

深海微生物研究应更加关注极端环境条件下微生物的能量代谢过程，这直接决定了深海微生物参与生物地球化学循环的范围与深度。

肖湘

## 深海微生物高压适应与生物地球化学循环

李学恭<sup>1,2</sup> 徐俊<sup>2</sup> 肖湘<sup>2\*</sup>

(1. 中国海洋大学 海洋生命学院 山东 青岛 266100)

(2. 上海交通大学 生命科技学院 微生物海洋学实验室 上海 200240)

**摘要:** 深海是典型的高压环境，嗜压微生物是深海生态系统中的重要类群。随着深海采样技术的发展及高压微生物特殊培养设备的开发，已从深海环境中分离到一系列嗜压微生物，包括一些常压环境不能生长的严格嗜压菌。对这些嗜压菌的研究，不仅对微生物适应极端高压环境的机制有一定了解，而且发现了一些特殊的代谢产物。研究微生物高压嗜压机理，还有助于探索地球生命的温度压力极限及生命起源和演化等科学问题。从深海嗜压微生物多样性、深海微生物高压环境适应机理及深海微生物在生物地球化学循环中的作用等方面对嗜压微生物的研究进展进行综述。

**关键词:** 深海，嗜压微生物，压力适应，生物地球化学循环

基金项目：国家自然科学基金项目(No. 40830213)

\*通讯作者：Tel: 86-21-34207206; 信箱: xoxiang@sjtu.edu.cn

收稿日期：2012-10-20; 接受日期：2012-11-20

# High pressure adaptation of deep-sea microorganisms and biogeochemical cycles

LI Xue-Gong<sup>1,2</sup> XU Jun<sup>2</sup> XIAO Xiang<sup>2\*</sup>

(1. College of Marine Life Science, Ocean University of China, Qingdao, Shandong 266100, China)

(2. Laboratory of Microbial Oceanography, Department of Life Science and Technology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

**Abstract:** Deep-sea environment is typically under pressure where piezophiles are the dominant life-forms in such ecosystem. As the development of sampling and cultivation techniques, various piezophilic microorganisms have been isolated from deep-sea, including certain obligate piezophilic species which cannot grow under ambient pressure. Through previous systematic investigations on these piezophiles, the adaptation mechanism to elevated pressure has been partly revealed and some unique metabolites have been identified. Moreover, the research on piezophilic microorganisms also helps us to better understand the limitation, origin and evolution of life. This review will focus on the diversity of piezophilic microorganisms and their adaptation strategies, thereafter try to illustrate the important roles that the deep-marine microorganisms have been playing on the global geobiochemistry through historical record.

**Keywords:** Deep-sea, Piezophile, Piezophilic adaptation, Biogeochemistry

海洋约覆盖了地球表面积的 3/4, 平均水深约为 3 800 m, 最深处可达约 11 000 m (马里亚纳海沟)。通常深度每下降 100 m, 压力增加 1 MPa, 海底的平均压力为 38 MPa, 最大压力可达 110 MPa。深海通常是指水深超过 1 000 m 的区域, 占据世界海洋 75% 的体积, 随着深度的增加, 温度逐渐下降, 最终稳定在 3 °C 左右, 因此深海是一个黑暗、高压、寡营养及低温(海底热液口温度可达 400 °C 甚至更高)的极端环境<sup>[1]</sup>。深海生物圈是地球上最大的生物圈之一, 在深海的热液口(火山喷发)和冷泉区(甲烷渗漏)存在有不依赖于光合作用的独特生态系统, 其中热液口被认为可能是生命起源的摇篮。已知深海沉积物中的生物量几乎可以和陆地环境的土壤样品相媲美<sup>[2]</sup>。随着大洋钻探等国际综合研究计划的推进, 在地壳下 2 km 处的样品中都发现了生命的

痕迹<sup>[3]</sup>。对深海嗜压微生物的研究, 有助于阐明微生物适应高压环境的机制。同时, 深海微生物在适应环境的过程中, 进化出独特的代谢途径, 能产生特殊的代谢产物, 具有潜在的应用价值。深海嗜压微生物的极端环境生存策略还提高了对生命适应极端环境的认识和理解, 有利于探索生命的起源及生命的演化等理论问题。此外, 深海嗜压微生物在全球物质循环中也发挥着重要作用。

本文将从深海嗜压微生物的定义及多样性、嗜压微生物的压力适应机制及深海微生物在生物地球化学循环中的作用等方面对深海微生物的研究进行综述。

## 1 嗜压微生物多样性

嗜压微生物是指在高于 0.1 MPa 的压力条件

下生长优于常压条件的微生物。1884年, Certes首次深海沉积物样品中观察到了微生物的存在, 至此拉开了研究深海微生物的帷幕。1949年, ZoBell等<sup>[4]</sup>首次提出了嗜压微生物(Barophile)的概念, 定义为最适生长压力在0.1 MPa以上的生物。1979年 Yayanos等<sup>[5]</sup>从5 800 m水深的样品中, 成

功地分离到嗜压菌 *Psychromonas* sp. CNPT-3, 此后, 不断的有嗜压微生物被分离到。1995年, Yayanos等正式将嗜压微生物命名为“Piezophile”, 意为在高压下生长速率高于常压的微生物。深海微生物的研究与深海样品的采集、特殊的培养装置(图1)以及相关技术手段有密切的联系。

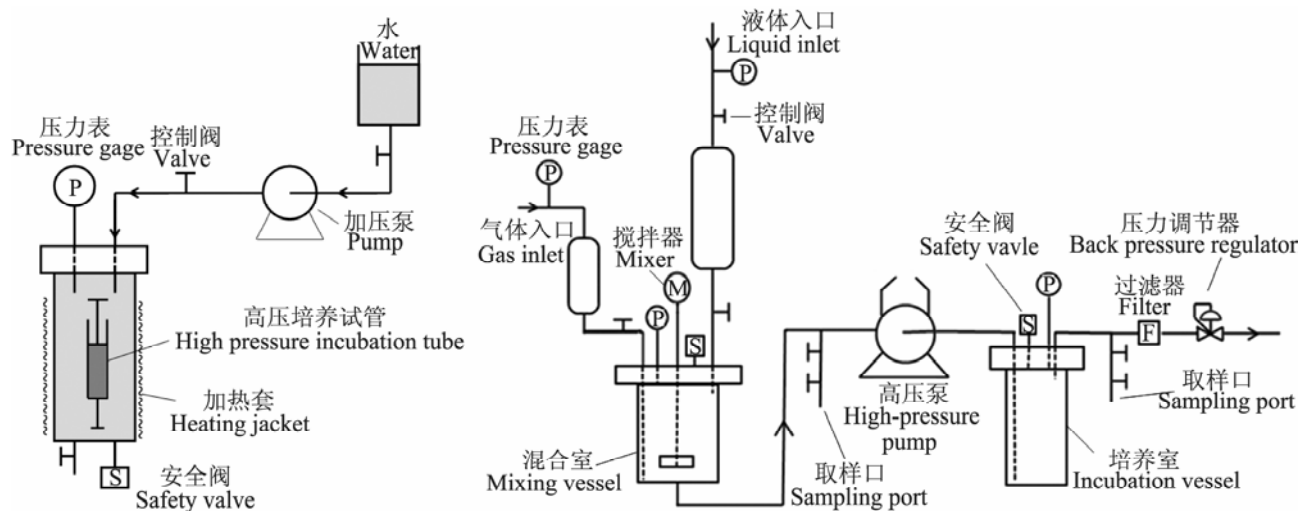


图1 高压微生物培养装置

Fig. 1 Cultivation equipments of piezophile

注: A: 高温高压培养装置; B: 高压连续培养装置<sup>[6]</sup>。

Note: A: High-temperature and high-pressure cultivation equipments; B: Continuous high-pressure cultivation equipments (modified from Yu Zhang)<sup>[6]</sup>.

压力是深海微生物生长的一个重要理化参数, 嗜压微生物在全球各大水体均有分离, 实验表明, 在超过2 000 m水深的环境中, 更容易分离到嗜压微生物。比较目前分离到的嗜压微生物生长特性与取样参数可发现, 从深海低温环境中得到的往往是嗜压/嗜冷细菌, 而分离自深海热液环境的嗜压微生物通常是嗜压/嗜热古菌。已报道的嗜压细菌主要分布于 $\gamma$ -变形菌类群中 *Photobacterium*、*Shewanella*、*Colwellia*、*Psychromonas*、*Moritella* 及 *Thioprofundum* 等属, 及部分 $\alpha$ -变形菌类群及 $\delta$ -变形菌类群。而深海嗜压古菌主要来源于热球菌属(*Thermococcus*)、火球菌属(*Pyrococcus*)和甲烷球菌属

(*Methanococcus*)。根据嗜压菌的最适生长温度, 可以分为4类<sup>[7]</sup>: 低温嗜压菌(<15 °C)、中温嗜压菌(15 °C–45 °C)、高温嗜压菌(45 °C–80 °C)及超高温嗜压菌(>80 °C)。通常, 低温嗜压菌的最适生长压力低于其分离地点的压力, 而高温嗜压菌的最适生长压力则高于其分离地点的压力, 而且对高温嗜压菌而言, 提升培养压力往往可以提高其耐受温度的上限<sup>[8]</sup>。

根据微生物对压力的耐受情况可以分为几种类型<sup>[9]</sup>: 常压菌、耐压菌、嗜压菌、极端嗜压菌(图2)。极端嗜压菌是指不能在常压下生长的微生物, 已鉴定的极端嗜压微生物有8株, 包括7株细菌和1株古菌(表1)。

表 1 已分离的极端嗜压微生物  
Table 1 Examples of culturable obligately piezophilic microorganisms

菌株 Strain	分离地点 Separation site	分离时间 Separation time	最适压力 Optimum pressure (MPa)	最适温度 Optimum temperature (°C)
<i>Colwellia</i> sp. MT41 <sup>[10]</sup>	马里亚纳海沟	1981	103.0	2
<i>Moritella yayanosii</i> DB21MT-5 <sup>[11]</sup>	马里亚纳海沟	1998	80.0	10
<i>Shewanella benthica</i> DB21MT-2 <sup>[11]</sup>	马里亚纳海沟	1998	70.0	10
<i>Colwellia hadaliensis</i> BNL-1 <sup>[12]</sup>	波多黎各海沟	1988	92.5	10
<i>Shewanella</i> sp. DB172F <sup>[13]</sup>	Izu-Bonin trench	1996	70.0	10
<i>Shewanella</i> sp. PT48 <sup>[14]</sup>	菲律宾海沟	1986	62.0	3
<i>Shewanella</i> sp. PT99 <sup>[14]</sup>	菲律宾海沟	1986	62.0	3
<i>Pyrococcus yayanosii</i> CH1 <sup>[15]</sup>	Mid-Atlantic Ridge	2009	52.0	98

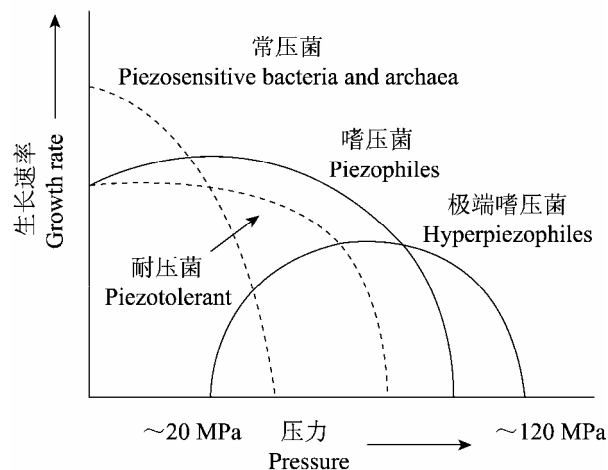


图 2 压力对不同微生物生长的影响<sup>[16]</sup>  
Fig. 2 Effects of different microbes under elevated hydrostatic pressure (modified from C. Kato)<sup>[16]</sup>

## 2 嗜压微生物压力适应性

压力对微生物生命系统的影响是多方面的<sup>[17]</sup>。压力主要影响生命过程的生化反应平衡和反应速率,在高压条件下,稳态相对于过渡态体积减小的反应加速,向着反应体积减小的方向,反应更容易发生[公式(1)和(2)]。

$$(\delta \ln K / \delta p) T = \Delta V / RT \quad (1)$$

$$(\delta \ln k / \delta p) T = \Delta V^\ddagger / RT \quad (2)$$

在公式(1)和(2)中,  $K$  为平衡常数,  $k$  为速度常

数,  $p$  为压力值(MPa),  $T$  为绝对温度,  $R$  为气体常数,  $\Delta V$  为最初和最终的反应体积变化量,  $\Delta V^\ddagger$  为活化体积的变化量。从公式中,我们可以看出,压力的增加可以减少体积,温度可以影响  $K$  和  $k$  值,压力则指数级地影响  $K$  和  $k$  值,但依赖  $\Delta V$  和  $\Delta V^\ddagger$  从而影响反应。

微生物总是不断地进化以适应其所处的环境,对深海来源的 *Photobacterium* 及 *Shewanella* 属微生物的研究表明,深海嗜压微生物在脂肪酸的组成、压力调控元件、嗜压基因的表达、运动性等方面逐渐形成了有别于常压微生物的独特机制。

### 2.1 细胞膜脂肪酸组成的变化

细胞膜具有磷脂双分子层结构,包含有多种膜蛋白,具有重要的生物学功能。细胞膜对于高压比较敏感<sup>[18]</sup>,在高压条件下,细胞膜流动性降低,刚性变强,导致膜上的反应受影响,进而影响细胞的生命过程。当细胞膜中的脂肪酸碳链长度相同时,饱和脂肪酸及分支链脂肪酸的含量增加,能增加细胞膜在高压或低温下的流动性。在深海嗜压微生物细胞膜中往往含有高比例的不饱和脂肪酸或者分支链脂肪酸。当 *Photobacterium profundum* SS9 在高压条件下生长时,其细胞膜

中的单不饱和脂肪酸含量增加。分离自马里亚纳海沟的极端嗜压菌 *Shewanella* sp. DB21MT-2 和 *Moritella* sp. DB21MT-5 相对于它们的非嗜压近缘种, 细胞膜中也含有更高比率的单不饱和脂肪酸(18:1 和 14:1)<sup>[19]</sup>。而对深海嗜压菌 *Shewanella piezotolerans* WP3 的研究发现, 在高压条件下, 其细胞膜中单不饱和脂肪酸的含量降低, 而支链脂肪酸和多不饱和脂肪酸(EPA)的含量反而增加。更进一步分析发现, 低温、高压条件诱导了 WP3 支链氨基酸 ABC 转运系统的表达, 从而增加了支链脂肪酸的含量<sup>[20]</sup>。此外, 对常压菌的压力应激反应的研究表明, 当常压菌处于非致死范围的高压条件下, 其不饱和脂肪酸合成相关的基因表达量上调。当酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)于 200 MPa 的高压条件下处理 30 min, 其 *ole1* 基因的转录上调, 该基因负责增加不饱和脂肪酸的含量<sup>[21]</sup>。同样, 当酵母菌处于亚致死生长条件下时, 其与膜结构相关的基因 *ino1*、*opi3*、*pst1*、*rta1*、*sed1* 和 *prm5* 均转录上调<sup>[22]</sup>, 与膜修饰相关的基因也表达上调, 暗示膜对压力的适应具有重要作用。

## 2.2 压力相关的调控基因

在高压条件下, 基因的调控机制也不同于常压条件, 深海微生物在适应深海高压环境过程中, 进化出独特的受压力调控基因。*ToxR/ToxS* 二元调控系统是目前唯一已知的压力感受器。*ToxR* 是跨膜多聚体, 其活性受 *ToxS* 蛋白的调控, *ToxR* 通过其细胞质内的 DNA 结合域与受其调控的基因结合, 从而起到调控作用<sup>[23]</sup>。在 *Photobacterium profundum* SS9 中, *OmpH/OmpL* 与 *ToxR/ToxS* 二元调控系统一起作为压力感受器, 共同参与转录调控和压力感知。当压力从常压增长到 28 MPa 时, *OmpH* 的数量增加, 而 *OmpL* 的数量减少<sup>[24]</sup>。这些基因是受 *ToxR/ToxS* 系统调控的, 值得注意的是, *ToxR/ToxS* 蛋白本身并没有赋予细胞高压适

应性, 反而该蛋白的超表达会导致菌株对高压敏感。SS9 的 *ToxR/ToxS* 系统的传感性由内膜的物理状态决定, 人为增加细胞膜流动性将导致 *ToxR* 增加, *OmpL* 增加, *OmpH* 减少, 此时, *ToxR/ToxS* 系统的调控失效, 即使增加压力, *OmpH* 的数量也不会增加。在 SS9 中, 受 *ToxR/ToxS* 系统调控的基因主要与膜结构的改变和饥饿反应相关。SS9 *ToxR/ToxS* 系统的主要作用是维持适当的膜结构和帮助细胞应对各种营养压力<sup>[25]</sup>。

## 2.3 压力对厌氧呼吸的影响

呼吸链的变化也是微生物适应环境的一种策略, 当微生物处于不同的压力条件下时, 其呼吸链的组成有较大的差异。对 *Shewanella* 属微生物的压力适应性研究发现, 在低压条件下, 微生物呼吸链的酶复合体是由 NADH-脱氢酶, bc1 复合体以及细胞色素 c 氧化酶组成, 这些复合物也是常压菌呼吸链的组成成分。而在高压条件下, 微生物则使用 NADH-脱氢酶, 细胞色素 c-551 以及醌氧化酶。Tamegai 等<sup>[26]</sup>对 *Shewanella vialacea* DSS12 的研究表明, 在高压培养条件下, *cydAB* (d 型细胞色素结构基因)及 *cydCD* (负责 *CydAB* 的组装及成熟)转录上调。*cydD* 和 *cydC* 位于压力调控启动子的下游, 在高压条件下, 其表达受到该压力启动子的调控。而且, 深海嗜压微生物往往含有多种不同的呼吸链且存在大量的重复拷贝, 呼吸链系统的多样性及重复性可能对微生物适应深海环境发挥了重要作用<sup>[27]</sup>。

*Shewanella piezotolerans* WP3 的基因组是已知全基因组信息 *Shewanella* 属中最大的一个, 其基因组包含有多拷贝的厌氧呼吸链, 可以利用硝酸盐、亚硝酸盐、延胡索酸盐、TMAO、DMSO 以及不可溶 3 价铁等作为电子受体进行厌氧呼吸<sup>[28]</sup>。对 WP3 硝酸盐还原的研究发现, WP3 有两套编码细胞周质硝酸盐还原酶的基因(*napD1A1B1C* 和 *napD2A2B2*), 五套编码亚硝酸盐还原酶的基因

(*nrfA*)。有趣的是两套 *nap* 系统是各自独立且具有功能,而两套系统对压力均不敏感,而 *nap2* 系统的丢失使的 WP3 生长更好且更具竞争优势。对其近缘种的 *nap* 系统分析表明, *Shewanella* 属微生物 *nap* 系统的变化反应了高压对其的选择作用。*CymA* 最早的功能是专一性传递电子给铁还原相关的酶,在进化过程中, *Shewanella* 进化出了较强的厌氧呼吸能力(*nap2* 系统)。随着水深的增加,单一的呼吸系统不能满足其生存的需求,逐渐变的不具有生存优势,WP3 (分离自 2 000 m 水深)可能是通过水平基因转移获得了专一性更强的 *nap1* 系统,进而保留了两套 *nap* 系统。而随着水深的继续增加,在长时间的进化过程中,先前的 *nap2* 系统有可能被丢掉,分离自更深环境的 *Shewanella violacea* DSS12 (5 110 m) 和 *Shewanella benthica* KT99 (9 000 m)则只拥有一套 *nap* 系统 (*nap1*)<sup>[29]</sup>。这一发现暗示压力对微生物基因组的进化具有选择作用。

#### 2.4 高压对 DNA 结构与功能的影响

在高压条件下, DNA 双链分子间的氢键变得更稳定,引起解链温度变高,使得其解链成 DNA 单链变得困难,进而使得 DNA 复制、转录以及翻译过程受到影响<sup>[30]</sup>。深海环境耐/嗜压菌的 DNA 结构和功能在高压条件下可以保持正常,而在压力敏感菌株中, DNA 的结构和功能往往受到较大的影响。*RecD* 基因是 *RecBCD* 酶复合体的一个结构基因,该酶复合体的主要功能是 DNA 双链的解旋及产生单链 DNA。嗜压菌 *RecD* 基因不同于常压菌,在高压下可以正常发挥其功能。对 *Photobacterium profundum* SS9 压力敏感突变株的分析发现,在其 *RecD* 中发生了插入突变,引起了其功能的丧失<sup>[31]</sup>。SS9 的 *RecD* 突变株与 *E. coli RecD* 突变株类似,其携带的质粒稳定性降低,结构也发生了变化。将 SS9 野生株的 *RecD* 基因在 *E. coli RecD* 突变株中超表达,可使 *E. coli*

耐受高压条件,在高压条件下可以正常的进行细胞分裂。

DNA 单链结合蛋白(SSB)在 DNA 的复制和转录过程中发挥着重要的作用。对 *Shewanella* 属微生物的研究发现,压力敏感菌 *Shewanella hannedai* 相对于同属的其他嗜/耐压菌株,其 SSB 蛋白对压力更敏感。进一步分析其 DNA 序列,表明来源于深海耐/嗜压菌株的 SSB 蛋白具有更少的甘氨酸(使螺旋去稳定)和脯氨酸(解螺旋)氨基酸残基<sup>[32]</sup>。耐/嗜压菌株的 SSB 蛋白与 DNA 单链的结合浓度相对其压力敏感近缘种更低,说明在耐/嗜压菌中,蛋白-核酸的相互作用更耐受高压条件。

#### 2.5 高压对核糖体结构及组装的影响

生物大分子往往以聚合物的形态行使其生物学功能,高压使得多聚体发生解聚,成为无活性的单聚体分子。高压对蛋白结构的影响主要表现在蛋白高级结构及蛋白构象等方面,压力的增加会影响蛋白多聚体的结合及稳定性,甚至引起亚基的解聚。由于高压的影响,蛋白分子空间结构被压缩的更紧密,导致其构象的变化<sup>[33]</sup>。细菌的 70S 核糖体是由 50S 亚基和 30S 亚基聚合而成,压力可以影响二者的聚合和解聚,从而对蛋白的合成产生影响。当压力升高时,核糖体倾向于解聚,说明解聚与体积的减小有关系,而核糖体的解聚是导致细胞死亡的一个重要原因<sup>[34]</sup>。当常压菌 *Lactobacillus sanfranciscensis* 处于亚致死压力条件下时,胞内核糖体蛋白基因的表达上调,导致核糖体蛋白的量增加,而核糖体蛋白有利于稳定 30S 亚基和氨酰-tRNA 复合物<sup>[35]</sup>。而 *Photobacterium profundum* SS9 处于高压条件下时,其胞内核糖体蛋白含量仅发生了很微量的变化。说明嗜压菌的核糖体在高压条件下相对稳定,可以正常的行使其功能。在  $\gamma$ -变形菌类群中,细菌往往含有较多的核糖体操纵子,其数目甚至高达 15 个,核

糖体操纵子越多, 细菌对环境变化的适应越迅速<sup>[36]</sup>。此外, 对低温嗜压菌 16S rRNA 结构的研究发现, 嗜压微生物 16S rRNA 结构中往往含有较长的双链螺旋, 而且往往在其 10、11、44 号双链螺旋中发生了序列的插入, 暗示 16S rRNA 结构的变化对核糖体的功能产生了重要影响<sup>[37]</sup>。

## 2.6 高压对细菌运动性的影响

鞭毛是细菌的运动器官, 对微生物的捕食、趋化性及生物膜的形成等过程具有重要作用, 有些种属的鞭毛对细菌的生存至关重要。高压条件下, 常压菌的鞭毛合成受影响, 甚至不合成鞭毛。而深海嗜压微生物具有发达的鞭毛器官, 有些细菌甚至有多套鞭毛系统<sup>[38]</sup>。在 *Photobacterium profundum* SS9 中, 包含有两套完整的鞭毛基因簇, 分别负责极生鞭毛和侧生鞭毛的合成<sup>[39]</sup>。极生鞭毛由  $\text{Na}^+$  梯度驱动, 主要负责在液体中的游动; 而侧生鞭毛则由  $\text{H}^+$  驱动, 主要负责在粘性较大的液体中游动<sup>[40]</sup>。高压条件下, SS9 侧生鞭毛的表达上调。在 *Shewanella piezotolerans* WP3 中, 其采用了相反的调控策略。WP3 侧生鞭毛在低温下转录上调, 在高压条件下轻微受抑制。极生鞭毛则在低温下转录受抑制, 而高压则诱导极生鞭毛的表达<sup>[28]</sup>。双鞭毛系统使得微生物在面临环境压力时有更多的选择, 深海嗜压菌的双鞭毛系统更有利于其适应深海低温高压环境。双鞭毛系统对压力的适应采用了多元化的调控机制, SS9 和 WP3 采用了相反的调控策略。此外, WP3 还含有一个受低温诱导的丝状噬菌体 SW1, 噬菌体 SW1 的复制和宿主细胞鞭毛合成基因的表达都受到低温的调控, 暗示这两类基因调控具有相关性<sup>[41]</sup>。

## 3 深海微生物与生物地球化学循环

### 3.1 深海微生物与碳循环

深海生物圈是地球上最大的生态系统之一, 其中包含有海山、海底平原、海沟、深海冷泉、

热液口、泥火山等生境。据估算, 深海沉积物中蕴藏有  $10^{31}$  个细胞之多的微生物, 占到全球原核生物总量的 70%<sup>[42]</sup>。深海微生物在海洋的 C、N、S 等元素的生物地球化学循环中发挥了不可替代的作用。深海沉积物是地球上最大的有机碳库, 其中含有大量的甲烷。甲烷是仅次于  $\text{CO}_2$  的第二大温室气体, 一分子甲烷产生的温室效应相等于约 10 分子  $\text{CO}_2$  产生的温室效应, 海底甲烷的释放将会增加大气中的甲烷浓度, 进而将会对全球气候产生影响<sup>[43]</sup>。深海冷泉及泥火山的活动往往与甲烷的产生有关<sup>[44]</sup>。沉积物中的甲烷由非生物成因和生物成因两种过程形成, 其中 80% 的甲烷是由产烷菌通过还原  $\text{CO}_2$  或者小分子量的有机物 ( $\text{CO}$ ,  $\text{CH}_3\text{OH}$ ,  $\text{HCOOH}$ ) 生成<sup>[45]</sup>。深海微生物同时又是甲烷的利用者, 沉积物中的甲烷约有 90% 会被微生物分解利用<sup>[46]</sup>。其中, ANME2 及 ANME1 类群中的厌氧甲烷氧化古菌介导的厌氧甲烷氧化在甲烷的消耗中发挥了重要的作用<sup>[47-48]</sup>。实验室深海环境模拟实验表明, 高压会提高 SRB-ANME 细胞团的活性, 在 8 MPa 的高压条件下, 其厌氧氧化甲烷的速率相对常压条件有了超过 50 倍的提高<sup>[6]</sup>, 暗示在深海沉积物中, 微生物具有较高的厌氧甲烷氧化能力。微生物的甲烷氧化有效的控制了温室气体的释放, 对维持地球的碳循环及全球气候的变化有重要的调节作用。

### 3.2 深海微生物与氮循环

氮是生命活动的重要元素, 海洋氮循环与海洋生产力有密切的关系。深海微生物介导的固氮、反硝化及氨氧化过程是全球氮循环中不可或缺的环节。大气的组成中有 80% 是氮气, 而无机形式的氮气只有经过微生物固氮作用形成有机形式的氨才能被生物利用。除了在表层海水中的蓝细菌可以固氮外, 深海热液环境中的产甲烷古菌被证实也具有固氮能力<sup>[49]</sup>, 说明固氮作用是在深海环境中也存在。生物固氮形成的氨经过硝化

作用被进一步氧化成硝酸盐,在氧化氨的过程中微生物会获得能量,而且形成的亚硝酸盐和硝酸盐具有和氧气比较接近的氧化还原势能,是生化过程中的重要电子受体<sup>[50]</sup>。氨氧化过程是海洋氮循环的限速步骤,参与氨氧化的微生物主要是 $\beta$ -Proteobacteria 和  $\gamma$ -Proteobacteria 类群中的氨氧化细菌(Ammonia-oxidizing bacteria, AOB)以及泉古菌门中的中温及高温氨氧化古菌(Ammonia-oxidizing archaea, AOA)<sup>[51-52]</sup>。氨氧化微生物分布非常广泛,在海水、热液口、沉积物及深海溶氧限制区均有发现<sup>[53]</sup>。在不同的区域中,其群落的组成及优势菌群也有差异,与所处的环境相关,如在日本海域深海冷泉区的氨氧化古菌群落结构与已报道的其他区域的氨氧化古菌群落结构差异较大<sup>[54]</sup>,说明微生物在与环境的协同演化过程中,保留了其独特的特征。尽管 AOB 已被证实在氮循环中具有重要作用,但 AOB 仅占细菌群落的 0.1%,而氨氧化古菌则在海洋中广泛分布<sup>[55]</sup>。氨氧化古菌被证明相对于氨氧化细菌及浮游生物具有更强大的氨氧化作用,而且在氨浓度较低的环境中也具有硝化作用。氨的厌氧氧化是海洋中氮损失的一个重要原因。在海洋氮循环过程中,还存在由亚硝酸盐生成氮气的过程,反硝化过程往往发生在厌氧和有氧环境的结合处,使得氮以氮气的形式释放进入大气,完成了氮的循环<sup>[56]</sup>。

### 3.3 深海微生物与硫循环

硫是地球上含量最丰富的元素,硫酸盐在深海环境中广泛存在,硫酸盐还原微生物(Sulphate-reducing microorganisms, SRM)在利用简单有机物的过程中以硫酸盐作为末端电子受体,产生  $H_2S$  和  $CO_2$ ,由 SRM 介导的硫酸盐还原在深海环境中的碳、硫等物质转换过程中发挥了重要作用。深海硫酸盐还原细菌(Sulphate-reducing bacteria, SRB)在还原硫酸盐的过程中往往与甲烷的厌氧氧化及氮的循环等互相偶联,是深海地球化

学循环中的重要参与者。SRB 往往经过乳酸发酵会产生  $H_2$ ,  $H_2$  的积累反馈抑制 SRB 乳酸发酵,与古菌共生的 SRB 能将代谢过程中产生的  $H_2$  转运给古菌,古菌会利用  $H_2$  进行生长并产生甲烷从而消除  $H_2$  对 SRB 的反馈抑制继而维持其正常成长,而古菌会利用  $H_2$  进行生长并产生甲烷<sup>[57]</sup>。SRB 还与甲烷厌氧氧化古菌(Anaerobic methanotrophic archaea, ANME)偶联生长形成紧密的细胞团,例如 ANME 类群中的 *Methanosarcinales*、*Methanococoides* 及 *Methanobolus* 属古菌通常以细胞团的形式与 *Desulfosarcina/Desulfococcus* 紧密结合形成共生体<sup>[58-59]</sup>。

深海热液区是地球上最极端的环境之一,冷的海水由地壳中的裂缝渗透进入地壳深部,与岩浆接触后被加热并发生水岩反应,形成溶解有多种过渡态元素及还原性的气体的热液。热液喷出后被周围冷的海水冷却形成了温度梯度、化学梯度及 pH 梯度等,这些化学梯度及温度梯度为热液区微生物提供了生长所需的能量及营养物质。硫酸盐还原菌及甲烷氧化菌是热液区的主要类群,同时硫酸盐还原菌也有被发现,这些微生物之间相互作用,共同完成热液区物质循环。深海热液口是联系深部生物圈的纽带,热液区的微生物在深海地球化学循环过程中发挥了重要的作用。此外,在海底矿质元素富集区(如多金属结核区),往往也检测到活跃的微生物活性<sup>[60]</sup>。对深海嗜压菌 *Shewanella piezotolerans* WP3 的实验室模拟研究发现,WP3 可以较高的速率还原氧化铁产生磁铁矿颗粒,表明 WP3 可能参与了深海铁元素的循环及生物成矿<sup>[61]</sup>。随着深海科研设备的发展及现代组学技术的不断革新,将会进一步揭示深海微生物在地球化学循环中的作用。

## 4 结语

对嗜压菌压力适应机制的研究主要集中于低



温嗜压细菌,对高温嗜压古菌的适应性研究相对较少。深海嗜压古菌往往分布于热液环境中,对采样的技术和设备要求较高,是造成嗜压古菌压力适应机制的研究较少原因之一。目前,对嗜压古菌的压力适应研究主要集中在比较基因组学研究,并没有涉及到深入的分子机制研究。对分离自不同水深的 *Pyrococcus* 属微生物进行比较基因组学研究表明,高压适应性并不一定需要新的基因,基因组的重排对高压适应具有重要作用<sup>[17]</sup>。不同的氨基酸残基在结构上的差异决定了蛋白空间结构对压力的耐受不同,对 *P. furiosus* 及 *P. abyssi* 的基因组氨基酸组成比较发现,在嗜压菌基因组中,含有较高比例的精氨酸、甘氨酸、缬氨酸及天冬氨酸,而在压力敏感菌株中则含有较多的酪氨酸和谷氨酰胺。进一步比较发现,极性氨基酸和压力适应性呈正相关,而氨基酸的分子量则和压力适应呈负相关<sup>[19]</sup>。

深海环境中往往同时存在着多种极端环境,如广泛分布的高压、低温环境,及存在着急剧变化的温度梯度及化学梯度的深海热液口环境。深海环境中不同的极端条件往往互相影响,低温和高压会对细胞膜结构产生相同的影响,都会使生物细胞膜流动性降低,刚性增强。而高温则倾向于增大被高压作用改变的反应体积,可以推测高温和高压这两个环境因子在对生命体系的影响上有相互消减的效应。研究发现,高压往往会提升微生物的温度耐受上限<sup>[8]</sup>。此外,营养物质的不均匀分布也是深海微生物面临的挑战,这就要求微生物必须对多变的生存环境具有迅速的响应能力。随着深海微生物全基因组序列的不断完成,发现在深海细菌基因组中含有大量的重复基因及功能相似基因,如同时含有多个核糖体操纵子,多个具有不同亲和力的转运相同基质的转运系统以及具有多种呼吸能力的呼吸链,有些细菌还具有双鞭毛系统,这些特征使得微生物能够

更好的适应深海环境且对环境的改变有着快速的响应。

对深海嗜压微生物的研究已超过了20年,目前,对深海嗜压微生物的环境适应性的研究主要集中在 *Photobacterium profundum* SS9、*Shewanella benthica* DB172F 和 *Shewanella pigzotolerans* WP3 等低温嗜压细菌,其中 *Photobacterium profundum* SS9 和 *Shewanella pigzotolerans* WP3 已完成全基因组测序并建立了比较完整的遗传操作系统。对这些模式微生物的研究已取得了一些成果,逐渐揭示了微生物适应深海环境的机制。*Pyrococcus yayanosii* CH1 作为第一株严格嗜压嗜热古菌,已完成全基因组测序并建立了遗传操作系统,对 CH1 的研究不断深入,有望使其成为研究高温高压古菌环境适应性的模式菌株。随着现代组学技术的快速发展,从组学水平以及分子水平上对深海嗜压微生物进行研究,将有助于进一步的理解深海嗜压菌的环境适应机制,与环境的协同演化过程以及在全球物质循环过程中的作用。

## 参 考 文 献

- [1] Fang J, Bazylinski DA. Deep Sea Geomicrobiology[M]. Washington, DC: High-Pressure Microbiology ASM Press, 2008: 237-264.
- [2] Streit WR, Schmitz RA. Metagenomics—the key to the uncultured microbes[J]. Current Opinion in Microbiology, 2004, 7(5): 492-498.
- [3] Roussel EG, Bonavita MAC, Querellou J, et al. Extending the sub-sea-floor biosphere[J]. Science, 2008, 320(5879): 1046-1046.
- [4] ZoBell CE, Johnson FH. The influence of hydrostatic pressure on the growth and viability of terrestrial and marine bacteria[J]. Journal of Bacteriology, 1949, 57(2): 179-189.
- [5] Yayanos AA, Dietz AS, Van Bostel R. Isolation of a deep-sea barophilic bacterium and some of its

- growth characteristics[J]. *Science*, 1979, 205(4408): 808–810.
- [6] Zhang Y, Henriot JP, Bursens J, et al. Stimulation of *in vitro* anaerobic oxidation of methane rate in a continuous high-pressure bioreactor[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(9): 3132–3138.
- [7] Fang JS, Zhang L, Bazylinski DA. Deep-sea piezosphere and piezophiles: geomicrobiology and biogeochemistry[J]. *Trends in Microbiology*, 2010, 18(9): 413–422.
- [8] Boonyaratanakornkit BB, Miao LY, Clark DS. Transcriptional responses of the deep-sea hyperthermophile *Methanocaldococcus jannaschii* under shifting extremes of temperature and pressure[J]. *Extremophiles*, 2007, 11(3): 495–503.
- [9] 曾湘. 高温、高压下的生命极限及深海嗜压细菌 *Shewanella piezotolerans* WP3的功能基因组学研究[D]. 厦门: 厦门大学博士学位论文, 2008.
- [10] Yayanos AA, Dietz AS, Van Boxtel R. Obligately barophilic bacterium from the Mariana trench[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1981, 78(8): 5212–5215.
- [11] Kato C, Li LN, Nogi Y, et al. Extremely barophilic bacteria isolated from the Mariana Trench, Challenger Deep, at a depth of 11, 000 meters[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998, 64(4): 1510–1513.
- [12] Deming JW, Somers LK, Straube WL, et al. Isolation of an obligately barophilic bacterium and description of a new genus, *Colwellia* gen. nov.[J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 1988, 10(2): 152–160.
- [13] Kato C, Masui N, Horikoshi K. Properties of obligately barophilic bacteria isolated from a sample of deep-sea sediment from the Izu-Bonin trench[J]. *Journal of Marine Biotechnology*, 1996, 4(2): 96–99.
- [14] DeLong EF, Franks DG, Yayanos AA. Evolutionary relationships of cultivated psychrophilic and barophilic deep-sea bacteria[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, 63(5): 2105–2108.
- [15] Birrien JL, Zeng X, Jebbar M, et al. *Pyrococcus yayanosii* sp. nov., an obligate piezophilic hyperthermophilic archaeon isolated from a deep-sea hydrothermal vent[J]. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 2011, 61(12): 2827–2881.
- [16] Kato C, Nogi Y, Arakawa S. Isolation, Cultivation, and Diversity of Deep-Sea Piezophiles[M]. Washington, DC: High-Pressure Microbiology ASM Press, 2008: 203–217.
- [17] Oger PM, Jebbar M. The many ways of coping with pressure[J]. *Research in Microbiology*, 2010, 161(10): 799–809.
- [18] Pilavtepe-Çelik M, Balaban MO, Alpas H, et al. Image analysis based quantification of bacterial volume change with high hydrostatic pressure[J]. *Journal of Food Science*, 2008, 73(9): M423–M429.
- [19] Simonato F, Campanaro S, Lauro FM, et al. Piezophilic adaptation: a genomic point of view[J]. *Journal of Biotechnology*, 2006, 126(1): 11–25.
- [20] Wang F, Xiao X, Ou HY, et al. Role and regulation of fatty acid biosynthesis in the response of *Shewanella piezotolerans* WP3 to different temperatures and pressures[J]. *Journal of Bacteriology*, 2009, 191(8): 2574–2584.
- [21] Fernandes PMB, Domitrovic T, Kao CM, et al. Genomic expression pattern in *Saccharomyces cerevisiae* cells in response to high hydrostatic pressure[J]. *FEBS Letters*, 2004, 556(1/3): 153–160.
- [22] Iwahashi H, Odani M, Ishidou E, et al. Adaptation of *Saccharomyces cerevisiae* to high hydrostatic pressure causing growth inhibition[J]. *FEBS Letters*, 2005, 579(13): 2847–2852.
- [23] Bartlett D, Wright M, Yayanos AA, et al. Isolation of a gene regulated by hydrostatic pressure in a deep-sea bacterium[J]. *Nature*, 1989, 342(6249): 572–574.
- [24] Welch TJ, Bartlett DH. Isolation and characterization of the structural gene for OmpL, a pressure-regulated porin-like protein from the deep-sea bacterium *Photobacterium* species strain SS9[J]. *Journal of Bacteriology*, 1996, 178(16): 5027–5031.

- [25] Bartlett DH, Ferguson G, Valle G. Adaptations of the Psychrotolerant Piezophile *Photobacterium profundum* Strain SS9[M]. Washington, DC: High-Pressure Microbiology ASM Press, 2008: 319–337.
- [26] Tamegai H, Kawano H, Ishii A, et al. Pressure-regulated biosynthesis of cytochrome bd in piezo- and psychrophilic deep-sea bacterium *Shewanella violacea* DSS12[J]. *Extremophiles*, 2005, 9(3): 247–253.
- [27] Tamegai H, Nishikawa S, Haga M, et al. The respiratory system of the piezophile *Photobacterium profundum* SS9 grown under various pressures[J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2012, 76(8): 1506–1510.
- [28] Wang FP, Wang JB, Jian HH, et al. Environmental adaptation: genomic analysis of the piezotolerant and psychrotolerant deep-sea iron reducing bacterium *Shewanella piezotolerans* WP3[J]. *PLoS One*, 2008, 3(4): e1937.
- [29] Chen Y, Wang F, Xu J, et al. Physiological and evolutionary studies of NAP systems in *Shewanella piezotolerans* WP3[J]. *The ISME Journal*, 2011, 5(5): 843–855.
- [30] Macgregor RB Jr. The interactions of nucleic acids at elevated hydrostatic pressure[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure and Molecular Enzymology*, 2002, 1595(1/2): 266–276.
- [31] Lauro FM, Tran K, Vezzi A, et al. Large-scale transposon mutagenesis of *Photobacterium profundum* SS9 reveals new genetic loci important for growth at low temperature and high pressure[J]. *Journal of Bacteriology*, 2008, 190(5): 1699–1709.
- [32] Chilukuri LN, Bartlett DH, Fortes GP. Comparison of high pressure-induced dissociation of single-stranded DNA-binding protein (SSB) from high pressure-sensitive and high pressure-adapted marine *Shewanella* species[J]. *Extremophiles*, 2002, 6(5): 377–383.
- [33] Aertsen A, Meersman F, Hendrickx MEG, et al. Biotechnology under high pressure: applications and implications[J]. *Trends in Biotechnology*, 2009, 27(7): 434–441.
- [34] Yang BW, Shi Y, Xia XD, et al. Inactivation of foodborne pathogens in raw milk using high hydrostatic pressure[J]. *Food Control*, 2012, 28(2): 273–278.
- [35] Pavlovic M, Hörmann S, Vogel RF, et al. Transcriptional response reveals translation machinery as target for high pressure in *Lactobacillus sanfranciscensis*[J]. *Archives of Microbiology*, 2005, 184(1): 11–17.
- [36] Lauro FM, Bartlett DH. Prokaryotic lifestyles in deep sea habitats[J]. *Extremophiles*, 2008, 12(1): 15–25.
- [37] Lauro FM, Chastain RA, Blankenship LE, et al. The unique 16S rRNA genes of piezophiles reflect both phylogeny and adaptation[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(3): 838–845.
- [38] Bubendorfer S, Held S, Windel N, et al. Specificity of motor components in the dual flagellar system of *Shewanella putrefaciens* CN-32[J]. *Molecular Microbiology*, 2012, 83(2): 335–350.
- [39] Campanaro S, Vezzi A, Vitulo N, et al. Laterally transferred elements and high pressure adaptation in *Photobacterium profundum* strains[J]. *BMC Genomics*, 2005, 6(1): 122.
- [40] McCarter LL. Dual flagellar systems enable motility under different circumstances[J]. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 2004, 7(1/2): 18–29.
- [41] Wang F, Li QP, Li Q, et al. A novel filamentous phage from the deep-sea bacterium *Shewanella piezotolerans* WP3 is induced at low temperature[J]. *Journal of Bacteriology*, 2007, 189(19): 7151–7153.
- [42] Beman JM, Bertics VJ, Braunschweiler T, et al. Quantification of ammonia oxidation rates and the distribution of ammonia-oxidizing *Archaea* and *Bacteria* in marine sediment depth profiles from Catalina Island, California[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2012, 3: 263.
- [43] Orcutt BN, Sylvan JB, Knab NJ, et al. Microbial ecology of the dark ocean above, at, and below the seafloor[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2011, 75(2): 361–422.
- [44] Pape T, Blumenberg M, Seifert R, et al. Marine

- methane biogeochemistry of the Black Sea: a review[J]. *Links Between Geological Processes, Microbial Activities and Evolution of Life*, 2008, 4: 281–311.
- [45] Kvenvolden KA, Rogers BW. Gaia's breath—global methane exhalations[J]. *Marine and Petroleum Geology*, 2005, 22(4): 579–590.
- [46] Hinrichs K, Boetius A. The anaerobic oxidation of methane: new insights in microbial ecology and biogeochemistry[A]//Wefer G, Billett D, Hebbeln DJ. *Ocean Margin Systems[M]*. New York: Springer, 2002: 457–477.
- [47] Brazelton WJ, Schrenk MO, Kelley DS, et al. Methane-and sulfur-metabolizing microbial communities dominate the Lost City hydrothermal field ecosystem[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(9): 6257–6270.
- [48] Orcutt B, Meile C. Constraints on mechanisms and rates of anaerobic oxidation of methane by microbial consortia: process-based modeling of ANME-2 archaea and sulfate reducing bacteria interactions[J]. *Biogeosciences Discussions*, 2008, 5(3): 1933–1967.
- [49] Mehta MP, Baross JA. Nitrogen fixation at 92 °C by a hydrothermal vent archaeon[J]. *Science*, 2006, 314(5806): 1783–1786.
- [50] Zehr JP, Kudela RM. Nitrogen cycle of the open ocean: from genes to ecosystems[J]. *Annual Review of Marine Science*, 2011, 3: 197–225.
- [51] Prosser JI, Nicol GW. Relative contributions of archaea and bacteria to aerobic ammonia oxidation in the environment[J]. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(11): 2931–2941.
- [52] Hatzenpichler R, Lebedeva EV, Spieck E, et al. A moderately thermophilic ammonia-oxidizing crenarchaeote from a hot spring[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(6): 2134–2139.
- [53] Dang H, Li J, Zhang X, et al. Diversity and spatial distribution of *amoA*-encoding archaea in the deep-sea sediments of the tropical West Pacific Continental Margin[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2009, 106(5): 1482–1493.
- [54] Nakagawa T, Mori K, Kato C, et al. Distribution of cold-adapted ammonia-oxidizing microorganisms in the deep-ocean of the northeastern Japan Sea[J]. *Microbes and Environments*, 2007, 22(4): 365–372.
- [55] Coolen MJL, Abbas B, Van Bleijswijk J, et al. Putative ammonia-oxidizing Crenarchaeota in suboxic waters of the Black Sea: a basin-wide ecological study using 16S ribosomal and functional genes and membrane lipids[J]. *Environmental Microbiology*, 2007, 9(4): 1001–1016.
- [56] Hamersley MR, Lavik G, Woebken D, et al. Anaerobic ammonium oxidation in the Peruvian oxygen minimum zone[J]. *Limnology and Oceanography*, 2007, 52(3): 923–933.
- [57] Zhou JZ, He Q, Hemme CL, et al. How sulphate-reducing microorganisms cope with stress: lessons from systems biology[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2011, 9(6): 452–466.
- [58] Lösekann T, Knittel K, Nadalig T, et al. Diversity and abundance of aerobic and anaerobic methane oxidizers at the Haakon Mosby Mud Volcano, Barents Sea[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(10): 3348–3362.
- [59] Knittel K, Lösekann T, Boetius A, et al. Diversity and distribution of methanotrophic archaea at cold seeps[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(1): 467–479.
- [60] Zhang WJ, Zhang XQ, Ying Y, et al. Analysis of bacterial diversity in deep-sea sediments from Pacific polymetallic nodule province[J]. *Journal of Zhejiang University (Science Edition)*, 2009, 36(5): 578–585.
- [61] Wu W, Li B, Hu J, et al. Iron reduction and magnetite biomineralization mediated by a deep-sea iron-reducing bacterium *Shewanella piezotolerans* WP3[J]. *Journal of Geophysical Research*, 2011, 116(G4): G04034.