

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*
49(3) 343-350; 4 March 2009
ISSN 0001-6209; CN 11-1995/Q
<http://journals.im.ac.cn/actamicroco>

黄海北部不同站位海洋细菌群落分布特征

白洁, 李海艳, 赵阳国*

(中国海洋大学环境科学与工程学院, 青岛 266100)

摘要 【目的】为揭示北黄海不同海域中真细菌群落分布的差异 【方法】采用 16S rRNA 基因文库和变性梯度凝胶电泳(DGGE)技术,对远海和近海两个站位的沉积物和水体中细菌群落特征进行了解析和评价。【结果】文库分析揭示海水及沉积物中微生物种类丰富,存在大量未被认知的类群。各站位中主要为变形菌门(Proteobacteria),沉积物中 γ -Proteobacteria 和 δ -Proteobacteria 亚门占优势,水中则以 α -Proteobacteria 亚门占优势,但各亚门微生物在两个站位中存在明显系统发育学分歧。DGGE 图谱聚类分析显示,近海沉积物和海水中细菌群落优势类群相似性很高,而远海沉积物和海水中则相似性很低。【结论】研究结果表明,微生物种类在不同地理位置和生存介质中存在明显差异,环境因素对微生物的分布起主导作用。

关键词: 北黄海; 16S rRNA; 变性梯度凝胶电泳(DGGE); 变形菌门

中图分类号: Q938.1 **文献标识码**: A **文章编号**: 0001-6209(2009)03-0343-08

海洋微生物是海洋生态系统中的重要组成部分,在海洋物质循环、能量流动及维持海洋生态系统多样性与稳定性方面起着重要的作用^[1]。据估计海洋微生物可达 0.1~2 亿种^[2],对海洋微生物多样性和分布特征的研究,将有助于更深入地认识海洋微生物在整个海洋生态系统中的功能与作用,对开展海洋生态环境研究具有重要意义。

早期的海洋微生物多样性研究是建立在传统的微生物培养技术基础上的。然而由于培养条件与自然条件的差异,实际上培养所得到的只是自然环境中的少部分微生物(0.001%~15%)^[3],如海水中仅有 0.001% 的细菌可以培养,沉积物中仅有 0.2% 的细菌可以培养。由于传统培养方法的局限性,使其在海洋微生物多样性研究中受到了限制。随着 PCR 技术的广泛应用和微生物基因组保守序列信息的解析,以环境总 DNA 为模板,直接进行微生物多样性和组成的研究,成为分析微生物多样性的一种有效

手段^[4]。这种方法简单、方便、快速,并且随着基因组数据库的完善,其优势日益明显。我国有学者已经对部分海域沉积物^[4,5]和水体^[6]中的微生物多样性进行了探索研究。

北黄海冷水团中心位置较稳定,位于北黄海中部偏西,主要物征是显著低温(4.6℃~9.3℃),是由冬季进入黄海的外海水与沿岸水混合而成^[7]。由于北黄海具有特殊的地理位置和独特的冷水团现象,其海洋生态系统的组成和稳定特征受到人们的广泛关注。而微生物群落作为生态系统的重要组成部分,亟待开展对该海域中微生物群落多样性和分布特征等相关研究。基于此,本研究分别获取北黄海水域 2 个站位的水体和沉积物样本,构建真细菌 16S rRNA 基因文库,进行 DGGE 分析,探讨细菌群落的结构和分布特征,这将有助于深层次理解该水域的生态系统结构和功能,也可为我国近海微生物资源及生态环境的研究提供理依据。

基金项目: 国家 908 专项基金(908-01-ST02); 国家自然科学基金(40801193)

* 通信作者。Tel: +86-532-66786568; Fax: +86-532-66782810; E-mail: yg.zhao@yahoo.com.cn

作者简介: 白洁(1962-),女,陕西人,教授,主要从事海洋微生物生态学研究。E-mail: baijie@ouc.edu.cn

收稿日期: 2008-10-31; 修回日期: 2008-12-12

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂和材料:土壤 DNA 提取试剂盒 PowerSoil DNA Isolations kit (Mobio, USA), PCR 引物 (Invitrogen, 上海), 胶回收试剂盒 (华舜, 上海), *Ex*-Taq DNA 聚合酶、dNTP、Marker DL2000、pMD19-T 载体 (TaKaRa 公司), 电泳系统 Power Pac1000、mycycle 扩增仪、DeCode System (Bio-Rad Laboratories, USA), 自容式 CTD SBE 25 (Sea-Bird Electronics, USA), 3730 测序仪 (ABI, USA), 分析软件 Sequencher 5.0 软件 (Gene Codes, USA), Chromas 软件 (Technelysium Pty, Australia) 和 SPSS 12 软件 (SPSS Inc., USA)。

1.1.2 引物:文库构建引物分别是 BSF8/20: 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' 和 BSR1541/20: 5'-AAGGAGGTGATCCAGCCGCA-3'^[7]; DGGE 分析引物为 BA101F: 5'-TGGCGGACGGGTGACTAA-3'^[8] 和 BA534R: 5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3'^[9], 其中反向引物 BA534R 的 5' 端带有 GC 夹。

1.2 样品采集

2006 年 1 月, 通过搭载东方红 2 号科考船, 在黄渤海交汇的近海站位 1 和北黄海冷水团附近的远海站位 2 (图 1) 采集沉积物表层样品 (S) 和海水滤过

样品 (W)。应用箱式沉积物采样器采集沉积物柱后, 将表层 5 cm 沉积物置于灭菌管中, 于 -20℃ 保存。海水样品采用无菌采水瓶分别在表层、10 m 层和底层收集 250 mL, 等体积混合后用 0.22 μm 滤膜过滤, 将滤膜置于灭菌离心管中 -20℃ 保存。海水深度、温度、盐度和氧化还原电位 (ORP) 数据由船载自容式 CTD 获取, 相关数据信息见表 1。

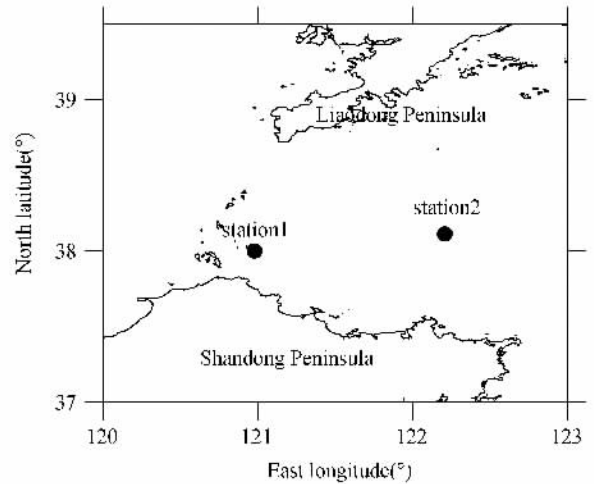


图 1 采样站位地理坐标示意图

Fig. 1 Geographic location and description of the sampling areas.

表 1 采样站位及 16S rRNA 基因文库信息

Table 1 Description of sample stations and 16S rRNA gene library sequences

Station	Geographic coordinate	Depth /m	Temperature /°C	Salinity	ORP/mV*	Sample name	No. of clones	No. of OTU	Coverage /%	Distribution /phylum
1	120.980°E 38.002°N	22	8.973	31.905	-197.7	S1**	68	55	19	10
						W1**	56	33	39	6
2	122.209°E 38.115°N	54	5.601	32.345	-259.0	S2**	45	37	18	5
						W2**	58	29	50	5

* Oxidation reduction potential (ORP) was from the bottom of seawater; ** S was the surface sediment and W was the mix sample of different layers of seawater.

1.3 DNA 提取及 PCR 扩增

1.3.1 DNA 提取:采用试剂盒提取沉积物和水体总 DNA, 最终溶解于 2 mmol/L Tris-HCl (pH = 8) 中, 取 5 μL DNA 进行电泳检测。

1.3.2 PCR 扩增:以总 DNA 为模板, 采用细菌 16S rRNA 基因保守引物进行 PCR 扩增。PCR 扩增采用 50 μL 体系, 反应条件为: 94 °C, 5 min; 94 °C 40 s, 50 °C 30 s (DGGE 分析为 55 °C, 每一循环降 0.2 °C), 72 °C 90 s, 30 个循环, 72 °C, 10 min。PCR 完成后取 5 μL 产物电泳检测, 并与定量 Marker DL2000 进行比对。

1.4 16S rRNA 基因文库的构建

采用胶回收方法纯化 PCR 产物, 参考文献 [10] 构建 16S rRNA 基因文库。当文库的阳性克隆效率高于 90% 时, 随机挑取 60 个左右白斑克隆进行测序, 测序时采用载体两侧的 M13 通用引物, 对获得的双向序列, 以 Chromas 软件进行序列拼接及载体去除。

1.5 序列处理

采用 Sequencher 5.0 将相似性 > 97% 的序列归为同一个操作分类单元 (operational taxonomy unit, OTU)。以覆盖率 (C) 来评价构建的 16S rRNA 基因文库对环境微生物多样性的体现, 公式为:

$$C = [1 - n_1/N] \times 100\% \quad (1)$$

其中, N 代表测序的克隆总数, n_1 代表 OTU 数量^[11]。

将所有序列提交到 RDP II (Ribosomal Database Project II) 数据库^[12], 进行在线分类, 同时计算各类群的比例。下载相似序列, 采用 Clustal W 对齐序列, 去除冗余序列后, 应用 MEGA 4.0 软件^[13], 以相邻法 (bootstrap = 1000) 绘制系统进化树。

1.6 群落图谱分析

应用 DGGE 技术解析细菌群落的结构。变性梯度胶中聚丙烯酰胺浓度为 8%, 变性梯度为 40% ~ 60%, 温度 60°C, 75 V, 15 h, 凝胶采用银染法染色。根据 DGGE 图谱中同一迁移距离上条带的有无, 将图谱数字化处理, 应用 SPSS 软件中的 Ward's 方法进行聚类分析。

2 结果

2.1 优势微生物群落结构分析

对各站位水体和沉积物中优势微生物群落进行 DGGE 解析及图谱分析结果如图 2。从图可见, 近海水体 (W1) 和沉积物 (S1) 中优势微生物群落结构非常相近, 图谱相似性可达 99%; 而远海水体 (S2) 和沉积物 (W2) 中则相距较远, 相似性仅为 55%。

2.2 16S rRNA 基因序列分析

通过序列拼接及载体去除, 近海站位 1 和远海站位 2 的沉积物样品 (S) 和水体样品 (W) 分别得到 68, 56, 45 和 58 个有效序列 (表 1)。将相似性大于 97% 的序列归为一个 OTU 后, 分别得到 55, 33, 37 和 29 个 OTU, 进而计算各样品的覆盖率分别为 19%, 39%, 18% 和 50%。水样的覆盖率显著高于沉积物样品的覆盖率, 表明在沉积物中有更高的微生物多样性。

通过 RDP 中的 Classifier 程序, 对所有序列进行分类, 发现存在大量无法确定其分类位置的序列, 站位 1 和 2 的沉积物样和水样分别有 11 条, 15 条, 3 条和 10 条序列无法确定其分类学位置 (图 3), 其它序列多与未培养细菌具有更高相似性。这表明, 在海洋中存在大量未被认知的微生物类群。

根据 Classifier 程序分类结果 (表 1, 图 3) 站位 1 沉积物细菌分布于 10 个已知的门, 水体中细菌序列分布于 6 个已知的门; 站位 2 沉积物细菌序列分布于 5 个门, 水体中分布于 5 个门。变形菌门 (Proteobacteria) 在所有样品中均为优势菌群, 在站位 1 中占全序列的 45%, 在站位 2 中占全序列的 60%

以上。沉积物与水体中微生物优势类群差异明显, 在沉积物中, 拟杆菌门 (Bacteroidetes) 疣微菌门 (Verrucomicrobia) γ -变形细菌亚门 (γ -Proteobacteria) 和 δ -变形细菌亚门 (δ -Proteobacteria) 为优势菌群, 在水体中相应微生物类群所占比例较低或未检测到。在水体中, 厚壁菌门 (Firmicutes) α -变形杆菌亚门 (α -Proteobacteria) 和 β -变形杆菌亚门 (β -Proteobacteria) 则为优势菌群。绿屈挠菌门 (Chloroflexi) 硝化螺菌门 (Nitrospira) 和酸杆菌门 (Acidobacteria) 是 S1 沉积物独有的门, 在其它样品中未检测到。

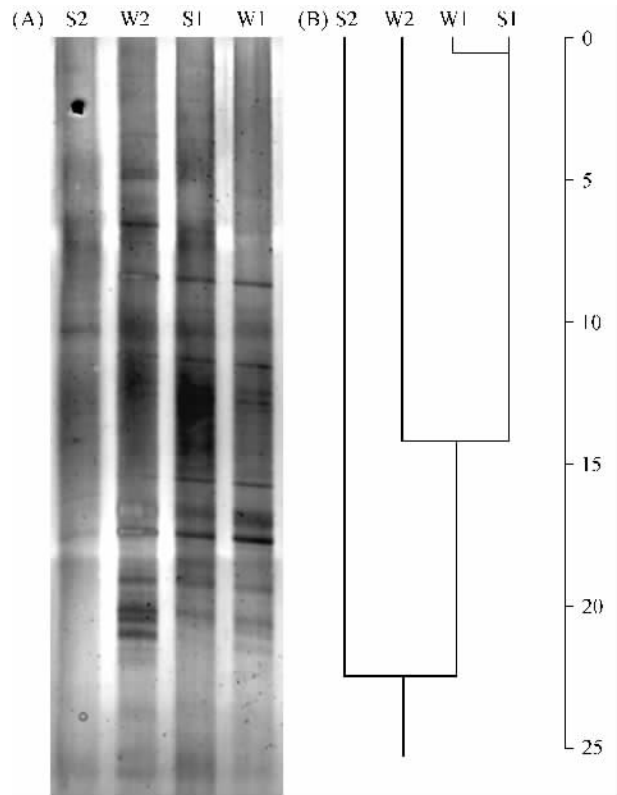


图 2 变性梯度凝胶电泳 (DGGE) 图谱 (A) 及对图谱中不同群落的聚类分析 (B)

Fig. 2 Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) profiles (A) and cluster analysis of different bacterial communities (B).

2.3 变形菌门系统发育分析

由于变形菌门细菌在所有样品中均为优势菌群, 因此对所有样品中该类群序列绘制系统发育树, 进行系统发育分析 (图 4)。从该图可以看出, 这些序列分属于变形菌门的 α -、 β -、 γ -、 δ -和 ϵ -亚门, 其中 α -、 β -亚门占变形菌门序列的 38.8% 和 3.3%, 这些序列主要来自水体微生物, 而 γ -、 δ -亚门占变形菌门序列的 37.2% 和 19.8%, 这些序列主要来源于沉积物微生物。

其中 α -亚门中的 S1-2 同韩国黄海海域中缺少

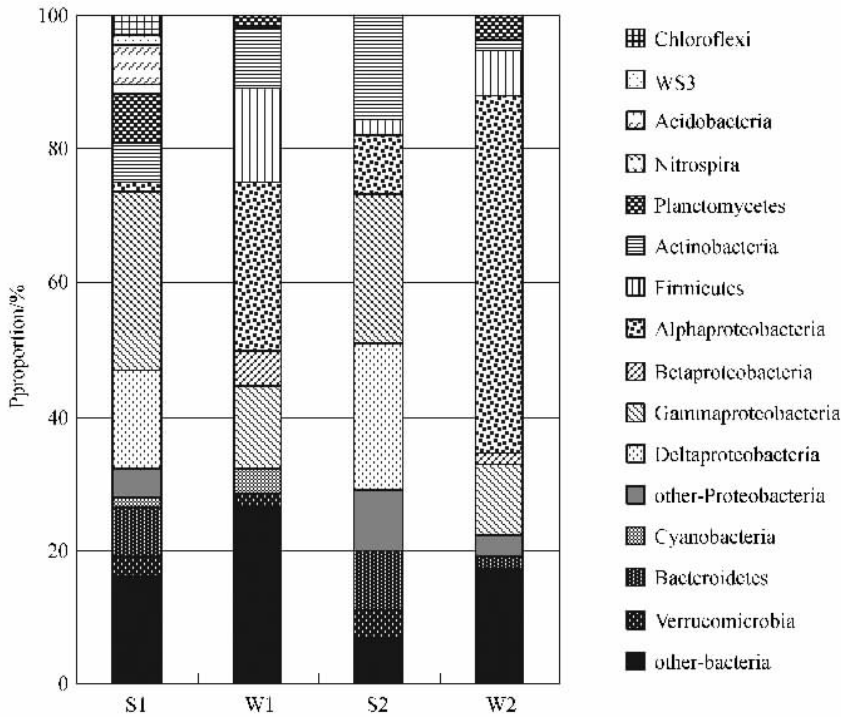


图3 16S rRNA 基因序列在不同分类阶元中的分布

Fig.3 Proportions of 16S rRNA gene sequences within different phyla or subphyla.

细菌叶绿素的 *Erythrobacter seohaensis*(AY562220)相似性较高(97%),W1-52 和 W2-25 与能够感染牡蛎的细菌 *Roseovarius crassostreae* (AF114484)高度相似(98%)。β-亚门的 16S rRNA 基因序列 W1-25、49、58 和 W2-29 与利用甲基化合物的细菌 *Methylophilus methylotrophus*(L15475)高度相似,暗示这些微生物在碳循环中可能起着重要作用。γ-亚门中的克隆 W2-9、16 和从天然矿泉中分离的细菌 *Pseudomonas brenneri* (AF268968)聚为一类,相似性达 99%,W1-5 和从波罗的海分离出的蓝色细菌 *Rheinheimera baltica* (AJ441080)16S rRNA 基因相似性达 99%。δ-亚门的细菌大多和硫酸盐还原菌(SRB)有高度相似性,在海洋硫的循环中发挥重要作用,其中 S1-18、-25、-49 和 S2-4、-51、-58、-75 与能够氧化长链脂肪酸并还原三价铁的海洋细菌 *Desulfuromonas palmitatis* (U28172)具有较高相似性(94%),S1-34 和从海洋沉积物中分离出来的厌氧脱氯细菌(AF230531)高度相似(98%)。

3 讨论

《中国第二次北极科学考察报告》指出沉积物的分布具有区域性特点,它们与一定的沉积环境、物质来源相关联,这些地理环境不同可能是导致微生物

多样性差异的重要原因^[14]。Ren 等^[6]研究表明不同区域的海水中微生物多样性也有所不同。从沉积物和水体获得的序列与数据库中未培养的细菌具有高度相似性,这表明海洋中存在大量的未知微生物资源,这些多样的微生物资源对生态系统发挥正常功能起着重要作用。

3.1 微生物多样性分析

两个站位的水体和沉积物中微生物种类都很丰富,但优势类群和多样性是有差别的。变形菌门是最为优势的类群,在沉积物中优势亚群是γ-变形细菌亚门,这一结果与近年来国内外有关海洋沉积物中微生物多样性的报道相一致,Grey 和 Herwig^[15]的研究表明在海洋沉积物中γ-变形细菌亚门较丰富。本研究中着色菌目、假单胞菌目是γ-变形菌亚门中最多的两类细菌,研究表明这两个目的细菌属于需氧或兼性厌氧细菌,它们能够在厌氧条件下进行光合作用,将 CO₂ 同化,并将硫化物氧化为单质硫元素。

δ-变形细菌亚门主要是能够以有机物为电子供体,在厌氧条件下还原硫酸盐的 SRB,研究表明,海洋沉积物中有机物质的降解有 50% 是通过 SRB 完成的^[16],同时 SRB 还参与许多难降解有机污染物的厌氧降解。在本研究中,检测到的 SRB 主要属于

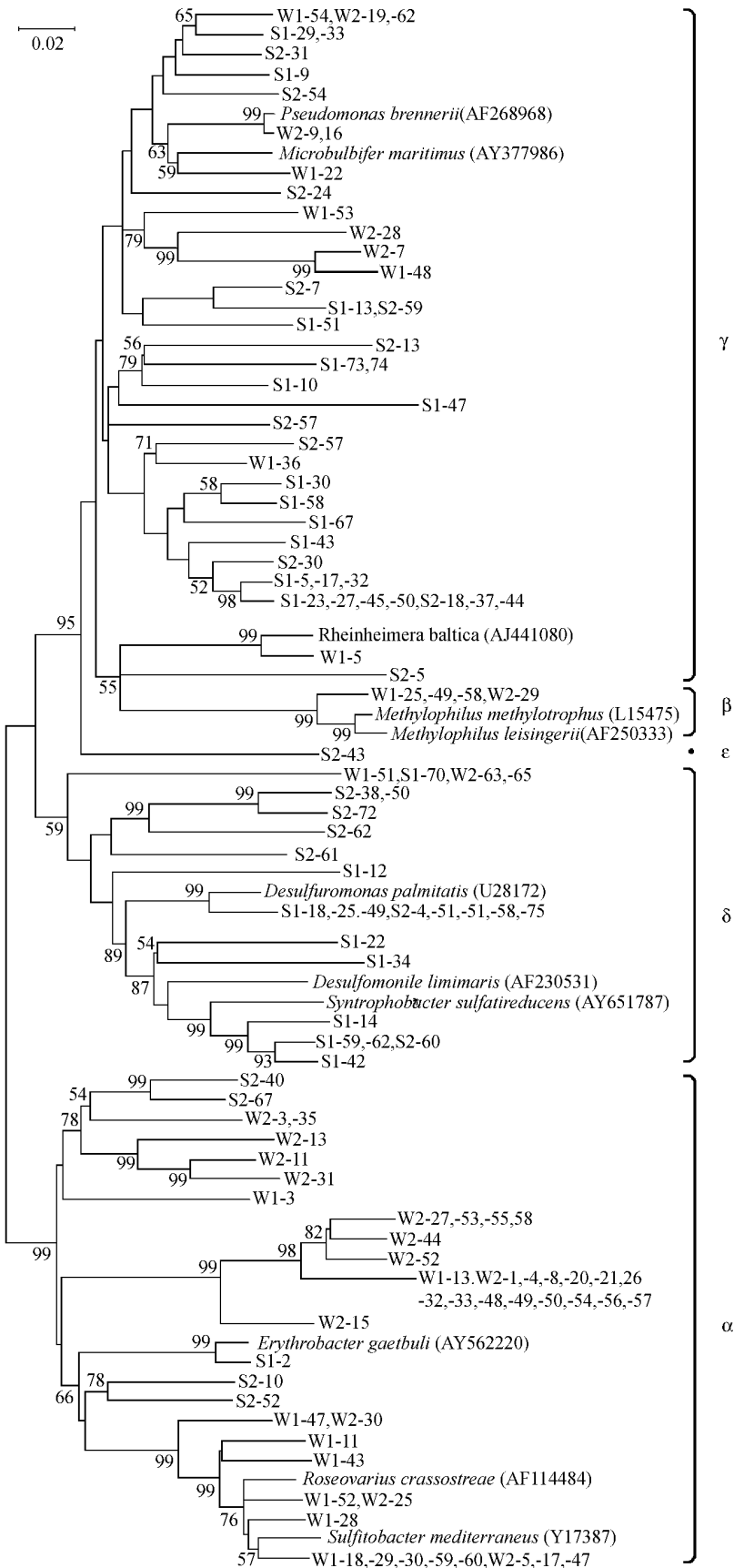


图4 两站位水体(W)和沉积物(S)中变形菌门微生物的系统发育分析

Fig.4 Phylogeny of Proteobacteria in sediment (S) and seawater (W) at two sites.

Syntrophobacterales 和 Desulfuromonales 目,这种分布与 Ravenschlag 等^[17]的研究结果一致。在水中的优势亚群是 α -变形细菌, α -变形细菌中主要是红细菌目(Rhodobacterales),还有红螺菌目(Rhodospirillales)和根瘤菌目(Rhizobiales),这些微生物能够通过光合作用进行生长代谢,CO₂和氮的固定,在海洋生态系统的碳、氮循环中发挥重要作用。

浮霉菌门(Planctomyces)分布于两个站位的3个克隆文库中(图3),主要为兼性厌氧菌,有研究表明这类细菌可能与深海有机质的矿化有关^[18],Freitag等^[19]在研究海洋沉积物厌氧氨氧化时发现,浮霉菌在这一过程中起着非常重要的作用,同时浮霉菌在污水处理系统中也是常见的菌群^[20]。

拟杆菌门(Bacterioidetes)也分布于两个站位的3个克隆文库中,绝大部分都是黄杆菌(Flavobacteriaceae),这一菌群在海洋环境中的分布非常广泛,通常在海雪花、大型藻类、小型藻类和软体动物的外壳上营附着生活,同时它们也是海洋浮游细菌的重要组成部分,可以在海水中营浮游生活^[21]。能够产生胞外水解酶来降解生物大分子如几丁质、琼脂、DNA等,是碳循环中的重要功能类群。

革兰式阳性的厚壁菌门(Firmicutes)细菌在近海和浅海沉积物中较为常见^[17],但长期以来人们都在争论海洋中的这些革兰氏阳性细菌,究竟是海洋中的土著细菌还是由河流带到海中的陆源微生物^[4],在本研究中,该类群也主要分布于水体中。

放线菌门(Actinobacteria)的数量相对较多,在沉积物与水体中均有分布,研究表明,该类群常见于浅海沉积物,并且在有机质分解和矿化的过程当中起着非常重要的作用,同时该类菌也是生物活性物质和海洋药物开发的重要微生物来源^[22]。

蓝细菌(Cyanobacteria)是存在于水体中能够通过产氧性光合作用生长的微生物,是海洋生态系统和初级生产力的重要组成部分。同时蓝细菌在海洋碳、氮、硫的循环中发挥重要作用,这主要表现为,蓝细菌通过同化CO₂来生成O₂,在好氧条件下固氮,而在黑暗中通过厌氧呼吸来还原硫。我们研究发现,仅在近海站点1的沉积物和水体中存在少量蓝细菌,这同Ren等^[6]的研究有一定的差别,他们发现胶州湾的海水中普遍存在蓝细菌,这种差别可能是地理位置和环境条件造成的。

硝化螺菌(Nitrospira)能够在好氧条件下将亚硝酸盐转化为硝酸盐,是氮素循环中的一类重要微生物。

本研究发现,该类微生物在站点1的沉积物中有少量分布,参与氮循环过程。酸杆菌门(Acidobacteria)和疣微菌门(Verrucomicrobia),主要存在于沉积物中,目前研究还相对较少。此外我们还在沉积物中发现了绿弯菌门(Chloroflexi)和WS3类群的存在。

3.2 微生物类群的地理差异

计算显示两个站点水平相距约为110 km,由于地域差异,导致了微生物群落结构和多样性的较大不同。微生物在地理空间上的分布差异,也可以看作是微生物群落对环境污染或对压力的反应。

根据DGGE图谱分析(图2)表明,2个站点的微生物群落结构存在明显的地理差异,分离距离高于28%。文库分析也表明,站点1的沉积物中存在浮霉菌、放线菌、绿弯菌、硝化螺菌和WS3五个类群,而站点2的沉积物没有检测到,相反,站点2沉积物中发现了厚壁菌门。原因可能是这两个站点沉积物中含氧量不同,含氧量是影响海洋沉积物微生物栖息环境的一个最重要因素,氧含量的高低很大程度上依赖于沉积物粒度对氧的扩散程度,同时还受沉积物中尤其是近表层沉积物中需氧生物对氧的消耗的影响^[23]。站点1靠近陆地,受人类活动影响较大,沉积物主要是陆源碎屑物,粒度较粗,氧的渗透量高,并且此站水深只有21米,这使得沉积物处于氧含量相对较高的环境,而站点2中沉积物主要是泥质细粒沉积物,氧的传质过程受到影响,并且此站水深54米,这使得沉积物处于相对贫氧的状态,具有更低的氧化还原电位(表1),从而造成了需氧微生物类群的缺失,典型的厌氧微生物,如 δ -亚门类群比例的升高。由此可推断,不同环境微生物的群落结构与相应的地质环境有一定的相关性,微生物多样性研究对地质环境的比较研究具有十分重要的参考价值。

两个站点水体中细菌群落的唯一差别是站点1存在蓝细菌和疣微菌,而站点2有拟杆菌。Agogue'等^[24]指出海水中细菌的组成由于潮流的影响会迅速发生变化,因此较难评价环境因素和微生物群落之间的相关性。本研究发现,在变形菌门的同一亚门中,不同地理位置的微生物独立成群。 α -变形细菌亚门中,近海站点1水体微生物(W1)形成一群,与其它微生物分开, δ -和 γ -变形杆菌亚门中,两站点微生物也基本形成2个不同的发育学群体。

3.3 微生物类群在不同生存介质中的差异

DGGE图谱聚类分析表明,在远海站点中,水体

和沉积物中微生物群落图谱的 Ward's 分离距离可达 45% 以上。水体和沉积物微生物在不同分类阶元水平均表现出显著差异, 门的差别主要表现在沉积物中含有酸杆菌门、绿屈挠菌门、疣微菌门、硝化螺菌门和 WS3, 而水中存在蓝细菌门; 目一级的差别主要体现在沉积物中主要是着色菌目、假单胞菌目和 Syntrophobacterales 和 Desulfuromonales; 水中主要是红细菌目 (Rhodobacterales), 红螺菌目 (Rhodospirillales), 根瘤菌目 (Rhizobiales) 和嗜甲基菌目。这种差别说明海洋微生物多样性既基于其自身基因多样性, 也依赖其生存环境 (包括其他生命体) 的多样性; 水体和沉积物的生态功能是不相同的, 在水体中微生物主要是作为生产者来生产有机物, 而在沉积物中, 微生物主要作为分解者将各种化合物和重金属进行转化。正是由于这些差异, 才使得生态系统更加完整, 更加稳定。

环境介质对微生物群落的决定作用受不同因素的影响, 当水体较浅, 易受机械或气象因素扰动时, 不同介质条件下微生物群落差别并不明显, 如本研究中站位 1 的水体和沉积物微生物群落, 相反, 如果水体较深, 且远离近海时, 由于水-底传质时间长, 机械或气象因素扰动受限时, 生存介质的影响则非常显著, 如远海站位 2。

海洋微生物与物质能量的代谢和循环有关, 研究北黄海海域沉积物微生物的多样性, 将进一步丰富人们对海洋微生物多样性的认识, 为开发利用这一特殊生态环境的微生物资源奠定基础。

4 结论

采用 16S rRNA 基因文库和 DGGE 技术, 对北黄海近海和远海 2 个站位的沉积物和水体中细菌群落结构和多样性进行了解析, 得出以下结论:

沉积物和水体中细菌群落多样性很丰富, 包括变形细菌、浮霉菌、拟杆菌、厚壁菌等多个功能类群, 与水体相比沉积物中有更高的微生物多样性。沉积物和水体中的优势群落均为变形细菌, 但沉积物中的优势亚群是 γ -和 δ -变形细菌, 而水中则是 α -变形细菌;

沉积物和水体中微生物差异存在明显的地理差异, 浮霉菌、放线菌、绿弯菌、硝化螺菌和 WS3 五个类群, 在近海浅海站位沉积物中存在, 而厚壁菌门仅存在于远海深海站位沉积物中, 而且变形菌门中各亚门在 2 站位沉积物中形成不同的系统发育族;

在水体和沉积物这两种生存介质中, 微生物在

不同分类阶元水平上均表现出显著差异, 特异类群的存在与其生态功能密切相关。

参考文献

- [1] 孙昌魁, 冯静, 马桂荣. 海洋微生物多样性的研究进展. 生命科学 (Chinese Bulletin of Life Sciences), 2001, 13(3): 97-99.
- [2] 李艳华, 张利平. 海洋微生物资源的开发与利用. 微生物学通报 (Bulletin of Microbiology), 2003, 30(3): 113-114.
- [3] Amann RI, Ludwig W, Schi Eifer KH. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. Microbiological Reviews, 1995, 59(1): 143-169.
- [4] 戴欣, 周惠, 陈月琴, 等. 中国南海南沙海区沉积物中细菌 16S rDNA 多样性的初步研究. 自然科学进展 (Progress in Natural Science), 2002, 12(5): 479-484.
- [5] 李会荣, 俞勇, 曾胤新. 北极太平洋扇区海洋沉积物细菌多样性的系统发育分析. 微生物学报 (Acta Microbiologica Sinica), 2006, 49(2): 177-183.
- [6] Ren J, Dang H, Song L. Bacterial and cyanobacterial diversities determined by T-RFLP analyses in Jiaozhou Bay. Acta Oceanologica Sinica, 2006, 25: 124-130.
- [7] Li H, Xiao T, Ding T, et al. Effect of the Yellow Sea Cold Water Mass (YSCWM) on distribution of bacterioplankton. Acta Ecologica Sinica, 2006, 26: 1012-1019.
- [8] Wilmotte A., Van der Auwera G, de Wachter R. Structure of the 16S ribosomal RNA of the thermophilic cyanobacterium *Chlorogloeopsis* HTF ('*Mastigocladus laminosus* HTF') strain PCC7518, and phylogenetic analysis. FEBS Letters, 1993, 317: 96-100.
- [9] Muyzer G, Teske A, Wirsén CO, et al. Phylogenetic relationships of *Thiomicrospira* species and their identification in deep-sea hydrothermal vent samples by denaturing gradient gel electrophoresis of 16S rDNA fragments. Archives of Microbiology, 1995, 164: 165-172.
- [10] 祖元刚, 高崇洋, 王文杰, 等. 喜树替代紫茎泽兰过程中根际微生物群落特征. 中国科学 C 辑: 生命科学 (Science in China Series C: Life Sciences), 2006, 36(5): 459-467.
- [11] Good IJ. The population frequencies of species and the estimation of population parameters. Biometrika, 1953, 40(3-4): 237-264.
- [12] Cole JR, Chai B, Farris RJ, et al. The Ribosomal Database Project (RDP-II): sequences and tools for high-throughput rRNA analysis. Nucleic Acids Research, 2005; 33(Database issue): 294-296.

- [13] Tamura K , Dudley J , Nei M , et al. MEGA4 : Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution* , 2007 , 24 :1596 – 1599.
- [14] 张占海. 中国第二次北极科学考察报告. 北京 :海洋出版社 , 2004.
- [15] Grey JP , Herwig R. Phylogenetic analysis of the bacterial communities in marine sediments. *Applied and Environmental Microbiology* , 1996 , 62 :4049 – 4056.
- [16] Jørgensen BB. Mineralization of organic matter in the seabed : the role of sulfate reduction. *Nature* , 1982 , 296 :643 – 645.
- [17] Ravenschlag K , Sahm K , Peruthaler J , et al. High bacterial diversity in permanently cold marine sediments. *Applied and Environmental Microbiology* , 1999 , 65 :3982 – 3989.
- [18] Sørensen KB , Canfield DE , Teske AP , et al. Community composition of a hypersaline endoevaporitic microbial mat. *Applied and Environmental Microbiology* , 2005 , 71 :7352 – 7365.
- [19] Freitag TE , Prosser JI. Community structure of ammonia-oxidizing bacteria within anoxic marine sediments. *Applied and Environmental Microbiology* , 2003 , 69 :1359 – 1371.
- [20] Schmid M , Schmitz-Esser S , Jetten M , et al. 16S-23S rDNA Intergenic spacer and 23S rDNA of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria : implications for phylogeny and in situ detection. *Environmental Microbiology* , 2001 , 3 :450 – 459.
- [21] Dworkin M. The prokaryotes : An evolving electronic resource for the microbiological community , 3 rd Edition. New York. Springer , 2005 , 3 :3 – 19.
- [22] Bull AT , Stach J EM. Marine actinobacteria : perspectives , challenges , future directions. *Antonie van Leeuwenhoek* , 2005 , 87 :259 – 276.
- [23] Diaz RJ , Trefry JH. Comparison of sediment profile image data with profiles of oxygen and Eh from sediment cores. *Journal of Marine Systems* , 2006 , 62 :164 – 172.
- [24] Agogue H , Casamayor EO , Bourrain M , et al. A survey on bacteria inhabiting the sea surface microlayer of coastal ecosystems. *FEMS Microbiology Ecology* , 2005 , 54 :269 – 280.

Bacterial distribution at different stations in the Northern Yellow Sea

Jie Bai , Haiyan Li , Yangguo Zhao *

(College of Environmental Science and Engineering , Ocean University of China , Qingdao 266100 , China)

Abstract [Objective] To reveal the diversity of marine bacteria in disparate sites of the Northern Yellow Sea. **[Methods]** Bacterial community structure and diversity within seawaters and sediments at two stations in the Northern Yellow Sea were investigated and assessed by the 16S rDNA clone library and the denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) techniques. **[Results]** The 16S rDNA clone library analysis indicated that the bacteria were abundant in the waters and sediments , and most of them were unknown. Phylogenetic analysis showed that the Proteobacteria were the dominant group both in the sediments and waters , γ -Proteobacteria and δ -Proteobacteria were dominant in the sediments , α -proteobacteria were dominant in the water. However , all subphyla of Proteobacteria presented phylogenetical divergence at the two sites. The clustering analysis on the DGGE patterns revealed that the dominant groups within the waters and sediments in shore were similar to each other , whereas that in the offshore were different. **[Conclusion]** The microbial diversity differed due to the geographical location and living medium ; and the microbial distribution depended on the environment factors.

Keywords : Northern Yellow Sea ; 16S rRNA ; Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) ; Proteobacteria

(本文责编 :王晋芳)