原核微生物的多样性

东秀珠 洪俊华

(中国科学院微生物研究所, 北京 100080)

摘要:微生物是一群以分解代谢为主的重要生物类群,其生物学多样性十分丰富。但由于它们的微观性,尤其原核微生物简单的单细胞结构、以无性方式进行快速地繁殖而造成的无准确的基线难以对其进行种群数目和数量的统计,因而对微生物的多样性研究远没有宏观生物那样深入和受到重视。本文根据原核微生物的特性,从其物种、所代表的进化分支、生理代谢类群及遗传背景几个方面简述了它们的多样性及重要意义,意在引起科学界和全社会对这类生物资源的认识和保护重视。

关键词:原核微生物,物种多样性,进化分支多样性,生理类群多样性,遗传多样性

中图分类号:Q 93 文献标识码:A 文章编号:1005-0094(2001)01-0018-07

Diversity of prokaryotic microorganisms

DONG Xiu-Zhu, HONG Jun-Hua

Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080

Abstract: Microorganisms are an important group of organism mainly performing catabolic metabolism, which display extreme abundance in biodiversity. However, due to their microscopic sizes, especially prokaryotes with simple unicellular structure, their asexual propagation, their rapid replication and the lack of base line inventory of their groups and quantity, the biodiversity of microorganisms has so far not been studied thoroughly and has been paid little attention compared with macro-organisms. In the present paper, the biodiversity of microorganisms is reviewed briefly, with consideration of the following aspects: species diversity, diversity of phylogenetic lines, physiological diversity and genetic diversity. The aim is to improve awareness of investigation of microorganism resources, not only in the scientific community but also in society as a whole.

Key words prokaryotic microorganisms, species diversity, diversity of phylogenetic lines, physiological diversity, genetic diversity.

微生物是地球上最早出现的生命形式,是生物中重要的分解代谢类群,没有微生物的活动地球将是一个垃圾堆。微生物的多样性在维持生物圈生态平衡和为人类提供广泛的、大量的未开发资源方面起着重要的作用。微生物生活在各种生境中,包括其他生物无法生存的条件下,进行多种形式的物质循环,并以我们初步了解的方式同其他生命形式相互作用。它们的价值是无法估量的,据估计,微生物每年仅向全球药业市场提供的原材料就价值 500 亿美元^①。但它们中的一些类群又是人类和其他生物的病原,如历史上数次流行并杀死了数以万计生命

的鼠疫、伤寒、霍乱以及 20 世纪下半叶开始威胁人类的爱滋病等。然而由于微生物的微观性,尤其是原核微生物简单的和无分化的单细胞结构以及繁殖快、无准确的基线用于种群数目统计等原因,对于它们的多样性研究远没有宏观生物那样受到重视。尽管人类的取样干扰并没有造成微生物种群灭绝的危险,但由于环境的恶化引起它们宿主的灭绝也间接地导致了某些种群的消失和演替。已知有 8% 的真菌种群处于濒危状态,一些处于特殊生境的真菌种已被其他物种取代。因而对微生物多样性的认识、保护是整个生物圈保护中必不可少的内容。1993

基金项目:国家自然科学基金(39770001)资助

收稿日期:2000-08-17;修改稿收到日期:2000-10-17

作者简介:东秀珠,女,1958 年出生,研究员,2001 年国家杰出青年基金获得者。目前从事厌氧细菌的系统学研究。

E-mail 地址:xdongxz@sun.im.ac.cn

①Ten Kate K,1995. Access to *exsitu* collection resolving the dilemma? Global Biodiversity Forum, Jakarta 4/5, Nov, 1995

年第 24 届国际科联通过的 DIVERSITAS 计划中列出了 5 个核心研究计划和 5 个特殊研究领域,其中 2 个领域直接与微生物多样性的研究相关,说明了国际社会对此领域的关注。

与宏观生物所不同的是,原核微生物的多样性在形态和分化上表现并不突出,而主要表现在物种和基因水平上。本文从原核微生物的物种、代表的进化分支、生理代谢类群及遗传背景方面简述它们的多样性,意在引起科学界和全社会对这个生物资源的关注。

1 微生物的物种多样性

至今,人类对微生物多样性的估计在很大程度上只是依赖于实验室的培养及它们与高等生物相互关系的体现,然而我们对这些关系的了解还十分肤浅。另外由于研究手段的限制,许多微生物的种群还不能分离培养。因此建立在培养手段上的多样性估计对单细胞的原核微生物尤为困难。Bull 等(1992)根据全球不完整的统计得知,已描述的真菌种是 69 000 个,占总数的 5%;已描述的细菌种是 4760 个,占总数的 12%;已描述的病毒种是 5000 个,占总数的 4%。高等动植物的种群已基本全部描述记载,而微生物和无脊椎动物的已描述种群最少。Amann 等(1995)根据原位、无培养的微生物系统发育学研究认为,自然界中 95%~99% 的微生物种群未被分离培养和描述。在即将出版的《伯杰氏系统细菌学手册》第二版中描述了 869 个细菌属、4928 个细菌种(Garrity, 2000),以此推算地球上的细菌种应是 10~50 万,这和 Tiedje(1994)所估计的数字相吻合。

2 原核微生物所代表的进化分支多样性

20 世纪 70 年代, Woese 和 Fox(1977)根据不同生物类群细胞中的 ssuRNA 的序列同源性提出了生物的三域学说,即地球上所有的细胞生物由细菌域、古菌域和真核生物域组成,其中前二域均属原核微生物,传统上的微生物真菌属于真核生物。图 1 是 RNA 生命系统发育树中三域生物的主要进化分支和它们的相对位置。在 Woese 的这个树中可培养的细菌构成了 12 个主要进化分支。然而在过去的 10 年中,科学家利用分子手段和非培养方法进行了环境中微生物群体的调查,根据 8000 个代表性细菌种群的 16S rRNA 序列推测,细菌域由约 36 个进化分支组成(Hugenholtz et al., 1998),每个分支相当于分类阶元“门”,各“门”之间的 16S rRNA 序列

差异可达 25%。其中不少分支的细菌目前仍不能分离培养,但新的分支中也不乏可培养的新类群,如以蛋白质为主要食物的严格厌氧的嗜热细菌——粪热杆菌(*Coprothermobacter*)、嗜热的厌氧硫酸盐还原细菌——热脱硫杆菌(*Thermodesulfobacterium*)及生有突柄及其他细胞附器的疣微菌(*Verrucomicrobium*)等。细菌不同种群可培养和未培养的比例因种群而异,见图 2 所示。

3 原核微生物的生理类群多样性

原核微生物具有多种多样的代谢能力和生理功能,可适应各种生态环境并以不同的生活方式与其他生物相互作用,构成了丰富多彩的生态体系。

3.1 生境的广泛性

高等生物通过功能专化或分化的细胞或器官对付逆境,而微生物则是通过适应性不同的单细胞群体而形成了可耐受和适应广泛的特殊环境的生物种群。它们能够耐受烧烤、冰冻、酸、碱、高盐、无氧、营养极限等其他生物无法耐受和生存的极端环境。尤其是古菌,它们的最适环境大多是地球上开始出现生命的原始环境和极端生境。

已知古菌中有极端嗜热和超嗜热的类群,如热网菌(*Pyrodictium*)和热球菌(*Pyrococcus*)的最适生长温度是 105℃;极端嗜盐古菌的生长要求至少 1.5 M NaCl,其中盐杆菌属(*Halobacterium*)的成员要求 5.2 M NaCl;无细胞壁的古菌——嗜酸热原体(*Thermoplasma acidophilum*)的最适 pH 为 1.8;一些嗜盐碱古菌如盐碱红菌属(*Natronorubrum*)的最适 pH 达 11。

只有微生物能在无氧环境中生活,尤其产甲烷古菌要求氧压低于 10^{-8} atm. 方能生长。厌氧呼吸是细菌特有的功能,在厌氧污水处理器、瘤胃等各种缺氧或无氧环境中的微生物能够进行必要的物质转化,如将硝酸盐还原为大气氮,将硫酸盐还原为元素硫或 H_2S ,将 CO_2 还原为乙酸或甲烷。因而在维持自然生境的物质循环上,微生物的作用是所有其他生物无法替代的。

3.2 代谢类型的多样性

微生物是物质循环中的分解代谢类群,代谢类型的多样性也表现在物质的分解代谢上,其中也不乏合成代谢的类群。它们代谢所利用的能源有光能也有化学能;代谢中产生的电子受体可以是有机物也可无机物;代谢的环境可以有氧也可无氧,因而出现了如表 1 中的各种代谢图谱。

图 1 以“ Cenancestor ”为根的生命树
Fig. 1 Schematic drawing of a life tree rooting in “ Cenancestor ”
rRNA 的生命系统发育树表明在细菌域、古菌域和真核生物域中主要进化类群间的相对位置。进化树的“ 根 ”(Cenancestor)依据并系基因的同源性分析产生(Brown and Doolittle ,1997)
The tree based on rRNA homologies shows the relative positions of evolutionary pivotal groups in the domains , Bacteria , Archaea and Eucarya. The location of the root (Cenancestor) corresponds to that proposed by the homology analysis of paralogous genes(Brown and Doolittle ,1997)

图 2 根据 16S rRNA 序列同源性所推测的不同代表分支的细菌已培养和未培养的比例 (Hugenholtz et al. ,1998)
Fig. 2 Relative representation in different bacterial divisions of 16S rRNA sequences from cultivated and uncultivated organisms (Hugenholtz et al. ,1998)

表 1 细菌的营养代谢类型及代表
Table 1 Metabolic types and the representatives of bacteria

	好氧 Aerobic		厌氧 Anaerobic	
	无机营养 Lithotrophic	有机营养 Organotrophic	无机营养 Lithotrophic	有机营养 Organotrophic
光能营养 Phototrophic	蓝绿细菌 Blue-green bacteria	无 None	绿硫杆菌 <i>Chlorobium</i>	红细菌 <i>Rhodobacter</i>
化能营养 Chemotrophic	亚硝化单胞菌 <i>Nitrosomonas</i>	假单胞菌 <i>Pseudomonas</i>	硫小杆菌 <i>Thiobacillus</i>	梭菌 <i>Clostridium</i>

表 2 微生物与其他生物之间的相互关系
Table 2 Relationships between microorganisms and other lives

关系 Relationships	微生物种群 Groups of microorganisms	其他生物体、部位 Other lives and sites	功能作用 Functions
腐生 Saprophytic	肠杆菌、芽孢菌 <i>Enterobacter</i> , <i>Bacillus</i>	代谢物质或尸体 Metabolite/ carcass	分解代谢 Catabolism
互生 Syntrophic	拟杆菌、乳酸菌 <i>Bacteroides</i> , Lactic acid Bacteria	动物肠道 Animal intestine	抑制肠道病原 提供酶、维生素 Suppressing intestinal pathogen ,Providing enzymes or vitamins
	成团肠杆菌 <i>Enterobacter agglomerans</i>	水稻体内 Inside rice plant	可能固氮 Possibly fix nitrogen
	厌氧产酸细菌 Anaerobic acid-producing bacteria	甲烷菌 Methanogens	互营降解脂肪酸产甲烷 Syntrophically degrading fatty acids and producing methane
共生 Symbiosis	根瘤菌 <i>Rhizobium</i>	豆科植物根瘤 Legumina root nodule	共生固氮 Symbiotic N ₂ -fixiation
	内共生体 Endo-symbiosis	舌蝇中肠表皮细胞 Epithelial cell of the midgut of tsetse fly	提供维生素 B 保证寄主产卵力 Providing V _B for the fecundity of insect
	菌根菌 Mycorrhiza fungi	兰科植物 Arethusa	帮助植物吸取营养 Assisting plant for the uptake of nutrition
寄生 Parasitism	蛭弧菌 <i>Bdellovibrio</i>	革兰氏阴性细菌 Gram-negative bacteria	使寄主致死 Lethal to the parasites
	立克次氏体 Rickettsia	人细胞内 Inside human cells	寄主的斑疹伤寒 Causing typhus
	黄单胞菌 <i>Xanthomonas</i>	植物体 Plant body	多种植物病害 Various of plant diseases
	锈菌 Rust fungi	植物体 Plant body	锈病 Rust

细菌的“中枢”代谢也具有多样性 (1)碳代谢中有三种主要途径:糖酵解(EMP 途径)、ED 途径和戊糖磷酸途径。不同的途径产生不同的代谢产物;(2)氮代谢:细菌可同化氨态氮,也可固定大气氮为细胞氮原。固氮是细菌特有的功能,且种群很多,自生固氮细菌的代表是圆褐固氮菌,共生固氮菌以根瘤菌为主 (3)CO₂ 的固定:细菌可利用光能或化学能,在好氧或厌氧环境中将 CO₂ 同化为细胞碳或转化为其他产物,如蓝细菌的光合作用、同型产乙酸菌

的产乙酸作用、甲烷菌的产甲烷作用及逆向的三羧酸循环。

所有自然的由生物合成的物质最终都由微生物降解,包括对于其他生物来说是营养极限的物质如纤维素、半纤维素、木质素和难降解的卤素、苯环化合物等。

3.3 生活方式的多样性

微生物同其他生物间的关系也因种群而异,它们可通过代谢活动为其他生物提供营养,也可对它

们的生命活动有所抑制甚至致死。根据微生物对其他生物的依赖关系可分为腐生、互生、共生和寄生。如在舌蝇中肠表皮细胞中共生的细菌至今尚无法分离培养,但失去这种细菌会使昆虫丧失产卵能力。目前已知这种共生细菌可为昆虫提供维生素 B 而保证了昆虫的营养。另外在厌氧降解过程中,不同菌群协同将有机物最终无机化为甲烷和 CO₂ 是典型的食物链方式,尤其互营细菌和产甲烷菌之间通过种间 H₂/甲酸转移完成有机酸的降解是近年来研究的热点,它从热力学的角度揭示了物种间相互依赖的原因,也代表了不同物种间存在的另一种关系。表 2 列出了不同生态体系中微生物的代表菌群与其他生物间的关系。

另外,微生物可产生多种生物活性物质,如各种抗菌素、细菌素及短肽,而对其他菌群产生抑制。

4 微生物的遗传多样性

与高等生物相比,微生物的多样性在基因水平更为突出,不同种群间的遗传物质和基因表达具有很大的差异。

4.1 基因组大小和基因数目的多样性

脉冲场电泳(PFGE)方法及其他生物学手段为微生物基因组的分析提供了得力的工具。Cole 和

Girons (1994)综述了各种细菌的基因组信息,已知原核生物不同种群的基因组大小范围从 0.6 Mb (分支杆菌) 到 9.45 Mb(粘细菌),据估计,低等真核生物中的酵母菌同“ 高等 ”原核生物(链霉菌)的基因组大小相似。

与高等生物相比,原核生物的基因组要小得多,编码的基因数目也少得多(表 3)。然而与人类基因组中 90% ~ 95% 的非编码区相比,微生物对遗传物质的利用效率要高得多,而且相关的基因以操纵子形式出现,有利于转录调控和协调表达。

4.2 遗传物质化学组成和 DNA 序列的差异

原核生物 DNA 化学组成差异很大,不同种群的 GCmol% 范围是 24 ~ 76,细菌种内的差别 ≤ 3%,属内的差别 ≤ 10%。表 4 列出了细菌代表菌群的 GC 含量。另外,不同种群的基因组 DNA 序列差异也很大,两种 DNA-DNA 的结合(杂交)比例间接地反映了两种细菌 DNA 序列的相似性程度。通常同一个种的细菌间的序列相似性 ≥ 70% (Stackebrandt and Geobel, 1994),可见同种菌株间序列的差异可高达 30%。近年来发展的 DNA 指纹图谱也显示了细菌种内不同菌株的 DNA 差别很大,常用的 AFLP, RAPD, ARDRA 及 Ribotyping 等都是鉴别菌株间的重要手段。

表 3 不同进化分支生物中预计的基因数目和基因组大小*

Table 3 Current predictions of approximate gene number and genome size in organisms in different evolutionary lineages

	各分支的物种代表 Representative species	基因数目 gene number	基因组大小(Mb) genome size
原核生物 Prokaryota	<i>Mycoplasma genitalium</i>	473	0.58
	<i>Haemophilus influenzae</i>	1760	1.83
	<i>Bacillus subtilis</i>	3700	4.2
	<i>Escherichia coli</i>	4100	4.7
	<i>Myxococcus xanthus</i>	8000	9.45
真菌 Fungi	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5800	13.5
原生动物 Protozoa	<i>Cyanidioschyzon merolae</i>	5000	11.7
节肢动物 Arthropoda	<i>Oxytricha similis</i>	12 000	600
线虫动物 Nematoda	<i>Drosophila melanogaster</i>	12 000	650
软体动物 Mollusca	<i>Caenorhabditis elegans</i>	14 000	100
脊索动物 Chordata	<i>Loligo pealii</i>	> 35 000	2 700
	<i>Ciona intestinalis</i>	N	165
	<i>Fugu rubripes</i>	70 000	400
	<i>Danio rerio</i>	N	1 900
	<i>Mus musculus</i>	70 000	3 300
	<i>Homo sapiens</i>	70 000	3 300
植物 Plantae	<i>Nicotiana tabacum</i>	43 000	4 500
	<i>Arabidopsis thaliana</i>	16 000 ~ 33 000	70 ~ 145

* 引自 George and Gerald (1996)

表 4 细菌代表菌群的 DNA 的 GC 含量(mol%)
Table 4 DNA GC contents (mol%) in representative bacteria groups

细菌属 Bacterial genera	GC 含量(mol%) GC content	细菌属 Bacterial genera	GC 含量(mol%) GC content
梭菌属 <i>Clostridium</i>	24 ~ 43	肠杆菌属 <i>Enterobacter</i>	52 ~ 59
黄杆菌属 <i>Flavobacterium</i>	30 ~ 42	双歧杆菌属 <i>Bifidobacterium</i>	57 ~ 65
嗜血菌属 <i>Haemophilus</i>	38 ~ 42	假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	58 ~ 70
变形菌属 <i>Proteus</i>	38 ~ 42	固氮菌属 <i>Azotobacter</i>	63 ~ 66
拟杆菌属 <i>Bacteroides</i>	40 ~ 45	链霉菌属 <i>Streptomyces</i>	69 ~ 73
埃希氏菌属 <i>Escherichia</i>	50 ~ 51	微球菌属 <i>Micrococcus</i>	66 ~ 75

4.3 rRNA 基因和 16S rRNA 基因序列的差异

原核生物的三种 rRNA 基因位于同一个操纵子 *rrn* 上 ,它们的 *rrn* 位点的拷贝数、在染色体上的位置、连锁状况及所含的 tRNA 基因种类和数目皆因种群而异 (1)细菌中 *rrn* 位点的拷贝数从 1 ~ 10 个不等 ,如分支杆菌只有一个 ,而大肠杆菌有 7 个 ,芽孢菌有 10 个 (2)3 种 rRNA 基因常连锁为 16S-23S-5S ,但也有的细菌的不连锁 ,或连锁方式不同 (3)核糖体 RNA 转录间隔区(ITS)的长度和序列因种而

异 ,近年来常被用作低分类阶元(如亚种)的鉴别 ; (4)ITS 中有的含 tRNA 基因 ,有的不含或种类数目不同(Jensen et al. ,1993)。详见表 5。

细菌域中各门之间的 16S rRNA 序列差异可达 20% ~ 25% ,如位于变形菌纲的大肠杆菌和位于革兰氏阳性菌门的枯草芽孢杆菌的差异约为 23% ;同一个亚纲如变形菌 γ -亚纲的大肠杆菌和假单胞菌间的差异是 15% ;同一个种内不同菌株间的差异可达 3%。

表 5 细菌的 *rrn* 基因位点的拷贝数和连锁状况
Table 5 Copy number and linkage of *rrn* locus of bacteria

细菌 Bacteria	具有 16S-23S-5S 连锁 方式的 <i>rrn</i> 拷贝数 <i>rrn</i> copy number in 16S-23S-5S linkage	具有其他连锁 方式的 <i>rrn</i> 拷贝数 <i>rrn</i> copy number in other linkage
<i>Acholeplasma laidlawii</i>		2
<i>Anabaena</i> sp. pcc7120		2
<i>Bacillus subtilis</i>	10	
<i>Clostridium perfringens</i>		9
<i>Escherichia coli</i>	7	
<i>Haemophilus</i>		6
<i>Leprosira interrogans</i>		2 23S 2 16S 1 5S
<i>Mycobacterium leprae</i>	1	
<i>Mycobacterium smagmatis</i>	2	
<i>Mycoplasma gallisepticum</i>		1 23S-5S 1 16S
<i>Mycoplasma hypopneumoniae</i>		1 16S-23S 1 5S
<i>Pirellula marina</i>		2 23S-5S
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4	2 16S
<i>Streptomyces ambofaciens</i>	4	
<i>Streptomyces coelicolor</i>	6	
<i>Thermus thermophilus</i>		2 23S-5S 2 16S
<i>Vibrio harveyi</i>		23S-16S-5S

4.4 基因组序列所揭示的遗传背景多样性

一些微生物基因组序列的完成为人们全方位地、深入地认识其遗传物质和结构的多样性提供了极好的素材。Koonin 等(1997)通过计算机软件比较了第一个完成的古菌——詹氏甲烷球菌(*Methanococcus jannaschii*)和另外三个细菌的基因组序列,它们是流感嗜血杆菌(*Haemophilus influenzae*)、生殖道支原体(*Mycoplasma genitalium*)和集胞蓝细菌的一个种(*Synechocystis* sp.)。通过所推测的蛋白质氨基酸序列同源性分析,得知 73% 的 *M. jannaschii* 蛋白具有序列保守性,其中 26% 是它自己特有的。在它所编码的 1738 个蛋白中,676 个与细菌的蛋白相似,占总数的 39%,544 个蛋白与酵母菌的蛋白相似,占全部蛋白的 31.4%。三种细菌各自特有的蛋白比例分别是:*Haemophilus influenzae* 约 10%,*Mycoplasma genitalium* 约 20% 和 *Synechocystis* sp. 约 25%。蛋白质序列相似性分析不仅支持古菌作为一个独立的进化分支,而且也揭示了原核生物遗传背景的多样性。

5 结束语

截止 2000 年底的统计可知,已有 35 个原核生物的全基因组序列全部完成发表,另有 117 个正在进行中;4 个真核生物的已完成发表,26 个正在进行中。全球性的微生物基因组计划已经展开,我国的科学家也加入了此行列。基因组时代的到来,将一个崭新的、全面的和内在的微生物世界展现在人们面前,充分显示了微生物的多样性,并揭示了生物进化的动力。正如 Dr. Pallen 在介绍 1999 年初由美国基因组研究所(TIGR)主持的第三届微生物基因组学术大会会议内容时所说:“Apollo 航空行动改变了我们对太阳系的看法,那些几百年前就被人类设想存在的行星和卫星,在不到 20 年的时间里被清晰地定位在宇宙的版图上。同样,细菌学家向“基因组宇宙”的航行正在揭开那些人类最古老的、最可怕的对手的内在世界,同时也展示了地球生命的多样性及“边缘生命”适应力的内涵和本质(Pallen, 1999)。后基因组(功能基因组)时代,将会激发人们利用基因组的数据去开掘基因和蛋白质的功能,无疑微生物将是这个时代的主角,因为它的基因多样性的被认知和利用为它们的开发奠定了基础。因

而我们希望生物科学领域的研究人员以及全社会都应重视这群微小的生物,相信这个丰富的生物资源将为人类作出巨大的贡献。

参考文献

- Amann R I, Ludwig W and Schleifer K H, 1995. Phylogenetic identification and *in situ* detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiology Reviews*, **59**: 143 ~ 169
- Brown J R and Doolittle W F, 1997. Archaea and the prokaryote-to-eukaryote transition. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **61**(4): 456 ~ 502
- Bull A T, Goodfellow M and Slater J H, 1992. Biodiversity as a source of innovation in biotechnology. *Annual Reviews of Microbiology*, **40**: 219 ~ 252
- Cole S T and Giron S I, 1994. Bacterial genomics. *FEMS Microbiology Reviews*, **14**: 139 ~ 160
- Garrry G, 2000. Appendix 2: Bergey's manual of systematic bacteriology. In: Madigan M T, Martinko J M and Parker J (eds). *Brock Biology of Microorganisms* (9th Ed.), Prentice Hall
- George and Gerald, 1996. The role of the genome project in determining gene function insights from model organisms. *Cell*, **86**: 521 ~ 529
- Hugenholtz P, Goebel B M and Pace N R, 1998. Mini-review: impact of culture-independent studies on the emerging phylogenetic view of bacterial diversity. *Journal of Bacteriology*, **180**(18): 4765 ~ 4774
- Jensen M, Webster J A and Straus N, 1993. Rapid identification of bacteria on the basis of polymerase chain reaction-amplified ribosomal DNA spacer polymorphisms. *Applied and Environment Microbiology*, **59**(4): 945 ~ 952
- Koonin E V, Mushegian A R, Galperin M Y and Walker D R, 1997. Comparison of archaeal and bacterial genomes: computer analysis of protein sequences predicts novel functions and suggests a chimeric origin for the archaea. *Molecular Microbiology*, **25**: 619 ~ 637
- Pallen M J (1999). Micro-Meeting: microbial genomes. *Molecular Microbiology*, **32**(5): 907 ~ 912
- Stackebrandt E and Geobel B M, 1994. Taxonomic note: a place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology. *International Journal of Systematic Bacteriology*, **44**: 846 ~ 849
- Tiedje J M, 1994. Microbial diversity: of value to whom? *ASM News*, **60**: 524 ~ 525
- Woese C R and Fox G E, 1977. Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: the primary kingdoms. *Proceedings of National Academy of Sciences, USA*, **74**: 5088 ~ 5090