

# 一种从土壤样品中选择性分离假诺卡氏菌的方法\*

吕志堂 齐伟红 刘志恒

(中国科学院微生物研究所 北京 100080)

**摘 要:** 为提高假诺卡氏放线菌的分离效率, 根据其营养特性和对抗生素的敏感性, 设计、检验了 5 种选择性分离培养基, 实验检测了模式菌株在不同培养基上的生长情况, 结果表明培养基 S1 和 S2 对假诺卡氏菌的生长有显著的选择性。经该方法从韩国、印度尼西亚和中国广西地区不同土样中分离到一些假诺卡氏放线菌。

**关键词:** 选择性分离培养基, 假诺卡氏菌, 分离效率

中图分类号: Q93.31 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209(2000)04-0406-14

假诺卡氏菌科(*Pseudonocardiaiceae*)的许多成员均能产生重要的生物活性物质, 包括抗生素、酶类、维生素、藻类促生长因子、纤维素降解促进因子等<sup>[1]</sup>。这类放线菌被看作“稀有放线菌”(rare-actinomycetes), 认为是最有希望获得新的抗生素、酶制剂等生物活性物质的资源菌。但是, 人们对从不同土壤样品中分离到的假诺卡氏菌科放线菌的生态分布与生物学特性了解的还很少<sup>[2]</sup>, 因此, 研究设计新的选择性分离方法就显得十分必要。

分离培养基的选择性受其营养组成、pH 值、添加的选择性抑制因子及培养条件的影响<sup>[3]</sup>。已经有无数种培养基被推荐用于放线菌分离, 但是几乎没有人估算过它们分离效率<sup>[4]</sup>。这一点被 Whitehead<sup>[3]</sup>再次证实, 他的实验表明用不同已知成分的选择性分离培养基从同一沙丘沙样品中分离出的链霉菌的种类和数量不同。

可以向培养基中添加抗生素以提高选择性。抗真菌抗生素如多粘菌素(Polymyxin) B、放线菌酮(Cycloheximide)在广泛应用, 但是抗细菌抗生素的应用却受到很大限制, 因为放线菌很易受这些成分的影响。然而, 一旦放线菌各属成员对抗生素敏感的组分确定, 潜在的选择性试剂将有很好的应用前景<sup>[5-7]</sup>。Bower(1993)用添加多粘菌素 B 及萘啶酮酸(Nalidixic acid)的选择培养基 M78 从天然基质中分离到一些类似于自养无枝菌酸菌(*Amycolata autotrophica*)和嗜热假诺卡氏菌(*Pseudonocardia thermophiila*)的菌株, 但该选择性培养基也不仅仅选择无枝菌酸属<sup>[8]</sup>。

因此, 我们试图根据分离目标的营养特性和对抗生素的敏感性设计、检验一种新方法, 以提高选择性分离胞壁 IV 型、不含枝菌酸的假诺卡氏菌科放线菌的效率。

## 1 材料和方法

### 1.1 菌株

实验用模式菌株列于表 1。所有无枝菌酸属(*Amycolata*)和假诺卡氏菌属

\* 国家自然科学基金资助项目(3957002)

作者简介: 吕志堂(1973-)男, 河北邯郸人, 河北大学生物系助教, 硕士, 主要从事微生物资源及系统发育研究

收稿日期: 1998-11-17, 修回日期: 1999-03-31

(*Pseudonocardia*) 菌株均用 CYC 培养基保存<sup>[9]</sup>, 糖多孢菌属(*Saccharopolyspora*) 菌株用 GYE 培养基保存<sup>[6]</sup>, 链霉菌属(*Streptomyces*) 和糖丝菌属(*Saccharothrix*) 菌株用改良 Bennett's 培养基保存<sup>[10]</sup>。

## 1.2 选择性分离培养基的制备

Stevenson's 培养基<sup>[11]</sup>作基本培养基, 分别以山梨醇(Sorbitol)和松三糖(Melezitose)为碳源, 新霉素(Neomycin)为选择性试剂, 配方如下:

表 1 实验用菌株来源

Table 1 Source of bacteria strains investigated in this study

Species name and laboratory No.	Source of strain
<i>Pseudonocardia thermophila</i> G37 <sup>T</sup> K160	ATCC19285 ;KCCA-0095 ;NCIB 10079 DSM43027 ;KCCA-0032 ; mushroom compost
A1937	Boxorth ,Cambridge ,U. K 干紫花苜蓿( Lucerne hay ),
<i>Amycolata autotrophica</i> K402 <sup>T</sup>	DSM43210 ;ISP5011 ;ATCC19727 , Phosphate buffer
N823 , N826	IMRU1320 ;IMRU1124
K146	DSM43083
K147	DSM43085 ;IMRU704
K148	DSM43086 ;IMRU11075 ;Eggplant rind
K149	DSM43088 ;IMRU1299 ;Corneal ulcer
K150	DSM43090 ;IMRU1309 ;Clinical specimen
K151	DSM43091 ;IMRU1320 ;Spinal fluid
K152	DSM43095 ;IMRU1337 ;NCIB8939 ;Soil
K153	DSM43097 ;IMRU1357 ;Bovine mastitis
K154	DSM4100 ;IMRU1523 ;Parotic gland
K155	DSM43102 ;IMRU1576 ;
<i>Amycolata hydrocarbonoxydans</i> K428 <sup>T</sup>	DSM43281 ;ATCC15104 ;Air contaminant
<i>Amycolata saturnea</i> A195 <sup>T</sup>	DSM43195 ;NCIB9437 ;P. Hirsch ,Air
<i>Pseudoamycolata halophobica</i> K141 <sup>T</sup>	DSM43089 ;IMRU1300 ;Soil
<i>Pseudonocardia compacta</i> P435 <sup>T</sup>	DSM43592 ;Garden soil
<i>Saccharopolyspora hordei</i> A54 <sup>T</sup>	J. Lacey ,A735 ;Hay
<i>Saccharopolyspora hirsuta</i> A16 <sup>T</sup>	J. Lacey ,A1143 ;Sugar cane bagasse
<i>Saccharopolyspora hirsuta</i> <i>subsp. kobensis</i> K142 <sup>T</sup>	ATCC20501 ;FERM-P3912 ;KCC6606
<i>Saccharopolyspora erythraea</i> D432 <sup>T</sup>	DSM40517
<i>Saccharopolyspora taberi</i> D203 <sup>T</sup>	NRRL B-16173 ;Soil
<i>Saccharopolyspora gregorii</i> A85	J. Lacey ,A333 ,A1248 ;Hay
<i>Saccharopolyspora</i> sp. F1 ,K73	45°C
<i>Kibdelosporangium ridum</i> K159 <sup>T</sup>	DSM43828
<i>Amycolatopsis rugosa</i> K157 <sup>T</sup>	DSM43194 ;Cattle rumen Lab. of Microbiol. ,Technical University of Delft ,

续表 1

Species name and laboratory No.	Source of strain
<i>Amycolatopsis methanolica</i> 239 <sup>T</sup>	The Netherlands , LMD80.32 Soil
<i>Amycolatopsis sulphurea</i> K158 <sup>T</sup>	DSM43092 Garden soil
<i>Amycolatopsis orientalis</i> K99 <sup>T</sup>	KCC-0235 Soil
<i>Saccharothrix</i> sp. B16077 ,B16159 ,I1239 ,I5764	
<i>Streptomyces albidoflavus</i> ISP5445	KCC S-0446 ;ATCC25422
<i>S. orinatus</i> ISP5307	KCC S-0502 ;ATCC23256
<i>S. naraensi</i> ISP5508	KCC S-0794 ;ATCC13788
<i>S. filamentosus</i> ISP5022	DSM40022 ;ATCC19753
<i>S. roseolus</i> ISP5174	DSM40174 ;ATCC32210
<i>S. vinaceus</i> ISP5515	KCC S-0848 ;ATCC27476
<i>S. fulvissimus</i> ISP5593	KCC S-0754 ;ATCC27431
<i>S. arabicus</i> ISP5252	KCC S-0682 ;ATCC23881
<i>S. fungicidicus</i> ISP5020	KCC S-0755 ;ATCC27432
<i>S. galilaeu</i> ISP5481	KCC S-0757 ;ATCC14969
<i>S. spiralis</i> MO9A	CUB639 ;ATCC25664
<i>S. antitoticus</i> ISP5234	KCC S-062 ;ATCC8663
<i>S. prasinopilosus</i> ISP5098	NCIB9842 ;ATCC19799
<i>S. phaeochromogenes</i> ISP5073	ATCC3338
<i>S. anandii</i> ISP5535	KCC S-0720 ;ATCC19388

注 1 T :Type strain

2 Source :ATCC ,American Type Culture Collection ;DSM ,Deutsche Sammlung von Mikroorganismen ;IM-RU Institute of Microbiology ,Rutgers University ,New Jersey ,U. S. A. ;ISP ,International Streptomyces Project ;KCC ,Culture Collection of Actinomycetes ,Kaken chemical Company ,Tokyo ,Japan ;NCIB ,National Collection of Industrial and Marine Bacteria Ltd. .

**1.2.1 基本培养基** 将 67.0g 酵母氮源培养基( Yeast Nitrogen Base ,Difco )溶于 1L 蒸馏水中制成 AX10 溶液, 补加 100mg 酪蛋白水解物( Casamino acid ,Difco ), 过滤除菌。再向 800mL 该溶液中加入 200mL 无菌的 10% ( w/v )磷酸氢二钾溶液, 充分混匀 ;在无菌条件下每升预先灭菌的 2% 琼脂( Oxoid No. 1 ;121℃ 20min )中加入 100mL 上述溶液即可。

**1.2.2 选择性培养基** S1—基本培养基中加入过滤除菌的新霉素( Sigma N6386 )溶液至终浓度 4 $\mu$ g/mL 及 1% 的山梨醇( 25% 的山梨醇溶液预先用 Tindal 灭菌法灭菌 )。S2—基本培养基中加入过滤除菌的新霉素溶液至 4 $\mu$ g/mL 及 1% 的松三糖( 25% 的松三糖溶液预先用 Tindal 灭菌法灭菌 )。S3—基本培养基中加过滤除菌的梭链孢酸( Fusidic acid ; Sigma F0756 )溶液至 16 $\mu$ g/mL。S4—基本培养基中加 1% 山梨醇和 1% 松三糖。S5—基本培养基中加 1% 山梨醇, 加梭链孢酸至 16 $\mu$ g/mL。

**1.2.3 分离培养基** :向基本培养基中加 5mg/mL 的放线菌酮( Sigma C6255 )溶液至终浓度 50 $\mu$ g/mL ,以抑制真菌生长。

### 1.3 生长检测

19 株无枝菌酸属和拟无枝菌酸属( *Amycolatopsis* )、4 株假诺卡氏菌属、8 株糖多孢菌属( *Saccharopolyspora* )和糖单孢菌属( *Saccharomonospora* )、4 株糖丝菌属菌( *Saccharothrix* )、15 株链霉菌属( *Streptomyces* )的菌及相关菌株分别培养在 5 种选择性培养基

上 30℃/45℃ 培养 14d,观察记录其生长情况。

#### 1.4 土样来源及测定

土样采自印度尼西亚、韩国及我国广西的多种环境(表 2)。称取 1g 风干的混和土样于无菌瓶中,加入 9mL 无菌水,50℃ 预处理 20min。分别用 S1、S2 及葡萄糖天门冬素等培养基用平皿稀释法测定样品(混和样 1、2 为保存 3 年的土样,3、4 和 5 为新鲜土样)。

表 2 土样来源

Table 2 Source of soil samples

Sample No.	Source of soil samples	PH value	Collected date
Mixed sample 1	414 印度尼西亚 草的根际		1991/7/20
	515 印度尼西亚 花园土,育亨宾(Yogyakarta)	7.35	1991/7/20
	516 印度尼西亚 花园土,育亨宾(Yogyakarta)	6.06	1991/7/20
	519 印度尼西亚 橡胶树	6.06	1991/7/20
Mixed sample 2	579 韩国群山市 收获后的 Jiseng 地	5.85	1991/9
	585 韩国群山市 生长早期的 Jiseng 地	5.74	1991/9
	599 韩国群山市 生长早期的 Jiseng 地		1991/9
	600 韩国群山市 生长早期的 Jiseng 地		1991/9
Mixed sample 3	601 韩国群山市 堆肥		1991/9
	106 中国广西 柳州柳候公园,芭蕉		1995/7/25
	107 中国广西 柳州柳候公园,芭蕉		1995/7/25
	124 中国广西 柳州柳候寺,芭蕉		1995/7/25
	126 中国广西 柳州柳候寺,芭蕉		1995/7/25
	192 中国广西 南宁南湖公园,芭蕉		1995/7/27
Mixed sample 4	222 中国广西 南宁南湖公园,芭蕉		1995/7/27
	105 中国广西 柳州柳候公园,乔木		1995/7/25
	109 中国广西 柳州柳候公园,乔木		1995/7/25
	148 中国广西 柳州鹤山公园,乔木		1995/7/25
	136 中国广西 柳州广场,乔木		1995/7/25
Mixed sample 5	152 中国广西 柳州龙潭公园,乔木		1995/7/25
	173 中国广西 南宁人民公园,草地		1995/7/25
	174 中国广西 南宁人民公园,草地		1995/7/26
	200 中国广西 南宁南湖公园,草地		1995/7/27
224 中国广西 南宁民族公园,草地		1995/7/27	

#### 1.5 分离菌株的形态与培养特征

用燕麦粉琼脂埋片法<sup>[12]</sup>观察菌丝的结构特征<sup>[13]</sup>。根据文献<sup>[14]</sup>记录菌丝及色素颜色。

#### 1.6 化学鉴定

用薄层层析法(TLC)分析细胞壁的二氨基庚二酸(DAP)组分<sup>[15]</sup>。枝菌酸分析根据已描述的方法进行<sup>[16]</sup>。

## 2 结果

2.1 20 株无枝菌酸属和假诺卡氏菌属在 5 种不同选择性培养基上的生长情况总结于表 3。

2.2 无枝菌酸属、假诺卡氏菌属及其它菌株在选择性培养基上的生长情况比较见表 4 与图 1。

表 3 20 株无枝菌酸属和假诺卡氏菌属模式菌株在 5 种选择培养基上的生长情况

Table 3 Growth of 20 type strains of *Amycolata* and *Pseudonocardia* on 5 different selective media

Test Strains	Media					Test Strains	Media				
	S1	S2	S3	S4	S5		S1	S2	S3	S4	S5
G37		+++	--	++	--	K150	+++	++	--	+++	--
K160	--	--	--	--	--	K151	+++	+++	+	+++	+
A1937	+++	+++	--	+++	--	K152	+++	+++	++	+++	+
K402	+++	+++	--	+++	--	K153	+++	++	++	+++	+
N823	+++	+++	+	+++	++	K154	+++	+++	++	+++	+++
N826	+++	+++	++	+++	++	K155	+++	+++	+	+++	+
K146	+++	+++	++	+++	++	K428	+++	+++	--	+++	--
K147	+++	+++	+	+++	++	K195	++	+++	--	+++	--
K148	+++	+++	--	+++	++	P435	+++	+++	--	--	--
K149	+++	+++	+	+++	++	K141	+++	+++	--	+++	--

+++ good ; ++ middle ; + poor ; -- very poor or didn't grow.

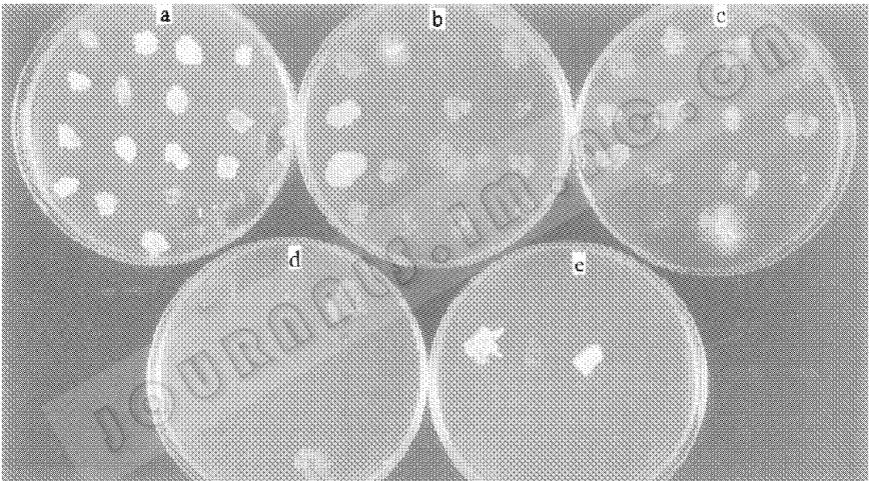


图 1 实验菌株在选择培养基 S1 上的生长情况

Fig. 1 Growth of tested strains on the selective medium S1

Plate a :from top to bottom ,the first line( from left )are K402 ,N823 ,N826 ,K146 ;the second line are K147 ,K148 ,K149 ,K150 ;the third line are K151 ,K152 ,K153 ,K154 ;the fourth line are K155 ,K428 ,K195 ,P435 and the last is K141. Plate b :A54 ,K16 ,K142 ,D432 ;K203 ,A85 ,K159 ,K157 ;239 ,K158 ,K99 ,B16077 ;B16159 ,11239 ,15764 ,ISP5445. Plate c ISP5307 ,ISP5508 ,ISP5022 ,ISP5174 ;ISP5515 ,ISP5593 ,ISP5252 ,ISP5020 ;ISP5481 ,MO9A ,ISP5234 ,ISP5098 ;ISP5073 ,ISP5535. Plate d ( 45°C ) K73 ,F1. Plate e ( 45°C ) G37 ,K160 ,A1937.

表 4 实验菌株在选择培养基 S1、S2 上的生长情况比较

Table 4 Comparison of growth of tested strains on selective media S1 and S2

Strain No.	Medium S1	Medium S2	Strain No.	Medium S1	Medium S2
G37	+++	+++	K157	--	--
K160	--	--	239	+++	++
A1937	+++	+++	K158	--	--
K402	+++	+++	K99	+	+
N823	+++	+	B16077	+	+

续表 4

N826	+++	+++	B16159	--	--
K146	+++	+++	11239	--	--
K147	+++	+++	15764	--	--
K148	+++	+++	ISP5445	--	--
K149	+++	+++	ISP5307	--	+
K150	+++	+++	ISP5508	+	+
K151	+++	+++	ISP5022	+	+
K152	+++	+++	ISP5174	--	--
K153	+++	+++	ISP5515	+	+
P435	+++	+++	ISP5593	+	+
A16	++	+	ISP5252	+	--
K142	--	--	ISP5020	+	+
D432	+	+	ISP5481	+	+
D203	+++	+++	MO9A	--	--
A85	--	--	ISP5234	+	+
F1	+	+	ISP5098	--	--
K73	--	--	ISP5073	--	--
K159	+	+++	ISP5535	++	++

+++ 'good ; ++ 'middle ; + 'poor ; -- 'very poor or didn't grow.

## 2.2 检测结果

S1、S2 培养基上生长的菌落基本上是典型的放线菌,且有较多的假诺卡氏菌落(图 2),葡萄糖天门冬素培养基上有大量细菌生长,只有少量假诺卡氏菌落,各样品的阳性分离率在 5% 以下。使用选择培养基 S1、S2 对 5 份混和土样的检测结果见表 5。

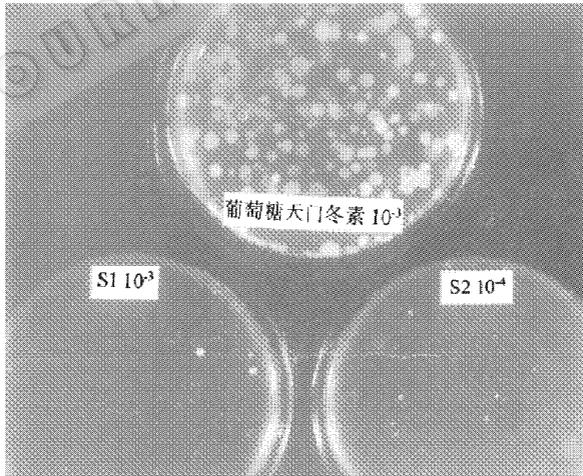


图 2 不同培养基上菌落生长情况

Fig.2 The isolation results on different media

The isolation results of the same soil sample on different media : the upper is  $10^{-3}$  dilution on glucose-asparagine agar , the low-left is  $10^{-3}$  dilution on medium S1 and the low-right is  $10^{-4}$  dilution on medium S2.

## 2.3 部分分离株的鉴定特征

见表 6。

表 5 土壤样品的分离结果

Table 5 Results of paractical examination of soil samples

Mixed sample	Culture temperature	Medium S1 cfu*	Medium S2 cfu	Total isolates	Putative isolates	Positive percent/%
1	30°C	$2.3 \times 10^3$	$9 \times 10^3$	18	4	22
1	45°C	$1 \times 10^2$	$4 \times 10^2$	5	2	40
2	30°C	$2 \times 10^3$	$7.1 \times 10^3$	6	2	33.3
2	45°C	$1 \times 10^2$	$2 \times 10^2$	1	1	100
3	30°C	$1.7 \times 10^5$	$3.7 \times 10^5$	16	7	43.8
3	45°C	$8 \times 10^4$	$2.1 \times 10^5$	8	2	25
4	30°C	$2.3 \times 10^5$	$5 \times 10^5$	21	8	38.1
4	45°C	$1 \times 10^5$	$1.3 \times 10^5$	3	2	60
5	30°C	$4.5 \times 10^5$	$1.1 \times 10^6$	21	5	23.8
5	45°C	$3.2 \times 10^5$	$5.5 \times 10^5$	6	2	33

\* cfu colony forming unit.

表 6 一些分离菌株的特征

Table 6 Characters of some isolated strains

Strain No.	Morphology characters	Cultural characters	DAP type	Sugar type	Mycolate
I3 ,I12	气丝丰富,断裂形成孢子链	30°C 生长,631.brGy,无色素	meso-	A	-
I7	气丝丰富,断裂形成长孢子链	30°C 生长,311.p.Y 粉红,无色素	LL-/meso-	?	-
I2 ,I72	气丝生有螺旋形孢子链,菌丝分隔断裂	30°C 生长,90.gy.Y,色素 83.brill.Y	meso-	A	-
K82	气丝稀薄,基丝断裂	30°C 生长,9.pk 白色,色素 9.pk 白色	meso-	A	-
K89	无气丝,诺卡氏菌形断裂	30°C 生长,92.y 白色,无色素	meso-	A	-
I24 ,K91	无气丝,诺卡氏菌形断裂	30°C 生长,87.m.Y,无色素	meso-	A	-
I20	气丝稀薄,菌丝断裂形成断裂小体	45°C 生长,93.y.灰色,无色素	meso-	A	-
I22	无气丝,诺卡氏菌形断裂	45°C 生长,92.y.白色,无色素	meso-	A	-
IT25	无气丝,诺卡氏菌形断裂	45°C 生长,92.y.白色,无色素	meso-	A	-
19.1	单个孢子密集于不分枝的气丝周围,基丝分枝不断裂,	28°C - 37°C 生长,气丝白色至橄榄灰色,基丝淡黄色,无色素	meso-	A	-
202 ,22.1	单个孢子密集于不分枝的气丝周围,基丝分枝不断裂,	45°C - 50°C 生长,气丝白色至纯绿色,基丝脂黄色,产生绿色色素	meso-	A	-
201 ,212	单个孢子密集于不分枝的气丝周围,基丝分枝不断裂	45°C - 50 生长,气丝白色至纯绿色,基丝脂黄色,产生绿色色素	meso-	A	-
13.4	基丝断裂为微长方体,气丝断裂为微长方形孢子结构的链	30°C 生长,气丝白色,基丝奶油黄色,在葡萄糖天门冬素上产生淡紫色色素	meso-	A	-
216	气丝贫瘠,基丝不分枝不断裂,气丝与基丝上形成孢子链	45°C - 50°C 生长,气丝白色,无色素	meso-	A	-

### 3 讨论

从 20 株无枝菌酸属和假诺卡氏菌属模式菌株在 5 种选择性培养基上的生长情况看,只有嗜热假诺卡氏菌属 K160 在任何一种培养基上均不生长,P435 在 S3、S4 及 S5 上不生长,除 K160 外,在 S1、S2 上均生长良好,除 K160、P435 外在 S4 上菌生长良好,而 S3 和 S5 上均有 9 株菌不生长,这说明 S1、S2 与 S4 均适用于分离无枝菌酸属和假诺卡氏菌属,尤以 S1、S2 为佳。从其它相关菌株在 S1、S2 上的生长情况看,只有塔氏糖多孢菌 D203、荒漠拟孢囊菌 K159 及嗜甲基拟无枝菌酸菌 239 生长良好,而这些属其它菌株则生长较差或不长,由此可见培养基 S1、S2 不太适于糖多孢菌属、拟孢囊菌属及拟无枝菌酸属的分离。

从占放线菌绝大多数的链霉菌在 S1、S2 上的生长情况看,只有阿南德氏链霉菌 ISP5535 生长中度,其它种均生长很差或不生长,从而可在很大程度上避免分离中链霉菌的干扰。另外,糖丝菌在两种培养基上均不生长。通常土壤微生物中假诺卡氏菌科放线菌所占的比例极小,我们采用葡萄糖天门冬素培养基分离的阳性率小于 5%,且杂菌很多,而采用培养基 S1、S2 对不同国家和地区土样中这类菌的分离效率达 22%~100%。从而证明我们设计的培养基 S1、S2 能有效地提高假诺卡氏菌科放线菌的分离效率。

致谢 该实验部分工作得到了中国科学院和英国皇家学会合作交流项目资助;实验所用的模式菌株由英国 Newcastle 大学微生物系 M. Goodfellow 教授实验室提供,特此致谢!

### 参 考 文 献

- [ 1 ] Embley T M. The family *Pseudonocardiaceae*. In :Balows A, Trsper H G, Dworkin M, *et al.* The Prokaryotes. Berlin :Speinger-Verlag, 1992.
- [ 2 ] Goodfellow M, Simpson K E. *Frontiers in Applied Microbiology*, 1987 **2** :97~125.
- [ 3 ] Whitehead D. Classification, Selective Isolation and Identification of the Family *Pseudonocardiaceae*. Thesis for the Degree of Ph.D. University of Newcastle, 1989. 54.
- [ 4 ] Williams S T, Goodfellow M, Vickers J C. New Microbes from Old Habitats? In :Kelley D P, Carr N G. The Microbe. 2nd ed. Cambridge :Cambridge University Press, 1984. 219~255.
- [ 5 ] Goodfellow M, Orchard U A. *J Gen Microbiol*, 1974 **3** :375~387.
- [ 6 ] Simpson K E. Selective Isolation and Characterization of Acidophilic Acid and Neutrolerant Actinomycetes. Thesis for the Degree of Ph.D. University of Newcastle, 1987. 121.
- [ 7 ] Rowland D M. Classification and Selective Isolation of *Micromonosporae*. Thesis for the Degree of Ph.D. University of Newcastle, 1993. 81.
- [ 8 ] Bowen T. Taxonomy, Identification and Selective Isolation of Members of the Family *Pseudonocardiaceae*. Thesis for the Degree of Ph.D. Council for National Academic Awards and University of East London, 1993.
- [ 9 ] Cross T, Attwell R W. Recovery of Viable Thermoactinomycetes Spores from Deep Mud Cores. In :Baker A N, Gould G W and Wolf J. Spores Research. London :Academic Press, 1973, 11~20.
- [ 10 ] Jone K L. *Journal of Bacteriology*. 1949 **57** :141~145.
- [ 11 ] Stevenson I L. *Canadian Journal of Microbiology*, 1967 **13** :205~211.
- [ 12 ] Shirling E B, Gottlieb D. *Int J Sys Bacteriol*. 1966 **16** (3) :317.
- [ 13 ] 阮继生. 放线菌分类基础. 北京:科学出版社, 1967.
- [ 14 ] Kenneth, Kelly L. ISCC-NBS Color-Name © 中国科学院微生物研究所编, 中国微生物学杂志编辑部. Supplement to NBS circular

553). J. Research NBS. 1964 61 427.

- [ 15 ] Lechevalier M P , Lechevalier H A . The Chemotaxonomy of Actinomycetes . In Dietz A and Theayer D W . Actinomycetes Taxonomy . Special Publication No. 6 , Society for Industrial Microbiology , 1989 . 227 ~ 291 .
- [ 16 ] Minnikin D E , Minnikin S M , O 'Donnel A G , et al . J Microbiology Methods . 1984 2 243 ~ 249 .

## A PROCEDURE FOR DEVELOPING SELECTIVE ISOLATION OF *PESUDONOCARDIACETES* FROM SOIL SAMPLES \*

Lu Zhitang Qi Weihong Liu Zhiheng

( Institute of Microbiology , Chinese Academy of Sciences , Beijing 100080 )

**Abstract :** *Pseudonocardiacetes* are a group of rare-actinomyces with type IV cell walls and without mycolic acids. Five different selective isolation media S1 S2 S3 S4 and S5 were devised and practiced to improve their selective isolation efficiency. The media were detected by 33 type strains of *Pseudonocardiacetes* , 4 strains of *Saccharothrix* and 15 type strains of *Streptomyces* cultured on them. soil samples were examined on media S1 ad S2 compared with glucose-asparagine agar. It shows that media S1 and S2 are effective for growth and isolation of *Amycolata* , *Pseudonocardia* , *Saccharomonospora* and other genera of *Pseudonocardiacetes* .

**Key words :** *Pseudonocardia* , Selective medium , Percent of isolation

\* Project Granted by Chinese National Natural Science Found( 3957002 )

### 投稿须知

参照《中国科学院自然科学期刊编排格式规范》和国家标准 GB7713 - 87 及《中国学术期刊(光盘版)检索与评价数据规范》的要求,对本刊经常遇到的一些格式暂作如下规定:

#### 正体与斜体

1. 物种的学名 菌株的属、种用拉丁文斜体,属的首字母大写,其余小写;属以上用拉丁文正体。病毒一律拉丁文正体,首字母大写。
2. 限制性内切酶:内切酶前 3 个字母用斜体,后面的字母和编码全部正体平排,如 *Bam*HI , *Hin* dIII , *Pst* I , *Sau*3AI 等。
3. 氨基酶和碱基的缩写:氨基酸缩写用 3 个字母表示时,仅第一个字母大写,其余为小写,全部正体。用单字母表示时为大写正体。碱基缩写均为大写正体。
4. 质粒和载体:质粒(粘粒)一律用正体,首字母 P 为小写,后面字母和数码平排,如 pBR322、pHSG274 等。

未完待续