

海洋浮霉状菌多样性与生态学功能研究进展

黄佩蓓¹ 焦念志² 冯洁¹ 舒青龙^{1*}

(1. 江西中医药大学 江西 南昌 330004)

(2. 厦门大学 近海海洋环境国家重点实验室 福建 厦门 361005)

摘要: 浮霉状菌为一个独立的细菌门, 具独特的细胞结构与基因组组成, 是一类重要的环境微生物。有趣的是, 浮霉状菌在海洋环境中具多样的生态学功能, 如参与海洋碳循环、海洋厌氧氨氧化过程、矿物质富聚作用、及藻赤潮等, 现已成为国际海洋环境微生物研究最热门的领域之一。然而, 目前国内对该细菌门的研究进展尚无综合报道, 由此, 本文综合最新和最重要的文献综述了海洋浮霉状菌多样性及生态学功能的最新进展, 并结合自己的工作对该领域未来的研究进行了展望。

关键词: 浮霉状菌, 细胞器, 厌氧氨氧化细菌, 细菌进化

Research progress on Planctomycetes' diversity and ecological function in marine environments

HUANG Pei-Bei¹ JIAO Nian-Zhi² FENG Jie¹ SHU Qing-Long^{1*}

(1. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang, Jiangxi 330004, China)

(2. State Key Laboratory of Marine Environmental Science, Xiamen University, Xiamen, Fujian 361005, China)

Abstract: Planctomycetes, an independent bacterial phylum, is a cluster of important environmental microorganisms since occupying unique cell structure and genomic composition. Interestingly, Planctomycetes has a variety of ecological functions in the marine environments, such as participations in the ocean carbon cycle, anammox process, mineral encrustation, and algal bloom, and has become a hotspot of international research of marine microorganisms. However, there is no domestic comprehensive report on such field. Here we reviewed the current status of diversity and ecological function studies on marine Planctomycetes based on recent and important literatures. Finally, we also proposed some future focuses of such field combined with our own work.

Keywords: Planctomycetes, Compartment, Anammox bacteria, Bacterial evolution

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 81001680/H2813); 江西省自然科学基金项目(No. 20122BAB205073); 江西省教育厅项目(No. GJJ13598)

*通讯作者: Tel: 86-791-879118921; ✉: shuqinglong@126.com

收稿日期: 2013-12-12; 接受日期: 2014-02-18; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2014-02-26

1 浮霉状菌简介

浮霉状菌(Planctomycetes)是细菌界的一个主要分支,为一个独立的细菌门,具以下独特的特征:出芽生殖,缺少肽聚糖,细胞器膜化、某些种属参与厌氧氨氧化、具独特基因组、参与多种环境的元素循环等^[1-4]。基于其在生理、分子及细胞生物学上的特点,浮霉状菌现已被公认为一类极其重要的模式微生物,对于人们认识微生物的进化及生态过程具重要的作用,是目前海洋环境微生物研究对象中最热门的细菌之一^[5]。浮霉状菌分布广泛,除海洋环境,在人体肠道、湖泊、土壤、淡水、盐湿地等环境均有分布。

浮霉状菌门包括二个纲: Planctomycetia, Phycisphaerae; 其中 Planctomycetia 纲包括 Planctomycetales 和 Brocadiaceales 二个目;

Phycisphaerae 纲只包括 Phycisphaerales 一个目。Planctomycetales、Brocadiaceales 和 Phycisphaerales 均包括一个科,对应的科分别为: Planctomycetaceae (包括 10 个属)、Brocadiaceae (包括 5 个属)和 Phycisphaeraceae (包括 1 个属)。在总共 16 个属中, 3 个属 *Blastopirellula*、*Rhopopirellula* 和 *Pirellula* 是由早期的 *Pirellula* 属分离而成,现在有时也将这 3 个属也统称为 PRB 大类(*Pirellula*-*Blastopirellula*-*Rhopopirellula* clade); 厌氧氨氧化细菌(Anammox bacteria)是一类具厌氧条件下能执行氨氧化的功能类群,均属于浮霉状菌的分类范围,包括 5 个属: *Candidatus Scalindua* (不可培养)、*Candidatus Kuenenia* (不可培养)、*Candidatus Brocadia* (不可培养)、*Candidatus Anammoxoglobus*、*Candidatus Jettenia*^[6]。所有浮霉状菌的分类如图 1 所示。

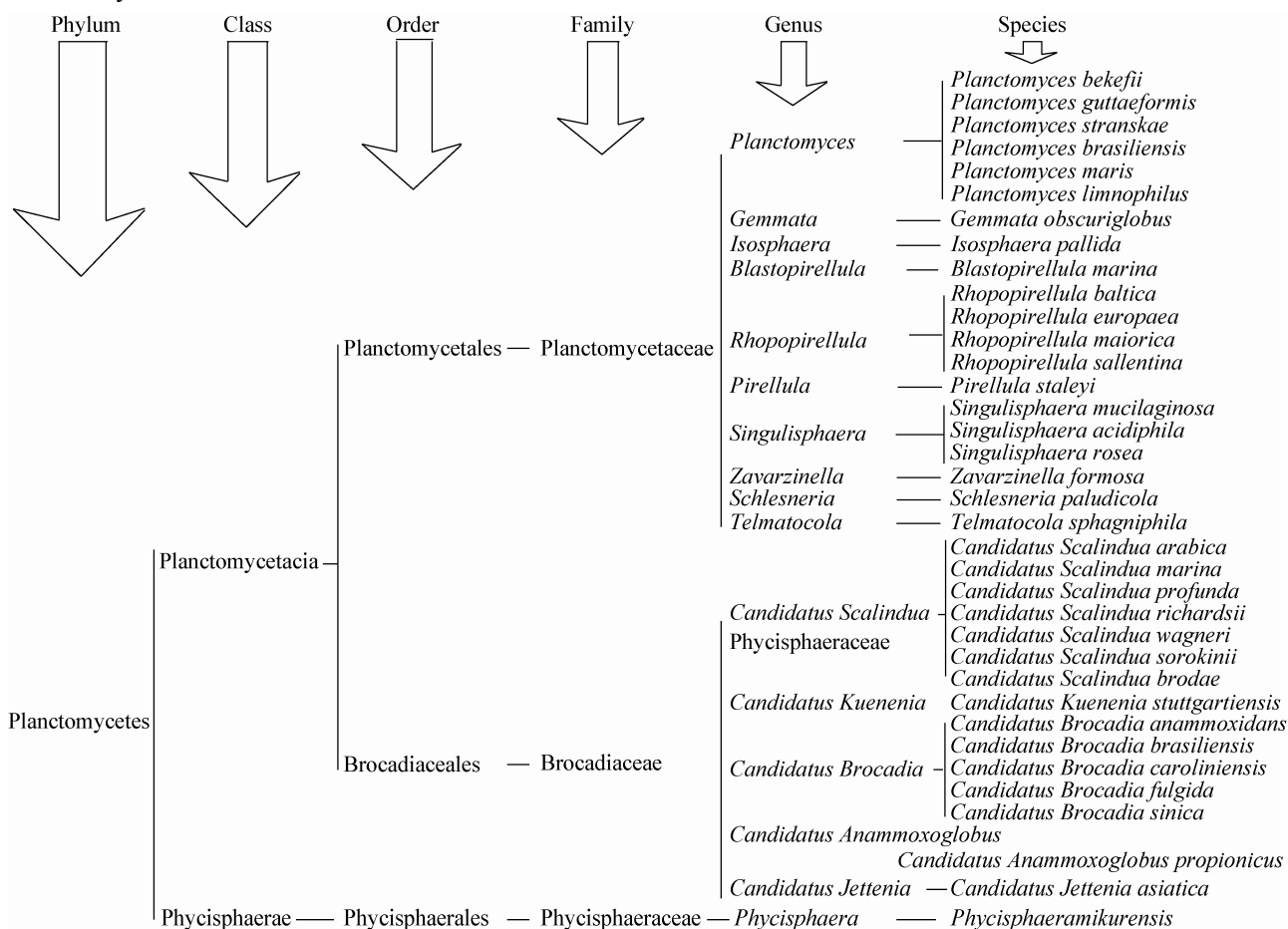


图 1 浮霉状菌的分类

Figure 1 Taxonomy of phylum Planctomycetes

2 多样的浮霉状菌来自于共同的祖先

2.1 核糖体 RNA 证据

按现在分类方法,浮霉状菌含有16个属(图1),海洋环境中其组成包括:*Candidatus Brocadiales* 中的 *Candidatus “Scalindua”*, *Phycisphaerae* 的 CCM11a 类群, *Planctomycetales* 中的 *Planctomyces*、*Isosphaera*、*Gemmata*、*Rhodopirellula*、*Pirellula*、*Planctomyces* 和 *Gemmata*, 及占相当大比例的 Unknown *Planctomycetes* 等。环境和纯培养的浮霉状菌 16S rRNA 基因碱基的含量变化为 53%–57%、G+C 含量变为 51%–71%, 其分子组成的差距已远超现在微生物上定义的属之间的差异值^[7]。同时,在海洋环境多样性调查中(如海洋水体、海洋沉积物、海洋海绵体、海洋藻类、海洋颗粒等环境样品),特异性 16S rRNA 调查也常常产生一些近缘细菌门的序列,如疣微菌门(Verrucomicrobia)和衣原体门(Chlamydiae)等,显示这些细菌门与浮霉状菌的分类及进化有着密切的联系。

尽管如此,16S rRNA 进化树分析显示,海洋浮霉状菌所有涉及的序列均集中于一个大类,其它分子标记如 23S rRNA、热休克蛋白、及 ATP 合成酶的 Beta 亚基等分析也支持浮霉状菌是一个独立

的细菌门^[8],并不会和疣微菌门、衣原体门混淆,但和它们属于近缘;在海洋微生物生态学研究,也常常将这3个门合称为 PVC 超级门^[9]。

笔者以 *rpoB* 基因(编码 RNA 聚合酶 Beta 亚基的基因,一种功能基因分子标记)对 12 株纯培养的浮霉状菌进行了分析,并与 16S rRNA 所构建的进化树比对,结果显示,两种基因所构建的浮霉状菌进化树的拓扑结果完全一致(图 2),显示可培养种属间进化树关系的可靠性,即基于 16S rRNA 的浮霉状菌多样性分类是可信的。

2.2 细胞学证据

浮霉状菌具多样的形态,包括球形(如厌氧氧化细菌和 *Rhodopirellula*)、卵圆形(如 *Planctomyces maris* DSM 8797T)、具鞭毛(如 *Isosphaera*)、及形成玫瑰环等(如 *Pirellula*、*Isosphaera*)。浮霉状菌不同于其它细菌,在于其细胞壁缺少肽聚糖,这被认为是细菌分化很早的一个特点,提示浮霉状菌是较早分化的一个细菌门^[8]。更为重要的是,浮霉状菌都有一个共同的特点,即其内部含有类似真核生物的“细胞器”。

浮霉状菌通过细胞内膜(Intracytoplasmic membrane, ICM)将细胞分为不同的部分,其内膜

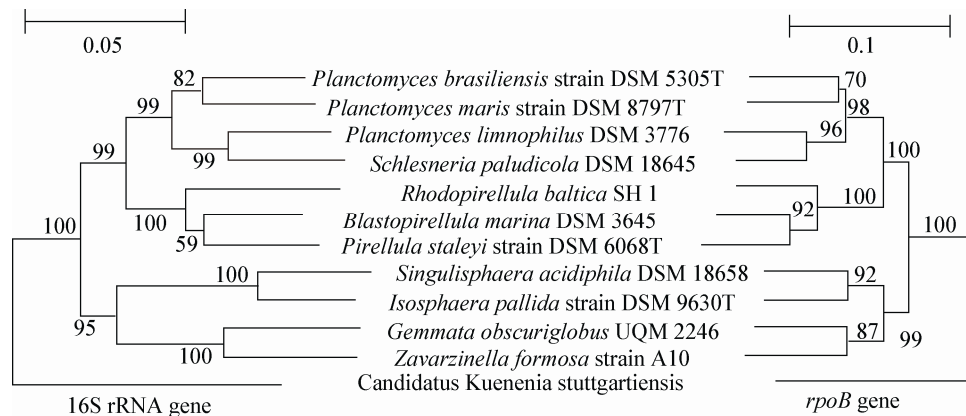


图2 浮霉状菌基于 16S rRNA 和 *rpoB* 基因的进化树对比

Figure 2 Comparison of 16S rRNA and *rpoB* gene' phylogenetic trees in Planctomycetes

注:构建的 NJ 进化树中,16S rRNA 和 *rpoB* 基因的进化距离刻度标尺分别为 0.05 和 0.1,在树枝上数值为 Bootstrap 值=100 时的似然值。

Note: For NJ trees, the distance scale=0.05 for 16S rRNA while 0.1 for *rpoB* gene, the number on the nodes represents the probability while bootstrap value=100.

所包围的部分即为类细胞器的结构,这是所有浮霉菌共同的一个特点。这种类细胞器通常被一个单层的膜包围,并能执行类似真核细胞细胞器的功能^[10],但对于不同的属,类细胞器的结构和功能均有不同:如(1) *Pirellula*、*Gemmata*、*Blastopirellula*、*Isosphaera* 等属中,ICM 将细胞质分成 Pirellulosome 和 Paryphoplasm。Pirellulosome 被一个单层的膜包围,包含类似核糖体的颗粒和细胞的核酸,而 Paryphoplasm 则类似于真核生物的细胞质^[11]。(2) *Gemmata obsuriglobus* 也含有类似于 Pirellulosome 的细胞器,不同的是由双层膜组成,在其上面附着核酸形成类似核膜的结构,具类似真

核细胞器的内吞作用^[12]。(3) 在厌氧氨氧化细菌,如“*Candidatus Brocadia*”、“*Candidatus Kuenenia*”、“*Candidatus Scalidua*”等,均含有一个厌氧氨氧化体(Anammoxosome),它是由单层膜包围的,膜上没有核酸,但有执行厌氧氨氧化过程所特有的一些酶,可以执行厌氧氨氧化过程^[2]。

以上浮霉菌细胞结构的共同特点,对于理解真核细胞和原核细胞的共进化是一个很好的提示,更显示多样的浮霉菌来源于一个共同的祖先。

3 海洋浮霉菌多样的生态功能

作为海洋环境的重要微生物,海洋浮霉菌对于元素生物地球化学循环起着重要的作用(图 3)。

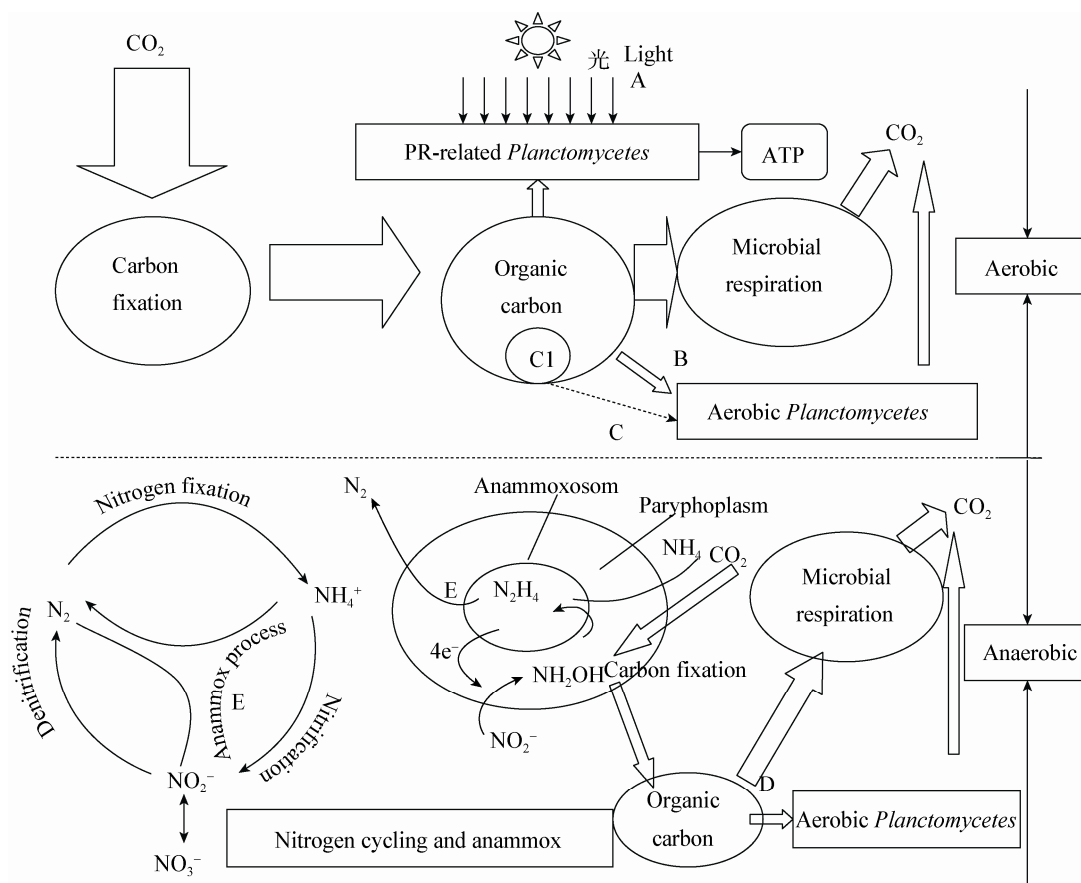


图 3 浮霉菌参与的碳循环和氮循环

Figure 3 Planctomycetes involving in carbon and nitrogen cycling

注: A: 利用视紫红质直接利用太阳能; B: 酵解途径; C: 利用一碳化合物途径; D: 发酵途径; E: 厌氧氨氧化途径。

Notes: A: Proteorhodopsin pathway; B: Glycolysis, pentose phosphate and tricarboxic acid pathways; C: H_4MPT -linked pathway; D: Carbohydrate fermentation pathway; E: Anammox process.

3.1 参与海洋氮循环

海洋中的氮素主要以分子态氮(N_2)、无机态氮(NO_3^- 、 NO_2^- 、 NH_4^+)以及有机态氮(核酸、蛋白质等)这三种形态存在。海洋细菌通过氨氧化作用、硝化作用、反硝化作用、固氮作用等途径在氮循环中起着重要的作用等。然而, 厌氧氨氧化过程($NH_4^+ + NO_2^- \rightarrow N_2 \uparrow + 2H_2O$)的发现, 揭示了海洋氮循环一个过去长期未被人们所认识的过程, 而执行这个过程的厌氧氨氧化细菌均属于浮霉状菌。据估计, 厌氧氨氧化细菌(*Candidatus "Scalindua"*)对于海洋氮循环中氮气的生成有 30%–70% 的贡献率, 低氧海域是厌氧氨氧化作用最主要的场所之一。作为分化较早的浮霉状菌, 厌氧氨氧化细菌在漫长的地质年代中一直参与厌氧氨氧化过程, 对于海洋氮损失及原始大气的形成起着重要作用。

3.2 多样的碳循环过程

绝大多数海洋浮霉状菌是化能异养的, 有些厌氧的浮霉状菌可以进行发酵作用, 碳氢化合物是其主要碳源, 如 *Planctomyces*、*Pirellula*、*Gemmata*、*Isosphaera* 可以利用多种海洋有机物。在固碳作用上, *Rhodopirellula baltica* 和 *Gemmata obscuriglobus* strain UQM2246 具一碳化合物合成相关途径^[13], 利用碳源方式较为独特; 属于化能自养型的厌氧氨氧化细菌, 则具有固定二氧化碳的功能^[14]。

含变形菌视紫质(Proteorhodopsin, PR)的浮霉状菌则展现了另一种新型的间接参与海洋碳循环的方式。变形菌视紫质是最近在海洋中发现的视紫质家族的新成员, 它是一类与视黄醛结合的膜蛋白, 能利用光能产生膜内外的质子梯度并合成 ATP, 为细胞提供能量。变形菌视紫质基因不但分布广泛, 在海洋中的数量也十分丰富, 基因频率计算显示海洋真光层内约有 13% 的细菌含有这一基因^[15], 含变形菌视紫质的浮霉状菌是其重要的成员, 它们通过直接获取光能而减少对有机碳的利用, 间接地参与海洋碳循环。

3.3 矿物质的富聚作用

许多具玫瑰环的浮霉状菌被观察到在它们芽孢的表面可以富聚铁离子或锰离子。这些富集物可以在芽孢连接处或贯穿于整个芽孢中, X 射线证实了浮霉状菌富聚锰的形态。铁离子的富聚可能是由于在氧化过程中的被动吸收, 但是锰的还原可能是缘于浮霉状菌的生物催化^[11]。

3.4 与藻赤潮的相关性

大量的证据表明在藻类或是蓝细菌所暴发的赤潮中, 伴随着浮霉状菌多样性或是丰度的升高, 如能形成玫瑰环的浮霉状菌(如 *Planctomyces bekefii*、*Planctomyces guttaeformis* 和 *Planctomyces stramskiae*) 在藻类或是蓝细菌的赤潮暴发后丰度上升^[16]; Granberg 也观察到在一个水库的异养浮游植物季节的变化中 *Planctomyces bekefii* 和 *Planctomyces condensatus* 的丰度呈不同程度的增长, 并贯穿于在 *Pithophora* 种的赤潮的始终^[17]。

3.5 潜在参与海洋硫循环

最新文献报道在南海和 Seagrass 海发现浮霉状菌和硫还原细菌的共存在现象^[18]; Kunisawa 等发现硫还原细菌 *Thermodesulfovibrio yellowstonii* 具有浮霉状菌的部分特征基因组信息^[19], 以上显示浮霉状菌可能参与海洋硫循环。

4 基因组研究揭示海洋浮霉状菌功能多样性

浮霉状菌的基因组计划是微生物基因组计划中最为活跃的一个领域, 已经测序完毕或正在测序的菌株有 *Rhodopirellula baltica*、*Rhodopirellula europaea*、*Rhodopirellula sallentina*、*Planctomyces limnophilus*、*Rhodopirellula maiorica*、*Isosphaera pallida*、*Pirellula staleyi*、*Gemmata obscuriglobus*、*Planctomyces maris*、*Blastopirellula marina*、*Rhodopirellula*、*Schlesneria paludicola*、*Zavarzinella formosa*、*Singulisphaera acidiphila*、*Planctomyces brasiliensis*、*Gemmata*、*Planctomycete* KSU-1、*Phycisphaera mikurensis*、*Candidatus Brocadia anammoxidans*、*Planctomycetes bacterium* JCVI-SC

AAA004、*Candidatus Kuenenia stuttgartiensis*, 涉及的属包括: *Pirellula*、*Gemmata*、*Planctomyces*、*Blastopirellula*、*Rhodopirellula*、*Zavarzinella*、*Isosphaera*、*Singulisphaera*、*Phycisphaera*、*Schlesneria* 和 *Anammox* 细菌等, 覆盖了浮霉状菌绝大多数的代表属^[1-4,20]。

基因组计划中获得了典型浮霉状菌丰富的分子信息, 包括: (1) 获得了部分浮霉状菌多样生态功能的基因信息: 如 *Candidatus Kuenenia stuttgartiensis* 基因组的完成, 发现了厌氧氨氧化过程中重要中间产物肼的代谢相关酶基因和极为独特的醚状脂质合成相关酶基因, 为诠释厌氧氨氧化细菌独特的生理过程提供了证据^[2]; 在 *Rhodopirellula baltica* 和 *Gemmata obscuriglobus* UQM2246 的基因组中发现了一碳化合物合成相关途径(C1 途径), 并揭示该途径中关键操纵子之一为 H4MPT 酶^[13]。(2) 获得了部分浮霉状菌独特的生理功能基因信息: 如发现了 *Anammox* 细菌中固定 CO₂ 的完整代谢途径; *Rhodopirellula baltica* 的基因组含有类真核细胞的硫酸酯酶基因; *Gemmata obscuriglobus* 基因组中则发现了固醇合成的生化途径^[21]。(3) 获得了部分浮霉状菌特殊细胞结构的基因信息: 如 *Gemmata obscuriglobus* 基因组序列已鉴定了如细胞分裂、染色体分离、细胞骨架和核体复合物等细胞活动相关的基因; *Rhodopirellula baltica* 的基因组序列则含有 *Pirellulosome* 复合体的蛋白横向转移有关基因。(4) 获得了大量海洋浮霉状菌基因横向转移的信息: 浮霉状菌中的视紫质基因簇、C1 途径基因簇、信号肽的基因等均和基因的横向转移有关。对比基因组的证据表明, 基因的水平转移可能是浮霉状菌特殊基因获得的重要机制, 包括古菌——浮霉状菌、病毒——浮霉状菌、真核细菌——浮霉状菌等多角度的基因横向转移等^[13,15]。

随着比较基因组学的深入, 将为海洋浮霉状菌和其它细菌的进化关系、功能基因的水平转移、在自然环境中的生态意义提供最为直接的分子证据。

5 检测海洋环境浮霉状菌多样性的分子标记

海洋浮霉状菌分布广泛、种类多, 现已应用于其多样性检测的分子标记。

5.1 核糖体 RNA 分子标记

包括 16S rRNA、23S rRNA、ITS 等, 由于 RNA 基因为细胞所共有, 其功能同源且最为古老, 既含有保守序列又含可变序列, 分子大小适合操作, 序列变化与进化距离相适应, 因而成为海洋浮霉状菌研究最多、研究最广泛的生物标记之一(表 1)。

5.2 功能基因分子标记

随着浮霉状菌基因组的不断解码, 特异性的功能基因标记也发展起来, 如利用 HAO 酶检测厌氧氨氧化细菌^[2]、利用 *fae* 基因检测含 H4MPT 的浮霉状菌^[13]、利用固醇合成酶基因检测 *Gemmata* 等^[21]、利用 *rpoB* 基因检测特异海洋浮霉状菌等都有报道(表 1)。在方法学上, 笔者优化了经典的扩增引物, 并在属的水平上补充了浮霉状菌的多样性^[17]。同时, 我们还首次发展了 *rpoB* 基因作为标记技术检测环境浮霉状菌^[22]。

5.3 Quinone 分子标记

浮霉状菌具有独特的化学分类的标志, 如 Isoprenoid quinone MK6; 另一种化学分类标志 Menaquinone 也存在于浮霉状菌中, 可用于海洋浮霉状菌的检测^[23]。

5.4 脂质分子标记

很多浮霉状菌的属如 *Planctomyces* 和 *Pirellula* 具有独特的细菌型醚连接的极性脂质^[24]。最出名的是 Ladderane 脂质(醚状脂质), 存在于化能异养的厌氧氨氧化细菌, 是自然界中发现的唯一以四碳环(环丁烷)所组成的脂质, 是鉴定海洋厌氧氨氧化细菌最有效的生物标记之一^[2]。

5.5 多聚氨基酸分子标记

多聚氨基酸也是检测浮霉状菌一种重要的化学分类分子标记, 已广泛用于海洋浮霉状菌进化多样性的研究调查^[25]。

表 1 常用的检测浮霉状菌的探针或引物 Table 1 Planctomycetes probes/primers developed				
探针/引物名称 Probes/Primers	基因 Gene	特异性 Specificity	序列 Sequences (5'→3')	文献 References
NON338	16S	Negative control	ACTCCTACGGGAGGCAGC	Wallner et al. (1993) Daims et al. (1999) Neef et al. (1998)
PLA886	16S	Planctomycetales	GCCTTGCGACCATACTCCC	
Pla-46	16S	Planctomycetales	GACTTGCATGCCTAATCC	
PIR1223	16S	Genus <i>Pirellula</i>	CATTGTAGGACGTGTGCAG	Gade et al. (2003)
RB454	16S	<i>Pirellula</i> sp. strain SH1	ATGATGGATAACCACCATGC	
RB433H	16S	<i>Pirellula</i> sp. strain SH1	ATTTCCTAACAACACTGACAGCG	
RB474H	16S	<i>Pirellula</i> sp. strain SH1	CCTCTGAAGATCGGTCAAAC	Boon et al. Mühling et al. Mühling et al.
PLA40F	16S	Planctomycetales	CGGCRTGGATTAGGCATG	
PLA352F	16S	Planctomycetales	GGCTGCAGTCGAGRATCT	
PLA920R	16S	Planctomycetales	TGTGTGAGCCCCCGTCAA	Shu & Jiao (2008)
Pla-1097-R	16S	Planctomycetales	GGTTTCGCTCGTTANGG	
Pla-1368-R	16S	Planctomycetales	TCAGGAACAYATTCACCGC	
hzoAB1F	HAO	Anammox bacteria	GAAGCNAAGGCNGTAGAAATTATCAC	Hirsch et al. (2011)
hzoAB1R	HAO	Anammox bacteria	CTCTTCNGCAGGTGCATGATG	
hzoAB4F	HAO	Anammox bacteria	TTGARTGTGCATGGTCTAWTGAAAG	
hzoAB4R	HAO	Anammox bacteria	GCTGACCTGACCARTCAGG	Schmid et al. (2008)
hzocl1F1	HAO	Anammox bacteria	TGYAAGACYTGICYAYTGG	
hzocl1R2	HAO	Anammox bacteria	ACTCCAGATRTGCTGACC	
Ana-hzo1F	HAO	Anammox bacteria	TGTGCATGGTCAATTGAAAG	Quan et al. (2008)
Ana-hzo2R	HAO	Anammox bacteria	ACCTCTTCWGCAGGTGCAT	
hzoF1	HAO	Anammox bacteria	TGTGCATGGTCAATTGAAAG	
hzoR1	HAO	Anammox bacteria	CAACCTCTTCWGCAGGTGCATG	Li et al. (2010)
rpoB-985-F	rpoB	Planctomycetales	ACNGAYATGATMAAGGG	Shu & Jiao (2013)
rpoB-2362-R	rpoB	Planctomycetales	GCCATYARMCCSCGCAT	
pla2001F	rpoB	Planctomycetales	ATGGGITCIAGCARCG	
pla3302R	rpoB	Planctomycetales	ATCTGICCCACGTTCATMCG	Bondoso et al. (2013)
planc-faef	fae	Planctomycetales	CYCACATCGACCTGYTSATCGG	Kalyuzhnaya et al. (2004)
planc-faer	fae	Planctomycetales	CTTCAGGCTTCGTAGTTGTAC	

以上标记中，核糖体 RNA 分子标记由于其操作方便及数据库丰富等特点，是应用最为广泛的标记之一；但核糖体 RNA 分子标记也有它的缺陷：环境样品常常会同时得到非浮霉状菌序列、核糖体 RNA 在同一细胞中的多拷贝数、及无法区分种水平上的近缘菌株等。而功能基因、Quinone、脂质、多聚氨基酸等分子标记可以弥补核糖体 RNA 分子标记的不足。需要强调的是，核糖体 RNA 的研究是基于分类上的菌群结构研究，而一些功能类群的

研究则更多的依赖于功能基因分子标记和脂质分子标记等。

6 海洋浮霉状菌多样性模式

近年来对浮霉状菌的调查已成为当今海洋微生物研究的热点之一。涉及的环境包括：海洋沉积物、深海海嵴、海洋水体、海洋厌氧系统、海洋颗粒物、海洋藻类、海绵共生体、淡水入海口等^[5,26]，其它环境则包括土壤、淡水、盐湿地、污水反应处

理器等。海洋浮霉状菌分布极为广泛,海洋常见的种属主要为: *Planctomyces*、PRB clade、*Isosphaera*、*Gemmata* 和厌氧氨氧化细菌等,海洋中分离得到的可培养的纯菌株极少(仅部分从海洋生物表面或海洋沉积物中分离得到,如 *Pirellula* sp. strain 797 和 *Blastopirellula marina* 等),绝大多数为不可培养浮霉状菌。海洋浮霉状菌多样性模式受到多种环境因素的影响,如季节、温度、有机物含量、海域的经纬度、水体的深度、营养盐含量、藻的种类、溶解氧的含量、其它细菌的不同组成等^[26-28],典型海洋环境调查分述如下。

6.1 海洋沉积物浮霉状菌多样性模式

近年已经报道浮霉状菌多样性的沉积物样品分布广泛,涉及的海域有:东太平洋深海^[29]、Moreton 湾^[30]、Bering 海^[31]、Sundarban 湾^[32]、Marmara 海^[33]、北冰洋及其中间的海嵴^[34]、深海热液泉^[35]等。最新对 Arctic Mid Ocean Ridge (AMOR)的调查显示,该海洋沉积物的浮霉状菌主要类别为 *Planctomycetales*、*Candidatus Brocadiales*、*Phycisphaerae* 及 Unknown Planctomycetes,主要的类别为 CCM11a 类群(*Phycisphaerae*)和 Pir4 类群(*Planctomycetaceae*)^[36];而对于 Zodletone Spring 厌氧的硫饱和沉积物,Elshahed 等发现处于该处的浮霉状菌绝大多数为不可培养的,均为未知浮霉状菌。笔者曾对不同深度的南海沉积物,主要的类别包括 *Planctomyces*、PRB clade、*Isosphaera*、*Gemmata* 和海洋厌氧氨氧化细菌 *Candidatus "Scalindua"*的序列^[37],具代表性的浮霉状菌序列进化树构建如图4所示。同时,在沉积物中,浮霉状菌的丰度与沉积物的深度有关,其中最大丰度存在于沉积物的最上层,丰度是 $(0.4-2.0) \times 10^7$ 个/g,约占细菌总数的4%–13%^[38],随着沉积物深度的增加,丰度呈减少的趋势。对照于土壤沉积物浮霉状菌的调查结果,浮霉状菌是沉积物重要的组成部分且呈现较高的多样性,Unknown Planctomycetes 在

两种不同的环境中均占非常大的比重,多样性相似但组成丰度上有差异;在影响浮霉状菌组成的环境因子上,海洋沉积物更为复杂,包括:不同海域、有机物含量、溶氧含量、甲烷、硫化物、沉积物取样的深度等。

6.2 海洋水体浮霉状菌多样性模式

黑海由于富含硫化氢并缺乏氧气,已成为研究海洋厌氧系统浮霉状菌多样性的代表海域,Fuchsmann 等调查显示,黑海水体浮霉状菌主要包括:*Rhodopirellula*、*Pirellula*、*Planctomyces* 和厌氧氨氧化细菌^[39]。笔者曾研究过西太平洋沿一个纬度梯度表层水的浮霉状菌的多样性,结果表明:寡营养海域表层水最重要的浮霉状菌是 PRB 类群,少数类群 *Planctomyces* 和 *Gemmata* 仅发现于少数站位^[40]。淡水环境中,如 Austre Lovénbreen 冰川、Elbe 和 Spittelwasser 河口生物膜(River biofilms)、湖泊赤潮等,浮霉状菌的多样性代表组成为 *Pirellula*、*Planctomyces*、*Gemmata* 和 Unknown Planctomycetes^[41-42]。由于环境的不同,海洋水体与淡水浮霉状菌差别如下:*Gemmata* 在海洋水体中报道较少,而在淡水中则为一主要类群;厌氧氨氧化细菌只在厌氧环境有报道,但淡水与海洋水体的厌氧氨氧化组成明显不同,后者的主要类别为 *Candidatus "Scalindua"*;Unknown Planctomycetes 虽然在二种水体环境中均有报道,但在进化树上明显聚于不同的类别;丰度上,淡水中浮霉状菌丰度占细菌总数的2%–10%,而海洋水体则受有机物、温度、纬度、及水流影响较大,寡营养海域的丰度明显少于淡水^[40]。对比于非自然环境如污水处理器,*Gemmata*、*Isosphaera* 和厌氧氨氧化细菌等的组成明显不同于海洋水体浮霉状菌^[43]。

对比于非培养的分子生物学手段,分离纯菌株也是浮霉状菌模式调查的一种补充手段,其中藻类和海绵体是浮霉状菌分离成功较多的环境,如 Lage 等从12种大型巨藻分离的可培养细菌中发现近65%为 *Rhodopirellula baltica*^[44];Pimentel-Elardo

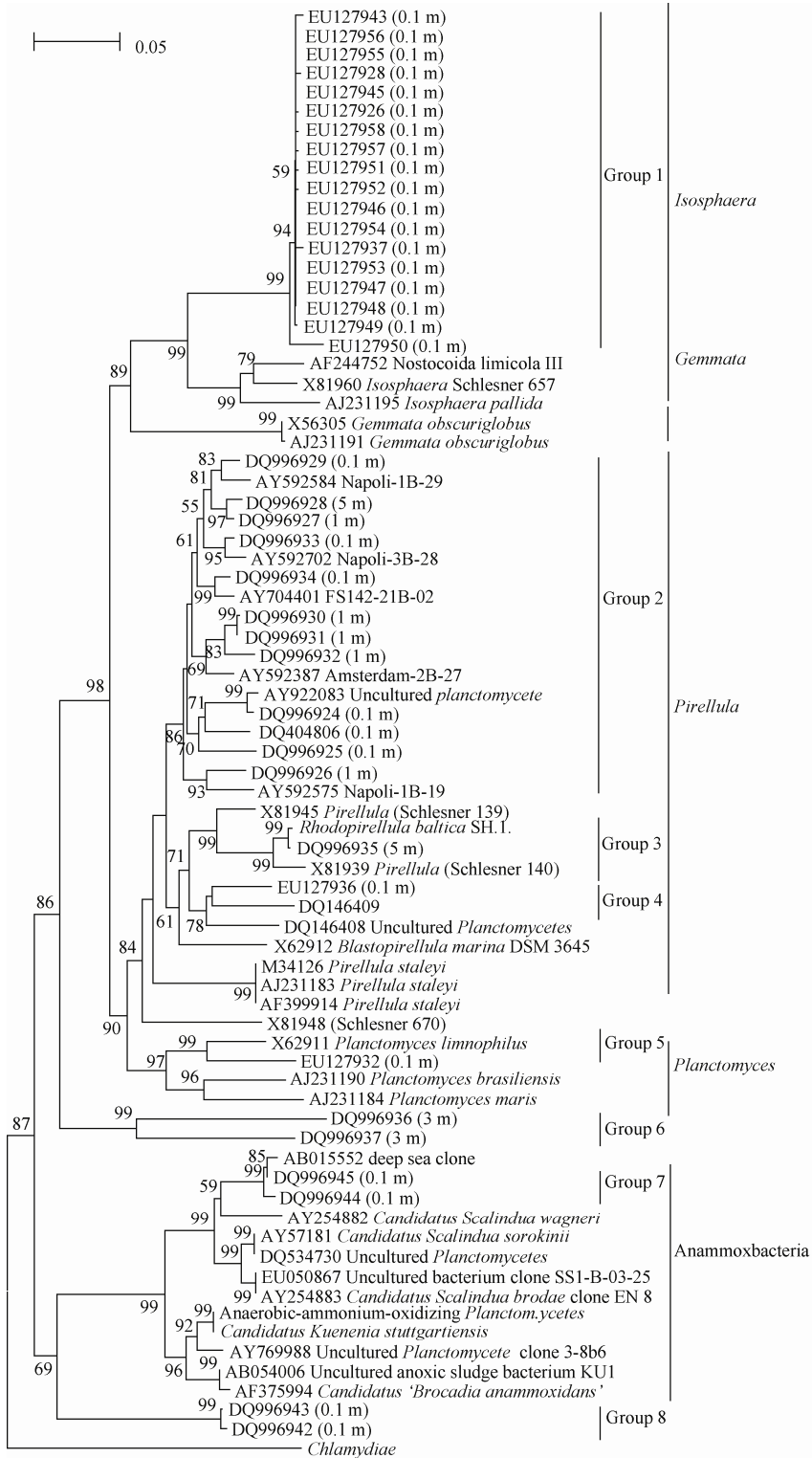


图 4 南海沉积物浮霉状菌的多样性

Figure 4 Planctomycetes diversity from sediment of South China Sea

注：以衣原体为 Outgroup 构建的 NJ 进化树；进化距离刻度标尺为 0.05；在树枝上数值为 Bootstrap 值=100 的似然值。
Note: The NJ tree was determined using the Chlamydiae as an outgroup reference. The distance scale=0.05. The number on the nodes represents the Neighbor-Joining probability while bootstrap value=100.

等从海洋 *Aplysina* 海绵体中分离出了 *Pirellula* sp. strain 797^[45], 为认识海洋浮霉状菌的多样性及典型菌株的生态生理过程提供了进一步的证据。

近十年来的海洋浮霉状菌的多样性调查, 主要关注于典型海洋环境中的菌群结构对应于不同环境因子的变化及特殊功能类群, 如海洋厌氧氨氧化细菌、含 C1 途径、含变形菌视紫质浮霉状菌的分布及多样性模式等, 这是海洋浮霉状菌的多样性研究非常重要的基础。但是, 浮霉状菌种类繁多、功能独特、生态作用重要, 其多样性研究尚有许多深入研究的方向: 如其多样性与生态作用的对应关系、与其它细菌的共进化研究、与其它细菌在海洋元素循环中相互协同作用、海洋纯菌株的分离、不可培养细菌的生理特点等。

7 海洋浮霉状菌多样性研究展望

作为一类具重要生态作用的环境微生物, 近十年来, 浮霉状菌一直是海洋微生物学家关注的焦点。结合以前的工作, 笔者认为以下方面亟待加强。

7.1 大力发展海洋浮霉状菌的分离纯化技术

现有浮霉状菌的 16S rRNA 分类显示较大的差异, 远超过现在微生物上定义的属之间的差异值, 极有可能还有很多的属于浮霉状菌的代表种属未被分离得到, 而这要求现有分离方法的改进和新分离的尝试方法, 如能否应用流式细胞仪的技术用于分选富集环境浮霉状菌等。

7.2 深入挖掘浮霉状菌基因组信息

浮霉状菌基因组的深入分析, 往往能提供非常丰富的进化和生理信息, 如 *Candidatus Kueneia stuttgartiensis* 的基因组中发现了十分有趣的厌氧氨氧化过程相关酶基因和醚状脂质合成相关酶等; 但其它浮霉状菌的基因组分析待进一步深化, 应彻底改变现在浮霉状菌基因组研究重测序, 轻分析的现象。

7.3 多角度发展特异性分子标记

海洋浮霉状菌绝大多数为不可培养的细菌, 虽然分子标记已经有了较大的发展, 但浮霉状菌涉及

的种属多、环境广, 现有的分子标记有时还不完善, 还不能相互印证甚至有时还有矛盾的地方, 致使调查不深入、不彻底。因此, 多角度发展特异的分子标记, 能更加深入其多样性调查及其生态作用的研究。

7.4 重视分离株的分子、细胞进化研究

浮霉状菌是我们认识原核与真核进化的重要的模式微生物, 浮霉状菌具丰富的多样性, 但是在其进化地位及起源上有很多的争论, 有学者认为浮霉状菌是在细菌进化树树根的祖先之一, 另有学者则认为浮霉菌应该是替代 Hyperthermophiles 的一个分支, 但进化很快。其进化之树的扑朔迷离要求多角度的证据, 这就要求包括细胞学、比较基因组学和分子进化钟等方面的深入研究。

7.5 加深海洋厌氧氨氧化细菌研究

作为最有特点的浮霉状菌——厌氧氨氧化细菌, 在环境氮循环中起着十分重要的作用, 但是环境厌氧氨氧化细菌的研究、环境厌氧氨氧化细菌与微生物的竞争/协同机制尚不明瞭, 环境厌氧氨氧化细菌在污水处理方面的应用还处于起步, 这些也是浮霉状菌亟需深入研究的领域。

参 考 文 献

- [1] Gloeckner FO, Bauer M, Teeling H, et al. The complete genome sequence of the marine planctomycete *Pirellula* sp. strain 1[J]. Abstracts of the General Meeting of the American Society for Microbiology, 2003, 103: 292-310.
- [2] Strous M, Pelletier E, Manganot S, et al. Deciphering the evolution and metabolism of an anammox bacterium from a community genome[J]. Nature, 2006, 440(7085): 790-794.
- [3] Clum A, Tindall BJ, Sikorski J, et al. Complete genome sequence of *Pirellula staleyi* type strain (ATCC 27377(T)) [J]. Standards in Genomic Sciences, 2009, 1(3): 308-316.
- [4] Speth DR, Hu B, Bosch N, et al. Comparative genomics of two independently enriched "candidatus kueneia stuttgartiensis" anammox bacteria[J]. Frontiers in Microbiology, 2012(3): 307-307.
- [5] Freitag TE, Prosser JI. Community structure of ammonia-oxidizing bacteria within anoxic marine sediments[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69(3): 1359-1371.
- [6] Krieg NR, Garrity GM. The Bacteroidetes, Spirochaetes, Tenericutes (Mollicutes), Acidobacteria, Fibrobacteres, Fusobacteria, Dictyoglomi, Gemmatimonadetes, Lentisphaerae, Verrucomicrobia, Chlamydiae, and

- Planctomycetes[A]//Bergey's Manual of Systematic Bacteriology[M]. 2nd Edition, 2011: 4,56-58.
- [7] Shu Q, Jiao N. New primers for amplification of the planctomycetes 16S rRNA gene from environmental samples[J]. Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology, 2008, 16(4): 330-336.
- [8] Butler MK, den Camp HJMO, Harhangi HR, et al. Close relationship of RNase P RNA in Gemmata and anammox planctomycete bacteria[J]. FEMS Microbiology Letters, 2007, 268(2): 244-253.
- [9] Wagner M, Horn M. The *Planctomycetes*, *Verrucomicrobia*, *Chlamydiae* and sister phyla comprise a superphylum with biotechnological and medical relevance[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2006, 17(3): 241-249.
- [10] van Niftrik LA, Fuerst JA, Damste JSS, et al. The anammoxosome: an intracytoplasmic compartment in anammox bacteria[J]. FEMS Microbiology Letters, 2004, 233(1): 7-13.
- [11] Fuerst JA. Intracellular compartmentation in planctomycetes[J]. Annual Review of Microbiology, 2005, 59: 299-328.
- [12] Fuerst JA, Sagulenko E. Protein uptake by bacteria: An endocytosis-like process in the planctomycete *Gemmata obscuriglobus*[J]. Communicative & Integrative Biology, 2010, 3(6): 572-575.
- [13] Bauer M, Lombardot T, Teeling H, et al. Archaea-like genes for C-1-transfer enzymes in *Planctomycetes*: Phylogenetic implications of their unexpected presence in this phylum[J]. Journal of Molecular Evolution, 2004, 59(5): 571-586.
- [14] McCarren J, DeLong EF. Proteorhodopsin photosystem gene clusters exhibit co-evolutionary trends and shared ancestry among diverse marine microbial phyla[J]. Environmental Microbiology, 2007, 9(4): 846-858.
- [15] Sabehi G, Loy A, Jung KH, et al. New insights into metabolic properties of marine bacteria encoding proteorhodopsins[J]. PLoS Biology, 2005(3): e273.
- [16] Bengtsson MM, Ovreas L. Planctomycetes dominate biofilms on surfaces of the kelp *Laminaria hyperborea*[J]. BMC Microbiology, 2010, 10(260): 1-12.
- [17] Granberg K. Kasviplanktonin merkityksestä vesilaitoksen raakaveden tarkkailussa[J]. Limnol. Foren. I Finland Limnol. Symp, 1968: 34-43.
- [18] Elshahed MS, Youssef NH, Luo Q, et al. Phylogenetic and meta-bolic diversity of planctomycetes from anaerobic, sulfide- and sulfur-rich Zodletone Spring, Oklahoma[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(15): 4707-4716.
- [19] Kunisawa T. Evaluation of the phylogenetic position of the sulfate-reducing bacterium *Thermodesulfovibrio yellowstonii* (phylum Nitrospirae) by means of gene order data from completely sequenced genomes[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2010, 60: 1090-1102.
- [20] LaButti K, Sikorski J, Schneider S, et al. Complete genome sequence of *Planctomyces limnophilus* type strain (Mu 290(T))[J]. Standards in Genomic Sciences, 2010, 3(1): 47-56.
- [21] Pearson A, Budin M, Brocks JJ. Phylogenetic and biochemical evidence for sterol synthesis in the bacterium *Gemmata obscuriglobus*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2004, 101(11): 3991-3991.
- [22] Shu Q, Jiao N. Developing a novel approach of *rpoB* gene as a powerful biomarker for the environmental microbial diversity[J]. Geomicrobiology Journal, 2013, 30(2): 108-119.
- [23] Sitting M, Schlesner H. Chemotaxonomic investigation of various prosthecae and/or budding bacteria[J]. Systematic and Applied Microbiology, 1993, 16(2): 92-103.
- [24] Kerger BD, Mancuso CA, Nicholds PD, et al. The budding bacteria, *Pirellula* and *Planctomyces*, with atypical 16S rRNA and absence of peptidoglycan, show eubacterial phospholipids and uniquely high proportions of long chain beta-hydroxy fatty acids in the lipopolysaccharide lipid A[J]. Archives of Microbiology, 1988, 149: 255-260.
- [25] Jenkins C, Fuerst JA. Phylogenetic analysis of evolutionary relationships of the planctomycete division of the domain bacteria based on amino acid sequences of elongation factor Tu[J]. Journal of Molecular Evolution, 2001, 52(5): 405-418.
- [26] Chipman L, Podgorski D, Green S, et al. Decomposition of plankton-derived dissolved organic matter in permeable coastal sediments[J]. Limnology and Oceanography, 2010, 55(2): 857-871.
- [27] Divya B, Parvathi A, Bharathi PAL, et al. 16S rRNA-based bacterial diversity in the organic-rich sediments underlying oxygen-deficient waters of the eastern Arabian Sea[J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2011, 27(12): 2821-2833.
- [28] Du J, Xiao K, Huang Y, et al. Seasonal and spatial diversity of microbial communities in marine sediments of the South China Sea[J]. Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology, 2011, 100(3): 317-331.
- [29] Dang H, Li J, Chen M, et al. Fine-scale vertical distribution of bacteria in the East Pacific deep-sea sediments determined via 16S rRNA gene T-RFLP and clone library analyses[J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2009, 25(2): 179-188.
- [30] Izumi H, Sagulenko E, Webb RI, et al. Isolation and diversity of planctomycetes from the sponge *Niphates* sp., seawater, and sediment of Moreton Bay, Australia[J]. Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology, 2013, 104(4): 533-546.
- [31] Zeng YX, Yan M, Yu Y, et al. Diversity of bacteria in surface ice of Austre Lovénbreen glacier, Svalbard[J]. Archives of Microbiology, 2013, 195(5): 313-322.
- [32] Ghosh A, Dey N, Bera A, et al. Culture independent molecular analysis of bacterial communities in the mangrove sediment of Sundarban, India[J]. Saline Systems, 2010, 6(1): 1.
- [33] Quaiser A, Zivanovic Y, Moreira D, et al. Comparative metagenomics of bathypelagic plankton and bottom sediment from the Sea of Marmara[J]. International Society for Microbial Ecology Journal, 2011, 5(2): 285-304.

- [34] Tait K, Laverock B, Shaw J, et al. Minor impact of ocean acidification to the composition of the active microbial community in an Arctic sediment[J]. Environmental Microbiology Reports, 2013, 5(6): 851-860.
- [35] Wei M, Zhang R, Wang Y, et al. Microbial community structure and diversity in deep-sea hydrothermal vent sediments along the Eastern Lau Spreading Centre[J]. Acta Oceanologica Sinica, 2013, 32(2): 42-51.
- [36] Storesund JE, Ovreas L. Diversity of Planctomycetes in iron-hydroxide deposits from the Arctic Mid Ocean Ridge (AMOR) and description of *Bythopirellula goksoyri* gen. nov., sp. nov., a novel Planctomycete from deep sea iron-hydroxide deposits[J]. Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology, 2013, 104(4): 569-584.
- [37] Shu Q, Jiao N. Profiling *Planctomycetales* diversity with reference to anammox-related bacteria in a South China Sea, deep-sea sediment[J]. Marine Ecology-an Evolutionary Perspective, 2008, 29(4): 413-420.
- [38] Kulichevskaya IS, Pankratov TA, Dedysh SN. Detection of representatives of the *Planctomycetes* in Sphagnum peat bogs by molecular and cultivation approaches[J]. Microbiology, 2006, 75(3): 329-335.
- [39] Fuchsman CA, Staley JT, Oakley BB, et al. Free-living and aggregate-associated *Planctomycetes* in the Black Sea[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2012, 80(2): 402-416.
- [40] Shu Q, Jiao N. Different *Planctomycetes* diversity patterns in latitudinal surface seawater of the open sea and in sediment[J]. Journal of Microbiology, 2008, 46(2): 154-159.
- [41] Bruemmer IHM, Felske ADM, Wagner-Dobler I. Diversity and seasonal changes of uncultured *Planctomycetales* in river biofilms[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2004, 70(9): 5094-5101.
- [42] Zeng Y, Zou Y, Chen B, et al. Phylogenetic diversity of sediment bacteria in the northern Bering Sea[J]. Polar Biology, 2011, 34(6): 907-919.
- [43] Chouari R, Le Paslier D, Daegelen P, et al. Molecular evidence for novel planctomycete diversity in a municipal wastewater treatment plant[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69(12): 7354-7363.
- [44] Lage OM, Bondoso J. Planctomycetes diversity associated with macroalgae[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2011, 78(2): 366-375.
- [45] Pimentel-Elardo S, Wehrl M, Friedrich AB, et al. Isolation of planctomycetes from Aplysina sponges[J]. Aquatic Microbial Ecology, 2003, 33(3): 239-245.

征订启事

欢迎订阅《微生物学通报》

《微生物学通报》创刊于1974年,是中国科学院微生物研究所和中国微生物学会主办,国内外公开发行,以微生物学应用基础研究及技术创新与应用为主的综合性学术期刊。刊登内容包括:基础微生物学研究,农业微生物学研究,工业微生物学研究,医学微生物学研究,食品微生物学研究,环境微生物学研究,微生物功能基因组研究,微生物蛋白组学研究,微生物模式菌株研究,微生物工程与药物研究,微生物技术成果产业化及微生物教学研究改革等。

本刊为中国自然科学核心期刊。曾获国家优秀科技期刊三等奖,中国科学院优秀科技期刊三等奖,北京优秀科技期刊奖,被选入新闻出版总署设立的“中国期刊方阵”并被列为“双效”期刊。

自2008年本刊已经全新改版,由双月刊改为月刊,发表周期缩短,内容更加丰富详实。欢迎广大读者到邮局订阅或直接与本刊编辑部联系购买,2014年每册定价58元,全年696元,我们将免邮费寄刊。

邮购地址:(100101)北京朝阳区北辰西路1号院3号中国科学院微生物研究所《微生物学通报》编辑部

Tel: 010-64807511; E-mail: bjb@im.ac.cn, tongbao@im.ac.cn

网址: <http://journals.im.ac.cn/WSWXTBCN>

国内邮发代号: 2-817; 国外发行代号: M413