

# 海南红树林根系土壤中可培养细菌的多样性分析

孙 静<sup>1</sup>, 王素英<sup>1</sup>, 张德超<sup>2</sup>

(1. 天津商业大学 生物技术与食品科学学院, 天津 300134; 2. 中国科学院 海洋研究所, 山东 青岛, 266071)

**摘要:** 为研究海南红树林根系土壤细菌多样性, 充分发掘中国红树林特有微生物资源, 作者于2012年12月份从10份采集于海南北港岛红树林根系淤泥样品中分离可培养海洋细菌, 并基于16S rRNA 基因序列分析的方法对样品中的细菌多样性进行研究。共分离得到122株海洋细菌, 经并菌后选取其中的70株代表性菌株测序, 结果发现它们分为4个类群: 变形菌门(主要为 $\gamma$ -变形菌纲)(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、厚壁菌门(Firmicutes)和放线菌门(Actinobacteria), 分别占66%, 19%, 11%和4%。共代表30个属47个种, 其中有9个潜在新种和2个潜在新属。本研究结果表明, 北港岛红树林中存在着丰富的细菌多样性, 很多类群可能是红树林特有细菌物种。

**关键词:** 红树林; 海洋细菌; 多样性

中图分类号: Q938.1 文献标识码: A  
doi: 10.11759/hyhx20130608001

文章编号: 1000-3096(2014)07-0027-07

地球上热带和亚热带海岸线大部分(60%~70%)覆盖着红树林生态系统, 红树林区具有较高的生产力和极大的生态价值, 在物质循环、能量流动、生态平衡及环境净化等方面担当着重要角色<sup>[1]</sup>。红树林不仅是鸟类、鱼虾蟹贝类等生物的栖息地, 而且分布着种类繁多的微生物。在该生态系统中, 异养微生物、营养物质、树和海洋生物之间存在着紧密的联系, 是红树林中营养物质循环的主要角色。红树林根的渗出液为很多细菌的生长和繁殖提供营养, 细菌参与了红树林的沉积物绝大部分的碳循环<sup>[2]</sup>。

海口市北港岛覆盖着稀有的红树林资源, 热带雨林特征显著, 与周边的红树林自然保护区形成互动地理资源, 被誉为海口市最大的“绿肺”天然湿地公园。近年来, 中国科研人员从红树林样品中分离了大量的放线菌和真菌<sup>[3-5]</sup>, 然而对红树林中细菌的多样性研究非常少, 北港岛红树林区可培养细菌多样性尚未见报道。作者采用可培养的方法来分离培养北港岛红树林根系淤泥中的海洋细菌, 并基于16S rRNA 基因序列分析的方法研究样品中海洋细菌多样性, 为充分发掘中国红树林特有微生物资源建立良好的基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 样品采集

红树林根系淤泥样品于2012年12月27日采自

海南省海口市北港岛红树林区, 地理坐标为20°00'N/110°55'E, 淤泥的采集深度为15~20 cm, 不同采集地点距离超过100 m, 所有采样工具都经过无菌消毒, 样品采集后4℃保藏, 带回实验室后立即进行菌株分离。

#### 1.1.2 分离培养基

2216E 海水培养基: 蛋白胨(OXOID) 5 g、酵母提取物(OXOID) 1 g 和琼脂 15 g。用1000 mL 海水配制, pH 为7.5。

R2A 培养基: 蛋白胨(OXOID) 0.5 g、酵母提取物(OXOID) 0.5 g、葡萄糖 0.5 g、淀粉 0.5 g、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.3 g、MgSO<sub>4</sub> 0.05 g、丙酮酸钠 0.3 g 和琼脂 15 g。用1000 mL 海水配制, pH 为7。

## 1.2 方法

### 1.2.1 海洋细菌的分离

称取红树林根系淤泥样品 3 g, 加入到无菌的0.1%焦磷酸钠溶液中, 在25℃、150 r/m 条件下, 培养20 min。用生理盐水(0.9%, NaCl)对样品进行10

收稿日期: 2013-06-08; 修回日期: 2013-09-24

基金项目: 国家青年自然科学基金资助项目(31200005); 中国科学院海洋研究所“一三五”专项资助项目(201210060101, 201210060102, 201210060103); 中国科学院海洋研究所知识创新领域前沿项目(Y12711101Q); 留学人员科技活动项目择优资助项目(Y32808103N)  
作者简介: 孙静(1987-), 女, 河北唐山人, 硕士研究生, 主要从事微生物生态学研究, E-mail: nymyg1987@126.com; 张德超, 通信作者, E-mail: zhangdechao@qdio.ac.cn

倍系列稀释,涂布在二种不同的培养基上,25℃培养7 d,根据菌落形态等特征挑取不同菌落,在培养基平板上划线纯化,每个菌落纯化至少2次。用25%甘油将分离纯化的菌株保存于-80℃超低温冰箱。所有步骤均按常规无菌方法操作。

### 1.2.2 海洋细菌的系统发育分析

根据菌落的形态和培养特征等指标选取特征不同的菌株用酚氯仿抽提和乙醇沉淀法<sup>[6]</sup>进行细菌总DNA的提取。采用细菌16S rRNA基因扩增通用引物,27f(5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'),1541r(5'-AAGGAGGTGATCCAGCCGCA-3')。PCR反应条件(30个循环):预变性:94℃,4 min;扩增:94℃变性,1 min;55℃复性,1 min;72℃延伸,1 min,共28个循环。补齐:72℃延伸,10 min。扩增产物用0.8%琼脂糖凝胶电泳检测,目的片段大小约为1.5 kb。PCR扩增产物经过切胶纯化后,送华大基因公司采用ABI 377 DNA测序仪对DNA进行双向全长测定。通过Blastn程序对菌株的16S rRNA基因序列进行相似性比对,挑选出与其相似性最高且有效发表的标准菌株序列,利用Clustal X软件对所得序列及标准菌株序列进行比对,采用软件Mega 5.0程序,Neighbor-joining方法构建系统发育树。

## 2 结果与分析

### 2.1 菌株的分离

从北港岛红树林共分离得到122株海洋细菌。挑选出有差异的70株代表菌株进行测序,通过近乎全长的16S rRNA基因序列(1.4~1.5kb)系统发育分析,发现它们主要分布在4个门,6个纲,30个属,47个种(表1)。4个门分别变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、厚壁菌门(Firmicutes)和放线菌门(Actinobacteria),分别占66%、19%、11%和4%。其中变形菌门为优势菌群,尤其是 $\gamma$ -变形菌纲占所有种类的51%。

### 2.2 菌株的系统发育分析

70株代表性菌株测序后,共代表47个不同的种。将16S rRNA基因序列提交GenBank进行注册,序列号为KF560335-KF560381。将这些序列结合在Genbank的搜索结果,利用软件Mega 5.0采用邻接方法,分别构建变形菌门系统发育树(图1)以及拟杆菌门、厚壁菌门和放线菌门细菌的系统发育树(图2)。

本研究分离的菌株近一半多属于 $\gamma$ -变形菌纲, $\gamma$ -

变形菌纲中主要包括交替单胞菌目(Alteromonadales)、海洋螺菌目(Oceanospirillales)、假单胞菌目(Pseudomonadales)和弧菌目(Vibrionales)。这4个目的细菌在海洋环境中广泛存在,将分离得到的不同菌种的代表序列同其进化关系最近的模式菌株序列一起构建系统发育树,可以初步推测所得菌株可能具有的生理特性:(1)大部分菌株属于交替单胞菌目,包括希瓦氏菌属(*Shewanella*)、海杆状菌(*Marinobacter*)、交替单胞菌属(*Alteromonas*)和假交替单胞菌属(*Pseudoalteromonas*)。菌株BG-2-E1同希瓦氏菌属模式菌小泡希瓦氏菌(*S. vesiculosa*)M7<sup>T</sup>序列近乎相同(99.9%),该模式菌株是分离自韩国东海的海水中的中度嗜盐细菌。菌株BG-6-R2属于交替单胞菌属,同该属的模式菌株麦氏交替单胞菌(*A. macleodii*)DSM 6062T序列相似性最高(97.7%),推测为该属的潜在新物种,该属的麦氏交替单胞菌ANG-1也分离自印度东南部杜蒂戈林海岸的红树林。菌株BG-7-E3同分离自韩国东海海水的闪烁交替单胞菌(*A. fuliginea*)CIP 105339<sup>T</sup>序列完全相同。菌株BG-1-E1同具有降解褐藻(*Fucus evanescens*)能力的依氏假交替单胞菌(*P. issachenkonii*)相似性99.7%<sup>[7]</sup>。该属菌株依氏假交替单胞菌5-4-4在广西红树林中也分离得到。菌株BG-10-R2同具有酯酶降解能力的*P. lipolytica* LMEB 39<sup>T</sup>相似性高达99.9%,推测该菌株可能也具有酯酶降解能力;(2)海洋螺菌目的菌株主要属于盐单胞菌属(*Halomonas*)、海单胞菌属(*Marinomonas*)和科拜特氏菌属(*Cobetia*)。其中菌株BG-3-R5同白骨壤克锡勒氏菌(*Kushneria avicenniae*)MW2a<sup>T</sup>相似性最高(99.7%),该模式菌株是分离自波多黎各的红树林植物白骨壤(*Avicennia germinans*)的含盐叶子中。菌株BG-2-R2、BG-4-E2和BG-10-E1分别同分离自波西多尼亚水生植物(*Posidonia oceanica*)的3个最近发表的新种黑海海单胞菌(*M. pontica*)46-16<sup>T</sup>、*M. foliarum* IVIA-Po-155<sup>T</sup>和*M. alcarazii* IVIA-Po-14b<sup>T</sup>相似性最高<sup>[8]</sup>,分别为97.7%、98.6%和100%。推测这些类群细菌有可能同植物存在共生关系。菌株BG-1-R4是海洋螺菌目盐单胞菌科的一个潜在的新属;(3)假单胞菌目的菌株主要属于假单胞菌属(*Pseudomonas*)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)和嗜冷杆菌属(*Psychrobacter*)。菌株BG-9-R4同鲍氏不动杆菌(*A. baumannii*)ATCC 19606<sup>T</sup>序列近乎相同(99.9%),Singh<sup>[9]</sup>已发表分离自

表 1 北港岛红树林根系土壤中可培养细菌的分布

Tab. 1 Distribution of culturable bacteria isolated from the soil of root system of mangrove forest of Beigang island

菌株编号	进化关系最近的模式细菌	最高相似性(%)	所属类群
BG-5-R6	<i>Citricella thiooxidans</i> CHLG 1 <sup>T</sup> (AY639887)	99.85	α-变形菌纲
BG-9-E2	<i>Sagittula stellata</i> DSM10014 <sup>T</sup> (Y13155)	99.47	α-变形菌纲
BG-4-R8	<i>Rhodovulum sulfidophilum</i> DSM 1374 <sup>T</sup> (D16423)	99.40	α-变形菌纲
BG-8-E3	<i>Thalassospira tepidiphila</i> 1-1B <sup>T</sup> (AB265822)	99.56	α-变形菌纲
BG-5-R3	<i>Martelevella mediterranea</i> MACL11 <sup>T</sup> (AY649762)*	97.99	α-变形菌纲
BG-9-R1	<i>Martelevella mediterranea</i> MACL11 <sup>T</sup> (AY649762)*	97.67	α-变形菌纲
BG-3-E2	<i>Labrenzia aggregate</i> IAM 12614 <sup>T</sup> (D88520)	99.93	α-变形菌纲
BG-2-E1	<i>Shewanella vesiculosa</i> M7 <sup>T</sup> (AM980877)	99.93	γ-变形菌纲
BG-1-R5	<i>Marinobacter litoralis</i> SW-45 <sup>T</sup> (AF479689)	99.93	γ-变形菌纲
BG-6-R2	<i>Alteromonas macleodii</i> DSM 6062 <sup>T</sup> (Y18228)*	97.75	γ-变形菌纲
BG-7-E3	<i>A. fuliginea</i> CIP 105339 <sup>T</sup> (AF529062)	100	γ-变形菌纲
BG-7-R2	<i>Pseudoalteromonas atlantica</i> IAM 12927 <sup>T</sup> (X82134)	99.86	γ-变形菌纲
BG-1-E1	<i>P. issachenkonii</i> KMM 3549 <sup>T</sup> (AF316144)	99.71	γ-变形菌纲
BG-10-R2	<i>P. lipolytica</i> LMEB 39 <sup>T</sup> (FJ404721)	99.93	γ-变形菌纲
BG-9-E1	<i>P. prydzensis</i> MB8-11 <sup>T</sup> (U85855)	98.72	γ-变形菌纲
BG-1-R4	<i>Chromohalobacter israelensis</i> ATCC 43985 <sup>T</sup> (AJ295144)*	95.10	γ-变形菌纲
BG-3-R5	<i>Kushneria avicenniae</i> MW2aT (DQ888315)	99.71	γ-变形菌纲
BG-2-R2	<i>Marinomonas pontica</i> 46-16 <sup>T</sup> (AY539835)*	97.68	γ-变形菌纲
BG-4-E2	<i>M. foliarum</i> IVIA-Po-155 <sup>T</sup> (EU188444)	98.63	γ-变形菌纲
BG-10-E1	<i>M. alcarazii</i> IVIA-Po-14b <sup>T</sup> (EU188442)	100	γ-变形菌纲
BG-6-R4	<i>M. rhizomae</i> IVIA-Po-145 <sup>T</sup> (EU188443)	98.24	γ-变形菌纲
BG-6-E1	<i>Cobetia marina</i> DSM 4741 <sup>T</sup> (AJ306890)	99.78	γ-变形菌纲
BG-3-E4	<i>Vibrio kanaloae</i> LMG 20539 <sup>T</sup> (AJ316193)	99.93	γ-变形菌纲
BG-5-R4	<i>V. atlanticus</i> Vb 11.11 <sup>T</sup> (EF599163)	99.79	γ-变形菌纲
BG-8-E5	<i>V. owensii</i> DY05 <sup>T</sup> (GU018180)	99.44	γ-变形菌纲
BG-1-E3	<i>V. rhizosphaerae</i> MSSRF3 <sup>T</sup> (DQ847123)*	98.50	γ-变形菌纲
BG-10-E3	<i>V. rhizosphaerae</i> MSSRF3 <sup>T</sup> (DQ847123)*	98.29	γ-变形菌纲
BG-4-E5	<i>P. xanthomarina</i> KMM 1447 <sup>T</sup> (AB176954)	99.43	γ-变形菌纲
BG-2-R4	<i>P. veronii</i> CIP 104663 <sup>T</sup> (AF064460)	99.86	γ-变形菌纲
BG-9-R4	<i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC19606 <sup>T</sup> (X81660)	99.93	γ-变形菌纲
BG-4-R2	<i>Psychrobacter fozii</i> NF23 <sup>T</sup> (AJ430827)	99.71	γ-变形菌纲
BG-6-E3	<i>Exiguobacterium aestuarii</i> TF-16 <sup>T</sup> (AY594264)	99.89	厚壁菌门
BG-6-E4	<i>Bacillus safensis</i> FO-036b <sup>T</sup> (AF234854)	99.93	厚壁菌门
BG-8-R2	<i>B. marisflavi</i> TF-11 <sup>T</sup> (AF483624)	99.91	厚壁菌门
BG-7-E4	<i>B. stratosphericus</i> 41KF2a <sup>T</sup> (AJ831841)	99.93	厚壁菌门
BG-7-R5	<i>B. tequilensis</i> 10b <sup>T</sup> (HQ223107)	99.87	厚壁菌门
BG-10-R1	<i>Algoriphagus halophilus</i> IMSNU 14013 <sup>T</sup> (AY264839)	99.49	拟杆菌门
BG-1-R2	<i>Polaribacter dokdonensis</i> DSW-5 <sup>T</sup> (DQ004686)*	97.60	拟杆菌门
BG-2-E3	<i>P. butkevichii</i> KMM 3938 <sup>T</sup> (AY189722)	98.67	拟杆菌门
BG-4-E3	<i>Tenacibaculum mesophilum</i> MBIC1140 <sup>T</sup> (AB032501)*	98.26	拟杆菌门

续表

菌株编号	进化关系最近的模式细菌	最高相似性(%)	所属类群
BG-9-E5	<i>Leeuwenhoekia palythoae</i> KMM 6264 <sup>T</sup> (FJ405187)	99.71	拟杆菌门
BG-8-R4	<i>Zunongwangia profunda</i> SMA-87 <sup>T</sup> (CP001650)	98.99	拟杆菌门
BG-4-R5	<i>Gramella portivictoriae</i> UST040801-001 <sup>T</sup> (DQ002871)	100	拟杆菌门
BG-3-R2	<i>Aquimarina brevivita</i> SMK-19 <sup>T</sup> (AY987367) <sup>*</sup>	98.13	拟杆菌门
BG-4-E6	<i>Mesonia phycicola</i> MDSW-25 <sup>T</sup> (FM882228) <sup>*</sup>	92.96	拟杆菌门
BG-7-R7	<i>Demequina salsinemoris</i> NBRC 105323 <sup>T</sup> (AB639017)	98.85	放线菌门
BG-9-R5	<i>Micrococcus antarcticus</i> T2 <sup>T</sup> (AJ005932)	99.67	放线菌门

\*. 潜在新种

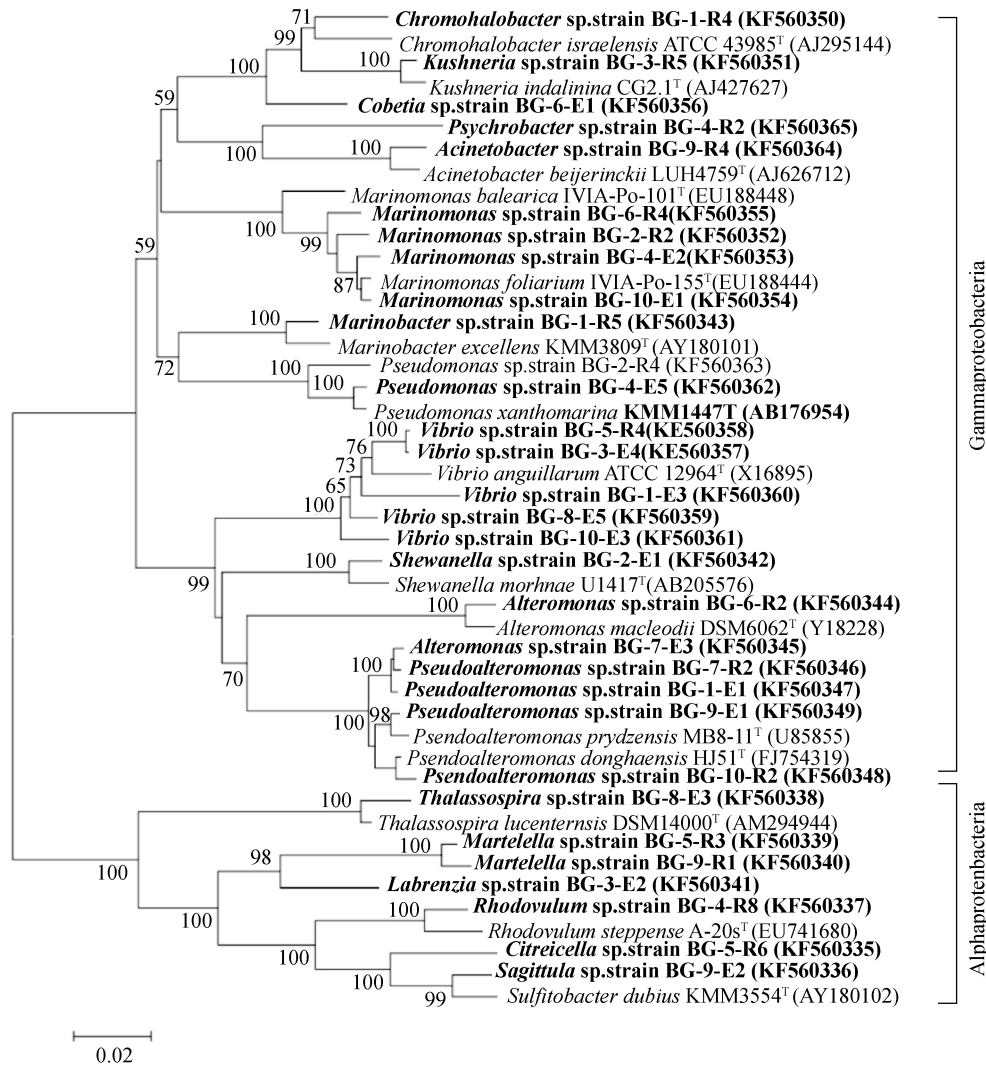


图 1 变形菌门细菌的系统发育树

Fig.1 Phylogenetic relationships of culturable bacterial strains related to the Proteobacteria

括号内表示 16S rRNA 基因的 GenBank 号,本研究分离的菌株用黑体标注(图 2 同)

GenBank accession numbers of 16S rRNA sequences are given in parentheses, strains isolated in this study are indicated in bold(Fig.2 is the same)

红树林土壤中的鲍氏不动杆菌 MSP4-16 的全基因组序列(NZ\_AODW01000015)。菌株 BG-4-E5 同从日本海海鞘(Ascidian)中分离的海黄色假单胞菌(*Pseudomonas xanthomarina*)KMM 1447<sup>T</sup> 相似性为 99.4%;

(4)弧菌目的菌株均为弧菌属(*Vibrio*), 菌株 BG-5-R4 和 BG-8-E5 分别同分离自西班牙菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)的(*V. atlanticus*) Vb.11. 11<sup>T(10)</sup>和分离自澳大利亚锦绣龙虾(*Panulirus ornatus*)的欧文氏

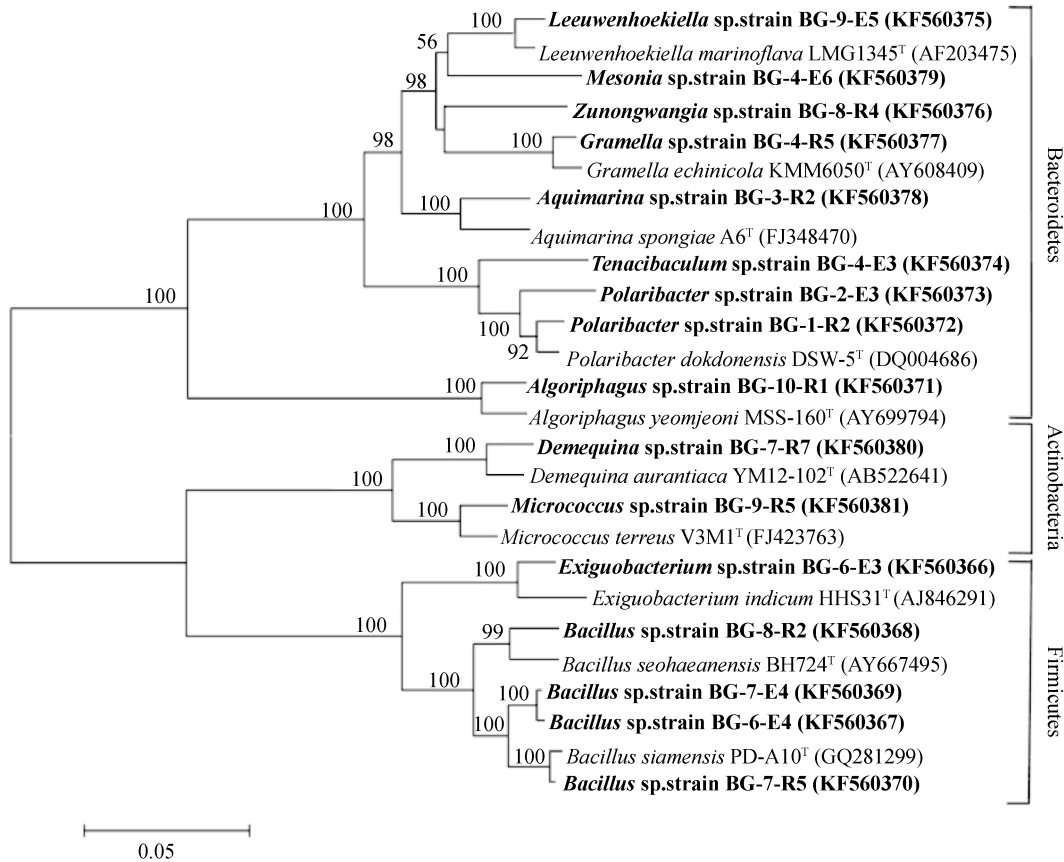


图 2 拟杆菌门、厚壁菌门和放线菌门细菌的系统发育树

Fig.2 Phylogenetic relationships of culturable bacterial strains related to Bacteroidetes, Actinobacteria and Firmicutes

弧菌(*V. owensii*)DY05<sup>T</sup>[11]相似性最高,推测该两株菌可能同海洋真核生物存在共生关系。菌株 BG-1-E3 和 BG-10-E3 与弧菌属的模式种根际弧菌(*V. rhizosphaerae*)MSSRF3<sup>T</sup> 亲缘关系最近。有意思的是,该根际弧菌 MSSRF3<sup>T</sup> 分离自印度皮恰瓦兰地区一种与红树林相关的野生稻米(*Porteresia coarctata*)的根系土壤中[12],具有抗菌活性,能抵抗植物致病细菌。

$\alpha$ -变形菌纲主要包括红细菌目(Rhodobacterales)的柠檬形胞菌属(*Citricella*)、亚硫酸盐杆菌属(*Sulfitobacter*)、小红卵菌属(*Rhodovulum*)、深海螺旋菌属(*Thalassospira*)、马特尔氏菌属(*Marteella*)和拉布伦茨氏菌属(*Labrenzia*)。红细菌目类微生物能够利用光合作用进行生长代谢,固定 CO<sub>2</sub> 和氮。菌株 BG-5-R6 与分离自巴西瓜纳巴拉湾的红树林沉积物的菌株 GPM2511 相似性达 99.6%,GPM2511 具有降解降解碳氢化合物的能力[13]。菌株 BG-9-E2 同具有转化木质素能力的星箭头菌(*Sagittula stellata*)<sup>[14]</sup> 的相似性为 99.5%。菌株 BG-8-E3 同深海螺旋菌属的模式种嗜微温深海螺旋菌(*T. tepidiphila*)1-1B 相似性为 99.6%,该菌株分离自海水,具有降解多环芳香烃的能力[15]。菌株

BG-4-R8 同小红卵菌属的模式种嗜硫小红卵菌(*R.sulfidophilum*)DSM 1374<sup>T</sup> 相似性为 99.4%。最近小红卵菌属的首个细菌全基因组序列测序完成<sup>[16]</sup>,该菌株(*Rhodovulum* sp.) PH10 分离自印度 Namkhana 红树林的土壤中,它的全基因组序列有利于提高人类对这类细菌在涉及光合作用生长和氮固定的途径等方面的认识。菌株 BG-5-R3 和 BG-9-R1 同马特尔氏菌属的模式种地中海马特尔氏菌(*M. mediterranea*)MACL11<sup>T</sup>[17] 的亲缘关系最近,分别为 97.9%和 97.7%。菌株 BG-5-R3 和 BG-9-R1 之间的序列相似性为 97.9%,推测这两个菌株是马特尔氏菌属的 2 个潜在新种。

厚壁菌门细菌在近海和浅海沉积物中较为常见,本研究分离的菌株主要是芽孢杆菌纲的芽孢杆菌属(*Bacillus*)和微杆菌属(*Exiguobacterium*),是低 G+C 含量革兰氏阳性细菌。菌株 BG-6-E3 同分离自韩国黄海滩涂的海岸微小杆菌(*E. aestuarii*)TF-16<sup>T</sup>[18] 序列近乎相同(99.9%)。菌株 BG-6-E4、BG-8-R2、BG-7-E4 和 BG-7-R5 均为芽孢杆菌属。

拟杆菌门是海洋细菌的主要组成部分,一般来说占海水中细菌数量的 1/3。除了菌株 BG-10-R1 属

于圆杆菌科(Cyclobacteriaceae)的食冷菌属(*Algoriphagus*)以外,其余菌株均为黄杆菌科(Flavobacteriaceae),这一菌群在海洋环境中的分布非常广泛,通常在海雪、大型藻类、小型藻类和软体动物的外壳上营附着生活,也可以在海水中营浮游生活。菌株 BG-1-R2 是极低杆菌属(*Polaribacter*)的 1 个潜在的新物种。菌株 BG-4-E3 和 BG-4-R5 分别属于附着杆菌属(*Tenacibaculum*)和革兰氏菌属(*Gramella*),其中菌株 BG-4-E3 是附着杆菌属的一个潜在新物种,菌株 BG-4-R5 同分离自香港维多利亚港的维多利亚港革兰氏菌(*G. portivictoriae*)UST040801-001<sup>T</sup>为相似性为 100%。菌株 BG-8-R4 同模式菌深层王祖农氏菌(*Zunongwangia profunda*)SMA-87 相似性较高(98.9%),该模式菌分离自深海,具有有机氮降解能力,目前全基因组序列已经测定完成。菌株 BG-3-R2 和分离自韩国黄海滩涂的短命海水杆菌(*Aquimarina brevivittae*)SMK-19<sup>T</sup>相似性为 98.1%,是海水菌属的一个潜在新种。菌株 BG-4-E6 和分离自济州岛海草的海藻海环站菌(*Mesonium phycicola*)MDSW-25<sup>T</sup>相似性为 92.9%,推测是黄杆菌科的一个潜在新属。

放线菌门的细菌分布在脱醯菌属(*Demequina*)和微球菌属(*Micrococcus*)两个属。其中菌株 BG-7-R7 同 *D. salsinemoris* NBRC 105323<sup>T</sup>相似性最高(98.8%),该模式菌分离自日本奄美大岛的红树林土壤中<sup>[19]</sup>。

### 3 讨论

本研究首次采用培养的方法,分离海南北港岛红树林根系土壤中的细菌,并基于 16S rRNA 基因序列分析的方法,研究北港岛红树林根系土壤中细菌的多样性,结果发现  $\gamma$ -变形菌纲为优势菌群,占有种类的 51%。这一结果与其他采用分子生物学方法研究红树林土壤沉积物细菌多样性的结论基本是一致的,如 Ghosh 等<sup>[1]</sup>采用克隆文库的方法分析印度 Sundarban 红树林土壤中的细菌群落结构,发现  $\gamma$ -变形菌纲是主要的细菌类群,相当一部分  $\gamma$ -变形菌纲与那些参与硫循环的菌株或克隆序列相关。同时本研究发现,北港岛红树林根系土壤中的细菌与很多分离自其他红树林地区的细菌,在系统发育关系上非常近,作者推测,白骨壤克锡勒氏菌、根际弧菌、鲍氏不动杆菌和 *Demequina salsinemoris* 等可能是红树林地区特有的细菌物种。很多菌株同其他海洋环境中分离的已发表种的模式菌株 16S rRNA 基因的相似性达 100%,这些菌株为研究微生物生物地理学提供了很好的研究材料。另外,本研究

分离的红细菌目和交替单胞菌目的很多菌株,同具有降解不同种类的脂肪族和芳香族碳水化合物能力的细菌序列相似性非常高,这些分离菌株可能具有一定的研究开发价值。研究也发现 9 个潜在的细菌新种和 2 个潜在的新属。本研究表明,北港岛红树林根系土壤中细菌存在较高的多样性,为今后中国红树林区土壤细菌多样性研究提供了参考资料。

#### 参考文献:

- [1] Ghosh A, Dey N, Bera A, et al. Culture independent molecular analysis of bacterial communities in the mangrove sediment of Sundarban, India [J]. *Saline Systems*, 2010,6:1.
- [2] Gonzalez-Acosta B, Bashan Y, Hernandez-Saavedra N Y, et al. Seasonal seawater temperature as the major determinant for populations of culturable bacteria in the sediments of an intact mangrove in an arid region [J]. *FEMS Microbiol Ecol*, 2006, 55(2):311-21.
- [3] 骆耐香, 陈森洲, 袁桂峰, 等. 广西沿海地区红树林根系土壤中放线菌的分离与鉴定[J]. *基因组学与应用生物学*, 2010, 29(2) : 310-313.
- [4] 陈森洲, 刘菁, 陈建宏, 等. 红树林海洋淤泥中放线菌的分离与鉴定[J]. *贵州农业科学*, 2011, 39(2):110-113.
- [5] 徐友林, 刘敏, 黄惠琴, 等. 八门湾红树林土壤可培养真菌的多样性分析[J]. *热带作物学报*, 2013, 34(1):181-187.
- [6] 夏涵, 府伟灵, 陈鸣, 等. 快速提取细菌 DNA 方法的研究[J]. *现代预防医学*, 2005, 32(5):571-573.
- [7] Ivanova E P, Sawabe T, Alexeeva Y V, et al. *Pseudoalteromonas issachenkonii* sp. nov., a bacterium that degrades the thallus of the brown alga *Fucus evanescens* [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2002, 52(1):229-234.
- [8] Patricia L E, Ester M N, Elena E, et al. *Marinomonas alcarazii* sp. nov., *M. rhizomae* sp. nov., *M. foliarum* sp. nov., *M. posidonica* sp. nov. and *M. aquiplantarum* sp. nov., isolated from the microbiota of the seagrass *Posidonia oceanica* [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2011,61(9):2191-2196.
- [9] Singh N K, Kumar S, Raghava G P S, et al. Draft genome sequence of *Acinetobacter baumannii* strain MSP4-16 [J]. *Genome Announc*, 2013,1(2) : 1-2.
- [10] Diéguez A L, Beaz-Hidalgo R, Cleenwerck I, et al.

- Vibrio atlanticus* sp. nov. and *Vibrio artabrorum* sp. nov., isolated from the clams *Ruditapes philippinarum* and *Ruditapes decussates* [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2011, 61(10): 2406-2411.
- [11] Cano-Gómez A, Goulden E F, Owens L, et al. *Vibrio owensii* sp. nov., isolated from cultured crustaceans in Australia [J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2010, 302(2): 175-181.
- [12] Kumar N R, Nair S. *Vibrio rhizosphaerae* sp. nov., a red-pigmented bacterium that antagonizes phytopathogenic bacteria[J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2007, 57(10): 2241-2246.
- [13] Brito E M, Guyoneaud R, Goñi-Urriza M, et al. Characterization of hydrocarbonoclastic bacterial communities from mangrove sediments in Guanabara Bay, Brazil [J]. *Res Microbiol*, 2006, 157(8):752-762.
- [14] Gonzalez J M, Mayer F, Moran M A, et al. *Sagittula stellata* gen. nov., sp. nov., a lignin-transforming bacterium from a coastal environment[J]. *Int J Syst Bacteriol*, 1997, 47(3):773-780.
- [15] Kodama Y, Stiknowati L I, Ueki A, et al. *Thalassospira tepidiphila* sp. nov., a polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacterium isolated from seawater[J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2008, 58(3):711-715.
- [16] Khatri I N, Korpole S, Subramanian S, et al. Draft genome sequence of *Rhodovulum* sp. strain PH10, a phototrophic alphaproteobacterium isolated from a soil sample of mangrove of Namkhana, India [J]. *Journal of Bacteriology*, 2012, 194(22): 6363.
- [17] Rivas R, Sánchez-Márquez S, Mateos P F, et al. *Marteilella mediterranea* gen. nov., sp. nov., a novel  $\alpha$ -proteobacterium isolated from a subterranean saline lake [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2005, 55(2): 955-959.
- [18] Kim I J, Lee M H, Jung S Y, et al. *Exiguobacterium aestuarii* sp. nov. and *Exiguobacterium marinum* sp. nov., isolated from tidal flat of the Yellow Sea in Korea[J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2005, 55(2): 885-889.
- [19] Atsuko M, Kengo N, Kurimi M, et al. *Demequina salinemoris* sp. nov., isolated on agar media supplemented with ascorbic acid or rutin [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2010, 60(5):1206-1209.

## Diversity of culturable bacteria from the soil of root system of mangrove forest of Beigang island in Hainan Province

SUN Jing<sup>1</sup>, WANG Su-ying<sup>1</sup>, ZHANG De-chao<sup>2</sup>

(1. Tianjin University of Commerce College of Biotechnology and Food Science, Tianjin 300134, China; 2. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China)

**Received:** Jun., 8, 2013

**Key words:** mangrove; marine bacteria; diversity

**Abstract:** To investigate the diversity of soil bacteria in the root system of mangrove forest and potential microbacteria sources in Hainan Province, we collected ten soil samples from Beigang island in December 2012. The samples were treated by the plate dilution method to isolate culturable marine bacteria. The diversity of marine bacteria was examined based on 16S rRNA gene sequence analysis. Totally 70 representative strains were selected from 122 isolates, and they were further sequenced and subjected to phylogenetic analysis. The bacterial population was composed of 4 major lineages, Proteobacteria (66%, with a predominance of Gammaproteobacteria), Bacteroidetes (19%), Firmicutes (11%) and Actinobacteria (4%). These culturable bacterial isolates belonged to 30 genera and 47 species. There were 9 strains identified as potential novel species and 2 strains were identified as potential novel genus. This study indicated that there was high bacterial diversity in the soil of root system of mangrove forest of Beigang island and many isolates were the characteristic groups in mangrove forest.

(本文编辑: 谭雪静)