

南极乔治王岛土壤微生物的生物学特征及生物活性

胡继兰 李月英 王丽萍 薛玉钊

(中国医学科学院医药生物技术研究所, 北京 100050)

从南极乔治王岛土壤分离出 77 株放线菌和丝状真菌, 它们大多数是嗜冷菌或兼性嗜冷菌。它们能在 0℃ 生长, 适宜温度为 5—15℃、15—20℃ 或 15—28℃。用多种条件研究了 77 株菌的生物活性, 发现 32% 的菌株有抗微生物活性(包括革兰氏阳性和阴性细菌、酵母、青霉等)。其中 5 株菌对精原细胞、10 株对 KB 细胞有抗肿瘤活性。根据形态培养特征、细胞壁化学组分、放线菌大多数属链霉菌 (*Streptomyces*), 其次是诺卡氏菌 (*Nocardia*) 和类诺卡氏菌 (*Nocardioideis*)。丝状真菌有 5 种不同的类型, 它们都属金孢霉属 (*Chrysosporium*)。

关键词 南极乔治王岛; 微生物; 生物学特征; 生物活性

本世纪初, 瑞典的 Ekelöf^[1] 第一个报告在南极发现了微生物。此后各国学者相继对南极的土壤、冰雪、动植物残渣中的微生物作了大量调查, 证明在南极广泛存在各种微生物: 各种细菌、放线菌、酵母、霉菌以及原虫等^[2-10], 不仅存在大量的低温微生物, 也有不少中温微生物^[9]。我国对南极的研究起步较晚, 1990 年肖昌松等^[17]报告了南极海底沉积物中的细菌。接着孔华忠与齐祖同又报告了南极乔治王岛的丝状真菌^[18]。

以上报道一般着重于南极微生物的生态学和分类学研究, 南极微生物作为一种极端环境下的微生物资源, 对它们的代谢产物的开发利用尚很少报道。

在筛选抗肿瘤抗生素的过程中, 我们从南极乔治王岛土壤中分离到 77 株放线菌和真菌。对它们的生物学特征及生物活性作了初步研究。对它们作为一种药用资源的可能性进行了初步探讨。现将结果报告如下。

材 料 和 方 法

(一) 菌株分离

南极乔治王岛土样 15 份, 系 1988 年 2 月 21—26 日采集。将土样制悬液, 涂在甘油甘氨酸琼脂、淀粉无机盐琼脂、查氏琼脂三种平板上, 于 5、15、28℃ 培养, 不同时间观察挑取菌落, 放线菌全部挑取, 丝状真菌择中国土壤中不常见的菌落挑出。不要细菌。

(二) 生长温度观察

将菌株分别接种在最适宜生长的培养基上, 于 0、5、15、20、28、37℃ 培养, 观察生长量和生长速度。

(三) 生物活性测定

77 株菌先后用多种液体培养基在 13—15、20、28℃ 进行振荡培养发酵, 不同时间取样

本文于 1992 年 3 月 27 日收到。

本工作承蒙我所甄永苏教授倡导; 我国南极研究办公室大力协助; 中国医学科学院基础医学研究所谢剑鸣同志赴南极代为采集土样, 特此一并致谢。

检测抗微生物活性及抗肿瘤活性(精原细胞法^[21]和 KB 细胞法)。

(四) 生物学特征鉴定

1. 放线菌: 选择有代表性的 21 株菌, 按常规分类方法进行形态培养特征的观察和细胞壁组分分析。培养温度 18—20℃。

2. 丝状真菌: 选择有代表性的 7 株菌, 接种蔗糖查氏琼脂、麦芽糖酵母膏琼脂和葡萄糖马铃薯琼脂, 于 15℃ 培养, 观察形态特征。

结果和讨论

(一) 菌株分离

从 15 份土样中的 5 份分离到放线菌和丝状真菌。共选出放线菌 43 株, 丝状真菌 34 株。5℃ 分离的放线菌不如 15℃ 和 28℃ 分离的多。这可能由于放线菌生长的适温较高, 在 5℃ 时真菌相对生长较快, 影响了放线菌的分离。从 15℃、28℃ 分离出的放线菌纯培养在 0—5℃ 可以生长这一事实, 可以证明这一点。

(二) 生长温度

观察发现, 分离菌株与温度的关系可分四种类型:

1. 0℃ 能生长, 最适生长温度 5—15℃, 15—20℃, 28℃ 不生长或生长少而慢, 约占 50%。
2. 0—5℃ 能生长, 适宜生长温度 15—28℃, 37℃ 不生长, 约占 30%。
3. 最低生长温度为 5℃, 15—28℃ 生长很好, 37℃ 生长少, 约占 14%。
4. 0—5℃ 不生长, 15—37℃ 生长同样好, 仅 1 株。

关于嗜冷菌的定义, 各家说法不一。比较趋于一致的观点是 0℃ 能生长, 适温为 15℃ 或 15—20℃ 为嗜冷菌或叫真正的嗜冷菌 *True psychrophiles*。20℃ 以上生长快的微生物叫兼性嗜冷菌 *Facultative psychrophiles*^[19-21]。按照这一观点, 只有第一种可以称为嗜冷菌; 第二种为兼性嗜冷菌; 第三种为边缘菌; 第四种则为中温菌。

Straka 和 Stokes^[2]、Абызов^[16] 都曾经从南极分离出适温在 28℃ 以上的细菌和放线菌。南极是世界上最寒冷的一块大陆, 年平均温度为 -56℃, 在这样寒冷的条件下, 即使适温在 20℃ 以下的嗜冷菌, 也难以想像它们是如何繁衍的, 何况那些适温在 28℃ 以上的微生物? 如果说地表微生物有可能由于温度的变化而获得较广的温度适应性, 那么从很深的冰层中分离出的放线菌居然能在 37℃ 甚至 42℃ 生长^[16], 这些微生物或者真如 Mclean^[2] 和 Darling^[3] 所说是大气流动带到南极上空沉积于冰雪中成休眠或假死状态而存在的?

(三) 生物活性

77 株菌中, 发现 25 株有抗微生物活性, 占 32%; 其中 22 株抗细菌, 3 株抗真菌。25 株有抗菌活性的菌株中, 5 株同时有抗精原细胞作用; 10 株同时有抗 KB 细胞作用。生物活性见表 1。

微生物显迹的纸层析性质表明, 活性物质有酯溶性的、水溶性的和半酯溶性的; 而且都是多成分。

发酵的适宜温度一般在 15—20℃, 个别菌株在 15℃ 以下或 20℃ 以上。与我国土

壤微生物比较, 南极土壤微生物的总量少, 但拮抗性微生物的比例并不少。以精原细胞法筛选抗肿瘤抗生素的结果为例(见表 2) 可以看出, 南极土壤微生物很有可能成为抗生素的新来源。

表 1 南极土壤微生物的生物活性

Table 1 Biological activity of the microorganisms from Antarctic soil

微生物类群	菌株数	抗 微 生 物				抗 肿 瘤		
		G ⁺ 细菌	G ⁻ 细菌	真菌	总计	精原细胞	KB 细胞	总计
放线菌	43	10	6	2	18	3	6	9
真 菌	34	4	2	1	7	2	4	6
总 计	77	14	8	3	25	5	10	15

表 2 南极土壤微生物与中国土壤微生物抗癌活性的比较

Table 2 Comparison of antitumor activity of the microorganisms from Antarctic soil with Chinese soil

土壤来源	土 样 数	菌 株 数	精原细胞检测阳性	
			总 数	%
云南	10	517	6	1.2
湖北	5	523	34	6.5
泰山	1	73	1	1.4
北京	17	1088	22	2.0
南极	5	77	5	6.5

(四) 放线菌的生物学特征

根据形态培养特征、细胞壁组分的性质, 放线菌可以分为 8 个不同的类型。如表 3 所示, 绝大多数是链霉菌 (*Streptomyces*), 其次是诺卡氏菌 (*Nocardia*) 和类诺卡氏菌 (*Nocardoides*)。占优势的是第 3 型: 灰链霉菌 (*Cinereus*) 和第 8 型: 类诺卡氏菌 (*Nocardoides*)。Johnson^[13] 和 Cameron^[11] 指出, 从南极土壤中分离的放线菌只有两个属: 即链霉菌属和诺卡氏菌属。并且链霉菌呈现一系列的诺卡氏菌的特征。我们观察乔治王岛土壤的放线菌也有类似的趋向: 未发现小单孢菌、游动放线菌等链霉菌和诺卡氏菌以外的其他属放线菌。链霉菌在外观上和孢子形态上也像诺卡氏菌, 在进行微观分析前以为都是诺卡氏菌。在这里也未发现中国土壤中广泛分布的金色、褐色、绿色、蓝色、吸水以及轮生等类群的链霉菌。可见在南极这种极端环境下, 放线菌的种群结构是有其特点的。

(五) 丝状真菌的生物学特征

发现所研究的丝状真菌在形态上都具有金孢霉属 (*Chrysosporium*) 的特征^[4]: 分生孢子丝从气生菌丝分枝而成, 分枝不规则, 侧生或往往轮生, 以切割分生孢子丝末端的方式形成单个孢子, 孢子卵圆形、梨形, 基部往往平截。孢子表面光滑或有疣。按培养特征

表 3 南极土壤放线菌的生物学特征
Table 3 Biological characteristics of actinomycetes from Antarctic soil

型 号	类 群	形 态		气生菌丝	基内菌丝	可溶性色素	胞壁组份	生长温度
		孢子丝	孢 子					
1	链霉菌属 <i>Streptomyces</i>	直、波曲	杆状、柱形、光滑	白	橙红	无	L-DAP	15—20℃
2		直、波曲	柱形，光滑	淡黄	无色，乳脂	无	L-DAP	15—28℃
3		直、螺旋	柱形，光滑	浅灰白	无色，淀粉	无	L-DAP	15—20℃
4		直、螺旋	柱形，光滑	肉色，粉红	无色，黄	无	L-DAP	15—20℃
5		螺旋	长圆，光滑	粉灰	黄、紫红	黄	L-DAP	15—20℃
6		直、波曲	柱形，光滑	黄灰	绿黄	黄	D-DAP	15—37℃
7	诺卡氏菌属 <i>Nocardia</i>	直，菌丝断裂	杆状，光滑	白	赭色，黄褐	污黄	meso-DAP	15—20℃
8	类诺卡氏菌属 <i>Nocardioidea</i>	直，菌丝断裂	杆状，光滑	白	无色	无	L-DAP	15—28℃

表 4 南极土壤中金孢霉属真菌的培养特征

Table 4 Cultural characteristics of the *Chrysosporium* fungi from Antarctic soil

类 型	气生菌丝	基内菌丝	可溶性色素	生长适温(℃)
1	灰色	无色或乳脂	无	5—15
2	灰褐色, 有菌丝束	肉桂褐或褐色	同基丝色	12—20
3	白至黄至灰	绿黄至黄褐色	同基丝色	5—15
4	榛子褐色	橄榄褐	黄 褐	15—20
5	黄灰	黄色	黄 色	5—28

可以分为 5 种不同的类型(表 4)。表中第 3 型已鉴别为疣状金孢霉 (*Chrysosporium verrucosum*)^[6], 其产生的抗生素已经提纯并发现有抑制肿瘤细胞核苷转运的作用(另文发表)。Tubaki^[6]、Sun^[8]、孔华忠^[11]等的报道, 金孢霉属真菌在南极分布很广, 是典型的嗜冷真菌。

综上所述, 南极乔治王岛土壤中的放线菌和真菌在生长温度、种群结构方面具有南极嗜冷微生物的特征。在适宜的条件下, 其产生的活性物质也很多样化。有可能成为微生物药用资源的新领域。

参 考 文 献

- [1] Ekelöf, E.: Wiss. Ergeb. D. Schwed. Südpolar-Exped. 1901—1903, B, Lief. 7, p. 120, Stockholm, 1908.
- [2] Mclean, A. L.: *Nature*, 102: 35—39, 1918.
- [3] Darling, C. A. and P. A. Siple: *J. Bacteriol.*, 42: 83—98, 1941.
- [4] Flint, E. A. and J. D. Stout: *Nature*, 188: 767, 1960.
- [5] Straka, R. P. and J. L. Stokes: *J. Bacteriol.*, 80: 622—625, 1960.
- [6] Tubaki, K.: Biological Results of the Japanese Antarctic Research Expedition, 14, pp. 3—9, Nippon Printing and Publishing Co., Ltd. Hikusina, Osaka, 1961.
- [7] Sugiyama, J. et al.: *Antarctica Record.*, 28: 2239—2256, 1967.
- [8] Sun, S. H. et al.: *Terrestrial Antarctic Biol. Res. Series*, 30: 1—76, 1976.
- [9] Абызов, С. С. и Л. А. Белакова: *Изв. АН СССР. Сер. Биол.*, (3): 432—435, 1982.
- [10] Benoit, R. E. and C. L. Hall: *Antarctic Ecology*, 2, p. 697, (Ed. Holdgate M. W. L.), N Y. Acad. Press, 1970.
- [11] Cameron, R. E. and R. E. Benoit: *Ecology*, 51: 802, 1970.
- [12] Cameron, R. E. et al.: *Soil Sci.*, 109(2): 110—128, 1969.
- [13] Johnson, R. M. et al.: *Terrestrial Biol. Ant. Res. Series*, 30: 35, 1978.
- [14] Цыганов, В. А. и др.: *Микробиология*, 39(5): 821—826, 1970.
- [15] Абызов, С. С. и др.: *Изв. АН СССР. Сер. Биол.*, (4): 559—568, 1983.
- [16] Абызов, С. С. и др.: *Изв. АН СССР. Сер. Биол.*, (1): 35—41, 1987.
- [17] 肖昌松等: *微生物学报*, 30(4): 233—242, 1990.
- [18] 孔华忠, 齐祖同: *真菌学报*, 10(1): 57—60, 1991.
- [19] Ingraham, J. L.: *J. Bacteriol.*, 76: 75—80, 1958.
- [20] Stokes, J. L.: *Recent Progress in Microbiology*, pp. 187—192, (Ed. by Gibbons, N. E.), Univ. Toronto Press Toronto, 1962.
- [21] Morita, R. Y.: *Bacteriol. Reviews*, 39: 144—167, 1975.
- [22] Zhen, Y. S. and Y. C. Xue: *Proc. 13th Int. Congr. Chemother.*, Part 223, No. 7, pp. 38—44, Ed. Spitzzy, K. H. & K. Karrer, Vienna, 1983.

BIOLOGICAL CHARACTERISTICS AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF SOIL MICROORGANISMS FROM ANTARTIC KING GEORGE ISLAND

Hu Jilan Li Yueying Wang Liping Xue Yuchuan

(Institute of Medicinal Biotechnology, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100050)

77 cultures of actinomycetes and fungi have been isolated from 5 soil samples collected in King George Island, Antarctica. Most of these microorganisms are "Psychrophiles" or "Facultative psychrophiles": They can grow at 0°C, optimum temperature are at 5—15°C, 15—20°C or 15—28°C.

The biological activity of the 77 strains were studied in many ways and found 32% of strains have antimicrobial activity (Include Gram-positive and negative bacteria, yeast, penicillium). Among them 5 strains in Spermatogonial assay and 10 strains in KB cell showed anti-tumor activity.

According to the morphological, cultural characteristics and chemical composition of cell wall, most of the actinomycetes belong to *Streptomyces*, the next is *Nocardia* and *Nocardioidea*. The fungi have 5 types, all of them belong to *Chrysosporium*.

Key words Antartic King George Island; Microorganisms; Biological characteristics; Biological activity