

## 南海南部陆坡表层沉积物细菌和古菌多样性

李涛, 王鹏, 汪品先

(同济大学海洋地质国家重点实验室, 上海 200092)

**摘要:** 从南海南部陆坡表层沉积物中扩增了细菌和古菌 16S rDNA 序列, 并对克隆子文库进行系统发育分析。细菌序列以变形杆菌(Proteobacteria)居多, 其次是浮霉菌(Planctomycete)、酸杆菌(Acidobacteria)和 candidate division OP10, 另外还有少量铁还原杆菌(Deferrobacteres)、candidate division OP3、OP11、OP8、TM6、疣微菌(Verrucomicrobia)和螺旋体(Spirochaetes)。古菌序列分别来自泉古生菌(Crenarchaeota)和广古生菌(Euryarchaeota), 以 Marine Benthic Group B (MBGB)、Marine Crenarchaeotic Group I (MG I)、Marine Benthic Group D(MBGD)和 South African Gold Mine Euryarchaeotic Group(SAGMEG)为主。少量序列为 C3、甲烷杆菌(Methanobacteriales)和 Novel Euryarchaeotic Group(NEG)。结果表明海底表层沉积物中有丰富多样的微生物群落。

**关键词:** 南海; 沉积物; 16S rDNA; 多样性

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209 (2008) 03-0323-07

海洋沉积物覆盖了地球表面超过 2/3 的面积。直接的细胞证据表明洋底以下 800m 沉积物中还有微生物的活动<sup>[1, 2]</sup>。据估计, 海底沉积物中的原核生物生物量占全球原核生物生物量的 1/2-5/6<sup>[3]</sup>, 全球生物总生物量的 1/10-1/3<sup>[2, 3]</sup>。然而, 对这种特殊环境下的微生物还缺乏了解。这些微生物来源何处? 是随海水中的颗粒沉降进入沉积物的原核生物的后裔还是后来从他处迁徙、转运而至? 它们又是如何适应深海高压、贫营养的环境? 微生物的群落结构、分布与地理、地质条件有何关系? 要解决如上问题就必须了解海底微生物群落面貌, 以及微生物参与的生物地球化学过程。

16S rDNA 以其高度保守性, 高信息量及与大多数生理、遗传标记一致, 而成为群落系统发育分析中使用最广泛的分子标记物<sup>[4]</sup>。尽管基于非培养的 16S rDNA-PCR 分子技术存在诸多问题: 如 DNA 抽提过程的损耗引起对微生物多样性的低估<sup>[5]</sup>; 低模板浓度

引起的随机扩增<sup>[6]</sup>、高 GC 含量模板扩增效率低<sup>[7]</sup>以及引物的扩增对象不能完全覆盖目标分类群<sup>[6]</sup>造成的 PCR 偏好性(bias); 扩增中删除突变、点突变以及异源序列的嵌合体形成的 PCR 伪产物(artifact)<sup>[6]</sup>都会影响微生物多样性的估计。不过由于环境样品中的大部分微生物不能通过纯培养技术获得<sup>[8]</sup>, 因此不依赖培养的分子生物技术成为反映环境样品中微生物多样性重要手段, 尤其是高压、贫营养环境下的海底沉积物。

本文利用 16S rDNA-RFLP 技术对南海南部陆坡表层沉积物中细菌和古菌多样性作了系统发育分析, 并利用荧光原位杂交(FISH)技术计算了细菌和古菌总量。

### 1 材料和方法

#### 1.1 材料

1.1.1 样品采集: 样品为 IMAGES 147 航次采集的沉

基金项目: 国家重点基础研究发展规划项目(2007CB815904); 国家自然科学基金(40510487, 40606032); 同济大学青年优秀人才培养行动计划(2006KJ056)

作者简介: 李涛(1980-), 男, 博士研究生, 湖北监利人, 主要从事地质微生物研究工作。Tel: +86-21-65982012; Fax: +86-21-65988808; E-mail: lukelita0@163.com

积物柱 MD05-2896 的表层样品, 采样点位于南沙盆底陆坡深水区(08°49.50'N, 111°26.47'E), 水深 1657 m。南沙盆底地形由南向北逐渐变低, 形成三级台阶地形, 第二级台阶是陆坡, 自西北向东延伸, 总长 1200 km, 宽约 500 km 至 520 km, 水深 150 m 至 3800 m, 沉积物以半深海软泥为主。

**1.1.2 主要试剂和仪器:** QIAquick PCR 纯化试剂盒(QIAGEN)、pMD-18T vector (TaKaRa)、*Msp* I (Fermentas)、硝酸纤维素膜(MILIPORE)、PTC-221 热循环仪(BIO-RAD)、凝胶成像仪(BIO-RAD)、电泳仪(BIO-RAD)、杂交炉(UVP)、荧光显微镜(NIKON)。

## 1.2 DNA 的提取与纯化

DNA 提取采用改进后的 Zhou 抽提法(Zhou Protocol)<sup>[9]</sup>, 纯化后用于 PCR 扩增。

## 1.3 16S rDNA PCR 扩增、克隆与 RFLP 分析

采用细菌 16S rDNA 通用引物 (27F: 5'-AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG-3'; 1492R: 5'-GGT TAC CTT GTT ACG ACT T-3'; M 为 A 或 C) 和古菌 16S rDNA 通用引物(21F: 5'-TTC CGG TTG ATC CYG CCG CCG GA-3'; 958R: 5'-YCC GGC GTT GAM TCC AAT T-3'; Y 为 C 或 T, M 同上)进行 PCR 扩增。PCR 体系及扩增条件参见文献[10]。

PCR 扩增得到的片断克隆到 T-Vector 上, 转化到大肠杆菌(*Escherichia coli*)DH5 $\alpha$  感受态细胞, 蓝白斑筛选转化子, 挑取阳性转化子, 重新扩增插入片断, 得到的模板 DNA 用于限制性酶切片断长度多态性(RFLP)分析。模板 DNA 被内切酶 *Msp* I 切割, 通过 3% 凝胶电泳, 挑选不同带型克隆子测序(上海英骏生物技术有限公司)。

## 1.4 荧光原位杂交

使用 4% 甲醛溶液固定沉积物样品, 转移至硝酸纤维素膜上, 分别与荧光素 Fam 末端标记的引物 EUB338(5'-GCT GCC TCC CGT AGG AGT-3') 和 ARCH915(5'-GTG CTC CCC CGC CAA TTC CT-3') 杂交, 荧光显微镜下细胞计数。步骤见文献[11]。

## 1.5 测序、系统发育树、Rarefaction 曲线与数据库接受号(Accession number)

将序列提交到 RDP II (ribosomal database project) 数据库, 利用在线工具 CHECK-CHIMERA 检验; 应用 BLASTN 程序(www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/)搜索相似性序列, 进行系统发育分析。采用 ClustalX (Version 1.8) 对序列进行比对分析, 通过 PAUP (Version 4.0b10) 构建系统发育树<sup>[12]</sup>, 使用

Neighbor-Joining 建树方法, 选择 Jukes-Cantor 进化距离; 利用 PHYLIP 软件包中 DNASIS 程序计算距离矩阵 (<http://www.evolution.genetics.washington.edu/phylip.html>), 利用 DOTUR 软件生成 Rarefaction 曲线<sup>[13]</sup>。

古菌和细菌 16S rDNA 序列在 GenBank 核苷酸数据库中的接受号分别为 EU048637-EU048661 和 EU048662-EU048694。

## 2 结果和讨论

南海南部陆坡表层沉积物中有机物含量略低, 总有机碳(TOC)为 1.52±0.04 wt%(干重), 深海沉积物中, 富有机物沉积物总有机碳为 2~11wt%, 贫有机物沉积物总有机碳含量则低于 1%<sup>[14]</sup>。相对开放大洋而言, 边缘海表层沉积物中微生物总量高些。利用 FISH 技术, 估计沉积物中细菌总量为 14×10<sup>9</sup> cells cm<sup>-3</sup>, 古菌总量为 9×10<sup>9</sup> cells cm<sup>-3</sup>, 而太平洋表层沉积物中细菌总量为 10<sup>8</sup> -10<sup>9</sup> cells cm<sup>-3</sup><sup>[11]</sup>, 活动的细菌/古菌数为 10<sup>8</sup> cells cm<sup>-3</sup><sup>[15]</sup>。利用 Zhou 抽提法提取 DNA 浓度为 30μg g<sup>-1</sup>(干重)。对比其他提取方法, Zhou 抽提法 DNA 损耗最小, 获得深海沉积物 DNA 浓度一般在 24.4-37.5μg g<sup>-1</sup>(干重)之间<sup>[16]</sup>。

### 2.1 细菌和古菌 16S rDNA 文库分析

113 个细菌克隆子和 124 个古菌克隆子 16S rDNA 序列分别构成了细菌和古菌文库。细菌文库包含 33 种系统发育型(phyloptype), 古菌文库中有 25 种系统发育型(序列相似性低于 98%)。细菌和古菌 16S rDNA 序列 Rarefaction 曲线表明细菌克隆子数达到 100 后, 曲线趋于平缓; 古菌克隆子数超过 60 后, 曲线平缓(图 1)。因此本文 16S rDNA 序列文库能完全反映微生物多样性。

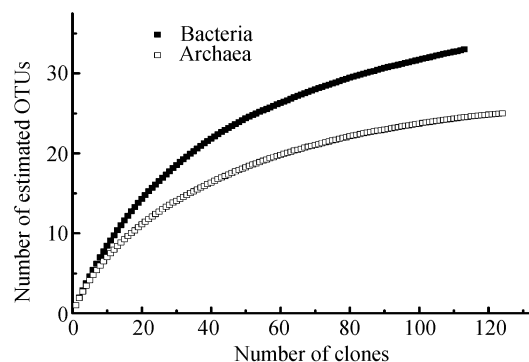


图 1 南海南部陆坡沉积物细菌和古菌 16S rDNA 序列 Rarefaction 曲线

Fig. 1 Rarefaction curves using bacteria and archaeal 16S rDNA sequences from the sediment of the south slope.

2.2 细菌 16S rDNA 文库多样性

细菌 16S rDNA 文库可划分出 11 个类群(图 2), 多数克隆子为变形杆菌(Proteobacteria) (24.1%)、浮霉菌(Planctomycetes)(16.9%)、酸杆菌(Acidobacteria) (15.2%)、candidate division OP10(12.5%), 余下分别

是铁还原杆菌(Deferrobacteres)(6.2%)、 candidate division TM6(4.5%)、 OP3(3.6%)、 OP11(2.7%)、 OP8(1.8%)、 疣微菌(Verrucomicrobia)(2.7%)和螺旋体(Spirochaetes) (0.9%)。8.9%克隆子不能确定分类位置 (4 种系统发育型)。

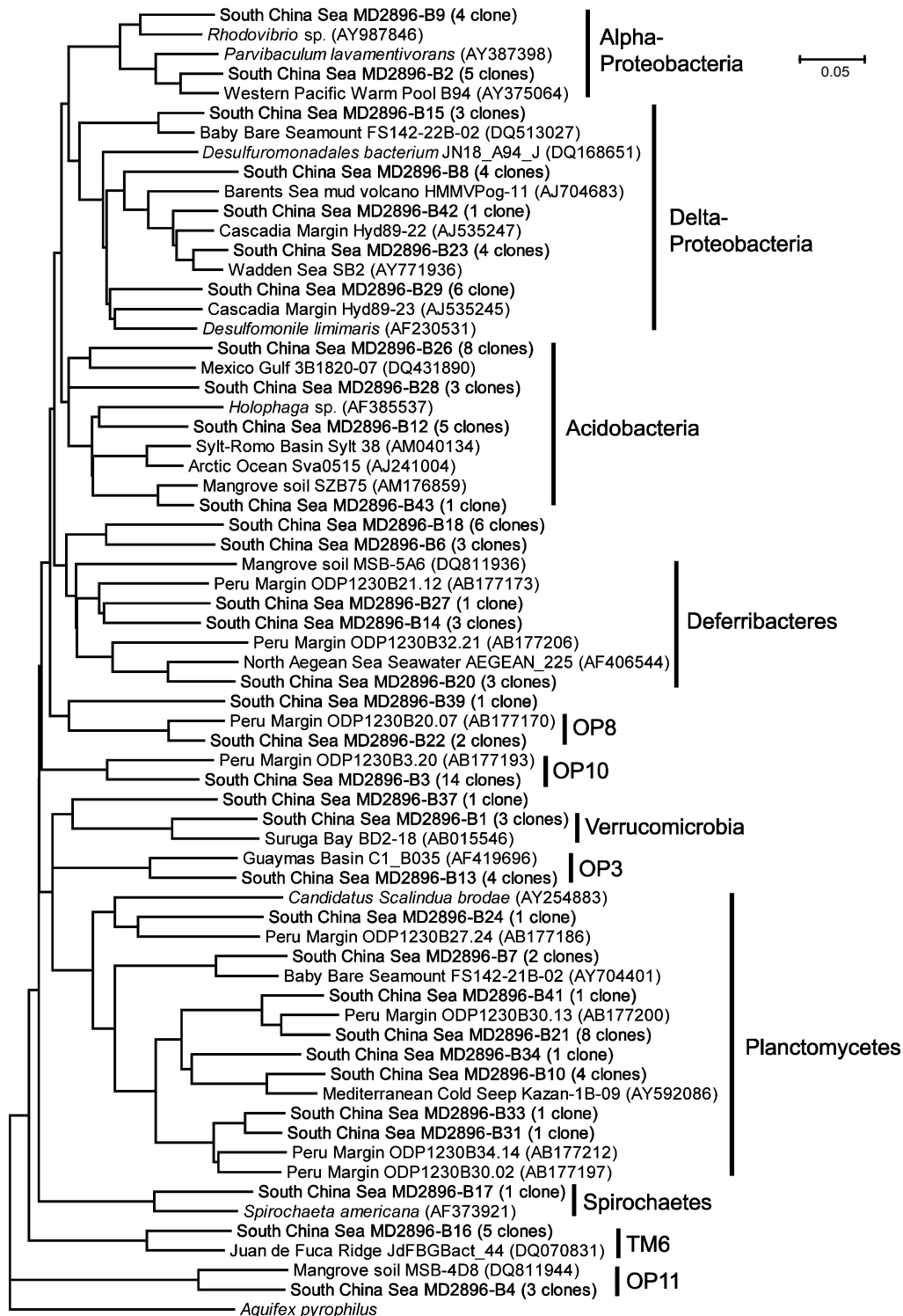


图 2 基于 16S rDNA 序列的南海南部陆坡细菌多样性系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree reconstructed from 16S rDNA sequences of bacteria from the south slope, the South China Sea. "MD2896-Bxx" is sequence name in this paper; MD2896 represents sediment core number; "B" means bacteria; "xx" is clones number. The scale bar represents 0.05 substitution per nucleotide position.

Proteobacteria 类群是深海沉积物中的优势细菌类群, 南海南部陆坡表层沉积物中发现该类群的两个亚群: Alpha-和 Delta-Proteobacteria 亚群, 分别占细菌文库的 5.2%和 19.3%。Alpha-Proteobacteria 亚群与玫瑰弧菌属(*Rhodovibrio*)细菌和 *Parvibaculum* 属细菌有较高同源性(89%~90%相似性), 同源性最高的一条序列来自西太平洋暖池区沉积物未培养细菌(94%相似性)。Delta-Proteobacteria 亚群同源序列主要来自深海沉积物中未培养细菌(84%~95%相似性), 包括 Juan de Fuca 海脊沉积物、巴伦支海泥火山沉积物、Cascadia 古陆边缘沉积物和 Wadden 海泥质沉积物。该亚群与来自脱硫单胞菌目(*Desulfuromonadales*)可培养细菌和脱硫念珠菌属细菌 *Desulfomonile limimaris* 同源性较低(86%相似性)。

Alpha-Proteobacteria 亚群以氧化低价硫化物为主要代谢类型<sup>[17]</sup>, 而沉积物中丰富的 H<sub>2</sub>S 可能是代谢过程中主要的电子供体; Delta-Proteobacteria 亚群多数以硫酸盐还原的代谢类型为主<sup>[18]</sup>; 这两个亚群是沉积物中参与硫生物地球化学循环的主要细菌类群。

Acidobacteria 与 Proteobacteria、革兰氏阳性菌一样, 也是一个多样化的细菌类群。最初认为该类群只生活在酸性环境, 不过后来发现也同样适应于碱性环境<sup>[19]</sup>。由于大多类型不可培养, 只能利用 16S rDNA 技术从环境中检测, 因此生理特征还知之甚少。该类群一般在深海沉积物含量不高, 但在南海南部陆坡表层沉积物中较丰富。同源序列来自可培养细菌和不可培养细菌, 不可培养细菌主要来自海底沉积物, 但同源性较低(81%~85%相似性), 包括墨西哥湾海底沉积物、Wadden 海海盆沉积物和北冰洋永久冰冻海底沉积物; 1 条序列来自红树林沉积物(94%相似性); 可培养细菌来自全噬菌属(*Holophaga*)(84%相似性)。

candidate division 使用最初的来源地或最先命名的克隆子来命名各分支, 如 OPx(x 为数字)是根据黄石公园热泉黑曜岩池塘(Obsidian Pool)而命名的<sup>[19]</sup>, TM6 是根据泥炭沼(peat bog)中的序列名而命名的<sup>[20]</sup>; 由于无可培养类型, 因此大部分代谢类型未知。divisions OP 最先发现于热泉地区, 不过适应于各种类型的生态环境, 尤其是土壤; 在海洋沉积物中也是常见的类群。OP8 和 OP10 类群同源序列都来自秘鲁边缘深海沉积物, 序列相似性分别为 93%和 84%;

OP3 类群同源序列来自 Guaymas 海盆沉积物 (87%相似性); OP11 类群同源序列来自红树林沉积物(87%相似性); TM6 类群同源序列来自 Juan de Fuca 海脊沉积物(88%相似性)。OP11 一般发现于硫化物(如海洋环境中的硫酸盐和硫化物)含量较高的还原环境, 推测该类群参与硫的生物地球化学循环<sup>[21]</sup>。TM6 同源序列来自厌氧降解三氯苯的微生物共生群<sup>[22]</sup>, 推测代谢类型可能与有机物的厌氧降解有关。

Deferribacteres 和 Verrucomicrobia 类群同源序列都来自未培养细菌。Deferribacteres 类群序列分别来自秘鲁边缘深海沉积物(82%~85%相似性)和爱琴海海水(90%相似性)。Verrucomicrobia 类群序列来自 Suruga 海湾沉积物(85%相似性), 通过氨氧化厌氧代谢, 推测该类群参与了氮生物地球化学循环。

Planctomycetes 类群同源序列全部来自深海沉积物未培养细菌, 其中大部分序列来自秘鲁边缘深海沉积物(83%~91%相似性)、有 2 条序列分别来自 Baby Bare 海山沉积物(89%相似性)和地中海冷泉沉积物(92%相似性); 与可培养细菌同源性很低(79%相似性)。该类群中部分类型为兼性好氧化能有机营养菌, 利用发酵或呼吸作用生长; 其它为严格厌氧自养菌, 并利用亚硝酸盐厌氧氧化氨。虽然仅 1 条序列与可培养的氨氧化厌氧细菌有较远的亲缘关系, 但在海底这种厌氧环境下, 推测该类群主要进行厌氧代谢, 可能是氮生物地球化学循环的主要类群。

### 2.3 古菌 16S rDNA 文库多样性

古菌 16S rDNA 文库分别来自两个大类(图 3): 泉古生菌(Crenarchaeota)和广古生菌(Euryarchaeota), 两类古菌各占古菌文库的 1/2。泉古生菌有 3 个类群, 主要为 Marine Benthic Group B (MBGB)(29%) 和 Marine Crenarchaeotic Group I (MG I)(16.1%); 仅少量 C3(5.7%)。广古生菌有 4 个类群, 分别是 Marine Benthic Group D (MBGD)(16.9%)、South African Gold Mine Euryarchaeotic Group (SAGMEG)(16.1%)、甲烷杆菌 (Methanobacteriales)(9.7%) 和 Novel Euryarchaeotic Group (NEG) (6.5%)。

MBGB 最先发现于深海沉积物和热液口, 目前发现该类群广泛存在于多种深海环境<sup>[23]</sup>, 包括大洋深海沉积物、海底泥火山、海洋碳酸盐壳、有机物缺乏的深海海盆以及大陆边缘有机物丰富含甲烷或甲烷水合物的沉积物; 是秘鲁边缘 1230 站位甲烷-硫酸盐转换带中古菌的优势类群<sup>[24]</sup>。SAGMEG 最先发现

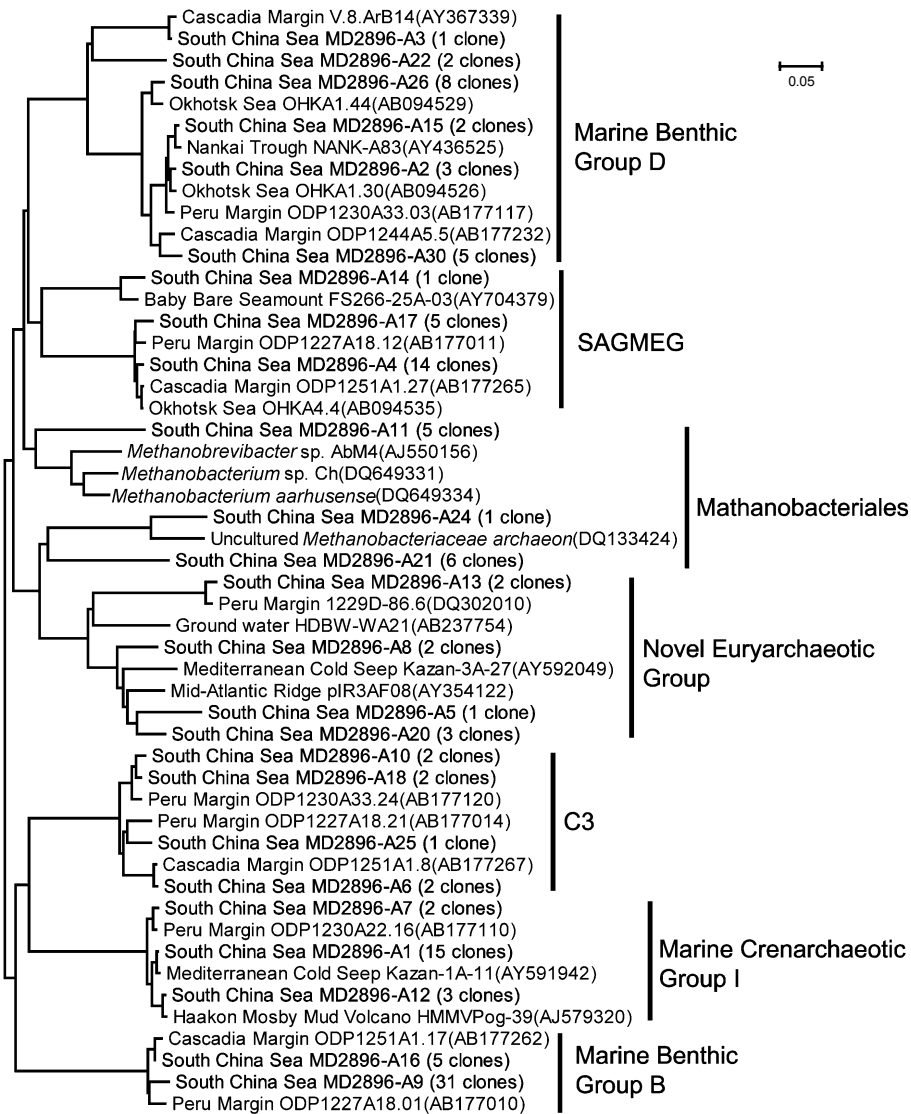


图3 基于16S rDNA序列的南海南部陆坡古菌多样性系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree reconstructed from 16S rDNA sequences of archaea from the southern slope, the South China Sea. SAGMEG: South African Gold Mine Euryarchaeotic Group. "MD2896-Axx" is sequence name in this paper; MD2896 represents sediment core number; "A" means archaea; "xx" is the clones number. The scale bar represents 0.05 substitution per nucleotide position.

于南美金矿区<sup>[25]</sup>, 随后多次在次表层和热液沉积物中发现该类群, 不过在深海沉积物中一般含量较低, 是秘鲁边缘1227站位甲烷-硫酸盐转换带中古菌的优势类群<sup>[24]</sup>。这两个类群同源序列(95-99%相似性)都来自甲烷丰富或含甲烷水合物的沉积物, 包括卡斯卡底古陆边缘、鄂霍次克海(Okhotsk)、Nanki海槽、秘鲁边缘深海、Baby Bare海山; 推测可能以甲烷氧化-硫酸盐还原为主要代谢类型。

MG I最先发现于海水<sup>[10]</sup>, 是海水中古菌的主要类群, 似乎也广泛分布于海底沉积物中, 该类群可能兼性自养或者代谢类型多样<sup>[26]</sup>, 由于MG I在海水中十分丰富, 沉积物中的MG I是否来自海水的污染?

研究表明MG I在海水和沉积物中已经进化多样化了<sup>[27]</sup>, 沉积物中的MG I已经适应了周边的环境。该类群同源序列分别来自巴伦支海泥火山沉积物、地中海冷泉沉积物和秘鲁边缘深海沉积物(98-100%相似性), 基本排除了海水的污染。

MBGD最初发现于大西洋陆坡和新英格兰离岸深海平原<sup>[28]</sup>, 未发现于海水, 可能仅生活于深海沉积物中; 同源序列分别来自Cascadia古陆边缘、鄂霍次克海(Okhotsk)、Nanki海槽、秘鲁边缘深海沉积物(96%~99%相似性)。NEG类群同源序列主要来自深海沉积物, 包括秘鲁边缘、地中海冷泉区和大西洋大洋中脊沉积物(83%~88%相似性)。C3类群同源序列来

自 Cascadia 古陆边缘和秘鲁边缘深海沉积物(95%~99%相似性)。

总之,南海南部陆坡表层沉积物微生物主要参与硫和氮的生物地球化学循环,沉积物中硫酸盐和高价金属化合物可能是微生物代谢过程中主要的电子受体,而  $H_2S$ 、 $NH_3$  和  $CH_4$  可能是主要的电子供体。

致谢 分析样品来自 IMAGES 147 航次,感谢参与 MARCO 航段所有工作人员!感谢厦门大学张瑶博士和同济大学李丽博士协助采样!

### 参 考 文 献

- [1] Parkes RJ, Cragg BA, Bale SJ, *et al.* Deep bacterial biosphere in Pacific ocean sediments. *Nature*, 1994, 371: 410–413.
- [2] Parkes R, Cragg B, Wellsbury P. Recent studies on bacterial populations and processes in seafloor sediments: A review. *Hydrogeology Journal*, 2000, 8: 11–28.
- [3] Whitman WB, Coleman DC, Wiebe WJ. Prokaryotes: The unseen majority. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 6578–6583.
- [4] Woese CR. Bacterial evolution. *Microbiology Review*, 1987, 51: 221–271.
- [5] Mills HJ, Hodges C, Wilson K, *et al.* Microbial diversity in sediments associated with surface-breaching gas hydrate mounds in the gulf of Mexico. *FEMS Microbiology Ecology*, 2003, 46: 39–52.
- [6] Webster G, Newberry CJ, Fry JC, *et al.* Assessment of bacterial community structure in the deep sub-seafloor biosphere by 16S rDNA-based techniques: A cautionary tale. *Journal of Microbiological Methods*, 2003, 55: 155–164.
- [7] Wintzingerode FV, Göbel UB, Stackebrandt E. Determination of microbial diversity in environmental samples: Pitfalls of PCR-based rRNA analysis. *FEMS Microbiology Reviews*, 1997, 21: 213–229.
- [8] Hugenholtz P, Goebel BM, Pace NR. Impact of culture-independent studies on the emerging phylogenetic view of bacterial diversity. *Journal of Bacteriology*, 1998, 180: 4765–4774.
- [9] Zhou JZ, Davery E, Figure JB. Phylogenetic diversity of a bacterial community determined from Siberian tundra soil DNA. *Microbiology*, 1997, 143: 3913–3919.
- [10] DeLong EF. Archaea in coastal marine environments. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89: 5685–5689.
- [11] Paul JH. Marine microbiology. In *Methods in microbiology*. Volume 30. New York: Academic Press, 2001.
- [12] Swofford DL. PAUP: Phylogenetic analysis using parsimony (\*and other methods). Version 4.0. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, 2002.
- [13] Schloss PD, Handelsman J. Introducing DOTUR, a computer program for defining operational taxonomic units and estimating species richness. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(3): 1501–1506.
- [14] Webster G, Parkes RJ, Cragg BA, *et al.* Prokaryotic community composition and biogeochemical processes in deep seafloor sediments from the Peru margin. *FEMS Microbiology Ecology*, 2006, 58(1): 65–85.
- [15] Schippers A, Neretin LN, Kallmeyer J, *et al.* Prokaryotic cell of the deep sub-seafloor biosphere identified as living bacteria. *Nature*, 2005, 433: 861–864.
- [16] Luna GM, Dell'Anno A, Danovaro R. DNA extraction procedure: A critical issue for bacterial diversity assessment in marine sediments. *Environmental Microbiology*, 2006, 8(2): 308–320.
- [17] Nercessian O, Fouquet Y, Pierre C, *et al.* Diversity of bacteria and archaea associated with a carbonate-rich metalliferous sediment sample from the rainbow vent field on the mid-Atlantic ridge. *Environmental Microbiology*, 2005, 7(5): 698–714.
- [18] López-García P, Duperron S, Philippot P, *et al.* Bacterial diversity in hydrothermal sediment and epsilonproteobacterial dominance in experimental microcolonizers at the mid-Atlantic ridge. *Environmental Microbiology*, 2003, 5(10): 961–976.
- [19] Hugenholtz P, Pitulle C, Hershberger KL, *et al.* Novel division level bacterial diversity in a Yellowstone hot spring. *Journal of Bacteriology*, 1998, 180(2): 366–376.
- [20] Rheims H, Rainey FA, Stackebrandt E. A molecular approach to search for diversity among bacteria in the environment. *Journal of Industrial Microbiology*, 1996, 17: 159–169.
- [21] Harris JK, Kelley ST, Pace NR. New perspective on uncultured bacterial phylogenetic division OP11. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(2): 845–849.
- [22] Wintzingerode FV, Selent B, Hegemann W. Phylogenetic analysis of an anaerobic, trichlorobenzene-transforming microbial consortium. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 65(1): 283–286.
- [23] Sørensen KB, Teske A. Stratified communities of active archaea in deep marine subsurface sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(7): 4596–4603.
- [24] Inagaki F, Nunoura T, Nakagawa S, *et al.* Biogeographical distribution and diversity of microbes in methane hydrate-bearing deep marine sediments on the Pacific ocean margin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(8): 2815–2820.
- [25] Takai K, Moser DP, DeFlau M, *et al.* Archaeal diversity in waters from deep south African gold mines. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67(12): 5750–5760.

- [26] Teske AP, *Microbial community composition in deep marine subsurface sediments of ODP Leg 201: Sequencing surveys and cultivations*. In Jørgensen BB, D'Hondt SL, Miller DJ. *Proceedings of the ocean drilling program, scientific results volume 201*, 1–19[online].
- [27] Sørensen KB, Lauer A, Teske A. Archaeal phylotypes in a metal-rich, low-activity deep subsurface sediment of the Peru basin, ODP Leg 201, site 1231. *Geobiology*, 2004, 2: 151–161.
- [28] Vetriani C, Jannasch HW, Macgregor BJ, *et al.* Population structure and phylogenetic characterization of marine benthic archaea in deep-sea sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 65(10): 4375–4384.

## Bacterial and archaeal diversity in surface sediment from the south slope of the South China Sea

Tao Li\*, Peng Wang, Pinxian Wang

(State Key Laboratory of Marine Geology, Tongji University, Shanghai 200092, China)

**Abstract:** Diversity of bacteria and archaea was studied in deep marine sediments by PCR amplification and sequence analysis of 16S rDNA. Sample analysed was from IMAGES(International Marine Past Global Change Study) 147 at site of the south slope of the South China Sea. DNA was amplified from samples at the surface layer of core MD05-2896. Phylogenetic analysis of clone libraries showed a wide variety of uncultured bacteria and archaea. The most abundant bacterial sequences (phylotypes) corresponded to the Proteobacteria, followed by the Planctomycete, Acidobacteria and candidate division OP10. Phylotypes ascribing to Deferrobacteres, Verrucomicrobia, Spirochaetes and candidate division clades of OP3, OP11, OP8 and TM6 were also identified. Archaeal 16S rDNA sequences were within phylums of Crenarchaeota and Euryarchaeota, respectively. The majority of archaeal phylotypes were Marine Benthic Group B(MBGB), Marine Crenarchaeotic Group I(MG I), Marine Benthic Group D(MBGD) and South African Gold Mine Euryarchaeotic Group(SAGMEG). Additional sequences grouped with the C3, Methanobacteriales and Novel Euryarchaeotic Group (NEG). These results indicate that bacteria and archaea are abundant and diversified in surface environment of subseafloor sediments.

**Keywords:** the South China Sea; Sediment; 16S rDNA; Diversity

Supported by the Key Project of China National Programs for Fundamental Research and Development (2007CB815904), the National Natural Science Foundation of China (40510487, 40606032) and the Program for Young Excellent Talents in Tongji University (2006KJ056)

\*Corresponding author. Tel: +86-21-65982012; Fax: +86-21-65988808; E-mail: lukelitao80@163.com

Received: 31 July 2007/ Revised: 8 November 2007

### 《微生物学报》对摘要的写作要求

2007年12月修订

1. 研究报告摘要: 基本要素包括研究目的、方法、结果和结论,并要求在文中给出“【目的】、【方法】、【结果】和【结论】”等字样。具体地讲就是研究工作的主要对象和范围,采用的手段和方法,得出的结果和重要的结论。在结果和讨论中应写明本文的创新之处。
2. 综述摘要: 包括论述内容的发展水平、自己的评论及展望。
3. 英文摘要的内容应与中文摘要一致,但比中文摘要更详尽。要求在文中给出[Objective],[Methods],[Results],[Conclusion]等 words。英文摘要完成后,务必请英文较好、且专业知识强的专家审阅定稿后再返回编辑部。凡不符合要求的,即使学术上可以达到刊出的水平,本刊也将推迟发表。
4. 英文摘要的撰写要点:
  - (1) 在英语摘要中,不要使用任何汉字字符,包括标点,括号,温度,希腊字母等。
  - (2) 建议使用第一人称,以此可区分研究结果是引用文献的还是作者的。
  - (3) 建议用主动语态,被动语态表达拖拉模糊尽量不用,这样可以免好多长句,以求简单清晰。
  - (4) 摘要应当使用过去时态,语法正确,句子通顺。
  - (5) 摘要中不用缩写语,除非是人人皆知的,如: DNA, ATP 等。