

细菌胞外酶的生态作用*

ECOLOGICAL FUNCTION OF BACTERIAL EXTRACELLULAR ENZYME

王 斐 郑天凌 洪华生

(厦门大学环境科学中心, 国家教委海洋生态环境开放研究实验室 361005)

“微生物食物环”的概念由 Azam, F. 等 1983 年, Hagström, A. 等 1988 年提出以来, 众多学者把研究热点集中于异养微生物类群以及它们有效利用有机物的方式上。因此水体中有机物与异养微生物类群的相互作用关系, 成为海洋生态研究的关键问题。

海水中的有机物总量颇丰, 但只有一小部分的溶解有机物 (DOM) 可以直接通过细胞膜被异养微生物所利用, 这远远无法满足微生物的营养需求。约 80% ~ 90% 的 DOM 以高聚物的形式存在, 但无法被直接吸收利用, 只有通过胞外酶的解聚作用才能使它们转变为小分子有机物, 而被异养微生物所吸收。胞外酶是指那些在细胞内合成后穿过细胞质膜的酶。它们有些镶嵌在质膜上, 有些存在于周质空间, 有些则完全脱离其生产者, 扩散到环境中。异养微生物, 特别是异养细菌是水环境中胞外酶的主要生产者, 胞外酶主要通过水解作用分解天然高聚物, 如多糖、蛋白质及核酸等, 使之变为可穿过细胞质膜的小分子物质而被吸收利用。这一关键的生化过程, 有效地控制着有机物的行为, 既是各类溶解有机物储库动态平衡的重要调控因子; 又对水环境中的微生物具有十分重要的益处^[2]。因此胞外酶活性 (EEA) 研究已为阐明有机物与异养微生物类群的相互作用关系问题的一个极为重要而有力的工具。

1 荧光标记技术测定胞外酶活性

近 10 年来, 随着放射性标记技术的应用, 微生物异养活性研究十分活跃, 如 Overbeck, J. 等 1975 年, 1979 年对葡萄糖吸收; Fuhrman, J. 等 1980 年对乙酸盐的利用的研究, Riemann, B. 等 1986 年和 Cho, B. C. 等 1988 年对细菌的二次生产的研究。这些研究突出了微生物在水生食物链中的重要作用。荧光标记技术的应用使得研究者开始关注水体中微生物异养活性与高分子有机物有效利用的相关性和相关胞外酶

的活性及合成的调控作用研究。Hoppe 1991 年的研究表明, 该技术利用荧光模拟底物 (FMS) 检测胞外酶活性, 具有如下特征: (1) 荧光模拟底物包含一个人工荧光生色团 (目前多采用 4-methylumbelliferone, MUF 或 4-methylcoumarinyl-7-amide), 一个或多个天然小分子 (如葡萄糖, 氨基酸等), 两者间通过肽键、酯键等相连, 在胞外酶的作用下复合分子断键, 荧光显色 (图 1)。(2) 水体中存在结构特征相同的天然物质对模拟底物具有竞争性抑制作用。(3) 该模拟底物的胞外酶水解作用符合米氏动力学反应方程。(4) 检测限低, 适于现场条件短时间培养下的胞外酶活性测定。目前 FMS 方法不仅用来定量测定胞外酶的活性, 而且被 Kim, S. T. 等 1984 年用来定性分析菌群的生化特性, Little, K. J. 等 1983 年用该方法分离特定的菌株, 甚至还被 Berg, J. D. 等 1988 年, Hormann, G. 等 1988 年用来取代总大肠菌群和粪大肠菌群的传统分析方法, 具有广泛的应用前景。

2 胞外酶的种类、分布

目前在各种类型的水环境中研究所涉及的胞外酶种类很多, 如海水、半碱水、海洋沉积物中的葡萄糖苷酶、乳糖苷酶、氨基酸蛋白水解酶、磷酸酶、硫酸酯酶、几丁质酶、脂肪酶等, 通过水解作用使天然高聚物, 如多糖、蛋白质及核酸等解聚成为小分子物质。其分布往往反映了有机物行为的时空特征及微生物的营养状况。Martinez^[2]发现胞外酶活性在不同站位, 不同时间段中变化显著, 而且各种酶活性之间的相对关系也有很大的时空变化; 研究者认为其内在原因可

* 国家自然科学基金资助项目 49676302, 39690011, 49636220 号; 大亚湾开放实验站基金资助项目 S9509 号。

收稿日期: 1998-04-17; 修回日期: 1999-01-13

能是优势种群的变化和酶表达水平的变化所致。在 Chróst1989 年对 Plußsee 湖和 Hoppe1991 年对北大西洋水域的研究中,葡萄糖苷酶和蛋白酶活性在水体中的竖直剖面分布,与其他相关参数有较好的可比性。Karner^[1]研究了地中海水域的酶活性的昼夜变化、日

变化及季节变化,认为与长周期变化相比较而言胞外酶的短周期变化,在研究水体胞外酶活性时必须加以重视。此外 Chróst1989 年的研究表明,胞外酶活性在赤潮发生过程的不同阶段有显著变化,在赤潮发生阶段活性低,而在赤潮衰减阶段胞外酶活性显著升高。

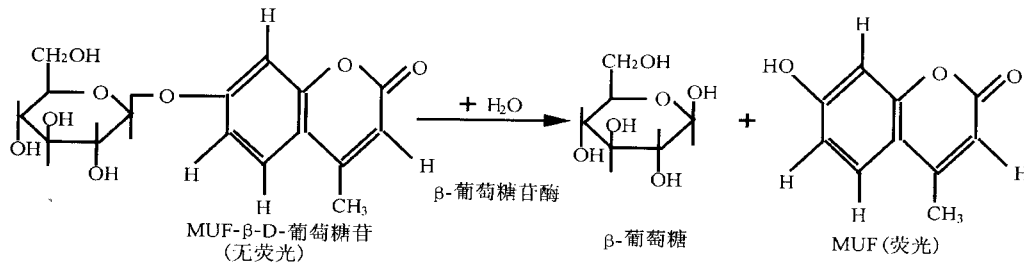


图1 胞外酶水解荧光模拟底物

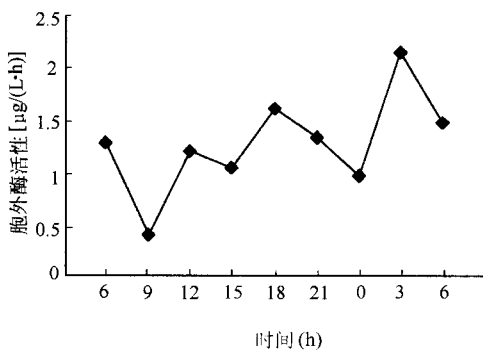


图2 β-葡萄糖苷酶活性的昼夜变化

在台湾海峡对 β-葡萄糖苷酶活性(βGlcA)的初步研究表明,由离岸向近岸活性逐渐增高,其日变化和剖面特征见图2和图3。由于水环境中营养特性随时空变化而变化,因此胞外酶的时空分布特征可以客观反映细菌对营养物的利用状况。

3 胞外酶活性的粒级特征

胞外酶活性的粒级特征可以表明它们在水环境中的不同存在形态:游离态或吸附在菌体或其他颗粒物表面。Hoppe^[2]给出了磷酸酶、葡萄糖糖苷酶及亮氨酸蛋白酶的小于 20 μm 的 6 个级别的酶活性粒级谱,结果显示各种酶的粒径分布特征均不相同,作者认为

该特征可以反映不同来源水样的特异性。在 Chróst1989 年对 Plußsee 湖水的研究中,水体中游离态的胞外酶(可通过 0.2 μm 滤膜)活性较低,而 0.2 ~ 3 μm 的颗粒物是 β-葡萄糖糖苷酶活性的主要分布

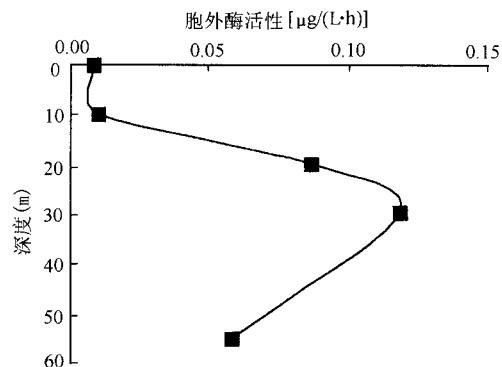


图3 β-葡萄糖苷酶活性的剖面分布

带,表明该酶是依附于菌体的。Hoppe1991 年在北大西洋水域的研究认为吸附于碎屑物的细菌虽只占细菌生物量的一小部分,且异养活性低,但却有较高的胞外酶活性,可以有效分解碎屑物,有利于水体中自由生存的细菌获得充分的营养。而 Karner^[1]的研究表明在较长的时间尺度上,自由态胞外酶活性在总活性中占据相当大的比例,因而它们对水体中有机物的降解作用也不容忽视。他认为自由态胞外酶来源于病毒的裂解作用和原生动物的摄食作用,它们造成菌细

胞破裂,使得尚具有活性的胞外酶释放到水体中。自由态胞外酶的大量存在会降低水解-摄食过程的相关性,也是导致胞外酶活性(EEA)与其他相关参数关系不稳定的原因之一。作者在台湾海峡的研究也证实了这一点,细菌的二次生产力与 β GlcA之间没有明显的相关性(图4)。

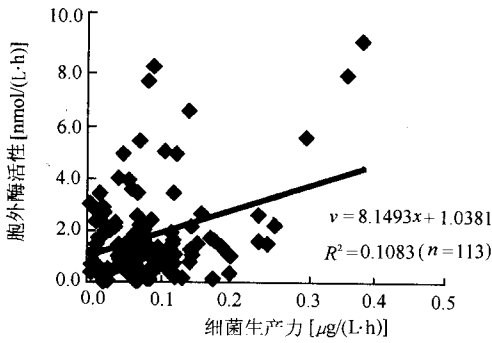


图4 细菌二次生产力与 β -葡萄糖苷酶活性的相关性

4 胞外酶与 DOM 的相关性

碎屑有机物(POM & DOM)在水环境中的生物代谢过程中扮演了重要的角色。其中DOM的组成、吸收释放、转化等动力学过程与微生物群落有十分密切的关系。近岸海域DOM的外源输入主要为地表径流和降水及生产生活污水;而内源性有机物主要来自浮游植物光合作用的释放产物(RDOM),各类微生物作用于POM的溶解产物,以及细胞破裂导致的可溶性内容物的释放。在水体的无光带中,胞外酶对POM的水解作用是DOM的主要来源,用以维持该水层的微生物群落的营养需求,可见细菌在DOM的行为中起着举足轻重的作用,除了对DOM的吸收利用及呼吸消耗外,它们也能够从自身或其他POM中释放DOM,并且改变其存在形态。据Münster1991年报道,水体中的胞外酶主要来源于细菌,它们既是DOM的一个重要来源,同时又在降解DOM和POM中扮演着至关重要的角色。Hoppe1991年认为胞外酶对POM的降解作用速率高于对可溶性高聚有机物的降解速率,从而导致后者在水体中的累积。若假定水体中的各类DOC库处于动态平衡中,则胞外酶的水解作用和细菌的异养吸收是该平衡系统的关键调控因子。

Münster1990年的研究表明,相对于DOC的含量而言,细菌的生长及二次生产力与DOC的组成有更

为密切的相关性。水体中易于被直接利用的溶解有机物(UDOM),包括游离态碳水化合物(DFCHO)和游离态氨基酸(DFAA)含量很少,但与浮游植物的光合作用及异养细菌的吸收过程密切相关。例如,游离态溶解葡萄糖(DF-glucose)的变化趋势与细菌对葡萄糖的吸收和初级生产力的变化相近。与它们相比,结合态可溶性碳水化合物(DCCHO)和氨基酸(DCAA)的含量与组成均有较大的变动性。在细菌对这类物质的有效利用过程中,细菌胞外酶的解聚作用是最为关键的步骤。Chróst1989年的研究表明,结合态溶解葡萄糖(DC-glucose)与 α -和 β -葡萄糖苷酶活性有很好的相关性,并且与细菌对葡萄糖的吸收及细菌的生物量呈正相关。此外, α -和 β -葡萄糖苷酶活性的差异性表明,多数葡萄糖分子以 β 型成键方式形成结合态。以上研究结果显示,胞外酶活性可以反映水体中的营养组成及异养微生物的营养吸收特性。

此外,据Wetzel1991年报道,大量存在的多酚类化合物(可溶性有机酸的主要组分)易与胞外酶结合,导致非竞争性抑制,而使胞外酶失活。

5 胞外酶合成的调控机制

Chróst1989年和Münster1991年对Plußsee湖的研究结果表明,DF-glucose与DC-glucose的变化呈现相反的趋势,而后者与 β GlcA有较好的正相关性。研究者认为,在赤潮发生初期,初级生产力高,水体中存在大量易于被细菌吸收的六元糖(葡萄糖、半乳糖等),抑制了 β -葡萄糖糖苷酶活性及其合成。而当赤潮衰败阶段,藻类大量死亡,释放可溶性高聚有机物,诱导胞外酶的合成,活性增高。针对这一“关闭-触发”效应,研究者认为胞外酶合成为“抑制-诱导”机制所调控。当水体中的UDOM的含量高,成为细菌的主要营养来源时,胞外酶活性低,只有当UDOM下降到临界水平,相关胞外酶合成的抑制作用解除,菌细胞大量合成胞外酶,有效降解DCCHO和DCAA等高分子物质。胞外酶活性研究涉及到生物化学和分子生物学领域,其基因水平的调控机制有赖于在这两个领域的深入探讨。

以上资料表明,在水体中酶的催化作用对物质转化起着重要作用。这一关键的生化过程,改变了有机物的组成和可利用性,对生活于温度、含氧量、营养盐和DOM等因子波动性很大的水环境中的微生物具有十分重要的益处。胞外酶活性研究将有助于更加深入地探讨水体中有机物与异养微生物类群的相互作用关系,加深对微生物新陈代谢过程在海洋初级生

产和生源要素生物地球化学过程中重要作用的理解。

主要参考文献

- 1 Karner, M. , F. Rassoulzadegan. *Microb. Ecol.* ,1995,30: 143~156
- 2 Martinez, J. , *et al.* . *Aquat. Microb. Ecol.* ,1996, 10: 223~230