

研究论文

南极普里兹湾可培养浮游细菌群落结构研究

吴月红^{1,2} 韩正兵^{1,2} 张心齐³ 周亚东^{1,2} 吴敏³ 许学伟^{1,2}

(¹ 国家海洋局海洋生态系统与生物地球化学重点实验室, 浙江 杭州 310012;

² 国家海洋局第二海洋研究所, 浙江 杭州 310012; ³ 浙江大学生命科学学院, 浙江 杭州 310056)

摘要 针对南极普里兹湾内达恩利角附近海域的 3 个测站共 12 份海水样品, 采用寡营养培养基分离培养极地浮游细菌, 通过 PCR 方法获取其中 95 株细菌的 16S rRNA 基因序列。序列分析结果表明, 分离获得的 95 株细菌分属 α -变形杆菌纲 (Alphaproteobactia)、 γ -变形杆菌纲 (Gammaproteobacteria) 和拟杆菌门 (Bacteroidetes) 3 个类群下的 35 个不同分类单元, 其中 α -变形杆菌纲为优势细菌, 在不同水层中所占的比例为 52.6%—62.5%。通过 Shannon 多样性指数分析发现, 南极普里兹湾陆架区测站 P2-14 多样性指数较陆坡区两测站 P2-11 和 P2-8 的高, 细菌多样性与浮游植物量和生产力水平呈现正相关。表层细菌 Shannon 多样性指数最低, 50 m 水层最高, 100 和 200 m 水层多样性指数变化不明显, 真光层水体中细菌垂直分布与营养盐和溶解氧浓度存在关联。此外, 采用寡营养陈海水培养基, 还获得了一些与已报道的 16S rRNA 基因序列相似性较低的菌株, 它们代表了微生物新物种, 可能也是南极真光层特有的细菌。研究工作表明, 南极普里兹湾真光层水体中蕴藏着丰富的浮游细菌资源, 它们有待保护、开发和利用。

关键词 南极 普里兹湾 细菌 多样性

doi:10.13679/j.jdyj.2014.2.222

0 引言

南极普里兹湾存在季节性的海冰区域, 其表层水体物理性质与普通大洋海水不同, 影响了该生态系统中浮游微生物的群落结构和功能。荧光原位显微技术表明, γ -变形杆菌纲、放线菌纲和拟杆菌门细菌是极地海洋浮游细菌的主要类群^[1], 特别是 Cytophaga/Flavobacter (CF) 类群, 在南极生态系统中有广泛的分布。在南极表层细菌可培养微生物研究中, γ -变形杆菌纲为最主要类群, 冷单胞菌属 (*Psychromonas*) 和假交替单胞菌属 (*Pseudoalteromonas*) 占总分离菌株数的 65.4%, 在南极浮游细菌群落中具有重要作用。

由于受采样等条件限制, 目前对南极普里兹湾

浮游细菌群落结构的研究相对较少。以往研究者对南极浮游细菌多样性研究^[1-2]多采用分子生物学技术, 这种方法能获得较全面的微生物信息。然而分离培养是微生物学一项重要的研究, 获得的纯培养物往往是环境微生物群落中最能反映生态环境特征的类群, 是处于活性状态下的微生物类群, 这对于评估微生物与环境的关系至关重要, 更是后续生理特性研究的基础^[3]。因此, 菌株分离纯化一直受到微生物学的高度重视。

在微生物培养过程中, 个别类型微生物由于数量占优或生长速度较快等原因, 在培养初期大量生长, 从而掩盖了数量少、生长速度慢的菌株; 此外, 高浓度的营养物质对一些微生物具有毒性。寡营养培养方式是解决该问题的有效技术手段^[4]。本研究采用寡营养培养方法, 对南极普里兹湾内达恩利角

[收稿日期] 2013 年 3 月收到来稿, 2013 年 4 月收到修改稿

[基金项目] 国家海洋局极地科学重点实验室开放研究基金(20100216)和海洋二所基本科研业务费专项资金项目(JT1011)资助

[作者简介] 吴月红, 女, 1981 年生。博士, 副研究员。主要从事海洋微生物资源与应用研究

[联系作者] 许学伟, E-mail: xuxw@sio.org.cn

附近海域 3 个测站共 12 份海水样品进行微生物分离培养,获得 95 株细菌菌株并进行初步分类鉴定,研究工作有助于深入认识南极普里兹湾夏季浮游细菌群落变化及其在生态系统中的作用,对南极细菌资源评估与开发具有一定的指导意义。

1 材料与方 法

1.1 样品采集与处理

第 25 次中国南极科学考察(2009 年 2 月)期间,于南极普里兹湾内达恩利角附近海域利用 Seabird 911 Plus CTD 采水器进行海水样品采集,站

信息与位置见表 1 和图 1。采样时间为盛夏,海区浮冰消融,融冰对海洋上层水体产生淡化作用,导致普里兹湾表层水温较高、盐度较小、密度较低。每个测站分别采集了 0、50、100 和 200 m 水样,样品在实验进行之前一直处于 4℃ 和避光保存。

表 1 站位信息表

Table 1. Information of the sampling stations

站位	采样时间	经度	纬度	水深/m	层次/m
P2-8	2009-02-18	70°30.0'E	66°29.8'S	2 128	0、50、100 和 200
P2-11	2009-02-18	70°30.2'E	67°0.2'S	303	0、50、100 和 200
P2-14	2009-02-17	70°30.9'E	68°0.7'S	496	0、50、100 和 200

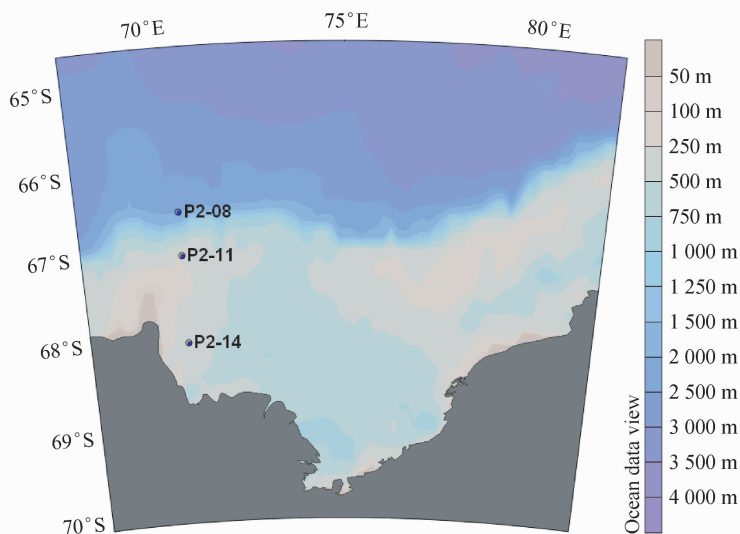


图 1 普里兹湾站位图

Fig. 1. Sampling stations in Prydz Bay, Antarctic

1.2 菌株分离纯化

采用寡营养陈海水培养基(LMEB 培养基)分离纯化南极普里兹湾真光层水体微生物。LMEB 配方为南极普里兹湾天然海水、蛋白胨 0.5g/L 和酵母提取物 0.1g/L。固体培养基添加 15 g/L 琼脂,灭菌后倒平板。

水样依次稀释 10 倍和 100 倍并涂布 LMEB 培养基,每个梯度涂布 3 块平板,25℃ 培养至长出明显菌落。根据菌落形态特征,挑取不同的单菌落在 Marine 2216 agar (BD) 平板上划线,25℃ 培养,挑取单菌落再次纯化后 -80℃ 甘油管和冻干管保存。

1.3 菌株形态特征观察

采用活体观察、透射电镜观察和扫描电镜观察三种方式观察菌株形态。

活体观察:取对数生长期菌液涂于载玻片上,通过光学显微镜(Olympus BX40)观察细胞运动性及形态特征。

透射电镜观察:取对数生长期的划线斜面,刮取菌体悬浮于无菌水制成菌悬液。将菌悬液滴于铜网上并用滤纸吸去多余液体,然后用醋酸双氧铀染色。制作细胞超薄切片时,以 2.5% 戊二醛固定细胞,并通过锇酸固定、乙醇脱水、包埋、切片和醋酸双氧铀染色等步骤制备切片样品。透射电镜(JEM-1230)下观察细胞的形态、大小、分裂方式、芽孢产生、细胞壁结构、内涵体和鞭毛数量及形态等情况。透射电镜观察在浙江大学分析测试中心华家池分中心完成。

扫描电镜观察:取对数生长期的划线斜面刮取

菌体制成菌悬液,加2.5%戊二醛固定,并通过锇酸固定、乙醇脱水、包埋、临界点干燥、粘台和喷金等步骤制备样品。扫描电镜(Cambridge S260)下观察细胞的形态、大小和芽孢产生等。扫描电镜观察在浙江大学医学院电镜中心完成。

1.4 菌株基因组总DNA提取

菌株于Difco™ Marine broth 2216培养基中在25℃下培养至混浊($OD_{600nm} > 1.0$)。采用细菌基因组快速提取试剂盒N1152(东盛生物)抽提细菌总DNA。

1.5 16S rDNA序列扩增和鉴定

采用细菌特异性引物Eubac27F:5'-AGAGTTT-GATCCTGGCTCAG-3', Eubac1492R:5'-GGTTACCT-TGTTACGACTT-3'。

PCR反应体系为50 μ L, 10 * buffer 5 μ L, dNTP mixture (2.5 mM each) 0.5 μ L, primer Eubac27F (4 μ M) 1 μ L, primer Eubac1492R (4 μ M) 1 μ L, Taq (2.5 U/ μ L) 0.5 μ L, 模板 50 ng, 用水补足至50 μ L。

PCR反应条件为94℃, 5 min; 94℃, 30 s; 55℃, 30 s; 72℃, 1 min 15 s; 33次循环; 72℃延伸8 min。PCR扩增产物采用ABI测序仪测序, 测序引物为Eubac27F, 测定的序列长度大于500 bp。测定的序列通过EzTaxon-e在线比对程序(<http://eztaxon-e.ezbiocloud.net/>)与数据库中的已有细菌16S rDNA

序列进行比对分析。序列相似性低于97%的菌株, 进一步采用TA克隆方法获取16S rRNA基因, 样品送上海生工生物工程有限公司测序, 测序引物为M13-F和RV-M, 序列长度大于1 300 bp, 大于16S rDNA全长序列的90%。

1.6 细菌多样性分析

根据在线比对和系统发育分析结果, 将获得的16S rRNA基因序列归类, 定义相似性<97%的序列代表不同的分类单元。采用物种多样性(Diversity)、丰富度(Richness)、均匀度(Evenness)和优势度(Dominance)指数进行多样性分析。对各分离菌株及其相近菌株的16S rRNA基因序列采用Mega 5进行多序列匹配比对, 采用邻接法(Neighbor-joining method)构建系统进化树, 并通过自举分析(Bootstrap)进行置信度检测, 自举数据集为1 000次。

2 结果与分析

2.1 南极真光层水体细菌分离与分子鉴定

根据菌落大小、形态和颜色等特征, 挑取分离平板上的单菌落进行四分划线纯化, 最终从南极水样中分离得到95株菌。以Ar-22为例, 菌落淡黄色, 圆形, 略微凸起, 直径为1—2 mm, 显微镜观察发现细胞表面有凸起(图2)。

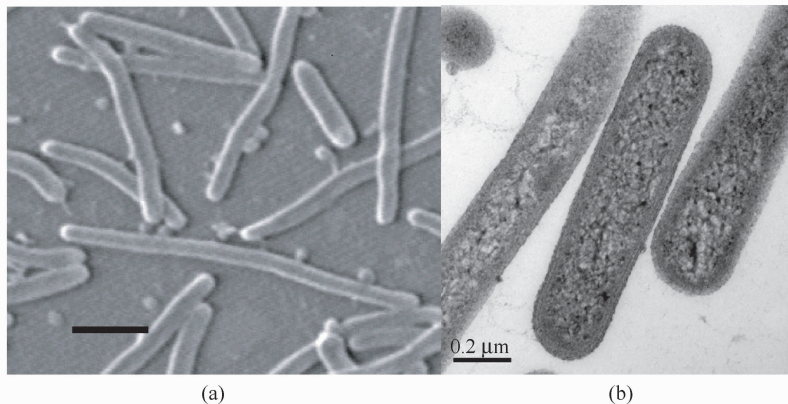


图2 菌株Ar-22细胞形态和超微结构。(a)扫描电镜图;(b)透射电镜图

Fig. 2. Cell morphology and ultrastructure of strain Ar-22. (a) Scanning electron micrographs; (b) Transmission electron micrographs

采用细菌通用引物, 扩增获取了95株菌株的16S rDNA序列。序列递交至GenBank数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), 登录号为JX844423—JX844517。分子鉴定结果表明, 95株菌株可划分至

35个不同的分类单元。分离获得 α -变形杆菌纲(Alphaproteobacteria)57株, 占总菌数的60%; γ -变形杆菌纲(Gammaproteobacteria)23株, 占总菌数的24.2%; 拟杆菌门(Bacteroidetes)15株占总菌株

15.8%。普里兹湾真光层水体中细菌垂直分布在0、50、100和200 m的4个水层中, α -变形杆菌纲均为优势类群(61.9%、52.6%、61.3%和62.5%),其次为 γ -变形杆菌纲(28.6%、26.3%、25.8%和16.7%)和拟杆菌门(9.5%、21.1%、12.9%和21.1%)。普里兹湾真光层水体中细菌水平分布表现为在P2-8、P2-11和P2-14三个站位中, α -变形杆菌纲为优势类群(44.4%、58.3%和70.5%),其次为 γ -变形杆菌纲(37.0%、25%和15.9%)和拟杆菌门(18.5%、16.7%和13.6%)。

系统发育分析结果表明,大多数菌株与之前分离自海洋或其他环境的菌株具有较高的16S rDNA序列相似性(>97%),但也发现5个菌株与已报道菌株间的序列相似性较低,例如菌株Ar-112、Ar-125与*Bizionia echini* KMM 6177^T(96.3%),Ar-128与*Hoefleaalexandrii* AM1V30^T(96.9%),Ar-142与*Marinobacteralgicola* DG893^T(96.1%),Ar-121与*Persicivirgaxylanidelens* SW256^T(95.5%)间的序列相似性均低于97%,它们可能代表了一些新的分类单元。

2.2 南极水样细菌多样性分析

物种多样性是把物种的数目和个体数目分配状况(丰度和均匀度)结合起来考虑的一个统计量,它反映了生物群落和生态系统的特征,例如结构类型、发展阶段、稳定程度和生境差异等等。Shannon多样性指数、Margalef丰富度指数是对稀有物种敏感的指数,普里兹湾海区不同水层的这些指数具有明显的差异,不同站位多样性指数差异不明显,但丰富度指数差异较大。与之相反,Shannon均匀度指数和Berger-Parker优势度指数属于对富集种相对敏感的指数。普里兹湾海区不同水层这些指数差异不明显,不同站位这些指数差异也不明显(表2)。总体而言,不同水层的多样性指数、丰富度指数和均匀度指数具有一定的相关性。在对数级数分布模型不是最好的理论分布时,其多样性指数也能较好地反应物种的多样性状况,并且不受样方大小的影响。通过多种方式综合评价物种多样性,可有效避免单一指数评价的偏颇。

普里兹湾海区细菌群落结构受到季节、温度、营养盐和溶解氧等因素影响而发生变化。P2-14位于

表2 南极普里兹湾西部细菌类群数量及多样性指数
Table 2. Number of the cultured marine bacteria and diversity indices at the western part of the Prydz Bay, Antarctic

	水层				站位		
	0 m	50 m	100 m	200 m	P2-8	P2-11	P2-14
多样性指数(H') ^a	2.28	2.73	2.34	2.50	2.52	2.36	2.64
丰富度指数(D_{Mg}) ^b	3.61	5.09	3.49	4.09	4.25	3.78	4.76
均匀度指数(E) ^c	0.92	0.98	0.91	0.95	0.93	0.92	0.9
优势度指数(d) ^d	0.24	0.11	0.16	0.17	0.19	0.21	0.16

^a多样性指数计算公式: $H' = -\sum_i P_i \ln P_i$; ^b丰富度指数计算公式: $D_{Mg} = \frac{(S-1)}{\ln N}$; ^c均匀度指数: $E = \frac{H'}{\ln S}$; ^d优势度指数: $d = \frac{n_{max}}{N}$; S:样品中的OTU数目; N:代表全部个体; P_i :属于OTU i 的个体在全部个体中的比例

陆架区,P2-8和P2-11位于陆坡区,3个站位的细菌多样性指数和丰富度指数具有鲜明差异。位于陆架区的P2-14站位Shannon多样性指数和Margalef丰富度指数最高,而位于陆坡区的P2-11和P2-8站位Shannon多样性指数和Margalef丰富度指数则相对较低。这种差异可能和浮游植物生物量 and 生产力有关,浮游植物的代谢产物为细菌提供丰富的栖息条件。蔡昱明等研究表明,南极普里兹湾陆架区浮游植物生物量 and 生产力均较高,而大陆坡浮游植物的生物量 and 生产力则明显降低^[5]。由此推论,陆坡区和陆架区的微生物多样性指数与浮游植物生物量 and 生产力呈正相关。

在3个站位的不同水层中,0 m水层可培养细菌Shannon多样性指数最低,50 m水层可培养细菌的Shannon多样性指数和Margalef丰富度指数最高,100 m和200 m水层可培养细菌多样性指数差距不大,这种差异可能和营养盐丰富程度有关。在海洋生态环境中,海洋浮游细菌可以利用溶解性无机氮(Dissolved Inorganic Nitrogen, DIN)和溶解性无机磷(Dissolved Inorganic Phosphorus, DIP)作为氮源和磷源。Tupas和Koike在海洋浮游细菌室内培养实验中发现,DIN作为主要的N源,提供了55%—99%的总N吸收,极大地促进了细菌的生长和新陈代谢^[6]。此外,也有证据表明无机磷酸盐也是浮游细菌的生物量 and 生产重要限制因子^[7]。韩正兵等^[8]研究发现3个站位的三项营养盐(硝酸盐、磷酸盐和硅酸盐)最小值均出现在表层,50 m深度以内,各项营养盐含量快速增加,50 m达到最高值。

三项营养盐垂直变化趋势和可培养细菌多样性指数变化趋势基本一致,由此推论,0 m 和 50 m 水层微生物多样性指数与营养盐垂直分布呈正相关。100 m 以深各项营养盐含量基本维持不变,但受到光强减弱的影响,浮游植物光合作用能力减弱,100 m 以深浮游植物生物量极低,溶解氧含量也极低。由此推论,100 m 和 200 m 水层细菌多样性指数还与浮游植物生物量和溶解氧相关。

2.3 南极水样细菌系统发育分析

分离获得的3个细菌类群中, α -变形杆菌纲为优势类群。在 P2-8、P2-11 和 P2-14,3个站位以及0、50、100 和 200 m 的4个真光层水层中, α -变形杆菌纲均为优势类群。这一结果与已报道的南极周边海域浮游细菌多样性研究结果有所差异。Zeng 等^[9]采用可培养方法分离培养南极普里兹湾表层水体的微生物,仅分离到 γ -变形杆菌纲微生物。Guidice 采用荧光原位显微技术检测南极周边海域浮游细菌多样性,研究结果表明浮游细菌主要分为5个类群: γ -变形杆菌纲(67.8%)、放线菌(16.7%)、 α -变形杆菌纲(9.4%)、拟杆菌门(5.3%)和后壁菌门(0.8%)。南极周边海域的浮游细菌中存在大量 α -变形杆菌纲细菌,但非优势类群^[11]。这些研究结果的差异,可能是由于采样季节差异、研究手段不同、以及培养过程选择性造成的。

本研究在南极普里兹湾分离得到 α -变形杆菌纲细菌57株,隶属于13个属(图3),达到总菌株数量的60%。亚硫酸杆菌(*Sulfitobacter* sp.)在4个水层中均有分布,能氧化亚硫酸盐提供代谢能量^[10],也有亚硫酸杆菌代谢产物的研究报道^[11]。

γ -变形杆菌纲的细菌具有很强的适应性,能利用多种碳源物质进行生长^[12],它们在不同环境的生态系统中都有广泛的分布^[13]。本研究在南极普里兹湾分离得到的 γ -变形杆菌纲包括交替单胞菌属(*Alteromonas*),假单胞菌属(*Pseudomonas*),海杆菌属(*Marinobacter*)和食烷菌属(*Alcanivorax*)4个属(图3)。其中,海杆菌属(*Marinobacter*)多数为兼性好养菌,其生存范围较为宽广^[14],是海水中可培养的优势细菌,在各水层均有分布。食烷菌属(*Alcanivorax*)是专性降解烷烃的海洋细菌,易出现在石油污染的海洋环境。一般认为在干净的环境中,这类

专性降解菌的丰度是常规手段检测不到的^[15-17]。本文在 P2-8 和 P2-11 站位的0、100 和 200 m 水层中均分离到了食烷菌,分别属于已报道的2个物种。食烷菌的出现表明普里兹湾西部海水中有浓度较高的烃类存在,是否与海底油藏有一定关系尚不能明确。通过定量分析该类菌的丰度与水体中烷烃含量间的对应关系,可能得出更可信的结论。

黄杆菌是一类广泛存在于极地低温环境的细菌。荧光原位显微技术表明,黄杆菌是极地海洋浮游细菌的主要类群之一^[1]。不同的黄杆菌具有截然不同的生活环境和生存策略^[18],在南极生态系统中有着广泛的分布。本研究即在不同水层均分离得到黄杆菌,共计15株,分别隶属于黄杆菌科下的8个属(图3),其中*Croceibacter*属在各水层均有分布。

3 结论

普里兹湾真光层水体中细菌垂直分布与营养盐和溶解氧浓度存在关联。表层水体营养盐浓度较低,可培养细菌 Shannon 多样性指数最低, Berger-Parker 优势度指数最高;随着深度增加,50 m 水层细菌多样性指数高于其他水层,100 和 200 m 水层差距不明显。普里兹湾真光层水体中细菌水平分布与浮游植物生物量和生产力水平存在关联。P2-14 位于陆架区,该站位 Shannon 多样性指数和 Margalef 丰富度指数最高;P2-11 和 P2-8 位于陆坡,多样性和丰富度指数相对较低。

在微生物可培养研究过程中,应尽可能使用模拟自然条件的培养基。研究采用寡营养陈海水培养基,相比其他普通培养基,该培养基降低了营养成分浓度,与自然环境近似,从而大幅降低因营养物质充足导致生长快速菌株占据更多生态位的可能。通过这种培养方式,我们发现多个微生物新分类单元,表明南极普里兹湾真光层水体中蕴藏着大量浮游细菌资源。深入了解细菌在极地生态系统中的作用,仍需发展合适的培养方法获取纯培养菌株,并在此基础上开展生理学等方面的研究工作。

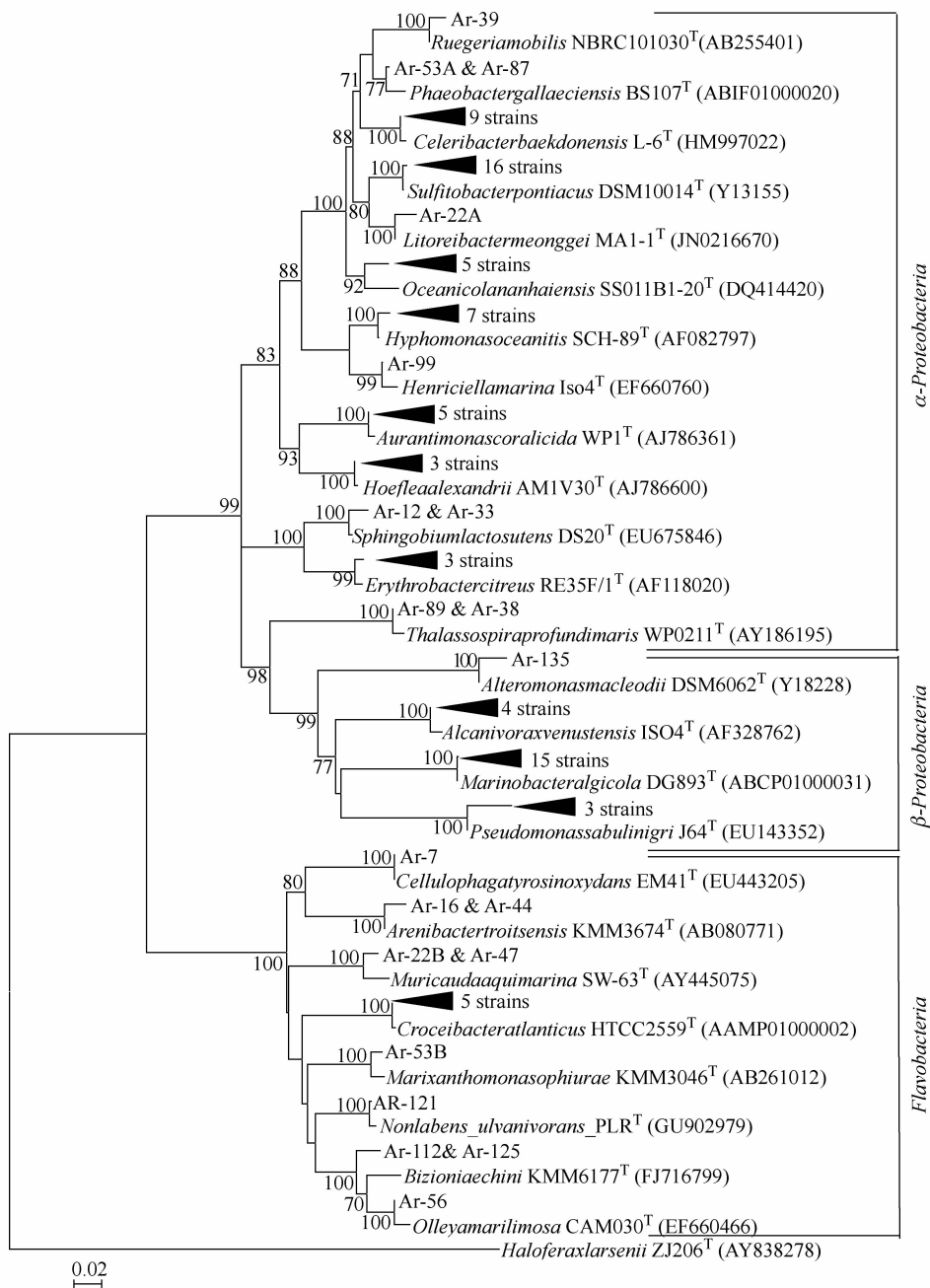


图 3 南极普里兹湾可培养细菌 16S rRNA 基因系统发育树

Fig. 3. Phylogenetic tree of 16S rRNA gene sequences of the strains isolated from the seawater at the Prydz Bay, Antarctic. The tree was constructed by the neighbour-joining tree method, with *Haloferaxlarsenii* as the out-group. Bootstrap values are based on 1000 replicates; only values >60% are show. Bar, 0.02 substitutions per nucleotide position

参考文献

- Giudice A L, Caruso C, Mangano S, et al. Marine bacterioplankton diversity and community composition in an antarctic coastal environment. *Microbial Ecology*, 2012, 63(1): 210—223.
- Yu Y, Li H R, Zeng Y X, et al. *Antarctica* gen. nov., sp. Nov., a member of the family *Flavobacteriaceae*, isolated from Antarctic intertidal sedi-

- ment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2012, 62(9): 2218—2223.
- 3 Sait M, Hugenholtz P, Janssen P H. Cultivation of globally distributed soil bacteria from phylogenetic lineages previously only detected in cultivation-independent surveys. *Environmental Microbiology*, 2002, 4(11): 654—666.
- 4 Ye J Y, Luo G Y. Ecological interpretation and related strategies for low culturability of microorganisms. *Acta Microbiologica Sinica*, 2005, 45(3): 478—482.
- 5 蔡显明, 宁修仁, 朱根海, 等. 南极普里兹湾浮游植物现存量与初级生产力粒级结构和新生产力研究. *海洋学报*, 2005, 27(4): 135—147.
- 6 Tupas L, Koike I. Amino acid and ammonium utilization by heterotrophic marine bacteria growth in enriched seawater. *Limnol Oceanogr*, 1990, 35(5): 1145—1155.
- 7 Cotner J B, Ammerman J W, Peele E R, et al. Phosphorus-limited bacterioplankton growth in the Sargasso Sea. *Aquatic Microbial Ecology*, 1997, 13: 141—149.
- 8 韩正兵, 潘建明, 扈传显, 等. 南极普里兹湾真光层下水体中有机碳和无机碳分解比例的估算. *极地研究*, 2010, 22(3): 254—261.
- 9 Zeng Y X, Li H R, Yu Y, et al. Phylogenetic diversity and phenotypic characterization of cultivable bacterioplankton isolated from polar oceans. *Acta Oceanologica Sinica*, 2007, 26(4): 93—103.
- 10 Pukall R, Buntfuss D, Frühling A, et al. *Sulfitobacter mediterraneus* sp. nov., a new sulfite-oxidizing member of the alpha-Proteobacteria. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1999, 49(2): 513—519.
- 11 龙聪, 刘小宇, 卢小玲, 等. 海洋亚硫酸杆菌 M44 的代谢产物研究. *中国抗生素杂志*, 2012, 37(4): 254—257.
- 12 Uphoff H U, Felske A, Fehr W, et al. The microbial diversity in picoplankton enrichment cultures; a molecular screening of marine isolates. *FEMS Microbiology Ecology*, 2001, 35(3): 249—258.
- 13 Ravensschlag K, Sahm K, Pemthaler J, et al. High bacterial diversity in permanently cold marine sediments. *Applied and Environmental Microbiology* 1999, 65(9): 3982—3989.
- 14 Xu X W, Wu Y H, Wang C S, et al. *Marinobacter pelagius* sp. nov., a moderately halophilic bacterium. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2008, 58(3): 637—640.
- 15 Kasai Y, Kishira H, Sasaki T, et al. Predominant growth of *Alcanivorax* strains in oil-contaminated and nutrient-supplemented sea water. *Environmental Microbiology*, 2002, 4(3): 141—147.
- 16 Hara A, Sytsubo K, Harayama S. *Alcanivorax* which prevails in oil-contaminated seawater exhibits broad substrate specificity for alkane degradation. *Environmental Microbiology*, 2003, 5(9): 746—753.
- 17 Cappello S, Denaro R, Genovese M, et al. Predominant growth of *Alcanivorax* during experiments on “oil spill bioremediation” in mesocosms. *Microbiological Research*, 2007, 162(2): 185—190.
- 18 Gómez-Pereira P R, Fuchs B M, Alonso C, et al. Distinct flavobacterial communities in contrasting water masses of the North Atlantic Ocean. *The ISME Journal*, 2010, 4(4): 472—487.

COMMUNITY COMPOSITION OF ANTARCTIC BACTERIOPLANKTON ISOLATED FROM THE PRYDZ BAY, ANTARCTICA

Wu Yuehong^{1,2}, Han Zhengbing^{1,2}, Zhang Xinqi³, Zhou Yadong^{1,2}, Wu Min³, Xu Xuewei^{1,2}

(¹Laboratory of Marine Ecosystem and Biogeochemistry of State Oceanic Administration, Hangzhou 310012, China;

²State Oceanic Administration, Hangzhou 310012, China;

³College of Life Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract

We collected 12 sea water samples from three stations in Prydz Bay, near Cape Darnley, Antarctica. Based on the oligographic media, 95 strains of Antarctic bacterioplankton were isolated in total. The 16S rRNA gene sequences were determined and analyzed. The isolates fell into three lineages: Alphaproteobacteria, Gammaproteobacteria and Bacteroidetes. The sequences were assigned to 35 operational taxonomic units (OTUs) based on the se-

quence analysis. The results showed that Alphaproteobacteria was the dominant bacterial group and the proportions were 52.6%—62.5% in the different layers. Analysis using the Shannon diversity index indicated that station P2-14 index, located on the continental shelf, was higher than that of stations P2-11 and P2-8 located on the slope. There was a positive correlation between the bacteria diversity and biomass as well as productivity of phytoplankton. The Shannon diversity index of the surface was the lowest, and that of the 50-m layer the highest. There was no difference in the Shannon diversity index between the 100-m and 200-m layers. The vertical distribution of bacteria was correlated with the nutrient and dissolved oxygen concentrations. In addition, some strains isolated from oligographic media showed low affiliation with the sequences from the described species (less than 97%), suggesting the presence of some novel taxa and specific strains in the Antarctic euphotic layer. Therefore, as shown by this study, the bacterioplankton resources in the Antarctic euphotic layer are rich. The numerous unknown microorganisms should be studied further and explored as a valuable resource.

Key words Antarctic, Prydz Bay, bacteria, biodiversity