

北极太平洋扇区海洋沉积物细菌多样性的系统发育分析

李会荣¹, 俞 勇¹, 曾胤新¹, 陈 波¹, 任大明²

(¹ 国家海洋局极地科学重点实验室 中国极地研究中心 上海 200136)

(² 复旦大学遗传学研究所 遗传工程国家重点实验室 上海 200433)

摘 要 对北极太平洋扇区 3 个不同深度的海洋沉积物样品,采用 PCR 结合变性梯度凝胶电泳(DGGE)技术进行细菌 16S rRNA 基因 V3 区序列的系统发育分析。结果表明,同一个沉积物样品不同层次的 DGGE 电泳图谱不完全相同。从 3 个沉积物样品中共获得 50 条序列,大部分序列与从海洋环境尤其海洋沉积物获得的细菌 16S rDNA 序列相似性较高(88%~100%),归属于变形细菌(Proteobacteria)的 gamma 亚群、alpha 亚群、beta 亚群、epsilon 亚群、delta 亚群、*Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides*(CFB)群细菌和高 G+C 含量的革兰氏阳性细菌等系统分类群,其中变形细菌(Proteobacteria)的 gamma 亚群为沉积物中的优势细菌类群。

关键词 北极太平洋扇区 沉积物 细菌 系统发育

中图分类号:Q938.Q939 文献标识码:A 文章编号:0001-6209(2006)02-0177-07

在海洋底下是一个具有不同深度、温度和压力范围的沉积环境,却生存着大量的细菌和古细菌。据估计,地球上约 70% 微生物可能深埋在洋底的沉积物和地壳中^[1]。过去的 10 年中,ODP(Ocean Drilling Program)的初步研究结果表明,原先认为贫瘠的洋中脊、深海沉积物(深度可达洋底以下 800 米)中都活跃着大量的微生物^[2]。为了全面反映各种海底沉积物微生物多样性,科学家们广泛采用基于 16S rDNA 序列分析的方法进行研究^[3-6]。越来越多的证据表明,这些生态系统中生存着多种细菌和古菌,而且在大多数情况下,这些细菌序列与培养获得的分离株序列间相关性较远^[7-9],可能是海洋中尚未培养的新的细菌种属。随着研究的深入,人们发现这些生活在海底沉积物中的微生物在海洋生态系统的生物地化循环中起着重要作用。

目前,绝大部分海洋沉积物微生物多样性的研究主要集中在日本附近的海域^[10-12]、马里亚纳海沟(Mariana Trench)^[13]、海底“热液”(hydrothermal vents)、“冷泉”(cold seep)^[14-18]等生境中并获得了许多研究成果。极地海洋因其独特的地理位置具有与温带、热带海洋不同的特点,因此就会有这样的疑问:生活在终年寒冷的海洋底下沉积物微生物是否与温带、热带海洋沉积中的有所不同?但是对极地海洋沉积

物微生物多样性开展的相关研究较少,因此在本研究中,采集北极太平洋扇区(Pacific Arctic)3 个不同深度的海洋沉积物样品,提取各层次沉积物中的总 DNA,采用 PCR-DGGE 方法对海洋沉积物中主要细菌类群组成进行分析。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 样品采集 2003 年中国第二次北极科学考察航次获得的北极太平洋扇区海洋沉积柱状样品 B78、P24 和 S11。采用多管采泥器或箱式采泥器,分别采集 3 个站位(海水深度不同)表层(约 35cm)海洋沉积物样品,现场按 4cm 或 5cm 的间隔进行分层,装入无菌塑料袋中,于 4℃ 下保存,冷藏运输。具体采集时间地点及样品描述见下页表 1。

1.1.2 主要试剂和仪器 Ultra Clean Soil DNA Kit 和 Ultra Clean Mega Prep AS Soil DNA Kit(MoBio,美国);Taq 酶(Promega,德国);pMD18-T(TaKaRa,日本);少量 DNA 胶回收试剂盒(上海华舜生物工程有限公司);ASTEC PC-801 PCR 仪(ASTEC,日本);小型台式高速离心机(Eppendorf,德国);D-code System(Bio-Rad,美国);FR-200 紫外与可见分析装置(上海复日科技);测序仪 ABI 377(ABI,美国)。

基金项目:国家 973 项目(2004CB719601);中国极地研究中心极地科学青年创新基金(JDQ200401);科技部基础研究专项基金项目(2003DEB5J057)

作者简介:李会荣(1972-),女,云南人,副研究员,主要从事海洋与极地细菌多样性的研究。E-mail:lihuirong72@163.com

收稿日期:2005-07-29;接受日期:2005-09-07;修回日期:2005-12-23

表 1 沉积物样品描述

Table 1 Characterization of sediments

Sample	Time	Longitude	Latitude	Depth/m	Characteristics of sediments
B78 5cm/layer 6 layers	2003-08-28	147°01'41"W	78°28'43"N	3850	Grey ooze. The surface layer (1cm) was half-fluidic siliceous ooze with less viscosity. The lower layer was caesious ooze without gravel and organisms. Sampling equipment, box corer, Depth, 34cm.
P24 4cm/layer 7 layers	2003-09-05	158°43'16"W	77°48'38"N	1819	Brown arenaceous ooze. The surface layer (2cm) was mud scum. The color of sample changed from surface to the lower (beige to puce). Sampling equipment: Gravity multitube corer, Depth 35cm.
S11 4cm/layer 7 layers	2003-8-17	159°00'00"W	72°29'24"N	47	Grey clay. The surface layer (0~5cm) was mud scum, the lower layer was fuscous and compact with a few gravel and organisms. Sampling equipment, box corer; Depth, 35cm.

1.2 总 DNA 提取和 PCR 扩增

1.2.1 总 DNA 提取: 无菌称取湿重 0.7g 或 10g 海洋沉积物样品, 采用 Ultra Clean Soil DNA Kit 和 Ultra Clean Mega Prep Soil DNA Kit (仅用于抽提 B78 站位样品), 按照生产商提供的方法进行 DNA 抽提, 获得 DNA 样品可直接进行 PCR 扩增。

1.2.2 16S rDNA 全长序列 PCR 扩增: 参照 Bosshard 等^[19]的方法进行。细菌通用引物序列如下: 8f: 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' 和 1492r: 5'-GGTACC TTGTTACGACTT-3', 产生相应于大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 16S rDNA 序列核苷酸位置 8 到 1510 的 PCR 产物。

1.2.3 16S rDNA V3 区 PCR 扩增: 参照 Muyzer 等^[20]方法进行。引物的序列如下: 341f (5'-CGCCC GCCGCGCGCGCGGGCGGGCGGGGACGCGGGG CCTAGGGGAGGCAGCAG-3') 和 534r (5'-ATTACCGC GGCTGCTGG-3'), 产生相应于大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 16S rDNA 序列核苷酸位置 341 到 534 的 PCR 产物(下划线处为 GC 钳序列)。以 1 μ L 16S rDNA 全长序列 PCR 产物作为模板进行 PCR 扩增。

1.3 DGGE 分析

1.3.1 DGGE 分离: 200 μ L 16S rDNA V3 区 PCR 产物经 2.5 倍体积冰乙醇沉淀浓缩后, 溶解于 40 μ L 无菌水, 用 Bio-Rad 公司 D-code System 电泳仪进行 DGGE 电泳分离。制备变性梯度凝胶, 使 PAGE 胶浓度为 8%, 变性梯度 30%~60% (7mol/L 尿素和 40% 甲酰胺为 100% 变性), 电泳缓冲液为 1 \times TAE, 20 μ L PCR 产物在 60 $^{\circ}$ C, 150V 条件下电泳 4h, 溴乙锭染液中染色 15min, 紫外与可见分析装置下进行拍照。

1.3.2 DGGE 条带的切割和 DNA 回收: 从凝胶上小心切下 DGGE 条带(一般同一位置的条带割一条), 放入无菌 1.5mL 离心管中, 加入 20 μ L 无菌水, -20 $^{\circ}$ C 过夜。次日, 12000 \times g 离心 1min, 收集上清, 以此作为模板进行 16S rDNA V3 区 PCR 扩增, 条件同 1.2.3。

1.4 连接、转化以及序列测定

再次 PCR 的产物经小量 DNA 胶回收试剂盒纯化后, pMD18-T 载体连接, 转化 *E. coli* Top10 感受态细胞, 蓝白斑筛选。挑取白斑, 采用 T 载体通用引物进行扩增, 琼脂糖电泳检测插入片段的大小, 将含有合适片段大小的菌株进行测序。测序工作由上海生物工程技术有限公司完成。

1.5 构建系统发育树

测序获得的 16S rDNA 序列上网进行 BLAST 比对 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), 每条序列与 BLAST 获得 2 条相似性较高的序列应用 CLUSTALX1.8 进行匹配比对, 然后用 PHYLIP 多功能软件包中的 SEQBOOT、DNADIS、NEIGHBOR-JOINING 以及 CONSENSE 软件构建系统发育树。

2 结果

2.1 海洋沉积物 DNA 及细菌特异性 PCR 扩增

采用土壤 DNA 抽提试剂盒, 从 3 个海洋沉积物 (B78、S11 和 P24) 的不同分层样品中都获得了可直接进行 PCR 扩增的总 DNA, DNA 片段大小主要集中在 21kb 左右。通过细菌特异性引物进行 PCR 扩增得到 16S rDNA 全长和 V3 区序列, 扩增所产生的 DNA 片段均为单一条带, 片段大小分别为约 1.5kb 和 250bp, 表明扩增产物无明显非特异性扩增现象。

2.2 16S rDNA V3 区特征片段 DGGE 指纹图谱

从图 1 可看出, 同一海洋沉积物的各分层样品中细菌 16S rDNA V3 区特征片段经 DGGE 分离, 获得的可分辨电泳条带数目和位置不完全相同。这说明同一海洋沉积物的各分层样品中的细菌组成不同。总的来说, P24 和 S11 海洋沉积物细菌的 16S rDNA 特征片段 PCR 产物经 DGGE 电泳分离后 (图 1-B, C), 能检测到的条带较多 (约 10 条或 10 条以上); 而站位 B78 各层次沉积物中, 能检测到的条带较少 (5~10 条之间) (图 1-A)。许多 DGGE 条带较弱, 可能是由于模板浓度相对较低造成的。

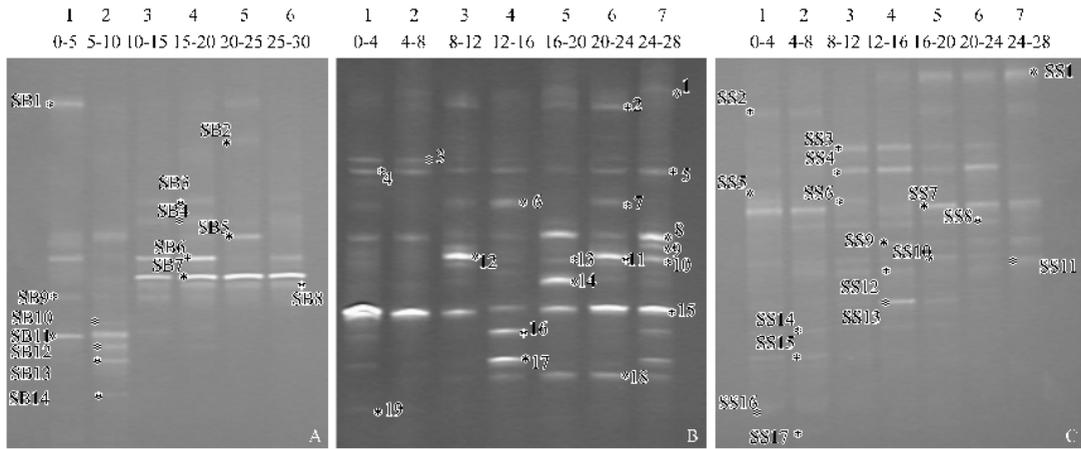


图1 表层沉积各分层样品中细菌 16S rDNA V3 区片段的 DGGE 图谱

Fig.1 DGGE profiles of PCR amplified 16S rDNA V3 region fragments from sediment B78. The bands marked with * were excised.
A: B78 B: P24 C: S11.

2.3 细菌 16S rDNA 序列分析

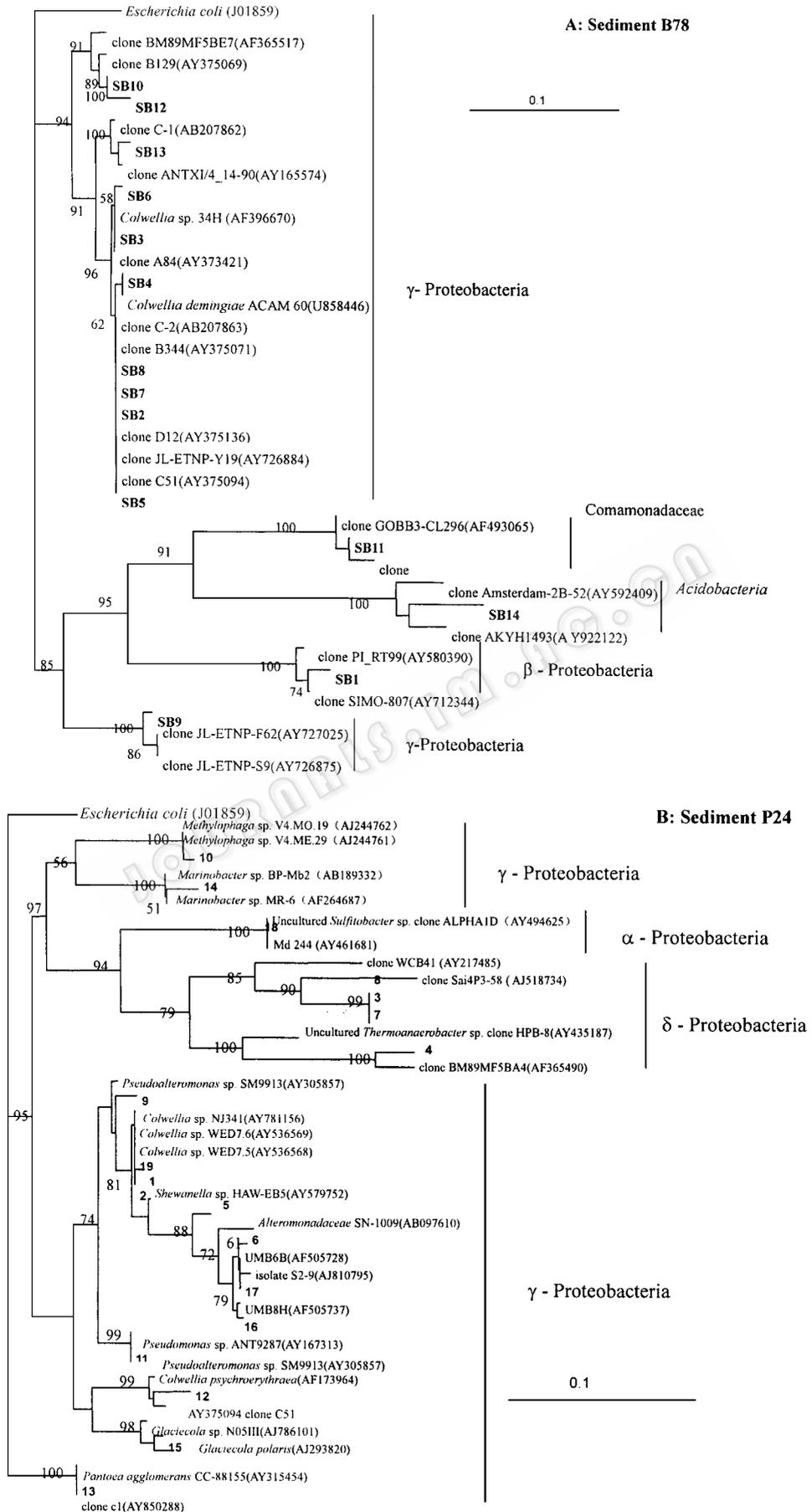
细菌 16S rDNA V3 区特征片段经 DGGE 分离,切割可分辨的电泳条带进行序列测定和分析,获得的序列大小在 169 ~ 195bp 范围内。3 个沉积物样品中切割 DGGE 条带并获得相应的 16S rDNA 序列共 50 条,经分析后,分别归属于变形细菌 (Proteobacteria) 的 gamma 亚群、alpha 亚群、beta 亚群、epsilon 亚群、delta 亚群, *Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides* (CFB) 群细菌和高 G + C 含量的革兰氏阳性细菌等系统分类群(见后面的图 2)。

2.3.1 沉积物样品 B78: 切割凝胶中的 DGGE 条带共 14 条,经序列测定后都能获得序列,比对后与数据库中的已知克隆序列具有较高的相似性(92% ~ 100%)。从获得序列与来自数据库的参比序列构建系统发育树(图 2-A)可看出,这些序列分属于变形细菌 (Proteobacteria) 的 gamma、beta 亚群,丛毛单胞菌科 (Comamonadaceae) 和酸杆菌属 (*Acidobacteria*),其中 γ -Proteobacteria 占绝对优势(11 条,占 78.5%)。除 SB4 序列与 γ -Proteobacteria 的科尔韦氏菌属 (*Colwellia*)、SB9 序列与嗜脂肪烃菌属 (*Alcanivorax*) 具有较高的相似性外,其它 10 条序列 (SB2、SB3、SB5、SB6、SB7、SB8、SB10、SB12 和 SB13) 皆与直接从环境样品中克隆获得的 Proteobacteria 的 gamma 亚群序列相关性较高。另外,SB11 和 SB14 序列分别与丛毛单胞菌科 (Comamonadaceae) 和酸杆菌属 (*Acidobacteria*) 的未培养序列相近。

2.3.2 沉积物样品 P24: 切割凝胶中的 DGGE 条带共 19 条,经序列测定后都能获得序列,绝大部分与数据库中的已知培养细菌的序列具有较高相似性

(88% ~ 100%)。如系统发育树(图 2-B)所示,这些序列分别属于 α -Proteobacteria, γ -Proteobacteria 和 δ -Proteobacteria 分类群,其中 γ -Proteobacteria 占绝对优势(73.7%)。14 条序列分别归属于 Proteobacteria 的 gamma 亚群的嗜甲基菌属 (*Methylophaga*)、假交替单胞菌属 (*Pseudoalteromonas*)、科尔韦氏菌属 (*Colwellia*)、海杆菌属 (*Marinobacter*)、希瓦氏菌属 (*Shewanella*)、交替单胞菌属 (*Alteromonas*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、*Glaciacola* 和泛菌属 (*Pantoea*)。此外,条带 4 序列与 δ -Proteobacteria 分类群中热厌氧杆菌属 (*Thermoanaerobacter*) 的未培养序列具有较高的相似性,而条带 18 序列则与 α -Proteobacteria 亚群中 *Sulfuobacter* 的未培养序列较相近。

2.3.3 沉积物样品 S11: 切割凝胶中的 DGGE 条带共 17 条,经序列测定后都能获得序列。测序获得的序列与数据库中从海洋环境尤其是海洋沉积环境样品中直接获得的序列具有较高的相似性(92% ~ 100%)。获得序列与数据库中参比序列构建系统发育树(图 2-C),这些序列分别归属于变形细菌 (Proteobacteria) 的 alpha, gamma, delta 和 epsilon 亚群,CFB 群(噬纤维菌-黄杆菌-拟杆菌群, *Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides*) 和放线细菌 (Actinobacteria) 分类群(高 G + C 含量的革兰氏阳性细菌)。其中,SS2 序列与黄杆菌属 (*Flavobacteria*) 细菌序列具有较高的相似性(97%),SS10 和 SS11 分别归属于 Proteobacteria 的 gamma 亚群的嗜脂肪烃菌属 (*Alcanivorax*) 和海杆菌属 (*Marinobacter*)。SS16 序列与分枝杆菌属 (*Mycobacteria*) 细菌的克隆有较高的相



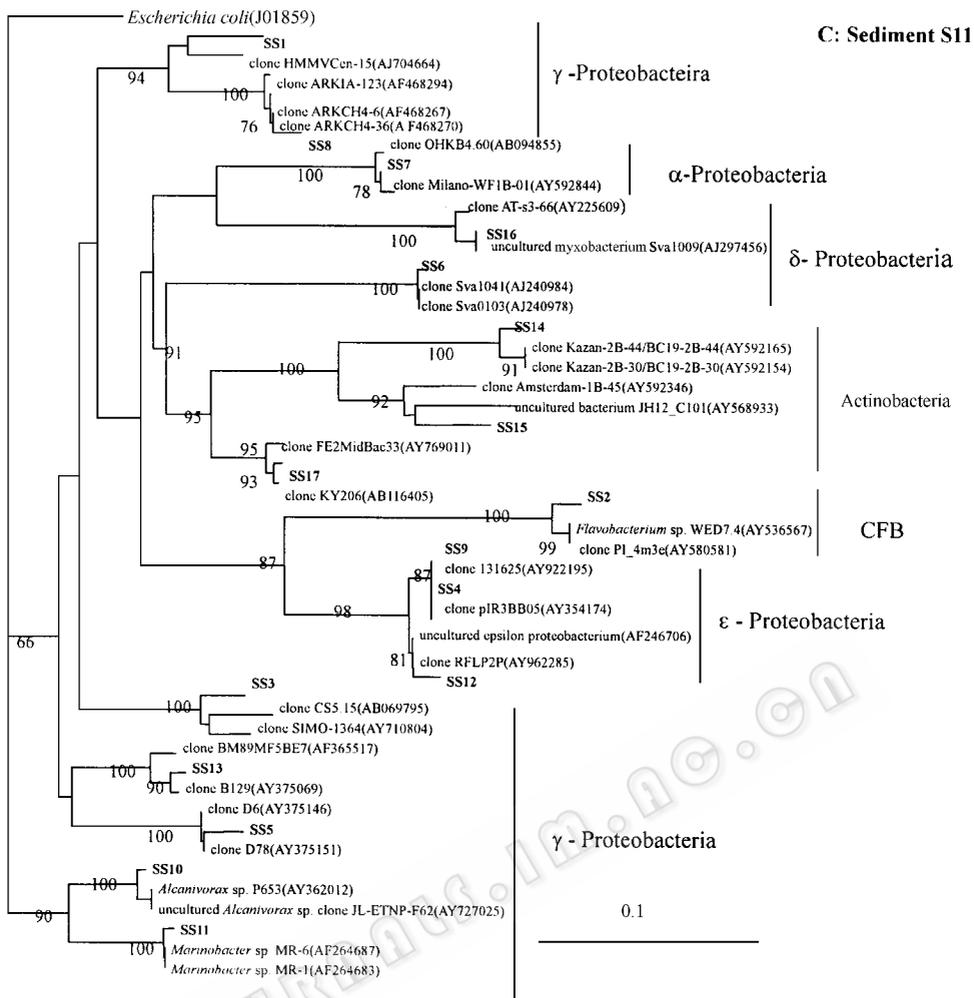


图2 海洋沉积物细菌 16S rDNA 序列以及数据库中参比序列构建的系统发育树

Fig.2 Phylogenetic relationships of bacterial 16S rDNA sequences from the sediments to closely related sequences from GenBank. The trees were constructed by using Jukes-Cantor distances and the neighbor-joining method, with *E. coli* (J01859) as the out group. Sequences from this study are in boldface type. The numbers in parentheses are accession numbers of sequences. Bootstrap values of > 55% (of 100 iterations) are shown. Scale bars indicate 0.1 nucleotide substitution per sequence position. A: B78; B: P24; C: S11.

似性,而 SS14, SS15 和 SS17 与放线细菌 (Actinobacteria) 亚群的未培养序列相似性最高。

3 讨论

采用 PCR-DGGE 方法,对北极太平洋扇区 3 个不同深度的海洋沉积物分层样品进行细菌 16S rDNA 序列系统发育分析。结果表明,在这 3 个沉积物样品中 γ -Proteobacteria 亚群为优势菌群。这一结论与其他太平洋海洋沉积物细菌多样性研究结果较为一致。曾润颖等^[5]发现西太平洋“暖池”区海洋沉积物的细菌分别属于 8 个主要类群,其中 γ -Proteobacteria 亚群为各个层次中的优势菌群,而科尔韦氏菌属 (*Colwellia*) 为优势种属。构建太平洋帕里西维拉 (Parece Vela) 海盆 5010 米深处底泥的细菌 16S rDNA 基因文库,测序结果表明大部分序列与已知细菌类

群的 16S rDNA 序列相似性较高,归属于 γ -Proteobacteria 亚群的细菌为优势类群^[6]。Li 等^[10,11]报道在分析的沉积物样品中以假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 为优势种属的 γ -Proteobacteria 亚群都有分布。Newberry 等^[9]对日本 Nankai 海槽 (Nankai Trough) 4700 多米水下深海沉积样 (ODP Leg 190) 的 16S rDNA 基因克隆库进行分析,发现有很多的未培养的细菌和古细菌,其中有 53% 的序列在细菌中占绝对优势,作者认为是一类未培养的深海沉积群 (uncultured and deeply branching deep sediment group); 其次就是 γ -Proteobacteria 亚群占优势。而 Llobet-Brossa 等^[21]和 Ravensschlag 等^[22,23]采用荧光原位杂交方法分析北大西洋海底沉积物中微生物群落组成,发现在 Wedden Sea 和北极 Salbard 群岛的海洋沉积物表层 5cm 样品中,除 δ -变形细菌的硫酸盐还原菌

外,CFB 中是优势菌群。此外 γ -变形细菌中的成员也是沉积中的重要组成。这可能是由于地理位置不同,微生物群落中优势类群也就不同,也可能是因为他们只分析了表面 5cm 的样品所造成的。值得注意的是,Nercessian 等^[14]采用 16S rRNA 基因文库方法发现在大西洋中脊 Rainbow 烟囱(Rainbow vent)海底沉积物中却是 γ -Proteobacteria 亚群为优势菌群。因此,可以认为 γ -Proteobacteria 亚群是大西洋和太平洋海洋沉积物中细菌的主要组成部分,尤其是太平洋海洋沉积物细菌中的优势类群。

尽管北极太平洋扇区 3 个海洋沉积物中细菌的优势类群是一致的,但其他的细菌类群组成却不尽相同。海洋沉积物 B78 还发现有 β -Proteobacteria 亚群,丛毛单胞菌科(Comamonadaceae)和酸杆菌属(*Acidobacteria*)沉积物 P24 中检测到 α -Proteobacteria 和 δ -Proteobacteria 亚群,沉积物 S11 种还存在 α -、 δ -、 ϵ -Proteobacteria 亚群,CFB 群(噬纤维菌-黄杆菌-拟杆菌群,*Cytophaga-Flavobacterium-Bacteriodes*)和放线细菌(*Actinobacteria*)分类群(高 G+C 含量的革兰氏阳性细菌)。造成这种差异的可能原因之一是沉积物的性质:沉积物样品 B78、P24 分别是灰色软泥和褐色软泥,而沉积物样品 S11 却是灰色粘土。《中国第二次北极科学考察报告》^[24]指出沉积物的分布具有区域性特点,它们是与一定的沉积环境、物质来源相关联的。在本研究中,海洋沉积物样品 B78、P24 和 S11 的采集站位分别位于加拿大海盆(3850m)、楚科奇(Chucki)海台(1819m)和楚科奇海与加拿大海盆之间的陆坡(47m)。由于地理位置的不同,这 3 个沉积物样品性质和沉积物的物质来源也不相同,因此生存在沉积物中的细菌存在差异。

致谢 此项工作是由国家财政部资助,国家海洋局极地考察办公室组织实施的“中国第二次北极考察项目(简称 CHINARE-2003)”的一部分,参加此项工作的单位是中国极地研究中心、国家海洋局第一研究所、国家海洋局第二研究所等,在此一并表示感谢。

参 考 文 献

[1] Whitman WB, Coleman DC, Wiebe WJ. Prokaryotes: The unseen majority. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, **95**: 6578 - 6583.

[2] Parkes RJ, Cragg BA, Wellsbury P. Recent studies on bacterial populations and processes in subsea-floor sediments: a review. *Hydrogeol J*, 2000, **8**: 11 - 28.

[3] Rochelle PA, Fry JC, Parkes RJ, *et al.* DNA extraction for 16S ribosomal-RNA gene analysis to determine genetic diversity in deep sediment communities. *FEMS Microbiol Lett*, 1992, **100**: 59 - 65.

[4] Rochelle PA, Cragg BA, Fry JC, *et al.* Effect of sample handling on estimation of bacterial diversity in marine sediments by 16S ribosomal-RNA gene sequence analysis. *FEMS Microbiol Ecol*, 1994, **15**: 215 - 225.

[5] 曾润颖,赵晶,张锐,等. 西太平洋“暖池”区沉积物中的细菌类群及其与环境的关系. *中国科学 D 辑地球科学*, 2004, **34**(3): 265 - 271.

[6] 谢华,薛燕芬,赵爱民,等. 太平洋帕里西维拉海盆细菌多样性的非培养的初步分析. *微生物学报*, 2005, **45**(1): 1 - 5.

[7] Reed DW, Fujita Y, Delwiche ME, *et al.* Microbial communities from methane hydrate-bearing deep marine sediments in a forearc basin. *Appl Environ Microbiol*, 2002, **68**: 3759 - 3770.

[8] Marchesi JR, Weightman AJ, Cragg BA, *et al.* Methanogen and bacterial diversity and distribution in deep gas hydrate sediments from the Cascadia Margin as revealed by 16S rRNA molecular analysis. *FEMS Microbiol Ecol*, 2001, **34**: 221 - 228.

[9] Newberry CJ, Webster G, Cragg BA, *et al.* Diversity of prokaryotes and methanogenesis in deep subsurface sediments from the Nankai Trough, Ocean Drilling Program Leg 190. *Environ Microbiol*, 2004, **6**(3), 274 - 287.

[10] Li L, Kato C, Horikoshi K. Microbial diversity in sediments collected from the deepest cold-seep area, the Japan trench. *Mar Biotechnol*, 1999a, **1**: 391 - 400.

[11] Li L, Kato C, Horikoshi K. Bacterial diversity in deep-sea sediments from different depths. *Biodivers Conserv*, 1999b, **8**: 659 - 677.

[12] Takami H, Kobata K, Nagahama T, *et al.* Biodiversity in deep-sea sites located near the south part of Japan. *Extremophiles*, 1999, **3**: 97 - 102.

[13] Kato C, Li L, Tamaoka J, *et al.* Molecular analyses of the sediment of the 11000-m deep Mariana Trench. *Extremophiles*, 1997, **1**: 117 - 123.

[14] Nercessian O, Fouquet Y, Pierre C, *et al.* Diversity of Bacteria and Archaea associated with a carbonate-rich metalliferous sediment sample from the Rainbow vent field on the Mid-Atlantic Ridge. *Environ Microbiol*, 2005, **7**(5): 698 - 714.

[15] Alain K, Olagnon M, Desbruyères D, *et al.* Phylogenetic characterization of the bacterial assemblage associated with mucous secretions of the hydrothermal vent polychaete *Paralvinella palmiformis*. *FEMS Microbiol Ecol*, 2002, **42**: 463 - 476.

[16] Corre E, Reysenbach AL, Prieur D. Epsilonproteobacterial diversity from a deep-sea hydrothermal vent on the Mid-Atlantic Ridge. *FEMS Microbiol Lett*, 2001, **205**: 329 - 335.

[17] Longnecker K, Reysenbach AL. Expansion of the geographic distribution of a novel lineage of ϵ -proteobacteria to a hydrothermal vent site on the Southern East Pacific Rise. *FEMS Microbiol Ecol*, 2001, **35**: 287 - 293.

[18] Takai K, Komatsu T, Inagaki F, *et al.* Distribution of Archaea in a black smoker chimney structure. *Appl Environ Microbiol*, 2001, **67**: 3618 - 3629.

- [19] Bosshard PP , Santini Y , Grütter D , *et al.* Bacterial diversity and community composition in the chemocline of the meromictic alpine lake Cadagno a reveal by 16S rDNA analysis. *FEMS Microbiol Ecol* , 2000 , **31** : 173 – 182.
- [20] Muyzer G , de Waal EC , Uitterlinden AG. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Appl Environ Microbiol* , 1993 , **59** : 695 – 700.
- [21] Llobet-Brossa H , Rossello-Mora R , Amann RI. Microbial community composition of Wadden Sea sediments as revealed by fluorescent *in situ* hybridization. *Appl Environ Microbiol* , 1998 , **64** : 2691 – 2696.
- [22] Ravensschlag K , Sahn K , Pemthaler J , *et al.* High bacterial diversity in permanently cold marine sediments. *Appl Environ Microbiol* , 1999 , **65** : 3982 – 3989.
- [23] Ravensschlag K , Sahn K , Amann R. Quantitative molecular analysis of the microbial community in marine Arctic sediments (Svalbard). *Appl Environ Microbiol* , 2001 , **67** : 387 – 395.
- [24] 张占海. 中国第二次北极科学考察报告. 北京 : 海洋出版社 , 2004.

Phylogenetic analysis of bacterial diversity in Pacific Arctic sediments

LI Hui-rong¹ * , YU Yong¹ , ZENG Yin-xin¹ , CHEN Bo¹ , REN Da-ming²

(¹ SOA Key Laboratory for Polar Science , Polar Research Institute of China , Shanghai 200136 , China)

(² State Key Laboratory of Genetic Engineering , Institute of Genetics , Fudan University , Shanghai 200433 , China)

Abstract : Using PCR-DGGE (denaturing gradient gel electrophoresis) methods , bacterial phylogenetic diversity in three Pacific Arctic sediment samples were investigated , taken from different depths in the range of 47 m to 3850 m. DGGE profiles of different layers in the same sediment sample are not completely same. 16S rDNA sequences corresponding to 50 excised bands from three sediment samples were analyzed and fell into seven lineages of the domain Bacteria : α - , β - , γ - , δ - , ϵ - Proteobacteria , the Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides (CFB) group and Actinobacteria. However , the composition of bacterial phylotypes in three sediments is different. Fourteen sequences obtained from sediment B78 collected from the Canadian Basin belong to β - , γ - Proteobacteria , Comamonadaceae and Acidobacteria. Bacterial phylotypes in submarine plateau sediment P24 are α - , γ - , δ - Proteobacteria ; While seventeen sequences from sediment S11 collected from continental slope in the Chukchi Sea are grouped into α - , γ - , δ - , ϵ - Proteobacteria , the Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides (CFB) group and Actinobacteria. It is suggested the different characteristics of three sediments may cause the difference in the composition of bacterial phylotypes. 16S rDNA sequences from members of γ -Proteobacteria dominated three sediments samples. The majority of the sequences were most closely related to uncultured marine environmental sequences , especially marine sediment environmental sequences (88% ~ 100%).

Keywords : Pacific Arctic ; Sediment ; Bacterial ; Phylogenetic

Foundation item : Major Project of Chinese National Programs for Fundamental Research and Development (2004CB719601) ; Polar Science Innovation Fund for Young Scientists , PRI (JQ200401) ; S&T Basic Work Program (2003DEB5J057)

* Corresponding authors. Tel : 86-21-58711026 ; Fax : 86-21-58711663 ; E-mail : lihuirong72@163.com

Received : 29 July 2005 / Accepted : 7 September 2005 / Revised : 23 December 2005