

ARDRA 分型测定刺参养殖环境中蛭弧菌多样性

韩民泳 陈慧黠* 斯哈 刘洋 陈亚东

(大连海洋大学 农业部北方海水增殖重点实验室 辽宁 大连 116023)

摘要:【目的】研究刺参养殖环境中蛭弧菌类微生物的多样性及其组成特征。【方法】对刺参养殖用水进行过滤,获得微生物并提取其总 DNA,分别采用两对特异性引物 Per 和 Bac 扩增蛭弧菌类微生物相应的 16S rRNA 基因目的片段。通过核糖体 DNA 扩增片段限制性内切酶分析 (ARDRA)方法,使用 *Hae* III 和 *Msp* I, 双酶切各 60 个目的基因的单克隆,选不同条带克隆进行测序并对测序结果的多重序列分析比对。【结果】确定两对引物分别存在 8 和 9 种碱基差异序列,均属于噬菌弧菌属,分属于 3 个类群中。类群 I、II 为优势类群,且均为已知类群,类群 III 为潜在的新类群; Per1 (KP214541) 和 Bac44 (KP214551) 代表菌株分别为优势种。【结论】刺参养殖环境中蛭弧菌具有较高的多样性,包括已知类型和未知类型的蛭弧菌;可进一步进行蛭弧菌的分离、培养,用于刺参养殖中病害防治研究。

关键词: 刺参, 养殖环境, 蛭弧菌类微生物, 核糖体 DNA 扩增片段限制性内切酶分析, 16S rRNA 基因, 多样性

ARDRA analysis of diversity of *Bdellovibrio*-and-like organisms in mariculture environment of *Apostichopus japonicus*

HAN Min-Yong CHEN Hui-Xia* SI Han LIU Yang CHEN Ya-Dong

(Key Laboratory of Mariculture & Stock Enhancement in North China's Sea, Ministry of Agriculture, Dalian Ocean University, Dalian, Liaoning 116023, China)

Abstract: [Objective] To study the diversity and composition of *Bdellovibrio*-and-like organisms (BALOs) in mariculture environment of *Apostichopus japonicus*. [Methods] The aquaculture water of *A. japonicus* was filtered to obtain the microorganisms. Then the total DNA of microorganisms was extracted. The purpose fragments of 16S rRNA gene of BALOs were amplified using two pairs of primers Per and Bac by PCR, respectively. Different patterns were determined with restriction enzymes *Hae* III and *Msp* I by amplified ribosomal DNA restriction analysis (ARDRA). Positive clones were verified from 60 monoclonal strains. [Results] Eight and nine differences base sequences were obtained from two pairs of primers, respectively, and which were all belong to *Bacteriovorax* sp. and affiliated with three different clusters. Clusters I and II are dominant type which are known clusters;

Foundation item: Department of Education of Liaoning Province (No. L2012255)

*Corresponding author: Tel: 86-411-84763519; E-mail: chenhuixia@dlou.edu.cn

Received: May 14, 2015; **Accepted:** July 14, 2015; **Published online** (www.cnki.net): October 12, 2015

基金项目: 辽宁省教育厅计划项目(No. L2012255)

*通讯作者: Tel: 86-411-84763519; E-mail: chenhuixia@dlou.edu.cn

收稿日期: 2015-05-14; **接受日期:** 2015-07-14; **优先数字出版日期**(www.cnki.net): 2015-10-12

Cluster III is a new one; The representative strains of Per1 (KP214541) and Bac44 (KP214551) are the dominant species. **[Conclusion]** The BALOs presented high diversity in mariculture environment of *A. japonicus*, including known and unknown, and the BALOs should be further isolated and cultured for the study of disease control in *A. japonicus* culture.

Keywords: *Apostichopus japonicus*, Mariculture environment, *Bdellovibrio*-and-like organisms (BALOs), Amplified ribosomal DNA restriction analysis (ARDRA), 16S rRNA gene, Diversity

蛭弧菌是一类广泛分布于自然界中, 对众多其他的革兰氏阴性细菌, 包括一些致病菌等具有较高的裂解效果的生物。Snyder 等^[1]使用“*Bdellovibrio*-and-like organisms (蛭弧菌及其类似生物, BALOs)”一词描述这类细菌。在水产养殖过程中, 蛭弧菌裂解致病菌的作用可以有效地预防刺参等水产动物的疾病发生, 并且对水质的改善也具有较好的效果^[2-4], 在现今的水产动物养殖病害防治的运用中有很好的前景。

在分类上, 蛭弧菌属于 δ -变形细菌纲 (Deltaproteobacteria) 蛭弧菌目 (Bdellovibrionales), 目前被分为两个科: 蛭弧菌科 (Bdellovibrionaceae) 和噬菌弧菌科 (Bacterioviraceae)^[5]。了解 BALOs 的生物多样性有助于加深对海洋环境中蛭弧菌类微生物资源的认识, 对其的分离、纯化及加工利用也具有重要的作用^[6-7]。但迄今为止, 养殖环境中 BALOs 多样性的研究较少, 仅在 2009 年温崇庆等^[8-9]对广东省湛江市海域多个集中养殖区的 BALOs 进行了系统的研究分析, 薛明等^[10]对对虾池中可分离蛭弧菌进行了研究, 本研究将继续对北方刺参养殖环境中 BALOs 多样性进行研究, 以期掌握更全面的蛭弧菌多样性数据, 为其分离、培养、鉴定及生态学特征和功能研究提供依据, 并为进一步分离蛭弧菌应用于养殖病害防治奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品: 刺参养殖用水。样品取自大连海洋大学农业部北方海水增养殖重点实验室刺参人工养殖池。从刺参养殖池底部接取刺参养殖 5 d 时的海水 2 L, 使用真空泵和 0.22 μ m 微孔滤膜进行水样抽

滤, 采用无菌铲刮取滤膜上的滤出物, 无菌水洗涤, 5 000 r/min 离心 10 min 得 2.78 g 分离物。

1.1.2 培养基: LB 培养基^[11]。

1.1.3 引物: PCR 扩增引物为噬菌弧菌科 16S rRNA 基因特异性引物 Bac (*Bacteriovorax*-specific) 和 Per (*Peredibacter*-specific)^[12], 分别为 Bac676F (5'-ATTTCCGCATGTAGGGGTA-3') 和 Bac1442R (5'-GCCACGGCTTCAGGTAAG-3'); Per676F (5'-ATTTACGTGTAGGGGTA-3') 和 Per1443R (5'-GCCACGGCTTCAGGTAAG-3')。阳性克隆检测使用通用引物 M13F-47 和 M13R-48 (参考 pMD 19-T Vector 使用手册)。由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

1.1.4 主要试剂: DNA 提取试剂盒、pMD 19-T Vector、Taq DNA 聚合酶、氨苄青霉素 (Ampicilin, Amp) 及限制性内切酶 *Hae* III、*Msp* I 购于宝生物工程(大连)有限公司, DNA 胶回收试剂盒购于生工生物工程(上海)股份有限公司, DNA Marker 购于天根生化科技(北京)有限公司。

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取及 PCR 产物回收: 使用 DNA 提取试剂盒进行 DNA 提取。用两种 16S rRNA 基因引物对所提取 DNA 进行特异性扩增。PCR 反应体系 (25 μ L): 10 \times DNA buffer 5 μ L, dNTPs (2.5 mmol/L) 4 μ L, 引物 (10 μ mol/L) 各 2 μ L, 模板 DNA 5 μ L, Taq 酶 (2.5 U/ μ L) 0.5 μ L, ddH₂O 补足至 50 μ L。PCR 反应条件为: 94 $^{\circ}$ C 5 min; 94 $^{\circ}$ C 30 s, 53 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 30 s, 40 个循环; 72 $^{\circ}$ C 7 min; 4 $^{\circ}$ C 保存。1%琼脂糖凝胶电泳 120 V、30 min 检测观察结果。然后对 PCR 特异扩增产物进行琼脂糖凝胶回收。

1.2.2 PCR 产物的质粒载体连接和大肠杆菌感受

态细胞的转化: 将 PCR 产物与 pMD 19-T Vector 进行连接。采用大肠杆菌(*Escherichia coli*)感受态细胞 DH5 α 进行转化, 涂布平板(LB+Amp+X-gal+IPTG), 37 °C 恒温培养, 进行蓝白斑筛选。

1.2.3 阳性克隆检测: 从转化平板上各挑取个体均匀的 60 个白色克隆, 接种到含 Amp 的 LB 培养液中, 37 °C、190 r/min 培养 10 h, 4 °C 存放。用通用引物(M13F-47 和 M13R-48)进行菌液 PCR, 以进行阳性克隆检测。PCR 反应体系及反应条件同 1.2.1, 共 25 个循环。用 1%琼脂糖凝胶电泳进行检测。

1.2.4 PCR 产物的 ARDRA 酶切分型: 用限制性内切酶 *Hae* III 和 *Msp* I 分别对阳性扩增产物进行核糖体 DNA 扩增片段限制性内切酶分析(ARDRA), 酶切反应体系如下: 10 μ L *Hae* III 酶反应体系包含: *Hae* III 酶 0.5 μ L, 10 \times M buffer 1 μ L, PCR 产物 8.5 μ L; 10 μ L *Msp* I 酶反应体系包含 *Msp* I 酶 0.5 μ L, 10 \times T buffer 1 μ L, BSA 1 μ L, PCR 产物 7.5 μ L。37 °C 水浴 1 h, 2%琼脂糖凝胶电泳进行检测, 根据大小不同的酶切片段对其进行分型, 将两种酶切带型一致的菌株定为同一种 ARDRA 型。对不同的分型结果分别选取条带清晰的 1-2 个阳性克隆扩增产物送样测序。样品送至北京六合华大基因有限公司, 通过 M13 引物进行双向测序。

1.3 数据处理

使用 NCBI 数据库的 BLAST 工具对目的片段与 GenBank 数据库中的序列进行相似性比较分析; 通过 ClustalX 1.81 软件进行多重序列比对; 利用 MEGA 5.1 软件, 采用邻近法(Neighbor-Joining method)构建系统进化树, 并自举 1 000 次分析评估进化树的拓扑稳定性。

2 结果与分析

2.1 总 DNA 的提取和扩增

水样中微生物总 DNA 的提取结果如图 1 所示, 以提取的总 DNA 为模板, 进行特异性引物(Bac 和 Per) PCR 扩增, Bac 引物和 Per 引物扩增均得到大

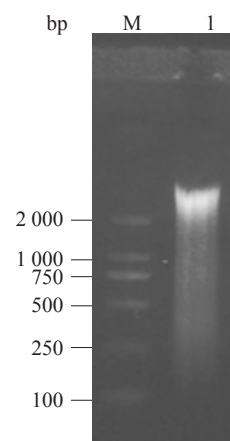


图 1 水样微生物总 DNA

Figure 1 Total DNA of microorganisms in the water

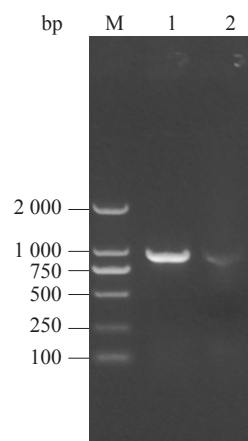


图 2 16S rRNA 基因的 PCR 扩增

Figure 2 PCR amplification of 16S rRNA gene

注: 1: Bac 引物的 PCR 扩增; 2: Per 引物的 PCR 扩增.

Note: 1: Amplification with primer Bac; 2: Amplification with primer Per.

小约为 800 bp 的特异性条带(图 2)。结果表明, 在刺参养殖池水体中存在数量众多的能被引物 Bac 和 Per 特异扩增的 BALOs。

2.2 阳性克隆检测

从平板上分别挑取单克隆 60 个, 并编号 Bac1-60 和 Per1-60 进行阳性验证。结果表明阳性结果清晰可见, 部分检测结果在目标区域没有条带出现, 为阴性结果。

2.3 ARDRA 酶切分型

考虑到可能出现假阴性结果, 仍对全部单克隆

菌液 PCR 产物进行双酶切,分离出不同 ARDRA 型,对不同类 型抽样测序分析。

2.3.1 引物 Per 扩增产物阳性克隆的酶切分型: 使用酶 *Hae* III 和 *Msp* I 对引物 Per 的 PCR 扩增产物进行双酶切分型,观察并分析图谱,最终分离出 8 种不同 ARDRA 型(表 1),各类型分别用 A-H 表示。每种类型选取 1-2 个克隆,共选取具有代表性的 17 个不同 ARDRA 型的单克隆送样测序。图 3 列出部分酶切图谱,其中包含类型 A、E、F、G、H 5 种类型。

2.3.2 引物 Bac 扩增产物阳性克隆的酶切分型: 同 2.3.1,对引物 Bac 的扩增产物进行双酶切,目测分离出 9 种不同 ARDRA 型(表 1),各类型分别用 a-i 表示。每种类型选取 1-2 个克隆,共选取具有代表性的 12 个不同 ARDRA 型的单克隆送样测序。图 4 列出部分酶切图谱,其中包含所有 9 种酶切类型。

分型结果表明,类型 A 在引物 Per 扩增产物中比例最高,达到 57.7%,较其他类型为优势类型,该类型中的代表菌株有 Per1 (表 1);引物 Bac 扩增产物中类型 f 占有 39.5%的比例,为该分型结果中

表 1 ARDRA 型在各 60 个蛭弧菌 16S rRNA 基因重组克隆子中的分布
Table 1 ARDRA distribution in 16S rRNA gene clones of BALOs

类型 Types	菌株 Strains	类型比例 Type proportion (%)
A	Per1-Per3、Per5-Per9、Per11-Per13、Per16、Per19、Per20、Per22-Per27、Per29、Per41-Per43、Per45-Per47、Per49、Per55、Per57	57.7
B	Per4	1.9
C	Per28、Per30	3.8
D	Per10	1.9
E	Per32、Per51、Per53	5.8
F	Per44	1.9
G	Per21、Per31、Per33-Per40	19.2
H	Per48、Per50、Per52、Per56	7.7
a	Bac1、Bac18	5.3
b	Bac5、Bac7-Bac10、Bac17	15.8
c	Bac54、Bac57	5.3
d	Bac12、Bac14、Bac23、Bac37	10.5
e	Bac13、Bac15、Bac20、Bac47	10.5
f	Bac2、Bac21、Bac24、Bac26、Bac28、Bac29、Bac35、Bac36、Bac39、Bac43、Bac44、Bac48、Bac53、Bac58、Bac59	39.5
g	Bac26、Bac45	5.3
h	Bac56	2.6
i	Bac41、Bac46	5.3

注: A-H: 为引物 Per 扩增产物 ARDRA 型; a-i: 为引物 Bac 扩增产物 ARDRA 型。
Note: A-H: ARDRA types of primer Per amplified products; a-i: ARDRA types of primer Bac amplified products.

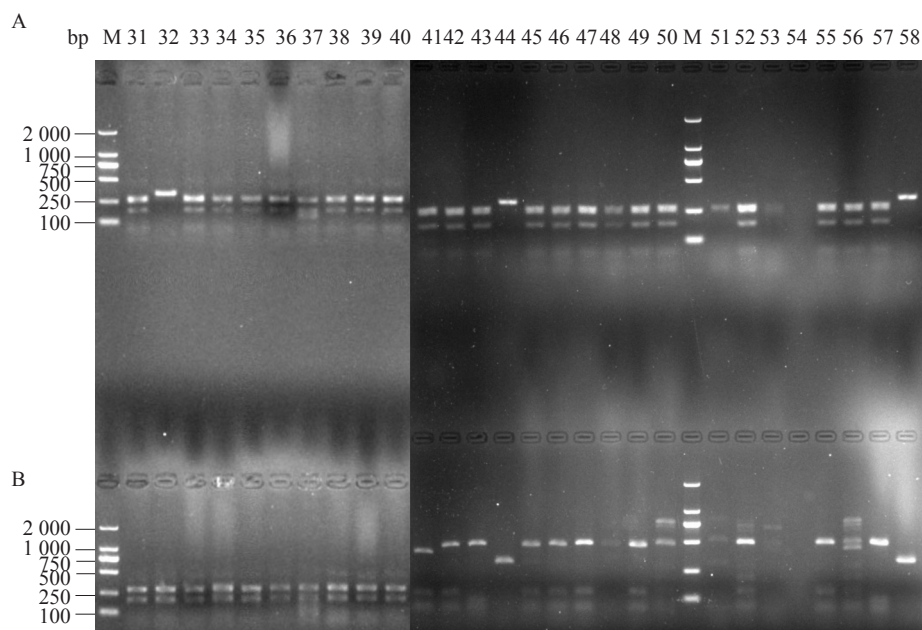


图3 Per 扩增产物部分克隆双酶切凝胶图

Figure 3 Agarose gel electrophoresis of primer Per amplified products digested with double enzymes

注: A: Per 扩增产物的 *Hae* III 酶切; B: *Msp* I 酶切.

Note: A: The primer Per amplified products digested with *Hae* III; B: The products digested with *Msp* I.

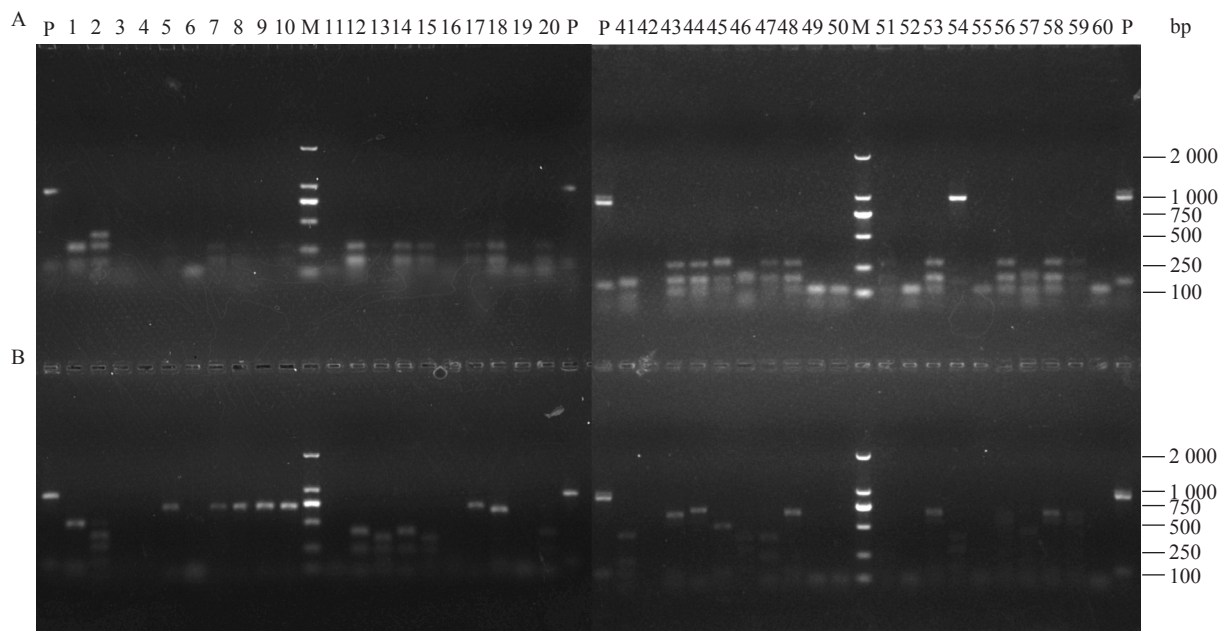


图4 Bac 扩增产物部分克隆双酶切凝胶图

Figure 4 Agarose gel electrophoresis of primer Bac amplified products digested with double enzymes

注: A: Bac 扩增产物的 *Hae* III 酶切; B: *Msp* I 酶切; M: Marker DL2000; P: PCR 产物对照.

Note: A: The primer Bac amplified products digested with *Hae* III; B: The products digested with *Msp* I; M: Marker DL2000; P: PCR product comparisons.

的优势类型, 其代表菌株为 Bac44 (表 1)。

2.4 测序结果分析

经多重序列比对, 共得到 17 种差异序列, 其中通过引物 Per 扩增获得 8 种, 引物 Bac 获得 9 种。序列上传至 NCBI, 获得序列号分别为 KP214539–KP214555。其中菌株 Per1 和 Bac44 为两种引物扩增序列酶切分型中优势类型代表菌株, 其序列号分别为 KP214541 和 KP214551。将测序结

果在 NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 16S rRNA 基因数据文库中进行比较, 获得相似度较高的已知菌株, 并判定均为噬菌弧菌属^[9]。进一步构建系统进化树, 17 种序列同属于噬菌弧菌科, 且分属 3 个类群, 并存在显著差异(图 5), 分别与海洋噬菌弧菌 (*Bacteriovorax marinus*) 和海岸噬菌弧菌 (*Bacteriovorax litoralis*) 具有较高相似性。其中, 类群 I、III 与 *B. marinus* SJ (NR102485) 最高具有 98%

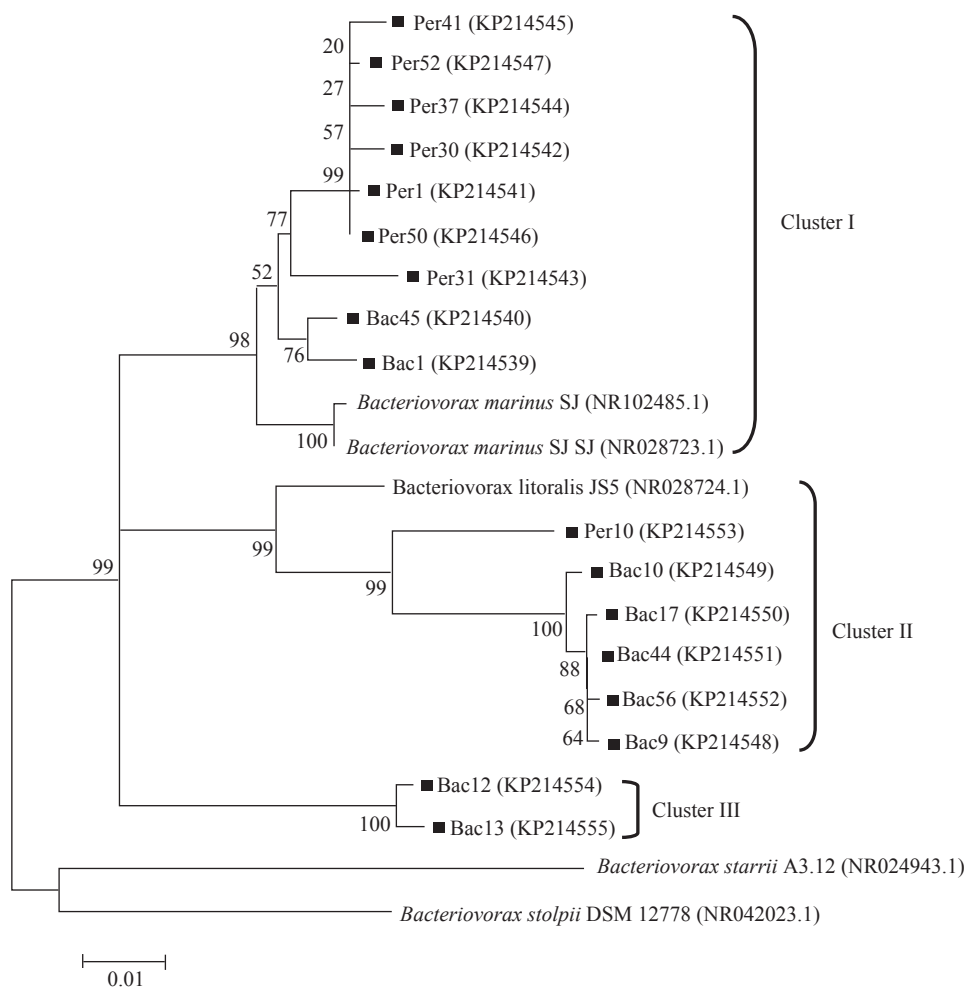


图 5 噬菌弧菌科菌株 16S rRNA 基因序列系统进化树

Figure 5 Phylogenetic tree of 16S rRNA gene sequences of Bacteriovoracaceae strains

注: 本研究中的序列用■标记; 序列的登录号标记在圆括号内; 置信值(>50%)显示在系统进化树的各节点处; 比例尺表示 100 个核苷酸中有 1 个替换。Cluster I: 海洋噬菌弧菌属; Cluster II: 海岸噬菌弧菌属; Cluster III: 未知噬菌弧菌属。

Note: The clones obtained in the present study are marked with ■; The accession number is shown in parenthesis; Bootstrap values (>50%) are shown at nodes; The scale bar corresponds to 0.01 substitutions per nucleotide position. Cluster I: *B. marinus*; Cluster II: *B. litoralis*; Cluster III: Unknown *Bacteriovorax*.

和 95% 的相似性,且引物 Bac 分离物与相似性菌株距离较引物 Per 分离物更近。类群 II 与 *B. litoralis* JS5 (NR028724) 具有最高 95% 的相似性。结合 ARDRA 分型结果认定类群 I、II 均为已知的优势类群。类群 III 分离的数量较类群 I、II 较少,仅有 10.0%,且为独立类群,并可能为潜在的新类群。

3 结论

课题研究中同时也使用了另外一对蛭弧菌科微生物特异性引物 Bd^[12]进行扩增,但未能从北方刺参海水环境中分离获得阳性克隆,与温崇庆等^[8-9]研究结果相似,但从刺参肠道内有发现(另见报道),表明刺参养殖环境中蛭弧菌科微生物数量可能极少。研究表明蛭弧菌科菌株耐盐性较差,其最适盐度为 1%–3%^[13],盐度的不适合可能是蛭弧菌科微生物在养殖环境中较少的原因。而噬菌弧菌科微生物在刺参养殖环境中数量及种类皆占据主要位置,多样性丰富。本实验用两种噬菌弧菌科特异性引物 Bac 和 Per 进行扩增,所获得的基因序列分析得出 BALOs 分离物均为噬菌弧菌科噬菌弧菌属,并分属在 *B. marinus* 和 *B. litoralis*^[14]中,且为两个优势类群。从两个优势类群与相似菌株的距离比较,类群 I 的距离相对较远,说明类群 I 和 II 在整体上有明显差距。经多重序列比对得到的 17 种存在碱基差异序列与基因文库比对显示,即使具较高的相似性,但并不完全一致,表明了蛭弧菌的多样性。薛明等^[10]对对虾池海洋蛭弧菌的分离及多样性分析发现了潜在的新优势类群,经比对验证该新优势类群与本研究同类群 III 为同一类群。

因为微生物分离培养技术的局限性,对非可培养菌株的研究无从入手,不依赖培养的分子生物学方法更能满足研究要求^[15],本研究利用 ARDRA 分型方法研究刺参养殖环境中 BALOs 系统多样性,获得了较好的效果,研究表明刺参养殖海水中存在着 BALOs 的噬菌弧菌科噬菌弧菌属的多样性,发现新种 Bac12 (KP214554) 和 Bac13 (KP214555),以及潜在新类群(类群 III)。

BALOs 的多样性在生态系统中扮演重要角色并起着重要作用^[16],由于受到季节、温度、盐度和养殖条件等多个环境因素影响,BALOs 的种类和分布也发生着变化,在同一养殖环境中进行多时间和多批次研究,并进一步地优化研究技术和方法,分离到更多的 BALOs 类群并加以研究,才能更全面地揭示 BALOs 的生态学特征和功能,也是开发和应用生物防治有害细菌的基础。与此同时,水产养殖中由于 BALOs 的裂解作用,其诸多产品正在被应用于养殖生产中,但实际效果差强人意,这更加刺激着对 BALOs 多样性的深入研究,并进一步分离更有效的蛭弧菌菌株以应用于生产。

参考文献

- [1] Snyder AR, Williams HN, Baer ML, et al. 16S rDNA sequence analysis of environmental *Bdellovibrio*-and-like organisms (BALO) reveals extensive diversity[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2002, 52(6): 2089-2094
- [2] Huang HW, Zhan WB. *Bdellovibrio bacteriovorus*-A new tool in biological disease control in raising of sea cucumber[J]. Hebei Fisheries, 2007(1): 37-38 (in Chinese)
黄华伟, 战文斌. 噬菌蛭弧菌——养殖刺参疾病生物防治的新工具[J]. 河北渔业, 2007(1): 37-38
- [3] Huang L, Cai JP, Chen XH, et al. Elimination of potential pathogenic vibrios in oysters by *Bdellovibrio* sp.[J]. Modern Food Science and Technology, 2010, 26(3): 225-230 (in Chinese)
黄亮, 蔡俊鹏, 陈小红, 等. 应用蛭弧菌清除牡蛎中潜在致病病菌的研究[J]. 现代食品科技, 2010, 26(3): 225-230
- [4] Zhang XN, Yang XL, Cao HP, et al. Optimization of preparation conditions of *Bdellovibrio bacteriovorus* granules[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2010, 19(6): 778-786 (in Chinese)
张小能, 杨先乐, 曹海鹏, 等. 噬菌蛭弧菌颗粒剂制备条件的优化[J]. 上海海洋大学学报, 2010, 19(6): 778-786
- [5] Davidov Y, Jurkevitch E. Diversity and evolution of *Bdellovibrio*-and-like organisms (BALOs), reclassification of *Bacteriovorax starrii* as *Peredibacter starrii* gen. nov., comb. nov., and description of the *Bacteriovorax*-*Peredibacter* clade as *Bacteriovoracaceae* fam. nov.[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2004, 54(5): 1439-1452
- [6] Yang JX, Xu L, Cai JP. Prospects and problems of applying *Bdellovibrio* sp. in controlling pathogens in mariculture[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2004, 24(3): 79-82 (in Chinese)
杨吉霞, 徐丽, 蔡俊鹏. 海水养殖中应用蛭弧菌控制病原菌的前景与问题[J]. 湛江海洋大学学报, 2004, 24(3): 79-82
- [7] Cai JP, Zhao J. The recent research progress on *Bdellovibrio bacteriovorus*[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2006, 46(6): 1028-1032 (in Chinese)
蔡俊鹏, 赵俊. 蛭弧菌的最新研究进展[J]. 微生物学报, 2006, 46(6): 1028-1032
- [8] Wen CQ. Diversity of *Bdellovibrio*-and-like organisms in mariculture environments and biocontrol of bacteria by *Bacteriovorax* DA5[D]. Guangzhou: Doctoral Dissertation of

- Sun Yat-sen University, 2009 (in Chinese)
温崇庆. 海水养殖环境蛭弧菌类生物多样性及噬菌弧菌 DA5 对细菌的生物控制[D]. 广州: 中山大学博士学位论文, 2009
- [9] Wen CQ, Lai XT, Xue M, et al. Molecular typing and identification of *Bdellovibrio*-and-like organisms isolated from seawater shrimp ponds and adjacent coastal waters[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2009, 106(4): 1154-1162
- [10] Xue M, Guan ML, Wang FY, et al. Comparison of two media for isolation and diversity analysis of marine *Bdellovibrio*-and-like organisms in shrimp hatchery system[J]. *Microbiology China*, 2014, 41(9): 1723-1732 (in Chinese)
薛明, 关敏丽, 王飞燕, 等. 两种培养基对对虾苗池海洋蛭弧菌的分离及其多样性分析[J]. *微生物学通报*, 2014, 41(9): 1723-1732
- [11] Sambrook J, Russell DW. *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*[M]. Translated by Huang PT, Wang JX, Zhu HC, et al. 3rd Edition. Beijing: Science Press, 2002, 8: 87-96 (in Chinese)
萨姆布鲁克 J, 拉塞尔著 DW. *分子克隆实验指南*[M]. 黄培堂, 王嘉玺, 朱厚础, 等译. 第3版. 北京: 科学出版社, 2002, 8: 87-96
- [12] Davidov Y, Friedjung A, Jurkevitch E. Structure analysis of a soil community of predatory bacteria using culture-dependent and culture-independent methods reveals a hitherto undetected diversity of *Bdellovibrio*-and-like organisms[J]. *Environmental Microbiology*, 2006, 8(9): 1667-1673
- [13] Williams FN, Piñeiro S. Ecology of the predatory *Bdellovibrio*-and like organisms[A]//Jurkevitch E. *Predatory Prokaryotes*[M]. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2007, 4: 213-248
- [14] Baer ML, Ravel J, Piñeiro SA, et al. Reclassification of salt-water *Bdellovibrio* sp. as *Bacteriovorax marinus* sp. nov. and *Bacteriovorax litoralis* sp. nov.[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2004, 54(4): 1011-1016
- [15] Li Y, Zheng W, Zheng TL. Advances in research of marine microbial diversity and molecular ecology[J]. *Microbiology China*, 2013, 40(4): 655-668 (in Chinese)
李祎, 郑伟, 郑天凌. 海洋微生物多样性及其分子生态学研究进展[J]. *微生物学通报*, 2013, 40(4): 655-668
- [16] Sockett RE, Lambert C. *Bdellovibrio* as therapeutic agents: a predatory renaissance[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2004, 2(8): 669-675

编辑部公告

邀请您关注《微生物学通报》微信公众号

为了更好地与读者、作者、审稿专家和编委朋友们及时沟通、方便服务,《微生物学通报》已开通微信公众服务号。作者通过微信能及时收到稿件各流程通知,第一时间了解稿件进程并及时处理;审稿专家和编委可通过微信及时收到审稿邀请,还可通过手机审稿;读者通过微信可了解《微生物学通报》文章目录,查找阅读感兴趣的文章。

关注办法:

- 1、在微信公众号搜索“微生物学通报”或“wswxtb”;
- 2、用微信扫右边二维码:

