Research Paper 研究报告

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*
52(10):1195 – 1202; 4 October 2012
ISSN 0001 – 6209; CN 11 – 1995/Q
http://journals.im.ac.cn/actamicrocn

印度洋红树林沉积物可培养海洋放线菌多样性及其活性

何洁,张道锋,徐盈,张晓梅,唐蜀昆,徐丽华,李文均*

云南大学云南省微生物研究所,西南微生物多样性教育部重点实验室,昆明 650091

摘要:【目的】本研究旨在了解印度洋红树林沉积物可培养海洋放线菌多样性、抗菌活性及产酶活性。【方法】选用24种碳源为唯一能源培养基,利用稀释平板涂布方法对8个印度洋红树林沉积物样品进行分离,并基于16S rRNA基因系统发育分析的方法研究样品中海洋放线菌多样性;对分离得到的菌株进行抗菌活性和产酶活性检测。【结果】24种唯一碳源分离培养基中,非糖类碳源特别是甘油、丙氨酸分离效果最好,其次是多糖物质,最后是单糖。共分离得到521株海洋放线菌,经并菌后选取其中的139株代表性菌株测序,结果发现它们主要分布在放线菌纲7个亚目10个科的16个属,其中35个为潜在新种。有43.1%、33.3%、26.9%、25.5%、15.7%的实验菌株分别对枯草芽孢杆菌、白色念珠菌、大肠埃希氏菌、金黄色葡萄球菌、黑曲霉具有抑制作用;有36.5%、26.5%、22.4%、15.9%的实验菌株分别具有蛋白酶活性、纤维素酶活、淀粉酶活性、酯酶活性。【结论】印度洋红树林沉积物蕴藏着丰富的海洋放线菌资源,并具有较高生物活性,为后续工作提供良好的实验材料。

关键词:红树林,海洋放线菌,碳源,多样性,生物活性

中图分类号:Q938 **文献标识码:** **文章编号:**0001-6209(2012)10-1195-08

红树林是分布于热带和亚热带地区的一种沿海沼泽的木本植物群落,分布于全球南北纬25度之间的河口和海湾。由于该地带处于咸淡交汇的特殊环境,经常受到周期性潮水影响,因此如盐浓度、利用的营养物质可变性很大[1-2]。该生态系统的生物群落占有全世界热带和亚热带沿海地带生物量的60% – 75%[3],蕴藏着极为丰富独特的微生物资源。近年来相关文献中报道,从红树林沉积物中分离到的放线菌可产生多种重要的次生代谢物,具有抗菌、抗肿瘤等药用价值[4]。然而,同该生态系统中动物和植物的研究相比较,关于微生物的研究相对少得多。本文研究了印度洋红树林沉积物海洋放线菌多样性及生物活性,为后续工作奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 样品:印度洋红树林沉积物样品信息如表1所示。

1.1.2 唯一碳源培养基(g/L):基础培养基(g/L):$(NH_4)_2SO_4$ 2.64; KH_2PO_4 2.38; K_2HPO_4 5.65; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1.0; $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 0.0064; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.0011; $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ 0.0079; $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.0015; 人工海水[5] 1L,pH 7.2 – 7.4,加入1%碳源

基金项目:国家"973项目"(2010CB833801)

* 通信作者。Tel/Fax: +86-871-5033335,E-mail: wjli@ynu.edu.cn;liact@hotmail.com

作者简介:何洁(1986 –),女,河南人,硕士研究生,从事海洋微生物资源研究。E-mail: hejielovely@163.com

收稿日期:2012-03-15;**修回日期:**2012-05-28

表 1 8 个印度洋红树林沉积物样品信息

Table 1 Information of eight mangrove sediments in Indian Ocean

Sample name	Site name	Latitude	Longitude
LAS-1	Hut Bay	10°34′47.8″N	92°34′09.4′E
LAS-2	Harbindar Bay	10°33′32.5″N	92°33′16.6″E
LAS-3	Chandra nallah	10°46′22.1″N	92°35′12.5″E
LAS-4	Dugong creek	10°48′43.1″N	92°34′59.9″E
LAS-5	South Bay	10°29′61″N	92°21′53″E
LAS-7	Jackson Creek	10°41′21″N	92°20′49″E
LAS-8	Ogechaiuede	10°49′52″N	92°22′16″E
LAS-9	Bumila Creek	10°29′51″N	92°21′04″E

(木糖、果糖、山梨醇、葡萄糖、甘露醇、鼠李糖、乳糖、蔗糖、海藻糖、麦芽糖、棉子糖、淀粉、海藻酸、纤维素、卡拉胶、氯乙酸、甘油、TWEEN 80、丙酸钠、鱼粉、海带、肌醇),加入制霉菌素 100 mg/L、萘啶酮酸 50 mg/L 和重铬酸钾 25 mg/L 来抑制细菌和真菌。

1.1.3 指示菌株:枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis* DSM 3258^T)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus* DSM 30501^T)、大肠埃希氏菌(*Escherichia coli* DSM 30083^T)、黑曲霉(*Aspergillus niger* IMSNU 31067^T)、白色念珠菌(*Candida albicans* DSM 24506^T)均由云南大学云南省微生物研究所保藏。

1.1.4 生物活性检测培养基:①抗菌活性检测培养基:金黄色葡萄球菌、大肠埃希氏菌、枯草芽孢杆菌用 ISP 2 培养基[6] 培养,白色念珠菌、黑曲霉用 PDA 培养基[7] 培养。②酶活检测的培养基:筛选海洋放线菌纤维素酶、淀粉酶、蛋白酶、酯酶的培养基分别以 ISP 2 培养基为基础培养基,分别加入 0.2% 羧甲基纤维素钠 80 – 100、0.2% 可溶性淀粉、1.5% 脱脂牛奶、1% 吐温 80。

1.1.5 主要试剂和仪器:溶菌酶、蛋白酶、dNTPs、Taq 酶等购自上海生工生物工程技术服务有限公司;DNA Marker 购自宝生物工程(大连)有限公司,其余试剂为国产分析纯试剂。电泳仪为 Bio-Rad,PCR 仪为 Biometra 公司。

1.2 海洋放线菌分离

称取 1 g 样品放入无菌培养皿中,自然风干一周。将风干样品加入 10 mL 无菌水中,在 28℃、170 r/min 条件下培养 40 min,在 65℃ 水浴处理 7 min,稀释 10^{-3}、10^{-4} 后取 0.2 mL 样品涂布分离平板,在 28℃ 培养 4 周,挑取可见菌落。

1.3 海洋放线菌的系统发育分析

经形态和培养特征观察后除去重复菌株,选取代表性菌株进行 DNA 的提取[8]。用 PA: 5′-CAGAGTTTGATCCTGGCT-3′(对应于 *E. coli* 16S rRNA 基因序列 7 – 24 位点); PB: 5′-AGGAGGTGATCCAGCCGCA-3′(对应于 *E. coli* 的 1540-1522 位碱基)。PCR 产物直接送上海生工生物技术有限公司测序,所测序列利用 BLAST 程序在 GenBank 等公共数据库中进行相似性搜索,调出相似性最高且是有效发表的典型菌株的序列,用 Clustal X 软件进行序列相似性分析和序列比对,用 MEGA 4.1 的 Neighbor-joining 法[9] 构建系统进化树。

1.4 抗菌活性检测

用点植法培养 7 d 后,观察抑菌圈。

1.5 产酶活性检测

用点植法培养 7 d 后,通过 Lugol 碘液和刚果红检测淀粉酶和纤维素酶活性,通过观察透明圈检测蛋白酶和脂肪酶活性。

2 结果

2.1 唯一碳源培养基分离效果的分析

表 2 是以单糖、多糖、非糖为唯一碳源培养基及各样点分离得到的放线菌菌数平均值,表 3 是不同碳源分离的放线菌数量的比较。实验结果表明,在 8 个样点中,以非糖为唯一能源分离得到的海洋放线菌菌数最多,其次是多糖,而单糖分离得到的海洋放线菌数最少。其中,在非糖中,以甘油、丙氨酸为唯一能源分离得到的海洋放线菌菌数最多,其结果与田新朋报道[10] 结果一致。本研究还选取了海洋特征性寡糖—卡拉胶作为唯一碳源分离海洋放线菌,其出菌率高明显高于其多糖物质。8 个样点中,LAS 1 分离得到放线菌数最多,而 LAS 3、LAS 5 分离得到放线菌数最少。

表 2 8 个样点分离得到放线菌菌数

Table 2 Mean value of isolated actinobacterial strains from eight samples

Samples	Monosaccharide	Polysaccharide	Other carbon
LAS 1	383	494	511
LAS 2	23	65	91
LAS 3	9	14	10
LAS 4	34	25	33
LAS 5	18	10	4
LAS 7	245	378	490
LAS 8	102	175	213
LAS 9	187	208	226

表 3 各种碳源分离的放线菌菌数

Table 3 Mean value of isolated actinobacterial strains from different carbon sources

Carbon sources		Samples							
		LAS1	LAS2	LAS3	LAS4	LAS5	LAS7	LAS8	LAS9
Monosaccharide	Xylose	436	13	9	11	10	278	11	318
	Fructose	312	6	2	3	10	209	98	104
	Sorbose	318	56	4	98	40	178	9	299
	Glucose	362	37	15	17	25	419	172	124
	Mannitol	549	3	6	21	6	154	274	42
	Rhamnose	321	24	18	51	17	234	45	233
Polysaccharide	Lactase	413	68	10	19	15	123	44	266
	Sucrose	349	32	0	8	7	351	167	229
	Mycose	578	10	2	21	16	614	97	100
	Maltose	196	213	9	55	19	411	75	142
	Raffinose	363	45	1	23	5	319	61	168
	Inositol	496	4	4	10	4	65	257	182
	Soluble starch	389	87	6	13	2	512	175	59
	Alginic acid	721	16	74	4	7	475	278	312
	Cellulose	634	57	3	21	7	209	201	125
	Carrageenin	802	116	19	75	13	701	393	492
othercarbon sources	PEG 6000	789	3	3	16	3	56	33	169
	Glycerol	932	297	4	53	12	836	388	271
	Tween80	101	16	5	11	5	397	119	398
	Sodium propionate	834	23	12	109	2	761	549	453
	Fish protein Concentrate	335	198	2	8	2	577	108	111
	Sea tangle	77	6	45	2	0	311	79	176
	Agar	11	0	2	0	2	0	0	7

2.2 印度洋红树林沉积环境海洋放线菌多样性

用上述唯一碳源培养基从 8 份红树林沉积样品中共分离获得并保藏海洋放线菌 521 株。根据形态特征合并后得到 213 株,测序了 139 株,发现了放线菌纲 7 个亚目 10 个科的 16 个属(Fig 1),分别为:棒杆菌亚目(Suboder *Corynebacterineae*)中迪茨氏菌科(*Dietziaceae*)中迪茨氏菌属(*Dietzia*)1 株、诺卡氏菌科(*Nocardiaceae*)中诺卡氏菌属(*Nocardia*)4 株和红球菌属(*Rhodococcus*)1 株;微球菌亚目(Suborder *Micrococcineae*)中的微球菌科(*Micrococcaceae*)考克氏菌属(*Kocuria*)3 株和微球菌属(*Micrococcus*)1 株;小单孢菌亚目(Suborder *Micromonosporineae*)中的小单孢菌科(*Micromonosporaceae*)中的小单孢菌属(*Micromonospora*)11 株;丙酸杆菌亚目(Suborder *Propionibacterineae*)中的类诺卡氏菌科(*Nocardioidaceae*)中的多态放线菌属(*Actinopolymorpha*)16 株;假诺卡氏菌亚目(*Pseudonocardineae*)中的假诺卡氏菌科(*Pseudonocardiaceae*)中的假诺卡氏菌属(*Pseudonocardia*)3 株、糖单孢菌属(*Saccharomonospora*)13 株、糖多孢菌属(*Saccharopolyspora*)8 株;链孢囊菌亚目(Suborder *Streptosporangineae*)中的高温单孢菌科(Thermomonospora)中的马杜拉菌属(*Actinomadura*)21 株、拟诺卡氏菌科(*Nocardiopsaceae*)中的拟诺卡氏菌属(*Nocardiopsis*)1 株和链单孢菌属(*Streptomonospora*)4 株、链孢囊菌科(*Streptosporangiaceae*)中的小双孢菌属(*Microbispora*)3 株和野野村氏菌属(*Nonomurae*)2 株;链霉菌亚目(Suborder *Streptomycineae*)中的链霉菌科(*Streptomycetaceae*)中的链霉菌属(*Streptomyces*)45 株。该结果表明,印度洋红树林沉积环境具有丰富的海洋放线菌资源,其优势类群为链霉菌属(*Streptomyces*),其次为马杜拉菌属(*Actinomadura*)和小单孢菌属(*Micromonospora*)。根据 16S rRNA 基因全序列克隆结果表明,YIM M 11168 与典型菌株 *Saccharomonospora marina* XMU15^T 相似性为 96.77%,YIM M 11177 与 *Saccharomonospora saliphila* YIM 90502^T 的相似性为 97.17%,可能是糖单孢菌属的 2 个潜在新种。

根据 16S rRNA 基因系统进化分析和 DNA-DNA 杂交结果，菌株与典型菌株 16S rRNA 基因序列相似性低于 98.5%，其新种可能性约 80%[11]。本研究共测序了 139 株放线菌，其中有 35 株相似性低于 98.5%，这说明 25% 的菌株有可能是潜在的新种。印度洋红树林存在着丰富的放线菌多样性。

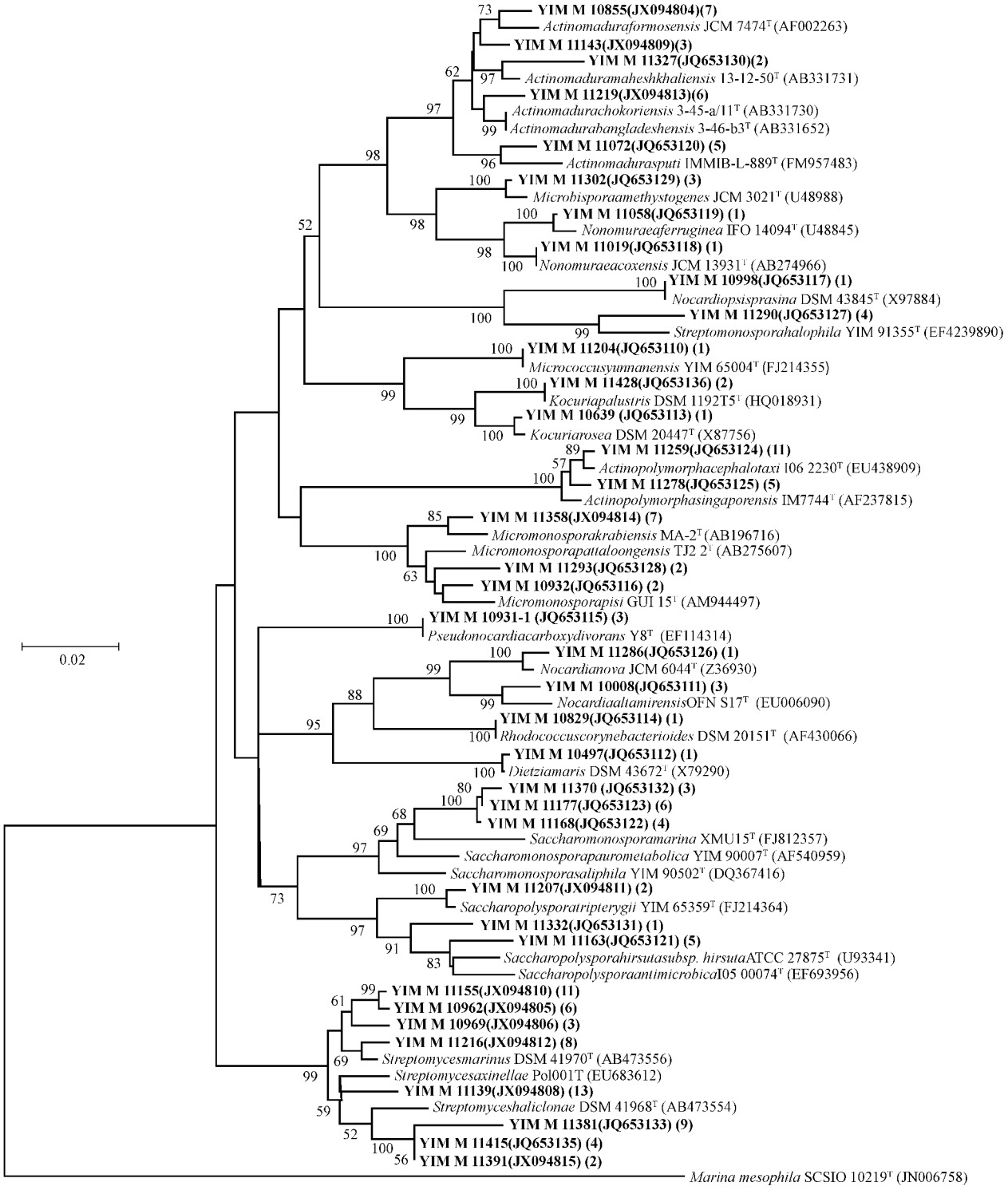

图 1　基于 16S rRNA 基因序列构建的部分代表性分离菌株与相近种之间的系统进化树

Fig. 1　Neighbour-joining phylogenetic tree based on almost-complete 16S rRNA gene sequences, showing the relationships among representative strains and their closely related type strains.

2.3 抗菌活性实验结果

抗菌活性检测结果表明,在所检测的213株海洋放线菌中,有168株表现出至少对1种指示菌具有抗菌活性,有25.5%、26.9%、43.1%、33.3%、15.7%分别对金黄色葡萄球菌、大肠埃希氏菌、枯草芽孢杆菌、白色念珠菌、黑曲霉抑制作用。16S rRNA基因分析的结果显示,这些具有抑菌活性的菌株主要是以链霉菌为主,其中稀有放线菌较少。结果表明,链霉菌依然是海洋放线菌代谢物的重要资源。表5仅显示具有2种或2种以上抗菌活性的实验结果。

表4 部分分离菌株抗菌活性实验结果(单位 mm)

Table 4 Antimicrobial activity tests of some isolates (unit mm)

No. of strains	Genus name	*S. aureus* DSM 30501^T	*E. coli* DSM 30083^T	*B. subtilis* DSM 3258^T	*C. albicans* DSM 24506^T	*A. niger* IMSNU 31067^T
YIM M 10918	*Actinomadura*	1	–	–	–	–
YIM M 10923	*Streptomyces*	–	–	–	4	–
YIM M 10926	*Streptomyces*	–	6	–	–	6
YIM M 10946	*Streptomyces*	–	2.2	–	–	9
YIM M 10950	*Streptomyces*	–	–	–	–	12
YIM M 10968	*Actinomadura*	–	–	–	3	–
YIM M10971	*Streptomyces*	–	–	14	2	1
YIM M 10978	*Actinomadura*	–	–	–	26	–
YIM M 10979	*Actinomadura*	–	–	9	1	–
YIM M 10985	*Streptomyces*	–	–	–	3	–
YIM M 10997	*Actinomadura*	–	–	5	–	15
YIM M 11008	*Actinomadura*	6	4.6	–	–	–
YIM M 11015	*Neisseria*	–	–	–	–	19
YIM M 11016	*Streptomyces*	13	12	–	–	–
YIM M 11017	*Streptomyces*	–	–	22	–	–
YIM M 11020	*Streptomyces*	–	–	1.6	–	–
YIM M 11029	*Streptomyces*	–	3.2	10	–	–
YIM M 11030	*Actinomadura*	–	–	5	–	–
YIM M 11036	*Actinomadura*	–	–	1	–	–
YIM M 11044	*Micromonospora*	–	–	1	–	–
YIM M 11052	*Streptomyces*	–	–	10	–	–
YIM M 11055	*Micromonospora*	–	2	18	–	–
YIM M 11061	*Actinomadura*	8	–	34	–	–
YIM M 11069	*Micromonospora*	–	–	7	–	–
YIM M 11078	*Streptomyces*	2	–	–	–	17
YIM M 11079	*Actinomadura*	–	–	2	2	–
YIM M 11090	*Streptomyces*	–	2	10	6	–
YIM M 11091	*Nocardia*	–	–	3	–	–
YIM M 11097	*Streptomyces*	–	–	4	–	10
YIM M 11111	*Saccharopolynospora*	–	–	–	12	7
YIM M 11114	*Streptomyces*	–	2.6	–	–	–
YIM M 11119	*Streptomyces*	–	–	–	6	16
YIM M 11123	*Streptomyces*	1	–	–	3	14
YIM M 11137	*Streptomyces*	–	8	44	–	–
YIM M 11143	*Actinomadura*	–	–	33	–	–
YIM M 11146	*Actinomadura*	23	–	–	–	–
YIM M 11167	*Micromonospora*	–	–	–	38	25
YIM M 11180	*Streptomyces*	2	–	3	13	–
YIM M 11186	*Streptomyces*	–	4.8	–	2	–
YIM M 11197	*Streptomyces*	–	–	–	22	3
YIM M 11199	*Streptomyces*	10	–	–	7	–
YIM M 11212	*Micromonospora*	6	–	–	–	–
YIM M 11213	*Micromonospora*	–	12	–	–	–
YIM M 11219	*Actinopolymorpha*	1	–	–	28	–
YIM M 11224	*Streptomyces*	5	12	–	–	–
YIM M 11230	*Streptomyces*	1	–	10	–	22
YIM M 11233	*Saccharomonospora*	–	–	–	17	–
YIM M 11257	*Actinopolymorpha*	–	14	–	–	25
YIM M 11268	*Saccharopolynospora*	–	8		–	–

2.4 产酶活性实验结果

产酶实验结果表明，在所检测的 213 株海洋放线菌，有 170 株至少具有一种酶活，其中具有纤维素酶活性、淀粉酶活性、蛋白酶活性、酯酶活性菌株分别为 26.5%、22.4%、36.5%、15.9%。另外，有 53 株具有至少两种以上酶活特性。在分离得到的 16 个属中，有 9 个属的试验菌株检测到至少具有一种酶活特性，分离得到的大部分属都具有产酶活性。表 5 仅显示具有 2 种或 2 种以上酶活的实验结果。

表 5 分离菌株各种产酶活性实验结果

Table 5 The test results of different enzyme producing activity of the new isolates

No. of test strains	Genus name	Cellulase	Amylase	Protease	Esterase
YIM M 10960	*Micromonospora*	12	–	6	–
YIM M 10970	*Micromonospora*	–	–	12	–
YIM M 10999	*Actinomadura*	–	–	5	–
YIM M 11008	*Actinomadura*	14	–	–	12
YIM M 11035	*Actinomadura*	6	–	9	–
YIM M 11052	*Streptomyces*	–	–	11	–
YIM M 11053	*Actinomadura*	4	1	–	3
YIM M 11055	*Micromonospora*	18	–	11	–
YIM M 11069	*Micromonospora*	17	–	–	15
YIM M 11080	*Streptomyces*	–	–	7	–
YIM M 11091	*Nocardia*	–	17	–	–
YIM M 11111	*Saccharopolynospora*	–	–	25	–
YIM M 11113	*Actinomadura*	–	–	13	–
YI M M 11123	*Streptomyces*	21	–	17	–
YIM M 11149	*Actinomadura*	15	–	–	–
YIM M 11168	*Saccharomonospora*	–	–	2	–
YIM M 11187	*Micromonospora*	–	–	9	7
YIM M 11196	*Streptomyces*	19	–	–	–
YIM M 11211	*Saccharopolynospora*	–	33	–	–
YIM M 11213	*Micromonospora*	–	–	10	–
YIM M 11247	*Saccharomonospora*	23	–	–	21
YIM M 11267	*Micromonospora*	9	–	4	–
YIM M 11268	*Micromonospora*	22	–	17	–
YIM M 11281	*Actinopolymorpha*	17	–	–	4
YIM M 11290	*Streptomonospora*	14	–	14	–
YIM M 11296	*Streptomyces*	15	–	–	–
YIM M 11302	*Microbispora*	–	–	8	12
YIM M 11303	*Actinomadura*	9	–	–	–
YIM M 11320	*Nocardia*	–	5	–	–
YIM M 11332	*Saccharopolynospora*	17	10	–	10
YIM M 11339	*Streptomyces*	7	12	–	13
YIM M 11341	*Actinomadura*	17	–	21	–
YIM M 11357	*Streptomyces*	26	3	5	–
YIM M 11367	*Actinomadura*	21	–	39	–
YIM M 11370	*Saccharomonospora*	–	–	9	–;
YIM M 11396	*Saccharomonospora*	–	–	30	15
YIM M 11402	*Saccharopolynospora*	13	–	–	15

No.: Diameter ofenzyme-producing activity transparent circle; –: Negative.

3 讨论

对于海洋环境海洋放线菌的分离培养基均来源于陆生放线菌的选择性培养基，而海洋环境与陆地环境的巨大差异，势必要求针对于海洋环境设计针对性的选择培养基。碳源是决定选择性培养分离效果的重要的决定因素[12]。本研究使用的 24 种唯一碳源培养基，主要分成三大类：单糖、多糖、非糖物质。在三大类碳源中，其中分离效果最好的为非糖物质，特别是小分子物质，如甘油、丙氨酸；其次为多糖，特别是海洋特征性寡糖的使用，分离效果较好。所谓海洋特征性寡糖是指海洋来源的寡糖，丁寡糖、褐藻寡糖、卡拉胶和琼胶寡糖等。本研究选用了卡拉胶作为唯一碳源分离海洋放线菌，在相同处理下，卡拉胶为碳源分离培养基的出菌数比淀粉为碳源分离培养基的出菌数高出 3 倍，有明显提高海洋放线菌出菌率的作用。经过三大种类碳源的研究，可以为以后针对性设计海洋放线菌分离培养基提供理论依据。

近年来，随着对海洋放线菌研究的深入、分离技术水平的提高，发现了除 *Micromonospora*、*Streptomyces* 之外的众多其它稀有海洋放线菌属。迄今为止，从海洋环境中获得的纯培养放线菌属共有 51 个属[13]。本研究分离得到的 *Streptomonospora* 尚未在文献中报道从海洋环境中分离得到，应该属首次在海洋环境中发现。

从印度洋红树林沉积物样品中，共分离得到 7 个亚目 10 个科的 16 个属的 80 个种。由于微生物次生代谢产物具有菌株至种水平的特异性[14-15]，不同的种产生不同的次级代谢产物，而且本文对分离得到的海洋放线菌生物活性实验的研究，也说明印度洋红树林沉积物中海洋放线菌具有产生丰富代谢产物的潜力。由于大量的放线菌还未能通过现有的分离方法获得纯培养物，只有提出新思路，设计科学的选择性培养基，采用先进的分离技术，才能将沉睡几万甚至几十万年的海洋放线菌复活。我们也深信，随着培养技术的发展、完善以及后续的生物活性筛选和代谢产物的深入研究，海洋特殊生境放线菌

全新的资源将会逐步被发现和利用。

致谢 感谢印度 Annamalai 大学海洋科学研究院海洋生物研究中心的 Kannan Sivakumar 博士所提供的红树林样品。

参考文献

[1] Alongi DM. Bacterial productivity and microbial biomass in tropical mangrove sediments. *Microbial Ecology*, 1988, 5(1): 5-79.

[2] Holguin G, Zamorano PG, Bashan LED, Renato Mendoza, Edgar Amador, Yoav Bashan. Mangrove health in an arid environment encroached by urban development-a case study. *Science of the Total Environment*, 2006, 363(3): 260-274.

[3] Holguin G, Vazquez P, Bashan Y. The role of sediment microorganisms in the productivity, conservation, and rehabilitation of mangrove ecosystems: an overview. *Biology and fertility of soils*, 2001, 33(4): 265-278.

[4] 彭建柳, 陈育, 袁学文. 海洋微生物抗肿瘤活性物质的研究进展. 国际医药卫生导报(*International Medicine and Health Guidance News*), 2009, 15(12): 125-128.

[5] Lyman, J., Fleming, R. Composition of seawater. *Journal of Marine Research*, 1940, 3(4): 134-146.

[6] Shirling, E. B, Gottlieb, D. Methods for characterization of *Streptomyces* species. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1966, 16(3): 313-340.

[7] 戴水莲, 林警, 高丽. PDA 培养基中加入青霉素、链霉素的抗菌作用试验简报. 中国食用菌(*Edible Fungi of China*), 2007, 26(4): 53-54.

[8] Li WJ, Xu P, Schumann P, Zhang YQ, Rudiger Pukall, Xu LH, Erko Stackebrandt and Jiang CL. *Georgenia ruanii* sp. nov., a novel actinobacterium isolated from forest soil in Yunnan (China), and emended description of the genus *GeorgeniaInternationa*. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 2007, 57(7): 1424-1428.

[9] Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 1987, 4(4): 406-425.

[10] 田新朋. 南海北部沉积环境海洋放线菌多样性研究. 云南大学学位论文,2009.

[11] 徐丽华, 李文均, 刘志恒, 姜成林. 放线菌系统学. 第一版. 北京: 科学出版社, 2007.

[12] Kopke B, Wilms R, Engelen B, Cypionka H and Sass H. Microbial diversity in coastal subsurface sediments: a cultivation approach using various electron acceptors and substrate gradients. *Appiled and Envionmental Microbiology*, 2005, 71(12): 7819-7830.

[13] 姜怡,曹艳茹,王茜,靳荣线. 波罗的海放线菌的多样性. 微生物学报(*Acta Microbiologica Sinica*),2011, 51(11): 1461-1467.

[14] Jensen PR, Williams PG, Zeigler L, Fenical W. Species-specific secondary metabolite production in marine Actinomycetes of the genus *Salinispora*. *Applied and Environmetntal Microbiology*, 2007, 73(4): 1146-1152.

[15] Waksman, SA, E Bugie. Strain specificity and production of antibiotic substances. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1943, 29(2): 282-288.

Diversity and bioactivities of culturable marine actinobacteria isolated from mangrove sediment in Indian Ocean

Jie He, Daofeng Zhang, Ying Xu, Xiaomei Zhang, Shukun Tang, Lihua Xu, Wenjun Li*

Key Laboratory of Microbial Diversity in Southwest China, Ministry of Education, Yunnan Institute of Microbiology, Yunnan University, Kunming 650091, China

Abstract: [**Objective**] In order to explore the diversity, antimicrobial activity and enzyme-producing activity of marine actinobacteria isolated from mangrove sediments in Indian Ocean. [**Methods**] Eight sediments collected from mangrove sediments in Indian Ocean were treated by the plate dilution method and spread on 24 isolation media only containing sole carbon source for energy. Marine actinobacteria were isolated and identified by 16S rRNA gene sequence analysis. The antimicrobial activity and enzyme-producing activity of isolated strains were further detected by spot planting method [**Results**] In total 139 representative strains were selected from 521 isolates, and they were further sequenced and performed phylogenetic analysis based on their 16S rRNA gene sequences. There were 35 strains identified as potential novel species. Antimicrobial activity was detected in *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus niger*. Enzyme-producing activity for protease cellulase, amylase and esterase were 36.5%, 26.5%, 22.4% and 15.9%, respectively. [**Conclusion**] Diverse marine actinobacteria were discovered in mangrove sediment in Indian Ocean, which have antimicrobial and enzyme activity.

Keywords: mangrove, marine actinobacteria, carbon source, Diversity, bioactivity

(本文责编:张晓丽)

Supported by the Major Project of Chinese National Programs for Fundamental Research and Development (973 Program) (2010CB833801)

* Corresponding author. Tel/Fax: +86-871-5033335, E-mail: wjli@ynu.edu.cn; liact@hotmail.com

Received: 15 March 2012/ Revised:28 May 2012

《微生物学报》审稿程序

问:贵刊的审稿程序是怎样的?一般多长时间可以知道稿件是否被录用?

答:本刊严格遵守"三审制",即:编辑部内审,专家外审,主编总审。从投稿日期开始,争取在2个月之内给出审稿结果,3-6个月之内发表。

(1) 收到来稿后,首先要由编辑初审,通过后再送外审。将请2位专家进行审阅,再送主编进行最后的总审,这个过程一般不会超过2个月。如果初审2位专家的意见分歧较大,编辑部将再请第3位专家进行初审,之后再送主编总审,那么此稿的审理时间可能会超过2个月。

(2) 完成审稿后(即主编给出总审意见),编辑会给作者发出E-mail告知修改意见(包括学术上的和写作格式上的)。作者在返回修改稿后,经本刊审核合格后方可被录用。

在此提醒作者,在没有完成全部审稿之前,不要在远程系统中看到初审意见时就急于返回修改稿件。