

# 栖热菌目、科、属、种\*

陈朝银 林连兵

(昆明理工大学生物工程系 昆明 650224)

**摘要:** 阐述了栖热菌的发现和分类鉴定研究进程。现已发表有效种 14 个, 涉及 4 个属 50 多个菌株, 未获有效公布种及未定种的菌株 50 多个。形态、生理、G+C 含量、DNA 杂交、脂肪酸组成、16S rRNA 同源性和二级结构分析是栖热菌分类鉴定的主要方法。

**关键词:** 栖热菌, 栖热菌目

中图分类号: Q93 文献标识码: A 文章编号: 0253-2654 (2003) 05-0124-04

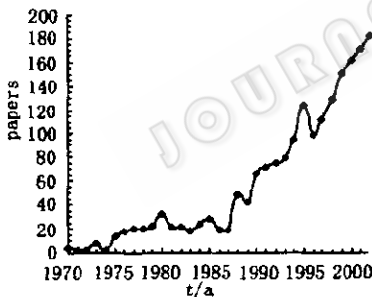
## FAMILIES GENERA AND SPECIES IN THERMALES

CHEN Chao-Yin LIN Lian-Bin

(Department of Biotechnology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650224)

**Abstract:** The identification and classification of *Thermus* to Thermales is reviewed. Up to now, the order Thermales is consist of only one family Thermaceae, which includes 4 genera with 14 valid species about 50 strains, and with 4 unvalid species and more than 50 strains unidentified. The morphology, physiology, G+C mol%, DND hybridization, fatty acid components, 16S rRNA alignment and secondary structure analyses have been tools for the taxonomy of Thermales.

**Key words:** *Thermus*, Thermales



栖热菌是地热高温菌的典型代表, 是开发利用的热点菌群。特别是来自栖热菌的 Taq 等 DNA 聚合酶的研究和应用, 使生物学的研究与应用进入了一个分子生物学和基因工程的崭新时代。人们关于生命存在极限温度的观念也随之发生了巨大的变化。从 PUBMED 收录的论文来看年发表论文数达 180 多篇, 且不断增长 (图 1)。已分离得到的菌种菌株 100 多个, 其中已鉴定为有效公布确认的种有 14 个, 涉及 4 个属 50 多个菌株, 已经鉴定但未获得有效公布确认的种以及未鉴定的栖热菌菌株 50 多个 (表 1, 表 2)。

图 1 栖热菌发现以来发表的相关论文数

### 1 栖热菌种群的发现及发展

1969 年 Brock 和 Freeze 从温泉分离到水生栖热菌 (*Thermus aquaticus*), 最高生长温度达 80℃, 并据此建立栖热菌属 (*Thermus*)<sup>[1]</sup>。1984 年 Loginova 等发表了 *T. ruber*, 1995 年 Tenreiro 等发表了 *T. silvanus* 和 *T. chliarophilus*, 1996 年 Nobre 等根据表型及生理生化特征, 特别是部分菌株生长温度相对较低, 提议将 *T. ruber*、*T. silvanus* 和 *T. chliarophilus* 另立新属, 即亚栖热菌属 (*Meiothermus*)<sup>[2]</sup>, 使栖热菌属成为含两个属的栖热菌群

\* 云南省应用基础研究基金资助 (No. 98CD95M)

收稿日期: 2002-10-24, 修回日期: 2003-03-17

(*Thermus* group)。2001年 Rainey 和 da Costa 将嗜热菌群命名为嗜热菌目 (*Thermales*)<sup>[3]</sup>, 2002年 Sako *et al.*<sup>[4]</sup> 和 Miroshnichenko *et al.*<sup>[5]</sup> 分别新设 *Marinothermus* (海洋嗜热菌属) 和 *Oceanothermus* (深海嗜热菌属)。目前, 嗜热菌目有 1 个科、4 个属、20 个种、100 多个菌株 (表 1, 图 2)。其中, 嗜热菌属有 8 个有效公布的种: *T. aquaticus*、*T. thermophilus* (嗜热嗜热菌)、*T. filiformis* (丝状嗜热菌)、*T. scotoductus* (水管致黑嗜热菌)、*T. brockianus* (布氏嗜热菌)、*T. oshimai*、*T. igniterrae*、*T. antranikianii*<sup>[6]</sup>, 3 个未获有效公布的种: *T. rehai* (热海嗜热菌)<sup>[7]</sup>、*T. nonproteolyticus* (非解酞嗜热菌)<sup>[8]</sup> 和 *T. kawayeunensis*, *T. flavus* 和 *T. caldophilus* 已分别并入 *T. thermophilus* 和 *T. aquaticus*, 另有未定种的菌株 57 个。亚嗜热菌属有 5 个有效公布的种: *Me. ruber*、*Me. chliarophilus*、*Me. silvanus*、*Me. cerbereus*<sup>[9]</sup>、*Me. taiwanensis* (台湾亚嗜热菌)<sup>[10]</sup>, 1 个未获有效公布确认的种: *Me. rosaceus* (玫瑰亚嗜热菌)<sup>[11]</sup>。海洋嗜热菌属目前只有 *Ma. hydrothermalis* 一个种, 深海嗜热菌属目前只有 *O. profundus* 一个种。

嗜热菌水热环境关系密切, 呈世界性分布, 除各地地热温泉外, 人工水热环境如热水管道及自热的堆肥, 海底火山口附近都分离到嗜热菌株。我国 1992 年蔡妙英等从广东阳江、电白和韶关等地的温泉分离到非解元嗜热菌新种<sup>[8]</sup>, 陈朝银、林连兵等 2002 年从腾冲热海分离并经形态、生理生化、分子生物学鉴定得到玫瑰亚嗜热菌新种 (*Me. rosaceus* sp. nov)<sup>[11]</sup> 和热海嗜热菌新种 (*T. rehai* sp. nov)<sup>[7]</sup>, 2002 年 Mr Chen 从台湾分离到台湾亚嗜热菌新种 (*Me. taiwanensis*)<sup>[10]</sup>。虽然它们分离自不同的生境, 但在生理生化特征上都具有嗜热菌典型的特征, 可见嗜热菌分布的广泛性。

表 1 嗜热菌目中部分未鉴定的菌株

序号	菌株	序号	菌株	序号	菌株
1	<i>Thermus</i> sp.	20	<i>Thermus</i> sp. EOH1	39	<i>Thermus</i> sp. manikaranii
2	<i>Thermus</i> sp. 71	21	<i>Thermus</i> sp. EOH2	40	<i>Thermus</i> sp. SRI-1E1
3	<i>Thermus</i> sp. A4	22	<i>Thermus</i> sp. EOH3	41	<i>Thermus</i> sp. OIB-335
4	<i>Thermus</i> sp. C4	23	<i>Thermus</i> sp. EPA1	42	<i>Thermus</i> sp. OIB-343
5	<i>Thermus</i> sp. OH1	24	<i>Thermus</i> sp. EPA2	43	<i>Thermus</i> sp. IT7254
6	<i>Thermus</i> sp. OH2	25	<i>Thermus</i> sp. EPA3	44	<i>Thermus</i> sp. SRI-248
7	<i>Thermus</i> sp. OH3	26	<i>Thermus</i> sp. EOH5	45	<i>Thermus</i> sp. SRI-96
8	<i>Thermus</i> sp. PA1	27	<i>Thermus</i> sp. EOH6	46	<i>Thermus</i> sp. Tok6A1
9	<i>Thermus</i> sp. PA2	28	<i>Thermus</i> sp. EPA4	47	<i>Thermus</i> sp. FD3041
10	<i>Thermus</i> sp. PA3	29	<i>Thermus</i> sp. EPA5	48	<i>Thermus</i> sp. IM6501
11	<i>Thermus</i> sp. T2	30	<i>Thermus</i> sp. EPA6	49	<i>Thermus</i> sp. NTU-024
12	<i>Thermus</i> sp. TB1	31	<i>Thermus</i> sp. EOH4	50	<i>Thermus</i> sp. AK13D21
13	<i>Thermus</i> sp. Z-1	32	<i>Thermus</i> sp. SA-01	51	unidentified <i>Thermus</i> OPS15
14	<i>Thermus</i> sp. OH4	33	<i>Thermus</i> sp. PA5	52	unidentified <i>Thermus</i> OPS8A
15	<i>Thermus</i> sp. OH5	34	<i>Thermus</i> sp. PA6	53	unidentified <i>Thermus</i> OPT60
16	<i>Thermus</i> sp. OH6	35	<i>Thermus</i> sp. SM32	54	unidentified <i>Thermus</i> OPB19
17	<i>Thermus</i> sp. PA4	36	<i>Thermus</i> sp. R41A	55	unidentified <i>Thermus</i> OPB31
18	<i>Thermus</i> sp. Vil3	37	<i>Thermus</i> sp. YS45	56	unidentified <i>Thermus</i> OPB32
19	<i>Thermus</i> sp. HR13	38	<i>Thermus</i> sp. AK16D	57	unidentified <i>Thermus</i> OPS25

## 2 嗜热菌分类鉴定研究

嗜热菌的分类鉴定方法总体上和其它细菌类似, 由于它的发现和处于分子生物学和分子遗传学兴盛时期, 其分类学研究充分体现了现代分类鉴定方法的发展。1969 年确立嗜热菌群第一个种 *T. aquaticus* 的主要依据是生长温度达 80℃、好氧、革兰氏阴性、嗜热非芽孢杆菌, 形态学上具有特殊的细胞壁结构。此后主要通过许多生理生化特征比较, 特别是多种碳源的利用试验, 进行聚类分析来确定分类地位。80 年代后

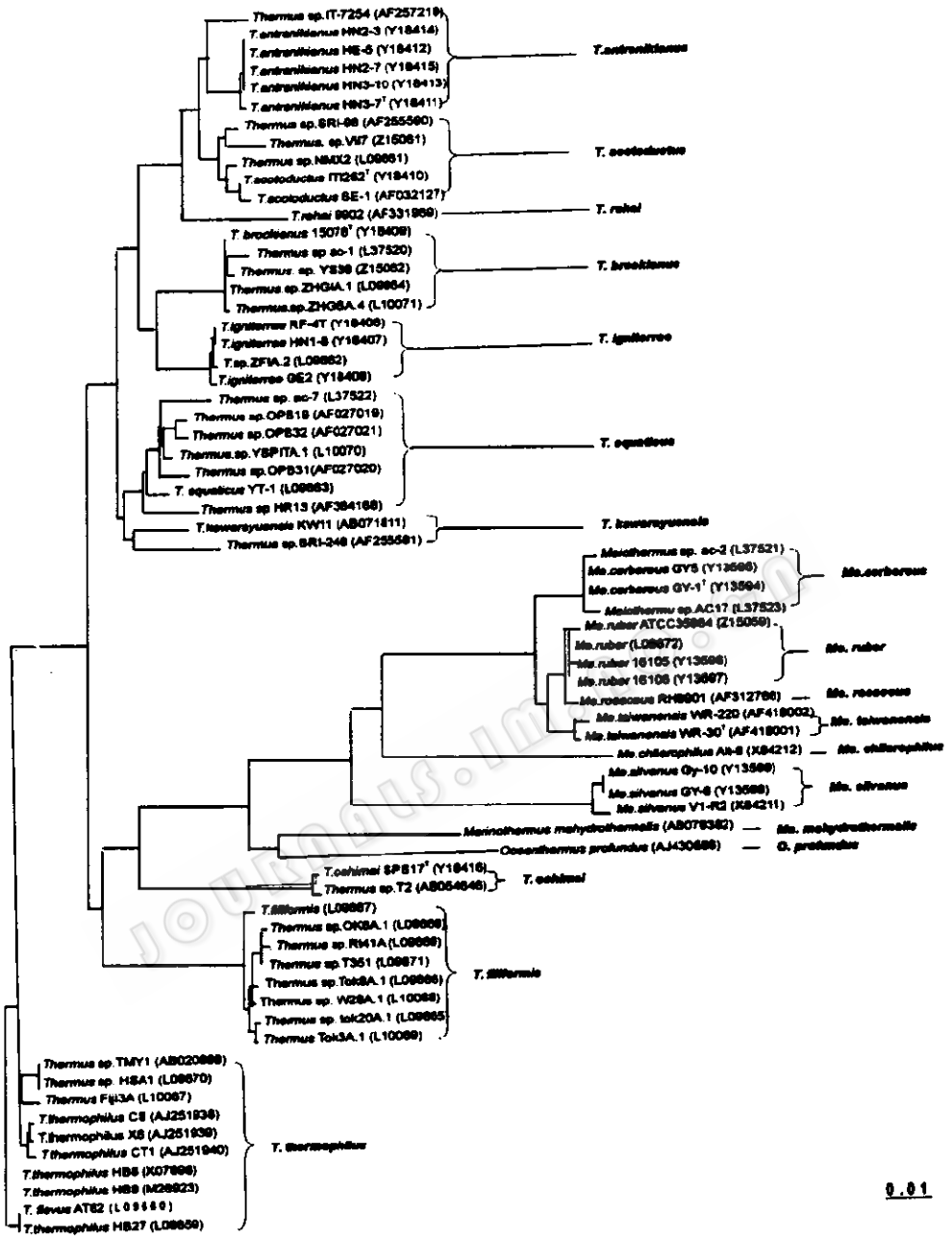


图2 栖热菌目中已知16S rDNA的各种群亲缘关系的系统树分析结果

注: 各菌株16S rRNA基因序列取28-1455区间进行分析, 软件采用Vector NTI 5.0。标尺表示每100个碱基有1个碱基差异, 括号中为基因库序列号。

DNA-DNA 分子杂交同源性分析在新种的确定中起重要作用, 同源性 60% ~ 70% 可视为同一种内不同亚种, 同源性 50% ~ 60% 之间可视为属内紧密相关的种, 同源性 50% 以下为不同属。1990 年以后随着核酸测序技术的发展, 核糖体 RNA 的序列分析成为系统进化分析的主要手段, 它从分子水平揭示细菌间的亲缘关系, 已成为当今研究生物间

亲缘关系和各生物间进化关系的不可替代的方法,一般认为,菌株之间 16S rRNA 基因序列差异达 3% 时,很可能属不同的种,这对确定新属、新种无疑非常重要。从 16S rRNA 构建的进化树来看(图 2),栖热菌属包含有 9 个分支或种群,而亚栖热菌包含 6 个分支或种群。随着 5S rRNA 和 23S rRNA 以及它们之间连接部分的序列分析和二级结构分析引入细菌的分类鉴定,这些方法也将随之引入栖热菌的分类鉴定<sup>[11,12]</sup>。化学分类方面,G + C mol% 含量测定是应用较普遍的化学分类指标之一,栖热菌属菌株 DNA G + C mol% 介于 60% ~ 70% 之间,总体上体现了同种内菌株差异不大于 4% ~ 5%,同属内菌株差异不大于 10% 的基本规律。脂肪酸分析也是栖热菌分类研究的重要指标<sup>[6]</sup>,分离自冰岛的新种 *T. igniterrae* 在表型上区别于其他菌株主要在于脂肪酸组成中 iso-15:0 含量很高、iso-16:0 含量很低,新种 *T. antranikianii* 脂肪酸组成却是 iso-17:0 含量很高,脂肪酸含量成为这两个新种的主要鉴别特征。总之,G + C mol% 含量、DNA-DNA 分子杂交、16S rRNA 寡核苷酸序列分析、脂肪酸分析均为栖热菌分类鉴定研究的手段和方法。

栖热菌目的属内分类目前存在的主要问题是:(1)本目细菌属内很少能根据生理生化特征加以区别,而脂肪酸分析在不同菌株甚至分离自同一温泉的同一个种的不同菌株之间会出现较大差异,故大多数是运用 DNA-DNA 缔合系数和 16S rDNA 来进行分类鉴定<sup>[6]</sup>。(2)用于描述某个种的菌株过少,有时甚至只有一个菌株的分类特征用以描述某一个种,如: *Me. chliarophilus*,而事实上亲缘关系很近的菌株在表型上也具有多样性<sup>[8]</sup>,这有可能把那些本来可能是一个种的菌株,因为缺乏足够的代表性表型或特征加以相互区别,而被分作不同的种,造成分类上的混乱。(3)虽然生理生化特征难以单独将栖热菌的各个种加以区别,但在 DNA-DNA 缔合系数及 16S rRNA 基因系统进化分析的基础上,还是寻求以其独特的某个生理生化特征来对各个种加以区别,如描述 *T. thermophilus* 区别于其它种在于它能在 80℃ 以上生长,能在含 2% ~ 3% 的 NaCl 的培养基中生活,但这些鉴别特征很可能因新种的发现而失去其鉴别作用。

总之,栖热菌分类鉴定和新种的开发研究仍是当前人们研究的热点菌群之一。从年发表的相关论文数增长趋势和近一年新增如此之多的新属新种可清楚地表明这一点。

### 参 考 文 献

- [1] Brock T D, Freeze H. *Thermus aquaticus* gen n and sp n, a nonsporulating extreme thermophile J Bacteriol, 1969, 98 (2): 289 ~ 297.
- [2] Nobre M F, Truper H G, da Costa M S. Int J Syst Bacteriol, 1996, 46 (4): 604 ~ 606.
- [3] Rainey F A, da Costa M S. "Order II Thermales ord nov" in: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd ed, vol 1, Springer-Verlag, New York, 2001, 403.
- [4] Sako Y, Nakagawa S, Takai K, et al. Int J Syst Evol Microbiol, 2003, 53 (1): 59 ~ 65.
- [5] Miroschnichenko M L, L'Haridon S, Jeanthon C, et al. Int J Syst Evol Microbiol, 2003, 53 (3): 747 ~ 752.
- [6] Chung A P, Rainey F A, Valente M, et al. Int J Syst Evol Microbiol, 2000, 50 (1): 209 ~ 217.
- [7] Lin L, Chen C, Peng Q, et al. J Basic Microbiol, 2002, 42 (5): 339 ~ 346.
- [8] 蔡妙英, 杨寿钧, 刘俊凤. 微生物学报, 1992, 32 (4): 233 ~ 237.
- [9] Chung A P, Rainey F A, Nobre M F, et al. Int J Syst Bacteriol, 1997, 47 (4): 1225 ~ 1230.
- [10] Chen M Y, Lin G H, Lin U T, et al. Int J Syst Evol Microbiol, 2002, 52 (5), 1647 ~ 1654.
- [11] Chen C, Lin L, Peng Q, et al. FEMS Microbiol lett, 2002, 216 (2): 263 ~ 268.
- [12] Chen C, Zhao S, Ben K. FEMS Microbiol lett, 2003, 212 (2): 293 ~ 298.