

可培养海洋放线菌生物多样性的研究进展

王宏梅¹ 赵心清^{2*}

(辽东学院医学院病原生物教研室 丹东 118002) (大连理工大学生物科学与工程系 大连 116024)

摘要 :海洋放线菌是新药开发和天然活性产物的重要来源,海洋放线菌的生物多样性是代谢产物功能多样性的基础,因此研究可培养放线菌的生物多样性具有重要的意义。综述了近年来可培养的海洋放线菌生物多样性的研究进展,尤其是海绵共附生放线菌、深海放线菌和海洋固有放线菌的研究进展,对可培养的海洋放线菌的分离培养方法,包括样品处理、培养基的选择等进行了重点介绍,并对未培养海洋放线菌的分离培养进行了探讨,强调了建立区域性海洋放线菌菌种及基因资源库的重要性。

关键词 :可培养海洋放线菌,深海,海绵共附生放线菌,海洋固有放线菌,未培养海洋放线菌

中图分类号 :Q178.53 文献标识码 :A 文章编号 :0253-2654(2007)05-0996-05

Progress in the Bio-diversity Studies of Culturable Marine Actinobacteria

WANG Hong-Mei¹ ZHAO Xin-Qing^{2*}

(School of Medicine, Eastern Liaoning University, Dandong 118002)

(Department of Bioscience and Bioengineering, Dalian University of Technology, Dalian 116024)

Abstract :Marine actinobacteria are novel sources for drug discovery and active natural products. Since the functional diversity of active metabolites from marine actinobacteria originates from the Bio-diversity of this important group of gram-positive bacteria, studies on the diversity of culturable marine actinobacteria are of great importance. In this review, the progress in the diversity studies of marine actinobacteria, especially the research in the marine sponge-associated actinomycetes, deep sea actinomycetes and the indigenous marine actinomycetes was reported. Meanwhile, the isolation techniques including the pre-treatment of samples and the selection of media were highlighted. The cultivation of as yet unculturable marine actinobacteria was discussed, and the importance of establishing regional centers for marine actinobacteria strain and gene resources was emphasized.

Key words :Culturable marine actinobacteria, Deep sea, Marine sponge-associate actinobacteria, Indigenous marine actinobacteria, Uncultured marine actinobacteria

放线菌属于革兰氏阳性细菌,具有复杂的形态分化过程和产生种类丰富的代谢产物的能力,是一类非常重要的工业微生物^[1]。放线菌在分类学上已被列为独立的门^[2],对放线菌多样性的研究一直受到广泛的关注。放线菌所产生的活性化合物包括抗生素、免疫抑制剂、抗肿瘤药物和多种酶类。在微生物来源的活性化合物中,最多的是来自于放线菌的代谢产物,约占45%^[3],据估计还有1万~3万种微生物的代谢产物未明确其生物学活性,其中放线菌来源的为5000种~10000种^[3]。由于代谢产物的多样性与生物的多样性密切相关,因此放线菌的生物多样性研究具有非常重要的意义。

海洋占地球总面积的70.8%,蕴藏着异常丰富

的微生物资源。早期人们普遍认为海洋环境是贫瘠的,不会有海洋放线菌的存在,而且认为海洋放线菌只是陆生放线菌流入海洋的结果,再加上深海样品采集的难度,对海洋放线菌的研究很有限。近年来,随着分子生态学方法的广泛使用,海洋放线菌多样性研究,尤其是深海放线菌的多样性研究取得了巨大的进展,越来越多的海洋放线菌被发现^[4],很多海洋放线菌具有生产多样的活性产物的能力,这些活性产物的功能包括抗肿瘤^[5]、抗真菌^[6]、抗疟^[7]以及杀虫功能^[8,9],活性产物还包括多种酶类^[10]等。这些生物多样性的研究和功能多样性的研究为进一步利用海洋放线菌资源进行新药开发和活性天然产物生产提供了重要的基础。

* 通讯作者 Tel: 0411-84706308, E-mail: xqzhao@dlut.edu.cn

收稿日期:2007-01-17,修回日期:2007-05-18

1 海洋放线菌的多样性

1.1 共附生海洋放线菌

海洋动植物,尤其是海洋无脊椎动物海绵,蕴藏着丰富的共生放线菌^[11-13]。海绵是最原始的多细胞生物,体内共生着很多种微生物,是进行新药开发的重要来源。研究显示,海绵中的活性物质很多是由其体内共生的微生物产生的^[14],其中海绵共附生海洋放线菌是重要的类群。对 *Aplysina aerophoba* 和 *Theonella swinhoei* 两种海绵的 16S rDNA 分析表明,海绵中存在着随不同的海绵种类而不同的海绵种特异性微生物和与海水环境不同的海绵种特异性微生物。对这两种海绵中的放线菌序列的分析显示,绝大多数的序列是海绵内共生微生物特有的序列,显示了海绵放线菌研究的重要性^[15]。张海涛等^[13]在大连海域的黄海繁茂海绵中分离到了 7 个属 106 株可培养海洋放线菌,包括链霉菌属 (*Streptomyces*)、诺卡氏菌属 (*Nocardia*)、拟诺卡氏菌属 (*Nocardiopsis*)、红球菌属 (*Rhodococcus*)、小单胞菌属 (*Micromonospora*)、假诺卡氏菌属 (*Pseudonocardia*) 和异壁放线菌属 (*Actinoalloteichus*)。早期对 *Xestospongia* 属的两种海绵共附生放线菌进行研究时^[16],得到培养的属有 *Gordonia*、*Micrococcus* 和 *Brachy bacterium*,以及 *Acidimicrobium* 属和 *Microthrix parvicella*。可以看出,不同的海绵存在不同的共生放线菌,这可能与不同的生态地理环境有关。

1.2 深海中的海洋放线菌

英国 Michael Goodfellow 博士的实验室一直致力于深海放线菌的多样性研究,已经证明了在 2000m ~ 6000m 的深海和超过 6000m 的深海沉积物中有放线菌的存在^[17]。根据最新的报道,Pathom-aree 等对世界最深的海域,深度达 10898m 的马里亚纳海沟中海底沉积物的放线菌进行了研究^[18],虽然由于沉积物样品的量很有限,所得到的结果不能完全代表海沟中自然环境中的整体多样性,但是研究中仍然发现了 38 株海洋放线菌,而且其中有 5 株链霉菌和 1 株小单胞菌,另外还首次在海洋环境中发现了原来只在陆生环境中发现的 *Dermacoccus* 和 *Tsakamurella* 属的菌种。值得注意的是,研究者在分离时使用的培养条件是常压、常温(28℃)、有氧培养,处理样品所使用的盐度也不高(1/4 strength Ringer's solution),虽然马里亚纳海沟自然环境中的

温度是 2.6℃(低温)、116.86MPa(高压)、高盐度(34.7%)。这对人们的观念是一个非常大的冲击,就是,即使在极端的深海环境也存在能够在常温常压下生长的放线菌,也许这些放线菌能够“耐受”常温常压这些对它们来讲“极端”的环境。其中有一株菌株 *Dermacoccus* strain MT1.1 在高压下生长的更好,说明这个菌株是深海特有的菌种。虽然还没有证明是否其它的菌株也是深海特有的,但是对样品中陆生放线菌的代表属 *Thermoactinomyces* 的 PCR 分析表明所分离的样品中不存在陆生放线菌的污染。

1.3 海洋固有的放线菌

严格来讲,我们所说的“海洋放线菌”更确切的说应该是“海洋环境中的放线菌”,一直以来人们对海洋环境中分离的放线菌是否仅仅是陆地土壤中放线菌孢子流入海洋后的再生保持怀疑态度,很多分离到的海洋放线菌在陆地环境中也被分离过,而且所分离到的很多海洋放线菌在无氯化钠的培养基上也可以生长。但是最近的研究证明,海洋环境中确实存在海洋固有的放线菌,包括最新分离出来的 *Salinispora*^[19]和 *Marinispora*^[20]两个属,这两个属的菌种只有在添加一定浓度的氯化钠的培养基中才能生长。*Salinispora* 是第一个被发现的海洋特有放线菌属^[19],已经证明这个属的海洋放线菌普遍存在于热带亚热带的海洋沉积物中,但是目前只发现这个属的两个菌种,显示了有限的菌种多样性^[21]。在 *Salinispora pacifica* 中分离了两种新的次级代谢产物, cyanosporasides A、B 和 chloro-, cyano-cyclopenta^[a] indene glycosides^[22],另外发现 *Salinispora* 菌株还可以合成利福霉素^[23],为利用遗传学方法对利福霉素进行工程学改造提供了新的材料。*Marinispora* 是由 Kwon 等建议命名的,他们在其中分离出了新的抗肿瘤抗生素, marinomyces A-D^[20]。根据生长对盐、压力、温度等的需求,已经能够将许多种属定为海洋特有放线菌,包括 *Dietzia*、*Rhodococcus* 属的种^[24,25],以及 *Aeromicrobium marinum*^[26]等。*Salinibacterium* 是新分离的属,可以耐受 10% 的 NaCl,但是生长不需要盐^[27]。

表 1 综述了上文提到的海洋放线菌,在 Alan C Ward 和 Nagamani Bora 博士的文章^[4]中更加详细的列出了包括可培养放线菌和通过分子手段检测到的海洋放线菌的种属。

表1 新近报道的可培养的海洋放线菌种属及分离环境

种属名	分离环境	参考文献	备注
<i>Streptomyces</i>	海绵 海泥 深海	13, 16, 18	
<i>Nocardia</i>	海绵 海泥	13	
<i>Nocardopsis</i>	海绵 海泥	13, 28	
<i>Rhodococcus</i>	海绵 海泥	13, 25	存在海洋固有的菌株
<i>Micromonospora</i>	海绵 海泥 深海	13, 18, 28	存在海洋固有菌株
<i>Pseudonocardia</i>	海绵 海泥	13, 28	
<i>Actinoalloteichus</i>	海绵	13	
<i>Gordonia</i>	海绵 海泥	16, 28	
<i>Micrococcus</i>	海绵	16	
<i>Brachy bacterium</i>	海绵	16	
<i>Acidimicrobium</i>	海绵	16	
<i>Microthrix parvicella</i>	海绵	16	
<i>Dermacoccus</i>	深海沉积物	18	首次在除陆地外的环境中分离, 菌株 MT1.1 为深海特有菌株
<i>Tsakamurella</i>	深海沉积物	18	首次在除陆地外的环境中分离
<i>Salinispora</i>	海泥	19	新发现的海洋固有放线菌属
<i>Marinospora</i>	海泥	20	新发现的海洋固有放线菌属
<i>Dietzia</i>	海泥	24	海洋固有放线菌属
<i>Aeromicrobium marinum</i>	海泥	26	海洋固有放线菌种
<i>Salinibacterium</i>	海水	27	新分离的属, 耐盐

2 海洋放线菌的分离培养方法

2.1 样品处理方法

Maldonado 等^[28]在 2005 年首次报道了海洋沉积物中存在着丰富的放线菌多样性, 而不是如早期研究所显示的, 只有小单胞菌属(*Micromonospora*)、红球菌属(*Rhodococcus*)和链霉菌属(*Streptomyces*) 3 个属^[28]。在 Maldonado 等的研究中强调了海泥样品处理方法的重要性。传统上分离海洋放线菌时所使用的方法是将海洋沉积物样品置于提取缓冲液中在摇床上慢速摇动一段时间以分散海泥样品, Maldonado 等的研究表明, 分散差速离心(Dispersion and Differential Centrifugation, DDC)方法是有效的处理海泥样品的方法, 虽然这种方法早在 1991 年就有报道, 但是一直没有得到国内研究者的普遍重视。DDC 法^[29]利用了胆酸钠作为弱的表面活性剂, 还使用了适度的超声处理, 使土壤微粒更好地分散开,

利用 DDC 法处理海泥样品所得到的可培养放线菌数量比用传统稀释涂布法明显增多, 可见 DDC 法是值得推广的样品处理方法。可见土壤颗粒与放线菌的菌丝和孢子很好的分散, 是获得更多样的放线菌的关键。我国学者利用 DDC 也成功进行了土壤放线菌的分离^[30]。我们在对大连地区的海洋放线菌进行分离时也发现 DDC 法是非常有效的样品处理方法, 比传统的稀释涂布法能获得多很多的分离菌株。

在对关岛附近的海洋样品的研究中^[31], Jensen 等使用了 7 种方法处理海洋沉积物样品, 发现将样品过夜干燥压碎后用无菌的泡沫块直接在琼脂平板上涂压获得了最多种类海洋放线菌, 将干燥的样品稀释后进行热处理也筛选出很多新的海洋放线菌, 他们还不同的处理方法进行了比较。他们筛选出的海洋放线菌有 58% 是需要海水进行生长的, 并且很多海洋放线菌是第一次发现的新属, 证明了热带太平洋海域也是海洋放线菌的丰富来源。

2.2 培养基的选择

迄今为止, 人们对于海洋放线菌的营养要求和代谢活动了解的还远远不够。在对可培养的放线菌进行研究时, 选择性培养基的使用是非常重要的。早期对马里亚纳海沟中海底沉积物的研究没有发现海洋放线菌的存在, 但是对位置很相近的海底沉积物的研究应用了 20 种不同的选择性培养基, 从其中的 4 种培养基中得到了可培养的海洋放线菌^[18]。50% 的放线菌是从棉子糖-组氨酸琼脂(Raffinose-histidine agar)培养基中分离出来的, 腐殖酸-维生素(Humic acid-vitamin agar)培养基分离出的菌落数最多。值得强调指出的是, 营养简单的培养基成分更适宜分离出放线菌, 对陆生放线菌的研究结果也表明, 使用营养简单的培养基加上延长培养时间可以得到很多土壤细菌, 包括稀有的放线菌^[32]。

张海涛等利用 8 种不同的培养基, 在所使用的 8 种培养基中, 以甘油为碳源, 精氨酸为氮源的 M2 培养基分离出 7 个属中的 6 个属, 有意思的是, 另外两个分离效果较好的培养基 M4、M7 也都以精氨酸为氮源, 均分离出 3 个属, 有的培养基只分离出 1 个属, 有的没有分离出任何菌株, 显示了可培养的放线菌对培养基成分的依赖^[13]。

我们课题组使用 16 种培养基对大连星海湾和

小平岛的海泥样品进行分离,也发现了甘油-精氨酸培养基具有很好的分离效果,此外还发现加入腐殖酸的 HV 培养基分离出数量最多的放线菌。我们的工作证明,大连地区海洋环境中蕴藏着丰富的放线菌资源,具有非常巨大的开发利用前景。

2.3 特殊培养策略

通过模拟海洋环境特殊的生长条件和营养成分成功培养海洋微生物。Webster 等人通过在培养基中添加海绵浸出汁,分离得到了一些具有新的形态学特征的放线菌^[33]。在对关岛海底沉积物进行分离时^[30],Jensen 等加入了海砂的洗脱液和海泥的洗脱液作为营养源,获得了非常高比例的(82%~91%)的需要海水才能生长的海洋特有放线菌,他们还发现加入 0.4% 酵母粉、1% 淀粉和 0.2% 的蛋白胨的培养基分离出的海洋特有放线菌最少,而只加入 0.01% 的酵母粉或蛋白胨的培养基和较低浓度的碳源分离出了较多的海洋放线菌,这提示我们利用低营养的培养基和加入海洋环境中的天然营养成分可以分离海洋特有的放线菌。Jensen 等的研究还强调了在培养基中加入 novobiocin 能提高海洋放线菌的分离效率。

在 Magarvey 等的研究中使用了很特别的选择培养策略^[34],他们利用只含有一些盐类的寡营养固体培养基,将海洋沉积物样品涂布在无菌滤纸上,用这种方法他们分离了 2 个生长缓慢的 *Micromonosporaceae* 科的新的属。起先这种方法是为了分离能降解纤维素的菌株,但是他们的研究表明所分离的新菌株并不能利用纤维素,推测这些菌株只需要琼脂中的杂质进行生长,滤纸只起到固体支持作用。他们的研究表明,通过使用简单的盐类加上特殊的培养方法,可分离一些生长很慢的海洋放线菌。

2.4 通过环境 DNA 的分析设计选择培养基

Maldonado 等^[28]首次提出可以通过对海洋环境 DNA 的分析预见可能存在的物种,并设计特异的培养基进行分离。通过不同科、属的兼并引物^[35]对海底沉积物中提取的 DNA 样品进行 PCR 扩增,他们对出现阳性扩增的科属进行了选择性分离,设计了 GYRS、HA、M3、RH、SM3 和 SCN 6 种培养基,成功分离了 *Streptosporangiaceae* 科的 *Streptosporangium* 属和 *Thermomonosporaceae* 科的 *Actinomadura* 属两个新的属的菌株。设计有效的引物扩增新的海洋放线菌种

属对指导分离工作具有重要的意义。

通过对环境样品中提取的 DNA 进行 16S rDNA 分析,可以得知微生物群落的生物多样性。很多研究表明,海洋环境样品中存在着巨大的生物多样性,如在对海绵 *Xestospongia* 16S rDNA 分析中发现了一系列新的未培养的放线菌^[16],可见对海洋放线菌的营养要求和代谢特性还需要进一步深入研究,才能得到更多可培养的海洋放线菌。

2.5 不可培养(unculturable)的海洋放线菌的培养

目前能够通过传统的培养手段分离的微生物还只占非常小的比例,如海水中的微生物可培养的仅为 0.001%~0.1%,海洋环境中存在大量的未培养放线菌资源亟待开发^[36]。微生物不可培养的原因很多,比较关键的在于分离培养基中采用的营养物质种类或渗透压不合适、营养物质浓度过高、缺少自然环境中来自于自身或其他微生物的生长因子,以及培养条件(如温度、湿度等)不合适等。另外生长缓慢、代谢缓慢的物种,由于不能与生长较快的物种竞争而未被分离,或者由于不能形成肉眼可见的菌落而被忽略^[37-39]。近年来兴起的宏基因组技术可避开培养的限制直接利用海洋环境中的基因资源,为深入研究海洋环境的生物多样性,并利用海洋微生物资源进行新药开发和有用天然产物的大规模生产提供了新的途径^[40]。然而,受到 DNA 大片段包装、宿主选择等技术条件的限制,宏基因组技术利用的只是微生物基因组中很小的一部分基因资源,通过可培养的方法研究海洋放线菌的多样性,获得微生物菌种的培养物,能获得整个基因组,使我们更加深刻的认识自然环境中物种间的相互作用和微生物对环境的适应机制,并更有效的获得更多的活性天然产物。令人鼓舞的是,近年发展的新的培养手段和培养策略已经使很多原来不可培养的微生物被成功培养^[41-43]。可以预见,这些新的培养方法在海洋放线菌研究中的应用将使我们获得更加多样性海洋放线菌。

3 展望

海洋环境蕴藏着最为丰富的生物多样性,海洋放线菌是海洋药物和活性天然产物的重要的新来源。随着日益增多的抗药性病原菌的出现和现有的治疗传染性疾病的药物的失效,海洋微生物的多样性已成为获得新的抗生素物质和更有效的

治疗致死性疾病(如癌症)心血管疾病的药物的重要潜在来源。我国的海洋微生物资源十分丰富,进一步加强我国海洋放线菌多样性的研究是非常必要的。可以预见,随着对海洋放线菌代谢特性的深入研究,以及分离方法和培养方法的进一步改进,越来越多的海洋放线菌将得到分离,海洋放线菌丰富的多样性将不断地被揭示。目前世界各地都纷纷建立了海洋微生物菌种保存中心(Marine Microbial Culture Collection, MMCC),我国第一个海洋微生物菌种保藏管理中心也于2006年8月通过验收。我们认为,当今对海洋放线菌及其他海洋微生物多样性的研究不应只局限于可培养的菌种资源的研究,还应该包括未培养微生物的基因资源、活性化合物的活性信息和结构信息等,建立完备的海洋放线菌菌种和基因资源中心(Marine Actinobacteria Strain and Gene Resources Collection Center),通过区域性研究单位间的密切合作对可培养和未培养的放线菌资源的多样性信息进行搜索和交换研究,具有重要的理论和应用意义。

参考文献

- [1] 刘志恒. 微生物学通报, 2005, 32(6): 143 ~ 145.
- [2] 耿晓阳, 蔡曼, 杨玲玲, 等. 微生物学通报, 2006, 33(3): 181 ~ 183.
- [3] 王轲, 褚以文. 中国天然药物, 2006, 4(3): 162 ~ 167.
- [4] Ward A C, Bora N. Curr Opin Microbiol, 2006, 9(3): 279 ~ 286.
- [5] Li F, Maskey R P, Qin S, et al. J Nat Prod, 2005, 68(3): 349 ~ 353.
- [6] 崔洪霞, 李富超, 阎斌伦, 等. 中国海洋药物, 2006, 25(1): 11 ~ 15.
- [7] Maskey R P, Helmke E, Kayser O, et al. J Antibiot (Tokyo), 2004, 57(12): 771 ~ 779.
- [8] Xiong L, Li J, Kong F. Lett Appl Microbiol, 2004, 38(1): 32 ~ 37.
- [9] 潘云娣, 杨文鸽, 候温甫, 等. 海洋通报, 2006, 25(4): 92 ~ 96.
- [10] 刘妍, 李志勇. 生物技术通报, 2005, 6: 34 ~ 39.
- [11] 姜健, 范圣第, 杨宝灵, 等. 微生物学通报, 2005, 32(2): 65 ~ 68.
- [12] 刘丽, 胡江春, 王书锦. 氨基酸和生物资源, 2004, 26(1): 1 ~ 4.
- [13] Zhang H, Lee Y K, Zhang W, et al. Antonie Van Leeuwenhoek, 2006, 90(2): 159 ~ 169.
- [14] Piel J, Hui D, Wen G, et al. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004, 101(46): 16222 ~ 16227.
- [15] Hentschel U, Hopke J, Hom M, et al. Appl Environ Microbiol, 2002, 68(9): 4431 ~ 4440.
- [16] Montalvo N F, Mohamed N M, Enticknap J J, et al. Antonie Van Leeuwenhoek, 2005, 87(1): 29 ~ 36.
- [17] Bull A T, Stach J E, Ward A C, et al. Antonie Van Leeuwenhoek, 2005, 87(3): 65 ~ 79.
- [18] Pathom-Aree W, Stach J E, Ward A, et al. Extremophiles, 2006, 10(3): 181 ~ 189.
- [19] Mincer T J, Jensen P R, Kauffman C A, et al. Appl Environ Microbiol, 2002, 68(10): 5005 ~ 5011.
- [20] Kwon H C, Kauffman C A, Jensen P R, et al. J Am Chem Soc, 2006, 128(5): 1622 ~ 1632.
- [21] Mincer T J, Fenical W, Jensen P R. Appl Environ Microbiol, 2005, 71(11): 7019 ~ 7028.
- [22] Oh D C, Williams P G, Kauffman C A, et al. Org Lett, 2006, 8(6): 1021 ~ 1024.
- [23] Kim T K, Hewavitharana A K, Shaw P N, et al. Appl Environ Microbiol, 2006, 72(3): 2118 ~ 2125.
- [24] Helmke E, Weyland H. Int J Syst Bacteriol, 1984, 34(1): 127 ~ 138.
- [25] Heald S C, Brandao P F, Hardacre R, et al. Antonie Van Leeuwenhoek, 2001, 80(2): 169 ~ 183.
- [26] Bruns A, Philipp H, Cypionka H, et al. Int J Syst Evol Microbiol, 2003, 53(Pt 6): 1917 ~ 1923.
- [27] Han S K, Nadashkovskaya O I, Mikhailov V V, et al. Int J Syst Evol Microbiol, 2003, 53(Pt 6): 2061 ~ 2066.
- [28] Maldonado L A, Stach J E, Pathom-aree W, et al. Antonie Van Leeuwenhoek, 2005, 87(1): 11 ~ 18.
- [29] Hopkins D W, MacNaughton S J, O'Donnell A G. Soil Biol Biochem, 1991, 23(2): 217 ~ 225.
- [30] 王黎明, 黄英, 崔庆锋, 等. 微生物学通报, 2003, 30(6): 81 ~ 86.
- [31] Jensen P R, Gontang E, Mafnas C, et al. Environ Microbiol, 2005, 7(7): 1039 ~ 1048.
- [32] Janssen P H, Yates P S, Grinton B E, et al. Appl Environ Microbiol, 2002, 68(5): 2391 ~ 2396.
- [33] Webster N S, Wilson K J, Blackall L L, et al. Appl Environ Microbiol, 2001, 67(1): 434 ~ 444.
- [34] Magarvey, N A, Keller, J M, Berman, V, et al. Appl Environ Microbiol, 2004, 70(12): 7520 ~ 7529.
- [35] Stach J E, Maldonado L A, Ward A C, et al. Environ Microbiol, 2003, 5(10): 828 ~ 841.
- [36] Amann R I, Ludwig W, Schleifer K H. Microbiol Rev, 1995, 59(1): 143 ~ 169.
- [37] 郭斌, 吴晓磊, 钱易. 微生物学报, 2006, 46(3): 504 ~ 507.
- [38] 叶姜瑜, 罗国源. 微生物学报, 2006, 45(3): 478 ~ 482.
- [39] 岳秀娟, 余利岩, 李秋萍, 等. 微生物学通报, 2006, 33(3): 77 ~ 81.
- [40] Li X, Qin L. Trends Biotechnol, 2005, 23(11): 539 ~ 543.
- [41] Ferrari B C, Binnerup S J, Gilling M. Appl Environ Microbiol, 2005, 71(12): 8714 ~ 8720.
- [42] Cannon S A, Giovannoni S J. Appl Environ Microbiol, 2002, 68(8): 3878 ~ 3885.
- [43] Kaerberlein T, Lewis K, Epstein S S. Science, 2002, 296(5570): 1127 ~ 1129.