

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.10.001

• 基础研究 •

深圳大鹏湾海域锥状斯氏藻赤潮期间细菌群落结构
变化研究*常虹^{1,2} 王博^{1,2} 姚蜜蜜^{1,2} 蔡中华^{1△}

(1 清华大学生命科学学院 北京 100084; 2 清华大学深圳研究生院海洋科学与技术学部 广东 深圳 518055)

摘要 目的:近年来,赤潮在我国的发生呈增加的趋势,并造成了极大的经济损失。过去研究赤潮发生的机理主要集中在理化因素的影响,而越来越多的证据表明仅凭借营养盐等环境因素并不能解释大部分赤潮现象,藻际微生物可能发挥着重要作用。本文跟踪观测了 2010 年 7 月深圳大鹏湾海域爆发的锥状斯氏藻赤潮生消过程中细菌群落丰度种类的变化,从微生物与赤潮藻相互作用的角度探讨了赤潮的生消过程,讨论了不同时期不同关键菌群的特殊作用,为解释赤潮爆发和消亡提供了新的视角,为赤潮的监控和防治新方法的建立奠定了理论基础。**方法:**本文按时间顺序共采集该赤潮 9 次样本,利用末端限制性酶切片长度多态性分析(T-RFLP)等分子生物学方法,通过主成分分析、克隆文库的构建,研究了微生物群落的变化过程,并探讨了特定种属的微生物在赤潮发生、发展和消亡过程中的作用。**结果:**从浮游细菌丰度来看,随着锥状斯氏藻细胞数量的波动,浮游细菌总数也随之呈现相应的变化。从浮游细菌的种类来看,它们主要属于变形杆菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)和厚壁菌门(Firmicutes)。从浮游细菌的动态变化过程来看,赤潮生消过程中,浮游细菌群落呈现出一定的演替现象,特别是在赤潮后期,群落主成分变化尤为显著。从关键菌群的作用来看,属于 γ 变形杆菌门的 *Alteromonas* sp. 一直占有较高的丰度,赤潮中后期受到菌群相互作用导致比例下降,而赤潮后期其他关键菌群的丰度的增高可能是导致赤潮消亡的重要原因。**结论:**本文利用 T-RFLP 这一 DNA 指纹技术分析微生物群落结构和多样性特征,通过研究赤潮生消过程中藻际浮游细菌群落的动态变化,发现随着赤潮的发展,浮游细菌群落发生着相应的变化。结果说明赤潮藻体丰度数量的改变影响着浮游细菌群落的组成。相对地,细菌群落的适应调整迅速造成赤潮藻体局部生长环境的改变,从而影响赤潮的发展过程。

关键词:赤潮;锥状斯氏藻;微生物群落;末端限制性片段长度多态性分析

中图分类号:Q938.8 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2014)10-1801-07

Structural Dynamic of Bacterial Community Associated with a *Scrippsiella*
Trochoidea Bloom in Dapeng Bay of Shenzhen *CHANG Hong^{1,2}, WANG Bo^{1,2}, YAO Mi-mi^{1,2}, CAI Zhong-hua^{1△}

(1 School of life science, Tsinghua University, Beijing, 100084, China;

2 Division of Ocean Science and Technology, Graduate School at Shenzhen, Tsinghua University, Shenzhen, Guangdong, 518055, China)

ABSTRACT Objective: There has been an increasing tendency of HABs which has caused damage to economies in China in recent decades. Generally, algal blooms are closely associated with a wide variety of physical and chemical factors, but increasing attention has been gained to the role of biological interactions between these microbes and harmful algae in regulating the population of harmful algae. This study focuses on the bacterial community associated with *S. trochoidea* bloom occurred in Dapeng Bay of east Shenzhen in July, 2010, which investigates the processes of algal bloom in a new perspective, and establishes a theoretical foundation for monitoring and prevention of algal blooms. **Methods:** The dynamic of the community composition and the function of specific bacterial in this process had been demonstrated by using T-RFLP, cloning library and principal component analysis (PCA). **Results:** The bacterioplankton counts in this study exhibits a clear corresponding response to the of fluctuations *S. trochoidea* abundance. The species of bacterioplankton mainly belong to Proteobacteria, Bacteroidetes and Firmicutes. From the point of dynamic changes of bacterioplankton in the processes of algal bloom, it shows a certain succession, especially in the final stage, changes of principal component of bacterioplankton community are particularly significant. Considering the value of significant bacteria, γ -Proteobacteria which belongs to the *Alteromonas* sp. always has a high abundance, and its proportion in the whole community decreases in the last stage of HABs. Therefore, the increase of the other significant species may be lead to the distinct of HABs. **Conclusion:** In the present study, based on the analysis of microbial

* 基金项目:国家重点基础发展规划项目“973 项目”(2012CB426504)

作者简介:常虹(1988-),女,硕士,主要研究方向:微生物生态学,E-mail: changhong1202@sina.cn

△ 通讯作者:蔡中华,电话:0755-26036108,E-mail: caizh@sz.tsinghua.edu.cn

(收稿日期:2013-08-15 接受日期:2013-09-12)

community structure and diversity characteristics by using T-RFLP, we demonstrate that the bacterioplankton community change according to the development of HABs. The results show that change of the abundance of algae in HABs can affect the composition of bacterioplankton communities. In contrast, the adaption of the bacterial community can change the surroundings environment of algae related to HABs which affects the processes of algal bloom further.

Key words: Algal bloom; *Scrippsiella trochoidea*; Microbial community; TRFLP

Chinese Library Classification(CLC): Q938.8 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)10-1801-07

前言

赤潮是指海洋中的微小浮游生物,如浮游植物、浮游细菌和浮游动物等在短时间内定向聚集或过度增殖,引起海水变色的一种生态异常现象^[1,2]。大部分赤潮是无害的,它们在海洋中自然发生、发展和消亡,不会对生态系统造成严重影响^[3]。但有些赤潮能通过物理、化学等方式对海洋生物的生存造成影响,破坏海洋中正常的能量传递过程,对生态系统的危害巨大^[4,5]。近年来,我国的赤潮发生呈现出了频率增加、规模扩大、危害程度增高以及赤潮优势种多样的趋势。因此,了解赤潮的发生机理,制定出合理的防治方案已经成为当务之急^[6,7]。然而,影响赤潮发生的因素多种多样,大部分的研究集中于物理化学因素^[8-11],而对生态系统中生物因素(如微生物等)对赤潮藻群落和产毒的调节作用关注相对较少^[12-14]。因此,通过观察赤潮期间微生物群落结构的变化研究微生物与赤潮藻相互作用,对于了解和预测赤潮的发生及变化趋势具有重要意义^[15-17]。

近年来,随着分子生物学和生态学技术的发展,末端限制性片段长度多样性分析(TRFLP)技术的建立为研究复杂细菌群落中物种的丰富度和多样性提供了强有力的保障^[18]。该技术以分子生物学系统性的原理为基础,综合运用了PCR技术、DNA限制性酶切技术、荧光标记技术和DNA序列自动分析技

术,在DNA水平上通过对特定合算片段长度多态性的测定来分析微生物群落多样性及结构特征。该方法有着快速、高度自动化且无需对微生物样品进行鉴定的优势^[19,20]。

本文通过跟踪观测2010年我国深圳市大鹏湾海域爆发的一次由锥状斯氏藻引发的赤潮,应用TRFLP分析技术对微生物群落的丰富度、均一性以及动态变化进行分析,研究了微生物群落随赤潮消长的主成分变化过程,并考察了特征种群对赤潮变化的影响,从微生物群落动态演变的角度解释了赤潮生消的全过程。本研究为赤潮爆发的机制提供了新的解释,为解释赤潮爆发和消亡提供了新的视角,为赤潮的监控和防治新方法的建立奠定了理论基础。

1 材料与方法

1.1 样品的采集

本文主要研究2010年7、8月在深圳东部大鹏湾发生的由锥状斯氏藻引起的赤潮中的细菌群落变化。样品来源于赤潮发生位点的9天(E1,E2,E3,E4,E5,E6,E7,E8,E9)以及非赤潮发生(E10)的样本(见表1)。首先对相应位点表层海水取样,再除去大型浮游动物(300目滤网),然后取200-500 mL水样用0.22 μ m滤膜过滤以获得微生物,将滤膜-80℃下保存,用于DNA提取。

表1 采样日期安排表

Table 1 Sampling date schedule

Number	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10
Date	Jul.31th	Aug.1st	Aug.2nd	Aug.3rd	Aug.4th	Aug.6th	Aug.9th	Aug.11th	Aug.17th	Blank

1.2 藻类与细菌计数

1)锥状斯氏藻计数

将样品过滤到0.8 μ m孔径的黑色聚碳酸酯滤膜上。其上加抗荧光淬灭封片剂,制片。在荧光显微镜下用绿光激发,观察计数。每个样品重复3次,每次取10个视野。

2)浮游细菌计数

取水样1-2 mL,加入吐温80(终浓度10 μ g/mL),超声30 s,向其中加入DAPI(终浓度1 μ g/mL)染色10 min。之后将水样过滤于0.22 μ m的黑色聚碳酸酯滤膜上。计数方法同上。另外,取10 mL水样,并过滤到0.8 μ m的黑色聚碳酸酯滤膜上,计数方法同上。

1.3 T-RFLP分析

1) DNA提取

将上述用于DNA提取的滤膜剪碎,加入1 mL的裂解缓冲液(100 mM Tris,100 mM EDTA,100 mM 磷酸盐缓冲液(pH 8.0))以及15 μ L溶菌酶溶液(50 mg/mL),37℃水浴30 min;之

后加入250 μ L 10% SDS和10 μ L蛋白酶K(10 mg/mL),37℃水浴1 h;再加入375 μ L 5 M NaCl溶液和125 μ L 5%CTAB/1.5 M NaCl溶液,65℃水浴30 min;放入液氮中冷冻,随后放入65℃水浴锅热击15 min,重复此过程;再加入等体积酚:氯仿:异戊醇(25:24:1),混匀,12000 rpm离心30 min;将上清转移到离心管中,加入等体积的氯仿:异戊醇(24:1),混匀,12000 rpm转速下离心30 min;将上清转移到离心管中,加入0.7体积的异丙醇和0.3体积的10 M乙酸铵溶液(pH 7.5),混匀,在4℃下沉淀30 min;取出样品,12000 rpm离心30 min;弃掉上清液,加入1 mL 70%乙醇清洗;弃掉上清,将DNA样品在空气中干燥,之后加入250 μ L无菌去离子水溶解。

2) DNA片段的PCR扩增

本实验采用通用引物对样品总DNA进行16S rRNA的PCR扩增,引物分别为FAM荧光标记的16sF-27(5'AGAGTT-TGATCCTGGCTCAG3')和HEX荧光标记的16sR-1492(5'GGTTACCTTGTTACGACTT3')^[21]。每个样品五个重复,PCR

条件见表 2。PCR 后跑胶检查反应产物,将所有平行体系混合。

表 2 细菌荧光引物 PCR 反应条件

Table 2 Polymerase chain reaction conditions of bacterial fluorescence primer

PCR cycling condition	
ddH ₂ O: 17.5 μ L	1) Pre-denaturation: 95 $^{\circ}$ C 5 min
2 $\times$ GC buffer I: 25 μ L	2) Denaturation: 95 $^{\circ}$ C 30 s
dNTPs: 4 μ L	3) Annealing: 56 $^{\circ}$ C 30 s
Template: 1 μ L	4) Extension: 72 $^{\circ}$ C 90 s (2),3),4) 25cycles)
Primer1: 1 μ L	5) Goto 4 $^{\circ}$ C, forever
Primer2: 1 μ L	
rTaq: 0.5 μ L	

3) TRFs 片段的纯化与酶切

利用 SanPre 柱式 PCR 产物纯化试剂盒 (上海生工) 将 PCR 产物纯化浓缩至 20 μ L。取纯化后的产物 17 μ L 进行酶切, 酶切体系为 1 μ L Hha I (TaKaRa); 2 μ L 10 $\times$ Buffer (TaKaRa)。样品过夜酶切完成后, 70 $^{\circ}$ C 失活 15 min, 送至上海基康生物技术有限公司进行 T-RFs 分析测序。

4) T-RFLP 峰值的鉴定

原始 TRF 数据经由 T-REX 在线分析软件 (<http://trex.biohpc.org/>) 处理得出。对于每一个样品, 代表荧光强度小于 200 单位、片段大小小于 50 bp 或者大于 600 bp 的峰均被视为干扰峰舍去。为了比较群落样品的丰富度和相似性, 我们采用主成分分析结合聚类分析的方法对样品进行比较, 采用的软件为 PC-ORDv4 (MjMSoftware Design, Gleneden Beach, OR), 参数为 “Variance/Covariance” 和 “by weighted averaging”。

1.4 16S rRNA 基因克隆文库的构建

16S rRNA 基因的克隆文库样本来自赤潮样品, PCR 条件与表 2 相同, 使用非荧光标记引物。产物纯化方法同上。将纯化后的基因与 pMD 18-T 载体 (TaKaRa) 连接, 体系如下: pMD 18-T Vector 1 μ L; 回收的 DNA 片段 0.2 pmol; ddH₂O 5 μ L; Solution I 5 μ L。混匀后置于 16 $^{\circ}$ C 恒温 1 h, 之后转化到大肠杆菌 DH5 α 感受态细胞中。挑取单克隆培养, PCR 筛选阳性克隆。将上述阳性克隆菌株送往深圳华大基因测序。序列的拼接采用 ContigExpress (Invitrogen, Carlsbad, CA), 文库的稀疏曲线 (Rarefaction curve) 制作采用 Mothur。拼接好的序列采用 Bellerophon 在线工具的 “Chimera Check” 程序和 Mothur 软件进行嵌合体检测。对筛选出来的序列在 GenBank 进行 BLAST 从中找到相似度最高的序列。

2 结果

2.1 赤潮爆发期间锥状斯氏藻和浮游细菌丰度种类变化情况

赤潮爆发期间浮游细菌和锥状斯氏藻丰度变化如图 1 所示。在整个锥状斯氏藻赤潮生消过程中, 藻体和细菌数量变化波动较大, 而浮游细菌种类保持相对稳定 (除 E7 外), TRFs 数量基本维持在 25 左右。在样本 E7 中, 细菌 TRFs 数量增加到 41, 表明细菌群落种类发生了较大改变, 产生了更多不同种属细菌的增殖现象。相对地, 锥状斯氏藻的数量在赤潮中后期呈

现出震荡起伏的变化趋势。在 E7 中, 藻体数量经连续下降达到最低值 2.39×10^6 个 / 升, 而后数量迅速回升在 E8 中达到最大值 19.72×10^6 个 / 升, 赤潮后期藻体数量逐渐减少, 浮游细菌数量也有大幅度降低, 最终回复到赤潮爆发的起始阶段。在整个过程中, 浮游细菌丰度的变化和赤潮藻数量变化呈现出一一对应关系: 随着赤潮藻体细胞增加, 浮游细菌的数量也呈增加的趋势; 而当藻体细胞逐渐减少时, 浮游细菌总数也逐渐降低。可以推测浮游细菌与赤潮藻之间存在着较为紧密的联系。

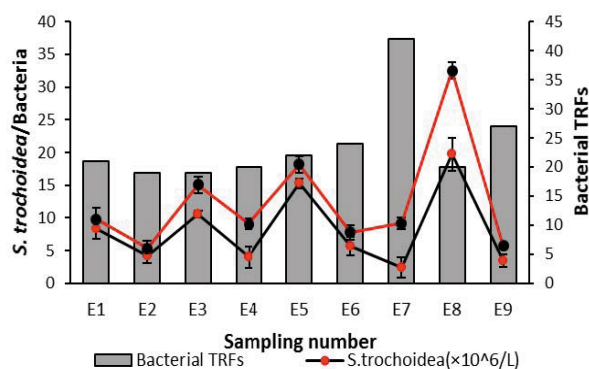


图 1 锥状斯氏藻赤潮爆发期间藻体数量和浮游细菌种类数量变化情况

Fig.1 Abundance of *S. trochoidea* during blooming time and total T-RFLP profiles of bacterioplankton communities

从浮游细菌种类数量角度来看, 赤潮爆发期与非爆发期中浮游细菌数量和种类均有较大改变 (如图 2)。非赤潮期时, 浮游细菌的数量为 1.92×10^9 个 / 升, 赤潮爆发后, 数量增加了近 2 倍, 达到了 4.32×10^9 个 / 升; 浮游细菌 TRFs 种类也相应地由 17 增加到 24 个。

T-RFLP 分析结果同样反映出赤潮生消过程中浮游细菌群落也相应发生着变化。对 T-RFLP 的结果进行噪音去除和峰校正后, 得到浮游细菌群落丰度指数 (S)、均匀度指数 (E)、Shannon-Weiner 多样性指数 (H') 和 Simpson 多样性指数 (D') 的计算结果见表 3。总得来说, 浮游细菌群落的多样性在赤潮发生、发展和消亡过程中基本保持了相对稳定的状态, 仅仅在 E7 样本中发现 Shannon-Weiner 多样性指数和 Simpson 多样性指数分别达到 3.021 和 0.9081 的最高值, 说明存在较为明显的细菌

种类增加现象,细菌群落组成发生了较为明显的改变。最后随着赤潮藻体数量的急剧变化,赤潮进入消亡阶段。

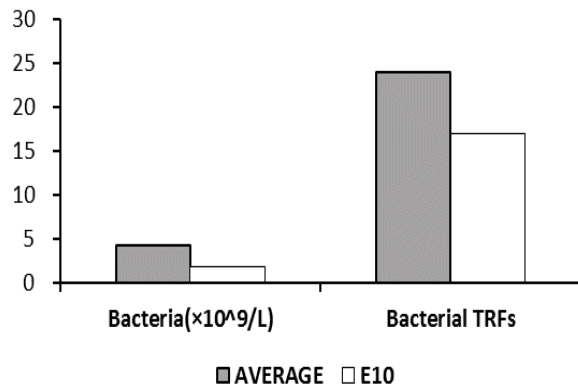


图2 赤潮爆发期与非爆发期浮游细菌种类数量对比图

Fig.2 Comparison chart of abundance and speices of bacterioplankton between outbreak and non-outbreak period of algal bloom

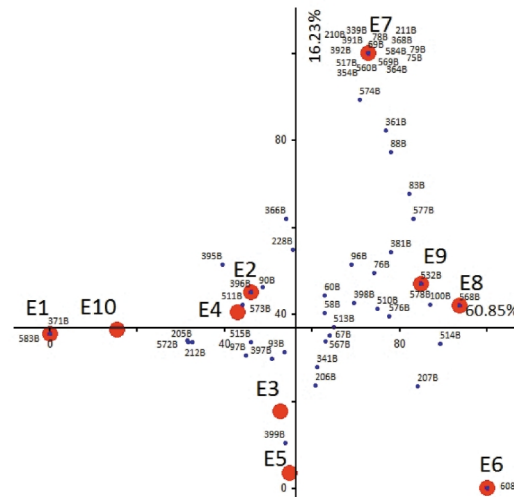


图3 锥状斯氏藻赤潮爆发期间浮游细菌群落主成分分析情况

Fig.3 Principal component analysis of planktonic bacterial communities during algal bloom

表3 浮游细菌群落丰度指数(S)、均匀度指数(E)、Shannon-Weiner 多样性指数(H')和 Simpson 多样性指数(D')

Table 3 Planktonic bacterial community abundance index (S), Evenness (E), Shannon-Weiner diversity index (H') and Simpson's diversity index (D')

No.	S	E	H'	D'
E1	20	0.691	2.070	0.7707
E2	19	0.787	2.316	0.8622
E3	19	0.813	2.394	0.8769
E4	20	0.824	2.470	0.8826
E5	22	0.798	2.465	0.8828
E6	23	0.750	2.351	0.8595
E7	41	0.814	3.021	0.9081
E8	20	0.806	2.415	0.8752
E9	27	0.853	2.812	0.9155
E10	16	0.853	2.310	0.8425

2.2 赤潮爆发期间浮游细菌群落主成分分析

为了进一步了解赤潮爆发过程中细菌群落的动态变化过程,本文通过对赤潮样本的 TRFs 数据进行主成分分析(PCA),来研究浮游细菌群落之间的演替过程,结果见图3。针对浮游细菌群落,PCA 分析中前两个轴的解釋率分别为:60.85%和16.23%。共计近80%的解釋率表明结果可以较为可靠准确地反映浮游细菌群落演替的动态过程。由结果可知,赤潮前期(E5前)细菌群落组成变化不明显,接近非爆发期样本E10水平;而赤潮中后期(E6后),细菌群落组成发生了较大改变,一直处于不断变化中。其中E7样本中,出现如211B、569B等特殊物种。

2.3 浮游细菌克隆文库构建

为了鉴定出关键峰和优势峰代表的生物物种,我们构建了16S rRNA 克隆文库,测序了121条序列,计算稀疏曲线如图4所示,结果发现曲线并没有达到平台期,说明挑选测定序列偏少,并未能覆盖大部分序列。

通过BLAST的鉴定结果见表4。结果发现这些序列主要来自变形杆菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)和厚壁菌门(Firmicutes)。变形杆菌门的序列有属于 α -变形杆菌纲

的 Rhodobacteraceae、 β -变形杆菌纲的 Hydrogenophilaceae 和 γ -变形杆菌纲的 Alteromonadaceae。

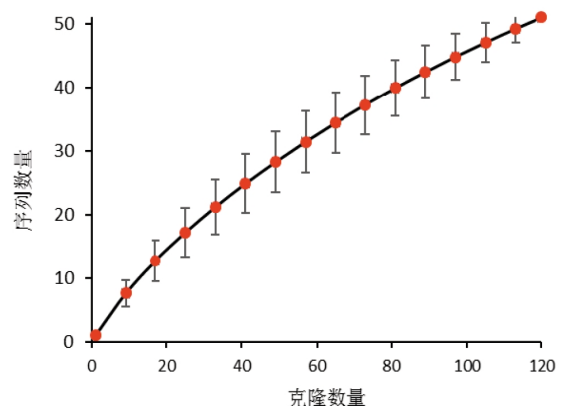


图4 16S rRNA 克隆文库的稀疏曲线

Fig.4 Rarefaction curves of 16S rRNA clone library

2.4 浮游细菌群落动态变化情况

赤潮生消过程中,浮游细菌群落中起主要作用的种属细菌

表 4 优势浮游细菌 T-RFLP 鉴定及 16S rDNA 基因克隆文库构建表

Table 4 Identification of key and dominant bacterioplankton T-RFs by in silico restriction digestions of 16S rRNA clone library

Sizes of T-RF(bp)		Closest match (GenBank accession no.)	BLAST identity	Phylogenetic branch	# of clones
Observed	Predicted				
58	61	Macrococcus brunensis (EU373366)	99%	Firmicutes	77
60	61	Uncultured alpha proteobacterium clone D13W_116 (HM057770)	100%	Alphaproteobacteria	9
67	67	Uncultured Rhodobacteraceae bacterium clone XA3B09F (HQ270257)	97%	Alphaproteobacteria	100
78	78	Uncultured alpha proteobacterium clone D8W_12 (HM057708)	99%	Alphaproteobacteria	58
79	81	Uncultured bacterium clone CEP-DCM-85 (GU061814)	99%	Alphaproteobacteria	66
83	82	Uncultured bacterium clone S25_844 (EF574500)	99%	Alphaproteobacteria	112
93	93	Uncultured bacterium clone CEP-DCM-4 (GU061836)	99%	Deltaproteobacteria	87
96	96	Uncultured bacterium clone S25_883 (EF574539)	98%	Flavobacteriia	33
97	98	Uncultured bacterium clone SW-Oct-59 (HQ203776)	99%	Sphingobacteriia	10
100	103	Uncultured Bacteroidetes bacterium clone A13W_155 (HM057636)	99%	Bacteroidetes	92
205	207	uncultured Alteromonas sp. clone M26-022 (AM941178)	99%	Gammaproteobacteria	61
206	207	Uncultured bacterium clone MF-July-150 (HM591414)	96%	Gammaproteobacteria	71
207	207	Uncultured bacterium clone S25_349 (EF574005)	99%	Gammaproteobacteria	41
210	209	Burkholderia cenocepacia (CP000458)	99%	Betaproteobacteria	2
212	213	Stenotrophomonas maltophilia (EU034540)	99%	Gammaproteobacteria	1
228	229	Coralimargarita akajimensis (CP001998)	98%	Verrucomicrobia	25
366	366	Uncultured Bacteroidetes bacterium clone A8W_133 (HM057801)	99%	Bacteroidetes	53
368	367	Uncultured bacterium clone CE2-DCM-102 (GU061622)	99%	Gammaproteobacteria	78
513	513	Uncultured Rhodobacteraceae bacterium clone DS098 (DQ234181)	99%	Alphaproteobacteria	91
517	523	Uncultured bacterium JM9_B4 (EU795171)	99%	Gammaproteobacteria	36
560	557	Uncultured gamma proteobacterium clone ARTE1_245 (GU230295)	99%	Gammaproteobacteria	108
567	569	Uncultured bacterium clone S23_1408 (EF573309)	98%	Gammaproteobacteria	67
572	572	Uncultured bacterium clone S25_491 (EF574147)	99%	unknown	32
576	576	Ralstonia mannitolilytica (DQ239898)	99%	Betaproteobacteria	34

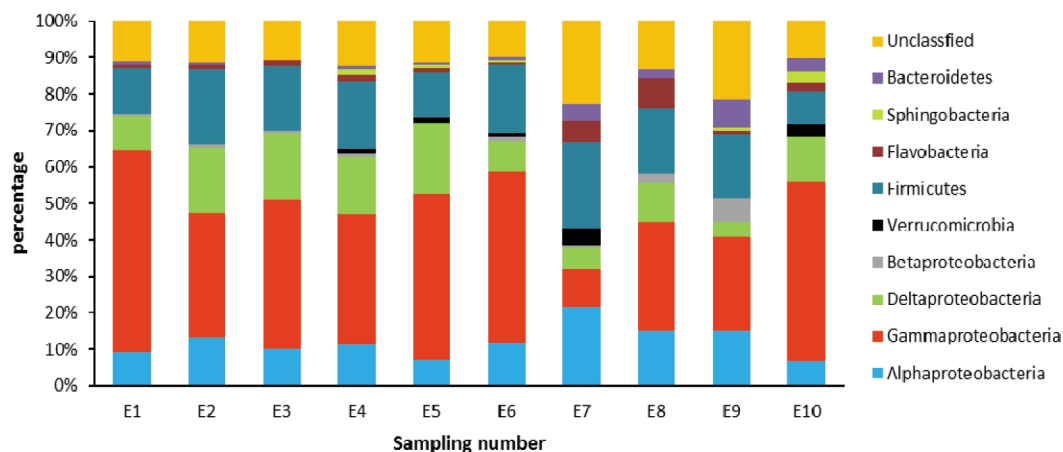


图5 锥状斯氏藻赤潮爆发期间浮游细菌群落优势种属动态变化图

Fig.5 Structural dynamic of dominant bacterial community associated with *S.trochoidea* bloom

会随时间的变化而改变,为了寻找这一变化过程中的优势菌群,本文根据 T-RFLP 分析和克隆文库鉴定结果,总结归纳了浮游细菌群落在锥状斯氏藻赤潮生消过程中的丰度动态变化情况,结果如图 5 所示。在赤潮刚刚生成时(E1),细菌种类较阴性对照(E10)有少量下降,说明少数竞争性较弱的细菌受到优势菌的抑制,生长受到影响。这其中 *Alteromonas sp.*(205B, Gammaproteobacteria)、Rhodobacteraceae(67B, Alphaproteobacteria)、93B (Deltaproteobacteria) 和 *Macrocooccus brunensis*(58B, Firmicutes)对细菌群落有很大影响。随着赤潮的不断发展,浮游细菌种类也发生着细微的改变。在样本 E4 中,出现了少量 Verrucomicrobia、Sphingobacteria 和 Bacteroidetes 等稀有种属的细菌,直至样本 E7 时丰度和种类发展到最大值,而原先的优势种 *Alteromonas sp.*已被多种关键菌群取代。在赤潮后期(E8、E9),原先优势种 *Alteromonas sp.*丰度逐渐回增,同时出现新的物种 *Burkholderia cenocepacia* (B210, Betaproteobacteria) 并占有一定比例。

3 讨论

近年来,深圳海域赤潮发生日益频繁,给深圳海洋资源的可持续利用、海洋经济的可持续发展、以及滨海旅游造成了严重的影响。面对赤潮的危害,科学界已进行了大量的研究^[2]。然而,现今困扰人们对赤潮认识的瓶颈依然是赤潮藻体的暴发机理,并已成为赤潮研究领域的“黑匣子”。目前,藻类共生菌在赤潮形成汇总发挥着重要生态学作用的观点已形成共识^[12,13],针对藻菌关系的研究也取得了一定的成果。本文研究从微生物和赤潮藻关系角度着眼分析赤潮暴发和消亡现象,重点关注赤潮生消过程中浮游细菌群落的动态变化,运用 TRFLP 等现代分子生物学手段,对于研究赤潮的变化机理提供了新的视角,具有重要的指导作用,为赤潮过程中藻际微生物相互作用研究奠定了理论基础^[18]。

本文发现赤潮藻体与浮游微生物间存在着密切的联系,随着锥状斯氏藻细胞丰度的波动,浮游细菌总数也发生着相应的变化。赤潮生消过程中,浮游细菌群落也呈现出一定的演替现象,这些细菌主要从属于变形杆菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)和厚壁菌门(Firmicutes)。其中, γ 变形杆菌门

的 *Alteromonas sp.*在赤潮发生过程中一直占有较高的丰度,赤潮中后期受到菌群相互作用导致比例下降,这可能是导致赤潮消亡的重要原因。同样,随着赤潮的发展,赤潮藻体丰度数量的改变影响着浮游细菌群落的组成;细菌群落的相应变化也造成赤潮藻体局部生长环境的改变,从而影响赤潮的发展过程。

综上所述,本文基于 TRFLP 分析技术,研究探讨了深圳大鹏湾海域锥状斯氏藻赤潮爆发期间微生物群落的动态变化,结果充分表明藻际微生物与赤潮藻间存在紧密的联系,可以作为研究赤潮发生机理的可靠切入点。同样,研究浮游细菌对赤潮发生的影响为今后研究赤潮爆发机理提供了新的视角,也为防治赤潮灾害提供了有力的理论支持。

参考文献(References)

- [1] Hallegraeff G M. A review of harmful algal blooms and their apparent global increase [J]. *Phycologia*, 1993, 32(2): 79-99
- [2] Anderson D M. Toxic algal blooms and red tides: a global perspective [J]. *Red tides: Biology, environmental science and toxicology*, 1989, 11-16
- [3] Glibert P M, Anderson D M, Gentien P, et al. The global, complex phenomena of harmful algal blooms [J]. 2005, 136-147
- [4] Zingone A, Oksfeldt E H. The diversity of harmful algal blooms: a challenge for science and management [J]. *Ocean and coastal management*, 2000, 43(8): 725-748
- [5] Sellner K G, Doucette G J, Kirkpatrick G J. Harmful algal blooms: causes, impacts and detection [J]. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2003, 30(7): 383-406
- [6] Anderson D M. Approaches to monitoring, control and management of harmful algal blooms (HABs) [J]. *Ocean and coastal management*, 2009, 52(7): 342-347
- [7] Mingjiang Z, Mingyuan Z. Progress of the project" ecology and oceanography of harmful algal blooms in China [J]. *Advances in Earth Science (in Chinese)*, 2006, 21(7): 673-679
- [8] Anderson D M, Glibert P M, Burkholder J M. Harmful algal blooms and eutrophication: nutrient sources, composition, and consequences [J]. *Estuaries*, 2002, 25(4): 704-726
- [9] Heisler J, Glibert P, Burkholder J M, et al. Eutrophication and harmful algal blooms: A scientific consensus [J]. *Harmful Algae*, 2008, 8(1): 3-13

- [10] Anderson D M, Burkholder J M, Cochlan W P, et al. Harmful algal blooms and eutrophication: Examining linkages from selected coastal regions of the United States [J]. Harmful Algae, 2008, 8(1): 39-53
- [11] Glibert P, Burkholder J. The complex relationships between increases in fertilization of the earth, coastal eutrophication and proliferation of harmful algal blooms [M]. Ecology of harmful algae. Springer. 2006: 341-354
- [12] Azam F, Fenchel T, Field J, et al. The ecological role of water-column microbes in the sea [J]. Marine ecology progress series Oldendorf, 1983, 10(3): 257-263
- [13] Rooney-varga J N, Giewat M W, Savin M C, et al. Links between phytoplankton and bacterial community dynamics in a coastal marine environment [J]. Microbial ecology, 2005, 49(1): 163-175
- [14] Vicente M, Falc O M, Santos M, et al. Environmental assessment of two artificial reef systems off southern Portugal (Faro and Olhão): a question of location [J]. Continental shelf research, 2008, 28(6): 839-847
- [15] Sarmiento H, Gasol J M. Use of phytoplankton-derived dissolved organic carbon by different types of bacterioplankton [J]. Environmental microbiology, 2012, 14(9): 2348-2360
- [16] Bolch C J, Subramanian T A, Green D H. The toxic dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* (dinophyceae) requires marine bacteria for growth [J]. Journal of Phycology, 2011, 47(5): 1009-1022
- [17] Croft M T, Lawrence A D, Raux-deery E, et al. Algae acquire vitamin B12 through a symbiotic relationship with bacteria [J]. Nature, 2005, 438(7064): 90-93
- [18] Liu W T, Marsh T L, Cheng H, et al. Characterization of microbial diversity by determining terminal restriction fragment length polymorphisms of genes encoding 16S rRNA [J]. Applied and environmental microbiology, 1997, 63(11): 4516-4522
- [19] Kaplan C W, Kitts C L. Variation between observed and true terminal restriction fragment length is dependent on true TRF length and purine content [J]. Journal of microbiological methods, 2003, 54(1): 121-125
- [20] Sutton J T, Robertson B C, Jamieson I G. Dye shift: a neglected source of genotyping error in molecular ecology [J]. Molecular ecology resources, 2011, 11(3): 514-520
- [21] Moreno C, Romero J, Espejo R T. Polymorphism in repeated 16S rRNA genes is a common property of type strains and environmental isolates of the genus *Vibrio* [J]. Microbiology, 2002, 148(4): 1233-1239

• 重要信息 •

《分子影像学》第二版已正式出版发行

卜丽红¹ 戴薇薇²

(1 哈尔滨医科大学附属第四医院医学影像科 150001; 2 人民卫生出版社医药教育出版中心第四编辑室)

由哈尔滨医科大学附属第四医院申宝忠教授主编的《分子影像学》第二版(ISBN:978-7-117-13344-9/R·13345)一书已于2010年9月14日由人民卫生出版社出版发行。《分子影像学》是国内第一部分子影像学大型专著。对于分子影像学的基本概念、基本原理、基本方法和应用概况都有精彩而详细的论述,充分体现了国际分子影像学的最新进展。

《分子影像学》第二版由著名医学影像学家、中国工程院院士刘玉清教授和美国分子影像学专家、美国医学科学院院士 Sanjiv Sam Gambhir 教授亲自作序。编委会包括美国哈佛大学、斯坦福大学等国外知名院校7名专家作为国外编委,国内多家知名大学、研究中心学术带头人13名作为国内编委,还包括国内外共40名专家参与编写。

全书共计130余万字,收录图片378幅,共分基础篇和应用篇。

基础篇共分10章,主要介绍了分子影像学的发展简史,分子成像的相关概念、基本原理、基本技术和设备等,内容较第一版更为精准、完善,覆盖面更加宽泛。着重针对探针合成这一当前分子成像研究的技术瓶颈,纳入了材料学、生物学和化学等相关技术内容。

应用篇共分7章,着重介绍了分子影像学技术的最新进展和应用情况,并详细介绍了分子成像在肿瘤、中枢神经系统和心血管系统疾病诊断中的应用情况,重点阐述了分子成像在监测基因治疗、活体细胞示踪以及新药研发等方面的最新研究进展,并就分子影像学向临床转化所面临的问题进行了深入剖析。

本书内容系统详实,深入浅出,图文并茂,可读性强。可供医学影像学专业、临床专业学生使用,并可为临床各学科研究生、临床医师及其他相关生命科学的研究人员提供參考。

《分子影像学》精装本定价260元,全国各大书店有售。