

# 寡营养细菌及其生态作用和应用的研究进展

韩东东 郝振宇 高广海 王莹莹\*

(南开大学 环境科学与工程学院 环境污染过程与基准教育部重点实验室 天津市城市  
生态环境修复与污染防治重点实验室 天津 300071)

**摘要:** 寡营养细菌是自然环境中特别是在寡营养环境中广泛分布的一种细菌, 对寡营养生态环境起着至关重要的作用。近年来, 随着分子生物学技术的飞速发展, 寡营养细菌开始被广泛深入的研究。其分离培养技术, 细菌形态特征, 在生态中的作用和应用是目前微生物领域和环境科学领域的前沿课题, 本文对这几个方面近年来的研究状况进行了综述, 并展望了未来的发展趋势。

**关键词:** 寡营养细菌, 生态作用, 环境应用

## Ecological function of oligotrophic bacteria and their Applications in the environment

HAN Dong-Dong HAO Zhen-Yu GAO Guang-Hai WANG Ying-Ying\*

(Tianjin Key Laboratory of Environmental Remediation and Pollution Control, Ministry of Education  
Key Laboratory of Pollution Processes and Environmental Criteria, College of Environmental  
Science and Engineering, Nankai University, Tianjin 300071, China)

**Abstract:** Oligotrophic bacteria are widely distributed in natural environments, especially in oligotrophic environments where they play an important role in biogeochemical cycling. Recently, there have been an increased number of reports on oligotrophic bacteria due to application of molecular techniques. Isolation and cultivation techniques of oligotrophic bacteria, their ecological function and applications are among the frontier research topics in the fields of microbiology and environmental science. Here we summarized the findings in these aspects and reviewed the future development trends.

基金项目: 国家科学自然基金项目(No. 31000247), 高等学校博士学科点专项科研基金(No. 20100031120018)

\*通讯作者: Tel: 86-22-66229721; 信箱: wangyy@nankai.edu.cn

收稿日期: 2011-09-01; 接受日期: 2011-12-06

**Keywords:** Oligotrophic bacteria, Ecological function, Environmental applications

1979 年 Kuznetsov 首次提出了寡营养细菌 (Oligotrophic bacteria) 的概念, 并将其定义为首次培养时可在含碳量 1–15 mg/L 的培养基中生长的细菌, 同时把不能在富营养培养基上生长的寡营养细菌称为专性寡营养细菌, 可同时在寡营养和富营养培养基上生长的细菌称为兼性寡营养细菌<sup>[1]</sup>。该类细菌主要分布于极端恶劣环境条件中, 其个体微小, 一般可通过小于 0.45  $\mu\text{m}$  的滤膜, DNA 含量较低, 因而又被研究者们称为可滤过性细菌<sup>[2]</sup> (Filterable bacteria)、超微细菌<sup>[3]</sup> (Ultramicrobacteria) 或低核糖核酸细菌<sup>[4]</sup> (LNA bacteria) 等。由此可知, “寡营养细菌”是对能在特定环境条件下生存的微生物的特定称呼, 而不同于微生物分类学上的专业术语。不同的寡营养细菌可能在系统发育树上分属于不同的进化分支<sup>[5]</sup>。

## 1 寡营养细菌的分离和培养

迄今为止, 已知的绝大多数寡营养细菌不能用常规的实验室纯培养方法进行培养和研究, 而只能通过显微镜观测、DGGE、Shortgun sequencing 和放射性标记等方法进行检测, 这就限制了研究人员对于寡营养细菌的深入研究。这些限制寡营养细菌分离和培养的因素可以被概括为<sup>[6]</sup>: (1) 不能适应高营养的环境; (2) 不合适的营养底物; (3) 缺少特别的生长维生素及生长因子; (4) 生长抑制物质或者添加剂的存在; (5) 由于临近细胞的作用而失活; (6) 对于有氧呼吸的敏感或者对新的营养物质的敏感; (7) 溶解性噬菌体的存在等。由于缺乏适当的纯培养方法, 研究者对这类细菌的生理特性还知之甚少。为了深入研究该类细菌, 人们对其培养方法进行了诸多新的尝试和改进, 例如, 研究者通过延长培养时间, 调节溶氧浓度和营养水平, 以及增加信号化

合物等方法来改进传统的培养方式。与此同时, 研究者也尝试使用成分组成更贴近自然环境的培养液来进行培养。

目前实验室分离培养寡营养细菌的方法主要有两种:

一种是稀释培养基培养法, 该方法是将传统培养方法中的培养基营养浓度进行一定倍数的稀释 (100–10 000 倍), 从而能达到寡营养条件, 在此基础上可以增加底物的多样性以适应更多种细菌的生长。这种方法最早由 Hattori 提出<sup>[7]</sup>, 利用这种方法分离寡营养细菌的范例有很多<sup>[8]</sup>, 但该方法主要适用于土壤中寡营养细菌的分离培养。

另一种常用方法是极度稀释法 (Extinction dilution culturing methods)<sup>[9]</sup>。研究人员已经利用这种方法成功的分离出了 *Sphingomonas alaskensis* 和 *Cycloclasticus oligotrophus* 等许多菌种。该方法利用过滤或者高压蒸汽灭菌的海水将样品进行稀释, 直到在每个培养管中都含有极少的微生物, 且稀释液中不添加任何营养物质, 样品置于 5  $^{\circ}\text{C}$  黑暗中静置 6 到 12 个月, 经长时间静置后该类寡营养细菌就可正常纯培养。这种从专性寡营养到兼性寡营养的转换机理到目前为止还不太清楚<sup>[10]</sup>, 但是通过对新菌种的分离表明该方法具有可重复性。

以上述方法为基础, 研究人员进行了很多改进和变化<sup>[11]</sup>, 但其基本原理和流程并没有大的变化。同时, 由于该类培养液中的细胞浓度通常低于传统测定细菌生长技术的检测极限, 对于寡营养细菌的分离培养还需要结合适当的检测方法。现在主要的检测方法包括流式细胞仪检测、荧光或电子显微镜检测和 FISH 等。研究方法的进步促进了寡营养细菌的大量检出, 同时也证实了寡

营养细菌是自然界中的优势菌种。

## 2 寡营养细菌的生物学特征

通过 16S rRNA(rDNA)基因克隆技术等分子生物学方法分离获得了大量的寡营养细菌菌种, 主要以  $\alpha$ -和  $\gamma$ -变形细菌( $\alpha$ -和  $\gamma$ -*Proteobacteria*)为主, 另外还包括噬细胞菌属、黄杆菌属和拟杆菌属等等。另外研究表明依靠培养(培养, Culture-dependent)的检测方法和非依靠培养(免培养, Culture-independent)的方法得出的寡营养细菌组成结果往往有一定出入<sup>[12]</sup>。1979 年, Hirsch 等在 Dahlem 会议上首次介绍了典型的寡营养细菌特性<sup>[13]</sup>: 细胞体积一般很小, 从而有很高的比表面积; 代谢能量首先应用于营养物质的吸收, 特别是在非生长期; 对混合营养底物的吸收具有较高的亲和力, 其营养传输系统具有低特异性的特点, 并且在吸收后建立了营养储备; 生物合成和营养吸收率保持一致; 能将各种营养物质作为存储材料。Poindexter<sup>[14]</sup>把高亲和性的吸收系统扩充为与营养吸收相结合的低能量激活系统, 即减少每次营养吸收需求的高效系统。许多研究都表明, 寡营养细菌比富营养细菌有更灵活的营养适应性, 可以利用更广泛的营养物质作为底物。

另外 Semenov<sup>[15]</sup>总结了寡营养细菌的各种定义及区分于其它细菌的物理特性, 提出了新的寡营养细菌特性, 包括 3 个方面: (1) 拥有更有效的吸收转运系统, 寡营养细菌生长动力学上有着

很低的  $K_s$  值, 在传输系统中则有着极低的  $K_m$  值; (2) 经济有效的生长代谢能力, 如寡营养细菌可以利用极少的能量来维持生存; (3) 其代谢途径存在一个或多个“管理反应”(Master reaction)或叫做“生长速率决定步骤”(Rate-determining steps), 用以调节生长代谢的速率, 这些调节功能可以使寡营养细菌更有效地利用能量。如表 1 所示, 寡营养细菌 *S. alaskensis* 相对于典型富营养细菌 *E. coli* 对环境中的有机碳源利用效率更高。

目前研究较为深入的寡营养细菌为 *Sphingomonas alaskensis*, 包括 RB2256, RB255, RB2510 和 AFO1。该菌种在环境中分布比较广泛, 并且有能力成为环境营养循环特别是寡营养环境物质循环的主要贡献者。许多关于寡营养细菌的深层次研究都是以该菌种作为典型菌种来研究<sup>[10,16]</sup>, 并以此建立了寡营养细菌的一般特性数据库。以下关于寡营养细菌分子层面的特征介绍也主要以 *S. alaskensis* 为主。

一般认为寡营养细菌由于体积较小则其基因含量也相对较少<sup>[10]</sup>, 已知 *S. alaskensis* 的基因组为 3.1–3.2 Mb<sup>[17]</sup>, 而体积远大于该菌的细菌 *Prochlorococcus marinus*, 基因含量却只有 1.8 Mb<sup>[18]</sup>, 这表明基因组大小与细胞大小无直接关系。而且这与寡营养细菌在面对压力和苛刻的营养条件所做出的快速基因调控能力相一致。关于核糖体的研究表明 *S. alaskensis* 的核糖体含量相比于富营养细菌要少, 这与它含有单一 rRNA 操纵子相一致<sup>[19]</sup>。研究还发现核糖体在对数期可

表 1 典型富营养细菌 *E. coli* 与寡营养细菌 *S. alaskensis* 在相同条件下对不同碳源的利用  
Table 1 Growth Comparison between typical copiotrophic bacterium *E. coli* and oligotrophic bacterium *S. alaskensis* on different carbon sources (30 °C 200  $\mu$ g C/L)

细菌 Bacteria	最大生长速率 $\mu_{\max}$ ( $\text{h}^{-1}$ )		产量 Cell (number/mL)	
	地表水可利用有机碳 AOC	葡萄糖 Glucose	地表水可利用有机碳 AOC	葡萄糖 Glucose
<i>S. alaskensis</i>	0.40	0.25	6.34E+06	0.89E+06
<i>E. coli</i>	0.14	0.32	0.92E+06	1.40E+06

达到每个细胞含量约为 2 000 个,并且可以在对数期后很快下降到 200 左右并保持该含量约 7 d,这就表明该类细菌具有快速变化的调节能力<sup>[1]</sup>。

Fegatella 等对 *S. alaskensis* 的饥饿研究表明:*S. alaskensis* 在对数期和稳定期蛋白质数量变化可达到 70 倍,在饥饿时期的蛋白质增加和减少变化调节最少也在 2 倍左右<sup>[9]</sup>。*S. alaskensis* 表现出了和富营养细菌十分不同的饥饿反应,并显示出了面对饥饿时强大的基因调节能力。

另外,研究表明典型的寡营养细菌可以对多种带来生存压力的环境条件和试剂具有抗性,包括高温、紫外线、过氧化氢和乙醇等<sup>[20]</sup>,但是对洗涤剂则特别敏感。这说明该类细菌的细胞膜不仅具有简单的物理防护作用,对于其稳定性及抗逆性也起到了重要的作用,推测其抗逆机理可能与非特异性的高效膜排出或膜消毒系统有关。

关于寡营养细菌为何不能适应富营养环境而富营养细菌又不能在寡营养环境中生长的问题,有许多研究人员对此进行了研究和讨论,主要是围绕两者的外部形态和内部对营养的吸收利用系统的区别展开。Arthur<sup>[21]</sup>主要阐述了两种细菌细胞对营养物质的吸收渗透作用的不同,以及对周围环境各种压力包括氧化自由基,有毒底物的抵抗能力以及随着外界营养环境的变化细胞内部合成和调节能力不同等。同时, Federico 等<sup>[22]</sup>直接对典型的富营养细菌 *P. angustum* S14 和寡营养细菌 *S. alaskensis* RB2256 的物理特征和基因序列进行了比较,特别是有关于寡营养机制的基因特征的研究,初步确定了寡营养细菌适应寡营养环境的分子机制,进而建立了通过基因鉴定未知细菌营养机制的模型。

### 3 寡营养细菌的分布及其生态作用

寡营养细菌种类极为丰富,包括鞘细菌、假单胞菌、弧菌、微环菌、柄细菌和节杆菌等。在

生物圈的各个层面,从极端环境到常见的生态群落,到处可以见到寡营养细菌的分布。迄今为止,已有大量的寡营养细菌从不同的寡营养环境中被分离出来,包括海洋、沙漠<sup>[23]</sup>、湖泊、土壤、饮用水和矿泉水、蒸馏水和高纯水等。研究人员甚至在医院临床材料<sup>[10]</sup>及无菌药物生产车间<sup>[24]</sup>中也发现有寡营养细菌的存在,因此需要对于传统的医疗器械的细菌检测方法及标准进行改进。在这些被分离的细菌中,有很多已被证实是所处环境的优势菌种,在生物地球化学循环中发挥着极为重要的作用。

寡营养细菌在自然界中是各种生态循环的重要贡献者,与自然界中的氮、碳、硫、磷和微量元素铁等的循环关系密切,在环境体系的自净过程中具有非常重要的作用。寡营养条件下的生态研究,特别是微生物生态研究,对生态环境起到重要作用的寡营养物种的分离研究,包括他们的生态组成、竞争关系和微生物食物链情况等的研究都已成为环境科学研究的热点。

一方面,寡营养细菌是寡营养环境中的各种元素循环和生物化学反应的重要力量。Hashimoto 等<sup>[8]</sup>分离得到的反硝化细菌中寡营养细菌占到总量的 74%,表明寡营养细菌才是表土中主要的反硝化力量,并从中提取出了新的反硝化寡营养细菌。苏俊峰<sup>[25]</sup>、Abdullah<sup>[26]</sup>在各自的研究中分离出了寡营养硝化细菌,并且在一定条件下对其硝化特性进行了研究。这些研究无不说明了寡营养细菌在氮循环中的作用。Lee 等从多种环境样品中提取出了 135 种可以进行反硝化作用的寡营养细菌,并提出可以将部分菌种应用于施肥过量的土地的修复<sup>[27]</sup>。另外还有寡营养硫酸盐还原菌种<sup>[28]</sup>等各种元素循环体系中的寡营养细菌的相关报道。

另一方面,寡营养细菌在生长过程中对周围环境的生态维持和改善也起到一定的作用。

Naumoski<sup>[29]</sup>的研究表明兼性寡营养细菌对寡营养湖泊营养特征的保持起着重要的作用。潘惠霞等<sup>[23]</sup>从新疆古尔班通古特沙漠生物结皮下层分离到一株寡营养细菌,该细菌可以在生长过程中分泌大量的黏多糖,使得这种细菌周围的沙粒结成皮层,从而起到固沙和减缓土壤水分蒸发的效果,因此对沙漠环境的改善起到一定的作用。与此同时,寡营养细菌对邻近生物的生存具有促进或抑制作用,例如, Keshtacher-liebson 等<sup>[30]</sup>对寡营养细菌 *Halomonas* sp. 的研究表明,该寡营养细菌可以增加铁元素的溶解度从而促进藻类的生长,如果缺少了这种寡营养细菌,当地的藻类会因为缺少铁元素而被抑制生长。

另外,在环境中的很多污染物质都是以痕量的形式存在,在营养条件贫乏的条件下,污染物能否或者如何被寡营养细菌所降解是目前比较空白而又亟待解决的问题。当然,寡营养细菌对于人类的生产生活也有一定的不利影响,Wainwright 等<sup>[31]</sup>对寡营养细菌的生物腐蚀作用进行了综述,由于寡营养细菌可以在营养极其稀少的地带存活,包括玻璃、金属和电子元件表面等,从而会对这些材料有着生物腐蚀和生物污染的作用,值得引起广泛的关注。

由上可知寡营养细菌的生态作用非常广泛,涉及诸多方面,但其研究都处在比较初步的探索阶段,对生态作用的机理和过程研究也不够细致,无法形成一个完整的数据系统。今后的研究应当致力于将寡营养细菌在生态中的作用系统化,形成完善的生态作用结构框架,以期为实践中利用寡营养细菌改善生态环境提供有力的数据和支持。

## 4 寡营养细菌的应用研究现状

### 4.1 对微污染水体的净化作用及其应用

微污染是近年来才出现的水处理术语,用以

表示水中所含的污染物种类多、性质复杂、相对浓度较低时的情况,一般的物理化学除污方法并不适用。由于传统的微生物不能在低浓度营养条件下正常生长,而寡营养细菌仅需要很少的营养便可以生存,因此在微污染水体的净化处理过程中寡营养细菌有着非常重要的应用前景。

利用寡营养细菌处理微污染的主要原理是利用寡营养细菌能够在微污染条件下生存并能利用多种复杂有机物作为营养物质,从而在其生长的过程中将污染物质生物代谢转化为二氧化碳和水,最终实现净化水体的目的。相比于物理、化学等处理工艺,利用寡营养细菌处理工艺不仅具有一般生物处理的优势,另外还有成本低、效率高、过程稳定等优点;同时还能够利用多种营养底物,一次同时处理多种污染物或者复杂的混合污染物,能更好的适应特殊极端环境,特别是营养贫乏的环境。

目前研究显示,寡营养细菌可以对多种低浓度有机或无机污染物进行降解,例如, Shigenori 等<sup>[32]</sup>从土壤中分离得到了可降解四氯乙烯的寡营养细菌; Ohta 等<sup>[33]</sup>对稻田中分离出的 *Sphingomonas oligophenolica* sp. nov. 菌种的研究发现,该菌种可以降解低含量的苯酚;扈玉婷<sup>[34]</sup>从没有被芳烃污染的新疆天池水样中分离到了一株能够以蒽、菲、苈做为唯一碳源和能源的菌株。由此可知,寡营养细菌中含有降解多种难降解有机物的基因和相应的酶,只要能够筛选并得到合适的混合菌种,就能够利用寡营养细菌治理微污染及各类混合污染。

夏辉<sup>[35]</sup>、田兴华等<sup>[36]</sup>分别利用寡营养细菌对微污染水体进行了净化研究,结果一致表明寡营养细菌可对微污染水体中的 COD 和 TOC 有很好的去除率,处理后的水质有了明显提高。并对富营养细菌 FY99-01 和寡营养细菌 Y11 对微污染水体的净化作用进行了对比,发现虽然 FY99-01

针对污染严重的水体具有很强的净化能力,但是对微污染的净化作用不强,和实验中提取出的寡营养细菌 Y11 相比还存在着明显的差距。这就充分证明了寡营养细菌在微污染处理中的优势和应用前景。Xiao 等<sup>[37]</sup>关于微污染的降解也提出了采用寡营养细菌的方法,并且指出其方法可以有效去除有机物质和氨氮。另外还有关于寡营养细菌生物燃料电池的研究<sup>[38]</sup>,该研究在处理污水的同时,还可以产生能源。

目前国内在微污染水处理技术方面还处于起步阶段,各种工艺参数也尚未成熟。此外单纯的生物法在运行中或多或少也会带入其他对人体有影响的代谢产物和微生物。如果能够成功解决以上问题并获得能降解各类相应水体污染的菌剂,此方法在水处理中将会有非常广泛的应用。

## 4.2 寡营养细菌作为污染检测工具

随着世界范围内污染情况的加剧,对污染情况的检测及评估也就成为治理污染的首要任务。检测评估污染情况主要有两种方法:一种是化学方法,该方法迅速且精确,但要求昂贵的设备投入及专业的技术人员操作,这对于该方法的大范围推广及应用不利,且该方法只能检测单一的污染物质,对于复杂的污染情况很难准确评估;另一种方法则是依靠生物学方法来检测评估,该方法不受设备和技术人员的限制,可以大范围推广,而寡营养细菌由于其特殊的生物学特征及营养要求成为了一种非常优良的污染检测工具。

利用寡营养细菌作为检测工具的主要原理是利用寡营养细菌的特殊性质及其与周围环境的特殊关系,包括:(1)能适应营养极其贫乏的环境和其它极端环境的特性;(2)在寡营养环境下易生长而在富营养环境下反而无法生长的特性;(3)对特殊元素或物质的敏感性等。该方法的优点主要包括:成本低、无需任何化学或其它添加剂、不需要复杂的前处理过程、可以对复杂的样

品特性进行综合的检测等。而该方法的不足主要包括:寡营养细菌的检测不同于一般细菌的检测方法,具有一定的技术要求和仪器要求,这可能是一般机构和单位所不具备的。寡营养细菌的生长周期比较长,这就使得有些检测的时间也会延长。另外对该方法的研究整体上还很不成熟,大范围的应用还缺乏完善的技术体系,这也是限制寡营养细菌作为检测工具的主要原因。

目前该类检测方法主要包括以下几种:

(1) 作为无菌环境的检测工具。Nagarkar 等<sup>[24]</sup>对无菌药物生产车间的干净房间进行了传统介质检测和寡营养细菌检测的比较,结果表明传统检测为零的环境中仍存在着寡营养细菌,在这些环境中寡营养细菌比其他细菌在数量上更占优势,由此,他建议寡营养细菌作为无菌药物生产车间的一种检测工具更实用和有意义。由于寡营养细菌不仅对低营养条件有很高的适应性,而且对过氧化氢、乙醇、高温、紫外线等试剂及环境条件也具有极高适应性。所以不仅在无菌生产车间,对于临床材料等其它无菌要求的材料和地点的检测也都可以将其作为无菌的检测标志物。

(2) 作为湖泊营养状态的检测标志物。Naumoski<sup>[29]</sup>的研究表明溶解性的可生物降解的有机物含量和寡营养细菌的数量有着很好的相关性。随着水体污染的加剧,尤其是水体富营养化范围的不断扩大,水环境中的寡营养细菌在菌体数量上处于劣势,通过检测污染水体中的寡营养细菌数量及质量,可以作为环境污染评价及湖泊营养状态的检测标志。

(3) 作为重金属污染的检测工具。Tada<sup>[39]</sup>对几种寡营养细菌的研究发现 *S. paucimobilis* KPS01、*Burkholderia cepacia* KPC01 和 KPC02 对金属元素特别敏感,可作为检测评价重金属毒性的工具,该检测方法成本低、易于操作,检测

线可达到  $10^{-8}$  mol/L, 但是该方法的用时较长, 一般耗时 4 d 时间且需要一定的操作技术。

当然, 目前仍有很多因素限制了寡营养细菌的广泛应用: 由于绝大部分寡营养细菌不能采用一般的实验条件培养研究或者在研究中性状会发生改变, 所以对此类细菌的应用研究本身受到限制; 对现有分离得到的寡营养细菌的研究还停留在理论和实验阶段, 距离实际应用还缺乏必要的运行参数和数据库作支撑; 另外寡营养细菌生长种群密度较小, 相应的应用菌剂难以大量发酵生产等。

### 4.3 寡营养细菌活性物质的研究

随着抗生素及新型生物药剂的不断推陈出新, 微生物活性代谢产物已成为生产药物的重要来源, 至今已在微生物中发现了约 50 000 多种天然产物, 其中近 6 000 种是抗生素, 由此可见来自微生物的各种活性产物对于人类疾病防治及新药研发具有极为重要的作用。由于寡营养环境的特殊性及其多样性, 寡营养细菌发展出了独特的

营养吸收方式, 随之也产生了大量新型的生物代谢活性物质, 如抗冻物质、抗紫外辐射物质、抗肿瘤物质、抗菌物质及多种活性酶等, 这些活性物质对于生物的免疫保护及生理调节具有重要意义。王秀丽等<sup>[40]</sup>从南极超微细菌 ANT52 中提取得到的膜蛋白和脂多糖能够显著提高黑鲷的非特异性免疫功能; 钱国英<sup>[41]</sup>从超微细菌 *Glaciecolapofaris* 中提取得到的蛋白多糖能够促进动物生长并增强其非特异性免疫的功能。当然, 也有一些寡营养细菌具有多种抗生素抗性, 在一定条件下抗生素抗性相关的基因可能因遗传物质转移机制在致病菌中进行转移, 从而使得一些致病菌也具有抗生素抗性, 这将对疾病的防治及传播控制产生极大的威胁。已知寡营养细菌 *Klebsiella pneumoniae* MB45 对于甲氧苄啶、磺胺甲基异恶唑、青霉素、庆大霉素、乙基西梭霉素、托普霉素、氯霉素和头孢噻肟等抗菌药物具有明显的抗性, 研究人员对该细菌中抗性相关基因 *dfrA30* 定位并进行了深入研究(图 1)<sup>[42]</sup>, 另外,

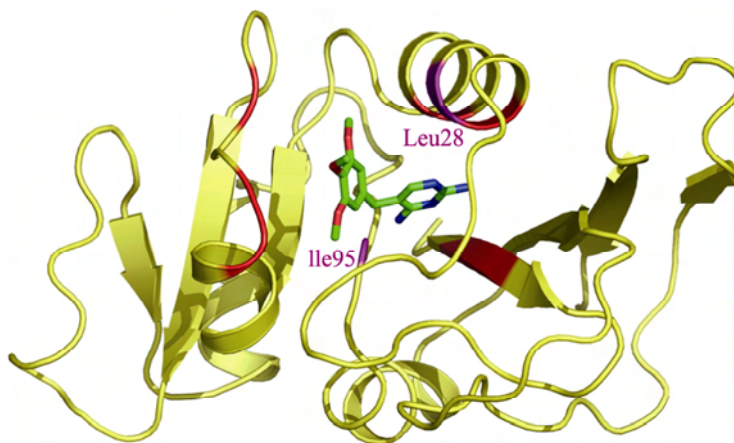


图 1 蛋白 DFR 与甲氧苄啶结合位点示意图。

Fig. 1 Cartoon representation of the TMP binding site on DFR

注: DfrA30 是基于 *Mycobacterium avium* Dfr (PDB ID: 2W3V) 晶体结构的模型。活性片段为红色, 两个突变氨基酸残基为洋红色, 其他的氨基酸残基为黄色。甲氧苄啶为图中绿色棍状模型。

Note: DfrA30 is modeled based on the crystal structure of *Mycobacterium avium* Dfr (PDB ID: 2W3V). Residues forming the active pocket of Dfr are shown in red, and the two residues that are mutated in DfrA30 are in magenta. The remaining residues are shown in yellow. TMP is shown in stick representation and coloured green.



Jang 等<sup>[43]</sup>的研究还发现寡营养细菌 *Bacillus vallismortis* 1A 具有抗霉菌活性,从而能够帮助红椒抵抗植物流行病。

寡营养细菌中所含有的活性物质成分具有非常广泛的生物活性和作用,在防治疾病及新药研发方面具有极为广阔的前景。但是,由于微生物活性物质的筛选及分离技术不成熟、起步较晚、与国外差距很大,同时该类研究周期长、见效慢、产业化水平很低。在此,我们要加强对于寡营养细菌中特殊基因及活性物质的筛选及利用研究,深入研究其结构与功能之间的关系,阐明其作用机理,为临床及生产应用奠定基础。同时,还应当加大对于该类研究的资金和科研力量的投入,加快其产业化进程。

## 5 展望

目前,对于寡营养细菌的研究虽然较多,但范围广且不深入,其中对于寡营养细菌和富营养细菌的特征及其两者的本质区别还有待进一步研究。同时,目前常用的分离培养方法还具有很大的局限性,很大一部分寡营养细菌仍然不能得到分离培养,更为普遍有效的培养方法有待于进一步探索。

现代分子生物研究表明,人类已经获得纯培养的微生物仅占微生物总量的0.1%不到,在环境体系尤其是极端环境条件下未培养微生物的多样性使得微生物类群中保存了大量的未知功能的新基因<sup>[44]</sup>,寡营养细菌作为未培养微生物的一种,其未知功能基因的多样性及特殊性尤其值得我们关注。利用分子生物学技术分离培养寡营养细菌并对其新基因进行定位及功能注释,进而通过过生物改造以期获得可在环境污染治理中实际应用的超级工程菌是一条值得探索的道路。当然,对于寡营养细菌在生态环境中的特殊作用及其实际应用的研究还处于初步阶段,距离投入

生产应用还有很多技术难点和理论问题需要解决,在此仍需要加大对于该领域的资金投入及科研力量的倾斜。

## 参 考 文 献

- [1] Kuznetsov SI, Dubinina GA, Lapteva NA. Biology of oligotrophic bacteria[J]. Annual Review of Microbiology, 1979, 33(1): 377-387.
- [2] Wang YY, Hammes F, Boon N, et al. Quantification of the filterability of freshwater bacteria through 0.45, 0.22 and 0.1  $\mu\text{m}$  pore size filters and shape-dependent enrichment of filterable bacterial communities[J]. Environmental Science and Technology, 2007, 41(20): 7080-7086.
- [3] Schut F, Gottschal JC, Prins RA. Isolation and characterisation of the marine ultramicrobacterium *sphingomonas* sp. strain RB2256[J]. FEMS Microbiology Reviews, 1997, 20(3/4): 363-369.
- [4] Wang YY, Hammes F, Boon N, et al. Isolation and characterization of low nucleic acid (LNA)-content bacteria[J]. The ISME Journal, 2009, 3(8): 889-902.
- [5] 张崇邦, 黄立南, 栾天罡, 等. 寡营养细菌及其在环境科学中的应用[J]. 应用生态学报, 2005, 16(4): 773-777.
- [6] Cavicchioli R, Ostrowoki M, Fegatella F, et al. Life under nutrient limitation in oligotrophic marine environments: an eco/physiological perspective of *Sphingopyxis alaskensis* (formerly *Sphingomonas alaskensis*)[J]. Microbial Ecology, 2003, 46(2): 249-256.
- [7] Hattori R, Hattori T. Sensitivity to salts and organic compounds of soil bacteria isolated on diluted media[J]. Journal of General and Applied Microbiology, 1980, 26(1): 1-14.
- [8] Hashimoto T, Whang KS, Nagaoka K. A quantitative evaluation and phylogenetic characterization of oligotrophic denitrifying bacteria harbored in subsurface upland soil using improved culturability[J]. Biology and Fertility of Soils, 2006, 42(3): 179-185.
- [9] Button DK, Schut F, Quang P, et al. Viability and



- isolation of marine bacteria by dilution culture: theory, procedures, and initial results[J]. *Applied Environmental Microbiology*, 1993, 59(3): 881–891.
- [10] Tada Y, Ihmori M, Yamaguchi J. Oligotrophic bacteria isolated from clinical materials[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 1995, 33(2): 493–494.
- [11] Park JH, Oh HK, Lee JJ, et al. Method for isolating and culturing antibiotic-resistant oligotrophic bacteria in an aqueous environmental sample derived from various origins and a method for diagnosis of bacterium harmfulness by antibiotic resistance[P]. KR775034-B1. 2008.
- [12] Eilers H, Pernthaler J, Glöckner FO, et al. Culturability and in situ abundance of pelagic bacteria from the north sea[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66(7): 3044–3051.
- [13] Hirsch P, Bernhard M, Cohen SS, et al. Strategies of microbial life in extreme environments[M]. Berlin: Dahlem Konfrenze, 1979, 3: 57–72.
- [14] Poindexter JS. Oligotrophy: feast and famine existence[J]. *Advances in Microbial Ecology*, 1981, 5(1): 63–89.
- [15] Semenov AM. Physiological bases of oligotrophy of microorganisms and the concept of microbial community[J]. *Microbial Ecology*, 1991, 22(1): 239–247.
- [16] Fegatella F, Cavicchioli R. Physiological responses to starvation in the marine oligotrophic ultramicrobacterium *Sphingomonas* sp. strain RB2256[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66(5): 2037–2044.
- [17] Eguchi M, Ostrowski M, Fegatella F, et al. *Sphingomonas alaskensis* strain AFO1, an abundant oligotrophic ultramicrobacterium from the north Pacific[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67(11): 4945–4954.
- [18] Strehl B, Holtzendorff J, Partensky F, et al. A small and compact genome in the marine cyanobacterium *Prochlorococcus marinus* CCMP 1375: lack of an intron in the gene for tRNA(Leu)<sup>UAA</sup> and a single copy of the rRNA operon[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 1999, 181(2): 261–266.
- [19] Fegatella F, Lim J, Kjelleberg S, et al. Implications of rRNA operon copy number and ribosome content in the marine oligotrophic ultramicrobacterium *Sphingomonas* sp. strain RB2256[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998, 64(11): 4433–4438.
- [20] Pontes DS, Pinheiro FA, Lima-Bittencourt CI, et al. Multiple antimicrobial resistance of gram-Negative bacteria from natural oligotrophic lakes under distinct anthropogenic influence in a tropical region[J]. *Microbial Ecology*, 2009, 58(4): 762–772.
- [21] Koch AL. Oligotrophs versus copiotrophs[J]. *BioEssays*, 2001, 23(7): 657–661.
- [22] Lauro FM, McDougald D, Thomas T, et al. The genomic basis of trophic strategy in marine bacteria[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(37): 15527–15533.
- [23] 潘慧霞, 程争鸣, 张元明, 等. 寡营养细菌 (*Oligotrophic bacteria*) 及其固沙作用的研究[J]. *中国沙漠*, 2007, 27(3): 473–477.
- [24] Nagarkar PP, Ravetkar SD, Watve MG. Oligophilic bacteria as tools to monitor aseptic pharmaceutical production units[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67(3): 1371–1374.
- [25] 苏俊峰, 黄廷林, 李倩, 等. 贫营养异养硝化细菌的分离鉴定及硝化性能研究[J]. *环境污染与防治*, 2010, 32(5): 4–13.
- [26] Al-Falih AM, Al-Julaifi MZ. Nitrification by *Fusarium* species grown under oligotrophic conditions[J]. *Pakistan Journal of biological Sciences*, 2001, 4(3): 343–345.
- [27] Lee CM, Weon HY, Kwon SW, et al. Analysis of species variety and physiological characteristics of denitrifying oligotrophic bacteria isolated from the specific environment in Korea[J]. *Korean Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2011, 39(3): 210–217.
- [28] Sass H, Wieringa E, Cypionka H, et al. High genetic and physiological diversity of sulfate-reducing bacteria isolated from an

- oligotrophic lake sediment[J]. Archives of Microbiology, 1998, 170(4): 243–251.
- [29] Naumoski VNT. Facultative oligotrophic bacteria as a indicator of the trophic state of lake Ohrid[D]. Macedonia, 2003.
- [30] Keshtacher-liebson E, Hadar Y, Chen Y. Oligotrophic bacteria enhance algal growth under iron-deficient conditions[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1995, 61(6): 2439–2441.
- [31] Wainwright M, Ali TA, Barakah F. A Review of the role of oligotrophic microorganisms in biodeterioration[J]. International Biodeterioration and Biodegradation, 1993, 31(1): 1–13.
- [32] Shigenori S, Shin'ichiro O. Degradation of tetrachloroethylene by oligotrophic bacteria[J]. Bulletin of Kanagawa Environmental Research Center, 1999, (22): 1–7.
- [33] Ohta H, Hattori R, Ushiba Y, et al. *Sphingomonas oligophenolica* sp. nov., a halo- and organo-sensitive oligotrophic bacterium from paddy soil that degrades phenolic acids at low concentrations[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2004, 54(6): 2185–2190.
- [34] 扈玉婷, 任凤华, 周培瑾, 等. 一株分离自新疆天池寡营养环境的糖丝菌 (*Saccharothrix* sp pyx-6) 降解茈的特性[J]. 科学通报, 2003, 48(16): 1796–1800.
- [35] 夏辉, 梁运祥. 1株净水贫营养细菌的筛选及其低营养特性的初步研究[J]. 华中农业大学学报, 2006, 25(5): 530–534.
- [36] 田兴华, 段开红, 杨丽华, 等. 贫营养细菌TQ5W对微污染水的降解效果[J]. 中国科技博览, 2010, (13): 52.
- [37] Xiao Y. Micro-polluted source water oxygen-rich bio-pretreatment pollution removing method is biologic reaction character based on oligotrophic bacteria in high-aerobic condition[P]. CN101066798-A. 2008.
- [38] Phung NT, Lee J, Kang KH, et al. Analysis of microbial diversity in oligotrophic microbial fuel cells using 16S rDNA sequences[J]. FEMS Microbiology Letters, 2004, 233(1): 77–82.
- [39] Tada Y, Kobata T, Nakaoka C. A simple and easy method for the monitoring of environmental pollutants using oligotrophic bacteria[J]. Letters in Applied Microbiology, 2001, 32(1): 12–15.
- [40] 王海丽, 杨季芳. 南极超微细菌 ANT52(*Alteromonas stellipolaris*)外膜蛋白和脂多糖的提取物对黑鲷的免疫活性研究[J]. 海洋与湖沼, 2009, 40(2): 242–248.
- [41] 钱国英. 极端超微细菌蛋白多糖对动物免疫功能调节的研究[D]. 浙江: 浙江大学博士学位论文, 2006.
- [42] Kumar A, Chakraborti S, Joshi P, et al. A multiple antibiotic and serum resistant oligotrophic strain, *Klebsiella pneumoniae* MB45 having novel *dfrA30*, is sensitive to ZnO QDs[J]. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials, 2011, 10(1): 19.
- [43] Jang K, Kim S, Koo B, et al. The Red pepper epidemic restraining method using oligotrophic bacteria *Bacillus vallismortis* 1A strain and strain pseudogerm nutrient solution having the antifungal activity about the plant pathogenic fungi[P]. KR2009119175-A. 2009.
- [44] Cowan DA, Arslanoglu A, Burton SG, et al. Metagenomics, gene discovery and the ideal biocatalyst[J]. Biochemical Society Transactions, 2004, 32(Pt2): 298–302.