

## 微生物的生物多样性及应用前景\*

阎章才

(国家自然科学基金委员会生命科学部 北京 100085)

东秀珠\*\*

(中国科学院微生物研究所 北京 100080)

**摘要:**根据微生物的特性,从物种、生理代谢类群及遗传背景几个方面简述了它们的生物多样性及其研究的重要意义。并从基因组学的研究发展展望了对微生物多样性的认识和其资源利用的前景,希望能引起科学界和全社会对这个生物资源的重视。

**关键词:**微生物的生物多样性,应用前景

**中图分类号:**Q93 **文献标识码:**A **文章编号:**0253-2654(2001)01-096-07

生物资源是地球上人类赖以生存的基础,然而由于人类活动的加剧,引起了全球环境的迅速变化,也威胁着人类的生存及其他生物种群的衰亡。据统计,在过去的2亿年中平均每27年就有一种植物物种从地球上消失,每100年就有90种脊椎动物灭绝。由于人类的干预使物种的灭绝速度比自然灭绝快1000倍。因而最大限度地保护生物多样性已成为国际社会关注的热点,1992年在联合国环境与发展大会上,包括中国在内的153个国家签署了《生物多样性公约》,从而保护生物多样性成为全球人类的联合行动。

微生物是生物中一群重要的分解代谢类群,没有微生物的活动地球上的生命是不可能存在的。微生物是地球上最早出现的生命形式,其生物多样性在维持生物圈和为人类提供广泛的、大量的未开发资源方面起着重要的作用,据估计每年仅向全球药业市场提供的原材料就是500亿美元<sup>[1]</sup>;但它们中的一些成员又是人类和其他生物敌人,如历史上数次流行并杀死了数以万计生命的鼠疫、伤寒、霍乱以及20世纪下半叶开始威胁人类的艾滋病等。然而由于微生物的微观性,尤其原核微生物简单的单细胞结构、繁殖快、无准确的基线用于统计等原因,对于它们的生物多样性研究远没有宏观生物那样受到重视。尽管人类的干扰取样似乎未造成它们种群灭绝的危险,但宿主的失去也导致了某些微生物种群的消失和演替。已知有8%的真菌种群处于濒危状态,一些处于特殊生境的真菌种已被其他取代。因而对微生物多样性的认识、保护是整个生物圈保护中必不可少的内容。1993年第24届国际科联通过的DIVERSITAS计划中列出了5个核心研究计划和5个特殊研究领域,其中2个领域是关于微生物生物多样性的研究,足以说明国际社会对此领域的关注。

微生物的生物多样性主要表现在物种和基因水平上,本文拟从原核微生物的物种、生理代谢类群及遗传背景方面简述它们的生物多样性及研究的重要性,意在引起科学界和全社会对这类重要生物资源的关注和重视。

\* 中国微生物学会“迎接21世纪微生物学研讨会”大会报告整理稿

\*\* 中国科学院微生物研究所研究员、博士生导师

收稿日期:2000-10-09

## 1 微生物的物种多样性

至今,人类对微生物多样性的估计在很大程度上只是反映了它们与高等生物的专一的或兼性的依赖关系,而我们对这些关系的了解还十分肤浅。另外,由于研究手段的限制,许多微生物的种群仍不能分离培养;因此,建立在培养手段上的多样性估计对单细胞的原核微生物尤为困难。1992年 Bull 等<sup>[2]</sup>根据全球不完全的统计得知,已描述的真菌种是 69,000 个,占全部的 5%;已描述的细菌种是 4760 个,占全部的 12%;已描述的病毒种是 5000 个,占全部的 4%;高等动植物的种群基本全部描述记载,其中高等植物为 250,000,昆虫为 1~6 千万,而微生物和无脊椎动物的已描述种群最少。然而 Amann 等(1995)根据在原位、无培养的微生物系统发育学研究,认为自然界中 95%~99% 的微生物种群未被分离培养和描述<sup>[3]</sup>,因而推算地球上仅细菌应有 10~50 万种。

R. Amann(2000)在谈到不同生物种群蕴涵着最大的多样性时,认为不仅要考虑特定类群的种群数量,更重要的是它所包含物种间的差异程度<sup>[4]</sup>。从这个意义上讲,庞大的多样性显然存在于微生物王国。1977年, Woese 等根据不同生物类群细胞中 ssu rRNA 的序列同源性提出了生物的三域学说<sup>[5]</sup>,即地球上所有的细胞生物由细菌、古菌和真核生物三域组成,其中

前二域均属原核微生物,传统上的微生物真菌属于真核生物。图 1 则是 rRNA 生命系统发育树中三域生物的主要进化分支和它们的相对位置。在这个图中 Woese 认为可培养的细菌构成了 12 个主要进化分支,然而在过去 10 年中,科学家利用分子手段和非培养方法进行了环境中微生物群体的调查,根据 8000 个代表性细菌种群的 16S rRNA 序列推测仅细菌域就由约 36 或 40 个进化分支组成<sup>[6]</sup>,每个分支相当于分类阶元“门”,各“门”之间的 16S rRNA 序列差异可达 25%(表 1)。其中约 1/3“门”的细菌尚无一被培养和描述,1/3“门”仅少数被培养;只有 4 个“门”的细菌的 90% 已被培养,它们是变形菌门、噬纤维菌-黄杆菌-拟杆菌、高 GC 和低 GC 含量的革兰氏阳性细菌<sup>[6]</sup>。

## 2 原核微生物的生理类群多样性

原核微生物具有多种多样的代谢方式和生理功能,可适应各种生态环境并以不同的生活方式与其他生物相互作用,构成了丰富多彩的生态体系。正如美国加州技术研究所的 Ken Neelson 所说,实际上在地球的任何一个能够产生能量的生境中都有微生物的存在。

### 2.1 代谢类型的多样性

微生物是物质循环中的分解代谢类群,代谢类型的多样性也表现在物质的分解代谢上,但其中也不乏合成代谢的类群。代谢所利用的能源有光能也有化学能;代谢中产生的电子受体可以是有机物也可以为无机物;代谢的环境可以有氧也可无氧,因而出现了如表 2 的各种代谢图谱。

除此之外,同一种微生物还会因环境的变化而改变代谢类型,如紫色硫细菌在白天利用光合作用获得能量,并氧化 H<sub>2</sub>S 为元素硫,还原 CO<sub>2</sub> 为储存物质糖原;而在夜晚或阴天时进行化能营养,氧化糖原产生乙酸。

表 1 三域生命之间的 ssu rRNA 序列同源性(%)

	古 菌 ( <i>H. volcanii</i> )	细 菌 ( <i>E. coli</i> )	真核生物 ( <i>Dictyostelium discoidenum</i> )
古菌	>70	59~63	54~56
细菌		>75	53

表 2 细菌的营养代谢类型及代表

	好 氧		厌 氧	
	无机营养	有机营养	无机营养	有机营养
光能营养	蓝绿细菌	无	绿硫杆菌	红细菌
化能营养	亚硝化单胞菌	假单胞菌	硫小杆菌	梭菌

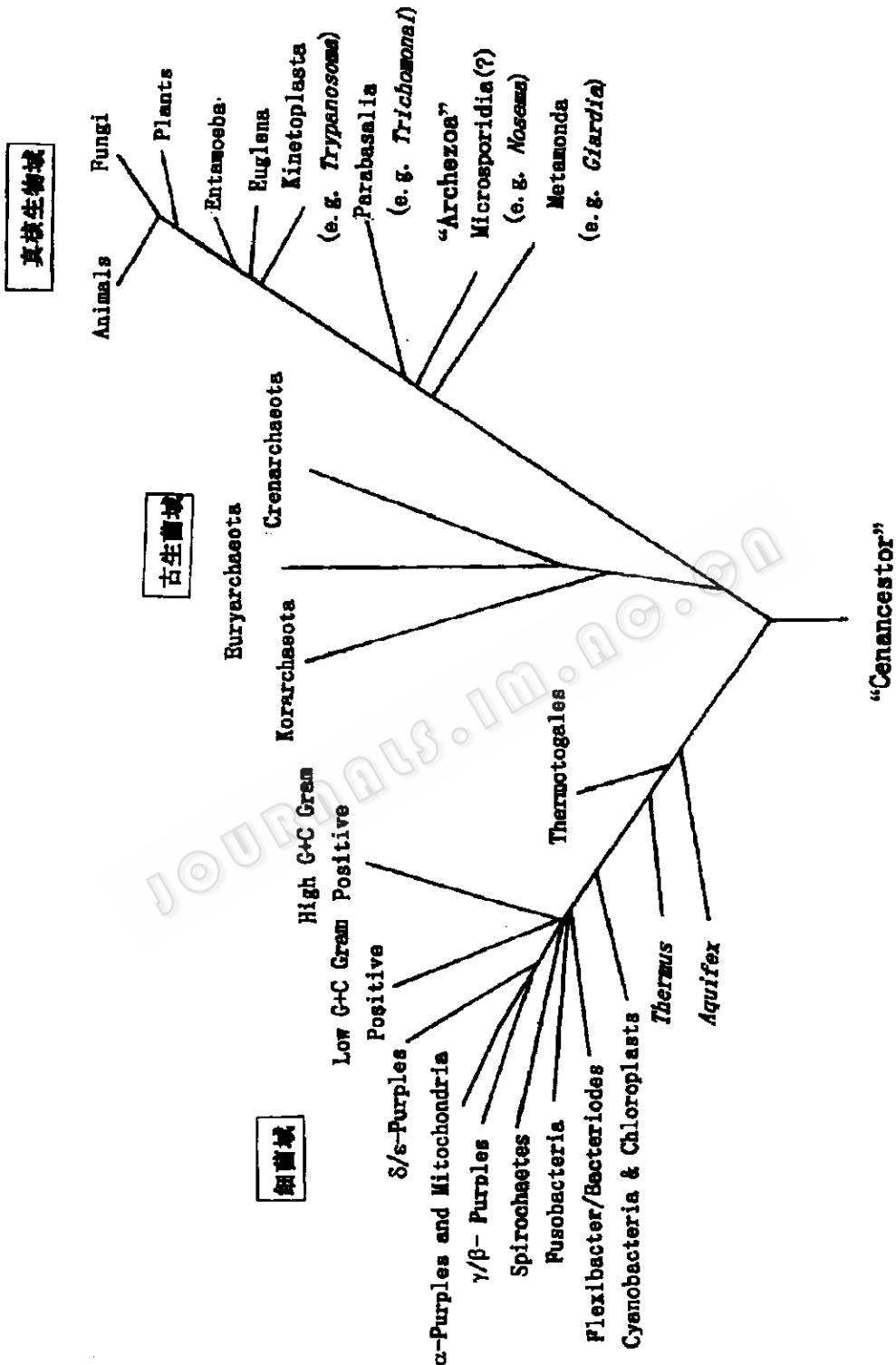


图1 r RNA 的生命系统发育树

在细菌域(Bacteria)、古菌域(Archaea)和真核生物域(Eucarya)中主要进化群之间的相对位置。进化树的“根”(Cenacestor)依据平行同源基因的同源性分析产生。引自 Brown 和 Doolittle(1997)<sup>[5]</sup>

自养营养是细菌特有的生活类型,哪怕是地球上主要的基础生产者——植物的叶绿体也是起源于蓝细菌。但目前对细菌的自养营养方式我们也只肤浅地了解固氮作用和  $\text{CO}_2$  固定作用,而对铁、氢及硫代谢了解甚少。

所有自然的或生物合成的物质最终都由微生物降解,包括纤维素、半纤维素、木质素、难降解的卤素苯环化合物等对于其他生物来说是营养极限的物质。

**2.2 生境的广泛性** 高等生物能够通过功能专化和分化的细胞或器官适应逆境,而微生物使用的是适应性不同的单细胞群体,因而形成了具有耐受或适应广泛的特殊环境的生物种群。它们能够耐受烧烤、冰冻、酸、碱、高盐、无氧、营养极限等使其他生物束手无策的极端环境,尤其是古菌,它们多生活在地球上开始出现生命的原始环境和极端环境。

已知古菌中的极端嗜热和超嗜热的类群,如热网菌(*Pyrodictium*)和热球菌(*Pyrococcus*)的最适生长温度是  $105^\circ\text{C}$ ;极端嗜盐古菌的生长要求至少  $1.5\text{mol/L NaCl}$ ,其中盐杆菌属(*Halobacterium*)的成员要求  $5.2\text{mol/L NaCl}$ 。无细胞壁的古菌-嗜酸热原体(*Thermoplasma acidophilum*)的最适 pH1.8;一些嗜盐碱古菌如盐碱红菌属(*Natronorubrum*)的最适 pH 达 11。

只有微生物能在无氧环境中生活,尤其产甲烷古菌要求氧压低于  $10^{-8}\text{atm}$ 。方能生长。在厌氧污水处理器、瘤胃等各种厌氧环境的微生物进行着必要的物质转化。厌氧呼吸是细菌特有的功能,如将硝酸盐还原为大气氮,将硫酸盐还原为元素硫或  $\text{H}_2\text{S}$ ,将  $\text{CO}_2$  还原为乙酸或甲烷,从而维持着自然生境的物质循环,其作用是其他生物无法替代的。

**2.3 生活方式的多样性** 微生物同其他生物间的关系也因种群而异,它们可通过代谢活动为其他生物提供营养,也可对它们的生命活动有所抑制甚至致死。根据微生物对其他生物的依赖关系可分为腐生、互生、共生和寄生。表 3 列出了不同生态体系中微生物的代表菌群与其他生物间的关系。

表 3 微生物与其他生物之间的相互关系

关 系	微生物种群	其他生物体、部位	功能作用
腐 生	肠杆菌、芽孢菌	代谢物质或尸体	分解代谢
互 生	拟杆菌、乳酸菌	动物肠道	抑制肠道病原、提供酶、维生素
	成团肠杆菌	水稻体内	可能固氮
	厌氧产酸细菌	甲烷菌	互营降解脂肪酸产甲烷
共 生	根瘤菌	豆科植物根瘤	共生固氮
	内共生体	舌蝇中肠表皮细胞	提供维生素 B 保证寄主产卵力
	菌根菌	兰科植物	帮助植物吸取营养
寄 生	蛭弧菌	革兰氏阴性细菌	使寄主致死
	立克次氏体	人细胞内	寄主的斑疹伤寒
	黄单胞菌	植物体	多种植物病害
	锈菌	植物体	锈病

另外微生物可产生多种生物活性物质,如各种抗菌素、细菌素及短肽,而对其他菌群抑制,叫做拮抗作用。

### 3 微生物的遗传多样性

与高等生物相比,微生物的多样性在基因水平更为突出,不同种群间的遗传物质和基因表达具

有很大的差异。

**3.1 基因组大小和基因数目的多样性** 脉冲场电泳(PFGE)方法及其他分子生物学手段为微生物基因组的分析提供了有力的工具。已知不同种群原核生物的基因组大小范围从0.6Mb(分支杆菌)到9.45Mb(粘细菌)<sup>[8]</sup>,据估计低等真核生物如酵母菌同“高等”原核生物(链霉菌)的基因组大小无大区别。

与高等生物相比,原核生物的基因组要小得多,编码的基因数目也少得多(表4)。然而与人类基因组中90%~95%的非编码区相比,微生物对遗传物质的利用效率就高得多,相关的基因常以操纵子形式出现,这样有利于转录调控和协调表达。

表4 不同进化分支生物中预计的基因数目和基因组大小

		基因数目	基因组大小(Mb)
原核生物	<i>Mycoplasma genitalium</i>	473	0.58
	<i>Haemophilus influenzae</i>	1,760	1.83
	<i>Bacillus subtilis</i>	3,700	4.2
	<i>Escherichia coli</i>	4,100	4.7
	<i>Myxococcus xanthus</i>	8,000	9.45
真菌	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5,800	13.5
原生动物	<i>Cyanidioschyzon merolae</i>	5,000	11.7
	<i>Oxytricha similis</i>	12,000	600
节肢动物	<i>Drosophila melanogaster</i>	12,000	650
线虫动物	<i>Caenorhabditis elegans</i>	14,000	100
软体动物	<i>Loligo pealii</i>	>35,000	2,700
脊索动物	<i>Ciona intestinalis</i>	N	165
	<i>Fugu rubripes</i>	70,000	400
	<i>Danio rerio</i>	N	1,900
	<i>Mus musculus</i>	70,000	3,300
	<i>Homo sapiens</i>	70,000	3,300
植物	<i>Nicotiana tabacum</i>	43,000	4,500
	<i>Arabidopsis thaliana</i>	16,000~33,000	70~145

引自 George and Gerald(1996)<sup>[9]</sup>。

**3.2 遗传物质化学组成和DNA序列的差异** 原核生物DNA化学组成差异很大,不同种群的GC含量范围是24~76mol%,细菌种内的GC含量差别≤3%,属内的差别≤10%。另外,不同种群的基因组DNA序列差异也很大,两种DNA-DNA的结合(杂交)比例间接地反映了两种细菌DNA序列的相似性程序。通常同一个种的细菌菌株间的序列差异可高达30%。近年来发展的DNA指纹图谱也显示了细菌种内不同菌株的DNA差别很大,常用的AFLP,RAPD,ARDRA及Ribotyping等都是菌株鉴别间的重要手段。

**3.3 基因组序列所揭示的遗传背景多样性** 一些微生物基因组序列的完成为人们全方位地、深入地认识其遗传物质和结构的多样性提供了极好的素材。1996年当第一个古菌——詹氏甲烷球菌(*Methanococcus jannaschii*)的基因组全序列完成后,使得生物学家异常兴奋,“原核生物学家”和

“真核生物学家”都开始从这个古菌中寻找它们感兴趣的基因,但人们很快就发现它的特殊性。1997年 Koonin 等通过计算机软件比较了詹氏甲烷球菌和另外三个细菌的基因组序列<sup>[10]</sup>,它们是流感嗜血杆菌(*Haemophilus influenzae*)、生殖道支原体(*Mycoplasma genitalium*)和集胞蓝细菌的一个种(*Synechocystis* sp.)。通过所推测的蛋白质氨基酸序列同源性分析得知,73%的 *M. jannaschii* 蛋白具有序列保守性,其中26%是它自己特有的。在它所编码的1738个蛋白中,676个与细菌的蛋白相似,占全部的39%;544个蛋白与酵母菌的蛋白相似,占全部蛋白的31.4%。3种细菌各自特有的蛋白比例分别是:*Haemophilus influenzae* 约10%、*Mycoplasma genitalium* 约20%和 *Synechocystis* sp. 约25%。蛋白质序列相似性分析不仅支持古菌作为一个独立的进化分支,而且也揭示了原核生物遗传背景的差异和多样性。

#### 4 为什么研究微生物的生物多样性

以往人们感兴趣的微生物主要是那些模式菌株及具有直接经济价值的种群,而那些被忽视的大多数未知种群也蕴藏着目前还无法估量的资源。因而研究微生物的生物多样性是十分必要的。Tiedje(1994)<sup>[11]</sup>总结为如下理由:

(1)对极端生境微生物的研究不仅使人类了解和探索生命的策略和极限,而且为超常物质的开发利用提供了资源。嗜热酶的开发已开始为人类创造前所未有的价值,众所周知的来源水生栖热菌的 *Taq* DNA 聚合酶使 DNA 的体外复制变得异常的简便和常规化,将生物工程、基因组研究等分子生物学领域推向一个新境界。国外的一些生物公司也瞄准了这一领域,已有20多个公司申请并被获准调查黄石公园的微生物,他们已在30多种嗜热物种中发现一半以上具有加工淀粉、纸张漂白和产生乙醇的潜力。

(2)微生物在生物圈的维持中起“中枢”作用,它们是地球上生物地化学循环的主要工作者。

(3)微生物资源对生物技术尤其具有价值,它们及它们的基因代表了最大的、未开发的无价资源。在已开发的产品中包括了抗菌、抗肿瘤物质,耐热酶类,PCE 和 PCB 脱卤素菌,生物杀虫剂及促进植物生长的根际细菌。加拿大 Terragen Diversity 公司直接从土壤微生物中克隆到两个新的与 Polyketides 合成酶(PKS)有关的基因<sup>[12]</sup>,Polyketides 的代谢物多是抗菌物质或有其他药效的物质。PKS 序列的变化有可能产生新的抗菌物质。ARIAD 公司和 Wisconsin 大学通过非培养手段建立了土壤微生物总基因组文库,并从中筛选到了抗白血病的靛玉红基因<sup>[13]</sup>。

我国学者也利用无培养的手段从土壤中直接克隆到了一些新酶或分子伴侣的基因,其中有催化手性化合物(环氧化酶)酶。

(4)微生物可用于监控环境变化,它们的群体通常对环境状况反应迅速,因而是一个地区或历史环境变迁的良好记录。

(5)微生物在高等生物的保护和恢复生物学中起重要作用,如菌根真菌可帮助植物成功地将根定植在土壤中,因而实现本地区的森林再造。人和动物的微生物生态学则是建立在人体正常菌群和人体建立的和谐的基础上的一门科学。

(6)微生物可作为阐明生态和生物进化原理的模式,因为它们容易操作、具有独特的交叉反应并在地球上存在的历史悠久。

#### 5 基因组时代为微生物多样性的认识和应用展示了美好的前景

基因组时代的到来,将一个崭新的、全面的和内在的微生物世界展现在人们面前,它充分显示了微生物的生物多样性,并揭示了生物进化的动力。到2000年4月的统计,已有27个原核生物的

全基因组序列全部完成发表,另有95个正在进行中。基因组序列的完成为生物信息学、功能基因组学和比较基因组学研究奠定了基础。

生物信息学不只是基因的线状排列名单,而是与生物化学功能、基因表达概貌及细胞功能相关的数据库。它的最重要的目标之一是预测蛋白质的功能。

功能基因组学的目标是利用基因组序列的数据去开掘基因和蛋白的功能,并阐明基因和产物间高层次的相互作用。它的主要任务之一是探讨那些功能尚未知的“孤儿基因”。研究发现在 *E. coli* 和酿酒酵母菌中有15%~20%的“孤儿基因”存在,古菌-詹氏甲烷球菌的“孤儿基因”高达56%<sup>[14]</sup>。欧洲50个实验室联盟对功能基因组的研究发现,在酿酒酵母菌的600个“孤儿基因”中有13%对生命是必须的<sup>[15]</sup>。说明人类对研究了一个世纪之久的模式生物的了解仍处在前基因组学时期。然而已建立的基因转录分析(如差异显示、DNA微排列技术、ESTs、SAGE)和蛋白质表达分析技术(蛋白组学)将结合基因组序列数据,为功能基因组学展示了一个光明的前景。

比较基因组学不仅为不同生物群体中存在的相似的生活模式比较提供了数据库,而且还作为用于特殊靶位点的生物活性物质的设计及作用方式奠定了基础。这些学科的发展将会为人类开发利用丰富的微生物资源和维持地球上的生命环境做出巨大的贡献。

### 参 考 文 献

- [1] ten Kate. Global Biodiversity Forum. 1995, Nov, Jakarta, 4/5.
- [2] Bull A T, Goodfellow M, Slater J H. Annual Rev Microbiol, 1992, **40**: 219~252.
- [3] Amann R I, Ludwig W, Schleifer K H. Microbiol Rev, 1995, **59**: 143~169.
- [4] Amann R. Syst Appl Microbiol, 2000, **23**: 1~8.
- [5] Woese C R, Fox G E. Proceedings of National Academy of Sciences of USA, 1977, **74**: 5088~5090.
- [6] Hugenholtz P, Goeble B M, Pace N R. J Bacteriol, 1998, **180**(18): 4765~4774.
- [7] Brown J R, Doolittle W F. Microbiol Mol Biology Rev, 1997, **61**: 456~502.
- [8] Cole S T, Girons I S. FEMS Microbiol Rev, 1994, **14**: 139~160.
- [9] George, Gerald. Cell, 1996, **86**: 521~529.
- [10] Koonin E V, Mushegian A R, Galperin M Y, et al. Molecular Microbiol, 1997, **25**: 619~637.
- [11] Tiedje J M. A S M News, 1994 **60**: 524~525.
- [12] Seow K-T, Meurer G, Gerlitz M, et al. J Bacteriol, 1997, **179**(3): 7360~7368.
- [13] Osburne M S, Grossman T H, August P R, et al. ASM News, 2000, **66**(7): 411~417.
- [14] winzeler E. ASM News, 1997, **63**(6): 312~313.
- [15] Pallen M J. Molecular Microbio, 1999, **32**(5): 907~912.