

山东威海海藻中细菌分离和多样性分析

衣娜¹, 吴敏^{2*}, 李冠^{1*}

(1. 新疆大学 生命科学学院, 新疆 乌鲁木齐 830046; 2. 浙江大学 生命科学学院, 浙江 杭州 310058)

摘要: 从我国东部沿海城市威海金海滩(北纬 36°41'~37°35', 东经 121°11'~122°42') 采取海藻样品. 采用可培养分析方法得到 55 株菌. 基于 16S rDNA 序列分析, 发现这 55 株菌共分为 5 个纲, 14 个属. 其中芽孢菌纲(Bacilli), γ -变形菌纲(Gammaproteobacteria) 为优势种群, 分别占总数的 20% 和 56.4%. 此外还分离获得 2 株具有琼脂降解活性的菌株, 都属于海杆菌属(*Marinimicrobium*). 部分菌株比已报道菌株相似度低, 表明海藻样品具有较好的细菌多样性, 并蕴藏着巨大的微生物资源.

关键词: 威海海滩; 海藻; 细菌; 16S rDNA; 多样性

中图分类号: Q 939

文献标志码: A

文章编号: 1008-9497(2012)02-215-04

YI Na¹, WU Min², LI Guan¹ (1. College of Life Sciences, Xinjiang University, Wulumuqi 830046, China; 2. College of Life Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Isolation and analysis of bacterial diversity of the seaweed from the Weihai Beach in Shandong province. Journal of Zhejiang University (Science Edition), 2012, 39(2): 215-218

Abstract: The seaweed sample was taken from the eastern coastal city of Weihai Golden Beach (latitude 36° 41'~37° 35', longitude 121° 11'~122° 42') in China. We isolated 55 strains using training methods. On the basis of analysis of 16S rDNA, it was considered that the 55 strains are divided into five classes, 14 genera. Bacilli and γ -Proteobacteria are the dominant species, accounting for 20% and 56.4%. And we also isolated two strains with agar degradation activity, which belong to *Marinimicrobium*. Some strains are low similarity with reported strains. This article fully illustrated that the diversity of bacteria is good in the seaweed and there is rich in microorganisms in the ocean.

Key Words: Weihai Beach; seaweed; bacterial; 16S rDNA; diversity

我国拥有长度约 3.2 万 km 海岸线, 居世界第 8 位, 拥有丰富的海洋资源. 海藻是重要的海洋资源之一, 目前只有 1/4 左右被利用, 直接或间接地为人类创造了巨大的财富^[1]. 海藻主要分绿藻、褐藻和红藻 3 大门包括数千个种^[2], 海藻的成分也很丰富, 含有丰富的蛋白质、多糖类、食物纤维、维生素、无机元素、氨基酸、脂肪酸、琼脂、甘露醇及碘等, 并且含有一种特殊的蛋白质——亲糖蛋白, 具有很高的医药研究价值和工业研究价值^[3]. 由于海藻种类的多样性, 海藻成分多元性和特殊性, 使得海藻表面微生物和酶资源非常丰富. 开发海藻微生物资源, 有着极其

重大的工业效益和深远的研究意义^[4,5].

海洋独特的生存环境, 使海洋微生物的各种生存、遗传和代谢途径有别于其他环境中的微生物^[6]. 因此, 海洋微生物中生物活性物质已经成为了一个重要资源. 海藻体表微生物的抑菌活性和溶藻活性已成为目前的研究热点. DYLDUIZEN^[7] 认为只有不到 1% 的自然存在状态下的微生物在实验室条件下是可培养的, TORSV 等^[8] 认为自然环境中, 99.5%~99.9% 的微生物种类至今是不可培养的. 因此, 如何利用丰富的微生物资源, 研究其在环境中的作用与功能, 已越来越受到人们的重视^[9].

收稿日期: 2010-12-30.

作者简介: 衣娜(1985-), 女, 在读硕士, 主要从事海洋藻类微生物资源的开发研究, E-mail: yinadeyouxiang@126.com.

* 通信作者, 吴敏: E-mail: wumin@zju.edu.cn, 李冠: E-mail: guanli@xju.edu.cn.

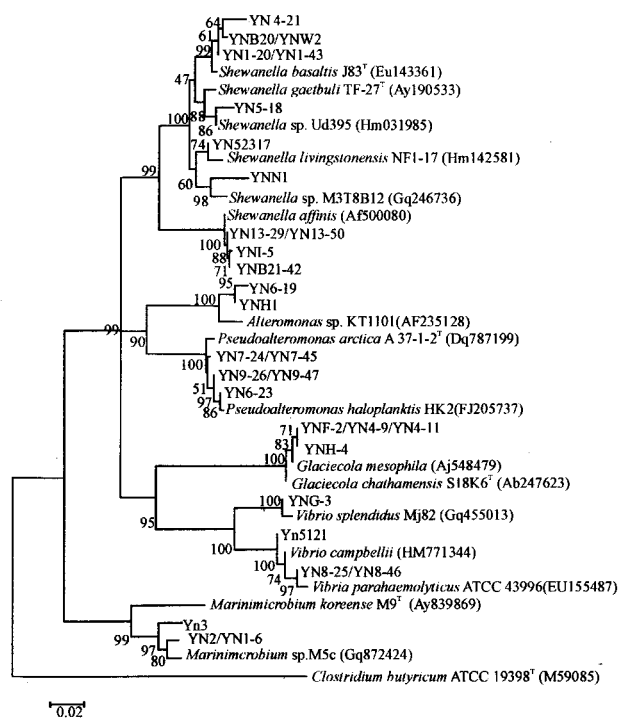


图 2 分离菌株与 γ -变形菌纲的系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree of 16S rDNA sequences of γ -Proteobacteria strains from the seaweed of weihai beach. The tree was constructed by the neighbor-joining method; the numbers in parentheses are accession numbers of sequences; bootstrap values are showed at each branch points, and values $>50\%$ are shown; scale bar indicated 2% sequences divergence

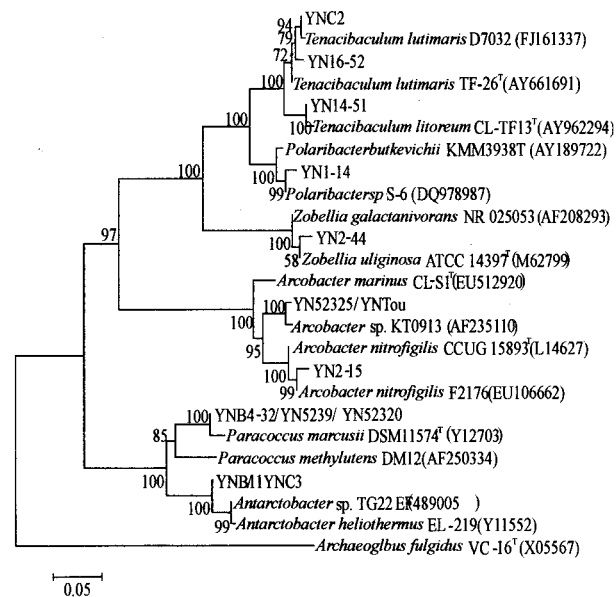


图 3 分离菌株与 α -变形菌纲, ϵ -变形菌纲和黄杆菌的系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree of 16S rDNA sequences of α -Proteobacteria, ϵ -Proteobacteria and Flavobacteria strains from the seaweed of weihai beach. The tree was constructed by the neighbor-joining method; the numbers in parentheses are accession numbers of sequences; bootstrap values are showed at each branch points; and values $>50\%$ are shown; scale bar indicated 5% sequences divergence

3 讨论

细菌是海洋生态系统中的重要组成部分,与海洋中其他生物有着错综复杂的关系^[12],其中藻类(包括微藻和大型藻类)和细菌之间的关系越来越引起人们的重视^[13].有研究表明^[14],海洋藻类的共附生细菌集中在假单胞菌属(*Pseudomonas*)、弧菌属(*Vibrio*)、微球菌属(*Micrococcus*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、别单胞菌属(*Alteromonas*)以及放线菌的链霉菌属(*Streptomyces*)和小单胞菌属(*Micromonaspora*).本实验分离的菌株包括 14 个属:*Bacillus*, *Glacieola*, *Vibrio*, *Shewanella*, *Marinimicrobium*, *Polarbacter*, *Arcobacter*, *Alteromonas*, *Pseudoalteromonas*, *Paracoccus*, *Microoccus*, *Zibellia*, *Tenacibaculum*, *Antarctobacter*, *Colwellia*. 共分布于 5 个纲,其中 *Bacilli* 和 γ -*Proteobacteria* 为优势种群,占 76.4%. 其中芽孢杆菌 20%, γ -变形菌 56.4%, 黄杆菌 9.1%, α -变形菌 9.1%, ϵ -变形菌 5.5%. 与其他的报道结果类似,但也有个别种属的差异,充分体现了海洋海藻细菌资源的多样性.

16S rDNA 由于是既含保守序列又含可变序列的核酸序列,并且其序列变化速度与进化速率相适应,常用于生物物种的分子进化分析. 16S rDNA 序列的系统发育学进化距离与表型特征及化学分类数据有一定的相关性^[10]. 一般认为,16S rDNA 序列同源性低于 98%, 可以认为属于不同种,同源性小于 93%~95%, 可以认为属于不同属^[15]. 这 55 株菌与已知菌株的相似度介于 99%~100% 的有 25 株, 98%~99% 的有 15 株, 98% 以下的有 12 株.

YN2 与菌株 *Marinimicrobium koreense* M9^T (AY839869) 的相似度为 92.4%, 且 YN2 可产琼胶酶. YN3 与菌株 *Marinimicrobium koreense* M9^T (AY839869) 的相似度为 94.4%, 属于新种, 且 YN3 也能产琼胶酶^[16,17]. 随着科技的发展,近几年对琼胶酶的研究蓬勃兴起,琼胶酶具有很高的商业应用价值.

根据以上结果得出:

3.1 威海近海藻类中微生物的优势种群为 γ -变形菌纲和芽孢菌纲细菌.

3.2 通过对威海近海藻类中微生物种群和微生物多样性的研究,分离得到若干株特色的细菌,发现了新种单元和琼胶酶产生菌,表明在威海近海的海藻中蕴藏着丰富的微生物资源.

3.3 本实验通过传统培养方法对海洋海藻中微生物

物资源进行了分离和筛选,初步了解了海藻微生物资源和酶资源的分布,为海藻中微生物资源的研究和开发打下了基础。

参考文献(References):

- [1] 李敏,赵谋明,叶林. 海洋食品及药物资源的开发利用[J]. *食品与发酵工业*, 2001, 21(5): 60-64.
LI Min, ZHAO Mou-ming, YE Lin. The exploitation and utilization of marine food and marine pharmaceuticals[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2001, 21(5): 60-64.
- [2] TROELL M, RÖNNBÄCK P, HALLING C, et al. Ecological engineering in aquaculture: use of seaweeds for removing nutrients from intensive mariculture [J]. *J of Applied Phycology*, 1999, 11: 89-97.
- [3] 吴梧桐,王友同,吴文俊. 海洋活性物质研究若干进展[J]. *药物生物技术*, 2000, 7(3): 179-183.
WU Wu-tong, WANG You-tong, WU Wen-jun. Advances of several study on marine active substances[J]. *Pharmaceutical Biotechnology*, 2000, 7(3): 179-183.
- [4] HOLMSTROM C, KJELLEBERG S. Marine pseudoalteromonas species are associated with higher organisms and biologically active extracellular agents [J]. *Fems Microbiology Ecology*, 1999, 30: 285-293.
- [5] EGAN S, THOMAS T, HOLMSTROM C, et al. Phylogenetic relationship and antifouling activity of bacterial epiphytes from marine ulva lactuca [J]. *Environmental Microbiology*, 2000, 2(3): 343-347.
- [6] 展翔天,张春光,司玫. 海洋微生物活性物质研究进展[J]. *中国海洋药物*, 2002, 2: 44-52.
ZHAN Xiang-tian, ZHAN Chun-guang, SI Mei. Advances in the research of bioactive substances from marine microorganisms [J]. *Chinese J of Marine Drugs*, 2002, 2: 44-52.
- [7] DYLDAUIZEN D E. Santa rosalia revisited: why are there so many species of bacteria [J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 1998, 73(1): 25-33.
- [8] TORSV V, GOKSOYR J, DAAE F L. High diversity of DNA of soil bacteria [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1990, 56: 782-787.
- [9] 霍颖异,徐学伟,王春生,等. 浙江苍南近海沉积物细菌物种多样性[J]. *生态学报*, 2008, 10: 5166-5172.
HUO Ying-yi, XU Xue-wei, WANG Chun-sheng, et al. Bacterial diversity of the sediment from Cangnan Large Fishing Bay [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2008, 10: 5166-5172.
- [10] 陈文新. 细菌系统发育[J]. *微生物学报*, 1998, 38(3): 240-243.
CHEN Wen-xin. Bacterial phylogeny [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 1998, 38(3): 240-243.
- [11] WEBSTER G, NEWBERRY C J. Assessment of bacterial community structure in the deep sub-sea floor biosphere by 16S rDNA based techniques: a cautionary tale [J]. *J of Microbiological Methods*, 2003, 55: 155-164.
- [12] SONG Z G, XU Q Z, LU X A, et al. A primary on population biodiversity of marine microorganisms from East China Sea [J]. *Microbiology*, 2006, 33(1): 63-67.
- [13] 刘杰,王晓娜,王能飞,等. 青岛近海浒苔粘附着细菌 16S rDNA 系统发育学研究[J]. *科学技术与工程*, 2009, 9(8): 2043-2055.
LIU Jie, WANG Xiao-shan, WANG Neng-fei, et al. 16S rDNA Phylogeny of adherent bacteria isolated from the surfaces of enteromorpha prolifera in Qingdao Sea [J]. *Science Technology and Engineering*, 2009, 9(8): 2043-2055.
- [14] 缪莉,郑忠辉,苏文金. 共附生海洋微生物活性物质的研究进展[J]. *海洋通报*, 2002, 21(3): 62-68.
MIU Li, ZHENG Zhong-hui, SU Wen-jin. Research development of bioactive substance of symbiotic and epibiotic marine microorganisms [J]. *Marine Science Bulletin*, 2002, 21(3): 62-68.
- [15] DEVEREMC R, HE S H, DOYLE C L, et al. Diversity and origin of vibrio species: phylogenetic definition of a family [J]. *J of Bacteriology*, 1990, 172(7): 3609-3619.
- [16] FU X T, KIM S M. Agarase: review of major sources, categories, purification method, enzyme characteristics and applications [J]. *Marine Drugs*, 2010, 8: 200-218.
- [17] LIM J M, JEON C O, LEE J C, et al. Marinimicrobium koreense gen. nov., sp. nov. and Marinimicrobium agarilyticum sp. nov., novel moderately halotolerant bacteria isolated from tidal flat sediment in Korea [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2006, 56: 653-657.

山东威海海藻中细菌分离和多样性分析

作者: 衣娜, 吴敏, 李冠, YI Na, WU Min, LI Guan

作者单位: 衣娜, 李冠, YI Na, LI Guan(新疆大学生命科学学院, 新疆乌鲁木齐, 830046), 吴敏, WU Min(浙江大学生命科学学院, 浙江杭州, 310058)

刊名: 浙江大学学报(理学版) 

英文刊名: Journal of Zhejiang University(Science Edition)

年, 卷(期): 2012, 39(2)

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zjdxxb201202019.aspx