

普通和稀释培养基研究太湖沉积物可培养细菌的多样性

戴 欣 王保军 黄 燕 张 平 刘双江*

(中国科学院微生物研究所 北京 100080)

摘 要 采用普通牛肉汁培养基和 10 倍稀释的普通牛肉汁培养基(以下简称稀释培养基)研究太湖沉积物中细菌多样性,发现在稀释培养基上生长的细菌数量普遍是在普通牛肉汁琼脂培养基上生长的细菌数量的 3~5 倍。分离得到纯培养物的 16S rDNA 部分序列(5'端约 500bp)分析表明,不同培养基上生长的优势细菌类群存在差别:普通培养基生长的细菌主要为 γ -Proteobacteria(35.1%),其次为 Actinobacteria(24.5%)和 Firmicutes(22.3%)等类群,其中大部分细菌与假单胞菌属(*Pseudomonas*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)和节杆菌属(*Archrobacter*)细菌的系统关系密切。稀释培养基生长的细菌则主要为 Actinobacteria(27.1%)、Firmicutes(25.7%)、 α -Proteobacteria(21.4%)和 γ -Proteobacteria(15.7%)等类群。与芽孢杆菌属(*Bacillus*)、 α -Proteobacteria(25.7%)发育系统关系密切的细菌为优势属。研究结果表明同时采用两种培养基有助于从太湖沉积物中分离到更多种微生物。

关键词 可培养细菌,多样性,沉积物,太湖

中图分类号:Q939 文献标识码:A 文章编号:1001-6209(2005)02-0161-05

湖泊沉积物是湖泊生态系统中物质转化的重要场所,并与水体不断发生物质交换^[1],微生物是沉积物中物质转化和物质循环的重要参与者。2002 年, Haglund 等^[2]研究发现,湖泊沉积物中细菌的代谢能力和程度远高于水体中浮游细菌,它们对湖泊生态环境发挥着重要作用,因此研究湖泊沉积物中微生物的种群结构、多样性及其生态功能对于湖泊生态系统恢复和环境治理具有重要的指导意义。

太湖是中国东部一个大型的浅水湖泊,由于人类活动的干扰,太湖的富营养化程度不断增加。1981~1991 年的 10 年间,太湖水体的总氮和总磷含量分别增加了将近 2 倍和 3 倍,湖水中藻类生物量增加了 38 倍^[3],并且在过去的几年中,蓝藻水华爆发频繁。种种现象表明,太湖生态系统的自我调节功能和自净能力正在衰退^[3]。目前的研究主要针对太湖水体或水生植物根系中一些特定微生物生理类群^[4,5],有关沉积物中微生物的多样性及其在太湖物质循环中的作用等工作尚未见报道。

稀释培养(Dilution Culture)是采用逐级稀释培养元素分离培养环境样品中细菌的研究方法^[6],早期更多地用于海水和湖泊浮游细菌的研究^[7~9]。随后人们发现采用稀释培养基同样能从土壤、湖泊沉积物中分离获得大量的微生物,包括许多在普通培

养基中未能分离获得的细菌^[10~12]。改变分离细菌所用培养基的营养物浓度,可以从环境中分离获得更多种类的细菌。本研究采用普通和稀释两种培养基,对太湖沉积物中的细菌进行分离培养,并分析菌株的 16S rDNA 的部分序列,展示太湖沉积物中细菌多样性的一个方面,为进一步研究不同种群的细菌在太湖物质循环中的作用奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 样品的采集和处理 2002 年 10 月 8~9 日采用柱式采泥器采集太湖沉积物样品,7 个采样点的分别为:T3 站(东经 120.03973;北纬 31.45296)泥水界面以下的 0~5cm(T3-0)、15~20cm(T3-1)和 20~25cm(T3-2);T4 站(东经 120.21756;北纬 31.23256)泥水界面以下的 0~5cm(T4-0)和 25~30cm(T4-2)以及 T6 站(东经 120.43592;北纬 31.03197)泥水界面以下 0~5cm(T6-0)和 15~20cm(T6-1)。采集的样品装入无菌密实袋 4℃保藏。

1.1.2 主要试剂和仪器 *Taq* DNA Polymerase (Promega 公司),PCR 仪(Biometra 公司,TGRADIENT)和凝胶成像仪(Bio-rad 公司 Gel-Doc2000)。

1.1.3 培养基 普通培养基每升含 10g 蛋白胨,5g

基金项目:中国科学院知识创新工程(KZCX1-SW-12-II-02-02)

* 通讯作者。Tel 86-10-62527118;Fax 86-10-62652317;E-mail:liusj@sun.im.ac.cn

作者简介:戴欣(1970-),女,广西柳州人,副教授,博士,研究方向为环境微生物学。E-mail:zlaixin70@sohu.com

收稿日期:2004-07-30,修回日期:2005-04-05

牛肉膏 5g NaCl pH7.0~7.2 稀释培养基为普通培养基稀释 10 倍 pH7.0~7.2。所有固体培养基中加入琼脂粉至 1.5%。

1.2 细菌计数、分离与培养

1.2.1 细菌计数:涂布平皿菌落计数参照文献[13] 30℃倒置培养 3~7d 后进行数量统计。

1.2.2 菌体的分离和培养:参照文献[13]进行,纯化后的菌种制备甘油管冻存。

1.3 细菌 16S rDNA 分析

1.3.1 DNA 提取和纯化:采用文献[14]提供的方法提取细菌 DNA。

1.3.2 16S rDNA 的 PCR 扩增及序列分析:PCR 扩增引物为 27f:5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' 和 1492r 5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3'。PCR 反应体系和反应条件参照文献[14]进行。

1.3.3 16S rDNA 序列的测定和相似性分析:扩增的 PCR 产物送上海基康公司纯化并进行 DNA 序列测定。获得的序列采用 Clustal X^[15]程序进行序列比对,相似性低于 97% 的序列登录 GenBank 数据库。

1.3.4 细菌系统进化分析:测定的序列用 BLAST 程序对 GenBank 数据库中序列进行相似性搜索,从中获取相近的典型菌株 16S rDNA 序列,用 Clustal X 程序按照最大同源性的原则进行排序,采用 Kimura-2^[16]计算核苷酸差异值,并用 Neighbor-Joining 法^[17]构建系统进化树,自展数(bootstrap)为 100。

1.3.5 细菌多样性分析:定义 16S rDNA 序列相似性小于 97% 作为不同的分类单元^[18],采用 Shannon-Wiener's 指数(以下简称 Shannon 多样性指数, H')^[19]计算多样性:

$$H' = - \sum_{i=1}^S P_i \log_2 P_i$$

式中 S 为物种(这里采用分类单元)数目, P_i 为属于种 i 的个体在全个体中的比例。

2 结果

2.1 普通培养基和稀释培养基细菌计数和分离

利用普通培养基和稀释培养基对 7 个太湖沉积物样品中的细菌进行计数,其中 6 个样品采用这两种营养物浓度不同的培养基所获得的菌落总数差异明显(表 1),在稀释培养基上形成的菌落数明显高于普通培养基上形成的菌落数,前者约为后者的 3~5 倍,差异率大于 1.0,即两种培养基获得的菌落数之差大于二者获得菌落数之和的 1/2。

表 1 普通和稀释培养基对沉积物中细菌数量的计数结果
Table 1 Bacterial populations of sediments by cultivating with diluted and un-diluted nutrient media

Sample	Number of colonies(g ⁻¹)		Ratio (B/A)	Odds [*]
	Normal medium (A)	Dilution Medium (B)		
T3-0	8.0 × 10 ⁶	3.3 × 10 ⁷	4.12	1.22
T3-1	1.0 × 10 ⁷	5.2 × 10 ⁷	5.20	1.35
T3-2	2.86 × 10 ⁶	1.48 × 10 ⁷	5.17	1.35
T4-0	1.2 × 10 ⁶	4.3 × 10 ⁶	3.58	1.13
T4-2	3.6 × 10 ⁶	1.11 × 10 ⁷	3.08	1.02
T6-0	2.96 × 10 ⁷	4.0 × 10 ⁷	1.35	0.30
T6-1	5.5 × 10 ⁵	3.4 × 10 ⁶	6.18	1.44

^{*} Odds = 2(B - A) / (B + A) .

利用普通培养基和稀释培养基分别分离纯化 94 株和 70 株细菌,扩增它们的 16S rDNA,测定其 5' 端约 500bp 的序列,该序列包含 16S rDNA 中 C1 和 C2 保守区以及 D1 和 D2 高变区。将获得的序列通过 BLAST 对 GenBank 数据库中序列进行相似性比对。结果表明(表 2),除 1 株细菌(菌株 TH-H22)外,所有分离自普通培养基的细菌均与数据库中的已知细菌 16S rDNA 具有较高的相似性(≥97%),分离自稀释培养基的细菌中,有 5 株菌与目前已知细菌 16S rDNA 的相似性只有 94%~95%。

表 2 分离菌株 16S rDNA 序列相似性分析

Table 2 Analysis of partial 16S rRNA gene sequences of isolates from sediments of Taihu Lake

Normal nutrient medium			Dilution nutrient medium		
Nearest related genus	No of isolates	Identity /%	Nearest related genus	No of isolates	Identity /%
<i>Pseudomonas</i>	32 [*]	97~100	<i>Pseudomonas</i>	8 [*]	99~100
<i>Bacillus</i>	20 [*]	97~100	<i>Bacillus</i>	18 [*]	99~100
<i>Arthrobacter</i>	13 [*]	98~99	<i>Arthrobacter</i>	11 [*]	99
<i>Rhodococcus</i>	5	99	<i>Rhodococcus</i>	6 [*]	99
<i>Kocuria</i>	2	99	<i>Kocuria</i>	1	100
<i>Vogesella</i>	4	98	<i>Vogesella</i>	4	98
<i>Herbaspirillum</i>	4	99	<i>Herbaspirillum</i>	1	99
<i>Ensifer</i>	2	99	<i>Brevundimonas</i>	5	99
<i>Sphingopyxis</i>	1	96	<i>Methylobacterium</i>	2	95
<i>Blastomonas</i>	1	100	<i>Agrobacterium</i>	1	100
<i>Variovorax</i>	1	99	<i>Roseomonas</i>	1	94
<i>Neisseria</i>	3	99	<i>Novosphingobium</i>	4 [*]	96~98
<i>Comamonas</i>	1	99	<i>Sphingomonas</i>	2 [*]	97~98
<i>Psychrobacter</i>	1	100	<i>Frateria</i>	2	95
<i>Microbacterium</i>	2 [*]	97~99	<i>Acinetobacter</i>	1	99
<i>Micrococcus</i>	1	99	<i>Brevibacterium</i>	1	98
<i>Exiguobacterium</i>	1	100	<i>Chryseobacterium</i>	1	97
			<i>Pedobacter</i>	1	98
Total	94		Total	70	

^{*} Include more than one taxon.

定义 16S rDNA 序列相似性低于 97% 时作为不同分类单元进行多样性计算,结果表明分离得到的 164 株细菌,可分为 43 个不同的分类单元,Shannon 多样性指数为 4.66。其中分离自普通培养基的 94 株细菌分为 28 个不同的分类单元,Shannon 多样性指数为 4.29;分离自稀释培养基的 70 株细菌,也划分为 28 个不同的分类单元,Shannon 多样性指数为 4.36,略高于普通培养基获得的多样性。

2.2 基于普通培养基分离细菌的系统发育分析

基于普通培养基分离细菌的 16S rDNA 序列基础上的系统发育分析结果(图 1)表明,这些细菌主要属于 γ -Proteobacteria(33 株)、Actinobacteria(23 株)和 Firmicutes(21 株)3 大类群,分别占分离菌株的 35.1%、24.5% 和 22.3%。此外,还获得了 13 株(13.8%) β -Proteobacteria 类群的细菌和 4 株(4.3%) α -Proteobacteria 类群的细菌。

属于类群 γ -Proteobacteria 的 33 株细菌中,32 株在细菌系统学与假单胞菌属(*Pseudomonas*)关系密切,16S rDNA 序列相似性为 97.9%~100%(表 2),成为普通培养基分离获得的最优势细菌;属于类群 Firmicutes 的 21 株细菌中,20 株细菌与芽孢杆菌属(*Bacillus*)系统关系密切,16S rDNA 序列相似性介于 97.9%~100%之间,成为分离得到的第二大优势的细菌。第三优势细菌为与 Actinobacteria 类群中节杆菌属(*Arthrobacter*)关系密切的 13 株细菌,16S rDNA 序列之间的相似性达 99.8%。这一结果,与传统获得的 *Pseudomonas*、*Bacillus* 和 *Arthrobacter* 是土壤、沉积物等自然环境中最常获得分离培养的细菌种类的研究结果是一致的。

2.3 基于稀释培养基分离细菌的系统发育分析

基于稀释培养基分离细菌的 16S rDNA 序列基础上的系统发育分析结果(图 2)表明,稀释培养基上分离得到的细菌主要属于 Actinobacteria(19 株)、Firmicutes(18 株)、 α -Proteobacteria(15 株)和 γ -Proteobacteria(11 株)四大类群,分别占分离菌株的 27.1%、25.7%、21.4% 和 15.7%。还获得了 5 株(7.2%) β -Proteobacteria 类群的细菌和 2 株(2.9%)CFB(Cytophaga/Flexibacteria/Bacteroides)类群的细菌,后者在普通培养基中并未分离获得。Firmicutes 类群的 18 株细菌,系统学上均与 *Bacillus* 属关系密切,16S rDNA 序列相似性为 99.8~100%,成为稀释培养分离菌株中的优势细菌。其中的 16 株与分离自普通培养基的 *Bacillus* 细菌序列一致;Actinobacteria 类群的 19 株细菌,11 株系统学上与 *Arthrobacter* 属

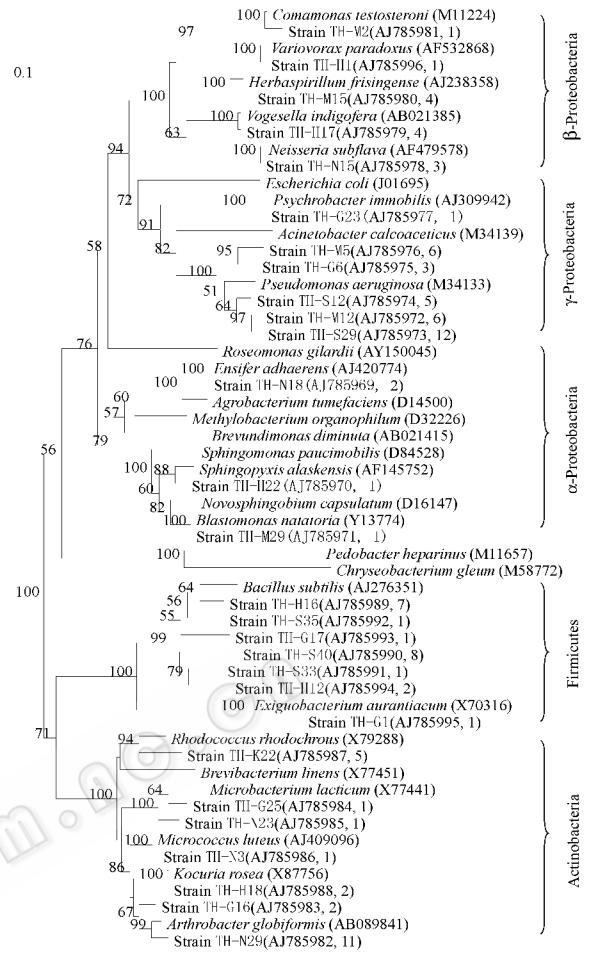


图 1 根据分离自普通培养基的细菌 16S rDNA 序列构建的系统发育树

Fig.1 Dendrogram for strains isolated normal nutrient medium based on partial 16S rRNA gene sequences
Data in parentheses are the GenBank accession numbers and the number of isolates represented by this strain. *Aquifex pyrophilus* (M83548) was used as outgroup. The scale bar indicates 0.1 substitutions per nucleotide position. Seqboot values were showed on the branches.

关系密切,16S rDNA 序列相似性为 99.8~100%,它们均与分离自普通培养基的 *Arthrobacter* 类细菌 16S rDNA 序列一致;此外,两种培养基上获得的大部分 *Rhodococcus* 类细菌的 16S rDNA 也是一致的。11 株 γ -Proteobacteria 类群的细菌有 8 株在普通培养基上都分离得到,与它们 16S rDNA 最相似的是 *Pseudomonas* 属中的细菌。此外,5 株 β -Proteobacteria 类群细菌在普通培养基中也已获得分离培养(表 2)。

2.4 太湖沉积物细菌多样性

从太湖沉积物中分离得到的 164 株细菌,与 *Pseudomonas*、*Bacillus*、*Arthrobacter* 和 *Rhodococcus* 系统关系密切的 4 个优势属,在普通培养基和稀释培养基中都获得了分离培养,与 *Vogesella* 属、草螺菌

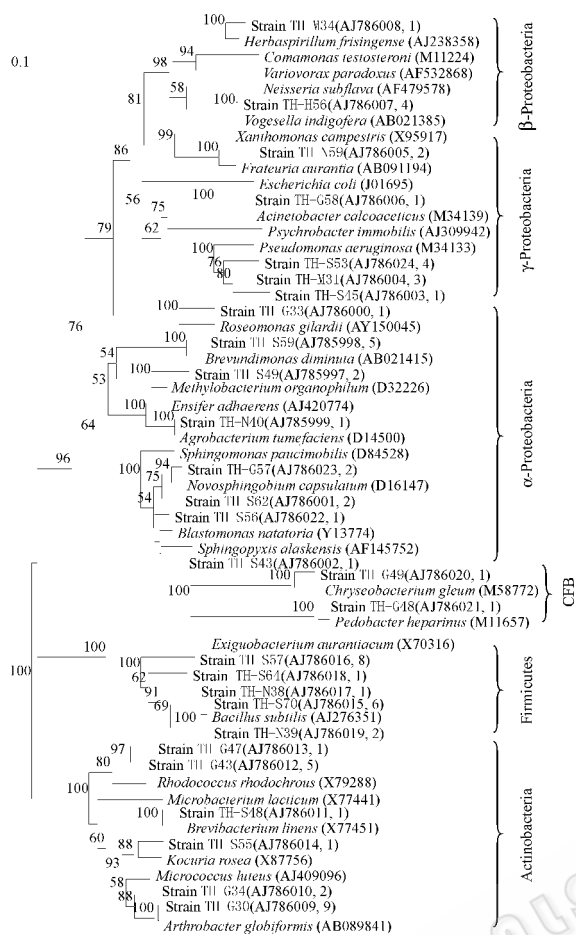


图2 根据分离自稀释培养基的细菌 16S rDNA 序列构建的系统发育树

Fig.2 Dendrogram for strains isolated from diluted nutrient medium based on partial 16S rRNA gene sequences
Data in parentheses are the GenBank accession numbers and the number of isolates represented by this strain. *Aquifex pyrophilus* (M83548) was used as outgroup. The scale bar indicates 0.1 substitutions per nucleotide position. Seqboot values were showed on the branches.

属(*Herbaspirillum*)以及 *Kocuria* 属系统关系密切的细菌也从两种培养基中分离得到。从普通培养基中分离获得了与剑菌属(*Ensifer*)嗜冷杆菌属(*Psychrobacter*)和贪噬菌属(*Varovorax*)等在普通沉积物环境中少见报道的属种相关的细菌 ;从稀释培养基分离获得与鞘氨醇单胞菌属 *Sphingomonas*(包括 *Novosphingobium*)短波单胞菌属(*Brevundimonas*)系统关系密切的细菌 ,以及与甲基杆菌属(*Methylobacterium*) 弗拉特氏菌属(*Frateuria*) *Pedobacter* 属、 *Chryseobacterium* 属等等系统关系密切的属种。以上结果表明 ,太湖沉积物中呈现丰富的细菌多样性。

3 讨论

稀释培养基获得细菌的系统类群与普通培养基

获得的最大不同在于 稀释培养基分离获得了 15 株 α -Proteobacteria 类群的细菌 ,属于 8 个不同的属种 ;而普通培养基的分离菌株只有 4 株细菌属于该类群 ,属于 3 个不同属种。分离自不同的培养基的 α -Proteobacteria 细菌间的 16S rDNA 序列相似性低于 97% ,说明不同培养基获得的 α -Proteobacteria 类群细菌不同。从分离的菌株系统发育类群看 ,稀释培养基比普通培养基能更有效地将太湖沉积物中 α -Proteobacteria 和 CFB 类群的细菌分离出来(表 2)。

虽然利用稀释培养基上可以分离得到数量多于普通培养基的细菌 ,但是这些在稀释培养基平板上形成单菌落的细菌中有一部分细菌独特 ,如生长缓慢 ,菌落微小 ,并且不易传代培养 ,在进一步的分离纯化过程中死亡 ,因此最后分析来自稀释培养基的细菌数量(70 株)少于来自普通培养基的细菌数(94 株)。这些尚未最终获得纯化的细菌究竟代表哪些类群 ,它们的生理生化特点如何 ,都有待采用新的分离和培养方法去探索。

研究表明 ,尽管分析来自稀释培养基的菌株数量少于普通培养基的菌株数 ,但前者计算得到的多样性指数与后者基本一致 ,二者获得的细菌 50% 以上的分类单元不同。其中被认为是土壤、湖泊和海洋水体中优势类群的 α -Proteobacteria^[20] ,原来在沉积物中较少见报道 ,稀释培养的结果表明它们在沉积物中数量和种类非常丰富 ,稀释培养基对高(G + C)mol% 的 Actinobacteria 也获得了很好的分离效果 ,这与其他采用稀释培养分离浮游细菌获得的结果是一致的^[9 21]。

同样普通培养基上获得的 β -Proteobacteria 类群的细菌 ,在稀释培养基上只获得了其中的 2 个属种共 5 株细菌 ,但已有的研究证明 , β -Proteobacteria 不仅在不依赖培养方法构建的 16S rDNA 克隆文库中占有相当的比例 ,也是湖泊沉积物中可培养细菌的优势类群^[12]。因此 ,稀释培养方法能分离获得一些采用普通培养基无法分离得到的细菌 ,但不能取代普通培养基 ,对于太湖这样易受人类活动干扰的浅水湖泊 ,结合营养丰富的普通培养基和贫营养的稀释培养基对其微生物进行研究 ,能反映出更丰富的多样性 ,更好地为进一步研究微生物在太湖富营养化过程中的作用和将来的生物修复工作奠定基础。

参 考 文 献

[1] 秦伯强 胡维平 高 光 ,等. 太湖沉积物悬浮的动力机制及内源释放的概念性模式. 科学通报, 2003, 48(17):1822 - 1831
© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

- [2] Haglund A L , Tornblom E , Bostrom B , *et al.* Large differences in the fraction of active bacteria in plankton , sediments , and biofilm. *Microbial Ecology* , 2002 , **43** :232 – 241 .
- [3] 袁旭音 , 陈 骏 , 陶于祥 , 等 . 太湖北部底泥中氮、磷的空间变化和环境意义 . 地球化学 2002 , **31** (4) :321 – 328 .
- [4] 王国祥 , 濮培民 , 黄宜凯 , 等 . 太湖反硝化、硝化、亚硝化及氨化细菌分布及其作用 . 应用与环境生物学报 , 1998 , **2** (2) :190 – 194 .
- [5] 周子元 , 罗 屿 , 马文漪 , 等 . 太湖中 4 种细菌的分离、鉴定及生长曲线的测定 . 湖泊科学 , 1998 , **10** (4) :60 – 62 .
- [6] Button D K , Schut F , Quang P , *et al.* Viability and isolation of typical marine oligobacteria by dilution culture :theory , procedures and initial results . *Appl Environ Microbiol* , 1993 , **59** :881 – 891 .
- [7] Schut F , Egbert J de Vries , Gottschal J C , *et al.* Isolation of typical marine bacteria by dilution culture :growth , maintenance , and characteristics of isolates under laboratory conditions . *Appl Environ Microbiol* , 1993 , **59** :2150 – 2160 .
- [8] Cho J C , Giovannoni S J . Cultivation and growth characteristics of a diverse group of oligotrophic marine gamma proteobacteria . *Appl Environ Microbiol* , 2004 , **70** :432 – 440 .
- [9] Pinhassi J , Berman T . Differential growth response of colony-forming α - and γ -proteobacteria in dilution culture and nutrient addition experiments from Lake Kinneret (Israel) , the Eastern Mediterranean Sea , and the Gulf of Eilat . *Appl Environ Microbiol* , 2003 , **69** :199 – 211 .
- [10] Janssen P H , Yates P S , Grinton B E , *et al.* Improved culturability of soil bacteria and isolation in pure culture of novel members of the divisions Acidobacteria , Actinobacteria , Proteobacteria , and Verrucomicrobia . *Appl Environ Microbiol* , 2002 , **68** :2391 – 2396 .
- [11] Joseph S J , Hugenholtz P , Sangwan P , *et al.* Laboratory cultivation of widespread and previously uncultured soil bacteria . *Appl Environ Microbiol* , 2003 , **69** :7210 – 7215 .
- [12] Spring S , Schulze R , Overmann J , *et al.* Identification and characterization of ecologically significant prokaryotes in the sediment of freshwater lakes :molecular and cultivation studies . *FEMS Microbiol Rev* , 2000 , **24** :573 – 590 .
- [13] 俞毓馨 , 吴国庆 , 孟宪庭 . 环境工程微生物检验手册 . 北京 : 中国环境科学出版社 , 1990 .
- [14] 东秀珠 , 蔡妙英 . 常见细菌系统鉴定手册 . 北京 : 科学出版社 , 2001 :399 – 412 .
- [15] Thompson J D , Gibson T J , Plewniak F . The ClustalX windows interface :flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools . *Nucleic Acids Research* , 1997 , **24** :4876 – 4882 .
- [16] Kimura M . A simple method for estimating evolutionary rates base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences . *J Mol Evol* , 1980 , **16** :111 – 120 .
- [17] Saitou N , Nei M . The neighbor-joining method :a new method for reconstructing phylogenetic trees . *Mol Biol Evol* , 1987 , **4** :406 – 425 .
- [18] McCaig A E , Glover L A , Prosser J I . Molecular analysis of bacterial community structure and diversity in unimproved and improved upland grass pastures . *Appl Environ Microbiol* , 1999 , **65** :1721 – 1730 .
- [19] Hill T C J , Walsh K A , Harris J A . Using ecological diversity measures with bacterial communities . *FEMS Microbiol Ecology* , 2003 , **43** :1 – 11 .
- [20] Gonzalez J M , Moran M A . Numerical dominance of a group of marine bacteria in the α -subclass of the class *Proteobacteria* in coastal seawater . *Appl Environ Microbiol* , 1997 , **63** :4237 – 4242 .
- [21] Mergaert J , Verhelst A , Cnockaert M C , *et al.* Characterization of facultative oligotrophic bacteria from polar seas by analysis of their fatty acids and 16S rDNA sequences . *Syst Appl Microbiol* , 2001 , **24** (1) :98 – 107 .

Bacterial diversity in the sediments of Taihu Lake by using traditional nutrient medium and dilution nutrient medium

DAI Xin WANG Bao-jun HUANG Yan ZHANG Ping LIU Shuang-jiang*

(Institute of Microbiology , Chinese Academy of Sciences , Beijing 100080 , China)

Abstract : Bacterial diversity in the sediments of Taihu Lake was studied by using traditional nutrient medium (NM) and 10-fold dilution of traditional nutrient medium (DNM). Results showed that the amount of the bacteria cultured on DNM was 3 ~ 5 times higher of those on NM. The similarities of 16S rRNA gene sequences (about 500bp of 5'-end) of 164 isolates were analyzed. The results indicated that the different concentrations of nutrient medium did have effects on the dominant bacteria. On traditional nutrient medium , the dominant bacterial groups were γ -Proteobacteria (35.1%) , Actinobacteria (24.5%) and Firmicutes (22.3%). Most of the bacteria isolated from NM were closely related to genera *Pseudomonas* , *Bacillus* and *Archrobacter* . However , the dominant bacterial groups isolated from DNM were Actinobacteria (27.1%) , Firmicutes (25.7%) , α -Proteobacteria (21.4%) and γ -Proteobacteria (15.7%). *Bacillus*-related strains were predominant bacteria. The conclusion is that using different concentration media will assist to isolate more and comprehensive bacteria from the sediments of Taihu Lake.

Key words : Bacterial diversity , 16S rRNA gene , Sediment , Taihu Lake