

# 读 书 报 告

汇 报 人：张玲玉

时 间：2017-6-25

# Contents

1

**Abstract**

2

**Introduction**

3

**Materials & Methods**

4

**Results & Discussions**

5

**Conclusions**

# Actinobacterial Diversity in Volcanic Caves and Associated Geomicrobiological Interactions

*Cristina Riquelme*<sup>1†</sup>, *Jennifer J. Marshall Hathaway*<sup>2†</sup>, *Maria de L. N. Enes Dapkevicius*<sup>1</sup>, *Ana Z. Miller*<sup>3</sup>, *Ara Kooser*<sup>2</sup>, *Diana E. Northup*<sup>2</sup>, *Valme Jurado*<sup>3</sup>, *Octavio Fernandez*<sup>4</sup>, *Cesareo Saiz-Jimenez*<sup>3</sup> and *Naowarat Cheeptham*<sup>5\*</sup>

<sup>1</sup> Food Science and Health Group (CITA-A), Departamento de Ciências Agrárias, Universidade dos Açores, Angra do Heroísmo, Portugal, <sup>2</sup> Department of Biology, University of New Mexico, Albuquerque, NM, USA, <sup>3</sup> Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Sevilla, Spain, <sup>4</sup> Grupo de Espeleología Tebexcorade-La Palma, Canary Islands, Spain, <sup>5</sup> Department of Biological Sciences, Faculty of Science, Thompson Rivers University, Kamloops, BC, Canada

火山岩洞穴中的放线菌多样性和相关的地质微生物相互作用

# Abstract

火山洞穴  
极端环境,  
开发少

彩色菌席

放线菌多样性

Microbe-mineral  
Interactions

扫描电子显微镜检查法 (SEM)  
Sanger测序、454焦磷酸测序  
OTU聚类分析

微生物在洞穴生态系统中的作用, 放线菌新种

# Introduction



1 放线菌是自然界中存在最广的微生物类群，能够在任何环境中发现放线菌的存在，无论是土壤，海洋，还是昆虫、植物、洞穴，而且放线菌的次生代谢产物是很好的药物来源。 ，

2 近几年研究发现，放线菌在洞穴环境中广泛存在，包括火山洞穴，并且很多的典型放线菌都在火山洞穴中被发现，并且火山洞穴被开发尚少，很有可能发现有价值的新型放线菌。

3 极端环境会使微生物利用不同的代谢途径来确保其生存，包括生物矿化和岩石风化（Cuezva et al., 2012; Miller et al., 2012a,b） ，大量的研究证明微生物与矿物质的相互作用是非常显著的。

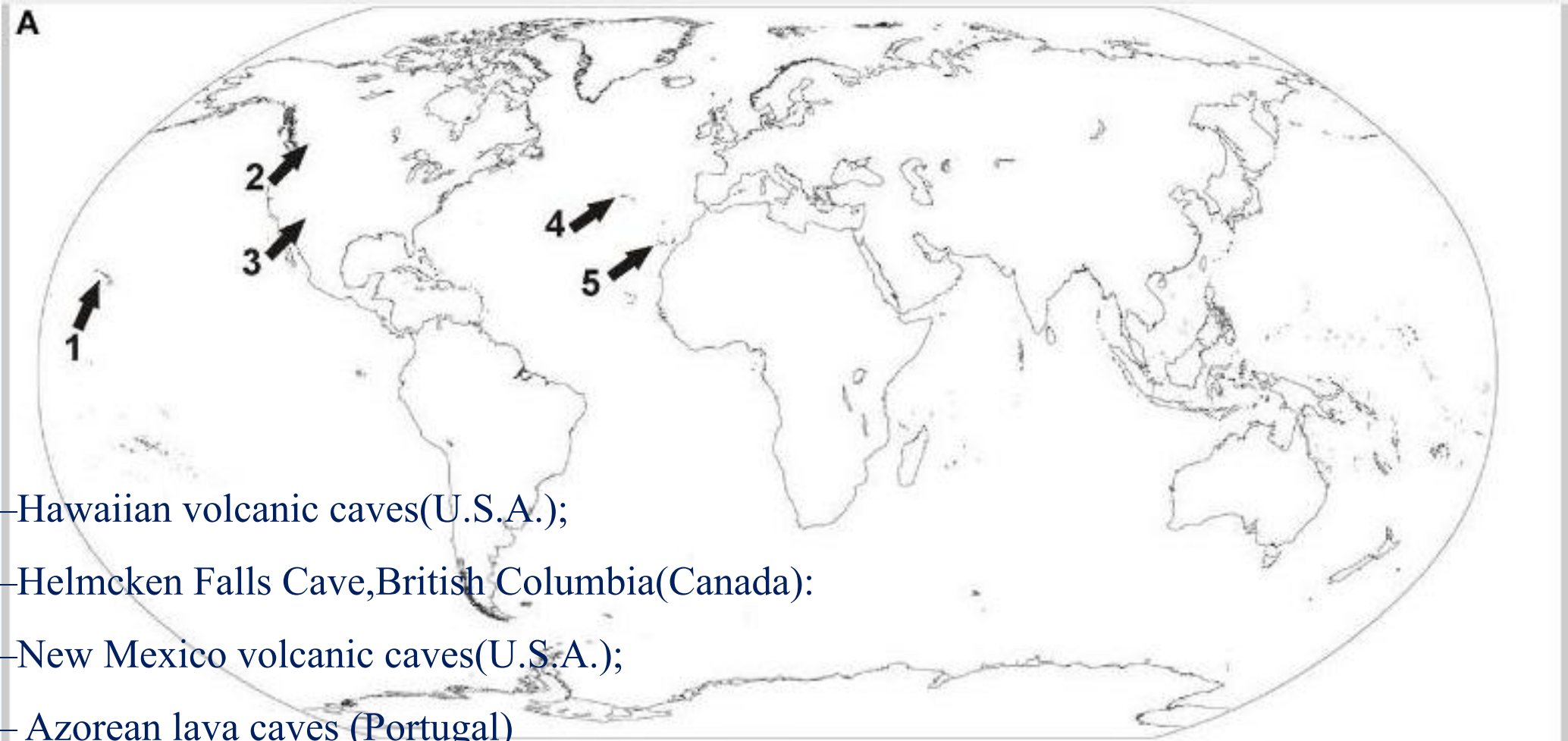
本文的研究就有助于我们了解火山洞穴中是否有相似的微生物多样性水平，以及怎样证明微生物参与了矿化过程。

## Materials & Methods



# Materials & Methods

- 1 采样
- 2 扫描电子显微镜观察
- 3 16S rRNA测序
- 4 OTU聚类



1—Hawaiian volcanic caves(U.S.A.);

2—Helmcken Falls Cave,British Columbia(Canada):

3—New Mexico volcanic caves(U.S.A.);

4—Azorean lava caves (Portugal)

5—La Palma caves,Canary Islands (Spain)



**(Azores, Portugal)**

© Pedro Cardoso Photography



**(La Palma Island, Spain)**

© A.Z. Miller and G. Fernandez Photography



**(Azores, Portugal)**

© Kenneth Ingham Photography



**(Azores, Portugal)**

© Pedro Cardoso Photography

Click on image to zoom

- B—Gruta da Terra Mole
- C—de la Canaria cave
- D—Gruta dos Montanheiros
- E—Gruta da Terra Mole



## Results & Discussions

# 1 Morphology of Colored Microbial Mats and Associated Microbe-mineral Interactions

## 宏观特征



B—黄色菌席

C—白色树枝状菌落

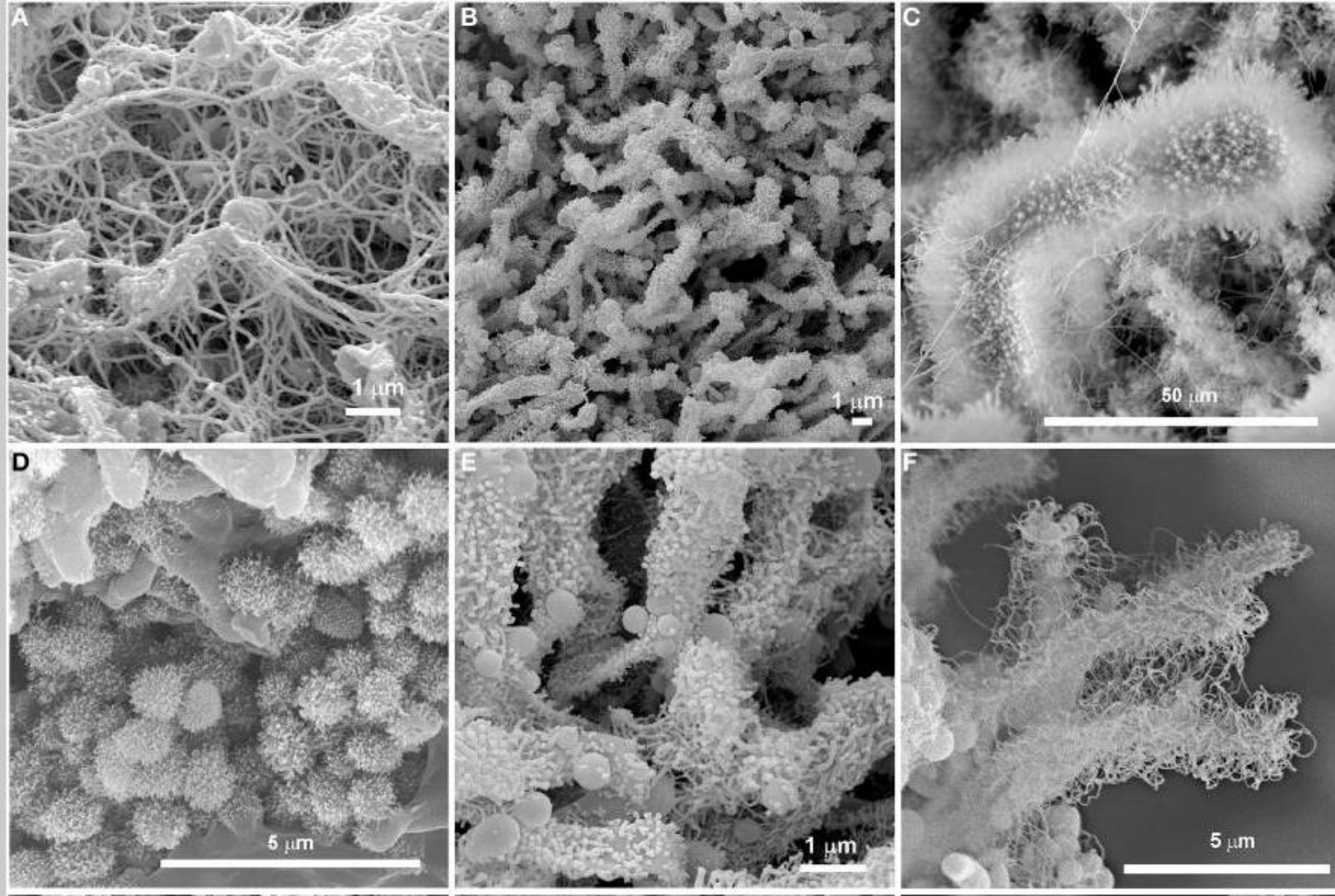
D—黄色菌落

E—白色菌席

彩色微生物菌席多种多样。有由一些比较大、浓密的微生物组成，具有粗糙的表面、不规则的边缘，分布于洞穴的墙壁和天花板上（B）。亦或是由一些小的菌落呈辐射状定植在天花板的各处（C）。也有的是黄色孤立的斑点状菌落，具有对称性（D）。

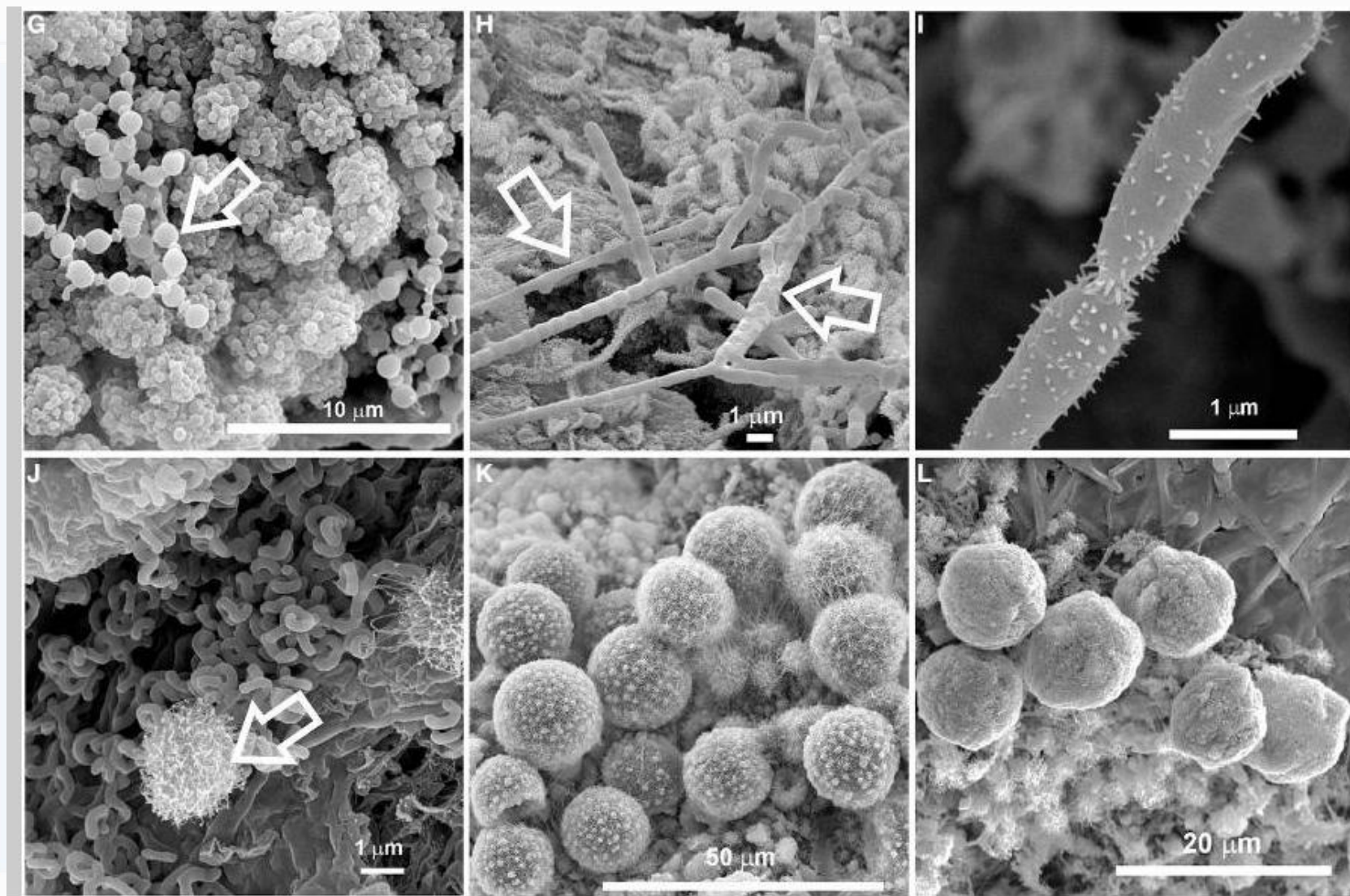


## 微观特征



A、B-交织在一块的稠密网状结构；C类似链霉菌孢子链结构，具有多毛的装饰；D-球状细胞，表面具有附属物或钝状凸起；E-是B图的精细图，球状孢子链，表面有附属物；F-特写：类似链霉菌的孢子簇，多毛；

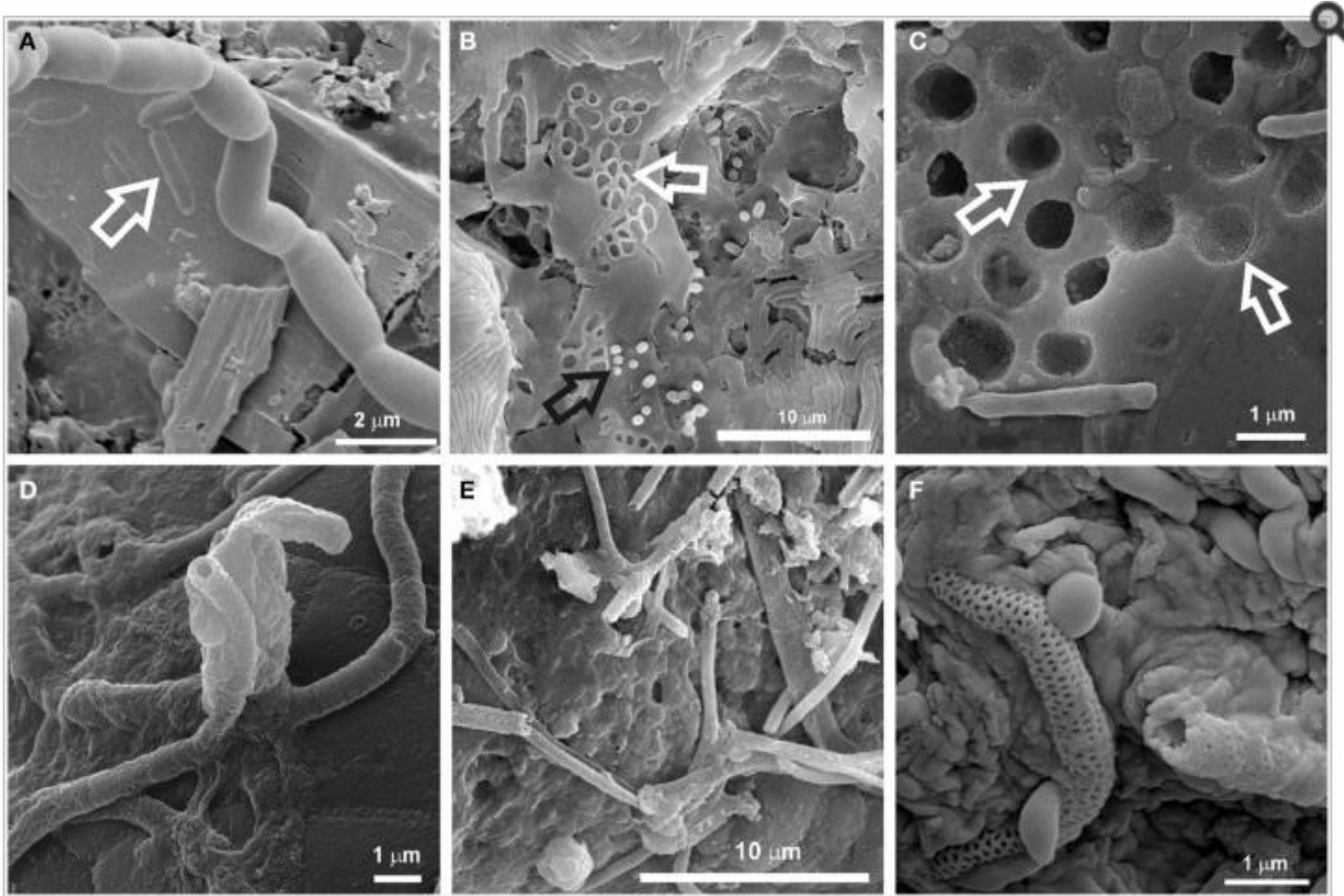




G-光滑的球状聚合体；  
H-表面光滑的*Streptomyces*-like分节孢子  
I-表面多刺的孢子  
J-链霉菌的螺旋孢子链，球状细胞，表面钝状凸起。  
L-表面涂覆有丝状网络的CaCO<sub>3</sub>球体。  
C、F、H很大程度上表现与链霉菌属的特征，所以通过SEM分析也可以简单确定一些微生物的种类。



## microbe-mineral interactions



A-矿物质颗粒，箭头指向细胞状小坑

B-白色菌席基质上的细胞印记

C-硅化矿物颗粒上的微孔

这些都是微生物与矿物质相互作用的证据。

D-管状矿化鞘，从洞穴黑色矿物中得来

E-白色菌席中的网状细丝

F-网状细丝，被矿物涂层

细丝的存在在其他文献中也有报道。这些特征均表明了微生物与矿物质的相互作用，并且可能代表生命的矿物学特征，另外这些特征被认为可以为寻找其他行星生命痕迹提供参考。

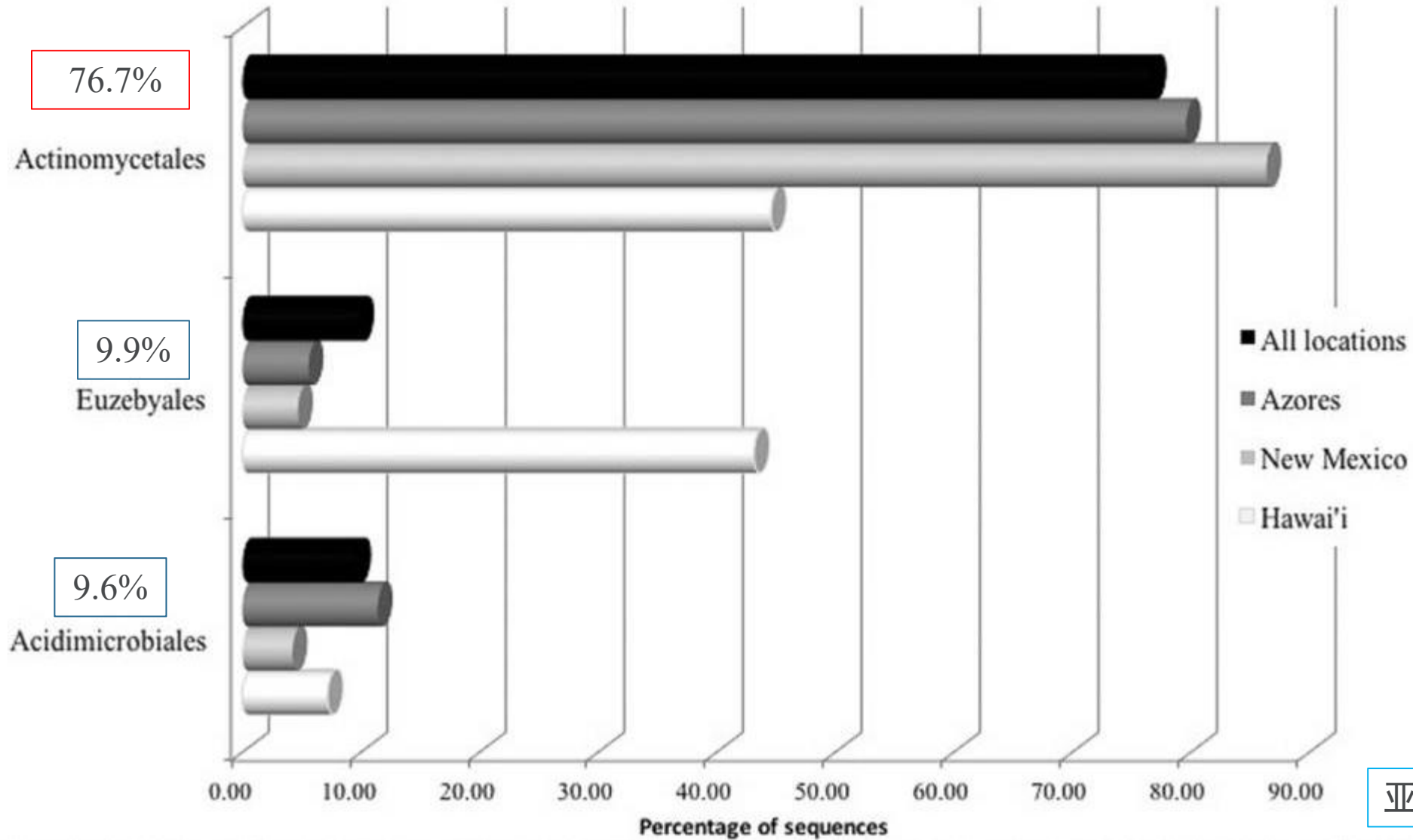
微生物在生物矿化和岩石风化这两个过程中扮演着重要的角色。

首先，微生物可以通过机械附着或分泌酶、有机酸使矿物溶解或形成孔隙 (Lee et al., 2012)

其次，微生物可以直接沉淀矿物质作为其代谢活动的一部分，并且还可以通过改变化学微环境如pH、氧化还原条件间接影响矿物形成，或者通过产生有机聚合物来形成沉淀核 (Benzerara et al., 2011)。

已有的报道发现，生物矿化与放线菌密切相关，如 Laiz et al. (2003)从Altamira Cave (Spain)分离出的放线菌有61%能在培养过程中产生矿物晶体，天然的碳酸钡是由链霉菌属的放线菌参与形成(Sanchez-Moral et al., 2004)。 Cuezva et al. (2012)对阿尔塔米拉洞穴微生物的研究发现，放线菌能够降解碳酸钙。

## 2 Actinobacterial Diversity Found in New Mexico(USA),Hawai`i(USA),and Azores islands(Portugal)



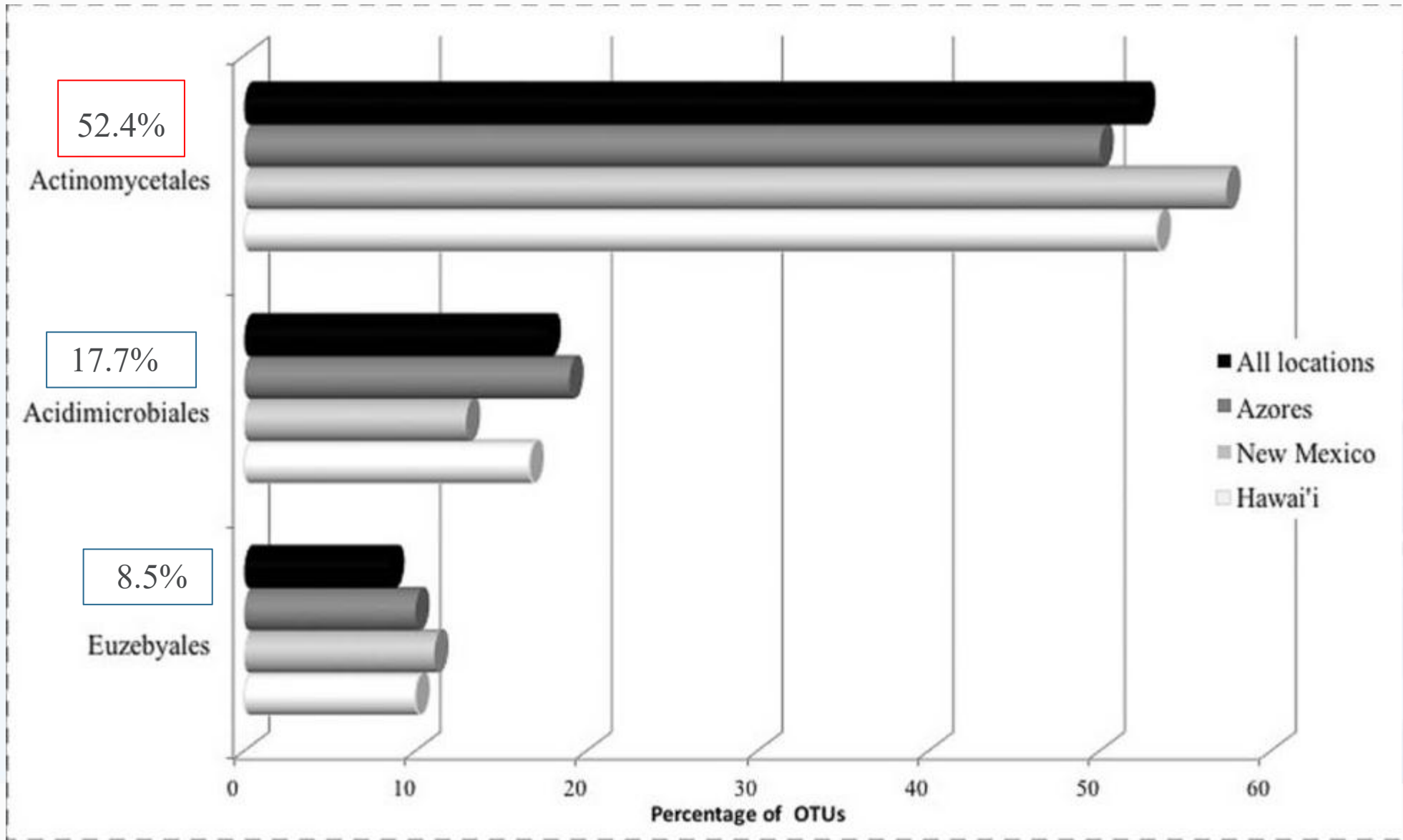
序列: 1176

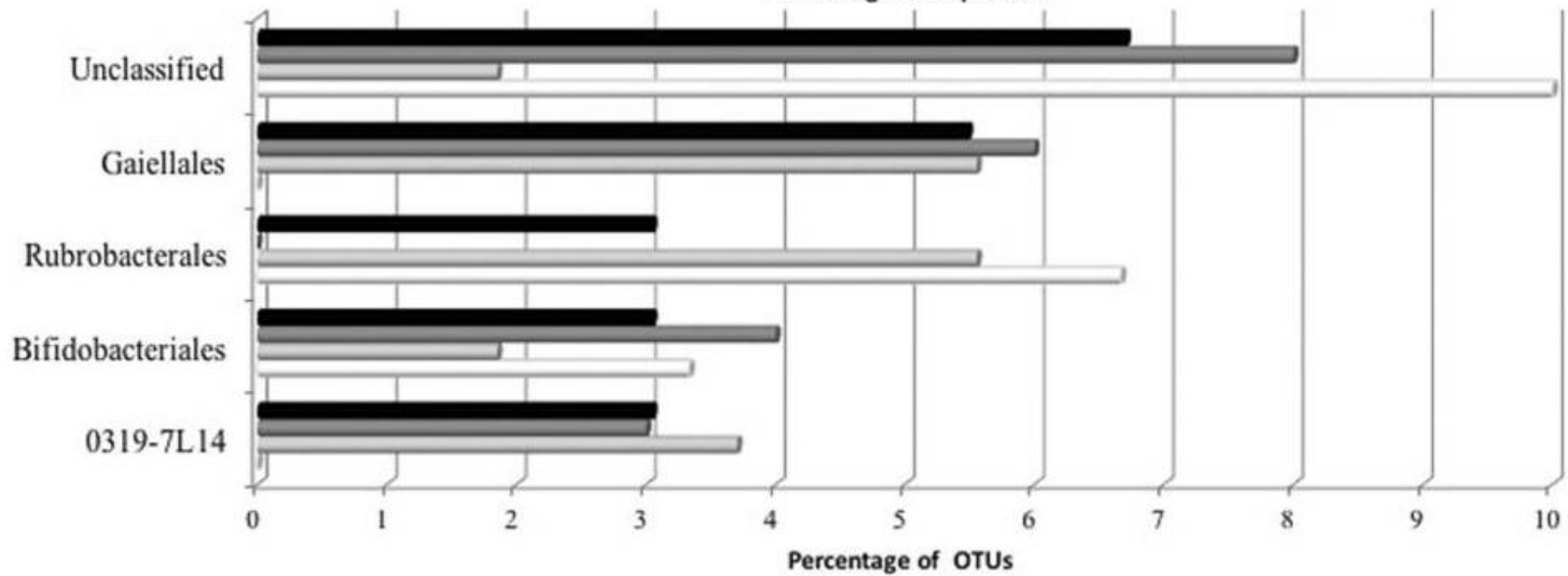
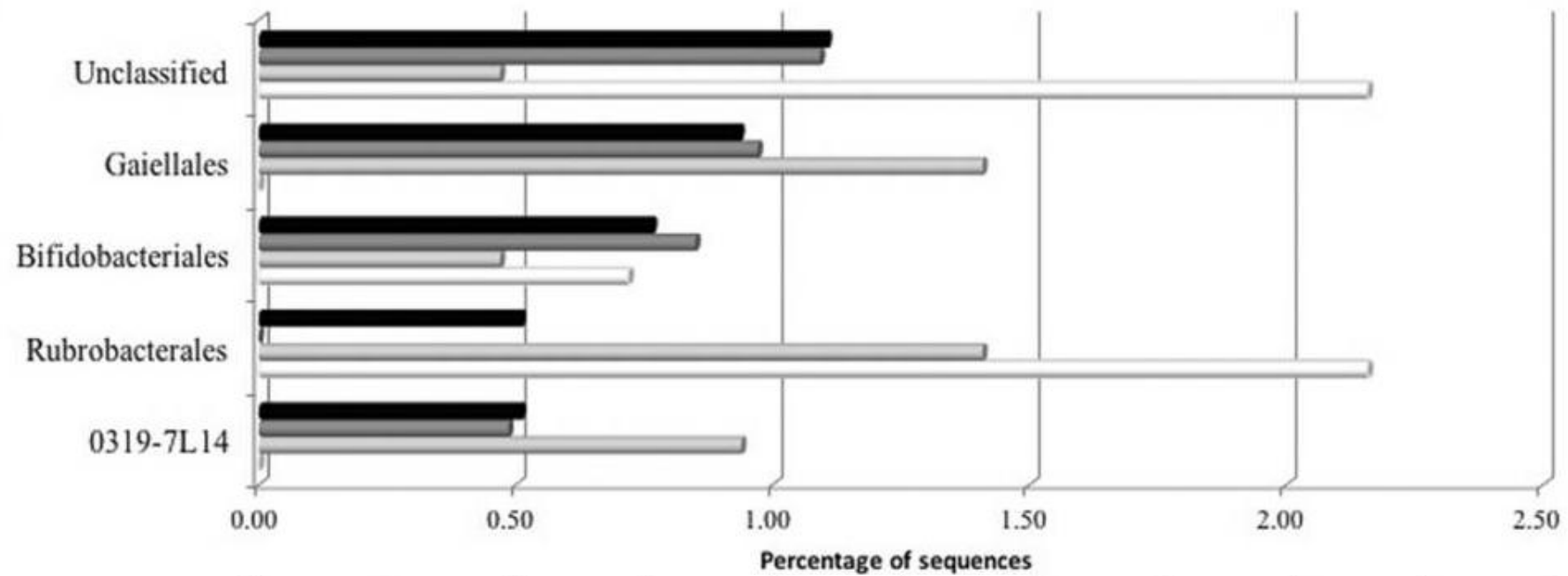
OTUs: 164

目: 7

major order: 3

亚速尔、新墨西哥、夏威夷

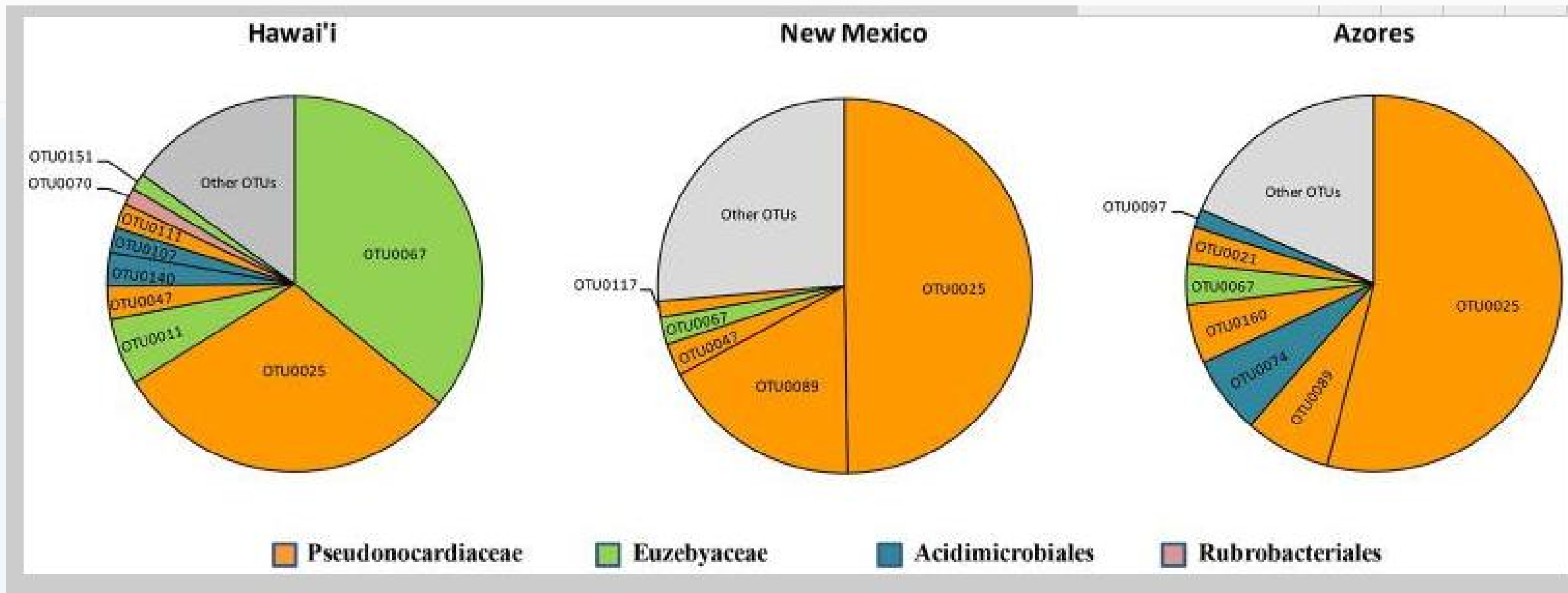






结果显示：有5个OTUs的序列占全部序列的74.1%，主要的OTU（OTU025）属于假诺卡氏菌科，593条序列（50.4%），且分布广泛，在每一个样点都有出现。假诺卡氏菌科在洞穴中占优势这个现象与其他洞穴微生物多样性研究的结果相似。

属于Actinomycetales, Euzebyales, Acidomicrobiales, and Bifidobacteriales这些目的OTUs至少在两个研究地点出现，分布广可能说明这些OTUs可能代表地下岩石表面的微生物区系。



在三个地点均有Euzebyales(尤泽比氏菌目)的OTU出现,说明Euzebyales在火山洞穴中是优势菌群,在其他文献中有对Euzebyales的描述(Kurahashi et al., 2010),并且从其他环境(海参、盐湖、洞穴)中发现与其高度相似的序列,这也暗示了这个目可能广泛存在于这些环境。

酸杆菌目在1997年被发现(Staekebrandt et al. 1997),广泛存在于富含铁元素的环境(Sánchez-Andrea et al., 2011; Grasby et al., 2013)。



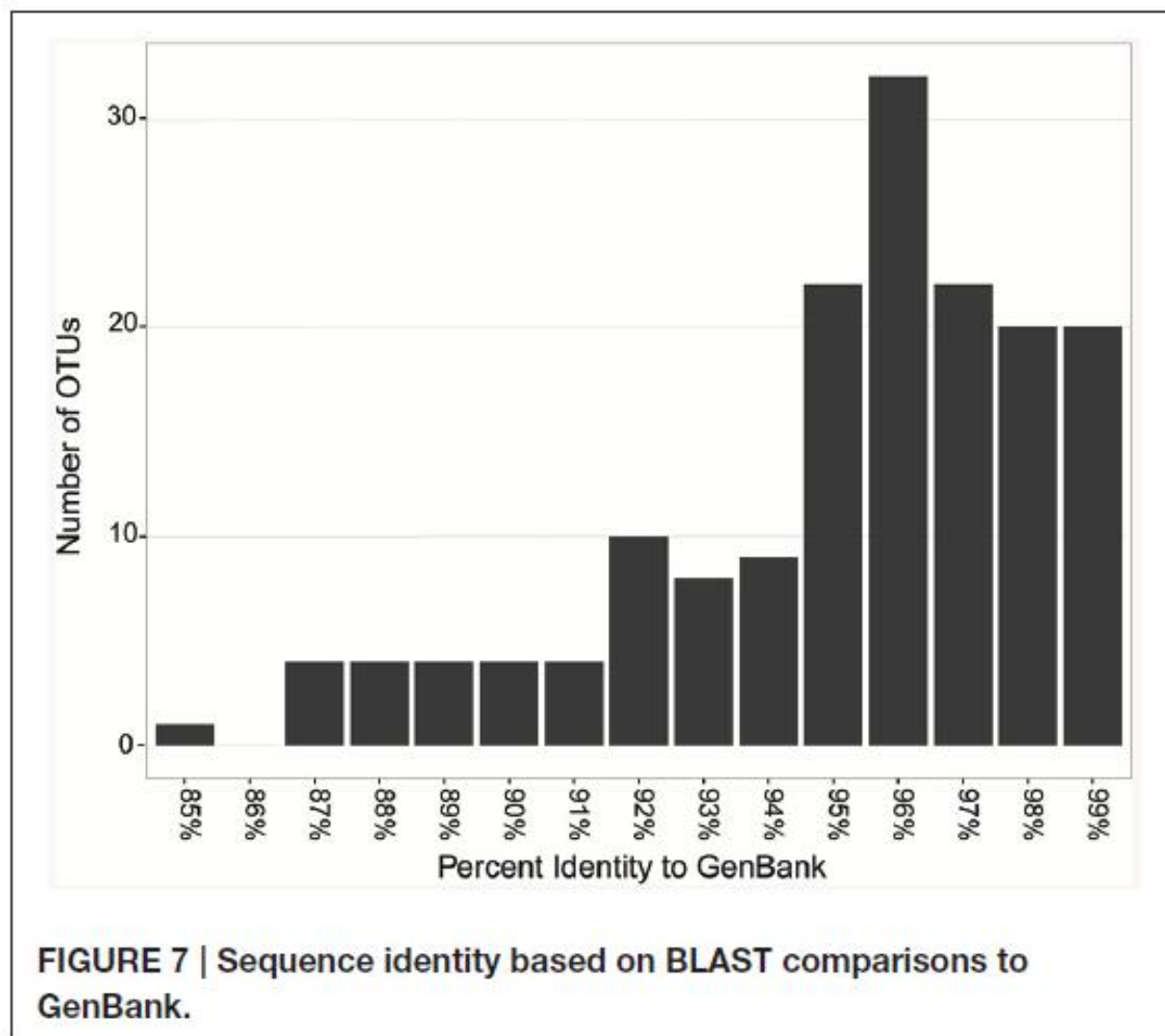
### 3 Evaluation of Diversity Coverage and Richness of the Clone Libraries

**TABLE 1A | Summary of the observed richness, diversity indices, coverage, and Chao 1 richness estimator at 97% similarity level at the three locations under study.**

	Azores	New Mexico	Hawai'i
Richness	29.19	38.52	30
Shannon	2.01 (1.73–2.29)	2.16 (1.86–2.46)	2.13 (1.87–2.39)
Npshannon	2.35	2.69	2.48
Simpson	0.31 (0.22–0.39)	0.28 (0.20–0.35)	0.22 (0.17–0.27)
Invsimpson	3.31 (2.60–4.56)	3.62 (2.86–4.93)	4.49 (3.68–5.78)
Chao	97.79 (51.97–240.21)	158.98 (82.10–374.89)	100 (51.51–257.75)
coverage	0.86	0.78	0.85

从Richness和Shannon来看，新墨西哥的洞穴中微生物种类较多且丰度比较高。

## 4 Phylogenetic Analysis



每个OTU中代表序列与GenBank数据进行比较，有17个OTU（10%）与数据库中仅有小于90%的相似性，50%的OTU具有91%-96%的相似性，38%的OTU有大于97%的相似性。有的OTU中只有单条序列，假诺卡氏菌科，红杆菌科，双歧杆菌目和未分类的单元。

- ELMA 新墨西哥
- HAWA 夏威夷
- PICO 亚速尔
- TECE

Acidimicrobiales

Gaiellales

亚速尔和新墨西哥

Rubrobacterales

新墨西哥和夏威夷

Euzebyales

4个样点都有，不同的分支表明多样性较多。

Click on image to zoom

0319-7L14

Actinomycetales

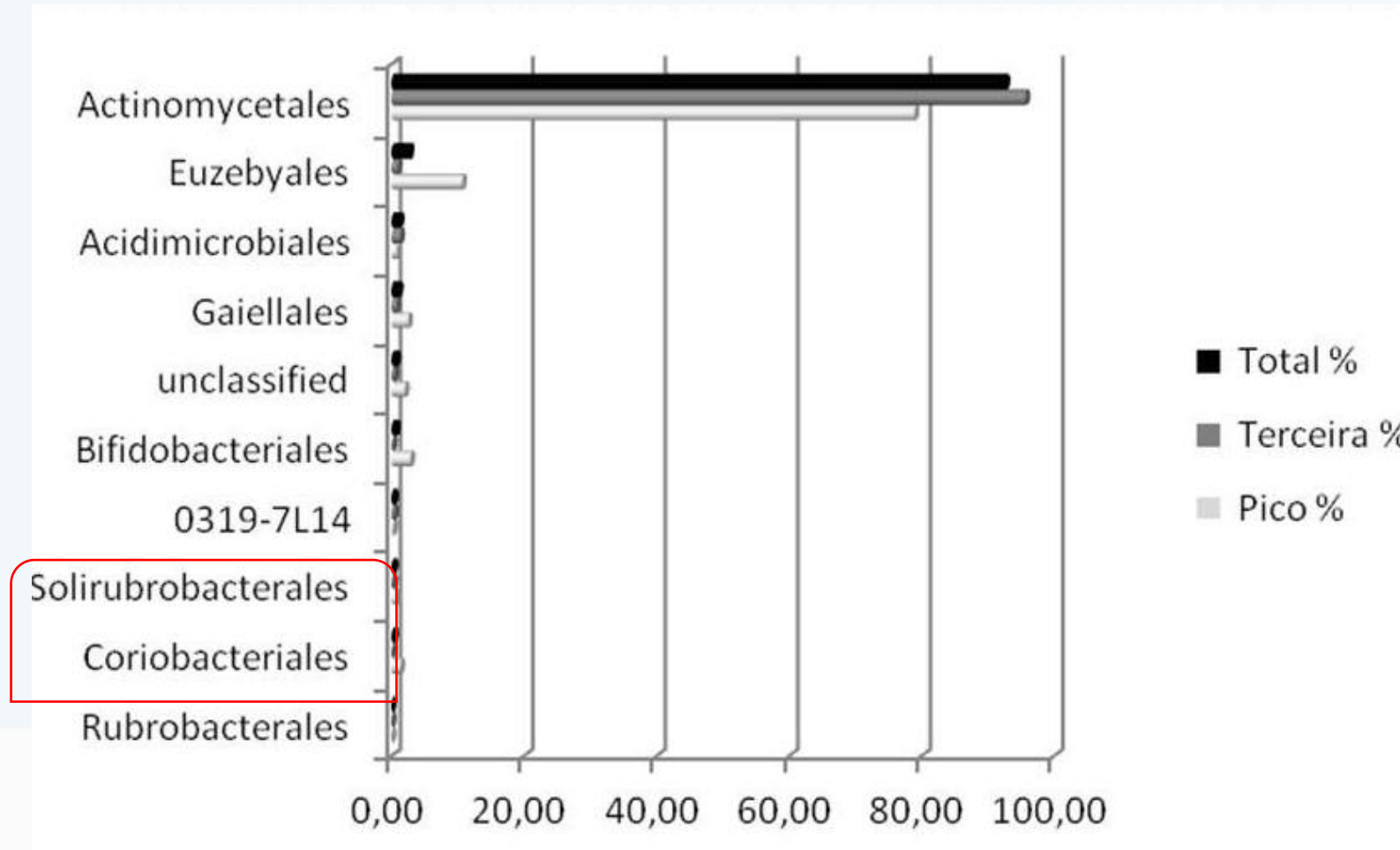
Bifidobacteriales

Actinomycetales

放线菌纲具有很大的多样性，但由于样品数据有限，所以没有具体的分类。

## 5 16SrRNA Gene Amplicon Library Preparation, Sequencing, Bioinformatics, and OTU- based Analysis in Azorean Volcanic Caves

为了确保测到全部的微生物分类单元，采用与亚速尔群岛基因文库相同的的样本进行焦磷酸测序，结果比原来多出2个目：Solirubrobacterales (0.3%, 4.5%)，Coriobacterales (0.3%, 3.4%)。



## Conclusions

1 16Sr RNA测序和焦磷酸测序方法结果均显示火山洞穴中放线菌的多样性，并并突出了火山洞穴作为稀有和新型放线菌来源的重要性。

2 焦磷酸测序方法弥补了16S测序的不足，焦磷酸测序方法为我们提供了一个获得更加全面的微生物多样性的方法。

3 通过扫描电子显微镜检查法，也发现细菌与矿物之间的相互作用，发现了形成与破坏矿物的一些鉴定特征，如细胞印记、微孔、矿化细丝等。或许可以通过这些特征去寻找早期的生命轨迹。

# THANKS

请各位老师批评指正！