

北极海洋沉积物中锰细菌的分离与系统发育

林学政¹, 高爱国^{1,2}, 陈皓文¹

(1. 国家海洋局第一海洋研究所, 山东 青岛 266061; 2. 厦门大学海洋与环境学院南洋学系, 福建 厦门 361005)

摘要:对中国第二次北极科学考察采集的北极海洋沉积物中的锰细菌进行了筛选、分离和系统发育分析。根据其在筛选平板上菌落的形态学特征, 分别从站位 P11 和 S11 采集的沉积物中分离到了 21 株和 19 株锰细菌。系统发育分析表明, 两个站位的锰细菌群落组成有着明显的差别。站位 P11 分离的可培养锰细菌主要由细菌域(Bacteria)中变形杆菌门的 γ -变形杆菌纲(γ -Proteobacteria)和放线菌纲(Actinobacteria)组成, 二者分别占 86% 和 14%; γ -变形杆菌纲主要包括嗜冷杆菌属(*Psychrobacter*)、希瓦氏菌属(*Shewanella*)、假交替单胞菌属(*Pseudoalteromonas*)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)、海杆菌属(*Marinobacter*), 其中以嗜冷杆菌属为主, 其比例可达 67%。从站位 S11 分离到的可培养锰细菌主要包括细菌域中变形杆菌门的 α -变形杆菌纲(α -Proteobacteria)和 γ -变形杆菌纲以及拟杆菌门(Bacteroides)中的黄杆菌纲(Flavobacteria); γ -变形杆菌纲主要包括希瓦氏菌属、海单胞菌属(*Marinomonas*)和交替单胞菌属(*Alteromonas*), α -变形杆菌纲主要为鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)。实验菌株均对 Mn^{2+} 有着较强的抗性, 其中以菌株 *Marinomonas* sp. S11-S-4 耐受性最高。

关键词:北极; 海洋沉积物; 锰细菌; 微生物区系; 系统发育分析

文章编号: 1000-0933(2008)12-6364-07 中图分类号: Q145 文献标识码: A

Isolation and phylogenetic analysis of cultivable manganese bacteria in sediments from the Arctic ocean

LIN Xue-Zheng¹, GAO Ai-Guo^{1,2}, CHEN Hao-Wen¹

1. First Institute of Oceanography, SOA, Qingdao 266061, China

2. Department of Oceanography, College of Oceanography and Environmental Science, Xiamen University, Xiamen 361005, China

Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(12): 6364 ~ 6370.

Abstract: The biogeochemical cycling of manganese is recognized as an important environmental process because manganese is not only an essential nutrient for all organisms but also its oxidation and reduction are intimately coupled with the cycling of other essential elements. Studies have demonstrated that Mn^{2+} -oxidizing bacteria are abundant and distributed widely. A diverse array of bacteria, fungi, and microalgae have been shown to have the ability to catalyze oxidation or reduction of manganese. The oxidation of soluble Mn^{2+} to insoluble Mn^{3+}/Mn^{4+} oxides and oxy-hydroxides is an environmentally important process because the solid-phase products oxidize a variety of organic and inorganic compounds, scavenge many metals, and serve as electron acceptors for anaerobic respiration. In most environments, Mn^{2+} oxidation is believed to be bacterially mediated. Over the years, Mn^{2+} -oxidizing bacteria have been isolated from wide variety of environments, including marine and freshwaters, soils, sediments, water pipes, Mn nodules, and hydrothermal vents. Phylogenetically, Mn^{2+} -oxidizing bacteria appear to be quite diverse, with all isolates analyzed to date falling within either the low G + C gram-positive bacteria, the Actinobacteria, or the α , β , and γ subgroups of the Proteobacteria branch of the domain *Bacteria*.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(40576060)

收稿日期: 2007-07-27; 修订日期: 2008-06-17

作者简介: 林学政(1971~), 男, 山东栖霞人, 博士, 研究员, 主要从事极端环境微生物学研究. E-mail: linxz@fio.org.cn

Foundation item: The project was financially supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 40576060)

Received date: 2007-07-27; Accepted date: 2008-06-17

Biography: LIN Xue-Zheng, Ph. D., Associate professor, mainly engaged in extreme environmental microorganism. E-mail: linxz@fio.org.cn

In order to investigate the biodiversity of manganese bacteria in polar region, isolation, molecular identification and phylogenetic analysis of manganese bacteria were carried out in the sediments which were collected from Arctic ocean during 2nd Chinese Arctic Scientific Expedition. Twenty one and nineteen species of cultivable strain were isolated from the sediments of both station P11 and S11 respectively according to their distinct morphology on screening plate of manganese medium. Molecular identification and phylogenetic analysis showed that the cultivable manganese bacteria from station P11 were basically composed of γ subgroup of the Proteobacteria branch of the domain *Bacteria* (γ -Proteobacteria) and Actinobacteria, which accounted for 86% and 14% respectively. The γ -Proteobacteria mainly included *Psychrobacter*, *Shewanella*, *Acinetobacter* and *Marinobacter*, of which *Psychrobacter* was the major genus, it accounted for 67% of γ -Proteobacteria in sediments of station P11. The cultivable manganese bacteria from station S11 included α -proteobacteria, γ -Proteobacteria and Flavobacteria of Bacteroides. γ -Proteobacteria included *Shewanella*, *Marinomonas* and *Alteromonas*. The majority of α -Proteobacteria was *Sphingomonas*. The phylogenetic analysis indicated that bacteria from the sediments of station P11 and S11 had different cultivable manganese bacteria flora. All tested strains had higher resistance to Mn^{2+} , of which *Marinomonas* sp. S11-S-4 had highest resistance.

Key Words: arctic; ocean sediments; manganese bacteria; microflora; phylogenetic analysis

海洋由于其特殊的环境特征,存在着一个适应高压、高盐和低温等的微生物生态系统,同时,随着深海“热液”和“冷泉”生物群的发现,越来越多的研究表明,在超过地球表面50%的深海区域中存在着强烈而独特的生物地球化学过程,而海洋微生物是这些过程中的关键环节。

在海洋沉积物中生存着大量的微生物,可促进海洋中许多化学变化与成岩作用。陆源可溶态和悬浮态的锰进入海洋后,被海洋生物结合入体内,当这些有机体的残骸下沉时也将这些元素带到海底,经过生理生化功能各异的细菌的矿化作用,会引起环境中 Eh、pH、 Mn^{2+}/Mn^{4+} 和 Fe^{2+}/Fe^{3+} 等生物地球化学参数变化。尽管 Mn^{2+} 在海水中含量较少,但是其氧化还原过程在海洋的地球化学循环中可能起着关键的作用。目前已对海洋沉积物中细菌在铁锰结核形成过程中所起的作用做了一些研究工作,但大多是在实验室内研究某一种细菌对金属离子的转化作用^[1,2]。在绝大部分环境下, Mn^{2+} 的氧化被认为是细菌介导(bacterial mediation)的。锰氧化细菌不仅种类数量繁多,而且分布广泛,已从各种不同的环境,如海水、淡水、土壤沉积物、热液口等分离到了锰氧化细菌。从系统发育角度看,锰氧化细菌的种类看起来非常广泛,其主要归类为低 G + C 含量 G⁺ 菌、放线菌、变形杆菌门(Proteobacteria)的 α 、 β 和 γ 变形杆菌纲。目前研究的最多的锰氧化细菌是枯草杆菌(*Bacillus* sp.)SG-1、生盘纤发菌(*Leptothrix discophora*)SS-1、恶臭假单胞菌(*Pseudomonas putida*)MnB1 和 GB-1^[3~5]。国内对深海铁锰结核区微生物的丰度、成矿作用和系统发育分析也已进行了初步研究^[1,6,7],但对极地海洋沉积物中锰细菌的多样性和系统发育分析尚未见报道,国外也较少见。

本研究将通过对我国第二次北极科考采自 P11 和 S11 两个站位沉积物的锰细菌的菌群组成和系统发育的比较分析,了解锰细菌的多样性,为研究微生物在极地海洋沉积物元素生物化学循环中的作用打下基础;同时还可获得锰去除率高、适应性强、生命旺盛的细菌,以服务于污染环境的生物修复。

1 材料与方法

1.1 样品的采集

北极海洋沉积物样品采自中国第二次北极科学考察,站位:P11:169°59'37"W, 75°00'24"N; 水深 263m; 采样时间, 2003-8-10; 青灰色软泥。S11:159°00'00"W, 72°29'24"N; 水深, 50m; 采样时间, 2003-8-17; 灰色硬泥。各站分别按上下两层取样: 表层(S)0 ~ 10cm, 按 1cm 间隔取样; 下层(B)11 ~ 底层, 按 2cm 间隔取样, 于 4°C 无菌保存。

1.2 锰细菌的筛选与分离

培养基: $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ 0.2 g, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.001 g, 蛋白胨 2 g, 酵母膏 0.5 g, 琼脂 15 g, 过滤陈海水

1 000 ml。

取适量沉积物经无菌海水系列稀释后,将其涂布于筛选培养基平板上,于4℃倒置培养30d,期间不断观察,分上下两层按其菌落形态学特征挑取褐色单菌落,并进一步纯化后获得纯培养。

1.3 锰细菌的分子鉴定与系统发育分析

可培养锰细菌的分子鉴定与系统发育分析中DNA模板的制备、16S rDNA的PCR扩增与序列测定以及系统进化关系的分析均采用文献^[8]方法。

1.4 锰抗性能力的测定

将各待测菌株置含不同Mn²⁺浓度的Zobell 2216E培养基中,接种量为1%,于5℃,150r·min⁻¹培养3d后用分光光度计在550nm处测定其光密度值。

2 结果与分析

2.1 锰细菌的分离与筛选

根据锰细菌筛选平板上菌落出现的时间、大小、形态和颜色等,分别从站位P11和S11的表层和下层沉积物样品中分离得到8、13株和11、8株细菌,分别编号为P11-S-1~P11-S-8、P11-B-1~P11-B-13和S11-S-1~S11-S-11和S11-B-1~S11-B-8。

2.2 锰细菌的分子鉴定

将锰细菌的16S rDNA的阳性克隆子进行测序,获得长度约为1.5kb的16S rDNA序列,并将其提交GenBank数据库,获得序列注册号分别为EU016143~EU016182(表1)。将这些序列与GenBank数据库进行比对分析,与所分离的锰细菌同源性最高的菌株如表1所示。

从表1可见,本研究分离的锰细菌大多与庞大的GenBank数据库中已有菌株的16S rDNA序列均存在着较高的相似性,大多相似性在99%以上,其中P11-B-2、P11-B-8、P11-B-11、P11-B-12分别与*Psychrobacter* sp. BJ-3(DQ298407)、*Rhodococcus* sp. SGB1168-118(AB010908)、*Shewanella* sp. BSw20461(EF639386)、*Pseudoalteromonas* sp. BSw20513(EF551376)的相似性达到100%。S11-S-2与Genbank数据库中已有的16S rDNA序列相似性最低,只有96.88%。其次是P11-B-6,与已有的16S rDNA序列相似性为98.40%,其余的多介于99.26%~100%之间。

2.3 系统发育分析

将从站位P11和S11海洋沉积物中分离到的锰细菌的16S rDNA序列分别用BioEdit软件进行序列比对,采用Mega3.0^[9]软件的邻接法(neighbor-joining method)构建系统发育树,如图1和图2所示。

从站位P11分离到的锰细菌主要包括细菌域(Bacteria)变形杆菌门(Proteobacteria)的γ-变形杆菌纲(γ-Proteobacteria)和放线菌纲(Actinobacteria),二者分别占86%和14%。γ-变形杆菌纲包括嗜冷杆菌属(*Psychrobacter*)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)、海杆菌属(*Marinobacter*)、假交替单胞菌属(*Pseudoalteromonas*)和希瓦氏菌属(*Shewanella*),其中嗜冷杆菌属细菌最多,其比例可达整个γ-变形杆菌纲的67%。放线菌纲包括短杆菌属(*Brevibacterium*)和红球菌属(*Rhodococcus*)。

从站位S11分离到的锰细菌主要包括细菌域变形杆菌门的γ-变形杆菌纲和α-变形杆菌纲(α-Proteobacteria)以及拟杆菌门(Bacteroides)的黄杆菌纲(Flavobacteria),其中γ-变形杆菌纲和α-变形杆菌纲分别占63%和31%。γ-变形杆菌纲包括希瓦氏菌属(*Shewanella*)、海杆菌属(*Marinobacter*)、海单胞菌属(*Marinomonas*)、交替单胞菌属(*Alteromonas*)、科尔韦尔氏菌属(*Colwellia*)和食烷菌属(*Alcanivorax*);α-变形杆菌纲包括*Sulfitobacter*和鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*),其中交替单胞菌属、海单胞菌属和希瓦氏菌属菌株较多。

2.4 锰耐受性分析

将各待测菌株接种入含不同Mn²⁺浓度的Zobell 2216E培养基中,5℃,150r·min⁻¹培养3d后,测得的培养液OD值如表3所示。可以看出,实验菌株均对Mn²⁺有着较强的抗性,其中以*Marinomonas* sp. S11-S-4的耐

表1 北极海洋沉积物锰细菌 16S rDNA 序列同源性比较结果

Table 1 Homology comparison of 16S rDNA sequences of the manganese bacteria isolated from sediment the Arctic ocean

菌株 Strain	注册号 Accession number	相似性最高菌株(%) Closest match (% similarity)	注册号 Accession number	门 Phylum
S11-S-1	EU016172	<i>Sphingomonas</i> sp. GC14	AY690679	α -Proteobacteria
S11-S-2	EU016173	<i>Marinobacter</i> sp. BSs20186(96.88)	DQ514302	γ -Proteobacteria
S11-S-3	EU016174	<i>Marinomonas</i> sp. BSi 20591 (99.80)	EF382678	γ -Proteobacteria
S11-S-4	EU016175	<i>Marinomonas</i> sp. BSi 20591 (99.86)	EF382678	γ -Proteobacteria
S11-S-5	EU016176	<i>Marinomonas</i> sp. BSi 20591 (99.20)	VEF382678	γ -Proteobacteria
S11-S-6	EU016177	uncultured bacterium clone WLB13-118 (99.52)	DQ015843	α -Proteobacteria
S11-S-7	EU016178	Arctic seawater bacterium Bsw20352(99.93)	DQ064636	γ -Proteobacteria
S11-S-8	EU016179	uncultured bacterium clone WLB13-118 (99.45)	DQ015843	α -Proteobacteria
S11-S-9	EU016180	uncultured bacterium clone WLB13-118 (99.45)	DQ015843	α -Proteobacteria
S11-S-10	EU016181	<i>Shewanella</i> sp. BSw20461 (99.73)	EF639386	γ -Proteobacteria
S11-S-11	EU016182	uncultured bacterium clone WLB13-118 (99.45)	DQ015843	α -Proteobacteria
S11-B-1	EU016164	<i>Alcanivorax</i> sp. BSs20190(99.93)	DQ514306	γ -Proteobacteria
S11-B-2	EU016165	<i>Shewanella</i> sp. BSw20461 (99.88)	EF639386	γ -Proteobacteria
S11-B-3	EU016166	<i>Flavobacterium</i> sp. BSs20191 (99.26)	DQ514307	Flavobacteria
S11-B-4	EU016167	<i>Sulfitobacter</i> sp. ARCTIC-P49(99.86)	AY573043	α -Proteobacteria
S11-B-5	EU016168	<i>Colwellia</i> sp. P28(99.80)	EF628008	γ -Proteobacteria
S11-B-6	EU016169	<i>Alteromonas</i> sp. KC98716-13(99.26)	AB072388	γ -Proteobacteria
S11-B-7	EU016170	<i>Alteromonas</i> sp. KC98716-13(99.26)	AB072388	γ -Proteobacteria
S11-B-8	EU016171	<i>Alteromonas</i> sp. KC98716-13(99.53)	AB072388	γ -Proteobacteria
P11-S-1	EU016156	<i>Psychrobacter</i> sp. EP06(99.60)	AM398215	γ -Proteobacteria
P11-S-2	EU016157	<i>Shewanella</i> sp. BSw20461 (99.53)	EF639386	γ -Proteobacteria
P11-S-3	EU016158	<i>Psychrobacter</i> sp. BBTR1010 (99.80)	EF471232	γ -Proteobacteria
P11-S-4	EU016159	<i>Psychrobacter</i> sp. BJ-3(99.3)	DQ298407	γ -Proteobacteria
P11-S-5	EU016160	<i>Psychrobacter</i> sp. BBTR1010 (99.60)	EF471232	γ -Proteobacteria
P11-S-6	EU016161	<i>Rhodococcus</i> sp. SGB1168-118(99.93)	AB010908	Actinobacteria
P11-S-7	EU016162	<i>Psychrobacter</i> sp. EP06(99.66)	AM398215	γ -Proteobacteria
P11-S-8	EU016163	Arctic seawater bacterium BSW20352(99.80)	DQ064612	γ -Proteobacteria
P11-B-1	EU016143	<i>Psychrobacter</i> sp. BJ-3(99.80)	DQ298407	γ -Proteobacteria
P11-B-2	EU016144	<i>Psychrobacter</i> sp. BJ-3(100)	DQ298407	γ -Proteobacteria
P11-B-3	EU016145	<i>Psychrobacter</i> sp. BBTR1010 (99.73)	EF471232	γ -Proteobacteria
P11-B-4	EU016146	uncultured <i>Acinetobacter</i> sp. Clone MRT87 (99.87)	EF371492	γ -Proteobacteria
P11-B-5	EU016147	<i>Brevibacterium casei</i> strain 3Tg (99.33)	AY468375	Actinobacteria
P11-B-6	EU016148	<i>Psychrobacter</i> sp. BBTR1010 (98.40)	EF471232	γ -Proteobacteria
P11-B-7	EU016149	<i>Psychrobacter</i> sp. BBTR1010 (99.67)	EF471232	γ -Proteobacteria
P11-B-8	EU016150	<i>Rhodococcus</i> sp. SGB1168-118 (100)	AB010908	Actinobacteria
P11-B-9	EU016151	<i>Psychrobacter</i> sp. BBTR1010 (99.73)	EF471232	γ -Proteobacteria
P11-B-10	EU016152	<i>Marinobacter</i> sp. BSs20186 (99.93)	DQ514302	γ -Proteobacteria
P11-B-11	EU016153	<i>Shewanella</i> sp. BSw20461 (100)	EF639386	γ -Proteobacteria
P11-B-12	EU016154	<i>Pseudoalteromonas</i> sp. BSw20513 (100)	EF551376	γ -Proteobacteria
P11-B-13	EU016155	<i>Shewanella</i> sp. BSw20461 (99.73)	EF639386	γ -Proteobacteria

受性最强。 Mn^{2+} 浓度为 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,与对照(Mn^{2+} 浓度为 0)相比对菌株的生长影响很少。当 Mn^{2+} 浓度为 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,可较显著抑制菌株的生长,其中对 P11-B-4 的影响最大;当 Mn^{2+} 浓度为 $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,除 S11-S-4 和 P11-S-1 的生长明显,其余只显微弱生长。

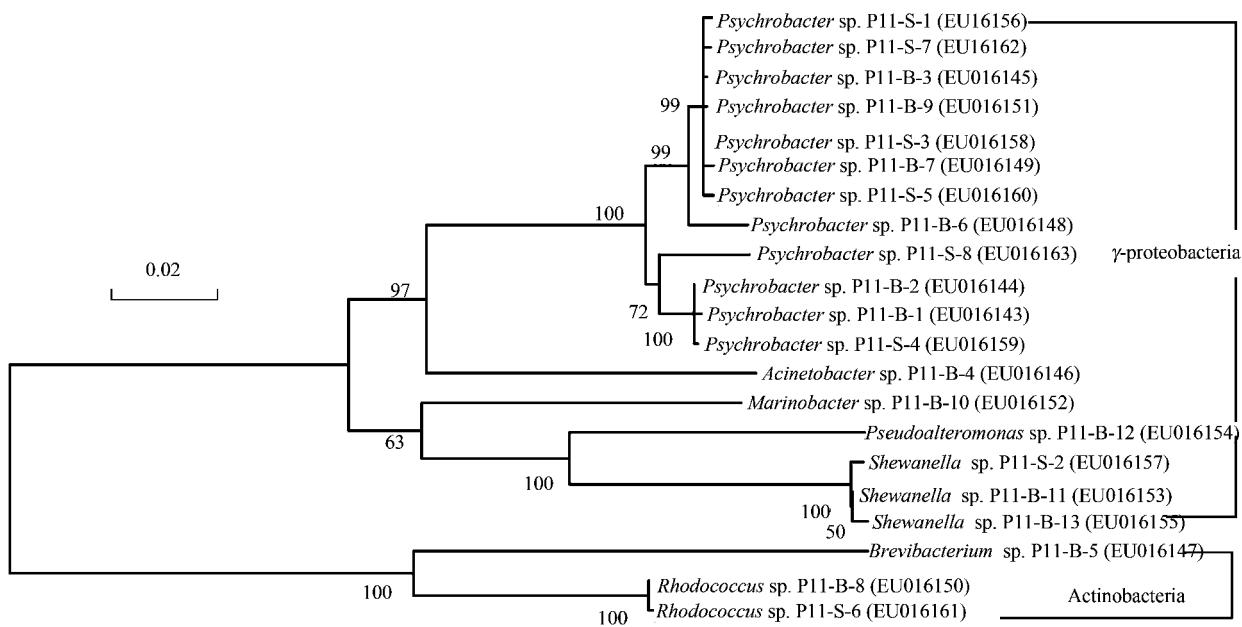


图1 站位P11可培养锰细菌的系统发育分析

Fig 1 Phylogenetic analysis of cultivable manganese bacteria isolated from station P11

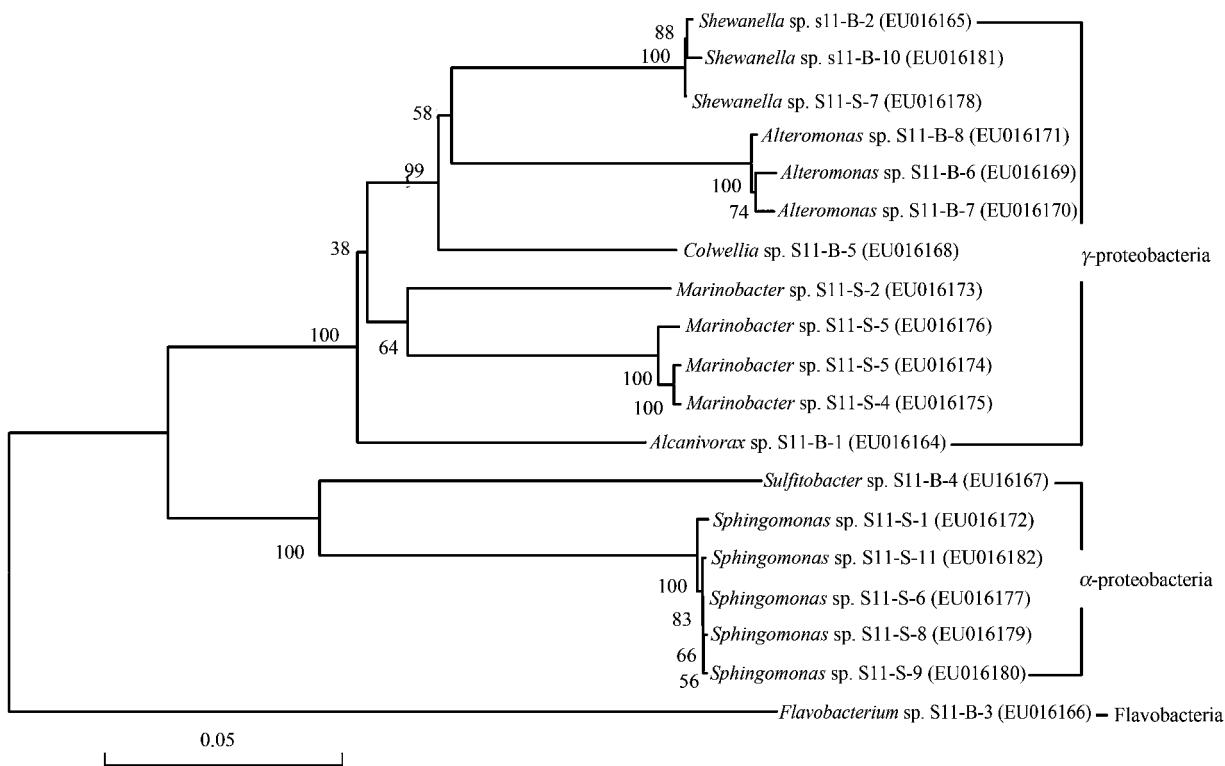


图2 站位S11可培养锰细菌的系统发育分析

Fig 2 Phylogenetic analysis of cultivable manganese bacteria isolated from station S11

3 讨论

地质微生物学是在20世纪末发展起来的新的地学研究分支,主要研究地质环境中的微生物活动过程及其形成的各种地质地球化学记录。微生物与矿物的相互作用、极端环境下的微生物和生态以及分子地质微生

物学是当前地质微生物学研究的重要方向^[10]。Mn 的生物地球化学循环被认为是重要的环境过程之一,这不仅是因为 Mn 是所有生物的必需元素之一,而且 Mn²⁺ 的氧化与还原与其它必需元素的循环密切相关^[11,12]。

表 3 12 株测试锰细菌的 Mn²⁺ 耐受性*Table 3 Tolerant ability of Mn²⁺ of 12 species of manganese bacteria tested

菌株 Strain	Mn ²⁺ 浓度 Concentration of Mn ²⁺ (mmol·L ⁻¹)			
	0	10	50	100
<i>Alteromonas</i> sp. S11-B-8	5.658 ± 0.965	5.493 ± 0.965	1.116 ± 0.724	0.081 ± 0.017
<i>Cowellia</i> sp. S11-B-5	4.890 ± 1.520	6.061 ± 0.069	1.317 ± 0.581	0.174 ± 0.018
<i>Shewanella</i> sp. P11-B-13	6.425 ± 0.629	4.943 ± 1.601	1.412 ± 0.260	0.097 ± 0.016
<i>Shewanella</i> sp. S11-B-2	5.750 ± 0.181	5.770 ± 0.297	1.731 ± 0.131	0.242 ± 0.072
<i>Silfitobacter</i> sp. S11-B-4	5.465 ± 0.491	4.105 ± 0.308	1.492 ± 0.292	0.244 ± 0.068
<i>Pseudoalteromonas</i> sp. P11-B-12	4.580 ± 0.481	5.593 ± 0.441	1.473 ± 0.022	0.121 ± 0.024
<i>Rhodococcus</i> sp. P11-S-6	6.250 ± 0.849	5.925 ± 0.728	1.173 ± 0.968	0.159 ± 0.097
<i>Psychrobacter</i> sp. P11-S-1	4.868 ± 0.067	5.703 ± 1.128	1.381 ± 0.343	0.330 ± 0.025
<i>Sphingomonas</i> sp. S11-S-1	6.260 ± 0.276	5.520 ± 0.148	1.078 ± 0.981	0.191 ± 0.006
<i>Marinobacter</i> sp. P11-B-10	5.893 ± 0.647	5.368 ± 1.241	1.317 ± 0.116	0.155 ± 0.090
<i>Marinomonas</i> sp. S11-S-4	5.840 ± 0.573	5.775 ± 0.523	2.188 ± 0.024	0.759 ± 0.014
<i>Acinetobacter</i> sp. P11-B-4	5.450 ± 1.400	5.190 ± 1.167	0.904 ± 0.023	0.161 ± 0.124

* n = 3

Mn 氧化细菌具有重要的环境地球化学和生态学意义。郑文元等^[12]认为,铁和锰不但是构成微生物胞内酶及其辅因子的重要元素,而且由于其特殊的变价特点在胞外支配微生物呼吸和代谢。铁在二价和三价之间、锰在二价和四价之间的变化导致铁锰氧化物溶解和再成矿,并与自然界碳、氮、磷、硫和金属循环相耦合。陈建林等^[13]对叠层石及其建造者(中华微放线菌与太平洋螺球孢菌)在结核中显示的规律性特征研究表明,叠层石纹层显示的韵律性特征,是任何胶体化学作用与沉积作用难以形成的,只有微生物群体的世代繁衍,才能构筑成几乎固定不变的叠层石形态。Francis 等^[3]认为可溶性的 Mn²⁺ 氧化成不溶性 Mn³⁺/Mn⁴⁺ 氧化物是一个非常重要的环境过程,由于其结构和氧化还原特征,生物源的 Mn 氧化物能氧化许多有机和无机化合物,如腐殖质、Cr²⁺、Fe²⁺ 等,对许多金属离子如 Cu、Co、Cd、Zn、Ni、Pb 等具有较强的吸附能力,而且可以作为厌氧呼吸的电子载体^[3,14]。陈祥军等^[15]的研究则认为,细菌对锰具有明显的氧化作用,结合矿床的其他方面特征,认为自然界中微生物在锰的氧化富集过程中起着积极的作用,作用表现在两个方面:一方面微生物可以直接对锰进行氧化,使原生碳酸锰矿转变为氧化锰矿;另一方面微生物又可以改变环境的 pH 值,促进锰的化学氧化。

已有的研究表明,各种各样的细菌、真菌和藻类均能催化 Mn²⁺ 的氧化。本研究进一步表明,锰细菌不仅是广泛存在的,而且不同地点锰细菌群落的组成也并不相同。本研究的两个站点的锰细菌中 G⁻ 菌比例可占 90% 以上,以变形杆菌门的 γ-变形杆菌纲最多。二者的锰细菌微生物区系也存在着较大的差异,如站位 P11 分离到的锰细菌主要包括 γ-变形杆菌纲和放线菌纲,二者分别占 86% 和 14%;站位 S11 分离到的可培养锰细菌属于 γ-变形杆菌纲和 α-变形杆菌纲以及黄杆菌纲,其中 γ-变形杆菌纲和 α-变形杆菌纲分别占 63% 和 31%。两个站位的 γ-变形杆菌纲的组成也不一样,站位 P11 的 γ-变形杆菌纲包括嗜冷杆菌属、不动杆菌属海杆菌属、假交替单胞菌属和希瓦氏菌属,其中嗜冷杆菌属细菌最多,其比例可达整个 γ-变形杆菌纲的 67%。而站位 S11 的 γ-变形杆菌纲包括希瓦氏菌属、海杆菌属、海单胞菌属、交替单胞菌属、科尔韦尔氏菌属和食烷菌属。而田美娟等^[7]对 2003 年大洋一号采集的太平洋 4 个站位的沉积物样品的 50 株锰细菌的分子鉴定和系统发育分析表明,50 株菌中 G⁺ 菌占 90%;芽孢杆菌(*Bacillus*)最多(40 株),可占 80%,其余为少量的短杆菌(3 株)、副球菌(4 株)等,而且芽孢杆菌在 4 个站点细菌中分别占 70%、93.34%、68.42%、100%,都占了最大比例。史君贤等^[6]对东太平洋铁锰结核区微生物丰度的研究表明,锰细菌可达 3929 CFU·g⁻¹ 沉积物。

Johnston 等^[5]对北极贫营养湖泊(Toolik Lake)锰细菌介导的锰氧化速率的研究表明,与其它水体相比,尽管其锰氧化速率较低,但仍能在3个月内全部氧化湖中的Mn²⁺,湖水中锰细菌浓度最高可达 $9 \times 10^4 \text{ CFU} \cdot \text{ml}^{-1}$ 。Mn²⁺的氧化大多是微生物介导的,因为叠氮化钠可抑制其氧化,而叠氮化钠已经被证明是研究海水中Mn²⁺氧化合适的微生物杀灭剂。以上研究结果均说明锰细菌存在的广泛性和多样性,这些可能都受制于锰细菌生存的环境条件。

本研究表明,锰细菌筛选培养基分离的锰细菌均对Mn²⁺有着较强的抗性,这与已有的研究相一致。田美娟等^[7]的研究表明,锰细菌对Mn²⁺有着较强抗性,而锰抗性菌株对锰具有高去除率的能力,因此可将之应用于环境污染治理领域,如城市饮用水净化、污水处理等,从微生物学角度讲,铁锰氧化细菌的应用潜力是巨大的^[14,16]。

References:

- [1] Shi J X, Chen Z Y, Hu X G, et al. A study on bacterial abundance and its mineralization in ferromanganese nodule area of the East Pacific Ocean. Donghai Marine Science, 1999, 17(3):46~64.
- [2] Bratina B J, Stevenson B S, Green W J, et al. Manganese reduction by microbes from oxic regions of the Lake Vanda (Antarctica) water column. Appl. Environment. Microbiol., 1998, 64(10):3791~3797.
- [3] Francis C A, Co E M, Tebo B M. Enzymatic manganese(II) oxidation by a marine α -proteobacterium. Appl. Environment. Microbiol., 2001, 67(9):4024~4029.
- [4] Tebo B M, Ghiorse W C, van Waasbergen L G, et al. Bacterially mediated mineral formation: insights into manganese(II) oxidation from molecular genetic and biochemical studies. Rev Mineral, 1997, 35:225~266.
- [5] Johnston C G, Kipphut G W. Microbially mediated Mn(II) oxidation in an oligotrophic Arctic Lake. Appl. Environment. Microbiol., 1988, 54(6):1440~1445.
- [6] Shi J X, Chen Z Y, Yang J F, et al. A study on bacterial abundance and its mineralization in iron-manganese nodule area of the East Pacific Ocean. Oceanologia et Limnologia Sinica, 1998, 29(5):458~466.
- [7] Tian M J, Shao Z Z. Isolation and characterization of manganese resistant bacteria from deep-sea sediments. Journal of Xiamen University(natural science), 2006, 45(sup):272~276.
- [8] Lin X Z, Chen K S, He P Q, et al. The effects of *Suaeda salsa* L. planting on the soil microflora in coastal saline soil. Acta Ecologica Sinica, 2006, 26(3):801~807.
- [9] Kumar S, Tamura K and Nei M. MEGA3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment, Briefings in Bioinformatics, 2004, 5:150~163.
- [10] Chen J, Yao S P. Geomicrobiology and its progress. Geological Journal of China University, 2005, 11(2):54~166.
- [11] Waasbergen L G, Hoch J A, Tebo B M. Genetic analysis of the marine manganese-oxidizing *Bacillus* sp. Strain SG-1: protoplast transformation, Tn917 mutagenesis, and identification of chromosomal loci involved in manganese oxidation. Journal of Bacteriology, 1993, 175(23):7594~7603.
- [12] Zheng W Y, Li H R. Bio-chemistry process of iron and manganese recycling in water-mineral-microbe System. Nonferrous Metals, 2005, 57(3):67~69.
- [13] Chen J L, Zhang F S, Lin C Y, et al. Biogenesis studies of Manganese nodules from the Chinese pioneer area in the Pacific Ocean. Acta Geologica Sinica, 2001, 75(2):228~233.
- [14] Miyata N, Tani Y, Sakata M et al. Microbial manganese oxide formation and interaction with toxic metal ions. J Biosci Bioeng, 2007, 104(1):1~8.
- [15] Chen X J, Zhou M C, Qu L Q. The role of microorganism in the oxidization enrichment process of manganese. Geology and Prospecting, 2003, 39(1):23~26.
- [16] Qi W, Wang X D, Jiang W J, et al. The application of ferromanganese-oxidizing bacteria in environmental pollution control. Techniques and Equipments for Environmental Pollution Control, 2004, 5(6):76~79.

参考文献:

- [1] 史君贤,陈忠元,胡锡钢,等.东太平洋铁锰结核区微生物的风度及成矿作用研究.东海海洋,1999,17(3):46~64.
- [6] 史君贤,陈忠元,杨季芳,等.东太平洋铁锰结核区微生物的风度及成矿作用研究.海洋与湖沼,1998,29(5):458~466.
- [7] 田美娟,邵宗泽.深海抗锰细菌的分离鉴定.厦门大学学报(自然科学版),2006,45(sup):272~276.
- [8] 林学政,陈靠山,何培青,等.种植盐地碱蓬改良滨海盐渍土对土壤微生物区系的影响.生态学报,2006,26(3):801~807.
- [10] 陈骏,姚素平.地质微生物学及其发展方向.高校地质学报,2005,11(2):54~166.
- [12] 郑文元,李浩然.水-矿-微生物系统铁锰循环的生化过程.有色金属,2005,57(3):67~69.
- [13] 陈建林,张富生,林承毅,等.太平洋中国开辟区锰结核生物成因研究.地质学报,2001,75(2):228~233.
- [15] 陈祥军,周眉成,曲力群.微生物在锰的氧化富集过程中的作用——以广西湖润锰矿为例.地质与勘探,2003,39(1):23~26.
- [16] 齐巍,王向东,蒋文举,等.铁、锰氧化细菌在环境污染治理中的应用.环境污染治理技术与设备,2004,5(6):76~79.