

原核生物概况及海洋原核生物组成*

General Situation of Prokaryotes and the Composition of Marine Prokaryotes

孙丕喜¹, 陈颖稚², 王宗兴¹, 陈皓文^{1**}

SUN Pi-xi¹, CHEN Ying-zhi², WANG Zong-xing¹, CHEN Hao-wen¹

(1. 国家海洋局第一海洋研究所, 山东青岛 266061; 2. 麦迪逊技术学院, 麦迪逊, 威斯康星州 WI53704)

(1. First Institute of Oceanography, SOA, Qingdao, Shandong, 266061, China; 2. Madison Area Technical College, Madison, WI53704, USA)

摘要:概述原核生物及其分类, 细菌域和古菌域主要成员构成状况, 海洋原核生物的主要类别、属群组成及海洋细菌和海洋古菌的组成。

关键词:原核生物 古菌 细菌 海洋古菌 海洋细菌

中图分类号:Q939 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-7378(2010)02-0140-03

Abstract: Prokaryotes and their classification, outline of constructional states of most members of bacterial and archaeal domains, compositions of marine bacteria and marine archaea, main and common species, genera of marine prokaryotes are briefly introduced.

Key words: prokaryote, archaea, bacteria, marine archaea, marine bacteria

在亿万年的空间变化中, 各种生物经历自身的遗传、变异与选择, 最终形成了当今多样性的生物世界。原核生物尽管相对低等, 简单, 但始终是生物世界中的重要成员。人们对它们的认识, 包括其地位, 属群和分类等并不容易, 在历经几百年研究后才形成了今日的格局。海洋作为地球空间的最大组成部分, 人们迄今对其中的原核生物知之甚少。原核生物的研究, 不仅对认识生物历史和发展有重要的作用, 而且对相关知识的开发与利用也具有广阔前景。本文就原核生物分类及海洋原核生物组成作一概述。

1 原核生物概况及其分类

1951年多尔蒂提出原核(细胞)生物的概念, 它是指没有真正形态细胞核但是有分布于细胞内的核质, 其周围没有与胞质隔开的核膜的原始微型生物。

收稿日期: 2009-07-13

作者简介: 陈皓文(1941-), 男, 研究员, 主要从事海洋、环境、生态、水产、地质等微生物学研究。

* 国家重大基础研究前期研究专项项目——我国近海浮游植物多样性演变机理及其对生态系统功能影响(2002CCA4900)资助。

** 通讯作者。

原核生物在微生物中占据重要地位, 其个体小, 常以单细胞为独立生存单位。迄今发现的原核生物主要指古菌和细菌。古菌是一类发现较晚, 异军突起的生物。细菌包括真细菌、蓝细菌、原绿菌、放线菌等^[1]。它们分别归入古菌域和细菌域。

地球是个巨大完整的生态系统, 其原核生物十分丰富, 蕴育和繁衍着众多的微生物。人们对微生物的了解自古以来^[2], 真正的微生物学研究迄今已经经历了5个时期。如今人们应用遗传分子生物学理论对微生物, 包括细菌等的识别——分类学研究, 已经进入最新阶段。伯捷氏系统细菌学手册第2版^[3]已被广为运用。

1.1 古菌域

1977年 Woese 等发现古菌, 最初被看成细菌成员, 后来人们根据其与细菌的渊缘关系而判定它为古菌。它的地位与细菌一样都各自成为一个域。20世纪70年代至90年代初, 人们一直认为古菌只是生存在极端环境中, 包括陆域极端环境中的一类原核生物, 1992年才发现古菌也存在于一般状态的环境中, 包括海洋^[4]。古菌具有对广泛生境的适应性、营养/生存方式的多样性以及分子遗传的变异性, 这使得他们基本上广布地球各处。

1994之前原核生物中的古菌被称作为古细菌,一直被认为是细菌中的一个纲——古生菌纲,即被归为一个独特的子分支而已^[4]。随着科学技术的不断提升,古菌有别于细菌的特征、性状日益明朗化,原核生物中的古菌不同于细菌的学说逐步确立起来,古菌域已成为生物三大域之一。

按任立成等^[5]引证的观点,古菌域被分作三界,即广古菌界、嗜温泉古菌界和初生古菌界。按潘晓卿等^[6]引证的观点,古菌域只有两界,即广域古菌界和嗜温泉古菌界,其下共有5个类:产甲烷型古菌、硫酸盐还原型古菌、极端嗜盐型古菌、无细胞壁型古菌和极端嗜热型硫代谢菌,其下还有8目12科。而据陶天申等人^[1]的看法,古菌分为两界——泉古菌和广古菌。泉古菌包括4目,广古菌至少有6目,有5个生理类群,分属7纲。张晓华等^[7]根据系统发生树的分法,把古菌分为4个主分支,即4门,此门又相当于界,这是为了对应于细菌域的分类方式而已。目前有明确性状特征的古菌属有99个,即广域古菌门8纲共计68属,泉生古菌门6纲30属、纳古菌门1纲1属,而初生古菌门尚未建属,约195种,常见的古菌有甲烷杆菌、甲烷球菌、盐球菌、热原体、热球菌、热变形菌、纳古菌等。

1.2 细菌域

由于微生物分类系列、方法等的变迁,包括重新认识、变位、拆并、取消、新建等,使得相应的微生物归属、名称也处在不断变化之中。

1965年出版的《拉汉微生物名称》^[8]所载细菌、放线菌名称约计2800条。1977年出版《细菌分类基础》记载有138属155种细菌。1980年出版的《细菌名称(第1版)》收录5000条细菌名称。1982年的《细菌名称》载有5000条名称。1994年第9版《Bergey's Manual of Determinative Bacteriology》将世界细菌划分为35群,它们被归入4大类目,即具胞壁的G-真细菌、具胞壁的G+真细菌,无胞壁的真细菌及古细菌。它们被分作574属,在属之前已被归入不同纲、目、科等类别之中。

1999年第二版第4次印刷的《细菌名称》中已载入细菌名称15000余条,其中包含蓝细菌、古细菌和放线菌。2000年出版的《细菌名称英解汉译经典》也作过相关估计。陶天申等^[1]在《原核生物系统学》一书中将细菌归成23门9纲。而截止2007年,《Taxonomic Outline of the Bacteria and Archaea》^[3]中收集的资料经统计后得出世界细菌域成员被分成26门(一说为23门)36纲,1未定纲5亚纲,88目4未定

目15亚目,241科13未定科,1684属。截止2008年4月张晓华^[7]统计的有关资料,得出世界原核生物约8500余种,被归入1799余属中,其中细菌1700属8305种。赵乃昕等统计原核生物至少高达9380种,而细菌种数达9185个。

各原核生物的科所含属数不一,细菌域中达到和超过10个属的科约有48个。达到和超过24个属的科有10个,以黄杆菌科所含的属最多,有72个。各原核生物属所含种的数量也不一,其中有562个属分别只包含1个种,尚有11个属未列出任何种名。有18个属的细菌域成员,其种数各达到或超过50个,其中有7个属的种数至少有106个,它们分别是分枝杆菌属(种数达106个,下同)、乳杆菌属(126个)、枝原体属(119个)、芽孢杆菌属(147个)、假单胞菌属(155个)、梭菌属(176个)和链霉菌属(533个),链霉菌属的种数最多。这18个属的菌种数合计2040个,占细菌域总种数(8305个)的24.6%,与蔡妙英等^[8]的估计比,现在的细菌数只占1995年细菌数的55.4%左右(8305/15000)。至今无种数记录的11个属有10个在蓝细菌中。而据以往的记录,除吉特勒氏蓝细菌和Leptolyngbya属外,均是属于有种的属,种数波动于1~38之间。除了上述大属和无种属外,余下的菌种数共计4406个,它们分布于639个属中,其种数 ≥ 2 ,平均每属含种数约6.9个(4406/639),而细菌域所有菌属平均菌种数则为4.89个(8305/1700)。

2 海洋原核生物组成

海洋是原核生物的发祥地,其面积覆盖全球的70%左右。文献^[5]认为全球迄今发现认定的细菌等原核生物目均可在海洋中找到其代表,但是世界海洋,尤其大洋从来都是互通的,因而其原核生物生境,除极端环境外,在各海洋间具有许多共性,亦可以认为海水原核生物的物种多样性在某种程度上,比陆地和淡水的要简单一些,尤其是海洋浮游古菌种的多样性是相对简单的。目前地球上发现的原核生物中,有1/4~1/3是已经生活或者可以生活在海洋中。与海洋有点类似的环境还包括盐、碱水/地/滩等及极地,环境也是原核生物包括古菌的滋生地。

2.1 海洋古菌

海洋古菌的发现地实际上是海洋极端环境,包括高压、高盐/咸、缺氧、高/低温、低营养等。20世纪90年代人们发现了浮游海洋古菌,由此改变了古菌只存在于极端环境的这一传统观念,从此人们对海洋生态学的认识发生了质的变化^[6]。海洋古菌如同

其他生物一样,其种群数因环境/生活条件变化而变化。学者们推断世界海洋的古菌细胞体约有 1.3×10^{28} 个,与细菌细胞体个数处于同一个量级(后者为 3.1×10^{28})^[6,8,9]。同样,海洋古菌的多样性在海洋沉积物、在与其他生物发生的不同关系状态中均有显示^[9,10]。

世界上陆地生境的古菌,大部分都能在海洋中发现,但是初生古菌尚未在海洋中被发现。不过在海水和沉积物中却发现了其特有的古菌类群——类群 I、II、III 和 IV 等新属种,如其中的产甲烷古菌(*Methanogenic archaea*)和硫酸盐还原古菌(*Archaea sulfate reducers*)。据记载现在共有海洋古菌 67 属 184 种。海洋古菌属种分别占已发现的古菌属种的 67.7% 和 94.4%。常见海洋古菌约 4 属 45 种,4 属占有属数的 6.0%,45 种占有种数的 24.5%。每属均超过 10 种,如盐盒球、甲烷球菌、盐杆菌等属及共生泉生古菌(*Archeoglobus fulgidus*)、火源甲烷球菌(*Methanococcus igneus*)、速生热球菌(*Thermococcus celer*) 等种。

古菌域家属虽然古老,但是发现却较晚,所以并不庞大,原因是大多数古菌难以用传统方法分离纯化培养出来。人们对它们的认识虽然日趋全面,但新兴分子生物学技术包括 16SrDNA 方法、核酸杂交技术、PCR 技术等大都源于对细菌域成员的研究,对古菌的研究技术须进一步改进和完善^[11]。

古菌在中国的研究并不多,上世纪 90 年代已报道过一些陆境古菌的研究,也纯化出少数嗜盐、嗜碱的新杆菌^[12]。有学者^[13]从海洋盐场分离出嗜盐小盒菌。对海洋古菌的研究已经开始引起国内学者关注^[14,15],但成果还不多。

2.2 海洋细菌

目前已发现的细菌门,无疑在海洋中均有,其中变形菌门,即 Proteobacteria 成员最多,生理状态最多样。它分为 5 纲,即 α -、 β -、 γ -、 δ - 和 ϵ - 变形菌纲,而海水中则以浮游的 α - 和 γ - 变形菌最为重要,但 α - 变形菌纲成员优势最大。这是根据 16SrDNA 法得出的结论,非培养法所证实。不过 γ - 变形菌纲在培养法中最常见。海水中最占优势者在 α - 变形菌纲中。

据《Taxonomic Outline of the procaryotes》记载,以海洋、盐碱、极地等拉丁字开头的属数多达 126 个。其中以 ha-(盐、海-)开头的细菌属有 25 个,若将 Natro[(-c)、喜-、嗜-盐]加入,则更多(约 4 个)。以 Mar-(海洋-)开头的有 24 个、以 Ocea-(大洋-)开头的有 15 个,以 S(al-)(盐-)开头的约有 13 个、以 Pol-(极

地-)开头的有 5 个等,这些细菌是纯海洋的或主要(首先)发现于海洋环境。

迄今,海洋细菌属 798 个,种数约 2345 个(包括亚种、变种),占地球细菌种数的 25.5%(2345/9185),种数在 10 个以上的属有 29 个,占海洋细菌属总数的 36.3%,29 属菌种数达 618,占有所有海洋细菌总种数的 26.4%,其中以弧菌种数最多(80 个),其次为芽孢杆菌(52 个),假单胞菌(32 个)等等。常见海洋细菌约 64 属,约占地球细菌属数的 3.8%(64/1700)。假交替单胞菌(24 个)、盐单胞菌、黄杆菌(同为 27 种)也较多,大洋螺菌 18 种(及亚种)和海杆状菌(21 种)。

海洋,包括海水或咸水中还存在活的不可培养的细菌,即处于不良环境条件中仍存活而常规条件培养不出的细菌,迄今报道有 29 种。

3 结束语

目前,人们对非海洋细菌的认识比较丰富、全面,但有关海洋细菌的知识并不丰富,缺乏深入了解^[15]。不过近来有学者对各种生境的海洋细菌产生了浓厚的兴趣^[1,5]。古菌,尤其海洋古菌展现给人们许多美好的前景和应用价值,其中包括生命起源、生活特性的探索和资源的开发利用等等^[1,6]。研究原核生物尤其是海洋原核生物的任务十分艰巨但很有意义。世界原核生物有多少,迄今还是个迷^[15],它尚待有志者的进一步探索。

参考文献:

- [1] 陶天申,杨瑞馥,东秀珠. 原核生物系统学[M]. 北京: 化学工业出版社,2007.
- [2] 科勒德. 微生物学的发展[M]. 王龙华,译. 北京: 科学出版社,1985:173.
- [3] Garrity G M, Lilburn T G, Cole J R, et al. Taxonomic outline of the bacteria and archaea 3rd[M]. New York: Springer-Verlag, 2007.
- [4] Delong E F. Archaea in coastal marine environment[J]. Proc Natl Acad, Sci, USA, 1992, 89: 685-689.
- [5] 任立成,李美英,鲍时翔. 海洋古菌多样性研究进展[J]. 生命科学研究, 2006, 10(2): 67-70.
- [6] 潘晓驹,焦念志. 海洋古菌的研究进展[J]. 海洋科学, 2001, 25(2): 20-23.
- [7] 张晓华. 海洋微生物学[M]. 青岛: 中国海洋大学出版社, 2007: 371.
- [8] 蔡妙英,卢运玉,赵玉峰. 细菌名称[M]. 第二版. 北京: 科学出版社, 1999: 782.
- [9] Karner M B, Delong E, Korl D M. Archaeal dominance in the mesopelagic zone of the pacific ocean[J]. Nature, 2006, 409(6819): 507-510.

(下转第 145 页)

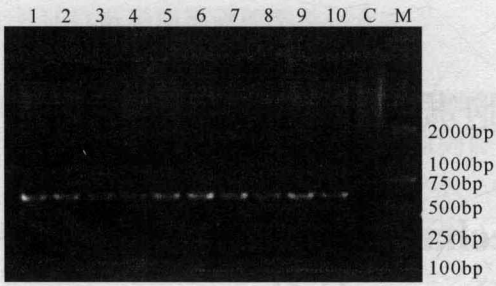


图2 拟穴青蟹血淋巴和肌肉 COI 电泳图谱
1、3、5、7、9为血淋巴 COI 图谱;2、4、6、8、10为肌肉 COI 图谱;C 为阴性对照;M 为标准分子量。

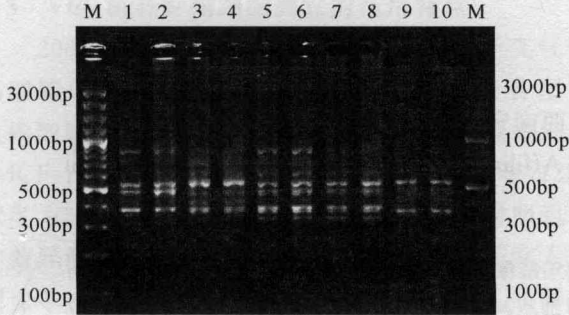


图3 拟穴青蟹血淋巴和肌肉 ISSR 电泳图谱
1、3、5、7、9为血淋巴 ISSR 电泳图谱;2、4、6、8、10为肌肉 ISSR 电泳图谱。1和2,3和4,5和6,7和8,9和10为同一个体;M 为标准分子量。

3 结束语

本文以 COI 片段扩增和 ISSR 扩增作为评价手段,证明了对拟穴青蟹进行非伤害性取样(抽取微量血淋巴)提取的基因组 DNA,在质量上可以媲美伤害性取样(剥离肌肉)提取的基因组 DNA,说明非伤害性取样可以用于分子生物学实验。

针对不同动物建立非伤害性取样方法,供试组织并不是统一的。譬如,梁利群等选择鱼的鳍条, Pidancier 等选择两栖动物的口腔粘液作为供试材料^[4,6]。本研究通过采集拟穴青蟹的血淋巴,建立非伤害性取样方法,适宜对象是拟穴青蟹,可以为保护生物学研究和分子选育研究提供技术参考。

致谢:

衷心感谢广西红树林研究中心阎冰研究员在技

术和理论上给予的大力支持和协助。

参考文献:

[1] Taberlet P, Waits L P, Luikart G. Noninvasive genetic sampling: look before you leap[J]. Trends Ecol Evol, 1999, 14: 323-327.

[2] 陈璐, 岳曦. 非损伤性取样研究进展[J]. 四川动物, 2007, 26(1): 224-226.

[3] 李明, 魏辅文, 饶刚, 等. 非损伤性取样法在保护遗传学研究中的应用[J]. 动物学报, 2001, 47(3): 338-342.

[4] 梁利群, 孙孝文, 王鹏, 等. 利用鳍条提取样品总 DNA 初探[J]. 生物技术, 1994, 4(1): 45-46.

[5] Wasko A P, Martins C, Oliveira A C, et al. Non-destructive genetic sampling in fish. An improved method for DNA extraction from fish fins and scales [J]. Hereditas, 2003, 138: 161-165.

[6] Pidancier N, Miquel C, Miaud C. Buccal swabs as a non-destructive tissue sampling method for DNA analysis in amphibians [J]. Herp Journal, 2003, 13: 175-178.

[7] Kaňuch P, Hájková P, Řehák Z, et al. A rapid PCR-based test for species identification of two cryptic bats *Pipistrellus pipistrellus* and *P. pygmaeus* and its application on museum and dropping samples [J]. Acta Chiropterol, 2007, 9(1): 277-282.

[8] 高天翔, 王玉江, 刘进贤, 等. 基于线粒体 12S rRNA 序列探讨 4 种青蟹系统发育关系及中国沿海青蟹的分类地位 [J]. 水产学报, 2005, 29(3): 313-317.

[9] 马凌波, 张凤英, 乔振国, 等. 中国东南沿海青蟹线粒体 COI 基因部分序列分析 [J]. 水产学报, 2006, 30(4): 463-468.

[10] 林琪, 李少箐, 黎中宝, 等. 中国东南沿海青蟹属不同种类的 mtDNA COI 基因序列分析及其系统发育 [J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 2008, 47(2): 268-273.

[11] 吉鹏宇, 沈琪, 唐小林, 等. 六个青蟹群体的线粒体 16S rRNA 和 COI 基因部分序列差异 [J]. 海洋湖沼通报, 2008(4): 69-77.

[12] 路心平, 马凌波, 乔振国, 等. 利用线粒体 DNA 标记分析中国东南沿海拟穴青蟹种群遗传结构 [J]. 水产学报, 2009, 33(1): 15-23.

(责任编辑: 韦廷宗 邓大玉)

(上接第 142 页)

[10] Whitman W B, Coleman D C, Wiebe W J. Prokaryotes: The Unseen majority [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1998, 95(12): 6578-6583.

[11] 田新玉, 徐毅, 刘洪灿, 等. 嗜盐嗜碱杆菌属的一个新种 [J]. 微生物学报, 1997, 37(1): 1-6.

[12] 田新玉, 刘洪灿, 郭金昌. 青岛东风盐场中极端嗜盐古细菌的特性 [J]. 应用与环境生物学报, 1998, 44(2):

175-178.

[13] 徐美秀, 王凤平, 肖湘. 深海沉积物样品中古菌的 16SrDNA 分析 [J]. 自然科学进展, 2003, 13(6): 598-603.

[14] 李涛, 王鹏, 王品先. 南海西沙海槽表层沉积物微生物多样性 [J]. 生态学报, 2008, 28(3): 1166-1173.

[15] 陈皓文, 孙修勤. 发展和应用分子微生物学技术, 开发未知海洋细菌 [J]. 自然杂志, 2002, 24(3): 129-134.

(责任编辑: 尹 闯)