

## 波罗的海放线菌的多样性

姜怡<sup>1</sup>, 曹艳茹<sup>1,2</sup>, 王茜<sup>1</sup>, 靳荣线<sup>1</sup>

<sup>1</sup>云南大学微生物研究所, 西南微生物多样性教育部重点实验室, 昆明 650091

<sup>2</sup>西北农林科技大学资源环境学院, 杨陵 712100

**摘要:** 【目的】为了探索海洋放线菌的多样性, 为发现新的药物先导化合物提供新菌源, 我们分析了波罗的海的放线菌多样性及生物活性。【方法】采集 100 份底泥样品, 用 7 种培养基分离放线菌 809 株; 去掉相同菌株后, 选择 280 株代表菌进行了初步分类鉴定; 采用琼脂扩散法, 检测了它们对 5 种细菌、真菌的抗菌活性; 用 API ZYM system 测定了 21 种酶的活性。【结果】用海藻糖-脯氨酸培养基和 HV 培养基分离的放线菌中, 稀有放线菌占 60% 和 63%; 波罗的海的放线菌有 15 个属, 其中 3 个属是首次从海洋中分离的纯培养物, 并有 13 株是可能的新种; 21% 和 20% 放线菌株能抑制枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌; 这些放线菌株产生多种酶活性。【结论】海洋中含有丰富的放线菌资源, 它们可能是海洋生态系统的重要类群。

**关键词:** 放线菌多样性, 生物活性, 波罗的海

中图分类号: Q939 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209 (2011)11-1461-07

放线菌因产生众多的抗生素而受到重视, 当今临床和农业上使用的抗生素 75% 由放线菌生产<sup>[1]</sup>。由于陆地放线菌已经被长期研究和筛选, 近十多年来, 日本, 美国, 德国, 英国等一些国家和国内的研究机构和制药厂逐步把研究方向转向海洋。海洋占地球面积的 70%, 他人研究表明海洋中生活着大量未知的微生物类群<sup>[2-4]</sup>。由于海洋环境研究所需装备(如考察船和深水取样器等)要求较高, 及研究方法的不成熟性, 与海洋真菌和海绵微生物的研究相比较, 海洋放线菌的研究和开发工作相对滞后。

波罗的海位于东北欧, 在北纬 54° - 65.5° 之间, 北纬 54 度起向东北延伸到北极圈附近, 长 1600 多公里, 平均宽度约 190 公里, 面积 41 多万平方公里, 呈三岔形, 西以斯卡格拉克海峡、厄勒

海峡、卡特加特海峡、大贝尔特海峡、小贝尔特海峡、里加海峡等海峡和北海, 与大西洋相通。波罗的海是欧洲北部的内海、北冰洋的边缘海、大西洋的属海。由于四周注入的河流众多, 雨量充沛, 波罗的海是地球上最大的半咸水海, 比大洋的含盐量低。

为了获取新的菌源, 我们于 2007 年对波罗的海南部部分水域的放线菌进行了研究, 现报告部分结果。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

**1.1.1 主要试剂和仪器:** 所有试剂均为 sigma 公司分析纯试剂, 部分为德国公司生产。PCR 仪

基金项目: 国家自然科学基金(30900002, 21062028); the "Kieler Wirkstoff-Zentrum am IFM-GEOMAR", which is supported by the Ministerium für Wissenschaft, Wirtschaft und Verkehr des Landes Schleswig-Holstein (Germany); 国家重大科技专项创新药物筛选体系及新技术平台建设(2009ZX09302-003); 美国国家卫生研究院资助项目(1P41GM086184-01A1)

作者简介: 姜怡(1978-)女, 云南人, 德国基尔大学博士, 从事放线菌资源研究。Fax: +86-871-5173878; E-mail: jiangyikm@hotmail.com

收稿日期: 2011-04-21; 修回日期: 2011-06-24

(Biometra, Germany); 电泳仪 (Bio-Rad, USA); 考察船 (POLARFUCHS 号) 德国 Fassmer 船厂制造。

**1.1.2 分离培养基 (每升的用量):** ① 海藻糖-脯氨酸培养基: 海藻糖 5 g, 脯氨酸 1 g,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  1 g, NaCl 1 g,  $\text{CaCl}_2$  2 g,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  1 g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  1 g, HV 培养基<sup>[5]</sup> 的混合维生素 3.7 mg (下同), 琼脂 20 g, 基尔湾天然海水 1000 mL, pH 7.2。加制霉菌素 100 mg, 萘啶酮酸 25 mg 作为真菌和革兰氏阴性细菌的抑制剂 (除放线菌分离培养基未加抑制剂外, 其余培养基均加相同的抑制剂)。② 改良淀粉-酪素培养基: 葡萄糖 10 g, 酪素 0.3 g,  $\text{KNO}_3$  2 g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.05 g,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  2 g,  $\text{CaCl}_2$  1 g,  $\text{FeSO}_4$  10 mg, 琼脂 20 g, 基尔湾天然海水 1000 mL, pH 7.2。③ M2 培养基: 甘油 6 mL, 精氨酸 1 g,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.5 g,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.5 g,  $\text{MgSO}_4$  0.5 g, 琼脂 20 g, 基尔湾天然海水 1000 mL, pH 7.2。④ M3 培养基: 葡萄糖 6 g, 甲壳素 2 g, 琼脂 18 g, 基尔湾天然海水 1000 mL, pH 7.2。⑤ HV 培养基<sup>[5]</sup>: 腐植酸 1 g,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0.5 g, KCl 1.7 g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.05 g,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.01 g,  $\text{CaCl}_2$  1 g, 琼脂 18 g, 混合维生素 3.7 mg, 基尔湾天然海水 1000 mL, pH 7.2。⑥ 甘油-门冬酰胺培养基 (ISP 5): 甘油 10 g, L-门冬酰胺 1 g,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  1 g, 微量盐 1 mL, 琼脂 20 g, 基尔湾天然海水 1000 mL, pH 7.2 - 7.4。⑦ 放线菌分离培养基 [Actinomycete isolation agar (Difco)]。

用稀释平板法, 涂布以后, 28 °C 培养 7 - 30 d, 挑取单菌落于斜面培养基, 28 °C, 培养 7 d。

## 1.2 样品采集及预处理

2007 年 4、6 月, 用重锤取样器, 两次从波罗的海南部基尔湾北部水域 (水深约 30 m - 70 m) 采集底泥, 5 - 10 点混成一份样品, 立即置于无菌玻璃瓶, 每次采集 50 份, 当天置于无菌培养皿, 28 °C, 自然干燥 7 d, 80 °C 干热处理 1 h。

## 1.3 菌株鉴定

菌株培养, DNA 提取, PCR 及 16S rRNA 基因的序列分析按照以前的文献 [6] 进行。菌株鉴定到属的水平。

## 1.4 抗菌实验

以 4 种细菌和 1 株真菌为试验菌, 按文献 [3] 使用的方法测定放线菌分离株的抗菌活性。实验菌

株为 *Bacillus subtilis* (DSM 3258<sup>T</sup>), *Escherichia coli* (DSM 30083<sup>T</sup>), *Staphylococcus aureus* (DSM 30501<sup>T</sup>), *Mycobacterium phlei* (DSM 43239<sup>T</sup>), *Candida glabrata* (DSM 24506<sup>T</sup>)。

## 1.5 酶活分析

按照文献 [7] 的方法进行。测试酶活性 21 种: 酸性磷酸酯酶 (Acid phosphatase), 碱性磷酸酯酶 (Alkaline phosphatase), 过氧化氢酶 (catalase),  $\alpha$ -胰凝乳蛋白酶 ( $\alpha$ -chymotrypsin), 胱氨酸芳基酰胺酶 (Cystine arylamidase), 酯酶 C4、C8, C14 (Esterase, C4, C8, C14),  $\alpha$ -岩藻糖苷酶 ( $\alpha$ -fucosidase),  $\alpha$ -半乳糖苷酶 ( $\alpha$ -galactosidase),  $\beta$ -半乳糖苷酶 ( $\beta$ -galactosidase),  $\alpha$ -葡糖苷酶 ( $\alpha$ -glucosidase),  $\beta$ -葡糖苷酶 ( $\beta$ -glucosidase),  $\beta$ -葡糖苷酸酶 ( $\beta$ -glucuronidase) 亮氨酸芳基酰胺酶 (Leucine arylamidase),  $\alpha$ -甘露糖苷酶 ( $\alpha$ -mannosidase), N-乙酰- $\beta$ -氨基葡萄糖苷酶 (N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase), 萘酚-AS-BI-磷酸水解酶 (Naphthol-AS-BI-phosphohydrolase), 氧化酶 (Oxidase), 胰蛋白酶 (Trypsin) 和缬氨酸芳基酰胺酶 (Valine arylamidase)。

## 2 结果和讨论

### 2.1 七种培养基分离放线菌的效果

使用 7 种培养基, 共分离到放线菌株 809 株, 统计结果如表 1。海藻糖-脯氨酸培养基和 HV 培养基分离的放线菌, 链霉菌分别占 40% 和 37%, 大部分是稀有放线菌; 放线菌分离培养基 (Difco) 分离的放线菌, 链霉菌和非链霉菌大体各占一半; 其他 4 种培养基分离的放线菌中, 链霉菌和非链霉菌的比例为 6:4。这些结果与我国西南地区土壤放线菌的结果相似<sup>[8-9]</sup>。海藻糖-脯氨酸培养基用于分离动物粪便放线菌, 稀有放线菌占总数的 54%, 远高于其它培养基分离的放线菌比例<sup>[10]</sup>。我们认为这种培养基分离海洋稀有放线菌的选择性效果比较好, 加上制霉菌素和萘啶酮酸作为抑制剂, 即使培养 1 个月, 真菌都几乎不生长, 便于挑放线菌。M2 培养基分离的放线菌数量最多, 稀有放线菌占 43%, 也可用于分离海洋放线菌。

表 1 7 种培养基分离放线菌的效果  
Table 1 Isolated actinomycetes strains on the  
7 kinds of selective media

Medium	Streptomycetes		Rare actinomycetes	
	Number	%	Number	%
Mycose-histidine medium	61	40	92	60
Improved starch-casein medium	48	56	38	44
M2 medium	102	57	76	43
M3 medium	58	63	35	37
HV medium	22	37	37	63
Glycerol-asparagine medium	69	59	47	41
Actinomycete isolation agar	48	46	56	54

## 2.2 放线菌及其它细菌多样性分析

从 809 株纯培养菌株去重复后选出 280 株, 进行 16S rDNA 测序, 通过系统发育分析, 将它们鉴定到属 (图 1)。结果显示, 波罗的海南部水域的放线菌有 15 个属: *Actinomadura*, *Actinoplanes*, *Amycolatopsis*, *Arthrobacter*, *Cellulomonas*, *Isoptericola*, *Kocuria*, *Micromonospora*, *Microbacterium*, *Myceligenerans*, *Mycobacterium*, *Nocardiopsis*, *Promicromonospora*, *Rhodococcus*, *Streptomyces*。链霉菌仍然是主要类群, 约占纯培养放线菌总数的 50% 左右, 其次小单孢菌和红球菌。基于 16S rRNA 基因同源性, CC 0387<sup>T</sup> (CCTCC AA208024 = DSM 21481) 被鉴定为黄色原小单孢菌 (*Promicromonospora flava*)<sup>[7]</sup>。还鉴定到 *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Chromohalobacter*, *Devosia*, *Chromohalobacter*, *Exiguobacterium*, *Rhizobium*, *Zobellia* 等 8 个属的细菌。另外, 菌株 CC 0385 与最相近的菌种 *Agrobacterium tumefaciens* 的 16S rDNA 序列相似性仅为 95%, CC 0386 与 *Agrobacterium tumefaciens* 的相似性为 96%, CC 0446 与 *Chromohalobacter salexigens* 为 94%, CC 0498 与 *Devosia neptuniae* 为 96%, CC 0559 与 *Rhizobium galegae* 为 97%, 都是可能的新种, 有关的系统分类正在进行之中; 菌株 CC 0422, CC 0440, CC 0447, CC 0523, CC 0574, CC 0575, CC 0576 与相近菌种的相似性都低于 98.5%, 是新种的可能性也大。可见波罗的海存在大量未知放线菌及其他细菌。

## 2.3 放线菌的抗菌活性

280 株纯培养放线菌的抗菌活性如表 2。它们中, 拮抗枯草杆菌、金黄色葡萄球菌的菌株分别有 21% 和 20%; 抗真菌的有 10%, 抗分枝杆菌、大肠

杆菌的仅 4.3% 和 2.5%。拮抗菌以链霉菌为主, 马杜拉放线菌和小单孢菌的活性也较强, 对其中活性高、好培养的菌株, 正在进行活性物质的分析。总体上, 波罗的海放线菌的抗菌活性与土壤放线菌大体相似<sup>[8,9]</sup>, 所以它们是开发抗生素的来源之一。

## 2.4 酶活测定结果

采用 API ZYM system 试剂盒测定了 280 株 21 种酶的活性 (表 3)。75% 以上的放线菌株有 8 种酶的活性, 98% - 100% 的菌株有脂肪酶 [Esterase lipase (C8)]、过氧化氢酶 (catalase)、萘酚磷酸酶 (Naphthol-AS-BI-phosphohydrolase) 活性, 10% - 73% 的菌株有其他 13 种酶的活性, 这 280 株菌中仅氧化酶的活性没有检测到。可见, 在海洋生态系统中, 放线菌非常活跃地参与各种新陈代谢活动。

值得一提的是 CC 520 菌株, 经鉴定, 与 *Zobellia uliginosa*<sup>[11]</sup> 的 16S rDNA 的序列相似性为 99.5%。CC 520 在 HV 培养基琼脂平板上, 于 28 °C 培养 20 d, 琼脂的水解圈直径达 2 cm, 圈内琼脂被彻底分解 (图 2)。将培养皿置 4 °C, 水解圈继续扩大, 直至整个琼脂平板水解殆尽, 这说明在波罗的海的低温下, 这类微生物也有很强的琼脂分解能力。共分离到这类能分解琼脂的菌株 12 株, 可见它们广泛存在。波罗的海地处北纬 54° 以北, 水温低, 这类微生物在海藻类植物残体的分解中可能起重要作用。*Zobellia uliginosa* 已经申请专利, 用于琼脂分解, 在薄膜生产工业已有应用。

1997 年, Takami 等<sup>[12]</sup> 从太平洋最深处的 Challenger Deep 取样, 分离到金杆菌属 (*Aureobacterium*)。Colquhoun 等<sup>[13,14]</sup> 从西北太平洋深海分离到诺卡氏菌属 (*Nocardia*)、红球菌属 (*Rhodococcus*)、冢村氏菌属 (*Tsukamurella*)、棒杆菌属 (*Corynebacterium*)、迪茨氏菌属 (*Dietzia*)、哥登氏菌属 (*Gordona*) 和分枝杆菌 (*Mycobacterium*) 7 个属。2002 年, Mincer 等<sup>[15]</sup> 从海洋分离到盐生孢菌属 (*Salinispora*)。2004 年 Jensend 等<sup>[16]</sup> 分离到海洋霉菌 (*Marimomyces*)。Bruns 等<sup>[17]</sup> 分离到海洋气微菌 (*Aeromicrobium marinum*)。Riedlinger 等<sup>[18]</sup> 分离到疣孢菌属 (*Verrucospora*)。它们都需要天然海水才能生长。

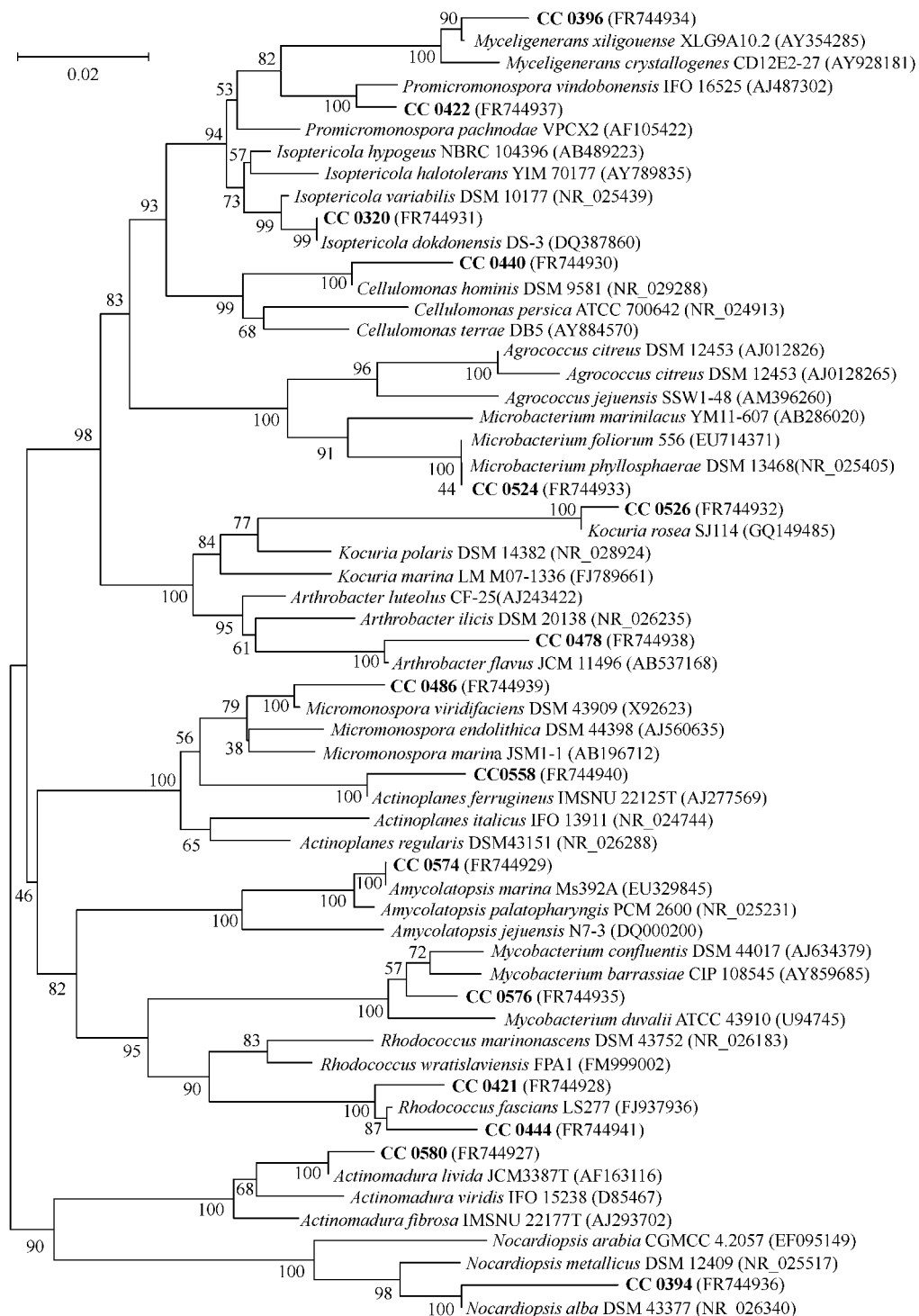


图 1 研究菌株及其从 GeneBank 等数据库中调集的相关属种构建以 16S rRNA 基因序列为基础的系统进化树 (标尺为 0.02, 表示相似性百分比;分支点数字为自聚值;括号中为菌株序列号)

Fig.1 Phylogenetic tree showing the relationships among reference strains and the isolates in this study based on 16S rRNA gene sequences based on neighbour joining analyses of 1 000 resampled data sets. Bar: 0.02% sequence divergence. Numbers in parentheses represent the sequences accession number in GenBank.

表 2 280 株放线菌的抗菌活性

Table 2 Anti-microbial activities among the 280 isolated Actinomycetes strains

	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus lentus</i>	<i>Mycobacterium phlei</i>	<i>Candida glabrata</i>
Number of active strains	58	7	56	12	29
Anti-microbial activities /%	21	2.5	20	4.3	10

表 3 放线菌的酶活性

Table 3 Percentage of strain with enzyme activities

Enzyme	Activities /%	Enzyme	Activities /%
Alkaline phosphatase	82	$\alpha$ -galactosidase	73
Esterase (C4)	77	$\beta$ -galactosidase	62
Esterase lipase (C8)	100	$\beta$ -glucuronidase	10
Lipase (C14)	72	$\alpha$ -glucosidase	93
Leucine arylamidase	88	$\beta$ -glucosidase	56
Valine arylamidase	58	N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase	37
Cystine arylamidase	91	$\alpha$ -mannosidase	19
Trypsin	29	$\alpha$ -fucosidase	39
$\alpha$ -chymotrypsin	42	catalase	100
Acid phosphatase	66	Oxidase	0
Naphthol-AS-BI-phosphohydrolase	98	Contol	0

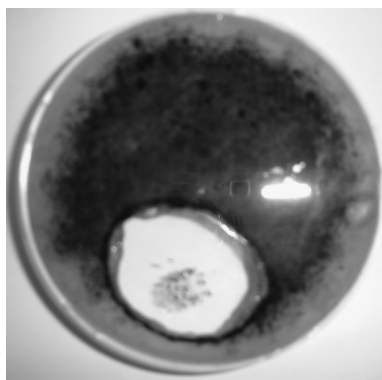


图 2 菌株 CC 520 水解琼脂

Fig. 2 Agar hydrolysed by Strain CC 520.

Ward 等<sup>[19]</sup>从 Mariana 海沟 10,898 m 处收集底泥样品,用 20 种选择性培养基分离到 38 株放线菌,其中 4 种培养基的分离效果较好,而以棉籽糖-组氨酸培养基的分离效果最好,分离到 58% (23 株)的菌株。依据这 38 株放线菌的 16S rRNA 基因序列将它们鉴定为皮生球菌属 (*Dermacoccus*)、考克氏菌属 (*Kocuria*)、小单孢菌属 (*Micromonospora*)、链霉菌属 (*Streptomyces*)、冢村氏菌属 (*Tsukamurella*) 和威廉姆斯氏菌属 (*Williamsia*) 等 6 个属。本研究从波罗的海分离到 15 个属,其中纤维单孢菌属 (*Cellulomonas*),产丝菌属 (*Myceligenans*),和原小单孢菌 (*Promicromonospora*) 等 3 个属是以前没有从

海洋获得过纯培养的。这说明,波罗的海尽管水温低,但放线菌的组成却相当丰富;同时说明改进分离方法(样品的预处理,培养基的选择和设计,抑制剂的选择等)的重要性。迄今为止,从海洋获得的纯培养放线菌大约有 48 个属<sup>[20-23]</sup>加上波罗的海新获得的 3 个,目前从海洋获得的放线菌共有 51 个属。

早在 2005 年,Antonie van Leeuwenhoek 杂志专门出版一期海洋放线菌专辑,共发表 9 篇放线菌多样性及次生代谢产物方面的论文,对海洋放线菌开发利用的远景,机遇和发展方向进行了评述。Goodfellow 等<sup>[23]</sup>从海洋放线菌获不少新的活性物质,如 Abyssomicins B, C, C, D, G, H, Benzoxazine NTK 935, Caboxamycin, Lipocarbazoles A1 - A4, Proximicins A, B, C, Lysolipin 等等。相形之下,我国海洋放线菌的研究和开发相对滞后。不过,2009 年国家已经将海洋微生物列入 973 计划,相信今后几年相关工作会有大的进展。从本文所获得的结果可以看出,海洋不但存在大量未知的海洋放线菌种,且生物活性很广泛,因此在研究多样性的同时,要着力在分离方法上多下功夫,以期获得尽可能多的未知放线菌,同时要加大开发利用的力度,发现新的、活性理想的先导物和其它有用物质,为工农业提供更多可转化的成果。

## 参考文献

- [1] Bérdy J. Bioactive microbial metabolites, a personal review. *Journal of Antibiotics*, 2005, 58(1):1-26.
- [2] Rheims H, Sproer C, Rainey FA, Stackebrandt E. Molecular biological evidence for the occurrence of uncultured members of the actinomycete line of descent in different environments and geographical locations. *Microbiology*, 1996, 142:2863-2870.
- [3] Zengler, Toledo G, Rappé M, Elkins J, Mathur EJ, Short JM., Keller M. Cultivating the uncultured. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2002, 99(24):15681-15686.
- [4] Bull AT, Stach JEM. Marine actinobacteria: new opportunities for natural produce search and discovery.

- Trends Microbiology* ,2007 ,15: 491-499.
- [ 5 ] Hayakawa M , Nonomura H. Humic acid-vitamin agar , a new medium for the selective isolation of soil actinomycetes. *Journal of Fermentation Technology* , 1987 ,65:501-509.
- [ 6 ] 曹艳茹 ,姜怡 ,陈以光 ,唐蜀昆 ,秦盛 ,赵国振 ,徐丽华. 武陵山放线菌多样性. *微生物学报 (Acta Microbiol Sinica)* ,2008 ,48(7): 952-958.
- [ 7 ] Jiang Y , Wiese J , Cao YR , Xu LH , Imhoff JF , Jiang CL. *Promicromonospora flava* sp. nov. , isolated from sediment of the Baltic Sea. *International Journal of Systematic Bacteriology* ,2009 ,59: 1599-1602.
- [ 8 ] 曹艳茹 ,姜怡 ,徐丽华. 大香格里拉土壤放线菌组成分析及生物活性测定. *微生物学报 (Acta Microbiol Sinica)* ,2009 ,49(1): 105-109.
- [ 9 ] 曹艳茹 ,姜怡 ,王茜 ,赵立兴 ,靳荣线 ,姜成林. 川滇四区森林土壤纯培养放线菌多样性及生物活性. *微生物学报 (Acta Microbiol Sinica)* ,2010 ,50(8): 43-47.
- [10] 姜怡 ,曹艳茹 ,蔡祥凤 ,徐丽华 ,姜成林. 三种动物粪便及一种虫体可培养放线菌的多样性及其生物活性. *微生物学报 (Acta Microbiol Sinica)* ,2009 ,49(9): 42-51.
- [11] Barbeyron T , L'Haridon S , Corre EB , Kloareg B , Potin P. *Zobellia galactanovorans* gen. nov. , sp. nov. , a marine species of Flavobacteriaceae isolated from a red alga , and classification of [Cytophaga]uliginosa (ZoBell and Upham 1944) Reichenbach 1989 as *Zobellia uliginosa* gen. nov. , comb. Nov. *International Journal of Systematic Bacteriology* ,2001 ,51: 985-997.
- [12] Takami H , Inoue A , Fuji F , Horikoshi K. Microbial flora in the deepest sea mud of the Mariana Trench. *FEMS Microbiology Letter* ,1997 ,152:279-285.
- [13] Colquhoun JA , Mexson J , Goodfellow M , Ward AC , Horikoshi K , Bull AT. Novel rhodococci and other mycolate actinomycetes from the deep sea. *Antonie van Leeuwenhoek* ,1998 ,74:27-40.
- [14] Colquhoun JA , Zulu J , Goodfellow M , Horikoshi K , Ward AC , Bull AT. Rapid characterisation of deep-sea actinomycetes for biotechnology screening programmes. *Antonie van Leeuwenhoek* ,2000 ,77:359-367.
- [15] Mincer TJ , Jensen PR , Kauffmann CA , Christopher AK , William F. Widespread and persistent populations of a major new marine actinomycete taxon in ocean sediments. *Applied and Environmental Microbiology* , 2002 ,68:5005-5011.
- [16] Jensen PR , Mincer TJ , Williams PG. Marine actinomycete diversity and natural product discovery. *Antonie van Leeuwenhoek* ,2004 ,87:43-48.
- [17] Bruns A , Philipp H , Cypionka H , Brinkhoff T. *Aeromicrobium marinum* sp. nov. , an abundant pelagic bacterium isolated from the German Wadden Sea. *International Journal of Systematic Bacteriology* ,2003 ,53:1917-1923.
- [18] Riedlinger J , Reicke A , Krismer B , Krismer B , Bull AT , Maldonado LA , Ward AC , Goodfellow M , Bister B , Bischoff D , Süßmuth RD , Fiedler HP. Abyssomicins , inhibitors of para-aminobenzoic acid pathway produced by the marine *Verrucosipora* strain AB-18-032. *Journal of Antibiotics* ,2004 ,57:271-279.
- [19] Ward AC , Horikoshi K , Bull AT. Diversity of actinomycetes isolated from Challenger Deep sediment (10 ,898 m) from the Mariana Trench. *Extremophiles* , 2006 ,10:181-189.
- [20] Jiang Y , Wiese J , Xu LH , Imhoff JF , Jiang CL. Marine actinobacteria , an important sources of novel secondary metabolites with bioactivities. *Journal of Chinese Antibiotics* ,2007 ,32(12):705-722.
- [21] Tian XP , Zhi XY , Qin YQ , Zhang YQ , Tang SK , Xu LH , Zhang S , Li WJ. *Sciscionella marina* gen. nov. , sp. nov. , a marine actinomycete isolated from a sediment in the northern South China Sea. *International Journal of Systematic Bacteriology* ,2009 ,59: 222-228.
- [22] Tian XP , Tang SK , Dong JD , Zhang YQ , Xu LH , Zhang S , Li WJ. *Marinaactinospora thermotolerans* gen. nov. , sp. nov. , a marine actinomycete isolated from a sediment in the northern South China Sea. *International Journal of Systematic Bacteriology* ,2009 ,59: 948-952.
- [23] Goodfellow M , Fiedler HP. A guide to successful bioprospecting: informed by actinobacterial systematics. *Antonie van Leeuwenhoek* ,2010 ,98:119-142.

## Diversity of cultured actinomycete in the Baltic Sea

Yi Jiang<sup>1\*</sup>, Yanru Cao<sup>1,2</sup>, Qian Wang<sup>1</sup>, Rongxian Jin<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Key Laboratory of Microbial Diversity in Southwest China, Ministry of Education and Laboratory for Conservation and Utilization of Bio-Resources, Yunnan Institute of Microbiology, Yunnan University, Kunming 650091, China

<sup>2</sup> College of Resources and Environment, Northwest A & F University, Yangling 712100, China

**Abstract:** [Objective] Actinomycetes (actinobacteria) are getting more and more recognized as a natural source for new drug exploration. In order to find new lead compounds, the diversity and selected bioactivities of cultured actinomycetes in the Baltic Sea (Germany) were investigated. [Methods] One hundred sediment samples were collected from south of the Baltic Sea, of which 809 purified cultures of actinomycetes were obtained by using 7 media. The phylogenetic analysis of 280 selected strains based on 16S rRNA gene sequences was carried out. In addition, activities of 21 enzymes, which play a role in metabolic processes, and anti-microbial activities were determined. [Results] Fifteen genera and eight possible new species of actinobacteria were identified. Members of 3 genera were not isolated from marine habitats before. Of the 280 strains 21% and 20% inhibited the growth of *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus lentus*, respectively. More than 75% of the strains exhibited 8 types of enzymatic activities, including esterase lipase (C8), catalase and naphthol-AS-BI-phosphohydrolase. [Conclusion] Baltic Sea provides a rich diversity of actinobacteria regarding the phylogenetic analysis and the biological activities. Research and utilization of marine actinomycetes should be strengthened.

**Keywords:** actinomycete diversity, bioactivities, Baltic Sea

(本文责编:王晋芳)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (30900002, 21062028), by the "Kieler Wirkstoff-Zentrum am IFM-GEOMAR" which is supported by the Ministerium für Wissenschaft, Wirtschaft und Verkehr des Landes Schleswig-Holstein (Germany), by the National Major Scientific and Technology Special Projects (2009ZX09302-003) and by the National Institutes of Health USA (1P41GM086184-01A1)

\* Corresponding author. Fax: +86-871-5173878; E-mail: jiangyikm@hotmail.com

Received: 21 April 2011 / Revised: 24 June 2011

### 《微生物学报》关于署名

经过本刊审查通过后即将发表的稿件,作者在修改时,如果对“作者或单位的署名”进行变更,与最初的投稿不同,本刊要求:作者必须再提供有关证明,否则不能生效!此项规定早已公布在本刊的网页上,并且在本刊的纸质出版物中也多次公布。请作者登陆本刊网页(<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>),在首页内,“常见问题”中有显示,点开左侧的“署名”,其中有详细的说明和办理方法。

- (1) 如变单位署名顺序,需要原研究内容所属单位(通常是第一署名单位)的证明信,证明内容:原署名顺序→现署名顺序→盖章。
- (2) 如变更作者署名顺序,需要通讯作者和第一作者同意的签字证明。证明内容:原作者姓名及顺序→修改之后的作者姓名及顺序。
- (3) 将此证明信返回编辑部(邮寄原件或扫描后 E-mail 发来),新的变更即可生效。