

## 技术与方法

## 根瘤菌资源数据库的更新和应用\*

李颖 赵达宁 陈文新

牛天贵

(中国农业大学生物学院 北京 100094)

(中国农业大学食品科技学院 北京 100094)

**摘要** 对原有根瘤菌资源数据库进行扩充和更新,在原有7类信息子库的基础上增添了DNA同源性、全细胞蛋白电泳、多位点酶电泳、16S rRNA基因序列和付里叶变换红外光谱等5个新信息子库;并增加了图象功能和更换了新工作平台,使之运行更加灵活、快速和简便。目前库内存贮了已研究过的700余株的有关信息。

**关键词** 根瘤菌资源, 数据库, 计算机应用

**分类号** Q939.11 **文献标识码** B **文章编号** 0253-2654(1999)-03-0205-207

## RENEWAL AND APPLICATION OF THE RHIZOBIAL RESOURCES DATABASE

Li Ying Zhao Daning Chen Wenxin

(College of Biological Sciences, China Agricultural University, Beijing 100094)

Niu Tianguai

(College of Food Sciences, China Agricultural University, Beijing 100094)

**Abstract** Rhizobial Resources Database (RRDB) was renewed. Besides it can operate on WINDOWS 95, five new sub-database including DNA homology, electrophoresis of soluble proteins and multilocus enzymes, 16S rRNA gene sequences and Fourier-transform infrared spectroscopy analysis were added. The new database contains the information of about 700 rhizobial strains.

**Key words** Rhizobial resources, Database technique, Application of computer

我国根瘤菌资源数据库(Rhizobial Resources Database)构建于1993年,根据根瘤菌资源调查和研究内容的特点,分别建立了包括“基本信息”、“采集信息”、“保藏信息”、“回接信息”、“参考文献”、“性状信息”和“菌株特殊说明”7个子库<sup>[1]</sup>。收录了来自全国21个省、市、自治区分离的和从国外引进的286个菌株的信息,每个菌株设有321个数据项。此库的建立,为多年来研究数据的保存、分析、交流、查询和统计提供了方便。但随着研究工作的进展和深入,原库的设计已不能满足要求。首先是它于在286型微机上运行,运算速度慢,存贮量小,而且使用Foxbase语言编程,已不能适用目前流行的WINDOWS95工作平台;其次是几年来除增添原定信息外,随着研究内容的增加又积累了很多新的测

试信息,如:DNA同源性和G+Cmol%、全细胞蛋白电泳和多位点酶电泳、16S rRNA基因部分序列和全序列、付里叶变换红外光谱等,这些信息需要根据它们各自的特点入库存存;第三是由于原有测试项目的调整,使相应信息子库的结构发生改变,如,用系统聚类R分析法将原数值分类所需测定的248项内容减少为130项,因此性状信息子库的结构需重新编排。

1993年和1995年微软公司相继推出了FoxPro2.5和Visual FoxPro3.0系统<sup>[2,3]</sup>,在继承和发扬了以往数据

\* 国家自然科学基金资助项目(No.39130010)

Project Granted by Chinese National Natural Science Fund (No.39130010)

1998-02-11收稿,1998-04-13修回

库优点的同时,又引入了可视化编程技术,能兼容以往数据库系统中的语句、数据库(DBF文件)和其它文件结构。这为更新和继续开发原系统提供了可能。特别是 Visual FoxPro3.0 版本在设计 and 编程技巧上,除了将数据库若干个二维表、表间关系及内部程序封装在一起,更加合理地体现了关系型数据库的思想,同时还可定义许多逻辑存在的数据子集,使用起来快捷方便,改变了传统方法中将数据与操作相分离的做法。为了适应当今计算机技术的发展和考虑今后进一步扩大研究范围和数据量的增加,我们在新购置的 586 微机上,对原数据库进行了扩充和改造,将其移植至 WINDOWS95 工作平台上运行,并增加了 5 个新的信息子库。

## 1 设备和软件

### 1.1 设备

586 微机, HP 6L 激光打印机。

### 1.2 软件

WINDOWS95 工作平台, Visual FoxPro3.0 数据库软件。

## 2 新库的结构扩充设计

### 2.1 原库的保留和移植

原库设定的 7 个子库仍保留,增添新记录至 710 个。其中性状信息库作了必要改动。以往数值分类要测定 248 个性状,后经系统聚类 R 分析筛选和几批菌株的实验证实<sup>[4]</sup>,其中的 130 个性状信息即可满足数值分类的需要。因此新库的性状信息子库只设定了 130 个字节,通过自编程序可直接提取原库数据自动按要求转移至新库中去。

### 2.2 DNA 同源性信息库

根据菌株间 DNA-DNA 同源性的水平以及 Tm 值的差异和 G + C mol% 值,可在种的水平上确定菌株之司亲缘关系的远近。几年来本室采用液相复性速率法,在国产 752C 紫外-可见分光光度计上测试了 300 余株根瘤菌的上述有关信息。本库将此类信息按测试年代、测试者和菌株测试批次,分别作表保存。

### 2.3 全细胞蛋白电泳和多位点酶电泳信息

新分离的菌株,除测试 130 项表观性状,用数值分类方法对菌株初步分类归群外,还常辅以全细胞蛋白电泳或多位点酶电泳作为必要补充。实践证明,两种方法均会得到可信的结果。将此类信息分别按原始电泳

胶板上的带型图象保存于库中,可在屏幕上直接观察菌株间的差异并应用相应程序进行分析比较。

## 2.4 付里叶变换红外光谱 (FTIR) 库

自 1994 年以来,我们在北京第二光学仪器厂红外部的支持下,探索了利用付里叶变换红外光谱技术对根瘤菌进行分类鉴定的方法。由于此方法操作简单、快速、准确,国外一些实验室已应用于对未知菌株的鉴定和分类<sup>[5,6]</sup>。我们建立了根瘤菌模式菌株的标准谱库,编制了对于谱图数据分析的程序,确定了根瘤菌最佳分析区间<sup>[7]</sup>,测试了百余株新分离菌株的红外光谱图,并通过与其它分析方法比较,得出了可信的结论。目前已编制出相应的连接程序,可直接从谱库中提取此类图形信息,并对它们进行分类比较。

## 2.5 16S rRNA 基因序列信息

此类信息对于确定根瘤菌的系统发育地位尤为重要。近年来国际上已有几十株根瘤菌的 16S rRNA 基因序列被相继测定,本室也测定了 10 个菌株的全序列和 4 个菌株的部分序列。据现有测定结果和考虑到今后的发展,此子库没有固定字节数,可依测定结果任意延长和缩短,无论是部分序列还是全序列均可储存。

## 3 根瘤菌资源数据库的应用

### 3.1 分类应用

**3.1.1 数值分类应用:** 此功能保留了原有秩序。除测定生化反应等表观性状可用聚类法分析菌株间相似性外,还可以对其它信息(包括各种电泳结果)进行必要的分析。

**3.1.2 系统分类应用:** 目前遗传信息分析越来越受到人们的高度重视, RAPD、RFLP、16S rRNA 基因序列分析等已被广泛用于分析菌株间遗传性状的差异和系统分类。本室根据研究需要,编制了 DNA (RNA) 碱基序列的比较和相似(相异)系数的计算,并用邻接法 (Neighbor-Joining Method) 进行逐步系统聚类,获得满意结果。

### 3.2 鉴定应用

根瘤菌资源数据库在不同的信息表达层次上储存了各类信息,特别是收集了现有已知标准菌株的数据,配合运行必要分析程序,可满足根瘤菌属、种的鉴定。

### 3.3 资源应用

根瘤菌资源数据库按根瘤菌的表观信息、生境信息、遗传信息等分类存贮,并可对某一类特征进行比

数。这对于合理组建农业生产的生态系统,特别是可对一些特殊的环境,如干旱、盐碱地、高温和低温、高海拔和低海拔的适用类型提出建议;还可能从中寻找特殊的基因类型,为菌株的合理利用及改造提供线索。

### 3.4 开发应用

根瘤菌除了在生物肥料的开发上具有优势外,由于很多菌株可产生胞外多糖和某些酶类,显示出具有工业开发的潜力而引起人们的关注。

### 3.5 方法应用

在根瘤菌数据库的建立、扩充和升级过程中,除了注意到它在查询检索、统计分析、数据处理等基本功能以外,几乎涉及到细菌鉴定的各种方法。为了提高效率,进行了不同方法的比较和选择,并在进一步完善数据存贮的同时,补充了相应的分析程序,这对于其它细菌的分类鉴定有一定的参考和应用价值。

## 4 我国根瘤菌资源数据库的进一步发展

本库目前已存贮了700余株根瘤菌的各类信息。随着菌株数量的继续增加,检测手段和方法不断提高和改善,虽然在方法上仍可进行必要优选,但菌株增加的趋势不可逆转。本库虽已用Visual FoxPro3.0在WINDOWS95工作平台更新了管理系统,对数据维护、查询检索、输出打印、统计分析等各种功能的执行速度

更加灵活和快速,有利于“九五”计划对全国根瘤菌资源调查和分类研究的完成。但仍需考虑今后发展升级,以适应由于机型和工作平台的不断改善所带来的变化。此外,从保护我国信息资源和进行数据传送与交流两方面考虑,我们正着手构建上网数据库,以充分利用现代通信网络所提供的便利,并在与国际同行交流的同时,随时搜寻和记录网上有价值的信息,进一步扩大和完善我国根瘤菌数据库的功能。

## 参 考 文 献

- [1] 李 颖, 陈文新. 微生物学通报, 1994, 21(3): 131~136.
- [2] 于 成, 李夏澍, 张晓磊等. 进入FoxPro3.0世界. 北京: 科学技术文献出版社, 1995.
- [3] 王立丰 编著. 中文版Visual FoxPro3.0教程. 北京: 科学出版社, 1997.
- [4] 李 颖, 牛天贵, 陈文新. 北京农业大学学报, 1995, 21(2): 115~125.
- [5] Helm D, Labischinski H, Schallehn G *et al.* Journal of General Microbiology, 1991, 137: 69~79.
- [6] Royston Goodacre, Eadaoin M Timmins, Paul J Rooney *et al.* FEMS Microbiology Letters, 1996, 140: 233~239.
- [7] 彭运生, 李 颖, 赵建明. 中国农业大学学报, 1997, 2(3): 14.