中国科学: 地球科学 2014 年 第 44 卷 第 4 期: 642 ~ 653
www.scichina.com earth.scichina.com
《中国科学》杂志社
SCIENCE CHINA PRESS

论 文

黑带病可能导致了永兴岛北部礁坪珊瑚的衰退

杨红强[①②], 沈建伟[①*], FeiXue FU[③], 王月[①], 赵娜[①②]

① 中国科学院南海海洋研究所, 中国科学院边缘海地质重点实验室, 广州 510301;
② 中国科学院大学地球科学学院, 北京 100049;
③ Department of Biological Sciences, University of Southern California, 3616 Trousdale Parkway, Los Angeles, California 90089, USA
* 联系人, E-mail: jwshen@scsio.ac.cn

收稿日期: 2013-06-30; 接受日期: 2013-10-28; 网络版发表日期: 2014-02-28
国家自然科学基金项目(批准号: 40976030, 41210104029, 41006029)和中国科学院知识创新工程青年人才领域前沿项目(编号: SQ201114)资助

摘要 蓝细菌致病菌群诱发的黑带病是目前全球珊瑚礁衰退的主要因素之一, 本文报道发生于南海西沙群岛永兴岛北部礁坪的实例并探讨产生该异常现象的原因. 2007 年以前该岛北部礁坪的珊瑚一直处于繁盛生长状态, 2007~2008 年间突发大规模的珊瑚死亡事件. 使用通用引物 PCR 扩增技术和 16S rRNA 基因技术获知导致黑带病发生的感染菌群, 分析珊瑚黑带病席中的微生物组成. 从黑带病席中构建的克隆文库表明其中的细菌主要包含六大门类, 且蓝细菌是黑带病席中最为丰富的菌群, 除了蓝细菌之外, 黑带病席中也含丰富的 α-Proteobacteria, γ-Proteobacteria, Bacteroidetes, Verrucomicrobia 和 Actinobacteria. 讨论了珊瑚热白化、台风、长棘海星爆发和海洋酸化与永兴岛北部珊瑚短时间内大规模死亡的关系, 认为珊瑚黑带病的蔓延才最有可能导致珊瑚礁迅速衰退, 产生黑带病的诱因可能与人类的过度干扰导致局部珊瑚礁生长区水体富营养化有关.

关键词
黑带病
蓝细菌
珊瑚衰退
永兴岛
南海

珊瑚疾病的肆虐是近几十年来全球珊瑚礁生态系统衰退的主导因素之一(Sutherland 等, 2004; Weil 等, 2006; Harvell 等, 2007; Hoegh-Guldberg 等, 2007). Antonius 首次报道加勒比海区珊瑚疾病的例证(Antonius, 1973), 之后在各珊瑚礁区陆续发现超过 30 种的疾病类型(Richardson, 1998; Green 等, 2000; Sutherland 等, 2004). 黑带病作为首个确定的造礁石珊瑚疾病(Antonius, 1973), 其病理特征为: 珊瑚丛体表面出现 1 mm 到数厘米不等的黑色到棕色异常环状条带(Kuta 等, 1996), 颜色的深浅由藻青蛋白和藻红蛋白的浓度差异决定(Rützler 等, 1983a); 丝状蓝细菌为黑带席的主导, 还可融合诸多其他类型的微生物群落(Rützler 等, 1983a; Richardson 等, 2003). 条带以每天 1 cm 的高速在珊瑚丛体表面增殖覆盖或位移, 珊瑚软体组织被破坏后仅留下白色的死亡骨骼(Antonius, 1973; Garrett 等, 1975; Richardson, 1996, 1998), 之上迅速滋生绿藻, 从而抑制了珊瑚感染部位后期自我修复的可能性(Cooney 等, 2002; Frias-Lopez 等, 2004b). 黑带病不是由单一的微生物致病菌所导致, 而是多种微生物所构建的微生物群落集合体共同起作用(Antonius, 1981; Cooney 等, 2002; Frias-Lopez 等, 2002; Klaus 等, 2011). 在全球珊瑚感染的高峰期有超过 5%~6%的易感石珊瑚出现感染症状(Edmunds, 1991), 导致珊瑚礁生态系统严重

中文引用格式: 杨红强, 沈建伟, Fu F X, 等. 2014. 黑带病可能导致了永兴岛北部礁坪珊瑚的衰退. 中国科学: 地球科学, 44: 642–653
英文引用格式: Yang H Q, Shen J W, Fu F X, et al. 2014. Black band disease as a possible factor of the coral decline at the northern reef-flat of Yongxing Island, South China Sea. Science China: Earth Sciences, 57: 569−578, doi: 10.1007/s11430-013-4734-y

恶化. 从加勒比到印度-太平洋礁区都有发生的报道(Rützler 等, 1983b), 加勒比礁区曾有 1%~10%的珊瑚种被感染(Edmunds, 1991; Kuta 等, 1996; Green 等, 2000), 严重时有超过 50%的 *Montastraea annularis* 被感染, 并在 2 年内直接导致牙买加圣蒂安斯湾 *M. annularis* 的平均珊瑚丛体的面积从 2700 cm^2 下降至 890 cm^2(Green 等, 2000). 黑带病首先感染体积大、生长期长的造礁属种, 而这些珊瑚正是造礁群落的主体分子(Edmunds, 1991; Kuta 等, 1996), 可见其对珊瑚礁生态系统影响程度之深.

中国南海诸岛的的珊瑚礁(图 1)是印度太平洋礁区的重要组成部分之一, 也是中国暖水海洋生物多样性和生态系统的集中体现, 近年来出现的造礁珊瑚衰退现象不可忽视(施祺等, 2012; 余克服, 2012). 永兴岛是南海西沙群岛的一个珊瑚岛, 北侧是宽阔平缓的礁坪, 海底的珊瑚群落从 20 世纪 70 年代到 2007 年以前一直处于生长旺盛期(邹仁林, 1978; 王国忠, 2001; 黄晖等, 2006, 2011; 施祺等, 2011)(图 2). 然而在 2008 年造礁活珊瑚的覆盖率从 83%陡然下降到 15.6%, 其主要原因曾被归结于长棘海星的大爆发(吴钟解等, 2011). 2012 年 4 月作者在此发现大量病态的 *Echinopora lamellose*(薄片刺孔珊瑚)(图 3), 其表面呈现棕色到黑色的窄环状条带, 这个条带把健康的珊瑚组织和裸露的死亡骨骼分开, 裸露骨骼部分被绿藻所覆盖(图 3), 这一材料为寻求珊瑚礁退化现象提供了直观线索. 本文运用分子生物学方法分析致病微生物的组成和多样性, 解析短时间内导致永兴岛北部礁坪造礁石珊瑚大规模死亡的可能原因.

1　材料和方法

目前分子技术研究结果表明黑带病不是单一致病菌导致的, 感染席中的微生物群落组成极具复杂

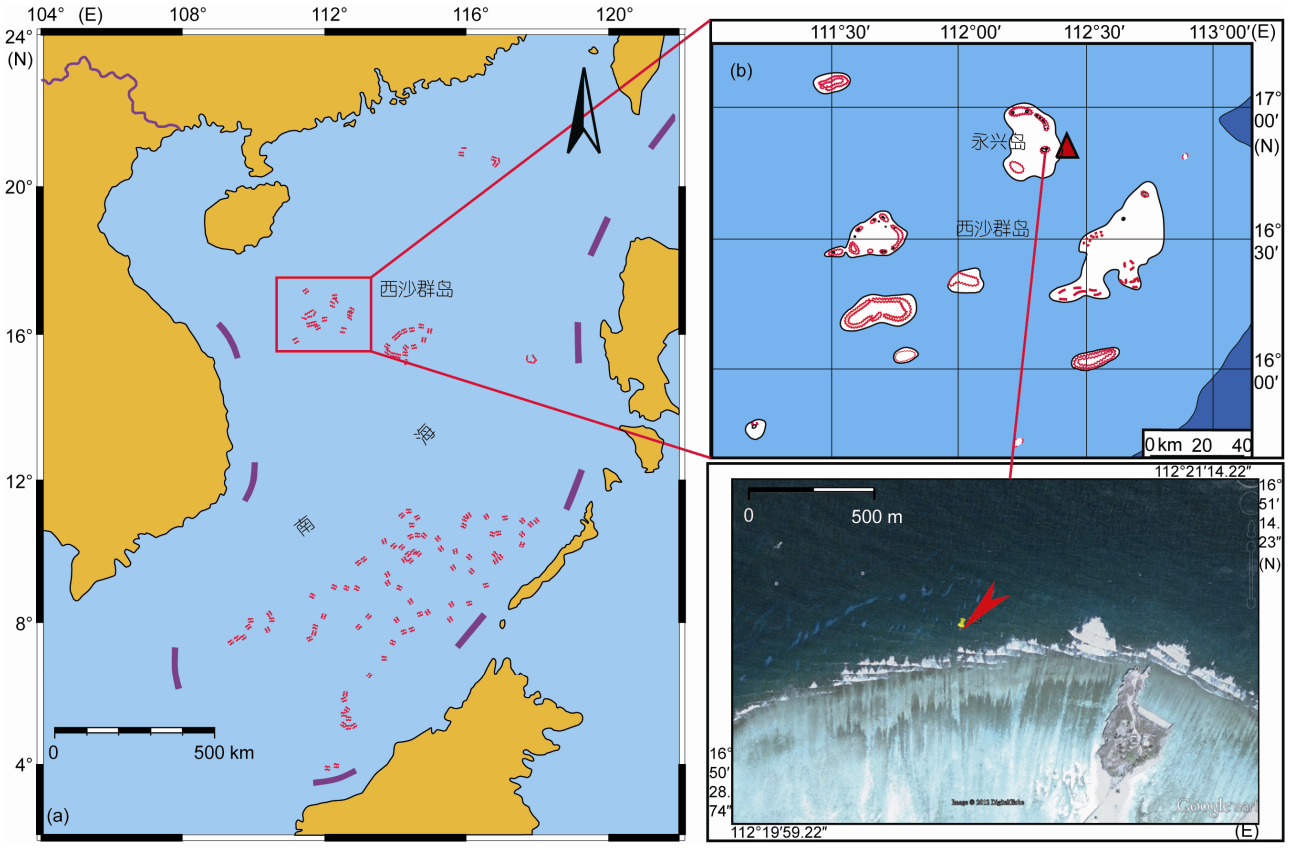


图 1　研究区的地理位置

(a) 西沙群岛在南海的区域位置. (b) 永兴岛在西沙群岛的位置. (c) 样品采自于永兴岛北部礁坪(16°50′54.01″N, 112°20′27.62″E), 底图来自于谷歌地球, 2012

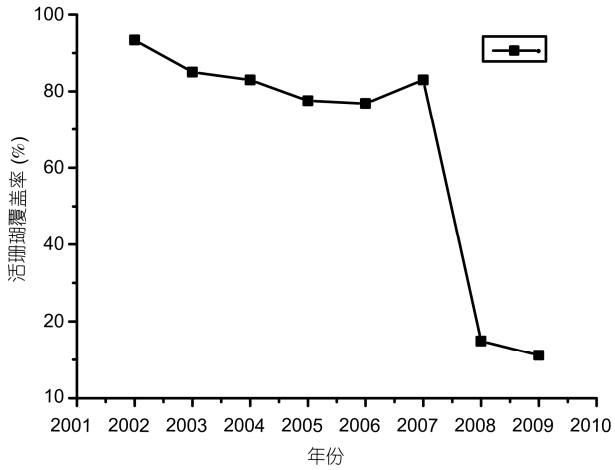


图 2　2002 年以来永兴岛北部礁坪活珊瑚覆盖率的变化

据李颖虹等, 2004; 黄晖等, 2006; 施祺等, 2011

性(Frias-Lopez 等, 2004a). 传统的光学和菌体培养技术对离析微生物群落有着一定的局限性, 微生物群落的构成极复杂, 特别是在低丰度的情况下无法藉纯培养的方式获得理想结果(Cooney 等, 2002). 随着分子生物学技术的推广, 特别是运用 16S rRNA 基因作为分子标记, 为识别复杂微生物群落的多样性、结构和动态提供了更为精确的手段, 已广泛用于分析微生物群落结构和识别不可培养微生物种属(Muyzer 等, 1998), 并在多个珊瑚黑带病微生物群落多样性的鉴定上取得了理想效果(Cooney 等, 2002; Frias-Lopez 等, 2002, 2003, 2004a, 2004b; Sussman 等, 2006; Barneah 等, 2007; Myers 等, 2007; Klaus 等, 2011). 本研究病态薄片刺孔珊瑚样品于 2012 年 4 月采集自永兴岛北部的礁坪前缘(图 1(c), 图 3)(16°50′54.01″N, 112°20′27.62″E), 此处落潮时离海岸大约 500 m, 水深约 4 m. 样品采集后迅速置入 95%的乙醇密封瓶中并避光保存于零下 20℃的冷藏箱内.

1.1　总 DNA 的提取和 16S rRNA 基因的扩增

黑带病样品中总基因的提取使用 Mo Bio 实验室的 Power-Soil DNA 试剂盒. 实验流程按实验手册操作步骤进行. 提取到的总 DNA 用 40 μL 的洗脱缓冲液洗脱后储存在–20℃条件下. 总 DNA 采用 Mastercycler gradient thermocycler (Eppendorf, Humburg, Germany)扩增. 使用一对细菌通用引物, 正向引物 FC27 (5′-AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG-3′)和反向引物 RC1492 (5′-TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T-3′). 为减少 PCR 偏差, 各 DNA 样品反应准备 10 份. 50 μL PCR 反应体系包括: 10×Buffer 4 μL, $MgCl_2$ (2.5 mmol/L) 4 μL, dNTP(2.5 mmol/L) 4 μL, BSA(2.5 mg/mL) 1 μL, *Taq* DNA Polymerase (2.5 U/μL) 1 μL, 正反向引物(10 pm/μL)各 1 μL, DNA 模板 10 倍稀释液 1 μL. 为构建细菌克隆文库, PCR 反应

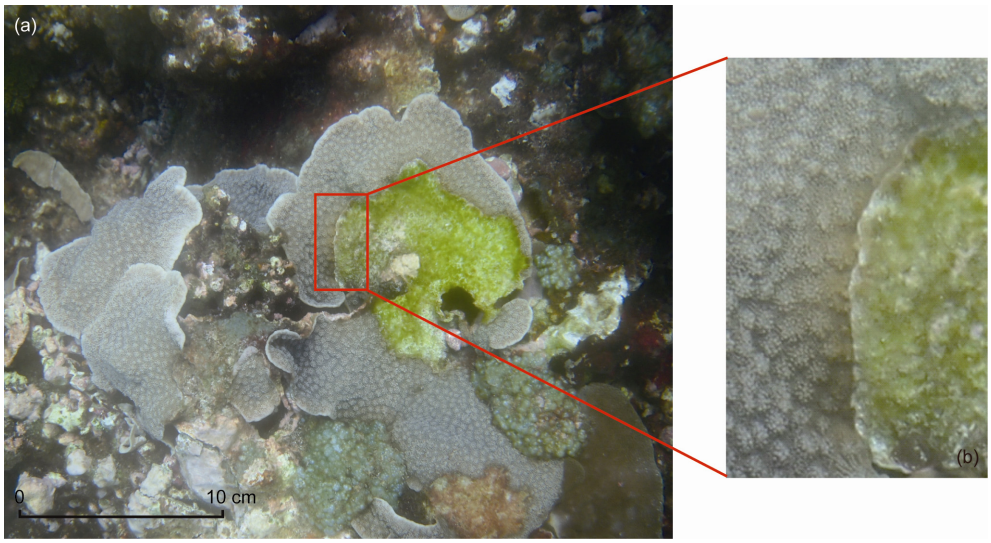


图 3　正在感染黑带病的 *Echinopora lamellosa* 珊瑚从体的水下照片

患病珊瑚的表面以一个窄的黑色到棕色的环状条带为特征, 这个条带把珊瑚健康的组织和裸露的骨骼分开, 裸露骨骼部分被绿藻所覆盖

的设定条件为: 94℃预变性 5 min; 94℃, 30 s, 30 个循环; 55℃, 1 min; 72℃, 1.5 min; 最后 72℃, 10 min. 最终产物在 4℃条件下储存.

1.2　克隆文库的构建和测序

使用通用引物 FC27 和 RC1492 经 PCR 扩增所得到的 16S rRNA 基因产物需要进一步纯化. 进一步的割胶纯化使用 TaKaRa Agarose Gel DNA 纯化试剂盒, 具体操作流程按 TaKaRa 公司提供的操作手册进行. 使用电泳和紫外线照明器 Image Quant 300 (GE Healthcare)对 PCR 产物进行检查. PCR 产物经割胶纯化后与 PMD-18T cloning vector(TaKaRa)连接. 使用电穿孔法将连接产物导入 *E. coli* DH5α 感受态细胞. 挑出阳性克隆子进行蓝白斑筛选.

所有的 16S rRNA 基因序列在被导入 MEGA5 构建系统发育树之前都要使用 Bellerophon 软件(Huber 等, 2004)和 Mallard 1.02 软件(Ashelford 等, 2006)进行嵌合体检查, 并且对有问题的序列使用 Bioedit 软件手动编辑. 使用 BLAST 程序, 把所有序列放进数据库中比对(National Center for Biotechnology Information). 将所得到的基因片段 16S rRNA 提交 GenBank 数据库, 得到的登录号码分别为 JX463354-JX463426 和 JX482633-JX482640.

随后对本研究中的序列使用 ClustalW 软件进行比对分析, 将比对的结果运用 MEGA5.0(Tamura 等, 2011)程序进行人工修正. 使用 Mothur 程序(Schloss 等, 2004)把 MEGA5 比对好的序列数据进行可执行操作单元(OTU)划分, 相似度超过 97%的序列划分为 1 个 OTU. 使用 MEGA5.0 程序(Tamura 等, 2011)根据邻接法构建进化分析和发育树. 各支上的自举值为 1000, 表示 1000 次 bootstrap 重复样分析的支持百分比.

2　结果

2.1　16S rRNA 基因克隆文库的多样性

在黑带病席中探测到的细菌序列具有高度的多样性, 总共有 81 个局部 16S rRNA 基因序列被识别. 从覆盖珊瑚丛体的微生物席中发现 64 个蓝细菌序列, 因此蓝细菌序列是整个黑带病克隆文库中最为丰富的, 占文库的 79.01%, 蓝细菌是构成文库的最重要组部分. 除蓝细菌外, 文库中第二丰富的序列是 Proteobacteria, 占总文库的 14.55%, 其中包括 12.35%的 α-Proteobacteria 和 2.25%的 γ-Proteobacteria. Bacteroidetes 占文库的 3.95%; Actinobacterium 占 1.22%; Verrucomicrobia 占 1.22%(图 4).

2.2　蓝细菌的系统发育树

采用 MEGA5 软件分析文库中的蓝细菌序列构

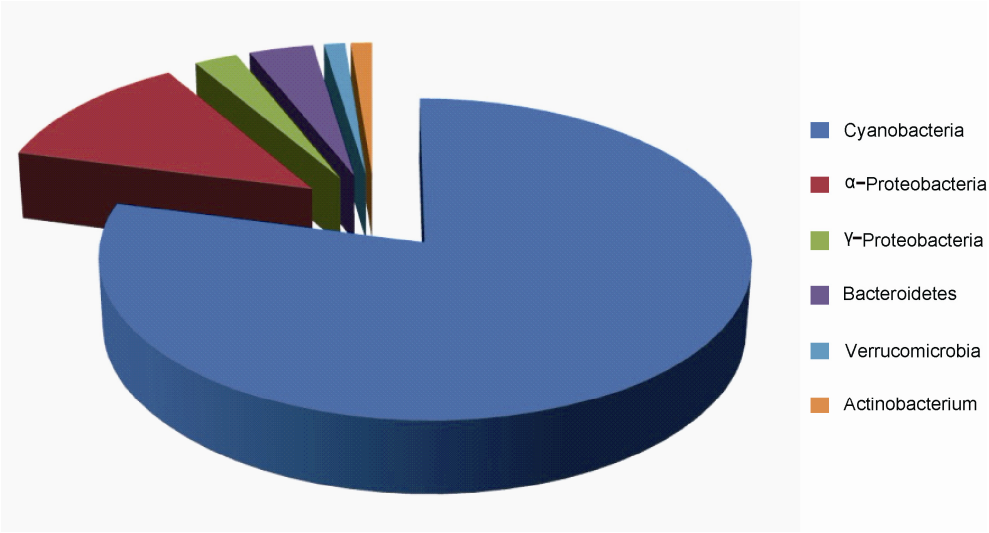


图 4　黑带病席中各种菌群所占比例的饼状图

建系统发育树(图 5), 同时运用 Mothur 程序对克隆子做可执行操作单元划分(OTU), 克隆子序列之间相似度大于 97%时则视为同一 OTU. 划分整个蓝细菌克隆子序列为 31 个 OTU. 蓝细菌可执行操作单元中大部分为单个 OTU(*N*=20), 占整个 OTU 的 65%, 在 81 个黑带病克隆子中仅出现一次. SD-39 OTU 的代表序列为 SD-39, 这个 OTU 包括 15 个克隆子, SD-39 和不可培养的蓝细菌序列 DQ269106 存在 95%的相似性, DQ269106 序列来自于澳大利亚的海洋红藻 *Delisea pulchra*. SD-95 OTU 包括 7 个克隆子, 是文库中第二丰富的 OTU, SD-95 与不可培养的蓝细菌序列 AM259754 存在 97%的相似性, 后者序列来自于海洋与海绵共生的蓝细菌(Thiel 等, 2007). SD-68 OTU 包括 3 个克隆子, 是文库中第三丰富的序列, 并与来自于西班牙加利西亚岛的海洋石油污染的沉积物中不可培养的蓝细菌 JQ580156 存在 97%的相似性(Acosta-Gonzalez 等, 2013). 类似的, SD-49 OTU 也包括 3 个克隆子, SD-49 与来自于西班牙海洋石油污染的沉积物中不可培养的蓝细菌 JF344552 有的相似度高达 98%(Acosta-Gonzalez 等, 2013). SD-36 与加勒比礁区 *Siderastrea siderea* 的黑带病席中的蓝细菌序列 EF372582 存在 97%的相似度, 发现 EF372582 序列的地点还包括巴巴多斯群岛和维尔京群岛. SD-56, SD-94 和 SD-96 与红海珊瑚黑带病样品序列 GU471941 的相似性超过 96%. 从系统树上看, SD-46 和不可培养的蓝细菌 EF110975 聚为一支(图 5), 不可培养的蓝细菌 EF110975 出现于加勒比巴哈马岛链、北佛罗里达角和美属维尔京群岛礁区的黑带病微生物席中; 其他蓝细菌的 OTU 是单个的(在文库中仅出现一次), 众多单个 OTU 的存在表明黑带病席中的蓝细菌类型比较丰富.

3 讨论

3.1 珊瑚黑带病席中微生物多样性

对海洋蓝细菌包括许多可能的致病菌来说, 存在分离、培养、鉴定和系统分类的难度. 传统的光学手段是以蓝细菌表型特征作鉴定和分类依据, 此法具有局限性甚至在一定程度上产生误导(Schönhuber 等, 1999; Frias-Lopez 等, 2002; Myers 等, 2007), 也无法精确识别珊瑚黑带病样品中的丝状蓝细菌, 在技术上阻碍了科赫法则验证黑带病致病菌的致病机理(Richardson 1998; Weil 等, 2011). 运用分子生物学方法则可显示其系统分类学上的差异, 克隆文库中占主导地位的序列多与不可培养的蓝细菌有关, 这和前人的结果相一致(Miller 等, 2011). 16 S rRNA 基因测序结果表明在黑带病微生物席中存在高多样性的细菌群落, 从研究区病态珊瑚中获得的部分蓝细菌序列能与印度太平洋和加勒比礁区的致病蓝细菌序列在系统发育树上聚集在一起(图 5). SD-36 与来自维尔京群岛的珊瑚 *Siderastrea siderea* 的黑带病席(Myers 等, 2007)的样品(序列号: EF372582)比较有超过 97%的相似度, 而 EF372582 与可培养蓝细菌 *Leptolyngbya* sp.PCC7375(序列号: AF132786 和 AB039011)有 95%的相似度, *Leptolyngbya* sp.属丝状蓝细菌, 曾被认为可能是珊瑚黑带病的致病菌之一(Frias-Lopez 等, 2002; Frias-Lopez 等, 2003; Myers 等, 2007). BLAST 的分析结果表明 SD-46 和 SD-9 的 16S rRNA 基因序列和来自于 *Phormidium* sp.组织的蓝细菌序列 HM446281(Parmar 等, 2011)有超过 98%的相似度. *Phormidium* sp.多被认为是黑带病的致病菌(Rützler 等, 1983 a; Richardson, 1996, 1997). SD-56, SD-94 和 SD-96 与来自于同属于印度-太平洋礁区以色列的埃拉特不可培养的蓝细菌序列 GU471941 (Arotsker 等, 2009)相似度超过 96%.

黑带病席中除了蓝细菌主导的群落外, 致病的微生物群落集合体还包括属于 γ-Proteobacteria (Garrett 等, 1975; Mitchell 等, 1975)的硫氧化菌、大部分为 δ-Proteobacteria 的硫还原菌(Garrett 等, 1975; Cooney 等, 2002)、异养菌(Cooney 等, 2002; Frias-Lopez 等, 2002, 2003, 2004a; Sekar 等, 2006; Barneah 等, 2007)以及一些海洋真菌(Ramos-Flores, 1983). 硫氧化菌和硫还原菌在激活黑带病产生硫化行为过程中起决定作用, 且为染病时产生和聚集硫毒素的主导因素(Garrett 等, 1975; Mitchell 等, 1975; Richardson, 1997). 本研究的黑带病样品中仅发现硫氧化菌的 γ-Proteobacteria (图 6), 对这种现象的一种可能性解释是硫还原菌本来就存在于黑带病席中, 但未能提取、扩增或测序其 16S rRNA 基因. 黑带病席中其他微生物表现出高多样性, 有 α-Proteobacteria, γ-Proteobacteria, Bacteroidetes, Verrucomicrobia 和

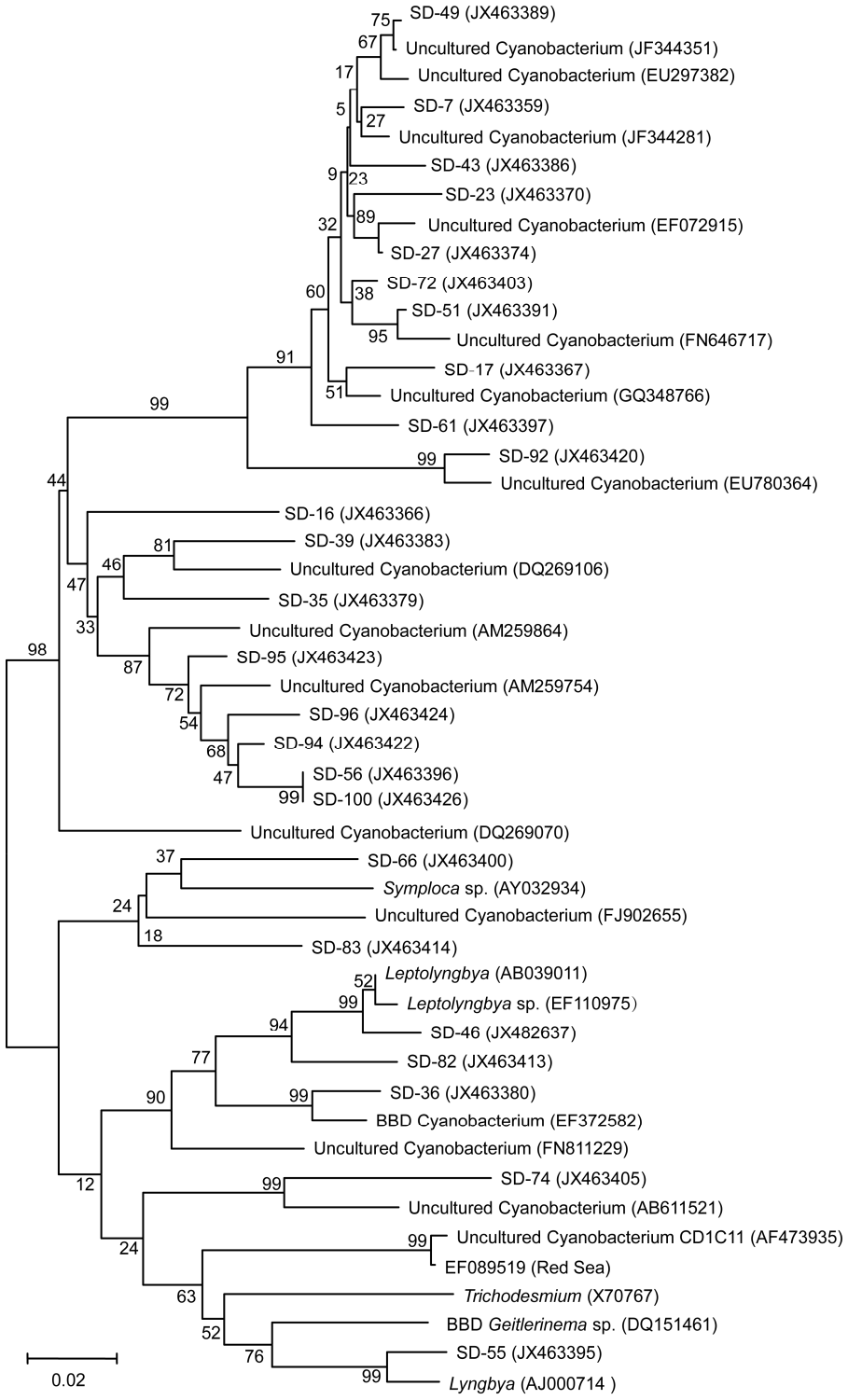


图 5　根据邻接法构建蓝细菌的 16S rRNA 基因的系统发育树

来自永兴岛北部礁坪的黑带病席中的蓝细菌和来自全球不同区域的蓝细菌序列进行比对

Actinobacteria, 且以 α-Proteobacteria 最为丰富(图 6). 多样性的菌群 α-Proteobacteria 包含了数类海洋中最常见的细菌, 并且它们已经是一些海洋无脊椎动物的致病菌, 比如 α-Proteobacteria 和导致幼年牡蛎病的致病菌亲缘关系很近(Sekar 等, 2006). 尽管目前未能确认 α-Proteobacteria 个体在引发黑带病中生理过程的细节, 但其在黑带病席中的存在和高多样性是公认的(Cooney 等, 2002; Frias-Lopez 等, 2002; Klaus 等, 2011). 而且它们的 OTU 基本都是单个的, 表明其中包含有众多能在黑带病席的中大量扩增的机会细菌类型. 在一些黑带病席样品中发现 α-Proteobacteria 和一些能产生毒素的鞭毛藻类有关系(Sekar 等, 2006), 这些菌群在珊瑚黑带病的病理学作用不可忽视. 因采样地域和疾病宿主的不同, 本研究结果和其他不同分子技术方法得到的结果(如加勒比海和红海的结果(Voss 等, 2007))之间略有差异, 这在一定程度上也是合理的.

3.2 导致永兴岛北部礁坪珊瑚衰退的可能原因

一般认为活珊瑚的覆盖率超过 40%礁即为健康状态(Wilkinson, 2004), 2008 年之前永兴岛北部的造礁珊瑚发育良好(图 2). 20 世纪 70 年代造礁珊瑚的覆盖率>80%(邹仁林, 1978), 80 年代的覆盖率>90%(王国忠, 2001), 2002 年的覆盖率也>90%(黄晖等, 2006). 2003~2007 年海南省海洋和渔业局的年度调查也证明覆盖率稳定在 76%~83%. 2007~2008 年 间发生急剧变化(图 2), 2008 年 7 月珊瑚覆盖率骤减为 16.3%(施祺等, 2011), 2009 年覆盖率仅 11.2%; 笔者于 2011 年和 2012 年的两次调查也证实了这一情况.

人类活动对珊瑚礁生态系统有影响, 南海中超过 75%的珊瑚礁正受到过度渔业的威胁(Goldberg 等, 2004). 三亚鹿回头岸礁是人为干扰较强的地带, 活珊瑚的覆盖率从 20 世纪 60 年代以来一直以缓慢而稳定的速率下降(施祺等, 2007), 但也未出现黑带病. 尽管永兴岛西侧有两个港口, 与永兴岛毗邻的石岛

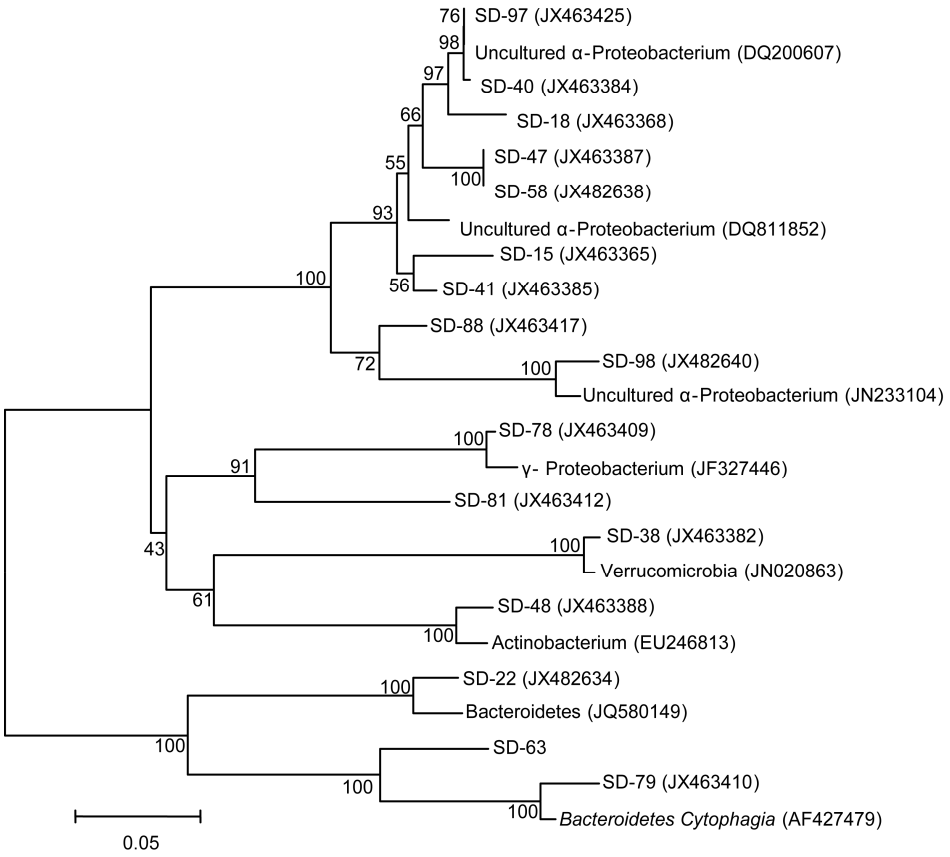


图 6 黑带病席中除了蓝细菌以外其他细菌的 16S rRNA 的系统发育树(邻接法)

西侧是一条航道, 但永兴岛处于军事管理区, 总体上人类活动的影响程度远弱于三亚鹿回头, 在人类活动的强烈影响下, 鹿回头活珊瑚的覆盖率也只是在缓慢的降低, 并没有像永兴岛北部那样急剧下降. 因此人类活动不太可能是永兴岛北部礁坪的珊瑚骤然衰退的直接原因.

台风、珊瑚白化、海洋酸化、珊瑚疾病和长棘海星爆发都能破坏珊瑚礁. 台风可直接摧毁珊瑚格架或搅动沉积物使珊瑚窒息死亡, 2001 年 9 月的台风 Chibi 使台湾南部岛上 90%的珊瑚群落致死(Goldberg 等, 2004). 永兴岛处于台风频发区, 但 2007 和 2008 年的台风频率小于其他年份, 其强度也属正常(陈秀峰等, 2011)(图 7), 对珊瑚格架的摧毁力度不至于如此之烈. 以珊瑚为食的长棘海星大爆发会对珊瑚礁产生严重的生物侵害(Moran 等, 1988), 2005 年以前永兴岛北部礁坪周围未见长棘海星爆发的报道(吴钟解等, 2011), 在 2007~2008 年间的密度统计也要远逊于永兴岛飞机场东侧礁坪(吴钟解等, 2011), 而永兴岛北部礁坪活珊瑚覆盖率要远远小于永兴岛东侧礁坪; 长棘海星对珊瑚种类的侵害有针对性, 目前受损甚烈的 *Montipora* spp.和 *Echinopora* spp.曾是永兴岛北部的优势属种(李颖虹等, 2004; 黄晖等, 2006), 也非长棘海星最佳的食源选择(De'ath 等, 1998), 这一现象不支持长棘海星爆发之说. 海洋酸化能极大地破坏珊瑚礁(Hoegh-Guldberg 等, 2007), 但 2008 年和 2007 年此处的酸化程度属正常范围(吴钟解等, 2011).

珊瑚白化事件在过去 20 年间在频率和规模上都在上升, 起因包括海洋表水温度(SST)、太阳辐射、

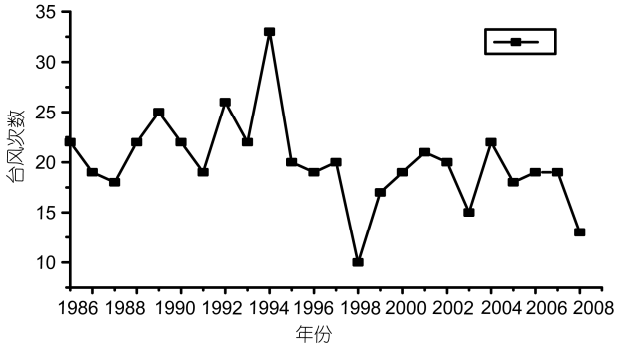


图 7　从 1985 年到 2008 年每年 6~10 月南海的台风发生频率图

据陈秀峰等, 2011

沉积物、有害异物、暴露、无机营养元素和淡水稀释等(Glynn, 1993), 但能造成珊瑚礁在区域上大规模白化的只有海洋表水持续数月的异常高值(李淑等, 2007; Eakin 等, 2010). 美国国家海洋和大气管理署(NOAA)的珊瑚礁监测系统使用极地轨道卫星采集影响珊瑚礁健康的热点效应数据(HotSpot)和周累计热数据(DHW), 通过积聚 SST 高于最大月平均温度的正异常, DHW 提供了衡量累积热效应导致珊瑚白化的参考值. 图 8((a), (c))显示在 2007 年 6 月和 7 月永兴岛的 NOAA 热点效应分布图, 图 8((b), (d))分别显示 7 月中旬和 8 月中旬的周热累积效应图, 图 8(e)~(h)是 2008 年 7~9 月永兴岛 NOAA 热点效应分布图和周热累积效应图. 永兴岛的热点压力在 2007 年 7 月 30 日左右达最大值, 热点峰值在 0.5~1℃之间, 小于导致珊瑚白化 1℃的门槛值; NOAA 的周累计热数据在 2007 年 9 月上旬达最大值, 但峰值也低于 3℃, 小于通常认为的 DHW 值在 4℃时珊瑚开始热白化, 大于 8℃时开始大规模死亡(Liu 等, 2006). NOAA 卫星数据表明 2007 和 2008 年是正常年份, 在永兴岛未发生大规模的珊瑚热白化事件.

黑带病能严重破坏珊瑚礁生态系统(Edmunds, 1991; Richardson, 1997). 印度-太平洋礁区超过 45 种的珊瑚被感染(Barneah 等, 2007), 但其诱发因素尚无定论, 可能是环境变化和生态群落的生理压力所致(Miller 等, 2011). Antonius 认为黑带病主要发生在浅海, 黑带是由进行光合作用的丝状蓝细菌所主导, 而深水区因受光照度的限制鲜见发生(Antonius, 1981). 也有实例表明形成某些蓝细菌种类更喜欢低光照度(Richardson 等, 2003). 2002 年发现永兴岛北部疑似被海洋细菌感染的珊瑚疾病(李颖虹等, 2004), 据其病症描述应该是黑带病. 2006 年海南省海洋和渔业局的调查中都发现永兴岛北部邻近石岛的很多叶状蔷薇珊瑚丛体发黑, 呈斑块或镶嵌状, 这是最接近珊瑚黑带病的症状. 近年来大量建筑垃圾直接排放于永兴岛北部, 影响沉积物的重新分布并污染水体, 增加了珊瑚患病机率. 浑浊的水体导致偏好低光度的蓝细菌种类得以迅速扩增, 即使不能详细观察到黑带因对光照度变化响应的具体过程, 也能初步获知随生物膜中蓝细菌和其他微生物组织生物量的增加, 高浓度细胞的通过蓝细菌聚集的方式应对光度的变化的可能性. 海水质量和珊瑚疾病之间具有协同关系

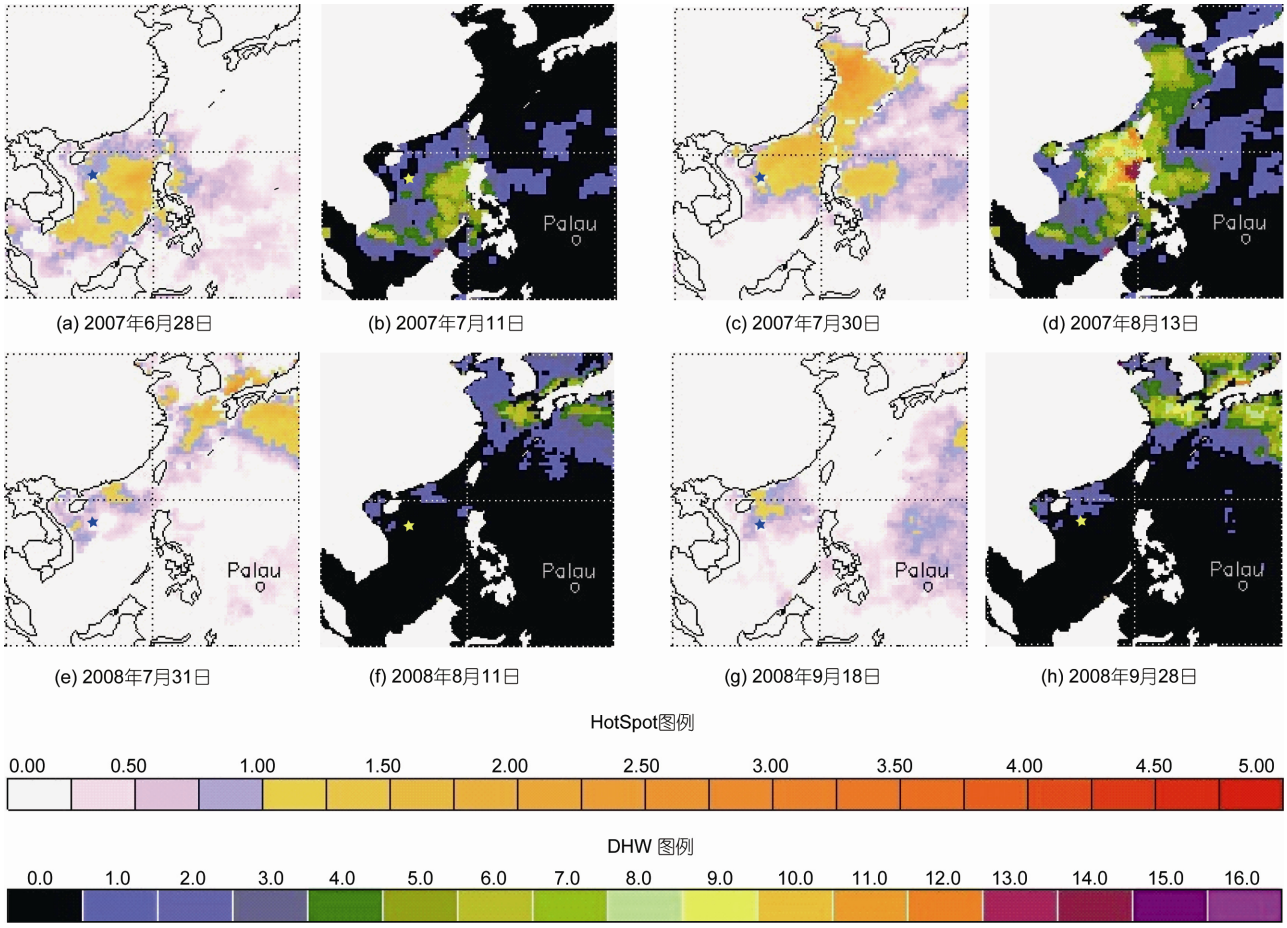


图 8　NOAA 绕极卫星的 HotSpot 和 DHW 数据图

HotSpot 数据((a), (c), (e), (g))表明在 2007 年和 2008 年的最大热应力, DHW((b), (d), (f), (h))出示了南海 2007~2008 间的西沙群岛的最大周累积热效应. HotSpot 数据表征热应力异常的发生和分布, 热应力异常能导致珊瑚白化的发生. 热点大于 1℃是发生珊瑚白化的门槛值. DHW 是指大于 1℃的为期 12 周的热应力累积, DHW 大于 4℃可能发生严重的珊瑚白化, DHW 大于 8℃可能发生大规模极其严重的珊瑚白化事件(Liu 等, 2006). 热点数据在线获得 http://www.ospo.noaa.gov/Products/ocean/cb/hotspots/2007.html. DHW 数据来自: http://www.ospo.noaa.gov/Products/ocean/cb/dhw/2007.html

(Kaczmarsky 等, 2005), 大量废弃物直接把致病微生物带入海洋(Frias-Lopez 等, 2002), 富营养化的水体不利于珊瑚的正常生长, 也提升了珊瑚疾病的恶化程度(Kuta 等, 2002). 永兴岛的一些水质参数与三亚市鹿回头岸礁区的非常类似, 水质一直在下降. 在有 6 个克隆子的 SD-68 和 SD-49 的可执行操作单元中, 它们的序列和来自于西班牙加利西亚港受石油污染的沉积物中不可培养蓝细菌序列有着高度的相似性, 这表明永兴岛北部海水中来自运输船的燃油污染可能刺激致病蓝细菌爆发. 永兴岛北部海水中部分重金属参数值甚至比海南岛三亚和覃门更高(周静等, 2007), 这有可能源于航运排放的废弃物. 来自永兴岛北部的例证表明, 海水的富营养化水平和珊瑚黑带病存在相关性, 海洋沉积物和污染物的增加可能导致珊瑚更容易感染黑带病.

4　结语

黑带病可能在环境和生理压力的双重作用下发生, 非培养分子技术表明在感染珊瑚的黑带病席中, 微生物群落是高度多样性的. 采用 BLAST 和构建克隆文库表明蓝细菌在黑带病席中为绝对优势菌群. 确认了 Proteobacteria 和其他微生物群落的存在, 并且这些群落对黑带病的致病机理也有一定的意义.

在一些珊瑚礁中存在黑带病的潜伏, 但大规模的爆发可能是在数年之后. Antonius 在 1988 年就报道了印度太平洋礁区红海第一例的黑带病, 但迟滞 1996 年才在红海亚喀巴湾大规模爆发(Barneah 等, 2007). 永兴岛北部造礁珊瑚覆盖率急剧下降的最主要原因是珊瑚黑带病的大规模爆发, 可能在 2002 年已经初现端倪, 2007 年从最初的少数造礁石珊瑚蔓延到大部分造礁珊瑚, 2008 年导致生态系统骤然之殇, 其创击之快、之烈可见一斑, 珊瑚礁群落的衰退可能在瞬间, 而它们的修复可能是一个极其漫长的过程. 分析黑带病的存在、蔓延趋势和严重程度还有待深入, 可为制订保护中国南海海域脆弱的珊瑚礁措施提供借鉴.

致谢 中国科学院海南热带海洋生物实验站和西沙综合实验站提供野外考察支持, 中国科学院南海海洋研究所刘国辉在实验和董俊德、李开枝在微生物鉴定方面提供帮助, 审稿专家对本文提出建设性意见, 作者一并深表谢意.

参考文献

陈秀峰, 史印山. 2011. 2008 年西北太平洋和南海台风异常偏少的原因分析. 第 28 届中国气象学会年会. 255

黄晖, 练健生, 黄小平, 等. 2006. 用珊瑚覆盖率作为干扰指标——永兴岛石珊瑚生物多样性研究. 科学通报, 51(增刊): 108–113

黄晖, 尤丰, 练健生, 等. 2011. 西沙群岛海域造礁石珊瑚物种多样性与分布特点. 生物多样性, 19: 710–715

李淑, 余克服. 2007. 珊瑚礁白化研究进展. 生态学报, 27: 2059–2069

李颖虹, 黄小平, 岳维忠, 等. 2004. 西沙永兴岛珊瑚礁与礁坪生物生态学研究. 海洋与湖沼, 35: 176–182

施祺, 严宏强, 张会领, 等. 2011. 西沙群岛永兴岛礁坡石珊瑚覆盖率的空间变化. 热带海洋学报, 30: 10–17

施祺, 余克服, 陈天然, 等. 2012. 南海南部美济礁 200 余年滨珊瑚骨骼钙化率变化及其与大气 CO_2 和海水温度的响应关系. 中国科学: 地球科学, 42: 71–82

施祺, 赵美霞, 张乔民, 等. 2007. 海南三亚鹿回头造礁石珊瑚生长变化与人类活动的影响. 生态学报, 27: 3316–3323

王国忠. 2001. 南海珊瑚礁区沉积学. 北京: 海洋出版社. 313

吴钟解, 王道儒, 涂志刚, 等. 2011. 西沙生态监控区造礁石珊瑚退化原因分析. 海洋学报, 33: 140–146

余克服. 2012. 南海珊瑚礁及其对全新世环境变化的记录与响应. 中国科学: 地球科学, 42: 1160–1172

周静, 杨东, 彭子成, 等. 2007. 西沙海域海水中溶解态重金属的含量及其影响因子. 中国科学技术大学学报, 37: 1036–1042

邹仁林. 1978. 西沙群岛珊瑚类的研究. 见: 中国科学院南海海洋研究所, 编. 我国西沙, 中沙群岛海域海洋生物调查研究报告集. 北京: 科学出版社. 85–132

Acosta-Gonzalez A, Rossello-Mora R, Marques S. 2013. Characterization of the anaerobic microbial community in oil-polluted subtidal sediments: Aromatic biodegradation potential after the Prestige oil spill. Environ Microbiol, 15: 77–92

Antonius A. 1973. New observations on coral destruction in reefs. Tenth Meeting Association of Island Marine Laboratories of the Caribbean. 10: 3

Antonius A. 1981. The 'band'diseases in coral reefs. Proceedings of the Fourth International Coral Reef Symposium. 2: 7

Arotsker L, Siboni N, Ben-Dov E, et al. 2009. *Vibrio* sp. as a potentially important member of the Black Band Disease (BBD) consortium in Favia sp corals. Fems Microbiol Ecol, 70: 515–524

Ashelford K E, Chuzhanova N A, Fry J C, et al. 2006. New screening software shows that most recent large 16S rRNA gene clone libraries contain chimeras. Appl Environ Microbiol, 72: 5734–5741

Barneah O, Ben-Dov E, Kramarsky-Winter E, et al. 2007. Characterization of black band disease in Red Sea stony corals. Environ Microbiol, 9: 1995–2006

Cooney R P, Pantos O, Tissier M D A L, et al. 2002. Characterization of the bacterial consortium associated with black band disease in coral using molecular microbiological techniques. Environ Microbiol, 4: 401–413

De'ath G, Moran P J. 1998. Factors affecting the behaviour of crown-of-thorns starfish (*Acanthaster planci*) on the Great Barrier Reef: 2: Feeding preferences. J Exp Mar Biol Ecol, 220: 107–126

Eakin C M, Morgan J A, Heron S F, et al. 2010. Caribbean corals in crisis: Record thermal stress, bleaching, and mortality in 2005. PloS ONE, 5: e13969

Edmunds P J. 1991. Extent and effect of black band disease on a Caribbean reef. Coral Reefs, 10: 161–165

Frias-Lopez J, Bonheyo G T, Fouke B W. 2004a. Identification of differential gene expression in bacteria associated with coral black band disease by using RNA-arbitrarily primed PCR. Appl Environ Microbiol, 70: 3687–3694

Frias-Lopez J, Bonheyo G T, Jin Q S, et al. 2003. Cyanobacteria associated with coral black band disease in Caribbean and Indo-Pacific Reefs. Appl Environ Microbiol, 69: 2409–2413

Frias-Lopez J, Klaus J S, Bonheyo G T, et al. 2004b. Bacterial community associated with black band disease in corals. Appl Environ Microbiol, 70: 5955–5962

Frias-Lopez J, Zerkle A L, Bonheyo G T, et al. 2002. Partitioning of bacterial communities between seawater and healthy, black band diseased, and dead coral surfaces. Appl Environ Microbiol, 68: 2214–2228

Garrett P, Ducklow H. 1975. Coral diseases in Bermuda. Nature, 253: 349–350

Glynn P. 1993. Coral reef bleaching: ecological perspectives. Coral Reefs, 12: 1–17

Goldberg J, Wilkinson C. 2004. Global threats to coral reefs: Coral bleaching, global climate change, disease, predator plagues, and invasive species. In: Wilkinson C, ed. Status of Coral Reefs of The World. Townsville: Australian Institute of Marine Science. 67–92

Green E P, Bruckner A W. 2000. The significance of coral disease epizootiology for coral reef conservation. Biol Conserv, 96: 347–361

Harvell D, Jordán-Dahlgren E, Merkel S, et al. 2007. Coral disease, environmental drivers, and the balance between coral and microbial associates. Oceanography, 20: 172–195

Hoegh-Guldberg O, Mumby P J, Hooten A J, et al. 2007. Coral reefs under rapid climate change and ocean acidification. Science, 318: 1737–1742

Huber T, Faulkner G, Hugenholtz P. 2004. Bellerophon: A program to detect chimeric sequences in multiple sequence alignments. Bioinformatics, 20: 2317–2319

Kaczmarsky L T, Draud M, Williams E H. 2005. Is there a relationship between proximity to sewage effluent and the prevalence of coral disease. Caribb J Sci, 41: 124–137

Klaus J S, Janse I, Fouke B W. 2011. Coral black band disease microbial communities and genotypic variability of the dominant cyanobacteria (CD1C11). Bull Mar Sci, 87: 795–821

Kuta K, Richardson L. 1996. Abundance and distribution of black band disease on coral reefs in the northern Florida Keys. Coral Reefs, 15: 219–223

Kuta K, Richardson L. 2002. Ecological aspects of black band disease of corals: relationships between disease incidence and environmental factors. Coral Reefs, 21: 393–398

Liu G, Strong A E, Skirving W. 2006. Overview of NOAA coral reef watch program's near-real time satellite global coral bleaching monitoring activities. Proceedings of the Tenth International Coral Reef Symposium. 1: 1783

Miller A W, Richardson L L. 2011. A meta-analysis of 16S rRNA gene clone libraries from the polymicrobial black band disease of corals. Fems Microbiol Ecol, 75: 231–241

Mitchell R, Chet I. 1975. Bacterial attack of corals in polluted seawater. Microbial Ecol, 2: 227–233

Moran P, Bradbury R, Reichelt R. 1988. Distribution of recent outbreaks of the crown-of-thorns starfish (*Acanthaster planci*) along the Great Barrier Reef: 1985–1986. Coral Reefs, 7: 125–137

Muyzer G, Smalla K. 1998. Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and temperature gradient gel electrophoresis (TGGE) in microbial ecology. Antonie Van Leeuwenhoek, 73: 127–141

Myers J L, Sekar R, Richardson L L. 2007. Molecular detection and ecological significance of the cyanobacterial genera *Geitlerinema* and *Leptolyngbya* in black band disease of corals. Appl Environ Microbiol, 73: 5173–5182

Parmar A, Singh N K, Kaushal A, et al. 2011. Purification, characterization and comparison of phycoerythrins from three different marine cyanobacterial cultures. Bioresour Technol, 102: 1795–1802

Rützler K, Santavy D. 1983a. The black band disease of Atlantic reef corals. I: Description of the cyanophyte pathogen. Mar Ecol, 4: 301–319

Rützley K, Santavy D, Antonius A. 1983b. The black band disease of Atlantic reef corals. III: Distribution, ecology, and development. Mar Ecol, 4: 329–358

Ramos-Flores T. 1983. Lower marine fungus associated with black line disease in star corals (*Montastrea annularis*, E. & S.). Bio Bull, 165: 429–435

Richardson L L. 1996. Horizontal and vertical migration patterns of *Phormidium corallyticum* and *Beggiatoa* spp associated with black-band disease of corals. Microb Ecol, 32: 323–335

Richardson L L. 1997. Occurrence of the black band disease cyanobacterium on healthy corals of the Florida Keys. Bull Mar Sci, 61: 485–490

Richardson L L. 1998. Coral diseases: What is really known? Trends Ecol Evol, 13: 438–443

Richardson L L, Kuta K G. 2003. Ecological physiology of the black band disease cyanobacterium *Phormidium corallyticum*. Fems Microbiol Ecol, 43: 287–298

Schönhuber W, Zarda B, Eix S, et al. 1999. In situ identification of cyanobacteria with horseradish peroxidase-labeled, rRNA-targeted oligonucleotide probes. Appl Environ Microbiol, 65: 1259–1267

Schloss P D, Larget B R, Handelsman J. 2004. Integration of microbial ecology and statistics: A test to compare gene libraries. Appl Environ Microbiol, 70: 5485–5492

Sekar R, Mills D E K, Remily E R, et al. 2006. Microbial communities in the surface mucopolysaccharide layer and the black band microbial mat of black band-diseased *Siderastrea siderea*. Appl Environ Microbiol, 72: 5963–5973

Sussman M, Bourne D G, Willis B L. 2006. A single cyanobacterial ribotype is associated with both red and black bands on diseased corals from Palau. Dis Aquat Organ, 69: 111

Sutherland K P, Porter J W, Torres C. 2004. Disease and immunity in Caribbean and Indo-Pacific zooxanthellate corals. Mar Ecol Prog Ser, 266: 273–302

Tamura K, Peterson D, Peterson N, et al. 2011. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. Mol Biol Evol, 28: 2731–2739

Thiel V, Neulinger S C, Staufenberger T, et al. 2007. Spatial distribution of sponge-associated bacteria in the Mediterranean sponge *Tethya aurantium*. Fems Microbiol Ecol, 59: 47–63

Voss J D, Mills D K, Myers J L, et al. 2007. Black band disease microbial community variation on corals in three regions of the wider Caribbean. Microbial Ecol, 54: 730–739

Weil E, Rogers C S. 2011. Coral reef diseases in the Atlantic-Caribbean. In: Dubinsky Z, Stambler N, eds. Coral Reefs: An Ecosystem in Transition. Berlin: Springer. 465–491

Weil E, Smith G, Gil-Agudelo D L. 2006. Status and progress in coral reef disease research. Dis Aquat Org, 69: 1–7

Wilkinson C. 2004. Status of Coral Reefs of the World: 2004. Townsville: Australian Institute of Marine Science. 557