaxis in marine coccoid bacteria[J]. Biophysical Journal, 1997, 73(2): 994-1000.
- [3] Bazylinski D A, Lefèvre C T, Schüller D. Magnetotactic bacteria[A]//Rosenberg E, DeLong E F, Lory S, et al. The Prokaryotes. Heidelberg: Springer, 2013: 453-494.
- [4] Benzerara K, Menguy N. Looking for traces of life in minerals[J]. Comptes Rendus Palevol, 2009, 8(7): 617-628.
- [5] Farina M, de Barros L. Ultrastructure of a magnetotactic microorganism[J]. Biology of the Cell, 1983, 48(1): 85-88.
- [6] Bazylinski D A, Frankel R B. Magnetosome formation in prokaryotes[J]. Nature Reviews Microbiology, 2004, 2(3): 217-230.
- [7] Bazylinski D A, Moskowitz B M. Microbial biomineralization of magnetic iron minerals; microbiology, magnetism and environmental significance[J]. Reviews in Mineralogy and Geochemistry, 1997, 35: 181-223.
- [8] Schüller D. Formation of magnetosomes in magnetotactic bacteria[J]. Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology, 1999, 1(1): 79-86.
- [9] Simmons S L, Edwards K J. Geobiology of magnetotactic bacteria[M]//Magnetoreception and Magnetosomes in Bacteria. Berlin Heidelberg: Springer, 2007: 77-102.
- [10] Bellini S. On a unique behavior of freshwater bacteria[J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 2009, 27(1): 3-5.
- [11] Blakemore R P. Magnetotactic bacteria[J]. Science, 1975, 190(4212): 377-379.
- [12] Lin W, Wang Y Z, Gorby Y, et al. Integrating niche-based process and spatial process in biogeography of magnetotactic bacteria[J]. Scientific Reports, 2013, 3: 1643.
- [13] 陈海涛, 林巍, 王寅焯, 等. 西安未央湖趋磁细菌多样性与磁学研究[J]. 第四纪研究, 2013, 33(1): 88-96.
Chen Haitao, Lin Wei, Wang Yinzhao, et al. Diversity and magnetism of magnetotactic bacteria in lake Weiyang near Xi'an city[J]. Quaternary Sciences, 2013, 33(1): 88-96.
- [14] Chen Y R, Zhang R, Du H J, et al. A novel species of ellipsoidal multicellular magnetotactic prokaryotes from Lake Yuehu in China[J]. Environmental Microbiology, 2015, 17(3): 637-647.
- [15] Zhou K, Pan H M, Zhang S D, et al. Occurrence and microscopic analyses of multicellular magnetotactic prokaryotes from coastal sediments in the Yellow Sea[J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 2011, 29(2): 246-251.
- [16] Zhang R, Chen Y R, Du H J, et al. Characterization and phylogenetic identification of a species of spherical multicellular magnetotactic prokaryotes that produces both magnetite and greigite crystals[J]. Research in Microbiology, 2014, 165(7): 481-489.
- [17] Zhang W Y, Zhou K, Pan H M, et al. Novel rod-shaped magnetotactic bacteria belonging to the class *Alphaproteobacteria*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2013, 79(9): 3137-3140.
- [18] Zhang W Y, Zhou K, Pan H M, et al. Two genera of magnetococci with bean-like morphology from intertidal sediments of the Yellow Sea, China[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2012, 78(16): 5606-5611.
- [19] 周克. 黄海沉积物多细胞趋磁原核生物的特性研究[D]. 北京: 中国科学院研究生院, 2010.
Zhou Ke. Characterization of multicellular magnetotactic prokaryotes from coastal sediments of Yellow Sea[D]. Beijing: Graduate University of Chinese Academy of Sciences, 2010.
- [20] Bosshard P P, Santini Y, Grütter D, et al. Bacterial diversity and community composition in the chemocline of the meromictic alpine Lake Cadagno as revealed by 16S rDNA analysis[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2000, 31(2): 173-182.
- [21] Stackebrandt E, Goebel B M. Taxonomic note: a place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology[J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1994, 44(4): 846-849.
- [22] 佟文天, 李捷, 王海艳, 等. 海南三亚风景区潮间带软体动物的资源现状研究[J]. 海洋科学, 2013, 37(8): 11-15.
Tong Wentian, Li Jie, Wang Haiyan, et al. The current situation of intertidal shellfish resources in Sanya, Hainan[J]. Marine Sciences, 2013, 37(8): 11-15.
- [23] Blakemore R P. Magnetotactic bacteria[J]. Annual Reviews in Microbiology, 1982, 36(1): 217-238.
- [24] Flies C B, Jonkers H M, Beer D, et al. Diversity and vertical distribution of magnetotactic bacteria along chemical gradients in freshwater microcosms[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2005, 52(2): 185-195.
- [25] 陈海涛, 李金华, 张维佳, 等. 三亚红树林趋磁细菌的多样性研究[C]//2015年第六届“趋磁细菌研究及其应用”研讨会论文摘要. 无锡: 江南大学医学院, 2015.
Chen Haitao, Li Jinhua, Zhang Weijia, et al. The research on the diversity of magnetotactic bacteria of the mangrove in Sanya[C]// Research & Applying of Magnetotactic Bacteria, 2015. Wuxi: Jiangnan University School of Medicine, 2015.
- [26] Lin W, Pan Y X. Uncultivated magnetotactic cocci from yuandadu park in Beijing, China[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75(12): 4046-4052.
- [27] Lin W, Li J H, Schüller D, et al. Diversity analysis of

- magnetotactic bacteria in Lake Miyun, northern China, by restriction fragment length polymorphism[J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 2009, 32(5): 342-350.
- [28] Spring S, Amann R, Ludwig W, et al. Dominating role of an unusual magnetotactic bacterium in the microaerobic zone of a freshwater sediment[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1993, 59(8): 2397-2403.
- [29] Spring S, Lins U, Amann R, et al. Phylogenetic affiliation and ultrastructure of uncultured magnetic bacteria with unusually large magnetosomes[J]. *Archives of Microbiology*, 1998, 169(2): 136-147.
- [30] Pan H M, Zhu K L, Song T, et al. Characterization of a homogeneous taxonomic group of marine magnetotactic cocci within a low tide zone in the China Sea[J]. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(5): 1158-1164.
- [31] Flies C B, Peplies J, Schüler D. Combined approach for characterization of uncultivated magnetotactic bacteria from various aquatic environments[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(5): 2723-2731.
- [32] Pan H, Zhu K, Song T, et al. Characterization of a homogeneous taxonomic group of marine magnetotactic cocci within a low tide zone in the China Sea[J]. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(5): 1158-1164.
- [33] 徐丛, 张文燕, 陈一然, 等. 青岛太平洋潮间带趋磁细菌多样性研究[J]. *生态学报*, 2016, 36(14): 4346-4354.
Xu Cong, Zhang Wenyan, Chen Yiran, et al. Diversity of magnetotactic bacteria in the intertidal zone of Taiping Bay, Qingdao[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2016, 36(14): 4346-4354.
- [34] Westbroek P, De Jong E W. Biomineralization and Biological Metal Accumulation: Biological and Geological Perspective. Papers Presented at the Fourth International Symposium on Biomineralization, Renesse, The Netherlands, June 2-5, 1982 [M]. Berlin: Springer, 1983.
- [35] Winklhofer M. Magnetoreception[J]. *Journal of The Royal Society Interface*, 2010, 7(Suppl 2): S131-S134.
- [36] Heyen U, Schüler D. Growth and magnetosome formation by microaerophilic *Magnetospirillum* strains in an oxygen-controlled fermentor[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2003, 61(5-6): 536-544.
- [37] Schüler D. Genetics and cell biology of magnetosome formation in magnetotactic bacteria[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2008, 32(4): 654-672.
- [38] Lin W, Bazylinski D A, Xiao T, et al. Life with compass: diversity and biogeography of magnetotactic bacteria[J]. *Environmental Microbiology*, 2013. doi: 10.1111/1462-2920.12313.
- [39] Martins J L, Silveira T S, Abreu F, et al. Grazing protozoa and magnetosome dissolution in magnetotactic bacteria[J]. *Environmental Microbiology*, 2007, 9(11): 2775-2781.
- [40] Chen A P, Berounsky V M, Chan M K, et al. Magnetic properties of uncultivated magnetotactic bacteria and their contribution to a stratified estuary iron cycle[J]. *Nature Communications*, 2014, 5. DOI: 10.1038/ncomms5797.
- [41] 徐丛. 不同海洋生境沉积物趋磁细菌的多样性研究[D]. 北京: 中国科学院大学, 2015.
Xu Cong. Diversity of magnetotactic bacteria in sediments of different marine habitats[D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2015.
- [42] Postec A, Tapia N, Bernadac A, et al. Magnetotactic bacteria in microcosms originating from the French Mediterranean coast subjected to oil industry activities[J]. *Microbial Ecology*, 2012, 63(1): 1-11.

Characterization of magnetotactic bacteria found in the intertidal zone of Tianyahaijiao, Sanya, China

XU Cong^{1, 2, 3}, CHEN Hai-tao^{4, 5}, ZHANG Wen-yan^{1, 3}, CHEN Yi-yan^{1, 3}, DONG Yi^{1, 3}, PAN Hong-miao^{1, 3}, DU Hai-jian^{1, 3}, WANG Ming-ling^{1, 3}, LIU Jia^{1, 2, 3}, TENG Zhao-jie^{1, 2, 3}, XIAO Tian^{1, 3}

(1. Key Laboratory of Marine Ecology & Environmental Sciences, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. Laboratory of Marine Ecology and Environmental Science, Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266071, China; 4. Sanya Institute of Deep-sea Science and Engineering, Chinese Academy of Sciences, Sanya 572000, China; 5. Laboratoire International Associe Franco-Chinois de Bio-Mineralisation et Nano-Structures, Sanya 572000, China)

Received: Sep. 29, 2015

Key words: Intertidal zone; magnetotactic bacteria; diversity; magnetosome; 16S rRNA gene

Abstract: A quantity of magnetotactic bacteria (MTB) were found in the intertidal zone of Tianyahaijiao, Sanya, China, where the maximum abundance can reach up to 100 ind./cm³. Transmission electron microscopy (TEM) revealed that most of the MTB were magnetotactic cocci, containing magnetosomes, which were prismatic mineral crystals, mostly organized in chain(s) (one or two chains), while some were in cluster. High-resolution Transmission Electron Microscopy (HRTEM) and Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (EDXA) showed that the magnetosomes contained magnetite. It was estimated that the percentage of Fe found in the MTB was 0.70%~7.53% (average 2.05%). Phylogenetic analyses, based on 16S rRNA gene sequences, revealed that 16 sequences of MTB belonged to 9 operational taxonomic units (OTUs) and were affiliated to the class *Alphaproteobacteria*, except that one OTU was affiliated to the class *Gammaproteobacteria*. Eight OTUs shared < 97% 16S rRNA gene sequence similarity with the nearest known sequences, in which 5 OTUs shared lower than 93% similarity. These results indicate that the MTB resources in Tianyahaijiao were considerable.

(本文编辑: 康亦兼)