



专题: 地球生物学前沿

论文

吉林龙岗火山区玛珥湖趋磁细菌多样性与分布



林巍^{①②*}, 王寅炤^{①②}, 陈海涛^{①②③}, 潘永信^{①②}

① 中国科学院地质与地球物理研究所地球深部结构与过程研究室, 北京 100029;

② 中国科学院中-法生物矿化与纳米结构联合实验室, 北京 100029;

③ 山东大学海洋学院, 威海 264209

* E-mail: weilin0408@gmail.com

收稿日期: 2013-05-20; 接受日期: 2013-09-30

中国科学院/国家外国专家局创新团队国际合作伙伴计划(编号: KZCX2-YW-T10)和国家自然科学基金项目(批准号: 41104041)资助

摘要 对吉林省龙岗火山区大龙湾、二龙湾、龙泉龙湾和南龙湾 4 个玛珥湖中趋磁细菌的群落多样性和分布进行了研究和探讨。电子显微镜观察发现趋磁细菌在所有龙湾沉积物中普遍存在, 其中球菌是该地区趋磁细菌的优势种群, 占趋磁细菌数量的 90% 以上。利用淡水 α -变形菌纲趋磁球菌的特异性引物扩增获得近 300 条 16S rRNA 基因序列, 根据相似性 98% 的分类标准可分为 63 个分类操作单位, 表明玛珥湖中趋磁球菌具有较丰富的系统发育多样性。绝大多数趋磁球菌类群 (>80%) 只在单个湖泊中发现, 只有少数种群为所有龙湾共有, 结合环境因子分析, 推测玛珥湖趋磁细菌的现代地理分布可能是隔离分化过程和扩散过程共同作用的结果。

关键词
趋磁细菌
多样性
地理分布
玛珥湖

微生物数量庞大且分布广泛, 在全球环境变化和生态系统功能维持等方面发挥了不可或缺的作用 (Whitman 等, 1998)。趋磁细菌是自然界微生物多样性的重要组成部分, 它们是一类能沿磁场方向定向运动的微生物总称 (Bazylinski 和 Frankel, 2004)。该类细菌在细胞内矿化合成纳米级、链状排列的磁小体, 其成分主要是磁铁矿 (Fe_3O_4) 或胶黄铁矿 (Fe_3S_4) (Faivre 和 Schuler, 2008)。趋磁细菌广泛分布在湖泊和海洋环境中, 在全球铁、硫、氧和氮等元素的生物地球化学循环以及铁磁性矿物的形成和分解过程中具有重要作用 (Simmons 和 Edwards, 2007; 潘永信等, 2004)。

已有研究发现, 自然界已知趋磁细菌在系统发育上都属于变形菌门 (*Proteobacteria*)、硝化螺旋菌门 (*Nitrospirae*) 和暂定分类单元 OP3 (candidate division OP3) (林巍和潘永信, 2012)。鉴于趋磁细菌分布广泛、

易于磁富集和多样性适中等特点, 它们可以作为研究微生物地理分布的模式类群 (Lin 等, 2013)。作为较简单的原核生物, 趋磁细菌也是研究生物矿化机制的理想模式生物 (潘永信等, 2004)。趋磁细菌磁小体具有粒度均一、纯度高、磁性强和晶型独特等特点, 是一种极具应用潜力的天然优质磁性纳米材料资源 (Matsunaga 等, 2007)。此外, 沉积物和岩石中保存的化石磁小体还可作为重构古环境和古气候变化的重要参考 (Kopp 和 Kirschvink, 2008)。研究自然界中趋磁细菌的群落多样性不仅有助于了解这类微生物的地理分布特征及其在生态系统中的功能, 对开发利用趋磁细菌资源以及理解生物矿化的起源和演化具有重要意义, 而且还有助于认识这类微生物在元素循环、古地磁记录和古环境重建等研究中的贡献。

本研究对我国吉林省龙岗火山区大龙湾、二龙

中文引用格式: 林巍, 王寅炤, 陈海涛, 等. 2014. 吉林龙岗火山区玛珥湖趋磁细菌多样性与分布. 中国科学: 地球科学, 44: 1253-1262

英文引用格式: Lin W, Wang Y Z, Chen H T, et al. 2014. Diversity and biogeography of magnetotactic bacteria in Maar Lake, Northeast China. Scientia Sinica: Terrae, 44: 1253-1262

湾、龙泉龙湾和南龙湾 4 个玛珥湖中趋磁细菌的多样性和群落组成进行了研究,旨在了解东北地区玛珥湖环境中趋磁细菌的分布及其主要影响因素(图 1)。玛珥湖是在火山口形成的小型封闭湖泊(刘东生和刘嘉麒, 1998; 刘嘉麒等, 2000), 由于其独特的封闭性, 本研究结果还有助于认识和理解隔离生境中微生物的地理分布和演化。

1 材料和方法

1.1 沉积物样品的采集和理化性质分析

沉积物样品于 2012 年 8 月 6~7 日采集于吉林省辉南县和靖宇县境内龙岗火山区的 4 个玛珥湖, 包括大龙湾、二龙湾、南龙湾和龙泉龙湾(图 1)。利用实验室自制取样装置采集玛珥湖表层沉积物, 分装到预先洗净的 600 mL 样品瓶中, 每瓶装入约 200~300 mL 泥样和 100~200 mL 水样, 运回实验室, 22℃ 暗处放置 3 周。

在实验室将沉积物样品 1000×g 离心 20 min, 以分离其中的孔隙水。孔隙水的 pH 和盐度分别通过梅特勒-托利多 Delta 320 pH 计(METTLER TOLEDO, Zurich, Switzerland)和 HQ40d 盐度计(HACH, Loveland, Colorado, USA)测得。硝酸盐、亚硝酸盐、硫酸盐、磷

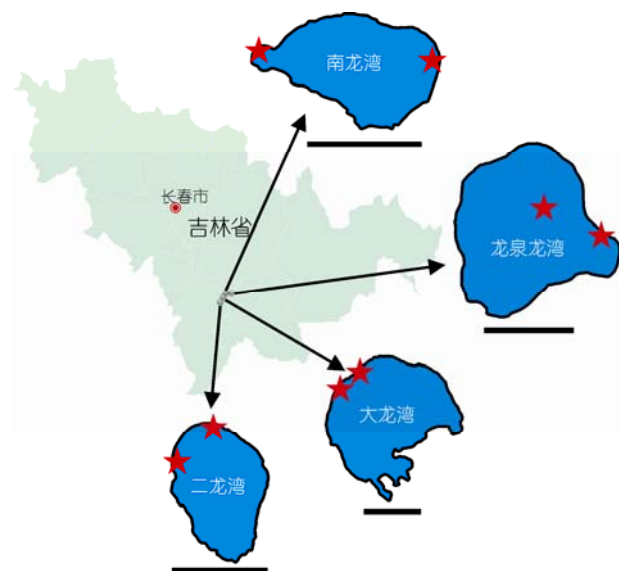


图 1 吉林省大龙湾、二龙湾、龙泉龙湾和南龙湾的采样地点分布图

红色五角星为采样地点, 经纬度信息见表 1, 标尺为 500 m

酸盐和总铁利用 HACH 公司的 DR2800 分光光度计和相应试剂盒测得(HACH, Loveland, Colorado, USA)。

1.2 趋磁细菌光学显微镜观察和磁收集

利用悬滴法检测沉积物中的趋磁细菌。用胶头滴管从塑料瓶中泥水交界面处吸取适量沉积物(约 20~50 μL), 滴在盖玻片中央, 将盖玻片迅速倒置于 O 型橡胶圈上, 沉积物在重力的作用下会悬垂在液滴的中央。将 O 型橡胶圈放置在载玻片上, 在载玻片两端分别放置南北极相对的铁氧体磁铁(表面磁场 150 mT), 静置 5~10 min, 趋磁细菌在水平磁场的作用下从沉积物中游向液滴的边缘, 此时通过光学显微镜 Olympus BX51 (Olympus Optical, Tokyo, Japan)进行观察。

利用双向趋磁细菌收集装置从沉积物样品中富集纯净的趋磁细菌(Jogler 等, 2009; Lin, 2013)。将 2 块铁氧体磁铁南北极相对分别粘在塑料瓶外壁靠近泥水交接面上部约 1 cm 处的两侧, 磁富集 1~2 h; 用移液器将磁铁附近聚集的趋磁细菌分别转移到双向趋磁细菌收集装置中并混合; 收集器中趋磁细菌在外加磁场的作用下经无菌棉塞、分离管游入样品收集管内, 磁纯化 2~3 h; 小心移去样品管, 将两管内收集到的趋磁细菌混合、离心, 并用无菌蒸馏水清洗两次; 收集的趋磁细菌样品可置于无菌蒸馏水中用于下步实验。

1.3 透射电子显微镜观察

将 10~20 μL 磁富集后的趋磁细菌直接滴在电镜铜网碳支持膜上(北京新兴百瑞技术有限公司), 室温静置 1 h, 多余的样品液用滤纸从碳支持膜边缘小心吸去, 然后用无菌蒸馏水清洗两次, 吸去多余蒸馏水, 空气中自然干燥。利用 JEM-1400 透射电子显微镜(加速电压 80 kV)观察趋磁细菌细胞的形态和磁小体的形状、尺寸及数量。

1.4 PCR 特异性扩增趋磁球菌的 16S rRNA 基因

将磁富集所得的纯净趋磁细菌样品煮沸 10 min 后作为模板直接用于聚合酶链式反应(PCR), 以淡水 α -变形菌纲趋磁球菌 16S rRNA 基因的特异性引物 FMTcf(5'-TAAAGCCCTTTYAGTGGGAA-3')和 FM-TCr(5'-ACTKCAATCYGAACTGAGACGAGY-3')进行扩增, 该引物可扩增出约 864 bp 的片段(Lin 和 Pan,

表1 采样点的地理位置和部分理化性质

采样点	北纬(°)	东经(°)	pH	NO ₃ ⁻ (mg L ⁻¹)	PO ₄ ³⁻ (mg L ⁻¹)	SO ₄ ²⁻ (mg L ⁻¹)	NO ₂ ⁻ (mg L ⁻¹)	总铁 (mg L ⁻¹)	盐度 (ppt)	海拔 (m)
大龙湾	42.34111	126.38944	7.95	0.45	0.18	7.33	0.003	0.047	0.21	620
	42.34000	126.38694								
二龙湾	42.30333	126.37778	7.83	0.83	0.16	7.33	0.004	0.053	0.04	714
	42.30528	126.38056								
龙泉龙湾	42.41528	126.60861	7.81	1.63	0.16	1.00	0.003	0.050	0.10	617
	42.41667	126.60472								
南龙湾	42.41444	126.47500	8.02	1.03	0.13	7.25	0.003	0.033	0.12	583
	42.41389	126.48389								

2009a). 40 μL 的反应体系中含有 20 μL 的 DreamTaq PCR Master Mix(MBI Fermentas, Lithuania, USA), 1.6 μL 的引物(10 μM), 5 μL 的趋磁细菌模板和 11.8 μL 的高纯水(nuclease-free water). PCR 扩增的条件为: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 45 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 40 个循环; 最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min. 每个样品扩增均做 3 个平行样, 反应结束后将平行样混合以减少 PCR 可能带来的偏差.

琼脂糖凝胶电泳(0.8%, w/v)检测 PCR 产物, 溴化乙锭染色并在凝胶成像系统中进行观察(Infinity-3026 WL/26M X-press, Vilber, France). 切胶回收 DNA 片段特征性条带, 并将其克隆到载体 pMD19-T(TaKaRa, Japan) 上, 用热激法转入大肠杆菌 (*Escherichia coli*)DH5 α 中, 涂布到含有氨苄青霉素的 Luria-Bertani 平板上, 构建 α -变形菌纲趋磁球菌的 16S rRNA 基因克隆文库.

1.5 基因测序、序列比对、系统发育及多样性分析

随机挑选 16S rRNA 基因文库中的克隆直接进行测序, 所有序列均由北京华大基因完成测序. 将获得的 16S rRNA 基因序列去除质粒部分的 DNA 片段. 利用 Bellerophon 软件(Huber 等, 2004)分析所得序列, 去除其中可能的嵌合结构序列. 使用 Greengenes 数据库中的 Classify 功能确定序列的系统分类地位(DeSantis 等, 2006). 使用 RDP's Pyrosequencing Pipeline(Cole 等, 2009)将所有地点样品中的序列按照相似性 98% 的标准划分分类操作单位(operational taxonomic unit, OTU), 选取每个 OTU 中的代表性序列进行系统发育分析. 利用 MEGA v5.0(Tamura 等, 2011)软件对代表性序列进行多重比对并手工校正,

使用邻结法(neighbor-joining, NJ)构建系统发育树, bootstrap 法检测系统发育树, 自展系数为 1000.

趋磁球菌 OTU 分布的网络结构图使用 Cytoscape v2.8.2 软件(Shannon 等, 2003)进行构建. 利用 SPADE 软件(<http://chao.stat.nthu.edu.tw>)计算表征趋磁球菌群落多样性的 Chao1 指数和 Shannon 指数以及克隆文库的盖度(Coverage). 利用基于系统发育的 UniFrac 指数(Lozupone 和 Knight, 2005)度量不同玛珥湖之间趋磁细菌群落多样性的差异并构建矩阵. 根据测得的物理化学因子, 包括硝酸盐、亚硝酸盐、硫酸盐、磷酸盐、总铁、pH、盐度和海拔等, 计算 4 个玛珥湖环境异质性矩阵(Normalized Euclidean distance). 利用 Mantel 检测(Mantel test)方法对趋磁细菌群落差异性矩阵和环境异质性矩阵进行相关性检验, 探讨环境对趋磁细菌群落分布的影响.

2 结果

2.1 沉积物的理化性质

龙岗火山区位于吉林省东南部辉南县和靖宇县境内, 属于温带大陆性季风气候区, 年平均气温 3~5 $^{\circ}\text{C}$, 年平均降水为 550~910 mm(王宗明等, 2004). 该地区玛珥湖大部分形成于早更新世中晚期(刘嘉麒等, 2000). 采样点大龙湾、二龙湾、南龙湾和龙泉龙湾海拔 583~714 m, 最大水深 36~115 m, 采样时日平均气温为 24 $^{\circ}\text{C}$. 本研究采集的表层沉积物(10~20 cm)样品主要来自 10~20 m 水深.

大龙湾、二龙湾、南龙湾和龙泉龙湾沉积物的基本理化性质见表 1. 4 个龙湾沉积物的酸碱度基本一致(pH 7.81~8.02), 呈微碱性; 盐度均小于 0.5 ppt, 属于

典型的淡水环境. 所有样品的 PO_4^{3-} ($0.13\sim 0.18 \text{ mg L}^{-1}$), NO_2^- ($0.003\sim 0.004 \text{ mg L}^{-1}$) 和总铁 ($0.033\sim 0.053 \text{ mg L}^{-1}$) 含量比较接近. NO_3^- 的含量介于 $0.45\sim 1.63 \text{ mg L}^{-1}$, 其中龙泉龙湾样品的 NO_3^- 含量最高, 是大龙湾样品含量的 3 倍多. 大龙湾、二龙湾和南龙湾样品的 SO_4^{2-} 含量接近, 均显著高于龙泉龙湾样品中 SO_4^{2-} 的含量(表 1).

2.2 趋磁细菌的形态多样性

利用悬滴法在所有 4 个龙湾的沉积物样品中都观察到趋磁细菌, 其中大龙湾样品中每毫升沉积物中约含有 50000 个趋磁细菌, 二龙湾、龙泉龙湾和南龙湾中趋磁细菌的数量分别为 6000, 10000 和 100000 个/mL. 透射电子显微镜分析发现, 磁收集得到的趋磁细菌样品中以球菌为优势种群, 占收集趋磁细菌数量的 90% 以上. 这些趋磁球菌细胞内磁小体多呈

单链或双链排列, 磁小体大小为 $25\sim 110 \text{ nm}$ (图 2(a)~(g)). 除趋磁球菌外, 还发现少量趋磁弧菌, 它们在体内合成链状结构完整的单链磁小体, 磁小体大小介于 $40\sim 125 \text{ nm}$ (图 2(h)和(i)).

2.3 趋磁球菌的系统发育多样性

玛珥湖趋磁细菌群落中以球菌为优势种群, 因此本研究利用淡水 α -变形菌纲趋磁球菌 16S rRNA 基因的特异性引物 FMTCf 和 FMTCr 扩增这些趋磁细菌的 16S rRNA 基因, 研究它们的种群多样性和分布特征. 本研究从龙湾样品中扩增得到超过 300 个基因克隆, 去掉低质量序列和疑似嵌合结构序列后共得到 291 条趋磁球菌的 16S rRNA 基因序列. BLAST(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 比对发现它们与已知趋磁球菌序列最为相似, 相似性为 90%~99%. 这些

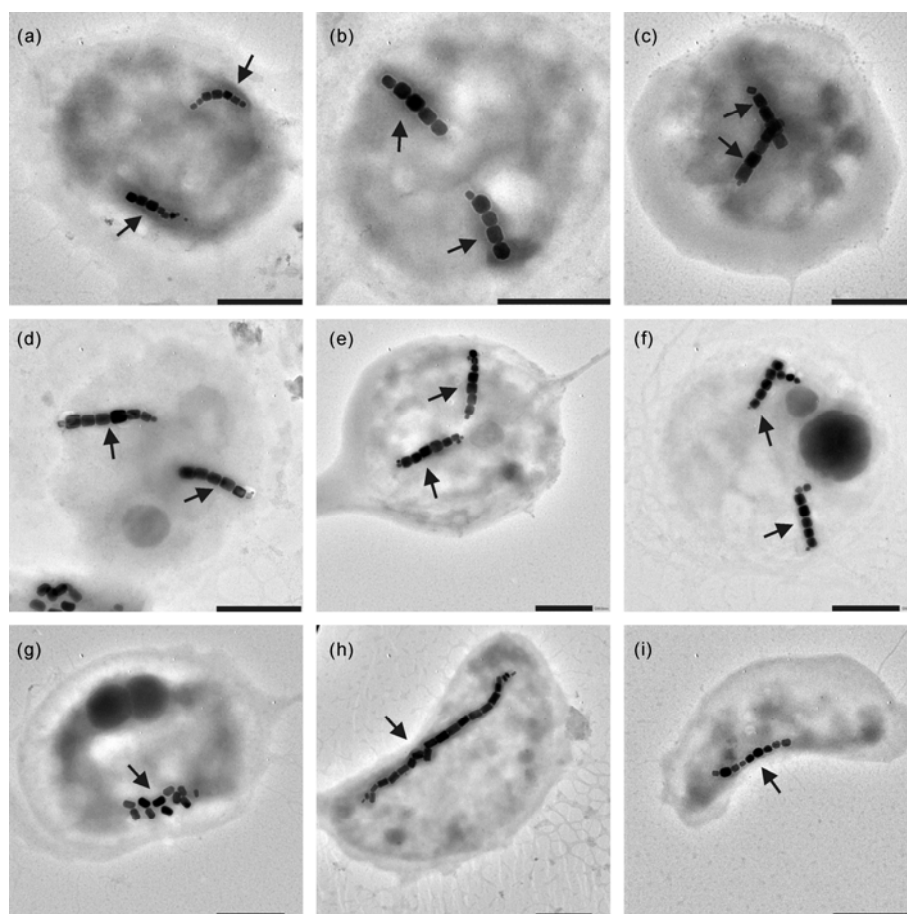


图 2 玛珥湖沉积物中代表性趋磁细菌的透射电子显微镜照片
箭头所指为磁小体, 标尺为 500 nm

序列根据 98% 的相似性标准可划分为 63 个分类操作单位(OTU)。其中, 大龙湾共测得 74 条序列, 可划分为 25 个 OTU; 二龙湾获得 74 条序列, 分为 18 个 OTU; 龙泉龙湾测得 68 条序列, 分为 17 个 OTU; 而南龙湾共得到 75 条序列, 可分为 23 个 OTU(表 2)。4 个采样点克隆文库的盖度为 81.1%~89.2%, 从文库的稀有度曲线可以看出(图 3), 随测得序列数的增加, 四个地点趋磁球菌的 OTU 数目开始逐步趋于平缓, 这些结果表明本研究所构建的克隆文库可以较好地反映这些地区趋磁球菌的多样性特征。

4 个龙湾趋磁球菌群落多样性指数见表 2。Chao1 指数和 Shannon 指数的结果一致, 即大龙湾趋磁球菌的种类最丰富, 南龙湾次之, 龙泉龙湾和二龙湾的多样性则相对较低。

2.4 趋磁球菌的分布特征

本研究所得的 63 个 OTU 中, 有超过 80% 的 OTU (51 个) 仅在单个龙湾中发现(图 4)。例如, 有 15 个 OTU 仅在大龙湾中存在, 10 个 OTU 仅在二龙湾中发现, 而只在龙泉龙湾和南龙湾中发现的 OTU 分别有 11 个和 15 个。有 5 个 OTU 同时在两个龙湾中出现, 另有 5 个 OTU 同时在 3 个龙湾中发现, 而仅有 2 个 OTU 同时在 4 个龙湾中都存在(图 4)。进一步构建了趋磁球菌 OTU 分布的热图(图 5), 总体来说大龙湾、二龙湾、龙泉龙湾和南龙湾中趋磁球菌不同类群的 OTU 分布较散乱。上述结果均表明大部分趋磁球菌在不同龙湾中特异性分布, 具有一定的地理分布格局。

利用基于系统发育的 UniFrac 聚类分析比较 4 个龙湾中趋磁球菌群落的相似性, 发现二龙湾和龙泉龙湾中趋磁球菌群落的系统发育相似性较高, 而南龙湾与其余 3 个地点趋磁球菌群落的差异性较大(图 5)。进一步利用 UniFrac 方法计算 4 个龙湾中趋磁球菌群落的差异性矩阵, 并根据硝酸盐、亚硝酸盐、硫酸盐、磷酸盐、总铁、pH、盐度和海拔等理化因子计算 4

个龙湾环境异质性的欧氏距离(Normalized Euclidean distance)矩阵, Mantel 检验发现趋磁细菌群落的差异性矩阵与环境异质性矩阵显著相关($R^2=0.79, P<0.01$), 表明环境可能是影响趋磁球菌群落不同龙湾中分布的重要因素之一。

3 讨论

趋磁细菌于 20 世纪 60~70 年代就已经发现, 但目前对这类微生物的多样性和地理分布还缺乏系统研究。已有研究主要针对单一地点的趋磁细菌群落进行分析(如 Spring 等, 1992, 1994, 1998; Spring 和 Schleifer, 1995; Simmons 等, 2004, 2007; 邢素娥等, 2008; Lin 等, 2009), 而对多个地点中趋磁细菌多样性和分布特征目前仅有个别研究(Flies 等, 2005; Lin 等, 2012a, 2013; 张文燕等, 2010)。本研究综合利用电子显微镜手段、分子生物学方法和生物地理学分析, 对我国东北地区玛珥湖中的趋磁细菌群落多样性和分布进行了研究, 发现趋磁细菌在 4 个龙湾沉积物中都存在且形态多样性较丰富(图 2)。电子显微镜观察发现球菌是龙湾沉积物中趋磁细菌的优势种群, 这与大多数前人的研究结果一致。例如, 在德国(Spring 等, 1992, 1994; Flies 等, 2005)、法国(Postec 等, 2012)和巴西(Spring 等, 1998)等国多个地点的沉积物中都发现属于 α -变形菌纲的球菌是当地趋磁细菌群落的主要类群。另外, 在我国青岛潮间带(Pan 等, 2008; 邢素娥等, 2008)和中东部的许多地点(Lin 和 Pan, 2009b; Lin 等, 2012a, 2013)也发现趋磁细菌群落以球菌为主。这些结果表明趋磁球菌可能是自然界趋磁细菌的优势种群, 因此它们的分布是整个趋磁细菌群落分布格局的缩影。

利用淡水 α -变形菌纲趋磁球菌的特异性引物扩增龙湾沉积物中趋磁球菌的 16S rRNA 基因, 共获得近 300 条序列。这些序列以 98% 的相似性标准可以分

表 2 各采样点所获得的 16S rRNA 基因序列、OTU 和群落多样性指数的基本信息

采样点	序列数	OTU(98%)	Chao1 指数(95%置信区间)	Shannon 指数(95%置信区间)	盖度(%)
大龙湾	74	25	74(35.9, 246.1)	2.988(2.522, 3.454)	81.10
二龙湾	74	18	24.4(19.4, 47.9)	2.488(2.124, 2.852)	89.20
龙泉龙湾	68	17	25.0(18.7, 54.8)	2.507(2.115, 2.900)	88.20
南龙湾	75	23	37.4(26.7, 78.3)	2.771(2.278, 3.264)	84.00

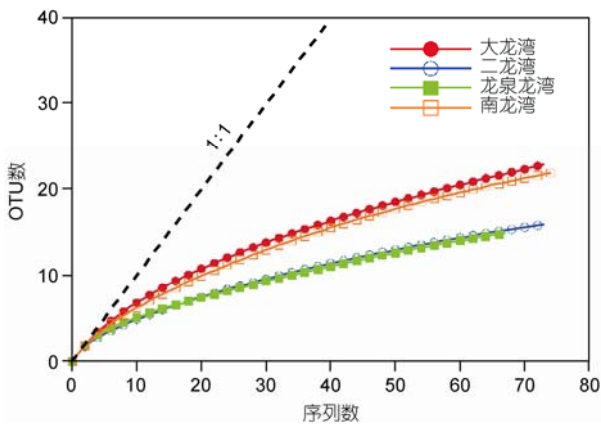


图3 趋磁球菌克隆文库的稀有度曲线

为 63 个 OTU, 表明玛珥湖中趋磁球菌具有较丰富的系统发育多样性. 值得注意的是, 超过 80% 的 OTU

只在单个龙湾中发现, 仅有 2 个 OTU 在四个龙湾中都存在(图4). 在研究的4个龙湾中, 大龙湾趋磁球菌的多样性高于其余3个龙湾(表2), UniFrac 聚类分析显示二龙湾和龙泉龙湾中趋磁球菌的群落结构在系统发育上较相似, 而南龙湾与其余3个地点趋磁细菌的群落差异较大(图5). 上述结果表明不同地点趋磁细菌的群落结构也不尽相同, 因此趋磁细菌在不同龙湾中存在一定的地理分布格局.

自然界高等动植物具有明显的地域分布特征, 但是微生物地理分布研究一直相对滞后, 甚至目前关于微生物是否具有地理分布特征还存在激烈的争论. 部分学者认为微生物具有起源早、数量多、传代快和传播广等特点, 在自然界中可能普遍均匀分布 (Finlay, 2002; Fontaneto, 2011). 然而, 越来越多的研究表明微生物与动植物类似, 也存在一定的地理分

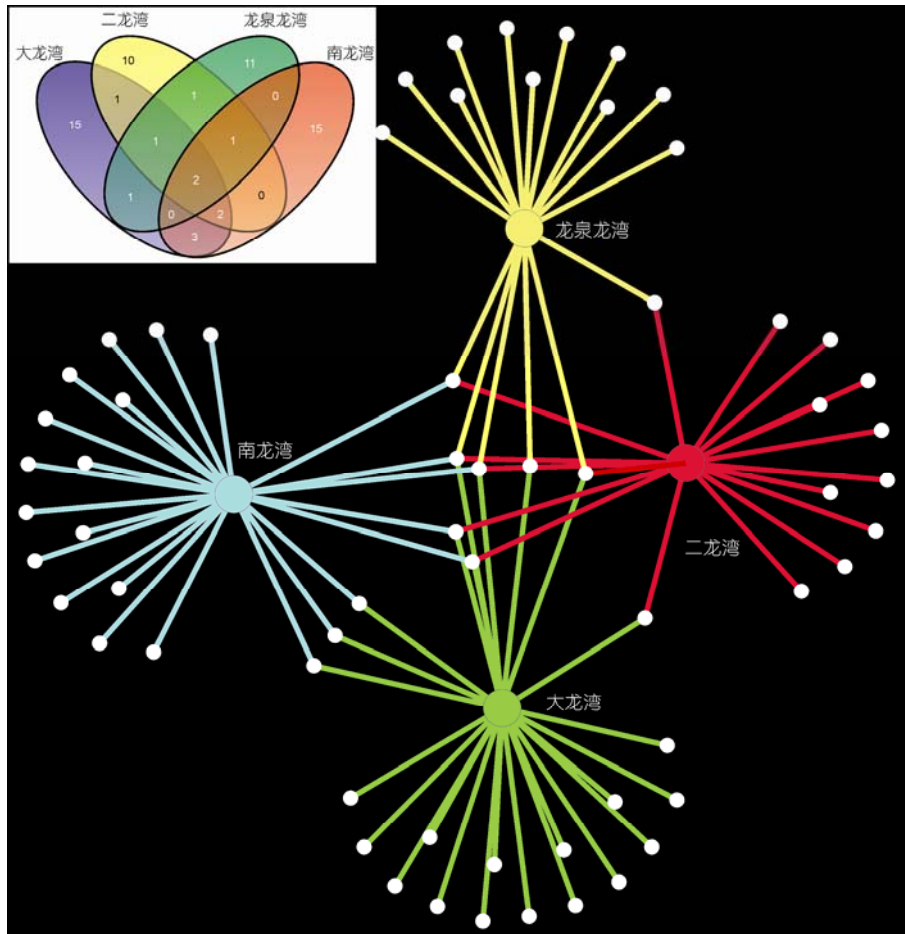


图4 大龙湾、二龙湾、龙泉龙湾和南龙湾中趋磁球菌 OTU 分布的网络结构图
白点表示不同的 OTU, 左上角小图为四个龙湾中趋磁球菌 OTU 的文氏图(Venn diagram)

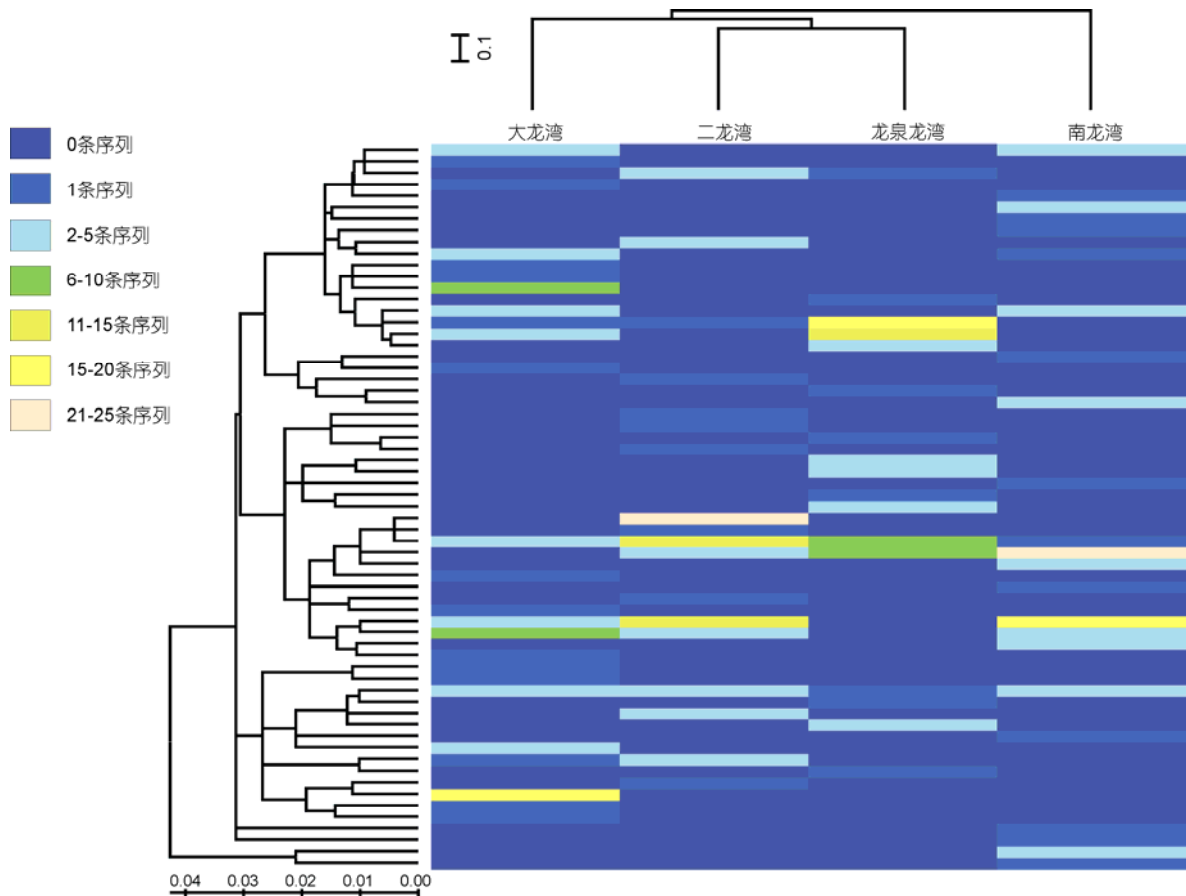


图5 趋磁球菌 OTU 分布的热图

左侧为使用邻结法对所有 63 个 OTU 构建的系统发育树, 上方是根据 UniFrac 指数构建的不同地点趋磁球菌群落的聚类分析图

布格局(Martiny 等, 2006; Hanson 等, 2012). 近年来, 通过对中国和美国多个地点趋磁细菌群落多样性和分布进行系统研究, 结合已发表的趋磁细菌多样性数据, 我们发现趋磁细菌在大空间尺度(甚至全球范围)具有明显的地理分布特征(Lin 等, 2012a, 2013). 本研究结果显示, 尽管 4 个龙湾的地理位置比较接近, 海拔高度差仅 131 m, 但它们的趋磁细菌群落组成和多样性存在差异, 说明趋磁细菌在小尺度区域性范围也具有一定的地理分布格局.

本研究发现的趋磁球菌类群中大多数仅在单个龙湾中存在, 由于玛珥湖是相对封闭的湖泊, 推测现今玛珥湖中趋磁细菌群落的分化可能是对不同龙湾环境适应进化的结果, 因此隔离分化可能是造成玛珥湖趋磁细菌地理分布的重要因素之一. Mantel 检验发现趋磁球菌群落差异与龙湾的环境异质性显著相关, 说明环境因素在一定程度上可能影响趋磁细菌

的分布, 进一步支持上述推测. 然而, 还发现 12 个 OTU 在两个或多个龙湾中存在, 这些广布趋磁球菌一方面可能在不同龙湾中一直生存至今; 另一方面也可能是它们在不同龙湾之间存在一定地扩散交流, 例如有学者推测趋磁细菌可能通过鸟类在不同湖泊中扩散传播(Paasche 和 Lovlie, 2011). 另外, 玛珥湖中的水体与地下水可能存在一定的连通(刘东生和刘嘉麒, 1998), 也可能造成一些趋磁细菌群落不同湖泊之间扩散. 综上所述, 我们推测玛珥湖趋磁细菌的现代地理分布可能是隔离分化和扩散两个过程共同作用的结果. 值得注意的是, 微生物的地理分布是一个十分复杂的过程, 目前关于驱动微生物分布的主要因素还存在较大的争论(Hanson 等, 2012; 贺纪正和葛源, 2008). 地质历史事件、环境异质性、生物间的相互作用(如竞争、捕食等)和人类活动等都可能影响微生物的多样性和分布. 因此, 在将来的研究中还

需要综合考虑多种因素,以期全面认识趋磁细菌的地理分布特征.此外,虽然16S rRNA基因是目前研究微生物多样性和地理分布的“黄金方法”,但仅凭该基因序列尚不能全面准确地描述所有微生物的多样性.因此需要同其他手段(如荧光原位杂交、单细胞分析和宏基因组方法等)相结合,更全面地研究自然界中的趋磁细菌.

玛珥湖沉积物具有发育较好的纹层,蕴含丰富的古环境信息,已被广泛用于全球范围和区域范围的高分辨率古环境和古气候重建研究(刘东生和刘嘉麒,1998;储国强和刘嘉麒,2000;刘强等,2005;王淑云等,2007).玛珥湖沉积物的有机地球化学指标和一些生物标志物可以指示古代气候和环境变化的历史.目前,玛珥湖沉积物中用于古环境重建的生物标志物有孢粉、硅藻和介形虫壳体等,它们可以较好地反映温度、盐度、pH、生产力和植被等古环境信息.趋磁细菌磁小体在细胞死后可以保存在沉积物中形成化石,化石磁小体不仅对沉积物磁学性质有重要贡献(Pan等,2005a,2005b),而且作为一种新型的生物标志物,化石磁小体已经逐步应用于古环境和古气候重建(潘永信等,2004;林巍和潘永信,2012).例如,Snowball等发现湖泊沉积物中化石磁小体的数量与总有机碳含量相关,因此可以指示湖泊古生产力的变化(Snowball等,2002).另外,同位素分析和磁学研究发现,磁铁矿磁小体的氧同位素和化石磁小体的数量可以在一定程度上反映细菌生长时的温度,可用于估计古温度变化或指示地质历史时期一些极

热事件的发生(Mandernack等,1999;Kopp等,2007).对现代趋磁细菌多样性和分布的研究显示趋磁细菌与一些环境因素,如盐度、温度、硫酸盐、总铁以及地磁场强度等有密切关系(Lin等,2012a,2012b,2013;Martins等,2009,2012),因此化石磁小体也可用于指示上述环境因子的变化.本研究在4个龙湾沉积物中都发现趋磁细菌,表明趋磁细菌在玛珥湖中可能普遍存在,因此保存在玛珥湖沉积物中的化石磁小体可能可以作为一种新型生物标志物,通过与有机地球化学指标和已有的生物标志物相结合,更好地提取玛珥湖沉积物中蕴含的古环境变化信息.

4 结论

本文对吉林龙岗火山区玛珥湖中趋磁细菌的群落多样性进行了研究,得出以下结论.

(1) 趋磁细菌在该地区玛珥湖中普遍存在.

(2) 球菌是玛珥湖趋磁细菌的优势种群,基于16S rRNA基因的分子生物学结果显示玛珥湖中的趋磁球菌具有较丰富的系统发育多样性.

(3) 玛珥湖趋磁细菌具有明显的地理分布特征,已发现的趋磁球菌中仅有少数类群为四个玛珥湖所共有,玛珥湖趋磁细菌的这种分布格局可能是隔离分化过程和扩散过程共同作用的结果.

(4) 保存在玛珥湖沉积物中的化石磁小体可以作为一种新型生物标志物,用于提取沉积物中蕴含的古环境信息.

致谢 衷心感谢刘强博士和吉林龙湾保护区管理局张吉顺对野外采样的帮助,感谢审稿人的宝贵意见.

参考文献

- 储国强,刘嘉麒.2000.中国玛珥湖中两种沉积纹层的辨识及意义.科学通报,45:1553-1557
- 贺纪正,葛源.2008.土壤微生物生物地理学研究进展.生态学报,28:5571-5582
- 林巍,潘永信.2012.趋磁细菌多样性及其环境意义.第四纪研究,32:567-575
- 刘东生,刘嘉麒.1998.玛珥湖高分辨率古环境研究的新进展.第四纪研究,4:289-296
- 刘嘉麒,Negendank J,王文远,等.2000.中国玛珥湖的时空分布与地质特征.第四纪研究,20:78-86
- 刘强,刘嘉麒,陈晓雨,等.2005.18.5 ka B.P.以来东北四海龙湾玛珥湖全岩有机碳同位素记录及其古气候环境意义.第四纪研究,25:711-721
- 潘永信,邓成龙,刘青松,等.2004.趋磁细菌磁小体的生物矿化作用和磁学性质研究进展.科学通报,49:2505-2510
- 王淑云,吕厚远,刘嘉麒.2007.湖光岩玛珥湖高分辨率孢粉记录揭示的早全新世适宜期环境特征.科学通报,52:1285-1291
- 王宗明,张柏,张树清.2004.吉林省生态系统服务价值变化研究.自然资源学报,1:55-61
- 邢素娥,潘红苗,朱开玲,等.2008.青岛汇泉湾海洋趋磁细菌多样性研究.高技术通讯,18:312-317
- 张文燕,张圣姐,肖天,等.2010.趋磁细菌的地域分布特征.环境科学,31:450-458

- Bazylinski D A, Frankel R B. 2004. Magnetosome formation in prokaryotes. *Nat Rev Microbiol*, 2: 217–230
- Cole J R, Wang Q, Cardenas E, et al. 2009. The ribosomal database project: Improved alignments and new tools for rRNA analysis. *Nucleic Acids Res*, 37: D141–D145
- DeSantis T Z, Hugenholtz P, Larsen N, et al. 2006. Greengenes, a chimera-checked 16S rRNA gene database and workbench compatible with ARB. *Appl Environ Microbiol*, 72: 5069–5072
- Faivre D, Schüller D. 2008. Magnetotactic bacteria and magnetosomes. *Chem Rev*, 108: 4875–4898
- Finlay B J. 2002. Global dispersal of free-living microbial eukaryote species. *Science*, 296: 1061–1063
- Flies C B, Peplies J, Schüller D. 2005. Combined approach for characterization of uncultivated magnetotactic bacteria from various aquatic environments. *Appl Environ Microbiol*, 71: 2723–2731
- Fontaneto D. 2011. Biogeography of microscopic organisms: Is everything small everywhere? In: Gower D J, ed. *The Systematics Association Special Volume Series*. Cambridge: Cambridge University Press
- Hanson C A, Fuhrman J A, Horner-Devine M C, et al. 2012. Beyond biogeographic patterns: Processes shaping the microbial landscape. *Nat Rev Microbiol*, 10: 497–506
- Huber T, Faulkner G, Hugenholtz P. 2004. Bellerophon: A program to detect chimeric sequences in multiple sequence alignments. *Bioinformatics*, 20: 2317–2319
- Jogler C, Lin W, Meyerdierts A, et al. 2009. Towards cloning the magnetotactic metagenome: Identification of magnetosome island gene clusters in uncultivated magnetotactic bacteria from different aquatic sediments. *Appl Environ Microbiol*, 75: 3972–3979
- Kopp R E, Raub T D, Schumann D, et al. 2007. Magnetofossil spike during the Paleocene-Eocene thermal maximum: Ferromagnetic resonance, rock magnetic, and electron microscopy evidence from Ancora, New Jersey, United States. *Paleoceanography*, 22, doi:10.1029/2007PA001473
- Kopp R E, Kirschvink J L. 2008. The identification and biogeochemical interpretation of fossil magnetotactic bacteria. *Earth-Sci Rev*, 86: 42–61
- Lin W, Pan Y. 2009a. Specific primers for the detection of freshwater alphaproteobacterial magnetotactic cocci. *Int Microbiol*, 12: 237–242
- Lin W, Pan Y. 2009b. Uncultivated magnetotactic cocci from Yuandadu park in Beijing, China. *Appl Environ Microbiol*, 75: 4046–4052
- Lin W, Li J, Schüller D, et al. 2009. Diversity analysis of magnetotactic bacteria in Lake Miyun, northern China, by restriction fragment length polymorphism. *Syst Appl Microbiol*, 32: 342–350
- Lin W, Wang Y, Li B, et al. 2012a. A biogeographic distribution of magnetotactic bacteria influenced by salinity. *ISME J*, 6: 475–479
- Lin W, Wan Y, Pan Y. 2012b. Short-term effects of temperature on the abundance and diversity of magnetotactic cocci. *Microbiol Open*, 1: 53–63
- Lin W, Wang Y, Gorby Y A, et al. 2013. Integrating niche-based process and spatial process in biogeography of magnetotactic bacteria. *Sci Rep*, 3: 1643, doi: 10.1038/srep01643
- Lin W. 2013. *Diversity, Biomineralization and Rock Magnetism of Magnetotactic Bacteria*. Berlin-Heidelberg: Springer
- Lozupone C A, Knight R. 2005. UniFrac: A new phylogenetic method for comparing microbial communities. *Appl Environ Microbiol*, 71: 8228–8235
- Mandernack K W, Bazylinski D A, Shanks W C, et al. 1999. Oxygen and iron isotope studies of magnetite produced by magnetotactic bacteria. *Science*, 285: 1892–1896
- Martins J L, Silveira T S, Abreu F, et al. 2012. Spatiotemporal distribution of the magnetotactic multicellular prokaryote *Candidatus Magnetoglobus multicellularis* in a Brazilian hypersaline lagoon and in microcosms. *Int Microbiol*, 15: 141–149
- Martins J L, Silveira T S, Silva K T, et al. 2009. Salinity dependence of the distribution of multicellular magnetotactic prokaryotes in a hypersaline lagoon. *Int Microbiol*, 12: 193–201
- Martiny J B H, Bohannan B J M, Brown J H, et al. 2006. Microbial biogeography: Putting microorganisms on the map. *Nat Rev Microbiol*, 4: 102–112
- Matsunaga T, Suzuki T, Tanaka M, et al. 2007. Molecular analysis of magnetotactic bacteria and development of functional bacterial magnetic particles for nano-biotechnology. *Trends Biotechnol*, 25: 182–188
- Paasche O, Lovlie R. 2011. Synchronized postglacial colonization by magnetotactic bacteria. *Geology*, 39: 75–78
- Pan H, Zhu K, Song T, et al. 2008. Characterization of a homogeneous taxonomic group of marine magnetotactic cocci within a low tide zone in the China Sea. *Environ Microbiol*, 10: 1158–1164
- Pan Y, Petersen N, Winklhofer M, et al. 2005a. Rock magnetic properties of uncultured magnetotactic bacteria. *Earth Planet Sci Lett*, 237: 311–325
- Pan Y, Petersen N, Davila A, et al. 2005b. The detection of bacterial magnetite in recent sediments of Lake Chiemsee(southern Germany). *Earth Planet Sci Lett*, 232: 109–123

- Postec A, Tapia N, Bernadac A, et al. 2012. Magnetotactic bacteria in microcosms originating from the French Mediterranean coast subjected to oil industry activities. *Microbial Ecol*, 63: 1–11
- Shannon P, Markiel A, Ozier O, et al. 2003. Cytoscape: A software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Res*, 13: 2498–2504
- Snowball I, Zillen L, Sandgren P. 2002. Bacterial magnetite in Swedish varved lake-sediments: A potential bio-marker of environmental change. *Quat Int*, 88: 13–19
- Simmons S L, Sievert S M, Frankel R B, et al. 2004. Spatiotemporal distribution of marine magnetotactic bacteria in a seasonally stratified coastal salt pond. *Appl Environ Microbiol*, 70: 6230–6239
- Simmons S L, Bazylinski D A, Edwards K J. 2007. Population dynamics of marine magnetotactic bacteria in a meromictic salt pond described with qPCR. *Environ Microbiol*, 9: 2162–2174
- Simmons S L, Edwards K J. 2007. Geobiology of magnetotactic bacteria. In: Schüler D, ed. *Magnetoreception and Magnetosomes in Bacteria*. Berlin: Springer. 77–102
- Spring S, Amann R, Ludwig W, et al. 1992. Phylogenetic diversity and identification of nonculturable magnetotactic bacteria. *Syst Appl Microbiol*, 15: 116–122
- Spring S, Amann R, Ludwig W, et al. 1994. Phylogenetic analysis of uncultured magnetotactic bacteria from the alpha-subclass of *Proteobacteria*. *Syst Appl Microbiol*, 17: 501–508
- Spring S, Schleifer K H. 1995. Diversity of magnetotactic bacteria. *Syst Appl Microbiol*, 18: 147–153
- Spring S, Lins U, Amann R, et al. 1998. Phylogenetic affiliation and ultrastructure of uncultured magnetic bacteria with unusually large magnetosomes. *Arch Microbiol*, 169: 136–147
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, et al. 2011. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol Biol Evol*, 28: 2731–2739
- Whitman W B, Coleman D C, Wiebe W J. 1998. Prokaryotes: The unseen majority. *Proc Natl Acad Sci USA*, 95: 6578–6583