

对诺卡氏菌 AS4.1186 和 AS4.1187 保藏菌株的 重新分类研究*

张建丽 张亚美 刘志恒

(中国科学院微生物研究所 北京 100080)

摘 要:重新对念球状诺卡氏菌(*Nocardia nostocoides*) AS4.1186 和鲑色诺卡氏菌桔橙变种(*Nocardia salmonicolor* var. *aurantiaca*) AS4.1187 进行的多相分类研究表明,菌株 AS4.1186 与德克萨斯糖丝菌(*Saccharothrix texasensis*) NRRL B-16134^T 关系密切,它们的 16S rDNA 序列相似性为 99.3%,DNA 同源性为 77.6%;菌株 AS4.1187 与赤红球菌(*Rhodococcus ruber*) DSM 43338^T 之间有着密切的关系,其 16S rDNA 序列相似性为 99.5%,DNA 同源性为 82.9%。胞壁组分、枝菌酸、甲基萘醌、磷酸类脂和 DNA G + Cmol%测定等化学分类结果支持了上述结论。在形态和生理生化特性上,菌株 AS4.1186 与 NRRL B-16134^T,菌株 AS4.1187 与 DSM 43338^T 之间也表现出非常相似的性状。根据系统发育分析、DNA 同源性值、化学分类、形态和生理生化特性等研究结果,我们对菌株 AS4.1186 和 AS4.1187 的分类地位做了修正,将其从诺卡氏菌属中排除,认为念球状诺卡氏菌(*Nocardia nostocoides*) AS4.1186 与 *Saccharothrix texasensis* 是同一个种,建议合并为 *Saccharothrix texasensis*;鲑色诺卡氏菌桔橙变种(*Nocardia salmonicolor* var. *aurantiaca*) AS4.1187 与 *Rhodococcus ruber* 是相同种,应合并为 *Rhodococcus ruber*。

关键词:德克萨斯糖丝菌(*Saccharothrix texasensis*),赤红球菌(*Rhodococcus ruber*),多相分类

中图分类号:Q939.13 **文献标识码:**A **文章编号:**0001-6209 (2002) 01-0001-10

诺卡氏菌属是 1889 年由 Trevisan 建立^[1],至今已有 22 个种有效发表。随着分类方法的改进和多元化,尤其是化学分类、16S rDNA 序列分析和 DNA-DNA 杂交技术的应用,才得以更为准确地描述已有种和新种,对过去那些不正确命名的种进行重新分类并加以修正^[2,3]。多相分类已经成为研究诺卡氏菌属分类的最有效手段^[1,4]。

中国微生物菌种保藏委员会收藏的菌号为 AS4.1186 和 AS4.1187 的两株放线菌,原名分别为念球状诺卡氏菌(*Nocardia nostocoides* Ruan et Zhang, 1984)及鲑色诺卡氏菌桔橙变种(*Nocardia salmonicolor* var. *aurantiaca* Ruan et Zhang, 1984)^[5]。通过我们对其进行形态、生理、化学及分子分类等多相分类的研究,表明菌株 AS4.1186 与德克萨斯糖丝菌(*Saccharothrix texasensis*)是同一个种,应作为 *Saccharothrix texasensis* 的一个菌株;菌株 AS4.1187 与赤红球菌(*Rhodococcus ruber*)为相同种,应合并为 *Rhodococcus ruber*。本文报告对这两株诺卡氏菌重新分类的多相依据。

* 中国科学院微生物研究所所长基金和云南大学教育部微生物资源重点实验室资助项目

作者简介:张建丽(1964-),女,山东平度市人,中国科学院微生物研究所博士,主要从事放线菌系统分类研究。

收稿日期:2001-03-28,修回日期:2001-07-16

1 材料和方法

1.1 菌种来源

菌株 *Nocardia nostocoides* AS4.1186 分离自北京香山紫荆花树下的土壤,菌株 *Nocardia salmonicola* var. *aurantiaca* AS4.1187 分离自河北省石家庄市运河污泥,1984 年收集^[5]。

1.2 16S rDNA 序列测定和系统发育分析

参考 Rainey 等^[6]报道的方法进行 DNA 提取,16S rDNA 的 PCR 扩增和 PCR 产物的纯化。纯化后的 PCR 产物直接用 Taq DyeDeoxy Terminator Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems)测序,电泳及数据收集用 Applied Biosystems DNA sequencer(model 373A)自动进行。

将所测的 16S rDNA 序列与 GenBank 数据库中已有序列比较,并从数据库获得相关种和相关属的 16S rDNA 序列,构建系统发育树。序列对排用 CLUSTAL W program^[7],进化树的构建按照 neighbour-joining 方法^[8],用 PHYLIP program 中的 NEIGHBOUR program 进行。进化树分枝模式的稳定性用 PHYLIP 中的 SEQBOOT、DNADIST 和 CONSENSE 分析,重复次数为 1000^[9]。

本研究所用的菌株名称和 16S rDNA/RNA 序列的 GenBank 登录号列于表 1。

表 1 构建进化树所用的菌株名称和 16S rDNA/RNA 序列的 GenBank 登录号

Table 1 The strain designations and GenBank accession numbers for the 16S rDNA/RNA sequences used in phylogenetic tree

Strain	GenBank No.
<i>Actinokineospora diospyrosa</i> IFO 15665 ^T	AF114797
<i>Actinosynnema mirum</i> DSM 43827 ^T	X84447
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> NCTC 11397 ^T	X84248
<i>Dietzia maris</i> DSM 43672 ^T	X79290
<i>Gordonia bronchialis</i> DSM 43247 ^T	X79287
<i>Gordonia polyisoprenivorans</i> DSM 44302 ^T	Y18310
<i>Gordonia rubropertincta</i> DSM 43197 ^T	X80632
<i>Kutzneria kofuensis</i> JCM 3157 ^T	AF114801
<i>Mycobacterium mageritense</i> CIP 104973 ^T	AJ011335
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> ATCC 27294 ^T	X52917
<i>Mycobacterium wolinsky</i> ATCC 700010 ^T	Y12873
<i>Nocardia asteroides</i> DSM 43757 ^T	X80606
<i>Nocardia brasiliensis</i> DSM 43758 ^T	X80608
<i>Nocardia otitidiscaviarum</i> DSM 43242 ^T	X80611
<i>Rhodococcus coprophilus</i> DSM 43347 ^T	X80626
<i>Rhodococcus equi</i> DSM 20307 ^T	X80614
<i>Rhodococcus erythropolis</i> DSM 43066 ^T	X79289
<i>Rhodococcus fascians</i> DSM 20669 ^T	X79186
<i>Rhodococcus globarulus</i> DSM 43954 ^T	X80619

(续表 1)

Strain	GenBank No.
<i>Rhodococcus koreensis</i> JCM 10743 ^T	AF124342
<i>Rhodococcus marinonascens</i> DSM 43752 ^T	X80617
<i>Rhodococcus opacus</i> DSM 43205 ^T	X80630
<i>Rhodococcus percolatus</i> HAMBI 1752 ^T	X92114
<i>Rhodococcus pyridinovorans</i> KCCM 80005 ^T	AF173005
<i>Rhodococcus rhodnii</i> DSM 43336 ^T	X80621
<i>Rhodococcus rhodochrous</i> DSM 43241 ^T	X79288
<i>Rhodococcus ruber</i> DSM 43338 ^T	X80625
<i>Rhodococcus zopfii</i> ATCC 51349 ^T	X81934
<i>Saccharothrix aerocolonigenes</i> subsp. <i>aerocolonigenes</i> ISP 5034 ^T	AF114804
<i>Saccharothrix aerocolonigenes</i> subsp. <i>stauroporea</i> JCM 9734 ^T	AB024287
<i>Saccharothrix albidocapillata</i> DSM 44073 ^T	X84321
<i>Saccharothrix australiensis</i> NRRL 11239 ^T	AF114803
<i>Saccharothrix coeruleofusca</i> DSM 43679 ^T	AF114805
<i>Saccharothrix cryophilis</i> NRRL B-16238 ^T	AF114806
<i>Saccharothrix espanaensis</i> NRRL 15764 ^T	AF114807
<i>Saccharothrix flava</i> DSM 43885 ^T	AF114808
<i>Saccharothrix longispora</i> DSM 43749 ^T	AF114809
<i>Saccharothrix mutabilis</i> subsp. <i>capreolus</i> DSM 40225 ^T	X76965
<i>Saccharothrix mutabilis</i> subsp. <i>mutabilis</i> DSM 43853 ^T	X76966
<i>Saccharothrix syringae</i> DSM 43886 ^T	AF114812
<i>Saccharothrix tangerinus</i> JCM 10302 ^T	AB020031
<i>Saccharothrix texasensis</i> NRRL B-16134 ^T	AF114814
<i>Saccharothrix violacea</i> IMSNU 50388 ^T	AJ242633
<i>Saccharothrix waywayandensis</i> NRRL B-16159 ^T	AF114813
<i>Skermania piniformis</i> IFO 15059 ^T	Z35435
<i>Tsukamurella inchoensis</i> DSM 44067 ^T	X85955
<i>Tsukamurella paurometabola</i> DSM 20162 ^T	X80628

1.3 形态观察和生理生化特性

在合成和有机培养基上^[5] 28℃插片培养,不同时间取片,用光学显微镜和电子显微镜观察形态。培养 4~14d,记录培养特征。

生理生化试验按照 Goodfellow^[10]、Takeuchi^[11] 和 Gordon 等^[12] 报道的方法进行。

1.4 细胞化学

全细胞水解液化学组分分析以 Becker 等^[13] 和 Hasegawa^[14] 的方法进行;全细胞枝菌酸

甲基脂分析用 Minnikin 等^[15,16]的方法; 醌的提取、分析使用 Collins^[17]和吴诚华等^[18]的方法进行高压液相色谱分析。磷酸类脂的成分分析用 Lechevalier^[19]的方法。

1.5 DNA 的 G + C mol% 测定

主要参照 Marmur 等^[20]和 De Ley 等^[21]的 T_m 值测定方法, 以大肠杆菌 *E. coli* AS1.365 的 DNA G + C mol% 值作为对照。

1.6 DNA 同源性测定

按照 Yoon 等^[22]的方法提取和纯化总 DNA。DNA-DNA 同源性测定采用 De Ley 等^[21]、Huss 等^[23]和 Jahnke^[24]的液相复性速率杂交法。

2 结果

2.1 16S rDNA 序列测定和系统发育分析

对菌株 AS4.1186 和 AS4.1187 的 16S rDNA 序列进行了测定。序列测定结果在 GenBank 数据库中的注册号分别为 AF350247 和 AF350248。

与 GenBank 数据库的序列比较结果表明, 菌株 AS4.1186 与 *Saccharothrix texasensis* NRRL B-16134^T 之间 16S rDNA 序列相似性最高, 达 99.3%, 其次是与 *Saccharothrix espanaensis* NRRL 15764^T 之间相似性为 98.3%。与诺卡氏菌属 (*Nocardia*) 的相似性低于 95%。

菌株 AS4.1186 与糖丝菌属 (*Saccharothrix*) 有效发表的种及相关属、种的 16S rDNA 序列构建的系统发育树如图 1 所示。菌株 AS4.1186 在进化树中远离诺卡氏菌属分枝, 而处于糖丝菌属的辐射分枝范围内, 与 *Saccharothrix texasensis* 关系最近。

菌株 AS4.1187 与 GenBank 数据库的序列比较结果显示, 它与 *Rhodococcus ruber* DSM 43338^T 具有很高的 16S rDNA 序列相似性, 达 99.5%, 其次是与 *R. zopfii* ATCC 51349^T 之间相似性为 97.3%。与诺卡氏菌属的相似性在 96% 左右。

菌株 AS4.1187 与红球菌属 (*Rhodococcus*) 14 个有效发表的种及其它含枝菌酸放线菌各属的 16S rDNA 序列构建的系统发育树如图 2 所示。菌株 AS4.1187 在红球菌属的辐射分枝范围内, 与 *R. ruber*、*R. zopfii*、*R. rhodochrous*、*R. pyridinovorans* 和 *R. coprophilus* 形成一个聚类群, 其中与 *R. ruber* 关系最近。

2.2 形态学特征

菌株 AS4.1186 为革兰氏阳性菌。基丝纤细, 直径 0.3 ~ 0.6 μm, 培养 24 ~ 72h 左右形成隔膜, 并断裂成球状至杆状非活动小体, 表面光滑。5 ~ 7d 形成少量气丝并断裂。在合成培养基上基丝微黄, 在有机培养基上黄至黄褐色。在无机盐淀粉琼脂 (ISP4) 或 Czepek 琼脂上产生气丝, 稀疏, 白色或黄白色。可溶性色素无或微黄色。

菌株 AS4.1187 为革兰氏阳性菌, 抗酸。菌体球状或杆状, 直径 0.7 ~ 1.0 μm, 培养 14h 形成分枝, 呈现初级分枝菌丝体, 24h 后菌丝体断裂成新的球状或杆状非活动小体。无气生菌丝。在各种培养基上呈现桔橙色至朱红色, 在 Sauton's 琼脂和营养琼脂上, 菌落平坦, 质地面团状。无可溶性色素。

2.3 细胞化学和 DNA G + C mol% 分析结果

菌株 AS4.1186 和 *S. texasensis* NRRL B-16134^T 及菌株 AS4.1187 和 *R. ruber* DSM 43338^T 的细胞化学组分和 DNA G + C mol% 分析结果见表 2。

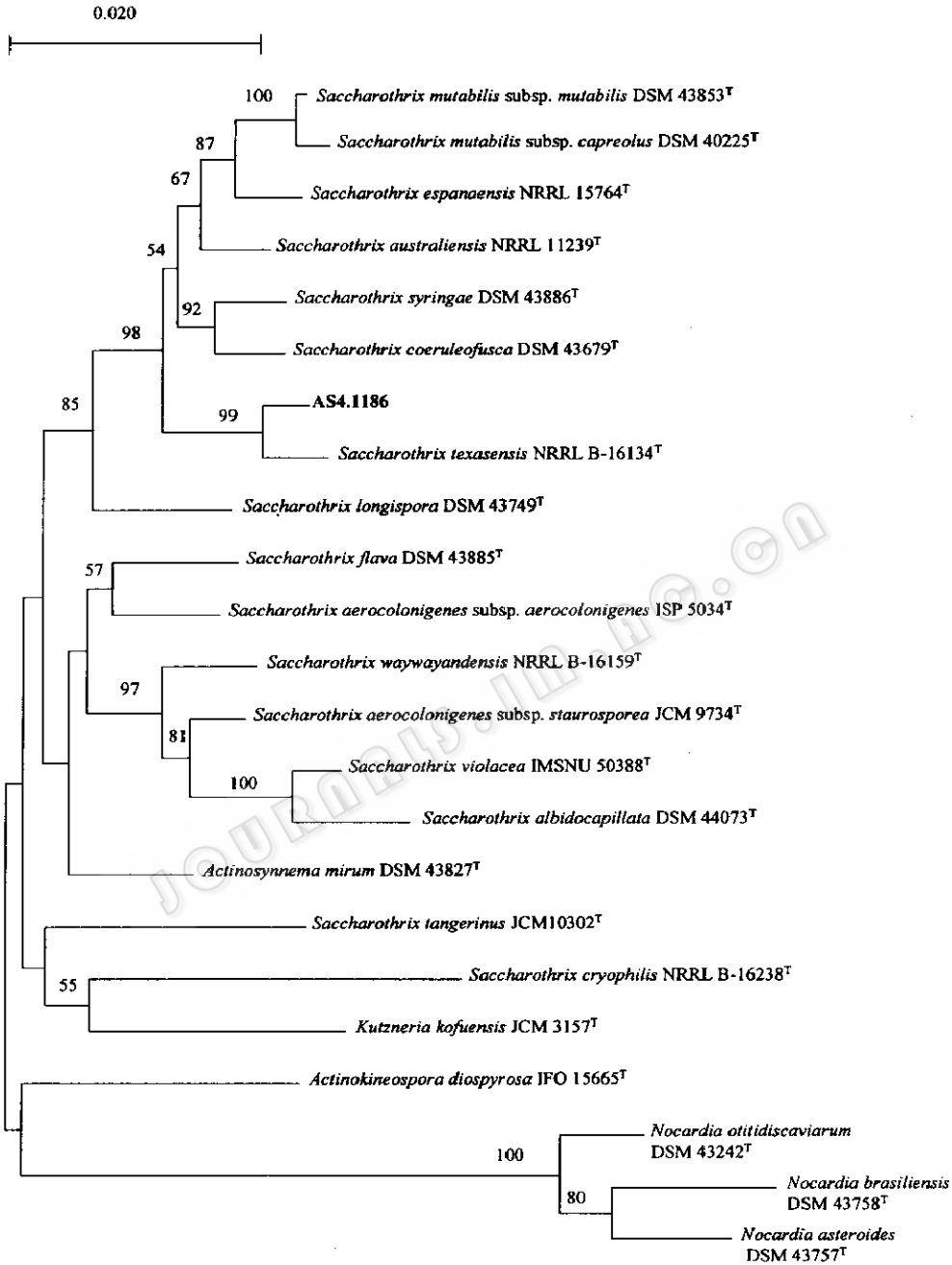


图 1 依据 16S rDNA 序列构建的菌株 AS4.1186 及相关属、种的系统发育树

Fig.1 Phylogenetic tree based on 16S rDNA sequence showing the positions of strain AS4.1186 and related taxa. Bootstrap values above 50%, expressed as percentages of 1000 replications, are shown at the branch points. The scale bar indicates 0.02 substitutions per nucleotide positions.



Bootstrap values above 50%, expressed as percentages of 1000 replications, are shown at the branch points. The scale bar indicates 0.02 substitutions per nucleotide position.

菌株 AS4.1186 和 *S. texasensis* NRRL B-16134^T 及菌株 AS4.1187 和 *R. ruber* DSM 8^T 的生理生化特性如表 3 所示。

2.5 DNA 同源性测定

菌株 AS4.1186 与糖丝菌属相关种的 DNA-DNA 杂交试验结果见表 4。菌株 AS4.1186 与 *S. espanaensis* NRRL 15764^T 的 DNA 同源性低于 70%,而与 *S. texasensis* NRRL B-16134^T 之间同源性为 77.6%,说明菌株 AS4.1186 和 *S. texasensis* 属于同一个基因种。

表 2 菌株 AS4.1186、AS4.1187 及相关种的细胞化学组分和 DNA G + Cmol% 值

Table 2 Cell chemistry and DNA G + Cmol% of strain AS4.1186, AS4.1187, and related taxa

Strain	Wall chemotype	Sugar pattern	Mycolic acid	Phospholipid type	Major menaquinone	DNA G + C mol%
AS4.1186	III	C	-	P11	MK-9(H ₄)	73.2
NRRL B-16134 ^T	III	C	-	P11	MK-9(H ₄)	74.0
AS4.1187	IV	A	+	P11	MK-8(H ₂)	67.5
DSM 43338 ^T	IV	A	+	P11	MK-8(H ₂)	68.7

表 3 菌株 AS4.1186、AS4.1187 及相关种的生理生化特性

Table 3 Differential physiological characteristics of strain AS4.1186, AS4.1187 and related taxa

Characteristic	AS4.1186	NRRL B-16134 ^T	AS4.1187	DSM 43338 ^T
Hydrolysis of:				
Aesculin	-	+	-	-
Tween 80	+	+	+	+
Tyrosin	+	+	+	+
Urea	-	V	-	-
Hypoxanthine	-	+	+	-
Casein	+	+	-	-
Xanthine	-	-	-	-
Acid production from:				
L-Arabinose	+	+	+	-
D-Fructose	V	V	+	+
D-Glucose	+	+	V	+
Glycerol	+	+	+	+
D-Mannitol	+	+	+	+
D-Mannose	+	+	+	-
Lactose	+	+	-	-
D-Cellobiose	+	+	-	-
D-Raffinose	-	-	-	-
L-Rhamnose	+	+	-	-
Salicin	+	+	-	-
D-Sorbitol	-	-	+	+
Trehalose	+	+	-	-
D-Xylose	+	+	-	-
Utilization of:				
Citrate	+	-	+	+
Benzoate	-	-	+	+
Succinate	+	+	+	+
Nitrate reduction	+	+	+	+

+ . positive; - . negative; v. variable response.

菌株 AS4.1187 与红球菌属相关种的 DNA-DNA 杂交试验结果见表 5。菌株 AS4.1187 与 *R. ruber* DAM 43338^T 之间同源性为 82.9%,说明两者是同一个种。

表 4 菌株 AS4.1186 与 *S. texasensis* NRRL B-16134^T 和 *S. espanaensis* NRRL 15764^T 的 DNA 同源性

Table 4 Degree of DNA binding between strain AS4.1186, *S. texasensis* NRRL B-16134^T and *S. espanaensis* NRRL 15764^T

Strain	DNA Degree of binding(%) to:		
	1	2	3
1 AS4.1186	—		
2 <i>S. texasensis</i> NRRL B-16134 ^T	77.6	—	
3 <i>S. espanaensis</i> NRRL 15764 ^T	33.0	29.7	—

表 5 菌株 AS4.1187 与 *R. ruber* DSM 43338^T 和 *R. zopfii* ATCC 51349^T 的 DNA 同源性

Table 5 Degree of DNA binding between strain AS4.1187, *R. ruber* DSM 43338^T and *R. zopfii* ATCC 51349^T

Strain	DNA Degree of binding(%) to:		
	1	2	3
1 AS4.1186	—		
2 <i>R. ruber</i> DSM 43338 ^T	82.9	—	
3 <i>R. zopfii</i> ATCC 51349 ^T	20.1	25.5	—

3 讨论

菌株 AS4.1186 和 AS4.1187 菌丝体断裂,这一形态特征类似于诺卡氏菌属,限于 80 年代初期的科研条件,主要依据形态和培养特征、生理生化特性及细胞壁化学组分,将菌株 AS4.1186 和 AS4.1187 定为诺卡氏菌属的新种和新变种。

16 S rDNA 序列相似性比较和系统发育分析清楚地表明,菌株 AS4.1186 和 AS4.1187 并非诺卡氏菌属成员,前者属于糖丝菌属,与 *S. texasensis* NRRL B-16134^T 亲缘关系最近,表现出 99.3% 的序列相似性;后者属于红球菌属,与 *R. ruber* DSM 43338^T 亲缘关系最相近,序列相似性达 99.5%。

对 AS4.1186 和 AS4.1187 进行的化学分类研究支持了 16S rDNA 序列比较得出的结论。目前,主要依据化学分类学特性定义诺卡氏菌属^[1],该属放线菌应具有以下性质:胞壁 IV 型,糖型 A,含有枝菌酸,主要的甲基萘醌类型为 MK-8(H₄)C,磷酸类脂 PII 型。菌株 AS4.1186 的磷酸类脂为 PII 型,但其余 3 项指标均不符合上述诺卡氏菌定属原则,而与糖丝菌属相同,该属是由 Labeda 于 1984 年建立的^[25]。菌株 AS4.1187 的细胞化学在许多方面类似于诺卡氏菌属,只有 1 项指标(醌型)相异,Howarth^[26]、Chun 等^[27]证实 MK-8(H₄)C 是诺卡氏菌属特有的醌型,是区别于红球菌属的主要特征之一。由 Tsukamura 和 Goodfellow 等^[28]建立的红球菌属与诺卡氏菌属有着密切的亲缘关系,在《伯杰氏系统细菌学手册》第 2 版中把这两个属放在同一诺卡氏菌科里。

形态学和生理生化特性研究也表明,菌株 AS4.1186、AS4.1187 分别与 *S. texasensis* NRRL B-16134^T 和 *R. ruber* DSM 43338^T 相类似。

Stackebandt 等认为 16S rDNA 序列相似性高的 2 个菌株并不一定就是同一个种^[29]。据此,我们进行了 DNA 同源性测定,菌株 AS4.1186 与 *S. texasensis* NRRL B-16134^T 以及菌

株 AS4.1187 与 *R. ruber* DSM 43338^T 之间的 DNA 同源性分别为 77.6% 和 82.9%, 均高于定义细菌种的界限(70%)^[30], 而不足以建立新种。

根据 16S rDNA 序列分析、化学分类、形态、生理生化特性和 DNA 同源性测定结果, 我们认为菌株 AS4.1186 与 *S. texasensis* 属于同一个种, 建议作为 *S. texasensis* 的一个菌株; 菌株 AS4.1187 与 *R. ruber* 是同一个种, 应作为 *R. ruber* 的一个菌株。

致谢 德国 DSMZ 保藏中心提供本项研究的模式菌株 *Saccharothrix texasensis* NRRL B-16134^T (= DSM 44231^T)、*Saccharothrix espanaensis* NRRL 15764^T (= DSM 442297^T)、*Rhodococcus ruber* DSM 43338^T 和 *Rhodococcus zopfii* ATCC 51349^T (= DSM 441087^T)。本所肖昌松先生帮助测定甲基萘醌; 北京大学洪龙先生帮助测定 16S rDNA 序列。在此一并感谢。

参 考 文 献

- [1] Goodfellow M. *Nocardia* and related genera. In: Balows A, Duerden B I. Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections. 9th ed. vol.2. Systematic Bacteriology. London: Arnold, 1997. 463 ~ 489.
- [2] Ruimy R, Boiron P, Boivin V, et al. *FEMS Microbiol Lett*, 1994, **123**: 261 ~ 268.
- [3] Chun J, Blackall L L, Kang S O, et al. *Int J Syst Bacteriol*, 1997, **47**: 127 ~ 131.
- [4] Yassin A F, Rainey F A, Burghardt J, et al. *Int J Syst Bacteriol*, 2000, **50**: 803 ~ 809.
- [5] 阮继生, 张亚美. 微生物学报, 1984, **24**(1): 21 ~ 25.
- [6] Rainey F A, Ward-Rainey N, Kroppenstedt R M, et al. *Int J Syst Bacteriol*, 1996, **46**: 28 ~ 96.
- [7] Thompson J D, Higgins D G, Gibson T J. *Nucleic Acids Res*, 1994, **22**: 4673 ~ 4680.
- [8] Saitou N, Nei M. *Mol Biol Evol*, **4**: 406 ~ 425.
- [9] Felsenstein J. PHYLIP: Phylogeny Inference Package, version 3.5c. Seattle: Department of Genetics, University of Washington.
- [10] Goodfellow M. *J Gen Microbiol*, 1971, **69**: 33 ~ 80.
- [11] Takeuchi M, Hatano K. *Int J Syst Bacteriol*, 1998, **48**: 907 ~ 912.
- [12] Gordon R E, Barnett D A, Handerman J E, et al. *Int J Syst Bacteriol*, 1974, **24**(1): 54 ~ 63.
- [13] Becker B, Lechevalier M P, Gordon R E, et al. *Appl Microbiol*, 1964, **12**: 421 ~ 423.
- [14] Hasegawa T, Takizawa M, Tanida S. *J Gen Appl Microbiol*, 1983, **29**: 319 ~ 322.
- [15] Minnikin D E, Collins M D, Goodfellow M. *J Appl Bacteriol*, 1979, **47**: 81 ~ 95.
- [16] Minnikin D E, Hutchinson I G, Caldicott A, et al. *J Chromatography*, 1980, **188**: 221 ~ 233.
- [17] Collins M D. Isoprenoid quinone analyses in classification and identification. In: Goodfellow M, et al ed. Chemical Methods in Bacterial Systematics. London: Academic Press, 1985. 267 ~ 287.
- [18] 吴诚华, 陆小涛, 秦 敏, 等. 微生物学通报, 1989, **16**(3): 176 ~ 178.
- [19] Lechevalier M P, Lechevalier H A. A University Laboratory Approach. In: Dietz A, et al ed. Actinomycetes Taxonomy. Arlington: SIM Spec, Publ, No. 6, 1980. 277 ~ 284.
- [20] Marmur J, Doty P. *J Mol Biol*, 1962, **5**: 109 ~ 118.
- [21] De Ley J, Cattoir H, Reynaerts A. *Eur J Biochem*, 1970, **12**: 133 ~ 142.
- [22] Yoon J H, Kim H, Kim S B, et al. *Int J Syst Bacteriol*, 1996, **46**: 502 ~ 505.
- [23] Huss V A R, Festl H, Schleifer K H. *Syst Appl Microbiol*, 1983, **4**: 184 ~ 192.
- [24] Jahnke K D. *J Microbiol Methods*, 1992, **15**: 61 ~ 73.
- [25] Labeda D P, Testa M P, Lechevalier M P, et al. *Int J Syst Bacteriol*, 1984, **34**: 426 ~ 431.
- [26] Howarth O W, Grund E, Kroppenstedt R M, et al. *Biochem Biophys Res Commun*, 1986, **140**(3): 916 ~ 923.
- [27] Chun J, Goodfellow M. *Int J Syst Bacteriol*, 1995, **45**(2): 240 ~ 245.

- [28] Tsukamura M. *Jpn J Microbiol*, 1974, **18**: 37 ~ 44.
- [29] Stackebrandt E, Goebel B M. *Int J Syst Bacteriol*, 1994, **44**: 846 ~ 849.
- [30] Wayne L G, Brenner D J, Colwell R R, *et al.* *Int J Syst Bacteriol*, 1987, **37**: 463 ~ 464.

Study on the Reclassification of Two Deposited Strains AS4.1186 and AS4.1187 of *Nocardia*

Zhang Jianli Zhang Yamei Liu Zhiheng

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

Abstract: Polyphasic evidence for the reclassification of *Nocardia nostocoides* AS4.1186 and *Nocardia salmonicolor* var. *aurantiaca* AS4.1187 indicated that strain AS4.1186 was closely related to *Saccharothrix texasensis* and strain AS4.1187 was very closely related to *Rhodococcus ruber*. Binary 16S rDNA sequence for the pair AS4.1186 and *Saccharothrix texasensis* NRRL B-16134^T, and the pair AS4.1187 and *Rhodococcus ruber* DSM 43338^T exhibited 99.3% and 99.5% similarity, respectively. Corresponding DNA-DNA reassociation values were significantly higher than 70%, 77.6% and 82.9%, respectively. Results of chemotaxonomic analyses of cell wall, mycolic acid, principal menaquinones, phospholipid type and the G + C content of the DNA supported the conclusions of the genotypic analyses. The very similar morphological and physiological characteristics agreed with the high degree of relatedness. On the basis of phylogenetic analyses, DNA-DNA reassociation values, chemotaxonomic properties, morphological and physiological characteristics, it is concluded that strain AS4.1186 and AS4.1187 should be removed from the genus *Nocardia*. We propose to transfer *Nocardia nostocoides* AS4.1186 to the genus *Saccharothrix*, combine with the species *S. texasensis*, and combine *Nocardia salmonicolor* var. *aurantiaca* AS4.1187 with the species *Rhodococcus ruber*.

Key words: *Saccharothrix texasensis*, *Rhodococcus ruber*, Polyphasic taxonomy