

学校编码: 10384  
学号: 21620141152441

分类号\_\_密级\_\_  
UDC\_\_

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

环境样品中微生物细胞大小分布及其与系统发生  
和生态学意义的关联

Distribution of cell size of environmental bacteria and its  
implication with phylogeny and ecological significances

胡文博

指导教师姓名: 郭峰 副教授

专 业 名 称: 微生物学

论文提交日期: 2017 年 4 月

论文答辩时间: 2017 年 5 月

学位授予日期:

答辩委员会主席: \_\_\_\_\_  
评 阅 人: \_\_\_\_\_

2017 年 月

# 厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为( )课题(组)的研究成果,获得( )课题(组)经费或实验室的资助,在( )实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

# 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（        ） 1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，  
于        年        月        日解密，解密后适用上述授权。

（        ） 2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年    月    日

目 录

摘 要.....	I
Abstract.....	II
<b>第一章 引言</b> .....	1
<b>1.1 微生物生态学的研究内容和方法</b> .....	1
1.1.1 传统微生物生态学.....	1
1.1.2 现代微生物生态学.....	4
<b>1.2 环境中微生物的细胞大小和生长速率</b> .....	7
1.2.1 微生物的细胞大小.....	7
1.2.2 微生物的生长速率.....	10
1.2.3 微生物的细胞大小与生长速率的关系.....	12
<b>1.3 本论文的研究方案和意义</b> .....	15
<b>第二章 材料和方法</b> .....	16
<b>2.1 样品采集和处理</b> .....	16
2.1.1 样品采集.....	16
2.1.2 样品处理.....	17
<b>2.2 实验材料</b> .....	19
2.2.1 主要仪器设备.....	19
2.2.2 主要耗材.....	19
2.2.3 主要试剂.....	20
<b>2.3 DNA 提取</b> .....	21
<b>2.4 RNA 提取、检测和 DNA 的同步洗脱</b> .....	22
2.4.1 RNA 提取和 DNA 洗脱.....	22
2.4.2 RNA 定量.....	22
2.4.3 RNA 质量检测.....	23
2.4.4 RNA 反转录为 cDNA.....	23
<b>2.5 常规 PCR 与荧光定量 PCR</b> .....	24
2.5.1 常规 PCR.....	24
2.5.2 荧光定量 PCR 反应体系和程序.....	25

2.5.3 荧光定量 PCR 标准曲线.....	25
2.5.4 待测样品的荧光定量 PCR.....	26
<b>2.6 高通量数据分析.....</b>	<b>26</b>
2.6.1 16S rRNA 基因 V4 区数据分析.....	26
2.6.2 宏基因组数据分析.....	29
<b>第三章 结果与分析.....</b>	<b>34</b>
<b>3.1 基于 16S rRNA 基因的粒径分级样品分析.....</b>	<b>34</b>
3.1.1 四种环境样品各个粒径分级的 16S rRNA 基因拷贝数.....	34
3.1.2 分类学水平上不同粒径分级菌群的多样性差异.....	34
3.1.3 各个粒径分级的微生物群落间的 beta 多样性差异.....	39
3.1.4 各个粒径分级的微生物群落之间的 NMDS 分析.....	39
3.1.5 不同粒径分级样品中 OTUs 聚类分析.....	43
3.1.6 两次同一污水厂活性污泥样品的菌群粒径分布一致性分析.....	54
<b>3.2 基于宏基因组的粒径分级样品分析.....</b>	<b>56</b>
3.2.1 宏基因组数据基本信息.....	56
3.2.2 基因组基本信息.....	56
3.2.3 基因组的 cluster-groups 分析.....	56
<b>第四章 讨论.....</b>	<b>63</b>
<b>4.1 粒径分级和微生物细胞大小聚类分析.....</b>	<b>63</b>
<b>4.2 微生物细胞大小与分类.....</b>	<b>63</b>
4.2.1 不同细胞大小的微生物类群分布.....	63
4.2.2 近缘物种的微生物细胞大小.....	63
<b>4.3 微生物细胞大小与丰度.....</b>	<b>65</b>
<b>4.4 活性污泥中不同大小微生物细胞的代谢活性和生长速率.....</b>	<b>66</b>
<b>第五章 结论、创新点和不足.....</b>	<b>68</b>
<b>参考文献.....</b>	<b>70</b>
<b>附 录.....</b>	<b>79</b>
<b>致 谢.....</b>	<b>90</b>

**Contents**

<b>Abstract (in Chinese)</b> .....	I
<b>Abstract (in English)</b> .....	II
<b>Chapter 1 Introduction</b> .....	1
<b>1.1 Research contents and methods about microbial ecology</b> .....	1
1.1.1 Brief history of traditional microbial ecology .....	1
1.1.2 Brief history of modern microbial ecology .....	4
<b>1.2 Cell size and growth rate of environmental microorganism</b> .....	7
1.2.1 Cell size of microorganism .....	7
1.2.2 Growth rate of microorganism .....	10
1.2.3 Relationship between cell size and growth rate of microorganism .....	12
<b>1.3 Research proposal and significance of this thesis</b> .....	15
<b>Chapter 2 Materials and Methods</b> .....	16
<b>2.1 Sample collection and treatment</b> .....	16
2.1.1 Sample collection.....	16
2.1.2 Sample treatment.....	17
<b>2.2 Materials</b> .....	19
2.2.1 Main devices .....	19
2.2.2 Main consumables .....	19
2.2.3 Main reagents .....	20
<b>2.3 DNA extraction</b> .....	21
<b>2.4 RNA extraction and detection and DNA synchronous elution</b> .....	22
2.4.1 RNA extraction and DNA elution.....	22
2.4.2 RNA quantification.....	22
2.4.3 RNA quality test.....	23
2.4.4 RNA reverse transcripts to cDNA .....	23
<b>2.5 Conventional PCR and fluorescence quantitative real-time PCR</b> .....	24
2.5.1 Conventional PCR .....	24
2.5.2 Reaction system and procedure of qPCR.....	25

2.5.3 Standard curve of qPCR.....	25
2.5.4 qPCR of samples to be tested .....	26
<b>2.6 Analysis of high-throughput data.....</b>	<b>26</b>
2.6.1 Analysis of the V4 regions' sequence of 16S rRNA gene.....	26
2.6.2 Analysis of metagenome data.....	29
<b>Chapter 3 Results and analysis .....</b>	<b>34</b>
<b>3.1 Analysis of Size-fraction samples based on the 16S rRNA gene .....</b>	<b>34</b>
3.1.1 Copy numbers of the 16S rRNA gene in different size-fraction samples ...	34
3.1.2 Diversity of different size-fraction samples on classification .....	34
3.1.3 Beta diversity of the community of different size-fraction samples .....	39
3.1.4 NMDS analysis of the community of different size-fraction samples .....	39
3.1.5 Cluster analysis of OTUs in different size-fraction samples.....	43
3.1.6 Size distributed consensus of bacteria in two sludges samples .....	54
<b>3.2 Analysis of size-fraction samples based on metagenome .....</b>	<b>56</b>
3.2.1 Basis information of metagenome data.....	56
3.2.2 Basis information of genome bins .....	56
3.2.3 Analysis of cluster-groups of genome bins .....	56
<b>Chapter 4 Discussion .....</b>	<b>63</b>
<b>4.1 Fractional filtration of samples and cluster analysis of bacterial cell size.....</b>	<b>63</b>
<b>4.2 Cell size and classification of microorganism .....</b>	<b>63</b>
4.2.1 Population distribution of microorganism in different cell size .....	63
4.2.2 Cell size of microorganism having closer relative relationship.....	63
<b>4.3 Cell size and abundance of microorganism.....</b>	<b>65</b>
<b>4.4 Metabolic activity and growth rate of microorganism in sludge .....</b>	<b>66</b>
<b>Chapter 5 Conclusions, Remarks, Deficiencies .....</b>	<b>68</b>
<b>References .....</b>	<b>70</b>
<b>Appendix.....</b>	<b>79</b>
<b>Acknowledgements.....</b>	<b>90</b>

## 摘要

微生物的细胞大小是其最基本且重要的特征之一，和生物量、生长速率等其他生态学参数一并，反映出微生物群落中的资源配置策略、生态系统中群落结构以及食物网的结构分布等，有助于对应用生态学，特别是在生物量、能量流动、物质循环和生态系统功能等方面的理解提供理论基础。目前，绝大多数环境微生物的分子生态学研究仅局限于微生物的相对丰度或细胞个数绝对丰度的分析，忽略了细胞大小的生态学意义。

本研究以粒径分级过滤操作和高通量测序技术，分析污水处理厂活性污泥、出水、实验室生物反应器和海水样品中微生物细胞的大小分布，并以活性污泥样品为重点研究对象，将细胞大小与微生物的进化关系、在环境中的丰度分布、生长速率和代谢活性等相关联，探究不同细胞大小的微生物之间的系统发生关系和生态学意义。结果表明：（1）近缘微生物，特别是同属或同种细菌，其细胞大小相近的可能性较远缘微生物高；但近缘微生物间仍存在大于 50% 的概率细胞大小不相近，表明细胞大小具有属内甚至种内差异。（2）存在于环境样品中相对丰度较高的微生物大多为其中的主要（功能）菌群，而低丰度的较大细胞对环境的作用和影响需要进一步关注。（3）在活性污泥中，代谢活性最高的微生物细胞大小主要分布在 0.6-2.7  $\mu\text{m}$  范围，而较小的细胞 ( $<0.6 \mu\text{m}$ ) 中未发现 16S rRNA 基因高表达的微生物类群；且高丰度、高代谢活性或生长速率的微生物类群，其细胞大小大多分布在 0.4-2.0  $\mu\text{m}$  之间。

**关键词：**环境微生物；细胞大小；生态学



## Abstract

Cell size is one of the most important and basic characteristics of microorganisms, it can reflect the strategy of resources distribution, the community structure of ecosystems and the structure of food webs, at the same time, it can also provide theoretical foundation about understanding the biomass, the energy flow, the circulation of materials and the function of the ecosystem. At present, a majority of studies about molecular ecology of environmental microbial are confined to the analysis about the relative abundance or the absolute abundance such as cells' number, but they were always lost sight of the ecological significance of cell size.

In this study, the distribution of cell size of environmental bacteria and its implication with phylogeny and ecological significances are being analyzed by synthesizing the microbial cell size, the phylogenetic relationship, the abundance in the environment, the growth rate and the metabolic activity using size-fraction and the high-throughput sequencing. And the five kinds of environmental bacteria were from sludge and effluent in sewage treatment plant, the bioreactor in laboratory and seawater, and sludge samples were studied mainly. The results show that (1) the closer relative relationship, especially the same genus or species, between different bacteria, the greater likelihood of the similar cell size. But the chances of dissimilarity in cell size of bacteria those have close relative relationship are greater than 50%, this means that there are cell size diversity in bacterial. which are the same genus or species; (2) Most of the higher relative abundance microorganisms are main functional taxa, so do some of the lower abundance, which have bigger cell size, and the influence of the latter on environment should be focus on; (3) most of the microorganisms having the highest metabolic activity are possessing the cell size in 0.6-2.7  $\mu\text{m}$ , and there is no microbe groups having high expression of 16S rRNA gene were being found in the microorganisms having smaller cell size. And most of the microorganisms having high abundance, metabolic activity and growth rate are possessing cell size in 0.4-2.0  $\mu\text{m}$ .

**Key Words:** environmental microorganism; cell size; ecology

## 第一章 引言

### 1.1 微生物生态学的研究内容和方法

生物学同其他学科一样，其研究工作向着微观和宏观两个方向发展。在微观方向，主要从个体到器官、组织、细胞并深入到分子生物学水平的研究；在宏观方向，则是从个体发展到种群、群落以致整个生态系统的综合研究。后者体现了生态学研究发展的方向和趋势。

德国动物学家 Ernst Haeckel 最早提出生态学 (ecology) 一词，并将生态学概念定义为研究动物与有机和无机环境之间全部关系的科学 (Kormondy 1969)，由此标志着近代生态学的产生。从现代科学角度出发，通常认为生态学是一门研究生物有机体与其周围生物和非生物环境之间相互关系的科学，其中非生物环境 (abiotic environment) 包括空气、土壤、岩石、水、空气、温度、湿度、光合 pH 等非生命物质，生物环境 (biotic environment) 包括存在生物种内和种间关系的动物、植物和微生物。作为分布极其广泛的微生物所代表的一个重要的生态学分支——微生物生态学 (microbial ecology)，则是指探究微生物的多样性、分布、丰度，以及微生物与其周围生物和非生物环境之间相互关系，和微生物对整个生态系统影响的科学 (Konopka 2009)。

#### 1.1.1 传统微生物生态学

相对于动植物体而言，微生物个体通常较小，因此直至 17 世纪末期，Antoni van Leeuwenhoek 首次用自制的显微镜观察到微生物细胞，而到 19 世纪末期，Louis Pasteur 和 Robert Koch 将微生物学研究从形态描述阶段进入到生理水平研究阶段，才使得微生物学真正得以发展，并且由他们开发出的很多生物学基本操作技术仍然沿用至今 (Konopka 2009)。其间，Pasteur (1857) 在研究环境因子对微生物的影响和在不利条件下微生物的存活、演替等过程中发现乳酸发酵是由微生物引起的，并指出在有机物质降解过程中，微生物扮演着重要角色。之后，俄国学者 Winogradsky 和荷兰学者 Beijerinck 开始关注于环境中的微生物。Winogradsky (1890) 从土壤中分离出了能够将氨转化为硝酸的硝化细菌，详细研

究了厌氧固氮细菌和共生固氮细菌，并首次提出了一种研究土著微生物生态习性的方法——模拟土壤环境；随后，又强调了微生物在地球元素循环过程中有着至关重要的作用，讨论了环境中微生物的多样性及菌群中微生物之间的相互作用（Winogradsky 1897）。Beijerinck（1921）从土壤中分离出好氧自生固氮菌，并首次提出用个体生态学（autecology）的方法研究微生物，即研究有机体的发育条件和在已知的人工或野外条件下发现新的有机体。随后 Rossi 等将 Cholodny（1930）的研究土壤微生物使用的埋片法进一步改进，可以原位观察微生物在土壤或沉积泥中生长和相互作用的情况（Rossi et al. 1936）。但他们的研究仍然停留在微生物生理学层次，例如用显微观察区分和鉴别土著微生物，且仅少部分为个体生态学研究范畴，很少有关于生态和微生物群体相互作用的群体生态学（synecology）研究。至 1936 年，Kluyver 等（1936）发现在自然界种类繁多的微生物世界中，存在着相互之间有紧密联系的各种代谢过程；到 1947 年，Winogradsky 才进一步指出，自然界中的微生物区系的活性不是单个过程构成的，并且对微生物进行实际过程的研究，不仅要考虑单个微生物种群，更重要的是研究自然环境中具有整体活性的微生物群落（Winogradsky 1947）。之后，Robert Hungate 除设计出一种培养严格厌氧菌的装置外，他还致力于对微生物生态系统的研究（Chung et al. 1997）。在对首先出现于甲虫和白蚁的肠道、随后存在于牛瘤胃中的分解纤维素的微生物区系进行分离、培养后，并对其进行计数统计，以及纤维素分解活性的定量分析（Hungate 1943）。随后出现的放射性同位素技术极大促进了生物地球化学过程的定量分析，例如  $^{14}\text{C}$ -和  $^3\text{H}$ -同位素可以分析有机物参与的基础代谢过程，例如营养物质的吸收和同化、矿化作用和微生物群落的生长速率， $^{32}\text{PO}_4$  和  $^{35}\text{S}$  同位素可以分析磷、硫循环等（Comar 1955; Davis J & Foster 1958）。这些研究在微生物生态学发展史上起到了不同程度的推动作用。

1962 年，美国微生物学家 Thomas D. Brock 系统整理了微生物生态相关资料，编写出《微生物生态学原理》一书，标志着微生物生态学作为一门独立的学科诞生。同年，Rachel Carson 编著的 *Silent Spring* 中提到的一些环境污染问题，使人们开始更加关注环境和生态问题；并随着微生物生态学的快速发展，国际微生物生态学会联合会（International Association of Microbiological Societies）于 1971 年成立了国际微生物生态学委员会（ICOME, International Commission of Microbial

Ecology), 致力于水污染、土壤污染等人类活动引起的环境恶化问题。之后, 1977 年首届微生物生态学国际会议 (International Symposium on Microbial Ecology, ISME) 于 Dunedin 举行, 这次国际会议的举行是微生物生态学发展史上一个重要的里程碑, 很大程度上促进了微生物生态学的发展。

不同于实验室条件下纯培养的微生物所处的环境条件, 环境中微生物周围的微环境更为复杂。如图 1-1 所示, 由于环境中其他多种生物的存在, 微生物细胞处于由温度、光等物理因素, pH、氧化还原电位、有害物质等化学因素, 以及碳源、能源、末端电子受体等营养条件所形成的微环境中 (Konopka 2006)。这些因素影响着微生物细胞内外的物质运输、胞内渗透压和基因表达等多种细胞代谢过程。因此大多数依赖纯培养的传统微生物生态学研究并不能很好的反映出环境中微生物的生理状态。放射性同位素技术虽然应用广泛且不依赖微生物的纯培养技术, 但因其不能覆盖到细胞内所有的代谢活动使得其检测结果不是非常完整; 同时该项技术仅限于对生态环境中的生物地球化学过程的定量分析, 而不能对环境中微生物进行定量分析。这些微生物生态学研究手段所存在的缺点, 使越来越多的人试图通过其他方法来推动研究的进行。

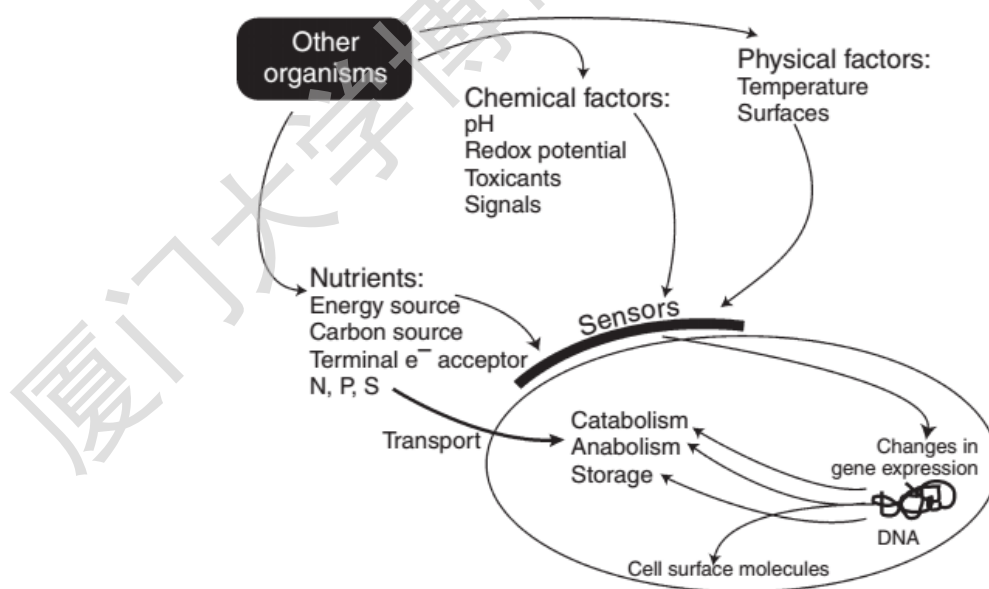


图 1-1 环境中的微生物细胞所处微环境 (Konopka 2006)

Fig. 1-1 The microenvironment among the bacteria cell in environment (Konopka 2006)

### 1.1.2 现代微生物生态学

随着“重大平板计数偏差”（the great plate count anomaly; Staley & Konopka 1985）的发现，研究者们意识到自然环境中绝大多数微生物是尚未培养出的，这一现象严重制约了以分离培养方法为前提的传统微生物生态学的发展。自 1953 年 J. Watson 和 F. Crick 建立 DNA 分子模型后，快速发展的分子生物学理论和生物技术于 20 世纪 90 年代开始应用到微生物生态学中，建立了不依赖培养的微生物生态学研究方法，也因此微生物生态学研究开始进入现代微生物生态学研究阶段（Amann et al. 1995）。

早在 1963 年，Zuckermandl 和 Pauling 认为从不同生物体的基因和蛋白序列信息中分析得到的进化树，符合从传统表型特征推断出的进化关系（Pauling & Zuckermandl 1963; Zuckermandl & Pauling 1965）。因此早期的关于微生物系统发育的分子学工作大多是用核酸和氨基酸的序列信息。先于 16S rRNA 基因之前是对 5S rRNA 序列的分析，Stahl 等（1985）用测序方法分析了黄石国家公园温泉水中的微生物群系 5S rRNA 序列，得出微生物间的系统发生关系，分析了样品中菌群在古菌、细菌和真菌中的分布情况。但约为 120 个核苷酸的 5S rRNA 所包含的信息相对较少，只能分析一些复杂程度不高的生态菌群（Olsen et al. 1986）。1990 年，Carl Woese 用原核生物中的 16S rRNA 基因来分析原核生物的系统发育关系，这种方法随后被认为是在微生物系统发育学和生态学中的“黄金准则”（Woese et al. 1990）。随后，Saiki 等（1988）的 PCR 技术极大的推动了微生物生态学研究的发展。Giovannoni 首次将 PCR 和已迅速发展的高通量技术相结合，分析海水中浮游细菌的多样性，并从进化学角度定义了蓝藻细菌的起源（Giovannoni et al. 1990）。之后出现的变性梯度凝胶电泳（Denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE）、荧光原位杂交（Fluorescence in situ hybridization, FISH）、末端限制性片段长度多态性（Terminal restriction fragment length polymorphisms, T-RFLP）、实时荧光定量 PCR（Quantitative Real-time PCR）、微阵列技术（Microarray）宏基因组学（Metagenomics）等，这些大多基于核糖体 rRNA 基因分析物种间差异、物种丰度及多样性等的现代分子生态学技术，可以实现更全面地揭示自然界系统中微生物的系统发育关系（Schemm et al. 1995; Liu et al. 1997; Handelsman et al. 1998; Muyzer & Smalla 1998; Amann et al. 1999; Pfaffl 2001）。

分析微生物群落的结构组成以及微生物的丰度对于更好的理解环境样品中微生物的生态学信息是非常重要的,不依赖微生物培养的分析技术的出现使现代微生物生态学研究不受未可培养微生物存在的限制,从而发现越来越多新的微生物类群,了解更多生境中微生物群落的信息(Pace 1997)。基于核酸分析微生物群落结构和功能的现代微生物生态学研究方法应用较广,具体途径如图 1-2 所示。这类方法大致分为两种:一种是直接以环境样品中的微生物细胞内核酸物质为基础,对环境样品中的特定微生物进行定量分析、跟踪检测、显微观察和鉴定等,还可以对微生物系统发育关系以及物种间同源性进行分析,例如荧光原位杂交等;另一种则是结合 PCR 和电泳技术,把微量核酸样品和目的基因适量扩增后,来分析微生物群落的结构和功能。除此之外还有稳定同位素探针技术,用来原位鉴定功能微生物、分析微生物群落的代谢循环以及结构和功能等(Radajewski 2000; Schmidt 2010)。

尽管现代分子生物学技术的发展极大推动了微生物生态学的发展,但现存的研究方法中仍然存在一些不足。首先,现代微生物生态学方法中试图通过用基因这种分子标准来对菌群中的微生物进行相对和绝对定量分析,例如用 16S rRNA 基因的某一多变区或某一编码蛋白的基因区域进行荧光定量 PCR 分析等(Vos et al. 2012)。这类分析中存在一些误差,“黄金准则”中使用的原核生物 16S rRNA 基因在微生物细胞中大多以多拷贝存在,这就会引起对群落定量分析和多样性分析的高估(Sun et al. 2013),且不能代表环境样品中真实存在的细胞数;虽然有单拷贝的编码蛋白基因作为 marker gene 进行的定量分析,但这些基因大多数并不能覆盖到复杂样品中的几乎所有微生物,有些仅限于某一特定类群(Rotthauwe et al. 1997);此外,PCR 过程中产生的偏差,也会使得有 PCR 参与的分子手段的定量分析并不能很好的反应出原始环境样品中微生物菌群的真实情况(Becker et al. 2000)。其次,环境中微生物的细胞大小分布横跨多个数量级,以相差如此之大的体积存在于相同环境中的不同微生物细胞,其各自所占的生态位、在整个生态系统中的功能、对生态系统的贡献有可能存在很大差异。尽管单细胞技术如流式细胞分选、显微操作和微流控技术等逐渐应用到现代微生物生态学的研究中,但和大多数基于微生物的核酸序列信息进行的现代生态学分析一样,往往忽略了环境样品中的微生物细胞大小这一重要参数。即使有些研究关注到了细胞大小,

但这些研究中所用到的细胞大小信息大多来源于已获得的纯培养的微生物数据库信息，与环境样品中真实的细胞大小之间会存在偏差。最后，对于微生物种群生态学的分析中，生长速率是一个较为重要的生态学参数；和细胞大小一并，作为单细胞微生物的另一个基本参数，它的大小决定着微生物细胞在整个生态环境中的生态位、在食物网中的位置以及对整个生态环境的影响等 (Kirchman 2016)。虽然现代分子生物学手段可以分析出细胞的生长速率，但大多数研究中没有将其与细胞大小关联起来分析。

微生物的个体细胞在微米范围内活动，但其整体却影响着更大范围上的活动过程，包括几乎所有的水生和陆生生物群落 (Wakeham et al. 2007)。从微生物的生理形态分析，到菌群中的定性定量分析，再到基于生态系统的结构功能分析等，微生物生态学不断发展。微生物作为地球生态中的重要一组成员，在生物地球化学循环、能量代谢、环境与健康等方面扮演着重要角色，相信随着科技的不断进步，微生物生态学的理论会更加全面，研究也会更加深入。

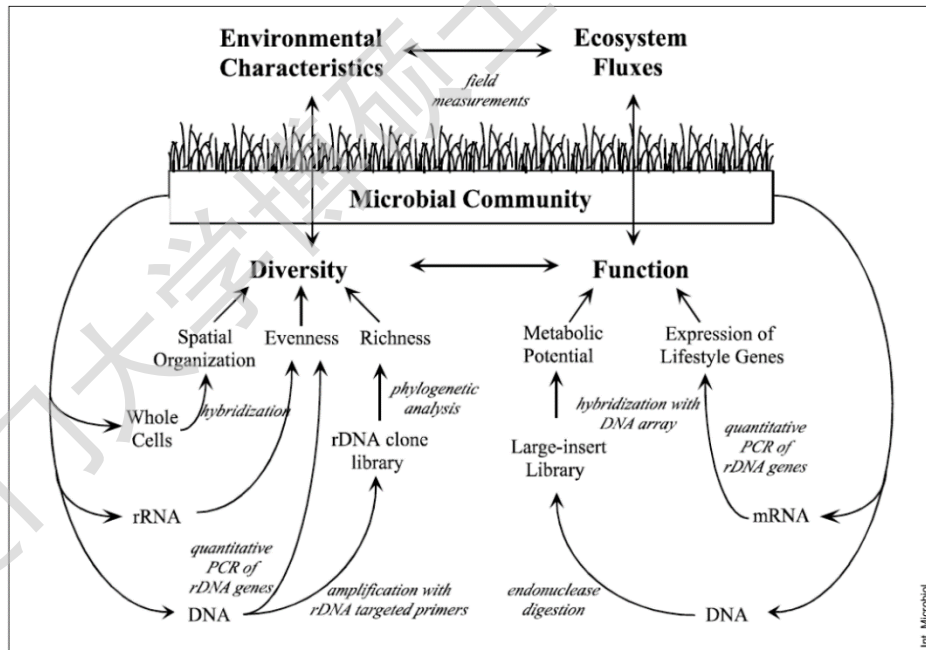


图 1-2 基于核酸分析微生物群落结构和功能的途径概况 (Schmidt 2010)

Fig. 1-2 Integration of nucleic-acid-based approaches to linking the structure and function of microbial communities (Schmidt 2010)

## 1.2 环境中微生物的细胞大小和生长速率

生物体的大小是最基础的生态学参数，和生物量一并，可以将形态学和生理学分析联系起来，探究生物体的生态学意义。例如生物界中的“开普勒”定律——异速生长律就是个体大小或质量与生理生态属性之间存在的幂函数关系，这种关系反应出了生物体的资源配置策略，为应用生态学，特别是在生物量、能量流和生态系统结构等方面的理解提供了理论基础（Peters 1986; West et al. 2002）。生物体的大小与生长速率、代谢速率、营养物质摄取率、RNA 含量、基因组大小等密切相关，在单细胞的微生物中尤为如此（Edwards et al. 2012; Kempes et al. 2016）。与此同时，在微生物生态学研究过程中，生长速率也是一个极为重要的参数，影响着生态系统中群落结构以及食物网的结构分布，可以与生物量、生态系统菌群中的系统发育关系、种群丰度等相结合，用于对食物链和生物地球化学过程的探索中（Kirchman 2016）。

### 1.2.1 微生物的细胞大小

在温度超过 100℃ 的热水出口处、盐度极高的盐池中、电离辐射强度高于人类致死量千倍等极端环境中均有微生物的存在，因此类似于真核生物，微生物需要调节细胞分裂与细胞生长的关系，使细胞大小与周围生长环境、自身所处生长阶段相适应。虽然微生物在生长过程中，来自外界环境或内部的压力的存在使细胞大小发生变化，但这种调节机制可以使微生物细胞大小在相对稳定的环境中基本维持在一个恒定的范围内（Chien et al. 2012）。

微生物细胞不仅分布广泛，形态多种多样，有着从球状到杆状、螺旋状和似变形虫状等的多种形态，而且细胞大小也存在较大差异（Chien et al. 2012）。一般球菌的直径为 0.5-1.0  $\mu\text{m}$ ，杆菌为 (0.5-1.0)  $\mu\text{m}$  × (1.0-3.0)  $\mu\text{m}$ ，一个典型细菌的大小可以用 *E.coli* 作代表。它的细胞平均长度约为 2  $\mu\text{m}$ ，宽度约 0.5  $\mu\text{m}$ （周德庆 2011）。除此之外，也有发现个别大型细菌实例的报道，例如，在红海海域生活的双斑刺尾鱼肠道内发现一种巨型共生细菌 *Epulopiscium fishelsoni*（费氏刺尾鱼菌），其细胞长度为 200-500  $\mu\text{m}$ ，体积为典型 *Escherichia coli* 细胞的  $10^6$  倍（Angert et al. 1993）；在智利和秘鲁大陆架海岸沉积物中发现了迄今为止的最大



Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库