

## 澄黄滨珊瑚和丛生盔型珊瑚非培养放线菌多样性

陈淇<sup>1,2</sup> 龙丽娟<sup>1</sup> 张偲<sup>1</sup> 董俊德<sup>1</sup> 李洁<sup>1\*</sup>

(1. 中国科学院热带海洋生物资源与生态重点实验室 中国科学院南海海洋研究所 广东 广州 510301)

(2. 中国科学院大学 北京 100049)

**摘 要:**【目的】研究澄黄滨珊瑚(*Porites lutea*)和丛生盔型珊瑚(*Galaxea fascicularis*)联合放线菌物种多样性。【方法】实验提取两种珊瑚的总 DNA, 利用放线菌特异性引物对样品总 DNA 进行扩增, 通过构建 16S rRNA 基因克隆文库和系统发育分析, 对三亚鹿回头岸礁区优势物种澄黄滨珊瑚和丛生盔型珊瑚联合放线菌的多样性和群落结构进行研究。【结果】118 个从澄黄滨珊瑚克隆文库中随机挑选的阳性克隆子归为 58 个 OTUs, 主要分布于酸微菌亚目、棒状杆菌亚目、微球菌亚目、丙酸杆菌亚目和未知类群。丛生盔型珊瑚克隆文库共获得 96 个序列, 归为 31 个 OTUs, 主要分布于酸微菌亚目和未知的放线菌类群。多样性指数和稀疏度曲线分析结果显示澄黄滨珊瑚联合放线菌物种多样性比丛生盔型珊瑚更高。【结论】澄黄滨珊瑚和丛生盔型珊瑚拥有较高水平的放线菌物种多样性和复杂的群落结构, 并隐藏着大量的高等级放线菌新分类单元。

**关键词:**造礁珊瑚, 放线菌, 免培养, 群落结构

## Diversity of actinobacteria associated with coral *Porites lutea* and *Galaxea fascicularis*

CHEN Qi<sup>1,2</sup> LONG Li-Juan<sup>1</sup> ZHANG Si<sup>1</sup> DONG Jun-De<sup>1</sup> LI Jie<sup>1\*</sup>

(1. Key Laboratory of Tropical Marine Bio-resources and Ecology, South China Sea Institute of Oceanology, Chinese Academy Sciences, Guangzhou, Guangdong 510301, China)

(2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

**Abstract:** [Objective] The aim of this study was to uncover the diversity of actinobacteria associated with corals *Porites lutea* and *Galaxea fascicularis*. [Methods] Total DNA of coral samples was extracted for PCR amplification with the primers of class actinobacteria. Two clone libraries were constructed for *P. lutea* and *G. fascicularis* coral samples. We carried out phylogenetic and statistic analysis based on 16S rRNA gene sequences in order to investigate the communities of actinobacteria associated with corals *P. lutea* and *G. fascicularis*. [Results] One hundred and eighteen clones of the *P. lutea* library were sequenced. They were classified into 58 OTUs, which distributed in suborders Acidimicrobineae, Corynebacterineae, Micrococcineae, Propionibacterineae and unclassified groups.

基金项目: 中国科学院知识创新工程重要方向项目(No. KSCX2-EW-G-12); 国家自然科学基金青年基金项目(No. 41106139); 中国科学院南海海洋研究所青年人才领域前沿项目(No. SQ201013)

\*通讯作者: Tel: 86-20-89023105; ✉: lijietaren@scsio.ac.cn

收稿日期: 2013-04-01; 接受日期: 2013-04-15; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2013-10-11

Ninety-six clone sequences were retrieved from *G. fascicularis* library. They were classified into 31 OTUs, which were distributed in Acidimicrobinae and unclassified groups. Results of diversity index and rarefaction curve analysis suggested that coral *P. lutea* harbored more diverse actinobacteria than *G. fascicularis*. **[Conclusion]** Actinobacteria associated with corals *P. lutea* and *G. fascicularis* showed a high level of diversity. There were a large number of unknown Actinobacteria taxa in this environment.

**Keywords:** Scleractinian corals, Actinobacteria, Culture-independent, Community structure

珊瑚礁生态系统是典型的热带海洋生态系统之一,因其丰富的生物多样性和高生产力而被广泛关注。三亚是典型的热带海洋水域,三亚鹿回头岸礁区拥有丰富的珊瑚资源,澄黄滨珊瑚(*Porites lutea*)和丛生盔型珊瑚(*Galaxea fascicularis*)是鹿回头岸礁区的优势物种<sup>[1]</sup>。珊瑚联合微生物对珊瑚礁生态系统起着至关重要的作用,参与了宿主营养供应、疾病防御<sup>[2]</sup>、地化循环<sup>[3-4]</sup>等各个方面。珊瑚微生物的多样性调查显示,珊瑚“共生体”中的放线菌多样性水平较高<sup>[5-7]</sup>。此外,珊瑚微生物的宏基因组研究表明,放线菌在珊瑚“共生体”中起着重要的作用<sup>[8]</sup>。从珊瑚中分离培养的放线菌产生丰富多样的代谢产物,推测它们直接或间接地作用于珊瑚礁生态系统<sup>[5]</sup>。目前,关于珊瑚“共生体”中原核微生物的群落结构及功能研究较多,但针对放线菌类群的研究报道较少,国内造礁珊瑚相关放线菌的研究还鲜有报道。本研究利用免培养技术研究三亚鹿回头岸礁区澄黄滨珊瑚和丛生盔型珊瑚联合放线菌物种多样性和群落结构,有利于放线菌资源的开发利用,并且为进一步探讨放线菌在珊瑚“共生体”中的生态角色,研究珊瑚微生物物种和基因多样性演化机制提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 样品来源:** 鹿回头岸礁区位于海南省三亚市南端,属于热带季风气候,该区域的气象水文和水质环境适于珊瑚生长,拥有典型的珊瑚岸礁。鹿回头岸礁区长约 3 km,平均宽度约为 250 m,最大宽度可超过 450 m。该岸段礁坪宽阔平坦,可划分为

没有活珊瑚生长的内礁坪和有小而分散的活珊瑚生长的外礁坪<sup>[1,9]</sup>。2011 年 7 月 16 日,从鹿回头岸礁区(109°28' E, 18°13' N)采集澄黄滨珊瑚和丛生盔型珊瑚,采集深度为 3–5 m,每种珊瑚各采集 3 份样本。样品采集上岸后用灭菌的海水彻底冲洗,装入无菌的采样袋中。样品储存于–20 °C 冰箱。运抵实验室后立即进行后续实验。

**1.1.2 主要试剂和仪器:** 异硫氰酸胍、柠檬酸钠、十二烷基肌酸钠、 $\beta$ -巯基乙醇、十二烷基硫酸钠(Sodium dodecyl sulfate, SDS)、十六烷基三甲基溴化铵(Cetyltriethylammonium bromide, CTAB)、聚乙烯吡咯烷酮(Polyvinylpyrrolidone, PVP),以上试剂均购自 Sigma 公司;E.Z.N.A.® Gel Extraction Kit, 购自 Omega Bio-Tek 公司;pMD18-T vector、Ex Taq 酶, 购自 TaKaRa 公司;其他生化试剂均为国产分析纯。凝胶成像仪、电泳仪, 购自 Bio-Rad 公司;Mastercycler Pro PCR 仪, 购自 Eppendorf 公司。

### 1.2 DNA 提取和 PCR 扩增

**1.2.1 珊瑚样品总 DNA 的提取:** DNA 提取参考 Kimes 等采用的方法<sup>[10]</sup>。珊瑚样品用不锈钢研杵研碎,样品混合黏液、组织、骨骼。5 g 混合样品中加入 7.5 mL 异硫氰酸胍缓冲液[异硫氰酸胍 4 mol/L,柠檬酸钠(pH 7.0) 25 mmol/L,十二烷基肌酸钠 0.5%, $\beta$ -巯基乙醇 0.1 mol/L], 300  $\mu$ L 的 10% SDS, 37 °C 水浴保温 1 h。加入正丁醇,混匀后静置沉淀,沉淀重悬于 5 mL 的 10% CTAB/5% PVP 中, 65 °C 水浴保温 10 min 后等体积氯仿抽提,水相继续用酚:氯仿:异戊醇(25:24:1, 体积比)抽提,最后用氯仿:异戊醇(24:1, 体积比)抽提。水相转移至灭菌的离心管中,加入 2 倍体积的无水乙

醇于-20℃沉淀。沉淀DNA中加入1mL70%乙醇清洗2次后置于室温晾干,重悬于500μL无菌水中。

**1.2.2 PCR 扩增:** 利用放线菌特异性引物<sup>[11]</sup>(S-20: 5'-CGCGGCCTATCAGCTTGTTG-3', A-19: 5'-CCGTACTCCCCAGGCGGGG-3')对珊瑚样品总DNA进行扩增,PCR反应条件参照Stach等<sup>[11]</sup>的方法设置。扩增体系为50μL,扩增片段长度是640bp,对目标片段切胶回收,胶回收试剂盒为E.Z.N.A.<sup>®</sup> Gel Extraction Kit。

1.3 克隆文库构建和系统发育分析

**1.3.1 克隆文库构建:** 纯化后的PCR产物利用T4DNA连接酶与载体pMD18-T进行连接,转化*Escherichia coli* DH5α感受态细胞,转化产物涂布在含有氨苄青霉素(100mg/L)的LB平板上。随机挑取白色克隆子,并构建克隆文库。测序于华大基因有限公司进行。

**1.3.2 文库检验和系统发育分析:** 用Mothur<sup>[12]</sup>进行嵌合体检验并去除嵌合体序列,将相似性大于97%的序列归属于同一个可操作分类单元(Operational taxonomic unit, OTU)。运用Fastgroup<sup>[13]</sup>进行多样性和丰富度评价,计算Shannon-Wiener指数、Chao1指数,并绘制稀疏度曲线。

利用RDP (Ribosomal database project)分类器进行每条序列分类单元注释,阈值设置为0.8。从每个OTU中选取代表序列,从GenBank中调取相似性最高的16S rRNA基因序列。运行ClustalX<sup>[14]</sup>进行多序列比对,根据Kimura模型<sup>[15]</sup>估算系统进化矩阵,用MEGA 4.0软件采用邻接法

(Neighbor-Joining)<sup>[16]</sup>构建系统进化树。重复取样1000次进行自展值(Bootstrap value)分析来评估系统进化树拓扑结构的稳定性。

2 结果与分析

**2.1 16S rRNA 基因文库构建及多样性指数分析**  
经嵌合体检验后,从澄黄滨珊瑚和丛生盔型珊瑚样本克隆文库分别获得118和96个有效克隆子序列。澄黄滨珊瑚文库序列的NCBI登录号为KC514138-KC514255,丛生盔型珊瑚文库序列的NCBI登录号为KC514256-KC514351。多样性指数分析显示,澄黄滨珊瑚克隆文库放线菌类群的香农指数为3.70,Chao1指数为161.1;丛生盔型珊瑚联合放线菌的香农指数为2.96,Chao1指数为121.3(表1)。稀疏度曲线(图1)表明澄黄滨珊瑚文

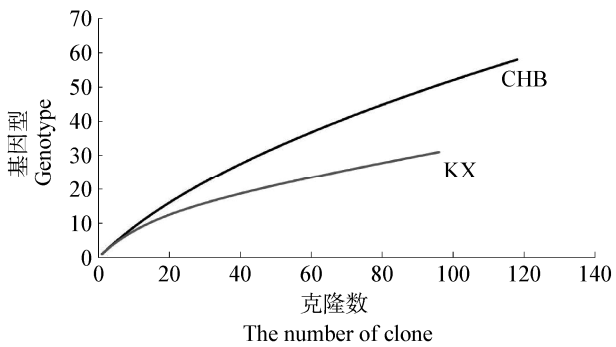


图1 澄黄滨珊瑚和丛生盔型珊瑚样品放线菌类群稀疏度曲线  
Figure 1 The rarefaction plot of *Porites lutea* and *Galaxea fascicularis* associated actinobacteria  
注: KX: 丛生盔型珊瑚文库; CHB: 澄黄滨珊瑚文库。  
Note: KX: *Galaxea fascicularis* library; CHB: *Porites lutea* library.

| 表 1 文库信息                            |                     |                |               |             |              |
|-------------------------------------|---------------------|----------------|---------------|-------------|--------------|
| Table 1 Library information         |                     |                |               |             |              |
|                                     | 序列数                 | OTU 数          | 香农指数          | Chao1 指数    | 覆盖率          |
|                                     | Number of sequences | Number of OTUs | Shannon index | Chao1 index | Coverage (%) |
| 澄黄滨珊瑚文库                             | 118                 | 58             | 3.70          | 161.1       | 67.8         |
| <i>Porites lutea</i> library        |                     |                |               |             |              |
| 丛生盔型文库                              | 96                  | 31             | 2.96          | 121.3       | 81.3         |
| <i>Galaxea fascicularis</i> library |                     |                |               |             |              |

Phylogenetic tree of actinobacteria based on 16S rDNA sequences. The tree is rooted at the bottom left with a scale bar of 0.05. It shows several major clades: Acidimicrobineae (top), Unclassified actinobacteria group 1, Unclassified actinobacteria group 2, Actinomycetales (middle), and several other unclassified groups. Bootstrap values are indicated at the nodes. A triangle labeled 'Figure 2B' points to a specific node in the Acidimicrobineae clade.

Clades and members:

- Acidimicrobineae**
  - Uncultured actinobacterium (FJ229926)
  - Uncultured bacterium (GU982121)
  - CHB2-174 (KC514210)
  - CHB2-224 (KC514212)
  - KX1-128 (KC514307)
  - Uncultured actinobacterium (FN556234)
  - KX1-212 (KC514308)
  - Uncultured actinobacterium (FN556225)
  - KX1-18 (KC514316)
  - KX1-99 (KC514306)
  - KX1-114 (KC514300)
  - Uncultured actinobacterium (FN556227)
  - KX1-223 (KC514303)
  - KX1-23 (KC514304)
  - Uncultured bacterium (EU491381)
  - CHB2-85 (KC514208)
  - Uncultured bacterium (AF317765)
  - KX1-30 (KC514305)
  - Uncultured bacterium (FJ203394)
  - CHB2-98 (KC514209)
  - Uncultured bacterium (GU584868)
  - KX1-133 (KC514299)
  - Uncultured *Rubrobacterales* bacterium (JF681873)
- Unclassified actinobacteria group 1**
- Unclassified actinobacteria group 2**
- Actinomycetales**
  - CHB2-104 (KC514219)
  - Uncultured bacterium (JX667974)
  - CHB2-246 (KC514218)
  - Mycobacterium tuberculosis* H37Rv<sup>T</sup> (X58890)
  - CHB2-124 (KC514217)
  - Tessaracoccus bendigoensis* ACM 5119<sup>T</sup> (AF038504)
  - CHB2-190 (KC514213)
  - Microbacterium lacticum* DSM 20427<sup>T</sup> (X77441)
  - CHB2-226 (KC514216)
  - Kocuria rosea* DSM 20447<sup>T</sup> (X87756)
  - CHB2-206 (KC514234)
  - Uncultured bacterium (HM598205)
  - CHB2-232 (KC514237)
  - Uncultured bacterium (JX391386)
  - KX1-229 (KC514330)
  - CHB2-157 (KC514233)
  - Uncultured actinobacterium (FN556246)
  - KX1-151 (KC514336)
  - KX1-48 (KC514342)
  - Uncultured bacterium (JQ612301)
  - KX1-166 (KC514337)
  - Uncultured bacterium (HQ270202)
  - CHB2-58 (KC514238)
  - Uncultured bacterium (GU981993)
  - Uncultured bacterium (JX504318)
  - Uncultured actinobacterium (AM259897)
  - KX1-37 (KC514343)
  - CHB2-121 (KC514241)
  - CHB2-94 (KC514242)
  - CHB2-201 (KC514243)
  - CHB2-134 (KC514250)
  - KX1-32 (KC514344)
  - CHB2-11 (KC514255)
  - Uncultured bacterium (JX206614)
  - KX1-222 (KC514351)
  - CHB2-135 (KC514245)
  - Uncultured bacterium (FJ930330)
  - Uncultured bacterium (HM854435)
  - Uncultured bacterium (JX455613)
  - Uncultured bacterium (JX455329)
  - Uncultured bacterium (GU118605)
  - KX1-79 (KC514317)
  - KX1-51 (KC514318)
  - Uncultured bacterium (DQ368137)
  - CHB2-223 (KC514220)
  - KX1-190 (KC514327)
  - Uncultured bacterium (HM854412)
  - Uncultured bacterium (JX206704)
- Unclassified bacteria group 1**
- Unclassified bacteria group 2**
- Unclassified bacteria group 3**
- Unclassified bacteria group 4**

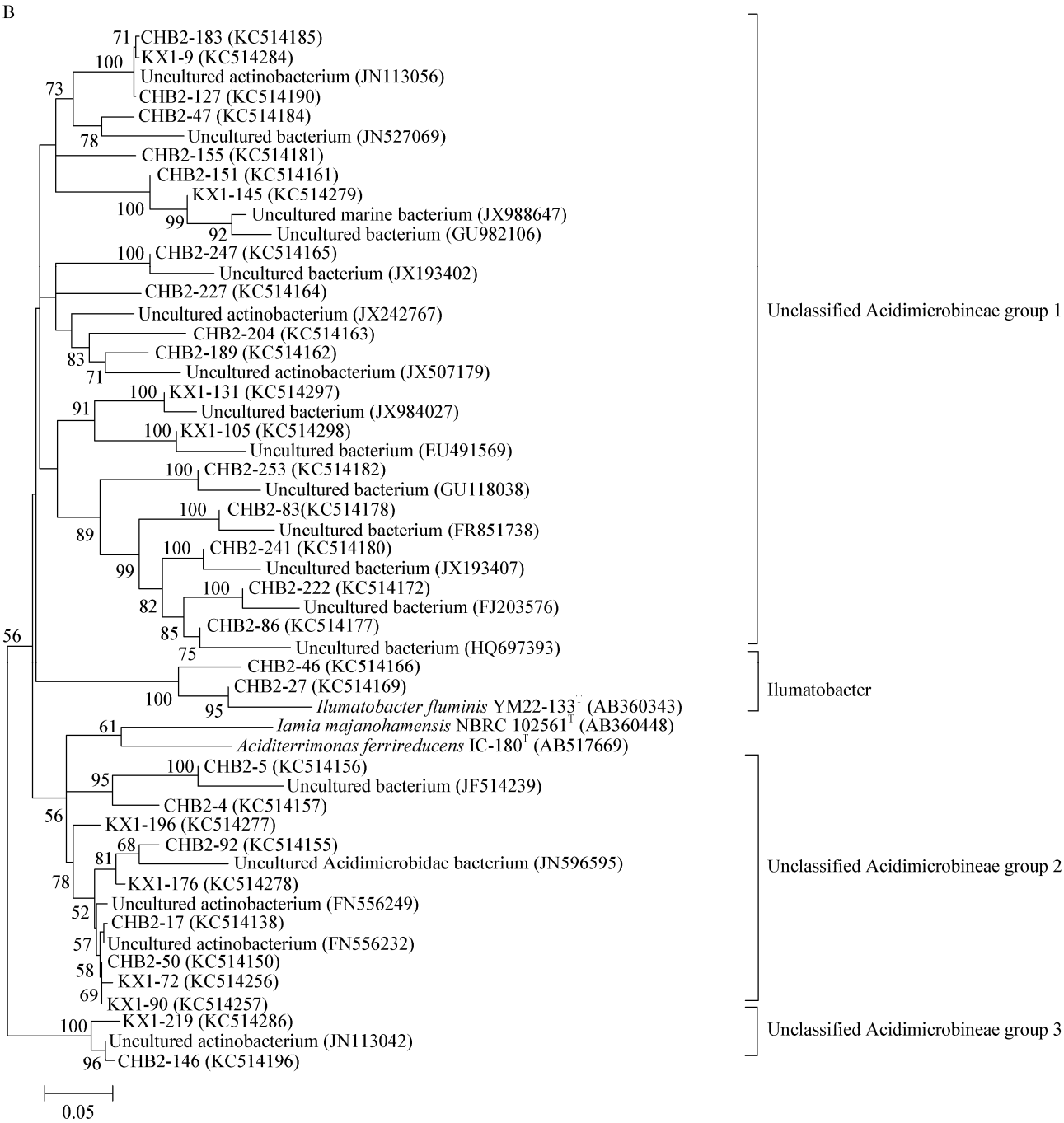


图 2 澄黄滨珊瑚和丛生盔形珊瑚样本克隆文库序列及 16S rRNA 基因参比序列系统发育树

Figure 2 The phylogenetic tree of actinobacterial 16S rRNA gene partial sequences obtained from *Porites lutea* and *Galaxea fascicularis* clone libraries and their closely related sequences retrieved from GenBank

注 : A : 酸杆菌亚目 ; 未确定的放线菌集合 1 , 2 ; 放线菌目 ; 未确定的细菌集合 1 , 2 , 3 , 4 . B : 未确定的酸杆菌集合 1 ; Ilumatobacter ; 未确定的酸杆菌集合 2 , 3 . 括号内为序列登录号 ; 标尺代表 0.05 进化距离单位 ; 自展值(百分比值>50%)标注在分支处.

Notes: A: Acidimicrobineae; Unclassified Actinobacteria group 1 & 2; Actinomycetales; Unclassified bacteria group 1, 2, 3 and 4. B: Unclassified Acidimicrobineae group 1; Ilumatobacter; Unclassified Acidimicrobineae group 2 & 3. GenBank accession numbers are provided in the parentheses. The scale bar represents the 0.05 evolutionary distance unit. Bootstrap values (expressed as percentages of 1 000 replications) of above 50% are shown at the branch points.

库的曲线没有明显平缓的趋势,丛生盔型珊瑚文库的曲线相对趋于平缓,但还未平稳,说明珊瑚放线菌多样性较高,随着克隆数的增加,还会有新的基因型出现。

## 2.2 16S rRNA 基因序列分析

澄黄滨珊瑚克隆文库共获得 118 条序列,归为 58 个 OTUs。在这些 OTUs 中克隆子 CHB2-146、CHB2-139 和 CHB2-223 所代表的 OTUs 丰度较高,分别包含 12、9、8 条序列。其中克隆子 CHB2-146 和 CHB2-139 来源于未知的酸微菌类群,CHB2-223 属于未知的细菌类群。占文库序列总数 66.9% (79 条)的克隆子序列在 0.8 的阈值条件下可以归类于放线菌纲(Actinobacteria),包括分属于棒状杆菌亚目(Corynebacterineae)、微球菌亚目(Micrococcineae)、丙酸杆菌亚目(Propionibacterineae)、放线菌目(Actinomycetales)未知类群的共 7 个克隆子;属于酸微菌亚目(Acidimicrobinae)的克隆子有 67 个,其中有 59 个克隆子序列(占文库总序列的 50.0%)归为酸微菌亚目的未知类群,6 条归属于 *Ilumatobacter* 属,2 条克隆子序列来源于酸微菌科(Acidimicrobiaceae)的未知成员;另有 5 条克隆子序列虽归属于放线菌纲,但是不能进一步归类,属于未知的放线菌类群。此外,从澄黄滨珊瑚克隆文库中还获得 39 个克隆子(占文库序列的 33.1%),它们在分类单元注释时可以归属于细菌域,却没有进一步的归类信息。

丛生盔型珊瑚克隆文库中的 96 个克隆子序列,归为 31 个 OTUs。在这些 OTUs 中,克隆子 KX1-13、KX1-190 和 KX1-219 所代表的 OTUs 丰度较高,各代表了 11 条序列。KX1-13 和 KX1-219 属于未知的酸微菌类群,KX1-190 属于未知的细菌类群。在 0.8 的阈值条件下,59 个克隆子序列可归类于放线菌纲,占文库总序列的 61.5%,主要归属于酸微菌亚目的未知类群(49 个克隆子)和放线菌纲未知类群(10 个克隆子)。另有 37 条克隆子序列仅能归类到细菌域,占文库总序列数的 38.5%。

两个文库共享 10 个相同的 OTUs,分别占澄黄滨珊瑚和丛生盔型珊瑚克隆文库 OTUs 总数的 17.2%和 32.3%。对两个文库中全部 OTUs 的代表序列集,构建系统发育树(图 2)。归类于放线菌亚纲的 5 个 OTUs 分别归属于丙酸杆菌亚目的 *Tessaracoccus* 属、微球菌亚目的考克氏菌属(*Kocuria*)和微杆菌属(*Microbacterium*)、棒状杆菌亚目的分枝杆菌属和一个未知的类群(图 2A)。其代表克隆子 CHB2-124 与 *Tessaracoccus bendigoensis* ACM 5119<sup>T</sup> (AF038504)的序列相似性为 95.8%;CHB2-226 与 *Kocuria rosea* DSM 20447<sup>T</sup> (X87756)的序列相似性为 98.4%;CHB2-190 与 *Microbacterium lacticum* DSM 20427<sup>T</sup> (X77441)的序列相似性为 98.9%;CHB2-246 与 *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv<sup>T</sup> (X58890)的序列相似性为 97.4%。酸微菌类群中,2 个 OTUs 属于 *Ilumatobacter* 属,CHB2-46 和 CHB2-27 与 *Ilumatobacter fluminis* YM22-133<sup>T</sup> (AB360343)的序列相似性分别为 95.8%和 98.4%。其他归类于酸微菌亚目但不能进一步归属的 OTUs 代表序列聚为 3 大簇,分别是 Unclassified Acidimicrobinae group 1、2、3,它们可能代表了酸微菌亚目新科级级别的未知类群;其中 Unclassified Acidimicrobinae group 1 是数量最大,多样性最丰富的一簇(图 2B)。13 个 OTUs 分别代表了未知的放线菌类群 1 和 2 (图 2A)。归属于细菌域,但没有进一步分类信息的 25 个 OTUs 聚为 4 簇,分别是 Unclassified bacteria group 1、2、3、4,其中 Group 1 与放线菌亚纲的亲缘关系更近(图 2A)。在目前的数据库中,与这些未知类群相似性最高的序列均来源于环境样品(如海绵、珊瑚、沉积物等)克隆子,尚无纯培养物。

## 3 讨论

微生物在珊瑚礁生态系统中扮演着重要的角色,与珊瑚礁生态系统的健康状态密切相关,参与地球化学循环。本研究首次对南海造礁石珊瑚联合

放线菌物种多样性进行了免培养分析。澄黄滨珊瑚和丛生盔型珊瑚是三亚鹿回头岸礁区的优势物种, 研究两种珊瑚联合的放线菌群落具有典型性。本研究通过澄黄滨珊瑚和丛生盔型珊瑚联合放线菌的多样性和群落结构特征, 发现澄黄滨珊瑚和丛生盔型珊瑚中存在丰富的放线菌类群, 丛生盔型珊瑚文库的稀疏度曲线逐渐趋向平缓, 而澄黄滨珊瑚文库的稀疏度曲线还没有明显平缓的趋势, 这表明澄黄滨珊瑚联合放线菌的多样性水平更高。

系统发育分析结果表明, 两种造礁珊瑚联合的放线菌群落中存在着大量酸微菌类群, 而对珊瑚 *Acropora digitifera* 样本进行可培养的放线菌分离, 获得的菌株主要分布于皮杆菌科 (Dermabacteraceae)、短杆菌科 (Brevibacteriaceae)、微球菌科 (Micrococcaceae)<sup>[17]</sup>, 这种差异性主要是由于培养方法的局限和多样性分析技术的差别所造成的。值得关注的是, 在两种造礁石珊瑚放线菌文库中均检测到大量的未知类群, 它们很可能代表了亚纲和科级别的新类群。这一结果充分显示, 南海海域造礁石珊瑚联合的放线菌群落中蕴藏着极为丰富的未培养和未被描述的类群。这些类群是珊瑚“共生体”放线菌群落的优势成员, 很可能是重要生态功能的“执行者”。

本研究工作中获得的多数克隆子在珊瑚 *Montastraea faveolata*<sup>[18]</sup>、海绵 *Xestospongia testudinaria*、*Diacarnus erythraeanus*、*Theonella swinhoeid* 等<sup>[19-22]</sup> 共附生微生物群落以及海洋沉积物环境<sup>[23]</sup> 中也被检测到, 显示出海洋环境普遍存在的放线菌类群的特征。然而, 与其他海洋环境放线菌群落相比, 造礁石珊瑚“共生体中的放线菌类群具有其特殊性。如潮间带沉积物中的放线菌类群包括 Microbacteriaceae、Micrococcaceae、Mycobacteriaceae、Nocardaceae、Nocardiodaceae、Promicromonosporaceae、Pseudonocardaceae 和 Sanguibacteraceae<sup>[24]</sup>。采用相同的引物调查南海海绵 *Hymeniacidon perleve* 共附生放线菌群落, 从中

检测到属于 *Mycobacterium*、*Amycolatopsis*、*Arthrobacter*、*Brevibacterium*、*Microlunatus*、*Nocardioideis*、*Pseudonocardia* 和 *Streptomyces* 的成员<sup>[25]</sup>。因而造礁石珊瑚放线菌类群值得我们进一步探索, 从中挖掘新颖的放线菌资源, 并深入研究其生态功能。本研究通过免培养技术研究珊瑚联合放线菌多样性和群落结构, 为深入分析珊瑚联合放线菌在生态系统中的作用提供了基础, 也为分离培养珊瑚联合放线菌提供了信息指导。

## 参 考 文 献

- [1] 赵美霞, 余克服, 张乔民, 等. 三亚鹿回头石珊瑚物种多样性的空间分布[J]. 生态学报, 2008, 28(4): 1420-1428.
- [2] Reshef L, Koren O, Loya Y, et al. The coral probiotic hypothesis[J]. Environmental Microbiology, 2006, 8(12): 2068-2073.
- [3] Raina JB, Tapiolas D, Willis BL, et al. Coral-associated bacteria and their role in the biogeochemical cycling of sulfur[J]. Applied Environmental Microbiology, 2009, 75(11): 3492-3501.
- [4] Wild C, Jantzen C, Struck U, et al. Biogeochemical responses following coral mass spawning on the Great Barrier Reef: pelagic-benthic coupling[J]. Coral Reefs, 2008, 27(1): 123-132.
- [5] Nithyanand P, Manju S, Karutha PS. Phylogenetic characterization of culturable actinomycetes associated with the mucus of the coral *Acropora digitifera* from Gulf of Mannar[J]. Federation of European Microbiological Societies Microbiology Letter, 2011, 314(2): 112-118.
- [6] Nithyanand P, Thenmozhi R, Rathna J, et al. Inhibition of *Streptococcus pyogenes* biofilm formation by coral-associated actinomycetes[J]. Current Microbiology, 2010, 60(6): 454-460.
- [7] de Castro AP, Araujo SDJ, Reis AMM, et al. Bacterial community associated with healthy and diseased reef coral *Mussismilia hispida* from eastern Brazil[J]. Microbial Ecology, 2010, 59(4): 658-667.
- [8] Wegley L, Breitbart M, Edwards RA, et al. Metagenomic analysis of the microbial community associated with the coral *Porites astreoides*[J]. Environmental Microbiology, 2007, 9(11): 2707-2719.
- [9] 赵美霞, 余克服, 张乔民, 等. 近50a 来三亚鹿回头石珊瑚物种多样性的演变特征及其环境意义[J]. 海洋环境科学, 2009, 28(2): 125-130.
- [10] Kimes NE, Van NJD, Weil E, et al. Microbial functional structure of *Montastraea faveolata*, an important Caribbean reef-building coral, differs between healthy and yellow-band diseased colonies[J]. Environmental Microbiology, 2010, 12(2): 541-556.
- [11] Stach JEM, Maldonado LA, Ward AC, et al. New primers

- for the class Actinobacteria: application to marine and terrestrial environments[J]. Environmental Microbiology, 2003, 5(10): 828-841.
- [12] Schloss PD, Westcott SL, Ryabin T, et al. Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75(23): 7537-7541.
- [13] Yu Y, Breitbart M, McNairnie P, et al. FastGroupII: a web-based bioinformatics platform for analyses of large 16S rDNA libraries[J]. BioMed Central Bioinformatics, 2006, 7: 57.
- [14] Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, et al. The CLUSTAL\_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools[J]. Nucleic Acids Research, 1997, 25(24): 4876-4882.
- [15] Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences[J]. Journal of Molecular Evolution, 1980, 16(2): 111-120.
- [16] Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees[J]. Molecular Biology and Evolution, 1987, 4(4): 406-425.
- [17] Nithyanand P, Pandian SK. Phylogenetic characterization of culturable bacterial diversity associated with the mucus and tissue of the coral *Acropora digitifera* from the Gulf of Mannar[J]. Federation of European Microbiological Societies Microbiology Ecology, 2009, 69(3): 384-394.
- [18] Sunagawa S, Woodley CM, Medina M. Threatened corals provide underexplored microbial habitats[J]. PLoS One, 2010, 5(3): e9554.
- [19] Erwin PM, Pita L, López-Legentil S, et al. Stability of sponge-associated bacteria over large seasonal shifts in temperature and irradiance[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2012, 78(20): 7358-7368.
- [20] Montalvo NF, Hill RT. Sponge-associated bacteria are strictly maintained in two closely related but geographically distant sponge hosts[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(20): 7207-7216.
- [21] Bergman O, Haber M, Mayzel B, et al. Marine-based cultivation of diacarnus sponges and the bacterial community composition of wild and maricultured sponges and their larvae[J]. Marine Biotechnology, 2011, 13(6): 1169-1182.
- [22] Hentschel U, Hopke J, Horn M, et al. Molecular evidence for a uniform microbial community in sponges from different oceans[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68(9): 4431-4440.
- [23] Schauer R, Røy H, Augustin N, et al. Bacterial sulfur cycling shapes microbial communities in surface sediments of an ultramafic hydrothermal vent field[J]. Environmental Microbiology, 2011, 13(10): 2633-2648.
- [24] Stevens H, Brinkhoff T, Rink B, et al. Diversity and abundance of Gram positive bacteria in a tidal flat ecosystem[J]. Environmental Microbiology, 2007, 9(7): 1810-1822.
- [25] Sun W, Dai S, Jiang S, et al. Culture-dependent and culture-independent diversity of Actinobacteria associated with the marine sponge *Hymeniacidon perleve* from the South China Sea[J]. Antonie van Leeuwenhoek, 2010, 98(1): 65-75.

## 编辑部公告

### 《微生物学通报》英文刊名

《微生物学通报》之前使用的英文刊名“Microbiology”因在国际上有重名，造成了本刊在被国内外作者引用以及国外数据库收录时英文刊名的混乱，这大大影响了本刊在国际上的传播，也不利于对我刊引用数据的统计。经本刊编委会讨论，以及主办单位批准，本刊英文刊名自2010年起变更为“Microbiology China”，缩写为“Microbiol. China”，请各位作者、读者和数据库引用时注意使用。