#### DOI: 10.5846/stxb201412012380

徐丛,张文燕,陈一然,张蕊,董逸,杜海舰,潘红苗,肖天.青岛太平湾潮间带趋磁细菌多样性.生态学报,2016,36(14): - . Xu C,Zhang W Y,Chen Y Y,Zhang R,Dong Y,Du H J,Pan H M,Xiao T.Diversity of magnetotactic bacteria in the intertidal zone of Taiping Bay, Qingdao.Acta Ecologica Sinica,2016,36(14): - .

# 青岛太平湾潮间带趋磁细菌多样性

徐 丛<sup>1,2</sup>,张文燕<sup>1</sup>,陈一然<sup>1</sup>,张 蕊<sup>1</sup>,董 逸<sup>1</sup>,杜海舰<sup>1,2</sup>,潘红苗<sup>1</sup>,肖 天<sup>1,\*</sup> 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,青岛 266071 2中国科学院大学,北京 100049

**摘要:**在青岛太平湾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 350 ind./cm<sup>3</sup>。透射电镜观察发现该区域趋磁细菌均为趋磁球菌。磁小体个体形状单一,皆是立方体状;磁小体排列方式多样,以链状排列为主,包括单链、双链与多链,也有少数成簇排列。EDS 结果表明,磁小体成分为四氧化三铁。据估算,趋磁细菌的铁元素含量(干重)范围在 0.40%—6.91%之间,平均为 2.19%。通过 16S rRNA 基因文库的构建与测序得到了 47 个趋磁细菌序列,分属 13 个 OTU。系统发育分析结果表明,它们都属于 α-变形菌纲,其中 9 个 OTU 与已知最相似序列的相似性低于 97%,有 5 个 OTU 与已知最相似序列的相似性低于 93%,可能代表了趋磁细菌的 9 个新种、5 个新属,说明该区域潜在的微生物新种质资源十分可观。

关键词:潮间带;趋磁细菌;多样性;磁小体;16S rRNA 基因

**Diversity of magnetotactic bacteria in the intertidal zone of Taiping Bay, Qingdao** XU Cong<sup>1,2</sup>, ZHANG Wenyan<sup>1</sup>, CHEN Yiyan<sup>1</sup>, ZHANG Rui<sup>1</sup>, DONG Yi<sup>1</sup>, DU Haijian<sup>1,2</sup>, PAN Hongmiao<sup>1</sup>, XIAO Tian<sup>1,\*</sup>

Key Laboratory of Marine Ecology and Environmental Sciences, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China
University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

**Abstract:** Magnetotactic bacteria (MTB) are gram-negative motile prokaryotes that produce magnetosomes and can orient and migrate along the geomagnetic lines of force. They are ubiquitous in sediments and stratified water columns, distributed predominantly in the oxic-anoxic transition zone (OATZ). MTB comprise several morphological types, including cocci, rods, vibrios, spirilla, and multicellular magnetotactic prokaryotes. Usually, cocci are the dominant morphology. Variable phylogenetic relatedness of MTB has been confirmed on the basis of 16S rRNA genes. MTB can biomineralize iron oxide and/or iron sulfide magnetosomes. In most MTB, magnetosomes are organized in chain (s). In this study, we found a certain amount of MTB in the intertidal zone of Taiping Bay, Qingdao City, where the maximum abundance reaches up to 350 ind./cm<sup>3</sup>. Transmission electron microscopy revealed that all the MTB were magnetotactic cocci, with a size of 2.23 ± 0.69  $\mu$ m × (1.84±0.47)  $\mu$ m and the width/length ratio of 0.87±0.10 (n = 21). Fifty-four percent of the MTB contained two chains of magnetosomes, eighteen percent with one chain, fourteen percent with more than two chains and fourteen percent with cluster. All of these magnetosomes were prismatic mineral crystals. There were 7—43 (mean = 18, n = 21) magnetosomes in a cell and the volume of magnetosomes varied between 2.71 × 10<sup>5</sup> nm<sup>3</sup> and 1.63 × 10<sup>6</sup> nm<sup>3</sup>. Assuming that all the magnetosomes were magnetite, the percentage of Fe in MTB was 0.40%—6.91% (average 2.19%) and per square

收稿日期:2014-12-01; 网络出版日期:2015-00-00

基金项目:国家自然科学基金(41276170);深海(微)生物资源勘探与资源潜力评价(国际海域资源调查与开发"十二五")(任务书编号:DY125-15-R-03);国家自然科学基金(41206150,41330962)

<sup>\*</sup> 通讯作者 Corresponding author.E-mail: txiao@qdio.ac.cn

kilometer of intertidal zone produced 1.92 kg magnetite every year. This suggests that MTB may play an important role in the iron biogeochemical cycle in this area. Additionally, according to the statistics for each magnetotactic bacterium, we observed that the mass of magnetosome increased with the increasing mass of MTB (r = 0.637, P = 0.002 < 0.05). Phylogenetic analysis based on 16S rRNA gene sequences revealed that 47 sequences of MTB belonged to 13 OTUs (XCQD1-18, 1-2, 1-19, 51, 81, 6, 2-2, 4-20, 34, 2-23, 53, 130, 1-21) and affiliated to Alphaproteobacteria. OTU XCQD1-18 containing 23 sequences had the highest dominance index (48.93%). In addition, 6, 5, 2, 2, 2 sequences belonged to OTU XCQD2-2, XCQD1-21, XCQD1-2, XCQD2-23, XCQD130, respectively. The other OTUs had only one of MTB in Taiping Bay was 2.64nit, and Species Evenness J' was 0.71. Nine sequence. Shannon's diversity index H OTUs (XCQD 1-18, 1-2, 1-19, 81, 6, 4-20, 34, 2-23, 53) shared less than 97% 16S rRNA gene sequence similarity with the nearest known sequences, in which, five OTUs (XCQD 81, 4-20, 4, 2-23, 53) shared lower than 93%. It suggested that they represented 9 new species and 5 novel genera. Our results indicate that there were substantial potential microorganism resources in Taiping Bay. Compared to the MTB community in Huiquan Bay, a bay adjacent to Taiping Bay, There were two MTB OTUs discovered both in Taiping Bay and Huiquan Bay. Two MTB OTUs were shared. Jaccard similarity coefficient was 0.1053, indicating that although the two bays were close to each other, the MTB communities showed great differences. Comparison of the features of MTB in Taiping Bay with two French Mediterranean coasts, Six-Fours-les-Plages and Gulf of Fos, revealed that environmental factors may have a great influence on the diversity of MTB. It is assumed that community succession, seasonal variation, and environmental distinction may contribute to the low similarity between the MTB communities and features of different intertidal areas. Our results imply that further investigation on MTB in terms of their diversity is required.

Key Words: intertidal; magnetotactic bacteria; diversity; magnetosome; 16S rRNA gene

趋磁细菌(magnetotactic bacteria)是一类能够沿磁力线运动的特殊细菌<sup>[11</sup>,其形态多样,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<sup>[2]</sup>。趋磁细菌的趋磁性,源于体内含有的起导向作用的磁小体 (magnetosome)与提供运动动力的鞭毛<sup>[3]</sup>。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<sup>[45]</sup>。磁小体的大小、形状以及成分都具有种属特异性<sup>[46]</sup>;磁小体个体大小为 35 nm—120 nm,处于稳定的单磁畴范围内<sup>[5-7]</sup>;形状有立方八面体、六面体棱柱、子弹头形、泪滴状、薄片状、球状以及不规 则状等形态<sup>[78]</sup>;成分有四氧化三铁或/与四硫化三铁<sup>[2]</sup>。自 1975 年美国学者 Blakemore 在 Science 上报道了 趋磁细菌之后<sup>[9]</sup>,科学家陆续从海洋、湖泊以及土壤等不同水陆生境中发现了趋磁细菌<sup>[2,10]</sup>。这些趋磁细菌 属于变形菌门下的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<sup>[2]</sup>;在 GeneBank 中收录的趋磁细菌 16S rRNA 基因序列约有 1200条(截至 2014 年 6 月)。在中国,趋磁细菌在多种 生境被发现,这些生境主要分布在四个地区:北京的湖泊水库(北海、密云水库等)、西安湖泊河流(曲江池、护 城河等)、山东半岛沿岸的海湾潟湖(胶州湾、汇泉湾、月湖等)以及海南岛八门湾<sup>[10-15]</sup>。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<sup>[11-15]</sup>。本文收集了青岛太平湾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 基因系统发育做了研究,并 对其与不同地域趋磁细菌群落构成作了比较。

# 1 材料与方法

### 1.1 样品采集

采样点位于青岛黄海沿岸(36°03′03"N—120°21′09"E)太平湾潮间带的中潮带,每天都有时间裸露出水或浸没入水下。2014年3月份在采样点3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),带回实验室进行

后续实验。

1.2 趋磁细菌的收集

将磁铁粘在采样瓶的外壁,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 μl,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<sup>[16]</sup>:将 5 ml 移液枪头的顶端插入无菌离心管中,离心管与移液枪头的 顶端都注满 0.22 μm 过滤的无菌原位海水,将二次磁收集所得的菌液由移液枪头的粗端注入移液枪头的无菌 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的菌斑,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 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。将收集的菌液,滴在铜网上(北京中镜科仪技术有限公司),用透射电镜(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、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。

### 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 水洗涤三次,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 对 16S rRNA 基因进行扩增

PCR 参照 Bosshard 等的方法进行<sup>[17]</sup>。引物:27f(5'-AGA GTY TGA TCC TGG CTC AG-3')与 1492r(5'-GGT TAC CTI GTI AGG ACT T-3')。PCR 的反应条件是:94 ℃变性 10 min 后,94 ℃ 1 min,50 ℃ 45 s,72 ℃ 1 min,循环 25 次,72 ℃延伸 10 min。PCR 扩增的产物利用浓度为 1%(w/v)的琼脂糖凝胶进行电泳,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 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T 载体的通用引物 M13-47 与 RV-M 进行菌落 PCR。扩增产物通过浓度为 1%(w/v)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://www.ncbi.hlm.nih.gov),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,经计算沉积物中趋磁细菌丰度最高可达350 ind./cm3。

2.2 趋磁细菌的形态

通过透射电镜观察,发现太平湾的趋磁细菌为球形趋磁细菌与卵圆形趋磁细菌(图1),菌体大小为 2.23 μm±0.69 μm ×1.84 μm±0.47 μm(n=21),宽长比为 0.87±0.10(n=21)。

2.3 磁小体的多样性与成分

通过透射电镜镜观察,可以发现太平湾趋磁细菌的磁小体链排列方式多样,磁小体个数、大小差别很大。



图1 透射电子显微镜下趋磁细菌的形态

Fig.1 Morphology of magnetotactic bacteria based on transmission electron microscopy

A:聚集在一起的多个趋磁球菌 Magnetotactic bacteria togethered in a cluster; B,D:具有四条磁小体链的趋磁球菌 Magnetotactic bacteria with four chains of magnetosomes; C:具有一条磁小体链的趋磁球菌 Magnetotactic bacteria with only one chain of magnetosomes; E,F:具有两条磁小体链的趋磁球菌 Magnetotactic bacteria with two chain of magnetosomes

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。54%的趋磁细菌含有两条磁小体链,平行或成角度排列;仅具有一条磁小体链的趋磁细菌占 18%,具有多条磁小体链与磁小体成簇排列的趋磁细菌各占 14%。我们发现,具有多条磁小体链的趋磁细菌,其磁小体链大都是两两平行排列。透射电镜观察结果显示,每个趋磁细菌所含磁小体个数不等,数量介于 7—43 个。磁小体平均体积介于 2.71×10<sup>5</sup> nm<sup>3</sup>—1.63×10<sup>6</sup> nm<sup>3</sup> (假设磁小体为长方体)。EDS 分析结果显示,磁小体化学成分为四氧化三铁,假设趋磁细菌含水量为 85%,则本实验中趋磁细菌的含铁元素量(干重)范围在 0.40%—6.91%之间,平均为 2.19%(总铁元素质量/总细菌 干重)。

# 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

将扩增片段以 pMD18-T 作为载体连接到 *E.coli* TOP10 感受态细胞中,用T 载体通用引物进行 PCR 扩增, 得到 135 个阳性克隆。对这 135 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 47 条,分 属 13 个 OTU(相似性<97%),分别为:XCQD1-18、XCQD1-2、XCQD1-19、XCQD51、XCQD81、XCQD6、XCQD2-2、XCQD4-20、XCQD34、XCQD2-23、XCQD53、XCQD130、XCQD1-21。根据遗传多样性分析,有 23 条序列所代 表的细菌属于 OTU(XCQD1-18),优势度达 48.93%。属于 OTU(XCQD2-2)、OTU(XCQD1-21)、OTU(XCQD1-2)、OTU(XCQD2-23)、OTU(XCQD130)的序列分别有 6 条、5 条、2 条、2 条、2 条、1 条各 OTU 都只有一条。香 农威纳群落多样性指数为 2.64 nit,均匀性指数为 0.71。

#### 2.4.2 趋磁细菌 16S rRNA 基因的系统发育分析

根据所得序列在 NCBI 数据库中 Blast 的比对结果,结合在 BioEdit 软件中进行比对得到的相似性,将得到的 13 个 OTU 序列与其相似性最高的序列以及已获得纯培养的趋磁细菌序列进行系统发育分析。



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 Magneosomes organizing in different modes based on transmission electron microscopy

A:单条磁小体链 One chain of magnetosomes; B:平行的两条磁小体链 Two parallel chains of magnetosomes; C:成簇的磁小体 Magnetosomes in a cluster; D:成角度的两条磁小体链 Two unparallel chains of magnetosomes; E:四条磁小体链 Four chains of magnetosomes

结果显示(图 3),本实验所发现的趋磁细菌 OTU 分别与 Uncultured Magnetococcus sp. clone MRT130 (EF371494)、Uncultured Magnetococcus sp. clone MRT97(EF371493)、Uncultured Magnetococcus sp. clone M- 52(EF371493)、Uncultured Magnetococcus sp. clone M- 52(EF371485), Uncultured Magnetococcus sp. clone XSE-42 (EF379385)、Uncultured Magnetococcus sp. clone 37 (EU780681)、ncultured Magnetococcus sp. clone M- 40 (EF371486),最为相似。相似情况见表 1。

	Table 1 The most similar sequences in GenBank to OTUs this study discovered	
OTU	最相似序列 The most similar sequences	相似性 Similarity
XCQD51	Uncultured Magnetococcus sp. clone MRT130(EF371494)	97.95%
XCQD1-18	Uncultured Magnetococcus sp. clone MRT130(EF371494)	96.99%
XCQD1-19	Uncultured Magnetococcus sp. clone MRT130(EF371494)	96.63%
XCQD6	Uncultured Magnetococcus sp. clone MRT130(EF371494)	95.78%
XCQD1-2	Uncultured Magnetococcus sp. clone MRT130(EF371494)	93.88%
XCQD81	Uncultured Magnetococcus sp. clone MRT130(EF371494)	92.98%
XCQD2-23	Uncultured Magnetococcus sp. clone MRT130(EF371494)	91.75%
XCQD2-2	Uncultured Magnetococcus sp. clone MRT97(EF371493)	98.22%
XCQD1-21	Uncultured Magnetococcus sp.clone M-67(EF371491)	97.75%
XCQD130	Uncultured Magnetococcus sp.clone M-52(EF371485)	97.74%
XCQD 4-20	Uncultured Magnetococcus sp.clone XSE-42(EF379385)	92.56%
XCQD34	Uncultured Magnetococcus sp.clone 37(EU780681)	92.11%
XCQD53	Uncultured Magnetococcus sp.clone M-40(EF371486)	91.56%

表 1 GeneBank 中与本实验所发现的 OTU 最相似的序列



图 3 趋磁细菌 16S rRNA 基因序列的系统发生树(加粗的是本实验所获得的序列)

Fig.3 Phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequence analysis (The sequences determined in this study is shown in bold)

在系统进化树上,13 个 OTU 皆属于 α-变形菌纲。根据 Stackebrandt 等<sup>[18]</sup>认为 16S rRNA 基因相似性大 于 97%属于一个种,小于 93%—95%属于不同的属。对 13 个 OTU 相似性分析表明,其中有 9 个 OTU(XCQD 1-18、XCQD 1-2、XCQD 1-19、XCQD 81、XCQD 6、XCQD 4-20、XCQD 34、XCQD 2-23、XCQD 53)与已知最接近 的序列的相似性小于 97%,可能是新的种;其中,又有 5 个 OTU(XCQD 81、XCQD 4-20、XCQD 34、XCQD 2-23、 XCQD 53)与已知最接近序列的相似性小于 93%,可能是新的属。

# 3 讨论

青岛太平湾为南向半封闭海湾,海湾内无明显排污口,水质良好,底质为泥沙与砾石混合。该环境沉积物中趋磁细菌的丰度可达 350 ind./cm<sup>3</sup>,较已报道的一般环境中趋磁细菌的数量(10<sup>3</sup>—10<sup>4</sup> ind./ cm<sup>3</sup>)低<sup>[19]</sup>,远低于 Files 等<sup>[20]</sup>报道的淡水环境沉积物中的趋磁细菌丰度(10<sup>4</sup> ind./ cm<sup>3</sup>)。与紧邻的汇泉湾趋磁细菌的丰度(10<sup>5</sup> ind./ cm<sup>3</sup>)<sup>[21]</sup>相比,仅相当于其 1/300。

在多次富集的样品中,始终只能观察到一种形态类型的趋磁细菌——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是占优势的<sup>[22-27]</sup>。本调查发现趋磁球菌占绝对优势(>99%)。 透射电镜下可以观察到磁小体的排列方式与数目各异。铁是地壳中含量第四大的元素,对几乎所有已知生物 都是必需的。同时,铁循环也是生物地化循环的关键过程。趋磁细菌群落在铁循环与铁元素沉积过程中扮演 重要角色<sup>[28-29]</sup>:趋磁细菌主动地吸收自然环境中的铁离子与亚铁离子,积累在铁硫化物或铁氧化物质的磁小 体中<sup>[30]</sup>;当趋磁细菌死亡,磁小体中的铁元素一部分以离子的形式回到环境中,一部分沉淀到沉积物中 去<sup>[31]</sup>;还有的铁元素被捕食者摄取,从而进入食物链<sup>[32]</sup>。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<sup>[2]</sup>。一般地,铁元素占趋磁细菌干重的 2%—3%,这个比例比其他生物高数个数量级<sup>[33]</sup>。林巍 等<sup>[31]</sup>假设,50%湖泊、池塘、水库环境分布有趋磁细菌,且位于沉积物的最上层 10 cm,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<sup>-4</sup>µm<sup>3</sup>,趋磁细菌的代时为 12 h,则每平方千米湖泊趋磁细菌磁铁矿年产量为 0.95 kg。本实验每立方厘米的沉积物含有 350 个趋磁细菌, 每个趋磁细菌平均有磁小体 18 个,每个磁小体平均体积为 8.02×10<sup>-4</sup>µm<sup>3</sup>,则每平方千米潮间带趋磁细菌可 产生磁铁矿 1.92 kg,在太平湾潮间带的铁元素循环可能起到重要作用。趋磁细菌丰度与每个细菌的磁小体 个数都不及淡水,但由于磁小体平均体积较大,因此海洋潮间带单位面积年平均磁铁矿产量是淡水的估算值 的 2.02 倍。本实验中,将磁小体质量以四氧化三铁计,以细胞含水 85%计,估算出太平湾潮间带趋磁细菌平 均含铁元素质量比为 2.19%,与文献报道一致。此外,磁小体质量与趋磁细菌的菌体质量成明显的相关性 (r=0.637,P=0.002<0.05)(图4)。推测在自然状态趋磁细菌菌体越大,就需要越多的磁性物质来帮助其感 知地磁场以调节其运动。

与邢素娥等<sup>[21]</sup>对青岛汇泉湾趋磁细菌的调查结果 比较(图5、图6),汇泉湾趋磁细菌分为8个OTU(6个 OTU在2006年属于新发现),其中有两个与太平湾趋 磁细菌相同。两地趋磁细菌群落的Jaccard 群落相似度 指数为0.1053。Jaccard 群落相似度指数取值范围为 0—1,越接近于0,则群落相似性越低。太平湾与汇泉 湾群落相似性指数仅为0.1053,说明两海湾虽然紧邻, 且采样地点同属潮间带,但是趋磁细菌群落的种类构成 差别显著。这可能与这两个海湾的环境紧密相关。首 先,汇泉湾采样地处在青岛市第一海水浴场,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。第二,



图 4 磁小体质量与细菌质量的关系(r=0.637,P=0.002<0.05) Fig. 4 The relationship between the mass of bacteria and magnetosome(r=0.637,P=0.002<0.05)

汇泉湾有一城市雨水下水道排放口,对汇泉湾潮间带存在潜在的淡水输入与有机物补充。第三,汇泉湾海岸 线平缓,而太平湾多有礁石与海岬分布,两地水文地质条件相异<sup>[34-36]</sup>。第四,对汇泉湾潮间带趋磁细菌的采 集是在 2006 年秋季的 11 月,而对太平湾趋磁细菌样品的采集是在 2014 年春季的 3 月,群落演替与季节差异 也可能是造成两地趋磁细菌群落组成差异巨大的重要原因。

与大西洋法国地中海沿岸两个潮间带的趋磁细菌群落的研究结果比较<sup>[37-38]</sup>。在 Six-Fours-les-Plages 潮间带(43°06′03″N; 5°49′20″E,受到联合国环境规划署的特殊保护的一个海滩,没有污染,环境良好)发现了球形、弧状、杆状、螺旋形的趋磁细菌,磁小体的形状有立方体形、子弹头形、棱柱形、八面体形,发现了12个趋磁细菌 OTU,其中11个是新 OTU(相似性<97%)。太平湾趋磁细菌菌体的形态与磁小体的形状较为单一,发现13个趋磁细菌的 OTU,其中9个是新 OTU(相似性<97%)。相比较,Six-Fours-les-Plages 的趋磁细菌多样性更丰富。另一个法国地中海 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个趋磁细菌新 OTU(相似性<97%),说明环境的污染可能会影响趋磁细菌的多样性。

以上所述,不同环境和时间季节差异可能是造成不同潮间带地区趋磁细菌种类组成差异的原因,这表明 趋磁细菌的多样性非常丰富,有必要对其进行更多的调查研究和资源收集,丰富海洋微生物资源库。

**致谢**:感谢中国科学院海洋研究所夏青同学在统计方面提供的帮助;感谢中国海洋大学姜明老师与山东大学 马希骋老师在电子显微镜的使用上提供的帮助;感谢徐剑虹老师在采样与校对方面提供的帮助。





Fig.5 Phylogenetic tree of magnetotactic bacteria in Taiping Bay and Huiquan Bay based on 16S rRNA gene sequence analysis (The sequences determined in this study is shown in **bold**)



图 6 太平湾趋磁细菌与汇泉湾趋磁细菌群落组成相似性比较 Fig.6 Comparison of magnetotactic bacteria communites in Taiping Bay and Huiquan Bay

#### 参考文献(References):

- [1] Frankel R B. The discovery of magnetotactic/magnetosensitive bacteria. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 2009, 27(1): 1-2.
- [2] Bazylinski D A, Lefèvre C T, Schüler D. Magnetotactic bacteria // Rosenberg E, DeLong E F, Lory S, Stackebrandt E, Thompson F, eds. The Prokaryotes. Heidelberg: Springer, 2013: 453-494.
- [3] Frankel R B, Bazylinski D A, Johnson M S, Taylor B L. Magneto-aerotaxis in marine coccoid bacteria. Biophysical Journal, 1997, 73(2): 994-1000.
- [4] Benzerara K, Menguy N. Looking for traces of life in minerals. Comptes Rendus Palevol, 2009, 8(7): 617-628.
- [5] Farina M, Lin de Barros H G P, Esquivel D M S, Dannon J. Ultrastructure of a magnetotactic microorganism. Biology of the Cell, 1983, 48(1): 85-88.
- [6] Bazylinski D A, Frankel R B. Magnetosome formation in prokaryotes. Nature Reviews Microbiology, 2004, 2(3): 217-230.
- Bazylinski D A, Moskowitz B M. Microbial biomineralization of magnetic iron minerals: microbiology, magnetism and environmental significance. Reviews in Mineralogy and Geochemistry, 1997, 35: 181-223.

- [8] Schüler D. Formation of magnetosomes in magnetotactic bacteria. Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology, 1999, 1(1): 79-86.
- [9] Blakemore R P. Magnetotactic bacteria. Science, 1975, 190(4212): 377-379.
- [10] Lin W, Wang Y Z, Gorby Y, Nealson K, Pan Y X. Integrating niche-based process and spatial process in biogeography of magnetotactic bacteria. Scientific Reports, 2013, 3: 1643-1643.
- [11] Chen Y R, Zhang R, Du H J, Pan H M, Zhang W Y, Zhou K, Li J H, Xiao T, Wu L F. A novel species of ellipsoidal multicellular magnetotactic prokaryotes from Lake Yuehu in China. Environmental Microbiology, 2014, 17(3): 637-647, doi: 10.1111/1462-2920.12480.
- [12] Zhou K, Pan H M, Zhang S D, Yue H D, Xiao T, Wu L F. Occurrence and microscopic analyses of multicellular magnetotactic prokaryotes from coastal sediments in the Yellow Sea. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 2011, 29(2): 246-251.
- [13] Zhang R, Chen Y R, Du H J, Zhang W Y, Pan H M, Xiao T, Wu L F. Characterization and phylogenetic identification of a species of spherical multicellular magnetotactic prokaryotes that produces both magnetite and greigite crystals. Research in Microbiology, 2014, 165(7): 481-489.
- [14] Zhang W Y, Zhou K, Pan H M, Du H J, Chen Y R, Zhang R, Ye W N, Lu C J, Xiao T, Wu L F. Novel rod-Shaped magnetotactic bacteria belonging to the class Alphaproteobacteria. Applied and Environmental Microbiology, 2013, 79(9): 3137-3140.
- [15] Zhang W Y, Zhou K, Pan H M, Yue H D, Jiang M, Xiao T, Wu L F. Two genera of magnetococci with bean-like morphology from intertidal sediments of the Yellow Sea, China. Applied and Environmental Microbiology, 2012, 78(16): 5606-5611.
- [16] 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.
- [17] Bosshard P P, Santini Y, Grüter D, Stettler R, Bachofen R. Bacterial diversity and community composition in the chemocline of the meromictic alpine Lake Cadagno as revealed by 16S rDNA analysis. FEMS Microbiology Ecology, 2000, 31(2): 173-182.
- [18] 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. International Journal of Systematic Bacteriology, 1994, 44(4): 846-849.
- [19] Blakemore R P. Magnetotactic bacteria. Annual Review of Microbiology, 1982, 36(1): 217-238.
- [20] Flies C B, Jonkers H M, Beer D, Bosselmann K, Böttcher M E, Schüler D. Diversity and vertical distribution of magnetotactic bacteria along chemical gradients in freshwater microcosms. FEMS Microbiology Ecology, 2005, 52(2): 185-195.
- [21] 邢素娥,潘红苗,朱开玲,肖天,吴龙飞.青岛汇泉湾海洋趋磁细菌多样性研究.高技术通讯,2008,18(3):312-317.
- [22] Lin W, Pan Y X. Uncultivated magnetotactic cocci from Yuandadu park in Beijing, China. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75 (12): 4046-4052.
- [23] Lin W, Li J H, Schüler D, Jogler C, Pan Y X. Diversity analysis of magnetotactic bacteria in Lake Miyun, northern China, by restriction fragment length polymorphism. Systematic and Applied Microbiology, 2009, 32(5): 342-350.
- [24] Spring S, Amann R, Ludwig W, Schleifer K H, Gemerden H V, Petersen N. Dominating role of an unusual magnetotactic bacterium in the microaerobic zone of a freshwater sediment. Applied and Environmental Microbiology, 1993, 59(8): 2397-2403.
- [25] Spring S, Lins U, Amann R, Schleifer K H, Ferreira L C, Esquivel D M, Farina M. Phylogenetic affiliation and ultrastructure of uncultured magnetic bacteria with unusually large magnetosomes. Archives of Microbiology, 1998, 169(2): 136-147.
- [26] Pan H M, Zhu K L, Song T, Yu-Zhang K, Lefèvre C, Xing S E, Liu M, Zhao S J, Xiao T, Wu L F. Characterization of a homogeneous taxonomic group of marine magnetotactic cocci within a low tide zone in the China Sea. Environmental Microbiology, 2008, 10(5): 1158-1164.
- [27] Flies C B, Peplies J, Schüler D. Combined approach for characterization of uncultivated magnetotactic bacteria from various aquatic environments. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(5): 2723-2731.
- [28] Westbroek P, de Jong E W. Biomineralization and Biological Metal Accumulation: Biological and Geological Perspectives Papers Presented at the Fourth International Symposium on Biomineralization, Renesse, The Netherlands, June 2-5, 1982. Berlin: Springer, 1983.
- [29] Winklhofer M. Magnetoreception. Journal of the Royal Society Interface, 2010, 7(Suppl 2): S131-S134.
- [30] Schüler D. Genetics and cell biology of magnetosome formation in magnetotactic bacteria. FEMS Microbiology Reviews, 2008, 32(4): 654-672.
- [31] Lin W, Bazylinski D A, Xiao T, Wu L F, Pan Y X. Life with compass: diversity and biogeography of magnetotactic bacteria. Environmental Microbiology, 2013, 16(9): 2646-2658, doi: 10.1111/1462-2920.12313.
- [32] Martins J L, Silveira T S, Abreu F, Silva K T, Silva-Neto D, Inácio D, Lins U. Grazing protozoa and magnetosome dissolution in magnetotactic bacteria. Environmental Microbiology, 2007, 9(11): 2775-2781.
- [33] Heyen U, Schüler D. Growth and magnetosome formation by microaerophilic Magnetospirillum strains in an oxygen-controlled fermentor. Applied Microbiology and Biotechnology, 2003, 61(5/6): 536-544.
- [34] 张蕊,陈一然,周克,张文燕,肖天,吴龙飞.青岛潮间带趋磁细菌的垂直分布特征及与环境因子的关系.海洋科学,2013,37(10): 24-31.
- [35] 赵铁虎,李春,丛鸿文,褚宏宪.青岛近岸海区海底地貌类型及声学特征.海洋测绘,2005,25(1):40-43.
- [36] 孙静.青岛市海滩沉积地貌及质量评价[D].青岛:中国海洋大学, 2012.
- [37] Fuduche M, Postec A, Davidson S, Chauvin J P, Galès G, Hirschler-Réa A, Olivier B, Wu L F, Pradel N. Diversity of Magnetotactic Bacteria from a French Pristine Mediterranean Area. Current Microbiology, 2014, 70(4): 499-505.
- [38] Postec A, Tapia N, Bernadac A, Joseph M, Davidson S, Wu L F, Olivier B, Pradel N. Magnetotactic bacteria in microcosms originating from the French Mediterranean coast subjected to oil industry activities. Microbial Ecology, 2012, 63(1): 1-11.