

学校编码: 10384

分类号 _____ 密级 _____

学号: B200426031

UDC _____

廈門大學

博 士 学 位 论 文

南极中山站沉积物中微生物多样性分析及
宏基因组文库研究

**Microbial diversity investigation and metagenomic library
analysis in the sediment from Zhongshan Station, Antarctica**

赵 晶

指导教师姓名: 徐洵 教授

曾润颖 研究员

专 业 名 称: 生化与分子生物学

论文提交日期: 2007 年 6 月 12 日

论文答辩时间: 2007 年 7 月 15 日

学位授予日期: 2007 年 月

答辩委员会主席: 郑天凌

评 阅 人:

2007 年 07 月

厦门大学学位论文原创性声明

兹提交的学位论文，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的其他个人或集体的研究成果，均在文中以明确方式标明。本人依法享有和承担由此论文产生的权利和责任。

声明人（签名）：

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人完全了解厦门大学有关保留、使用学位论文的规定。厦门大学有权保留并向国家主管部门或其指定机构送交论文的纸质版和电子版，有权将学位论文用于非赢利目的的少量复制并允许论文进入学校图书馆被查阅，有权将学位论文的内容编入有关数据库进行检索，有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

本学位论文属于

1. 保密（），在年解密后适用本授权书。
2. 不保密（）

（请在以上相应括号内打“√”）

作者签名： 日期： 年 月 日

导师签名： 日期： 年 月 日

摘要	1
ABSTRACT	4
1. 前言	7
1.1 南极环境	7
1.1.1 南极概况	7
1.1.2 南极中山站概况	8
1.2 南极微生物活性物质研究进展	9
1.3 极端环境微生物分子研究方法及其进展	15
1.4 微生物次级代谢产物研究进展	25
1.5 本论文的思路、目的和意义	29
2. 材料与方法	30
2.1 材料	30
2.2 基本方法	38
2.3 南极沉积物中微生物群落结构调查	42
2.4 南极沉积物中含次级代谢产物生物合成相关基因(KS和A)多样性分析	44
2.5 南极中山站排污入海口沉积物中微生物宏基因组文库的构建和研究	44
3. 结果与分析	54
3.1 南极中山站排污入海口沉积物中微生物多样性调查	54
3.1.1 沉积物样品总DNA提取	54
3.1.2 沉积物样品中细菌和古菌16S rRNA基因序列扩增	54
3.1.3 细菌16S rRNA PCR扩增片段的DGGE分析	55
3.1.4 古菌16S rRNA PCR扩增片段的DGGE分析	56
3.1.5 微生物多样性统计学分析	57
3.1.6 微生物类群系统发育分析	59
3.1.7 分析	66
3.2 南极中山站排污入海口沉积物中微生物次级代谢产物合成相关基因多样性调查	69
3.2.1 沉积物样品DNA的提取及纯化	69
3.2.2 多聚酮合成酶相关基因PKS-KS基因多样性调查	69
3.2.3 非核糖体多肽合成酶相关基因NRPS-A基因多样性调查	77
3.2.4 氨基酸(AA)序列登录号	83

3.2.5 分析-----	83
3.3 南极中山站排污入海口沉积物中微生物宏基因组文库的构建和研究-----	86
3.3.1 沉积物样品中大片段 DNA 提取结果-----	86
3.3.2 沉积物样品大片断目的 DNA 的分离和筛选-----	86
3.3.3 沉积物样品大片断目的 DNA 的回收和浓度控制-----	87
3.3.4 沉积物样品大片断目的插入 DNA 末端补平和浓度控制-----	88
3.3.5 ZS Cosmid 宏基因组文库构建和评估-----	89
3.3.6 ZS Cosmid 宏基因组文库中细菌多样性调查-----	90
3.3.7 ZS Cosmid 宏基因组文库中次级代谢产物合成相关基因（簇）分析	92
3.3.8 ZS 宏基因组文库中抗菌活性物质初筛-----	106
3.3.9 ZS 宏基因组文库中抗肿瘤活性物质初筛和分析-----	106
3.3.10 ZS Cosmid 宏基因组文库中酶类初筛-----	111
3.3.11 分析-----	111
4. 讨论-----	114
5. 总结-----	126
参考文献-----	128
附录一 缩略词-----	152
附录二 pTA2 vector 图谱-----	153
附录三 <i>pWEB</i> TM Cosmid vector 图谱-----	154
博士期间发表和待发表的论文-----	155
致谢-----	156

CONTENTS

Chinese abstract -----	1
English abstract -----	4
1. Introduction -----	7
1.1 Antarctic environment-----	7
1.2 Development of microbial active material in Antarctica-----	9
1.3 Development and application of molecular biotechniques in researches on microbial life in extreme environments-----	15
1.4 Development of second metabolic product derived from microorganism-----	25
1.5 Design, purpose and significance of this thesis-----	29
2. Materials and method -----	30
2.1 Materials-----	30
2.2 Basic methods-----	38
2.3 Microbial diversity survey of the sediment samples collected from Zhongshan Station-----	42
2.4 Phylogenetic analysis of type I polyketide synthase and nonribosomal peptide synthetase genes in Zhongshan Station sediment-----	44
2.5 Microbial metagenomic cosmid library construction and subsequent research of ZSS station-----	44
3. Results and analyses -----	54
3.1 Microbial diversity survey of the sediment samples collected from ZSS and ZSN sediment samples-----	54
3.1.1 Total DNA extraction of Zhongshan Station sediments-----	54
3.1.2 PCR amplification of the bacterial and archaeal 16S rRNA gene fragment-----	54
3.1.3 DGGGE analysis of bacterial 16S rRNA sequences-----	55
3.1.4 DGGGE analysis of archaeal 16S rRNA sequences-----	56
3.1.5 Statistical analysis of microbial diversity-----	57
3.1.6 Phylogenetic analysis of microbial communities from Zhongshan Station sediments-----	59
3.1.7 Analysis-----	66
3.2 Phylogenetic analysis of type I polyketide synthase and nonribosomal peptide	

synthetase genes in Zhongshan Station sediment-----	69
3.2.1 Total DNA extraction of Zhongshan Station sediments-----	69
3.2.2 Phylogenetic analysis of the detected PKS KS domain-----	69
3.2.3 Phylogenetic analysis of the detected NRPS A domain-----	77
3.2.4 Nucleotide sequence accession numbers-----	83
3.2.5 Analysis-----	83
3.3 Microbial metagenomic cosmid library construction and subsequent research of ZS station-----	86
3.3.1 Large fragment DNA extraction from sediment-----	86
3.3.2 Collection of large inserted DNA fragment-----	86
3.3.3 Recovery and concentration control of the inserted DNA fragment-----	87
3.3.4 End-repair and concentration control of the inserted DNA fragment-----	88
3.3.5 Construction and evaluation of ZS Cosmid metagenomic-----	89
3.3.6 Microbial diversity investigation of ZS comsmid metagenomic library-----	90
3.3.7 Screening of genes associated with the secondary metabolic products from the metagenomic library-----	92
3.3.8 Screening of cosmid clones with antimicrobial activities -----	105
3.3.9 Screening and primary analysis of cosmid clones with potential antimour activities -----	106
3.3.10 Screening for cosmid clones with enzymes activities-----	111
3.3.11 Analysis-----	111
4. Discussion -----	114
5. Conclusion -----	126
Reference -----	128
Appendix -----	152
1. Abbreviation -----	152
2. pTA2 vector profile-----	153
3. pWEB TM Cosmid vector profile-----	154
Publications -----	155
Acknowledge -----	156

摘 要

微生物在南极的生态系统中扮演着重要的角色,微生物生态可较敏锐地反映整个南极生态系统的变化。同时,南极所具有独特的地理及气候特征,造就了极地微生物特殊的生理特征和适应机制。因此南极微生物不但在南极的生态系统及物质的生物地球化学循环中扮演了重要角色,在基础研究和开发应用方面也具有广阔的前景。南极中山站排污入海口沉积物环境是受人类影响较大的区域之一,外来营养物质的引入不仅使该环境中的微生物群落发生变化,而且可能刺激“土著”微生物的次级代谢,产生新的特殊活性物质。

本文首先通过DGGE技术对南极中山站排污入海口(ZSS)及其周围200米近岸(ZSN)沉积物样品中细菌和古菌微生物群落结构及其多样性进行了调查,结果表明所调查区域存在非常丰富的微生物资源。在这两个位点检测到了比以往关于南极微生物报道的更丰富的细菌类群: α - β - γ - δ - ϵ -变形细菌群

(α - β - γ - δ - ϵ -*Proteobacteria*), 噬纤维菌—黄杆菌—拟杆菌群

(*Cytophaga/Flavobacterium* of *Bacteroidetes*, CFB group), 放线菌群

(*Actinobacteria*), 芽单胞菌群(*Gemmatimonadetes*), 革兰氏阳性菌(Gram positive group), 绿屈挠菌群(*Chloroflexi*), 浮霉状菌群(*Planctomycete*), 酸杆菌群

(*Acidobacteria*) 和一个未知类群。并且分析表明,来自于排污入海口的细菌多样性较周围地区更为丰富。同时在所调查样品中也检测到了广生古菌界

(*Euryarchaeota*) 的4个类群和泉古菌界(*Crenarchaeota*)的1个类群,但分析表明在古菌方面,ZSS环境样品较为单一,主要集中在广生古菌界(*Euryarchaeota*) 3个产烷微生物类群,并且所检测的古菌序列与数据库中已知序列的同源性较低。

其次,本文采用宏基因组技术,通过构建环境样品PKSI-KS和NRPS-A功能基因克隆文库,应用分子生物学方法,开展了南极ZSS和ZSN样品中与次级代谢产物相关基因(簇)的微生物功能基因多样性研究,并对功能基因类型及其可能所归属的微生物群落进行了分析。结果表明,在KS基因方面,来自两个样品的所有31个序列(ZSS, 14; ZSN, 17)属于多样的细菌类群,包括变形细菌

(*Proteobacteria*), 革兰氏阳性菌(low G+C gram positive bacteria), 浮霉状菌属(*Planctomycetes*), 蓝细菌/蓝藻(*Cyanobacteria*), 放线菌属(*Actinobacteria*),

和未/无法培养的海绵共生菌(uncultured sponge marine-associated microorganisms)。并且有5个基因类型在系统发育树上无法归属于已知的类群而形成独立的分支。同时，系统发育树还显示出一个区别于以往所报道的杂合型PKS/NRPS基因类型(hybrid PKS/NRPS enzyme complexes)。在A基因方面，所获得31个序列(ZSS, 13; ZSN, 18)主要集中在蓝细菌/蓝藻(Cyanobacteria)和变形细菌类群(Proteobacteria)。本研究中几乎所有氨基酸序列与GenBank数据库中最接近的已知序列同源性较低(KS, < 80%; A, < 60%)，表明南极环境中可能蕴含着丰富的与次级代谢产物相关的基因，并且有可能发现新的独特的由微生物产生的天然产物。

第三，本文构建了南极中山站排污入海口沉积物中微生物ZS cosmid 宏基因组文库，获得了约6500个阳性克隆，推算该文库至少包含了228Mb南极环境样品DNA，可以覆盖约10株类似*E.coli*菌株的总基因组。采用PCR扩增和菌落原位杂交，定位到了4个与次级代谢产物相关基因的克隆，对其中一个具有潜在A基因的克隆(ZSK-90)进行了基因组测序，插入片段全长41,263bp。从中获得了一完整的非核糖体多肽合成酶(NRPSs)基因簇，长约11kb，这是国内首次从南极环境样品宏基因组文库中筛选到的与次级代谢产物相关的基因簇，本研究对其基因类型，保守序列等方面进行了初步分析，推测该酶基因簇第一组件腺苷化结构域(A)可能特定的活化缬氨酸(Val)。由于所获得的序列与数据库中已知序列同源性较低(<43%)，推测可能产生目前尚未发现的新型化合物及其代谢途径。

第四，本文首次运用DDRT法与环境样品宏基因组文库相结合，从该文库得到了约10个作用于DNA具潜在抗肿瘤活性的克隆子，采用MTT法对其中活性较高的克隆子进行细胞毒活性测定，表明克隆子ZSE-3对卵巢癌细胞的抑瘤率达55%，同时该克隆对金黄色葡萄球菌，枯草芽孢杆菌和白假丝酵母显示出拮抗活性。目前，对ZSE-3活性物质结构进行了初步研究。本研究还通过功能平板从该宏基因组文库中筛选到了部分具有蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶、纤维素酶活性的阳性克隆，并且获得了一株能在碱性pH13条件下产生蛋白酶活性的克隆。

我们所构建的宏基因组Cosmid文库包含了丰富的微生物基因组，克服了传统培养方法的局限性，获得了丰富的极地微生物遗传信息；而且其中包含的微生物绝大多数是尚未培养或鉴定的新的菌群或菌种，为寻找南极沉积物中微生物的

功能基因和新基因以及生长适应机制等方面的研究提供了丰富的素材。预期随着后续研究的进一步开展,该宏基因组文库中可能发现更多的活性物质和极端环境微生物特殊的代谢途径。

关键词: 南极中山站 沉积物 微生物多样性 宏基因组文库

厦门大学博硕士论文摘要库

Abstract

Microbe play a key role in Antarctic ecological system. Microorganisms have many characteristics including physiological structure, metabolism mechanism, substances with special function due to the condition of the extreme environments. So, the research of Antarctic microorganisms is important not only in understanding the diversity of life on earth and the global ecology process, but also recovering the bioactive materials and metabolism mechanism. The sediment within the treated sewage effluent to the sea was influenced frequently by human activities. Foreign materials which were introduced to the sediment probably resulted in changing microbial communities. And, the indigenous microbes under environmental pressure maybe produce novel bioactive compounds.

In this study, we applied PCR-DGGE in examining and comparing the phylogenetic diversity of microbial communities in different layers of a sediment sample core from ZSS and ZSN. The samples ZSS and ZSN were collected from the coast near the China Zhongshan Station. The site ZSS was the sediment within the treated sewage effluent to the sea, while the ZSN site, 200 meters away from ZSS site, was sediment of normal Antarctic seashore. Phylogenetic of bacterial communities analysis revealed that the bacterial communities present in two sites primarily clustered closely together within the α -, γ -, β -, δ - and ϵ -subdivisions of *Proteobacteria*, *Cytophaga-Flavobacterium-Bacterioides* (CFB) group, *Actinobacteria*, *Acidobacteria*, *Gemmatimonadetes*, low G+C gram-positive bacteria, *Planctomycete*, *Chloroflexi*, and an unknown group. Phylogenetic analysis of the partial 16S rRNA gene sequences showed that at least five clusters of *Archaea* inhabited ZSS and ZSN sediment, i. e., four groups of *Euryarchaeota* and one of *Crenarchaeota*. Within the *Euryarchaeota*, at least three clusters of methanogens were detected. The structure of *Archaea* community in ZSS was relatively simple. Most 16S rRNA sequences of archaea were not closely related to any known isolates.

The modular polyketide synthase (PKS) and nonribosomal peptide synthetase

(NRPS) have been found to be involved in natural product synthesis in many microorganisms. The study on their diversities in natural environment may provide important ecological insights, in addition to opportunities for antibacterial drugs development. In this study, the PKS and NRPS gene diversities in ZSS and ZSN were studied. The phylogenetic analysis of amino acid (AA) sequences indicated that the identified KS domains were clustered with that from diverse bacterial group, including *Proteobacteria*, low G+C gram positive bacteria, *Planctomycetes*, *Cyanobacteria*, *Actinobacteria*, and uncultured sponge marine-associated microorganisms. Five unknown clades and one new branch belonging to hybrid PKS/NRPS enzyme complexes were found on the phylogenetic tree. The obtained A domains were mainly clustered within the *Cyanobacteria* and *Proteobacteria* group. Almost all of the identified KS and A domains showed below 80% and 60% identities at the AA level to the reference sequences in GenBank, respectively. Both of the KS and A domains in natural environmental sample were different. These results revealed the great diversity and novelty of both PKS and NRPS genes in Antarctic sediment.

A metagenomic cosmid library containing about 6500 clones was constructed using the ZSS sample. The library contained at least 228 Mbp of the genomic resource of environmental microbes and provided more information about the microbial assemblages. Using the methods of PCR and Southern dot hybridization, we screened four cosmids carrying the gene cluster associated with secondary metabolites production clones. Among these clones, ZSK-90 was selected out to sequence. The length of the inserted DNA fragment in ZSK-90 was 41,263kb of which about 11kb was closely related with NRPS gene cluster. Sequence analysis of the 11kb fragment revealed there existed gene sections coding for adenylation domain (A), condensation domain (C), thiolation (T)(or Peptidyl Carrier Protein, PCP) and thioesterase domain (TE), and the gene sections of this fragment formed 4 modules involved in a nonribosomal peptide biosynthesis. It indicated the 11kb sequence was a intact gene cluster sequence coding for a novel nonribosomal peptide synthetase due to 43% identity to known NRPSs gene sequences. By analysis of active sites of A domain, this domain maybe specially select and activate Val.

The different DNA repair test (DDRT) could be firstly applied to the screening of antitumor substances from environmental metagenomic cosmid library at the first time. About 10 cosmid clones with potential anti-tumor activity were obtained. Then, MTT assay confirmed the activity with the supernatant derived from liquid culture of the potential anti-tumor cosmid clones. Among these clones, ZSE-3 showed higher tumor inhibition in rates of 55%. ZSE-3 also showed the obvious capacities of anti-microbes against *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* and *Candida albicans*. By selective medium, some cosmid clones which produce protease, amylase, lipase and cellulase were screened. One of them was confirmed to grow and produce protease in pH13 agar.

In this study, we investigated microbial diversity and functional gene diversity (PKS I-KS and NRPS-A) of the two coast sediments near China Zhongshan Station and found abundant microbial resource. The cultured-independent metagenomic library provides many information for studying the novel metabolic pathways and new bioactive compounds synthesis of uncultured and unidentified microorganisms. More stirring results might be obtained from the ZS cosmid library for subsequent further research.

Key Words: China Zhongshan Station, sediment, microbial diversity, metagenomic cosmid library

1 前言

1.1 南极环境

1.1.1 南极概况

南极洲，位于南极点四周，为冰雪覆盖的大陆，周围岛屿星罗棋布。南极洲的面积，包括南极大陆及其岛屿面积共约 1,400,000 km²，占世界陆地面积的 10%，与美国和墨西哥面积之和相当，是中国陆地面积的 1.45 倍，是澳大利亚陆地面积的 2 倍，为世界第五大陆。南极洲四周围绕着多风暴且易结冰的南大洋，为大西洋、太平洋和印度洋的延伸，面积约 38,000,000 km²，为方便研究，被称为世界第五大洋。南极洲距离南美洲最近，中间隔着只有 970 km 的德雷克海峡；距离澳大利亚约有 3,500 km；距离非洲约有 4,000 km；与中国北京的距离约有 12,000 km。南极洲是由冈瓦纳大陆分离解体而成，是世界上最高的大陆，平均海拔 2,350 m。横贯南极山脉将南极大陆分成东西两部分。这两部分在地理和地质上差别很大。东南极洲是一块很古老的大陆，据科学家推算，已有几亿年的历史。它的中心位于难接近点，从任何海边到难接近点的距离都很远。东南极洲平均海拔高度 2,500 m，最大高度 4,800 m。在东南极洲有南极大陆最大的活火山，即位于罗斯岛上的埃里伯斯火山，海拔高度 3,795 m，有四个喷火口。西南极洲面积只有东南极洲面积的一半，是个群岛，其中有些小岛位于海平面以下。但所有的岛屿都被大陆冰盖所覆盖。较古老的部分(包括有玛丽伯德地南部、埃尔斯沃思地、罗斯冰架和毛德皇后地)有一由花岗岩和沉积岩组成的山系。该山系向南延伸至向北突出的南极半岛的中部。西南极洲的北部，即较高的部分是由第三纪地质时期的火山运动所造成的。南极洲的最高处--文森山地(5,140 m)位于西南极洲。

南极是研究全球环境变化的关键地区，覆盖南极大陆 1300 万平方公里的冰盖，占世界总冰量的 90%，是地球上的主要冷源。它像一座巨大的冷凝器安装在地球的最南端，冷却从赤道来的热气，调节热量平衡，影响全球的气候。南极地区中的大气、冰、海洋和生物通过生物地化循环、深层大洋环流、大气环流、能量的输运同地球的其它地方发生着联系，从而影响着整个地球系统。反过来，极地地区又对全球气候变化起到“放大器”的作用，况且，它是地球上唯一未被人类活动大量影响的地区，所以在注重全球变化研究的今天，南极地区的生态学研

究就显得尤为重要。如今的南极不再是白色冰原的代名词，而是一个蕴涵大量资源的宝库。这些资源主要包括淡水资源、海洋生物资源、矿产资源以及微生物资源等。

南极与其它地区相比，各生态系统的生物组分相对简单，尤其是陆地和淡水生态系统^[1, 2]。除了生态系统成分简单，也因牧食者的种类和数量较少而造成大量的初级生产者过剩。这些过剩的营养物质或者通过腐食食物链而在系统中得以疏通，或直接积累到沉积层。但事实上，南极的低温使得腐生链的效率也不会高（在陆地生态系统，干旱比低温起到更大的限制作用），从而造成大量营养物质的沉积。在全球变化与极地生态系统相互关系的研究中，过剩营养物质在沉积物中的变化受到全球气候变迁的影响，并引起系统中其他成分的相应变化，因此，研究沉积物中这些物质的变化可以从一定程度上反映全球气候的变迁情况。营养物质在各大系统之间的流动，使得陆地、淡水、潮间带和浅海成为一个相对独立而又相互联系的整体。营养物质的流通主要通过生物和物理的作用，从而将生态系统紧密地联系在一起。

南极由于其遥远的地理位置与严酷的气候条件，一直以来被认为是遭受人类活动负面影响最少的地区^[3, 4, 5]。然而，随着各国在南极地区科学考察活动及其后期保障规模的日益扩大，以及南极旅游事业与各种非政府活动的迅猛发展，南极环境和资源保护正在成为全球关注的焦点，受到国际社会的广泛关注^[5, 6]。

1.1.2 南极中山站概况

中国南极中山站地处南极大陆边缘地区 (69°22'24"S, 76°22'40"E)，属于普里兹湾内的拉斯曼丘陵地带，南连大冰盖，北濒南大洋，东临达尔克冰川，西接普里兹湾、埃默里冰架和兰伯特冰川。中山站建成于1989年2月，经过十多年的持续发展，目前中山站有各种建筑15座，建筑面积达到2,700平方米，拥有较为完备的科学观测和监测系统，每年可容纳越冬人员25名，度夏人员60名，是开展雪冰与空间环境理想的观测地点和研究基地。中山站具有得天独厚的地理位置和自然环境，成为开展南极冰雪、气候环境研究及生态系统研究的理想场所。本区属典型的风寒、干旱的南极气候，年平均气温9.8℃，12~2月平均气温0℃。冬季风雪频繁，冰封千里，夏季年均冰融日低于50天，部分积雪消融，年降水量不足250mm；本区环境恶劣，地面基岩裸露，风化严重，植被稀少，苔藓、地衣

分布稀少，主要生长于雪溪和积水池边^[7]。

1.2 南极微生物活性物质研究进展

在南极这个相对简单的生态系统中，生物的种类较少，只有微生物具有较强的适应性，保存着丰富的微生物种类和较多的数量，成为该地区生态结构和物质能量循环中的重要环节。自Ekelof^[8]首次报道在南极分离出微生物后，各国的微生物学家相继在南极地区进行了大量的研究工作，不仅证实了在南极冰、雪、水、土壤及岩石样品中广泛存在着各种类型的微生物，其中包括大量嗜冷和耐冷微生物，同时还证明微生物在南极自然环境下的物质循环、生物地球化学过程中担负着重要作用^[9]。南极微生物，包括细菌、酵母及丝状真菌等，不但在南极有机物质的矿化过程中起重要作用，而且在湖泊、海洋等食物链中本身也是许多原生动物、浮游动物和底栖动物的食物。南极微生物参与了南极陆地、湖泊及海洋的营养循环过程和生物生产过程，因而在南极生态与环境系统中具有重要的地位和作用。中国南北极微生物考察研究的成果为掌握极地微生物的基本状况，及研究全球变化对该特定生态环境系统的影响奠定了初步基础^[10]。研究结果表明，虽然极地环境总体上温度较低，但不同环境、时空间差异较大，包括采样季节等，时间以及人为环境温度差异。不同生存状态、生态环境中，尤其是小 / 微生境造成的千差万别变化，使得环境中既有大量嗜冷 / 耐冷者，也有相当数量的中温甚至耐高温菌类的极端微生物，它们在极地的物质迁移和流动、转化和循环中多起着不可忽视的作用。

南极特殊的环境决定了南极微生物的研究大部分局限在南极考察站附近的土壤、排污口、湖泊、冰盖等地方。目前，已从南极环境中分离到的微生物大多属于嗜冷或者耐冷菌。Reddy 等^[11]从南极 McMurdo 站附近的湖泊中分离到 13 株橙色产生菌，属于 *Planococcus psychrophilus* spp 和 *Planococcus antarcticus* spp，并利用 16S rDNA 序列、细菌形态、脂肪酸组成等方面证明它们属于新的种。Miller 等^[12]在南极土壤中分离到一株嗜碱嗜冷的细菌，研究了它的基本细菌学性质。Mauro 等^[13]则研究了南极附近海域沉积物中的酶活性，细菌分布和无机物组成之间的关系。Bernhard 等^[14]认为 α -和 β -*Proteobacteria* 细菌控制着南极湖泊雪层的氨基酸的释放。有关南极土壤微生物学的大量研究结果显示，南极土壤微生物群系中的大多数微生物属于全球性物种。这些物种被发现同样生活在世界的其

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 for delivery details.

厦门大学博硕士学位论文摘要库